

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

## を用いたマウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -8)

### 試験機関

報告書作成年 1997年 [GLP 対応]

検体純度： (実際には水を 含むプレミックスが供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：ICR マウス (Swiss Cr1:CD-1(ICR)BR), 1群雌雄各 90 匹, 開始時 6 週齢、投与開始時体重範囲 (雄 23.4-31.0 g, 雌 16.8-26.1 g)

12 ヶ月屠殺群：1群雌雄各 20 匹 及び 発がん性群：1群雌雄各 70 匹

投与期間：12 ヶ月屠殺群 [1993年 10月から 1994年 10月]

発がん性群 [1993年 10月から 1995年 10月]

投与方法：検体を 0、100、1000 及び 8000ppm の濃度で飼料に混入し、12 ヶ月 (12 ヶ月屠殺群) または 24 ヶ月 (発がん性群及び衛星群) にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は隔週調製した。

用量設定根拠：

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。さらに、詳細な観察を週 1 回行った。悪化した動物は隔離して、より頻繁に観察した。(26 週以降は毎週腫瘍形成の有無を触診によって調べた)

雌雄共に検体投与に起因した特記すべき一般状態の変化は観察されなかった。

12 ヶ月 (52 週)、18 ヶ月 (80 週) 及び 24 ヶ月 (104 週、試験最終) 時の発がん性群における死亡率 (切迫殺含む) を表 1 に示す。

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

表 1. 死亡率 (%、発がん性群)

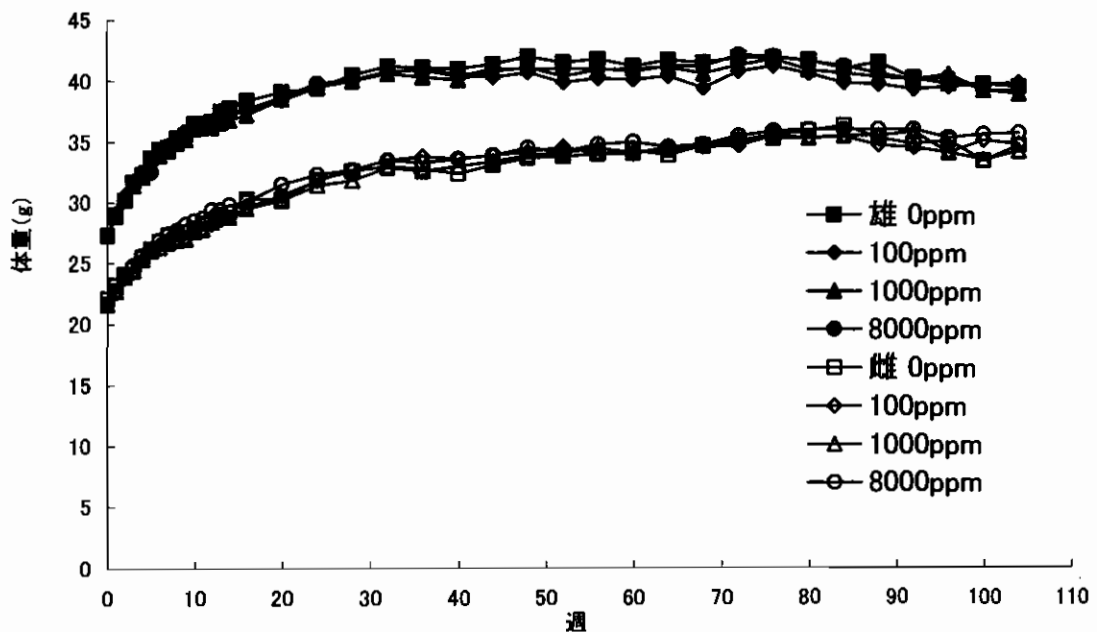
投与量 (ppm)		0	100	1000	8000
12 ヶ月 (N=70)	雄	7	4	7	10
	雌	9	7	3	6
18 ヶ月 (N=70)	雄	27	30	23	29
	雌	27	26	21	↓13
最終 24 ヶ月 (N=70)	雄	61	56	60	59
	雌	66	61	61	63

↓ : p<0.05 (Fisher の直接確率計算法 (申請者実施))

表に示したように発がん性群の経時的な死亡率において検体投与による影響は認められなかった。雌 8000ppm 群で 18 ヶ月時の死亡率が統計学的に有意に減少したがこれは偶発的な変動と考えられる。なお 12 ヶ月屠殺群でも発がん性群と同様に検体投与による死亡率への影響はみられなかった。

体重変化 : 投与開始前、投与開始から 3 ヶ月間は週 1 回、その後は 2 週間に 1 回、すべての生存動物の体重を測定した。

投与期間中の平均体重の推移を次図に示した。



いくつかの測定時点で統計学的に有意な増減を散見したが、雌雄共に検体投与による平均体重及び増体重への影響は 8000ppm でも認められなかった。

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

摂餌量：すべての動物について、投与開始から 14 週までは毎週、その後は 2 週間に 1 回の割合で測定した。

その結果、雌雄各投与群で投与期間を通じて統計学的に有意な摂餌量の増加を散見した。しかし用量相関性はみられず、先述のごとく体重への影響もみられないことから、この摂餌量増加の毒性学的な意義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次表のとおりであった。

表 2. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	1000	8000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	15	148	1188
	雌	19	187	1460

血液学的検査：投与 12 ヶ月後 (52 週) に 12 ヶ月屠殺群の生存動物全例、また 24 ヶ月後 (104 週) に発がん性群の生存動物のうち雌雄各 20 例について、一晩絶食後エーテル麻酔下で腹部大動脈から採血した。そして、各々 10 例からの血液を血液学的検査に、残り 10 例の血液を血液生化学検査に用いた。血液学的検査については以下の項目を測定した。また、投与 18 ヶ月後 (78 週) に発がん性群 (対照群と高用量群のみ) の生存動物のうち雌雄各 10 例について尾静脈から得た一部血液について血液塗沫標本を作製し、白血球分画と赤血球形態を調べた。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、白血球数、血小板数、平均血小板容積、白血球分画、赤血球形態

その結果、投与 12 及び 24 ヶ月後の検査では各項目について、雌雄共に有意な変動は全く認められなかった。わずかに 18 ヶ月後の白血球分画で雌 8000ppm 群での単球の割合が統計学的に有意に減少していた (対照群 1.5% に対して 8000ppm 群 0.9%、 $P < 0.05$ , Dunnett 検定)。

しかし、この変動は小さくまた背景対照範囲のものであることから、投与との関連性はないと判断した。

生化学的検査：投与 12 及び 24 ヶ月後に血液学的検査の項で記述した血液から得た血漿で以下の項目を測定した。

尿素窒素、グルコース、総ビリルビン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、総コレステロール、総蛋白 (TP)、アルブミン、グロブリン (Glb), A/G, ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素

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

表 3 に統計学的有意差の認められた項目を示す。

表 3. 血液生化学的検査

項目	時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	1000	8000	100	1000	8000
TP	24		↑122				
Glb	24		↑136				

↑ ↓ :  $p < 0.05$  (Dunnett 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

24 ヶ月後の検査において雄 1000ppm 群で TP と Glb の統計学的に有意な増加がみられた。しかし、用量相関性がみられないことから偶発的変動と考えられた。

**臓器重量** : 投与 12 ヶ月後 (52 週) に 12 ヶ月屠殺群の生存動物、また 24 ヶ月後 (104 週) に発がん性群の生存動物について、安楽致死後に以下の臓器重量を測定し、対体重比及び対脳重量比を算出した。

副腎, 脳, 心臓, 腎臓, 肝臓, 脾臓, 精巣/卵巣, 下垂体, 甲状腺 (上皮小体を含む)

その結果、いずれにおいても統計学的に有意な実重量、対体重比及び対脳重量比の変動は観察されなかった。

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

肉眼病理学的検査:試験途中で死亡または切迫殺した動物、12ヶ月屠殺群の生存動物、さらに24ヶ月後(104週)に発がん性群の生存動物について剖検した。

その結果、検体投与に関連した各所見の出現頻度の増加は全く認められなかった。

病理組織学的検査:肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織を採取し、注(\*)をつけた組織を除き中性緩衝10%ホルマリンで固定した。

肉眼的異常部位、副腎、大動脈、骨及び骨髄(胸骨)、脳(大脳、小脳、中脳及び延髄)、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体\*、食道、眼球\*、大腿骨(骨髄を含む)、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、肝臓(2葉を採取)、肺(2葉を採取)\*\*、リンパ節(下顎部及び腸間膜)、乳腺(そけい部)、視神経(両側)\*、卵巣、膵臓、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精のう、骨格筋、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、脾臓、胃、精巣(両側)\*、胸腺、甲状腺及び上皮小体(両側)、気管、膀胱、子宮、腔、

\*: Zenker 固定液(計画殺動物のみ)

\*\* : 肺は中性緩衝10%ホルマリンを気管内注入(計画殺動物のみ)

上記の固定した臓器・組織について以下を病理組織学的検査に供した。

- 対照群及び8000ppm群の動物全例
- 100ppm及び1000ppm群の投与期間中の死亡・切迫殺動物
- 100ppm及び1000ppm群の肺、腎臓(両側)、肝臓及び副腎(両側)
- 全ての肉眼的異常部位

#### [非腫瘍性病変]

12ヶ月屠殺群では検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

発がん性群において、発生頻度に統計学的有意差あるいはその傾向の認められた非腫瘍性病変を表4に示す。

表にみられるように、統計学的に有意な出現頻度の増加または減少を示す所見が散見された。しかし、いずれも用量相関性が明らかでない、あるいは自然発生的な変化の背景対照範囲内にあることから、検体投与に関連したものではない、あるいは毒性学的意義が低い所見と考えられた。

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

表 4. 非腫瘍性病変 (発がん性群)

時期	臓器	所見/投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発 が ん 性 群 ・ 全 動 物	所見/検査動物数		70	41	45	70	70	47	44	70
	盲腸	色素沈着	6	1	2	↓0	2	3	1	0
	所見/検査動物数		70	41	44	70	70	45	44	70
	空腸	アミロイドーシス	6	6	5	5	6	7	8	↑14
	所見/検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	腎臓	腎盂腎炎	1	5	↑7	1	0	0	0	0
	所見検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	肝臓	アミロイドーシス	10	↑17	14	12	7	5	8	10
		炎症 (限局性/多発性)	53	43	↓38	↓38	50	44	50	48
	所見/検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	肺	間質性肺炎	2	5	6	7	12	8	↓4	↓3
	所見/検査動物数		67	51	51	69	70	57	53	67
	腸間膜リンパ節	類洞拡張	4	4	6	3	11	5	(↓)2	↓1
	所見/検査動物数		70	39	42	70	70	45	43	70
	唾液腺	アミロイドーシス	1	0	0	1	1	1	2	↑7
	所見/検査動物数						70	69	69	70
	子宮	のう胞性内膜過形成					55	57	59	↑64

↓↑ : p<0.05、↓↓ : p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

( ) : 100 及び 1000ppm 群については計画殺をいれていないことから統計学的有意は参考。

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

[腫瘍性病変]

12 ヶ月屠殺群における腫瘍性病変を表 5-1 に、発がん性群におけるそれを表 5-2 に示した。なお、発がん性群については死亡・切迫殺動物の結果を表 5-2-a、計画殺動物の結果を表 5-2-b、全動物について集計したものを表 5-2-c として記した。

12 ヶ月屠殺群及び発がん性群共に検体投与によると思われる腫瘍性病変の頻度の増加は認められなかった。

(申請者註：申請者側で各腫瘍の出現頻度及び担腫瘍動物数について Fisher の直接確率計算法(片側検定)により、対照群と各投与群との間の有意差検定を行なった。その結果、各腫瘍の出現頻度についてはすべてにおいて統計学的有意な差は認められなかった。一方、担腫瘍動物数の解析では雄 8000ppm 群で良性腫瘍を有する動物数が対照群に比べて統計学的に有意に増加した(表 5-2-c)。しかし、各腫瘍性病変についての特定臓器における明らかな良性腫瘍の増加はみられていないこと、担悪性腫瘍動物数や担腫瘍動物数では明らかな変動がみられなかったこと、さらに 12 ヶ月屠殺群ではこの傾向が全く観察されていないことから、雄 8000ppm 群での担良性腫瘍動物数の増加は偶発的なものと考えられる。従って、本検体のマウスへの発がん性はないと判断する。)

以上、のマウスに対する飼料混入による 2 年間反復経口投与毒性及び発がん性試験において、雌雄共に 8000ppm でも毒性学的影響及び発がん性は認められなかった。よって本試験における無毒性量は雌雄共に 8000ppm(雄 1188 mg/kg/日、雌 1460 mg/kg/日)と考えられる。また、本試験の結果から、検体のマウスに対する発がん性はないものと考えられる。

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

表 5-1. 腫瘍性病変 (12ヶ月屠殺群)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌				
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000	
12 ヶ月 屠殺 群・ 全動物	検査動物数		20	0	1	20	20	0	3	20	
	盲腸	平滑筋腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	検査動物数		19	1	1	20	20	0	3	20	
	下垂体	癌(M)	0	0	0	0	0	0	0	1	
	検査動物数						20	13	18	20	
	子宮	間質ポリープ(B)					0	0	0	1	
	検査動物数		20	20	20	20	20	20	20	20	
	肝臓	肝細胞腺腫(B)		1	1	2	1	0	0	0	0
		肝細胞癌(M)		1	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(B)		1	0	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)		0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		20	20	20	20	20	20	20	20	
	肺	肺胞/細気管支腺腫(B)		2	0	1	2	3	3	3	4
	検査動物数		5	2	3	0	1	1	0	2	
	リンパ節	リンパ腫(M)		2	0	0	0	0	0	0	1
		組織球性肉腫(M)		0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		20	(20)	(20)	20	20	(20)	(20)	20	
	良性腫瘍数		4	1	3	3	4	3	3	5	
	悪性腫瘍数		3	0	0	1	1	0	0	2	
	腫瘍総数		7	1	3	4	5	3	3	7	
担腫瘍動物数 良性		4	1	3	3	3	3	3	4		
悪性		3	0	0	1	1	0	0	2		
担腫瘍動物数		7	1	3	3	4	3	3	6		

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisherの直接確率計算法、申請者実施)



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

表 5-2-a. 腫瘍性病変（発がん性群 - 死亡・切迫殺動物）

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発がん性群・死亡・切迫殺動物	検査動物数		43	40	43	42	46	45	42	44
	副腎	褐色細胞腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		皮質腺腫(B)	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		43	40	43	42	46	43	43	44
	骨(胸骨)	骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		43	39	42	41	46	45	43	44
	骨髄	骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	1	0	2
	検査動物数		43	39	42	41	46	45	43	44
	脳	悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	2	2	0
	腹腔	未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	1	0
	検査動物数		43	40	42	42	46	45	43	44
	結腸	腺癌(M)	0	0	1	0	0	0	1	0
	検査動物数		43	40	43	41	46	43	43	44
	十二指腸	腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		43	39	42	41	43	43	41	42
	胆嚢	乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	1
	検査動物数		0	0	0	1	1	0	2	0
	ハタゲ腺	腺腫(B)	0	0	0	1	1	0	1	0
	検査動物数		43	40	43	42	46	43	43	44
	腎臓	尿管腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		43	40	43	42	46	45	43	44
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	5	5	9	6	3	0	1	0
		肝細胞癌(M)	2	2	3	4	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	1	0	1	2	0	1	1	2
	検査動物数		43	40	43	42	45	45	43	44
	肺	肺泡/細気管支腺腫(B)	7	7	6	5	6	4	6	7
肺泡/細気管支癌(M)		5	5	7	4	3	6	3	3	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-a. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 死亡・切迫殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発がん性群・死亡・切迫殺動物	検査動物数		15	11	13	12	23	20	21	24
	リンパ節	リンパ肉腫(M)	4	3	4	4	9	11	7	6
		組織球系細胞肉腫(M)	2	1	1	2	4	1	4	4
	検査動物数		43	39	42	41	46	45	42	41
	腸間膜リンパ節	血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		43	39	42	41	46	45	43	44
	乳腺	腺癌(M)	0	0	0	0	3	1	2	2
		腺扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	検査動物数		43	39	42	41	45	44	43	44
	骨格筋	血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数						46	45	43	44
	卵巣	血管腫(B)					0	0	0	1
		血管肉腫(M)					0	0	1	0
	検査動物数		43	39	42	41	46	45	43	43
	脾臓	島細胞腺腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数		43	39	42	41	46	44	43	44
	下垂体	癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		43	40	43	42				
	精囊	腺癌(M)	1	0	0	0				
	検査動物数		0	0	0	0	9	9	12	8
	皮膚他	基底細胞癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
		扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		43	40	43	42	46	45	43	43
脾臓	血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
	血管肉腫(M)	0	0	0	1	2	1	0	1	
検査動物数		43	40	43	42	46	43	43	44	
胃	腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
検査動物数		11	11	12	15	12	10	14	15	
皮下織	線維肉腫(M)	1	1	1	1	0	1	1	0	
	血管肉腫(M)	2	0	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-a. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 死亡・切迫殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発がん性群・死亡・切迫殺動物	検査動物数		11	11	12	15	12	10	14	15
	皮下織 (続き)	血管腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
		肥満細胞腫瘍(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	2	2
		未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	2	0	0	1
	検査動物数		43	40	43	42				
	精巣	間細胞腺腫(B)	0	1	0	1				
		血管腫(B)	0	0	0	1				
	検査動物数		43	40	43	42	46	45	43	44
	甲状腺	ろ胞細胞腺腫(B)	0	0	1	3	0	0	1	1
		C細胞腺腫(B)	2	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	0	1	0
	舌	扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	検査動物数		43	40	42	42	46	43	43	44
	膀胱	平滑筋肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		1	0	0	0	0	0	0	0
	頭蓋腔	悪性神経鞘腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数						46	44	43	44
	子宮	子宮内膜間質ポリープ(B)					2	2	3	2
		子宮内膜間質肉腫(M)					2	1	0	0
		平滑筋腫(B)					3	0	2	1
		平滑筋肉腫(M)					1	0	0	0
血管肉腫(M)						1	1	0	0	
腺癌(M)						0	2	1	1	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-b. 腫瘍性病変 (発がん性群 - 計画殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発 が ん 性 群 ・ 計 画 殺 動 物	検査動物数		26	30	25	28	24	25	27	26
	副腎	皮質腺腫(B)	0	1	0	0	0	0	2	0
	検査動物数		27	1	2	28	24	0	0	26
	盲腸	腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		平滑筋腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		27	0	0	28	24	1	0	26
	結腸	腺癌(M)	0	0	0	2	0	1	0	0
	検査動物数		27	1	1	28	24	0	0	26
	空腸	腺癌(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		1	1	3	1	0	0	0	0
	ハタゲ腺	腺腫(B)	1	1	3	1	0	0	0	0
	検査動物数		27	30	27	28	24	27	27	26
	腎臓	尿細管腺腫(B)	0	1	1	0	0	0	0	0
		尿細管癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		27	30	27	28	24	25	27	26
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	9	9	6	10	1	1	1	0
		肝細胞癌(M)	1	0	3	1	0	0	0	0
		血管腫(B)	0	2	0	0	0	0	0	0
		血管肉腫(M)	2	0	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		27	30	27	28	24	25	27	26
	肺	肺泡/細気管支腺腫(B)	9	12	9	15	8	5	4	4
		肺泡/細気管支癌(M)	2	3	2	0	0	3	1	3
	検査動物数		6	2	7	6	3	7	7	6
	リンパ節	リンパ肉腫(M)	3	0	3	2	1	2	0	0
		組織球系細胞肉腫(M)	1	1	1	1	1	0	1	2
	検査動物数		27	11	10	28	24	12	11	26
	腸間膜	血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0
リンパ節	血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0	
検査動物数		27	0	0	28	24	0	2	26	
乳腺	腺癌(M)	0	0	0	0	0	0	2	1	
検査動物数		27	15	13	28					
精巣	間細胞腺腫(B)	1	3	0	1					

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-b. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 計画殺動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発がん性群・計画殺動物	検査動物数						24	20	24	26
	卵巣	血管腫(B)					0	1	0	0
		血管肉腫(M)					0	0	1	0
		腺腫(B)					0	1	0	0
		腺癌(M)					0	0	0	1
		顆粒膜/莢膜細胞腫(M)					1	0	0	0
	検査動物数		27	2	2	28	24	0	0	26
	脾臓	島細胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		26	0	1	28	22	3	1	24
	下垂体	腺腫(B)	0	0	1	0	1	1	1	0
	検査動物数		0	0	0	0	4	5	6	1
	皮膚他	角化棘細胞腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
		扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0
	検査動物数		27	10	5	28	24	9	9	26
	脾臓	血管肉腫(M)	0	1	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		27	8	8	28	24	8	4	26
	胃	腺腫(B)	0	1	0	0	1	0	0	0
		平滑筋腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		2	0	2	2	2	0	1	3
	皮下織	線維肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
		血管腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
		線維性組織球腫(M)	0	0	0	0	0	0	1	1
	検査動物数		27	1	3	28	24	0	0	26
	甲状腺	C細胞癌(M)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	0	0	1
	舌	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数						24	25	26	26
子宮	子宮内膜間質ポリープ(B)					1	1	3	3	
	子宮内膜間質肉腫(M)					1	1	0	1	
	平滑筋腫(B)					1	2	0	1	
	血管腫(B)					1	0	0	0	
	腺癌(M)					0	0	0	2	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-c 腫瘍性病変（発がん性群 - 全動物）

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発がん性群・全動物	検査動物数		69	70	68	70	70	70	69	70
	副腎	褐色細胞腫(M)	1	0	0	0	0	0	0	0
		皮質腺腫(B)	0	1	0	0	1	0	2	0
	検査動物数		70	40	43	70	70	43	43	70
	骨(胸骨)	骨肉腫(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		70	39	42	70	70	46	43	70
	骨髄	骨髄性白血病(M)	0	0	0	0	0	1	0	2
	検査動物数		70	39	42	70	70	45	43	70
	脳	悪性神経鞘腫(M)	0	0	0	0	1	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	2	2	0
	腹腔	未分化肉腫(M)	0	0	0	0	0	1	1	0
	検査動物数		70	41	45	70	70	43	43	70
	盲腸	腺癌(M)	0	0	0	1	0	0	0	0
		平滑筋腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	40	42	70	70	46	43	70
	結腸	腺癌(M)	0	0	1	2	0	1	1	0
	検査動物数		70	40	43	69	70	43	43	70
	十二指腸	腺腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0
	検査動物数		70	39	42	70	66	46	43	67
	胆嚢	乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	1
	検査動物数		1	1	3	2	1	0	2	0
	ハーダー腺	腺腫(B)	1	1	3	2	1	0	1	0
	検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	腎臓	尿細管腺腫(B)	0	1	2	0	0	0	0	0
		尿細管癌(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	70	70	70	70	70	70	70
	肝臓	肝細胞腺腫(B)	14	14	15	16	4	1	2	0
肝細胞癌(M)		3	2	6	5	0	0	0	0	
血管腫(B)		0	2	1	0	0	0	0	0	
血管肉腫(M)		3	0	1	2	0	1	1	2	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-c (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 全動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発 が ん 性 群 ・ 全 動 物	検査動物数		70	70	70	70	69	70	70	70
	肺	肺胞/細気管支腺腫(B)	16	19	15	20	14	9	10	11
		肺胞/細気管支癌(M)	7	8	9	4	3	9	4	6
	検査動物数		21	13	20	18	26	27	28	30
	リンパ節	リンパ肉腫(M)	7	3	7	6	10	13	7	6
		組織球系細胞肉腫(M)	3	2	2	3	5	1	5	6
	検査動物数		67	51	51	69	70	57	53	67
	腸間膜	血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	1
	リンパ節	血管肉腫(M)	0	1	0	0	0	0	0	0
	検査動物数		70	39	42	70	70	45	45	70
	乳腺	腺癌(M)	0	0	0	0	3	1	4	3
		腺扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	0	0	1	0
	検査動物数		70	39	42	70	69	44	43	70
	骨格筋	血管肉腫(M)	0	0	0	0	0	0	0	1
	検査動物数						70	65	67	70
	卵巣	血管腫(B)					0	1	0	1
		血管肉腫(M)					0	0	2	0
		腺腫(B)					0	1	0	0
		腺癌(M)					0	0	0	1
		顆粒膜/莢膜細胞腫(M)					1	0	0	0
	検査動物数		70	42	45	70	70	45	43	69
	膵臓	島細胞腺腫(B)	0	0	1	0	0	0	0	1
	検査動物数		67	40	44	70	68	47	44	68
下垂体	腺腫(B)	0	0	1	0	1	1	1	0	
	癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
検査動物数		70	45	45	70					
精囊	腺癌(M)	1	0	0	0					
検査動物数		0	0	0	0	13	14	18	9	
皮膚他	基底細胞癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	扁平上皮癌(M)	0	0	0	0	1	0	0	0	
	角化棘細胞腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	
	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	1	0	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

表 5-2-c (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 全動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌				
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000	
発 が ん 性 群 ・ 全 動 物	検査動物数		70	50	48	70	70	54	52	69	
	脾臓	血管腫(B)	0	0	0	0	0	0	1	0	
		血管肉腫(M)	0	1	0	1	3	1	0	1	
	検査動物数		70	48	51	70	70	52	47	70	
	胃	腺腫(B)	0	1	0	1	1	0	0	0	
		平滑筋腫(B)	0	0	0	1	0	0	0	0	
	検査動物数		13	11	14	17	14	10	15	18	
	皮下織	線維肉腫(M)		1	1	1	1	0	1	1	1
		血管肉腫(M)		2	0	0	0	0	0	0	0
		血管腫(B)		0	0	1	1	0	0	0	0
		肥満細胞腫瘍(M)		0	1	0	0	0	0	0	0
		骨肉腫(M)		0	0	0	0	0	0	2	2
		未分化肉腫(M)		0	0	0	0	0	0	0	1
		線維性組織球腫(M)		0	0	0	0	2	0	1	2
	検査動物数		70	55	56	70					
	精巣	間細胞腺腫(B)	1	4	0	2					
		血管腫(B)	0	0	0	1					
	検査動物数		70	41	46	70	70	47	44	70	
	甲状腺	ろ細胞腺腫(B)		0	0	1	3	0	0	1	1
		C細胞腺腫(B)		2	0	0	0	0	0	0	0
		C細胞癌(M)		0	0	1	0	0	0	0	0
	検査動物数		0	0	0	0	0	0	1	1	
	舌	扁平上皮乳頭腫(B)	0	0	0	0	0	0	0	1	
扁平上皮癌(M)		0	0	0	0	0	0	1	0		
検査動物数		70	43	46	70	70	43	43	70		
膀胱	平滑筋肉腫(M)		0	0	0	1	0	0	0	0	
検査動物数		1	0	0	0	0	0	0	0		
頭蓋腔	悪性神経鞘腫(M)		1	0	0	0	0	0	0	0	

(B) : 良性腫瘍, (M) : 悪性腫瘍 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)



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

表 9-2-c. (続き) 腫瘍性病変 (発がん性群 - 全動物)

時期	臓器	所見 / 投与量 (ppm)	雄				雌			
			0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
発がん性群・全動物	検査動物数						70	69	69	70
	子宮	子宮内膜間質ポリープ(B)					3	3	6	5
		子宮内膜間質肉腫(M)					3	2	0	1
		平滑筋腫(B)					4	2	2	2
		平滑筋肉腫(M)					1	0	0	0
		血管腫(B)					1	0	0	0
		血管肉腫(M)					1	1	0	0
		腺癌(M)					0	2	1	3
	検査動物数		70	(70)	(70)	70	70	(70)	(70)	70
	良性腫瘍数		34	43	41	48	30	20	28	24
	悪性腫瘍数		30	20	28	27	36	35	32	38
	総腫瘍数		64	63	69	75	66	55	60	62
	担腫瘍動物数 良性		26	29	30	↑38	23	18	22	22
悪性		27	19	27	24	32	32	28	34	
担腫瘍動物数		40	42	47	48	48	43	42	47	

(B) : 良性腫瘍、(M) : 悪性腫瘍

↑ : p<0.05 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

## を用いたイヌに対する慢性（1年混餌投与）毒性試験

（毒性資料 No. 代謝物 -9）

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 1996 年

検体純度 （実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。）

供試動物：ビーグル犬、開始時約 8 ヶ月齢、体重：投与開始時 雄 7.7～11.1 kg、雌 7.0～9.3 kg、主群雌雄各 4 匹及び中間屠殺群雌雄各 2 匹

投与期間：主群 [1993 年 12 月から 1994 年 12 月]  
中間屠殺群 [1993 年 12 月から 1994 年 6 月]

投与方法：検体を 0、100、1000 及び 8000ppm の濃度で飼料に混入し、6 ヶ月（中間屠殺群）または 12 ヶ月（主群）にわたって摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠：

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。また、全動物について詳細な臨床観察を毎週行なった。

その結果、試験期間を通じて雌雄各試験群で軟便を散見した。とくに雄の 1000ppm 以上の投与群で対照群に比べてやや頻度の増加がみられたが、下記のごとく増体重抑制や関連病理学的変化がみられていないことから毒性変化とは捉えられなかった。

試験期間を通じて検体投与に起因した死亡はみられなかった。  
雌 1000ppm 群の 1 例で試験開始 3 週時に痙攣や全身衰弱がみられたため切迫殺した。原因は特定できなかったがワクチン接種に起因した過剰反応が疑われた。

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

体重変化：投与開始前及び投与期間中に週1回、全動物の体重を測定した。

投与期間中の体重の推移を次図に示す。また、投与期間中の体重増加量を表1に示した。

体重推移 (0-26週：全動物、0-52週：主群動物)

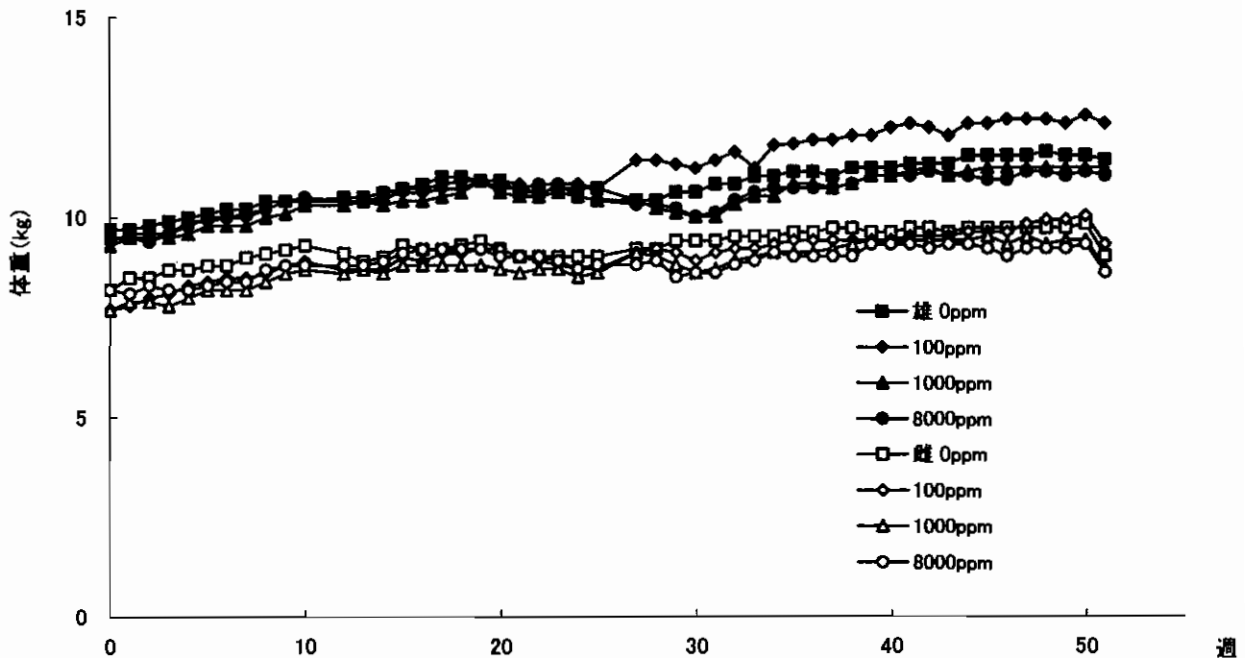


表 1. 体重増加量 (kg)

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0	100	1000	8000	0	100	1000	8000
0 - 25 週 (全動物)		1.00	1.30	1.05	0.83	0.82	0.93	1.04	0.52
0 - 51 週 (主群)		1.92	2.78	1.68	1.80	1.70	2.05	1.55	1.17

統計学的有意差なし (Dunnett 検定)

雌雄各投与群共、いずれの測定時においても統計学的有意な体重の変動はみられなかった。体重増加量では雌の 8000ppm 群で対照群に比べて減少傾向がみられたが、統計学的に有意ではなくまた 51 週時の体重が対照群の 95%にとどまっていることから、毒性変化とは捉えられなかった。

摂餌量：投与期間を通じて毎日、摂餌量を記録し、各週の平均摂餌量を算出した。

雌雄共に対照群との間に明らかな差は認められなかった。

検体摂取量：投与期間中の平均検体摂取量は次表のとおりであった。

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

表 2. 検体摂取量

投与量 (ppm)		100	1000	8000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	4.0	44	325
	雌	4.3	43	346

血液学的検査：投与開始前並びに 3、6 及び 12 ヶ月目に全動物を対象として頸静脈から採血し、以下の項目を測定・検査した。

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット(Ht)、平均赤血球容積、平均赤血球ヘモグロビン量、平均赤血球ヘモグロビン濃度、白血球数、白血球分画 [好中球、リンパ球(Lym)、単球(Mon) 他]、血小板数、プロトロンビン時間、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下表に示す。

表 3. 血液学的検査

検査項目	検査時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	1000	8000	100	1000	8000
Ht	12		↓85				
Lym (%)	6				↑179		
Mon (%)	12				↓11		

↑ ↓ : p<0.05、↓ ↓ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)

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

Ht や白血球分画で統計学的有意な変動を観察したが、いずれも用量相関性がみられず、また一過性の変化であったことから、検体投与には関連しない偶発的なものと考えられた。

生化学的検査：血液学的検査と同様に採取した血液から得られた血漿または血清を用い、以下の項目を測定・算出した。

総ビリルビン、グルコース(Glu)、尿素(BUN)、クレアチニン(Cre)、総コレステロール、クロル(Cl)、ナトリウム、カリウム、カルシウム、無機リン、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、クレアチンキナーゼ(CK)、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)、総蛋白、アルブミン、グロブリン、A/G

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表 4 に示した。

表 4. 生化学的検査

検査項目	検査時期 (月)	投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	1000	8000	100	1000	8000
BUN	6	↑128					
	12				↑136		
Cre	3			↑133			
	6				↑125		↑125
LDH	投与前					(53)	(45)
	3						↓28
	12					(55)	(46)
Glu	3				↑112	↑115	↑113
Cl	6					↑104	↑104
	12			↑103		↑102	↑103

↑ ↓ : p<0.05、↑↑ : p<0.01 (Dunnett または Dunn 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を示したもの。

( ) は統計学的な有意ではなかったが参考として記載。

表にみられるようにいくつかの項目で統計学的に有意な変動を観察した。このうち BUN、Cre、LDH 及び Glu の変動については、いずれも投与前に同様な変動がみられる、あるいは明らかな用量相関性がない、一過性の変動である、との理由から検体投与に関連しない偶発的なものと考えられた。Cl の統計学的有意な増加が雄で 12 ヶ月時に 8000ppm 群で、雌で 6 及び 12 ヶ月群で 1000ppm 以上の投与群で観察された。しかし、変動幅は小さくまた他に関連する所見が得られていないことから毒性学的意義は低いと考えられた。

尿検査：投与開始前並びに 3、6 及び 12 ヶ月時に生存動物を対象として尿サンプルを採取し、以下の項目を測定・検査した。

色調及び外観、尿量 (24 時間)、pH、比重、グルコース、ビリルビン、ケトン、潜血、蛋白、亜硝酸塩、ウロビリノゲン、沈渣 (赤血球、白血球、上皮細胞、細菌、円柱、結晶)

その結果、検体投与によると思われる異常は全く認められなかった。

眼科学的検査：投与開始前並びに 3、6 及び 12 ヶ月時に生存動物を対象として全動物について検査した。

その結果、いずれの投与群にも投与に関連した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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

臓器重量：主群（12ヶ月屠殺）及び中間屠殺群（6ヶ月）の生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、最終体重から対体重比を算出した。

副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、下垂体、脾臓、精巣、甲状腺（上皮小体を含む）

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を表5に示す。

表5. 臓器重量（主群、12ヶ月屠殺）

検査項目		投与量 (ppm)					
		雄			雌		
		100	1000	8000	100	1000	8000
脾臓	実重量		↓54	↓65			
	対体重比		↓57	(71)			

↓ : p<0.05、:↓ : p<0.01 (Dunnett 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を示したもの。

( ) : 統計学的有意差はないが参考として記載。

12ヶ月投与後の雄1000ppm以上の投与群で脾臓の実重量及び対体重比の統計学的に有意な減少が認められた。しかし、用量相関性がみられず、また病理検査で関連するような所見がみられなかったこと、中間屠殺群や雌の各投与群では全くその傾向がみられなかったことから、この脾臓重量の減少は検体投与に関連しない偶発的な変化と考えられる。その他の臓器重量には特記すべき変動は観察されなかった。

肉眼的病理検査：主群（12ヶ月屠殺）及び中間屠殺群（6ヶ月）の生存動物を対象として検査した。

雌雄各投与群いずれの動物においても、投与に関連したと思われる肉眼的異常所見はみられなかった。

病理組織学的検査：主群（12ヶ月屠殺）及び中間屠殺群（6ヶ月）の生存動物を対象として以下の組織について病理標本を作製した。

副腎、動脈、脳（大脳、小脳、中脳及び延髄）、骨（胸骨）、骨髄（胸骨、大腿骨）、精巣上体、食道、眼及び視神経、胆嚢、心臓、腸管（十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、腎臓、肝臓、肺、リンパ節（下顎、腸間膜）、乳腺、卵巣及び卵管、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺、坐骨神経（両側）、骨格筋（両側）、皮膚、脊髄（頸部、胸部中央、腰部）、脾臓、胃、精巣、胸

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

腺、甲状腺（上皮小体を含む）、舌、気管、膀胱、子宮（子宮頸部を含む）、  
肉眼的異常部位  
鏡検はすべての動物について実施された。

検体投与に関連したと思われる特記すべき所見はみられなかった。対照群を含む各試験群において間質性肺炎や下垂体のう胞、胸腺萎縮等を散見したが用量相関性はみられず、また通常みられる所見であり、検体投与との関連はないと判断される。

以上、イヌに対する1年間混餌投与毒性試験において、雌雄共に8000ppmでも毒性変化は捉えられなかった。よって本試験の無毒性量は8000ppm（雄で325 mg/kg/日、雌で346 mg/kg/日）であった。

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

#### (4) 生殖毒性

##### を用いたラットを用いた繁殖毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -10)

試験機関

報告書作成年 1996年 [GLP 対応]

検体純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の 純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：Sprague-Dawley ラット (Cr1:CD(SD)BR)、開始時 6 週齢、体重：投与開始時雄 161~222 g、雌 124~164 g、1 群雌雄各 30 匹

投与期間：P 世代：投与開始から交配まで少なくとも 10 週、さらに妊娠及び哺育期間。計少なくとも 16 週間

F1 世代：離乳時から交配まで少なくとも 11 週、さらに妊娠及び哺育期間。計少なくとも 17 週間

[投与開始 1994 年 2 月、投与終了 1994 年 11 月]

投与方法：検体を 0、200、2000 及び 10000ppm の濃度で飼料に混入し、上記の投与期間に摂食させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠：

交配・調整・選抜及び観察・検査項目：概要を表 1 にまとめた。

交配及び妊娠の確認：雌の発情を膣スメアで確認し、雌雄を 1 対 1 で同居させ、膣栓または膣スメア中の精子により交尾を確認した。

交尾が確認された日を妊娠 0 日とし、分娩が認められた日を哺育 0 日または生後 0 日とした。

妊娠の確認は分娩の有無と子宮内の着床痕の有無によって行った。

調整及び選抜：F1 児及び F2 児の出生 4 日に 1 腹当り 8 匹 (可能な限り雄 4 匹、雌 4 匹) に淘汰、調整した。また、F1 児については哺育期間終了時に F1 世代の親動物として 1 腹当り 2 匹 (可能な限り雄 1 匹、雌 1 匹) を選抜した。

一般状態及び死亡率：投与期間を通じて全動物の一般状態及び生死を毎日観察した。

体重及び摂餌量：すべての P 及び F1 親を対象とし、体重は雄については試験期間を通



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

じ毎週、雌は交配前、交配期間は毎週、妊娠期間は妊娠 0, 6, 12, 18 及び 21 日、哺乳期間は哺育 0, 4, 7, 14 及び 21 日に測定した。また摂餌量も原則毎週測定し、雌については妊娠 0-6, 6-12 及び 12-18 日も測定した。また、F1, F2 児の体重を生後 0, 4, 7, 14 及び 21 日に測定した。

交配後の雄の観察・検査項目：交配後も最後の雌が分娩するまで数週間にわたり投与を継続した。その間も体重を週 1 回記録した。

発情周期：P, F1 のすべての雌を対象に、交配前 2 週間にわたり発情周期を観察した。

繁殖性に関する指標：交配、妊娠、分娩、哺育及び離乳時期の観察に基づき、次の指標を算出した。

$$\text{交尾率} = (\text{交尾雌数} / \text{同居雌数}) \times 100$$

$$\text{受精率} = (\text{妊娠(着床確認)雌数} / \text{同居雌数}) \times 100$$

$$\text{受胎率} = (\text{妊娠(着床確認)雌数} / \text{交尾雌数}) \times 100$$

$$\text{妊娠率} = (\text{生存児出産雌数} / \text{妊娠(着床確認)雌数}) \times 100$$

交尾までの日数、妊娠期間、着床数 (1 腹当たり)、生存児数 (1 腹当たり)  
出産児数 (1 腹当たり)、性比

$$4 \text{ 日生存率}^{\$} = (\text{生後 4 日淘汰前生存児数} / \text{生存児数}) \times 100$$

$$7 \text{ あるいは } 14 \text{ 日生存率}^{\$} = (\text{生後 7 あるいは } 14 \text{ 日生存児数} / \text{淘汰後生存児数}) \times 100$$

$$\text{離乳率}^{\$} = (\text{生後 21 日の生存児数} / \text{生後 4 日淘汰後の生存児数}) \times 100$$

$^{\$}$ : 各腹の平均

肉眼的病理検査：すべての P 及び F1 親を対象として、屠殺後肉眼的病理検査を行った。

また、F1 及び F2 児動物については哺育期間終了後に各腹雄 1 匹、雌 1 匹を選抜し屠殺後肉眼的病理検査を行った。さらに出生後死亡あるいは切迫殺した児動物についても肉眼的病理検査を行った。

臓器重量：すべての P 及び F1 親を対象として、下記の臓器重量を記録した。

脳、精巣上体、下垂体、精囊、精巣、卵巣、子宮

精子検査：P, F1 の全群の雄を対象に輸精管から採取した精子について運動能、精子数を計測すると共に精子の形態を鏡検した。また、左側精巣の一部をホモゲナイズし精子細胞数を計測した。

病理組織学的検査：すべての P 及び F1 親を対象として、下記の組織について病理組織

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

標本を作製した。

副腎、脳、精巣上体、腎臓、肝臓、乳腺、下垂体、前立腺、精嚢、精巣、卵巣、子宮、膣、肉眼的異常部位

対照群と 10000ppm 群のすべての組織とすべての群の肉眼的異常部位について鏡検を行なった。

表 1. 交配・調整・選抜及び観察・検査項目

世代	期間 (週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育 (10 週)		雌雄の体重、摂餌量は週 1 回記録。交配前 2 週間、発情周期を検査 (雌のみ)。
	交配 (14 日以内)	雌雄 1 対 1 で交配。 交配は膣栓または精子で確認。	交配状況の観察 雄については交配終了後、精子検査及び死後検査 (剖検、臓器重量、病理組織検査)
	妊娠		母動物の体重は妊娠 0、6、12、18 及び 21 日、摂餌量は妊娠 0、6、12 及び 18 日に記録。
	出産		出産状況の観察。同腹児数、出生児数、死産児数、及び性比。
P/F1	哺育 (21 日)	哺育 4 日に各同腹児数を 8 匹に調整 (可能な場合は雌雄各 4 匹)。	母動物の体重は哺育 0、4、7、14 及び 21 日、摂餌量は週 1 回記録。 児動物の体重を生後 0、4、7、14 及び 21 日に測定。
	離乳	継代用に各群雌雄各 30 匹を無作為に選抜。	すべての P 雌を屠殺し、肉眼的病理検査、臓器重量の測定、及び病理組織学的検査。 残りの F1 児を屠殺。 同腹の雌雄児各 1 匹を肉眼的病理検査。
F1	生育 (11 週)		離乳後、親動物として観察を開始。(P 世代に準ずる)
	交配 (14 日以内)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	妊娠		(P 世代に準ずる)
	出産		(P 世代に準ずる)
F1/F2	哺育 (21 日)	(P 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)
	離乳		(P 世代に準ずる) 離乳後、F2 児を屠殺。同腹の雌雄児各 1 匹を肉眼的病理検査。

結果：

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

概要を表 2 に示した。また、体重推移は図 1 及び 2 に示した。

## 1. P 及び F1 親動物の一般毒性

一般状態の観察では、両世代の雌雄共 10000ppm 群において、軟便やそれによると思われる被毛の汚れを観察した。しかし体重やその他に影響がみられなかったことから、これらの所見については毒性変化とは捉えなかった。

P 世代の雄 3 例 (2000 及び 10000ppm 群) が死亡した。15 週で死亡した 2000ppm 群の 1 例では振せんや異常歩行、全身状態の悪化を観察していたが、2 及び 15 週に死亡した 10000ppm 群の 2 例については特に所見はみられなかった。これらの死亡と検体投与との関連はないと考えられた。

図 1 及び表 2 に示したように、両世代共に検体投与による体重への影響は認められなかった。F1 世代の交配前の生育期間の初期段階で、とくに雌で統計学的に有意な体重の減少を散見したが、用量相関性がみられないことから投与との関連は否定された。

摂餌量については検体投与によると思われる減少は両世代共に観察されなかった。

死後検査において、肉眼的病理検査からは両世代共に特記すべき所見は認められなかった。臓器重量では F1 世代の雌 10000ppm 群の脳実重量が統計学的に有意に減少していた。しかし同群の最終体重もやや減少傾向にあり、これに関連した変動と考えられた。また F1 世代雄 10000ppm 群の左側精囊の実重量及び対体重比が統計学的に有意に増加した。しかし右側では有意な変動をみなかったこと、また関連するような病理組織学的な所見もみられなかったことから毒性学的意義は低いと考えられる。この他に病理組織学的検査では F1 世代雄の肝臓で単核細胞浸潤の頻度の低下と髄外造血の頻度の増加が統計学的に有意に認められた。しかし両所見ともに P 世代では明らかではないことや他に関連する所見がみられていないことから、偶発的あるいは毒性学的に意義は低いものと判断した。

## 2. P 及び F1 親動物の繁殖能力

精子検査及び発情周期の観察からは両世代共に特記すべき所見はみられなかった。

繁殖能の指標となる各指数や交尾までの日数、妊娠期間、着床後死胚率について両世代共に検体投与に関連したと思われる変動は観察されなかった。また生存児数、死産児数についても対照群と各投与群との間に差はみられなかった。

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

### 3. F1 及び F2 児動物への影響

両世代共に、性比や出生時体重、出生 4 日時の生存率、7 及び 14 日の生育率、離乳率 (21 日) には投与の影響はみられなかった。

F1 及び F2 児の哺育期間中、特記すべき一般状態の変化は観察されなかった。また図 2 に示したように、両世代共、哺育期間中の体重の推移に投与の影響は全くみられなかった。

哺育期間に死亡した児動物及び離乳時 (出生 21 日後) に屠殺した児動物の肉眼的病理検査において、両世代共に特記すべき異常所見は認められなかった。

以上、のラットを用いた混餌投与による 2 世代繁殖試験において、10000ppm でも親動物における毒性兆候、繁殖能に対する影響、さらに児動物への毒性影響は観察されなかった。従って、無毒性量 (NOAEL) はいずれも 10000ppm (雄 702 mg/kg/日、雌 622 mg/kg/日) 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 結果の概要

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				検 定 方 法
投与量 (ppm)		0	200	2000	10000	0	200	2000	10000	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
一般状態 [数値は動物数]										①
軟便	雄	2	1	3	↑28	1	1	3	↑19	
	雌	0	0	0	↑5	0	0	0	↑5	
被毛の汚れ (軟便による)	雄	0	0	2	↑14	0	0	1	↑16	
	雌	0	0	0	0	0	0	0	0	
死亡 [数値は動物数]										
	雄	0	0	1 <sup>\$1</sup>	2 <sup>\$2</sup>	0	0	0	0	
体重 [数値は対照に対する相対値 (%)]										②
(生育期間) 0 週	雌							↓93		
1 週	雄							↓92		
	雌						↓92	↓94		
2 週	雌						↓93			
4 週	雌						↓94			
親動物 摂餌量: 検体投与に起因した変動なし。										
検体摂取量 (mg/kg/日)										
(生育期間)	雄	0	13	137	702	0	16	162	821	
	雌	0	18	173	890	0	19	197	1008	
(妊娠期間)	雌	0	13	126	622	0	12	124	652	
臓器重量 [数値は対照に対する相対値 (%)]										②
最終体重	雌						↓94		(98)	
脳 (実重量)	雌								↓97	
精囊 (左) (実重量) (対体重比)	雄								↑119 ↑121	
肉眼的病理検査: 特記すべき所見認められず										
病理組織学的検査										①
肝臓/ 検査動物数	雄	30	4	6	30	30	4	5	30	
単核細胞浸潤		0	0	0	3	6	0	0	↓0	
髓外造血		1	0	0	2	2	2	0	↑8	

検定方法: ①Fisher の直接確率計算法 ↓↑: p<0.05、↑↓: p<0.01

②Dunnett 検定 ↑↓: p<0.05、↑↓: p<0.01

\$1: 投与開始 15 週に死亡。

\$2: 投与開始 2 週及び 15 週に死亡。

( ): 統計学的有意ではなかったが参考として記載。

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

表 2 結果の概要 (続き)

世代		親:P 児:F1				親:F1 児:F2				検 定 方 法
投与量 (ppm)		0	200	2000	10000	0	200	2000	10000	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
精子検査:		特記すべき所見認められず								
発情周期:		特記すべき所見認められず								
繁殖能力 (初回交配)										
同居雌数		30	30	30	30	30	30	30	30	
交尾雌数		26	26	27	28	30	30	28	29	
死亡雌数 (妊娠期間)		0	0	0	0	0	0	0	0	
受胎雌数		22	22	25	22	24	25	23	28	
全死亡胎児出産雌数		0	0	0	0	0	0	0	0	
生存児出産雌数		22	22	25	22	24	25	23	28	
親 動 物	交尾率 (%)	87	87	90	93	100	100	93	97	①
	受精率 (%)	73	73	83	73	80	83	77	93	
	受胎率 (%)	85	85	93	79	80	83	82	97	
	妊娠率 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	
	交尾までの日数*	2.2	2.5	2.8	2.4	2.8	2.9	2.4	3.1	③
	妊娠期間* (日)	21.8	21.8	22.0	21.9	21.8	22.0	21.7	21.7	
	着床数*	14.9	15.4	15.2	14.6	14.9	14.9	16.0	16.3	
	着床後死胚率* (%)	12.2	15.4	8.1	10.9	7.9	9.0	8.4	7.4	
	生存児数*	13.2	13.1	14.1	13.1	13.8	13.3	14.6	15.0	
	死産児数*	0.4	0.7	0.3	0.4	0.3	0.3	0.4	0.4	

検定方法: ①Fisher の直接確率計算法

③Mann-Whitney U 検定

\* : 各腹平均

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

表2 結果の概要 (続き)

世代		親 : P 児 : F1				親 : F1 児 : F2				検 定 方 法
投与量 (ppm)		0	200	2000	10000	0	200	2000	10000	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
児 動 物	生存児出産雌数	22	22	25	22	24	25	23	28	
	生存児数*	13.2	13.1	14.1	13.1	13.8	13.3	14.6	15.0	③
	出生時の性比 (雄の割合%)	56.0	53.8	48.2	51.5	47.4	49.8	49.7	46.8	③
	出生時体重 (g)	6.6	6.5	6.5	6.6	6.4	6.5	6.3	6.4	②
	(雄)	6.7	6.7	6.7	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	
	(雌)	6.4	6.3	6.4	6.4	6.2	6.3	6.1	6.2	
	4日生存率 (%)	100	99	97	100	99	99	99	99	③
	7日生育率 (%)	100	100	97	100	100	100	100	100	
	14日生育率 (%)	100	100	97	100	100	100	100	100	
	離乳率 (%)	100	100	97	100	99	100	100	100	
	一般状態 (哺育期間) : 特記すべき所見認められず									
	体重 (哺育期間) : 特記すべき所見認められず									
肉眼的病理検査 (途中死亡及び離乳児) : 特記すべき所見認められず										

検定方法 : ①Fisher の直接確率計算法

②Dunnett 検定

③Dunn 検定

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

図 1-1、P 親の体重、生育期間

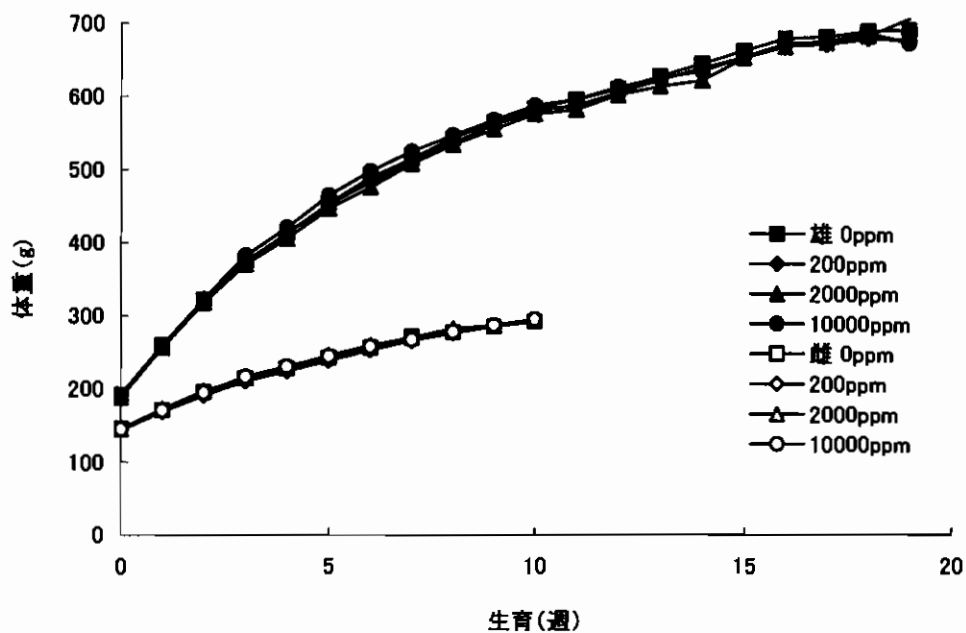


図 1-2、P 母動物の体重、妊娠期間

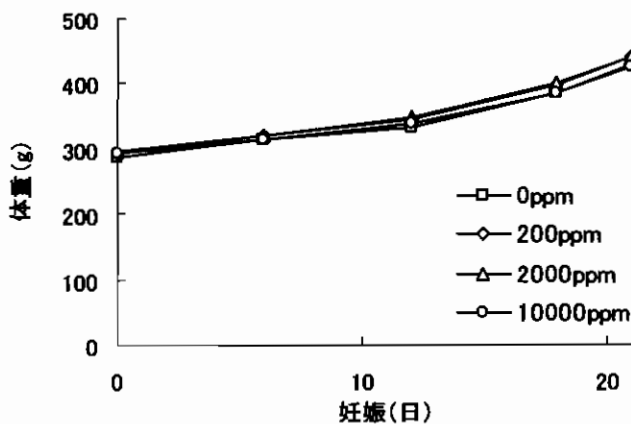
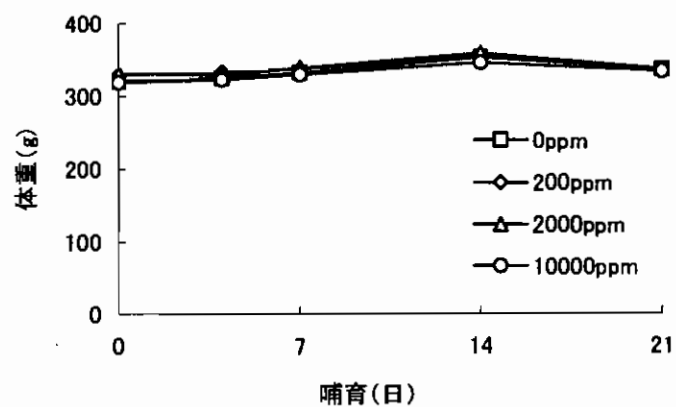


図 1-3、P 母動物の体重、哺育期間





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

図 1-4、F1 親の体重、生育期間

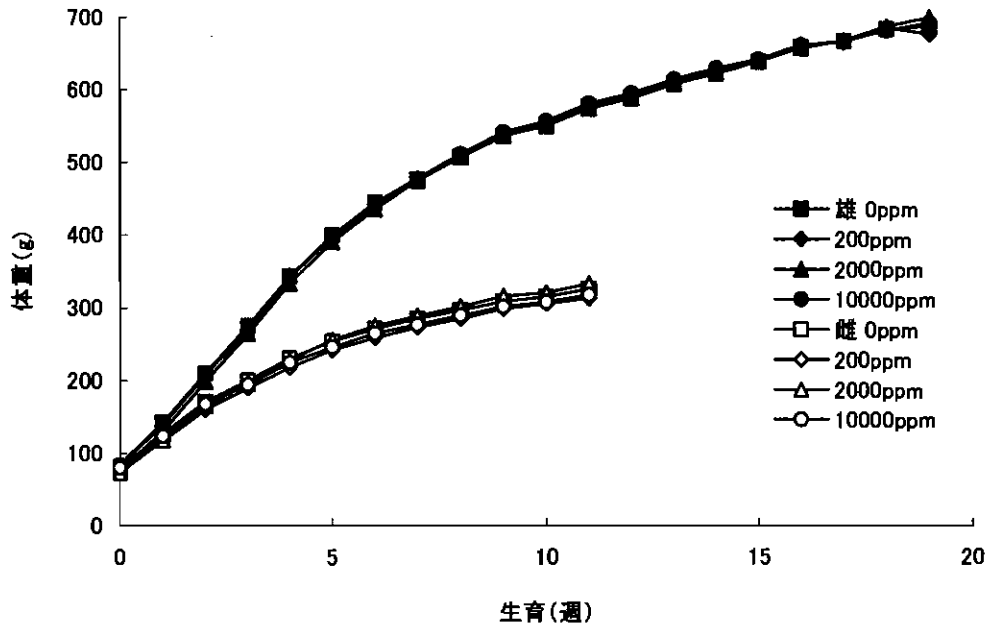


図 1-5、F1 母動物の体重、妊娠期間

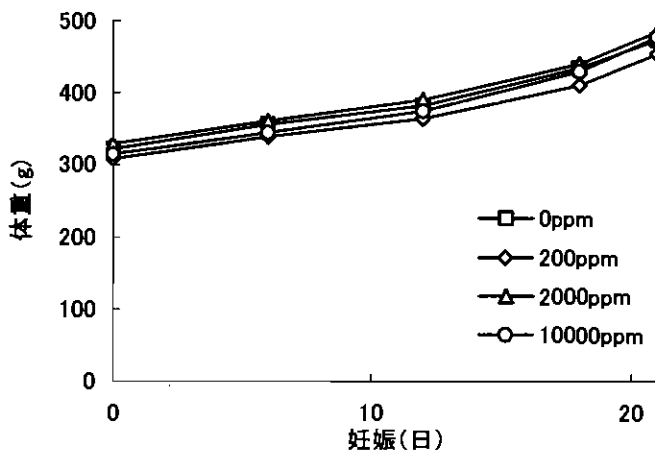
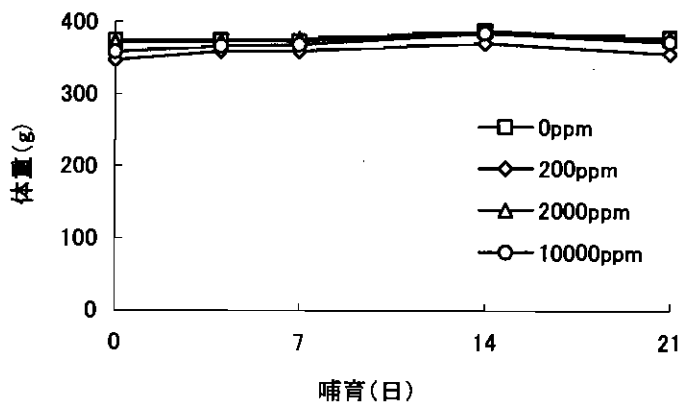


図 1-6、F1 母動物の体重、哺育期間



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

図 2-1、F1 雄児の体重

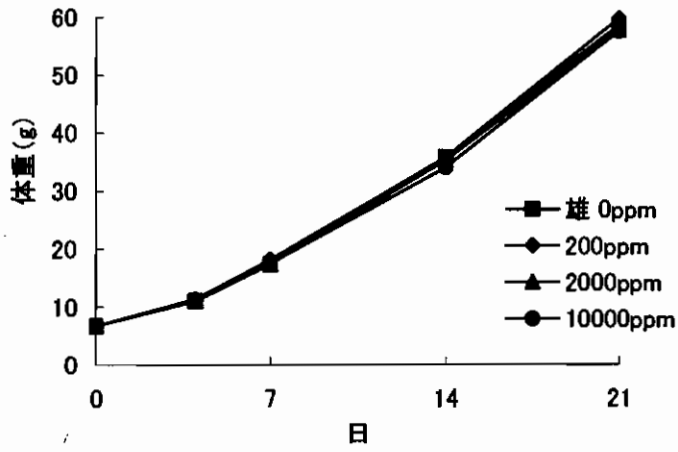
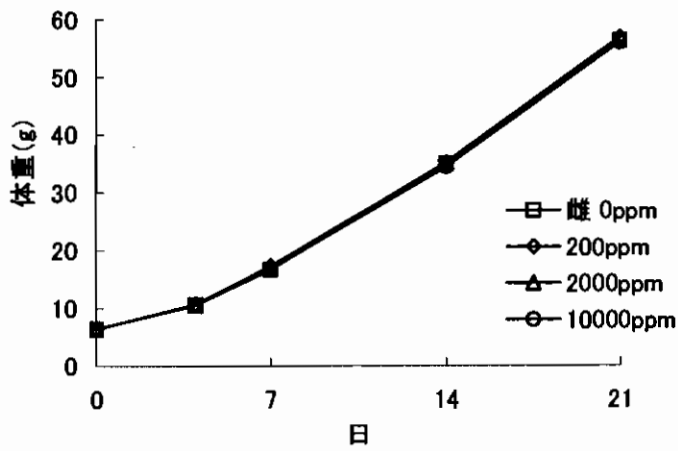


図 2-2、F1 雌児の体重



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

図 2-3、F2 雄児の体重

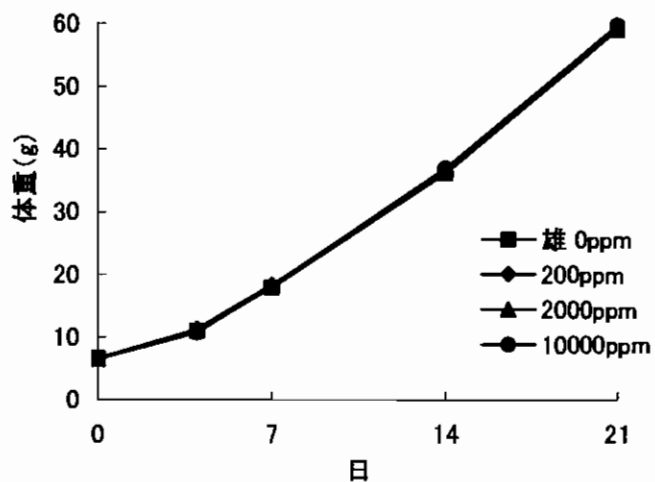
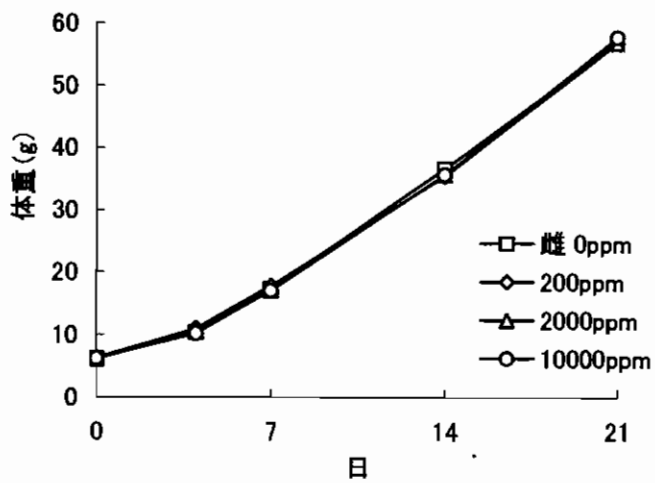


図 2-4、F2 雌児の体重



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。  
を用いたラットにおける催奇形性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -11)

試験機関

報告書作成年 1992年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：Wistar ラット (Hoe:WISKf)、体重：交配時 168～206 g、 1 群 20～21 匹、

投与期間：妊娠 6 ～15 日の 10 日間 (1991 年 4 月～5 月)

投与方法：検体を脱イオン水で希釈し、1000 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間、毎日 1 回経口投与した (投与容量：5 mL/kg)。 対照群 (0 mg/kg/日) には澱粉を含む脱イオン水を同様に投与した。膣栓または膣スミア中に精子が認められた日を妊娠 0 日とした。

投与量の設定根拠：

観察・検査項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察し、妊娠 0, 6, 13, 16 日及び 20 日に体重及び摂餌量を記録した。妊娠 20 日に屠殺後、妊娠子宮を摘出し、精査して黄体数、着床数、胚胎児吸収数、胎盤の重量及び外観、生存及び死亡胎児数を記録した。また肉眼的病理検査を行い、心臓、腎臓、肝臓及び脾臓の重量を計測した。

生存胎児：性別及び体重、体長 (頭頂から臀部) を記録し、外表異常の有無を検査した。各同腹児群の 1/2 の胎児について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

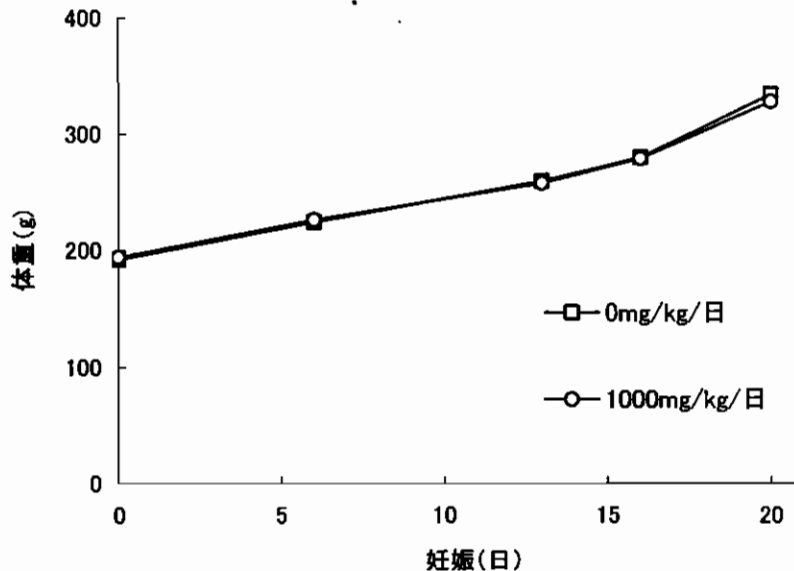
結果： 表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査の概要を示した。

#### 1. 母動物への影響

一般観察において 1000 mg/kg/日群では検体投与に関連する所見はみられなかった。また試験期間中を通じて死亡は観察されなかった。

次図に試験期間中の体重の推移を示した。各投与群共に対照群とほぼ同様の体重の推移を示し、検体投与による影響はみられなかった。

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



摂餌量は 1000mg/kg/日群の妊娠 6～16 日で統計学的に有意な減少を示した。しかし、対照群の 90%以上と軽度の減少であり、背景対照の範囲 (1000 mg/kg/日群 : 8.56-8.57 g/100gBW) にあること、また体重への影響が全く認められていないことから、本所見は毒性学的影響とは捉えられなかった。

帝王切開時の肉眼的病理検査及び臓器重量の計測においては特記すべき所見は認められなかった。

黄体数、着床数、生存胎児数等の着床所見、胎盤重量において、特記すべき所見を認めなかった。

## 2. 胎児への影響

生存胎児の性比、体重、体長に対しては投与による影響はみられなかった。

外表及び内臓検査の結果、奇形所見は 1 例もみられなかった。異形として両群に眼瞼開口や腎盂拡張、尿管拡張を散見したが統計学的に有意な差はみられず、いずれも頻度は低く、この結果にみる限り投与との関連は示唆されなかった。

骨格検査においても奇形所見はみられなかった。一方、骨格変異として第 1 腰椎位の過剰肋骨、骨化遅延として頭蓋骨や胸骨体の不完全骨化、尾椎や中手骨の未骨化を対照群及び投与群で比較的高頻度に観察した。しかし投与群ではむしろ頻度の減少またはその傾向が認められ、検体投与による毒性影響とは考えられなかった。

以上、への経口投与による催奇形性試験にお  
いて、1000 mg/kg/日でも母動物及び胎児への毒性影響は観察されなかった。従って、無毒性量は 1000 mg/kg/日であり、検体の催奇形性作用は認められなかった。

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

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	1000	
1 群あたりの動物数		21	20	
母動物	一般観察：	特記すべき所見なし		
	死亡動物数	0	0	
	妊娠動物数	20	20	
	体重及び体重増加量：	特記すべき変動なし		
	摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]			
		妊娠 6～13 日	↓91	
		妊娠 13～16 日	↓95	
	肉眼的病理検査：	特記すべき所見なし		
	臓器重量：	特記すべき変動なし		
	交尾動物数	21	20	
	受胎動物数	20	20	
	妊娠動物数	20	20	
	全吸収胚動物数	0	0	
	受胎率 (%)	95	100	
	妊娠率 (%)	100	100	
	着床所見	対象母動物数	20	20
		黄体数	14.7	14.4
		着床数	14.0	13.2
		着床前死胚率 (%)	4.5	7.7
		着床後死胚数	0.4	0.5
着床後死胚率 (%)		2.8	3.8	
生存胎児数		13.6	12.7	
死亡胎児数		0	0	
合計生存胎児数	272	254		
胎盤重量 (g)	0.47	0.43		

統計学的有意(計量値)：↓：p<0.05 (ANOVA または Mantel-Haenszel 検定)

統計手法(計数値)：Fisher の直接確率計算法

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

表 2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	1000
対象母動物数		20	20
胎             児	性比 (雄の割合%)	52.9	50.3
	体重 (g)	3.4	3.5
	体長 (頭頂-臀部, mm)	35.3	35.4
	外表検査/内臓検査 (骨格検査用胎児、剖検時)		
	検査動物数	140	132
	眼瞼開口	0(0)	1(1)
	心膜内血液残存	1(1)	5(4)
	腎盂拡張	5(5)	5(3)
	外表検査/内臓検査 (内臓検査用胎児)		
	検査動物数	132	122
	腹腔内血液残存	2(2)	5(5)
	腎盂拡張	2(1)	1(1)
	尿管拡張	0(0)	1(1)
	腎盂及び尿管拡張	3(2)	4(4)
	骨格検査		
検査動物数	140	132	
頭蓋骨不完全骨化	37(13)	↓21(13)	
第6頸椎弓原基(右側)	0	1(1)	
尾椎未骨化(2椎以上)	25(10)	22(11)	
第14胸椎原基(14肋骨随伴)	1(1)	0	
第7腰椎原基	1(1)	0	
胸骨体:異形成	4(4)	6(5)	
胸骨体:不完全骨化	19(11)	18(13)	
肋骨肥厚(両側)	1(1)	0	
過剰肋骨(第7頸椎位、片側)	1(1)	1(1)	
過剰肋骨(第1腰椎位、短小)	47(16)	↓26(13)	
第5中手骨:未骨化	52(18)	↓34(14)	

統計手法(計数值): ↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01 (Fisherの直接確率計算法)

( ): 担所見胎児母動物数

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

## を用いたウサギにおける催奇形性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -12)

試験機関

報告書作成年 1994 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物:Himalayan ウサギ(HIMK)、交配時 8~10 ヶ月齢、妊娠 0 日体重 2.30~3.00 kg、  
1 群 15 匹

投与期間：妊娠 6 日~18 日の 13 日間 (1993 年 7~8 月)

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、64, 160 及び 400 mg/kg/日の用量で妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回経口投与 (投与容量 5 mL/kg) した。  
対照群には蒸留水を同様に投与した。交尾が認められた日を妊娠 0 日とした。

用量設定の根拠：

観察・検査項目：

母動物：一般状態及び生死を毎日観察し、死亡及び切迫殺動物、流産が認められた動物は直ちに屠殺して肉眼的病理検査を行った。妊娠 0, 6, 13, 19 日及び 29 日に体重及び摂餌量を記録した。妊娠 29 日に屠殺後、妊娠子宮を摘出し、重量測定後、精査して黄体数、着床数、胚胎児吸収数、胎盤の重量及び外観、生存及び死亡胎児数を記録した。また肉眼的病理検査を行った。

生存胎児：体重及び体長 (頭頂-臀部) を計測、記録し、外表異常の有無を検査した。さらに Wilson 法に準じてすべての胎児について体幹の軟部組織の異常を検査し、性別を確認した。すべての胎児について体幹または全身の骨格標本を作製し、骨格異常の有無を検査した。



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

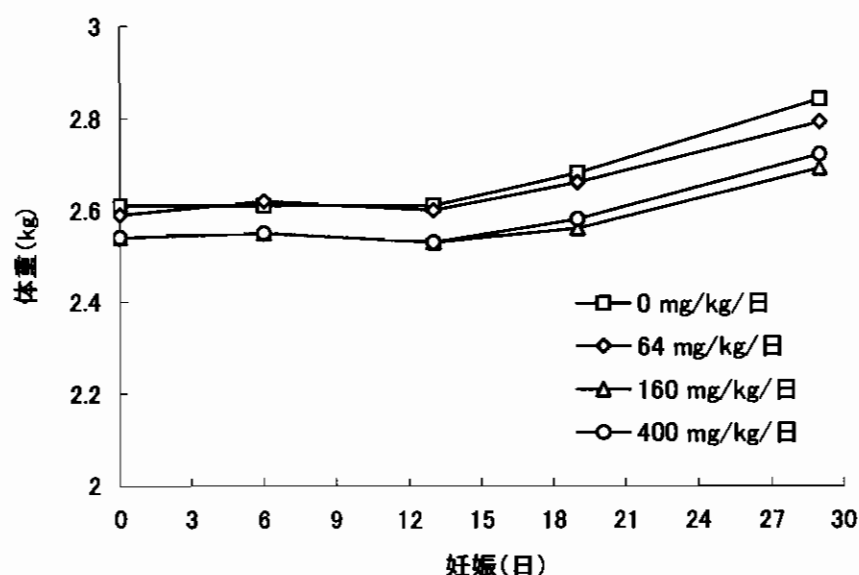
結果：

表 1 に母動物、表 2 に胎児に対する検査結果の概要を示した。

### 1. 母動物への影響

試験期間を通じて死亡はみられなかった。また、一般状態の観察において投与に起因したと思われる所見は認められなかった。

体重変化を次図に示した。160 及び 400 mg/kg/日群で低体重傾向がみられたが、これは妊娠 0 日の体重がすでに対照群に比べて低値であったことによると考えられた。しかし、表 1 に示したように両群の投与期間中の体重増加量はやや減少傾向を示していた。



摂餌量は、160 及び 400 mg/kg/日群において投与期間中に明らかな減少を示しており、先述の体重増加量の減少傾向との関連が示唆される。以上のように妊娠ウサギに対しては 160 mg/kg/日以上で母動物への毒性影響が窺われた。

帝王切開時の肉眼的病理検査で、投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。

繁殖成績において、64 及び 160 mg/kg/日群で各 1 例に流産動物をみたが、用量相関性がないこと、例数が少ないことから検体投与には関連しないものと考えられた。着床後死胚率や生存胎児数において対照群と各投与群との間に差は認められず、検体投与による繁殖能への影響は全く観察されなかった。

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

## 2. 胎児への影響

生存胎児の性比や体重、体長に対しては投与による影響はみられなかった。

外表 / 内臓検査において、400 mg/kg/日群の1例 (1.1%) に水頭症 (頭頂部の突出がみられことから確認) を観察した。しかし1例のみであり背景対照範囲 (0-9.1%) にあることから、投与には関連しない偶発的な所見と考えられた。

その他に心膜内血液残存や腎盂拡張等の異形や変異を散見した。しかしいずれも用量相関性はみられず、また背景対照範囲にあったことから偶発的な所見と考えられた。

骨格検査において奇形所見はみられなかった。しかし表2に示したように、変異所見である第13胸椎位の過剰肋骨を有する胎児の頻度が160及び400 mg/kg/日群で統計学的に有意に増加した (それぞれ11.0%及び12.2%)。また担所見胎児母動物の頻度も160 mg/kg/日群で統計学的に有意な増加を示した。本所見の背景対照範囲は胎児ベースで0-11.6%であり、両群の頻度は上限値に近似していた。

その他に骨格異形や骨化異常がいくつか散見されたが、いずれも用量相関性はみられず、検体投与には関連しないものと考えられた。

以上、のウサギ経口投与による催奇形性試験にお  
いて、母動物への影響として、160 mg/kg/日以上で明らかな摂餌量の減少がみられた。また胎児への影響としては、同じく160 mg/kg/日以上で第13胸椎位の過剰肋骨の増加がみられた。従って、無毒性量は母動物及び胎児で共に64 mg/kg/日と考えられる。

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

表 1. 母動物への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	64	160	640	
1群あたりの動物数		15	15	15	15	
母動物	一般状態:	検体投与に関連した所見なし				
	受胎動物数	15	15	15	15	
	死亡数	0	0	0	0	
	流産動物数	0	1	1	0	
	体重増加量 (kg)					
	妊娠 0~29 日		0.23	0.20	0.16	0.14
	摂餌量 [数値は対照に対する相対値 (%)]					
	妊娠 6~13 日				↓76	↓60
	妊娠 13~19 日				↓78	↓70
	肉眼的病理検査		検体投与に関連した所見なし			
着床所見	検査動物数	15	14	14	15	
	黄体数	8.0	8.4	7.1	7.3	
	着床数	6.3	6.1	6.1	6.6	
	着床前死胚率 (%)	22.2	27.4	14.7	10.0	
	着床後死胚数 (早期)		0.33	0.14	0.71	0.47
		(後期)	0.00	0.07	0.14	0.13
	着床後死胚率 (%)	5.9	3.0	14.9	8.0	
	生存胎児数	6.0	5.9	5.2	6.0	
合計生存胎児数		90	82	73	90	
胎盤重量 (g)		5.4	5.2	4.9	5.0	

統計学的有意(計量値): ↓: p<0.05 (ANOVA または非線形モデル、Puri & Sen 多重比較)

統計手法(計数値): Fisher の直接確率計算法

表2. 胎児への影響

投与群 (mg/kg/日)		0	64	160	400	
1群あたりの母動物数		15	14	14	15	
胎 児	性比 (雄の割合%)	46.7	47.6	48.5	51.9	
	体重 (g)	42.8	43.0	40.4	39.6	
	体長 (頭頂-臀部、mm)	99.7	99.3	97.0	96.0	
	外表 / 内臓検査					
	検査動物数		90	82	73	90
	奇形					
	水頭症		0	0	0	1
	異形					
	心臓：心膜内血液残存		3	5	2	1
	肺：肺葉低形成		2	1	5	5
	胃：拡張		7	3	3	9
	変異					
	腎臓：腎盂拡張		1	0	0	2
	骨格検査					
	検査動物数		90	82	73	90
	異形					
	胸骨：胸骨体癒合		2	1	4	5
	変異					
	過剰肋骨 (短)：第7頸椎位		0	0	1	2
過剰肋骨：第13胸椎位		2(2)	0(0)	↑8(↑7)	↑11(5)	
骨化異常						
尾椎骨：不完全骨化(13未満)		4	10	1	3	
胸骨：不完全骨化 / 未骨		28	27	22	20	

統計手法(計量値)：ANOVAまたは非線形モデル、Puri & Sen 多重比較

統計学的有意(計数値)：↑：p<0.05、↑↑：p<0.01 (Fisherの直接確率計算法)

( )：担所見胎児母動物数

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

(5) 変異原性

を用いた細菌を用いた復帰突然変異試験 (Ames 試験)

(毒性資料 No. 代謝物 -13)

試験機関

報告書作成年 1989 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の 純度を示す。以降の濃度はいずれも水を除いた成分量で表示。)

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 5 株 (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538) と大腸菌 *E. coli* 1 株 (WP2uvrA) を用い、アロクロール 1254 で誘導した雄ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いてプレート法で変異原性を検索した。検体は蒸留水で希釈、調製し、処理容量は 0.1 ml/プレートとした。試験 1 では 2.33~5820 µg/プレートの 6 濃度で実施し、試験 2 では試験 1 の結果から 2.33~2910 µg/プレートの 6 濃度で実施した。各用量 3 枚のプレートを用いた。陽性対照試験および溶媒対照試験も同時に実施した。37°C で 48~72 時間培養後、復帰変異コロニーを計数した。溶媒対照に比し 2~3 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められ、再現性のある正の濃度反応関係がある場合に変異原性を有すると判定した。

用量設定根拠：

結果：結果を次表に示した。

2 回の独立した復帰突然変異試験の結果、検体処理群では、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株、いずれの処理濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上、 は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性を有しないと考えられる。

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

表 1 復帰突然変異試験成績 (試験 1: 濃度設定試験、プレート法)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	-	170	12	78	20	9	17
検 体	2.33		202	14	79	21	10	12
	11.64		125	14	74	28	7	12
	58.2		187	11	77	23	10	12
	291		222	13	70	25	10	14
	1455		219	17	74	22	9	10
	5820		142	3	9b	14	6	12
陽性対照								
NaN <sub>3</sub>	1		807	498	NT	NT	NT	NT
2-NF	2.5		NT	NT	NT	492	NT	565
MNG	2.5	NT	NT	273	NT	NT	NT	
9-AA	50	NT	NT	NT	NT	50	NT	
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	+	183	12	81	28	10	15
検 体	2.33		190	12	71	30	6	13
	11.64		192	12	84	27	11	22
	58.2		189	13	78	30	9	18
	291		183	15	86	29	10	16
	1455		182	7	65	45	6	16
	5820		183	5	24b	10	6	11
陽性対照								
2-AA	0.5		707	NT	NT	396	NT	605
	1		NT	102	NT	NT	105	NT
	10	NT	NT	483	NT	NT	NT	
B[a]P	10	788	23	92	709	93	439	

NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,  
MNG: N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA: 9-アミノアクリジン,  
2-AA: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ [a] ピレン  
b: 抗菌作用あり、NT: 未実施

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

表 2 復帰突然変異試験成績 (試験 2: 本試験、プレート法)

(表中の値は 3 枚のプレートの平均値)

薬 剤	濃 度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	-	198	11	54	18	7	12
検 体	2.33		208	11	69	21	8	13
	11.64		208	13	58	22	7	11
	58.2		192	8	64	22	7	8
	291		201	14	68	24	6	10
	1455		173	12	52	14	7	12
	2910		150	10	48	16	7	11
陽性対照								
NaN <sub>3</sub>	1		592	477	NT	NT	NT	NT
2-NF	2.5		NT	NT	NT	594	NT	673
MNNG	2.5	NT	NT	240	NT	NT	NT	
9-AA	50	NT	NT	NT	NT	76	NT	
溶媒対照 (蒸留水)	0.1 ml	+	201	11	69	36	9	17
検 体	2.33		190	8	63	29	9	15
	11.64		193	9	66	31	10	17
	58.2		199	10	65	33	10	16
	291		206	10	61	31	7	13
	1455		159	8	66	26	8	13
	2910		147	5	58	15	3	15
陽性対照								
2-AA	0.5		1364	NT	NT	1092	NT	915
	1		NT	124	NT	NT	115	NT
	10	NT	NT	327	NT	NT	NT	
B[a]P	10	1125	22	82	774	111	215	

NaN<sub>3</sub>: アジ化ナトリウム, NF: 2-ニトロフルオレン,  
 MNNG: N-メチル-N-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA: 9-アミノアクリジン,  
 2-AA: 2-アミノアントラセン, B[a]P: ベンゾ [a] ピレン  
 b: 抗菌作用あり、NT: 未実施

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

## を用いたヒトのリンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験

(毒性資料 No. 代謝物 -14)

試験機関：

報告書作成年：1992 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の濃度はいずれも水を除いた成分量で表示。)

試験方法：ヒトのリンパ球を用い、染色体異常誘発性を薬物代謝酵素系 (S9 mix) の存在下および非存在下で検索した。検体の溶媒は培養液とした。

S9 mix の存在下および非存在下で検体を 4 時間処理した。検体処理後新しい培地に交換し、検体処理開始から 24 及び 48 時間培養後に染色体標本を作製した。標本作製前 3 時間にはコルセミド処理を行なった。試験濃度は S9 mix の非存在下では 3-5000 µg/mL、存在下では 3-4750 µg/mL とした。また、溶媒対照ならびに陽性対照 (EMS: エチルメタンサルホネート (-S9) および CPA: シクロホスファミド (+S9)) を同時に試験した。

すべて各濃度あたり 2 系列で培養した。1 用量あたり 200 個の分裂中期像を観察した。結果の再現性をみるために異なる日に 2 回試験を実施した。そしてギャップを除く構造異常を有する細胞の出現頻度が用量相関的に増加し、かつ再現性がみられた場合、変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠：

結果： 1 回目の試験の結果を表 1、2 回目の結果を表 2 に示した。

最高濃度 5000 µg/mL (S9 mix 存在下では 4750 µg/mL) で行なわれたが、S9 mix の存在の有無に係らず分裂指数の明らかな低下はみられず、検体の 4 時間暴露による細胞毒性はみられなかった。

染色体の観察の結果、S9 mix の存在の有無に係らず、24 及び 48 時間培養共に、検体による明らかな構造的染色体異常を有する細胞の出現頻度の増加は認められなかった。

わずかに 1 回目試験の S9 mix 非存在下で 3000 µg/mL 区でギャップを除く構造



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

異常を有する細胞の出現頻度が統計学的に有意な増加がみられた。しかし、その頻度は極めて低く、用量相関性がないこと、再現性がみられなかったことから、検体暴露には関連しない偶発的なものと考えられた。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンスルホネート (-S9) およびシクロホスファミド (+S9) は構造的染色体異常の明らかな増加を誘発した。

なお、表には示さなかったが検体暴露による数的染色体異常率の増加はみられなかった。

以上、は代謝活性化を含む本試験条件下でのヒトのリンパ球  
に対して、染色体異常誘発性を有さないと考えられた。

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

表 1-1 染色体異常試験結果 (1 回目試験) -24 時間培養後

薬 剤	濃 度 ( $\mu$ g/mL)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	S9 mi x の 有 無	分 裂 指 数 (%) #	観 察 細 胞 数	ギャ ップ		染 色 体 構 造 異 常									構 造 異 常 を 有 す る 細 胞 頻 度 (%)						
							g	ig	染 色 分 体 型			染 色 体 型			そ の 他			+G	-G	交 換				
									b	f	d	ib	if	id	ex	ma	cd							
溶媒対照	0	4	24	-	100	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0		
検 体	3				120																			
	10				99																			
	30				108																			
	100				103																			
	300				96																			
	600				103	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
	1000				110																			
	3000				89	200	0	0	1	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	2.0*	0.0
5000	97				200	3	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2.5	1.5	0.5	
陽性対照 (EMS)	1000				79	50	1	0	5	3	1	0	0	0	1	0	0	16.0	14.0	2.0				
																			**					
溶媒対照	0	4	24	+	100	200	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.0	0.0			
検 体	3				86																			
	10				90																			
	30				95																			
	100				87																			
	300				109																			
	600				94	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
	1000				83																			
3000	82	200	2	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2.0	1.0	0.0				
4750	70	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0				
陽性対照 (CPA)	30				61	50	0	0	7	1	0	0	0	0	2	0	0	16.0	16.0	4.0				
																			**					

# : 溶媒対照の率に対する%、+G: ギャップを含める、-G: ギャップを含めない

EMS: エチルメタンスルホネート CPA: シクロホスファミド

カイ2乗検定 \* : p<0.05, \*\* : p<0.01

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

表 1-2 染色体異常試験結果 (1回目試験) -48時間培養後

薬 剤	濃度 (・g/ml)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	S9 mi x の 有 無	分 裂 指 数 (%) #	観 察 細 胞 数	ギャ ップ		染 色 体 構 造 異 常									構 造 異 常 を 有 す る 細 胞 頻 度 (%)							
							g	ig	染 色 分 体 型			染 色 体 型			そ の 他			+G	-G	交 換					
									b	f	d	ib	if	id	ex	ma	cd								
溶媒対照	0				100	200	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.0	0.0			
検体	30	4	48	-	114																				
	100				111																				
	300				120																				
	600				103																				
	1000				112																				
	3000				116																				
	5000				102	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0
溶媒対照	0				100	200	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	0.5	0.0				
検体	30	4	48	+	95																				
	100				87																				
	300				104																				
	600				82																				
	1000				81																				
	3000				95																				
	4750				88	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	

# : 溶媒対照の率に対する%、+G: ギャップを含める、-G: ギャップを含めない  
EMS: エチルメタンサルホネート CPA: シクロホスファミド

表中の所見に関する省略記号の説明

g ; 染色分体型ギャップ      ig ; 染色体型ギャップ  
b ; 染色分体型切断          ib ; 染色体型切断  
f ; 染色分体型断片          if ; 染色体型断片  
d ; 染色分体型欠失          id ; 染色体型欠失  
ex ; 交換,                      ma : 重複異常  
cd ; 染色体破損

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

表 2-1 染色体異常試験結果 (2 回目試験) -24 時間培養後

薬 剤	濃度 (・g/ml)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	S9 mi x の 有 無	分 裂 指 数 (%) #	観 察 細 胞 数	ギャ ップ		染 色 体 構 造 異 常									構 造 異 常 を 有 す る 細 胞 頻 度 (%)						
									染 色 分 体 型			染 色 体 型			そ の 他									
							g	ig	b	f	d	ib	if	id	ex	ma	cd	+G	-G	交 換				
溶媒対照	0	4	24	-	100	200	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0		
検 体	3				124																			
	10				102																			
	30				112																			
	100				108																			
	300				100																			
	600				102	200	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0
1000	95																							
3000	89				200	2	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.5	1.5	0.0	
5000	109				200	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1.5	1.0	0.0		
陽性対照 (EMS)	1000				72	50	2	0	3	0	0	0	3	0	3	0	0	16.0	16.0	6.0				
																			**					
溶媒対照	0	4	24	+	100	200	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	0.5	0.0			
検 体	3				116																			
	10				118																			
	30				101																			
	100				120																			
	300				88																			
	600				124	200	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.5	0.5	0.0	
1000	93																							
3000	96	200	2	0	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2.5	1.5	0.0					
4750	85	200	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.0	0.5	0.0					
陽性対照 (CPA)	30				32	50	4	0	7	1	0	0	0	3	0	0	18.0	16.0	6.0					
																			**					

# : 溶媒対照の率に対する%、+G: ギャップを含める, -G: ギャップを含めない

EMS: エチルメタンサルホネート CPA: シクロホスファミド

Fisher 直接確率計算法 \* : p<0.05, \*\* : p<0.01

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

表 2-2 染色体異常試験結果 (2回目試験) -48時間培養後

薬 剤	濃度 (・g/ml)	処 理 時 間	標 本 作 製 時 間	S9 mi x の 有 無	分 裂 指 数 (%) #	観 察 細 胞 数	ギャ ップ		染色体構造異常									構造異常を有する 細胞頻度 (%)					
							g	ig	染色分体型			染色体型			その他			+G	-G	交換			
									b	f	d	ib	if	id	ex	ma	cd						
溶媒対照	0	4	48	-	100	200	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	1.0	0.0		
検体	30				130																		
	100				96																		
	300				100																		
	600				110																		
	1000				127																		
	3000				123																		
5000	113				200	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	1.5	0.0	
溶媒対照	0	4	48	+	100	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0.0	0.0		
検体	30				81																		
	100				98																		
	300				114																		
	600				92																		
	1000				76																		
	3000				90																		
4750	71				200	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	0.5	0.0	

# : 溶媒対照の率に対する%、+G: ギャップを含める、-G: ギャップを含めない  
 EMS : エチルメタンサルホネート CPA : シクロホスファミド

表中の所見に関する省略記号の説明

- g ; 染色分体型ギャップ      ig ; 染色体型ギャップ
- b ; 染色分体型切断          ib ; 染色体型切断
- f ; 染色分体型断片          if ; 染色体型断片
- d ; 染色分体型欠失          id ; 染色体型欠失
- ex ; 交換,                      ma : 重複異常
- cd ; 染色体破損

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

を用いた哺乳動物細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (HPRT 前進突然変異試験)  
(毒性資料 No. 代謝物 -15)

試験機関:

報告書作成年: 1991 年 [GLP 対応]

検体の純度: (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の濃度はいずれも水を除いた成分量で表示。)

試験方法: チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、HPRT 遺伝子座の遺伝子前進突然変異試験を実施した。検体は蒸留水に希釈して 444~1185.9 µg/mL の濃度で試験を実施した。検体処理は 37°C、4 時間とした。検体処理後、細胞を再播種して 7 日間培養した。同時に一部の細胞を播種し、生存率を求めた。その後、6-チオグアニンを含む選択培地に再播種し、さらに 6~7 日培養後に突然変異コロニーを計数した。各用量 5 枚のプレートを用いた。同時に 6-チオグアニンを含まない培地に細胞を播種し、コロニー形成率を求めた。試験は 2 連で行い、Arochlor 1254 で誘導した S9 mix の非存在下、存在下共に再現性をみるため 2 回実施した。その結果、用量相関性があり再現性のある突然変異誘発頻度の増加がみられた場合を変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠:

結果: 結果を次表に示した。

独立した 2 回の突然変異試験の結果、S9 mix の有無にかかわらず突然変異誘発頻度の用量相関性のある有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では、突然変異誘発頻度の有意な増加が認められた。

以上、 は、哺乳動物細胞を用いての代謝活性化を含む本試験条件下において遺伝子突然変異誘発性を有しないと考えられる。

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

表 1. 突然変異試験成績 (1 回目試験)

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 Mix の有無	相対的 生存率 (%)	コロニー 形成率 (%)	平均突然変 異誘発頻度 ( $\times 10^{-6}$ )
溶媒対照	0	-	100	75	34.3
検 体	444		98	74	32.2
	666		87	79	13.1
	888		92	82	33.8
	1185.9		92	76	40.6
陽性対照 (EMS)	900	25	68	636.9	
溶媒対照	0	+	100	95	19.4
検 体	444		98	71	50.1
	666		103	81	21.9
	888		113	74	33.3
	1185.9		99	86	23.3
陽性対照 (DMBA)	20	80	81	346.0	

EMS : エチルメタンサルホネート

DMBA : ジメチルベンズアントラセン

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

表 2. 突然変異試験成績 (2 回目試験)

薬 剤	濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 Mix の有無	相対的 生存率 (%)	コロニー 形成率 (%)	平均突然変 異誘発頻度 ( $\times 10^{-6}$ )
溶媒対照	0	-	100	95	29.6
検 体	444		83	92	7.4
	666		105	118	8.9
	888		134	80	9.0
	1185.9		124	116	11.7
陽性対照 (EMS)	900		33	100	473.2
溶媒対照	0	+	100	81	18.6
検 体	444		109	73	31.2
	666		107	75	11.0
	888		76	80	18.3
	1185.9		85	69	19.4
陽性対照 (DMBA)	20		110	87	293.4

EMS : エチルメタンサルホネート  
DMBA : ジメチルベンズアントラセン



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

### を用いたヒト細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(毒性資料 No. 代謝物 -16)

試験機関 :

報告書作成年 : 1991 年 [GLP 対応]

検体の純度 : (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の濃度はいずれも水を除いた成分量で表示。)

試験方法 : セルライン A549 のヒト細胞を培養皿 (6 連) に播種、検体、S9 mix (代謝活性化の場合)、<sup>3</sup>H-チミジンを順次加えて、37°C、3 時間培養を行なった。検体は DMSO に溶解し、3~3000 µg/mL の濃度範囲で行なった。その後、培養液を除去し、DNA を取り出し、DNA 濃度と放射能 (<sup>3</sup>H-チミジンの細胞内への取り込み) を計測した。そして DNA の 1 µg 当りの放射能を不定期 DNA 合成の指標とした。

また陽性対照物質としては非代謝活性化では 4-ニトロキノリン-N-オキシド (NQO)、代謝活性化ではベンゾ[a]ピレン (BP) を用いた。

S9 mix の非存在下、存在下共に 再現性をみるため 2 回実施し、その結果、用量相関性があり再現性のある DNA 1 µg 当りの放射能の増加がみられた場合を 変異原性陽性と判定した。

用量設定根拠 :

結果 : 独立した 2 回の試験結果を次表に示した。

表に示したように 2 回の試験共に、S9 mix の有無にかかわらず <sup>3</sup>H-チミジンの細胞内への取り込みの増加はみられなかった。

一方、陽性対照については、いずれも取り込みの有意な増加が認められた。

以上、ヒト細胞を用いた不定期 DNA 合成試験の結果から、 の DNA 損傷性は代謝活性化の有無に係らずないものと考えられた。

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

表 *in vitro* 不定期 DNA 合成試験成績

薬剤	濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 Mix の 有無	放射能 [ $^3\text{H}$ ] dpm/ $\mu\text{g}$ DNA	
			1 回目試験	2 回目試験
溶媒対照	0	-	2303 $\pm$ 240	1762 $\pm$ 170
検体	1.332		1882 $\pm$ 407	1426 $\pm$ 196
	4.44		1507 $\pm$ 97	1133 $\pm$ 204
	13.32		1886 $\pm$ 427	1553 $\pm$ 170
	44.4		1528 $\pm$ 85	1470 $\pm$ 258
	133.2		1879 $\pm$ 403	1448 $\pm$ 245
	444		1640 $\pm$ 162	1250 $\pm$ 256
	1332		1585 $\pm$ 180	1663 $\pm$ 176
陽性対照 (NQO)	1		$\uparrow$ 50013 $\pm$ 5640	$\uparrow$ 35020 $\pm$ 978
溶媒対照	0	+	1490 $\pm$ 212	1253 $\pm$ 171
検体	1.332		1538 $\pm$ 243	1318 $\pm$ 231
	4.44		1902 $\pm$ 250	1317 $\pm$ 129
	13.32		1402 $\pm$ 259	1305 $\pm$ 105
	44.4		1515 $\pm$ 159	1361 $\pm$ 303
	133.2		1628 $\pm$ 291	1199 $\pm$ 235
	444		1646 $\pm$ 263	1331 $\pm$ 219
	1332		1551 $\pm$ 202	1545 $\pm$ 212
陽性対照 (BP)	10		$\uparrow$ 4445 $\pm$ 1147	$\uparrow$ 3407 $\pm$ 207

$\uparrow$ :  $P < 0.01$  統計学的有意な増加 (Student の t テスト)

NQO: 4-ニトロキノリン-N-オキシド

BP: ベンゾ[a]ピレン

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

## を用いたマウスを用いた小核試験

(毒性資料 No. 代謝物 -17)

試験機関：

報告書作成年：1991年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際には水を 含む水溶液が供給された。検体の純度は水を除いた成分中の の純度を示す。以降の用量はいずれも水を除いた成分量で表示。)

供試動物：NMRI マウス (Hoe:NMRF)、7 週齢 (投与時体重 雄 26～32 g、雌 20～27 g)、1 群雌雄 5 匹

試験方法：検体を脱イオン水で希釈し、雌雄マウス共に 222, 1110 及び 2220 mg/kg の用量で単回経口投与した。溶媒対照群は媒体である脱イオン水を同様に投与した。陽性対照群は蒸留水で調製したシクロホスファミド (CPA) を 50 mg/kg の用量で単回経口投与した。検体投与群および対照群ともに投与容量は 10 ml/kg とした。

投与 24, 48 及び 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取して骨髓塗抹標本を作製した (陽性対照群は投与後 24 時間に屠殺し同様に標本作製)。

各標本について鏡検下で多染性赤血球 (PCE) 1000 個を観察し、小核を有する赤血球 (MNPCE) を計数し、小核誘発性を調べた。また正染性赤血球 (NCE) に対する多染性赤血球の割合を算出し、骨髓への影響を観察した。さらに参考として正染性赤血球 1000 個に対する小核を有する赤血球 (MNNCE) も計数した。

そして多染性赤血球 (PCE) に対する小核を有する多染性赤血球 (MNPCE) が溶媒対照群に比べて明らかな増加がみられた場合、染色体異常誘発性が陽性と判定した。

用量設定根拠：

結果： 検体 2220 mg/kg の経口投与後の観察でいずれのマウス共、症状や死亡は認められなかった。

骨髓標本の観察結果を表 1 及び 2 に示した。

検体投与群では、雌雄共にいずれの時点においても小核を有する多染性赤血球

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

(MNPCE) の統計学的有意な増加は認められなかった。また、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合の用量相関性のある変動は観察されなかった。一方、陽性対照物質であるシクロホスファミドを投与した陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の頻度に明らかな増加が認められた。よって、本小核試験は有効であると判断された。

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

表 1. 雄マウスでの小核試験結果

薬剤	投与量 (mg/kg)	標本作製時間 (h)	PCE/NCE (平均±SD)	1000 PCE に対する MNPCE (平均±SD)	1000 NCE に対する MNCE (平均±SD)
溶媒対照	0	24	0.86 ± 0.16	2.0 ± 1.6	1.0 ± 0.0
検体	222		0.95 ± 0.13	1.6 ± 1.1	1.0 ± 0.7
	1110		0.99 ± 0.13	1.6 ± 0.5	1.6 ± 0.5
	2220		0.85 ± 0.06	1.8 ± 0.8	1.0 ± 0.7
陽性対照 (CPA)	50		0.76 ± 0.08	31.8 ± 5.4*	1.2 ± 0.8
溶媒対照	0	48	0.95 ± 0.18	1.6 ± 0.5	1.4 ± 0.5
検体	222		1.03 ± 0.21	1.4 ± 0.5	0.6 ± 0.9
	1110		1.12 ± 0.33	1.6 ± 0.9	1.0 ± 0.7
	2220		0.99 ± 0.15	1.4 ± 0.5	0.6 ± 0.9
溶媒対照	0	72	1.17 ± 0.10	1.0 ± 0.0	0.2 ± 0.4
検体	222		0.99 ± 0.11*	1.2 ± 0.8	0.6 ± 0.9
	1110		1.02 ± 0.09*	1.4 ± 0.5	0.6 ± 0.9
	2220		1.09 ± 0.15	1.6 ± 1.1	1.0 ± 1.0

CPA : シクロホスファミド

PCE : 多染性赤血球, NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

MNCE : 小核を有する正染性赤血球

\* : p<0.05 (ノンパラメトリック順位和検定)

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

表 2. 雌マウスでの小核試験結果

薬剤	投与量 (mg/kg)	標本作 製時間 (h)	PCE/NCE (平均±SD)	1000 PCE に 対する MNPCE (平均±SD)	1000 NCE に 対する MNNCE (平均±SD)
溶媒対照	0	24	1.06 ± 0.16	1.8 ± 1.1	1.4 ± 0.9
検体	222		1.00 ± 0.08	1.6 ± 0.5	1.2 ± 0.8
	1110		0.94 ± 0.11	1.8 ± 0.4	0.4 ± 0.5
	2220		1.07 ± 0.08	1.2 ± 0.8	0.4 ± 0.9
陽性対照 (CPA)	50		0.69 ± 0.06*	33.8 ± 10.3*	1.8 ± 0.4
溶媒対照	0	48	1.08 ± 0.18	1.4 ± 0.5	1.0 ± 0.0
検体	222		1.07 ± 0.25	1.4 ± 0.5	0.6 ± 0.5
	1110		1.06 ± 0.08	1.4 ± 0.5	0.8 ± 0.4
	2220		1.20 ± 0.08	1.2 ± 1.1	0.8 ± 0.4
溶媒対照	0	72	1.17 ± 0.05	1.2 ± 0.4	0.8 ± 0.4
検体	222		1.14 ± 0.10	1.2 ± 0.4	0.2 ± 0.4
	1110		1.14 ± 0.16	1.2 ± 0.8	1.0 ± 0.7
	2220		1.13 ± 0.18	1.2 ± 1.1	0.4 ± 0.5

CPA : シクロホスファミド

PCE : 多染性赤血球, NCE : 正染性赤血球

MNPCE : 小核を有する多染性赤血球

MNNCE : 小核を有する正染性赤血球

\* : p<0.05 (ノンパラメトリック順位和検定)

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

## (6) 神経毒性

### のラットを用いた急性神経毒性試験

(毒性資料 No. 代謝物 -18)

試験機関

報告書作成年 1999 年 [GLP 対応]

検体の純度： (実際の検体は水ベースのプレミックス。以下に記載の投与量は有効成分換算したもので表示している。)

供試動物： Wistar ラット (RCC Ltd)、投与前検査時 約 7 週齢 (体重：雄 156~219 g、雌 122~164 g)、1 群雌雄各 10 匹

観察期間： 投与前 14 日間及び投与後 14 日間

投与方法： 検体を蒸留水で希釈し、100、1000 及び 2000 mg/kg の投与量で単回経口投与した (投与容量：10 mL/kg)。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。

観察・検査項目及び結果：

死亡及び一般症状観察：ケージサイドからの一般状態及び生死の観察については少なくとも 1 日 2 回実施した。とくに投与後 10 時間は毎時に観察を行った。

投与に関連したと思われる観察所見を表 1 に示す。

表 1. 一般観察

性別	雄				雌			
	0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
投与量 (mg/kg)	0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
鎮静	0	0	0	↑10 (3-10h)	2 (3h)	0	0	↑10 (4-10h)
立毛	0	0	0	↑10 (3-10h)	0	0	0	↑10 (5-10h)
下痢	0	0	0	↑9 (6-10h)	0	0	0	↑8 (5-10h)

↑: p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

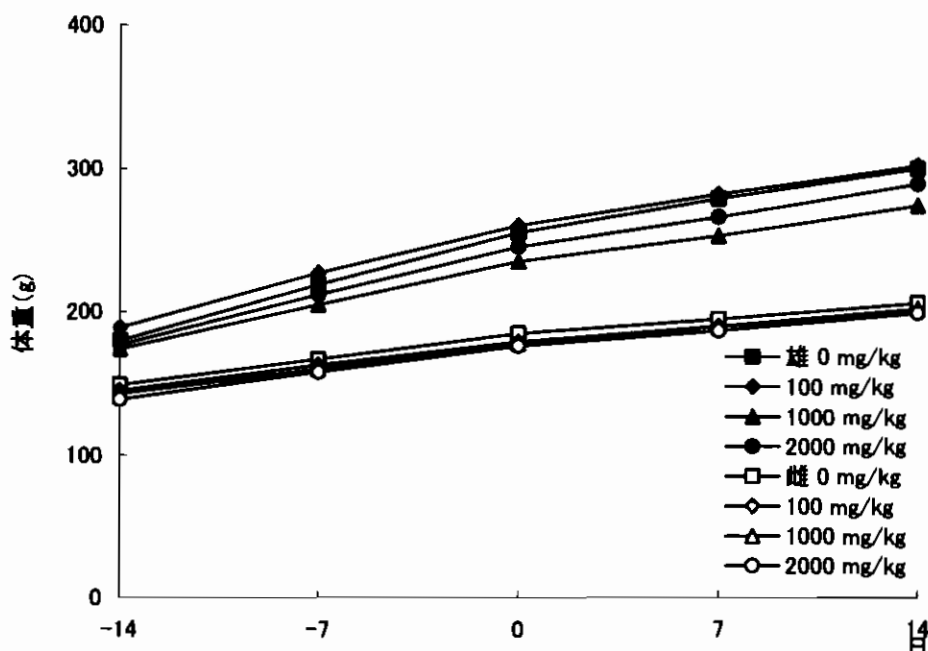
試験期間を通じて死亡は観察されなかった。

雌雄共に 2000 mg/kg 群では、検体投与の数時間後から鎮静や立毛、下痢が高

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

頻度に認められた。これらの症状は同群の一般状態への影響による非特異的な変化と考えられた。いずれの所見共、投与翌日には消失した。

体重： 投与前14及び7日、投与日(0日)、投与後7及び14日に全動物の体重を測定した。体重変化を次図に示す。



雌雄共、いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量： 投与前後2週にわたり各動物の摂餌量を測定した。

その結果、雌雄各投与群共に投与によると思われる変動はみられなかった。

機能観察総合検査 (Functional Observational Battery : FOB) : 投与2週前、投与後1日、投与後7及び14日に全動物を対象として以下の項目を観察・測定した。外観 [立毛、流涎、背弯姿勢、異常歩行、活動亢進 : ホームケージでの観察]、運動性 [活動低下、振せん、うずくまり、旋回、痙攣、立ち上がり : オープンフィールドでの観察]、行動 [多動、常同、嗜眠、活動過多、探索過多、身づくろい低下、発声、尿/糞排泄 : オープンフィールドでの観察]、呼吸 [呼吸困難、呼吸亢進、呼吸緩徐、オープンフィールドでの観察]、反射 [まばたき、耳介、瞳孔、眼瞼下垂、痛覚反応、驚愕反応 : ハンドリングでの観察]、その他 [流涙、チアノーゼ (四肢)、散瞳、縮瞳、眼球突出、筋緊張低下 : ハンドリングでの観察]

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

各観察時において検体投与に関連したと思われる所見は観察されなかった。尿/糞排泄や探索行動の増加等を各試験群で散見したが、いずれも偶発的なものと考えられた。

また、機能検査の一環として、体温、握力、自発運動量及び歩幅を投与2週前、投与後1日、投与後7及び14日に全動物を対象として計測した。その結果、いずれの項目についても検体投与による影響は観察されなかった。

肉眼的病理検査：観察期間終了時にすべての生存動物を対象として検査した。

雌雄共にいずれの投与群においても検体投与に関連した肉眼的異常所見は認められなかった。

以上、のラットに対する急性神経毒性試験において、雌雄共に 2000 mg/kg で投与日に一時的な一般症状の変化（鎮静、立毛、下痢）を観察した。しかし、神経毒性を示唆する機能的変化や肉眼的病理変化はみられなかった。ゆえに本試験における無毒性量は雌雄共に 1000 mg/kg であり、神経毒性作用はないと考えられる。



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

### ラットを用いた急性神経毒性試験（追加試験）

（毒性資料 No. 代謝物 NAG-18-1）

試験機関

報告書作成年 1999 年 [GLP 対応]

試験目的：本検体の急性神経毒性試験はすでに実施されているが（資料番号 毒性-18）、学習・記憶への影響と神経組織の病理組織学的検査がなされていなかった。そこで両項目を精査する目的で、前回とほぼ同様のスケールで行なわれた。

検体純度：（実際の検体は水ベースのプレミックス。以下に記載の投与量は有効成分換算したもので表示している。）

供試動物：Wistar ラット (RCC Ltd)、投与前検査時 7 週齢（体重：雄 133～173 g、雌 109～146 g）、1 群雌雄各 10 匹

投与方法：検体を蒸留水で希釈し、100、1000 及び 2000 mg/kg の投与量（前回と同じ）で単回経口投与した（投与容量：10 mL/kg）。対照群には蒸留水のみを同様に投与した。

観察・検査項目及び結果：

死亡及び一般症状観察：ケージサイドから少なくとも 1 日 2 回実施した。とくに投与後 10 時間は毎時に観察を行った。

投与に関連したと思われる観察所見を表 1 に示す。

表 1. 一般観察

性別	雄				雌			
	0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
投与量(mg/kg)	0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
所見/検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10
鎮静	0	0	0	↑10 (2-10h)	0	0	0	↑4 (4-10h)
立毛	0	0	0	↑7 (4-10h)	0	0	0	↑4 (4-10h)
下痢	0	0	0	↑10 (7-10h)	0	0	0	↑9 (4-10h)

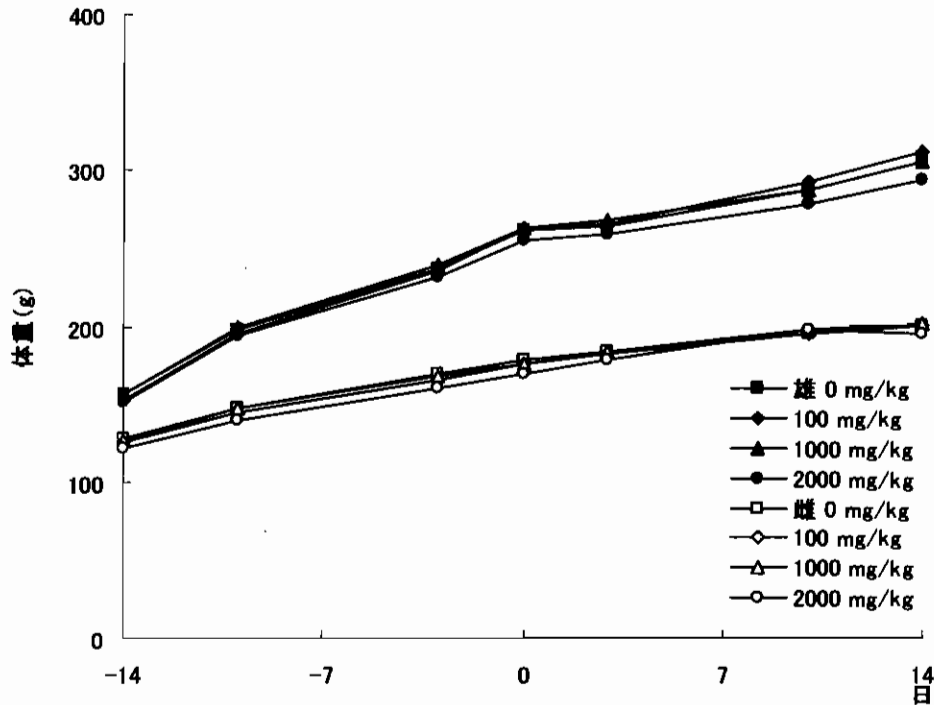
↑：p<0.05、↑↑：p<0.01 (Fisher の直接確率計算法、申請者実施)

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

試験期間を通じて死亡は観察されなかった。

雌雄共に 2000 mg/kg 群では、検体投与の数時間後から鎮静や立毛、下痢が高頻度に認められた。いずれの所見共、投与翌日には消失した。

体重： 投与前 14 及び 10、3 日、投与日 (0 日)、投与後 3、7 及び 14 日に全動物の体重を測定した。体重変化を次図に示す。



雌雄共、いずれの投与群においても検体投与による影響は認められなかった。

摂餌量： 投与前後 2 週にわたり各動物の摂餌量を測定した。

その結果、雌雄各投与群共に投与によると思われる変動はみられなかった。

水迷路試験 (Water Maze Test)： 次表のスケジュールに従い全動物を対象として試験を行なった。

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

時期	目的試験	出口位置	試行回数
投与 14 日前	学習テスト	右	6 回 (1 時間間隔)
投与 7 日前	記憶テスト	右	1 回
	再学習テスト	左	6 回 (1 時間間隔)
投与 1 日後	学習テスト	右	6 回 (1 時間間隔)
投与 7 日後	記憶テスト	右	1 回
	再学習テスト	左	6 回 (1 時間間隔)
投与 14 日後	記憶テスト	左	1 回
	再学習テスト	右	6 回 (1 時間間隔)

いずれの試行についても 5 分以内に出口に達した場合を成功とみなした。

この水迷路試験の結果を表 2 に示した。

表 2. 水迷路試験の結果 (成功率、%)

時期	目的	投与量 (mg/kg)							
		雄				雌			
		0	100	1000	2000	0	100	1000	2000
投与 14 日前	学習	100	100	100	98	98	100	100	100
投与 7 日前	記憶	100	100	100	100	100	100	100	100
	再学習	95	100	98	95	100	100	100	100
投与 1 日後	学習	100	95	98	100	100	100	100	100
投与 7 日後	記憶	100	100	90	100	100	100	100	100
	再学習	100	95	93	97	100	100	100	100
投与 14 日後	記憶	100	90	60	100	100	100	100	100
	再学習	100	95	97	97	100	100	100	100

表に示したように、投与 14 日後の記憶テストで雄 1000ppm 群では成功率が 60%と低かった。しかし、用量相関性が認められず、この所見は検体投与に関連しない偶発的なものと考えられた。

その他はいずれも 90%以上の成功率であり、検体による学習・記憶機能への影響は観察されなかった。

肉眼的病理検査：観察期間終了時にすべての生存動物を対象として検査した。

雌雄共にいずれの投与群においても検体投与に関連した肉眼的異常所見は認められなかった。

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

病理組織学的検査：すべての動物を対象にして、放血致死後、リンゲル液で灌流し、後に4%ホルマリン水溶液で置換した。そして、次の臓器・組織を摘出し、常法に従いHE染色標本作製した。鏡検はすべての動物及び組織について行なった。

脳（大脳、菱脳）、とくに視床下部、辺縁部、海馬、弓状核  
脊髄（頸椎、胸椎、腰椎）、坐骨神経、脛骨神経

その結果、雌雄共にいずれの投与群においても検体投与に関連した病理組織学的所見は認められなかった。

わずかに雄 100 及び 2000 mg/kg 群で各 1 例に坐骨神経での単線維変性がみられたが、頻度が低くまた明らかな用量相関性もみられないことから偶発的な所見と考えられた。

以上、  
のラットに対する追加の急性神経毒性試験において、雌雄共に 2000 mg/kg で投与日に一般症状（鎮静、立毛、下痢）を観察したが、学習・記憶機能への影響や神経系の病理組織学的変化はみられなかった。先の試験とも併せ、無毒性量は雌雄共に 1000 mg/kg であり、神経毒性作用はないと考えられる。

### 3. 製剤

#### 3-1. グルホシネート 18.5%液剤

##### (1) グルホシネート 18.5%液剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：株式会社

報告書作成年月日：2008年 [GLP対応]

検体の純度 : 18.5%液剤

供試動物 : SD(Cr1:CD(SD))系雌ラット, 1群3匹

試験開始時 ; 雌8週齢 (191~197g、初回投与群)

(192~193g、二回目投与群)

観察期間 : 14日間

投与方法 :

検体を所定量秤量し、蒸留水で希釈し投与検体とした。

投与前日夕方から絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は体重100gあたり1mLとした。

#### 用量設定根拠

有効成分の毒性情報に特に性差を認める報告がないことから投与開始用量を2000mg/kgとし、雌のラット2群(各3匹)に対して、初回及び第二回目の投与群として、それぞれ2000mg/kgずつ投与日を違えて経口投与した。

観察・検査項目 :

中毒症状及び生死を検体投与日は頻繁に翌日からは毎日1回以上14日間観察した。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7日及び14日に行った。

観察終了時に全生存動物をエーテル吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

評価

半数致死用量 (LD<sub>50</sub> 値) 及びその95%信頼限界値の算出は行わず、初回及び第二回目投与群の毒性結果から、LD<sub>50</sub>値が含まれる範囲を毒性等級法の手順より求めた。

結果：

投与方法	経口(初回投与)	経口(第二回目投与)
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌：>2000*	
死亡開始時間及び終了時間	2日目に1例が死亡	2日目に1例が死亡
症状発現時間及び消失時間	発現:6時間後 消失:翌日	発現:6時間後 消失:翌日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—	—

\*：初回及び第二回目投与群の毒性結果から、LD<sub>50</sub> 値が含まれる範囲を毒性等級法の手順により求めた。

第一回及び第二回目投与群においては各1例が死亡した。従って、バスタ液剤の雌ラットにおける急性経口投与での LD<sub>50</sub> 値の含まれる範囲は「LD<sub>50</sub> >2000mg/kg」であった。

初回及び第二回目の両方の投与において 2000mg/kg 投与群の全例で過敏、散発的な痙攣が認められ1例は2日後に死亡した。生存例の症状は2日後には消失した。

生存例の体重は、初回及び第二回目いずれの投与群においても順調であった。死亡例は死亡時に体重が減少していた。

観察期間終了時の全生存動物及び死亡例の剖検において、肉眼的異常所見は全く認められなかった。

(2) グルホシネート 18.5%液剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

報告書作成年月日：2008年 [G L P 対応]

検体の純度：18.5%液剤

供試動物：SD(Cr1:CD(SD))系雌雄ラット，1群雌雄各5匹

試験開始時；雄 約 8 週齢(263~269g)、雌 約 8 週齢(206~225g)

観察期間：14日間

投与方法：

検体を希釈せず、そのまま投与検体とした。

検体をリント布(4×5cm)にのせ、前日に剪毛した背部皮膚に貼付した。更に粘着性テープを用いて固定した。投与容量は体重 100 g 当たり 0.2 mL とした。貼布時間は 24 時間とし、貼布除去後、塗布部位は温水で洗浄して取り除いた。

用量設定根拠

経皮毒性は低いものと考えられたことから、農水省の試験法ガイドライン(12農産第8147号(2000))でいう限界投与量として雌雄 2000 mg/kg を設定した。

観察・検査項目：

中毒症状及び生死を検体投与日は頻繁に翌日からは毎日1回以上14日間観察した。

体重測定は、検体投与直前、投与後3、7日及び14日に行った。

観察終了時の全生存動物をエーテル吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

評価

本試験において、50%以上の死亡率を認めなかったことから、Probit法などによる半数致死量の計算は適用できなかった。この為、半数致死量(LD<sub>50</sub>値)の算出は行わず、雌雄共に死亡例数からLD<sub>50</sub>値を推定した。

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

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄：2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄：>2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：－ 雌：－
症状発現時間及び 消失時間	雄：－ 雌：－
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

本検体の雌雄 2000 mg/kg 投与群において、死亡及び中毒症状は認めなかった。

全投与例で、検体適用部位に刺激性を示す変化は認められなかった。

本検体の急性経皮投与におけるラットのLD<sub>50</sub>は雌雄共に、2000 mg/kg以上と推定した。

全例の体重に影響はみられなかった。

全例の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見を認めなかった。



(3) グルホシネート 18.5%液剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(4) グルホシネート 18.5%液剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料No. 製剤-4)

試験機関：

報告書作成年月日：2008年 [GLP対応]

検体の純度：18.5%液剤

供試動物：日本白色種ウサギ (J1a:JW)、試験開始時17~18週齢、  
体重 3.15~3.45kg、雌3匹

観察期間：14日間

試験方法：試験当日に刈毛したウサギの体幹背部に検体0.5mLを希釈せず、2.5×2.5cmのリン布に塗布してから貼付塗布した。塗布時間は4時間とし、皮膚に残った検体は除去した。

試験項目：塗布終了直後、投与1、24、48、72時間に、その後は投与14日後まで1日1回、塗布部分の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察した。観察した刺激性変化の採点はDraize法を用いた。

結果：結果は以下の表の通りである。

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	4日	5日	6日	7日	8日	9日
雌1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
雌2	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0
雌3	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	3	4	4	4	4	3	3	1	1	0
	浮腫	12	0	2	1	2	1	1	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1	1.3	1.3	1.3	1.3	1	1	0.3	0.3	0
	浮腫	4	0	0.7	0.7	0.7	0.3	0.3	0	0	0	0

以上の結果より、本検体はウサギの皮膚に対して、軽度の刺激性を有すると判断される。

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

(5) グルホシネート18.5%液剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験  
(毒性資料No. 原体-5)

試験機関：

報告書作成年月日：2008年 [G L P対応]

検体の純度：18.5%液剤

供試動物：日本白色種ウサギ (J1a:JW)、試験開始時15週齢、体重 2.53～2.71kg  
雌6匹、洗眼群雌3匹、非洗眼群雌3匹

試験期間：10日間観察

試験方法：検体0.1mLを片方の眼の結膜嚢内に適用し、洗眼群3匹については30秒後に洗眼した。非洗眼群3匹については洗眼しなかった。両群とも24時間後にフルオロセインで角膜を染色して検査した。

試験項目：投与後1, 24, 48, 72, 96時間、その後は1日1回、10日まで角膜、虹彩、結膜の刺激性変化をDRAIZE法に従い観察した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表の通りである。

非洗眼群では全例で角膜混濁、結膜発赤/浮腫及び分泌物が認められ、2/3例に虹彩の異常が認められ、投与後24時間後には結膜発赤が亢進し、虹彩の異常が全例に認められたが、刺激反応は時間とともに回復が認められた。1/3の角膜混濁を除く全ての変化は7日後までに消失した。この1/3例の角膜混濁も10日後には回復した。

洗眼群の全例で角膜及び結膜に刺激反応が認められたが、これらの変化は投与後5日には消失した。

以上の結果から、本検体はウサギの眼粘膜に対して中等度の刺激性を有するものと判断される。

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

項目			最高 評点	適用後時間											
				1hr	24hr	48hr	72hr	96hr	5d	6d	7d	8d	9d	10d	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
			面積	4	4	4	3	2	1	0	0	0	0	0	0
		虹	彩	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	3	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	分泌物	3	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	動物 番号 2	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
			面積	4	4	3	3	2	2	1	1	1	1	1	0
		虹	彩	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	1	0	0	0	0
			浮腫	4	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0
	分泌物	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	動物 番号 3	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0
			面積	4	4	4	3	2	1	0	0	0	0	0	0
		虹	彩	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	1	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	3	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
分泌物	3	3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
合計*			330	110	102	88	44	30	7	7	5	5	5	0	
平均*			110	36.7	34.0	29.3	14.7	10.0	2.3	2.3	1.7	1.7	1.7	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	1	1	1	0.7	0.7	0	0	0	0	0	0	
		面積	4	2.7	3.3	2.3	1.3	0.7	0	0	0	0	0	0	
	虹	彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	2	1.3	0.7	0.7	0	0	0	0	0	0	
		浮腫	4	2	1	0.3	0.3	0	0	0	0	0	0	0	
	分泌物	3	3	1.7	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
	合計*			110	25.3	27.7	17.0	8.7	4.7	0	0	0	0	0	

\*Draize法による評点(最高110点)

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

(6) グルホシネート 18.5%液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料No. 製剤-6)

試験機関：

報告書作成年月日：2008年 [GLP対応]

検体の純度：18.5%液剤

試験動物：Hartley系白色雌モルモット(体重322~423g)  
6週令1群 感作群20匹、非感作群10匹

観察期間：48時間

方法：[Buehler法]

試験操作

投与量設定根拠

検体をそのまま、及び注射用水で希釈して2.5, 5, 10, 25及び50%試験液を調製した。左右胴側部の体毛を刈り、1部位につき0.2mlの試験液を直径2.5cmのパッチに塗布し6時間閉塞した。1匹につき1又は2濃度投与した。皮膚刺激性反応は48時間後に観察した。

その結果、100%液では全例に、50%液では1/2例で紅斑が認められた。25%以下の濃度では皮膚刺激反応はみられなかった。以上の結果より感作には軽度な刺激反応を示すが、毒性的な影響はないと考えられた50%を、惹起は無刺激濃度と判断された25%液を設定した。

感作；

適用前日に左胴側部の被毛を刈毛した。0.2mlの検体液を6時間の閉塞貼付した。非感作群には注射用水を同様に閉塞貼付した。貼付終了後、注射用水を湿らせた脱脂綿で投与部位を清拭した。さらに7日後及び14日後に同様の感作適用を実施した。

惹起；

最終感作処理後2週間後に検体の25%液を、前日に刈毛した右胴側部に6時間の閉塞貼付を実施したn。

陽性対照：

DNCBを陽性対照として、感作には1%エタノール液を、惹起には0.25%アセトン液を用いて陽性対照試験を別途実施した(試験期間2008年1月10日~2008年3月28日)。

観察項目：

各感作処置の約24時間後、誘発24及び48時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼観察し、以下に示した評価方法に準じて採点した。また、一般

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

状態観察は1日1回、体重測定は感作開始時(0日)、最終感作日(14日後)、惹起日(28日後)、及び観察終了日(30日後)に実施した。

皮膚反応の程度	評点
肉眼的変化なし	0
散在性または斑状の紅斑	1
中等度びまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

結 果 :

群	感作	惹起	供試動物数	除去後24時間					除去後48時間					陽性率 (%)	
				評点					評点					24h	48h
				0	1	2	3	計	0	1	2	3	計		
感作群	50%	25%	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	溶媒 (注射用水)	25%	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10		
対照群 DNCB	1% エタノール液	0.25%アセトン液	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
		溶媒(アセトン)	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10		
	溶媒 (エタノール)	0.25%アセトン液	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0
		溶媒(アセトン)	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5		

検体の感作群及び非感作群では惹起投与後24及び48時間の観察で処置部位に刺激反応は認められなかった。

以上の結果より、本検体は感作性を有しないと判断された。

DNCB感作群では全例に反応が認められ本試験系の感受性が確認された。

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

### 3-2 グルホシネート8.5%液剤

#### (1) グルホシネート8.5%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料No. 製剤-7)

試験機関： [GLP対応]

報告書作成年：1990年

有効成分の含量： %

試験動物：ウィスター系ラット

平均体重 雄 206±5g 約7週齢 1群各5匹

平均体重 雌 163±5g 約7週齢 1群各5匹

試験期間：14日間

試験方法：製剤を蒸留水で所定の濃度となるように希釈し、体重100g当り0.5mlの割合で経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死の有無を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全動物につき、肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

資料No.	T-42
投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀：0、2010、2411、 2894、3472、4167、5000
LD50 (mg/kg)	♂ >4167 ♀ >4167
死亡開始時間 及び終了時間	♂ 2日 ♀ 2日 ♂ 3日 ♀ 2日
症状発現及び 消失時間	♂ 2日 ♀ 2日 ♂ 8日 ♀ 13日
毒性徴候の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	♂ 2010 ♀ 2010
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg) 最大無作	♂ 4167 ♀ 4167

中毒症状；流涙、鼻血、攻撃性、流涎、尿失禁、血涙、痩せ、呼吸微弱、横転が観察された。これらの症状のほとんどは8日後には消失した。

体重変化；被験物質を投与した雄の全群に、観察期間中体重増加の抑制があり、対照群に比較して有意差が認められ、この状態は観察期間終了時まで続いた。雌については、3472mg/kg群の3日目、4167mg/kg群の3、5、7日目に有意差を伴った体重増加の抑制が認められたが、観察期間終了時には対照群と比較して有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査；死亡動物及び観察期間終了時の全動物について被験物質の投与によると思われる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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

## (2) グルホシネート8.5%液剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料No. 製剤-8)

試験機関： [GLP対応]

報告書作成年：1990年

有効成分の含量： . . . %

試験動物：ICR系マウス 雌雄 7週齢 1群各5匹

平均体重 雄 32±1g、雌 28±1g

試験期間：14日間観察

試験方法：製剤を蒸留水で所定の濃度となるように希釈し、体重20g当り0.2mlの割合で経口投与した。

試験項目：中毒症状及び生死の有無を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全動物につき、肉眼的病理検査を行なった。

試験結果：

資料No.	T-43
投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂ ♀ : 0、1350、1750、2280、2960、3850、5000
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 2000 (1380~2900) ♀ 2650 (2040~3450)
死亡開始時間 及び終了時間	♂ 2日 ♀ 2日 ♂ 6日 ♀ 9日
症状発現及び 消失時間	♂ 30分 ♀ 30分 ♂ 6日 ♀ 9日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	♂ ♀ -
死亡例の認められなかった最 高投与量 (mg/kg) 最大無作	♂ 1350 ♀ 1350

中毒症状；流涎、鎮静、尿失禁、背部屈曲、痩せ、呼吸微弱、体温降下、歩行失調、間代性痙攣、横転が観察された。生存例ではその後これらの症状は漸次消失し、遅くとも5日後には回復した。

体重変化；被験物質2280mg/kg投与群の雌雄に、対照群と比べて体重増加の抑制有意差が認められたが、観察期間終了時に回復の傾向がみられた。

肉眼的病理検査；死亡動物及び観察期間終了時の全動物について被験物質の投与によると思われる異常は認められなかった。



### (3) グルホシネート8.5%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(毒性資料No. 製剤-9)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：1990年

有効成分の含量： %

試験動物：ウイスター系ラット 7週齢

平均体重 雄 217±5g 1群各5匹

平均体重 雌 167±3g 1群各5匹

試験期間：14日間

試験方法：剪毛非擦過背部皮膚に原液のまま所定の用量を塗布し、24時間経過後、中性洗剤及び水で洗浄し取り除いた。

試験項目：中毒症状及び生死の有無を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全動物につき、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

資料No.	T-44
投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	♂♀：0、520、730、1020、1430、2000
LD50 (mg/kg)	♂ >2000 ♀ >2000
死亡開始時間 及び終了時間	♂ 死亡例なし ♀ 7日(1例のみ死亡)
症状発現及び 消失時間	♂ 2日 ♀ 2日 ♂ 4日 ♀ 8日
毒性徴候の認められなかった最高 投与量 (mg/kg) *	♂ - ♀ 520
死亡例の認められなかった最高 投与量 (mg/kg) 最大無作用	♂ >2000 ♀ 1430

\*塗布面の所見は含めない。

中毒症状；塗布面の発赤、血涙の痕跡、攻撃性、尿失禁、痩せが認められた。生存例ではその後、これらの症状は漸次消失し、全群の雄及び1430mg/kg以下の用量群の雌は、4日後には正常な状態に戻った。

体重変化；検体730mg/kg群及び1020mg/kg群の雄は3日目に、2000mg/kg群の雄は3～7日目に有意差を伴った体重増加の抑制が認められた。また、雌は1430mg/kg群の3～7日目及び2000mg/kg群の3日目に有意差を伴った体重増加の抑制が認められた。雌雄とも観察期間終了時には有意差は認められなかった。

肉眼的病理検査；死亡動物及び観察期間終了時の全動物について検体の投与によると思われる異常は認められなかった。

(4) グルホシネート 8.5%液剤のラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-10)

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

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

(5) グルホシネート8.5%液剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料No. 製剤-11)

試験機関： [GLP対応]

報告書作成年：1990年

有効成分の含量： %

試験動物：ニュージーランド白色種 雌ウサギ 5ヶ月齢  
体重 3.58~3.85kg 6匹

試験期間：14日間

試験方法：剪毛した動物の背部2カ所の適用部位（各2.5×2.5cm）を設け、それぞれにリント布を用いて製剤の原液0.5ml及び5%希釈液0.5mlをパッチ塗布した。塗布時間は4時間とし、適用後、リント布を除き適用部位を生理食塩水で拭って被験物質を落とした後、油性インキで適用部位に印をつけた。

観察項目：塗布除去後1、24、48時間後及び3、7、10、14日後までに刺激性変化を観察した。

評価の方法：皮膚反応について、「59農蚕第4200号」の判定基準によって、1、24及び48時間後の紅斑と浮腫の合計評点を求め、これを総適用区画数で除して皮膚一次刺激性インデックス (PCI) を算出した後、AFNORの基準に従って評価した。

皮膚一次刺激性の評価基準 (AFNOR, 1982)

一次刺激性インデックス(PCI)	刺激性群
$0 \leq \text{PCI} \leq 0.5$	Non irritant
$0.5 < \text{PCI} \leq 3$	Slightly irritant
$3 < \text{PCI} \leq 5$	Moderately irritant
$5 < \text{PCI} \leq 8$	Severely irritant

試験結果：皮膚一次刺激の評点(6匹の平均値)は次表に示す。

製剤原液適用部：リント布除去1時間後から紅斑と浮腫が認められた。24時間後から4/6区画では痂皮形成を伴う紅斑に増強した後、7日後から痂皮脱落を認めたが、他の2/6区画では10日後までに反応は消失した。48時間後までの合計評点は79で、総適用区画数18で除すると一次刺激性インデックス (PCI)は4.4となり、moderately irritantと評価される。

5%希釈液適用部：リント布1時間後から非常に軽度の紅斑と非常に軽度の浮腫が認められたが、7日後までに全ての反応は消失した。48時間後までの合計評点は23で総適用区画数18で除すると一次刺激性インデックス (PCI)は1.3となり、slightly irritantと評価された。

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

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	7 日	10 日	14 日	
製 劑 原 液	雌 1	紅斑・痂皮	4	2	4	4	4	痂皮脱落		
		浮 腫	4	2	2	2				
	雌 2	紅斑・痂皮	4	2	4	4	4			
		浮 腫	4	2	2	2	2			
	雌 3	紅斑・痂皮	4	2	4	4	4			
		浮 腫	4	2	2	2	2			
	雌 4	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	1	0	0
		浮 腫	4	1	1	1	1	0	0	0
	雌 5	紅斑・痂皮	4	2	4	4	4	痂皮脱落		
		浮 腫	4	1	2	2	1			
	雌 6	紅斑・痂皮	4	1	2	2	2	1	0	0
		浮 腫	4	1	1	1	1	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	10	20	20	20	2	0	0	
	浮 腫	12	9	10	10	9	0	0	0	
平均	紅斑・痂皮	4	1.7	3.3	3.3	3.3	1	0	0	
	浮 腫	4	1.5	1.7	1.7	1.5	0	0	0	
5 % 希 釈 液	雌 1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	0	0
		浮 腫	4	1	0	0	0	0	0	0
	雌 2	紅斑・痂皮	4	1	2	2	1	0	0	0
		浮 腫	4	1	1	1	1	0	0	0
	雌 3	紅斑・痂皮	4	1	2	1	0	0	0	0
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	0	0
	雌 4	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
	雌 5	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0
	雌 6	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0	0	0
		浮 腫	4	1	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	5	6	5	3	0	0	0	
	浮 腫	12	4	2	1	1	0	0	0	
平均	紅斑・痂皮	4	0.8	1	0.8	0.5	0	0	0	
	浮 腫	4	0.7	0.3	0.2	0.2	0	0	0	

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

(6) グルホシネート8.5%液剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料No. 製剤-12)

試験機関： [GLP対応]

報告書作成年：1990年

有効成分の含量： %

試験動物：ニュージーランド白色種 雌ウサギ 6ヶ月齢 体重 3.37~4.80kg 15匹

試験期間：21日間

試験方法：製剤の原液0.1mlを左眼の結膜嚢内に1回点眼し、15例中3例は原液の洗眼群として2分後に洗眼し、6例は原液の非洗眼群、残りの6例は5%希釈液の非洗眼群とした。

観察項目：投与1、24、48時間経過後、及び3、4、7、10、14、18及び21日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

判定の方法：個体別にDraize の評点表に基づいて採点した。最高評点は角膜80、虹彩10、結膜20、計110である。

眼刺激性評価基準

AOI	MOI	IOI(7日後)	刺激性区分
0- 5	48時間後に0		Non irritant
5- 15	48時間後に5未満		Slightly irritant
15- 30	4日後に5未満		Irritant
30- 60	7日後に20以下	7日後に6/6 は30以下 及び 4/6 は15以下	Very irritant
60- 80	7日後に40以下	7日後に6/6 は60以下 及び 4/6 は30以下	Severely irritant
80-110			Extremely irritant

IOI：各動物の時間毎の合計評点 MOI：IOIの時間毎の平均評点 AOI：MOIの最大値  
但し、AOIによって評価された刺激性区分が、MOI及びIOIの条件を満たさない場合、1区分高くする。

試験結果：結果を次表に示す。観察した刺激性変化の個体別評点から、本試験における平均評点(MOI)の最大値(AOI)は原液・非洗眼群、24時間後の29.5であり、4日後の平均評点は21.2であった。従って、上記評価基準から、irritantより1区分高いvery irritantと評価され、また5%希釈液は、平均評点(MOI)の最大値(AOI)が4.7であり、48時間後の平均評点(MOI)が1であったことから、slightly irritant と評価された。なお、製剤・洗眼群では洗眼による症状の軽減がみられた。

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

項目		最高 評点	適用後時間											
			1hr	24hr	48hr	72hr	96hr	7d	10d	14d	18d	21d		
製剤原液非洗眼群	動物 番号 1	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
			面積	4	2	2	2	2	2	1	1	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	1	1	1	0
			浮腫	4	2	2	2	2	2	1	1	0	0	0
		分泌物		3	2	3	2	2	1	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0
			面積	4	2	2	2	1	1	1	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	1	1	1	1	1	0
			浮腫	4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0
		分泌物		3	2	2	2	1	1	0	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0
			面積	4	3	3	2	2	2	1	1	1	0	0
		虹彩		2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1
			浮腫	4	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1
		分泌物		3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
			面積	4	4	4	4	4	3	2	2	2	1	1
		虹彩		2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
			浮腫	4	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2
		分泌物		3	2	3	1	1	1	1	1	1	1	1
動物 番号 5	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	
		面積	4	4	4	4	4	3	3	3	2	2	2	
	虹彩		2	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	2	2	2	2	10	
		浮腫	4	1	1	1	2	2	2	2	2	1	1	
	分泌物		3	2	3	1	2	2	2	2	1	1	0	
動物 番号 6	角膜	混濁	4	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	
		面積	4	4	4	4	4	3	2	1	0	0	0	
	虹彩		2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	1	1	1	1	1	
		浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	
	分泌物		3	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	
平均*			110	27.8	29.5	25.5	25.0	21.2	20.2	18.5	14.2	11.3	10.0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0	0	0	0	0	
		面積	4	2	2	1.3	1	1	0	0	0	0	0	
	虹彩		2	0.3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	2	2	1.3	1	0.3	0.3	0	0	
		浮腫	4	1	1.3	1	1	1	0.3	0	0	0	0	
	分泌物		3	1.7	1.3	0.7	0	0	0	0	0	0	0	
	合計*			110	19.0	20.0	14.0	11.0	9.7	2.7	0.7	0.7	0	0

\*Draize法による評点(最高110点)

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

項 目			最高 評点	適用後時間											
				1hr	24hr	48hr	72hr	96hr	7d	10d	14d	18d	21d		
5 % 希釈液非洗眼群	動物 番号 7	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	分泌物		3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	動物 番号 8	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	分泌物		3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
動物 番号 9	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0		
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
分泌物		3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
動物 番号 10	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
		浮腫	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
分泌物		3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
動物 番号 11	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
分泌物		3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
動物 番号 12	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		面積	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
分泌物		3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
平均*			110	4.7	2	1	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3		

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

## (7) グルホシネート8.5%液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料No. 製剤-13)

試験機関： [GLP対応]

報告書作成年：1991年

有効成分の含量： %

試験動物：Hartley系モルモット 雄 5週齢 体重309～349g 1群10匹

試験期間：30日間

試験方法：Buehler法に従った。

濃度設定理由；50%～0.375%被験物質水希釈液を動物の側腹部に6時間閉塞貼付し、24時間後に、50%被験物質水希釈液にのみ皮膚反応が認められたため、感作濃度は最小紅斑惹起量である50%とし、惹起濃度は紅斑を生じなかった最高濃度である25%及びその1/10濃度である2.5%とした。

本 試 験；

感 作：製剤の50%希釈液を0.5ml を含ませたリント布(2×4cm) を剪毛した背部に6時間閉塞貼付した(第1回)。その後、7(第2回)及び14日後(第3回)に同様の方法で感作を行った。陰性対照群には蒸留水のみを貼付し同様に処置した。

また、陽性対照薬剤として0.5%DNCB(2,4-dinitrochlorobenzene)エタノール溶液を用い、以下同様に処置した。

惹 起：第3回感作から14日後に感作投与群、陰性対照群双方に製剤の25及び2.5%希釈液をそれぞれ0.1ml 含ませたリント布(2×2cm) を剪毛した左側腹部に6時間閉塞貼付した。惹起投与24及び48時間後に皮膚反応を肉眼的に観察した。その後30日まで体重測定した。

評価方法：貼付除去24時間後及び48時間後にMagnusson & Klingman (1969) の基準に従って判定し、試験群と対照群の反応を比較した後、同基準に従って評価した。

### 皮膚反応の判定基準

皮膚反応の程度	評点
反応なし	0
散在性軽度の紅斑	1
瀰漫性中等度の紅斑	2
強度紅斑と浮腫	3



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

試験結果：

皮膚所見；陰性対照群の25%適用部では、24及び48時間後の9/10例に散在性軽度から瀰漫性中等度の紅斑及び落屑が認められ、平均評点は24、48時間共に1.1であった。同群の2.5%適用部では、両時点で1/10例に散在性軽度の紅斑が認められ、平均評点は共に0.1であった。試験群の25%適用では、24及び48時間後の全例に陰性対照群の25%適用部と同様の所見が認められ、平均評点は共に1.6であった。2.5%適用部では、陰性対照群の2.5%適用部と同様の所見が24時間後の4/10例と48時間後の3/10例に認められ、平均評点は各々0.4及び0.3であった。

陽性対照のDNCB群では24、48時間後の全例に強度紅斑と浮腫が認められ、平均評点は共に3.0であった。

群	感作		惹起	供試動物数	除去後24時間					除去後48時間					陽性率 (%)	
					評点					評点						
					0	1	2	3	計	0	1	2	3	計	24h	48h
感作群	50%	25%	10	0	4	6	0	10/10	0	4	6	0	10/10	100	100	
		2.5%	10	6	4	0	0	4/10	0	3	0	0	3/10			
対照群	溶媒 (蒸留水)	25%	10	1	7	2	0	9/10	1	7	2	0	9/10	90	90	
		2.5%	10	9	1	0	0	1/10	9	1	0	0	1/10			
対照群 DNCB	0.5% エタノール液	0.5% エタノール液	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100	

一般状態及び体重変化；

いずれの動物でも一般状態及び体重推移に異常は認められなかった。

検体投与群でみられた所見が対照群にもみられたことから、検体が皮膚感作性を有する可能性は低いと推察された。

## 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	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代1	動物体内運命 (吸収、排泄、分布)	ラット 1群雌雄 各5匹	投与量: 2mg/kg - 単回経口投与 - 単回静脈内投与	<p>経口投与群: 経口投与されたグルホシネートは速やかに吸収されたが、吸収割合は低く、大部分が糞を介して排泄された。</p> <p>血中濃度は吸収が少ないために、Cmaxは0.008µg/ml (雄) ~0.027µg/ml (雌)と極めて低かったが、Tmaxは雌雄とも1時間と投与後間もなくピークに達した。</p> <p>吸収率が低かったことと排泄が速やかであったことから、臓器及び組織中の放射能は極めて低いレベルであった。</p> <p>静脈内投与群: 静脈内投与されたグルホシネートは主に尿を介して排泄された。糞中への排泄が極めて少なかったことから、胆汁排泄による消化管への排泄は少ないものと考えられる。</p> <p>血中濃度についてはCmaxが測定できないためC5minを測定し、それを初期値とした場合のT1/2は20分と極めて速く、良好なクリアランスを示した。</p>	(1983年)	代-12
代2	動物体内運命 (代謝)	ラット 雌20匹	投与量: 10mg/kg - 単回経口投与	<p>投与されたグルホシネートは主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与48時間後には、投与放射能の82%が糞中に排泄された。</p> <p>糞中及び尿中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。主代謝物は であったが、その生成量は少なかった。 また、尿中には も僅かに認められた。</p>	(1983年)	代-17
代3 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット 1群雌雄 各3匹	投与量: 800mg/kg - 単回経口投与	<p>投与されたグルホシネートは主に糞を介して排泄された。排泄速度は、低用量試験結果と比較し明らかに遅延しており、投与24時間後においても投与放射能の20%程度しか排泄されなかった。</p> <p>血中濃度におけるTmaxは0.5~1時間と極めて速かった。Cmaxは雌雄とも約3µg/mlであり、低用量試験結果に比較的比例した。また、T1/2は4~5時間であった。</p> <p>糞、尿及び臓器 (腎臓及び肝臓) 中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。主代謝物は であった。 また、 も特に臓器中で多く認められた。 なお、糞中の放射能は全て未変化のグルホシネート[A]であった。</p>	(1985年)	代-20

資料 No.	試験の種類	供試動物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代4 (GLP)	動物体内運命 (分布)	ラット 雌雄 各群5匹	投与量: 低用量; 2mg/kg 中間用量; 30mg/kg - 単回経口投与	投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓及び代謝器官である肝臓中において他の臓器・組織に比べ多く分布した。 雄の生殖腺を除いて全ての臓器・組織において投与6時間後にはT <sub>max</sub> を迎えた。	(1988年)	代-25
代5 (GLP)	動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雌雄 各6匹	投与量: 2mg/kg - 単回経口投与	投与されたグルホシネートは主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約80%が糞中に排泄された。  投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓及び代謝器官である肝臓中において他の臓器・組織に比べ多く分布した。また、雄の生殖腺においても比較的高い放射能が認められた。	(1985年)	代-29
代6 (GLP)	動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雌雄 各6匹	投与量: 30mg/kg - 単回経口投与	投与されたグルホシネートは主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約70% (雄) ~80% (雌) が糞中に排泄された。  投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓及び代謝器官である肝臓中において他の臓器・組織に比べ多く分布した。また、雄の生殖腺においても比較的高い放射能が認められた。	(1985年)	代-32
代7 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット 雌各群 2~5匹	投与量: 低用量; 10mg/kg 高用量; 100mg/kg - 反復経口投与	投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。最終投与48時間後には、全投与放射能の95%以上が糞中に排泄された。  血中濃度におけるT <sub>max</sub> は、低用量群ではいずれの投与日においても1時間と極めて速かった。高用量群では1~4時間と投与日によりバラツキが見られた。また、T <sub>1/2</sub> は用量に関係なく2~5時間であった。  糞、尿及び臓器中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。主代謝物は  であったが、その生成量は少なかった。 また、糞及び尿中には  も認められた。	(1986年)	代-35
代8 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット 雌雄 各10匹	投与量: 2mg/kg - 単回経口投与 (非標識体14日間反復投与後)	投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与48時間後には、投与放射能の80%以上が糞中に排泄された。  糞及び尿中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。主代謝物は  であったが、その生成量は少なかった。 また、  も認められた。	(1986年)	代-42

資料 No.	試験の種類	供試動物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代9 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット  雌雄 各10匹	投与量: 2mg/kg  一単回経口投与	投与されたグルホシネートは、未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の80%以上が糞中に排泄された。  代謝物は全く認められず、放射能は全て未変化のグルホシネート[A]であった。  投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓及び代謝器官である肝臓中において他の臓器・組織に比べ多く分布した。	(1986年)	代-46
代10 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット  雌雄 各5匹	投与量: 2mg/kg  一単回経口投与	投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約90%が糞中に排泄された。  糞及び尿中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。 糞中の主代謝物は、グルホシネート[A]の であった。他の代謝物としては、 及び が認められたが、その生成量は少なかった。 また尿中の主代謝物は であった。また が雌の尿中にも極僅かに認められた。	(1993年)	代-49
代11 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット  雌雄 各群2~ 5匹	投与量: 500mg/kg  一単回経口投与	投与されたグルホシネートはその大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与48時間後において雄で投与放射能の約60%、雌で約80%が糞中に排泄された。  投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。次いで肝臓及び脾臓に多く分布した。臓器中の放射能濃度は、脳を除いて投与2時間後で最大値を示し、以降速やかに減衰した。  糞及び尿中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。 糞中の主代謝物は、グルホシネート[A]の であった。他の代謝物としては、 及び が認められたが、その生成量は少なかった。 また尿中の主代謝物は であった。また極僅かも認められた。	(1995年)	代-53
代12 (GLP)	動物体内運命 (排泄、分布)	ラット  雄各群 5匹	投与量: 20mg/kg  一単回経口投与	投与されたグルホシネートは主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約92%が糞中に排泄された。  投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。腎臓及び血液中の放射能濃度は投与24時間後には明らかに減少したが、肝臓及び脳中の放射能のクリアランスは明確ではなかった。	(1999年)	代-58

資料 No.	試験の種類	供試動物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代13 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット 雄各群 5匹	投与量: 20mg/kg 一単回経口投与	<p>投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約92%が糞中に排泄された。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。腎臓及び血液中の放射能濃度は投与24時間後には明らかに減少したが、肝臓及び脳中の放射能のクリアランスは明確ではなかった。</p> <p>糞、尿及び臓器中放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であった。 糞中の主代謝物は、グルホシネート[A]の であった。他の代謝物としては、 が認められた。 尿中の主代謝物は であった。  も少量認められた。 臓器中の主代謝物は であった。</p>	(1999年)	代-61
代14 (GLP)	動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雄各群 5匹	投与量: 2mg/kg 一単回静脈内投与	<p>投与されたグルホシネートは、主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約78%が尿中に排泄された。 糞中排泄が少なかったことから、胆汁排泄による消化管への排泄は少ないものと考えられた。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。臓器・組織中の放射能は経時的に減衰した。</p>	(1999年)	代-66
代15 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ラット 雄各群 5匹	投与量: 2mg/kg 一単回静脈内投与	<p>投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約78%が尿中に排泄された。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。臓器・組織中の放射能は経時的に減衰した。</p> <p>糞、尿及び臓器中放射能の大部分は未変化のグルホシネートであった。 糞中の主代謝物は、グルホシネート[A]の であった。他の代謝物としては、 及び が認められた。 尿及び臓器中の代謝物は のみ が認められた。</p>	(1999年)	代-69

資料 No.	試験の種類	供試動植物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代16 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	イヌ 雌雄 各2匹	投与量: 8mg/kg - 単回経口投与	<p>投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の80%以上が糞中に排泄された。</p> <p>血中濃度におけるT<sub>max</sub>は2~4時間とラットに比較しやや遅かった。C<sub>max</sub>は約0.2~0.3 µg/mlであった。また、T<sub>1/2</sub>は2時間未満であり、ピークを迎えた後は速やかに減衰した。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。次いで肝臓に高い放射能が認められた。他の臓器中放射能は僅かであった。</p> <p>糞、尿及び臓器中放射能は未変化のグルホシネート[A]であった。 尿中のみ代謝物が が認められた。</p>	(1985年)	代-74
代17	動物体内運命 (代謝)	イヌ 雌雄 各6匹	投与量: 低用量群; 1mg/kg 高用量群; 8mg/kg - 反復経口投与	<p>投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。全投与放射能の80%以上が糞中に排泄された。</p> <p>血中濃度におけるT<sub>max</sub>は4~6時間(最終投与後)であった。C<sub>max</sub>は低用量群で約0.02~0.03 µg/ml、高用量群で約0.2 µg/mlであった。また特に反復投与による経時的な血中濃度上昇は認められなかった。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。次いで肝臓に高い放射能が認められた。他の臓器中放射能は低かった。また、反復投与による放射能の蓄積は認められなかった。</p> <p>糞中放射能は未変化のグルホシネート[A]であった。尿中放射能の多くは糞同様未変化のグルホシネート[A]であった。代謝物としては、 が認められた。 一方、臓器中の放射能については、腎臓ではが、肝臓ではグルホシネート[A]が多かった。</p>	(1986年)	代-78
代18 (GLP)	動物体内運命 (代謝)	ヤギ 雌2匹	投与量: 164mg/日 - 反復経口投与	<p>投与されたグルホシネートは、その大部分が未変化のまま主に糞を介して排泄された。全投与放射能の約70%が糞中に排泄された。乳汁への移行は極めて僅かであった。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓に最も高濃度に分布した。次いで肝臓に高い放射能が認められた。他の臓器・組織中放射能は低かった。</p> <p>糞、尿、乳汁及び臓器(腎臓及び肝臓)中放射能の多くは未変化のグルホシネート[A]であった。主代謝物はいずれの試料中でも であった。また、 及び も少量認められた。</p>	(1995年)	代-85

資料 No.	試験の種類	供試動物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代19 (GLP)	Hoe 099730の動物体内運命 (代謝)	ラット 雄雌各群2-5匹	投与量: 3mg/kg 一単回経口投与 一単回静脈内投与	<p>経口投与群: 投与されたHoe 099730[Z]は主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約95%が糞中に排泄された。</p> <p>静脈内投与群の排泄割合から、消化管からの吸収率は約6%と推定された。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。他の臓器・組織中の放射能濃度は、極めて低かった。</p> <p>投与4時間後における消化管内容物中の放射能の大部分は未変化のHoe 099730[Z]であった。 主代謝物は、 であった。他の代謝物としては、 が認められたが、その生成量は僅かであった。</p> <p>静脈内投与群: 投与されたHoe 099730[Z]は主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約90%が尿中に排泄された。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。次いで脾臓、肝臓及び雄の生殖腺で比較的高い放射能が認められた以外は、臓器・組織中の放射能濃度は、極めて低かった。</p>	(1993年)	代-89
代20 (GLP)	Hoe 099730の動物体内運命 (代謝)	ラット 雄雌各5匹	投与量: 3mg/kg 一単回経口投与	<p>投与されたHoe 099730[Z]は主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約90%が糞中に排泄された。</p> <p>糞、尿及び臓器中放射能の大部分は未変化のHoe 099730[Z]であった。 糞中の主代謝物は、 であった。他の代謝物としては、 が認められたが、生成量は少なかった。 尿中の代謝物は であった。</p>	(1993年)	代-95
代21 (GLP)	動物体内運命 (血中濃度)	ラット 雌雄各3匹	投与量: 3mg/kg 一単回経口投与 一単回静脈内投与	<p>経口投与群: 投与されたHoe 099730[Z]の吸収速度は速く、T<sub>max</sub>は約1時間であった。排泄が速やかであることから、血中クリアランスは速やかであり、第I相における半減期(T<sub>1/2</sub>)も非常に短く約1時間であった。 AUC<sub>0-∞</sub>は約0.2μg当量/gであった。</p> <p>静脈内投与: 血中クリアランスは極めて速やかであり、第I相における半減期(T<sub>1/2</sub>)は僅か20分程度であった。 AUC<sub>0-∞</sub>は約4μg当量/gであった。</p>	(1993年)	代-99

資料 No.	試験の種類	供試動物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代22 (GLP)	Hoe 099730の動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雄雌各群1-5匹	投与量: 1000mg/kg 一単回経口投与	<p>投与されたHoe 099730[Z]は主に糞を介して排泄された。排泄は低用量群に比べ遅延しており、投与24時間後では、糞中への排泄は投与放射能の約35(雌)~70%(雄)であった。48時間後では雌雄とも約80%となった。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。次いで肝臓、肺、生殖腺で比較的高い放射能が認められた。脳中には放射能は全く認められなかった。</p> <p>臓器・組織中の放射能は経時的に減少し、投与96時間後では雄の腎臓以外は放射能は認められなかった。</p>	(1995年)	代-102
代23 (GLP)	Hoe 099730の動物体内運命 (代謝)	ラット 雄雌各群1-5匹	投与量: 1000mg/kg 一単回経口投与	<p>投与されたHoe 099730[Z]は主に糞を介して排泄された。排泄は低用量群に比べ遅延しており、投与24時間後では、糞中への排泄は投与放射能の約60%であった。48時間後で約80%となった。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。次いで肝臓で比較的高い放射能が認められた。脳中には雌雄とも投与6時間後にのみ僅かに認められた。血漿中放射能濃度は投与6時間後で最も高かった。</p> <p>臓器・組織中の放射能は経時的に減少し、投与96時間後では肝臓以外は放射能は認められなかった。</p> <p>糞及び尿中放射能の大部分は未変化のHoe 099730[Z]であった。</p> <p>糞中の主代謝物は、 であった。他の代謝物としては、 が認められたが、生成量は少なかった。</p> <p>尿中の代謝物は、 であった。</p>	(1995年)	代-106
代24 (GLP)	AE F099730の動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雄各群5匹	投与量: 30mg/kg 一単回経口投与	<p>投与されたAE F099730[Z]は主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約90%が糞中に排泄された。</p> <p>投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。血中濃度は投与1時間後が最も高かった。</p> <p>臓器・組織中の放射能は経時的に減少した。</p>	(1999年)	代-111



資料 No.	試験の種類	供試動物植物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代25 (GLP)	AE F099730の動物体内運命 (代謝)	ラット 雌各群 5匹	投与量: 30mg/kg 一単回経口投与	投与されたAE F099730[Z]は主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には、投与放射能の約90%が糞中に排泄された。  投与された放射能は、体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。血中濃度は投与1時間後が最も高かった。臓器・組織中の放射能は経時的に減少した。  糞及び尿中放射能の大部分は未変化のAE F 099730[Z]であった。 糞中の代謝物は、 のみ認められた。 尿中の代謝物は であった。 腎臓中の放射能は、投与1時間後にあつては大部分が未変化のAE F099730[Z]であったが、その後経時的に減少し、24時間後では が残留放射能の大部分を占めた。他には も認められた。 肝臓中では、投与1時間後よりAE F 099730[Z]と が同程度認められた。	(1999年)	代-113
代26 (GLP)	AE F099730の動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雄各群 5匹	投与量: 3mg/kg 一単回静脈内投与	投与されたAE F099730[Z]は主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約85%が尿中に排泄されたであった。  投与された放射能は、主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。臓器・組織中の放射能は経時的に減少した。	(1999年)	代-117
代27 (GLP)	AE F099730の動物体内運命 (排泄、分布)	ラット 雄各群 5匹	投与量: 3mg/kg 一単回静脈内投与	投与されたAE F099730[Z]は主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約85%が尿中に排泄されたであった。  投与された放射能は、主排泄器官である腎臓で最も高濃度に分布した。臓器・組織中の放射能は経時的に減少した。  糞中放射能の大部分は未変化のAE F099730 [z]であった。代謝物は、 のみ認められた。 尿中の放射能は未変化体のみであった。 腎臓中の放射能は、投与1時間後にあつては大部分が未変化のAE F099730[Z]であったが、その後経時的に減少し、24時間後では が残留放射能の大部分を占めた。 肝臓中では、放射能の大部分は未変化のAE F 099730[Z]であった。	(1999年)	代-119
代28	Hoe 061517の動物体内運命 (排泄)	ラット 雌各群 5匹	投与量: 20mg/kg 一単回経口投与 一単回静脈内投与	経口及び静脈内投与されたHoe 061517[B]はいずれにおいても主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の80%以上が尿中への排泄された。静脈内投与群において糞中排泄が極めて少なかったことから、胆汁排泄による消化管への排泄は少ないものと考えられる。また、尿中排泄率が経口投与群と静脈内投与群とでほぼ同様であったことから、経口投与群における投与放射能の吸収率が高いことが考えられた。	(1984年)	代-123

資料 No.	試験の種類	供試動植物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代29	植物体内運命	りんご	1500g/ha相当量を土壌表面処理	土壌に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。収穫時の果実中の放射能濃度は0.1mg/kgであった。	(1981年)	代-125
代30	植物体内運命	りんご	1500g/ha相当量を土壌表面処理	収穫時の果実中の放射能濃度は0.1mg/kgであった。  果実中放射能の大部分は、グルホシネート[A]が  であった。	(1983年)	代-127
代31	植物体内運命	レタス	0.45mg/mlの水溶液で水耕栽培	水耕栽培10日後の葉部の放射能濃度は0.85µg当量/gであった。  放射能の全ては、グルホシネート[A]が  であった。	(1981年)	代-129
代32	植物体内運命	だいず	1000g/ha相当量を土壌表面処理	播種時に土壌処理された放射能は植物体に吸収され、収穫時には植物全体に分布した。種実中の放射能濃度は0.034µg当量/gであった。	(1983年)	代-131
代33 (GLP)	植物体内運命	とうもろこし	1900g/ha相当量を土壌表面処理	土壌に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。収穫時の種子中の放射能濃度は0.034mg/kgであった。  飼葉中放射能の90%以上が抽出性放射能であり、その大部分がグルホシネート[A]が  であった。	(1989年)	代-133
代34 (GLP)	植物体内運命	稲	1100g/ha相当量を土壌処理し、14日後に湛水	土壌に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。収穫時の玄米中の放射能濃度は0.52ppmであった。  玄米中放射能の約70%が抽出性放射能であり、その大部分がグルホシネート[A]が  であった。その他、  が僅かに認められた。	(2006年)	代-139
代35 (GLP)	植物体内運命	だいず (遺伝子組み替え体)	0.451b/エーカ相当で、3葉期及び開花期に茎葉散布	茎葉に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。最終収穫時の種実中の放射能濃度は1.47ppmであった。  種実中放射能の約80%が抽出性放射能であり、その多くがグルホシネート[A]の  であった。次いで  が比較的多く認められた。また、非組み替え作物では全く認められなかった未変化のグルホシネート[A]が認められた。	(1999年)	代-146
代36 (GLP)	植物体内運命	てんさい (遺伝子組み替え体)	600g/ha相当で、播種36及び59日後に茎葉処理	茎葉に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。最終収穫時の根部中の放射能濃度は0.93ppmであった。  根部中放射能の約96%が抽出性放射能であり、その多くがグルホシネート[A]の  であった。次いで未変化のグルホシネート[A]が多く認められた。  も少量認められた。	[独] (1996年)	代-152

資料 No.	試験の種類	供試動植物	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代37 (GLP)	植物体内運命	とうもろこし (遺伝子組み替え体)	0.451b/エーカ相当で、最終収穫112日及び102日前に茎葉散布	茎葉に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。最終収穫時の種子中の放射能濃度は0.13 ppmであった。  種子中放射能の約77%が抽出性放射能であり、その多くが抽出性放射能であった。その他には抽出性放射能も認められた。なお、未変化のグルホシネート[A]はほとんど認められなかった。	(1994年)	代-157
代38 (GLP)	植物体内運命	なたね (遺伝子組み替え体)	750g/ha相当で、3-5葉期に茎葉処理	茎葉に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。最終収穫時の種子中の放射能濃度は0.07 ppmであった。  種子中放射能の約65%が抽出性放射能であり、その多くが未変化のグルホシネート[A]及び抽出性放射能であった。遺伝子組み替え体特有の抽出性放射能は極少量認められるに留まった。	(1993年)	代-163
代39 (GLP)	土壌中運命	好氣的湛水条件 沙質壤土 壤質砂土	2000g/ha相当量を処理 (8.3ppm相当) 試験温度: 22℃	本条件下でグルホシネートは比較的速やかに分解した。DT <sub>50</sub> はシルト質壇壤土で約49日、壇質砂土で約32日であった。  主代謝物は抽出性放射能であった。次いで抽出性放射能も認められた。また <sup>14</sup> C <sub>2</sub> も4~9%生成された。	(1987年)	代-169
代40	土壌中運命	好氣的条件 壇質砂土 砂壇土	1000g/10a相当量を処理 (10ppm相当) 試験温度: 22℃	本条件下でグルホシネートは速やかに分解した。DT <sub>50</sub> は両土壌とも35日未満であった。  主代謝物は抽出性放射能であった。また <sup>14</sup> C <sub>2</sub> も両土壌とも約8%生成された。	(1983年)	代-174
環1 (GLP)	加水分解運命	pH5, 7及び9の緩衝液	設定濃度: 240mg/L 試験温度: 25℃	いずれの緩衝液においてもグルホシネートは安定であり、有意な加水分解は認められなかった。	(1985年)	代-178
環2 (GLP)	水中光分解運命	pH5, 7及び9の緩衝液	設定濃度: 1.5mg/L 試験温度: 25℃	いずれの緩衝液においてもグルホシネートは安定であり、有意な光分解は認められなかった。	(1985年)	代-180
環3 (GLP)	水中光分解運命	自然水	設定濃度: 1.5mg/L 試験温度: 25℃	自然水中ではグルホシネートは極僅かに分解した。DT <sub>50</sub> は北緯35°における春期太陽光換算で約1200日であった。  主分解物は抽出性放射能であった。また <sup>14</sup> C <sub>2</sub> も極僅か生成された。	(1992年)	代-183
環4	土壌吸着	非火山灰土壌:3種 火山灰土壌:1種	試験温度: 25℃	本試験供試土壌におけるグルホシネートのK <sub>oc</sub> は102~788であった。	(1996年)	代-186

代謝物一覧

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	グルホシネート (Hoe 039866) (AE F039866)	アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル (メチル) ホスフィ -ト (生体内では遊離酸 : Hoe 035956)	

## 1. 動物体内運命試験

(資料 代1)

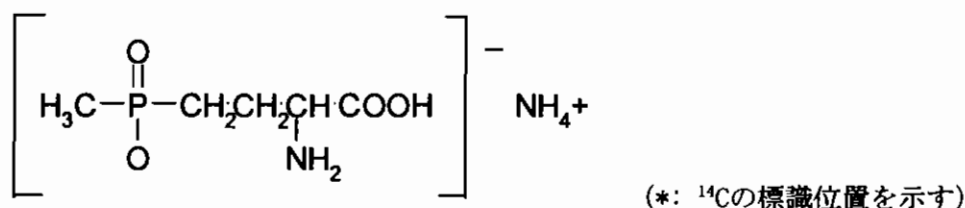
(1) 低用量単回経口及び静脈内投与による雌雄ラットにおける吸収、排泄及び分布

試験機関：

報告書作成年：1983年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート

比放射能； 放射化学的純度；98% (経口)、97% (静脈内)

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、各群雌雄各5匹 (体重170~210g)

試験方法：

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを2%デンプン液に懸濁し0.4mg/mlの投与溶液を調製する。これを胃ゾンデを用い強制経口投与した。また静脈内投与用としてホリエチレングリコール溶液(0.4mg/ml)を調製した。投与は尾静脈注射で行った。投与量はいずれも2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
2	<sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与 単回静脈内投与	各群： 雌：5匹 雄：5匹	尿：投与0-4、4-8、8-24、以降24時間毎に168時間 までの9回採取 糞：投与降24時間毎に168時間までの7回採取 ケージ洗液：投与0-24、24-48及び48-168時間 臓器及び組織：168時間後の屠殺時に採取 血液：5、15、30分後、1、2、3、4、6、8、24、32、 48、以降24時間毎に168時間までの17回採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアロートにシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackerd製、model2425）で測定した。血液は酵素処理（digestin水溶液）した後、パーヒドロールで脱色しシンチレーションカテルを加えて測定した。糞試料については、ホジナイズし風乾後、サンプルキタライザーで燃焼し、発生した<sup>14</sup>C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、水とともにホジナイズし、アロートをtissue dissolverに溶解し、さらにパーヒドロールで脱色した後シンチレーションカテルを加えて測定した。

結 果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は速やかであり、48時間後には80%以上の投与放射能が糞を介して排泄された。一方、尿中排泄率は低く、投与後168時間の間に尿経由で排泄された放射能はおよそ7%（雄）～14%（雌）であつた。なお、呼気中に放射能は検出されなかつた。

経口投与群の放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 経口投与群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-2	2.55	86.6	0.27	92.47	2.72	58.2	0.98	67.02
4-8	1.92				2.03			
8-24	1.13				3.09			
24-48	0.38	1.66	0.10	2.14	1.58	17.0	0.54	19.12
48-72	0.16	0.03	0.07	1.40	0.71	4.30	0.14	8.81
72-96	0.10	0.06			0.59	0.47		
96-120	0.08	0.74			0.55	0.14		
120-144	0.05	0.01			0.45	0.10		
144-168	0.09	0.01			0.22	1.14		
合計	6.46	89.1	0.44	96.01	11.94	81.4	1.66	94.95

静脈内投与された放射能の主排泄経路は、経口投与群とは違い、雌雄ともに尿中であつた。排泄は速やかであり、48時間後には70%以上の投与放射能が尿を介して排泄された。一方、糞中排泄率は低く、投与後168時間の間に糞を介して排泄された放射能はおよそ8%（雌）～18%（雄）であつた。したがって、胆汁排泄は少ないものと考えられる。

なお、経口投与群同様、呼気中に放射能は検出されなかつた。

静脈内投与群の放射能の尿中及び糞中排泄率は、表2の通りであつた。

表2 静脈内投与群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合％）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-2	49.2	11.08	1.49	86.17	65.9	4.31	0.79	91.23
4-8	10.2				8.06			
8-24	14.2				12.17			
24-48	5.21	3.09	0.54	8.84	3.40	1.98	0.38	5.76
48-72	1.65	1.52	0.10	7.30	1.07	0.48	0.05	4.10
72-96	0.77	1.17			0.46	0.24		
96-120	0.55	0.46			0.32	0.13		
120-144	0.38	0.16			0.23	0.74		
144-168	0.31	0.23			0.17	0.21		
合計	82.47	17.70	2.13	102.31	91.78	8.09	1.22	101.09

以上の結果から、尿中及び糞中放射能の半減期をもとめた。各排泄物中の放射能の消長は二相性であり、各相について半減期を算出した。

表3に結果を示した。

表3 排泄物中放射能の半減期

投与経路		尿		糞	
		雄	雌	雄	雌
経口投与	半減期（時間）			-*	
	第Ⅰ相	5.3 ± 0.3	7.4 ± 2.1		14.4 ± 6.7
	第Ⅱ相	58.4 ± 24.0	52.1 ± 19.0		60.7 ± 44.2
静脈内投与	半減期（時間）			25.4 ± 8.1	
	第Ⅰ相	7.9 ± 1.5	8.0 ± 1.2		9.4 ± 3.8
	第Ⅱ相	64.3 ± 42.7	52.3 ± 23.0		163.7 ± 92.7

\*：個体間のバラツキが大きく算出不能であった。

## 2) 吸収

静脈内投与群における尿中排泄の割合を用いて、経口投与群の尿中排泄率から算出した場合（申請者の計算による）、経口投与における被験物質の吸収率は雄で約8%、雌で約13%であり、消化管からの吸収は少なかった。

$$\text{吸収率（％）} = \text{経口投与群尿中排泄率（％）} / \text{静脈内投与群尿中排泄率（％）}$$

## 3) 血中濃度

経口投与群においては、吸収率が低かったため血中濃度も低かった。特に雄では顕著であり、投与30分後に検出限界（0.006μg/ml）を僅かに越えたが、その後濃度上昇が認められず3時間後には再び検出限界未満となった。雌では投与15分後には検出限界を超えており1時間後に最大濃度を迎え（0.027μg/ml）その後減衰し8～24時間の間に検出限界未満となった。

静脈内投与群では投与5分後で血中濃度がおおよそ4.5（雄）～5.0（雌）μg/mlであり、そ

の後急速に減衰し、雌では48時間後、雄では72時間後には検出限界未満となった。血中濃度推移を表4に示した。

表4 血中濃度推移 (µg/ml)

投与後時間	経口投与群		静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌
0.083	-	-	4.471	4.956
0.25	<0.006	0.017	2.053	2.154
0.5	0.007	0.024	1.060	1.046
1	0.008	0.027	0.408	0.413
2	0.006	0.016	0.115	0.147
3	<0.006	0.010	0.061	0.075
4	<0.006	0.009	0.051	0.061
6	<0.006	0.007	0.037	0.041
8	<0.006	0.007	0.034	0.030
24	<0.006	<0.006	0.016	0.014
32	<0.006	<0.006	0.014	0.011
48	<0.006	<0.006	0.013	<0.007
72	<0.006	<0.006	<0.008	<0.007
96	<0.006	<0.006	<0.008	<0.007
120	<0.006	<0.006	<0.008	<0.007
144	<0.006	<0.006	<0.008	<0.007
168	<0.006	<0.006	<0.008	<0.007

経口投与群においては雌雄とも投与1時間後に最高値 (Tmax) を示した。半減期は雌で3.7時間であり、雄ではCmaxが検出限界の2倍未満であったため算出不能であった。

静脈内投与群では操作上Cmaxを求めることが困難であることから、5分後 (C5min) の値を基に半減期を求めた。血中濃度推移曲線は減衰速度から3つの相に分けられ、第I相における半減期は雌雄とも約20分であった。

血中濃度動態パラメーターを表5に示した。

表5 血中濃度動態パラメーター

投与群	パラメーター	雄	雌
経口投与群	Cmax (µg/ml)	0.008	0.027
	Tmax (時間)	1	1
	T1/2 (時間)	-	3.7
	AUC (µg · hr/ml)	0.012	0.088
静脈内投与群	C5min (µg/ml)	4.471	4.956
	T1/2 (時間)		
	第I相	0.33	0.35
	第II相	3.7	2.7
	第III相	97.2	125.8
	AUC (µg · hr/ml)	2.399	2.410



#### 4) 分布

経口投与群についてのみ臓器・組織中の放射能を調べた。試料採取時の投与後168時間においては、ほぼ排泄が終了しており、体内残留放射能は極めて低く、腎臓、肝臓等の一部の臓器を除いて検出限界を超える放射能は認められなかった。

臓器・組織中の放射能は最大でも投与放射能の僅か0.09%程度（雄の腎臓及び雌の肝臓）であった。

臓器・組織中の放射能分布を表6に示した。

表6 臓器・組織内分布（経口投与群最終投与168時間後）

臓器・組織	雄		雌	
	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)	投与放射能%	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)	投与放射能%
脾臓	<0.01	-	<0.01	-
腎臓	0.173	0.086	0.014	0.003
生殖腺	0.068	0.050	<0.01	-
肝臓	0.024	0.060	0.045	0.095
心臓	<0.01	-	<0.01	-
肺	<0.01	-	<0.01	-
骨格筋	<0.01	-	<0.01	-
皮下脂肪	<0.01	-	<0.01	-
腎脂肪	<0.01	-	<0.01	-
脳	<0.01	-	<0.01	-
骨	<0.01	-	<0.01	0.016
血液	<0.01	-	<0.01	-
血漿	<0.01	-	<0.01	-
合計		0.20		0.11

#### 5) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、経口投与群においては主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与48時間後には、雌雄ともに投与放射能の75%以上が排泄された。

排泄は二相性であり第I相における半減期は尿中で5～7時間、糞中で14時間（雌のみ）であった。

血中濃度については吸収が少なかったため、 $C_{\text{max}}$ は雄で $0.008\mu\text{g}/\text{ml}$ 、雌で $0.027\mu\text{g}/\text{ml}$ と極めて低いレベルであった。 $T_{\text{max}}$ は1時間（雌雄とも）と早かった。

また、排泄が速やかなため、屠殺時（投与168時間後）の臓器及び組織中の放射能は極めて低かった。

一方静脈内投与群においては、投与放射能の大部分が尿を介して排泄された。糞中排泄が少なかったことから、胆汁排泄は少ないものと考えられる。排泄は非常に速やかであり投与24時間後には、投与放射能の85%（雄）～90%（雌）が排泄された。

排泄は経口投与群同様二相性であり第I相における半減期は尿中で8時間、糞中で9～25時間であった。

血中濃度については、実質 $C_{\text{max}}$ が測定できないため $C_{5\text{min}}$ を初期値として見た場合、 $T_{1/2}$ は20分（雌雄とも）と極めて早かった。

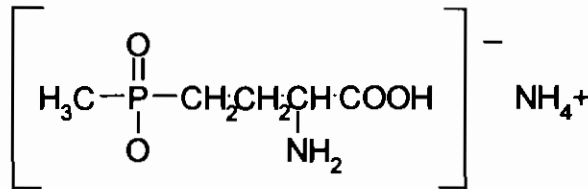
(資料 代2)

(2) 低用量単回経口投与による雌ラットにおける代謝

試験機関：  
報告書作成年：1983年

供試標識化合物：

構造式；



(\*: <sup>14</sup>Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雌20匹 (平均体重200g)

試験方法：

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し2.04mg/mlの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として10mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
10	<sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	雌：20匹	尿及び糞： 投与0-24、24-48、48-120時間の3回採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、アリコートに直接シンチレーションカテルを加え液体シンチレーションカウンター (Berthold製、BF-5000) で測定した。糞試料については、サンプルオキシゲイターで燃焼し発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定・定量；

尿試料については陽イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィーもしくはTLCによる精製

後、<sup>14</sup>C-GCもしくはGC/MS分析により同定及び定量を行った。

糞試料については、抽出液を陽イオン交換樹脂カラムクロマトグラフィーで精製後、GCもしくはTLCにおける標準品とのクロマトグラフィーにより定量を行った。

結 果：

1) 排泄物中の放射能特性

投与放射能は主に糞を介して排泄された。投与120時間後において、糞中には投与放射能の83.2%が、尿中には11.9%が排泄された。排泄は速やかであり48時間後には大部分が排泄された。

尿及び糞中へ排泄された放射能の大部分が同定された。

尿中放射能については、その71.4%（投与放射能の 8.5%）が未変化のグルホシネート [A]であった。代謝物としては

が認められた。生成量は  
であった。

また糞中放射能については、その 88.9 %（投与量の74.0%）が未変化のグルホシネート [A]であった。代謝物については

同定され、その生成量は糞中放射能の  
であった。また同定には至らなかった代謝物が確認された。

試料	投与量に対する割合 (%)		
	0~48時間	49~120時間	0~120時間
尿中放射能 グルホシネート [A]	10.6	1.3	11.9 8.5 (71.4)
糞中放射能 グルホシネート [A]	82.0	1.2	83.2 74.0 (88.9)
合計	92.6	2.5	95.1

2) まとめ

グルホシネートのラットにおける排泄は速く、投与後48時間以内に投与量の90%以上が排泄された。主な排泄経路は糞中であった。

尿中及び糞中ともに放射能の大部分は未変化のグルホシネートに由来した。主代謝物は  
であったが、生成量は少なかった。その

他の代謝物としては尿中に僅かに

が認められたのみであった。

雌ラットにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 雌ラットにおけるグルホシネートの推定代謝経路

(資料 代3)

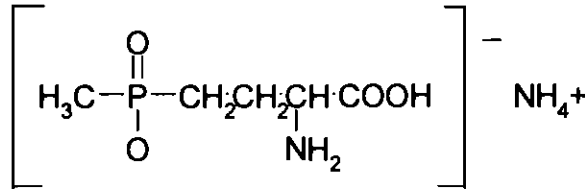
(3) 高用量単回経口投与による雌雄ラットにおける吸収、排泄、分布及び代謝

試験機関：

報告書作成年：1985年[GLP]

供試標識化合物：

構造式；



(\*: <sup>14</sup>Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能；

放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、各群雌雄各3匹(体重160～195g)

試験方法：

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを2%バレイショスターチ液に懸濁し133.5mg/gの投与溶液を調製する。これを胃ゾンデを用い強制経口投与した。投与回数は単回とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響があると予測される投与量として800mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与群	動物数	試料採取
800	I群：6時間後屠殺 II群：24時間後屠殺 III群：血中濃度測定	各群： 雌：3匹 雄：3匹	尿、糞：投与0-6時間(I群)、0-24(II群) 血液：15、30分後、1、2、4、6、7.5及び24時間後に採取 臓器：全群で屠殺時に採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、アリコートにシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター(Berthold製、BF-5003A又はPackerd製、TRI-CARB 4530)で測定した。糞、血液及び臓器試料については、サンプルキタイで燃焼し発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定・定量；

糞及び臓器試料を熱水で抽出し、熱水抽出液を調製した。これらの抽出液及び尿試料をHPLCにより精製分画し、GC/MS分析により同定及び定量を行った。

結 果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。投与量が多いため他の低用量試験結果に比べ排泄は遅く、雌雄とも24時間後で投与放射能の20%程度しか排泄されなかつた。

一方、尿中排泄率は低く、投与後24時間の間に尿経由で排泄された放射能は雌雄とも4%程度であつた。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 各投与群の放射能排泄率

試料	投与群	排泄率 (投与放射能割合%)	
		雄	雌
尿	I 群 (0-6時間)	0.5	1.2
	II 群 (0-24時間)	3.9	3.6
糞	I 群 (0-6時間)	<0.001	<0.001
	II 群 (0-24時間)	21.4	23.9
合計	I 群 (0-6時間)	0.5	1.2
	II 群 (0-24時間)	25.3	27.5

2) 血中濃度

放射能の吸収速度は速く、投与15分後には既にCmaxに近い血中放射能濃度が認められた。Tmaxは0.5~1時間であり、その後減衰したが24時間後においても比較的高い血中濃度を維持した。

減衰は二相性であり、第I相の半減期 (T1/2) は雄で4.9時間、雌で4.0時間であつた。血中濃度推移を表2に示した。

表2 血中濃度推移

投与後時間	血中濃度 (µg当量/ml)	
	雄	雌
0.25	2.306	2.422
0.5	2.936	3.319
1	3.179	-*
2	2.832	2.906
4	2.103	-*
6	1.578	1.318
7.5	1.631	1.412
24	1.611	2.350

\*: 燃焼が適切に行われなかつたため測定不能

### 3) 分布

体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓において最も高い放射能濃度が認められた。しかしながら吸収率が低いため投与放射能に対する割合は非常に低かった。他の臓器中の放射能濃度は非常に低く、投与放射能に対する割合については重量の大きい肝臓で腎臓とほぼ同じになったのを除けば、極端に小さいものであった。また雌雄における差は認められなかった。

臓器中の放射能分布を表3に示した。

表3 臓器内分布

臓器	投与群	雄		雌	
		放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)	投与放射能%	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)	投与放射能%
腎臓	I 群 (6時間)	68.4	0.07	46.4	0.06
	II 群 (24時間)	76.6	0.07	15.3	0.03
肝臓	I 群 (6時間)	13.7	0.07	11.6	0.04
	II 群 (24時間)	14.4	0.06	6.4	0.02
脾臓	I 群 (6時間)	8.9	0.003	14.5	0.003
	II 群 (24時間)	17.7	0.004	13.4	0.003
脳	I 群 (6時間)	0.5	0.0006	0.7	0.0008
	II 群 (24時間)	1.0	0.001	1.0	0.001

### 4) 代謝

#### 尿中放射能

尿中の放射能については、その70%以上が未変化のグルホシネート由来であった。主代謝物は

であり、II 群の雌試料を用いた未同定代謝物の詳細な分析により

も同程度確認された。

尿中放射能の特性を表4に示した。

表4 尿中放射能特性

投与群		尿中放射能割合 (%)		
		グルホシネート[A]		
雄	I 群 (6時間)	68.5		
	II 群 (24時間)	72.5 (2.8)		
雌	I 群 (6時間)	73.9		
	II 群 (24時間)	72.0 (2.6)		

カッコ内は投与放射能割合 (%)

#### 糞中放射能

糞中放射能の95%以上が熱水で抽出され、抽出放射能の全てが未変化のグルホシネートであった。代謝物は全く認められなかった。

糞中放射能の特性を表5に示した。

表5 糞中放射能特性

投与群		糞中放射能割合 (%)	
		抽出液放射能 グルホシネート[A]	非抽出性放射能
雄	I 群 (6時間)	97.6	2.4
	II 群 (24時間)	96.3(20.6)	3.7(0.8)
雌	I 群 (6時間)	98.8	1.2
	II 群 (24時間)	95.6(22.8)	4.4(1.1)

カッコ内は投与放射能割合 (%)

#### 臓器中放射能

臓器中放射能についても、熱水抽出液中の放射能の多くは未変化のグルホシネート由来であった。主代謝物は であった。脾臓及び脳については放射能が非常に低いためグルホシネートの存在のみ確認されたが定量には至らなかった。

臓器中放射能の特性を表6に示した。

表6 臓器中放射能特性 (臓器中放射能割合%)

臓器	抽出性放射能			非抽出性放射能	回収率 (%)
	グルホシネート[A]		合計		
腎臓*	63.7(0.038)		87.4(0.052)	3.1(0.002)	90.5
肝臓*	25.0(0.010)		52.5(0.021)	34.3(0.014)	86.8
脾臓	-		90.7	4.7	95.4
脳	-		39.4	26.4	65.8

\*: 雌のI群の値、カッコ内は投与放射能割合 (%)

#### 5) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、投与放射能は主に糞を介して排泄された。低用量における試験結果と比較した場合、排泄速度は明らかに遅延しており投与24時間後にあっても、雌雄ともに投与放射能の20%程度しか排泄されなかった。

血中濃度については投与後速やかに上昇し、Tmaxは約1時間(雌雄とも)と早かったが、その後24時間後までは減衰は認められたものの比較的高い濃度を維持した。Cmaxは雌雄ともに約3ppmであった。血中濃度の減衰は二相性であり、第I相のT1/2は4(雌)~5(雄)時間であった。

また臓器中の放射能分布については、分析に供した臓器中の放射能はいずれも少なく、最大でも投与放射能の僅か0.07%(雄の腎臓及び肝臓)であった。

体内に吸収されたグルホシネートは、その大部分が代謝を受けずに未変化のまま排泄されたが、一部は へと代謝された。  
が生成された。

ラットにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。



図1 ラットにおけるグルホシネートの推定代謝経路

(資料 代4)

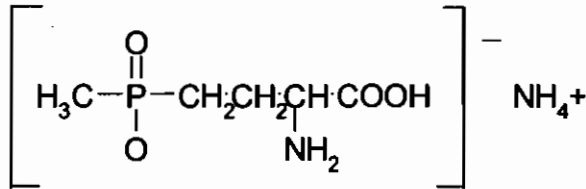
(4) 2用量単回経口投与による雌雄ラットにおける臓器・組織内濃度推移

試験機関：

報告書作成年：1988年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



(\*: <sup>14</sup>Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由；

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、各群雌雄各5匹 (体重：雄平均204g、雌平均189g)

試験方法；

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し約0.6mg及び9mg/gの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。投与量は、低用量群を2mg/kg体重、中間用量群を30mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される低用量投与群として2mg/kg及び中間用量投与群として30mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量	投与回数	動物数	試料採取
低用量群 (2mg/kg) 及び 中間用量群 (30mg/kg)	<sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	各群： 雌：5匹 雄：5匹	臓器及び組織： 投与1、6、24及び96時間後に屠殺し臓器・組織を採取

試料の放射能測定；

水とともにホジナイズあるいは粉碎し、アリートをDigestinで可溶化し、さらにパーヒドロールで脱色した後ソチレーションカテルを加えて放射能を測定した。

結 果：

1) 低用量群

雌雄とも体内に吸収された放射能の主排泄器官である腎臓に最も高い放射能が認められた。次いで肝臓で高い放射能が認められ、雄の生殖腺を除きいずれの臓器も投与6時間後までにはCmaxを迎え、以降徐々に減衰した。

他の臓器・組織中の放射能については、投与1時間後には多くの臓器・組織中に放射能が認められたが、濃度はいずれも低く6時間後には大部分が検出限界未満となった。ただし雄の生殖腺では比較的高い放射能が認められ、96時間後にあっても腎臓に次いで高い放射能濃度を示した。

臓器・組織中の放射能分布を表1-1～1-2に示した。

表1-1 雄における臓器・組織内放射能推移

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合%			
	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	0.0829	0.0524	0.0359	<LOD	0.009	0.006	0.004	0.000
腎臓	0.7775	0.8108	0.5268	0.3848	0.281	0.319	0.188	0.169
生殖腺	0.0428	0.0860	0.1636	0.1461	0.023	0.047	0.088	0.089
肝臓	0.0678	0.0628	0.0594	0.0521	0.125	0.138	0.120	0.115
心臓	0.0118	<LOD	<LOD	<LOD	0.002	-	0.000	-
肺	0.0353	<LOD	0.0069	<LOD	0.012	0.002	0.002	-
骨格筋	0.0111	<LOD	<LOD	<LOD	0.194	-	-	-
皮下脂肪	0.0600	<LOD	<LOD	<LOD	0.131	-	0.008	-
腹膜後脂肪	0.0528	<LOD	<LOD	<LOD	0.095	-	-	-
脳	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.000	-	-	-
骨	0.0126	<LOD	<LOD	<LOD	0.023	0.008	-	-
血液	0.0224	<LOD	<LOD	<LOD	0.050	-	-	-
合計	-	-	-	-	0.907	0.510	0.402	0.373

表1-2 雌における臓器・組織内放射能推移

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合%			
	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	0.0769	0.0692	<LOD	0.0142	0.008	0.008	0.001	0.001
腎臓	0.6030	0.4173	0.2207	0.1285	0.181	0.137	0.066	0.038
生殖腺	0.1084	0.0254	<LOD	<LOD	0.002	0.000	-	-
肝臓	0.0393	0.0679	0.0483	0.0521	0.068	0.124	0.081	0.085
心臓	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.001	-	-	-
肺	0.0412	0.0490	<LOD	<LOD	0.012	0.009	0.001	-
骨格筋	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	0.067	0.028	-	-
皮下脂肪	0.0566	<LOD	<LOD	<LOD	0.139	-	-	-
腹膜後脂肪	0.0487	<LOD	<LOD	<LOD	0.058	-	-	-
脳	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	-	-
骨	0.0141	0.0067	<LOD	<LOD	0.035	0.009	0.003	-
血液	0.0457	<LOD	<LOD	<LOD	0.112	0.004	-	-
合計	-	-	-	-	0.616	0.287	0.147	0.124

2) 中間用量群

臓器・組織中の放射能分布は低用量群とほぼ同様であった。最も高い放射能が認められたのは腎臓であり、次いで肝臓であった。投与量に比例して全ての臓器・組織で低用量群に比べて放射能濃度は高かったが、投与放射能に対する割合は総じて低かった。

臓器・組織中の放射能分布を表2-1～2-2に示した。

表2-1 雄における臓器・組織内放射能推移

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合%			
	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	0.5936	0.9309	0.4839	0.2560	0.005	0.008	0.004	0.002
腎臓	7.323	5.744	2.450	0.8137	0.164	0.145	0.061	0.019
生殖腺	0.5322	1.442	1.584	0.5703	0.020	0.057	0.063	0.023
肝臓	0.4004	0.9584	0.8708	0.4820	0.053	0.116	0.101	0.068
心臓	0.1192	0.0423	0.0241	<LOD	0.001	0.001	0.000	0.000
肺	0.3796	0.3360	0.0906	0.0321	0.008	0.007	0.002	0.001
骨格筋	0.0981	0.0363	0.0166	<LOD	0.126	0.046	0.022	0.007
皮下脂肪	0.2724	0.1365	0.0620	0.0318	0.044	0.022	0.010	0.004
腹膜後脂肪	0.2519	0.0647	0.0409	0.0395	0.032	0.008	0.006	0.004
脳	0.0432	0.0348	0.0386	0.0240	0.001	0.001	0.001	0.000
骨	0.1070	0.0901	0.0863	0.0535	0.017	0.014	0.014	0.008
血液	0.3197	0.0940	0.0244	0.0154	0.051	0.015	0.004	0.002
合計	-	-	-	-	0.524	0.437	0.288	0.135

表2-2 雌における臓器・組織内放射能推移

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合%			
	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後	1時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	0.8590	1.360	0.4666	0.1412	0.007	0.010	0.003	0.001
腎臓	6.691	4.755	0.9460	0.2624	0.156	0.099	0.021	0.006
生殖腺	0.5886	0.4409	0.2103	0.0351	0.001	0.001	0.000	0.000
肝臓	0.4361	0.8251	0.8191	0.3508	0.058	0.093	0.100	0.047
心臓	0.1677	0.0518	0.0141	<LOD	0.002	0.001	0.000	-
肺	0.4998	0.1923	0.1015	0.0352	0.010	0.004	0.002	0.001
骨格筋	0.1187	0.0336	0.0132	<LOD	0.152	0.041	0.017	-
皮下脂肪	0.3902	0.1213	0.0585	<LOD	0.063	0.019	0.010	-
腹膜後脂肪	0.2676	0.0525	0.0188	<LOD	0.034	0.006	0.002	-
脳	0.0339	0.0425	0.0482	0.0324	0.001	0.001	0.001	0.001
骨	0.1352	0.0884	0.0575	<LOD	0.022	0.014	0.009	-
血液	0.5381	0.0967	0.0219	<LOD	0.086	0.015	0.004	-
合計	-	-	-	-	0.592	0.303	0.170	0.056

### 3) まとめ

性別、投与量に係わらず体内吸収放射能の主排泄器官である腎臓及び代謝器官である肝臓において最も高い放射能が認められた。

雄の生殖腺を除いた全ての臓器・組織において投与6時間後までにC<sub>max</sub>をむかえ、その後減衰しており、特に蓄積傾向が認められる臓器・組織はなかった。

中間用量群の臓器・組織中の放射能濃度は、低用量群と比較した場合投与量に比例して高くはなかったが、投与放射能に対する割合は総じて低かった。これは低用量群に比較し中間用量群で吸収率の低下が起こったことによるものと考えられた。

(資料 代5)

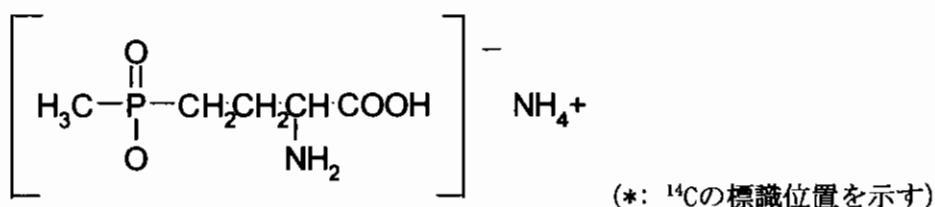
(5) 低用量単回経口投与による雌雄ラットにおける排泄及び分布

試験機関：

報告書作成年：1985年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能；

放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雌雄各6匹（体重210～265g）

試験方法：

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
2	<sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	雌：6匹 雄：6匹	尿：投与0-2、2-4、4-8、8-24、以降24時間毎に168時間までの10回採取 糞：投与0-8、8-24、以降24時間毎に168時間までの8回採取 ケージ洗液： 投与0-24、24-48及び48-168時間の3回採取 臓器及び組織 168時間後の屠殺時に採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアロートにシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackard製、model2425）で測定した。血液は酵素処理（digestin水溶液）した後、パーヒトロールで脱色しシンチレーションカテルを加えて測定した。糞試料については、ホジナイズし風乾後、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した<sup>14</sup>C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、水とともにホジナイズし、アロートをtissue dissolverに溶解し、さらにパーヒトロールで脱色した後シンチレーションカテルを加えて測定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には、およそ80%の投与放射能が糞を介して排泄された。試験終了時の168時間後には雌雄とも約90%の投与放射能が排泄された。一方、尿中排泄率は低く、投与後168時間の間に尿経由で排泄された放射能は8(雌)～9%(雄)程度であつた。

また試験終了時には、雌雄とも投与放射能のほぼ全てが排泄された。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-2	0.822	4.639	0.143	90.45	1.495	2.792	0.331	92.06
2-4	2.391				0.742			
4-8	0.900				1.745			
8-24	3.028	78.53			3.441	81.51		
24-48	0.942	6.222	0.102	7.266	0.531	3.408	0.047	3.986
48-72	0.384	0.487	0.005	2.339	0.173	0.931	0.039	1.642
72-96	0.252	0.100			0.092	0.089		
96-120	0.242	0.600			0.052	0.029		
120-144	0.053	0.135			0.047	0.028		
144-168	0.045	0.036			0.025	0.137		
合計	9.059	90.75	0.250	100.06	8.343	88.92	0.417	97.69

以上の結果から、尿中及び糞中放射能の半減期をもとめた。各排泄物中の放射能の消長は二相性であり、各相について半減期を算出した。

表2に結果を示した。

表2 排泄物中放射能の半減期

	尿		糞	
	雄	雌	雄	雌
半減期（時間）				
第Ⅰ相	4.6 ± 1.6	5.5 ± 1.4	5.1 ± 1.1	5.3 ± 1.4
第Ⅱ相	35.7 ± 7.9	39.0 ± 17.5	47.4 ± 25.2	30.4 ± 11.5

## 2) 分布

試料採取時の投与後168時間においては、ほぼ排泄が終了しており、体内残留放射能は極めて低く、腎臓、肝臓等の一部の臓器を除いて放射能は認められなかった。

臓器・組織中の放射能は最大でも投与放射能の僅か0.05%程度であり、蓄積は全く認められなかった。但し、雄の残体からは投与放射能の1%を超える放射能が認められた。

臓器・組織中の放射能分布を表3に示した。

表3 臓器・組織内分布（最終投与168時間後）

臓器・組織	雄		雌	
	投与放射能%	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)	投与放射能%	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)
脾臓	0.0006	0.0023*	0.0008	0.0082
腎臓	0.0540	0.1382	0.0154	0.0469
生殖腺	0.0549	0.0779	—	<LOD
肝臓	0.0717	0.0284	0.0466	0.0234
心臓	—	<LOD	—	<LOD
肺	—	<LOD	—	<LOD
骨格筋	0.0212	0.0010*	—	<LOD
皮下脂肪	0.0065	0.0051*	—	<LOD
腎脂肪	—	<LOD	—	<LOD
脳	0.0007	0.0019*	0.0005	0.0012*
骨	—	<LOD	—	<LOD
残体	1.122	0.0293	0.0786	0.0018*
血液	—	<LOD	—	<LOD
血漿	—	<LOD	—	<LOD

\*：申請者の計算による（個体別の<LODを0として算出した）

## 3) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、投与された放射能は主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の約80%が排泄された。

排泄は2相性であり第I相における半減期は尿中で4～5時間、糞中で約5時間であった。

また、排泄が速やかなため、屠殺時（投与168時間後）の臓器及び組織中の放射能濃度は総じて低かった。そのなかにあつては雌雄ともに排泄器官である腎臓で最も高い放射能が認められ、次いで肝臓で高い放射能が認められた。また雄の生殖腺でも比較的高い放射能が認められた。



(資料 代6)

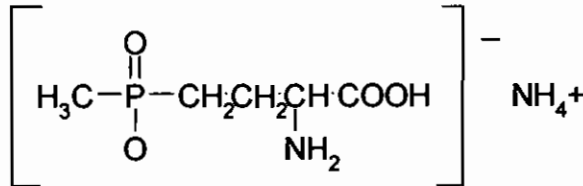
(6) 中間用量単回経口投与による雌雄ラットにおける排泄及び分布

試験機関：

報告書作成年：1985年[GLP]

供試標識化合物：

構造式：



(\*: <sup>14</sup>Cの標識位置を示す)

化学名；アソモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィンート

比放射能；

放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雌雄各6匹（体重160～165g）

試験方法：

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は30mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として30mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
30	<sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	雌：6匹 雄：6匹	尿：投与0-2、2-4、4-8、8-24、以降24時間毎に168時間までの10回採取 糞：投与0-8、8-24、以降24時間毎に168時間までの8回採取 ケージ洗液： 投与0-24、24-48及び48-168時間の3回採取 臓器及び組織 168時間後の屠殺時に採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアリコートにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackard製、model2425）で測定した。血液は酵素処理（digestin水溶液）した後、パーヒトロールで脱色しシンチレーションカクテルを加えて測定した。糞試料については、真空ナイズし風乾後、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、水とともに真空ナイズし、アリコートをtissue dissolverに溶解し、さらにパーヒトロールで脱色した後シンチレーションカクテルを加えて測定した。

結果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には70%以上（異常値を示した1匹の雄を除く）の投与放射能が排泄された。試験終了時の168時間後には80%以上の投与放射能が排泄された。一方、尿中排泄率は低く、投与後168時間の間に尿経路で排泄された放射能は7%（雄）～11%（雌）程度であつた。投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-2	1.162	4.220	0.120	78.18	2.567	78.59	0.426	88.40
2-4	0.764				0.562			
4-8	1.674				1.607			
8-24	2.329	69.58			4.653			
24-48	0.782	3.869	0.071	4.722	1.650	5.340	0.032	7.022
48-72	0.199	0.653	0.005	1.064	0.310	0.334	0.012	0.953
72-96	0.075	0.010			0.120	0.033		
96-120	0.051	0.008			0.055	0.008		
120-144	0.029	0.004			0.040	0.006		
144-168	0.022	0.008			0.035	—		
合計	7.085	78.38	0.196	83.97	11.60	84.31	0.470	96.38

以上の結果から、尿中及び糞中放射能の半減期をもとめた。各排泄物中の放射能の消長は二相性であり、各相について半減期を算出した。

表2に結果を示した。

表2 排泄物中放射能の半減期

	尿		糞	
	雄	雌	雄	雌
半減期（時間）				
第I相	7.3 ± 1.3	6.3 ± 1.0	4.6 ± 0.9	6.0 ± 1.5
第II相	36.2 ± 7.4	36.5 ± 5.8	—*	37.6 ± 7.3

\*：全ての個体でまぢまぢに<LODになっているため算出不能であつた。

## 2) 分布

試料採取時の投与後168時間においては、ほぼ排泄が終了しており、体内残留放射能は極めて低く、腎臓、肝臓等の一部の臓器を除いて放射能は認められなかった。

臓器・組織中の放射能は最大でも投与放射能の僅か0.04%であり、蓄積は全く認められなかった。

臓器・組織中の放射能分布を表3に示した。

表3 臓器・組織内分布 (投与168時間後)

臓器・組織	雄		雌	
	投与放射能%	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)	投与放射能%	放射能濃度 ( $\mu\text{g}$ 当量/g)
脾臓	0.0005	0.0541*	0.0009	0.0938*
腎臓	0.0108	0.3567	0.0033	0.1261
生殖腺	0.0143	0.3043	—	<LOD
肝臓	0.0404	0.2351	0.0399	0.2881
心臓	—	<LOD	—	<LOD
肺	—	<LOD	—	<LOD
骨格筋	—	<LOD	—	<LOD
皮下脂肪	—	<LOD	—	<LOD
腎脂肪	—	<LOD	—	<LOD
脳	—	<LOD	—	<LOD
骨	—	<LOD	0.0164	0.0687*
残体	—	<LOD	—	<LOD
血液	—	<LOD	—	<LOD

\*：申請者の計算による（個体別の<LODを0として算出した）

## 3) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の70%以上が排泄された。

排泄は二相性であり第I相における半減期は尿中で6～7時間、糞中で4～6時間であった。

また、投与168時間後における臓器及び組織中の放射能濃度については、雌では主排泄器官である腎臓で最も高い放射能が認められ、次いで肝臓であった。雌においては肝臓で最も高い放射能が認められ、次いで腎臓であった。また雄の生殖腺でも比較的高い放射能が認められた。

他の臓器及び組織中の放射能は極めて低かった。

(資料 代7)

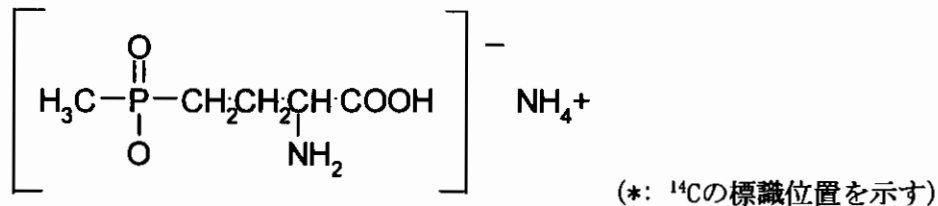
(7) 低用量(10mg/kg)及び高用量(100mg/kg)反復経口投与による雌ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1986年[GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート

比放射能； 放射化学的純度；99%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雌各群15匹(体重170～220g)

試験方法：

投与； $^{14}\text{C}$ 標識グルホシネートを水に溶解し、投与溶液を調製する。これを投与量が10mg/kgもしくは100mg/kg体重となるよう単回経口投与した。さらにそれに引き続く下記非標識体の反復投与(6日間)の後、再び3日間反復投与した。

非標識グルホシネートを水に溶解し、投与溶液を調製する。投与量が10mg/kgもしくは100mg/kg体重となるよう経口投与した。投与期間は、 $^{14}\text{C}$ 標識グルホシネートの初回投与翌日から6日間とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として10mg/kgを低用量として設定し、その10倍の100mg/kgを高用量として設定した。

試験群・試験項目構成；

投与群	投与回数	動物数	試料採取
低用量群 (10mg/kg) 及び 高用量群 (100mg/kg)	グループA <sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	各群2匹	尿及び糞 0-24時間の1回採取 臓器及び組織 投与24時間後の屠殺時に採取
	グループB ① <sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与 ②非標識体： 6日間反復経口投与 ③ <sup>14</sup> C標識体： 3日間反復経口投与	各群5匹	尿及び糞 ①0-24時間、24-48時間、③各投与 後0-24時間の5回採取 臓器及び組織 最終投与24時間後の屠殺時に採取
	グループC Bと同一	各群5匹	尿及び糞 ①0-24時間、24-48時間、③各投与 後0-24時間及び最終投与後24-48 時間の6回採取 臓器及び組織 最終投与48時間後の屠殺時に採取
	グループD Bと同一	各群3匹	血液 ①及び③の各投与後、0、1、2、4、 6、8、24時間後に採取 臓器及び組織 最終投与24時間後の屠殺時に採取

試料の放射能測定；

液体試料中の放射能は、分取したアリコートにシンチレーションカクテル10mlを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Canberra-Packard製、TRI-Carb 4530）で測定した。固体試料については、サンプルカウンターで燃焼し発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定；

HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、低用量群の単回投与群（グループA）では、24時間後には約73%の投与放射能が排泄された。また高用量群の単回投与群（グループA）では、24時間後には投与放射能の大部分（93.2%）が排泄された。反復投与群においても排泄は同様に速やかであり、主排泄経路は糞中であつた。最終投与24時間後には、いずれのグループにおいても総投与放射能の90%以上が排泄された。

静脈内投与試験における主排泄経路が尿中であり、胆汁排泄が少なかったこと、また本試験において糞中放射能のうちの大部分が未変化のグルホシネートであつたことから、糞中放射能のうち体内吸収後胆汁排泄により再び消化管に排泄された放射能の割合は低く、そ

の多くが未吸収のまま排泄されたものとする。

また、尿中排泄はいずれの群においても少なく、5.0%未満に留まった。

投与放射能の尿中及び糞中排泄率は、表1の通りであった。

表1-1 尿中排泄率（全投与放射能に対する割合%）

		初回投与後	初回投与後	2回目投与後	3回目投与後	最終投与後	最終投与後	合計
		0-24時間	24-48時間	0-24時間	0-24時間	0-24時間	24-48時間	
低用量群	グループA	3.8	-	-	-	-	-	3.8
	グループB*	1.1	0.2	0.9	1.1	1.0	-	4.3
	グループC*	1.3	0.2	0.8	1.1	1.1	0.3	4.8
高用量群	グループA	4.9	-	-	-	-	-	4.9
	グループB*	1.0	0.2	0.8	0.8	0.7	-	3.5
	グループC*	1.2	0.3	1.0	1.0	1.0	0.3	4.8

表1-2 糞中排泄率（全投与放射能に対する割合%）

		初回投与後	初回投与後	2回目投与後	3回目投与後	最終投与後	最終投与後	合計
		0-24時間	24-48時間	0-24時間	0-24時間	0-24時間	24-48時間	
低用量群	グループA	72.9	-	-	-	-	-	72.9
	グループB*	22.6	1.6	22.1	22.0	21.6	-	89.9
	グループC*	25.7	4.0	23.2	24.0	23.1	1.2	101.2
高用量群	グループA	93.2	-	-	-	-	-	93.2
	グループB*	22.0	2.8	23.9	27.6	25.8	-	102.1
	グループC*	24.8	3.1	22.4	26.6	25.1	1.3	103.3

\*：標識化合物4回の総投与放射能に対する割合

## 2) 臓器内分布

臓器中の分布は低く、投与放射能の0.1%を越える臓器は認められなかった。

体内に吸収されたグルホシネートは主に尿中に排泄されるため、尿排泄器官である腎臓において最も高濃度に放射能分布が認められた。投与放射能に対する臓器中の放射能割合は肝臓で最も高かったが、臓器重量が大きいため濃度としては腎臓より低かった。

表2 臓器内分布（最終投与24時間後、但しグループBは48時間後）

		肝臓		腎臓		脾臓		脳	
		投与放射能%	濃度 (mg/kg)	投与放射能%	濃度 (mg/kg)	投与放射能%	濃度 (mg/kg)	投与放射能%	濃度 (mg/kg)
低用量群	グループA	0.091	0.265	0.037	0.724	0.005	0.253	0.0013	0.019
	グループB	0.057	0.632	0.009	0.592	0.002	0.352	0.0007	0.036
	グループC	0.044	0.505	0.007	0.464	0.002	0.315	0.0007	0.041
	グループD	0.055	0.747	0.013	1.071	0.002	0.436	0.0009	0.052
高用量群	グループA	0.068	2.02	0.013	2.26	0.004	1.68	0.0011	0.139
	グループB	0.024	2.11	0.005	2.50	0.001	2.85	0.0008	0.363
	グループC	0.013	1.10	0.003	1.34	0.001	1.43	0.0006	0.297
	グループD	0.024	2.80	0.004	2.71	0.002	3.42	0.0007	0.373

### 3) 血中濃度

中用量群においては、いずれの投与時点でも投与後1時間が最も血中放射能が高かった。高用量群では、多少変動が認められたが概ね投与後2時間前後で最高血中放射能濃度が認められた。

また、いずれの投与群においてもTmax以降は比較的速やかに血中放射能は減少した。各投与時における半減期は2~5時間であった。反復投与期は半減期が経時的に長くなる傾向が認められたが、それほど明確なものではなかった。

血中濃度の推移を表3に示した。

表3 血中濃度の推移

標識体投与後時間	低用量群 (グループD)			高用量群 (グループD)		
	血中濃度* ( $\mu\text{g}$ 当量/ml)	Tmax (時間)	T1/2 (時間)	血中濃度* ( $\mu\text{g}$ 当量/ml)	Tmax (時間)	T1/2 (時間)
初回投与後	1時間	0.106	1	0.900	2	2.33
	2時間	0.088		1.248		
	4時間	0.066		0.552		
	6時間	0.065		0.450		
	8時間	0.070		0.471		
	24時間	0.039		0.217		
2回目投与後	1時間	0.136	1	0.929	2	4.50
	2時間	0.121		1.143		
	4時間	0.079		0.747		
	6時間	0.109		0.476		
	8時間	0.075		0.475		
	24時間	0.045		0.310		
3回目投与後	1時間	0.248	1	1.653	1	3.39
	2時間	0.207		1.416		
	4時間	0.136		1.065		
	6時間	0.150		0.580		
	8時間	0.125		0.800		
	24時間	0.086		0.398		
最終投与後	1時間	0.242	1	1.521	4	4.47
	2時間	0.195		1.126		
	4時間	0.160		1.732		
	6時間	0.159		0.971		
	8時間	0.155		0.964		
	24時間	0.108		0.458		

\* : グルホシネート換算値

### 4) 代謝

#### ① 尿中代謝物

尿中放射能については、その大部分が未変化のグルホシネートであった。主代謝物は、  
であり、高用量群でより高い割合で生成された。また、

も僅かながら両投与群で認められた。

表 4-1~4-2に尿中における代謝物割合を示した。

表 4-1 低用量群の尿中代謝物 (尿中放射能に対する割合%)

	グルホシネート [A]		
グループA			
投与後0-24時間	88.3(3.36)		
グループB			
初回投与後 0-24時間	88.7(0.98)		
24-48時間	72.0(0.14)		
2回目投与後0-24時間	97.4(0.88)		
3回目投与後0-24時間	98.0(1.08)		
最終投与後 0-24時間	84.7(0.85)		
合計 (総放射能割合%)	3.93		
グループC			
初回投与後 0-24時間	86.9(1.13)		
24-48時間	100.0(0.20)		
2回目投与後0-24時間	97.0(0.78)		
3回目投与後0-24時間	84.1(0.92)		
最終投与後 0-24時間	86.9(0.96)		
24-48時間	100.0(0.30)		
合計 (総放射能割合%)	4.29		

表 4-2 高用量群の尿中代謝物 (尿中放射能に対する割合%)

	グルホシネート [A]		
グループA			
投与後0-24時間	83.1(4.07)		
グループB			
初回投与後 0-24時間	78.0(0.78)		
24-48時間	70.8(0.14)		
2回目投与後0-24時間	78.5(0.63)		
3回目投与後0-24時間	76.1(0.61)		
最終投与後 0-24時間	77.3(0.54)		
合計 (総放射能割合%)	2.70		
グループC			
初回投与後 0-24時間	79.9(0.96)		
24-48時間	80.3(0.24)		
2回目投与後0-24時間	80.7(0.81)		
3回目投与後0-24時間	75.8(0.76)		
最終投与後 0-24時間	78.6(0.79)		
24-48時間	71.6(0.21)		
合計 (総放射能割合%)	3.77		

n.d. : 検出せず、カッコは総投与放射能に対する割合(%)



② 糞中代謝物

高用量群のグループBの試料のみ代謝物分析に供した。

尿と同様、糞中においても放射能の大部分が未変化のグルホシネートであった。主代謝物は

も認められたが生成量は少なかった。

表5に糞中代謝物の割合を示した。

表5 糞中代謝物（糞中放射能に対する割合％）

	初回投与後 0-24時間	2回目投与後 0-24時間	3回目投与後 0-24時間	最終投与後 0-24時間	合計(全投与放 射能割合％)
抽出放射能	95.8(21.1)	95.3(22.8)	96.5(26.6)	95.7(24.7)	95.2
グルホシネート[A]	92.7(20.4)	88.3(21.1)	90.1(24.9)	90.8(23.4)	89.8

n.d. : 検出せず、カッコは総投与放射能割合％

③ 臓器内代謝物

高用量群のグループBの試料のみ代謝物分析に供した。

尿と同様、臓器中においても放射能の多くが未変化のグルホシネートであった。主代謝物は、

は全く認められなかった。

表6に臓器中代謝物の割合を示した。

表6 臓器中代謝物（各臓器中放射能に対する割合％）

	肝臓	腎臓	脾臓	脳
抽出放射能	51.8(0.012)	59.5(0.003)	75.7(0.0008)	73.2(0.0006)
グルホシネート[A]	40.7(0.010)	47.9(0.002)	60.5(0.0006)	49.7(0.0004)

n.d. : 検出せず

5) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与24時間後には低用量群のグループAを除き、投与放射能の90%以上が排泄された。しかしながら血中濃度の上昇は急峻であり、投与後1～2時間後にはT<sub>max</sub>が認められた。また、血中濃度半減期も2～5時間と短かった。これらのことから、投与されたグルホシネートの吸収は主に消化管上部で起こるものと推察された。

尿中、糞中及び臓器中の主代謝物は であつた。主代謝経路は、  
の生成であり、

へと代謝された。しかしながら、グルホシネートは代謝を受けず未変化のまま体外に排泄される割合が多く、代謝物の生成量は少なかった。グルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 グルホシネートの雌ラットにおける推定代謝経路

(資料 代8)

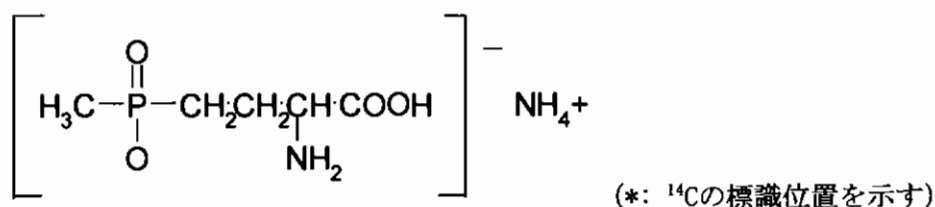
(8) 低用量単回経口投与による雌雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1986年[GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能； 放射化学的純度；99%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識することにより  
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雌雄各10匹 (体重180～212g)

試験方法：

投与；非標識グルホシネートを水に溶解し、0.4mg/mlの投与溶液を調製する。雌雄ともに投与量が2mg/kg体重となるよう14日間反復経口投与した。

これとは別に<sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し、0.366mg/gの投与溶液を調製する。これを非標識体の最終投与翌日に強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
2	非標識体： 14日間反復経口投与 <sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	雌：10匹 雄：10匹	尿及び糞 <sup>14</sup> C標識体投与0-24、24-48及び 48-96時間の3回採取 臓器及び組織 96時間後の屠殺時に採取

試料の放射能測定；

液体試料中の放射能は、分取したアリコートにシンチレーションカクテル10mlを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Canberra-Packard製、TRI-Carb 4530）で測定した。固体試料については、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した<sup>14</sup>C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定；

HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には85%以上の投与放射能が排泄された。静脈内投与試験における主排泄経路が尿中であり、胆汁排泄が少なかったことから、本試験における糞中放射能のうち、吸収後胆汁排泄により再び消化管に排泄された放射能の割合は低く、その多くが未吸収のまま排泄されたものとする。

尿中排泄は僅か6.0%以下に留まった。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄			雌		
	尿中排泄	糞中排泄	総排泄量	尿中排泄	糞中排泄	総排泄量
0-24	4.2	78.0	82.2	4.6	76.0	80.6
24-48	0.8	4.7	5.5	0.6	4.3	4.9
48-96	0.4	0.3	0.7	0.6	1.0	1.6
合計	5.4	83.0	88.4	5.8	81.3	87.1

2) 分布

体内に吸収されたグルホシネートは主に尿中に排泄されるため、尿排泄器官である腎臓において最も高濃度に放射能分布が認められた。投与放射能に対する臓器中の放射能割合は肝臓で最も高かったが、臓器重量が大きいため濃度で見ると腎臓に比べて低かった。その他の臓器及び組織中の放射能は低かった。脳及び脂肪組織中の放射能濃度は血中濃度と等しかった。

表2 臓器・組織内分布（最終投与96時間後）

臓器・組織	雄		雌	
	投与放射能%	濃度 (mg/kg)	投与放射能%	濃度 (mg/kg)
肝臓	0.067	0.033	0.097	0.055
腎臓	0.036	0.108	0.095	0.276
全血	0.005	0.003	0.003	0.002
脳	0.001	0.003	0.001	0.003
脾臓	0.001	0.011	0.001	0.013
脂肪組織	0.001	0.003	0.001	0.003
合計	0.111	-	0.198	-

### 3) 代謝

尿、糞抽出物及び臓器抽出物中の放射性物質をHPLCにより分析した。

#### ① 尿中代謝物

雄の0-24時間プール尿における放射能については、約80%が未変化のグルホシネートであった。一方、雌では尿中放射能の全てが未変化のグルホシネートであった。代謝物については、雄の尿中の

が認められ

たが、生成量はいずれも低かった。

表2に尿中における代謝物の経時変化を示した。

表2 尿中代謝物（投与放射能に対する割合%）

	雄		雌
	0-24時間	24-48時間	0-24時間
グルホシネート[A]	3.2	0.5	4.6
尿中総放射能	4.2	0.8	4.6

#### ② 糞中代謝物

尿と同様、糞中においても放射能の大部分が未変化のグルホシネート（糞中総放射能の79.1%（雄）、75.7%（雌）、0-48時間）であった。代謝物については

認められた。また、も認められ、雄で糞中総放射能の、雌であった。その他2種類の代謝物が認められたが生成量はいずれも少なく、同定には至らなかった。

表3に代謝物の雌雄の糞中における経時変化を示した。

表3 糞中代謝物（投与放射能に対する割合%）

	雄		雌	
	0-24時間	24-48時間	0-24時間	24-48時間
グルホシネート[A]	62.3	3.1	58.3	2.5
抽出放射能	73.3	4.3	70.7	3.8

#### ③ まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の85%以上が排泄された。

糞中の主代謝物は、雌雄ともにであった。尿中の主代謝物は、雄では糞と

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

同様 であつたが、雌では代謝物は認められなかつた。

ラットにおけるグルホシネート[A]の主代謝経路は、  
の生成であり、さらに へと代  
謝された。しかしながら、グルホシネートは代謝を受けず未変化のまま体外に排泄され  
る割合が多く、代謝物の生成量は少なかつた。

グルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 グルホシネートのラットにおける推定代謝経路

(資料 代9)

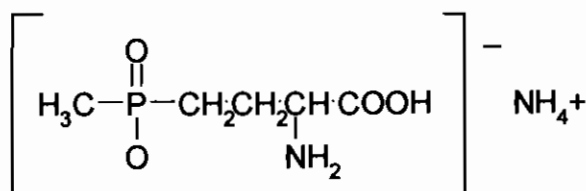
(9) 低用量単回経口投与による雌雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1986年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



(\*: <sup>14</sup>Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である  
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

を標識することにより

供試動物：ウイスター系ラット、雌雄各10匹 (体重140~200g)

試験方法：

投与； <sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し、0.4239mg/gの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
2	<sup>14</sup> C標識体： 単回経口投与	雌：10匹 雄：10匹	尿及び糞 投与0-24、24-48及び48-96時間の 3回採取 臓器及び組織 96時間後の屠殺時に採取

試料の放射能測定；

液体試料中の放射能は、分取したアリコートにシンチレーションカクテル10mlを加え、直接液体シンチレーションカウンター (Canberra-Packard製、TRI-Carb 4530) で測定した。固体試料については、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、その放射能を測定した。

## 代謝物の同定；

HPLC分析における標準品とのコクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

## 結 果：

### 1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には80%以上の投与放射能が排泄された。静脈内投与試験における主排泄経路が尿中であり、胆汁排泄が少なかったことから、本試験における糞中放射能のうち、吸収後胆汁排泄により再び消化管に排泄された放射能の割合は低く、その多くが未吸収のまま排泄されたものとする。

尿中排泄は僅か6.0%程度であつた。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄			雌		
	尿中排泄	糞中排泄	総排泄量	尿中排泄	糞中排泄	総排泄量
0-24	6.0	88.2	94.2	6.1	80.5	86.6
24-48	0.8	4.2	5.0	0.6	9.5	10.1
48-96	0.4	0.1	0.5	0.7	0.7	1.4
合計	7.2	92.5	99.7	7.4	90.7	98.1

### 2) 分布

体内に吸収されたグルホシネートは主に尿中に排泄されるため、尿排泄器官である腎臓において最も高濃度に放射能が認められた。投与放射能に対する臓器中の放射能割合は、雌においては肝臓で最も高かったが、臓器重量が大きいため濃度で見れば腎臓に比べて低かった。

その他の臓器及び組織中の放射能濃度は低かった。

表2 臓器・組織内分布（最終投与96時間後）

臓器・組織	雄		雌	
	投与放射能%	濃度 (mg/kg)	投与放射能%	濃度 (mg/kg)
肝臓	0.066	0.027	0.059	0.038
腎臓	0.089	0.217	0.024	0.098
全血	0.001	0.001	0.001	0.001
脳	0.002	0.004	0.001	0.003
脾臓	0.001	0.009	0.001	0.014
脂肪組織	0.002	0.038	0.001	0.004
合計	0.161	-	0.087	-

### 3) 代謝

#### ① 尿中代謝物

雌雄ともに0-24時間プール尿中の放射能は、全て未変化のグルホシネートであつた。代謝物は、全く認められなかった。

表2に尿中における代謝物の経時変化を示した。



表2 尿中代謝物（投与放射能に対する割合%）

	雄	雌
	0-24時間	0-24時間
グルホシネート[A]	6.0	6.1
尿中総放射能	6.0	6.1

② 糞中代謝物

尿と同様、糞中においても、雌雄とも抽出放射能の全てが未変化のグルホシネートであった。代謝物については全く認められなかった。糞中総放射能の10%程度は非抽出性であった。

表3に代謝物の雌雄の糞中における経時変化を示した。

表3 糞中代謝物（投与放射能に対する割合%）

	雄		雌	
	0-24時間	24-48時間	0-24時間	24-48時間
抽出放射能	75.9	2.9	71.1	7.6
グルホシネート[A]	75.9	2.9	71.1	7.6
非抽出性放射能	12.3	1.3	9.4	1.9

4) まとめ

グルホシネート[A]は水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の80%以上が排泄された。

代謝物は全く認められず、排泄物中の放射能（糞については抽出放射能）は全て未変化のグルホシネート[A]であった。

臓器では、腎臓中に最も高濃度の放射能が認められ、次いで肝臓に比較的高い濃度の放射能が認められた。他の臓器及び組織中の放射能は極めて低かった。

(資料 代10)

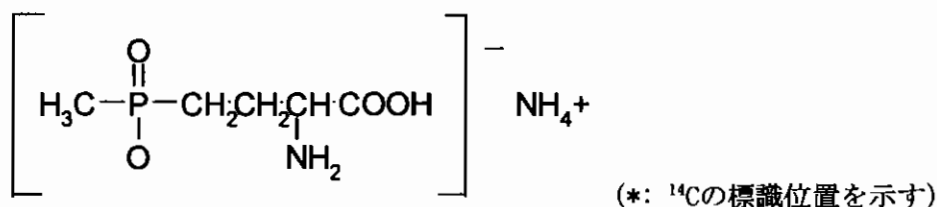
(10) 低用量単回経口投与による雌雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能；

放射化学的純度；93%以上

標識位置の設定理由；

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雌雄各5匹（体重200～210g）

試験方法；

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを生理食塩水に溶解し、0.366mg/gの投与溶液を調製する。これを強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
2	単回 経口投与	雌：5匹 雄：5匹	尿及び糞 24時間毎に投与96時間まで4回採取

試料の放射能測定；

尿試料は重量測定後、アジ化ナトリウム溶液で希釈し、アリコートを分取しシチレシオンカテルを加え、直接液体シチレシオンカウンター（Cannberra-Packard製、TRI-Carb 4530）により放射能を測定した。糞試料は、アジ化ナトリウム溶液100mLと共にホモジナイズし、アリコートを風乾したのち、サンプルキタダイザーで燃焼し放射能を測定した。

代謝物の同定；

HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には90%以上の投与放射能が排泄された。静脈内投与試験における主排泄経路が尿中であり、胆汁排泄が少なかったことから、本試験における糞中放射能のうち、吸収後胆汁排泄により再び消化管に排泄された放射能の割合は低く、その多くが未吸収のまま排泄されたものとする。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、下表の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄			雌		
	尿中排泄	糞中排泄	総排泄量	尿中排泄	糞中排泄	総排泄量
0-24	8.1	87.6	95.7	7.7	90.7	98.4
24-48	1.1	2.7	3.8	0.7	4.4	5.1
48-72	0.5	0.3	0.8	0.2	0.1	0.3
72-96	0.2	0.1	0.3	0.1	0.1	0.2
合計	9.9	90.7	100.6	8.7	95.3	104.0

2) 代謝

① 尿中代謝物

雌雄ともに尿中放射能の約半分（投与放射能の4~5%）が未変化のグルホシネートであつた。代謝物については、

であ

つた。

なお、

であると考えられた。

尿中の未変化体及び代謝物は経時的に減少し、投与72時間以降はほとんど認められなかつた。

表2-1~2に代謝物の雌雄の尿中における経時変化を示した。

表2-1 雄の尿中における代謝物の経時変化（投与放射能に対する割合%）

	試料採取期間（投与後時間）				
	0-24	24-48	48-72	72-96	0-96
グルホシネート[A]	4.1	0.6	0.3	0.1	5.1
尿中総放射能	8.1	1.1	0.5	0.2	9.9

表 2-2 雌の尿中における代謝物の経時変化（投与放射能に対する割合%）

	試料採取期間（投与後時間）				
	0-24	24-48	48-72	72-96	0-96
グルホシネート[A]	3.9	0.4	0.1	0.1	4.5
尿中総放射能	7.7	0.7	0.2	0.1	8.7

② 糞中代謝物

尿と同様、糞中においても放射能の大部分が未変化のグルホシネート（糞中総放射能の83.4%（雄）、72.0%（雌））であった。代謝物については 同定された。最も多く生成された代謝物は、グルホシネートの であり、生成量は雄で糞中総放射能の 、雌で であった。他の代謝物は、 が認められたが、その生成量は低く、各々糞中総放射能の であった。

表 3 に代謝物の雌雄の糞中における経時変化を示した。

表 3 糞中における代謝物の経時変化（投与放射能に対する割合%）

	雄			雌		
	0-24	24-48	0-48	0-24	24-48	0-48
グルホシネート[A]	73.5	1.8	75.3	66.0	2.5	68.5
糞中総放射能	87.6	2.7	90.3	90.7	4.4	95.1

③ まとめ

グルホシネート[A]は水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、経口投与された放射能は未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の95%以上が排泄された。

糞中代謝物としてはグルホシネート[A]の が最も多く認められたが、これは体内で代謝されたのち胆汁排泄により消化管内に排泄されたものではなく、腸内細菌によって消化管内で されたものと考えられる。

一方、体内に吸収されたグルホシネート[A]は、その半分は未変化のまま尿中に排泄された。代謝経路としては、 が主な経路であり、その後 より主代

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

謝物である                   へと代謝された。

ラットにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 グルホシネートのラットにおける推定代謝経路

(資料 代11)

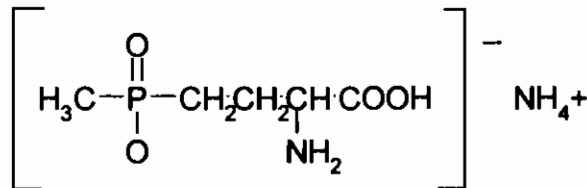
(11) 高用量単回経口投与ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



(\*: <sup>14</sup>Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウムDL-ホモアロニン-4-イル(メチル)ホスフィネート

比放射能； 放射化学的純度；99.9%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雌雄各12匹（3群各2～5匹）（体重190～230g）

試験方法：

投与；<sup>14</sup>C標識グルホシネートを水に溶解し投与溶液を調製する。これを強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は500mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、致死に至らない高用量として500mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
I	500	単回強制 経口投与	雌雄とも 各5匹	投与24時間後屠殺 屠殺時に臓器・組織及び血液を採取 尿、糞及びケージ洗液：0-24時間
II	500	単回強制 経口投与	雌雄とも 各5匹	投与96時間後屠殺 屠殺時に臓器・組織及び血液を採取 尿、糞及びケージ洗液：0-24、24-48、 48-72、72-96時間
III	500	単回強制 経口投与	雌雄とも 各2匹	投与2及び6時間後屠殺 屠殺時に臓器・組織及び血液を採取

試料の放射能測定；

尿、ケージ洗浄液及び血漿試料は少量の<sup>75</sup>Se化ナトリウムを含む水で定容後、アロートを分取しシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Canberra-Packard製、TRI-Carb 1900CA）により放射能を測定した。糞試料は、<sup>75</sup>Se化ナトリウム水溶液と供に振とう混合し、アロートを風乾したのち、サンプルキタライザーで燃焼し放射能を測定した。臓器・組織及び血球試料は、<sup>75</sup>Se化ナトリウム水溶液を加え、ホジナイザーで低温下磨砕均質化したのちアロートを風乾し、サンプルキタライザーで燃焼し放射能を測定した。

代謝物の単離・同定；

HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物の同定及び定量を行った。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は糞中であつた。尿中排泄は糞中排泄に比較して非常に少なかつた。排泄は速やかであり、投与48時間後には雄で投与放射能の70%以上、雌で80%以上が排泄された。投与96時間後には排泄はほぼ終了し、雄で86.4%、雌で96.4%の投与放射能が体外に排泄された。

糞中排泄については、I群とII群の0-24時間試料で、雌雄とも大きなバラツキが認められた。これは投与量が多いため排泄に時間がかかり、0-24時間の短期間では個体差が大きかつたためと考えられる。

各投与群における糞中及び尿中排泄率を表1-1～1-2に示した。

表1-1 I群における排泄率（投与放射能に対する割合%）

性別	時間	尿中排泄	糞中排泄	ケージ洗液	総排泄量
雄	0-24	2.9	71.2	0.4	74.5
雌		3.3	34.6	0.6	38.5

表1-2 II群における排泄率（投与放射能に対する割合%）

性別	時間	尿中排泄	糞中排泄	ケージ洗液	総排泄量
雄	0-24	3.4	38.4	0.8	42.6
	24-48	2.3	25.1	1.5	28.9
	48-72	1.1	8.3	0.8	10.2
	72-96	0.9	3.4	0.5	4.8
	合計	7.7	75.2	3.5	86.4
雌	0-24	2.8	51.1	0.8	54.7
	24-48	1.3	26.7	0.8	28.8
	48-72	0.7	8.2	0.6	9.5
	72-96	0.4	2.6	0.4	3.4
	合計	5.2	88.6	2.6	96.4

## 2) 臓器・組織分布

最も高い放射能が認められた臓器は腎臓であり、投与2時間後にピークを観察した。吸収された放射能は主に尿中に排泄されること、吸排泄が早いことから投与後短時間で腎臓中に高い放射能が認められたと考えられる。

また、腎臓に次いで高い放射能が認められた臓器は肝臓及び脾臓であった。脳中の放射能濃度は他の臓器に比べて非常に低かったが、96時間後にあっても明確な減衰は認められなかった。脳を除き各臓器中の放射能濃度は2時間後が最も高く、経時的に減少した。

血中放射能濃度は、脳を除いて各臓器よりも低く、その多くが血漿中に存在した。血中の放射能濃度は臓器同様2時間後が最も高く、経時的に減少した。

各臓器及び組織における放射能濃度及び投与量に対する割合を表2-1～2-2に示した。

表2-1 各組織における放射能濃度 (μg当量/g)

臓器・組織	雄				雌			
	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後
腎臓	81.564	53.485	23.762	—	76.273	49.274	19.612	1.195
肝臓	12.205	14.795	5.641	2.017	17.653	9.813	6.556	0.678
脾臓	12.284	9.188	5.281	4.680	41.306	19.233	7.532	1.133
脳	0.344	0.553	0.319	0.661	0.582	1.061	<0.268	0.423
血球	0.804	0.383	0.264	0.215	0.963	0.502	0.465	<0.163
血漿	3.016	1.254	0.896	0.374	3.201	1.374	1.846	<0.055

表2-2 各組織における投与量放射能に対する割合 (%)

臓器・組織	雄				雌			
	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後
腎臓	0.096	0.070	0.034	—	0.091	0.061	0.027	0.054
肝臓	0.100	0.100	0.039	0.014	0.129	0.059	0.041	0.017
脾臓	0.005	0.003	0.002	0.002	0.019	0.005	0.003	0.002
脳	<0.001	0.001	<0.001	0.001	0.001	0.001	<0.001	0.001
血球	0.002	0.001	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001	<0.001
血漿	0.005	0.002	0.001	<0.001	0.007	0.002	0.003	<0.001

## 3) 代謝

### ① 尿中代謝物 (II群)

雌雄ともに尿中放射能の大部分が未

認められた。

また、雌雄とも が認められた。本代謝物は、  
 静脈内投与試験では全く認められてないことから、吸収されたグルホシネートが体内で  
 されたのではなく、消化管内で腸内細菌により生成された本代謝物が吸収  
 され、そのまま排泄されたものと考えられる。

なお、尿中に認められた と考えら  
 れた。



② 糞中代謝物（Ⅱ群）

尿と同様、糞中放射能の大部分は未変化のグルホシネートであり、雌雄ともに90%以上であった。主代謝物は、

なかった。なお、この代謝物は前述の通り、グルホシネートが消化管内の腸内細菌によって生成されたものと考えられる。他には が僅かに認められた以外、同定に至った代謝物はなかった。

排泄物中の放射能特性を表3に示した。

表3 Ⅱ群における排泄物中の放射能特性（投与放射能割合%）

		0-24時間	24-48時間	48-72時間	72-96時間	0-96時間*
雄	尿 グルホシネート[A]	3.4 2.52 (74.1)	2.3 1.79 (77.8)	1.1 0.91 (82.7)	0.9 0.70 (77.8)	7.7 5.92 (76.9)
	糞 グルホシネート[A]	38.4	25.1 23.78 (94.7)	8.3 7.74 (93.2)	3.4 3.08 (90.6)	75.2 72.11 (95.9)
雌	尿 グルホシネート[A]	2.8 2.22 (79.3)	1.3 1.03 (79.2)	0.7 0.63 (90.0)	0.4 0.39 (97.5)	5.2 4.27 (82.1)
	糞 グルホシネート[A]	51.1 49.30 (96.5)	26.7 24.54 (91.9)	8.2 7.66 (93.4)	2.6 2.50 (96.2)	88.6 84.00 (94.8)

カッコ内は尿あるいは糞中放射能に対する割合（%）

LOD：投与放射能の0.07-0.19%

\*：申請者の計算による

#### 4) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、体内への吸収率が低く未変化のまま主に糞を介して排泄された。

体内に吸収された放射能は、体内放射能の主排泄器官である腎臓に多く分布した。また、総じて臓器・組織中放射能のクリアランスは良好であった。

グルホシネートの代謝経路としては

となり排泄された。

排泄は非常に速やかであり、投与24時間後には投与放射能の95%以上が排泄された。

なお、糞中にはグルホシネートの  が認められたが、これは腸内細菌によって生成されたものと考えられる。

ラットにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 ラットにおける推定代謝経路