

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

農 薬 抄 録

一般名 : イソフェタミド
(用途別種類名) 「殺菌剤」

(申請年月日)

平成28年 1月 6日改訂

(作成会社名) 石原産業株式会社

(作成責任者)

目 次

	頁
1. 開発の経緯	1
2. 物理的・化学的性状	3
3. 生物活性	16
4. 適用及び使用上の注意	18
5. 残留性及び環境中予測濃度算定関係	19
6. 有用動植物等に及ぼす影響	38
7. 使用時安全上の注意、解毒法等	49
8. 毒性	50
8.1 急性毒性	55
8.2 皮膚及び眼に対する刺激性、皮膚感作性	59
8.3 急性神経毒性	67
8.4 亜急性毒性	70
8.5 慢性毒性及び発がん性	95
8.6 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性	141
8.7 変異原性	166
8.8 生体機能影響	179
8.9 その他の毒性	182
8.10 代謝物の毒性	185
8.11 製剤の毒性	189
9. 動植物及び土壌等における代謝分解	202
9.1 動物代謝に関する試験	211
9.2 植物代謝に関する試験	250
9.3 土壌中動態に関する試験	270
9.4 水中動態に関する試験	290
9.5 土壌吸着性に関する試験	300
[附] 開発年表	319

1. 開発の経緯

1.1 発明の背景

殺菌剤による農作物の病害防除は農業生産性の向上、食料の品質保持など安定した食料生産を確保する上で極めて重要である。特に *Botrytis* 属菌によって引き起こされる灰色かび病は、果菜類を中心に広範囲の植物を宿主とする多犯性の病害であり、果実全体を腐敗させることで収量や品質に甚大な被害を与えることが知られている。また、灰色かび病菌は生育スピードが比較的早く、その防除が困難であり、その為本病害は栽培期間を通じて、複数回の農薬散布による防除が必須となっているが、同一系統の薬剤の連用は薬剤耐性菌の発達を促し、本病害の防除をより困難にしている。よって、異なった系統の薬剤をローテーションで使用することが望ましく、現在も新しい薬剤の登場が待ち望まれている。

当社は、本病害に有効な化合物の探索に取り組み、年にフェナシルアミド系殺菌剤、イソフェタミドを発明するに至った。

1.2 開発の経過

1) 基礎研究

当社は、年(年)より、殺菌効果を持つ新規母核フェナシルアミド系化合物群に着目し、研究を進めた。その後の一連の合成展開の中で、年(年)に灰色かび病、菌核病、黒とう病、うどんこ病、夏疫病、黒星病といった各種病害に高い効果を示し、晩腐病に対しても活性を示す新規殺菌剤イソフェタミド(試験名:IKF-5411)を発明するに至った。

本化合物は発明当初から、既存剤の耐性菌にも高い効果を発揮することが判明していたが、その後の作用機構研究から、本剤が既存の殺菌剤と異なる作用点を持つ、全く新しい系統の剤であることが確認された。更に、より効果を高める製剤の検討等、社内での基礎研究を継続し、最終的に、年(年)よりイソフェタミド36.0%(%w/v)フロアブルの対外供試を開始した。なお海外においても、欧州、米国等で本剤の開発を進めている。

イソフェタミドの特徴は以下の通りである。

- (1) 各種病害に対し高い効果を示す殺菌剤であり、高い予防効果に加えて、安定した残効性、耐雨性、治療効果、浸達性を有する総合防除殺菌剤である。
- (2) 他剤の耐性菌に有効であることから、他剤との混合相手剤としても有用である。
- (3) 病原菌の呼吸を阻害する。
- (4) 病原菌に特異的に作用するため、その他の非標的生物に安全性が高い。
- (5) 作物に対しても安全性が高い。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2) 開発研究

基礎研究の結果に基づき、
年度（
年度）より、日本植物防疫協会を通じて、イソフェ
タミド 36.0% フロアブルの
ぶどう黒と
う病および灰色かび病
に対する委託試験を開始した。また翌
度（
年度）からは、あずき灰色かび病および菌核病、きゅうり灰色かび病および菌核病、
ぶどう
、レタス菌核病、
の試験を開始した。これらの試験結果によると、本剤は実用濃
度である 1000 倍、1500 倍
で高い防除効果が認められている。

2. 物理的・化学的性状

2.1 有効成分の名称及び化学構造

1) 一般名 イソフェタミド
 isofetamid (ISO 申請中)

2) 別名 商品名 ケンジャ
 試験名 IKF-5411

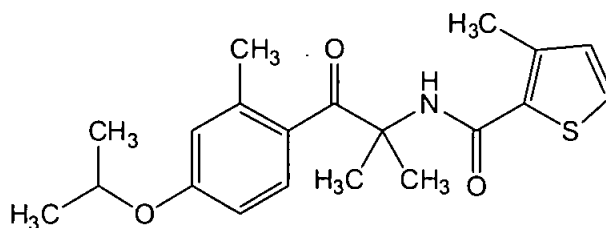
3) 化学名
IUPAC *N*[1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy-*o*-tolyl)-2-oxoethyl]-3-methylthiophene-2-carboxamide

N[1,1-ジメチル-2-(4-イソプロポキシ-*o*-トリル)-2-オキソエチル]-3-メチルチオフェン-2-カルボキサミド

CA *N*[1,1-dimethyl-2-[2-methyl-4-(1-methylethoxy)phenyl]-2-oxoethyl]-3-methyl-2-thiophenecarboxamide

N[1,1-ジメチル-2-[2-メチル-4-(1-メチルエトキシ)フェニル]-2-オキソエチル]-3-メチル-2-チオフェンカルボキサミド

4) 構造式



5) 分子式 C₂₀H₂₅NO₃S

6) 分子量 359.48

7) CAS No. 875915-78-9

2.2 有効成分の物理的・化学的性状

項目		測定値 (測定条件)	測定方法/試験施設
1)	外観	白色固体 (粉末)	官能法/ /2011年/GLP
	臭気	無臭	官能法/ /2011年/GLP
2)	密度	1.23 g/cm ³ (20℃)	比重瓶法 (OECD ガイドライン No. 109) /2011年/GLP
3)	融点	103.5~105.0℃	毛細管法 (OECD ガイドライン No. 102) /2011年/GLP
4)	沸点	測定不能: 176℃を超えると沸騰せず分解	Siwoloboff 法 (OECD ガイドライン No. 103) /2011年/GLP
5)	蒸気圧	4.2×10 ⁻⁷ Pa (25℃)	蒸気圧天秤法 (OECD ガイドライン No. 104) /2011年/GLP
6)	溶解度		
	水	5.33 mg/L (20℃)	カラム溶出法 (OECD ガイドライン No. 105) /2011年/GLP
有機溶媒	n-ヘプタン	1.2 g/L (20℃)	フラスコ法 (OECD ガイドライン No. 105) /2011年/GLP
	キシレン	61.4 g/L (20℃)	
	ジクロロエタン	>250 g/L (20℃)	
	アセトン	>250 g/L (20℃)	
	メタノール	>250 g/L (20℃)	
	n-オクタノール	31.7 g/L (20℃)	
	酢酸エチル	>250 g/L (20℃)	
7)	解離定数	pH 4~10 で解離定数を持たない	分光光度法 (OECD ガイドライン No. 112) /2011年/GLP
8)	オクタノール/水分配係数	Log Pow=2.5 カラム温度 40℃	HPLC 法 (OECD ガイドライン No. 117) /2011年/GLP
9)	生物濃縮性	分配係数 (n-オクタノール/水) が 3 未満であるため、濃縮性は未測定	
10)	土壌吸脱着係数	K _{adsF} = 6.56~20.78 K _{adsFoc} = 274~597 K ^{des} _F = 9.12~25.36 K ^{des} _{Foc} = 334~829 試験温度 25 ± 2℃	OECD ガイドライン No. 106 /2010年/GLP

項目		測定値 (測定条件)	測定方法/試験施設
安定性	11) 加水分解性	50 ℃の水溶液中で pH 4~9 の範囲に亘り安定	/2010 年/GLP
	12) 水中光分解性	25±2℃、キセノンランプ、 25.3 W/m ² (300~400 nm) <試験条件下> pH 7 緩衝液 半減期 ; 1.8 日 自然水 半減期 ; 1.4 日 <東京春換算値> pH 7 緩衝液 半減期 ; 5.9 日 自然水 半減期 ; 4.6 日	試験機関 及び試験 場所 /2012 年/GLP
	13) 熱	室温で安定	DSC 法 (OECD ガイドライン No. 113) /2011 年/GLP

14) UV、赤外、MS、NMR (¹H-、¹³C-)のスペクトル (2011 年 GLP)

① MS

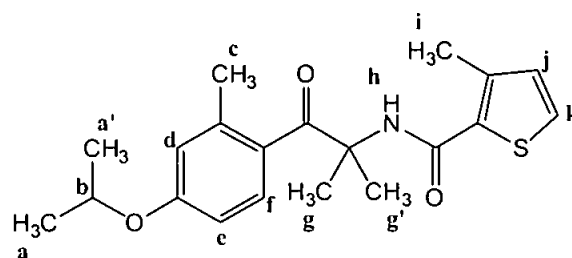
質量分析計 Quattro LC (パナキエル製) を用い、エレクトロスプレー/正 (ESP+)イオン化法により測定したイソフェタミドの質量スペクトラムを図 1 に、m/z=360 のプロダクトイオンの質量スペクトラムを図 2 に示す。

m/z 125 : [C₆H₅OS]⁺

m/z 182 : C₁₁H₁₃O₂ の脱離

② ¹H-NMR スペクトラム

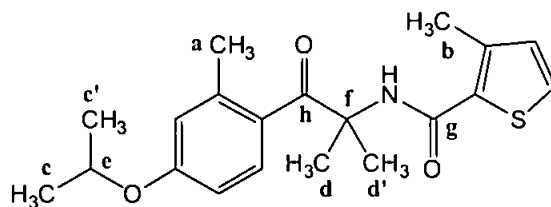
NMR スペクトル測定装置 Avance 500 MHz (ブルル製) を用い、重水素化クロロホルム中で測定したイソフェタミドの ¹H-NMR スペクトラムを図 3 に示した (基準物質 : TMS)。各シグナルの帰属を以下に示す。



ケミカルシフト (ppm)	プロトン数	帰属
1.3 (二重線)	6	a, a'
1.7 (一重線)	6	g, g'
2.4 (2つの一重線)	3, 3	c, i
4.6 (七重線)	1	b
6.9 (一重線)	1	h
6.6-7.5 (連続信号)	5	d, e, f, j, k
7.3 (一重線)	-	溶媒 (CDCl ₃)

③ ^{13}C -NMR スペクトラム

NMR スペクトル測定装置 Avance 500 MHz (ブルル-製) を用い、重水素化クロロホルム中で測定したイソフェタミドの ^{13}C -NMR スペクトラムを図 4 に示した (基準物質: TMS)。各シグナルの帰属を以下に示す。



ケミカルシフト (ppm)	帰属
16, 21	a, b
22	c, c'
25	d, d'
63	e
70	f
110-159	芳香族炭素
162	g
206	h
77	溶媒 (CDCl_3 , 三重線)

④ IR スペクトラム

フーリエ変換赤外分光光度計 3020 (Mattson Galaxy 製) を用い、KBr 法で、4000 ~ 500 cm^{-1} の測定範囲につき、分解能 4.0 cm^{-1} で測定したイソフェタミドの IR スペクトラムを図 5 に示した。特徴的な吸収を以下に示す。

波数 (cm^{-1})	帰属
3700-3300	水
3230	N-H 伸縮
3100-3000	C-H (芳香族) 伸縮
3000-2800	C-H (アルキル) 伸縮
1689	C=O (ケトン) 伸縮
1628	C=O (アミド) 伸縮
1600-1200	以下を含む吸収帯域: C-C (芳香族) 伸縮 C-O (エーテル) 伸縮 C-N 伸縮 CH ₃ 変角
1200-1000	以下を含む吸収帯域: C-H (芳香族) 面内変角
<1000	以下を含む吸収帯域: C-H (芳香族) 面外変角 C-S 伸縮 骨格振動

⑤ UV スペクトラム

ダブルビーム紫外・可視吸光光度計 M550 (Camspec 製) 及び光路長 1 cm の石英セルを用い、200~800 nm の走査範囲につき、走査間隔 0.1 nm 及びスリット幅 2 nm で、以下の水溶液中で測定したイソフェタミドの UV スペクトラムを各図に示した。

図 6 (精製水)

図 7 (0.1 M HCl 水溶液)

図 8 (0.1 M NaOH 水溶液)

イソフェタミドの極大吸収波長及びモル吸光係数を以下に示す。

溶媒	λ max (nm)	ϵ (モル吸光係数) ($\text{dm}^3/\text{mol}/\text{cm}$)
精製水 (pH 4.5)	264.3	15240
0.1 M HCl 水溶液 (pH 1.3)	267.3	15640
0.1 M NaOH 水溶液 (pH 12.8)	264.2	15910

図1 質量スペクトル

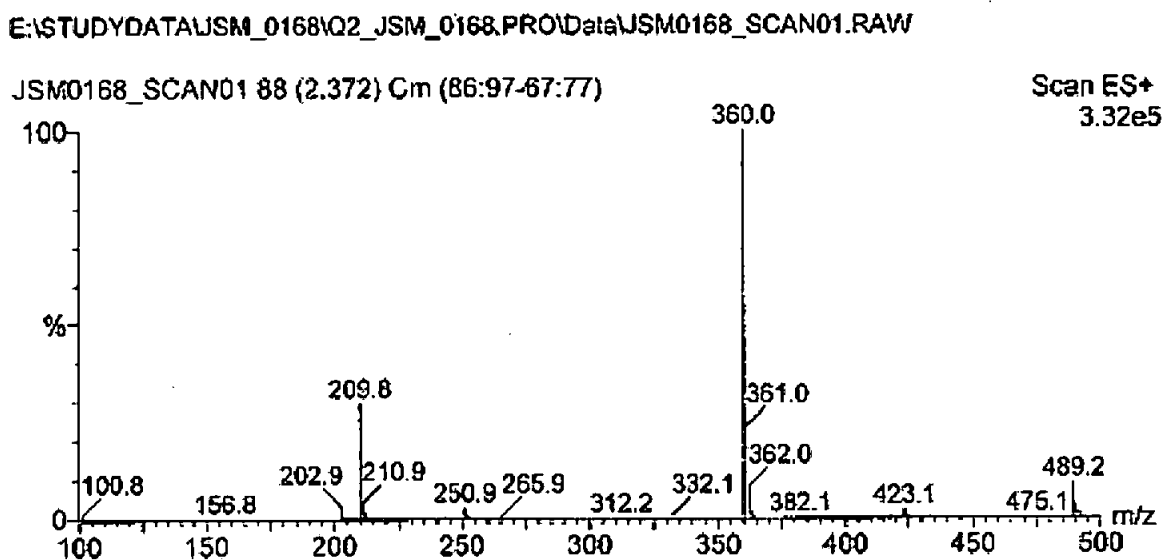


図2 質量スペクトル (プロダクトイオン、m/z=360)

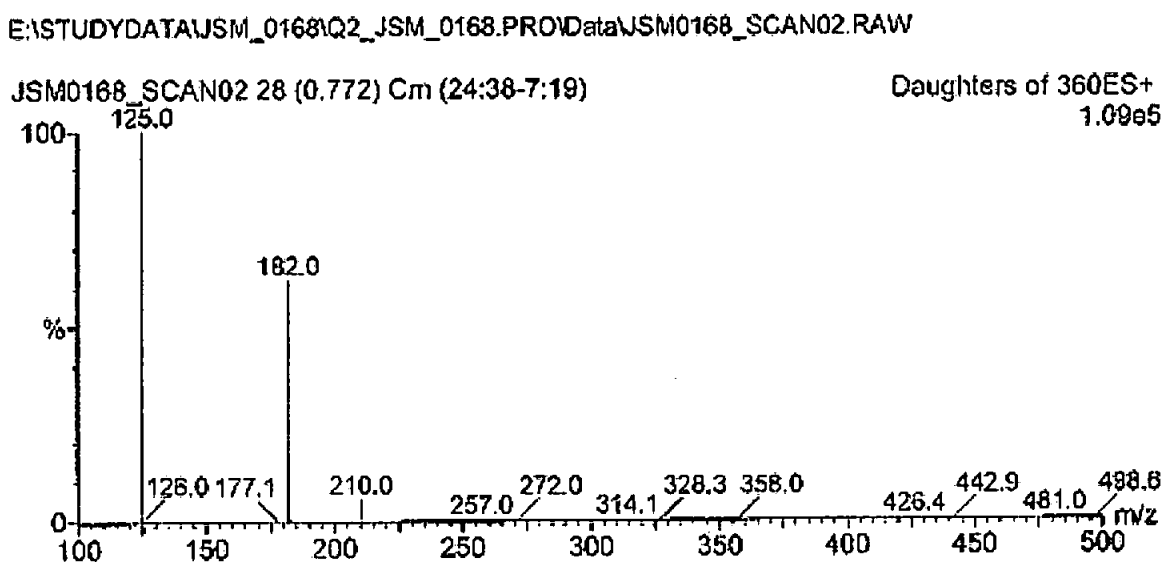


図5 IR スペクトラム

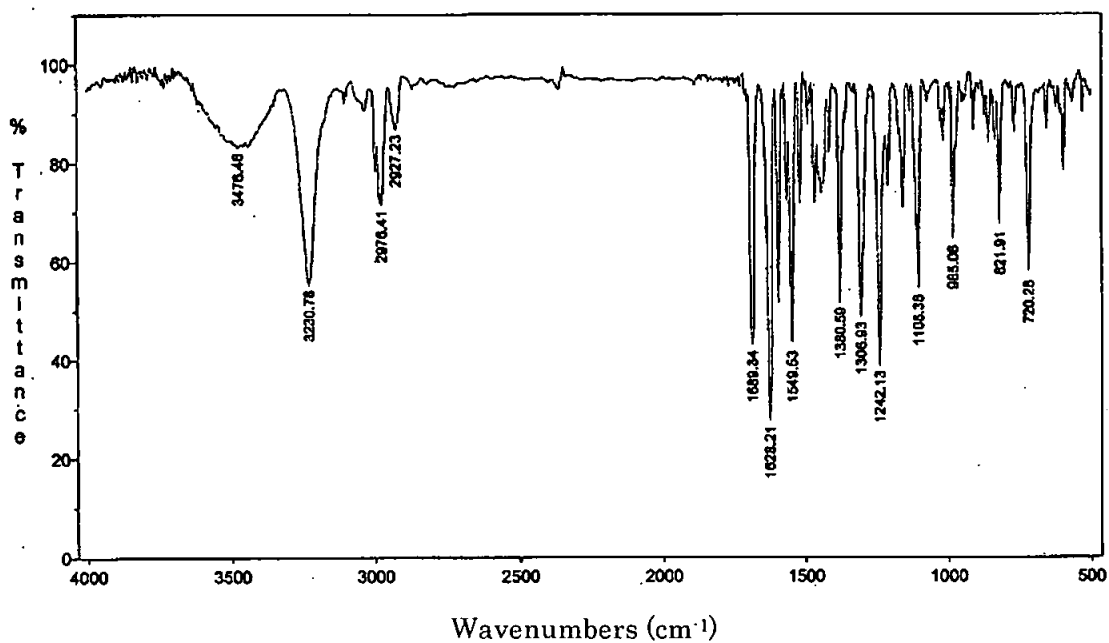


図6 UV スペクトラム (精製水)

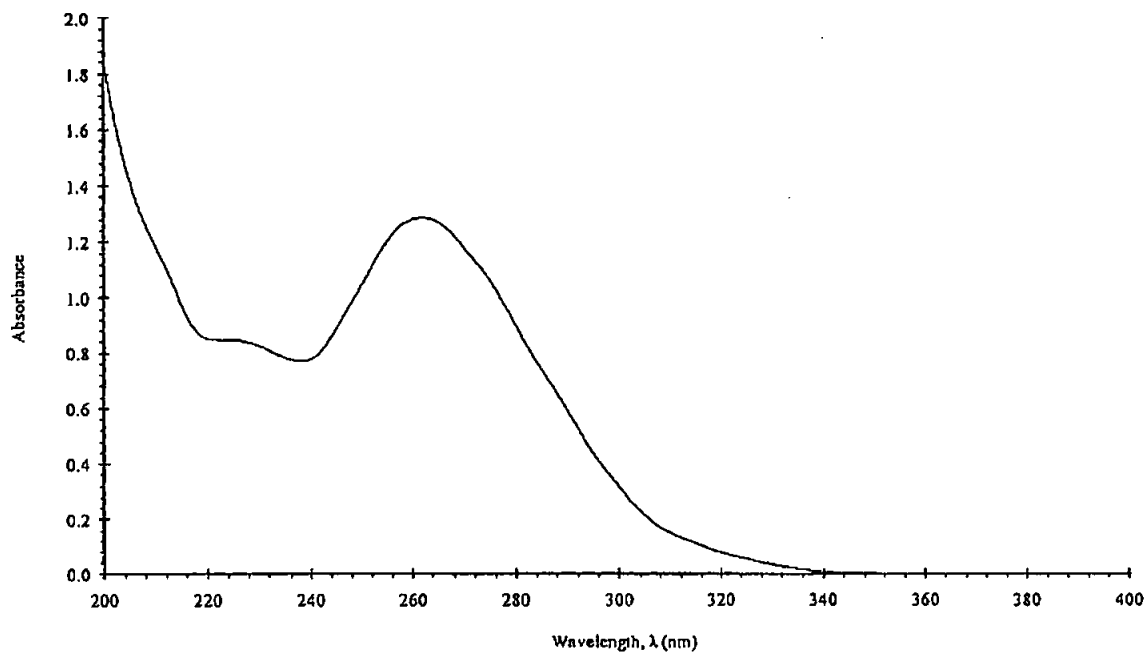


図7 UV スペクトル (0.1M HCl 水溶液)

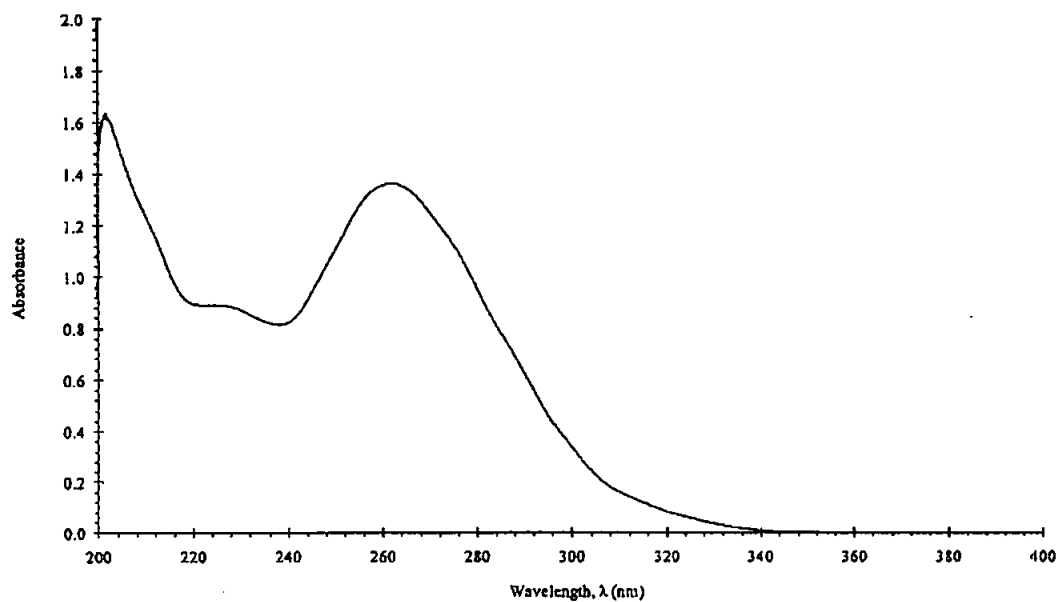
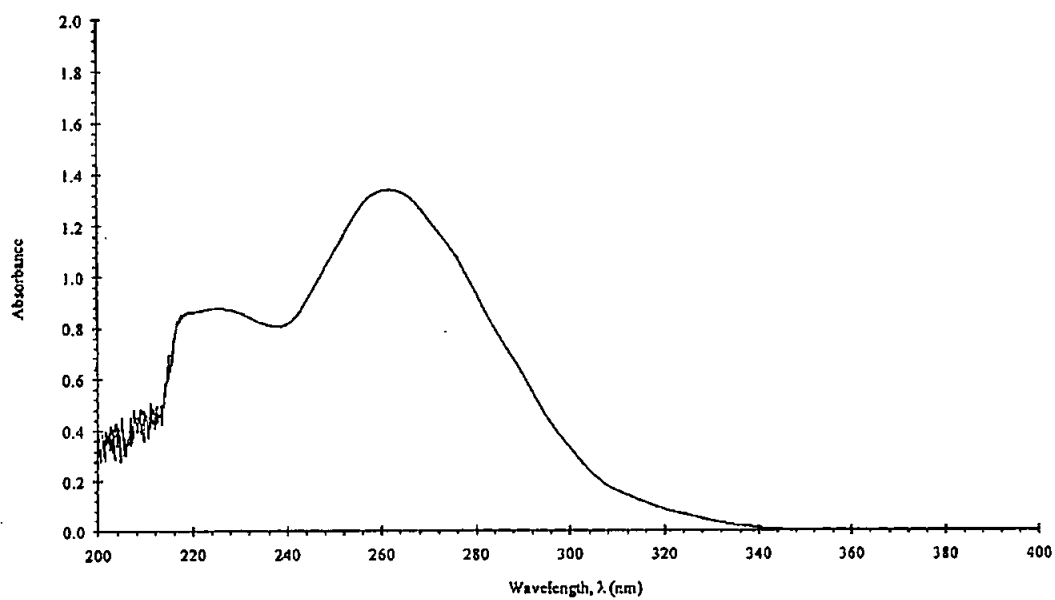
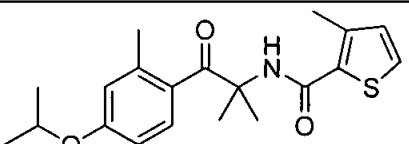


図8 UV スペクトル (0.1M NaOH 水溶液)



2.3 原体の成分組成

区分	名 称		構造式	分子式	分子量	含有量 (%)
	一般名	化学名				規格値 (通常のレンジ)
有効成分	イワイクタミド	<i>N</i> [1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy- <i>o</i> -tolyl)-2-oxoethyl]-3-methylthiophene-2-carboxamide		C ₂₀ H ₂₅ NO ₃ S	359.48	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2.4 製剤の組成

1) 36.0%水和剤（フロアブル）

イソフェタミド	36.0%
水、界面活性剤 等	64.0%

3. 生物活性

3.1 活性の範囲

イソフェタミドは、灰色かび病、菌核病を中心に幅広い殺菌スペクトルを有し、それら病害に、高い効果を示す殺菌剤であり、高い予防効果に加えて、安定した残効性、耐雨性、治療効果および浸達性を有する。

本剤は日植防委託試験による国内での実用化検討の結果、野菜類、果樹等に対する病害に対して高い効果が確認されている。社内での検討結果も含め、現在までに効果が認められている病原菌名を以下に示す。

病原菌名	病害名
<i>Botrytis cinerea</i>	灰色かび病 (いんげん、あずき、そらまめ、きゅうり、ぶどう、かんきつ、いちご)
<i>Botrytis squamosa</i>	白斑葉枯病 (たまねぎ)
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	菌核病 (いんげん、あずき、そらまめ、きゅうり、かんきつ、いちご、レタス、キャベツ)
<i>Corynespora cassiicola</i>	褐斑病 (きゅうり)
<i>Glomerella cingulata</i>	晩腐病 (ぶどう)
<i>Alternaria solani</i>	夏疫病 (ばれいしょ)
<i>Alternaria alternata</i> Japanese pear pathotype	黒斑病 (なし)
<i>Venturia nashicola</i>	黒星病 (なし)
<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	うどんこ病 (うり類)
<i>Erysiphe necator</i>	うどんこ病 (ぶどう)
<i>Elsinoe ampelina</i>	黒とう病 (ぶどう)

3.2 作用機構

イソフェタミドは植物病原糸状菌の病原性に関与する胞子発芽および発芽管の伸長、付着器の形成、植物体へ貫入、分生子の形成を低濃度で阻害することで発病を阻害する。

本剤は標的となる植物病原菌のミトコンドリアの呼吸鎖電子伝達系複合体 II の酵素活性を阻害することにより、その効果を発揮する。現在、複合体 II の阻害剤 (SDHI 剤) は複数存在するが、ターゲット部位の結合様式が異なるため、イソフェタミドはボスカリド耐性菌に対して有効な活性を示す。

また、本剤は糸状菌の特定の種にのみ作用するので、酵母菌 (*Saccharomyces cerevisiae*) などの有用な菌に対する影響も認められず、天敵、訪花昆虫等も含む非標的生物には安全性が高いことが明らかになっている。

3.3 防除上の利点

イソフェタミドは非常に高い予防効果に加えて、安定した残効性、耐雨性、治療効果および浸透性を有する、広スペクトル殺菌剤として位置づけられる。また、本剤は新規な作用機構を有するので、他剤耐性菌にも有用である。イソフェタミドは、発病に適した気象条件下でも、高い効果を発揮することから、ローテーション防除の一剤として使用でき、基幹防除薬剤としても有用と考えられる。

また本剤の散布による作物への薬害は認められておらず、天敵、訪花昆虫等有用生物への影響も認められないことから、安全に使用でき、IPM (総合防除) の概念にも合致する殺菌剤である。

4. 適用及び使用上の注意

4.1.1 イソフェタミド 36.0%フロアブル

作物名	適用病害虫名	希釈倍数	使用液量	使用時期	本剤の使用回数	使用方法	イソフェタミドを含む農薬の総使用回数
ぶどう	黒とう病 灰色かび病	1500 倍	200～700 L/10a	収穫 7 日 前まで	3 回以内	散布	3 回以内
豆類 (種実、ただし、 らっかせいを 除く)	菌核病 灰色かび病	1500 倍	100～300 L/10a	収穫 14 日 前まで	2 回以内		2 回以内
さやえんどう	灰色かび病			収穫前日 まで			
きゅうり	菌核病	1000～ 1500 倍	100～300 L/10a	収穫前日 まで	4 回以内		4 回以内
たまねぎ	灰色かび病			収穫 3 日 前まで			
レタス 非結球レタス	菌核病	1500 倍	100～300 L/10a	収穫 14 日 前まで	3 回以内	3 回以内	

4.1.2 使用上の注意事項

- (1) 使用直前に、容器をよく振ること。
- (2) 使用量に合わせ薬液を調製し、使いきること。
- (3) 出来るだけ発病前又は発病初期に散布すること。
- (4) ぶどうに使用する場合、果実大豆大期から袋かけ前までの時期の散布は、果粉の溶脱を生じるおそれがあるので、使用をさけること。
- (5) 使用液量は対象作物の生育段階、栽培形態及び散布方法に合わせ調節すること。
- (6) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。
- (7) 適用作物群に属する作物又はその新品種に本剤をはじめて使用する場合は、使用者の責任において事前に薬害の有無を十分確認してから使用すること。なお、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

4.1.3 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

この登録に係る使用方法では該当がない。

5. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

5.1 作物残留

5.1.1 分析法の原理と操作概要

・LC/MS/MS 法

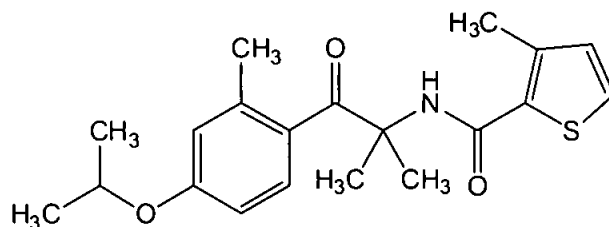
磨砕した試料（あずきについては粉碎後水浸漬した試料）を含水アセトニトリルで振とう抽出し、ろ過したのち定容とする。抽出液をポリマー系ミニカラムで精製し、LC/MS/MSにより絶対検量線法で定量する。

だいずについては、
の分析効率をあげるため、粉碎した試料を 1 mol/L 塩酸で浸漬後、含水アセトニトリルで振とう抽出し、ろ過したのち定容とする。抽出液をポリマー系ミニカラムで精製し、LC/MS/MSにより絶対検量線法で定量する。

5.1.2 分析対象の化合物

・イソフェタミド（親化合物 A）

N[1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy-*o*-tolyl)-2-oxoethyl]-3-methylthiophene-2-carboxamide (IUPAC)



分子式：C₂₀H₂₅NO₃S 分子量：359.48

5.1.3 残留試験結果

次頁に分析結果を示す。

なお、
の平均値は、親化合物換算値（換算係数
）を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製 場所	使用回数	経過 日数	分 析 結 果 (ppm)			
					イソフェタミド[A]			
					最高値	平均値	最高値	平均値*
ぶどう (施設) (大粒種) (果実) 平成23年度 [GLP]	7077 ^o ℓ (36.0%) 1500倍 300 L/10a 散布	日植防 山梨	0	—	<0.01	<0.01		
			3	7	0.98	0.96		
			3	14	0.56	0.54		
			3	21	0.65	0.62		
			3	28	0.59	0.56		
ぶどう (施設) (小粒種) (果実) 平成23年度 [GLP]	7077 ^o ℓ (36.0%) 1500倍 350 L/10a 散布	日植防 宮崎	0	—	<0.01	<0.01		
			3	7	4.98	4.93		
			3	14	3.48	3.38		
			3	21	3.35	3.29		
			3	28	2.65	2.62		
だいず (露地) (乾燥子実) 平成23年度 [GLP]	7077 ^o ℓ (36.0%) 1500倍 178 L/10a 散布	新潟県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			2	3	0.24	0.24		
			2	7	0.11	0.11		
			2	14	<0.01	<0.01		
			2	21	<0.01	<0.01		
	7077 ^o ℓ (36.0%) 1500倍 200 L/10a 散布	福井県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			2	3	0.02	0.02		
			2	7	<0.01	<0.01		
			2	14	<0.01	<0.01		
			2	21	<0.01	<0.01		
あずき (露地) (乾燥子実) 平成23年度 [GLP]	7077 ^o ℓ (36.0%) 1500倍 174 L/10a 散布	日植防 茨城	0	—	<0.01	<0.01		
			2	3	0.04	0.04		
			2	7	<0.01	<0.01		
			2	14	<0.01	<0.01		
			2	21	<0.01	<0.01		
	7077 ^o ℓ (36.0%) 1500倍 200 L/10a 散布	日植防 千葉	0	—	<0.01	<0.01		
			2	3	0.04	0.04		
			2	7	0.02	0.02		
			2	14	<0.01	<0.01		
			2	21	<0.01	<0.01		

* : 親化合物換算値 (換算係数)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製 場所	使用回数	経過日数	分 析 結 果 (ppm)			
					イソフェタミド[A]			
					最高値	平均値	最高値	平均値*
きゅうり (施設) (果実) 平成23年度 [GLP]	7077ℓ (36.0%) 1000倍 222 L/10a 散布	岩手県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			4	1	0.46	0.45		
			4	3	0.14	0.14		
			4	7	0.02	0.02		
			4	14	<0.01	<0.01		
			4	21	<0.01	<0.01		
	7077ℓ (36.0%) 1000倍 263 L/10a 散布	奈良県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			4	1	0.39	0.39		
			4	3	0.21	0.21		
			4	7	0.03	0.03		
			4	14	<0.01	<0.01		
			4	21	<0.01	<0.01		
たまねぎ (露地) (麟茎) 平成23年度 [GLP]	7077ℓ (36.0%) 1000倍 161~185 L/10a 散布	日植防 茨城	0	—	<0.01	<0.01		
			4	1	<0.01	<0.01		
			4	3	<0.01	<0.01		
			4	7	<0.01	<0.01		
			4	14	<0.01	<0.01		
			4	28	<0.01	<0.01		
	7077ℓ (36.0%) 1000倍 181 L/10a 散布	日植防 高知	0	—	<0.01	<0.01		
			4	1	0.03	0.02		
			4	3	<0.01	<0.01		
			4	7	<0.01	<0.01		
			4	14	<0.01	<0.01		
			4	28	<0.01	<0.01		
4	42	<0.01	<0.01					

* : 親化合物換算値 (換算係数)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料製 調製場 場所	使用 回数	経過 日数	分 析 結 果 (ppm)			
					イソフェタミド[A]			
					最高値	平均値	最高値	平均値*
レタス (施設) (茎葉) 平成24年度 [GLP]	707ブル (36.0%) 1500倍 179~250 L/10a 散布	日植防 茨城	0	—	<0.01	<0.01		
			3	1	5.03	5.01		
			3	3	5.77	5.70		
			3	7	4.54	4.54		
			3	14	2.27	2.26		
			3	21	1.18	1.18		
	707ブル (36.0%) 1500倍 161~203 L/10a 散布	日植防 高知	0	—	<0.01	<0.01		
			3	1	9.42	9.40		
			3	3	9.06	9.02		
			3	7	5.40	5.40		
			3	14	0.53	0.53		
			3	21	0.02	0.02		
リーフレタス (施設) (茎葉) 平成24年度	707ブル (36.0%) 1500倍 175 L/10a 散布	福井県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			3	1	23.4	23.0		
			3	3	13.4	13.0		
			3	7	5.53	5.47		
			3	14	0.47	0.47		
			3	21	<0.01	<0.01		
	707ブル (36.0%) 1500倍 150 L/10a 散布	岐阜県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			3	1	28.4	28.2		
			3	3	15.3	15.0		
			3	7	1.83	1.77		
			3	14	<0.01	<0.01		
			3	21	<0.01	<0.01		
サラダ菜 (施設) (茎葉) 平成24年度	707ブル (36.0%) 1500倍 175 L/10a 散布	福井県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			3	1	19.9	19.8		
			3	3	14.1	14.0		
			3	7	7.51	7.48		
			3	14	0.25	0.25		
			3	21	0.03	0.03		
	707ブル (36.0%) 1500倍 167 L/10a 散布	大分県 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			3	1	30.6	30.3		
			3	3	30.9	30.0		
			3	7	22.0	21.7		
			3	14	13.0	12.4		
			3	21	5.28	5.24		

* : 親化合物換算値 (換算係数)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数 又は使用量 使用方法	試料調製 場所	使用回数	経過日数	分 析 結 果 (ppm)			
					イソフェタミド[A]			
					最高値	平均値	最高値	平均値*
さやえんどう (施設) (さや) 平成24年度	7077ℓ (36.0%) 1500倍 200 L/10a 散布	和歌山 植防	0	—	<0.01	<0.01		
			2	1	11.3	11.2		
			2	3	8.06	7.98		
			2	7	5.05	4.98		
			2	14	0.70	0.68		
	7077ℓ (36.0%) 1500倍 182 L/10a 散布	鹿児島 農環協	0	—	<0.01	<0.01		
			2	1	1.46	1.46		
			2	3	1.45	1.44		
			2	7	0.63	0.62		
			2	14	0.56	0.56		

* : 親化合物換算値 (換算係数)

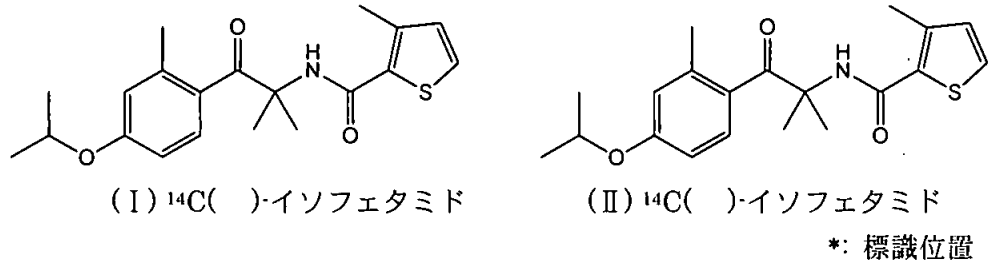
5.2 家畜残留

5.2.1 ¹⁴C-標識イソフェタミドを用いた搾乳ヤギにおける代謝試験 (資料 No. F-1)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

供試標識化合物：



化学名： *N*[1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy-*o*-tolyl)-2-oxoethyl]-3-methylthiophene-2-carboxamide (IUPAC)

標識位置： (I) (II)

ロット No.： (I) (II)

比放射能： (I) (II)

放射化学的純度 (I) (II)

(申請者注) 標識位置の設定根拠：

供試動物： 搾乳ヤギ (toggenberg 交雑種及び British Saanen 交雑種) 雌各 1 頭
年齢； 3.3 及び 3.5 歳、体重； 46~76 kg (投与開始時)

試験方法：

飼育管理； 動物は 32 日間馴化させた後、試験に供した。動物試験室は気温 14~20 °C、相対湿度 24~53 % で、室内換気回数は 1 時間当たり約 15 回で換気した。馴化期間中は、乳汁産出量及び摂餌量を毎日測定し、全試験期間を通じて、動物の一般状態の観察を行った。

投与方法； いずれの標識化合物もメタノールで溶解し、これに非標識化合物のメタノール溶液を加えて放射性希釈した後、適量をカルボキシメチルセルロースとともにゼラチンカプセルに封入し、餌中 10 ppm に相当する投与量となるようにした。これを 7 日間毎日連続投与した。実際に投与された薬物量は飼料ベースで 10.0 ppm (標識)及び 9.8 ppm (標識)であった。

試料採取； 乳汁試料は、毎日の投与直前 (午前)及び午後の 1 日 2 回、尿、糞試料は毎日の投与直前に 1 日 1 回 (24 時間毎)、採取した。また、尿、糞の採取後、ケージ内を水 (最終時点はメタノール)で洗浄した。最終投与から約 時間後、供試動物を麻酔過剰投与下、頸部血管からの放血により屠殺した。血液試料は遠心して血漿を得た。また、臓器・組織試料として腰筋、腿筋、腎臓、肝臓、大網脂肪、皮下脂肪および腎周囲脂肪を採取した。

放射能測定；乳汁試料は遠心し、脂肪画分と水溶性画分とに分けた。糞はホモジナイズした。尿、乳汁画分、血漿及びケージ洗浄液にはカクテルを加えて、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を測定した。全血、糞ホモジネートおよび臓器・組織は試料の一部を可溶化剤で可溶化した後、カクテルを加えて LSC で測定した。

抽出及び分析；10 ppb を超える残留があった組織等 (乳汁、肝臓、腎臓及び脂肪) については抽出、代謝物分析を実施した。脂肪については大網、腎周囲、皮下の各脂肪を合わせて、抽出、分析を行った。また筋肉は 10 ppb 未満であったので、分析は実施しなかった。

結 果： 標識位置に係わらず、放射能の主要排泄経路は糞で、総投与量の約 50.66～53.32 % であった。尿へも相当量放射能が排泄されており、同 32.75～35.06 % であった。組織への総残留は少なく、両標識において総投与量の約 0.4 % であり、その多くが肝臓に多く残留し、標識で同 0.323 % (435.5 ppb)、標識で同 0.384 % (356.6 ppb) であった。また、乳汁中には総投与量の約 0.04 % が検出された。乳汁は水溶性画分および脂肪画分に分けて分析した。乳汁中の放射能濃度は、水溶性画分においてはいずれも 4 日目午後に最大に達し、標識で 10.97 ppb、標識で 7.424 ppb であり、脂肪画分において標識は 1 日目午後に 159.0 ppb、標識は 3 日目午後で 48.12 ppb で最大に達し、プラトーには概ね投与開始から 3 日で達した。総回収率はそれぞれ 91.78 %、89.50 % であった。濃度が 10 ppb を超える組織について抽出、HPLC および TLC 分析を行った結果、主要なものとして、

搾乳ヤギにおけるイソフェタミドの推定代謝経路を図 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石原産業株式会社にある。

表 1. 投与量

標識位置	平均摂取量 (kg/day)	投与量 (mg/day)	平均餌中薬剤濃度 (ppm)
標識体	1.500	15.0031	10.00
標識体	2.134	21.0015	9.841

表 2. 総投与量に対する放射能回収率 (%)

表 3. 乳汁水溶性画分の投与放射能に対する割合及び残留放射能濃度

表 4. 乳汁脂肪画分の投与放射能に対する割合及び残留放射能濃度

表 5. 最終投与 23 時間後における組織中の投与放射能に対する割合及び残留放射能濃度

表 6-1. 標識体投与群における各組織の残留放射能の抽出分布

表 6-2. 標識体投与群における各組織の残留放射能の抽出分布

表 7. 各組織中放射能の定性

(ppb)

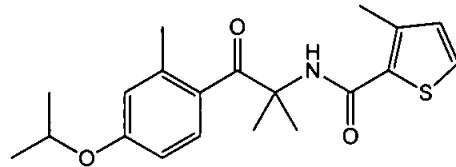
図 1. 搾乳ヤギにおけるイソフェタミドの推定代謝経路

5.2.2 ¹⁴C-標識イソフェタミドを用いた採卵鶏における代謝試験 (資料 No. F-2)

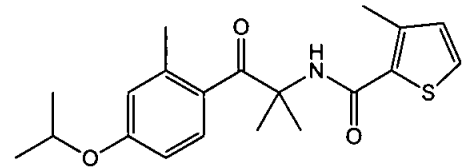
試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

供試標識化合物：



(I) ¹⁴C()-イソフェタミド



(II) ¹⁴C()-イソフェタミド

*: 標識位置

化学名； *N*[1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy-*o*-tolyl)-2-oxoethyl]-3-methylthiophene-2-carboxamide (IUPAC)

標識位置： (I) (II)

ロット No.： (I) (II)

比放射能： (I) (II)

放射化学的純度 (I) (II)

(申請者注) 標識位置の設定根拠：

供試動物： 雌鶏 (ISA 種)

10羽、体重 投与開始時平均 2.12 kg

試験方法：

飼育管理； 動物はケージ内で約 6 週間馴化させた後、試験に供した。動物試験室は気温 14～22°C、相対湿度 23～98%で、室内換気回数は 1 時間当たり最低 10 回で換気した。馴化期間中は、産卵量及び摂餌量を毎日測定し、全試験期間を通じて、動物の一般状態の観察を行った。

投与方法； いずれの標識化合物もメタノールで溶解し、これに非標識化合物のメタノール溶液を加えて放射性希釈した後、適量をカルボキシメチルセルロースとともにゼラチンカプセルに封入し、餌中 10 ppm に相当する投与量となるようにした。これを 14 日間毎日連続投与した。実際に投与された薬物量は飼料ベースで 13.52 ppm (標識)及び 12.68 ppm (標識)であった。

試料採取； 卵試料は、毎日の投与直前 (午前)及び投与から 5 ないし 8 時間の間 (午後)の 1 日 2 回、排泄物は 1 日 1 回 (24 時間毎)、採取した。最終投与から約 時間後、供試動物を頸部脱臼により屠殺した。屠殺後ケージ内は水及びメタノールで洗浄し、ケージ洗浄液として採取した。また、臓器・組織試料として胸部筋肉、大腿部筋肉、肝臓、腹膜脂肪、腎周囲脂肪及び皮膚(皮下脂肪を含む)を採取した。

放射能測定；卵試料は、卵黄と卵白とに分けてホモジナイズした。排泄物は水を加えてホモジナイズした。卵白、卵黄及びケージ洗浄液にはカクテルを加えて、液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を測定した。排泄物ホモジネートおよび臓器・組織は試料の一部を可溶化剤で可溶化した後、カクテルを加えてLSCで測定した。

抽出及び分析；10 ppb を超える残留があった組織等（卵黄、肝臓、筋肉、脂肪及び皮膚）については抽出、代謝物分析を実施した。脂肪及び筋肉については、各脂肪、各筋肉を合わせて、抽出、分析を行った。卵黄は14日目採取の試料を抽出及び分析に用いた。

結 果： 投与された放射能は、ほぼ定量的に排泄物を經由して排泄され、卵白中には0.008～0.009%弱、卵黄中には0.120～0.158%、組織中には0.045～0.051%が含まれているのみであった。組織中放射能濃度は

採卵鶏におけるイソフェタミドの推定代謝経路を図1に示す。

表 1. 投与量

標識位置	平均摂餌量 (g/day)	投与量 (mg/day)	平均餌中薬剤濃度 (ppm)
標識体	127	1.702	13.52
標識体	129	1.628	12.68

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2. 放射能回収率 (総投与量に対する%)

表 3. 最終投与 23 時間後の各組織中の総残留放射能濃度 (TRR)及び割合

表 4. 卵中の残留放射能濃度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 5-1. 標識体投与群における各組織の残留放射能の抽出分布

表 5-2. 標識体投与群における各組織の残留放射能の抽出分布

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 6. 各組織中放射能の定性

図 1. 採卵鶏におけるイソフェタミドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

5.3 土壌残留試験 圃場試験 (畑地状態)

試験機関

試験実施年度 2012 年度

5.3.1 分析法の原理と操作概要

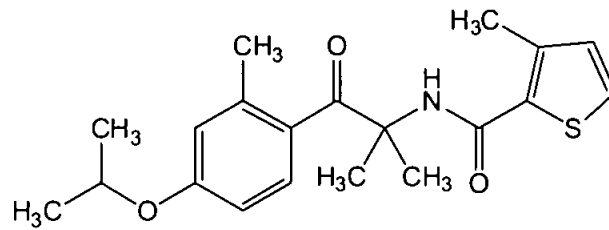
・ LC/MS/MS 法

試料にアセトニトリル：水 (80 : 20, v/v) 及び 6 mol/L 塩酸を加えて振とう抽出する。抽出液を固相抽出カラム (OASIS HLB) で精製し、LC/MS/MS により定量する。定量限界は 0.01 mg/kg。

5.3.2 分析対象の化合物

・ イソフェタミド (親化合物 A)

N[1,1-dimethyl-2-(4-isopropoxy-*o*-tolyl)-2-oxoethyl]-3-methylthiophene-2-carboxamide (IUPAC)



分子式 : $C_{20}H_{25}NO_3S$ 分子量 : 359.48

5.3.3 試験結果

試験場所： 日本植物防疫協会 茨城研究所
日本植物防疫協会研究所 高知試験場

処理濃度： 1000 倍

処 理 量： 300 L/10a、土壌表面散布、処理間隔 7 日間で 4 回処理した。

結 果：

供試土壌	推定半減期 (FOMC モデル)	
	親化合物	親化合物及び代謝物
日本植物防疫協会 茨城研究所 淡色黒ボク土、火山灰、壤土	62.1 日	66.6 日
日本植物防疫協会研究所 高知試験場 灰色低地土、沖積土、壤土	15.3 日	17.6 日

次頁に分析結果を示す。

分析機関：

試料調製及び採取場所	供試薬剤の濃度・量	使用回数	経過日数	分析結果 (mg/kg)	
				イソキサトール [A]	
				最高値	* 平均値
日本植物防疫協会茨城研究所 畑地土壌裸地 淡色黒ボク土火山灰壤土 2011年度	36.0% 7077 ^g /L 1000倍 300 L/10a	0	※	<0.01	<0.01
		4	0	6.63	6.56
		4	3	6.87	6.76
		4	7	6.58	6.54
		4	14	7.39	7.36
		4	21	5.51	5.49
		4	30	4.59	4.58
		4	59	3.37	3.36
		4	91	2.61	2.59
		4	120	1.96	1.96
		4	181	1.80	1.79
		4	240	1.53	1.52
		4	301	1.33	1.33
4	360	1.45	1.44		
日本植物防疫協会研究所高知試験場 畑地土壌裸地 灰色低地土沖積土壤土 2011年度	36.0% 7077 ^g /L 1000倍 300 L/10a	0	※	<0.01	<0.01
		4	0	2.41	2.37
		4	3	1.73	1.65
		4	7	1.67	1.60
		4	14	1.20	1.16
		4	21	1.01	1.00
		4	30	1.05	1.00
		4	58	0.58	0.58
		4	90	0.30	0.29
		4	120	0.59	0.58
		4	180	0.19	0.19
		4	240	0.21	0.20
		4	300	0.28	0.28
4	359	0.10	0.10		

※：処理直前

*：分析値の平均にそれぞれの換算係数を乗じた親換算値

**：親化合物の平均値及び親換算した各代謝物の平均値の合算

6. 有用動植物等に及ぼす影響

6.1 水産動植物に対する影響

抄録番号 (資料 No.)	試験の種類・ 被験物質	供試生物	1 群当り の供試数	試験 方法	試験 水温 (℃)	LC ₅₀ 又は EC ₅₀ 値 (mg/L) ()内は有効成分換算値				試験機関 (報告年)	頁
						24 hr	48 hr	72 hr	96 hr		
6.1.1 GLP (E-1.1)	魚類急性毒性試験 原体	コイ	7 尾	止水式	22.7~23.2	>7.1 ^{*1}	>7.1 ^{*1}	>7.1 ^{*1}	>7.1 ^{*1}	(2010)	39
6.1.2 GLP (E-1.2)	ミジンコ類急性 遊泳阻害試験 原体	オオミジンコ	20 頭 (5 頭 ×4 連)	止水式	20.0~20.1	>6.2 ^{*2}	4.7 ^{*2}	—	—	(2010)	41
6.1.3 GLP (E-1.3)	藻類生長阻害試験 原体	緑藻 <i>Pseudo- kirchneriella subcapitata</i>	初期濃度 1×10 ⁴ cells/mL	振盪 培養法	22.8~24.1	0 ~ 72 時間 E _r C ₅₀ : >4.4 ^{*2} 0 ~ 72 時間 NOEC _r : 2.4				(2012)	42
6.1.4 GLP (E-1.4)	魚類急性毒性試験 36.0 %7077 ^ル	コイ	7 尾	半止 水式	22.7~23.2	160	110	110	100	(2011)	44
6.1.5 GLP (E-1.5)	ミジンコ類急性 遊泳阻害試験 36.0 %7077 ^ル	オオミジンコ	20 頭 (5 頭 ×4 連)	止水式	20.1~20.2	>1000	25	—	—	(2011)	45
6.1.6 GLP (E-1.6)	藻類生長阻害試験 36.0 %7077 ^ル	緑藻 <i>Pseudo- kirchneriella subcapitata</i>	初期濃度 1×10 ⁴ cells/mL	振盪 培養法	22.0~23.1	0 ~ 72 時間 E _r C ₅₀ : 960 0 ~ 72 時間 NOEC _r : 10				(2012)	46

*1 原体のコイ急性毒性試験の LC₅₀ 値は設定濃度に基づく。

*2 原体のミジンコ急性遊泳阻害試験並びに藻類生長阻害試験の EC₅₀ 値は実測濃度に基づく。

6.1.1 原体の魚類急性毒性試験 (資料 No. E-1.1)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

被験物質: イソフェタミド工業原体

供試生物: コイ (学名: *Cyprinus carpio*)

1群各7尾、全長: 平均 4.0±0.2 cm、体重: 平均 0.75±0.09 g

試験方法: 暴露条件は止水式とし、溶存酸素維持のために緩やかな曝気を行った。50 L ガラス水槽に試験水 50 L を入れ、16 時間明期/8 時間暗期の照明を行った。検体を *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解し、69000 mg a.i./L の試験原液を得た。この試験原液を DMF で希釈し、有効成分として各試験濃度の 10⁴ 倍の試験原液を調製した。試験水の調製には、十分に曝気し温度調節した脱塩素水道水を用いた。各試験設定濃度に対する各試験原液若しくは DMF の所定量を希釈水に添加し、攪拌して試験液を調製した。試験生物を各濃度の試験液に 96 時間暴露した。

試験濃度: 1.9, 2.6, 3.6, 5.1, 7.1 mg/L

対照区、溶媒対照区 (DMF)

試験水温: 22.7 ~ 23.2 °C

pH: 7.5 ~ 7.8

溶存酸素: 8.3 ~ 8.7 mg/L

結 果:

設定濃度 (mg/L) (有効成分換算値)		1.9, 2.6, 3.6, 5.1, 7.1	
実測濃度 (mg a.i./L)	0 hr	1.8, 2.5, 3.5, 5.0, 6.9 (94, 98, 98, 99, 97) * ³	
	96 hr	1.7, 2.3, 3.3, 4.7, 6.7 (87, 89, 91, 92, 94) * ³	
	平均* ¹	1.7, 2.4, 3.4, 4.9, 6.8 (91, 94, 95, 95, 96) * ³	
LC ₅₀ (mg/L)* ² [95 %信頼限界]		24 hr	>7.1 [n.a.* ⁴] ([n.a.* ⁴])
		48 hr	>7.1 [n.a.* ⁴] ([n.a.* ⁴])
		72 hr	>7.1 [n.a.* ⁴] ([n.a.* ⁴])
		96 hr	>7.1 [n.a.* ⁴] ([n.a.* ⁴])

*¹: 平均濃度は幾何平均値を示した。

*²: 設定濃度に基づき表示し、()内は有効成分換算値を示した。

*³: ()内は設定濃度に対する%値を示した。

*⁴: 95 %信頼限界は計算できなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定結果は、試験開始時は 1.8、2.5、3.5、5.0 及び 6.9 mg a.i./L (設定濃度の 94、98、98、99 及び 97 %)、試験終了時は 1.7、2.3、3.3、4.7 及び 6.7 mg a.i./L (設定濃度の 87、89、91、92 及び 94 %)であった。従って LC₅₀ 並びに NOEC は設定濃度を用いて表示した。

7.1 mg/L 区において、24 時間以内に 1 尾の死亡を認め、5.1 mg/L 以下の濃度区において試験期間中に死亡を認めなかった。

3.6 mg/L 以上の濃度区において何らかの症状を認め、暴露期間中に観察された症状は、出血、活動度の低下、平衡喪失、表層集中、体幹の湾曲であった。

2.6 mg/L 以下の濃度区において、異常を認めなかった。

6.1.2 原体のミジンコ類急性遊泳阻害試験 (資料 No. E-1.2)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

被験物質： イソフェタミド工業原体

供試生物： オオミジンコ (学名：*Daphnia magna*)、生後 24 時間以内の個体
1 群 20 頭：5 頭/容器×4 連

試験方法： 暴露条件は止水式とした。16 時間明期/8 時間暗期での照明を行った。試験液は、設定濃度で約 100 mg/L になるように被験物質と希釈水を混合し、48 時間攪拌後、ガラス繊維フィルターで吸引濾過して飽和水溶液として調製した。その後溶存酸素濃度を回復させるため、濾液を 30 分攪拌し、これを試験原液とした。試験原液を希釈水で適宜希釈して各試験濃度に対する試験液を調製し、各試験容器に分割した。試験生物を 48 時間試験液に暴露した。

試験濃度： 測定濃度 2.0, 2.7, 3.5, 4.6, 6.2 (mg a.i./L)、対照区
(試験原液含有率 35, 46, 59, 77, 100%)

試験水温： 20.0 ~ 20.1℃

pH： 8.3

溶存酸素： 8.5 ~ 8.9 mg/L

結 果：

設定濃度 (試験原液含有率%)		35, 46, 59, 77, 100	
実測濃度 (mg a.i./L)	0 hr	1.9, 2.6, 3.4, 4.5, 6.2	
	48 hr	2.1, 2.7, 3.5, 4.6, 6.2	
	平均*1	2.0, 2.7, 3.5, 4.6, 6.2	
EC ₅₀ (mg a.i./L)*2 [95%信頼限界]	24 hr	>6.2 [n.a.*3]	
	48 hr	4.7 [4.3-5.1]	

*1：平均濃度は幾何平均値を示した。

*2：実測濃度に基づき算出した。

*3：95%信頼限界は計算できなかった。

3.5 mg a.i./L 以上の濃度区において何らかの症状を認め、暴露期間中に観察された症状は嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度の低下であった。(申請者注) 2.7 mg a.i./L の濃度区では、活動度の低下のみを認めた。これは遊泳阻害とは判定されないことから無影響と判断した。

2.0 mg a.i./L の濃度区においては軽微な影響を含む異常を認めなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定結果は、試験開始時は 1.9、2.6、3.4、4.5 及び 6.2 mg a.i./L、試験終了時は 2.1、2.7、3.5、4.6 及び 6.2 mg a.i./L であった。

6.1.3 原体の藻類生長阻害試験 (資料 No. E-1.3)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

被験物質: イソフェタミド工業原体

供試生物: 緑藻 (学名: *Pseudokirchneriella subcapitata*, 株名: UTCC 37)

初期生物量 約 1×10^4 cells/mL

処理区 3 連、対照区 6 連、溶媒対照区 3 連

試験方法: 試験液 100 mL に 1×10^4 cells/mL となるように前培養した藻類培養液を接種し、72 時間連続照明 (4000 ~ 4560 lux) 下で振盪培養した。細胞濃度を 24、48 及び 72 時間後に測定した。藻細胞の計数は、粒子計数装置 (Coulter Electronics, Inc.) を用いて行った。試験液は、3.31、6.63、13.25、26.50 及び 53 mg a.i./mL *N,N*-ジメチルホルムアミド (DMF) 試験原液の各々 0.05 mL を培養液 (AAP 培地) 500 mL に添加して調製した。また、暴露開始時及び 72 時間後に水中被験物質濃度を測定した。分析用水試料は、開始時には新たに調製した試験水の中層より採取し、72 時間後には各区の水を混和した後注ぎ取った。採取した水試料は 14,500 rpm で 5 分間遠心分離を行い、藻類並びに不溶成分を除去し、その後 HPLC 分析に供した。

試験濃度: 0.33, 0.66, 1.3, 2.7, 5.3 mg a.i./L、対照区、溶媒対照区 (DMF)

試験水温: 22.8 ~ 24.1 °C

pH: 7.2 ~ 9.0

結 果:

設定濃度 (mg a.i./L)		0.33, 0.66, 1.3, 2.7, 5.3
実測濃度 (mg a.i./L)	0 hr	0.34, 0.67, 1.3, 2.6, 5.1 (103, 102, 103, 96, 97) *3
	72 hr	0.25, 0.53, 1.1, 2.3, 3.7 (77, 80, 84, 84, 70) *3
	平均*1	0.30, 0.60, 1.2, 2.4, 4.4 (91, 91, 93, 90, 83) *3
ErC ₅₀ (mg a.i./L)*2 [95 %信頼限界]		>4.4 [n.a.*4]
EyC ₅₀ (mg a.i./L)*2 [95 %信頼限界]		>4.4 [n.a.*4]
NOECr (mg a.i./L)*2		2.4
NOECy (mg a.i./L)*2		2.4

*1: 平均実測濃度は算術平均値を示した。

*2: 実測濃度に基づき算出した。

*3: ()内は設定濃度に対する%値を示した。

*4: 95 %信頼限界は計算できなかった。

全ての濃度区において外観上の異常を認めなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定結果は、試験開始時は 0.34、0.67、1.3、2.6 及び 5.1 mg a.i./L (設定濃度の 103、102、103、96 及び 97 %)、試験終了時は 0.25、0.53、1.1、2.3 及び 3.7 mg a.i./L (設定濃度の 77、80、84、84 及び 70 %)であった。従って EC₅₀ 並びに NOEC は平均実測濃度を用いて表示した。

尚、本抄録は 96 時間暴露試験から 72 時間時点でのデータを引用して作成した。

6.1.4 製剤のコイを用いた急性毒性試験 (資料 No. E-1.4)

試験機関

報告書作成年 2011年 [GLP 対応]

被験物質： イソフェタミド 36.0%フロアブル

供試生物： コイ (学名： *Cyprinus carpio*)、
一群各 7 尾、全長：平均 4.1±0.1 cm、体重：平均 0.77±0.09 g

試験方法： 暴露条件は半止水式とし、溶存酸素維持のために緩やかな曝気を行った。50 L ガラス水槽に試験水 50 L を入れ、16 時間明期/8 時間暗期の照明を行った。試験水の調製には、十分に曝気し温度調節した脱塩素水道水を用いた。試験液は各試験設定濃度に対する被験物質の所定量を希釈水に添加し、攪拌して試験液を調製した。試験生物を各濃度の試験液に 96 時間暴露した。

試験濃度： 16, 34, 75, 170, 360, 800 mg/L、対照区

試験水温： 22.7 ~ 23.2 °C

pH： 7.3 ~ 7.7

溶存酸素： 7.1 ~ 8.8 mg/L

結 果：

試験濃度 (mg/L) (ai 換算値)	16, 34, 75, 170, 360, 800 ()	
LC ₅₀ (mg/L)* ¹ [95%信頼限界]	24 hr	160 [n.a.* ²]
	48 hr	110 [74-170]
	72 hr	110 [74-170]
	96 hr	100 [66-150]

*¹：設定製剤濃度に基づき算出した。

*²：95%信頼限界は計算できなかった。

暴露 96 時間後までに、75 mg/L 区で 2 尾、170 mg/L 区で 6 尾、360 mg/L 以上の濃度区では全数死亡を認めた。

全ての濃度区で何らかの症状を認め、暴露期間中に観察された症状は、完全平衡喪失、体幹の湾曲 (側湾型)、出血、嗜眠状態、体色明化、筋肉痙攣、軽度平衡喪失、活動度の低下及び呼吸数の増加であった。

6.1.5 製剤のミジンコ類急性遊泳阻害試験 (資料 No. E-1.5)

試験機関

報告書作成年 2011年 [GLP 対応]

被験物質： イソフェタミド 36.0%フロアブル

供試生物： オオミジンコ (学名: *Daphnia magna*)、生後 24 時間以内の個体
1 群 20 頭 : 5 頭/容器×4 連

試験方法： 暴露条件は止水式とした。16 時間明期/8 時間暗期での照明を行った。被験物質を ASTM 調製水に添加し、攪拌して調製した試験原液 (10000 mg/L) を順次 ASTM 調製水で希釈し、各設定濃度の試験液を調製した。試験生物を 48 時間試験液に暴露した。

試験濃度： 8.8, 19, 43, 94, 210, 450, 1000 mg/L、対照区

試験水温： 20.1 ~ 20.2 °C

pH： 8.0 ~ 8.3

溶存酸素： 8.6 ~ 8.8 mg/L

結 果：

試験濃度 (mg/L) (ai 換算値)	8.8, 19, 43, 94, 210, 450, 1000 ()	
EC ₅₀ (mg/L)*1 [95 %信頼限界]	24 hr	>1000 [n.a.*2]
	48 hr	25 [17-34]

*1: 設定製剤濃度に基づき算出した。

*2: 95 %信頼限界は計算できなかった。

全ての濃度区で何らかの症状を認め、暴露期間中に観察された症状は、嗜眠状態、遊泳阻害及び活動度の低下であった。また、19 mg/L 以上の濃度区において、ミジンコの体表に被験物質と思われる物質の付着が見られた。

6.1.6 製剤の藻類生長阻害試験 (試験 No. E-1.6)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

被験物質： イソフェタミド 36.0 %フロアブル

供試生物： 緑藻 (学名：*Pseudokirchneriella subcapitata*、株名：ATCC22662 株)

初期濃度 1×10^4 cells/mL、処理区 3 連、対照区 6 連

試験方法： 試験液 100 mL に 1×10^4 cells/mL となるように前培養した藻類培養液を接種し、72 時間連続照明 (88 ~ 94 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$) 下で振盪培養した。細胞濃度を 24、48 及び 72 時間後に測定した。藻細胞の計数は、分光蛍光光度計 (FP-6500、日本分光) によるクロロフィル蛍光値を用いて行った。試験液は、1000 及び 10000 mg/L の試験原液を調製し、各濃度における試験原液の所定量を培地と混合して調製した。

試験濃度： 3.2, 10, 32, 100, 320 及び 1000 mg/L、対照区

試験水温： 22.0~23.1 °C

pH： 7.9 ~ 9.3

結 果：

試験濃度 (mg/L) (ai 換算値)	3.2, 10, 32, 100, 320, 1000 ()
ErC ₅₀ (mg/L)* ¹ [95 %信頼限界]	960 [890-1000]
EyC ₅₀ (mg/L)* ¹ [95 %信頼限界]	170 [160-190]
NOECr (mg/L)* ¹	10
NOECy (mg/L)* ¹	10

*¹：設定製剤濃度に基づき算出した。

設定濃度 3.2、10、32、100、320 及び 1000 mg/L における 0 ~ 72 時間の生長速度における阻害率は、それぞれ 0、2.4、6.6、11、24 及び 51 %であり、0 ~ 72 時間の収量における阻害率は、0.13、10、25、38、64 及び 89 %であった。細胞観察の結果、全ての区において対照区と比べて異常は認められなかった。

尚、本抄録は 96 時間暴露試験から 72 時間時点でのデータを引用して作成した。

6.2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

6.2.1 有用昆虫に対する影響

資料 No.	試験名称及び検体	供試生物	1試験区当たりの供試数	試験方法 (投与方法、投与量、試験条件等)	試験結果	試験機関 (国) (報告年)
E-2.1	蚕残毒試験 36.0%70777ル	蚕 <i>Bombyx mori</i> (朝日×東海) 4 齢起蚕	50 頭/区 2 反復	製剤 1000 倍希釈液を、採葉前 21, 14, 7, 3, 1 日前に桑樹に散布し、同一採葉日に摂食させた。	死亡例は 1 頭/区以内(16 日後)と少なく、結繭蚕数、健蛹歩合、繭重、繭層重について、処理区と無処理区の有意差はなかった。 (安全日数 1 日)	(2012)
E-2.2 (GLP)	ミツバチ急性経口毒性試験	ミツバチ <i>Apis mellifera</i> ス	10 匹/区 6 反復	試験濃度； 30 µg a.i./bee (限度試験) 暴露方法； 1.5 µg a.i./µL シロ糖溶液を 20 µL/bee にて給餌。	48 時間 LD ₅₀ : >30 µg a.i./bee	(2010)
	ミツバチ急性接触毒性試験		10 匹/区 3 反復	試験濃度； 4.27, 9.39, 20.66, 45.45, 100 µg a.i./bee 暴露方法； 50 µg a.i./µL シロ糖溶液 1 または 2 µL を各蜂の胸背部表面に滴下。	48 時間 LD ₅₀ : >100 µg a.i./bee	
E-2.3	捕食性ダニ急性毒性試験 36.0%70777ル	捕食性ダニ スリスキーカダニ <i>Amblyseius swirskii</i>	成虫； 10~13 頭/区 幼虫； 8~10 頭/区 卵； 9~12 個/区	ダニ製剤に被食虫を挟み、各供試虫を接種し、製剤 1000 倍希釈液を直接散布 (100 L/10 a 相当)	補正死亡率 (5 日後) 成虫； 15.1% 幼虫； 8.5% 卵； 15.8% * 影響なし (IOBC 判定)	(2012)
		捕食性ダニ フカダニ <i>Phytoseiulus persimilis</i>	3 反復		補正死亡率 (5 日後) 成虫； 1.4% 幼虫； 0.0% 卵； 22.0% * 影響なし (IOBC 判定)	
	捕食寄生蜂急性毒性試験 36.0%70777ル	捕食寄生蜂 オンツツヤコバチ <i>Encarsia formosa</i>	成虫； 10~14 頭/区 蛹； 100 頭/区 3 反復		成虫； 製剤 1000 倍希釈液を被食虫並びに供試虫に噴霧処理 (100 L/10 a 相当) 蛹； 製剤 1000 倍希釈液に 10 秒間浸漬処理	

注)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

6.3 鳥類に対する影響

資料 No.	試験名称 及び検体	供試 生物	1 試験区 当たりの 供試数	試験方法 (投与方法、投与量、 試験条件等)	試験結果	試験機関 (国) (報告年)
E-3.1 (GLP)	急性経口毒性 (観察 14 日)	ウズラ	♂ 5 ♀ 5	経口投与； ♂♀共 0, 500, 1000, 2000 mg/kg	LD ₅₀ 値： ♂♀共 >2000 mg/kg	(2011)
E-3.2 (GLP)	亜急性毒性 (投与 5 日 観察 3 日)	ウズラ	10	混餌投与； 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 ppm	LC ₅₀ 値： >5000 ppm (>892 mg/kg/day)	(2011)

注)

7. 使用時安全上の注意、解毒法等

7.1 使用時安全上の注意事項

散布の際は不浸透性手袋などを着用すること。

7.2 解毒及び治療法

イソフェタミド原体及び36.0%フロアブルは、いずれも急性毒性及び急性経皮毒性が弱いことから、誤飲等による重篤な急性中毒症状が発現する可能性は、極めて少ないと考えられる。

従って、万一誤飲等が発生しても、農薬についての一般的な処置方法で対応可能であると考えられる。

7.3 製造時、使用時等における事故例

なし

8. 毒性

<原体毒性試験一覧表>

・ 原体

抄録番号	資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	LD ₅₀ 値又は無毒性量	試験機関 (報告年)	記載頁
8.1.1	T-1.1 (GLP)	原体 急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 6	経口	♀ 2000 mg/kg	♀ >2000 mg/kg (死亡なし)	(2010)	55
8.1.2	T-1.2 (GLP)	原体 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀共 2000 mg/kg	♂♀共 >2000 mg/kg (死亡なし)	(2010)	56
8.1.3	T-1.3 (GLP)	原体 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 3 ♀ 3	吸入 4時間	♂♀共 4.82 mg/L	♂♀共 >4.82 mg/L (死亡なし)	(2010)	57
8.2.1	T-1.4 (GLP)	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 3	皮膚貼付	0.5 g/2.5 cm×2.5 cm (背部)4時間貼付	刺激性なし	(2010)	59
8.2.2	T-1.5 (GLP)	眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 6	結膜囊	0.1 g/左眼	わずかに 刺激性あり 洗浄効果あり	(2010)	60
8.2.3	T-1.6 (GLP)	皮膚感作性 (Maximization 法)	モルモット	感作群 ♀ 10 非感作群 ♀ 5	感作：Ⅰ 2% 0.1mL×2箇所 皮内投与 感作：Ⅱ 40% 0.2mL 皮膚貼付(48時間) 惹起：感作Ⅱの2週間後 40% 0.1mL 皮膚貼付(24時間)	感作性なし	(2012)	63	
8.2.4	T-1.7 (GLP)	皮膚感作性 局所リンパ節 増殖性試験 (LLNA 法)	マウス	♀ 5	投与量 0, 10, 25, 50 % 25 μL/耳介×両耳介、塗布 (3日間)	感作性なし	(2010)	65	
8.3.1	T-1.8 (GLP)	急性神経毒性 14日間観察	ラット	♂ 12 ♀ 12	経口	♂♀共 0, 500, 1000, 2000 mg/kg	>2000 mg/kg 神経毒性なし	(2012)	67
提出除外		急性遅発性 神経毒性	急性毒性試験等の結果から、当該農薬の有効成分がコリンエステラーゼ阻害を有しないと認められることから試験省略。						—
提出除外		28日間 反復遅発性 神経毒性	急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと認められることから試験省略。						—
8.4.1	T-2.1 (GLP)	90日間 反復経口 投与毒性	イヌ	♂ 4 ♀ 4	混餌	♂♀共 0, 100, 1000, 10000 ppm ♂ 0, 2.95, 29.3, 301 ♀ 0, 3.07, 32.7, 314 mg/kg/day	♂ 100 ♀ 100 ppm ♂ 2.95 ♀ 3.07 mg/kg/day	(2011)	70

抄録 番号	資料 No.	試験の種類・ 期間	供試 動物	1群の 供試数	投与 方法	投与量	無毒性量 (mg/kg/day)	試験機関 (報告年)	記載 頁
8.4.2	T-2.2 (GLP)	90日間 反復経口 投与毒性	ラット	♂ 10 ♀ 10	混餌	♂♀共 0, 100, 1000, 10000 ppm	♂ 100 ♀ 100 ppm	(2011)	77
						♂ 0, 6.65, 68.9, 637 ♀ 0, 7.83, 78.0, 741 mg/kg/day	♂ 6.65 ♀ 7.83		
8.4.3	T-2.3 (GLP)	90日間 反復経口 投与毒性	マウス	♂ 12 ♀ 12	混餌	♂♀共 0, 100, 1000, 8000 ppm	♂ 1000 ♀ 1000 ppm	(2011)	83
						♂ 0, 13, 129, 1067 ♀ 0, 16, 161, 1306 mg/kg/day	♂ 129 ♀ 161		
8.4.4	T-2.4 (GLP)	28日間 反復経皮 投与毒性	ラット	♂10 ♀10	経皮	♂♀共 0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	♂ 1000 ♀ 1000	(2011)	88
8.4.5	T-2.5 (GLP)	90日間 反復経口投与 神経毒性	ラット	♂12 ♀12	混餌	♂♀共 0, 500, 3000, 15000 ppm	一般毒性 ♂♀共 15000 神経毒性 ♂♀共 15000 ppm 神経毒性なし	(2011)	92
						♂ 0, 34, 207, 1049 ♀ 0, 40, 245, 1213 mg/kg/day	一般毒性 ♂ 1049 ♀ 1213 神経毒性 ♂ 1049 ♀ 1213		
8.5.1	T-3.1 (GLP)	慢性毒性 52週	イヌ	♂ 4 ♀ 4	混餌	♂♀共 0, 60, 200, 6000 ppm	♂♀共 200 ppm	(2012)	95
						♂ 0, 1.61, 5.34, 166 ♀ 0, 1.57, 5.58, 178 mg/kg/day	♂ 5.34 ♀ 5.58		
8.5.2	T-3.2 (GLP)	慢性毒性 52週	ラット	♂ 21 ♀ 21	混餌	♂♀共 0, 30, 100, 500, 5000 ppm	♂ 500 ♀ 500 ppm	(2012)	104
						♂0, 1.39, 4.68, 22.7, 237 ♀0, 1.82, 5.92, 30.0, 311 mg/kg/day	♂ 22.7 ♀ 30.0		
8.5.3	T-3.3 (GLP)	発がん性 104週	ラット	♂ 51 ♀ 51	混餌	♂♀共 0, 30, 100, 500, 5000 ppm	♂ 500 ♀ 100 ppm	(2012)	113
						♂ 0, 1.21, 4.07, 20.3, 210 ♀ 0, 1.55, 5.02, 26.1, 263 mg/kg/day	♂ 20.3 ♀ 5.02 催腫瘍性なし		

抄録番号	資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	無毒性量 (mg/kg/day)	試験機関 (報告年)	記載頁
8.5.3. A	T-3.3 補遺	亜急性、慢性毒性及び発がん性試験 (T-2.2, T-3.2, T-3.3) で観察された所見の毒性メカニズムの検索							129 A
8.5.4	T-3.4 (GLP)	発がん性 78週	マウス	♂ 51 ♀ 51	混餌	♂ 0, 100, 800, 4000 ♀ 0, 100, 800, 3000 ppm	♂ 100 ♀ 800 ppm	(2012)	130
						♂ 0, 12, 92, 502 ♀ 0, 14, 118, 431 mg/kg/day	♂ 12 ♀ 118 催腫瘍性なし		
8.6.1	T-4.1 (GLP)	繁殖性 (2世代)	ラット	♂ 24 ♀ 24	混餌	♂♀共 0, 100, 1000, 10000 ppm	親動物 児動物 ♂♀共 1000 ppm	(2012)	141
						P : ♂ 0, 5.76, 57.1, 594 ♀ 0, 8.85, 90.5, 908 mg/kg/day	P: ♂ 57.1 ♀ 90.5 F ₁ : ♂ 60.1 ♀ 89.1		
						F ₁ : ♂ 0, 6.02, 60.1, 643 ♀ 0, 8.69, 89.1, 906 mg/kg/day	繁殖性 ♂♀共 10000 ppm P: ♂ 594 ♀ 908 F ₁ : ♂ 643 ♀ 906		
8.6.1. A	T-4.1 補遺	繁殖毒性試験 (T-4.1) における遺伝的要因の関与の検討							150
8.6.2	T-4.2 (GLP)	催奇形性	ラット	妊娠 ♀ 22	経口	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	催奇形性なし 親毒性、 胎児毒性 : 1000	(2010)	153
8.6.3	T-4.3 (GLP)	催奇形性	ウサギ	妊娠 ♀ 25	経口	0, 100, 300, 1000 mg/kg/day	催奇形性なし 親毒性 : 300 胎児毒性 : 1000	(2012)	160
8.7.1	T-5.1 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 Ames	細菌 試験 I <i>S. typh.</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>E. coli.</i> (WP2 <i>uvrA</i>) ±S9: 0, 61.7, 185, 556, 1667, 5000 µg/7 ⁺ レト 試験 II <i>S. typh.</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>E. coli.</i> (WP2 <i>uvrA</i>) ±S9: 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/7 ⁺ レト				陰性	(2009)	166

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

抄録番号	資料No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	無毒性量	試験機関(報告年)	記載頁	
8.7.2	T-5.2 (GLP)	変異原性 染色体異常	CHL細胞 短時間処理法 -S9: 33.3, 100, 300, 900 µg/mL +S9: 16.7, 50, 150, 450 µg/mL 連続処理法 24h: 16.7, 50, 150, 450 µg/mL 48h: 3.3, 10, 30, 90 µg/mL				陰性	(2010)	169	
8.7.3	T-5.3 (GLP)	変異原性 小核試験	マウス	♂5	経口	0, 500, 1000, 2000 mg/kg 24, 48時間後 サンプリング	陰性	(2010)	174	
8.7.4	T-5.4 (GLP)	変異原性 遺伝子突然変異 L5178Y TK +/-マウスリンフォーム	L5178Y TK ^{+/+} 細胞 3時間処理(±S9) 0, 2.8, 8.3, 25, 75, 225 µg/mL 24時間処理 0, 14.1, 28.1, 56.3, 112.5, 225 µg/mL				陰性	(2011)	176	
8.8.1	T-6.1 (GLP)	生体機能に及ぼす影響	症状 観察	マウス	♂ 3 ♀ 3	経口	0, 500, 2000 mg/kg	2000 mg/kg	(2012)	179
				ラット	♂ 5 ♀ 5	経口	0, 500, 2000 mg/kg	2000 mg/kg		
			呼吸器系	ラット	♂ 5	経口	0, 500, 2000 mg/kg	2000 mg/kg		
			循環器系	ラット	♂ 5	経口	0, 500, 2000 mg/kg	2000 mg/kg		
			消化器系	ラット	♂ 8	経口	0, 500, 2000 mg/kg	2000 mg/kg		
8.9.1	T-7.1 (GLP)	免疫毒性 反復投与 28日間					7000 ppm	(2012)	182	
							1380 mg/kg/day			

・代謝物の毒性

抄録番号	資料No.	試験の種類・期間	供試動物	1群の供試数	投与方法	投与量	LD ₅₀ 値又は無毒性量	試験機関(報告年)	記載頁
8.10.1	TM-1 (GLP)	急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 6	経口	2000 mg/kg	>2000 mg/kg (死亡なし)	(2012)	185
8.10.2	TM-2 (GLP)	変異原性 復帰突然変異 Ames	細菌 試験Ⅰ <i>S. typh.</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>E. coli.</i> (WP2 <i>uvrA</i>) ±S9: 0, 61.7, 185, 556, 1667, 5000 µg/7* レート 試験Ⅱ <i>S. typh.</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537) <i>E. coli.</i> (WP2 <i>uvrA</i>) ±S9: 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/7* レート				陰性	(2012)	186

・ 製剤の毒性

36.0%フロアブル

抄録 番号	資料 No.	試験の種類・ 期間	供試 動物	1群の 供試数	投与 方法	投与量	LD ₅₀ 値又は 無毒性量	試験機関 (報告年)	記載 頁
8.11.1	TF-1.1 (GLP)	36.0%フロアブル 急性毒性 14日間観察	ラット	♀ 6	経口	2000 mg/kg	>2000 mg/kg (死亡なし)	(2011)	189
8.11.2	TF-1.2 (GLP)	36.0%フロアブル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 5 ♀ 5	経皮	♂♀共 2000 mg/kg	♂♀共 >2000 mg/kg (死亡なし)	(2011)	190
8.11.3	TF-1.3 (GLP)	36.0%フロアブル 急性毒性 14日間観察	ラット	♂ 3 ♀ 3	吸入	♂♀共 5.0 mg/L (実測値 5.13 mg/L)	♂♀共 >5.13 mg/L (死亡なし)	(2010)	191
8.11.4	TF-1.4 (GLP)	36.0%フロアブル 皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 3	皮膚 貼付	0.5 mL/2.5×2.5 cm (背部)4時間貼付	刺激性なし	(2011)	193
8.11.5	TF-1.5 (GLP)	36.0%フロアブル 眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♀ 3	結膜囊	0.1 mL/左眼	刺激性なし	(2011)	195
8.11.6	TF-1.6 (GLP)	36.0%フロアブル 皮膚感受性 (Buehler 法)	モルモット	感作群 ♀ 20 非感作 群♀ 10	感作： 100%液 0.2 mL 皮膚貼付 惹起： 100%液 0.2 mL 皮膚貼付	感作性なし	(2012)	197	
8.11.7	TF-1.7 (GLP)	36.0%フロアブル 皮膚感受性 局所リンパ節 増殖性試験 (LLNA 法)	マウス	♀ 5	投与量 0, 10, 25, 50 % 25 µL 耳介塗布 (3日間)	感作性なし	(2011)	200	

8.1 急性毒性

8.1.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. T-1.1)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： SD 系ラット、投与時 8~12 週齢、体重 203~214 g、雌 6 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 毒性等級法

投与方法： 検体を 0.5%w/v カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。投与前、投与 8 及び 15 日目に体重を測定した。試験終了時に全供試動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	なし
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

中毒症状は、観察期間を通じて認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

8.1.2 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. T-1.2)

試験機関

報告書作成年 2010 年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験動物： SD 系ラット、投与時 8～12 週齢、体重雄 366～391 g、雌 227～250 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 検体を 0.5%w/v カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して
背部に 24 時間閉塞貼付した。

試験項目： 中毒症状及び死亡を 14 日間にわたって観察した。投与前、投与 8 及び 15 日
目に重量を測定した。試験終了時に全供試動物について適用部位を含む組織
の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	処理後から 14 日まで
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

観察期間中死亡例はなく、中毒症状も認められなかった。

剖検では雌雄共に主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部位の皮膚に、刺激性変化及びその他の異常は認められなかった。

【申請者注：投与 8 及び 15 日目の体重測定において、体重増加量が低値を示した動物が認められた。しかしこれらを含む全ての動物で体重は増加しているため、若干の 24 時間閉塞貼付による拘束の影響があるかもしれないが、検体投与による毒性学的影響ではないと判断した。】

8.1.3 ラットにおける急性吸入毒性試験（資料 No. T-1.3）

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Wistar Hannover 系ラット、雄 8 週齢、雌 10 週齢、
体重；雄 238～261 g、雌 205～221 g、1 群雌雄各 3 匹

観察期間： 14 日間

暴露方法： 試験前に 250 μm のメッシュで篩にかけた検体を粉塵発生装置とジェットミル微粉器を用いてダストを発生させ、鼻部に 4 時間暴露させた。なお、4.82 mg/L はミスト発生可能な最高濃度であった。
暴露空気はガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件；

設定濃度 (mg/L)	13.5
実測濃度 (mg/L)	4.82
粒子径分布 (%) ¹⁾	
21.3 (μm)	1.0
14.8	3.3
9.8	14.7
6.0	25.3
3.5	19.0
1.55	21.7
0.93	8.7
0.52	3.0
空気力学的質量中位径 (μm)	3.87
呼吸可能な粒子 (<3.5 μm) の割合 (%)	52.4
チャンバー容量 (L)	40
チャンバー内通気量 (L/分)	39
暴露条件	ダスト、4 時間、鼻部暴露

¹⁾重量測定法により、3 回測定した平均

観察・検査項目：暴露中及び暴露後 14 日間、中毒症状及び死亡を観察した。
試験終了時に全供試動物につき肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 果：

投与方法	吸入
暴露濃度 (mg/L)	4.82
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄共 >4.82
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 死亡なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共 中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄共 4.82

雌雄共、中毒症状は観察されなかった。
肉眼的病理検査において、全例に何ら特記すべき変化は認められなかった。

8.2 皮膚及び眼に対する刺激性、皮膚感作性

8.2.1 ウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 No. T-1.4)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、11 週齢、体重 2.110~2.304 kg、雌 3 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 検体 0.5 g を脱イオン水 0.5 mL で湿らせ、剃毛した動物の背中の皮膚 (約 2.5 cm×2.5 cm) に貼付した。貼付時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は脱イオン水を用いて、ペーパータオルで拭き取った。

観察項目： 貼付終了後 1、24、48 及び 72 時間後に貼付部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果： 観察した刺激性変化の採点は、以下の表の通りである。

動物番号	刺激性変化	最高 評点	貼 付 除 去 後 時 間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合 計	紅斑、痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑、痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

観察期間を通して全動物に紅斑、浮腫、または他の皮膚変化も認められなかった。皮膚一次刺激性インデックスは 0 であった。

以上の結果から、イソフェタミド原体はウサギの皮膚に対して、無刺激性であると思われる。

8.2.2 ウサギにおける眼刺激性試験 (資料 No. T-1.5)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、11 週齢、体重 2.151~2.367 kg、雌 6 匹

観察期間： 72 時間

投与方法： 事前に眼の検査を実施し、眼の異常や角膜の損傷の認められないウサギを試験に用いた。左眼の結膜嚢内に検体 0.1 g を適用し、検体の流失を防ぐため、およそ 1 秒間上下眼瞼を軽く合わせた。適用した側と反対側の眼を無処理対照とし、洗眼群については適用 30 秒後に洗眼を行った。

観察項目： 投与後 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の眼刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果： 刺激性変化の採点は、次頁の表に示した。

すべての動物において、角膜、虹彩に刺激性反応は認められなかった。結膜の発赤については、洗眼群、非洗眼群の全例に適用 1 時間後に評点 1 の反応が観察されたが、それぞれ 24 及び 48 時間後には回復が認められた。結膜の浮腫については、非洗眼群の全例において、適用 1 時間後に評点 1~2 の反応が観察されたが、24 時間後には回復が認められた。分泌亢進については、洗眼の 1 例、非洗眼群の全例に評点 1~3 の反応が観察されたが、いずれも 24 時間後には回復が認められた。全動物の処置眼は、適用後 48 時間には明らかに正常であった。

以上の結果から、イソフェタミド原体はウサギの眼に対して、わずかな刺激性があるものと思われ、洗眼によりその刺激性は軽減されると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結果表〈非洗眼群〉

動物 番号	観察項目		最高 評点	適用後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
1	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	角膜評点		80	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	虹彩評点		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫	4	2	0	0	0
		分泌物	3	2	0	0	0
	結膜評点		20	10	2	0	0
	個体別評点		110	10	2	0	0
2	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	角膜評点		80	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	虹彩評点		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
	結膜評点		20	6	0	0	0
	個体別評点		110	6	0	0	0
3	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	角膜評点		80	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	虹彩評点		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫	4	2	0	0	0
		分泌物	3	3	0	0	0
	結膜評点		20	12	2	0	0
	個体別評点		110	12	0	0	0
合計			360	28	4	0	0
平均			120.0	9.3	1.3	0.0	0.0

結果表〈洗眼群〉

動物 番号	観察項目		最高 評点	適用後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
1	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	角膜評点		80	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	虹彩評点		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	結膜評点		20	2	0	0	0
	個体別評点		110	2	0	0	0
2	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	角膜評点		80	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	虹彩評点		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
	結膜評点		20	4	0	0	0
	個体別評点		110	4	0	0	0
3	角膜	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	角膜評点		80	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	虹彩評点		10	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	結膜評点		20	2	0	0	0
	個体別評点		110	2	0	0	0
合計			60	8	0	0	0
平均			20.0	2.7	0	0	0

8.2.3 モルモットにおける皮膚感作性試験（資料 No. T-1.6）

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Hartley 系モルモット、雌、6 週齢、体重 317～377 g、検体感作群 10 匹、陰性対照群 5 匹

観察期間： 惹起処置後 48 時間

試験方法： [Maximization 法]
投与量設定根拠；

感 作； ① Freund Complete Adjuvant (FCA) と生理食塩水の乳化液、② 検体 2% の流動パラフィン懸濁液、及び③ 検体 2% を含有する FCA と生理食塩水の乳化液をそれぞれ調製し、肩背部に 1 動物あたり各 2 箇所（各 0.1 mL）を皮内投与した。皮内投与の 6 日後、10% 相当のラウリル硫酸ナトリウムを混合したワセリン 0.5 mL を皮内投与した部位に解放塗布し、その 1 日後、検体 40% を含むアセトン 0.2 mL を皮内投与した部位に 48 時間閉塞貼付した。陰性対照群には検体を除いて同様の処置をした。

惹 起； 経皮感作の 14 日後、前日に剃毛した左側腹部に、検体 40% を含むアセトンを 24 時間閉塞貼付した。

観察項目： 惹起貼付除去の 24 時間後及び 48 時間後、貼付部位を観察し、皮膚反応（紅斑及び浮腫）について、以下の基準に従って採点した。採点結果を基に、感作率（陽性動物数／感作動物数）を算出し、Magnusson & Kligman (1969) の基準に従って、感作性の強度を分類した。感作率 0% の場合は感作性陰性とした。
感作群において非感作群に認められた最高評点を上回る反応を認めた動物を感作陽性動物とし、24 もしくは 48 時間後のいずれかの観察で認められた最高評点をその動物の皮膚反応評点とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

皮膚反応	評点
肉眼的変化なし	0
散在性または斑状の紅斑	1
中等度のびまん性紅斑	2
強い紅斑及び浮腫	3

結果： 皮膚反応の観察結果を以下の表に示す。

検体感作群、陰性対照群のすべての動物において皮膚反応は認められなかった。従って、検体感作群の感作陽性動物数は 0/10 例であり、感作陽性率は 0%であった。陽性対照群については並行して実施してはいないが、定期的に実施し、適切な結果（陽性率 DNCB 投与群：100%、対照群：0%、実施日：2011年9月16日～2011年11月30日、試験番号：I-4057）が得られているため、試験の妥当性は証明されたものとする。

以上の結果から、イソフェタミド原体のモルモットに対する皮膚感作性は陰性であると判断する。

表 皮膚反応採点結果

試験群		動物数			感作反応動物数										陽性率 (%)		
					24時間後					48時間後							
					感作		惹起	動物数	皮膚反応評点				計	皮膚反応評点			
皮内	経皮	0	1	2	3	0			1	2	3	24		48			
検体投与群	感作群	2%	40%	40%	10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0
	対照群	溶媒	溶媒	40%	5	5	0	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0	0
陽性対照群	感作群	0.1%	0.1%	0.1%	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
	対照群	溶媒	溶媒	0.1%	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0

8.2.4 マウスにおける皮膚感作性試験・局所リンパ節増殖性試験 (資料 No. T-1.7)

試験機関

報告書作成年 2010年 [GLP 対応]

検体純度 : %

供試動物 : CBA/J系マウス、雌、投与時8週齢、体重19.8~23.2g、1群雌5匹

試験方法 : [LLNA法]

投与量設定根拠 ;

検体塗布液の調製 ;

DMF (*N,N*-dimethylformamide)を陰性対照群、陽性対照 (HCA、 α -Hexylcinnamaldehyde)及び検体の希釈溶媒とした。

試験 ;

初回塗布日を第1日として起算した第1-3日に、検体投与液、HCA投与液またはDMFを両耳介背面に各々1耳介当り25 μ L塗布した。

第6日に20 μ Ciの³H-メチルチミジンを含むリン酸緩衝液 (PBS)250 μ Lを各動物に尾静脈内投与した。5時間後に動物をエーテル麻酔下で安楽殺した。各動物より採取した耳介リンパ節を秤量した。摘出したリンパ節をすり潰し、細胞を単離した。PBSで細胞を洗浄後、5%トリクロロ酢酸 (TCA)に再懸濁し、冷蔵下に18時間静置した。細胞塊を1mLの5%TCAに懸濁し、これをシンチレーションカクテル9mLと混合し、³H-メチルチミジンの取込量 (dpm)を測定した。

判定 ;

測定した³H-メチルチミジンの取込量 (dpm)を基に、陰性対照群の取込量で、各投与群の取込量を除して刺激指数 (Stimulation Index : SI値)を算出し、試験したいずれかの濃度でSI値が3以上であった場合を感作性ありと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結果： 結果を以下の表に示す。検体 10、25 及び 50%投与群の SI 値はそれぞれ 1.0、1.1 及び 1.1 であった。一方、陽性対照群の SI 値は 7.7 であった。

以上の結果から、イソフェタミド原体のマウスに対する皮膚感作性は陰性であると判断する。

表 各群の刺激指数 (SI) 及びリンパ節重量

試験群	投与量	SI 値	リンパ節重量 (mg)
陰性対照(DMF)	0%	1.0	5.1
検体 (イソフェタミド)	10%	1.0	4.4
	25%	1.1	4.9
	50%	1.1	5.0
陽性対照(HCA)	HCA 25%	7.7	10.8↑

陰性対照群測定値：³H-メチルチミジン取込量 (dpm)：539±267

リンパ節重量 (mg)：5.1 ± 1.2

Dunnet の多重比較検定 ↑：P<0.01 (但し、HCA 投与群は Student の t 検定)

8.3.1 ラットにおける急性神経毒性試験 (資料 No. T-1.8)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度: %

供試動物: SD系ラット、1群雌雄各12匹、投与時7週齢

試験期間: 1回投与後14日間観察

投与方法: 1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、10 mL/kgの容量で500、1000及び2000 mg/kgの用量で強制経口投与した。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

死亡率及び一般状態: 生死及び一般状態を毎日観察した。

投与に起因する一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

体重変化: 投与2週間前から1週間毎剖検前に全ての動物の体重を測定した。

投与に起因する体重の変化は認められなかった。

神経行動学的検査: 投与開始13日前、投与約1時間後、7日後及び14日後に全ての生存動物について、以下の項目の測定を盲検法にて行った。

- ホームケージ内の観察 (姿勢、噛みつき行為、痙攣/振戦、眼瞼閉鎖、便の硬さ)
- 動物取り扱い時の観察 (ケージからの取り出し易さ、取り扱いやすさ、流涎、流涙/紅涙、立毛、毛並み、眼瞼閉鎖、呼吸数/呼吸状態、眼球突出、粘膜/眼/皮膚の色、赤色/痲皮様沈着物、筋緊張)
- オープンフィールドの観察 (運動性、歩行、立ち上がり、覚醒状態、痙攣/振戦、排尿/排便、身繕い、歩行スコア、奇異/常同行動、後ずさり、1歩を踏み出すまでの時間)
- 感覚機能検査 (接近反応、接触反応、驚愕反応、尾痛反応、瞳孔反射、瞬目反射、前肢伸展、後肢伸展、空中立ち直り反射、嗅覚性方向反応)
- 神経筋機能観察 (後肢伸筋の強さ、握力(前肢及び後肢)、後肢開脚幅、ロータロッド試験)
- 生理的所見 (カタレプシー、体重、体温)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

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。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
検査動物数		12	12	12	12	12	12	12	12
完全な開眼	1時間	5	8	6	5	10	↓4	8	5
完全眼瞼閉鎖	1時間	5	3	5	3	0	3	2	↑6
排便	有	0	0	↑5	1	4	2	1	2
	無	12	12	↓7	11	8	10	11	10

Fisher の直接確率計算法 ↓↓ : $P < 0.05$
 表中の数字は所見を示した動物数を示す。

投与 1 時間後の観察において 500 及び 2000 mg/kg 投与群の雌で眼瞼閉鎖状態に有意差が認められたが、いずれも観察時の正常な睡眠または覚醒によるものであり、検体投与とは関連のない偶発的なものと判断した。また、投与 7 日後の観察で、雄の 1000 mg/kg 投与群で排便した個体が有意に増加したが、本試験が偶発的に排便のない個体が多かったためであり、検体投与とは関連のない偶発的なものと判断した。試験実施施設における背景データを以下の表に示す。【申請者注：排便の有無には投与用量との関連性がないため、検体投与との関連はないと判断した。】

性別		雄				
観察時間		投与前	0日	1日	7日	14日
検査動物数		249	329	30	48	48
排便	有	238 (96%)	240(73%)	24(80%)	32(67%)	31(65%)
	無	11(4%)	89(27%)	6(20%)	16(33%)	17(35%)

以上の結果から、認められた有意差は全て偶発的なものであり、検体投与による影響は認められなかった。

自発運動量；投与開始 13 日前、投与約 1 時間後、7 日後及び 14 日後に全ての生存動物について、60 分間の総運動量及び歩行総数を計測した。

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。

性別		雄				雌			
投与量 (mg/kg)		0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
検査動物数		12	12	12	12	12	12	12	12
総歩行数	試験前	473	400	459	496	594	557	606	610
	1時間	535	129	533	476	915	694	828	↓622
	7日	480	474	590	521	866	790	1020	721
	14日	601	425	551	489	843	643	845	704

線形傾向検定 ↓↓ : $P < 0.05$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

2000 mg/kg 投与群の雌で投与 1 時間後の総歩行数が有意に減少したが、この時の数値は試験開始前の値と同等であり、この群の動物の馴化が早かったために認められた。従って、検体投与と関連のない偶発的な変化と考えられた。

解剖学的検査；試験終了時に全ての生存動物を検査した。

投与に起因する変化は認められなかった。

解剖学的計測；全ての生存動物について、嗅球を除く脳の長さ及び大脳半球の幅を計測した。

投与に起因する変化は認められなかった。

脳重量測定；試験終了時に全ての生存動物の脳重量を測定した。

投与に起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群及び 2000 mg/kg 投与群から無作為抽出した雌雄各 6 匹を対象に、0.1M リン酸緩衝 4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定した後、以下の組織について病理組織標本を作成し、鏡検した。

脳（嗅球、大脳皮質、海馬/歯状回、基底核、視床、視床下部、中脳、小脳、脳橋、延髄）、脊髄（頸部腫脹部位及び腰部腫脹部位）、三叉神経節/神経、腰椎後根神経節、腰椎後根神経線維、腰椎前根神経線維、頸椎後根神経節、頸椎後根神経線維、頸椎前根神経線維、頸部脊髄神経、腰部脊髄神経、坐骨神経（大腿中部）、坐骨神経（坐骨切痕部）、腓腹神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼球、骨格筋（腓腹筋）、その他の部位（必要な場合）

中枢神経系はパラフィン包埋し、HE 染色した。末梢神経系は樹脂包埋し、病理担当者が適切と判断した染色をした。

投与に起因する病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する急性神経毒性試験における影響として、2000 mg/kg 投与でも検体投与による影響は認められなかった。

従って、本剤の神経毒性に対する無毒性量は、雌雄共に 2000 mg/kg 以上と判断された。

8.4 亜急性毒性

8.4.1 イヌにおける 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.1)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ビーグル犬、1 群雌雄各 4 匹、開始週齢 6 ヶ月齢

投与期間： 90 日間 (2010 年 5 月 25 日～2010 年 9 月 2 日)

投与方法： 検体を 0、100、1000、10000 ppm の濃度で飼料に混入し、90 日間にわたって随時
摂食させた。検体を混入した飼料は 4 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

一般症状及び死亡率；一般症状及び生死を毎日観察した。

死亡は認められなかった。また、検体投与に関連のある症状は認められなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前と投与期間中 1 週間に 1 回、全例を対象として、以下の項目に
ついて観察した。

ケージ内： 活動性、体位・姿勢、異常行動、振戦、痙攣

ケージ外での社交性

オープンフィールド：活動性、体位・姿勢、異常行動、振戦、痙攣、歩行状態、
呼吸状態、皮膚・被毛の状態、眼球の状態、眼瞼閉鎖、瞳孔の状態、
流涎、流涙、分泌物、眼球結膜・口腔粘膜の状態、異常発声、排便、
排尿、聴覚驚愕反応、接触刺激に対する反応

触診： 皮膚の異常、筋肉の状態

検体投与による変化は認められなかった。

体重変化；全動物について投与開始1週間前(-1週時)、投与直前(0週)及び投与期間中毎週1回、体重を測定した。さらに、全動物について剖検前に最終体重を記録した。投与開始時及び投与終了時の体重、ならびに13週間の増体量を以下の表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	100	1000	10000	0	100	1000	10000
体重 (kg)	0週	9.2	9.1	9.2	9.2	8.7	8.7	8.7	8.7
	13週	11.2	10.6	10.7	10.3	9.9	10.3	9.3	9.5
増体量(0-13週)		2.0	1.5	1.5	1.1	1.2	1.6	0.6	0.8

Dunnett 検定 有意差なし

統計学的に有意差は認められなかったが、雄の10000 ppm投与群において体重増加抑制傾向が認められた。この影響は検体投与によると考えられた。雌及び雄の1000 ppm以下の投与群では体重に対する影響は認められなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を馴化期間中及び投与期間中毎日測定した。

検体投与による影響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以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		100	1000	10000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	2.95	29.3	301
	雌	3.07	32.7	314

血液学的検査；投与開始前、投与7週及び13週時に全ての動物を対象として、橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球血色素量(MCH)、赤血球分布幅、赤血球血色素濃度分布幅(HDW)、血小板数(PLT)、網状赤血球数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、白血球数、白血球分類；リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球(B)、大型非染色球

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁表に示す。

10000 ppm 投与群の雄及び 1000 ppm 以上の投与群の雌において、7 及び 13 週時に APTT の有意な短縮または短縮傾向が認められた。また、10000 ppm 投与群の雄及び 1000 ppm 以上の投与群の雌において、13 週時に PLT の有意な増加あるいは増加傾向が認められた。PLT の増加と APTT の短縮には臨床的な関連性が乏しいため、毒性学的に意義のない変化と考えられた。その他に認められた統計学的に有意な変動は、投与開始前の傾向をそのまま反映したもの、関連する検査項目に影響が認められないもの、あるいは投与用量との一貫性を欠くものであり、検体投与との関連がない偶発的なものと判断した。

血液生化学的検査；血液学的検査で使用した血液から得られた血漿を用い以下の項目の測定を行った。

ALP、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、 γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ(GGTP)、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白、アルブミン(Alb)、グロブリン、アルブミン/グロブリン比、血糖(Gluc)、総コレステロール、TG、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム、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石原産業株式会社にある。

投与群で統計学的に有意な変化が認められた血液生化学的検査項目を下表に示す。

10000 ppm 投与群の雌雄において、ALP の有意な上昇、Alb の有意な低下及び TG の有意な増加または増加傾向が認められた。雌では前述に加えて GGTP の有意な増加が認められた。1000 ppm 投与群の雌雄において、ALP の有意な上昇または上昇傾向が認められ、雄では 13 週時に Alb の有意な低下が認められた。これらの変化は検体投与によるものと考えられた。100 ppm 投与群の雌において投与 13 週時に ALP の上昇傾向が認められたが、次頁に示す通り個体別値はほぼ背景対照値の範囲内であり、対応する病理組織学的変化も認められなかったため、毒性学的な有害影響ではないと判断した。雌の 10000 ppm 投与群で認められた Gluc ならびに T.Bil の有意な減少または減少傾向は毒性学的に意義のない変化と考えられた。

尿検査； 投与開始前及び投与 7 及び 13 週時に、すべての動物に関する尿検査を以下の項目について行った。

比重、ウロビリノーゲン、蛋白質、pH、潜血、ケトン体、ビリルビン、ブドウ糖、外観、尿量、尿沈渣

検体投与に関連する変化は認められなかった。

眼科学的検査； 投与開始前及び投与終了時（13 週時）に全動物について、検眼鏡による観察を含む眼科学的検査を実施した。検査では眼の以下の部位を観察した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体、硝子体、眼底

検体投与に関連する変化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石原産業株式会社にある。

臓器重量；投与終了時に計画殺した全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、心臓、胸腺、肝臓(胆のうを含む)*、
腎臓、脾臓、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮

*胆のうから胆汁を排出した後に計量

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

雄の 10000 ppm 投与群及び雌の 1000 ppm 以上の投与群において、絶対肝臓重量及び対体重比が有意に増加した。これらは検体投与による影響と考えられた。100 ppm 投与群では雌雄いずれにも検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

10000 ppm 投与群では雌雄で肝臓腫大の発生頻度が有意に増加し、雌では 4 例中 2 例に暗調化が認められた。1000 ppm 投与群の雌において、4 例中 1 例に肝臓腫大が認められた。これらは検体投与による影響と考えられた。100 ppm 投与群では雌雄いずれにも検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査；すべての動物を対象として、以下の組織について病理標本を作成し、鏡検した。

脳 (大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄 (頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経、下垂体、
胸腺、甲状腺、上皮小体、副腎、脾臓 (中央部及び尾部)、骨及び骨髄 (胸骨及び片側大腿骨)、リンパ節 (頸部及び腸間膜)、心臓 (左室壁、右室壁及び弁膜部)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

を含む心室中隔、心房、大血管)、大動脈、咽頭、唾液腺(下顎腺及び耳下腺)、食道、胃(噴門部、胃底部及び幽門部)、肝臓(外側左葉、外側右葉及び肝門部)、胆のう、膵臓、十二指腸、空腸、回腸(パイエル氏板を含む)、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、喉頭、気管、肺(主要気管支を含む右葉起始部、左後葉及び右後葉)、腎臓、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、卵巣、子宮(角部、体部及び頸管部)、陰、眼球(網膜及び視神経を含む、両側)、涙腺、下腿三頭筋、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

検体投与に関連した病理組織学的変化を以下の表に示す。

10000 ppm 投与群において、雌雄で小葉中心性肝細胞肥大の発生頻度が有意に増加した(雌雄ともに4例中4例)。また、甲状腺には雄1例、雌2例で濾胞上皮細胞肥大が認められ、副腎では雄2例に束状帯空胞化が認められた。1000 ppm 投与群では雌において、4例中2例に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。これらは検体投与による影響と考えられた。100 ppm 投与群では雌雄いずれにも検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤のビーグル犬に対する飼料混入による90日間反復経口投与毒性試験における影響として、10000 ppm 投与群の雌雄におけるALPの増加、Albの低下、TGの増加、肝臓重量増加、肝臓腫大、小葉中心性肝細胞肥大、甲状腺濾胞上皮細胞肥大、雄における体重増加抑制、副腎束状帯空胞化、雌におけるGGTPの増加、肝臓暗調化が認められた。また、1000 ppm 投与群の雌雄におけるALPの増加、雄におけるAlbの有意な低下、雌における肝臓重量増加、肝臓腫大、小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

従って、本試験における無毒性量は雌雄とも100 ppm(雄2.95 mg/kg/day、雌3.07 mg/kg/day)であると判断される。

8.4.2 ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.2)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Wistar Hannover 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 5 週齢

投与期間： 13 週間 (雄；2009 年 6 月 29 日～9 月 29 日)

(雌；2009 年 7 月 6 日～10 月 6 日)

投与方法： 検体を 0、100、1000 及び 10000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって
随時摂食させた。検体を混入した飼料は 4 週間に 1 回調製した。

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； 一般状態と生死を毎日観察した。

いずれの投与群の雌雄にも有意な変化はなく、投与期間中の死亡・切迫殺動物もなかった。

詳細な状態の観察；投与開始前と投与期間中 1 週間に 1 回、全例を対象として、以下の項目について観察した。

ホームケージ： 興奮、鎮静、異常姿勢、異常行動

ハンドリング： 取り扱い難さ、筋緊張の変化、振戦、眼瞼閉鎖、瞳孔径の変化、
流涎、流涙、分泌物、眼球突出、体温の変化、呼吸異常音、被毛
の変化、皮膚及び粘膜の変化

オープンフィールド：跳躍、旋回、痙攣、歩様異常、自発運動、身づくろい動作、
立ち上がり姿勢、呼吸、発声、立毛、排尿、排便、異常姿勢、異
常行動

有意差の認められた項目を次ページの表に示す。

		性別	雄				雌			
			投与量 (ppm)	0	100	1000	10000	0	100	1000
所見\検査動物数			10	10	10	10	10	10	10	10
4週	排尿回数 (オープンフィールド)	0回	10	10	10	10	10	10	7	10
		1-2回	0	0	0	0	0	0	↑3	0

Dunnett 検定 ↓↑: $P<0.05$

検体投与に関連する異常は認められなかった。1000 ppm 投与群の雌において第 4 週の排尿回数 (オープンフィールド) が有意に増加したが、投与用量との関連性がないため偶発的な変化と考えられた。

機能検査 ; 投与 11 週時に全例を対象として、自発運動量、握力 (前肢及び後肢)、感覚運動反応 (位置視覚、接近反応、聴覚反応、触覚反応、痛覚反応及び空中立ち直り反射) の測定を行った。

検体投与に関連する異常は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始時及び投与期間中毎週 1 回、全生存動物について体重を測定した。

いずれの投与群においても、対照群の体重と同程度の値で推移した。

摂餌量 ; 全ケージについて、投与期間中毎週 1 回、連続 3 日分または 4 日分のケージ別摂餌量を測定した。

有意差の認められた項目を次の表に示す。

性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	100	1000	10000	100	1000
2 週				↓91		
3 週				↓92		↓91
5 週						↓91
10 週						↓88

Dunnett 検定 ↓↑: $P<0.05$

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

10000 ppm 投与群において、雄は第 2 及び 3 週、雌では第 3、5 及び 10 週時に有意な低下が認められたが、体重値や食餌効率に関連する変動が見られなかったことから毒性変化とは考えなかった。

食餌効率 ; 投与期間中毎週、1 週間ごとの群平均体重増加量をそれぞれの群平均摂餌量で除して算出した。

いずれの投与群においても、食餌効率は対照群と同程度であった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		100	1000	10000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	6.65	68.9	637
	雌	7.83	78.0	741

眼科学的検査；馴化期間中に全動物について、また投与 13 週時に対照群及び最高投与量群の全生存動物について、ハロゲン検眼鏡による以下の部位の検査を実施した。

眼球、眼瞼、結膜、角膜、前眼房、瞳孔、虹彩、水晶体、硝子体、眼底

投与 13 週時の検査において、10000 ppm 投与群の雌雄で検体投与に関連する異常は認められなかった。

尿検査；投与 13 週時に全動物について、以下の項目を検査した。

尿量、尿色、尿沈渣、尿比重、ブドウ糖、ビリルビン、ケトン体、潜血、pH、タンパク質、ウロビリノーゲン

投与による影響は認められなかった。

血液学的検査；13 週間投与終了時に全動物を対象として下大静脈から採血し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数(RBC)、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量(MCH)、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、赤血球分布幅、赤血球色素量分布幅、血小板数、網状赤血球数、プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント(リンパ球、好中球、単球、好酸球、好塩基球、大型非染色球)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

1000 ppm 以上の投与群の雌と 10000 ppm 投与群の雄において APTT の有意な延長、また 10000 ppm 投与群の雄で PT の有意な延長が認められ、いずれも検体投与による影響が示唆された。10000 及び 1000 ppm 投与群の雌でみられた PT の有意な短縮は軽微であり、偶発性のものと判断した。その他の有意な変動は用量との関連性はなく、偶発性のものであった。

血液生化学的検査；13 週間投与終了時に全動物について、以下の項目を検査した。

アルカリホスファターゼ(ALP)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ(GGTP)、クレアチニン、尿素窒素、総蛋白(TP)、アルブミン、グロブリン(Glob)、アルブミン/グロブリン比、血糖、総コレステロール(T.Chol)、トリグリセライド(TG)、総ビリルビン(T.Bil)、カルシウム、無機リン、ナトリウム、カリウム(K)、塩素

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

1000 ppm 以上の投与群の雌雄における GGTP の有意な増加、10000 ppm 投与群の雄における ALT の有意な増加、10000 ppm 投与群の雌雄における T.Chol の有意な増加、10000 ppm 投与群の雌における TG の有意な増加は検体投与による影響と考えられた。10000 ppm 投与群の雌雄における Glob の有意な増加に伴う TP の軽度の有意な増加は投与に関連するものの毒性学的意義は低いと判断した。その他の変動は方向性が毒性学的意義を欠くものであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

臓器重量；13週間投与終了後の全動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

脳、心臓、胸腺、肝臓、腎臓(両側)、脾臓、副腎(両側)、精巣(両側)、精巣上体(両側)、卵巣(両側)、子宮

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

1000 ppm 以上の投与群の雌雄で肝臓の相対重量が有意に増加し、10000 ppm 投与群の雌雄では肝臓の絶対重量も増加した。1000 ppm 以上の投与群の雌において副腎の絶対及び相対重量が有意に増加した。これらは検体投与の影響と考えられた。1000 ppm 投与群の雄における心臓相対重量の有意な増加は用量との関連性がないことから偶発性のものと判断した。

肉眼的病理検査；13週間投与試験終了後の全生存動物について剖検を行った。
対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

10000 ppm 投与群では雄 4/10 例、雌 5/10 例が肝臓の暗調化を呈して、有意な増加を示し検体投与の影響と考えられた。その他の投与群では雌雄いずれにも有意な変化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石原産業株式会社にある。

病理組織学的検査；0及び10000 ppm 投与群の全例の以下の組織及び臓器、ならびに100及び1000 ppm 投与群の全例の肝臓（雌雄）、甲状腺（雌雄）及び副腎（雌）と肉眼的異常部位の病理組織学的検査を実施した。

脳(大脳、小脳、橋及び延髄)、脊髄(頸部、胸部及び腰部)、坐骨神経(片側)、下垂体、胸腺、甲状腺及び上皮小体(両側)、副腎(両側)、脾臓、骨及び骨髓(胸骨、大腿骨；片側)、膝関節(片側)、リンパ節(頸部及び腸間膜)、心臓、大動脈、唾液腺(顎下腺及び舌下腺)、食道、胃(前胃及び腺胃)、肝臓、膵臓、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、鼻腔、咽頭、喉頭、気管、肺(気管支を含む)、腎臓(両側)、膀胱、精巣(両側)、精巣上体(両側)、前立腺、精嚢(両側)、凝固腺(両側)、卵巣(両側)、子宮(子宮角及び頸部)、膈、眼球(両側、網膜及び視神経を含む)、ハーダー腺(両側)、骨格筋(下腿三頭筋、片側)、皮膚(腰背部)、乳腺(腹部)、肉眼的異常部位

以下の表に統計学的有意差の認められた所見を示す。

1000 ppm 以上の投与群の雌雄で肝臓のびまん性肝細胞肥大、10000 ppm 投与群の雌雄で甲状腺濾胞上皮細胞肥大がそれぞれ統計学的有意差を伴って高頻度に所見された。また、10000 ppm 投与群の雌において副腎皮質束状帯細胞肥大が有意に増加した。これらの変化は検体投与の影響と考えられた。統計学的有意差は認められないものの、1000 ppm 投与群の雄3例で認められた甲状腺濾胞上皮細胞肥大も検体投与の影響と考えられた。

以上の結果から、本剤のラットに対する飼料混入投与による90日間反復経口投与毒性試験における影響として、1000 ppm 以上の投与群の雌雄でGGTPの増加、肝臓重量の増加を伴うびまん性肝細胞肥大、1000 ppm 以上の投与群の雄で甲状腺濾胞上皮細胞肥大、雌でAPTTの延長と副腎重量の増加、10000 ppm 投与群の雌雄でT. Cholの増加、肝臓の肉眼的暗調化、10000 ppm 投与群の雄でPT及びAPTTの延長、ALTの増加、雌でTGの増加、甲状腺濾胞上皮細胞肥大、副腎皮質束状帯細胞肥大が認められた。

従って、無毒性量は雌雄共に100 ppm (雄: 6.65 mg/kg/day、雌: 7.83 mg/kg/day)であると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.4.3 マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (資料 No. T-2.3)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： ICR 系マウス、1 群雌雄各 12 匹、投与開始時 5~6 週齢

投与期間： 13 週間 (2010 年 5 月 4 日~8 月 4 日)

投与方法： 検体を 0、100、1000 及び 8000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた。

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。

試験期間を通して検体投与に関連する所見及び死亡は認められなかった。

体重変化；投与開始 1 週間前、投与開始時及び 1 週間毎に、すべての動物の体重を測定した。

試験終了時の体重及び投与開始時から終了時までの体重増加量を下表に示す。

性別	雄			雌		
	100	1000	8000	100	1000	8000
投与量 (ppm)	100	1000	8000	100	1000	8000
最終体重	108	100	95	94	99	96
体重増加量	↑ 133	104	92	90	92	87

Williams または Dunnett 検定 ↑↓ : $P < 0.05$

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

8000 ppm 投与群の雌雄において、通期での体重増加量が軽度の抑制傾向を示したが統計学的に有意ではなく、投与との関連性も明らかでなかった。

摂餌量； ケージ別の摂餌量を投与開始 1 週間前から週 1 回測定した。
検体投与に関連する変化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以下の通りであった。

投与量 (ppm)		100	1000	8000
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	13	129	1067
	雌	16	161	1306

血液学的検査；最終解剖時に全動物を対象として眼窩静脈洞より採血し、以下の項目を測定した。

ヘマトクリット値(Ht)、血色素量(Hb)、赤血球数(RBC)、網状赤血球数、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度(MCHC)、平均赤血球容積、白血球数(WBC)、白血球ディファレンシャルカウント (好中球(N)、リンパ球(L)、好酸球、好塩基球(B)、単球(M)、大型非染色球(LUC))、血小板数(Plt)

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8000 ppm 投与群の雌雄において、Ht と RBC の減少傾向が、雌において Hb の統計学的に有意な低下が認められた。いずれも対照群との差は小さく、毒性学的に重要な所見ではないと考えられた。【申請者注：8000 ppm 投与群の雄で認められたこれらの変動には有意差がなく、また変動もごく軽微であるため、検体投与の影響はないと判断した。】1000 及び 8000 ppm 投与群の雄において Plt の増加傾向あるいは有意な増加が認められたが、これらの群では血小板の検査可能動物数が少なかったため評価に適さず、また雌では同様の傾向がみられなかったため、投与との関連はないと考えられた。【申請者注：雄の 0、100、1000 及び 8000 ppm 投与群における Plt の検査動物数は、それぞれ 7、3、3 及び 4 例】その他に統計学的有意差が認められた項目は、全て変化が軽微で用量との関連性がなかったため、検体投与との関連がない偶発性の変化と考えられた。

血液生化学的検査；最終解剖時に全動物を対象として眼窩静脈洞より採取した血液から得られた血漿を用い、以下の項目を検査した。

アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、総ビリルビン(T.Bil)、尿素(Urea)、グルコース(Gluc)、T. Chol、ナトリウム、カリウム(K)、塩素、カルシウム、無機リン(P)、TP、アルブミン(Alb)、アルブミン/グロブリン比(A/G 比)

以下の表に統計学的有意差の認められた項目を示す。

8000 ppm 投与群の雌雄で Gluc、Alb 及び A/G 比の有意な低下または低下傾向が、雌で ALT 及び Urea の有意な増加が認められた。これらは検体投与によるものと考えられるが、毒性学的な意義は低いと考えられた。1000 ppm 以下の投与群の雌雄で認められた有意な A/G 比の低下、1000 ppm 以下の投与群の雌で認められた Alb の有意な低下及び 1000 ppm 投与群の雄で認められた Gluc の有意な低下は軽微であり、毒性学的意義はないと考えられた。【申請者注：8000 ppm 投与群の雌における

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

Kの低下や1000 ppm以下で認められた変化には関連するその他の検査項目に所見が認められなかったため、検体投与とは関連のない変化と判断した。】その他に認められた統計学的に有意な変化には用量相関性が認められなかったため、検体投与とは関連のない偶発的な変化と考えられた。

臓器重量；試験終了時に全動物を対象として以下の臓器の重量を測定し、剖検前の体重による補正值及び対体重比を算出した。

副腎、脳、精巣上部、心臓、腎臓、肝臓、卵巣、脾臓、精巣、子宮及び子宮頸部

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

8000 ppm投与群の雌雄で肝臓重量（絶対値、体重補正值及び対体重比）が、雌で副腎重量（絶対値、体重補正值及び対体重比）が有意に増加した。これらは検体投与の影響と考えられた。8000 ppm投与群の雌雄及び1000 ppm投与群の雌で心臓重量の有意な減少あるいは減少傾向がみられたが、個別別データは雌雄各1例を除き背景データ範囲内にあり、1000 ppm投与群と比べた場合、明確な用量反応性はなかったため、検体投与とは関連のない変化と判断した。心臓重量の90パーセンタイルの範囲は雄が0.174~0.337 g (n=45)、雌が0.140~0.201 g (n=50)であった。【申請者注：病理組織学的検査において心臓に異常所見は認められず、血液生化学的検査においても心臓毒性を示唆する検査項目の変動はなかったため、検体投与とは関連がない変化と判断した。また8000 ppm投与群の雄における脳の対体重比の増加は、病理組織学的検査において関連する所見が認められないことから偶発性のものと判断した。】

肉眼的病理検査；試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

8000 ppm 投与群の雄 12 匹中 2 匹及び雌 12 匹中 4 匹で肝臓腫大が認められた。他の所見はいずれも自然発生的な変化であり、検体投与によるものではなかった。

病理組織学的検査；以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

対照群及び 8000 ppm 投与群：副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上体、眼、大腿骨及び関節、胆嚢、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、肝臓、肺及び気管支、リンパ節(下顎、腸間膜、左腋窩)、乳腺、食道、視神経、卵巣、膵臓、パイル板、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、膣、肉眼的異常部位
100 及び 1000 ppm 投与群：腎臓、肝臓、肺及び肉眼的異常部位 (以上雌雄)、副腎 (雌のみ)

以下の表に検体投与に関連した所見を示す。

8000 ppm 投与群の雄で軽微なびまん性肝細胞肥大が、雌で軽微な好酸性変化を伴う門脈周囲性肝細胞肥大及び軽微な副腎皮質細胞肥大が認められた。

以上の結果から、本剤のマウスを用いた飼料混投与による 90 日間反復経口投与毒性試験の影響として、8000 ppm 投与群の雌雄に体重増加抑制傾向、Gluc、Alb 及び A/G 比の低下、肝臓重量増加及び肝臓腫大が、雄にびまん性肝細胞肥大が、雌に Ht、RBC 及び Hb の減少、ALT 及び Urea の増加、副腎重量増加、好酸性変化を伴う門脈周囲性肝細胞肥大及び副腎皮質細胞肥大が認められたため、無毒性量は雌雄共に 1000 ppm (雄: 129 mg/kg/day、雌: 161 mg/kg/day)と判断される。

8.4.4 ラットを用いた 28 日間反復経皮投与毒性試験 (資料 No. T-2.4)

試験機関

報告書作成年 2011 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： SD 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 7~8 週齢

試験期間： 4 週間 (2010 年 11 月 15 日~12 月 14 日)

試験方法： 検体を 0、100、300 及び 1000 mg/kg/day の投与用量になるように 0.2 mL の蒸留水で湿らせ、4 週間にわたって毎日、剃毛した背部皮膚に少なくとも 1 日 6 時間閉塞貼付した。

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 2 回観察した。また、貼付部位の皮膚について、投与開始後 1 週間は毎日、以降は 1 週間に 2 回、Draize の基準に従って刺激性を評価した。

試験期間を通して検体投与による一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

体重変化；投与開始 7 日前、3 日前、投与開始時及び 1 週間毎に、すべての動物の体重を測定した。

検体投与に伴う変化はなかった。

摂餌量；全動物の摂餌量を投与 1 週間前から試験終了まで毎週 1 回測定した。

検体投与に伴う変化はなかった。

血液学的検査；最終解剖時に全動物を対象として舌下静脈より採血し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット、血色素量、赤血球数(RBC)、網状赤血球数、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、平均赤血球容積、白血球数、白血球ディファレンシャルカウント(好中球、リンパ球、好酸球、好塩基球、単核球、大型非染色球)、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

血小板数、プロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

4週間投与後の血液学的検査において、100 ppm 投与群の雄で RBC の有意な増加が、300 及び 1000 ppm 投与群の雄で APTT の有意な短縮が認められたが、これらは対照群との差が僅かであるか、用量との関連性がなく、検体投与と関連のない偶発的变化と考えられた。

血液生化学的検査；最終解剖時に全動物を対象として舌下静脈より採血した血液から血漿を分離し、以下の項目の測定を行った。

アルカリホスファターゼ、アラニンアミノトランスフェラーゼ、
アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ、 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ、
総ビリルビン、尿素、クレアチニン、血糖、総コレステロール、トリグリセリド
(TG)、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、総蛋白、
アルブミン、アルブミン/グロブリン比

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

全ての投与群の雄で TG の有意な減少が認められたが、変化は軽微で用量との関連性がなく、すべての試験群の数値が背景データの範囲内であるため、検体投与と関連のない変化と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

尿検査； 剖検直前に全動物を対象として1晩蓄尿し、以下の項目を検査した。

外観、尿量、pH、比重、蛋白質、尿糖、ケトン体、胆汁色素、血色素、
尿沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

雄の300または1000 mg/kg/day 投与群でpHが有意に高かったが、対照群との差は僅かであり背景データの範囲内であったため、検体投与と関連のない変化と判断した。

眼科学的検査；投与開始前に全動物を、投与後4週時に対照群及び1000 mg/kg/day 投与群の全動物を検査した。

検体の投与に関連のある異常は認められなかった。

臓器重量；試験終了時に全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、剖検前の体重による補正値を算出した。

副腎、脳、精巣上体、心臓、腎臓、肝臓、肺及び気管、卵巣、下垂体、前立腺、
唾液腺、精嚢、脾臓、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、子宮及び子宮頸部

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

300及び1000 mg/kg/day 投与群の雄で脾臓の体重補正重量及び対体重比が有意に増加したが、対照群との差は僅かであり用量との関連性がなく、背景データの範囲内であったため、検体投与と関連のない変化と判断した。【申請者注：本試験における

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

雄の対照群の脾臓重量は背景データを大きく逸脱して小さいが、投与群は背景範囲内である。したがって本試験で認められた脾臓重量の有意な増加は、偶発的に対照群値が小さかったことに起因していると考えられ、検体投与とは関連がないと判断した。】

肉眼的病理検査；全動物について剖検を行った。

検体の投与に関連のある異常は認められなかった。

病理組織学的検査；対照群及び 1000 mg/kg/day 投与群の全動物について、以下の組織の病理標本を作製し、鏡検した。

副腎、大動脈、脳、盲腸、結腸、十二指腸、精巣上部、眼球、大腿骨、心臓、回腸、空腸、腎臓、涙腺、咽頭、肝臓、肺、リンパ節、食道、視神経、卵巣、膵臓、パイエル板、下垂体、前立腺、直腸、唾液腺、坐骨神経、精嚢、骨格筋、皮膚、乳腺、脊髄、脾臓、胸骨、胃、精巣、胸腺、甲状腺及び上皮小体、気管、膀胱、子宮及び子宮頸部、膈

さらに、100 および 300 ppm 投与群の肉眼的異常部位についても病理標本を作製し、鏡検した。

検体投与に関連する所見は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する 28 日間経皮投与試験において、検体投与による影響は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも 1000 mg/kg/day 以上であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.4.5 ラットを用いた飼料混入投与による90日間反復経口投与神経毒性試験（資料No. T-2.5）

試験機関

報告書作成年 2011年【GLP対応】

検体純度： %

供試動物： SD系ラット、1群雌雄各12匹、投与時6週齢

試験期間： 13週間（2010年12月13日～2011年3月17日）

投与方法： 検体を500、3000及び15000ppmの濃度で飼料に混入し、13週間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料はほぼ1週間に1回調製した。

用量設定根拠；

観察・検査項目及び結果：

死亡率及び一般状態；生死及び一般状態を毎日観察した。

投与に起因する一般状態の変化及び死亡は認められなかった。

体重変化；投与1週間前、開始から毎週1回すべての動物の体重を測定し、増体量を算出した。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた変化を下表に示す。

性別	雄			雌		
	500	3000	15000	500	3000	15000
投与量 (ppm)	500	3000	15000	500	3000	15000
検査動物数	12	12	12	12	12	12
増体量 0-7日	105	93	↓87	86	↓73	91

Dunnnett検定 ↑↓：P<0.05、↑↓↑↓：P<0.01

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

雄の 15000 ppm 投与群において、0-7 日の増体量が有意に低下した。この変化は検体投与による影響が疑われるが、投与 7 日目の平均体重、最終体重及びその他の期間の増体量に有意差は認められなかったため、有害作用ではないと判断した。雌の 3000 ppm 投与群において 0-7 日の増体量が有意に低下したが、投与用量との関連性がなく一過性であったため、検体投与との関連のない偶発的な変化と判断した。

摂餌量； 全動物の摂餌量を週 1 回測定した。
投与による変化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以下の通りであった。

投与量 (ppm)		500	3000	15000
検体摂取量 (mg/kg/day)	雄	34	207	1049
	雌	40	245	1213

神経行動学的検査； 投与開始 1 週間前、3 週後、7 週後及び 12 週後に全ての生存動物について、以下の項目の測定を盲検法にて行った。

- ホームケージ内の観察（姿勢、噛みつき行為、痙攣／振戦、眼瞼閉鎖、便の硬さ）
- 動物取り扱い時の観察（ケージからの取り出し易さ、取り扱いやすさ、流涎、流涙／紅涙、立毛、毛並み、眼瞼閉鎖、呼吸数／呼吸状態、眼球突出、粘膜／眼／皮膚の色、赤色／痂皮様沈着物、筋緊張）
- オープンフィールドの観察（運動性、歩行、立ち上がり、覚醒状態、痙攣／振戦、排尿／排便、身繕い、歩行スコア、奇異／常同行動、後ずさり、歩行開始時間）
- 感覚機能検査（接近反応、接触反応、驚愕反応、尾痛反応、瞳孔反射、瞬目反射、前肢伸展、後肢伸展、空中立ち直り反射、嗅覚性方向反応）
- 神経筋機能観察（後肢伸筋の強さ、握力(前肢及び後肢)、後肢開脚幅、ロータロッド試験）
- 生理的所見（カタレプシー、体重、体温）

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。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	500	3000	15000	0	500	3000	15000
検査動物数		12	12	12	12	12	12	12	12
歩行開始時間(秒)	12 週	0.6	0.6	0.5	0.5	0.5	0.4	↑0.6	0.5
カタレプシー(秒)	12 週	1.6	0.8	0.5	1.0	0.3	0.4	↑0.6	0.3

Dunnett 検定 ↑↓：P<0.05

投与 12 週後の観察において雌の 3000 ppm 投与群で歩行開始時間及びカタレプシーが有意に延長したが、投与用量との関連性及び雌雄間の一貫性がないため、いずれも検体投与とは関連のない偶発的なものと判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

自発運動量；投与開始 1 週間前、3 週後、7 週後及び 12 週後に全ての生存動物について、60 分間の総運動量及び歩行総数を計測した。
投与による変化は認められなかった。

解剖学的検査；試験終了時に全ての生存動物を検査した。
投与による変化は認められなかった。

解剖学的計測；全ての生存動物について、嗅球を除く脳の長さ及び大脳半球の幅を計測した。
投与に起因する変化は認められなかった。

脳重量測定；試験終了時に全ての生存動物の脳重量を測定した。
投与による変化は認められなかった。

病理組織学的検査；試験終了時に対照群及び 15000 ppm 投与群から無作為抽出した雌雄各 6 匹を対象に、0.1M リン酸緩衝 4%パラホルムアルデヒドを用いて灌流固定した後、以下の組織について病理組織標本を作成し、鏡検した。

脳（嗅球、大脳皮質、海馬/歯状回、基底核、視床、視床下部、中脳、小脳、脳橋、延髄）、脊髄（頸部腫脹部位及び腰部腫脹部位）、三叉神経節/神経、腰椎後根神経節、腰椎後根神経線維、腰椎前根神経線維、頸椎後根神経節、頸椎後根神経線維、頸椎前根神経線維、頸部脊髄神経、腰部脊髄神経、坐骨神経（大腿中部）、坐骨神経（坐骨切痕部）、腓腹神経、脛骨神経、腓骨神経、視神経、眼球、骨格筋（腓腹筋）、その他の部位（必要な場合）

中枢神経系はパラフィン包埋し、HE 染色した。末梢神経系は樹脂包埋した。

投与による病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のラットに対する 90 日間飼料混入投与による神経毒性試験において、最高用量の 15000 ppm 投与群でも検体投与による影響は認められなかった。

従って、本剤の神経毒性に対する無毒性量は、雌雄共に 15000 ppm（雄：1049 mg/kg/day、雌：1213 mg/kg/day）と判断された。