

(2) 代謝物

の毒性試験

1) 代謝物

のラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.T-43)

試験機関：

報告書作成年：2008年

[GLP対応]

検体の純度：

供試動物：Wistar Hannoverラット(HanRcc:WIST)、11週齢、体重177.7~199.3g
1群雌5匹

観察期間：14日間

試験方法：上げ下げ法

投与方法：0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に検体を懸濁して経口投与した。
投与前16.5~18時間及び投与後3~4時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。観察期間中の死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

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

観察期間中に中毒症状は観察されなかった。いずれの動物も、観察期間終了時の体重は投与時より増加した。

剖検所見では特記すべき変化は認められなかった。

2) のラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与
試験 (資料 No.T-44)

試験機関:

報告書作成年: 2009 年 [GLP 対応]

検体の純度:

供試動物 : Wistar Hannover ラット (CrI:WI(Han))、試験開始時 7 週齢、体重; 雄 168~221g、雌 125~151g、1 群雌雄各 5 匹

投与期間 : 28 日間

投与方法 : 検体を 300、4000 および 10000 ppm の濃度で飼料に混和し、28 日間にわたって摂食させた。対照群には基礎飼料を同様に摂食させた。検体を混和した飼料は 2 週間に 1 回調製した。

用量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日 2 回観察した。さらに、詳細な症状観察を週 1 回行った。また投与第 1 週では投与に対する反応も観察した。

投与 26 日に対照群の雌 1 例を誤って飼育室から搬出したため、当該動物は剖検を実施せず以降の検査の評価から除外した。

一般状態には投与期間中にいずれの投与群の雌雄でも検体投与に関連した変化は認められなかった。

体重変化; 全動物の体重を投与前週は 2 回、投与第 1 週は毎日、以降は週 2 回測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 1 に示す。

いずれの投与群の雌雄において投与による影響は認められなかった。

表 1. 体重変化

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	300	4000	10000	300	4000	10000
24 日						91↓

統計学的有意差：↓：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

摂餌量 ; 全動物の摂餌量を投与前週は 2 回、投与第 1 週は毎日、以降は週 2 回測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 2 に示す。

投与期間中、摂餌量について対照群と比べ統計学的に有意な変化が散見されたが、いずれも散発的な発生であることから、投与との関連はないと考えられた。

表 2. 摂餌量

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	300	4000	10000	300	4000	10000
0 日⇒確認したのち抜く					88↓	
1 日						23↓↓
5 日	86↓		83↓↓			
6 日						50↓↓
17 日	78↓					
28 日	90↓↓					

統計学的有意差：↓：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

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は下表のとおりであった。

表 3. 検体摂取量

投与量 (ppm)		300	4000	10000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	27	370	927
	雌	29	388	906

飲水量 ; 全動物の飲水量を目視によって毎週確認した。

投与期間中、いずれの投与群においても検体投与による影響はみられなかった。

詳細な状態の観察 ; 試験 4 週に全動物を対象として、以下の項目を観察・測定した。

ホームケージ内観察 (最初の接近時の体位/状態) : 衰弱、嗜眠、苦悶、旋回、呼吸異常、歩行異常、振戦、線維束性収縮、痙攣、噛み付き (ケージ構成物または自咬)、異常発声、立毛

ハンドリングによる観察 : ケージからの取り出し易さ、眼の状態 (瞳孔機能、縮瞳、散瞳、眼球突出、表面付着物、流涙)、被毛の状態、流涎の有無、ハンドリングの容易さ

体温

アリーナ内観察 : 潜時 (最初の自発運動までの時間)、移動性、立ち上がり、身づくろい、排尿/排便、覚醒 (機敏さ)、体位、振戦/痙攣、異常発声、立毛、眼瞼閉鎖、歩行異常、常同行動 (行動の過剰反復) および/または異常行動

4000 ppm 群の雄 3 例ならびに 300 および 10000 ppm 群の雌 2 例で聴覚刺激に対する過剰反応が認められたが、雄ではより高用量で同様の反応が認められなかったこと、および雌では用量相関性がみられなかったことから、本所見は偶発的と考えられた。したがって、いずれの投与群の雌雄においても検体投与による影響はみられなかった。

機能検査(FOB) ; 試験 4 週に全動物を対象として、以下の項目を観察・測定した。

音に対する反応、探針の臀部への接触に対する反応、握力 (前肢および後肢)、痛覚 (tail flick 潜時)、着地開脚幅、自発運動 (5 分単位で 60 分間)

その他の身体/機能異常

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 4 に示す。

300 および 4000 ppm 群の雄で後肢握力が有意に減少したが、10000 ppm では同様の変化が認められなかったことから、偶発的な変化であると考えられた。

したがって、いずれの投与群の雌雄でも検体投与による影響は認められなかった。

表 4. 機能検査

性別	雄			雌		
	300	4000	10000	300	4000	10000
投与量 (ppm)	300	4000	10000	300	4000	10000
後肢握力	80↓	75↓				

統計学的有意差：↓：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

血液学的検査；投与終了後に全動物を対象として、眼窩静脈洞から血液を採取し、以下の項目を測定した。

ヘモグロビン、赤血球数、ヘマトクリット、白血球数、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、網赤血球数、白血球分類 (好中球、リンパ球、単球、好酸球、好塩基球、大型未分類細胞)、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表 5 に示す。

10000 ppm 群の雄で APTT の有意な減少がみられたが、この変化は対照群の値が高かったことに起因するものであり、投与との関連はないと考えられた。

表 5. 血液学的検査

性別	雄			雌		
	300	4000	10000	300	4000	10000
投与量 (ppm)	300	4000	10000	300	4000	10000
APTT			78↓			

統計学的有意差：↓：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

血液生化学的検査；投与終了後に全動物を対象として、眼窩静脈洞から血液を採取し、得られた血漿を用いて以下の項目を測定・算出した。

尿素、グルコース、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)、アルカリホスファターゼ (ALP)、ガンマ-グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)、ナトリウム、カリウム、クロール、総蛋白、アルブミン、グロブリン、アルブミン/グロブリン比 (A/G)、コレステロール、トリグリセリド、クレアチニン、クレアチンホスホキナーゼ、総ビリルビン、カルシウム、リン

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 6 に示す。

300 ppm 群の雄において、尿素が有意に減少したが、用量との関連性がないことから、検体投与との関連はないと考えられた。

すべての投与群の雄において総ビリルビンが有意に減少したが、用量との関連性がないことおよび当研究所の背景データ（表 7）の範囲内の変化であることから、検体投与との関連はないと考えられた。

10000 ppm 群の雌雄においてその他にも統計学的に有意差の認められた変化（雄：A/G 比、雌：リン、カルシウム、ALP）は、いずれも用量との関連性がないこと、雌雄間で変動の一致がないことおよび背景データ（表 7）の範囲内の変化であることから検体投与との関連性はないと判断された。

したがって、いずれの投与群の雌雄でも投与による影響は認められなかった。

表 6. 血液生化学的検査

性別	雄			雌		
	300	4000	10000	300	4000	10000
投与量 (ppm)	300	4000	10000	300	4000	10000
ALP					71↓	72↓
尿素	82↓					
総ビリルビン	53↓	33↓↓	47↓↓			
グロブリン			117↑			
A/G		84↓↓	84↓↓			
ナトリウム			101↑			
リン						82↓
カルシウム						94↓↓

統計学的有意差：↑↓：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

表 7 統計学的有意差の認められた血液生化学的検査項目における
個体別値および背景データ

性別		雄		雌	
項目	投与量 (ppm)	個体別値	背景値	個体別値	背景値
ALP (IU/L)	4000	/	/	62-84	39-134
	10000	/	/	54-89	
総ビリルビン ($\mu\text{mol/L}$)	300	0.4-1.2	0.1-2.3	/	/
	4000	0.1-0.8		/	
	10000	0.3-1.0		/	
A/G	4000	1.5-1.8	1.5-2.7	/	/
	10000	1.5-1.7		/	
ナトリウム(mmol/L)	10000	146-148	140-146	/	/
リン(mmol/L)	10000	/	/	1.58-1.76	1.06-2.20
カルシウム(mmol/L)	10000	/	/	2.56-2.68	2.54-3.12

肝臓の生化学的検査；投与終了後に全試験群の全動物を対象として、肝臓中葉からミクロソーム画分を調製し、蛋白量〔肝臓 1 g あたりの蛋白量 (mg)〕および総チトクロム P450 (CYP) 含量を測定し、さらに、7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD ; CYP1A) および 7-pentoxoresorufin O-deethylase (PROD ; CYP2B) 活性を測定した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を表 8 に示す。

10000 ppm 群において、雌雄の蛋白量、CYP1A および CYP2B ならびに雄の CYP 含量が有意に増加した。4000 ppm 群において、雌雄の蛋白量、CYP 含量、CYP1A および CYP2B が有意に増加した。300 ppm 群において、雌雄の CYP1A、雄の蛋白量および雌の CYP2B が有意に増加した。

表 8. 肝臓チトクロム P450 (CYP) 活性への影響

性別	雄			雌		
	300	4000	10000	300	4000	10000
投与量 (ppm)	300	4000	10000	300	4000	10000
蛋白量	142↑↑↑	195↑↑↑	220↑↑↑		162↑↑↑	205↑↑↑
CYP 含量		210↑↑↑	203↑↑↑		138↑↑↑	
CYP1A	135↑↑↑	372↑↑	424↑↑↑	195↑	183↑	234↑
CYP2B		10015↑↑↑	12459↑	5397↑↑↑	11743↑	7870↑↑↑

統計学的有意差：↑：p<0.05、↑↑：p<0.01、↑↑↑：p<0.005 (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

尿検査 ; 試験 4 週に全動物を対象として、絶食 (餌および水) した動物から代謝ケージを用いて尿 (約 4 時間) を採取し、以下の項目を観察・測定した。
尿量、比重、色調、pH、蛋白、糖、ケトン、ウロビリノゲン、ビリルビン、潜血、尿沈渣

いずれの投与群の雌雄でも検体投与による影響は認められなかった。

臓器重量 ; 投与終了後に全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、補正重量および対体重比を算出した。なお、両側の臓器は別個に測定したのち、合計値を用いた。
副腎 (両側)、脳、精巣上体 (両側)、心臓、腎臓 (両側)、肝臓、卵巣 (両側)、脾臓、精巣 (両側)、胸腺、甲状腺および上皮小体 (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表 9 に示す。

10000 および 4000 ppm 群の雌雄で肝臓の絶対および補正重量が有意に増加し、検体投与の影響がみられた。

10000 ppm 群の雄において脾臓の補正重量が増加したが、対体重比には統計学的有意差がないこと、絶対重量 (0.41~0.75 g) は背景データ (0.42~0.99 g) の範囲内の変化であることおよび対照群の脾臓重量 (0.45~0.60 g) は背景データ (0.42~0.99 g) に比べ低値であったことから 10000 ppm 群の雄における脾臓の補正重量の増加については検体投与との関連性はないと判断された。

300 ppm 群の雌雄では検体投与に関連した変化は認められなかった。

表 9. 臓器重量

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		300	4000	10000	300	4000	10000
肝臓	絶対重量		131↑↑	129↑↑		119↑↑	131↑↑
	補正重量		133↑↑	133↑↑		125↑↑	136↑↑
	対体重比		134↑↑	138↑↑		126↑↑	137↑↑
脾臓	絶対重量			108			
	補正重量			123↑			
	対体重比			115			
甲状腺	絶対重量				82		
	補正重量				82↓		
	対体重比				82		

統計学的有意差：↑↓：p<0.05、↑↑：p<0.01（Dunnett 検定、対体重比は申請者実施）

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

補正重量：最終体重を共変量として調整した平均値

肉眼的病理検査；投与終了後に全動物を対象として肉眼的病理検査を行った。

いずれの投与群の雌雄でも検体投与に関連した変化は認められなかった。

病理組織学的検査；投与終了後に各試験群の全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。対照群および 10000 ppm 群では、全組織について、4000 および 300 ppm 群では肝臓および甲状腺について検鏡した。

副腎（両側）、脳、頸部リンパ節、精巣上体（両側）、眼（両側）、消化管（胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸）、心臓、腎臓（両側）、肝臓、肺、骨髄（大腿骨）塗末、腸間膜リンパ節、大腿筋、食道、視神経（両側）、卵巣（両側）、膵臓、下垂体、前立腺、唾液腺（舌下腺、顎下腺、耳下腺）、坐骨神経、精嚢、皮膚および乳腺、脊髄、脾臓、精巣（両側）、胸腺、甲状腺および上皮小体、気管、膀胱、子宮、膣および子宮頸部、肉眼的異常部位

認められたすべての病理組織学的所見を表 10 に示す。

10000 および 4000 ppm 群の雄全例および雌で 5 例中 3 例に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられ、検体投与の影響がみられた。10000 および 4000 ppm 群の雄で 5 例中それぞれ 2 例および 3 例に甲状腺の濾胞上皮細胞肥大が観察された。

300 ppm 群の雌雄では検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、代謝物 のラットに対する飼料混入投与による 28 日間反復経口投与試験において、10000 および 4000 ppm 群の雌雄に肝臓重量の増加および肝臓チトクロム P450 酵素誘導を伴う肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられた。さらに、10000 および 4000 ppm 群の雄において、甲状腺の濾胞細胞肥大が観察された。したがって、無毒性量は雌雄とも 300 ppm (雄 27 mg/kg/日、雌 29 mg/kg/日) であると判断された。

表 10. 病理組織学的検査所見

臓器	性別	雄				雌			
	投与量 (ppm)	0	300	4000	10000	0	300	4000	10000
肝臓	所見/検査動物数	5	5	5	5	4	5	5	5
	小葉中心性肝細胞肥大	0	0	5↑↑	5↑↑	0	0	3	3
	炎症性細胞巣	3	2	0	1	2	2	5	1
	明細胞巣	1	0	0	0	0	0	0	0
甲状腺	所見/検査動物数	5	5	5	5	4	5	5	5
	濾胞上皮細胞肥大、びまん性	0	0	3	2	0	0	0	0
	炎症性細胞巣	0	1	0	0	0	0	0	0
	異所性胸腺、片側	0	0	0	1	0	0	1	0
	嚢嚢遺残	0	1	0	0	0	0	0	0
盲腸	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	粘膜 炎症	3	—	—	0	2	—	—	1
	粘膜 増生、びまん性	0	—	—	1	0	—	—	0
	粘膜 炎症性細胞浸潤	1	—	—	1	0	—	—	0
結腸	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	粘膜固有層 炎症性細胞浸潤	2	—	—	0	1	—	—	0
精巣 上体	所見/検査動物数	5	—	—	5	/	/	/	/
	間質 炎症性細胞巣	1	—	—	1	/	/	/	/
心臓	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	心筋症	2	—	—	0	0	—	—	0
	弁膜・心内膜炎	0	—	—	0	1	—	—	0
腎臓	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	好塩基性尿細管	2	—	—	3	1	—	—	2
	尿細管鉍質沈着	0	—	—	0	4	—	—	1↓
	慢性進行性腎症	0	—	—	0	1	—	—	0
	尿細管拡張、限局性	1	—	—	0	0	—	—	0
	多発性のう胞、片側	0	—	—	0	1	—	—	0
肺	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	死戦期うっ血・出血	0	—	—	1	0	—	—	0
膵臓	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	外分泌腺 腺房細胞萎縮、巣状	0	—	—	0	0	—	—	1
下垂体	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	前葉のう胞	0	—	—	1	0	—	—	0
皮膚・ 皮下	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	毛のう萎縮	0	—	—	0	1	—	—	0
	毛のう炎、限局性	0	—	—	0	0	—	—	1
胃	所見/検査動物数	5	—	—	5	4	—	—	5
	扁平上皮化生、境界部	0	—	—	0	1	—	—	0
	粘膜下炎症性細胞浸潤、腺胃部	0	—	—	2	1	—	—	0

統計学的有意差：↓：p<0.05、↑↑：p<0.01 (Fisher の直接確率検定)

3) 代謝物

の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 No.T-45)

試験機関:

報告書作成年: 2008 年

[GLP 対応]

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* [TA98、TA100、TA1535、TA1537 株]及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli*[WP2 (pKM101)、WP2 *uvrA* (pKM101)株]を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下及び非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、1 回目はプレート法で 3~5000 µg/プレートの範囲の 8 濃度、2 回目はプレインキュベーション法で 33~5000 µg/プレートの範囲の 6 濃度で試験した。試験は 3 連制とした。

用量設定根拠:

判定基準: 検体処理群における復帰変異コロニー数が溶媒対照の 2 倍以上増加し、かつ用量相関性がみられた場合に陽性と判定した。ただし、用量相関性を伴う復帰変異コロニー数の増加が 1 濃度のみの場合には、2 回目の試験で再現性を確認し、かつ試験施設における無処理対照および溶媒対照の背景データよりも大きい場合に陽性と判定した。

試験結果: 結果を次表に示す。

2 回目試験の薬物代謝酵素系非存在下 2500 µg/プレートの用量において、TA1535 株及び TA1537 株に軽度な生育低下がみられた。これ以外は、2 回の試験において検体は薬物代謝酵素系の有無にかかわらず、最高 5000 µg/プレートまでの濃度で、いずれの菌株にも生育阻害はもたらさず、また、復帰変異コロニー数を増加させなかった。2 回の試験のいずれにおいても 1000 µg/プレート以上の濃度で検体の沈殿が観察された。

一方、陽性対照として用いた Sodium azide(NaN_3)、4-nitro-o-phenylene-diamine (4-NOPD)、Methyl methanesulfonate(MMS) 及び 2-Aminoanthracene(2-AA)では、すべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、代謝物 は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有さないものと判断される。

表. 1 回目試験の結果(数値は3反復の平均値) プレート法

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix	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		
			TA 100	TA 1535	WP2 pKM101	WP2 <i>uvrA</i> pKM101	TA 98	TA 1537	
無処理対照	0	-	141	12	301	401	34	10	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	120	14	278	399	29	11	
検体	3	-	125	13	276	382	27	12	
	10	-	137	12	277	391	25	13	
	33	-	113	17	277	419	28	13	
	100	-	131	14	259	391	29	14	
	333	-	125	14	274	381	28	12	
	1000	-	113 P	16 P	240 P	372 P	25 P	13 P	
	2500	-	117 P	12 P	227 P	348 P	21 P	11 P	
	5000	-	107 P	11 P	207 P	339 P	20 P	10 P	
陽性 対 照	NaN ₃	10	-	2087	2088	-	-	-	-
	4-NOPD	10	-	-	-	-	-	483	-
		50	-	-	-	-	-	-	95
	MMS	3.0 μL	-	-	-	3662	4276	-	-
無処理対照	0	+	146	16	328	453	36	16	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	152	17	319	443	39	19	
検体	3	+	131	17	316	429	36	17	
	10	+	138	12	300	417	36	21	
	33	+	152	18	325	425	40	20	
	100	+	132	12	292	424	37	15	
	333	+	148	11	302	424	36	14	
	1000	+	128 P	13 P	267 P	426 P	30 P	13 P	
	2500	+	128 P	11 P	237 P	424 P	28 P	10 P	
	5000	+	127 P	16 P	206 P	424 P	22 P	11 P	
陽性 対 照	2-AA	2.5	+	2175	311	-	-	1978	350
		10.0	+	-	-	2514	1803	-	-

陽性対照 NaN₃ : Sodium azide
 4-NOPD : 4-nitro-o-phenylene-diamine
 MMS : methyl methanesulfonate
 2-AA : 2-Aminoanthracene

P : 検体の沈殿が観察された。

表. 2 回目試験の結果(数値は3反復の平均値) プレインキュベーション法

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix	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		
			TA 100	TA 1535	WP2 pKM101	WP2 <i>uvrA</i> pKM101	TA 98	TA 1537	
無処理対照	0	-	137	19	315	421	22	10	
溶媒対照 (DMSO)	0	-	124	16	294	444	26	13	
検体	33	-	108	16	294	414	23	11	
	100	-	116	16	368	425	19	11	
	333	-	125	14	309	430	23	9	
	1000	-	108 P	9 P	259 P	395 P	20 P	7 P	
	2500	-	86 P	7 P	174 P	349 P	17 P	6 P	
	5000	-	93 P	12 P	183 P	325 P	17 P	6 P	
陽性 対 照	NaN ₃	-	2306	2178	-	-	-	-	
	4-NOPD	10	-	-	-	-	443	-	
		50	-	-	-	-	-	131	
	MMS	3.0 μL	-	-	-	2119	1633	-	-
無処理対照	0	+	179	13	405	493	39	14	
溶媒対照 (DMSO)	0	+	151	13	339	454	37	12	
検体	33	+	141	14	355	471	24	17	
	100	+	144	15	321	444	30	12	
	333	+	134	18	351	451	31	11	
	1000	+	124 P	14 P	340 P	461 P	26 P	9 P	
	2500	+	123 P	11 P	202 P	336 P	22 P	11 P	
	5000	+	122 P	14 P	184 P	248 P	28 P	11 P	
陽性 対 照	2-AA	2.5	+	1887	273	-	-	1504	206
		10	+	-	-	2313	1896	-	-

陽性対照 NaN₃ : Sodium azide
 4-NOPD : 4-nitro-o-phenylene-diamine
 MMS : methyl methanesulfonate
 2-AA : 2-Aminoanthracene

P : 検体の沈殿が観察された。

4) 代謝物
変異試験

のマウスリンホーマ細胞を用いる遺伝子突然
(資料 No.T-46)

試験機関：

報告書作成年：2008年

[GLP 対応]

検体純度：

試験方法：マウスリンホーマ細胞 L5178Y *tk^{+/-}*を用いた TK 試験により、検体の TK 遺伝子における突然変異誘発性及び染色体異常誘発性を、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下及び非存在下で検定した。

検体は DMSO に溶解し、S-9 mix 非存在下及び存在下で 1 回目は濃度 50~800 µg/mL、2 回目は 25~400 µg/mL の用量範囲とし、4 時間処理後における相対クローニング効率、細胞増殖抑制率及び変異頻度を測定した。

試験は 2 連(培養区 I 及び II)で 2 回実施した。

用量設定根拠；

判定基準；溶媒対照と比較して、用量依存的な変異頻度の増加に再現性がみられ、かつ溶媒対照及び無処理対照の閾値を越える場合に陽性と判定した。

試験結果：結果の概要を表に示す。

1 回目及び 2 回目試験の S-9 mix 非存在下及び存在下で、各濃度における細胞 10^6 個当りの変異頻度は、1 例を除いて、すべての濃度で閾値(溶媒対照群の変異頻度 + 126)を超えなかった。すなわち、2 回目試験 S-9 mix 非存在下の濃度 100 µg/mL 培養物 II の変異頻度は 231 で、閾値 205 より高くなったが、同条件の培養物 I では変異頻度が閾値のほぼ半分であり、この濃度より高い濃度における変異頻度はいずれも明らかに低く、変異頻度は用量に相関しないことから、検体の変異原性を示すものではないと考えられた。

一方、陽性対照として用いたメチルメタンスルホネート(MMS)およびシクロホスファミド(CPA)では、変異頻度の明らかな増加が認められた。

以上の結果から、代謝物 は代謝活性化を含む本試験条件下で遺伝子突然変異誘発性及び染色体異常誘発性は有さないものと判断される。

表. 本試験結果の概要

試験回	処理時間：4時間		培養区 I				培養区 II				
	薬物 及び 濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S-9 mix の有無	(1) 相対 クローニング ^a 効率 1	(2) 最終 相対 増殖率	(3) 変異 頻度 / 10^6	(4) 閾値	(1) 相対 クローニング ^a 効率 1	(2) 最終 相対 増殖率	(3) 変異 頻度 / 10^6	(4) 閾値	
1回目 4時間 処理	溶媒対照(DMSO)	-	100.0	100.0	99	225	100.0	100.0	151	277	
	検体	50.0	-	139.8	114.6		77	145.4	117.1		101
		100.0	-	119.4	79.9		123	176.0	89.1		99
		200.0	-	117.6	56.9		100	152.7	104.0		93
		400.0 P	-	13.7	13.9		149	186.6	126.1		55
		800.0 P	-	64.2	39.5		170	212.4	65.8		148
	陽性対照 (MMS)	19.5	-	101.5	31.6		268	119.0	82.1		302
	溶媒対照(DMSO)	+	100.0	100.0	80	206	100.0	100.0	103	229	
	検体	50.0	+	356.2	150.6		129	70.5	58.9		128
		100.0	+	273.9	151.9		110	64.4	80.4		107
		200.0	+	194.4	115.9		94	61.6	39.0		208
		400.0 P	+	240.5	98.5		125	50.3	23.3		108
		800.0 P	+	269.9	68.1		116	80.2	30.0		116
	陽性対照 (CPA)	3.0	+	68.7	25.2		468	34.2	16.2		355
	4.5	+	20.9	6.1	1258	7.4	3.5	833			
2回目 4時間 処理	溶媒対照(DMSO)	-	100.0	100.0	60	186	100.0	100.0	79	205	
	検体	25.0	-	115.0	124.6		53	96.2	78.4		145
		50.0	-	76.9	90.5		42	100.0	79.0		145
		100.0	-	110.9	60.2		95	89.4	21.2		231
		200.0 P	-	89.4	46.5		102	73.4	44.9		137
		300.0 P	-	117.2	51.2		140	113.5	94.5		97
	400.0 P	-	103.4	55.2	101		100.0	54.5	154		
	陽性対照 (MMS)	19.5	-	101.7	20.3	327	80.8	9.4	879		
	溶媒対照(DMSO)	+	100.0	100.0	128	254	100.0	100.0	110	236	
	検体	25.0	+	89.4	108.9		83	89.4	131.7		114
		50.0	+	129.4	87.8		104	86.4	102.7		124
		100.0	+	101.7	111.7		88	86.4	109.3		84
		200.0 P	+	101.7	78.5		90	84.9	95.3		81
		300.0 P	+	95.2	110.0		83	100.0	96.0		117
400.0 P	+	68.5	102.6	74	89.4		157.6	81			
陽性対照 (CPA)	3.0	+	34.4	53.7	162	55.4	50.1	320			
	4.5	+	13.2	6.7	515	22.2	18.1	359			

MMS：メチルメタンサルホネート CPA：シクロホスファミド

P：沈澱が観察された。

(1)~(4)の計算方法を下記に示す。

(1) クローニング効率(播種効率)1 = $-\ln[96\text{well プレート} 2 \text{枚中のコロニーが生じていない well 数の合計} / (96 \times 2)] / (\text{well 当りの播種細胞数})$

相対クローニング効率 1 = 対応する対照群のクローニング効率 1 を 100 とした場合の値。

(2) クローニング効率 2 = $-\ln[\text{コロニーが生じない well 数の平均} / 96] / (\text{well 当りの播種細胞数})$

相対クローニング効率 2 = 対応する対照群のクローニング効率 2 を 100 とした場合の値。

最終相対増殖率 = (相対増殖率 \times 相対クローニング効率 2) / 100

(3) 変異頻度 = 細胞 10^6 個当りの突然変異小コロニー数 + 突然変異大コロニー数

(4) 閾値 = [溶媒対照における細胞 10^6 個当りの突然変異コロニー数] + 126

5) 代謝物
異常試験

のヒトリンパ球細胞を用いた *in vitro* 染色体
(資料 No.T-47)

試験機関：

報告書作成年：2008年

[GLP 対応]

検体純度：

試験方法：健常人（女性2名）より供血された末梢血リンパ球細胞を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用い、S-9 mix 非存在下では 170.6~522.4 µg/mL の範囲(1回目)あるいは 31.8~522.4 µg/mL の範囲(2回目)、存在下では 170.6~522.4 µg/mL (1回目及び2回目)の範囲で染色体異常誘発性を検定した。
各濃度について 100×2 個の分裂中期像を観察した。試験は 2 回実施し、各試験で別々の供血者の細胞を使用した。

用量設定根拠：

判定基準：溶媒対照と比較して、用量相関を伴う染色体異常細胞数の有意な増加が認められ、かつ、試験施設における背景データよりも多いときに、陽性と判定した。

試験結果：結果を表 1 及び表 2 に示す。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、観察したすべての処理群で、染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。1 回目試験、S-9 mix の非存在下で、検体濃度 170.6、298.5 及び 522.4 µg/mL の各用量において、染色体異常を示す分裂中期細胞の割合がそれぞれ 0.5、1.5 及び 3.5% となり、濃度の増加に関連した増加がみられたが、試験実施機関における背景対照データ（次表に示す）の範囲内(表：0.0~5.0%(ギャップを含む)及び 0.0~4.0%(ギャップを除く))であったことから、検体の作用とは考えられなかった。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンスルホネート(EMS)及びシクロホスファミド(CPA)では、染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加を示した。

以上の結果より、代謝物 は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

表. 背景対照データ(染色体異常を有する細胞数及び割合) 2006~2007年

供試細胞： ヒト末梢血リンパ球細胞	溶媒対照			
	ギャップを含む		ギャップを除く	
	S-9mix(-)	S-9mix(+)	S-9mix(-)	S-9mix(+)
異常細胞出現割合(%)の平均	1.4	1.5	1.1	1.2
異常細胞出現割合(%)の範囲	0.0~5.0	0.0~4.0	0.0~4.0	0.0~3.5

表1. 1回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理時間	観察細胞数	S-9 mixの有無	染色体異常を有する細胞数										倍数体細胞の割合 (%)	異常細胞出現率 (%)		判定		
					ギャップ		染色体分体型				染色体型					他			+g (ギャップ)	-g (ギャップ)
					ギャップ	インギャップ	切断	断片	欠失	交換	同位切断	同位断片	同位欠失	交換		複合異常	染色体細粉化			
溶媒対照 (DMSO)	0.5% (v/v)	4	100	-	2		3										3.0	2.0	/	
			100			1														
			合計		2		4													
検体	170.6	4	100	-			1									0.5	0.5	-		
			100			1														
	合計			1																
	298.5	4	100	-			1									1.5	1.5			
			100			2														
	合計			3																
522.4	4	4	100	-			3								3.5	3.5				
			100			3				1										
合計			6					1												
陽性対照 (EMS)	825.0	4	100	-			17	1			2	2				15.0	14.0***	+		
			100			2			2	1	1									
			合計		2		26	3		2	3	3								
溶媒対照 (DMSO)	0.5% (v/v)	4	100	+			1	1								1.5	1.5	/		
			100			1														
			合計				2	1												
検体	170.6	4	100	+			1								0.5	0.5				
			100			1														
	合計			1																
	298.5	4	100	+	4		1								2.5	0.5				
			100			4		1												
	合計			4		1														
522.4	4	4	100	+			3							1.5	1.5					
			100			3														
合計			3																	
陽性対照 (CPA)	15.0	4	100	+		1	8	1			1	2			10.5	10.5***	+			
			100			7	1		1	1										
			合計		1	15	2		1	3										

陽性対照 EMS : エチルメタンスルホネート、CPA : シクロホスファミド Fisherの正確検定 *** : $p < 0.001$ 空欄は異常細胞数0を示す。

+g : ギャップを含む。 -g : ギャップを含まない。 [+g] については統計学的計算を実施しなかった。

インギャップ : 色素が無い、あるいはほとんど無い染色体分体あるいは染色体にみられるギャップ

表2. 2回目試験

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間	観察 細胞 数	S-9 mix の有無	染色体異常を有する細胞数											倍数体 細胞 の割合 (%)	異常細胞出現率 (%)		判 定		
					ギャップ		染色分体型				染色体型				他		+g (キ+777)	-g (キ-777)			
					ギャ ップ	イン ギャ ップ	切断	断片	欠失	交換	同位 切断	同位 断片	同位 欠失	交換	複合 異常		染色 体細 粉化				
溶媒対照 (DMSO)	0.5% (v/v)	22	100	-														1.0	1.0	-	
			100				2												1.5		1.5
			合計				2														
検 体	31.8	22	100	-			1											1.5	1.0	-	
			100				2												2.5		2.5
			合計				3														
検 体	55.7	22	100	-	1			1										3.0	3.0	+	
			100				1												39.0		39.0***
			合計		1		1	1													
検 体	298.5	22	100	-			2	1										1.0	0.5	-	
			100				1												1.0		1.0
			合計				3	1													
検 体	522.4	22	100	-			3											1.5	1.5	-	
			100				2	1					1					0.0	0.0		
			合計				5	1					1								
陽性対照 (EMS)	770.0	22	100	-			16	2		6	2	2				1		12.0	11.5***	+	
			100				13	2		8											
			合計				29	4		14	2	2				1					
溶媒対照 (DMSO)	0.5% (v/v)	4	100	+														1.0	1.0	-	
			100		1		1											0.0	0.0		
			合計		1		1														
検 体	170.6	4	100	+			1											12.0	11.5***	+	
			100				1			1	1										
			合計				2			1	1										
検 体	298.5	4	100	+			1													-	
			100							1											
			合計				1			1											
検 体	522.4	4	100	+																-	
			100																		
			合計																		
陽性対照 (CPA)	15.0	4	100	+			7	2			1									+	
			100		2		14	1							1						
			合計		2		21	3			1				1						

陽性対照 EMS : エチルメタンサルホネート、CPA : シクロホスファミド Fisherの正確検定 *** : $p < 0.001$ 空欄は異常細胞数0を示す。

+g : ギャップを含む。 -g : ギャップを含まない。 [+g] については統計学的計算を実施しなかった。

インギャップ : 色素が無い、あるいはほとんど無い染色分体あるいは染色体にみられるギャップ

3. 製剤 (18.7%フロアブル)

(1) 急性毒性

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.T-51)

試験機関 :

報告書作成年 : 2012年 [GLP対応]

検 体 : フロアブル

(組成) イソピラザム 18.7 %

界面活性剤、水 等 81.3 %

ラット物 : SD系ラット[Cr1:CD(SD)]、投与時8週齢、1群雌3匹、投与時体重 199~203g

観察期間 : 14日間

試験方法 : 毒性等級法

投与方法 : 検体を蒸留水に懸濁し、単回強制経口投与した。投与容量は10mL/kgとした。動物は投与前に約18時間絶食させた。最初に雌3匹に2000mg/kgを投与したところ、死亡は認められなかったため、さらに雌3匹に2000mg/kgを同様に投与した。

観察項目 : 一般状態及び生死を14日間観察した。体重は投与日(投与直前)、投与後1、3、7及び14日に測定した。試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経 口
性別	雌
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

一般状態 ; 異常は認められなかった。

体重 ; 体重推移に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 異常は認められなかった。

2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.T-52)

試験機関 :

報告書作成年 : 2012年 [GLP対応]

検 体 : フロアブル

(組成) イソピラザム 18.7 %

界面活性剤、水 等 81.3 %

供試動物 : SD系ラット [Cr1:CD(SD)]、投与時8週齢、1群雌雄各5匹

投与時体重 雄 ; 272~283g 雌 ; 223~231g

観察期間 : 14日間

投与方法 : 検体を4×5cmのリント布に載せた後、刈毛した背部皮膚に24時間閉塞貼付した。

観察項目 : 一般状態及び生死を14日間観察した。体重は投与日 (投与直前)、投与後3、7及び14日に測定した。試験終了時に全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経 皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	>2000
死亡開始及び終了時間	死亡例なし	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状発現例なし	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	2000

死亡 ; 死亡は認められなかった。

一般状態 ; 異常は認められなかった。

刺激性変化 ; 異常は認められなかった。

体重 ; 体重推移に異常は認められなかった。

肉眼的病理検査 ; 異常は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.T-53)

試験機関 :

報告書作成年 : 2012年 [GLP対応]

検 体 : フロアブル

(組成) イソピラザム 18.7 %

界面活性剤、水 等 81.3 %

供試動物 : 日本白色種ウサギ、雌3匹、投与時18週齢、投与時体重 2.81~3.44kg

観察期間 : 72時間

投与方法 : 検体0.5mLを2.5×2.5cmのリント布に載せた後、刈毛した背部皮膚に4時間閉塞貼付した。貼付終了後にリント布を除去し、皮膚に残った検体を清拭した。

観察項目 : 検体除去後1、24、48及び72時間に投与部位の刺激性変化を観察し、Draizeの基準に従って採点した。得られた評点から皮膚一次刺激性指数 (Primary Irritation Index、P. I. I.) を算出し、刺激性強度を分類した。また、一般状態及び体重も観察した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を下表に示す。

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1h	24h	48h	72h
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	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
			P. I. I. : 0			

刺激性変化 ; いずれの観察時期においても刺激性変化は認められなかった。

刺激性強度 ; 皮膚一次刺激性指数は0であり、無刺激物に分類された。

一般状態 ; 異常は認められなかった。

体重 ; 体重推移に異常は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を有しないと判断された。

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.T-54)

試験機関 :

報告書作成年 : 2012年 [GLP対応]

検 体 : フロアブル

(組成) イソピラザム 18.7 %

界面活性剤、水 等 81.3 %

供試動物 : 日本白色種ウサギ、投与時15週齢、非洗眼群 雌3匹、洗眼群 雌3匹

投与時体重 2.74~2.97kg

観察期間 : 72時間

投与方法 : 検体0.1mLを左眼の結膜嚢内に適用した。洗眼群は、適用後30秒に注射用水で洗眼した。右眼は対照眼とした。

観察項目 : 適用後1、24、48及び72時間に刺激性変化を観察し、Draizeの基準に従って採点した。刺激性強度はKay & Calandraの方法に従って分類した。また、一般状態及び体重も観察した。

結 果 : 観察した刺激性変化の採点を次表に示す。

刺激性変化 ; 非洗眼群は、適用後1時間に結膜発赤、結膜浮腫及び分泌物が全例に認められたが、適用後24時間には全て消失した。

洗眼群も、適用後1時間に結膜発赤、結膜浮腫及び分泌物が全例に認められたが、適用後24時間には全て消失した。

刺激性強度 ; 非洗眼群は極く軽度の刺激性あり、洗眼群は極く軽度の刺激性ありに分類された。

一般状態 ; 異常は認められなかった。

体重 ; 体重推移に異常は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して極く軽度の刺激性を有すると判断された。また、洗眼による明らかな効果は認められなかった。

項目			最高 評点	適用後時間				
				1	24	48	72	
非洗眼群	動物 番号 1101	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	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
	動物 番号 1102	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	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
	動物 番号 1103	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0
		虹彩		2	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
合計			330**	18.0	0	0	0	
平均			110**	6.0	0	0	0	
洗眼群*** (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
		面積	4	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1.0	0	0	0	
		浮腫	4	1.0	0	0	0	
		分泌物*	3	1.0	0	0	0	
合計			110**	6.0	0	0	0	

*：農林水産省の指針では要求されていない

**：Draize法による評価点(最高110点)

***：適用後時間毎の平均値は、申請者が個別採点表より算出した。

(3) 皮膚感作性

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.T-55)

試験機関 :

報告書作成年 : 2012年 [GLP対応]

検 体 : フロアブル

(組成) イソピラザム 18.7 %

界面活性剤、水 等 81.3 %

供試動物 : ハートレー系モルモット、感作開始時6週齢、

検体感作群 雌20匹、陰性対照群 雌10匹、感作開始時体重 325~405g

観察期間 : 感作開始日から惹起終了後48時間までの30日間

試験操作 : Buehler法

投与量設定根拠 ;

処理物質 ; 感作及び惹起物質を下表に示す。

群	感作	惹起
検体感作群	100%検体液	100%検体液
陰性対照群	注射用水	100%検体液

処理方法 ; 感作では、約5×5cmの広さに刈毛・剃毛した動物の左側胴部に、処理物質の0.2mLを直径2.5cmのパッチに塗布し6時間閉塞貼付した。同様の処理を7日間隔で合計3回行った。惹起では、最終感作後14日目に、約5×5cmの広さに刈毛・剃毛した動物の右側胴部に、処理物質の0.2mLを直径2.5cmのパッチに塗布し6時間閉塞貼付した。

観察項目 ; 以下に示した項目について観察及び測定を行った。

一般状態 ; 感作開始日 (0日) から惹起後の皮膚の観察終了日 (30日後) まで毎日、動物の一般状態を観察した。

体重測定 ; 感作開始日 (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) に全動物の体重を測定した。

皮膚反応 ; 皮膚反応の観察は惹起貼付除去後24及び48時間に行い、次に示す。

Magnusson & Kligmanの基準に従って評点した。

皮膚反応の評価表

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

評価 ; 評点1以上を陽性とする陽性率 (%) を算出し、感作群と非感作群の反応の程度及び陽性率を比較して感作性を評価した。

結果 ; 各観察時間における結果を次表に示す。

群	処理		供試動物数	感作反応動物数										陽性率(%)	
				24時間後					48時間後					24時間	48時間
	皮膚反応評点					皮膚反応評点									
	感作	惹起		0	1	2	3	計	0	1	2	3	計		
検体感作群	100% 検体液	100% 検体液	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
陰性対照群	溶媒*	100% 検体液	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0

* : 注射用水

検体感作群及び陰性対照群で皮膚反応は認められなかった。

なお、直近に実施した陽性対照物質（DNCB：1-Chloro-2,4-dinitrobenzene）を用いた感受性の確認試験（2012年9月11日～11月30日）では、陽性率100%を示し、試験が適切に実施されていることが確認された。

一般状態では異常は認められなかった。

体重の推移に異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において検体の皮膚感作性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

4. 参考

1)

(資料 No.TR-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シンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

2)

(資料 No.TR-02)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

3)

(資料 No.TR-03)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

4)

(資料 No.TR-04)

;

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

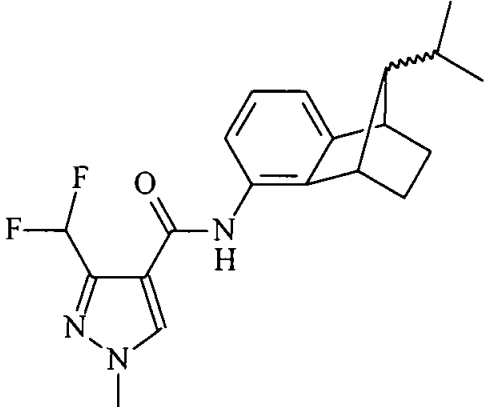
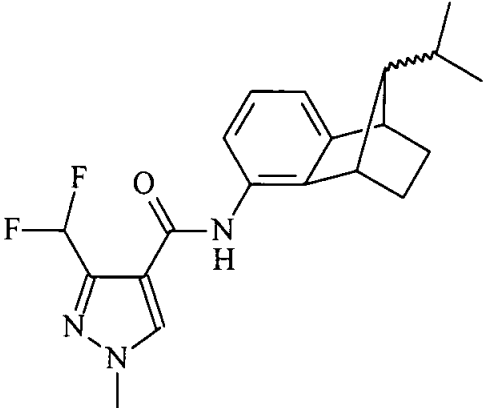
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

IX. 動植物および土壌等における代謝分解

イソピラザムの代謝試験には以下の標識位置の化合物を用いた。

名 称	構造式および標識位置
¹⁴ C 標識した イソピラザム	 <p>The structure shows a pyrazole ring with a methyl group at the 1-position and a 2,2-difluoroethyl group at the 4-position. The 5-position is substituted with a benzamide group. The benzamide group consists of a benzene ring with an isopropyl group at the 2-position and an amide group (-NH-C(=O)-) at the 1-position. The ¹⁴C label is indicated by a vertical line at the 2-position of the pyrazole ring.</p>
¹⁴ C 標識した イソピラザム	 <p>The structure is identical to the one above, but the ¹⁴C label is indicated by a vertical line at the 5-position of the pyrazole ring.</p>

[標識位置の選定理由等]

<代謝分解試験一覧表>

資料番号	試験の種類		投与方法・処理量・試験条件	試験機関 (報告年)	頁
M-01 GLP	動物代謝 薬物動態	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：1、75 mg/kg 単回経口投与 1群雌雄13匹	(2009)	m-21
	[結果] -syn- ¹⁴ C 標識イソピラザムを1及び75 mg/kg で単回経口投与後の雌雄ラットにおける血漿中濃度の T _{max} は投与後3～6時間であった。雌における全身曝露 (C _{max} あるいはAUC) は雄よりも高い傾向を示した。				
M-02 GLP	動物代謝 排泄・組織内分布	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：1、75 mg/kg 単回経口投与 1群雌雄4匹	(2008)	m-28
	[結果] 投与放射能は速やかに排泄され、48時間後までに大部分が排泄された(89.8～102.4%TAR)。主要排泄経路は糞(77.3～83.0%TAR)であるが、尿への排泄も重要な経路であった。組織内残留放射能は低用量、高用量群ともに肝臓で高かったが、最高で0.059%TARであった。				
M-03 GLP	動物代謝 組織中分布	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：1、75 mg/kg 単回経口投与 1群雌雄15匹	(2008)	m-32
	組織中放射能の最高濃度は低用量および高用量群で、それぞれ投与後6時間および10時間で認められた。その後、全組織中の放射能は半減期3～87時間で減衰した。				
M-04 GLP	動物代謝 胆汁排泄	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：1、75 mg/kg 単回経口投与 1群雌雄4匹	(2008)	m-39
	[結果] 胆管カニューレ挿入ラットに1 mg/kgおよび75 mg/kgの用量で単回経口投与後の放射能の排泄は、何れの用量群及び雌雄においても速やかであり、その主要排泄経路は胆汁であった。 -syn- ¹⁴ C標識イソピラザム消化管からの吸収率低用量(1 mg/kg)群における吸収率は雄で72.9%、雌で63.7%であった。高用量(75 mg/kg)群における吸収率は雄で63.1%、雌で71.4%であった。				

資料番号	試験の種類		投与方法・処理量・試験条件	試験機関 (報告年)	頁	
M-05 GLP	動物代謝 胆汁排泄 (異性体比較試験)	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム -anti- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：2、75 mg/kg 単回経口投与 1群雌雄4匹	(2008)	m-42	
	[結果] syn- ¹⁴ C 標識イソピラザムおよび anti- ¹⁴ C 標識イソピラザムとも、高用量で吸収率に雌雄差が認められたが、各群の雌雄平均値は 57.2~73.5%であった。吸収率は syn および anti 間で差はないと判断された。					
M-06 GLP	動物代謝 全身オートラジオグラフィ・呼気排泄	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：2.5、250 mg/kg 単回経口投与 1群雌雄4匹 (うち1匹で呼気を捕集)	(2007)	m-48	
	[結果] 投与後0~48時間の排泄放射能 (%TAR)					
	投与量	2.5mg/kg	250mg/kg	ラット呼気中には放射能は検出されなかった。放射能は投与後 2 時間で広く組織中に分布していたが、48 時間後にラット体内に残留する放射能は極めて低かった。		
	性別	雄	雌	雄	雌	
	尿	17.36	24.71	13.98	18.04	
	糞	77.89	70.25	68.23	49.25	
M-07 GLP	動物代謝 反復投与 排泄・組織内分布	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：1 mg/kg 反復経口投与 (最長 14 日間) 1群雄 33 匹	(2008)	m-52	
	[結果] -syn- ¹⁴ C 標識イソピラザムの反復投与後の組織中放射能は 10 日間反復投与で定常状態に達すると判断された。いずれの組織においても放射能の蓄積性は認められなかった。14 日間反復経口投与後の組織中放射能は速やかに減衰し、血液、肝臓および腎臓における半減期は、それぞれ 251、218 および 814 時間であった。排泄の主要経路は糞中であった。					
M-08 GLP	動物代謝 代謝物同定	ラット	-syn- ¹⁴ C 標識イソピラザム -anti- ¹⁴ C 標識イソピラザム 投与量：1、2、75 mg/kg 単回投与/反復経口投与 (最長 14 日間)	(2008)	m-56	
	[結果] 資料No.M-02、M-04、M-05およびM-07から得た試料を用い同定を行った結果、					

資料番号	試験の種類		投与方法・処理量・試験条件	試験機関 (報告年)	頁
M-09 GLP	植物代謝	小麦	- ¹⁴ C-標識イソピラザム - ¹⁴ C 標識イソピラザム 処理量：125g ai /ha 相当×3 回 PHI46～48 日	(2007)	m-69
	<p>[結果] 総残留放射能は茎葉で最大 6.525mg/kg、わらで最大 22.491mg/kg、玄麦の残留濃度は低く、最大で 0.057 mg/kg であった。親化合物[A] ([AS]および[AA]) がいずれの試料においても主要な残留化合物であった。茎葉では 78.8～91.4%TRR、わらで 60.7～68.7%TRR、玄麦では 53.3～65.6%TRR であった。主要な代謝物は</p>				
M-10 GLP	植物代謝	ぶどう	- ¹⁴ C-標識イソピラザム - ¹⁴ C 標識イソピラザム 処理量：400g ai /ha 相当×1 回 PHI 21 日	(2008)	m-82
	<p>[結果] 総残留放射能は果実では で 0.128mg/kg、 で 0.147 mg/kg で、葉試料では で 10.979 mg/kg、 で 3.759 mg/kg であった。果実では、いずれの標識体についても約 90%TRR が未変化の親化合物[A]であり、葉試料でも 86.4 () ～91.2%TRR () が親化合物[A]であった。主な代謝物は</p> <p><i>synlanti</i> 比は処理前と比較して大きな変化はなかった。</p>				
M-11 GLP	植物代謝	レタス	- ¹⁴ C-標識イソピラザム - ¹⁴ C 標識イソピラザム 処理量：125g ai /ha 相当×3 回 PHI 3 日及び 14 日	(2008)	m-89
	<p>[結果] 総残留放射能は PHI 3 日で 1.555～1.538mg/kg で、PHI 14 日で 0.221～0.311 mg/kg であった。主な放射性成分は親化合物[A]で、PHI 3 日の試料では 66.2～71.1%TRR、PHI 14 日の試料においては 34.8～45.3%TRR であった。主要な代謝物として</p>				

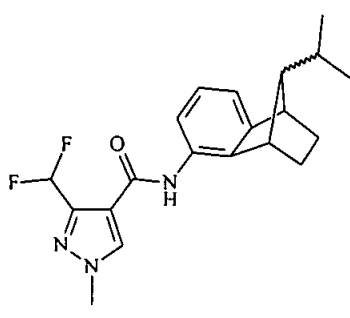
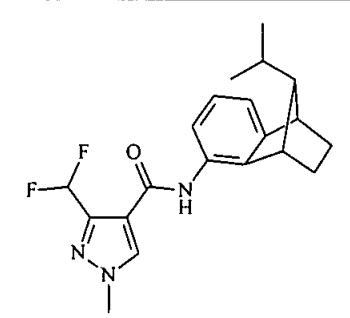
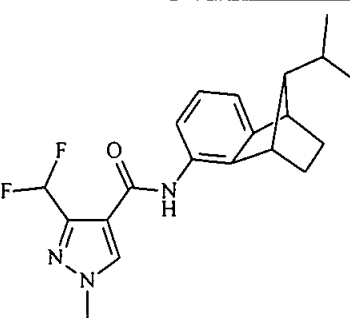
資料番号	試験の種類		投与方法・処理量・試験条件	試験機関 (報告年)	頁
—	好氣的湛水土壌中動態		本剤は水田に使用されないことから試験省略		—
M-12 GLP	土壌中動態	好氣	- ¹⁴ C-標識イソピラザム 処理量：0.17 mg/kg 乾燥土壌 (125g ai /ha 相当) 圃場容水量 (pF2)、20±2°C、暗所で最長369日間インキュベート	(2008)	m-94
	[結果] イソピラザムは好氣的条件下での土壌中で、 半減期は4種土壌で121～592日であった。				
M-13 GLP	土壌中動態	好氣	- ¹⁴ C 標識イソピラザム 処理量：0.16882 µg/g 乾燥土壌 (126.2g ai /ha 相当) 圃場容水量 (pF2)、20±2°C、暗所で360日間インキュベート	(2008)	m-101
	[結果] イソピラザムは好氣的条件下での土壌中で 半減期は40日であった。				
M-14 GLP	土壌中動態	好氣	- ¹⁴ C-標識イソピラザム 処理量：0.167 mg/kg 乾燥土壌 (125g ai /ha 相当) 圃場容水量 (pF2)、20±2°C、暗所で最長361日間インキュベート	(2008)	m-105
	[結果] イソピラザムは好氣的条件下での土壌中で、主要代謝物である 半減期(4種土壌)は141日～1年以上であった。				
M-17 GLP	土壌中動態	嫌氣	- ¹⁴ C 標識イソピラザム 処理量：0.1725 µg/g 乾燥土壌 (125g ai /ha 相当) 圃場容水量 (pF2)、20±2°C、暗所で30日間好氣的条件下でインキュベート後、脱気した精製水で湛水し、窒素を通気し嫌氣条件としてされあに90日間インキュベート	(2008)	m-112
	[結果] 親化合物[A]は、30日後(嫌氣的条件開始時)には82.53%TARで、その後変化がなく、120日後(嫌氣的条件90日後)でも82.61%TARであった。30日後(嫌氣的条件開始時)に 半減期は20248日 (>>1年)であった。				

資料番号	試験の種類		投与方法・処理量・試験条件	試験機関 (報告年)	頁
M-15 GLP	土壌表面 光分解	—	- ¹⁴ C 標識イソピラザム 処理量：131～142g ai /ha 相当 光源：キノンアークランプ、平均照度：36.00～ 36.70W/m ² (300-400nm) 試験温度：20±2°C、試験期間：21 日間	(2006)	m-116
			[結果] は乾燥土壌で最大2.9%TAR、湿土壌で最大0.7%TARであった。分解物として、乾燥土壌における親化合物[A]の半減期は、42.0日（東京春換算 198日）であった。湿土壌では、親化合物[A]の明瞭な分解が認められず、半減期は求められなかった。		
M-16 GLP	土壌表面 光分解	—	- ¹⁴ C-標識イソピラザム 処理量：133～136g ai /ha 相当 光源：キノンアークランプ 平均照度：40.65W/m ² (300-400nm) 試験温度：20±2°C、試験期間：21 日間	(2006)	m-121
			[結果] 最大 9.8%TAR であり、一部は である可能性がある。親化合物[A]は 21 日後には 72.4%TAR に減少していた。また、親化合物以外に親化合物[A]の半減期は、35.9日（東京春換算 188日）であった。		
M-18 PC-18 GLP	加水分解動態	—	- ¹⁴ C 標識イソピラザム 試験温度：25.3±0.1°C、 試験濃度：0.32mg/L、試験期間：30 日間 pH：5、7、9	(2007)	m-127
			[結果] 25°C、pH5、7、9 で安定（30 日間安定で半減期は求めず）		
M-19 PC-19 GLP	水中光分解 動態試験	緩衝液 自然水	- ¹⁴ C-標識イソピラザム - ¹⁴ C 標識イソピラザム 光源：キノンアークランプ 平均照度 25.17～28.05W/m ² (300-400nm) 試験温度：25±2°C、試験濃度：0.5µg/mL 試験期間：29 日間	(2008)	m-130
			[結果] 半減期（緩衝液）：54.3日（東京春太陽光換算で 176日）、半減期（自然水）：4.2～4.9日（東京春太陽光換算で 15.2～16.4日）、暗所対照区では安定		

資料番号	試験の種類		投与方法・処理量・試験条件		試験機関 (報告年)	頁	
M-20 PC-17 GLP	土壌吸着試験	—	- ¹⁴ C 標識イソピラザム 試験温度：20±2°C 供試土壌：6 土壌（砂質埴壌土、砂壤土、 砂土、壤土、微砂質埴壌土（2 種））		(2006)	m-138	
	供試土壌		K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$			
	18 Acres		51.83	2031			
	Visalia		11.56	2491			
	Washington		11.95	4122			
	Gartenacker		35.17	1732			
	Champaign High		50.16	2109			
Marsillargues		20.97	2009				
M-22 PC-22 GLP	土壌吸着試験	—	イソピラザム syn 体標準品及び anti 体標準品 試験温度：25±0.5°C 供試土壌：2 土壌（2 壤土（1 火山灰土壌含 む））		(2012)	m-144	
	供試土壌		K_F^{ads}		$K_F^{ads}_{oc}$		
			syn 体	anti 体	syn 体		anti 体
	栃木		6.41	6.21	567		550
埼玉		30.9	33.1	1023	1096		
M-21 PC-16 GLP	生物濃縮性	ブルーギル (流水式)	100 匹	- ¹⁴ C-標識イソピラザム 試験濃度：0.3 µg/L 取り込み期間：28 日間 排泄期間：14 日間		(2006)	m-148
	[結果] BCFss：441 ^a (55) ^b BCFk：406 ^a a：総残留放射能に関する値 b：()内は親化合物に関する値						

注) 資料 No の網掛け部分は、2012 年 11 月 26 日開催の食品安全委員会で既評価であることを示す。

<代謝分解物一覧表>

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来
[A]	SYN520453	<p>2 <i>syn</i>-異性体：3-(ジフルオロメチル)-1-メチル -N-[(1<i>RS</i>,4<i>SR</i>,9<i>RS</i>)-1,2,3,4-テトラ ヒドロ-9-イソプロピル-1,4-メタ ノナフタレン-5-イル]ピラゾー ル-4-カルボキサミド および</p> <p>2 <i>anti</i>-異性体：3-(ジフルオロメ チル)-1-メチル -N-[(1<i>RS</i>,4<i>SR</i>,9<i>SR</i>)-1,2,3,4-テトラ ヒドロ-9-イソプロピル-1,4-メタ ノナフタレン-5-イル]ピラゾー ル-4-カルボキサミド</p>		親
[AS]	SYN534969	<p>3-(ジフルオロメチル)-1-メチル -N-[(1<i>RS</i>,4<i>SR</i>,9<i>RS</i>)-1,2,3,4-テトラ ヒドロ-9-イソプロピル-1,4-メタ ノナフタレン-5-イル]ピラゾー ル-4-カルボキサミド (<i>syn</i>-異性体)</p>		親 <i>syn</i> 体
[AA]	SYN534968	<p>3-(ジフルオロメチル)-1-メチル -N-[(1<i>RS</i>,4<i>SR</i>,9<i>SR</i>)-1,2,3,4-テトラ ヒドロ-9-イソプロピル-1,4-メタ ノナフタレン-5-イル]ピラゾー ル-4-カルボキサミド (<i>anti</i>-異性体)</p>		親 <i>anti</i> 体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

記号	一般名/略称	化学名	構造式	由来