

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

(10) 繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

ラットを用いた繁殖試験

(資料No. S-4-1)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 1988年

検体純度:

試験動物: SD CD系ラット、開始時6週齢、1群雌雄各30匹、

投与開始時体重: 雄 127~220g、雌 119~166g

試験期間: 1987年3月30日~1988年2月9日

F0世代: 交配前からF1児離乳までの23週間

F1世代: 離乳からF2児離乳までの23週間

試験方法: 検体を20、60及び200ppmの濃度になるよう飼料に混入し、自由摂取させた。

試験項目:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

体重変化; 生育期間中は毎週1回測定し、雌は交配後0、6、13及び20日目、分娩後1、4、7、14、21及び25日目に測定した。

摂餌量及び飼料効率; 生育期間中、摂餌量を毎週測定し、飼料効率を計算した。

検体摂取量; 生育期間の1日当りの検体摂取量を計算した。

性周期; 交配前期間中の正常な性周期(4~5日)を示す動物の割合を検査した。

交配及び妊娠の確認; 雌雄を1対1で同居させ、交配は膣栓及び精子を認めることにより確認し、交配を確認した日を妊娠0日とした。同居期間は交配が確認されるまで最長21日間とした。

繁殖性に関する指標:

$$\text{交配率} = \frac{\text{交配した動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配した動物数}} \times 100$$

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

$$\text{受胎率} = \frac{\text{妊娠動物数}}{\text{交配に用いた動物数}} \times 100$$

$$\text{出産率} = \frac{\text{生存児を出産した動物数}}{\text{妊娠動物数}} \times 100$$

$$\text{着床後生存率} = \frac{\text{総出産児動物数}}{\text{妊娠した雌の数}} \times 100$$

$$\text{生存児出産率} = \frac{\text{生後1日目の生存児動物数}}{\text{生後1日目の総児動物数}} \times 100$$

$$\text{生育率} = \frac{\text{生後4日目(淘汰前)の生存児動物数}}{\text{生後1日目の生存児動物数}} \times 100$$

$$\text{哺育率} = \frac{\text{検査日の生存児動物数}}{\text{生後4日目(淘汰後)の生存児動物数}} \times 100$$

同腹児に関する所見；分娩状態を観察し、同腹児数、生存・死産児数、性別を検査し、
児動物体重を分娩後1、4、7、14、21及び25日に測定した。

分娩後4日目に同腹児から8匹（雌雄各4匹）を選択し、残りは淘汰した。

新生児の発育分化；次の項目が認められた最初の日及び終了した日を記録した。

- a) 耳介展開
- b) 発毛
- c) 切歯萌出
- d) 眼瞼開存

聴覚及び視覚機能検査；生後25日目に聴覚及び視覚反応を検査した。

肉眼的病理検査；死亡または瀕死屠殺動物、終了時まで生存したF0世代及びF1世代の親動物は二酸化炭素により屠殺剖検した。淘汰する児動物はペントバルビタールの腹腔内注射により屠殺し、肉眼的検査を行った後、廃棄した。

親動物の以下の臓器重量を必要に応じて測定した。

腎臓、肝臓、精巣上体、前立腺、精嚢、精巣、卵巣、子宮

病理組織学的検査；重量を測定した臓器及び異常組織を4%緩衝ホルマリンに固定した。両世代の親動物の対照群及び200ppm群の固定した臓器について、病理組織学的検査を行った。

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

試験の概要を下表に示す。

世代	期 間	作業手順	試験項目
F0 雄30 雌30	生育期(14週間)	雌雄1:1で同居、交配 膣垢中の精子の有無を 観察し、交配を確認し た日を妊娠0日とした。	摂餌量及び体重を毎週測定。
	交 配 (3週間)		体重を交配後0、6、13及び20日に測定。
	妊 娠 (3週間)		
	分 娩		分娩した雌は交配日、分娩日、妊娠期間 分娩状況を観察(新生児数、死産児数、 性別及び外表異常)
雌30	哺 育 (3週間)	分娩後4日目に同腹児 から8匹(雌雄各4匹) を選択し、残りは淘汰 した。	各同腹児数を毎日記録。 母動物の体重を分娩後1、4、7、14、21及 び25日に測定した。 新生児の体重と発育分化を記録した。 生後25日目に新生児の聴覚及び視覚を検 査した。 途中死亡及び生後4日目屠殺の新生児につ いては外表観察後、剖検した。
	離 乳	分娩後21日目に各群 雌雄各30匹を選択し、 F1世代を構成。 (可能な限り各腹から 雌雄各1匹を選択)	残りの離乳児動物は屠殺剖検した。 F0親動物雄はF1児動物離乳期以降、雌は 離乳後10日目に屠殺剖検した。必要に応 じ臓器重量測定、病理組織学的検査を行 った。
F1 雄30 雌30	生 育 (14週間)	} F0世代に準ずる	F0世代に準ずる
	交 配 (21日間)		
	妊 娠 (3週間)		
	分 娩		
雌30	哺 育 (3週間)		
	離 乳		

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

結果:

世代		親: F0 児: F1				親: F1 児: F2				
投与群 (ppm)		0	20	60	200	0	20	60	200	
動物数	雄	30	30	30	30	30	30	30	30	
	雌	30	30	30	30	30	30	30	30	
親	一般状態	投与による影響は認められなかった				投与による影響は認められなかった				
	死亡	投与による死亡はなし				投与による死亡はなし				
	体重変化	投与による影響は認められなかった				投与による影響は認められなかった				
	肉眼的病理検査	投与による影響は認められなかった				投与による影響は認められなかった				
	臓器重量	投与による影響は認められなかった				絶対 精巣+体 雄 ↑109	相対 腎重量 雌 ↑108	相対肝重量 雌 ↑106		
動物	病理組織学的検査	投与による影響は認められなかった				影響認められず*		注1)		
	4~5日の性周期を示した動物数(%)	22(73)	24(80)	24(80)	24(80)	28(93)	26(87)	27(90)	22(73)*	
	不規則性周期を示した動物数(%)	1(3)	3(10)	1(3)	5(17)	0	1(3)	1(3)	4(13)	
	交配率(%)	♂	93	97	97	100	100	90	97	100
		♀	93	97	97	100	100	90	97	100
	妊娠率(%)	♂	93	83	86	93	77	81	82	79
		♀	93	83	86	93	77	81	83	79
	受胎率(%)	♂	87	80	83	93	77	73	79	79
		♀	87	80	83	93	77	73	80	79
	出産率		96	100	100	100	100	95	100	100
妊娠期間	22日	1(4)	2(8)	1(4)	0	4(17)	0	0	0	
[動物数] (%)	22.5日	12(50)	13(54)	5(21)	10(36)	7(30)	13(59)	12(50)	4(17)	
	23日	11(46)	8(33)	17(71)	14(50)	9(39)	8(36)	8(33)	11(48)	
	23.5日	0	1(4)	1(4)	4(14)	3(13)	0	3(13)	8(35)	
	25日	—	—	—	—	0	0	1(4)	0	
動物	着床数	13.3	13.7	13.0	13.8	12.6	11.8	11.5	11.7	
	新生児数	13.1	12.8	12.0	13.1	11.9	10.7	11.4	11.0	
	着床後生存率(%)	94	91	87	92	93	89	88	92	
	生存児出生率(%)	98	97	98	98	98	98	100	98	
	生存児率(%) 4日	85	97	89	94	97	97	96	99	
	平均児動物体重(g)	1日	6.2	6.3	6.5	6.4	6.5	6.5	6.5	6.7
		4日	8.0	8.7	8.9	8.7	9.2	9.8	9.7	9.9
		7日	13.5	14.6	14.7	14.3	14.8	15.5	15.6	15.7
		14日	30.1	31.2	32.4	31.6	31.2	33.1	32.8	32.7
		21日	50.4	52.7	53.7	53.0	51.3	54.0	53.3	53.7
25日		68.8	70.2	73.7	71.0	71.8	74.8	74.1	74.2	
性比(雄)	1日	0.95	1.08	1.06	1.01	0.98	0.93	1.21	0.87	
	25日	1.01	1.11	0.95	1.09	0.96	1.03	1.02	0.95	
発育分化		投与による影響は認められなかった				投与による影響は認められなかった				
聴覚・視覚機能検査		正常反応				正常反応				
肉眼的病理検査		投与による影響は認められなかった				投与による影響は認められなかった				

* : P<0.05 (Fisher検定) ↑↓ : P<0.05 (Dumett検定 ; 数値は対照群に対するパーセント)

: P<0.05 (Mann-Whitney U-test)

— : 検査せず

注1) 雄1匹に肝細胞肥大、雌では腎石灰症及び子宮拡張が認められた。

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

試験結果：

一般状態及び死亡；F0及びF1世代のいずれにも一般状態及び死亡に投与による影響は認められなかった。

F0世代で20ppm群の1匹に投与後21週目に死亡が認められ、剖検で肺膿瘍及び心筋炎が認められた。投与との関連は認められなかった。

F1世代では3匹瀕死屠殺した。

60ppm群雄1匹投与後14週目に瀕死屠殺した。病理組織学的に悪性リンパ腫が認められた。20ppm群の雌1匹は分娩後26日目に、200ppm群雌1匹は分娩後3日目に瀕死となり屠殺した。剖検で2匹とも死亡胎児が子宮に認められた。

これらは別々に発生しており、投与の影響とは考えられなかった。

体重変化；

親動物；F0及びF1世代のいずれの投与群にも投与による影響は認められなかった。

児動物；F1及びF2児動物の体重はいずれの投与群も同等であり、投与の影響は認められなかった。

摂餌量；F0及びF1世代のいずれの投与群にも、摂餌量に影響は認められなかった。

検体摂取量；F0及びF1世代の平均検体摂取量（mg/kg/日）を下表に示す。

性 投与群 (ppm)	雄			雌		
	20	60	200	20	60	200
F0 世代	1.4	4.3	14.3	1.7	5.2	16.5
F1世代	1.6	5.0	16.7	2.0	6.1	20.0

(申請者が算出した)

性周期；F0世代では投与の影響は認められなかった。

F1世代では200ppm群において、4～5日の正常な性周期を示す動物の割合が軽度減少し、有意差がみられた。これは性周期の不規則な動物数、性周期の延長のみられる動物数の増加に対応したものであった。

繁殖性に関する成績；F0世代では交配率、妊娠率、出産率及び妊娠期間に投与による影響はみられなかった。

F1世代では交配率、妊娠率、出産率に投与による影響は認められなかった。

各群とも妊娠期間22.5から23.5日に出産したが、200ppm群では23及び23.5日に分娩する動物が多く、妊娠期間が対照群に比べ延長し有意差が認められた。

これは投与の影響を示唆するものと考えられた。

同腹児に関する成績；両世代とも同腹児数及び生存率に投与による影響は認められなかった。

発育状態の検査；各同腹児の発育状態を耳介展開、発毛、切歯萌出、開眼により検査したが、両世代とも投与による影響は認められなかった。

聴覚及び視覚検査；両世代とも投与による影響は認められなかった。

臓器重量；F0親動物では臓器重量に投与の影響は認められなかった。

F1親動物で200ppm群雌の肝臓相対重量に有意な増加が認められ投与の影響によるものと考えられた。

20ppm群雄の精巣上体の絶対重量及び60ppm群雌の腎臓相対重量に統計学的に

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

有意な変動が認められたが、何れも絶対重量に対照群との差が認められなかったため投与の影響とは考えられなかった。

肉眼的病理検査；F0及びF1世代の親及び児動物に、投与に関連した病変は認められなかった。

病理組織学的検査；F0世代親のいずれの組織においても投与関連した所見は認められなかった。F1世代では200ppm群雄6匹に小葉周辺性肝細胞肥大が認められた。

200ppm群雌で腎尿細管石灰症及び子宮拡張が対照群より増加した。

以上の結果、F1世代親動物200ppm群雌で肝臓の相対重量の軽度増加が認められ、また、正常な性周期を示す動物が軽度減少し、妊娠期間において延長が認められた。

従って、本試験における無毒性量は以下のとおり判断された。

F0雄	200ppm	(14.3mg/kg/日)
F0雌	200ppm	(16.5mg/kg/日)
F1雄	200ppm	(16.7mg/kg/日)
F1雌	60ppm	(6.1mg/kg/日)

また、繁殖能については、最高投与量の200ppm群で影響が疑われた。

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

ラットを用いた催奇形性試験

(資料 S-5-1)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

試験動物：SD系ラット、1群雌20匹、9-11週齢、

試験開始時体重：190～245g

試験期間：投与期間10日間（妊娠6日～15日）（1986年11月11日～1986年12月16日）

試験方法：雌を同系の雄と1:1で同居させ交配を行った。その後、膣栓または膣塗抹標本による精子の有無により交配確認日を妊娠0日とした。

検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し0、3、12及び40mg/kgの投与量で妊娠6日目から15日目まで強制経口投与した。投与液は毎日調製した。

対照群には1%メチルセルロース水溶液を投与した。

試験項目：

親動物：一般状態及び生死を毎日観察した。各動物の体重は妊娠0、3、6～16、18及び20日目に測定した。摂餌量は妊娠0、3、6、9、12、16、18及び20日目にケージ別に測定した。

妊娠20日目に母動物を屠殺・剖検し、胎児を摘出した。

卵巣及び子宮を観察し黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数及び位置、胎盤重量、胎児重量、異常胎児について検査した。

胎児：体重を測定し性別、外表異常を検査した。各同腹児の半数を固定後、内臓検査を行い、残りの半数は骨格検査を行った。

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

試験結果:

投与群 (mg/kg/日)		0	3	12	40	
1群当りの動物数		20	20	20	20	
親動物	死亡/切迫動物数	0	0	0	0	
	不妊動物数	0	1	0	0	
	妊娠動物数 (%)	20 (100)	19 (95)	20 (100)	20 (100)	
	一般状態	投与による影響なし				
	摂餌量	投与による影響なし				
	体重変化	投与による影響なし			妊娠最終期に減少 98.1	
	剖検所見	投与による影響なし			子宮内緑色液体/未発育胎児	
	動物 (着床所見)	黄体数	16.1	16.5	17.5	16.3
		着床数	15.3	15.6	15.8	14.8
		早期吸収胚数	0.9	1.0	0.8	1.2 ns
後期吸収胚数		0.4	0.0	0.2	0.7 ns	
着床前損失 (%)		7.3	6.9	10.2 ns	10.1 ns	
着床後損失 (%)		8.2	6.4	5.7	12.5 ns	
生存胎児数 (g)		14.0	14.6	14.9	12.9 ns	
胎盤重量		0.51	0.52	0.52	0.52	
胎児	総胎児数	280	277	298	258	
	平均胎児重量 (g)	3.35	3.37	3.34	3.2 *	
	性比 (雄:雌)	1:0.97	1:0.91	1:1.13	1:1.11	
	外表異常 (%)					
	小胎児 (2.7g以下)	2.5	1.4	2.7	7.0	
	大胎児 (4.0g以上)	0.7	0.4	0.7	1.2	
	内臓異常 (%)					
	検査胎児数	143	139	154	130	
	片側水腎症	2.1	1.4	—	—	
	片側尿管水貯留	4.2	5.0	1.3	—	
両側尿管水貯留	—	—	0.6	—		
動物	粗大切片法					
	検査胎児数	137	138	144	128	
	片側小眼球症	—	—	0.7	—	
	逆位	0.7	—	—	—	
	右鎖骨下動脈分枝異常	—	1.4	—	—	
	右大動脈弓	0.7	—	—	—	
	膈ヘルニア	—	—	—	0.8	
	骨格異常					
	検査胎児数	143	139	154	130	
	上後頭骨骨化不全	19.6	27.3	14.3	33.8	
頭頂骨間骨化不全	46.9	53.2	59.1	63.8		
第1胸骨分節骨化不全	11.9	6.5	8.4	13.8		
第2胸骨分節骨化不全	57.3	71.2	67.5	66.9		
第3胸骨分節骨化不全	21.0	17.3	20.1	11.5		
13肋骨/短小	2.8	2.9	3.2	3.8		
頸椎骨弓骨化不全	0.0	0.7	1.9	3.1		
第1胸椎骨化不全	2.8	0.7	3.9	6.2		
胸椎骨中心骨化不全	25.9	23.0	35.7	33.1		
腰椎骨中心骨化不全	0.7	0.0	1.9	3.1		

||: P<0.01、*: P<0.01 (student t検定)

—: 病変認められず

ns: 有意差なし (Mann-Whitney U-test; 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：

母動物；

死亡：対照群及び投与群とも死亡例は認められなかった。

一般症状：一般症状には投与の影響はみられなかった。

体重：40mg/kg群で妊娠最終時期に有意な減少が認められた。12及び3mg/kg群では影響はみられなかった。

摂餌量：全群とも同様であった。

剖検：40mg/kg群の1匹に子宮内緑色液体及び未発育胎児が認められたのみで、その他の異常は認められなかった。12及び4mg/kg群では投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

40mg/kg群で着床前、着床後損失及び吸収胚の増加傾向が認められた。着床前損失は12mg/kg群でもみられたが有意差はみられず、着床後損失では増加はみられないことから、投与に関連した影響は認められなかった。黄体数、着床前及び胎盤重量には投与に関連した影響は認められなかった。

胎児；1腹当たりの生存胎児数の減少傾向が認められた。性比に影響はみられなかった。40mg/kg群で平均胎児重量が減少し有意差が認められた。

12及び3mg/kg群では対照群と同様であった。

胎盤重量では変化はみられなかった。

外表検査で40mg/kg群で2.7g以下の小胎児の発現が有意差は認められなかったが増加傾向を示した。

内臓検査では40mg/kg群に膈ヘルニア1匹、12mg/kg群で小眼球症が1匹、対照群に心室中隔欠損1匹がみられたが、これらの所見の発生頻度は低く、分布も投与との関連を示唆するものではなく、投与による影響とは考えられなかった。

骨格検査では40mg/kg群において全般的に骨化遅延が認められ、胎児重量の減少と一致する所見と考えられた。それ以外には各群に散在して認められることから、胎児の発育に投与との関連はないものと考えられた。

以上の結果、40mg/kgの投与では母動物に体重増加抑制、着床前及び着床後損失及び吸収胚の増加傾向が認められた。また、同群の胎児で小胎児数の増加傾向が認められ、胎児重量が減少し、骨化遅延が認められた。従って、母動物及び胎児に対する無毒性量は12mg/kgと考えられた。

胎児に形態学的影響は認められないことから、40mg/kgにおいても催奇形性を及ぼさないと判断される。

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

同研究所で実施した試験からの歴代対照値を下表に示す。

	133試験	平均	最低平均	最大平均
着1 床腹 所当 見り	黄体数	16.0	13.9	19.0
	着床数	14.6	12.0	16.7
	着床前損失(%)	8.8	1.6	16.5
	着床後損失(%)	5.9	1.7	12.7
	初期吸収胚	0.7	0.1	1.5
	後期吸収胚	0.2	0.0	0.6
	生存胎児数	13.7	11.1	15.3
平均胎児重量(g)		3.31	3.0	3.55
胎盤重量(g)		0.5	0.43	0.57
	141試験	平均	範囲	
	小胎児(2.7g 以下)	3.69	0.0 - 16.9	
	大胎児(4.0g 以上)	1.33	0.0 - 8.7	
	116試験			
	片側性小眼球症	0.06	0.0 - 1.3	
	膈ヘルニア	0.03	0.0 - 2.0	
	片側性水腎症	2.82	0.0 - 11.7	
	精巣位置異常	3.29	0.0 - 23.5	
	115試験			
	後頭骨不完全化骨	13.11	0.0 - 29.2	
	頭頂骨間不完全化骨	26.62	4.9 - 91.0	

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

ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 S-5-2)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：1987年

検体の純度：

試験動物：New Zealand White系ウサギ、1群雌17～21匹、入荷時約16～24週齢
体重3.78～4.98kg

試験期間：投与期間14日間（妊娠6日～19日）（1987年 2月 5日～1987年 5月12日）

試験方法：雌に同系雄のブールした精子を用いて人工授精を行った。

受精した日を妊娠0日とした。

検体を1%メチルセルロース水溶液に懸濁し0、20、60及び180mg/kgの投与量
で妊娠6日から19日まで強制経口投与した。投与液は毎日調製した。

対照群には1%メチルセルロース水溶液を投与した。

試験項目：

親動物；一般状態及び生死を毎日1回観察し、体重を毎日1回測定した。

摂餌量は1～5、6～12、13～19、20～23及び24～28日に測定した。

妊娠29日目に母動物を屠殺し剖検した。黄体数、着床数、前期後期吸収胚、
死亡及び生存胎児数を検査し胎盤重量を測定した。

胎児；子宮から摘出した胎児は重量を測定し、外表異常、性別を調べ、内臓及び骨
格検査を行った。

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

試験結果:

投与群 (mg/kg/日)	0	20	60	180	
1群当りの動物数	19	17	21	17	
親動物	切迫屠殺動物数	2	1	3	2
	流産動物数	0	1	1	2
	非妊娠動物数	3	1	1	2
	妊娠動物数 (%)	16(84)	16(95)	20(95)	15(88)
	一般状態			糞便量軽度減少	糞便量減少
	摂餌量			投与による影響なし	減少
	体重変化			投与による影響なし	妊娠8日から12日有意に減少
	剖検所見			投与による影響なし	
	検査動物数	14	15	17	13
	胎児動物	黄体数	11.3	12.1	11.2
着床数		9.9	8.9	8.1	10.6
早期吸収胚数		0.5	0.2	0.2	0.9
後期吸収胚数		0.4	0.8	0.8	1.1
着床前損失 (%)		12.0	27.5	28.0	13.3
着床後損失 (%)		8.6	11.3	12.4	18.8 *
生存胎児数		9.1	7.9	7.1	8.6
胎盤重量 (g)		5.5	6.2	6.1	5.0
総胎児数		127	110	106	95
胎児重量 (g)		38.6	44.0	40.7	34.7
性比 (雄/雌)	4.7/4.4	3.8/4.1	3.4/3.7	4.8/3.8	
胎児動物	外表異常 (%)				
	後頭蓋裂	—	0.9	—	—
	額隆起	0.8	2.7	—	—
	前肢弯曲	0.8	—	—	2.1
	前肢伸長	—	—	—	1.1
	後肢弯曲	—	1.8	—	4.2
	痕跡尾	0.8	—	—	—
	小胎児	18.9	10.0	22.6	30.5
	骨格異常 (%)				
	検査胎児数	88	73	73	65
舌骨骨化不全	39.8	28.8	38.4	49.2	
第1胸骨分節骨化不全	45.7	40.9	34.0	30.5	
第2胸骨分節骨化不全	6.3	5.5	5.7	8.4	
第3胸骨分節骨化不全	0.8	0.9	0	0	
1又は1以上胸骨分節分枝	1.6	1.8	0.9	0	
2又は2以上胸骨分節融合	2.4	4.5	4.7	0	
13肋骨/短小	10.2	16.4	20.8	18.9	
肋骨融合	0.8	0	0	0	
胸椎骨中心骨化不全	2.4	0	0	0	
13胸椎縮小、側弯	0	0	0.9	0	
前肢異常弯曲	0.8	1.8	0.9	2.1	
後肢異常弯曲	0	0	0	1.1	
粗大切片法—頭部 (%)					
検査胎児頭数	39	37	33	30	
上下門歯萌出	64.1	67.6	66.7	63.3	
下門歯萌出	10.3	16.2	12.1	20.0	
水晶体中心変色	10.3	8.1	12.1	6.7	

* : P<0.05 (Mann-Whitney U-test)

— : 病変認められず

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

親動物；

一般状態：180mg/kg群では糞便量の減少がみられ、20及び60mg/kg群でも軽度であるが減少がみられた。全群で総計8匹を死亡又は切迫屠殺した。180群の1匹は体重減少が著しく投与に関連するものと考えられた。残り7匹は呼吸器/胃腸管の損傷が認められ誤投与によるものと思われた。

体重：180mg/kg群で群平均体重が有意に減少した。また、同群の摂餌量は顕著に減少した。60mg/kg群では妊娠8日から12日の体重に一時的な減少がみられたが、その後対照群と同様になり、毒性影響とみなさなかった。

剖検：剖検では、投与に関連した所見は認められなかった。

180mg/kg群では着床後損失率に有意な増加がみられた。

妊娠率、黄体数、着床数、吸収胚数、生存胎児数に投与の影響は認められなかった。

胎児；

体重：180mg/kg群で平均胎児重量の減少傾向がみられた。

60及び20mg/kg群では対照群と同様であった。

外表検査：外表検査では180mg/kg群に小胎児の増加傾向が認められた。その他認められた異常は全て自然発生的なもので、投与に関連がないものと考えられた。

骨格変異：投与に関連した異常所見は認められなかった。

以上の結果、180mg/kg群では体重増加抑制、摂餌量の減少及び糞便量の減少などの母体毒性が認められた。180mg/kg群では着床後損失率に有意な増加がみられた。

黄体数、着床数、生存胎児数などに投与の影響はみられなかった。

胎児では180mg/kg群で胎児重量の減少傾向、小胎児の発生頻度の増加傾向がみられた。

これらのことから母動物及び胎児に対する無毒性量は60mg/kg/日と判断された。

また最高投与量の180mg/kgにおいても催奇形性は認められなかった。

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

(11) 変異原性

細菌を用いたDNA修復試験及び復帰変異原性試験

(資料No. S-6-1)

試験機関:

報告書作成年: 1980年

1) DNA修復試験

検体純度:

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H17) 及び欠損株 (M45) を用い、代謝非活性化法によってDNAの損傷の誘発性を検討した。

検体をDMSOに溶解した。陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシンCを用いた。

試験結果: 結果を下表に示す。

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	阻止域 (mm)		差 (mm)
		M-45	H-17	
溶 媒 対 照 (DMSO)		0	0	0
オキサジアゾン	20	0	0	0
	100	0	0	0
	200	0	0	0
	500	0	0	0
	1000	0	0	0
	2000	0	0	0
陰性対照 カナマイシン	10	5.5	4.5	1
陽性対照 マイトマイシンC	0.1	8.5	0.5	8

検体では、最高濃度においても両株に生育阻止は認められなかった。

一方、陽性対照のマイトマイシンC では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。また、陰性対照のカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止帯を認めた。

以上の結果より、本検体は変試験条件下でDNA損傷誘発性はないものと判断された。

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

2) 細菌を用いた復帰変異性試験

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及びTA1538) とトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2hcr株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。
 検体をDMSOに溶解し、最高濃度を5000 µg/プレートとして検定した。
 陽性対照として2-aminoanthracene(2-AA)、AF-2、β-propiolactone、9-aminoacridine(9AC)、2-nitrofluorene(NF)を用いた。

試験結果：結果を下表に示す。

(平均値；n=2)

薬 剤	濃 度 (µg/プレート)	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2hcr	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)		—	13	9	132	6	15	25
オキサゾアゾン	10	—	15	9	123	8	13	24
	50		18	8	116	8	8	32
	100		11	10	123	8	8	27
	500		15	6	127	8	11	30
	1000		11	7	118	7	12	28
	5000		14	10	123	7	8	17
溶媒対照 (DMSO)		+	16	9	85	6	13	25
アキサゾアゾン	10	+	16	9	95	10	10	20
	50		20	10	109	6	14	21
	100		15	7	117	6	11	18
	500		12	9	110	5	7	17
	1000		20	9	111	4	10	21
	5000		11	5	110	8	11	17
陽性対照 2-AA	10	—	13	12	153	15	17	59
	10	+	118	272	>3000	125	>2000	>3000
AF-2	0.05	—	1512	714	1132			373
	0.1							
	0.25							
β-propiolactone	50							
9AC	200				>10000			
NF	50					>3000		

2AA：2-aminoanthracene

9AC：9-aminoacridine

NF：2-nitrofluorene

検体はS-9mixの有無にかかわらず、5000 µg/プレートの濃度でいずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照では、いずれも顕著な復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体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しないものと判断された。

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

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. S-6-2)

試験機関：

報告書作成年：1980年

検体純度： 及び

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 Salmonella typhimurium (TA98、TA100、TA1535及びTA1537) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。通常のプレート法の他に、スポットテスト法を用いて試験を行った。検体をDMSOに溶解し、最高濃度を1000 μ g/プレートとして検定した。なお、プレート法は3回の試験を実施した。

陽性対照としてプレート法では β -propiolactone、Hycanthone、Niridazole、Ethidium bromide、スポット法では β -propiolactone、Daunorubicin、2-aminofluorene (2AF)、9-aminoacridine (9AC) を用いた。

試験結果：プレート法による結果を表1に、スポットテスト法による結果を表2に示す。プレート法において、検体は 及び ともS-9mixの有無にかかわらず、最高濃度である1000 μ g/プレートまで復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた β -propiolactone、Hycanthone、Niridazole及び Ethidium bromideでは顕著なコロニー数の増加が認められた。スポットテスト法においても、検体は 及び原体 とも復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたDaunorubicin、2-aminofluorene (2AF) 及び 9-aminoacridine (9AC) は顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、検体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しないものと判断された。

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

表 1. プレート法による試験結果

(平均値: n=3)

試験	薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート			
				塩基対置換型		フレームシフト型	
				TA1535	TA100	TA1537	TA98
1 回 目	溶媒対照 (DMSO)		—	19.3	144	8.3	22
	オキサジアゾン ()	1	—	15	123	7.6	17.3
		10	—	16	143	9.6	17.6
		100	—	17	159	6.3	12.6
		1000	—	14.3	139	8.6	11.3
	陽性対照		—				
	β -propiolactone	50	—	2125			
	Hycanthone	50	—			837	
	Niridazole	0.05	—		2357		578
	2 回 目	溶媒対照 (DMSO)		—	15.6	161	7.6
オキサジアゾン ()		125	—	14.3	157	6.3	17.6
		250	—	12	139	6.6	17.3
		500	—	14	154	6.3	15.6
		1000	—	14.6	158	7.3	17.6
陽性対照			—				
β -propiolactone		50	—	2133			
Hycanthone		50	—			818	
Niridazole		0.05	—		2157		912
Ethidium bromide		60	—				23.3
溶媒対照 (DMSO)			+	13.3	151	10	42
オキサジアゾン ()		125	+	14	142	9	34.3
		250	+	13.6	137	7	29
	500	+	14.6	132	8.3	37.6	
	1000	+	13	127	5.6	31.6	
陽性対照		+				1344	
Ethidium bromide	60	+					
3 回 目	溶媒対照 (DMSO)		—	15	139	12	21
	オキサジアゾン ()	125	—	21	142	8	21
		250	—	25	137	17	21
		500	—	24	157	10	22
		1000	—	30	170	15	21
	陽性対照		—				
	β -propiolactone	50	—	2440			
	Hycanthone	50	—			715	
	Niridazole	0.05	—		2360		923
	Ethidium bromide	60	—				26.6
	溶媒対照 (DMSO)		+	21	171	30	62
	オキサジアゾン ()	125	+	24	172	31	49
		250	+	33	190	37	48
500		+	36	292	32	59	
1000		+	35	280	36	56	
陽性対照		+				1666	
Ethidium bromide	60	+					

— : 検出されず

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

表 2. スポットテスト法による試験結果

薬 剤	スポットの 薬量 ($\mu\text{g}/10\mu\text{l}$)	スポット部位 周辺の 阻止帯 の有無	S-9mix の有無	変異原活性 ^a			
				塩基対置換型		フレームシフト型	
				A1535	TA100	TA1537	TA98
オキサジアゾン ()	1000 ^b	-	-	-	-	-	-
			+	-	-	-	-
オキサジアゾン ()	1000 ^b	-	-	-	-	-	-
			+	-	-	-	-
陽性対照 β -propiolactone	200	+	-	++	++		
Daunorubicin	5		-				+
2-AF	10	-	-				-
			+				++
9AC	10	-	-			++	

(備考)

- a 変異原活性
- : スポット部位あるいは生育阻止帯周囲とその他の部位とで、復帰変異コロニー数に差が認められない。
 - + : スポット部位あるいは生育阻止帯周囲にその他の部位より多くの復帰変異コロニーがリング状に認められる。
 - ++ : スポット部位あるいは生育阻止帯周囲にその他の部位よりきわめて多くの復帰変異コロニーがリング状に認められる。
- b スポット部位に薬物の析出が認められた。

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

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. S-6-3)

試験機関：

報告書作成年：1980年

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及びTA1538) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。検体をDMSOに溶解し、最高濃度を1000 μ g/プレートとして検定した。陽性対照として、 β -propiolactone、Hycanthone、Niridazole 及びEthidium bromideを用いた。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

検体はS-9mixの有無にかかわらず、最高濃度である1000 μ g/プレートにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた β -propiolactone、Niridazole、Hycanthone及びEthidium bromideでは顕著なコロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、検体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しないものと判断された。

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

結果：

(平均値：n=3)

薬 剤	濃 度 (μ g/プレート)	S-9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)		-	11	109.6	6.3	8.3	21
オキサジアゾン	125	-	11.3	109.6	6.3	8	19.3
	250		12.6	111.3	6	7.6	16.3
	500		12.3	105.3	6.6	7.3	14.6
	1000		10	103.6	5.6	7	13
陽性対照							
β -propiolactone	50	-	1597				
Hycanthone	50				613	676	
Niridazole	0.05			1541			469
Ethidium bromide	60						33.3
溶媒対照 (DMSO)		+	11	120.6	8	14	25.6
オキサジアゾン	125	+	10.6	120.6	7.3	11.6	25.3
	250		11.3	112	6.3	10.3	23.3
	500		12.6	117.6	6	11	26
	1000		10	116.6	6	7	21.3
陽性対照							
Ethidium bromide	60	+					1680

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

マウスを用いた小核試験

(資料NoS-6-4)

試験機関:

報告書作成年: 1980年

検体純度:

試験動物: ICRマウス、1群8匹(雌雄各4匹)

試験期間: 1980年 1月 9日～ 1月31日

試験方法: 検体を10%アカシア水溶液に懸濁し500、1000及び2000mg/kgの用量を、1日1回、2日間強制経口投与した。

陽性対照群にはトリエチレンメラミン(TEM)の3mg/kgを、溶媒対照群には10%アカシア水溶液を同様に投与した。

2回日の投与後6時間目に動物を屠殺し、大腿骨より骨髓の塗抹標本を作製した。塗抹標本はメタノール固定後、ギムザ染色し、以下の項目を鏡検した。

(i) 多染性赤血球1000個当りの小核を有する多染性赤血球頻度

(ii) 成熟赤血球1000個当りの小核を有する成熟赤血球数

(iii) 成熟赤血球/多染性赤血球の割合

試験結果: 結果を下表に示す。

薬 剤	投与量 (mg/kg)	小核を有 する多染 性赤血球 の割合	小核を有 する成熟 赤血球の 割合	全多染性 赤血球数	全成熟 赤血球数	成熟赤血 球数/多 染性赤血 球数
溶媒対照 (10%アカシア水溶液)	—	1	1	1008	1326	1.3
オキサジアゾン	500	1	1	1008	1333	1.3
	1000	1	1	1007	1214	1.2
	2000	1	1	1008	1147	1.1
陽性対照 (TEM)	3	50*	3	1006	2514**	2.5

*: P<0.05 ** : P<0.01 (Cochran-Cox検定)

検体では最高投与量の2000mg/kg群においても小核を有する多染性赤血球数の有意な増加は認められなかった。

一方、陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の有意な増加が認められた。

以上の結果、検体は本試験条件下では変異原性を示さないと結論された。

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

(5) マウスを用いた優性致死試験

(資料No. S-6-5)

試験機関：

報告書作成年：1974年

検体純度：

試験動物：Carworth CF-1系マウス 投与開始時7週齢、1群雄25匹、雌50匹

試験期間：7週間投与

試験方法：検体を飼料中に混合し、0、100及び500ppmの濃度で交配前の雄に7週間投与した。

投与終了後、各群の雄1匹に対し未経産雌2匹をを6日間同居させ(第1回交配)、その後別の未経産雌2匹と同居させた(第2回交配)。

雌は交配期間の半ばから13日後に剖検し、子宮における総着床数、早期及び後期死胚数を計測した。

妊娠率及び突然変異誘起率は次式により求めた。

$$\text{妊娠率} = \frac{\text{妊娠雌数}}{\text{交配雌数}} \times 100$$

$$\text{突然変異誘起率} = \frac{\text{早期死胚数}}{\text{総着床数}} \times 100$$

試験項目：投与期間中、毎日一般状態を観察し、体重及び摂餌量を週1回測定して飼料効率及び検体摂取量を算出した。

試験結果：次頁に結果の表を示す。

一般状態の投与による影響は認められなかった。500ppm群の雄2匹に死亡が認められ、1匹は投与後10日目に死亡したので別の動物を補充した。他の1匹は22日目に死亡し、剖検で異常は認められなかった。

体重は各群同等であった。摂餌量より算出した検体摂取量は100及び500ppm群でそれぞれ17.3及び85.6mg/kg/日であった。

妊娠率、着床率、早期死胚率は対照群と同等であり、投与の影響は認められなかった。

突然変異誘起率に差は認められなかった。

以上の結果から、検体はマウスに対して優性致死効果を示さないと結論された。

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

試験結果：

投与群 (ppm)		0	100	500	
検査動物数 雄		25	25	24 a	
第1回交配	検査動物数 雌	50	50	48	
	妊娠率 (%)	雄	86	90	80
		雌	86	80	92
	平均着床率 (%)	13.8	13.9	13.6	
	平均早期死胚率 (%)	0.95	0.98	1.0	
	早期死胚の認められた妊娠雌 (%)	56	58	58	
	突然変異誘起率 (%)	6.9	7.1	7.3	
第2回交配	検査動物数 雌	50	50	48	
	妊娠率 (%)	雄	84	88	90
		雌	84	88	90
	平均着床率 (%)	13.3	12.5	12.9	
	平均早期死胚率 (%)	1.4	1.1	0.86	
	早期死胚の認められた妊娠雌 (%)	69	48	56	
	突然変異誘起率 (%)	11.0	8.8	6.7	
平均突然変異誘起率 (%)		8.8	8.0	7.0	

a : 雄1匹は投与開始後22日目に死亡

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

ラットを用いた優性致死試験

(資料No. S-6-6)

試験機関：

報告書作成年：1976年

検体純度：

試験動物：SD系ラット、雄14ヶ月齢 1群25匹、雌100日齢 1群25匹

試験方法：用いた雄は検体を0、100及び500ppmの濃度を13ヶ月間混餌投与した試験のラットを用いた。

14ヶ月齢の雄と無処置の雌を1対1で同居させ、交配の有無を確認した。

最初の3日間で交配の確認のできなかった雄は同様の操作を2週間まで継続した。

最初の同居期間に妊娠しなかった雌の一部は交配能力のある雄と再び同居させた。妊娠した雌は妊娠12～18日の間に解剖し、着床数、早期及び後期死胚数を計測した。

試験項目：雄の妊孕率(妊孕のみられた雄数/交配した雄数)、妊娠率(妊娠した雌数/交配した雌数)、突然変異誘起率(早期死胚数/総着床数)を算出した。

試験結果：結果を下表に示す。

投与群 (ppm)		0	100	500
雄	交配した数	25	25	25
	妊孕率 (%)	28	44	44
雌	交配した数	25	25	25
	妊娠率 (%)	44	68	64
平均着床数		13.6	13.5	11.8
平均早期死胚数		1.18	0.65	0.56
平均早期死胚率 (%)		73	47	38
突然変異誘起率 (%)		9.4	5.2	4.5

一般症状として、雄は13ヶ月間の混餌投与後のラットで14ヶ月齢に交配に用いており、交尾意欲の減少がみられた。これは対照群を含む全群で妊孕率、妊娠率が低いことと一致した。

平均早期死胚数、早期死胚率及び突然変異誘起率ともに対照群が最も高かった。

以上の結果から、検体はラットに対して優性致死効果を示さないと結論された。

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

マウスリンパ腫細胞を用いた遺伝子突然変異試験

(資料No.S-6-7)

試験機関:

報告書作成年: 1982年

検体純度:

試験期間: 1982年 3月 6日 ~ 6月 3日

試験方法: マウスの継代培養したリンパ腫細胞(L5178Y TK+/-)を用い、SDラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下又は非存在下でCliveらの方法により、遺伝子突然変異を検定した。

本試験ではS-9mix非存在下で15.6~1000 $\mu\text{g/ml}$ 、S-9mix存在下では3.91~200 $\mu\text{g/ml}$ の濃度とした。

検体はアセトンに溶解した。250 $\mu\text{g/ml}$ 以上は一部不溶となり、析出が認められた。

変異原性試験を3回行った。3回目の試験ではS-9mix存在下のみ行った。

溶媒対照にはアセトン、陽性対照にはエチルメタンスルホネート(EMS)及びジメチルニトロサミン(DMN)を用いた。

細胞 3×10^6 個を4時間検体で処理した後、洗浄して発育培地に接種し2日間培養した。この間毎日細胞数を測定し、浮遊発育率を求めた。なお、細胞が増加した場合は最適発育密度となるよう分割して培養を継続した。その後、5-ブromo-2-デオキシウリジン(BrDU)を含む軟寒天培地に細胞 1×10^6 /プレートとなるよう接種し、BrDU耐性となった突然変異コロニー数を測定した。

同時にBrDUを含まない軟寒天培地に細胞 1×10^2 /プレートとなるよう接種して生存コロニー数を計測した。1処理当たりそれぞれ3プレートを計測した。

突然変異発生率は以下のように算出した。

$$\text{突然変異誘発率(細胞}10^6\text{個当たり)} = \frac{\text{突然変異コロニー数}}{\text{生存コロニー数}} \times 10^4$$

$$\text{クローニング効率} = \frac{\text{生存コロニー数}}{\text{接種した細胞数}}$$

$$\text{相対発育率} = \text{相対浮遊発育率} \times \text{相対クローニング効率}$$

(それぞれ溶媒対照を100%とした率で示される)

評価基準: 結果を陽性と判定するための基準は、溶媒で処理した対照値に対して突然変異度が倍増を示すことである。

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

試験結果：結果を次頁の表に示す。

1回目の試験の結果、S-9mix非存在下における最高濃度の1000 μ g/mlで中等度の毒性が認められ、突然変異誘発率が生じた。

2回目の試験では、S-9mix非存在下における突然変異誘発率は認められなかった。

S-9mix存在下における試験では、3回の試験とも突然変異誘発率の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたエチルメタンサルホネート(EMS)及びジメチルニトロサミン(DMN)では顕著な突然変異誘発率の増加が認められた。

以上の結果から、オキサジアゾン原体はS-9mixの存在下及び非存在下において、毒性のある濃度まで試験した場合、マウスリンパ腫細胞における突然変異誘発性はないものと判断された。

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

試験結果：1回目の試験

	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	処理 数	浮遊 発育率 (相対%)	突然変異 コロニー 数 (a)	生存コロ ニー数 (a)	クローニング 効率 (相対%)	相対的 発育率 (%)	突然変異 誘発率 / 10^6 個
溶媒対照 (アセトン)	—	—	2	13.5	49	380	126.5	100.0	13.1
無処理対照	—	—	1	6.9	26	383	127.7	51.5	6.8
キサンアゾン	15.6	—	1	68.5	77(b)	414	109.1	74.7	18.6
	31.3		1	70.2	31	459	120.9	84.9	6.8
	250(c)		1	17.0	39	206	54.3	9.2	18.9
	500(c)		1	22.7	44	239	63.0	14.3	18.4
	1000(c)		1	12.0	77(d)	259	60.2	7.2	29.7
陽性対照 (EMS)	0.5 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	—	1	3.6	533	98	32.7	6.8	543.9
溶媒対照 (アセトン)	—	+	2	9.4	65.5	273	91	100.0	25
無処理対照	—	+	1	8.4	53.0	220	73.3	71.7	24.1
キサンアゾン	3.91	+	1	69.6	81	265	97.1	67.6	30.6
	7.81		1	52.7	64	315	115.4	60.8	20.3
	15.6		1	50.6	105	382	139.9	70.8	27.5
	31.3		1	69.6	72	268	98.2	68.3	26.9
	62.5		1	41.5	78	227	83.2	34.5	34.4
陽性対照 (DMN)	0.3 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	+	1	4.2	170	63(b)	21	10.4	269.8

(a) 3プレートの合計数

(b) 1プレートが汚染したため、2プレートの計測数より推定した。

(c) 不溶性の検体が認められた。

(d) 2日目の浮遊発育が悪く、細胞数を調整せずにプレートに接種した。

2回目の試験

	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	処理 数	浮遊 発育率 (相対%)	突然変異 コロニー 数 (a)	生存コロ ニー数 (a)	クローニング 効率 (相対%)	相対的 発育率 (%)	突然変異 誘発率 / 10^6 個
溶媒対照 (アセトン)	—	—	2	31.0	51.5	348.5	116.2	100	14.5
無処理対照	—	—	1	32.8	32	329	109.7	100	9.7
キサンアゾン	50	—	1	46.3	34	255	73.1	33.8	13.3
	300		1	18.4	56	298	85.5	15.7	18.8
	600(c)		1	24.0	68	310	88.9	21.3	21.9
	800(c)		1	11.8	47	226	64.8	7.6	20.8
	1000(c)		1	21.1	37	369	105.9	22.3	10.0
陽性対照 (EMS)	0.5 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	—	1	10.4	446	79	26.3	7.6	564.6
溶媒対照 (アセトン)	—	+	2	23.8	92	319	106.4	100	28.9
無処理対照	—	+	1	19.8	110	443	147.7	115.3	24.8
キサンアゾン	20	+	1	90.1	79	253	79.3	71.4	31.2
	30		1	83.8	96	315	98.7	82.7	30.5
	40		1	62.0	70	366	114.7	71.1	19.1
	60		1	86.3	94	287	89.9	77.6	32.8
	80		1	71.5	114	303	94.9	67.9	37.6
100	1	22.0	104	296	92.7	20.4	35.1		
陽性対照 (DMN)	0.3 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	+	1	11.2	254	76	25.3	11.2	334.2

(a) 3プレートの合計数

(c) 不溶性の検体が認められた。

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

3回目の試験

	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	処理 数	浮遊 発育率 (相対%)	突然変異 コロニー 数 (a)	生存コロ ニー数 (a)	コロニー 効率 (相対%)	相対的 発育率 (%)	突然変異 誘発率 / 10^6 個
溶媒対照 (アセトン)	—	+	4	8.7	123.5	380.5	126.9	100.0	33.2
無処理対照	—	+	2	13.1	91.5	298	99.4	117.2	30.8
オキサゾロン	100	+	1	104	99	211	55.4	57.6	46.9
	120		1	85.8	94	249	65.4	56.1	37.8
	140		1	48.7	76	256	67.2	32.7	29.7
	160		1	42.8	104	385	101.1	43.3	27.0
	180		1	20.3	82	326	85.6	17.4	25.2
	200		1	41.0	118	291	76.4	31.3	40.5
陽性対照 (EMS)	0.3 ($\mu\text{l}/\text{ml}$)	+	4	5.7	260.3	101.3	33.8	17.0	260.3

(a) 3プレートの合計数

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

ラットの初代培養肝細胞における不定期DNA合成試験

(資料No. S-6-8)

試験機関:

報告書作成年: 1982年

検体純度:

試験期間: 1982年 3月16日～1982年 5月 7日

試験方法: コラゲナーゼ処理により培養したラット肝細胞を用いた。

検体及び ^3H -チミジン($1\mu\text{Ci}/\text{ml}$)を含むWilliam E 培地(WME)に肝細胞を入れ、18～19時間処理した。処理開始後20～24時間日に生存細胞数(トリパンブルー排除)を測定し、陰性対照との相対的細胞生存率を推定した。その後、単層細胞をWMEで洗浄し、1%クエン酸ナトリウム液処理後、酢酸:エタノール(1:3)で固定した。24時間風乾後、乳剤処理しオートラジオグラフィーを作成し、HE染色した。

オートラジオグラフィーにより、損傷を受けたDNAが修復される際に取り込まれる ^3H -チミジンによる細胞核内粒子数を計測した。また、核周囲の3倍領域にある粒子数をバックグラウンドとして差し引いた。

1枚のスライド当たり50個の細胞核内粒子数、合計3枚150個を計数した。

溶媒対照にはアセトン、陽性対照には2-アセチルアミノフルオレン(2-AAF)を用いた。

評価に際して、

- 1) 核当たり平均粒子数が6個以上あり、陰性対照より多い
- 2) 6個以上の粒子を有する核が約10%に増加して陰性対照より多い
- 3) 20個以上の粒子を持つ核が2%以上

のいずれかに該当する場合は陽性と判断した。

試験結果: 次頁に結果の表を示す。

検体の0.5～50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ のいずれの濃度においても有意な粒子数の増加は認められなかった。細胞生存率は43.3～109.8%の範囲であった。表には示していないが、100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上では強い毒性が認められ、細胞生存率は1.7%であった。

一方、陽性対照の2-アセチルアミノフルオレンでは各指標とも顕著な増加が認められた。

以上の結果から、オキサジアゾン本試験条件下では、不定期DNA合成を示さないと判断された。

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

結 果：

(n=3)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	核当り平 均粒子数 a	6以上の 粒子を有 する核の 平均(%)	20以上の 粒子を有 する核の 平均(%)	21時間目 生存率 (%)
溶媒対照 (アセトン)	0.5%	0.71	0.0	0.0	100.0
オキサジアゾン	0.5	0.69	0.7	0.0	—
	1.0	0.85	1.3	0.0	—
	2.5	1.09	3.3	0.0	102.1
	5.0	0.84	0.7	0.0	104.7
	10.0	1.43	4.0	0.0	109.8
	25.0	0.93	0.7	0.0	89.8
	50.0	0.67	0.0	0.0	43.3
陽性対照 (2-AAF)	0.05	14.59	89.3	22.0	87.6

a：細胞150個の平均正味核粒子数

—：測定できず

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

(資料No. S-6-9)

チャイニーズハムスターの培養細胞を用いた染色体異常試験

試験機関:

報告書作成年: 1982年

検体純度:

試験期間: 1982年 6月25日～1982年 7月19日

試験方法: チャイニーズハムスターの継代培養した卵巢細胞(CHO-WBI)を用いた。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。

41.6 μ

g/mlでは全く毒性を示さなかった。

毒性発現域での結果を得るため、S-9mix非存在下で2回日の試験を12.5から75 μ g/mlの濃度範囲を選択して実施した。最高濃度は50 μ g/mlであった。

S-9mix存在下では、1.25から125 μ g/mlの濃度範囲を選択した。

陽性対照としてS-9mix非存在下ではマイトマイシンC(1.0 μ g/ml、62.5ng/ml)及びS-9mix存在下ではシクロホスファミド(50 μ g/ml)を用いた。

培養開始1日後、S-9mix非存在下の1回日は約7時間半、2回日は約17時間45分処理後、生理食塩液で洗浄し、コルセミド0.1 μ g/mlを添加し有糸分裂中期細胞を集めた。

S-9mix存在下では2時間培養し、生理食塩水で洗浄後10%FCS含有培地に加え、更に8～10時間培養し、終了2時間前にコルセミドを添加し有糸分裂中期細胞を集めた。この細胞を0.075M KClで膨張させ、固定液で洗浄後スライドグラスに滴下、風乾し5%ギムザ染色を行った。

各濃度で100個の分裂中期像を観察し、染色分体型及び染色体型のギャップ、切断、交換等の染色体異常について分類計測した。

ギャップは有意の異常として計数しなかった。

切断の概算数、1個以上の異常細胞発現率及び用量反応を考慮した。

試験結果: 次頁に結果の表を示す。

S-9mixの有無にかかわらず、細胞毒性を発現するオキサジアゾンの濃度範囲で処理した場合、染色体異常を持つ細胞の発現率を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシンC及びシクロホスファミドでは顕著な染色体異常が認められた。

以上の結果から、オキサジアゾンはチャイニーズハムスターの卵巢細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験において、染色体異常を誘発しないと判断された。

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

1回目の試験

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	検査した 細胞数	細胞1個当り の異常数	異常のみられた 細胞数の平均率 (%)	異常数1以上 の細胞数
陰性対照 (無処理)		-	100	>0.06	5.0	2
溶媒対照 (DMSO)	1%	-	100	0.06	5.0	1
オキサジアゾン	0.416	-	100	0.01	1.0	0
	1.25			0.01	1.0	0
	4.16			0.05	4.0	1
	12.50			0.04	4.0	0
	41.60			>0.07	6.0	2
陽性対照 (マイトマイシンC)	1.0	-	100	>0.27**	23.0	3
陰性対照 (無処理)		+	100	>0.04	4.0	1
溶媒対照 (DMSO)	1%	+	100	>0.08	7.0	2
オキサジアゾン	1.25	+	100	0.02	1.0	1
	4.16			0.02	2.0	0
	12.50			0	0	0
	41.60			0.04	4.0	0
	125.00			0.02	2.0	0
陽性対照 (シクロホスファミド*)	50.0	+	100	>0.23**	23.0	1

** : $P < 0.01$ (Studentのt検定)

2回目の試験

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	S-9 mix	検査した 細胞数	細胞1個当り の異常数	異常のみられた 細胞数の平均率 (%)	異常数1以上 の細胞数
陰性対照 (無処理)		-	100	0.03	3.0	0
溶媒対照 (DMSO)	1%	-	100	>0.02	2.0	1
オキサジアゾン	12.5	-	100	0.01	1.0	0
	25.5			0.01	1.0	0
	50.0			>0.01	1.0	1
陽性対照 (マイトマイシンC)	62.5 (ng/ml)	-	100	>0.22**	17.0	5

** : $P < 0.01$ (Studentのt検定)

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

細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 追加1)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 2001年

検体の純度: オキサジアゾン();

オキサジアゾン();

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98及びTA100)及びトリプトファン要求性 *Escherichia coli* (WP2 pKM101及びWP2 uvrA pKM101)を用い、S-9mixの存在下及び非存在下で変異原性を検定した。検体をDMSOに溶解した。

試験は3回行い、試験1及び2はオキサジアゾン を用いた。

試験1は全菌株を用い、用量設定試験と同用量で実施した。

試験2は51.2、128、320、800、2000及び5000 μ g/プレートの濃度で実施した。

試験3は、オキサジアゾン()とオキサジアゾン()を用い、S-9mix存在下でTA100菌株のみを用い、51.2から5000 μ g/プレートの用量で実施した。

検体及び陽性対照は3プレート、陰性(溶媒)対照は5プレートとした。

陽性対照として、S-9mix非存在下では、2NF(2-Nitrofluorene)、NaN₃(Sodium azide)、AAC(9-Aminoacridine)、NQO(4-Nitroquinoline 1-oxide)及びS-9mix存在下では、B[a]P(Benzo[a]pyrene)、AAN(2-Aminoanthracene)を用いた。

試験結果: 各試験において、いずれの菌株にも毒性は認められなかった。

試験1の結果、いずれの菌株にも毒性は認められなかった。沈澱が全菌株で5000 μ g/プレートに認められた。S-9mix存在下におけるTA100菌株では、復帰変異数の増加が5000 μ g/プレートまで認められ、1000及び5000 μ g/プレートでは有意差が認められた。

S-9mix非存在下のTA100株で有意な増加が40及び5000 μ g/プレートに認められたが、用量相関性は認められず、溶媒対照のバックグラウンド(平均値117、範囲92.8~156.2)の範囲内であり、変異原性を示唆するものではないと考えられた。

試験2の結果、いずれの菌株にも毒性は認められなかった。

沈澱がS-9mix非存在下の全菌株の800 μ g/プレート以上、S-9mix存在下では2000 μ g/プレート以上に認められた。沈澱のみられる用量で、復帰変異数の増加がS-9mix存在下のTA100株に再度認められた。

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

試験3の結果、毒性は認められず、沈澱が2000及び/又は5000 μ g/プレートに認められた。オキサジアゾン()で2000及び5000 μ g/プレートに復帰変異数の有意な増加が認められたが、オキサジアゾン()では増加は認められなかった。

これらの結果から、オキサジアゾン()は、代謝活性化系(S-9)の存在下においてTA100株のみに復帰変異数の有意な増加を示し、また用量相関性が認められた。

S-9mix存在下のTA100株における復帰変異数の増加は、各試験で再現性が認められた。

オキサジアゾン()及びオキサジアゾン()をS-9mix存在下でTA100株に処理した試験3では、オキサジアゾン()のみに復帰変異数の増加が認められたことから、認められた変異原性は不純物によるものであり、オキサジアゾンによるものではないと考えられた。

以上の結果、オキサジアゾン()はTA100株に復帰変異を誘発した。

オキサジアゾン()では増加が認められないことから、オキサジアゾン()に認められた変異原性は、オキサジアゾンによる変異原性ではなく、変異原性不純物に起因したものと考えられた。

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

用量設定試験

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 TA100
溶媒対照 (DMSO)	100 μl	—	130
オキサジアゾン ()	1.6	—	146
	8		143
	40		135
	200 (M)		144
	1000 (Ppn)		134
	5000 (Ppn)		157
陽性対照 NaN ₃	2	—	1145
溶媒対照 (DMSO)	100 μl	+	125
オキサジアゾン ()	1.6	+	122
	8		135
	40		144
	200		122
	1000 (Ppn)		156*
	5000 (Ppn+M)		242***
陽性対照 AAN	5	+	2329

NaN₃ : Sodium azide

AAN : 2-Aminoanthracene

Ppn : 沈澱が認められた

M : 手計算

* : $P \leq 0.05$, *** : $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

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

試験1

化合物	濃度 (μ g/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	
			TA100	TA1535	WP2 pKM101	WP2uvrA pKM101	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 μ l	-	112	21	75	204	44	11
オキサジアゾン ()	1.6	-	112	21	73	203	41	12
	8		115	19	73	199	30	14
	40		157***	21	62	192	51	12
	200		133	20	69	190	28	9
	1000 (Ppn)		134	18	68	188	35	10
5000 (Ppn)	155***	18	63	175	31	8		
陽性対照								
2NF	5	-					1192	
NaN ₃	2	-	966	578				
AAC	50	-						410
NQO	2	-				1827		
	10				709			
溶媒対照 (DMSO)	100 μ l	+	120	24	62	237	34	12
オキサジアゾン ()	1.6	+	113	26	62	238	34	12
	8		120	28	73	254	37	12
	40		133	27	61	248	40	18
	200		150	25	67	209	36	14
	1000		178***	24 (Ppn)	52	203	28	12
5000 (Ppn)	281***	24	44 (M)	176	42	13		
陽性対照								
B[a]P	10	+					282	
AAN	5	+	1844	218		783		304

2NF : 2-Nitrofluoren

NaN₃ : Sodium azide

AAC : 9-Aminoacridine

NQO : 4-Nitroquinoline 1-oxide

B[a]P : Benzo[a]pyrene

AAN : 2-Aminoanthracene

Ppn : 沈澱が認められた

M : 手計算

*** : P \leq 0.005 (Dunnnett検定)

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

試験2

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	
			TA100	TA1535	WP2 pKM101	WP2uvrA pKM101	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 μL	-	105	21	62	170	39	15
オキサジアゾン ()	51.2	-	98	17	48	185	41	9
	128		91	20	61	181	42	11
	320		106	18	59	171	36	17
	800 (Ppn)		103	15	53	163	40	9
	2000 (Ppn)		89	14	46	161	34	11
5000 (Ppn)	97	17	47	153	57*	12		
陽性対照								
2NF	5	-					1048	
NaN ₃	2	-	763	662				
AAC	50	-						201
NQO	2	-				1623		
	10				580			
溶媒対照 (DMSO)	100 μL	+	124	22	93	280	37	19
オキサジアゾン ()	51.2	+	146	15	108	258	36	20
	128		129	23	105	273	43	19
	320		135	22	102	257	40	17
	800		133(M)	24	106	257	51	20
	2000 (Ppn)		183***	27(M)	98	253	51	22
5000 (Ppn)	201***	26	86	238	43	15		
陽性対照								
B[a]P	10	+					238	
AAN	5	+	1878	228		730		365

2NF : 2-Nitrofluoren

NaN₃ : Sodium azide

AAC : 9-Aminoacridine

NQO : 4-Nitroquinoline 1-oxide

B[a]P : Benzo[a]pyrene

AAN : 2-Aminoanthracene

Ppn : 沈澱が認められた

M : 手計算

* : $P \leq 0.05$, *** : $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

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

試験3

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 TA100
溶媒対照 (DMSO)	100 μl		109
オキサジアゾン ()	51.2	+	119
	128		106
	320		142*
	800		132
	2000		170***
	5000 (Ppn)		173***
陽性対照 AAN	5	+	2170
溶媒対照 (DMSO)	100 μl	+	118
オキサジアゾン ()	51.2	+	79
	128		91
	320		100
	800		97
	2000 (Ppn)		108
	5000 (Ppn)		122
陽性対照 AAN	5	+	1919

AAN : 2-Aminoanthracene

Ppn : 沈澱が認められた

* : $P \leq 0.05$ 、*** : $P \leq 0.005$ (Dunnnett検定)

ヒトリンパ球培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

(資料No. 追加2)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 2001年

検体の純度:

試験方法: in vitroでS-9mixの存在下及び非存在下におけるヒトリンパ球に対する染色体異常誘発性を検定した。

検体はDMSOに溶解した。

最高用量は350 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とし、この濃度は培地中の溶解度限界に近い濃度であった。試験は2回行った。

試験1では、S-9mix存在下及び非存在下で3時間処理; 17時間回復とし染色体分析濃度としてS-9mix非存在下で73.4、114.7、179.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、S-9mix存在下で91.75、114.7、143.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を選択した。

試験2では、S-9mix非存在下で20時間連続処理した。S-9mix存在下では3時間処理し、17時間の回復時間をおいた。染色体分析濃度として、S-9mix非存在下では33.55、54.23、81.92 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、S-9mix存在下では81.75、133.1及び184.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を選択した。

ヒト血液よりリンパ球を分離採取し細胞分裂を誘発し、37°Cで48時間培養した。その後、S-9mixの非存在下及び存在下で一連の培養に検体を所定濃度になるように加えた。

溶媒対照としてDMSO、陽性対照としてS-9mix非存在下では4-Nitroquinoline 1-oxide (NQO) 2.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、S-9mix存在下ではシクロホスファミド (CPA) を6.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加した。

細胞採取の2時間前に、各培養液中にコルヒチンを添加し有糸分裂を停止させ、2時間培養後、低張処理し固定、染色して中期分裂像を各培養につき100個鏡検した。

試験結果: 結果を次表に示す。

S-9mixの存在下及び非存在下のいずれにおいても、溶媒対照と比較して染色体異常を有する細胞数に統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照では有意な増加が認められた。

以上の結果から、オキサジアゾン in vitro 細胞遺伝学的試験でS-9mixの存在下及び非存在下のいずれにおいても染色体異常を示さなかった。

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

試験 1

化 合 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S-9 mix	検査した 細胞数	異常のみられた細胞数		分裂指数 (mean)
				ギャップを 含む	ギャップを 除く	
溶媒対照 (DMSO)			100	2	2	6.6
			100	4	2	8.4
			ND	ND	ND	7.7
			ND	ND	ND	9.6
			計	6	4	(8.1)
オキサジアゾン	73.4	-	100	0	0	7.4
			100	2	0	6.9
			計	2	0	(7.2)
	114.7		100	1	0	5.6
			100	2	0	4.7
			計	3	0	(5.2)
	179.2		100	4	3	2.4
			100	2	2	4.2
			計	6	5	(3.3)
陽 性 対 照 (NQO)	2.5	100	23	21	-	
		100	24	23	-	
		計	47*	44*	-	
溶媒対照 (DMSO)			100	2	1	8.9
			100	2	1	10.2
			ND	ND	ND	11.6
			ND	ND	ND	10.3
			計	4	2	(10.3)
オキサジアゾン	91.75	+	100	1	0	10.2
			100	0	0	9.0
			計	1	0	(9.6)
	114.7		100	3	3	8.5
			100	1	1	6.6
			計	4	4	(7.6)
	143.4		100	0	0	5.5
			100	0	0	4.7
			計	0	0	(5.1)
陽 性 対 照 (シクロホスファミド*)	6.25	100	39	35	-	
		100	54	53	-	
		計	93*	88*	-	

NQO : 4-Nitroquinoline 1-oxide

ND : 検査せず (良好な結果が得られた場合、標本は2培養のみ分析し、
分裂指数のみ4標本分析した)

* : $p \leq 0.001$ (二項検定)

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

試験 2

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	S-9 mix	検査した 細胞数	異常のみられた細胞数		分裂指数 (mean)
				ギャップを 含む	ギャップを 除く	
溶媒対照 (DMSO)			100	2	1	8.7
			100	2	1	11.1
			ND	ND	ND	10.6
			ND	ND	ND	9.9
			計	4	2	(10.1)
オキサジアゾン	33.5	-	100	2	1	9.7
			100	1	1	10.0
			計	3	2	(9.9)
	52.43		100	3	2	4.1
			100	2	0	5.0
			計	5	2	(4.6)
	81.92		100	1	0	6.0
			100	3	1	7.0
			計	4	1	(6.5)
陽性対照 (NQO)	2.5	100	28	26	-	
		100	27	25	-	
		計	55*	51*	-	
溶媒対照 (DMSO)			100	2	1	19.5
			100	1	0	14.1
			ND	ND	ND	14.4
			ND	ND	ND	17.3
			計	3	1	(16.3)
オキサジアゾン	81.75	+	100	0	0	15.3
			100	2	2	15.8
			計	2	2	(15.6)
	133.1		100	3	2	10.0
			100	4	3	14.0
			計	7	5	(12.0)
	184.2		100	0	0	9.0
			100	2	0	4.7
			計	2	0	(6.9)
陽性対照 (シクロホスファミド [®])	6.25	100	59	57	-	
		100	58	57	-	
		計	117*	114*	-	

NQO : 4-Nitroquinoline 1-oxide

ND : 検査せず (良好な結果が得られた場合、標本は2培養のみ分析し、
分裂指数のみ1標本分析した)

* : $p \leq 0.001$ (二項検定)

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

マウスを用いた小核試験

(資料No. 追加3)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 2001年

検体の純度:

試験動物: CD1マウス、5週齢、1群雌雄各6匹

体重 雄25~33g、雌20~24g

試験期間: 2000年11月23日~2001年3月8日

試験方法: 検体を1%メチルセルロース溶液に懸濁した。

本試験では1%メチルセルロース溶液に懸濁した検体の2000mg/kgを1日1回2日間強制経口投与した。溶媒対照群には1%メチルセルロース溶液を1日1回2日間、陽性対照群にはシクロホスファミドの40mg/kgを1回投与した。投与後24時間日に全動物を屠殺し、大腿骨から骨髓を採取し塗抹標本作製した。

塗抹標本はメタノール固定後、ギムザ染色し、以下の項目を鏡検した。

- (i) 各動物につき、1000個の多染性赤血球における小核を有する多染性赤血球頻度
- (ii) 各動物につき、少なくとも1000個の全赤血球中の多染性赤血球と正染性赤血球の割合

小核を有する多染性赤血球数が統計学的に有意に増加した場合を陽性と判定した。

試験結果: 結果を次頁表に示す。

陰性(溶媒)対照では、正染性赤血球に対する多染性赤血球の群平均率に変化は認められず、小核を有する多染性赤血球の出現頻度は陰性対照のバックグラウンド値内であった。

オキサジアゾン投与群の正染性赤血球に対する多染性赤血球の群平均率及び小核を有する多染性赤血球の出現頻度は陰性対照と同様であり、有意な増加は認められなかった。

陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の有意な増加が認められた。

以上の結果、オキサジアゾンはin vivoにおける本試験では変異原性を示さないと結論された。

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

試験結果：

24時間目の結果を下表に示す。

	薬 剤	投与量 (mg/kg)	多染性赤血球 /正染性赤血 球	小核を有する 多染性赤血球 数 (/1000)
雄	溶媒対照 (1%メチルセルロース)		0.84	0.50
	オキサジアゾン	2000	0.73	0.42
	陽性対照 (シクロホスファミド ^o)	40	0.56	10.33***
雌	溶媒対照 (1%メチルセルロース)		0.84	0.25
	オキサジアゾン	2000	0.74	0.67
	陽性対照 (シクロホスファミド ^o)	40	0.65	6.17***
雄 雌	溶媒対照 (1%メチルセルロース)		0.84	0.38
	オキサジアゾン	2000	0.74	0.54
	陽性対照 (シクロホスファミド ^o)	40	0.60	8.25***

*** : $P \leq 0.001$ (2×2 分割表の χ^2 検定)

溶媒対照の平均バックグラウンド値

	薬 剤		多染性赤血球 /正染性赤血 球	小核を有する 多染性赤血球 数 (/1000)
雄	溶媒対照 (1%メチルセルロース)	平均	0.95	0.30
		範囲	0.48~1.43	0~0.79
雌	溶媒対照 (1%メチルセルロース)	平均	0.99	0.31
		範囲	0.51~1.47	0~0.84

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

(12) 生体機能に及ぼす影響
オキサジアゾン原体及び製剤の一般薬理試験

(資料No. S-7)

試験機関:

報告書作成年: 1988年

検 体 : (1) オキサジアゾン原体 (純度)
(2) オキサジアゾン製剤
[組成]

溶媒対照物質:

I マウスを用いた中枢神経系に対する作用

1. 一般状態に及ぼす影響

検 体 : オキサジアゾン原体

試験動物: ICR系マウス (体重 27.2~31.0g)、1群雄10匹

試験方法: 検体を生理食塩水に懸濁させ、800、2000及び5000mg/kgを経口投与した後、5、15、30分、1、3、6及び24時間後までIrwin法に準じて行動及び一般症状の観察を行った。対照群には生理食塩水を同容量投与した。

試験結果: 対照群、800及び2000mg/kg群で特異な症状は認められなかった。5000mg/kg群では投与15~30分後から4例に軽度な自発運動の抑制が認められたが、6時間後には全例正常に回復した。

2. 自発運動量への影響

検 体 : オキサジアゾン原体及び製剤

試験動物: ICR系マウス、体重 21.5~32.0g、1群雄10匹

試験方法: オキサジアゾン原体について一般状態に及ぼす影響試験と同様の方法及び用量で投与し、製剤については0.8及び2.0ml/kgを経口投与した。どちらもIrwinの回転カゴ法により、投与直後から20分間隔で200分後まで回転数を測定した。なお、供試動物は検体投与前の回転数が100~200回転/10分の動物を選んだ。

試験結果: オキサジアゾン原体では、対照群は投与20分後312±39回転/20分と最も多く、以後反復しながら徐々に回転数は減少した。800及び2000mg/kg群は対照群とほぼ同様な推移を示し、いずれの時点においても有意差は認められなかった。5000mg/kg群では投与後60分以降は対照群に比べて低い数値を示したが、いずれの時点においても有意差は認められなかった。製剤0.8ml/kg群は対照群とほぼ同様な推移を示し、いずれの時点においても有意差は認められなかった。製剤2.0ml/kg群では、対照群に比較して高い数値を示したが、いずれの時点においても有意差は認められなかった。溶媒対照群では、投与20分以後多少の増減はみられたが、同様の回転数を示した。

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

II ウサギを用いた呼吸、循環器系に対する作用

検 体：オキサジアゾン原体及び製剤

試験動物：日本白色腫ウサギ（体重2.82～3.5kg）、1群雄10匹

試験方法：オキサジアゾン原体は1、5及び10mg/kg、製剤は0.001及び0.005ml/kgを静注し、その作用を各用量につき5例を30分まで観察した。

呼吸数は気管カニューレを挿管し胸部呼吸ピックアップで、血圧は大股動脈に挿入した動脈カニューレからの圧トランスデューサーで、心拍数は瞬時心拍計によりポリグラフ上に記録した。

試験結果：

呼吸数への影響；

オキサジアゾン原体が1mg/kg群はほとんど変化が認められなかった。

5mg/kg群は投与2分後に投与前より平均23.4%の増加を示した。以後、徐々に回復したが、30分後でも投与前と比べ平均13.1%の増加が認められた。

10mg/kg群は投与2分後に投与前より平均39.5%の増加を示した。以後、徐々に回復したが、30分後は平均15.5%の増加がみられた。

製剤0.001mg/kg群は、対照群に比べ呼吸振幅を増強させたが有意な差ではなかった。

製剤0.005ml/kg群は、対照群でみられた呼吸数の増加を更に増強させ、特に2分後では有意差が認められた。

溶媒対照群（0.001及び0.005ml/kg）では、投与後まもなく増加が認められたが、各10及び20分後には回復した。

呼吸振幅への影響；

オキサジアゾン原体では1及び5mg/kg群ではほとんど変化が認められなかった。

10mg/kg群では投与直後から軽度な減少がみられたが、30分後には回復した。

製剤0.005ml/kg群では、対照群でみられた呼吸振幅の減少を更に増強させ、特に2分後では有意差が認められた。

溶媒対照群では、投与後減少が認められたが、10分後には回復した。

血圧への影響；

オキサジアゾン原体では、全群ともほとんど変化はなかった。

製剤0.001ml/kg群は対照群でみられた呼吸振幅の減少を更に増加させたが有意な差ではなかった。

溶媒対照群は、投与後一過性の下降が認められた。

心拍数への影響；

オキサジアゾン原体では、全群ともほとんど変化はなかった。

製剤0.001ml/kg群も対照群と同様の変化が認められ、差はなかった。

溶媒対照群は、投与後一過性の減少が認められた。

心電図への影響；

オキサジアゾン原体では、全群に明らかな変化は認められなかった。

製剤0.001ml/kg群は対照群と同様の変化が認められた。

溶媒対照群は、徐脈に伴うわずかなR-R間隔の延長、R波の高さの下降及びS波の深さの増大が認められたが、いずれも一過性の変化であった。

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

III 自律神経系に対する作用

摘出回腸への影響

検 体：オキサジアゾン原体

試験動物：Hartley系モルモット(体重 401~405g)、1群雄3匹

試験方法：18時間絶食させたモルモットの回腸を摘出し、栄養液を満たしたマグナス装置に0.5gの負荷を加えて懸垂した。95% O₂ - 5% CO₂混合ガスを通じながら、収縮反応をアイソニックトランスデューサーを介してレコーダに記録した。オキサジアゾン原体は、10⁻⁶~10⁻⁴ g/mlの単独作用とアセチルコリン及びヒスタミン累積投与による収縮反応への影響を10⁻⁶~10⁻⁴ g/mlで各3例検討した。

試験結果：オキサジアゾン原体の単独投与では10⁻⁶~10⁻⁴ g/mlで回腸の静止筋緊張に影響を及ぼさなかった。アセチルコリン累積投与では、オキサジアゾン原体の10⁻⁵及び10⁻⁴ g/ml投与でアセチルコリンによる収縮に対し抑制的に作用した。アセチルコリン3×10⁻⁶ M投与時に得られる最大収縮に対する抑制率は27.7及び45.2%であった。ヒスタミン累積投与では、オキサジアゾン原体の10⁻⁵及び10⁻⁴ g/ml投与でヒスタミンによる収縮に対し、抑制的に作用した。ヒスタミン3×10⁻⁵ M投与時に得られる最大収縮に対する抑制率は24.7及び47.2%であった。

IV 消化管機能に対する作用

消化管輸送機能への影響

検 体：オキサジアゾン原体

試験動物：ICR系マウス(体重 22.6~26.6g)、1群雄10匹

試験方法：18時間絶食させ、オキサジアゾン原体800、2000及び5000mg/kg経口投与して30分後、活性炭末懸濁液を0.1 ml/gの割合で経口投与した。その20分後致死させ、開腹して幽門より活性炭先進部までの長さ小腸の長さを測定し、移行率を%で求めた。

試験結果：全群とも対照群に比較して差はなかった。

V 血液系に対する作用

溶血試験

検 体：オキサジアゾン原体

試験動物：日本白色種ウサギ(体重3.04~3.42kg)、1群雄3匹

試験方法：採取した血液を3000rpmで15分間遠心分離し、生理食塩水で洗浄後、2.5%赤血球生食浮遊液とした。オキサジアゾン原体の10⁻⁶~10⁻⁴ g/mlを2mlずつ試験管にとり、同量の赤血球生食浮遊液を加え十分に混和し、37℃で30分保温した。保温後直ちに冷却、遠心分離し、上澄み液を分光光度計で540nmにおける吸光度を測定した。陽性対照薬としてサポニンを用いた。

試験結果：対照群及び10⁻⁶~10⁻⁴ g/ml群とも溶血作用を示さなかった。サポニン10⁻⁴ g/ml群は溶血作用を示した。

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

VI 末梢神経系に対する作用

横隔膜神経筋への影響

検 体：オキサジアゾン原体

試験動物：Wister系ラット（体重295～318g）、1群雄8匹

試験方法：Bulbring(1946)及び久我(1958)の方法に準じて横隔膜神経筋標本を作成し、マグヌス管に1gの負荷をかけ懸垂した。栄養液はタイロッド液(0.2%グルコース加)を用いて液温を25℃に保ち、混合ガス(95%O₂ - 5%CO₂)泡出下に行った。短形波刺激(1V, 1msec, 0.1Hz)を横隔膜神経に連続的に与え、筋収縮をFDピックアップを介しポリグラフに記録した。

オキサジアゾン原体10⁻⁶～10⁻⁴ g/mlの単独作用を各用量につき5例と、d-ツボクラリン3×10⁻⁶及びフィゾスチグミン3×10⁻⁶ g/mlの反応に対する影響を単独作用のみられない10⁻⁴ g/mlで3例検討した。

試験結果：オキサジアゾン原体10⁻⁶～10⁻⁴ g/ml群とも神経刺激による筋収縮に影響を及ぼさなかった。

オキサジアゾン原体10⁻⁴ g/ml群は、d-ツボクラリン及びフィゾスチグミン反応に対して影響を及ぼさなかった。

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

生体の機能に及ぼす影響に関する試験の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /1群	無作用量 (mg/kg)	作用量 (mg/kg)	結果の概要
一般状態に 及ぼす影響 (マウス)	経口投与 (生理食塩水)	原体 800 2000 5000	雄10匹	2000	5000	5000mg/kg群では4例に自発運動の抑制が認められたが、6時間後には全例回復した。
自発運動量 への影響 (マウス)	経口投与 (生理食塩水)	原体 800 2000 5000	雄10匹	2000	5000	5000mg/kg群では対照群に比較して低い数値を示したが、有意差は認められなかった。
		12%乳剤 0.8 2.0 (mℓ/kg)				0.8 (mℓ/kg)
呼吸、循環 器系に対する 影響 (ウサギ)	大腿静脈挿入 カニューレ (10%エタノール 生理食塩水)	原体 1 5 10	雄10匹	1	5	5及び10mg/kg群で呼吸数の増加が認められた。また、10mg/kg群で軽度の呼吸振幅の減少が認められた。
		12%乳剤 0.001 0.005 (mℓ/kg)				0.001 (mℓ/kg)
摘出回腸 への影響 (モルモット)	摘出回腸を栄養液を満たしたMagnus装置に懸垂	原体 10^{-6} 10^{-5} 10^{-4} (g/mℓ)	雄3匹	10^{-6} (g/mℓ)	10^{-5} (g/mℓ)	Ach及びhistamineによる収縮反応に対して 10^{-5} g/mℓ以上で収縮抑制を示した。
消化管機能に 及ぼす影響： 炭末輸送能 (マウス)	経口投与	原体 800 2000 5000	雄10匹	5000	—	影響は認められなかった。
溶血試験 (ウサギ)	採取血液から赤血球を分離し、2.5%生理食塩水浮遊液としたものに検体投与	原体 10^{-6} 10^{-5} 10^{-4} (g/mℓ)	雄3匹	10^{-4} (g/mℓ)	—	各群とも溶血作用を示さなかった。
末梢神経系に 対する影響 (ラット)	ラット横隔膜神経筋を栄養液を満たしたMagnus管に懸垂	原体 10^{-6} 10^{-5} 10^{-4} (g/mℓ)	雄5匹 (単独作用) 雌3匹 (反応に対する影響)	10^{-4} (g/mℓ)	—	影響は認められなかった。

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

(1 3) その他

(資料No.S-2-4)

試 験 機 関 :

報告書作成年 : 2002年

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

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

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

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

(資料No.S-3-8)

試験機関：

報告書作成年：1991年

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

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

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

(資料No.S-3-9)

試験機関：

報告書作成年：1993年

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

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

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

(資料No.S-3-10)

試 験 機 関 :

報告書作成年 : 1993年

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

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

(資料 S-3-11)

試験機関：

報告書作成年：1993年

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

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

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

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

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

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

(資料No. S-3-12)

試験機関：

報告書作成年：1989年

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

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

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

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

1. 原体混在物及び代謝物

代謝物の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 追加4-1)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 2001年

代謝物:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA98及びTA100)及びトリプトファン要求性 *Escherichia coli* (WP2 pKM101及びWP2 uvrA pKM101)を用い、S-9mixの存在下及び非存在下で変異原性を検定した。検体をDMSOに溶解した。

試験は2回行った。

試験1はTA100菌株以外の菌株を用い、予備試験と同用量で実施した。予備試験のTA100菌株の結果を試験1に使用した。

試験2は、156.25、312.5、625、1250、2500及び5000 μ g/プレートの濃度で実施し、さらにプレインキュベーションを行った。

検体及び陽性対照は3プレート、陰性対照は4プレートとした。

陽性対照として、S-9mix非存在下では、2NF(2-Nitrofluorene)、NaN₃(Sodium azide)、AAC(9-Aminoacridine)、NQO(4-Nitroquinoline 1-oxide)及びS-9mix存在下ではB[a]P(Benzo[a]pyrene)、AAN(2-Aminoanthracene)を用いた。

試験結果: RP032507は、サルモネラ菌及び大腸菌を用いて行った各2回の試験とも、S-9mixの有無にかかわらず、5000 μ g/プレートの濃度で、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照ではいずれも顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、
は本試験条件下ではサルモネラ菌及び大腸菌に対し、復帰変異誘発性は有しないものと判断された。

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

試験1

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/7^\circ\text{プレート}$)	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	
			TA100	TA1535	WP2 pKM101	WP2uvrA pKM101	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 μl	-	132	19	57	161	32	19
	1.6		127	18	57	152	39	20
	8		121	17	58	142	40	17
	40	-	112	21	59	153	32	18
	200		66	16	47	121	33	11
	1000		65	16	49	128	38	8
	5000*		35	14	36	104	24	5
陽性対照								
2NF	5	-					767	
NaN ₃	2	-	1091	515				
AAC	50	-						146
NQO	2	-				983		
	10				558			
溶媒対照 (DMSO)	100 μl	+	126	20	76	203	37	25
	1.6		137	19	89	206	36	24
	8		120	18	87	210	34	25
	40	+	139	19	76	207	38	18
	200		140	21	92	207	42	19
	1000		138	22	79	205	32	17
	5000*		118	23	75	176	28	10
陽性対照								
B[a]P	10	+					232	
AAN	5	+	2236	166		619		326

2NF : 2-Nitrofluoren

NaN₃ : Sodium azide

AAC : 9-Aminoacridine

NQO : 4-Nitroquinoline 1-oxide

B[a]P : Benzo[a]pyrene

AAN : 2-Aminoanthracene

* : 沈澱が認められ、手計算を行った

P \geq 0.001 (Dunnett検定)

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

試験2

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	
			TA100	TA1535	WP2 pKM101	WP2uvrA pKM101	TA98	TA1537
溶媒対照 (DMSO)	100 μl	—	123	24	72	230	35	20
	156.25		132	28	71	238	37	12
	312.5		107	28	79	262	46	14
	625	—	129	21	61	231	54	13
	1250		116	19	70	199	35	9
	2500*		85	14	57	172	19	3
	5000*		77	20	41	139	22	2
陽性対照								
2NF	5	—					741	
NaN ₃	2	—	654	736				
AAC	50	—						183
NQO	2	—				2012		
	10				712			
溶媒対照 (DMSO)	50 μl	+	97	22	114	262	36	19
	156.25		101	20	116	256	36	17
	312.5		114	24	125	222	25	11
	625	+	108	21	89	304	37	7
	1250		90	20	105	259	33	12
	2500*		108	15	101	176	35	11
	5000*		88	18	89	178	17	6
陽性対照								
B[a]P	10	+					576	
AAN	5	+	2041	425		643		371

2NF : 2-Nitrofluoren

NaN₃ : Sodium azide

AAC : 9-Aminoacridine

NQO : 4-Nitroquinoline 1-oxide

B[a]P : Benzo[a]pyrene

AAN : 2-Aminoanthracene

* : 沈澱が認められ、手計算を行った

P \geq 0.001 (Dunnnett検定)

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

代謝物の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 追加4-2)

試験機関：

報告書作成年：1981年

代謝物：

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及びTA1538) を用い、ラット及びマウスの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。

検体をDMSOに溶解し、最高濃度を2000 μ g/プレートとして検定した。

陽性対照としてSodium azide、Hycanthone、Niridazole及びEthidium bromideを用いた。

試験結果：結果を次頁の表に示す。

検体はS9mixの有無にかかわらず、最高濃度である2000 μ g/プレートにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた β -propiolactone、Niridazole、Hycanthone及びEthidium bromideでは顕著なコロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、検体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しないものと判断された。

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

結果：

(平均値：n=3)

薬 剤	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
溶媒対照 (DMSO)		—	19.7	131	10	14.3	19.3
	125		16.3	127.7	9.3	13.7	16.3
	250	—	18	119.7	8.7	11.3	19.7
	500		15.7	122.3	10	9.3	18
	1000		13.7	113.3	9.7	10	21
	2000		14.3	114	8.3	13.3	17
陽性対照							
Sodium azide	100		2222				
Hycanthone	50	—			416	337	
Niridazole	0.05			1210			539
Ethidium bromide	60						34
溶媒対照 (DMSO)			19	125	10.7	20.7	31
	125		20.7	128	11.3	23	36.7
	250	ラット	18.3	123	9.3	23	34.3
	500	S9mix	18.7	122	10	23.7	35
	1000	+	17.7	112	8.3	22.7	35.7
	2000		19	120	7.3	19.3	35
陽性対照							
Ethidium bromide	60						1298
溶媒対照 (DMSO)			13.7	137	11.3	27	35.3
	125		13.3	111	11	25.7	32.7
	250	マウス	14.7	115	8.7	20	27.7
	500	S9mix	13	106	7.3	17.7	28.3
	1000	+	13.7	104	8.3	19	24.7
	2000		11.7	104	7.7	16.7	22.3
陽性対照							
Ethidium bromide	60						322

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

混在物の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 追加 5)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年:2002年

検体:混在物及び純度

コード番号	化学名	*	純度

*:混在物番号()

試験方法:ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) のTA100を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在下及び非存在下で Amesらの方法により上記の混在物について変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。

本試験においても処理濃度は予備試験と同様1.6、8、40、200、1000及び5000 μ g/プレートとした。試験は3連制で2回行った。

陽性対照としてS-9mixの非存在下ではSodium azide (NaN₃)及びS-9mixの存在下では2-アミノアントラセン(AAN)を用いた。

試験結果:次頁に結果の表を示す。

はS9mixの存在下で2回の試験とも復帰変異コロニー数の有意な増加が抗菌性が認められた用量まで用量相関性に認められた。S9mixの非存在下では復帰変位コロニー数の増加は認められなかった。1000及び5000 μ g/プレートでは、9mixの存在下及び非存在下とも試験菌株の死滅が認められた。

この結果から、は9mixの存在下でTA100菌株に対し変異原性を示すことが認められた。

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

及び
では、S9mixの存在下で1回目または2回目の試験あるいは2回の試験
ともに有意差が散見されたが、いずれも用量相関性は認められず変異原性は認
められなかった。
またこれらの検体では200~5000 μ g/プレートの濃度で菌株の消失、バックグラ
ンドローンの生育阻害又は復帰コロニー数の減少が認められた。

一方、陽性対照ではいずれも顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、
はS9mixの存在下でTA100菌株に対し復帰変異誘発性を有すも
のと判断された。
は本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないものと判断された。

(平均値 : n=3)

化 合 物	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	97	113
	1.6	—	100	102
	8	—	100	102
	40	—	118	111
	200	—	104	93
	1000	—	102	100
	5000	—	90	55 S
陽性対照 NaN3	2.0	—	729	815
溶媒対照 (DMSO)		+	108	155
	1.6	+	221***	133
	8	+	197***	118
	40	+	138	120
	200	+	127	160
	1000	+	115	125
	5000	+	122	131
陽性対照 AAN	5	+	1867	2186

NaN3 : Sodium azide, AAN : 2-aminoanthracene

S : バックグラウンドの軽度減少

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

(平均値 : n=3)

化 合 物	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	108	113
	1.6	—	95	106
	8	—	109	98
	40	—	108	114
	200	—	99	114
	1000	—	112	117
	5000	—	97	120
陽性対照 NaN3	2.0	—	675	815
溶媒対照 (DMSO)		+	134	155
	1.6	+	123	163
	8	+	128	153
	40	+	102	171
	200	+	101	241**
	1000	+	107	140
	5000	+	124	157
陽性対照 AAN	5	+	1749	2186

NaN3 : Sodium azide

AAN : 2-aminoanthracene

* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

(平均値：n=3)

化 合 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	108	117
	1.6	—	104	110
	8	—	102	99
	40	—	106	114
	200	—	75 S	100 S
	1000	—	83 S	94 V
	5000	—	78 V	43 V
陽性対照 NaN ₃	2.0	—	675	717
溶媒対照 (DMSO)		+	134	154
	1.6	+	123	156
	8	+	137	186
	40	+	114	198
	200	+	94 S	113
	1000	+	103 S	106 V
	5000	+	65 V	134 V
陽性対照 AAN	5	+	1749	1998

NaN₃ : Sodium azide, AAN : 2-aminoanthracene
 S : バックグランドローンの軽度減少、V : バックグランドローンの減少
 * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01, *** P ≤ 0.005 (Dunnett検定)

(平均値：n=3)

化 合 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	108	113
	1.6	—	96	115
	8	—	102	131
	40	—	101	103
	200	—	110	129
	1000	—	—	—
	5000	—	—	—
陽性対照 NaN ₃	2.0	—	675	815
溶媒対照 (DMSO)		+	134	155
	1.6	+	1175***	961***
	8	+	1399***	1501***
	40	+	904***	891***
	200	+	614***	724***
	1000	+	—	—
	5000	+	—	—
陽性対照 AAN	5	+	1749	2186

NaN₃ : Sodium azide
 AAN : 2-aminoanthracene
 * P ≤ 0.05, ** P ≤ 0.01, *** P ≤ 0.005 (Dunnett検定)
 — : コロニー認められず

(平均値：n=3)

化 合 物	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	108	113
	1.6	—	103	121
	8	—	93	97
	40	—	99	104
	200	—	101	115
	1000	—	106	103
	5000	—	91 (Ppn)	70 (Ppn)S
陽性対照 NaN3	2.0	—	675	815
溶媒対照 (DMSO)		+	134	155
	1.6	+	132	208*
	8	+	188	182
	40	+	225*	162
	200	+	130	164
	1000	+	109	112
	5000	+	105 (Ppn)	67 (Ppn)S
陽性対照 AAN	5	+	1749	2186

NaN3 : Sodium azide、AAN : 2-aminoanthracene
(Ppn) : 沈殿、S : バックグラウンドローンの軽度減少

* $P \leq 0.05$ 、** $P \leq 0.01$ 、*** $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)、

(平均値：n=3)

化 合 物	濃 度 (μ g/プレート)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	97	117
	1.6	—	101	129
	8	—	105	92
	40	—	113	96
	200	—	93	139
	1000	—	94 (Ppn)	113
	5000	—	53 (Ppn)S	69 (Ppn)S
陽性対照 NaN3	2.0	—	729	717
溶媒対照 (DMSO)		+	108	154
	1.6	+	125	141
	8	+	116	137
	40	+	114	129
	200	+	134	181
	1000	+	174**	210*
	5000	+	83 (Ppn)	82 (Ppn)S
陽性対照 AAN	5	+	1867	1998

NaN3 : Sodium azide、AAN : 2-aminoanthracene
(Ppn) : 沈殿、S : バックグラウンドローンの軽度減少

* $P \leq 0.05$ 、** $P \leq 0.01$ 、*** $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

(平均値：n=3)

化 合 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	97	117
	1.6	—	72	90
	8	—	74	106
	40	—	55	95
	200	—	71	116
	1000	—	69 S	80
	5000	—	— (Ppn)	52 (Ppn)S
陽性対照 NaN3	2.0	—	729	717
溶媒対照 (DMSO)		+	108	154
	1.6	+	95	349***
	8	+	95	187
	40	+	98	129
	200	+	77	154
	1000	+	77 S	142
	5000	+	57 (Ppn)V	86 (Ppn)S
陽性対照 AAN	5	+	1867	1998

NaN3 : Sodium azide、AAN : 2-aminoanthracene
(Ppn) : 沈殿、

S : バックグラウンドロンの軽度減少、V : バックグラウンドロンの軽度減少

* $P \leq 0.05$ 、** $P \leq 0.01$ 、*** $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

(平均値：n=3)

化 合 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S-9 mix	試験1	試験2
			復帰変異コロニー数/プレート	
			TA100	TA100
溶媒対照 (DMSO)	100	—	97	117
	1.6	—	107	111
	8	—	113	111
	40	—	101	107
	200	—	86	115
	1000	—	91 (Ppn)	99
	5000	—	96 (Ppn)	77 (Ppn)
陽性対照 NaN3	2.0	—	729	717
溶媒対照 (DMSO)		+	108	154
	1.6	+	96	124
	8	+	108	146
	40	+	103	158
	200	+	101	128
	1000	+	102	115
	5000	+	83 (Ppn)	66 (Ppn)
陽性対照 AAN	5	+	1867	1998

NaN3 : Sodium azide、AAN : 2-aminoanthracene
(Ppn) : 沈殿

* $P \leq 0.05$ 、** $P \leq 0.01$ 、*** $P \leq 0.005$ (Dunnett検定)

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

混在物の変異原性

の細菌を用いた復帰変異性試験

(資料No. 追加6)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 2002年

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*) のTA100株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在下および非存在下でAmes等の方法により復帰変異原性を検定した。検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。

この結果から、本試験の用量を0.010、0.030、0.10、0.30および0.90 μ g/プレートと設定した。試験は2連制で2回実施した。

陽性対照には、S-9mixの非存在下で2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide(AF2)およびS-9mixの存在下では2-aminoanthracene(2AA)を用いた。

変異コロニー数の平均値が陰性対照値の2倍以上に増加する用量を陽性と判定した。

試験結果: 次頁の表に結果を示す。

すべての用量において、試験菌の生育阻害および検体に由来する沈殿は認められなかった。

復帰変異コロニー数は、S-9mix存在下において検体0.3 μ g/プレートの用量で平均値が陰性対照値の2倍を超え、0.9 μ g/プレートでは顕著な増加が認められた。

S-9mix非存在下では、すべての用量において復帰変異コロニー数の増加が認められなかった。

陽性対照物質には、いずれも復帰変異コロニー数の明らかな増加が認められた。

以上の結果から、

は、S-9mix存在下でTA100菌株

に対し、0.3 μ g/プレート以上の用量で復帰変異誘発性を有すると判断される。

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

表. のTA100菌株に対する復帰変異原性

化合物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 mix	試験 1			試験 2		
			変異コロニー数 /プレート			変異コロニー数 /プレート		
			TA100			TA100		
			実測値	平均	比*	実測値	平均	比*
溶媒対照	—	—	141, 124	133	—	91, 107	99	—
検 体	0.0100	—	117, 112	115	0.86	92, 99	96	0.97
	0.0300	—	132, 109	121	0.91	111, 91	101	1.02
	0.100	—	120, 114	117	0.88	108, 99	104	1.05
	0.300	—	144, 117	131	0.98	101, 100	101	1.02
	0.900	—	113, 133	123	0.92	109, 97	103	1.04
陽性対照	AF2 0.01	—	530, 493	512	3.85	358, 400	379	3.83
溶媒対照	—	+	159, 173	166	—	113, 124	119	—
検 体	0.0100	+	162, 178	170	1.02	115, 121	118	0.99
	0.0300	+	159, 156 2	158	0.95	146, 140	143	1.20
	0.100	+	47, 227 32	237	1.43	186, 193	190	1.60
	0.300	+	0, 369	345	2.08	355, 366	361	3.03
	0.900	+	1544, 1590	1567	9.44	912, 875	894	7.51
陽性対照	2AA 1	+	1162, 1161	1162	7.00	953, 1026	990	8.32

AF2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2AA : 2-aminoanthracene

溶媒 : ジメチルスルホキシド(DMSO)

比* : [各濃度群の変異コロニー数平均値] / [溶媒対照群の変異コロニー数平均値]
(申請者による計算値)

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

(資料No. 追加7)

試験機関:

報告書作成年:2002年

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

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

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

1. 製剤

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料No.S-1-5)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 1995年

検体純度: 12%乳剤

[組成]

試験動物: Wister-Imamichi系ラット、1群雌雄各5匹、6週齢

体重 雄 126~149g、雌 108~134g

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を蒸留水を用いて 0、884、1250、1768、2500、3536及び5000mg/kgに調製し、強制経口投与した。対照群には溶媒のみ投与した。

観察項目: 中毒症状及び生死を投与後1、3及び6時間、その後1日1回14日間観察した。

投与日、投与後7及び14日目に体重を測定した。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。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、884、1250、1768、 2500、3536、5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	♂ 4720 (3402~6548) ♀ > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	2日 7日
症状発現及び 消失時間	1時間 14日
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	♂♀ 3536

5000mg/kg群雄3匹、雌2匹に投与後2日目から7日目に死亡がみられた。

主な中毒症状は、流涎、下痢、軟便/黒色便、下腹部の汚れ、自発運動の低下、伏臥、立毛等が全投与群に認められ、高投与群に多くの中毒症状が認められた。

5000mg/kg群雌雄及び3536mg/kg群雄に体重増加抑制がみられた。

剖検では、死亡例では胃腸管内に黒色粘液様物質貯留、膀胱膨満、腹水貯留が認められ、生存例では胃の膨満、肺の白斑/赤色化、小腸黄赤色内容物貯留が認められた。

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

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料No.S-1-6)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 1988年

検体純度: 12%乳剤

[組成]

試験動物: ICR系マウス、1群雌雄各10匹、約7週齢

体重 雄 26.8~31.2g、雌 18.3~24.8g

観察期間: 14日間観察

試験方法: 検体を精製水に乳濁させ調製し、0、1751、2276、2959、3846、5000及び6500mg/kgを17時間絶食させた後、1回強制経口投与した。

対照群には精製水を投与した。

観察項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与直前、投与後3、7、10、14日目及び死亡発見時に測定した。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行った。

試験結果:

投 与 方 法	経 口	
投 与 量 (mg/kg)	0、1751、2276、2959、3846、5000、6500	
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	♂	4689 (4044~5699)
	♀	4879 (4322~5631)
死 亡 開 始 時 間 及 び 終 了 時 間	♂	2時間
	♀	6日
症 状 発 現 及 び 消 失 時 間	♂	10分
	♀	6日
死 亡 例 の 認 め ら れ な かつ た 最 高 投 与 量 (mg/kg)	♂	2276
	♀	2959

雄では2959mg/kg以上、雌では3846mg/kg以上の群に死亡が認められた。

中毒症状として、雌雄ともに自発運動の低下、鎮静、腹ばい状態及び横臥状態がみられ、雌では衰弱も認められた。

雌雄ともに投与後3日目に体重減少または体重増加抑制がみられたが、雄では7日目、雌では14日目に回復した。

死亡例の剖検では、雌雄ともに肺のうっ血または出血、腺胃の出血また胃のびらん及び膀胱内に多量の尿貯溜がみられ、雌においては前胃の肥厚が認められた。生存例では雌雄に前胃、肝臓、脾臓の癒着が1匹又は数匹に散見された。

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

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料No.S-1-7)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：1995年

検体純度：12%乳剤

[組成]

試験動物：WISTER-IMAMICHI系ラット、1群雌雄各5匹、8週齢

体重 雄 247～278g、雌 194～202g

試験期間：14日間観察

試験方法：処理24時間前に各動物の背部(4cm×5cm)を電動バリカン及び電動剃刀を用いて刈毛した。検体2000mg/kgを均一に皮膚に塗布し、ガーゼで覆い24時間半閉塞貼付した。

観察項目：投与後1、3及び6時間、その後は少なくとも毎日1回14日間にわたり皮膚反応、毒性症状及び死亡を観察した。

投与日、投与後7及び14日に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物の肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

投与方 法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂♀ > 2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消失時間	認められず
死亡例の認められ なかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀ 2000

毒性症状は認められず、処理部位の皮膚変化も認められなかった。

体重変化はみられず、剖検による肉眼的異常は認められなかった。

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

ウサギを用いた12%乳剤の眼粘膜一次刺激性試験

(資料No.S-1-8)

試験機関:

報告書作成年: 1983年

検体純度: 12%乳剤

[組成]

試験動物: 日本在来種ウサギ 1群雄9匹、 体重1.8~3.0kg

試験期間: 13日間観察

試験方法: 検体0.1mlを左眼に滴下し、3匹は30秒後に洗眼した。残り6匹は洗眼しなかった。

観察項目: 処理後24、48、72時間、4及び13日に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化をスリットランプを用いて観察した。また処理後24、72時間、7日及び13日目にはフルオレスセインにより角膜損傷の有無を検査した。

試験結果: 刺激性変化の評価は次頁表の通りである。

(判定基準はDraize法に従った。最高評点は角膜4、虹彩2、結膜発赤3、結膜浮腫4)

非洗眼群、洗眼群ともに角膜の中等度の混濁、結膜の軽度から中等度の発赤、浮腫及び分泌物が認められた。角膜上皮の損傷がみられたが徐々に回復し、7~13日までに治癒した。虹彩の異常は認められなかった。分泌物は7日までには消失した。

以上の結果から、12%乳剤はウサギの眼粘膜に対して中等度の刺激性があるものと判断された。

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

項 目		処 理 後 時 間							
		24時間	48時間	72時間	4日	7日	13日		
非 洗 眼 群	動物10	角 膜	2	1	1	1	0	0	
		虹 彩	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	2	1	1	1	0	0
			浮 腫	0	1	1	0	0	0
	動物11	膜 分泌物	1	1	1	0	0	0	
		角 膜	2	2	1	1	0	0	
		虹 彩	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	1	1	1	0	0	0
	浮 腫		0	1	1	0	0	0	
	動物12	膜 分泌物	2	1	0	0	0	0	
		角 膜	2	2	2	1	0	0	
		虹 彩	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	1	2	1	1	0	0
	浮 腫		0	1	1	1	0	0	
	動物13	膜 分泌物	2	2	1	0	0	0	
		角 膜	2	2	2	1	0	0	
		虹 彩	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	1	2	2	1	0	0
	浮 腫		1	1	1	1	0	0	
	動物14	膜 分泌物	2	2	1	1	0	0	
		角 膜	2	1	2	2	2	0	
		虹 彩	0	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	1	2	2	2	0	0
	浮 腫		0	1	1	1	0	0	
動物15	膜 分泌物	3	3	1	1	0	0		
	角 膜	2	1	1	1	0	0		
	虹 彩	0	0	0	0	0	0		
	結 膜	発 赤	1	1	1	1	0	0	
浮 腫		1	1	1	1	0	0		
平均	膜 分泌物	1	1	1	0	0	0		
	角 膜	2	1.5	1.5	1.2	0.3	0		
	虹 彩	0	0	0	0	0	0		
	結 膜	発 赤	1.2	1.5	1.3	1	0	0	
浮 腫		0.3	1	1	0.7	0	0		
洗 眼 群	膜 分泌物	1.8	1.7	0.8	0.3	0	0		
	角 膜	1.3	1.3	1.3	0.7	0	0		
	虹 彩	0	0	0	0	0	0		
	結 膜	発 赤	1	1	1	1	0	0	
浮 腫		1	1	0.7	0.3	0	0		
平均	膜 分泌物	1	1	1	0.7	0	0		

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

ウサギを用いた12%乳剤の皮膚一次刺激性試験

(資料No.S-1-9)

試験機関:

報告書作成年: 1983年

検体純度: 12%乳剤

[組成]

試験動物: 日本在来種ウサギ、1群雄6匹、体重 1.8~2.6kg

試験期間: 10日間観察

試験方法: 刈毛した背部を4区画に分け2区画を擦過部位、他の2区画を非擦過部位とした。
オキサジアゾン原体約0.5gをアセトン溶液とし、リント布(2.5cm×2.5cm)に塗布し、アセトン蒸散後に擦過及び非擦過部位に24時間閉塞貼付した。
12%乳剤0.5mlをリント布に塗布し、残りの擦過及び非擦過部位に同様に処理した。24時間処理後リント布を取り、残った検体をアセトンで洗浄した。

観察項目: 除去後(24時間)、処理後48、72時間、5、7及び10日目に処理部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫)の有無を観察した。

試験結果: 観察した刺激性変化の評価は次頁表の通りである。

(判定基準はDraize法に従った。最高評点は紅斑・痂皮4、浮腫4)
貼付後24時間目に全例に浮腫が認められたが、72時間までには回復した。48時間目に硬化が、72時間日では角化亢進が認められ、5日後から硬化組織の一部剥離が認められた。

以上の結果から、オキサジアゾン12%乳剤は弱い刺激性を示すものと考えられた。

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

動物 番号	変 化		処 理 後 時 間	
			24時間	72時間
1	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
2	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
3	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	2	1
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	2	1
4	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	2	1
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	2	1
5	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
6	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1	0
平均	非 擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1.3	0.3
	擦 過 (6匹平均)	紅 斑	0	0
		浮 腫	1.3	0.3

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

モルモットを用いた12%乳剤の皮膚感作性試験

(資料No.S-1-10)

試験機関:

[GLP]

報告書作成年: 1988年

検体純度: 12%乳剤

[組成]

試験動物: Dunkin Hartley系アルビノモルモット、約6~10週齢、体重 雌 292~396g

処理群20匹、対照群10匹、陽性対照群20匹

試験期間: 48時間観察

試験方法: Buehler法

予備試験:

陽性対照にはDNCB(0.5及び0.1%エタノール溶液)を用いた。

本試験:

感作; 左腹側部を刈毛し、希釈していない検体0.5mlをリント布(1.5cm×3.5cm)に塗布し6時間閉塞貼付した。7及び14日目に同様に処理し、合計3回行った。

対照群には検体をつけずに同様に処理した。

陽性対照群には0.5%DNCB溶液を同様に処理した。

各回の感作後24時間目に刺激反応を観察した。

惹起; 28日目に各動物の両腹側部を刈毛した。右腹側部に検体の10%希釈液0.4mlを、左腹側部は賦形剤(蒸留水)を6時間閉塞貼付した。

陽性対照群は同様の方法で右腹側部に、0.1%DNCB溶液を貼付した。

観察項目: 惹起後6時間目にパッチを除去し、除去後24及び48時間目の皮膚反応を評価した。以下の評点を用いて評価を行った。

- 0 - 反応なし
- 1 - 散在性、軽度の紅斑
- 2 - び慢性、中等度の紅斑
- 3 - 重度の紅斑及び腫脹

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

試験結果：惹起後24及び48時間に認められた結果を下表に示す。

群	感作	惹起	動物数	24時間					48時間					重症度
				評点				計	評点				計	
				0	1	2	3			0	1	2		3
処理群	検体	検体の10% 希釈液	19*	6	13	0	0	13/19	12	7	0	0	7/19	0.68~0.37
		賦形剤		19	0	0	0	0/19	19	0	0	0	0/19	
対照群	パッチのみ	検体の10% 希釈液	10	2	8	0	0	8/10	6	4	0	0	4/10	0.80~0.40
		賦形剤		10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	
陽性対照	0.5% DNCB	0.1% DNCB	20	0	2	18	0	38/20	0	3	17	0	37/20	1.9 ~1.85
	賦形剤	0.1% DNCB	18*	2	16	0	0	16/18	5	13	0	0	13/18	0.88~0.72

*：処理群では1匹、陽性対照群では2匹死亡例が認められた。

注：計は評点の合計/動物数を示す。

処理群の1匹及び陽性対照群の2匹は、試験期間中に死亡が認められたが、試験に影響を及ぼすものではなかった。

処理群では惹起後24時間で19匹中13匹に、48時間では7匹に散在性の軽度紅斑が認められた。同様に対照群の検体処理部位においても24時間では10匹中8匹に、48時間では4匹に軽度紅斑が認められた。

対照群に刺激が認められた場合、試験群では対照群より強い反応がみられた場合に感作性とし、上記の結果から、これらの反応は刺激に起因するものであり、対照群より重度でないことから感作によるものではないと考えられた。

処理群及び対照群の賦形剤処理部位では変化は認められなかった。

陽性対照群では惹起後24時間では20匹中18匹に、48時間では20匹中17匹に対照群を上回る反応が認められた。

以上の結果、オキサジアゾンの12%乳剤は、モルモットに対し皮膚感作性はないと判断された。

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

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
運命-1	動物体内運命	ラット及びイヌ	代謝物の同定及び定量 1g/kg/日・5日間強制経口投与 最終投与の72時間後に試料採取	ラットでは投与量の93%が、未変化体(オキサジアゾン)のまま糞中に排泄された。 代謝物No.及び が検出された。 イヌにおいてもほぼ同様の傾向がみられた。	(1971年)	運命-9
運命-2					(1974年)	
運命-3	動物体内運命	ラット	吸収排泄、胆汁排泄、血液中濃度推移、分布、代謝物の同定 5及び200mg/kg単回経口投与、 2.5mg/kg単回静脈内投与	吸収/排泄 吸収率は低用量ではほぼ100%、高用量で70~79%。7日間の総排泄量は約95%で、糞を介した排泄は低用量で73~77%、高用量で37~53%であった。 投与量の12~13%が胆汁を経由して排泄された。 薬物動態 血液中濃度は低用量で投与2時間後、高用量で投与9~12時間後に最高となった。 分布 臓器中の濃度は肝臓で最も高かった。 代謝 投与量に対して低用量で0.7~1.3%、高用量で32-36%の未変化体が検出され、他に の代謝物が同定された。	(1984年)	運命-12
運命-4	植物体内運命	稲	浸透移行、代謝 10%乳剤 (6g ai/a)を土壌散布。 10%乳剤、0.1及び5ppm(ai)の水耕栽培。 7セリンベ-スト100ppm塗布後、水耕栽培	オキサジアゾンは、根から吸収され茎葉部に移行した。 収穫時の残留放射能は、わら0.7~1.1ppm、玄米0.004~0.01ppmであった。 玄米における代謝物は、親化合物オキサジアゾンが22%TRR(0.001ppm)、代謝物番号 であった。	(1975年)	運命-25
運命-5					代謝物M-1の同定 10%乳化液 6g/a土壌散布	GC-MS及びNMRにより、資料No. 運命-4の代謝物コード は代謝物番号No. と同定された。
運命-6	植物体内運命	稲	浸透移行性： 1.2及び3.6ppm 土壌混和。 1及び3ppm土壌散布	根部に22~110ng、地上部に45~135ng検出された。オートラジオグラフの結果、古い葉に多く分布し、新しい葉には検出されなかった。	(1971年)	運命-33

注) 下線部.....波線を付けた試験成績は、残留農薬安全性評価委員会で評価済である。

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

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
運命-7	植物体内運命	大豆	浸透及び茎葉への移行性 1.3kg ai/ha相当量を土壤散布及び4mg ai/kg乾土、土壤混和	処理33日後の植物体(茎葉、子葉、胚軸、根)に、散布処理量の0.5~1.6%が検出された。 検体は根から吸収され、茎葉部に移行した。	(1974年)	運命-35
運命-8			2.6kg及び1.6kg ai/ha 土壤表面散布	処理129日後の植物体中放射能濃度は0.5ppm以下であった。子実中には0.02ppmで、大部分は未変化のオキサジアゾンであった。	(1974年)	
運命-9				処理 114日後の植物体中放射能濃度は約0.2ppmであり、この内、莢には1/10以下であった。	(1974年)	
運命-10			浸透移行性及び代謝 1.6、1.8、2.6kg/ha土壤散布(株間処理及び全面茎葉散布)	浸透移行はわずか(2%以下)であった。収穫時、植物体全体の放射能濃度は0.1~0.3ppmであり、子実に約0.02~0.04ppm検出された。この内訳は、オキサジアゾンが約17%であった。	(1976年)	
運命-11	好氣的湛水土壤中運命	砂壤土及び埴壤土	処理量：750g ai/ha 最長97日間培養。 (20±2℃)	オキサジアゾンの好氣的湛水土壤中での分解は緩やかであり、DT50値は115日(砂壤土)及び111日(埴壤土)であった。 土壤結合残留の 及び となった。 揮発性放射能生成量の であった。	(2003年) [GLP]	運命-45
運命-12	好氣的土壤中運命	埴壤土(2土壤)及び砂壤土(2土壤)	処理量4.5 kg ai/ha 20℃での好氣的土壤中運命 ・試験期間:365日間 ・供試土壤:左欄の4土壤 10℃での好氣的土壤中運命 ・試験期間:365日間 ・供試土壤:砂壤土1種	20℃での好氣的土壤中運命 土壤中での分解速度は土壤により変動し、供試4土壤におけるDT50値は、165日~747日と算出された。 各供試土壤とも経時的な土壤結合型残留の増加が認められ、 が認められた。 処理放射能に対して10%以上生成した分解物は 微量分解物として、 が認められた。 10℃での好氣的土壤中運命 分解速度の顕著な温度依存性が認められ、DT50は1365日であった。	(2003年) [GLP]	運命-53
省略	嫌氣的土壤中運命	省略理由：オキサジアゾンの使用は水田に限定されており、また水溶解度は10mg/l以下(0.57 mg/l)であるため、土壤中での移動性が低いと考えられる。				運命-61

注) 下線部.....波線を付けた試験成績は、残留農薬安全性評価委員会で評価済である。

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

資料番号	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁																				
運命-13	加水分解運命	緩衝液 (pH 4, 5, 7 及び9)	試験濃度0.48µg/ml 試験温度：25℃ 試験期間：30日間。	pH 4, 5及び7において分解は認められず、加水分解的に安定であった。 pH 9では分解が認められ、DT50値は38日と算出された。 主要加水分解物は代謝物番号 であつた。	(仏) (1991年)	運命-62																				
運命-14	水中光分解運命	滅菌緩衝液	試験濃度：0.5µg/ml 試験温度：25℃ 光強度：400W/m ² (測定波長 250～1100nm) 照射期間：42時間 (キセノンランプ、290nm未満の波長を除去)	滅菌緩衝液中で光の関与により速やかに分解され、キセノンランプ条件下のDT50値は21.2時間であつた。 光分解物として代謝物番号 が認められた。	(仏) (1991年)	運命-66																				
運命-15	水中光分解運命	滅菌自然水	試験濃度：0.3mg/l 試験温度：25℃ 光強度：377.9 W/m ² (測定波長 290～800nm) 照射期間：6日間 (キセノンランプ、290nm未満の波長を除去)	滅菌自然水中において光の関与により速やかに分解され、キセノンランプ条件下のDT50値は2.21日であつた。 主要光分解物は であり、	(2004年) [GLP]	運命-70																				
環 1	土壌吸着性	国内土壌 4種	平衡化時間：6時間 試験濃度 (ppm) : 0.136, 0.181, 0.362及び0.453	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>K</th> <th>OC%</th> <th>Koc'</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>土壌Ⅰ</td> <td>226</td> <td>4.67</td> <td>4840</td> </tr> <tr> <td>土壌Ⅱ</td> <td>41.8</td> <td>1.22</td> <td>3430</td> </tr> <tr> <td>土壌Ⅲ</td> <td>62.3</td> <td>2.29</td> <td>2720</td> </tr> <tr> <td>土壌Ⅳ</td> <td>26.6</td> <td>1.49</td> <td>1780</td> </tr> </tbody> </table> K：吸着平衡定数 OC%：有機炭素含有率 Koc'：有機炭素吸着係数		K	OC%	Koc'	土壌Ⅰ	226	4.67	4840	土壌Ⅱ	41.8	1.22	3430	土壌Ⅲ	62.3	2.29	2720	土壌Ⅳ	26.6	1.49	1780	(1991年)	運命-75
	K	OC%	Koc'																							
土壌Ⅰ	226	4.67	4840																							
土壌Ⅱ	41.8	1.22	3430																							
土壌Ⅲ	62.3	2.29	2720																							
土壌Ⅳ	26.6	1.49	1780																							
環-2	生物濃縮性	コイ	試験濃度： 2及び20 µg/l 取り込み期間： 8週間 排泄期間： 7日間	水中濃度20 µg/l： BCF _{ss} =90～802 (平均値388) 水中濃度2 µg/l： BCF _{ss} =110～780 (平均値397)	(1985年)	運命-78																				

注) 下線部 波線を付けた試験成績は、残留農薬安全性評価委員会で評価済である。

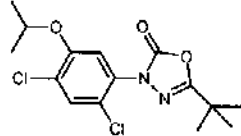
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
参考1	土壤中分解	埴壤土	オキサジアゾン及び分解物の消長 1.8kg及び5kg ai/ha 土壌処理 温室条件で処理後2年間測定	処理1年後に、オキサジアゾンは土壌試料中総放射エネルギーの約25%、代謝物の総量は と なった。 2年後には、 が結合型残留となった。	(1977年)	運命-79
参考2	土壌代謝	水田及び畑地土壌	残留及び分解 1年間(水田及び畑地土壌) 連用による蓄積性の検討 5年間(水田土壌)	水田土壌中では、処理3ヵ月後に放射能含有量が処理時の50%以下に低下した。約97%がオキサジアゾンであり、各分解物はいずれも であった。 畑地土壌においてもほぼ同様の分解がみられた。 5年間連用において土壌中放射能の増加はみられず、蓄積性は認められなかった。	(1976年)	運命-83
参考3	生物濃縮性	マシジミ	試験濃度： 2及び20 $\mu\text{g}/\text{l}$ 取り込み期間： 6週間 排泄期間： 14日間	水中濃度20 $\mu\text{g}/\text{l}$ ： BCF _{ss} =441~763 (平均値651) 水中濃度2 $\mu\text{g}/\text{l}$ ： BCF _{ss} =676~1340 (平均値1177)	(1983年)	運命-88

注) 下線部____波線を付けた試験成績は、残留農薬安全性評価委員会で評価済である。

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

<代謝分解物一覧表>

代謝分解物番号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
1	親化合物	オキサジアゾン	5-ターシャリーブチル-3-(2,4-ジクロロ-5-イソプロポキシフェニル)-1,3,4-オキサジアゾリン-2-オン	

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

代謝分解物番号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式

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

代謝分解物番号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式

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

代謝分解物番号	由来	名称（略称）	化学名	構造式

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

1. 動物体内における代謝試験

(1) 非標識オキサジアゾンを用いたラット及びイヌ体内における代謝試験

(資料No.運命-1)

試験機関:

報告書作成年: 1971年

(資料No.運命-2)

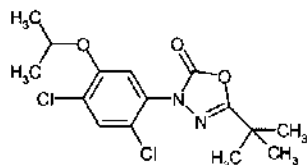
試験機関:

報告書作成年: 1974年

申請者注: 資料No.運命-2は、資料No.運命-1の試験内容を1974年の第3回国際農薬化学会(IUPAC)に提出する際に書式を改めたもので、同一の試験である。

供試化合物: 非標識オキサジアゾン

化学構造式



化学名: 5-ターシャリーブチル-3-(2,4-ジクロロ-5-イソプロポキシフェニル)-1,3,4-オキサジアゾリン-2-オン

(1) ー1. ラットを用いた代謝試験

供試動物: CDラット雄 体重150~200 g

試験群及び供試動物数: 定性試験及び定量試験 投与群(1群)及び対照群、1群雄13匹

試験方法:

投与量及び投与方法:

アラビアゴム10%水溶液を用いて検体20%懸濁液を調製し、1g/kg/日の投与量で5日間連続して強制経口投与した。

投与量は、13週間反復投与試験(資料No.S-2-1)の1000 mg/kg投与群において、毒性・薬理作用の徴候がみられたが9週まで死亡例がなかったことから、この結果を参照して設定した。

試料採取:

尿及び糞は最終投与72時間後まで蓄積した試料を用いた。肝臓及び腎臓試料は、最終投与72時間後に動物を屠殺して採取した。

分析:

試料をアセトニトリルで抽出する。抽出液は[ヘキサン、(水+アセトニトリル)]で分配し、さらに、(水+アセトニトリル)相は塩化メチレンで抽出した。

得られた各画分を薄層クロマトグラフィーで代謝物を分離検出した。

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

これらの代謝物は、薄層クロマトグラフィーで得た生成物を
し、薄層クロマトグラフィー、気液クロマトグラフィー(GLC)、赤外分光分析あるいは質量分析によって同定し、さらに、GLC/ECDによって定量した。

結 果：

生体試料中には、オキサジアゾン以外に、代謝物番号
が検出された。オキサジアゾン及びこれらの代謝物について尿、糞、
肝臓及び腎臓中の濃度、含有量及び投与量に対する割合を表1に示す。
投与終了後72時間以内に、投与されたオキサジアゾンの93%が未変化のオキサジア
ゾンとして糞から回収された。尿、肝臓及び腎臓中のオキサジアゾン量はわずかで
あった。代謝物の総量は、投与されたオキサジアゾンの約5%であり、ほとんどが
糞(3.65%)及び尿(0.95%)から検出され、肝臓中(0.14%)あるいは腎臓中(
0.002%)では微量であった。代謝物を含めて、投与されたオキサジアゾンの約98%
が生体試料から回収された。

代謝経路は、

が考えられた。尿中にのみ検出された代謝物番号 は試料採取後、生体外で生
じたもので、真の代謝物ではないと考えられた。

表1. ラットにおけるオキサジアゾン及び代謝物の含有量

代謝物 番号	濃度 (ppm)				試料中の総含有量 (mg)					総投与量 (b)に対する割合 (%)				
	尿	糞	肝臓	腎臓	尿	糞 (c)	肝臓	腎臓	合計	尿	糞	肝臓	腎臓	合計
1 オキサジ アゾン	<1	32500	<1	<1	<1 21 (d)	10650	<0.1	<0.03	10671	<0.01 0.18	93	<0.001	<0.0003	93

(b) オキサジアゾンの総投与量、

(c) 消化管内容物中に検出されたオキサジアゾンは、19ppm、3.3mg、0.03%

(d) 動物飼育器の洗浄液及び尿中の不溶性物質中に含有されたオキサジアゾンの量。

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

(1) ー2. イヌを用いた代謝試験

供試動物：ビーグル犬 雄 体重14 kg

試験群及び供試動物数：投与群 1 匹及び対照群 1 匹

試験方法：

投与量及び投与方法；

1g/kg/日の投与量で5日間連続して経口投与した。

投与量は、13週間反復投与試験(資料No.S-2-2)において、最高1000 mg/kgまでの投与群動物に死亡例はなく、体重あるいは摂餌量に検体投与の影響がみられなかったが、1000及び100 mg/kg/日の投与群に肝臓及び甲状腺重量の増加がみられたことから、この結果を参照して設定した。

試料採取；

最終投与72時間後までの尿及び糞試料を採取し、さらに、最終投与の72時間後に動物を屠殺して肝臓試料を採取した。

分 析；

ラットの試験に用いた方法により定性分析したところ、新たな代謝物が検出されなかったため、代謝物の標準品を用いて半定量的な分析を実施した。

結 果：

イヌから得た試料中には、オキサジアゾンの他に、
代謝物(代謝物番号)が検出された。これらはすべてラットの試料中に認められた代謝物であった。表2に、半定量的な分析による尿、糞及び肝臓中のオキサジアゾン及び代謝物の濃度を示した。

オキサジアゾンは、ラットと同様に、糞中の濃度が高かった。尿中にも代謝物番号
が検出されたが、肝臓中には代謝物番号
が微量検出されたに過ぎなかった。

表2 イヌにおけるオキサジアゾン及び代謝物の定量的分析結果

代謝物番号	試料中濃度(近似値 ppm)		
	尿 ^(a)	糞	肝臓
1(オキサジアゾン)	220	13000	<< 0.2

(a) 分析前にろ過しなかった尿標本。糞の小片が含まれており、オキサジアゾンの濃度が高く示された原因と考えられた。

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

(2) ¹⁴C標識オキサジアゾンを用いたラット体内における代謝試験

(資料No.運命-3)

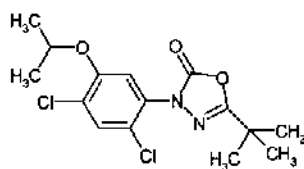
試験機関:

報告書作成年: 1984年

供試化合物:

¹⁴C- 標識オキサジアゾン (略称:)

化学名:



比放射能活性; 30mCi/mmol

放射化学的純度; %

: ¹⁴C 標識

標識位置設定理由:

非標識オキサジアゾン標準品; 純度 %

供試動物: Fischer-344/DuCrjラット (SPF) 9週齢、体重 雄216~243 g、雌137~155 g

試験方法:

投与量: 経口投与 5 mg/kg体重 (低用量) 及び200mg/kg体重 (高用量)
静脈内投与 2.5 mg/kg体重

投与液は、トルエンに溶解させた標識体を非標識オキサジアゾン標準品で希釈し、減圧乾固後にアセトンに溶解させ、更にポリエチレングリコール400で希釈して調製した。

投与量の設定; ラットを用いた急性毒性試験(資料No.S-1-1及びNo.S-1-2)の結果から、経口投与試験では、経口LD₅₀値の1/2000 - 1/4000である5 mg/kgを低用量に設定した。この用量は慢性毒性試験(資料No.S-3-1及びNo.S-3-2)の無毒性量に近い。高用量については、慢性毒性試験(資料No.S-3-2)で肝臓に病変が認められた最小薬量の約4倍(雄)あるいは約1.1倍となる200mg/kgに設定した。静脈内投与試験については、腹腔内投与LD₅₀値(資料No.S-1-1及びNo.S-1-2)の1/3200~1/6400である2.5mg/kg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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験群の構成：以下に試験群構成及び試験項目を示す。

試験番号	試験群			検討項目
	投与量	投与方法	1群当り動物数	
試験1 (吸収／体内分布／代謝／排泄、薬物動態)	5 mg/kg (低用量), 200 mg/kg (高用量)	単回経口	雌雄各4	単回経口投与及び同静脈内投与群共通 ・単回投与7日後までの尿及び糞への放射能排泄 (吸収・排泄)。 単回経口投与群のみ ・単回投与1日又は7日後における臓器組織内分布 (分布) 及び特定臓器・組織 (肝臓及び脂肪) における代謝物の同定・定量 (代謝)。 ・尿及び糞代謝物の同定及び定量 (代謝)。 ・ に基づき、体内半減期を算出 (薬物動態)。
	2.5 mg/kg	単回静脈内	雌雄各4	
試験2 (吸収／排泄／代謝)	5 mg/kg (低用量), 200 mg/kg (高用量)	単回経口	雄4	・投与後24時間 (低用量群) 又は48時間 (高用量群) にわたって総胆管カニューレから胆汁を採取し、併せて尿及び糞試料を採取 (吸収・排泄)。 ・胆汁中代謝物の同定及び定量 (代謝)。
試験3 (薬物動態)	5 mg/kg (低用量), 200 mg/kg (高用量)	単回経口	雌雄各4	・単回経口投与後、経時的に尾静脈穿刺により採血し、血中放射能濃度を測定。 ・血中放射能濃度に基づき薬物動態パラメータを算出
試験4 (薬物動態)	5 mg/kg (低用量), 200 mg/kg (高用量)	単回経口	雌雄各3～4	単回投与2時間及び24時間後の血漿中の未変化物濃度の測定。高用量群については、単回投与後96時間にも測定。
試験5 (分布)	5 mg/kg (低用量), 200 mg/kg (高用量)	単回経口	雌雄各4	単回投与1日及び7日後に、全身オートラジオグラフを作成。

試料採取：

尿及び糞 (試験1及び2) : 投与後24時間毎に採取した。ケージ洗浄液は尿と合わせた。

尿試料は、
との知見(資料 No.S-8-2)により、
を加えた尿受器に採取した。代謝物の分析には、投与量毎、雌雄毎に各4匹の動物から採取した投与開始後3日間(低用量群)あるいは4日間(高用量群)の尿及び糞を合わせて試料とした。

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

胆汁（試験2）：総胆管カニューレから採取し、排泄試験及び代謝物の分析(投与量毎、雌雄毎に4匹から得た試料を合わせた)に用いた。

臓器・組織試料（試験1）：エーテル麻酔下で後大静脈から採血後に屠殺し、臓器・組織を採取した。

血液（試験1及び4）：遠心分離により赤血球及び血漿に分離した。

経時的血中放射能濃度測定用の採血（試験3）：次の時点で尾静脈穿刺により採血した。

採血時点

投与15分、0.5、1、2、3、4、5、6、9、12、24、29、33、48、74及び96時間後

放射能測定；

固形試料は燃焼処理し、液体試料はPCSシンチレーション溶液に溶解させ、液体シンチレーションカウンターによって、放射能を測定した。

全身オートラジオグラフに用いる動物については、エーテル麻酔下で屠殺して薄切片を作成し、この薄切片を一夜凍結乾燥後、ルミラー膜を介してX線フィルムに3ヶ月間(投与24時間後に屠殺した高用量群雄の試料は2ヶ月間)密着させ、オートラジオグラムを得た。

代謝物の同定及び定量；

尿、糞及び胆汁（試験1及び2）：試験1の動物について、投与後3日間（5mg/kg投与群）または4日間（200mg/kg投与群）にわたって排泄された排泄物（尿または糞）試料を用量及び性別毎に合わせて試料とした。また胆汁試料は、投与後24時間（5mg/kg投与群）または48時間（200mg/kg投与群）までに分泌されたものを用量及び性別毎に合わせて。

酵素(β -D-glucuronidase/arylsulfatase)加水分解をした後、凍結乾燥しメタノールで抽出した。糞は水/メタノール混液とホモジナイズし、上清を抽出液とした。これらの抽出液を減圧乾固後、エチルエーテルで抽出した。これを無水硫酸ナトリウムで脱水し、ラジオTLCにより代謝物の同定、定量した。

血漿（試験4）：Sep Pak C₁₈カートリッジに通して水溶性物質を除去後、エチルエーテルで抽出し、一部を放射能測定用試料とし、残りはTLC上での¹⁴C分布率から、これに含まれる未変化物質量を算出した。

脂肪組織（試験1）：酢酸エチルを加えてホモジナイズしてろ過し、ろ液を減圧濃縮して[アセトニトリル/n-ヘキサン]分配し、アセトニトリル相をTLCで分取し、GC-MSで分析した。

肝臓試料（試験1）：酢酸エチル、アセトンあるいはメタノールでそれぞれ抽出し、それらの抽出液を混合後、さらにエチルエーテルで抽出し、無水硫酸ナトリウムで脱水、減圧濃縮した後、[アセトニトリル/n-ヘキサン]分配し、アセトニトリル相をTLC及びMSで分析した。これとは別に、肝臓試料を

で順次抽出し、最終残査を粗蛋白質画分としてこれに含まれる¹⁴Cを測定した。

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

結 果：

吸収／排泄：

表1に、単回経口投与及び単回静脈内投与後7日間の尿及び糞中への放射能排泄を示す（試験1）。また表2に、雄ラットにおける胆汁排泄試験の結果を示す（試験2）。

単回経口投与または単回静脈内投与後の放射能排泄（表1）

経口投与7日後までに尿及び糞に排泄された量の合計は、投与量の約94%であり、用量あるいは雌雄間差は認められなかった。また、静脈内投与の動物においても約90%で雌雄間に差はみられなかった。

一方、排泄経路については雌雄間に差が認められた。低用量を単回経口投与した群では、雄の尿及び糞排泄放射能がそれぞれ約22%及び約73%であったのに対し、雌の尿及び糞排泄放射能はそれぞれ約58%及び約37%であった。また高用量を単回経口投与した群でも雄の尿及び糞排泄放射能がそれぞれ約17%及び約77%であったのに対し、雌の尿及び糞排泄放射能はそれぞれ約42%及び約53%であった。また単回経口投与した雌において、用量間差が認められた。

静脈内投与動物においても、経口投与の低用量群の場合と同様に尿及び糞排泄放射能の雌雄間差が認められた。

吸収について、低用量の経口投与と静脈内投与による排泄を比較すると、雌の糞中排泄量に有意差がみられたものの、差はわずかであり、他の比較では差がみられなかった。したがって、低用量の経口投与によるオキサジアゾンの消化管内吸収率は、雌雄いずれもほぼ100%と推定された。また、高用量を経口投与したときの吸収率は、経口投与及び静脈内投与における尿中排泄率の比較と総排泄率に対する尿中排泄率の比率から、雄で77～79%、雌では70～73%と推定された。

胆汁排泄（表2）

低用量を単回経口投与した総胆管カニューレ処置ラット（雄）における排泄量（投与後0～24時間）は、投与放射能に対して胆汁中に13%、尿中に約3%、糞中に0.15%、合計16.1%であり、糞中にはほとんど排泄されなかった。また高用量を単回経口投与した雄ラットにおける排泄量（投与後0～48時間）は胆汁中に約12%、尿中に約10%、糞中に約42%、合計約64%であった。

投与24時間後の総排泄量が、非カニューレ処置動物に比較して少なかったことは、カニューレ処置によるストレスが原因で吸収速度あるいは代謝速度が低下したことによると考えられた。

この試験結果及び前述の吸収排泄試験結果から、低用量群のカニューレを装着しない動物における糞中排泄の大部分は胆汁排泄による判断され、また、高用量群の糞排泄物のうち、未吸収分を除くものは胆汁排泄によると考えられた。

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

表1: 単回経口投与または静脈内投与後の累積放射能排泄量 (投与放射能に対する割合 平均値%)

性別	単回経口投与						性別	単回静脈内投与					
	投与量 (mg/kg)	日 数 (*)	排泄物			体内 残留		投与量 (mg/kg)	日 数 (*)	排泄物			体内 残留
			尿	糞	合計					尿	糞	合計	
雄	5	1	15.67	35.37	51.04	/	2.5	1	14.11	30.89	44.99	/	
		3	20.54	68.57	89.10			3	19.75	62.76	82.50		
		5	21.33	71.82	93.15			5	20.83	67.96	88.80		
		7	21.53	72.86	94.39			7	21.16	69.70	90.85		2.14
			(a)	(a)	(a)								
	200	1	7.78	32.08	39.87	/	/						
		3	15.23	66.13	81.36								
		5	16.36	73.78	89.74								
7		16.69	76.89	93.58	1.73								
		(a, b)	(a)	(a, b)									
雌	5	1	41.22	10.63	51.85	/	2.5	1	35.96	10.88	46.84	/	
		3	54.90	34.32	89.22			3	52.22	28.85	81.06		
		5	57.41	36.02	93.43			5	55.57	31.78	87.35		
		7	58.32	36.63	94.95			7	56.90	32.82	89.72		2.70
			(a)	(a)	(a)			(c)					
	200	1	14.57	25.92	40.49	/	/						
		3	36.34	48.22	84.56								
		5	40.16	51.35	91.51								
7		41.49	52.52	94.01	2.94								
		(a, b)	(a, b)	(a)									

(*): 投与後経過日数。 (a): 雌雄間に統計学的有意差あり (p<0.05)。

(b): 用量間に統計学的有意差あり (p<0.05)。

(c): 対応する経口投与群の平均値との間に統計学的有意差あり (p<0.05)。

表2: 雄ラットへの単回経口投与後の胆汁への放射能排泄量 (投与放射能に対する割合 平均値%)

投与量 5mg/kg					投与量 200 mg/kg				
経過時間 (hr)	胆汁	尿	糞	合計	経過時間 (hr)	胆汁	尿	糞	合計
0 ~ 6	2.12	—	—	—	0 ~ 6	0.44	—	—	—
6 ~ 24	10.9	—	—	—	6 ~ 24	3.12	—	—	—
0 ~ 24	13.0	2.96	0.15	16.1	0 ~ 24	3.56	2.19	1.43	7.16
					24 ~ 48	8.50	8.18	40.1	56.7
					0 ~ 48	12.1	10.4	41.5	63.9

—: 測定せず。

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

薬物動態：

表3に単回経口投与後の血中放射能濃度を、表4に薬物動態パラメータを示す。

低用量群は雌雄いずれも投与2時間後に最高血中濃度（雄：0.634 μg 当量/g、雌：0.698 μg 当量/g）に達し、以後投与後24時間まではほぼ1相性の減少を示した。一方、高用量群では、最高血中濃度到達時間について雌雄に大きな差はみられなかったが（雄：投与後29時間、雌：投与後24時間）、最高血中濃度は雄の17.0 μg 当量/gに対して雌の5.07 μg 当量/gと大きな開きがみられた。

半減期は、低用量群の雄で約7.5時間、雌で約9時間、高用量群の雄で約17時間、雌で約26時間となり、高用量群において雌雄に差がみられた。

無限時間まで外挿した血中濃度時間曲線下面積（AUC inf.）は、低用量群で雄（7.47 μg 当量*hr/g）と比して雌（13.1 μg 当量*hr/g）でやや高かったのに対し、高用量群では雌（296 μg 当量*hr/g）と比して雄（874 μg 当量*hr/g）が高かった。同様の傾向が実測時間に基づくAUCにも認められた。

高用量群のAUC inf.は低用量群の値の22.5倍（雌）～117倍（雄）であり、用量差（40倍）を雄では上回り、雌では下回った。

表3：単回経口投与後の血中放射能濃度（平均値、 μg 当量/g）

単回投与後 経過時間	雄		雌	
	5mg/kg	200mg/kg	5mg/kg	200mg/kg
0.25	0.029	0.364	0.126	—
0.5	0.079	1.02	0.154	0.732
1.0	0.250	2.64	0.392	1.29
2.0	0.634	4.83	0.698	2.80
3.0	0.548	5.67	0.667	2.37
4.5	0.446	7.58	0.627	—
6.0	0.421	9.33	0.633	3.02
9.0	0.376	11.9	0.538	4.16
12	0.221	14.7	0.517	—
24	0.079	16.3	0.175	5.07
29	—	17.0	—	—
33	—	17.0	—	5.03
48	—	8.23	—	2.24
74	—	2.82	—	1.40
96	—	1.24	—	0.82

—：測定せず。

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

表4：薬物動態パラメータ

薬物動態パラメータ		雄		雌	
		5mg/kg	200mg/kg	5mg/kg	200mg/kg
最高濃度 (C_{max}) ($\mu\text{g/g}$)		0.634	17.0	0.698	5.07
最高濃度到達時間 (t_{max}) (hr)		2.0	29	2.0	24
半減期 ($t_{1/2}$) (hr)		7.5	17.0	9.05	26.2
AUC (μg 当量*hr/g)	AUC inf.	7.47	874	13.1	296
	AUC 24hr	6.62	—	10.8	—
	AUC 96 hr	—	844	—	265

AUC：血中濃度時間曲線下面積。AUC inf.：無限時間まで外挿したAUC。

AUC 24hr 又はAUC 96hr：実測時間（24時間又は96時間）までのAUC

分 布：

表5に、単回経口投与後の臓器組織内分布を示す。

いずれの用量群また雌雄において、肝臓及び脂肪組織中の濃度及び分布率は他の臓器組織より明らかに高かった。この結果は、全身オートラジオグラフで得られた放射能分布と一致した。

脂肪組織中濃度は、いずれの用量群の雌雄においても、投与7日後に投与1日後の濃度の1/10以下に減少した。また、肝臓中の濃度は、雄では投与7日後に1/10以下に減少し、雌においても1/5以下となり、速やかに減少する傾向がみられた。

他の臓器組織中濃度は、いずれも低用量群の雌雄では投与1日後の時点で1.0 μg 当量/g以下(雄の肺は1.041 μg 当量/g)と低くかった。高用量群雌雄を含めて、すべての臓器組織における濃度は投与7日後には明らかな減少がみられた。

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

表5：単回経口投与後の臓器／組織内分布（上段：濃度 μg 当量/g、下段 括弧()内：対投与量%）

性別 投与量	雄				雌			
	5mg/kg		200mg/kg		5mg/kg		200mg/kg	
	単回投与後		単回投与後		単回投与後		単回投与後	
臓器組織	1日	7日	1日	7日	1日	7日	1日	7日
脂肪組織	3.06 (2.94)	0.079 (0.083)	314 (7.76)	10.44 (0.29)	3.60 (3.44)	0.196 (0.203)	426 (10.8)	39.6 (1.05)
血液	0.057 (0.072)	0.006 (0.008)	13.98 (0.45)	0.324 (0.010)	0.061 (0.076)	0.004 (0.007)	3.99 (0.130)	0.221 (0.008)
赤血球	0.012 (-)	<0.003 (-)	3.59 (-)	0.195 (-)	0.012 (-)	1.694 (-)	1.694 (-)	0.185 (-)
血漿	0.064 (-)	0.004 (-)	23.2 (-)	0.436 (-)	0.072 (-)	0.003 (-)	6.04 (-)	0.176 (-)
副腎	0.435 (0.002)	0.009 (<0.001)	75.2 (0.007)	0.697 (<0.001)	0.750 (0.005)	0.258 (<0.001)	167.5 (0.035)	1.399 (<0.001)
骨髓	0.146 (-)	0.006 (-)	41.1 (-)	0.608 (-)	0.364 (-)	0.022 (-)	103.4 (-)	1.441 (-)
脳	0.012 (0.002)	<0.003 (<0.001)	4.58 (0.010)	0.025 (<0.001)	0.030 (0.006)	7.85 (0.046)	7.85 (0.046)	0.084 (<0.001)
眼球	0.012 (<0.001)	<0.003 (<0.001)	3.00 (0.001)	0.050 (<0.001)	0.028 (<0.001)	4.14 (<0.001)	4.14 (<0.001)	0.064 (<0.001)
消化管内容物	- (23.1)	- (0.18)	- (27.1)	- (0.27)	- (16.6)	- (0.12)	- (10.1)	- (0.21)
心筋	0.039 (0.003)	<0.003 (<0.001)	13.76 (0.022)	0.113 (<0.001)	0.075 (0.005)	<0.003 (<0.001)	12.86 (0.023)	0.191 (<0.001)
腎臓	0.311 (0.047)	0.006 (0.010)	40.2 (0.103)	0.539 (0.003)	0.522 (0.087)	0.016 (0.004)	48.0 (0.209)	0.966 (0.004)
涙腺	0.192 (0.005)	<0.003 (<0.001)	58.5 (0.037)	0.368 (<0.001)	0.434 (0.013)	0.013 (<0.001)	78.2 (0.067)	0.596 (<0.001)
肝臓	9.93 (8.67)	0.671 (0.60)	134.7 (2.88)	12.03 (0.32)	11.75 (9.13)	1.562 (1.38)	102.8 (2.41)	19.54 (0.45)
肺	1.041 (0.008)	<0.003 (<0.001)	17.41 (0.035)	0.238 (<0.001)	0.142 (0.015)	0.004 (<0.001)	14.01 (0.046)	0.286 (<0.001)
骨格筋	0.022 (0.172)	<0.003 (<0.001)	4.30 (0.85)	0.109 (<0.05)	0.038 (0.29)	<0.003 (<0.03)	8.88 (1.80)	0.164 (<0.05)
膵臓	0.133 (0.004)	<0.005 (<0.001)	49.6 (0.036)	0.348 (<0.001)	0.619 (0.027)	0.004 (<0.001)	46.4 (0.057)	0.518 (<0.001)
下垂体	0.061 (<0.001)	<0.003 (<0.001)	8.61 (<0.001)	0.836 (<0.001)	0.072 (<0.001)	<0.003 (<0.001)	9.38 (<0.001)	0.172 (<0.001)
唾液腺	0.192 (0.006)	0.004 (<0.001)	26.2 (0.027)	0.365 (<0.001)	0.140 (0.007)	0.006 (<0.001)	24.1 (0.027)	0.293 (<0.001)
脾臓	0.047 (0.002)	<0.003 (<0.001)	10.36 (0.012)	0.126 (<0.001)	0.072 (0.004)	0.003 (<0.001)	8.29 (0.011)	0.171 (<0.001)
輸精管	0.308 (0.003)	0.010 (<0.001)	37.7 (0.010)	1.052 (<0.001)	/			
精囊	0.070 (0.004)	<0.003 (<0.001)	9.68 (0.014)	0.328 (<0.001)				
精巣上体	0.267 (0.011)	0.009 (<0.001)	29.1 (0.031)	1.311 (0.002)				
精巣／卵巣	0.283 (0.007)	0.004 (<0.001)	6.49 (0.037)	0.138 (<0.001)	0.599 (0.007)	0.014 (<0.001)	73.4 (0.023)	2.05 (<0.001)
子宮	/				0.419 (0.016)	0.013 (<0.001)	36.2 (0.036)	0.803 (<0.001)
胸腺					0.073 (0.002)	<0.003 (<0.001)	14.69 (0.009)	0.198 (<0.001)
甲状腺	0.120 (<0.001)	<0.003 (<0.001)	37.7 (0.002)	0.376 (<0.001)	0.197 (<0.001)	<0.003 (<0.001)	51.0 (0.003)	1.17 (<0.001)
カーカス	0.296 (4.70)	0.020 (0.32)	48.9 (10.6)	1.939 (0.83)	0.446 (6.70)	0.031 (0.49)	64.9 (24.7)	2.71 (1.21)

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

代 謝：

血漿中の代謝物

表5に、単回経口投与後の血漿中における未変化のオキサジアゾン、脂溶性物質(オキサジアゾンを含む脂溶性代謝物の総量)及び水溶性代謝物総量の濃度推移を示す。

低用量(5mg/kg)投与群では、投与後2時間及び24時間とも血漿中放射能の大部分が水溶性物質として認められた。低用量投与群の最高血中濃度到達時間である投与後2時間では、雄では血漿中放射能の約78%、雌では約74%が既に水溶性物質に代謝されていた。

一方、高用量投与群においては、雄では投与後2時間後及び24時間に血漿中放射能のそれぞれ約63%、約83%が水溶性物質として認められた。雌では投与後2時間及び24時間にそれぞれ約47%、約57%が水溶性物質になっていたに過ぎず、未変化物を含む脂溶性物質の割合が高かった。これらの結果から、高用量での雌の代謝能は雄に比べて低いと考えられた。

表5：単回経口投与後の血漿中放射性成分(血漿中の放射能に対する%)

投与量 (mg/kg)	投与後 経過時間	雄				雌			
		脂溶性物質		水溶性 物質	回収率	脂溶性物質		水溶性 物質	回収率
		親化合物	総量			親化合物	総量		
5	2	9.20	17.1	77.5	94.6	9.08	26.4	73.7	100.1
	24	4.36	6.1	89.6	95.7	3.25	8.9	87.4	96.3
200	2	27.0	34.3	62.7	97.0	39.6	53.4	46.5	99.9
	24	2.81	5.0	83.4	88.4	20.3	33.8	57.4	91.2
	96	—	2.1	96.2	98.3	—	6.3	90.8	97.1

尿、糞及び胆汁中代謝物

表6に、尿、糞及び胆汁中の代謝物分布を示す。

尿、糞及び胆汁中から未変化のオキサジアゾン以外に 種の代謝物が単離同定された。主代謝経路は性別あるいは投与量にかかわらず、

であり、 がこれに次いだ。また を受けて代謝された。

高用量を投与した場合には、尿中および糞中の代謝物構成に差異が生じた。

高用量群の雄の胆汁中には、オキサジアゾンの他に 種の代謝物が同定され、それらの合計はオキサジアゾンを含めると、胆汁中の放射能総量の約84%を占めた。それらの内、 種(代謝物番号)は、合計すると胆汁中総放射能の約 %となるが、尿、糞のいずれからも検出されず、胆汁に固有の代謝物、あるいは分析操作中に他の代謝物から生成されたものと考えられた。

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

表6：尿、糞及び胆汁中の代謝物（投与放射能に対する％）

代謝物 番 号	雄							雌					
	5mg/kg			200mg/kg				5mg/kg			200mg/kg		
	尿	糞	計	尿	糞	計	胆汁*	尿	糞	計	尿	糞	計
1(親化合物)	ND	1.29	1.29	0.03	36.30	36.33	0.02	ND	0.66	0.06	0.02	31.85	31.87
合計	20.52	68.66	89.18	16.02	70.93	86.95	10.2	54.92	34.31	89.23	38.90	50.29	89.19

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

脂肪組織及び肝臓中代謝物

表7及び表8に、脂肪組織及び肝臓中代謝物をそれぞれ示す。

脂肪組織中代謝物（表7）

脂肪組織において、用量、性別及び単回投与後の経過日数（1日、7日）にかかわらず同質であり、親化合物オキサジアゾンが組織中放射能の95%を占める主要放射性成分であった。その他に代謝物 が同定された。同定された放射性成分（オキサジアゾン、 ）の濃度は、何れも雄と比して雌で高く、またその差は経時的に拡大した。

表7：脂肪組織中代謝物の放射能濃度

性別	投与量 (mg/kg)	投与後経過日数	脂肪組織中の放射能 (µg当量/g)	回収率 (%)	オキサジアゾン (µg当量/g)
雄	5	1	3.06	97.3	2.92
		7	0.079	83.9	0.065
	200	1	314	98.2	288
		7	10.44	88.5	9.18
雌	5	1	3.60	92.2	3.09
		7	0.196	85.4	0.159
	200	1	426	97.6	386
		7	38.4	95.0	36.1

肝臓中代謝物（表8）

肝臓に分布する標識化合物のほぼ全量は から検出された¹⁴Cは性別、投与量あるいは試料採取時点(投与1日後及び7日後)にかかわらず低く、一つの例外を除き肝臓中¹⁴Cの 以下であり、有意な取り込みがあったとは認められなかった。例外は、高用量群投与7日後の雌において が検出されたことであるが、この例でも濃度は低かった()。したがって、オキサジアゾンとその代謝物の中に、DNAへの共有結合性を有するものは無いと判断された。

肝臓中の代謝物については、 と考えられる について、同定、定量した結果を表8に示す。

低用量群では、試料採取時点及び雌雄いずれにおいても代謝物番号 が主であった。一方、高用量群では代謝物番号 が主であったが、それら代謝物の量は、大きく異なった。

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

表8：肝臓中の脂溶性代謝物分布（ μg 当量/g肝臓）

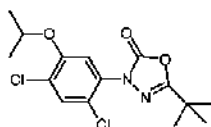
性別		雄				雌			
投与量		5 mg/kg		200 mg/kg		5 mg/kg		200 mg/kg	
代謝物番号\経過日数		単回投与後		単回投与後		単回投与後		単回投与後	
		1日	7日	1日	7日	1日	7日	1日	7日
放射能	肝臓	9.93	0.67	134.7	12.03	11.8	1.56	102.8	19.5
I（親化合物）		0.02	<0.001	6.98	0.05	0.07	0.005	14.1	0.13
合計（肝臓）		75.6%	54.7%	71.6%	53.4%	56.1%	20.9%	60.8%	56.4%

推定代謝経路：

次頁にラット体内におけるオキサジアゾンの推定代謝経路を示す。

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

ラットにおける推定代謝経路



oxadiazon
(No. 1)

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

2. 植物における代謝試験

(1) イネにおけるオキサジアゾンの吸収・移行及び代謝試験

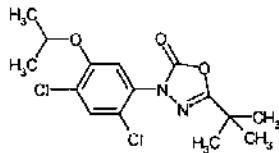
(資料No. 運命-4)

試験機関:

報告書作成年: 1975年

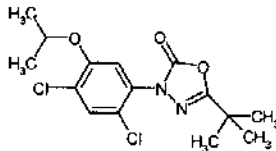
供試標識化合物 (* 標識位置)

・ ¹⁴C標識体 (略称: _____、なお試験成績では _____ と称されている。)



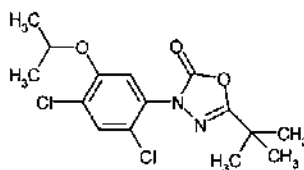
比放射能: 1.8mCi/mMol
放射化学的純度: %

・ ¹⁴C標識体 (略称: _____、なお試験成績では _____ と称されている。)



比放射能: 42mCi/mMol
放射化学的純度: %

・ ¹⁴C 標識体 (略称: _____、なお試験成績では _____ と称されている。)



比放射能: 0.57mCi/mMol
放射化学的純度: %

供試植物: 水稲 (キンマゼまたはニホンバレ)

栽培方法:

種もみを表面殺菌、水洗後トレイに播きファイトトロン内で育苗した。約1ヶ月後に、水田条件の栽培では4~5葉期の苗を、土壌を入れて灌水したワグネルポットに移植し、水耕栽培用の苗は4~5葉期で苗床から水耕液に移植し、いずれの場合もファイトトロン内で成熟期まで栽培した。

試験方法:

処理方法:

・ 水田条件試験

乳化剤及びキシレンを用いて標識体 (_____、 _____ あるいは _____) の10%乳剤を調製した。移植前日に、この乳剤3mlを1000mlの水で希釈した希釈液10mlを1/2000アール (a) のワグネルポット内土壌表面に散布し、表面下5cmの土壌に均一に混和した。処理量はオキサジアゾン6g/a (申請者注: オキサジアゾン12%乳剤 (農業名ロンスター乳剤) の処理量) であった。灌水深は3cmであった。

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

・水耕栽培試験（根茎吸収及び移行性）

乳化剤及びキシレンを用いて標識体（ ）の10%乳剤を調製し、この乳剤を水で希釈したオキサジアゾンの0.1ppm液に、4～5葉期の苗の根を5時間、1、4、7あるいは10日間浸した。

・茎葉部での代謝試験

乳化剤及びキシレンを用いて標識検体（ ）の2%乳剤を調製し、この乳剤に他の乳化剤を加え、水で希釈してオキサジアゾンの5ppm液を調製した。この液に4～5葉期の苗の茎葉部を2時間浸した後、水洗して栽培液に戻した。

申請者注：本評価資料（資料No. 運命-4）では茎葉部での代謝試験の方法のみが記述され、結果は報告されていない。

・茎葉部での吸収及び移行性試験

また茎葉部での吸収及び移行性を検討するため、標識体（ ）とワセリンを混合してオキサジアゾンを100 ppm含有するペーストを調製し、葉身または葉鞘に塗布した。

試料採取及び分析；

・水田条件試験

移植（土壌処理1日後）の1、2、3、4週間後、2、4及び5-6ヶ月後にイネを採取し、オートラジオグラフを作成し、また、代謝分析の試料とした。

・水耕栽培試験（根茎吸収及び移行性）

各処理時間の試料について、植物体の各部位における放射能を液体シンチレーションスペクトロメーターならびにオートラジオグラフにより測定した。

・茎葉部での代謝試験

代謝物の検討に用いる茎葉部試料を、移植後2、5、10、24、48、72、120及168日後に採取した。

メタノールで抽出し、メタノールを蒸発させ、水で10倍に希釈してジクロロメタンで分配し、ジクロロメタン画分中のオキサジアゾン及び代謝物をTLCで分離し、アセトンで抽出してそれぞれの放射能を測定した。水画分は凍結乾燥により濃縮させて放射能を測定した。

・茎葉部での吸収及び移行性試験

検体の塗布処理後1、3、5あるいは7日間栽培した後にオートラジオグラフにより測定した。

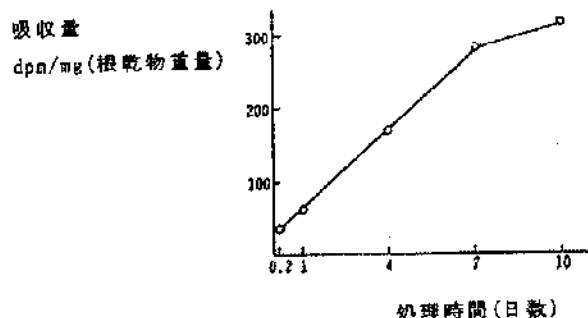
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果：

水耕栽培試験（根茎吸収及び移行性）：

図1に、4～5葉期の苗の根をオキサジアゾンの0.1ppm液に浸した後に植物体が吸収した放射エネルギーを示す。オキサジアゾンは根から吸収され、10日間で吸収された放射エネルギーは処理量の約5%であった。

図1. 水耕栽培のイネにおける、根からのオキサジアゾン吸収



また表1に、植物体中の放射能分布を示す。

10日間処理時点では根部中の濃度が14.4ppm、茎葉部中の濃度は3.6 ppmで、吸収された放射エネルギーの45.6%が茎葉部に移動した。オートラジオグラフから、若い葉より古い葉に、また、葉の先端部より基部に多くの放射エネルギーが分布することが示された。

表1. 根から吸収された¹⁴C 標識化合物の植物体(イネ)中分布

放射能活性										
処理時間	5時間		1日		4日		7日		10日	
量、濃度	dpm ^{a)}	ppm ^{b)}	dpm	ppm	dpm	ppm	dpm	ppm	dpm	ppm
茎 葉 部	1900	0.2	2600	0.3	13200	1.5	42300	3.1	59400	3.6
根 部	6300	2.4	10400	4.2	25900	9.4	35500	10.5	70800	14.4
移行率 ^{c)}	23.1		20.1		33.8		54.4		45.6	

a)：検出された放射能活性総量

b)：¹⁴C-標識オキサジアゾンの比放射能活性から算出した濃度

c)：[茎葉部の放射能(dpm)/植物体に吸収された放射能(dpm)]×100

茎葉部での吸収及び移行性試験：

ワセリンペーストに混じた標識体を塗布した試験の結果、オキサジアゾンの処理部位から他への移動は、葉身より葉鞘に多く認められたが、葉鞘に塗布したオキサジアゾンは根あるいは分けつした茎葉部には移動していなかった。

水田条件試験での植物体への移行性：

水田条件下で、移植前日にワグネルポット内の灌水土壌に標識検体を散布後栽培したイネのオートラジオグラフから、オキサジアゾンは、水耕栽培による試験の結果と同様に、若い葉より古い葉に多くみられた。

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

乳熟期には止葉にわずかな放射能が検出されたが、穂に検出された量は微量であった。

表2に、各部位の放射能測定結果を示す。玄米中の濃度は0.0039-0.0099 ppmであった。収穫期のわら中の濃度が、移植1、2ヶ月後の茎葉部中の濃度より低い理由は、収穫までにしおれた古い葉が落ちたことによると考えられた。

表2. 各生育段階における¹⁴C-標識化合物の濃度(ppm)

生育ステージ 標識体\部位	移植1ヶ月後		移植2ヶ月後		収穫時		
	茎葉部	根	茎葉部	根	わら	籾殻	玄米
	0.56		1.31		0.74	0.040	0.0099
	1.27		1.29		1.14	0.022	0.0039
	1.79		1.21		0.81	0.045	0.0080

濃度は¹⁴C-標識オキサジアゾンの比放射能活性から算出した。

稲体での代謝：

水田条件下で栽培したイネを、移植後1、2ヶ月及び収穫時に採取して代謝物を分析した結果を表3に示す。

オキサジアゾンの

ていることが確認された。イネ体内での代謝は、

におこり、

及び

が生成された。さらに、TLCでは

が検出された。これらの内、については後続の試験(資料No. 運命-5)によって化学構造が解明されることが判明した。茎葉部またはわら中に検出された放射能の75~80%及び根に検出された放射能の90%以上が未変化のオキサジアゾンであった。

表3. ¹⁴C-標識検体(OXA-5)の処理1日後に移植したイネ各部位における放射能について同定された代謝物の割合(%)

生育ステージ 代謝物\部位	移植1ヶ月後		移植2ヶ月後		収穫時		
	茎葉部	根	茎葉部	根	わら	籾殻	玄米
1(オキサジアゾン)	75.5	93.7	83.0	93.1	78.0	32.6	22.0*

*: 量が極めて微量であったことから、正確な測定値を得るために別途、実施した同位体希釈測定法による分析結果からは19.6%となった。

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

玄米及び籾殻では、オキサジアゾン及び代謝物番号25について止葉、葉鞘、稈、穂軸、籾殻及び玄米中の分布を測定した。表4に結果を示す。オキサジアゾンの濃度は[止葉+葉鞘]、稈、穂軸、もみがら、玄米の順に低下した。これに対して、もみがら、籾殻はほぼ同程度であった。籾殻中濃度と玄米中濃度の比率は、約0.001であり、玄米へ移行する量は少なかった。

表4. オキサジアゾン及び代謝物番号25のイネ体中濃度(ppm)

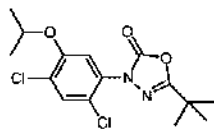
代謝物番号\部位	止葉及び葉鞘	稈	穂軸	籾殻	玄米
1(オキサジアゾン)	0.479	0.216	0.129	0.008	0.001

稲における推定代謝経路：

次頁に、稲におけるオキサジアゾンの推定代謝経路を示す。

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

オキサジアゾンの稲における推定代謝経路



oxadiazon
(No. 1)

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

(2) イネ体中代謝物の同定

(資料No. 運命-5)

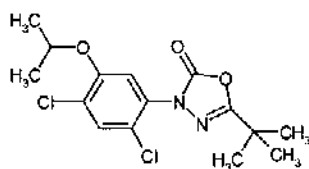
試験機関:

報告書作成年: 1975年

資料No. 運命-4において検出された未同定代謝物M-1について化学構造を検討した。

供試標識化合物(* 標識位置)

・ ^{14}C 標識体 (略称)



比放射能: 0.57mCi/mMol

放射化学的純度: %

方法:

未同定代謝物

同定:

試料から得た

質量分析の結果からこの化合物は

であることを確認した。

したがって、

DIMTHは植物体内で生成された代謝物であると結論された。

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



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

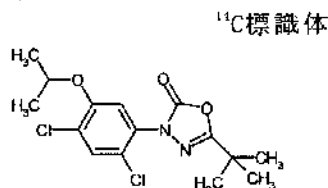
(3) イネ体への浸透及び移行に関する試験

(資料No. 運命-6)

試験機関:

報告書作成年: 1971年

供試標識化合物:



比放射能: 0.1147mCi/mg (39mCi/mmol)

*: 標識位置

試験には標識化合物と非標識オキサジアゾンの[1 : 22.3]混合物を用いた。

試験方法:

栽培方法; 川砂、壤土及び堆肥を等量混合した土壤にイネ種子(品種 IR-8)を播種し、温室内(平均26°C)、約6000ルクス(1日16照明)で栽培した。4葉期に苗をオキサジアゾン処理した土壤に移植した。

処理方法; 標識検体と非標識検体の混合物を水と混合した後、土壤に混和し、土壤中濃度が1.2 ppm及び3.6 ppm含有する2種の土壤各9kgを調製し、それぞれ45個ずつのポットに分配して土壤表面を無処理の砂(層の厚さ 0.5cm)で覆った。さらに、これとは別に、十分な数のポットを用意し、それぞれに土壤200gずつを入れて土壤表面に、オキサジアゾン濃度が40 mcg/mlあるいは120mcg/mlの水懸濁液を5 ml散布した。処理後、各ポットにイネ苗を2本を移植し、水道水を散布した。

試料採取及び分析; 移植後7、14、21及び28日にイネを採取し、根部を水道水で洗浄して乾燥後、オートラジオグラフに用いた。オートラジオグラフ実施後、ヘキサンを用いて試料を取り出し、アセトンで抽出して液体シンチレーションスペクトロメーターで放射能活性を測定した。

結果: 移植後7日及び14日に採取した試料のオートラジオグラフでみられた放射能は無視される程度であったことから、抽出物中の放射能活性の測定は、移植後21日及び28日の試料についてのみ実施した。結果を表1に示す。

イネ体の平均生重量から算出したイネ体地上部の濃度は0.018-0.054 ppm、根部の濃度は0.011-0.055 ppmで、すべて0.1 ppm以下であった。

地上部について、土壤混和処理と土壤表面散布処理の比較では、土壤表面散布処理が高値を示した。これは土壤表面付近でイネが高濃度のオキサジアゾンに接触することによると考えられる。また、地上部に比べ根部では低い値が示された。オートラジオグラフィの結果から、オキサジアゾンは古い葉に多く分布し、新葉からは検出されなかった。

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

表1. 植物体中のオキサジアゾン濃度

処 理 法	処 理 量	移植から試料採取までの日数	オキサジアゾン(ng)	
			地上部	根 部
土 壌 混 和 処 理	1.2 ppm	21	70	35
		28	45	22
土 壌 表 面 散 布 処 理	3.6 ppm	21	46	46
		28	62	45
土 壌 表 面 散 布 処 理	200 mcg /ポット*	21	82	82
		28	47	54
土 壌 表 面 散 布 処 理	600 mcg /ポット*	21	135	110
		28	72	42

*: 各ポット内の土壌量は200 g であり、平均濃度はそれぞれ1ppm、3ppmとなる。

地上部平均生重量: 2.5 g、根部平均生重量: 2 g

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

(4) オキサジアゾンの大豆における吸収・移行及び消長

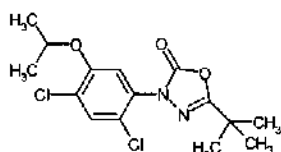
(資料No. 運命-7~運命-9)

試験機関:

報告書作成年: 1974年

供試標識化合物 (* 標識位置)

・ ¹⁴C標識体 (略称)

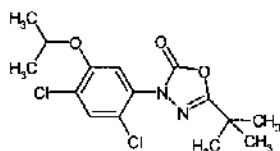


比放射能: 5.16 μ Ci/mg (1.78 mCi/mmol)

資料No. 運命-8及び運命-9の試験に使用。

9.875 mg/ml (0.051 mCi/ml) のベンゼン溶液を調製して試験に用いた。

・ ¹⁴C標識体 (略称)



比放射能: 0.1147mCi/mg (39 mCi/mmol)

資料No. 運命-7の試験に使用。

3.588 mg/ml (0.411mCi/ml) のベンゼン溶液を調製して試験に用いた。

供試植物: 大豆 (*Glycine hispida*, var. Clark 63)

供試土壌:

資料No. 運命-7では埴壤土(土壌1)、砂土(土壌2)及び堆肥と砂の混合物(土壌3)を用いた。

資料No. 運命-8では埴壤土(土壌1)及び砂土(土壌2)を用いた。資料No. 運命-9では粘土(土壌4)及び砂質土壌(土壌5)を用いた。

試験方法:

栽培方法、処理方法、試料採取及び分析;

資料No. 運命-7

土壌表面散布処理及び土壌混和处理の2試験を実施した。

散布処理による試験では、ポットに土壌を充填して大豆種子を入れ、上部を同じ土壌で覆い、土壌表面を水で湿らせた後、約19倍の非標識オキサジアゾンで希釈した検体処理液を散布した。ポット表面に置いたろ紙に回収されたオキサジアゾン量は、ヘクター当りに換算すると平均1.3 kgであった。大豆を温室中で22°C、14時間照明の条件下で33日間栽培した。

処理後8、14、20、27及び33日後に大豆試料を採取し、根部、胚軸(子葉より下の地上部)、子葉及び茎葉(子葉より上の部分)に分類した。各試料中の放射能は有機溶媒で抽出して液体シンチレーションカウンターで計測し、植物体による放射能の吸収、移行及び分布を検討した。

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

土壌混和処理による試験では、予め、約37倍の非標識オキサジアゾンで希釈した検体処理液を土壌に混和し、オキサジアゾンを約4 mg/kg含有する土壌を調製し、以下の処理方法の3群を設けた。

処理方法

- (A) 処理土壌をポットに充填して大豆種子を入れ上部を処理土壌で覆う。
- (B) 無処理土壌をポットに充填して大豆種子を入れ上部を処理土壌で覆う。
- (C) 処理土壌をポットに充填して大豆種子を入れ上部を無処理土壌で覆う。

処理8、14、20、27及び33日後に大豆試料を採取し、根部、胚軸(子葉より下の地上部)、子葉及び莖葉(子葉より上の部分)に分類した。各試料中の放射能は有機溶媒で抽出して、液体シンチレーションカウンターで計測し、植物体による吸収、移行及び分布を検討した。

さらに、同様の方法で処理し、栽培した大豆から別途採取した処理33日後の莖葉部について莖葉部を古い順に4部に分けて採取し、それぞれに含まれる放射能を測定した。

資料No. 運命-8

直径30cmのポットに供試土壌(土壌1あるいは土壌2)と川砂の[2:1]混合物を充填し、大豆種子を入れて上部を同じ土壌で覆った。約10倍の非標識オキサジアゾンで希釈した検体処理液を土壌表面に散布した。ポット表面に置いた厚紙に回収されたオキサジアゾン量は、換算すると2.6kg/ha(土壌1)または1.6kg/ha(土壌2)であった。

大豆を温室中で22°C、14時間照明の条件下で129日間栽培後、収穫して子実、さや(子実を除く)及び残りの植物体を試料として採取した。各試料中の放射能は有機溶媒で抽出し、液体シンチレーションカウンターで計測し、成熟大豆中の分布を検討した。

資料No. 運命-9

粘土(土壌4)及び砂質土壌(土壌5)を用いて、資料No. 運命-8と同様の検体処理液を散布した。オキサジアゾンの平均散布量は2.6kg/ha(土壌4)または1.6kg/ha(土壌5)相当であった。大豆の栽培方法は資料No. 運命-8と同様に行った。処理後28日及び62日(開花時)に莖葉を採取し、オートラジオグラフを作成した。また、土壌5を用いて栽培した大豆の莖葉を処理100日後(さや形成時)に採取し、さや及び莖葉の各部を12区画に分け、それぞれ、試料中の放射能を有機溶媒で抽出し、液体シンチレーションカウンターで計測して濃度を求めた。さらに、土壌4を用いて栽培した大豆の莖葉を処理後114日(さや形成時)に採取し、地上付近から先端までを4区画に分けてそれぞれの放射能を測定した。また、処理後100日及び114日に採取した試料について、TLCで代謝物について検討した。

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

結 果：

オキサジアゾンの土壌処理後の大豆における吸収及び分布(資料No. 運命-7)を表1及び表2にそれぞれ示す。また処理後33日(資料No. 運命-7)に採取した茎葉部各分画中の放射エネルギーを表3に示す。

土壌表面処理による吸収及び分布(表1及び表3)

土壌表面散布処理による試験では、処理後8日～33日の間に採取したいずれの試料についても、土壌2で栽培した植物中に吸収された¹⁴C-標識オキサジアゾン量が最も高く、処理後33日には処理量の1.58%が吸収された。次いで土壌1(0.80%)、土壌3(0.54%)の順となった。

また処理後33日における大豆茎葉各画分における放射能濃度は、根から地上部の先端に向かって減少し、地上部の先端では子葉の約1/10であった。

土壌混和処理による吸収及び分布(表2)

土壌混和処理による試験では、植物の¹⁴C-標識オキサジアゾン吸収量は土壌2、土壌1、土壌3の順となり、植物と処理土壌の接し方別の吸収量は、ほとんどの場合、処理方法A、C、Bの順で、大豆種子の上部及び下部いずれも処理土壌としたものが高かった。

成熟大豆における放射能分布(資料No. 運命-8)を表4に示す。

吸収された放射能の90%以上は茎葉部に存在した。さや及び子実における残留は微量で濃度0.03 ppm以下であった。

処理28日後及び62日後(開花時)に採取した茎葉のオートラジオグラフ(資料No. 運命-9)では、オキサジアゾンの移行は処理後28日の時点で子葉を超えることがなく、子葉が落ちる処理後62日には最初の3葉に微量の放射能が検出された。

処理後100日に採取した試料は、有効成分1.6kg/haに相当する量を処理した分析した砂質土壌(土壌5)で栽培した大豆のさや及び茎葉である。これら試料中の放射能は平均0.043 ppmであり、主として茎葉に存在した。表5に、粘土(土壌4)で栽培した大豆の茎葉を処理後114日に採取した試料各部の放射能測定結果を示す。茎葉部の残留濃度は0.084～0.413 ppmの範囲内であった。

処理100日後及び114日に採取した試料のTLCでは代謝物は検出されなかった。

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

表1. 土壌表面散布処理による¹⁴C-標識オキサジアゾンの吸収及び分布(資料No. 運命-7)

試料採取時期	試料	処理後8日後			処理後14日			処理後20日			処理後27日			処理後33日		
		ng ¹⁾	% ²⁾	% ³⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	% ³⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	% ³⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	% ³⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	% ³⁾
土壌1	茎葉	80	6	0.02	294	12	0.08	382	19	0.10	775	24	0.21	935	32	0.25
	子葉	665	48	0.18	1241	51	0.33	830	41	0.22	964	29	0.26	-	-	-
	胚軸	522	38	0.14	757	31	0.21	427	21	0.11	547	17	0.15	547	18	0.15
	根	107	8	0.03	128	6	0.03	378	19	0.10	991	30	0.27	1467	50	0.40
	合計	1374	100	0.37	2420	100	0.65	2017	100	0.54	3277	100	0.89	2949	100	0.80
土壌2	茎葉	507	18	0.14	580	17	0.16	726	18	0.22	2096	39	0.57	2605	44	0.70
	子葉	870	30	0.23	1742	50	0.47	1456	35	0.39	792	15	0.21	-	-	-
	胚軸	1092	38	0.30	854	24	0.23	849	21	0.23	833	16	0.23	922	16	0.25
	根	384	14	0.10	301	9	0.08	1089	26	0.29	1595	30	0.43	2339	40	0.63
	合計	2853	100	0.77	3477	100	0.94	4120	100	1.14	5316	100	1.44	5866	100	1.58
土壌3	茎葉	36	4	0.01	92	11	0.02	103	13	0.03	450	22	0.12	471	24	0.13
	子葉	583	66	0.16	396	47	0.11	319	40	0.09	779	38	0.21	519	26	0.14
	胚軸	206	24	0.06	273	32	0.07	184	23	0.05	200	10	0.05	245	12	0.07
	根	55	6	0.01	83	10	0.02	201	24	0.05	597	40	0.16	752	8 ⁴⁾	0.20
	合計	880	100	0.24	844	100	0.22	807	100	0.22	2026	100	0.54	1987	100	0.54

- 1): オキサジアゾン換算量 (ng) -: データなし。
 2): 植物全体の放射能に対する割合 (%)
 3): 処理量に対する吸収された放射能の割合 (%)
 4): 報告書では「8%」と書かれているが、申請者は印刷の誤りで正しくは「38%」と考える。

表2. 土壌混和処理による¹⁴C-標識オキサジアゾンの吸収及び分布(資料No. 運命-7)

土壌*	試料採取時期	処理後8日		処理後14日		処理後20日		処理後27日		処理後33日		
		ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	
土壌1	A	茎葉	10	2	159	13	542	25	1527	40	1694	32
		子葉	159	28	254	20	189	9	-	0	-	0
		胚軸	79	14	209	17	347	16	377	10	341	6
		根	316	56	639	50	1050	50	1926	50	3347	62
		合計	564	100	1261	100	2128	100	3830	100	5352	100
	B	茎葉	8	2	60	17	39	9	211	28	169	30
		子葉	234	60	167	48	181	40	-	0	-	0
		胚軸	86	22	76	23	102	23	62	8	64	11
		根	61	16	40	12	131	28	474	64	326	59
		合計	389	100	346	100	453	100	747	100	559	100
	C	茎葉	23	3	179	13	477	20	1134	37	1064	37
		子葉	104	14	108	8	265	11	-	0	-	0
胚軸		134	18	235	18	320	14	304	10	215	7	
根		470	65	813	61	1312	55	1605	53	1592	56	
合計		731	100	1335	100	2374	100	3043	100	2871	100	

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

(植物代謝)

表2(続き)．土壤混和処理による¹⁴C-標識オキサジアゾンの吸収及び分布(資料No. 運命-7)

土 壤 *	試料採取時期	処理8日後		処理14日後		処理20日後		処理27日後		処理33日後		
		試 料	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	ng ¹⁾	% ²⁾
土 壤 2	A	茎 葉	24	2	497	18	1485	30	2166	35	2944	36
		子 葉	540	36	759	27	1037	21	-	0	-	0
		胚 軸	385	25	636	22	948	19	1203	20	683	8
		根	559	37	935	33	1440	30	2734	45	4613	56
	合 計	1508	100	2827	100	4910	100	6903	100	8240	100	
	B	茎 葉	12	2	66	9	293	26	304	30	391	29
		子 葉	336	67	414	58	380	34	-	0	-	-
		胚 軸	103	21	158	22	180	16	300	30	140	10
		根	47	10	76	11	274	24	396	40	838	61
	合 計	498	100	714	100	1127	100	1000	100	1369	100	
	C	茎 葉	29	3	417	24	979	40	1948	29	1739	36
		子 葉	169	27	196	11	105	4	-	0	-	0
胚 軸		50	5	198	11	259	10	328	5	348	7	
根		667	74	921	54	1125	46	4505	66	2793	57	
合 計	915	100	1732	100	2468	100	6781	100	4880	100		
土 壤 3	A	茎 葉	10	22	205	19	372	26	978	33	953	36
		子 葉	149	27	249	23	134	9	171	6	-	0
		胚 軸	97	18	130	12	192	13	205	7	205	8
		根	289	53	508	46	738	52	1517	54	1494	56
	合 計	545	100	1092	100	1436	100	2931	100	2652	100	
	B	茎 葉	3	2	49	19	84	24	161	32	318	27
		子 葉	98	49	114	44	118	33	61	12	-	0
		胚 軸	81	41	61	24	57	16	44	9	100	9
		根	17	8	33	13	96	27	239	47	746	61
	合 計	199	100	257	100	355	100	505	100	1164	100	
	C	茎 葉	18	5	172	23	485	31	754	36	908	43
		子 葉	71	18	82	11	78	5	47	2	-	0
胚 軸		32	8	144	19	165	10	167	8	171	8	
根		271	69	347	47	844	54	1144	54	1031	49	
合 計	392	100	745	100	1572	100	2112	100	2110	100		

¹⁾: オキサジアゾン換算量 (ng)

-: データなし。

²⁾: 植物全体の放射能に対する割合(%)

* A: 処理土壤をポットに充填して大豆種子を入れ上部を処理土壤で覆った。

B: 無処理土壤をポットに充填して大豆種子を入れ上部を処理土壤で覆った。

C: 処理土壤をポットに充填して大豆種子を入れ上部を無処理土壤で覆った。

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

表3. 土壌混和処理の33日に採取した茎葉部各分画に含まれる¹⁴C-標識オキサジアゾンの分布(資料No. 運命-7)

処 理	茎葉部 各分画*	土壌 1				土壌 2				土壌 3			
		ng ¹⁾	% ²⁾	mg ³⁾	ppm ⁴⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	mg ³⁾	ppm ⁴⁾	ng ¹⁾	% ²⁾	mg ³⁾	ppm ⁴⁾
A	1	557	47	308	1.81	1068	40	500	2.14	390	46	285	1.37
	2	302	26	315	0.96	1096	41	538	2.04	227	27	315	0.72
	3	243	20	377	0.64	398	15	563	0.71	183	22	485	0.38
	4	81	7	508	0.16	95	4	500	0.19	49	5	554	0.09
	合計/平均	1183	100	1508	0.78	2657	100	2101	1.26	849	100	1639	0.52
B	1	453	64	443	1.02	133	46	450	0.30	70	41	518	0.14
	2	108	15	371	0.29	70	24	275	0.25	80	46	591	0.14
	3	117	16	464	0.25	62	21	325	0.19	17	10	636	0.03
	4	35	5	421	0.08	27	9	400	0.07	5	3	500	0.01
	合計/平均	713	100	1699	0.42	292	100	1450	0.20	172	100	2245	0.08
C	1	724	60	391	1.85	1016	49	371	2.74	254	40	400	0.64
	2	304	25	318	0.96	672	32	336	2.00	203	32	438	0.46
	3	166	14	355	0.47	328	15	357	0.92	126	20	554	0.23
	4	20	1	245	0.08	78	4	329	0.24	49	8	454	0.11
	合計/平均	1214	100	1309	0.93	2094	100	1393	1.50	632	100	1816	0.34

* 1 : 子葉から最初の3小葉の葉まで(この葉を含む)

2 : 第一3小葉から第二の3小葉まで(含む)

3 : 第二3小葉から第三の3小葉まで(含む)

4 : 茎葉の残りの部分、先端を含む成長点

¹⁾ オキサジアゾン換算量 (ng)

²⁾ 茎葉部全放射能に対する割合 (%)

³⁾ 試料重量 (mg)

⁴⁾ 濃度 (ppm)

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

表4. 収穫時の植物体中に検出された放射能* (資料No. 運命-8)

試料	土 壤 1 (埴壤土)				土 壤 2 (砂土)			
	試料の重量 (g)	含有量 (μg)	濃 度 (ppm)	植物全体に対する割合 (%)	試料の重量 (g)	含有量 (μg)	濃 度 (ppm)	植物全体に対する割合 (%)
子 実	12.1	0.29	0.024	0.5	18.6	0.34	0.018	2.0
さ や**	29	0.74	0.026	1.4	43.6	0.84	0.019	4.8
茎葉部**	135	52.8	0.39	98.1	103	16.2	0.16	93.2
合 計	176.1	53.83	0.31	100.0	165.2	17.38	0.11	100.0

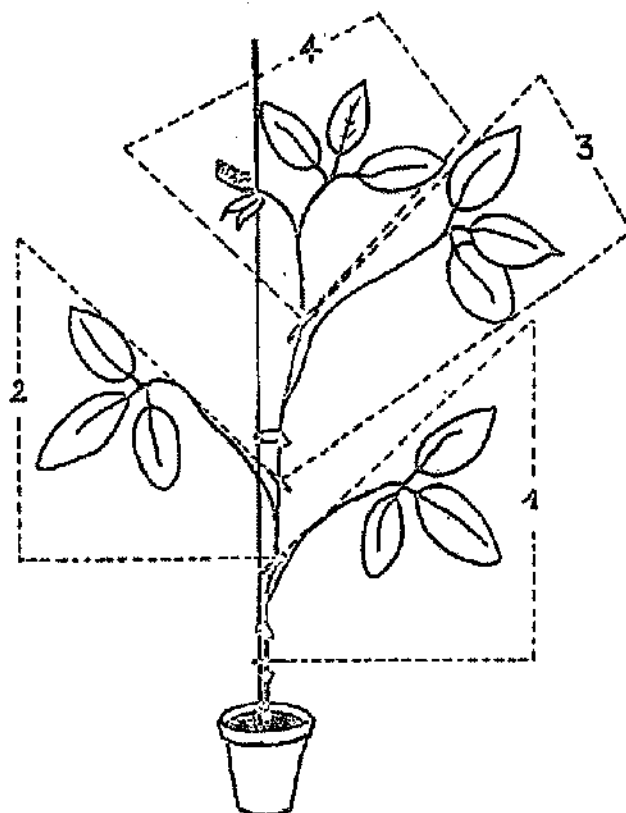
* : オキサジアゾン換算値で表示。

** : 子実及びさやを除去した残りの植物体

表5. 処理114日後に採取した大豆茎葉中の残留濃度(資料No. 運命-9)

試料の部位*	試料重量 (g)	オキサジアゾン換算		植物体中の割合 (%)
		含有量 (μg)	濃度 (ppm)	
1	4.7	790	0.168	25.3
2	3.2	268	0.084	8.6
3	2.5	789	0.316	25.2
4	3.1	1279	0.413	40.9
合計/平均	13.5	3126	0.232	100.0

* : 下図のとおり



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

(5) 大豆における代謝

(資料No. 運命-10)

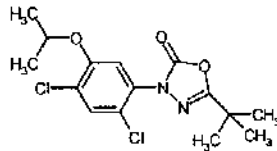
試験機関:

報告書作成年: 1976年

供試標識化合物 (* 標識位置)

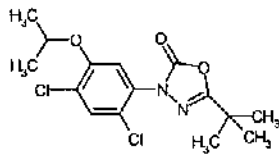
・ ¹⁴C標識体 (略称)

比放射能: 1.78 mCi/mmol (5.16 μCi/mg)



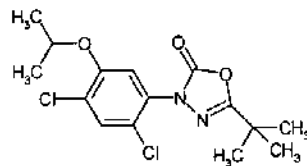
・ ¹⁴C標識体 (略称)

比放射能: 39 mCi/mmol (115 μCi/mg)



・ 標識体 (略称)

比放射能: 25.87mCi/mmol (74.76 μCi/mg)



これらの標識化合物は、非標識オキサジアゾンと混合して試験に用いた。

供試植物: 大豆 (Clark 63)

供試土壌: 埴壤土 (土壌1) 及び砂土 (土壌2) を用いた。

試験方法:

栽培方法; 播種前に、土壌に根瘤菌 (*Rhizobium japonicum*) の懸濁液を接種した。

いずれの処理方法でも共通して、昼間24℃、夜間18℃、14時間照明、土壌の水分を50 ~ 80%に保持した環境下で大豆種子を播種し、収穫時まで栽培した。

処理方法; 以下の方法を用いた。

(1) 播種前の土壌混和処理。

申請者注: 「土壌混和処理」の項は、資料No. 運命-7の後段 (土壌混和処理) であり、これを資料No. 運命-10で再度報告しているものである。したがって、この処理による試験 (吸収及び移行) については、重複するので記述しない。

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

(2) 発芽前の株間散布処理

トレイに土壌（土壌2）を入れ、播種した。第1葉期時に、標識化合物 を非標識オキサジアゾンで希釈した比放射能 $0.087 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ の水懸濁液 $5\text{ml}/100\text{cm}^2$ を株間に散布した。

(3) 発芽前の全面土壌処理

ポットに土壌（土壌1または土壌2）を入れて播種し、発芽前に、標識化合物 を非標識オキサジアゾンで希釈した比放射能 $5.16 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ の水懸濁液を調製した。約 $2.6\text{kg}/\text{ha}$ （土壌1）あるいは約 $1.6\text{kg}/\text{ha}$ （土壌2）に相当する量を土壌全面に散布した。

別途、ポットに土壌を入れて播種し、発芽前に、標識化合物 を非標識オキサジアゾンで希釈した比放射能 $13.38 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ の水懸濁液を調製し、約 $1.8\text{kg}/\text{ha}$ に相当する量を土壌全面（土壌1及び土壌2）に散布した。

試料採取；

株間処理の試験では、播種2ヶ月後に、全面土壌処理の試験では播種後100日から130日に試料を採取した。

代謝分析；

試料をアセトン、塩化メチレンで順次抽出し、固形残渣をメタノール/水混液、塩化メチレンで抽出して、アセトン抽出物、メタノール抽出物、メタノール[酸]抽出物、水抽出物及び結合残留物を得た。これらを燃焼させて放射能を計測し、別途、カラムクロマトグラフ、カラム分離及び種々の溶媒系による薄層クロマトグラフで精製し、これを削り取ってメタノールに溶出させ、蒸発乾固後、メタノールに溶解させてガスクロマトグラフにかけ、さらに、質量を測定した。

結 果：

株間処理した大豆の茎葉部試料から得た各抽出物中の放射能測定したところ、アセトン抽出物中に検出された放射能は、植物体放射能全量の86.6%を占め、他の抽出物にみられた放射能はいずれも5%以下であった。試料中の残留化合物について検討した結果を表1に示す。

残留放射能の73.4%はオキサジアゾンであり、この他に

がそれぞれ検

出された。

表2に、土壌全面散布処理した大豆の茎葉部、さや及び種子中の残留化合物を示す。

さや及び種子中の残留放射能は微量(0.02 ppm 以下)であり、この内、オキサジアゾンは $17.0 \sim 28.2\%$ で、であった。

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

表1. 株間処理による大豆茎葉中の残留化合物

代謝物番号	濃度 * (ppm)	構成比 (%)
1 (オキサジアゾン)	3.13	73.4
非抽出物	0.16	3.7

* : オキサジアゾン換算値

表2. 全面土壌処理による大豆試料各部位中の残留化合物

代謝物番号	土壌 1						土壌 2					
	茎葉		さや		種子		茎葉		さや		種子	
	濃度 * (ppm)	構成比 (%)	濃度 * (ppm)	構成比 (%)	濃度 * (ppm)	構成比 (%)	濃度 * (ppm)	構成比 (%)	濃度 * (ppm)	構成比 (%)	濃度 * (ppm)	構成比 (%)
1(オキサジアゾン)	0.308	47.2	0.0059	28.2	0.0022	17.0	0.210	40.5	0.0041	22.4	0.0007	17.5
合計	0.652	100	0.0209	100	0.0129	100	0.518	100	0.0163	100	0.0040	100

* : オキサジアゾン換算値

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

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

(資料No. 運命-11)

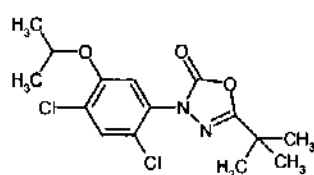
試験機関:

報告年: 2003年 [GLP]

供試標識化合物:

¹⁴C 標識オキサジアゾン (略称)

化学名 (IUPAC):



放射化学的純度: % (HPLC)

比放射能: 1954MBq/mmol

*: ¹⁴C 標識位置

供試土壌: 英国の Emperor 湖 (Derbyshire 州 Chatsworth) 及び Roding 川 (Essex 州 Ongar) から土壌 (底質) を採取した。採取した土壌について土壌分析を行った。Emperor 湖の土壌及び Roding 川の土壌について、その結果は次のとおりであった。

試験系		試験系 1 (Emperor 湖系)	試験系 2 (Ongar 系)
土壌採取地		Emperor 湖	Roding 川
土壌採取日 (年/月/日)		2002/7/25	2002/8/2
土壌分類	ADAS	砂壤土	埴壤土
	砂 (60~2000 μm)	74.07%	42.82%
	シルト (2~60 μm)	12.57%	26.58%
	粘土 (<2 μm)	13.34%	30.59%
	USDA	砂壤土	埴壤土
	砂 (50~2000 μm)	75.45%	45.50%
	シルト (2~50 μm)	11.19%	23.90%
	粘土 (<2 μm)	13.34%	30.59%
有機炭素含有量 (%)		4.0	2.7
有機物質含有量 (%)		6.89	4.65
カチオン交換容量 (meq/100 g)		15.1	22.0
pH	水	7.3	8.1
	KCl (1M)	6.8	7.8
	CaCl ₂ (0.01M)	6.6	7.7
微生物バイオマス (μg/g 土壌)	試験開始時	216	60
	試験終了時	121	52

試験方法:

試験温度: 20±2℃ (暗所)

プレインキュベーション期間: 10 日間

インキュベーションフラスコ (内径 6 cm) における土壌の厚さ:

試験系	土壌重量(乾燥重量)/水容量比	土壌層
Emperor 湖系	1:4.2	6.0 cm
Ongar 系	1:6.8	4.5 cm

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

試験系の調製：

2 mmメッシュの篩に通した各土壌及び 0.2 mmのフィルターで濾過した水を、インキュベーションフラスコに加えた。
プレインキュベーション期間及び試験期間中、土壌/水界面を妨害しないように加湿空気をインキュベーションフラスコに通気した。試験期間中、流出空気を「エチレングリコール」、「水酸化カリウム」、「分子篩」、「活性炭」及び「水」の各トラップに通過させ、揮発性代謝物を捕集した。

調製した試験系の一部インキュベーションフラスコを用いて、プレインキュベーション及び試験期間中の土壌の酸化還元電位、水の酸化還元電位、pH 及び溶存酸素濃度を測定した。

オキサジアゾンの試験容器への処理は、設定施用量を 750 g 有効成分/ha として行った。

分析試料（土壌及び水試料）の採取：

次に示す時点で各試験系から 2 反復のフラスコを採取した。

処理直後、処理後 1、3、7、14、28、42、57 及び 97 日

土壌及び水相の分離は、分配法（デカンテーション）により行い、得られた土壌及び水の分析は次のとおりであった。

水の分析

得られた水試料にジクロロメタンを加えて攪拌した後に静置し、二層が分離した後にジクロロメタン層を採取した。この抽出処理を数回繰り返した。それぞれ得られたジクロロメタン抽出液を併せた後に蒸発乾固させ、アセトニトリルで溶解した。放射能分析のため、このアセトニトリル溶液の一部及び水残渣の一部を採取し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

土壌の分析

処理後 42 日の土壌試料を除き、アセトンにより土壌を洗浄し、20 分間振とう及び 10 分間の遠心分離処理を行った。分配法により上澄み液を分離した後、土壌残渣について同じアセトン抽出処理を行った。得られた各上澄み液を併せ、放射能分析のために一部を採取した。処理後 42 日試料については、アセトン抽出に先立ちジクロロメタン抽出を行った。放射能の分析は、液体シンチレーションカウンターで行った。

非抽出性放射能の測定及び特徴付け

抽出終了後の土壌試料は、オキシダイザーにより燃焼させ、放射能を測定した。
抽出後に土壌に残存する非抽出性放射の特徴付けとして、処理後 97 日試料についてフルビン酸画分、フミン酸画分及びフミン画分への分配を行った。

揮発性物質捕集液の分析

液相トラップは、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。
固相トラップ（分子篩、活性炭）は、全体の回収率が処理量に対して 95% 以下であった場合に、粉末状として燃焼させて放射能を測定した。

代謝物の特徴付け/同定

ラジオ高速液体クロマトグラフィー（ラジオ HPLC）を用いて、代謝物のクロマトグラフ上での分離及び定量を行った。また、オキサジアゾン及びその代謝物について、液

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

体クロマトグラフィー/質量分析 (LC/MS) による同定を行った。

本試験の手順に関するフローチャートを次に示す。

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

結 果；

ブレインキュベーション及び試験期間中における試験系の環境条件：
測定した試験系の環境条件を表1に示す。

表1：試験系の環境条件

試験系	測定時期		上 壤		水		
			酸化還元電位	酸化還元電位	pH	溶存酸素濃度	
系 1	ブレインキュベーション終了時(*)		-238 mV	192 mV	7.16	98 %	
	試験の実 施期間中	平均値	-240.7 mV	187.3 mV	7.6	95.8 %	
		最高値	-152 mV	303 mV	8.23	104 %	
		最小値	-300 mV	117 mV	6.4	83 %	
系 2	ブレインキュベーション終了時(*)		-263 mV	151 mV	8.45	98 %	
	試験の実 施期間中	平均値	-237.0 mV	144.439mV	8.3	95 %	
		最高値	-159 mV	236 mV	8.8	105 %	
		最小値	-374 mV	69 mV	7.8	61 %	

(*) n=3の平均値、申請者が計算。

酸化還元電位から、土壌は嫌氣的条件下にあり、水相は好氣的条件下にあったことが示された。

施用量の確認：

実際の処理量は 748 μ g 有効成分/フラスコであり、設定施用量の 99.8%に相当した。

放射能の回収率及び分布：

両試験系（試験系1及び2）における放射能回収率及び分布を、表2（試験系1）及び表3（試験系2）に示す。

表2. 試験系1における放射能回収率及び分布（数値は、処理放射能に対する%、n=2の平均値）

インキュベーション 期間（日）	水			土 壤			揮発性 物 質	フラスコ 洗浄液 (DCM)	酸化還元 電位測定 端 子 洗 浄 液	合 計
	抽 出 放射能	残 渣	合 計	抽 出 放射能	燃 焼	合 計				
0	102.01	0.23	102.24	0.11	0.13	0.24	N/A	N/A	N/A	102.38
1	81.47	0.26	81.73	15.27	2.67	17.94	0.02	0.69	0.64	101.02
3	72.31	0.43	72.74	23.97	1.08	25.05	0.07	0.05	2.04	99.94
7	54.20	0.54	54.74	40.54	7.29	47.83	0.13	0.19	0.27	103.15
14	38.38	0.77	39.15	54.54	5.82	60.36	0.23	0.31	0.20	100.24
21	30.80	1.07	31.87	52.16	12.41	64.57	0.31	0.08	0.13	96.97
28	32.64	1.34	33.98	45.18	7.61	52.79	0.57	0.15	0.15	87.65
42	31.85	1.82	33.67	31.80	31.62	63.42	1.32	0.24	0.11	98.77
57	19.50	1.56	21.06	63.00	20.25	83.25	1.32	0.03	0.04	105.70
97	6.39	1.71	8.10	53.13	30.83	83.96	1.90	0.00	0.03	94.05
全体的回収率										99.0

DCM：ジクロロメタン、N/A：分析せず。

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

表 3. 試験系 2 における放射能回収率及び分布 (数値は、処理放射能に対する%、n=2 の平均値)

インキュベーション 期間 (日)	水			土壌			揮発性 物質	フラスコ 洗浄液 (DCM)	酸化還元 電位測定 端子 洗浄液	合計
	抽出 放射能	残渣	合計	抽出 放射能	燃焼	合計				
0	100.50	0.11	100.61	0.01	0.05	0.06	N/A	0.00	N/A	100.67
1	89.41	0.28	89.69	11.06	0.52	11.58	0.01	0.14	0.81	102.23
3	70.25	0.41	70.66	27.99	0.96	28.95	0.04	0.23	0.66	100.55
7	64.55	0.63	65.18	26.50	6.33	32.83	0.13	0.34	0.31	98.80
14	45.85	0.86	46.71	48.36	2.63	50.99	0.14	0.35	0.14	98.33
21	33.64	1.05	34.69	45.98	8.79	54.77	0.37	0.50	0.17	90.50
28	31.08	1.34	32.42	36.92	3.35	39.27	0.42	0.24	0.11	72.46
42	30.29	1.72	32.01	43.02	21.20	64.22	0.65	0.30	0.03	97.20
57	12.90	1.71	14.61	63.01	27.98	90.99	0.46	0.62	0.06	106.75
97	6.40	2.43	8.83	55.87	36.43	92.30	1.37	0.20	0.02	102.74
全体的回収率										97.4

DCM: ジクロロメタン、N/A: 分析せず。

両試験系における全体的回収率は良好であり、処理放射能に対して試験系 1 では 99.0%、試験系 2 では平均 97.4% が回収された。

インキュベーション第 0 日に水相から回収された放射能は、処理放射能に対して両試験系とも 100% 以上であったが、最終日 (第 97 日) には試験系 1 で 8.1%、試験系 2 では 8.8% まで減少した。

一方、水相から土壌に移行する放射能は増加し、土壌からの回収放射能は最終日 (第 97 日) に最高値となった (処理放射能に対して、試験系 1 : 84.0%、試験系 2 : 92.3%)。また、土壌の非抽出性画分 (燃焼画分) も増加し、処理放射能に対する最高値として試験系 1 では 31.6% (第 42 日)、試験系 2 では 36.4% (第 97 日) が認められた。

認められた揮発性物質は極めて少量であり、処理放射能に対する最高値として試験系 1 では 1.9% (第 97 日)、試験系 2 では 1.4% (第 97 日) が認められた。両試験系で認められた揮発性物質量が少なかったため、揮発性物質について特徴付けは行わなかった。また、固相トラップ (分子篩、活性炭) に捕らえられた放射能は、処理放射能に対して 0.1% 以下であった。

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

抽出性放射能成分：

抽出性放射能成分の経時的推移を、表 4（試験系 1）及び表 5（試験系 2）に示す。

表 4. 試験系 1 における抽出性放射能成分の経時的推移（数値は、処理放射能に対する％、n=2 の平均値）

インキュベーション 期間（日）	水			土壌			水／土壌系		
	親化 合物		合計	親化 合物		合計	親化 合物		合計
0	102.01		102.01	N/A		N/A	102.01		102.45
1	81.47		81.47	15.27		15.27	96.74		96.74
3	72.31		72.31	23.97		23.97	96.27		96.27
7	54.20		54.20	40.54		40.54	94.74		94.74
14	38.15		38.38	54.54		54.54	92.69		92.92
21	30.56		30.80	52.16		52.16	82.72		82.96
28	32.64		32.64	45.18		45.18	77.82		77.82
42	31.85		31.85	31.80		31.80	63.65		63.65
57	19.50		19.50	63.00		63.00	82.50		82.50
97	6.44		6.44	53.13		53.13	59.57		59.57

AE 0608021：代謝物番号 2、N/A：分析：分析せず。

試験系 1 の水相では、親化合物オキサジアゾン第 0 日の 102.0% から第 97 日の 6.4% へ減少した。が認められたが、97 日間

のインキュベーション期間中に処理放射能に対してはなかった。

また土壌では、オキサジアゾンのみが認められ、第 57 日に処理放射能に対して最高 63.0% が認められた。

水/土壌の総試験系において、親化合物オキサジアゾンは第 0 日の 102.01% から第 97 日の 59.6% へと減少した。認められた代謝物は、

であり、その生成量は処理放射能に対してはなかった。

表 5. 試験系 2 における抽出性放射能成分の経時的推移（数値は、処理放射能に対する％、n=2 の平均値）

インキュベーション 期間（日）	水			土壌			水／土壌系		
	親化 合物		合計	親化 合物		合計	親化 合物		合計
0	100.50		100.50	N/A		N/A	100.50		100.50
1	89.41		89.41	11.06		11.06	100.46		100.46
3	70.25		70.25	27.99		27.99	98.24		98.24
7	64.55		64.55	26.50		26.50	91.05		91.05
14	45.69		45.85	48.36		48.36	94.05		94.20
21	33.64		33.64	45.98		45.98	79.62		79.62
28	31.08		31.08	35.92		35.92	67.00		67.00
42	30.29		30.29	43.02		43.02	73.30		73.30
57	12.90		12.90	63.01		63.01	75.91		75.91
97	6.40		6.40	55.87		55.87	62.27		62.27

N/A：分析せず。

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

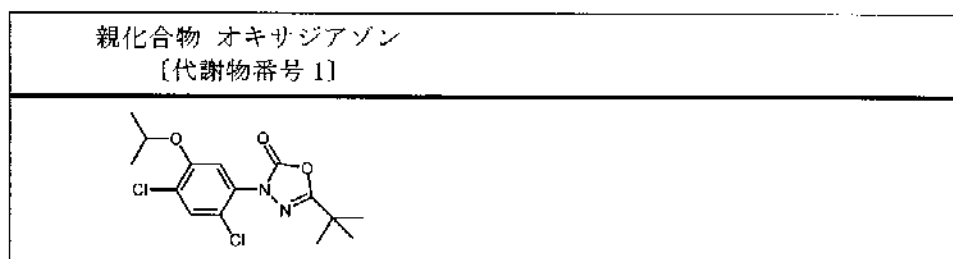
試験系 2 の水相では、親化合物オキサジアゾン[®]は第 0 日の 100.5% から第 97 日の 6.4% へ減少した。試験系 1 と同様に、¹⁴C が認められたが、97 日間のインキュベーション期間中に処理放射能に対してはなかった。

また土壌では、オキサジアゾンのみが認められ、第 57 日に処理放射能に対して最高 63.0% が認められた。

水/土壌の総試験系において、親化合物オキサジアゾンは第 0 日の 100.5% から第 97 日の 62.3% へと減少した。認められた代謝物は、その生成量は処理放射能に対してはなかった。

抽出性放射能成分の同定：

高速液体クロマトグラフィー及び液体クロマトグラフィー/質量分析の結果、親化合物オキサジアゾン及び¹⁴C の構造は次のとおり同定された。



非抽出性放射能の特徴付け：

土壌試料（第 97 日）の非抽出性放射能の内訳は、次のとおりである。

(n=2 の平均値、申請者が計算)

試験系	インキュベーション期間 (日)	処理放射能に対する%			
		非抽出性放射能の合計	フルベン酸分画	フミン酸分画	ヒューミン分画
1	97	30.85	2.2	14.85	13.75
2	97	36.5	4.85	5.1	26.55

オキサジアゾンの DT50 及び DT90：

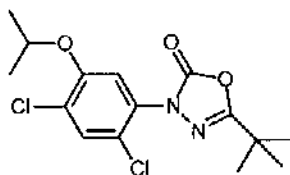
キネティックモデリングプログラム (KTM) を用いて算出したオキサジアゾンの DT50 及び DT90 は、次のとおりである。

		DT50 (日)	DT90 (日)
試験系 1	水	8.2	89
	水/土壌系	115	382
試験系 2	水	13.9	61
	水/土壌系	111	370

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

オキサジアゾンの代謝分解経路図：

好氣的湛水土壌中における、オキサジアゾンの想定分解経路図（申請者が作成）を次に示す。



オキサジアゾン

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

(2) 好気的土壌中運命試験

(資料No. 運命-12)

試験機関:

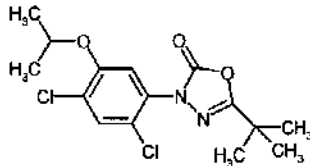
報告年: 2003年 [GLP]

供試標識化合物:

供試標識化合物:

¹⁴C 標識オキサジアゾン (略称)

化学名 (IUPAC):



* : ¹⁴C 標識位置

放射化学的純度: % (HPLC)

比放射能: 3.54MBq/mg

供試土壌: 次に示す英国土壌を用いて試験を実施した。用いた土壌の分析結果は次のとおりである。

土壌参照番号		01-01	01-02	01-03	01-06	
土壌採取地 (英国)		Ongar	Royston	Levington	Calke	
土壌採取日 (年/月/日)		2001/1/8	2001/1/10	2001/1/11	2001/2/22	
土 性 分 類	ADAS 及び USDA	埴壤土	埴壤土	砂壤土	砂壤土	
	砂	粗砂/極粗砂 (500 μm ~ 2mm)	7.96 %	5.38 %	14.59 %	5.63 %
		中砂 (250 μm ~ 500 μm)	7.06 %	2.99 %	30.02 %	7.20 %
		細砂 (106 μm ~ 250 μm)	12.19 %	4.66 %	24.38 %	47.58 %
		微砂 (63 μm ~ 106 μm)	6.22 %	7.04 %	4.37 %	9.57 %
	シルト	粗シルト (20 μm ~ 63 μm)	17.47 %	14.51 %	6.37 %	6.42 %
		細シルト (2 μm ~ 20 μm)	19.96 %	31.03 %	9.43 %	10.73 %
粘土 (< 2 μm)	29.14 %	34.40 %	10.83 %	12.87 %		
有機炭素含有量 (%)		2.0	4.1	1.3	3.3	
有機物質含有量 (%)		3.4	7.1	2.2	5.7	
容水量 (% w/w)		48.23	112.31	38.28	75.5	
カチオン交換容量 (meq/100 g)		18.1	45.3	3.8	23.0	
pH	脱イオン水	7.3	8.3	6.6	6.3	
	CaCl ₂ (0.01M)	6.7	7.1	4.7	6.2	
	KCl (1M)	7.1	8.2	4.5	6.2	
微生物 バイオマス	試験開始時	307	1120	112	383	
	試験終了時 (20°C)	250	966	74	303	
	試験終了時 (10°C)	分析せず	分析せず	分析せず	407	

試験方法:

試験温度: 各供試土壌につき、次の温度 (暗条件) で試験を実施した。

供試土壌 (参照番号)	埴壤土 (01-01)	埴壤土 (01-01)	砂壤土 (01-03)	砂壤土 (01-06)
試験温度	20°C	実施	実施	実施
	10°C	実施せず	実施せず	実施

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

試験系の調製：

試験の開始に先立ち、2 mmメッシュの篩に通した各土壌を対応する各インキュベーションフラスコに100 g（乾燥重量）分配し、試験条件下で平衡化させた。

設定用量 4.5 kg有効成分/ha として、 $[^{14}\text{C}]$ オキサジアゾン処理溶液をインキュベーションフラスコに処理した。また、処理確認溶液を用いて、フラスコへの実際の処理量（処理達成率）を測定した。

インキュベーション：

インキュベーションフラスコには、二酸化炭素を含まない加湿空気を通気した。また各土壌からの揮発性物質を「エチレングリコールトラップ」次いで「2M水酸化カリウムトラップ」で捕集した。インキュベーション期間中、必要に応じて脱イオン水を各試験土壌に添加し、土壌の水分含有量を最大容水量の約45%に保った。

試料採取：

各試験系から、次の日に試料及びトラップを除去して分析に供した。

処理後第0日（処理直後）、第14日、第28日、第57日、第84日〔砂壤土(01-06)のみ〕、第181日、第300日及び第365日

土壌試料の抽出処理：

土壌試料には、次の抽出処理を行った。

抽出処理 1：試料にアセトンを加えて攪拌し、遠心分離して上澄み液と土壌に分割した（アセトン抽出）。この手順を数回繰り返した。

抽出処理 2：上記の抽出1で得られた土壌に、メタノール/水混液（80/20, v/v）を加えて攪拌し、遠心分離して上澄み液と土壌に分割した（メタノール/水混液抽出）。

固相抽出 1：第14日に採取した試料について、アセトニトリル/水混液（80/20, v/v）による4時間の固相抽出処理を行った。

固相抽出 2：第365日に採取した試料について、ジクロロメタンによる4時間の固相抽出処理を行った。

揮発性放射性成分の測定：

用いたトラップのうち、水酸化カリウムトラップにのみ有意な放射能が含まれていたため、水酸化カリウムトラップについて、塩化バリウム及び炭酸ナトリウムによる二酸化炭素確認試験を行った。

土壌抽出物（抽出液）/抽出残渣の分析：

得られた全抽出物の放射能を、液体シンチレーション計測（LSC）により測定した。

また、抽出物中の放射性成分測定のため、順相薄層クロマトグラフィー（TLC）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）（第365日試料の抽出物のみ）、液体クロマトグラフィー/二重質量分析（LC-MS/MS）（第300日試料の抽出物のみ）による分析を行った。

抽出後の土壌残渣は、燃焼させて含まれる放射能を測定した。

非抽出性土壌残渣（結合型残留）の特徴付け：

第365日に採取した抽出済み土壌試料を用いて、非抽出性放射能のフルビン酸画分、フミン酸画分及びヒューミン画分への特徴付けを行った。

本試験で用いられた分析手順のフローチャートを、次頁に示す。

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

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

試験結果；

土壌への実際処理率：

第0日（処理直後）の土壌から採集された放射能に基づき計算された処理達成率は、次のとおりである。

[¹⁴C]オキサジアゾンの土壌への処理達成率（設定処理量に対する％）

供試土壌 (参照番号)	埴壌土 (01-01)	埴壌土 (01-02)	砂壌土 (01-03)	砂壌土 (01-06)
試験温度 20℃	93.14	98.46	93.94	94.11
10℃				96.22

放射能の回収率：

各土壌における経時的な放射能回収率を、表1（20℃）及び表2（10℃）に示す。

表1：20℃でインキュベートした各土壌における経時的放射能回収率

（表中の数値は、第0日（処理直後）に回収された放射能に対する％）

上 壤 (参照 番号)	放射性画分	処理後経過日数（日）								
		0	14	28	57	129	181	300	365	平均
埴壌土 (01-01)	揮発性放射能	n/a	0.12	0.32	0.56	0.62	0.63	1.68	0.43	/
	抽出性放射能	99.68	89.28	85.63	83.84	84.09	91.15	88.01	76.59	
	結合型残留	0.32	1.39	2.81	5.25	5.52	4.93	8.77	15.26	
	合 計	100.00	90.79	88.77	89.66	90.23	96.72	98.46	92.28	
埴壌土 (01-02)	揮発性放射能	n/a	0.60	1.48	1.98	5.19	1.23	6.41	4.71	/
	抽出性放射能	99.08	95.57	80.30	71.53	56.85	53.98	44.70	29.01	
	結合型残留	0.92	3.42	8.15	14.91	20.46	24.27	27.63	35.46	
	合 計	100.00	99.58	89.93	88.43	82.50	79.47	78.74	69.17	
砂壌土 (01-03)	揮発性放射能	n/a	0.20	0.47	0.77	0.53	0.83	0.20	0.22	/
	抽出性放射能	99.88	93.89	90.09	88.07	84.45	88.06	91.68	81.50	
	結合型残留	0.12	1.14	2.45	4.37	7.15	8.61	6.61	10.35	
	合 計	100.00	95.22	93.02	93.21	92.14	97.51	98.49	92.06	
砂壌土 (01-06)	揮発性放射能	n/a	0.22	0.02	1.35	1.01	0.62	2.68	1.85	/
	抽出性放射能	99.69	96.58	87.78	86.61	86.74	84.70	75.38	75.73	
	結合型残留	0.31	1.39	4.30	6.00	7.69	10.31	15.54	12.94	
	合 計	100.00	98.19	92.10	93.96	95.44	95.63	93.59	90.51	

n/a：分析せず、*：申請者が計算。

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

表 2：10℃でインキュベートした土壌における経時的放射能回収率
(表中の数値は、第 0 日 (処理直後) に回収された放射能に対する%)

土 壌 (参照 番号)	放射性画分	処理後経過日数 (日)								
		0	14	28	57	129	181	300	365	平均
砂 壤 土 (01-06)	揮発性放射能	n/a	0.10	0.21	0.24	0.16	0.14	0.24	0.68	/
	抽出性放射能	99.50	93.45	89.43	90.12	88.97	94.50	95.47	89.60	
	結合型残留	0.50	0.92	2.20	1.62	2.67	3.42	0.80	9.31	
	合 計	100.00	94.46	91.85	91.97	91.81	98.07	96.51	99.59	

n/a : 分析せず。

20℃でインキュベートした埴壤土 (01-01) 及び 2 種類の砂壤土 (01-03 及び 01-06) の放射能回収率 (平均値) は 90%以上であり、また 10℃でインキュベートした砂壤土 (01-06) の放射能回収率 (平均値) も 90%以上であった。

一方、20℃でインキュベートした埴壤土 (01-02) の放射能回収率は、平均値として 85.98%であり、また各採取時点における回収率が経時的に低下した。この埴壤土 (01-02) で認められた低放射能回収率を解明するため、20℃でインキュベートした砂壤土 (01-06) の第 84 日試料 (2 反復) について、抽出方法の比較を行った。即ち、オキサジアゾンは、ある種のプラスチックに固着することが知られているため、第 84 日試料の 1 反復は本試験で用いた方法で抽出を行い、他方はガラス容器及び濾紙を用いて抽出を行った。その結果、得られた回収率に顕著な差は認められなかった (下表)。

砂壤土 (01-06) 第 84 日試料を用いた抽出方法の比較

抽出方法	第 0 日 (処理直後) に回収された放射能に対する%			
	揮発性放射能	抽出放射能	結合残留	合計
通常	1.19	83.30	12.55	97.05
ガラス容器/濾紙使用	0.77	86.27	6.22	94.05 *

* : 濾紙を燃焼させて得た放射能を含む。

従って埴壤土 (01-02) で認められた低放射能回収率は、オキサジアゾンの容器への固着によるものではなく、恐らく揮発性放射能の不十分な捕集を含む各要因が合わさったことによると考えられた。

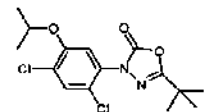
揮発性放射能成分の確認 :

水酸化カリウム捕集液中に認められた放射能は、放射性二酸化炭素であることが確認された。

抽出性放射能の組成 :

TLC 分析により得られた、抽出性放射能組成の経時的推移を表 3 (何れも 20℃) 及び表 4 (10℃) に示す。

また単一成分として認められた分解物の化学構造を以下に示す。

オキサジアゾン	
	

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

TLC 分析の結果から、20℃及び 10℃でインキュベートした各土壌抽出物では、何れもオキサジアゾンが主要成分であることが示された。

数種類の微量代謝物が認められたが、であった。
 少量の極性放射性物質が認められたが、その量は
 であった。また、20℃でインキュベートした 2 種類の埴壤土 (01-01 及び 01-02) において、未知物質が認められたが、であった。

表 3 : 20℃でインキュベートした土壌における抽出性放射能組成 (TLC 分析)

土 壌 (参照 番号)	処 理 後 経 過 日 数 (日)	抽出性放射能組成 (第 0 日に回収された放射能に対する%)	
		オキサジアゾン (代謝物 番号 1)	合 計
埴 壤 土 (01-01)	0	98.29	98.29
	14	89.07	89.28
	28	85.57	85.63
	57	79.69	83.84
	129	84.09	84.09
	181	86.16	87.82
	300	80.81	83.23
	365	69.73	72.79
埴 壤 土 (01-02)	0	99.08	99.08
	14	94.70	95.57
	28	80.16	80.30
	57	68.71	71.53
	129	56.85	56.85
	181	43.56	52.36
	300	38.68	42.50
	365	25.95	26.92
砂 壤 土 (01-03)	0	99.36	99.36
	14	93.46	93.54
	28	90.04	90.09
	57	85.45	88.07
	129	83.70	84.45
	181	83.70	85.32
	300	78.38	88.27
	365	74.03	74.48
砂 壤 土 (01-06)	0	99.69	99.69
	14	96.28	96.58
	28	87.72	87.78
	57	84.51	86.61
	129	86.74	86.74
	181	79.49	80.54
	300	69.34	69.69
	365	70.07	71.57

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

表 4：10℃でインキュベートした土壌における抽出性放射能組成（TLC 分析）

土 壌 (参照 番号)	処 理 後 経 過 日 数 (日)	抽出性放射能組成（第 0 日に回収された放射能に対する%）	
		オキサジアゾン (代謝物 番号 1)	合 計
砂壤土 (01-06)	0	99.30	99.50
	14	93.24	93.45
	28	89.32	89.13
	57	88.87	90.12
	129	88.97	88.97
	181	91.60	92.16
	300	89.30	92.44
	365	84.77	85.97

抽出性放射能成分の同定：

HPLC 及び LC-MS/MS 分析の結果、オキサジアゾンの構造が同定された。

非抽出性放射能の特徴付け：

第 365 日試料の非抽出性放射能の内訳は、次のとおりである。

土 壌（参照番号）	非抽出性放射能の特徴付け（第 0 日に回収された放射能に対する%）			
	フルビン酸画分	フミン酸画分	ヒューミン画分	合 計
埴壤土 (01-06)	2.6	4.4	6.0	12.9
砂壤土 (01-02)	1.8	25.1	8.6	35.5

オキサジアゾンの分解速度：

K I M プログラムを用いて算出した、オキサジアゾンの DT50 及び DT90 値は次のとおりである。

土 壌（参照番号）	土 壌 pH (CaCl ₂)	微生物バイオマス		試験 温度	適合モデル	DT50 (日)	DT90 (日)
		開始時	終了時				
埴壤土 (01-01)	6.7	307	250	20℃	一次速度式	699	2322
埴壤土 (01-02)	7.1	1120	966		一次速度式	166	549
砂壤土 (01-03)	4.7	112	74		一次速度式	747	2481
砂壤土 (01-06)	6.2	383	303		一次速度式	559	1858
		383	407	10℃	一次速度式	1365	4535

オキサジアゾン分解速度は土壌バイオマスの活性及び pH に相関性があると認められ、最も高い微生物バイオマスと pH を示した埴壤土 (01-02) で最も分解速度が早かった。また分解速度の顕著な温度依存性が認められ、砂壤土 (01-06) における 10℃の分解速度は 20℃の分解速度の約 2.3 倍遅くなった。

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

オキサジアゾンの分解経路：

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

(3) 嫌氣的土壤中運命試験

試験成績省略理由

オキサジアゾン水田においてのみ使用され、また水溶解度が 0.57 mg/L (10mg/L 以下) であることから土壤中における移動性が低いと考えられる。

従って、オキサジアゾンの嫌氣的土壤中運命試験を省略する。

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

4. 水中運命試験

(1) 加水運命分解試験

(資料No. 運命-13)

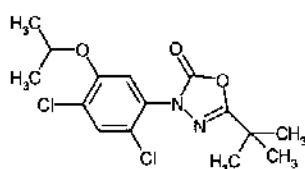
試験機関:

報告書作成年: 1991年

供試化合物:

¹⁴C 標識オキサジアゾン (標識体、略称)

化学名:



比放射能活性; 1.11GBq/mmol

放射化学的純度; %

供試水溶液:

pH	供試緩衝液
4	0.02 mol/L クエン酸緩衝液
5	0.02 mol/L クエン酸緩衝液
7	0.02 mol/L イミダゾール緩衝液
6	0.02 mol/L ホウ酸緩衝液

試験方法:

滅菌した各緩衝液99mlに、¹⁴C-オキサジアゾンのアセトニトリル溶液(0.05mg/ml)1mlを加え、遮光条件下25℃でインキュベーターに移し、この溶液1mlをアセトニトリル100mlで希釈した。この希釈液0.2mlについてシンチレーションを計測した結果、放射能含有量は1.53 kBq/ml=オキサジアゾン0.48μg/mlであった。

試験開始0(直後)、5、10、14、20、25及び31日後に試料を採取し、pHを確認後、放射能を計測した。各試料をジクロロメタン50mlを用いて抽出した後、再度ジクロロメタン25mlで抽出した。これらの抽出物を混合して体積を測定後、この混合物から0.2mlをとり、シンチレーションカクテルを加えてから放射能を計測した後、蒸発乾固させ、これをアセトニトリルに加え、水相の体積を測定し、放射能を計測した。

また、抽出物を2種類の系による薄層クロマトグラフィーで分析した。さらに、予想される分解生成物も並行して分析した。

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

結果：

滅菌処理後及び加水分解試験中にpHの著しい変化は認められなかった。

表1に各時点における放射能の回収率を示す。

試験したすべてのpHにおいて、放射能は抽出物にのみ存在し、水相にはほとんど認められなかった。

表1：ジクロロメタン抽出物及び水相の各時点における平均放射能回収率（%）

pH	画分	処 理 後 経 過 H 数						
		0	5	10	14	20	25	31
4	抽出物	104.8	96.7	97.3	96.2	92.5	96.0	93.8
	水相	0.1	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
5	抽出物	102.7	93.2	96.1	99.5	95.3	93.8	93.9
	水相	0.1	0	0.1	0.1	0	0.1	0.1
7	抽出物	99.1	99.1	97.0	96.0	97.6	97.5	94.6
	水相	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
9	抽出物	102.3	95.8	92.7	91.8	87.7	81.9	77.7
	水相	0	0.2	0.6	1.5	2.2	4.2	6.4

表2に薄層クロマトグラフィーによる分析の結果を示す。

オキサジアゾン[®]はpH 4、5及び7の条件下で31日後まで安定であり、分解生成物は検出されなかった。一方、pH 9では加水分解が認められ、

が起きたと推定された。

pH 9におけるオキサジアゾンの半減期(DT₅₀)は38日、速度定数 K=0.019日と算出された。主な分解生成物として

を占めた。他の分解生成物は

が確認され、31日後に最大であった。

の構造を以下に示す。

以上の結果から、オキサジアゾンはpH 4、5及び7の条件下では加水分解的に安定であり、一方、pH 9では推定半減期38日で分解した。主要分解生成物は、

であった。他の分解生成物は
の生成量であった。

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

表2. 各時点におけるTLCピーク及び放射能活性の分布(%)平均値

pH	TLC系*	TLC ピーク	Rf値 分布(%)	処 理 後 経 過 日 数						
				0	5	10	14	20	25	31
4	1	A	Rf値 分布(%)	0.65 100	0.67 100	0.70 100	0.68 100	0.64 100	0.68 99.73	0.70 100
		2	A	Rf値 分布(%)						
5	1	A	Rf値 分布(%)	0.63 100	0.66 100	0.71 100	0.68 100	0.64 100	0.68 100	0.69 100
		2	A	Rf値 分布(%)						
7	1	A	Rf値 分布(%)	0.64 100	0.70 100	0.64 100	0.70 100	0.67 100	0.67 100	0.69 100
		2	A	Rf値 分布(%)						
9	1	A	Rf値 分布(%)	0.67 100	0.71 87.36	0.63 86.50	0.70 85.80	0.68 72.75	0.68 72.03	0.68 53.25
	2	A	Rf値 分布(%)		0.33 93.64	0.34 84.13	0.34 86.44	0.35 65.67	0.34 70.76	0.34 49.98

ピークA: オキサジアゾン

*: 薄層クロマトグラフィー 系1
系2

空欄は測定せず。

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

加水分解経路図：

pH 9におけるオキサジアゾンの加水分解経路図を示す。

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

(2) 水中光分解運命 (滅菌緩衝液中の光分解運命試験)

(資料No. 運命-14)

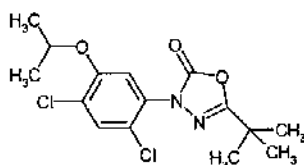
試験機関:

報告書作成年: 1991年

供試化合物:

^{14}C - 標識オキサジアゾン (標識体、略称)

化学名;



比放射能活性; 1.11GBq/mmol

放射化学的純度; %

供試水:

脱イオン水を精製、濾過した水を用いて調製した20mMクエン酸緩衝液を滅菌し、pH 5に調整した。

なお加水分解運命試験(資料No. 運命-7)の結果から、pH 5は加水分解の影響を受けないことが知られていることから、このpHを選択した。

光源:

光源として、Hanau Suntest CPS 苛酷暴露装置(Xenon lamp)を用い、290nm未満の波長を除去したスペクトル分布が自然太陽光にきわめて近い紫外線可視光を得た。

光強度は400W/m²とした。(測定波長範囲: 250~1100nm)とした。

試験方法:

試験手順;

滅菌した緩衝液99mlを光化学反応容器(光の入射面は石英製)にとり、アセトニトリルを用いた50μg/mlの供試化合物溶解液1mlを反応容器に加えた。したがって、インキュベート試料中の供試化合物濃度は、光照射区及び暗所対照区でいずれも0.5 μg/ml、アセトニトリルの濃度は1%であった。

試料のインキュベーション;

温度条件は25±1℃に保持した。

揮発性光分解物及び¹⁴CO₂を捕集するため、各光分解試料上部空間にCO₂を除去した加湿空気を流し、一連の各捕集用トラップ(エチレングリコールモノメチルエーテル×1、2N水酸化ナトリウム(NaOH)×2、2N硫酸×1、2gのXAD-4樹脂×1)に通した。

試料分析; 試料採取時間;

キセノンランプ照射開始後0、5、16、26及び42時間に試料を採取した。暗所対照試料は照射の42時間後にのみ採取した。

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

抽出操作；

各サンプルはジクロロメタンで抽出した。また水層はpH1に調整後、ジクロロメタン/イソプロパノールで抽出し、さらに酢酸エチルで抽出した。抽出溶媒はTLC、LSC及びHPLCで分析し、構造については質量分析器を用いた。

結 果：

緩衝液のpHは滅菌後及び光照射後、いずれも4.98～5.04の範囲内であった。トラップに回収された放射能回収率を表1に、全体の放射能収支を表2に、緩衝液中のオキサジアゾン濃度推移を表3にそれぞれ示す。

表1. トラップ(連続して捕集)に回収された放射能回収率

(光化学反応容器内の初期放射能活性に対する%、n=2の平均値)

トラップ\経過時間 (hr)	光照射区		
	16	26	42
エチレングリコール	0.00	0.01	0.02
2N 水酸化ナトリウム	1.49	3.10	6.64
2N 硫酸	0.00	0.00	0.00
XDA-4樹脂	0.00	0.00	0.00
合 計	1.49	3.10	6.66

表2. 全体の放射能収支(光化学反応容器内の初期放射能活性に対する%)

経過時間(hr)	光 照 射 区					暗所対照
	0	5	16	26	42	42
トラップ(計)	—	0.24	1.49	3.10	6.66	—
有機溶媒抽出	98.25	97.30	90.43	75.34	67.20	99.78
水層	0.02	1.64	5.58	11.84	16.32	0.02
合計	98.27	99.18	97.50	90.28	90.18	99.80

表3. 緩衝液中のオキサジアゾン濃度推移；

経過時間(hr)	0	5	16	26	42
オキサジアゾン %	98.68	84.16	59.76	42.46	25.57

これらの結果から、オキサジアゾンの水中光分解半減期(DT50)は次のとおり算出された。

	キセノンランプ条件下	北緯35度、春期(4~6月)太陽光条件下
DT50	21.2 時間	2.62 日

光分解物についてTLC、HPLC及びMSで同定し、初期放射能活性に対する%を計算した結果を表4に、推定光分解経路を図1に示した。

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

表4. 処理48時間後における同定された代謝物の放射能活性

相	放射能活性*	代謝物	放射能活性*
NaOHトラップ	6.6		
水相	16.3		
有機溶媒** 総抽出物	67.2		
有機溶媒 抽出物中の 極性代謝物	37.6		

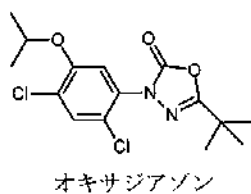
* : 初期放射能活性に対する%

暗所対照試料では、42時間後にオキサジアゾンの分解は認められなかった。

本試験の結果、環境中では光がオキサジアゾンの主要な分解要因と考えられた。

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

図1：オキサジアゾンの水中光分解経路 (pH 5 滅菌緩衝液)



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

(3) 水中光分解運命試験 (自然水)

(資料No. 運命-15)

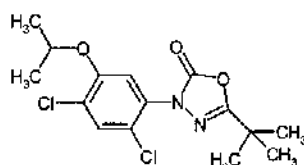
試験機関:

報告書作成年: 2004年 [GLP]

供試化合物:

¹⁴C 標識オキサジアゾン (標識体、略称)

化学名:



比放射能活性: 5.63MBq/mg(152.25 μ Ci/mg)

放射化学的純度: % (HPLC)

試験水: 滅菌自然水

[採取場所: Rescarvoir池 (英国Essex州Ongar, Fyfield Road)、採取年月日: 2004年3月9日、pH 8.2、溶存酸素: 飽和濃度の98%]
設定濃度としてオキサジアゾン0.3mg/l、共存溶媒としてアセトニトリル0.5%v/vを含む。

光源及び光強度

光源: キセノンランプ

光強度: 測定した光強度の測定結果を次に示す

測定波長 [nm]	光強度 [W/m ²]
290~800	377.9

試験方法:

試験装置: Suntest CPS+

試験系: 本試験系は光照射区と非照射区 (暗所対照区) から構成されている。

① 光照射区

試験温度: 25 \pm 2 $^{\circ}$ C

試験容器: ガラス製 (但し、光の入射面は石英製)

光照射: キセノンランプを組み込んだHaraeus Suntest CPS+から、光(290nm以下の波長を除去)において144時間にわたって連続的に照射した。この照射期間は、春期太陽光 (東京、北緯35度) の32日間に相当する。

② 暗所対照区

試験温度: 25 \pm 1 $^{\circ}$ C

試験容器: ガラス製、容器は黒いプラスチックで遮光した。

光照射区および暗所対照区の試験装置には、二酸化炭素を除去した空気を通気させた。また、揮発性分解生成物の捕集のため、トラップ (捕集溶液: 2M水酸化カリウム) を光照射区及び非照射区の試験装置に接続した。

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

試料採取：光照射開始後の次の時点で、光照射区及び暗所対照区の試験水及び接続した捕集溶液（水酸化カリウム）を採取した。

	照射開始後							
	0 時間	4 時間	24時間	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日
光 照 射 区	○	○(*)	○(*)	○(*)	○	○	○	○
暗所対照区	○	×	×	×	○	×	×	○

○：試料及び捕集溶液を採取、×：試料及び捕集溶液を採取せず。

(*)：一反復のみを採取した。その他の時点では、二反復採取した。

採取した試験水及び捕集溶液の分析

採取した試験水及び捕集溶液中の放射能を、液体シンチレーションカウンターにより測定した。試験水中の成分組成に関しては、認証済み参照物質を用いた¹⁴C-高速液体クロマトグラフィー（HPLC）による特徴付け、液体クロマトグラフィー/質量スペクトロスコーピー（LC-MS/MS）により同定を行った。

また、HPLCで認められた溶出領域（極性領域：保持時間0～5分及び5～10分）については、更に薄層クロマトグラフィーまたは塩化バリウム添加による二酸化炭素沈殿法により分析した。

滅菌状態の確認：滅菌状態の確認は、各時点での採取試料の一部を栄養培地で7日間培養し、コロニー生育の有無を調査して行った。

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

試験結果：

物質収支：表1に、光照射区及び暗所対照区における物質収支（放射能回収率）を示す。

表 1：光照射区および暗所対照区における放射能回収率

採取時点	処理放射能に対する%					
	光照射区			暗所対照区		
	試験水	捕集溶液	回収率	試験水	捕集溶液	回収率
0時間	100.53	n/a	100.53	100.53	n/a	100.53
4時間(*)	100.26	0.00	100.26	/	/	/
24時間(*)	96.78	0.03	96.81			
2日(*)	95.02	0.30	95.31			
3日	91.19	0.71	91.90	97.11	0.00	97.11
4日	94.05	1.09	95.14	/	/	/
5日	94.02	0.63	94.65			
6日	90.49	2.27	92.76			
	平均回収率		95.56	平均回収率		97.76

数値はn=2の平均値、但し(*)はn=1, n/a：分析せず。

各採取時点の光照射区及び暗所対照区における放射能回収率は、処理放射能に対していずれも90%以上であった。

少量の揮発性放射能が、光照射区の捕集溶液に認められた（処理放射能に対して3%以下）。暗所対照区では、捕集溶液中に認められた揮発性放射能は痕跡量（処理放射能に対して0.00～0.02%）であった。

HPLCにおける放射性成分の構成および定量：

HPLC分析により得られた試験水中における光照射区および非照射区の放射能成分について、その構成および生成量をそれぞれ表 2及び表 3に示す。

表 2：光照射区の試験水中における放射性成分の構成及び定量

採取時点	処理放射能に対する%		
	試験水中の 総放射能		オキサジ アゾン
0時間	100.53		100.29
4時間(*)	100.26		98.51
24時間(*)	96.78		73.96
2日(*)	95.02		40.60
3日	91.19		42.09
4日	94.05		16.16
5日	94.02		27.61
6日	90.49		25.95

数値はn=2の平均値、但し(*)はn=1, n/a：分析せず。—：検出されず

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

表 2に示されるとおり、オキサジアゾン¹は光照射区において速やかに減少し、照射開始後6日間で処理放射能に対して25.95%となった。

オキサジアゾンは、光分解を受けて多岐にわたる分解生成物を生じた。光分解生成物は、

であった。

表 3：暗所対照区の試験水中における放射性成分の構成及び定量

採取時点	処理放射能に対する%			
	試験水中の 総放射能		オキサジアゾン	
0時間	100.53		100.29	
3日	97.11		86.60	
6日	95.63		80.24	

数値はn=2の平均値、RRT：相対保持時間

暗所対照区（表 3）では、

が認められた。この分解生成物は

と認められた。

光照射区の

の確認：

とも、いずれも照射開始後

行った。

LC-MS/MSによる同定：

LC-MS/MSを用いた分析の結果、試験水中のオキサジアゾンが同定された。

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

滅菌状態の確認：

光照射区及び暗所対照区とも、滅菌状態が維持されていたことが確認された。

オキサジアゾンの分解速度：

一次速度反応式から算出した、オキサジアゾンの自然水中における光分解50%消失期間 (DT50) 並びに90%消失期間 (DT90) を下表に示す。また合わせて北緯35度における春期太陽光条件下の消失期間も示す。

	本試験条件下	春期太陽光条件下 (北緯35度)
DT50 (日)	2.21	12.09
DT90 (日)	7.35	40.20

以上の結果、オキサジアゾンは自然水中において速やかに光分解され、
された。

オキサジアゾンの自然水中における光分解経路図を以下に示す。

オキサジアゾンの自然水中における光分解経路図

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

5. その他

(1) 土壌吸着性試験

(資料No. 環-1)

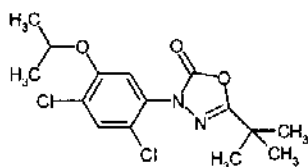
試験機関:

報告書作成年: 1991年

供試化合物:

オキサジアゾン

化学名; 5-ターシャリーブチル-3-(2,4-ジクロロ-5-イソプロポキシフェニル)-
1,3,4-オキサジアゾリン-2-オン



供試土壌:

土壌No.	I	II	III	IV
採取場所	上川農試	石川植防	植調岡山	日植防宮崎
土性	軽埴土	軽埴土	埴壤土	砂壤土
砂%	44.0	45.8	60.3	73.2
シルト%	30.4	25.6	21.3	13.5
粘土%	25.6	28.6	18.4	13.3
有機炭素含有率 (%) アリソン式重量法	4.67	1.22	2.29	1.49
pH				
H ₂ O	5.8	6.8	6.4	6.0
KCl	5.4	5.7	5.6	5.5
陽イオン交換容量 me/100g	22.0	24.9	13.9	8.3
リン酸吸収係数	1140	800	530	490
粘土鉱物の種類	カオリン鉱物 クロライト モンモリナイト	イライト モンモリナイト	カオリン鉱物 モンモリナイト	カオリン鉱物 パーミキュライト

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

試験方法：

本試験は「OECD試験指針-106-吸着／脱着」に基づき実施した。

平衡化試験：

純品一定量を 0.01M塩化カルシウム溶液で希釈し、0.508ppm溶液として試験溶液を調製した。

あらかじめ遠沈管内に試験土壌(風乾細土) 5gを秤取り、純水 5mlを加え、一夜放置した。試験溶液20mlを遠沈管内に加えて密栓後、恒温槽(25±1℃)内で 4、6、8、16及び24時間振とうした。振とう終了後、恒温槽より試料を取り出し、3000 rpmで15分間遠心分離した。上澄液の適当量を分取し、ヘキサン抽出後、ガスクロマトグラフィー(N-P FID)で定量する。

高次試験：

純品一定量を 0.01M塩化ナトリウム溶液に溶解して 0.453ppm溶液を調製し、試験溶液とした。この試験溶液(0.453ppm)及び試験溶液を0.01M塩化カルシウム溶液で希釈して調製した希釈液(0.362、0.181及び0.136ppm)を試験に使用した。

あらかじめ遠沈管内に試験土壌(風乾細土) 5gを秤取り、純水 5mlを加え、一夜放置した。上記4濃度の試験溶液20mlを、それぞれ遠沈管内に加えて密栓後、恒温槽(25±1℃)内で6時間振とうした。振とう終了後、恒温槽より試料を取り出し 3000 rpmで15分間遠心分離した。上澄液より適当量を分取し、ヘキサンで抽出後、ガスクロマトグラフィー(N-P FID)で定量した。

物質収支：

0.453ppm試験溶液を添加した遠沈管内の残土をアセトンで抽出後、ヘキサンに転溶した。フロリジルカラムクロマトグラフィーで精製し、ガスクロマトグラフィー(N-P FID)で土壌中のオキサジアゾン量を求め、高次試験で求めた水層中の濃度から物質の収支を求めた。

結 果：

結果の概要は以下の通りであった。

平衡化時間； 6時間

物質収支；濃度約1.0ppmの試験では

I 106%、II 97.4%、III 95.9%、IV 99.9%

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

吸着等温試験；

土壌 No.	土性	定数項 ¹⁾ 1/n	吸着平衡 定数 K	相関係数 r	有機炭素 含有率 OC%	有機炭素 吸着係数 Koc'
I	軽埴土	1.35	226	0.931	4.67	4840
II	軽埴土	0.944	41.8	0.997	1.22	3430
III	埴壤土	0.949	62.3	0.996	2.29	2720
IV	砂壤土	0.912	26.6	0.988	1.49	1780
		Koc=5770	a ²⁾ = -50.4	r=0.981		

¹⁾ Freundlichの吸着等温式による定数項 ²⁾ 切片

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

(2) 生物濃縮性に関する試験

魚類濃縮性試験

(資料 No. 環-2)

試験機関：

報告書作成年：1985年

被験物質： オキサジアゾン原体 () (%)

供試生物： コイ (Cyprinus carpio)

一群各 20 匹、平均体長 9.5cm、平均体重：23.5g、平均脂肪含有率：4.5%

方法： 暴露条件は流水式とし、100L 容水槽にコイ 20 匹 (飼育開始時) を入れ、5.82 回/日の流量で管理した。試験水温は 25±2°C とした。暴露期間 (取り込み期間) は 8 週とし、引き続き 7 日間の排泄期間を設けた。

試験濃度は、高低濃度区それぞれ 20 及び 2 µg/L に設定した。被験物質 1g 当たり 50g の HCO-40 を用いて分散させた。

魚体中の被験物質濃度測定は両濃度区とも取り込み期間中は試験開始後 2、4、6 及び 8 週日の計 4 回、排泄期間中は排泄期間 1、3 及び 7 日目の計 3 回実施し、1 回当たりの分析試料数は 2~3 点とした。水中の被験物質濃度測定は暴露期間中毎週 2 回、計 16 回実施した。

結果： 試験期間中、魚の外観に異常は認められなかった。

暴露期間中の魚体中被験物質濃度、各試料採取時までの平均水中濃度およびこれらから計算した採取時期毎の濃縮倍率は以下のとおりであった。

試験区			2週	4週	6週	8週	平均*
高濃度区	魚体中濃度 (µg/g)	個体別	6.59 2.31	1.66 4.52 14.8	11.5 12.6	7.25 3.48	—
		平均	4.45	6.99	12.1	5.36	—
	平均水中濃度 (µg/L)		18.0	18.5	18.9	18.9	—
	濃縮倍率	個体別	366 128	89.8 244 802	614 674	384 184	—
平均		247	379	641	284	388	
低濃度区	魚体中濃度 (µg/g)	個体別	0.550 1.14	0.169 0.983 0.312	0.368 0.883	0.679 0.273	—
		平均	84.5	0.488	0.625	0.476	—
	平均水中濃度 (µg/L)		1.46	1.51	1.57	1.62	—
	濃縮倍率	個体別	377 780	110 638 202	234 562	419 169	—
平均		579	317	398	294	397	

*申請者注：魚体中の被験物質濃度に関して、個体毎の変動と採取時期による変動との比較により、何れの濃度区とも 2 週目には定常状態に達していると判断された。濃縮倍率は 2~8 週時の平均で示した。

排泄期間中の魚体中平均被験物質濃度は下表の通りであった。暴露 8 週時の魚体中被験物質濃度を 100 とした場合 1 日目で既に 50% を下回っており、半減期は 24 時間以内と考えられた。

試験区	1 日目	2 日目	7 日目
高濃度区	0.443(8.4)	0.717(13.4)	nd(-)
低濃度区	0.068(14.2)	0.059(12.4)	nd(-)

単位：µg/g () 内は 8 週目の魚体中被験物質濃度を 100 とした場合の残留量。

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

(参考資料)

土壌中の¹⁴C-オキサジアゾンの残留及び代謝 (温室条件下)

(資料No. 参考1)

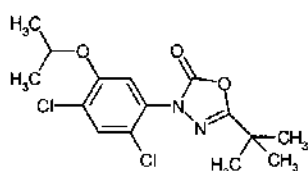
試験機関:

報告書作成年: 1977年

供試化合物:

¹⁴C 標識オキサジアゾン (標識体)

化学名:



比放射能活性; 25.87mCi/mmol, 13.376 mg/mCi

供試土壌: 分析値を以下に示す。

pH; 水中 7.2、 KCl溶液中 6.0

酢酸ナトリウム (pH4.8) による抽出される両分中の量 (mg/L);

カリウム 28、 マグネシウム 54、 カルシウム 1650、 マンガン 4.1

リン酸 (P₀₄) 4.2

貯蔵性のリン酸 (2%クエン酸溶液中、 土壌中の量); 24mg/L

土壌中の含有量;

炭酸カルシウムとしての炭酸塩 0.3%

有機炭素含有量 2.9%

重量構成比;

粘土 23%、 シルト 16%、 微細な砂 27.8%、 砂 15%、 粗い砂 15%

試験方法:

標識体を非標識オキサジアゾンで希釈し、オキサジアゾンとして1.70 mg/ml及び46 mg/mlの水懸濁液を調製して、これらの水懸濁液約8 mlをそれぞれトレイ (27×27×10cm)内の土壌に散布した。散布量はオキサジアゾンとして、約1.8kg/ha及び5kg/haとなる。処理後、土壌は温室中に保存し週2回散水した。所定の時期に、直径4cmの垂直シリンダーを用いて土壌150 gを採取した。試料中の処理量は計算上、オキサジアゾンとしてそれぞれ218 μg及び589.9 μgとなる。各土壌試料について液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。また、試料を各種溶媒で抽出・分配の後、赤外線吸収スペクトル及びTCL、GCにより、別途合成した既知代謝物の標準品と比較して同定した。

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

結 果：表 1 及び図 1 に各時点における土壌試料中の代謝物分布を示す。

供試土壌中のオキサジアゾン半減期は約 6 ヶ月で、処理後 18-24 ヶ月で約 90% が分解された。処理 520 日以降 (5 kg/ha 処理土壌) あるいは 610 日以降 (1.8 kg/ha 処理土壌) は回収率が低下し、これは分解物の したこと及び土壌から微量の処理液が徐々に浸出してトレイ底面に沈殿したことによると考えられた。

試料の抽出物中に、一覧表に示した代謝物番号 の代謝物が同定され、この他、 が存在した。いずれの試料採取時点において であった。

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

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

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

(参考資料)

土壌中のオキサジアゾンの残留と代謝

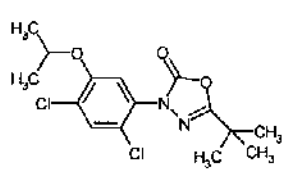
(資料No. 参考2)

試験機関:

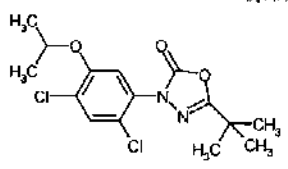
報告書作成年: 1976年

供試標識化合物 (* 標識位置)

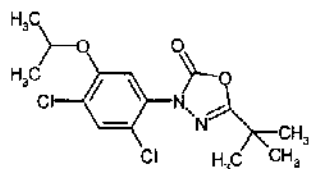
- ¹⁴C標識体 (略称)
(比放射能: 1.8mCi/mmol)
(放射化学的純度:)



The structure shows a 2-chloro-4-(2-chloro-5-isopropoxyphenyl)-5-isopropyl-1,3,4-oxadiazol-5-one. The isopropoxy group is labeled with ¹⁴C.
- ¹⁴C標識体 (略称 OXA-5)
(比放射能: 42mCi/mMol)
(放射化学的純度:)



The structure is identical to the first one, but the ¹⁴C label is on the 5-position of the oxadiazole ring.
- ¹⁴C 標識体 (略称 PHE-U)
(比放射能: 0.57mCi/mmol)
(放射化学的純度:)



The structure is identical to the first one, but the ¹⁴C label is on the phenyl ring.

供試土壌: 土壌の土性については記載なし。ただし水田土壌は埼玉県白岡で採集した土壌。

試験方法: オキサジアゾン()をポット内の水田土壌中に散布し、残留放射能を1年間にわたって調査した。また、水田圃場において、5年間の反復処理によるオキサジアゾンの蓄積性について検討した。さらに、ピーカー内の水田土壌と畑土壌中にオキサジアゾンを処理して分解速度を比較した。

処理後所定の期間に試料を採取し、各種有機溶媒で抽出・分配した後、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定し、また、土壌試料を有機溶媒で抽出し、合成標準品とのクロマトグラフィーによって代謝物を同定した。さらに、分解経路を想定するため、3種の標識検体()を、分解速度が水田条件より速い畑地条件下の土壌に1.2ppm添加して、処理後30日間の残留放射能を測定した。

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

結果：表1に土壤試料中の抽出可能な放射能の割合を示す。土壤中に残存した放射能の90%以上が有機溶媒によって抽出された。

表1. 土壤試料中の抽出可能な放射能の割合

処理後経過時間 (月)	試料中の放射能(ppm)		抽出物/燃焼物 (%)
	燃 焼 物	溶媒抽出物	
1	1.00	0.98	98
2	0.75	0.67	90
6	0.39	0.37	95

ポット内の水田土壤に処理した標識検体の残存放射能及びオキサジアゾンの減衰を図1及び図2に示す。放射能活性及びオキサジアゾンは緩やかに減少した。放射能活性は処理3ヵ月以内に約50%が消失し、オキサジアゾンは処理2.5ヵ月後に50%減衰に到達した。

図1. 残存放射能活性(dpm)

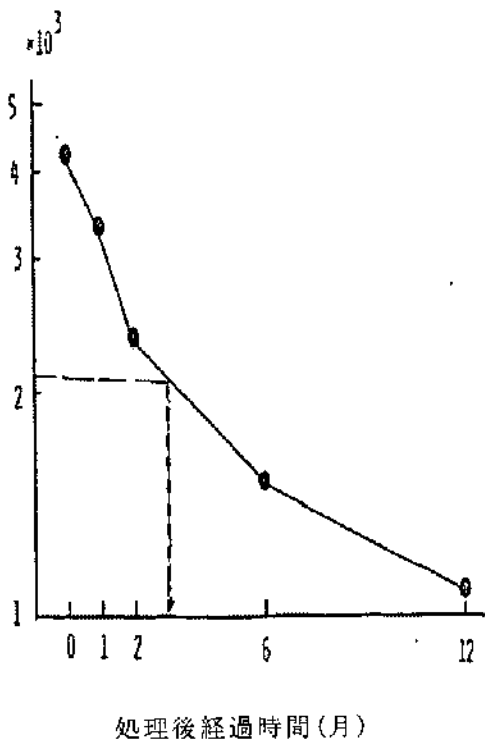
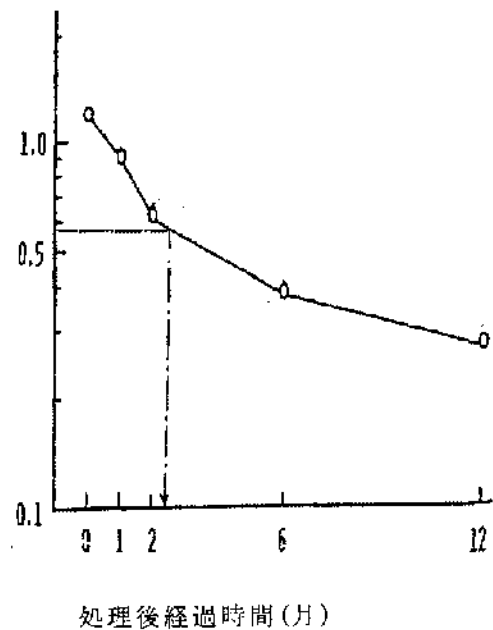


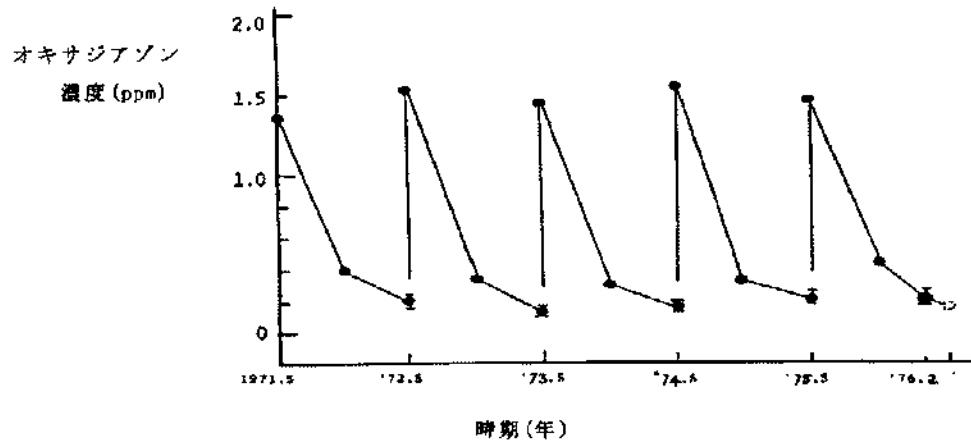
図2. オキサジアゾン残存量(ppm)



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

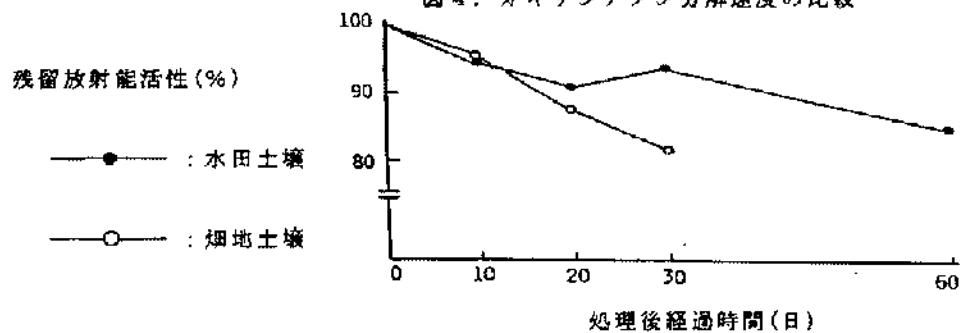
水田圃場に5年間反復処理し、オキサジアゾンの蓄積性について検討した結果を図3に示す。減衰パターンは各年とも類似しており、増加する傾向はみられなかった。したがって、本剤を連用しても土壤微生物へ影響を及ぼさないとみられる。

図3. 5年間反復処理によるオキサジアゾンの蓄積性



次に、オキサジアゾンの分解速度について、水田条件及び畑地条件でピーカー内での試験を実施した結果を図4に示した。オキサジアゾンは、水田条件より畑地条件で速く分解した。

図4. オキサジアゾン分解速度の比較



代謝分解物の同定は主にコクロマトグラフィーで実施した。標識化合物()処理30日後までの土壤試料中代謝物を表2に示した。土壤中に残存する供試化合物由来の化合物はほとんどがオキサジアゾンであり、代謝物の量はわずかであった。

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

表 2. 標識化合物()処理の土壌試料中代謝物分布

化合物\処理後日数	放射能活性の分布(%)					
	水田土壌			畑地土壌		
	10	20	30	10	20	30
1(オキサジアゾン)	96.8	96.6	96.8	95.7	94.0	94.2

代謝経路を検討する試験の結果、オキサジアゾンの減衰量は、 の減少量が最も大きく、次いで の順となった。
と推察された。

生成量は の順に多かった。
したがって、

と考えられる。想定代謝経路を図6に示す。

これらの結果から、標識オキサジアゾンを土壌に処理後、残存化合物の90%以上は有機溶媒に抽出され、オキサジアゾンの代謝分解は緩やかで、処理した放射能の50%以上は3ヵ月以内に土壌から消失した。土壌中に残存した放射能の90%以上はオキサジアゾンであり、

と考えられた。

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

図6. 想定分解経路

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

(参考資料)

シジミに対する濃縮性試験

(資料 No. 参考 3)

試験機関：

報告書作成年：1983 年

被験物質： オキサジアゾン原体

供試生物： マンジミ (*Corbicula leana*)

一群各 10 個、平均軟体部重量 0.42g、平均殻長 2.1cm、平均脂質含量 2.2%

方法： 暴露条件は流水式とし、100L 容水槽に供試生物を入れ、5.82 回/日の流量で管理した。試験水温は $25 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。暴露期間 (取り込み期間) は 6 週とし、引き続き 14 日間の排泄期間を設けた。

試験濃度は、高低濃度区それぞれ 20 及び $2 \mu\text{g/L}$ に設定した。被験物質 1g 当たり 50g の HCO-40 を用いて分散させた。

取込期間は 1、2、4 及び 6 週目に、排泄期間中は 1、3、7 及び 14 日目に貝体および水中の被験物質濃度を測定した。各検査時期において、貝体は 10 個を 1 群として各濃度区より 2 群ずつ取出し、殻を除いた軟体部のみを分析した。

結果： 暴露期間中の貝体中被験物質濃度、各試料採取時までの平均水中濃度およびこれらから計算した採取時期毎の濃縮倍率は以下のとおりであった。何れの濃度区とも 2 週以降定常状態に達していると判断されるため、2~6 週の平均により各濃度区の平均濃縮倍率を算出した。

試験区			1 週	2 週	4 週	6 週	平均 (2-6 週)
高濃度区	貝体中濃度 ($\mu\text{g/g}$)	個別別	9.67	11.1	16.1	15.6	—
		平均	11.4	10.3	11.6	11.2	—
	平均水中濃度 ($\mu\text{g/L}$)		21.9	20.9	21.1	20.8	—
	濃縮倍率	個別別	441	533	763	749	—
平均		519	492	552	539	—	
低濃度区	貝体中濃度 ($\mu\text{g/g}$)	個別別	1.30	2.12	2.23	2.44	—
		平均	1.55	2.26	2.53	1.69	—
	平均水中濃度 ($\mu\text{g/L}$)		1.43	2.19	2.38	2.07	—
	濃縮倍率	個別別	1.93	1.88	1.88	1.88	—
平均		676	1130	1190	1300	—	
		平均	803	1200	1340	899	—
		平均	740	1165	1265	1100	1177

*申請者注：高濃度区では 4-6 週、低濃度では 2-6 週で濃縮性に関し定常状態に達したと判断されたため、平均濃縮倍率は高濃度区については 4-6 週、低濃度区については 2-6 週の平均値で示した。

排泄期間中の貝体中平均被験物質濃度は下表の通りであった。高濃度区の方が排泄速度がやや大であるが、排泄半減期は 2~5 日であると考えられた。

試験区	1 日目	3 日目	7 日目	14 日目
高濃度区	7.87(58.8)	5.63(42.0)	1.54(11.5)	0.63(4.71)
低濃度区	1.54(74.4)	1.33(64.3)	0.60(29.2)	0.27(13.0)

単位： $\mu\text{g/g}$ () 内は 6 週目の貝体中被験物質濃度を 100 とした場合の残留量。

代謝分解のまとめ

オキサジアゾンの哺乳動物、植物、土壤中及び水中での代謝・分解の要約は次のとおりであり、代謝分解経路図を運命-93頁に、結果の概要を運命-94頁に示す。

動物体内運命

オキサジアゾンの動物体内運命試験は、ラットに¹⁴C-オキサジアゾンを投与して検討された（資料No. 運命-3）。また非標識オキサジアゾンをラット（資料No. 運命-1）及びイヌ（資料No. 運命-2）に1g/kg/日の用量で5日間投与し、代謝物の検討も行われている。

ラットに単回経口投与された¹⁴C-オキサジアゾンの94～95%が投与後7日間に尿及び糞中に排泄された。低用量（5mg/kg）単回経口投与による糞への排泄は雄で73%及び雌で37%であり、この大部分は胆汁排泄によるものであった。また低用量単回経口投与による尿への排泄は、雄で22%及び雌で58%であり、主排泄経路は雄が糞及び雌が尿であった。一方、高用量（200mg/kg）単回経口投与後の排泄は雌雄とも主として糞であり、糞への排泄は雄で77%及び雌で53%であった。高用量単回投与時の尿排泄は雄で17%及び雌で42%であった。

消化管内吸収率は低用量で約100%、高用量（200mg/kg）で70～79%と推定された。

血液中濃度は低用量で雌雄とも投与の2時間後、高用量で雌：24時間～雄：29時間後に最高（C_{max}）となり、半減期はそれぞれ雄7.5～雌9時間、雄17～雌26時間であった。

低用量及び高用量投与時の最高血中濃度到達時点（t_{max}）またはその近辺である投与2時間後及び24時間後に、血漿中の代謝物が検討された。なお高用量群では投与96時間後にも血漿中代謝物の検討が行われた。

低用量群では、雌雄ともt_{max}である投与2時間後に血液中放射能の約75%（雌）～約80%（雄）が水溶性物質に代謝され、投与後96時間でも血漿中放射能の大部分が水溶性物質として認められた。一方、高用量群の各測定時点では、雌雄とも水溶性物質の比率が低用量群と比して低く、また未変化物（親化合物）の割合が雄と比して雌で高かった。しかしながら、投与96時間後の雌雄では、血漿中放射能の90%以上が水溶性物質として認められた。

臓器組織中の分布については、投与1日後における肝臓及び脂肪中の濃度は他の臓器組織より高かったが、投与7日後には明らかな減少傾向が認められた。また、肝臓に分布する¹⁴Cのほぼ全量が であったため、肝臓粗蛋白質画分への有意な取り込みは認められなかった。この結果より、オキサジアゾン及びその代謝物はDNAへの共有結合性を有しないと考えられた。

吸収されたオキサジアゾンは比較的早く代謝され、用量及び性別にかかわらず主代

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

謝経路は

であった。また一部は を受け
て代謝された。

(資料No. 運命-3)

またイヌに1g/kg/日の用量で非標識オキサジアゾンを5日間強制経口投与した試験において、ラットと同じ代謝物が認められた。

(資料No. 運命-2)

植物体内運命

オキサジアゾンの植物体内運命試験は、稲(資料No. 運命-4~運命-6)及び大豆(運命-7~10)を用いて検討された。

稲体においては、オキサジアゾンは接触した部分より吸収されるとともに、根からも吸収され、処理7日後には吸収された放射能の約54%が茎葉部へ移行した。収穫時の濃度は玄米で0.01ppm以下(0.0034~0.0099ppm)、藁で0.74~1.14ppm、もみ殻で0.022~0.045ppmであった。処理2ヶ月後の茎葉部における放射能活性の83%がオキサジアゾンであり、根では93%がオキサジアゾンであった。収穫時の玄米については、放射能活性の22%がオキサジアゾンであり、他に
を占めた。

代謝経路については、

と考えられた。

(資料No. 運命-4~運命-6)

大豆においても、オキサジアゾンは根から吸収され茎葉部に移行した。土壌処理後33日では処理量の0.5~1.6%が大豆植物体(茎葉、子葉、胚軸、根)に認められた。成熟大豆では、吸収された放射能の90%以上が茎葉部に存在し、莢及び子実における残留は微量であった。

(資料No. 運命-7~運命-10)

土壌中運命

オキサジアゾンの土壌中運命試験として、好氣的湛水土壌中運命試験(資料No. 運命-11)及び好氣的土壌中運命試験(資料No. 運命-11)が実施された。

2種類の好氣的湛水土壌(砂壤土及び埴壤土)におけるオキサジアゾンの分解は緩慢であり、DT50値は115日(砂壤土)及び111日(埴壤土)であった。

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

試験期間（最長97日間）を通じて、

であった。

一方、土壌結合型残留の経時的な増加が認められた。

（資料No. 運命-11）

4種類の土壌（埴壤土2種類及び砂壤土2種類）を用いて行われた好氣的土壌中運命試験において、オキサジアゾンの土壌中分解は供試土壌により変動し、DT50値は165日～747日と算出された。

オキサジアゾンの好氣的土壌での分解には、土壌微生物バイオマス及び土壌pHが大きく関与していると認められ、また温度にも依存性が認められた。

好氣的土壌中運命試験において、

好氣的湛水土壌中運命試験と同様に土壌結合型残留の経時的な増加が示された。

（資料No. 運命-12）

水中運命

オキサジアゾンの水中運命試験として、加水分解運命試験（資料No. 運命-13）及び水中光分解運命試験（資料No. 運命-14及び運命-15）が実施された。

加水分解運命試験では、pH 4、5及び7において分解は認められず、pH 9においてのみ分解が認められた。pH 9におけるDT50値は38日であり、

が認められた。

（資料No. 運命-13）

滅菌緩衝液を用いた水中光分解運命試験では、オキサジアゾンの光分解DT50値（キセノンランプ条件）は21.2時間であった。

光分解物として代謝物番号 が同定され、

となった。

（資料No. 運命-14）

また滅菌自然水を用いた水中光分解運命試験では、オキサジアゾンの光分解DT50値（キセノンランプ条件）は2.21日であった。滅菌緩衝液を用いた水中光分解運命試験（資料No. 運命-14）とは異なり、

は認められなかった。

（資料No. 運命-15）

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

土壌吸着性及び生物濃縮性

4種類の国内土壌を用いた土壌吸着性試験の結果、オキサジアゾンの有機炭素吸着係数（ K_{oc} '）は1780～4840であった。

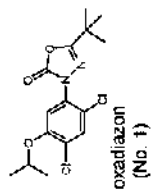
（資料No. 環-1）

またコイに対する生物濃縮性試験の結果、水中濃度20 μ g/lでは BCF_{ss} =90～802（平均388）、水中濃度2 μ g/lでは BCF_{ss} =110～780（平均397）であった。

（資料No. 環-2）

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

代謝分解経路図



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

代謝・分解の概要

代謝・分解物 番号	1	合計
動物体内		
糞	36.3	71.17
尿	0.05	16.04
乳汁	69.03	12.32
ト脂肪(濃度)	(0.05)	
大		
葉(濃度)	(13000)	
尿(濃度)	(20)	
糞	93.1	100.0
植物体内		
茎葉	83.0	100.0
葉	78.0 (0.129~ 0.479) (濃度ppm)	100.0 (0.164~ 0.597)
もみ殻	32.6 (濃度ppm)	100.0 (0.022)
玄米	22.0 (濃度ppm)	91.4 (0.004)
大豆茎葉	73.4 (濃度ppm)	96.9 (4.10)
好氣的 微生物		
砂壌土	21DAT 82.72	84.41
97DAT	59.57	92.30
培養土	21DAT 79.62	89.78
57DAT	62.27	100.07
埋塚	57DAT 79.65	89.65
土 1	300DAT 89.81	93.75
好氣的 土壌 (20℃)		
埋塚	57DAT 68.71	88.42
土 2	300DAT 38.68	82.68
砂壌	57DAT 85.45	90.59
土 1	300DAT 78.33	98.83
砂壌	57DAT 84.51	91.86
土 2	300DAT 69.34	85.18
加水分解		
pH	5.1~7	100.0
pH	9	100.0
水中光 分解		
細菌培養液 (42時間後)	18.5	85.9
自然水 (5日後)	25.95	92.76

動物、土壤、加水分解及び水中光分解の値は「短期放射能(μCi)」に対する比率(%)、ラットの糞及び尿は、200mg/kg投与後1日間の試料(糞)、乳汁は200mg/kg投与後18時間の試料(糞)、植物の糞は最終放射能残留に対する比率(%)、飼料部及び茎葉部は投与後2ヶ月の値であり、葉、もみ殻及び玄米は収穫時の値である。

オキサジアゾンの開発年表

	1966	1970	1974	1978	1982	1986	1990	1994	1998	2002	2004	2006
化合物資料												
特許												
物理的・化学的性質												
水産動植物影響試験												
農作物等												
毒性												
運命												
製造												