

(12) 繁殖毒性および催奇形性

スピロメシフェンのラットの繁殖性に及ぼす影響

(毒性資料 No. 原体-20)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2002年2月14日

検体の純度：

- 試験動物：ウイスター(Crl(Wi)WU BR)系ラット，1群雌雄各25匹，  
投与開始時5～6週齢(平均体重-雄：189g，雌：123g)
- 投与期間：P世代；投与開始からF1児の離乳時までの約18週間，  
F<sub>1</sub>世代；離乳時からF2児の離乳時までの約20週間  
(2000年12月～2001年10月)

投与方法：

ラット用標準飼料に検体を0、30、120および500ppmの用量になるように添加し動物に自由に摂取させた。

用量設定の根拠；

交配・調整・選抜および観察・検査項目：概要を表1にまとめた。

材料および方法

[親動物]

1. 一般状態および死亡率；

全検査期間に一般状態および生死を毎日観察した。また週の最初のケージ交換時に詳細な検査を行った(一般状態、行動、被毛、天然孔、排泄物)。妊娠期間中には0、7、14 および 20 日に、哺育期間中には0、4、7、14、21 および 28 日に検査を行った。

2. 体重、摂餌量および検体摂取量；

交配前期間は雄についてはP世代で17週(16週；精子検査動物)、F1世代で20週(19週；精子検査動物)まで毎週体重を測定した。雌についてはP世代で11週、F1世代で19週まで毎週体重を測定した。妊娠中は妊娠0、7、14 および 20 日に、出産後は0、4、7、14、21 および 28 日に測定した。

摂餌量については雄では両世代共に解剖するまで毎週測定した。雌では両世代共に交配前期間および妊娠期間中の摂餌量の測定は毎週行った。哺育期間中には摂餌量の測定をしなかった。摂餌量をもとに検体摂取量を算出した。

3. 発情周期の判定；

PおよびF1世代の雌全例において、交配前期間の最後の3週間から交尾が確認されるまで毎日膣垢塗抹を行い評価した。

4. 交配および妊娠の確認；

雌雄1対1で同居させた翌朝、膣塗抹標本作製し、膣栓あるいは精子を検査することにより交尾を確認した。

5. 繁殖性に関する指標；

$$\text{交尾率 (\%)} = \frac{\text{精子が確認された雌動物数}^*}{\text{雄と同居させた雌動物数}} \times 100$$

$$\text{受胎率 (\%)} = \frac{\text{妊娠した雌動物数}}{\text{精子が確認された雌動物数}^*} \times 100$$

$$\text{養育率 (\%)} = \frac{\text{離乳時まで同腹児を育てた雌数}}{\text{出産した雌数}} \times 100$$

$$\text{出産率 (\%)} = \frac{\text{生存児を有する雌動物数}}{\text{妊娠した雌動物数}} \times 100$$

$$\text{出生率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{出生時生存児数}}{\text{総新生児数}} \times 100$$

$$\text{4日生存率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{4日目の調整前の生存児数}}{\text{出生時生存児数}} \times 100$$

$$\text{哺育率 (\%)}^{\S} = \frac{\text{3/4週間後における生存児数}}{\text{4日目の生存児数(調整後)}^{**}} \times 100$$

\* 精子が確認されなかった妊娠雌を含む。

\*\* 調整時に死亡した瀕死の新生児は除外した。

§ 各群の指標の算出は母動物平均に基づく。

6. 臓器重量の測定；

計画屠殺時に脳、下垂体(固定後)、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、甲状腺(固定後)、子宮、精のうおよび凝固腺、前立腺、精巣上体(左側)、精巣および卵巣の臓器重量測定をに行った。

7. 剖検；

PおよびF1世代の母動物については、それぞれF1又はF2新生児を離乳後、二酸化炭素で麻酔し放血屠殺後、肉眼的に剖検した。子宮を硫化アンモニウムで染色し、着床痕を算定して記録した。

PおよびF1世代雄はその後の処理に必要ではなくなったときに二酸化炭素で麻酔し放血屠殺後、剖検した。

8. 病理組織学的検査；

P および F1 動物の 0ppm および 500ppm 群については、以下の臓器を病理組織学的検査に供した。

副腎、肝臓、脾臓、下垂体、甲状腺(上皮小体を含む)、気管と食道、十二指腸、空腸、回腸、腎臓、膣、子宮、卵巣、卵管、凝固腺、精のう、前立腺、精巣上体、精巣および肉眼的異常部位

尚、甲状腺(上皮小体を含む)、副腎、子宮、膣、肝臓、気管および食道については、両世代ともに低用量および中用量のラットについても検査した。

また F1 雌については卵胞のステージ、黄体数について調べた。

9. 精子検査；

P および F1 世代の 0、500ppm 群の精巣上体の精子の数、運動性、生存能力、形態および精巣ホモジネート液中の精子細胞数について調べた。

[児動物]

1. 児動物の記録；

出生時、産児数、死産児数、生存児数、外表異常の有無、性、体重を測定した。

生存児については、生後 4 日、7 日、14 日、21 日、28 日に生存数を数えた。

これらの時点に個体別体重、臨床症状を記録した。明らかな奇形が認められた場合には記録した。

2. 性成熟の観察；

次世代用に選定した全ての F1 離乳児について、包皮分離(分娩後 38 日以降)および膣開口(分娩後 28 日以降)が達成されるまで観察し、その達成週齢を記録した。

3. 臓器重量の測定；

計画屠殺時に各腹の最初の雌雄の離乳児について、体重並びに脳、脾臓、胸腺並びに子宮(F2 のみ)重量を測定した。

4. 剖検；

腹児数を削減するために選択した児動物は、分娩 4 日後に二酸化炭素で屠殺した。また分娩後 28 日に以後の投与に用いない離乳児を二酸化炭素で麻酔し頭部を脱臼させることにより屠殺した。屠殺した全児動物について剖検した。

表 1. 概要

世代	期間(週間)	交配・調整・選抜	観察・検査項目
P	生育(11 週間) (交配前)		一般状態の観察(毎日), 詳細な観察(毎週) 体重および摂餌量の測定(毎週), 発情周期の判定(交配前 3 週から毎日) 交配状況の観察
	交配 (最長 3 週間)	雌雄 1 対 1 で交配。 膣栓又は膣塗抹による精子の確認(妊娠 0 日)	
	妊娠(3 週間)		一般状態の観察(毎日), 詳細な観察 (0, 7, 14, 20 日), 体重測定(妊娠 0, 7, 14, 20 日), 摂餌量測定(毎週)
	出産.....	.....	出産状況の観察 新生児数, 死亡児数, 性比の算定、新生児 の体重測定と外表の観察
	哺育(4 週間)	出産後 4 日目各同腹児数 を雄 4 匹、雌 4 匹に調整	<u>親動物</u> 一般状態の観察(毎日), 詳細な観察 (0, 4, 7, 14, 21, 28 日) 体重測定(出産 0, 4, 7, 14, 21, 28 日) <u>新生児</u> 一般状態の観察(毎日), 詳細な観察および 体重測定(出産 0, 4, 7, 14, 21, 28 日) 生存数, 死亡数, 性比(出産 0, 4(調整前 後), 7, 14, 21, 28 日) 出産後 4 日目に淘汰された新生児の異常の 観察, 剖検 雄親動物の精子検査
.....	.....	親動物および継代用以外の児動物の剖検 <u>親動物</u> 病理組織学的検査, 臓器重量測定(脳、下垂体、肝臓、腎臓、副 腎、脾臓、甲状腺、子宮、精のう(凝固腺含)、 前立腺、精巣上体、精巣、卵巣)	
.....	.....	継代用の各群雌雄 25 匹ず つ 25 腹から無作為に選抜	<u>離乳児</u> 性成熟の観察[包皮分離(出産後 38 日から毎 日), 膣開口(出産後 28 日から毎日)達成され るまで観察] 継代用以外の児動物について剖検, 臓器重量測定(脳、脾臓、胸腺) (P 世代に準ずる)
F1	生育(13 週間) 交配 (最長 3 週間) 妊娠(3 週間) 出産..... 哺育(4 週間) ..... 離乳.....	(P 世代に準ずる)      (F <sub>1</sub> 世代に準ずる)	(P 世代に準ずる)      (F <sub>1</sub> 世代に準ずる)
F2			親動物(F1)および児動物(F2)の剖検, 臓器重量測定(脳、脾臓、胸腺、子宮)

結果

概要を表5に示した。

[親動物に対する影響]

1. 臨床所見および死亡率

P世代、F1世代共に雌雄ラットには、500ppmまで検体に関連した外観、健康状態又は行動に及ぼす影響は認められなかった。また死亡した動物は認められなかった。

2. 体重(図1, 図2)

P世代において、雄では対照群と比較して、最高500ppm群でも体重に影響は認められなかった。一方雌では、体重は120ppm群まで影響を受けなかったが、500ppm群では、特に哺育期間において体重が有意に低下(哺育期間第14日(第18週)では最高-15%)していた。

F1世代では雄の120ppm群以上で有意かつ用量依存的な増体重の減少が認められ、その変化は第15週または16週に最高(120ppm:-7.2%、500ppm:-17.8%)であり、500ppmで強い影響がみられた。一方雌では120ppm群で、主として交配前の期間中にわずかな(約5%)体重の低下が認められた。500ppm群では体重の著明な低下がみられ、哺育期間第14日(第20週)に最高で19%の減少が認められた。30ppm群では雌雄共に体重に有意な変化は認められなかった。

図1. P世代

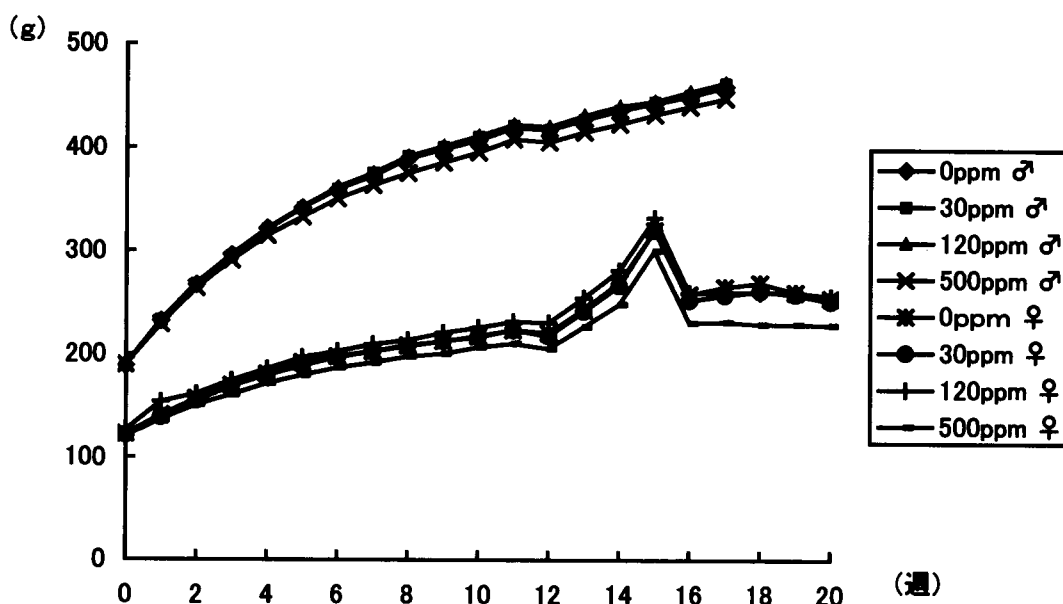
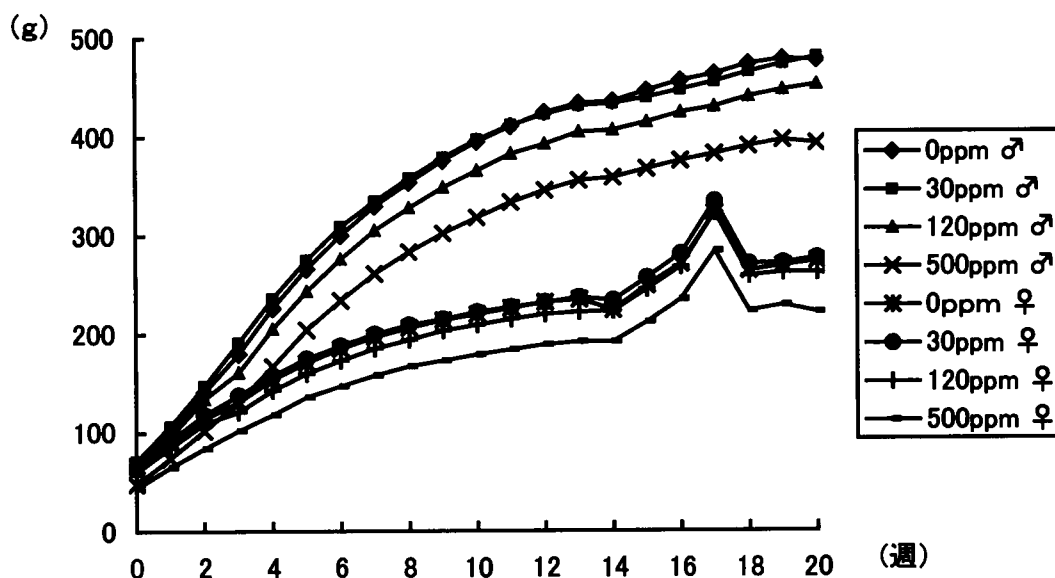


図 2. F1 世代



3. 摂餌量および検体摂取量(表 2)

P 世代では雌雄共に最高 500ppm まで、摂餌量に毒性学的に問題となる変化は認められなかった。

F1 世代では個体当たりの 1 日摂餌量は、対照群に比較して 500ppm 群まで雌雄共に顕著な差は認められなかった。一方 kg 体重当たりの 1 日摂餌量は、500ppm 群では、体重の減少に関連して対照群よりも増加した。

表 2 検体摂取量(mg/kg 体重/日)[交配前期間]

	雄			雌		
用量(ppm)	30	120	500	30	120	500
P 世代	2.2	8.8	36.6	3.8	14.2	64.2
F1 世代	3.3	13.2	76.2	4.6	18.0	90.9

4. 発情周期の判定(表 3)

P 世代では 120ppm 群まで発情周期に対する有害作用は認められなかった。500ppm 群では 19 日間の平均発情周期回数がわずかではあるが統計学的有意に減少した。しかし、F1 世代の発情周期回数に影響がみられていないことや、両世代の発情周期日数に変化がみられていないことから、偶発的な変動と考えられた。

F1 世代ではいずれの投与群でも発情周期に対する有害な影響は認められなかった。

表3 発情周期の評価

P 世代			
用量 (ppm)	平均発情周期 日数 <sup>d</sup>	19 日間に認められた 発情周期の平均回数 <sup>d</sup>	規則的な発情周期が みられた雌数/検査 雌数 <sup>f</sup>
0	4.34	3.46	23/24
30	4.58	3.04	23/23
120	4.66	3.20	24/25
500	4.61	↓2.88	22/24
F1 世代			
0	4.55	3.24	23/25
30	5.13	3.12	23/25
120	4.43	3.16	25/25
500	4.63	3.33	22/24

d: Dunnett's Test, f: Fisher's Exact ↓ = p < 0.05

### 5. 繁殖能

P 世代、F1 世代共に交尾率、受胎率、および出産率、ならびに平均妊娠期間に関して、対照群と 500ppm 群を含む全ての検体投与群の間に毒性学的に意味のある差は認められなかった。

### 6. 臓器重量(表 4)

P 世代では 120ppm あるいは 500ppm 群の雌では、脾臓の実重量および対体重比が有意に減少した。尚、120ppm 雌群の脾臓重量の差(10%未満)は非常に小さな変動であったため、投与の影響を示すものとは考えられない。これは、F1 世代雌の 120ppm 群で再現されなかったことから確認できると思われる。更に 500ppm 群の雌では、甲状腺、脳および腎臓の対体重比重量が対照群に比較して有意に増加した。これらは、体重減少による二次的なものと考えられるが、甲状腺の重量増加は、病理組織学的検査において 500ppm 群でろ胞細胞肥大が認められていることから、検体の影響も否定できない。その他の臓器重量については、顕著な、あるいは用量依存的な変化は認められなかった。

F1 世代では、30ppm 群では臓器実重量または対体重比重量に顕著な変化は認められなかった。尚この投与群でみられた統計学的有意性は、いずれについても用量依存性がないので意味がないものと考えられた。120ppm 群以上の雄または 500ppm 群の雌では、脾臓の実重量が有意に減少した。また、500ppm 群では、雄で肝臓の実重量の減少と甲状腺の対体重比重量の増加がみられ、雌では肝臓の対体重比重量が増加した。500ppm 群における他の数種の臓器(下垂体、副腎、腎臓、精巣、精巣上体、前立腺、精のう)の重量、120ppm 群以上での脳重量に変動がみられたが、これらは体重の著しい低下による二次的な影響であると評価された。120ppm



群で認められたその他の統計学的に有意な臓器重量の変化は、その差がごくわずかなものであり、また明らかに用量相関的ではなかったため、そのすべてが偶発的な変動であり、投与に関連したものではないと考えられた。

表 4 臓器重量 (有意差の認められた項目)

世代		P 世代					
性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		30	120	500	30	120	500
体重							↓92
脳	対体重比						↑108
下垂体	対体重比					↓83	
甲状腺	対体重比						↑125
肝臓	対体重比	↑105					
脾臓	実重量					↓93	↓80
	対体重比					↓91	↓87
腎臓	対体重比						↑106
精のう	実重量		↓90		/	/	/
	対体重比	↓91	↓89		/	/	/
世代		F1 世代					
性別		雄			雌		
体重			↓94	↓83		↓95	↓83
脳	実重量	↑105	↑103	↓95			↓94
	対体重比		↑111	↑115			↑113
下垂体	対体重比			↑100			↑120
副腎	実重量	↓80	↓85				↓88
	対体重比	↓82		↑118			
甲状腺	実重量		↑118				
	対体重比		↑150	↑150			
肝臓	実重量			↓85			
	対体重比						↑113
脾臓	実重量		↓90	↓85			↓79
腎臓	実重量			↓93			↓92
	対体重比			↑112			↑111
精巣	対体重比			↑118			
精巣上体	実重量	↓85	↓83				
	対体重比	↓85	↓89	↑112			
前立腺	実重量		↓87		/	/	/
	対体重比			↑116	/	/	/
精のう	対体重比			↑134			

↑↓ : p<0.05 , ↑↓ : p<0.01 (Dunnett+variance) ,  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

7. 剖検(表 6)

P 世代および F1 世代および雌雄共に 500ppm 群まで有意な肉眼的変化は認められなかった。また剖検中に数えた子宮の着床部位について対照群と投与群を比較した場合、P 世代および F1 世代共に、着床痕数と出産した児動物数との間に用量に関連した変化認められなかった。従って投与群に出産前の胚損失の増加は認められなかった。

表 6 着床部位の評価

世代	P 世代				F1 世代			
	0	30	120	500	0	30	120	500
項目/(ppm)								
着床数	278	271	265	268	256	282	277	302
新生児数 (出産時)	251	255	258	248	214	260	252	273
出産前胚損失 (一腹平均)	1.13	0.67	0.32	0.87	2.00	0.96	1.09	1.16

8. 病理組織学的検査(表 7, 表 8)

P 世代

500ppm 群の雌では、甲状腺のろ胞細胞の肥大を示した例、ならびにコロイドの変化(凝集)を示した例がわずかに増加した。同群雄でも同様の傾向が認められたが、雌ほど明瞭ではなかった。雌雄の生殖器系臓器/組織については、対照群と投与群の間に検体に関連した差は認められなかった。また、雌の発情周期の分布は、全動物群において正常な生理的範囲であった。

F1 世代

P 世代と同様に 500ppm 群の雌では、甲状腺のろ胞細胞の肥大を示す動物数が増加し、コロイドの変化もわずかに増加した。また雄では甲状腺に対する影響は比較的弱く、ろ胞細胞の肥大がみられた動物数のごくわずかに増加し、コロイドの変化(凝集)の発現頻度が増加した。肝臓では 500ppm 群の雌において、小葉中心性の肝細胞肥大の発現頻度の増加がみられた。生殖器系の検査では雌雄共に検体に関連した影響はみられなかった。F1 世代の場合にも、雌の発情周期の分布は、全動物群について、正常な生理的範囲内であった。一方、500ppm 群では卵巣の原始卵胞数\*にわずかな増加が認められ、母動物で体重増加抑制などがみられているように、一般状態不良などの全身性の影響による検体の二次的な影響と考えられた。

\*申請者注：申請者は発育卵胞、成熟卵胞に生物学的に意味のある変動はないこと、繁殖成績にも変動は認められなかったことから、卵巣の原始卵胞数のわずかな増加は偶発的な変化とも考えた。しかしながら、検体の二次的は影響を完全には否定できないと考え、試験責任者の判断に従うものである。

表 7. 主な病理組織学的所見

所見	用量 (ppm)	雄				雌			
		0	30	120	500	0	30	120	500
P 世代									
甲状腺	検査数	25	25	25	25	25	25	25	25
ろ胞細胞肥大		7	8	8	11	4	3	0	9
コロイドの変化		15	12	14	19	5	0	3	11
肝臓	検査数	25	25	25	25	25	25	25	25
小葉中心性肝細胞肥大		0	0	0	0	0	0	0	0
F1 世代									
甲状腺	検査数	25	25	25	25	25	25	25	24
ろ胞細胞肥大		0	1	0	4	0 <sup>++</sup>	0	0	7 <sup>**</sup>
コロイドの変化(凝集)		9 <sup>+</sup>	12	11	19 <sup>**</sup>	3	0	2	7
肝臓	検査数	25	25	25	25	25	25	25	25
小葉中心性肝細胞肥大		0	0	0	0	0 <sup>+</sup>	0	0	4
卵巣	検査数					25	25	25	25
原始卵胞数						316.96	316.44	309.72	371.52 <sup>‡</sup>

+;p<0.05, ++;p<0.01(傾向検定;Amitage 法), \*;p<0.05, \*\*;p<0.01(Fisher 片側検定),  
&p<0.05(Wilcoxon Mann whiney 検定)

## 9. 精子検査

P 世代では 500ppm 群において、精子運動性および形態に関して顕著な変化は認められず、精巣または精巣上体の精子細胞数および精子数に対する影響は認められなかった。また精子異常の平均割合は、対照群(0.73%)の雄動物の場合に比較して 500ppm でわずかに低かった(0.38%)。以上のことから、30ppm 群および 120ppm 群については、精子の評価は実施しなかった。

F1 世代においても 500ppm 群で精子関連パラメーターに毒性影響は認められなかった。したがって、30ppm 群および 120ppm 群については検査を実施しなかった。尚、500ppm 群において精子異常の平均割合が対照群に比べ統計学的に有意に減少したのは、対照群 1 例に多数の異常精子が認められたためであった。

### [児動物に対する影響]

#### 1. 出生時のデータ

新生児数、死亡児数、出生率、性比、同腹児数(生存児のみ)について、F1 世代、F2 世代共に 500ppm まで何ら影響は認められなかった。

#### 2. 新生児の臨床観察

4 週間の哺育期間中、F1 および F2 児共に 500ppm まで特記すべき臨床症状は認められず、また奇形も認められなかった。

### 3. 新生児の体重

出生時体重は、F1 児、F2 児共に検体投与群と対照群との間で差は認められなかった。28 日間の授乳期間中では両世代共に、雌雄 30ppm 群では毒性学的に意味のある増体重抑制は認められなかった。尚、F1 児雄 30ppm 群で第 14 日にだけ平均体重の統計学的に有意な低下が記録されたが、F2 雄 30ppm 群ではいずれの群平均値についても有意な変化は認められず、また F1 および F2 雌児でも 30ppm で影響は認められていないことから、この F1 児雄での統計学的に有意な低下は毒性学的に意味のあるものとは考えられなかった。120ppm および 500ppm では、F1 児および F2 児において、用量依存的かつ毒性学的に意味のある体重増加抑制が認められ、第 21 日にその最大の影響 (F1 児 : 120ppm : -14~-15%、500ppm : -37~-38%、F2 児 : 120ppm : -9~11%、500ppm : -32%) が認められた。しかし第 28 日には回復傾向がみられた (F1 児 : 120ppm : -8~-10%、500ppm 群 : -27~-31%、F2 児 : 120ppm : -7~-8%、500ppm 群 : -27%)。

### 4. 新生児の生存率、哺育率および養育率

4 日後生存率、哺育率および養育率に関して、F1 児、F2 児共に、投与群と対照群との間に差は認められなかった。

### 5. 新生児の臓器重量(表 8)

F1 離乳児では、30ppm 群で臓器重量に有意な変化は認められなかった。120ppm および 500ppm では、雌雄動物おける最終体重減少の二次的なものとして、脳の実重量の減少が 500ppm 群の雌雄でみられ、脳の対体重比重量の増加が 120ppm 以上において雌雄で認められた。これらの変化は脳に対する有害作用であるとは考えられない。雄では 120ppm 以上において、雌では 500ppm において、脾臓および胸腺の実重量がわずかに減少した。脾臓の対体重比重量は、500ppm 群の雄および雌離乳児で増加した。

F2 離乳児では剖検時に 30ppm 群でわずかな体重低下が認められた(雌では統計学的に有意)。しかしこの変化は以下の理由により偶発的なものであり、投与によるものとはみなさなかった ; 1. 技術的な理由により何例かの F2 離乳児の剖検を第 28 日には行えず、その 1 日後あるいは 2 日後に行ったが、遅く剖検した F2 児の数が 30ppm 群より対照群のほうが多かった(対照群 ; 6 腹, 30ppm ; 4 腹)。結果的に対照群のほうが剖検までに体重がより増加していたことが推察される。2. 更に対照群の前述の 6 腹のうち 2 腹は離乳時においてそれぞれ 1~2 匹しか残っていなかった。それに対して 30ppm 群の 4 腹全て離乳時にそれぞれ 4 匹以上の同腹児を有していた。従って、対照群の児動物は、体重が重く剖検時までの体重増加が多

かったものと考えられた。この 30ppm 群の F2 児における偶発的な低体重に基づき、脳の対体重比が雌雄ともに増加したのと考えられ、これも偶発的な変化とみなした。一方、500ppm では、雌雄ラットとも、脳実重量が有意に低下した。対体重比重量は、120ppm 以上において、対照群の場合に比較して有意に増加した。これらの臓器重量の差は、この群の児体重が低かったことによる二次的なものと考えられる。脾臓および胸腺の対体重比重量と実重量については、120ppm 以下の群と対照群との間に顕著な差は認められなかった。500ppm 群では、脾臓および胸腺の実重量が有意に減少し、一方、脾臓の対体重比重量は有意に増加した。更に、子宮の実重量は、500ppm において有意に低下した。これらはこの群の児体重が低かったことの結果であると考えられ、子宮に対する有害作用によるものとは考えられない。

表 8 臓器重量 (有意差の認められた項目)

世代		F1 離乳児					
性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		30	120	500	30	120	500
体重 (剖検時)			↓86	↓68		↓89	↓69
脳	実重量			↓95 <sup>s</sup>			↓94 <sup>s</sup>
	対体重比		↑116 <sup>s</sup>	↑140 <sup>s</sup>		↑109 <sup>s</sup>	↑135 <sup>s</sup>
脾臓	実重量		↓89	↓75			↓78
	対体重比			↑110			↑111
胸腺	実重量		↓89	↓68			↓69
世代		F2 世代					
性別		雄			雌		
体重 (剖検時)		(95) <sup>i</sup>	↓92	↓70	↓93 <sup>i</sup>	↓93	↓72
脳	実重量			↓96 <sup>s</sup>			↓93 <sup>s</sup>
	対体重比	↑108 <sup>i</sup>	↑110 <sup>s</sup>	↑137 <sup>s</sup>	↑106 <sup>i</sup>	↑106 <sup>s</sup>	↑129 <sup>s</sup>
脾臓	実重量			↓76			↓78
	対体重比			↑108			↑108
胸腺	実重量			↓68			↓70
子宮	実重量						↓84 <sup>s</sup>

↑ ↓ : p<0.05, ↑ ↓ : p<0.01 (Dunnett), ( ) 統計学的に有意差なし  
 i; 偶発的な変動, s; 低体重による二次的な影響,  
 表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

## 6. 新生児又は離乳児の剖検

F1 および F2 児共に 500ppm まで検体に関連した肉眼的病理所見は認められなかった。また、出産後動物数調整 4 日以前に死亡した動物、出産 4 日後に動物数削減のため屠殺した動物および哺育期間中に死亡した動物において骨格異常は F1 および F2 児共に 500ppm まで認められなかった。

## 7. 性成熟の観察(表 9)

500ppm 群 では包皮分離および陰開口がわずかに遅延したが、これはこの用量において体重が極度に低下したことの結果であると考えられ、生殖毒性作用を示すとは考えられなかった。120ppm 群以下では包皮分離、陰開口達成日ともに変化は認められなかった。

表 9 性成熟達成日(平均日齢)

用量(ppm)	0	30	120	500
包皮分離	41.1	41.0	42.4	▲47.0
陰開口	35.6	36.3	36.0	▲38.9

▲:P<0.01(Dunnett-test)

結果は以下のとおりであった。

### 親動物に対する毒性

P 世代に対する影響は 500ppm 群でみられ、体重増加抑制(雌)、脾臓重量の低下(雌)、甲状腺重量の増加(雌)、甲状腺ろ胞肥大(雌雄)、コロイド変化(凝集)(雌雄)がみられた。

一方 F1 世代では 120ppm 群以上で体重増加抑制(雌雄)、脾臓重量の低下(雄)がみられた。500ppm 群では脾臓重量の低下(雌)、肝臓重量の増加(雌)、甲状腺重量の増加(雄)、甲状腺ろ胞肥大(雌雄)、コロイド変化(凝集)(雌雄)、小葉中心性の肝細胞肥大(雌)、原始卵胞数の増加がみられた。この 500ppm においてもなお投与に関連した生殖器系への組織学的所見が認められず、また発情周期の分布にも影響は認められなかった。

以上のことから、親に対する無毒性量(NOEL)は雌雄共に 30ppm とした。

### 繁殖性に対する毒性

両世代共に精子検査項目、発情周期、出産前胚損失、交尾率、受胎率、出産率、妊娠期間、交尾能、出生時体重、総出産児数、死亡児数、出生率、性比、平均同腹児数には 500ppm まで影響は認められなかった。

以上のことから、繁殖性に対する無毒性量(NOEL)は雌雄ともに 500ppm とした。

### 児動物に対する毒性

120ppm 以上の群の F1 および F2 児で授乳期間中の体重増加抑制が認められた。F1 および F2 児雌雄の 500ppm で脾臓実重量の減少、対体重比の増加、胸腺の実重量の減少が認められた。更に F1 児雄では 120ppm でも脾臓および胸腺の実重量の低下がみられた。F1 児雌雄ともに 500ppm で性成熟のわずかな遅れがみられた。一方、最高用量

である 500ppm においても、検体に関連した臨床症状は認められず、生存率、養育率、哺育率に変化はみられず、また剖検所見、骨格異常もみられなかった。

以上のことから、児動物に対する無毒性量 (NOAEL) は雌雄共に 30ppm であった。

以上の結果から無毒性量は親動物、児動物に対する影響をもとに、30ppm (雄 : 3.3mg/kg 体重/日, 雌 : 4.6mg/kg 体重/日) を設定した。

申請者註: 有害作用は F1 世代の 120ppm 群以上で認められ、P 世代では 500ppm でのみ観察された。従って、NOAEL は F1 世代 30ppm 群の検体摂取量より設定した。尚これは EU の本薬の評価に従った。

**NOAEL**

	P 世代	F1 世代	F2 世代
親動物	120ppm	30ppm	—
繁殖性	500ppm	500ppm	—
児動物	—	30ppm	30ppm
検体摂取量 mg/kg 体重/日	<u>120ppm</u> 雄 ; 8.8 雌 ; 14.2	<u>30ppm</u> 雄 ; 3.3 雌 ; 4.6	—

表 5-1 総括表(親動物)

世代	親 : P				親 : F <sub>1</sub>				
	投与用量(ppm)	0	30	120	500	0	30	120	500
動物数	♂	25	25	25	25	25	25	25	25
	♀	25	25	25	25	25	25	25	25
摂餌量 <sup>o</sup> (g/kg 体重/日)	♂	71.1	74.7	73.2	73.1	111.0	109.3	110.3	152.4
	♀	107.2	125.1	118.7	128.4	151.6	153.8	149.7	181.9
検体摂取量 <sup>o</sup> (mg/kg 体重/日)	♂		2.2	8.8	36.6		3.3	13.2	76.2
	♀		3.8	14.2	64.2		4.6	18.0	90.9
死亡/屠殺動物									
一般観察									
体重					↓♀			↓♂♀	↓♂♀
摂餌量									
発情周期(日)		4.34	4.58	4.66	4.61	4.55	5.13	4.43	4.63
発情回数(19日間)		3.46	3.04	3.20	2.88↓	3.24	3.12	3.16	3.33
交尾率(%)		100	96.0	100	100	96.0	92.0	100	100
受胎率(%)		96.0	100	88.0	92.0	87.5	100	92.0	100
出産率(%)		100	100	100	100	100	100	100	100
妊娠期間(日)		22.04	21.79	21.42	21.78	22.45	22.13	22.20	22.05
精子細胞数/精巣 1mg		49940	—	—	50761	51897	—	—	52734
精子数/精巣上体 1mg		975220	—	—	966746	909309	—	—	1055816
精子の運動性(%) 1分後 / 5分後		76 / 75	—	—	81 / 77	71 / 60	—	—	74 / 63
精子の異常(%)		0.73	—	—	0.38↓	1.50	—	—	0.76↓
剖検									
臓器重量 / 体重					↓♀			↓♂↓♀	↓♂♀
脳	♂							↑R	↓A↑R
	♀				↑R				↓A↑R
下垂体	♂								↑R
	♀			↓R					↑R
副腎	♂						↓A↓R	↓A	↑R
	♀								↓R
甲状腺	♂							↑A↑R	↑R
	♀				↑R				
肝臓	♂								↓R
	♀								↑A
脾臓	♂							↓R	↓R
	♀				↓A↓R				↓R
腎臓	♂								↓A↑R
	♀				↑R				↓A↑R
精巣	♂								↑R
精巣上体	♂						↓A↓R	↓A↓R	↑A
前立腺	♂							↓A	↑R
精のう	♂		↓R	↓A↓R					↑R



表 5-2 総括表(親動物)

	世代	親 : P				親 : F <sub>1</sub>			
	投与用量(ppm)	0	30	120	500	0	30	120	500
親動物	病理組織所見; 検査数♂/♀								
	甲状腺	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/24
	ろ胞細胞肥大 ♂	7	8	8	11	0	1	0	4
	♀	4	3	0	9	0 <sup>++</sup>	0	0	7 <sup>**</sup>
	コロイドの変化♂	15	12	14	19	9 <sup>+</sup>	12	11	19 <sup>**</sup>
	♀	5	0	3	11	3	0	2	7
	肝臓	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25	25/25
	小葉中心性 ♂	0	0	0	0	0	0	0	0
	肝細胞肥大 ♀	0	0	0	0	0 <sup>+</sup>	0	0	4

∞: 交配前期間の平均摂取量

精子検査: T 検定/↓; P<0.05

A: 臓器実重量, R: 対体重比: Dunnett 検定/↑↓; P<0.05, ▲▼; P<0.01,

病理検査: Aritage 検定/+; P<0.05, ++; P<0.01, Fisher 片側検定/\*; P<0.05, \*\*; P<0.01()

妊娠期間: Dunnett's 検定, その他の項目, Fisher 検定

表 5-3 総括表(児動物)

世代	児 : F <sub>1</sub>				児 : F <sub>2</sub>			
	0	30	120	500	0	30	120	500
投与用量(ppm)	0	30	120	500	0	30	120	500
新生児数(出生時)	251	255	258	248	214	260	252	273
死亡児数(出生時)	1(1)	3(1)	0(0)	5(1)	0(2)	2(0)	3(7)	1(2)
出生率(%) <sup>§</sup>	99.31	98.47	100	97.58	99.10	99.20	95.67	98.89
性比(%) 雄	55.05	50.53	46.77	49.59	49.31	51.67	52.25	52.25
出生時同腹児数 <sup>1)</sup>	10.38	10.46	11.73	10.52	10.10	11.22	10.52	10.80
4日生存率(%) <sup>§</sup>	97.92	99.26	97.64	93.96	94.87	86.38	91.40	97.73
哺育率(%) <sup>§</sup>	95.76	96.35	98.30	97.46	85.63	80.60	87.50	93.76
養育率(%)	100	100	100	100	95.20	87.00	95.70	100
体重0日 ♂	5.85	5.81	5.87	5.81	6.44	6.16	6.20	6.15
♀	5.62	5.46	5.56	5.45	6.06	5.80	5.88	5.74
4日(選抜後)♂	9.58	9.37	9.29	9.06	10.38	9.57	9.64	9.37
♀	9.13	9.07	8.87	8.45	10.21	9.31	9.53	9.03
7日 ♂	15.10	14.62	14.46	12.98**	15.70	13.98	14.49	13.27**
♀	14.51	14.36	13.82	12.40**	15.63	14.63	14.74	13.04**
14日 ♂	30.01	28.01*	26.26**	21.19**	31.14	29.88	28.00**	22.70**
♀	29.07	27.85	25.29**	20.18**	30.87	30.29	28.91	22.01**
21日 ♂	46.90	44.58	40.53**	29.70**	49.69	48.17	44.22**	33.77**
♀	45.14	43.51	38.80**	28.06**	48.90	47.45	44.75*	33.34**
28日 ♂	77.50	75.74	71.34**	54.26**	83.98	81.36	77.38*	61.03**
♀	72.56	70.85	65.58**	50.01**	78.27	75.24	73.08*	56.98**
包皮分離(日齢)	41.1	41.0	42.4	47.0**	—	—	—	—
臆開口(日齢)	35.6	36.3	36.0	38.9**	—	—	—	—
剖検								
臓器重量 / 体重								
脳 ♂			↓♂♀ R↑	↓♂♀ A↓R↑		↓♀(♂) R↑	↓♂♀ R↑	↓♂♀ A↓R↑
♀			R↑	A↓R↑		R↑	R↑	A↓R↑
脾臓 ♂			↓A	A↓R↑				A↓R↑
♀				A↓R↑				A↓R↑
胸腺 ♂			↓A	↓A				↓A
♀				↓A				↓A
子宮 ♀								↓A

1) 生存児のみ, § 各群の指標の算出は母動物平均に基づく, ( ) 生死不明の児数  
死亡児数; Fisher 検定

A: 臓器実重量, R: 対体重比; T 検定/↑↓; P<0.05, ↑↓; P<0.01,  
その他の項目; Dunnett 検定\*/P<0.05, \*\*; P<0.01

## スピロメシフェンのラットを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No. 原体-21)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2001年9月10日

検体の純度：  
試験動物：ウイスター(HsdCpb:WU)系ラット 1群交尾雌 21~22匹(1群25匹を交配)  
(妊娠0日雌体重；191~234g)

投与期間：13日間 妊娠6~19日(1999年9月16日~1999年9月29日)

試験方法：

検体を、0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、動物に10mL/kgの容量で0(対照群)、10、70、500mg/kgの投与量を、妊娠6日目から19日目までの14日間毎日1回経口投与した。

交配および妊娠0日：

無処理の雌2匹のラットを雄1匹と一晚同居させ交配させた。交尾の確認は、交配の翌朝に採取した膣スメアの精子検査により行った。精子が確認された日を妊娠0日とした。

投与用量設定の理由：

観察・検査項目：

親動物；妊娠 0 日から 20 日まで全動物について毎日 2 回（週末、祝祭日および妊娠 20 日は 1 回）、一般状態を観察した。体重は妊娠 0 日及び 6 日から 20 日まで毎日測定した。交尾後 0 日から 20 日までの増体重から、妊娠 20 日の子宮重量を差し引いて、補正増体量を計算した。摂餌量については、妊娠 0～3、3～6、6～9、9～12、12～15、15～18 及び 18～20 日に測定した。飲水量は、1 日 1 回測定した。帝王切開時（妊娠 20 日）には、肉眼的病理検査、黄体数、着床数、子宮重量、胎盤の外観と重量、早期吸収胚（着床痕のみが認められる）、後期吸収胚（胎児又は胎盤の遺残組織が認められる）及び死亡胎児（生命徴候はないが、浸軟もない）数、生存胎児数について調べた。

生存胎児；性別、体重、外表異常の観察を行った。

各同腹児群の約 1/2 の胎児については骨格標本を作製し骨格異常の有無を検査し、残りの胎児については内臓異常の有無を検査した。

試験結果：概要を表 4 にまとめた。

1. 母動物に対する所見

500mg/kg 群の雌 1 匹が、妊娠 15 日目に死亡した。同群の別の雌 3 匹は、投与直後又は 3.5 時間以内に断続的に痙攣（跳躍性痙攣）を示した。死亡した雌の剖検では、肝臓に白斑及び腎臓の退色そして頭蓋骨下と脳の間には赤褐色液体が認められたことから、跳躍性痙攣によってケージ蓋に頭部をぶつけるなどにより頭蓋腔の出血が引き起こされ、死亡に至ったことと推察された。また別の 1 例で、妊娠の後期に腹側部の陥没が見られた。この例は着床痕がなく非妊娠であることが判明したため、投与の影響は否定された。70mg/kg 群以下では検体投与に起因した臨床所見は認められなかった。排泄物（尿および糞）への影響はいずれの投与群においても認められなかった。摂餌量への影響として、70mg/kg 群では交配後 9 日から一般的に統計学的に有意な減少を示した。500mg/kg 群では交配後 9 日から 20 日まで、より明らかな摂餌量の減少が観察された。10mg/kg 群の摂餌量は対照群と同等であった。飲水量については 500mg/kg 群まで影響は認められなかった。

増体重は 70mg/kg 群では軽度に、500mg/kg 群では著明に抑制された。

表 1. 平均摂餌量 (g/雌/day)

投与用量 (mg/kg/日)	0	10	70	500
交配後 0 - 3 日	16.92	17.47	17.09	17.35
3 - 6 日	18.60	18.30	17.94	18.54
6 - 9 日	18.78	18.20	17.67	17.22
9 - 12 日	19.79	19.52	18.30*	15.19**
12 - 15 日	19.19	20.00	18.83	16.27**
15 - 18 日	22.71	22.12	21.00*	19.37**
18 - 20 日	24.00	23.41	21.84*	21.14**

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 (Dunnett Test)

表 2. 平均母動物体重

投与用量(mg/kg/日)	0	10	70	500
交配後 0 日体重	211.3	211.0	208.4	211.6
平均体重増加量				
交配後 6-19 日	80.3	81.2	71.7*	59.2**
交配後 0-20 日	115.1	114.3	105.1*	95.7**
補正体重増加量				
交配後 0-20 日	43.0	44.0	36.9	27.2**
最終体重	326.5	325.3	313.5*	307.3**
子宮除去後の重量	254.4	255.0	245.2	238.1**

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01 (Dunnett Test)

## 2. 子宮内発育に対する所見

着床痕を伴う妊娠雌の数及び黄体数、着床前死胚数及び着床数については、3 投与量群で対照群の値との間に有意な差がないことから、各群にふり分けられた妊娠動物は均等であった。

生存胎児を有する母動物の割合、着床後死胚、胎児数、性比、胎盤重量および外観に検体の影響は認められなかった。

胎児体重は 500mg/kg 群でわずかに減少した。その減少は統計学的に有意差のない程度であったが、背景データ[過去 4 年の最低背景データ値(平均値)；雄 3.59g, 雌 3.39g, 合計 3.49g]よりも僅かに低かったことと、母動物に毒性影響が認められていることから、検体の影響を完全に無視することはできなかった\*。

\*食品安全委員会農薬専門調査会の評価により、毒性作用とは判断しなかった。

表 3. 平均生存胎児体重

用量(mg/kg)	0	10	70	500
雄	3.64	3.67	3.69	3.58
雌	3.44	3.44	3.47	3.38
合計	3.54	3.56	3.59	3.47

Dunnett Test

胎児及び一腹毎の奇形の全般的数値は、500mg/kg 群まで検体投与に関連した影響は認められず、奇形の最高発生頻度は対照群で見られた。

胎児の外観、内臓検査においては以下の理由により 500mg/kg 群まで検体の影響は認められないと判断した。

1. 外表異常(皮膚退色、尾先端部糸状化)の所見には用量関連性が認められず、500mg/kg 以下の投与用量で投与との関係は明らかでなかった。
2. 内臓検査時に、精巣の僅かな位置異常(右精巣が膀胱の上にあった)が 500mg/kg 群 2 腹の胎児 2 匹及び 10mg/kg 群の胎児 1 匹に見られた。この所見については明らかな用量関係が見られず、また最近の発生毒性試験(試験番号 T5068551 ; 2000 年実施 ; 溶媒は Tylose® の 5% 水中懸濁液 ; 妊娠 6~17 日 b. i. d. 投与)の対照群の所見(3 腹の胎児 3 匹に認められた)とほぼ同等で、この所見は投与と関連するとは考えなかった。対照群と比較した投与群の甲状腺のサイズの減少及びその発生頻度の僅かな増加の所見は、明白な用量関係が示されておらず、最近の背景データの範囲内(胎児 : 0.4~1.6% , 母体 : 4.5~28.6%)にあったので、この所見は偶発的とみなし、毒性学的意義はないと考えられた。
3. 500mg/kg 用量群の胎児 1 匹に側脳室の僅かな拡大(異常として分類)が認められた。側脳室の拡大は、最近の背景対照及び処理群にも投与量とは無関係に観察されている(1 群 0~3 例)ので、この試験での単発的な僅かな側脳室の拡大は投与と関連するとは考えられなかった。その他の内臓異常は全てタイプが異なり、胎児についても腹あたりについても用量関係が示されず(気管、動脈、腎臓及び尿管への影響)、検体の影響とは考えられなかった。

骨格に関する所見としては、70mg/kg 群以上で検体の影響がみられた。すなわち 70mg/kg 群では胎児に基づいて評価した場合、統計学的に有意な影響として数本の指、足指、脊椎、舌骨体及び頭蓋骨の完全化骨を示す例が増加した[指 1~5 の指節骨末端 ; 右第 3 及び第 4 指の指節骨基部 ; 右第 1~4 及び左第 1~5 足指指節骨末端 ; 第 3~6 頸部椎体及び第 2 尾部脊椎弓(左) ; 舌骨体 ; 泉門及び頭頂(両側)及び頭頂間骨]。波状肋骨の数の減少(変異)も見られたが、用量関係は明らかでなく、投与に関連した影響とはみなさなかった。

最高投与量である 500mg/kg 群では、胎児に基づいて評価した場合、統計学的に有意な影響として、指 1~5 の指節骨末端、指 3 及び 4 の指節骨基部、足指指節骨末端(第 1 右、第 1~3 及び第 5 左 ; 全て用量依存性なし)、頸部椎体 4~6(用量依存性なし)、舌骨体、泉門及び頭頂(両側)、頭頂間及び側頭骨の完全化骨を

示す例の軽度な増加が認められた。さらに、波状肋骨の発生頻度が投与と関係なく減少し、70mg/kg 群の場合と同様、投与に関連した影響とはみなさなかった。腹毎に基づくと、統計学的有意差及び/又は用量関連性が、指2~4右及び2左の指節骨末端、泉門、舌骨体及び、頭頂(両側)及び頭頂間骨の完全化骨を示す例の増加として認められた。

軟骨組織の検査では、いずれの投与群でも投与との関連性は認められなかった。

骨格に関する全ての所見を要約すると、70mg/kg 用量群では対照群と比較して完全化骨を示す例の増加が四肢の数カ所及び頭蓋骨で明らかであり、500mg/kg 用量群ではより明白であった。しかし、完全化骨を示す例の増加を毒性学的に意義があるとみなすかどうかは、骨障害性の有無に基づくものと考えられる。本試験では、このような骨障害性は 500mg/kg 以下の用量において明らかではなかったことから、完全化骨を示す例の増加を毒性作用による影響とはみなさなかった。

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに 500mg/kg までの用量で投与したとき、母動物に対する影響として 70mg/kg 以上で摂餌量の減少および体重増加抑制がみられ、500mg/kg で死亡、跳躍性痙攣がみられた。子宮内発育では母動物に影響が認められた用量(70mg/kg 及び 500mg/kg 投与群)でのみ指節骨及び頭蓋骨等の完全化骨を示す例の増加(毒性作用とはみなさなかった)がみられ、500mg/kg で胎児体重の僅かな減少(毒性作用とはみなさなかった)がみられた。

以上のことから、母動物に対する無毒性量は 10mg/kg/日、胎児に対する無毒性量は 500mg/kg/日であった。

検体の直接的な催奇形性作用は 500mg/kg まで認められなかった。

表 4-1. 結果の概要

投与用量 (mg/kg/day)		0	10	70	500
交配動物数		25	25	25	25
受胎動物数 (a)		21	22	22	22
妊娠維持動物数 (b)		21	22	22	21
母動物	一般症状	-	-	-	死亡、 跳躍性痙攣
	死亡	0	0	0	1
	流産	0	0	0	0
	全吸収胚雌数	0	0	0	0
	体重 d	-	-	-	↓
	摂餌量 d	-	-	↓	↓
	飲水量 d	-	-	-	
	剖検所見	-	-	-	死亡例：肝臓表面 白斑及び腎臓の表面退色、 頭蓋骨下と脳の間 に赤褐色液体貯留
	★着床所見				
	黄体数 d	14.5	14.2	14.1	14.9
着床数 d	13.0	12.3	11.9	12.9	
着床前死胚数 k	1.5	1.9	2.2	2.0	
着床後死胚数 k	0.8	0.5	0.4	0.9	
生存胎児数 d	12.2	11.9	11.5	12.0	
雄の割合 (%) <sup>1)</sup> f	51.0	49.9	47.8	44.4	
生存胎児体重 (g) 雌雄 d	3.54	3.56	3.59	3.47	
生存胎児体重 (g) 雄 d	3.64	3.67	3.69	3.58	
生存胎児体重 (g) 雌 d	3.44	3.44	3.47	3.38	
胎盤重量 (g) d	0.62	0.65	0.62	0.60	

1) 性比/背景データ 43.4%~57.4%, 投与設定のための予備試験(本報告書に添付), 対照群 45.4%, 1000mg/g 51.6%)

f : Fisher 検定(\*:p<0.05, \*\*:p<0.01) d : Dunnett 検定(↓:p<0.05, ↓↓:p<0.01)

k : Kruskal-Wallis 検定

★ : 1 匹の妊娠動物あたり - : 異常なし



表 4-2. 結果の概要

投与用量 (mg/kg/day)		0	10	70	500	
児動物	外 検査胎児数	256	261	253	253	
	表 奇 小眼症/無眼球(片側/両側) &	3 (3)	0	3 (3)	1	
	形 多重奇形 <sup>1)</sup>	0	0	0	1	
	査 異常	皮膚退色	0	0	1	0
		尾の先端糸状化	1	4 (2)	0	1
	検査胎児数		123	126	122	121
	内 奇	臍ヘルニア(腸管の脱出を伴う)	1	0	0	0
		右側大動脈棘突起	0	1	2 (2)	1
		心房中隔欠損 <sup>2)</sup>	0	0	1	4 (2)
	臓 異常	側脳室の軽度な拡大	0	0	0	1
		甲状腺矮小化	1	4 (4)	4 (3)	5 (5)
		甲状腺肥大	0	1	0	0
		気管支内腔に沿った粘膜の一部僅かに褶曲	2 (2)	2 (2)	1	0
		腕頭動脈の短縮	8 (6)	5 (5)	5 (5)	5 (4)
		左頸動脈の変位	7 (7)	6 (5)	6 (6)	10 (10)
		腎盂の拡張(両側あるいは片側)	21 (7)	24 (11)	21 (11)	18 (9)
		尿管のわずかな拡張	10 (5)	5 (5)	5 (5)	1*
		停留辜丸	3 (3)	4 (4)	1	4 (4)
		精巣位置異常(膀胱の上) <sup>3)</sup>	0	1	0	2 (2)
	検査胎児数		133	135	131	132
骨 奇	前肢骨の形成異常	7 (3)	1	1	0*	
	形 (上腕骨, 肩甲骨)					
	変 波状肋骨	15 (8)	5 (8)	3* (2)	4* (2)	
査 異	ダンベル型第 10 胸椎体	4 (3)	15* (9)	9 (8)	2 (2)	

\*:p<0.05, \*\*:p<0.01; Fisher 検定

( )内の数字: 母動物数

& ; 外表および内臓検査で認められたものを合算

1) 多重奇形/背景データ(胎児/0.32~0.46%)

2) 心房中隔欠損/背景データ 9 試験中の対照群: 胎児 0~4.5%, 母動物 0~15%

3) ほぼ同時期実施他試験(2000年)対照群において3腹の胎児3匹に認められた。

スピロメシフェンのウサギを用いた催奇形性試験

(毒性資料 No. 原体-22)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日： 2001年2月21日

検体の純度：

試験動物： CHBB:HM系ヒマラヤンウサギ 1群交尾雌 22匹

(妊娠0日雌体重；2064~2882gg)

投与期間： 22日間 妊娠6~28日(試験期間：2000年1月24日~2000年5月29日)

試験方法：

検体を、0.5%カルボキシメチルセルロース脱塩水溶液に懸濁し、動物に5mL/kgの容量で0(対照群)、5、35、250mg/kgの投与量を、妊娠6日目から28日目までの22日間毎日1回経口投与した。

交配および妊娠0日：

なお無処理の雌雄各1匹のウサギを同居させ交配し、肉眼的に交尾を確認した。交尾が確認された日を妊娠0日とした。

投与用量設定の理由：

観察・検査項目：

親動物；妊娠0日から28日まで1日2回観察し(週末、祝祭日、妊娠29日目は1日1回)、一般状態(外観、行動)の異常及び排泄物について調べすべての所見を記録した。摂餌量は、妊娠後0~3日目、3~6日目、6~9日目、9~12日目、12~15日目、15~18日目、18~21日目、21~24日目、24~27日目、27~29日目について測定した。飲水量は毎日測定した。雌の体重は妊娠0日目及び妊娠6日目から29日目の期間は毎日測定した。妊娠

29 日目の子宮重量を妊娠 0 日目から 29 日目までの体重増加から差し引いて補正体重増加を求めた。交尾後 29 日目の帝王切開の際に雌の肉眼的観察を行った。流産した雌は、流産が判明した後に屠殺した。内臓の肉眼的検査、黄体数、着床数、子宮重量、早期及び後期吸収胚数及び胎盤の外観と重量、死亡胎児数、生存胎児数について調べた。腸管に剖検所見のみられた 250mg/kg 群 2 例、50mg/kg 群 1 例およびその対照として変化の認められない対照群 1 例については異常部位について病理組織学的検査を行った。

胎児；生存胎児の性別、生存胎児の個別体重、胎児における外表所見の発現率、胎児の腹腔内、骨盤内、胸腔内臓器及び脳における所見の発現率、胎児の軟骨部分を含む骨格系の所見の発現率、胎児頭蓋内の内臓所見の発現率について調べた。

試験結果：概要を表 3 にまとめた。

1. 母動物に対する所見

摂餌量の低下、糞量の減少および増体重抑制、補正体重増加量の減少が 35mg/kg 群以上で認められた。試験期間中死亡例は認められなかった。250mg/kg 群の雌 4 例が、耳介の冷感、摂餌量減少、体重減少、飲水量減少、糞便減少、尿量減少を示した後、妊娠 20～25 日の間に流産した。これらの雌の剖検では、2 例で膨満した胃が認められ、このうち 1 例で小腸の淡明化（病理組織学的検査：絨毛先端の著明な空胞形成）が認められた。その他の 250mg/kg の雌では耳介の冷感、脱毛、尿量の減少とそれに伴う尿の赤色化、飲水量の低下が認められた。

表 1. 平均摂餌量 (g/雌/day)

投与用量 (mg/kg/日)	0	5	35	250
妊娠 0 - 3 日	81.8	88.6	86.0	84.1
3 - 6 日	80.3	82.8	88.2	83.8
6 - 9 日	75.0	71.6	59.0**	27.4**
9 - 12 日	72.6	72.7	72.4	45.1**
12 - 15 日	67.1	67.6	68.3	40.6**
15 - 18 日	73.7	76.0	59.0	51.9*
18 - 21 日	92.4	80.4	85.2	67.4**
21 - 24 日	91.2	79.5	83.2	73.2**
24 - 27 日	91.1	89.6	92.0	78.9
27 - 29 日	96.8	88.1	91.3	76.7**

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Dunnett Test)

表 2. 平均母動物体重

投与用量(mg/kg/日)	0	5	35	250
平均体重増加量				
妊娠 6-9 日	- 8.1	- 18.3	- 45.9**	- 93.8**
妊娠 6-29 日	249.2	231.9	188.5	133.2**
妊娠 0-29 日	241.0	238.0	207.6	143.3*
補正体重増加量				
妊娠 0-29 日	- 129.9	- 134.9	- 166.3	- 221.4**

\* : p<0.05, \*\* : p<0.01 (Dunnett + ANOVA)

## 2. 子宮内発育に対する毒性

250mg/kg において、4 例の流産と総吸収胚を示した 2 例のため生存胎児を有する母動物数の割合が低下した。これは母動物の全身状態の悪化によるものと考えられた。胎盤の重量および外観、着床後死胚数、胎児数、胎児の性比、胎児体重に投与の影響は認められなかった。

[尚、腹毎の胎盤重量は、5mg/kg 以上で統計学的に有意に減少した。しかしながら用量依存性は 35mg/kg まで認められず、250mg/kg 群の胎盤重量は既存の別 2 試験の対照値(3.86g または 3.90g)と同様であり、したがって、胎盤重量については投与による影響は考えられない。

また腹毎の胎児体重は最低用量と最高用量で統計学的に有意な低下がみられたが 35mg/kg 群では認められず、用量依存性は認められなかった。更に、250mg/kg 群の胎児体重(雌雄混合)は使用した系統のウサギにおける以前のバラツキの正常範囲の下限(34.78g)と同様であった。また同じ媒体を用いた別試験の対照群の腹毎の雌雄混合の平均胎児体重(34.58g)は、本試験の 250mg/kg 群と同様であった。加えて、本試験で認められたものと同様に一腹児数が偶発的に多かったため、胎児体重に統計学的に有意な差が生じたものと考えられる他の試験成績も存在し、胎児体重の統計学的な有意差も投与とは関係がない可能性があることを示している。したがって、250mg/kg までの用量で認められた胎児体重減少は投与に起因する影響ではなく、用量群の一腹児数が偶発的に多かったことの結果であると考えられる。]

胎児の外表面、内臓、骨格検査で異常所見は認められなかったことから、検体に催奇形性作用はないものと考えられた。

[内臓検査では異常所見として、5mg/kg 群の 1 腹及び 35mg/kg 群の 2 腹で肝臓の白色変化がみられた。胎児肝臓の白変は、使用した系統のウサギにおける一般的所見であり、これは背景データ内にあった(母動物; 3 腹(13.6%), 胎児 3 例(2.1%))。さらに 250mg/kg ではこの種の所見が認められなかったこと、統計学的有意差がな

かったことから、5mg/kg 群及び 35mg/kg 群の個々の胎児における胎児肝臓の白変は投与に起因する影響ではないと考えられる。

骨格検査においては、骨の個々の部位で、不完全化骨を示す例の増加が認められた。今回、対照群に比べ全検体投与群全群で一腹毎(生存胎児を有する母動物で算出した場合)黄体数、着床数及び胎児数が偶発的に増加し、250mg/kg で最も多い一腹胎児数(生存胎児を有する母動物で算出した場合)が認められた。これらの一腹胎児数の増加のため骨化が偶発的に影響を受けた(対照群と比較して個々の部位で骨化が軽度遅延)という可能性も考えられるが、骨格形成において有意差の認められた所見は背景データ内にあり(表 3-2 の脚注に記載)、また反対に完全化骨例の増加もみられている。従って、250mg/kg まで骨格形成において影響は認められないものと考えた。]

以上の本試験の結果より、本検体を妊娠ウサギに投与したとき、全身性の母動物毒性が 35mg/kg 以上の用量で認められた(摂餌量の減少、一過性の体重減少、体重増加量の抑制、補正体重増加量の減少)。母毒性による二次的な影響として 250mg/kg 群で流産、総吸収胚がみられた。胎児発育については、250mg/kg まで何ら影響は認められなかった。

催奇形性作用は認められなかった。

従って母動物に対する NOAEL は 5mg/kg/日、胎児に対する NOAEL は 250mg/kg/日であった。

表 3-1. 結果の概要

投与量 mg/kg		0	5	35	250	
交配動物数		22	22	22	22	
評価した雌数		21&	22	22	21&+	
着床痕を有する動物数(a)		20	22	21	16	
生存胎児を有する動物数(b)		20	22	21	14	
母動物 剖検所見	総吸収胚数	0	0	0	2	
	流産	0	0	0	4	
	一般症状	-	-	-	耳介の冷感, 脱毛, 糞, 尿の減少	
	体重	d	-	-	↓(6-9日) ↓(6-29日) ↓(0-29日)	
	摂餌量	d	-	-	↓(6-9日) ↓(6-15, 18-24日, 27-29日), ↓(15-18日)	
	剖検所見	-	-	-	死亡例; 小腸の透明化	
	★着床所見	黄体数 (a) d	7.6	8.1	8.0	8.3
		黄体数 (b) d	7.6	8.1	8.0	8.4
		着床数 (a) d	7.4	8.0	7.8	7.8
		着床数 (b) d	7.4	8.0	7.8	7.9
		★着床前死胚数 (a) k	0.2	0.1	0.2	0.4
		着床後死胚数 (a) k	0.8	0.7	0.6	1.3
		生存胎児数 (a) d	6.7	7.2	7.2	6.5
		生存胎児数 (b) d	6.7	7.2	7.2	7.4
	雄の割合 (b) f	48.9	46.5	51.7	49.0	
	生存胎児体重雌雄(g) (b) d	38.66	35.49**	36.50	34.58**	
	生存胎児体重雄(g) (b) d	39.00	35.42**	36.83	34.86**	
	生存胎児体重雌(g) (b) d	38.65	35.08**	36.18	34.21**	
	胎盤重量(g) (b) d	4.59	4.09**	4.13**	3.85**	

★: 1匹の母動物あたり(a; 総吸収胚を含む妊娠動物, b; 生存胎児を有する妊娠動物)

空欄: 異常なし, ( ): 母動物数

[&; 1例の子宮異常を評価の対象からはずした。]

d: Dunnett(↓: P<0.05 ↓↓: P<0.01), k: Kruskal-Wallis, f: Fisher(\*: P<0.05 \*\*: P<0.01) 検定

+; 流産4例を含む

表 3-2. 結果の概要

投与量 mg/kg		0	5	35	250		
児動物	検査胎児数	133	159	151	104		
	外表	奇形	3(1)	3(3)	4(3)	0	
		前肢の位置異常					
	内臓	奇形	1	0	1	0	
		腎臓奇形	1	0	0	0	
		異常	0	2(1)	4(2)	0	
	骨格	奇形	胸骨変異を伴う/伴わない頸肋を含む肋骨軟骨部の癒合/分岐	2(1)	2(2)	0	0
			12番目の肋骨対の欠損又は短小、あるいは骨盤変位を伴う/伴わない胸椎あるいは腰椎の欠損	5(3)	1	2(2)	0
			尾椎体の奇形	2(2)	1	1	1
		化骨遅延	第8尾椎弓 右 発現	78(20)	49**(17)	49**(14*)	25**(12)
			第8尾椎弓 左 発現	78(20)	49**(17)	49**(14*)	25**(12)
		促進	第13尾椎体不完全化骨	5(4)	11(10)	3(3)	13*(7)
			左頭頂骨不完全化骨 左	0	1	2(2)	6*(4)
		促進	舌骨不完全化骨	95(19)	108(22)	105(18)	50**(10)
			第5胸骨分節不完全化骨	49(13)	55(17)	32*(13)	11**(6)

胎児外表, 内臓, 骨格検査: Fisher 検定

背景データ(胎児当たり);

- 第8尾椎弓(左右)有り/ 10.1~62.1%,
- 第13尾椎体不完全化骨/ 0.0~7.4%
- 左頭頂骨不完全化骨/ 0.0~6.9%
- 舌骨不完全化骨/ 42.3~76.4%
- 第5胸骨分節化骨不全/ 21.2~43.0

### (13) 変異原性

#### スピロメシフェンの細菌を用いた復帰突然変異試験

(毒性資料 No. 原体-23)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 1997 年 10 月 13 日

検体の純度：

試験系： 細菌 (サルモネラ菌 〈TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102〉)

試験方法：

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (Salmonella typhimurium) の 5 株を用い、ラットの肝臓調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下、非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、16~5000 $\mu$ g/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 反復とし、2 回行った (初回；プレートインコーポレーション法、第二回目；プレインキュベーション法)。陽性対照としてアジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ )、ニトロフラントイン (NF)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NPDA)、クメンヒドロペルオキシド (Cumene)、2-アミノアントラセン (2-AA) を用いた。

尚、用量設定試験は行わなかった。

#### 結果及び考察

表 1、2 に示したように、2 回の試験共に検体を用いた全用量において代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性を伴った増加は認められなかった。また、すべての菌株でいずれの濃度においても、生育阻害は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた非代謝活性化条件下での  $\text{NaN}_3$ 、NF、4-NPDA、Cumene では、溶媒対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、代謝活性化条件下での 2-AA は、試験に用いたすべての菌株に明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において、復帰変異誘発作用は有さないものと判断された。



表 1. 1 回目試験(プレート インコーポレーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	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	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		—	67	9	150	14	7
検体	16	—	64	6	174	17	6
	50	—	64	6	180	20	8
	158	—	77	7	178	24	5
	500	—	84	7	144	20	10
	1581	—	68	8	130	19	7
	5000*	—	80	8	160	20	7
対照 (DMSO)		+	95	14	237	26	13
検体	16	+	86	10	236	25	8
	50	+	101	11	224	25	9
	158	+	97	11	225	22	10
	500	+	90	9	226	19	11
	1581	+	99	9	256	22	11
	5000*	+	113	10	241	26	8
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—		617		
	NF	0.2	—	204			
	4-NPDA	10/0.5**	—			146	61
	Cumene	50	—		304		
	2-AA	3	+	918	84	470	845

\*検体析出

\*\*TA1537:10μg/プレート, TA98:0.5μg/プレート

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

Cumene : クメンヒドロペルオキシド

2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2. 2回目試験(プレインキュベーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	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	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
対照(DMSO)		—	93	8	273	22	8
検体	16	—	77	10	249	22	9
	50	—	73	8	258	22	7
	158	—	72	8	244	20	9
	500*	—	92	10	245	25	6
	1581*	—	87	10	262	31	6
	5000*	—	86	9	254	21	10
対照(DMSO)		+	101	11	294	30	9
検体	16	+	107	8	321	27	10
	50	+	105	13	317	26	8
	158	+	102	8	295	26	7
	500*	+	99	8	302	29	10
	1581*	+	108	11	305	16	7
	5000*	+	118	7	306	25	6
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—		733		
	NF	0.2	—	236			
	4-NPDA	10/0.5**	—			180	72
	Cumene	50	—			451	
	2-AA	3	+	1201	116	454	1169

\*検体析出

\*\*TA1537;10μg/プレート, TA98;0.5μg/プレート

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

Cumene : クメンヒドロペルオキシド

2-AA : 2-アミノアントラセン

スピロメシフェンの V79-HPRT (前進突然変異) 法による  
in vitro 変異原性誘発試験

(毒性資料 No. 追加-1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 1999年 4月 28日

検体の純度 :

試験系 : チャイニーズハムスター肺細胞由来 V79 培養細胞

【試験方法】

指指数関数的に増殖している V79 細胞を、第 0 日に各濃度当たり 2 個の 250mL フラスコ中 (各フラスコ当たり  $4 \times 10^6$  個) で培養液中に播種した。接着後 (16~24 時間後) に、細胞を低血清量 (2%) の培地を用い、非代謝活性下及び代謝活性下条件で 5 時間各濃度の検体に暴露させた。検体の濃度は S9mix 無添加条件下では 1、2.5、5、10、15、20、25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、S9mix 添加条件下では 10、20、35、50、65、80、95 $\mu\text{g}/\text{mL}$  とした。加えて、陰性対照群 (無処理) 1 群、溶媒対照群 1 群、陽性対照群 (非代謝活性化: エチルメタンサルホネート (EMS)、代謝活性化: ジメチルベンゾアントラセン (DMBA)) 1 群を設定し、各対照群は同じ条件下で培養した。その後、この単層細胞を PBS で洗浄してトリプシン処理した。これをフラスコ中の培地に約  $1.5 \times 10^6$  細胞の密度で、また 3 枚のペトリ皿それぞれに 200 個の細胞を、再播種した。ペトリ皿を 7 日間培養し、コロニー数を算定することにより細胞毒性を判定した。

一方、フラスコに再播種した細胞は、細胞増殖と誘発変異株の発現のために培養し、4 日と 7 日に継代した。最初の継代では、各処理群および対照群の 2 個の培養を各々 2 個の 250mL のフラスコに、約  $1.5 \times 10^6$  個の細胞を再播種し、約 7 日間培養した。突然変異株細胞分離のために、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$  の 6-チオグアニン (6-TG) を添加したヒポキサンチン無含有培養液のペトリ皿 (合計 8 皿) に  $3 \times 10^5$  個の細胞を播種した。さらに、3 枚のペトリ皿には各用量群のコロニー形成率を求めるために、ペトリ皿あたり 200 個の細胞を播種した。6~8 日間の培養後、コロニーを固定してギムザ液で染色した。突然変異株分離用のペトリ皿では 6-TG 抵抗性コロニー数を、コロニー形成率測定用ペトリ皿ではコロニー数を測定した。

## 用量設定の根拠

### 【結果及び考察】

#### 1. コロニー形成率

変異原性試験における溶媒対照群のコロニー形成率は、非活性化の条件下で 49.3%から 90.0%まで、活性化の条件下で 77.8%から 90.7%の範囲であった。試験におけるコロニー形成率は良好であった。

#### 2. 非代謝活性化条件における突然変異原性試験

非活性化条件下で 2 試験を実施した。生存率および相対増殖とも、濃度に依存した低下が観察された。突然変異体発現頻度の意味のある増加は認められなかった。さらに、濃度との関連性も認められなかった。

陽性対照群の EMS は、すべての試験で明らかに変異原性を誘発した。

従って、検体は本非活性化条件下において変異原性物質ではないと判断された。

#### 3. 代謝活性化条件における突然変異原性試験

活性化条件下で 2 試験が実施された。両試験で、生存率および相対増殖ともに濃度に依存した低下が観察された。突然変異体発現頻度の意味のある増加は認められなかった。さらに、濃度との相関性も認められなかった。

陽性対照物質の DMBA は、すべての試験で明らかに変異原性を誘発した。

従って、検体は本代謝活性化条件下において変異原性物質ではないと判断された。

以上の結果より、V79-HPRT 前進突然変異原性試験において代謝活性化の有無にかかわらず、本検体の変異原性は陰性と判断された。

## 非代謝活性化

群	濃度 μg/mL	1回目試験					2回目試験				
		生存 コロニー数	相対 増殖 <sup>A</sup>	総変異 株数 <sup>B</sup>	コロニー 形成率 <sup>C</sup>	変異率 ×10 <sup>-6</sup>	生存 細胞数	相対 増殖 <sup>A</sup>	総変異 株数 <sup>B</sup>	コロニー 形成率 <sup>C</sup>	変異率 ×10 <sup>-6</sup>
陰性対照	0	161.0	113.3	5	67.5	3.1	123.7	91.8	4	80.8	2.1
		175.7	88.4	8	81.0	4.1	122.5	275.9	3	73.5	1.9
溶媒対照 (エタノール)	0	186.3	100.0	4	90.0	1.9	129.3	100.0	6	49.3	5.1
		226.3	100.0	9	83.8	4.5	116.3	100.0	6	62.3	4.0
陽性対照 EMS	900	172.7	66.9	339	44.0	321.0*	63.0	50.7	245	59.3	229.7*
		202.7	45.3	567	63.5	372.0*	64.5	37.3	365	69.8	290.7*
検体	1	189.3	112.7	4	67.0	2.5	146.0	67.6	8	78.0	5.7
		172.7	44.2	7	76.8	3.8	122.3	74.9	9	81.8	4.6
	2.5	145.7	97.1	8	69.0	4.8	109.3	100.9	6	66.8	4.3
		132.0	87.3	3	66.5	1.9	93.7	97.3	6	82.8	3.0
	5	237.5	110.0	2	46.3	1.8	87.0	58.9	15	66.8	9.4
		177.7	62.1	4	76.2	2.9	63.0	96.3	9	76.8	5.6
	10	247.3	109.6	9	55.0	6.8	74.0	49.5	7	67.2	4.3
		153.7	101.7	20	63.0	13.2	124.3	62.4	16	52.8	16.9
	15	115.3	61.8	1	70.7	0.6	23.0	49.1	36	87.3	17.2
		187.7	46.8	10	108.5	3.8	19.7	33.3	7	65.0	4.5
	20	46.3	22.3	15	85.0	8.4	6.0	\$	1	63.5	0.7
		40.0	16.0	1	97.5	0.5	8.7	\$	2	63.2	1.3
	25	19.3	-	-	-	-	8.0	\$	1	57.3	1.0
		5.5	5.0	1	71.3	0.6	9.0	-	-	-	-

A: 溶媒対照に対する百分率 B: 8ペトリ皿のコロニーの合計 C: 細胞 200 個あたりのコロニー形成率  
 -: コロニー形成せず (細胞毒性のため), \$: 計算不可能 (播種時の細胞数が $<1.5 \times 10^6$ のため)

EMS : エチルメタンサルホネート

\*;  $p < 0.05$  Dunnett Test

## 代謝活性化

群	濃度 μg/mL	1回目試験					2回目試験				
		生存 細胞数	相対 増殖 <sup>A</sup>	総変異 株数 <sup>B</sup>	コロニー 形成率 <sup>C</sup>	変異率 ×10 <sup>-6</sup>	生存 細胞数	相対 増殖 <sup>A</sup>	総変異 株数 <sup>B</sup>	コロニー 形成率 <sup>C</sup>	変異率 ×10 <sup>-6</sup>
陰性対照	0	171.0	74.6	1	76.2	0.6	148.7	150.3	24	70.3	14.2
		113.7	145.5	1	80.7	0.5	169.3	124.9	25	75.3	15.8
溶媒対照 (エタノール)	0	139.7	100.0	1	81.8	0.5	185.3	100.0	12	80.0	8.3
		139.0	100.0	2	77.8	1.1	169.7	100.0	23	90.7	10.6
陽性対照 DMBA	20	158.3	45.8	132	86.8	63.3*	148.0	65.6	97	85.0	63.4*
		126.3	82.8	175	110.5	75.4*	135.0	78.0	154	98.8	86.6*
検体	10	149.0	-	-	-	-	154.0	106.8	11	55.8	9.4
		168.0	-	-	-	-	178.3	143.5	19	88.3	10.2
	20	169.0	84.2	1	98.8	0.5	213.3	71.7	5	80.7	3.0
		141.3	108.2	3	110.5	1.1	194.0	138.8	15	73.2	8.5
	35	105.7	42.9	1	98.8	0.4	198.7	112.4	5	74.7	2.8
		136.3	75.9	2	103.3	0.8	153.7	146.0	34	109.0	14.9
	50	84.7	59.0	1	81.8	0.6	162.3	62.9	16	108.0	7.1
		134.3	71.7	10	93.0	4.5	246.3	102.0	5	91.0	2.3
	65	90.0	48.2	6	97.5	2.6	160.7	77.2	20	73.8	12.9
		120.3	81.2	1	110.8	0.4	160.0	156.1	18	81.7	9.2
	80	29.5	26.3	1	116.2	0.4	199.0	77.1	34	91.8	17.6
		138.3	110.6	4	114.7	1.5	148.3	138.2	8	98.0	3.9
	95	0.0	-	-	-	-	25.7	54.6	9	98.2	3.8
		0.0	-	-	-	-	109.0	48.3	30	102.3	12.2

A: 溶媒対照に対する百分率 B: 8ペトリ皿のコロニーの合計 C: 細胞200個あたりのコロニー形成率  
 -: コロニー形成せず(細胞毒性のため), DMBA: ジメチルベンゾアントラセン

\*: p<0.05 Dunnett Test

スピロメシフェンのチャイニーズハムスター由来 V79 培養細胞を用いた  
in vitro 染色体異常試験

(毒性資料 No. 原体-24)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1997 年 12 月 3 日

検体の純度：

試験系：チャイニーズハムスター由来 V79 細胞

試験方法：

チャイニーズハムスターの継代培養した V79 細胞を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解して用いた。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について 2 反復で行った。

用量設定の根拠：

試験群	濃度* ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	処理時間 (時間)	回収時期 (時間)
溶媒対照	0	-/+	4	18
無処理対照	0	-/+	4	18
検体	1	-	4	18
	5	-	4	18
	10	-/+	4	18
	20	-/+	4	18
	40	-/+	4	18
	60	+	4	18
	80	+	4	18
陽性対照マイトマイシンC	0.1	-	4	18
陽性対照シクロホスファミド	2.0	+	4	18

\*培養液中の濃度

試験群	濃度* ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix	処理時間 (時間)	回収時期 (時間)
溶媒対照	0	-/+	4	30
検体	10	-	4	30
	20	-	4	30
	40	-/+	4	30
	60	+	4	30
	80	+	4	30

\*培養液中の濃度

### 試験結果：

以上の濃度について、細胞生存率、細胞分裂指数を調べたところ、以下のとおりであった。

#### 1) 細胞生存率

##### S9-Mix 非存在下

細胞生存率は、18時間の回収時間では溶媒対照群に対して $5\mu\text{g}/\text{mL}$ で影響が認められなかった。一方、 $10\mu\text{g}/\text{mL}$ では58.7%となり低下がみられた。30時間の回収時間では $10\mu\text{g}/\text{mL}$ で30.1%となり、明らかな低下が認められた。

##### S9-Mix 存在下

細胞生存率は、18時間の回収時間では $10\mu\text{g}/\text{mL}$ まで影響は認められなかった。20、40、60および $80\mu\text{g}/\text{mL}$ では溶媒対照群に対して各々74.7、57.0、60.1および39.9%となり低下が認められた。30時間の回収時間では40、60および $80\mu\text{g}/\text{mL}$ で各々47.5、22.2、5.6%となり低下がみられた。

#### 2) 有糸分裂指数

##### S9-Mix 非存在下

溶媒対照に比較して、検体曝露した培養における有糸分裂指数は $10\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で濃度に関連して減少した。マイトマイシンCで処理した培養では、溶媒対照に比較して、有糸分裂率の減少は認められなかった。

##### S9-Mix 存在下

溶媒対照に比較して、検体曝露した培養における有糸分裂指数は $60\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上で濃度に関連して減少した。陽性対照であるシクロホスファミドは、有糸分裂指数を減少させなかった。



### 3) 染色体異常

細胞生存率および有意分裂指数の結果をもとに、検体については以下の濃度について、染色体異常を検索した。

試験群	濃度 (µg/mL)	S9 mix	回収時期 (時間)
検体	1	-	18
	5	-	18
	10	-	18
	10	+	18
	20	+	18
	40	+	18
検体	10	-	30
	40	+	30

染色体異常の結果を次表に示した。

#### S9-Mix 非存在下

18時間または30時間の培養後において、異常がみられる分裂中期像の数に関して、生物学的に意味があり、かつ統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照であるマイトマイシンCによる処理では、異常がみられる分裂中期像の数に関して明瞭かつ統計学的に有意な増加が認められ、本試験系の感度が十分であることが証明された。

#### S9-Mix 存在下

18時間の培養後に異常がみられる分裂中期像に関して、試験した最低濃度で統計学的に有意な増加が認められた。しかしながら、これらの有意な変化は濃度に相関していなかった。さらに、これらの有意な数値は陰性対照の背景データの範囲内(18時間回収：ギャップを含む；0.5～8.5%，ギャップを含まない；0.5～5.5%，30時間回収：ギャップを含む；0.5～4.5%，ギャップを含まない；0.5～4.05%)であった。合計30時間の培養の40µg/mLでみられた統計学的に有意な増加も同様であった。したがって、これらの統計学的に有意な差は、偶発的で生物学的な意味はないと判断した。

陽性対照であるシクロホスファミドは、統計学的に有意、かつ生物学的に意味のある異常有糸分裂中期像の増加を誘発し、本試験系の感度が十分であること、ならびに使用したS9mixの活性が証明された。

以上の結果より、検体には代謝活性化を含む本試験条件下でのチャイニーズハムスター由来V79細胞に対して、染色体異常誘発はないものと判断される。

実験群 濃度 µg/mL	S9- Mix	回収 時間	観察 細胞数	ギャップ		構造異常の分類										構造異常細胞 <sup>c</sup>			
						染色分体型			染色体型			その他				ギャップ		交換	
				g	ig	b	f	d	ib	if	id	ex	maE	ma	cd	含む	除外		
DMSO	-	18	200	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	0.0
無処理			200	0	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1.5	1.5	0.0
検 1			200	0	0	1	0	0	2	0	1	0	0	0	0	2.0	2.0	0.0	
体 5			200	0	0	0	0	0	1	2	1	1	0	0	0	2.5	2.5	0.5	
10			200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	
MMC <sup>A</sup>			200	1	0	28	1	0	45	16	1	43	2	0	0	42.0*	41.5**	20.5**	
DMSO	+	18	200	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	1.5	1.5	0.5	
無処理			200	1	0	4	0	0	2	0	0	1	0	0	0	2.5	2.0	0.5	
検 10			200	0	0	8	0	0	2	1	1	2	1	0	0	5.0*	5.0*	1.0	
体 20			200	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	1.0	1.0	1.0	
40			200	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1.0	1.0	0.5	
CP <sup>B</sup>			200	4	0	22	0	0	41	7	8	45	3	0	0	42.5**	42.5**	19.0**	
DMSO	-	30	200	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	0.0	
検 10			200	0	0	0	0	0	2	0	2	1	0	0	0	2.5	2.5	0.5	
DMSO			+	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	0.0	
検 40				200	1	0	3	0	0	1	1	2	4	0	0	0	4.5**	4.0**	1.0

処理時間; 4時間

\* : p ≤ 0.05, \*\* : p ≤ 0.01 (Fisher の正確確率検定)

A : MMC マイトマイシン C (0.1 µg/mL),

B : CP/シクロホスファミド (2.0 µg/mL)

C : 百分率

g ; 染色分体型ギャップ

ig ; 染色体型ギャップ

b ; 染色分体型切断

ib ; 染色体型切断

f ; 染色分体型断片

if ; 染色体型断片

d ; 染色分体型欠失

id ; 染色体型欠失

ex ; 交換

maE ; 交換を含む重複異常

ma ; 重複異常,

cd ; 染色体破損

Confidential

## スピロメシロフェンのマウスにおける小核試験

(毒性資料 No. 原体-25)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：1999年4月19日

検体純度：  
供試動物：NMRI系マウス、(試験開始時：6～12週齢、体重雄36～43g)  
1群雄各5匹

投与方法：

検体を0.5%クレモホア水溶液に懸濁し、0、100、200および400mg/kgの投与レベルで腹腔内に投与した。シクロホスファミドは脱イオン水に溶解し、同一の方法で投与した。陰性対照には0.5% Cremophor 水溶液を同一の方法で投与した。検体投与群、陰性対照群についての投与回数は24時間間隔で2回行い、シクロホスファミドについては1回とした。投与用量はいずれの場合も10mL/kg体重とした。

最終投与24時間後に動物を屠殺し、各動物の大腿骨から骨髓を採取してSchmidの方法を用いて検査用の塗抹標本作製した。標本を染色後、光学顕微鏡を用いて評価した。各動物につき2000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数を計測した。同時に正染性赤血球数も計測した。

用量設定の根拠：

**試験結果：**

1) 一般症状

全ての用量で屠殺時まで次のような検体に関連した症状が認められた：無気力、粗毛、体重減少、腹臥位、痙攣、伸張性痙攣、呼吸困難、および眼瞼下垂。摂餌行動は正常であった。死亡は認められなかった。対照群では何の症状も認められなかった。

2) 突然変異誘発性

骨髓標本の観察結果を表に示した。

小核を有する多染性赤血球の発現頻度に関して、陰性対照群と検体腹腔内投与群の間に生物学的に重要あるいは統計学的に有意な差違は認められなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドは、小核を有する多染性赤血球数を溶媒対照群に比べ統計学的に有意に増加させた。

投与群	評価した多染性赤血球総数	2000個の多染性赤血球あたりの正染性赤血球数	小核を有する細胞数	
			2000個の正染性赤血球あたり	2000個の多染性赤血球あたり
陰性対照 0.5%クレモア水溶液	10000	2640±1236	1.5±1.0	3.0±1.2
検体 100mg/kg×2回	10000	1971±707	1.0±1.4	1.2±1.3
検体 200mg/kg×2回	10000	3188±725	1.9±1.1	2.2±1.8
検体 400mg/kg×2回	10000	4193±992	1.2±0.7	1.2±0.8
陽性対照 シクロホスファミド	10000	1477±422	1.5±1.7	21.4**±4.6

\*\*：Wilcoxonの順位和検定で有意差あり（ $p < 0.01$ ）

**結論：**

以上の結果から本試験条件下において、検体は骨髓多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

## (14) 生体機能への影響

### スピロメシフェンにおける薬理試験

(毒性資料 No. 原体-26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2003 年 12 月 11 日

検体の純度：

用量設定の根拠：

#### 1. ラットにおける一般症状の観察

供試動物：SD 系雄ラット，208～225g，一群各 5 匹

投与方法：検体に少量のクレモホア(最終濃度 2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して 0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。検体投与前、投与後 15、30、60、120、180 分および 24 時間に Irwin の多次元観察法を参考に観察した。

結果：対照群を含む全ての投与群において体位、行動、自律神経系および反射のいずれの観察項目にも異常は認められなかった。また、身づくろい、あくび、脱糞および排尿の発現数についても溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。

## 2. マウスにおける自発運動量に及ぼす影響

供試動物：ICR 系雄マウス， 26.8～30.4g， 一群各 5 匹

投与方法：検体に少量のクレモホア(最終濃度 2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して 0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。検体投与前 30 分および投与直後から投与後 180 分まで継続して自発運動量を測定し、30 分毎に自発運動量を集計した。

結果：いずれの集計時間においても溶媒対照群と検体投与群との間に差は認められなかった。

## 3. マウスにおける痙攣誘発作用

供試動物：ICR 系雄マウス， 27.7～32.6g， 一群各 5 匹

投与方法：検体に少量のクレモホア(最終濃度 2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して 0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。検体投与後 60 分に両耳介より小型動物用電源着刺激装置を用いて 10mA、0.8 秒間通電した。電撃刺激後に発現する後肢の痙攣および死亡の有無を観察した。

結果：200mg/kg 群では強直性屈曲痙攣および強直性伸展痙攣がともに 5 例中 5 例で観察され、溶媒対照群に比べ統計学的に有意な発現数の増加がみられたが、間代性痙攣は溶媒対照群と同等で死亡例は認められなかった。600ppm 群では死亡例が 1 例に認められたが、対照群に比べ各種痙攣の発生頻度に統計学的に有意な増加はみられなかった。2000mg/kg では死亡例は認められず、対照群比べ統計学的に有意な痙攣の発生頻度の増加はいずれもみられなかった。上記に示したように 200mg/kg で強直性痙攣の発現が増加したが、検体投与群での発現数に用量との関連性がなかった。さらに、今回対照群における強直性痙攣陽性の発現数は当施設の背景値(強直性屈曲性痙攣：1/10～5/8 例，平均 45%，強直性伸展痙攣：0/10～2/5 例，平均 23%)と比較すると若干少なかった。従って検体投与による痙攣誘発作用はないものと判断した。

## 4. ラットにおける正常体温に及ぼす作用

供試動物：SD 系雄ラット， 197～216g， 一群各 5 匹

投与方法：検体に少量のクレモホア(最終濃度 2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して 0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。検体投与前、投与後 30、60、120、180 分にデジタル温度計を用いて直腸温を測定した。

結果：いずれの測定時間においても溶媒対照群と検体投与群の間で統計学的な有意差は認められなかった。

#### 5. 呼吸・循環器系に対する作用/

麻酔ウサギの呼吸数、血圧、心拍数および心電図の測定

供試動物：NZW 系雄ウサギ，2.8～3.1kg，一群各 3～4 匹

投与方法：耳介静脈よりペントバルビタールナトリウム 30mg/kg を投与し麻酔した。

麻酔下のウサギにクレモホア(最終濃度 2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して 0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kg を経口投与した。検体投与前、投与後 15、30、60、120、180 分に呼吸数、血圧、心拍数および心電図を測定した。

結果：呼吸数では 600mg/kg 群では投与後 120 分および 180 分の実測値が対照群に比べ統計学的に有意な高値を示した。

収縮期血圧に対し、2000mg/kg 群で投与前の実測値が有意な高値を示した。

拡張血圧に対し、いずれの検体投与群でも実測値および変化値に対して作用は認められなかった。

平均血圧に対して、いずれの検体投与群でも実測値および変化値に対して作用は認められなかった。

心拍数に対し、溶媒対照群に比べ 600mg/kg 群で投与後 60 分の実測値が有意な高値を示した。

心電図において、溶媒対照群に比べ 200mg/kg 群で PR 時間の投与後 120 分の変化値が有意な高値、QRS 時間の投与後 120 分の変化値が有意な低値を示した。600mg/kg では QT 時間および QTc の投与後 60 分および 120 分の実測値、投与後 120 分の変化値が有意な低値を示した。2000mg/kg 群では QRS 時間の投与前の実測値が有意な高値を示した。

以上のように、呼吸・循環器系に対する作用では、呼吸数、心拍数、心電図についてはいずれも用量に関連しない変化であることから検体投与の影響とは考えなかった。尚 2000mg/kg 群では収縮期血圧値の高値および QRS 時間の高値が認められたが、いずれも投与前の値であることから、検体投与との関連のない変化であった。従って、呼吸数、血圧、心拍数および心電図に対する作用は認められなかった。

6. ラットの腎機能に対する作用/

尿量、尿中電解質(ナトリウム、カリウム、塩素)および尿浸透圧の測定

供試動物：SD系雄ラット，197～235g，一群各5匹

投与方法：検体に少量のクレモホア(最終濃度2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kgを経口投与した。尚、検体投与前に生理食塩水を体重100gあたり2.5mLの割合で経口投与した。検体投与後、無給餌、無給水条件下で検体投与後6時間まで尿を採取した。

結果：尿量、尿中電解質および尿浸透圧のいずれにも溶媒対照群と検体投与群の間に統計学的な有意差は認められなかった。

7. ラットの自律神経系に対する作用/瞳孔径の測定

供試動物：SD系雄ラット，198～219g，一群各5匹

投与方法：検体に少量のクレモホア(最終濃度2%)を加え乳鉢中で混和させた後、注射用水に懸濁して0(2%クレモホア注射用水)、200、600、2000mg/kgを経口投与した。尚、検体投与前に生理食塩水を体重100gあたり2.5mLの割合で経口投与した。検体投与前、投与後30、60、120および180分に瞳孔径を測定した。

結果：いずれの観察時間においても溶媒対照群と検体投与群の間に差は認められなかった。

以上の結果から、本検体は症状、中枢神経系、循環器系、腎機能および自律神経系に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

本試験の結果ならびに別に実施された急性毒性試験の結果は、本検体の経口、経皮および吸入経路からの急性毒性は非常に弱いことを示しており、本検体が散布作業に伴って暴露された場合や誤って摂取された場合に、急性中毒が発現する可能性は極めて低いと推測された。



「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

項目		投与経路	投与量 mg/kg	動物数/ 群	無作用量 mg/kg	作用量 mg/kg	結果の 概要
中 枢 神 経 系	ラットの一般 症状 (Irwin法)	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
	マウスの自発運 動量	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
	マウス痙攣誘発 電撃刺激	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
	ラットの体温	経口	0, 200, 600, 2000	♂:5	♂:2000	—	影響なし
循 環 系	ウサギの呼吸・ 循環器系 呼吸数, 血圧, 心 拍数, 心電図	経口	0, 200, 600, 2000	♂:3~4	♂:2000	—	影響なし
自 律 神 経 系	ラットの瞳孔径	経口	0, 200, 600, 2000	♂: 5	♂:2000	—	影響なし
腎 機 能	ラットの尿量, 尿中電解質, 尿 浸透圧	経口	0, 200, 600, 2000	♂: 5	♂:2000	—	影響なし

## 2. 原体混在物及び代謝物

### (1) 急性毒性

動植物土壌代謝物： のラットを用いた急性経口毒性試験  
(毒性資料 No. 代・混-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2003 年 10 月 1 日

検体の純度：

試験動物： ウィスター系ラット、1 群雌各 3 匹  
試験開始時；雌 9～12 週齢(162～182g)  
試験期間： 14 日間観察

観察期間： 14 日間

試験方法：

検体調製

検体を所定量秤量し、2%クレモホア EL を加えた脱塩水で懸濁液を調製し、投与検体とした。

投与方法

投与前約 16～24 時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 1 mL とした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 7 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時の全生存動物を二酸化炭素の吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

LD50 値に対する評価

OECD ガイドライン 423 等級法 (2001 年 12 月 17 日付け) に基づいて評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：300, 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌：>300-2000*, 1000mg/kg**
死亡開始時間及び終了時間	雌：2時間から4日
症状発現時間及び消失時間	雌：10分から7日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：-
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：300

\*：OECD 指針 No. 423(2001年12月17日付け)GHS, \*\*：LD<sub>50</sub> cut-off 値にそれぞれ準拠

### 一般症状の観察及び体重の測定

300mg/kg の用量において、運動低下、歩行失調、痙攣、努力呼吸が認められた。2000mg/kg の用量においては更に、流涎、眼瞼亀裂(限られた範囲)がみられ、3例中2例で死亡した。

2000mg/kg で第1週目に体重増加抑制がみられたが、2週目には回復した。300mg/kg では体重に順調な増加が認められた。

### 剖検

死亡動物では、肺の軽度な虚脱、脾臓、腎臓の退色化がみられた。

試験終了時に屠殺した動物には、肉眼的病理所見は認められなかった。

原体混在物： のラットを用いた急性経口毒性試験  
(毒性資料 No. 代・混-2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2003年12月8日

検体の純度：

供試動物： ウィスター(HsdCpb:WU)系雌ラット，1群雌各3匹  
試験開始時；10～12週齢(162～179g)

観察期間： 14日間

試験方法：

検体調製

検体を所定量秤量し、2%クレモホア EL を加えた脱塩水で懸濁液を調製し、投与検体とした。

投与方法

投与前約16～24時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重100gあたり1mLとした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は14日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後7日及び14日に行った。

剖検

観察終了時に全生存動物をジエチルエーテル吸入麻酔下で屠殺後、剖検した。

LD50値に対する評価

OECD ガイドライン423等級法(2001年12月17日付け)に基づいて評価した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌： Category 5 / unclassified*, ≥5000**
死亡開始時間及び 終了時間	雌：－
症状発現時間及び 消失時間	雌：－
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌：2000

\*：OECD 指針 No. 423(2001年12月17日付け)GHS, \*\*：LD<sub>50</sub> cut-off 値にそれぞれ準拠

#### 一般症状の観察及び体重の測定

中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

順調な体重増加が雌雄共にみられた。

#### 剖検

剖検において、雌雄共に検体に起因する所見は認められなかった。

## (2) 変異原性

動植物土壌代謝物： の細菌を用いた復帰突然変異性試験  
(毒性資料 No. 代・混-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2003 年 10 月 29 日

検体の純度：

試験系： 細菌 (サルモネラ菌 <TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102> )

試験方法：

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (Salmonella typhimurium) の 5 株を用い、ラットの肝臓調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下、非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、16~5000 $\mu$ g/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 連制とし、2 回行った (初回; プレートインコーポレーション法、第二回目; プレインキュベーション法)。陽性対照としてアジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ )、ニトロフラントイン (NF)、4-ニトロ-1, 2-フェニレンジアミン (4-NPDA)、マイトマイシン C (MMC)、クメンヒドロペルオキシド (Cumene)、2-アミノアントラセン (2-AA) を用いた。尚、用量設定試験は行わなかった。

### 結果及び考察

表 1、2 に示したように、158 $\mu$ g/プレートまで殺菌毒性、生育阻害は認められなかった。500 $\mu$ g/プレート以上では菌株に関して弱い毒性を示したが、評価の目的に使用できるほど弱いものであった。

2 回の試験共に検体を用いた全用量において代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性を伴った増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた非代謝活性化条件下での  $\text{NaN}_3$ 、NF、4-NPDA、MMC、Cumene では、溶媒対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、代謝活性化条件下での 2-AA は、試験に用いたすべての菌株に明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において、復帰変異誘発作用は有さないものと判断された。

表 1. 1 回目試験(プレート インコーポレーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	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	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
対照(DMSO)		—	89	15	200	21	6
検体	16	—	94	15	178	20	8
	50	—	92	12	170	23	6
	158	—	89	14	171	21	6
	500	—	96	11	159	20	8
	1581	—	105	12	164	19	7
	5000	—	87	14	102	12	5
対照(DMSO)		+	105	12	241	31	11
検体	16	+	114	12	247	34	9
	50	+	126	12	242	37	13
	158	+	107	11	217	29	9
	500	+	104	10	233	28	13
	1581	+	119	10	208	31	12
	5000	+	111	9	185	17	8
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—		723		
	NF	0.2	—	238			
	4-NPDA	10/0.5*	—			137	87
	MMC	0.2			459		
	2-AA	3	+	1248	192	610	1093

\*TA1537;10μg/プレート, TA98;0.5μg/プレート

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

MMC : マイトマイシンC

2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2.2 回目試験(プレインキュベーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	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	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		—	113	10	226	29	7
検体	16	—	121	11	222	28	4
	50	—	119	13	210	26	7
	158	—	123	11	228	26	5
	500	—	125	1	204	30	4
	1581	—	130	11	216	23	5
	5000	—	112	8	166	17	2
対照 (DMSO)		+	130	12	275	39	6
検体	16	+	125	12	265	35	6
	50	+	125	12	245	36	5
	158	+	144	14	252	38	5
	500	+	130	10	254	36	8
	1581	+	131	13	240	32	7
	5000	+	102	9	139	15	2
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—		746		
	NF	0.2	—	455			
	4-NPDA	10/0.5*	—			166	103
	Cumene	50	—		468		
	2-AA	3	+	1383	273	500	1116

\*TA1537;10μg/プレート, TA98;0.5μg/プレート

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

Cumene : クメンヒドロペルオキシド

2-AA : 2-アミノアントラセン



原体混在物： の細菌を用いた復帰突然変異性試験  
(毒性資料 No. 代・混-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2003 年 10 月 29 日

検体の純度：

試験系： 細菌 (サルモネラ菌 (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102) )

試験方法：

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) の 5 株を用い、ラットの肝臓調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下、非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解し、16~5000 $\mu$ g/プレートの範囲の 6 濃度で実施した。試験は 3 連制とし、2 回行った (初回；プレートインコーポレーション法、第二回目；プレインキュベーション法)。陽性対照としてアジ化ナトリウム ( $\text{NaN}_3$ )、ニトロフラントイン (NF)、4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン (4-NPDA)、マイトマイシン C (MMC)、クメンヒドロペルオキシド (Cumene)、2-アミノアントラセン (2-AA) を用いた。

尚、用量設定試験は行わなかった。

結果及び考察

表 1、2 に示したように、500 $\mu$ g/プレートまで殺菌毒性、生育阻害は認められなかった。1581 $\mu$ g/プレート以上では菌株に関して毒性を示したが、評価の目的に使用できるほど弱いものであった。また 1581 $\mu$ g/プレート以上で被験物質の沈殿がみられた。

2 回の試験共に検体を用いた全用量において代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数に溶媒対照の 2 倍以上で、かつ用量相関性を伴った増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた非代謝活性化条件下での  $\text{NaN}_3$ 、NF、4-NPDA、MMC、Cumene では、溶媒対照と比較して明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、代謝活性化条件下での 2-AA は、試験に用いたすべての菌株に明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は本試験条件下において、復帰変異誘発作用は有さないものと判断された。

表 1. 1 回目試験(プレート インコーポレーション法) (表中の数値は 3 反復の平均値)

薬物	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	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
対照 (DMSO)		—	94	13	218	20	6
検体	16	—	85	15	198	17	5
	50	—	87	15	216	26	6
	158	—	90	13	200	24	5
	500	—	77	15	183	21	5
	1581	—	92	16	163	20	5
	5000	—	83	15	170	22	4
対照 (DMSO)		+	112	9	237	33	7
検体	16	+	107	11	252	32	7
	50	+	106	10	239	28	7
	158	+	92	8	208	28	7
	500	+	86	8	250	27	8
	1581	+	88	10	231	28	6
	5000	+	86	9	218	31	5
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—		679		
	NF	0.2	—	245			
	4-NPDA	10/0.5*	—			179	119
	MMC	0.2			478		
	2-AA	3	+	1375	192	413	1080

\*TA1537;10μg/プレート, TA98;0.5μg/プレート

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

MMC : マイトマイシン C

2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2.2 回目試験(プレインキュベーション法) (表中の数値は3反復の平均値)

薬物	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	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
対照(DMSO)		—	98	15	191	17	7
検体	16	—	111	13	195	16	5
	50	—	83	9	198	20	6
	158	—	105	15	184	16	6
	500	—	111	12	189	23	5
	1581	—	93	13	194	16	7
	5000	—	103	12	185	14	6
対照(DMSO)		+	142	9	252	25	9
検体	16	+	134	9	263	26	8
	50	+	126	8	253	27	7
	158	+	121	7	227	26	5
	500	+	128	9	223	22	8
	1581	+	137	9	196	26	6
	5000	+	124	8	171	23	8
陽性 対照	NaN <sub>3</sub>	10	—		665		
	NF	0.2	—	508			
	4-NPDA	10/0.5*	—			170	119
	Cumene	50	—		495		
	2-AA	3	+	1181	275	502	953

\*TA1537;10μgプレート, TA98;0.5μgプレート

NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

NF : ニトロフラントイン

4-NPDA : 4-ニトロ-1,2-フェニレンジアミン

Cumene : クメンヒドロペルオキシド

2-AA : 2-アミノアントラセン

### 3. 製剤

30%フロアブル

急性毒性

30%フロアブルのラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日： 2003年8月26日

有効成分の含有量 : スピロメシフェン； 30%  
試験動物 : SD系ラット、1群雌各3匹  
試験開始時； 雌 8週齢 (183~193g)  
試験期間 : 14日間

試験方法：

検体調製

検体を所定量秤量し、蒸留水を加えて混和させた。

投与方法

投与前日の夕方より絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 1 mL とした。

一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は 14 日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日 1 回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後 1、3、7 日及び 14 日に行った。

剖検

観察終了時に全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後剖検した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌：2000
LD50 (mg/kg)	雌：>2000mg/kg
死亡開始時間及び終了時間	雌：－
症状発現時間及び消失時間	雌：－
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：－
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌：2000

#### 一般症状の観察及び体重の測定

本検体による中毒症状は初回、第2回目いずれの投与群においても認められなかった。死亡例も認められなかった。

検体に起因すると考えられる体重増加抑制は認められなかった。

#### 剖検

試験終了時に剖検した結果、肉眼的異常所見は認められなかった。

## 30%フロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

環境安全研究部

[GLP 対応]

報告書作成年月日：2003年8月26日

有効成分の含有量 : スピロメシフェン； 30%  
試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹  
試験開始時； 雄 8週齢 (300～314g)  
雌 8週齢 (197～210g)  
試験期間 : 14日間

### 試験方法：

#### 検体調製

検体を所定量秤量し、蒸留水を加えて混和させた。

#### 投与方法

投与の約24時間前に塗布部位の背中中央を約4×5cmの広さで剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.4mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

#### 一般症状の観察及び体重の測定

観察期間は14日間とし、検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7日及び14日に行った。

#### 剖検

観察終了時に全生存動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後剖検した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000

#### 一般症状の観察及び体重の測定

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

#### 剖検

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

## (2) 急性吸入毒性

### 30%フロアブルのラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

#### 試験成績の提出除外

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

#### [除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。



## 皮膚及び眼に対する刺激性

### 30%フロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2003年8月21日

検体の純度：スピロメシフェン； 30%

試験動物：日本白色種雌ウサギ，1群3匹，試験開始時；17週齢(2.97～3.24kg)

試験期間：3日間観察

#### 試験方法：

投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を2つの部分にわけ、検体適用部位(左側)には検体0.5mLを塗布した2.5×2.5cmのリント布をのせ、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。右側は無処理部位とし、リント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。

#### 観察項目：

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

#### 【評価】

刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個体別の値を求め、更に供試したウサギの3匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

結果：

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

表にみられる様に、検体除去 1、24、48 および 72 時間後の観察において、いずれの動物にも皮膚反応は認められなかった。従って皮膚一次刺激性指数は 0 であった。なお、無処置部位には皮膚反応はみられなかった。

刺激性 (3 匹の平均)

項目		最高 評点	Draize による評価点 (平均値)			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
検 体	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			
無 処 理	紅斑/痂皮形成	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
	一次刺激指数		0			

以上のことから、スピロメシフェン 30%フロアブルはウサギの皮膚に対し「無刺激物」と評価された。

### 30%フロアブルのウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年9月14日

検体の純度：スピロメシフェン；30%  
試験動物：日本白色種雌ウサギ  
非洗眼群3匹，洗眼群3匹  
試験開始時；15週齢(2.43～2.67kg)

試験期間：3日間観察

試験方法：

6匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体0.1mLをそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約1秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの3匹の動物を、検体投与2～3分後に微温湯で洗眼して洗眼群とし、残りの3匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

観察項目：

検眼は、投与1、24、48及び72時間に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、Draize法に従って採点した。また適用後24時間には2%フルオレセインナトリウム水溶液を1滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

結果：

#### [一般観察]

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

#### [刺激性]

検体適用後の眼の反応の結果を表1～表2に示した。

非洗眼群では、適用後1時間の観察において、結膜発赤と分泌物が認められ、適用後48時間にはこれらの刺激反応は消失した。眼のその他の変化として閉眼が投与直後

に観察された。MMTS(72時間以内の最高平均スコア)は投与1時間の4.0であった。

洗眼群では適用後1時間で結膜発赤が認められ、24時間後にはこの刺激反応は消失した。洗眼群のMMTSは適用後1時間の0.7であった。

非洗眼群の眼刺激性は非常に弱い刺激性であったため、洗眼効果は僅かに差が認められる程度であった。

表1. 眼一次刺激性試験成績(表3に個体別値を記載)

項目		最高	投与後時間				
			評点	1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0*	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0.67	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
	合計(MTS)#		110	4.0	1.3	0	0
洗眼群 (3匹の平均)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0*	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0.33	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合計(MTS)#		110	0.7	0	0	0

#: Draize法による評価点(最高110点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

\*: フルオレセイン染色斑なし

表2. MTS: 適用眼

観察期間 (適用後)	MTS	
	検体非洗眼群	検体洗眼群
1時間	4.0#	0.7#
24時間	1.3	0
48時間	0	0
72時間	0	0

\*: MMTS

以上のことから、スピロメシフェン30%フロアブルはウサギの眼に対し「軽度の刺激性」があるものと評価された。

表 3. 眼一次刺激性試験成績

項目		最高 評点	投与後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	
非洗眼群							
動物 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0*	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
	動物 2	角膜混濁	程度	4	0	0	0
面積			4	0	0*	0	0
虹彩		2	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
動物 3		角膜混濁	程度	4	0	0	0
	面積		4	0	0*	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0
	洗眼群						
動物 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0*	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	動物 2	角膜混濁	程度	4	0	0	0
面積			4	0	0*	0	0
虹彩		2	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
動物 3		角膜混濁	程度	4	0	0	0
	面積		4	0	0*	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0

#: Draize 法による評価点 (最高 110 点), 個体毎に計算した合計評点の平均値を記載

\*:フルオレセイン染色斑なし

## 皮膚感作性

### 30%フロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(毒性資料 No. 製剤-6)

試験機関： 株式会社

[GLP対応]

報告書作成年月日： 2003年 8月 21日

有効成分の含有量： スピロメシフェン；30.0%

試験動物： ハートレー系雌モルモット、1群 20匹(無感作群 10匹)  
試験開始時体重；326~406g(6週齢)

試験期間： 約5週間

試験方法： Buehler 法により行った。

#### 試験濃度設定の理由

#### 試験試料の調製

検体を、所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試料として用いた。

#### 感作及び惹起処置

感作開始前日左側胴部を刈毛した。感作試料 0.2mL を6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の13日後に全動物の右側胴部を毛刈りした。その翌日(最終感作14日後)、惹起試料 0.2mL を6時間貼付した。注射用水で投与部位を清拭した。

観察項目：

惹起貼付除去後 24 及び 48 時間に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の評価表に従って判定した。

#### 皮膚反応の評価法(Magnusson&Kligman の基準：1969年, 1970年)

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

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日(0日)、感作終了日(14日)、惹起日(28日)及び惹起後2日(30日)に全動物について行った。

評価：

各個体の皮膚反応の評点を合計し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と無感作群の反応の程度を比較し、感作群において無感作群より強い場合感作性陽性と評価した。

結果：

[一般観察]

全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[感作性]

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
				貼布除去後 24 時間					貼布除去後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点															
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
感作	100	75	20	6	14	0	0	0	6	14	0	0	0	0.7	0.7	14	14	70	70
無感作	0	75	10	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、検体 75%で惹起したとき、検体感作群では惹起貼布除去後 24 および 48 時間後の観察で評点 1 の紅斑がそれぞれ 20 例中 14 例に認められた。平均評点は惹起貼布除去後 24 時間および 48 時間でいずれも 0.7 であり、陽性率は 70%であった。

検体無感作群では、惹起貼布除去後 24 時間および 48 時間の観察において、いずれの動物も皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、スピロメシフェン 30%フロアブルの皮膚感作性は陽性であると判断する。

**Confidential**

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別に実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (2002 年 12 月 27 日～2003 年 4 月 10 日)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
				惹起後 24 時間				惹起後 48 時間				24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	1	0.25	10	0	0	3	7	0	1	5	4	2.7	2.3	10	10	100	100
無感作	0	0.25	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB には明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性及び試験方法の信頼性が確認された。



## 22.9%フロアブル

急性経口毒性

急性経皮毒性

皮膚一次刺激性

眼一次刺激性

皮膚感作性

22.9%フロアブルのラットを用いた急性経口毒性試験

22.9%フロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験

22.9%フロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

22.9%フロアブルのウサギを用いた眼一次刺激性試験

22.9%フロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 製剤-7)

これらの試験成績を30%フロアブルの試験成績、毒性資料No. 製剤-1、-2、-4、-5、-6  
でそれぞれ代替する。

## 急性吸入毒性

### 22. 9%フロアブルのラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-8)

#### 試験成績の提出除外

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

#### [除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

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

## 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No.	試験の種類	供試動物植物等	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																																																																																																													
動物代謝1	動物における動態と代謝	ラット	供試化合物： [ I ] <sup>14</sup> C標	<p><b>排泄</b> 放射能は呼気にほとんど排泄されなかった。 各試験群からの放射能の総回収率は 90～102%であり、投与放射能は定量的に回収された。投与用量、投与回数あるいは雌雄によらず、投与放射能は投与 72 時間後までに尿及び糞中にほぼ完全に排泄された。高用量群では 99～102% が、低用量単回投与群では 94～96% が、低用量反復投与群では 90～92% が尿及び糞中に排泄された。高用量試験群で低用量試験群に比べ、糞中への排泄率が高く、高用量試験群では雌雄いずれでも約 93% が糞中に排泄され、尿中への排泄率は 6.5～8.9% であった。 低用量試験群の尿及び糞への排泄割合は投与回数によらず類似し、単回投与群の尿中への排泄率は雌雄いずれも約 39%、糞中への排泄率は雄で 56.5%、雌で 54.8% であった。また、反復投与群での尿中への排泄率は雄で 39.6%、雌で 34.0% であり、糞中への排泄率は雄で 53.3%、雌で 55.4% であった。</p> <p><b>屠殺時の動物体中残留量</b> 投与用量、投与回数あるいは雌雄によらず投与 72 時間後の屠殺時の動物体中の残留量は低く、全組織中残留量は約 0.2% 以下、残体中の残留量は約 0.3% 以下であった。</p> <p><b>胆汁排泄</b> 尿中への排泄率は投与量の 36.1% であり、胆管カニュレーションを施していないラットと同様であった。投与量の 6.77% が胆汁中に排泄された。糞中への排泄率は投与量の 45.3% であった。屠殺時の動物体中の残留量は投与 72 時間後に屠殺した動物より高く、投与量の約 3.2% が残体中に認められた。</p> <p><b>吸収</b> 雄ラットの尿及び胆汁中に排泄された放射エネルギー及び肝臓及び残体に残留していた放射エネルギーから、低投与用量における吸収率は約 48% と算出された。</p>	(2000年)	運命-15																																																																																																													
<p>表 1 試験群及び各試験群における調査試験項目</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>試験群</th> <th>投与経路</th> <th>用量</th> <th>回数(回)</th> <th>性及び匹数</th> <th>試験期間(投与後屠殺時間)</th> <th>試験項目</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1b</td> <td rowspan="10">経口</td> <td>500</td> <td>1</td> <td>雌雄各4</td> <td>72</td> <td>排泄(呼気)</td> </tr> <tr> <td>1c</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>雌雄各4</td> <td>72</td> <td>排泄、分布、代謝</td> </tr> <tr> <td>1d</td> <td>500</td> <td>1</td> <td>雄4</td> <td>72</td> <td>排泄、分布、代謝</td> </tr> <tr> <td>1e</td> <td>2</td> <td>15*</td> <td>雌雄各4</td> <td>72</td> <td>排泄、分布、代謝</td> </tr> <tr> <td>2a</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>雌雄各12</td> <td>120</td> <td>血中濃度</td> </tr> <tr> <td>2b</td> <td>500</td> <td>1</td> <td>雄12</td> <td>120</td> <td>血中濃度</td> </tr> <tr> <td>2c</td> <td>2</td> <td>15*</td> <td>雌雄各12</td> <td>120</td> <td>血中濃度</td> </tr> <tr> <td>3a</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>雄4</td> <td>48</td> <td>排泄(胆汁)、代謝</td> </tr> <tr> <td>4a</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>雄4</td> <td>1, 4, 8, 24, 48 及び 72</td> <td>臓器分布(定性的)</td> </tr> </tbody> </table> <p>低用量：2 mg/kg 体重、高用量：500 mg/kg 体重 * 非標識[ I ]を 14 日間反復投与後、標識[ I ]を 1 回</p>							試験群	投与経路	用量	回数(回)	性及び匹数	試験期間(投与後屠殺時間)	試験項目	1b	経口	500	1	雌雄各4	72	排泄(呼気)	1c	2	1	雌雄各4	72	排泄、分布、代謝	1d	500	1	雄4	72	排泄、分布、代謝	1e	2	15*	雌雄各4	72	排泄、分布、代謝	2a	2	1	雌雄各12	120	血中濃度	2b	500	1	雄12	120	血中濃度	2c	2	15*	雌雄各12	120	血中濃度	3a	2	1	雄4	48	排泄(胆汁)、代謝	4a	2	1	雄4	1, 4, 8, 24, 48 及び 72	臓器分布(定性的)																																															
試験群	投与経路	用量	回数(回)	性及び匹数	試験期間(投与後屠殺時間)	試験項目																																																																																																													
1b	経口	500	1	雌雄各4	72	排泄(呼気)																																																																																																													
1c		2	1	雌雄各4	72	排泄、分布、代謝																																																																																																													
1d		500	1	雄4	72	排泄、分布、代謝																																																																																																													
1e		2	15*	雌雄各4	72	排泄、分布、代謝																																																																																																													
2a		2	1	雌雄各12	120	血中濃度																																																																																																													
2b		500	1	雄12	120	血中濃度																																																																																																													
2c		2	15*	雌雄各12	120	血中濃度																																																																																																													
3a		2	1	雄4	48	排泄(胆汁)、代謝																																																																																																													
4a		2	1	雄4	1, 4, 8, 24, 48 及び 72	臓器分布(定性的)																																																																																																													
<p>表 2 排泄量及び動物体中残留量(投与量に対する%)*</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">試験群</th> <th colspan="2">1b</th> <th colspan="2">1d</th> <th colspan="2">1c</th> <th colspan="2">1e</th> <th>3a</th> </tr> <tr> <th colspan="2">高</th> <th colspan="2">低</th> <th colspan="2">低</th> <th colspan="2">低</th> <th>低</th> </tr> <tr> <th>用量</th> <th colspan="2">高</th> <th colspan="2">低</th> <th colspan="2">低</th> <th colspan="2">低</th> <th>低</th> </tr> <tr> <th>回数</th> <th colspan="2">単回</th> <th colspan="2">単回</th> <th colspan="2">反復</th> <th colspan="2">単回</th> <th>単回</th> </tr> <tr> <th>性</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>8.9</td> <td>6.5</td> <td>8.96</td> <td>39</td> <td>39.1</td> <td>39.6</td> <td>34.0</td> <td>36.1</td> <td>36.1</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>93.1</td> <td>92.7</td> <td>89.6</td> <td>56.5</td> <td>54.8</td> <td>53.3</td> <td>55.4</td> <td>45.3</td> <td>45.3</td> </tr> <tr> <td>胆汁</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>6.77</td> </tr> <tr> <td>全臓器/組織</td> <td>n.a.</td> <td>n.a.</td> <td>0.1</td> <td>0.2</td> <td>0.2</td> <td>0.2</td> <td>0.2</td> <td>0.2</td> <td>7.5</td> </tr> <tr> <td>残体</td> <td>0.1</td> <td>0.1</td> <td>0</td> <td>0.1</td> <td>0.2</td> <td>0.1</td> <td>0.3</td> <td>0.3</td> <td>3.2</td> </tr> <tr> <td>回収率</td> <td>102.0</td> <td>99.4</td> <td>98.6</td> <td>95.8</td> <td>94.3</td> <td>93.2</td> <td>90.0</td> <td>98.6</td> <td>98.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>n.a. 採取・分析せず。 * 小数点以下 1 位に四捨五入した値を示す。</p>							試験群	1b		1d		1c		1e		3a	高		低		低		低		低	用量	高		低		低		低		低	回数	単回		単回		反復		単回		単回	性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	尿	8.9	6.5	8.96	39	39.1	39.6	34.0	36.1	36.1	糞	93.1	92.7	89.6	56.5	54.8	53.3	55.4	45.3	45.3	胆汁	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	6.77	全臓器/組織	n.a.	n.a.	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	7.5	残体	0.1	0.1	0	0.1	0.2	0.1	0.3	0.3	3.2	回収率	102.0	99.4	98.6	95.8	94.3	93.2	90.0	98.6	98.6
試験群	1b		1d		1c			1e		3a																																																																																																									
	高		低		低		低		低																																																																																																										
用量	高		低		低		低		低																																																																																																										
回数	単回		単回		反復		単回		単回																																																																																																										
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄																																																																																																										
尿	8.9	6.5	8.96	39	39.1	39.6	34.0	36.1	36.1																																																																																																										
糞	93.1	92.7	89.6	56.5	54.8	53.3	55.4	45.3	45.3																																																																																																										
胆汁	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	6.77																																																																																																										
全臓器/組織	n.a.	n.a.	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	7.5																																																																																																										
残体	0.1	0.1	0	0.1	0.2	0.1	0.3	0.3	3.2																																																																																																										
回収率	102.0	99.4	98.6	95.8	94.3	93.2	90.0	98.6	98.6																																																																																																										

資料 No.	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																																																																																			
動物代謝 1 (続き)	動物における動態と代謝	ラット	<p>試験項目:血漿中及び全血中放射能濃度、薬物動態</p> <p>試験群: 2a: 低用量単回経口 2b: 高用量単回経口 2c: 低用量反復経口</p> <p>試料採取時間 最終投与後 0.25、0.5、1、2、3、4、6、12、24、48、72 及び 96 時間</p>	<p>低用量の単回及び反復投与のいずれでも放射能への曝露速度 (Cmax) 及び程度 (AUC<sub>t</sub>) は雌で雄より 14~57% 低かった。</p> <p>低用量での単回投与と反復投与の Cmax は雌雄いずれでも類似していたが、tmax は雌雄いずれでも単回投与後に比べて遅かった。また、高投与量でも tmax が大きく、吸収が緩やかであることが示唆された。</p> <p>血漿及び全血中の t<sub>1/2</sub> は投与用量、雌雄、投与回数によらず、24 時間以内であり、[I] 及びその代謝物は血液中から速やかに消失することが示唆された。</p> <p>低用量の全血中 AUC<sub>t</sub> に対する血漿中 AUC<sub>t</sub> の比は 1.4~1.7 であり、放射能は主に血漿中に分布した。</p>	(2000 年)	運命 -15																																																																																			
<p>表 3 血漿中及び全血中薬物動態パラメーター</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">試験群</th> <th colspan="4">低用量単回</th> <th colspan="4">低用量反復</th> </tr> <tr> <th colspan="2">血漿</th> <th colspan="2">全血</th> <th colspan="2">血漿</th> <th colspan="2">全血</th> </tr> <tr> <th>試料</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cmax</td> <td>0.834</td> <td>0.556</td> <td>0.499</td> <td>0.330</td> <td>0.837</td> <td>0.723</td> <td>0.501</td> <td>0.433</td> </tr> <tr> <td>Tmax</td> <td>2</td> <td>1</td> <td>6</td> <td>1</td> <td>4</td> <td>4</td> <td>3</td> <td>4</td> </tr> <tr> <td>AUC<sub>t</sub></td> <td>10.9</td> <td>5.9</td> <td>7.5</td> <td>4.1</td> <td>16.1</td> <td>6.9</td> <td>9.6</td> <td>4.6</td> </tr> <tr> <td>t<sub>1/2</sub></td> <td>10.5</td> <td>16.0</td> <td>15.5</td> <td>11.4</td> <td>18.0</td> <td>7.4</td> <td>9.9</td> <td>8.1</td> </tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th>試験群</th> <th colspan="2">高用量単回</th> </tr> <tr> <th>試料</th> <th>血漿</th> <th>全血</th> </tr> <tr> <th>性</th> <th>雄</th> <th>雄</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Cmax</td> <td>40.1</td> <td>25.4</td> </tr> <tr> <td>Tmax</td> <td>6</td> <td>6</td> </tr> <tr> <td>AUC<sub>t</sub></td> <td>508</td> <td>280</td> </tr> <tr> <td>t<sub>1/2</sub></td> <td>8.7</td> <td>6.6</td> </tr> </tbody> </table>							試験群	低用量単回				低用量反復				血漿		全血		血漿		全血		試料	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	Cmax	0.834	0.556	0.499	0.330	0.837	0.723	0.501	0.433	Tmax	2	1	6	1	4	4	3	4	AUC <sub>t</sub>	10.9	5.9	7.5	4.1	16.1	6.9	9.6	4.6	t <sub>1/2</sub>	10.5	16.0	15.5	11.4	18.0	7.4	9.9	8.1	試験群	高用量単回		試料	血漿	全血	性	雄	雄	Cmax	40.1	25.4	Tmax	6	6	AUC <sub>t</sub>	508	280	t <sub>1/2</sub>	8.7	6.6
試験群	低用量単回				低用量反復																																																																																				
	血漿		全血		血漿		全血																																																																																		
試料	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌																																																																																	
Cmax	0.834	0.556	0.499	0.330	0.837	0.723	0.501	0.433																																																																																	
Tmax	2	1	6	1	4	4	3	4																																																																																	
AUC <sub>t</sub>	10.9	5.9	7.5	4.1	16.1	6.9	9.6	4.6																																																																																	
t <sub>1/2</sub>	10.5	16.0	15.5	11.4	18.0	7.4	9.9	8.1																																																																																	
試験群	高用量単回																																																																																								
試料	血漿	全血																																																																																							
性	雄	雄																																																																																							
Cmax	40.1	25.4																																																																																							
Tmax	6	6																																																																																							
AUC <sub>t</sub>	508	280																																																																																							
t <sub>1/2</sub>	8.7	6.6																																																																																							
			<p>試験項目: 臓器及び組織中分布</p> <p>試験群: 低用量単回経口(全身オートラジオグラフィ) 高用量単回経口(解剖) 低用量単回経口(解剖) 低用量反復経口(解剖)</p> <p>試料採取時間: 全身オートラジオグラフィ: 投与 1、4、8、24、48 及び 72 時間後 解剖: 最終投与 72 時間後</p>	<p>全身オートラジオグラフィ(定性評価) 投与 1 時間後、放射能は全組織および臓器に分布し、そのレベルは胃腸管、膀胱、心臓内の血液で最も高かった。脳および脊柱で平均より低いレベルが認められた。最高レベルは投与後 4 時間に認められ、以降は全ての組織および臓器で放射能は低下した。投与 48 時間後には胃腸管、腎臓、膀胱のみに放射能が存在し、それら以外の臓器、組織及び残体には放射能の分布がほとんど認められなかった。</p> <p>臓器中分布(解剖、定量評価) いずれの試験群でも投与 72 時間後の屠殺時における組織及び臓器中放射能濃度は低かった。反復投与の雌ラットを除き、全ての試験群において最も高い濃度の放射能が肝臓で検出された。反復投与の雌ラットでは脂肪(腎周囲)において最高濃度の放射能が検出された。脂肪(腎周囲)中の放射能濃度は雌ラットにおいて、雄ラットより高い傾向が認められた。</p>																																																																																					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	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
動物代謝 1 (続き)	動物における動態と代謝	ラット	<p>試験項目：代謝</p> <p>試験群： 高用量単回経口 低用量単回経口 低用量反復経口 低用量単回経口・胆汁排泄</p> <p>試料採取時間： 尿： 最終投与後 0～24 または 24～48 時間(混合尿試料) 胆汁： 最終投与後 0～48 時間 糞： 最終投与後 0～6、6～24、24～48、48～72 時間</p>	<p><b>尿中代謝物</b> いずれの試験群の尿からも親化合物[ I ]は検出されなかった。 低用量で単回投与後、18 種類の放射性成分が&lt;0.1%～10.8%の濃度で検出された。エノール体[M1]、及び の3種類が投与量の5%以上の濃度で排泄され、他に5種類が投与量の2～5%の濃度で排泄された。残りの10種類の代謝物は投与量の2%未満であった。雄ラットでは が、雌ラットではエノール体[M1]が最高濃度で検出された。 低用量で反復投与後の尿中代謝物の分布は、単回投与後の代謝物分布と質的にも量的にも類似していた。 高用量で単回投与後の個々の代謝物の濃度は&lt;0.1%～3.0%と低い割合であったが、代謝物組成は低用量と質的に類似し、低用量と同じ代謝物のみが同定された。</p> <p><b>胆汁中代謝物</b> 親化合物[ I ]は検出されなかった。13種類の放射性成分が投与量の0.1～1.3%の範囲で検出された。投与量の1.3%に相当する1種の未同定代謝物を除き、12種類の代謝物は尿中代謝物と共通していた。</p> <p><b>糞中代謝物</b> 投与量、性別及び投与回数にかかわらず、糞中に明瞭に認められる放射性成分は2つのみであり、親化合物[ I ]及びエノール体[M1]と同定された。糞から抽出可能な放射能のほぼ全てが親化合物[ I ]であった。</p>	(2000年)	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。

資料 No.	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
動物代 謝 2	動物に おける 動態と 代謝	ラット	供試化合物： [ $^{14}\text{C}$ ] 標識 [ I ]  試験項目： 臓器及び組織における放 射能の消長(定量的全身オ ートラジオグラフィー)  試験群： 低用量単回経口 3 mg/kg 体重  試料採取時間： 投与 1、4、8、24、48 及び 72 時間後	投与 1 時間後の雄ラットの肝臓を除き、い ずれの臓器及び組織における濃度も投与 濃度より低かった。 雄ラットでは最高濃度が投与 1 時間後の肝 臓で検出され、いずれの時間に屠殺した雄 ラットでも肝臓における濃度が最も高 く、次いで、腎臓及び褐色脂肪で血液に比 べ高い濃度が検出された。雌ラットでも雄 ラットと同様、投与 1 時間後の肝臓で最高 濃度が検出された。いずれの時間に屠殺し た雌ラットでも肝臓、腎臓及び褐色脂肪で 血液に比べ高い濃度が検出された。雌雄い ずれのラットにおいても、肝臓、腎臓及び 褐色脂肪以外の臓器及び組織における放 射能濃度は血液中の放射能濃度より低か った。 ほとんど全ての臓器及び組織において、最 大濃度(C=0.02-2.75 $\mu\text{g/g}$ )が投与 1 時間後に 検出され、その後着実に濃度が減少し、投 与 72 時間後においては雄ラットの肝臓及 び腎臓並びに雌ラットの肝臓及び脂肪組 織を除き、臓器及び組織中に放射能は検出 されなかった。全ての臓器及び組織中にお ける放射能濃度は投与 1 時間後から 72 時 間後にかけて数桁の単位で減少し、ラット の臓器及び組織にスピロメシフェン及び その代謝物は蓄積しないと推定された。	(2003 年)	運命 -27

資料 No.	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
動物代謝 3	動物における動態と代謝	ラット	<p>供試化合物： [<sup>14</sup>C] 標識 [ I ]</p> <p>試験項目： 血漿、尿、腎臓及び肝臓における残留及び代謝物の消長</p> <p>試験群： 低用量単回経口 2 mg/kg 体重</p> <p>試料採取時間： 投与 1.5、8 及び 24 時間後</p>	<p>雄ラットの血漿、肝臓及び腎臓中代謝物 血漿中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後から 24 時間後にかけて、投与量の 0.8% から 0.2% に減少した。エノール体[M1]以外の代謝物の量は少なかった。 肝臓中の主要代謝物もエノール体[M1]であった。投与 1.5 時間後から 24 時間後にかけて、投与量の 9.4% から 2.8% に減少した。エノール体[M1]に次いで、 が多く、この代謝物も投与 1.5 時間後に最も多かった(投与量の 4.1%)。その他全ての代謝物は投与量の 1% 以下であり、最高値が投与 1.5 時間後に検出された。 腎臓抽出物に認められた代謝物は全て投与量の 0.5% 以下であった。主要代謝物は全試験群でエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後に最高の割合で検出された。エノール体[M1]に次いで、 が多かった。その他全ての代謝物の量は少なかった。</p> <p>雌ラットの血漿、肝臓及び腎臓中代謝物 血漿中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後から 24 時間後にかけて、投与量の 0.2% から &lt;0.01% に減少した。他の全代謝物の量はかなり少なく、ほとんど検出されなかった。 肝臓中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後から 24 時間後にかけて、投与量の 2.8% から 0.1% に減少した。その他全ての代謝物は投与量の 0.5% 以下であり、いずれも最高値が投与 1.5 時間後に検出された。 腎臓中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後から 24 時間後にかけて、投与量の 0.1% から &lt;0.1% に減少した。 も多かったが(1.5 時間後に投与量の 0.12%)、その他全ての代謝物は投与量の 0.1% 以下であり、いずれも最高値が投与 1.5 時間後に検出された。</p>	(2003 年)	運命 -34

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	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
植物代謝 1	植物における動態と代謝	トマト	<p>供試化合物： [ <math>^{14}\text{C}</math> ] 標識 [ I ]</p> <p>試験項目： 代謝及び移行性</p> <p>処理方法 代謝試験： 23.1%フロアブル製剤を希釈し、平均 409 g ai/ha の割合で 2 回(収穫 31 及び 7 日前)散布処理。</p> <p>移行性試験： 希釈液が直接散布されないように防護し、代謝試験と同様に処理、収穫した。</p>	<p>代謝試験</p> <p>トマトの成熟果実における総放射能残留量(TRR)は 0.844 ppm、表面洗浄液と抽出液がそれぞれ TRR の 79.3%(0.669 ppm)及び 16.9%(0.143 ppm)に相当した。未抽出残留物は TRR の 3.8% (0.032 ppm)であった。成熟果実の表面洗浄液中に認められた主要成分は親化合物 [ I ] (TRR の 77.3%(0.652 ppm))であった。抽出液には親化合物以外に が主要成分として認められた (TRR の 5.4%)。スピロメシフェン [ I ] がトマト成熟果実の主要残留物であった。トマト成熟果実から主要代謝物 エノール体 [ M1 ] 及び の 3 種類の代謝物が同定された。その他の代謝物は全て TRR の 1.0% 以下 (0.008 ppm 以下) であった。未成熟果実における分布は成熟果実と同様であった。</p> <p>移行性試験 散布液がかからないように防護した果実の総放射能残留量は 0.021 ppm であり、移行がごく僅かであることが示唆された。</p>	(2000 年)	運命 -43
植物代謝 2	植物における動態と代謝	りんご	<p>供試化合物： [ <math>^{14}\text{C}</math> ] 標識 [ I ]</p> <p>試験項目： 代謝</p> <p>処理方法 240 mg/L フロアブル製剤の 1600 倍希釈液(有効成分濃度 0.015%)を 7000 L/ha の割合で 1 回散布処理し、7 日後に収穫した。果実及び葉を収穫した。</p>	<p>りんご果実</p> <p>りんごにおける総放射能残留量(TRR)は 0.723 mg/kg に相当した。大部分の放射能が表面洗浄液に認められた (TRR の 96.8%、0.700 mg/kg)。残りの放射能がほぼ定量的に抽出された (0.022 mg/kg、TRR の 3.0%)。未抽出残留物は TRR の 0.2% であった。表面洗浄液中には親化合物 [ I ] のみが含まれ、りんご果実中における TRR の 97.4%(0.704 mg/kg) は未変化の親化合物 [ I ] であった。主代謝物は であ った。及びエノール体 [ M1 ] も同定された。</p> <p>りんご葉</p> <p>りんご葉の TRR は 26.613 mg/kg に相当した。TRR の 98.8%(26.287 mg/kg) が抽出された。未変化のスピロメシフェン [ I ] がりんご葉の主要残留成分であった (TRR の 91.4%、24.313 mg/kg)。代謝物エノール体 [ M1 ] (TRR の 2.7%、0.709 mg/kg) 及び が同定され、 も少量認められた</p>	(2004 年)	運命 -47



本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	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
植物代謝 3	植物における動態と代謝	レタス	<p>供試化合物： [ <math>^{14}\text{C}</math> ] 標識[ I ]</p> <p>試験項目： 代謝</p> <p>処理方法 代謝試験： 23.1%フロアブル製剤を希釈し、希釈液を 20 mL/m<sup>2</sup> (= 20 L/10a)の割合で播種 26 日後及び収穫 7 日前に 2 回散布処理した。</p>	<p>慣行処理量で施用後のレタス中の総放射能残留量(TRR)は 0.411 ppm であり、その内 98.6% (0.405 ppm)が抽出され、未抽出残留物は TRR の 1.4%(0.006 ppm)であった。</p> <p>主要成分は親化合物[ I ]であった(TRR の 57.6% (0.237 ppm))。代謝物では、 が TRR の 10%を超える量で認められた(TRR の 13.0%、0.053 ppm)。その他、エノール体[M1]及び を含む 4 種の少量代謝物が同定された。全体として TRR の 83%が同定された。</p> <p>異なる処理量で実施した試料における残留成分の分布も類似し、親化合物[ I ]が主成分であり、TRR の 66~69%に相当した。</p>	(2000年)	運命 -51
植物代謝 4	植物における動態と代謝	棉	<p>供試化合物： [ <math>^{14}\text{C}</math> ] 標識[ I ]</p> <p>試験項目： 代謝</p> <p>処理方法 240 mg/L フロアブル製剤の希釈液を植物当り 20 mL の割合で 7 日間隔で 3 回散布処理した。設定処理量は 300 g 有効成分(ai)/ha とした。</p> <p>分析部位： 種子 茎葉及びがく</p>	<p>種子 種子における総放射能残留量(TRR)は 0.051 ppm であった。親化合物[ I ](TRR の 56.2%、0.029 ppm)及びエノール体[M1] (TRR の 38.0%、0.019 ppm)の 2 種のみが抽出液に認められた。</p> <p>散布液がかからないように防護した種子の総放射能残留量は 0.0046 ppm であり、移行が僅かであることが示唆された。</p> <p>茎葉及びがく TRR は 6.33 ppm であった。通常溶媒の溶媒抽出により、TRR の 92.2%(5.84 ppm)が抽出され、更に 2M 水酸化ナトリウムを用いた還流抽出で TRR の 7.3%(0.46 ppm)が検出された。合計で TRR の 99.5%(6.30 ppm)が「茎葉及びがく」から抽出され、TRR の 0.5%が未抽出であった。</p> <p>「茎葉及びがく」における主要残留成分は親化合物[ I ]及びエノール体[M1]であり、それぞれ 1.66 ppm(TRR の 26.3%)及び 3.13 ppm(TRR の 49.4%)認められた。</p>	(2000年)	運命 -55

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	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
土壌運命 1	好氣的土壌における	土壌	<p>供試化合物： [ <sup>14</sup>C]標識[ I ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>供試土壌：4種類 Claude(シル質埴壤土、米国) Fresno(砂壤土、米国) Hoefchen(シルト、ドイツ) Laacherhof(砂壤土、ドイツ)</p> <p>処理量：0.32 ppm</p> <p>試験期間： Claude：365日 Fresno：365日 Hoefchen：120日 Laacherhof：120日</p>	<p>物質収支 物質収支は90.6%~104.4%と良好であった。</p> <p>スピロメシフェン[ I ]の分解速度 スピロメシフェン[ I ]は、半減期2.9日~17.9日で速やかに減衰した。[ I ]は培養終了時には4種いずれの土壌でも処理量の1%以下に減少した。</p> <p>揮発性物質の生成 経時的に揮発性物質が増加し、試験終了時には、約70%まで達した。揮発性放射能のほとんどがCO<sub>2</sub>であり、揮発性有機化合物はFresno土壌の181日後及び365日後のみそれぞれ0.1%及び0.2%検出されたのみであった。Fresno土壌以外では揮発性有機化合物は検出されなかった。</p> <p>分解物の生成及び消長 スピロメシフェン[ I ]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射能量の10%を超える主要分解物が2種( )及び少量分解物が2種生成した。 は全ての土壌で主要分解物として認められた。Claude及びFresnoでは、は14日後にそれぞれ32%及び28%の最大に達し、Hoefchen及びLaacherhofでは、7日後にそれぞれ49%及び58%の最大に達した。実験終了時、は処理放射能の2%以下に減少した。 は、Claude土壌では30日後に最大7.5%に達した後減少した。Fresno土壌ではは比較的少なく、14日後の2.8%が最大であった。Hoefchen及びLaacherhof土壌ではは処理量の10%を超える量で認められ、それぞれ30日後の7-11%に達した。Fresno及びHoefchen土壌では14日後にそれぞれ14日後及び30日後に10.6%及び11.4%の最大に達した後減少した。実験終了時までにはの量は処理放射能の2%以下に減少した。</p>	(2001年)	運命-61

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	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
土壌運命 2	好氣的土壌における	土壌	<p>供試化合物： [<sup>14</sup>C]標識 [ I ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>供試土壌： Fresno(砂壤土、米国)</p> <p>処理量：0.401 ppm</p> <p>試験期間：120 日</p>	<p><b>物質収支</b> 物質収支は 96.0%~102.9%と良好であった。</p> <p><b>[ I ]の分解速度</b> スピロメシフェン[ I ]は、半減期 2.6 日で速やかに減衰し、処理 120 日後の試験終了時には処理放射エネルギーの 1%未満まで減少した。</p> <p><b>揮発性物質の生成</b> 揮発性物質は経時的に増加し、試験終了時には処理放射エネルギーの約 30%に達した。揮発性有機化合物は検出されず、揮発性放射エネルギーの全てが CO<sub>2</sub>であった。</p> <p><b>分解物の生成及び消長</b> スピロメシフェン[ I ]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射エネルギーの 10%を超える主要分解物が 2 種( )及び少量分解物が 1 種( )生成した。 エノール体[MI]は主要分解物として認められ、最初の 7 日間で処理放射エネルギーの 77.1%まで増加した後、120 日の試験終了時には処理放射エネルギーの 22%まで減少した。 の量は 3 日後に増加し始め、90 日後に 11.3%に達した後、試験終了時には 11.1%までわずかに減少した。</p>	(2001 年)	運命 -67
土壌運命 3	好氣的土壌における	土壌	<p>供試化合物： [<sup>14</sup>C]標識 [ I ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>供試土壌： Fresno(砂壤土、米国)</p> <p>処理量：0.4 ppm</p> <p>試験期間：90 日</p>	<p><b>物質収支</b> 物質収支は 95.1%~102.1%と良好であった。</p> <p><b>[ I ]の分解速度</b> スピロメシフェン[ I ]は、半減期 3.8 日で速やかに減衰し、処理 90 日後の試験終了時には処理放射エネルギーの 1%未満まで減少した。</p> <p><b>揮発性物質の生成</b> 揮発性物質は経時的に増加し、試験終了時には処理放射エネルギーの約 14%に達した。揮発性有機化合物は検出されず、揮発性放射エネルギーの全てが CO<sub>2</sub>であった。</p> <p><b>分解物の生成及び消長</b> スピロメシフェン[ I ]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射エネルギーの 10%を超える主要分解物が 2 種及び少量分解物が 4 種生成した。主要分解物は と同定され、少量分解物 4 種の内 3 種を と同定したが、1 種は同定されなかった。 は主要分解物として認められ、最初の 7 日間で処理放射エネルギーの 77.1%まで増加した後、120 日の試験終了時には処理放射エネルギーの 22%まで減少した。 の量は経時的に増加し、90 日後に最大 14.1%に達した。</p>	(2001 年)	運命 -71

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	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
水中運命 1	加水分解	緩衝液 pH4 pH7 pH9	<p>供試化合物： [<sup>14</sup>C] 標識[ I ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>試験濃度：0.065 mg/L 試験温度： 50℃及び25℃ 試験期間： 3～6日(50℃) 30日(25℃)</p>	<p>物質収支 物質収支は 96.0%～102.9%と良好であった。</p> <p>分解物の生成及び消長 スピロメシフェン[ I ]は速やかに分解した。は試験期間を通じて全 pH で安定であった。温度及び pH が高いほど分解が速やかであった。いずれの pH あるいは温度でも が唯一の分解物であった。</p> <p>[ I ]の分解速度 スピロメシフェン[ I ]の25℃における各 pH での加水分解半減期を以下に示す。 pH 4 : 53.3 日、pH 7 : 24.8 日、pH 9 : 4.3 日</p>	(2001年)	運命 -75
水中運命 2	水中光分解(自然水)	自然水 (ライン川) pH 7.9 ～8.5	<p>供試化合物： [<sup>14</sup>C]標 識[ I ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>試験濃度：0.06 mg/L 試験温度：25±1℃(設定) 光源：キセノンランプ 光強度： 913.5 W/m<sup>2</sup> (300-800 nm) 試験期間：8日間 (太陽光換算で約 74 日)</p>	<p>照射期間中の試験溶液の pH 試験期間中の pH は 7.9～8.5 であった。</p> <p>物質収支 照射試料における物質収支は処理放射能の 93.7%～100%であった。暗対照試料 8 日後の回収率は 101.8%であった。</p> <p>分解物の生成及び消長 照射試料において、スピロメシフェン[ I ]は速やかに分解し、処理 6 日後には約 5%未満となった。のみが 10%を超え、は 1 日後に最大 26.9%に達した後、8 日後には 11.4%に減少した。10%未満の少量分解物として が同定された。その他、5 種の未知物質が認められた。CO<sub>2</sub> 及び揮発性有機物が照射期間の経過に伴い増加し、8 日後にはそれぞれ 0.3%及び 2.6%に達した。暗対照の 8 日後の試料におけるスピロメシフェン[ I ]の残存量は処理放射能の 27.3%であった。分解物は のみであった。</p> <p>[ I ]の分解速度 スピロメシフェン[ I ]の試験条件での半減期は 1.8 日、4～6 月の東京の自然太陽光下における[ I ]の水中光分解半減期は約 17 日と算出された。</p>	(2004年)	運命 -80

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	試験の種類	供試動物植物等	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
水中運命 3	水中光分解(自然水)	自然水 (ライン川) pH 7.9	<p>供試化合物： [ <math>^{14}\text{C}</math>標識 [ I ] ] 及び [ <math>^{14}\text{C}</math>標識 [ I ] ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>試験濃度：0.06 mg/L 試験温度：25±1℃(設定) 光源：キセノンランプ 光強度： 949 W/m<sup>2</sup> (300-800 nm) 試験期間：96 時間(4 日) (太陽光換算で約 38 日)</p>	<p>照射期間中の試験溶液の pH 試験期間中の pH は 7.4~8.6 であった。</p> <p>物質収支 照射試料ではいずれの放射能標識体でも処理量の 97.8%~105.6%であった。 [ <math>^{14}\text{C}</math>標識 [ I ] ] の暗対照試料で処理放射能の 89.8%であったが、 [ <math>^{14}\text{C}</math>標識 [ I ] ] の暗対照試料の回収率は処理放射能の 98.9%と良好であった。</p> <p>分解物の生成及び消長 同定された全分解物が両標識位置を維持していた。スピロメシフェン [ I ] は速やかに分解し、照射 4 日後には 8.0%まで減少した。のみが 10%を超え、2 日後に処理量の 31.8%まで増加した。10%未満の少量分解物として  が同定された。 暗対照の 4 日後の試料におけるスピロメシフェン [ I ] の残存量は処理放射能の 37.1%であった。分解物はのみであった。</p> <p>[ I ] の分解速度 スピロメシフェン [ I ] の試験条件での半減期は 1.7 日、4~6 月の東京の自然太陽光下における [ I ] の水中光分解半減期は約 12 日と算出された。</p>	(2004 年)	運命-84
水中運命 4	水中光分解(緩衝液)	緩衝液 pH 4	<p>供試化合物： [ <math>^{14}\text{C}</math>標識 [ I ] ]</p> <p>試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失</p> <p>試験濃度：0.065 mg/L 試験温度：25±1℃(設定) 光源：キセノンランプ 光強度： 680 W/m<sup>2</sup> (300-800 nm) 試験期間： 5 日間(照射試料、太陽光換算で約 35 日) 9 日間(暗対照試料)</p>	<p>物質収支 照射試料では 91.9%~100%であった。暗対照試料では 90.1%~101.2%であった。</p> <p>分解物の生成及び消長 スピロメシフェン [ I ] は速やかに分解し、照射 5 日後には 8.0%まで減少した。  が 10%を超え、それぞれ最大 35.8%、36.6%及び 12.3%に達した。暗対照ではスピロメシフェン [ I ] は処理 9 日後に 79.7%まで減少し、は処理量の約 14%に達した。</p> <p>[ I ] の分解速度 スピロメシフェン [ I ] の試験条件での半減期は 1.7 日、4~6 月の東京の自然太陽光下における [ I ] の水中光分解半減期は約 12 日と算出された。</p>	(2001 年)	運命-88

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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.	試験の種類	供試動物植物等	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												
土壌光 1	土壌表面光分解	土壌	供試化合物： [ <sup>14</sup> C ] 標識[ I ]  試験項目： 分解速度 分解物の生成及び消失  供試土壌： Fresno(砂壤土、米国)  処理量：2 ppm  試験温度：20±1℃(設定) 光源：キセノンランプ 光強度： 680 W/m <sup>2</sup> (300-800 nm) 試験期間： 10 日間(照射試料、太陽光 換算で約 35 日)	<b>物質収支</b> 照射試料では 92.0～100.4%であった。暗対 照試料では 99.9～101.4%であった。  <b>分解物の生成及び消長</b> 照射試料でスピロメシフェン[ I ]は 0 日後 の 98.9%から照射 10 日後には 72.9%まで減 少した。は照射 10 日後に 11.6%まで増加した。本試験では他の主分解 物は認められなかった。結合性残留物は照 射 10 日後に最大で 7.4%に達した。暗対 照試料でスピロメシフェン[ I ]は 10 日後には 73.9%まで減少した。が検出 された唯一の分解物であり、10 日後には 24.1%まで増加した。  <b>[ I ]の分解速度</b> 照射試料及び暗対照試料のいずれでも実験 条件下の半減期は 23.1 日と算出された。照 射試料及び暗対照試料の半減期が等しかつ たことから、スピロメシフェン[ I ]の土壌で の分解に光は寄与しないことが示唆され た。	(2001年)	運命 -92												
土壌吸着 1	土壌吸着	土壌 4種  青森、 埼玉、 Lufa Speyer (ドイツ) 牛久	供試化合物： [ <sup>14</sup> C ] 標識[ I ]  土壌溶液比：0.6：26 濃度：0.065, 0.04, 0.02, 0.0064 μg/mL 24 時間振とう	以下にスピロメシフェンの吸着係数を示し た。牛久土壌では分解が 20%を超えたた め、本実験を実施しなかった。  <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Kf-ads</th> <th>Koc-ads</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>青森</td> <td>7223</td> <td>5053</td> </tr> <tr> <td>埼玉</td> <td>175</td> <td>179226</td> </tr> <tr> <td>Lufa Speyer (ドイツ)</td> <td>989</td> <td>35848</td> </tr> </tbody> </table>		Kf-ads	Koc-ads	青森	7223	5053	埼玉	175	179226	Lufa Speyer (ドイツ)	989	35848	(2004年)	運命 -95
	Kf-ads	Koc-ads																
青森	7223	5053																
埼玉	175	179226																
Lufa Speyer (ドイツ)	989	35848																
土壌吸着 2	土壌吸着	土壌 4種  岡山、 宮崎、 牛久、 埼玉	供試化合物：  土壌溶液比：1：2 濃度：1.5, 0.2, 0.1, 0.05mg/L 48 時間振とう		(2004年)	運命 -98												
生物濃縮性 1	生物濃縮性	ニジマス	供試化合物： [ <sup>14</sup> C ] 標識[ I ] 0.1ppb, 1.0ppb 取込期間 28 日 排泄期間 14 日	<b>生物濃縮係数</b> BCF <sub>ss</sub> =539 (0.1μg/L) <sup>1)</sup> 515 (1.0μg/L) <sup>1)</sup> 616 (1.0μg/L) <sup>2)</sup>  1) 全放射能による BCF 2) スピロメシフェンとエノール体のみでの BCF 値 (申請者計算)	(2001年)	運命 -100												

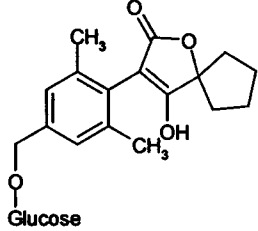
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称	化学名	
[I]	親化合物	スピロメシフェン BSN 2060	3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ [4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブ チラート 3-mesityl-2-oxo-1-oxaspiro[4.4]non-3-en-4-yl 1,3-dimethylbutyrate	
[M1]	動物 植物 土壌 加水 水中光	エノール体 BSN 2060-エノ ール BSN 0546	4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピ ロ[4.4]ノナ-3-エン-2-オン 4-hydroxy-3-mesityl-1-oxaspiro[4.4]non-3-e n-2-one	
[M2]	動物 植物	4-ヒドロキシ メチル体	4-ヒドロキシ-3-(4-ヒドロキシメチル-2,6- ジメチル-フェニル)-1-オキサ-スピロ [4.4]ノナ-3-エン-2-オン 4-hydroxy-3-(4-hydroxymethyl-2,6-dimethyl -phenyl)-1-oxaspiro[4.4]-non-3-en-2-one	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容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(続き)>

記号	由来	名称	化学名	
[M9]	植物	4-ヒドロキシ メチル-グル コシド		



本資料に記載された情報に係る権利及び内容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. 動物における動態と代謝試験

(1) [ <sup>14</sup>C]スピロメシフェン：ラットにおける代謝

(資料番号：動物代謝1)

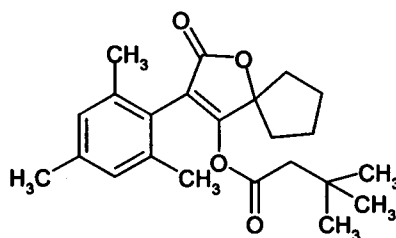
試験機関：

報告書作成年月日：2000年10月24日[GLP対応]

### 供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



\*：標識部位

標識：[ <sup>14</sup>C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

## 【方法】

### 1. 動物

体重 188～224 g、6～10 週齢のウィスター系雌雄ラット(Crl(W1)BR VAF/PLUS)を、少なくとも 5 日間馴化後、実験に供した。馴化期間中、雄雌の各動物は懸架式の金網床の付いたステンレス製ケージにグループで収容した。馴化後、各動物を個別にガラス製あるいはステンレス製ケージに収容した。動物はケージカード及び尾への着色により識別した。

### 2. 投与量及び試験群(表 1)

投与量設定に際しては、被験物質の比放射能、毒性を考慮した。低投与用量試験群は毒性影響の認められない用量として 2 mg/kg 体重に設定した。高投与用量群はその 250 倍の 500 mg/kg 体重に設定した。また、予備試験として雌雄のラットに非標識[I]を 500 mg/kg 体重の容量で単回経口投与後 24 時間観察した所、影響が認められなかったため、500 mg/kg 体重を高投与用量群として採用した。

表 1 試験群及び各試験群における調査項目

試験群	投与経路	投与用量	投与回数(回)	性及び匹数	試験期間(投与後屠殺時間)	調査項目
1b	経口	高用量単回 (500 mg/kg bw)	1	雌雄各 4	72	排泄(呼気)
1c		低用量単回 (2 mg/kg bw)	1	雌雄各 4	72	排泄、分布、代謝
1d		高用量単回 (500 mg/kg bw)	1	雄 4	72	排泄、分布、代謝
1e		低用量反復 (2 mg/kg bw)	15 <sup>a</sup>	雌雄各 4	72	排泄、分布、代謝
2a		低用量単回 (2 mg/kg bw)	1	雌雄各 12	120	血中濃度
2b		高用量単回 (500 mg/kg bw)	1	雄 12	120	血中濃度
2c		低用量反復 (2 mg/kg bw)	15 <sup>a</sup>	雌雄各 12	120	血中濃度
3a		低用量胆汁排泄 (2 mg/kg bw)	1	雄 4	48	排泄(胆汁排泄)
4a		低用量全身オートラジオグラフィ (2 mg/kg bw)	1	雄 4	1, 4, 8, 24, 48 及び 72	排泄、定性的臓器分布

a 非標識[I]を 14 日間反復投与後、標識[I]を 1 回投与。

### 3. 投与及び試料採取(表 2)

適切な量の[I]を 0.5%トラガカント水溶液に懸濁し、投与溶液を調製した後、経口投与した。

試験群 1b~1e のラットは、放射能標識[I]を投与後、個別に代謝ケージに收容し、尿及び糞を各動物から採取した。尿は、ドライアイスで冷却しながら、投与後 0~6 時間、6~24 時間、24~48 時間及び 48~72 時間に採取した。糞は、ドライアイスで冷却しながら、投与後 0~24 時間、24~48 時間及び 48~72 時間に採取した。24 時間毎に各代謝ケージの内側を水で洗浄し、最後の時点を除き、この洗浄液はそれぞれの尿試料に加えた。最後のケージ洗浄液は別途分析した。投与 72 時間後、動物に軽く麻酔をかけ、心臓穿刺により血液サンプル(8~10 mL)を採取した。その後、動物を屠殺し、胃腸管(内容物を含む)、副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣(雌)、脾臓、睾丸(雄)、甲状腺、子宮(雌)、ならびに骨(大腿骨)、脂肪(腎臓周囲)、筋肉(大腿筋)、皮膚、更に残体を採取し、分析した。

胆汁への排泄を調べた試験群 3a のラットは、放射能標識[I]を投与後、個別に拘束ケージに收容し、胆汁、尿及び糞を各動物から採取した。投与後 0~12、12~24 及び 24~48 時間に尿及び糞を採取した。投与後 0~3、3~6、6~12、12~24 及び 24~48 時間に胆汁を採取した。投与 48 時間後、頸部脱臼により動物を屠殺し、胃腸管(内容物を含む)、肝臓及び残体を採取し、分析に供した。

試験群 2a~2c のラットは、それぞれの試験群を更に雌雄 4 匹ずつ 3 群に分け、第 1 群は投与前、投与後 1、4、24 及び 96 時間に、第 2 群は投与後 0.25、2、6、48 及び 120 時間に、そして第 3 群は投与後 0.5、3、12 及び 72 時間に尾静脈から約 0.4 mL の血液試料を採取した。

試験群 4a のラットは、投与 1、4、8、24、48 及び 72 時間後にそれぞれ 1 匹を屠殺し、全身オートラジオグラフィにより放射能の体内分布を調べた。

#### 4. 試料調製及び分析

##### (1) 放射エネルギーの測定

均一化した糞試料、抽出後の糞残留物、胃腸管とその内容物、肝臓、脾臓の一部及び血液の一部を、オキシダイザーで燃焼分析し、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射エネルギーを測定した。尿、ケージ洗浄液、胆汁、血漿及び糞抽出液等の液体試料は液体シンチレーションカウンターで直接、放射エネルギーを測定した。肝臓、脾臓及び胃腸管を除く臓器・組織、骨サンプル及び組織の均一化試料は組織可溶化剤で可溶化後、液体シンチレーションカウンターで放射エネルギーを測定した。

##### (2) 代謝物の分析

対照物質混合品のクロマトグラムと保持時間を比較し、代謝物を帰属し、対照物質とのコクロマトグラフィーにより同定した。更に、同定を確実にするため、LC-MS、LC-MS/MS 及び NMR で測定した。

#### 【結果】

##### 1. 排泄(表 2)

###### (1) 高投与用量(500 mg/kg)単回投与

放射エネルギーの呼気への排泄はほとんど認められなかった。

呼気への排泄を調べた予備試験では雌雄ラットを用い、臓器・組織への分布を調べた本試験では雄ラットのみを用いた。いずれの試験でも放射エネルギーの排泄パターンは類似し、雌雄における違いも認められなかった。放射エネルギーの総回収率は投与量の 98.6～102%であった。雌雄いずれでも糞中への排泄が主排泄経路であり、投与 72 時間後における糞中排泄率は雄で 89.6%(本試験)～93.1%(予備試験)、雌で 92.7%であった。糞中放射エネルギーの大部分が 6～24 時間試料に排泄された。尿中排泄率は雄ラットで約 9%、雌ラットで 6.50%であった。屠殺時の 72 時間後に動物体に残留している放射エネルギーは投与量の 0.1%以下であった。本試験における屠殺時の全組織中の放射エネルギーは投与量の約 0.05%であった。

###### (2) 低投与用量(2 mg/kg)単回投与及び反復投与

低投与量で単回投与後の放射エネルギーの総回収率は雄及び雌ラットでそれぞれ投与量の 98.6%及び 95.8%であった。高投与量と同様に、放射エネルギーの排泄率及び排泄パターンは雌雄で類似し、投与 72 時間後までに雄で投与量の 95.8%が、雌で投与量の 94.3%が排泄された。その内、雄及び雌それぞれで 39.0%及び 39.1%が尿中に、56.5%及び 54.8%が糞中に排泄された。放射エネルギーの大部分が投与 24 時間以内に排泄され、排泄は速やかであった。屠殺時に採取した全組織中の放射エネルギーは雌雄ラットいずれも投与量の約 0.2%、投与量の約 0.1～0.2%が残体に残留していた。

反復投与後の放射エネルギーの総回収率は雄及び雌ラットそれぞれ投与量の 93.2%及び 90.0%であった。放射エネルギーの排泄挙動は単回投与した場合と類似し、雄で投与量の 93.2%が、雌で投与量の 90.0%が投与 72 時間後までに排泄された。その内、雄及び雌それぞれで 39.6%及び 34.0%が尿中に、53.3%及び 55.4%が糞中に排泄された。放射エネルギーの大部分が投与 24 時間以内に排泄されたが、その比率は単回投与後よりわずかに低く、排泄が単回投与に比べ遅延していることが示唆された。屠殺時に採取した組織中の放射エネルギーは全体で投与量の 0.2%、投与量の 0.1～0.3%が残体に残留していた。

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) 低投与用量(2 mg/kg)単回投与・胆汁排泄

本試験は雄ラットのみで実施した。放射能の総回収率は投与量の 98.6%であった。尿中への排泄率は投与量の 36.1%であり、胆管カニュレーションを施していないラットと同様であった。投与量の 6.77%が胆汁中に排泄された。胆汁中への排泄は遅く、12~24 時間に投与量の 3.05%が排泄され、その割合が最も高かった。糞中への排泄率は投与量の 45.3%であった。胆管カニュレーションを施していないラットと比べて糞中への排泄は遅く、大部分の放射能(投与量の 37.0%)が 24~48 時間に排泄された。屠殺時の全組織中の放射能量は投与量の約 7.9%、残体中放射能量は投与量の約 3.2%であった。

表 2 排泄物及び動物体における放射能残留 (投与量に対する割合%)

試験群	1b		1d	1c		1e		3a	
	高用量 500 mg/kg 体重			低用量 2 mg/kg 体重		低用量 2 mg/kg 体重		低用量 2 mg/kg 体重	
投与回数	単回			単回		15 日間反復*		単回胆汁	
性	雄	雌	雄	雄	雌	雄	雌	雄	
試料	採取時間								
呼気	0~72	0.0406	0.00464	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>
尿	0~6	3.33	2.13	2.80	21.5	23.7	16.6	18.2	3.01 <sup>c</sup>
	6~24	4.20	3.70	4.29	14.2	13.9	17.8	13.0	13.7 <sup>d</sup>
	24~48	1.03	0.528	1.36	2.55	0.906	3.95	1.65	18.0
	48~72	0.166	0.0919	0.169	0.385	0.267	0.808	0.581	— <sup>b</sup>
	ケージ洗浄液	0.181	0.0464	0.137	0.345	0.330	0.499	0.619	1.35
	尿合計	8.90	6.50	8.96	39.0	39.1	39.6	34.0	36.1
糞	0~6	0.0202	0.00750	82.9	53.2	52.0	45.5	46.6	0.0284 <sup>c</sup>
	6~24	89.9	88.6						8.28 <sup>d</sup>
	24~48	3.01	3.88	6.10	3.13	2.46	7.45	8.04	37.0
	48~72	0.173	0.259	0.577	0.182	0.339	0.381	0.743	— <sup>b</sup>
	糞合計	93.1	92.7	89.6	56.5	54.8	53.3	55.4	45.3
胆汁	0~3	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	0.539
	3~6	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	0.588
	6~12	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	0.910
	12~24	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	3.05
	24~48	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	1.68
	胆汁合計	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	6.77
全臓器/ 組織	72 時間後	— <sup>b</sup>	— <sup>b</sup>	0.0539	0.183	0.178	0.229	0.235	7.49 <sup>e</sup>
残体	72 時間後	0.0884	0.117	0.0388	0.0988	0.233	0.130	0.323	3.19
総回収率		102	99.4	98.6	95.8	94.3	93.2	90.0	98.6

a 14 日間非標識[ I ]を投与後、15 日目に <sup>14</sup>C 標識[ I ]を投与。

b 採取せず。

c 採取間隔=0~12 時間

d 採取間隔=12~24 時間

e 胃腸管中放射能(5.64%)+肝臓中放射能(1.85%)

## 2. 吸収(表 2)

胆汁排泄を調べた雄ラットの尿及び胆汁中に排泄された放射能ならびに肝臓及び残体に残留していた放射能から、2 mg/kg の低投与用量における雄ラットの吸収率は約 48%と算出された。

### 3. 血漿中及び全血中放射能濃度(表 3)

低投与量で単回経口投与後、血漿中放射能濃度は雄で 2 時間後に最大濃度  $C_{max}$ (0.834 ppm)に達し、雌で 1 時間後に  $C_{max}$ (0.556 ppm)に達した。雄では 6 時間後、雌では 4 時間後に 2 番目のピークが認められた後、放射能濃度は減少し、72 時間後には雄で 0.004 ppm、雌で 0.005 ppm となった。反復投与後、血漿中放射能濃度は、雄及び雌それぞれ 4 時間後に  $C_{max}$ (雄で 0.837 ppm 及び雌で 0.723 ppm)に達した後、放射能濃度は減少し、雄では 96 時間後に 0.006 ppm、雌では 48 時間後に 0.005 ppm となった。反復投与後の  $C_{max}$  到達時間( $T_{max}$ )は雌雄いずれでも単回投与後に比べて遅く、反復投与後の吸収は単回投与後の吸収に比べ遅延することが示唆された。

全血中放射能濃度は血漿中の濃度より低かったが、血漿中放射能濃度と同様の挙動を示した。低投与量で単回経口投与後、雄では 2 時間後に  $C_{max}$ (0.498 ppm)に、雌では 1 時間後に  $C_{max}$ (0.330 ppm)に達した。低投与量で単回経口投与 96 時間後には雄で 0.003 ppm、雌で 0.005 ppm まで減少した。低投与量で反復投与後、雄および雌それぞれで 3 時間後及び 2 時間後に  $C_{max}$ (0.501 ppm 及び 0.433 ppm)に達した後、減少し、48 時間後には雄で 0.025 ppm に、雌で 0.005 ppm まで減少した。

高用量レベルは雄ラットのみについて調べた。高投与量で単回経口投与後、血漿及び全血中の放射能濃度は投与 6 時間後にそれぞれ  $C_{max}$ (40.1 ppm 及び 25.4 ppm)に達した。その後、放射能濃度は減少し、血漿中では 48 時間後に 0.812 ppm、全血中では 24 時間後に 3.57 ppm まで減少した。低投与量に比べ、高投与量では血漿中及び全血中の  $T_{max}$  が遅く、吸収が緩やかであることが示唆された。

表3 各試験群における血漿中及び全血中放射能濃度変化 (換算濃度、[ $\mu\text{g/g}$ ])

試験群	2a				2c				2b	
	低用量 2 mg/kg 体重				低用量 2 mg/kg 体重				高用量 500 mg/kg 体重	
投与量	単回				15日間反復 <sup>a</sup>				単回	
投与回数	血漿		全血		血漿		全血		血漿	全血
試料	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
採取時間(時)										
0.25	0.132	0.098	0.078	0.057	0.054	0.063	0.033	0.037	0.988	— <sup>c</sup>
0.5	0.211	0.396	0.146	0.252	0.230	0.203	0.127	0.125	4.52	2.95
1	0.541	0.556	0.324	0.330	0.430	0.349	0.231	0.225	9.18	5.65
2	0.834	0.488	0.498	0.316	0.625	0.518	0.403	0.342	24.2	13.9
3	0.569	0.492	0.356	0.324	0.826	0.387	0.501	0.259	28.4	17.1
4	0.650	0.534	0.387	0.321	0.837	0.723	0.496	0.433	33.6	21.3
6	0.753	0.394	0.499	0.289	0.757	0.599	0.481	0.364	40.1	25.4
12	0.234	0.101	0.166	0.083	0.478	0.154	0.300	0.114	14.7	9.85
24	0.113	0.040	0.078	0.033	0.242	0.040	0.154	0.034	5.18	3.57
48	0.034	0.012	0.023	0.009	0.038	0.005	0.025	0.005	0.812	— <sup>c</sup>
72	0.004	0.005	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	0.012	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>
96	0.004 <sup>b</sup>	0.007 <sup>b</sup>	0.003	0.005 <sup>b</sup>	0.006	0.004 <sup>b</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>
120	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	0.005 <sup>b</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>	— <sup>c</sup>

a 14日間非標識[I]を投与後、15日目に<sup>14</sup>C標識[I]を投与。

b 薬物動態パラメーターの算出には用いず。

c 少なくとも2頭の値が検出限界未満であった。

#### 4. 薬物動態パラメーター(表4)

##### (1) 低投与用量(2 mg/kg)単回投与及び反復投与

低投与量で単回経口投与後、最終サンプリング時点まで算出した血漿濃度-時間曲線下面積(AUC<sub>t</sub>)は雄及び雌それぞれ10.9及び5.9  $\mu\text{g}$  当量 hr/gであった。反復投与後の血漿中 AUC<sub>t</sub>は雄及び雌それぞれ16.1及び6.9  $\mu\text{g}$  当量 hr/gであった。

単回投与12~72時間(雄)及び24~72時間(雌)の期間で算出した血漿中放射能濃度の半減期はそれぞれ10.5時間及び16.0時間であった。反復投与48~96時間(雄)及び12~48時間(雌)の期間で算出した血漿中放射能濃度の半減期はそれぞれ18.0時間及び7.4時間であった。

低投与量で単回経口投与後の全血中 AUC<sub>t</sub>は雄及び雌それぞれ7.5及び4.1  $\mu\text{g}$  当量 hr/gであった。反復投与後の全血中 AUC<sub>t</sub>は雄及び雌それぞれ9.6及び4.6  $\mu\text{g}$  当量 hr/gであった。

単回投与24~96時間(雄)及び12~48時間(雌)の期間で算出した全血中放射能濃度の半減期はそれぞれ15.5時間及び11.4時間であった。反復投与12~48時間の期間で算出した全血中放射能濃度の半減期は雄及び雌でそれぞれ9.9時間及び8.1時間であった。

全血中 AUC<sub>t</sub>に対する血漿中 AUC<sub>t</sub>の比は1.4~1.7であり、放射能が主に血漿中に分布し赤血球中には濃縮されていなかったことが示唆された。

##### (2) 高投与用量(500 mg/kg)単回投与及び反復投与

高投与量で単回経口投与後の血漿中 AUC<sub>t</sub>は508  $\mu\text{g}$  当量 hr/g、全血中 AUC<sub>t</sub>は280  $\mu\text{g}$  当量 hr/gであった。血漿については12~48時間、全血については6~24時間の期間で算出した放射能濃度の半減期はそれぞれ8.7時間及び6.6時間であった。全

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

血中の  $AUC_t$  に対する血漿中の  $AUC_t$  の比は 1.8 であり、低投与量試験群と同様であった。

表 4 各試験群における雄及び雌ラットの血漿中及び全血中薬物動態パラメーター

試験群	2a				2c				2b	
	低用量 2 mg/kg 体重				低用量 2 mg/kg 体重				高用量 500 mg/kg 体重	
投与回数	単回				15 日間反復 <sup>a</sup>				単回	
試料	血漿		全血		血漿		全血		血漿	全血
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
Cmax	0.834	0.556	0.499	0.330	0.837	0.723	0.501	0.433	40.1	25.4
Tmax	2	1	6	1	4	4	3	4	6	6
AUC <sub>t</sub>	10.9	5.9	7.5	4.1	16.1	6.9	9.6	4.6	508	280
k <sub>e1</sub>	0.0663	0.0433	0.0488	0.0606	0.0385	0.0940	0.0700	0.0859	0.0800	0.1055
t <sub>1/2</sub>	10.5	16.0	15.5	11.4	18.0	7.4	9.9	8.1	8.7	6.6
t <sub>1/2</sub> 算出時間	12~72	24~72	24~96	12~48	48~96	12~48	12~48	12~48	12~48	6~24
AUC <sub>t</sub> 比	1.5	1.4			1.7	1.5			1.8	

a 14 日間非標識[ I ]を投与後、15 日目に <sup>14</sup>C 標識[ I ]を投与。

Cmax : 血漿中最高濃度(μg 当量/g=ppm)

Tmax : 血漿中最高濃度の到達時間(時)

AUC<sub>t</sub> : 最終サンプリング時点までで算出した血漿濃度-時間曲線下面積(μg 当量 hr/g)

k<sub>e1</sub> : 消失速度定数(時<sup>-1</sup>)

t<sub>1/2</sub> : 消失半減期(時)

2 mg/kg 体重での単回及び反復投与のいずれでも雌ラットの放射能に対する全身曝露の速度(Cmax)及び程度(AUC<sub>t</sub>)は雄ラットより低く、雌ラットでは対応する雄ラットに比べ 14~57%低かった。

## 5. 分布

### (1) 全身オートラジオグラフィによる定性評価、低投与量(2 mg/kg)

2 mg/kg 体重の用量で単回投与した雄ラットの組織中の放射能分布を、全身オートラジオグラフィにより定性的に検討した。

投与 1 時間後、放射能は全組織および臓器に分布し、そのレベルは胃腸管、膀胱、心臓内の血液で最も高かった。脳および脊柱で平均より低いレベルが認められた。最高レベルは投与後 4 時間に認められ、以降は全ての組織および臓器で放射能は低下した。投与 48 時間後には胃腸管、腎臓、膀胱のみに放射能が存在し、それら以外の臓器、組織及び残体には黒化がほとんど認められなかった。

### (2) 定量評価(表 5)

いずれの試験群でも投与 72 時間後の屠殺時における組織及び臓器中放射能濃度は低かった。全ての試験群における最も高い濃度の放射能が肝臓で検出された。反復投与の雌ラットでは脂肪(腎周囲)において最高濃度の放射能が検出された。脂肪(腎周囲)中の放射能濃度は雌ラットにおいて、雄ラットより高い傾向が認められた。単回投与と反復投与を比較すると、大部分の臓器・組織で単回投与に比べ反復投与で高い濃度の放射能が検出された(反復投与/単回投与の濃度比: 0.7~2.5)。骨、脳、心臓、筋肉、脾臓、甲状腺及び子宮における放射能濃度は検出限界未満であった。500 mg/kg 体重の高投与量試験群の臓器及び組織中における放射能濃度は 2 mg/kg

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

の低用量群の雄ラットに比べ、40~144倍高かった。

表5 屠殺時の臓器及び組織における放射能残留量 (換算濃度、[µg/g])

試験群	lc		le		ld
	低用量 2 mg/kg 体重		低用量 2 mg/kg 体重		高用量 500 mg/kg 体重
投与回数	単回		15日間反復 <sup>a</sup>		単回
性	雄	雌	雄	雌	雄
試料					
副腎	—b	—b	—b	0.00176	—b
骨(大腿)	—b	—b	—b	—b	—b
脳	—b	—b	—b	—b	—b
脂肪(腎周囲)	0.00807	0.0213	0.00611	0.0281	1.16
胃腸管	0.00588	0.00886	0.0149	0.0196	0.610
心臓	—b	—b	—b	—b	—b
腎臓	0.00531	0.00445	0.00837	0.00367	0.210
肝臓	0.0231	0.0111	0.0439	0.0107	1.70
肺	—b	—b	0.00204	—b	—b
筋肉(大腿)	—b	—b	—b	—b	—b
卵巣		0.00338		0.00223	
皮膚	0.00169	0.00189	0.00185	0.00212	—b
脾臓	—b	—b	—b	—b	—b
精巣	—b		0.00107		—b
甲状腺	—b	—b	—b	—b	—b
子宮		—b		—b	
全血	0.00260	0.00169	0.00429	0.00116	0.0949
血漿	0.00383	0.00168	0.00778	0.00134	0.156
残体	0.00034	0.00088	0.00065	0.00118	0.0355

a 14日間非標識[I]を投与後、15日目に<sup>14</sup>C標識[I]を投与。

b 少なくとも2動物の値が検出限界未満

## 6. 代謝

### (1) 尿中代謝物(表6~8)

いずれの試験群の尿からも親化合物スピロメシフェン[I]は検出されなかった。2 mg/kg 体重で投与後、前処理していない尿を直接 HPLC に注入した場合、18種類の放射性成分が検出された。また、β-グルクロニダーゼあるいはスルファターゼと尿をインキュベート後、HPLC に注入した場合とクロマトグラムには変化が認められず、従って、グルクロン酸あるいは硫酸抱合体が存在しないと推定された。

2 mg/kg 体重で単回投与後、検出された放射性成分(RU1~RU18)の濃度は投与量の<0.1%~9.1%の範囲であった。これらの内、投与量の5%以上の濃度で検出されたのは3種類(エノール体[M1](RU18)、4-ヒドロキシメチル体[M2](RU14)及び )であった。投与量の2~5%の濃度で5種類(

)が検出された。

残りの10種類の代謝物は投与量の2%未満であった。雄ラットでは4-ヒドロキシ



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。

メチル体[M2]が最も多く(8.9%)、一方、雌ラットではエノール体[M1]が最も多かった(9.1%)。

2 mg/kg 体重の低投与量で反復投与した後の尿中代謝物の分布は、単回投与後の代謝物分布と質的にも量的にも類似しており、単回投与後と同様、反復投与後も雄ラットでは 4-ヒドロキシメチル体[M2]が最も多く(10.8%)、一方、雌ラットではエノール体[M1]が最も多かった(8.1%)。

500 mg/kg 体重の高投与量で投与後、2 mg/kg 体重の投与後と比較して尿中への放射能排泄割合が少ないため、個々の代謝物の濃度は投与量の<0.1%~3.0%と低い割合であった。高投与量で投与後の代謝物組成は 2 mg/kg 体重での投与時と質的に類似し、低投与量と同じ代謝物のみが同定された。

表 6 各試験群における雄及び雌ラットの尿中代謝物の分布 (投与量に対する%)

試験群	1c		1e		1b		1d	
	低用量 2 mg/kg 体重		低用量 2 mg/kg 体重		高用量 500 mg/kg 体重			
投与量								
投与回数	単回		15日間反復*		単回			
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	
採取時間	0-24	0-24	0-48	0-48	0-48	0-48	0-48	
画分名	分析した試料中放射能量 (尿中放射能量に対する割合)							
RU18	エノール体[M1]	4.2	9.1	2.5	8.1	1.3	2.5	1.3
RU14	4-ヒドロキシメチル体[M2]	8.9	6.5	10.8	5.5	2.6	1.0	3.0
	エノール体[M1]	0.13	0.32	0.07	0.33	0.18	0.65	0.18
	エノール体[M1]以外							

a 14日間非標識[I]を投与後、15日目に<sup>14</sup>C標識[I]を投与。

b の含量値

尿中代謝物の尿中放射能に対する割合は投与量あるいは雌雄間で多少異なっていた。投与量の 2%以上の濃度で排泄された代謝物のうち、500 mg/kg 体重で投与後の尿中の

の割合は 2 mg/kg 体重で投与後の割合より低く、及びエノール体[M1]の割合は 500 mg/kg 体重で高かった。低投与量の単回及び反復、あるいは高投与量のいずれでも、雄ラットで 4-ヒドロキシメチル体[M2]及び の割合が雌ラットより高く、エノール体[M1]の割合は雄ラットで低かった。

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7 各試験群における雄及び雌ラットの尿中代謝物の分布 (尿中放射エネルギーに対する%)

試験群	投与量	1c		1e		1b		1d
		低用量 2 mg/kg 体重	雌	低用量 2 mg/kg 体重	雌	高用量 500 mg/kg 体重		雄
投与回数	投与回数	単回		15日間反復 <sup>a</sup>		単回		
性	性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
画分名	採取時間	0-24	0-24	0-48	0-48	0-48	0-48	0-48
RU18	エノール体[M1]	11.76	24.20	6.51	24.62	15.19	39.31	15.38
RU14	4-ヒドロキシメチル体[M2]	24.93	17.29	28.13	16.72	30.37	15.72	35.50

a 14日間非標識[I]を投与後、15日目に<sup>14</sup>C標識[I]を投与。

b の含量値

c の含量値

(2) 胆汁中代謝物(表8)

全個体の胆汁試料を混合し、前処理や濃縮せずに直接 HPLC で分析し、13種類の放射性成分を検出した。個々の代謝物濃度は、投与量の0.1~1.3%の範囲であった。尿試料とのクロマトグラフィーにより、胆汁中代謝物の1種(投与量の1.3%)が尿には存在しないが、それ以外は尿中代謝物と共通していた。尿中代謝物と一致したことから、胆汁中にもグルクロン酸あるいは硫酸塩抱合体が存在していないと推定された。

表8 雄ラットの胆汁中代謝物の分布 (投与量に対する%)

試験群	3a	
投与量	低用量 2 mg/kg 体重	
投与回数	単回	
性	雄	
画分名	採取時間	
RU18	エノール体[M1]	0.2
RU14	4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.7

a 14日間非標識[I]を投与後、15日目に<sup>14</sup>C標識[I]を投与。

b の含量値

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) 糞中代謝物(表 9)

糞中に排泄された総放射能の少なくとも 76%(2 mg/kg 体重)あるいは 91%(500 mg/kg 体重)が分析できるように、各投与用量群及び雌雄について、個別の動物のそれぞれの間隔の糞を混合した。

投与量、性別及び投与回数にかかわらず、親化合物スピロメシフェン[I]及びエノール体[M1]の 2 種のみが糞中から同定された。糞から抽出可能な放射能のほぼ全てがスピロメシフェン[I]であった。糞中のスピロメシフェン[I]は 2 mg/kg 体重で投与量の 33.5~40.7%、500 mg/kg 体重で投与量の 73.4~83.7%であった。エノール体[M1]は 2 mg/kg 体重で投与量の 1.8~2.8%、500 mg/kg 体重で投与量の 1.1~5.7%であった。2 mg/kg 体重での単回投与と反復投与の試験群において、スピロメシフェン[I]及びエノール体[M1]の割合に違いは認められなかった。

表 10 各試験群における雄及び雌ラットの糞中代謝物の分布 (投与量に対する%)

試験群	1c		1e		1b		1d
	低用量 2 mg/kg 体重		低用量 2 mg/kg 体重		高用量 500 mg/kg 体重		
投与回数	単回		15 日間反復*		単回		
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄
採取時間	0-24	0-24	0-48	0-48	6-24	6-24	0-48
分析した試料中放射能量 (糞中放射能量に対する割合)	45.5 (80.5)	41.9 (76.5)	41.5 (77.9)	44.2 (79.8)	85.5 (91.8)	85.3 (92.0)	84.8 (94.6)
エノール体[M1]	2.3	2.1	1.8	2.8	3.8	5.7	1.1
スピロメシフェン[I]	40.7	34.3	33.5	37.6	80.8	73.4	83.7

### 【結論】

- 2 mg/kg の用量で単回経口投与した放射能量の 48%が雄ラットに吸収された。
- 低投与量で単回投与後の吸収・排泄は速やかであり、血中放射能濃度は投与 1~2 時間後にピークに達し、半減期 8~16 時間でラット体内から消失した。反復投与後の吸収及び消失はわずかに遅くなった(Cmax=3~4 時間、排泄もわずかに遅れた)。高投与量試験群では、吸収は更に遅くなった(Cmax=6 時間)。いずれの試験群でも雌ラットの放射能への全身曝露の速度及び程度は雄ラットより小さかった。
- 投与した放射能量のほぼ全量が尿及び糞中に排泄され、72 時間後に体内に残留していたのは 1%未満であった。投与 72 時間後の屠殺時の組織中濃度は非常に低く、いずれの臓器及び組織にも蓄積は認められなかった。
- 親化合物スピロメシフェン[I]は、最初にジメチル酪酸部分が消失し、エノール体[M1]に代謝された。その後、ベンゼン環のメチル基及び

これらの代謝物は尿及び胆汁中に排泄された。グルクロン酸あるいは硫酸塩との抱合体は認められなかった。スピロメシフェン[I]の一部の代謝物の排泄物中の存在割合は、性及び用量レベルの両方の影響を受けた。

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 スピロメシフェン[I]のラットにおける推定代謝経路