

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.5.2 ウサギにおける催奇形性試験 (資料No. T-3.2)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度 : %

供試動物 : 日本白色種ウサギ (Kbl:JW)、性成熟未経産雌、入荷時17週齢、1群25匹、
投与開始時体重 3.083~4.170 kg

投与期間 : 妊娠6~27日の22日間 (2013年2月11日~2013年3月13日)

投与方法 : 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁させ、0、0.5、5及び500 mg/kgの投与量で、妊娠6~27日 (人工授精した日を妊娠0日とした)の22日間、毎日1回強制経口投与した。なお、対照群には1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液を同様に投与した。

投与量設定根拠 ;

観察・検査項目 :

親動物 ; 生死及び一般状態を毎日観察し、妊娠0、6、9、12、15、18、21、24、27及び28日に体重を測定した。摂餌量は妊娠0、3、6、9、12、15、18、21、24、27及び28日に測定した。

妊娠28日に帝王切開を行い、妊娠子宮重量測定、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、生存及び死亡胎児数及びその子宮内位置を調べた。

生存胎児 ; 体重測定、性別判定を実施し、外表異常の観察を行った。全胎児について内臓異常の有無を検査し、その後、骨格標本作製して骨格異常の有無を検査した。認められた所見は奇形及び変異に分類した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 果： 概要を表1～3に示した。

親動物； 0.5 mg/kg/day投与群において流産（妊娠23日）及び死後発見（妊娠9日）が各1例、5 mg/kg/day投与群で妊娠22及び24日に流産が各1例で認められた。500 mg/kg/day投与群で死亡及び流産は認められなかったことから、これらの流産や死亡の発生は偶発と判断した。

500 mg/kg/day投与群において妊娠6～18及び6～21日の体重増加量が対照群と比較して低値であった（Studentの t 検定またはAspin-Welch検定で統計学的有意差あり）。また、妊娠24～27日の摂餌量が統計学的有意な高値を示した。【申請者注：摂餌量の高値は、一時的かつ増加方向への変化であることから、偶発的な変動と判断した。】一般状態、体重、補正体重及び肉眼的病理検査には検体投与の影響は認められなかった。

0.5及び5 mg/kg/day投与群では、すべての検査項目に検体投与の影響は認められなかった。

妊娠子宮重量、黄体数、着床数、着床前胚死亡率、生存胎児数及び胚・胎児死亡率については、いずれの投与群においても検体投与に起因する影響は認められなかった。

胎児動物； 全ての検体投与群において胎児体重、胎盤重量及び性比は対照群と同等であった。

外表、内臓検査については、いずれの投与群においても奇形及び変異の出現率に検体投与に関連した増加は認められなかった。

骨格検査において、すべての検体投与群で検体投与に起因する奇形の増加は認められなかった。骨格変異については500 mg/kg/day投与群で骨格変異が認められた胎児、過剰肋骨、仙椎前椎骨数27、第1・2頸椎間過剰骨化片及び第1頸椎体未骨化の出現率の統計学的有意な増加が認められた。

以上の結果から、本剤を妊娠ウサギに0、0.5、5及び500 mg/kg/dayの投与量で経口投与した結果、500 mg/kg/day投与群において母動物で体重増加量の低下、胎児で骨格変異の増加が認められたが、催奇形性は認められなかった。本試験における無毒性量（NOAEL）は、5 mg/kg/dayと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表1 結果の概要：親動物・胎児動物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 2 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 3 結果の概要：胎児動物（続き）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ラット及びウサギにおける催奇形性試験に関する総合考察

SL-573 原体の催奇形性の有無について検索するため、前述のラット 3 試験 (資料 No. T-3.1、T-3.1 補遺①及び、補遺②)、ウサギ 1 試験 (資料 No. T-3.2)を実施した。申請者はこれらの試験結果に基づき、SL-573 原体がラット及びウサギ胎児に及ぼす影響について、以下のとおり考察した。

母動物

ラット及びウサギともに、高用量群 (500 mg/kg/day)で体重増加量及び/または摂餌量の低下が認められており、中間用量群では検体投与の影響は認められなかったことから、ラット及びウサギについて、それぞれ 10 または 5 mg/kg/day を母動物の無毒性量と判断した。

胎児

ラット催奇形性試験 (資料 No. T-3.1)の高用量群 (500 mg/kg/day)において胎児体重低下、骨格変異 (過剰肋骨、仙椎前椎骨数 27)の増加が認められ、ウサギ催奇形性試験 (資料 No. T-3.2)においても高用量群 (500 mg/kg/day)で肋骨及び仙椎前椎骨数の増加が観察され、これらの用量において胎児の発育・発達に影響があると考えられた。両種ともに、中間用量群ではこれらの変異の増加は認められておらず、無毒性量はいずれも 10 または 5 mg/kg/day と判断した。

催奇形性

ラット及びウサギともに、検体投与に起因した奇形の増加は認められなかったことから、SL-573 に催奇形性作用はないと判断した。

なお、ラット催奇形性試験の高用量群 (500 mg/kg/day)の 3 胎児で認められた外尿道口形態異常については遺伝的解析

以上のことから、ラット及びウサギ催奇形性試験で認められた胎児への影響 (過剰肋骨、仙椎前椎骨数 27 の出現率の増加)は、SL-573 の投与により 4-HPPD が阻害され母動物の血漿中チロシン濃度が上昇したことに起因すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

また、ウサギ催奇形性試験の高用量群でのみ認められている第1頸椎体未骨化、第1・2頸椎間過剰骨化片の増加は、過剰肋骨及び仙椎前椎骨数27といった骨格変異の増加とともに、4-HPPD阻害剤であるピラスルホトール及びテンボトリオンのウサギ催奇形性試験においても観察されており、これらの骨格変異についても4-HPPD阻害剤共通の所見と考えられる^{1,2)}。

以上の結果より、ラット及びウサギ胎児において認められた骨格変異の増加は、4-HPPD阻害による高チロシン血症に起因するもので、他の4-HPPD阻害型除草剤の催奇形性試験で報告されている作用機作と同様に、種差が証明されている作用である。ヒトではラットやウサギと異なり、アミノ酸代謝の代替経路が機能し、血漿中チロシン濃度が上昇しにくい事が報告されている^{2,3)}。よって、ヒトにこのメカニズムをそのまま外挿するのは科学的に適切ではないと考察する。即ち、チロシン血症の誘導に関して、感受性がより高いラットやウサギの催奇形性試験で得られたNOAELは、ヒトの安全性評価においては、既に十分な安全幅を取り入れた毒性のエンドポイントであり、想定されるヒトの暴露状況下では安全評価上の懸念は生じないものとする。

【参考資料】

- 1) 農薬評価書 ピラスルホトール, 食品安全委員会, 2008年,
<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2009/04/dl/s0414-5e.pdf>
- 2) Draft Assessment Report (DAR), Public version, Tembotrione, 2008年,
<http://dar.efsa.europa.eu/dar-web/provision>
- 3) Richard W. Lewis and Jane W. Botham., A review of the mode of toxicity and relevance to human of the triketone herbicide 2-(4-methylsulfonyl-2-nitrobenzoyl)-1,3-cyclohexanedione., Crit Rev Toxicol, 2013; 43 (3): 185-199

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6 変異原性

8.6.1 細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. T-4.1)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体純度 : %

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、61.7~5000 µg/プレート の 5 用量で試験した。試験は 3 連制とし、2 回行った。

用量設定根拠 ;

結 果 : 結果を次表に示した。

本試験において、検体は S9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 µg/プレート)においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、NaN₃及び 9-AA では S9 Mix の非添加で、また 2-AA では S9 Mix の添加によりすべての菌株で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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験Ⅱ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.2 チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. T-4.2)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度 : %

試験方法 : チャイニーズハムスター肺由来の株化細胞である CHL/TU 細胞を用い、代謝活性化及び非代謝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。

試験は 2 連制とし、1 濃度あたり 200 個の分裂中期像を観察した。

用量設定根拠 ;

結 果 : 結果を次表に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C (MMC) 及びベンゾ[a]ピレン (B[a]P) では染色体異常を示す分裂中期細胞の割合の明らかな増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において染色体異常誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

染色体異常試験結果（短時間処理法）

No.	氏名	性別	年齢	検査日時	検査部位	正常細胞数				異常細胞数				備考	検査者	
						観察	検出	割合	コメント	観察	検出	割合	コメント			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

染色体異常試験結果 (24 時間及び 48 時間連続処理法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.3 マウスを用いた小核試験 (資料 No. T-4.3)

試験機関

報告書作成年 2012 年 [GLP 対応]

検体純度 : %

供試動物 : ICR 系雄マウス (7 週齢、体重 26.6~37.9 g)、1 群 5 匹

試験方法 : 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁し、0、500、1000 及び 2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。なお、陰性対照群には 0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与し、陽性対照群にはマイトマイシン C を 0.5 mg/kg の用量で 1 回腹腔内投与した。陰性対照群及び 2000 mg/kg 投与群については投与 24 及び 48 時間後の 2 回、500 及び 1000 mg/kg 投与群、陽性対照群については投与 24 時間後の 1 回、骨髓塗抹標本を作製した。

各標本について、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数した。また、細胞毒性を調べるために 1000 個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合を算出した。

投与量設定根拠 ;

結 果 : 骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群にも死亡動物はなく、一般状態にも異常は認められなかった。

また、すべての検体投与群において、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。

陽性対照であるマイトマイシン C では、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

観察結果

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。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.6.4 ほ乳類培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (資料 No. T-4.4)

試験機関

報告書作成年 2012年 [GLP 対応]

検体純度 : %

試験方法 : マウスリンパ腫細胞由来の L5178Y TK⁺細胞を用いて、代謝活性化系の存在下及び非存在下で、96 穴プレートを用いたマイクロウェル法によって遺伝子突然変異誘発性を評価した。検体は DMSO に溶解し、代謝活性化系 (S9 Mix) の存在下及び非存在下で 3 時間 (3 時間処理) 及び S9 Mix の非存在下で 24 時間 (24 時間処理)、細胞に処理した。試験には以下の用量を設定した。

3 時間処理 (±S9 Mix) : 78.1、156、313、625 及び 1250 µg/mL (公比 2)

24 時間処理 : 39.1、78.1、156、313、625 及び 1250 µg/mL (公比 2)

用量設定根拠 ;

結 果 : 結果を次頁の表に示した。

3 時間処理において、代謝活性化非存在下の 1250 µg/mL 及び代謝活性化存在下の 625 及び 1250 µg/mL において、溶媒対照群に比べて突然変異誘発率に統計学的有意な増加が認められた。また 24 時間処理の 313 µg/mL 以上の用量において突然変異率に有意な変動が認められた。ただし、これらの有意な変動があった用量のうち、析出のない用量における突然変異誘発率は溶媒対照群のわずか 2.1 または 2.5 倍であったことから、被験物質の変異原性は比較的弱いことが示唆される。なお、24 時間処理の 1250 µg/mL については相対細胞増殖率が 9% という強い細胞毒性を示したことから、この用量における陽性反応は生物学的意義のないものと判断した。当該試験条件下において、陽性対照として用いたメタンスルホン酸メチルまたはシクロホスファミド処理群では、突然変異誘発率の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の有無にかかわらず、L5178Y TK⁺細胞に対し弱い変異原性があると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

遺伝子突然変異試験結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.7 生体機能影響

8.7.1 生体機能への影響に関する試験 (資料 No. T-5.1)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP対応]

検体純度 : %

1) 一般症状及び行動に及ぼす影響

① マウスにおける一般症状及び行動に及ぼす影響

供試動物 : Crlj:CD1(ICR)系マウス、6週齢、体重 雄 30.0 ~ 34.8 g、雌 23.2 ~ 27.0 g、
1群雌雄各4匹

試験方法 : 検体を1%カルボキシメチルセルロースナトリウム (CMC-Na)水溶液に懸濁して0、
200、600及び2000 mg/kgを単回経口投与した。投与前、投与1、2、4、6及び24
時間後に一般症状及び行動観察をIrwinの多次元観察法で観察した。

結 果 : 検体投与による一般症状への影響は認められなかった。

② ラットにおける一般状態および行動に及ぼす影響

供試動物 : Crl:CD(SD)系ラット、6週齢、体重 雄 177~199 g、雌 134~168 g、
1群雌雄各6匹

試験方法 : 検体を1%CMC-Na水溶液に懸濁して0、200、600及び2000 mg/kgを単回経口投与
した。投与前、投与1、2、4、6及び24時間後に一般症状および行動観察を多次元
観察法で行った。

結 果 : 検体投与による一般症状への影響は認められなかった。

2) 中枢神経系に対する作用

① 自発運動量に対する影響

供試動物 : Crlj:CD1(ICR)系マウス、6週齢、体重 雄 28.6~35.4 g、1群雄6匹

試験方法 : 検体を1%CMC-Na水溶液に懸濁して0、200、600及び2000 mg/kgを単回経口投
与し、投与直後から6時間後まで、及び投与23時間後から24時間後までを15分毎
に自発運動量測定装置で計測した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 果： 600 mg/kg群において投与後23時間30分から23時間45分までの15分間自発運動能が対照群と比較して有意に高値を示したが、その測定値は投与後1時間までのすべての群の測定値とほぼ同程度の数値であることと、用量相関性が認められないことから、被検物質による影響ではないと判断した。従って、検体投与による自発運動量への影響は認められなかった。

3) 呼吸・循環器系に及ぼす影響

① 血圧及び心拍数に対する作用

供試動物： Crl:CD(SD)系ラット、8週齢、体重 雄 265～299 g、1群雄6匹

試験方法： 検体を1%CMC-Na水溶液に懸濁して0、200、600及び2000 mg/kgを投与し、投与前、投与後2、4、6及び24時間にテイルカフ法により非観血的に血圧及び心拍数を測定した。麻酔は行わなかった。

結 果： 検体投与による血圧及び心拍数への影響は認められなかった。

② 呼吸数に対する影響

供試動物： Crl:CD(SD)系ラット、8週齢、体重 雄 256～305 g、1群雄6匹

試験方法： 検体を1%CMC-Na水溶液に懸濁して0、200、600及び2000 mg/kgを投与し、投与前、投与後2、4、6及び24時間に小動物用呼吸モニターシステムを用いて呼吸数を測定した。測定時刻の前後3分（計6分間）の中で、呼吸状態の安定した1分間の呼吸数を算出し採用した。

結 果： 検体投与による呼吸器系への影響は認められなかった。

4) 腎機能に及ぼす影響

供試動物： Crl:CD(SD)系ラット、8週齢、体重 259～285 g、1群雄6匹

試験方法： 検体を1%CMC-Na水溶液に懸濁して0、200、600及び2000 mg/kgを投与し、直ちに37°Cに加温した日本薬局方生理食塩液を25 mL/kgの割合で経口負荷した。動物は1匹ずつ代謝ケージに収容して6時間後まで採尿し、尿量、比重、pH、Na⁺、K⁺及びCl⁻を測定した。

結 果： 検体投与の影響として、2000 mg/kg投与群でpHが有意に低下した。また尿量は低値傾向、比重は高値傾向が見られたが有意な差は無かった。600 mg/kg以下の投与群では検体投与の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

以上の試験結果より、本剤はラットの生体機能に対して2000 mg/kgの投与量で尿中pHの有意な低値が認められたが、その他では影響は認められなかった。

「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.8 その他の毒性

8.8.1 雌マウスを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与免疫毒性試験

(資料 No. T-6.1)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9 代謝物の毒性

8.9.1 代謝物 のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TM-1)

試験機関

報告書作成年 2013 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： SD 系ラット、投与時 8 週齢、体重 184～207 g、雌 6 匹

観察期間： 14 日間

試験方法： 毒性等級法

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

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

結 果：

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

臨床徴候は、観察期間を通じて認められず、死亡例はなかった。また、体重に対する影響もなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.9.2 代謝物 の細菌を用いる復帰突然変異試験 (資料 No. TM-2)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度： %

試験方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA1535、TA98、TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA* 株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix)の非存在下及び存在下で、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、本試験Ⅰは61.7~5000 µg/プレートの5用量、本試験Ⅱは313~5000 µg/プレートの5用量で試験した。試験はプレインキュベーション法を用いて3連制で2回実施した。

用量設定根拠；

結 果： 結果を次表に示した。

2回の試験で、S9 Mixの非存在下、存在下でともにいずれの用量においても検体の析出は認められなかった。生育阻害はS9 Mixの有無に関わらず、いずれの菌株においても認められなかった。代謝活性化系の有無に関わらず、すべての用量及び菌株において復帰変異コロニー数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたAF-2、NaN₃及び9-AAではS9 Mixの非添加で、また2-AAではS9 Mixの添加によりすべての菌株で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、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において復帰突然変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験 I

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

本試験Ⅱ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10 製剤の毒性

8.10.1 ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 No. TF-1.1)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度： トルピラレート 10.4%フロアブル
製剤組成；トルピラレートを % (w/w)含有

供試動物： SD系ラット、8~9週齢、体重206~224g、雌6匹

観察期間： 14日間

試験方法： 毒性等級法

投与方法： 検体を精製水に懸濁して経口投与した。投与前に一晩絶食した。

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

結 果：

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

中毒症状は観察期間を通じて認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.2 ラットにおける急性経皮毒性試験 (資料 No. TF-1.2)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度： トルピラレート 10.4%フロアブル
製剤組成；トルピラレートを % (w/w)含有

試験動物： SD系ラット、8～9週齢、体重；雄 334～363 g、雌 229～253 g、
1群雌雄各5匹

観察期間： 14日間

試験方法： 検体を背部に24時間閉塞貼付した。

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

結 果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	なし
症状発現時間及び消失時間	全身の中毒症状なし 皮膚の紅斑・痂皮 投与後2日から発現 投与後14日に消失
毒性兆候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

全身性の中毒症状は観察されなかった。

雌2匹において、8及び15日目に体重増加量の低値を認めた。その他の動物は全て、試験期間を通じて十分な体重増加を達成したと判断した。

剖検所見では、雌雄共に主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

また、投与部の皮膚については、2日目から雄4匹と雌5匹に極軽度から重度の紅斑が認められた。これらの症状は13日目には回復した。さらに、落屑が雄2匹と雌4匹で5日目から観察され、9日目にはすべての動物で回復した。さらに、痂皮が雌1匹で7日目から認められたが14日目には回復した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.3 ラットにおける急性吸入毒性試験 (資料 No. TF-1.3)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度： トルピラレート 10.4%フロアブル
製剤組成；トルピラレートを % (w/w)含有

供試動物： SD系ラット、10～11週齢、体重；雄 394～418 g、雌 266～295 g、
1群雌雄各3匹

観察期間： 14日間

暴露方法： 検体をジェットアトマイザーを用いてミストを発生させ、4時間にわたり鼻部に暴露した。なお、5.04 mg/Lはミスト発生可能な最高濃度であった。暴露空気はガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件；

設定濃度 (mg/L)	5
実際濃度 (mg/L)	5.04
粒子径分布 (%) ¹⁾	
21.3 (μm)	2.4
14.8	5.1
9.8	14.9
6.0	17.8
3.5	22.2
1.55	24.4
0.93	6.2
0.52	5.3
<0	1.7
空気力学的質量中位径 (μm)	4.1
呼吸可能な粒子 (≤3.5 μm)の割合 (%)	59.8
チャンバー容量 (L)	30
チャンバー内通気量 (L/分)	12
暴露条件	ミスト、4時間、鼻部暴露

¹⁾ 重量測定法により、2回測定した平均

観察・検査項目：暴露中及び暴露後14日間、中毒症状及び死亡を観察した。体重測定は試験1日目(投与前)、2、4、8及び15日目に記録した。
観察期間終了時の全生存動物につき肉眼的病理検査を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結 果 :

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.04
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄共 >5.04
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共 死亡なし
症状発現時間及び消失時間	暴露直後から発現 暴露後 2 時間に消失
毒性徴候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄共 <5.04
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄共 5.04

暴露終了直後から雌雄それぞれ1例で、眼周囲の赤染とケージ床への顎のこすり付けが観察された。眼周囲の赤染は1時間後でも雌雄ともに認められたが、2時間以降はいずれの動物も正常であった。

暴露翌日、雌雄ともに3匹中2例の動物で体重減少がみられたが、暴露期間中の絶食等によるもので、検体投与によるものではないと判断した。4日目に体重は回復し、その後は順調に増加した。

肉眼的病理検査では、異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.4 ウサギにおける皮膚刺激性試験 (資料 No. TF-1.4)

試験機関
報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度： トルピラレート 10.4%フロアブル
製剤組成；トルピラレートを % (w/w)含有

供試動物： New Zealand White 系ウサギ、11 週齢、体重 2.223~2.534 kg、
1 群雌 3 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 剃毛したウサギの背側部 (約 2.54 cm 四方)に 1 動物あたり 0.5 mL の検体を直接投与し、ガーゼパッチを置き、リント布及びサージカルテープを用いて半閉塞貼付した。投与 4 時間後に貼付物を除去し、脱イオン水で皮膚に残った検体を洗い流した。

観察項目： 検体除去後 1、24、48、72 時間、7 及び 14 日に適用部分の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、経済協力開発機構のテストガイドライン (OECD Test Guideline No. 404, 2002 年)記載の基準に従って皮膚反応を採点した。臨床症状は投与日から最終観察日まで 1 日 1 回観察し、体重は投与直前及び最終観察終了時に測定した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物番号	項目	最高評点*	暴露後の時間				平均 a)
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
1	紅斑・痂皮	4	1	1	2	2	1.67
	浮腫	4	0	0	1	1	0.67
2	紅斑・痂皮	4	1	1	2	2	1.67
	浮腫	4	0	0	1	1	0.67
3	紅斑・痂皮	4	1	1	2	2	1.67
	浮腫	4	0	0	1	1	0.67
合計	紅斑・痂皮	12	3	3	6	6	
	浮腫	12	0	0	3	3	
平均	紅斑・痂皮	4	1	1	2	2	
	浮腫	4	0	0	1	1	

* 判定基準の最高評点

a) 24、48、72 時間の個別別平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

動物 番号	項目	最高 評点*	暴露後の日数	
			7日	14日
1	紅斑・痂皮	4	0	0
	浮腫	4	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0
	浮腫	4	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0
	浮腫	4	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0
	浮腫	12	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0
	浮腫	4	0	0

* 判定基準の最高評点

検体除去後 7 日の被験物質投与区画の皮膚に鱗屑が 3 例全例に認められ、これら鱗屑は投与後 13 日までにすべて消失した。

Globally Harmonized System (GHS)では区分 3 に分類される（軽度の刺激性、24、48、72 時間の紅斑あるいは浮腫の個体別平均値が 3 例中少なくとも 2 例で $\geq 1.5 \sim < 2.3$ ）。

以上の結果から、4 時間の皮膚暴露において、検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.5 ウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 No. TF-1.5)

試験機関

報告書作成年 2013年 [GLP 対応]

検体純度: トルピラレート 10.4%フロアブル

製剤組成; トルピラレートを % (w/w)含有

供試動物: New Zealand White 系ウサギ、12~13 週齢、体重 2.456~2.684 kg、
一群雌 6 匹 (非洗眼群 3 匹。洗眼群 3 匹)

観察期間: 72 時間

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

観察項目: 投与後 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の眼刺激性変化を観察し、経済協力開発機構のテストガイドライン (OECD Test Guideline No. 405, 2002 年)記載の基準に従って眼の反応を採点した。臨床症状は投与日から最終観察日まで 1 日 1 回観察し、体重は投与直前及び最終観察終了時に測定した。

結果: 刺激性変化の採点は、次頁の表に示した。

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

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 眼反応の評価点（非洗眼群）

動物 番号	観察項目		最高 評点	適用後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
1	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	角膜評点(A×B×5)		80	0	0	0	0
	虹彩(C)		2	0	0	0	0
	虹彩評点(C×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	1	0	0	0
		浮腫(E)	4	1	0	0	0
		分泌物(F)	3	2	0	0	0
	結膜評点(D+E+F)×2		20	8	0	0	0
	個別別評点		110	8	0	0	0
2	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	角膜評点(A×B×5)		80	0	0	0	0
	虹彩(C)		2	0	0	0	0
	虹彩評点(C×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	1	0	0	0
		浮腫(E)	4	1	0	0	0
		分泌物(F)	3	2	0	0	0
	結膜評点(D+E+F)×2		20	8	0	0	0
	個別別評点		110	8	0	0	0
3	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	角膜評点(A×B×5)		80	0	0	0	0
	虹彩(C)		2	0	0	0	0
	虹彩評点(C×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	1	0	0	0
		浮腫(E)	4	1	0	0	0
		分泌物(F)	3	2	0	0	0
	結膜評点(D+E+F)×2		20	8	0	0	0
	個別別評点		110	8	0	0	0
合計			330	24	0	0	0
平均*			110	8	0	0	0

* : Draize 法に従い、加重評点を記載（最高 110 点）【申請者にて算出】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 眼反応の評価点（洗眼群）

動物 番号	観察項目		最高 評点	適用後時間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
4	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	角膜評点(A×B×5)		80	0	0	0	0
	虹彩(C)		2	0	0	0	0
	虹彩評点(C×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	0	0	0	0
		浮腫(E)	4	0	0	0	0
		分泌物(F)	3	0	0	0	0
	結膜評点(D+E+F)×2		20	0	0	0	0
	個体別評点		110	0	0	0	0
5	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	角膜評点(A×B×5)		80	0	0	0	0
	虹彩(C)		2	0	0	0	0
	虹彩評点(C×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	0	0	0	0
		浮腫(E)	4	0	0	0	0
		分泌物(F)	3	0	0	0	0
	結膜評点(D+E+F)×2		20	0	0	0	0
	個体別評点		110	0	0	0	0
6	角膜	程度(A)	4	0	0	0	0
		面積(B)	4	0	0	0	0
	角膜評点(A×B×5)		80	0	0	0	0
	虹彩(C)		2	0	0	0	0
	虹彩評点(C×5)		10	0	0	0	0
	結膜	発赤(D)	3	0	0	0	0
		浮腫(E)	4	0	0	0	0
		分泌物(F)	3	0	0	0	0
	結膜評点(D+E+F)×2		20	0	0	0	0
	個体別評点		110	0	0	0	0
合計			330	0	0	0	0
平均*			110	0	0	0	0

* : Draize 法に従い、加重評点を記載（最高 110 点）【申請者にて算出】

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

8.10.6 モルモットにおける皮膚感作性試験 (資料 No. TF-1.6)

試験機関

報告書作成年 2013 年 [GLP 対応]

検体純度： トルピラレート 10.4%フロアブル
製剤組成；トルピラレートを % (w/w)含有

供試動物： Hartley 系モルモット、雌、6 週齢、体重 337~421 g、検体感作群 20 匹、
陰性対照群 10 匹

観察期間： 惹起処置後 48 時間

試験方法： [Buehler 法]

投与量設定根拠；

感 作； 感作前日に動物の左側腹部 (5×5 cm) を剃毛し感作部位とした。感作は直径 2.5 cm のパッチに 100%の検体 0.2 mL を塗布して感作部位にあて、テープで被覆・固定し 6 時間閉塞貼付することで行った。この操作を感作 0 日、7 日後及び 14 日後の計 3 回行った。陰性対照群には 0.2 mL の注射用水にて同様の処置をした。

惹 起； 感作 27 日後、動物の右側腹部 (5×5 cm) を剃毛し惹起部位とした。惹起は感作 28 日後、検体感作群、陰性対照群ともに直径 2.5 cm のパッチに 100% の検体 0.2 mL を塗布して惹起部位にあて、テープで被覆・固定し 6 時間閉塞貼付することで行った。

観察項目： 惹起貼付除去の 24 時間後及び 48 時間後、貼付部位を観察し、皮膚反応 (紅斑及び浮腫) について、Magnusson & Kligman (1969,1970) の基準に従って採点した。採点結果を基に、陽性率 (陽性動物数 / 使用動物数 × 100) を算出した。陽性率 0% の場合は感作性陰性とした。

感作群においては、陰性対照群に認められた最高評点を上回る反応を認めた動物を感作陽性動物とし、24 もしくは 48 時間後のいずれかの観察で認められた最高評点をその動物の皮膚反応評点とした。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

結果：皮膚反応の観察結果を以下の表に示す。

表 皮膚反応採点結果

試験群		動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)					
			24時間後				計	48時間後				時間				
	感作	惹起	皮膚反応評点					計	皮膚反応評点				計	24	48	
			0	1	2	3	0		1	2	3					
検体投与群	感作群	100%	100%	20	12	6	2	0	8/20	7	11	2	0	13/20	40	65
	対照群	注射用水	100%	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照群	感作群	1.0%	0.25%	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100
	対照群	エタノール	0.25%	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0

検体感作群における評点1又は2の紅斑が、惹起貼付24及び48時間後に各々8/20及び13/20例で認められた。陰性対照群における惹起処置部位には皮膚反応は認められなかった。陽性対照群についてはほぼ同時期に実施し、適切な結果が得られているため試験の妥当性は証明されている。(陽性率 DNCB投与群：100%、対照群：0%、実施日：2013年3月12日～2013年5月30日、試験番号：I-4311)

以上の結果から、検体に皮膚感作性が認められた。

9. 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 (1)>

抄録 番号	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
9.1.1	M-1.1 (GLP)	動物 代謝	ラット 雌雄	吸収排泄 ¹⁴ C()-及び ¹⁴ C()- トルピラレート 3 mg/kg 単回経口投与 及び 200 mg/kg 単回経口投与	単回投与における投与放射能の回収率は投与量の 97.4~103%であった。投与された放射能は投与後 96 時間(最終屠殺時点)までに排泄され、特に投与直後の 6 時間は速やかであり、投与した放射能の 75%以上が投与後 24 時間以内に、また投与後 48 時間までには、約 90%の放射能が排泄された。投与放射能の 39~61%が尿中に、24~57%が糞中に排泄された。全ての群において呼気中への排泄は無かった。カーカスの残留放射能は投与量の約 0.3~4.1%を占めていた。用量、雌雄、放射性標識型の違いで、放射能の排泄経路および速度に大きな差異はなかった。	(2013)	135
				薬物動態 ¹⁴ C()-及び ¹⁴ C()- トルピラレート 3 mg/kg 単回経口投与 及び 200 mg/kg 単回経口投与	血漿中の動態は、低用量及び高用量でそれぞれ 0.5 時間及び約 2 時間で最高濃度に達し、半減期は全群で 12~20 時間であった。投与標識及び性の違いによる明確な差は認められなかった。血漿中濃度の推移から、投与後 120 時間(最終屠殺時点)までに、>90%の血漿中放射能が減少することが示された。投与放射能の全身曝露量(AUC)は概ね用量に比例しており、用量がおおよそ 66 倍に増えると曝露量は 50~90 倍に増加したことから、投与放射能の体内動態は高用量投与群でも飽和していないことが示された。 全血中の動態は血漿中に比して約 3 分の 2 の濃度と同様に推移した。また、全血：血漿中放射能濃度比の平均が、0.7:1 未満であったことから、投与放射能が血球にほとんど結合しないことが示された。		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

抄録番号	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
9.1.1	M-1.1 (GLP)	動物代謝	ラット 雌雄	胆汁排泄 ¹⁴ C()-及び ¹⁴ C()- トルピラレート 3 mg/kg 単回経口投与	排泄様式は吸収排泄試験の結果と同等の結果が得られた。放射能は主に尿排泄され(投与量の 49.8～66.7%)、糞中排泄は投与量の 14.9～25.5%であった。胆汁排泄は投与量の 5.6～20.1%であり、その比率は雄が雌に比して、およそ3倍高く、胆汁中排泄にはわずかな性差がある可能性が示唆された。吸収率は投与量の 74.72～84.26%であった。	(2013)	135
				組織分布 ¹⁴ C()-及び ¹⁴ C()- トルピラレート 3 mg/kg 単回経口投与 及び 200 mg/kg 単回経口投与	単回投与群では、全ての群において放射能は広く体内に分布した。低用量で投与後 0.5 時間、高用量で投与後 2 時間における組織中放射能の回収率は、約 80%またはそれ以上であった。各組織中の放射能は時間経過とともに低下し、最終屠殺時点(投与後 96 時間)では、最高でも投与量の 3～4%が残留していたのみであった。放射能濃度が顕著に高かったのは、腎臓および肝臓であり、血漿中濃度より高濃度な残留がみられた組織はこれらの組織のみであった。用量、雌雄間、放射性標識型の違いで、放射能の組織分布に大きな差異はないものと考えられた。		
				代謝物同定 ¹⁴ C()-及び ¹⁴ C()- トルピラレート 3 mg/kg 単回経口投与 及び 200 mg/kg 単回経口投与			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

抄録 番号	資料 No.	試験の 種類	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
9.1.2	M-1.2 (GLP)	動物 代謝	ラット 雌雄	吸収排泄 組織分布 代謝物同定 ^{14}C ()-及び ^{14}C ()- トルピラレート 3 mg/kg 反復経口投与 (非標識 14 回+ 標識 1 回投与)	反復投与における吸収排泄の結果は、単回投与試験と比較して排泄経路や分布の相違は極めて小さく、反復投与することによる排泄への影響は見られなかった。組織分布には、両標識投与群ともに性差は無く、投与した放射能の大半は肝臓に、次いで腎臓に残留しており、0.1 $\mu\text{g eq/g}$ よりも高濃度の放射能が含まれていたのは、肝臓及び腎臓のみであった。反復投与後の減衰挙動や濃度の高い組織についても、単回投与での場合と同様であり、反復投与することによる影響は確認されなかった。代謝物プロファイルに関しても、	(2014)	158

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

抄録 番号	資料 No.	試験の 種類	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
9.2.1	M-2.1 (GLP)	植物 代謝	とう もろ こし	代謝残留 ^{14}C ()-及び ^{14}C ()- トルピラレート 全体散布 約 33 g a.i./ha 約 98 g a.i./ha 400SC 1 回処理	総残留量は茎葉で多く、第 1 回収 穫、第 2 回収穫および最終収穫試料 でそれぞれ 0.091~0.117、0.011~ 0.025、0.027~0.031 mg/kg であっ た。放射能のほとんどは表面洗浄液 および抽出液中で検出された。雌穂 (第 2 回収穫)および穀粒(最終収穫) では 0.002 mg/kg 以下の残留であ った。抽出残渣に含まれる放射能の ほとんどがヘミセルロース画分に抽出され た、	(2013)	168
9.2.2	M-2.2 (GLP)	異性体 比分析	とう もろ こし	異性体比分析 ^{14}C ()-及び ^{14}C ()- トルピラレート	資料 No. M-2.1 の植物由来試料 (表 面洗浄液及び抽出液)及び ^{14}C -トル ピラレートの標識原体溶液について、トル ピラレートの異性体比分析を実施した。	(2013)	178

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表 (5)>

抄録番号	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
9.3.1	M-3.1 (GLP)	土壌中 動態等	好氣的 土壌	土壌中動態 ^{14}C ()-及び ^{14}C ()- トルピラレート 0.067 mg/kg 1 回処理 20±2°C	トルピラレート[A]の土壌中での分解速度DT ₅₀ 値は0.09日で、DT ₉₀ 値は0.41日であった。主要分解物は で最大75.8～79.0%ARまで増加し、その後減少した。 のDT ₅₀ 及びDT ₉₀ 値は、それぞれ86.2日及び286日であった。その他の分解物の生成率は小さく最大でも3.7%ARであった。また、二酸化炭素及び結合性残留物が120日後にそれぞれ10.9～17.6%AR及び36.6～41.6%ARまで増加した。	(2013)	180
9.3.2	M-3.2 (GLP)	土壌 表面 光分解	乾燥 土壌	土壌表面 光分解 ^{14}C ()-及び ^{14}C ()- トルピラレート 0.5 µg/cm ² 20±2°C	トルピラレート[A]は、土壌表面でゆるやかに光分解し、北緯40度の夏の太陽光相当のDT ₅₀ 及びDT ₉₀ 値は、それぞれ102日及び340日であった。北緯35度(東京)の春の太陽光相当のDT ₅₀ 及びDT ₉₀ 値は、それぞれ201日及び667日であった。	(2013)	188
9.4.1	M-4.1 (GLP)	加水 分解	pH 4 pH 7 pH 9	加水分解性 ^{14}C ()- 及び ^{14}C ()- トルピラレート 10 mg/L 10、25 及び 50±0.5°C	トルピラレート[A]は、いずれのpHにおいても加水分解し、25°Cにおける加水分解半減期は、pH 4、7及び9においてそれぞれ311日、31.1日及び8.5時間であった。	(2013)	195

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

<代謝分解試験一覧表 (6)>

抄録 番号	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
9.4.2	M-4.2 (GLP)	光分解	精製水 及び 自然水	水中光分解性 ^{14}C ()-及び ^{14}C ()- トルピラレート 10 mg/L 25±2°C	トルピラレート[A]は、自然水及び 精製水中で光分解した。暗所対照 区においてもトルピラレート[A] の分解が見られたことから、暗所 対照区における分解速度で補正し た正味の光分解速度を求めた。自 然水中及び精製水中における光分 解速度 DT_{50} 値は、北緯 35 度 (東 京)の春の太陽光相当でそれぞれ 96.0日及び17.2日であった。また、 北緯 40 度の夏の太陽光相当では、 それぞれ 18.6 日及び 8.1 日であ った。	(2014)	202
9.5.1	M-5.1 (GLP)	土壌 吸着性	OECD 分類の タイプ 2, 3, 4 及び 5に属する 5土壌 (火山灰土 壌含む)	土壌吸脱着 ^{14}C ()- トルピラレート 0.05~5 mg/L 25±2°C	トルピラレート[A]は、滅菌土壌を 用いても土壌懸濁液中で分解し、 試験系において不安定であったた め、平衡時間 2 時間で試験を実施 した。 各土壌における吸着係数 K_{F}^{ad} は 0.46~1.8、 K_{F}^{oc} は 14.9~91.2 であ った。また脱着係数 $K_{\text{F}}^{\text{des}}$ は 0.62~ 3.1、 K_{F}^{oc} は 41.3~125 であった。	(2013)	214

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	トルピラレート	(RS)-1-(1-ethyl-4-[4-mesyloxy-3-(2-methoxyethoxy)- <i>o</i> -toluoyl]-1 <i>H</i> pyrazol-5-yl)ethyl methyl carbonate	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

<代謝分解試験に使用した標識化合物について>

本代謝分解試験では2種類の ^{14}C 標識化合物を使用した。

の炭素を標識位置とするのが妥当と判断された。

以下にその略称、構造式、標識位置及び化学名を示す。

(I) - 略称 ^{14}C ()-トルピラレート、 標識

(II) - 略称 ^{14}C ()-トルピラレート、 標識

* 標識位置を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

9.1 動物代謝に関する試験

9.1.1 ¹⁴C 標識トルピラレートを用いたラット体内における代謝試験 (資料 No. M-1.1) (単回経口投与-吸収排泄・薬物動態・組織分布・代謝物同定)

試験機関

報告書作成年 2013 年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

構造式；

化学名； (RS)-1-{1-ethyl-4-[4-mesyl-3-(2-methoxyethoxy)-*o*-toluoyl]-1H-pyrazol-5-ylloxy}ethyl methyl carbonate

	名称	略称	標識位置	ロット No.	比放射能 (MBq/mg)	放射化学的純度 (%)
(I)	¹⁴ C()-トルピラレート					
(II)	¹⁴ C()-トルピラレート					

(申請者注) 標識位置の設定根拠；

供試動物： Wistar Hannover 系ラット [CrI:WI(Han)]、7~12 週齢

吸収排泄、組織分布； 体重 189~265 g (投与時)

薬物動態； 体重 209~249 g (投与時)

胆汁排泄； 体重 203~316 g (胆管カニューレクション手術時)

試験方法：

飼育管理； 全試験期間を通じて水及び飼料は、自由に摂取させた。最低 5 日間馴化させたのち、試験に供試した。検体投与後、ラットはガラス製代謝ケージに入れ、温度 20~24 °C、相対湿度 40~70%及び 12 時間の明暗サイクルの室内で飼育した。動物試験室の換気回数は、1 時間当たり約 15 回以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

投与溶液； ^{14}C 標識検体と非標識検体 (化学純度 %)を計画した比放射能となるように溶液中で混合し、溶媒を留去したのち、0.1% Tween 80 を含む3%ヒドロキシプロピルセルロース水溶液中で均一に再懸濁することにより、投与液を調製した。

投与方法； 投与量は低用量で3 mg/kg 及び高用量で200 mg/kg とし、投与容量は5 mL/kg、投与放射能は5 MBq/kg とした。投与は非絶食条件で胃ゾンデを用いた強制経口投与によって行い、実投与量は使用した器具の投与前後における重量差と投与液の分析値から算出した。

(申請者注) 用量設定根拠；ラット90日間反復経口投与毒性試験 (資料No. T-2.2)の結果をめやすに設定した。ラット90日間反復経口投与毒性試験においては、無毒性量は雄では0.323 mg/kg/day, 雌では1.58 mg/kg/dayであった。

試験群； 試験群の構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群の構成

試験項目	群記号	投与標識	設定用量 (mg/kg)	群数	動物数	採取試料及び採取時点(時間)	屠殺時間(時間)
① 吸収排泄				1	雄 4 雌 4	尿：6, 12, 24, 48, 72, 96 糞, CW ¹⁾ ：24, 48, 72, 96 組織, CD ²⁾ ：96 呼気：24	96
② 薬物動態				1	雄 4 雌 4	全血/血漿：0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120	120
③ 胆汁排泄				1	雄 4 ³⁾ 雌 4 ³⁾	尿, 胆汁：投与前, 6, 12, 24, 48 糞, CW ¹⁾ ：投与前, 24, 48 消化管, カーカス, CD ²⁾ ：48	48
④ 組織分布				5	雄 4 雌 4	各組織：0.5, 6, 12, 48, 96 ⁴⁾ 各組織：2, 16, 48, 96 ⁴⁾ 各組織：0.5, 6, 12, 48, 96 ⁴⁾ 各組織：2, 16, 48, 96 ⁴⁾	左記
				4			
				5			
				4			
⑤ 代謝物分析	分析試料の詳細は後述(表 2)						

1)：ケージ洗浄液

2)：ケージ付着物

3) 外科手術に伴う予備動物のために各群雌雄 6~7 匹ずつで試験を開始したが、データは各群 4 匹で示している。

4) 96 時間屠殺群は吸収排泄試験の動物を使用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

① 吸収排泄

投与： または 標識をそれぞれ低用量及び高用量で単回強制経口投与し、個体別に糞と尿を別々に採取できるガラス製の代謝ケージ内で飼育した。

採取試料、時点及び方法：

尿； ドライアイスで冷却した尿捕集容器に集め、最終投与 6, 12, 24, 48, 72 及び 96 時間後に容器を洗浄した少量の水と合わせて採取した。

糞； ドライアイスで冷却した糞捕集容器に集め、投与後 24, 48, 72 及び 96 時間に採取した。

呼気； 2-エトキシエタノール：エタノールアミン (3:1、v/v)を入れたトラップを2つ連結して代謝ケージに接続し、投与後 24 時間まで呼気を捕集した。

ケージ付着物； 24 時間毎に 96 時間まで採取し、個体別にプールしたものを試料とした。

ケージ洗浄液； 24 時間毎にケージ付着物を取り除いた後採取し、投与 72 時間後まではケージ付着物を取り除いた後に少量の水で洗ったものを試料とし、投与 96 時間後においては水洗後更にメタノール洗浄し、これを合わせたものを試料とした。

血液； 最終屠殺時、心臓穿刺によって全血をヘパリン処理チューブに採取した。分析用として一部採取し、残りは遠心して血漿及び赤血球を得て、それぞれ試料とした。

組織； 心臓採血後、以下の組織を採取した。

副腎、骨、骨髄、脳、精巣上体 (雄のみ)、眼球、脂肪、消化管及び内容物、被毛及び皮膚、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉 (大腿筋)、卵巣 (雌のみ)、膵臓、下垂体、脾臓、精巣 (雄のみ)、胸腺、甲状腺及び子宮 (雌のみ)

カーカス； 上記採血及び組織採取後の残余の組織を試料とした。

② 薬物動態

投与： または 標識をそれぞれ低用量及び高用量で単回強制経口投与した後、ガラス製の代謝ケージ内で個体別に飼育した。

採取試料、時点及び方法：

全血/血漿； 低用量及び高用量群、共に投与 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96 及び 120 時間後に採取した。採取は、尾静脈よりヘパリン処理チューブを用いて全血を 75 μ L \times 2 回採取した。また、最終時点においては心臓穿刺により全血を採取した。採取した全血の一部は遠心分離して血漿を得て、全血/血漿それぞれの放射能を測定した。

③ 胆汁排泄

投与： 胆管カニューレションしたラット各群雌雄 4 匹ずつに対し、 または 標識を低用量で単回強制経口投与した後、ガラス製の代謝ケージで個体別飼育した。

採取試料及び採取時点：

尿、胆汁； 投与前及び投与 6, 12, 24 及び 48 時間後に、冷却した受器にて採取した。

糞； 投与前及び投与 24 及び 48 時間後に、冷却した受器にて採取した。

ケージ付着物； 各個体別に 48 時間まで採取し、合わせて試料とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

ケージ洗浄液；投与 24 及び 48 時間後に採取した。採取方法は、24 時間まではケージ付着物を取り除いた後に少量の水で洗ったものを試料とし、48 時間後においては水洗後更にメタノール洗浄して合わせたものを試料とした。

消化管及び内容物、カーカス；投与 48 時間後に屠殺し、消化管および内容物を採取し、残余の組織をカーカスとして、それぞれ試料とした。

④ 組織分布

投与： または 標識を、低用量及び高用量で各群雌雄 4 匹ずつに単回強制経口投与した後、代謝ケージ内で飼育した。

採取試料、時点及び方法：低用量群においては投与 0.5, 6, 12, 48 及び 96 時間後に、高用量群においては投与 2, 16, 48 及び 96 時間後に、雌雄 4 匹ずつを屠殺し、全血、血漿及び各組織を採取した。ただし、投与 96 時間後屠殺群は、吸収排泄試験の個体を用いた。採取試料は、吸収排泄試験で採取した組織に加え、顎下唾液腺を採取した（投与 96 時間後を除く）。

⑤ 代謝物分析

分析試料： 吸収排泄試験の尿及び糞、胆汁排泄試験の胆汁、並びに組織分布試験の肝臓、腎臓及び血漿について代謝物の分析を行った。分析試料は、各マトリックス、性別および投与群ごとにプールした（表 2）。

表 2. 代謝物分析用試料

分析試料	試験項目	投与標識	投与量 (mg/kg)	性	分析試料 (投与後時間)
尿	吸収排泄			雌雄	0-6, 6-12, 12-24 時間プール
				雄	0-6, 6-12, 12-24 時間プール
				雌	0-6, 6-12, 12-24, 24-48 時間プール
				雌雄	0-6, 6-12, 12-24, 24-48 時間プール
	胆汁排泄			雌雄	0-6, 6-12, 12-24 時間プール
糞	吸収排泄			雌雄	0-24, 24-48 時間プール
				雄	0-24, 24-48 時間プール
				雌	0-24, 24-48, 48-72 時間プール
				雌雄	0-24, 24-48 時間プール
	胆汁排泄			雌雄	0-24, 24-48 時間プール
胆汁	胆汁排泄			雌雄	0-24, 24-48 時間プール
肝臓、腎臓 血漿	組織分布			雌雄	0.5 時間プール
				雌雄	2 時間プール

分析方法： 代謝物の定量分析は、放射能検出器付の高速液体クロマトグラフィーにより行った。代謝物の同定及び特徴づけは、標準化合物を用いたコクロマトグラフィー若しくは質量分析により行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

分析試料調製： 分析用の抽出物は、以下の方法で調製した。

尿、胆汁； プール試料を遠心分離し、その上清を分析に供した。

血漿； プール試料をアセトニトリル及びアセトニトリル：水（1:1, v/v）で各1回抽出し、遠心後、上清を濃縮、再溶解し分析に供した。

糞； プール試料をアセトニトリルで2回、アセトニトリル：水（1:1 v/v）で1回抽出した。抽出液を窒素下で濃縮し、遠心分離後、上清を分析に供した。

肝臓、腎臓； プール試料をアセトニトリルで1回、アセトニトリル：水（1:1 v/v）で2回、さらに水で1回抽出した。抽出液を窒素下で濃縮し、遠心分離後、上清を分析に供した。

放射能の測定；各試験において採取した試料の放射能は、液体シンチレーション計数法（以下、LSCと略記）で測定した。各試料の放射能測定方法を表3に示す。

表 3. 各試料中放射能の測定方法

試料	放射能の測定方法
検体溶液、投与液、血漿、尿、胆汁、ケージ洗浄液	
全血	
糞、組織、ケージ付着物	
骨	
カーカス	

試験結果：

① 吸収排泄

または 標識を低用量及び高用量で単回経口投与したラットにおける吸収排泄結果を表4に示す。投与放射能の回収率は、投与量の97.4～103%と良好であった。主な排泄経路は糞及び尿であり、尿中に投与量の38.5～61.4%が、糞中に投与量の23.6～56.6%が、ケージ洗浄液に同1.9～14.7%が排泄された。また、全ての投与群において呼気中への排泄はみられなかった。尿及び糞中への排泄の比率は、尿への排泄量がやや多い傾向が見られた。排泄速度は速やかであり、尿・糞・ケージ洗浄液中に、投与24時間後では投与量の75%以上が、投与48時間後では同約90%が排泄された。排泄経路及び速度に関しては、投与標識・投与量・性に基づく明確な違いは確認されなかった。投与96時間後にカーカス及び組織中に残留した放射能は、低用量投与群で投与量の3.3～4.1%、高用量投与群で同0.3～0.4%と差が見られたが、トルピラレート[A]換算の絶対量では同程度の残留量であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 4. ¹⁴C-トルピラレート経口投与ラットにおける吸収排泄

(投与量に対する%)

投与標識									
投与量									
試料	採取時間 (hr)	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0-6								
	6-12								
	12-24								
	24-48								
	48-72								
	72-96								
	小計								
糞	0-24								
	24-48								
	48-72								
	72-96								
	小計								
ケージ洗淨液	0-24								
	24-48								
	48-72								
	72-96								
	小計 ¹⁾								
呼気									
ケージ付着物									
カーカス及び組織									
総回収									

各群 4 匹の平均値、原報告書に記載の数値で、丸めて表示している為、合計や小計と必ずしも一致しない。

ND：非検出

¹⁾：原報告書よりケージ洗淨液と最終ケージ洗淨液の合計として申請者が算出

② 血中動態

血漿；

標識を低用量及び高用量で単回経口投与したラットにおける血漿中放射能濃度推移の結果を表 5、図 1 及び図 2 に示す。低用量投与群においては、血漿中最高濃度 (C_{max}) は 1.048~1.589 $\mu\text{g eq./g}$ 、その到達時間 (T_{max}) は投与後 0.25~1 時間であり、高用量投与群では、 C_{max} は 22.84~61.78 $\mu\text{g eq./g}$ 、 T_{max} は投与 1~2 時間後であった。血漿中濃度は C_{max} に達した後に減衰を続け、投与 48 時間後には全ての投与群において C_{max} の 3% 未満にまで低下した。血漿中放射能濃度の半減期 ($T_{1/2}$) は 12~20 時間の範囲であり、投与標識・用量・性に由来する違いは見られなかった。血漿の濃度・時間曲線下面積 ($AUC_{0-\infty}$) については、低用量と高用量の比率がおおよそ 50~90 倍の範囲であり、用量比のおおよそ 66 倍と概ね一致する事から、高用量においても体内動態過程は飽和していないと考えられる。

全血；

標識を低用量及び高用量で単回経口投与したラットにおける全血中放射能濃度推移の結果を表 6、図 3 及び図 4 に示す。全血中における放射能濃度は、血漿中の概ね 3 分の 2 の値で相似形に推移しており、投与放射能は殆ど血球成分に局在しない事が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 5. ¹⁴C-トルピラレート投与時の血漿中放射能濃度及び薬物動態パラメータ

投与量								
投与標識								
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
採取時間 (hr)	血漿中濃度 (µg eq./g)							
0.25								
0.5								
1								
2								
4								
6								
12								
24								
48								
72								
96								
120								

各群 4 匹の平均値

ND : 非検出

投与量								
投与標識								
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	薬物動態パラメータ							
T _{1/2} (hr)								
T _{max} (hr)								
C _{max} (µg eq./g)								
AUC _{0-t} (hr.µg eq./g)								
AUC _{0-∞} (hr.µg eq./g)								

T_{1/2} : 半減期

T_{max} : 最高濃度到達時間

C_{max} : 最高濃度

AUC_{0-t} : 投与 t 時間後までの濃度-時間曲線下面積、t は血漿中で放射能検出があった最終時点をさす

AUC_{0-∞} : 無限大時間まで外挿して算出した濃度-時間曲線下面積

(申請者注) 薬物動態パラメータの数値は、解析ソフトウェア WinNonlin Professional V4.0.1 を用いて個体別に算出した各個体の値の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

図 1. 低用量単回投与時の血漿中濃度推移

図 2. 高用量単回投与時の血漿中濃度推移

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 6. ¹⁴C-トルピラレート投与時の全血中放射能濃度及び薬物動態パラメータ

投与量								
標識								
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
採取時間 (hr)	全血中濃度 (µg eq./g)							
0.25								
0.5								
1								
2								
4								
6								
12								
24								
48								
72								
96								
120								

各群 4 匹の平均値
ND : 非検出

投与量								
標識								
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
薬物動態パラメータ								
T _{1/2} (hr)								
T _{max} (hr)								
C _{max} (µg eq./g)								
AUC _{0-t} (hr·µg eq./g)								
AUC _{0-∞} (hr·µg eq./g)								

T_{1/2} : 半減期
T_{max} : 最高濃度到達時間
C_{max} : 最高濃度
AUC_{0-t} : 投与後 t 時間までの濃度-時間曲線下面積、t は全血中で放射能検出があった最終時点をさす
AUC_{0-∞} : 無限大時間まで外挿して算出した濃度-時間曲線下面積
(申請者注) 薬物動態パラメータの数値は、解析ソフトウェア WinNonlin Professional V4.0.1 を用いて固
体別に算出した値の平均。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

図 3. 低用量単回投与時の全血中濃度推移

図 4. 高用量単回投与時の全血中濃度推移

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

③ 胆汁排泄

胆管カニューレ処置ラットに 標識を低用量で投与した胆汁排泄試験結果を表 7 に示す。投与 48 時間後における投与放射能の胆汁中への排泄は、雄で投与量の 13.6～20.1%、雌は同 5.6～6.7%であり、雄の方が雌より多かった。尿中には投与量の 49.8～66.7%、糞中には同 14.9～25.5%が排泄され、ケージ洗浄液には同 2.58～7.32%が含まれていた。吸収率は胆汁、尿、カーカスおよびケージ洗浄液の放射能を合計することで求め、投与量の 74.72～84.26%であった^(註)。排泄速度に関しては、吸収排泄試験の結果と同様に速やかであり、投与 24 時間後には投与量の 75%以上が、投与 48 時間後には大半の放射能が排泄された。投与 48 時間後にカーカスおよび組織に残留した放射能は投与量の 3.7～5.3%と微量であった。投与放射能の回収率は投与量の 99～101%と良好であった。

(申請者注) 吸収率について、ケージ洗浄液中の放射能は、尿が受器に達する前に代謝ケージ内表面上で乾燥して残存したものと判断されたため、吸収率の算出にはケージ洗浄液を含めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 7. ¹⁴C-トルピラレートを単回投与したラットにおける胆汁排泄
(投与量に対する%)

投与量					
投与標識					
試料	採取時間 (hr)	雄	雌	雄	雌
胆汁	投与前				
	0-6				
	6-12				
	12-24				
	24-48				
	小計 ¹⁾				
尿	投与前				
	0-6				
	6-12				
	12-24				
	24-48				
	小計 ¹⁾				
糞	投与前				
	0-24				
	24-48				
	小計 ¹⁾				
ケージ 洗浄液	投与前				
	0-24				
	24-48				
	小計 ²⁾				
ケージ付着物					
消化管及び内容物					
カーカス及び組織					
合計 ¹⁾					
吸収率 ³⁾					

各群 4 匹の平均値

ND : 非検出

¹⁾ : 原報告書に記載の数値、丸めて表示している為合計と必ずしも一致しない。

²⁾ : 原報告書より申請者が算出

³⁾ : 吸収率 = 胆汁 + 尿 + ケージ洗浄液 + カーカス及び組織

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

④ 組織分布

標識を低用量及び高用量で単回投与したラットにおける組織分布試験の結果を表 8～13 に示す。用量差、雌雄間、放射性標識型の違いに関連した放射能の組織分布に大きな違いはないものと考えられた。低用量を投与後 0.5 時間、高用量を投与後 2 時間における組織中放射能の回収率は、約 80% またはそれ以上であった。この時点で組織中に回収されなかった放射能は、屠殺前に尿中排泄されたものと考えられた。これらの時点では、放射能は主に消化管および内容物に残留しており、肝臓および腎臓での回収率が顕著に高かった。肝臓には最高で投与量の 9%、また腎臓には最高で 2% が含まれており、カーカスには最高で 11% が含まれていた。

各組織からの放射能の回収は時間経過とともに低下し、最終屠殺時点（投与後 96 時間）では、低用量群で、カーカスおよび組織には最高で投与量の 3～4% が残留していた。一方、高用量群では、投与量の 1% 未満であった。

投与後 96 時間までの主たる放射能残留組織は肝臓であり、低用量群では投与量の約 3% が検出された。同時点で、他の組織中に残留した放射能は 0.1% 未満となった。

すべての投与群において、放射能濃度が顕著に高かったのは、腎臓および肝臓であり、血漿中濃度より顕著に高い残留がみられた組織はこれらのみであった。これは、肝臓及び腎臓がトルピラレート[A]及びその代謝物の代謝排泄に積極的に関与している事が要因と考えられる。次いで、放射能の残留が高かった組織は、雄では精巣上体、肺、脂肪、甲状腺、心臓、膵臓及び副腎であった。これらの組織の大半においては、雌でも放射能濃度は高かった。また雌では、これら以外に、下垂体、卵巣及び子宮の濃度も高かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 8. ¹⁴C-トルピラレートを低用量 ()で単回経口投与したラットにおける組織中放射能濃度 (μg eq./g)

標識 性	雄					雌					雄					雌					
	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	
副腎																					
全血																					
骨																					
骨髄																					
脳																					
精巣上体																					
眼球																					
脂肪																					
心臓																					
腎臓																					
肝臓																					
肺																					
筋肉																					
卵巣																					
脾臓																					
下垂体																					
血漿																					
赤血球																					
顎下唾液腺																					
被毛及び皮膚																					
脾臓																					
精巣																					
胸腺																					
甲状腺																					
子宮																					

各群 4 匹の平均値、 ND : 非検出、 ¹⁾ : 吸収排泄試験の動物を使用した、 - : 該当試料なし、 NS : 試料採取せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 9. ¹⁴C-トルピラレートを高用量 () で単回経口投与したラットにおける組織中放射能濃度 (µg eq./g)

標識 性	雄								雌							
	2	16	48	96 ¹⁾	2	16	48	96 ¹⁾	2	16	48	96 ¹⁾	2	16	48	96 ¹⁾
副腎																
全血																
骨																
骨髓																
脳																
精巣上体																
眼球																
脂肪																
心臓																
腎臓																
肝臓																
肺																
筋肉																
卵巣																
膵臓																
下垂体																
血漿																
赤血球																
顎下唾液腺																
被毛及び皮膚																
脾臓																
精巣																
胸腺																
甲状腺																
子宮																

各群 4 匹の平均値、 ND : 非検出、 ¹⁾ : 吸収排泄試験の動物を使用した、 - : 該当試料なし、 NS : 試料採取せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 10. ¹⁴C-トルピラレートを低用量 ()で単回経口投与したラットにおける組織分布率 (投与量に対する%)

標識 性	雄					雌					雄					雌					
	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	
屠殺時間 (hr)																					
副腎																					
全血																					
骨																					
骨髄																					
脳																					
精巣上体																					
眼球																					
脂肪																					
消化管及び内容物																					
心臓																					
腎臓																					
肝臓																					
肺																					
筋肉																					
卵巣																					
膵臓																					
下垂体																					
血漿																					
赤血球																					
顎下唾液腺																					
被毛及び皮膚																					
脾臓																					
精巣																					
胸腺																					
甲状腺																					
子宮																					
カーカス																					
総回収*																					

各群 4 匹の平均値、 ND : 非検出、 ¹⁾ : 吸収排泄試験の動物を使用した、 - : 該当試料なし、 NS : 試料採取せず

* : 原報告書に記載の数値、丸めて表示している為合計と必ずしも一致しない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 11. ¹⁴C-トルピラレートを高用量 ()で単回経口投与したラットにおける組織分布率 (投与量に対する%)

標識 性	雄				雌				雄				雌			
	2	16	48	96h ¹⁾	2	16	48	96h ¹⁾	2	16	48	96h ¹⁾	2	16	48	96h ¹⁾
副腎																
全血																
骨																
骨髄																
脳																
精巣上体																
眼球																
脂肪																
消化管及び内容物																
心臓																
腎臓																
肝臓																
肺																
筋肉																
卵巣																
脾臓																
下垂体																
血漿																
赤血球																
顎下唾液腺																
被毛及び皮膚																
脾臓																
精巣																
胸腺																
甲状腺																
子宮																
カーカス																
総回収*																

各群 4 匹の平均値、ND : 非検出、¹⁾ : 吸収排泄試験の動物を使用した、- : 該当試料なし、NS : 試料採取せず

* : 原報告書に記載の数値、丸めて表示している為合計と必ずしも一致しない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 12. ¹⁴C-トルピラレートを低用量 ()で単回経口投与したラットにおける放射能濃度の組織/血漿比

標識 性	雄					雌					雄					雌					
	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	0.5	6	12	48	96 ¹⁾	
屠殺時間 (hr)																					
副腎																					
全血																					
骨																					
骨髓																					
脳																					
精巣上部																					
眼球																					
脂肪																					
心臓																					
腎臓																					
肝臓																					
肺																					
筋肉																					
卵巣																					
膵臓																					
下垂体																					
赤血球																					
顎下唾液腺																					
被毛及び皮膚																					
脾臓																					
精巣																					
胸腺																					
甲状腺																					
子宮																					

各群 4 匹の平均値、 NC : 算出不可、 ¹⁾ : 吸収排泄試験の動物を使用した、 - : 該当試料なし、 NS : 試料採取せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 13. ¹⁴C-トルピラレートを高用量 ()で単回経口投与したラットにおける放射能濃度の組織/血漿比

標識 性	雄				雌				雄				雌				
	屠殺時間 (hr)	2	16	48	96h ¹⁾	2	16	48	96h ¹⁾	2	16	48	96h ¹⁾	2	16	48	96h ¹⁾
副腎																	
全血																	
骨																	
骨髓																	
脳																	
精巣上体																	
眼球																	
脂肪																	
心臓																	
腎臓																	
肝臓																	
肺																	
筋肉																	
卵巣																	
膵臓																	
下垂体																	
赤血球																	
顎下唾液腺																	
被毛及び皮膚																	
脾臓																	
精巣																	
胸腺																	
甲状腺																	
子宮																	

各群 4 匹の平均値、 NC : 算出不可、 ¹⁾ : 吸収排泄試験の動物を使用した、 - : 該当試料なし、 NS : 試料採取せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

⑤ 代謝物分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 14. 尿及び糞中の代謝物と投与量に対する生成比率 (吸収排泄試験)

(投与量に対する%)

標識									
設定用量		低用量		高用量		低用量		高用量	
試料	代謝物 \ 性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
糞	トルピラレート[A]	2.31	0.48	14.66	11.26	ND	ND	31.86	29.44
合計									

(申請者注) 表の数字は原報告書の各試料個別分析値の合計を申請者が計算して記載

ND: 非検出

*: (申請者注) 小計から同定代謝物を差引いた値として申請者が計算して記載

表 15. 尿及び糞中の代謝物と投与量に対する生成比率 (胆汁排泄試験)

(投与量に対する%)

設定用量		低用量			
投与標識					
試料	代謝物 \ 性	雄	雌	雄	雌
胆汁	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND
尿	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND
糞	トルピラレート[A]	ND	ND	0.85	0.46
合計					

(申請者注) 表の数字は原報告書の各試料個別分析値の合計を申請者が計算して記載

ND: 非検出

*: (申請者注) 小計から同定代謝物を差引いた値として申請者が計算して記載

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 16. 標識投与ラットにおける組織中代謝物の投与量に対する生成比率及び濃度 (組織分布試験)

投与量		雄				雌			
性		雄		雌		雄		雌	
試料	代謝物	%AD	濃度	%AD	濃度	%AD	濃度	%AD	濃度
肝臓	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : 非検出

%AD : 投与量に対する%

濃度 : $\mu\text{g eq./g}$

* : (申請者注) 小計から同定代謝物を差引いた値として申請者が計算して記載

表 17. 標識投与ラットにおける組織中代謝物の投与量に対する生成比率及び濃度 (組織分布試験)

設定用量		低用量				高用量			
性		雄		雌		雄		雌	
試料	代謝物	%AD	濃度	%AD	濃度	%AD	濃度	%AD	濃度
肝臓	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎臓	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : 非検出

%AD : 投与量に対する%

濃度 : $\mu\text{g eq./g}$

* : (申請者注) 小計から同定代謝物を差引いた値として申請者が計算して記載

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 18. 血漿中の代謝物と放射能濃度 (組織分布試験)

($\mu\text{g eq./g}$)

投与標識									
設定用量		低用量		高用量		低用量		高用量	
代謝物		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血漿	トルピラレート[A]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

* : (申請者注) 小計から同定代謝物を差引いた値として申請者が計算して記載

図 5. トルピラレートのラットにおける推定代謝経路

(申請者注) []より修飾基が伸びている代謝物はその部分のうち、いずれかの位置が修飾を受けている事を意味する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

9.1.2 ^{14}C 標識トルピラレートを用いたラット体内における代謝試験 (資料 No. M-1.2)
(反復経口投与-吸収排泄・組織分布・代謝物同定)

試験機関

報告書作成年 2014 年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

構造式；

化学名； (RS)-1-{1-ethyl-4-[4-mesyl-3-(2-methoxyethoxy)- σ -toluoyl]-1H-pyrazol-5-yloxy}ethyl methyl carbonate

名称；

標識位置；

ロット No.；

比放射能；

放射化学的純度；

(申請者注) 標識位置の設定根拠；

供試動物： Wistar Hannover 系雌雄ラット [CrI:WI(Han)]

雄；8 匹、7~11 週齢、体重 272~311 g

雌；8 匹、7~11 週齢、体重 219~240 g

(雌雄とも標識検体投与時)

試験方法：

飼育管理； 全試験期間を通じて水及び飼料は、自由に摂取させた。最低 5 日間馴化させたのち、試験に供試した。検体投与後、ラットは、ガラス製代謝ケージに入れ、温度 20~24 °C、相対湿度 45~65%及び 12 時間の明暗サイクルの室内で飼育した。動物試験室の換気回数は、1 時間当たり約 15 回であった。

投与溶液； 非標識検体 (化学純度 %)を、0.1 % Tween 80 を含む 3 %ヒドロキシプロピルセルロース水溶液中で均一に懸濁することにより、非標識検体投与液を調製した。また、標識検体と非標識検体とを計画した比放射能となるように溶液中で混合し、溶媒を留

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

去した後、0.1% Tween 80 を含む 3% ヒドロキシプロピルセルロース水溶液中で均一に再懸濁することにより、標識検体投与液を調製した。

投与方法； 投与量は μkg 、投与容量は 5 mL/kg、投与放射能量は μkg に設定した。投与は非絶食条件下で胃ゾンデを用いた強制経口投与にて行い、非標識検体投与液を 14 日間反復投与した後、15 日目に標識検体投与液を 1 回投与する事により実施した。実投与量は使用した器具の投与前後における重量差と投与液の分析値から算出した。

(申請者注) 用量設定根拠；

放射能の測定；

表 1. 放射能測定用試料の前処理法

試料	放射能の測定方法
検体溶液、投与液、血漿、尿、ケージ洗浄液	
全血	
糞、組織、ケージ付着物	
骨	
カーカス	

試験群； 試験群の構成を表 2 に示す。

表 2. 試験群の構成

試験項目	群記号	投与標識	設定用量 (mg/kg)	動物数	採取試料及び採取時点 (時間)	屠殺時間 (時間)
①吸収排泄 ②組織分布	A B		3	雌雄各 4	尿：6, 12, 24, 48, 72, 96 糞、CW ¹⁾ ：24, 48, 72, 96 全血/血漿、組織、カーカス、CD ²⁾ ：0~96	96
③代謝物同定	分析試料は上記試験で得られた試料を用い、詳細は表 3 に示す。					

1) ケージ洗浄液

2) ケージ付着物

投与；各群雌雄 4 匹ずつに対して、最終投与までは非標識の投与液を 14 日間投与した後、最終投与において μkg 標識を低用量で単回経口投与し、個体別に糞と尿を別々に採取できるガラス製代謝ケージで飼育した。

採取試料、時点及び方法；

尿； ドライアイスで冷却した尿捕集容器に集め、標識検体投与 6, 12, 24, 48, 72 及び 96

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

時間後に容器を洗浄した少量の水と合わせて採取し、試料とした。

糞： ドライアイスで冷却した糞捕集容器に集め、標識検体投与 24, 48, 72 及び 96 時間後に採取し、試料とした。

ケージ付着物： 標識検体投与後 24 時間毎に 96 時間まで採取し、各個体別にプールしたものを試料とした。

ケージ洗浄液： 標識検体投与 24, 48, 72 及び 96 時間後に採取した。採取方法は、72 時間まではケージ付着物を取り除いた後に少量の水で洗ったものを試料とし、96 時間後においては水洗後、更にメタノールで洗浄してこれを合わせて試料とした。

血液： 最終屠殺時、心臓穿刺によって全血をヘパリン処理チューブに採取した。分析用として一部採取し、残りは遠心して血漿及び赤血球を得て、それぞれ試料とした。

組織： 心臓採血後、以下の組織を採取して試料とした。

副腎、骨、骨髄、脳、精巣上体 (雄のみ)、眼球、脂肪、消化管及び内容物、被毛及び皮膚、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉 (大腿筋)、卵巣 (雌のみ)、膀胱、下垂体、脾臓、顎下唾液腺、精巣 (雄のみ)、胸腺、甲状腺及び子宮 (雌のみ)

カーカス： 屠殺時に、上記採血及び組織採取後の残余の組織を試料とした。

代謝物分析；

分析試料： 分析試料は、各マトリックス、性別および投与群ごとにプールした (表 3)。

表 3. 代謝物分析及び同定用試料

分析試料	投与標識	性	分析試料 (採取時間)
尿		雌雄	投与 0-6, 6-12, 12-24 時間プール
糞			投与 0-24, 24-48 時間プール
肝臓			投与 96 時間後プール
腎臓			投与 96 時間後プール

分析方法： 代謝物の定量分析は、放射能検出器付の高速液体クロマトグラフィーにより行った。代謝物の同定及び特徴付けは、標準化合物を用いたクロマトグラフィー若しくは質量分析により行った。

分析試料調製： 分析用の抽出物は、以下の方法で調製した。

尿： プールした試料を遠心分離し、上清を分析に供した。

糞： プールした試料に対してアセトニトリルを用いて抽出を行い、遠心分離して得られた抽出液を窒素噴霧で濃縮し、アセトニトリルを用いて再溶解した後、遠心分離して得られた上清を分析に供した。

肝臓、腎臓： プールした試料に対してアセトニトリルを用いて抽出を行い、遠心分離して得られた抽出液を窒素噴霧で濃縮し、アセトニトリルを用いて再溶解した後、遠心分離して得られた上清を分析に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

試験結果：

① 吸収排泄

反復投与ラットに 標識を投与した吸収排泄試験の結果を表 4 に示す。主な排泄経路は尿及び糞であり、尿中に投与量の 37.9～57.2%、糞中に同 31.4～55.4%、ケージ洗浄液に同 1.6～3.1%が排泄された。排泄速度は速やかであり、投与 24 時間までに投与放射能の 77%以上、投与 48 時間後までに同 88%以上が尿、糞及びケージ洗浄液中に排泄された。排泄経路及び速度については、投与標識や性に由来する違いは見られなかった。カーカス及び組織中に残留した放射能は投与量の 3%程度であった。投与放射能の回収率は 94.7～100%と良好であった。

(申請者注)：単回投与の吸収排泄試験(資料 No. M-1.1)における低用量投与群の結果と比較して、排泄経路や排泄速度の違いはほとんど見受けられなかった。

表 4. 反復投与群における各試料中の投与放射能に対する存在比率

(投与量に対する%)

試料	投与標識 採取時間 (hr)	標識		標識	
		雄	雌	雄	雌
尿	0-6				
	6-12				
	12-24				
	24-48				
	48-72				
	72-96				
	小計*				
糞	0-24				
	24-48				
	48-72				
	72-96				
	小計*				
ケージ 洗浄液	0-24				
	24-48				
	48-72				
	72-96				
	小計**				
ケージ付着物					
カーカス及び組織					
総回収*					

各群 4 匹の平均値。

*：原文記載の数値、四捨五入の関係から表数値の合計と一致せず、±0.1 以内の誤差あり

**：原報告書より申請者が算出

② 組織分布

反復投与ラットに 標識を投与した組織分布試験の結果を表 5～7 に示す。投与 96 時間後に 0.01 $\mu\text{g eq./g}$ 以上の放射能濃度を示した組織は肝臓及び腎臓のみで、その濃度は肝臓で 2.53～3.11 $\mu\text{g eq./g}$ (投与量の 2.6～2.8%)、腎臓で 0.47～0.93 $\mu\text{g eq./g}$ (同 0.1～0.2%) であり、組織中残留放射能の大半は肝臓に存在していた。血漿中放射能濃度は 0.001 $\mu\text{g eq./g}$ 以下と極めて低い値であった。組織分布試験の結果から

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

は、投与標識や性に由来する違いは見られなかった。

(申請者注)：単回投与の組織分布試験(資料 No. M-1.1)における低用量投与群の結果と比較して、組織分布や組織中濃度の違いはほとんど見受けられなかった。

表 5. 反復投与群における組織中濃度 (µg eq./g)

投与標識 試料 \ 性	標識		標識	
	雄	雌	雄	雌
副腎				
全血				
骨				
骨髓				
脳				
精巣上体				
眼球				
脂肪				
心臓				
腎臓				
肝臓				
肺				
筋肉				
卵巣				
膵臓				
下垂体				
血漿				
赤血球				
顎下唾液腺				
被毛および皮膚				
脾臓				
精巣				
胸腺				
甲状腺				
子宮				

各群 4 匹の平均値

ND：非検出

—：該当試料なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 6. 反復投与群における投与量に対する組織中回収率
(投与量に対する%)

投与標識 試料 \ 性	標識		標識	
	雄	雌	雄	雌
副腎				
全血				
骨				
骨髓				
脳				
精巢上体				
眼球				
脂肪				
消化管及び内容物				
心臓				
腎臓				
肝臓				
肺				
筋肉				
卵巣				
膵臓				
下垂体				
血漿				
赤血球				
顎下唾液腺				
被毛および皮膚				
脾臓				
精巢				
胸腺				
甲状腺				
子宮				
カーカス				
合計				

各群 4 匹の平均値

ND：非検出

—：該当試料なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 7. 反復投与群における組織／血漿濃度比

投与標識 試料 \ 性	標識		標識	
	雄	雌	雄	雌
副腎				
全血				
骨				
骨髓				
脳				
精巣上体				
眼球				
脂肪				
心臓				
腎臓				
肝臓				
肺				
筋肉				
卵巣				
膵臓				
下垂体				
赤血球				
顎下唾液腺				
被毛および皮膚				
脾臓				
精巣				
胸腺				
甲状腺				
子宮				

各群 4 匹の平均値

NC : 算出不可

- : 該当試料なし

③ 代謝物分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 8. 尿及び糞中の代謝物と投与量に対する生成比率

(投与量に対する%)

試料	投与標識	標識		標識	
	代謝物	雄	雌	雄	雌
尿 (0-24 hr)					
糞 (0-48 hr)					
合計					

(申請者注) 表の数字は原報告書の各試料個別分析値の合計を申請者が計算して記載

ND: 非検出

*: (申請者注) 合計から同定代謝物を差し引いた値として申請者が算出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

表 9. 肝臓及び腎臓中代謝物の投与量に対する生成比率及び濃度

投与標識		標識				標識			
性		雄		雌		雄		雌	
試料	試料	%AD	濃度	%AD	濃度	%AD	濃度	%AD	濃度
肝臓									
腎臓									

%AD : 投与量に対する%

濃度 : $\mu\text{g eq./g}$

* : (申請者注) 合計から同定代謝物を差し引いた値として申請者が算出

推定代謝経路 :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は石原産業株式会社にある。

図 1. トルピラレートを反復投与したラットにおける推定代謝経路