

# 農薬抄録

トプラメゾン

[ 除草剤 ]

(作成年月日) 平成 24 年 11 月 21 日

(改訂年月日) 平成 25 年 7 月 11 日

(作成会社名) 日本曹達株式会社

(作成責任者・所属) 農業化学品事業部 農業化学品登録グループ

グループリーダー

	(会社名)	(担当部課)	(担当者)	(TEL)
連絡先	日本曹達株式会社	農業化学品事業部		
		農業化学品登録グループ		

目 次

	頁
I 開発の経緯	開発-1
II 物理的・化学的性状	物化性-1
III 生物活性	活性-1
IV 適用及び使用上の注意	適用-1
V 残留性及び環境中予測濃度算定関係	
1. 作物残留	残留-1
2. 土壌残留	残留-3
3. 家畜体内運命試験	残留-7
VI 有用動植物等に及ぼす影響	有用-1
VII 使用時安全上の注意、解毒法等	使用時-1
VIII 毒性	
毒性一覧表	毒性一覧-1
1. 原体を用いた試験成績	毒A-1
2. 代謝物を用いた試験成績	毒B-1
3. 製剤を用いた試験成績	毒C-1
IX 動植物および土壌等における代謝・動態	代謝-1
[附] トブラメゾンの開発年表	年表-1

## I. 開発の経緯

本剤は 一年生のイネ科雑草及び広葉雑草に効果を示すトウモロコシ用の茎葉処理剤である。その作用はp-ヒドロキシフェニルピリン酸ジメチルナトリウム(HPPD)酵素阻害、すなわち雑草葉面から吸収され成長点部へ移行して、展開葉を白化させ枯死させるものである。

本剤は、米国では 2005年(平成17年) 8月に登録認可された。

日本では日本曹達が2008年(平成20年)より(財)日本植物調節剤研究協会を通じ、供試番号NP-65、3.6%フロアブル剤として飼料用とうもろこしの除草剤として公的委託試験を実施してきた結果、作物に対する薬害がなく一年生広葉及びイネ科雑草に高い効力を示すことが確認された。

主な海外開発として、2005年(平成17年) 8月に米国で登録認可されたほか、2003年(平成15年) 5月にはフランスを通じてヨーロッパ(EU) 登録申請がなされた。現在、アメリカ、カナダ、メキシコ、アルゼンチン、チリ、ドイツ、オーストリア、オランダ、ギリシャ及びブルーマニアで販売されている。

現時点(2010年12月末)における米国のADIは0.004mg/kg/dayと設定されており、米国の残留基準値とEUの暫定残留基準値は下表の通りである。尚、Codex MRLは取得していない。

国名	作物	MRLs
アメリカ	とうもろこし, フォレージ	0.05 ppm
	とうもろこし, 種子	0.01 ppm
	とうもろこし, 茎葉(種子を除く)	0.05 ppm
	家畜 腎臓	0.05 ppm
	家畜 肝臓	0.15 ppm
国名	作物	暫定MRLs
EU	豆類, 種子	0.01 ppm
	油実種子	0.01 ppm
	牛 腎臓	1 ppm
	牛 肝臓	0.2 ppm

## II. 物理的・化学的性状

### 1 有効成分の名称及び化学構造

#### 1) 一般名

トブラメゾン (ISO名)

topramezone (ISO名)

#### 2) 別名

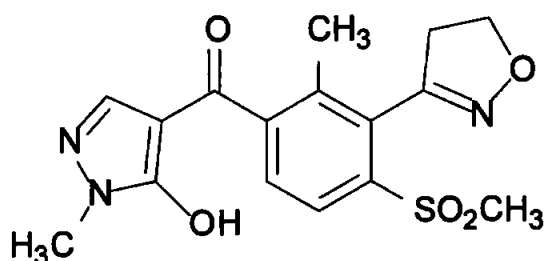
商品名： アルファード

試験名： NP-65

#### 3) 化学名

	和名	英名
化学名 (CAS)	[3-(4,5-ジヒドロ-3-イソキサゾリル)-2-メチル-4-(メチルスルホニル)フェニル](5-ヒドロキシ-1-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)メタン	[3-(4,5-dihydro-3-isoxazolyl)-2-methyl-4-(methylsulfonyl)phenyl]-(5-hydroxy-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methanone
化学名 (IUPAC)	[3-(4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル)-4-メシロ-トルイル](5-ヒドロキシ-1-メチルピラゾール-4-イル)メタン	[3-(4,5-dihydro-1,2-oxazol-3-yl)-4-mesylo-tolyl] (5-hydroxy-1-methylpyrazol-4-yl)methanone

#### 4) 構造式



5) 分子式  $C_{16}H_{17}N_3O_3S$

6) 分子量 363.39

7) CAS 登録番号 210631-68-8

2 有効成分の物理的・化学的性状

項目	測定値 (測定条件)	測定方法/試験機関
色調	白色	(目視法) (1999年) GLP
形状	固体 結晶	(目視法) (1999年) GLP
臭気	無臭	(官能法) (1999年) GLP
密度	1.411 g/cm <sup>3</sup> (20℃)	OECD 109 (空気比較比重計法) (1999年) GLP
融点	220.9~222.2℃	OECD 102 (毛細管法) (1999年) GLP
沸点	試験省略 (測定不能 (およそ300℃で分解するため))	
蒸気圧	1×10 <sup>-10</sup> Pa 以下 (20℃) 1×10 <sup>-10</sup> Pa 以下 (25℃)	(重量損失法) (1999年) GLP
解離定数 (pKa)	4.06 (20℃)	OECD 112 (滴定法) (1999年) GLP
水溶解度	0.510 g/L (20℃/pH 3.1) 100 g/L 以上 (20℃/pH 9 以上)	OECD 105 (フラスコ法) (1999年) GLP

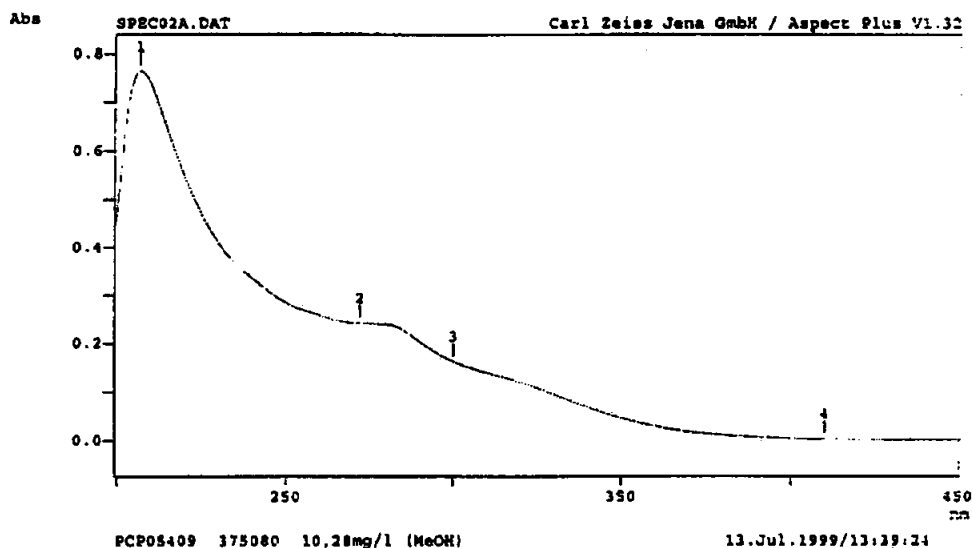
項目		測定値 (測定条件)		測定方法/試験機関	
有機 溶 媒 溶 解 度	アセトン	6.8 g/L (20℃)		OECD 105 (フラスコ法)  (2003年) GLP	
	アセトニトリル	6.7 g/L (20℃)			
	ジクロロメタン	109 g/L (20℃)			
	酢酸エチル	3.8 g/L (20℃)			
	n-ヘプタン	0.01 g/L 以下 (20℃)			
	メタノール	1.8 g/L (20℃)			
	1-オクタノール	0.4 g/L (20℃)			
	2-ブロパノール	0.2 g/L (20℃)			
	トルエン	3.7 g/L (20℃)			
オクタノール/水分配係数 (log Pow)		-1.13 (脱イオン水 20℃) -0.81 (緩衝液: pH 4 20℃) -1.52 (緩衝液: pH 7 20℃) -2.34 (緩衝液: pH 9 20℃)		OECD 107 (フラスコ振とう法)  (2000年) GLP	
生物濃縮性		LogPow が 3.5 以下のため未実施		—	
土壌吸着係数		試験温度 25℃		OECD 106 日曹分析センター (2010年) GLP	
		土壌	$K_f^{ads}$		$K_f^{ads}_{oc}$
		茨城	5.66		125
		栃木	1.80		154
		埼玉	3.30		111
加水分解性		50℃ (5日間) の pH 4、7、9 およ び 25℃ (30日間) の pH 5、7、9 で安定であり半減期算出せず		(1999年) GLP	
水中光分解性		推定半減期		(2000年) GLP	
	緩衝液 (pH5、9)	安定なため算出せず			
	自然水	252日 (東京春換算値)			
		光強度: 471 W/m <sup>2</sup> 、測定範囲: 300~1100nm (22℃/キセノンランプ連続照射)			
熱安定性		約 222℃ で吸熱的な融解ピーク を示し、約 300℃ で分解による発 熱ピークを観察した。その他の 吸熱ピークは見られない。		(DSC法)  (1999年) GLP	

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

項目		測定値 (測定条件)	測定方法/試験機関
スペクトル	①紫外吸収スペクトル	詳細は以下に記載	OECD 101  (2000、2008年) GLP
	②赤外吸収スペクトル	詳細は以下に記載	BASF A.G. 社内法
	③質量スペクトル		(2000年) GLP
	④ <sup>1</sup> H-核磁気共鳴スペクトル		
	⑤ <sup>13</sup> C-核磁気共鳴スペクトル	詳細は以下に記載	(株)日曹分析センター (2009年) GLP

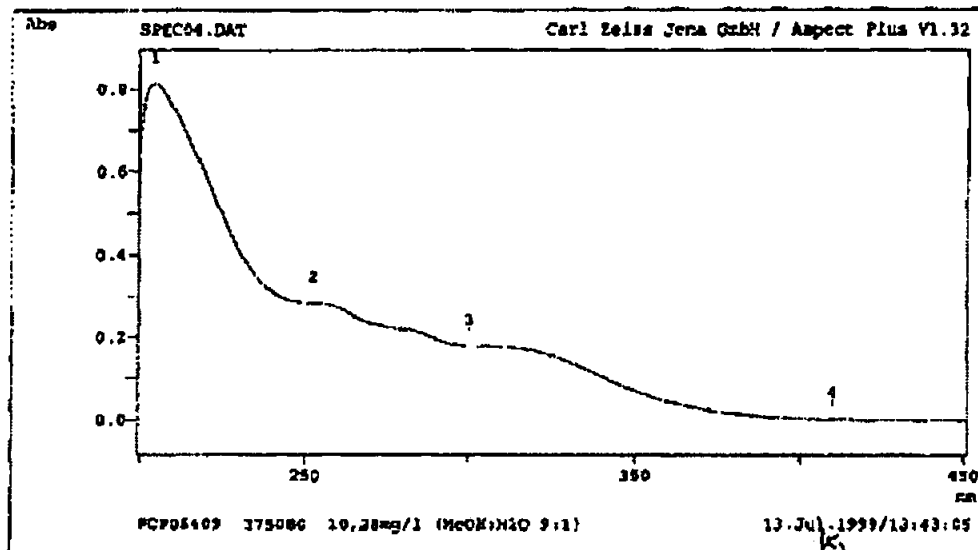
①紫外吸収スペクトル

メタノール溶液中



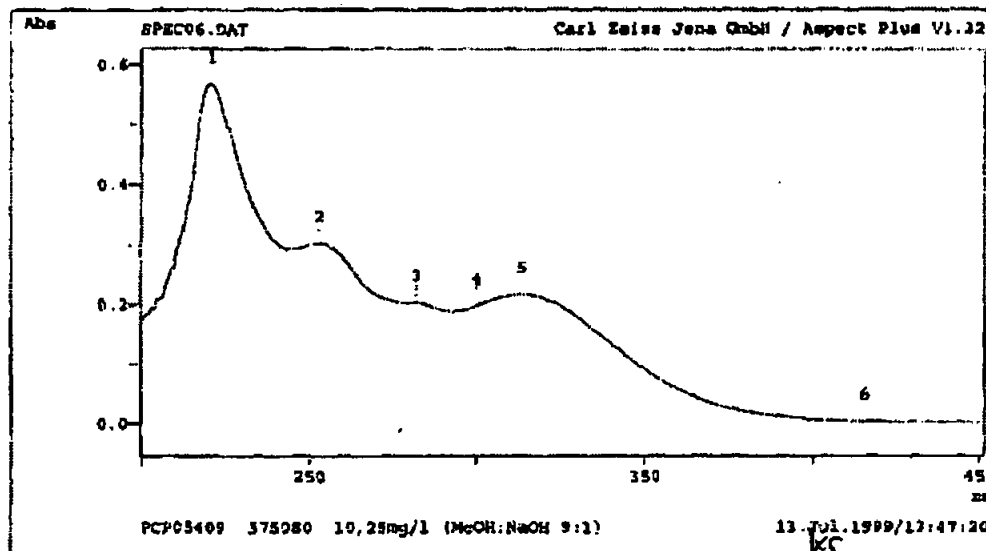
Pos.No.:	λ [nm]	吸光度	モル吸光係数
1	207	0.7637	27077
2	272	0.2426	8601
3	300	0.1636	5800
4	410	0.0027	96

中性溶液（水：メタノール=1：9）中



Pos.No.	λ[nm]	吸光度	モル吸光係数
1	204	0.8152	28903
2	252	0.2834	10048
3	300	0.1785	6329
4	410	0.0001	4

アルカリ性溶液（1N 水酸化ナトリウム：メタノール=1：9）中

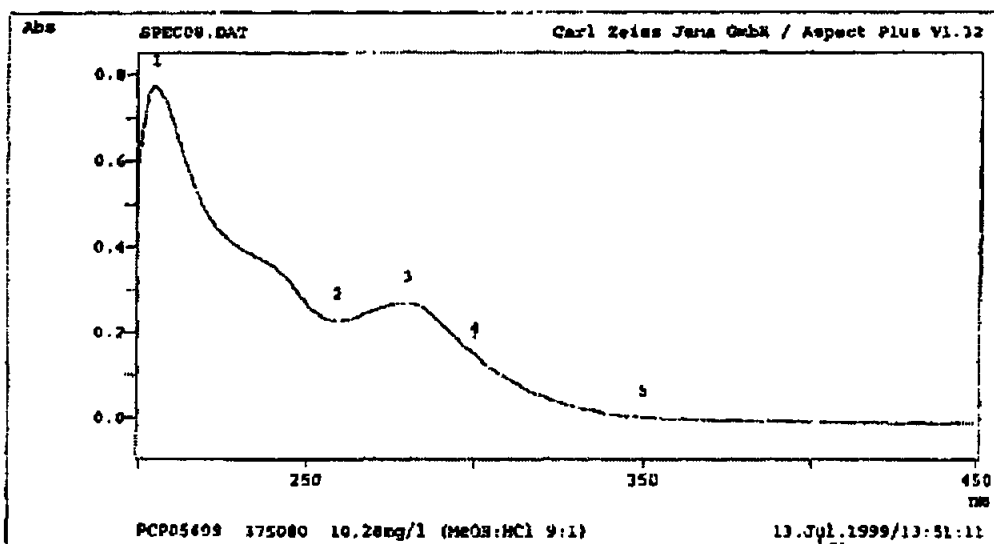




本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

Pos.No.	$\lambda$ [nm]	吸光度	モル吸光係数
1	221	0.5685	20157
2	253	0.3026	10729
3	282	0.2025	7180
4	300	0.1977	7010
5	313	0.2159	7655
6	415	0.0028	99

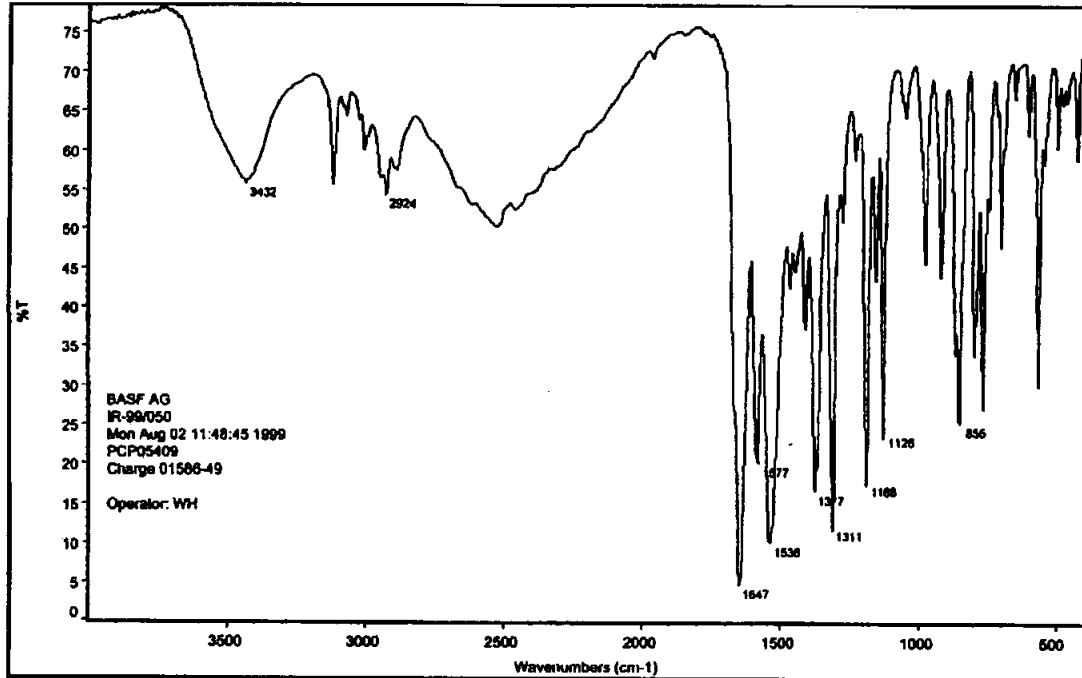
酸性溶液 (1N 塩酸 : メタノール = 1 : 9) 中



Pos.No.	$\lambda$ [nm]	吸光度	モル吸光係数
1	205	0.7717	27361
2	259	0.2271	8052
3	280	0.2681	9506
4	300	0.1477	5237
5	350	-0.0010	-35

②赤外吸収スペクトル

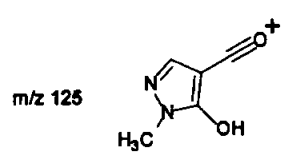
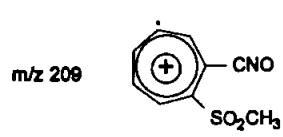
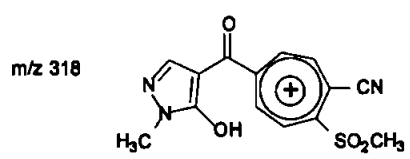
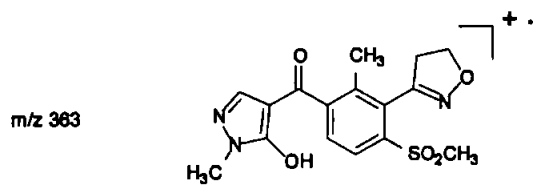
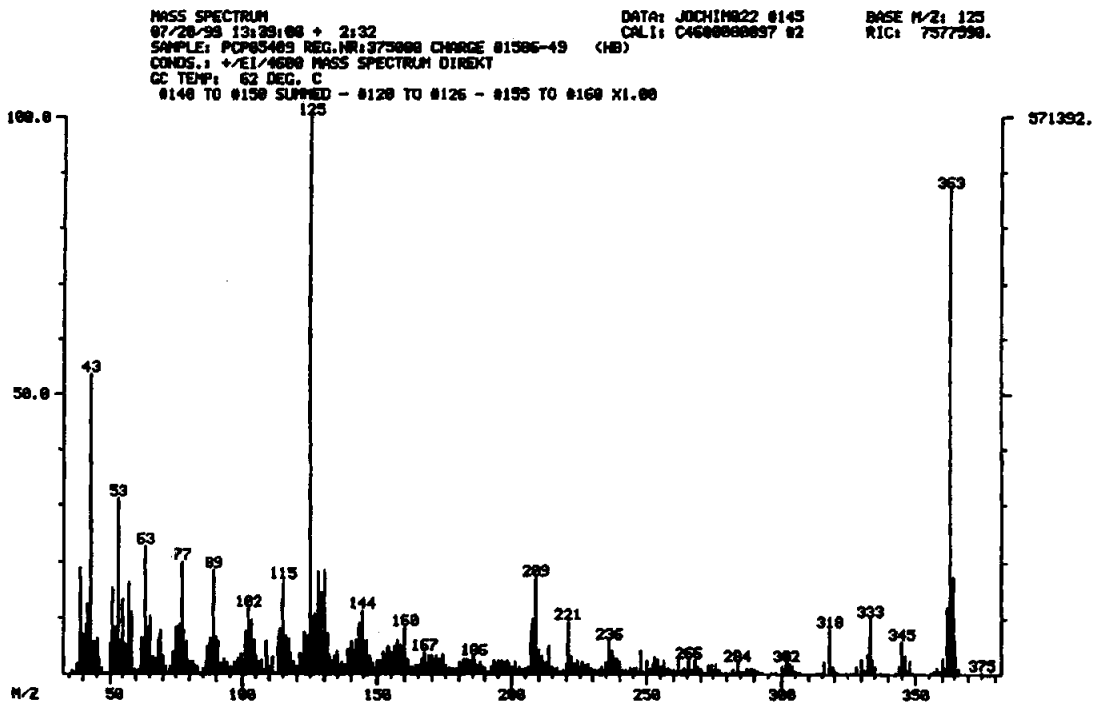
臭化カリウム錠剤



- 3432 cm<sup>-1</sup> O-H (伸縮)
- 2924 cm<sup>-1</sup> C-H (アルカン、伸縮)
- 1647 cm<sup>-1</sup> C=O (ケトン、伸縮)
- 1577 cm<sup>-1</sup> C=C (芳香族、伸縮)
- 1311 cm<sup>-1</sup> C-SO<sub>2</sub>-C (スルホン、非対称伸縮)
- 1188 cm<sup>-1</sup> C-SO<sub>2</sub>-C (スルホン、対称伸縮)
- 1126 cm<sup>-1</sup> C-O (伸縮)

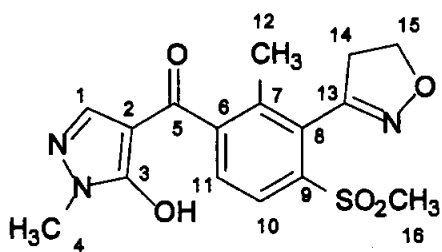
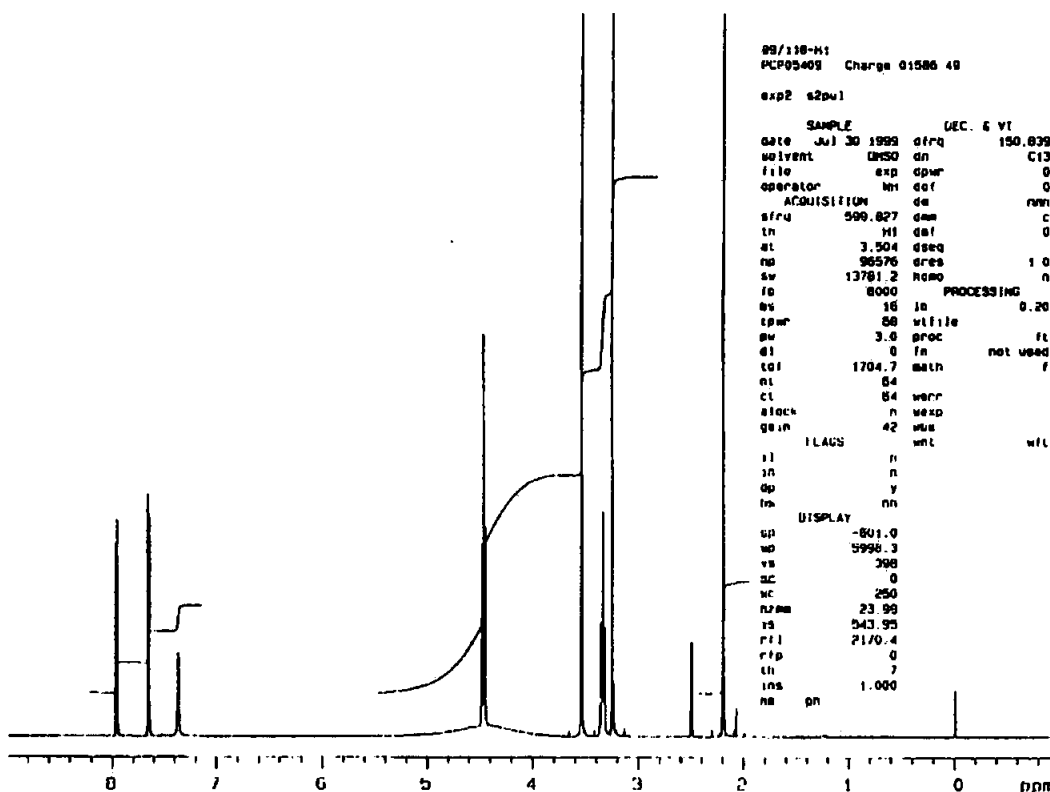
③質量スペクトル

直接導入 電子衝撃法 (EI)



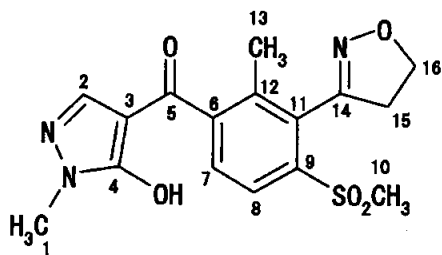
④<sup>1</sup>H-核磁気共鳴スペクトル

DMSO-d<sub>6</sub>



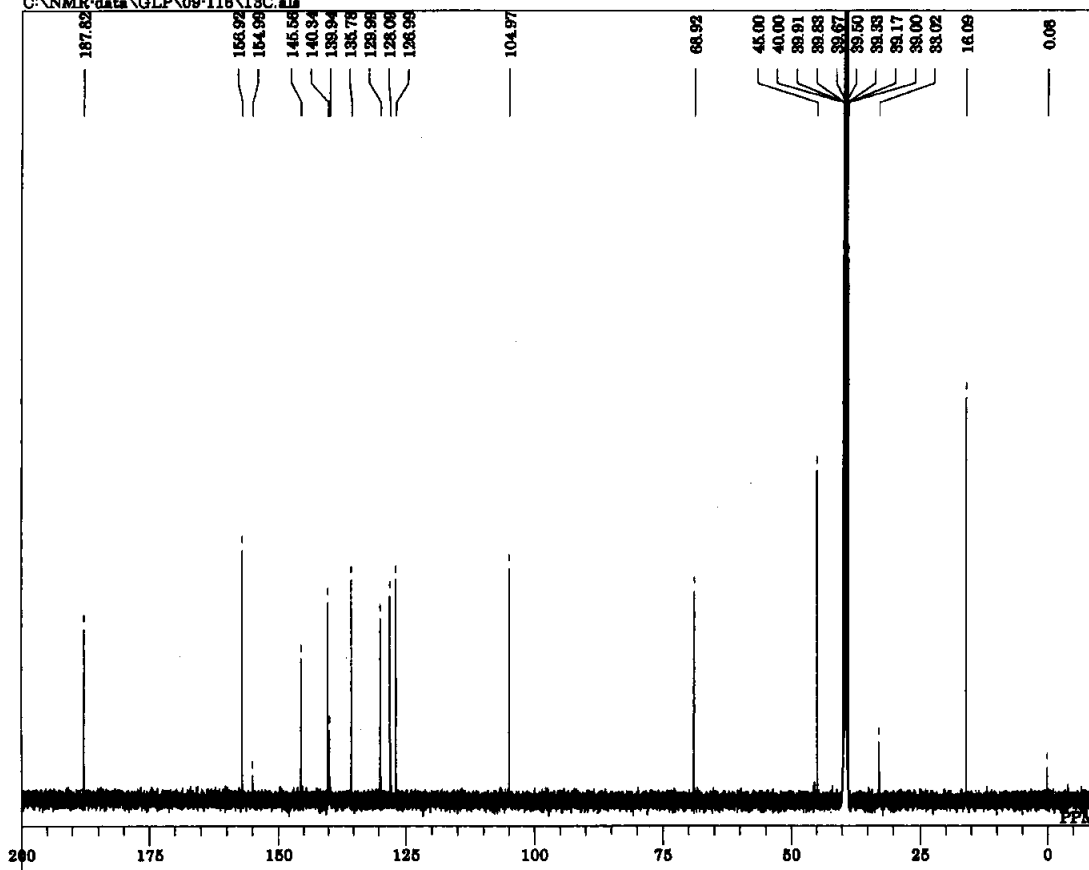
- δ 7.96 ppm (1H, d, H10)
- 7.66 ppm (1H, d, H11)
- 7.37 ppm (1H, s, H1)
- 4.47 ppm (2H, t, H15)
- 3.55 ppm (3H, s, H4)
- 3.34 ppm (2H, t, H14)
- 3.25 ppm (3H, s, H16)
- 2.20 ppm (3H, s, H12)

⑤<sup>13</sup>C-核磁気共鳴スペクトル



Topramezone\_13C

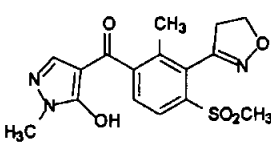
C:\NMR\data\GLP\09-118\13C.a16



No.	δc	No.	δc
1	33.02	9	140.34
2	139.94	10	45.00
3	104.97	12	135.78
4	154.99	13	16.09
5	187.82	14	156.92
6 or 11	129.99 or 145.56	15	39.91
7	128.09	16	68.92
8	126.99		

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

3 原体の成分組成

一般名(登録番号)/IUPAC名	構造式	分子式 分子量	含有量 (%)	
			規格値	通常値 又は レンジ
有効成分				
トフラメゾン (375080)	[3-(4,5-ジヒドロ-1,2-オキサゾール-3-イル)-4-メチル-5-トリメチル(5-ヒドロキシ-1-メチルピラゾール-4-イル)メチル]	 C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>5</sub> S 363.39		
原体混在物				
388010 ( )				
398199				
4762265				
4016770				

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

#### 4 製剤の組成

##### 3.6%液剤（アルファード液剤）

トプラメゾン	3.6%
界面活性剤、水 等	96.4%

### III. 生物活性

#### 1. 活性の範囲

トプラメゾン は畑地一年生雑草全般に茎葉処理にて高い殺草活性を示し、特に難防除雑草であるイチビに卓効を示す。土壌処理活性はほとんどないため、実防除面での効力は期待できない。

本剤の殺草スペクトラムを下表にまとめた。

科	種名
イネ科	メシバ
	エノコログサ
	イヌビエ
	オヒシバ
	オオクサキビ
	シャッターケーン スズメノカタビラ
タデ科	イヌタデ
	サナエタデ
	タニソバ
キク科	ブタクサ
	ハキダメギク
	タカサブロウ
	ハルジオン
	オオブタクサ オオオナモミ
シソ科	ホトケノザ
ザクロソウ科	ザクロソウ

科	種名
アオイ科	イチビ
ナデシコ科	ハコベ
	ノミノフスマ
	オオツメクサ ノハラツメクサ
ヒユ科	ハリビユ
	アオビユ ホソアオゲイトウ
アブラナ科	ナズナ スカシタゴボウ
スベリヒユ科	スベリヒユ
アカザ科	シロザ
ツユクサ科	ツユクサ
ナス科	イヌホオズキ
	オオイヌホオズキ
	ヒロハフウリンホオズキ チヨウセンアサガオ

#### 2. 作用機構

トプラメゾンは処理葉面から吸収され成長点へ移行し、展開葉を白化させ枯死させる。本剤の作用点は、プラストキノンやトコフェロールの生合成の上流にある p-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応を触媒する p-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (HPPD) で、この酵素が阻害されるとカロチノイド生合成に関わるプラストキノンが阻害されるために白化症状が生じる。とうもろこしは、本剤のピラゾロン 1 位のメチル基を速やかに外し、ほとんど活性のない脱メチル体にするために高い選択性を示す。



### 3. 作用特性と防除上の利点

トプラメゾンは、茎葉処理で畑地一年生雑草一般に高い除草活性を示し、特にとうもろこし栽培で問題となるイチビやオオブタクサに卓効を示す。また、畑作除草剤では新規な作用のため、近年問題となっている除草剤抵抗性雑草防除に有効と考えられる。本剤はとうもろこしに対する安全性が高く、現畑作除草剤と比べ投下薬量が低く、広範な殺草スペクトラムを有する。

#### IV. 適用及び使用上の注意

##### 1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

アルファード液剤(トプラメゾン 3.6%液剤)

作物名	適用雑草名	使用時期	使用量		本剤の使用回数	使用方法	適用地帯	トプラメゾンを含む農薬の総使用回数
			薬量	希釈水量				
飼料用 とうもろこし	一年生雑草	とうもろこし 3~5葉期 但し、 収穫45日 前まで	100~ 150ml/10a	100~ 150L/10a	1回	雑草 茎葉 散布	全域	1回

##### 2. 使用上の注意事項

- (1) 使用量に合わせ薬液を調製し、使いきること。
- (2) 本剤は飼料用とうもろこし用除草剤のため、食用とうもろこしには使用しないこと。
- (3) 周辺作物に対して薬害を生じるおそれがあるので、飛散しないよう十分に注意して使用すること。
- (4) 雑草生育期に有効であるが、雑草が大きくなりすぎると効果が劣ることがあるので、時期を失しないよう均一に散布すること。
- (5) 散布直後の降雨は効果を低下させるので、天候に注意すること。
- (6) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合は、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

##### 3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨

この登録に係る使用方法では該当がない。

## V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

### 1. 作物残留

植物代謝試験の結果、主たる残留物は親化合物（トプラメゾン）および代謝物であったことから、これらを残留分析対象化合物とする分析法を確立した。

#### (1) 分析法の原理と操作概要

試料 10 g に蒸留水を加えて浸漬後、を用いて抽出する。試料 1 g 相当量を分取し、陰イオン交換ミニカラムを用いて精製後、高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) で定量する。代謝物に関しては、得られた定量値に換算係数を乗じてトプラメゾン換算残留濃度を求める。親化合物残留濃度(平均値)と代謝物(トプラメゾン換算)残留濃度(平均値)の合計値を残留濃度とする。

#### (2) 分析対象化合物

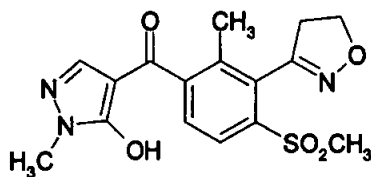
化合物名： トプラメゾン

化学名： [3-(4,5-dihydro-isoxazol-3-yl)-4-methylsulfonyl-2-methylphenyl]  
(5-hydroxy-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methanone

組成式：  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$

分子量： 363.39

構造式：



化合物名：

化学名：

組成式：

分子量：

構造式：

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

(3) 残留試験結果

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 使用量 使用方法	試料 調製 場所	使用 回数	経過 日数	分析結果 (ppm)									
					(財) 日本食品分析センター					(株) 日曹分析センター				
					トブラメゾン				合計	トブラメゾン				合計
					最大値	平均値	最大値	平均値		最大値	平均値	最大値	平均値	
飼料用 とうもろこし (青刈り) H21年度	液剤 (3.6%*) 150ml/10a 水 100 L (667 倍希釈) 全面茎葉散布	愛媛	0	0	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	31	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	45	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	59	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
		鹿児島	0	0	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	30	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	44	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	60	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
飼料用 とうもろこし (子実) H21年度	液剤 (3.6%*) 150ml/10a 水 100 L (667 倍希釈) 全面茎葉散布	愛媛	0	0	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	45	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	59	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	91	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
		鹿児島	0	0	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	45	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	60	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01
			1	90	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01	<0.004	<0.004	<0.006	<0.006	<0.01

\*: 製品比重は 1.03 であり、処理量 37.5 (g/L) は 3.6% と同義となる。

$$37.5 \text{ (g/L)} / 1.03 = 0.0364 \text{ (g/g)} = 3.6\%$$

## 2. 土壌残留

トブラメゾンの標識化合物を用いた好氣的土壌代謝試験において、親化合物トブラメゾンの減少に伴い、主要代謝物として代謝物  が処理後 100 日までに TAR の 10%程度生成した。また、米国土壌において、代謝物  が処理後 1 年程度経過した時時点で TAR の 10%程度生成するケースがあった。この結果から、親化合物であるトブラメゾン、代謝物  を分析対象化合物とし、処理後 360 日までの土壌を分析した。

### (1) 分析法の原理と操作概要

土壌 20 g (乾土換算) につき、

を用いて 2 回抽出操作を行う。試料 5 g 相当量の抽出液を分取し、溶媒を留去した後、高速液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計 (LC/MS/MS) で定量する。

に関しては、得られた定量値に換算係数  を乗じてトブラメゾン換算残留濃度を求める。親化合物残留濃度(平均値)と各代謝物(トブラメゾン換算)残留濃度(平均値)の合計値を残留濃度とする。

### (2) 分析対象化合物

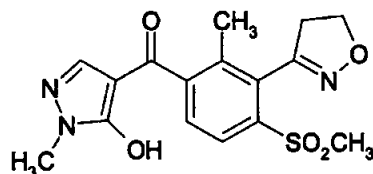
化合物名 : トブラメゾン

化学名 : [3-(4,5-dihydro-isoxazol-3-yl)-4-methylsulfonyl-2-methylphenyl]  
(5-hydroxy-1-methyl-1H-pyrazol-4-yl)methanone

組成式 :  $C_{16}H_{17}N_3O_5S$

分子量 : 363.39

構造式 :



化合物名 :

化学名 :

組成式 :

分子量 :

構造式 :

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

化合物名：

化学名：

組成式：

分子量：

構造式：

(3) 試験圃場

特性	試料調製実施 機関 (財) 日本植物調節剤研究協会 (福島)	(財) 日本植物調節剤研究協会研究所 (茨城)
採取年月日	H21/ 5/ 5~H22/ 5/27	H21/ 4/30~H22/ 5/ 6
成因	洪積	火山灰
土性	埴壤土	壤土
砂 (%)	55.9	38.9
シルト (%)	23.2	28.8
粘土 (%)	20.9	6.7
粘土鉱物の種類	7A ハロサイト (Ha)、モンモロサイト (Mt)	アロフェン
有機炭素含有量 (g/kg)	6.9	4.5
pH (H <sub>2</sub> O)	5.6	6.4
陽イオン交換容量 (cmolc/kg)	15.9	5.2
リン酸吸収係数 (g/kg)	6.3	35.6
最大容水量 (g/kg)	593	1720

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

(4) 残留試験結果

分析機関：日曹分析センター

土壌 化合物	福島		茨城	
	推定半減期 (DT50)	90%減衰期 (DT90)	推定半減期 (DT50)	90%減衰期 (DT90)
トブラメゾン	7.8 日	121.4 日	21.8 日	72.6 日
トブラメゾンおよび 代謝物の合量値	9.5 日	282.0 日	25.6 日	85.2 日

試料調製 場所	剤 型 (有効成分量) 使用量 使用方法	経 過 日 数	分析値 (ppm)						合量値
			トブラメゾン						
			最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	
福島  茨城 壇塚土  H21年度	液剤 (3.6%)  150 ml/10 a 水 100 L (667 倍希釈)  1 回処理 全面土壌散布	処理前	<0.0008	<0.0008	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	<0.004
		0	0.0451	0.0450	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.047
		7	0.0229	0.0220	0.0014	0.0014	<0.0013	<0.0013	0.025
		14	0.0198	0.0192	0.0022	0.0021	<0.0013	<0.0013	0.023
		28	0.0112	0.0108	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.013
		60	0.0079	0.0078	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.010
		90	0.0056	0.0054	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.008
		120	0.0035	0.0035	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.006
		180	0.0033	0.0032	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.006
		240	0.0034	0.0032	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.006
300	0.0034	0.0034	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.006		
360	0.0009	0.0008	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.004		

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

試料調製 場所	剤 型 (有効成分量) 使用量 使用方法	経 過 日 数	分析値 (ppm)						合量値
			トブラメゾン						
			最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	
茨城 火山灰 壤土 H21年度	液剤 (3.6%) 150 ml/10 a 水 100 L (667 倍希釈) 1 回処理 全面土壌散布	処理前	<0.0008	<0.0008	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	<0.004
		0	0.0552	0.0544	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.057
		7	0.0598	0.0586	0.0087	0.0085	<0.0013	<0.0013	0.068
		14	0.0295	0.0288	0.0062	0.0062	<0.0013	<0.0013	0.036
		28	0.0213	0.0207	0.0021	0.0020	<0.0013	<0.0013	0.024
		60	0.0121	0.0120	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.014
		90	0.0050	0.0050	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.007
		120	0.0025	0.0025	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.005
		180	0.0037	0.0037	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.006
		240	0.0021	0.0020	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.004
		300	0.0022	0.0022	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.005
360	0.0013	0.0012	<0.0011	<0.0011	<0.0013	<0.0013	0.004		



3. 家畜体内運命試験

1) ヤギにおける  $^{14}\text{C}$ -トプラメゾンの代謝

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

供試標識化合物：

化学名(IUPAC)；[3-(4,5-ジヒドロ-イソキサゾール-3-イル)-4-メチルスルホニル-2-メチルフェニル](5-ヒドロキシ-1-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル)メタノン

トプラメゾン (以下

標識体という)

構造式；

\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識部位選定理由；

トプラメゾン (以下

標識体という)

構造式；

\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識部位選定理由；

供試動物：泌乳ヤギ、各標識体 2 頭供試 (陰性対照 1 頭)

試験方法：

標識体 (A 群) あるいは 標識体 (B 群) ト  
 プラメゾンそれぞれ 12.5 mg/kg (食物摂取相当量) を目標投与量として 2  
 匹のヤギに投与した。両標識体トプラメゾンの投与群の 2 匹のヤギへの実際  
 の平均投与量は、それぞれ 11.2 mg/kg と 9.9 mg/kg であった。投与液の比活性  
 は、 標識体が 、 標識体が  
 であった。投与は、5 日間の連投で行った。動物は最終投与後  
 21-23 時間で解剖した。ミルクおよび尿、糞は、1 日に 1 回、屠殺するまで採  
 取した。組織は、肝臓、腎臓、脂肪、筋肉を屠殺解剖時に採取した。全ての  
 試料は、分析まで -15℃ 以下で冷凍保存した。

動物群	A 群	B 群	C 群
標識位置			対照
ヤギの匹数	2	2	1
比活性 (dpm/μg)			なし
目標投与量 (mg/kg feed/day)	12.5	12.5	なし
平均実投与量 (mg/kg feed/day)	11.2	9.9	なし
投与回数	5	5	5
解剖時期 (投与後の時間)	21-23	21-23	21-23

分析方法：

液体の試料は、直接 LSC 放射能測定により総残留放射能 (TRR) の測定に用いた。  
 固形の試料は、LSC 放射能測定の前に燃焼した。尿は、処理せずに HPLC を  
 用いて分析した。他の試料は、さらに精製し、最大 TRR の回収のため溶媒抽  
 出、クロマトグラフィーによる特徴付けおよび残留物の性質の解明を行った。

肝臓、腎臓および糞

標識体試料も 標識体試料も同じように抽  
 出を行った。試料を抽出容器に入れ、そこに溶媒を加えた。混合物は機械で  
 30 分間振盪し、混合物を遠沈かフィルターで上清と固形物に分けた。この抽  
 出操作を 3、4 回繰り返した。抽出物を合わせ、LSC 測定した。肝臓や腎臓の  
 抽出物は、ロータリーエバポレーターでメタノール除去し濃縮した。試料を  
 水に溶かし、pH を塩酸で 1 に調整した。酸性の水溶性試料を で分  
 配した。この で逆抽出  
 した。

した。酢酸エチル層を合わせ、濃縮乾固し、HPLC 分析のために、  
 に溶解した。糞の 抽出物は、濃縮・濾過し、それ以上  
 処理せずに HPLC 法で分析した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

スキーム1：肝臓からの両標識体放射能抽出

スキーム2：腎臓からの

標識体放射能抽出

スキーム 3：腎臓からの

標識体放射能抽出

スキーム 4：糞からの両標識体放射能抽出

ミルク

凍結乾燥したミルクのアセトン抽出物を TLC で分析した。

後の

固形物を

混合液で抽出した。

抽出物

を濃縮乾固し、フラッシュクロマトグラフィー法でさらに精製した。集めた層を HPLC 分析するか、あるいは C-18 SPE 処理を行った。この SPE 層も HPLC 分析した。

スキーム 5：ミルクからの両標識体放射能抽出

同定のためヤギの尿からの代謝物単離

4 つの残留物、未変化体トプラメゾン、

および未知代謝物を LCMS および NMR 分析のために、ヤギの尿から単離した。

ヤギ尿 (435 mL) は濃塩酸 20 mL で pH 1 の酸性にした。酸性にした尿を

250 mL で 3 回分配した。この抽出物を合わせ、濃縮し、pH 11 の水で分配した。水層の 1 部をセミ分取 HPLC で精製した。20 から 21 分の分画を採取し、合わせて濃縮した。この試料を TLC 条件 No.1 でさらに処理した。TLC で単離した代謝物を HPLC でさらに精製した。この試料を TLC 条件 No.2 で再精製した。11.2 から 12.4 分に採取した HPLC 分画を合わせ、濃縮し、0.5 mL 塩酸 (0.05N) に溶かした。この水溶性溶液を約 1mL のルで 4 回分配した。この抽出物を合わせて濃縮した。この一部を HPLC 分析し、NMR 測定した。

試験結果：

排泄物および組織中の投与量に対する残留濃度および回収率(%)を表1に示す。

表1 標識体を5日間反復経口投与した泌乳ヤギにおける排泄物および組織中への残留濃度および回収率

排泄物	試験日	投与量に対する残留濃度および回収率			
		標識		標識	
		ppm	%IAR	ppm	%IAR
ミルク	1	0.005	0.01	0.001	0
	2	0.006	0.01	0.002	0
	3	0.007	0.01	0	0
	4	0.007	0.01	0	0
	5	0.007	0.01	0.001	0
	小計		0.05		0
尿	1	5.119	7.07	2.136	4.20
	2	6.408	8.04	3.030	7.18
	3	6.559	6.99	1.707	6.47
	4	9.138	12.05	2.078	7.61
	5	7.127	10.37	1.944	7.80
	小計		44.52		33.26
糞	1		2.41		2.01
	2		8.83		5.06
	3		8.04		8.66
	4		9.85		7.44
	5		9.20		11.55
	小計		38.33		34.72
胆汁		0.137	0	0.059	0
筋肉		0.001	0	0.001	0
脂肪		0.007	0.01	0.002	0
肝臓		1.891	1.28	2.182	1.96
腎臓		0.282	0.04	0.352	0.05
消化管1		0.780	5.27	0.322	1.20
消化管2		1.158	2.67	1.567	10.21
ケージ洗浄		1.182	0.29	0.986	0.49
総回収率			92.46		81.89

ヤギに、<sup>14</sup>C トプラメゾン を 5 日間連続で毎日投与した。全ての試料中で最も高い残留濃度が、両標識体とも尿と糞でみられた。標識体の尿と糞ではそれぞれ総投与量の % を占めた。標識体の尿と糞ではそれぞれ総投与量の % を占めた。可食部の中で、肝臓が最も高い濃度 ( ) であり、次が腎臓であった。ミルク、脂肪および筋肉は、両標

臓体で の範囲の残留濃度であった。

肝臓中の親化合物、代謝物の濃度を表 2 に示す。

表 2 肝臓中代謝物濃度

	標識体		標識体	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
トプラメゾン	0.9799	51.82	1.817	83.26
合計				

肝臓をメタノールで抽出し、 に  
 による反復抽出後、試料( 標識体:  
 標識体: )を HPLC 分析した。そ  
 の結果、 標識体の肝臓では、親化合物トプラメゾン  
 (51.82%TRR、0.9799 mg/kg)、  
 および が存在した。  
 標識体の肝臓では親化合物トプラメゾン (83.26%TRR、1.817 mg/kg)  
 および が存在した。

腎臓中の親化合物、代謝物の濃度を表 3 に示す。

表 3 腎臓中代謝物濃度

	標識体		標識体	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
トプラメゾン	0.2239	79.51	0.2929	83.20
M670H01				
M670H02				
合計				

腎臓を で抽出し、 抽出  
 物の による反復抽出後、抽出物(、  
 )を HPLC 分析し  
 た。その結果、 標識体の腎臓では、親化合物トプラメゾン  
 (79.51%TRR、0.2239 mg/kg)、  
 および が存在した。  
 標識体の腎臓でも、親化合物トプラメゾン (83.20%TRR、0.2929  
 mg/kg)、 および  
 が存在した。

ミルク中の親化合物、代謝物の濃度を表 4 に示す。

表 4 ミルク中代謝物濃度

	標識体	
	mg/kg	%TRR
トプラメゾン	0.0017	25.32
合計		

標識体ミルクを凍結乾燥し、その後  
らに、  
シリカフラッシュカラムと C-18 SPE カラムで除去した。精製した抽出物を HPLC 定性および特徴付けした。その結果、親化合物トプラメゾンが 25.32% TRR (0.0017 mg/kg) を占めていた。  
した。さ  
で抽出し、抽出物中の多くの共抽出物をシ  
および  
検出された。

まとめ：ヤギに、  
標識体あるいは  
プラメゾンを 5 日間連続で毎日投与した。全ての試料中で最も高い残留濃度が、両標識体とも尿と糞でみられた。可食部の中で、肝臓が最も高い濃度であり、次が腎臓であった。ミルク、脂肪および筋肉は、両標識体で 0.001 mg/kg から 0.007 mg/kg の範囲の残留濃度であった。  
標識体のト

標識体を投与したヤギの肝臓および腎臓中の代謝物は親化合物 (トプラメゾン) と  
および  
であった。ミルク中には、  
した。

標識体の肝臓には、親化合物トプラメゾンおよび  
が存在した。腎臓には加えて、  
が存在した。

尿および糞中には、両標識体ともに親化合物が大部分を占めた。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

トブラメゾンの泌乳ヤギにおける推定代謝経路を以下に示す。

トブラメゾンの泌乳ヤギにおける推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

2) 産卵鶏における  $^{14}\text{C}$ -トプラメゾンの代謝

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：2001年

供試標識化合物：

化学名(IUPAC)；[3-(4,5-ジヒドロ-イソキサゾール-3-イル)-4-メチルスルホニル-2-メチルフェニル](5-ヒドロキシ-1-メチル-1*H*-ピラゾール-4-イル)メタノン

トプラメゾン (以下 標識体という)

構造式；

\*： $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識部位選定理由；

トプラメゾン (以下 標識体という)

構造式；

\*： $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識部位選定理由；

供試動物：産卵鶏

試験方法：

投与；目標投与量 12.5 mg/kg feed/day(比放射能＝ )を 10日間連続投与した。

群の構成と供試動物数：

A 群：	標識体	10 羽
B 群：	標識体	10 羽
C 群：	対照	10 羽

試料採取：卵および排泄物は、10 試験日の間毎日採取した。肝臓、脂肪および筋肉は、屠殺時に採取した。全ての試料は、分析の段階まで-15℃以下で冷凍保存した。

処理方法；試料は、最大の TRR 回収のため溶媒抽出し、さらにクロマトグラフィーによる特徴付けおよび残留物の性質の解明を行った。

肝臓は、  
この  
で抽出し、濃縮乾固後に  
に再溶解した。

この  
で分配した。

で逆抽出した。  
に

よる混合試料を合わせて濃縮し HPLC 分析した。

した肝臓をさらに水で抽出、遠心処理し、濃縮乾固した後、  
水に再溶解した。回収率を得るために抽出固形物を燃焼した。

卵は、  
で抽出し、遠心処理後に濃縮して HPLC 測定した。

抽出した卵を水抽出した。水抽出物も遠心処理し、放射能を測定した。抽出固形物は回収率を得るために燃焼した。

排泄物は、  
の混合液で抽出、遠心処理し、一部を濃縮乾固し、水に再溶解した。この濃縮液を HPLC 測定した。

抽出後の固形物を回収率計算のために燃焼した。

試料中の放射能の抽出および同定；以下のスキームに従って代謝物を単離、精製し、HPLC 分析を行い同定した。

スキーム 1：肝臓からの

標識体放射能抽出

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

スキーム 2 : 肝臓からの

標識体放射能抽出

スキーム 3 : 卵からの

標識体放射能抽出

スキーム 4 : 排泄物からの

標識体放射能抽出

スキーム 5 : 排泄物からの

標識体放射能抽出

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

試験結果：

筋肉、脂肪、肝臓、卵、排泄物および消化管の放射エネルギーと投与量に対する回収率を表 1、2 に示す。

表 1 標識体の各試料における放射エネルギーおよび回収率

試料	放射エネルギー dpm/g	TRR(mg/kg)	総投与量に対する回収率(%)
筋肉	159.8	0.001	0.00
脂肪	447.9	0.003	0.00
肝臓	111616.4	0.739	0.22
卵			
Day 1	10.2	0.000	0.00
Day 2	71.2	0.000	0.00
Day 3	193.1	0.001	0.00
Day 4	315.7	0.002	0.00
Day 5	425.0	0.003	0.00
Day 6	658.6	0.004	0.00
Day 7	609.3	0.004	0.00
Day 8	646.0	0.004	0.00
Day 9	693.4	0.005	0.00
Day 10	740.0	0.005	0.00
排泄物			
Day 1	667057.4	未測定	8.16
Day 2	771419.9		7.96
Day 3	942111.3		8.37
Day 4	985100.3		9.74
Day 5	933443.0		9.19
Day 6	974820.1		9.24
Day 7	959723.3		9.13
Day 8	1007200.2		9.52
Day 9	1005292.4		10.30
Day 10	1065700.1		11.27
消化管	120205.9	0.796	0.70
ケージ洗浄液	417310.1	未測定	0.29
合計			94.09

表 2 標識体の各試料における放射エネルギーおよび回収率

試料	放射エネルギー dpm/g	TRR(mg/kg)	総投与量に対する回収率(%)	
筋肉	85.0	0.001	0.00	
脂肪	563.7	0.004	0.00	
肝臓	252005.2	1.680	0.34	
卵	Day 1	15.3	0.000	0.00
	Day 2	49.0	0.000	0.00
	Day 3	101.7	0.001	0.00
	Day 4	146.9	0.001	0.00
	Day 5	184.7	0.001	0.00
	Day 6	190.1	0.001	0.00
	Day 7	279.0	0.002	0.00
	Day 8	251.6	0.002	0.00
	Day 9	265.2	0.002	0.00
	Day 10	267.9	0.002	0.00
排泄物	Day 1	931186.3	未測定	8.09
	Day 2	974531.1		9.71
	Day 3	980471.2		8.87
	Day 4	1068576.5		9.50
	Day 5	1052382.7		9.27
	Day 6	1130582.8		9.95
	Day 7	1003733.2		9.04
	Day 8	961651.5		8.87
	Day 9	954575.7		8.49
	Day 10	994179.4		9.62
消化管	197706.4	1.318	1.07	
ケージ洗浄液	250036.8	未測定	0.29	
合計			93.11	

総投与量に対する回収率は、標識体で 94.09%であった（内分けは可食部と卵が 0.22%、排泄物 92.88%、ケージ洗浄液 0.29%および消化管 0.70%）。

標識体の総投与量に対する回収率は、93.11%であった（内分けは可食部と卵が 0.34%、排泄物 91.41%、ケージ洗浄液 0.29%および消化管 1.07%）。

標識体の肝臓、脂肪、筋肉および卵の TRR(総残留放射能)濃度はそれぞれ 0.739、0.003、0.001 および  $\leq 0.005$  mg/kg であった。対応する標識体の TRR は、肝臓、脂肪、筋肉および卵で、それぞれ 1.680、0.004、0.001 および  $\leq 0.002$  mg/kg であった。

肝臓中のトブラメゾンと代謝物の定量分析結果を表3に示す。

TRR： 標識体、 標識体

表3. 肝臓におけるトブラメゾンとその代謝物の定量

	標識体		標識体	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
トブラメゾン	0.475	64.4	0.982	58.5
合計				

2つの代謝物が 標識体の肝臓で同定され、3つの代謝物が対応する 標識体の肝臓で同定された。同定された代謝物（ および ）は、親化合物トブラメゾン（64.4% TRR, 0.475 mg/kg および 58.5% TRR, 0.982 mg/kg）、

および で あった。

代謝物濃度の概要を表4に示す。7日目の卵（ 標識体）で親化合物トブラメゾン（13.79% TRR, 0.0003 mg/kg）、 および が存在した。

表 4. 各代謝物の肝臓、卵、排泄物中の濃度

標識体	代謝物	検体濃度 mg/kg (%TRR)		
		肝臓 mg/kg (%TRR)	卵 mg/kg (%TRR)	排泄物 %TRR
	トブラメゾン	0.475 (64.4)	未測定	50.85
	トブラメゾン	0.982 (58.5)	0.0003 (13.79)	63.16

推定代謝経路は、

となる。 は、肝臓

でのみ検出された。微量な も7日目と9日目の卵でみつかった。同様の代謝物がヤギとラットの代謝試験でも観察された。

まとめ：

ニワトリに、 標識体あるいは 標識体のトブラメゾン を10日間連続で毎日投与した。全ての試料中で最も高い残留濃度が、両標識体とも排泄物でみられた。可食部の中で、肝臓が最も高い濃度であった。卵および筋肉は、両標識体で0.001 mg/kg から0.005 mg/kg の範囲の残留濃度であった。

標識体を投与したニワトリの肝臓中の代謝物は親化合物 (トブラメゾン) および であった。排泄物中には親化合物のみ存在した。

標識体の肝臓には、親化合物、 が存在した。卵には親化合物、 が存在した。排泄物中には親化合物および が存在し、親化合物が主だった。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

トブラメゾンの産卵鶏における推定代謝経路を以下に示す。

トブラメゾンの産卵鶏における想定代謝経路

## VI. 有用動植物等に及ぼす影響

### 1. 水産動植物に対する影響

資料 No.	試験の種類・ 被験物質 (純度%)	供試 生物	1群当り の 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC <sub>50</sub> 又はEC <sub>50</sub> 値(mg/L)				試験機関 (報告年)	記載頁
						()内は有効成分換算値					
						24 h	48 h	72 h	96 h		
有-1 GLP	魚類急性 毒性試験	コイ	10	止水式	22.9 ~ 23.0	>100				日曹分析 センター (2010)	有用-2
有-2 GLP	シソコ類急性 遊泳阻害試験	材シソコ	20	止水式	19.4 ~ 21.0	>100	>100	—	—	(2002)	有用-3
有-3 GLP	藻類生長 阻害試験	緑藻 <sup>1)</sup>	初期濃度 3×10 <sup>3</sup> cells/mL	振盪培養	22 ± 1	ErC <sub>50</sub> (0h-72h) : 78.3 NOECr(0h-72h) : 5.4				(2001)	有用-4
有-4 GLP	魚類急性 毒性試験 3.6%液剤	コイ	10	止水式	22.9 ~ 23.1	60	60	60	60	日曹分析 センター (2010)	有用-5
有-5 GLP	シソコ類急性 遊泳阻害試験 3.6%液剤	材シソコ	20	止水式	20.8 ~ 21.0	140	67	—	—	日曹分析 センター (2010)	有用-6
有-6 GLP	藻類生長 阻害試験 3.6%液剤	緑藻 <sup>1)</sup>	初期濃度 5×10 <sup>3</sup> cells/mL	振盪培養	23.0 ~ 23.1	ErC <sub>50</sub> (0h-72 h) : 220 NOECr(0h-72 h) : 64.0				日曹分析 センター (2010)	有用-7

\* : 実測濃度

1) : *Pseudokirchneriella subcapitata*

1-1 原体

1) 魚類急性毒性

コイを用いた急性毒性試験

(資料 No.有-1)

試験機関：日曹分析センター

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2010 年

被験物質：トブラメゾン原体 )

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)、1 群各 10 匹

平均体長：45 mm (42~48 mm)、平均体重：1.20 g (0.91~1.90 g)

方法：各濃度群あたり 10 匹のコイを用い、96 時間の止水式暴露を行った。被験物質 2000 mg を秤量し、これを 20 L の希釈水に加え、ガラス棒で強く攪拌して 100 mg/L の試験液を調製した。無処理対照群には希釈水のみを用いた。全ての試験区は被験物質暴露 3、6、24、48、72 および 96 時間後に死亡および毒性徴候を観察した。濃度分析は、暴露開始時および暴露終了時に行った。試験期間中 1 日 1 回、全試験区について試験水の pH、水温および溶存酸素濃度を測定した。

試験水：温度 22.9~23.0℃、pH 7.2~7.6、溶存酸素量 6.9~8.4 mg/L

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0, 100	
	平均実測濃度	0, 103	
LC <sub>50</sub> (mg/L) * [95%信頼限界] (有効成分換算値)	24 h	>100 [**]	
	48 h		
	72 h		
	96 h		

\*：設定濃度 \*\*：算出できず

全ての試験群において、試験期間中に死亡および遊泳異常等の毒性症状は観察されなかった。設定濃度に対する実測濃度の割合は、暴露開始時で 98.3%、暴露終了時では 108%であった。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No.有-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

被験物質：トプラメゾン原体

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)、1 群各 20 頭 (生後 24 時間以内の個体)

方法：各群 4 連、1 連につきミジンコ 5 個体を収容し、1 群 20 頭のミジンコを用いて 48 時間の止水式暴露を行った。

原体は M4 培地において 20 時間 (20 ± 2 °C) 攪拌し、100 mg/L (M4 培地) 溶液を原液とした。原液を必要量採取して M4 培地で希釈することにより各試験濃度群を調製した。

試験水：温度 19.4~21.0°C、pH 7.0~8.3、溶存酸素量 8.8~9.1 mg/L

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度		0, 12.5, 25, 50, 100
	平均 実測濃度	実験開始時	0, 12.94, 25.93, 51.56, 103.64
		実験終了時	0, 12.97, 25.69, 51.62, 98.37
EC <sub>50</sub> (mg/L)* [95%信頼限界] (有効成分換算値)		24 h	> 100 [**]
		48 h	

\*：設定濃度    \*\*：算出できず

暴露 48 時間後の設定濃度 0 および 12.5 mg/L 群で遊泳阻害率は 5%であったが、その他の試験群および暴露 24 時間後のすべての試験群で、遊泳阻害はみられなかった。

試験液中の検体の平均実測濃度は、処理開始時では設定濃度の 103.1~103.7%、終了時には設定濃度の 98.4~103.8%であった。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 No.有-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

被験物質：トプラメゾン原体

供試生物：単細胞緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, SAG 61.81 株)  
初期濃度  $3 \times 10^3$  細胞/mL

方法：試験は、100 mL の窪み付三角フラスコに 1 連当たり 60 mL の OECD 培地を入れ、濃度群あたり 5 連(陰性対照は 10 連)で 96 時間の培養を行った。OECD 培地 1500 mL に被験物質 156.6 mg を加えて原液を調製した。これを必要量採取して培地で希釈することにより各濃度を調製した。フラスコは庫内温度を  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  に維持した培養器に設置し、実験期間中約 135 rpm で連続振盪し、約 8000 lux の均一な連続照明を施した。各フラスコの細胞濃度は、実験開始後 48、72 および 96 時間に分光光度計 (623 nm) を用いて測定し、検量線から細胞濃度を求めた。

試験水：温度  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ 、pH 7.85~7.95

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	3, 5.4, 9.7, 17.3, 31, 56, 100	
	平均実測濃度	3.00, 5.34, 9.75, 17.24, 31.35, 56.62, 100.15	
$E_r C_{50}$ (mg/L)* [95%信頼限界] (有効成分換算値)	0-72h	78.3 [70.9-87.6]	
	0-96h	67.7 [63.4-72.4]	
$E_b C_{50}$ (mg/L)* [95%信頼限界] (有効成分換算値)	0-96h	17.2 [16.5-17.9]	
NOECr (mg/L)* (有効成分換算値)	0-72h	5.4	

\*：設定濃度に基づき、申請者が算出した。

各濃度群において、藻類の形態に異常は認められなかった。

試験液中の検体の実測濃度は、3、5.4、9.7、17.3、31、56 および 100 mg/L 群で処理開始時に 3.01、5.38、9.74、17.31、31.47、56.82 および 99.97 mg/L (設定濃度の 99.6~101.5%)、終了時には 3.00、5.30、9.77、17.17、31.23、56.42 および 100.33 mg/L (設定濃度の 98.2~100.8%) であった。

1-2 製剤

1) 魚類急性毒性

コイを用いた急性毒性試験

(資料 No.有-4)

試験機関：日曹分析センター

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2010 年

被験物質：トプラメゾン 3.6%液剤

供試生物：コイ (*Cyprinus carpio*)、1 群各 10 匹

平均体長：40 mm (38~43 mm)、平均体重：0.70 (0.55~0.94 g)

方法：各濃度群あたり 10 匹のコイを用い、96 時間の止水式暴露を行った。被験物質 10 g を秤量し、これを希釈水で定容して 1 L とした。この原液の 60, 80, 106, 142, 190 mL をそれぞれ希釈水で 20 L として各試験溶液を調製した (調製後、ガラス棒を用いて攪拌した)。無処理対照群には希釈水のみを用いた。全ての試験区は被験物質暴露 3、6、24、48、72 および 96 時間後に死亡および毒性徴候を観察した。試験期間中 1 日 1 回、全試験区について試験水の pH、水温および溶存酸素濃度を測定した。

試験水：温度 22.9~23.1 °C、pH 7.1~7.5、溶存酸素量 6.5~7.8 mg/L

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.0, 30.0, 40.0, 53.0, 71.0, 95.0	
	平均実測濃度	測定せず	
LC <sub>50</sub> (mg/L) * [95%信頼限界]	24 h	60	[**]
	48 h	60	[**]
	72 h	60	[**]
	96 h	60	[**]

\*：設定濃度に基づく \*\*：作図法により算出せず。

53.0 mg/L 以上の群において、死亡がみられた。53.0 mg/L は 24 時間で 10%、71.0 mg/L は 3 時間で死亡がみられ、24 時間で 100%、95.0 mg/L は 3 時間で 100% の死亡率であった。

毒性症状としては、53.0 mg/L 以上の濃度群で異常遊泳、重篤および死亡が観察された。対照区では、暴露期間中、一般状態の異常は認められなかった。

試験液中の被験物質濃度の測定は、当該検体が農薬製剤であるため実施しなかった。

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No.有-5)

試験機関：日曹分析センター

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2010 年

被験物質：トブラメゾン 3.6%液剤

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*)、1 群各 20 頭 (生後 24 時間以内の個体)

方法：各群 4 連、1 連につきミジンコ 5 個体を収容し、1 群 20 頭のミジンコを用いて 48 時間の止水式暴露を行った。

脱塩素水道水 1000 mL に検体 500 mg を加えて原液を調製し、必要量を採取して脱塩素水道水で希釈することにより各濃度を調製した。ガラス容器に試験液 100 mL を入れた。なお、脱塩素水道水のみのもので対照区も設けた。

試験水：温度 20.8~21.0℃、pH 7.7~8.0、溶存酸素量 7.7~8.3 mg/L

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0, 26.0, 43.0, 72.0, 120, 200	
	平均実測濃度	測定せず	
EC <sub>50</sub> (mg/L) * [95%信頼限界]	24 h	140	[120~190]
	48 h	67	[53~83]

\*：設定濃度

暴露 24 時間後の設定濃度 0、26.0、43.0、72.0、120 および 200 mg/L 群の遊泳阻害率は 0、0、10、10、20 および 85%であった。また 43.0 mg/L より高濃度群で一部異常遊泳が見られた。暴露 48 時間後の 0、26.0、43.0、72.0、120 および 200 mg/L 濃度群の遊泳阻害率は 0、20、15、50、75 および 100%であった。26.0、43.0、72.0 および 120 mg/L 濃度群で一部異常遊泳が見られ、120 mg/L 群では一部水面に捕捉されている個体が観察された。

対照群において暴露 48 時間後に 1 頭の異常遊泳が観察されたが、他の個体に異常は観察されなかった。

3) 藻類生長阻害試験

(資料 No.有-6)

試験機関：日曹分析センター  
〔GLP 対応〕

報告書作成年：2010 年

被験物質：トブラメゾン 3.6%液剤

供試生物：単細胞緑藻 (*Pseudokirchneriella subcapitata*, NIES-35 株)  
初期細胞濃度 5000 cells/mL

方法：振とう培養方式、連続照明で72時間の暴露を行った。被験物質を1.00 g秤量し、これを OECD 培地で定容して1000 mLとした。この溶液の5.12、12.8、32.0、80.0 および200 mLをそれぞれ OECD 培地で500 mLとして各試験溶液を調製した。各濃度群3連で試験を実施し、1容器100 mLの試験液を入れた。対照群は6連とし、被験物質を含まない OECD 培地を各100 mL入れた。初期細胞濃度は5000 cells/mLとし、暴露開始24、48 および72 時間後に細胞濃度を測定した。暴露開始24、48 および72 時間後に藻類細胞を観察し、形態異常および細胞凝集等の有無を記録した。

試験水：温度23.0～23.1℃、pH 7.8～8.4

振とう回数：100 rpm

照明：68～83 μE/m<sup>2</sup>/s

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	10.2、25.6、64.0、160、400、1000	
	実測濃度	測定せず	
E <sub>r</sub> C <sub>50</sub> (mg/L)* [95%信頼限界]		0-72h	220 [200 ~ 240]
NOECr (mg/L)*		64.0	

\*：設定濃度

顕微鏡観察において、対照群および25.6 mg/L 濃度群では、暴露開始時から暴露終了時まで細胞形態の異常は認められなかった。64.0 mg/L 以上の4濃度群では、細胞の一部に形態異常が認められた。なお、10.2 mg/L 濃度群で3連のうち1容器のみ形態異常が認められたが、濃度相関性がなく偶発と判断した。



2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1. 蚕に対する影響

資料 No.	供試生物	1 試験区 当たりの 供試虫数	供試薬剤	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)
有-7	カイコ 4 令起蚕  朝日 × 東海 春蚕期	1 区 20 頭 3 連制	原体	人工飼料に界面活性剤を含む蒸留水で溶かした原体を人工飼料 50g 当たり 1.43mg 混入し、カイコに 4 日間摂食させ、以降上蔭まで無添加飼料を与えて飼育した。死亡蚕数、発育の斉一度、繭質等を調査した	検体投与による死亡個体、中毒症状は全く認められず、発育、繭質への影響は無処理区とほぼ同じであった	日本植物防疫協会 研究所 (2009 年)

2-2. ミツバチに対する影響

資料 No.	供試生物	1 試験区 当たりの 供試虫数	供試薬剤	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)
有-8	セイヨウ ミツバチ ( <i>Apis mellifera</i> )	1 区 10 頭 5 反復	原体	急性経口毒性試験 原体を溶かしたしよ糖液を 4 時間摂食させ、以降無添加のしよ糖液に代えた。処理 48 時間後まで、生存、死亡及び異常個体数を調査した。	LD <sub>50</sub> > 100 µg/bee 148.2 µg a.i./頭の処理で、処理 48 時間後の死亡率は 2%であり、低毒性の基準となる 100 µg a.i./頭を上回った。	日本植物防疫協会 研究所 (2009 年)

2-3. 天敵に対する影響

資料 No.	供試生物	1 試験区 当たりの 供試虫数	供試 薬剤	試験方法	試験結果	試験機関 (報告年)
有-9	コレマン アブラバチ ( <i>Aphidius colemani</i> ) 成虫	1 区 12 頭 3 反復	原体	5.625g ai./10a 相当の薬液を室内用農薬散布器でガラス板に散布し、風乾後炭酸ガス麻酔した個体を投入。処理 48 時間後までの生存、苦悶、死亡の各個体数を調査した。	処理 48 時間後までの死亡・苦悶個体は全く認められなかった。	日本植物 防疫協会 研究所 (2009 年)
有-10	ヒメクサ ハナカゲロウ ( <i>Chrysoperla carnea</i> ) 若齢幼虫	1 区 10 頭 3 反復	原体	5.625g ai./10a 相当の薬液を室内用農薬散布器でガラス板に散布し、風乾後ヒメクサカゲロウの幼虫を投入。処理 48 時間後までの生存、苦悶、死亡虫数を調査した。	48 時間後までの間に死亡または苦悶する個体は全く認められなかった。	日本植物 防疫協会 研究所 (2009 年)
有-11	タイリクヒメ ハナカメムシ ( <i>Orius strigicollis</i> ) 3 齢幼虫	1 区 8-10 頭 4 反復	原体	5.625g ai./10a 相当の薬液を室内用農薬散布器でガラス板に散布し、風乾後タイリクヒメハナカメムシの幼虫を投入。処理 48 時間後までの生存、苦悶、死亡の各個体数を調査した。	48 時間までの累積死亡数は 3 頭で無処理区より少なく、補正死亡率は 0%であった。	日本植物 防疫協会 研究所 (2009 年)

2-4. 鳥類に対する影響

資料 No.	試験の種類 検体 (純度)	供試生物 (年齢)	1 群当り の 供試数	試験方法 (mg/kg)	試験結果 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
有-12 GLP	急性経口 原体	コリン ウズラ (13 月齢)	雄雌 各 5 羽	単回強制経口投与 500, 1000, 2000	LD <sub>50</sub> 雄> 2000 雌> 2000 NOEL 2000	(2000 年)
有-13 GLP	急性 混餌投与 原体	コリン ウズラ (11 日齢)	1 群 各 10 羽	5 日間混餌投与 313, 625, 1250, 2500, 5000 ppm <sup>1)</sup>	LC <sub>50</sub> 雄> 5000 雌> 5000 NOEC 5000 ppm <sup>1)</sup>	(2001 年)

1) mg/kg 飼料

## Ⅶ. 使用時安全上の注意、解毒法等

### 1. 使用時安全上の注意事項

(1) 誤飲などのないよう注意すること。

誤って飲み込んだ場合には吐き出させ、直ちに医師の手当を受けさせること。

本剤使用中に身体に異常を感じた場合には直ちに医師の手当を受けること。

(2) 原液は眼に対して刺激性があるので、散布液調製時には保護眼鏡を着用して薬剤が眼に入らないよう注意すること。

眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。

(3) 散布の際は農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。

作業後は手足、顔などを石けんでよく洗い、うがいをする。

### 2. 解毒方法及び治療法

該当事項なし

### 3. 製造時、使用時等における事故例

該当事項なし

## VIII. 毒性

(毒性一覧表)

### 1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁	
毒 A1 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♀6	経口	2000	>2000	(2002 年)	毒 A-1	
毒 A2 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂3 ♀3	経口	2000	♂>2000 ♀>2000	(2000 年)	毒 A-2	
毒 A3 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂5 ♀5	経皮	2000	♂>2000 ♀>2000	(2002 年)	毒 A-3	
毒 A4 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂5 ♀5	経皮	2000	♂>2000 ♀>2000	(2000 年)	毒 A-4	
毒 A5 (GLP)	急性毒性 14 日間観察	ラット	♂5 ♀5	吸入 4 時間	5.05 mg/L	LC <sub>50</sub> ♂♀>5.05 mg/L	(2000 年)	毒 A-5	
毒 A6 (GLP)	皮膚刺激性 3 日間観察	ウサギ	♂♀混合 で 3	皮膚に 貼付	0.5 g	刺激性 なし	(2002 年)	毒 A-7	
毒 A7 (GLP)	皮膚刺激性 3 日間観察	ウサギ	♂♀混合 で 3	皮膚に 貼付	0.5 g	刺激性 なし	(2000 年)	毒 A-9	
毒 A8 (GLP)	眼刺激性 7 日間観察	ウサギ	♂♀混合 で 3	点眼	0.1 mL (約 43 mg)	刺激性 なし	(2002 年)	毒 A-11	
毒 A9 (GLP)	眼刺激性 7 日間観察	ウサギ	♂♀混合 で 3	点眼	0.1 mL (約 40 mg)	刺激性 なし	(2000 年)	毒 A-13	
毒 A10 (GLP)	皮膚感作性	モルモット	♀20	Maxi mizati on 法		感作性 なし	(2002 年)	毒 A-15	
毒 A11 (GLP)	皮膚感作性	モルモット	♀20	Maxi mizati on 法		感作性 なし	(2000 年)	毒 A-17	
毒 A12 (GLP)	急性神経毒性	ラット	♂10 ♀10	経口	0, 125, 500, 2000	♂♀2000 神経毒性 なし	(2002 年)	毒 A-19	
	急性遅発性 神経毒性	急性毒性試験等の試験成績から、コリンエステラーゼ阻害性を有さないと考えられるため、試験を省略する。						(2002 年)	毒 A-23

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 A13 (GLP)	反復経口 3ヶ月間投与 (神経毒性含む)	ラット	♂15 ♀15	飼料中 混入	♂0, 4.2, 43.8, 432.9 ♀0, 5.0, 50.9, 510.1 (0, 60, 600, 6000 ppm)	神経毒性 ♂432.9 ♀510.1 (♂♀6000 ppm) 一般毒性 ♂<4.2 ♀<5.0 (♂♀<60 ppm)	(2002年)	毒 A-24
毒 A14 (GLP)	反復経口 3ヶ月間投与	ラット	♂10 ♀10	飼料中 混入	♂0, 1.1, 2.1 ♀0, 1.3, 2.5 (0, 15, 30 ppm)	♂1.1 ♀2.5 (♂15ppm、 ♀30 ppm)	(2003年)	毒 A-34
毒 A15 (GLP)	反復経口 3ヶ月間投与	マウス	♂10 ♀10	飼料中 混入	♂0, 37.0, 288.0, 2289.0 ♀0, 51.0, 406.0, 3010.0 (0, 125, 1000, 8000 ppm)	♂2289.0 ♀3010.0 (♂♀8000 ppm)	(2000年)	毒 A-40
毒 A16 (GLP)	反復経口 3ヶ月間投与	イヌ	♂5 ♀5	飼料中 混入	♂0, 182, 535, 1511 ♀0, 205, 624, 1712 (0,3000, 9000, 25000 ppm)	♂535 ♀624 (♂♀9000 ppm)	(2002年)	毒 A-49
毒 A17 (GLP)	反復経皮 28日間投与	ラット	♂10 ♀10	皮膚に 貼付	0, 100, 300, 1000	♂100 ♀1000	(2002年)	毒 A-58
	反復吸入 90日間投与	急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性を有するおそれがないと認められることから試験を省略する。						毒 A-65
	反復神経毒性	反復神経毒性試験結果は、ラット 3ヶ月間反復経口毒性試験抄録（記載頁：毒 A-24～33）に含めた。						毒 A-66
	反復経口遅発性神経毒性 28日間投与	急性神経毒性試験、90日間反復経口投与神経毒性試験の結果から、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められることから試験を省略する。						毒 A-67
毒 A18 (GLP)	慢性毒性 12ヶ月間 投与	ラット	♂20 ♀20	飼料中 混入	♂0, 0.4, 3.9, 42.0, 422.6 ♀0, 0.5, 5.3, 53.2, 535.0 (0, 6, 60, 600, 6000 ppm)	♂0.4 ♀0.5 (♂♀6 ppm)	(2002年)	毒 A-68

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 A19 (GLP)	慢性毒性 12ヶ月間投与	イヌ	♂5 ♀5	飼料中混入	♂0, 81, 248, 688 ♀0, 92, 287, 780 (0, 3000, 9000, 25000 ppm, 試験210日以降約87%)	♂ < 81 ♀ < 92 (♂♀ < 3000 ppm)	(2002年)	毒 A-88
毒 A20 (GLP)	慢性毒性 12ヶ月間投与	イヌ	♂5 ♀5	飼料中混入	♂0, 2.9, 15.3 ♀0, 3.1, 15.4 (0, 100, 500 ppm)	♂2.9 ♀15.4 (♂100 ppm ♀500 ppm)	(2002年)	毒 A-104
毒 A21 (GLP)	発がん性 24ヶ月間投与	ラット	♂50 ♀50	飼料中混入	♂0, 0.4, 3.6, 36.4, 381.5 ♀0, 0.5, 4.7, 50.8, 524.1 (0, 6, 60, 600, 6000 ppm)	♂0.4 ♀0.5 (♂♀6 ppm) 発がん性なし	(2003年)	毒 A-114
毒 A22 (GLP)	発がん性 18ヶ月間投与	マウス	♂50 ♀50	飼料中混入	♂0, 19, 194, 1903 ♀0, 26, 256, 2467 (0, 80, 800, 8000 ppm)	♂19 ♀26 (♂♀80 ppm) 発がん性なし	(2002年)	毒 A-174
毒 A23 (GLP)	繁殖毒性 (2世代) P世代, F1世代: 共に約19週間投与	ラット	♂25 ♀25	飼料中混入	P世代 ♂0, 0.3, 3.5, 35.0, 355.3 ♀0, 0.4, 4.1, 41.7, 418.0 F1世代 ♂0, 0.5, 4.8, 49.3, 498.2 ♀0, 0.5, 5.0, 52.1, 525.7 (0, 4, 40, 400, 4000 ppm)	一般毒性 P: 親:♂0.3 ♀0.4 児:♂0.3 ♀0.4 (♂♀4 ppm) F1: 親:♂0.5 ♀ < 0.5 (♂4、♀ < 4 ppm) 児:♂0.5 ♀0.5 (♂♀4 ppm) 繁殖毒性 P:♂355.3 ♀41.7 (♂4000、♀400 ppm) F1:♂498.2 ♀5.0 (♂4000、♀40 ppm)	(2003年)	毒 A-203

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 A24 (GLP)	繁殖毒性 (3 世代)  P 世代: 約 19 週間 投与 F1 世代: 約 20 週間 投与 F2 世代: 約 21 週間 投与	マウス	♂30 ♀30	飼料中 混入	P 世代 ♂ 0, 3.4, 25.8, 176.3, 1252.2 ♀ 0, 5.5, 35.6, 261.5, 1950.8  F1 世代 ♂ 0, 3.4, 24.4, 169.8, 1231.1 ♀ 0, 4.8, 31.4, 224.4, 1530.9 F2 世代 ♂ 0, 3.3, 24.6, 165.7, 1205.3 ♀ 0, 4.8, 32.4, 242.9, 1674.4 (0, 20, 140, 1000, 7000 ppm)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)  一般毒性 P: 親:♂25.8 ♀35.6 児: ♂1252.2 ♀1950.8 F1: 親:♂24.4 ♀31.4 児: ♂1231.1 ♀1530.9 F2: 親:♂24.6 ♀32.4 児: ♂1205.3 ♀1674.4 (親:♂♀140 ppm, 児: ♂♀7000 ppm) 繁殖毒性 P: ♂1252.2 ♀1950.8 F1: ♂1231.1 ♀1530.9 F2: ♂1205.3 ♀1674.4 (♂♀7000 ppm)	(2004 年)	毒 A-214
毒 A25 (GLP)	発達神経毒性 40 日間投与	ラット	♀39 (対照: 38)	飼料中 混入	妊娠期間 0, 8.2, 83.7, 848.6 保育期間 0, 6.7, 69.6, 739.1 (目標:0, 8, 80, 800)	妊娠期間: 848.6, 保育期間: 739.1	(2003 年)	毒 A-224
毒 A26 (GLP)	催奇形性 14 日間投与	ラット	♀25	経口	0, 100, 300, 1000	母体: < 100 胎児: < 100	(2003 年)	毒 A-246
毒 A27 (GLP)	催奇形性 12 日間投与	ラット	♀25	経口	0, 1, 5, 25	母体: 25 胎児: 1	(2003 年)	毒 A-252
毒 A28 (GLP)	催奇形性 22 日間投与	ウサギ	♀25	経口	0, 50, 150, 450	母体: 150 胎児:< 50	(2003 年)	毒 A-257

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 A29 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	0, 0.5, 5, 50, 450	母体: 50 胎児: 0.5	Argus Research Laboratories (2003 年)	毒 A-268
毒 A30 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	0, 50, 150, 450	母体: 150 胎児: < 50	CIT (2003 年)	毒 A-272
毒 A31 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	0, 0.5, 5, 50, 450	母体: 450 胎児: 0.5	CIT (2003 年)	毒 A-281
毒 A32 (GLP)	催奇形性 22 日間投与	ウサギ	♀30	経口	0, 5, 50, 450	母体: 450 胎児: < 5	(2003 年)	毒 A-291
毒 A33 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	検体バッチ番号 N17:0, 1.5, 5 N26:1.5, 5	N17,N26 に差なし 母体: 5 胎児: <1.5	(2003 年)	毒 A-302
毒 A34 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	検体バッチ番号 N33:0, 1.5, 5 N17(CFR1,2):1.5 N17(CFR3):0.5	N33,N17 (CFR1,2,3) に差なし 母体: 5 胎児: <0.5(N17) または <1.5(N33)	(2003 年)	毒 A-312
毒 A35 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	0, 5, 50, 500	母体: 500 胎児: 5	(2003 年)	毒 A-323
毒 A36 -1,2,3,4 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	0, 5 (チロシン 0, 0.5, 1.5%飼料添加)	チロシン 濃度と発 生毒性に 因果関係 あり	(2004 年)	毒 A-329
毒 A37 (GLP)	催奇形性 23 日間投与	ウサギ	♀25	経口	5 (チロシン 1.0%飼料添加)	チロシン 濃度と発 生毒性に 因果関係 あり	(2006 年)	毒 A-345
毒 A38 (GLP)	催奇形性 12 日間投与	マウス	♀25	経口	0, 30, 200, 1000	母体: 30 胎児:1000	Argus Research Laboratories (2003 年)	毒 A-354



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群 当り 供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 A39 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: N26 標準プレート法 (-S9, +S9): 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 µg/plate アラインキュベーション法 (-S9, +S9): 0, 4, 20, 100, 500, 2500 µg/plate	弱い陽性 (-S9 のみ)	(2003 年)	毒 A-359
毒 A40 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: N33 標準プレート法 (-S9, +S9): 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 µg/plate アラインキュベーション法 (-S9, +S9): 0, 4, 20, 100, 500, 2500 µg/plate	陰性	(2002 年)	毒 A-364
毒 A41 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: 30786/22 標準プレート法 (-S9, +S9): 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 µg/plate アラインキュベーション法 (-S9, +S9): 0, 4, 20, 100, 500, 2500 µg/plate	陰性	(2002 年)	毒 A-367
毒 A42 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: N14 標準プレート法 (-S9, +S9): 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 µg/plate アラインキュベーション法 (-S9, +S9): 0, 4, 20, 100, 500, 2500 µg/plate	陰性	(1999 年)	毒 A-370
毒 A43 (GLP)	変異原性 染色体異常	チャイニーズ ハムスター 肺細胞 (V79)	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: 30786/22 (-S9, +S9): 1800, 2700, 3600 µg/mL	陽性 (+S9 のみ)	(2002 年)	毒 A-373

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁		
毒 A44 (GLP)	変異原性 染色体異常	チャイニーズ ハムスター 肺細胞 (V79)	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: N14 1 回目(-S9, +S9): 0, 900, 1800, 3600 µg/mL 2 回目(+S9): 0, 1800, 2700, 3600 µg/mL	弱い陽性 (+S9 のみ)	(1999 年)	毒 A-375		
毒 A45 (GLP)	変異原性 小核試験 24 時間毎 2 回 投与	マウス	♂5	腹腔内	検体バッチ番号: N14 0, 375, 750, 1500	陰性	(1999 年)	毒 A-378		
毒 A46 (GLP)	変異原性 HPRT 試験	チャイニーズ ハムスター 卵巣細胞 (CHO)	/	<i>in vitro</i>	検体バッチ番号: N26 1 回目(-S9, +S9): および 2 回目(-S9): 0, 93.75, 187.5, 375.0, 750.0, 1500, 3000 µg/mL 2 回目(+S9): 0, 78.13, 156.25, 312.5, 625.0, 1250, 2500 µg/mL	陰性	(2000 年)	毒 A-381		
毒 A47 (GLP)			/				(1999 年)	毒 A-384		
毒 A48 (GLP)	生体機能 への影響に 関する試験	中枢 神経系	多元 観察	マウス	♂3 ♀3	経口	500, 1000, 2000	2000 影響なし	残留農薬 研究所 (2010 年)	毒 A-386
			ラット	♂5 ♀5	経口	500, 1000, 2000	1000			
		呼吸 器系	呼吸器	ラット	♂5	経口	500, 1000, 2000	2000 影響なし		
			循環器	ラット	♂5	経口	500, 1000, 2000	2000 影響なし		
毒 A49 (GLP)							(2002 年)	毒 A-388		

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群 当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 A50 (GLP)							(2002 年)	毒 A-391
毒 A51 (GLP)							(2004 年)	毒 A-400
毒 A52 (GLP)							(2005 年)	毒 A-405
毒 A53 (GLP)							(2002 年)	毒 A-411
毒 A54 (GLP)							(2003 年)	毒 A-414
毒 A55 (GLP)							(2003 年)	毒 A-417
毒 A56 (GLP)							(2003 年)	毒 A-420

\*BASF 毒性研究所：BASF 実験毒性学および生態学研究所

2. 代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 B1 (GLP)	反復経口毒性 4週間投与	ラット	♂5 ♀5	飼料中混入	♂0, 9.4, 47.2, 283.9, 1197.3 ♀0, 10.2, 51.5, 312.3, 1304.4 (0, 100, 500, 3000, 12800 ppm)	♂1197.3 ♀1304.4 (♂♀12800 ppm)	(2001年)	毒 B-1
毒 B2 (GLP)	反復経口毒性 4週間投与	ラット	♂5 ♀5	飼料中混入	♂0, 0.6, 5.8, 59.7, 576.3 ♀0, 0.6, 6.1, 62.0, 595.2 (0, 6, 60, 600, 6000 ppm)	♂5.8 ♀62.0 (♂60 ppm, ♀600 ppm)	(2004年)	毒 B-5
毒 B3 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌		<i>in vitro</i>	標準プレート法: (-S9, +S9): 1回目 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 µg/plate 2回目 0, 10, 30, 100, 300, 1000 µg/plate ブレインキューベーション法: (-S9, +S9): 0, 2, 10, 50, 250, 500 µg/plate	陰性	(2001年)	毒 B-17
毒 B4 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌		<i>in vitro</i>	標準プレート法: (-S9, +S9): 0, 20, 100, 500, 2500, 5000 µg/plate ブレインキューベーション法: (-S9, +S9): 0, 4, 20, 100, 500, 2500 µg/plate	陰性	(2003年)	毒 B-21
毒 B5 (GLP)	変異原性 復帰変異性	サルモネラ菌 大腸菌		<i>in vitro</i>	標準プレート法: (-S9, +S9): 0, 22, 110, 550, 2750, 5500 µg/plate ブレインキューベーション法: (-S9, +S9): 0, 4.4, 22, 110, 550, 2750 µg/plate	陰性	(2003年)	毒 B-24

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群 当り 供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または 無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 B6 (GLP)	変異原性 染色体異常	ヒト リンパ球		<i>in vitro</i>	実験 I -S9 : 4 時間暴露: 330.5, 578.4, 1012.2 µg/mL 22 時間暴露: 107.9, 188.9, 330.5 µg/mL +S9 : 4 時間暴露: 107.9, 330.5, 578.4 µg/mL 実験 II -S9 : 22 時間暴露: 186.6, 326.5 µg/mL +S9 : 4 時間暴露: 188.9, 330.5, 578.4 µg/mL	陰性	RCC Cytotest Cell Research GmbH (2004 年)	毒 B-27
毒 B7 (GLP)	変異原性 染色体異常	チャイニーズ ハムスター 肺細胞 (V79)		<i>in vitro</i>	実験 1 (4 時間暴露, 回復 18 時間) -S9 : 125, 250, 500, 1000, 1500 µg/mL +S9 : 250, 500, 1000, 2000, 3000 µg/mL 実験 2 (4 時間暴露, 回復 18 時間) -S9 : 250, 500, 750, 1000 µg/mL 実験 3 -S9 : 18 時間暴露 回復 18 時間 31.25, 62.5, 125, 250 µg/mL -S9 : 18 時間暴露 回復 28 時間 500, 750, 1000 µg/mL +S9 : 4 時間暴露 回復 28 時間 250, 500, 750, 1000, 2000 µg/mL	陰性	(2004 年)	毒 B-31

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 B8 (GLP)	変異原性小核試験 投与 24 および 48 時間後採取	マウス	♂5	腹腔内	0, 200, 400, 800	陰性	(2001 年)	毒 B-38
毒 B9 (GLP)	変異原性小核試験 投与 24 および 48 時間後採取	マウス	♂5	腹腔内	0, 75, 150, 300	陰性	(2003 年)	毒 B-41
毒 B10 (GLP)	変異原性 HPRT	チャイニーズハムスター 卵巣細胞 (CHO)		<i>in vitro</i>	実験 1 -S9 : 0, 125, 250, 500, 1000, 1500, 2000 µg/mL +S9 : 0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 µg/mL 実験 2 -S9 : 0, 250, 500, 1000, 1500, 2000, 2500 µg/mL +S9 : 0, 500, 1000, 1500, 2000, 2500, 3000 µg/mL	陰性	(2003 年)	毒 B-44

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg / kg)	LD <sub>50</sub> または無毒性量 (mg / kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 B11 (GLP)	変異原性 HPRT	チャイニーズハムスター 卵巣細胞 (CHO)		<i>in vitro</i>	実験 1 -S9 : 0, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0, 200.0, 400.0 µg/mL +S9 : 0, 62.5, 125.0, 250.0, 500.0, 1000.0, 1500.0 µg/mL 実験 2 -S9 : 0, 9.38, 18.75, 37.5, 75.0, 150.0, 300.0 µg/mL +S9 : 0, 125.0, 250.0, 500.0, 1000.0, 1250.0, 1500.0 µg/mL	陰性	(2003 年)	毒 B-47

\*BASF 毒性研究所 : BASF 実験毒性学および生態学研究所

3. 製剤を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試動物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD <sub>50</sub> または無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
毒 C1 (GLP)	急性毒性 3.6%液剤 14日間観察	ラット	♀3	経口	300, 2000	> 300 < 2000	DIMS 医科学 研究所 (2010年)	毒 C-1
毒 C2 (GLP)	急性毒性 3.6%液剤 14日間観察	ラット	♂5 ♀5	経皮	2000	> 2000	DIMS 医科学 研究所 (2010年)	毒 C-3
毒 C3 (GLP)	皮膚刺激性 3.6%液剤 4日間観察	ウサギ	♂3	貼付	0.5mL	軽度の 刺激性	DIMS 医科学 研究所 (2010年)	毒 C-4
毒 C4 (GLP)	眼刺激性 3.6%液剤 13日間観察	ウサギ	洗眼群 非洗眼 群共に ♀3	点眼	0.1mL	重度の刺 激性(洗浄 効果あり)	DIMS 医科学 研究所 (2010年)	毒 C-5
毒 C5 (GLP)	眼刺激性 3.6%液剤 (600倍希釈) 3日間観察	ウサギ	♂3	点眼	0.1mL	刺激性 なし	DIMS 医科学 研究所 (2010年)	毒 C-7
毒 C6 (GLP)	皮膚感作性 3.6%液剤 2日間観察	モルモット	♂20 (対照群 ♂10)	Bueh- ler 法	0.2mL(検体 100%)	感作性 なし	Biotoxtech Co., Ltd. (2010年)	毒 C-9



## 1. 原体を用いた試験成績

### ① 急性経口投与毒性試験

#### 1) ラットを用いた急性経口投与毒性試験

(資料No. 毒A1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: Wistar 系ラット (CrIGlxBrlHan:WI)、雌 14~18 週齢、1 群 6 匹、  
体重 178~218 g

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 0.5%CMC 溶液に懸濁させ、強制的に経口投与した。動物は少なくとも投与前 16 時間絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重測定は、投与直前、投与後は 1 週間に 1 回、全生存動物について行った。死亡動物および試験終了時の全生存動物を解剖し、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 <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌 2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌 2000

中毒症状は、発現しなかった。

体重には、検体投与による変化は認められなかった。

剖検所見では、生存動物に異常は認められなかった。

2) ラットを用いた急性経口投与毒性試験

(資料 No.毒 A2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度:

供試動物: Wistar/chbb:thom 系ラット、若齢成獣<sup>申請者註</sup>

体重 雄 176~190 g、雌 167~171 g、1 群雌雄各 3 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%Tylose CB30.000 (精製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、強制的に単回経口投与した。動物は投与前に少なくとも 16 時間絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重測定は、投与直前、投与後は 1 週間に 1 回、全生存動物について行った。観察終了時の全生存動物を解剖し、肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経 口
投 与 量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄 > 2000 雌 > 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

中毒症状は、雌雄いずれの動物にも観察されなかった。

体重測定では、順調な増加が認められた。

剖検所見では、雌雄いずれの動物の器官・組織にも異常は認められなかった。

申請者註:

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

② 急性経皮毒性試験

1) ラットを用いた急性経皮投与毒性試験

(資料No.毒A3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: Wistar系ラット (CriGlxBrlHan:WI)、雄 8~12 週齢、雌 14~18 週齢  
体重 雄 216~231 g、雌 181~187 g、雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体 (外観は黄色-褐色) を 0.5%CMC 溶液に懸濁させ、毛刈した躯幹背部表皮に単回適用した。適用部位は半閉塞性包帯で 24 時間被覆した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重測定は、投与直前、投与後は 1 週間に 1 回、全生存動物について行った。試験終了時の全生存動物を解剖し、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄ともに >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	雄: 全身症状は発現しなかった。 適用部位の皮膚に中等度~高度で境界の明瞭な紅斑が投与 1 日目にのみ認められた。 雌: 全身症状は発現しなかった。 適用部位の皮膚に非常に軽度で境界の明瞭な紅斑が投与 1 日目にのみ認められた。 なお、雌雄ともに適用部位の黄色 (黄色化) が投与 1、7 および 14 日目に観察された。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—
死亡例が認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

雌雄ともに全身性の中毒症状は発現しなかったが、適用部位に紅斑が認められた。体重には、検体投与による変化は認められなかった。

剖検所見では、生存動物に異常は認められなかった。

2) ラットを用いた急性経皮投与毒性試験

(資料 No. 毒 A4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度:

供試動物: Wistar/chbb:thom 系ラット、若齢成獣<sup>申請者註</sup>

体重 雄 263~274 g、雌 215~224 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 0.5%Tylose CB30.000 (精製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、刈毛した背部に 24 時間単回塗布した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。投与部位の皮膚反応を、Draize の方法に従い投与後 1 日の検体除去後 30~60 分後、その後は 1 週間に 1 回、全生存動物について観察した。体重測定は、投与直前、投与後は 1 週間に 1 回、全生存動物について行った。試験終了時の全生存動物を解剖し、肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄 > 2000 雌 > 2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	投与後 1 日に発現 投与後 2 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 -
死亡例が認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄ともに 2000

雌雄ともに全身性の中毒症状は発現しなかったが、投与 1 日後に雌動物 1 例の適用部位に非常に軽度の紅斑が認められた。

体重測定では、順調な増加が認められた。

剖検所見では、雌雄いずれの動物の器官・組織にも異常は認められなかった。

申請者註:

③ 急性吸入毒性試験

(資料 No.毒 A5)

ラットを用いた急性吸入毒性試験

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度:

供試動物: Wistar/Crl:WI (GLX/BRL/HAN) IGS BR 系ラット、8~9 週齢

体重 雄 167~181 g、雌 129~172 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

暴露方法: ミキサーで粉碎した検体をダスト発生装置と圧縮空気を用いて吸入装置内でダストエアロゾルを発生させ、4 時間鼻部暴露した。

設定濃度:

実際濃度: 5.05 mg/L

暴露空気をガラスフィルター (カスケードインパクター) を用いて採集し、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)	5.00
実際濃度 (mg/L) <sup>1)</sup>	5.05
粒子径分布 (%) <sup>2)</sup>	
> 29.5 (µm)	9.8
18.2 - 29.5	4.1
8.5 - 18.2	14.9
5.5 - 8.5	14.2
2.8 - 5.5	27.3
1.2 - 2.8	18.8
< 1.2	10.9
空気力学的質量中位径 (µm) <sup>2)</sup>	5.1
呼吸可能な粒子 (< 5.5 µm) の割合 (%) <sup>2)</sup>	57.0
チャンバー容積 (L)	55
チャンパー内通気量 (L/分)	25
暴露条件	ダストエアロゾル 4 時間 鼻部暴露

1) 1 時間おきに 4 回測定した平均

2) 重量測定法により 2 回測定した平均

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

観察・検査項目：暴露中および暴露後 14 日間（週末および祝祭日を除く）、中毒症状および生死を観察した。暴露直前、暴露後 7 日目および観察終了日に全生存動物の体重を測定した。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。

結 果：

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 5.05
LC <sub>50</sub> (mg/L)	雄 > 5.05 雌 > 5.05
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	暴露開始後 1 時間以内から開始 暴露終了 5 日後に消失
死亡例が認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄ともに 5.05

中毒症状としては、雌雄ともに暴露後に明らかな呼吸亢進、うずくまり姿勢、立毛、被毛の汚れが観察された。

体重には異常な変化は認められなかった。

肉眼的病理検査では、いずれの動物にも特記すべき変化は認められなかった。

④ 皮膚刺激性試験

1) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 毒 A6)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: New Zealand 白色ウサギ (SPF)、投与開始時約 9 ヶ月齢、  
体重 3.77~3.95 kg、1 群 雌雄混合で 3 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 検体 0.5 g をそのまま蒸留水で湿らせてパッチ (2.5×2.5 cm) に塗布した。  
これを少なくとも 24 時間前に刈毛した無傷の皮膚に半閉塞包帯を用い  
て固定した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体をポリエチレン  
グリコールおよび水を用いて拭き取った。

観察項目: パッチ除去の 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、  
痂皮、浮腫) の有無を観察した。皮膚反応は OECD404、EEC 指令 92/69、  
米国 EPA OPPTS 870.2500 および農水省の各ガイドラインにしたがって採  
点した。評価は、報告書署名日時点で有効であった理事会指令 67/548/EEC、  
付属書 VI の基準に基づくものである。

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*	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	2	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	2	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮		5	2	1	0
	浮腫		0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮		1.7	0.7	0.3	0.0
	浮腫		0	0	0	0

\* 判定基準の最高評点

パッチ除去 1 時間後には軽度~中等度の紅斑 (グレード 1~2) が全動物で観察  
された。パッチ除去 24 時間後には軽度の紅斑 (グレード 1) が 2 匹で認められ  
たが、48 時間後の観察時まで持続していたのは 1 匹のみであった。なお、適用  
部位の黄色化が全動物で認められ、観察終了時 (パッチ除去 72 時間後) まで継  
続していたが、同変化は紅斑形成の評価を妨げるものではなかった。また、検

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

体の残りがパッチ除去 1 時間後のみに認められた。皮膚反応は 1 匹ではパッチ除去後 24 時間以内に、別の 1 匹では同 48 時間以内に、3 匹目では同 72 時間以内に消失した。24、48 および 72 時間後に算出した皮膚刺激性の平均スコアは、それぞれ 0.7、0.3 および 0.0 であった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を示さないと結論された。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

2) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. 毒 A7)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度:

供試動物: New Zealand White系 (Chbb:NZW) ウサギ (SPF)、若齢成獣<sup>申請者註</sup>  
体重 3.77~3.92 kg、1群 雌雄混合で3匹

観察期間: 3日間 (72時間)

投与方法: 検体適用の少なくとも24時間前に動物の躯幹背側部を刈毛し、健康な無傷の皮膚を持つ動物のみを用いた。検体0.5 gをそのまま蒸留水で湿らせてパッチ (2.5×2.5 cm) に塗布した。これを刈毛した無傷の無処置皮膚に半閉塞包帯を用いて固定した。暴露時間は4時間とし、暴露終了後に皮膚に残った検体をポリエチレングリコールおよびポリエチレングリコール/水 (1:1) を用いて除去した。

観察項目: 検体適用直前に体重を測定した。パッチ除去の1、24、48および72時間後に皮膚反応をOECDガイドライン404およびEEC指令92/69の評価基準にしたがって採点した。死亡または瀕死動物の有無を1日1回以上確認した。

結果: 各観察時における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*	暴露後時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
1	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮		2	1	1	0
	浮腫		0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮		0.7	0.3	0.3	0
	浮腫		0	0	0	0

\* 判定基準の最高評点

パッチ除去1時間後には軽度の紅斑 (グレード1) が2例の動物で観察された。内1例は24時間後には消失し、残り1例は48時間後の観察時まで持続していた。皮膚反応は1匹ではパッチ除去後24時間以内に、別の1匹では同72時間以内に消失した。24、48および72時間後に算出した紅斑・痂皮の平均スコアは、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

それぞれ 0.3、0.3 および 0 であった。浮腫の平均スコアは、すべて 0 であった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を示さないものと思われる。

申請者註：

⑤ 眼刺激性試験

1) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. 毒 A8)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: New Zealand 白色ウサギ (SPF)、投与開始時 3~4 ヶ月齢、  
体重 2.75~2.93 kg、1 群 雌雄混合で 3 匹

観察期間: 7 日間

投与方法: 粉碎した検体 0.1 mL (約 43 mg) を右眼の結膜嚢内に単回適用した。適用の約 24 時間後に検体を水道水で洗い流した。

観察項目: 適用の約 1、24、48 および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、眼刺激性反応の消失しない動物については 7 日毎に最長 14 日間まで観察した。眼の反応については OECD405、EEC 指令 92/69、米国 EPA OPPTS 870.2400 および農水省の各ガイドラインにしたがって採点した (評価は、報告書署名日時点で有効であった理事会指令 67/548/EEC、付属書 VI の基準に基づくものである)。また、上記ガイドラインが推奨する観察項目に加え、眼の分泌物および角膜病変の広がり (面積) についても評価した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。  
適用 1 時間後には中等度の結膜発赤 (グレード 2) および軽度の分泌物 (グレード 1) が全動物で、軽度の結膜浮腫 (グレード 1) が 2 匹で認められた。  
適用 24 時間後には中等度の結膜発赤が 2 匹で認められたが、48 時間後の観察時には軽度 (グレード 1) まで軽減した。ただし、これらのうち 1 匹では軽度の結膜発赤が適用 72 時間後まで認められた。  
3 匹目では、結膜発赤が適用 24 時間後に高度 (グレード 3) まで増強したが、適用 48 時間後には中等度、72 時間後には軽度まで軽減した。  
また、軽度の結膜浮腫が 1 匹で適用 24 時間後まで認められた。  
24、48 および 72 時間後に算出した眼刺激性の平均スコアは、それぞれ 2.7、1.3 および 0.6 であった。  
加えて、強膜血管の充血が全動物で限局性および環状に適用 72 時間後まで認められた。  
眼の反応は 1 匹では適用後 72 時間以内に、2 匹では適用後 7 日以内に消失した。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して刺激性を示さないと結論された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

動物 番号	項目		最高 評点*	適用後時間				
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日
1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
		浮腫	4	1	0	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0
2	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	3	2	1	0
		浮腫	4	1	1	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0
3	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	2	2	1	0	
		浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	1	0	0	0	
合 計				11	8	4	2	0
平 均				3.7	2.7	1.3	0.6	0

\* 判定基準の最高評点

2) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No.毒A9)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度:

供試動物: New Zealand White 系 (Hsd: NZW) ウサギ (SPF)、若齢成獣<sup>申請者註</sup>、  
体重 2.70~3.50 kg、1 群 雌雄混合で 3 匹

観察期間: 7 日間

投与方法: 粉碎した検体 0.1 mL (約 40 mg) を右眼の結膜嚢内に単回適用した。適用の  
約 24 時間後に検体を水道水で洗い流した。

観察項目: 検体適用直前に体重を測定した。適用の 1、24、48、72 時間および 7 日後に眼  
病変を OECD ガイドライン 405 および EEC 指令 92/69 の評価基準にしたがって採  
点した。死亡および瀕死動物の有無を 1 日 1 回以上確認した。

結 果: 各観察時における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*	適用後時間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	1	1	0
		浮腫	4	2	2	0	0	0
		分泌物	3	1	1	0	0	0
2	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	1	1	0	0
		分泌物	3	1	1	0	0	0
3	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	2	2	2	1	0
		浮腫	4	2	1	0	0	0
		分泌物	3	1	0	0	0	0
合 計				15	12	6	3	0
平 均				5.0	4.0	2.0	1.0	0

\* 判定基準の最高評点

**本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある**

適用1時間後には中等度の結膜発赤、浮腫（ともにグレード2）および軽度の分泌物（グレード1）が全動物で認められた。

適用24時間後には中等度の結膜発赤が全動物で認められ、48時間後の観察時には1匹が軽度（グレード1）まで軽減し、72時間後では全動物が軽度となった。結膜の浮腫は、適用24時間後で、2例が軽度（グレード1）まで軽減し、内1例は48時間後には消失した。72時間後には全動物の浮腫が消失した。

分泌物については、1例が適用24時間後に消失し、残り2例も48時間後には消失した。眼の反応は全動物で、適用後7日以内に消失した。

24、48および72時間後に算出した眼刺激性の平均スコアは、それぞれ4.0、2.0および1.0であった。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して刺激性を示さないものと思われる。

申請者註：

⑥ 皮膚感作性試験

1) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 毒 A10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: Hsd Poc: DH 系モルモット (SPF)、投与開始時 6~7 週齢、  
体重 327~405 g、検体投与群 雌 20 匹、媒体対照群 雌 10 匹

観察期間: 惹起後 2 日間

試験操作: [Maximization 法]

投与量設定根拠:

陽性対照: 本試験では既知の感作性物質を用いた陽性対照 (信頼性確認) 群を設けていないが、試験施設では年2回、別に試験を行なっている (2001年10月15日から11月15日に2回実施)。その結果、陽性対照物質  $\alpha$ -ヘキシルシンナムアルデヒド (HCA) (工業用、85%) により、試験系は選択した実験条件下で感作性化合物を検出できることが示された。

刈毛: 皮内感作、経皮感作、惹起の少なくとも2時間前にそれぞれの適用部位を刈毛し、必要であれば、皮膚反応の評価の少なくとも2時間前にも刈毛した。

皮内感作: 検体を含まない FCA/0.9%NaCl 溶液 (1:1)、検体5%を含む1%CMC 蒸留水溶液および検体5%を含むFCA/0.9%NaCl 溶液 (1:1) を試験群の動物20匹の頸部に各0.1 mL、2ヶ所ずつ皮内注射した。

経皮感作: 皮内感作の7日後に検体50 w/w %を含む1%CMC蒸留水溶液の1 mL を2×4 cmのガーゼパッチを用いて皮内感作と同じ部位に48時間閉塞貼付した。惹起用および再惹起用の対照群 (各10匹) では、検体を含まない媒体を用いて皮内感作を行ったが、媒体 (1%CMC蒸留水溶液) は試験成績に影響を及ぼさないと考えられたため、経皮感作処置は実施しなかった。

惹起: 経皮感作の14日後に、検体群の20匹および媒体対照群10匹について検体25 w/w %を含む1%CMC蒸留水溶液の0.5 mLを2×2 cmのガーゼパッチを用いて無傷の腹側部に24時間閉塞貼付した。

観察項目: 惹起のパッチ除去 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を観察した。皮膚反応の判定については EEC 理事会指令 67/548/EEC、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

付属書 VI の基準に基づいた。

結果：皮膚感作性試験の成績を下表に示す。

群	感作		供試動物数	感作反応動物数										陽性率				
				24 時間後					48 時間後					24 時間	48 時間			
				皮膚反応評点					皮膚反応評点									
				0	1	2	3	4	計	0	1	2	3	4	計			
検体群	皮内感作：検体 5% 経皮感作：検体 50%	検体 25%	20	20	0	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0%	0%
媒体 対照群	皮内感作：媒体 経皮感作：なし	検体 25%	10	10	0	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0%	0%
陽性 対照群 ※1	皮内感作：HCA5%	HCA5%	10	※2					9/10	※2					9/10	90%	90%	
	経皮感作：HCA10%			※2					9/10	※2					7/10	90%	70%	

※1 同試験施設にて別時期に実施した試験結果

※2 報告書では皮膚反応評点の記述がなく、陽性例数のみ記述されている(申請者註)。

1%CMC蒸留水溶液を媒体とする25%検体調製液での惹起では、対照群および検体群のいずれでも、パッチ除去の24および48時間後に皮膚反応は認められなかった。全動物で検体調製液による適用部位の皮膚黄色化が認められたが、同変化は紅斑形成の評価を妨げるものではなかった。

不明確な結果は認められなかったため、再惹起は行なわなかった。

以上の結果から、検体はモルモットを用いたMaximization法において皮膚感作性を有していないと結論された。



2) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. 毒 A11)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

検体純度:

供試動物: Hsd Poc:DH系雌モルモット (SPF)、若齢成獣<sup>申請者註</sup>、体重 355~416 g、  
媒体対照群: 10匹、再惹起用対照群: 10匹、検体投与群: 20匹 (合計40匹)

観察期間: 惹起後 2 日間

試験操作: [Maximization 法]

投与量設定根拠:

陽性対照; 本試験では既知の感作性物質を用いた陽性対照 (信頼性確認) 群を設けていないが、試験施設では年 2 回、別に試験を行なっている (1998 年 9 月 1 日から 10 月 2 日に 2 回実施)。その結果、陽性対照物質 2-メルカプトベンゾチアゾール (MBT) により、試験系は選択した実験条件下で感作性化合物を検出できることが示された。

刈毛; 皮内感作、経皮感作、惹起の少なくとも 2 時間前にそれぞれの適用部位を刈毛した。

皮内感作; 検体を含まない FCA/0.9%NaCl 溶液 (1:1)、検体 5%を含む 1%CMC 蒸留水溶液および検体 5%を含む FCA/0.9%NaCl 溶液 (1:1) を検体投与群の動物 20 匹の頸部に各 0.1 mL、2ヶ所ずつ皮内注射した。惹起用および再惹起用の対照群 (各 10 匹) では、検体を含まない媒体を用いて皮内感作を行った。

経皮感作; 皮内感作の 1 週間後に検体 50%を含む 1%CMC 蒸留水溶液の 1 mL を 2×4 cm のガーゼパッチを用いて皮内感作と同じ部位に 48 時間閉塞貼付した。惹起用および再惹起用の対照群 (各 10 匹) では、検体を含まない媒体を用いて経皮感作を行った。

惹起; 経皮感作の 14 日後に、検体投与群の 20 匹および媒体対照群 10 匹について検体 25%を含む 1%CMC 蒸留水溶液の 0.5 mL を 2×2 cm のガーゼパッチを用いて無傷の右腹側部に 24 時間閉塞貼付した。さらに、左側の腹側部には検体を含まない媒体を 24 時間閉塞貼付した。再惹起用の対照群 (10 匹) では、検体を含まない媒体のみを用いて左側の腹側部に惹起を行った。

観察項目: 実験開始時 (0日) および実験試験終了時 (観察終了日) に体重を測定した。死

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

亡または瀕死動物の有無を1日1回以上確認した。惹起のパッチ除去24および48時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を観察した。皮膚反応の評価は惹起のパッチ除去後24および48時間に下記のMagnussonおよびKligmanの評価基準にしたがって行った。

0=肉眼的変化無し、1=散在性または斑状の紅斑、2=中等度のびまん性紅斑、3=強い紅斑と浮腫。

EEC理事会指令96/54/ECの基準に基づき、皮膚感作性を判定した。

惹起のパッチ除去後24および48時間に皮膚所見がみられた動物を考慮して感作率を決定した。また、供試動物の少なくとも30%が皮膚反応を示したとき「感作性有り」と評価した。

結果：試験期間中は、全体として予期したとおりの体重増加が認められた。

皮膚感作性試験の成績を下表に示す。

群	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率			
				24 時間後					計	48 時間後					計	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点						皮膚反応評点							
				0	1	2	3	4	0	1	2	3	4				
検体群	皮内感作：検体 5% 経皮感作：検体 50%	検体 25% 媒体	20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0%	0%
媒体 対照群	皮内感作：媒体 経皮感作：無し	検体 25% 媒体	10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0%	0%
再惹起 対照群	皮内感作：媒体 経皮感作：無し	媒体のみ	10	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0%	0%
陽性 対照群 ※1	皮内感作：MBT5%	MBT50%	10	※2					8/10	※2					6/10	80%	60%
	経皮感作：MBT50%			※2					9/10	※2					9/10	90%	90%

※1 同試験施設にて別時期に実施した試験結果

※2 報告書では皮膚反応評点の記述がなく、陽性例数のみ記述されている(申請者註)。

1%CMC蒸留水溶液を媒体とする25%検体調製液での惹起後には、試験群および媒体対照群のいずれにも皮膚反応は認められなかった。溶媒対照として全動物に適用した1%CMC蒸留水溶液では、皮膚反応は生じなかった。検体による皮膚黄色化が認められたが、同変化は紅斑形成の評価を妨げるものではなかった。不明確な結果は認められなかったため、再惹起は行わなかった。

以上の結果から、検体はモルモットを用いたMaximization法において皮膚感作性を有していないと判断する。

申請者註：

⑦ 急性神経毒性試験

ラットを用いた急性神経毒性試験

(資料 No. 毒 A12)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: Wistar (CrIGlxBrlHan:WI) 系ラット、1 群雌雄各 10 匹、投与開始時 7 週齢

観察期間: 2 週間 (2001 年 11 月 13 日~2001 年 12 月 1 日; 雌雄 2 つのセクションに分けて実施した)

投与方法: 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、0、125、500 および 2000 mg/kg 体重の投与量で単回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。これらの溶液は適切に調製されており、低、中および高濃度はそれぞれ目標濃度の 93.3%から 98.5%の範囲にあった。

投与量設定根拠;

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を 1 日に 1~2 回観察した。詳細な状態観察は毎日行った。

観察期間中、死亡は認められなかった。

一般状態観察では、125 mg/kg 群の雌 1 例に 1~13 日に頭部損傷および対照群の雌 1 例に 15 日以降右前肢脱毛が観察されたが、用量反応関係がなく偶発的な所見と判断された。

体重変化; 測定は神経機能検査前および試験実施中 (-7、0、7 および 14 日目) に行った。体重変化として週毎の体重と投与日 (0 日目) の体重の差を求めた。

対照群と比べ、統計学的に有意な変化は観察されなかった。

最終体重および試験期間中の平均体重変化量を以下の表に示す。

投与量 (mg/kg 体重)		0	125	500	2000
最終体重 (g) 14 日	雄	276.1 (100)	270.6 (98)	272.7 (99)	276.7 (100)
	雌	179.8 (100)	181.4 (101)	176.4 (98)	177.5 (99)
平均体重変化量 (g) 0~14 日	雄	74.5(100)	69.6 (93)	70.4 (94)	75.1 (101)
	雌	34.9 (100)	33.8 (97)	29.5 (85)	29.8 (85)

多重比較法 (Dunnett: 両側)、有意水準:  $P \leq 0.05$

括弧内の数値は対照群を 100 とした場合の値。

機能観察総合検査 (FOB): 全動物について投与前 (-7 日)、投与日 (投与 1 時間後)、

投与後7および14日目に行った。検査は無作為な順序で盲検法にて実施した。

ホームケージ内での観察；姿勢、振戦、痙攣、異常な動き、歩行異常、一般的観察（他の全ての異常所見）

オープンフィールドでの観察；ケージから取り出した時の行動、被毛、皮膚、流涎、鼻分泌物、流涙、眼球／瞳孔径、姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦、痙攣、異常行動、歩行異常、活動性／覚醒度、糞（糞の数／外観／硬さ）、尿、立ち上がり回数

感覚運動検査／反射検査；接近反応、接触反応、視覚（視覚性置き直し反応）、瞳孔反射、耳介反射、聴覚（驚愕反応）、運動協調性（正向反射）、取扱時の行動、発声、痛覚（テイルピンチ法）、前肢の握力、後肢の握力、着地時フットスプレイ検査、その他の所見

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

投与後7日の立ち上がり回数において、125および2000 mg/kg 群の雄で増加が認められたが、対照値が低かったことによる単発性の変化で、他の時期や他の検査項目結果とも関連がないことから偶発的な所見と判断された。

他の検査項目には検体の影響と判断される所見は認められなかった。

#### 立ち上がり回数の変動

投与量 (mg/kg 体重)		0	125	500	2000
雄	-7日	3.4 (100)	5.3 (156)	5.9 (174)	5.0 (147)
	0日	1.7 (100)	3.2 (188)	2.9 (171)	2.4 (141)
	7日	0.9 (100)	↑3.4 (378)	2.5 (278)	↑4.8 (533)
	14日	2.1 (100)	3.7 (176)	5.1 (243)	4.0 (190)

括弧内の数値は対照群を100とした場合の値。

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定（両側） ↑:P<0.05

自発運動量測定；FOB と同日に、全動物の運動活性を自発運動量測定装置で5分間隔で、計12回計測した。測定はFOB 終了後に無作為な順序で実施した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁表に示す。

2000 mg/kg 群の雄で、-7日の第3区間および14日の第6区間に平均運動回数が有意に減少し、125 mg/kg 群の雄で7日の第1区間および同雌の第12区間に平均運動回数が有意に減少した。しかし、いずれの群の雌雄でも、総運動回数には検体投与による影響と判断される変化は認められなかった。したがって、上記の自発運動量の変動は、一過性で用量反応関係も明確でなかったことから偶発的な所見と判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg 体重)		125	500	2000	125	500	2000
検査動物数		10	10	10	10	10	10
-7 日	1						
	2						
	3			↓63			
	4						
	5						
	6						
	7						
	8						
	9						
	10						
	11						
	12						
	総計						
7 日	1	↓75					
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
	7						
	8						
	9						
	10						
	11						
	12					↓2	
	総計						
14 日	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6			↓15			
	7						
	8						
	9						
	10						
	11						
	12						
	総計						

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定(両側) ↓:P<0.05、↓↓:P<0.01  
 対照群を 100 とした場合の値  
 空欄は有意差なし

肉眼的病理検査；観察終了時に神経病理学的検査用に選択された各群雌雄各 5 匹を深麻酔(Narcoren<sup>®</sup>、約 4 mL/kg 体重)し、Soerensen のリン酸バッファーで血液を洗浄後、Karnovsky の固定液で灌流固定した。肉眼病理検査を行い、臓器/組織サンプルを採取した。

肉眼的病変は認められなかった。

病理組織学的検査；各群各性5匹について下記組織を固定後、対照群および2000 mg/kg群についてエポキシ樹脂またはパラフィンに包埋し薄切した。切片は、それぞれアズールII-メチレン青-塩基性フクシンまたはヘマトキシリン・エオジンで染色し、鏡検した。

エポキシ樹脂包埋；末梢神経系の脊髄後根神経節（C3-C6）、同後根線維、同前根線維、脊髄後根神経節（L1-L4）、同後根線維、同前根線維、近位坐骨神経、膝部の近位脛骨神経、下肢部の遠位脛骨神経

パラフィン包埋；脳（前頭葉、頭頂葉および間脳、中脳および後頭葉・側頭葉、橋、小脳、延髄）、脊髄（頸膨大、腰膨大）、脳関連器官／組織（網膜および視神経を含む眼球）、末梢神経系（三叉神経節および三叉神経、腓腹筋）

神経病理学的所見は認められなかった。

以上の結果から、検体のラットを用いた単回強制経口投与による急性神経毒性試験では、全身毒性の徴候は認められず、神経毒性も観察されなかった。したがって、検体の神経毒性に関する無毒性量（NOAEL）は雌雄ともに2000 mg/kg体重であると判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

⑧ 急性遅発性神経毒性試験

試験未実施

急性毒性試験の結果等から、コリンエステラーゼ阻害性を有さないと考えられることから本試験を省略する。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

⑨ 90日間反復経口投与毒性試験

1) ラットを用いた3カ月間混餌投与亜急性毒性および神経毒性試験 (資料No. 毒A13)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2002年

検体純度:

供試動物: Wistar (CriGlxBrlHan:WI) 系ラット、

1群雌雄各15匹、試験を6セクションに分けて実施し、開始時7週齢(個別飼育)

投与期間: 13週間(2001年4月23~26日~2002年7月24~27日)

投与方法: 検体は0、60、600および6000ppmの濃度で直接飼料に混合し、13週間にわたって随時摂食させた。検体を混合した飼料は毎週調製した。これらの飼料は適切に調製されており、目標濃度の99.5%から103.5%の範囲にあった。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を1日に1~2回観察した。詳細な状態観察は投与開始前およびその後週1回行った。

投与期間中、死亡は認められなかった。

対照群と比べ投与群で顕著に認められた所見を下表に示す。

一般状態観察では、600ppm群の雄3例および6000ppmの雌1例に86日以降角膜混濁が観察され、検体投与に関連した所見と判断された。

また、各試験群の雌雄少数例に肛門性器部の尿による軽度の汚れ、脱毛等が認められたが、用量反応関係がなく偶発的な所見と判断された。

性別	雄				雌			
	0	60	600	6000	0	60	600	6000
投与量(ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数	15	15	15	15	15	15	15	15
角膜混濁	0	0	3	0	0	0	0	1
肛門性器部の 汚れ	0	0	0	0	0	1	2	0
脱毛	1	0	2	0	0	3	3	0

Fisherの直接確率検定(片側) 有意差なし、有意水準:  $P \leq 0.05$

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

体重変化; 投与開始日(試験0日)およびその後週1回測定し、また、機能観察バッテリー(FOB)実施時にも行った。体重変化量として、週毎の体重と0日目の体重の差を求めた。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

投与終了時の平均体重および平均体重変化量を以下の表に示す。  
投与と関連した変化は認められなかった。

投与量 (ppm)		0	60	600	6000
体重 (g) 13 週	雄	405.0 (100)	391.8 (97)	383.4 (95)	390.7 (96)
	雌	242.0 (100)	234.5 (97)	234.8 (97)	235.6 (97)
平均体重変化量 (g) 0~13 週	雄	209.0 (100)	197.9 (95)	190.2 (91)	193.3 (92)
	雌	96.2 (100)	87.8 (91)	91.7 (95)	89.8 (93)

多重比較法 (Dunnett) 有意水準:  $P \leq 0.05$   
括弧内の数値は対照群を 100 とした場合の値

摂餌量; 週 1 回全動物の摂餌量を測定し、摂餌効率を計算した。

投与開始から終了時の平均摂餌量および摂餌効率を以下の表に示す。

摂餌量には、投与と関連した変化は認められなかった。

摂餌効率では、6000 ppm 群の雄で 49 日に有意な低下が認められたが、一過性であり偶発的な変動と判断された。

投与量 (ppm)		0	60	600	6000
摂餌量 (g) 0~13 週	雄	23.5 (100)	23.0 (98)	23.6 (100)	23.7 (101)
	雌	17.3 (100)	17.2 (99)	17.3 (100)	17.6 (102)
摂餌効率 (%) 0~13 週	雄	9.6 (100)	9.2 (96)	8.7 (91)	8.8 (92)
	雌	6.0 (100)	5.6 (93)	5.8 (97)	5.6 (93)

多重比較法 (Dunnett) 有意水準:  $P \leq 0.05$   
括弧内の数値は対照群を 100 とした場合の値

検体摂取量; 体重および摂餌量から算出した投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量を下表に示す。

投与量 (ppm)		60	600	6000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	4.2	43.8	432.9
	雌	5.0	50.9	510.1

機能観察バッテリー; 投与開始前および投与 22、50 および 85 日目に、各群雌雄 10 例を対象に以下の項目について検査した。検査は無作為な順序で盲検法にて実施した。

ホームケージ内での観察; 姿勢、振戦、痙攣、異常な動き、歩行異常、一般的観察 (他の全ての異常所見)

オープンフィールドでの観察; ケージから取り出した時の行動、被毛、皮膚、流涎、鼻分泌物、流涙、眼球/瞳孔径、姿勢、眼瞼閉鎖、呼吸、振戦、痙攣、

異常行動、歩行異常、活動性/覚醒度、糞（糞の数/外観/硬さ）、尿（量/色）、立ち上がり回数、その他の所見

感覚運動/反射試験；接近反応、接触反応、視覚（視覚性置き直し反応）、瞳孔反射、耳介反射、聴覚（驚愕反応）、運動協調性（正向反射）、取扱時の行動、発声、痛覚（テイルピンチ法）、前肢の握力、後肢の握力、着地時フットスプレイ検査、その他の所見

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

投与後 50 日の着地時フットスプレイ検査において、6000 ppm 群の雄で増加が、600 および 6000 ppm 群の雌で減少が認められたが、一過性的変化であり、他の検査項目結果とも関連がないことから検体投与による影響とは考えられなかった。その他の検査項目にも、変動が認められる項目がみられたが、対照群でも認められるか、用量反応関係が明確でないか、あるいは単発性であったことから偶発的な所見と判断された。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		60	600	6000	60	600	6000
検査動物数		10	10	10	10	10	10
着地時 フット スプレ イ検査	Day -7						
	Day 22						
	Day 50			↑110		↓89	↓85
	Day 85						

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 ↑↓:P<0.05、↓:P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

自発運動量測定；FOB と同日（投与開始前および投与 22、50 および 85 日目）に、同じ動物の運動活性を自発運動量測定装置で 5 分間隔で、計 12 回計測した。測定は無作為な順序で実施した。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁に示す。

600 ppm 以上の群の雄で、22 日に第 9 区間の平均運動回数が有意に増加し、60 ppm 群の雌で 85 日に第 11 区間の運動回数が有意に減少した。しかし、いずれの群の雌雄でも、総運動回数には検体投与による影響と判断される変化は認められなかった。したがって、上記の自発運動量の変動は、一過性で用量反応関係も明確でなかったことから偶発的な所見と判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		60	600	6000	60	600	6000
検査動物数		10	10	10	10	10	10
Day 22	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
	7						
	8						
	9		↑413	↑340			
	10						
	11						
	12						
	総計						
Day 85	1						
	2						
	3						
	4						
	5						
	6						
	7						
	8						
	9						
	10						
	11					↓13	
	12						
	総計						

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 ↑:P<0.05, ↑↓:P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

眼科学的検査； 投与開始 3~6 日前および試験終了時に各群雄雌 10 例を対象として、眼科学検査を行った。

対照群と比べ投与群で顕著に認められた所見を次頁に示す。

6000 ppm 群の雄 4 例で試験終了時に水晶体の線条痕が認められた。また、600 ppm 以上の群の雄各 2 例ならびに 60、600 および 6000 ppm 群の雌それぞれ、1、3 および 3 例で角膜混濁が観察された。さらに、600 ppm 群の雄雌各 2 例および 6000 ppm 群の雌 1 例で血管新生が認められ、600 ppm 群の雄 2 例および 600 ppm 以上の群の雌各 1 例は眼底が視認不能であった。上記所見はいずれも、試験終了時（雄 89/91 日、雌 88/90 日）に認められ、検体投与の影響と判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

検査時期		Days -3/-5 or -4/-6				Days 89/91 or 88/90			
投与量 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
雄	水晶体の線条痕	0	0	0	0	1	1	1	4
	角膜混濁	0	0	0	0	0	0	2	2
	血管新生	0	0	0	0	0	0	2	0
	眼底視認不能	0	0	0	0	0	0	2	0
雌	水晶体の線条痕	0	0	0	0	1	1	1	0
	角膜混濁	0	0	0	0	0	1	3	3
	血管新生	0	0	0	0	0	0	2	1
	眼底視認不能	0	0	0	0	0	0	1	1

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準:  $P \leq 0.05$

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

血液学的検査; 投与終了後に各群雌雄 10 例を対象として、絶食後無麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球百分比、血液凝固検査 (プロトロンビン時間)

測定した血液学的検査項目には投与に関連した変化はなかった。対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

雌の 60 ppm 以上の群で MCV、600 ppm 以上の群で血色素量およびヘマトクリット値が高い値を示した。

その他の各測定項目には、検体投与に関連した変化は認められなかった。

性別	雄			雌		
	60	600	6000	60	600	6000
投与量 (ppm)	60	600	6000	60	600	6000
検査動物数	10	10	10	10	10	10
赤血球数	104	102	100	99	102	101
血色素量	103	104	100	103	↑105	↑106
ヘマトクリット値	102	103	99	103	↑106	↑105
MCV	98	101	99	↑103	↑103	↑104
MCH	99	102	101	103	103	104
MCHC	101	101	101	100	99	100

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 ↑:  $p < 0.05$ , ↑↑:  $p < 0.01$

血液生化学検査; 投与終了後に各群雌雄 10 例を対象として、絶食後、無麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、血清を分離後、次の項目の測定を行った。

ALT、AST、ALP、 $\gamma$ -GTP、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン酸、カルシウム、尿素、クレアチニン、グルコース、総ビリルビン、総タンパク、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

アルブミン、グロブリン、トリグリセリド、総コレステロール、マグネシウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

60 ppm 群の雄でナトリウムが、60 および 6000 ppm 群の雄で塩素が減少した。一方、60 および 600 ppm 群の雄で総タンパク、600 ppm 群の雄でアルブミン、600 および 6000 ppm 群の雌で総ビリルビン、ならびに 600 ppm 群の雌でマグネシウムが増加した。

その他の各測定項目に投与に関連した変化は認められなかった。

性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	60	600	6000	60	600
検査動物数	10	10	10	10	10	10
ナトリウム	↓99	100	99	99	100	100
塩素	↓98	99	↓98	100	100	100
総ビリルビン	113	113	100	119	↑131	↑135
総タンパク	↑106	↑106	104	101	103	102
アルブミン	104	↑106	100	102	102	102
マグネシウム	104	107	106	101	↑108	105

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

尿検査： 投与終了後に血液生化学検査を実施した同個体を絶食、絶水し、一晚尿を採取して、以下の項目項目の測定を行った。

尿量、色調、濁度、pH、タンパク、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

対照群と比べ投与群で顕著に認められた異常項目を以下の表に示す。

全投与群の雌雄でケトン体の有意な増加が認められた。また、雄の尿沈渣では顆粒円柱が各投与群の 10 例中 3 例に、更に、移行上皮細胞数の増加も認められたが、対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。

その他の項目には検体投与に関連のある変化は認められなかった。

性別	雄				雌				
	投与量 (ppm)	0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数	10	10	10	10	10	10	10	10	
ケトン体	0	↑10	↑10	↑10	0	↑9	↑10	↑10	
沈渣	移行上皮	1	4	4	5	1	0	2	0
	顆粒円柱	0	3	3	3	0	0	0	0

Fisher の直接確率検定 (片側) ↑:P<0.01、有意水準:P<0.05

ケトン体は判定基準(5 mmol/l)以上の値を示した動物数を示す、沈渣は判定基準(2 個)以上みられた動物数を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

病理学的検査：

臓器重量；投与終了時に各群雌雄 10 例を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、子宮、卵巣、胸腺、脾臓、脳、心臓

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

雄の 60 および 6000 ppm 群の腎臓絶対重量が軽度増加し、雌の全投与群の心臓絶対重量が減少した。その他の臓器では対照群と比較し有意な変動はなかった。心臓重量の減少は、組織所見が認められないことから、体重変動に起因する変化であると考えられた。

雌雄とも全投与群で、肝臓および腎臓の相対重量が有意に増加したが、いずれも明らかな用量反応関係が認められなかった。その他の臓器には対照群と比較して有意な変動はなかった。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		60	600	6000	60	600	6000
検査動物数		10	10	10	10	10	10
最終体重		99	94	98	94	95	96
肝臓	重量	113	105	118	102	103	102
	対体重比	↑114	↑111	↑121	↑109	↑108	↑106
腎臓	重量	↑110	105	↑120	105	103	107
	対体重比	↑111	↑111	↑123	↑112	↑108	↑112
心臓	重量	95	94	98	↓92	↓94	↓92
	対体重比	96	99	100	98	99	96

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 ↑↓:P<0.05、↑↓:P<0.01

表中の数値は対照群を 100 とした場合の値。

肉眼的病理検査；試験終了時に各群雌雄 10 例を対象として、剖検を行った。

最終屠殺動物に認められた肉眼所見を以下の表に示す。

眼球に 600 ppm 群の雄 2 例で角膜混濁が認められた。肝臓に 6000 ppm 群の雄 1 例で腫大および小葉の明瞭化が認められた。その他、各群の雄あるいは雌の少数例に様々な所見が認められたが、単発性か用量相関性のない所見で自然発生性と判断された。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
眼球	角膜混濁	0	0	2	0	0	0	0	0
	腫大	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓	小葉明瞭化	0	0	0	1	0	0	0	0
	皮膚	貧毛	0	0	0	0	2	3	0

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準：P<0.05

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した非灌流動物を対象として、主要器官/組織を4%中性緩衝ホルマリンで固定し、眼窩外涙腺を除いて病理標本（ヘマトキシリン・エオジン染色）を作製後、鏡検した。なお、鏡検は、対照群および6000 ppmについては全組織について、その他の群については必要に応じて（肺、脾臓、眼球：雌雄全動物、肉眼病変：雌雄異常発現全動物、甲状腺、上皮小体、肝臓：雄全動物）実施した。

脳、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、咽頭、喉頭、鼻腔、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺、舌下腺）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、卵巣、卵管、子宮、膈、精巣上体、前立腺、精囊、皮膚、食道、胃（前胃、腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、下顎および腸間膜リンパ節、乳腺（雌）、骨格筋、坐骨神経、胸骨および骨髄、骨髄（大腿骨）、眼球、眼窩外涙腺、大腿骨および膝関節、脊髓（頸髄、胸髄、腰髄）、全肉眼病変

最終屠殺動物に認められた病理所見を次頁の表に示す。

600 および 6000 ppm の雄（各 2 例）および雌（それぞれ 4 および 3 例）の眼球に慢性角膜炎が認められ、多くは片側に認められたが、600 ppm の雌 1 例および 6000 ppm の雌 2 例では両側性に観察された。6000 ppm 群の雄 7 例の肝臓に小葉中心性肝細胞肥大が認められた。また、雌雄ともに全投与群で膵臓の外分泌部にびまん性変性が認められた。この病変では単細胞性あるいは集塊状の膵外分泌細胞壊死が器官全体に散在性にみられ、これに伴って間質にリンパ球浸潤、線維化および膵外分泌腺の小導管の多巢性増殖も認められた。更に、雄の全用量群で甲状腺濾胞内に薄片状コロイドが観察された。雌には認められず、用量反応関係も明確ではないため、毒性学的な意義は不明であるが、同系統のラットにおける 12 ヶ月間混餌投与慢性毒性試験（資料 No. 毒 A18）で 3 例に濾胞上皮細胞肥大や過形成が認められていることから、これらとの関連性を否定することはできなかった。

その他の器官にも様々な所見が観察されたが、いずれも単発性か、ごく低頻度か、あるいは対照群と同程度の頻度であったことから、いずれも自然発生性で、検体投与に関連しない所見と判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
眼球	慢性角膜炎 (平均グレード)	0 (-)	0 (-)	2 (4.0)	2 (2.0)	0 (-)	0 (-)	4 (1.8)	3 (2.7)
	小葉中心性 肝細胞肥大 (平均グレード)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	↑7 (1.4)	0 (-)			0 (-)
脾臓	リンパ球浸潤 (平均グレード)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (1.0)	1 (1.0)	0 (-)	0 (-)
	小葉萎縮 (平均グレード)	0 (-)	2 (1.5)	0 (-)	0 (-)	1 (1.0)	4 (1.5)	1 (1.0)	0 (-)
	びまん性変性 (平均グレード)	1 (1.0)	5 (1.0)	5 (1.0)	6 (1.0)	0 (-)	3 (1.0)	3 (1.0)	4 (1.0)
甲状腺	薄片状コロイド (平均グレード)	0 (-)	↑9 (2.6)	↑9 (2.6)	↑10 (2.5)	0 (-)			0 (-)

Fisher の直接確率検定(片側) ↑:P<0.05、↑:P<0.01

表中の数値は所見を有する動物数を示す(括弧内数字は平均グレードを示す)。

平均グレードは病変を有する動物のグレードの平均値

1: 軽微、2: 軽度、3: 中程度、4: 重度、-: 該当せず

神経病理学的検査:

肉眼的病理検査; 試験終了時に神経病理用に選択された各群雌雄 5 匹を麻醉 (Narcoren) し、Soerensen のリン酸バッファーで血液を洗浄後、Karnovsky 固定液で灌流固定した。肉眼病理検査を行い、臓器/組織サンプルを採取した。

検査動物に認められた肉眼所見を以下の表に示す。

600 ppm 群雄 1 例および 6000 ppm 群雌 1 例の眼球に角膜混濁が認められた。また、600 ppm 群雄 2 例および雌 1 例ならびに対照群雌 1 例の皮膚に脱毛が認められたが、後者は対照群と同程度の出現頻度で自然発生性の変化と判断された。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5
眼球	角膜混濁	0	0	1	0	0	0	0	1
皮膚	脱毛	0	0	2	0	1	0	1	0

Fisher の直接確率検定(片側) 有意差なし、有意水準: P<0.05

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

臓器重量; 灌流固定した全動物から脳を摘出し、脳重量(嗅球を除く)を測定した。

脳の絶対重量および相対重量に検体投与による影響は認められなかった。

病理組織学的検査; 各群雌雄 5 匹について下記組織を固定後、対照群および 6000 ppm についてエポキシ樹脂またはパラフィンに包埋し薄切した。また、肉眼的に所見の認められた眼球については 60 および 600 ppm についても病理組織標



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

本を作製した。標本は、それぞれアズールII-メチレン青-塩基性フクシンまたはヘマトキシリン・エオジンで染色し、鏡検した。

エポキシ樹脂包埋；末梢神経系の脊髄後根神経節（C3-C6）、同後根線維、同前根線維、脊髄後根神経節（L1-L4）、同後根線維、同前根線維、近位坐骨神経、膝部の近位脛骨神経、下肢部の遠位脛骨神経  
 パラフィン包埋；脳（前頭葉、頭頂葉、間脳、中脳、後頭葉、側頭葉、橋、小脳、延髄）、脳関連器官（網膜、視神経を含む眼球：全試験群について検査）、脊髄（頸膨大、腰膨大）、末梢神経系（三叉神経節、三叉神経、腓腹筋）

検査動物に認められた病理所見を以下の表に示す。

600 ppm 群の雄 1 例および雌 3 例ならびに 6000 ppm の雌 2 例の眼球に片側性あるいは両側性の慢性角膜炎が認められた。

その他の組織には検体投与に関連のある変化は認められなかった。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	60	600	6000	0	60	600	6000
検査動物数		5	5	5	5	5	5	5	5
眼球	慢性角膜炎	0	0	1	0	0	0	3	2

Fisher の直接確率検定（片側） 有意差なし、有意水準：P≤0.05

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

以上のように、検体の 3 カ月間飼料中混入投与による亜急性毒性試験における影響として、雌雄とも 60、600 および/あるいは 6000 ppm 群で角膜の混濁、水晶体の線条痕、血管新生等の眼病変が認められ、病理組織検査においても雌雄 600 ppm 以上の用量群の眼球に慢性角膜炎が確認された。尿検査では、雌雄ともに全検体投与群でケトン体の有意な増加が認められた。また、病理組織検査において、雄の 6000 ppm 群で肝臓に小葉中心性の肝細胞肥大が、雌雄ともに全検体投与群で膵臓の外分泌部にびまん性変性が認められた。更に、雄の全検体投与群で甲状腺濾胞内に薄片状コロイドが観察された。したがって、当該試験条件下では神経毒性の徴候は認められず、神経毒性に関する無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 6000 ppm (雄：432.9 mg/kg 体重/日、雌：510.1 mg/kg 体重/日) と判断した。

一方、上述の知見から、低用量の 60 ppm においても種々の所見が認められたことから当該試験では一般毒性に関する NOAEL は求められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

2) ラットを用いた3カ月間混餌投与亜急性毒性試験

(資料No.毒A14)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2003年

目的：

検体純度：

供試動物： Wistar (CrIGlxBrlHan:WI) 系ラット、

1群雌雄各10匹、開始時約7週齢(個別飼育)

投与期間： 3カ月間(2002年9月2日～2002年12月3、4日)

投与方法： 検体は0、15および30 ppmの濃度で直接飼料に混合し、3カ月間にわたって随時授食させた。検体を混合した飼料は毎週調製した。これらの飼料は適切に調製されており、目標濃度の98.6%から103.8%の範囲にあった。

投与量設定根拠：

観察・検査項目および結果：

一般状態および死亡率；一般状態および生死を1日に1～2回観察した。詳細な状態観察は投与開始前およびその後週1回行った。

対照群と比べ投与群で顕著に認められた所見を以下の表に示す。

15 ppm群の雌の1例で70～77日に全身状態が悪化し、体温低下、立毛、頭部浮腫および蒼白を示し、77日目に死亡した。他には、投与期間中に死亡および毒性症状の発現は認められず、上記1例は自然発生性で、検体投与への影響とは考えられなかった。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	0	15	30	0	15	30
検査動物数	10	10	10	10	10	10
頭部浮腫	0	0	0	0	1	0
一般状態悪化	0	0	0	0	2	0
体温低下	0	0	0	0	1	0
立毛	0	0	0	0	1	0
蒼白	0	0	0	0	1	0
死亡	0	0	0	0	1	0

表中の数値は所見を有する動物数を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

体重変化；投与開始日（試験 0 日）およびその後週 1 回測定した。体重変化量として、週毎の体重と 0 日目の体重の差を求めた。  
投与終了時の平均体重および平均体重変化量を以下の表に示す。  
投与と関連した変化は認められなかった。

投与量 (ppm)		0	15	30
体重 (g) 13 週	雄	389.4 (100)	376.6 (97)	374.7 (96)
	雌	218.2 (100)	216.6 (99)	223.9 (103)
平均体重変化量 (g) 0~13 週	雄	246.3 (100)	234.9 (95)	233.1 (95)
	雌	100.5 (100)	99.8 (99)	105.6 (105)

多重比較法 (Dunnet)、有意差無し、有意水準：P≤0.05  
括弧内の数値は対照群を 100 とした場合の値

摂餌量および摂餌効率；週 1 回全動物の摂餌量を測定し、摂餌効率を計算した。  
投与開始から終了時の平均摂餌量および摂餌効率を以下の表に示す。  
摂餌量には、投与と関連した変化は認められなかった。  
摂餌効率では、30 ppm 群の雌で 49 日に有意な増加が、56 日に有意な低下が認められたが、一過性であり偶発的な変動と判断された。

投与量 (ppm)		0	15	30
摂餌量 (g) 0~13 週	雄	22.0 (100)	21.7 (99)	21.5 (98)
	雌	16.2 (100)	15.7 (97)	16.1 (99)
摂餌効率 (%) 0~13 週	雄	12.4 (100)	12.0 (97)	11.9 (96)
	雌	6.9 (100)	5.8 (84)	7.2 (104)

多重比較法 (Dunnet)、有意差無し、有意水準：P≤0.05  
括弧内の数値は対照群を 100 とした場合の値

検体摂取量；体重および摂餌量から算出した投与期間中の 1 日当たり平均検体摂取量を以下の表に示す。

投与量 (ppm)		15	30
検体摂取量 mg/kg 体重/日	雄	1.1	2.1
	雌	1.3	2.5

眼科学的検査；投与開始前および試験終了時に全動物を対象として、眼科学検査を行った。

投与と関連した変化は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

血液学的検査；投与終了後に全動物を対象として、絶食後、無麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、以下の項目を測定した。

白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球百分比、血液凝固検査 (プロトロンビン時間)

各測定項目に投与と関連した変化は認められなかった。

血液生化学検査；投与終了後に全動物を対象として、絶食後、無麻酔下で眼窩静脈叢から血液を採取し、血清を分離後以下の項目を測定した。

ALT、AST、ALP、 $\gamma$ -GTP、ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン酸、カルシウム、尿素、クレアチニン、グルコース、総ビリルビン、総タンパク、アルブミン、グロブリン、トリグリセリド、総コレステロール、マグネシウム

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

30 ppm 群の雄に、ALP、ナトリウム、塩素の減少および総コレステロールの増加が、15 ppm 群の雄に塩素の減少が、また、同用量群の雌に AST の増加が認められた。その他の項目には、検体投与に関連する変化はなかった。上記の観察された変化はいずれも、ごく軽度であるか、片性のみで見られているか、あるいは用量反応性がない変化であり、さらに高濃度で実施した 13 週間飼料中混入投与による亜急性毒性試験および神経毒性試験 (資料 No. 毒 A13) で同様の影響が認められていないことから偶発的な変化と判断された。

性別	雄		雌	
投与量 (ppm)	15	30	15	30
検査動物数	10	10	10	10
AST	132	142	↑149	111
ALP	97	↓79	95	90
ナトリウム	99	↓99	99	99
塩素	↓99	↓98	99	100
総コレステロール	117	128↑	119	115

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定  $\uparrow\downarrow:P\leq 0.05$ 、 $\uparrow\downarrow:P\leq 0.01$   
 表中の数値は群平均値の対照群を 100 とした場合の値

尿検査；投与終了後に血液生化学検査を実施した同個体を絶食、絶水させ、一晚尿を採取して、次頁の項目を測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

尿量、色調、濁度、pH、タンパク、糖、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

対照群と比べ投与群で顕著に認められた異常項目を以下の表に示す。  
30 ppm 群の雌雄でケトン体の増加が認められたが、その他の項目には検体投与に関連のある変化は認められなかった。

性別	雄			雌		
	0	15	30	0	15	30
投与量 (ppm)						
検査動物数	10	10	10	10	10	10
ケトン体	2	3	↑9	0	2	↑8

Fisher の直接確率検定 (片側) ↑:  $P \leq 0.01$ 、有意水準:  $P \leq 0.05$   
数値は判定基準 (5 mmol/l) 以上の値を示した動物数を示す。

病理学的検査:

臓器重量: 投与終了時に全動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、子宮、卵巣、胸腺、脳、心臓

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。  
平均絶対重量には、対照群と比較し有意な変動は認められなかった。  
肝臓相対重量が 30 ppm 群の雌雄で有意に増加した。雄では 15 ppm 群においても肝臓相対重量が軽度増加した。また、30 ppm 群の雄で腎臓相対重量が軽度増加したが、その他の臓器には対照群と比較して有意な変動は認められなかった。

性別	雄		雌		
	15	30	15	30	
投与量 (ppm)					
検査動物数	10	10	10	10	
最終体重	96	96	99	102	
肝臓	重量	102	105	99	108
	対体重比	↑107	↑110	100	↑106
腎臓	重量	101	106	103	108
	対体重比	105	↑110	104	105

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 ↑:  $P \leq 0.05$ 、↑↑:  $P \leq 0.01$   
表中の数値は対照群を 100 とした場合の値

肉眼的病理検査: 試験終了時に全動物を対象として、剖検を行った。  
検体投与に関連のある異常は認められなかった。

病理組織学的検査；肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、主要器官/組織を4%中性緩衝ホルマリンで固定し、以下の組織について病理標本（ヘマトキシリン・エオジン染色）を作製後、鏡検した。なお、副甲状腺が、スライド上に存在した場合には併せて検査対象とした。

保存器官・組織：脳、下垂体、甲状腺、副甲状腺、胸腺、気管、肺、咽頭、喉頭、鼻腔、心臓、大動脈、唾液腺（顎下腺、舌下腺）、肝臓、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、卵巣、卵管、子宮、膈、精巣上体、前立腺、精囊、皮膚、食道、胃（前胃、腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、膀胱、下顎および腸間膜リンパ節、乳腺（雌）、骨格筋、坐骨神経、胸骨および骨髄、骨髄（大腿骨）、眼球、眼窩外涙腺、大腿骨および膝関節、脊髄（頸髄、胸髄、腰髄）、全肉眼病変

組織標本作製・鏡検：甲状腺、膵臓

最終屠殺動物に認められた病理所見を以下の表に示す。

膵臓では、30 ppm 群雄 2 例の外分泌部にびまん性変性が認められ、雌 15 ppm 群で小葉萎縮が認められた。しかし、この病変では 13 週間飼料中混入投与による亜急性毒性試験および神経毒性試験（資料 No. 毒 A13）でみとめられたような間質結合繊維の増加や膵外分泌腺の小導管の増殖は観察されなかった。また、雌雄の検体投与群で甲状腺濾胞内に薄片状コロイドが観察された。本病変は主に雄に認められ、雌では発生頻度が低いため、毒性学的な意義は不明であるが、同系統のラットにおける 12 ヶ月間混餌投与慢性毒性試験（資料 No. 毒 A18）で 3 例に濾胞上皮細胞肥大や過形成が認められていることから、これらとの関連性を全く否定することはできなかった。

その他にも所見が観察されたが、いずれも単発性か、ごく低頻度あるいは対照群と同程度の頻度であったことから、いずれも自然発生性で検体投与に関連しない所見と判断された。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		0	15	30	0	15	30
検査動物数		10	10	10	10	10	10
膵臓	小葉萎縮 (平均グレード)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	0 (-)	2 (2.0)	0 (-)
	びまん性変性 (平均グレード)	0 (-)	0 (-)	2 (1.0)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
甲状腺	薄片状コロイド (平均グレード)	1 (1.0)	↑9 (2.4)	↑10 (2.7)	0 (-)	1 (2.0)	3 (1.0)

Fisher の直接確率検定 (片側)    ↑:P<0.05

表中の数値は所見を有する動物数を示す(括弧内数字は平均グレードを示す)。

平均グレードは病変を有する動物のグレードの平均値

1：軽微、2：軽度、3：中程度、-：該当せず

以上のように、3カ月間飼料中混入投与による亜急性毒性影響として、雌雄とも30 ppm群で尿中のケトン体の有意な増加が認められた。本検体は、動物のチロシン異化に関わる酵素 p-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼを阻害し、血中および尿中のチロシン濃度を増加させ、その結果、アミノ基転移により p-ヒドロキシフェニルピルビン酸を生じ尿中に排泄する。ケト酸である p-ヒドロキシフェニルピルビン酸は試験紙の試薬に干渉し、尿サンプルのケトン体を偽陽性にする。したがって、尿中ケトン体の増加は投与に関連した所見ではあるが、毒性学的な意義はないと考えられた。平均相対肝臓重量が雄の全投与群および雌の30 ppm群で有意に増加した。病理組織学的検査は実施しなかったが、同変化は投与に関連したものと推察された。

また、病理組織検査において、雄の30 ppm群で膵臓の外分泌部にびまん性変性が認められた。更に、雌雄ともに全検体投与群で甲状腺濾胞内に薄片状コロイドが観察された。

平均肝臓重量の有意な増加は、被験物質に関連した有害作用というより被験物質の3カ月間混餌投与によって生じた適応反応と考えられた。したがって、本試験条件下における無毒性量 (NOAEL) は雄で15 ppm (1.1 mg/kg 体重/日)、雌で30 ppm (2.5 mg/kg 体重/日) であった。

3) マウスを用いた飼料中混入投与による3ヵ月間経口投与毒性試験 (資料 No. 毒 A15)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2000年(2001年改訂)

検体純度:

供試動物: C57BL/6JRj系マウス、1群雌雄各10匹、投与開始時7週齢 (個別飼育)

投与期間: 3ヵ月 (1999年8月4日~1999年11月4日)

投与方法: 0、125、1000および8000 ppmの濃度で検体を直接飼料に混入し、3ヵ月間にわたって随時摂食させた。検体を混入した飼料は飼料中の検体の安定性が保証される頻度で調製した。

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を少なくとも毎日1回観察した。

一般状態の詳細な観察 (オープンフィールドでの観察); オープンフィールド内での動物の外観、行動等について、以下の項目の詳細な観察を検体投与前およびその後は週1回行った。

(項目) 取扱い時の行動、被毛、皮膚、姿勢、流涎、呼吸、活動性/覚醒度、振戦、痙攣、異常行動、歩行異常、流涙、眼瞼閉鎖、眼球突出、糞 (外観/硬さ)、尿

8000 ppm 群の雌1例が投与28日に死亡した。一般状態では、125 ppm 群の雌1例で外傷および耳の欠損、1000 ppm 群の雄1例で耳の欠損、および8000 ppm 群の雌1例で外傷および耳の欠損が認められた。上記の偶発的な外傷以外に一般状態の異常は観察されなかった。

体重変化; 投与開始日およびその後は1週間に1回動物の体重を測定した。各測定日の体重と投与0日の体重の差を算出し、体重変化量とした。

投与期間を通じ、検体投与群の平均体重値には対照群と比較して有意な増減は認められなかった。対照群と比べ投与群で顕著に認められた体重変化量を次頁の表に示す。



体重変化量は 1000 ppm 群の雄で投与 0~63 日、同群の雌で投与 0~70 日、8000 ppm 群の雌で投与 0~7、0~28、0~35、0~70、0~77 および 0~91 日に有意に減少した。しかし、散発的な発現であることと、変化が軽度であることから、これらの減少は偶発的なもので投与とは無関係と判断された。このことは、続いて行なわれた発がん性試験（資料 No. 毒 A22）において、8000 ppm 群で 8 ヶ月間にわたって体重変化量に影響がみられなかったことから裏付けられる。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		125	1000	8000	125	1000	8000
平均体重 変化量	投与期間						
	0~7 日						↓-450
	0~14 日						
	0~21 日						
	0~28 日						↓-101
	0~35 日						↓39
	0~42 日						
	0~49 日						
	0~56 日						
	0~63 日			↓71			
	0~70 日					↓58	↓58
	0~77 日						↓52
	0~84 日						
0~91 日						↓61	

多重比較法 (Dunnett, 両側) ↓:P≤0.05、↓:P≤0.01

数値は対照群を 100 とした場合の値

摂餌量；週 1 回すべての動物の摂餌量を測定し、1 日 1 匹当りの摂餌量 (g) を計算した。

対照群と比べ投与群で顕著に認められた変化を次頁の表に示す。

雌雄の全検体投与群で摂餌量の有意な減少が散見されたが、継続性が無く、明らかな用量反応関係も認められなかったため、偶発的な変化と判断した。

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		125	1000	8000	125	1000	8000
摂餌量	投与 7日						
	14日						
	21日						
	28日	↓75	↓78	↓71	↓71	↓69	↓59
	35日		↓76	↓72	↓71	↓67	↓63
	42日	↓79	↓79	↓77		↓81	↓76
	49日						
	56日	↓81		↓81			
	63日		↓76				
	70日			↓79			
	77日		↓75				↓79
	84日						
	91日						↓76

多重比較法 (Dunnett、両側) ↓:P<0.05、↓↓:P<0.01  
 数値は対照群を 100 とした場合の値

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)		125	1000	8000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	37.0	288.0	2289.0
	雌	51.0	406.0	3010.0

血液学的検査；投与終了後に各群の生存例を対象として、無麻酔下で絶食動物の眼窩静脈叢から血液を採取した後、炭酸ガス麻酔下で断頭により採血し、以下の項目の測定を行った。

白血球数、赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球血色素量 (MCH)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC)、血小板数、白血球分画

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	125	1000	8000	125	1000
平均赤血球容積 (MCV)		↑102				
平均赤血球血色素量 (MCH)		↑102				

数値は対照群を 100 とした場合の値

Kruskal-Wallis + Mann-Whitney U-検定 (両側) ↑:P≤0.02 (有意水準:P≤0.05)

雄の 1000 ppm 群で平均赤血球容積および平均赤血球血色素量に高値が認められたが、片性のみの変化であること、ならびに用量反応関係が認められないことから検体投与による影響ではないと考えられた。

血液生化学検査；血液学的検査時に採取した血液より得られた血清を用いて、以下の項目を測定した。

アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミルトランスフェラーゼ (GGT)、グルコース、尿素窒素、クレアチニン、総コレステロール、総ビリルビン、総タンパク、アルブミン、グロブリン、ナトリウム、カリウム、塩素、カルシウム、無機リン、マグネシウム、トリグリセリド

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別	雄			雌		
	投与量 (ppm)	125	1000	8000	125	1000
ALP	↑ 108	↑↑ 113				
総コレステロール				↑127		

数値は対照群を 100 とした場合の値

Kruskal-Wallis + Mann-Whitney U-検定 (両側) ↑:P≤0.05、↑↑:P≤0.02、↑↑↑:P≤0.002

125 および 1000 ppm 群の雄に、ALP 活性の有意な上昇がみられた。また、125 ppm 群の雌に総コレステロールの有意な高値が認められた。これらは、片性のみの変化であり、投与量との関連性もないことから検体投与による影響ではないと考えられる。

臓器重量；各群の計画屠殺例を対象として、以下の重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、副腎、精巣、精巣上体、子宮、卵巣、胸腺、脾臓、脳、心臓

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を以下の表に示す。

性別	雄			雌		
投与量 (ppm)	125	1000	8000	125	1000	8000
最終体重						
肝臓	重量					
	対体重比				↑107	↑113
精巣	重量	↓93	↓92			
	対体重比					

数値は対照群を 100 とした場合の値、斜線：該当せず

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 (両側) ↑ ↓:P≤0.05、↑↓:P≤0.01

肝臓 (対体重比) の有意な増加が雌の 1000 ppm 以上の群にみられた。125 および 1000 ppm 群の雄における精巣重量の減少は、8000 ppm 群に同様の減少が認められておらず、投与量との関連性がないことから検体投与による影響ではないと考えられる。

肉眼的病理検査；途中死亡例および全生存例について剖検を行った。

対照群および検体投与群において認められた主要な病変を以下の表および表 1 に示す。

腺胃：8000 ppm 群の雌において、腺胃のびらんまたは潰瘍を示す動物数が増加した。

性別	雄				雌			
投与量 (ppm)	0	125	1000	8000	0	125	1000	8000
びらん/潰瘍	2	0	2	1	0	1	3	4*

表中の数値は動物数 \*：途中死亡例 (1 例) を含む

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準：P≤0.05

その他の肉眼病変はすべて単発性の変化であった。

〈表 1〉 肉眼的病理検査

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	125	1000	8000	0	125	1000	8000
死亡・切迫	臓器	検査動物数 所見	0	0	0	0	0	0	0	1
	全身観察	自己融解	0	0	0	0	0	0	0	1
	腺胃	びらん／潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
	空腸	内容物変色	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓	小型化	0	0	0	0	0	0	0	1
全動物	臓器	検査動物数 所見	10	10	10	10	10	10	10	10
	著変なし		8	10	7	9	10	8	7	6
	全身観察	自己融解	0	0	0	0	0	0	0	1
	腺胃	びらん／潰瘍	2	0	2	1	0	1	3	↑4
	空腸	内容物変色	0	0	0	0	0	0	0	1
	肝臓	巣	0	0	1	0	0	0	0	0
	腎臓	嚢胞	0	0	0	0	0	1	0	0
	精巣	小型化	0	0	1	0	/	/	/	/
脾臓	小型化	0	0	0	0	0	0	0	1	

Fisher の直接確率検定 (片側) ↑: P<0.05

表中の数値は動物数 斜線: 該当せず

病理組織学的検査; 肉眼的病理検査を実施した動物を対象として、以下の組織について病理標本 (ヘマトキシリン・エオジン染色) を作製し、鏡検した。  
なお、対照群と 8000 ppm 群は下記の全組織を観察し、他の群は肝臓、腎臓、肺および肉眼病変部位を観察した。

脳、下垂体、眼球、唾液腺 (下顎腺、舌下腺)、下顎リンパ節、甲状腺 / 上皮小体、胸骨 (骨髓)、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、膀胱、副腎、精巣、精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、卵管、子宮、膣、皮膚、食道、胃 (前胃、腺胃)、十二指腸、脾臓、空腸、回腸、盲腸、結腸、腸間膜リンパ節、直腸、乳腺 (雌)、末梢神経 (坐骨)、骨格筋、骨髓 (大腿骨)、大腿骨と膝関節、脊髄 (頸部、胸部、腰部)、喉頭、咽頭、鼻腔 (レベルⅢ)、肉眼病変部位

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

対照群および検体投与群において認められた主要な病変を下表および表 2 に示す。

腺胃： 肉眼的に認められた腺胃のびらん／潰瘍は病理組織学的にも確認された。同所見は対照群の雌4例でも認められた。

性別	雄				雌			
	0	125	1000	8000	0	125	1000	8000
びらん／潰瘍	2	-	2	1	4	1	3	4*

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準：P<0.05

表中の数値は例数 -：検査対象外 \*：途中死亡例 (1例) を含む

その他の所見はすべて単発性であったか、対照群と検体投与群において生物学的に同様の頻度で認められた。これらはすべて偶発性または自然発生性のもので、投与とは無関係と考えられた。

途中死亡例：投与28日に死亡した8000 ppm群の雌1例では、腺胃にびらん／潰瘍が認められた。腺胃におけるびらん／潰瘍の発現は投与とは無関係と考えられたため、この動物の死亡も偶発的なものと判断された。

<表 2> 病理組織学的検査 死亡・切迫

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	125	1000	8000	0	125	1000	8000
死亡・切迫	臓器	検査動物数	0	0	0	0	0	0	0	1
		所見								
	腺胃	びらん／潰瘍	0	0	0	0	0	0	0	1
	脾臓	リンパ球枯渇	0	0	0	0	0	0	0	1

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準：P<0.05

表中の数値は動物数

〈表 2 つづき〉 病理組織学的検査 全動物

検査時期	性別		雄				雌			
	投与量 (ppm)		0	125	1000	8000	0	125	1000	8000
全動物	臓器	検査動物数 所見	10	10	10	10	10	10	10	10
	前胃	びらん/潰瘍	0	-	-	1	0	-	-	0
	腺胃	びらん/潰瘍	2	-	2	1	4	1	3	4
	肝臓	リンパ球浸潤	4	5	2	4	6	6	5	4
		脂肪浸潤 (巣状)	1	0	0	2	0	0	0	2
		脂肪浸潤 (び漫性)	10	9	10	10	5	5	3	6
		脂肪浸潤 (中心性)	0	1	0	0	4	4	7	2
		壊死(巣状)	1	1	1	3	1	1	0	0
		卵円形細胞増殖	2	3	3	1	2	2	1	2
	鼻腔 (レベルⅢ)	嗅上皮萎縮 (巣状)	0	-	-	1	0	-	-	0
	肺	リンパ球浸潤	3	2	1	2	1	3	1	1
		好酸性結晶	0	0	0	0	1	0	0	0
		肺胞組織球症	0	0	1	0	1	2	0	0
	腎臓	重複腎盂	0	0	0	0	0	0	1	0
		リンパ球浸潤	4	3	2	2	2	2	1	2
		嚢胞	0	0	0	0	0	1	0	0
		好塩基性尿細管	2	2	0	2	0	1	0	0
	精巣	精細管変性	3	-	0	1	/	/	/	/
		変性 (びまん性)	0	-	1	0	/	/	/	/
	精巣上体	リンパ球浸潤	1	-	-	0	/	/	/	/
		線維化 (巣状)	1	-	-	0	/	/	/	/
	脾臓	リンパ球枯渇	0	-	-	0	0	-	-	1
	副腎皮質	脂肪原性色素	7	-	-	4	0	-	-	0
		肥大 (巣状)	0	-	-	1	0	-	-	0
	甲状腺	異所性胸腺	0	-	-	1	0	-	-	0
	上皮小体	嚢胞	0	-	-	0**	1	-	-	0
下垂体	嚢胞	2	-	-	2	0**	-	-	1**	

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準:  $P \leq 0.05$

表中の数値は動物数、 - : 検査対象外、斜線: 該当せず、\*\* : 検査例数 9 例

以上の結果から、検体のマウスに対する3ヵ月間飼料中混入投与による亜急性毒性試験における影響として、肝臓相対重量が雌の1000 ppm群および8000 ppm群で有意に増加し、用量反応関係も認められた。肝臓重量増加に対応する病理組織学的変化は認められなかったが、検体に関連した影響であることは否定できなかった。

したがって、本試験条件下での無作用量 (NOEL) は125 ppm (雄37.0 mg/kg体重/日、雌51.0 mg/kg体重/日) であった。しかし、肝臓重量増加は有害所見というより適応反応を示すものであろうと考えられたため、無毒性量 (NOAEL) は8000 ppm (雄2289.0 mg/kg体重/日、雌3010.0 mg/kg体重/日) であった。



4) ビーグル犬における3ヵ月間混餌投与亜急性経口投与毒性試験 (資料No.毒A16)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2002 年

検体純度:

供試動物: 純系ビーグル犬、1群雌雄各5匹、投与開始時約5~7ヵ月齢

投与期間: 約3ヵ月間 (1999年11月9日~2000年2月14日)

投与方法: 検体を0、3000、9000、25000 ppmの濃度で飼料に混入し、約3ヵ月間にわたって毎日摂食させた。検体と飼料の混合物を約2週間隔で新しく調製し、給餌直前まで室温で保存した。投与直前に、この混合物350gと飲料水350mLとを混ぜてペースト状にした。

投与量: 0、3000、9000 および 25000 ppm

投与量設定根拠:

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率; 一般状態および生死を毎日観察した。

投与期間中において死亡は認められなかった。

25000 ppm 群の雌雄全動物で淡褐色の変色便が認められた。また、25000 ppm 群の雄2例に赤褐色の変色尿が投与69から87日に一時的に認められた。これらは、いずれも検体投与に関連のある変化と考えられる。

3000 ppm 群の雄1例に軟便が投与58日から投与終了時まで認められたが、血液生化学検査や病理学検査で関連する変化がみられなかったことから毒性的に意味のある変化とは考えられない。また、25000 ppm 群の雄1例に単発性の嘔吐が認められたが、対照群の雌1例にも発現していることから偶発的なものと考えられる。

体重変化: 体重を投与期間開始日 (投与0日) から3ヵ月まで週1回測定した。各測定日の体重と投与0日の体重の差を算出し、体重変化量とした。

対照群と比べ統計学的有意差の認められた変化を次頁の表に示す。

25000 ppm の雄では、投与21日に平均体重変化量が有意な低値を示し、投与期間を通じた体重変化量も減少した。これらの変化は、検体投与による影響を示すものと考えられる。

3000 ppm 群の雌で投与63から91日に、9000 ppm 群の雌で投与77から91日に、25000 ppm 群の雌で投与91日に有意な変化が認められたが、用量反応関係がなく、生物学的変動の範囲であることから検体投与への影響とは考えられない。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別		雄			雌		
投与量 (ppm)		3000	9000	25000	3000	9000	25000
平均体重 変化量	投与期間						
	0~7日						
	0~14日						
	0~21日			↓17			
	0~28日						
	0~35日						
	0~42日						
	0~49日						
	0~56日						
	0~63日				↓60		
	0~70日				↓55		
	0~77日				↓59	↓68	
	0~84日				↓63		
0~91日				↓56	↓68	↓68	

分散分析 + Dunnett (両側) ↓:  $P \leq 0.05$ , ↓↓:  $P \leq 0.01$

数値は対照群を 100 とした場合の値

投与期間終了時の平均体重変化量 (kg) は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		体重変化量 (kg)
0	雄	+1.9
	雌	+2.5
3000	雄	+0.6
	雌	+1.4
9000	雄	+1.1
	雌	+1.7
25000	雄	+0.2
	雌	+1.7

摂餌量および摂餌効率；全動物の摂餌量を毎日測定し、摂餌効率も週 1 回算出した。

摂餌量には検体投与に伴う変化はみられなかった。

25000 ppm の雄では、平均摂餌効率が一時的な低下を示し、検体投与による影響と考えられる。

検体摂取量；投与期間中の 1 日当たりの平均検体摂取量は以下の通りであった。

投与量 (ppm)		3000	9000	25000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	182	535	1511
	雌	205	624	1712

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

血液学的検査；投与開始前、投与6および13週に絶食の全動物を対象として、無麻酔下で橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積、平均赤血球血色素量、平均赤血球血色素濃度、血小板数、白血球数、白血球百分比（好酸球、好塩基球、好中球、リンパ球、単球、大型非染色球）

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄						雌					
	3000		9000		25000		3000		9000		25000	
投与量 (ppm)	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13
平均赤血球血色素量		↓96		↓96								

Kruskal-Wallis + Man-Whitney U 検定（両側）↓：P ≤ 0.05、↓↓：P ≤ 0.02

数値は対照群を100とした場合の値

投与13週に、3000および9000 ppm 群の雄で平均赤血球血色素量の有意な減少が認められたが、変動が軽度であり、高用量群（25000 ppm）で変化が認められなかったことから、検体投与による影響とは考えられない。

血液凝固検査；投与開始前、投与6および13週に絶食の全動物を対象として、無麻酔下で橈側皮静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

活性化部分トロンボプラスチン時間、プロトロンビン時間

検体投与に伴う変化はみられなかった。

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

ナトリウム、カリウム、塩素、無機リン、カルシウム、尿素、クレアチニン、グルコース、総ビリルビン、総タンパク、アルブミン、グロブリン、トリグリセリド、総コレステロール、マグネシウム、ALT、AST、ALP、GGT

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄						雌					
	3000		9000		25000		3000		9000		25000	
投与量 (ppm)												
検査時期 (週)	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13
尿素		↑126										
グルコース									↓91			
カルシウム								↓97				
グロブリン											↑106	
AST								↑123		↑121		↑147

Kruskal-Wallis + Man-Whitney U 検定 (両側) ↑:  $P \leq 0.05$ , ↑↓:  $P \leq 0.02$

数値は対照群を 100 とした場合の値

3000 ppm 群の雄において、投与 13 週に尿素の有意な増加、同群の雌でカルシウムの有意な減少が認められ、9000 ppm 群の雌において、投与 6 週にグルコースの有意な減少、25000 ppm 群の雌において、投与 6 週にグロブリンの有意な増加が認められた。これらの変動はごく軽度であるか、雌雄で一貫性がないか、もしくは用量反応関係がみられないことから、毒性学的意義はないと考えられた。

投与 13 週に、3000、9000 および 25000 ppm 群の雌で AST の有意な増加が認められたが、雄で変化が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。

尿検査： 血液学的検査と同時期に採取した尿について以下の項目の測定を行った。

尿量、色調、濁度、pH、タンパク、グルコース、ケトン体、ウロビリノーゲン、ビリルビン、潜血、比重、沈渣

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を次頁の表に示す。

3000、9000 および 25000 ppm 群の雄では、尿サンプル中のケトン体が投与期間を通じて有意に増加した。雌では、投与 6 週に 3000 ppm 群で、投与 13 週に 3000 および 25000 ppm 群で、統計学的に有意なケトン体の増加が認められた。ケトン体の増加は投与 6 週には 9000 および 25000 ppm 群の一部の雌、投与 13 週には 9000 ppm 群の一部の雌でも認められた。

尿沈渣の検査では、未同定の結晶が 25000ppm 群のすべての雌雄で投与 6 週に、また各検体投与群の一部の雌雄で投与期間中の両検査時に認められた。この結晶は化学分析により親化合物のマグネシウム複合体と同定された。

尿中ケトン体と結晶の増加は、酵素 p-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼの阻害という検体の作用機序によって生じたケト酸 (p-ヒドロキシフェニルピルビン酸)、または検体の尿中排泄に起因するもので、検体に関連したものと考えられたが、これらの尿所見は毒性学的意義はないと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別	雄						雌					
	3000		9000		25000		3000		9000		25000	
投与量 (ppm)	3000		9000		25000		3000		9000		25000	
検査時期 (週)	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13	6	13
尿沈渣 (結晶)					↑4							
ケトン体	↑4	↑4	↑4	↑4	↑5	↑4	↑4	↑5				↑5

Fisher の直接確率検定 (片側) ↑: P ≤ 0.05, ↑↑: P ≤ 0.01

尿沈渣 (結晶) の数値は判定基準結晶が1視野当り3個みられた動物数を示す

ケトン体の数値は判定基準 (5 mmol/l) 以上の値を示した動物数を示す

空欄は有意差無しを示す

眼科的検査; 投与開始前、投与13週に全動物について検査した。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量; 投与終了時の全生存動物を対象として以下の臓器重量を測定し、対体重比を算出した。

脳、肝臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣、精巣上体、甲状腺 (上皮小体を含む)、前立腺

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄						雌					
	3000		9000		25000		3000		9000		25000	
投与量 (ppm)	3000		9000		25000		3000		9000		25000	
絶対/相対	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相	絶	相
最終体重		-		-	↓90	-		-		-		-
脳									↓↓85		↓↓84	
甲状腺						↑143						

Kruskal-Wallis + Wilcoxon 検定 (両側) ↓: P ≤ 0.05, ↑↓: P ≤ 0.01

数値は対照群を100とした場合の値 - : 検査対象外

空欄は有意差無しを示す

25000 ppm 群において、雄の最終体重の減少 (対照群に比べ、重量で約 10% の減少)、甲状腺重量の増加 (対照群に比べ、対体重比で約 43% の増加) が、9000 および 25000 ppm 群において、雌の脳重量の減少 (対照群に比べ、それぞれ約 15% および約 16% の減少) が、いずれも統計学的に有意に認められた。これらは、相対重量に一致した変化が認められないか、体重減少に伴う二次的な相対重量の増加であり、いずれも毒性学的意義はないと考えられた。

肉眼的病理検査; 投与終了時の全生存動物を対象として剖検を行った。

対照群および検体投与群において認められた変化を下表に示す。

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	3000	9000	25000	0	3000	9000	25000
臓器	検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
	所見								
	著変認めず	3	1	2	0	5	1	4	5
胃	糜爛/潰瘍	0	1	0	0	0	0	1	0
結腸	病巣 (focus)	0	0	0	0	0	3	0	0
肝臓	病巣 (focus)	1	0	0	1	0	0	0	0
肺	退色	0	0	0	0	0	1	0	0
	病巣 (focus)	1	1	1	0	0	0	0	0
腎臓	嚢胞	1	0	0	0	0	0	0	0
膀胱	潰瘍	0	0	0	1	0	0	0	0
精巣	小型化	1	0	1	1				
精巣上体	小型化	1	0	0	1				
前立腺	結石	0	0	0	1				
	小型化	1	2	2	4				
脾臓	病巣 (focus)	1	0	0	0	0	0	0	0
脳	嚢胞	0	0	1	0	0	0	0	0
甲状腺	嚢胞	0	1	0	0	0	0	0	0
下垂体	嚢胞	0	0	0	1	0	1	0	0

数値は動物数を示す。 斜線：該当せず

Fisher の直接確率検定 (片側) 有意差なし、有意水準：P<0.05

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

全群において前立腺の大きさにかんがりのばらつきが認められた。しかし、病理組織学検査で対応する病的所見はみられなかった。また、検体投与群で有意な重量の変化はなかった。小型の前立腺の形態像は、各群のより大きな前立腺と比べても全く正常な構造を示しており (分葉正常、線維化・萎縮なし)、投与による前立腺構造への器官特異的な影響はないと考えられた。したがって、これらの前立腺の小型化は、動物の発達過程における投与とは無関係な個体ごとのばらつきと判断された。

組織病理学的検査；投与終了時の全生存動物を対象として、以下の組織についてヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、鏡検した。

脳、眼球および視神経、下垂体、甲状腺、上皮小体、胸腺、気管、肺、心臓、大動脈、唾液腺 (下顎腺、耳下腺)、肝臓、胆嚢、脾臓、腎臓、副腎、膵臓、精巣、精巣上体、卵巣、卵管、子宮、膣、食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結

腸、直腸、膀胱、腸間膜リンパ節、腋窩リンパ節、骨格筋、坐骨神経、脊髓（頸部、胸部、腰部）、胸骨（骨髓を含む）、大腿骨（骨髓を含む）および膝関節、前立腺、乳腺（雌）、皮膚、喉頭、咽頭、鼻腔（レベルⅢ）、全肉眼所見

認められた主要な病変を次頁以降の表に示す。

検体投与に関連のある変化は認められなかった。

病理組織所見はすべて、単発性の症例として偶発的に発現したか、試験群間で均等に分布しており、自然発生性のものと解釈された。なお、全群で認められた前立腺の小型化については、対照群の1例および高用量群の4例を含め、対応する病的所見はみられなかった。小型の前立腺では組織学的に正常の腺構造を示しているが、機能的発達が不完全な部分もある、未成熟な前立腺の典型的特徴が認められた。

検体投与による影響として、25000 ppm 群において摂餌効率の低下と体重増加量の減少が雄のみで認められ、さらに、淡褐色の変色便が雌雄で、赤褐色の変色尿が雄2例で認められた。9000 および 3000 ppm 群において検体投与に関連した影響は認められなかった。以上のことから、検体の雌雄犬に対する3ヵ月投与の無毒性量（NOAEL）は雌雄とも9000 ppm（雄 535 mg/kg 体重/日、雌 624 mg/kg 体重/日）と判断された。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	3000	9000	25000	0	3000	9000	25000
臓器	所見 \ 検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
耳下腺	炎症性細胞浸潤	2	3	2	2	2	3	2	1
下顎腺	炎症性細胞浸潤	0	0	0	1	4	3	2	2
食道	単核細胞浸潤	0	1	1	2	2	0	2	0
	腸上皮化生、巣状	0	0	0	0	0	0	0	1
胃	巣状石灰化	0	1	0	0	0	1	0	0
	リンパ濾胞過形成	0	2	0	1	0	1	1	1
結腸	糜爛、巣状	0	0	0	0	0	1	0	0
直腸	糜爛、巣状	0	0	0	1	0	0	0	0
肝臓	クッパー細胞肉芽腫	5	5	3	5	4	5	5	5
	単細胞壊死	0	1	1	1	0	0	0	0
	クッパー細胞ヘモジ デリン沈着	0	1	1	0	1	4	0	3
	巣状脂肪蓄積	1	0	0	1	0	0	0	0
	帯状脂肪蓄積	0	0	0	0	0	0	1	0
	炎症性細胞浸潤	1	1	2	1	1	4	1	4
	巣状壊死	1	0	0	0	0	0	0	0
	胆管増殖	0	0	0	0	1	0	0	0
脾臓	炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
喉頭	炎症、巣状	0	0	1	2	0	2	0	0
気管	炎症性細胞浸潤	0	0	0	0	0	0	0	1
肺	肉芽腫	3	3	3	3	3	3	3	3
	寄生虫性肺炎	1	2	2	1	2	3	2	1
	急性出血	1	0	0	0	0	0	0	0
腎臓	石灰化	5	5	5	5	5	5	5	5
	間質性腎炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	腎盂腎炎	0	0	0	1	0	0	0	0
	被膜の血管炎	1	0	0	0	0	0	0	0
	嚢胞	0	0	0	0	0	0	1	0
膀胱	炎症	0	0	0	2	0	0	0	0
精巣	巨細胞	5	3	1	2	/	/	/	/
精巣上体	精子減少症	1	1	1	0	/	/	/	/
前立腺	慢性炎症	0	0	0	1	/	/	/	/
	小型化	1	3	2	4	/	/	/	/
卵巣	嚢胞	/	/	/	/	1	0	0	0
子宮	子宮腺過形成	/	/	/	/	1	0	0	0
心臓	心筋炎、巣状	0	0	0	1	0	0	0	0
脾臓	腺維化、巣状	1	0	0	0	0	0	0	0
	血腫、器質化	1	0	0	0	0	0	0	0

Fisher の直接確率検定 (両側) 有意差なし、有意水準:  $P \leq 0.05$

数値は動物数を示す。 斜線: 該当せず



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある

性別		雄				雌			
投与量 (ppm)		0	3000	9000	25000	0	3000	9000	25000
臓器	所見 \ 検査動物数	5	5	5	5	5	5	5	5
脳	炎症性細胞浸潤	1	0	1	0	1	0	0	0
	グリア細胞反応	2	1	3	1	4	3	2	2
	巣状石灰化	0	0	1	0	2	1	0	0
	髄膜嚢胞	0	0	1	0	0	0	0	0
脊髓腰部	巣状石灰化	2	1	2	0	2	3	4	2
坐骨神経	空胞変性	0	1	0	0	0	0	0	1
甲状腺	C細胞過形成	3	3	2	4	5	2	5	3
	甲状腺炎	0	1	1	1	0	0	1	0
	嚢胞	0	0	0	0	0	0	1	0
	濾胞上皮の肥大	0	0	1	0	0	0	0	0
	ラトケ嚢遺残	1	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体	嚢胞	2	4	1	0	2	0	1	0
下垂体	嚢胞	2	3	0	1	2	2	0	3
皮膚	毛嚢嚢胞	0	1	0	0	0	0	0	0
	毛嚢炎、巣状	0	1	0	0	0	0	1	1

Fisher の直接確率検定 (両側) 有意差なし、有意水準:  $P \leq 0.05$   
 数値は動物数を示す。