

マウスを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与毒性試験(肝毒性)

-マウスを用いた発がん性試験(毒性資料No.原体-18)の用量設定試験

(毒性資料No.原体-29)

試験機関:

[GLP 非対応]

報告書作成年: 2010 年

本試験の目的:

検体の純度:

試験動物: C57BL/6J マウス、1 群雌雄各 20 匹

投与開始時 6 週齢、体重 雄 17.4~22.3g、雌 14.7~18.4g

投与期間: 28 日間 (2010 年 3 月 24 日~2010 年 4 月 23 日)

投与方法: 検体を 0、500、2000 および 7000ppm の濃度で飼料中に混合し、28 日間投与した。検体を混入した飼料は試験期間中 1 回調製した

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率;

全動物について、生死を毎日 2 回 (週末と休日は 1 回) 確認し、一般状態を少なくとも 1 日 1 回観察した。詳細な身体検査を少なくとも週 1 回実施した。

いくつかの臨床症状が観察されたが、用量に関連した増加は認められなかった。従って検体投与によると考えられる中毒症状は何ら認められなかった。

試験期間中に死亡は認められなかった。

体重;

全動物の体重を、投与開始日およびその後週 1 回測定した。更に、剖検前にも体重を測定した。

平均体重には対照群と検体投与群で雌雄共に差は認められなかった。しかし 7000ppm 群では雌雄共に体重増加に影響がみられた。雄では最初の 1 週目において 1 日あたりの平均体重増加量および平均絶対体重増加量が、対照群に比べそれぞれ 40%、および 43%の低下となった。その後雄では第 2 週、第 3 週の体重増加量は対照群と変わらなくなり、最終週には 1 日あたりの平均体重増加量は対照群の 600%(対照群 0.02g に対して、7000ppm 群 0.12g)となった。雌では最初の 1 週目において 1 日あたりの平均体重増加量は対照群の 38%の低下となり、平均絶対体重増加量は最初の第 3 週において、それぞれ 37%、29%そして 28%の低下となった。その後雌では雄と同様な体重増加を示し、最終週には 1 日

あたりの平均体重増加量は対照群の 157% (対照群 0.07g に対して、7000ppm 群 0.11g) の増加量を示した。

2000ppm 以下では体重増加量にも影響はみられなかった。

摂餌量；

全動物の摂餌量を週 1 回測定した。

投与による摂餌量への影響は雌雄共にいずれの投与群においても認められなかった。

検体摂取量；

各群の検体摂取量を表 1 に示した。

表 1 検体摂取量

投与量 (ppm)		500	2000	7000
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	84.0	326	1184
	雌	95.5	376	1372

血液学的検査；

各群雌雄について動物番号の小さい順の 5 例を選び、投与 30 又は 31 日後に麻酔下で後眼窩静脈叢から採血し、以下の検査に供した。動物は採血前一晩絶食させた。

以下の項目について測定した。

赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球色素量 (MCH)、平均赤血球色素濃度 (MCHC)、網状赤血球数、白血球数、白血球分画、血小板数

表 2 に対照群と比較して統計学的に有意差の認められた項目を示す。

7000ppm 雌群において、白血球数の増加およびリンパ球数の統計学的に有意な増加が認められた*。雌では、網状赤血球数の増加およびその割合のわずかな増加がみられたが、他の赤血球系の項目に変化が認められなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。2000ppm 群以下では雌雄ともにいずれの項目にも影響はみられなかった。

表 2 血液学検査 (統計学的に有意差の認められた項目)

性別	雄			雌			
	投与量 (ppm)	500	2000	7000	500	2000	7000
白血球数							↑ 133
リンパ球 (数)							↑ 143
網状赤血球 (数)							▲ 124
網状赤血球 (%)							▲ 119

↑ : p<0.05、▲ : p<0.01 (Dunnett 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

*申請者注)

臓器重量；

投与 30 又は 31 日後に、全生存動物を屠殺し、以下の臓器重量を測定し、対体重比および対脳重比を算出した。

肝臓、脳

対照群と比較して統計学的に有意差が認められた項目を表 3 に示す。

表 3 臓器重量 (有意差の認められた項目)

性別		雄			雌		
		投与量 (ppm)	500	2000	7000	500	2000
肝臓	対体重比				↓95		↑107

↓ : p<0.05、↑ : p<0.01 (Dunnett 検定)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

7000ppm 群の雌で、肝臓重量(対体重比)が有意に増加した。後述する肝薬物代謝酵素の誘導を伴っていたことから、投与の影響と考えられたが、実重量の増加や随伴する病理所見は認められなかったことから、有害作用とは考えられなかった。なお、500ppm 雌群で、統計学的に有意な肝対体重比の減少が認められたが、実重量に有意な差はみられず、病理組織学的変化も認められなかったことから、検体の影響とは考えられなかった。

病理組織学的検査；

雌雄のそれぞれ対照群と最高用量群である 7000ppm 群について無作為に選んだ各 5 匹の肝臓中葉および左葉の一部を、10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定後、ヘマトキシリン・エオシン (H&E) で染色し病理組織学的検査に供した。

7000ppm 群において、対照群と比べ病理組織学的異常所見は何ら認められなかった。

肝酵素測定；

屠殺時に採取した肝臓について、各群雌雄それぞれ 4 例の肝臓をまとめて計 5 サンプルとし、それぞれホモジナイズしてマイクロゾーム画分を調製し、以下の測定に供した。

総チトクローム P450 量

分光光度法により、マイクロゾーム画分中の総 P450 量を測定した。

P450 アイソザイム活性

エトキシレゾルフィン、ペントキシレゾルフィン、ベンゾキシレゾルフィンおよびラウリン酸を基質として、それぞれ EROD、PROD、BROD および LAH 活性を蛍光分光法により測定した。

EROD : ethoxyresorufin-O-deethylase

PROD : pentoxyresorufin-0-depenthylase
 BROD : benzoxyresorufin-0-debenzylase
 LAH : lauric acid hydroxylase

UDPGT 活性

ビリルビンを基質として、UDP-グルクロノシルトランスフェラーゼ (UDPGT) 活性を測定した。

肝酵素測定結果を表 4 に示す。

表 4 肝酵素測定 (統計学的に有意な差)

性	雄			雌		
	500	2000	7000	500	2000	7000
投与量 (ppm)						
P-450			(125)		↑ 134	▲ 171
EROD			↑ 133			
PROD		▲ 176	▲ 316		▲ 271	▲ 384
BROD	▲ 221	▲ 1122	▲ 1712	▲ 781	▲ 1338	▲ 1906
UDPGT						(124)

↑ : p<0.05, ▲ : p<0.01 (Dunnett 検定 ; 申請者により実施)

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

総 P450 量の増加が雌の 2000ppm 群以上で認められ、雄では統計学的な有意差は認められないものの、7000ppm 群でわずかな増加傾向が認められた。

PROD は雌雄共に 2000ppm 群以上で統計学的に有意な上昇が認められた。

BROD は雌雄共に 500ppm 群以上で統計学的に有意な上昇が認められた。

UDPGT は 7000ppm 群の雌で増加傾向が認められた。

一方 EROD は雄の 7000ppm で統計学的に有意な上昇がみられたが、その増加は 33% と軽度であり検体の影響とは考えられなかった。

また LAH は投与の影響を受けなかった。

このように、検体は PROD、BROD (および UDPGT 活性) を大きく上昇させたことから、フェノバルビタールに類似した肝薬物代謝酵素誘導パターンを示すと考えられた。

これらの変化は病理組織学的所見を伴わなかったことから、毒性作用とは考えられなかった。

以上、本試験における検体の影響として、7000ppm の雌雄群で、投与第 1 週目に体重増加の抑制傾向が顕著にみられた。

従って、本試験における無毒性量は、雌雄ともに 2000ppm (雄 : 326mg/kg /日、雌 : 376mg/kg /日) であると判断された。

2. 代謝物

代謝物[M1]：動物・植物・土壌代謝物

[急性経口毒性]

代謝物[M1]のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料No.代謝物-1)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

検体純度：

供試動物：RjHan:WI 系雌雄ラット、8～9 週齢、

体重；雄 327～340g, 雌 213～220g, 1 群雌雄各 3 匹

観察期間：14 日間

試験方法：OECD ガイドライン No. 423 (毒性等級法)

投与方法：投与日に検体をポリエチレングリコール 400 で調製し、10mL/kg の投与容量で経口投与した。投与前に一晩絶食させた。その際、水は自由に与えた。

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、投与前日、投与日、投与後 7 日および剖検前に行った。全動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄：2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄：>2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄：投与後 1 日 雌：投与後 2 日
症状発現時間及び 消失時間	雄：投与後 10 分～2 日 雌：投与後 10 分～4 日
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄：<2000

初回に雌雄各 3 匹に検体の 2000mg/kg を投与したところ死亡例は認められなかった。そのため、2 回目に初回と同用量を別の雌雄各 3 匹に投与したところ、投与翌日に雌雄各 1 例の死亡が認められた。中毒症状としては雌雄共に、また初回と 2 回目いずれにおいても、投与日に運動性の低下が全動物で認められ、背弯姿勢や協調運動失調、腹臥位を示す動物がみられた。その他軟便、流涎の増加、呼吸困難(死亡例)を示す動物が散見された。投与後 4 日には全ての動物で中毒症状の消失が確認された。

投与体重および体重増加量に投与による影響は認められなかった。

剖検では死亡した 2 例は肺の暗赤色化及び肺の虚脱が認められたが、最終生存動物では検体に起因する所見は認められなかった。

[変異原性]

代謝物[M1]の細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.代謝物-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

検体の純度：

試験系：細菌（ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102））

試験方法：

ヒスチジン要求性のネズミチフス菌（*Salmonella typhimurium*）の上記5菌株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S-9 Mix）の存在下、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に溶解した。設定用量は、以下のとおりとした。

1回目の試験（プレートインコーポレーション法）（ $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ）	
0（無処理/DMSO）, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000	
2回目の試験（プレインキュベーション法）（ $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ）	
S9 mix 無添加（全菌株）	0（無処理/DMSO）, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000
S9 mix 添加（TA102を除く）	0（無処理/DMSO）, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000
S9 mix 添加（TA102）	0（無処理/DMSO）, 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000

それぞれの試験は3反復とした。

陽性対照物質としてアジ化ナトリウム（ NaN_3 ）、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン（4-NOPD）、メチルメタンサルホネート（MMS）、2-アミノアントラセン（2-AA）を用いた。

NaN_3 、MMSは脱イオン水に溶解し、4-NOPD、2-AAはDMSOに溶解した。

用量設定根拠；本試験の用量設定のための予備試験は行わなかった。

試験結果：

結果を下表に示した。

供試した何れの用量においても、代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な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で復帰変異誘発性は有さないものと判断された。

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

薬物	検体濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	0	-	114	17	358	35	17
対照(DMSO)	0	-	129	17	382	40	18
検体	3	-	112	15	385	34	16
	10	-	110	15	393	34	16
	33	-	130	17	337	32	15
	100	-	124	15	362	29	18
	333	-	121	16	386	30	14
	1000	-	109	17	366	35	17
	2500	-	107	13	316	30	15
	5000	-	105	15 ^P	296	33 ^P	17 ^P
無処理	0	+	142	19	363	43	21
対照(DMSO)	0	+	146	27	392	56	25
検体	3	+	125	20	368	43	26
	10	+	126	19	324	44	20
	33	+	124	20	349	45	18
	100	+	129	14	287	37	22
	333	+	130	14	192	41	21
	1000	+	130	18	149	41	20
	2500	+	91	19	100	39	14
	5000	+	104 ^{PR}	15 ^{PR}	39 ^{PR}	30 ^{PR}	14 ^{PR}
陽性対照	NaN ₃	10	-	1652	1689		
	4-NOPD	10	-			333	
	4-NOPD	50	-				86
	MMS	3.0	-			2939	
	2-AA	2.5	+	2202	255		1251
	2-AA	10.0	+			1653	

^P : 検体析出, ^R : 背景細菌叢の生長抑制

NaN₃ : アジ化ナトリウム

MMS : メチルメタンサルホネート

4-NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

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

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	—	—	114	16	420	28	13
対照 (DMSO)	—	—	137	15	393	35	19
	33	—	106	15	416	28	13
	100	—	107	15	416	22	14
	333	—	117	16	432	26	14
	1000	—	115	12	362	22	12
	2500	—	108	12	365	28	9
	5000	—	114	11	334	22	11
無処理	—	+	137	18	525	37	13
対照 (DMSO)	—	+	162	18	614	40	14
検体	3	+			540		
	10	+			540		
	33	+	137	15	507	28	16
	100	+	150	14	490	34	13
	333	+	132	18	338	43	14
	1000	+	156	16	295	28	14
	2500	+	132	17	188	32	10
	5000*	+	134	17	71	32	9
陽性 対照	NaN ₃	10	—	1902	1803		
	4-NOPD	10	—			389	
	4-NOPD	50	—				105
	MMS	3.0	—			3073	
	2-AA	2.5	+	2227	320		2147
	2-AA	10.0	+			2884	

NaN₃ : アジ化ナトリウム

MMS : メチルメタンサルホネート

4-NOPD : 4-ニトロ-*o*-フェニレンジアミン

2-AA : 2-アミノアントラセン

代謝物[M1]のチャイニーズハムスターV79細胞を用いたHPRT 前進突然変異試験

(毒性資料No.代謝物-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2013年

検体の純度：

試験方法:チャイニーズハムスターV79細胞を用い、2回の独立した試験を実施し、培養はそれぞれ2連で行った。3日間培養したチャイニーズハムスターV79細胞保存培養をEDTA含有塩類溶液で洗浄後、トリプシン処理して細胞懸濁液を調製した。1.5×10⁶細胞(単一培養)または5×10²細胞(2連培養)を播種し、24時間後、検体(濃度は用量設定根拠に記載)、溶媒対照および陽性対照物質を含む無血清培地(-S9mix、+S9mix)に置き換え、4時間処理した。処理後Saline Gで2回洗浄して完全培地で置き換えた。試験2の(-S9mix)では24時間検体処理した。生存率測定用の培養は7日後に固定し、コロニーを染色(メチレンブルー)した。3日あるいは4日後に1.5×10⁶細胞を播種し、7日間の発現期間の後、6-TG含有選択培地(変異コロニー数測定)に各3~5×10⁵個の細胞を播種し、また、2個の非選択培地(コロニー形成率)に各約500個の細胞を播種して8日間培養し、メチレンブルーを加えてコロニーを染色した。なお、検体は試験直前にジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解させた(培地中のDMSO最終濃度;0.5%)。一方、陽性対照物質は非代謝活性化条件ではメタンスルホン酸エチル(EMS)を、代謝活性化条件ではジメチルベンズアントラセン(DMBA)を用いた。なお、EMSは栄養培地に、DMBAはDMSOに溶解した。

用量設定根拠；

この結果に基づき、本試験(第1回目試験および第2回目試験)における濃度を以下の通り設定した。

暴露時間	S9 mix	濃度 (µg/mL)					
第1回目試験							
4時間	-	131.3	262.5	525.0	1050*	2100	4200
4時間	+	131.3	262.5	525.0	1050*	2100	4200
第2回目試験							
24時間	-	32.8*	65.6	131.3	262.5	393.8	525.0
4時間	+	131.3	262.5	525.0	1050	2100	4200

なお、第1回目試験では、非代謝活性化における 1050µg/mL*では、検査を続行するには沈殿が多すぎたため、試験の続行を中止し、代謝活性化における 1050µg/mL*では激しい細胞毒性が認められたため、試験の続行を中止した。ガイドラインでは評価可能な濃度を最低4濃度要求しているのので、第2回目試験では 32.8µg/mL*の培養は継続しなかった。

結果：結果を次表に示す。

第1回目試験では非代謝活性化条件下で 525µg/mL 以上で、代謝活性化条件下では 2100µg/mL 以上で沈殿が認められた。第二回目試験では代謝活性化条件下において 2100ppm 以上で沈殿が認められた。

代謝活性化条件の有無に係わらず、変異コロニー数/10⁶ 個細胞の意味のあるそして再現性のある増加は認められなかった。対照群の変異コロニー出現頻度の3倍を超える増加が並行して行われた2連(培養1, 培養2)での培養のうち1連で認められ、第1回目の試験における代謝活性化条件下の 262.5µg/mL を除き全て沈殿の認められる濃度で認められた。すなわち、第1回目試験において代謝活性化条件下では、262.5(沈殿なし)、2100 および 4200µg/mL で並行して行われた培養のひとつ(培養2)で溶媒対照の3倍を超えた。第2回目試験においては、代謝活性化条件下では、4200µg/mL のやはり1連の培養(培養2)で溶媒対照の3倍を超えた。しかしながら、これらは1培養のみの変化で、同様に処理した別の培養では認められなかったことから、上記の変異コロニー出現頻度の増加は生物学的に意味がないかあるいは沈殿によるものと考えた。

第2回目の試験において、2連で行われた試験ともに代謝活性化条件において、変異頻度に用量に依存した増加傾向がみられた(線形回帰分析が有意, それぞれ p=0.027, p=0.003)であった。しかしながら、これも沈殿による影響と考えられたことから生物学的に意味のないものと判断した。

陽性対照の EMS (代謝活性化無し) および DMBA (代謝活性化有り) では、いずれも変異コロニーの顕著な増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で変異原性を示さないと考えられる。

表 1 試験結果 (1 回目)

薬剤	濃度 (µg/mL)	S9 mix	生存率 (%)	コロニー形成率 (%)	変異コロニー数 (/10 ⁶ cells)	変異係数
溶媒対照 (DMSO)			100.0	100.0	15.6	1.0
			100.0	100.0	26.2	1.0
陽性対照 (EMS)	150.0		174.7	95.0	81.3	5.2
			81.6	92.6	165.5	6.3
検体	131.3	-	161.7	105.6	13.1	0.8
			100.4	92.0	22.7	0.9
	262.5		132.5	100.3	26.1	1.7
			40.4	84.1	32.6	1.2
	525.0 ^P		14.1	95.8	26.9	1.7
			0.7	90.5	97.0	3.7
2100.0 ^P	121.7	101.4	17.1	1.1		
	27.7	93.6	19.3	0.7		
4200.0 ^P	178.3	105.2	16.7	1.1		
	88.2	95.5	29.2	1.1		
溶媒対照 (DMSO)			100.0	100.0	21.2	1.0
			100.0	100.0	9.6	1.0
陽性対照 (DMBA)	1.1		95.0	96.9	407.8	19.3
			83.8	107.9	405.7	42.1
検体	131.3	+	101.8	104.1	25.0	1.2
			104.2	125.1	15.5	1.6
	262.5		97.1	118.1	43.0	2.0
			104.5	73.6	67.9	7.0
	525.0		98.5	133.1	10.3	0.5
			101.6	101.8	19.9	2.1
2100.0 ^P	76.7	117.0	14.8	0.7		
	56.7	43.4	53.8	5.6		
4200.0 ^P	74.2	125.4	23.1	1.1		
	106.6	100.1	38.1	4.0		

EMS : メタンスルホン酸エチル

DMBA : ジメチルベンゾアントラセン

P : 沈殿 上段 ; 培養 1, 下段 ; 培養 2

$$\cdot \text{生存率 (相対値)} = \frac{\text{処理直後の平均コロニー数}}{\text{処理直後の対照の平均コロニー数}} \times 100$$

$$\cdot \text{コロニー形成率 (相対値)} = \frac{\text{発現期間後のコロニー形成率の絶対値}}{\text{発現期間後の対照のコロニー形成率の絶対値}} \times 100$$

$$\cdot \text{変異コロニー数 (細胞 } 10^6 \text{ 個当り)} = \frac{\text{TG培地播種後平均変異コロニー数} \times 10^6}{\text{生存細胞数}}$$

$$\cdot \text{変異係数} = \frac{\text{変異コロニー数 (細胞 } 10^6 \text{ 個当り)}}{\text{溶媒対照の変異コロニー数 (細胞 } 10^6 \text{ 個当り)}}$$

表 2 試験結果 (2回目)

薬剤	濃度(μg/mL)	S9 mix	生存率 ^a (%)	コロニー形成率 ^a (%)	変異コロニー数 (/10 ⁶ cells)	変異係数
溶媒対照 (DMSO)			100.0	100.0	7.4	1.0
			100.0	100.0	14.7	1.0
陽性対照 (EMS)	150.0		125.2	112.1	165.1	22.5
			91.9	60.4	333.9	22.8
検体	65.6	-	118.8	102.8	17.2	2.3
			93.2	84.6	13.5	0.9
	131.3		121.3	123.8	8.3	1.1
			79.7	87.8	12.3	0.8
	262.5		128.1	116.7	9.7	1.3
			92.9	99.1	7.2	0.5
	393.8		109.9	111.0	7.1	1.0
			86.7	92.1	8.9	0.6
525.0	109.2	108.5	9.5	1.3		
83.9	88.4	15.5	1.1			
溶媒対照 (DMSO)			100.0	100.0	31.1	1.0
			100.0	100.0	10.0	1.0
陽性対照 (DMBA)	1.1		95.5	107.1	281.6	9.1
			104.2	99.6	282.7	28.3
検体	131.3	+	107.7	236.7	7.0	0.2
			113.2	117.8	12.8	1.3
	262.5		99.7	186.5	12.4	0.4
			122.3	118.2	15.9	1.6
	525.0		96.4	201.5	9.0	0.3
			125.1	114.7	16.3	1.6
	1050.0		87.3	84.3	28.9	0.9
			87.9	119.9	13.1	1.3
	2100.0 ^P		108.0	151.5	17.9	0.6
			111.7	101.5	18.6	1.9
4200.0 ^P	104.7	85.8	62.7	2.0		
	132.5	98.3	30.7	3.1		

EMS : メタンスルホン酸エチル DMBA : ジメチルベンゾアントラセン

P : 沈殿 上段 ; 培養 1, 下段 ; 培養 2

S9mix; - (24 時間処理), + (4 時間処理)

- ・ 生存率 (相対値) $= \frac{\text{処理直後の平均コロニー数}}{\text{処理直後の対照の平均コロニー数}} \times 100$
- ・ コロニー形成率 (相対値) $= \frac{\text{発現期間後のコロニー形成率の絶対値}}{\text{発現期間後の対照のコロニー形成率の絶対値}} \times 100$
- ・ 変異コロニー数 (細胞 10⁶ 個当り) $= \frac{\text{TG 培地播種後平均変異コロニー数} \times 10^6}{\text{生存細胞数}}$
- ・ 変異係数 $= \frac{\text{変異コロニー数 (細胞 10}^6 \text{ 個当り)}}{\text{溶媒対照の変異コロニー数 (細胞 10}^6 \text{ 個当り)}}$

代謝物[M1]のチャイニーズハムスターV79細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験
(毒性資料No.代謝物-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

検体純度：

投与方法：チャイニーズハムスターV79細胞を用い、代謝活性化存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解して用いた(DMSO:培養液中最終濃度0.5%(V/V))。陽性対照としては非代謝活性化存在下でEMS(Ethylmethane sulfonate)および代謝活性化存在下ではCPA(Cyclophosphamide)を用いた。EMSは栄養培地に、CPAは生理食塩水に溶解した。

いずれも調製は処理直前に行った。

培養は2連で行い、1濃度あたり100個の分裂中期像について観察した。

用量設定根拠：

試験1

試験群	S9 mix	培地中の濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理時間 (時間)	回収時間 (時間)
溶媒対照(DMSO)	-	0	4	18
検体	-	700.0	4	18
検体	-	875.0	4	18
検体	-	1000.0	4	18
検体	-	1250.0*	4	18
検体	-	1750.0*	4	18
検体	-	3500.0*	4	18
陽性対照(EMS)	-	1000.0	4	18
溶媒対照(DMSO)	+	0	4	18
検体	+	437.5*	4	18
検体	+	875.0*	4	18
検体	+	1750.0*	4	18
検体	+	3500.0	4	18
陽性対照(CPA)	+	1.4	4	18

*：染色体異常を評価した。

試験 2

試験群	S9 mix	培地中の濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理時間 (時間)	回収時間 (時間)
溶媒対照 (DMSO)	-	0	18	18
検体	-	13.7	18	18
検体	-	27.3	18	18
検体	-	54.7*	18	18
検体	-	109.4*	18	18
検体	-	218.8*	18	18
検体	-	437.5	18	18
検体	-	875.0	18	18
検体	-	1750.0	18	18
検体	-	3500.0	18	18
陽性対照 (EMS)	-	600.0	18	18
溶媒対照 (DMSO)	+	0	4	18
検体	+	500.0	4	18
検体	+	600.0*	4	18
検体	+	700.0*	4	18
検体	+	800.0*	4	18
検体	+	900.0	4	18
検体	+	1000.0	4	18
検体	+	1250.0	4	18
検体	+	1750.0	4	18
検体	+	3500.0	4	18
陽性対照 (CPA)	+	1.4	4	18

* : 染色体異常を評価した。

試験結果 : 結果の概要を次頁の表に示した。

試験 1 では代謝活性化条件下において 875.0 $\mu\text{g/mL}$ 以上で沈殿が認められた。試験 2 では非代謝活性化条件下において 1750 $\mu\text{g/mL}$ 以上で、代謝活性化条件下において 800.0 $\mu\text{g/mL}$ 以上で沈殿が認められた。オスモル濃度および pH にはいずれの濃度においても影響は認められなかった。

試験 1 では、代謝活性化の有無にかかわらず、最高濃度まで、細胞毒性 (細胞数の減少あるいは分裂指数の減少) も観察されなかった。一方試験 2 では、非代謝活性化条件下で有糸分裂指数の低下 (55.3%) が 218.8 $\mu\text{g/mL}$ (評価に使用した最高濃度) で認められた。

染色体異常は代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。しかし試験 2 において、代謝活性化条件で、700.0 および 800.0 $\mu\text{g/mL}$ で GAP を含めない異常細胞数の割合 (それぞれ 5.3 および 5.5%) が背景データ (0.0~4.0%) を超えた。しかし、統計学的な有意差を伴わなかったことから、生物学的に意味のあるものとは考えなかった。

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

また倍数性細胞数については、溶媒対照(2.6~3.2%)に比べ、わずかな増加が認められたが、用量に関連した変化ではなく、また試験2の代謝活性化条件下では、倍数性細胞数の増加が確認できなかったことから、意味のあるものとは考えられなかった。

陽性対照のEMSおよびCPAは染色体異常を持つ細胞数の明白な増加を示した。

以上の結果に基づき、検体は本試験条件においてチャイニーズハムスターV79細胞に対して、代謝活性化の有無にかかわらず、染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

表. 結果

薬物	濃度 μg/mL	S9 mix	処理 時間	回収 時間	観 察 細 胞 数	異常の分類										異常細胞(%)					
						ギャップ*		染色分体型				染色体型				その他		ギャップ		交換	
						g	ig	b	f	d	Ex	ib	if	id	cx	ma	cd	含む	除外	含む	
DMSO	0					0	0	3	0	0	1	2	0	0	0	0	0	2.0	2.0	0.5	
検体	1250.0	-	4	18	200	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2.0	2.0	0.5	
	1750.0					1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.5	1.0	0.0
	3500.0					4	0	4	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	5.0	3.5	1.5
	EMS					1000.0	1	0	25	2	0	48	4	2	0	0	0	0	28.5	28.5*	18.5
DMSO	0					4	0	5	0	0	2	2	0	0	0	0	5.5	3.5	1.0		
検体	437.5	+	4	18	200	2	1	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	3.0	2.0	0.5	
	875.0 ^P					3	0	5	0	0	1	0	2	0	1	0	0	5.0	3.5	1.0	
	1750.0 ^P					0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1.0	1.0	1.0	
	CPA					1.4	4	0	13	5	0	15	2	2	0	0	0	0	16.5	15.0*	6.5
DMSO	0					1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	2.5	1.5	0.0		
検体	54.7	-	18	18	200	0	0	5	1	0	1	0	1	0	0	0	0	3.5	3.5	0.5	
	109.4					1	0	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5	3.0	0.0	
	218.8					2	1	3	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3.5	2.0	0.5	
	EMS					600.0	2	0	20	2	0	12	8	1	0	1	0	0	17.0	16.0*	6.0
DMSO	0					200	1	0	2	2	0	5	3	0	0	0	4.5	4.0	2.0		
検体	600	+	4	18	400	3	0	9	1	0	5	0	0	0	0	0	0	4.0	3.3	1.3	
	700					4	0	13	2	0	7	0	1	0	0	0	0	6.0	5.3	1.8	
	800 ^P					200	0	0	6	0	0	4	1	0	0	0	0	5.5	5.5	2.0	
	CPA					1.4	200	0	0	17	1	0	7	3	1	0	0	0	12.0	12.0*	3.5

*: p<0.01 (Fisher exact test)

P: 沈殿が認められた。

g: 染色分体型ギャップ, ig: 染色体型ギャップ, b: 染色分体型切断
 f: 染色分体型断片, d: 染色分体型欠失, ib: 染色体型切断
 if: 染色体型断片, id: 染色体型欠失, ex: 染色分体型交換
 ma: 重複異常, cd: 染色体破損 cx: 染色体型交換

代謝物[M8] : 動物・土壌代謝物

[急性経口毒性]

代謝物[M8]のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料No.代謝物-5)

試験機関

(ハンガリー)

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2012 年

検体純度 :

供試動物 : RjHan:WI 系雌雄ラット、9 週齢、

体重 ; 雄 333~341g, 雌 200~210g, 1 群雌雄各 3 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : OECD ガイドライン No. 423 (毒性等級法)

投与方法 : 投与日に検体を 1%メチルセルロース水溶液で調製し、10mL/kg の投与容量で経口投与した。投与前に一晚絶食させた。その際、水は自由に与えた。

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、投与前日、投与日、投与後 7 日および剖検前に行った。全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 : 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 : >2000
死亡開始時間及び 終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び 消失時間	中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 : 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 : 2000

検体の 2000mg/kg を雌雄各 3 匹にそれぞれ投与した結果、初回目投与群、2 回目投与群ともに、何ら中毒症状は認められず、死亡例もみられなかった。

体重および体重増加量に投与による影響は認められなかった。

剖検では、検体に起因すると考えられる所見は認められなかった。

[変異原性]

代謝物[M8]の細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.代謝物-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

検体の純度：98.4%

試験系：細菌 (ネズミチフス菌 (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102))

試験方法：

ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の上記 5 菌株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下、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 に溶解した。設定用量は、以下のとおりとした。

1 回目の試験(プレートインコーポレーション法)

0(無処理, DMSO), 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 μ g/プレート

2 回目の試験(プレインキュベーション法)

0(無処理, DMSO), 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 μ g/プレート

それぞれの試験は 3 反復とした。

陽性対照物質としてアジ化ナトリウム(NaN_3)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(4-NOPD)、メチルメタンサルホネート(MMS)、2-アミノアントラセン(2-AA)を用いた。

NaN_3 、MMS は脱イオン水に溶解し、4-NOPD、2-AA は DMSO に溶解した。

用量設定根拠；本試験の用量設定のための予備試験は行わなかった。

試験結果：

結果を下表に示した。

供試した何れの用量においても、代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

なお、いずれの用量においても沈殿は認められなかった。

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

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

薬物	検体濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	0	—	142	20	365	37	20
対照 (DMSO)	0	—	136	13	388	25	15
検体	3	—	120	14	375	28	14
	10	—	117	14	378	29	15
	33	—	125	14	374	22	13
	100	—	118	12	365	28	13
	333	—	112	16	370	27	15
	1000	—	119	14	391	27	17
	2500	—	143	15	371	27	16
5000	—	131	12	355	35	15	
無処理	0	+	143	18	445	40	25
対照 (DMSO)	0	+	120	21	430	41	19
検体	3	+	122	20	373	41	20
	10	+	124	18	385	36	20
	33	+	121	22	424	40	18
	100	+	133	19	387	36	17
	333	+	115	24	384	44	20
	1000	+	150	19	374	44	21
	2500	+	117	18	332	35	22
5000	+	117	19	392	42	20	
陽性 対照	NaN ₃	10	—	1752	1601		
	4-NOPD	10	—			313	
	4-NOPD	50	—				92
	MMS	3.0	—			3503	
	2-AA	2.5	+	2926	271		2078
	2-AA	10.0	+			2079	

NaN₃ : アジ化ナトリウム
MMS : メチルメタンサルホネート
4-NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン、
2-AA : 2-アミノアントラセン

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

薬物	検体濃度 µg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	0	—	165	18	378	39	12
対照 (DMSO)	0	—	132	15	370	29	15
	33	—	143	14	373	28	13
	100	—	120	16	368	33	13
	333	—	144	13	399	32	12
	1000	—	145	15	352	34	12
	2500	—	131	11	348	32	11
	5000	—	140	16	330	35	11
無処理	0	+	148	21	513	36	16
対照 (DMSO)	0	+	176	14	432	50	18
	33	+	149	15	444	40	19
	100	+	144	15	449	46	16
	333	+	142	14	410	49	16
	1000	+	149	14	399	44	15
	2500	+	155	18	421	44	17
	5000	+	142	17	378	40	16
陽 性 対 照	NaN ₃	10	—	1921	1865		
	4-NOPD	10	—			389	
	4-NOPD	50	—				112
	MMS	3.0	—			2646	
	2-AA	2.5	+	2732	357		2058
	2-AA	10.0	+			2166	

NaN₃ : アジ化ナトリウム
MMS : メチルメタンサルホネート
4-NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン、
2-AA : 2-アミノアントラセン

代謝物[M10] : 土壌代謝物

[急性経口毒性]

代謝物[M10]のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料No.代謝物-7)

試験機関

[GLP 対応]

報告書作成年 : 2012 年

検体純度 :

供試動物 : RjHan:WI 系雌雄ラット、9 週齢、

体重 ; 雄 339~350g, 雌 207~215g, 1 群雌雄各 3 匹

観察期間 : 14 日間

試験方法 : OECD ガイドライン No. 423 (毒性等級法)

投与方法 : 投与日に検体を 1%メチルセルロース水溶液で調製し、10mL/kg の投与容量で経口投与した。投与前に一晩絶食させた。その際、水は自由に与えた。

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、投与前日、投与日、投与後 7 日および剖検前に行った。全動物について肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 : 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 : >2000
死亡開始時間及び 終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び 消失時間	中毒症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 : 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 : 2000

検体の 2000mg/kg を雌雄各 3 匹にそれぞれ投与した結果、初回目投与群、2 回目投与群ともに、何ら中毒症状は認められず、死亡例もみられなかった。

体重および体重増加量に投与による影響は認められなかった。

剖検では、検体に起因すると考えられる所見は認められなかった。

[変異原性]

代謝物[M10]の細菌を用いた復帰変異原性試験

(毒性資料No.代謝物-8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2011年

検体の純度：

試験系：細菌（ネズミチフス菌（TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102））

試験方法：

ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) の上記 5 菌株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下、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 に溶解した。設定用量は、以下のとおりとした。

1 回目の試験(プレートインコーポレーション法)

0(無処理, DMSO), 3, 10, 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 μ g/プレート

2 回目の試験(プレインキュベーション法)

0(無処理, DMSO), 33, 100, 333, 1000, 2500, 5000 μ g/プレート

それぞれの試験は 3 反復とした。

陽性対照物質としてアジ化ナトリウム(NaN_3)、4-ニトロ-o-フェニレンジアミン(4-NOPD)、メチルメタンサルホネート(MMS)、2-アミノアントラセン(2-AA)を用いた。

NaN_3 、MMS は脱イオン水に溶解し、4-NOPD、2-AA は DMSO に溶解した。

用量設定根拠；本試験の用量設定のための予備試験は行わなかった。

試験結果：

結果を下表に示した。

供試した何れの用量においても、代謝活性酵素の存在下、非存在下に関わらず、検体による復帰変異コロニー数の生物学的に有意な増加は観察されなかった。一方、陽性対照は何れも顕著な変異コロニー数の増加を示した。

なお、いずれの用量においても沈殿は認められなかった。

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

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

薬物	検体濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	0	—	148	15	469	30	18
対照 (DMSO)	0	—	120	16	475	26	19
検体	3	—	117	18	479	28	17
	10	—	152	16	449	28	18
	33	—	128	17	469	28	20
	100	—	129	18	471	26	18
	333	—	134	15	467	27	20
	1000	—	144	13	461	30	18
	2500	—	139	13	496	37	18
	5000	—	161	10 ^{MU}	527	22 ^{MU}	14 ^{MU}
無処理	0	+	165	23	633	45	25
対照 (DMSO)	0	+	152	20	611	41	29
検体	3	+	152	19	615	45	24
	10	+	147	22	626	41	29
	33	+	152	20	578	38	29
	100	+	142	20	602	41	29
	333	+	146	23	616	46	28
	1000	+	142	19	631	45	30
	2500	+	151	22	631	28 ^{MU}	33
	5000	+	155	22	608	24 ^{MU}	30
陽性 対照	NaN ₃	10	—	2108	1965		
	4-NOPD	10	—			294	
	4-NOPD	50	—				79
	MMS	3.0	—		4961		
	2-AA	2.5	+	3010	454		2841
	2-AA	10.0	+			2882	

M：手動でカウント，U：気泡

NaN₃：アジ化ナトリウム，MMS：メチルメタンスルホネート，

4-NOPD：4-ニトロ-o-フェニレンジアミン，2-AA：2-アミノアントラセン

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

薬物	検体濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	TA102	TA98	TA1537
無処理	0	—	154	18	355	39	9
対照 (DMSO)	0	—	123	17	375	32	10
	33	—	124	16	362	36	12
	100	—	118	20	383	31	11
	333	—	141	16	395	26	10
	1000	—	116	17	417	32	12
	2500	—	124 ^P	19 ^P	397 ^P	36 ^P	12
	5000	—	134 ^P	11 ^M	460 ^P	34 ^P	11
無処理	0	+	180	25	474	40	15
対照 (DMSO)	0	+	132	15	378	38	14
	33	+	125	18	404	43	15
	100	+	119	16	348	39	15
	333	+	134	17	387	38	18
	1000	+	139	15	434	35	15
	2500	+	119	18	407	37	14
	5000	+	149 ^P	19 ^P	451	37 ^P	16
陽 性 対 照	NaN ₃	10	—	1745	2038		
	4-NOPD	10	—			402	
	4-NOPD	50	—				97
	MMS	3.0	—			1760	
	2-AA	2.5	+	1567	357		2030 309
	2-AA	10.0	+			1660	

M : 手でカウント, P : 沈殿

NaN₃ : アジ化ナトリウム, MMS : メチルメタンサルホネート,

4-NOPD : 4-ニトロ-o-フェニレンジアミン, 2-AA : 2-アミノアントラセン

3. 製剤

(1) 急性毒性

ラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：

組成

供試動物：SD (Cr1:CD) 系ラット 雌、1群各3匹、試験開始時8週齢、体重 177.6~197.5g

観察期間：14日間観察

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体は用時調製とし、必要量を秤量後、乳鉢内で注射用水に懸濁させ所定濃度に調製した。投与前日より約16時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。投与用量は2000mg/kgのみとし、初回及び2回目投与群に同用量を投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

観察・検査項目：投与当日は検体投与後30分、1、2、4及び6時間に、投与1日後からは毎日1回、一般状態と死亡の有無を14日間観察した。

体重は投与前、投与後1、3、7日及び14日目に測定した。

観察終了時全動物についてCO₂ガス麻酔下で腹大動脈から放血して安楽死させ、剖検した。

試験結果：

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

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

初回及び2回目投与のいずれも、毒性の徴候や死亡は全く認められず、体重も観察期間を通じて順調に推移した。なお、投与1日後にのみ検体の色をした便が全例にみられ、1例に粘液便を観察したが、これらは検体の毒性徴候とは考えなかった。剖検において肉眼的異常所見は認められなかった。

ラットにおける急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：

組成

供試動物：SD 系 (Cr1:CD) ラット雌雄，1 群雌雄各 5 匹，

試験開始時：雄；8 週齢，雌；9 週齢，体重：雄；274.3～289.8g，雌；225.1～248.6g

観察期間：14 日間観察

投与方法：投与前日に動物の背部被毛を約5×6cmの広さで刈毛した。

検体は投与前直前の体重を基に投与用量2000mg/kgの必要量を秤量後、ビニールフィルムを付着させたリント布に均一に載せて注射用水で湿潤させ、投与部位に貼付し、24時間固定した。貼付後24時間に被覆物を除き、投与部位の被験物質を微温湯で除去した。対照群は検体を除いて、同様に処置した。

観察・検査項目：投与当日は検体投与30分後、1、2、4および6時間後に、投与1日後からは毎日1回、一般状態および死亡を14日間観察した。

体重は検体投与前、投与後3、7日および14日目に測定した。

観察終了時、全動物についてCO₂ガス麻酔下で腹大動脈から放血して安楽死させ、剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 0, 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	発症例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄 2000

雌雄共に中毒症状および死亡は全く認められず、平均体重においても検体投与に関連する影響は認められなかった。剖検において肉眼的異常所見は認めなかった。

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

ラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

被験物質：

組成

試験成績の提出除外

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

[除外根拠]

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

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

ウサギの皮膚に対する一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012年

被験物質：

組成

供試動物：NZW (Yac: NZW(KBL)) 系ウサギ 雄, 1群3匹,
試験開始時 11 週齢, 投与時体重 2.04~2.26kg

観察期間：72時間観察

試験方法：投与前日に動物の背部を剪毛し、正中線を対称軸として左右に分け、左右各約2.5×2.5cmを検体投与及び対照部位とした。微粉碎した検体を0.5g適用し、0.5mLの注射用水で湿潤させ、リント布とガーゼで覆い、粘着性伸縮包帯を巻きつけ、紙テープで固定した。また、対照部位にはリント布のみを同様に適用した。4時間後、被覆物を取り除き、微温湯で投与部位の検体を除去した。

観察項目：一般状態を毎日観察し、投与日および観察終了時に体重測定を行った。
皮膚については検体除去後1、24、48および72時間に紅斑および痂皮の形成と浮腫についてDraizeの基準に従って評価した。

刺激性の評価：皮膚の観察結果から、皮膚一次刺激性指数 (Primary irritation index: P. I. I.) を求めて以下の基準で刺激性を評価した。

P. I. I. はまず、個体別に各観察時間の評点を合計し、観察回数 (4回) で除して個体別の皮膚一次刺激性指数 (Individual P. I. I.) を求めた後、さらに、供試した3匹の値を平均して求めた。

評価基準	P. I. I.
無刺激物	0
軽度刺激物	$0 < P. I. I. \leq 2$
中等度刺激物	$2 < P. I. I. \leq 5$
強度刺激物	$5 < P. I. I. \leq 8$

試験結果：観察した刺激性変化を次表に示す。

動物番号	項目	最高 評点	処理後時間（時間）				P. I. I.	
			1	24	48	72		
1	紅斑・痂皮	4	0	0	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	0	0	0	0		
	浮腫	4	0	0	0	0		
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0		
	浮腫	12	0	0	0	0		
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0		
	浮腫	4	0	0	0	0		

観察期間を通じて一般状態に異常は認められず、体重も順調に増加を示した。皮膚観察において、3例のいずれにも皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの皮膚に対し、無刺激物と判断された。

ウサギの眼に対する一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：

組成

供試動物：NZW (Yac:NZW(KBL)) 系ウサギ 雄、1 群 3 匹、試験開始時 11 週齢、
投与時体重 2.12~2.32kg

観察期間：6日間観察

試験方法：非洗眼群では、動物の右下眼瞼結膜嚢内に微粉碎した検体0.1gをそのまま投与し、
約1秒間両眼瞼を軽く合わせ保持した。左眼は無処置対照眼とした。洗眼群では、
非洗眼群と同様に検体0.1gを右下眼瞼結膜嚢内に投与し、投与30秒後に30mLの注
射用水で30秒間洗眼した。左眼は同様に洗眼操作のみを行い、洗眼対照眼とした。

観察項目：一般状態を毎日観察し、投与日及び観察終了時（非洗眼群は6日、洗眼群は3日）
に体重測定を行った。

眼については投与後1、24、48及び72時間後に角膜、虹彩、結膜について観察し、
Draizeの基準に従って評価し、Kay and Calandraの方法を参照して刺激性を評価
した。また、投与24時間後にはフルオレセイン染色により角膜の異常の有無につ
いても観察した。なお、眼刺激性が72時間後に洗眼群では認められなかったため
に実験を終了したが、非洗眼群では眼刺激性を認めたために投与6日まで観察を行
った。

試験結果：非洗眼群及び洗眼群のいずれにおいても、一般状態に異常は認められず、体重増
加も順調に推移した。

眼の刺激性観察結果を次頁の表に示した。

非洗眼群では投与1時間後から96時間後まで、3例全例で評点1の結膜発赤および結
膜浮腫が認められた。投与5日では1例のみに評点1の結膜発赤および結膜浮腫が認
められたが、他の2例では眼刺激性所見は消失していた。投与6日では3例全例に眼
刺激性所見を認めなかった。

洗眼群では、投与後1時間および24時間に3例全例で評点1の結膜発赤および結膜浮腫が認められたが、投与後48時間では眼刺激性所見は消失した。

なお、非洗眼群、洗眼群のいずれも24時間後の観察で実施したフルオレセインを用いた観察で角膜の損傷は認めなかった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対し「軽度の刺激性あり」と判断された。また、洗眼による眼刺激反応の軽減が認められた。

表. 眼の刺激性観察結果

項 目			最高※ 評点	適用後時間 (時間)							
				1	24	48	72	96	5日	6日	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	1	0
			浮腫	4	1	1	1	1	1	1	0
			分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0
			分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 3	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	1	1	1	0	0
			分泌物	3	0	0	0	0	0	0	0
	合計*			330	12.0	12.0	12.0	12.0	12.0	4.0	0
	平均			110	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	1.3	0
	洗 眼 群	3匹 平均	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	-	-
面積				4	0	0	0	0	-	-	-
虹 彩			2	0	0	0	0	-	-	-	
結膜			発赤	3	1	1	0	0	-	-	-
			浮腫	4	1	1	0	0	-	-	-
			分泌物	3	0	0	0	0	-	-	-
合計*			330	12.0	12.0	0	0	-	-	-	

※ 判定基準の最高評点 * Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

-: 実験終了

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料 No. 製剤-6)

試験機関：(株)

[GLP 対応]

報告書作成年：2012 年

被験物質：

組成

供試動物：モルモット ハートレー系 (Slc:Hartley) 雄、5 週齢、体重 348～424g
1群20匹 (感作群) 及び10匹 (非感作群)

観察期間：30日間

試験方法：Buehler法

投与量設定根拠：

感 作：感作開始前日にモルモットの肩部位を電気バリカンと電気シェーバーで毛刈りした。直径2×2cmのパッチに検体0.2gを塗布し、注射用水0.2mLで湿潤させて皮膚に貼付し、伸縮性粘着テープで固定した。貼付6時間後にパッチを除去し、微温湯で湿らせた脱脂綿で清拭した。対照群は検体を除いて、同様に処置した。以上の操作を、7日間隔で3回行った。

惹 起：最終感作の14日後に実施した。惹起前日に左右腹側部を毛刈りし、惹起日に感作と同様の方法で検体0.2gを左腹側に貼付し、6時間適用した。右腹側は注射用水0.2mLのみを同様に適用した。貼付6時間後にパッチを除去し、微温湯で湿らせた脱脂綿で清拭した。

観察項目：試験中は毎日1回動物の一般状態を観察した。体重は初回感作日(0日)及び観察終了日(30日)に測定した。皮膚については、惹起貼付除去後24及び48時間に適用部位を観察し、Magnusson & Kligmanの基準に従い評点した。

評価：皮膚反応の評点結果から、観察時期ごとの群の平均評点を算出するとともに、評点1以上を陽性とする感作率（陽性率）を求め、Magnussonらの皮膚感作性の分類にしたがって感作性の程度を分類した。

試験結果：結果を下表に示した。

群				動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)	
					除去後 24 時間					除去後 48 時間						
					評点					評点					24h	48h
	感作	惹起		0	1	2	3	計	0	1	2	3	計			
検体	感作群	100% 検体	100% 検体	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
			注射用水		20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	対照群	注射用水	100% 検体	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
			注射用水		10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照	感作群	1%*	0.1%*	10	0	0	1	9	10/10	0	0	1	9	10/10	100	100
			オリーブオイル		10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
	対照群	オリーブオイル	0.1%*	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
			オリーブオイル		10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0

陽性対照試験はCDNB(1-Chloro-2, 4-dinitrobenzene)を用いて2012年7月2日～8月1日に実施

*CDNBはオリーブオイルで調製

試験期間中いずれの動物にも一般状態の異常を認めず、検体による体重への影響も認められなかった。全ての動物において、惹起後に皮膚反応は認められず、いずれの群においても平均評点は0点、陽性率は「0%」であった。なお、試験施設で定期的に実施した陽性対照物質（CDNB:1-Chloro-2,4-dinitrobenzene）での試験では、CDNBに明らかな感作性が認められていることから、動物の感受性および試験方法に対する信頼性が確認された。

以上の結果から、本検体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関/国名/報告年	記載頁
代1 GLP	動物 代謝	ラット 雌雄	¹⁴ C トリア ファモン 2 mg/kg体重、 200 mg/kg体重 単回経口投与 吸収、分布、排泄、 代謝、胆汁	低用量では投与約 20 分後に最大血漿中濃度に達し、1.5~2 時間後には半減した。約 80%が尿へ、約 20%が糞へ排泄された。主要代謝物として、 が認められ、主代謝経路はケト基の還元、脱メチル化であった。尿及び糞の代謝物は類似しており、雌雄の差も認められなかった。	2013 年	代- 11
代2 GLP	動物 代謝	ラット 雌雄	¹⁴ C トリ アファモン 2 mg/kg体重 単回経口投与 吸収、分布、排泄、 代謝	標識位置による代謝物の違いは認められず、約 80%が尿から排泄され、 が主要代謝物であった。	2013 年	代- 22
代3 GLP	動物 代謝	ラット 雌雄	¹⁴ C トリア ファモン 5 mg/kg体重 単回経口投与 経時的な臓器・組織中濃度	投与 1 時間後には各臓器で最大濃度となり、この時点で肝臓及び腎臓は血中濃度より高く、その他の臓器では血液より低いか同等であった。7 日後までに大部分の臓器で定量限界未満に減少した。	2012 年	代- 29
代4 GLP	動物 代謝	ラット 雌雄	¹⁴ C トリ アファモン 5 mg/kg体重 単回経口投与 経時的な臓器・組織中濃度	フェニル標識と類似の結果であり、臓器・組織への蓄積は認められなかった。	2012 年	代- 36

代5 GLP	植物 代謝	水稲	¹⁴ C トリアファモン 50g/ha 相当1回(湛水処理) 及び 2 回 処理では (湛水+ 茎葉処理)	1回処理における総放射能残留 量はわらで約 1.0ppm、玄米で 0.014ppm であった。主代謝物 は、わら、玄米共に であった。わらではトリア ファモンも認められた。主代謝 経路は の生成、その後のグル コースとの抱合であった。トリア ジン環とフェニル環との間 の架橋部の開裂が認められた。	2012 年	代- 43
代6 GLP	植物 代謝	水稲	¹⁴ C トリアファモン 50g/ha 相当1回(湛水処理) 及び 2 回 処理では (湛水+ 茎葉処理)	1回処理における総放射能残留 量はわらで約 1.3ppm、玄米で 0.027ppm であった。代謝物は 玄米で が認められ、わ らでは が認められた。主代謝 物は玄米、わら共に であった。	2012 年	代- 49

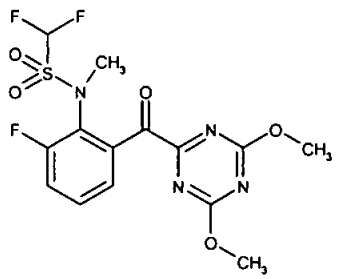
代7 GLP	好気 的湛 水土 壤中 分解 動態	水田 土壤	¹⁴ C トリ アファモン 0.2 mg/kg乾土 (圃 場処理量の 4 倍相 当量) 25±2°C、182 日間	トリアファモンは水相中で 75.8%から<LODへ減少し、土 壤中でも並行して 26.8%AR か ら 1.6%へ減少した。10%以上 の代謝物として、 が認められ、主代謝経 路はケト基の還元、O-脱メチル 化、トリアジン環の開裂等であ った。CO ₂ は 3.3%AR、未抽出 残渣は 16.9%AR。トリアファ モンの半減期は 5.1 日であり、 主代謝物は で あった。	2012 年	代 - 55
代8 GLP	好気 的湛 水土 壤中 分解 動態	水田 土壤	¹⁴ C ト リアファモン 0.2 mg/kg乾土 (圃 場処理量の 4 倍相 当量) 25±2°C、174 日間	標識と類似の分解 物の種類、量、経路が確認され た。トリアファモンの半減期は 6.0 日。CO ₂ は 21.2%、未抽出 残渣は 13.6%であった。	2012 年	代 - 63
代9 GLP	好気 的土 壤中 動態	好気 土壤 4 種	¹⁴ C トリ アファモン 0.267 mg/kg乾土 20±2°C、126 日間	トリアファモンの半減期は 0.3 ~0.6 日であった。最主要代謝 物は であった が、速やかに減少した。 の開裂も認められた。 CO ₂ は 126 日後で約 16~40%認 められた	2012 年	代 - 71

代 10 GLP	好氣的 土壤中 動態	好気土壤 4種	¹⁴ C トリア ファモン 0.267 mg/kg 乾土 20±2°C、120 日間	標識と同様、主代謝 物は であり、 速やかに分解した。 の開裂も認められ、CO ₂ も120日後で20～56.4%認め られた。トリアファモンの半 減期は0.3～0.5日であった。	2012年	代- 84
代 11 GLP	加水分 解動態	緩衝液 (pH4, 7, 9)	¹⁴ C トリアファモ ン 0.94 ~ 1.0mg/L 50°C、25°C、 20°C	アルカリ性では速やかに分 解し、25°Cにおける半減期は pH9 で2.4日、pH7 では118 日、pH4 では安定であった。 主分解物は 体であった。	2012年	代- 94
代 12 GLP	加水分 解動態	緩衝液 (pH4, 7, 9)	¹⁴ C トリア ファモン 1.0～1.1mg/L 50°C、25°C、 20°C	標識と同様の結果 であった。pH9 25°Cにおけ る半減期は2.4日、pH7 では 153日、pH4 では411日であ った。主分解物は であった。	2012年	代- 100
代 13 GLP	水中光 分解動 態	緩衝液 (pH5)	¹⁴ C トリアファモ ン 1.1 mg/L 24.7°C、782 W/m ² (300～ 800nm)	実験条件下における光分解 半減期は15.8日、東京換算 で117日であった。分解物は 少量多数に分布し、10%以上 の分解物は認められなかつ た。暗対照は分解しなかつ た。	2012年	代- 106

代 14 GLP	水中光 分解動 態	緩衝液 (pH5)	¹⁴ C トリア ファモン 0.99 mg/L 24.3℃、765 W/m ² (300～ 800nm)	実験条件下における光分解 半減期は 14.8 日、東京換算 で 107 日であった。分解物は 少量多数に分布し、10%以上 の分解物は認められなかつ た。暗対照は分解しなかつ た。	2012 年	代- 111
代 15 GLP	水中光 分解動 態	自然水 (pH8.5)	¹⁴ C トリアファモ ン 1.1 mg/L 25.1℃、782 W/m ² (300～ 800nm)	トリアファモンの自然水に おける光分解半減期は実験 条件下で 1.7 日、東京換算で 12.6 日であった。主代謝物は であった。暗 対照の半減期は 1.3 日であつ た。	2013 年	代- 115
代 16 GLP	水中光 分解動 態	自然水 (pH8.2)	¹⁴ C トリア ファモン 1.1 mg/L 25.3℃、766 W/m ² (300～ 800nm)	トリアファモンの自然水に おける光分解半減期は実験 条件下で 1.9 日、東京換算で 14.2 日であった。主代謝物は であった。暗 対照の半減期は 1.8 日であつ た。	2013 年	代- 121
代 17 GLP	加水分 解動態	緩衝液 (pH4, 7, 9)	0.97 ～ 1.14 mg/L 50、25、20℃	の加水分解 は pH に依存しており、25℃ における半減期は、pH9 で 22.8 日であった。pH4 及び pH7 ではほぼ安定であった。	2012 年	代- 127
代 18 GLP	水中光 分解動 態	緩衝液 (pH5)	1.04 mg/L 24.9℃、 471.2W/m ² (300～ 800nm)	25℃ pH5 の緩衝液中で は光分解しなかつ た。	2012 年	代- 131

代19 GLP	土 壤 吸 着	日本土 壤 2 種	¹⁴ C トリアファモ ン 0.009 ~ 1.290 mg/L の 5 濃度、 25℃	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>K_F^{ads}</th> <th>$K_F^{ads}_{oc}$</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久</td> <td>4.259</td> <td>99.0</td> </tr> <tr> <td>上川</td> <td>3.916</td> <td>186.5</td> </tr> </tbody> </table> <p>トリアファモンの土壌における移動性は低いと考えられる。</p>		K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$	牛久	4.259	99.0	上川	3.916	186.5	2012 年	代- 134						
	K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$																			
牛久	4.259	99.0																			
上川	3.916	186.5																			
代20 GLP	土 壤 吸 着	EU 土 壤 4 種	0.010 ~ 1.143 mg/L の 5 濃度、 20℃	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>K_F^{ads}</th> <th>$K_F^{ads}_{oc}$</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>AX 土 壤</td> <td>2.140</td> <td>101.9</td> </tr> <tr> <td>DD 土 壤</td> <td>4.712</td> <td>100.3</td> </tr> <tr> <td>WW 土 壤</td> <td>1.715</td> <td>85.8</td> </tr> <tr> <td>HH 土 壤</td> <td>2.412</td> <td>104.9</td> </tr> </tbody> </table> <p>トリアファモンは土壌において中間的な移動性を持つと考えられた。</p>		K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$	AX 土 壤	2.140	101.9	DD 土 壤	4.712	100.3	WW 土 壤	1.715	85.8	HH 土 壤	2.412	104.9	2012 年	代- 138
	K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$																			
AX 土 壤	2.140	101.9																			
DD 土 壤	4.712	100.3																			
WW 土 壤	1.715	85.8																			
HH 土 壤	2.412	104.9																			
代21 GLP	土 壤 吸 着	EU2 土 壤 日本 2 土 壤	¹⁴ C 0.01 ~ 1.0 mg /L の 5 濃度 24.9℃	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>K_F^{ads}</th> <th>$K_F^{ads}_{oc}$</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>WW 土 壤</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>HH 土 壤</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>牛久土 壤</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>上川土 壤</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table> <p>は土壌において中間的な移動性~移動性を持つと考えられる。</p>		K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$	WW 土 壤			HH 土 壤			牛久土 壤			上川土 壤			2012 年	代- 143
	K_F^{ads}	$K_F^{ads}_{oc}$																			
WW 土 壤																					
HH 土 壤																					
牛久土 壤																					
上川土 壤																					

<代謝物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
I	親化合物	トリアファモン (AE 1887196)	2'-[(4,6-ジメチル -1,3,5-トリアジソン-2-イル)カ ルボニル]-1,1,6'-トリフルオ ロ-N-メチルメタンсульホニアリト	

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

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

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

1. 動物体内運命試験

(1) ¹⁴C-標識トリアファモンを用いたラット代謝試験

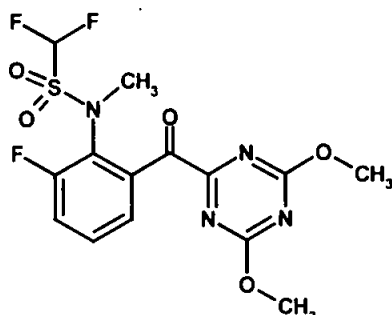
(資料：代-1)

[GLP 対応]

2013 年

供試標識化合物：¹⁴C-標識トリアファモン

構造式：



*：¹⁴C 標識位置

化学名：^{2'}-[(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジソン-2-イル)カルボニル]-1,1,6'-トリフルオロ-N-メチルメタンсульホンアニト*

比放射能：

放射化学的純度：

化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試動物： ウィスターラット（受領時 雄：約 6-7 週令、雌：約 8-9 週令）
約 7 日間順化した後、試験に用いた。

【試験方法】

投与：¹⁴C 標識トリアファモンを 0.5%トラガカント水溶液に懸濁し、投与液を調製した。低用量群として 2 mg/kg体重、高用量群として 200 mg/kg体重、その他に、血漿中の代謝物確認群、胆汁採取群（いずれも 2 mg/kg体重）の計 6 群を設定し、単回経口投与した。（表 1）

採取： 投与したラットは尿及び糞が分別採取可能な代謝ケージに個別に収容した。尿、糞は冷却した採取容器を用いて採取時期ごとに、臓器・組織は終了時に採取した。血液は尾を小さく切開し、経時的に採取し、遠心分離して血漿と血液細胞に分画した。胆汁は冷却して 0-8h、及び 8-24h で採取した。（表 2）

表 1 試験群の設定

試験群番号	性	用量 (mg/kg体重)	回数・経路	用量・ その他	動物数 (匹)	投与時の 平均ラット 体重[g]
1	雄	1.92	単回経口	低用量	4	207
2	雌	2.04			4	203
3	雄	204.04		高用量	4	208
4	雌	188.59			4	205
5 ^{a)}	雄	1.88	単回経口	低用量 (血漿中 代謝物)	1	224
	雌	1.69			1	
6	雄	1.92	単回経口	低用量 (胆汁)	6	205

a) 血漿中の代謝物の検索及び保存安定性確認

表 2 採取試料

試験群	試験期間	採取試料及び採取時間
1 (雄、低用量)	72 時間	尿：0-4h、4-8h、8-12h、12-24h、24-48h、48-72h 糞：0-24h、24-48h、48-72h
2 (雌、低用量)		血漿：10分、20分、40分、1h、2h、4h、8h、24h、28h、32h、48h、56h、72h
3 (雄、高用量)		臓器及び組織（終了時）： 血液（血漿及び血液細胞）、肝臓、腎臓、胃腸管、心臓、脳、精巣（雄）、卵巣（雌）、子宮（雌）副腎、ハーダー氏腺、甲状腺、脾臓、肺、眼、皮膚、大腿骨、腎脂肪、脚部筋肉、カーカス
4 (雌、高用量)		
5 (雄、雌；血漿中代謝物)	1 時間	血漿：1h
6 (雄；胆汁)	24 時間	尿：0-8h、8-24h 糞：0-24h 胆汁：0-8h、8-24h 臓器及び組織（終了時）： 血液（血漿及び血液細胞）、胃腸管、皮膚、カーカス

分析：放射能量は液体シンチレーション計測（LSC）または燃焼後に LSC 測定した。試料は高速液体クロマトグラフィ（HPLC）及びスペクトル分析（LC-MS、¹H-NMR）により分析した。

【結果】

吸収・排泄（表 3、4、図 1）：

回収率は投与量に対して約 94.7%から約 105.5%の範囲であった。吸収率は試験群 1-4 において最低 79%以上であり、試験群 6 では尿排泄率及び胆汁中の放射エネルギーから約 96%であった。主な排泄経路は両性とも尿であった。雌ラットの尿の排泄率は約 83 及び 87%で、雄の約 79 及び 80%の尿排泄率より僅かに高かった。低用量群と高用量群の排泄挙動は類似していた。24 時間以内に投与量の最低 78%以上が排泄された。

表 3a 物質収支（投与量に対する%）

試験群	1 (低用量)		3 (高用量)		6 (胆管カニューレション)
	雄 72h	雌 72h	雄 72h	雌 72h	雄 24h
胆汁	---	---	---	---	25.43
糞	20.83	11.50	21.64	13.46	3.33
尿	80.29	82.89	79.39	87.18	75.96
排泄計	101.12	94.39	101.03	100.64	104.73
胃腸管を除く動物体	0.042	0.327	0.046	0.010	0.344
胃腸管	0.009	0.017	0.015	0.014	0.389
動物体	0.052	0.344	0.062	0.024	0.733
総計	101.17	94.73	101.09	100.66	105.46

表 3b 物質収支及び吸収率（総回収量に対する%）

試験群	1 (低用量)		3 (高用量)		6 (胆管カニューレション)
	雄 72h	雌 72h	雄 72h	雌 72h	雄 24h
胆汁	---	---	---	---	24.13
糞	21.01	12.17	21.38	13.37	3.17
尿	78.94	87.47	78.56	86.61	72.00
排泄計	99.95	99.63	99.94	99.98	99.31
胃腸管を除く動物体	0.042	0.350	0.046	0.010	0.326
胃腸管	0.010	0.018	0.015	0.014	0.368
動物体	0.052	0.367	0.061	0.023	0.695
総計	100	100	100	100	100
吸収率*)	79	88	79	87	96

*)尿及び胃腸管を除く動物体の合計（試験群 6 では+胆汁）

表 4 尿、糞、胆汁による経時排泄量 (投与量に対する%)

試験群		1 (低用量)		3 (高用量)		6 (胆管カニューレション) 雄
		雄	雌	雄	雌	
胆汁	0-8h	---	---	---	---	23.46
	8-24h	---	---	---	---	1.97
糞	0-24h	19.98	10.04	20.55	12.26	3.33
	24-48h	0.76	1.33	1.02	1.12	---
	48-72h	0.08	0.13	0.07	0.09	---
尿	0-4h	56.86	39.58	3.53	11.59	63.80
	4-8h	12.63	18.13	41.50	29.65	
	8-12h	4.52	23.31	33.52	44.49	12.16
	12-24h	5.90				
	24-48h	0.31	1.46	0.64	1.20	---
	48-72h	0.06	0.41	0.20	0.26	---
合計		101.12	94.39	101.03	100.64	104.73

試験群1: 雄

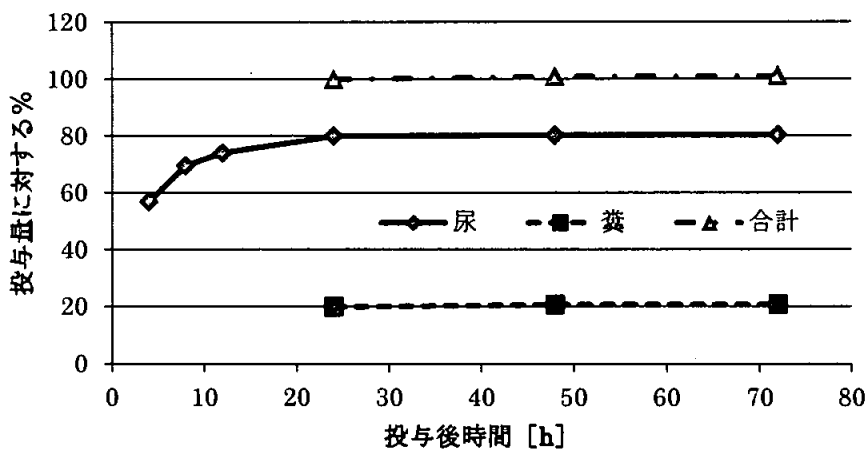


図 1 累積排泄量と投与後時間 (試験群 1)

血中濃度推移及び分布 (表 5~7):

動物体内の放射能の分布は速やかで、低用量群は投与 0.33 時間 (約 20 分) 後に最大血漿中濃度 (Cmax) に達した。高用量群は、胃消化管からの被験物質の吸収が継続しており、投与およそ 4 時間後に Cmax に達した。Cmax のおよそ 50% に減少した時間は、両性で低用量群では 1.5 から 2 時間以内に、高用量群では 8 から 12 時間以内であった。更に低用量群では 24 時間以内に、高用量群では 32 時間以内に最大値の 1% 未満に減少した。全ての試験群において、およそ 32 時間後には、血漿中濃度が LOQ 未満あるいは LOQ 近くとなった。血漿中の薬物濃度推移を表 5 に、薬物動態パラメータを表 6 に示した。

表 5 血漿中の放射能濃度推移 (mg/kg)

試験群 性 用量 [mg/kg体重]	1 雄	2 雌	3 雄	4 雌
0.17 (約 10 分)	2.074	1.645	17.890	7.270
0.33 (約 20 分)	3.129	1.853	45.120	16.856
0.67 (約 40 分)	2.840	1.496	94.640	29.376
1	1.997	1.084	128.200	35.266
2	0.676	0.638	129.900	48.415
4	0.230	0.275	158.600	66.318
8	0.111	0.154	73.370	58.430
24	0.020	0.009	2.607	1.370
32	0.012	0.007	1.283	0.960
48	0.004	<LLQ	<LLQ	<LLQ
56	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ
72	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ

LLQ : 定量下限 (=LOQ)

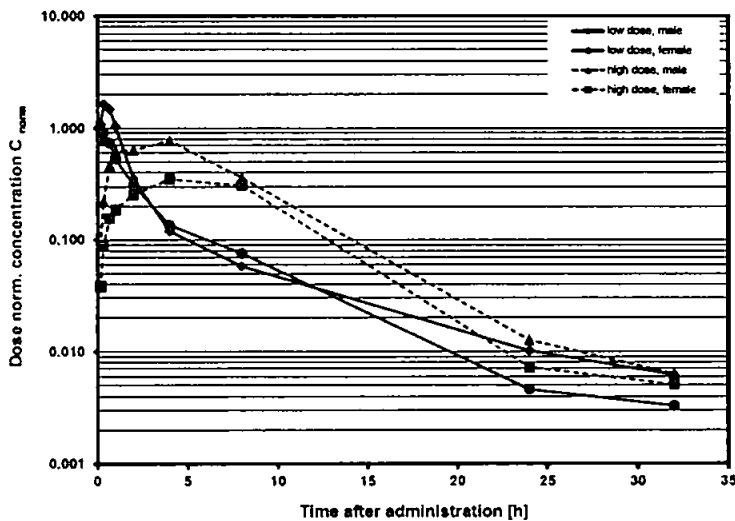


図 2 血漿中の放射能濃度曲線 (投与量で標準化後)

表 6 経口投与後の血漿中の薬物動態パラメータ

試験群 性 用量 (mg/kg体重)	1 雄	2 雌	3 雄	4 雌
Tmax [h]	0.41	0.20	2.92	4.24
Cmax [mg/kg]	3.23	1.98	161.60	68.07
T _{1/2} [h]	7.43	5.92	3.36	2.91
AUC _{0-∞} [mg/kg×h]	5.96	4.49	1419.00	776.10

投与 72 時間後の終了時に、低及び高用量群の雄及び雌ラットの胃腸管を除く動物体における残留量は、総投与量の 0.4%未満であり、さらに排泄されると予想された。残留放射能濃度は、低用量群の血漿、肺、腎臓、肝臓及び胃腸管で少量 (<0.02 mg/kg) 認められたが、その他の臓器及び組織では非常に低かった (<LOQ)。高用量群における残留値はほぼ用量に比例した。

表 7a 試験終了時 (投与 72 時間後) の臓器・組織における残留量 (mg/kg)

試験群	1	2	3	4	6
性	雄	雌	雄	雌	雄
用量 [mg/kg 体重]	1.92	2.04	204.04	188.59	1.92
試験期間 [h]	72	72	72	72	24
血液細胞	<LLQ	0.0014	0.1748	0.1930	0.0051
血漿	0.0016	0.0034	0.1850	<LLQ	0.0257
カーカス	<LLQ	0.0117	<LLQ	<LLQ	0.0082
心臓	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
脳	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
腎臓	0.0057	0.0014	0.5572	0.1244	---
肝臓	0.0132	0.0031	1.7950	0.2576	---
胃腸管	0.0015	0.0033	0.3706	0.2428	0.0657
精巣	<LLQ	N/A	<LLQ	N/A	---
卵巣	N/A	<LLQ	N/A	<LLQ	N/A
子宮	N/A	<LLQ	N/A	<LLQ	N/A
副腎	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
ハーダー氏腺	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
甲状腺	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
脾臓	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
肺	<LLQ	0.0012	0.1471	0.1049	---
眼	<LLQ	<LLQ	<LLQ	0.1487	---
皮膚	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	0.0053
大腿骨	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
腎脂肪	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
脚部筋肉	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---

LLQ : 定量下限 (=LOQ)、N/A : 分析せず、--- : 試料を採取せず。

表 7b 試験終了時 (投与 72 時間後) の臓器・組織における残留量 (投与量に対する%)

試験群	1	2	3	4	6
性	雄	雌	雄	雌	雄
用量 [mg/kg 体重]	1.92	2.04	204.04	188.59	1.92
試験期間 [h]	72	72	72	72	24
血液細胞	<LLQ	0.0008	0.0012	0.0013	0.0036
血漿	0.0013	0.0024	0.0010	<LLQ	0.0165
カーカス	<LLQ	0.3134	<LLQ	<LLQ	0.2627
心臓	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
脳	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
腎臓	0.0025	0.0005	0.0021	0.0005	---
肝臓	0.0379	0.0071	0.0414	0.0069	---
胃腸管	0.0094	0.0167	0.0155	0.0139	0.3892
精巣	<LLQ	N/A	<LLQ	N/A	---
卵巣	N/A	<LLQ	N/A	<LLQ	N/A
子宮	N/A	<LLQ	N/A	<LLQ	N/A
副腎	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
ハーダー氏腺	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
甲状腺	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
脾臓	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
肺	<LLQ	0.0003	0.0005	0.0003	---
眼	<LLQ	<LLQ	<LLQ	0.0001	---
皮膚	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	0.0610
大腿骨	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
腎脂肪	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---
脚部筋肉	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ	---

LLQ : 定量下限 (=LOQ)、N/A : 分析せず、--- : 試料を採取せず。

代謝物 (表 8、9) :

トリアファモンは 28 種の代謝物に広く代謝され、そのうち 3 種の主要代謝物及び 7 種の少量代謝物 (計 10 種) がクロマトグラフ及びスペクトル分析により同定された。トリアファモンは少量のみが排泄物で認められた。ほぼ全ての代謝物が両性の尿に存在し、放射能の主要部分であった (投与量の約 80%)。放射能の約 20% が糞で認められた。尿、胆汁及び糞の代謝物は非常に類似しており両性で比較可能であった。最も主要な代謝物は (約 21-38%) 及び (約 12-43%) であった。その他の主要代謝物は、低用量の雄及び雌で (約 17%) であり、雄において (約 10-15%) であった。その他の全ての同定及び特性化した代謝物は投与量に対して少量であった。

表8 尿、糞及び胆汁中の代謝物（処理放射エネルギーに対する%）

	1(低用量雄)		2(低用量雌)		3(高用量雄)		4(高用量雌)		6(低用量雄)	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	胆汁
(分析に供した試料の採取時間) 投与量に対する%	(0-48)	(0-24)	(0-24)	(0-48)	(0-24)	(0-24)	(0-24)	(0-24)	(0-24)	(0-8)
	80.22	19.98	81.02	11.37	78.55	20.55	85.72	12.25	75.96	23.46
トリアファモン [I]	--	0.07	0.15	1.18	--	2.87	--	5.87	--	0.05
同定 計	74.04	16.81	72.55	8.90	74.61	17.60	81.66	11.82	70.26	15.56
特性化 (18-19種) 計	6.18	2.42	8.47	2.13	3.93	1.98	4.06	0.30	5.70	7.90
抽出残渣	--	0.75	--	0.34	--	0.96	--	0.13	--	--
計	80.22	19.98	81.02	11.37	78.55	20.55	85.72	12.25	75.96	23.46

*申請者計算； **代謝物 M12 を含む

表9 各試験群における排泄物中（尿+糞、尿+胆汁）の代謝物

（処理放射能に対する％）

性 用量[mg/kg体重]	試験群 1	試験群 2	試験群 3	試験群 4	試験群 6
	雄 1.92	雌 2.04	雄 204.04	雌 188.59	雄 1.92
	尿+糞				尿+胆汁
トリアファモン [I]	0.07	1.33	2.87	5.87	0.05
同定 計	90.86	81.45	92.22	93.48	85.82
特性化 (18-19 種) 計**	8.60	10.60	5.92	4.36	13.60
分析 計	99.46	92.05	98.13	97.84	99.42
抽出残渣	0.75	0.34	0.96	0.13	—
分析せず	0.91	2.00	1.93	2.67	5.31
総計	101.11	94.39	101.03	100.64	104.73

*合計を申請者計算

**特性化ピークの合計、投与量の 2.48%を超える単独ピークは無かった。

血漿試料での代謝物パターンには雄及び雌で質的な異なりが認められた。

は以降の代謝物（例えば、 ）の前駆体であるが、雌ラットの血漿中でのみ認められた。雌に比較して雄において後続の代謝物への代謝がより速いことを示している。（表 10）

表 10 投与 1 時間後の血漿における代謝物 (試験群 5)

	雄		雌	
	TRR%	mg/kg	TRR%	mg/kg
トリアファモン [I]	--	--	0.62	0.004
同定計	95.25	1.586	100.0	0.623
特性化 (4 種) 計**	4.75	0.079	--	--
分析計***	100.0	1.665	100.0	0.623
同定率 (%) ****	95.3	95.3	100.0	100.0

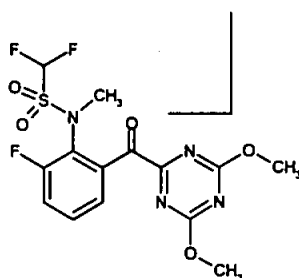
* 申請者合算

** ピークは HPLC-分析の保持時間により特性化した: 投与量の 1.63% を超えるピークは無かった。

*** 分析計 = 同定計 + 特性化計

**** 同定率 = 100 / 分析計 × 同定計

ラットにおける ¹⁴C 標識トリアファモンの主要代謝反応は、以下の通りであった。



¹⁴C 標識トリアファモンのラットにおける推定代謝経路を図 3 に示した。

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

図 3 ^{14}C 標識トリアファモンのラットにおける推定代謝経路

(2) ^{14}C -標識トリアファモンを用いたラット代謝試験

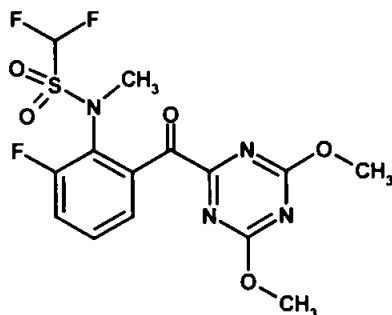
(資料：代-2)

[GLP 対応]

2013 年

供試標識化合物： ^{14}C 標識トリアファモン

構造式：



*： ^{14}C 標識位置

化学名： $2'$ -[(4,6-ジメチル-1,3,5-トリアジン-2-イル)カルボニル]-1,1,6'-トリフルオロ-N-メチルメタンсульホニアリド*

比放射能：

放射化学的純度：

化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試動物： ウィスターラット（雄 4 匹、雌 4 匹）、供試前に約 7 日間順化した。

性	週令	体重（投与時）
雄	約 6 週令	198-201g
雌	約 8-9 週令	202-203g

【試験方法】

投与： ^{14}C 標識トリアファモンを 0.5%トラガカント水溶液に懸濁し、投与液を調製した。用量として 2 mg/kg体重を設定し、単回経口投与した。

表 1 用量設定

試験群	性	用量 (mg/kg体重)	回数・経路	動物数 (匹)	投与時の 平均ラット 体重[g]
1	雄	2.07	単回経口	4	200
2	雌	2.02			202

表 2 試料採取： 下記の試料を採取した。

試験群	試験期間	採取試料及び採取時間
1 (雄)	72 時間	尿：0-4h、4-8h、8-12h、12-24h、24-48h、48-72h 糞：0-24h、24-48h、48-72h 血漿：10分、20分、40分、1h、2h、4h、8h、24h、28h、32h、48h、52h、56h、72h
2 (雌)		臓器及び組織（終了時）： 血液（血漿及び血液細胞）、肝臓、腎臓、胃腸管、心臓、脳、精巣（雄）、卵巣（雌）、子宮（雌）、副腎、 ハーダー氏腺、甲状腺、脾臓、肺、眼、皮膚、大腿骨、 腎脂肪、脚部筋肉、カーカス

分析：放射能量は液体シンチレーション計測（LSC）または燃焼後に LSC 測定した。試料は高速液体クロマトグラフィ（HPLC）及びスペクトル分析（LC-MS、¹H-NMR）により分析した。

【結果】

吸収・排泄：

回収率は投与量に対して約 101.9%及び約 95.5%であった。吸収率は尿及び胃腸管を除く動物体の合計から、雄で 75.5%、雌で 89.3%と考えられる。

主な排泄経路は、両性とも尿であった。雄ラットでは約 77%が尿から排泄され、糞へは約 25%が排泄された。雌ラットでは約 85%が尿で認められ、糞で約 10%であった（表 3）。

表 3 物質収支及び吸収率

試験群 性 試験期間	(投与量に対する%)		(総回収量に対する%)	
	1 雄 72 時間	2 雌 72 時間	1 雄 72 時間	2 雌 72 時間
糞 尿	24.97	10.20	24.46	10.69
	76.80	85.25	75.44	89.27
排泄計	101.77	95.45	99.90	99.96
胃腸管を除く動物体	0.09	0.02	0.09	0.03
胃腸管	0.01	0.02	0.01	0.02
動物体	0.11	0.04	0.10	0.04
総計	101.88	95.49	100.00	100.00
吸収率*)	-	-	75.53	89.30

*) 尿と胃腸管を除く動物体の合計

血中濃度推移及び分布：

動物体における放射能の分布は速やかで、雄では投与 0.67 時間 (約 40 分) 後、雌では 0.33 時間 (約 20 分) 後に最大血漿中濃度に到達した。両性において投与 1.5 から 2 時間後には最大濃度の約 50% に減少し、72 時間後には雄では 0.003 mg/kg、雌では定量限界未満となった (表 4)。血漿中の薬物動態パラメータを表 5 に示した。

表 4 血漿中の放射能濃度推移

試験群 性	1 雄	2 雌
投与後時間 [時間]	[mg 等量/kg 試料]	
0.17 (約 10 分)	1.294	0.983
0.33 (約 20 分)	3.063	1.312
0.67 (約 40 分)	3.595	1.157
1	3.196	0.915
1.50	---*)	0.602
2	1.659	0.454
4	0.463	0.205
8	0.204	0.134
24	0.034	0.012
28	0.026	0.009
32	0.021	0.007
48	0.008	0.003
52	0.007	0.003
56	0.006	<LLQ
72	0.003	<LLQ

*) 試料を採取していない。LLQ：定量限界未満 (=LOQ)

表 5 経口投与後の血漿中の薬物動態パラメータ

試験群 性	1 雄	2 雌
Tmax [h]	0.55	0.35
Cmax [mg/kg]	3.66	1.31
T _{1/2} [h]	13.40	9.77
AUC _{0-∞} [mg/kg×h]	10.20	3.42

雄では 72 時間後、胃腸管の放射能量は約 0.01%であった。臓器中の濃度は<LOQ から 0.02 mg/kgの範囲であり、精巣で定量可能な最低濃度 (0.0006 mg/kg) が認められ、最大濃度は肝臓 (0.0198 mg/kg) で認められた。

雌では 72 時間後、胃腸管の放射能量は約 0.02%であった。臓器中の濃度は<LOQ から 0.003 mg/kgの範囲で、肺及び眼で定量可能な最低濃度 (0.0011 mg/kg) が認められ、最大濃度は肝臓 (0.003 mg/kg) で認められた (表 6)。

表 6 試験終了時 (投与 72 時間後) の臓器・組織における残留量

試験群 性 用量[mg/kg体重] 試験期間[h]	1	2	1	2
	雄	雌	雄	雌
	2	2	2	2
	72	72	72	72
	[mg 等量/kg 試料]		[投与量に対する%]	
血液細胞	0.0023	0.0019	0.0014	0.0013
血漿	0.0032	0.0017	0.0023	0.0011
カーカス	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ
心臓	0.0011	<LLQ	0.0002	<LLQ
脳	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ
腎臓	0.0080	0.0022	0.0031	0.0008
肝臓	0.0198	0.0030	0.0507	0.0072
胃腸管	0.0025	0.0028	0.0140	0.0153
精巣	0.0006	N/A	0.0004	N/A
卵巣	N/A	0.0012	N/A	<0.0001
子宮	N/A	0.0016	N/A	0.0002
副腎	0.0051	<LLQ	0.0001	<LLQ
ハーダー氏腺	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ
甲状腺	0.0143	<LLQ	<0.0001	<LLQ
脾臓	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ
肺	0.0018	0.0011	0.0006	0.0003
眼	0.0020	0.0011	0.0001	0.0001
皮膚	0.0016	0.0012	0.0181	0.0135
大腿骨	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ
腎脂肪	0.0021	<LLQ	0.0002	<LLQ
脚部筋肉	<LLQ	<LLQ	<LLQ	<LLQ

LLQ : 定量限界未満 (=LOQ)、N/A : 分析せず

代謝

トリアファモン [I] はおよそ 29 種の代謝物となり、そのうちの 11 種はクロマトグラフ及び分光分析法により同定された。トリアファモン [I] 及び [II] は痕跡量が排泄物中に認められた。ほぼ全ての代謝物が両性の尿中に存在した。主代謝物は、トリアファモン [I] (約 19-20%) 及び トリアファモン [II] (約 15-23%) と同定された。その他の全ての同定及び特性化代謝物は投与量に対して少量であった。同定率は雄ラットにおいて総投与量の >79%、雌で >82% であった。雄においてはその他約 21% が、雌では 17% がそのクロマトグラフ上の挙動で特性化された。投与量の 5% を超える全ての代謝物が同定された (表 7、8)。

尿と糞の代謝物特性は非常に類似しており、かつ両性で比較可能であった。

表 7 試験群 1 の尿及び糞における代謝物

	尿	糞	排泄物計
	[投与量に対する%]		
トリアファモン [I]	0.29	--	0.29
同定計	59.92	19.66	79.58
特性化計**	16.77	4.05	20.83
分析計	76.69	24.90	100.41
抽出残渣	--	1.18	1.18
分析せず	--	--	0.18
総計	76.69	26.08	101.77

*申請者合算

**保持時間で特性化されたピークの合計、単一ピークの最大値は投与量の 5.65% であった。

表8 試験群2の尿及び糞における代謝物濃度

	尿	糞	排泄物計
	[投与量に対する%]		
トリアファモン [I]	0.41	1.37	1.78
同定計	70.10	7.57	77.67
特性化計**	15.01	1.92	16.93
分析計	85.11	9.49	94.60
抽出残渣	--	0.06	0.06
分析せず	--	--	0.79
総計	85.11	9.55	95.45

*申請者合算

**保持時間で特性化されたピークの合計、単一ピークの最大値は投与量の4.66%であった。

ラットにおける ^{14}C 標識トリアファモンの主要代謝反応は ^{14}C 標識と同様以下の通りであった。

次ページに推定代謝経路を示した。

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

図 1

^{14}C -トリアファモンのラットにおける推定代謝経路

(3) ¹⁴C-標識トリアファモンを投与したラットの臓器・組織中の濃度
(全身オートラジオグラフィ)

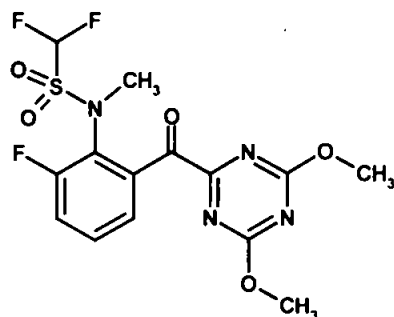
(資料：代-3)

[GLP 対応]

2012 年

供試標識化合物：¹⁴C-トリアファモン

構造式：



*：¹⁴C 標識位置

化学名：^{2'}-[(4,6-ジメトキシ-1,3,5-トリアジソン-2-イル)カルボニル]-
-1,1,6'-トリフルオロ-N-メチルメタンスルホンアミド

比放射能：

放射化学的純度：

化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試動物： ウィスターラット（受領時 雄：約 6 週令、雌：約 8-9 週令）
を約 7 日間順化した後、試験に用いた。

【試験方法】

投与：¹⁴C 標識トリアファモンを 0.5% トラガカント水溶液に懸濁し、投与液を調製した。用量として 5 mg/kg 体重を設定し、各群 9 匹からなる 2 群を設定して、各動物へ 2mL ずつ経口投与した。コントロール用ラットには非標識トリアファモンの投与懸濁液を経口投与した。

表 1 試験群の設定

試験群	性	設定用量 [mg/kg 体重]	実投与量 [mg/kg 体重]	平均体重 [g]	動物数 [匹]
2	雄	5	5.1	194	8+1 (コントロール)
3	雌	5	5.1	199	8+1 (コントロール)

採取：投与後、ラットは代謝ケージに個別に収容した。投与後 1、4、8、24、48、72、120、168 時間に各 1 匹のラットを凍結切片とした。尿、糞、呼気も採取した。

表 2 試料の採取

屠殺時間 [投与後 時間]	切片作成	投与後の試料採取時間[h]		
		尿	糞	呼気
1	○	1	---	---
4	○	4	---	---
8	○	4, 8	---	---
24	○	4, 8, 24	24	---
48	○	4, 8, 24, 48	24, 48	24, 48
72	○	4, 8, 24, 48, 72	24, 48, 72	24, 48
120	○	4, 8, 24, 48, 72, 96, 120	24, 48, 72, 96, 120	24, 48
168	○	4, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168	24, 48, 72, 96, 120, 144, 168	24, 48
4 (コントロール)	○	---	---	---

分析：各臓器・組織の放射エネルギーは全身切片を ^{14}C 添加血液標準品をキャリブレーションに用いてオートラジオグラフィによって求めた。尿試料及び呼気捕集液は液体シンチレーション計測器 (LSC) を用いて、糞試料は燃焼後に LSC で放射エネルギーを測定した。

【結果】

雄ラット（試験群 2：表 3、5、6a）

投与 1 時間後には全ての臓器及び組織で最大濃度が測定された。血液濃度との比は、多くの臓器及び組織でおよそ 0.1-0.4 の範囲であり、血液中の濃度より低かったが、肝臓及び腎臓では、血液より約 2 倍高かった。脳、腎脂肪、脊髄、硝子体の濃度は最も低かった。

全ての臓器及び組織の濃度は、微量の放射能が検出された肝臓 ($0.008 \mu\text{g/g}$) 及び腎臓 ($0.009 \mu\text{g/g}$) を除き、7 日後 (168 時間後) までに定量限界未満に減少した。

放射能の大部分が尿へ排泄され (最大約 85%)、より少ない割合が糞で排泄された (最大約 24%)。投与 1 日後、投与量の >90% が排泄されており、2 日後にはほぼ排泄が終了した。呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ は 48 時間後までで総投与量の 0.01% であった。

雌ラット（試験群 3：表 3、4、6b）

全ての臓器及び組織で、投与 1 時間後に最大濃度に到達した。この時点において、多くの臓器及び組織において臓器/血液濃度比の値が約 0.2-1.0 の範囲であり、血液中の濃度と比較して、わずかに低いかあるいは同等であった。最も高い値は肝臓及び腎臓で、血液よりも約 2-3 倍高かった。

血液から放射能量は非常に速やかに消失し、動物体全体に分布したが、特に代謝 (肝臓)、排泄 (腎臓) 及び分泌 (例えば、副腎、甲状腺、ハーダー腺、及び唾液腺) を担う臓器あるいは組織に分布した。最低の濃度が脳、骨格筋、脊髄、脾臓、胸腺及び硝子体で測定された。

非常に少量の放射能が検出された鼻粘膜 ($0.018 \mu\text{g/g}$) を除く全ての臓器及び組織の濃度が 7 日後までに、定量限界未満に減少した。

放射能量の大部分は尿へ排泄され (最大約 89%)、少量が糞で排泄された (11% 未満)。雌は雄よりもわずかに高い尿排泄率を示した。投与 1 日後、回収された放射能の約 90% 以上が排泄されており、2 日後には排泄がほぼ終了した。呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ は LOQ 未満であった。

表3 雄ラット（試験群2）における血液及び各臓器の等量濃度[μg 有効成分等量/g]

	動物番号							
	938	939	940	941	942	943	944	945
	採取時間 [投与後時間]							
	1 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	120 h	168 h
血液	5.176	0.532	0.262	0.023	0.008	0.006	---	---
肝臓	9.696	1.427	0.634	0.070	0.050	0.043	0.015	0.008
腎皮質	6.928	0.713	0.357	0.019	0.010	0.015	0.005	< LOQ
腎髄質	12.297	1.349	0.689	0.053	0.031	0.046	0.013	0.009
腎臓 計	9.613	1.031	0.523	0.036	0.021	0.031	0.009	---
褐色脂肪	1.471	0.215	0.080	< LOQ	---	---	---	---
腎脂肪	0.322	0.063	0.034	< LOQ	< LOQ	---	---	---
骨格筋	0.626	0.075	0.031	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
心筋	1.893	0.240	0.113	0.006	< LOQ	< LOQ	---	---
肺	3.481	0.341	0.133	0.015	< LOQ	< LOQ	---	---
脾臓	0.633	0.079	0.038	< LOQ	< LOQ	---	---	---
膵臓	0.819	0.099	0.045	< LOQ	< LOQ	---	---	---
骨髄	0.935	0.101	0.058	< LOQ	---	---	---	---
精巣	0.929	0.161	0.068	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
脳	0.103	0.017	0.007	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
脊髄	0.151	0.020	0.009	< LOQ	---	---	---	---
下垂体	1.070	0.117	0.083	---	---	---	---	---
松果体	1.665	0.152	0.066	---	---	---	---	---
副腎	2.236	0.276	0.139	0.011	< LOQ	< LOQ	---	---
胸腺	0.641	0.075	0.039	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
甲状腺	1.607	0.202	0.084	0.012	---	---	---	---
唾液腺	1.394	0.155	0.084	0.006	< LOQ	< LOQ	---	---
鼻粘膜	0.579	0.081	0.039	0.006	< LOQ	< LOQ	---	---
硝子体	0.215	0.041	0.018	< LOQ	< LOQ	---	---	---
ハーダー腺	1.328	0.138	0.072	< LOQ	---	---	---	---

---： 臓器あるいは組織はラット切片中に視認できるがラジオルミノグラフ中で識別できない
 イタリック： 各臓器の最大等量濃度値をイタリック及び太字で示した。

表4 雌ラット（試験群3）における血液及び各臓器の等量濃度[μg 有効成分等量/g]

	動物番号							
	947	948	949	950	951	952	953	954
	採取時間 [投与後時間]							
	1 h	4 h	8 h	24 h	48 h	72 h	120 h	168 h
血液	1.507	0.256	0.161	0.012	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
肝臓	5.281	1.514	0.936	0.041	0.010	< LOQ	< LOQ	< LOQ
腎皮質	2.746	0.594	0.320	0.017	< LOQ	< LOQ	---	---
腎髄質	4.421	1.316	0.471	0.031	0.007	0.006	---	---
腎臓 計	3.583	0.955	0.395	0.024	0.005	---	---	---
褐色脂肪	2.588	0.342	0.256	0.008	---	---	---	---
腎脂肪	1.681	0.216	0.186	< LOQ	< LOQ	---	---	---
骨格筋	0.871	0.117	0.099	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
心筋	1.813	0.230	0.190	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
肺	1.283	0.207	0.115	0.010	< LOQ	< LOQ	---	---
脾臓	0.884	0.128	0.102	< LOQ	< LOQ	< LOQ	---	---
膵臓	1.827	0.233	0.180	0.006	< LOQ	---	---	---
骨髄	0.824	0.118	0.082	---	---	---	---	---
卵巣	1.772	0.240	---	0.009	---	---	---	---
子宮	1.420	0.188	0.130	---	< LOQ	---	---	---
脳	0.923	0.109	0.089	< LOQ	< LOQ	---	---	---
脊髄	1.103	0.135	0.097	---	---	---	---	---
下垂体	1.430	0.194	0.149	---	---	---	---	---
松果体	1.264	0.191	0.157	---	---	---	---	---
副腎	2.434	0.384	0.263	0.010	< LOQ	---	---	---
胸腺	0.941	0.128	0.104	< LOQ	< LOQ	---	---	---
甲状腺	1.508	0.244	0.180	0.010	---	---	---	---
唾液腺	1.769	0.217	0.173	0.006	< LOQ	---	---	---
鼻粘膜	1.283	0.226	0.189	0.059	0.023	0.028	0.027	0.018
硝子体	0.322	0.080	0.085	0.009	---	---	---	---
ハーダー腺	1.350	0.253	0.225	0.017	---	---	---	---

---： 臓器あるいは組織はラット切片中に視認できるがラジオルミノグラフ中で識別できない
 イタリック： 各臓器における最大等量濃度値をイタリック及び太字で示した。

表 5 各臓器の最大濃度と血中濃度に対する比 (投与 1 時間後)

雄ラット (試験群 2)			雌ラット (試験群 3)		
	最大濃度	血中濃度に対する比		最大濃度	血中濃度に対する比
血液	5.176	1.00	血液	1.507	1.00
肝臓	9.696	1.87	肝臓	5.281	3.50
腎皮質	6.928	1.34	腎皮質	2.746	1.82
腎髄質	12.297	2.38	腎髄質	4.421	2.93
腎臓 計	9.613	1.86	腎臓 計	3.583	2.38
褐色脂肪	1.471	0.28	褐色脂肪	2.588	1.72
腎脂肪	0.322	0.06	腎脂肪	1.681	1.12
骨格筋	0.626	0.12	骨格筋	0.871	0.58
心筋	1.893	0.37	心筋	1.813	1.20
肺	3.481	0.67	肺	1.283	0.85
脾臓	0.633	0.12	脾臓	0.884	0.59
膵臓	0.819	0.16	膵臓	1.827	1.21
骨髄	0.935	0.18	骨髄	0.824	0.55
精巣	0.929	0.18	卵巣	1.772	1.18
			子宮	1.420	0.94
脳	0.103	0.02	脳	0.923	0.61
脊髄	0.151	0.03	脊髄	1.103	0.73
下垂体	1.070	0.21	下垂体	1.430	0.95
松果体	1.665	0.32	松果体	1.264	0.84
副腎	2.236	0.43	副腎	2.434	1.62
胸腺	0.641	0.12	胸腺	0.941	0.62
甲状腺	1.607	0.31	甲状腺	1.508	1.00
唾液腺	1.394	0.27	唾液腺	1.769	1.17
鼻粘膜	0.579	0.11	鼻粘膜	1.283	0.85
硝子体	0.215	0.04	硝子体	0.322	0.21
ハーダー腺	1.328	0.26	ハーダー腺	1.350	0.90

血中濃度以上の濃度を示した比を太字で示した。

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

表 6 呼気、尿及び糞への累積排泄量

6a: 雄ラット (試験群 2)

動物番号	投与量に対する% (累積値)							
	938	939	940	941	942	943	944	945
	採取時間[投与後時間]							
	1h	4h	8h	24h	48h	72h	120h	168h
呼気 24 h					0.01	0.01	0.00	0.01
48 h					0.01	0.01	0.00	0.01
尿 1 h	12.16							
4 h		64.08	21.69	18.89	11.84	13.82	19.80	42.22
8 h			63.17	66.38	71.26	60.92	74.03	61.21
24 h				78.86	81.90	71.80	84.64	83.10
48 h					82.37	72.39	85.30	83.46
72 h						72.47	85.34	83.50
96 h							85.36	83.52
120 h							85.38	83.53
144 h								83.53
168 h								83.53
糞 24 h	*	*	*	16.65	16.14	21.68	13.21	14.32
48 h					17.19	23.67	14.34	15.87
72 h						23.87	14.39	15.92
96 h							14.41	15.93
120 h							14.42	15.94
144 h								15.95
168 h								15.96
合計	12.16	64.08	63.17	95.52	99.57	96.35	99.80	99.50

6b: 雌ラット (試験群 3)

動物番号	投与量に対する% (累積値)							
	947	948	949	950	951	952	953	954
	採取時間[投与後時間]							
	1h	4h	8h	24h	48h	72h	120h	168h
呼気 24 h					0.00	0.00	0.00	0.00
48 h					0.00	0.00	0.00	0.00
尿 1 h	13.03							
4 h		24.87	56.08	35.00	47.12	50.15	65.36	56.30
8 h			63.08	59.50	64.83	64.42	71.29	69.14
24 h				74.68	82.79	77.34	87.72	85.36
48 h					83.26	78.34	88.84	87.14
72 h						78.43	88.93	87.40
96 h							88.96	87.50
120 h							88.97	87.55
144 h								87.57
168 h								87.59
糞 24 h	*	*	*	5.56	8.18	9.03	6.89	7.63
48 h					8.83	10.88	8.32	9.91
72 h						10.99	8.44	10.10
96 h							8.47	10.18
120 h							8.48	10.21
144 h								10.25
168 h								10.27
合計	13.03	24.87	63.08	80.24	92.09	89.42	97.46	97.86

*: 糞を採取せず。