

11) トリホリン原体のマウスを用いた小核試験

(資料 No. T-38)

試験機関：RCC社 (スイス)

報告書作成年：1984年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：NMRI KFM系マウス (7週齢)、体重；雌雄 23～40 g

試験動物数；1群雌雄各 6匹

(評価は、動物番号の若い順に各群雌雄各 5匹を評価に使用した)

試験方法：検体を 2%CMC 水溶液に懸濁させ、5000 mg/kg の投与レベルで単回強制経口投与した。なお、溶媒対照群には 2%CMC 水溶液を同様に投与し、陽性対照群にはシクロホスファミドを 50 mg/kg の投与レベルで強制経口投与した。

5000 mg/kg 群および溶媒対照群については、投与 24、48 および 72 時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上に塗布し風乾後、メチル緑・ピロニン染色法で染色し、骨髓標本を作製した。

動物当たり 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数 (MNPCE) を計数し、さらに小核を有する正染性赤血球も計数した。また、細胞毒性を調べるためにスライド当たり 1000 個の赤血球を観察し、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合 (PCE/NCE) を算出した。

用量設定根拠；

急性経口投与毒性試験 (資料 No.T-参考 10) の LD₅₀ 値が雌雄とも 6000 mg/kg 以上であったため、本試験では 5000 mg/kg を想定される最大耐量と考え、5000 mg/kg を単回経口投与した。

試験結果：骨髓標本の観察結果を次頁の表に示した。

いずれの投与群においても死亡および毒性徴候は認められなかった。

24 および 72 時間後の標本採取時間においては、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認められなかった。48 時間後の標本採取時間において、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の有意な増加が雌にみられ、雌雄を合わせて評価した場合も同様に増加傾向を示した。雄のみの評価では増加は認められなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体は投与 48 時間後の雌動物においてのみ骨髄多染性赤血球に小核を誘発したが、雌の 72 時間後および雄のいずれの検査時にも小核を誘発しなかったことから、本試験では検体の染色体異常誘発性に関して判断できなかった。

小核試験成績

採取時間 (hrs)	薬 剤	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	MNPCE		PCE/NCE	
					数 (平均±SD)	範囲	平均*	範囲
24	溶媒対照 (2%CMC)	0	雄	5	1.2±0.84	0-2	1.2	1.1-1.4
			雌	5	1.0±0.71	0-2	1.74	1.4-2.3
			雌雄	10	1.1±0.74	0-2	1.47	1.1-2.3
	検 体	5000	雄	5	0.8±0.45	0-1	1.26	1.1-1.5
			雌	5	1.0±0.71	0-2	2.48	1.4-3.5
			雌雄	10	0.9±0.57	0-2	1.87	1.1-3.5
48	溶媒対照 (2%CMC)	0	雄	5	0.2±0.45	0-1	1.06	0.8-1.3
			雌	5	0.4±0.55	0-1	1.86	1.1-2.6
			雌雄	10	0.3±0.48	0-1	1.46	0.8-2.6
	検 体	5000	雄	5	0.8±0.84	0-2	1.04	0.7-1.3
			雌	5	▲2.4±1.14	1-4	1.78	1.5-2.1
			雌雄	10	1.6±1.26	0-4	1.41	0.7-2.1
72	溶媒対照 (2%CMC)	0	雄	5	0.4±0.55	0-1	1.04	0.6-1.6
			雌	5	0.8±0.84	0-2	1.78	1.3-2.1
			雌雄	10	0.6±0.70	0-2	1.41	0.6-2.1
	検 体	5000	雄	5	0.6±0.55	0-1	1.02	0.6-1.3
			雌	5	1.2±1.10	0-3	1.62	1.5-1.8
			雌雄	10	0.9±0.88	0-3	1.32	0.6-1.8

PCE：多染性赤血球数、NCE：正染性赤血球数

MNPCE：多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数
対数線形モデルにより最尤法▲：p<0.01

*：申請者の計算による。

12) トリホリン原体のマウスを用いた小核試験

(資料 No. T-39)

試験機関：RCC 社 (スイス)

報告書作成年：1984 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：NMRI KFM 系雌マウス (7 週齢)、体重；雌 26~31 g

試験動物数；1 群 6 匹

(動物番号の若い順に各群 5 匹を評価に使用した)

試験方法：検体を 2%CMC 水溶液に懸濁させ、 、 および 5000 mg/kg の投与レベルで単回強制経口投与した。なお、溶媒対照群には 2%CMC 水溶液を同様に投与し、陽性対照群にはシクロホスファミドを 50 mg/kg の投与レベルで強制経口投与した。投与 48 時間後に全動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドグラス上に塗布し風乾後、メチル緑・ピロニン染色法で染色し、骨髓標本作製した。動物当たり 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する多染性赤血球数 (MNPCE) を計数し、さらに小核を有する正染性赤血球も計数した。また、細胞毒性を調べるためにスライド当たり 1000 個の赤血球を観察し、正染性赤血球に対する多染性赤血球の割合 (PCE/NCE) を算出した。

用量設定根拠；

本試験は同研究所で 5000 mg/kg を単回投与して実施した小核試験 (資料 No. T-38) では、投与 48 時間後の雌動物においてのみ骨髓多染性赤血球に小核を誘発したが、雌の 72 時間後および雄のいずれの検査時にも小核を誘発しなかったことから、検体の染色体異常誘発性に関して判断できなかった。したがって、本試験では、検体を 0、 、 および 5000 mg/kg の投与レベルで雌動物にのみ投与し、再現性および用量相関性を確認した。

試験結果：骨髄標本の観察結果を次表に示した。

採取時間 (hrs)	薬 剤	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MNPCE		PCE/NCE	
					出現数 (平均±SD)	範囲	平均*	範囲
48	溶媒対照	0	雌	5	1.6±1.14	0-3	0.958	0.64-1.65
	検 体	5000	雌	5	1.0±1.22	0-3	0.826	0.63-1.05
			雌	5	0.8±1.10	0-2	0.900	0.74-0.98
			雌	5	1.2±1.10	0-2	0.904	0.83-0.98
	陽性対照	50	雌	5	17.2±7.36	9-23	0.728	0.52-1.05

PCE：染性赤血球数、NCE：正染性赤血球数

MNPCE：染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

統計検定法：平均を比較し、著差がなかったため統計分析は行わなかった。

*：申請者の計算による。

溶媒対照：2%CMC、陽性対照；シクロホスファミド

いずれの投与群においても死亡および毒性徴候は認められなかった。

いずれの標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して増加は認められなかった。

陽性対照であるシクロホスファミドでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して増加が認められた。

以上の結果は、先に実施した小核試験（資料 No. T-38）で認められた小核を有する多染性赤血球のわずかな増加は、本試験では確認できなかったことから、偶発的な事象であったと考えられた。したがって、検体は骨髄多染性赤血球に小核を誘発せず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

13) トリホリン原体のマウスを用いた小核試験

(資料 No. T-40)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：1984年

検体の純度： %

供試動物： B6D2F1(BDF1) マウス、1群雌雄各6匹

試験方法： 検体を2%Tween 80水溶液に懸濁させ、 および16400 mg/kgの投与量で各群に単回強制経口投与し、別の1群に16400 mg/kgの投与量を24時間間隔で連続4回強制経口投与した。なお、溶媒対照群には2% Tween 80水溶液を同様に投与し、陽性対照群にはマイトマイシンCを2.0 mg/kgの投与量で単回腹腔内投与した。単回および連続投与群の16400 mg/kg投与群および各溶媒対照群については、投与16、24、48および72時間後に動物を屠殺し、各動物から大腿骨の骨髓を採取してスライドガラス上にメタノール固定後、ギムザ染色し、骨髓標本を作製した。単回投与群の および mg/kg投与群、溶媒および陽性対照群では投与24時間後に骨髓塗沫標本を作製した。

各標本について、Schmidの多染性赤血球観察法に従い、1000個の多染性赤血球中における小核を有する多染性赤血球数(MN-PCE)を計数し、細胞毒性を調べるために1000個の赤血球を観察し、全赤血球に対する多染性赤血球の割合(PCE/(PCE+NCE))を算出した。小核を有する多染性赤血球数に関しては、処理群の値が溶媒対照群の値より高い場合はKastenbaum-Bowmanの計算法を用いて有意差検定を行った。

用量設定根拠；

急性経口投与毒性試験(資料No.T-参考5)のLD₅₀値が5800 mg/kg以上であったため、 ~16400 mg/kgの範囲で各群3匹の動物に24時間間隔で4回連続強制経口投与して72時間以内の生死および骨髓抑制の有無を検討した予備試験の結果、死亡および著しい骨髓抑制は認められなかった。しかし最高用量16400 mg/kg以上の投与は困難であり、16400 mg/kgが最大耐量および技術的投与限界量であると考えられたので、これを最高用量として、単回投与群には および16400 mg/kg、連続投与群には16400 mg/kgを設定した。

試験結果： 骨髓標本の観察結果を表1(単回投与)および2(4日間連続投与)に示した。

単回投与および連続投与とも、雌雄いずれの標本採取時間においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照群と比較して統計学的に有意な増加は認めら

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

れなかった。

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

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

表1 単回投与群の小核試験成績

採取時間 (hrs)	薬 剤	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MN-PCE		PCE/(PCE+NCE)	
					%	範囲	%	範囲
16	溶媒対照	0	雄	6	0.12	0.0-0.3	62.1	54.8-66.0
			雌	6	0.15	0.0-0.4	61.7	57.1-66.8
	検 体	16400	雄	6	0.22	0.0-0.4	55.1	52.1-62.5
			雌	6	0.12	0.1-0.2	57.3	54.7-62.4
24	溶媒対照	0	雄 1	6	0.10	0.0-0.3	52.0	47.0-58.6
			雄 2	6	0.10	0.0-0.4	57.2	53.8-63.8
			雌 1	6	0.05	0.0-0.2	52.0	46.1-59.7
			雌 2	6	0.10	0.0-0.2	63.7	55.8-69.9
	検 体		雄	6	0.08	0.0-0.4	52.3	43.6-63.7
			雌	6	0.07	0.0-0.2	54.5	49.4-61.6
			雄	6	0.05	0.0-0.1	46.0	41.2-50.9
			雌	6	0.05	0.0-0.2	58.5	54.5-63.3
	検 体	16400	雄	6	0.10	0.0-0.3	54.8	47.5-62.2
			雌	6	0.15	0.0-0.3	57.5	48.4-69.3
			雄	6	▲5.10	3.7-6.6	50.4	41.3-57.2
			雌	6	▲3.42	2.3-4.2	55.1	48.0-64.4
48	溶媒対照	0	雄	6	0.15	0.0-0.3	59.8	53.0-65.6
			雌	6	0.08	0.0-0.2	59.0	55.7-63.4
	検 体	16400	雄	6	0.25	0.1-0.4	57.8	49.4-65.0
			雌	6	0.15	0.0-0.3	54.7	51.4-62.2
72	溶媒対照	0	雄	6	0.13	0.0-0.3	61.2	53.3-65.8
			雌	6	0.16	0.1-0.3	59.4	56.3-67.5
	検 体	16400	雄	6	0.03	0.0-0.1	64.3	55.8-72.0
			雌	6	0.05	0.0-0.1	59.1	54.0-62.0

PCE：多染性赤血球数、NCE：正染性赤血球数

MN-PCE：多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

Kastenbaum-Bowman の計算法 ▲：p<0.001

雄 1 および雌 1 は、 および mg/kg 群の溶媒対照、雄 2 および雌 2 は、16400mg/kg 群および陽性対照群の溶媒対照として使用した。

表 2 4日間連続投与群の小核試験成績

採取時間 (hrs)	薬 剤	投与量 (mg/kg)	性	観察 動物数	MN-PCE		PCE/(PCE+NCE)	
					%	範囲	%	範囲
16	溶媒対照	0	雄	6	0.08	0.0-0.2	51.1	45.0-60.4
			雌	6	0.08	0.0-0.1	55.0	48.3-65.7
	検 体	16400	雄	6	0.23	0.2-0.4	57.6	51.7-66.9
			雌	6	0.13	0.0-0.4	60.1	53.9-64.1
24	溶媒対照	0	雄	6	0.17	0.0-0.3	54.3	48.7-61.1
			雌	6	0.10	0.0-0.2	57.1	48.2-65.4
	検 体	16400	雄	6	0.18	0.0-0.4	53.1	44.6-61.9
			雌	6	0.17	0.1-0.3	59.0	55.8-64.1
48	溶媒対照	0	雄	6	0.28	0.2-0.5	59.0	55.1-64.3
			雌	6	0.08	0.0-0.5	61.0	55.6-67.3
	検 体	16400	雄	6	0.08	0.0-0.2	56.0	51.4-67.6
			雌	6	0.02	0.0-0.1	58.0	47.3-65.6
72	溶媒対照	0	雄	6	0.17	0.0-0.3	58.5	52.8-66.2
			雌	6	0.07	0.0-0.3	62.3	53.3-73.3
	検 体	16400	雄	6	0.17	0.0-0.5	50.1	44.1-56.6
			雌	6	0.03	0.0-0.1	58.5	45.5-64.5

PCE : 多染性赤血球数、NCE : 正染性赤血球数

MN-PCE : 多染性赤血球 1000 個のうち、小核を有する多染性赤血球数

Kastenbaum-Bowman の計算法 ▲ : p<0.001

14) トリホリン原体のチャイニーズハムスター由来 V79 細胞を用いた *in vitro* HGPRT 遺伝子座変異試験

(資料 No. T-41)

試験機関：LMP 変異原性試験研究所（ドイツ）
報告書作成年：1984 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法： 検体はメタノールに溶解し、代謝活性化の存在下および非存在下とも、 および $\mu\text{g/mL}$ の濃度で処理し、溶媒対照にはメタノール、陽性対照には代謝活性化非存在下ではエチルメタンスルホン酸 (EMS) および代謝活性化存在下では 9,10-ジメチル-1,2-ベンゾアントラセン (DMBA) を処理した。試験は 2 回行った。

用量設定根拠；

検体処理用量は、検体の溶解限界に従って選択した。すなわち、メタノール中で検体の沈澱が認められなかった最高用量の $\mu\text{g/mL}$ で細胞毒性が認められなかったことから、本試験の最高用量を $\mu\text{g/mL}$ とし、4 濃度を設定した。

実験方法；

実験 1 日目にコロニー形成率測定のため、約 400 個の細胞を 5 mL の培地を含んだ 2 個の 25 cm^2 フラスコに播種した。同時に HGPRT 突然変異試験用に 1×10^6 細胞を 30 mL の培地を含んだ 1 個の 175 cm^2 フラスコに播種した。翌日（実験 2 日目）、検体、S9 Mix、溶媒対照および陽性対照を 4 時間処理した。処理後、標準培地に置き換えて形質発現期間培養した。実験 8 日目にコロニー形成率測定用フラスコのコロニーを固定、染色、計数した。実験 9 日目に突然変異試験用フラスコの継代を行い、突然変異用に約 6×10^5 細胞/フラスコを 11 $\mu\text{g/mL}$ のチオグアニンを添加した MEM（選択培地）を含んだ 5 個の 80 cm^2 フラスコに播種し、さらにコロニー形成率測定用に約 500 細胞/フラスコを 2 個の 25 cm^2 フラスコに播種した。さらに 7 日間培養後（実験 16 日目）、コロニーを固定および 10%メチレンブルーで染色し、50 細胞以上からなるコロニーを顕微鏡下で計数した。なお培養は 37°C で行った。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

1 回目の実験における相対コロニー形成率は、代謝活性化非存在下では 90.8～105.1%、存在下では 84.9～95.9% の範囲であった。また、2 回目の実験における相対コロニー形成率は 98.8～98.6%、存在下では 72.0～98.5% の範囲であった。溶媒対照と比較して、代謝活性化の存在下および非存在下ともに突然変異コロニー数の増加は認められず、用量の増加に伴う突然変異コロニー数の増加傾向も認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

られなかった。

一方、陽性対照物質では突然変異コロニー数の顕著な増加が認められた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、遺伝子突然変異誘発性を有しないものと判断される。

1 回目の試験結果

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 Mix	相対コロニー 形成率(%)	生存細胞数	突然変異 コロニー数 (平均 \pm SD)	突然変異 コロニー数 / 10^6 細胞*
溶媒対照 (メタノール)		-	100	361116	14.8 \pm 2.8	41.0
検 体		-	98.0	371700	19.4 \pm 2.2	52.2
		-	105.1	347205	20.0 \pm 2.4	57.6
		-	90.8	333660	22.6 \pm 5.1	67.7
		-	96.6	412050	23.0 \pm 6.8	55.8
陽性対照 (EMS)	1000	-	81.3	392160	185.2 \pm 9.1	472.3
溶媒対照 (メタノール)		+	100	356040	11.6 \pm 2.6	32.6
検 体		+	95.9	354320	9.6 \pm 4.0	27.1
		+	89.8	427680	23.0 \pm 4.4	53.8
		+	84.9	308760	10.2 \pm 4.1	33.0
		+	86.3	398000	32.8 \pm 6.8	82.4
陽性対照 (DMBA)	15.4	+	13.7	315360	74.0 \pm 9.1	234.7

表中の数値は平均値を示す。

* : 突然変異コロニー数/ 10^6 細胞 = 突然変異コロニー数 \times 10^6 / 生存細胞数

陽性対照物質 : エチルメタンスルホン酸 (EMS)、9,10-ジメチル-1,2-ベンゾアントラセン (DMBA)

2 回目の試験結果

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 Mix	相対コロニー 形成率(%)	生存細胞数	突然変異 コロニー数 (平均 \pm SD)	突然変異 コロニー数 / 10^6 細胞*
溶媒対照 (メタノール)		-	100	421344	18.4 \pm 3.2	43.7
検 体		-	98.6	357570	9.6 \pm 1.1	26.8
		-	98.0	384648	21.6 \pm 7.3	56.2
		-	95.8	352335	19.6 \pm 5.8	55.6
		-	97.1	380277	19.3 \pm 5.6	50.8
陽性対照 (EMS)	1000	-	64.3	293460	106.0 \pm 9.4	361.2
溶媒対照 (メタノール)		+	100	318420	20.4 \pm 3.0	64.1
検 体		+	98.5	309825	16.0 \pm 4.8	51.6
		+	87.2	304440	14.0 \pm 4.9	46.0
		+	78.7	389025	19.6 \pm 5.4	50.4
		+	72.0	339300	29.8 \pm 9.1	87.8
陽性対照 (DMBA)	15.4	+	4.1	235200	105.6 \pm 10.6	449.0

表中の数値は平均値を示す。

* : 突然変異コロニー数/ 10^6 細胞 = 突然変異コロニー数 \times 10^6 / 生存細胞数

陽性対照物質 : エチルメタンスルホン酸 (EMS)、9,10-ジメチル-1,2-ベンゾアントラセン (DMBA)

15) トリホリン原体のチャイニーズハムスター由来 CHO 細胞を用いた *in vitro*
HGPRT 遺伝子座変異試験

(資料 No. T-42)

試験機関：Huntingdon Research Center (英国)

報告書作成年：1993 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：検体は DMSO に溶解し、代謝活性化の存在下および非存在下とも、
および $\mu\text{g/mL}$ の濃度で処理したが、 $50 \mu\text{g/mL}$ は評価に使用しなかった。同様に溶媒対照には DMSO、陽性対照には代謝活性化非存在下ではエチルメタンスルホン酸 (EMS) および代謝活性化存在下では 20-メチルコラントレンを処理した。試験は 2 回行った。

用量設定根拠；

検体の培養での溶解限界に相当する $\mu\text{g/mL}$ を最高用量として代謝活性化の存在下および非存在下とも $\sim \mu\text{g/mL}$ までの 9 用量を用いて細胞毒性予備試験を実施した結果、対照群値に対する細胞生存率は代謝活性化非存在下で 87~62% および代謝活性化存在下で 103~77% であった。従って、本試験の最高用量を代謝活性化非存在下および存在下とも $\mu\text{g/mL}$ とし、6 濃度を設定した。

実験方法；

7.5×10^5 細胞/mL の細胞懸濁液を作製し、検体処理群は 2 個、溶媒対照群は 4 個の 80 cm^2 フラスコに 10 mL の細胞懸濁液を播種し、 37°C 、 $5\% \text{CO}_2$ 下で 20 時間培養後、2 mL の S9 Mix または培地を各 1 個のフラスコに添加、続いて 120 μL の検体、溶媒および陽性対照物質を加えて 4 時間処理した。4 時間の処理後、細胞を再懸濁させて 5 mL の H5 培地を含んだ 60 mm プレートに 200 細胞を播種した。さらに各培養から 10^6 以上の細胞を 50 mL の H5 培地を含んだ 175 cm^2 フラスコに播種し、形質発現のために 7 日間培養した。7 日後、細胞をトリプシン処理して回収し、各処理群当たり 3 枚の 60 mm プレートに H5 培地中 200 個の細胞を播種し、選択培地を含んだ 5 枚の 100 mm プレートに 2×10^5 細胞を播種し、7 日間培養後、コロニーを固定、染色、計数した。

なお、H5 培地には、200 mM L-グルタミン、 $50 \mu\text{g/mL}$ ゲンタマイシンおよび 5% 非働化 FCS を添加した Ham's F12 培地を用い、選択培地には、10 mL の 6-TG を加えた H5 培地を用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

コロニー形成率；

$$\text{(非選択培地のコロニー総数} / \text{播種細胞数 (600))} \times 100$$

生存細胞 10^6 当りの突然変異誘発頻度；

$$\text{(600} / \text{非選択培地のコロニー総数)} \times \text{選択培地のコロニー総数}$$

試験結果：結果を次頁の表に示した。

代謝活性化非存在下における細胞生存率は、1回目の実験では78～59($\mu\text{g/mL}$)%、2回目の実験では174($\mu\text{g/mL}$)～47%の範囲であった。また、代謝活性化の存在下における細胞生存率は、1回目の実験では132～86($\mu\text{g/mL}$)%、2回目の実験では150～81%の範囲であった。

溶媒対照と比較して、代謝活性非存在下での2回目の実験における $\mu\text{g/mL}$ 処理群で突然変異誘発頻度の有意な増加がみられたが、高用量群および1回目の実験では確認されなかったことから偶発的な変化であると判断された。その他の検査時および用量群において、代謝活性の存在下および非存在下ともに突然変異誘発頻度の増加は認められず、用量の増加に伴う突然変異誘発頻度の増加傾向も認められなかった。

一方、陽性対照物質では突然変異誘発頻度の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下において、遺伝子突然変異誘発性を有しないものと判断される。

1 回目の試験結果

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 Mix	平均細胞 生存率 (%)	コロニー 形成率* (%)	突然変異コロニー総数		平均突然変異 誘発頻度 /10 ⁶ 細胞
					非選択 培地	選択培地	
溶媒対照 (DMSO)		-	100	65	414 379 401 370	5 5 16 9	14
検 体		-	78	48	288 287	7 9	17
		-	78	47	257 299	8 (16)	26
		-	60	53	302 335	- 4	7
		-	66	48	286 289	15 9	25
	#	-	70	50	289 303	5 9	14
陽性対照 (EMS)	250	-	58	43	263 245	141 228	▲440
溶媒対照 (DMSO)		+	100	63	367 362 396 394	(25) 13 6 5	20
検 体		+	100	47	253 311	(18) 4	26
		+	114	50	298 302	21 6	27
		+	121	56	329 336	(4) 7	10
	#	+	120	48	291 276	(10) (10)	22
	#	+	132	46	296 260	17 (5)	23
陽性対照 (20-MC)	5	+	75	49	269 314	(125) (203)	▲334

Arlett らの検定法 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$ 、 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.01$ 、 $\blacktriangle\blacktriangledown$: $p < 0.001$

()内の数値は汚染が認められたプレートについて調整した値である。

: 検体の沈澱が認められた。

* : 申請者の計算による。

陽性対照物質 : エチルメタンサルホン酸 (EMS)、20-メチルコラントレン (20-MC)

2回目の試験結果

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 Mix	平均細胞 生存率 (%)	コロニー 形成率* (%)	突然変異コロニー総数		平均突然変異 誘発頻度 / 10^6 細胞	
					非選択 培地	選択培地		
溶媒対照 (DMSO)		-	100	64	390	3	5	
					370	2		
					379	2		
					(390)	(5)		
検 体		-	97	49	285	2	2	
					294	(0)		
					304	(14)		↑18
					269	3		
					267	1		1
301	0							
#	-	47	54	333	3	6		
				311	3			
陽性対照 (EMS)	250	-	33	43	274	-	▲371	
溶媒対照 (DMSO)		+	100	70	(390)	0	5	
					405	2		
					433	(4)		
					442	(8)		
検 体		+	81	68	415	9	10	
					400	4		
					448	3		10
					310	(8)		
					459	(5)		10
436	(9)							
#	+	150	63	391	4	7		
				363	(5)			
#	+	147	69	436	(0)	3		
				388	4			
陽性対照 (20-MC)	5	+	181	68	391	(201)	▲302	
					422	208		

Arlettらの検定法 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.05$ 、 $\uparrow\downarrow$: $p < 0.01$ 、 $\blacktriangle\blacktriangledown$: $p < 0.001$

()内の数値は汚染が認められたプレートについて調整した値である。

: 検体の沈澱が認められた。

* : 申請者の計算による。

陽性対照物質 : エチルメタンサルホン酸 (EMS)、20-メチルコラントレン (20-MC)

16) トリホリン原体のラット初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No. T-43)

試験機関：LMP 変異原性試験研究所 (ドイツ)

報告書作成年：1985 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：

処 理；

検体はメタノールに溶解し、
、
、
、
および $\mu\text{g/mL}$ の濃度で処理し、
溶媒対照にはメタノール、陽性対照には 7,12-ジメチルベンゾ (a) アントラセン
(DMBA) を処理した。各濃度および各測定時当り 6 培養を用いた。

WISTAR CF HB 系雄ラット (8-12 週齢、体重 150-200 g) の肝から単離した $3.5\sim 4$
 $\times 10^6$ 個の初代培養肝細胞をヒドロキシウレア (15 mM) 添加培地 4 mL を入れた
フラスコに播種し、 37°C で 1 時間振盪培養した。続いて、検体および (^3H) -チミ
ジン ($0.7 \mu\text{Ci/mL}$) を添加し、さらに 37°C で 3 時間培養した。

用量設定根拠；

事前に 0、
、
、
、
、
、
、
および $\mu\text{g/mL}$ の濃度を用いた毒性影響を検討
した用量設定試験の結果、
 $\mu\text{g/mL}$ での生存率は 55%であった。従って、本試験
の最高用量を $\mu\text{g/mL}$ とし、5 濃度を設定した。

核の分離；

培養期間終了後、細胞を氷冷リン酸緩衝生理食塩液と 0.5 mg/mL のチミジンで洗浄し、
10 分間、融解液 (10 mM Tris-HCl ; 15 mM NaCl ; 1.5 M MgCl_2 ; 0.5% Nonident P40、
 $\text{pH } 8.5$) で細胞を融解させて核を沈降、Nonidet P40 を含まない上記融解液でペレッ
トを 2 回洗浄した。

DNA の分離；

得られた細胞核を 2.5 mL の融解液 (2.5 mM EDTA ; 2% SDS ; 0.1% グリシン ; 1 mg/mL
プロティナーゼ K ; $\text{pH } 10$) を用いて 30 分間融解した。DNA は 2.5 mL のトリクロ
ロ酢酸 (TCA) を添加して沈澱させ、 4°C で一晩静置して DNA を沈降させ、ペレ
ットを 1 mL の 5% TCA に再溶解した (90°C 、20 分間)。

DNA 含量の測定；

0.2 mL 試料中の DNA 量を Burton 法に従い、比色法で測定した。

放射能の測定；

0.2 mL 試料中の放射能を液体シンチレーションカウンター (LSC) を用いて測定し、³H)-チミジン取り込み量を dpm/μg DNA として示した。

試験結果： 結果を次表に示した。

薬剤	濃度 (μg/mL)	平均*dpm/μg DNA ± 標準偏差
溶媒対照 (メタノール)	0	61.0 ± 13.1
検体		58.7 ± 11.3
		76.4 ± 3.5
		71.3 ± 9.0
		59.6 ± 6.3
		64.6 ± 7.6
陽性対照 (DMBA)	25.64	275.6 ± 36.9

陽性対照物質：7,12-ジメチルベンゾ(a)アントラセン (DMBA)

• 6 反復の平均

検体処理群の³H)-チミジン取り込み量は、溶媒対照の取り込み量と同等であり、DNA 修復後のチミジン取り込みは増加しないことが示された。

陽性対照である 7,12-ジメチルベンゾ(a)アントラセン (DMBA) では溶媒対照の約 4.5 倍の増加を示した。

以上の結果から、検体は本試験条件下において、ラット初代培養肝細胞において DNA 合成障害を誘発しないものと判断した。

17) トリホリン原体のラット初代培養肝細胞を用いた *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験

(資料 No. T-44)

試験機関：Huntingdon Research Center (英国)

報告書作成年：1993 年 [GLP 対応]

検体の純度： %

試験方法：

処 理；

検体はジメチルスホキシド (DMSO) に溶解し、 \sim $\mu\text{g/mL}$ の 12 濃度で処理し、溶媒対照には DMSO、陽性対照には 2-アセチルアミノフルオレン (AAF) を \sim $\mu\text{g/mL}$ の 4 濃度を処理した。検体処理群の各濃度および陽性対照の各濃度については 3 培養、溶媒対照は 12 培養を用い、試験は 2 回行った。なお、200 $\mu\text{g/mL}$ の濃度で毒性影響が認められたため、UDS の評価は、 \sim 、 \sim 、 \sim 、 \sim 、および \sim $\mu\text{g/mL}$ について実施した。

Hsd/Ola Sprague-Dawley 系雄ラット (約 7 週齢、体重 180-200 g) の肝から単離した 0.2×10^6 個の初代培養肝細胞を用い、ガラス製カバースリップを 1 枚ずつ入れた組織培養プレート (3 ウェル) に 2 mL ずつ播種した。37°C で 90 分間インキュベーションし、細胞をカバースリップに付着させた。次に上清を取り除き、細胞を無血清 Williams medium E で 1 回洗浄し、 ^3H -チミジン (10 $\mu\text{Ci/mL}$) を含む無血清 Williams medium E を添加した。DMSO に溶解した検体を加えて 17 時間処理後、上清を 250 μM の非標識チミジンを含む培養液に交換し、さらに約 24 時間培養した。24 時間後、カバースリップをウェルから取り出し、3 回洗浄し、2.5% 酢酸含有エタノールで固定、風乾、DPX で封入した。

オートラジオグラフィ；

Ilford K2 乳剤をスライドに塗布し、冷却した金属プレート上に表を上にして置き、約 1 時間、対流空気でゆるやかに乾燥させ、続いて暗所でシリカゲルを用いて一晚乾燥後、新しいシリカゲルの入った暗箱に移して 4°C で 13 日間継続暴露した。合計 14 日間の暴露後、現像し、 ^3H -チミジン取り込み部位 (銀粒子) を標識し、さらに Mayer's Haemalum でスライドを染色した。

スライドの評価；

各培養当り 50 個の核と核に隣接した 50 個の細胞質領域の銀粒子を測定した。観察は顕微鏡下で行い、銀粒子数の測定には画像解析システムを用いた。細胞質中の銀粒子数を総核内銀粒子数から差し引いて、実質核内銀粒子数を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

μg/mL 以下の濃度の検体処理群における実質核内銀粒子数は、溶媒対照の実質核内粒子数と同等であり、用量相関性の増加もみられなかった。

陽性対照である 2-アセチルアミノフルオレン (AAF) ではいずれの濃度でも核内銀粒子数の有意な増加が認められた。

以上の結果から、検体は本試験条件下において、ラット初代培養肝細胞に対し、不定期 DNA 合成は生じないと判断した。

1 回目の試験の結果

薬剤	濃度 (µg/mL)	平均総核内粒子数	平均細胞質内銀粒子数*	実質核内銀粒子数
溶媒対照 (DMSO)		34.8	42.1	-7.3
検体		40.2	45.2	-5.0
		36.3	44.3	-8.0
		37.4	42.7	-5.3
		42.0	46.1	-4.1
		31.0	35.2	-4.2
		32.4	40	-7.6
		32.2	37.8	-5.6
	軽度な沈澱、毒性影響が認められた。			
陽性対照 (AAF)	0.01	▲86.0	56.6	▲29.4
	0.0316	▲105.6	64.2	▲41.4
	0.1	▲104.7	54	▲50.7
	0.316	▲124.3	61.7	▲62.6

2 回目の試験の結果

薬剤	濃度 (µg/mL)	平均総核内粒子数	平均細胞質内銀粒子数*	実質核内銀粒子数
溶媒対照 (DMSO)		25.9	32.9	-7.0
検体		27.0	38.5	-11.5
		29.6	34.9	-5.3
		28.1	37.1	-9.0
		28.3	34.8	-6.5
		31.3	36.5	-5.2
		30.4	36.9	-6.5
		27.1	36.7	-9.6
	軽度な沈澱、毒性影響が認められた。			
陽性対照 (AAF)	0.01	▲47.0	31.7	▲15.3
	0.0316	▲84.8	42.3	▲42.5
	0.1	▲102.0	40.4	▲61.6
	0.316	▲107.0	40.7	▲66.3

Snedecor & Cochran の古典的な一元配置分散分析：▲▼；p<0.01、▲▼；p<0.001

陽性対照物質：2-アセチルアミノフルオレン (AAF)

*：申請者にて計算した。

表中の数値は、3枚のスライドの平均値である（溶媒対照のみ11～12枚の平均値）。

(13) 生体機能に及ぼす影響試験

トリホリンにおける生体機能に及ぼす影響に関する試験

1) 中枢神経系に及ぼす影響

①ラットの中枢神経系に対する作用 (Irwin法)

(資料No. T-45)

試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年: 1990年 [GLP 対応]

検体の純度: %

供試動物: Sprague-Dawley: CD系ラット、投与時週齢; 10週齢、投与時体重 152~180g、
1群雄4匹

方 法: 検体を 0.5(w/v)% CMC 水溶液に懸濁し、0、
および 1000 mg/kg の用量を試験 1 日および 2 日 (初回投与から 24 時間後) に強制経口投与して、試験 1 日投与後 0.5、1.5、2.5、5 時間後および試験 2 日投与後 0.5、1.5、2.5、5、24、48、72、96 および 120 時間後に Irwin の方法に従い一般状態を観察した。また、試験 8 日まで、肉眼的毒性症状および死亡について毎日観察した。

結 果: 第 1 回目投与 30 分後に および 1000 mg/kg 群の数例に異常姿勢が認められ、90 分後には全ての投与群の全ての供試動物が異常姿勢及び/又は歩行異常を示した。第 2 回目の観察でも投与 30 分後に、 および 1000 mg/kg 群の数例に異常姿勢が認められ、90 分後には全ての投与群の全ての供試動物が異常姿勢及び/又は歩行異常を示し、この症状は投与 5 時間後まで持続した。

および 1000 mg/kg 群の動物では軽度な歩行異常が 24 時間後にも観察されたが、投与 48 時間後には全ての動物は正常に回復し、これ以後変化は認められなかった。観察期間中死亡例はなかった。

②マウスのヘキソバルビタール睡眠時間に対する影響

(資料No. T-46)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：CD-1系マウス、投与時週齢；4～6週齢、投与時体重；28～32 g、1群雄6匹

方法：検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、100、300および1000 mg/kgの用量を連続4日間経口投与した。投与4日目の投与30分後に100 mg/kgヘキソバルビタールナトリウム（液量10 mL/kg）を腹腔内に投与し、各マウスの睡眠開始時間と睡眠持続時間を観察した。

結果：マウスのヘキソバルビタール平均睡眠時間

群	投与物質	投与量(mg/kg)	平均睡眠時間(分)±SD	変化率(%)
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	42.88±12.02	—
2	検体	100	36.29±9.79	-15.4
3		300	↓24.90±6.34	-41.9
4		1000	↓29.22±5.80	-31.9

SD：標準偏差

Studentのt検定 ↓：P<0.05 ↓↓：P<0.01

300および1000 mg/kg投与群においてヘキソバルビタール睡眠時間を短縮した。その作用は軽度～中等度であった。100 mg/kg投与群では、溶媒対照群との間に統計学的有意差は認められなかった。

以上のことから、検体のマウスの睡眠時間に及ぼす影響の無作用量は100 mg/kgと判断された。

③ラットの筋弛緩作用（傾斜板法）

(資料No. T-47)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：Sprague-DawleyCD系ラット、投与時週齢；約9週齢、

投与時体重；雄215～246 g、雌204～234 g、1群雌雄各5匹

方法：検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、 および1000 mg/kgの用量を試験1日および試験2日に経口投与した。

傾斜板試験は、ラットを傾斜板にのせ、1秒当り6.1度の割合で板を傾斜させ、ラットが平衡を失うまで(滑り落ちるまで)に要した傾斜板の平均傾斜角度を測定した。傾斜板試験および体重は、試験4～16日に隔日で実施した。

結果：

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	ラットの平均滑り落ち角度（雌雄平均値±SD）						
			試験4日	試験6日	試験8日	試験10日	試験12日	試験14日	試験16日
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	45.6±4.3	46.5±3.3	45.1±4.0	47.0±1.7	46.4±2.8	47.0±3.9	48.3±3.6
2	検体		45.1±5.1	48.4±2.8	44.5±2.1	48.0±3.5	48.7±4.8	50.4±3.6	↓43.4±4.2
3			43.9±3.6	47.8±2.6	▼39.9±3.4	49.3±4.8	44.4±2.7	45.8±2.1	45.8±5.0
4		1000	49.0±2.4	47.6±2.6	46.0±3.4	47.9±2.2	48.2±3.1	45.9±3.3	↓44.4±3.1

SD：標準偏差

分散分析 (t 検定) ↓：p<0.05、↓：p<0.01、▼：p<0.001

以上の結果より、検体の傾斜板の平均傾斜角度に対する生物学的に有意と思われる影響は認められなかった。また、統計学的に有意な影響が散見されたが、その程度はごく小さく、用量依存性がないため、偶発的なものと考えられた。

④マウスの運動協調性に及ぼす影響（回転棒法）

(資料No. T-48)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：CD-1系マウス、投与時週齢；5週齢、投与時体重；17～21 g、1群雌10匹

方法：検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、 、 および1000 mg/kgの用量を経口投与した。

検体投与前にマウスをロータロッドに乗せ、運動持続時間を測定した。

検体投与45分後にマウスをロータロッドに乗せ、動物がロータロッド上に留まることができる「最大持続時間」を測定した。試験は連続3回行った。

陽性対照としてメフェネシンを用いた

結果：投与前および投与後(最大) ロータロッド運動持続時間

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	平均運動時間(秒±SD)	
			投与前	投与後(最大運動時間)
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	171.4±43.60	>240.8±45.32
2	検体		172.9±42.34	>240.4±35.85
3			171.3±40.85	>251.2±42.52
4		1000	171.6±43.82	>261.6±40.64
5	陽性対照 (メフェニン)	400	172.0±43.61	▼>131.0±71.97

SD：標準偏差

分散分析 ▼：p<0.001

以上の結果より、検体のマウスの運動協調性に及ぼす影響について、統計学的に有意と思われる影響は認められなかった。

2) 呼吸・循環器系に及ぼす影響

イヌの循環器系および呼吸器系に対する作用

(資料No. T-49)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：ビーグル犬、投与時週齢；約9～11か月齢、投与時体重；9～12 kg、
1群雄1匹、雌2匹

方 法：覚醒下テレメトリー装着のイヌに、検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、
および1000 mg/kgの用量で90分間隔の増量法により腹腔内投与した。

結 果：

- (1) 血圧；1例で1000 mg/kg投与20分後に、血圧低下が認められた。他の2例では、いずれの用量でも影響を及ぼさなかった。
- (2) 心拍数；1例で1000 mg/kg投与後、心拍数の減少(149～81拍/分)が観察された。
他の2例では、いずれの用量でも影響は認められなかった。
- (3) 心電図； 検体投与に起因すると思われる影響は認められなかった。
- (4) 呼吸；呼吸器系のパラメーターは麻酔状態を反映したものであり、検体による影響は認められなかった。
- (5) 大腿部血流量； 麻酔犬で一般的にみられる血流量変化のパターンであり、検体の影響は認められなかった。
- (6) 末梢血管抵抗； 検体投与に起因すると思われる影響は認められなかった。

以上の結果より、検体のイヌの循環器系および呼吸器系に対する作用について、いずれの用量においても影響を示さなかった。

3) 自律神経系に及ぼす影響

麻醉下ネコの循環器系および神経系に対する作用

(資料No. T-50)

試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年: 1990年 [GLP 対応]

検体の純度: %

供試動物: ネコ、投与時週齢; 約9か月齢、投与時体重; 2.05~3.75 kg、1群雄1匹、雌2匹

方法: 覚醒下テレメトリー装着のネコに、検体を0.5(w/v)%CMC水溶液に懸濁し、0、
および1000 mg/kgの用量で90分間隔の増量法により腹腔内投与した。血圧、心拍数、
両側総頸動脈閉塞、ノルアドレナリン応答性および瞬膜収縮を測定した。

結果:

(1)血圧; 血圧曲線の一般的パターンは、いずれの用量でも影響は認められなかった。

(2)心拍数; いずれの用量でも影響は認められなかった。

(3)両側総頸動脈閉塞; いずれの用量でも、両側総頸動脈閉塞による収縮期血圧の変化に影響は認められなかった。

(4)ノルアドレナリン応答性; ノルアドレナリンにより誘発される血圧上界および心拍数の変化に対しては、検体投与の影響は認められなかった。

(5)瞬膜収縮; 電気刺激に対応する瞬膜収縮は、検体投与による影響を受けなかった。

以上の結果より、検体のネコの循環器系および神経系に対する作用について、いずれの用量においても影響を示さなかった。

4) 消化器系に及ぼす影響

①幽門結紮ラットの胃液分泌に対する作用

(資料No. T-51)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：Wistar系ラット、投与時週齢；9週齢、投与時体重；176~204 g、1群雄10匹

方法：検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、
、および1000 mg/kgの用量を経口投与し、投与6時間後にラットを屠殺し、胃を摘出した。胃内容物容量およびH⁺、Na⁺、K⁺、Cl⁻各イオン濃度を測定した。さらに、胃損傷の程度は、肉眼的病理検査を実施し、次の判定基準に従って評点した（胃障害性スコア）。
0=正常、1=わずかに充血、2=出血、4=小さな(< 1mm)潰瘍 5=大きな(> 1mm)潰瘍

結果：

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	胃内容物容量 (mL)	平均イオン濃度 mEq/vol(±SD)				胃障害性スコア (±SD)
				Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	H ⁺	
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	9.8±2.5	0.69 ±0.28	0.052 ±0.016	1.14 ±0.35	0.49 ±0.18	2.7±1.57
2	検体		9.5±2.4	0.61 ±0.16	0.063 ±0.013	1.11 ±0.35	0.53 ±0.21	↑ 4.2±1.55
3			10.3±2.7	0.74 ±0.19	0.067 ±0.021	1.30 ±0.39	0.60 ±0.21	3.1±1.73
4		1000	9.4±2.4	0.67 ±0.20	0.058 ±0.018	1.11 ±0.36	0.47 ±0.18	↓ 0.3±0.67

SD：標準偏差

Kruskal-Wallis検定 ↑：p<0.05、↓：p<0.01

以上の結果より、検体の胃内容の容量およびイオン濃度に対する影響は、認められなかった。胃の損傷については、溶媒対照に比較して mg/kg投与群では増加したが、1000 mg/kg投与群では抑制した。これらの影響については、用量依存性がないため、偶発的なものと考えられた。

②マウスにおける胃腸管運動に及ぼす影響

(資料No. T-52)

試験機関: Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年: 1990年 [GLP 対応]

検体の純度: %

供試動物: CD-1系マウス、投与時週齢; 4~6週齢、投与時体重; 21~23 g、1群雄10匹

方法: 検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、
、 および1000 mg/kgの用量を経口投与した。投与30分後に蒸留水に懸濁した5(w/v)%炭末0.25 mLを経口投与した。炭末投与30分後に動物を屠殺し、胃腸管のすべてを摘出し、幽門括約筋から盲腸へ移動した炭末の長さを測定し、小腸全長に対する百分率として表した。

結果:

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	小腸全長に対する平均炭末移動率% (±SD)	対照群に対する%変化
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	53.5±14.19	—
2	検体		↓43.8±5.85	-18.1
3			50.4±7.73	-5.8
4		1000	54.7±7.97	+2.2

SD: 標準偏差

分散分析 ↓: p<0.05

以上の結果より、検体の胃腸管運動に及ぼす影響は、100 mg/kg投与群で対照群に比較して18%の炭末輸送能を統計学的に有意に抑制した。 および1000 mg/kg投与群ではほとんど影響が認められなかった。 mg/kg投与群の影響については、用量反応性がないため、偶発的なものと考えられた。

5) 腎機能に及ぼす影響

ラットの尿排泄に対する作用

(資料No. T-53)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：COBS Wistar系ラット、投与時週齢；7週齢、投与時体重；174~204 g、1群雄10匹

方法：検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、 および1000 mg/kgの用量を経口投与した。投与後1、2、3、4、5および24時間の尿を採取し、尿量を測定した。また、投与後5時間に採取した尿について、Na⁺、K⁺、Cl⁻および総蛋白を測定した。

結果：

表1 尿量に及ぼす影響

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	投与後の経時的総尿量(mL±SD)					
			0-1h	0-2h	0-3h	0-4h	0-5h	0-24h
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	—	2.20±0.88	3.27±0.94	3.64±0.79	3.87±0.66	4.22±0.94	15.86±2.49
2	検体		1.55±0.57	3.10±0.97	3.51±1.16	3.69±1.08	4.00±1.17	15.10±3.10
3			↓1.07±0.75	3.62±0.66	3.98±0.48	4.32±0.54	4.48±0.56	15.92±2.79
4		1000	↓1.12±0.84	3.06±0.98	3.52±0.92	3.80±0.97	4.08±0.99	14.14±3.21

SD：標準偏差

分散分析 (Studentのt 検定) ↓：p<0.01

表2 尿中電解質排泄に及ぼす影響

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	尿中の平均 蛋白含有量(mg/dL)	尿中の平均電解質含有量(mEq/vol±SD)		
				Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	—	46.8±16.1	0.15±0.05	0.09±0.03	0.12±0.03
2	検体		55.6±34.1	↓0.10±0.03	0.12±0.03	0.11±0.04
3			41.8±9.13	↓0.10±0.04	0.08±0.03	0.11±0.03
4		1000	42.9±17.0	0.11±0.04	0.09±0.04	0.12±0.02

SD：標準偏差

分散分析 (Studentのt 検定) ↓：p<0.05

以上の結果より、 および1000 mg/kg投与群で、投与後0～1時間に中等度の尿量抑制が有意に認められた。その他の尿量に影響は認められなかった。また、 および mg/kg投与群で、中等度のNa⁺排泄抑制が有意に認められた。K⁺、Cl⁻および蛋白の排泄には影響は認められなかった。

6) 血液に及ぼす影響

①ラットの血液凝固に対する作用

(資料No. T-54)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試動物：Wistar系ラット、投与時週齢；9週齢、投与時体重；188～249 g、1群雄10匹

方法：検体を0.5(w/v)% CMC水溶液に懸濁し、0、 、 および1000 mg/kgの用量を経口投与した。投与90分後にラット尾部より採血し、全血凝固時間を測定した。さらに眼窩静脈血を採取して、プロトロンビン時間と活性部分トロンボプラスチン時間を測定した。

結果：

群	投与物質	投与量 (mg/kg)	平均時間±SD		
			プロトロンビン時間 (秒)	活性部分トロンボプラスチン時間(秒)	全血凝固時間(秒)
1	溶媒対照 (0.5%CMC)	0	10.42±0.37	14.43±0.99	74.40±10.29
2	検体		10.30±0.22	14.72±0.61	74.90±10.05
3			10.20±0.25	15.06±1.36	66.00±9.76
4		1000	10.19±0.28	15.07±2.14	72.60±10.47

SD：標準偏差

分散分析：統計学的有意差なし

以上の結果より、プロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間および全血凝固時間については、投与による影響は認められなかった。

②ヒト赤血球に対する溶血作用 (*in vitro*)

(資料No. T-55)

試験機関：Huntingdon Life Sciences Ltd. (英国)

報告書作成年：1990年 [GLP 対応]

検体の純度： %

供試血液：ヒト血液の赤血球分画

方法：3名のボランティアより採血した血液をEDTA処理後遠沈して赤血球分画をとり、生理食塩水を用いて3%赤血球浮遊液を調製した。

検体を0.9%生理食塩水に溶解し、
、
、および mg/mLの検体溶液を調整した。陽性対照として、蒸留水、陰性対照として生理食塩水を用いた。各調整溶液3 mLと上記赤血球浮遊液1 mLをよく混和して、37°Cで2時間インキュベートした。インキュベート終了後遠沈し、上澄液を吸光度法で溶血率を測定した。

結果：溶血率(%)

ヒトNo.	検体(mg/mL)			
1	0	0	0	0.5
2	0	0.3	0.6	0.6
3	0	0	0	0.3
平均	0	0.1	0.2	0.5

$$\text{溶血率} = \frac{\text{試料の吸光度} - \text{陰性対照の吸光度}^{(1)}}{\text{陽性対照の吸光度}^{(2)} - \text{陰性対照の吸光度}}$$

以上の結果より、検体投与はヒト赤血球に対して溶血作用を示す所見は認められなかった。

「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経	一般状態 [Irwin 法]	ラット	経口 (0.5%CMC)	0、 、 、1000	雄 4		<100	異常姿勢、 歩行異常、 感情鈍麻、 軽度な下痢
	ヘキソバルビタール 睡眠時間	マウス	経口 (0.5%CMC)	0、100、 300、1000	雄 6	300	100	ヘキソバルビタール 睡眠時間を短 縮させる
	筋弛緩作用 (傾斜板法)	ラット	経口 (0.5%CMC)	0、 、 、1000	各 5	-	>1000	影響なし
	運動協調性 (回転棒法)	マウス	経口 (0.5%CMC)	0、 、 、1000	雌 10	-	>1000	影響なし
循環器・ 呼吸器系	血圧、 心拍数、 心電図、 呼吸、 大腿部 血流量、 末梢血管 抵抗	イヌ (麻酔下)	腹腔内 (0.5%CMC)	0、100、 300、1000	雄 1 雌 2	-	>1000	影響なし
自律神経系	血圧、 心拍数、 瞬膜収縮、 ノルアドレナリン 誘発性	ネコ (麻酔下)	腹腔内 (0.5%CMC)	0、 、 、1000	雄 1 雌 2	-	>1000	影響なし

「生体機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表（続き）

試験項目		動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
消化器系	胃液分泌	ラット	経口 (0.5%CMC)	0、 、1000	雄 10	-	>1000	影響なし
	胃腸管運動	マウス	経口 (0.5%CMC)	0、 、1000	雄 10	-	>1000	影響なし
腎機能	尿量、 尿中電解質、 排泄	ラット	経口 (0.5%CMC)	0、100、 300、1000	雄 10	100	<100	中等度の尿量 抑制、Na ⁺ 排泄 抑制
血液系	血液凝固	ラット	経口 (0.5%CMC)	0、 、1000	雄 10	-	>1000	影響なし
	赤血球分画	ヒト 血液	<i>In vitro</i>	、 、 mg/mL	-	-	>1.0 mg/mL	影響なし

2.原体混在物および代謝物

(1)トリホリン代謝物 (W1069) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. T-56)

試験機関: 臨床医科学研究所

報告書作成年: 1986年[GLP 対応]

検体名: トリホリン代謝物 (W1069)

検体の純度: %

供試動物: Slc:Wistar/KY ラット(5週齢)、1群雌雄各5匹

観察期間: 14日間観察

投与方法: 検体を蒸留水に溶解して経口投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について各組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)		
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	2024 (~)	1918 (~)
死亡開始時間 および終了時間	開始時間: 30分 消失時間: 5時間	
症状発現および 消失時間	症状発現: 10分 症状消失: 6時間	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)		

中毒症状としては、雌雄に関係なく自発運動の低下、流涎、呼吸困難および座嚙が観察された。剖検所見では、死亡例の雌雄に、肺のうっ血および胃粘膜の糜爛または出血が認められたが、試験終了時の生存例には主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2)トリホリン代謝物 (W1069) の微生物を用いた復帰変異試験

(資料No. T-57)

試験機関: ㈱化学品検査協会

化学品安全センター日田研究所

報告書作成年: 1987年[GLP対応]

検体名: トリホリン代謝物 (W1069)

検体の純度: %

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA98、TA100およびトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* WP2 uvrAを用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。検体は滅菌精製水に溶解し、用量設定予備試験で菌の生育阻害が認められなかった5000 µg/Plateを最高濃度とした。

試験結果: 次頁に表示する。

検体トリホリン代謝物は、代謝活性化を含め最高濃度5000 µg/Plateにおいても、復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いたアクリル酸アミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、アクリジンミュータジェン (ICR-191)、2-アミノアントラセン (2-AA) では、それぞれの検定菌株に対し明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果により、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しないものと判断される。

代謝活性化系の有無	濃度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
S9 Mix (-)	溶媒対照	171	13	16	22	7
		(170)	(16)	(14)	(24)	(7)
		169	20	12	26	7
		154	18	14	23	6
		(156)	(19)	(14)	(33)	(6)
		157	20	14	43	7
		181	12	19	43	7
		(166)	(16)	(14)	(40)	(7)
		150	20	10	36	7
		165	22	14	25	7
		(174)	(20)	(16)	(30)	(8)
		182	16	19	34	8
	197	20	20	35	9	
	(192)	(18)	(18)	(34)	(9)	
	188	16	22	34	9	
5000	183	17	17	42	9	
	(179)	(20)	(14)	(45)	(12)	
	175	24	12	48	16	
S9 Mix (+)	溶媒対照	198	15	17	68	5
		(199)	(17)	(17)	(71)	(10)
		200	19	17	74	14
		212	19	12	56	12
		(207)	(18)	(12)	(54)	(12)
		202	18	11	52	13
		187	17	15	65	13
		(193)	(20)	(13)	(66)	(11)
		199	24	11	67	9
		195	9	5	60	18
		(204)	(10)	(10)	(66)	(20)
		214	11	16	72	21
	220	8	20	53	12	
	(200)	(13)	(20)	(52)	(9)	
	180	18	20	51	6	
5000	200	16	16	84	15	
	(201)	(16)	(17)	(70)	(15)	
	202	16	18	56	15	
陽性対照	名称	AF-2	NaN3	AF-2	AF-2	ICR-191
	濃度($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	1
	コロニー数/プレート	642	614	21	577	509
		(624)	(516)	(23)	(573)	(496)
		607	419	25	569	482
	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
濃度($\mu\text{g}/\text{Plate}$)	1	2	20	0.5	2	
コロニー数/プレート	1910	454	506	1314	569	
	(1733)	(466)	(555)	(1292)	(558)	
	1556	479	604	1243	548	

(): 平均値

陽性対照物質: アクリル酸アミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN3)、アクリジンミュータジェン (ICR-191)、2-アミノアントラセン (2-AA)

3. 製剤毒性

(1) 急性毒性

1) トリホリン乳剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. F-01)

試験機関：RCC社（スイス）

報告書作成年：1990年[GLP対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

(組成) トリホリン原体 ; 18.0%

有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：Wistar系ラット、9～11週齢、試験開始時体重；雄 195～230 g、雌 170～203 g、
1群雌雄各5匹

観察期間：15日間観察（投与日を試験1日とする）

投与方法：検体を2回蒸留した水で希釈し、および5000 mg/kgの用量でラットに
経口投与した。動物は投与前に12～18時間絶食させ、投与3時間後に給餌を開始
した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を試験1日4回、試験2日～15日まで1日1回観察した。
体重は投与直前、試験8および15日に測定した。死亡動物および試験終了時
の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結 果:

投与方法	経口	
	雄	雌
性 別		
投与量 (mg/kg)	、 5000	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	3868(~)	3017(~)
死亡開始時間 および終了時間	死亡開始：1時間後 死亡終了：3日後	
症状発現および 消失時間	症状発現：1時間後 症状消失：4日後	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)		

中毒症状としては、 \quad mg/kg 投与群の雌雄に鎮静、呼吸困難、同投与群の雌にぎくしゃくした行動、5000 mg/kg 投与群の雌雄に鎮静、円背位、ぎくしゃくした行動、呼吸困難並びに同投与群の雌に腹位横臥、被毛粗剛が観察された。

体重に対する検体投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、 \quad mg/kg 投与群の死亡動物に肺の退色、暗赤色および赤茶色が認められ、5000 mg/kg 投与群の死亡動物でも肺の退色、暗赤色、蒼白が認められた。

2) トリホリン乳剤のラットにおける急性経皮毒性

(資料 No. F-02)

試験機関：RCC社（スイス）

報告書作成年：1990年[GLP対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

(組成) トリホリン原体 ; 18.0%

有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：Wistar系ラット、10～12週齢、体重：雄249～282 g、雌194～210 g、1群雌雄各5匹

観察期間：15日間観察（投与日を試験1日とする）

投与方法：投与24時間前に、背部を剪毛した。検体は希釈せずに刈毛した背部皮膚に均一に24時間塗布した。その後、塗布部位を微温水で洗浄し、検体を除去した。

観察・検査項目：中毒症状および生死を試験1日は1日4回、試験2日～15日は1日1回観察した。体重は投与直前、試験8および15日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行なった。

結果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	
症状発現および 消失時間	症状発現なし	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	>2000	

中毒症状は認められなかったが、投与部位の皮膚に雌雄に関係なく紅斑および鱗屑が認められた。雄動物は試験14日に回復した。

雄1例に体重減少が認められたが、その他の動物には検体投与の影響は認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 皮膚および眼に関する刺激性

1) トリホリン乳剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. F-03)

試験機関：RCC社 (スイス)

報告書作成年：1990年[GLP対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

(組成) トリホリン原体 ; 18.0%
有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：New Zealand 白色ウサギ、14～15週齢、体重：雄 2.4～2.9 kg、雌 2.5～2.7 kg

1群雌雄各3匹

観察期間：14日間観察

投与方法：投与24時間前に動物の背部被毛を剪毛し、投与部位とした。検体は希釈せずにそのまま0.5 mLを投与部位(約6 cm²)に塗布し、ガーゼパッチで4時間半閉塞貼付した。検体を除去後、投与部位を微温水で洗浄した。

観察項目：適用終了後1、24、48、72時間および7、14日に刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無を観察し、農水省ガイドラインに従って採点した。

EECの評価基準に従って、紅斑の平均点および浮腫の平均評点を、検体除去24、48および72時間の観察から算出した。動物6例に適用した時、紅斑あるいは浮腫のいずれかの総平均評点が2あるいはそれ以上である場合、検体は皮膚刺激性物質であると判断した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

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	7日	14日
40	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	0	0
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0
41	紅斑・痂皮	4	2	2	3	3	1	0
	浮腫	4	0	1	2	2	0	0
42	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	0	0
	浮腫	4	1	1	1	1	0	0
43	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	0	0
	浮腫	4	1	1	1	1	0	0
44	紅斑・痂皮	4	2	2	2	2	0	0
	浮腫	4	1	1	1	1	0	0
45	紅斑・痂皮	4	2	2	3	3	1	0
	浮腫	4	1	1	2	2	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	12	12	14	14	2	0
	浮腫	24	4	6	8	8	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	2	2	2.33	2.33	0.33	0
	浮腫	4	0.67	1	1.33	1.33	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

1時間～7日後に軽度～中等度の紅斑(評点1～3)が認められたが14日後には消失し、1～72時間後に非常に軽度～軽度の浮腫(評点1～2)が認められたが、7日後には消失した。

EECの評価基準に基づく、検体除去後、24、48および72時間における評点の個体別平均値および6匹の総平均評点は下表のとおりである。

観察項目	個体別平均値						総平均評点
	No.1	No.2	No.3	No.4	No.5	No.6	
紅斑	2.00	2.67	2.00	2.00	2.00	2.67	2.22
浮腫	1.00	1.67	1.00	1.00	1.00	1.67	1.22

紅斑および浮腫の総平均評点は、各々2.22および1.22となり、検体はウサギの皮膚に対して刺激性物質であると判断された。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して、軽度の刺激性があるものと思われる。

2) トリホリン乳剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料No.F-04)

試験機関：RCC社（スイス）

報告書作成年：1990年[GLP対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

（組成）トリホリン原体 ; 18.0%

有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：New Zealand 白色ウサギ、14～15週齢、体重：雄2.8～3.0 kg、雌2.5～2.9 kg、
1群雌雄各3匹

観察期間：21日間観察

投与方法：検体0.1 mLを左眼の結膜嚢内に適用し、約1秒間両眼瞼を合わせ閉眼させた。右眼は無処置対照とした。

観察項目：投与後1、24、48、72時間、および7、14、21日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

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	14 日	21 日	
非洗眼群	動物番号 1	角膜混濁	程度	4	1	1	1	1	1	1	0
		虹 彩		2	0	0	0	1	1	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	4	2	2	2	2	1	0	0
			分泌物	(3)	3	3	3	3	0	0	0
	動物番号 2	角膜混濁	程度	4	1	1	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	1	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0	0
			浮腫	4	2	2	2	1	0	0	0
			分泌物	(3)	3	3	3	3	0	0	0
	動物番号 3	角膜混濁	程度	4	1	1	1	1	1	1	1
		虹 彩		2	0	0	1	1	1	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	0	0
			浮腫	4	2	2	1	1	1	0	0
			分泌物	(3)	3	3	3	3	3	0	0
	動物番号 4	角膜混濁	程度	4	1	1	1	1	1	1	1
		虹 彩		2	0	0	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0	0
			浮腫	4	2	1	1	1	0	0	0
			分泌物	(3)	3	3	3	3	0	0	0
	動物番号 5	角膜混濁	程度	4	1	1	1	1	1	0	0
		虹 彩		2	0	0	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0	0
			浮腫	4	2	1	1	1	0	0	0
分泌物			(3)	3	3	3	3	0	0	0	
動物番号 6	角膜混濁	程度	4	1	1	1	1	2	2	1	
	虹 彩		2	0	1	1	1	1	0	0	
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	2	0	0	
		浮腫	4	2	2	2	2	1	0	0	
		分泌物	(3)	3	3	3	3	3	0	0	
合計			78	48	48	50	50	28	5	3	
平均			13	8.00	8.00	8.33	8.33	4.67	0.83	0.50	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

角膜のわずかな混濁および部分的な血管新生が、被験物質適用後1時間～14日の間に全ての動物で認められた。3例の動物においては、血管新生および混濁が21日間の観察後にも認められた。

以上の結果から、本剤はウサギの眼粘膜に対して、強度の刺激性があるものと思われる。

3) トリホリン乳剤（800倍希釈液）のウサギを用いた眼刺激性試験

（資料 No. F-05）

試験機関：㈱実医研

報告書作成年：2002年 [GLP対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

（組成）トリホリン原体 ; 18.0%

有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：日本白色種雄性ウサギ、8～9週齢、体重：2.03～2.21 kg、1群雄3匹

観察期間：72時間

投与方法：検体を注射用水で800倍希釈液（0.125%）に調製し、0.1 mLを右眼に適用した。左目は無処置対照とした。

観察項目：適用後1、24、48および72時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドラインに従って採点した。

結果：観察した刺激性変化の採点は下表のとおりである。

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	14 日	21 日	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0	0	0	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
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0	0	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
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
			浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
			分泌物	(3)	0	0	0	0	0	0	0
	合計			78	0	0	0	0	0	0	0
	平均			13	0	0	0	0	0	0	0

いずれの観察時点においても全例の角膜、虹彩、結膜に、眼刺激性変化は認められなかった。平均合計スコアは全ての観察時点で0であったことから、Kay & Calandra の基準に従うと希釈液は無刺激に分類された。

以上の結果から、本剤の 800 倍希釈液はウサギの眼に対して、刺激性がないものと結論された。

(3) 皮膚感作性

トリホリン乳剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. F-06)

試験機関：RCC社（スイス）

報告書作成年：1990年[GLP対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

(組成) トリホリン原体 ; 18.0%

有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：Ibm: GOHI; SPF-qualityモルモット、8週齢、試験開始時体重:466.9~480.1 g、
1群雌20匹(対照群は10匹)

観察期間：37日間(1990年1月15日~2月22日、感作処理および惹起処理後48時間観察)

試験操作：Maximization法

投与量設定根拠；刈毛したモルモットの側腹部にエタノール/生理食塩液(3:7)中で5%、3%および1%の濃度に調製した被験物質を皮内注射し、24時間後に皮膚反応を評価し、更に、4例のモルモットの側腹部に100%、75%、50%および25%の濃度に調製した被験物質を経皮適用し、24および48時間後に皮膚反応を評価した結果、最高非刺激濃度の検体で測定できなかったことから、別の4匹のモルモットに25%、20%、15%および10%の濃度の被験物質を適用した。最高非刺激濃度20%を1回目の惹起濃度とし、20%および10%を2回目の惹起濃度とした。

感作(皮内投与)；背部(約6×8 cm)を刈毛し、以下の溶液各0.1 mLを左右1ヶ所ずつ計6ヶ所に皮内投与した。対照群には同様に投与した。

試験群：

①2回蒸留した水とフロイントの完全アジュバント (50:50)

②5%検体溶液 (溶媒、エタノール：生理食塩液 (3：7))

③②をフロイントの完全アジュバントと試験群②の溶媒で50:50混合した検体溶液

対照群：

①2回蒸留した水とフロイントの完全アジュバント (50:50)

②試験群②で使用した溶媒

③2回蒸留した水とフロイントの完全アジュバント50:50

感作(皮膚塗布)；皮内投与の1週間後、肩甲骨部を剪毛し、25%検体液 (溶媒、エタノール：生理食塩液 (3：7)) 0.1 mLを2×4 cmのパッチに塗布し、48時間半閉塞塗布した。対照群の動物には溶媒のみを同様に処理した。パッチ除去後、24時間および48時間後に適用部位の皮膚反応を観察した。

惹起（1回目）；経皮適用2週間後、左右側腹部を剪毛し、20%検体液（溶媒、エタノール：生理食塩液（3：7））を2×2 cmのパッチに塗布し、24時間半閉塞塗布した。対照群の動物には溶媒のみを同様に処理した。パッチ除去後、24時間および48時間後に適用部位の皮膚反応（紅斑および浮腫）をDraize法に従って採点した。

惹起（2回目）；1回目惹起2週間後に、20%検体液（溶媒、エタノール：生理食塩液（3：7））および10%検体液（溶媒、エタノール：生理食塩液（3：7））を用いて、1回目惹起同様の方法で適用した。パッチ除去後、24時間および48時間後に適用部位の皮膚反応（紅斑および浮腫）をDraize法に従って採点した。

結果：各観察時間における平均皮膚反応評点を表1に示した。

第1回目の惹起の24時間および48時間評価時において、20例中5例および20例中4例の動物にそれぞれ紅斑反応が認められた。

第2回目の惹起24時間および48時間評価時において、20%検体液を適用後、20例中5例および20例中3例に紅斑反応が認められたが、10%検体液を適用後、皮膚反応は認められなかった。

対照群ではいずれの濃度処理区においても陽性反応はみられなかった。

以上の結果から、本試験条件下における本剤のモルモットに対する皮膚感作性はないと判断された。

表1 皮膚反応評点

群	惹起	供試動物数	24時間後		48時間後		
			皮膚反応評点 (平均)		皮膚反応評点 (平均)		
			紅斑	浮腫	紅斑	浮腫	
1 回 目 惹 起	試験群	20%検体	20	0.25	0	0.2	0
		溶媒		0	0	0	0
	対照群	20%検体	10	0	0	0	0
		溶媒		0	0	0	0
2 回 目 惹 起	試験群	20%検体	20	0.3	0.1	0.15	0.05
		10%検体	20	0	0	0	0
	対照群	溶媒	10	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

4.参考

(1)原体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

(2)製剤

1) トリホリン乳剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No. F-参考 1)

試験機関：Huntingdon Research Center (英国)

報告書作成年：1989年[GLP 対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

(組成) トリホリン原体 ; 18.0%
有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：CFY (Sprague-Dawley origin) 系ラット、4～6 週齢、試験開始時体重；92～127 g
1 群雌雄各 5 匹、

観察期間：15日間観察（投与日を試験1日とする）

投与方法：検体の所定量を注射筒とプラスチックカテーテルを用いて投与した。

観察・検査項目：一般症状および生死を投与後、試験1日は投与5時間後まで常時観察、試験2日～15日は午前と業務終了時の2回、休日は午前11時半に観察を行った。
観察項目は個々の動物の死亡推定時刻、毒性症状の内容・程度・およその発現時間と持続時間で、第1日、8日、15日および死亡時には体重を測定した。
全ての生存動物は第15日に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	、	、8000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	5400 (~)	
死亡開始時間 および終了時間	2日 7日	
症状発現及び 消失時間	5分 11日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)		

mg/kg 以上の投与群の雌雄に死亡が認められた。死亡は第2日と第3日に見られた。中毒症状としては、立毛、流涎、姿勢及び歩行の異常、嗜眠、呼吸数の減少、眼瞼下垂、四肢蒼白、振せんが認められた。
肉眼的病理検査では、特記すべき異常は認められなかった。

2) トリホリン乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 No. F-参考 2)

試験機関：Huntingdon Research Center (英国)

報告書作成年：1989年[GLP 対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%

(組成) トリホリン原体 ; 18.0%
有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：CFLP (ICI - Strain I) 系マウス、4~6週齢、試験開始時体重；21~25g、
1群雌雄各5匹、

観察期間：15日間観察（投与日を試験1日とする）

投与方法：検体の所定量を注射筒と金属性カニューレを用いて投与した。

観察・検査項目：一般症状および生死を投与後、試験1日は投与5時間後まで常時観察、試験2日~15日は午前と業務終了時の2回、休日は午前11時半に観察を行った。
観察項目は個々の動物の死亡推定時刻、毒性症状の内容・程度・おおよその発現時間と持続時間で、第1日、8日、15日および死亡時には体重を測定した。
全ての生存動物は第15日に肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	
	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	>5000	
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし	
症状発現および 消失時間	4時間 2日	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	5000	

雌雄とも死亡は認められなかった。

中毒症状としては、立毛、姿勢および歩行の異常、嗜眠、呼吸数減少、眼瞼下垂、四肢の蒼白が認められた。試験2日には回復した。

肉眼的病理検査では、特記すべき異常は認められなかった。

3) トリホリン乳剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No. F-参考 3)

試験機関：Huntingdon Research Center (英国)

報告書作成年：1989年[GLP 対応]

検体の純度：トリホリン乳剤 18%
(組成) トリホリン原体 ; 18.0%
有機溶剤、界面活性剤等 ; 82.0%

供試動物：CFY (Sprague-Dawley origin) 系ラット、7~10 週齢、試験開始時体重 ; 208~250 g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間観察

投与方法：検体の原液を投与液とした。投与前日に背腰部を刈毛し、検体は希釈せずに刈毛した背部皮膚に均一に塗布し、ガーゼで 24 時間半閉塞塗布した。その後、塗布部位を微温水で洗浄し、検体を除去した。

観察・検査項目：一般症状および生死を投与後、試験 1 日は投与 5 時間後まで常時観察、試験 2 日~15 日は午前と業務終了時の 2 回、休日は午前 11 時半に観察を行った。
観察項目は個々の動物の死亡推定時刻、毒性症状の内容・程度・およびその発現時間と持続時間で、第 1 日、8 日、15 日および死亡時には体重を測定した。
全ての生存動物は第 15 日に肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮	
	雄	雌
性別		
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし	
症状発現及び 消失時間	試験 2 日から発現 試験 10 日に消失	
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2000	

雌雄とも死亡は認められず、一般状態に変化は見られなかった。
皮膚反応としては雄で軽微の紅斑、雌で軽微の浮腫を伴ったはっきりした紅斑が認められたが、これらの反応は、試験 10 日には回復した。
肉眼的病理検査では、特記すべき異常は認められなかった。

4) トリホリン乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 No. F-参考 4)

試験機関：Hazleton France(フランス)

報告書作成年：1989年[GLP 対応]

製剤組成：トリホリン乳剤 15%*

*：中央値管理移行前の表示値

(組成) トリホリン原体 ; 15.0%

有機溶剤、界面活性剤等 ; 85.0%

供試動物：Dunkin-Hertley系アルビノ・モルモット、試験開始時体重；302～420 g、

1群雌雄各10匹

観察期間：25日間

試験操作：Maximization法

投与量設定根拠；感作誘導において、皮内注射では0.5%(v/v)濃度で軽微な皮膚反応がみられたが、半数の動物が48時間以内に回復したため、本試験では検体0.5%(v/v)濃度を0.1 mL適用した。また48時間閉塞貼付では20%(v/v)以上の濃度で中等度～重度の刺激性反応がみられ、10%(v/v)以上の濃度で軽度～中等度の刺激性反応がみられなかったため、本試験では7日目に10%(w/w)ラウリル硫酸ナトリウムを適用し、検体10%(v/v)濃度を0.5 mL適用した。

感 作：

検体投与群は、以下の方法で投与した。

a) 皮内注射；肩甲骨下部を剃毛し、正中線の両側縦1列の2部位に、下記の注射液0.1 mLを1回皮内注射した。

1)フロイントの完全アジュバントを注射用等張液(0.9%NaCl)で希釈した50%溶液

2)検体を注射用蒸留水(0.9%NaCl)で希釈した0.5%(v/v)溶液

3)フロイントの完全アジュバントを注射用等張液(0.9%NaCl)で50%濃度としたものと検体を注射用蒸留水で1%(v/v)にしたものを50：50(v/v)で混和したもの(最終濃度：0.5%)

b) ラウリル硫酸ナトリウムの局所適用；局所刺激を引き起こすために、7日目に剃毛した背部6部位に局方パラフィンで10%濃度としたラウリル硫酸ナトリウムの懸濁液を適用した。

c) 貼 付；皮内注射8日目に、7日目に剃毛した背部6部位(2×4 cm)に被験物質を注射用蒸留水で0.5%(v/v)にした液0.5 mLを浸込ませた濾紙を48時間貼付した。

陰性対照群は、投与群と同様の方法で以下の溶液を投与した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

- a) 皮内注射； 対照群には注射用蒸留水のみ 0.1 mL を適用した。
- b) ラウリル硫酸ナトリウムの局所適用； 局所刺激を引き起こすために、7 日目に剃毛した背部 6 部位に局方パラフィンで 10%濃度としたラウリル硫酸ナトリウムの懸濁液を適用した。
- c) 貼 付； 対照群には注射用蒸留水のみ 0.1 mL を適用した。

陽性対照群の動物には、投与群と同様の方法で以下の溶液を投与した。

- a) 皮内注射； 陽性対照群には DNCB を 1,2-7^β-ピレンガリコールで 0.05% (w/w)濃度に調製したものを第 2 部位に、また、0.1%(w/w)濃度に調製したものを第 3 部位に（最終濃度 0.05%）に適用した。
- b) ラウリル硫酸ナトリウムの局所適用； 局所刺激を引き起こすために、7 日目に剃毛した背部 6 部位に局方パラフィンで 10%濃度としたラウリル硫酸ナトリウムの懸濁液を適用した。
- c) 貼 付； 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) を 1,2-7^β-ピレンガリコールで 0.05%(w/w)濃度に調製した液 0.5 mL を適用した。

惹 起：試験 22 日目に感作誘導に用いなかった脇腹の左（検体）あるいは右（溶媒）の 4 cm²を惹起適用部位とし、下記溶液を 24 時間貼付した。

検体投与群および陰性対照群には検体を注射用蒸留水で 2.5%(v/v)濃度に希釈した液 0.5 mL を浸込ませた濾紙を左側腹部皮膚（溶媒対照の注射用蒸留水 0.5 mL は左側腹部皮膚）に 24 時間貼付した。

陽性対照群の動物には DNCB を 1,2-7^β-ピレンガリコールで 0.05%(w/w)濃度に調製した液 0.5 mL を適用した。（溶媒対照として 1,2-7^β-ピレンガリコール 0.5 mL を左側腹部皮膚）

観 察 項 目：惹起 24 時間および 48 時間後に適用部位の皮膚反応を観察し、Magnusson & Kligman の評価法（下記判定基準）に従って、紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察した。その他に嚢胞、肥厚、乾皮などの異常についても調べた。

判定基準

反応なし	0
軽微な紅斑（わずかに識別できる程度）	1
中等度な紅斑（明らかに識別できる程度）	2
浮腫を伴う重度な紅斑	3

検体による皮膚の着色により紅斑の観察が不可能であったため、検体投与群、陰性対照群の全動物および陽性対照群で肉眼的に疑わしいものについては、病理組織学的検査を実施した。

結 果：感作変化が認められた動物数を次ページ表に示す。

検体投与群では、20頭全てに皮膚感作性反応は認められなかった。

以上の結果から、本剤は本試験条件下ではモルモットに対して皮膚感作性はないと判断された。

皮膚感作性試験結果

	群			供試動物数	感作反応動物数												
	感 作		惹 起		24 時間					感作陽性率*	48 時間					感作陽性率*	
	皮内注射	貼付			皮膚反応評点				合 計		皮膚反応評点				合 計		
					0	1	2	3			0	1	2	3			
検体投与	0.5% 検体 0.1 mL	0.5% 検体 0.1 mL	2.5% 検体 0.5 mL	20	20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
陰性対照	注射用 蒸留水 0.1 mL	注射用 蒸留水 0.5 mL	2.5% 検体 0.5 mL	20	20	0	0	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0
陽性対照	0.05% DNCB 0.1 mL	0.05% DNCB 0.5 mL	0.05% DNCB 0.5 mL	20	2	0	8	10	46	90	2	3	9	6	39	90	

* : 感作陽性動物数/供試動物数×100

IX. 動植物および土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧>

資料 No.*	試験の 種類	供試動 植物等	投与 方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-01 (GLP)	吸収・ 分布・ 排泄・ 代謝 (動物)	ラット (雌雄)	経口 投与	[¹⁴ C]トリ ホリン [¹⁴ C]ト リホリン 単回投与 低用量:10 mg/kg 高用量:1000 mg/kg 反復投与 10 mg/kg	[吸収・排泄] ・投与方法にかかわらず投与した ¹⁴ C-トリホリンは、速やかに体外に排泄された。低用量群では単回投与の場合、168時間までに尿中に投与量の78.3% (雄)、79.0% (雌)、糞中に12.3% (雄)、14.3% (雌)、呼気中に5.2% (雄)、6.0% (雌) が排泄され、反復投与の場合、尿中に、71.3% (雄)、74.1% (雌)、糞中に17.5% (雄)、15.1% (雌)、呼気中に6.3% (雄)、6.8% (雌) 排泄された。高用量群では、主に糞中に投与量の84.5% (雄)、77.2% (雌)、尿中に10.7% (雄)、19.1% (雌) 排泄された。 ・排泄挙動に性差は認められなかった。 [組織内分布] ・投与168時間後において、全ての組織で放射能濃度は低く、ほとんどの場合、対応する血漿中の濃度より高いことが示された。 [代謝] ・尿中に排泄された未変化のトリホリンは全投与群において投与量の ~ %であった。 ・糞中に排泄された未変化のトリホリンは低用量群では投与量の %以下であり、高用量群では投与量の ~ %であった。 ・糞尿中の主要代謝物は、W1069 [最大53.0% (尿)]、 の 抱合体 (W) [最大18.6% (尿)]、 抱合体 (V) [最大14.5% (尿)]、 (U) [最大3.0% (尿)]であった。 ・トリホリンのラットにおける代謝経路は、 の脱離、および の加水分解、ならびに抱合化であった。	Huntingdon Research Centre (1992年)	M-12

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

資料 No. *	試験の 種類	供試動 植物等	投与 方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-02 (GLP)	吸収・ 分布・ 排泄・ 代謝 薬物動態 (動物)	ラット (雌雄)	経口 投与	[¹⁴ C]トリ ホリン 単回投与 低用量; 10 mg/kg 高用量; 1000 mg/kg	<p>[血中の薬物動態学的パラメータ]</p> <p><低用量></p> <p>雄; Tmax: 3.5 時間、Cmax: 0.78 ppm、 T_{1/2}: 125.0 時間</p> <p>雌; Tmax: 2.0 時間、Cmax: 0.67 ppm、 T_{1/2}: 95.7 時間</p> <p><高用量></p> <p>雄; Tmax: 5.5 時間、Cmax: 8.10 ppm、 T_{1/2}: 98.8 時間</p> <p>雌; Tmax: 5.5 時間、Cmax: 7.62 ppm、 T_{1/2}: 111.5 時間</p> <p>[組織内分布]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ Tmax 時点に比較的高濃度の残留が認められた組織は、低用量群で肝臓、腎臓、肺、脾臓、副腎および下垂体であり、高用量群で肝臓、腎臓、肺、副腎、脾臓、骨および骨髄であった。いずれの組織濃度も 168 時間までに速やかに減少した。 ・ 明確な雌雄差は認められなかった。 <p>[吸収・排泄]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 低用量群では、48 時間以内に胆汁および糞中にそれぞれ、投与量の 8.7~13.4%および 14.0~19.6%が排泄され、消化管 (内容物を含む) には投与量の 1.2~7.4%が残っていた。高用量群では、48 時間以内に胆汁および糞中にそれぞれ、投与量の 2.3~3.7%および 30.9~55.9%が排泄され、消化管 (内容物を含む) には、雄および雌それぞれ、投与量の 40.4%および 19.9%が残っていた。 ・ 吸収率は、低用量および高用量群でそれぞれ、78.6~79.2%および 24.3~28.7%と推定された。 	XenoBiotic Lab.社 (1996)	M-22

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

資料 No. *	試験の種類	供試動物植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-03	吸収・排泄、 血中濃度 (動物)	ラット (雄)	経口 投与	[³ H]トリ ホリン [¹⁴ C]ト リホリン 単回投与 薬物動態； 11.5 mg/kg 尿糞排泄； 低用量； 11.5、15.0 mg/kg 高用量； 25、50、100、 200 mg/kg 胆汁排泄； 9.0 mg/kg	[血中濃度] ・ 投与4時間後に血中濃度が最高値に達した。 [吸収・排泄] ・ 両標識体とも投与したトリホリンは、速やかに体外に排泄された。低用量群では、24時間までに尿中に投与量の74.3% ([³ H])、52.5% ([¹⁴ C])、糞中に16.5% ([³ H])、39.5% ([¹⁴ C])が排泄された。高用量群では、48時間までに尿中に70.5~75.1% ([³ H])、51.6~57.4% ([¹⁴ C])が排泄された。 ・ 24時間までに胆汁中に投与量の18.6% ([³ H])、14.8% ([¹⁴ C])排泄された。	文献 Pesticide Science 1977, 8, 193-202	M-30
M-04 (GLP)	代謝・ 分解 (植物)	トマト	葉面 および 果実 処理	[¹⁴ C]ト リホリン 処理量 葉面処理； 240 μg/葉 4回処理 (8~10日間隔) 最終処理3日後 に採取 果実処理； 120 μg/果実 4回処理 (8~10日間隔) 最終処理2時間 および3日後に 採取	・ 最終処理3日後の処理葉および処理果実の ¹⁴ C濃度は88.5 ppmおよび9.7 ppmであり、 ¹⁴ C回収率は92.1および93.5%であった。TRRの86.1~91.9%が葉および果実表面から回収された。 ・ 非処理果実中に検出された放射能は僅か(0.004 ppm)であり、処理部位から非処理部位への放射能の移行は微量であった。 ・ 処理葉および処理果実部に残留した ¹⁴ Cの大部分は未変化のトリホリン(90.9~91.9%TRR)であり、代謝分解物としてW1069、およびW625が検出されたが、いずれも1%TRR未満であった。 ・ 抽出残渣中の ¹⁴ Cは2.8~3.8%TRRであった。 ・ 代謝分解経路は の開裂、および のであった。	Huntingdon Research Centre (1993年)	M-35

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

資料 No. *	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-05 (GLP)	代謝・分解 (植物)	りんご	葉面 および 果実 処理	[¹⁴ C] ト リホリン 処理量 葉面処理; 120 μg/葉 5 回処理 (8 日間隔) 最終処理 14 日 後に採取 果実処理 120 μg/果実 5 回処理 (8 日間隔) 最終処理 14 日 後に採取	<ul style="list-style-type: none"> 最終処理 14 日後の処理葉および処理果実の ¹⁴C 濃度は 122 ppm および 1.36 ppm であり、¹⁴C 回収率は 22.3 および 32.2%であった。TRR の 66.7~73.2%が葉および果実表面から回収された。 非処理果実中に検出された放射能は僅か (0.0009 ppm) であり、処理部位から非処理部位への放射能の移行は微量であった。 処理葉および果実部に残留した ¹⁴C の大部分は未変化のトリホリン (76.0~85.0%TRR) であり、代謝分解物として W1069 および W625 が検出されたが、いずれも 1.5%TRR 以下であった。 残渣中の ¹⁴C は果皮が 13.0%TRR であったのを除き、10%TRR 未満であった。果皮の残渣は 6 M 塩酸処理により 6.2%TRR となった。 代謝分解経路は の開裂、および のであった。 	Huntingdon Research Centre (1993 年)	M-41
M-06	代謝・分解 (植物)	大麦	土壌 灌注	[³ H] トリ ホリン 処理量 30 mg/ポット 処理 30 日まで 8 時点で採取	<ul style="list-style-type: none"> 処理 30 日後に大麦の茎葉部に取り込まれた放射能は処理量の 5%であった。 茎葉部では、処理 15 日後において未変化のトリホリンが 57.5%TRR 検出され、代謝分解物として W1069 および がそれぞれ、12.9%TRR および 0.3%TRR 検出された。処理 30 日後においては、未変化のトリホリンが 43.2%TRR であり、代謝分解物として W1069 および がそれぞれ、8.4%TRR および 4.0%TRR 検出された。 代謝分解経路はピペラジン窒素のであった。 	文献 Pesticide Science 1977, 8, 65-70	M-47

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

資料 No. *	試験の 種類	供試動 植物等	投与 方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-07	代謝・ 分解 (植物)	大麦	土壌 灌注	[¹⁴ C]ピペ ラジン 処理量 30 mg/ポット 処理 30 日まで 8 時点で採取	<ul style="list-style-type: none"> ・ 茎葉部では、処理 30 日後において主要代謝物は、未変化の C_{12} が 16.8%TRR および C_{11} が 15.4%TRR 検出され、その他の代謝分解物として、植物構成成分であるイミノジ酢酸 (R) およびシュウ酸 (T) がそれぞれ、8.6%TRR および 7.2%TRR 検出された。 ・ 代謝分解経路は C_{12} が速やかに代謝し極性化合物へ変換された。 	文献 Pesticide Science 1978, 9, 139-145	M-52
M-08 (GLP)	代謝・ 分解 (土壌)	好氣的 土壌 (砂壤土)	土壌 混和	[¹⁴ C]ト リホリン 処理濃度 0.51 mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> ・ 消失半減期：14 日 ・ 処理 365 日後の物質収支、$^{14}\text{CO}_2$ および抽出残渣 ^{14}C 量はそれぞれ 92.8%、44.7%および 35.0%であった。抽出残渣中の ^{14}C はフルボ酸、フミン酸およびフミン画分に 17.4%、3.5%および 11.3%存在した。 ・ 処理 365 日後の土壌抽出物中の未変化のトリホリンの割合は処理 ^{14}C 量の 1.5%であった。主要代謝分解物は W1069 であり、最大で 15.6% (処理 56 日後) に達した後、365 日後には 5.0%まで減少した。それ以外の代謝物として C_{12} が検出され、最大で 3.5% (処理 7 日後) に達した後、処理 28 日後には検出限界以下となった。 ・ 代謝分解経路は C_{12} の C_{11} および C_{10} を経て、分解、無機化され多くの微量分解物を生成する。 	RCC UMWELTC HEMIE AG (1993)	M-56

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

資料 No. *	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-09	代謝・分解 (土壌)	好氣的土壌 (砂壤土、シルト質壤土) 嫌氣的土壌 (シルト質壤土)	土壌混和	[³ H]トリホリン [¹⁴ C]トリホリン 処理濃度 2 ppm、20 ppm	<p>[好氣的土壌]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2 ppm 処理した場合、 60 日後の抽出残渣 ¹⁴C 量は回収された放射能の 42.6~65.0%であり、 では処理 90 日後の ¹⁴CO₂ および抽出残渣 ¹⁴C 量はそれぞれ、回収された放射能の 27.8~33.3% および 34.9~58.5% であった。 ・ 20 ppm 処理した場合、 60 日後の抽出残渣 ¹⁴C 量は回収された放射能の 43.7~69.5%であり、 では処理 90 日後の ¹⁴CO₂ および抽出残渣 ¹⁴C 量はそれぞれ、回収された放射能の 27.9~37.9% および 34.3~63.6% であった。 ・ 土壌残渣を分画したところ、主としてフルボ酸画分 (土壌残渣中の放射能の 71.3~79.2%) に結合しており、フミン酸およびフミン画分にはそれぞれ、土壌残渣中の放射能の 4.5~16.8% および 1.6~15.3% であった。 ・ トリホリンは速やかに減少し、20 ppm 処理の の処理 60 日後、および の処理 90 日後に検出されたトリホリンは、回収された放射能に対して、それぞれ、11.1~31.9% および 16.9% であった。代謝分解物として が回収放射能に対して最大 7.3% 検出され、それ以外に、 、 お よび が検出されたが、いずれも回収された放射能の 0.9% 以下であった。 ・ 代謝分解経路は の開裂、および の反応を経て、最終的に土壌に結合するか、無機化される。 <p>[嫌氣的土壌]</p> <ul style="list-style-type: none"> ・ 2 ppm 処理した場合、 60 日および 90 日後の抽出残渣 ¹⁴C 量はそれぞれ、回収された放射能の 62.0% および 57.4% であった。 ・ 20 ppm 処理した場合、 60 日および 90 日後の抽出残渣 ¹⁴C 量はそれぞれ、回収された放射能の 75.0% および 71.0% であった。 ・ 20 ppm 処理の の処理 60 日および 	FMC (1974)	M-63

					び90日後に検出されたトリホリンは、回収された放射能に対して、それぞれ、90.2%および90.8%であった。		
M-10 (GLP)	水中 動態 (加水 分解)	緩衝液 (pH 5、 7、9)	水に 添加 溶解 助剤： アセトニ (0.5%)	[¹⁴ C]トリ ホリン [¹⁴ C]ト リホリン 処理濃度 5.0 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・ トリホリンの加水分解速度は、標識位置および pH 間で差はなく、半減期 (25℃) は 2.6~3.1 日であった。 ・ 主要分解物は および であり、それぞれ最大で処理量の 51.7% (、 pH7、処理 11 日後) および 25.6% (、 pH5、処理 6 日後) であった。その他、W625 、 W1069 および が検出されたがいずれも処理量の 10%未満であった。また、水溶性抽出画分に 、 が暫定的に同定された。 ・ 代謝分解は の の脱離による反応性の高い中間体を経て進行すると考えられた。 	Hazleton UK (1993)	M-71
M-11 (GLP)	水中 動態 (水中光 分解)	緩衝液 (pH 7)	水に 添加 溶解 助剤： アセトニ (<1%)	[¹⁴ C]トリ ホリン [¹⁴ C]ト リホリン 処理濃度 5 µg/mL 光強度： 535.8 W/m ²	<ul style="list-style-type: none"> ・ トリホリンの光分解速度は、標識位置で差はなく、試験系 (人工光) での半減期は 1.4~1.6 日であった (東京春の太陽光換算値は 6.6~10.6 日)。 ・ 主要分解物は であり (最大で処理量の 16.2%、 処理 1 日後)、微量の W625 も検出された (1%未満)。 ・ 代謝分解経路は の開裂を経て進行すると考えられる。 	Hazleton UK (1993)	M-78
M-12 (GLP)	水中 動態 (水中光 分解)	自然水 (pH 8.1)	水に 添加 溶解 助剤： アセトニ (0.75%)	[¹⁴ C]トリ ホリン 処理濃度 5.04 µg/mL 光強度：3 mW/cm ²	<ul style="list-style-type: none"> ・ トリホリンの光分解速度は、試験系 (人工光) での半減期は 4.1 日であった。 ・ 主要分解物は であり (最大で処理量の 31.8%、処理 15 日後)、その他の代謝物としては、 (最大 4.9%、15 日後) および W1069 (最大 7.1%、6 日後) が検出された。 ・ 代謝分解は、 および の脱離、その後 を経て、僅かではあるが無機化も進行すると考えられた。 	BASF (2007)	M-84

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

資料 No. *	試験の 種類	供試動 植物等	投与 方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
M-13	土壌 吸着性	-	-	トリホリン (非標識化合物)	・ 処理液の安定性試験の結果、トリホリンは塩化カルシウム溶液中で不安定であり、土壌吸着係数の算出は不可能であった。	(財) 化学物質評価研究 機構 (2001)	M-89
<u>M-参考</u> 1	加水 分解、 光分 解	緩衝液 (pH 4.7、 6.8、9.2)	水に 添加	[³ H]トリ ホリン [¹⁴ C]ト リホリン 処理濃度 30 mg/L 固体 100 mg	・ トリホリンの加水分解および光分解では、緩衝液 pH 4.7~9.2 の範囲内で速やかに分解された。pH による差はなく、試験開始 2 日間に約 50%が加水分解され、化合物 II、IV、V および VII が生成した。 ・ トリホリン固体の紫外線照射では、比較的緩慢に分解され、150 時間照射によりトリホリンの約半分が分解され、化合物 III、VII、VIII および化合物 X が単離、同定された。	文献 Pesticide Science 1977, 8, 183-192	M-90

*下線付きの資料は残留農薬安全性評価委員会に提出済み

<代謝分解物の名称および構造式一覧表>

記号	一般名 または略称	化 学 名	構 造 式	由 来
A	トリホリン	1,4-ビス-(2,2,2-トリクロロ-1-ホルムアミドエチル)ピペラジン	$\begin{array}{c} \text{CCl}_3 \\ \\ \text{OHCHNHC}-\text{N} \end{array} \begin{array}{c} \diagup \\ \diagdown \end{array} \begin{array}{c} \text{N} \\ \\ \text{N}-\text{CHNHCHO} \end{array} \begin{array}{c} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{CCl}_3$	親化合物
B				
C				
D				
E				
F	W1069			
G				
H				
I				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は全農グリーンリソース株式会社にある

記号	一般名 または略称	化 学 名	構 造 式	由 来
J	W625			
K				
L				
M				
N				
O				
P				
Q				
R				
S				
T				
U				
V				
W				

<各代謝試験で用いた供試標識化合物>

供試標識化合物： を ^{14}C で標識した 1, 4-ビス- (2, 2, 2-トリクロロ-1-ホルムアミドエチル) ピペラジン 【 ^{14}C トリホリン】

*：標識位置

供試標識化合物： を ^3H で標識した 1, 4-ビス- (2, 2, 2-トリクロロ-1-ホルムアミドエチル) ピペラジン 【 ^3H トリホリン】

*：標識位置

供試標識化合物： を ^{14}C で標識した 1, 4-ビス- (2, 2, 2-トリクロロ-1-ホルムアミドエチル) ピペラジン 【 ^{14}C トリホリン】

*：標識位置

標識位置の設定理由：トリホリンの化学構造から推測して の開裂が想定されたため、 の代謝分解物の挙動が確認可能なように、 または の炭素原子を標識した化合物、あるいは を標識した化合物を供試した。これによってトリホリンの代謝動向を十分に把握できると考えられた。

1. 動物代謝に関する試験

(1) トリホリンのラットにおける吸収、分布、排泄試験①

(資料 No. M-01)

試験機関：Huntingdon Research Centre (英国)

報告書作成年：1989年 [GLP 対応]

供試標識化合物：

構造式：

[¹⁴C]トリホリン

[¹⁴C]トリホリン

* : ¹⁴C 放射能標識位置

化学名：1,4-ビス-(2,2,2-トリクロロ-1-ホルムアミドエチル)ピペラジン

比放射能および放射化学的純度； 以下に表示する。

供試化合物	[¹⁴ C]トリホリン	[¹⁴ C]トリホリン
比放射能	mCi/mmol	mCi/mmol
放射化学的純度	≥ 98%	≥ 96%

標識位置の設定理由¹⁾：トリホリンの化学構造から推測して の開裂が想定されたため、 の代謝分解物の挙動が確認可能なように、 および を標識位置とした。

供試動物：CD系 (Sprague-Dawley 由来) ラット、週齢：雄；6～8週齢、雌；8～10週齢、

体重：雄；200～250 g、雌；175～225 g

投与方法； [¹⁴C]トリホリンを非標識トリホリンで希釈し、4%(w/v)カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁した。10 mg/kg または 1000 mg/kg の用量をラットに単回または反復経口投与した。

投与量の設定根拠；予備試験の結果、トリホリン 1000 mg/kg 単回投与でラットに毒性を示さないことが確認されたため、高用量として 1000 mg/kg を選択した。

¹⁾ 申請者註：申請者が追記した。

以下に本試験の群構成を示す。

実験 No.	検討項目	標識位置 (比放射能)	投与量 (mg/kg)	投与方法	供試数	
					雄	雌
a	排泄	側鎖 (30808 dpm/μg)	10 (低用量)	単回経口	2	2
b	排泄	環 (25832 dpm/μg)	10 (低用量)	単回経口	2	2
c	排泄、組織分布、 代謝物の同定	側鎖 (22382 dpm/μg)	10 (低用量)	単回経口	5	5
d	排泄、組織分布、 代謝物の同定	側鎖 (237 dpm/μg)	1000 (高用量)	単回経口	5	5
e	排泄、組織分布、 代謝物の同定	側鎖 (22445 dpm/μg)	10 (低用量)	反復経口*	5	5

*：非標識化合物を14日間連続投与後、標識化合物を1回投与

試料採取：

(1) 排泄予備試験 (a, b 群) ; トリホリンを投与したラットは代謝ケージに收容し、尿は投与後 0~6、6~24 時間、その後は 120 時間まで 24 時間間隔で、糞および呼気 ($^{14}\text{CO}_2$) は投与後 120 時間まで 24 時間間隔で採取した。呼気はエタノールアミン/2-エトキシエタノール (1/3, v/v) に捕集した。最終試料採取後、代謝ケージは洗浄し、屠殺後のラットのカーカスは 2 M 水酸化ナトリウム/メタノール/トリトン X405 (6/3/1, v/v) に溶解した。

(2) 排泄および組織分布 (c, d および e 群) ; トリホリンを投与したラットは代謝ケージに收容し、尿は投与後 0~6、6~24 時間、その後 168 時間まで 24 時間間隔で、糞および呼気 ($^{14}\text{CO}_2$) は 168 時間まで 24 時間間隔で採取した。呼気はエタノールアミン/2-エトキシエタノール (1/3, v/v) に捕集した。最終試料採取後、代謝ケージは洗浄し、ラットは血液採取後、屠殺し以下の組織を摘出した。血液は一部血漿に分けた。カーカスは 2 M 水酸化ナトリウム/メタノール/トリトン X405 (6/3/1, v/v) に溶解した。

副腎、骨、骨髓、脳、脂肪、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、卵巣、膀胱、
皮膚、脾臓、精巣、甲状腺、子宮、胃、消化管

分析方法：尿、呼気捕集液、ケージ洗浄液等の液体サンプルは LSC により放射能を測定した。糞、血液および組織はそのまま、あるいは必要に応じて水を加えホモジナイズし、溶解または燃焼後、LSC により放射能を測定した。

代謝物の同定；低用量群は 0~24 時間の尿および 0~48 時間の糞を、高用量群は 6~48 時間の尿および 0~96 時間の糞を用いて代謝物を同定した。尿はそのままあるいはβ-グルクロニダーゼおよびスルファターゼで酵素加水分解した後、HPLC により各フラクショ

ンに分画した。糞は水およびメタノールで抽出し、HPLCにより各フラクションに分画した。各フラクションは標準品とのHPLCクロマトグラフィーおよびLC/MS分析により同定した。必要により誘導體（トリメチルシリル化およびメチル化）を用いて同定した。

試験結果：結果の概要を表1～7に示す。

(1) 排泄予備試験（表1）；総放射能回収率は93.7～103%であった。120時間までに尿中に投与量の71.8～81.6%、糞中に11.1～18.6%、呼気中に1.5～5.4%が排泄された。尿、糞および呼気排泄率には標識位置および雌雄による差は認められなかった。

(2) 尿および糞中排泄（表2）；総放射能回収率は96.4～101%であった。10 mg/kg 単回投与の場合、投与量の80%以上が吸収され、主に尿中に速やかに排泄された。168時間までに尿、糞および呼気中に投与量の78.3～79.0%、12.3～14.3%および5.2～6.0%が排泄され、カーカス中の放射能は投与量の2.5%以下であった。雌雄とも48時間以内に投与量の90%以上が排泄された。

1000 mg/kg 単回投与の場合、168時間までの排泄は尿、糞および呼気中に投与量の10.7～19.1%、77.2～84.5%、0.9～1.6%であり、主に糞中に放射能が排泄された。吸収率は10 mg/kg 単回投与の場合と比べ、明らかに低下した。これは高用量での溶解率が低かったことが考えられる。また、雌の吸収率（約20%）は雄（約10%）の約2倍であった。雄で48時間以内、雌で96時間以内に投与量の90%以上が排泄された。カーカス中の放射能は投与量の1%未満であった。

10 mg/kg 反復投与の場合、168時間までに尿、糞および呼気中に投与量の71.3～74.1%、15.1～17.5%、6.3～6.8%が排泄され、カーカスの放射能は投与量の1.9～2.2%であった。雄で48時間以内、雌で72時間以内に投与量の90%以上が排泄された。主な排泄経路は尿であった。いずれの投与群においても明確な雌雄差は認められなかった。

(3) 組織分布（表3および4）；投与168時間後における組織分布を表3および4に示す。全ての組織で放射能濃度は低く、ほとんどの場合、対応する血漿中の濃度よりも高いことが示された。比較的高濃度の残留が認められた組織は10 mg/kg 単回投与群の雄では全血（0.505 μg/g）、肝臓（0.552 μg/g）、皮膚（0.641 μg/g）であり、雌では全血（0.411 μg/g）、肝臓（0.568 μg/g）であった。1000 mg/kg 単回投与群の雄では全血（7.21 μg/g）、肝臓（10.0 μg/g）、骨（5.40 μg/g）、肺（5.46 μg/g）であり、雌では全血（11.0 μg/g）、肝臓（19.2 μg/g）、腎臓（12.0 μg/g）、皮膚（10.4 μg/g）、胃（10.2 μg/g）であった。また、10 mg/kg 反復投与群の雄では全血（0.547 μg/g）、肝臓（0.618 μg/g）、皮膚（0.541 μg/g）であり、雌で全血（0.504 μg/g）、肝臓（0.593 μg/g）、皮膚（0.655 μg/g）であった。

(4) 尿および糞中代謝物の同定 (表 5~7) ;

尿中に検出された未変化のトリホリン は、全投与群において、投与量の 0.1~5.1%であった。主要代謝物は W1069 であり、10 mg/kg 単回投与における および では、それぞれ投与量の 45.7~53.0%および 25.5~26.8%であった。反復投与では投与量の 21.2~23.9%であった。その他、低用量群において、 および がそれぞれ、投与量の 14.4~18.6%および 12.9~14.5% 検出された。その他の同定された代謝物としては、 が最大で投与量の 3.0%検出された。

糞中において検出された未変化のトリホリン は、低用量群では投与量の 1.1%以下であり、高用量群では、投与量の 71.0~78.8%であった。主要代謝物は W1069 であり、投与量の 5.8%以下であった。

主要代謝経路は、図 1 に示すように、ピペラジン側鎖の脱離、および、ならびに であった。

表1 排泄予備試験結果 (10 mg/kg、単回投与)

		投与量に対する%			
		雄	雌	雄	雌
尿	0~6	40.7	50.9	39.5	45.7
	6~24	27.6	23.0	33.8	30.1
	24~48	2.4	2.2	2.3	4.6
	48~72	0.6	0.5	0.6	0.8
	72~96	0.3	0.3	0.3	0.3
	96~120	0.2	0.2	0.2	0.2
	合計	71.8	77.0	76.7	81.6
糞	0~24	8.6	3.6	14.6	9.9
	24~48	3.1	6.9	2.9	5.7
	48~72	0.5	0.2	0.3	2.9
	72~96	0.1	0.3	0.1	0.1
	96~120	0.1	0.1	0.1	0.1
	合計	12.4	11.1	17.9	18.6
¹⁴ CO ₂	0~24	3.9	4.2	2.8	1.2
	24~48	0.5	0.7	0.3	0.2
	48~72	0.3	0.3	0.1	0.1
	72~96	0.2	0.2	0.1	0.1
	96~120	0.1	0.1	ND	ND
	合計	4.9	5.4	3.3	1.5
ケージ洗浄液		0.1	0.2	0.1	0.2
カーカス		4.5	2.8	2.4	1.1
総計		93.7	96.4	100	103

数値は2匹の平均値

ND：検出せず。

表2 尿、糞および¹⁴CO₂への放射能の排泄、および残屍体中の放射能

		投与量に対する%					
		単回投与				反復投与*	
		10 mg/kg		1000 mg/kg		10 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0~6	40.8	40.1	2.1	1.7	45.9	45.8
	6~24	33.8	35.4	5.3	5.5	21.8	23.3
	24~48	2.0	1.9	2.4	6.7	2.0	2.8
	48~72	0.8	0.6	0.7	3.6	0.7	0.8
	72~96	0.4	0.3	0.2	1.3	0.3	0.5
	96~120	0.2	0.2	0.1	0.2	0.2	0.3
	120~144	0.2	0.2	ND	0.1	0.2	0.2
	144~168	0.2	0.2	ND	ND	0.2	0.3
	合計	78.3	79.0	10.7	19.1	71.3	74.1
糞	0~24	9.0	7.8	57.3	13.0	13.2	2.4
	24~48	2.2	5.2	23.0	42.0	3.3	9.6
	48~72	0.8	0.9	3.6	15.5	0.5	2.6
	72~96	0.1	0.2	0.6	5.8	0.1	0.3
	96~120	0.1	0.1	0.1	0.9	0.1	0.1
	120~144	0.1	0.1	ND	0.1	0.1	0.1
	144~168	ND	ND	ND	ND	0.1	0.1
		合計	12.3	14.3	84.5	77.2	17.5
¹⁴ CO ₂	0~24	3.9	4.7	0.4	0.4	4.8	4.9
	24~48	0.6	0.7	0.3	0.5	0.8	1.0
	48~72	0.3	0.2	0.1	0.4	0.3	0.3
	72~96	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.2
	96~120	0.1	0.1	ND	0.1	0.1	0.1
	120~144	0.1	0.1	ND	ND	0.1	0.1
	144~168	0.1	0.1	ND	ND	0.1	0.1
		合計	5.2	6.0	0.9	1.6	6.3
ケージ洗浄液		ND	0.1	ND	0.1	0.2	0.1
カーカス		2.5	1.8	0.4	0.5	2.2	1.9
総計		98.3	101	96.4	98.5	97.6	97.8

数値は5匹の平均値

*: 非標識化合物を14日間連続投与後、標識化合物を1回投与

表3 組織分布

組織	μg 当量/g					
	10 mg/kg、単回		1000 mg/kg、単回		10 mg/kg、反復投与*	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.254	0.258	3.92	8.55	0.294	0.302
骨	0.362	0.246	5.40	7.90	0.341	0.274
骨髓	0.137	0.159	3.57	7.51	0.198	0.244
脳	0.076	0.068	NC	1.61	0.085	0.080
脂肪	0.126	0.129	NC	3.93	0.108	0.123
心臓	0.246	0.246	4.02	6.68	0.264	0.271
腎臓	0.357	0.349	6.51	12.0	0.435	0.419
肝臓	0.552	0.568	10.0	19.2	0.618	0.593
肺	0.253	0.228	5.46	7.66	0.286	0.269
筋肉	0.181	0.134	3.25	6.10	0.213	0.173
卵巣	NS	0.187	NS	4.51	NS	0.208
膵臓	0.215	0.202	3.80	7.04	0.213	0.222
皮膚	0.641	0.261	10.6	10.4	0.541	0.655
脾臓	0.242	0.266	4.41	8.71	0.285	0.358
精巣	0.096	NS	1.30	NS	0.120	NS
甲状腺	0.354	0.243	NC	ND	0.357	0.349
子宮	NS	0.195	NS	6.97	NS	0.230
胃	0.165	0.361	2.60	10.2	0.352	0.425
消化管	0.096	0.114	1.11	3.93	0.119	0.149
全血	0.505	0.411	7.21	11.0	0.547	0.504
血漿	0.088	0.101	1.74	3.94	0.124	0.139

数値は5匹の平均値

NS：サンプルなし。

NC：半数以上の動物が検出限界以下であったため算出しなかった。

ND：検出せず。

*：非標識化合物を14日間連続投与後、標識化合物を1回投与

表 4 組織分布

組織	投与量に対する%					
	10 mg/kg、単回		1000 mg/kg、単回		10 mg/kg、反復投与*	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001
骨	0.245	0.142	0.038	0.051	0.204	0.153
骨髓	0.006	0.006	0.002	0.003	0.008	0.009
脳	0.007	0.006	NC	0.002	0.006	0.006
脂肪	0.113	0.099	NC	0.034	0.085	0.090
心臓	0.011	0.009	0.002	0.003	0.010	0.009
腎臓	0.037	0.029	0.007	0.011	0.036	0.031
肝臓	0.342	0.238	0.067	0.098	0.319	0.234
肺	0.016	0.012	0.003	0.005	0.014	0.012
筋肉	1.030	0.652	0.198	0.329	1.08	0.813
卵巣	NS	0.001	NS	<0.001	NS	0.001
膵臓	0.009	0.009	0.001	0.003	0.006	0.007
皮膚	1.434	0.501	0.249	0.222	1.08	1.21
脾臓	0.009	0.007	0.002	0.002	0.009	0.009
精巣	0.013	NS	0.002	NS	0.012	NS
甲状腺	<0.001	<0.001	NC	ND	<0.001	<0.001
子宮	NS	0.004	NS	0.001	NS	0.003
胃	0.050	0.035	0.008	0.011	0.045	0.030
消化管	0.085	0.077	0.011	0.032	0.076	0.078
全血	0.440	0.308	0.066	0.091	0.424	0.364
血漿	0.044	0.043	0.009	0.019	0.055	0.058

数値は 5 匹の平均値

NS：サンプルなし。

NC：半数以上の動物が検出限界以下であったため算出しなかった。

ND：検出せず。

*：非標識化合物を 14 日間連続投与後、標識化合物を 1 回投与

表 5 尿中代謝物の割合

	投与量に対する%					
	単回投与 10 mg/kg		単回投与 1000 mg/kg		反復投与 10 mg/kg	
	0~24		6~48		0~24	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トリホリン	ND	1.3	0.1	0.7	1.5	0.8
W1069	25.5	26.8	2.4	4.1	21.2	23.9
	2.0	1.8	0.6	0.6	1.9	3.0
	18.6	16.5	1.8	2.6	17.4	14.4
	12.9	14.5	1.2	1.8	13.6	13.9
未同定代謝物 1	6.3	4.0	0.8	1.1	5.4	4.0
未同定代謝物 2	ND	3.8	0.1	0.7	ND	4.5
未同定代謝物 3	3.9	3.7	0.4	0.3	3.2	3.3
合計	69.2	72.4	7.4	11.9	64.2	67.8

ND：検出せず。

表 6 糞中代謝物の割合

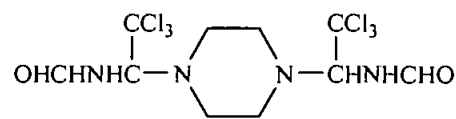
	投与量に対する%					
	単回投与 10 mg/kg		単回投与 1000 mg/kg		反復投与 10 mg/kg	
	0~24	0~48	0~72	0~96	0~24	0~48
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
トリホリン	ND	0.3	78.8	71.0	ND	ND
W1069	1.2	3.6	ND	ND	2.8	3.4
	0.6	1.3	ND	ND	1.2	0.2
	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	ND	ND	ND	ND
未同定代謝物 1	4.2	5.4	0.8	1.7	6.1	5.2
未同定代謝物 2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
未同定代謝物 3	0.8	0.2	ND	ND	0.7	0.1
合計	6.8	10.8	79.6	72.7	10.8	8.9

ND：検出せず。

表 7 尿および糞中代謝物の割合 — (単回投与、10 mg/kg)

	投与量に対する%			
	尿		糞	
	0~24		0~24	0~48
	雄	雌	雄	雌
トリホリン	2.1	5.1	1.1	0.5
W1069	45.7	53.0	4.7	5.8
未同定代謝物 1	7.9	3.2	4.5	4.2
未同定代謝物 2	ND	6.2	ND	ND
未同定代謝物 3	1.3	ND	1.4	1.1
未同定代謝物 4	4.8	3.2	1.0	0.3
未同定代謝物 5	3.6	ND	ND	ND
合計	65.4	70.7	12.7	11.9

ND：検出せず。



トリホリン



図 1 ラットにおける推定代謝経路