

tol-<sup>14</sup>C・トルフェンピラドのキャベツにおける総残留放射能 (TRR) は処理直後で 80.0%TRR であったが、28 日後には 58.9%TRR に減少した。植物体中における分布は、処理直後では外葉に 90.6%TRR、結球に 9.4%TRR であり、28 日後では外葉に 99.7%TRR、結球に 0.3%TRR であった。処理 28 日後の外葉ではトルフェンピラドが 55.0%TRR(4.63 mg/kg)、主要代謝物として OH·PT、OH·T·CA、OH·T·OH 及び CA·T·AM がそれぞれ 6.4%TRR(0.54 mg/kg)、3.9%TRR(0.33 mg/kg)、3.7%TRR(0.31 mg/kg)及び 2.4%TRR (0.20 mg/kg)認められ、その他の同定された代謝物はいずれも 1.9%TRR(0.16 mg/kg)以下であった。処理 28 日後の結球ではトルフェンピラド及び代謝物はいずれも 0.1%TRR (0.03 mg/kg)未満であった。

pyr-<sup>14</sup>C・トルフェンピラドのキャベツにおける総残留放射能は 28 日後で 89.4%TRR であった。植物体中における分布は外葉に 97.2%TRR、結球に 2.8%TRR であった。処理 28 日後の外葉ではトルフェンピラドが 49.8%TRR(4.71 mg/kg)、主要代謝物として OH·PT、OH·PT·OH、OH·PT·CA 及び PCA がそれぞれ 7.89%TRR(0.75 mg/kg)、3.40%TRR (0.32 mg/kg)、2.93%TRR(0.27 mg/kg)及び 2.11%TRR(0.20 mg/kg)認められ、その他の同定された代謝物はいずれも 1.6%TRR(0.15 mg/kg)以下であった。処理 28 日後の結球ではトルフェンピラドが 0.41%TRR(0.034 mg/kg)が認められ、代謝物はいずれも 0.16% TRR(0.018 mg/kg)未満であった。

トルフェンピラドはキャベツでは比較的容易に吸収され、多くの代謝物に分解されるが、結球への移行性は低く、代謝経路は、ピラゾール環のエチル基の ω·1 位の水酸化 (OH·PT)、ピラゾール環及びトリルオキシベンジル基の結合部分の酸化的分解及びアミド結合の加水分解 (T·AM)、開裂の結果生じるトリルオキシベンジル部分のアルキル基の酸化 (T·CA) であると考えられた。(参照 14~15)

### (3) もも

tol-<sup>14</sup>C・トルフェンピラド又は pyr-<sup>14</sup>C・トルフェンピラドを含む処理溶液 (1.0mg/mL) を、もも (品種: 紅清水) の果実が着果した一枝全面に 4mL 散布し、tol-<sup>14</sup>C・トルフェンピラド処理では処理直後、14、28、56 日後に葉、茎、果実を、pyr-<sup>14</sup>C・トルフェンピラド処理では 56 日後に葉と茎、53 日後に果実を、それぞれ採取し、ももにおける植物体内運命試験が実施された。

tol-<sup>14</sup>C・トルフェンピラドのももにおける総残留放射能は、処理直後で 32.6%TRR、56 日後で 32.8%TRR であり経時的な変化は少なかった。56 日後の植物体中における分布は、処理葉、茎及び果実でそれぞれ 83.1%TRR、7.5%TRR 及び 9.3%TRR であり、果実に残留する放射能の 95%以上は果皮に存在した。非処理葉への分布は 0.1%未満であった。

処理 56 日後の葉ではトルフェンピラドが 20.0%TRR(12.4 mg/kg)、主要代謝物として PT·CA、CA·T·CA 及び T·CA がそれぞれ 9.1%TRR(5.6 mg/kg) (抱合体を含む。以下同様)、9.1%TRR(5.7 mg/kg)及び 5.1%TRR(3.2 mg/kg)認められ、その他の同定された代謝物はいずれも 2.0%TRR(1.2 mg/kg)以下であった。56 日後の果実には 1.02 mg/kg の残留放射能が認められ、そのうちトルフェンピラドが 0.79 mg/kg 残留し、その他の代謝物は 0.02 mg/kg 以下であった。処理 56 日後の果肉ではトルフェンピラ

ドは認められず、代謝物として CA·T·CA の抱合体が 0.2%TRR(0.02 mg/kg)認められた。

pyr-<sup>14</sup>C·トルフェンピラドのももにおける総残留放射能は、処理 56 日後で 23.5%TAR であった。植物体中における分布は処理葉、茎及び果実でそれぞれ 86.1%TRR、7.28%TRR 及び 6.62%TRR であり、果実に残留する放射能のうち 86.4% は果皮に存在していた。葉ではトルフェンピラドが 28.1%TRR(21.1 mg/kg)、主要代謝物として PT·CA、OH·PAM、PT·OH 及び OH·PT·CA がそれぞれ 14.6%TRR(11.0 mg/kg) (抱合体を含む。以下同じ)、7.8%TRR(5.82 mg/kg)、3.8%TRR(2.83 mg/kg) 及び 2.8%TRR(2.06 mg/kg)認められ、その他の同定された代謝物はいずれも 1.87%TRR(1.40 mg/kg)以下であった。果皮ではトルフェンピラドが 4.28%TRR(8.24 mg/kg)認められ、同定された代謝物はいずれも 0.06%TRR(0.12 mg/kg)以下であった。果肉ではトルフェンピラドが 0.02%TRR (0.003 mg/kg)とわずかしが認められず、代謝物として OH·PAM が 0.26%TRR(0.035 mg/kg)認められ、その他の同定された代謝物はいずれも 0.02%TRR(0.003 mg/kg)以下であった。

トルフェンピラドのももにおける主要代謝経路は、トリルオキシ環のメチル基の酸化(PT·CA)と、ピラゾール環とトリルオキシベンジル基の結合部分の酸化的分解及びアミド結合の加水分解(OH·PAM)、開裂して生成するトリルオキシベンジル部分のアルキル基の酸化 (CA·T·CA) であると考えられた。(参照 16~17)

### 3. 土壤中運命試験

#### (1) 土壤中運命試験 (好氣的条件、嫌氣的条件、滅菌条件)

pyr-<sup>14</sup>C·トルフェンピラド又は tol-<sup>14</sup>C·トルフェンピラドを、軽埴土 (茨城土壌・高知土壌) に乾土あたり 0.75 mg/kg となるように混和し、好氣的条件下で、茨城土壌で 91 日間、高知土壌で 183 日間、嫌氣的条件下及び滅菌条件下では 28 日間、30°C でインキュベートし、土壤中運命試験が実施された。

トルフェンピラドの土壤中での消失速度は土壌の種類による影響は少なく、半減期は好氣的条件下で 3~5 日、90%減衰期間は 29~34 日、嫌氣的条件下での半減期は 127~179 日であった。好氣的条件における主要分解物は PT·CA であり、茨城土壌では 7~14 日後に 29.5~31.9%TAR(0.22~0.24 mg/kg)、高知土壌では 3 日後に 14.9~15.1% TAR(0.114~0.468 mg/kg)で最大となった。その他、PCA、PT(A)-4OH が、それぞれ最高値で 12.5~15.8%TAR(0.094~0.119 mg/kg)、4.5~4.6%TAR(0.034~0.035 mg/kg)認められ、その他の分解物はいずれも 2%TAR(0.015 mg/kg)以下であった。揮発性物質として CO<sub>2</sub> が試験終了時に茨城土壌で 12.9~42.1%TAR、高知土壌で 39.8~72.2%TAR 認められた。揮発性有機物の発生は認められなかった。非抽出残留物は pyr 標識体が tol 標識体よりも多く、茨城土壌で 91 日後に 30.7~50.9%TAR、高知土壌で 183 日後に 14.6~32.6%TAR であった。

嫌氣的条件における主要分解物は PT·CA であり、28 日後に 2.3~7.5%TAR 認められた。滅菌土壌ではトルフェンピラドのみが認められた。

トルフェンピラドの主要分解経路はトリルオキシ環のメチル基の酸化(PT·CA)、それに続くトリル環の開裂(PT·OH)及びアミド結合の開裂(PCA, PAM)であり、最終的

に CO<sub>2</sub> に分解されるものと考えられる。土壌中での分解には好氣的微生物が関与していると考えられた。(参照 18)

## (2) 土壌吸着試験

4 種類の国内土壌(軽埴土:石川、高知及び茨城、埴壤土:北海道)を用いて、土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数  $K$  は 722~1520 であり、有機炭素含有率により補正した吸着係数  $K_{oc}$  は  $15.1 \times 10^3 \sim 149 \times 10^3$  (平均  $63.3 \times 10^3$ ) であった。(参照 19)

## 4. 水中運命試験

### (1) 加水分解試験

非標識のトルフェンピラドをクエン酸緩衝液 (pH4)、リン酸緩衝液 (pH7) 及びホウ酸緩衝液 (pH9) の各緩衝液に濃度 0.04mg/L となるように加えた後、 $50 \pm 1^\circ\text{C}$  で 5 日間インキュベーションし、トルフェンピラドの加水分解試験が実施された。

半減期は、各条件下でいずれも 1 年以上でありトルフェンピラドは加水分解に対して安定であると考えられた。(参照 20)

### (2) 水中光分解試験(精製水及び河川水)

$\text{tol-}^{14}\text{C}$ -トルフェンピラドを精製水、河川水に濃度 20 $\mu\text{g/L}$  となるように加えた後、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$  で 58 時間キセノン光照射 (300~800nm の範囲で  $765\text{W/m}^2 \pm 10\%$ ) し、水中光分解試験が実施された。

58 時間後の精製水及び河川水ではトルフェンピラドが 30~31%TAR、主要分解物として  $\text{CA}\cdot\text{T}\cdot\text{NH}_2$  が 23.2~23.3%TAR、その他の分解物として  $\text{PT}\cdot\text{OH}$ 、 $\text{PT}\cdot\text{CHO}$  が 5%TAR 以下認められた。暗条件下では精製水及び河川水で 58 時間後でも 87.3~89.1%TAR がトルフェンピラドとして残留しており、ほとんど分解が認められなかった。

トルフェンピラドは光分解され、半減期は精製水で 35.2 時間、河川水で 35.0 時間であり、春期における東京(北緯  $35^\circ$ ) の太陽光換算でそれぞれ、11.4 日、11.3 日であった。

トルフェンピラドの主要分解経路はトリルオキシ環のメチル基の酸化による  $\text{PT}\cdot\text{OH}$ 、 $\text{PT}\cdot\text{CHO}$  及び  $\text{PT}\cdot\text{CA}$  の生成と、それに続く  $\text{PT}\cdot\text{CA}$  のアミド結合の開裂による  $\text{CA}\cdot\text{T}\cdot\text{NH}_2$  の生成であると考えられた。(参照 21)

## 5. 土壌残留試験

火山灰軽埴土及び沖積埴壤土を用いて、トルフェンピラド及び各種分解物を対象とした土壌残留試験(容器内及び圃場)が実施された。

推定半減期は各条件で表 4 に示されており、トルフェンピラドとしては 3~34 日、トルフェンピラドと分解物  $\text{PT}\cdot\text{CA}$ 、 $\text{PCA}$  との合計では 3~47 日であった。(参照 25)

表 4 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	トルフェンピラド	トルフェンピラド+ 分解物 PT-CA, PCA
容器内試験	0.3mg/kg	火山灰軽埴土	6 日	9 日
		沖積埴壤土	34 日	47 日
圃場試験	300g ai/ha	火山灰軽埴土	5 日	10 日
		沖積埴壤土	3 日	3 日

※容器内試験で純品、圃場試験でフロアブルを使用

## 6. 作物残留試験

野菜、果実及び茶を用いて、トルフェンピラド及び6種類の代謝物（PT-CA、OH-PT及びT-CA（キュウリ、トマト、なす、キャベツ、はくさいで分析）、OH-PAM、OH-T-CA及びCA-T-CA（なすで分析））を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

結果は別紙3に示されている。トルフェンピラドの最高値は、525～600g ai/haで2回散布し、最終散布1日後に収穫したもも（果皮）の22.8 mg/kgであったが、3日後及び7日後には、それぞれ16.0 mg/kg及び8.84 mg/kgと減衰した。PT-CAはきゅうりのみから0.03mg/kg以下検出された。PT-CA以外の代謝物は全ての条件下で検出されなかった。（参照22～24、88）

作物残留試験成績に基づき、トルフェンピラド（親化合物のみ）を暴露評価対象化合物として国内で栽培される農産物から摂取される推定摂取量が表5に示されている（別紙4参照）。なお、本推定摂取量の算定は、登録されている又は申請された使用方法からトルフェンピラドが最大の残留を示す使用条件で、今回申請された非結球レタス（リーフレタス、サラダ菜）、ネクタリン、さやえんどう、茶、ピーマン、ミニトマトを含む全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないと仮定の下に行った。

表 5 食品中より摂取されるトルフェンピラドの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3kg)	小児(1~6歳) (体重：15.8kg)	妊婦 (体重：55.6kg)	高齢者(65歳以上) (体重：54.2kg)
摂取量 (µg/人/日)	128	59	128	136

## 7. 急性毒性試験

トルフェンピラドのSDラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験、急性吸入毒性試験、ICRマウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。結果は表6に示されている。症状として、消瘦、活動性または自発運動低下、歩行失調、円背位、腹臥位、横臥位、呼吸不整、泌尿生殖器及び肛門周囲の汚れ等が認められた。（参照26～32）

表 6 急性毒性試験結果概要（原体）

動物種	投与経路	溶媒	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	
			雄	雌
ラット	経口	CMC・Na 水溶液	260~386	113~150
		オリーブ油	86	75
	経皮	蒸留水	>2000	>3000
	吸入		(LC <sub>50</sub> ) 2.21 mg/L	(LC <sub>50</sub> ) 1.50 mg/L
マウス	経口	CMC・Na 水溶液	114	107
		オリーブ油	80~100	50~80

8種類の代謝物についてSDラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。結果は表7に示されている。T・AM以外の代謝物では症状として、自発運動の低下、眼瞼下垂、腹臥、呼吸困難、体温低下、下痢、肛門周囲の汚れ等が認められた。（参照33~42）

表 7 急性毒性試験結果概要（代謝物）

被験物質	溶媒	LD <sub>50</sub> (mg/kg/体重)	
		雄	雌
PT・CA	CMC・Na 水溶液	27.4	15.4
	オリーブ油	62	54
OH・PT	CMC・Na 水溶液	70.8	35.5
	オリーブ油	30~60	30~60
T・CA	CMC・Na 水溶液	600~2000	>2000
T・AM		>2000	>2000
CA・T・CA		>2000	>2000
OH・T・CA		2020	>2000
OH・PAM		1100	1100
PCA		>2000	>2000

#### 8. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施されており、眼及び皮膚に対して軽度の刺激性が認められた。（参照43,44）

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Maximization 法）が実施されており、皮膚感作性は認められなかった。（参照45）

## 9. 亜急性毒性試験

### (1) 90日間亜急性毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0, 15, 80, 160ppm：検体摂取量は表 8 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 8 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		15ppm	80ppm	160ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.91	4.78	9.33
	雌	1.01	5.17	9.32

各投与群で認められた主な所見は表 9 に示されている。

本試験において、15ppm 以上投与群雄で肝比重量増加、雌で腎比重量増加が認められたことから、無毒性量は雌雄で 15ppm 未満（雄：0.91mg/kg 体重/日未満、雌：1.01mg/kg 体重/日未満）であると考えられた。（参照 46,47,11）

表 9 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
160ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ P 増加</li> <li>・ MCV、MCH 及び Retic 増加</li> <li>・ TG 減少</li> <li>・ 脳、心、脾、副腎及び精巣絶対・比重量<sup>2</sup>増加</li> <li>・ 肝暗褐色化</li> <li>・ 睪び慢性腺房細胞肥大</li> <li>・ 腎近位尿細管上皮の硝子滴</li> <li>・ ハーダー腺分泌亢進及び褐色化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 血小板減少</li> <li>・ <math>\gamma</math>-GTP、P 及び BUN 増加</li> <li>・ 卵巣絶対・比重量低下</li> <li>・ 顎下腺腺房細胞肥大</li> <li>・ 睪び慢性腺房細胞肥大</li> <li>・ 大腿骨及び胸骨骨髓造血細胞減少</li> <li>・ 卵巣及び子宮の萎縮</li> <li>・ ハーダー腺の褐色化</li> </ul>
80ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ K 増加</li> <li>・ 肺及び腎絶対・比重量増加</li> <li>・ 腸間膜リンパ節の肥満細胞増加</li> <li>・ び慢性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ WBC 減少</li> <li>・ MCV、ALP、Glu 及び K 増加</li> <li>・ TG、TP 及び Alb 減少</li> <li>・ 脳、心、脾及び肺比重量増加</li> <li>・ 肝絶対・比重量増加</li> <li>・ 腸間膜リンパ節の肥満細胞増加</li> <li>・ び慢性肝細胞肥大</li> <li>・ 腎近位尿細管上皮の肥大</li> <li>・ ハーダー腺分泌亢進</li> </ul>
15ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 腎比重量増加</li> </ul>

<sup>2</sup> 体重比重量のことを比重量という（以下同じ）。

(2) 14日間亜急性毒性試験-ミトコンドリアの機能及び形態に及ぼす影響- (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 7 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 15, 100, 200ppm : 平均検体摂取量は表 10 参照) 投与による 14 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 10 ラット 14 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		15ppm	100ppm	200ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.32	8.07	13.6
	雌	1.27	7.81	13.4

各投与群で認められた主な所見は表 11 に示されている。本試験で認められた全血中 L-乳酸濃度の上昇、肝細胞のミトコンドリア増生は、トルフェンピラド投与によるミトコンドリアのエネルギー代謝異常に起因すると考えられた。

本試験において、100ppm 以上投与群雌雄で体重増加抑制等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 15ppm (雄 : 1.32mg/kg 体重/日、雌 : 1.27mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 48, 10)

表 11 ラット 14 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
200ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝細胞肥大</li> <li>肝ミトコンドリア増生</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>全血中 L-乳酸濃度の上昇</li> <li>肝細胞肥大</li> <li>肝ミトコンドリア増生</li> </ul>
100ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> <li>摂餌量の減少傾向</li> <li>肝比重量の増加傾向</li> <li>全血中 L-乳酸濃度の上昇</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> <li>摂餌量の減少傾向</li> <li>肝比重量の増加傾向</li> </ul>
15ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 15, 100, 300ppm : 検体摂取量は表 12 参照) 投与による 90 日間の亜急性毒性試験が実施された。

表 12 マウス 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		15ppm	100ppm	300ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.4	15.9	46.2
	雌	3.0	20.2	57.9

本試験において、300ppm 投与群雌雄で肝比重量増加、雄で摂餌量減少、AST 増加、心比重量増加、雌で MCHC 減少が認められたことから、無毒性量は雌雄で 100ppm (雄 : 15.9mg/kg 体重/日、雌 : 20.2mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 49)

(4) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各4匹)を用いたカプセル経口(原体:0, 1, 5, 10mg/kg体重/日)投与による90日間亜急性毒性試験が実施された。

10mg/kg体重/日投与群雌で軟便及び粘液便、K増加、5mg/kg体重/日以上投与群雌雄で嘔吐、雌で尿量減少、雄で軟便及び粘液便(5mg/kg体重/日のみ)が認められた。

本試験において、5mg/kg体重/日以上投与群雌雄で嘔吐等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも1mg/kg体重/日であると考えられた。(参照50)

(5) 90日間亜急性毒性試験(追加)(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各4匹)を用いたカプセル経口(原体:0, 10, 30, 100mg/kg体重/日)投与による、毒性所見を確認するための90日間亜急性毒性試験が実施された。

ただし、100mg/kg体重/日投与群は投与41日の時点で5/8例が死亡ないし瀕死期殺され、生存中の3/8例も無排便や削瘦、体重低下及び摂餌量減少が認められたため、それ以降の投与は困難と判断され投与49日で屠殺された。

各投与群で認められた毒性所見は表13に示されている。(参照51)

表13 イヌ90日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
100mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 死亡(1例)</li> <li>・ 瀕死期解剖(1例)</li> <li>・ 体重低下、摂餌量減少</li> <li>・ Seg比の増加、Eos比の減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 死亡(2例)</li> <li>・ 瀕死期解剖(1例)</li> <li>・ 血清中遊離脂肪酸の増加</li> <li>・ 脾重量減少</li> <li>・ 胸腺萎縮</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞空胞化</li> </ul>
30mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 死亡(1例)</li> <li>・ ALT及びBUN増加または増加傾向</li> <li>・ 尿量減少</li> <li>・ 精巣重量減少</li> <li>・ 精細管及び胸腺の萎縮</li> <li>・ 小葉中心性肝細胞空胞化</li> <li>・ 肝細胞質の好酸性増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝細胞質の好酸性増加</li> </ul>
10mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 嘔吐</li> <li>・ 軟便、粘液便</li> <li>・ 流涎</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 嘔吐</li> <li>・ 軟便、粘液便</li> <li>・ 流涎</li> <li>・ WBC減少</li> <li>・ T.Chol、TG及びリン脂質減少</li> </ul>

(6) 90日間亜急性神経毒性試験(ラット)

SDラット(一群雌雄各10匹)を用いた混餌(原体:0, 15, 40, 80ppm:平均検体摂取量は表14参照)投与による亜急性神経毒性試験が実施された。



表 14 ラット 90 日間亜急性神経毒性試験の平均検体摂取量

投与群		15ppm	40ppm	80ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.0	2.7	5.4
	雌	1.2	3.2	6.0

80ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、雌で摂餌量減少が認められた。神経毒性は認められなかった。

一般毒性に関する無毒性量は雌雄とも 40ppm (雄: 2.7mg/kg 体重/日、雌: 3.2mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 52)

(7) トルフェンピラド、代謝物 PT-CA 及び OH-PT の 28 日間亜急性毒性試験(ラット)

Fischer ラット(一群雌雄各 5 匹)を用いた混餌 (0, 3, 10, 30, 100ppm [トルフェンピラドは 3ppm 投与群を除く]): 平均検体摂取量は表 15 参照) 投与によるトルフェンピラド、代謝物 PT-CA 及び OH-PT の 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 15 ラット 28 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量(mg/kg 体重/日)

投与群		3ppm	10ppm	30ppm	100ppm
トルフェンピラド	雄	/	0.9	2.5	8.0
	雌		0.9	2.6	8.2
PT-CA	雄	0.3	0.8	2.5	8.1
	雌	0.3	0.9	2.7	8.5
OH-PT	雄	0.2	0.9	2.5	8.4
	雌	0.3	0.9	2.7	8.8

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

本試験の無毒性量は、トルフェンピラドは雌雄で 10ppm (雌雄: 0.9mg/kg 体重/日)、PT-CA は雌雄で 10ppm (雄: 0.8mg/kg 体重/日、雌: 0.9mg/kg 体重/日)、OH-PT は雄で 30ppm (2.5mg/kg 体重/日)、雌で 100ppm (8.8mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 53)

表 16 ラット 28 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	トルフェンピラド		PT-CA		OH-PT	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
100ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・TP 減少</li> <li>・脳比重量増加</li> <li>・腎尿管上皮の硝子滴</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少・肝絶対重量増加</li> <li>・び慢性肝細胞肥大</li> <li>・膵腺房細胞肥大</li> </ul>	(30ppm と同じ)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・脳及び腎比重量増加</li> <li>・び慢性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・腎比重量増加</li> </ul>	毒性所見なし

30ppm 以上	・肝及び腎比重量 増加	・肝比重量増加	・腎比重量増加	・肝絶対・比重量 増加	30ppm 以下 毒性所見なし	
10ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし		

## 10. 慢性毒性試験及び発がん性試験

### (1) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体 : 0, 1, 5, 10 [投与開始から 5 週までは 20] mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

本試験において、5mg/kg 体重/日以上投与群雌雄で T.Chol 及びリン脂質減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 1mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 54)

表 17 イヌ 1 年間慢性毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
10mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 死亡 (1 例)</li> <li>・ 体重及び摂餌量減少</li> <li>・ 肝細胞質の好酸性増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 死亡 (1 例)</li> <li>・ 体重及び摂餌量減少</li> <li>・ 肝細胞質の好酸性増加</li> <li>・ 嘔吐及び軟便</li> <li>・ 肝細胞・クッパー細胞色素沈着</li> </ul>
5mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 流涎</li> <li>・ T.Chol 及びリン脂質減少</li> <li>・ 嘔吐</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 流涎</li> <li>・ T.Chol 及びリン脂質減少</li> <li>・ A/G 比及び Alb の増加</li> </ul>
1mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

### (2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 50 匹, 中間屠殺群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 15, 40, 80 ppm : 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 18 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の平均検体摂取量

投与群		15ppm	40ppm	80ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.56	1.50	3.07
	雌	0.69	1.85	3.79

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。本試験において、40ppm 以上投与群雄で肝及び腎比重量増加等、雌で体重増加抑制等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 15ppm (雄 : 0.56mg/kg 体重/日、雌 : 0.69mg/kg 体重/日) であ

ると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 55, 11)

表 19 ラット 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
80ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ WBC 減少</li> <li>・ 脳、肺及び心比重量増加</li> <li>・ ハーダー腺分泌亢進</li> <li>・ 腸間膜リンパ節の肥満細胞増加及び洞組織球症</li> <li>・ 腎近位尿細管上皮の肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 脳、肺、心、肝、腎及び副腎比重量の増加</li> <li>・ ハーダー腺分泌亢進</li> </ul>
40ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝及び腎比重量増加</li> <li>・ 腎近位尿細管上皮の硝子滴</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ WBC 減少</li> <li>・ ハーダー腺の褐色化</li> <li>・ 腸間膜リンパ節の洞組織球症</li> <li>・ 好塩基性肝細胞小増殖巣の増加</li> <li>・ 腎近位尿細管上皮の肥大</li> </ul>
15ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(3) 18 ヶ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 50 匹) を用いた混餌 (原体: 0, 15, 150, 500/400/300\*ppm : 平均検体摂取量は表 20 参照) 投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

表 20 マウス 18 ヶ月間発がん性試験の平均検体摂取量

投与群		15ppm	150ppm	500/400/300ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.2	20.8	60.9
	雌	2.8	27.1	75.9

各投与群で認められた毒性所見は表 21 に示されている。

本試験において、150ppm 以上投与群雌雄で摂餌量減少等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 15ppm (雄: 2.2mg/kg 体重/日、雌: 2.8mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 56)

※最高用量の 500/400/300 の表記は、500ppm で試験を開始した群で雌雄とも体重増加抑制、摂餌量の減少ならびに重篤な症状が認められたことから、用量を投与 13 週時に 400ppm に減じ、その後も症状が継続して認められたことから、投与 20 週時には 300ppm に減じたことを意味する。

表 21 マウス 18 ヶ月間発がん性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
500/400/300ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 脳、肝及び副腎比重量増加</li> <li>・ 精巣及び精巣上体絶対・比重量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 卵巣、子宮及び子宮頸の萎縮</li> </ul>
150ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ 脾絶対・比重量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> </ul>
15ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

### 1 1. 生殖発生毒性試験

#### (1) 2 世代繁殖試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0, 0.75, 1.5, 3mg/kg 体重/日) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 22 に示されている。親動物の P 世代で認められた分娩異常は、F<sub>1</sub> 世代や同種の別試験では認められないことから、母動物の内分泌系、神経系あるいは子宮筋へ及ぼす直接的な影響による可能性は低く、交配前から妊娠期間を通じた長期投与によって、摂餌量の減少及び低体重が示唆する一般毒性学的な影響に分娩時の出血等の負荷が加わった衰弱状態により、二次的に発生したものと考えられた。

0.75mg/kg 体重/日以上投与群児動物で胸腺比重量の減少が認められたが、次世代免疫毒性検討試験(1 1. 生殖発生毒性試験 (2) 参照)において F<sub>1</sub> 及び F<sub>2</sub> 世代の免疫機能が検討された結果、いずれの世代も成獣においては液性・細胞性免疫機能に異常が認められなかったことから、毒性学的に影響の少ない変化と考えられた。

本試験の親動物及び児動物に対する無毒性量は、雌雄とも 0.75mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 57, 10)

表 22 ラット 2 世代繁殖試験で認められた毒性所見

	投与群	親 : P、児 : F <sub>1</sub>		親 : F <sub>1</sub> 、児 : F <sub>2</sub>	
		雄	雌	雄	雌
親動物	3mg/kg 体重/口	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 3 例死亡 (難産死 2、瀕死殺 1)</li> <li>・ 摂餌量減少</li> <li>・ 妊娠期間延長</li> <li>・ 分娩異常</li> <li>・ 出産率低下</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ 着床数低下</li> </ul>
	1.5mg/kg 体重/口以上	1.5mg/kg 体重/口以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 体重増加抑制</li> </ul>	1.5mg/kg 体重/口以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 摂餌量減少</li> </ul>

児動物	3mg/kg 体重/口	<ul style="list-style-type: none"> <li>平面正向反射遅延</li> <li>耳介展開の遅延</li> <li>出産生存児数減少</li> <li>脳比重量増加</li> <li>胸腺絶対・比重量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> <li>耳介展開及び眼瞼開裂の遅延</li> <li>出産生存児数減少</li> <li>脾絶対重量減少</li> <li>脳比重量増加</li> <li>胸腺絶対・比重量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> <li>耳介展開及び眼瞼開裂の遅延</li> <li>小腸への暗緑色内容物貯留による腹腔内黒色化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>小腸への暗緑色内容物貯留による腹腔内黒色化</li> <li>耳介展開の遅延</li> <li>体重増加抑制</li> </ul>
	1.5mg/kg 体重/口以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>小腸への暗緑色内容物貯留による腹腔内黒色化</li> </ul>	1.5mg/kg 体重/口以下毒性所見なし	
	0.75mg/kg 体重/口	毒性所見なし			

### (2) 2世代繁殖試験 -次世代免疫毒性検討試験- (ラット)

SD ラット (一群雌 (妊娠) 各 15 匹) を用い、妊娠・哺乳期間から F<sub>2</sub> 動物の成熟期まで混餌 (原体 : 0, 0.75, 3mg/kg 体重/日) 投与し、次世代免疫毒性検討試験が実施された。

親動物では、3mg/kg 体重/日投与群の P 世代で体重増加抑制及び摂餌量減少、F<sub>1</sub> 世代では体重低下、体重増加抑制及び摂餌量減少、F<sub>2</sub> 世代体では摂餌量減少、脾比重量減少が認められた。

児動物では、3mg/kg 体重/日投与群の F<sub>1</sub> 世代で体重増加抑制、胸腺絶対・比重量低下 (生後 4 日の雄では 0.75mg/kg 体重/日投与群でも低下)、小腸への暗緑色内容物貯留による腹腔内黒色、F<sub>2</sub> 世代では摂餌量減少、胸腺絶対・比重量低下、小腸への暗緑色内容物貯留による腹腔内黒色化、胸腺及び脾臓細胞数の減少、生後 4 日の脾臓の CD3<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>細胞率の上昇、生後 21 日目における脾臓 CD3<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>細胞率及び CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>細胞率の低下、生後 10 週の脾臓 CD3<sup>+</sup>/CD45RA<sup>+</sup>細胞率の低下といったリンパ球サブセットの変化が認められた。

上記で認められた変化にも関わらず、成熟動物では液性免疫及び細胞性免疫機能に影響が認められなかったことから、トルフェンピラドの次世代に対する免疫毒性は認められないと考えられた。(参照 58, 10)

### (3) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体 : 0, 1, 3, 4.5mg/kg 体重/日) 投与する発生毒性試験が実施された。

母動物では、3mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制及び摂餌量減少が認められた。

胎児では、4.5mg/kg 体重/日投与群で低体重、腰肋の発生率上昇が認められた。腰

肋は、大部分が奇形性の指標としては意義に乏しい短小過剰肋骨であり、さらに腰椎数にも変化がないことから、本変化はトルフェンピラドの催奇形性を示唆する変化ではないと考えられた。

本試験において、母動物では 3mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制等、胎児では 4.5mg/kg 体重/日投与群で低体重が認められたことから、無毒性量は母動物で 1mg/kg 体重/日、胎児で 3mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 59, 10)

#### (4) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ(一群雌 16 匹)の妊娠 6~18 日に強制経口(原体:0, 1, 3, 6mg/kg 体重/日)投与する発生毒性試験が実施された。

母動物では、6mg/kg 体重/日投与群で摂餌量の減少、早産(1 例)及び全胚死亡(1 例)、3mg/kg 体重/日投与群で死亡(1 例)が認められた。

胎児では 1 及び 6mg/kg 体重/日投与群で骨格変異(腰肋、過剰胸骨分節)を有する胎児の発生率の上昇が認められたが、過剰胸骨分節については用量に依存する変化が認められないこと、腰肋については腰椎数にも変化がないこと及び背景データの範囲内であることから投与による影響ではないと考えられた。

なお、3mg/kg 体重/日投与群の 1 例の母動物の死亡については、病理組織検査の結果、肺のうっ血、肝臓及び腎臓の脂肪化、脾臓の萎縮などの循環障害、低栄養または衰弱による変化がみられたことから、死因は体重減少、無摂餌あるいは摂餌抑制の状態が持続し、母体の全身状態が悪化したためと考えられた。

本試験において、母動物では 3mg/kg 体重/日投与群で全身状態の悪化による死亡が認められ、胎児では検体投与による悪影響は認められなかったことから、無毒性量は母動物で 1mg/kg 体重/日、胎児で 6mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 60, 10)

### 1 2. 遺伝毒性試験

トルフェンピラドの細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター培養細胞(CHL)を用いた染色体異常試験、マウスを用いた小核試験が実施された。

チャイニーズハムスター培養細胞(CHL)を用いた染色体異常試験で陽性反応が認められた。その他の試験はすべて陰性であった(表 23)。

染色体異常試験では数的異常である倍数体の誘発が認められたが染色体の構造異常誘発性は認められず、十分高用量まで検討された *in vivo* 小核試験で陰性であったことから、トルフェンピラドは生体にとって特段の問題となるような遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 61~65)

表 23 遺伝毒性試験結果概要 (原体)

試験		対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> H17, M45 株	0~20000 µg/disc (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S.typhimurium</i> TA98,TA100,TA102,TA1535, TA1537 株 <i>E.coli</i> WP2uvrA 株	0~5000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター 肺由来培養細胞株(CHL)	0~85.8 µg/mL (+/-S9)	S9mix 非存在下 で陽性
<i>in vivo</i>	小核試験	ddY マウス (一群雌雄各 6 匹)	雄 : 0, 3, 6, 12, 24mg/kg 体重 雌 : 0, 1.8, 3.5, 7, 14 mg/kg 体重 (2 日間連続腹腔内投与)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下、-S9 : 代謝活性化系非存在下

トルフェンピラドの代謝物 PT·CA、OH·PT、T·CA、T·AM、CA·T·CA、OH·T·CA、OH·PAM 及び PCA の細菌を用いた復帰突然変異試験は、いずれも陰性であった。PT·CA 及び OH·PT のチャイニーズハムスター培養細胞(CHL/IU)を用いた染色体異常試験及びラットを用いた小核試験はいずれも陰性であった。(表 24) (参照 66~77)

表 24 遺伝毒性試験結果概要 (代謝物)

試験	被験物質 (代謝物)	対象	処理濃度・投与量	結果
復帰突然変異 試験	PT·CA	<i>S.typhimurium</i> TA98,TA100, TA1535, TA1537 株 <i>E.coli</i> WP2uvrA 株	0~5000 µg/plate (+/-S9)	陰性
	OH·PT			陰性
	T·CA			陰性
	T·AM			陰性
	CA·T·CA			陰性
	OH·T·CA			陰性
	OH·PAM			陰性
	PCA			陰性
染色体異常 試験	PT·CA	チャイニーズハムスター 肺由来培養細胞株(CHL/IU)	0~1250 µg/mL (+/-S9)	陰性
	OH·PT			陰性
小核試験 ( <i>in vivo</i> )	PT·CA	SD ラット (一群雌雄各 6 匹*)	0, 5, 10, 20mg/kg 体重 2 日間連続強制経口投与	陰性
	OH·PT			陰性

※高用量群のみ 10 匹投与

### 1.3. その他の毒性試験

#### (1) 動物細胞ミトコンドリア系を用いた *in vitro* 呼吸阻害

##### ①ラット肝ミトコンドリア系 (電子伝達系) を用いた呼吸阻害の検討

ラット肝を用いてトルフェンピラドの *in vitro* におけるミトコンドリア系 (電子伝達系) 呼吸阻害の検討が実施された。

トルフェンピラドはラット肝ミトコンドリア系の呼吸を強く阻害した (IC<sub>50</sub>=0.0078µg/mL)。主要な作用点は Complex I と考えられた。(参照 78)