

残留放射能(TRR)の 99.1%を占めた。果実表面における残留放射能は経時的に減少したが、逆に溶媒可溶性放射能は処理 28 日後には 23.8%TAR となり、果実内への吸収量増加が認められた。しかし、水可溶性及び非抽出性放射能は増加せず、0.3%TAR 以下であった。代謝物 F が処理 28 日後に 0.3%TAR、56 日後に 0.2%TAR 検出された。

葉においては、処理直後の 95.8%TAR(36.6 mg/kg)から処理 7 日後に 20.5%TAR、56 日後に 15.9%TAR と急速に減少した。親化合物は処理 56 日後で 75.5%TRR を占めた。表面残留性放射能は果実より速く減少したが、吸収量は果実より少なく、処理 7 日以降 8~10%TAR の範囲内にあった。代謝物として F が 1.9%TAR(56 日後)が検出された。また、水溶性画分の $\beta$ -グルコシダーゼ分解により K 及び未同定代謝物 UK-1 が生成し、K は処理 28 日及び 56 日後に 0.1%TAR を検出した。他に多数の高極性代謝物が認められたが、いずれも 0.2%TAR 以下で同定できなかった。

本処理条件下の果実及び葉におけるクロルフェナピルの推定半減期は、処理放射能対比ではそれぞれ 100 日以上及び 3 日、残留濃度対比では 20 日及び 3 日であり、部位間で大きな差があった。これは水の蒸散に伴う揮散が関与しているものと推察された。(参照 7)

## (2) なす

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルを使用して、なす(品種：千両 2 号)におけるグロースキャビネット(25~27°C、10000 Lx(12hr/日)光照射)内での植物体内運命試験が実施された。

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル 0.21  $\mu\text{g}/\text{mL}$  を含む水耕液に、なす幼苗(第二葉未展開期)の根部を浸し、6、24、48 及び 96 時間後に植物を採取し、4 部位(根、茎、子葉及び本葉)の放射能を測定した。その結果、pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルを添加した水耕液中の放射能は、根部で処理 96 時間後に 70.2%TAR となった。根より上部の茎への移行は処理 48 時間後に 0.4%TAR であったが、葉への移行はなかった。

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルの 10%乳剤の希釈液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )を果実の表面にクロルフェナピル 6.3  $\mu\text{g}/\text{個}$ の割合で塗布し、処理直後、3、7、14 及び 28 日後に処理果実を採取し、放射能を測定した。また、pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルの 10%乳剤の希釈液(100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )を着果部位直下の葉表及び葉裏の全面にクロルフェナピルを 0.22  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の割合で塗布し、処理直後、3、7、14 及び 28 日後に処理葉、直上の葉、直下の葉及び処理部位の上の果実及びそれらの葉や果実がついていた茎に分割、採取して、放射能を測定した。その結果、処理部位における放射能は果実では処理直後で 94.9%TAR であったが、処理 28 日後には 29.6%TAR となった。表面の残留放射能は経時的に減少し、逆に溶媒可溶性放射能が増加して、果実内への吸収量増加が認められた。しかし、水可溶性及び非抽出性放射能は増加せず、0.1%TAR 以下であった。葉面処理の処理葉では、直後が 94.0%TAR で、処理 28 日後には 20.4%TAR となったが、非処理部位への移行はいずれの部位とも 0.2%TAR 以下であった。表面の残留放射能は果実より速やかに減少したが、吸収量は 6~10%TAR の範囲内にあった。また、水可溶性及び非抽出性放射能量は経時的に徐々に増加したが、処理 28 日後で 1.5%TAR 未満であった。

表面残留及び溶媒可溶性放射能画分中の代謝物を解析した結果、果実及び葉面処理でのクロルフェナピルは処理 56 日後で 29.5%TAR 及び 18.2%TAR で、その他に F が

同定されたが、その生成量は処理果実及び処理葉においても、0.1%TAR 以下であった。その他の代謝物も処理果実及び処理葉に検出されたが、その各代謝物の合計はいずれも 0.1%TAR 以下であった。(参照 8)

### (3) キャベツ

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルを使用して、キャベツ(品種：秋得)におけるグロースキャビネット(20~22°C、50000 Lx(12hr/日)光照射)内での植物体内運命試験が実施された。

#### 1) 土壌処理

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルの 10%乳剤の 1000 倍希釈液(100 µg/mL)を、土壌(沖積土)に 0.2 mg ai/kg 相当量を加え、明条件(室内光、25°C)及び暗条件(28°C)で 30 日間インキュベーションした。その後、第一本葉期(播種 2 週間後)のキャベツ幼苗を移植し、7、14 及び 28 日後に試料を採取し、本葉、子葉、茎、根及び土壌に分画し放射能を測定した。その結果、明条件及び暗条件における pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル添加 30 日後の土壌中の抽出成分は 75.6%TAR 及び 82.4%TAR、さらに溶媒可溶性代謝物として、それぞれ 4.5%TAR 及び 6.9%TAR 検出した。両条件下での代謝物生成量に有意な差はみられず、主要代謝物は D であった。この土壌にキャベツ幼苗を移植し 28 日間生育させた結果、植物体中に放射能が 1.2~1.3%TAR 吸収された。その大部分は根に分布し、クロルフェナピル及び D が検出された。茎葉部への移行は 0.2%TAR であり、本葉でクロルフェナピルのみが 0.1%TAR 以下検出された。なお、植え付け時(30 日間のプレインキュベーション期間直後)の土壌中の TRR 及びクロルフェナピル及び D はそれぞれ 93~97%TAR、71~76%TAR、3.0~4.4%TAR、キャベツ栽培の 28 日後には 82~96%TAR、59~61%TAR、2.7~3.0%TAR であった。植物体における放射能濃度に土壌の前処理の違いによる差は認められなかった。

#### 2) 結球処理

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルの 10%乳剤の 1000 倍希釈液 1 mL を、結球部分を中心に半径 10 cm の範囲(繁茂した外葉を含め 8~10 枚)に塗布した(約 0.30 µg/cm<sup>2</sup>)。その後グロースキャビネット内(20~22°C)で生育させ、7、14 及び 28 日後に施用部位(結球より外れ外葉となった部分を含め 11~14 枚)、その他の葉(施用時に結球部分を中心に 10 cm の範囲に入らなかった外葉 8~12 枚)及び結球部分に分けて採取し、放射能を測定した。その結果、処理部位の TRR は処理直後 89.6%TAR、7 日後以降 28 日後まで約 70%TAR が検出された。水可溶性及び非抽出性放射能は 28 日後でそれぞれ 2.2 及び 2.3%TAR まで増加した。しかし、その他の葉及び結球部分への移行は 28 日後において 1.2%TAR 及び 0.2%TAR であった。

処理部位及びその他の葉における溶媒可溶性放射能画分中の残留放射能の化学形態は、処理部位では各時期ともに親化合物が 64%TAR 以上を占めた。処理部で 7 日後以降わずかに 5 種(そのうち K、D 及び F が同定された)が検出されたが、その他の葉ではクロルフェナピルのみが 0.4~1.0%TAR 検出された。また、代謝物については処理部位において溶媒可溶性代謝物が 14 日後に最高値を示し D 及び K が 0.5%TAR、F が 0.3%TAR 検出されたが、その他はいずれも 0.1%TAR 以下であった。水可溶性代謝物の合計は 28 日後に 2.2%TAR となり、代謝物は極性が一番高いもので最大

0.7%TAR を示したが、その他の代謝物は、9 種類以上の未同定極性代謝物でいずれも 0.2%TAR 以下であった。その他に非抽出性代謝物が 2.3%TAR 生成した。以上より、キャベツにおける主要な代謝反応はピロール環上のブロム基の脱離による D、脱ブロム化と酸化による K 及び N-脱エトキシメチルによる F の生成であった。(参照 9)

### 3. 土壌中運命試験

#### (1) 好氣的湛水土壌中運命試験

pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルまたは phe-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルを使用し、火山灰・軽埴土(茨城土壌)及び沖積・埴壤土(高知土壌)における好氣的湛水土壌中運命試験が実施された。

好氣的条件下では空気、嫌氣的条件下では窒素を通気してプレインキュベーションした土壌及びオートクレーブで滅菌した土壌に標識化合物を乾土あたり約 0.5 µg/g 処理し、最大容水量を約 60%に調節した後、遮光下、28°C で、インキュベートした。

好氣的条件下において標識体間及び土壌間でクロルフェナピルの減衰に差はほとんどなかった。土壌中の溶媒可溶性放射能は経時的に減少し、処理 240 日後で 77~81%TAR、365 日後には茨城土壌で 63%TAR、高知土壌で 76%TAR となった。茨城土壌及び高知土壌でのクロルフェナピルの推定半減期は 230~250 日及び 260 日であった。親化合物を含めて phe-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル処理区で 8 種類の分解物、pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル処理区で 10 種類の分解物を分離し、このうち 7 種類(C、D、E、F、G、H 及び K)を同定した。主要分解物は D であり、茨城土壌では phe-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル処理区で 240 日後に 24.9%TAR、pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル処理区で 365 日後に 27.3%TAR に達した。同様に、高知土壌では、phe-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル処理区では 240 日後に 26.5%TAR、pyr-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル処理区で 365 日後に 29.9%TAR に達した。その他の分解物の生成量は 3%TAR 以下であった。

水可溶性放射能は両土壌とも 1%TAR 前後と僅かであった。一方、非抽出性放射能は経時的に増加し、処理 365 日後には茨城土壌で 20%TAR、高知土壌で 16%TAR となった。また、<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の発生及び揮散性化合物は少なく、処理 365 日後にはそれぞれ茨城土壌で 2.1%TAR 及び 1.4%TAR、高知土壌で 3.6%TAR 及び 2.7%TAR であった。揮散性化合物としてクロルフェナピル及び分解物 D が最終的に茨城土壌で 0.3~0.4%TAR 及び 0.2~1.0%TAR、高知土壌でそれぞれ 0.3~0.9%TAR 及び 0.6~1.8%TAR 検出された。

ピロール環とフェニル環の結合部分は両標識体施用とも <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 発生量に差がないこと及び同定された分解物はいずれも両環を有していることから、結合部分の開裂はないものと考えられた。

嫌氣的条件の処理 30 日後において、クロルフェナピルは約 10%TAR と緩やかに分解し、主要分解物 D の生成量は 3.3%TAR に留まり好氣的条件の約 1/2 と少なかった。また、滅菌条件下では処理直後と 30 日後では分解物の量に殆ど差がなかった。

以上のことから、クロルフェナピルは主に酸化反応を受けて消失することが明らかとなった。(参照 10)

## (2) 土壌表面における光分解

直径5 cmのガラスシャーレに約5 gの土(Agricultural Research Center (Princeton, ニュージャージー)から入手した *Sassafras sandyloam*)を入れ、*pyr*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピル及び *phe*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルを 440 g ai/ha となるように添加し、25±1°C でキセノンアークランプ(波長 290 nm 以下の短波長紫外線吸収フィルター使用、光強度 0.35 W/m<sup>2</sup>、波長 340 nm)を 30 日間照射した。

試験系からの総放射能回収率は *phe*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルで 95.3~104%及び *pyr*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルで 95.0~100%と良好で、揮散等による損失を認めなかった。照射区においてクロルフェナピルは擬一次反応速度論的に減衰し、30 日間で約 25%が分解した。推定半減期は、*phe*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルで 68 日、*pyr*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルで 82 日と推定された。2 種類の分解物 F 及び K が生成され、30 日後にはそれぞれ約 5% TAR を占めた。同定できない放射性成分が複数認められたものの、両標識体のいずれについても抽出された放射能の 3%以上を占める分解物はなかった。(参照 11)

## (3) 土壌吸着試験

クロルフェナピルの土壌吸着試験が 4 種類の国内土壌(高知、茨城、長野及び石川)を用いて実施された。

吸着係数 K は 101~224、有機炭素含有率により補正した吸着係数 *K<sub>oc</sub>* は 2350~13100 であった。(参照 12)

## 4. 水中運命試験

### (1) 加水分解試験(非標識体)

非標識クロルフェナピルを pH 4 (0.1 M フタル酸緩衝液)、pH 7 (0.1 M リン酸緩衝液) 及び pH 9 (0.1 M ホウ酸緩衝液)の緩衝液にそれぞれ 0.05 mg/L となるように加えた後、50±0.2°C の条件下でインキュベートし、7 日間にわたり加水分解試験が実施された。

pH 4 及び 9 の緩衝液における処理 7 日後のクロルフェナピルの残存率はそれぞれ 83 及び 82% TAR(推定半減期は 25 及び 29 日)であり、50°C における加水分解に対して不安定であった。pH 7 では残存率 94% TAR、推定半減期 1 年以上と安定であった。

さらに、pH 4 及び 9 の緩衝液において、室温(25°C)条件下で、28 日間にわたる加水分解試験を実施した。

その結果、25°C 条件下での pH 4 及び 9 の緩衝液におけるクロルフェナピルの残存率はそれぞれ 104 及び 101% TAR、推定半減期は pH 4 及び 9 とともに 28 日以上であり、安定であった。(参照 13 及び 14)

### (2) 加水分解試験(標識体)

*pyr*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルまたは *phe*-<sup>14</sup>C-クロルフェナピルを pH 5 (0.5 M フタル酸緩衝液)、pH 7 (0.5 M リン酸緩衝液)及び pH 9 (0.5 M ホウ酸緩衝液)の緩衝液にそれぞれ 0.07 mg/L となるように加えた後、25±1°C の条件下で、30 日間にわたり加水分解試験が実施された。その結果、両標識体とも 25°C において pH 5、7 及び 9 のいずれにおいても 30 日後のクロルフェナピルの残存率は 99%以上で、推定半減期も 30 日以上

であり、加水分解に対して安定であった。(参照 15)

### (3) 水中光分解運命試験(非標識体)

純水及びろ過滅菌した河川水(pH 7.5、神奈川県)にクロルフェナピルアセトン溶液を添加して0.05 mg/L溶液を調製し、290 nm以下の光を除去したキセノンランプ(830 W/m<sup>2</sup>、測定波長290~830 nm)を16時間照射した。この場合のクロルフェナピルの推定半減期は純水中で7時間、河川水中で14.6時間であった。(参照 16)

### (4) 水中光分解運命試験(緩衝液)

pyr-<sup>14</sup>C・クロルフェナピルまたは phe-<sup>14</sup>C・クロルフェナピルを pH 5(酢酸緩衝液)、pH 7(0.067 M リン酸緩衝液)及び pH 9 (0.01 M ホウ酸緩衝液)の緩衝液にそれぞれ0.065 mg/Lとなるように加えた後、25±1°Cでキセノンアークランプ(波長290 nm以下の短波長紫外線吸収フィルター使用、光強度239.2 W/m<sup>2</sup>、測定波長300~800 nm)を30日間にわたり照射し、水中光分解運命試験が実施された。

pyr-<sup>14</sup>C・クロルフェナピル及び phe-<sup>14</sup>C・クロルフェナピルとも光照射により速やかに分解し、30日後にクロルフェナピルはpH 5で1.3~2.3% TAR、pH 7で4.5~8.8% TAR、pH 9で0.9~1.2% TARであった。主たる分解物としてクロルフェナピル異性体 O が同定され、その生成量は処理30日後において、pH 5で51.7~54.5% TAR、pH 7で61.8~62.0% TAR、pH 9で61.9~70.7% TARであった。その他に複数の未同定分解物及び極性分解物が検出されたが、いずれも少量であり、10% TAR を超えて生成する分解物はなかった。

各緩衝液中においてクロルフェナピルは擬一次反応的に減衰した。算出された pH 5、7 及び 9 の緩衝液におけるクロルフェナピルの推定半減期は、それぞれ 5.2、7.5 及び 4.8 日であった。これは東京における4~6月の平均全天日射量に換算すると、pH 5、7 及び 9 においてそれぞれ 12.6、18.1 及び 11.6 日に相当した。(参照 17)

### (5) 水中光分解運命試験(自然水)

pyr-<sup>14</sup>C・クロルフェナピルを自然水(pH 7.2、大阪府河内長野市の地下水)に 0.06 µg/Lとなるように加えた後、25±2°Cでキセノンアークランプ(波長290 nm以下の短波長紫外線吸収フィルター使用、光強度537.1 W/m<sup>2</sup>、測定波長300~800 nm)を8日間照射し、水中光分解運命試験が実施された。

pyr-<sup>14</sup>C・クロルフェナピルは光照射により速やかに分解し、処理8日後に7.8% TARに減少した。主たる分解物としてクロルフェナピル異性体 O が検出され、その生成量は処理8日後において55.7% TARに達した。また、エチル基の末端が酸化を受けた B が5.6% TAR 検出された。その他に複数の未同定分解物が検出されたが、いずれも少量であり、10% TAR を超えて生成する分解物はなかった。

自然水中での光照射によりクロルフェナピルは擬一次反応的に減衰し、算出された推定半減期は2.3日であった。これは東京における4~6月の平均全天日射量に換算すると12.3日に相当した。自然水中においてクロルフェナピルは速やかに分解するものと考えられた。(参照 18)

## 5. 土壌残留試験

容器内試験では火山灰・軽埴土(茨城及び熊本)及び洪積・重埴土(福岡)、圃場試験では火山灰・軽埴土(茨城)及び沖積・埴壤土(高知)を用いて、クロルフェナピル及び分解物 D を分析対象とした土壌残留試験(容器内及び圃場試験)が実施された。

推定半減期は表 15 に示されており、クロルフェナピルとしては 23~92 日、クロルフェナピルと分解物 D の含量として 114 日であった。(参照 19)

表 15 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	濃度*	土壌	クロルフェナピル	クロルフェナピル +分解物D
容器内試験	0.15 mg/kg	火山灰・軽埴土	23 (茨城) 40 (熊本)	—
		洪積・重埴土	92	114
圃場試験	150 g/ha	火山灰・軽埴土	35	—
		沖積・埴壤土	48	—

\*：容器内試験で原体、圃場試験で 10%フロアブル剤を使用。 —：検出限界未満。

## 6. 作物残留試験

クロルフェナピルを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析法はアセトンで抽出した試料を精製後、窒素リン検出器若しくは電子捕獲型検出器付きガスクロマトグラフを用いて定量するものであった。参考のため代謝物 F 及び D を一部の作物について分析した。

結果は別紙 3 に示されており、クロルフェナピルの最高値は、茶(荒茶)の最終散布 7 日後における 31.4 mg/kg であった。代謝物 F の最高値は、茶(荒茶)の最終散布 14 日後における 0.39 mg/kg であった。また、代謝物 D はキャベツとだいこん(根部)の 2 作物についてのみ分析し、いずれも定量限界未満であった。(参照 20)

別紙 3 の作物残留試験の分析値を用いて、クロルフェナピルを暴露評価対象化合物として農産物から摂取される推定摂取量が表 16 に示されている(別紙 4 参照)。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からクロルフェナピルが最大の残留を示す使用条件で、今回申請されたいちご、とうがらし類、かぶ、さやえんどう、非結球キャベツ、すいぜんじな、リーフレタス、サラダ菜、こまつな、みずな、さんとうさい、ひろしまな、よもぎ、バナナ及びリンゴ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の仮定のもとに行った。

表 16 食品中より摂取されるクロルフェナピルの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3 kg)	小児(1~6 歳) (体重：15.8 kg)	妊婦 (体重：55.6 kg)	高齢者(65 歳以上) (体重：54.2 kg)
摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ )	296	180	289	334

## 7. 一般薬理試験

ラット、マウス及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 17 に示されている。(参照 21)

表 17 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
中枢神経系	一般状態 (Irwin 法)	マウス	雄 3	0, 0.3, 1, 3, 10, 100 (経口)	1	3	3 mg/kg 体重以上で症状発現(身づくろい・反応性・自発運動の低下、歩行異常、腹位姿勢、下痢、間代性痙攣、流涎、瞳孔散大) 30 mg/kg 体重以上で死亡
	一般状態 (Irwin 法)	ラット	雄 3	0, 3, 10, 30, 100, 300 (経口)	10	30	30 mg/kg 体重以上で症状発現(身づくろい・反応性・自発運動の低下、体温上昇、腹位姿勢、四肢の異常姿勢、間代性痙攣、歩行異常流涎) 100 mg/kg 体重以上で死亡
	ヘキソシン ピタール睡眠	マウス	雄 8	0, 1, 3, 10 (経口)	10	—	投与による影響なし
	体温 (直腸温)	ラット	雌 6	0, 3, 10, 30 (経口)	10	30	体温上昇
	自発脳波	ウサギ	雄 3	0, 3, 10, 30 (経口)	30	—	投与による影響なし
呼吸・循環器系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	ウサギ	雄 3	0, 3, 10, 30 (十二指腸内)	30	—	投与による影響なし
自律神経系	瞳孔径	ラット	雄 6	0, 3, 10, 30 (経口)	30	—	投与による影響なし
消化器系	腸管輸送能 (炭末輸送能)	マウス	雄 8	0, 1, 3, 10 (経口)	10	—	投与による影響なし
骨格筋	懸垂動作 試験	マウス	雄 8	0, 1, 3, 10 (経口)	10	—	投与による影響なし
血液	血液 凝固能	ラット	雄 6	0, 3, 10, 30 (経口)	30	—	投与による影響なし

## 8. 急性毒性試験

### (1) 急性毒性試験

SDラットを用いた急性経口毒性試験及び急性吸入毒性試験、ICRマウスを用いた急性経口毒性試験、ウサギを用いた急性経皮毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 18 に示されている。(参照 22~25)

表 18 急性毒性試験結果概要(原体)

投与経路	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	461	304	雌雄：自発運動の減少、呼吸促迫、間代性痙攣、流涎、腹臥位 雄：仰臥位、左下横臥
経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	45	78	雌雄：活動性低下
経皮	NZW ウサギ 雌雄各 5 匹	>2000	>2000	症状なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		雌雄：苦悶呼吸、活動性低下、あえぎ呼吸、鼻流出物、性器の汚れ
		0.83	>2.7	

代謝物 F、D、G 及び K の SD ラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 19 に示されている。(参照 26~29)

表 19 急性毒性試験結果概要(代謝物)

投与経路	化合物	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
経口	F	SD ラット 雌雄各 5 匹	27.0	29.4	雌雄：後肢伸展を伴う虚脱状態 雌：活動性増加、苦悶状態
経口	D	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	雄：活動性低下 雄 1 匹、雌 1 匹死亡
経口	G	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	2500	雌雄：下痢 雌：活動性低下、頻尿、眼瞼下垂 雄 5000 mg/kg で死亡
経口	K	SD ラット 雌雄各 5 匹	776	1370	雌雄：流涎、呼吸困難、活動性低下、高体温 雄：血様流涎、鼻周囲の褐色物、脱水状態、尿中赤色物 雌：眼瞼下垂、頻尿、虚脱状態

### (2) 急性神経毒性試験(ラット)

SD ラット(一群雌雄各 10 匹)を用いた強制経口(原体：0、45、90 及び 180 mg/kg 体重)投与による急性神経毒性試験が実施された。



180 mg/kg 体重投与群において、雌雄各 2 匹が死亡した。

一般状態観察において、180 mg/kg 体重投与群の 5 匹に嗜眠状態が見られ、そのうち 2 匹は投与日に死亡し、他の 3 匹は翌日回復した。90 mg/kg 体重投与群の 2 匹に嗜眠状態が見られ、投与翌日に回復した。機能検査では 180 mg/kg 体重投与群で歩行異常、運動障害、覚醒レベルの低下がみられた。

自発運動量の検査において、180 mg/kg 体重投与群の雄で自発運動量が対照群に比べて有意差はないものの低値を示した。同群の自発運動量は、投与前の検査においても対照群に比べ僅かに低値であり、同群の雌では投与当日に同様の変化は見られなかったことから、この変化は検体投与の影響ではないと考えられた。

全動物の剖検及び一群雌雄各 5 匹の神経病理学的検査において、検体投与に起因する変化は認められなかった。

本試験において、90 mg/kg 体重以上投与群に嗜眠状態が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 45 mg/kg 体重であると考えられた。(参照 30)

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた皮膚刺激性試験及び眼刺激性試験、日本白色種ウサギを用いた眼粘膜刺激性試験が実施された。その結果、皮膚刺激性は認められなかったが、軽度(日本白色種ウサギ)から中等度(NZW ウサギ)の眼粘膜刺激性が認められた。また、日本白色種ウサギではこの眼刺激性は洗眼により軽減されることが示された。(参照 31~33)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験(雄を用いた Buehler 法及び雌を用いた Maximization 法)が実施された。その結果、皮膚感作性は陰性であった。(参照 34 及び 35)

## 10. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験(ラット)

SD ラット(一群雌雄各 20 匹)を用いた混餌(原体：0、150、300、600、900 及び 1200 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 20 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		150 ppm	300 ppm	600 ppm	900 ppm	1200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	10.9	22.0	44.9	69.5	92.2
	雌	12.5	26.1	51.8	75.4	102.8

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、300 ppm 以上投与群の雄に肝比重量<sup>1</sup>の増加が、600 ppm 以上投与群の雌で肝絶対及び比重量の増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 150 ppm(10.9 mg/kg 体重/日)、雌で 300 ppm(26.1 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 36)

表 21 ラット 90 日間亜急性毒性試験で認められた毒性所見

<sup>1</sup>：体重比重量のことを比重量という(以下同じ)。

投与群	雄	雌
1200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・運動失調、鼻周囲の暗褐色物、活動低下</li> <li>・RBC、Hb、Ht 及び Alb 減少</li> <li>・ALT、GGT 及び BUN 増加</li> <li>・尿 pH 低下</li> <li>・[坐骨神経及び視神経海綿状変化]*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・GGT 及び BUN 増加</li> </ul>
900 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・PLT 増加</li> <li>・ALP 増加</li> <li>・肝絶対重量増加(900ppm のみ)、脾絶対及び比重量増加</li> <li>・[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>・RBC 及び Ht 減少</li> <li>・ALP 増加</li> <li>・脾絶対及び比重量増加</li> </ul>
600 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・[脳白質及び脊髄(頸部)ミエリン鞘海綿状変化]*</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・Hb 減少</li> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・[肝細胞肥大(600ppm のみ)]</li> </ul>
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝比重量増加</li> </ul>	300 ppm 以下毒性所見なし
150 ppm	毒性所見なし	

注)[]内の所見は統計学的有意差なし。\*:後出する「ミエリン鞘の腫脹」、「髄鞘の空胞化」または「空胞化」と同質の病変である。

ラット亜急性経口毒性試験で認められた神経病変の発生頻度は表 22 に示されている。

表 22 ラット亜急性経口毒性試験で認められた神経病変

性別	臓器	変化	投与群(ppm)					
			0	150	300	600	900	1200
雄	脳	(検査動物数)	20	20	20	20	20	20
		白質の海綿状変化	0	0	0	1	2	2
	脊髄 (頸部)	(検査動物数)	20	20	20	20	20	20
		ミエリンの海綿状変化	0	0	0	1	2	2
	坐骨 神経	(検査動物数)	20	0	0	0	0	20
		ミエリンの海綿状変化	0	0	0	0	0	1
視神経	(検査動物数)	0	0	0	0	0	1	
	ミエリンの海綿状変化	0	0	0	0	0	1	
雌	脳	(検査動物数)	20	20	20	20	20	20
		白質の海綿状変化	0	0	0	0	0	0
	脊髄 (頸部)	(検査動物数)	20	20	20	20	20	20
		ミエリンの海綿状変化	0	0	0	0	0	0

坐骨 神経	(検査動物数)	20	1	0	0	0	20
	ミエリンの海綿状変化	0	0	0	0	0	0

## (2) 90日間亜急性毒性試験(マウス)

ICR マウス(一群雌雄各 20 匹)を用いた混餌(原体：0、40、80、160 及び 320 ppm：平均検体摂取量は表 23 参照)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 23 マウス 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	80 ppm	160 ppm	320 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.1	14.8	27.6	62.6
	雌	9.2	19.3	40.0	78.0

各投与群で認められた毒性所見は表 24 に示されている。

本試験で認められた神経病変は、軽度または中程度であり、運動失調又は活動性低下との相関性も見られなかった。

本試験において、80 ppm 以上投与群の雄及び 160 ppm 以上投与群の雌で肝細胞肥大が認められたことから、無毒性量は雄で 40 ppm(7.1 mg/kg 体重/日)、雌で 80 ppm(19.3 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 37)

表 24 マウス 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
320 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 振戦(1 匹)、頻尿、食欲不振</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ RBC 及び Ht 増加</li> <li>・ Alb 減少、ナトリウム増加</li> <li>・ 脳白質海綿状変化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 1 匹死亡</li> <li>・ 体重増加抑制</li> <li>・ WBC 増加</li> <li>・ TP 及びカリウム増加</li> <li>・ 肝比重量増加</li> <li>・ 脳白質海綿状変化</li> <li>・ 脊髄(頸部)ミエリン海綿状変化</li> </ul>
160 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 肝比重量増加、脾絶対(160 ppm のみ)及び比重量増加</li> <li>・ 脊髄(頸部)ミエリン海綿状変化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ [体重増加抑制]</li> <li>・ Alb 減少(160 ppm のみ)</li> <li>・ 肝細胞肥大</li> </ul>
80 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ Lym 増加<sup>*</sup>、Neu 低下<sup>*</sup></li> <li>・ 肝細胞肥大</li> </ul>	80 ppm 以下毒性所見なし
40 ppm	毒性所見なし	

注)[ ]内の項目は統計学的有意差なし。 \*：320 ppm 投与群では有意差なし。

本試験において認められた神経病変の発生頻度は表 25 に示されている。これらの神経病変は軽度または中低度の病変であった。

表 25 マウス 90 日間亜急性経口毒性試験で認められた神経病変

性別	臓器	変化	投与群 (ppm)				
			0	40	80	160	320
雄	脳	(検査動物数)	20	20	20	20	20
		白質の海綿状変化	0	0	0	0	19
	脊髄 (頸部)	(検査動物数)	20	20	20	20	20
		ミエリンの海綿状変化	0	0	0	1	18
雌	脳	(検査動物数)	20	20	20	20	20
		白質の海綿状変化	0	0	0	0	19
	脊髄 (頸部)	(検査動物数)	20	20	20	20	20
		ミエリンの海綿状変化	0	0	0	0	19

### (3) 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各 4 匹)を用いた混餌(原体:0、60、120 及び 300/240/200 ppm : 平均検体摂取量は表 26 参照)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 26 イヌ 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		低用量	中用量	高用量		
		60 ppm	120 ppm	300 ppm	240 ppm	200 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.1	3.9	4.4	6.0	7.3
	雌	2.2	4.5	6.0	5.8	7.1

高用量投与群においては、当初は 300 ppm の濃度で投与を開始したが、著しい毒性変化(嘔吐、消瘦及び摂餌量の著しい減少)が認められたため、投与量を段階的に減少させた(表 27 参照)。

表 27 高用量投与群の濃度変更過程

投与濃度(ppm)	投与開始後日数	毒性所見及び投与量変更の理由
300	1~14	嘔吐、消瘦、体重減少及び摂餌量の著しい減少
240	15~25	消瘦、体重減少、摂餌量の減少
200	26~93	症状発現なし

各投与群で認められた毒性所見は表 28 に示されている。

血液生化学的検査において、高用量群の雄でカリウムの高値が見られたが、背景データの範囲内であり検体投与の影響ではないと判断された。

本試験において、高用量投与群の雌雄で嘔吐、消瘦、体重減少、体重増加抑制、摂餌量減少が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 120 ppm(雄:3.9 mg/kg 体重/日、雌:4.5 mg/kg 体重/日)であると考えられた。(参照 38)

表 28 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
高用量群 (300/240/200 ppm)	<ul style="list-style-type: none"> <li>嘔吐、削瘦</li> <li>体重減少、体重増加抑制</li> <li>摂餌量減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>嘔吐、削瘦</li> <li>体重減少、体重増加抑制</li> <li>摂餌量減少</li> </ul>
120 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 28 日間亜急性経皮毒性試験(ウサギ)

NZW ウサギ(一群雌雄各 6 匹)を用いた経皮(原体：0、100、400 及び 1000 mg/kg 体重)投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。検体をガーゼに塗布し生理食塩水で湿らせた後、毎日 6 時間 4 週間(週 6 日、延べ 24 日)にわたり刈毛部に貼付した。各投与群で認められた毒性所見は表 29 に示されている。

本試験において、400 mg/kg 体重投与群の雌雄で T.Chol の増加、肝比重量の増加及び肝細胞の細胞質空胞化が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 100 mg/kg 体重であると考えられた。(参照 39)

表 29 ウサギ 28 日間亜急性経皮毒性試験で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1000 mg/kg 体重	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝絶対重量増加</li> <li>肝細胞質空胞化(4 例)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ALT 増加</li> <li>肝退色(3 例)</li> <li>肝細胞質空胞化(4 例)</li> </ul>
400 mg/kg 体重 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>T.Chol 増加</li> <li>肝比重量増加</li> <li>[肝細胞質空胞化](1 例)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>T.Chol 増加</li> <li>肝絶対及び比重量増加</li> <li>[肝退色](1 例)</li> <li>肝細胞質空胞化(3 例)</li> </ul>
100 mg/kg 体重	毒性所見なし	毒性所見なし

注) [ ]内の項目は統計学的有意差なし。

1.1. 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 5 匹または 6 匹(240 ppm 投与群のみ))を用いた経口(原体：0、60、120 及び 240 ppm：平均検体摂取量は表 30 参照)投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 30 イヌ 1 年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		60 ppm	120 ppm	240 ppm
平均検体摂取量	雄	2.1	4.0	8.7