

りんご（品種：ゴールドデンデリシャス）に、フロアブル製剤化した[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシル又は[dod-<sup>14</sup>C]アセキノシルを 750 g ai/ha の割合で散布処理し、植物体内運命試験が実施された。

処理後のりんご試料における放射能分布は表 3 に示されている。

処理直後の放射能濃度は、果実及び葉でそれぞれ 1.30～1.39 及び 53.9～54.1 mg/kg であったが、その後急激に減少し、それぞれ 0.384～0.698 mg/kg（処理 14 日後）及び 4.60～23.7 mg/kg（処理 30 日後）となった。

処理直後では、放射能の大部分（98.0～98.7%TRR）が果実及び葉の表面洗浄液から回収された。果皮、果肉及び葉内部から回収される放射能の割合は経時的に増加したが、処理 30 日後でも果実及び葉の表面洗浄液から 39.9～63.2%TRR の放射能が回収され、残留する放射能の多くが果実及び葉の表面に付着していた。

表 3 りんご試料における放射能分布(%TRR<sup>1)</sup>)

処理後 日数	[phe- <sup>14</sup> C]アセキノシル					[dod- <sup>14</sup> C]アセキノシル				
	果実			葉		果実			葉	
	表面 洗浄液	果皮 <sup>2)</sup>	果肉 <sup>2)</sup>	表面 洗浄液	抽出物+ 残渣	表面 洗浄液	果皮 <sup>2)</sup>	果肉 <sup>2)</sup>	表面 洗浄液	抽出物 +残渣
0 日	98.7	1.0	0.2	98.5	1.4	98.2	1.3	0.3	98.0	2.0
14 日	56.1	34.7	9.1	/	/	73.7	21.2	5.1	/	/
30 日	45.4	44.1	10.5	39.9	60.1	63.2	28.6	8.2	48.9	51.1

／：試料なし。<sup>1)</sup>：果実又は葉における総残留放射能（TRR）に対する割合。<sup>2)</sup>：果皮及び果肉の数値は、抽出物と残渣の合算値。

また、処理時にポリエチレン袋で覆い、散布液の付着を防止した果実及び葉では、処理 30 日後の放射能濃度は 0.014～0.016 mg/kg と極めて低かったが、わずかに果皮、果肉及び葉から検出された。吸収されたアセキノシルにはわずかであるが体内移行性があった。これらの果実及び葉における収穫時の総放射能量は処理果実及び葉の 3%以下であった。

果実及び葉のいずれの試料においても、大部分は親化合物として存在していた。代謝物として AKM-05 及び AKM-18 が検出されたが、10%TRR を超えるものはなかった。果皮では、親化合物の割合は処理 30 日後には低下し、極性物質が相対的に増加した。処理 30 日後の葉では大部分が極性物質であった。極性物質中にはフタル酸及び 2-CBAA が含まれていることが確認された。果皮及び葉の抽出残渣はアルカリで大部分が抽出され、その主要成分はフタル酸であった。（参照 9）

### (3) オレンジ

オレンジ（品種：ネーブル）に、フロアブル製剤化した[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシルを 1,050 g ai/ha の割合で散布処理し、植物体内運命試験が実施された。

処理後のオレンジ試料における放射能分布は表 4 に示されている。

処理直後の放射能濃度は、果実及び葉でそれぞれ 0.633 及び 53.7 mg/kg であ

ったが、収穫時(処理 30 日後)にはそれぞれ 0.228 及び 25.9 mg/kg に減少した。処理直後の放射能は大部分(97.8~99.6%TRR)が表面洗浄液から回収され、その後減少した。これに伴い、果皮及び葉中の放射能はほぼ経時的に増加した。特に、抽出残渣中放射能は、処理直後ではほとんど検出されなかったが、収穫時には 26.4 及び 35.6%TRR に増加した。しかし、果肉抽出残渣では収穫時に 2.7% TRR が検出されたに過ぎなかった。

表 4 オレンジ試料における放射能分布(%TRR<sup>1)</sup>)

処理後 日数	[phe- <sup>14</sup> C]アセキノシル				
	果実			葉	
	表面 洗浄液	果皮 <sup>2)</sup>	果肉 <sup>2)</sup>	表面 洗浄液	抽出物 +残渣
0 日 (処理直後)	97.8	2.2	<0.03	99.6	0.43
30 日 (収穫期)	46.9	50.5	2.7	55.3	44.8

<sup>1)</sup>: 果実又は葉における総残留放射能 (TRR) に対する割合。

<sup>2)</sup>: 果皮及び果肉の数値は、抽出物と残渣の合算値。

果実では、親化合物が処理直後に 95.1%TRR を占め、収穫時には 41.4%TRR に減少した。いずれも洗浄液中から検出され、果実内からは検出されなかった。洗浄液及び果皮抽出液からは代謝物として AKM-18 及び AKM-05 が同定されたが、いずれも収穫期で <0.6%TRR (<0.001 mg/kg) であった。極性代謝物が洗浄液及び果皮抽出液から合計約 30%TRR 検出されたが、これらは少なくとも未同定の 4 成分から構成されていた。

葉では、親化合物が処理直後に 97.9%TRR を占め、収穫時には 27.7%TRR に減少した。これらは洗浄液から検出され、葉の内部からは検出されなかった。収穫時には、代謝物として AKM-18 及び AKM-05 が同定され、葉でそれぞれ 1.8%TRR 及び 3.3%TRR が検出された。その他、極性代謝物が 19%TRR 検出されたが、これらは未同定 4 成分から構成されていた。

また、処理時にポリエチレン袋で覆い、散布液の付着を防止した果実及び葉では、果実全体から 0.043 mg/kg の放射能が検出された。そのうち 0.016 mg/kg (約 37%) は果皮洗浄液から検出され、処理時に飛散した被験物質が果実に付着した可能性も考えられたが、処理放射能の吸収及び果実への移行性を完全に否定することも出来なかった。(参照 9)

以上、2.(1)~(3)から、アセキノシルの植物体内における推定代謝経路は、加水分解による AKM-05 の生成と、その後の酸化による AKM-18 の生成又は極性物質を経由した 2-CBAA とフタル酸の生成であると考えられた。(参照 3、9)

### 3. 土壤中運命試験

#### (1) 好氣的土壤中運命試験 (非滅菌土壤)

[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシル又は[dod-<sup>14</sup>C]アセキノシルを砂壤土及びシルト質壤土 (いずれも英国) に 0.5 mg/kg の濃度で添加し、20°C で 180 日間インキュベートする好氣的土壤中運命試験が実施された。

処理直後の抽出放射能は 95.8~99.3% TAR であったが、その後は経時的に減少し、試験終了時には 12.0~17.4% TAR になった。一方、揮発性物質が経時的に増加し、試験終了時には 43.9~57.7% TAR になった。抽出残渣は 30~90 日に最高値 (33.9~56.2% TAR) に達した後、徐々に減少した。土壤中放射能推移に土壤の種類及び標識部位による差は認められなかった。

主要分解物は二酸化炭素であった。次いで AKM-05 及び AKM-18 が処理 2~10 日後に最高値 (それぞれ 22.1~33.8 及び 4.3~9.2% TAR) を示した。親化合物は、処理 180 日後には 1.8~2.3% TAR となった。主要分解経路は、加水分解による AKM-05 の生成、その後の酸化による AKM-18 の生成を経て、腐植質に取り込まれ、さらに分解されて二酸化炭素となり大気中に放出される経路と考えられた。

非滅菌土壤における推定半減期は 0.6~1.3 日であった。(参照 9)

#### (2) 好氣的土壤中運命試験 (滅菌土壤)

[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシルをオートクレーブで滅菌した砂壤土 (英国) に 0.5 mg/kg の濃度で添加し、20°C で 90 日間インキュベートする好氣的土壤中運命試験が実施された。

抽出放射能は処理 90 日後にも 97.7% TAR 存在し、揮発性物質がほとんど認められなかった。抽出残渣の増加速度も、3.(1) の非滅菌土壤に比べて著しく遅かった。主要分解物は AKM-05 及び AKM-18 であり、処理 60~90 日後に最高値 (それぞれ 20.6 及び 6.8% TAR) を示した。親化合物は、処理 90 日後に 46.8% TAR 存在した。

滅菌土壤における推定半減期は 89.5 日であった。これは非滅菌土壤と比べて著しく長いことから、アセキノシルは土壤中で主に微生物によって分解されることが示唆された。(参照 9)

#### (3) 土壤浸透性試験

[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシル又は[dod-<sup>14</sup>C]アセキノシルを砂壤土及びシルト質壤土 (いずれも英国)、砂土及びシルト質砂壤土 (いずれもドイツ) の非熟成及び熟成土壤に 500 g ai/ha の施用量で処理し、土壤浸透性試験が実施された。

いずれの土壤カラムにおいても、大部分の放射能が土壤カラム最上部から検出された。浸透水中には砂土で 4.0% TAR の放射能が検出されたが、他の土壤では 1% TAR 以下であった。その他、揮発性成分による放射能の消失が最大 4% TAR

観察された。非熟成土壌及び熟成土壌における放射能の移動性にもほとんど差がみられなかった。土壌カラム上部の土壌における主要分解物は、好氣的土壌中運命試験と同様 AKM-05 及び AKM-18 であった。アセキノシル及び分解物の好氣的土壌における移動性は非常に小さいと考えられた。(参照 9)

#### (4) 土壌表面光分解試験

[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシルを砂壤土(英国)に 500 g ai/ha の施用量で処理し、25°C でキセノンアークランプ(光強度: 0.41~0.47 W/m<sup>2</sup>)を連続照射する土壌表面光分解試験が実施された。

親化合物は照射区及び暗所対照区とも速やかに減少し、13 日後にはそれぞれ 13.8 及び 7.2% TAR になった。親化合物の減衰速度、分解物の種類及び生成速度に、光照射の影響はみられなかった。また、主な分解物は AKM-18 及び二酸化炭素で、好氣的土壌中運命試験で検出された生成物と同じであった。(参照 9)

#### (5) 土壌吸着・脱着試験

4 種類の土壌(砂壤土及びシルト質埴埴土: 英国、砂土: ドイツ、シルト質砂壤土: 茨城)を用いた土壌吸着・脱着試験が実施された。なお、本剤は極めて水溶性が低く通常の試験方法が困難なため、[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシルを用い、平衡期間中に分解された放射能化合物も含めた吸着性及び脱着性について検討された。

アセキノシルは土壌中で速やかに分解されるため、親化合物及び分解物を合わせた全放射エネルギーを <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> にして測定した。吸着係数  $K_a$  は 678~1,620、有機炭素含量により補正した吸着係数  $K_{aoc}$  は 33,900~123,000 であり、脱着係数  $K_d$  は 785~3,220、有機炭素含量により補正した脱着係数  $K_{doc}$  は 38,600~198,000 であった。

アセキノシルの土壌吸着性は極めて高く、土壌中での移動性は低いことが示唆された。(参照 9)

### 4. 水中運命試験

#### (1) 加水分解試験

[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシルを pH 1.2 (塩酸)、pH 4 (酢酸)、pH 7 (リン酸) 及び pH 9 (ホウ酸) の各滅菌緩衝液に 0.3 µg/L の濃度で添加し、25 又は 37°C (pH 1.2 のみ) の暗所でインキュベートする加水分解試験が実施された。

アセキノシルは水中で容易に加水分解された。酸性条件下では比較的安定であり、pH の上昇と共に分解速度が速くなった。主要分解物は AKM-05 であり、最高で 23.2~54.7% TAR 検出された。他に AKM-18 が検出されたが、この化合物は水中の酸素による AKM-05 の酸化物であると考えられた。その他、pH の上昇とともに未同定分解物の生成量が増加し、pH 9 では 180 分後に親化合物が 17.3% TAR、AMK-05 が 38.9% TAR、AMK-18 が 10.9% TAR、未同定分解物が

33.1%TAR 生成した。

推定半減期は、pH 1.2、4、7 及び 9 でそれぞれ 19 日、74 日、53 時間及び 76 分であった。(参照 9)

## (2) 水中光分解試験

[phe-<sup>14</sup>C]アセキノシルを pH 5.0 の滅菌酢酸緩衝液及び pH 7.8 の滅菌河川水 (静岡) に 3 µg/L の濃度で添加し、25±1°C でキセノンランプ光 (光強度: 18.6 W/m<sup>2</sup> 又は 144 W/m<sup>2</sup>、波長: 290~800 nm) を 24 時間照射し、水中光分解試験が実施された。

緩衝液及び河川水ともに、照射区における主要分解物は AKM-05 及び AKM-08 であり、それぞれ最大で 4.4~11.6 及び 8.8~12.9%TAR 認められた。他に AKM-A1、AKM-B2 及び AKM-B3 がいずれも 10%TAR 以下で認められた。暗所対照区における主要分解物は AKM-05 であり、最高で緩衝液に 13.8%TAR、河川水に 70.2%TAR 認められた。

アセキノシルは水中で加水分解並びに光分解により極めて急速に AKM-05 に分解される他、親化合物と AKM-05 のいずれもが主に直接的光分解によりドデシル側鎖 2 位メチレン基に酸化を受け、AKM-08、AKM-A1、AKM-B2、AKM-B3 等の中間体を生成すると考えられた。また、これらの中間体は光に不安定であり、フタル酸、フェノール等を経て、最終的に二酸化炭素にまで光分解されると考えられた。

推定半減期は、緩衝液及び河川水でそれぞれ 14.0 及び 12.0 分であった。(参照 9)

## 5. 土壌残留試験

洪積土・埴壌土 (福島) 及び火山灰土・軽埴土 (茨城) を用い、アセキノシル、分解物 AKM-05 及び AKM-18 を分析対象化合物とした土壌残留試験 (圃場及び容器内) が実施された。

推定半減期は表 5 に示されている。(参照 9)

表 5. 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	濃度*	土壌	半減期 (日)	
			アセキノシル	アセキノシル +分解物
圃場 試験	1,050 g ai/ha 2 回施用	洪積土・埴壌土	約 3	約 3
		火山灰土・軽埴土	≦約 2	≦2
容器内 試験	1.0 mg/kg	洪積土・埴壌土	≦1	約 3
		火山灰土・軽埴土	≦1	≦2

※圃場試験ではフロアブル、容器内試験では純品を使用

## 6. 作物残留試験

アセキノシル及び代謝物 AKM-05 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。アセキノシル及び代謝物 AKM-05 の最高値は、それぞれ最終散布 (2 回散布) 7 日後に収穫した茶 (荒茶) の 14.6 及び 18.9 mg/kg であった。(参照 9、10)

## 7. 一般薬理試験

マウス、イヌ、ラット、モルモット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 6 に示されている。(参照 9)

表6 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数/群	投与量* (mg/kg 体重) (投与経路)	最大無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
一般症状 (Irwin 法)	ICR マウス	雄 4	0、200、600、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし	
呼吸循環器系	ビーグル犬	雌 3	2,000 (十二指腸内)	2,000	—	影響なし	
抗痙攣作用 (メトランゾール)	ICR マウス	雄 10	0、200、600、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし	
体温	Wistar ラット	雄 8	0、200、600、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし	
ヘキソ バルビタール 睡眠	ICR マウス	雄 10	0、200、600、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし	
協調歩行 (加速回転棒法)	ICR マウス	雄 10	0、200、600、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし	
局所麻酔作用	Hartley モルモット	雄 5	0、0.02、 0.06、0.2% (0.1mL、皮内)	0.2%	—	影響なし	
尿・電解質	Wistar ラット	雄 8	0、200、600、2,000 (経口)	—	200	尿量低下、Na <sup>+</sup> 、 K <sup>+</sup> 、Cl <sup>-</sup> 及び 蛋白排泄量低下	
腸管炭末輸送能	ICR マウス	雄 10	0、200、600、2,000 (経口)	2,000	—	影響なし	
自律 神経系	摘出回腸	Hartley モルモット	雄 15	10 <sup>-7</sup> 、10 <sup>-6</sup> 、10 <sup>-5</sup> M ( <i>in vitro</i> )	10 <sup>-5</sup> M	—	影響なし
	摘出子宮	Wistar ラット	雌 6	10 <sup>-7</sup> 、10 <sup>-6</sup> 、10 <sup>-5</sup> M ( <i>in vitro</i> )	10 <sup>-5</sup> M	—	影響なし
血液	溶血性	ウサギ (系統不明)	雄 3	0、0.03、0.1、 0.3、1.0 mg/mL ( <i>in vitro</i> )	0.03 mg/mL	0.1 mg/mL	溶血作用あり
	血液凝固	Wistar ラット	雄 10	0、200、600、2,000 (経口)	—	200	血液凝固時間延長
	血液凝固に 対する ビタミンKの 影響	SDラット	雄 3	[アセキノシル] 0、600 (経口) [ビタミンK] 0、2.5、5、10、20 (静脈内)	—	—	ビタミンK 静脈内 投与により凝固時 間が正常に回復

\*：経口及び十二指腸内投与では1%MC、皮内投与及び *in vitro* の試験ではDMSO、静脈内投与では生理食塩水を溶媒に用いた。

—：最小作用量又は最大無作用量は設定できず。

## 8. 急性毒性試験

アセキノシル (原体)、代謝物及び原体混在物のラット及びマウスを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 7 及び表 8 に示されている。(参照 3、9)

表 7 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種	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	>5,000	>5,000	全例に水様便 死亡例なし
経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	全例に水様便 死亡例なし
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		暴露中に不整呼吸、閉眼、鼻部湿潤、脊椎後弯及び喘ぎ動作、暴露終了後には不整呼吸、鼻口部の褐色の汚れ、鼻部周辺の湿潤、0.84 mg/L 群では喘ぎ動作、腹部被毛湿潤等。(すべて暴露 3 日後には消失) 0.69 mg/L 群雌 1 例、0.84 mg/L 群雄 1 例が死亡
		>0.84	>0.84	

※経口投与の溶媒には 0.5%MC を使用

表 8 急性毒性試験結果概要 (代謝物及び原体混在物)

被験物質	投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
代謝物 AKM-05	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	下痢、排泄物付着による被毛の汚れ 死亡例なし
	経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
代謝物 AKM-18	経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	眼瞼下垂、水様便、活動性低下 死亡例なし
原体混在物 ADsNQ	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	2,580	2,280	下痢及び自発運動低下 (後に消失)、被毛の汚れ、2,960 mg/kg 体重以上で出血による皮膚の紫斑 1,750 mg/kg 体重以上で急死、切迫と殺 (自発運動低下、蒼白、麻痺による歩行異常、腹臥位等の重篤な症状を示したため)
	経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

※経口投与の溶媒には、AKM-05 及び ADsNQ ではコーン油、AKM-18 では 0.5%MC を使用

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。眼及び皮膚に対してごく軽度の刺激性が認められた。

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法及び Buehler 法) が実施された。Maximization 法では軽度な陽性、Buehler 法では陰性であった。(参照 9)



## 10. 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、100、400、1,600 及び 3,200 ppm) 投与による 90 日間亜急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 9 に示されている。なお、3,200 ppm 投与群では、雌雄全例が全身性の出血性変化により死亡・切迫と殺されたため、同群では血液・生化学的検査は実施されていない。

400 ppm 以上投与群の雌雄全例で尿の黄褐色化が認められたが、検体の代謝物に起因する着色と考えられた。

本試験において、1,600 ppm 投与群の雌雄で APTT 延長等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 400 ppm (雄: 30.4 mg/kg 体重/日、雌: 32.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 3、4、9)

表 9 90 日間亜急性毒性試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,200 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡又は切迫と殺 (全例)</li> <li>・赤色尿、消瘦、眼球周囲や四肢の腫張、体温低下、鼻出血等</li> <li>・摂餌量及び食餌効率低下</li> <li>・筋肉及び多臓器の出血</li> <li>・眼球出血</li> <li>・造血亢進 (骨髓及び脾)</li> <li>・脾の濾胞萎縮、胸腺萎縮、肝の単細胞壊死</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡又は切迫と殺 (全例)</li> <li>・赤色尿、消瘦、眼球周囲や四肢の腫張、体温低下、鼻出血等</li> <li>・摂餌量及び食餌効率低下</li> <li>・眼球出血 (1 例)</li> <li>・筋肉及び多臓器の出血</li> <li>・造血亢進 (骨髓及び脾)</li> <li>・脾の濾胞萎縮、胸腺萎縮、肝の単細胞壊死</li> </ul>
1,600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・WBC 増加 (Neu 減少、Lym 増加)</li> <li>・PLT 増加</li> <li>・PT 及び APTT 延長、Fib 減少</li> <li>・FFA 増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・眼球腫大 (2 例)</li> <li>・APTT 延長</li> <li>・眼球出血・網膜萎縮 (1 例)</li> </ul>
400 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

### (2) 90日間亜急性毒性試験(マウス)

マウス (系統、匹数不明) を用いた混餌 (0、100、500 及び 1000 ppm) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

本試験において、500 ppm 以上投与群で肝細胞空胞化が認められたことから、無毒性量は 100 ppm (雄: 16 mg/kg 体重/日、雌: 21 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 3、4)

### (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) を用いたカプセル経口 (原体: 0、40、160、640 及び 1,000 mg/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。

各投与群で認められた毒性所見は表 10 に示されている。なお、1,000 mg/kg

体重/日投与群では、雌雄全例が切迫と殺されたため、同群では血液・生化学的検査は実施されていない。

全投与群において着色尿が認められたが、検体の代謝物に起因する着色と考えられた。

本試験において、160 mg/kg 体重/日以上投与群の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 40 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 3、4)

表 10 90 日間亜急性毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫と殺 (全例)</li> <li>・下痢、着色便、被毛の着色、嘔吐</li> <li>・体重及び摂餌量の顕著な低下</li> <li>・骨髄の細胞密度減少、消化管うっ血</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫と殺 (全例)</li> <li>・下痢、着色便、被毛の着色、嘔吐</li> <li>・体重及び摂餌量の顕著な低下</li> <li>・骨髄の細胞密度減少、消化管うっ血</li> </ul>
640 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・摂餌量低下</li> <li>・T.Chol 及び PL 減少</li> <li>・TG 増加</li> <li>・尿量低下、蛋白排泄量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫と殺 (2 例)</li> <li>・下痢、嘔吐、体重及び摂餌量の顕著な低下、骨髄の細胞密度減少、消化管うっ血 (以上切迫と殺例のみ)</li> <li>・摂餌量低下</li> <li>・WBC 及び Lym 増加</li> <li>・T.Chol 及び PL 減少</li> <li>・TP、Alb 及び Glob 減少</li> <li>・TG 増加</li> <li>・尿量低下、蛋白排泄量増加</li> </ul>
160 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・着色便、被毛の着色</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・PLT 増加</li> </ul>
40 mg/kg 体重/日以下	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 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (0、40、200 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与による 28 日間亜急性経皮毒性試験が実施された。

本試験において、1,000 mg/kg 体重/日投与群で血液凝固因子への影響が認められたことから、無毒性量は 200 mg/kg 体重/日であると考えられた。皮膚への影響は認められなかった。(参照 3、4、9)

### 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 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、5、20、80 及び 320 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 11 に示されている。

20 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で尿の着色が認められたが、検体の代謝物

による着色と考えられた。

本試験において、20 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 80 mg/kg 体重/日以上投与群の雌で PLT 増加等が認められたことから、無毒性量は雄で 5 mg/kg 体重/日、雌で 20 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 9)

表 11 1 年間慢性毒性試験(イヌ)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
320 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫と殺 (1 例)</li> <li>・極度の食欲不振及び体重低下 (切迫と殺例)</li> <li>・TP、Alb 及び Glob 減少</li> <li>・TG 増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫と殺 (1 例)</li> <li>・極度の食欲不振及び体重低下 (切迫と殺例)</li> <li>・TP、Alb 及び Glob 減少</li> <li>・TG 増加</li> </ul>
80 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・着色便</li> <li>・甲状腺絶対及び比重量低下</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・着色便</li> <li>・網状赤血球数増加</li> <li>・PLT 増加</li> <li>・WBC 及び Neu 増加</li> <li>・甲状腺絶対及び比重量低下</li> </ul>
20 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・PLT 増加</li> </ul>	20 mg/kg 体重/日以下毒性所見なし
5 mg/kg 体重/日	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 80 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、200、800 及び 1,600 ppm) 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。

各投与群で認められた毒性所見は表 12 に示されている。

800 ppm 以上投与群の雌雄で黄褐色～赤褐色尿が認められたが、検体の代謝物に起因する着色と考えられた。200 ppm 以上投与群の雄で認められた眼球腫大は眼球内出血に起因すると考えられ、例数は少ないが検体投与の影響と考えられた。

検体投与に関連した腫瘍性病変の発生頻度増加及び早期化は認められなかった。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雄で眼球腫大、800 ppm 以上投与群の雌で脾のうっ血が認められたことから、無毒性量は雄で 50 ppm (2.25 mg/kg 体重/日)、雌で 200 ppm (雌: 11.6 mg/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 3、4、9)

表 12 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,600 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制、食餌効率低下</li> <li>・APTT 延長、PLT 増加</li> <li>・Cre 増加、TG 減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・WBC 増加</li> <li>・ナトリウム減少</li> </ul>
800 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・PT 延長</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・脾のうっ血</li> </ul>
200 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・眼球腫大</li> </ul>	200 ppm 以下毒性所見なし
50 ppm	毒性所見なし	

(3) 18カ月間発がん性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 70 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、20、50、150 及び 500 ppm) 投与による 18カ月間発がん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 13 に示されている。

500 ppm 投与群の雌雄で、代謝物に起因すると思われる尿の黄褐色～オレンジ色化が認められた。また、肝マクロファージに認められた色素沈着について、対照群及び 500 ppm 投与群の肝における特殊染色の結果、沈着物質はリポスチン複合体である可能性が示唆された。また、各投与群の肝について PCNA 染色を実施した結果、雌雄ともに用量相関的な PCNA 陽性細胞発現率の増加が認められ、肝細胞の増殖活性亢進が示唆された。

検体投与による腫瘍性病変の発現率に変化は認められず、特異的な腫瘍の発現も認められなかった。

本試験において、50 ppm 以上投与群の雌雄で肝マクロファージ褐色色素沈着等が認められたことから、無毒性量は雌雄とも 20 ppm (雄 : 2.7 mg/kg 体重/日、雌 : 3.5 mg/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 3、4、9)

表 13 18カ月間発がん性試験(マウス)で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・TP 及び Glob 減少</li> <li>・肝炎症細胞巣</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・AST 増加</li> <li>・肝絶対重量増加</li> </ul>
150 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・腎比重量<sup>3</sup>増加</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・腎糸球体アミロイド変性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ALT 増加</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・肝炎症細胞巣、門脈周囲脂肪化</li> </ul>
50 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ALP、ALT 及び AST 増加</li> <li>・肝マクロファージ褐色色素沈着</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝マクロファージ褐色色素沈着</li> </ul>
20 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

<sup>3</sup> 体重比重量を比重量という(以下同じ)。

## 12. 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 25 匹) を用いた混餌 (原体: 0、100、800 及び 1,500 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

親動物では、800 ppm 以上投与群の F<sub>1</sub> 世代雄で出血及び腫脹、1,500 ppm 投与群の P 世代雌で脾絶対重量の軽度な増加が認められた。

児動物では、800 ppm 以上投与群において、F<sub>1</sub> 及び F<sub>2</sub> 世代で離乳直後に出血、腫脹及び死亡がみられ、さらに F<sub>2</sub> 世代では開眼、包皮分離、精巣下降及び膈開口が遅延し、発育遅延が示唆された。

本試験における無毒性量は、親動物の雄で 100 ppm (P 雄: 7.3 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄: 8.2 mg/kg 体重/日)、雌で 800 ppm (P 雌: 69.2 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌: 70.4 mg/kg 体重/日)、児動物で 100 ppm (P 雄: 7.3 mg/kg 体重/日、P 雌: 8.7 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄: 8.2 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌: 8.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 3、4、9)

### (2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 7~17 日に強制経口 (原体: 0、50、150、500 及び 750 mg/kg 体重/日、溶媒: 1%MC) 投与し、発生毒性試験が実施された。

母動物では、750 mg/kg 体重/日投与群の 4 例及び 500 mg/kg 体重/日投与群の 1 例で体表及び眼の褪色、立毛、不整呼吸、膈赤色分泌物 (出血) 等の所見が認められたため切迫と殺された。これらの動物では、剖検で子宮内出血、消化管内容物の血液混在、血液の希薄化及び淡色化等の所見がみられたが、子宮内には生存胚が認められた。750 mg/kg 体重/日投与群の生存例では、妊娠子宮重量減少、着床後胚死亡増加及び生存胎児数減少がみられた。その他の投与群では、検体投与の影響は認められなかった。

胎児では、750 mg/kg 体重/日投与群において、母動物に対する毒性に起因すると思われる骨格変異の発生頻度増加が認められた。

本試験における無毒性量は、母動物で 150 mg/kg 体重/日、胎児で 500 mg/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 3、4、9)

### (3) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 18 例) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体: 0、30、60 及び 120 mg/kg 体重/日、溶媒: 1%MC) 投与し、発生毒性試験が実施された。

母動物では、120 mg/kg 体重/日投与群の 5 例で著しい体重低下、摂餌量低下及び流産が認められたため、切迫と殺された。同群の生存動物では一過性の摂餌量低下、3 例で羊水の褐色化が認められた。

胎児では、120 mg/kg 体重/日投与群で過剰肋骨の発生頻度に軽度な増加がみ

られたが、母動物に対する毒性に伴う一過性の変化と考えられた。

本試験の無毒性量は、母動物及び胎児で 60 mg/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 3、4、9)

### 1.3. 遺伝毒性試験

アセキノシル (原体)、代謝物及び原体混在物の細菌を用いた DNA 修復試験及び復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞株 (CHL) を用いた染色体異常試験並びにマウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 14 及び表 15 に示されている。

アセキノシル原体を用いた試験の結果はいずれも陰性であった。代謝物 AKM-05 のチャイニーズハムスター肺由来培養細胞株 (CHL) を用いた染色体異常試験において、代謝活性化系存在下で染色体構造異常発現率の軽微な増加が認められたが、マウス骨髄細胞を用いた *in vivo* 小核試験では陰性であり、ラット及びマウスの試験で発がん性も認められなかったことも考慮すると、生体にとって特段問題となるような遺伝毒性はないと考えられた。(参照 3、4、9)

表 14 遺伝毒性試験概要(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>Bacillus subtilis</i> (H17、M45 株) 34.4~1,110 µg/disk (-S9) 17.2~550 µg/disk (+S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) < <i>S. typhimurium</i> > 9.77~625 µg/plate (-S9) 19.5~2,500 µg/plate (+S9) <i>Escherichia coli</i> (WP2uvrA 株) < <i>E. coli</i> > 156~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性 <sup>1)</sup>
	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) 150~1,200 µg/mL (-S9、24 時間及び 48 時間) 481~3,850 µg/mL (+S9、6 時間)	陰性
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス骨髄細胞 (一群雌雄各 15 匹) 0、1,250、2,500、5,000 mg/kg 体重 (1 回経口投与)	陰性

注) +/-S9: 代謝活性化系存在下及び非存在下。 <sup>1)</sup> *S. typhimurium* では、156 µg/plate 以上 (-S9) 及び 625 µg/plate 以上 (+S9) で結晶析出、*E. coli* では 156 µg/plate (-S9) の 1 回目を除き全ての濃度で結晶析出。

表 15 遺伝毒性試験概要(代謝物及び原体混在物)

被験物質	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
代謝物 AKM-05	復帰突然 変異試験	<i>S.typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	156~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性 <sup>1)</sup>
	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)	8.98~71.9 µg/mL (-S9、24 時間) 4.49~35.9 µg/mL (-S9、48 時間) 575~2,300 µg/mL (-S9、6 時間) 575~2,300 µg/mL (+S9、6 時間)	陽性
	小核試験 ( <i>in vivo</i> )	DBF <sub>1</sub> マウス骨髄細胞 (一群雄 5 匹)	0、2,000 mg/kg 体重 (2 回経口投与)	陰性
代謝物 AKM-18	復帰突然 変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	< <i>S. typhimurium</i> > 3.13~100 µg/plate (-S9) 15.6~500 µg/plate (+S9) < <i>E.coli</i> > 313~5,000 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)	15~60 µg/mL (-S9、6 時間、24 時間及び 48 時間) 15~60 µg/mL (+S9、6 時間)	陰性
原体混在物 ADsNQ	復帰突然 変異試験	<i>S.typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E.coli</i> (WP2uvrA 株)	< <i>S. typhimurium</i> > TA100、TA1535 株 2.44~313 µg/plate (-S9) 39.1~5,000 µg/plate (+S9) TA98 株 9.77~1,250 µg/plate (-S9) 39.1~5,000 µg/plate (+S9) TA1537 株 39.1~5,000 µg/plate (-S9) 2.44~156 µg/plate (+S9) < <i>E.coli</i> > 156~5,000 µg/plate (+/-S9)	陰性 <sup>2)</sup>
	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)	75.0~600 µg/mL (-S9、24 時間) 25.0~200 µg/mL (-S9、48 時間) 300~4,000 µg/mL (+S9、6 時間)	陰性

1) : 全ての濃度で結晶析出。2) : +/-S9 の全ての菌株において 39.1 µg/plate 以上で結晶析出。

#### 1.4. その他の試験

##### (1) 原体混在物 ADsNQ の毒性確認試験

ラットにおいて、10.(1)の 90 日間亜急性毒性試験では高用量群で出血が認められたが、8.の急性毒性試験では認められなかった。しかし、アセキノシル原体中の主要混在物である ADsNQ は、8. の急性毒性試験でラットに出血を誘発した。アセキノシル原体の連続投与で認められた出血に対する ADsNQ の関与について検討するために、Fischer ラット (一群雄 6 匹) に 7 日間混餌 (アセキノシル原体 : 2,500 ppm、ADsNQ : 25 及び 250 ppm) 投与し、検討試験が実施された。