

トリシクラゾールに係る吸入毒性試験の検討経過

1. 噴霧条件の検討

平成23年度に実施したトリシクラゾールの吸入毒性試験については、ラットを用いた毒性試験を実施する前に、トリシクラゾールを安定した粒子径及び濃度で噴霧できるか、試験条件の検討を行った。

①原体の微粉末化

トリシクラゾール原体の粒子径の中間値は $13\mu\text{m}$ であるが、OECD ガイドライン 412 で推奨されている平均粒子中位径 ($3\mu\text{m}$)、吸入し肺胞まで到達できるとされる粒子径 ($4\mu\text{m}$) より大きいことから、原体を粉碎し微粉末化した。

②噴霧条件（ジェットミル、RBG、空気速度等）の設定

Flow-Past システム（管を用いて各動物に給・排気する方式）を採用することとし、微粉末化したトリシクラゾール原体について、ジェットミルの使用の有無、RBG のブラシの種類、空気速度等の噴霧条件を変えて噴霧を実施した（表1）。

その結果、噴霧された粒子の MMAD 値は $0.0-499.6\mu\text{m}$ 、GSD は $1.9-97,410$ 、粒子径 $3\mu\text{m}$ 以下の比率は $4.8-92.4\%$ と変動が極めて大きく、実施したいずれの試験条件においても、安定した噴霧条件を設定できなかった。

2. 噴霧方法の変更（表2）

1. の検討に際して噴霧後の管の内壁に多量の検体が付着し、この検体付着が安定した噴霧条件が設定できない要因と推測されたことから、管を取り除き Flow-Through システム（管を用いずに吸入器に給・排気する方式）で再度、試験条件の検討を行った。

しかし、噴霧粒子の MMAD 値は $28.6-480.2\mu\text{m}$ 、GSD は $3.6-18.1$ 、粒子径 $3\mu\text{m}$ 以下の比率は $1.4-4.5\%$ であり、安定した噴霧条件を設定できなかった。

3. 媒体を用いた噴霧の検討

トリシクラゾール単体では、安定的に噴霧できなかったため、吸着性の高い物質を噴霧する際の媒体として用いられるホワイトカーボン及び水を使用して、再度、試験条件の検討を行った。

1) ホワイトカーボン（表3）

トリシクラゾールとホワイトカーボンを 7 : 3 の割合で混合し噴霧したが、MMAD 値は $12.8-211.8\mu\text{m}$ 、GSD は $9.1-42.1$ 、粒子径 $3\mu\text{m}$ 以下の比率は $11.8-28.3\%$ であり、安定した噴霧条件を設定できなかった。

2) 水（表4）

トリシクラゾールを水に懸濁し ($0.2-5.0\text{mg/L}$)、ネブライザーで噴霧したが、MMAD

値は $24.1 \mu\text{m}$ 、GSD は 6.8、粒子径 $3 \mu\text{m}$ 以下の比率は 11.4% であり、安定した噴霧条件を設定できなかった。

4. 考察

噴霧条件を変えて、各種の方法で噴霧を試みたが、いずれの方法によっても OECD ガイドライン 4 1 2 が推奨している粒子径で安定的に噴霧することができなかった。

具体的には、トリシクラゾール原体の $4 \mu\text{m}$ 未満の微粉末を作製したが、粉碎時に粉碎容器内に多量の検体付着がみられ、また、ジェットミルが検体付着により正しく作動しなかった。このような状況を踏まえると、トリシクラゾールは物理化学的性状から高い付着性・凝集性があり、噴霧された検体が凝集することが原因で、安定した推奨範囲内の粒子径で噴霧できなかったと考えられる。

上記のとおり試験条件を検討したが、さらに噴霧条件の改善は望めないことから、トリシクラゾールの吸入毒性試験は実施しないこととする。

表1 Flow-Past法によるトリックラゾール原体の噴霧方法とMMAD値、GSD及び粒子比率

| トライアル 番号 | 設定濃度 (mg/L) | RBGの 型式 | ジェットミルの 有無 | 空気速度 (L/分) | サンプル 番号 | MMAD値 (μ m) | GSD | 径3 μ m以下 の比率% |
|-------------|----------------|------------|---------------|---------------|------------|---------------------|-------|----------------------|
| 1 | 2 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 4 | 3.7 | 40.3 |
| | | | | | 2 | 18.8 | 3.4 | 9.6 |
| | | | | | 3 | 7.3 | 4.2 | 23.9 |
| 2 | 0.7 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 8 | 12.6 | 30.1 |
| | | | | | 2 | 15.9 | 4.2 | 12.7 |
| | | | | | 3 | 0.9 | 6.4 | 80.9 |
| 3 | 0.2 | CRE3020 | 無 | 32 | 1 | 25 | 8.4 | 13.8 |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 4 | 1 | MISAC | 無 | 32 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 5 | 0.4 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 7.1 | 2.8 | 20.4 |
| | | | | | 2 | 26.3 | 37 | 28.4 |
| | | | | | 3 | 0 | 1838 | 72.1 |
| 6 | 1 | MISAC | 有 | 48 | 1 | 6.1 | 4.4 | 50.1 |
| | | | | | 2 | 13 | 11.5 | 29.9 |
| | | | | | 3 | 10.6 | 3.8 | 8 |
| 7 | 0.1 | CRE3020 | 有 | 48 | 1 | 5.9 | 4.8 | 35.5 |
| | | | | | 2 | 4.1 | 2.7 | 36 |
| | | | | | 3 | 5.4 | 3.5 | 29.8 |
| 8 | 0.4 | MISAC | 有 | 48 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 9 | 1 | MISAC | 有 | 48 | 1 | 2.2 | 382.3 | 50.1 |
| | | | | | 2 | 499.6 | 16077 | 29.9 |
| | | | | | 3 | 14.3 | 3.1 | 8 |
| 10 | 0.1 | CRE3020 | 有 | 48 | 1 | 4.4 | 2.6 | 35.7 |
| | | | | | 2 | 0 | 198 | 81 |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 11 | 0.4 | MISAC | 有 | 48 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 12 | 1 | MISAC | 有 | 48 | 1 | 3 | 3 | 44.7 |
| | | | | | 2 | 31.8 | 46.1 | 27.9 |
| | | | | | 3 | 79.4 | 6.7 | 4.8 |
| 13 | 0.1 | CRE3020 | 無 | 32 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 14 | 0.4 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 12.3 | 61.3 | 40.2 |
| | | | | | 2 | 14.9 | 3.5 | 13 |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 15 | 1 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 24.9 | 4.9 | 10.6 |
| | | | | | 2 | 34 | 5.9 | 9.1 |
| | | | | | 3 | 31.8 | 9.7 | 14.1 |
| 16 | 0.1 | CRE3020 | 無 | 32 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 17 | 0.4 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 0.4 | 12.9 | 75.3 |
| | | | | | 2 | 0 | 97410 | 79.3 |
| | | | | | 3 | 4.2 | 10 | 48.1 |
| 18 | 1 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 26.8 | 127.8 | 33.4 |
| | | | | | 2 | 3.7 | 3.6 | 46.8 |
| | | | | | 3 | 1.6 | 1.9 | 92.4 |
| 19 | 0.1 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 1.3 | 32.7 | 60.1 |
| | | | | | 2 | 5.7 | 4.7 | 38.7 |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 20 | 0.1 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 1.2 | 126.8 | 55.5 |
| | | | | | 2 | 24.7 | 80260 | 38.4 |
| | | | | | 3 | 0.4 | 174.2 | 6.4 |

(-) サンプルを採取できなかった(噴霧を適切に行えなかった。)

表2 Flow-Through法によるトリクラゾール原体の噴霧方法とMMAD値、GSD及び粒子比率

| トライアル番号 | 設定濃度 (mg/L) | RBGの型式 | ジェットミルの有無 | 空気速度 (L/分) | サンプル番号 | MMAD値 (μm) | GSD | 径 $3\mu\text{m}$ 以下の比率% |
|---------|-------------|--------|-----------|------------|--------|-------------------------|------|-------------------------|
| 21 | 1 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 28.6 | 3.6 | 4.5 |
| | | | | | 2 | 480.2 | 10.8 | 1.8 |
| | | | | | 3 | 359.8 | 18.1 | 1.4 |

表3 ホワイトカーボン添加によるトリクラゾール希釈剤・希釈液の噴霧方法とMMAD値、GSD及び粒子比率

| トライアル番号 | 設定濃度 (mg/L) | RBGの型式 | ジェットミルの有無 | 空気速度 (L/分) | サンプル番号 | MMAD値 (μm) | GSD | 径 $3\mu\text{m}$ 以下の比率% |
|---------|-------------|--------|-----------|------------|--------|-------------------------|------|-------------------------|
| 22 | 1.4 | MISAC | 無 | 32 | 1 | 12.8 | 9.6 | 28.3 |
| | | | | | 2 | 211.8 | 42.1 | 13.8 |
| | | | | | 3 | 40.2 | 9.1 | 11.8 |

検体にホワイトカーボンを30%添加した

表4 水への懸濁によるトリクラゾール希釈剤・希釈液の噴霧方法とMMAD値、GSD及び粒子比率

| トライアル番号 | 設定濃度 (mg/L) | ネフライサ-の型式 | 検体濃度 (%) | 空気速度 (L/分) | サンプル番号 | MMAD値 (μm) | GSD | 径 $3\mu\text{m}$ 以下の比率% |
|---------|-------------|-----------|----------|------------|--------|-------------------------|-----|-------------------------|
| 23 | 設定せず | MicroMist | 10 | 16 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 24 | 設定せず | MicroMist | 10 | 16 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 25 | 設定せず | MicroMist | 5 | 16 | 1 | — | — | — |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |
| 26 | 設定せず | MicroMist | 5 | 16 | 1 | 24.1 | 6.8 | 11.4 |
| | | | | | 2 | — | — | — |
| | | | | | 3 | — | — | — |

(一) サンプルを採取できなかった(噴霧を適切に行えなかった。)

検体を蒸留水に懸濁した。

サンプルを採取できたトライアル26の化学分析濃度は約 0.4mg/Lであった。