

安全性評価資料

トルピラレート

2016年7月

環境省水・大気環境局土壌環境課農薬環境管理室

目次

	頁
I. 評価対象農薬の概要	1
1. 物質概要	1
2. 作用機構等	1
3. 各種物性	2
II. 試験結果概要	3
1. 動物体内運命試験	3
(1) ラット ①	3
① 吸収	3
② 分布	4
③ 代謝	7
④ 排泄	9
(2) ラット ②	11
① 分布	11
② 代謝	12
③ 排泄	13
2. 環境中運命試験	14
3. 土壌残留性試験	16
4. 毒性試験	16
(1) 一般薬理試験	16
(2) 急性毒性試験	17
(3) 皮膚・眼に対する刺激性及び皮膚感作性試験	18
(4) 急性神経毒性試験	19
(5) 亜急性毒性試験	19
① 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）	19
② 90 日間亜急性毒性試験（ラット）	20
③ 90 日間亜急性毒性試験（マウス）	22
(6) 生殖発生毒性試験	23
① 発生毒性試験（ラット）	23
② 発生毒性試験（ウサギ）①	23
(7) 遺伝毒性試験	24
(8) その他の試験	25
① ラット催奇形性試験で認められた外表奇形の遺伝的解析（ラット）〔（5）①補遺①〕	25
② チロシン血症ラットにおける催奇形性試験（ラット）〔（5）①補遺②〕	25
③ 28 日間反復経口投与免疫毒性試験（マウス）	26
III. 総合評価	28
<別紙 1> 代謝物略称	30
<別紙 2> 検査値等略称	31

<検討経緯>

2016 年 6 月 3 日 平成 28 年度非食用農作物専用農薬安全性評価検討会（第 1 回）

<非食用農作物専用農薬安全性評価検討会名簿>

（2015 年 10 月 30 日から）

平塚 明（座長）

浅野 哲（座長代理）

石井 邦雄

上路 雅子

太田 敏博

佐藤 洋

長尾 哲二

平林 容子

鰐淵 英機

水質汚濁に係る農薬登録保留基準の設定に関する安全性評価資料

トルピラレート

I. 評価対象農薬の概要

1. 物質概要

化学名 (IUPAC 名)	(R S) -1- {1-エチル-4-[4-メシル-3-(2-メトキシエトキシ)- <i>o</i> -トルオイル]-1 <i>H</i> -ピラゾール-5-イルオキシ} エチル=メチル=カルボナート				
分子式	C ₂₁ H ₂₈ N ₂ O ₉ S	分子量	484.5	CAS No.	1101132-67-5
構造式					

2. 作用機構等

トルピラレートは、ピラゾール構造を有する除草剤であり、その作用機構は、カロチノイド生合成に関わるプラストキノンの生合成阻害であり、雑草の葉部、茎部、茎葉基部より速やかに吸収され生長点へ移行し、展開葉を白化させ枯死に至らせる。

本邦では未登録である。

製剤は、水和剤が、適用農作物等は、飼料作物として、登録申請されている。

3. 各種物性

トルピラレートの各種物性を表 1 に示した。

表 1 トルピラレートの物理化学的性状

外観・臭気	類白色固体、無臭	土壌吸着係数	$K_{F^{ads}_{OC}} = 15-91$ ($25 \pm 2^\circ\text{C}$)
融点	127-129°C	オクタノール ／水分配係数	$\log P_{ow} = 2.1$ (40°C)
沸点	融解後に分解のため、測定 不能	生物濃縮性	—
蒸気圧	5.9×10^{-4} Pa (25°C)	密度	1.3 g/cm ³ (20°C)
加水分解性	半減期 996 日 (10°C 、pH4) 223 日 (10°C 、pH7) 2.47 日 (10°C 、pH9) 311 日 (25°C 、pH4) 31.1 日 (25°C 、pH7) 0.356 日 (25°C 、pH9) 25.9 日 (50°C 、pH4) 1.84 日 (50°C 、pH7) 0.0291 日 (50°C 、pH9)	水溶解度	26.5 mg/L (20°C)
水中光分解性	半減期 5.16 日 (春季太陽光換算 96.02 日) (滅菌自然水、pH6.57、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 $39.28-39.44\text{W/m}^2$ 、300-400 nm) 2.93 日 (春季太陽光換算 17.23 日) (滅菌精製水、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 、 $39.44-41.87\text{W/m}^2$ 、300-400 nm)		

II. 試験結果概要

トルピラレートの農薬登録申請資料を用いて試験結果の概要を整理した。代謝物及び検査値等の略称を別紙 1 及び 2 に示した。

1. 動物体内運命試験

各種運命試験は、トルピラレートのベンゼン環を均一標識したもの（以下「Ph」と記載）、ピラゾール環 4 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「Pz」と記載）を用いて実施された。

(1) ラット ①

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 4 匹）に標識体を 3 mg/kg 体重（低用量）又は 200 mg/kg 体重（高用量）の用量で単回強制経口投与し、動物体内運命試験が実施された。試験群は表 2 のとおり。

表 2 動物体内運命試験（ラット①）における試験群

試験群	試験項目	投与量 (mg/kg 体重/日)	性別及び匹数	屠殺時間 (時間)
I	吸収排泄	3、200	雌雄各 4 匹	96
II	薬物動態	3、200	雌雄各 4 匹	120
III	胆汁排泄	3	雌雄各 4 匹*1	48
IV	組織分布	3、200	雌雄各群 4 匹	低用量：0.5、6、12、48、96*2 高用量：2、16、48、96*2

*1 外科手術に伴う予備動物のために各群雌雄 6～7 匹で試験を開始したが、データは各群 4 匹で示している。

*2 96 時間屠殺群は試験群 I（吸収排泄試験）の動物を使用。

① 吸収

a. 血中濃度推移

試験群 II において、血中濃度推移が検討された。投与後 4 日間の血漿中動態パラメータは表 3、全血中動態パラメータは表 4 のとおりである。

経口投与後の血漿中最高濃度は、3 mg/kg 体重（低用量）投与群で 0.5 時間後、200 mg/kg 体重（高用量）投与群で約 2 時間後、半減期は全群で 12～20 時間であり、標識体・用量・性に由来する差はみられていない。血漿の濃度・時間曲線下面積 ($\text{AUC}_{0-\infty}$) は低用量と高用量の比率がおおよそ 50～90 倍の範囲であり、用量比の 66 倍と概ね一致することから、高用量においても体内動態過程は飽和していないと考えられる。

全血中の動態は血漿中に比して約 3 分の 2 の濃度で同様に推移した。また、全血：血漿中放射能濃度比の平均が 0.7：1 未満であったことから、投与放射能は血球にほとんど結合しないことが示された。

表 3 血漿中薬物動態学的パラメータ

用量	3 mg/kg				200 mg/kg			
	Ph		Pz		Ph		Pz	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{1/2} (hr)	14.09	19.98	16.54	13.42	12.38	13.57	13.87	14.07
T _{max} (hr)	0.5	0.6	0.3	0.6	2.0	1.3	2.0	1.5
C _{max} (µg Eq/g)	1.199	1.092	1.449	1.658	61.78	53.57	30.88	23.98
AUC _{0-t*} (µg Eq×hr/g)	3.399	4.731	3.776	4.459	292.7	377.4	211.8	248.7
AUC _{0-∞} (µg Eq×hr/g)	3.557	4.804	4.095	4.604	321.5	389.0	220.9	256.1

* t は、血漿中で放射能検出があった最終時点を目指す

表 4 全血中薬物動態学的パラメータ

用量	3 mg/kg				200 mg/kg			
	Ph		Pz		Ph		Pz	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{1/2} (hr)	9.089	11.24	15.64	13.91	12.97	21.68	10.46	19.32
T _{max} (hr)	0.5	0.6	0.3	0.6	2.0	1.3	1.8	1.5
C _{max} (µg Eq/g)	0.747	0.699	0.873	1.026	33.92	32.65	17.61	13.92
AUC _{0-t*2} (µg Eq×hr/g)	2.079	3.089	2.415	2.734	195.3	250.0	122.4	168.5
AUC _{0-∞} (µg Eq×hr/g)	2.195	3.491	2.605	3.005	213.3	263.0	130.4	178.9

* t は、血漿中で放射能検出があった最終時点を目指す

b. 吸収率（推定）

胆汁中排泄試験 [(1) ④b) における投与後 48 時間の胆汁、尿、ケージ洗浄液、カーカス及び組織の残留放射能より、トルピラレートの吸収率は、74.7～84.3%と算出された。

② 分布

試験群 I（投与後 96 時間）及び試験群 IV（投与後 96 時間以外）における、各投与群の主要臓器及び組織中の残留放射能濃度は表 5 のとおりである。

放射能は広く体内に分布した。3 mg/kg 体重（低用量）投与群で投与後 0.5 時間、200 mg/kg 体重（高用量）投与群で投与後 2 時間における組織中放射能の回収率は約 80%又はそれ以上であった。各組織の放射能は時間経過とともに低下し、最終屠殺時（投与後 96 時間）では投与量の 3～4%が残留したのみであった。放射能濃度が顕著に高かったのは腎臓及び肝臓であった。

用量、雌雄間、標識体型の違いで、放射能の組織分布に大きな差異はないものと考えられた。

表 5 主要臓器及び組織における残留放射能濃度 (単位 : $\mu\text{g Eq/g}$)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	Tmax 付近*	投与 96 時間後
Ph	3	雄	腎臓(8.108)、肝臓(6.117) 血漿(1.672)、全血(1.023) 精巣上体(0.662)、肺(0.530) 甲状腺(0.454)、心臓(0.450) 下垂体(0.424)、副腎(0.398) 脂肪(0.302)、顎下唾液腺(0.300) 被毛及び皮膚(0.289) 骨髓(0.250)、膵臓(0.242) 胸腺(0.164)、脾臓(0.162) 赤血球(0.137)	肝臓(2.637)、腎臓(0.567) 膵臓(0.007)、脾臓(0.007) 副腎(0.006)、心臓(0.006) 肺(0.004) 精巣上体(0.002) 脂肪(0.002)、筋肉(0.002) 精巣(0.001)、血漿(0.001)
		雌	腎臓(7.476)、肝臓(4.816) 血漿(1.861)、甲状腺(1.394) 全血(1.113)、子宮(0.966) 肺(0.964)、卵巣(0.602) 心臓(0.529)、下垂体(0.524) 膵臓(0.469)、副腎(0.434) 被毛及び皮膚(0.352) 顎下唾液腺(0.319)、骨髓(0.293) 胸腺(0.220)、脾臓(0.213) 赤血球(0.188)	肝臓(3.365)、腎臓(1.122) 心臓(0.008)、脾臓(0.008) 肺(0.005)、副腎(0.004) 筋肉(0.004)、子宮(0.003) 血漿(0.003)、卵巣(0.002) 膵臓(0.002) 被毛及び皮膚(0.001) 脂肪(0.001)、全血(0.001)
	200	雄	腎臓(76.98)、肝臓(31.74) 血漿(16.88)、全血(9.837) 膵臓(7.606)、脂肪(5.251) 肺(4.869)、副腎(4.140) 心臓(4.080)、精巣上体(4.000) 下垂体(3.718)、甲状腺(3.395) 精巣(3.215) 被毛及び皮膚(3.163) 脾臓(2.245)、骨髓(2.087) 顎下唾液腺(2.071)、筋肉(1.482) 眼球(1.403)、胸腺(1.391) 赤血球(0.635)	肝臓(4.187)、腎臓(1.060) 脾臓(0.442)、心臓(0.328) 肺(0.303)、筋肉(0.146) 被毛及び皮膚(0.142) 精巣(0.116)、膵臓(0.057)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	Tmax 付近*	投与 96 時間後
		雌	腎臓(48.02)、肝臓(25.83) 血漿(17.34)、子宮(14.50) 全血(9.724)、肺(5.828) 甲状腺(5.228)、卵巣(4.885) 膵臓(4.811)、副腎(4.174) 心臓(3.956) 被毛及び皮膚(3.923) 下垂体(3.398)、脂肪(2.643) 骨髄(2.538)、脾臓(2.262) 胸腺(1.853)、顎下唾液腺(1.784) 眼球(1.341)、筋肉(1.279) 骨(0.612)、赤血球 (0.567)	肝臓(4.766)、腎臓(2.085) 脾臓(0.498)、心臓(0.338) 肺(0.322) 被毛及び皮膚 (0.146) 筋肉 (0.144)、血漿(0.096) 膵臓(0.084)、子宮(0.059) 全血(0.039)
Pz	3	雄	肝臓 (5.476)、腎臓 (4.802) 血漿(0.910)、全血(0.548) 甲状腺(0.426)、肺(0.379) 心臓(0.260)、脂肪(0.222) 下垂体(0.222)、膵臓(0.204) 副腎(0.180)、顎下唾液腺(0.160) 被毛及び皮膚(0.140) 精巣上体(0.123)、骨髄(0.113) 赤血球 (0.111)	肝臓(2.649) 腎臓 (0.385) 心臓 (0.007)、肺 (0.007) 脾臓 (0.007) 筋肉 (0.003) 被毛及び皮膚 (0.003) 副腎 (0.002) 精巣上体 (0.002) 精巣 (0.002)、血漿(0.002)
		雌	腎臓 (6.957)、肝臓 (5.210) 血漿(1.399)、子宮(1.306) 全血(0.859)、肺(0.609) 脂肪(0.581)、卵巣(0.477) 甲状腺(0.409) 被毛及び皮膚(0.359) 心臓(0.357)、膵臓(0.355) 下垂体(0.305)、副腎(0.276) 顎下唾液腺(0.252)、胸腺(0.193) 脾臓(0.180)、骨髄(0.165) 赤血球(0.118)	肝臓 (3.331) 腎臓 (1.135) 脾臓 (0.010)、肺 (0.007) 心臓 (0.006) 被毛及び皮膚 (0.006) 筋肉 (0.005) 副腎 (0.004) 膵臓 (0.003)、血漿(0.003)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	Tmax 付近*	投与 96 時間後
	200	雄	腎臓(41.14)、肝臓(25.02) 血漿(14.51)、全血(8.381) 甲状腺(7.616)、膵臓(5.221) 肺(4.577)、精巣上体(4.383) 脂肪(4.233)、副腎(3.856) 心臓(3.342)、下垂体(3.317) 被毛及び皮膚(3.272) 脾臓(2.648)、骨髄(2.612) 精巣(2.466)、顎下唾液腺(2.233) 胸腺(1.484)、筋肉(1.184) 眼球(1.083)、骨(0.557) 赤血球(0.553)	肝臓(3.779) 腎臓(0.970) 脾臓(0.453) 心臓(0.416)、肺(0.338) 被毛及び皮膚(0.166) 血漿(0.054)
		雌	腎臓(48.11)、肝臓(30.60) 子宮(24.10)、血漿 (18.30) 膵臓(11.52)、卵巣(11.50) 甲状腺(11.12)、全血(10.37) 副腎(9.880)、脂肪(8.873) 肺(6.879)、被毛及び皮膚(6.613) 下垂体(6.324)、心臓(4.372) 顎下唾液腺(4.188)、脾臓(3.877) 骨髄(3.525)、胸腺(2.394) 筋肉(1.737)、眼球(1.712) 骨(0.624)、脳(0.545) 赤血球(0.539)	肝臓(4.622) 腎臓(1.519) 脾臓(0.491)、肺(0.367) 心臓(0.317) 被毛及び皮膚(0.145) 血漿(0.124)

* 3 mg/kg 体重 (低用量) 投与群で 0.5 時間、200 mg/kg 体重 (高用量) 投与群で 2 時間

③ 代謝

試験群 I (尿及び糞中)、III (尿、糞及び胆汁中) 及び IV (肝臓、腎臓、血漿中) において、代謝物の同定・定量試験が実施された。試験群 I から得られた尿及び糞中代謝物を表 6、試験群 III から得られた尿、糞及び胆汁中代謝物を表 7、試験群 IV から得られた組織中代謝物及び血漿中代謝物はそれぞれ表 8、表 9 のとおりである。

主な代謝物は、尿、糞、胆汁中及び組織中ともに B 及び C であり、その他糞中では未変化のトルピラレート、胆汁中では E、組織中では D が検出された。

標識体による代謝物の違いはほとんどなかった。

トルピラレートのラット体内における代謝経路は、側鎖の脱離による代謝物 B の生成、その後の脱メチル化による代謝物 C の生成又は N - 脱エチル化による代謝物 D の生成、また、代謝物 C がグルクロン酸抱合を受けた代謝物 E の生成であると考えられた。性差については量的な違いはみられたが、片性特有の代謝物といった質的な違いはなかった。

表 6 尿及び糞中の代謝物 (%TAR)

標識体	設定投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	トルピラレート	代謝物
Ph	3	雄	尿	ND	C (38.88)、B (11.79)、
			糞	2.31	C (27.59)、B (7.40)
		雌	尿	ND	C (31.05)、B (23.98)、
			糞	0.48	C (14.42)、B (14.09)
	200	雄	尿	ND	C (28.83)、B (19.22)
			糞	14.66	C (23.43)、B (5.91)
雌		尿	ND	B (28.55)、C (24.22)	
		糞	11.26	C (13.55)、B (8.20)	
Pz	3	雄	尿	ND	C (40.41)、B (9.51)
			糞	ND	C (32.87)、B (4.65)
		雌	尿	ND	C (31.20)、B (21.82)
			糞	ND	C (16.78)、B (5.62)
	200	雄	尿	ND	C (28.37)、B (9.46)
			糞	31.86	C (14.59)、B (5.38)
		雌	尿	ND	C (26.06)、B (21.53)
			糞	29.44	C (11.41)、B (5.69)

表 7 尿、糞及び胆汁中の代謝物 (%TAR)

標識体	設定投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	トルピラレート	代謝物
Ph	3	雄	胆汁	ND	C (15.80)、E (1.30)、B (0.67)
			尿	ND	C (42.01)、B (5.22)
			糞	ND	B (15.70)、C (4.21)
		雌	胆汁	ND	C (5.10)、B (0.68)、E (0.13)
			尿	ND	C (43.18)、B (17.31)
			糞	ND	B (11.12)、C (3.49)
Pz	3	雄	胆汁	ND	C (10.40)、E (0.89)、B (0.54)
			尿	ND	C (41.57)、B (4.41)
			糞	0.85	B (20.26)、C (4.42)
		雌	胆汁	ND	C (4.05)、B (0.52)、E (0.23)
			尿	ND	C (43.19)、B (16.05)
			糞	0.46	B (14.73)、C (4.10)

表 8 組織中の代謝物 (%TAR)

標識体	設定投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	代謝物
Ph	3	雄	肝臓	C (4.69)、B (3.41)
			腎臓	C (1.44)、B (0.55)
		雌	肝臓	B (3.41)、C (2.27)
			腎臓	B (1.05)、C (0.56)
	200	雄	肝臓	C (0.43)、B (0.18)
			腎臓	C (0.19)、B (0.07)
		雌	肝臓	C (0.33)、B (0.20)
			腎臓	C (0.10)、B (0.06)
Pz	3	雄	肝臓	C (4.16)、B (3.14)
			腎臓	C (0.82)、B (0.30)
		雌	肝臓	C (2.95)、B (2.58)
			腎臓	C (0.94)、B (0.51)
	200	雄	肝臓	C (0.34)、B (0.16)
			腎臓	C (0.11)、B (0.05)
		雌	肝臓	C (0.38)、B (0.24)
			腎臓	C (0.09)、B (0.07)

表 9 血漿中の代謝物 ($\mu\text{g Eq./g}$)

標識体	設定投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	代謝物
Ph	3	雄	血漿	B (1.21)、C (0.40)
		雌		B (1.59)、C (0.17)
	200	雄		B (11.15)、C (4.67)
		雌		B (12.57)、C (3.17)
Pz	3	雄		B (0.53)、C (0.28)
		雌		B (1.09)、C (0.19)
	200	雄		B (8.30)、C (4.16)
		雌		B (10.62)、C (3.36)

④ 排泄

a. 尿中及び糞中排泄

試験群 I において、投与 96 時間後までの放射能の尿及び糞中排泄率は表 10 のとおりである。

単回投与における投与放射能の回収率は 97.4~103%であった。投与された放射能は投与後 96 時間（最終屠殺時点）までに排泄され、投与した放射能の 75% 以上が投与後 24 時間以内に、また、投与後 48 時間までには約 90%の放射能が排泄された。投与放射能の 39~61%が尿中に、24~57%が糞中に排泄された。全ての群において呼気中への排泄はなかった。用量、雌雄、標識体型の違いで

表 10 尿及び糞中排泄率 (%TAR)

採取 時間 (hr)	標識体	Ph				Pz			
	投与量 (mg/kg 体重)	3		200		3		200	
	性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0-6	36.6	33.6	28.0	30.6	38.3	30.5	16.4	21.0
	6-12	7.41	10.5	11.7	10.5	8.29	9.79	10.70	8.81
	12-24	7.72	12.0	9.17	12.4	3.88	10.0	8.11	12.7
	24-48	1.78	4.35	1.84	3.61	0.78	3.37	2.87	5.39
	48-72	0.54	0.67	0.30	0.89	0.21	1.11	0.31	0.33
	72-96	0.18	0.23	0.17	0.38	0.12	0.37	0.06	0.07
	小計	54.2	61.4	51.1	58.3	51.6	55.0	38.5	48.3
糞	0-24	29.0	18.0	37.0	28.7	32.3	18.0	43.7	31.6
	24-48	10.6	11.6	8.21	5.14	7.01	3.80	10.20	16.2
	48-72	1.61	1.31	2.67	1.87	1.03	1.34	2.25	1.12
	72-96	0.66	0.38	0.51	0.59	0.29	0.44	0.41	0.13
	小計	41.9	31.3	48.3	36.3	40.6	23.6	56.6	49.0
ケー ジ洗 浄液	0-24	1.28	2.33	2.54	5.86	2.08	10.1	1.30	2.33
	24-48	0.36	1.62	0.28	0.87	0.31	2.38	0.36	0.61
	48-72	0.12	0.19	0.15	0.35	0.11	0.69	0.15	0.16
	72-96	0.13	0.31	0.24	0.60	0.55	1.51	0.13	0.13
	小計	1.9	4.5	3.2	7.7	3.1	14.7	1.9	3.2
呼気	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.00	0.00	
ケー ジ付 着物	0.02	0.06	0.02	0.08	0.03	0.01	0.14	0.22	
カー カス 及び 組 織	3.34	3.81	0.38	0.40	3.52	4.06	0.29	0.31	
総回収	101	101	103	103	98.8	97.4	97.5	101	

b. 胆汁排泄

試験群Ⅲにおいて、胆汁排泄試験が実施された。投与後 48 時間の胆汁排泄率は表 11 のとおりである。

排泄様式は吸収排泄試験（試験群Ⅰ）の結果と同等の結果が得られた。放射能は主に尿中に排泄され、投与量の 49.8～66.7%であった。糞中には投与量の 14.9～25.5%が排泄された。胆汁排泄は投与量の 5.6～20.1%であり、その比率は雄が雌に比しておよそ 3 倍高く、胆汁中排泄には性差が示唆された。吸収率は投与量の 74.72～84.26%であった。

表 11 投与後 48 時間の尿、糞及び胆汁中排泄率 (%TAR)

投与量	3 mg/kg			
	Ph		Pz	
性別	雄	雌	雄	雌
胆汁	20.1	6.70	13.6	5.63
尿	52.5	66.7	49.8	63.6
糞	20.6	14.9	25.5	20.0
ケージ洗浄液	2.58	5.94	7.32	3.72
ケージ付着物	0.29	0.18	0.11	0.24
消化管及び内容物	0.81	1.39	0.88	0.55
カーカス及び組織	3.73	4.92	4.00	5.27
合計	101	101	101	99.0
吸収率*	78.91	84.26	74.72	78.22

* 吸収率=胆汁+尿+ケージ洗浄液+カーカス及び組織

(2) ラット ②

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 8 匹）に、標識体を 3 mg/kg 体重の用量で 14 日間反復強制経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

① 分布

投与後 96 時間の主要臓器及び組織中の残留放射能濃度は表 12 のとおりである。

0.01 µg eq/g 以上の放射能濃度を示した組織は肝臓と腎臓のみで、投与した放射能の大半は肝臓に、次いで腎臓に残留しており、それぞれ 2.53~3.11 µg eq/g（投与量の 2.6~2.8%）及び 0.47~0.93 µg eq/g（投与量の 0.1~0.2%）であった。標識体や性別に由来する差異はみられなかった。また、単回投与の組織分布試験〔(1) ラット ①、②分布〕における低用量投与群の結果と比較して反復投与による影響はみられなかった。

表 12 主要臓器及び組織における残留放射能濃度（単位：µg Eq/g）

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	投与 96 時間後
Ph	3	雄	肝臓 (3.109)、腎臓 (0.535)、副腎 (0.006) 顎下唾液腺 (0.003)、脾臓 (0.003)、骨髄 (0.002) 心臓 (0.002)、膀胱 (0.002)、被毛及び皮膚 (0.002) 眼球 (0.001)、肺 (0.001)、筋肉 (0.001)、血漿 (0.001)
		雌	肝臓 (2.849)、腎臓 (0.934)、脾臓 (0.007)、膀胱 (0.004) 眼球 (0.003)、被毛及び皮膚 (0.003)、副腎 (0.001) 肺 (0.001)、筋肉 (0.001)、卵巣 (0.001) 顎下唾液腺 (0.001)、全血 (0.001)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	投与 96 時間後
Pz	3	雄	肝臓 (3.042)、腎臓 (0.472)、脾臓 (0.004) 赤血球 (0.003)、肺 (0.002)、被毛及び皮膚 (0.002) 心臓 (0.001)、筋肉 (0.001)、腓臓 (0.001)、全血 (0.001)
		雌	肝臓 (2.532)、腎臓 (0.710)、腓臓 (0.005)、脾臓 (0.005) 副腎 (0.003)、被毛及び皮膚 (0.003)、子宮 (0.002) 眼球 (0.001)、心臓 (0.001)、肺 (0.001) 卵巣 (0.001) 血漿 (0.001)

② 代謝

尿及び糞中排泄試験 [(2) ③] で採取した投与 24 時間までの尿、投与 48 時間までの糞、体内分布試験 [(2) ①] で採取した投与 96 時間後の肝臓及び腎臓を試料として代謝物の同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中の主要代謝物は表 13、肝臓及び腎臓中の主要代謝物は表 14 のとおりである。

表 13 尿及び糞中代謝物 (%TAR)

標識体	設定投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	トルピラ レート	代謝物
Ph	3	雄	尿	ND	C (35.83)、B (6.85)、D (0.10)
			糞	7.02	C (23.62)、B (13.54)
		雌	尿	ND	C (33.87)、B (18.26)
			糞	4.81	B (17.16)、C (14.18)、D (0.10)
Pz		雄	尿	ND	C (30.04)、B (5.15)
			糞	8.57	C (28.71)、B (13.57)
		雌	尿	ND	C (34.69)、B (19.03)、D (0.37)
			糞	2.71	B (13.76)、C (13.32)、D (0.10)

表 14 肝臓及び腎臓中代謝物 (%TAR)

標識体	設定投与量 (mg/kg 体重)	性別	試料	トルピラ レート	代謝物
Ph	3	雄	肝臓	ND	C (2.66)、B (0.08)
			腎臓	ND	C (0.09)、B (0.02)
		雌	肝臓	ND	C (2.30)、B (0.20)
			腎臓	ND	C (0.15)、B (0.03)
Pz		雄	肝臓	ND	C (2.65)、B (0.08)
			腎臓	ND	C (0.09)、B (0.01)
		雌	肝臓	ND	C (2.39)、B (0.22)
			腎臓	ND	C (0.12)、B (0.03)

③ 排泄

投与 96 時間後までの尿及び糞中排泄率は表 15 のとおりである。

主な排泄経路は尿及び糞であり、尿中に投与量の 37.9～57.2%、糞中に投与量の 31.4～55.4%、ケージ洗浄液に投与量の 1.6～3.1%が排泄された。排泄速度は速やかであり、投与 24 時間までに投与放射能の 77%以上、投与 48 時間までに 88%以上が尿、糞及びケージ洗浄液中に排泄された。

排泄経路及び速度については、標識体や性別に由来する違いはみられなかった。カーカス及び組織中に残留した放射エネルギーは投与量の 3%程度であった。投与放射能の回収は 94.7～100%と良好であった。

単回投与の吸収排泄試験 [(1) ①、④ a.] における低用量投与群の結果と比較して排泄経路や排泄速度の違いはほとんど見受けられなかった。

表 15 尿及び糞中排泄率 (%TAR)

採取時間 (hr)	標識体	Ph		Pz	
	投与量(mg/kg 体重)	3			
	性別	雄	雌	雄	雌
尿	0-6	29.5	38.7	24.7	38.9
	6-12	9.12	9.86	6.82	9.05
	12-24	5.66	4.61	4.30	7.02
	24-48	2.02	0.86	1.59	1.85
	48-72	0.35	0.41	0.35	0.28
	72-96	0.18	0.25	0.13	0.17
	小計	46.8	54.7	37.9	57.2
糞	0-24	37.5	35.7	46.1	21.1
	24-48	8.89	2.34	7.66	9.71
	48-72	1.07	0.27	0.76	0.41
	72-96	0.29	1.74	0.80	0.22
	小計	47.8	40.1	55.4	31.4
ケージ 洗浄液	0-24	1.46	0.85	2.20	1.52
	24-48	0.54	0.27	0.50	0.21
	48-72	0.25	0.15	0.16	0.10
	72-96	0.35	0.33	0.28	0.29
	小計	2.60	1.60	3.14	2.12
ケージ付着物		0.05	0.04	0.29	0.48
カーカス及び組織		3.13	3.25	3.35	3.44
総回収		100	99.6	100	94.7

2. 環境中運命試験

トルピラレートについて、各種の環境中動態試験が実施された。本試験の結果の概要は表 16 のとおりである。

トルピラレートは、土壌中で代謝分解され、好氣的土壌条件下では土壌微生物により速やかに、また、土壌表面では緩やかに光分解され、主要代謝分解物 B が生成された。水中においても加水分解及び光分解により速やかに代謝分解物 B が生成された。

表 16 トルピラレートの環境中動態試験概要

試験項目	試験条件			DT ₅₀ *	主な代謝分解物と最大検出量 ¹⁾
好氣的土壌中 動態試験	ベンゼン環 均一標識体 (Ph)	砂質 埴壤土/ 砂壤土 (英国)	20 ± 2°C 暗条件 120 日間	トルピラレ ート : 0.09 日 代謝物 B : 86.2 日	代謝分解物 B : (Ph) : 75.8%TAR、 (1 日後)
	ピラゾール 環標識体 (Pz)				(Pz) : 79.0%TAR (12 時間後)
土壌表面光分解 試験	ベンゼン環 均一標識体 (Ph) ピラゾール 環標識体 (Pz)	砂質 埴壤土/ 砂壤土 (英国)	20 ± 2°C 15 日間 光強度 : 39.1 W/m ² 波長 (測定範 囲) : 290~400 nm 15 日間照射 (北緯 40 度夏季 における自然太 陽光下約 37 日 間相当)	201 日 ²⁾ 102 日 ³⁾	代謝分解物 B : (Ph) : 4.7%TAR (15 日後), (Pz) : 8.0%TAR (13 日後)
加水分解動態試 験	ベンゼン環 均一標識体 (Ph) ピラゾール 環標識体 (Pz)	pH 4 (酢酸 /水酸化ナ トリウム緩 衝液)	10 ± 0.5°C 暗条件 30 日間	996 日	代謝分解物 B : 0.9 ~1.1 (30 日後)
			25 ± 0.5°C 暗条件 30 日間	311 日	代謝分解物 B : 6.0 ~7.1%TAR (30 日 後)
			50 ± 0.5°C 暗条件 30 日間	25.9 日	代謝分解物 B : 53.7 ~53.9%TAR (30 日 後)
			pH 7 (リン 酸二水素ナ トリウム/)	10 ± 0.5°C 暗条件 30 日間	223 日

試験項目	試験条件		DT ₅₀ *	主な代謝分解物と最大検出量 ¹⁾	
加水分解動態試験	ベンゼン環均一標識体 (Ph)	水酸化ナトリウム緩衝液)	25 ± 0.5°C 暗条件 30 日間	31.1 日	代謝分解物 B : 47.1 ~ 48.1% TAR (30 日後)
			50 ± 0.5°C 暗条件 6 日間	1.84 日	代謝分解物 B : 86.0 ~ 88.9% TAR (6 日後)
	ピラゾール環標識体 (Pz)	pH 9 (ホウ酸/水酸化ナトリウム緩衝液)	10 ± 0.5°C 暗条件 7 日間	2.47 日	代謝分解物 B : 85.4 ~ 86.3% TAR (7 日後)
			25 ± 0.5°C 暗条件 2 日間	8.5 時間	代謝分解物 B : 96.7 ~ 97.2% TAR (2 日後)
			50 ± 0.5°C 暗条件 0.33 日間	0.7 時間	代謝分解物 B : 101.4 ~ 102.5% TAR (0.33 日後)
水中光分解試験	ベンゼン環均一標識体 (Ph)	滅菌 自然水 (pH6.57)	25 ± 2°C 光強度 : 39.44 W/m ² 波長 (測定範囲) : 300 ~ 400 nm 10 日間照射	5.16 日 96.02 日 ²⁾ 18.58 日 ³⁾	代謝分解物 B : 6.4% TAR (10 日後)
	ピラゾール環標識体 (Pz)		25 ± 2°C 光強度 : 39.28 W/m ² 波長 (測定範囲) : 300 ~ 400 nm 10 日間照射		代謝分解物 B : 8.8% TAR (10 日後)
	ベンゼン環均一標識体 (Ph)	滅菌 精製水	25 ± 2°C 光強度 : 39.44 W/m ² 波長 (測定範囲) : 300 ~ 400 nm 7 日間照射	2.93 日 17.23 日 ²⁾ 8.12 日 ³⁾	代謝分解物 B : 3.3% TAR (4 日後)

試験項目	試験条件			DT ₅₀ *	主な代謝分解物と最大検出量 ¹⁾
水中光分解試験	ピラゾール環標識体 (Pz)		25±2℃ 光強度： 41.87 W/m ² 波長（測定範囲）： 300～400 nm 7 日間照射		代謝分解物 B : 6.6% TAR (7 日後)

* DT₅₀ の値は両標識体 (Ph 及び Pz) の結果を合わせて計算された。

- 1) 二酸化炭素 (CO₂) を除く。
- 2) 東京春季太陽光換算の推定半減期
- 3) 北緯 40 度夏の太陽光換算の推定半減期

3. 土壌残留性試験

トルピラレートについて、火山灰軽埴土及び洪積埴壤土を用いて土壌残留試験が実施された。推定半減期は表 17 のとおりである。

表 17 トルピラレートの土壌残留性試験概要

土壌条件と分析対象物			推定半減期	
試験形態	土壌	分析対象	親化合物	親化合物及び代謝物
圃場試験(2013年) フロアブル (10.4%) 100 L/10 a 1 回散布	火山灰/軽埴土 (北海道)	トルピラレート+ 代謝分解物 B	5.8 日 ¹⁾	10.3 日 ²⁾
	洪積/埴壤土 (福島県)	トルピラレート+ 代謝分解物 B	0.9 日 ²⁾	4.2 日 ²⁾
	火山灰/軽埴土 (茨城県)	トルピラレート+ 代謝分解物 B	4.5 日 ¹⁾	13.2 日 ²⁾

半減期計算に用いたモデル； ¹⁾ SFO (Simple First-Order)

²⁾ FOMC (First-Order Multi-Compartment)

4. 毒性試験

(1) 一般薬理試験

トルピラレート原体について、マウス、ラットを用いた一般薬理試験が実施された。

本試験の結果の概要は表 18 のとおりである。

表 18 トルピラレートの一般薬理試験概要

試験の種類		動物種	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大無作用量 (最小作用量) (mg/kg 体重)	観察された作用
中枢 神経 系	一般状態 (Irwin の多次 元観察法)	ICR マウス (雌雄各 4 匹)	0、200、600、 2,000 (経口)	2,000 (-)	検体投与による影響なし
	一般状態 (多次元観察)	SD ラット (雌雄各 6 匹)		2,000 (-)	検体投与による影響なし
	自発運動量	ICR マウス (雄各 6 匹)		2,000 (-)	検体投与による影響なし
呼吸 器 ・ 循環 器系	血圧、心拍数	SD ラット (雄各 6 匹)		2,000 (-)	検体投与による影響なし
	呼吸数	SD ラット (雄各 6 匹)		2,000 (-)	検体投与による影響なし
泌尿 器系	腎機能	SD ラット (雄各 6 匹)		600 (2,000)	投与 0～6 時間で尿 pH 低下

(2) 急性毒性試験

トルピラレート原体、製剤（10.4%フロアブル）についてラットを用いた急性毒性試験（経口、経皮及び吸入）が実施された。また、代謝物 B についてラットを用いた急性毒性試験（経口）が実施された。

本試験の結果の概要は表 19 のとおりである。

表 19 トルピラレートの急性毒性試験概要

検体 種別	投与経路/観察期間/投与量 (mg/kg 体重)	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重) 又は LC ₅₀ (mg/L)	
			雄	雌
原体	経口/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌 3 匹)	—	>2,000
	経皮/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000
	吸入(ダスト)/14 日間/ 2.01 mg/L (実際濃度)	SD ラット (一群雌雄各 3 匹)	>2.01	>2.01
製剤 (10.4% フロアブ ル)	経口/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌 6 匹)	—	>2,000
	経皮/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌雄各 5 匹)	>2,000	>2,000
	吸入(ミスト)/14 日間/ 5.04 mg/L (実際濃度)	SD ラット (一群雌雄各 3 匹)	>5.04	>5.04

検体種別	投与経路/観察期間/投与量 (mg/kg 体重)	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重) 又は LC ₅₀ (mg/L)	
			雄	雌
代謝物 B	経口/14 日間/2,000	SD ラット (一群雌 6 匹)	—	>2,000

(3) 皮膚・眼に対する刺激性及び皮膚感作性試験

トルピラレート原体についてウサギを用いた眼刺激性試験、皮膚刺激性試験、モルモットを用いた皮膚感作性試験及びマウスを用いた皮膚感作性試験/局所リンパ節増殖性試験が実施され、製剤 (10.4%フロアブル) についてウサギを用いた眼刺激性試験、皮膚刺激性試験及びモルモットを用いた皮膚感作性試験が実施された。

本試験の結果の概要は表 20 のとおりである。

皮膚刺激性については、原体では刺激性が認められず、製剤では軽度の刺激性が認められた。

眼刺激性については、原体及び製剤でわずかな刺激性が認められた。製剤については洗眼の効果が認められた。

皮膚感作性については、原体では感作性が認められず、製剤では感作性が認められた。

表 20 トルピラレートの皮膚・眼に対する刺激性及び皮膚感作性試験概要

検体種別	試験の種類/観察期間	動物種	投与方法/投与量	試験の結果
原体	皮膚刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雌 3 匹)	半閉塞貼付/0.5 g	刺激性なし
	眼刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雌 6 匹：非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹)	点眼/0.1 g	わずかな刺激性あり (洗眼による効果は不明)
	皮膚感作性 /48 時間	Hartley モルモット (検体感作群：雌 10 匹、対照群：雌 5 匹、陽性対照感作群：雌 10 匹、非感作群：雌 5 匹)	Maximization 法/ 感作： 皮内投与 -10% 液 0.1 mL ×2 閉塞貼付 - 50% 液 0.2 mL、48 時間 惹起： 閉塞貼付 - 50%液 0.1 mL、24 時間	感作性なし
	皮膚感作性 /6 日間	CBA/J マウス (検体感作群：一群雌 5 匹、陰性対照群、陽性対照感作群：雌各 5 匹)	LLNA 法/ 投与量：0、10、25、50%液 25 µL/1 耳介×2 (両耳介)、塗布 (3 日間)	感作性なし
製剤 (10.4% フロアブル)	皮膚刺激性 /14 日間	NZW ウサギ (一群雌 3 匹)	半閉塞貼付/0.5 mL、4 時間	軽度の刺激性あり
	眼刺激性 /72 時間	NZW ウサギ (一群雌 6 匹：非洗眼群 3 匹、洗眼群 3 匹)	点眼/0.1 mL	わずかな刺激性あり (洗眼の効果あり)

検体種別	試験の種類/観察期間	動物種	投与方法/投与量	試験の結果
製剤 (10.4% フロア ブル)	皮膚感作性 /48 時間	Hartley モルモット (検体群：雌 20 匹、 対照群：雌 10 匹)	Buehler 法/ 感作：閉塞貼付、100%液 0.2 mL (左側腹部)、6 時間 惹起：閉塞貼付、100%液 0.2 mL (右側腹部)、6 時間	感作性あり

(4) 急性神経毒性試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた単回強制経口（原体：0、500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重）投与による急性神経毒性試験が実施された。

(毒性所見以外の所見)

2,000 mg/kg 体重投与群の雌雄で 1~8 日目の体重増加量が減少あるいは減少傾向を示したが、その後の観察期間の体重増加量及び最終体重に影響は認められなかった。

神経行動学的検査において、2,000 mg/kg 体重投与群の雄で、1 日目の行動カウントが減少し、立ち上がり回数が減少傾向を示した。本試験における対照群値が過去直近 6 試験の雄の背景範囲を上回る一方で、2,000 mg/kg 体重投与群の値は背景範囲内であった。また、その他の測定日では同様の傾向が認められなかったことから、偶発的な変動と判断した。1,000 mg/kg 体重以上の投与群の雌において 15 日目の行動カウントが減少したが、全ての投与群の値が過去直近 6 試験の雄の背景範囲内であり、その他の測定日では同様の傾向が認められなかったことから、偶発的な変動と判断した。1,000 mg/kg 体重投与群の雄で 1 日目の接近反応が、2,000 mg/kg 体重投与群の雄で 1 日目及び 8 日目の接近反応が低下した。これらの変動は全て背景範囲内であり、その他の神経行動学的検査項目及び雌動物に変化がなかったことから、偶発的な変動と判断した。

(まとめ)

本試験において、急性神経毒性は認められなかったことから、急性神経毒性に対する無毒性量は、雌雄とも 2,000 mg/kg 体重超と考えられた。

(5) 亜急性毒性試験

トルピラレート原体について、イヌ、ラット及びマウスを用いた 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

① 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、200、2,000、及び 20,000 ppm；平均検体摂取量は表 21 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 21 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与量（ppm）		200	2,000	20,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	6.47	64.61	699.19
	雌	6.98	65.33	670.88

各投与群において認められた毒性所見は表 22 のとおりである。

（毒性所見以外の所見）

血液学的検査において、20,000 ppm 投与群の雄で Plt、WBC、好中球の増加、雌で MCV、MCH の減少、200 ppm 以上の投与群の雄及び 2,000 ppm 以上の投与群の雌で好塩基球の減少がみられたが、いずれも背景データの範囲内であったことから生理的変動と判断した。

血液生化学的検査において、20,000 ppm 投与群の雄で Na、Cl の低下、雌で AST、ALP の増加がみられたが、いずれも背景データの範囲内であったことから生理的変動と判断した。

尿検査において、20,000 ppm 投与群の雄で Cl の増加がみられたが、背景データの範囲内であったことから生理的変動と判断した。

臓器重量において、20,000 ppm の雄で副腎の相対重量増加がみられたが、背景データの範囲内であったことから生理的変動と判断した。

（まとめ）

本試験において、20,000 ppm 投与群の雄で自発運動減少、体重及び摂餌量減少、後肢及び鼻骨の軽度な骨過形成、後肢に炎症のみられた 1 例で炎症に伴う単球及びフィブリノーゲンの増加、RBC、Hb、Ht の減少、雌で角膜炎が認められたことから、無毒性量は雌雄共 2,000 ppm（雄で 64.61 mg/kg 体重/日、雌で 65.33 mg/kg 体重/日）であると考えられた。

表 22 90 日間亜急性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与量	雄	雌
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・自発運動減少 ・体重減少、摂餌量減少 ・後肢及び鼻骨の軽度な骨過形成 ・後肢の炎症に伴う単球及びフィブリノーゲンの増加並びに RBC、Hb、Ht の減少(1例のみ) 	<ul style="list-style-type: none"> ・角膜炎、右眼球混濁
2,000 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（ラット）

Wistar Hannover ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、5、20、2,000 及び 20,000 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 90 日間亜急性毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		5	20	2,000	20,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.323	1.34	133	1,363
	雌	0.380	1.58	159	1,647

各投与群において認められた毒性所見は表 24 のとおりである。

(毒性所見以外の所見)

血液学的検査において、2,000 ppm 以上の投与群の雌で MCV、MCH の増加、20,000 ppm 投与群の雌で MCHC の増加が認められたが、Ht、Hb 及び RBC の減少のような貧血変化が認められていないことから毒性学的意義は乏しいと考えられた。20,000 ppm 投与群の雌で好塩基球の増加は、好塩基球は血中にわずかしか存在せず、それにより計数時の値が変動しやすいことから毒性学的意義はないと考えられた。

臓器重量において、20,000 ppm 投与群の雄でみられた脾臓の相対重量の増加はその他の検査項目に関連する異常を認めないことから毒性学的意義はないものと考えられた。

(まとめ)

本試験において、20 ppm 以上の投与群の雄で腎臓の近位尿細管上皮硝子滴増加がみられ、2,000 ppm 以上の投与群の雌で、眼球混濁、角膜混濁、血管新生、虹彩の瞳孔反射低下又は消失、角膜炎、TG の増加、尿のケトン体増加、pH 低下、肝臓の相対重量増加、甲状腺のろ胞上皮細胞肥大がみられたことから、無毒性量は雄で 5 ppm (0.323 mg/kg 体重/日)、雌で 20 ppm (1.58 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

表 24 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与量	雄	雌
20,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 肝臓小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> Cl 減少 尿沈渣の異常結晶（針状結晶） 腎臓の相対重量増加
2,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 眼球混濁、角膜混濁、血管新生、虹彩の瞳孔反射低下又は消失、角膜炎 T-Chol 増加、Cl 減少 尿比重増加、尿のケトン体増加、pH 低下 肝臓の絶対・相対重量増加、腎臓の絶対・相対重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> 眼球混濁、角膜混濁、血管新生、虹彩の瞳孔反射低下又は消失、角膜炎 TG の増加 尿のケトン体増加、pH 低下 肝臓の相対重量増加 甲状腺のろ胞上皮細胞肥大

投与量	雄	雌
2,000 ppm 以上	・甲状腺のろ胞上皮細胞肥大 ・膵臓の単細胞性腺房細胞壊死	
20 ppm 以上	・腎臓の近位尿細管上皮硝子滴増加	毒性所見なし
5 ppm	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、50、500、2,000 及び 7,000 ppm；平均検体摂取量は表 25 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 25 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与量 (ppm)		50	500	2,000	7,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7.17	70.8	284	1,056
	雌	7.94	81.5	331	1,176

各投与群において認められた毒性所見は表 26 のとおりである。

（毒性所見以外の所見）

摂餌量において、摂餌量の増加が雄の 7,000 ppm 投与群で投与 3、8、12 及び 13 週、500 ppm 投与群で投与 13 週、50 ppm 投与群で投与 8 及び 12 週に認められたが、食餌効率の異常を伴わない増加であることから毒性学的意義はないと考えられた。

血液学的検査において、7,000 ppm 投与群の雌に Hb の有意な増加が認められたが、毒性学的意義は不明であった。

血液生化学的検査において、T.Bil の有意な減少が全投与群の雄と 2,000 ppm 投与群の雌に認められたが、この検査項目の減少には毒性学的意義はないと考えられた。

（まとめ）

本試験において、2,000 ppm 以上の投与群の雄、7,000 ppm 投与群の雌で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大がみられたことから、無毒性量は雄で 500 ppm (70.8 mg/kg 体重/日)、雌で 2,000 ppm (331 mg/kg 体重/日) であると考えられた。

表 26 90 日間亜急性毒性試験（マウス）で認められた毒性所見

投与量	雄	雌
7,000 ppm	・血小板数の減少 ・甲状腺のろ胞上皮細胞肥大	・肝臓の小葉中心性肝細胞肥大
2,000 ppm 以上	・肝臓の小葉中心性肝細胞肥大	2,000 ppm 以下 毒性所見なし
500 ppm 以下	毒性所見なし	

(6) 生殖発生毒性試験

トルピラレートについて、ラット及びウサギを用いた発生毒性試験が実施された。

① 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット(一群雌 24 匹)の妊娠 6~19 日に強制経口(0、1、10 及び 500 mg/kg 体重/日) 投与による発生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 27 のとおりである。

(毒性所見以外の所見)

500 mg/kg 体重/日投与群の 1 腹 3 胎児で外尿道口形態異常が認められたが、雄親動物を用いた確認試験 [(8) ①] を実施した結果、遺伝的要因に起因した奇形であることが証明され、検体投与との関連性はないことが明らかとなった。

(まとめ)

本試験において、母動物に対しては 500 mg/kg 体重/日投与群で体重増加量、摂餌量及び妊娠子宮重量低下、胎児では胎児体重低下、骨格変異の増加が認められたことから、本試験における母動物及び胎児の発生毒性に関する無毒性量は 10 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。

表 27 発生毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
500 mg/kg 体重/日	・体重増加量の低下、摂餌量の低下 ・妊娠子宮重量の低下	・胎児体重の低下 ・骨格変異が認められた胎児の増加、肋軟骨不連続及び過剰肋骨の発生率増加
10 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

②発生毒性試験 (ウサギ) ①

日本白色種ウサギ (一群雌 25 匹) の妊娠 6~27 日に強制経口 (0、0.5、5 及び 500 mg/kg 体重/日) 投与による発生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 28 のとおりである。

(毒性所見以外の所見)

500 mg/kg 体重/日投与群の母動物で妊娠 24~27 日の摂餌量の高値がみられたが、一時的かつ増加方向への変化であることから偶発的な変動と判断した。

(まとめ)

本試験において、母動物では 500 mg/kg 体重/日投与群で体重増加量の低下がみられた。胎児では 500 mg/kg 体重/日投与群で骨格変異の増加が認められたことから、本試験における母動物及び胎児の発生毒性に関する無毒性量は 5mg/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。

表 28 発生毒性試験（ウサギ）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
500 mg/kg 体重/日	・体重増加量の低下	・骨格変異が認められた胎児、過剰肋骨、 仙椎前椎骨数 27、第 1・2 頸椎間過剰骨化片 及び第 1 頸椎体未骨化の発生率増加
5 mg/kg 体重/日以下	毒性所見なし	毒性所見なし

(7) 遺伝毒性試験

トルピラレート原体について、細菌を用いた復帰突然変異試験、*in vitro* 染色体異常試験、*in vitro* 遺伝子突然変異試験、*in vivo* マウス小核試験が実施された。

また、代謝物 B について、細菌を用いた復帰突然変異試験が実施された。

結果はそれぞれ表 29 及び表 30 に示したとおりである。

細菌を用いた復帰突然変異試験、*in vitro* 染色体異常試験で陰性であり、*in vitro* 遺伝子突然変異試験では弱い変異原性ありの結果が得られたが、*in vivo* マウス小核試験において陰性であったことから、トルピラレート原体には生体において問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

表 29 遺伝毒性試験の概要（原体）

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株) <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	試験 I 61.7～5,000 µg/plate (+/-S9) 試験 II 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 肺由来株化細胞 (CHL/IU)	短時間処理 (6h) 200～800 µg/mL (-S9) 300～1,200 µg/mL (+S9) 連続処理 75～300 µg/mL (-S9, 24h) 50～200 µg/mL (-S9, 48h)	陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫由来 L5178Y TK ^{+/+} 細胞	3 時間処理 78.1～1,250 µg/mL (+/-S9) 24 時間処理 39.1～1,250 µg/mL (-S9)	弱い変異原性あり
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 5 匹)	500、1,000、2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

注) +/-S9：代謝活性化存在下及び非存在下

表 30 遺伝毒性試験の概要（代謝物 B）

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537 株)	試験 I 61.7～5,000 µg/plate (+/-S9) 試験 II	陰性

試験	対象	処理濃度・投与量	結果
	<i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i> 株)	313~5,000 µg/plate (+/-S9)	

注) +/-S9 : 代謝活性化存在下及び非存在下

(8) その他の試験

トルピラレートについて、マウスを用いた免疫毒性試験が実施された。

① ラット催奇形性試験で認められた外表奇形の遺伝的解析 (ラット) [(6) ①補遺①]

ラットを用いた催奇形性試験 [(6) ①] の外表検査において、高用量群 (500 mg/kg 体重/日) の雌胎児で外尿道口形態異常が認められた。この異常が 1 腹のみで観察されていることから、奇形の発生がこれらの親動物が持つ共通の変異遺伝子に由来する可能性が示唆されたため、催奇形性試験で使用した雄親動物を用いて、遺伝要因の関与について検討した。

催奇形性試験で観察された奇形胎児の雄親動物 (76♂) 及び近郊系 WKY 成熟雌ラット 4 匹を用いて、後代検定を実施した。

その結果、F1 胎児に外尿道口形態異常は認められなかったが、戻し交配で得られた N2 胎児において、5 腹の雌胎児 7 匹に催奇形性試験で認められた外尿道口形態異常と同様の奇形が (7/25、28%) が観察され、遺伝性の奇形であることが明らかとなった。F1 世代では異常が認められなかったこと、同腹の雄胎児は正常であること及び奇形児の分離比 (約 3 : 1) から、雌に特異的な常染色体劣性遺伝形質であることが示唆された。

また、別の多発性奇形症候群 (口蓋裂/口唇裂、短指 (趾)、鎖肛及び短尾) が 4 腹の 7 胎児 (雄 4、雌 3) で認められ、雄親動物 (76♂) は外尿道口形態異常とは別の変異を有することが明らかとなった。奇形の発現は N2 胎児に限られていることから、この奇形症候群も常染色体劣性の遺伝形質であることが示唆された。

以上から、ラット催奇形性試験で認められた外尿道口形態異常は、その雌雄親動物が共通して持つ変異遺伝子に由来するものであり、検体投与に起因するものではないと結論される。

② チロシン血症ラットにおける催奇形性試験 (ラット) [(6) ①補遺②]

ラットを用いた催奇形性試験 [(6) ①]において、母動物の血漿中チロシン濃度と胎児の体重や骨格への影響の関連性が示唆されたため、4-HPPD 阻害剤である NTBC (2-(2-Nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)-1,3-dione) と L-チロシンを併用投与し、妊娠中の血漿チロシン濃度の上昇がラット胎児に与える影響について検索する目的で、SD 妊娠雌ラットに L-チロシンを妊娠 6~20 日に混餌 (2%w/w) 投与、NTBC を妊娠 6~19 日に強制経口 (0.1 mg/kg 体重/日) 投与した試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 31 のとおりである。

本試験において、胎児体重低下、内臓変異及び骨格変異の増加、骨化遅延は、母動物の血漿中チロシン濃度の上昇に関連することが示唆された。また、血漿中チロシン濃度が対照群の 46.8 倍でも奇形の増加は認められないことから、催奇形性はないと考えられた。

表 31 チロシン血症ラットにおける催奇形性試験（ラット）で認められた毒性所見

被験物質	母動物	胎児
2%L-チロシン + NTBC 0.1 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・眼球白濁/表面粗造 ・体重、体重増加量、摂餌量、補正体重増加量の低値 ・肝臓、腎臓相対・補正相対重量増加 ・角膜炎の増加 ・血漿中チロシン濃度の増加 (46.8 倍) * 	<ul style="list-style-type: none"> ・胎児体重の低値 ・血漿中チロシン濃度の増加 (11.2 倍) ・内臓変異の増加 (腎盂拡張)、内臓変異が認められた胎児の出現率増加 ・骨格変異の増加 (短小及び完全過剰肋骨、仙椎前椎骨数 27)、骨格変異が認められた胎児の出現率増加 ・骨化遅延 (骨化指標 (舌骨未骨化、胸骨分節、尾椎体及び中手骨の骨化数) 変動)
基礎飼料 + NTBC 0.1 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・眼球白濁/表面粗造 ・体重増加量の低値 ・血漿中チロシン濃度の増加 (29.5 倍) 	<ul style="list-style-type: none"> ・血漿中チロシン濃度の増加 (8.6 倍) ・骨格変異の増加 (短小過剰肋骨、肋軟骨不連続)、骨格変異が認められた胎児の出現率増加 ・骨化遅延 (骨化指標 (胸骨分節及び中手骨の骨化数) 変動)
2%L-チロシン + コーンオイル	<ul style="list-style-type: none"> ・血漿中チロシン濃度のわずかな増加 (1.8 倍) 	<ul style="list-style-type: none"> ・血漿中チロシン濃度のわずかな増加 (2.3 倍)

*対照群 (基礎飼料+コーンオイル群) との比較

③ 28 日間亜急性免疫毒性試験 (マウス)

ICR マウス (検体投与群：一群雌 10 匹、陽性対照群：雌 8 匹) に混餌 (原体：0、650、1,900 及び 5,500 mg/kg 体重/日；平均検体摂取量は表 32 参照) 投与による 28 日間亜急性免疫毒性試験が実施された。陽性対照群では、22 日目から 26 日目の 5 日間、シクロホスファミド 20 mg/kg 体重/日を 10 mL/kg 体重で強制経口投与を行った。

表 32 28 日間亜急性免疫毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与量（ppm）		650	1,900	5,500
平均検体摂取量 （mg/kg 体重/日）	雌	119	334	1,002

本試験において、抗原特異的 T 細胞依存性抗体反応を指標とする免疫機能に影響は認められなかった。したがって、雌マウスにおける免疫毒性の無影響量は 5,500 ppm（1,002 mg/kg 体重/日）超と考えられた。

Ⅲ. 総合評価

¹⁴C で標識したトルピラレートのラットを用いた動物体内動態試験の結果、ラットに経口投与されたトルピラレートの吸収率は投与後 48 時間で 74.7～84.3%と算出された。

投与後 96 時間までに放射能のほとんど (97.4～103%) が排泄され、主要な排泄経路は、糞 (投与量の 23.6～56.6%) 及び尿 (投与量の 38.5～61.4%) であった。排泄は速やかであり、排泄経路及び速度に関しては、標識体、投与量、雌雄間に大きな差はなかった。胆汁中排泄は雄が雌に比しておよそ 3 倍高く、胆汁中排泄には性差が示唆された。尿、糞、胆汁、肝臓及び腎臓中の主な代謝物は代謝物 B 及び C であった。その他、代謝物 D、代謝物 C のグルクロン酸抱合体である代謝物 E が認められた。

各種毒性試験の結果から、トルピラレートの反復投与による主な影響は、肝臓 (ラット；相対重量増加、マウス；小葉中心性肝細胞肥大)、腎臓 (ラット：絶対及び相対重量増加、近位尿細管上皮硝子滴増加等) 及び甲状腺 (ラット・マウス；ろ胞上皮細胞肥大) に認められた。

神経毒性、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

ラット及びウサギの発生毒性試験において骨格変異 (過剰肋骨、仙椎前椎骨数 27 の増加) が認められた。これらの骨格変異はトルピラレートの投与により 4-HPPD が阻害され母動物の血漿中チロシン濃度が上昇したことに起因するものと考えられた。また、ウサギ催奇形性試験においてみられた骨格変異 (第 1・2 頸椎間過剰骨化片及び第 1 頸椎体未骨化の増加) についても 4-HPPD 阻害共通の所見と考えられる。

各毒性試験における無毒性量及び最小毒性量並びに最小毒性量で認められた所見を表 31 に示す。

各試験で得られた無毒性量の最小値はラットを用いた 90 日間亜急性毒性試験の 0.323 mg/kg 体重/日であったことから、当該試験を非食用農薬一日摂取許容量 (非食用農薬 ADI) の根拠とすることが適切であると考えられた。

以上の結果を踏まえ、トルピラレートに対する非食用農薬 ADI を次のように評価する。

非食用農薬 ADI	0.00032 mg/kg 体重/日
設定根拠試験	90 日間亜急性毒性試験
動物種	ラット
期間	90 日間
投与方法	混餌投与
無毒性量	0.323 mg/kg 体重/日
安全係数	1000
	種間差 10、個人差 10、データ不足 10 (慢性毒性、発がん性及び生殖毒性試験が実施されていない)

表 33 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量 (最小毒性量) (mg/kg 体重/日) 及び 最小毒性量で認められた所見	国外での評価 無毒性量 (最小毒性量) (mg/kg 体重/日)
ラット	90 日間亜急性毒性 試験	雄 : 0.323 (1.34) 雌 : 1.58 (159) 雄 : 腎臓の近位尿細管上皮硝子滴増加 雌 : 眼球混濁、角膜混濁、血管新生、虹彩 の瞳孔反射低下又は消失、角膜炎、TG の増加、尿のケトン体増加、pH 低下、 肝臓の相対重量増加、甲状腺のろ胞上 皮細胞肥大	—
	発生毒性試験	母動物 : 10 (500) 胎 児 : 10 (500) 母動物 : 体重増加量、摂餌量及び妊娠子宮 重量低下 胎 児 : 胎児体重低下、骨格変異の増加 (催奇形性は認められない)	—
マウス	90 日間亜急性毒性 試験	雄 : 70.8 (284) 雌 : 331 (1,176) 雌雄 : 肝臓の小葉中心性肝細胞肥大	—
ウサギ	発生毒性試験	母動物 : 5 (500) 胎 児 : 5 (500) 母動物 : 体重増加量の低下 胎 児 : 骨格変異の増加 (催奇形性は認められない)	—
イヌ	90 日間亜急性毒性 試験	雄 : 64.61 (699.19) 雌 : 65.33 (670.88) 雄 : 自発運動減少、体重及び摂餌量減少、 後肢及び鼻骨の軽度な骨過形成、後肢 に炎症のみられた 1 例で炎症に伴う 単球及びフィブリンノーゲンの増加、 RBC、Hb、Ht の減少 雌 : 角膜炎、右眼球混濁	—

<別紙 1> 代謝物略称

名称 (記号)	由来	名 称
トルピラレート A	親化合物	(<i>RS</i>)-1-{1-ethyl-4-[4-mesyl-3-(2-methoxyethoxy)- <i>o</i> -toluoyl]-1 <i>H</i> -pyrazol-5-yl}ethyl methyl carbonate
代謝物 B	動物 植物 土壌 水中	(1-ethyl-5-hydroxy-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl) = [4-mesyl-3-(2-methoxyethoxy)- <i>o</i> -tolyl] = methanone
代謝物 C	動物	(1-ethyl-5-hydroxy-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl) = [4-mesyl-3-(2-hydroxyethoxy)- <i>o</i> -tolyl] = methanone
代謝物 D	動物	(5-hydroxy-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl) = [4-mesyl-3-(2-methoxyethoxy)- <i>o</i> -tolyl] = methanone
代謝物 C のグルク ロン酸抱合体 E	動物	Glucuronide of (1-ethyl-5-hydroxy-1 <i>H</i> -pyrazol-4-yl) = [4-mesyl-3-(2-hydroxyethoxy)- <i>o</i> -tolyl] = methanone

＜別紙 2＞ 検査値等略称

略称	名 称
ADI	一日摂取許容量
ALP	アルカリホスフォターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ
AUC	血中薬物濃度曲線下面積
¹⁴ C	放射性同位体である炭素 14
Cl	塩素
Cmax	最大血中濃度
DT ₅₀	土壌中半減期
FIB	フィブリノーゲン
GLP	優良試験所規範 (Good Laboratory Practice)
Hb	ヘモグロビン量
Ht	ヘマトクリット値
<i>In vitro</i>	生体外
<i>In vivo</i>	生体内
K _{F^{ads} oc}	有機炭素含有率で補正したフロイントリッヒの土壌吸着係数
LC ₅₀	50%致死濃度
LD ₅₀	50%致死量
LLNA	マウス局所リンパ節増殖試験
LogPow	オクタノール/水分配係数
MCH	平均赤血球ヘモグロビン量
MCHC	平均赤血球ヘモグロビン濃度
MCV	平均赤血球容積
Na	ナトリウム
NTBC	(2- (2-Nitro-4-trifluoromethylbenzoyl) -1,3-dione)
NZW	New Zealand White
Plt	血小板数
ppm	百万分の 1 (Parts per million)
RBC	赤血球数
SD	Sprague-Dawley
TAR	総投与放射活性
T.Bil	総ビリルビン
TG	トリグリセリド

T _{1/2}	半減期
Tmax	最高血中濃度 到達時間
WBC	白血球数
4-HPPD	4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ