

(14) 生体機能影響

1) ジベレリンにおける薬理試験¹⁾

(資料 37)

試験機関: Merck Institute for Therapeutic Research
報告書作成年: 1959 年

検体純度:

① 中枢神経系に対する作用

マウスにおける抗痙攣作用

供試動物: マウス

投与方法: 検体を 500 mg/kg の用量で腹腔内投与し、電気刺激によって誘発された痙攣を観察した。

結果: マウスの痙攣を変化させることはなかった。

脳波に対する作用

供試動物: 不明

投与方法: 検体を 2500 mg/kg の用量で静脈内投与し、脳波を測定した。

結果: 脳波に変化は認められなかった。

② イヌの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物: イヌ

投与方法: 検体を 12.5~25 mg/kg の用量で麻酔下のイヌに静脈内投与した。

結果: 血圧、心拍数、心電図、呼吸数等に有意な作用はみられなかった。

③ 自律神経系に対する作用

マウスの瞳孔径

供試動物: マウス

投与方法: 検体 50 mg/kg を腹腔内投与した。

結果: マウスの瞳孔直径には有意な変化はなく、有意なアトロピン様作用または神経節遮断作用はなかった。

④ 体性神経系に対する作用

ウサギの局所麻酔作用

供試動物: ウサギ

投与方法: 濃度 1% で点眼した。

結果: 眼に局所麻酔作用や局所刺激作用の徴候はみられなかった。

¹⁾ 試験報告書には、ここに示した以上の詳細な情報は記載されていない。

2) ジベレリンにおける薬理試験²⁾

(資料 43)

文献 : Eugen T. Kimura, Patrick R. Young, Kazimir Staniszewski
Gibberellic Acid : Toxicologic and Pharmacologic Studies
Journal of the American Pharmaceutical Association Scientific Edition, 48, 127 (1959)

検体純度 :

①中枢神経系に対する作用

i) マウスにおける睡眠延長作用

供試動物 ; 白色雄マウス, 1 群 10 匹

投与方法 : 検体を水溶液として 500 mg/kg の用量で静脈内投与又はメチルセルロース懸濁液として 1000 mg/kg の用量で経口投与し、それぞれ 10 分及び 45 分後に 30 mg/kg のペントタールナトリウムを静注した。

結 果 : ペントタール睡眠時間は検体投与によって変化しなかった。また、検体 1000 mg/kg の経口投与の前処理では、100 mg/kg のヘキソバルビタールナトリウム腹腔内投与により誘発された睡眠時間にも変化はなかった。

ii) マウスにおける抗痙攣作用

供試動物 ; マウス

投与方法 : 検体をメチルセルロースに懸濁し、1000, 2000 及び 4000 mg/kg の用量で経口投与し、Toman, Everett 及び Richards の方法に従って、3 種の試験 (メトラゾール痙攣、精神運動、最大電撃痙攣) を行った。

結 果 : 抗痙攣作用はみられなかった。

iii) ラットにおける解熱作用

供試動物 ; Holtzman 系雌ラット, 1 群 4 匹

投与方法 : 15% ビール酵母 15 mL を筋注し、18 時間後に再度 1 mL の酵母菌懸濁液の発熱性ブースター注を筋肉内投与した。この時点で検体をメチルセルロース懸濁液として 150 及び 500 mg/kg の用量で経口投与し、解熱作用を 1 時間ごとに 2 時間半にわたり観察した。

結 果 : 体温にはいかなる影響も与えなかった。

②呼吸、循環器系に対する作用

i) イヌの呼吸、循環器系に対する作用

供試動物 ; イヌ 3 匹

投与方法 : ネンプタールナトリウムにより麻酔したイヌに検体の水溶液を 500 mg/kg までの用量で大腿静脈に注射し、血行の変化を頸動脈から記録し、胸腔内及び肺内変動をタンブール及び気管カニューレを用いて記録した。

結 果 : 循環器及び呼吸器の機能にはいかなる影響もなかった。

ii) ネコの血圧に対する作用

供試動物 ; ネコ 2 匹

投与方法 : ネンプタールナトリウムにより麻酔したネコに検体の水溶液を 100 mg/kg の用量で大腿静脈に注射し、血行の変化を頸動脈から記録した。

結 果 : セトロンあるいはエピネフリンに対する血圧反応にいかなる変化もあらわれなかった。

③自律神経系に対する作用

i) ウサギの摘出回腸

供試動物 ; ウサギ 16 匹

²⁾ 本文献には、ここに示した以上の詳細な情報は記載されていない。

投与方法：Magnus 法を用いて、ウサギの摘出回腸における検体（水槽濃度 1、2.5、5 mg/mL）の自発腸運動に及ぼす影響をみた。また、標準的収縮薬及び弛緩剤（アセチルコリン、バリウム、ヒロカルピン、エピネフリン及びアピトロン）に対する影響を検討した。

結 果：検体による影響はみられなかった。

ii) モルモットの摘出回腸

供試動物：モルモット 4 匹

投与方法：Magnus 法を用いて、モルモットの摘出回腸における検体（水槽濃度 1、2.5、5 mg/mL）の標準的収縮薬及び弛緩剤（アセチルコリン、ヒスタミン、バリウム、ヒロカルピン及びアピトロン）に対する影響を検討した。

結 果：検体による影響はみられなかった。

ジベレリンの「生体の機能に及ぼす影響に関する試験」の総括表

試験項目	動物種	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物数 /群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要	
中枢神経系	抗痙攣作用 (電撃痙攣)	マウス	腹腔内 (不明)	500	不明	—	500	検体の影響なし
	抗痙攣作用 (メトラゾール痙攣、精神運動、 電撃痙攣)	マウス	経口 (MC)	1000、 2000、 4000	不明	—	4000	検体の影響なし
	睡眠延長作用 (バルピツール酸 塩)	マウス	静注(水)	500	雄 10	—	500	検体の影響なし
			経口 (MC)	1000	雄 10	—	1000	検体の影響なし
	解熱作用 (ビール酵母発熱)	ラット	経口 (MC)	150、500	雌 4	—	500	検体の影響なし
脳波	不明	静注 (不明)	2500	不明	—	2500	検体の影響なし	
呼吸・循環器系	血圧、心拍数、心 電図、呼吸数	イヌ (麻醉下)	静注 (不明)	12.5~25	不明	—	25	検体の影響なし
	血流、呼吸数	イヌ (麻醉下)	静注(水)	~500	3	—	500	検体の影響なし
	血圧(セロトニン・ エピネフリンに 対する反応)	ネコ (麻醉下)	静注(水)	100	2	—	100	検体の影響なし
自律神経系	摘出回腸 (自動運動、 収縮剤・弛緩剤に 対する作用)	ウサギ	<i>in vitro</i>	1、2.5、5 mg/mL	16	—	5 mg/mL	検体の影響なし
	摘出回腸 (収縮剤・弛緩剤 に対する作用)	モルモット	<i>in vitro</i>	1、2.5、5 mg/mL	4	—	5 mg/mL	検体の影響なし
	瞳孔径	マウス	腹腔内 (不明)	50	不明	—	50	検体の影響なし
体性神経系	局所麻醉作用 (眼)	ウサギ	点眼 (不明)	1%	不明	—	1%	検体の影響なし

MC：メチルセルロース

以上の試験結果より、本剤は生体機能に対していかなる作用もないと判断される。

(15) その他

1) ジベレリン原体のラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験
肝臓の細胞増殖活性追加試験 I (資料 34)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

試験目的：ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料27)において高用量群で増加した肝細胞腫瘍の発がんメカニズムを解明するため、この試験の供試動物の肝組織に増殖細胞核抗原 proliferating cell nuclear antigen(PCNA)の免疫染色を施し、肝細胞の増殖活性増加の有無を検索する目的で実施した。

検体純度：

供試材料：同研究所で Fischer 系ラット (F344/DuCrj) を用いて実施した1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 27)の投与 13 週時中間屠殺動物から得られた肝臓のパラフィンブロックを供試した。

試験方法：検体を 0、3000、10000 及び 30000 ppm の濃度で飼料に混入し、13 週間にわたって随時摂食させた各用量雌雄各 10 匹の肝組織について増殖細胞核抗原 (PCNA) の免疫組織化学的染色を施し、肝細胞の細胞増殖活性を検索した。

肝臓の PCNA 染色標本について小葉周辺帯、中間帯及び中心帯の肝細胞約 1000 個当りの PCNA 陽性細胞(S 期)数を算出して PCNA 標識率(%)を求めた。

結果：肝小葉周辺帯、中間帯及び中心帯の肝細胞における平均 PCNA 標識率を下表に示す。

性別	投与量 (ppm)	PCNA 標識率 (平均値±SD)		
		周辺帯	中間帯	中心帯
雄	0	0.32±0.25	0.11±0.10	0.10±0.10
	3000	0.28±0.15 (88)	0.09±0.05 (82)	0.10±0.12 (100)
	10000	0.15±0.11 (47)	0.08±0.10 (73)	0.03±0.05 (30)
	30000	0.34±0.19 (106)	0.20±0.17 (182)	0.06±0.12 (60)
雌	0	0.44±0.37	0.34±0.45	0.09±0.08
	3000	0.58±0.46 (132)	0.26±0.30 (76)	0.18±0.18 (200)
	10000	0.37±0.26 (84)	0.17±0.17 (50)	0.06±0.12 (67)
	30000	0.65±0.46 (148)	0.18±0.17 (53)	0.23±0.18 (256)

対照群との有意差検定は、Dunnett 多重比較法を用いて行った。

() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

いずれの投与群においても肝小葉周辺帯、中間帯及び中心帯の各領域の PCNA 標識率は対照群と比較し有意差はなく、検体投与の影響は認められなかった。

2) ジベレリン原体のラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験
肝臓の細胞増殖活性追加試験 II (資料 35)

試験機関：(財) 残留農薬研究所
[GLP 対応]
報告書作成年：1998 年

試験目的：ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 27)において高用量群で増加した肝細胞腫瘍の発がんメカニズムを解明するため、この試験の供試動物の肝組織に増殖細胞核抗原 proliferating cell nuclear antigen (PCNA) の免疫染色を施し、肝細胞の増殖活性増加の有無を検索する目的で実施した。

検体純度：

供試材料：同研究所で Fischer 系ラット(F344/DuCrj)を用いて実施した1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 27)の投与 26、52 及び 78 週時中間屠殺動物及び最終屠殺動物から得られた肝臓のパラフィンブロックを供試した。

試験方法：検体を 0、3000、10000 及び 30000 ppm の濃度で飼料に混入し、26、52、78 及び 104 週間にわたって随時摂食させた各用量雄 10 匹の肝組織について増殖細胞核抗原(PCNA)の免疫組織化学的染色を施し、肝細胞の細胞増殖活性を検索した。
肝臓の PCNA 染色標本について小葉中心帯の肝細胞約 1000 個当りの PCNA 陽性細胞(S 期)数を算出して PCNA 標識率(%)を求めた。

結果：肝小葉中間帯の肝細胞における平均 PCNA 標識率を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)			
		0	3000	10000	30000
PCNA 標識率	26 週	0.50±0.08	0.64±0.15 (128)	↑ 0.93±0.21 (186)	↑ 0.95±0.27 (190)
	52 週	0.83±0.14	0.93±0.14 (112)	↑ 1.54±0.33 (186)	↑ 1.93±0.27 (233)
	78 週	0.78±0.11	0.83±0.11 (106)	↑ 1.65±0.29 (212)	↑ 1.84±0.22 (236)
	104 週	0.92±0.18	1.19±0.14 (129)	↑ 2.87±0.46 (312)	↑ 3.75±1.28 (408)

対照群との有意差検定は Dunnett 多重比較法を用いて行った (↑↓: p < 0.01)。
() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

10000 及び 30000 ppm 群ではいずれの検査時期においても PCNA 標識率が対照群に比べ有意に高い値を示した。また、標識率は用量あるいは投与期間に応じてより高い値を示す傾向にあった。

以上の結果から、本剤は肝細胞に対して増殖促進作用を有する可能性が示唆された。

3) ジベレリン原体のラットにおける肝発癌メカニズム解明試験 (2週間予備試験)

(資料 36)

試験機関：(財) 残留農業研究所

報告書作成年：1997年

試験目的：ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料27)において高用量群で増加した肝細胞腫瘍の発がんメカニズムを検索する目的で実施した。

検体純度：

供試動物：Fischer系ラット(F344/DuCrj)、1群雄15匹(5匹は1週間投与終了後に中間屠殺)、

試験開始時5週齢、体重82~93g

投与期間：2週間(1996年9月20日~10月4日)

投与方法：検体を0及び50000ppmの濃度で飼料に混入し、2週間にわたって随時摂食させた。なお、陽性対照群としてフェノバルビタール(PB)を0.1%の濃度で飲水に溶解し、1匹のラットに1週間にわたって随時摂取させた。

用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中に臨床症状の異常は認められず、死亡例も観察されなかった。

体重変化；週1回測定した。

結果を次表に示す。

投与量 (ppm)	1週目	2週目
0	124±5	158±7
50000	↓119±5 (96)	154±6 (97)

対照群との有意差検定は Student の t 検定を用いて行った (↑↓: $p < 0.05$ 、◆◆: $p < 0.01$)。

() 内の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

投与1週時に軽度ながら有意な体重増加抑制が認められたが、投与2週時では対照群とほぼ同等であった。

摂餌量；週1回測定した。

対照群との間に有意差はなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)	50000
検体摂取量 (mg/kg/day)	4464

臓器重量；投与1週後中間屠殺動物及び投与2週後最終屠殺動物の全動物を対象として、肝臓重量を測定し、対体重比も算出した。

結果を次表に示す。

投与1週時及び2週時における肝臓の絶対重量が軽度(5~10%)ながら有意に減少したが、対体重比では対照群との間に有意差はなかった。

検査時期	投与量 (ppm)	動物数	肝臓	
			重量	対体重比
1週時	0	5	5.60±0.29	4.46±0.17
	50000	5	↓5.04±0.38 (90)	4.26±0.14 (96)
2週時	0	8	6.95±0.22	4.38±0.16
	50000	8	↓6.61±0.38 (95)	4.24±0.19 (97)

対照群との有意差検定は Student の t 検定を用いて行った (↑↓: p<0.05, ◆♣: p<0.01)。
() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

肝薬物代謝酵素; 投与 1 及び 2 週時に各群 5 匹を対象として、肝臓を摘出し、肝ミクロソームを調製してミクロソーム蛋白質及びチトクローム P-450 含量を測定した。また、Western blot 法により P-450 のアイソザイム (CYP1A、CYP2B、CYP2E、CYP3A 及び CYP4A) の同定も行った。結果を次表に示す。

検査時期	投与量 (ppm)	動物数	ミクロソーム蛋白質量 (mg/g 肝)	チトクローム P-450 量 (nmol/mg)
1週時	0	5	39±3	0.69±0.07
	50000	5	36±3 (92)	0.68±0.12 (99)
	陽性対照	1	50 (128)	2.02 (293)
2週時	0	5	37±1	0.54±0.03
	50000	5	36±5 (97)	↑0.59±0.03 (109)

対照群との有意差検定は Student の t 検定を用いて行った (↑↓: p<0.05, ◆♣: p<0.01)。
() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

投与 2 週時にチトクローム P-450 含量が軽微ではあるが有意に増加した。しかし、同群の Western blot 法による P-450 アイソザイムの同定では特異的アイソザイムの発現は認められなかったことから、上記の P-450 含量の増加は統計学的な偶発所見と解釈された。

肝細胞間ギャップ結合蛋白; 投与 2 週後の最終屠殺動物各群 8 匹を対象に、凍結保存した肝臓組織について凍結切片を作成し、抗ラット CX32 モノクローナル抗体で免疫化学染色を施して肝細胞間ギャップ結合蛋白 Connexin 32(CX32) のスポット数を測定した。

小葉中心性肝細胞当りのギャップ結合蛋白 CX32 の平均スポット数を下表に示す。

検査時期	投与量 (ppm)	動物数	ギャップ結合蛋白 CX32 のスポット数/肝細胞
2週時	0	8	7.573±0.864
	50000	8	♣3.471±0.888 (46)

対照群との有意差検定は、Student の t 検定を用いて行った (↑↓: p<0.05, ◆♣: p<0.01)。
() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。

50000 ppm 群の 2 週時の肝臓において小葉中心性に CX32 の減少が認められ、同スポット数は対照群の約 1/2 であった。

肝細胞増殖活性; 投与 1 週後の中間屠殺動物各群 5 匹及び投与 2 週後の最終屠殺動物各群 8 匹について、肝臓を 10% 中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン切片に増殖細胞核抗原 (PCNA) の免疫組織化学染色を施し、小葉中心帯の肝細胞 1000 個当りの PCNA 陽性 (S 期) 細胞数を測定し、同標率 (%) を求めた。また、HE 染色標本で肝細胞の核分裂像及びアポトーシスの発現頻度を測定した。

平均 PCNA 標率 (%), 核分裂細胞発現率 (%) 及びアポトーシス発現率 (%) を下表に示す。

検査時期	投与量 (ppm)	動物数	PCNA 標識率	核分裂 発現率	アポトーシス 発現率
1 週時	0	5	1.2±0.7	0.211±0.071	0.024±0.017
	50000	5	0.8±0.4 (67)	0.147±0.053 (70)	↑0.060±0.030 (250)
2 週時	0	8	0.5±0.3	0.227±0.194	0.054±0.042
	50000	8	0.6±0.3 (120)	0.143±0.103 (63)	0.029±0.021 (54)

対照群との有意差検定は、Student の t 検定を用いて行った (↑↓: p < 0.05, ◆◆: p < 0.01)。

() 内の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

投与 1 週時に 50000 ppm 群のアポトーシスの発現率が対照群に比較して有意に増加したが、PCNA 標識率及び核分裂細胞発現率についてはいずれの検査時においても有意な変化は認められなかった。アポトーシスの発現率増加の意味は本試験結果からでは判断できなかった。肉眼的病理検査；全動物を対象に、肉眼的病理検査を実施した。

50000 ppm 群の投与 1 及び 2 週後の各計画屠殺動物において盲腸の膨満が高頻度に認められた。発現頻度を下表に示す。

検査時期	投与量 (ppm)	0	50000
1 週目	所見/検査動物数	5	5
	盲腸；膨満	0	↑4
2 週目	所見/検査動物数	10	10
	盲腸；膨満	0	◆9
全動物	所見/検査動物数	15	15
	盲腸；膨満	0	◆13

対照群との有意差検定は Fisher の直接確率計算法を用いて行った

(↑↓: p < 0.05, ◆◆: p < 0.01)。

病理組織学的検査；全動物を対象として、肝臓について HE 染色標本を作成して光学顕微鏡観察を行った。また、投与 2 週後に屠殺した各群 2 例の肝臓については酢酸ウラン・Reynold クエン酸鉛染色標本を作成して電子顕微鏡観察を行った。検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

以上の結果から、検体をラットに高用量投与することによって肝臓のギャップ結合蛋白 Connexin 32 が小葉中心性に減少することが示唆された。

4) ジベレリン原体のラットにおける肝発癌メカニズム解明試験 (3日間混餌投与予備試験)

(資料 38)

試験機関：(財) 残留農薬研究所

報告書作成年：1997年

試験目的：ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 27)において高用量群で増加した肝細胞腫瘍の発がんメカニズムを検索する目的で実施した。

検体純度：

供試動物：Fischer系雄ラット(F344/DuCrj)、1群15匹(1及び2日間投与終了後に各群5匹を中間屠殺)、試験開始時5週齢、体重87~95g

投与期間：3日間(1997年4月15日~4月18日)

投与方法：検体を0、3000及び30000ppmの濃度で飼料に混入し、3日間にわたって随時摂食させた。
用量設定根拠：

観察・検査項目及び結果：

一般状態及び死亡率；一般状態及び生死を毎日観察した。

試験期間中に臨床症状の異常は認められず、死亡例も観察されなかった。

体重変化；毎日測定した。

投与群と対照群との間に差異は認められなかった。

摂餌量；毎日測定した。

投与群と対照群との間に差異は認められなかった。

検体摂取量；投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)	3000	30000
検体摂取量 (mg/kg/day)	345.5	3500

臓器重量；投与1、2及び3日後に屠殺した全動物を対象として、肝臓重量を測定し、対体重比も算出した。

結果を次表に示した。

検査時期	項目	投与量 (ppm)	
		3000	30000
1日	重量	97	98
	体重比	97	97
2日	重量	101	98
	体重比	101	98
3日	重量	100	97
	体重比	100	↓97

対照群との有意差検定はDunnnett多重比較検定を用いて行った

(↑↓: p<0.05、◆♣: p<0.01)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

投与3日後の30000 ppm群において肝臓の体重比が軽微ながら有意に減少した。
 肝細胞間ギャップ結合蛋白；投与1、2及び3日後に屠殺した全動物を対象に、凍結保存した肝臓組織について凍結切片を作製し、抗ラットCX32モノクローナル抗体で免疫化学染色を施して、各個体の肝細胞500～600個について肝細胞間ギャップ結合蛋白Connexin 32(CX32)のスポット数を測定した。
 結果を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)	
		3000	30000
ギャップ結合蛋白 CX32 の スポット数/肝細胞	1日	↓ 78	↓ 68
	2日	↓ 68	↓ 68
	3日	↓ 72	↓ 66

対照群との有意差検定はDunnett多重比較検定を用いて行った
 (↑↓: p<0.05, ↓↓: p<0.01)。
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

3000及び30000ppmの投与群はともに、いずれの検査時期においても小葉中心性に明らかなCX32の減少が認められた。

肝細胞増殖活性；投与1、2及び3日後に屠殺した全動物を対象に、肝臓を10%中性緩衝ホルマリンで固定し作製したパラフィン切片について、増殖細胞核抗原(PCNA)の免疫組織化学染色を施し、無作為に選んだ肝細胞1000個当りのPCNA陽性(S期)細胞数をカウントし、PCNA標識率(%)を算出した。
 結果を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)	
		3000	30000
肝細胞1000個当りのPCNA 標識率	1日	109	△ 143
	2日	↓▼ 65	108
	3日	146	141

対照群との有意差検定はDunnett多重比較検定(↓↓: p<0.01)及びMann-WhitneyのU検定を用いて行った(△▽: p<0.05, ▲▼: p<0.01)。
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

30000 ppm群では投与1日後屠殺動物においてPCNA標識率が対照群に比べ有意に増加した。
 3000 ppm群では投与2日後にPCNA標識率の有意な低下がみられたが、用量との関連性がないことから偶発所見と解釈した。

肉眼的病理検査；全動物を対象に、肉眼的病理検査を実施した。
 投与2及び3日後の30000 ppm群において、盲腸膨満が高頻度に認められた。発現頻度を下表に示す。

検査時期	投与量 (ppm)	0	3000	30000
2日目	所見/検査動物数	5	5	5
	盲腸; 膨満	0	0	↑5
3日目	所見/検査動物数	5	5	5
	盲腸; 膨満	0	0	↑4
全動物	所見/検査動物数	15	15	15
	盲腸; 膨満	0	0	↑9

対照群との有意差検定は Fisher の直接確率計算法を用いて行った

(↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)。

病理組織学的検査; 全動物を対象として、肝臓について光学顕微鏡観察を行った。

検体投与に起因すると考えられる所見は認められなかった。

以上の結果より、本剤をラットに高用量投与することによって肝臓のギャップ結合蛋白 Connexin 32 が肝小葉中心性に減少し、投与初期において細胞増殖活性が亢進する可能性が示唆された。

5) ジベレリン原体のラットにおける肝発癌メカニズム解明試験 (7日間混餌投与試験) (資料 39)

試験機関: (財) 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年: 1998 年

試験目的: ラットを用いた飼料混入投与による1年間反復経口投与毒性/発がん性併合試験(資料 27)において高用量群で増加した肝細胞腫瘍の発がんメカニズムを検索する目的で実施した。

検体純度:

供試動物: Fischer 系ラット (F344/DuCrj)、1 群雄 18 匹 (投与 1 及び 3 日後に各群 6 匹を中間屠殺)、試験開始時 5 週齢、開始時体重 101~112 g

投与期間: 7 日間 (1998 年 2 月 23 日~3 月 2 日)

投与方法: 検体を 0、100、3000、10000 及び 30000 ppm の濃度で飼料に混入し、7 日間に自由摂取させた。

用量設定根拠:

観察・検査項目及び結果:

一般状態及び死亡率; 一般状態及び生死を毎日観察した。

投与期間中に臨床症状の異常は認められず、死亡例も観察されなかった。

体重変化; 投与 1、3 及び 7 日後の計画屠殺時の剖検前に全生存動物の体重を測定した。

投与群と対照群の間に差異は認められなかった。

摂餌量; 投与 3 日後の計画屠殺時の剖検前に全生存動物のケージについて、投与 3 日間の摂餌量を測定し、1 日 1 匹あたりの摂餌量を算出した。

投与群と対照群の間に差異は認められなかった。

検体摂取量; 投与期間中の平均検体摂取量は以下のとおりであった。

投与量 (ppm)	100	3000	10000	30000
検体摂取量 (mg/kg/day)	8.21	244.3	829	2609

臓器重量; 投与 1、2 及び 7 日後に屠殺した全動物を対象として、肝臓重量を測定し、対体重比も算出した。結果を次表に示した。

検査時期	項目	投与量 (ppm)			
		100	3000	10000	30000
1 日	重量	102	101	101	101
	体重比	102	101	100	100
3 日	重量	102	101	99	98
	体重比	100	101	98	98
7 日	重量	101	101	97	95
	体重比	100	100	97	↓95

対照群との有意差検定は、Dunnett 多重比較検定を用いて行った

(↑↓: $p < 0.05$, ◆◆: $p < 0.01$)。

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したものの。

30000 ppm 群の投与 7 日後屠殺動物において、肝臓重量の対体重比が軽微ながら有意に減少し

たが、投与1及び3日後の計画屠殺動物では対照群との間に有意差は認められなかった。
肝細胞増殖活性；投与1、2及び7日後に屠殺した全動物を対象に、肝臓を10%中性緩衝ホルマリンで固定し、パラフィン切片について抗BrdUマウスモノクローナル抗体を用いて免疫染色を施し、小葉中心帯の肝細胞約1000個当りのBrdU陽性細胞数を測定し、BrdU標識率(%)を算出した。結果を次表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)			
		100	3000	10000	30000
BrdU 標識率	1日	97	114	113	↑146
	3日	124	↑137	↑131	↑158
	7日	98	81	90	94

対照群との有意差検定は、Dunnnett 検定を用いて行った
 (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)。

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

30000 ppm 群では、投与1及び3日後の計画屠殺動物においてBrdU標識率が有意に増加した。また、10000及び3000 ppmの投与群では投与3日後の計画屠殺動物においてBrdU標識率が有意に増加した。しかし、投与7日後の計画屠殺動物ではいずれの用量群においても有意な変化は認められなかった。

肝細胞間ギャップ結合蛋白；投与1、2及び7日後に屠殺した全動物を対象に、凍結保存した肝組織について凍結切片を作製して、抗ラットCX32モノクローナル抗体を用いて免疫化学染色を施し、肝細胞約500~600個について肝細胞間ギャップ結合蛋白 Connexin 32 (CX32) のスポット数を測定し、肝細胞1個当りの平均スポット数を算出した。結果を下表に示す。

項目	検査時期	投与量 (ppm)			
		100	3000	10000	30000
ギャップ結合蛋白 CX32 のスポット数/肝細胞	1日	110	87	↓83	↓77
	3日	94	73	73	↓70
	7日	78	↓51	58	↓43

対照群との有意差検定は、Dunnnett 検定を用いて行った (↑↓: p<0.05, ↑↓: p<0.01)。
 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したもの。

30000 ppm 群では、いずれの検査時期においても小葉中心性にCX32のスポット数の減少が認められ、投与1、3及び7日後においてそれぞれ約23、30及び57%減少した。また、10000 ppm 群では投与1日後の計画屠殺動物において、3000 ppm 群では投与7日後の計画屠殺動物において、CX32のスポット数が有意に減少し、その他の検査時期においても両群とも減少傾向を示した。

肉眼的病理検査；全動物を対象に、肉眼的病理検査を実施した。

30000 ppm 群の各計画屠殺動物において盲腸の膨満がしばしば観察された。発現頻度を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

検査時期	投与量 (ppm)	0	100	3000	10000	30000
1日後	所見/検査動物数	6	6	6	6	6
	盲腸; 膨満	0	0	0	0	↑4
3日後	所見/検査動物数	6	6	6	6	6
	盲腸; 膨満	0	0	0	0	2
7日後	所見/検査動物数	6	6	6	6	6
	盲腸; 膨満	0	0	0	0	↑6
全動物	所見/検査動物数	18	18	18	18	18
	盲腸; 膨満	0	0	0	0	↑12

対照群との有意差検定は Fisher の直接確率計算法を用いて行った (↑↓: $p < 0.05$, ↑↓: $p < 0.01$)。

以上の結果より、本剤をラットに高用量投与することによって肝臓のギャップ結合蛋白 CX32 が肝小葉中心性に減少し、それに伴い同部位の細胞増殖活性が亢進することが示唆された。なお、100 ppm 群ではいずれの検査項目においても有意な変化は認められず、上記の変化に閾値のあることが確認された。

2. 製剤

[3.1%水溶剤 (粉末)]

(1) 急性毒性

1) ジベレリン 3.1%水溶剤 (粉末) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料 3)

試験機関：(財) 化学品検査協会
[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度：3.1%水溶剤

[組成] ジベレリン原体 3.1% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、増量剤 96.9%

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹、6 週齢、体重；雄 157.8~187.2 g、雌 120.4~141.6 g

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液で 30%w/v の濃度に調製し、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与前に 16~20 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与日、投与後 1、7 及び 14 日に測定した。

試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

2) ジベレリン3.1%水溶剤(粉末)の Maus における急性経口毒性試験

(資料4)

試験機関：(財)食品農医薬品安全性評価センター
[GLP 対応]
報告書作成年：1991 年

検体：ジベレリン水溶剤(粉末)

検体純度：3.1%水溶剤

[組成] ジベレリン原体 3.1% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、増量剤 96.9%

供試動物：Slc:ICR 系 Maus、6 週齢、体重；雄 29.8~32.4 g、雌 25.4~28.0 g、1 群 雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を蒸留水に溶解し、胃ゾンデを用いて胃内に単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。投与前 3 時間及び投与後 3 時間絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 7 及び 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

3) ジベレリン 3.1%水溶剤 (粉末) のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 10)

試験機関：(財) 化学品検査協会
[GLP 対応]
報告書作成年：1989 年

検体純度：3.1%水溶剤

[組成] ジベレリン 3.1% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、増量剤 96.9%

供試動物：SD 系ラット、6 週齢、体重；雄 185.8～210.5 g、雌 139.3～155.6 g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム(CMC)水溶液で 30%w/v の濃度に調製し、刈毛した背部(3×4 cm)に均一に塗布し、リント布で覆い、外科用テープで固定した。塗布 24 時間後にリント布及びテープを除去し、適用部位を注射用蒸留水を含ませた脱脂綿で拭き取った。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与日、投与後 1、7 及び 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ジベレリン 3.1%水溶剤 (粉末) のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 18)

試験機関：(財) 化学品検査協会 [GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度：3.1%水溶剤

【組成】	ジベレリン	3.1% (ジベレリン A ₃ として)
	湿展剤、増量剤	96.9%

供試動物：ニュージーランドホワイト種雄ウサギ、1群 6匹、5ヵ月齢、体重 3.573~4.515 kg

観察期間：72 時間

投与方法：動物の背部を剃毛し 2 区画の適用部位(A、B)を設け、検体 0.5 g を適量の精製水で湿らせてリント布(2.5×2.5 cm)上に展延したものを 4 時間閉塞貼付した。

観察項目：暴露後 1、24、48 及び 72 時間に皮膚の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン(59 農畜第 4200 号)に従って採点し、一次刺激性指数を求め、AFNOR(1982)の基準に従って刺激性を評価した。その他、一般状態を毎日観察し、体重を暴露日及び暴露後 72 時間に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次表のとおりであった。

暴露後 1 時間から 12 区画中 8 区画に非常に軽度の紅斑が、12 区画中 2 区画にはっきりした紅斑及び非常に軽度の浮腫が認められたが、48 時間後までに全て消失した。一次刺激性指数は 0.5 であった。

暴露後 72 時間の 3 例に体重減少が認められたが、いずれも一般症状において異常は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 3.1%水溶剤はウサギの皮膚に対して刺激性なしと判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

動物 番号	適用 部位	項 目	最高 評点	暴 露 後 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	A	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	B	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
2	A	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	B	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
3	A	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	B	紅斑・痂皮	4	2	1	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
4	A	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	B	紅斑・痂皮	4	2	1	0	0
		浮腫	4	1	0	0	0
5	A	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	B	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
6	A	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	B	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
合計		紅斑・痂皮	48	12	4	0	0
		浮腫	48	2	0	0	0
平均		紅斑・痂皮	4	1	0.3	0	0
		浮腫	4	0.2	0	0	0

2) ジベレリン 3.1%水溶剤 (粉末) のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 13)

試験機関：(財) 化学品検査協会

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度：3.1%水溶剤

[組成] ジベレリン 3.1% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、増量剤 96.9%

供試動物：ニュージーランドホワイト種雄ウサギ、4 ヶ月齢、体重 2.719~4.371 kg、
非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：10 日間

投与方法：検体 0.1 g を左眼に適用し、右眼は対照とした。洗眼群 3 匹は適用 2 分後に約 200 mL の微温湯
で 1 分間洗眼した。非洗眼群 6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用 1、24、48、72 及び 96 時間後、7 及び 10 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、
Draize の判定基準に従って採点した。刺激性の評価は AFNOR(1982)の基準に従って行った。適用
24 時間後にはフルオレセイン染色して角膜損傷の有無を観察した。その他、一般状態を毎日
観察し、体重を適用日、適用 7 及び 10 日後に測定した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

非洗眼群では、適用 24 時間後から瀰漫性の角膜混濁(角膜混濁面積 1/2 以下)が 6 例全例に認め
られたが、7 日後までに全て消失した。結膜においては、適用 1 時間後から明らかな充血、わ
ずかな浮腫及び眼瞼近縁の被毛をぬらす程度の分泌物が 6 例全例に認められたが、結膜の充血
は 10 日後、浮腫及び分泌物は 96 時間後までに全て消失した。また、適用 1 時間後には結膜の
点状出血が 2/6 例に観察された。

洗眼群では、適用 24 時間後から瀰漫性の角膜混濁(角膜混濁面積 1/4 以下)が 3 例全例に認めら
れたが、72 時間後までに全て消失した。結膜においては、適用 1 時間後から明らかな充血及
び眼瞼近縁の被毛をぬらす程度の分泌物が 3 例全例に、わずかな浮腫が 2/3 例に認められたが、
結膜の充血は 96 時間後、浮腫は 48 時間後、分泌物は 24 時間後までに全て消失した。

適用 7 日後の 8/9 例及び 10 日後の 2/9 例に体重減少が認められたが、いずれも一般症状におい
て異常は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 3.1 %水溶剤はウサギの眼に対して刺激性ありと判定された。また、
洗眼効果が認められた。

項目		最高 評点	適用後時間								
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	7日	10日		
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0
			面積	4	0	1	1	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	0	0	0
			浮腫	4	1	1	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	程度	4	0	1	1	1	1	0	0
			面積	4	0	1	1	1	1	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	0	0	1	0
	動物 番号 3	角膜混濁	程度	4	0	1	1	1	1	0	0
			面積	4	0	2	2	1	1	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	1	1	0	0	0
			分泌物	3	2	2	1	1	0	0	0
	動物 番号 4	角膜混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0
			面積	4	0	1	1	0	0	0	0
虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0		
結膜 ^a		発赤	3	1	1	1	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	2	0	1	0	0	0	
動物 番号 5	角膜混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0	
		面積	4	0	1	1	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	1	1	0	
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	3	1	0	0	0	0	
動物 番号 6	角膜混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0	
		面積	4	0	1	1	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜 ^a	発赤	3	1	1	1	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	1	0	0	0	0	0	
合計		660	48	79	61	28	20	4	0		
平均		110	8.0	13.2	10.2	4.7	3.3	0.7	0.0		
洗 眼 群 (3匹 平均)	角膜混濁	程度	4	0	1	0.7	0	0	0	0	
		面積	4	0	1	0.7	0	0	0	0	
	虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	0	0	0	
		浮腫	4	0.7	0.3	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	2	0	0	0	0	0	0	
合計 ^a		110	7.3	7.7	5.3	2.0	0.0	0.0	0.0		

*: Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

a: 適用 1 時間後に点状出血が認められた。

(3) 皮膚感作性

1) ジベレリン 3.1%水溶剤 (粉末) のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 21)

試験機関：(財) 化学品検査協会

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

検体純度：3.1%水溶剤

[組成] ジベレリン 3.1% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、増量剤 96.9%

供試動物：Hartley 系雌モルモット、投与開始時 4 週齢、投与開始時体重 230~270 g、1 群 10~20 匹

観察期間：感作開始後 24 時間

試験操作：[Maximization 法]

投与量設定根拠：

感作；一次感作 (皮内)

肩甲骨上を剃毛し、正中線の両側 6 箇所 (2×4 cm) にそれぞれ以下に示す 3 対の皮内投与 (0.05 mL/箇所) を行った。

上 部：Freund's complete adjuvant (FCA) と注射用蒸留水の 1:1 (v/v) 乳化液

中央部：検体の 0.25%水溶液、あるいは陽性対照 2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)の 0.1% オリーブ油溶液

下 部：検体の 0.5%水溶液と FCA の 1:1 (v/v) 乳化液、あるいは DNCB の 0.2% FCA 溶液と蒸留水の 1:1 (v/v) 乳化液

検体非感作群には FCA と注射用蒸留水の 1:1 (v/v) 乳化液を 2 対皮内投与した。

二次感作 (経皮)

一次感作の 6 日後、肩甲骨上を再度剃毛し、検体感作群及び検体非感作群には 10%ラウリル硫酸ナトリウム含有ワセリンを適用した。その翌日、検体の 2.5%水懸濁液あるいは 0.5% DNCB エタノール溶液をそれぞれ 0.2 mL 含ませたリント布 (2×4 cm) を 48 時間閉塞貼付した。検体非感作群には注射用蒸留水を同様に処置した。

惹起；二次感作の 2 週間後、剃毛した側腹部に、検体の 1%及び 0.1%水溶液あるいは 0.1% DNCB エタノール溶液をそれぞれ 0.1 mL 含ませたリント布 (2×2 cm) を 24 時間閉塞貼付した。

検体非感作群は検体感作群と同様に処置した。

観察項目：惹起後 24 及び 48 時間に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察して、Magnusson and Kligman の判定基準に従って採点し、皮膚感作性の強さを評価した。その他、全動物について一般症状を毎日観察し、体重を感作開始日ならびに感作開始後 7、14 及び 24 日に体重を測定した。

結 果：各観察時間において感作変化が認められた動物数及びその評点を次表に示した。

群	感作	惹起	供試動物数	皮膚反応	感作反応動物数										感作率 (%)		
					24 時間					48 時間					24 時間	48 時間	総 合
					皮膚反応 評点				計	皮膚反応 評点				計			
					0	1	2	3		0	1	2	3				
検 体	皮内： 0.25%検体*	1%検体*	20	紅斑・浮腫	4	16	0	0	16/20	7	13	0	0	13/20	80	65	85
	経皮： 2.5%検体*	0.1%検体*	20	紅斑・浮腫	11	9	0	0	9/20	14	6	0	0	6/20	45	30	45
	皮内：－	1%検体*	20	紅斑・浮腫	2	18	0	0	18/20	4	16	0	0	16/20	90	80	90
	経皮： 蒸留水	0.1%検体*	20	紅斑・浮腫	8	12	0	0	12/20	12	8	0	0	8/20	60	40	60
陽性対照	皮内： 0.1% DNCB 経皮： 0.5% DNCB	0.1% DNCB	10	紅斑・浮腫	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100	100

*：ジベレリン 3.1%水溶剤

検体感作群では、1及び0.1%水溶液による惹起ともに、惹起後24時間及び48時間の観察において散在性の軽度の紅斑が認められたが、検体非感作群にも同様の皮膚反応が認められ、程度及び頻度に明白な差異はみられなかった。

一方、陽性対照群では惹起後24時間及び48時間の観察において強度の紅斑及び浮腫が全例に認められた。

一般症状及び体重では何ら異常は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 3.1%水溶剤は本試験条件下(Maximization法)で皮膚感作性なしと判定した。

[4.55%水溶剤 (錠剤)]

(1) 急性毒性

1) ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 5)

試験機関: Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検 体: ジベレリン錠剤

検体純度: 4.55%錠剤

[組 成] ジベレリン 4.55% (ジベレリン A₃として)
界面活性剤、有機酸等 95.45%

供試動物: SD 系ラット、約 5~8 週齢、体重; 雄 143~151 g、雌 135~164 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁し、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。

投与前一晚及び投与後約 2 時間絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与後 7 及び 14 日に測定した。

試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果:

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

2) ジベレリン 4.55%水溶液 (錠剤) のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 6)

試験機関: Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体純度: 4.55%錠剤

[組成] ジベレリン 4.55% (ジベレリン A₃として)
界面活性剤、有機酸等 95.45%

供試動物: CD1 系白色マウス、約 6~8 週齢、体重; 雄 22~24 g、雌 20~21 g、
1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁し、胃ソンドを用いて単回強制経口投与した。投与量は 10 mL/kg とした。
投与前 3~4 時間及び投与後約 2 時間絶食させた。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与後 7 及び 14 日に測定した。
試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

3) ジベレリン 4.55%水溶液 (錠剤) のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 11)

試験機関: Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体純度: 4.55%錠剤

[組成] ジベレリン 4.55% (ジベレリン A₃として)
界面活性剤、有機酸等 95.45%

供試動物: SD系ラット、約10~14週齢、体重; 雄200~243g、雌200~217g、1群雌雄各5匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体を、剃毛し蒸留水で湿らせた背部及び側部(体表総面積の約10%)に均一に塗布し、半閉塞貼付した。塗布24時間後に適用部位を注射用蒸留水で湿らせた脱脂綿で拭き取った。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。体重は投与日、投与後7及び14日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

中毒症状及び死亡例は認められなかった。

適用部位の刺激性変化として、雌に表皮のひびわれ、散在性の小さな痂皮及び硬化した淡褐色/濃褐色の痂皮ならびにその他の皮膚反応の周囲のはっきりとした紅斑が投与後8日まで観察された。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 19)

試験機関: Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体純度: 4.55%錠剤

[組成] ジベレリン 4.55%
界面活性剤、有機酸等 95.45% (ジベレリン A₃として)

供試動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、約 12~16 週齢、体重 2.52~2.89 kg、1 群 6 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 動物の腹背部を剃毛し、微粉化した検体 0.5 g を蒸留水 0.5 mL で湿らせてガーゼパッチ (2.5 × 2.5 cm) 上に展延したものを適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は蒸留水に浸した脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目: 暴露後 1、24、48 及び 72 時間に皮膚の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点し、一次刺激性指数を求めて評価した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次表のとおりであった。

動物番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
168 (雄)	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
169 (雄)	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
172 (雌)	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
174 (雌)	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
175 (雄)	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
177 (雄)	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	4	1	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.7	0.2	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

暴露後 1 時間に非常に軽度の紅斑が 4 例に認められ、うち 1 例は 24 時間後にも継続してみられたが、48 時間後までに全て消失した。一次刺激性指数は 0.1 であった。

以上の結果から、ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性ありと判定した。

2) ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 14)

試験機関: Safepharma Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体純度: 4.55%錠剤

[組成] ジベレリン 4.55% (ジベレリン A₃として)
界面活性剤、有機酸等 95.45%

供試動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ、約 12~16 週齢、体重 2.58~3.20 kg、
非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体 0.1 mL (約 78 mg) を右眼に適用し、左眼は対照とした。洗眼群 3 匹は適用 2~3 分後に 100 mL の微温の蒸留水で洗眼した。非洗眼群 6 匹については洗眼しなかった。

観察項目: 適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。非洗眼群については、眼に対する刺激性変化の可逆性を評価するために 7 及び 14 日後に追加の観察を行った。観察は Draize の判定基準に従って採点し、刺激性の評価は Kay and Calandra の方法の修正版に基づき行った。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

非洗眼群では、適用 1 時間後から虹彩の炎症及び軽微から中等度の結膜に対する刺激性反応が 6 例全例に、適用 24 時間後から瀰漫性の角膜混濁が 5/6 例に認められた。これらの局所反応は 14 日後までに全て消失した。また、その他の反応として、角膜表面の正常な光沢の鈍化及び角膜の血管新生が認められた。刺激性反応の平均合計評点の最大値は適用 24 時間後の 20.8 であった。

洗眼群では、適用 1 時間後から虹彩の炎症及び軽微から中等度の結膜に対する刺激性反応が 3 例全例に認められた。これらの局所反応は適用 72 時間後には全て消失した。また、その他の反応として、角膜表面の正常な光沢の鈍化が認められた。刺激性反応の平均合計評点の最大値は適用 1 時間後の 13.7 であった。

以上の結果から、ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) はウサギの眼に対して、非洗眼群では中等度の刺激性あり、洗眼群では軽度の刺激性と判定されたが、洗眼効果は認められた。

項 目			最高 評点	適用後時間							
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日	14日		
非 洗 眼 群	動物 番号 185 (雄)	角膜混濁	程度	4	0 ^a	1	1	0	0	—	
			面積	4	4	3	1	0	0	—	
		虹 彩			2	1	1	1	1	0	—
		結 膜	発赤	3	2	2	2	2	0	—	
			浮腫	4	2	2	2	1	0	—	
			分泌物	3	3	2	1	1	0	—	
	動物 番号 153 (雄)	角膜混濁	程度	4	0 ^a	1	0	0	—	—	
			面積	4	4	1	0	0	—	—	
		虹 彩			2	1	1	0	0	—	—
		結 膜	発赤	3	1	2	1	0	—	—	
			浮腫	4	1	1	1	0	—	—	
			分泌物	3	2	0	0	0	—	—	
	動物 番号 157 (雌)	角膜混濁	程度	4	0 ^a	1	0	0	—	—	
			面積	4	4	1	0	0	—	—	
		虹 彩			2	1	1	0	0	—	—
		結 膜	発赤	3	2	2	1	0	—	—	
			浮腫	4	2	2	1	0	—	—	
			分泌物	3	2	1	0	0	—	—	
動物 番号 160 (雄)	角膜混濁	程度	4	0 ^a	1	1	1	1 ^b	0		
		面積	4	4	3	2	2	1	0		
	虹 彩			2	1	1	1	1	0		
	結 膜	発赤	3	2	2	2	2	1	0		
		浮腫	4	2	2	1	2	1	0		
		分泌物	3	3	2	0	2	1	0		
動物 番号 183 (雌)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	—	—		
		面積	4	0	0	0	0	—	—		
	虹 彩			2	1	0	0	0	—	—	
	結 膜	発赤	3	1	1	0	0	—	—		
		浮腫	4	1	0	0	0	—	—		
		分泌物	3	1	0	0	0	—	—		
動物 番号 184 (雄)	角膜混濁	程度	4	0	1	1	0	0	—		
		面積	4	0	2	1	0	0	—		
	虹 彩			2	1	1	0	0	0	—	
	結 膜	発赤	3	1	2	1	1	0	—		
		浮腫	4	1	1	1	0	0	—		
		分泌物	3	1	1	0	0	0	—		
合 計			660	90	125	58	42	11	0		
平 均			110	15.0	20.8	9.7	7.0	1.8	0		
洗 眼 群 (3 匹 平均)	角膜混濁	程度	4	0 ^a	0	0	0	—	—		
		面積	4	1.3	0	0	0	—	—		
	虹 彩			2	1	0	0	0	—	—	
	結 膜	発赤	3	1.3	1.3	0.3	0	—	—		
		浮腫	4	1.3	0.7	0	0	—	—		
		分泌物	3	1.7	0	0	0	—	—		
合 計			110	13.7	4.0	0.7	0	—	—		

* : Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

— : 実施せず

a : 通常みられる角膜表面の光沢の鈍化

b : 角膜の血管新生

3) ジベレリン 4.55 % 水溶剤 (錠剤) の 100 ppm 希釈液のウサギを用いた眼刺激性試験 (資料 15)

試験機関: Safepharma Laboratories Limited
[GLP 対応]
報告書作成年: 1993 年

検体純度: 4.55 % 錠剤

[組成] ジベレリン 4.55 % (ジベレリン A₃ として)
界面活性剤、有機酸等 95.45 %

供試動物: ニュージージーランドホワイト種ウサギ、約 12~16 週齢、体重 2.74~3.47 kg、1 群 6 匹

観察期間: 72 時間

投与方法: 粉碎し、蒸留水で 100 ppm 希釈液に調製した検体 0.1 mL を右眼に適用し、左眼は対照とした。
洗眼は行わなかった。

観察項目: 適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize の判定基準に従って採点した。刺激性の評価は Kay and Calandra の方法の修正版に基づき行った。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。
いずれの観察時間においても眼一次刺激性は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 4.55 % 水溶剤 (錠剤) の 100 ppm 希釈液はウサギの眼に対して、刺激性なしと判定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

項 目			最高 評点	適用後時間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
動物 番号 157 (雌)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	
動物 番号 199 (雄)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	
動物 番号 213 (雄)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	
動物 番号 214 (雄)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	
動物 番号 215 (雄)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	
動物 番号 186 (雄)	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
分泌物		3	0	0	0	0	
合 計 ^a			660	0	0	0	0
平 均			110	0	0	0	0

a : Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

(3) 皮膚感作性

1) ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 22)

試験機関: Safeparm Laboratories Limited

[GLP 対応]

報告書作成年: 1992 年

検体純度: 4.55%錠剤

[組成] ジベレリン 4.55% (ジベレリン A₃として)

界面活性剤、有機酸等 95.45%

供試動物: Hartley 系雌モルモット、投与開始時約 8~12 週齢、投与開始時体重 326~442 g、

1 群 10~20 匹

観察期間: 感作開始後 30 日間

試験操作: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作: 左腹側部を剃毛し、検体感作群には検体の 75%水溶液 0.5 mL を吸湿性リント布 (約 15 × 35 mm) にしみ込ませたものを 6 時間閉塞貼付した。感作は、週 1 回の割合で、合計 3 回実施した。

陽性対照 (DNCB 感作) 群には 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) の 0.5%エタノール溶液を検体感作群と同様に処置した。

検体非感作群及び陽性対照非感作群には検体あるいは DNCB を除き感作群と同様に処置した。

惹起: 最終感作の 2 週間後に、右腹側部を剃毛し、検体の 50 及び 75%水溶液あるいは 0.15% DNCB エタノール溶液それぞれ 0.5 mL を感作と同様に処置した。

検体非感作群及び陽性対照非感作群に対しても同様の処置を行った。

観察項目: 各感作後 24 時間ならびに惹起後 24 時間及び 48 時間に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、下記の基準に従って採点した。その他、体重を試験開始時及び終了時に測定した。

評点	判定基準
0	反応なし
1	散在性の軽度の紅斑
2	中等度のびまん性の紅斑
3	強度の紅斑と浮腫

結果: 各観察時間において感作変化が認められた動物数及びその評点を次表に示した。

検体感作群及び検体非感作群では、各感作後及び惹起後のいずれの観察においても、適用部位に紅斑、浮腫等の皮膚反応は認められなかった。

一方、陽性対照群では、各感作及び惹起後の観察において、散在性の軽度の紅斑または中等度のびまん性の紅斑が 10 例全例に認められた陽性対照非感作群では、惹起 24 時間及び 48 時間後の観察において、それぞれ 4/10 例及び 3/10 例に散在性の軽度の紅斑が認められた。

体重では何ら異常は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

群	感作	惹起	供試動物数	皮膚反応	感作反応動物数								感作率 (%)				
					24 時間				48 時間				計	24 時間	48 時間	総合	
					皮膚反応 評点				計	皮膚反応 評点							
					0	1	2	3		0	1	2					3
検体	75%検体*	50%検体*	20	紅斑・浮腫	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
		75%検体*	20	紅斑・浮腫	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
	蒸留水	50%検体*	20	紅斑・浮腫	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
		75%検体*	20	紅斑・浮腫	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
陽性対照	0.5%DNCB	0.15% DNCB	10	紅斑・浮腫	0	0	10	0	10/10	0	9	1	0	10/10	100	100	100
	イタール	0.15% DNCB	10	紅斑・浮腫	6	4	0	0	4/10	7	3	0	0	3/10	40	30	40

*: ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤)

以上の結果から、ジベレリン 4.55%水溶剤 (錠剤) は本試験条件下 (Buehler 法) で皮膚感作性なしと判定された。

[0.50%液剤]

(1) 急性毒性

1) ジベレリン 0.50%液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 7)

試験機関：(株) ポリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度：0.50%液剤

[組成] ジベレリン 0.50% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、有機溶剤等 99.5%

供試動物：SD 系ラット、1 群雌雄各 5 匹、7 週齢、体重；雄 215～230 g、雌 164～176 g

観察期間：14 日間

投与方法：検体を注射用水で所定濃度に調製し、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。投与前一晚 (約 16 時間) 及び投与後 6 時間絶食させた。対照群には注射用水のみを同様に投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 1、2、3、7、10 及び 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	投与後 5 分から発現 投与後 1 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 < 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

中毒症状では、雌雄に関係なく自発運動の減少、腹臥位及び呼吸数の減少が認められ、その他一部の動物に流涎、歩行異常または流涙が認められた。

体重では、投与後 1～2 日に雄の数例で体重減少が認められた。

剖検では検体投与による影響は認められなかった。

2) ジベレリン 0.50%液剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 8)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター
[GLP 対応]
報告書作成年：1992 年

検体純度：0.50%液剤

[組成] ジベレリン 0.50% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、有機溶剤等 99.5%

供試動物：ICR 系マウス、7 週齢、体重；雄 28.2~29.5 g、雌 21.4~22.3 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を注射用水で所定濃度に調製し、胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与液量は 10 mL/kg とした。投与前一晚 (約 16 時間) 及び投与後 6 時間絶食させた。対照群には注射用水のみを同様に投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 1、2、3、7、10 及び 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 5000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	投与後 5 分から発現 投与後 2 日に消失
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 < 5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 5000

中毒症状では、雌雄に関係なく自発運動の減少、腹臥位、呼吸数の減少及び歩行異常が認められ、さらに雌では間代性痙攣が認められた。

体重では、投与後 1~2 日に雄で軽度な体重減少または増加抑制が認められた。

剖検では検体投与による影響は認められなかった。

3) ジベレリン 0.50%液剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 12)

試験機関：(株) ポゾリサーチセンター
 [GLP 対応]
 報告書作成年：1992 年

検 体：ジベレリン液剤

検体純度：0.50%液剤

[組 成] ジベレリン 0.50 % (ジベレリン A₃として)
 湿展剤、有機溶剤等 99.5 %

供試動物：SD 系ラット、7 週齢、体重；雄 256～267 g、雌 182～194 g、1 群 雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：検体を注射用水で所定濃度に調製し、刈毛した背部 (4 × 5 cm) に塗布し、ガーゼで覆い、サージカルテープで固定した。塗布 24 時間後にガーゼを除去し、適用部位を温水を浸した脱脂綿で拭き取った。対照群には注射用水のみを同様に投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。体重は投与直前、投与後 1、2、3、7、10 及び 14 日に測定した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄雌共 > 2000
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現時間 及び消失時間	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄雌共 2000

中毒症状及び死亡は認められなかった。また、適用部位の皮膚にも刺激性変化及びその他の異常は認められなかった。

体重及び剖検では検体投与による影響は認められなかった。

(2) 皮膚刺激性及び眼に対する刺激性

1) ジベレリン 0.50%液剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 20)

試験機関：(株) ポリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度：0.50%液剤

[組成] ジベレリン 0.50% (ジベレリン A₃として)
 湿展剤、有機溶剤等 99.5%

供試動物：日本白色種 雌ウサギ、15 週齢、体重 2.51~2.67 kg、1 群 6 匹

観察期間：72 時間

投与方法：動物の背部を刈毛し左右 2 ヶ所の適用部位を設け、左側には検体 0.5 mL をリント布 (2.5 × 2.5 cm) 上に展延したものを適用し、閉塞貼付した。右側は無処置対照群とし、検体を除き同様に処置した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は蒸留水で湿らせた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目：暴露後 1、24、48 及び 72 時間に皮膚の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン (59 農産第 4200 号) に従って採点した。刺激性の評価は Draize 法を参考に一次刺激性指数を求めて行った。また、一般症状を毎日観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次表のとおりであった。

動物 番号	項目	最高 評点	暴露後時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1101	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1104	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1105	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1106	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	0	0	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

観察期間を通して、紅斑、浮腫及び痂皮形成等の刺激性変化は認められず、一次刺激性指数は 0 であった。また、一般症状に異常は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 0.50%液剤はウサギの皮膚に対して刺激性なしと判定した。

2) ジベレリン 0.50%液剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 16)

試験機関：(株) ポソリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度：0.50%液剤

[組成] ジベレリン原体 0.50% (ジベレリン A₃として)
湿展剤、有機溶剤等 99.5%

供試動物：日本白色種雌ウサギ、14 週齢、体重 2.65～3.13 kg、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：6 日間

投与方法：検体または検体の 50 倍希釈液 0.1 mL を左眼に適用し、右眼は対照とした。洗眼群 3 匹は検体 0.1 mL を非洗眼群と同様に適用し、適用 2～3 分後に 200 mL の微温湯で 1 分間洗眼した。

観察項目：適用 1、24 時間後、2、3、4、5 及び 6 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン(59 農畜第 4200 号)に従って採点した。刺激性の評価は Federal Register 37, 8534 (1972)に従って行った。適用 24 時間後にはフルオレセイン染色して角膜損傷の有無を観察した。また、眼におけるその他の反応及び一般状態を毎日観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

検体原液の非洗眼群では、適用 1 時間後に結膜発赤(評点 1)及び結膜浮腫(評点 2～3)が 6 例全例に認められた。適用 24 時間後には結膜浮腫は軽減あるいは消失したが、結膜発赤は増強(評点 2)し、また 5/6 例には角膜混濁(評点 1)も認められた。角膜混濁及び結膜発赤は 6 日後、結膜浮腫は 48 時間後までに全て消失した。その他の反応として、適用直後から閉眼、適用 5～10 分から分泌物が全例に観察された。閉眼は 5 時間後、分泌物は 48 時間後までに全て消失した。

検体原液の洗眼群では、適用 1 時間後から結膜発赤(評点 1～2)及び結膜浮腫(評点 1～2)が 3 例全例に、適用 24 時間後から角膜混濁(評点 1)が 2/3 例に認められた。角膜混濁は 72 時間後、結膜発赤は 6 日後、結膜浮腫は 24 時間後までに全て消失した。その他の反応として、適用直後から閉眼、適用 30 分から分泌物が観察された。閉眼は 2 時間後、分泌物は 6 時間後までに全て消失した。

検体 50 倍希釈液では、いずれの観察時間においても眼一次刺激性は認められず、その他の反応もみられなかった。

いずれの試験群においても一般状態に異常は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 0.50%液剤はウサギの眼に対して、強い刺激性ありと判定され、洗眼効果が認められた。また 50 倍希釈液では刺激性なしと判定された。

表1 試験結果(原液)

項目	最高 評点	適用後時間								
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	6日		
非 洗 眼 群	動物 番号 1101	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	1
	浮腫		4	2	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 1102	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	0	0
	浮腫		4	2	0	0	0	0	0	0
	動物 番号 1103	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0	0
		虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	0	0
	浮腫		4	3	0	0	0	0	0	0
動物 番号 1104	角膜混濁	4	0	1	1	1	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	1	0
浮腫		4	3	1	0	0	0	0	0	
動物 番号 1105	角膜混濁	4	0	1	1	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	1	0
浮腫		4	3	1	0	0	0	0	0	
動物 番号 1106	角膜混濁	4	0	1	1	1	1	1	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	1	0
浮腫		4	3	1	0	0	0	0	0	
合計		78	22	20	16	8	5	5	0	
平均		13	3.7	3.3	2.7	1.3	0.8	0.8	0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜混濁	4	0	0.7	0.7	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0.7	2	1	1	0.7	0.7	0
		浮腫	4	1.7	0	0	0	0	0	0
	合計		13	2.3	2.7	1.7	1	0.7	0.7	0

表2 試験結果 (50倍希釈液)

項目	最高 評点	適用後時間								
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	6日		
動物 番号 3101	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 3102	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 3103	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 3104	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 3105	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
動物 番号 3106	角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	
	虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	0	0	0	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0	0	0	0
合計		78	0	0	0	0	0	0	0	
平均		13	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

(3) 皮膚感作性

1) ジベレリン 0.50 %液剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 23)

試験機関：(株) ポゾリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度：0.50 %液剤

[組成] ジベレリン 0.50 % (ジベレリン A₃として)
湿展剤、有機溶剤等 99.5 %

供試動物：Hartley 系雌モルモット、投与開始時 7 週齢、投与開始時体重 336~422 g、1 群 10~20 匹

観察期間：感作開始後 24 日間

試験操作：[Maximization 法]

投与量設定根拠：

感作；一次感作（皮内）

肩甲骨上を剃毛し、正中線の両側 6 箇所 (4 × 6 cm) にそれぞれ以下に示す 3 対の皮内投与 (0.05 mL/箇所) を行った。

上 部：Freund's complete adjuvant(FCA)と注射用水の 1 : 1 (v/v) 乳化液

中央部：検体の 5 %水溶液、あるいは陽性対照 2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)の 0.1 %オリーブ油溶液

下 部：検体の 10%水溶液と FCA の 1 : 1 (v/v) 乳化液、あるいは DNCB の 0.2% FCA 溶液と注射用水の 1 : 1 (v/v) 乳化液

対照群：(検体非感作群及び陽性対照非感作群) には投与液に検体あるいは DNCB を除き、上記と同様に処置した。

二次感作（経皮）

一次感作の 6 日後、肩甲骨上を再度剃毛し、10 %ラウリル硫酸ナトリウム含有ワセリン 0.2 g を適用した。24 時間後に適用部位をエーテルで湿らせた脱脂綿で拭き取り、検体あるいは 1% DNCB オリーブ油溶液をそれぞれ 0.2 mL 塗布したパッチ(直径 2.5 cm) を 48 時間閉塞貼付した。対照群には注射用水あるいはオリーブ油を同様に処置した。

惹起；二次感作の 2 週間後、左右側胸部(各 5 × 5 cm) を剃毛し、左側胸部には検体あるいは 0.01% DNCB オリーブ油溶液を、右側胸部には注射用水あるいはオリーブ油を、それぞれ 0.1 mL 塗布したパッチ(直径 2.5 cm) を 24 時間閉塞貼付した。

対照群は感作群と同様に処置した。

観察項目：惹起後 24 及び 48 時間に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察して、Magnusson and Kligman の判定基準に従って採点し、皮膚感作性の強さを評価した。その他、全動物について一般症状を毎日観察し、体重を一次感作日、二次感作日、惹起日及び惹起後 3 日に体重を測定した。

結 果：各観察時間において感作変化が認められた動物数及びその評点を次表に示した。

検体感作群及び検体非感作群では、惹起後 24 時間及び 48 時間の観察において、紅斑、浮腫等の皮膚反応は認められなかった。

一方、DNCB 対照群では、惹起後 24 時間及び 48 時間の観察において軽度～中等度の紅斑が全例に認められた。DNCB 非感作群では皮膚反応は認められなかった。

一般症状及び体重では何ら異常は認められなかった。

群	感作		供試動物数	皮膚反応	感作反応動物数								感作率 (%)				
					24 時間				48 時間				24 時間	48 時間	総合		
	惹起				皮膚反応 評点				計	皮膚反応 評点						計	
					0	1	2	3		0	1	2	3				
検 体	皮内： 5%検体*	100%検体*	20	紅斑・浮腫	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
	経皮： 100%検体*				20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0	0
陽 性 対 照	皮内： 0.1%DNCB	0.01% DNCB	10	紅斑・浮腫	0	6	4	0	10/10	0	5	5	0	10/10	100	100	100
	経皮： 1%DNCB				10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
	皮内： オリーブ油	0.01% DNCB	10	紅斑・浮腫	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0
	経皮： オリーブ油				10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0	0

*：ジベレリン 0.50%液剤

以上の結果から、ジベレリン 0.50 %液剤は本試験条件下(Maximization 法)で皮膚感作性なしと判定した。

[2.7%塗布剤]

(1) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) ジベレリン 2.7%塗布剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 17)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度：2.7%塗布剤

[組成]	ジベレリン	2.7 % (ジベレリン A ₃ として)
	油脂類等	97.3 %

供試動物：日本白色種 雌ウサギ、15 週齢、体重 2.61~2.92 kg、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹

観察期間：72 時間

投与方法：検体 0.1 g を左眼に適用し、右眼は対照とした。洗眼群 3 匹は適用 2~3 分後に 200 mL の微温湯で 1 分間洗眼した。非洗眼群 6 匹については洗眼しなかった。

観察項目：適用 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、農水省ガイドライン (59 農蚕第 4200 号)に従って採点した。刺激性の評価は Federal Register 37, 8534(1972)に従って行った。適用 24 時間後にはフルオレセイン染色して角膜損傷の有無を観察した。また、眼におけるその他の反応及び一般状態を毎日観察した。

結果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりであった。

非洗眼群では、いずれの観察時間においても角膜、虹彩及び結膜に刺激反応は認められなかった。その他の反応として、全例に適用直後から閉眼、適用 30 分後から分泌物が観察された。閉眼は 1 時間後、分泌物は 24 時間後までに全て消失した。

洗眼群では、非洗眼群と同様にいずれの観察時間においても角膜、虹彩及び結膜に刺激反応は認められなかったが、その他の反応として適用 5 分後に閉眼が 1/3 例に観察された。

一般状態に異常は認められなかった。

以上の結果から、ジベレリン 2.7%塗布剤はウサギの眼に対して、刺激性なしと判定された。

項 目		最高 評点	適用後時間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 1101	角膜混濁	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 1102	角膜混濁	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 1103	角膜混濁	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 1104	角膜混濁	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	動物 番号 1105	角膜混濁	4	0	0	0	0
		虹 彩	2	0	0	0	0
結膜	発赤	3	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	
動物 番号 1106	角膜混濁	4	0	0	0	0	
	虹 彩	2	0	0	0	0	
結膜	発赤	3	0	0	0	0	
	浮腫	4	0	0	0	0	
合 計		78	0	0	0	0	
平 均		13	0	0	0	0	
洗眼群 (3 匹平均)	角膜混濁		4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
	合 計		13	0	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

3. 参考

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M1	動物代謝 [吸収・排泄・組織分布]	ラット	経口投与	[4,6,13,14- ¹⁴ C]ジベレリン 単回投与 低用量 5 mg/kg 高用量 1000 mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> 低用量投与の場合、投与した ¹⁴C-ジベレリンは 24 時間以内に大部分(92.1~96.7%)が排泄された(♂♀:糞 95.4~95.5%、尿 3.0~4.1%)。呼気中には放射能は検出されなかった。 組織中 ¹⁴C-ジベレリンは投与後 0.75 時間で最高値に達し、胃および腸で比較的高い値、腎臓および肝臓で中程度の値を示した。 投与 7 日後における組織残留量は全般的に低い値を示した。 	根本特殊化学株式会社 (武田薬品工業株式会社) (1993 年)	代 5
	動物代謝 [蓄積性]		経口投与	[4,6,13,14- ¹⁴ C]ジベレリン 7 日間反復投与 1 日 1 回 5 mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> 投与した ¹⁴C-ジベレリンは、最終投与後 1 日目までに大部分(全投与量の 96.8~97.2%)が排泄された 組織中 ¹⁴C は最終投与後 0.75 時間、胃及び腸で比較的高い値、腎臓、肝臓、盲腸で中程度の値を示した。 最終投与 1 日後では、盲腸及び腸以外では全般的に低い値を示した。 		代 12
	動物代謝 [代謝]		経口投与	[4,6,13,14- ¹⁴ C]ジベレリン 単回投与 低用量 5 mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> 投与後 7 日間に得られた尿及び糞中の大部分は未変化の親化合物であり、Isogibberellin A₃ [B] が 9.0~11.7%、Gibberellic acid が 5.8~7.1%検出された。雌のみ Allogibberic acid [D] が微量(0.2%)検出された。 加水分解を主とする経路が推定された。 		代 15
	植物代謝	農薬の有効成分の種類から見て、その毒性が極めて弱いことにより安全と認められることから、試験省略。					代 17
P1 文献	植物代謝	高等植物 植物培養細胞		同位体ラベルジベレリン	<ul style="list-style-type: none"> C₂₀ ジベレリンの代謝、変換経路 C₁₉ ジベレリンの代謝・変換経路 ジベレリンの配糖体分化経路 ① 水酸化 (C-1,C-2,C-3,C-11,C-12,C-13, C-15,C-16,C-18) ② 脱水素化 (環の二重結合化) ③ エポキシ化 (C-2/3GC-5 から GC-6 への変換) ④ ケトン生成 ⑤ C-7 位酸化 (C-6 カルボキシル化) ⑥ C-7 カルボキシル基のエステル化 (メチル、n-プロピル) ⑦ C-18 位酸化 (C-4βカルボキシル化) ⑧ C-20 位水酸化 (ラクトン環) ⑨ C-20 位酸化 (C-10 カルボキシル化) ⑩ C₂₀→C₁₉ ジベレリンへの変換 ⑪ ジベレリン異化 ⑫ 配糖体形成 	農業環境技術研究所 (1987 年)	代 17
P2 文献	植物代謝	植物培養細胞 (ニンジンアサガオ)	培養液	[H ³]ジベレリン A ₄	<ul style="list-style-type: none"> 48 時間で投与されたジベレリンは代謝され、主に GA₁ の配糖体となる(44.07%) 	農業環境研究所、筑波大学、カルガリー大学 (1985 年)	
				[H ³]ジベレリン A ₃	<ul style="list-style-type: none"> 48 時間で投与されたジベレリンのほとんどは配糖体となる (GA₁; 21.5%、GA₃; 37.8%)。 		
P3 文献	植物代謝	園芸植物			GA の生合成・代謝経路 生合成 ・メパロン酸またはビルビン酸+グリセルアルデヒド→イソペンテニル 2 りん酸→カウレン→GA ₁₂ アルデヒド (ジバ	(独)農業・生物系特定産業技術研究機構花き研究所 (2004 年)	

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁	
					ン骨格) →各種 GA ・GA ₃ は多種の植物で存在が確認されている。			
P4 文献	植物代謝	無傷植物、器官、組織培養組織			・ジベレリン配糖体の糖部分はいずれもグルコース。生理活性の強い GA の不活性化の生理過程と推定される。 ①ジベレリングルコシルエーテル (ジベレリンの水酸基と糖のエーテル結合) ②ジベレリングルコシルエステル (ジベレリンのカルボキシル基と糖のエステル結合) ・キュウリから GA ₃ -n プロピルエステルを単離	農業生物資源研究所 (1985年)		
P5 文献	植物代謝				前駆体 GA → 活性型 GA → 不活性型 GA に関する酵素、代謝経路の総説	理化学研究所植物科学研究センター (2007年)		
P6 文献	植物代謝	きゅうり葉切片		1%蔗糖 放射性標識 GA ₃ 1000 ppm 溶液	GA ₃ のβ-O-グルコシド ・アサガオ、サツマイモ、カキ、らっかせい、黄色ルピナス、モモでも同様の代謝を確認	農業環境技術研究所 (1961年)	(代 25)	
P7 文献	植物代謝	いんげんまめ幼苗	散布	[H ³]ジベレリン A ₃	①GA ₃ の3-β-O-グルコシド ②iso GA ₃ の3-β-O-グルコシド ③gibberellic acid の3-β-O-グルコシド ④未同定ジベレリン様物質のβ-グルコシド 放射性代謝物の経時変化	東北大学農学部 (1974年)	(代 26)	
P8 文献	植物代謝	アサガオ未熟種子		[H ³]ジベレリン A ₃	①iso GA ₃ の3-β-O-グルコシド ②gibberellic acid の3-β-O-グルコシド	東京大学農学部 (1969年)		
P9 文献	植物代謝	アカツメクサ茎	茎頂に注入	[H ³]ジベレリン A ₃	非開花遺伝子型 → allo-gibberic acid に分解 ・通常型 → gibberellic acid に類似した化合物に分解	Welsh Plant Breeding Station (1966年)	(代 30)	
P10 文献	植物代謝	アサガオ未熟種子			・Pharbitic acid(Gibberethione)は GA ₃ が酸化されたα, β不飽和体にシステインが付加して生成される。 ・GA ₃ 作用がないことから、グルコシドと同様に GA ₃ 量と生理活性を制御する機能を果たす。	東京大学農学部 (1974年)		
P11 文献	植物代謝	葉		GA ₃	・マメ科では GA ₃ グルコシドの生成が顕著 (インゲンでは品種間差あり) ・ヒルガオ科、キク科で GA ₃ グルコシドの生成を確認 ・イネ科、ナス科、バラ科では GA ₃ グルコシドの生成は困難	横浜国大 (1976年)		
P12 文献	植物代謝	アサガオ胚軸		¹⁴ C-GA ₃	GA ₃ グルコシド (3-O-β-D-glucopyranosyl-GA ₃)	University of Nijmegen (1975年)	(代 32)	
	土壌中動態	農業の有効成分の種類から見て、その毒性が極めて弱いことにより安全と認められることから、試験省略。						代 34
S1 参考資料 (文献)	土壌中動態 (土壌中分解)	畑地土壌	インゲン (GA ₃ からグルコシドを生成する品種と、ほとんど生成しない品種の2種) の葉を 10 ppm の GA ₃ 溶液に浸漬し、風乾・貯蔵した後に細片とし、土壌に混合。		GA ₃ グルコシド (結合型) は土壌中で速やかに分解され、遊離型の GA ₃ になる。遊離型の GA ₃ は7日後にも分解されない。	横浜国大 (1960年)		

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
S1 参考資料 (文献)	土壌中動態 (微生物代謝)				GA ₃ は <i>Brevibacterium gibberellium</i> により分解される。	協和醸酵 東京研究所 (1960年)	
W1 (GLP)	水中動態 (加水分解)	各種緩衝液; pH 4.0 7.0 9.0	各種緩衝液に添加し、25及び40℃の恒温室で保管	ジベレリン A ₃ (非標識)濃度 5 ppm	・推定加水分解半減期 25℃; pH 4.0 18日、pH 7.0 13日、 pH 9.0 4.9日 40℃; pH 4.0 2.4日、pH 7.0 1.9日、 pH 9.0 14時間	(株)化学分析 コンサルタント (2000年)	代 35
W2 (GLP)	水中動態 (水中光分解)	自然水・ 滅菌精製水	各試験水に添加し、25℃でキセノン光を照射、照射時間自然水3日間、滅菌精製水7日間、光強度 36.5W/m ² (波長 300~400nm)	ジベレリン A ₃ (非標識)濃度 5 ppm	・推定光分解半減期(試験系) 滅菌精製水 1.7日 自然水 22時間 ・東京4~6月太陽光換算の光分解半減期 滅菌精製水 8.0日 自然水 4.3日	(株)化学分析 コンサルタント (2000年)	代 38
	水中動態	農業の有効成分の種類から見て、その毒性が極めて弱いことにより安全と認められることから、試験省略。					代 41
S2 (GLP)	土壌吸着性	高知、 鹿児島、 牛久、 宮崎	土壌/水懸濁液に添加	ジベレリン A ₃ (非標識)濃度 1 ppm (スクリーニング試験)	・スクリーニング試験において、土壌への吸着割合が4土壌とも20%以下であったため、高次試験(平衡化および吸着等温線試験)は実施しなかった。	(株)化学分析 コンサルタント (2001年)	代 42
	生物濃縮性	ジベレリン A ₃ の n-オクタノール/水分配係数試験(フラスコ振とう法)の結果、測定値(log Pow = 0.68)が3.5未満であったため、生物濃縮性試験成績を省略した。					代 44

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名 (旧 CAS 名)	構造式
A	親化合物	ジベレリン (Gibberellin A ₃) (ジベレリン A ₃)		
B	動物	Isogibberellin A ₃ (Isogibberellic acid)		
C	動物	Gibberellic acid		
D	動物	Allogibberic acid		
E	植物	gibberellin A ₃ (ジベレリン A ₃ グルコシド)		
F	植物	3-O-β-glucosyl isogibberellin A ₃		
G	植物	3-O-β-glucosyl gibberellic acid		

1. 動物代謝に関する試験

ジベレリン (Gibberellin A₃) のラットにおける吸収、分布、排泄及び代謝試験 (資料 M1)

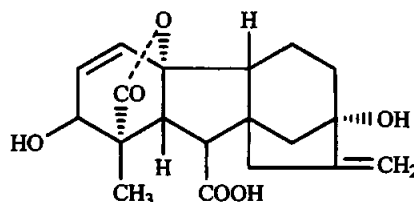
試験機関：根本特殊化学株式会社
武田薬品工業株式会社
報告書作成年：1993年

1) ジベレリンのラットにおける吸収

標識化合物：¹⁴C-ジベレリン (Gibberellin A₃)

化学名：[4,6,13,14-¹⁴C]-2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

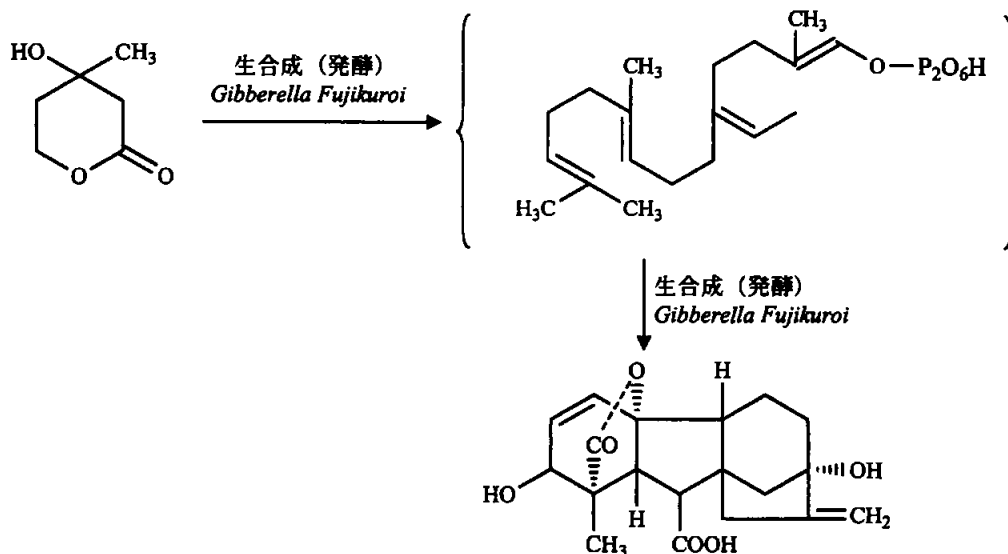
構造式：



比放射活性：

放射化学的純度：

合成フローシート：



試験動物：Wistar系ラット (体重：雄 200~250 g、雌 170~220 g)

試験方法：

- ①吸収排泄試験：ラット雌雄各5匹よりなる群に、¹⁴C-ジベレリンを所定量の非標識ジベレリンで希釈し、5 mg/kg(低用量)の場合は生理食塩水に溶解して、1000 mg/kg(高用量)の場合は0.1%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁して、それぞれの割合で単回経口投与した。検体投与後のラットは代謝ゲージに収容し、24時間毎に7日間尿及び糞を採取し分析に供した。呼気は投与後72時間採取(低用量群のみ)して分析に供した。
- ②血中濃度測定：ラット雌雄各3匹よりなる群に、¹⁴C-ジベレリンを5 mg/kgの割合で1回経口投与した後、適度の間隔で血液を採取し全血及び血漿部分を分析に供した。

- ③胆汁排泄試験：総胆管にカニューレションを施した雄3匹よりなる群に、¹⁴C-ジベレリンを所定量の非標識ジベレリンで希釈し、5 mg/kgの割合で単回経口投与した後、適度の間隔で胆汁を48時間採取し尿及び糞とともに分析に供した。
- ④組織内分布試験：定量的な組織内分布を測定するために、ラット雌雄各3匹よりなる群に¹⁴C-ジベレリンを所定量の非標識ジベレリンで希釈し、5 mg/kg及び1000 mg/kgの割合で単回経口投与し、適度の間隔で屠殺して心臓、肝臓、腎臓、脾臓等の主要臓器をはじめ坐骨神経、筋肉、脂肪、皮膚等の組織及び血液を採取し、燃焼法等により放射能を測定した。また、定性的な組織内分布を測定するために、ラット雌雄各3匹よりなる群に¹⁴C-ジベレリンを5 mg/kgの割合で1回経口投与し、適度の間隔で屠殺して全身オートラジオグラムを作成した。さらに、主要組織における分布及び半減期を測定するために、ラット雄3匹からなる群に¹⁴C-ジベレリンを5 mg/kgの割合で1回経口投与し、適度の間隔で屠殺して血液、血漿、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、筋肉及び脂肪を採取し、燃焼法等により放射能を測定した。

試験結果：結果の概要を別表に示した。

- ①吸収排泄試験：(表1参照)低用量投与の場合、投与後7日間に投与量の98.5~99.5%が尿中及び糞中に排泄され、その大部分(92.1~96.7%)は投与後24時間に回収された。両性とも投与後7日間の糞中への排泄率(95.4~95.5%)が尿中へのそれ(3.0~4.1%)よりも顕著に高いことから、放射能の主排泄経路は糞と考えられた。なお、放射能の呼気中への排泄は雌雄とも全く認められなかった。

高用量投与の場合、投与後7日間に投与量の95.5~98.8%が尿中及び糞中に排泄された。排泄速度は低用量投与時に比べてやや遅れるが、大部分(93.4~97.3%)は投与後2日間に排泄された。両性とも投与後7日間の糞中への排泄率(92.2~95.1%)が尿中へのそれ(3.3~3.7%)よりも顕著に高いことから、高用量投与においても放射能の主排泄経路は糞と考えられた。

表1-1 ¹⁴C-ジベレリン単回投与時の累積排泄率(雄)

投与群	検査組織	時間(単位:投与量%)						
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
5 mg/kg	尿*	2.8	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0
	糞	89.3	95.4	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5
	呼気	0.0	0.0	0.0	-	-	-	-
1000 mg/kg	尿*	2.5	3.2	3.3	3.3	3.3	3.3	3.3
	糞	60.5	90.2	92.0	92.1	92.2	92.2	92.2

注) *: ケージ洗浄液を含む - : 測定せず

表1-2 ¹⁴C-ジベレリン単回投与時の累積排泄率(雌)

投与群	検査組織	時間(単位:投与量%)						
		1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
5 mg/kg	尿*	4.0	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1	4.1
	糞	92.7	95.4	95.4	95.4	95.4	95.4	95.4
	呼気	0.0	0.0	0.0	-	-	-	-
1000 mg/kg	尿*	3.0	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7
	糞	63.6	93.6	95.1	95.1	95.1	95.1	95.1

注) *: ケージ洗浄液を含む - : 測定せず

- ②血中濃度測定：(表2参照)全血中の¹⁴C-濃度は、雌雄とも投与0.75時間後に最大値(0.06 μg/mL)を示した後、雄では半減期2.3時間で、雌では半減期4.7時間で減少し、24(雄)~72(雌)時間後にはほとんど検出されなかった。血漿中の¹⁴C-濃度も、雌雄とも投与0.75時間後に最大値(0.07~0.10 μg/mL)を示した後、雄では半減期2.3時間で、雌では半減期2.7時間で減少し、その濃度変化パターンは全血中のそれとほぼ同じ傾向を示した。雌雄でいずれの測定時点でも血漿中の¹⁴C-濃度が全血中のそれをやや上回ったが、いずれにおいても極めて低い濃度(0.1 μg/mL以下)で推移し、¹⁴Cの体内吸収率は極めて低いことが示唆された。

表2 ¹⁴C-ジベレリン単回投与 (5 mg/kg) 時の血中濃度

性別	検査組織	時間 (単位: μg 親化合物換算/mL)									
		0.25時間	0.5時間	0.75時間	1時間	2時間	4時間	8時間	24時間	48時間	72時間
雄	血液	0.03	0.04	0.06	0.04	0.03	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00
	血漿	0.04	0.07	0.07	0.06	0.05	0.02	0.02	0.00	0.00	0.00
雌	血液	0.05	0.06	0.06	0.06	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.00
	血漿	0.09	0.09	0.10	0.09	0.06	0.04	0.04	0.02	0.02	0.01

表2-2 ¹⁴C-ジベレリン単回投与 (5 mg/kg) 時の血中濃度から求めた薬物動態パラメーター

薬物動態パラメーター	雄		雌	
	血液	血漿	血液	血漿
最高血中濃度到達時間 T_{max} (時間)	0.75	0.75	0.75	0.75
最高血中濃度 C_{max} (μg 親化合物換算/mL)	0.06	0.07	0.06	0.10
消失半減期 $t_{1/2}$ (時間)	2.3	2.3	4.7	2.7
AUC (μg 親化合物換算・時間/mL)	0.43	—	1.17	—

—: 報告書に記載なし

AUC: 濃度-時間曲線下面積

1) 申請者注: 表2の数値から、申請者が各パラメーターを求めた。

- ③胆汁排泄試験: (表3参照) ¹⁴C-ジベレリンを5 mg/kgの割合で経口投与したとき、投与後48時間に胆汁中に排泄された累積放射能は投与量の8.5%であった。同時に採取した尿及び糞中には投与後48時間までにそれぞれ7.5及び63.1%の放射能が排泄された。投与48時間後の胃及び腸の内容物中にはそれぞれ3.7及び15.7%の放射能が認められた。なお、本試験結果より、ジベレリンのラットにおける体内吸収率は、投与48時間後までに胆汁中及び尿中に排泄された放射能の合計値16.0%と算出された。

表3 ¹⁴C-ジベレリン単回投与 (5 mg/kg) 時の胆汁、尿及び糞中の累積排泄率

性別	検査組織	時間 (単位: 投与量%)							
		0.5時間	1時間	2時間	4時間	8時間	12時間	24時間	48時間
雄	胆汁	0.3	1.0	2.5	4.2	5.7	6.3	7.3	8.5
	尿	-	-	-	-	-	-	6.8	7.5
	糞	-	-	-	-	-	-	39.9	63.1

注) -: 測定せず

- ④組織内分布試験: 低用量(5 mg/kg)単回投与の場合(表4参照)、雌雄とも全血中濃度が最大値を示す投与後0.75時間では、胃及び腸に比較的高濃度(3.11~4.49 $\mu\text{g/g}$)、腎臓及び肝臓に中程度(0.16~0.31 $\mu\text{g/g}$)、その他の組織に比較的低濃度(0.12 $\mu\text{g/g}$ 以下)の¹⁴Cが認められたが、投与した¹⁴Cの90%以上が体外に排泄された。1日後では、盲腸(0.28~0.33 $\mu\text{g/g}$)を除く総ての組織中の¹⁴Cは0.07 $\mu\text{g/g}$ 以下であった。7日後では総ての組織中濃度が0.03 $\mu\text{g/g}$ 以下であった。¹⁴Cの分布量は、雌雄とも投与0.75時間後では腸内容物(42.8~61.0%)及び胃内容物(23.9~42.1%)に高く、次いで腸(1.5~2.1%)及び胃(0.4~0.5%)に中程度であったが、肝臓、腎臓及び血液ではいずれも0.3%以下であった。1日後には総ての組織中の残留量が0.03%以下であり、7日後には雌の筋肉(0.02%)を除き総ての組織中残留量は0.01%以下であった。なお、7日後のカーカス中の残留量は僅か(0.11~0.16%)であった。これらの結果と全身オートラジオグラフィによる結果とはほぼ同様の傾向を示し、雌雄とも投与0.75時間後では胃及び腸等消化管の内容物に高濃度の¹⁴Cが検出されたが、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、脳等の主要組織中にはほとんど認められなかった。1日後では消化管の内容物に僅かな¹⁴Cが検出された以外は、他の組織中には認められず、7日後ではいずれの組織からも検出されなかった。

表 4-1 ¹⁴C-ジベレリン低用量単回投与時の組織内分布濃度

投与量	性別	検査組織	雄			雌		
			時間 (単位: μ g 親化合物換算/g)					
			0.75 時間	1 日	7 日	0.75 時間	1 日	7 日
1 回投与 5 mg/kg		血液	0.03	0.01	0.00	0.06	0.00	0.00
		血漿	0.05	0.01	0.00	0.08	0.01	0.00
		胃	4.19	0.02	0.00	4.49	0.02	0.00
		腸	3.11	0.07	0.00	3.26	0.04	0.00
		盲腸	0.05	0.28	0.00	0.09	0.33	0.00
		肝臓	0.19	0.01	0.00	0.25	0.01	0.00
		腎臓	0.16	0.01	0.00	0.31	0.01	0.00
		副腎	0.02	0.01	0.01	0.03	0.00	0.00
		膵臓	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
		脾臓	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
		心臓	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
		肺	0.02	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
		甲状腺	0.04	0.02	0.03	0.12	0.01	0.01
		筋肉	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
		脂肪	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00
		皮膚	0.02	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
		体毛	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		脊髄	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
		坐骨神経	0.01	0.01	0.00	0.02	0.01	0.01
	精巣	0.01	0.00	0.00	-	-	-	
	卵巣	-	-	-	0.04	0.00	0.00	
	子宮	-	-	-	0.03	0.00	0.00	

注) -: 該当臓器なし

表 4-2 ¹⁴C-ジベレリン低用量単回投与時の組織内分布量

投与量	性別	検査組織	雄			雌		
			時間 (単位: 投与量%)					
			0.75 時間	1 日	7 日	0.75 時間	1 日	7 日
1 回投与 5 mg/kg		血液	0.05	0.01	<0.01	0.08	<0.01	<0.01
		血漿	0.04	<0.01	<0.01	0.07	<0.01	<0.01
		胃	0.39	<0.01	<0.01	0.48	<0.01	<0.01
		腸	1.48	0.03	<0.01	2.05	0.02	<0.01
		盲腸	<0.01	0.02	<0.01	0.01	0.02	<0.01
		肝臓	0.17	0.01	<0.01	0.22	0.01	<0.01
		腎臓	0.02	<0.01	<0.01	0.05	<0.01	<0.01
		副腎	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		膵臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		脾臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		心臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		肺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		筋肉	0.04	0.02	<0.01	0.08	0.02	0.02
		脂肪	0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.01	<0.01
		皮膚	0.08	0.01	<0.01	0.14	0.02	<0.01
		体毛	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		脳	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		脊髄	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		坐骨神経	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		精巣	<0.01	<0.01	<0.01	-	-	-
		卵巣	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01
		子宮	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01
	胃内容物	42.07	<0.01	<0.01	23.91	0.18	<0.01	
	腸内容物	42.78	4.90	<0.01	61.03	1.80	<0.01	
	カーカス	0.31	0.11	0.11	0.61	0.23	0.16	

注) -: 該当臓器なし

¹⁴C-ジベレリンを雄ラットに投与した場合(表 5 参照)、主要臓器(血液、血漿、肝臓、腎臓、心臓、肺、脾臓、筋肉及び脂肪)の ¹⁴C-濃度は投与後 0.5~0.75 時間に最大値を示したが、投与後 8 時間までにいずれも最高時の 1/2 以下となった。¹⁴C-濃度の減衰曲線から、これら主要組織における半減期は 1.1~2.4 時間と求められた。また、これら組織中での分布量は投与 0.5 時間後の肝臓で最大(0.23 %)であったが、8 時間後では肝臓を含めた総ての組織中で 0.03 %以下となった。

表 5-1 ¹⁴C-ジベレリン低用量 (5 mg/kg) 単回投与時の主要組織内分布濃度

性別	検査組織	時間 (単位: μ g 親化合物換算/g)					
		0.50 時間	0.75 時間	1 時間	2 時間	4 時間	8 時間
雄	血液	0.04	0.06	0.04	0.03	0.02	0.01
	血漿	0.07	0.07	0.06	0.05	0.02	0.02
	肝臓	0.24	0.20	0.16	0.15	0.10	0.04
	腎臓	0.26	0.17	0.16	0.13	0.09	0.03
	心臓	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01
	肺	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01
	脾臓	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
	筋肉	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
	脂肪	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00

表 5-2 ¹⁴C-ジベレリン低用量 (5 mg/kg) 単回投与時の主要組織内分布量

性別	検査組織	時間 (単位: 投与量%)					
		0.50 時間	0.75 時間	1 時間	2 時間	4 時間	8 時間
雄	血液	0.06	0.08	0.06	0.04	0.03	0.02
	血漿	0.05	0.06	0.05	0.04	0.02	0.01
	肝臓	0.23	0.19	0.14	0.14	0.09	0.03
	腎臓	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	<0.01
	心臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	肺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脾臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	0.09	0.06	0.06	0.06	0.05	0.02
脂肪	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	<0.01	

高用量(1000 mg/kg)投与の場合(表 6 参照)、雌雄とも投与後 0.75 時間では、胃及び腸に比較的高濃度(435~1243 μg/g)、腎臓、肝臓、甲状腺及び雌の盲腸に中程度(14~24 μg/g)、その他の組織に比較的低濃度(10 μg/g 以下)の¹⁴Cが認められたが、投与した¹⁴Cの90%以上が体外に排泄された。2日後では、盲腸(2~16 μg/g)、甲状腺(8~9 μg/g)、雄の副腎、腸及び坐骨神経(3、4及び2 μg/g)を除く総ての組織中の¹⁴Cは2 μg/g以下であった。7日後では副腎(3 μg/g)、甲状腺(15~22 μg/g)、雄の脂肪及び坐骨神経(3及び2 μg/g)を除き、総ての組織中濃度は1.5 μg/g以下であった。

(なお、投与7日後の雄の腎臓を除く総ての組織中の¹⁴C濃度は、試料燃焼法による実計測値が50 dpm以下のデータから算出された値である。)

表 6-1 ¹⁴C-ジベレリン高用量単回投与時の組織内分布濃度

投与量	性別	検査組織	雄			雌		
			時間(単位: μg 親化合物換算/g)					
			0.75 時間	1 日	7 日	0.75 時間	1 日	7 日
1 回投与 1000 mg/kg		血液	6.12	0.58	0.38	5.33	0.38	0.43
		血漿	8.51	0.64	0.33	7.82	0.23	0.25
		胃	597.27	0.90	0.23	1243.44	0.68	0.19
		腸	591.77	3.57	0.89	435.17	1.35	0.89
		盲腸	5.90	15.79	0.39	21.46	2.32	0.41
		肝臓	20.08	1.77	1.45	21.36	1.40	1.20
		腎臓	21.72	1.04	0.37	23.79	0.90	0.40
		副腎	5.29	2.74	2.60	5.46	1.03	2.68
		脾臓	2.49	0.26	0.29	3.69	0.26	0.34
		脾臓	2.26	0.40	0.34	2.04	0.42	0.42
		心臓	3.21	0.46	0.26	2.68	0.37	0.30
		肺	3.61	0.39	0.25	3.18	0.40	0.31
		甲状腺	22.45	9.40	14.60	13.81	8.46	21.80
		筋肉	1.33	0.43	0.44	1.35	0.22	0.24
		脂肪	1.87	0.91	2.72	1.90	0.90	1.43
		皮膚	2.91	0.45	0.57	2.64	0.25	0.36
		体毛	0.87	1.32	0.91	1.13	0.95	1.17
		脳	0.29	0.20	0.22	0.49	0.16	0.20
		脊髄	0.75	0.37	0.81	1.07	0.31	0.23
		坐骨神経	1.94	2.39	2.38	4.24	1.15	1.14
	精巣	1.23	0.23	0.17	-	-	-	
	卵巣	-	-	-	4.00	0.52	0.96	
	子宮	-	-	-	2.80	0.19	0.33	

注) -: 該当臓器なし

表 6-2 ¹⁴C-ジベレリン高用量単回投与時の組織内分布量

投与量	性別	雄			雌		
		時間 (単位: 投与量%)					
		0.75 時間	2 日	7 日	0.75 時間	2 日	7 日
1 回投与 1000 mg/kg	検査 組織						
	血液	0.05	<0.01	<0.01	0.04	<0.01	<0.01
	血漿	0.04	<0.01	<0.01	0.03	<0.01	<0.01
	胃	0.27	<0.01	<0.01	0.60	<0.01	<0.01
	腸	1.45	0.01	<0.01	1.07	<0.01	<0.01
	盲腸	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	肝臓	0.10	0.01	0.01	0.08	0.01	0.01
	腎臓	0.02	<0.01	<0.01	0.02	<0.01	<0.01
	副腎	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	膵臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脾臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	心臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	肺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	0.06	0.02	0.02	0.05	0.01	0.01
	脂肪	0.01	<0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
	皮膚	0.06	0.01	0.01	0.06	0.01	0.01
	体毛	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脳	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脊髄	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	坐骨神経	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	精巣	<0.01	<0.01	<0.01	-	-	-
	卵巣	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01
子宮	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	
胃内容物	49.86	0.04	0.01	70.05	0.01	0.01	
腸内容物	38.93	1.42	0.01	24.33	0.20	0.02	
カーカス	0.39	0.20	0.13	0.53	0.30	0.33	

注) -: 該当臓器なし

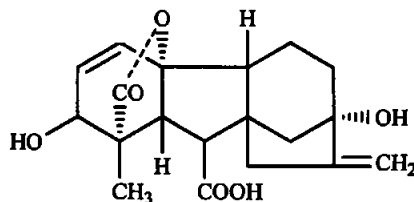
¹⁴C の分布量は、雌雄とも投与 0.75 時間後では胃内容物(49.9~70.1 %)及び腸内容物(24.3~38.9 %)で高く、次いで腸(1.1~1.5 %)及び胃(0.3~0.6 %)で中程度であったが、肝臓、腎臓及び血液では 0.1 %以下であった。2 日後では、腸内容物(0.2~1.4 %)及び胃内容物(0.01~0.04 %)に少量認められたが、その他の組織中の残留量は 0.02 %以下であり、7 日後では、雌雄の肝臓、筋肉、皮膚及び脂肪 (0.01~0.02 %)を除く総ての組織中における残留量は 0.01 %以下であった。7 日後のカーカス中の残留量は僅か(0.13~0.33 %)であった。

2) ジベレリンのラットにおける蓄積性試験

標識化合物：¹⁴C-ジベレリン (Gibberellin A₃)

化学名：[4,6,13,14-¹⁴C]-2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1, 10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

構造式：



比放射活性：

放射化学的純度：

試験動物：Wistar 系ラット (標識体投与時 8 週齢、体重：雄 200~250 g、雌 170~220 g)

一般代謝試験 1 群雌雄各 5 匹

組織内分布試験 1 群雌雄各 3 匹

試験方法：

一般代謝試験：¹⁴C-ジベレリンを所定量の非標識ジベレリンで希釈し、少量の生理食塩水に溶解した後、1 日 1 回 5 mg/kg の割合で 7 日間反復経口投与した。ラットは代謝ケージに収容し、尿及び糞を 24 時間毎に最終投与 7 日後まで採取し分析に供した。

組織内分布試験：¹⁴C-ジベレリンを所定量の非標識ジベレリンで希釈し、生理食塩水に溶解した後、1 日 1 回 5 mg/kg の割合で 7 日間反復経口投与した。最終投与後 0.75 時間、1 日及び 7 日目に屠殺して、心臓、肝臓、腎臓、脾臓等の主要臓器をはじめ坐骨神経、筋肉、脂肪、皮膚等の組織及び血液を採取し、燃焼法等により放射能を測定した。

試験結果：結果の概要を別表に示した (表 1 参照)。

表 1-1 ¹⁴C-ジベレリン 反復投与時の累積排泄率 (雄)

投与量	検査組織	投与開始後通算日数 (単位：投与量%)													
		0日	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日
		最終投与後日数							1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
5 mg/kg/day	尿*	-	0.4	0.8	1.3	1.8	2.3	2.7	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1	3.1
	糞	-	11.8	25.3	38.5	51.9	65.8	79.6	93.7	94.3	94.3	94.3	94.3	94.3	94.3

注) *: ケージ洗浄液を含む - : 測定せず

表 1-2 ¹⁴C-ジベレリン 反復投与時の累積排泄率 (雌)

投与量	検査組織	投与開始後通算日数 (単位：投与量%)													
		0日	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日
		最終投与後日数							1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日
5 mg/kg/day	尿*	-	0.6	1.2	1.8	2.4	2.9	3.4	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0
	糞	-	11.6	25.8	38.0	52.6	66.2	79.8	93.2	93.9	93.9	93.9	93.9	93.9	93.9

注) *: ケージ洗浄液を含む - : 測定せず

¹⁴C-ジベレリンを 5 mg/kg/day の割合で 7 日間反復投与した場合、最終投与後 1 日目までに全投与量の 96.8~97.2% が体外に排泄され、それ以降の ¹⁴C-排泄量は僅かであった。

雌雄とも低用量単回投与時と同様に、糞中への全排泄率 (93.9~94.3 %) が尿中へのそれ (3.1~4.0 %) よりも顕著に高いことから、放射能の主排泄経路は糞と考えられた。

¹⁴C の組織内濃度 (表 2 参照) は、雌雄とも最終投与後 0.75 時間では、胃及び腸に比較的高濃度 (2.48~4.24 $\mu\text{g/g}$)、腎臓、肝臓及び盲腸に中程度 (0.18~0.28 $\mu\text{g/g}$)、その他の組織に比較的低濃度 (0.1 $\mu\text{g/g}$ 以下) の ¹⁴C が認められたが、投与した ¹⁴C の 90 % 以上が体外に排泄された。最終投与 1 日後では、盲腸及び腸 (0.05~0.24 $\mu\text{g/g}$) を除く総ての組織中の ¹⁴C は 0.04 $\mu\text{g/g}$ 以下であった。

表 2-1 ¹⁴C-ジベレリン 連続投与時の組織内分布濃度 (最終投与後)

投与量	性別 検査組織	雄			雌		
		時間 (単位: μg 親化合物換算/g)					
		0.75 時間	1 日	7 日	0.75 時間	1 日	7 日
1 日 1 回 7 日間 反復投与 (5 mg/kg/day)	血液	0.04	0.01	0.00	0.05	0.01	0.00
	血漿	0.06	0.01	0.00	0.07	0.00	0.00
	胃	2.48	0.03	0.00	4.24	0.02	0.00
	腸	4.08	0.07	0.01	3.48	0.05	0.00
	盲腸	0.25	0.24	0.00	0.24	0.13	0.00
	肝臓	0.20	0.02	0.01	0.23	0.02	0.01
	腎臓	0.18	0.01	0.00	0.28	0.01	0.00
	副腎	0.02	0.00	0.00	0.02	0.01	0.00
	脾臓	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
	脾臓	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
	心臓	0.02	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00
	肺	0.02	0.00	0.00	0.03	0.01	0.00
	甲状腺	0.02	0.02	0.02	0.05	0.04	0.04
	筋肉	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	脂肪	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
	皮膚	0.02	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00
	体毛	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01
	脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	脊髄	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	坐骨神経	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
精巣	0.01	0.00	0.00	-	-	-	
卵巣	-	-	-	0.02	0.01	0.00	
子宮	-	-	-	0.03	0.00	0.00	

注) -: 該当臓器なし

表 2-2 ¹⁴C-ジベレリン 連続投与時の組織内分布量 (最終投与後)

投与量	検査組織	雄		雌			
		時間 (単位: 投与量 (%))					
		0.75 時間	1 日	7 日	0.75 時間	1 日	7 日
1 日 1 回 7 日間 反復投与 (5 mg/kg/day)	血液	0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	血漿	0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	胃	0.03	<0.01	<0.01	0.06	<0.01	<0.01
	腸	0.24	<0.01	<0.01	0.27	<0.01	<0.01
	盲腸	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	肝臓	0.03	<0.01	<0.01	0.03	<0.01	<0.01
	腎臓	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	副腎	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	膵臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脾臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	心臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	肺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	筋肉	0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	皮膚	0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01
	体毛	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脳	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	脊髄	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	坐骨神経	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	精巣	<0.01	<0.01	<0.01	-	-	-
卵巣	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	
子宮	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	
胃内容物	3.84	<0.01	<0.01	4.35	0.02	<0.01	
腸内容物	9.43	0.61	<0.01	8.12	0.39	<0.01	
カーカス	0.07	0.02	<0.01	0.08	0.03	0.01	

注) -: 該当臓器なし

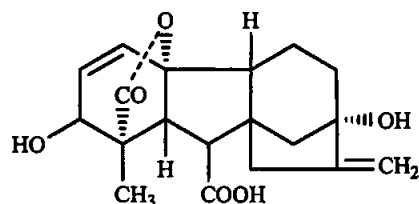
最終投与 7 日後では雌の甲状腺 (0.04 $\mu\text{g/g}$) を除く総ての組織中濃度は 0.02 $\mu\text{g/g}$ 以下であった。¹⁴C の分布量は、雌雄とも投与 0.75 時間後では腸内容物 (8.12~9.43%) 及び胃内容物 (3.84~4.35%) で比較的高く、次いで腸 (0.24~0.27%) で中程度であったが、胃、肝臓、腎臓及び血液では 0.06% 以下であった。最終投与 1 日後では、腸内容物に僅かな (0.39~0.61%) ¹⁴C が残存したが、その他の組織中の残留量は 0.01% 以下となり、最終投与 7 日後では、総ての組織における残留量が 0.01% 以下となった。なお、最終投与 7 日後のカーカス中の残留量は極く僅か (<0.10%) であった。

3) ジベレリンのラットにおける代謝試験

標識化合物：¹⁴C-ジベレリン (Gibberellin A₃)

化学名：[4,6,13,14-¹⁴C]-2,4a,7-trihydroxy-1-methy-1,8-methylene-gibb-3-ene-1, 10-dicarboxylic acid
1,4a-lactone

構造式：



比放射活性：

放射化学的純度：

供試動物：Wistar 系ラット (体重：雄 200~250 g、雌 170~220 g)

試験方法：吸収排泄試験で ¹⁴C-ジベレリンを 5 mg/kg の割合で単回経口投与した時の投与後 7 日間に得られ、凍結保存しておいた尿及び糞を用いて解析した。二次元 TLC-オートラジオグラフィーに供して、放射性代謝物を同定し、それぞれの ¹⁴C-スポット部位の放射能を LSC により定量した。代謝物を分離、同定するため雄ラット 8 匹 (平均体重：350 g) に非標識ジベレリンを 100 mg/kg/day の割合で 6 日間繰り返し経口投与して糞と尿を分別採取した。糞中の代謝物は標品との TLC 及び HPLC によるクロマトグラフィー、UV 及び MS などの比較によって同定した。

試験結果：(表 1 参照)

表 1 ¹⁴C-ジベレリンを投与したラットにおける尿及び糞中の代謝物分布

単位：投与量%

投与量	性別	検査組織	Gibberellin A ₃ [A]	代謝物					合計	
				Isogibberellin A ₃ [B]	Gibberellenic acid [C]	Allogibberic acid [D]	未知代謝物			非抽出
							A	B		
5 mg/kg	雄	尿	3.0	ND	ND	ND	ND	ND	<0.1	3.0
		糞	76.2	11.7	7.1	ND	ND	ND	ND	95.5
	雌	尿	3.4	ND	ND	0.2	0.5	<0.1	<0.1	4.1
		糞	79.9	9.0	5.8	0.2	ND	ND	0.5	95.4

注) ND：検出されず

¹⁴C-ジベレリンを 5 mg/kg の割合で経口投与した雌雄ラットの糞及び尿からは、二次元 TLC-オートラジオグラムにおいて、合計 6 個のスポットが検出された。糞及び尿中における主要なスポットはいずれも未変化の親化合物 (ジベレリン) で、投与放射能に対する割合は糞中で 76.2~79.9%、尿中で 3.0~3.4% であり (合計 79.2~83.3%)、それぞれにおける放射能の大部分を占めた。以下の 3 種の代謝物が質量スペクトル分析により同定された。

Isogibberellin A₃ [B] (Isogibberellic acid)
Gibberellenic acid [C]
Allogibberic acid [D]

糞中の代謝物としては、Isogibberellin A₃ [B] 及び Gibberellenic acid [C] がそれぞれ 9.0~11.7% 及び 5.8~7.1% 検出され、これらの他に雌のみに微量 (0.2%) の Allogibberic acid [D] が認められた。

尿中の代謝物は、雄では検出されず、雌では微量 (0.2%) の Allogibberic acid [D] の他に 2 個の未知物質が認められたが、いずれも微量 (<0.1~0.5%) であった。

同定された代謝物から、加水分解を主とする以下の生成機構が関与するものと推定された。

- (1) ジベレリンのラクトン環のカルボニル基への水酸基の付加と、それに引き続く協奏的な電荷移動を伴うラクトン環の分子内転移反応による Isogibberellin A₃ [B] の生成
- (2) ジベレリンのラクトン環に水が付加して生成する中間体の脱水による Gibberellenic acid [C] の生成
- (3) ジベレリン、Isogibberellin A₃ [B] 及び Gibberellenic acid [C] の脱水及び脱炭酸による Allogibberic acid [D] の生成

なお、いずれの代謝反応によっても、基本骨格であるジバン (gibbane) 環は開裂しなかった。ジベレリンのラットにおける推定代謝経路を図 1 に示す。

図 1 ジベレリンのラットにおける推定代謝経路^{*1}

^{*1} 申請者注：推定代謝経路は報告書には記載されていなかったが、申請者が作成し記載した。

2. 植物代謝に関する試験

試験成績提出除外理由

当該農薬の成分物質等の種類等からみて、その毒性がきわめて弱いこと等の理由により、安全と認められるため。

具体的理由は、(6) 90日間反復経口投与毒性及び(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性試験 (p.毒 24-26) を参照。

参考資料

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

(2) 植物組織におけるジベレリン A₃ グルコシドの生成

文献6 資料.P6

研究機関：農林省農業技術研究所

文献発表年：1961年

供試化合物：ジベレリン A₃

供試植物：キュウリ葉 (φ1.5 cm ディスク)

試験方法：1000 ppm の GA₃ (1% 蔗糖) 溶液に葉切片 (200 g) を浮かべ、照明下、室温で3日間吸収させた。葉切片を水洗後、アセトンで2回抽出し、pH 2.5 にして、酢酸エチルで抽出し、続いて n-ブタノールで抽出した。

n-ブタノール画分をペーパークロマトグラフィーに供試し、代謝物に相当するスポットを水で抽出し、1 N-HCl 中で 100 °C、1 時間、あるいは β-グルコシダーゼで 30 °C、一日で加水分解を行った。

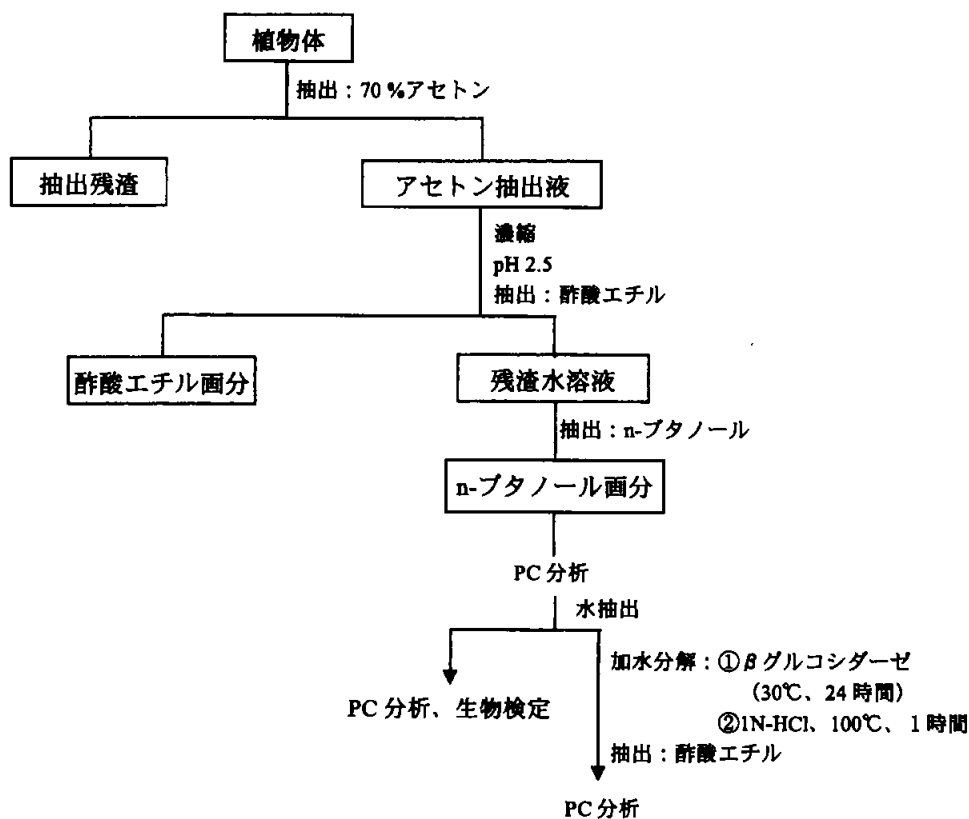


図1 キュウリ葉片試料の抽出及び分析スキーム

試験結果：n-ブタノール画分のペーパークロマトグラフィーで検出されたジベレリン A₃ 以外のスポットから得られた代謝物は、酸加水分解からはグルコースが生成し、酵素加水分解からはグルコースとジベレリン A₃ が検出され、代謝物は GA₃ の β-グルコシドと推定された。

(3) 矮性インゲンマメにおけるジベレリン A₃ の代謝産物とその相互変換 文献7 資料.P7

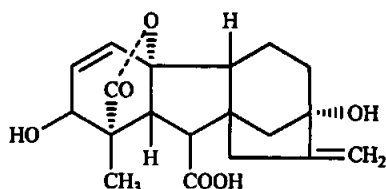
研究機関 : 東北大学農学部農芸化学科

文献発表年 : 1974 年

標識化合物 : [³H]-ジベレリン A₃ (Wilzbach 法により調製)^{*)}

化学名 : 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

化学構造 :



比放射活性 : 不明

放射化学的純度 : 不明

供試植物 : 矮性インゲンマメ (master pea)

試験方法 : 畑地条件で栽培を行った。処理は以下の3つの方法で行った^{*)}。

- ①第一葉が展開したのち、芽生えの頂部に [³H]-標識体 (300 ppm) 溶液 3L を 3 日間隔で 3 回散布し、最終散布から 8 日間栽培し、 [³H] の分布を調べた。また、代謝物の単離・同定を行った。
- ②初生葉期の芽生えに [³H]-標識体を塗布し (300 μg/植物)、2、4、6 及び 8 日後にサンプリングし、代謝物の変動を調べた。
- ③代謝物を、初生葉期の芽生えに塗布 (300 μg/植物) し、9 日後に植物の反応を測定した。
- ④初生葉期の芽生えに、①で得られた代謝物を塗布し (300 μg/植物)、9 日間栽培し、放射性物質を単離した。

抽出 : 植物体試料からの放射活性物質の抽出及び分析スキームを図 1 に示す。

加水分解 : 代謝物は粗セルラーゼを用い、47℃、12 時間の条件で加水分解し、pH 3.0 に調整したのち、酢酸エチルで抽出した。残渣水は PC にかけた。

分析 : 未変化ジベレリン A₃ 及びその代謝物の同定は IR スペクトル (KBr 法)、NMR スペクトル ((CD₃)₂CO/D₂O 及び CDCl₃)、MS スペクトル (TMS による誘導体)、UV スペクトル (水) により行った。

^{*)} Yukio ASAKAWA, Kinjiro TAMARI, Keiko INOUE and Jun KAJI ; Translocation and Intracellular Distribution of Tririated Gibberellin A₃, *Agr. Biol. Chem.*, 38(4), 713-717 (1974)

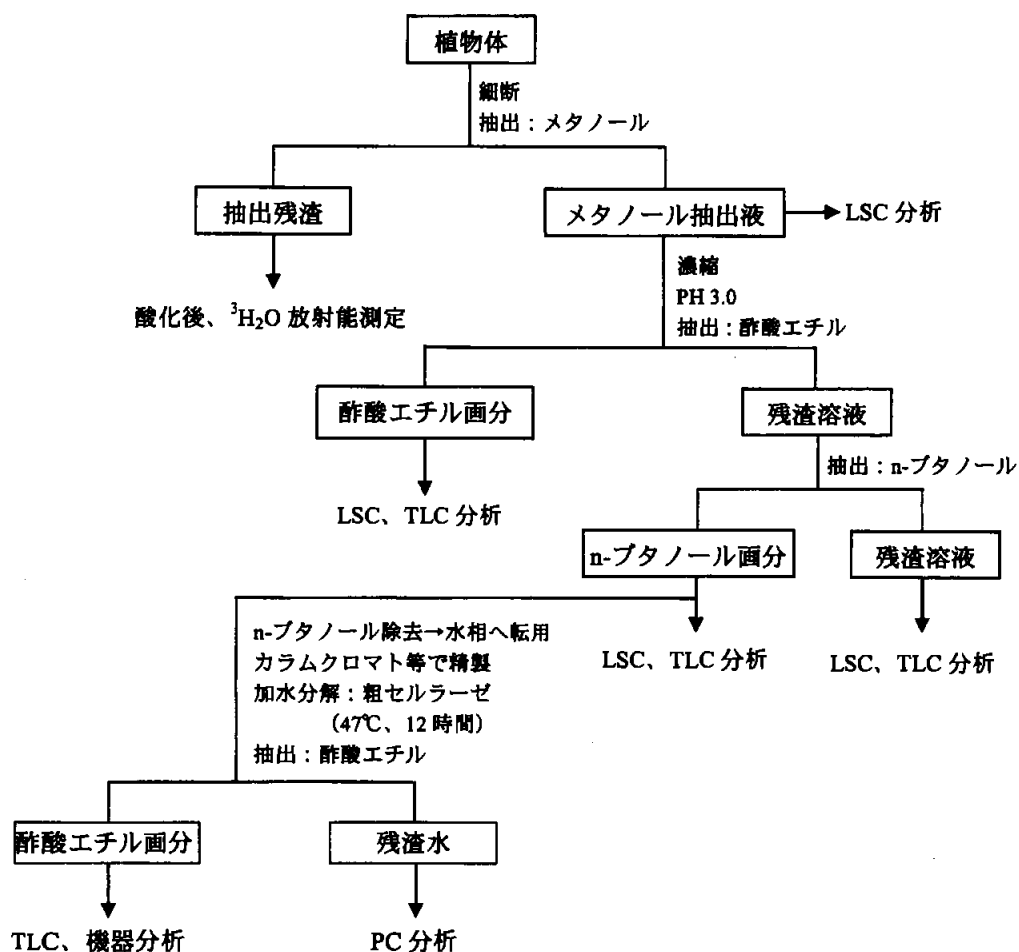


図1 インゲンマメ植物体試料の抽出及び分析スキーム

試験結果：

^3H 分布：インゲンマメ幼植物における ^3H 分布を表1に示す。

画分	放射能 (cpm)
酢酸エチル抽出画分	1060
n-ブタノール抽出画分	2260
残渣水	147
メタノール抽出画分の組織残留物	—

酢酸エチル画分をカラムクロマトグラフィーで精製したところ、放射能は1つのピークとして現れ、その放射性物質は GA₃ 標品と融点、TLC の R_f 値、IR スペクトルを比較し、未変化の GA₃ と同定された。尚、40 kg の供試植物から 24 mg が回収された。

代謝：①の方法で処理した植物体から得られた、n-ブタノール抽出画分の放射性物質をカラムクロマトグラフィーに供試し、P_I、P_{II}、P_{III}のピークに分離した。ペーパークロマトグラフィーにおいては、P_{III}はさらに2成分に分離され、それぞれを P_{III}A と P_{III}B とした。これらの成分について、βグルコシダーゼによる加水分解を行ったところ、グルコースと対応するジベレリンが生成さ

れた。各種機器分析のスペクトルと加水分解の結果から、代謝物(表2)を同定した。未変化のジベレリン A₃ と同定された4種の代謝物について、③の方法でインゲンマメ芽生えの生物活性を調べた(表2)。いずれの代謝物も、生物活性は認められなかった。

表2 インゲンマメにおける GA₃ の代謝産物

画分	化合物	生物活性* ¹ (子葉と先端との間の長さ)
P _I	ジベレリン様物質のβ-グルコシド	9.8
P _{II}	3-O-β-glucosyl-isogibberellin A ₃	9.3
P _{III A}	3-O-β-glucosyl-gibberellin A ₃ (主代謝産物)	9.6
P _{III B}	3-O-β-glucosyl-gibberellenic acid	9.2
	ジベレリン A ₃ (300 μg)	22.7

*¹ 矮性インゲンマメ芽生えに対する生物活性 対照区 9.4 cm

P_I、P_{II}、P_{III A}及びP_{III B}は³H-ジベレリン A₃とcpmが同等になる量で処理を行った。

②の方法による³H-GA₃の塗布した植物体における2、4、6及び8日後の代謝物の変動を図2及び3に示した。

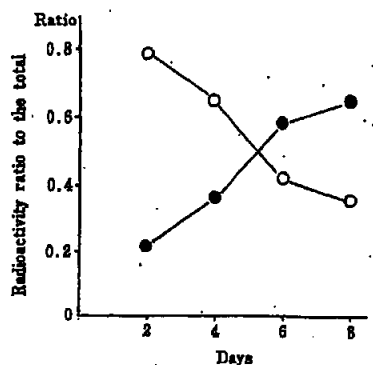


図2 ³H-GA₃処理植物の酢酸エチル抽出画分とn-ブタノール抽出画分への放射能分布の経時変化
○: 酢酸エチル抽出画分
●: n-ブタノール抽出画分

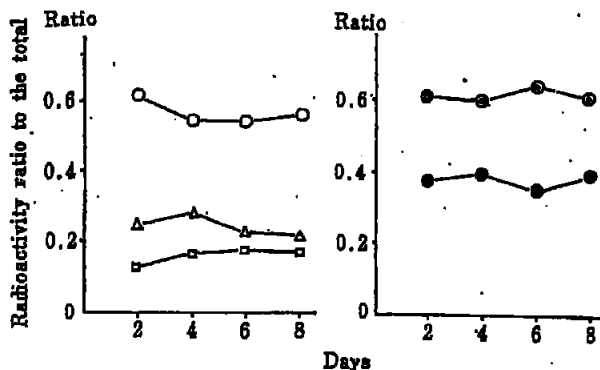


図3 ³H-GA₃処理植物中の放射性代謝物組成の経時変化
○: P_{III}画分(2成分) ●: P_{III A}画分
△: P_I画分 ●: P_{III B}画分
□: P_{II}画分

推定代謝経路: ④の植物体から得られた酢酸エチル画分からは放射能は検出されなかった。一方、放射能のほぼ全量が、n-ブタノール抽出画分から検出された。大量のジベレリンを処理した供試植物中には、生物活性のないジベレリン配糖体が蓄積されることは、植物の防御機構の結果と推定される。P_{III A}を処理して得られたn-ブタノール画分からは、P_{III A}に加えてP_I及びP_{III B}が得られた。P_I及びP_{III B}は部分的にGA₃からの経路とは異なる経路を通じてP_{III A}から生成されることが推定される。P_I、P_{II}及びP_{III B}を処理して得られたn-ブタノール画分からは、元の化合物が同定された。

GA₃のインゲンマメにおける推定代謝経路を図4に示す。

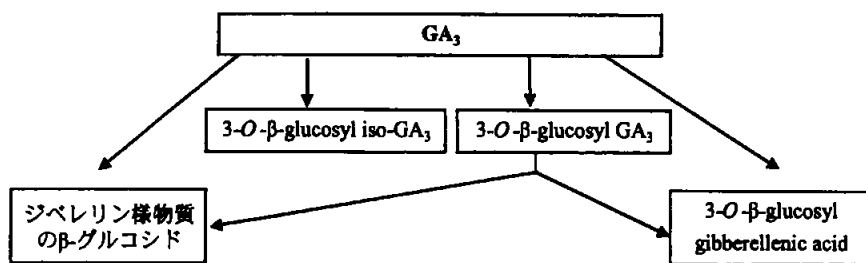


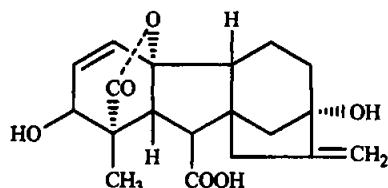
図4 ジベレリン A₃ の矮性インゲンマメにおける代謝経路

(4) 標準型と非開花遺伝子型アカツメクサのジベレリン代謝と日長の相関性に関する研究

文献9 資料.P9

研究機関 : Welsh Plant Breeding Station、Aberystwyth
文献発表年 : 1966年

標識化合物 : [³H]-ジベレリン A₃
化学構造 :



化学名 : 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

比放射能 : 0.067 mc/mg

放射化学的純度 : 不明

供試植物 : アカツメクサ (*Trifolium pratense* L.)

正常型、非開花遺伝子型

温室栽培 予備栽培 根株を自然光で8週間、

本試験栽培 人工光で8hr 暗-15°C、16hr 明-20°C

栽培条件 : [³H]-ジベレリン A₃を脱イオン水に溶解し(濃度 40 μg/mL)、茎当り 4 μgを茎先端に処理した。1植物体当りの[³H]-ジベレリン A₃処理量は 25 μgとなる。

試験方法 : 植物体試料からの放射活性物質の抽出及び分析スキームを図1に示す。

生物活性はとうもろこしの第2葉鞘の伸長で測定した。

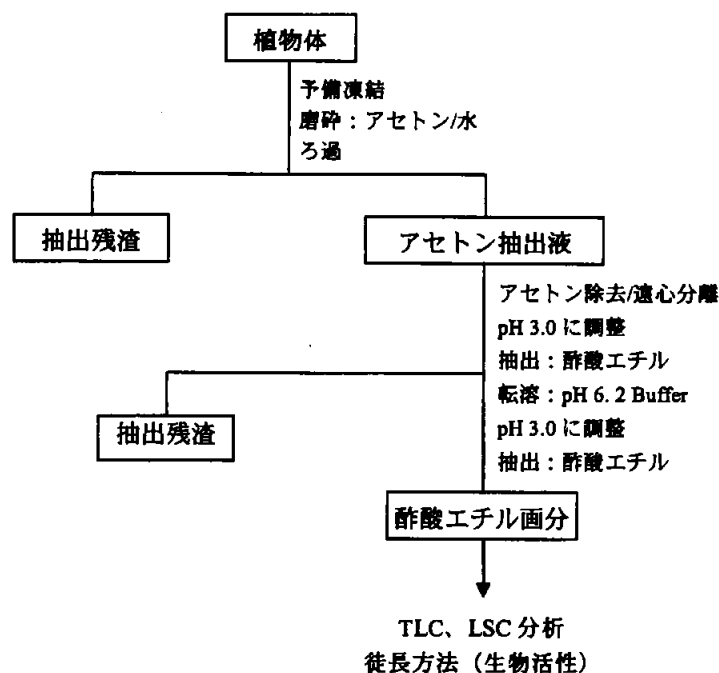


図1 アカツメクサ植物体試料の抽出及び分析スキーム

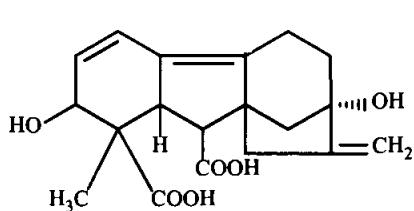
試験結果：日長条件により、ジベレリン A₃ の分解速度には影響があった。

半減期は、短日処理で 1.8 日、長日処理で 5.1 日であった。10 日後にはいずれも未変化のジベレリンは 8 % 以下となった。

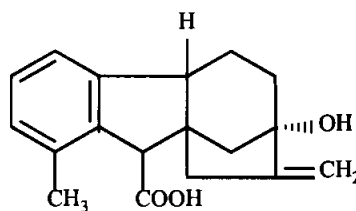
この半減期の違いは、内生ジベレリンの合成速度と生育に必要とされるジベレリン量のバランスに起因するものと推定された。

ジベレリン A₃ の代謝速度は正常型では非開花遺伝子型よりも緩慢であり、代謝物も異なっていた。正常型では生物活性を有する gibberellenic acid 様に類似した化合物に代謝され、‘フロリゲン’に関する物質であることが推察された。

一方、非開花遺伝子型では生物活性を示さない、allo-gibberic acid に代謝された。Allo-gibberic acid は 2 つの溶媒系による TLC により、同定された。



Gibberellenic acid



allo-gibberic acid

(5) アサガオ (*Pharbitis nil* Choisy) に処理したジベレリン酸 (Gibberellin A₃)

ジベレリン酸グルコシドとしての代謝物の同定とその性質

文献 12 資料 P12

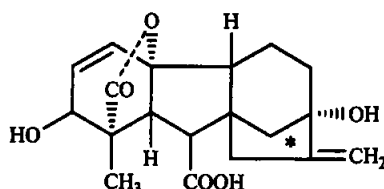
研究機関: Botany Department, University of Nijmegen(オランダ)

報告年: 1975年

標識化合物: [8-methylene] ¹⁴C-ジベレリン A₃; [¹⁴C] -GA₃

¹⁴C-ジベレリン A₃の代謝物; R- [¹⁴C]-GA₃

化学構造:



化学名: 2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylenegibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

比放射能: 6.1mCi/mmol

放射化学的純度: 不明

供試植物: アサガオ (*Pharbitis nil* Choisy) 品種; Violet, Kidachi

27℃暗条件で発芽させ、4日間栽培し、根を除去した7cmの胚軸及び子葉を用いた。

処理方法: 約4000 lux照射下で、[¹⁴C] GA₃またはR- [¹⁴C] GA₃の10⁻⁶Mの水溶液5mL中に10個の胚軸を浸漬処理した。

R- [¹⁴C] GA₃の10⁻⁶Mの水溶液5mL中に種子を浸漬した。

試験方法: 植物体試料からの放射活性物質の抽出及び分析スキームを図1に示す。

代謝物については、矮性トウモロコシを用いた徒長法で生物活性を調べた。

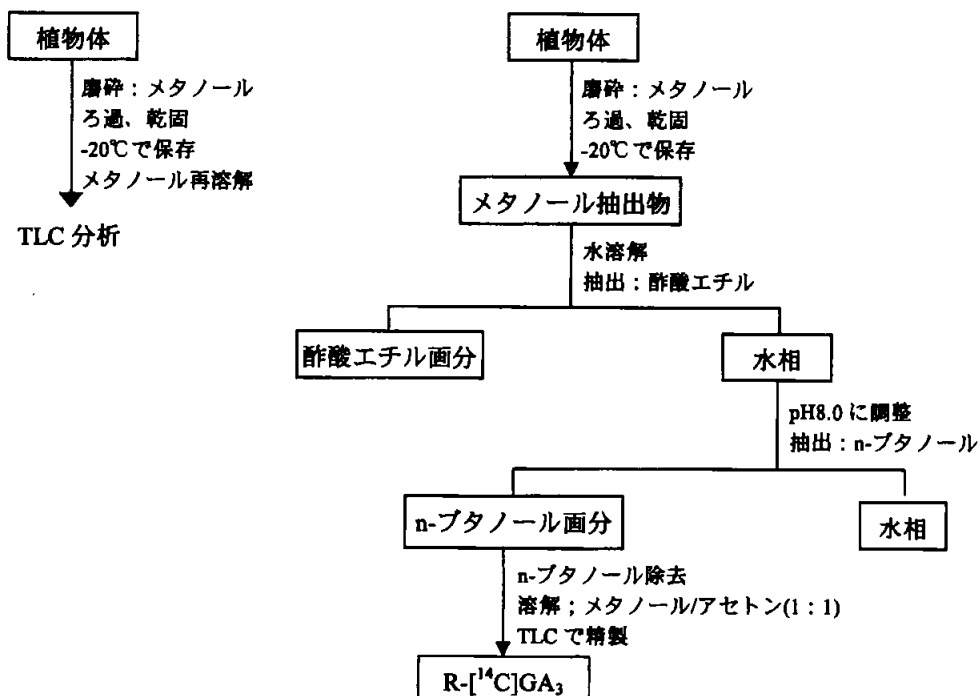


図1 アサガオ植物体試料の抽出、精製及び分析スキーム

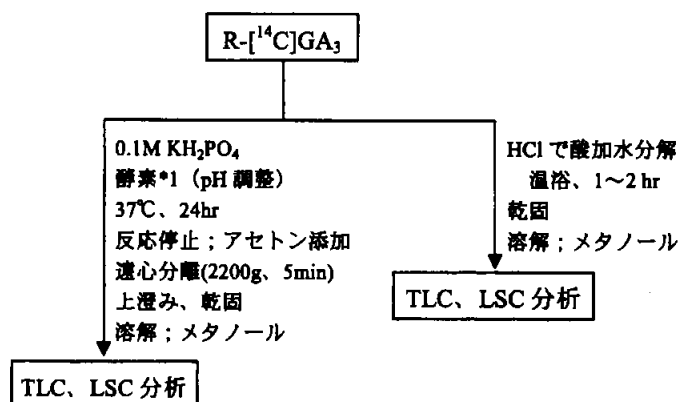


図2 代謝物の同定

酵素*1：セルラーゼ、βグルクロニダーゼ、βグルコシダーゼ

試験結果：代謝物 R-[¹⁴C]GA₃ は、TLC で4つの溶媒系で展開しても、いずれも放射活性を示すスポットは1つであり、GA₃ グリコシド(3-O-β-D-グリコピラノシル GA₃)の標準品と一致した。また DEAE セファデックスカラムによる溶出挙動も一致していた。

R-[¹⁴C]-GA₃ はセルラーゼ、β-グルクロニダーゼで加水分解され、GA₃ が生成されたが、β-グルコシダーゼでは分解されなかった。この酵素加水分解特性は GA₃-グリコシドはセルラーゼでは一部加水分解されるが、β-グルコシダーゼでは完全に分解されないという知見と一致していた。また、酸による加水分解で遊離の GA₃ と不活性化された GA₃ を生成したが、アルカリでは分解されなかった。この結果は、β-グルコシドであることを示していた。また、GA₃ が酸に不安定でジベリック酸に分解させるとの知見と一致しており、以上のことから、R-[¹⁴C]GA₃ は、GA₃ のグリコシドと仮定された。

GA₃ のカルボキシル基にグルコースがエステル結合したエステルグリコシドへの代謝も想定されたが、抽出液のカラムクロマトグラフィーで合成標品 GA₃ グリコシルエステルの溶出部位には放射能の有意な溶出は認められなかった。

単離した R-[¹⁴C]GA₃ をアサガオ種子に投与すると、その一部が吸水の過程で加水分解されるが、発芽過程で R-[¹⁴C]GA₃ に再代謝された。R-[¹⁴C]GA₃ は芽生えの子葉に蓄積され、¹⁴C]GA₃ は胚軸先端部に蓄積された。

3. 土壌中動態に関する試験

試験成績提出除外理由

当該農薬の成分物質等の種類等からみて、その毒性がきわめて弱いこと等の理由により、安全と認められるため。

参考資料

4. 水中動態に関する試験

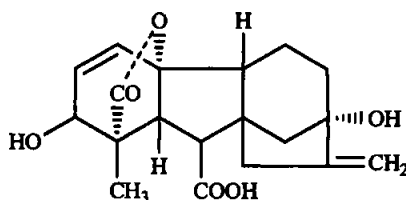
(1) ジベレリンの加水分解試験

(資料 W1)

試験機関：(株)化学分析コンサルタント
[GLP 適合]

報告書作成年：2000年

供試化合物：ジベレリン A₃
構造式



純度：

化学名：2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

供試水溶液：各 pH の緩衝液を以下のように調製した。

(pH 4.0)：0.1 M クエン酸-カリウム溶液/0.1 N 水酸化ナトリウム溶液
[KOLTHOFF and VLEESCHHOUWER の方法に準拠]

(pH 7.0)：0.1 M リン酸-カリウム溶液/0.1 N 水酸化ナトリウム溶液
[CLAEK and LUBS の方法に準拠]

(pH 9.0)：0.1 M ホウ酸/0.1 M 塩化カリウム溶液/0.1 N 水酸化ナトリウム溶液
[CLAEK and LUBS の方法に準拠]

各緩衝液は窒素ガスを約 5 分間通じて酸素を排除した後、滅菌ろ紙 (0.22 μm) を用いてろ過滅菌した。

試験方法：ジベレリン A₃ を滅菌精製水に溶解した試験原液 (1000 μg/mL) に、滅菌した各 pH の緩衝液を加え、検体濃度が 5 μg/mL の試験溶液を調製し、25 及び 40℃ の恒温器内 (暗所) に保持した。試験溶液は経時的に取り出しジベレリン A₃ 量を測定した。

温度 (°C)	緩衝液	採取日時																	
		開始前	4	8	12	24	32	48	時間後	1	2	3	5	7	10	14	21	30	日後
25	pH 4.0	○				○				○				○			○	○	○
	pH 7.0	○				○				○				○			○	○	○
	pH 9.0	○				○				○				○			○	○	○
40	pH 4.0	#		○		○				○				○			○	○	○
	pH 7.0	#		○		○				○				○			○	○	○
	pH 9.0	#	○	○	○	○	○	○	○	○									

○：採取 #：40℃の pH 4、7、9 は 25℃の開始前の分析値を採用した。

分析方法：＜高速液体クロマトグラフ質量分析計測定条件＞

機種：ヒューレット・パッカード社製 1100
 充填剤：Inertsil ODS-3 粒径 5 μm
 カラム：内径 2.1 mm、長さ 15 cm
 カラム温度：40℃
 移動相：0.2%酢酸/メタノール混液 (1:1)
 流量：0.2 mL/min.
 イオン化法：API-ES (negative)
 選択イオン：m/z 345.1

フラグメンター電圧； 70 V
 ドライングガス； 10 L/min (350℃)
 ネブライザーガス； 35 psi
 キャピラリー電圧； 4000 V

推定半減期の算出式：ジベレリン A₃ の各水溶液中の濃度の平均値から次の計算式から推定半減期を算出した。

ジベレリン A₃ の水中での分解を一次反応とみなし次式を得る。

$$-dC/dt = kt \dots \dots \dots (a)$$

(a) 式に dt を乗じ、積分すると次式が得られる。

$$\ln (C_0/C) = kt$$

ここで、C は任意の時間 t におけるジベレリン A₃ の濃度、C₀ は初期濃度、k は分解速度定数である。分解速度定数 k は最小二乗法による回帰式より算出し、ジベレリン A₃ の半減期 T_{1/2} は次式より算出した。

$$T_{1/2} = 0.693/k$$

試験結果：

添加回収率：各緩衝液にジベレリン A₃ を 2.5 μg/mL で添加した時の平均回収率は、pH 4 で 92 %、pH 7 で 82 %、pH 9 で 94 % であった。

水中濃度及び残存率：

ジベレリン A₃ の 25℃ における水中濃度及び残存率

保持時間	pH 4.0		pH 7.0		pH 9.0	
	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)
開始前	4.6	—	4.4	—	4.6	—
1 日後	4.5	98	4.4	—	4.0	87
3 日後	4.2	91	3.4	77	2.9	63
5 日後	—	—	—	—	2.2	48
7 日後	3.6	78	3.3	75	1.8	39
10 日後	—	—	—	—	1.2	26
14 日後	2.8	61	2.2	50	0.6	13
21 日後	2.2	48	1.6	36	—	—
30 日後	1.5	33	0.9	20	—	—

* 残存率 (%)：各 pH の開始前濃度に対する割合 (申請者が計算)

—：分析せず

ジベレリン A₃ の 40℃ における水中濃度及び残存率

保持時間	pH 4.0		pH 7.0		pH 9.0	
	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)
開始前	4.6	—	4.4	—	4.6	—
4 時間後	—	—	—	—	4.0	87
8 時間後	4.2	91	3.7	84	3.3	72
12 時間後	—	—	—	—	2.8	61
24 時間後	3.6	78	3.1	70	1.6	35
32 時間後	—	—	2.8	64	1.0	22
2 日後	2.7	59	2.0	45	0.5	11
3 日後	2.0	43	1.3	30	—	—
5 日後	1.2	26	0.7	16	—	—
7 日後	0.6	13	—	—	—	—

* 残存率 (%)：各 pH の開始前濃度に対する割合 (申請者が計算)

—：分析せず

加水分解半減期：

ジベレリン A₃ の加水分解半減期

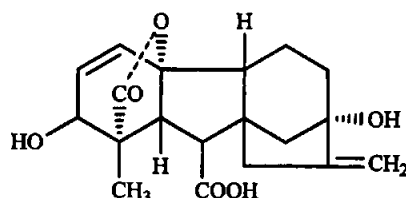
試験温度	pH	推定半減期
25℃	4.0	18 日
	7.0	13 日
	9.0	4.9 日
40℃	4.0	2.4 日
	7.0	1.9 日
	9.0	14 時間

(2) ジベレリンの水中光分解試験

(資料W2)

試験機関：(株)化学分析コンサルタント
[GLP 適合]
報告書作成年：2000年

供試化合物：ジベレリン A₃
構造式



純度：
化学名：2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone
供試水：

自然水	採水年月日	平成 12 年 9 月 28 日
	採水地点	荒川中流；埼玉県志木市秋ヶ瀬取水口付近
	採水品の事前処理	採取した河川水をガラス繊維ろ紙（孔径 1 μm）を用いて吸引ろ過して、6℃以下で保存。更に実験開始直前に同じガラス繊維ろ紙で吸引ろ過。
	pH	7.8 (22℃)
	電気伝導率 (25℃)	21.0 mS/m
滅菌精製水	採水年月日	実験開始直前（平成 12 年 10 月 26 日～11 月 2 日）
	純水製造装置	日本ミリポア（株）製 Milli-R05 PLUS 及び Milli-Q SP TOC
	滅菌法	純水製造装置を用いて製造した精製水（JIS K 05574 種別及び質の A4 種に相当する水）を実験開始直前に滅菌ろ紙（0.22 μm）を用いて滅菌。

光源： 加速暴露試験機：(株)島津製作所製 XF-180 キセノンバーナー、特殊 UV ガラスフィルター付（放射光の波長領域を 290 nm 以上の波長に制限）

光強度：放射照度計；(株)島津製作所製 Radialux

波長範囲	試験溶液	実験開始前強度 (W/m ²)	実験終了後強度 (W/m ²)
300 nm～400 nm (UV センサー)	自然水	36.4	36.5
	滅菌精製水		
300 nm～800 nm (グローバルセンサー)	自然水	419	420
	滅菌精製水		

試験方法：

試験条件：試験室温度；25±2℃

光照射区：光照射装置内温度；25±2℃

試験期間；自然水：72 時間、滅菌精製水：7 日間

暗所対照区：低温恒温器内温度；25±2℃

試験期間；自然水：7 日間、滅菌精製水：7 日間

試験溶液の調製（濃度）：ジベレリン A₃ を滅菌精製水に加えて溶かし定容とし、試験原液（1000 μg/mL）とした。この試験原液 2.5 mL を 2 個の 500 mL 容褐色メスフラスコにとり、自然水及び滅菌精製水をそれぞれに加えて定容し試験溶液（5 μg/mL）とした。

試験溶液の採取：以下に示すように、所定時間毎に試験溶液を採取してジベレリン A₃ 量を測定した (n = 2)。

試験水	試験区	開始前	8	24	32	48	72	時間後	
				1		2	3	5	7日後
自然水 (河川水)	照射区	○	○	○	○	○	○	○	○
	暗所対照区	#	○	○	○	○	○	○	○
滅菌精製水	照射区	○	○	○	○	○	○	○	○
	暗所対照区	#	○	○	○	○	○	○	○

○：採取 #：採取せずに照射区の開始前分析値を採用した。

分析方法：＜高速液体クロマトグラフ質量分析計測定条件＞

機種； ヒューレット・パッカード社製 1100
 充填剤； Inertsil ODS-3 粒径 5 μm
 カラム； 内径 2.1 mm、長さ 15 cm
 カラム温度； 40℃
 移動相； 0.2%酢酸/メタノール混液 (1:1)
 流量； 0.2 mL/min
 イオン化法； API-ES (negative)
 選択イオン； m/z 345.1
 フラグメンター電圧； 70 V
 ドライングガス； 10 L/min (350℃)
 ネブライザーガス； 35 psi
 キャピラリー電圧； 4000 V

分析操作：試験溶液 5 mL にメタノール/精製水混液 (1:1) を加えて定容し、測定溶液とした。

推定半減期の算出式：ジベレリン A₃ の各水溶液中の濃度の平均値から次の計算式から推定半減期を算出した。

ジベレリン A₃ の水中での分解を一次反応とみなし次式を得る。

$$-dC/dt = kt \dots \dots \dots (a)$$

(a) 式に dt を乗じ、積分すると次式が得られる。

$$\ln (C_0/C) = kt$$

ここで、C は任意の時間 t におけるジベレリン A₃ の濃度、C₀ は初期濃度、k は分解速度定数である。分解速度定数 k は最小二乗法による回帰式より算出し、ジベレリン A₃ の半減期 T_{1/2} は次式より算出した。

$$T_{1/2} = 0.693/k$$

試験結果：

添加回収率：ジベレリン A₃ を 2.5 μg/mL で添加した時の平均回収率は、自然水で 94%、滅菌精製水で 97% であった。

水中濃度及び残存率：

ジベレリン A₃ の自然水中における水中濃度及び残存率

照射区			暗所対照区		
照射時間	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)	暗所保持時間	平均濃度 (μg/mL)	残存率* (%)
開始前	4.8	—	開始前	4.8	—
8 時間後	4.2	88	1 日後	4.7	98
24 時間後	2.8	58	2 日後	4.5	94
32 時間後	2.3	48	3 日後	4.4	92
48 時間後	1.2	25	5 日後	4.0	83
72 時間後	0.6	12	7 日後	3.6	75

* 残存率 (%)：開始前濃度に対する割合 (申請者が算出)

—：分析せず

ジベレリン A₃ の滅菌精製水中における水中濃度及び残存率

光照射区			暗所対照区		
光照射時間	平均濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	残存率* (%)	暗所 保持時間	平均濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	残存率* (%)
開始前	5.0	—	開始前	5.0	—
1日後	3.8	76	1日後	4.7	94
2日後	3.1	62	2日後	4.4	88
3日後	1.3	26	3日後	4.2	84
5日後	0.6	12	5日後	4.0	80
7日後	<0.2** 0.5**	<10	7日後	3.6	72

* 残存率 (%) : 開始前濃度に対する割合 (申請者が算出)

** 各分析値を示す。

推定半減期 :

ジベレリン A₃ の水中光分解半減期

供試水	光照射区	東京 4~6 月の 太陽光換算 ¹⁾	暗所対照区
滅菌精製水	1.7 日 ($r=0.975365$) ²⁾	8.0 日	17 日 ($r=0.988766$)
自然水	22 時間 ($r=0.996481$)	4.3 日	16 日 ($r=0.994837$)

1) 申請者が計算 (計算方法の詳細は以下に記載)

2) r: 相関係数

東京における春 (4~6 月) の太陽光換算半減期の計算方法

東京における春 (4~6 月) の太陽光の全天日射量の 1 日積算値を I_0 とすると、300~400 nm の放射照度 (月別平均値) は、JIS C8911 より (全波長の放射照度) に対する (300~400 nm の放射照度) の比率は 4.6% であることから、

$$I_s = I_0 \times (300\sim 400 \text{ nm の放射照度}) / (\text{全波長の放射照度}) \\ = 14.6 \times 4.6\% = 0.672 \text{ (MJ/m}^2\text{/d)}$$

光照射区の精製水における試験開始から半減期までの放射照度の積算値は、

$$I_{DT50} = I_{300-400 \text{ nm}} \times DT50_{\text{lab}} \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} \\ = 36.45 \times 1.7 \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} \\ = 5.354 \text{ (MJ/m}^2\text{/d)}$$

ゆえに太陽光下での半減期 $DT50_{\text{sun}}$ は、

$$DT50_{\text{sun}} = I_{DT50} / I_s \\ = 5.354 / 0.672 \\ = 7.967 \text{ 日}$$

同様に、光照射区の自然水における試験開始から半減期までの放射照度の積算値は、

$$I_{DT50} = I_{300-400 \text{ nm}} \times DT50_{\text{lab}} \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} \\ = 36.45 \times 22 / 24 \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} \\ = 2.887 \text{ (MJ/m}^2\text{/d)}$$

ゆえに太陽光下での半減期 $DT50_{\text{sun}}$ は、

$$DT50_{\text{sun}} = I_{DT50} / I_s \\ = 2.887 / 0.672 \\ = 4.296 \text{ 日}$$

- (3) ジベレリンの加水分解動態試験
ジベレリンの水中光分解動態試験

試験成績提出除外理由

当該農薬の成分物質等の種類等からみて、その毒性がきわめて弱いこと等の理由により、安全と認められるため。

5. 土壤吸着性試験

ジベレリンの土壤吸着試験

(資料 S2)

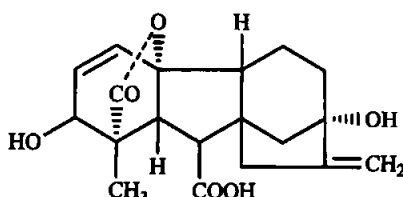
試験機関：(株)化学分析コンサルタント

[GLP 適合]

報告書作成年：2001 年

供試化合物：ジベレリン A₃

構造式



純度：

化学名：2,4a,7-trihydroxy-1-methyl-8-methylene-gibb-3-ene-1,10-dicarboxylic acid 1,4a-lactone

供試土壤：

土壤番号	8	10	14	20
土壤分類	水田土壤	水田土壤	畑土土壤	畑土土壤
採取場所	日植防高知試験場	植調鹿兒島試験地	日植防牛久研究所	日植防宮崎試験場
土壤の種類	灰色低地土土壤	シラス混入灰褐色砂壤土	褐色火山灰土壤	砂丘未熟土土壤
土性	LIC	CL	SiCL	S
砂 (%)	粗砂；5.6 細砂；36.1	71.7	26.2	粗砂；7.3 細砂；82.8
シルト (%)	31.9	13.6	50.9	5.2
粘土 (%)	26.4	14.7	22.9	4.7
粘土鉱物の種類	クロライトイライト	アロフェン ハロイサイト	アロフェン パーミキュライト	アロフェン ハロイサイト
有機炭素含有率 (%)	1.24	2.13	2.25	0.96
pH	H ₂ O	6.4	5.3	6.8
	KCl	-	5.5	5.9
	CaCl ₂	5.2	-	5.6
陽イオン交換容量 (me/100 g)	9.8	8.9	21.4	6.4
りん酸吸収係数	500	430	2300	510

試験方法：OECD ガイドライン 106 (1981 年 5 月 12 日採択) に準拠した。

試験土壌 5 g (乾土相当量) を 50 mL 容遠沈管に量り取り、精製水を加えて密栓し 24 時間静置して平衡化した。その後、試験溶液 (1 μg/mL) 20 mL を加えて密栓し遮光下 25℃ で 16 時間攪拌した。遠心分離して水相と固相に分け、それぞれについてジベレリン A₃ を高速液体クロマトグラフ質量分析計により定量した。

水相については、0.5 N 塩酸を加えて pH 2.5 以下に調整後、酢酸エチルに転溶し、さらに減圧濃縮乾固、残留物にメタノール/精製水混液 (1:1) を一定量加えて溶解し、クロマトディスク (0.45 μm) で、ろ過し測定溶液とした。

固相は全量を精製水 30 mL 及びメタノール 100 mL で注意して分液ロートに入れ、0.5 N 塩酸 5 mL を加えて 30 分間振とう抽出し、ろ過した。残さにメタノール適量を加え同様に抽出し、抽出液を合わせ、濃縮液に飽和塩化ナトリウム溶液及び酢酸エチル適量を加え、振とう攪拌して、酢酸エチルに転溶し、以下水相と同様に処理して測定溶液とした。

分析方法：

<高速液体クロマトグラフ質量分析計測定条件>

機種； ヒューレット・パッカード社製 1100
 充填剤； Inertsil ODS-3 粒径 5 μm
 カラム； 内径 2.1 mm、長さ 15 cm
 カラム温度； 40℃
 移動相； 0.2%酢酸/メタノール混液 (1:1)
 流量； 0.2 mL/min
 イオン化法； API-ES (negative)
 選択イオン； m/z 345.1
 フラグメンター電圧； 70 V
 ドライングガス； 10 L/min (350℃)
 ネプライザーガス； 35 psi
 キャピラリー電圧； 4000 V

試験結果：スクリーニング試験において、ジベレリン A₃ の土壤吸着性は極めて低く、土壤吸着割合が 4 土壤とも 20 % 以下であったため、高次試験（平衡化試験及び吸着等温線試験）は実施しなかった。

水相の 1 μg/mL 添加回収率は 89~95 %、固相の 1 μg/g 添加回収率は 78~94 % であった。また、水相と固相のジベレリン A₃ 量から算出した物質収支（回収率）は 80.8~89.8 % であった。

スクリーニング試験結果

土壤 No.	8		10		14		20	
採取場所	日植防 高知試験場		植圃 鹿児島試験地		日植防 牛久研究所		日植防 宮崎試験場	
土壤吸着率 (%)	3.8 8.9	6.4	-1.3 1.3	0.0	-2.5 -2.5	0* (-2.5)	1.3 5.7	3.5
吸着係数 K _d	0.20 0.49	0.34	-0.06 0.06	0.0	-0.13 -0.13	0* (-0.13)	0.06 0.30	0.18
有機炭素含有率 (%)	1.24		2.13		2.25		0.96	
有機炭素吸着係数 K _{oc}	16.1 39.5	27.8	-2.82 2.82	0.0	-5.78 -5.78	0* (-5.78)	6.25 31.2	18.7

*：結果が負の場合は「0」と表示した。括弧内は計算値。

6. 生物濃縮性試験

ジベレリン A₃ の n-オクタノール/水分配係数試験（フラスコ振とう法）の結果、測定値（log Pow = 0.68）が 3.5 未満であったため、生物濃縮性試験を省略した。

代謝分解のまとめ

ジベレリンの動物（ラット）、植物、土壌及び水中における代謝分解、土壌吸着性及び生物濃縮性の要約は下記の通りであり、代謝分解経路を図1に示す。

なお、植物及び土壌における代謝分解等については文献等からの知見をまとめたものである。

1. 動物代謝

発酵法による生合成法で調製した放射化学的純度 97.8% の¹⁴C-ジベレリンを検体として、Wistar 系ラットにおける吸収・分布・排泄、蓄積性及び代謝について検討した。

(1) 吸収・分布・排泄

5 mg/kg（低用量）及び 1000 mg/kg（高用量）の 2 投与レベルで試験し、雌雄とも高用量の方が低用量に比べ、若干排泄速度が遅れる傾向がみられるものの、いずれも投与後 48 時間までに、投与量の 93% 以上が排泄された。投与後 7 日までに、投与量の 92% 以上が糞に、3~4% が尿に排泄され、放射能の主排泄経路は糞と考えられた。なお、放射能の呼気中への排泄は認められなかった。

(2) 血中濃度

5 mg/kg の単回経口投与で、全血中の¹⁴C-ジベレリン濃度は雌雄とも投与 0.75 時間後に最大値 (0.06 μg/mL) を示し、雄は半減期 2.3 時間、雌は半減期 4.7 時間で減少した。

(3) 胆汁排泄

¹⁴C-ジベレリンを 5 mg/kg の用量で経口投与したとき、投与後 48 時間までに胆汁中に排泄された累積放射能は 8.5% であった。同時に採取した尿及び糞中には、それぞれ 7.5% 及び 63.1% の放射能が排泄され、ジベレリンのラットにおける体内吸収率は、胆汁中及び尿中に排泄された放射能の合計の 16.0% と算出された。

(4) 組織内分布

5 mg/kg（低用量）及び 1000 mg/kg（高用量）の 2 投与レベルで試験した。低用量、高用量とも全血中濃度が最大値を示す投与後 0.75 時間では、胃及び腸に比較的高濃度の放射能が、腎臓、肝臓、甲状腺及び雌の盲腸等に中程度の放射能が認められた。投与した¹⁴C-ジベレリンの 90% 以上が体外に排泄された低用量の 1 日後、高用量の 2 日後では、盲腸、甲状腺、雄の副腎等を除き組織中の放射能レベルは極めて低かった。

(5) 蓄積性

ラット雌雄各 5 匹よりなる群に、1 日 1 回 5 mg/kg の割合で 7 日間反復投与して蓄積性について調べた結果、最終投与後 1 日目までに全投与量の約 97% が体外に排泄され、それ以降の放射能の排泄量は僅かであった。糞中への全排泄率が約 94% で、主排泄経路は糞と考えられた。

組織内分布は最終投与後 0.75 時間では、胃及び腸に比較的高濃度の放射能が、腎臓、肝臓及び盲腸に中程度の放射能が認められたが、¹⁴C-ジベレリンの 90% 以上が体外に排泄された。最終投与 1 日後では盲腸及び腸に僅かに認めたものの、組織中の放射能濃度は 0.04 μg/g 以下で蓄積性はないと判断された。

(6) 代謝

¹⁴C-ジベレリンを 5 mg/kg の用量で経口投与し、投与後 7 日までに得られた凍結保存の尿及び糞を試し、二次元 TLC-オートラジオグラフィーにより放射性代謝物を同定した。

尿及び糞中の主要なスポットは未変化の親化合物（ジベレリン A₃）で投与放射能の約 80% を占めた。糞及び尿中の代謝物として、加水分解を生成機構とする次の 3 化合物が同定された。

代謝物 [B] : Isogibberellin A₃

代謝物 [C] : Gibberellenic acid

代謝物 [D] : Allogibberic acid

これらの代謝物はいずれも基本骨格であるジバン（gibbane）環は開裂していなかった。生成量は、代謝物 [B] 及び [C] が投与放射能の 5~10% 程度で、代謝物 [D] は雌の尿及び糞にわずか 0.2% ずつ認

められたに過ぎなかった。

2. 植物代謝

ジベレリンの代謝については、大きく分けて二つの経路があるとされている。1つは2β位の水酸化反応とそれに伴う分解反応であり、いま1つは配糖体等の抱合体への変換である。ジベレリンの配糖体としては、ジベレリンの水酸基と糖の結合したジベレリングリコシルエーテルと7位のカルボキシル基と糖の結合したジベレリングリコシルエステルの2種類がある。

ジベレリングリコシルエーテルの多くは2β位が水酸化されており、生理活性を示さないため、解毒的代謝とみなされる。

ジベレリングリコシルエーテルであるジベレリン A₃ グルコシドの生成度合いは植物の種類により異なり、イネ科、ナス科、バラ科の植物はグルコシドが生成されにくく、一方、マメ科、ヒルガオ科、キク科の植物はジベレリン A₃ グルコシドの生成が顕著である。

トリチウムラベルしたジベレリン A₃ 水溶液をインゲンマメ幼苗に塗布 (300 μg/植物体) すると、塗布後8日までにジベレリン A₃ は経時的に減少し、これに伴い代謝物が増加した。3種の代謝物が同定され、そのうち最大量の代謝物は3-O-β-glucosyl gibberellin A₃ [E] であり、全放射能の約4割を占めた。その他の代謝物として、3-O-β-glucosyl gibberellenic acid [G] 及び3-O-β-glucosyl isogibberellin A₃ [F] がそれぞれ2割強及び2割弱認められた。

このようにジベレリン A₃ は、植物体内において、基本骨格たるジバン (gibbane) 環の開裂は起こらず、加水分解を主とする代謝物の生成過程でそのグルコシドを形成すると推察された。

植物において同定されたジベレリン A₃ 代謝物はすべてラットの尿及び糞中に確認された化合物 (ジベレリン A₃、Isogibberellin A₃ [B] 及び Gibberellenic acid [C]) の糖抱合体であった。このことから、ジベレリン A₃ は植物においても動物と同様の代謝反応を受けると考えられた。

3. 土壌中動態

ジベレリン A₃ 及び結合型のジベレリン A₃ グルコシドの土壌中における挙動が調べられている。ジベレリン A₃ グルコシド (3-O-β-glucosyl gibberellin A₃) [E] は土壌中において速やかに分解され、遊離型のジベレリン A₃ に変化するが、遊離型のジベレリン A₃ は、土壌混合7日後の比較的長期間でも分解は認められなかった。

しかし、土壌中にはジベレリン A₃ を分解する菌 (*Brevibacterium gibberellium*) が存在することが確認されており、ジベレリン A₃ はいずれこれら菌により分解されると推察される。

4. 水中動態

ジベレリン A₃ の加水分解試験の結果、推定半減期は、25℃において pH4 で18日、pH7 で13日、pH9 で4.9日、40℃において pH4 で2.4日、pH7 で1.9日、pH9 で14時間であった。

ジベレリン A₃ の滅菌精製水及び自然水中における光分解試験の結果、ジベレリン A₃ は光照射により速やかに分解し、東京4~6月の太陽光換算の推定半減期は、それぞれ8.0日及び4.3日と算出された。

5. 土壌吸着性

ジベレリン A₃ の土壌吸着性スクリーニング試験の結果、土壌への吸着割合は供試した4土壌とも20%以下であったため、高次試験 (平衡化試験及び吸着等温線試験) は実施しなかった。スクリーニング試験の結果より、ジベレリン A₃ の土壌有機炭素吸着係数 (K_{oc}) は、0~28と算出された。

6. 生物濃縮性

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

ジベレリン A₃ の n-オクタノール/水分配係数 (フラスコ振とう法) の測定値 (log Pow = 0.68) から、ジベレリン A₃ の生物濃縮性は極めて低いと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

図1 ジベレリンの動植物及び土壌中における代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。