

6. 21 日間反復経皮投与毒性

イマザピル(酸)原体のウサギにおける 21 日間反復経皮投与毒性試験

(資料 15)

試験機関:

[非対応]

報告書作成年:

検体純度:

供試動物: New Zealand White 系ウサギ、1 群雌雄各 10 匹、

投与開始時体重; 雄 2.31~3.00 kg、雌 2.30~3.00 kg

投与期間: 21 日間

投与方法: 検体を体表の約 10~15%の刈毛した背部皮膚に 0、100、200、400 mg/kg/日の用量で適用し、生理食塩水で湿らせたガーゼおよび不通気性のテープで覆い、1 日 6 時間、週 5 日間、3 週間反復した。また、各群の一部の動物の適用部位には針を使って週 1 回の頻度で傷をつけた。

投与量設定根拠: 急性経皮毒性データに基づき、本試験の投与量を 0、100、200 および 400 mg/kg/日とした。

観察・検査項目および結果:

一般状態および死亡率: 全動物の一般状態および生死を毎日観察した。

検体投与に関連した毒性症状および死亡は認められなかった。

400 mg/kg 投与群の雄 1 例および 200 mg/kg 投与群の雄 1 例がそれぞれ投与 13 および 16 日目に死亡したが、肉眼的病理検査および病理組織学的検査で肺炎が認められた。

体重変化: 全動物の体重を投与開始前日および投与後は 3 日毎に測定した。

検体投与に関連した影響は、雌雄ともにいずれの投与量においても認められなかった。

200 mg/kg 投与群および 400 mg/kg 投与群の雌でそれぞれ投与 15 日目および 12 日目の体重変化に統計学的有意差が認められたが、偶発的な変化と考えられた。

摂餌量: 全動物の摂餌量を投与開始前日および投与後は 3 日毎に測定した。

検体投与に関連した影響は、雌雄ともにいずれの投与量においても認められなかった。

血液学的検査: 投与期間終了時に全生存動物を対象として、後大静脈から血液を採取し、以下の項目の測定を行った。

ヘマトクリット値、血色素量、赤血球数、総白血球数、白血球分類、血小板数

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	100	200	400	100	200	400
リンパ球	133	133	↑150	113	106	83

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

検体投与に関連した影響は、雌雄ともにいずれの投与量においても認められなかった。400 mg/kg 投与群雄のリンパ球の統計学的に有意な高値がみられたが、雌では低値傾向を示した。検体投与に関連する変化ではないと考えられた。

血液生化学検査：血液学的検査で使用した血液から得られた血清を用い、以下の項目の測定を行った。

カルシウム、リン、クロライド、ナトリウム、カリウム、血糖、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT)、 γ -グルタミルトランスぺプチターゼ (γ GTP)、尿素窒素 (BUN)、アルブミン、クレアチニン、総ビリルビン、直接ビリルビン、総蛋白

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別	雄			雌		
	100	200	400	100	200	400
ナトリウム	96	104	↑109	107	107	103
カリウム	109	121	106	111	↑159	130
γ GTP	100	125	281	↓61	87	↓3
GOT	109	↑179	137	134	191	↑321
尿素窒素	118	↑169	142	103	110	113
クレアチニン	111	↑133	133	108	117	108
直接ビリルビン	100	114	143	0	250	↑375
総蛋白	100	117	115	116	↑122	↑116

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

検体投与に関連した影響は、雌雄ともにいずれの投与量においても認められなかった。

統計学的有意差が散見されたが、検体投与に関連する一貫性のあるまたは明らかな影響は認められなかった。

臓器重量：投与期間終了時に全生存動物を対象として、以下の臓器重量を測定し、対体重比も算出した。

肝臓、腎臓、心臓、精巣、卵巣、甲状腺／上皮小体、副腎、脳、下垂体

対照群と比べ統計学的有意差の認められた項目を下表に示す。

性別		雄			雌		
投与量 (mg/kg/日)		100	200	400	100	200	400
最終体重		96	92	98	100	10	102
下垂体	重量	105	114	119	↓80	83	87
	対体重比	100	100	100	100	100	100
甲状腺	重量	93	↓71	99	98	92	92
	対体重比	100	↓78	100	100	89	89

対照群との有意差検定は、Dunnett 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。

検体投与に関連した影響は、雌雄ともにいずれの投与量においても認められなかった。200 mg/kg 投与群雄の甲状腺重量が統計学的に有意に減少したが、400 mg/kg 投与群では変化がないことから、検体投与に関連しないと考えられた。また、100 mg/kg 投与群雌の下垂体重量が統計学的に有意に減少したが、対照群が偶発的に高値であったためであり、検体投与に関連した変化ではないと考えられた。

肉眼的病理検査：試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

検体投与に関連があると考えられる異常は認められなかった。

病理組織学的検査：対照群および 400 mg/kg/日投与群の全動物から採取した以下の組織および全動物の肉眼的病変部位について病理標本を作成し、鏡検した。

脳、脊髄、眼球、視神経、下垂体、副腎、甲状腺、上皮小体、唾液腺、腸間膜リンパ節、縦隔洞リンパ節、食道、気管、胸腺、大動脈、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、膀胱、精巣、前立腺、精囊、卵巣、子宮、子宮頸部、膣、胃、膵臓、十二

指腸、空腸、回腸、大腸、乳腺、適用部皮膚、非適用部皮膚、骨格筋、坐骨神経、骨および骨髄（胸骨）、舌、肉眼的病変部

主要な病理組織学的所見の発現頻度を次頁の表に示す。

検体投与に起因する病理組織学的変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤のウサギに対する 21 日間反復経皮投与毒性試験においては影響が観察されなかったため、無毒性量は雌雄とも 400 mg/kg/日であると判断される。

性別		雄				雌			
		0	100	200	400	0	100	200	400
投与量 (mg/kg/日)		0	100	200	400	0	100	200	400
甲状腺	所見\検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	10
	活動性	10	0	0	10	10	0	0	10
	管拡張	5	0	0	7	5	0	0	7
	限局性炎症細胞浸潤	0	0	0	2	4	0	0	2
心臓	所見\検査動物数	10	0	0	10	10	0	0	10
	限局性心筋炎	1	0	0	3	1	0	0	1
	動脈炎	0	0	0	1	0	0	0	0
肺	所見\検査動物数	10	0	1	10	10	0	0	10
	気管支周囲リンパ球過形成	10	0	0	10	10	0	0	10
	限局性間質性肺炎	10	0	0	8	9	0	0	10
	鉍質沈着	1	0	0	0	0	0	0	0
	気管支炎	1	0	0	3	6	0	0	4
	肺炎	0	0	1	2	0	0	0	2
肝臓	所見\検査動物数	10	0	2	10	10	2	4	10
	胆管周囲炎	10	0	2	10	10	2	4	10
	胆管周囲線維化	0	0	0	0	1	0	4	0
	寄生虫肉芽腫	3	0	0	3	1	1	0	3
	コクシジウム	3	0	0	3	1	1	3	3
	肉芽腫	0	0	1	0	0	0	0	0
	炎症巣	0	0	1	0	0	1	0	0
腎臓	所見\検査動物数	10	1	0	10	10	1	3	10
	限局性間質性腎炎	4	0	0	6	6	1	3	5
	限局性尿細管変性/再生	1	1	0	1	1	0	0	1
	限局性鉍質沈着	0	0	0	2	0	0	0	1
	限局性栓塞性腎炎	0	0	0	0	0	0	0	1
投与部位皮膚	所見\検査動物数	10	1	0	10	10	0	0	10
	表皮肥厚	0	1	0	0	0	0	0	0
	炎症細胞浸潤	0	1	0	0	0	0	0	0
	毛胞炎	0	1	0	0	0	0	0	0
	限局性炎症細胞浸潤	0	0	0	3	2	0	0	6
	限局性壊死	0	0	0	0	1	0	0	0
	痂皮形成	0	0	0	0	1	0	0	0

7. 反復経口投与神経毒性試験

ラットを用いた 90 日間反復経口毒性試験で神経毒性に関連する観察項目を網羅しており、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見がなく、かつ、既知神経毒性物質と化学的構造相関がないことから試験は実施しなかった。90 日間反復経口毒性試験での神経毒性に関連する観察内容の概要は、本抄録中、4. 急性神経毒性（毒 21～毒 25）に記載した。

8. 繁殖毒性および催奇形性

8-1. イマザピル(酸)原体のラットにおける催奇形性試験

(資料 17)

試験機関:

[非 GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度:

供試動物: CD 系妊娠ラット、1 群 25 匹

投与期間: 妊娠 6~15 日の 10 日間

(1983 年 3 月 29 日交配開始~1983 年 4 月 22 日最終屠殺)

投与方法: 検体を 0.1%Tween 80 水溶液に懸濁し、100、300 および 1000 mg/kg/日の投与レベルで妊娠 6 日目^{*} から 15 日目までの 10 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.1%Tween 80 水溶液を同様に投与した。

*) 膣栓または膣垢中の精子が確認された日を妊娠 0 日として起算した。

投与量設定根拠: 同研究所で CD 系妊娠ラット (各群 5 匹) を用い、0、250、500、1000 および 2000 mg/kg/日の用量で、妊娠 6 日目から 15 日目まで投与した用量設定試験の結果、死亡は認められなかったが、250 mg/kg 群の 1 例、500 mg/kg 群の 2 例、1000 mg/kg 群の 3 例、2000 mg/kg 群の全例で流産が 1~2 日間観察された。肉眼的病理検査では検体投与に関連する変化はみられず、黄体数、着床数、吸収部位数および生存胎児数に群間で差はみられなかった。したがって、本試験の投与量を 0、100、300 および 1000 mg/kg/日とした。

観察・検査項目:

親動物: 全雌動物について、死亡の有無および一般症状を 1 日 2 回以上観察した。体重は妊娠 0、6、9、12、15 および 20 日目に測定した。妊娠 20 日に、すべての生存雌動物を安楽死させて子宮を摘出し、妊娠子宮重量を測定し、着床部位、早期吸収部位、後期吸収部位および胎児の数を検査した。

生存胎児: 性別判定、体重および頭臀距離の測定、外表異常の検査を行った。各同腹児の 2/3 については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査し、残りの胎児についてはブアン液で固定し、内臓異常の有無を検査した。

結 果: 概要を以下の表に示した。

母動物: 途中死亡は認められなかった。各検体投与群の体重および体重増加量は対照群と差がなかった。1000 mg/kg 投与群の妊娠動物 22 例中 6 例で投与期間中に流産がみられたが、その他の一般状態の異常は認められなかった。検体投与に起因すると考えられる肉眼的病理所見は認められなかった。投与群の繁殖データは対照群と差がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Imazapyr

生存胎児：検体投与群の体重および頭殿長は対照群と差がなかった。外表、骨格および内臓検査において、検体に起因すると考えられる異常および変異の発現頻度増加は認められなかった。

以上のように、本剤をラットの妊娠6～15日に経口投与したときの母動物における無毒性量は300 mg/kg/日、胎児動物における無毒性量は1000 mg/kg/日であった。また、最高投与量の1000 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

結果の概要

投与群 (mg/kg/日)		対照	100	300	1000	
1 群あたり動物数		25	25	25	25	
妊娠動物数		22	24	23	22	
母動物	途中死亡/切迫屠殺数	0	0	0	0	
	一般状態：流産	0	0	0	6	
	体重変化	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	妊娠中体重増加量 (g)	150	148	143	140	
	妊娠子宮重量 (g)	82.4	82.9	78.5	73.6	
	肉眼的病理所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
	着床所見	検査母動物数	22	24	23	22
		平均黄体数	16.3	17.4	15.9	14.8
		平均着床数	14.7	15.0	14.3	13.8
		早期吸収胚数	0.4	0.7	0.4	0.9
		後期吸収胚数	0.0	0.0	0.0	0.0
		平均生存胎児数	14.3	14.3	13.9	12.9
		生存胎児率 (%)	97.4	95.4	96.9	93.5
平均死亡胎児数		0.0	0.0	0.0	0.0	
胎児	胎児体重 (g)	雄	3.5	3.5	3.4	3.4
		雌	3.3	3.3	3.2	3.2
	頭臀長 (cm)	雄	3.5	3.5	3.6	3.5
		雌	3.5	3.5	3.5	3.4
	性比 (%)	49.9	49.6	46.0	49.3	

太枠内は検体投与の影響であることを示す。

—：対照群

生存胎児率 (%) = (生存胎児数 / 着床数) × 100

性比 (%) = (雄胎児数 / 全胎児数) × 100

以下の有意差検定を実施したが、対照群との有意差は認められなかった。

Dunnett の多重比較検定：体重、体重増加量、子宮重量、胎児体重

Dunn の多重比較検定：黄体数、着床数、吸収胚数、性比、胎児数、胎児頭臀長

(つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000	
胎児動物	外表検査	検査胎児 (腹) 数	315 (22)	344 (24)	320 (23)	283 (22)
		奇形を有する胎児 (腹) 数	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		変異/奇形を有する胎児 (腹) 数	3 (3)	2 (2)	4 (2)	3 (3)
		血腫	2 (2)	2 (2)	2 (1)	2 (2)
		矮小	0 (0)	0 (0)	2 (1)	1 (1)
		小顎症*	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	内臓検査	検査胎児 (腹) 数	96 (22)	106 (24)	98 (23)	86 (21)
		奇形を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		変異/奇形を有する胎児 (腹) 数	4 (3)	8 (6)	6 (5)	2 (2)
		心房拡大	4 (3)	6 (4)	5 (4)	1 (1)
		片側腎盂腔増加	0 (0)	1 (1)	2 (2)	1 (1)
	胃の位置異常*	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
	骨格検査	検査胎児 (腹) 数	219 (22)	238 (24)	222 (23)	197 (22)
		奇形を有する胎児 (腹) 数	20 (9)	12 (6)	15 (9)	7 (5)
		変異/奇形を有する胎児 (腹) 数	219 (22)	238 (24)	222 (23)	195 (22)
		両側 12 肋骨*	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		片側 14 肋骨	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		両側腓骨欠損*	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
両側脛骨欠損一点状骨化*		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
胸骨非対称骨化*		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
胸骨分節二重骨化核*		1 (1)	0 (0)	3 (3)	0 (0)	
胸骨分節癒合*		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
胸椎癒合*		0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)	
前頭骨異常骨化*		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
頭頂間骨異常骨化*	1 (1)	2 (1)	0 (0)	0 (0)		
後頭骨異常骨化*	1 (1)	1 (1)	0 (0)	0 (0)		
頭頂骨異常骨化*	6 (4)	3 (3)	10 (6)	2 (2)		

*: 奇形

有意差検定 (χ^2 検定: 異常胎児を有する腹数) を実施したが、対照群との有意差は認められなかった。

(つづく)

結果の概要 (つづき)

* : 奇形

投与量 (mg/kg/日)		0	100	300	1000
胎 児 動 物 骨 格 検 査	小顎症*	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	頭頂間骨変形*	8 (3)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	後頭骨変形*	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	胸骨分節変形/形成不全*	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	片側 13 肋骨	2 (2)	3 (2)	1 (1)	3 (2)
	両側 13 肋骨	1 (1)	1 (1)	1 (1)	2 (2)
	両側大腿骨短縮	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
	前頭骨不完全骨化	0 (0)	2 (2)	1 (1)	1 (1)
	前頭骨/頭頂骨不完全骨化	1 (1)	1 (1)	5 (3)	12 (2)
	舌骨不完全骨化	11 (5)	7 (5)	5 (4)	5 (4)
	頭頂間骨不完全骨化	47 (17)	38 (13)	26 (15)	23 (9)
	鼻骨不完全骨化	1 (1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	後頭骨不完全骨化	6 (5)	6 (4)	1 (1)	1 (1)
	後頭骨/頭頂間骨不完全骨化	26 (9)	23 (11)	27 (10)	27 (10)
	頭頂骨不完全骨化	3 (2)	6 (4)	3 (3)	1 (1)
	胸骨分節不完全骨化	219 (22)	238 (24)	222 (23)	183 (21)
	椎体不完全骨化	4 (1)	3 (2)	3 (3)	1 (1)
	舌骨未骨化	47 (15)	27 (9)	26 (12)	15 (5)
胸骨分節未骨化	126 (19)	123 (20)	124 (21)	78 (18)	
椎骨未骨化	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (1)	

有意差検定 (χ^2 検定 : 異常胎児を有する腹数) を実施したが、対照群との有意差は認められなかった。

8-2. イマザピル(酸)原体のウサギにおける催奇形性試験

(資料 18)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

供試動物：New Zealand White 系妊娠ウサギ、1 群 18 匹

投与期間：妊娠 6～18 日の 13 日間

(1983 年 5 月 5 日交配開始～1983 年 6 月 7 日最終屠殺)

投与方法：検体を 0.1%Tween 80 水溶液に懸濁し、25、100 および 400 mg/kg/日の投与レベルで妊娠 6 日目^{*} から 18 日目までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。なお、対照群には 0.1%Tween 80 水溶液を同様に投与した。

*) 交尾日を妊娠 0 日として起算した。

投与量設定根拠：同研究所で実施された用量設定試験(投与量：0、250、500、1000、2000 mg/kg/日、投与期間：妊娠 6 日目～18 日目)の結果、250 mg/kg 群の 2 例、1000 mg/kg 群の 4 例および 2000 mg/kg 群の 5 例が、最終屠殺の前に死亡した。途中死亡動物の剖検の結果、1000 mg/kg 群の 4 例で胃のびらんおよび潰瘍が、2000 mg/kg 群の 4 例で胃粘膜のびらんが、他の 1 例では胃および幽門粘膜の変色がみられた。250 mg/kg 群の死亡例のうち 1 例では胃粘膜の潰瘍が認められた。最終屠殺時(妊娠 28 日)まで生存した動物の体重および一般状態、黄体数、着床痕数、吸収部位数および生存児動物数には、検体投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。したがって、本試験の投与量を 0、25、100 および 400 mg/kg/日とした。

観察・検査項目：

親動物：全雌動物について、死亡の有無および一般症状を 1 日 2 回以上観察した。体重は妊娠 0、6、12、15、18、24 および 28 日目に測定した。妊娠 28 日に、すべての生存雌動物を安楽死させて子宮を摘出し、妊娠子宮重量を測定し、着床部位、早期吸収部位、後期吸収部位および胎児の数を検査した。

生存胎児：体重および頭腎距離の測定、外表異常の検査を行い、解剖して内臓異常の検査および性別判定を行った。各同腹児の約 1/3 については、頭部をブアン液で固定し、Wilson 法を用いて検査した。これらの胎児の残体および残りの胎児については骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果：概要を以下の表に示した。

母動物：検体投与群の体重は対照群と差がなかった。検体投与に起因すると考えられる一般状態の異常は認められなかった。対照群の 2 例および 400 mg/kg 投与群の 2 例が投与期間

中に死亡したが、肉眼的病理検査において認められた所見は肺の変色のみであった。最終屠殺時まで生存した動物の肉眼的病理検査では、検体投与に起因すると考えられる異常所見は認められなかった。検体投与群の繁殖データは、対照群と差がなかった。

生存胎児：検体投与群の胎児の体重および頭殿長は対照群と差がなかった。胎児の外表検査において、25 mg/kg 投与群の 1 例および 400 mg/kg 投与群の 4 例で奇形が認められたが、統計学的に有意な発現頻度の増加は認められなかった。内臓、骨格および頭部の検査において、検体投与に起因すると考えられる異常所見は認められなかった。

以上のように、本剤をウサギの妊娠 6~18 日に経口投与したときの母動物および胎児動物における無毒性量は 400 mg/kg/日であった。また、最高投与量の 400 mg/kg/日でも胎児動物に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

結果の概要

投与群 (mg/kg/日)	対照	25	100	400		
1群あたり動物数	18	18	18	18		
妊娠動物数	17	18	16	17		
母動物	途中死亡/切迫屠殺数	2	0	0	2	
	流早産数	0	0	0	0	
	一般状態	検体投与に起因する異常は認められなかった				
	体重変化	—	有意差なし	有意差なし	有意差なし	
	妊娠中体重増加量 (kg)	0.39	0.35	0.33	0.29	
	妊娠子宮重量 (g)	390.5	433.2	436.1	441.1	
	肉眼的病理所見	検体投与に起因する異常は認められなかった				
	着床所見	検査母動物数	15	18	16	16
		平均黄体数	10.1	11.3	11.5	11.2
		平均着床数	8.5	9.7	10.8	10.1
早期吸収胚数		1.1	0.6	0.9	0.8	
後期吸収胚数		0.2	0.6	0.7	0.3	
平均生存胎児数		7.2	8.4	9.2	9.0	
生存胎児率 (%)		78.1	84.5	84.0	88.4	
平均死亡胎児数		0.0	0.1	0.0	0.0	
胎児	胎児体重 (g)	雄	33.1	31.1	29.0	29.5
		雌	33.7	31.3	29.1	30.0
	頭臀長 (cm)	雄	8.8	8.7	8.4	8.4
		雌	8.8	8.6	8.4	8.6
性比 (%)		49.8	49.7	47.3	47.7	

— : 対照群

生存胎児率 (%) = (生存胎児数 / 着床数) × 100

性比 (%) = (雄胎児数 / 全胎児数) × 100

以下の有意差検定を実施したが、対照群との有意差は認められなかった。

Dunnett の多重比較検定 : 体重、体重増加量、子宮重量、胎児体重

Dunn の多重比較検定 : 黄体数、着床数、吸収胚数、性比、胎児数、胎児頭臀長

(つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		0	25	100	400	
胎児動物	外表検査	検査胎児 (腹) 数	100 (13)	152 (17)	147 (16)	144 (16)
		奇形を有する胎児 (腹) 数	0 (0)	1 (1)	0 (0)	4 (3)
		変異/奇形を有する胎児 (腹) 数	1 (1)	7 (6)	3 (3)	8 (6)
		矮小	1 (1)	6 (5)	3 (3)	3 (3)
		血腫	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
		左眼大型化*	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		短尾*	0 (0)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
		無尾*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		軽度曲尾*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		二分脊椎*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		両後肢捻転*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		両前肢捻転*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1)
		内臓検査	検査胎児 (腹) 数	108 (13)	152 (17)	147 (16)
	奇形を有する胎児 (腹) 数		0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	変異/奇形を有する胎児 (腹) 数		2 (1)	6 (6)	4 (4)	4 (2)
	肝臓の赤色嚢胞		1 (1)	0 (0)	2 (2)	0 (0)
	胃内赤色液により膨張		1 (1)	6 (6)	0 (0)	0 (0)
	左腎臓後方変位		0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
	両側腎臓後方変位		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	両側腎臓表面多巣性限局性変色		0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
	肝臓退色		0 (0)	0 (0)	1 (1)	2 (1)
	腎臓退色	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)	
内臓退色	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)		

*: 奇形

有意差の検定 (χ^2 検定: 異常胎児を有する腹数) を実施したが、対照群との有意差は認められなかった。

(つづく)

結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/日)		0	25	100	400	
胎 児 動 物	骨 格 検 査	検査胎児 (腹) 数	108 (13)	152 (17)	147 (16)	144 (16)
		奇形を有する胎児 (腹) 数	2 (2)	10 (6)	9 (8)	2 (2)
		変異/奇形を有する胎児 (腹) 数	108 (13)	152 (17)	147 (16)	144 (16)
		両側 13 肋骨	37 (8)	51 (14)	45 (12)	38 (15)
		片側 13 肋骨	10 (6)	23 (14)	14 (8)	13 (9)
		尾椎欠損*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		胸骨非対称骨化*	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		胸骨分節二重骨化核*	0 (0)	2 (2)	2 (2)	1 (1)
		椎骨二重骨化核*	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		胸骨分節癒合*	0 (0)	1 (1)	1 (1)	0 (0)
		椎骨癒合*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		前頭骨異常骨化*	0 (0)	3 (1)	1 (1)	0 (0)
		頭頂骨異常骨化*	2 (2)	5 (3)	5 (4)	1 (1)
		椎骨変形*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		胸骨分節変形*	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		胸骨分節変形/形成不全*	0 (0)	2 (2)	2 (2)	1 (1)
		尾椎不整列*	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		仙椎骨圧迫変形*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		過剰胸椎体*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		肋骨癒合*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (1)
		腰椎からの棘突起*	0 (0)	0 (0)	1 (1)	0 (0)
		前頭骨不完全骨化	4 (1)	6 (4)	7 (4)	7 (5)
		前頭骨/頭頂骨不完全骨化	0 (0)	2 (2)	4 (4)	3 (2)
		頭頂間骨不完全骨化	0 (0)	2 (2)	1 (1)	0 (0)
		頭頂骨不完全骨化	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)
		胸骨分節不完全骨化	108 (13)	151 (17)	145 (16)	143 (16)
椎骨不完全骨化	1 (1)	1 (1)	0 (0)	1 (1)		
胸骨分節未骨化	52 (9)	62 (13)	52 (14)	56 (13)		
椎骨未骨化	0 (0)	1 (1)	0 (0)	1 (1)		

*: 奇形

有意差検定 (χ^2 検定: 異常胎児を有する腹数) を実施したが、対照群との有意差は認められなかった。

9. 変異原性

9-1. イマザピル原体の細菌における復帰突然変異試験

(資料 19)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

結 果：

薬 物	濃 度 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S-9 Mix	復帰変異コロニー数 / plate					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537	TA1538
対 照 (水)		-	153 (156)* 158	30 (31) 31	22 (23) 23	41 (37) 33	13 (15) 16	17 (18) 19
検 体	5000	-	179 (171) 162	22 (24) 25	32 (29) 25	26 (31) 35	6 (8) 10	13 (14) 15
	1000	-	179 (166) 153	30 (26) 22	29 (28) 26	26 (31) 35	13 (11) 9	19 (20) 20
	500	-	184 (168) 151	29 (29) 28	33 (27) 21	28 (34) 40	19 (14) 8	22 (21) 19
	100	-	182 (159) 136	20 (20) 19	24 (27) 30	22 (26) 30	13 (12) 11	22 (22) 22
	50	-	202 (178) 154	20 (22) 23	29 (27) 25	19 (26) 33	15 (14) 12	12 (15) 18
	10	-	171 (160) 148	27 (26) 25	28 (24) 19	37 (38) 38	12 (12) 11	32 (23) 14
対 照 (水)		+	159 (154) 148	17 (16) 15	26 (29) 31	58 (54) 50	20 (15) 10	28 (25) 22
検 体	5000	+	146 (141) 135	25 (20) 14	24 (23) 22	51 (48) 44	20 (17) 13	27 (25) 23
	1000	+	137 (147) 156	22 (18) 13	27 (26) 25	46 (48) 50	14 (13) 11	32 (25) 18
	500	+	146 (152) 158	15 (16) 16	37 (28) 18	46 (43) 39	10 (11) 12	19 (18) 17
	100	+	163 (150) 137	26 (21) 15	33 (28) 23	43 (43) 42	14 (12) 9	35 (29) 22
	50	+	176 (156) 135	27 (19) 10	26 (28) 30	57 (51) 45	16 (15) 14	34 (30) 25
	10	+	145 (144) 143	17 (19) 20	29 (28) 26	60 (54) 48	18 (14) 10	30 (25) 19
陽 性 対 照	S-9 Mix	名 称	AF-2	NaN3	AF-2	AF-2	9-AA	4NOPD
		$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.01	0.5	0.04	0.1	80	1
	-	コロニー数 / plate	642 (625) 608	160 (154) 148	483 (473) 462	492 (484) 476	502 (491) 479	179 (175) 171
	S-9 Mix	名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	$\mu\text{g}/\text{plate}$	0.5	2	10	0.5	2	0.5	
	+	コロニー数 / plate	419 (421) 422	153 (160) 167	476 (463) 450	133 (133) 132	60 (63) 65	182 (178) 174

* : () は平均値を示す。

検体イマザピル イソプロピルアミン塩は代謝活性化を含め最高濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたAF-2, NaN₃, 9-AA, 4NOPDおよび2-AAではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

9-2. イマザピル(酸)原体のチャイニーズ

ハムスター卵巣細胞 (CHO) における in vitro 染色体異常誘発性試験

(資料 20)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度:

試験方法: チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣細胞 (CHO) を用い、代謝活性化および非活性化によって染色体異常誘発性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、50、170、500、1700 および 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 5 濃度で試験を実施した。

観察は 1 濃度あたり 100 個の分裂中期像について行った。試験は 2 連制とし、1 回行った。

用量設定根拠: 代謝活性化および非活性化条件下で、50、100、500、1000、2000 および 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の 6 濃度で実施した細胞毒性試験の結果、いずれの濃度でも細胞毒性は認められなかったことから、溶解限界である 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高用量とし、以下公比約 3 で 5 濃度を設定した。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、すべての処理群で染色体異常を示す分裂中期細胞数の増加を示さなかった。

一方、陽性対照として用いたシクロホスファミドおよびマイトマイシン C では、染色体異常を示す分裂中期細胞数の明らかな増加が認められた。

以上の結果より、検体は代謝活性化の有無にかかわらず、本試験条件下において染色体異常誘発性を有しないものと判断される。

試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	処理 時間	標本 作製 時間	観察細 胞数	S9 mix の 有無	染色体異常を有する細胞数						異常を 有する 細胞率* (%)		
						染色体分体型		染色体型		交換	その他#			
						ギャップ	切断	ギャップ	切断					
溶媒対照 ¹⁾	0	3h	3h	100	-	1	2	0	0	0	0	2		
検体	50			100	-	0	0	0	0	1	0	1		
	170			100	-	2	2	0	0	1	0	3		
	500			100	-	0	1	0	1	1	0	3		
	1700			100	-	1	2	0	0	0	0	2		
	5000			100	-	0	2	0	0	1	0	3		
無処理対照	0			100	-	1	2	0	0	0	0	2		
陽性対照 ²⁾	1.0			100	-	0	2	0	0	3	0	4		
溶媒対照 ¹⁾	0			3h	3h	100	+	3	5	0	0	0	0	4
検体	50					100	+	0	1	0	0	0	0	1
	170	100	+			1	2	0	0	0	0	2		
	500	100	+			2	1	0	0	0	0	1		
	1700	100	+			3	0	0	0	0	0	0		
	5000	100	+			7	6	0	0	0	0	6		
無処理対照	0	100	+			1	1	0	0	0	0	1		
陽性対照 ³⁾	140	6	+			0	0	0	0	0	0	0		
溶媒対照 ¹⁾	0	8h	8h			100	-	0	2	0	0	1	0	3
検体	50					100	-	0	0	0	0	0	0	0
	170			100	-	0	2	0	0	0	0	2		
	500			100	-	0	0	0	0	0	0	0		
	1700			100	-	1	1	0	0	3	0	2		
	5000			100	-	0	5	1	0	0	0	5		
無処理対照	0			100	-	1	1	0	0	0	0	1		
陽性対照 ²⁾	1.0			100	-	0	4	0	0	1	2	7		
溶媒対照 ¹⁾	0			8h	8h	100	+	0	0	0	0	0	1	1
検体	50					100	+	0	0	0	0	0	0	0
	170	100	+			2	3	0	0	0	0	3		
	500	100	+			0	7	0	0	2	0	8		
	1700	100	+			0	1	0	0	0	0	1		
	5000	100	+			1	3	0	0	0	0	3		
無処理対照	0	100	+			0	1	0	0	0	0	1		
陽性対照 ³⁾	140	100	+			9	15	0	0	2	0	12		

1) DMSO

2) マイトマイシン-C

3) シクロホスファミド

: 10以上の染色体異常を有する細胞

* : ギャップを除く。

(つづく)

試験結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	処理 時間	標本 作製 時間	観察細 胞数	S9 mix の 有無	染色体異常を有する細胞数					異常を 有する 細胞率* (%)	
						染色分体型		染色体型		交換		その他#
						ギャップ	切断	ギャップ	切断			
溶媒対照 ¹⁾	0	12h	12h	100	-	0	3	0	0	0	0	3
検体	50			100	-	0	1	0	0	1	0	2
	170			100	-	0	4	0	0	0	0	4
	500			100	-	0	1	0	0	2	0	3
	1700			100	-	4	8	0	1	2	0	11
	5000			100	-	2	1	0	0	0	0	1
無処理対照	0			100	-	1	2	0	0	0	0	2
陽性対照 ²⁾	1.0			100	-	7	7	0	0	8	1	13
溶媒対照 ¹⁾	0			12h	12h	100	+	2	8	0	0	1
検体	50	100	+			2	2	0	0	0	0	2
	170	100	+			1	0	0	0	0	0	0
	500	100	+			2	3	0	0	0	0	3
	1700	100	+			7	0	0	0	0	0	0
	5000	100	+			4	7	0	1	0	1	8
無処理対照	0	100	+			0	1	0	7	3	0	5
陽性対照 ³⁾	140	100	+			8	16	0	0	9	7	23

1) DMSO

2) マイトマイシン-C

3) シクロホスファミド

: 10 以上の染色体異常を有する細胞

* : ギャップを除く。

9-3. イマザピル(酸)原体のラットにおける小核試験

(資料 21)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体純度：

試験動物： NMRI 系マウス、1 群雌雄各 6 匹(評価は 1 群雌雄各 5 匹とした)

試験開始時週齢；9~11 週齢、

試験開始時平均体重；雄 34.7±2.2 g、雌 32.5±2.1g

試験方法： 投与日に検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)に懸濁して 500、1000 及び 2000 mg/kg 用量を経口単回投与した。陰性対照群には溶媒のみ、陽性対照群にはシクロホスファミド(CPA)を脱イオン水に溶解し、40 mg/kg 用量を単回経口投与した。投与容量はいずれも 10 mL/kg とした。

投与後 1、2~4、6、24 及び 48 時間に全動物の急性毒性症状について検査した。

投与 24 および 48 時間後に二酸化炭素により動物を屠殺し、各動物の大腿骨から骨髓試料を採取してスメアを作製し、固定後メイグリュンワルド/ギムザ染色を行った。

各標本について、多染性赤血球(PCE)2000 個を観察し、小核を有する多染性赤血球(MPE)を計測した。また、赤血球 2000 個当たりの正染性赤血球に対する多染性赤血球の比(PCE/NCE)及び PEC/総赤血球数を求めた。得られた結果は統計学的検定を実施した。

用量設定根拠： イマザピルの毒性は弱く、急性経口毒性試験で 5000mg/kg を投与しても中毒症状及び死亡が認められなかったことから、最高用量を最大の 2000 mg/kg とし、公比 2 で以下 1000 および 500 mg/kg を設定した。

試験結果：

時間	群	用量 (mg/kg)	動物 数	小核を有する PCE (2000 個当り)		PCE 数/ 赤血球 2000 個	
				%	範囲		
24	陰性対照 (0.5%CMC)	0	雄 5	0.12	0.075	0-3	1101
			雌 5	0.03			
	検体 (イマザピル)	500	雄 5	0.10	0.100	1-3	1127
			雌 5	0.10			
		1000	雄 5	0.10	0.095	0-6	1076
			雌 5	0.09			
	2000	雄 5	0.13	0.100	0-4	1129	
		雌 5	0.07				
	陽性対照 (CPA)	40	雄 5	2.44	2.050 ↑	18-71	1077
			雌 5	1.66			
48	検体 (イマザピル)	2000	雄 5	0.08	0.060 ^{n.t.}	0-6	1091
			雌 5	0.04			

雌雄別の小核を有する PEC% はデータより計算した。

CMC：カルボキシメチルセルロース、CPA：シクロホスファミド、PCE：多染性赤血球

統計学的検定：Mann-Whitney

↑：P<0.0001、^{n.t.}：陰性対照群の平均値を下回ったため検定を実施せず。

蓄積対照データ (1999~2004 年)

	溶媒対照			陽性対照 (CPA)		
	雄	雌	合計	雄	雌	合計
平均 ¹⁾ ±SD	0.078± 0.04	0.058± 0.033	0.069± 0.028	1.867± 0.028	1.368± 0.497	1.632± 0.468
範囲 ²⁾	0.01~ 0.23	0.00~ 0.19	0.01~ 0.15	0.70~ 3.46	0.49~ 3.55	0.77± 3.48
試験数	229	217	230	228	217	229

¹⁾：小核を有する PEC%

²⁾：小核を有する PEC% の範囲

投与後の急性毒性の症状観察では陰性対照群及び投与群ともに動物に変化はみられなかった。

検体投与群の赤血球 2000 個当りの PEC 数は対照群と同等であり、細胞毒性はないことが確認された。また小核の発現頻度も対照群と同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Imazapyr

一方陽性対照 (CPA) は小核の出現頻度に対照群と陰性比較して有意な増加を示した。

以上より、イマザピルは本試験条件下でマウスの骨髄細胞において小核を誘発しないものと判断された。

9-4. イマザピル原体の細菌における DNA 修復試験

(資料 22)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：

方 法： 枯草菌 Bacillus subtilis の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、賀田らの Rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検定した。

検体を溶解させるため水を用いた。溶解限度である 26.6 µg/disk を最高投与量とした。

結 果：

薬 物	濃 度 (µg/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
		Rec ⁻ (M-45)	Rec ⁺ (H-17)	
対 照 (水)	-	0 0	0 0	0 0
検 体	0.27	0 0	0 0	0 0
	0.67	0 0	0 0	0 0
	1.33	0 0	0 0	0 0
	2.66	0 0	0 0	0 0
	13.3	0 0	0 0	0 0
	26.6	0 0	0 0	0 0
Kanamycin (陰性対照)	1.0 µg/disk	5.8	5.7	1 以下
Mitomycin C (陽性対照)	0.1 µg/disk	12.7	1.3	11.4

検体投与群では溶解限度である 26.6 µg/disk においても、両株に生育阻止を認めなかった。

一方陽性対照の Mitomycin C では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷性の誘発性がないものと判断される。

10. 生体機能影響

イマザピル原体の生体の機能に及ぼす影響試験

(資料 23)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：

各作用における検体の用量及び投与容量については、予備試験を行い各供試動物の一般状態の観察によりそれぞれ決定した。

1) 一般症状に及ぼす影響

① マウスの一般症状に及ぼす影響

供試動物：S l c：ICR系マウス（5週齢、体重23.8～29.2g）、1群雄9匹

方法：検体を蒸留水に溶解させて、1,000、3,000及び10,000mg/kgを経口投与し、投与前及び投与30、60、120、180及び240分後の一般症状を多次元観察法により観察した。

結果：1,000 mg/kg投与では一般症状に変化はみられなかったが、3,000 mg/kg投与では180分後に尿排泄量の増加、10,000mg/kg投与では60分後に落ち着きのない行動、120分及び180分後に触反応の亢進及び尿排泄量の増加がみられたが、いずれも240分後には回復した。

② ウサギの一般症状に及ぼす影響

供試動物：日本白色種ウサギ（体重1.95～2.40kg）1群雄3匹

方法：検体を蒸留水に溶解させて、1,000、3,000及び10,000mg/kgを経口投与し、投与前及び投与30、60、120、180、240及び300分後の一般症状を観察した。

結果：1,000及び3,000 mg/kg投与では一般症状に変化はみられなかったが、10,000mg/kg投与では体温の下降、散瞳傾向が全例にみられ、自発運動の低下、尿排泄量の増加が2例にみられ、四肢筋及び軀体筋の緊張度の低下、歩行失調、呼吸数の増加、チアノーゼ等の症状が24時間後に1例みられ、48時間に死亡した。

2) 中枢神経系に対する作用

① 運動協調性に及ぼす影響

供試動物：S l c : I C R系マウス（5週齢、体重22.2~28.6g）、1群雄10匹

（1分間に14回転する直径3cmの回転棒上へのせ、1分間以上落下しなかったもの）

方 法：検体を蒸留水に溶解させて、1,000、3,000及び10,000mg/kgを、また陽性対照として diazepam 10mg/kgを経口投与し、Rota-rod法により、投与30、60、120及び180分後に回転棒から1分以内に落下する動物数を観察した。

結 果：下表のとおり。

供試薬剤	投与量 (mg/kg)	投与後における落下例			
		30分	60分	120分	180分
対 照	—	0	0	0	0
検 体	1,000	0	0	0	0
	3,000	0	0	0	0
	10,000	0	0	0	0
diazepam	10	10**	10**	7**	4*

注) *、**は Fisher の直接確率検定により、それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ で対照群と統計的有意差あり。

すべての検体投与群及び対照群で回転棒からの落下はみられなかったが、陽性対照群では投与30分~180分後まで落下数の有意な増加がみられた。

② ヘキソバルビタール睡眠に及ぼす影響

供試動物：S l c : I C R系マウス（5週齢、体重23.2~29.5g）1群雄10~11匹

方 法：検体を蒸留水に溶解させて、1,000、3,000及び10,000mg/kgを、また陽性対照として chlorpromazine 10mg/kgを経口投与し、その120分後に hexobarbital 75mg/kgを腹腔内投与して正向反射の消先から回復までの時間を睡眠時間として測定した。

結 果：下表のとおり。

供試薬剤	投与量 (mg/kg)	供試動物数	睡眠時間 (分)
対 照	—	10	22.3±5.3
検 体	1,000	11	21.3±4.1
	3,000	11	25.6±6.4
	10,000	11	38.2±8.5**
chlorpromazine	10	11	77.7±30.1**

注) **は一元配置の分散分析、student の t 検定又は Welch の検定により、 $p < 0.01$ で対照群と統計的有意差あり。

1,000 及び 3,000 mg/kg 投与では、対照群と比較して睡眠時間に差はみられなかったが、10,000mg/kg 投与では 1.7 倍に睡眠時間が延長し有意差が認められた。

一方、陽性対照群においても 3.5 倍の有意な睡眠時間の延長が認められた。

3) 呼吸・循環器系に対する作用

① 呼吸、血圧、心拍数及び心電図に及ぼす影響

供試動物：日本白色種ウサギ（体重 2.10～2.40kg）、1 群雄 4 匹

方 法：ウレタン麻酔下で動物を背位固定し、①呼吸は気管カニューレに装着したサーミスタ式呼吸ピックアップにより、②心電図は四肢第 II 誘導法により、③血圧は右大腿動脈圧を圧力トランスデューサを介して、④心拍数は血圧脈液を瞬時タコメーターを用いて測定した。

検体を生理食塩液に溶解させて、100、300 及び 1,000 mg/kg を、また対照溶媒 0.5、1.5 及び 5 ml/kg を 30 分間隔で静脈内投与し、最終投与の 120 分後まで観察した。

結 果：下表のとおり。

供試薬剤 及び投与量	検査項目	投 与 後 経 過 時 間 (分)													
		投与前	5	15	30	5	15	30	5	15	30	60	120		
生理食塩液 1回目投与： 0.5ml/kg 2回目投与： 1.5ml/kg 3回目投与： 5ml/kg	呼吸数 (回/分)	68.8 ±15.0	66.8 ±16.3	68.0 ±15.9	66.0 ±12.2	63.8 ±12.1	67.5 ±11.6	69.0 ±4.2	62.3 ±14.6	84.8 ±17.9	90.0 ±24.4	90.0 ±20.3	88.3 ±11.8		
	心拍数 (回/分)	339.0 ±10.7	338.3 ±12.1	334.5 ±16.6	340.3 ±13.1	337.5 ±10.5	337.3 ±11.2	337.3 ±11.1	333.8 ±12.5	335.0 ±14.8	335.5 ±14.5	323.3 ±38.3	318.8 ±50.2		
	血 圧 (mmHg)	収縮期血圧	116.5 ±2.4	113.5 ±6.2	115.4 ±4.3	111.5 ±2.5	114.1 ±3.9	109.5 ±7.6	109.8 ±5.7	112.0 ±4.3	105.9 ±7.4	101.7 ±7.4	98.0 ±20.6	89.4 ±29.9	
		拡張期血圧	68.3 ±5.0	64.6 ±5.8	66.3 ±4.2	62.4 ±8.5	64.9 ±5.2	65.5 ±3.3	58.3 ±6.0	59.8 ±3.1	56.2 ±5.4	55.2 ±5.4	53.6 ±11.9	49.5 ±18.5	
		平均血圧	86.8 ±2.5	83.0 ±6.0	84.9 ±2.8	80.8 ±4.6	83.6 ±2.9	82.3 ±2.0	78.1 ±4.0	79.6 ±3.4	75.5 ±6.9	73.3 ±5.5	68.8 ±16.1	64.2 ±24.0	
	検 体 1回目投与： 100mg/0.5ml/kg 2回目投与： 300mg/1.5ml/kg 3回目投与： 1000mg/5ml/kg	呼吸数 (回/分)	56.9 ±10.5	57.8 ±7.9	57.8 ±9.9	62.3 ±13.5	63.8 ±9.6	65.3 ±12.6	66.8 ±11.6	78.8 ±11.8	75.8 ±18.9	80.3 ±21.5	78.0 ±19.4	73.5 ±16.0	
		心拍数 (回/分)	355.8 ±17.6	350.5 ±14.5	353.8 ±15.3	357.0 ±18.0	346.0 ±18.8	352.8 ±21.3	358.0 ±22.7	318.5 ±17.3**	335.0 ±17.2**	345.0 ±21.0**	346.8 ±21.6	350.5 ±18.7	
		血 圧 (mmHg)	収縮期血圧	123.8 ±5.0	125.8 ±4.8	122.5 ±5.3	119.7 ±9.2	120.5 ±13.4	115.7 ±4.6	106.1 ±7.9*	100.1 ±7.6	104.2 ±7.8	100.9 ±10.1	104.6 ±8.3	109.3 ±5.2
			拡張期血圧	67.2 ±17.6	67.0 ±13.9	67.2 ±17.2	64.3 ±11.5	66.0 ±12.3	64.8 ±9.8	61.0 ±11.7	48.9 ±6.3**	53.5 ±1.9	56.6 ±4.1	60.8 ±5.9	61.5 ±8.4
平均血圧			89.0 ±13.3	89.9 ±7.8	88.8 ±11.1	86.3 ±9.8	87.3 ±9.2	84.2 ±5.3	78.5 ±8.5	65.8 ±2.9**	72.6 ±2.3	74.2 ±4.2	78.2 ±4.4	80.1 ±1.8	
投 与 時 点		↑			↑			↑							
		1回目			2回目			3回目							

注) *、**は Student の t 検定又は Welch の検定により、それぞれ $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ で対照群と統計的有意差あり。

すべての検体投与群において、呼吸及び心電図に対する影響はなかった。
 100 mg/kg 投与群では、1例に投与直後の血圧上昇、心拍数の減少がみ
 られ、300 mg/kg 投与群では、全例に投与直後の血圧上昇、心拍数の減
 少及び30分後の収縮期血圧の有意な下降がみられた。^(申請者注)
 1,000 mg/kg 投与
 群では投与直後の血圧上昇に続く有意な拡張期血圧及び平均血圧の下降
 並びに心拍数の有意な減少がみられたが、いずれも回復した。

4) 消化器系に対する作用

① 腸管輸送能に及ぼす影響

供試動物：S₂c：ICR系マウス（5週齢、体重23.1～28.1g）、1群雄10匹

方法：検体を蒸留水に溶解させて、1,000、3,000及び10,000mg/kgを、また陽性対照として atropine 300 mg/kgを経口投与し、120分後に10%アラビアゴム液に懸濁させた5%炭素末懸濁液を0.2ml/匹経口投与した。その20分後に動物を屠殺し、胃幽門分から炭素末到達先端までの腸管の長さを測定して小腸全長に対する炭素末の移動率を求めた。

結果：下表のとおり。

供試薬剤	投与量 (mg/kg)	供試動物数	炭素末の移動率 (%)
対 照	—	10	43.8 ± 12.6
検 体	1,000	10	43.2 ± 13.3
	3,000	10	40.6 ± 9.9
	10,000	10	44.4 ± 20.1
Atropine	300	10	24.3 ± 13.0**

注) **は一元配置の分散分析、student の t 検定又は Welch の検定により、 $p < 0.01$ で対照群と統計的有意差あり。

すべての検体投与群において対照群と比較して腸管輸送に差はみられなかった。

一方、陽性対照群では45%の有意な抑制がみられた。

5) 骨格筋に対する作用

① 坐骨神経-腓腹筋標本に及ぼす影響

供試動物：S l c : Wister/ST系ラット (8週齢、体重270 ~ 305 g) 1群雄4匹

方法：ウレタンで動物を麻酔し、左側坐骨神経-腓腹筋標本を作成し、その末梢側に刺激電極を設置して電気刺激を行い誘発される腓腹筋のれん縮を記録した。

検体を生理食塩液に溶解させて、300、1,000及び3,000 mg/kgを、また対照溶媒1.5、5及び15ml/kgを30分間隔で静脈内投与し、最終投与の120分後まで観察した。なお、対照群には最終投与120分後に陽性対照物質 (d-tubocurarine 75 µg/kg) を静脈内投与した。

結果：下表のとおり。

供試薬剤	供試動物数	投与後経過時間における投与前の値に対する%変化										
		5	15	30	5	15	30	5	15	30	60	120
対 照	4	96.7 ± 0.4	95.9 ± 1.5	96.6 ± 1.1	96.9 ± 2.4	98.2 ± 6.6	100.5 ± 10.5	96.6 ± 2.8	95.5 ± 3.7	99.6 ± 4.4	100.5 ± 2.4	104.3 ± 4.8
検 体	4	97.9 ± 1.4	94.7 ± 3.7	99.7 ± 7.1	101.2 ± 1.9*	100.2 ± 2.6	104.3 ± 4.0	97.9 ± 2.4	99.1 ± 4.3	101.7 ± 3.0	102.8 ± 2.1	100.8 ± 2.8
投与時点 及び 投与量		↑ 対照 1.5ml/kg			↑ 5ml/kg			↑ 15ml/kg				
		300mg/kg			1,000mg/kg			3,000mg/kg				

注) * は Studentの t 検定又は Welchの検定により、p < 0.05で対照群と統計的有意差あり。

300 mg/kg 投与では電気刺激による腓腹筋の収縮に影響はなかったが、1,000 mg/kg 投与では5分後の収縮がわずかに増大し、対照群と比較して有意差が認められた。3,000 mg/kg 投与では影響はほとんどみられなかった。

一方、陽性対照を投与した場合には明らかな腓腹筋収縮の抑制が認められた。

イマザピルイソプロピルアミン塩の生体機能に及ぼす影響を総括すると、以下のとおりである。

項目	供試生物	1群当り 供試数	投与 方法	投与量 (mg/kg)	結果
中枢神経系 症状観察 (Irwin法)	マウス	♂ 9	経口	1000、3000、10000	1000：影響なし 3000以上：尿排泄量増加 10000：落ち着きのない行動、 触反応の亢進
症状観察	ウサギ	♂ 3	経口	1000、3000、10000	3000以下：影響なし 10000：死亡(1例)、自発運動 の低下、四肢筋及び体緊張度の 低下、歩行失調、跳び反応抑制、 呼吸数の増加、チアノーゼ、体 温下降、散瞳傾向、尿排泄量の 増加
運動協調性 (Rota-rod法)	マウス	♂ 10	経口	1000、3000、10000	影響なし
ヘキソバルビタール 睡眠影響	マウス	♂ 10~11	経口	1000、3000、10000	3000以下：影響なし 10000：睡眠時間の延長
呼吸/循環器系 呼吸、血圧、心電 図、心拍数	ウサギ	♂ 4	静注	100、300、1000	100：影響なし 300：影響なし 1000：拡張期血圧及び平均血圧 の下降、心拍数の減少
消化器系 腸管輸送	マウス	♂ 10	経口	1000、3000、10000	影響なし
骨格筋系 坐骨神経 一腓腹筋	マウス	♂ 4	静注	300、1000、3000	影響なし

以上の結果より、イマザピルイソプロピルアミン塩は、消化器系に対する作用は持たないが、高用量の投与によりマウスで中枢興奮作用、ヘキソバルビタールによる睡眠時間の延長を示す。ラットでは骨格筋に対してわずかに収縮を増大させるが、いずれもその作用は弱い。ウサギでは一般症状において中枢抑制作用がみられ、死亡例もみられるが、呼吸・循環器系に対しては高用量でなければその作用はあまりみられない。また、マウス及びウサギともに高用量投与により尿量の増加が認められたが、それ以外の作用についてはマウスとウサギの間に種差が認められた。

II. 製剤

1-1. イマザピル液剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 24)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：25%液剤

(組成) イマザピル イソプロピルアミン塩

[イマザピル(酸)；
イソプロピルアミン；]

界面活性剤：

{アルキルフェノキシポリ(エチレンオキシ)エタノール}

水；

試験動物：経口投与ではCD系ラット(6週齢)，1群雌雄各5匹

経皮投与ではニュージーランドホワイト系ウサギ，1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：経口投与では検体を水に溶解して投与した。

経皮投与では原液を剪毛した皮膚に塗布した。

試験項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、主要な器官の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	経皮
投与量(mg/kg)	5000	2148
LD ₅₀ (mg/kg)	♂および♀ >5000	♂および♀ >2148
死亡開始時間 および終了時間	8時間～24時間	8日～14日
症状発現および 消失時間	-	-
最大無作用量 (mg/kg)	-	-

中毒症状としては経口、経皮投与共異常は認められなかった。解剖所見においては経口投与の生存例には異常は認められなかったが、死亡例では肝、腎、腸管のうっ血および肺の出血が認められた。

経皮投与の生存例では、肝に斑点と白色肝(9例中1例)、肺に中等度のうっ血(9例中1例)がみられた。死亡例では、肺に肺炎部位が認められた。

(申請者注) 同一試験で経口および経皮試験を実施しているため、全ての試験成績を記載した。

1-2. イマザピル液剤のマウスにおける急性経口毒性試験

(資料 25)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：25%液剤

〔組成〕 イマザピル イソプロピルアミン塩原体 ;
界面活性剤 ;
(ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル)
水 ;
BHT ;

試験動物：CF-1系アルビノ・マウス(6週齢)1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：水を加えて20%溶液(w/v)とし、体重20g当り0.50mlの割合で強制経口投与した。

試験項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、主要な器官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)	♂および♀ > 5000
死亡開始時間 および終了時間	死亡例なし
症状発現および 消失時期	2時間~24時間
最大無作用量 (mg/kg)	(死亡例の認められなかった) 最高投与量：雌雄共 > 5000

中毒症状として投与2~8時間後に雌雄全例に全身性の生理機能低下が認められたが、24時間後には全例共回復した。

剖検では、全例共肉眼的病変は認められなかった。

1-3. イマザピル液剤のウサギにおける急性経皮毒性試験

(資料 24)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：25%液剤

(組成) イマザピル イソプロピルアミン塩

[イマザピル(酸)；
イソプロピルアミン；]

界面活性剤：

[アルキルフェノキシポリ(エチレンオキシ)エタノール]

水；

試験動物：経口投与ではCD系ラット(6週齢)，1群雌雄各5匹

経皮投与ではニュージーランドホワイト系ウサギ，1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察

方法：経口投与では検体を水に溶解して投与した。

経皮投与では原液を剪毛した皮膚に塗布した。

試験項目：中毒症状および死亡を14日間観察した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、主要な器官の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口	経皮
投与量(mg/kg)	5000	2148
LD ₅₀ (mg/kg)	♂および♀ >5000	♂および♀ >2148
死亡開始時間 および終了時間	8時間～24時間	8日～14日
症状発現および 消失時間	-	-
最大無作用量 (mg/kg)	-	-

中毒症状としては経口、経皮投与共異常は認められなかった。解剖所見においては経口投与の生存例には異常は認められなかったが、死亡例では肝、腎、腸管のうっ血および肺の出血が認められた。

経皮投与の生存例では、肝に斑点と白色肝(9例中1例)、肺に中等度のうっ血(9例中1例)がみられた。死亡例では、肺に肺炎部位が認められた。

1-4. イマザピル液剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 26)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：25%液剤

試験動物：SD系ラット，1群雌雄各10匹

試験期間：14日間観察

実際濃度：0.1 mg/l (重量分析)，0.2 mg/l (化学分析)

設定濃度：5.0 mg/l

粒子径分布：質量中位径 2.6 μm

暴露量の94%が10 μm以下の呼吸可能な粒子であった。

暴露条件：チャンパー容積 309 l

通気量 100 l/分

検体を加熱して空気と混合し，4時間全身を暴露した。

試験項目：暴露中，暴露後30分，1時間および24時間目の中毒症状および生死を観察した。観察期間の終了時に体重および心，腎，肝，肺，卵巣，精巣の重量を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物につき，肉眼的病理検査を実施した。

結果：

性	LD ₅₀ 値	死亡開始及び終了時期	症状の発現と消失時間	最大無作用量
雄	>5.0 mg/l	死亡例なし	第2～14日目	死亡例の認められなかった 最高投与量 設定濃度で 89 > 5.0 mg/l 実際濃度で 89 > 0.1 mg/l (重量分析) または， 89 > 0.2 mg/l (化学分析)
雌	>5.0 mg/l	死亡例なし	第2～14日目	

中毒症状として脱毛症，鼻漏，ラ音，皮膚潰瘍がみられたが，発現率は低く，一時的かつ軽度であったので検体被曝の影響による関係は明白でない。
体重は暴露群と溶媒対照群の間に有意な差は認められなかった。
臓器重量は湿重量および相対重量に異常は認められなかった。
肉眼的病理検査では何ら特記すべき変化は認められなかった。

以上の結果から，設定濃度で5.0 mg/l，実際濃度で0.1 mg/l (重量分析)，または0.2 mg/l (化学分析)の検体をラットに4時間暴露しても何ら毒性徴候は認められないと判断する。

1-5. イマザピル液剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 27)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度： 25%液剤

〔組成〕 イマザピル イソプロ 塩

〔イマザピル(酸)；
イソプロピルアミン；

界面活性剤；

〔アルキルフェノキシポリ(エチレンオキシ)エタノール〕

水 ；

試験動物： ニュージーランドホワイト系ウサギ 雄 6 匹

試験期間： 3 日間観察

方法： 剪毛した動物の背中の皮膚(非擦過部位と擦過部位)に検体 0.5 ml を塗布した。

観察項目： 塗布 24 および 72 時間後に塗布部分の刺激性変化(紅斑, 浮腫)の有無等を観察した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

変 化		塗 布 後		
		24 時間	72 時間	
非擦過(6匹平均)	紅 斑	1.00	0.33	総評価： 5.17 皮膚一次刺激率 (総評価/4)： 1.29
	浮 腫	0.00	0.00	
擦 過(6匹平均)	紅 斑	1.67	0.67	
	浮 腫	1.50	0.00	

24 時間および 72 時間後に紅斑が、また 24 時間後に浮腫がいずれもわずかに認められた。

以上の結果からイマザピル イソプロピルアミン塩 25%液剤はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性があるものと思われる。

1-6. イマザピル液剤のウサギにおける眼刺激性試験

(資料 28)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

検体の純度：25%液剤

〔組成〕 イマザピル イソプロピルアミン塩

〔イマザピル(酸)；
イソプロピルアミン；

界面活性剤；

〔アルキルフェノキシポリ(エチレンオキシ)エタノール〕

水；

試験動物：ニュージーランドホワイト系ウサギ，雄9匹

試験期間：7日間観察

方法：検体 0.1 ml を左眼に投与し，3匹は20秒後に，6匹は24時間後に洗眼を行った。

観察項目：投与後24，48，72時間，4日および7日後に角膜，虹彩の刺激性変化を観察した。

結果：観察した刺激的变化の採点は以下の表の通りである。

項目		投与後時間				
		24時間	48時間	72時間	4日	7日
20秒後洗眼群 (3匹平均)	角膜	0.00	0.00	0.00	-	-
	虹彩	0.00	0.00	0.00	-	-
	結膜	1.67	0.33	0.00	-	-
24時間後洗眼群 (6匹平均)	角膜	3.33	1.67	1.67	1.67	0.00
	虹彩	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	結膜	12.67	7.67	4.67	3.00	0.00

20秒後洗眼群の24および48時間後に結膜に刺激があった。24時間後洗眼群の24，48，72時間および4日後の角膜と結膜に刺激があった。虹彩については両群共異常は認められなかった。

以上の結果からイマザピル イソプロピルアミン塩 25%液剤はウサギの眼粘膜に対して刺激性があると思われる。

1-7. イマザピル液剤のモルモットにおける皮膚感作性 (Maximization 法) 試験

(資料 29)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: 25%液剤

試験動物: ハートレー系モルモット(体重 433.8 ~ 599.1 g), 1群雄 10匹

試験期間: 35日間観察

方法: [Draize法]

感作: 背部から右脇腹を剪毛し, 検体 0.3 ml を原液のまま週 1 回, 計 3 回, 塗布した。

一方陽性対照群には 80%エタノールに溶かした 0.3% DNCB 溶液 3 ml を週 1 回, 計 3 回塗布した

誘発: 最終感作の 14 日後に検体 0.3 ml を原液のまま塗布し, 陽性対照には 0.2% DNCB 溶液を塗布した。

観察項目: 誘発 24 および 48 時間後に, 適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

結果: 検体処理群には紅斑反応および浮腫反応は認められなかった。臨床徴候として 1 匹の右眼に大量の分泌物の蓄積がみられた。

一方陽性対照群には中等度までの紅斑反応およびごく軽度の浮腫反応がみられた。

以上の結果から, イマザピル イソプロピルアミン塩 25%液剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

IX. 動植物における代謝および土壌等における動態

<代謝動態試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物、土壌等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-A1	動物代謝 吸収排泄分布	ラット雄	<p>本試験用量: 4.4 mg/kg</p> <p>物質収支 投与:単回 尿/糞採取:最終投与後8日後まで。 組織:投与1日、8日後採取</p> <p>組織内分布: 投与後1、8日後屠殺</p> <p>代謝: 分析試料: 尿、糞、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪および血液</p>	<p>吸収、分布、排泄:速やか。 主排泄経路:尿(<0.1-55.3%TAR)および糞(<0.1-31.9%TAR)。大部分は投与1日後までに排泄。 平均組織内残留率:両標識体とも最大0.03%TAR。</p> <p>残留放射能濃度は肝臓が高く、筋肉、脂肪および脳が最低。</p> <p>投与1日後に尿および糞に認められた放射活性物質はイマザピル(酸)と同一</p>		代4

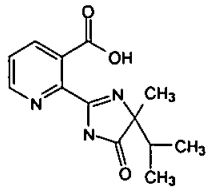
資料 No.	試験の種類	供試動植物、土壌、水等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-S1	好氣的土壌中動態 イマザピル(酸)	砂壤土(米国ニュージャージー州プリンストン)	[¹⁴ C]標識化合物を112gai/10aとなるように処理した。	イマザピルは12ヵ月経過時に66.2%が残存し、非滅菌土壌の半減期は17ヵ月と推定された。同定された代謝物は、イマザピルが脱炭酸された際に生じる二酸化炭素であった。		代5
代-S2	嫌氣的土壌中動態 イマザピル(酸)	砂壤土(米国ニュージャージー州プリンストン)	[¹⁴ C]標識化合物を112gai/10aとなるように処理した。	イマザピルの分解は認められなかった。		代10
代-W1	加水分解動態 イマザピル(酸)	蒸留水、pH 5.0、pH 7.0 および pH 9.0 緩衝液	[¹⁴ C]標識化合物を50ppmとなるように処理した。	イマザピルは蒸留水、pH 5.0 および pH 7.0 緩衝液中で安定であったが、pH 9.0 緩衝液中では分解が認められ、代謝物[B]が主代謝物として生成した。半減期は325日と推定された。		代14
代-W2	水中光分解動態 イマザピル(酸)	蒸留水	[¹⁴ C]標識化合物および [¹⁴ C]標識化合物を25ppmとなるように処理した。	イマザピルは蒸留水中で容易に分解し、 [¹⁴ C]標識化合物から代謝物[I]および[H]が主代謝物として生成した。半減期は [¹⁴ C]標識化合物で1.85日、 [¹⁴ C]標識化合物で2.26日と推定された。		代17
		pH 5 および pH 9 緩衝液	[¹⁴ C]標識化合物を25ppmとなるように処理した。	イマザピルは蒸留水中で容易に分解し、半減期は [¹⁴ C]標識化合物、pH 5 緩衝液中で2.67日、 [¹⁴ C]標識化合物、pH 9 緩衝液中で1.27日と推定された。		

ACC:アメリカンサイアナミッド社

資料 No.	試験の種類	供試動植物、土壌、水等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代-W3	水中光分解動態	自然水	<p>[^{14}C] イマザピル</p> <p>自然水 (滅菌処理した池水、pH 7.9)</p> <p>試験濃度 : 2.8 ppm</p> <p>試験条件 : キセノンランプ光 (1.8 kW) を 14 日間連続照射 (290 nm 以下の紫外線を除去するために UV フィルター使用)、25°C に設置</p> <p>試料採取 : 光照射後 0、0.17、0.33、1、1.5、2、3、5、9 および 14 日目)</p>	<p>・揮発性物質 揮発性有機化合物 : 検出されなかった。</p> <p>$^{14}\text{CO}_2$: 4% TAR (照射 14 日後)</p> <p>・イマザピルの残存率 照射 1 日後には残存率は 6% TAR となり、2 日後以降は検出されなかった。</p> <p>・イマザピルの消失半減期 試験系 0.27 日 (東京春季太陽光換算 1.6 日)</p> <p>・分解物 5 個の分解物が同定され、このうち [I] および [N] がそれぞれ最高 44% TAR および 36% TAR 検出された。他に [H] (最高 16% TAR)、[J] (最高 12% TAR) および [M] (最高 11% TAR) が検出された。</p> <p>・分解経路 イミダゾリニル環が開裂して、[I]</p> <p>および [N]</p> <p>を生成し、 [I] はさらに [J] および [H] に変換される経路、 [M]</p> <p>を生成する経路、および最終的に二酸化炭素まで無機化される経路が推定された。</p>		代 22
代-S3 (GLP)	土壌吸着/脱着 イマザピル (酸)	砂質埴壌土 (愛知農試)、軽埴土 (日植防高知)、砂土 (日植防宮崎)、埴壌土 (十勝農試)	<p>[^{14}C] 標識化合物の 0.01M 塩化カルシウム水溶液を 0.051~1.06 ppm とするよう処理した。</p>	<p>イマザピルの土壌吸着性は低く、K_{oc}^{ads} は 13~126 であった。</p>		代 28

ACC: アメリカンサイアナミッド社

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称/略称 (コード No.)	化学名	構造式
[A]	親化合物	イマザピル	(RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)= nicotinic acid	

1. 動物代謝に関する試験

1-1. ¹⁴C-標識体のラットにおける代謝試験

(資料 代-A1)

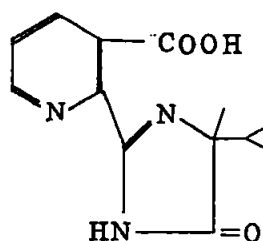
試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：イマザピル(酸)

2-(4-イソプロピル-4-メチル-5-オキソ-2-イミダゾリン-2-イル)ニコチン酸



• ¹⁴C 標識位置

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：Sprague-Dawley 系雄ラット(体重 225g)

方法：吸収・排泄・体内分布

結果：概要を以下の表に示した。

投与量	検査組織	単位	時 間							
			0-1日	1-2日	2-3日	3-4日	4-5日	5-6日	6-7日	7-8日
1 回経口投与 4.4mg/kg (29.91 mc Ci/kg)	尿	排泄率	55.3	2.4	0.5	0.4	0.1	0.1	<0.1	<0.1
		糞	31.9	3.7	0.6	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	肝 腎 筋肉 脂肪 血液	体内分布 (%)	1 日				8 日			
			0.03				<0.01			
			0.02				<0.01			
			<0.01				<0.01			
			<0.01				<0.01			
<0.01				<0.01						

ラットにおけるイマザピル(酸)の半減期は1日以内。

投与1日後における尿と糞中における有機溶媒抽出物中の放射能は薄層クロマトグラフィーと質量分光計によって親化合物イマザピル(酸)と同定された。

2. 土壌中動態に関する試験

2-1. 好氣的土壌中動態試験(砂壤土)

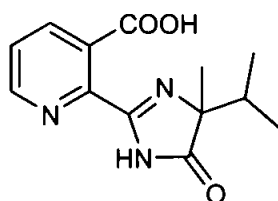
(資料 代-S1)

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

供試 [¹⁴C] 標識化合物： ⁻¹⁴C] イマザピル
構造式：



* : ¹⁴C 標識位置

化学名： (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置の設定理由：イマザピルのピリジン環側の挙動を追跡するため、
の炭素を ¹⁴C で標識した化合物を使用した。*1

供試 [¹³C] 標識化合物：代謝物の同定を容易にするためのマススペクトルマーカーとして、イマザピルの炭素を ¹³C で標識した化合物も使用した。

供試土壌：米国ニュージャージー州から採取した土壌を試験に使用した。土壌は 1 mm の篩を通して試験に使用した。試験土壌の物理化学的性質を以下に示す。

土壌分類 (USDA)	砂 (%)	シルト (%)	粘土 (%)	有機物含量 (%)	pH (水)	CEC*	1/3 Bar 圃場容水量 (%)
砂壤土	58.8	30.8	10.4	1.8	5.3	8.5	14.4

* CEC：陽イオン交換容量 (meq/100 g)

方法：

処理方法：¹⁴C 標識イマザピルおよび ¹³C 標識イマザピルの 50 : 50 の混合物を水に溶解して処理液を調製した。土壌 (500 g) に 1.0 lb ai/acre (1.12 kg ai/ha) の薬量になるように (土壌濃度は 1.0 ppm に相当)、処理液を添加し、土壌水分量を 0.33 bar の 75 % に調整した後、均一になるように十分混合した。

試験条件：処理土壌を遮光条件下で揮発性物質が捕集できる装置内に静置した。揮発性有機物質の捕集用にはエチレングリコール、二酸化炭素の捕集用には 3 N NaOH 水溶液を使用した。処理 1、2、4、6、9 および 12 ヶ月後に、土壌および揮発性物質捕集用トラップを採取し分析に供した。

放射能測定：放射能は液体シンチレーション計測法 (LSC) により測定した。液体試料は液体シ

*1 申請者注：申請者が記載した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Imazapyr

ンチレーションカクテルに直接加えることにより放射能を測定した。土壌や抽出残渣は、サンプルオキシダイザーで燃焼してから放射能を測定した。

分析方法：採取土壌の一部を燃焼分析し、土壌中に残留する放射能を測定した。残りの土壌試料は、図 1 に示すように、土壌 1g に対し 3mL の割合で 1 回抽出したのち、さらに土壌を (V/V/V) で 3 回抽出した。水性抽出液は pH 2 に調整したのち等量の で 3 回抽出し、先の抽出液と混合した。画分については、さらに薄層クロマトグラフ法 (TLC) によりイマザピルおよび代謝物の分析を実施した。イマザピルの同定の確認は GC-MS 分析により行った。土壌は風乾してからその一部を燃焼した。

計算：イマザピルの消失半減期は、以下の線形反応一次式を適用し算出した。

$$\ln (C_0 / C_t) = -kt$$

$$t_{1/2} = \ln(2) / k$$

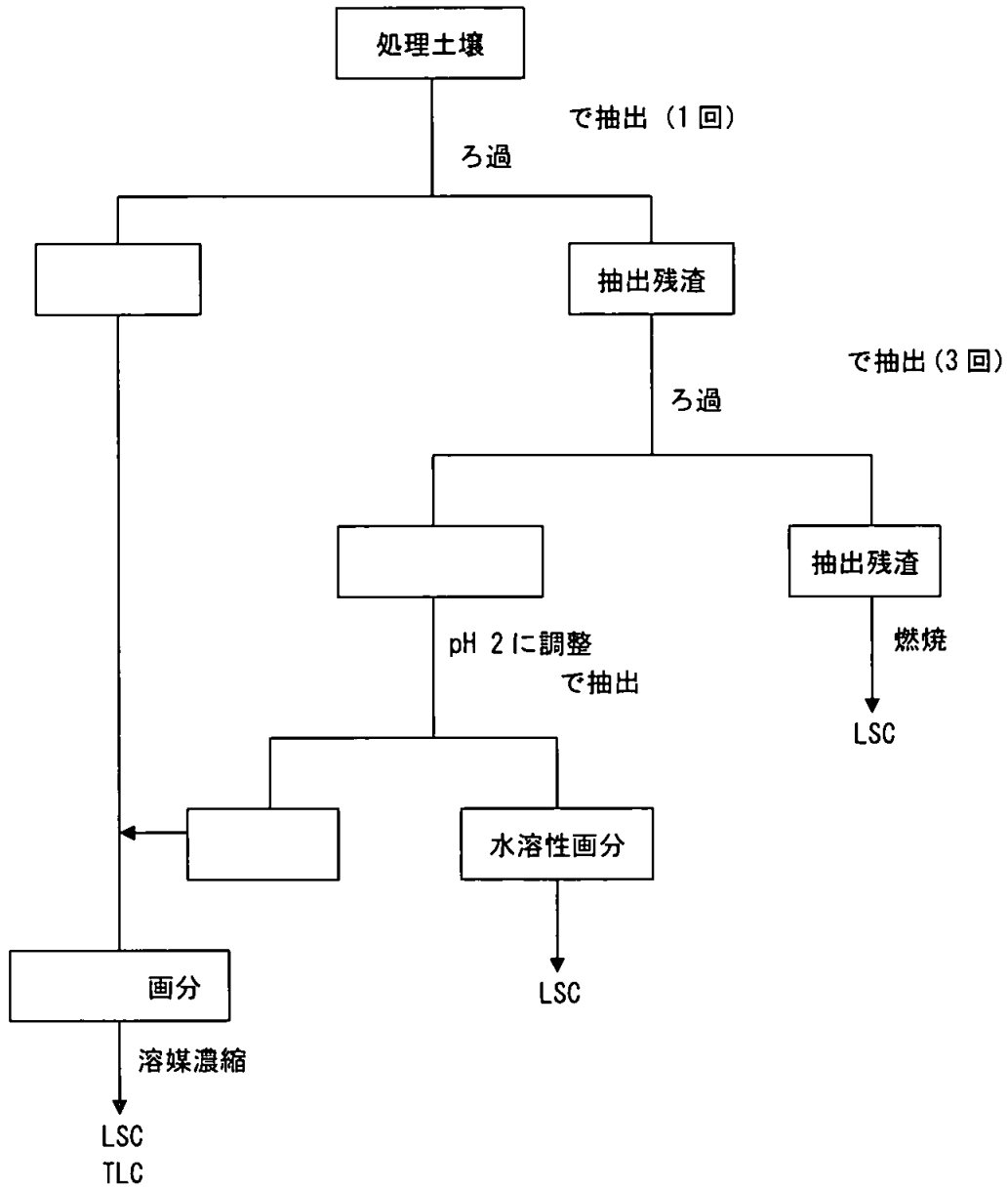


図1 土壌の分析スキーム

結果：

1) 物質収支

[¹⁴C]イマザピルを砂壤土に処理した試験の物質収支の結果を表 1 に示す。エチレングリコールに捕集されるような放射性の揮発性有機物質は検出されなかった。NaOH 水溶液に捕集された ¹⁴CO₂ は経時的に増加し、処理 12 ヶ月後には添加 ¹⁴C (TAR) に対して 13.6% に達した。一方、土壌中に残存する放射能はほぼ経時的に減少し、処理 12 ヶ月後には 86% TAR であった。回収放射能は試験期間を通じて 98~102% TAR の範囲であった。

2) 土壌抽出画分における放射能分布

表 2 に示すように、画分に 64~99% TAR と最も多量の放射能が認められた。次に多かった画分は抽出残渣であり、6~12% TAR の範囲であった。水溶性画分には、2~8% TAR の放射能が認められた。

3) イマザピルの消失半減期

画分を TLC 分析した結果、代謝物はまったく検出されず、未変化のイマザピルだけが検出された。表 3 に示すように、線形反応一次式を用いて残留値をもとに計算した結果、イマザピルの消失半減期は 17 ヶ月であった。

4) まとめ

[¹⁴C]イマザピルは、好氣的条件下の砂壤土中において半減期 17 ヶ月で代謝分解され、処理 12 ヶ月後での残存率は 66% TAR であった。イマザピルは土壌中において、徐々ではあるが代謝分解を受け、結合残渣を形成するか、二酸化炭素にまで無機化されて消失すると推定された。

表 1 物質収支

画分	添加 ^{14}C に対する割合 (%)					
	経過時間 (月)					
	1	2	4	6	9	12
NaOHトラップ ($^{14}\text{CO}_2$)	2.0	4.0	7.2	9.8	11.2	13.6
土壌 ^a	96.4	95.8	95.2	90.8	89.3	86.0
回収放射能	98.4	99.8	102.4	100.6	100.5	99.6

a : 燃焼分析の結果に基づく。

表 2 土壌抽出画分における放射能分布^{*2}

画分	添加 ^{14}C に対する割合 (%)					
	経過時間 (月)					
	1	2	4	6	9	12
画分	99.0	92.1	87.4	76.2	63.7	66.2
イマザピル	99.0	92.1	87.4	76.2	63.7	66.2
画分	2.8	2.5	2.6	2.2	7.9	4.3
抽出残渣	7.0	9.5	9.0	6.0	7.6	12.0
合計	108.8	104.0	99.0	84.4	79.2	82.6

表 3 イマザピルの消失半減期

化合物	反応速度定数 k (月^{-1})	消失半減期 $t_{1/2}$ (月)	サンプル数 n	相関係数 r^2
イマザピル	0.04067	17	6	0.9059

^{*2} 申請者注 : 申請者が報告書の表を改変して記載した。

2-2. 嫌氣的土壤中動態試験 (砂壤土)

(資料 代-S2)

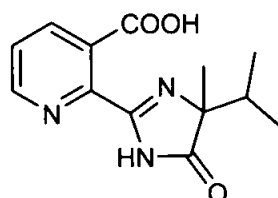
試験機関 :

[非 GLP 対応]

報告書作成年 :

供試 [^{14}C] 標識化合物 : [^{14}C] イマザピル

構造式 :



* : ^{14}C 標識位置

化学名 : (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)nicotinic acid

放射化学的純度 :

比放射能 :

標識位置の設定理由 : イマザピルのピリジン環側の挙動を追跡するため、の炭素を ^{14}C で標識した化合物を使用した。*

供試 [^{13}C] 標識化合物 : 代謝物の同定を容易にするためのマススペクトルマーカーとして、イマザピルの炭素を ^{13}C で標識した化合物も使用した。

供試土壌 : 米国ニュージャージー州から採取した土壌を試験に使用した。土壌は 1 mm の篩を通して試験に使用した。試験土壌の物理化学的性質を以下に示す。

土壌分類 (USDA)	砂 (%)	シルト (%)	粘土 (%)	有機物含量 (%)	pH (水)	CEC*	1/3 Bar 圃場容水量 (%)
砂壤土	58.8	30.8	10.4	1.8	5.3	8.5	14.4

* CEC : 陽イオン交換容量 (meq/100 g)

方法 :

処理方法 : ^{14}C 標識イマザピルおよび ^{13}C 標識イマザピルの混合物を水に溶解して処理液を調製した。土壌 (500 g) に 1.0 lb ai/acre (1.12 kg ai/ha) の薬量になるように (土壌濃度は 1.0 ppm に相当)、処理液を添加し、土壌水分量を 0.33 bar の 75% に調整した後、均一になるように十分混合した。

試験条件 : 処理土壌を遮光条件下にて揮発性物質が捕集できる装置内で、空気を通気しながら静置した。揮発性有機物質の捕集用にはエチレングリコール、二酸化炭素の捕集用には 3 N NaOH 水溶液を使用した。好氣的条件下に置いてから 1 ヶ月後、処理土壌に水を加えて湛水し水深 3 インチになるようにした。湛水した土壌を BBL-Pak 嫌気チェンバー (Becton-Dickinson 製、USA) に移し、チェンバー内の空気を窒素ガスで置換し、さらに 2 ヶ月間遮光条件下で静置した。嫌氣的条件下に置いてから 1 および 2 ヶ月後

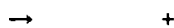
*1 申請者注 : 申請者が記載した。

に、湛水土壤を採取し分析に供した。

放射能測定：放射能は液体シンチレーション計測法 (LSC) により測定した。液体試料は液体シンチレーションカクテルに直接加えることにより放射能を測定した。土壤や抽出残渣は、サンプルオキシダイザーで燃焼してから放射能を測定した。

分析方法：図 1 に示すように、採取した湛水土壤は吸引ろ過により土壤層および水層に分画した。土壤層は約 200 mL の水で洗浄した。洗浄水は水層と合わせたのち、微量の塩酸存在下過剰量の NaOH を加えて反応させ、水層の放射性成分を有機溶媒層に移した。^{*2} なおこの反応でイマザピルが分解しないことは確認済みである。有機溶媒層は濃縮後、薄層クロマトグラフ法 (TLC) により分析した。土壤層はその一部を採取し、残留する放射能を測定した。残りの土壤は、図 2 に示すように、土壤 1g に対し 3 mL の割合で 1 回抽出したのち、さらに (V/V) で 2 回抽出した。有機溶媒抽出液は合わせたのち濃縮後 TLC 分析した。イマザピルの同定の確認は GC-MS 分析により行った。土壤は風乾してからその一部を燃焼した。

^{*2}: 反応終了後、
に変換される。



は以下のとおり 2 分子の

および 1 分子の

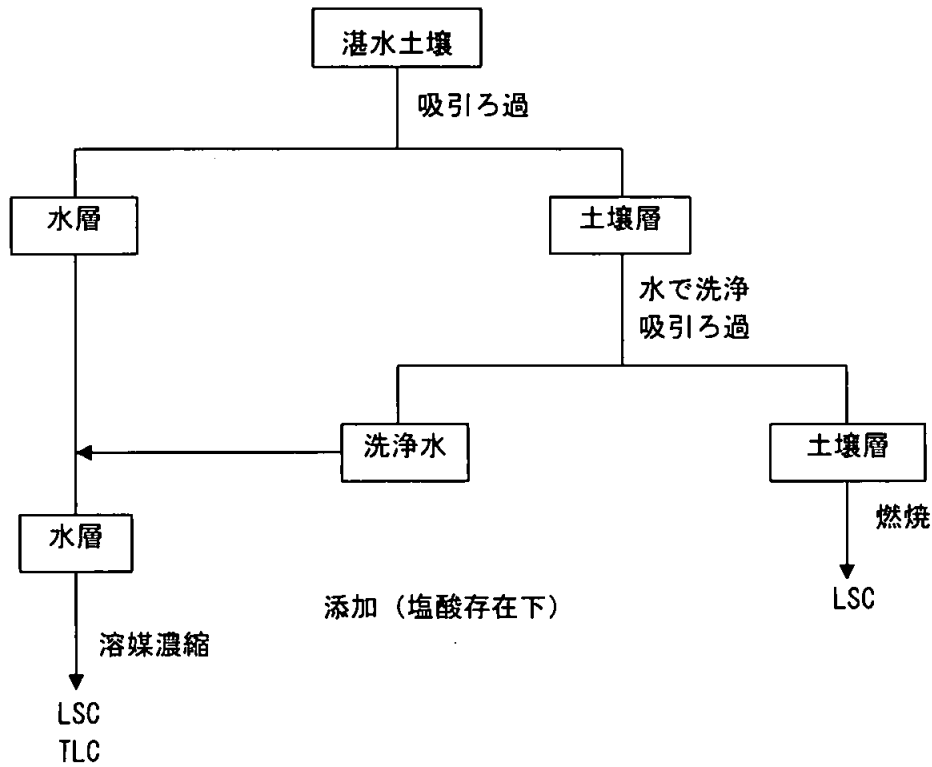


図1 汚染土壌および水層の分析スキーム

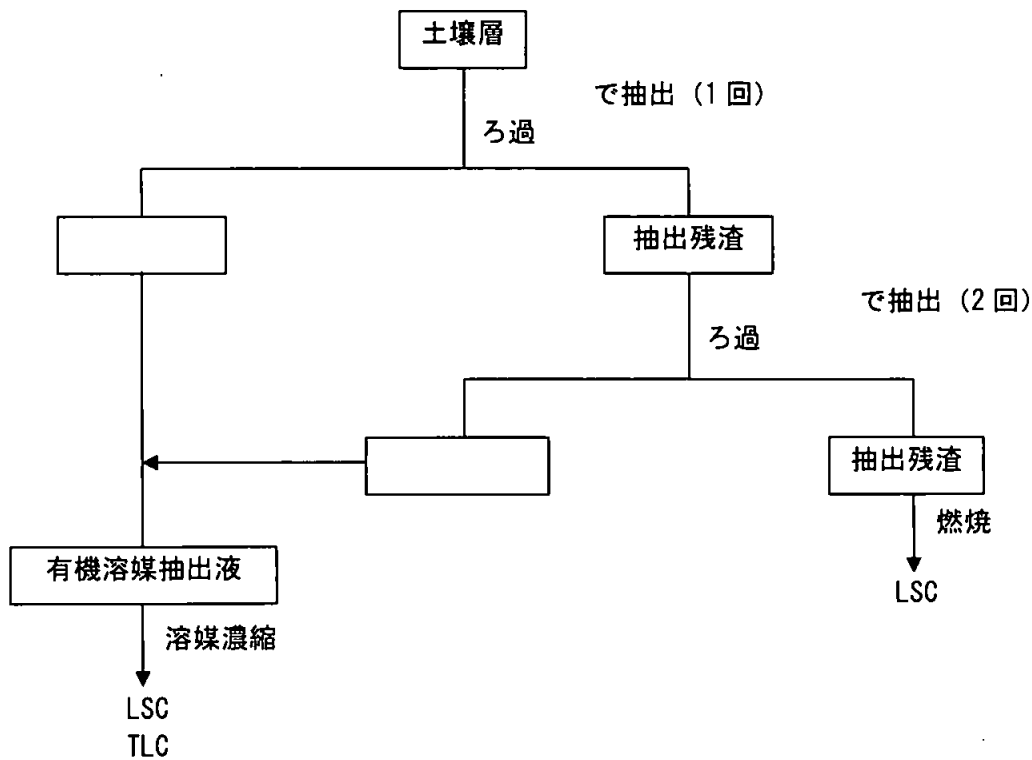


図2 土壌層の分析スキーム

結果：

1) 物質収支

[¹⁴C]イマザピルの嫌氣的条件下での代謝分解試験の物質収支を表 1 に示す。嫌氣的条件に移行してから 1 および 2 ヶ月後に、水層には添加 ¹⁴C (TAR) に対して 80~83%TAR、土壌層には 27~28%TAR と、ほぼ 3 倍量の放射能が水層に分布した。回収放射能は 108~109%TAR の範囲であった。

2) 土壌抽出画分における放射能分布

表 2 に示すように、水層および土壌有機溶媒抽出液の TLC 分析の結果、これら画分には代謝物はまったく検出されず、未変化のイマザピルだけが検出された。土壌抽出残渣に存在する放射能は 2~3%TAR の範囲であった。

3) まとめ

2 ヶ月間の嫌氣的条件下の土壌中において、[¹⁴C]イマザピルの分解は認められなかった。湛水土壌における水層と土壌層における放射能の分配比は、2 ヶ月変わらずほぼ 3 : 1 であった。

表 1 物質収支

画分	添加 ¹⁴ C に対する割合 (%)	
	嫌氣的条件移行後経過時間 (月)	
	1	2
水層	82.6	80.1
土壌層 ^a	26.8	27.5
回収放射能	109.4	107.6

a : 燃焼分析の結果に基づく。

表 2 水層および土壌層における放射能分布^{*3}

画分	添加 ¹⁴ C に対する割合 (%)	
	嫌氣的条件移行後経過時間 (月)	
	1	2
水層	82.6	80.1
イマザピル	82.6	80.1
土壌有機溶媒抽出液	24.5	26.2
イマザピル	24.5	26.2
土壌抽出残渣	1.8	2.5
合計	108.9	108.8

^{*3} 申請者注：申請者が報告書の表を改変して記載した。

3. 水中動態に関する試験

3-1. イマザピルの加水分解動態試験 (蒸留水および緩衝液)

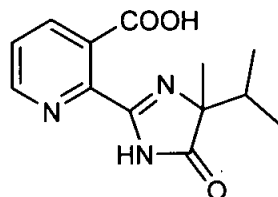
(資料 代-W1)

試験機関 :

[非 GLP 対応]

報告書作成年 :

供試 [^{14}C] 標識化合物 : [^{14}C] イマザピル
構造式 :



* : ^{14}C 標識位置

化学名 : (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid

放射化学的純度 :

比放射能 :

標識位置の設定理由 : イマザピルのピリジン環側の挙動を追跡するため、の炭素を ^{14}C で標識した化合物を使用した。*

供試水溶液 : 以下に示すように、4 種類の供試水溶液を試験に使用した。

試験区	供試水溶液
蒸留水	蒸留水 (pH 5.2)
pH 5.0	0.01 M クエン酸緩衝液
pH 7.0	0.01 M リン酸緩衝液
pH 9.0	0.01 M ホウ酸緩衝液

方法 :

処理方法 : 20 mg の ^{14}C 標識イマザピルを 20 mL の蒸留水に溶解し、各 5.0 mL を 4 個の 100 mL メスフラスコに小分けしたのち、各緩衝液または蒸留水で 100 mL に定容し、50 ppm (1.92×10^{-4} M) のイマザピル水溶液を調製し、試験溶液とした。

試験条件 : 試験溶液から 5 mL ずつアンプルに分注して封入し、暗室において 25°C のウォーターバス中に 30 日間インキュベートした。所定時間後、各試験区からそれぞれ 2 個のアンプルを採取し分析に供した。

放射能測定 : 放射能は液体シンチレーション計測法 (LSC) により測定した。液体試料は液体シンチレーションカクテルに直接加えた。薄層プレート上の放射活性のあるシリカゲルはかき取って液体シンチレーションカクテルに入れた。

分析方法 : 試験溶液中のイマザピルおよび分解物の分離・定量は、試験溶液を薄層プレートに直接塗布し、二次元薄層クロマトグラフ法 (2D-TLC) により行った。イマザピルの同定の確認は GC-MS 分析により行った。

*1 申請者注 : 申請者が記載した。

計算：加水分解は擬一次反応として記述されることから、イマザピルの加水分解半減期は、以下の線形反応一次式を適用し算出した。

$$K_{obs} = 2.303 \times (\text{Log}C_0 - \text{Log}C_t) / t$$

$$t_{1/2} = 2.303 \times \text{Log}(100/50) / K_{obs}$$

結果：

1) 物質収支

[¹⁴C]イマザピルを添加後 30 日間 25°C でインキュベートした試験溶液からの放射能回収率を表 1 に示す。それぞれの試験区からはほぼ 100% の放射能が回収され、試験期間中放射能のロスは認められなかった。

2) 分解物

表 2 に示すように、30 日間 25°C でインキュベートした試験溶液を TLC 分析した結果、蒸留水、pH 5 および pH 7 緩衝液ではイマザピルが 99 % を占め、顕著な分解物は認められなかった。pH 9 緩衝液ではイマザピルは 92.7% にまで減少し、分解物 [B] が 6.9% 検出された。表 3 に示すように、イマザピルが減少するに伴って、分解物 [B] が経時的に増加する傾向が認められた。

3) イマザピルの加水分解半減期

表 4 に示すように、pH 9 緩衝液におけるイマザピルの分解速度を線形反応一次式を用いて計算し、イマザピルの加水分解半減期は 325 日と算出された。

4) まとめ

[¹⁴C]イマザピルは 25°C において蒸留水、pH 5 および pH 7 緩衝液中では安定であったが、pH 9 緩衝液中では加水分解が進行し、半減期は 325 日と算出された。分解物として、イミダゾリノン環が開裂して生成した [B] が、25°C において 30 日後に約 7 % 検出された。

表 1 30 日間 25°C でインキュベート後の試験溶液からの放射能回収率

試験区	¹⁴ C 濃度 (イマザピル相当) (moles/L)		回収率 (%)
	処理 1 日後	処理 30 日後	
蒸留水	1.924 × 10 ⁻⁴	1.936 × 10 ⁻⁴	100.6
pH 5.0	1.917 × 10 ⁻⁴	1.916 × 10 ⁻⁴	99.9
pH 7.0	1.892 × 10 ⁻⁴	1.910 × 10 ⁻⁴	100.9
pH 9.0	1.940 × 10 ⁻⁴	1.967 × 10 ⁻⁴	101.4

表 2 30 日間 25°C でインキュベート後の試験溶液の TLC 分析結果

試験区	TLC プレート上の放射能分布 (%)		
	イマザピル [A]	[B]	その他の成分
蒸留水	98.6	ND	1.4
pH 5.0	99.0	ND	1.0
pH 7.0	99.0	ND	1.0
pH 9.0	92.7	6.9	0.4

ND：検出されず

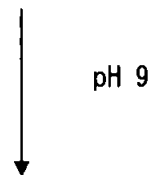
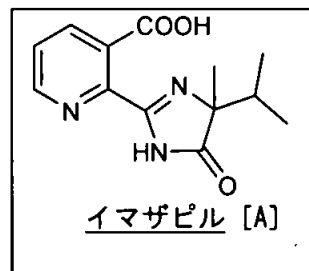
表 3 試験溶液 pH 9.0 におけるイマザピルおよび分解物の推移

採取日 (日)	TLC プレート上の放射能分布 (%)		
	イマザピル [A]	[B]	その他の成分 ^a
0	98.5	0	1.5
2	98.0	0	2.0
12	95.8	3.0	1.2
19	93.9	5.1	1.0
26	93.4	6.0	0.6
30	92.7	6.9	0.4

a: 少なくとも 2 個の分離できない成分からなる。

表 4 イマザピルの pH 9.0 における加水分解半減期

試験区	反応速度定数 K_{obs} (日 ⁻¹)	加水半減期 $t_{1/2}$ (日)	サンプル数 n
pH 9.0	2.13×10^{-3}	325	6



[B]

図 1 イマザピルの加水分解経路^{*2}

^{*2} 申請者注：申請者が作成し記載した。

3-2. イマザピルの水中光分解動態試験（蒸留水および緩衝液）

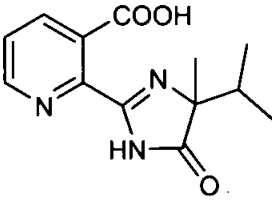
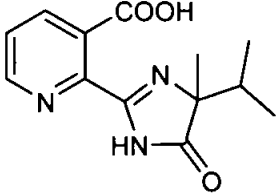
（資料 代-W2）

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：

供試^[14C]標識化合物：以下の2種類の^[14C]標識イマザピルを使用した。

	[¹⁴ C] イマザピル	[¹⁴ C] イマザピル
構造式 * : ¹⁴ C 標識位置		
放射化学的純度		
比放射能		

化学名：(RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)nicotinic acid

標識位置の設定理由：イマザピルのピリジン環とイミダゾリニル環との結合が開裂した場合のことを考えて、両方の挙動を追跡できるように、上記2種類の^[14C]標識イマザピルを使用した。^{*1}

供試^[13C]標識化合物：代謝物の同定を容易にするためのマススペクトルマーカーとして、イマザピルの炭素を^{13C}で標識した化合物を^[14C]標識イマザピルに混合して試験に使用した。

供試水：以下に示すように3種類の水を試験に使用した。

試験区	供試水
蒸留水	蒸留水
pH 5 緩衝液	0.05M カリウム-フタル酸緩衝液 (pH 5.0)
pH 9 緩衝液	0.05M ホウ酸緩衝液 (pH 9.0)

光照射装置：

光源：6.5 kW キセノンランプ (Atlas Electric Devices 社製、USA)

試験での光照射は6,000 W に調整して使用した。

光学フィルター：自然太陽光に近づけるために硼珪酸ガラスフィルターを使用した。

光強度：光強度はシカゴ（イリノイ州）の夏の正午の太陽光の強度にほぼ相当し、次のようなスペクトル分布を示した。15 W/m² (< 340 nm)、57.5 W/m² (340~400 nm)、587 W/m² (400~750 nm)、484 W/m² (> 750 nm)。従って、分解に関係の高い波長領域 340~750nm の光強度は 644.5 W/m² と算出された。

*1 申請者注：申請者が記載した。

試験設計：

供試水	標識化合物	光照射期間	検討項目
蒸留水	[^{14}C]	12 日	物質収支
蒸留水	[^{14}C]	10 日	物質収支
蒸留水	[^{14}C] [^{14}C]	10 日	分解速度、分解物同定
pH 5 緩衝液	[^{14}C]	7 日	分解速度
pH 9 緩衝液	[^{14}C]	3 日	分解速度

試験方法：

反応容器：125 mL 容のバイコールガラスフラスコ（硼珪酸ガラスの一種、Corning 社製）を試験に使用した。揮発性物質を捕集するために、反応容器をエチレングリコールおよび 3 N NaOH 水溶液に連結して通気し、揮発性物質を捕集した。

試験条件：被験物質濃度が 25 ppm^{*2} になるように各試験溶液を調製し、反応容器に 50 mL ずつ入れ、試験期間中 25°C に保ちながら、キセノンランプ光を連続照射し、スターラーで攪拌した。また同時に暗所対照区も設置した。

分析方法：揮発性物質捕集用トラップ液はコンバストコーン（可燃性容器）に吸収させたのち、サンプルオキシダイザー（Packard 社製）で燃焼し、液体シンチレーション計測（LSC）により放射能を測定した。

反応容器より経時的に採取した試験溶液（約 2 mL）は、微量の塩酸存在下過剰量の ^{14}C を加えて反応させ、水層中の放射性成分を有機溶媒層に移した。
*3 有機溶媒層は濃縮後、薄層クロマトグラフ法（TLC）により分析した。なおこの反応でイマザピルが分解しないことは確認した。

光分解物の同定には、合成標品との TLC コクロマトグラフィー、マスペクトル分析（MS）および核磁気共鳴スペクトル分析（NMR）を併用した。

分解速度の算出：イマザピルの消失半減期（DT50）は、以下の線形反応一次式を適用し算出した。

$$\ln (C_0/C_t) = -kt$$

$$t_{1/2} = \ln (2) / k$$

結果：

1) 物質収支

表 1 に示すように、添加放射能（TAR）に対する回収率は、[^{14}C] イマザピルを処理した蒸留水で処理 12 日後 99.7% TAR であり、[^{14}C] イマザピルを処理した蒸留水で処理 10 日後 99.1% TAR であった。3 N NaOH 水溶液に捕集された放射能は、[^{14}C] イマザピルでは 7.2 %TAR（処理 12 日後）であったが、[^{14}C] イマザピルでは 41.8% TAR（処理 10 日後）に達した。捕集された放射能は炭酸バリウムとして沈澱することから、 $^{14}\text{CO}_2$ であることが確認された。このことから、イミダゾリニル環は光によって迅速

*2：＜参考＞イマザピルの水溶解度：11,272 ppm（25°C）

*3：反応終了後、2,2- は以下のとおり 2 分子の および 1 分子の に変換される。

→

に開環し二酸化炭素にまで無機化されることがわかった。なお、エチレングリコールに捕集されるような揮発性有機物質は検出されなかった。

2) イマザピルおよび光分解物の推移

試験溶液において、以下に示す方法によりイマザピルと 4 個の光分解物が同定された。

化合物	同定方法
イマザピル [A]	二次元 TLC コクロマトグラフィー
[I]	二次元 TLC コクロマトグラフィー、MS、 ¹ H-NMR
[H]	二次元 TLC コクロマトグラフィー (メチル化後)、MS
[K]	二次元 TLC コクロマトグラフィー、MS
[L]	二次元 TLC コクロマトグラフィー

表 2 に示すように、イマザピルは光照射により迅速に分解し、処理 10 日後には 2.7~4.4%TAR にまで減少した。それに伴い、多数の光分解物の生成が認められた。10%TAR を超えて生成する光分解物として、[I] および [H] () が認められ、処理 9 日後にそれぞれ最高 31.8%TAR および 22.8%TAR に達した。他に [K] () および [L] () も検出されたが、いずれの分解物も試験期間を通して 1%TAR 未満と微量であった。未知物質-1 は両方の標識体において検出され、最高 6.7~9.5%TAR に達したが、構造決定には至らなかった。未知物質-2 は [] -¹⁴C 標識体においてのみ検出され、最高 9.0%TAR に達したが、この分解物も構造決定には至らなかった。その他に両方の標識体において 20 個以上の微量な分解物の生成が認められた。各種供試水中における [] -¹⁴C イマザピルの推移を表 3 に示す。イマザピルはすべての供試水において光照射により迅速に消失した。同時に設置した暗所対照区においては、イマザピルは 10 日間安定であった。

3) 消失半減期

表 4 に示すように、イマザピルの水中光分解速度は線形反応一次式を適用して計算することができた。消失半減期は、蒸留水では 1.85~2.26 日、pH 5 緩衝液では 2.67 日、pH 9 緩衝液では 1.27 日と算出された。

4) 光分解経路

イマザピルは蒸留水中において光照射により急速に分解して、[I] および [H] に変換されると考えられた。またわずかではあるが [K] および [L] を生成する経路もあると考えられた。他に微量な未同定分解物を経て最終的に二酸化炭素にまで無機化される経路もあると考えられた。イマザピルの蒸留水中における予想光分解経路を図 1 に示す。

5) まとめ

イマザピルは蒸留水および緩衝液中において光照射により消失半減期が 1~3 日と急速に分解された。イマザピルは [I] および [H] や一部 [K] および [L] を経由し、最終的には二酸化炭素にまで無機化されると考えられた。

表 1 ^{14}C イマザピルの蒸留水中における光分解試験の物質収支

処理後 日数	添加放射能に対する割合 (%)					
	^{14}C イマザピル			^{14}C イマザピル		
	3N NaOH ($^{14}\text{CO}_2$)	試験水	合計	3N NaOH ($^{14}\text{CO}_2$)	試験水	合計
0*	0	100.0	100.0	0	100.0	100.0
2	0.2	NP	-	NP	NP	-
6	2.3	NP	-	33.4	61.2	94.6
9	4.5	NP	-	NP	NP	-
10	NP	NP	-	41.8	57.3	99.1
12	7.2	92.5	99.7	NP	NP	-

NP : 測定せず

- : 算出不能

* : 数値は理論値

表 2 ^{14}C イマザピルの蒸留水中におけるイマザピルおよび光分解物の推移

処理後 日数	添加放射能に対する割合 (%)						
	イマザピル [A]	[I]	[H]	未知物質-1	未知物質-2	その他 ^a	合計 ^b
[^{14}C イマザピル ^c							
0	98.6	0	0	0	0	1.4 (3)	100.0
1	82.0	9.5	1.1	1.0	2.5	4.3 (11)	100.4
2	64.0	19.6	2.8	1.7	5.0	7.3 (16)	100.4
3	46.6	25.0	8.1	4.0	6.4	11.1 (18)	101.2
4	33.3	26.9	12.4	4.3	7.0	16.2 (22)	100.1
5	20.8	31.6	12.2	2.8	9.0	21.4 (21)	97.8
7	9.0	31.6	20.0	6.5	7.2	23.1 (24)	97.4
9	4.0	31.8	22.8	6.7	7.1	22.4 (25)	94.8
10	2.7	29.7	22.7	6.7	7.1	23.9 (23)	92.5
[^{14}C イマザピル							
0	99.4	NA	NA	0	NA	1.1 (4)	100.5
1	73.3	NA	NA	0.7	NA	3.4 (13)	77.4
2	54.0	NA	NA	0.8	NA	6.1 (16)	60.9
3	38.5	NA	NA	2.4	NA	6.9 (17)	47.8
4	30.6	NA	NA	4.3	NA	6.8 (20)	41.7
5	23.7	NA	NA	8.0	NA	5.5 (15)	37.2
6	17.6	NA	NA	9.0	NA	6.7 (16)	33.3
7	13.1	NA	NA	8.8	NA	8.3 (18)	30.2
9	6.0	NA	NA	6.0	NA	13.6 (22)	25.6
10	4.4	NA	NA	9.5	NA	9.5 (23)	23.4

NA : 適用なし

a : 括弧内の数字は未知物質の数を示す。これらの未知物質の中に 10%TAR を超える分解物はなかった。

b : 別の実験において、放射能の経時的なロスは $^{14}\text{CO}_2$ の生成によるものであることを確認した。

c : [^{14}C イマザピルからは、分解物 [K] および [L] も検出されたが、いずれの分解物とも、試験期間を通じて<1%TAR であった。

表 3 各種供試水中における [¹⁴C] イマザピルの推移

処理後日数 (日)	添加放射能に対する割合 (%)		
	蒸留水	pH 5 緩衝液	pH 9 緩衝液
0	98.6	92.1	91.0
0.75	-	-	58.7
1	82.0	61.9	50.6
1.75	-	-	30.4
2	64.0	44.2	-
3	46.6	-	18.1
4	33.3	24.8	-
5	20.8	-	-
6	-	16.8	-
7	9.0	14.8	-
9	4.0	-	-
10	2.7	-	-

- : 測定せず

表 4 イマザピルの水中光分解半減期

供試水	反応速度定数 k (日 ⁻¹)	半減期 t _{1/2} (日)		サンプル数 n	相関係数 r ²
		試験系	東京春季		
[¹⁴ C] イマザピル					
蒸留水	0.3751	1.85	17.0	9	0.9904
pH 5 緩衝液	0.2596	2.67	24.6	6	0.9782
pH 9 緩衝液	0.5452	1.27	11.7	5	0.9898
[¹⁴ C] イマザピル					
蒸留水	0.3069	2.26	20.9	10	0.9960

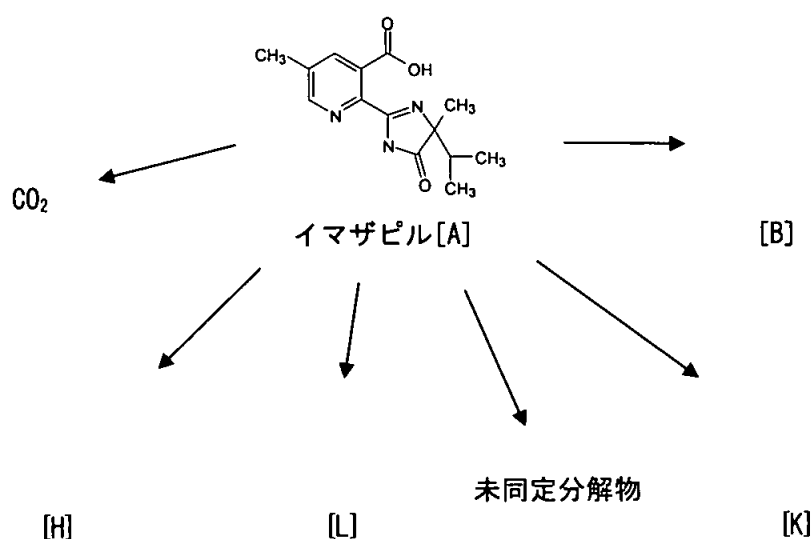


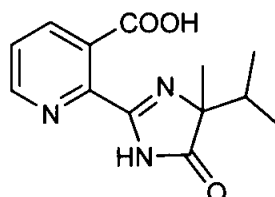
図 イマザピルの自然水における推定光分解経路

3-3. イマザピルの水中光分解動態試験（自然水）

（資料 代-W3）

試験機関：
 [GLP 対応]
 報告書作成年：

供試 [¹⁴C] 標識化合物：[6-¹⁴C] イマザピル
 構造式：



* : ¹⁴C 標識位置

化学名： (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置の設定理由：イマザピルのピリジン環は代謝的に安定であると考えられたため、
 の炭素を ¹⁴C で標識した化合物を使用した。^{*1}

供試水：2004年3月17日にスイスの池から採取した水を試験に使用した。
 自然水の物理化学的性質を以下に示す。

自然水	pH	導電率 ($\mu\text{s}/\text{cm}$)	溶存酸素濃度 (ppm)	懸濁物質濃度 (mg/mL)	硝酸イオン濃度 (ppm)
池水	(滅菌前) 8.9 (滅菌後) 7.9	0.34	(滅菌前) 4.1 (滅菌後) 5.0	2.6	(滅菌前) 1.46 (滅菌後) 2.66

試験装置：

装置名： Suntest CPS (Heraeus 製、ドイツ)

光源： 1.8 kW キセノンランプ

分光分布：290~800 nm

光学フィルター：290 nm 以下の紫外線を除去するため UV フィルターを使用

光強度： 300~400 nm の範囲で 46.1 W/m² (LI-1800 分光光度計で測定)

この光強度は試験施設のある北緯 47.5 度における夏の雲のない晴れた日の直角に射す自然太陽光の強度 (43.7 W/m²) より少し高い程度であった (2006年8月31日測定)。

試験方法：

反応容器：試験溶液 100 mL を入れることが可能なパイレックスガラス容器 (受光面：石英ガラス板、受光面積：28.26 cm²) を使用した。揮発性物質を捕集するために、反応容器をエチレングリコールおよび 2 N NaOH 水溶液に連結し、流量 10 mL/min で通気した。揮発性物質捕集用トラップ液は 1 日以降の試料採取時点毎に交換した。

供試水および容器の滅菌：自然水は使用直前に 0.45 μm フィルターでろ過し、ガンマ放射線を照射することにより滅菌した。ガラス器具は 70% エタノール水溶液で滅菌した。

*1 申請者注：申請者が記載した。

試験溶液の調製： ^{14}C イマザピルのアセトニトリル溶液を滅菌した供試水に溶解し、被験物質濃度 2.832 mg/L の試験溶液を調製し、反応容器に 100 mL ずつ入れた*2。試験溶液中のアセトニトリル濃度は 0.2%であった。照射区には 2 本の反応容器を、暗所対照区には 1 本の反応容器を使用した。また高濃度 (20 および 100 mg/L) の試験溶液も調製し、分解物同定に利用した。

試験条件：反応容器にキセノンランプ光を 14 日間連続照射し、経時的に試験溶液を採取した。反応容器は循環恒温槽に入れ 25°C に保った。

分析方法：採取した試料の放射能濃度は液体シンチレーション計測 (LSC) したのち、直接高速液体クロマトグラフィー (HPLC) および薄層クロマトグラフィー (TLC) により、イマザピルおよび光分解物を分離・定量した。参照物質と一致しない分解物については、LC-MS 分析により構造を同定した。揮発性物質を捕集したトラップ液はその一部を採取し、LSC 測定した。

分解速度の算出：イマザピルの消失半減期 (DT50) は、以下の線形反応一次式を適用し算出した。

$$C = C_0 \exp(-k_1 \cdot t)$$
$$DT50 = \ln(2) / k_1$$

光分解物の消失半減期 (DT50) は、以下の連続的一次フィッティング式を適用し算出した。

$$C_t = C_1 \cdot k_1 / (k_2 - k_1) (e^{-k_1 t} - e^{-k_2 t})$$
$$DT50 = \ln(2) / k_2$$

結果：

1) 試験条件の確認

試験温度は、24.5±0.1°C (照射区) および 24.7±0.0°C (暗所対照区) と試験期間中一定に保たれていた。試験期間中の試験溶液の pH は、7.55~8.47 (照射区) および 7.37~8.24 (暗所対照区) の範囲であった。試験期間中に試験溶液の無菌性が保たれていたことは、試験期間終了時に照射区および暗所対照区の試験溶液を寒天培養法で調べることにより確認した。

2) 物質収支

表 1 に示すように、処理放射能 (TAR) に対する回収率は、照射区で 96.7~101.0% TAR (平均 99.4±1.2% TAR)、暗所対照区で 95.9~100.0% TAR (平均 98.7±1.6% TAR) であった。2 N NaOH 水溶液に捕集される放射能は照射区で経時的に増加し、14 日後には 3.7% TAR になった。捕集された放射能は炭酸バリウムとして沈澱することから、 $^{14}\text{CO}_2$ であることが確認された。エチレングリコールに捕集されるような揮発性有機物質は検出されなかった。

3) イマザピルおよび光分解物の推移

試験溶液を参照物質との HPLC コクマトグラフィーにより、イマザピルおよび光分解物を分離・定量した。HPLC 分析の結果を確認するために、適切な採取時点での試験溶液について TLC 分析を実施した。参照物質と一致しない分解物については、LC-MS 分析により構造を同定した。表 2 に示すように、イマザピルは照射により急速に分解し、照射 8 時間 (0.33 日) 後には処理放射能の半分ぐらいまでに減少し、1 日後には 6.3% TAR になり、2 日目以降は検出されなかった。

照射区において、イマザピルは 2 個の主要な分解物 [1]

*2 : <参考> イマザピルの水溶解度 : 11,272 ppm (25°C)

および [N] () に変換された。 [I] は参照物質とのコクロマトグラフィーにより、 [N] は LC-MS により同定された。これら分解物はいずれもイミダゾリニル環が開裂して生成した分解物であった。 [I] は照射 1~5 日後には 40~44%TAR とほぼ一定量を維持したが、その後減少し、14 日後には 9.8%TAR になった。 [N] は照射 1.5~5 日後には 30~35%TAR を保ったが、それ以降減少し、14 日後には 28.8%TAR であった。次に多量に検出された分解物は、 [M] () および M9 であった。 [M] は LC-MS により同定されたが、M9 は LC-MS でイオン化されなかったため同定できなかった。 [M] は最高 10.7%TAR (1.5 日後)、M9 は 9.7%TAR (1 日後) に達したが、以後減少し、14 日後には検出されなかった。あと 2 個の分解物が 10%TAR を超えて検出された。 [J] および [H] () は 14 日後にそれぞれ最高 11.6%TAR および 16.0%TAR 検出されたため、これら分解物は光に対して安定であると考えられた。他に多数の分解物が検出されたが、いずれの分解物も最高でも 7.6%TAR を超えることはなかった。暗所対照区において、イマザピルは安定であり、14 日後でも 95.7%TAR 残存し、分解物は検出されなかった。

4) イマザピルおよび光分解物の消失半減期

表 3 に示すように、イマザピルの消失半減期は、試験系では 0.27 日、東京春季太陽光換算では 1.6 日と算出された。主要な光分解物である [I] の試験系での消失半減期は 6.2 日、 [N] は 56.8 日と算出された。ニコチン酸 [J] および [H] については、最終時点 (14 日) にそれぞれ最高値を示したため、消失半減期は算出できなかった。

5) 光分解経路

イマザピルは自然水中において光照射により急速にイミダゾリニル環が開裂して、 [I] および [N] を生成し、 [I] はさらに [J] および [H] に変換されると考えられた。また一部イマザピルから [M] を生成する経路もあると推定された。これら分解物は徐々にではあるが、最終的に二酸化炭素にまで無機化されると考えられた。イマザピルの自然水中における予想光分解経路を図 1 に示す。

6) まとめ

[¹⁴C]イマザピルは、自然水中において光照射により急速に分解され、 [I]、 [N] および [M] を生成し、 [I] はさらに [J] および [H] に変換され、最終的に二酸化炭素にまで無機化されると考えられた。イマザピルの東京春季太陽光換算の消失半減期は 1.6 日と算出された。

表 1 物質収支

照射/イン キュベーション 時間 (日)	東京春季 太陽光換算 (日)	添加放射能に対する割合 (%)				回収率 平均 ± SD
		試験溶液	2 N NaOH (¹⁴ C ₂ O ₂)	エレン ゲリコール	回収率	
光照射区 ^a						
0	0	100.0	na	na	100.0	99.4 ± 1.2
0.17	1.0	100.2	<0.1	<0.1	100.2	
0.33	2.0	99.5	<0.1	<0.1	99.5	
1	5.9	99.3	<0.1	<0.1	99.4	
1.5	8.9	100.9	<0.1	<0.1	101.0	
2	11.9	99.9	0.2	<0.1	100.1	
3	17.8	98.7	0.5	<0.1	99.3	
5	29.7	98.3	1.3	<0.1	99.5	
9	53.4	95.4	2.6	<0.1	98.1	
14	83.0	93.0	3.7	<0.1	96.7	
暗所対照区						
0	-	100.0	na	na	100.0	98.7 ± 1.6
1	-	99.6	<0.1	<0.1	99.6	
2	-	99.6	<0.1	<0.1	99.6	
3	-	99.2	<0.1	<0.1	99.2	
5	-	99.4	<0.1	<0.1	99.4	
9	-	96.9	<0.1	<0.1	97.0	
14	-	95.7	0.2	<0.1	95.9	

na : 分析せず

a : 2 連の平均値

表 2 イマザピルおよび光分解物

照射/イ ンキュベ-ション 時間(日)	東京春季 太陽光換 算(日)	添加放射能に対する割合 (%)											
		イマザ ピル [A]	M1	[J]	M3	[I]	[M]	[N]	M9	M10	M11	[H]	M15
光照射区 ^a													
0	0	100.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
0.17	1.0	64.7	-	-	-	14.6	4.0	12.1	4.9	-	-	-	-
0.33	2.0	44.2	-	-	-	20.8	7.8	19.2	7.6	-	-	-	-
1	5.9	6.3	4.0	1.2	0.9	41.5	8.5	27.3	9.7	-	-	-	-
1.5	8.9	1.7	7.6	3.9	-	39.7	10.7	30.7	6.7	-	-	-	-
2	11.9	-	2.9	3.8	1.0	44.4	7.0	34.8	5.9	-	-	-	-
3	17.8	-	4.6	5.5	1.9	40.7	3.8	32.2	5.2	0.9	-	4.0	-
5	29.7	-	3.6	6.3	0.9	41.1	1.5	36.1	1.3	3.2	-	4.3	-
9	53.4	-	4.9	9.4	7.6	20.9	1.9	28.8	2.5	2.4	6.2	9.4	1.5
14	83.0	-	7.5	11.6	7.0	9.8	-	28.8	-	2.5	7.4	16.0	2.3
暗所対照区													
0	-	98.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
2	-	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
3	-	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
5	-	99.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
9	-	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na	na
14	-	95.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- : 検出されず

na : 分析せず

a : 2 連の平均値

表 3 イマザピルおよび光分解物の消失半減期 (DT50)

化合物	消失半減期 (日)	
	試験系	東京春季太陽光換算 ^b
イマザピル [A]	0.27	1.6
[I]	6.2	36.8
[J]	- ^a	-
[M]	1.3	7.7
[N]	56.8	337
[H]	- ^a	-
M9 (未同定分解物)	2.0	11.9

a : 最終時点 (14 日) が最高値であったため、半減期は算出できなかった。

b : 試験系における 1 日の連続光照射は東京 (北緯 35 度) の春季太陽光の 5.93 日に相当する。

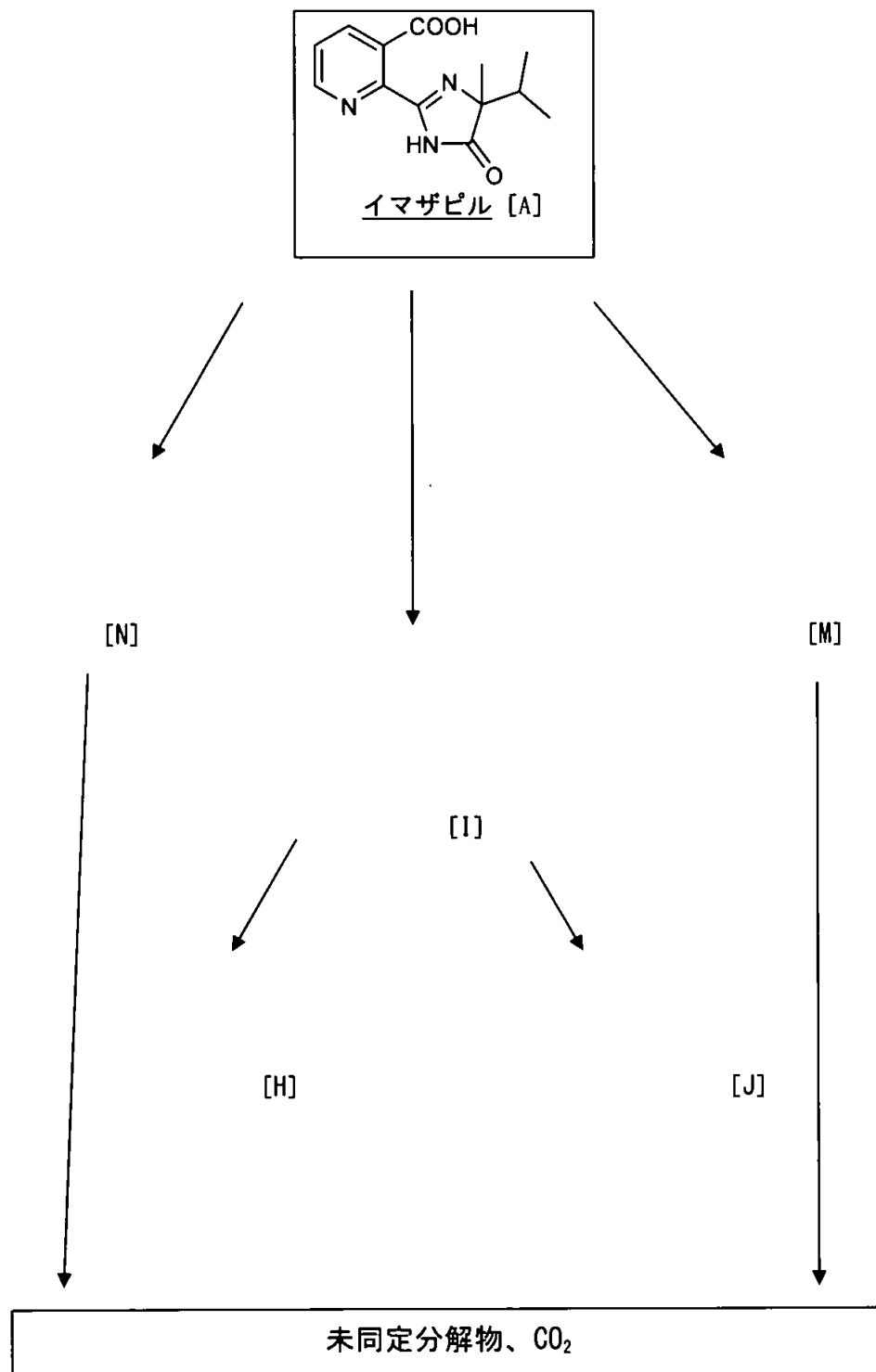


図1 イマザピルの自然水における推定光分解経路

4. 土壌吸着性に関する試験

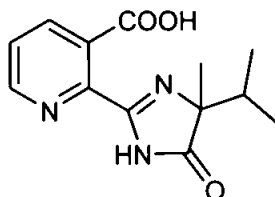
(資料 代-S3)

試験機関：American Cyanamid Company

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試 [¹⁴C] 標識化合物：[-¹⁴C] イマザピル
構造式：



* : ¹⁴C 標識位置

化学名： (RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置の設定理由：イマザピルのピリジン環は代謝的に安定であると考えられたため、の炭素を ¹⁴C で標識した化合物を使用した。^{*1}

供試土壌：日本の 4 種類の土壌を試験に使用した。試験土壌の物理化学的性質を以下に示す。

採取場所	愛知農試	日植防高知	日植防宮崎	十勝農試
土性 (USDA)	砂質埴壤土	軽埴土	砂土	埴壤土*
砂 (%)	68.0	47.6	87.1	57.1
シルト (%)	14.5	27.2	5.7	21.5
粘土 (%)	17.5	25.2	7.2	21.4
有機物含量 (%)	0.76	1.15	1.5	2.56
有機炭素含量 (%) ^{a*2}	0.44	0.67	0.87	1.48
pH (水)	7.1	7.2	7.2	6.2
pH (KCl)	6.0	6.4	6.3	5.8
陽イオン交換容量 (meq/100 g)	7.9	10.2	7.0	11.7
リン酸吸収係数	290	370	660	1,330
主要粘土鉱物	カオリナイト、イライト	クロライト、イライト	ハロイサイト	アロフェン、パーミキュライト

a : 有機炭素含量 (%) = 有機物含量 (%) / 1.724

* : 火山灰土

試験方法：US-EPA ガイドラン No. N-163-1 に準拠したバッチ平衡法を用いた。

吸着： ¹⁴C 標識イマザピルの 4 段階の濃度 (1.06、0.526、0.103 および 0.051 ppm) の 0.01 M 塩化カルシウム水溶液を調製した。土壌 15 g と各濃度の塩化カルシウム水溶液 15 mL を 50 mL 容の遠沈管に入れ (土壌/水比、1:1)、室温にて 4 日間 (宮崎土壌) または 5 日間 (愛知、高知および十勝土壌) 振とうすることにより平衡化した。試料を 25°C で 1 時間遠心分離 (2600 rpm) し、上澄みと土壌に分離した。実験はそれぞれの土壌の各濃度区において 3 連で実施した。なお、それぞれの土壌において設定した時間内で吸着平衡に達することは別途調べるにより確認した。

^{*1} 申請者注：申請者が記載した。

^{*2} 申請者注：申請者が計算し記載した。

脱着： 吸着試験で上澄みを取り除いた遠沈管に、イマザピルを含まない塩化カルシウム水溶液 15 mL を加え、同様にして、4 日間（宮崎土壌）または 5 日間（愛知、高知および十勝土壌）振とうし、遠心分離により上澄みと土壌に分離した。

放射能測定：放射能は液体シンチレーション計測法（LSC）により測定した。上澄み液は液体シンチレーションカクテルに直接加えることにより放射能を測定した。土壌は風乾後粉砕してから、その一部をサンプルオキシダイザーで燃焼してから放射能を測定した。

安定性の確認：一次元薄層クロマトグラフ法（TLC）により、イマザピルおよび分解物の分離を行った。最高濃度区の吸着および脱着後の上澄み液を直接 TLC プレートに添加したのち、3 種類の溶媒系を用いて展開し、オートラジオグラフィーにより確認される放射活性のあるスポットと UV ライトにより確認されるイマザピルの非標識標品のスポットの位置を比較した。

吸着係数の計算：フロイントリッヒ吸着等温式を適用することにより、イマザピルの土壌吸着係数を算出した。また吸着および脱着段階での土壌／水分配係数も求めた。

結果：

1) 安定性の確認

最高濃度区の吸着および脱着後の上澄み液の TLC 分析の結果、イマザピル以外に放射活性のあるスポットは認められなかったことから、イマザピルは試験条件下において安定であったことが確認された。

2) 土壌吸着係数

イマザピルの 4 種類の土壌への吸着はフロイントリッヒ吸着等温式が十分適用可能であった（相関係数 $r = 0.98 \sim 1.00$ ）。表 1 に示すように、イマザピルの土壌吸着係数 K^{ads}_F は 0.109 ~ 0.779 の範囲であり、有機炭素含量で補正した土壌吸着係数 K^{ads}_{FOC} は 13 ~ 126 の範囲であった。このことからイマザピルの土壌への吸着性は低いことが明らかになった。また吸着段階での土壌／水分配係数 $K_{d(ads)}$ は 0.13 ~ 0.87、脱着段階での土壌／水分配係数 $K_{d(des)}$ は 0.07 ~ 1.05 の範囲であった。

3) まとめ

イマザピルの有機炭素含量で補正した日本土壌における土壌吸着係数 K^{ads}_{FOC} は 13 ~ 126 の範囲であり、土壌への吸着性は低かった。

表 1 イマザピルの土壌吸着係数

土壌	有機炭素含量 (%)	フロイントリッヒ吸着等温式				土壌／水分配係数	
		$1/n^a$	r^b	$K^{ads}_F^c$	$K^{ads}_{FOC}^d$	$K_{d(ads)}^e$	$K_{d(des)}^f$
愛知	0.44	0.9058	0.9978	0.556	126	0.69	0.74
高知	0.67	0.8857	0.9987	0.551	82	0.71	0.92
宮崎	0.87	0.9061	0.9794	0.109	13	0.13	0.07
十勝	1.48	0.9510	0.9966	0.779	53	0.87	1.05

a：フロイントリッヒ吸着等温式における定数

b：フロイントリッヒ吸着等温式における相関係数

c：フロイントリッヒ土壌吸着係数

d：有機炭素含量 (%) で補正したフロイントリッヒ土壌吸着係数^{*3}

*3 申請者注：申請者が計算し記載した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Imazapyr

e : 土壌／水分配係数 (吸着段階) = 吸着後の土壌中濃度／吸着後の水中濃度

f : 土壌／水分配係数 (脱着段階) = 脱着後の土壌中濃度／脱着後の水中濃度

代謝分解のまとめ

イマザピルの [] に ^{14}C 標識した化合物 (以下、[] ^{-14}C イマザピル) のほか、ピリジン環に [] に ^{14}C 標識した化合物 (以下、[] ^{-14}C イマザピル) を各種代謝分解試験に用いた。イマザピルの動物、土壌および水中における代謝分解の要約は下記の通りであり、推定代謝分解経路を図 1 に、代謝分解の概要を表 1 に示す。

動物 (ラット) :

[] ^{-14}C イマザピルを用いて、ラットにおける代謝について検討した。ラットに投与されたイマザピルは、投与後 8 日目までに糞尿中に 98.0% が排泄され、半減期は 1 日以内であった。組織中においては、投与 1 日後に肝に 0.03 ppm、腎に 0.02 ppm が検出されたが 8 日目にはいずれも検出限界以下であった。筋肉、脂肪、血液では検出限界以下であった。動物体内からは親化合物のみが検出された。

土壌 :

[] ^{-14}C イマザピルを用いて、土壌中におけるイマザピルの代謝分解について検討した。土壌中における半減期は圃場試験において火山灰、鉍質両土壌において約 40 日および約 45 日であるが、容器内試験においては両土壌共分解はほとんど認められていない。また好氣的土壌条件における実験室試験でイマザピル (酸) は徐々に CO_2 代謝されるが、その半減期は約 17 ヶ月と推定される。嫌気性土壌では代謝されない。

自然条件下ではイマザピル (酸) は主として土壌表面下約 8 cm までの部分に長時間分布して徐々に消失し、それ以下の深部への縦浸透は少ない。

実際の圃場を使用する場合の 10 倍の濃度でイマザピル (酸) を土壌に施用しても、土壌微生物相、炭素循環、窒素循環、イオウ循環、土壌酵素活性および正常な土壌呼吸過程に対し、悪影響は及ぼさなかった。

イマザピルの土壌吸着はフロイントリッヒ吸着等温式が適用可能であり、有機炭素含量で補正した土壌吸着係数 $K_{\text{ads},\text{oc}}$ は、13~126 (日本の 4 種類の土壌) と算出された。このように、イマザピルの土壌への吸着性は低いことが示された。

水中 :

[] ^{-14}C イマザピルおよび [] $^{-5-14}\text{C}$ イマザピルを用いて、蒸留水および緩衝液 (pH 5、7 および 9) における加水分解について調べた。暗黒条件下における弱酸性または中性の水中での加水分解は極めて少なく、また弱アルカリ性でも分解性は低かった。

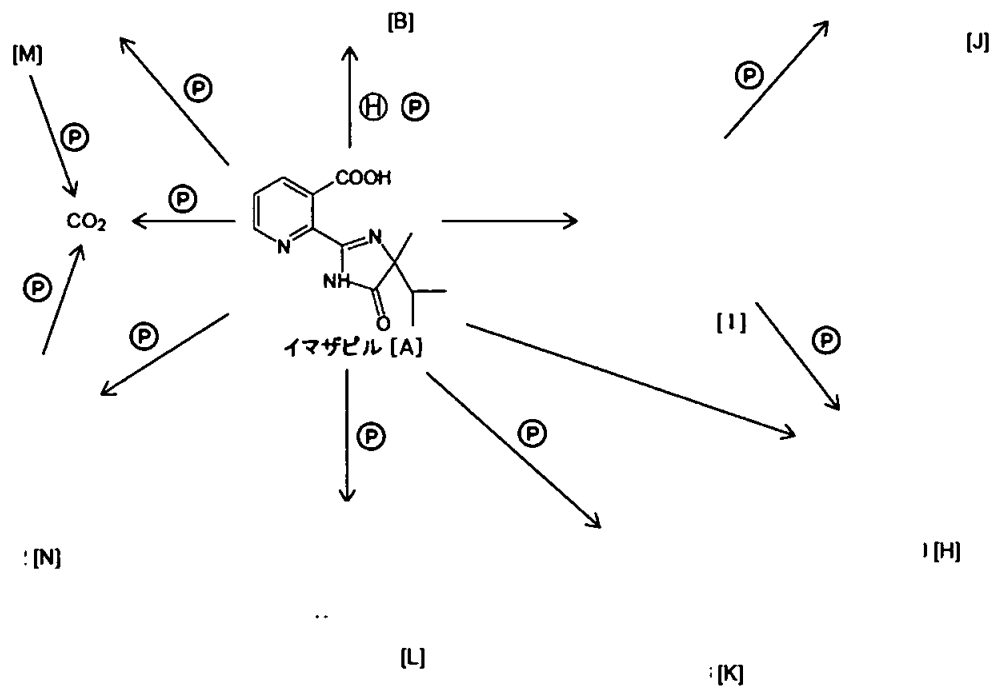
人工太陽光線の連続照射によって、イマザピル (酸) は水中において、[L] () および [H] () を経て、 CO_2 に分解した。弱酸性~アルカリ性の溶媒中における半減期は 1 日 12 時間照射で 2.5~5.3 日であった。

また、別の試験結果によると、イマザピルは蒸留水および緩衝液中において光照射により消失半減期が 1~3 日と急速に分解され、[I] および [H] や一部 [K] および [L] を経て、 CO_2 に分解した。

イマザピル (酸) の推定代謝分解経路は、動物体内、土壌中において代謝、分解されないため、水中における光分解および加水分解により次の通り図式化される。

推定代謝分解経路図

(図 1)



Ⓜ : 加水分解 Ⓟ : 水中光分解

代謝分解動態の概要

(表 1)

代謝分解物			A (親化合物)	H	C	I	E	B	CO ₂	未同定	
動物	ラット (雄)	糞 0~6 日	58.8%								
		尿 0~4 日	36.3%								
		臓器 1 日 後	肝	0.03 ppm							
			腎	0.02 ppm							
			筋肉	< 0.01 ppm							
脂肪 血液	< 0.01 ppm < 0.01 ppm										
土壌	好気畑土壌 1 か月後		99.0						2.0%		
	(砂壤土) 6 か月後		76.2						9.8%		
	12 か月後		66.2						13.6%		
水中 光分解	1 日後		82.0%	1.1%		9.5%					
	10 日後		2.7%	22.7%		29.7%					
加水 分解	30 日後	(pH 5.0)	99.0%					ND		1.0	
		(pH 9.0)	92.7%					6.9%		0.4	

ND: 検出されず

イマザピル（イソプロピルアミン塩）の開発年表

化合物選抜

特許

物理的
化学的
性質

魚介類に及ぼす
影響

農薬残留量

適用作物

毒性

代謝

製造