

13-4. ラットを用いた強制経口投与による催奇形性試験

(資料 17)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： Wistar 系 (Chbb:THOM(SPF)) 妊娠ラット 1 群雌各 25 匹

妊娠 0 日時日齢： 69-71 日齢

妊娠 0 日時平均体重： 230 g

投与期間： 妊娠 6-15 日までの 10 日間

投与方法： 雌 4 匹に対し、雄 1 匹を同居させることで交配を行い、膣垢中に精子の確認が出来た日を妊娠 0 日とした。検体を蒸留水で溶解し、投与量 0、50、150 および 300 mg/kg/day (有効成分として、86、259 および 518mg/kg/day) (容量 10 mL/kg：妊娠 6 日の体重を基に算出) で妊娠 6-15 日目までの 10 日間、強制経口投与した。投与液は投与直前に毎日調製した。

用量設定根拠：各群 10 例の妊娠動物を用い、投与量 0、100、300 および 600 mg/kg/day で妊娠 6-15 日まで強制経口投与し、翌日に屠殺した。600 mg/kg 群を除き、屠殺直前に採血および採尿し、臨床検査を行った。また、剖検時に肝臓、腎臓および妊娠子宮重量を測定した。その結果、600 mg/kg/day 投与群で、投与約 1-2 時間後に全例に振戦、運動失調および立毛などの中毒症状が発現し、1 ないし 2 回投与後、5/10 例が死亡したので、以降の投与は中止した。300 mg/kg/day 投与群では、投与期間中の摂餌量の減少および体重増加の抑制が認められ、補正体重増加も対照群よりわずかに低下した。さらに、600mg/kg 群と同様の中毒症状が、特に投与 1 日に認められ、妊娠 12 日以降、中毒症状は消失した。100 mg/kg/day 投与群では、親動物や胎児のいずれに対しても検体投与に起因する影響は認められなかった。以上の結果より、親動物に対し明確な毒性の認められる 300 mg/kg/day を最高用量として設定した。

試験項目：

母動物：一般症状および生死を毎日 1 あるいは 2 回観察し、妊娠 0、1、3、6、8、10、13、15、17 および 20 日目に体重を測定した。摂餌量は、妊娠 0 日を除く体重測定日に測定した。妊娠 20 日目に帝王切開し、妊娠子宮重量、黄体数、着床数、吸収胚数および生存・死亡胎児数を検査し、妊娠率、着床前胚損失率および着床後胚損失率も算出した。また、屠殺後、剖検した。

生存胎児：子宮を切開後、胎児を摘出し、性別の判定、体重測定および外表異常につい

て検査した。さらに、胎児の生存率、胎盤の状態、臍帯、胎児膜および羊水についても検査した。各腹約半数の胎児について内臓異常検査を、残りの胎児については、骨格異常について検査した。

試験結果： 本試験結果の概要を表 1（母動物）および 2（胎児）に示す。

表 1. 試験成績の概要（母動物）

投与量 (mg/kg/day)		0	50	150	300
検査動物数		25	25	25	25
妊娠動物数		20	23	23	24
死亡/流産/全胚吸収数		0	0	0	0
一般症状所見	振戦	異常なし	異常なし	異常なし	22/25
	不安定歩行				22/25
	過敏症				24/25
	運動失調				4/25
	立毛				22/25
	側腹部陥入				23/25
体重増加*	妊娠 6-8 日				34.9 ↓ ↓
	妊娠 8-10 日				67.0 ↓ ↓
	妊娠 10-13 日				79.4 ↓
	妊娠 13-15 日		135.4 ↑		141.4 ↑ ↑
	妊娠 0-20 日		105.6	102.9	96.8
摂餌量	妊娠 6-8 日				80.9 ↓ ↓
	妊娠 8-10 日				82.0 ↓ ↓
	妊娠 10-13 日				89.6 ↓ ↓
	妊娠 13-15 日		106.6 ↑		
	妊娠 0-20 日		103.2	100.8	96.0
妊娠子宮重量 (g)		75.3	79.1	77.0	76.3
カーカス重量 (g) ^b		297.9	307.7	303.2	295.7
補正体重増加 (g) ^c		42.5	46.6	44.6	37.1
肉眼的病理所見		異常なし	水腎症 1/25	異常なし	異常なし
検査母動物数		20	23	23	24
生存胎児を有する腹数		20	23	23	24
着床所見/腹	黄体数	15.2	15.7	14.9	15.1
	着床数	14.3	14.1	13.9	13.8
	生存胎児数	13.3	13.6	12.9	13.1
	着床前胚損失率	5.8	12.6	6.7	9.1
	着床後胚損失率	6.9	3.0	6.7	5.3
	吸収胚数合計	1.0	0.5	1.0	0.8
	早期吸収胚数	0.9	0.5	0.7	0.7
	後期吸収胚数	0.1	0.0	0.2	0.0
胎盤重量 (g)		0.44	0.46	0.45	0.46

*: 表中の数値は変動の目安として群平均値の対照群に対する変動率(%)を示した

^b: カーカス重量=最終体重-妊娠子宮重量

^c: 補正体重増加=最終体重-(妊娠子宮重量+妊娠 6 日の体重)

統計学的解析: Dunnett's Test, ↑ ↓ : p < 0.05; ↓ ↓ : p < 0.01

300 mg/kg 群において、投与期間中の母動物が体重増加および摂餌量の有意な低下を示した。同投与群では、中毒症状（振戦、不安定歩行、過敏症、立毛、腹側

部の陥入) が投与 1 時間半から 2 時間後のほぼ全ての母動物に認められたが、これらの症状は 4 時間後には消失していた。これらの中毒症状は、投与期間後半では発症頻度が低下していた。50 mg/kg 群の妊娠 13-15 日に統計学的有意な体重増加および摂餌量の増加が認められたが、中毒症状は認められなかった。

繁殖成績においては、いずれの投与群とも検体投与に起因する変化は認められなかった。

表 2. 試験成績の概要 (胎児)

投与量 (mg/kg/day)		0	50	150	300	
検査動物数		20	23	23	24	
生存胎児数	合計	13.3	13.6	12.9	13.1	
	雄	6.0	6.7	6.4	5.8	
	雌	7.3	6.9	6.5	7.3	
体重 (g)	雌雄平均	3.8	4.0	4.0	4.0	
	雄	4.0	4.0	4.1	4.1	
	雌	3.8	3.9	3.9	3.9	
性比 (雄の%)		45.1	49.5	49.8	44.3	
胎盤重量 (雌雄平均) (g)		0.44	0.46	0.45	0.46	
検査胎児数 (腹数)		266 (20)	313 (23)	297 (23)	314 (24)	
奇形総数				1 (1)	1 (1)	
変異総数						
外表異常 ^d	検査胎児数 (腹数)		266 (20)	313 (23)	297 (23)	314 (24)
	奇形	小舌症				1 (1)/0.3
		無眼球症			1 (1)/0.3	-
	分類不能	胎盤癒合	3 (2)/1.1			
胎盤周囲の血塊					1 (1)/0.3	
内臓所見 ^d	検査胎児数 (腹数)		129 (20)	150 (23)	141 (23)	151 (23)
	奇形	水頭症	2 (2)/1.6	1 (1)/0.7		2 (2)/1.3
		大動脈弓位置異常			1 (1)/0.7	
		心臓: 右心室拡張	1 (1)/0.8	1 (1)/0.7		
	変異	腎盂拡張	14 (10)/11	17 (11)/11	18 (13)/13	21 (14)/14
水尿管症		8 (7)/6.2	7 (5)/4.7	4 (4)/2.8	10 (8)/6.6	
骨格所見 ^d	検査胎児数 (腹数)		137 (20)	163 (23)	156 (23)	163 (24)
	奇形	非対称亜鈴型胸椎体	2 (2)/1.5	5 (4)/3.1	8 (4)/5.1	4 (3)/2.5
		非対称胸椎体分離		2 (2)/1.2		1 (1)/0.6
		胸椎体欠損	1 (1)/0.7			
		胸骨分離・骨化中心位置異常		1 (1)/0.6	3 (2)/1.9	2 (2)/1.2
		肋骨欠損	1 (1)/0.7			
	変異	不規則性胸骨	55 (20)/40	55 (21)/34	51 (22)/33	45 (17) / 28
		胸骨分離	5 (4)/3.6	3 (2)/1.8		3 (3)/1.8
		副胸骨分節				1 (1)/0.6
		痕跡頸肋	8 (5)/5.8	6 (6)/3.7	3 (3)/1.9	3 (2)/1.8
		13 肋骨短小	9 (6)/6.6	12 (10)/7.4	3 (3)/1.9	8 (5)/4.9
		余剰 14 肋骨		1 (1)/0.6	1 (1)/0.6	2 (2)/1.2
	骨化遅延	舌骨不完全骨化 (%)	40	34	33	28 ↓
		頭蓋骨不完全骨化 (%)	3.6	1.8	0.0 ↓	1.8
対称性亜鈴型胸椎体 (%)		28 (14) / 20	46 (16) / 28	35 (17) / 22	34 (18) / 21	
胸骨未骨化 (%)		13 (10) / 9.5	15 (9) / 9.2	5 (4) ↓ / 3.2	10 (9) / 6.1	

^d: 異常所見: xx (yy) / zz は異常発生胎児数 (腹数) / 胎児発生率%を示す。

統計学的解析: Fischer's Exact Test, ↓: p < 0.05;

胎児の外表観察では、150 mg/kg 群に無眼球症が 1 例、300 mg/kg 群に小舌症が 1 例認められた。これらの症状は、動物供給施設における背景データ（無眼球症・小舌症ともに：0.44%）にも低頻度ながら認められるものであり、本試験での発症も低頻度かつ散発的であることから検体投与に起因しないものと判断した。

内臓観察においては、水頭症が対照群に 2 例、300 mg/kg 群に 2 例および 50 mg/kg 群に 1 例認められた。また、右心室拡張が対照群と 50 mg/kg 投与群に各 1 例、大動脈弓位置異常が 150 mg/kg 群に 1 例認められた。腎盂拡張および水尿管症が全群で認められた。これらの異常所見も、用量非依存的または背景データにも同頻度で認められることから、検体投与に起因しないものと判断した。

骨格観察では、胸骨の分離や化骨中心位置異常、肋骨欠損または椎骨奇形（非対称啞鈴型胸椎体、胸椎体分離・欠損など）が対照群に 3 例、50 mg/kg 群に 7 例、150 mg/kg 群に 11 例および 300 mg/kg 群に 7 例認められたが、いずれも統計学的有意な変動ではなかった。同様に、骨格変異として肋骨や胸骨に異常所見が認められたが、その発症頻度には統計学的有意差は認められなかった。したがって、検体投与に起因する変動はないものと判断した。

以上の結果より、検体を母動物に妊娠 6-15 日まで投与した場合、300 mg/kg 群で投与期間中、母動物に中毒症状（振戦、不安定歩行、過敏症、立毛、腹側部の陥入）並びに体重増加および摂餌量の減少が認められた。胎児に対しては 300 mg/kg 群でも投与による悪影響は認められなかった。したがって、無毒性量は母動物に対して 150 mg/kg/day、胎児に対して 300 mg/kg/day で、催奇形性も認められなかった。

13-5. ウサギを用いた強制経口投与による催奇形性試験

(資料 18)

試験機関 :

報告書作成年 : [非 GLP]

検体の純度 :

供試動物 : ヒマラヤ (Chbb:HM) 系ウサギ 1 群雌 21-22 匹

試験開始時週齢 : 23-29 週齢

試験開始時体重 : 1.712-2.576 kg

投与期間 : 妊娠期間中 13 日間 (妊娠 6-18 日)

(年 - 年)

投与方法 : 検体を蒸留水で溶解し、0、50、100 および 150 mg/kg/day で妊娠 6-18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。溶媒対照群には蒸留水のみを投与し、また無処理群も設けた。動物は、人工授精により妊娠させ、受精日を妊娠 0 日とした。

試験項目 :

母動物 ; 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠期間中 0、6、12、18 および 28 日目に体重を測定、摂餌量は毎日測定した。妊娠 28 日目に屠殺し、剖検し、子宮を摘出した。摘出した子宮は重量を測定し、総着床数、妊娠黄体数、生存・死亡・吸収胎児数を検査した。流産した動物は、屠殺し、剖検のみを実施した。

胎児 ; 体重、体長および胎盤重量を測定し、外表異常を検査した。内臓異常を肉眼的病理検査により、骨格異常を X 線検査により解析した。X 線検査後、プアン固定した頭部は Wilson 法により検査した。本試験での異常は、奇形・変異・遅延に分類した。

試験結果 : 本試験で得られた結果を表 1 に示す。

(母動物に対する影響)

一般状態 ; 100 mg/kg 以上の群では、投与後に振戦や痙攣、その後無関心がみられた。

50 mg/kg 群で 1 例、100 mg/kg 群で 8 例、150 mg/kg 群で 4 例に流産が認められた。また 150 mg/kg 群では、投与期間中に 7 例が死亡した。そのため、100 および 150mg/kg 群の生存胎児を有する母動物数は非常に少なく、それぞれ 8 および 7 例のみであった。

体重 ; 100 および 150 mg/kg 群では、特に、投与期間中の体重が対照群に比べて有意に抑制され、150mg/kg 群では屠殺時まで有意な抑制が認められた。

摂餌量 ; 100 および 150 mg/kg 群では、ほぼ一貫した摂餌量の減少が認められた。50mg/kg

群では妊娠 6-12 日のみ有意な減少が認められた。

着床所見：妊娠率並びに腹当たり黄体数および着床数¹には、投与による影響は認められなかった。しかし、100 mg/kg 群の腹あたり生存胎児数はその他の群に比し少なく、胎児の死亡および胚吸収率が増加していた。

剖検所見：剖検では流産および死亡動物を含め検体投与に起因する異常所見は認められなかったが、50 mg/kg 群で 5 例、100 mg/kg 群で 2 例、150 mg/kg 群で 3 例に腹水が認められた。

(胎児に対する影響)

体重：150 mg/kg 群では、同腹児重量および胎盤重量が、対照群 (0mg/kg) と比べ有意に減少していた。

外表検査：対照群 (0mg/kg) に複合奇形 (羊膜奇形 (amniogenetic anomaly)、頭部変形、耳の奇形、前肢奇形、口蓋裂、胸骨裂) を持つ胎児が 1 例認められた。投与に起因する外表異常所見は認められなかったが、100 mg/kg 群では臍帯ヘルニア、150 mg/kg 群では四肢の偽性強直が各 1 例ずつ認められた。

内臓異常：変異としては網膜褶曲が無処理群に 1 例、胆嚢低形成が 150 mg/kg 群で 1 例に認められたが、偶発的と考えられた。

骨格異常：対照群 (0mg/kg) で複合奇形の認められた 1 例では椎骨奇形、脊柱側弯、肋骨 1 対の痕跡、橈骨/上腕骨形成不全、3 指骨等が認められた。投与に起因する奇形所見は認められなかった。変異・発育遅延所見として、胸骨の化骨遅延が対照群を含む全群で高頻度に、非対称胸骨が 50 mg/kg 群を除く全群で各 1 例認められ、無処理群を除く全群で副肋骨が数例ずつ認められた。

以上の結果より、本検体を妊娠ウサギの器官形成期に投与したとき、100 および 150mg/kg 群で母動物に流産、死亡、振戦、痙攣、無関心、体重増加抑制、胎児死亡/胚吸収率の増加等が認められた。1 例だけではあるが、50 mg/kg でも流産が認められた。したがって、母動物に対する NOAEL は 50 mg/kg/day 未満となる。胎児では 150 mg/kg/day で体重および胎盤重量低下の毒性症状が認められたため、胎児に対する NOAEL は 100 mg/kg/day となる。ただし最高投与用量でも催奇形性は認められなかった。

本試験では、100 mg/kg 以上の投与では、流産や母動物の死亡などにより検査対象胎児数が十分に確保できなかった。

¹：報告書では「着床数の減少」と記載されているが、生存胎児を有する腹数に集計ミスがあり、報告書の 10 例から個別別表からの集計による 8 例に変更し、これに基づいて各指標を算出した結果により申請者が考察した。

表 1. 試験結果の概要 (空欄は異常なし、有意差なしを示す)

投与量 (mg/kg/day)		無処理	0	50	100	150	
親動物	供試動物数	22	22	21	21	22	
	妊娠動物数	16	19	17	16	17	
	不妊動物数	6	3	4	5	5	
	妊娠率 (%)	72.73	83.36	80.95	76.19	77.27	
	死亡数	妊娠動物数					6
		不妊動物数	1				1
		計	1				7 [†]
	流産動物数			1	8	4	
	生存胎児を有する母動物数	16	19	16	8	7	
	一般症状	数例に 下痢			1例に下痢 振戦、無関心	11例に 振戦、痙攣、 無関心	
	摂餌量 (%) ^a (g/dam/day)	妊娠 6-12 日			83 ↓	76 ↓	58 ↓
		妊娠 12-18 日				56 ↓	33 ↓
		妊娠 18-28 日				96	95 ↓
		妊娠 1-28 日				88 ↓	81 ↓
	体重 (%) ^a	妊娠 0 日					
		妊娠 12 日					97 ↓
		妊娠 18 日				95 ↓	91 ↓
		妊娠 28 日					97 ↓
	体重増加 (g)	妊娠 6-12 日	-8.1	25.6	-32.6	-33.1 ↓	-130.1 ↓
		妊娠 12-18 日	37.5	58.9	66.7	0.2	-44.6 ↓
妊娠 18-28 日		169.1	118.8	141.3	91.0	204.7 ↑	
妊娠 0-28 日		198.6	213.4	181.4	119.4	123.4 ↓	
剖検所見							
着床所見	検査妊娠動物数	16	19	16	8	7	
	黄体数/腹	8.25	7.47	9.38	8.8	9.14	
	着床数/腹	5.69	5.58	6.19	6.13	7.29	
	生存胎児数/腹	5.13	4.42	5.06	3.25	5.14	
	死亡/吸収胚 (%)	9.84	20.79	18.26	46.98	29.49	

^a: 0mg/kg (対照) 群に対する割合%および統計学的有意差を示す。

表 1. 試験結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/day)		無処理	0	50	100	150		
胎児	平均同腹児重量 ^c (g)	雄	35.35	34.85	34.50	38.36	34.31↓	
		雌	34.10	36.28	34.97	33.68	31.88↓	
		合計	35.00	36.04	34.54	36.54	34.31↓	
	平均体長 (cm) ^c		8.63	8.77	8.85	8.70	8.73↑	
	平均胎盤重量 (g) ^c		5.33	5.50	5.13	5.72	5.21↓	
	胎児の性別	雄	47	33	43	16	25	
		雌	35	51	38	10	11	
		総数	82	84	81	26	36	
	検査胎児数/腹数		82/16	84/19	81/16	26/8	36/7	
	外表異常	奇形胎児数/腹数	0	1/1 複合奇形 ^a	0	1/1 臍帯ヘルニア	1/1 四肢偽性強直	
	骨格異常	奇形胎児数		0	1 ^b	0	0	
		変異 遅延 胎児数	胸骨分節欠損	33	26	21	7	13
			胸骨分節部分骨化	27	25	30	10	12
			非対称胸骨分節	1	1	0	1	1
	副肋骨		0	9	7	2	2	
内臓異常	奇形胎児数		0	0	0	0		
	変異 胎児数	網膜褶曲	1	0	0	0	0	
		胆嚢低形成	0	0	1	0	0	

^a: 羊膜奇形 (amniogenetic anomaly)、頭部変形、耳の奇形、前肢奇形、口蓋裂、胸骨裂

^b: 椎骨奇形、脊柱側弯、肋骨 1 対の痕跡、橈骨/上腕骨形成不全、3 指骨

^c: 0mg/kg (対照) 群に対する統計学的有意差を示す。

統計学的解析: William's t 検定、Fischer 直接検定、U 検定

↑↓: p < 0.05 ↓↓: p < 0.01

13-6. ウサギを用いた強制経口投与による催奇形性試験 (資料 19)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体の純度 :

供試動物 : ヒマラヤ (Chbb:HM) 系ウサギ 1 群雌 15 匹

試験開始時週齢 : 31-36 週齢

試験開始時体重 : 2.304-2.864 kg

投与期間 : 妊娠期間中 13 日間 (妊娠 6-18 日) (年 - 年)

投与方法 : 検体を蒸留水で溶解し、0、75 および 100 mg/kg/day 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。溶媒対照群には蒸留水のみを投与した。動物は、人工授精により妊娠させ、受精日を妊娠 0 日とした。

用量設定根拠 : 本試験はウサギ催奇形性試験 (資料 18) での結果から用量を設定している。

試験項目 :

母動物 : 一般状態および生死を毎日観察し、妊娠期間中 0、6 および 29 日目に体重を測定、摂餌量は毎日測定した。妊娠 29 日目に屠殺、剖検し、子宮を摘出した。摘出した子宮は重量を測定し、総着床数、妊娠黄体数、生存・死亡・吸収胎児数を検査した。流産した動物は、屠殺、剖検のみを実施した。

胎児 : 体重、体長および胎盤重量を測定し、外表異常を検査した。内臓異常を肉眼的病理検査により、骨格異常を X 線検査により解析した。X 線検査後、ブアン固定した頭部は Wilson 法により検査した。本試験での異常は、奇形・変異・遅延に分類した。

試験結果 : 本試験で得られた結果を表 1 に示す。

(母動物に対する影響)

一般状態 : 75 および 100 mg/kg 群の各 1 匹が、投与ミスにより死亡した。100 mg/kg 群の 2 匹で早産が認められたが、その他に異常は認められなかった。

体重 : 検体投与による有意な体重への影響は認められなかったが、群は投与期間中の体重の減少が対照群より大きかった。

摂餌量 : 75 および 100 mg/kg 群において、統計学的有意な摂餌量の低下が認められた。

剖検所見 : 検体投与に関連するような所見は認められなかった。資料 18 で認められた腹水が、本試験でも全群に認められたが、この腹水は低タンパク性の浸出液であり、循環不全や鬱血症状が認められないことから、この所見を重要視する必要は

ないと判断した。この他、子宮重量、黄体数、着床数、生存胎児数、死亡・吸収胎数などの着床所見でも異常は認められなかった。

(胎児に対する影響)

体重：体重に関する有意な変動は認められなかったが、投与群では軽度の低下傾向が認められた。

体長：75 および 100 mg/kg 群で統計学的有意な数値低下が認められた。

胎盤重量：雌雄の合計値では有意差は認められなかったが、雄のみの値では 100 mg/kg 群が統計学的に低値を示した。

外表異常：奇形所見としては、四肢の偽性強直が対照群に 1 匹、75 mg/kg 群に 1 匹、100 mg/kg 群に 2 匹認められ、胆嚢欠損が 75 mg/kg 群に 1 匹、外脳症が 100 mg/kg 群に 1 匹認められた。しかし、検体投与の影響ではなく、偶発的異常所見と考えられた。

内臓異常：奇形所見は認められなかった。変異所見としては、側脳質の拡張が 75 mg/kg 群の 1 匹に認められた。

骨格異常：奇形所見として、鎖骨肥厚が対照群の 1 匹に認められた。変異・遅延所見では、胸骨の未骨化または部分骨化が対照群を含む全群で、高頻度に認められた。その他の所見としては、肋骨および四肢骨の発育遅延が散見された。いずれの所見も検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果より、本検体を妊娠動物に投与した場合、母動物では摂餌量の減少が 75 mg/kg 以上で認められ、胎児では体長の有意な減少が同様に 75 mg/kg 以上で認められた。したがって、本試験では無毒性量は設定出来ず、75 mg/kg/day 未満であると考えられる。また、100 mg/kg/day であっても催奇形性は認められなかった。ただし、胎児の体重の減少傾向および体長での低値は母動物の摂餌量の減少および投与期間中の体重減少による二次的影響であると考えられる。

表 1. 試験結果の概要

投与量 (mg/kg/day)		0	75	100	
母 動 物	動物数	15	15	15	
	一般状態	異常無し	異常無し	異常無し	
	死亡数	妊娠 11 日	0	1 (投与ミス)	0
		妊娠 19 日	0	0	1 (投与ミス)
		合計	0	1	1
	摂餌量 (%)	妊娠 7-9 日	100	59.3↓↓	75.1↓↓
		妊娠 10-12 日	100	58.0↓↓	58.9↓↓
	体重変化	妊娠 7-18 日	-13.24	-46.28	-71.57
		妊娠 0-29 日	131.23	89.43	121.00
	流産・早産	妊娠 27 日	0	0	1
		妊娠 29 日	0	0	1
		妊娠合計	0	0	2
	剖検所見	特になし	特になし	特になし	
	妊娠率 (妊娠数)	86.67% (13)	100% (15)	100% (15)	
	着 床 所 見	検査に使用した妊娠動物数	13	14	12
黄体数/母体		9.85	9.43	9.00	
着床数/母体		6.62	6.57	6.67	
生存胎児数/母体		5.38	5.50	5.83	
死亡・吸収胚数/母体		1.23	1.07	0.83	
死亡・吸収率 (%)		16.62	16.26	16.70	

表 1. 試験結果の概要 (つづき)

投与量 (mg/kg/day)			0	75	100	
平均同腹児重量 (g)	雄		43.54	40.14	39.29	
	雌		42.18	38.41	40.58	
	合計		42.61	39.62	40.80	
平均体長 (cm)			9.63	9.17 ↓	9.08 ↓	
平均胎盤重量 (g)			5.15	4.85	4.56	
胎児の性別 (雄/雌) (総数)			(32/38) (70)	(48/29) (77)	(34/36) (70)	
外表 検査	検査胎児数		70	77	70	
	奇形胎児数		1 (四肢の偽性強直)	1 (四肢の偽性強直) 1 (胆嚢欠損)	1 (四肢の偽性強直) 1 (外脳症)	
	変異・遅延胎児数		0	0	0	
内臓 異常	検査胎児数		70	77	70	
	奇形胎児数		0	0	0	
	変異・遅延胎児数		0	1 (側脳質拡張)	0	
胎 児 動 物	検査胎児数		70	77	70	
	奇形胎児数		1 (鎖骨肥厚)	0	0	
	変 異 骨 格 異 常	胸 骨	未骨化	34	24	30
			癒合	0	1	0
			部分化骨	26	36	30
			非対称	0	3	2
	遅 延 胎 児 数	肋 骨	第 14 肋骨 (左右)	0	1	1
			副肋骨 (片側)	0	5	0
			第 14 肋骨 (片側)	0	2	1
	四 肢	距 骨 化 骨 遅 延	左右距骨化骨遅延	0	0	2
			距骨化骨遅延	0	0	4
			左右距骨部分化骨	0	0	1
			片側距骨部分化骨	0	0	1
			左右踵骨部分化骨	0	1	0

統計学的解析: William's t 検定、Fischer 直接検定、U 検定

↑ ↓ : p < 0.05 ↑ ↑ ↓ ↓ : p < 0.01

13-7. ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 39)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体純度 : ()

供試動物 : ヒマラヤ系ウサギ (Chbb:HM; 非近交系未交配雌) 1 群 15 匹

試験開始時週齢 ; 22-27 週齢

試験開始時体重 ; 2419-2896 g

投与期間 : 13 日間 (妊娠 7-19 日)

投与方法 : 馴化後、動物に性腺刺激ホルモン分泌刺激ホルモンを筋注し、ついで保存精子を用いて人工授精した。人工授精日を妊娠 0 日とした。検体は、蒸留水で希釈し有効成分として 50、100 および 150 mg/kg の用量で、強制経口投与 (5 mL/kg) した。投与容量は妊娠 7 日の体重に基づいて算出した。また、対照群には同様に蒸留水を投与した。投与液は投与期間中 2 回調製した。

用量設定根拠 : 同研究所において同系統動物を用いて実施した試験 (資料 18 および 19) を実施したが、EPA からの昨今のガイドラインに準じた試験を実施するよう要請を受け、本試験を実施した。最初に、50、100 および 150 mg/kg で試験した結果、100 および 150 mg/kg では死亡や流産が高率に認められ、催奇形性の評価に十分な胎児が得られなかったため、75 および 150 mg/kg で追加試験を実施した。その結果、150 mg/kg で 2 例の早産が認められたのみであった。これらの結果から 50、100 および 150 mg/kg の用量を選定した。

試験項目 :

母動物 : 一般状態、妊娠状態および生死を毎日観察し、妊娠 0、2、4、7、9、11、14、16、19、21、23、25 および 29 日に体重を測定し、摂餌量は毎日測定した。また妊娠 29 日に帝王切開し、肉眼的病理検査を行い、妊娠子宮重量を測定した。ついで、黄体数、着床数、死亡・吸収胎児数および生存胎児数を検査した。

胎児 : 性別、体重、外表異常、胎盤、臍帯、胎膜、羊水の観察を行ない、胎盤重量の測定を行った。屠殺後内臓検査をし、心臓および腎臓は切開して内部構造を検査した。頭部は Wilson 法により検査した。その後、骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

結果 : 本試験における結果を表 1 および 2 に示す。

母動物 :

一般状態および生死 : 150 mg/kg 群の 2 匹で出血が認められた。これは妊娠 23-27 日に

観察された。また、この出血動物のうち、1匹が妊娠 28 日の夜から 29 日の早朝にかけ、早産が認められ、すべての胎児は自己融解および一部は食殺がみられたので屠殺した。それ以外の動物では、死亡は認められなかった。この早産は既実施の試験でも認められていることから投与の影響と考えられた。

摂餌量：150 mg/kg 群では、ほとんどの投与期間中およびその後（妊娠 8-20 日）も摂餌量の有意な低下（妊娠 7-19 日に対照群に比し 42%減少）が認められた。また 100 mg/kg 群でも、妊娠 11-14 日に有意な低下（妊娠 7-19 日に対照群に比し 16%減少）が認められた。しかし、投与終了後は対照群と同等かそれ以上を摂取した。これに対し、20 mg/kg 群では有意な変動は認められなかった。

体重の変化：体重に有意な変動は認められなかったが、体重増加において 150 mg/kg 群では妊娠 7-16 日に有意な体重の減少が認められ、投与期間中、対照群は 44.6 g の増加に対して、50 g の減少となったが、その後は対照群以上の増加となった。100 mg/kg 群では妊娠 11-14 日に有意な減少が認められたが、投与期間中に有意ではないが対照群に比し、79%と少なかった。その後増加し、妊娠 19-29 日には有意に増加した。また、補正体重増加（最終体重－妊娠子宮重量－妊娠 7 日体重）に群間差は認められなかったが、150 mg/kg 群の補正体重増加は明らかに対照群より少なく、明らかな母毒性を示していると考えられた。したがって、150 および 100 mg/kg 群で認められた摂餌量低下は、体重増加にも影響を及ぼしていることから、検体投与に起因するものと判断した。

妊娠子宮重量：検体投与による影響は認められなかった。

生殖能に関する試験項目：いかなる項目においても対照群と検体投与群との間に有意な変動は認められなかった。

肉眼的病理検査：検体投与に起因するものではなかった。しかしながら、胃の糜爛が早産のためとさつした 1 例にのみ認められた。この動物には摂餌量の低下も認められており、検体投与に起因する可能性が考えられる。

胎児：

性比、胎盤重量および胎児重量、胎児生存率：対照群と検体投与群との間に有意な変動は認められなかった。150 mg/kg 群で雌胎児の平均生存率が有意に高かったが、検体投与の影響とは考えられず、偶発的であると考えられた。

催奇形性：外表、内臓および骨格検査で認められた所見は対照群および投与群にも同様に認められており、また投与群に認められる所見でも発生頻度は低く、用量依存性も認められないことから、検体投与に起因しないものと判断した。

以上の結果より、本剤を妊娠 7-19 日に投与したとき、100 および 150 mg/kg 群では主に

投与期間中の摂餌量の減少を伴い、母動物の体重増加抑制が認められた。また、150 mg/kg 群では1例であるが早産も認められた。しかし、母動物の生殖能や胎児に対しては投与の影響は認められなかった。したがって、無毒性量は母動物に対して 50 mg/kg/day、胎児に対して 150 mg/kg であると判断する。催奇形性も認められなかった。

表 1. 母動物における試験結果の概要（空欄は発生なし、または異常なし）

群/投与量 (mg/kg/day)		0	50	100	150	
供試動物数		15	15	15	15	
母動物	一般状態：出血				2 ^a	
	切迫屠殺				1 ^b	
	摂餌量 (%) ^c	妊娠 0-7 日				103
		妊娠 7-19 日		96	84	58
		妊娠 19-29 日			117	101
		妊娠 0-29 日		99	99	84
	体重					
	体重変化 (g)	妊娠 0-7 日	27.1	28.9	36.3	56.7
		妊娠 7-19 日	44.6	64.7	35.4	-50.0 ^d
		妊娠 19-29 日	138.5	139.1	204.5 [↑]	198.5
		妊娠 0-29 日	210.2	232.7	276.2	217.0
	妊娠子宮重量		306.2	335.9	359.5	355.5
	か-加重量		2545.8	2551.1	2549.6	2484.5
	補正体重増加		-123.2	-132.1	-119.6	-195.7
	受精動物数		15	15	15	15
	妊娠率 (%)		100	100	100	100
	流産数					
	早産数					1
	生存胎児を持つ動物数		14	15	15	14
	全吸収胚動物数		1			
	着床所見 (腹あたり)	黄体数	9.1	9.0	8.5	8.6
		着床数	7.3	7.5	7.9	7.7
		着床前損失率 (%)	18.3	17.6	8.5	10.5
着床後損失率 (%)		20.1	13.1	12.5	4.9	
早期吸収胚		0.7	0.8	0.5	0.4	
後期吸収胚		0.5	0.3	0.3	0.1	
生存胎仔数		6.6	6.4	7.1	7.3	
肉眼的病理検査	肺：浮腫	3	2	3	2	
	辺縁肺気腫	1	1	1	2	
	胃：糜爛				1	
	腎臓：嚢胞	1				

^a：妊娠 23-27 日に出血

^b：妊娠 28-29 日に早産が認められ、すべての胎児は自己融解および一部は食殺がみられたので屠殺した。

^c：変動の目安として対照群に対する比率 (%) を示した。

統計学的解析：摂餌量、体重、体重変化、か-加重量、妊娠子宮重量、正味体重増加、着床所見、：Dunnett-検定（両側）；母動物死亡率、妊娠率*Fisher 確立検定（片側）。ただし、平均値の平均値については統計学的検定はしなかった。

↑ ↓：p ≤ 0.05；↑↓：p ≤ 0.01

表 2. 胎児における試験結果の概要 (空欄は発生なし、または異常なし)

群/投与量 (mg/kg/day)		0	50	100	150		
生存胎児を持つ母動物数		14	15	15	14		
胎児	生存胎児数	計	92	96	106	102	
	胎児平均生存率 (%)	雌雄	85.6	86.9	87.5	95.1	
		雄	41.4	39.3	38.1	33.3	
		雌	44.3	47.6	49.4	61.9 †	
	体重 (g)	雄	37.4	39.4	37.5	35.6	
		雌	37.0	38.7	37.1	35.3	
	生存胎児性比 (雌%)		51.1	54.2	55.7	65.7	
	胎盤重量 (g)		4.2	4.6	4.3	4.4	
	検査胎児数/腹数 ^a		92/14	96/15	106/15	102/14	
	外表異常	奇形					
		変異	偽性強直症	3/3	1/1	2/2	
		分類不能					
	内臓異常	奇形	奇形動物総数	2/2	3/3	3/3	3/2
			脳水腫		1/1		2/1
			大動脈弓・下行大動脈拡張			1/1	
			心房中隔欠損症	1/1		2/2	
			胆嚢異常位置		1/1		
		胆嚢発生不全	1/1	2/2		1	
変異		変異動物総数	19/9	12/8	20/10	19/11	
		頸動脈起源分離	19/9	12/8	20/10	19/11	
		心臓：心室間孔/隔膜痕	4/3	1/1	2/2	3/3	
		分類不能	巢状壊死	1/1			
骨格異常	奇形	奇形動物総数	3/2	2/2	2/1	1/1	
		胸椎癒合/不規則型				1/1	
		腰椎癒合/不規則型	2/1		2/1	1/1	
		腰椎欠損		2/2			
		胸椎重度融合 (骨板)	1/1				
	変異	変異動物総数	16/9	19/13	23/11	25/12	
		頭骨分離	3/3	2/2	7/5	6/5	
		鼻骨/前頭骨間挿骨	2/2	6/6	4/3	7/6	
		胸骨融合	5/4	3/2	4/3	5/4	
		胸骨異形	2/2	3/2	5/5	2/2	
		第 13 肋骨	5/4	2/2	6/4	9/7	
	遅延	遅延動物総数	59/13	51/14	58/15	63/14	
		舌骨不完全骨化	31/10	17/10	19/8	35/13	
		頸椎体不完全骨化	7/5	1/1	7/6	7/5	
		胸骨分節未骨化	16/5	18/11 †	23/9	14/9	
胸骨分節不完全骨化/小形		19/10	21/11	17/10	32/11		

^a: xx/yy は異常を有する胎児数/腹数を示す

統計学的解析：体重、生存胎児数、胎盤重量：Dunnett-test (両側)

外表、内臓および骨格異常：Wilcoxon 片側検定

胎児所見を有する腹数：Fischer 確立検定 (片側)：

† ↓ : p ≤ 0.05 ; †† : p ≤ 0.01

13-8. ラット新生児を用いた強制経口投与による急性毒性試験

(資料 40)

試験機関：.

報告書作成年： [GLP 対応]

検体純度：

供試動物： ウィスター系妊娠ラット (10-12 週齢) および新生児

投与期間： 生後 11-21 日の 11 日間 (新生児)。母動物は無投与

試験群構成： 群構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群構成

投与量 (mg/kg)	投与容量 (ml/kg)	供試妊娠動 物数	投与新生児数	
			雄	雌
0 (蒸留水)	10	10	40	32
30	10	10	35	36
60	10	10	35	39
120	10	10	37	41
200	10	2	6	10

投与方法： 検体を蒸留水で希釈し、0、30、60、120 および 200 mg/kg の用量で生後 11 日から 11 日間、新生児に強制経口投与した。投与容量は 10ml/kg とし、直近の体重に基づいて調整した。薬液調整は 1 週間毎に行った。

本試験では、母動物として膈栓または膈内に精子が認められた (妊娠 0 日) 動物のみ使用し、母動物には投与せず、新生児に生後 11 日から反復投与した。新生児は誕生日を生後 0 日とした。

用量設定根拠： 本試験に先駆けて行われた用量設定試験では、新生児に対する毒性徴候として、表 2 に示すような結果が得られている。

表 2. 用量設定試験の概要

試験 1		試験 2		試験 3		試験 4	
用量 (mg/kg)	毒性徴候	用量 (mg/kg)	毒性徴候	用量 (mg/kg)	毒性徴候	用量 (mg/kg)	毒性徴候
50	無影響	75	無影響	75	振戦 姿勢異常 低頻度死亡	15	無影響
200	振戦 姿勢異常 死亡	100	死亡	90		30	
300		125		60		低頻度死亡	
		150					
		200					

試験結果を基準に本試験の用量を設定し、死亡・中枢毒性評価に加え発生・発達毒性を評価した。

試験項目：

<母動物>

一般状態および生死；毎日、一般状態、哺育状況および生死を確認した。

摂餌量；妊娠期間中（妊娠 0、7、14 および 20 日）および哺育期間中（分娩後 1、7、14 および 21 日）に摂餌量を測定した。

体重測定；妊娠期間中（妊娠 0、7、14 および 20 日）および哺育期間中（分娩後 1、4、7、14 および 21 日）に体重を測定した。

生殖能検査；以下の式に従い、受精率、妊娠率および出生時生存率を算出した。

$$\begin{aligned} \text{受精率 (\%)} &= \frac{\text{交尾した雌動物数}}{\text{交配に用いた雌動物数}} \times 100 \\ \text{妊娠率 (\%)} &= \frac{\text{出生日に生存時を産んだ雌の数}}{\text{交尾した雌動物数}} \times 100 \\ \text{出生時生存率 (\%)} &= \frac{\text{出生時生存児数}}{\text{出生児数}} \times 100 \end{aligned}$$

肉眼的病理所見；母動物は屠殺後、剖検せずに廃棄した。

<新生児>

出生児数および出生児状態；新生児は、出生直後速やかに以下の項目について検査した。

性別、生死、児数、外表検査

出生児生存率；新生児の生死について毎日観察した。なお、生後 4 日に腹当たり個体数をできるだけ雌雄各 4 匹になるように調整した。

新生児の死亡数は、出生日および生後 1-4、5-10、11-14、15-21 日について数え、生存率は出生日、生後 4、7、14 および 21 日について算出した。また哺育率も算出した。上記項目の算出式は以下の通りである。

$$\begin{aligned} \text{生存率 (\%)} &= \frac{\text{生後 4 日での生存児数}}{\text{出生時生存児数}} \times 100 \\ \text{哺育率 (\%)} &= \frac{\text{生後 21 日の生存児数}}{\text{生後 4 日の生存児数}} \times 100 \end{aligned}$$

性別；出生日に、生殖器と肛門の距離、肛門・生殖器周囲の外表および乳腺形状から性別

を判定した。誕生日および生後 21 日の性比は、以下の式を用いて算出した。

$$\text{性比 (\%)} = \frac{\text{誕生日または生後 21 日の雌または雄数}}{\text{誕生日または生後 21 日の雌雄合計数}} \times 100$$

一般状態観察；生後 1-10 日は、毒性症状および外表異常を毎日観察した。また投与期間中（生後 11-21 日）は、投与前後の観察（ケージ外で実施）に加え、投与後 2-6 時間後の一般状態、行動および毒性徴候（ケージ内で観察）を毎日観察した。

体重測定；群当たり新生児 9-10 例について、生後 1、4 および 7 日、さらに投与期間中は生後 11-21 日に毎日測定した。

肉眼的病理所見；投与期間中に死亡もしくは切迫屠殺した児動物のみ剖検し、誤投与による死亡か否か確認した。

結果： 試験結果の概要を表 3 に示す。

母動物：検体を投与していない母動物には異常が認められなかった。したがって、投与新生児で認められる異常所見は、母動物の個体差に起因するものではない。

新生児：生後 11-21 日まで 11 日間反復投与した。

高用量 2 群（120 および 200 mg/kg/day 群）で明らかな異常症状（振戦および姿勢異常（側臥位）、死亡例の増加が認められた。60 mg/kg/day 投与群でも死亡例は認められたものの、異常症状は認められなかった。これら異常症状は、投与後 2-4 時間をピークとし、その発生時期は用量依存的であった。また、これらの症状は翌日には回復していた。

120 mg/kg 群の体重増加は生後 21-22 日に対照群に比し、約 23% 少なかった。

投与期間中の死亡・切迫殺動物に対する肉眼的病理検査では、一部の動物に誤投与が認められた。誤投与を除く死亡率は 200、120、60 および 30 mg/kg 群、対照群でそれぞれ 100、55、4、0、3% であった。

母動物ではなく、直接検体を新生児に生後 11-21 日まで 11 日間反復投与した結果、60 mg/kg/day 以上の濃度で明らかな急性毒性が認められた。この結果は、母動物に検体を投与した既実施の結果（母動物のみに投与し、児動物には投与しなかった場合の結果）と同様である。したがって、本試験条件における検体の無影響量（NOAEL）は、30 mg/kg/day であると判断する。

表 3. 試験結果の概要 (空欄は異常なし、所見なし)

投与量 (mg/kg/day)	0	30	60	120	200
供試動物数	10	10	10	10	2

母動物*

一般状態	妊娠期間					
	哺育期間					
	全産児死亡腹数		1		1	2
摂餌量	妊娠/哺育期間					
体重	妊娠/哺育期間					
受精率 (%)		90			100	
妊娠率 (%)					100	
平均妊娠期間 (日)		21.2	21.6	21.4	21.4	21.5
生存児を有する腹数		9	10	10	10	2

児動物

出生時	産児数	93	87	81	96	17	
	腹あたり産児数	10.3	8.7	8.1	9.6	8.5	
	生存率 (%)	100	100	100	100	100	
性比(雄の割合%)	分娩日	54.8	51.7	46.9	46.9	41.2	
	分娩後 21 日	55.1	50.0	45.1	48.5	全例死亡	
投与新生児数	雄	40	35	35	37	6	
	雌	32	36	39	41	10	
	雄+雌	72	71	74	78	16	
新生児死亡数 (%) ^{Fi}	投与前	生後 1-4 日	1(1.1)	2(2.3)		1(1.0)	
		生後 5-10 日					
	投与中	生後 11-14 日	3(4.2)	2	3(4.1)	41(52.6)	16(100)
		生後 15-21 日		3(4.2)		4(5.1)	
		誤投与を除く	2(2.8)		3(4.1)	43(55.1↑)	16(100↑)
誤投与による死亡数	1	5		2			
分娩後 0-4 日生存率 (%) ^{Fi}		99	98	100	99	100	
哺育率 (%) ^{Fi}		69(96)	66(93)	71(96)	33(42↓)	0(0↓)	
一般状態(所見発生児数)	投与前						
	投与中	側臥位				14 (生後 11-15 日)	1 (生後 11 日)
振戦					43 (生後 11-18 日)	3 (生後 11 日)	
体重変化 (%) ^{Du}	生後 11-12 日				73.9↓		
	生後 20-21 日	雄			78.3↓		
		雌			73.8↓		
雌雄				77.3↓			
剖検所見	検査児数	2	5	3	45	16	
	水頭症	1	0	3	43	16	
	胸腔内化膿	1	3	0	0	0	
	胸腔内液体充満	0	2	0	1	0	
	気管周囲凝血	0	0	0	1	0	

*: 母動物には無投与とし、交尾確認雌のみ供試した。投与した新生児の由来を明らかにするため、新生児投与群名(投与量)を母動物群にも使用した。

統計学的解析: Du: Dunnett test (両側)、Fi: Fischer's exact test (片側)、↓↑: p≤0.05; ↑↓: p≤0.01

14. 遺伝毒性

14-1. 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 41)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (フレームシフト型: TA98、TA1537、TA1538；塩基対置換型: TA100、TA1535) を用い、ラット肝臓より調製した薬物代謝系酵素 (S9 mix) の存在および非存在下で変異原性をプレート法により調べた。

また試験は、各濃度 4 プレートで用い実施した。

本試験で使用した陽性対照の適応について、表 1 に示す。

また、本検体は水に溶解し使用したため、溶媒対照は水とした。

表 1. 陽性対照と使用菌株

	S9 mix (-)		S9 mix (+)			
	陽性対照	μg/plate	陽性対照		μg/plate	
TA100	MNNG	5	2-AA	CPP	10	500
TA1535						
TA98			2-AA		10	
TA1537						
TA1538						

MNNG: N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine

CPP: cyclophosphamide

2-AA: 2-aminoanthracene

結果： 本試験結果の概要を表 2 に示す。

本試験では、S9 mix の存在・非存在に関わらず、いかなる用量においても復帰突然変異性コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果より、本検体は復帰突然変異性を有しないと判断する。

表 2. 試験結果の概要 :

S9 mix	試験群 (μ g/plate)	復帰突然変異コロニー/プレート																			
		TA98				TA100				TA1535				TA1537				TA1538			
+	溶媒対照 (水)	34	33	39	35	127	130	131	120	18	19	13	19	9	8	11	10	23	26	32	22
		35.3±2.6				127.0±5.0				17.3±2.9				9.5±1.3				25.8±4.5			
	4	41	38	34	37	103	108	128	126	17	13	11	19	7	6	6	9	23	17	19	24
		37.5±2.9				116.3±12.6				15.0±3.7				7.0±1.4				20.8±3.3			
	20	-	31	29	28	110	101	113	130	14	14	16	28	7	8	9	12	21	25	26	20
		29.3±1.5				113.5±12.1				18.0±6.7				9.0±2.2				23.0±2.9			
	100	37	36	36	33	114	108	107	129	17	17	18	12	9	4	8	6	22	26	20	18
		35.5±1.7				114.5±10.1				16.0±2.7				6.8±2.2				21.5±3.4			
	500	33	26	31	32	136	112	93	125	14	20	20	15	6	7	7	10	28	22	28	26
		30.5±3.1				116.5±18.5				17.3±3.2				7.5±1.7				26.0±2.8			
2500	34	38	38	35	119	120	119	135	17	16	14	16	7	5	7	5	23	19	18	24	
	36.3±2.1				123.3±7.8				15.8±1.3				6.0±1.2				21.0±2.9				
陽性対照	2-AA																				
	10																				
	1550	1220	1350	1370	2300	2100	1850	2300	377	397	467	489	68	31	64	72	1500	1550	1200	1550	
	1372.5±135.7				2137.5±213.6				432.5±53.9				58.8±18.8				1450.0±168.3				
	/				CPP				CPP				/								
500					500																
276					212	258	217	176	198	192	209	240.8±31.3					193.8±13.8				
-	溶媒対照 (水)	20	19	21	23	134	117	149	119	22	9	19	8	5	7	5	4	12	20	14	18
		20.8±1.7				129.8±14.9				14.5±7.0				5.3±1.3				16.0±3.7			
	4	22	27	18	29	151	110	114	120	14	10	12	5	5	4	6	5	10	11	11	18
		24.0±5.0				123.8±18.6				10.3±3.9				5.0±0.8				12.5±3.7			
	20	18	26	20	25	151	110	114	120	23	18	13	0	6	6	7	6	17	16	15	11
		22.3±3.9				123.8±18.6				13.5±9.9				6.3±0.5				14.8±2.6			
	100	16	22	22	21	132	123	129	148	13	13	21	18	7	9	3	4	15	13	12	15
		20.3±2.9				133.0±10.7				16.3±3.9				5.8±2.8				13.8±1.5			
	500	26	25	23	20	151	138	124	132	17	12	20	23	6	6	9	8	23	14	15	13
		23.5±2.6				136.3±11.4				18.0±4.7				7.3±1.5				16.3±4.6			
2500	19	23	24	21	148	149	131	120	17	15	13	13	7	5	5	5	14	13	12	12	
	21.8±2.2				137.0±14.0				14.5±1.9				5.5±1.0				12.8±1.0				
陽性対照	MNNG																				
	5																				
	1500	1600	1600	1400	3300	3200	3350	3100	1900	2000	1900	2100	21	26	21	20	/				
1525.0±95.7				3237.5±110.9				1975.0±95.7				22.0±2.7									

復帰変異コロニー数/プレートの平均値および標準誤差値が、報告書に未記載であったため申請者が計算した。

14-2. サルモネラ菌および大腸菌を用いた変異原性試験

(資料 21)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

方法： 突然変異原性の有無を検討するため、サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) のヒスチジン要求性株 (TA100、TA98、TA1535、TA1537) および大腸菌 (*Escherichia coli*) 株 (WP2 *uvrA*) を用い、Ames 法に基づき、ラット肝臓から調製した薬物代謝系酵素 (S9 Mix) の存在および存在下で復帰変異試験を実施した。検体は滅菌蒸留水で溶解し、陽性対照物質は DMSO を用いて溶解した。本試験で使用した陽性対照と各菌株の組合せを表 1 に示す。

表 1. 使用菌株と陽性対照の組合せ

菌株	S9 Mix 非存在		S9 Mix 存在	
	陽性対照物質	μg/プレート	陽性対照物質	μg/プレート
TA100	AF-2	0.01	BP	5
TA1535	ENNG	5	2AA	2
WP2 <i>uvrA</i>	AF-2	0.01	2AA	20
TA98	AF-2	0.1	BP	5
TA1537	9AA	80	BP	5

AF-2: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide; ENNG: N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine; 9AA: 9-aminoacridine hydrochloride; BP: 1,2-benzpyrene; 2AA: 2-aminoanthracene

結果： 本試験結果を表 2 に示す。表中の復帰突然変異コロニー数/プレートは 3 枚の平均値である。

本試験で陽性対照として用いた AF-2、ENNG、9AA、BP および 2AA は、全ての検定菌株で顕著な復帰突然変異コロニー数の増加が認められた。これに対し検体処理群では、代謝活性化法を含め、最高試験濃度である 5000 μg/プレートでも復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から、本検体は、代謝活性化の有無に関わらず突然変異性を有しないと判断した。

表 2. 試験結果の概要

濃度設定試験							
処理	濃度 (μg /プレート)	S9 Mix	復帰突然変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	0	-	94 \pm 11.1	13 \pm 1.2	16 \pm 1.5	29 \pm 3.2	8 \pm 2.0
検体	128	-	98 \pm 10.0	10 \pm 0.6	13 \pm 1.5	25 \pm 0.6	6 \pm 3.5
	320	-	103 \pm 10.0	11 \pm 2.6	15 \pm 0.6	27 \pm 2.1	4 \pm 0.6
	800	-	107 \pm 48.0	13 \pm 2.1	18 \pm 2.6	24 \pm 7.5	3 \pm 2.1
	2000	-	81 \pm 9.0	12 \pm 5.0	18 \pm 6.1	27 \pm 1.0	7 \pm 2.6
	5000	-	73 \pm 1.5	14 \pm 1.5	15 \pm 2.1	33 \pm 8.1	11 \pm 2.1
陽性対照		-	474 \pm 31.8	144 \pm 76.0	524 \pm 24.2	189 \pm 14.0	生育阻害
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	0	+	81 \pm 6.7	11 \pm 3.6	18 \pm 2.5	22 \pm 1.5	14 \pm 2.5
検体	128	+	82 \pm 3.1	9 \pm 5.5	18 \pm 2.5	20 \pm 1.5	12 \pm 4.2
	320	+	90 \pm 14.2	11 \pm 6.1	12 \pm 1.2	28 \pm 9.8	8 \pm 2.3
	800	+	88 \pm 9.2	10 \pm 1.5	20 \pm 1.5	27 \pm 1.2	11 \pm 5.6
	2000	+	88 \pm 11.9	10 \pm 3.8	22 \pm 2.0	30 \pm 2.5	11 \pm 4.7
	5000	+	90 \pm 9.1	9 \pm 2.5	26 \pm 1.5	27 \pm 1.0	15 \pm 3.1
陽性対照		+	500 \pm 4.0	313 \pm 93.3	229 \pm 18.5	261 \pm 18.5	44 \pm 8.3

表 2. 試験結果の概要 (つづき)

本試験 1 回目							
処理	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	復帰突然変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	0	-	101 \pm 6.1	8 \pm 1.2	15 \pm 4.2	26 \pm 5.0	4 \pm 2.1
検体	156.3	-	81 \pm 8.5	9 \pm 2.6	19 \pm 8.0	26 \pm 6.4	6 \pm 3.0
	312.5	-	92 \pm 7.0	11 \pm 2.5	11 \pm 6.2	30 \pm 2.3	5 \pm 3.8
	625.0	-	84 \pm 7.2	10 \pm 2.6	11 \pm 2.5	25 \pm 2.0	4 \pm 1.5
	1250.0	-	68 \pm 11.0	7 \pm 3.5	19 \pm 8.9	21 \pm 3.2	6 \pm 2.3
	2500.0	-	87 \pm 3.5	14 \pm 7.8	15 \pm 0.6	26 \pm 5.0	4 \pm 2.0
	5000.0	-	85 \pm 4.0	15 \pm 2.1	19 \pm 3.2	28 \pm 2.5	7 \pm 3.5
陽性対照		-	379 \pm 25.2	524 \pm 91.0	432 \pm 28.4	193 \pm 21.5	生育阻害
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	0	+	92 \pm 6.1	8 \pm 0.6	20 \pm 6.4	35 \pm 5.7	10 \pm 3.2
検体	156.3	+	88 \pm 6.5	8 \pm 2.3	16 \pm 7.6	37 \pm 8.7	9 \pm 5.7
	312.5	+	81 \pm 3.2	7 \pm 2.1	22 \pm 4.6	41 \pm 7.8	6 \pm 4.7
	625.0	+	97 \pm 18.9	8 \pm 2.6	15 \pm 2.6	36 \pm 5.1	7 \pm 2.6
	1250.0	+	87 \pm 10.4	11 \pm 4.0	13 \pm 5.0	30 \pm 4.6	10 \pm 1.7
	2500.0	+	78 \pm 2.3	11 \pm 1.5	17 \pm 3.5	41 \pm 2.6	9 \pm 2.1
	5000.0	+	79 \pm 5.2	10 \pm 1.2	19 \pm 4.0	44 \pm 14.0	8 \pm 3.5
陽性対照		+	339 \pm 13.1	169 \pm 23.4	201 \pm 6.5	203 \pm 30.5	38 \pm 3.1

表 2. 試験結果の概要 (つづき)

本試験 2 回目							
処理	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	復帰突然変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	0	-	84 \pm 7.6	11 \pm 3.1	21 \pm 0.6	29 \pm 9.0	6 \pm 2.0
検体	156.3	-	78 \pm 5.0	12 \pm 4.7	17 \pm 3.2	21 \pm 5.5	7 \pm 0.6
	312.5	-	85 \pm 6.6	11 \pm 2.6	15 \pm 0.6	27 \pm 4.2	8 \pm 3.8
	625.0	-	65 \pm 11.0	11 \pm 2.9	13 \pm 3.5	26 \pm 5.3	4 \pm 4.2
	1250.0	-	83 \pm 21.4	13 \pm 4.2	15 \pm 3.5	22 \pm 8.7	8 \pm 1.5
	2500.0	-	76 \pm 16.9	14 \pm 1.2	15 \pm 1.0	28 \pm 4.9	4 \pm 2.1
	5000.0	-	76 \pm 6.4	12 \pm 2.3	15 \pm 3.2	26 \pm 3.5	6 \pm 2.6
陽性対照		-	402 \pm 31.5	451 \pm 112.0	455 \pm 17.2	193 \pm 19.5	下記参照
溶媒対照 (滅菌蒸留水)	0	+	155 \pm 20.0	7 \pm 2.0	19 \pm 2.1	36 \pm 8.5	8 \pm 0.6
検体	156.3	+	152 \pm 6.7	7 \pm 2.1	21 \pm 3.2	34 \pm 3.5	8 \pm 2.5
	312.5	+	164 \pm 13.2	10 \pm 1.7	20 \pm 0.6	41 \pm 3.1	5 \pm 2.5
	625.0	+	146 \pm 18.5	8 \pm 1.5	13 \pm 5.5	37 \pm 5.2	15 \pm 6.1
	1250.0	+	146 \pm 15.9	6 \pm 2.5	14 \pm 0.6	29 \pm 5.2	13 \pm 2.0
	2500.0	+	170 \pm 13.1	9 \pm 2.5	19 \pm 1.5	34 \pm 1.2	13 \pm 5.9
	5000.0	+	159 \pm 7.6	14 \pm 1.7	24 \pm 1.0	41 \pm 8.5	15 \pm 2.0
陽性対照		+	444 \pm 23.9	234 \pm 28.0	153 \pm 17.5	295 \pm 18.8	39 \pm 2.0

TA1537 株 (S9 Mix 非存在下) 陽性対照群数値

9AA	10 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	411 \pm 29.6
9AA	20 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	503 \pm 59.8
9AA	40 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	1006 \pm 10.1

14-3. チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた *in vitro* 遺伝子突然変異試験
(HPRT 前進突然変異試験)

(資料 42)

試験機関 :

報告書作成年 : [GLP 対応]

検体の純度 :

方法 : チャイニーズハムスター卵巣細胞株 (K1 亜株) を用い、ヒポキサンチン・グアニン・ホスホリボシル・トランスフェラーゼ (HPRT) 遺伝子座における *in vitro* 突然変異誘発性試験を、ラット肝臓から調製した代謝活性化系酵素 S9 mix の存在または非存在下で実施した。本試験では、検体の水溶性が高いため、溶媒に培養液を使用した。本試験における陽性対照には、ethyl methane sulfonate (EMS : S9 mix 非存在下) および methylcholanthrene (MCA : S9 mix 存在下) を使用した。細胞は、播種後 20-24 時間接着させ、その後 S9 mix 存在または非存在下で 4 時間処理した。処理後、7-9 日間の発現期間を経て、約 1 週間選択期間を設けた。各群の細胞は、ギムザ染色を行い、コロニー数をカウントした。

用量設定試験 : 細胞を S9 mix 存在または非存在下で、検体 2600 μ g/mL で 4 時間処理した。クローニング効率 (用量設定細胞毒性試験) に加え、様々なパラメーターで評価した。本予備試験では、最高濃度を EEC Directive 2000/32, B17 で推奨されている 5 mg/ml または、OECD および ICPEMC Task Group で推奨されている 10 mM を越えないように設定した。その結果、10 mM (2600 μ g/mL) でも毒性は認められなかった。

許容基準 :

- ・ 陰性対照群のコロニー形成率 (絶対値) は、50%未満であってはならない。
- ・ 陰性対照群の変異頻度は、コロニー形成可能細胞 10^6 個あたり 0-15 でなければならない。
- ・ 陽性対照群は、明確に変異頻度が増加しなければならない。
- ・ 毒性出現濃度または溶解限界を超える濃度を含む少なくとも 4 用量で試験を実施しなければならない。また、高溶解性または明らかに毒性のない検体は、5 mg/mL または 10 mM を越える濃度では試験しない。

陽性基準 :

- ・ 陰性対照群や過去の陰性データの範囲を明らかに上回らなければならない。
- ・ 再現性が認められなければならない。
- ・ 統計学的有意な増加および用量依存性が認められなければならない。

結果： 試験結果の概要を表 1 および 2 に示す。

陰性対照群は背景データの範囲内にあり、また陽性対照群はいずれも明らかな増加を示した。よって本試験系の妥当性が確保されたと判断する。

このような試験系において本試験では、設定したいかなる濃度においても変異頻度およびコロニー形成率に増加は認められなかった。

以上の結果から、検体はチャイニーズハムスター卵巣細胞 (HPRT 前進突然変異試験) において陰性であり、突然変異誘発性を有しないと判断する。

表 1. 実験 1

処理 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix	細胞毒性 (CE1)		細胞毒性 (CE2)		突然変異頻度 (/ 10^6 細胞)		
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	無補正	補正	
溶媒対照 (培養液)	-	77.3	100.0	92.6	100.0	2.50	2.66	
検体		162.5	74.8	96.8	82.2	88.8	2.78	3.36
		325.0	69.1	89.4	89.9	97.1	6.67	7.43
		650.0	70.8	91.6	77.8	84.0	6.67	8.59
		1300.0	72.7	94.0	87.7	94.7	3.62	4.04
		2600.0	75.6	97.8	77.9	84.1	7.50	9.67
陽性対照 (EMS : 300)		50.4	65.2	83.6	90.3	283.06	339.10	
溶媒対照 (培養液)	+	79.3	100.0	90.5	100.0	5.00	5.56	
検体		162.5	77.8	98.1	89.0	98.3	0.56	0.64
		325.0	74.5	93.9	93.5	103.3	0.56	0.61
		650.0	84.8	106.9	80.4	88.8	5.56	6.90
		1300.0	83.8	105.7	79.3	87.6	6.67	8.48
		2600.0	86.4	109.0	90.3	99.8	1.67	1.94
陽性対照 (MCA : 10)		79.0	99.6	79.8	88.2	247.23	309.92	

表中の数字は、2 連の平均値

CE1 : 検体処理後 24 時間のコロニー形成率

CE2 : 突然変異発現時間終了後のコロニー形成率

突然変異頻度の補正は、CE2 を基に実施した

表 2. 実験 2

処理 ($\mu\text{g/mL}$)	S9 mix	細胞毒性 (CE1)		細胞毒性 (CE2)		突然変異頻度 ($/10^6$ 細胞)		
		絶対値	相対値	絶対値	相対値	無補正	補正	
溶媒対照 (培養液)	-	88.4	100.0	90.3	100.0	0.84	0.93	
検体 162.5		82.0	92.8	91.5	101.3	1.39	1.67	
		325.0	83.3	94.2	90.4	100.1	2.78	3.10
		650.0	84.6	95.7	88.4	97.9	3.61	3.98
		1300.0	78.7	89.0	86.6	95.9	0.84	1.02
		2600.0	86.4	97.7	88.1	97.8	1.39	1.52
陽性対照 (EMS : 300)		72.9	82.5	86.7	96.0	266.95	307.55	
溶媒対照 (培養液)	+	85.7	100.0	78.3	100.0	0.56	0.74	
検体 162.5		87.4	102.0	77.6	99.1	1.95	2.44	
		325.0	90.7	105.8	79.8	101.9	0.00	0.00
		650.0	86.6	101.1	76.7	98.0	1.12	1.56
		1300.0	85.0	99.2	76.5	97.7	3.34	4.51
		2600.0	92.4	107.8	70.0	89.4	0.84	1.21
陽性対照 (MCA : 10)		92.6	108.1	76.3	97.4	165.00	216.37	

表中の数字は、2 連の平均値

CE1 : 検体処理後 24 時間のコロニー形成率

CE2 : 突然変異発現時間終了後のコロニー形成率

突然変異頻度の補正は、CE2 を基に実施した

14-4. チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験 (資料 22)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

方法： チャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) を用い、代謝活性化法 (S9 Mix 存在下) および非代謝活性化法 (S9 Mix 非存在下) による、検体の染色体異常誘発能について検査した。

用量設定根拠： 予備検討として細胞毒性および細胞周期遅延を指標とし、濃度および処理時間の設定を行った。その結果、検体の処理時間を非代謝活性化法では 7.8 時間、代謝活性化法では 2 時間とした。検体濃度は、両試験系ともに 2.0-5.0 mg/mL とし、処理後にスライド検査による染色体異常判定を行った。

結果： 本試験結果の概要を表に示す。表中の数値について、検体処理群では 100 個の細胞に対し 2 回、陰性対照群と溶媒対照群については 100 個の細胞に対し 1 回、および陽性対照群に関しては 25 個の細胞を 1 回検査した合計値である。

本試験での最高設定濃度である 5.0 mg/mL (非活性化法では、この濃度で細胞障害性が認められた) においても、染色体異常の発現頻度に対照群よりも有意な増加も濃度依存性も認められなかった。

これに対し、陽性対照として使用したマイトマイシン C およびシクロホスファミド処理群では染色体異常発現の有意な増加が認められた。

以上の結果より、CHO 細胞を用いて実施した本試験では、本検体には染色体異常誘発能は認められないと判断する。

表. 試験成績の概要

試験系	処理	濃度 (mg/mL)	観察 細胞数	異常数															細胞あたり異常頻度	異常細胞の割合 (%)	1つ以上の異常を持つ細胞の割合 (%)
				染色分体						染色体											
				切断	欠損	断片	三倍体	四倍体	複合再編成	切断	無動原体	二動原体	環状	小染色体	破碎	分離異常	複数異常	その他			
活性化法	陰性対照	-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.0	0.0
	溶媒対照	-	100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.010	1.0	0.0
	陽性対照 CPA	25 µg/mL	25	2	0	0	2	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0.400	24.0†	12.0
	検体	2.0	200	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0.020	1.5	0.5
		3.0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0.005	0.5	0.0
	4.0	200	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.010	1.0	0.0	
	5.0	200	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.005	0.5	0.0	
非活性化法	陰性対照	-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.0	0.0
	溶媒対照	-	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	>0.01	1.0	1.0
	陽性対照 MMC	500 ng/mL	25	4	0	1	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.44	28.0†	12.0
	検体	2.0	200	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.005	0.5	0.0
		3.0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.0	0.0
	4.0	200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.000	0.0	0.0	
	5.0	200	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0.005	0.5	0.0	

14-5. メピコートクロリドのマウスの骨髄における小核試験 (資料 45)

試験機関: [GLP 対応]

報告書年:

検体純度:

試験動物: NMR I 系マウス、1 群雄各 5 匹

試験開始時 5~8 週齢、体重: 平均 28g

試験方法: 検体は精製水に溶解し、250、500、750 及び 1000 mg/kg の 4 用量を 24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。陰性対照群には精製水を同様に投与した。陽性対照としてシクロホスファミド (CPP) 20 mg/kg 及びピンクリスチン (VCR) を単回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。

投与 24 時間後に二酸化炭素により屠殺して各動物の大腿骨から骨髄を採取してスメアを作成し、固定後メイグリュンワルド=ギムザ染色を行った。

全動物について 2000 個の多染性赤血球 (PCEs) を評価し、小核 (MN) を計測した。正染性赤血球 (NCEs) についても計数した。スライドは盲検で評価した。結果について統計学的検定 (Wilcoxon 法) を行った。

用量設定根拠: 予備試験として急性経口毒性を調べたところ 1120mg/kg 以上で死亡が認められ、1000mg/kg では死亡は見られなかったが、一般状態の悪化がみられた。雌雄で中毒の差は認められなかった。よって、本試験では雄のみを用い、最高用量として 1000 mg/kg (有効成分約 625mg/kg) を選択し、以下 750、500 及び 250 mg/kg を設定した。

結果: 次頁に結果の表を示した。

1000mg/投与群に 2 例の死亡がみられた。500、750 及び 1000 mg/kg 群において一般状態の悪化がみられた。陽性対照及び陰性対照群では毒性徴候は認められなかった。

検体投与群において、小核を有する多染性赤血球の発現率の増加は見られなかった。小型小核 (赤血球の直径の 1/4 未満) を有する多染性赤血球又は正染性赤血球は対照群途同等で背景蓄積データの範囲内であった。また、投与群に大型小核 (赤血球の直径の 1/4 以上) 直径は認められなかった。一方陽性対照は有意に増加した。

また、投与液を分析したところ理論値 99.0~100.0% であることが確認された。

以上の結果より、検体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した。

小核試験結果

時間 (hr)	性別	群	用量 (mg/kg)	動物数	MPE/2000PE (%)	小型小核発現率 (%)	大型小核発現率 (%)
24	雄	陰性対照 (精製水)	—	5	2.3	2.3	0.0
		検 体	250	5	2.5	2.5	0.0
			500	5	1.1	1.1	0.0
			750	5	1.1	1.3	0.0
			1000	3	3.0	3.0	0.0
		陽性対照 (CPA)	20	5	14.0**	13.9**	0.1
陽性対照 (CVR)	0.15	5	71.8**	58.4**	13.4**		

PE : 多染性赤血球, NE : 正染性赤血球, MPE : 小核を有する多染性赤血球

CPA : シクロホスファミド

統計検定 : Wilcoxon 法 (片側) ** ; $p \leq 0.01$

蓄積データ

	動物数	溶媒対照 (精製水)		
		24 時間		
		小型小核	大型小核	合計
平均	152	1.5	0.0	1.5
範囲		0.4-3.0	0-0.2	0.4-3.0

小核を有する PEC の発現率 (PEC2000 個計測及び PEC1000 個計測試験の合計)

	動物数	シクロホスファミド (20mg/kg)			動物数	ピンクリスチン (0.15mg/kg)		
		24 時間				24 時間		
		小型小核	大型小核	合計		小型小核	大型小核	合計
平均	58	12.5	0.1	12.6	60	67.3	16.7	85.0
範囲		5.9-21.2	0-0.9	5.9-21.4		27.0-112.6	6.0-44.4	35.8-139.0

小核を有する PEC の発現率 (PEC2000 個計測及び PEC1000 個計測試験の合計)

14-6. ラット肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

(資料 23)

試験機関：

報告書作成年：

[GLP 対応]

検体の純度：

方法： ラットの初代培養肝細胞を用い、本検体の *in vitro* における不定期 DNA 合成 (UDS) について検査した。

結果： 本試験の結果を表に示す。表中のグレイン数は、3 枚のカバースリップの平均値である。本試験では、溶媒対照に細胞培養液である William's Medium E を、陽性対照には 2-AAF (2-アセチルアミノフルオレン) を使用した。

本試験での検体設定濃度である 25.6-3000 $\mu\text{g/mL}$ (細胞生存率：71.6-100.8%) では、ラット初代培養肝細胞の核標識に変化は認められなかった。これに対し、陽性対照として用いた 2-AAF は、本試験の設定濃度で細胞障害性が認められず、核あたり 6 または 20 以上のグレインを含む核をもつ細胞の割合が顕著に増加していた。

以上の結果より、本検体はラット初代肝細胞を用いた UDS 試験において、陰性を示すと判断した。

表 試験成績の概要

処理時間	処理	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	核あたりの UDS グレイン数	グレイン数		生存率 (%)
				6 以上の核 (%)	20 以上の核 (%)	
20.5 時間	溶媒対照	-	0.60	0.7	0.0	100.0
	陽性対照	0.1	24.73	99.3	73.3	91.6
	検体	25.6	0.43	0.0	0.0	ND
		51.2	0.25	0.0	0.0	96.8
		102.0	0.39	0.0	0.0	100.8
		256.0	0.65	0.0	0.0	97.4
		512.0	0.29	0.0	0.0	95.4
1020	0.48	0.0	0.0	90.4		
21 時間	溶媒対照	-	0.90	0.7	0.0	100.0
	陽性対照	0.10	10.72	77.3	8.7	75.1
	検体	1000	1.01	1.3	0.0	88.8
		2000	1.07	0.0	0.0	72.8
		3000	0.85	0.0	0.0	71.6

14-7. マウスを用いた優性致死試験

(資料 24)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

供試動物： NMRI 系マウス 1 群雄 20 匹 雌 480 匹

試験開始時平均体重；雄 29-31 g 雌平均約 30 g

方法： 検体を粉末試料に混入し、5 日間雄動物へ与えた。その後、7 日間で 8 週間、異なる雌動物と交配した。雌は交配開始時期より 18 日後に屠殺した。

本試験における、飼料中の検体濃度は、100、300、1000 および 3000 ppm (26.1、78.5、268.2 および 801.6 mg/kg) であった。

試験項目および結果：

雄動物：一般状態の観察および体重、摂餌量、摂水量の測定を実施したが、投与に起因する変化は認められなかった。

雌動物：妊孕率、着床数、生存胎児数、早期吸収胚数および後期吸収胚数について調べたが、投与に起因する変化は認められなかった。また、受精率および変異指数を、以下の式を用い算出した。

$$\text{妊娠率} = (\text{妊娠動物数} / \text{使用動物数}) \times 100$$

$$\text{変異指数} = (\text{死亡胎児数} + \text{早期吸収胚数} + \text{後期吸収胚数}) / \text{着床数}$$

妊娠率および変異指数の結果を表に示す。

本試験では、妊娠率および変異指数に投与に起因する変化は認められなかった。

以上の結果より、本検体は、マウスを用いた優性致死試験において陰性であると判断した。

表 妊娠率および変異指数

投与量 (ppm)	0		100		300		1000		3000		
	妊娠率	変異指数	妊娠率	変異指数	妊娠率	変異指数	妊娠率	変異指数	妊娠率	変異指数	
検査週	1	90.0	0.05	91.7	0.03	96.7	0.04	90.0	0.05	90.0	0.04
	2	86.7	0.05	96.7	0.05	88.3	0.04	96.7	0.04	95.0	0.03
	3	91.7	0.05	90.0	0.04	93.3	0.05	81.7	0.05	88.3	0.04
	4	88.3	0.05	91.7	0.04	90.0	0.04	95.0	0.04	96.7	0.04
	5	93.3	0.04	90.0	0.05	96.7	0.05	93.3	0.04	93.3	0.04
	6	88.3	0.03	96.7	0.03	88.3	0.05	90.0	0.05	90.0	0.05
	7	95.0	0.04	88.3	0.04	95.0	0.04	91.7	0.05	91.7	0.04
	8	88.3	0.04	91.7	0.04	90.0	0.05	88.7	0.05	93.3	0.04

14-8. 枯草菌を用いた DNA 修復試験

(資料 20)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

方法： 突然変異原性の有無を検討するため、枯草菌 (*Bacillus subtilis*) M45 (rec-) および H17 (rec+) 株を用い、ラット肝臓から調整した薬物代謝系酵素 (S9 Mix) の存在または非存在下で Rec-assay (孢子法) を行った。

本試験では、検体、硫酸カナマイシン (陰性対照) およびトリプ-P-1 (代謝活性化法の陽性対照) は蒸留水で溶解し、マイトマイシン C (非代謝活性化法の陽性対照) は DMSO で溶解し、それぞれを試験に用いた。

本試験は、3 プレートによる 3 反復で実施されている。

結果： 本試験結果を表 1 に示す。表中の阻止帯長 (mm) は、3 プレートの平均値であり、阻止帯長の差が 2 mm を越えた場合を陽性と判定した。

検体および陰性対照である硫酸カナマイシンでは、S9 Mix の有無に関わらず 2 mm 以上の阻止帯差は認められなかった。一方、陽性対照であるマイトマイシン C およびトリプ-P-1 処理では、明らかな阻止帯差が認められた。

以上の結果から、本検体は、代謝活性化の有無に関わらず DNA 損傷性を有しないと判断した。

表 1. 試験結果の概要

濃度設定試験					
処理	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 Mix	阻止帯長 (mm)		阻止帯長差 (mm)
			M45 株	H17 株	M45-MH17
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	0.0	0.0	0.0
検体	397	-	0.0	0.0	0.0
	1257	-	0.0	0.0	0.0
	3974	-	0.0	0.0	0.0
	12566	-	0.0	0.0	0.0
	39740	-	4.1	4.0	0.1
硫酸カナマイシン (陰性対照)	0.3	-	5.1	5.4	-0.3
マイトマイシン C (陽性対照)	0.02	-	11.5	0.8	10.7
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	0.0	0.0	0.0
検体	199	+	0.0	0.0	0.0
	628	+	0.0	0.0	0.0
	1987	+	0.0	0.0	0.0
	6283	+	0.0	0.0	0.0
	19870	+	0.0	0.0	0.0
硫酸カナマイシン (陰性対照)	0.3	+	4.3	4.5	-0.2
トリブ-P-1 (陽性対照)	20	+	9.2	0.0	9.2

表 1. 試験結果の概要 (つづき)

本試験								
処理	濃度 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	S9 Mix	1 回目			2 回目		
			阻止帯長 (mm)		阻止帯長差 (mm) M45 株-H17 株	阻止帯長 (mm)		阻止帯長差 (mm) M45 株-H17 株
			M45 株	H17 株		M45 株	H17 株	
溶媒対照 (蒸留水)	0	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
検体	2484	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	4968	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	9935	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	19870	-	1.5	0.6	0.9	3.0	2.0	1.0
	39740	-	3.8	3.5	0.3	5.9	4.4	1.5
硫酸カナマイシン (陰性対照)	0.3	-	5.0	5.7	-0.7	4.7	4.5	0.2
マイトマイシン C (陽性対照)	0.02	-	9.3	1.2	8.1	11.7	1.3	10.4
溶媒対照 (蒸留水)	0	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
検体	1242	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	2484	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	4968	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	9935	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	19870	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
硫酸カナマイシン (陰性対照)	0.3	+	4.3	4.4	-0.1	4.9	5.2	-0.3
マイトマイシン C (陽性対照)	20	+	7.4	0.0	7.4	9.5	0.0	9.5

15. 生体機能に関する試験：一般薬理試験 (資料 25)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

15-1. 中枢神経系に対する作用

(1) マウスの一般症状

供試動物：Slc:ddY 系マウス 1 群雄 3 匹

試験開始時週齢：8 週齢

試験開始時体重：22.24-26.12 g

方法： 検体を蒸留水に溶解し、18 時間絶食した動物に、125、250 および 500 mg/kg 用量で強制経口投与した。投与後は、一般状態を観察した。

結果： 本試験の最低投与用量である 125 mg/kg では、一切の異常が認められなかった。これに対し、250 mg/kg 投与群では、発声、運動性低下、挙尾、振戦、姿勢異常、運動失調、眼裂低下、皮膚の色のスコアー低下、呼吸数低下などが認められ、500 mg/kg 投与群では、運動性低下、挙尾、振戦、姿勢異常、運動失調、体温低下、皮膚の色のスコアー低下、呼吸数低下が認められ、3 匹とも 30 分以内に死亡した。

(2) ウサギの一般症状

供試動物：ニュージーランド白色系ウサギ 1 群雄 3 匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：2.6-3.5 kg

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、5、15 および 45 mg/kg 用量で、耳介静脈より投与した。投与後は、一般状態を観察した。

結果： 5 mg/kg 投与群では、3 匹中 1 匹に瞳孔散大と呼吸数低下が認められた。15 mg/kg 投与群では、自発運動低下、運動失調、瞳孔散大、呼吸数低下、閉眼、瞬膜閉鎖が認められ、45 mg/kg 投与群では運動失調、筋緊張の低下、自律運動消失、刺激に対する反応消失、反射消失、呼吸数低下、貧血様皮膚色、チアノーゼ、瞬膜閉鎖、流涎が認められ、3 匹中 2 匹が 5 分後に死亡した。

15-2. 平滑筋に対する作用：モルモット摘出回腸標本に対する作用

供試動物：ハートレイ系モルモット 雄 5 匹から摘出した回腸

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：381-460 g

方法： Tyrode 液を満したガラス製器管槽に摘出回腸（4-6 個/濃度）をセットし、Tyrode 液に溶解した検体を槽内に注入した。検体の器管槽内濃度は 10^{-7} - 3×10^{-2} g/mL として、それによって引き起こされる腸管の収縮とそれに対する硫酸アトロピン (10^{-8} および 10^{-7} g/mL)、塩化ヘキサメトニウム (10^{-6} および 10^{-5} g/mL) および塩酸ジフェンヒドラミン (10^{-5} g/mL) の影響を調べた。

結果： 検体は 10^{-6} g/mL より、濃度依存的に腸管を収縮させた。またこの腸管収縮は、硫酸アトロピン、塩化ヘキサメトニウムおよび塩酸ジフェンヒドラミンによって拮抗された。

15-3. 血圧・心拍数・呼吸に対する作用

供試動物：ニュージーランド白色系ウサギ 本試験に 6 匹使用

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：2.63-2.93 kg

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、ウレタン麻酔下で大腿静脈内に 0.04、0.2 および 1 mg/kg の用量で投与した。投与後、血圧、心拍数および呼吸を測定した。また、これらの投与による影響に対する硫酸アトロピン (1 および 2 mg/kg) および塩酸ジフェンヒドラミン (1 mg/kg) の効果についても検討した。

結果： 0.04 mg/kg 投与群では、血圧、心拍数および呼吸に影響はほとんど認められなかった。0.2 mg/kg 投与群では、血圧と心拍数にわずかな低下が認められたが、呼吸に対する影響は認められなかった。1 mg/kg 投与群では、血圧低下と心拍数低下が認められ、呼吸も浅くなった。1 mg/kg 投与群で認められた反応は、硫酸アトロピン (1.2 mg/kg) の前処置によって軽減し、血圧低下は塩酸ジフェンヒドラミン (1 mg/kg) の前処置でも僅かに軽減した。

15-4. 血液系に対する影響

(1) ラット血液凝固系に対する作用 (*ex vivo*)

供試動物：ウイスター系ラット 1 群雄 5-6 匹

試験開始時週齢：6 週齢

試験開始時体重：129.8-161.4 g

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、3、10 および 30 mg/kg の用量で腹腔内投与した。対照群には、生理的食塩水のみを腹腔内投与した。投与 1 時間後に腹大動脈よりエーテル麻酔下で採血し、全血液凝固時間を測定した。

結果： いずれの投与群においても、血液凝固時間に対照群との有意な差は認められなかった。

(2) *in vitro*における溶血作用

供試動物： ニュージーランド白色系ウサギ 雄 1 匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時体重： 2.7 kg

方法： 採血した血液をヘパリン処理後に遠心分離し、10%赤血球浮遊液を生理的食塩水を用いて調整した。

検体を生理的食塩水に溶解し、この 2 mL と上記血液浮遊液 0.1 mL とを混合し、1 および 2 時間後の溶血を観察した。本試験での検体最終濃度は、0.2、0.6 および 2.0 mg/mL とした。

結果： いずれの処理群でも、溶血は認められなかった。

以上の結果より、本検体は摘出回腸に対する収縮作用および血圧降下作用を有することが明らかとなった。これらの作用は、硫酸アストロピンで抑制されたことから、副交感神経に対する刺激作用によるものと考えられる。血液系に対しては、毒性上問題になるような作用は認められなかった。

メピコートクロリドの生体機能影響試験の総括表

試験項目 (試験動物)	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						
一般状態 [Irwin法] (雄マウス)	経口 (蒸留水)	0, 125, 250, 500	3	250	125	発声、運動性低下、挙尾、振戦、姿勢異常、運動失調、眼裂低下、呼吸数低下など 500 mg/kg では、3匹とも 30 分以内に死亡。
一般状態 [Irwin法] (雄ウサギ)	経口 (生理的食塩水)	0, 5, 15, 45	3	5	<5	5 mg/kg では瞳孔散大と呼吸数低下、15 mg/kg では、他に自発運動低下、運動失調、筋緊張の低下、自律運動消失、刺激に対する反応消失、反射消失、流涎などが認められ、45 mg/kg では 2/3 例が 5 分後に死亡。
平滑筋に対する作用 (雄モルモット)	Tyrode液に溶解	10^{-7} - 3×10^{-2} g/mL	5 (4-6 摘出回腸/濃度)	10^{-6}	$< 10^{-6}$ g/mL	10^{-6} g/mL より、濃度依存的に腸管を収縮。収縮は、硫酸アトロピン、塩化ヘキサメトニウムおよび塩酸ジフェンヒドラミンによって拮抗された。
循環器系						
血圧、心拍数、呼吸 (雄ラット)	静注 (生理的食塩水)	0, 0.04, 0.2, 1	6	0.2	0.04	0.2 mg/kg では、血圧と心拍数にわずかな低下。1 mg/kg ではさらに呼吸も浅い。これらの反応は、硫酸アトロピンまたは塩酸ジフェンヒドラミンの前処置で軽減。
血液系						
凝固作用 (雄ラット)	腹腔内 (生理的食塩水)	0, 3, 10, 30	5-6	-	30	検体投与による影響なし。
溶血作用 (雄ウサギ)	単離赤血球 (生理的食塩水)	0, 0.2, 0.6, 2.0 mg/mL			2.0 mg/mL	いずれの処理群も、溶血作用なし。

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。

Mepiquat-Chloride

16. 毒性作用機作

16-1. *in vitro*におけるニコチン受容体に対する影響

(資料 43)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

方法：

結果：

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。

Mepiquat-Chloride

以上の結果より、本検体はニコチン様アセチルコリン活性型受容体に対し、特異的な作用を有し、その効果は部分的なアゴニストであると判断する。

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

Mepiquat-Chloride

16-2. ムスカリン受容体に対する親和性試験

(資料 44)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

検体の純度：

方法：

結果：

解析から、

ムスカリン受容体に対する親和性は低いものの、高濃度では検体がムスカリン受容体に結合する可能性があると判断した。

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。

Mepiquat-Chloride

図 1

図 2

図 3

2. 代謝物

1. 土壌代謝物

1-1. ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 M1)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

供試動物： ウィスター系 Rcc:WIST (SPF) ラット、週齢；8-12 週齢、体重；170-186 g
1 群雌 3 匹

(雄が雌より高感受性である示唆がなかったため雌を使用した)

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を 0.5% CMC 水溶液に懸濁し、16 時間絶食させた動物に 464 mg/kg 用量 (10 mL/kg) を強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は、投与前 (Day 0) に測定し、以降は毎週 1 回と試験終了日に測定した。試験終了日の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	464
LD50 (mg/kg) (95%信頼限界)	雌：>464
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状発現なし
死亡の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	464

死亡例および中毒症状は一切認められなかった。

剖検所見では、主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

1-2. 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 M2)

試験機関：

報告書作成年： [GLP 対応]

検体の純度：

方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535、TA1537、TA98、TA100) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2 *uvrA*) を用い、ラット肝臓より調製した薬物代謝系酵素 (S9 mix) の存在および非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は、水に溶解し、20-5000 μg /プレート の 5 濃度で実施した。試験は 3 回繰り返し行った。

本試験で使用した陽性対照の適応について、表 1 に示す。

表 1. 陽性対照と使用菌株

	S9 mix (-)		S9 mix (+)	
	陽性対照	$\mu\text{g}/\text{plate}$	陽性対照	$\mu\text{g}/\text{plate}$
TA1535	MNNG	5	2-AA	2.5
TA100				
TA1537	AAC	100		
TA98	NOPD	10		
WP2 <i>uvrA</i>	4-NQO	5	60	

MNNG: N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine

AAC: 9-aminoacridine

NOPD: 4-nitro-o-phenyldiamine

4-NQO: 4-nitroquinoline-N-oxide

2-AA: 2-aminoanthracene

結果： 結果を表 2 (標準法) および 3 (プレインキュベーション法) に示す。

両試験法において、S9 mix の存在下・非存在下に関わらず、いかなる用量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。

以上の結果より、検体は代謝活性化系を含む試験条件下で復帰変異誘発性は有しないと判断する。

表 2. 試験結果の概要：標準法

S9 mix	試験群 (μ g/plate)	復帰変異コロニー数/プレート														
		塩基置換型									フレームシフト型					
		WP2 <i>uvrA</i>			TA1535			TA100			TA1537			TA98		
-	溶媒対照	28	32	34	16	18	18	108	113	110	8	10	10	27	25	30
		31 \pm 3.0			17 \pm 1.0			110 \pm 3.0			9 \pm 1.0			27 \pm 3.0		
	20	30	25	23	21	15	18	117	102	100	8	11	9	26	27	27
		26 \pm 4.0			18 \pm 3.0			106 \pm 9.0			9 \pm 2.0			27 \pm 1.0		
	100	34	28	30	19	16	13	111	102	97	7	10	7	30	36	25
		31 \pm 3.0			16 \pm 3.0			103 \pm 7.0			8 \pm 2.0			30 \pm 6.0		
	500	29	23	34	19	22	15	105	102	111	7	5	8	26	31	26
		29 \pm 6.0			19 \pm 4.0			106 \pm 5.0			7 \pm 2.0			28 \pm 3.0		
	2500	35	26	30	19	19	17	118	102	106	7	8	4	23	29	24
		30 \pm 5.0			18 \pm 1.0			109 \pm 8.0			6 \pm 2.0			25 \pm 3.0		
	5000	27	20	30	23	20	21	111	105	102	7	9	6	23	20	21
		26 \pm 5.0			21 \pm 2.0			106 \pm 5.0			7 \pm 2.0			21 \pm 2.0		
	陽性対照	4-NQO			MNNG						AAC			NOPD		
		5			5						100			10		
		610	673	680	882	919	940	825	790	751	459	487	519	650	519	662
		654 \pm 39.0			914 \pm 29			789 \pm 37.0			488 \pm 30.0			610 \pm 79.0		
+	溶媒対照	31	40	35	20	15	17	100	115	111	14	9	10	29	36	37
		35 \pm 5.0			17 \pm 3.0			109 \pm 8.0			11 \pm 3.0			34 \pm 4.0		
	20	29	32	35	16	18	19	103	119	107	11	11	12	25	25	38
		32 \pm 3.0			18 \pm 2.0			110 \pm 8.0			11 \pm 1.0			33 \pm 7.0		
	100	38	41	28	17	13	18	108	108	113	14	8	13	31	34	27
		36 \pm 7.0			16 \pm 3.0			110 \pm 3.0			12 \pm 3.0			31 \pm 4.0		
	500	31	34	29	18	14	15	102	90	109	9	11	7	25	30	30
		31 \pm 3.0			16 \pm 2.0			100 \pm 10.0			9 \pm 2.0			32 \pm 3.0		
	2500	28	34	32	16	19	11	97	105	110	7	8	8	33	28	28
		31 \pm 3.0			15 \pm 4.0			104 \pm 7.0			8 \pm 1.0			30 \pm 3.0		
	5000	28	38	30	12	15	13	101	100	108	6	9	8	39	30	30
		32 \pm 5.0			13 \pm 2.0			103 \pm 4.0			8 \pm 2.0			33 \pm 5.0		
	陽性対照	2-AA														
		60			2.5											
		215	221	200	123	142	137	807	850	950	152	160	133	811	828	870
		212 \pm 11.0			134 \pm 10.0			869 \pm 73.0			148 \pm 4.0			836 \pm 30.0		

表 3. 試験結果の概要：プレーンキューベーション法

S9 mix	試験群 (μ g/plate)	復帰変異コロニー数/プレート														
		塩基置換型									フレームシフト型					
		WP2 <i>uvrA</i>			TA1535			TA100			TA1537			TA98		
-	溶媒対照	29	38	32	16	19	16	102	114	110	8	11	9	28	33	27
		33±5.0			17±2.0			109±6.0			9±2.0			29±3.0		
	20	28	33	30	20	18	15	108	103	125	9	7	12	25	25	20
		30±3.0			18±3.0			112±12.0			9±3.0			23±3.0		
	100	34	30	28	14	19	14	104	95	105	11	12	5	27	32	36
		31±3.0			16±3.0			101±6.0			9±4.0			32±5.0		
	500	26	37	25	13	17	15	111	103	104	6	8	9	21	28	22
		29±7.0			15±2.0			106±4.0			8±2.0			24±4.0		
	2500	22	30	30	13	14	12	100	90	105	10	8	7	29	21	18
		27±5.0			13±1.0			98±8.0			8±2.0			23±6.0		
	5000	29	24	27	11	13	12	105	100	101	6	6	7	25	24	24
		27±3.0			12±1.0			102±3.0			6±1.0			24±1.0		
	陽性対照	4-N00			MNNG						AAC			NOPD		
		5			5						100			10		
		708	569	667	695	620	658	885	725	864	390	422	449	688	590	607
		648±71.0			658±38.0			825±87.0			420±30.0			628±52.0		
+	溶媒対照	44	29	35	18	17	17	104	111	100	15	10	10	41	30	32
		36±8.0			17±1.0			105±6.0			12±3.0			34±6.0		
	20	32	35	28	17	15	16	95	106	100	14	10	6	28	33	36
		32±4.0			16±1.0			100±6.0			10±4.0			32±4.0		
	100	28	41	42	12	14	16	107	101	113	8	13	10	28	24	21
		37±8.0			14±2.0			107±6.0			10±3.0			24±4.0		
	500	36	24	28	16	18	18	108	117	109	7	11	9	33	30	25
		29±6.0			17±1.0			111±5.0			9±2.0			29±4.0		
	2500	20	27	34	15	17	19	104	116	100	13	8	15	28	26	27
		27±7.0			17±2.0			107±8.0			12±4.0			27±1.0		
	5000	33	38	24	16	10	9	100	107	101	11	8	9	21	20	24
		32±7.0			12±4.0			103±4.0			9±2.0			22±2.0		
	陽性対照	2-AA														
		60			2.5											
		255	273	226	100	124	113	752	806	774	140	105	114	864	833	771
		251±24.0			112±12.0			777±27.0			120±18.0			823±47.0		

3. 製剤

1. メピコートクロリド 44% (460 g/L) 液剤

1-1. ラットにおける急性経口毒性試験 (資料 F1)

試験機関：

報告書作成年： [非 GLP]

製剤組成： メピコートクロリド

供試動物： SD 系ラット 1 群雌雄各 10 匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時平均体重： 雄 248 g、雌 187 g

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を水で希釈し (46.4-8.25% v/v)、16 時間絶食した動物に強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状、生死および体重を 14 日間観察した。途中死亡動物および試験終了時の全生存動物は、屠殺剖検した。

結果： 本試験の結果を下記表に示す。なお以下の数値は、全て製剤有姿の数値であり、有効成分換算は行っていない。

投与方法	経口
投与量 (μl/kg)	825、1000、1210、1470、1780、2150、2610、3160、3830、4640
LD50 (μl/kg) (95%信頼限界)	雄 3200 雌 3180 (2800-3710)
死亡開始時間および終了時間	1 時間以内-48 時間
症状発現時間および消失時間	15 分-5 日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (μl/kg)	825
死亡例の認められなかった最高投与量 (μl/kg)	雄 1210 雌 1470

中毒症状としては、呼吸困難、反応性低下、腹臥位、側臥位、発作性痙攣、脱水症、流涎などが認められた。

剖検所見としては、死亡動物に急性鬱血による右心房拡張、液体充満による胃拡張が認められたが、試験終了時生存動物には異常は認められなかった。

(申請者注) 報告書に記載がないため、当該研究所に確認した値である。

1-2. ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 F2)

試験機関：

報告書作成年：

[非 GLP]

製剤組成： メピコートクロリド

供試動物： SD系ラット 1群雌雄各 10匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時平均体重： 雄 142 g、雌 128 g

観察期間： 14日間

投与方法： 刈毛した (50 cm²) 動物の背と腹に、検体 5000 μl/kg を塗布し、24 時間暴露した。

試験項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物は、屠殺剖検した。

結果： 本試験の結果を下記表に示す。なお以下の数値は、全て製剤有姿の数値であり、有効成分換算は行っていない。

投与方法	経皮
投与量 (μl/kg)	5000
LD50 (μl/kg) (95%信頼限界)	雌雄とも >5000
死亡開始時間および終了時間	死亡例なし
症状発現時間および消失時間	症状なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (μl/kg)	5000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (μl/kg)	5000

本試験では、中毒症状および死亡例は認められなかった。また試験終了時における生存動物の剖検でも、異常は認められなかった。

1-3. ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 F3)

試験機関：

報告書作成年：

[非 GLP]

製剤組成： メピコートクロリド

供試動物： SD系ラット 1群雌雄各10匹

試験開始時週齢： 記載なし

試験開始時平均体重： 雄 213 g、雌 178 g

観察期間： 14日間

投与方法： 検体をミスト化し、暴露室内に送付した。

本試験における暴露条件は以下の通りである。

通気量： 900 L/時間

設定濃度： 58.1 および 120.2 mg/L

実測濃度： 3.2 および 3.9 mg/L

暴露期間： 4時間（頭部暴露法）

その他の暴露条件は報告書未記載

試験項目： 中毒症状、生死および体重を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は、屠殺剖検した。

結果： 本試験の結果を下記表に示す。

投与方法	吸入
投与量 (mg/L)	3.2 および 3.9*
LC50 (mg/L) (95%信頼限界)	雌雄ともに>3.9
死亡開始時間および終了時間	7日以内
無毒性量 (mg/L)	雌雄ともに3.2

*：最大可能暴露量

中毒症状として、数匹の鼻粘膜にわずかな刺激性が認められた。また、1匹に昏睡、1匹に腹臥位が認められた。

体重変化には、影響は認められなかった。

死亡動物（雄1/10例）および試験期間終了後の生存動物に対する剖検では、異常所見は認められなかった。

1-4. ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 F4)

試験機関：

報告書作成年：

[非 GLP]

製剤組成： メピコートクロリド

供試動物： ウィーン白色ウサギ 雄1匹 雌5匹

試験開始時週齢；記載なし

試験開始時平均体重；3.0 kg (雌雄合計)

観察期間： 8日間

投与方法： 検体 0.5 g をパッチ (2.5x2.5 cm²) に塗布し、背部を刈毛した無傷および擦過傷皮膚に適用した。パッチは、ゴム引き布 (5x5 cm²) で固定し、24 時間暴露した。

試験項目： 塗布終了後 24 および 72 時間後に適用部位の皮膚状態を観察し、Draize 法 (表 1 の採点基準参照) に従って評価した。また、適用後 7 日にも皮膚状態を観察した。この他、全身の一般症状も観察した。

表 1. Draize 法採点基準

紅斑及び痂皮形成	
紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度又は重度の紅斑	3
重度の紅斑 (深紅色) 又は痂皮形成 (紅斑の採点不能) まで	4
浮腫形成	
浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫	1
軽度の浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度の浮腫 (約 1 mm の膨隆)	3
高度の浮腫 (1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

結果： 刺激性変化の採点結果を表 2 に示す。

本試験期間中、全身の中毒症状は認められなかった。

無傷皮膚部位では、24 時間後にわずかな発赤が認められたが、すぐに回復した。

擦過傷皮膚部位では、発赤と浮腫が認められた。炎症部位は、7 日以内に回復したが、6 匹中 4 匹で落屑が認められた。

以上の結果から、本検体は皮膚に対して一過性の弱い刺激性を有すると判断する。

表 2. 試験結果の概要

動物番号	項目		最高評点	観察時期	
				24 時間	72 時間
動物番号 1	無傷	紅斑・痂皮	4	2	0
		浮腫	4	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	2	1
		浮腫	4	2	0
動物番号 2	無傷	紅斑・痂皮	4	2	1
		浮腫	4	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	3	3
		浮腫	4	2	0
動物番号 3	無傷	紅斑・痂皮	4	2	0
		浮腫	4	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	3	3
		浮腫	4	2	2
動物番号 4	無傷	紅斑・痂皮	4	2	0
		浮腫	4	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	2	3
		浮腫	4	2	2
動物番号 5	無傷	紅斑・痂皮	4	1	0
		浮腫	4	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	2	1
		浮腫	4	0	0
動物番号 6	無傷	紅斑・痂皮	4	0	0
		浮腫	4	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	2	3
		浮腫	4	2	2
合計	無傷	紅斑・痂皮	24	9	1
		浮腫	24	0	0
	擦過傷	紅斑・痂皮	24	14	14
		浮腫	24	10	6
平均	無傷	紅斑・痂皮	4	1.50	0.17
		浮腫	4	0.00	0.00
	擦過傷	紅斑・痂皮	4	2.33	2.33
		浮腫	4	1.67	1.00

1-5. ウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 F5)

試験機関：

報告書作成年：

[非 GLP]

製剤組成： メピコートクロリド

供試動物： ウィーン白色ウサギ 雄 4 匹 雌 2 匹

試験開始時週齢；記載なし

試験開始時平均体重；2.7 kg (雌雄合計)

観察期間： 最大 7 日間

投与方法： 検体 0.1 mL (未希釈) を各動物の右眼に点眼した。適用後、1 秒間眼瞼を閉じさせた。点眼後の洗浄は行わなかった。

試験項目： 適用 24、48 および 72 時間後、角膜、虹彩および結膜を観察し、Draize 法 (表 1) に基づいて評価した。また、適用 7 日後にも観察を行った。

結果： 本試験結果の概要を表 2 に示す。

適用 24 時間後、結膜にわずかな発赤が認められた。また 48 時間後には 5 羽、72 時間後では 4 羽、7 日後で 1 羽の発赤が認められた。

以上の結果より、本検体は眼粘膜に対し、一過性かつ弱い刺激性を有すると判断した。

表 1. Draize 法採点基準

<p>角膜</p> <p>(A) 混濁 (最も濃い部分で判定する)</p> <p>潰瘍又は混濁を認めない</p> <p>散在性又は瀰漫性の混濁 (通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる)、虹彩の細部は明瞭に透視可能</p> <p>透明な部分は残っているが、虹彩の全体がやや不明瞭</p> <p>真珠様光沢部位あり、虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかろうじて見分けられる</p> <p>角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない</p> <p>(B) 混濁面積</p> <p>> 0 ≤ 1/4</p> <p>> 1/4 < 1/2</p> <p>> 1/2 < 3/4</p> <p>> 3/4</p> <p>採点 : A x B x 5 (最高採点 80)</p>	<p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p>
<p>(A) 虹彩</p> <p>正常</p> <p>明瞭な深いひだ、充血、腫脹、中等度の角膜周囲の充血、これらのいずれか又は組合せ、虹彩はまだ光に反応する (遅く鈍い反応は陽性)</p> <p>対光反応消失、出血、著しい組織崩壊 (これらのいずれか又は全て)</p> <p>採点 : A x 5 (最高採点 10)</p>	<p>0</p> <p>1</p> <p>2</p>
<p>結膜</p> <p>(A) 発赤</p> <p>血管正常</p> <p>一部の血管が明らかに充血 (網状充血)</p> <p>瀰漫性の深紅色、個々の血管は容易には見分けられない</p> <p>瀰漫性の牛肉様赤色</p> <p>(B) 浮腫</p> <p>浮腫なし</p> <p>正常を越える腫脹 (瞬膜を含む)</p> <p>眼瞼の部分外反を伴った明らかな腫脹</p> <p>眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹</p> <p>眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹</p> <p>(C) 分泌物</p> <p>分泌物なし</p> <p>正常とは異なる排出量 (正常動物の内眼角に観察される少量は含まない)</p> <p>眼瞼及び眼瞼に隣接する被毛の湿潤を伴う分泌物</p> <p>眼瞼及び被毛並びに眼周囲の相当範囲の湿潤を伴う分泌物</p> <p>採点 : (A + B + C) x 2 (最高採点 20)</p>	<p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p> <p>4</p> <p>0</p> <p>1</p> <p>2</p> <p>3</p>

表 2. 試験結果の概要

項目			最高評点	観察時期		
				24 時間	48 時間	72 時間
動物番号 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0
		面積	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	0
		浮腫	4	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0
動物番号 2	角膜混濁	程度	4	0	0	0
		面積	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	0
		浮腫	4	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0
動物番号 3	角膜混濁	程度	4	0	0	0
		面積	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1
		浮腫	4	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0
動物番号 4	角膜混濁	程度	4	0	0	0
		面積	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1
		浮腫	4	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0
動物番号 5	角膜混濁	程度	4	0	0	0
		面積	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1
		浮腫	4	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0
動物番号 6	角膜混濁	程度	4	0	0	0
		面積	4	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1
		浮腫	4	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0
Draize 法評点		合計	660	12.0	10.0	8.0
		平均	110	2.0	1.7	1.3

IX. 動植物における代謝及び土壌等における動態

<代謝・環境動態試験一覧表>

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 ¹⁴ C-標識体	ラット	吸収・排泄:反復経口投与 (25.76mg/kgx7日) 組織内分布:最終投与4時間後 代謝物の同定:組織、尿、糞	吸収・排泄:日平均で尿から48%、糞から38%、呼気から0.02%排泄。 組織内残留濃度:肝臓、腎臓、筋肉で1-2ppm、その他の組織は0.05ppm以下。 代謝物:親化合物のみ検出。		代5
代-A2			投与量:1.2、12mg/kg 吸収排泄:静注、単回経口、反復経口 呼気排泄:単回経口 胆汁排泄:単回経口 血中濃度:単回経口 組織内分布:7回反復経口 代謝物の同定:尿、糞、胆汁	吸収排泄:単回経口投与群において、48時間以内に70%が、168時間以内に77-88%が尿排泄。反復投与による排泄への影響なし。経口投与後、吸収は速やかで、投与1時間以内に最高血中濃度に達し、性差なし。静注で投与量による尿糞排泄に差なし。 呼気排泄:0.2%以下。 胆汁排泄:0.3%以下。 血中濃度:投与後1時間以内に最高血中濃度。 組織内分布:肝臓、腎臓および唾液腺に比較的高い。蓄積性なし。 代謝物:親化合物のみ検出。		代7
代-A3			投与量:1.2、12mg/kg 組織内分布:単回経口投与による経時変化 代謝物の同定:投与40分後の肝臓及び腎臓	組織内放射能は速やかに減衰、投与24時間後、初期濃度の約1%に減衰。各測定時間で、雌雄共膀胱内濃度が高く、尿排泄が盛ん。 代謝物:肝臓及び腎臓からは、親化合物のみ検出、想定代謝物は検出されず。		代13
代-P1	植物代謝 ¹⁴ C-標識体	棉	処理量:30g/A (7.4g/10a) × 1回 処理時期:開花開始1週間後全面散布 試料採取:処理3時間、1、14、80日後 代謝物の同定:最終収穫の茎葉、子実及び生育中の茎葉	処理子実からは投与放射能の96.8%が回収された。 生育中の茎葉並びに最終収穫の茎葉および子実中には親化合物のみが確認された。 代謝物の同定:親化合物のみ検出された。 代謝物は検出されなかった。 メピコートクロリドは棉において代謝されないことが確認された。		代16
代-P2		ぶどう	処理量:11b/A(約112g/10a) (最大推奨量の約3.3倍) 処理時期: 1回目:開花期 2回目:1回目処理28日後 試料採取:2回目処理98日後 (成熟果実収穫)	最終処理98日後の果実には親化合物のみ検出され、想定代謝物は検出されなかった。 メピコートクロリドはぶどうにおいて代謝されないことが確認された。		代21

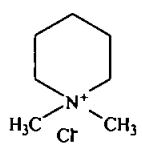
資料 No.	試験の種類	供試動植物、土壌等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関* (報告年)	記載頁
代-S1	土壌代謝 ¹⁴ C- 標識体	砂質壤土、 埴壤土(好 気条件)	土壌添加量: 砂質壤土: 0.08ppm(通常 量)、1ppm(10倍量) 埴壤土: 0.1ppm(通常量) 好氣的条件下で20°Cで管理。 試料採取: 処理0~210日後	何れの区でも速やかに分解され、処理 30日後に土壌中残留放射能は34~ 38%TARとなった。 10倍量区では処理210日後に21%と速や かに減少した。 抽出性放射能の大部分は親化合物であ り、分解物は微量(<0.01ppm)であった (同定不能)。 ¹⁴ CO ₂ は処理30日以内に 70%に達した。		代 23
代-S2		壤質砂土 (好気、 嫌気、滅菌 好気条件)	土壌添加量: 1.1ppm (通常量の10倍) 好氣的畑条件、嫌氣的湛水条 件、滅菌条件下20°Cで管 理。 試料採取: (好気土壌) 処理0、 3、7、14、21、30、60日後。 (嫌気土壌) 処理0、30、60 日後。	好気土壌: 60日後に43%の放射能が回 収された。残りはCO ₂ に分解されたも のと推定された。 嫌気土壌: 60日後に102%の放射能が回 収され、分解は認められなかった。 滅菌好気土壌: 60日後に99%の放射能 が回収され、分解は認められなか った。 何れの土壌からも親化合物のみ検出さ れた。また、メピコートクロリドの土 壌分解には微生物が影響しているも のと推定された。		代 27
代-S3 GLP		壤質 砂土 (好気 条件)	土壌添加量: 0.265ppm (通常量の2.1倍相当) 好氣的畑条件 温度: 25°C 試料採取: 処理直後、1、3、5、7、 10、15、30日後	親化合物は主要な残留物であったが、 速やかに分解し処理30日後に ¹⁴ CO ₂ を生 成(69.2%)。代謝物として (最大で1.6%TAR)を同定。その他の分 解物は極微量<1.7%TAR)。 DT ₅₀ =4.24日、DT ₉₀ =62.98日。		代 31
代-S4		壤質 砂土 (土壌表 面上の 光分解)	処理濃度: 1ppm 光条件: 照射、暗所 照度: 40000ルクス 温度: 25°C以下 試料採取: 処理18、31日後	抽出放射能として、親化合物のみが確認 された。メピコートクロリドは土壌表面 上で光分解しないことが確認された。		代 36
代-S5	土壌中挙 動(カラム テグ)	砂土、壤 質砂土、 砂壤土、 壤土	処理量: 375gai/ha 温度: 22~26°C カラム添加水量: 393ml 流出速度: 0.1~0.2mL/分	2日間でカラムから360~370mLが溶出 した。溶出液中には親化合物は検出され なかった(<5ppb)。親化合物は土壌中で 移動しにくいことが確認された。		代 38
提出 除外	嫌氣的土壌中動態		13生産第3986号の4。試験成績の除外について(2)の⑬の工 容器内試験及び好氣的土壌中動態試験において、半減期が30日以内で あるため。			—
代-W1 GLP	加水 分解 動態	緩衝液	pH: 3、5、7、9 濃度: 10mg/L 温度/光: 25°C暗所 試料採取: 処理0、2、5、9、16、 30日後	試験溶液中には親化合物のみが検出さ れた。メピコートクロリドは25°Cにおけ るpH3~9の緩衝液において30日間安定 であることが確認された。		代 40
代-W2	水中光分 解動態 ¹⁴ C- 標識体	曝気蒸 留水	処理濃度: 1.37ppm 7% 濃度: 約2% 光源: 高圧水銀灯 温度: 20°C 試料採取: 処理0、6、18、24、 31日後	採取試料中には親化合物のみが検出さ れた。揮発性物質は生成されなかった。 従って、メピコートクロリドは光増感剤 を用いた水中光分解試験において分解 しないことが確認された。		代 42

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-W3 GLP	水中光分解動態 14C- 標識体	pH7の緩衝液	処理濃度： 増感剤無添加：20ppm 増感剤添加：10ppm 7βH濃度：0.5% 光源：キノンランプ 照度：80000ルクス 温度：25°C 試料採取：処理0～24日の間に10回	増感剤無添加/添加、照射/遮光に係らず、親化合物のみが確認された。分解物および揮発性物質は確認されなかった。メピコートクロリドは水中で光分解されず安定であることが確認された。		代 45
代-W4 GLP	水中光分解動態	滅菌蒸留水/自然水	処理濃度： 蒸留水 1.008mg/L 自然水 1.034mg/L 温度：24.8-25.1°C 波長：290-800nm pH：蒸留水 5.81 自然水 6.54 光源：キノンランプ 照射強度：605W/m ² 試料採取：処理0～120時間の間に7回	検体は、120時間光照射（東京の春季における30.6日に相当）しても、滅菌蒸留水および自然水において安定であった。		代 49
代-S6	土壌吸着性	埴埴土、軽埴土、砂質埴埴土、埴埴土、砂土	吸着平衡試験：各5gの土壌に14.00μg/mLの0.01M塩化カルシウム溶液20mLを加え、25°Cで平衡化時間を求めた。 吸着等温試験：各土壌5gに純水5mLを加え24時間平衡化し、25°Cで16時間攪拌。その後水相温度を測定し、土壌吸着量を算出した。	平衡化時間：16時間 K _F ^{ads} (25°C)：1.69～47.79 K _F ^{ads} _{oc} (25°C)：67～4686		代 52
提出除外	生物濃縮性		12生産第8147号の4.別表2「有効成分の性状、安定性、分解性等に関する試験」の④ n-オクタノール/水分配係数(Log Pow)が3.5未満のため。		—	—

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。

Mepiquat-Chloride

<代謝物一覧表>

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
	親化合物	メピコトクロリド	1,1-ジメチルピペリジニウムクロリド	

1. 動物代謝に関する試験

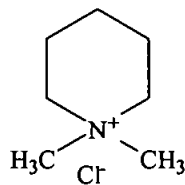
1-1. ^{14}C -メピコートクロリドのラットにおける代謝試験

(資料 代-A1)

試験機関：

報告書作成年： (非 GLP)

供試標識化合物： ^{14}C -メピコートクロリド (以下標識体と称する)



* : 標識部位

化学名：1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：Winstar 系アルビノラット 1 群 5 匹、平均体重約 236 g

試験方法：

投与量および投与方法：ラットに、標識体を用量 25.76 mg/kg [(推奨使用量 30 g/A) で処理した棉種子ミール中の残留量 (0.24 ppm) の約 1000 倍相当] で 7 日間、毎日反復強制経口投与した。

試料の採取：尿糞は毎日採取、プールし、冷凍保存した。揮発性物質はドライアイス-アセトントラップで捕集し、 $^{14}\text{CO}_2$ は 3N 苛性ソーダで捕集した。

組織・臓器は最終投与 4 時間後に屠殺し、血液、筋肉、腎臓、肝臓、心臓、脳、脂肪を採取した。

放射能の計測：液体試料はシンチレーションカクテルを加えた後直接、あるいは燃焼ポートに入れ乾燥させた後、燃焼し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集液に捕集し、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。固体試料 (糞、組織) は燃焼法により計測した。

放射能の抽出：組織：脂肪、筋肉、腎臓、肝臓、心臓は 溶液で 2 回抽出後、遠心分離し、上清は蒸発乾固した。次いで、乾固物を に再溶解し、カチオン交換樹脂カラムに載せた。(80 : 20) で洗浄後、

(1:1) で溶離した。次いで、溶離液を蒸発後、乾固物を に再溶解、濃縮後、シリカゲル TLC プレートに適用した。

糞：均質化後、(1:1) で 6 時間ソックスレー抽出を行った後、ろ過し、残渣を同溶媒で洗浄後、抽出液に合わせた。抽出残渣は乾燥させた。

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。

Mepiquat-Chloride

尿：10倍量のアセトンに尿を混合後、遠心分離し、総放射能の95%以上を含む上清を分取後、濃縮し、TLC分析に供した。

代謝物の同定：抽出残渣の 溶液に非標識標品を添加後、濃縮し、TLCに適用した。
次いで、 (90:10:4)で展開した。

試験結果：

総残留放射能 (TRR)：

総残留放射能および日平均排泄量は次表のとおりであった。

試料	組織中濃度(親化合物当量 ppm)	日投与量に対する%
腎臓	1.750	0.06
肝臓	1.269	0.23
筋肉	1.083	1.68
心臓	0.444	0.01
脂肪	0.259	0.05
血液	0.162	0.04
脳	0.079	*
尿	-	47.97(日平均)
糞	-	37.62(日平均)
呼気	-	0.02(日平均)

注：結果は最終投与4時間後の値 *：原文に記載なし

7日間連続投与したが、排泄は速く、平均して1日当たり投与量の48%が尿から排泄され、38%が糞から排泄され、0.02%が $^{14}\text{CO}_2$ として排出された。腎臓、肝臓および筋肉に1-2ppmの残留が認められ、心臓、血液、脳および脂肪中の残留は0.5ppm以下であった。

残留放射能の抽出率：

投与ラット試料および無投与ラット試料*からの抽出結果を次表に示す。

検査組織	尿	糞	筋肉	腎臓	肝臓	心臓	脂肪
投与ラット試料から抽出	95	99	97	71	86	91	103
無投与ラット試料に添加後抽出	100	93	94	100	100	100	96

* 供試化合物を投与せずに、添加回収試験を行った。

投与ラットから採取した試料では平均で約90%TRRが抽出され、抽出直前に無投与ラット試料に標識体を添加した時の抽出率と類似の結果が得られた。

代謝物のTLC分析：

組織、尿および糞の抽出液のTLC分析の結果、親化合物のみが検出され、代謝物は検出されなかった。

以上より、メピコートクロリドはラット体内で代謝されなかった。

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

Mepiquat-Chloride

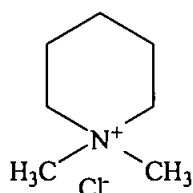
1-2. ^{14}C -メピコートクロリドのラットにおける代謝試験

(資料 代-A2)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

供試標識化合物： ^{14}C -メピコートクロリド



*：標識部位

化学名：1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：異系交配 SD 系ラット SPF (雌雄) 平均体重約 200 g

試験方法：

投与量：12 mg/kg (低用量) および 120 mg/kg (高用量) で試験を開始したが、特に、反復投与により 120 mg/kg では死亡が認められ、12 mg/kg では軽度の毒性が認められたので、プロトコールを変更し、低用量は 1.2 mg/kg、高用量は 12 mg/kg として表 1 の実験群を設けて試験を行った。検体は生理食塩水または飲料水を用いて所定濃度に溶解して静注あるいは強制経口投与した。

表 1. 実験群：

群	試験目的	投与方法	供試動物数	実投与量/ (mg/kg)			試料採取/屠殺 (時期：投与後時間)
				雄	雌	比放射能 (kBq/g)	
A	吸収・ 排泄	単回 静注	雄 5 雌 5	13.6	16.1		尿/糞採取：0-12、12-24、24-48、 48-72、72-96、98-168 ケージ洗浄：168 屠殺：168 採取組織：*
AA				1.35	1.30		
B		単回 経口		1.24	1.23		
CC ^a		反復 経口		1.22	1.25		
D		単回 経口		12.5	12.0		
DX	呼気排泄	単回 経口	雄 2	11.56	-		呼気：0-48 尿、糞：0-48 屠殺：48
E	胆汁排泄	単回 経口	雄 3	11.8	11.3		胆汁：1時間間隔で24時間まで 尿、糞：0-24 屠殺：24 採取組織：消化管、カーカス
F			雌 3	1.29	1.30		
G	血中濃度	単回 経口	雄 5 雌 5	1.22	1.18		採血部位：後眼窩静脈叢 採血：1、2、4、8、12、24、48、96 G群は20、40分を追加
H				12.0	13.1		
J ^b				組織内 分布	7回 反復 経口	83.4	
K	81.3	85.8				屠殺：最終投与8、24、48、96、168 全身オートラジオグラフィーに よる組織内分布	
L	全身オート ラジオグラフ	単回 経口	雄 1	8.32	-		屠殺：1 全身オートラジオグラフィー
O ^c	対照	反復 経口	雄 1 雌 1				採取組織：*

^a：非標識体を14日間毎日1回経口投与+15日目に標識体を単回経口投与

^b：標識体を7日間毎日1回経口投与

^c：非標識体を14日間毎日1回経口投与

*：消化管（内容物を含む）、骨、脳、脂肪、精巣、子宮、心臓、腎臓、肝臓、肺、筋肉、脾臓、皮膚（被毛付）、副腎、膀胱（尿を含む）、甲状腺、カーカスを採取

放射能の計測：液体試料（尿、血漿、胆汁、抽出液）はシンチレーションカクテルを加えた後直接、液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を計測した。糞および抽出残渣は燃焼法により発生した¹⁴CO₂を捕集液に捕集し、液体試料と同様にして計測した。血液は直接、組織は均質化した後、組織溶解剤に溶解し、液体試料と同様にして計測した。

放射能の抽出：

組織：脂肪、筋肉、腎臓、肝臓、心臓は 溶液で2回抽出後、遠心分離し、上清は蒸発乾固した。次いで、残渣を に再溶解し、カチオン交換樹脂カラムに載せた。 (80:20) で洗浄後、 (1:1) で溶離した。次いで、溶離液を蒸発後、残渣を に再溶解、濃縮後、シリカゲ

ル TLC プレートに適用した。

尿：10 倍量のアセトンに尿を混合後、遠心分離し、総放射能の 95%以上を含む上清を分取後、濃縮し、TLC 分析に供した。

代謝物の分析：

尿および胆汁（投与 3 時間後までの試料をプール）は前処理することなく、直接 TLC 分析に供した。

糞：均質化後、(1:1)で 6 時間ソックスレー抽出を行った後、ろ過・濃縮後、TLC 分析に供した。抽出残渣は乾燥後、燃焼した。この抽出法で 90%以上の放射能が抽出された。

以下の溶媒系を用いて一次元または二次元 TLC で分析した。

溶媒系 1： (50:50:0.5)

溶媒系 2： (80:70:0.5)

溶媒系 3： (90:10:4)

代謝物の同定：

尿、糞、胆汁中の代謝物の同定は、TLC を用いて行った。分析用試料として、尿は B、D 群の 1 2 時間までを、糞は B、D 群の 2 4 時間までを、胆汁は E 群の 3 時間までをプールした。尿と胆汁は前処理なしに直接 TLC 分析を行い、糞はソックスレー抽出を行い、抽出液で TLC 分析を行った。

試験結果：

高用量投与時に大部分の動物で投与後 30 分以内に耳介および頭部痙攣、次いで軽微な嗜眠が見られたが、2-3 時間以内に正常に戻った。低用量群の動物ではこのような症状は見られなかった。

1) 吸収・排泄、体内分布

結果を表 2~7 に示す。低用量、高用量 (G, H) 群共、経口投与後の消化管からの吸収は早く、全血および血漿中の最大濃度は投与後 1 時間以内であり、濃度変化 (最大値および総吸収量) に性差はみられなかった。

静注投与では投与量を変えても尿糞排泄率に変化がないことから、投与量を増加しても排泄経路を変えるような現象は見られなかった (A, A A)。

表 2. 尿糞排泄及び組織分布結果

試料	採取時期	A 群		AA 群		B 群		CC 群		D 群	
		静注高用量		静注低用量		単回経口低用量		反復経口低用量		単回経口高用量	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿 (%)	0-12	84.36	73.12	81.53	72.54	62.96	51.96	74.22	62.84	60.84	66.45
	12-24	4.00	4.82	5.69	5.56	6.11	11.75	5.42	8.56	7.46	8.08
	24-48	2.73	4.24	3.17	5.14	5.80	5.96	4.06	4.45	3.45	3.42
	48-72	1.32	2.76	1.46	2.14	3.52	3.82	1.90	2.02	0.94	1.65
	72-96	0.67	1.55	0.58	2.22	1.66	1.77	0.98	1.17	0.52	0.81
	96-168	1.50	2.18	1.33	2.49	2.61	4.57	1.30	2.25	0.97	1.54
	ケージ洗液	4.26	6.54	2.11	3.29	3.24	7.71	2.21	7.13	3.09	2.30
計	98.83	95.2	95.87	93.36	85.91	87.53	90.08	88.42	77.28	84.26	
糞 (%)	0-12	0.32	0.2	1.11	1.05	12.82	7.72	6.83	6.83	13.61	11.58
	12-24	0.79	2.64								
	24-48	0.26	1.17	1.02	1.95	1.23	1.63	0.83	1.06	0.82	1.12
	48-72	0.09	0.75	0.05	0.30	0.16	0.38	0.16	0.39	0.15	0.21
	72-96	0.06	0.53	0.10	0.37	0.47	0.42	0.08	0.18	0.04	0.09
	96-168	0.34	0.56	0.07	0.46	0.31	0.42	0.26	0.27	0.11	0.26
	計	1.85	5.85	2.36	4.12	14.98	10.57	8.16	8.74	14.73	13.27
組織合計 (%)	0.11	0.28	0.07	0.16	0.05	0.16	0.08	0.08	0.04	0.10	
総合計 (%)	100.78	101.32	98.3	97.64	100.93	98.25	98.32	97.25	92.05	97.82	
組織内濃度 (ppm)	全血	*	*	*	*	0.001	*	*	*	*	*
	血漿	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	消化管	0.012	0.124	0.002	0.006	0.001	0.002	0.001	0.001	0.006	0.034
	骨	*	0.003	*	*	*	*	*	*	*	*
	脳	0.003	0.004	*	*	*	*	*	*	*	*
	脂肪	0.004	0.008	*	*	*	*	*	*	0.003	*
	子宮	-	0.027	-	0.001	-	*	-	0.001	-	0.012
	精巣	0.009	-	0.001	-	0.001	-	0.001	-	0.006	-
	心臓	0.006	0.030	0.001	0.001	*	*	*	*	*	0.004
	腎臓	0.057	0.109	0.006	0.007	0.001	0.001	0.001	0.001	0.008	0.009
	肝臓	0.026	0.034	0.004	0.002	0.001	*	0.001	*	0.004	0.005
	肺	0.015	0.012	0.001	0.001	*	*	*	*	*	0.003
	筋肉	0.021	0.026	0.001	0.002	0.001	0.002	0.002	0.001	0.011	0.014
	脾臓	0.011	0.019	0.001	0.002	*	*	*	0.001	0.003	0.004
	皮膚	0.004	0.020	*	0.002	*	0.005	*	0.001	*	0.008
	副腎	0.008	0.023	0.001	0.001	0.001	0.001	*	0.001	0.004	0.007
膀胱	0.007	0.024	0.001	0.001	0.001	*	0.001	*	0.008	0.005	
甲状腺	0.007	0.015	0.001	0.001	*	*	0.001	0.001	*	0.006	
加-加	0.014	0.035	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.006	0.008	

表 3. 呼気中排泄 (D X 群, 11.56mg/kg 投与, 0~48 時間)

試料	D X 1	D X 2	平均	± S D
尿	58.77	46.76	52.77	8.49
糞	40.97	56.84	48.91	11.22
¹⁴ C-揮発成分	0.35	0.05	0.20	0.21
合計	100.09	103.65	101.88	-

表 4. 胆汁排泄 (E, F 群, 0~24 時間)

試料	E 群 (高用量)				F 群 (低用量)			
	雄		雌		雄		雌	
	平均	SD	平均	SD	平均	SD	平均	SD
尿	43.49	15.73	47.35	13.38	52.59	29.11	44.36	19.05
糞	10.83	10.26	12.26	10.68	10.98	17.01	14.08	24.32
全血	0.01	0.01	0.00	-	0.01	0.01	0.00	0.01
消化管	9.39	10.11	2.16	2.08	9.24	14.04	17.65	4.51
胆汁	0.24	0.05	0.23	0.08	0.27	0.02	0.31	0.09
か-加	5.36	1.45	7.07	6.53	4.61	1.18	4.09	1.76

表 5. 全血及び血漿中濃度の推移 (平均値, ppm)

採取時間 (時間)	G 群 (低用量)				H 群 (高用量)			
	雄		雌		雄		雌	
	全血	血漿	全血	血漿	全血	血漿	全血	血漿
0.33	0.086 (0.043)	0.103 (0.038)	0.138 (0.049)	0.212 (0.071)	-	-	-	-
0.67	0.155 (0.041)	0.207 (0.053)	0.197 (0.047)	0.245 (0.052)	-	-	-	-
1	0.155 (0.041)	0.191 (0.047)	0.194 (0.039)	0.235 (0.036)	1.865 (0.242)	2.370 (0.443)	1.817 (0.744)	2.167 (0.835)
2	0.115 (0.026)	0.117 (0.026)	0.131 (0.025)	0.132 (0.038)	1.210 (0.178)	1.227 (0.246)	1.129 (0.320)	1.172 (0.359)
4	0.047 (0.003)	0.042 (0.007)	0.044 (0.017)	0.036 (0.014)	0.391 (0.082)	0.369 (0.099)	0.333 (0.146)	0.309 (0.163)
6	0.012 (0.003)	0.010 (0.003)	0.020 (0.012)	0.021 (0.017)	-	-	-	-
8	0.004 (0.002)	0.005 (0.001)	0.007 (0.002)	0.006 (0.002)	0.048 (0.025)	0.053 (0.033)	0.040 (0.010)	0.035 (0.009)
12	-	-	-	-	0.018 (0.003)	0.016 (-)	0.019 (0.004)	0.019 (0.003)
24	ND (-)	0.001 (-)	0.001 (0.001)	0.001 (-)	0.007 (-)	0.007 (-)	0.008 (0.003)	0.008 (0.003)
48	ND (-)	ND (-)	ND (-)	ND (-)	0.003 (-)	ND (-)	0.003 (-)	ND (-)
96	ND (-)	ND (-)	0.001 (-)	ND (-)	ND (-)	ND (-)	ND (-)	ND (-)

注: 上段は平均濃度 (ppm)、下段は SD。 ND: 検出限界以下 (<0.0004ppm)。 -: 該当せず。

表 6. 全血及び血漿中薬物動態パラメーター

試料	投与量 (mg/kg)	性別	C _{max} ($\mu\text{g Eq/g}$)	T _{max} (h)	T _{1/2} * (h)	AUC _{0-96h} *# ($\mu\text{g Eq} \cdot \text{h/g}$)
全血	G 群	雄	0.155	0.67	0.59 ^a	0.542
		雌	0.197	0.67	0.65 ^a	0.687
	H 群	雄	1.865	1	0.57 ^b	5.433
		雌	1.817	1	0.55 ^b	5.083
血漿	G 群	雄	0.207	0.67	0.56 ^a	0.599
		雌	0.245	0.67	0.60 ^a	0.719
	H 群	雄	2.370	1	0.56 ^b	5.808
		雌	2.167	1	0.51 ^b	5.312

* 報告書の測定結果に基づき申請者が再計算した。

#96 時間以降、全血及び血漿中にほとんど検出されないため、AUC_{0-168h}は AUC_{0-96h}と同等と考えられる。

^a T_{1/2}は、血中からの消失が認められた T_{max} から 12 時間について計算した。

^b T_{1/2}は、血中からの消失が認められた T_{max} から 8 時間について計算した。

表 7. 反復投与後における組織分布 (ppm)

投与群	J 群 (高用量、7 日間反復投与)									
	雄					雌				
採取時間 (hr) *	8	24	48	96	168	8	24	48	96	168
全血	0.05	0.01	0.01	ND	ND	0.15	0.01	0.01	0.02	ND
血漿	0.05	0.01	ND	ND	ND	0.19	0.01	ND	ND	ND
消化管	17.10	1.46	0.12	0.05	0.01	25.41	0.97	0.08	0.40	0.09
骨	0.04	0.01	0.01	ND	ND	0.10	0.01	ND	ND	ND
脳	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.04	0.01	0.01	0.01	0.01
脂肪	0.20	0.04	0.04	0.02	0.02	0.38	0.05	0.02	0.02	0.02
子宮	-	-	-	-	-	0.54	0.05	0.02	0.03	0.02
精巣	0.33	0.19	0.12	0.05	0.02	-	-	-	-	-
心臓	0.44	0.10	0.04	0.02	0.09	1.44	0.08	0.02	0.03	0.01
腎臓	1.11	0.55	0.24	0.06	0.07	1.75	0.19	0.05	0.10	0.02
肝臓	0.65	0.18	0.09	0.03	0.03	1.61	0.10	0.04	0.05	0.02
肺	0.26	0.25	0.30	0.02	0.04	1.17	0.07	0.03	0.03	0.01
筋肉	0.78	0.56	0.33	0.15	0.05	0.76	0.53	0.22	0.10	0.03
脾臓	0.43	0.06	0.03	0.02	0.02	0.55	0.06	0.02	0.02	0.01
皮膚	0.51	0.13	0.06	0.05	0.02	0.67	0.39	0.06	0.43	0.11
副腎	0.94	0.14	0.06	0.03	0.02	1.75	0.12	0.04	0.06	0.02
膀胱	0.59	1.79	0.27	0.03	0.01	0.75	0.09	0.03	0.03	0.02
甲状腺	0.91	0.27	0.12	0.03	0.04	1.85	0.27	0.10	0.08	0.02
カーカス	0.81	0.44	0.28	0.12	0.04	0.88	0.65	0.13	0.11	0.03

*最終投与後時間

経口投与では低用量群で尿に 86-90%が、高用量群で 77-84%が排泄された (B, C C, D)。経口投与直後に飼料を与えることにより、消化管からの吸収率の減少が認められた (D X)。

排泄の主経路は尿を介したものであり、一般に約 90%が尿に排泄されたが、その大部分(70%)は投与後 1 2 時間以内に排泄された。B, C C 群共、尿排泄のデータに差がないことから 1 4 日間非標識化合物の前処理による排泄への影響は見られなかった。A, A A, B, D 群の尿排泄データから吸収率を求めると、低用量群では 90-94%、高用量群では 78-89%であった。糞への排泄は 15%以内であり (B, C C, D)、胆汁への排泄は 0.3%以内 (E, F) であることから、糞中に認められた化合物は未吸収のまま排泄されたものと判断された。

呼吸への排泄は 0.2%以下であった (D X)。

ほぼ全群で投与した放射能の 97%以上が回収された。

メピコートクロリドは投与後速やかに体内に分布するが、肝臓、腎臓および唾液腺に比較的高い放射能分布が認められた (K, L)。4 8 時間までにオートラジオグラフィーではほとんど放射能が検出されなくなり (K)、9 6 時間では、体内への残留は全臓器、組織で 0.1ppm 以下となった (J)。また、特定臓器、組織での蓄積は見られなかった。

2) 代謝物の同定

尿、糞および胆汁中には親化合物のみ認められ、1-メチルピペリジンやピペリジン等の想定代謝物は検出されなかった。

以上の結果からメピコートクロリドをラットに経口投与すると、速やかに体内に吸収されるが、大部分は尿から排泄され、体内蓄積はないと判断される。また、メピコートクロリドはラットにより、代謝を受けないと判断される。

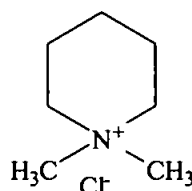
1-3. ¹⁴C-メピコートクロリドのラットにおける臓器・組織内分布

(資料 代-A3)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

供試標識化合物：¹⁴C-メピコートクロリド



*：標識部位

化学名：1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：SD系ラット（雌雄） 入手時体重 144-176g

試験方法：

1) 体内分布

メピコートクロリドのラット経口投与における体内分布を確認するために、2投与量レベルで、経時的に屠殺して調べた。

1.25mg/kg（低用量）、12.08mg/kg（高用量）の2投与量レベルで1回経口投与を行い、投与40分後、6時間後、24時間後、48時間後に各雌雄2匹ずつを屠殺し、臓器・組織内分布を調べた。

分析に供した臓器・組織は肝臓、腎臓、脂肪、脾臓、心臓、骨、骨髄、肺、脳、筋肉、精巣、卵巣と子宮、下垂体、甲状腺、副腎、膵臓、膀胱、消化管、屍体、血液、血漿である。

血液はそのままを、血漿は血液の遠心上清を、その他の供試臓器はホモジナイズした後、液体シンチレーションカウンターで定量分析した。

2) 代謝物の同定

投与40分後に屠殺した低及び高用量群雌雄ラットから肝臓及び腎臓を採取し、ホモジネート後、残留放射能を抽出し、TLCクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

試験結果：

1) 体内分布

低用量、高用量群共、臓器・組織中の放射能は速やかに減衰し、24時間後にはほぼ全ての

臓器・組織で初期濃度の1%ほどになった。各測定時間で、雌雄共膀胱内濃度が高く、尿排泄が盛んに行われたことを示していた。特に雄では膀胱内の濃度が短時間で減少した。

表 1. 低用量群における組織中放射能分布濃度 (ppm)

投与群	低用量 (1.25mg/kg)							
	雄				雌			
採取時間	40分	6時間	24時間	48時間	40分	6時間	24時間	48時間
肝臓	3.466	0.185	0.010	0.003	1.567	0.075	0.005	0.001
腎臓	5.814	0.315	0.025	0.004	1.819	0.075	0.007	0.002
脂肪	0.157*	0.053	0.002	0.000	0.051	0.005	nd	nd
脾臓	0.311	0.068	0.003	0.001	0.125	0.048	0.002	0.000
心臓	1.699	0.085	0.004	0.001	0.532	0.050	0.003	0.003
骨	0.343	0.035	0.005	0.001	0.061	0.027	0.006	0.003
骨髄	0.427	0.083	0.006	0.004	0.156	0.057	0.006	0.003
肺	1.719	0.108	0.005	0.001	0.934	0.053	0.003	0.001
脳	0.064	0.003	nd	nd	0.016	0.001	nd	nd
筋肉	0.166	0.092	0.036	0.017	0.065	0.063	0.027	0.013
精巣	0.162	0.037	0.012	0.010	-	-	-	-
卵巣	-	-	-	-	0.451	0.061	0.003	0.001
子宮	-	-	-	-	0.124	0.064	0.001	0.000
下垂体	1.520	0.507	0.059	0.036	0.217	0.132	0.011	0.004
甲状腺	2.604	0.191	0.005	0.001	0.753	0.139	0.004	0.001
副腎	1.182	0.414	0.011	0.002	0.609	0.418	0.006	0.001
膵臓	0.414	0.090	0.003	0.001	0.161	0.060	0.001*	0.000
膀胱	78.356	1.066	0.102	0.034	4.439	1.364	0.012	0.004
消化管	5.607	0.723	0.087	0.003	8.153	3.120	0.036	0.018
か-か	0.665	0.119	0.032	0.014	0.194	0.081	0.025	0.009
血漿	0.333	0.013	0.001	0.000	0.173	0.007	0.000	nd
全血	0.252	0.014	0.001	0.000	0.121	0.007	0.001	0.000

数値は2例の平均値。 *1例の結果。

表 2. 高用量群における組織中放射能分布濃度 (ppm)

投与群	高用量 (12.08mg/kg)							
	雄				雌			
採取時間	40分	6時間	24時間	48時間	40分	6時間	24時間	48時間
肝臓	21.552	2.471	0.082	0.038	14.234	0.554	0.051	0.039
腎臓	26.224	2.466	0.150	0.094	13.833	0.775	0.066	0.054
脂肪	0.969	0.078	0.012	0.007	0.688	0.038	0.003	0.004
脾臓	1.019	0.594	0.020	0.010	1.358	0.427	0.017	0.011
心臓	3.007	0.922	0.033	0.012	6.229	0.376	0.030	0.020
骨	0.334	0.177	0.056	0.015	0.423	0.219	0.027	0.017
骨髓	1.522	0.764	0.046	0.038	5.021	0.433	0.025	0.022
肺	2.969	0.693	0.032	0.013	3.548	0.587	0.025	0.015
脳	0.111	0.027	0.003	0.002	0.139	0.015	0.002	0.002
筋肉	0.488	0.683	0.306	0.221	0.493	0.629	0.215	0.212
精巣	0.454	0.260	0.111	0.080	-	-	-	-
卵巣	-	-	-	-	4.049	0.330	0.028	0.017
子宮	-	-	-	-	1.990	0.412	0.018	0.011
下垂体	5.071	1.782	0.381	0.100	2.704	0.838	0.098	0.079
甲状腺	4.535	1.733	0.046	0.016	4.194	0.969	0.029	0.034
副腎	5.417	7.031	0.102	0.060	4.695	4.017	0.125	0.041
膵臓	1.601	0.678	0.020	0.009	1.623	0.393	0.014	0.011
膀胱	228.166	58.970	2.661	0.521	30.389	3.649	0.400	0.721
消化管	98.800	18.627	0.274	0.022	100.852	11.100	0.566	0.099
か-か	0.802	0.766	0.272	0.170	0.972	0.462	0.199	0.173
血漿	1.704	0.106	0.012	0.003	1.871	0.051	0.007	0.003
全血	1.165	0.114	0.007	0.003	1.354	0.055	0.005	0.004

数値は2例の平均値。

2) 代謝物の同定

肝臓および腎臓での放射能抽出率は平均 95.0%であった。単独の TLC 分析では、抽出物が標品の親化合物とは異なる R_f 値を示したが、TLC コクロマトグラフィーによって親化合物であることが確認された。また、1-メチルピペリジンやピペリジン等の想定代謝物は検出されなかった。放射能の同定結果を下表に示す。

表 3. 腎臓及び肝臓における抽出性放射能の同定結果

試料	群 性別	低用量群, 40分後		高用量群, 40分後	
		雄	雌	雄	雌
腎臓	抽出性放射能(%TAR)	10.47	5.53	7.24	4.98
	親化合物(%TRR)*	96.9	87.3	90.8	96.0
	親化合物(%TAR)	10.15	4.83	6.57	4.78
肝臓	抽出性放射能(%TAR)	4.00	1.39	1.82	1.04
	親化合物(%TRR)*	96.3	100.6	98.5	93.3
	親化合物(%TAR)	3.85	1.40	1.79	0.97

数値は2例の平均値。 *各臓器における%TRR

2. 植物代謝に関する試験

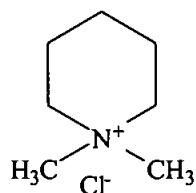
1) 棉における代謝試験

(資料 代- P1)

試験実施機関

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度 :

比放射能 :

供試植物 : 棉

供試土壌 : ミシシッピ州グリーンビルに所在する BASF ワイアント社研究農場の屋外に設置したポット (高さ 68.6cm x 横 61.0cm x 縦 182.9cm、30.5cm 地中に埋設) に市販のシルト質壤土を詰めた。土壌の特性を下に示す。

有機質 (%)	: 1.0
CEC (meq/100 g)	: 12.0
pH	: 6.7
水分含量 (%、1/3 bar)	: 26.8
土性 砂 (%)	: 23.6
シルト (%)	: 64.8
粘土 (%)	: 11.6

試験方法 :

試験溶液の処理 : 検体の水溶液を開花開始 1 週間後に約 7.4g/10a (推奨使用方法) を全面噴霧処理した。

試料の採取 : 処理後 3 時間 (処理後 0 日とする)、1、14 および 80 日に収穫した。

分析方法 :

放射能の計測 : 試料を燃焼し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集液に捕集し、シンチレーションカウンテルを添加して、直接あるいは燃焼ポート中で乾燥後、燃焼して計測した。

放射能の抽出 :

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。

Mepiquat-Chloride

茎葉：均質化試料を 溶液で 3 回振盪抽出し、抽出液を合わせた後、ろ過した。濾液の一部を分取後、ろ過後の残渣は乾燥後、放射能を計測した。抽出液は濃縮後、薄層クロマトグラフィー (TLC) に供した。

棉子実：均質化試料を 2 回ヘキサンで抽出後、3 回 溶液 (または 溶液)、次いで 3 回水で抽出した。濾液にシンチレーションカクテルを添加後、ろ過後の残渣は乾燥後、放射能を計測した。抽出液および水抽出液は TLC に供した。

棉根部：均質化試料を 溶液/水 (1/1) を用いて 2 時間加熱還流抽出し、ろ過した。濾液の一部の放射能を計測後、残りの抽出液は濃縮後、TLC に供した。

TLC：抽出液に非標識ピペリジン、N-メチルピペリジンおよび検体の標品を混合し、この溶液をシリカゲルプレート (シリカゲル HLF; シリカゲル 60F 254 又はセルローズ+5% Dowex 50W-X8) に適用し、展開した。標品は試薬で可視化した。該当するシリカゲル領域を掻き取り、 溶液で放射能を溶離した。次いで、溶離液を分析用 TLC または TLE シリカゲルプレートに再適用した。

TLE (薄層電気泳動)：TLC で精製した溶離液をシリカゲルプレート (シリカゲル-25 UV254) に適用し、緩衝系として、ピリジン/酢酸/水 (1/10/90) を用い、1 時間行った。放射能領域を TLC の場合と同様に掻き取り、溶離した。

IR 用放射性残留物の精製：均質化した棉子実を 2 回 で抽出、ろ過し、濾液にアセトンを加え、Dowex 50W-X4 カチオン交換樹脂カラムに適用した。次いで、 溶液および 溶液で展開した。すべての放射能が 溶液画分に存在していた。この画分を濃縮後、シリカゲルプレート (シリカゲル HLF) に線状に適用し、次いで、 (90/10/4) で展開し、すべての放射能を有する領域を掻き取り、 溶液で溶離した。次いで、この溶離液 (適用放射能の >95%) を濃縮後、硬質薄層シリカゲルプレート (シリカゲル 60F 254) に適用し、TLE を行った。放射能を有する領域を 溶液で溶離し、溶媒を蒸発させたのち、水に再溶解し、水を蒸発させた。この操作を数回繰り返して、HCl を完全に除去した。残渣を に溶解後、KBr を添加し、乾燥後、KBr のペレットを作り、分光光度計に供した。

試験結果

総残留放射能：残留放射能の経時的消失を表 1 に示す。

表 1. 残留放射能の経時的消失

処理後日数	部位	親化合物当量 (ppm)
0	茎葉	4.74
1	茎葉	4.09
14	茎葉	4.48
80	茎葉	3.47
	子実	3.58
	リント	0.11
	根部	0.58

処理直後の茎葉における残留は 4.74ppm であったが、最終収穫試料の残留は茎葉で 3.47ppm、子実で 3.58ppm、リントで 0.11ppm、根部で 0.58ppm であり、処理後 80 日間における消失は非常に少なかった。

抽出性残留物の特徴付け：

残留放射能の抽出：処理 80 日後の茎葉（最終収穫試料）を用いて、種々の溶媒による放射能の抽出性を検討した結果を表 2 に示す。

表 2. 種々の溶媒による放射能の抽出性

溶媒	放射能の抽出率%
溶液	96.5
(pH5)	71.1
水溶液 (pH2.4)	67.2
水溶液	86.2
	69.6
	72.9
	60.8
	1.2

溶液による抽出効率が最良であったので、放射能の抽出にはこの溶媒を用いた。

生育中茎葉部の抽出率を表 3 に示す。

表 3. 生育中茎葉部の 溶液による放射能の抽出率%

処理後日数	放射能の抽出率%
0	96.6
1	92.9
14	96.3

溶液による生育中茎葉部の抽出効率は最終収穫試料の抽出効率と同様に良好であった。

数種溶媒を用い、棉子実中放射能の連続抽出による抽出効率を表 4 に示す。

子実の脂質画分（抽出液）中の放射能は微量であった。80%以上の放射能が溶液で抽出された。

表 4. 各種溶媒による抽出効率%

試料		溶液	水	フィルタ - 残渣	回収率%
無処理子実+検体添加	1.6	79.9	5.4	10.2	97.1
処理子実	0.4	84.2	5.3	6.9	96.8

抽出性残留放射能の TLC 分析：最終収穫の茎葉の抽出液を種々の固定相および溶媒系を用いて TLC またはペーパークロマトグラフィーを行った結果、親化合物のみ検出された（表 5）。生育中の試料および成熟棉子実の分析でも親化合物のみ検出された。したがって、親化合物は棉植物中では代謝されていないと考えられた。

表 5. 最終収穫茎葉の抽出液のクロマトグラフィー分析

固定相	クロマトグラフィー系		比率	分析結果
	系	溶媒系		
シリカゲル	TLC		60/30/1	親化合物のみ
シリカゲル	TLC		60/39/1	親化合物のみ
Whatman No. 1	ハ ⁻ ハ ⁻		8/2/1/3	親化合物のみ
シリカゲル(多重展開)	TLC		60/40/1	親化合物のみ
シリカゲル(二次元展開)	TLC		60/40/1	親化合物のみ
カチオン交換樹脂	TLC		1/1	親化合物のみ
カチオン交換樹脂	TLC		1/1	親化合物のみ
シリカゲル	TLE			親化合物のみ
シリカゲル	TLE			親化合物のみ
シリカゲル	TLC		90/10/4	親化合物のみ

表 6. 生育中茎葉の抽出液のクロマトグラフィー分析

固定相	クロマトグラフィー系		比率	分析結果
	系	溶媒系		
カチオン交換樹脂	カラム		1/1	親化合物のみ
カチオン交換樹脂	TLC		1/1	親化合物のみ
Whatman No. 1	ハ ⁻ ハ ⁻		8/2/1/3	親化合物のみ
シリカゲル	TLC		60/39/1	親化合物のみ
シリカゲル(二次元展開)	TLC		60/39/1	親化合物のみ
シリカゲル	TLC		90/10/4	親化合物のみ
シリカゲル	TLE		1/10/90	親化合物のみ

表 7. 最終収穫子実の抽出液の TLC 分析

抽出液	固定相	クロマトグラフィー系		比率	分析結果
		系	溶媒系		
	NM300 セルロース	TLC		1/1/2/1	親化合物のみ
	シリカゲル	TLC		50/40/10	親化合物のみ
	シリカゲル(二次元展開)	TLC		60/39/1	親化合物のみ
	カチオン交換樹脂	TLC		1/1	親化合物のみ
	シリカゲル	TLC		90/10/4	親化合物のみ
	シリカゲル	TLE		1/10/90	親化合物のみ
	シリカゲル	TLC		90/10/4	親化合物のみ
	シリカゲル	TLE		90/10/4	親化合物のみ

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。

Mepiquat-Chloride

棉子実の放射性残留の赤外分光分析(IR)：精製した残留の IR をピペリジン、N-メチルピペリジンおよび検体の標品の IR と比較した結果、ピペリジンおよび N-メチルピペリジンの IR とは明らかに異なっており、検体の標品の IR と精製残留の IR と一致していた。

以上、開花開始 1 週間後に約 7.4g/10a (推奨使用方法) を全面噴霧処理した結果、検体は棉植物中では代謝しないと考えられた。

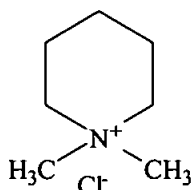
2) ぶどうにおける代謝試験

(資料 代-P2)

試験機関

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度 :

比放射能 :

供試植物 : ぶどう (品種 : Muscadine) 2 本、高さ約 168cm の棚仕立て

試験場所 : ミシシッピ州グリーンビルに所在する BASF ワイトット社研究農場

試験方法 :

試験溶液の調製 : 標識体の水溶液に非標識体を加えて、希釈し、白試料 (硝酸マグネシウム、界面活性剤、抗菌剤、色素および水) を加えて混合し、さらに水で希釈、界面活性剤を添加して散布液とした。

処理薬量 : 11b/A (約 112g/10a) (最大処理薬量の約 3.3 倍量)

処理時期 : 初回処理は開花期、2 回目処理は処理 28 日後に行った。

試料採取 : 2 回目処理 98 日後に成熟果実を収穫。

分析方法 :

放射能の抽出 : 冷凍成熟果実を 溶液で 2 回ブレンダーまたはミキサーで抽出し、濾過した。合わせた濾液および抽出後残渣の放射能を計測した。

イオン交換クロマトグラフィー : 抽出液の一部 (6.678×10^6 dpm) をカチオン交換樹脂カラム (H+型) に通し、水で洗浄した。この洗液の放射能はカラムへの添加放射能の 1.42% のみであったので、廃棄した。次いで、5N HCl で溶離し、ほとんどすべての放射能を回収した。溶離液を減圧乾固し、次いで、 を用いて数回溶解、蒸発を繰り返す、半固体の残留物を得た。この残渣を で抽出し、カラムへの添加放射能の 91.2% を得た。

ジピクリルアミン精製 : 抽出液を蒸発乾固し、残渣を水に溶解し、pH1.57 の溶液を得た。この溶液の pH を 2N NaOH で 13.0 に調整後、ジピクリルアミン/ジクロロメタン溶液で抽出した。抽出液を 2N HCl で 2 回抽出後、プール抽出液を減圧蒸発させ、

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。

Mepiquat-Chloride

白色固体を得た。これを に溶解し、淡黄色液体を得た（カラムへの添加放射能の 79.8%）。

試験結果

ぶどう果実中の放射性残留物の精製に用いた操作手順ごとの放射能回収率について表 1 に示す。

表 1. 残留放射能の精製過程における回収率%

操作手順	初期重量%	初期放射能に対する回収率(%TRR)
抽出液		95.8
カチオン交換クロマトグラフィー	0.09	95.8
抽出液	0.07	91.2
ジピクリルアミン錯体	0.004	79.8

2 回目処理 98 日後の果実を で抽出し、抽出液中の放射能は 33.39×10^6 dpm、残渣中の放射能は 1.45×10^6 dpm が含まれていた。これに基づくぶどう中の TRR は 34.84×10^6 dpm で、1.06ppm（親化合物換算当量）であった。

溶液の 1.5 倍量を用いた抽出で 95.8%TRR が抽出された。これはカチオン交換樹脂に定量的に吸着され、5N HCl で定量的に遊離し、初期重量の 0.09% に相当した。

抽出で 91.2%TRR が抽出され、初期重量の 0.07%に相当した。これの TLC 分析で、親化合物に相当する単一バンドのみが検出されたが、僅かなテーリングが見られた。これは残存天然物による妨害の結果である。そこで、ジピクリルアミン錯体を作り精製した結果、79.8%TRR(初期重量の 0.004%)含む溶液を得た。

この溶液を固定相としてシリカゲルおよびカチオン交換樹脂を用いた TLC 分析で親化合物に相当する単一ピークが得られた。同じシリカゲルを用いた TLC でピペリジンおよび N-メチルピペリジンの標品は親化合物より Rf 値が高かった。

以上、実使用量の約 3.3 倍量相当の 112g/10a をぶどうに 2 回処理後、最終処理 98 日後に収穫したぶどう果実には未変化の親化合物のみ検出され、棉の代謝試験と同様に検体の代謝はみられなかった。

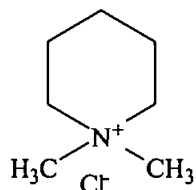
3. 土壌中動態に関する試験

1) 好氣的土壌中動態試験 (資料 代-S1)

試験実施機関

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



* : 標識部位

化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

比放射能 :

供試土壌 : 下記特性の土壌を使用した。

Neuhofen 砂質壤土 : 有機質 (%) :	2.58
シルト+粘土含有率 (<20 μm, %) :	10.1
pH :	6.8
Pfungstadt 埴壤土 : 有機質 (%) :	0.7
シルト+粘土含有率 (<20 μm, %) :	40
pH :	7.4

試験方法

処理量設定根拠 : 推奨低用量 (30g ai/A) に基づき、全処理量が土壌に達し、表層 5cm の土壌に均一に分布したと仮定し、0.1ppm を選定した。さらに、過剰量処理を考慮して 10 倍の 1ppm も試験した。

処理土壌の調製 : 下記のように調製した土壌中の水分は、重量測定後必要に応じて消失分を添加した。

Neuhofen 砂質壤土 (0.08ppm) : 土壌 (25.29kg) に有効成分 (2.4mg) および水 (4.7L) を添加、均一に混合して 0.08ppm の土壌を調製した。次いで、5L 容ビーカー6 個に分け入れ、20±2℃の温度制御室で管理した。

Neuhofen 砂質壤土 (1ppm) : 蒸留水 (10mL) に溶解した有効成分 (5mg) を乾土 (4215g) に添加、混合し、蒸留水 (775mL) を加えて 1ppm の土壌を調製した。次いで、5L 容ビーカーに移し入れ、20±2℃の温度制御室で管理した。

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。

Mepiquat-Chloride

Pfungstadt 埴壤土 (0.1ppm) : 蒸留水 (5mL) に溶解した有効成分 (0.2mg) を乾土 (1734g) に添加、混合し、蒸留水 (261mL) を加えて 0.1ppm の土壌を調製した。次いで、2L 容ビーカーに移し入れ、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の温度制御室で管理した。

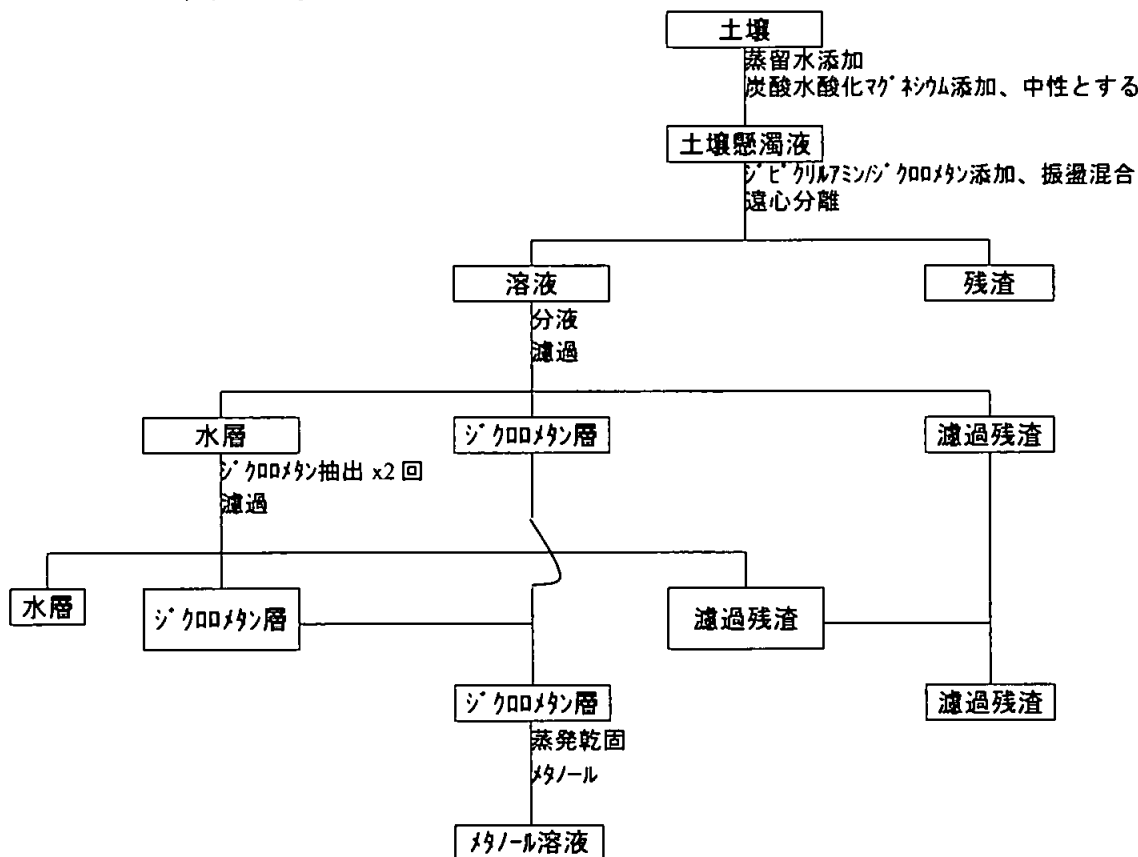
試料採取時期 : 次表の採取時期に各 100g ずつ採取した。

供試土壌	添加濃度 (ppm)	処理後採取時期
Neuhofen 砂質壤土	0.08	0、7、14、30、60、90、120 日
	1	0、7、14、31、60、90、120、160、180、210 日
Pfungstadt 埴壤土	0.1	0、3、7、14、30、60 日

土壌試料の分析 :

総残留放射能の計測 : 土壌試料および非抽出性土壌残渣は燃焼後、発生した ^{14}C をシンチレーションカクテルに捕集し、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。液体試料はシンチレーションカクテルを添加後 LSC で計測した。

ジピクリルアミン含有ジクロロメタン可溶性残留の特徴付 : 有効成分はジピクリルアミンと錯体を生成し、ジクロロメタン可溶性となるので、有効成分は以下の様に抽出した。



ジピクリルアミン/ジクロロメタンで抽出可能放射能の薄層クロマトグラフィー (TLC) による特徴付 : ジクロロメタンを蒸発乾固し、残渣を 20% エタノール含有ジクロロメタンに再溶解し、TLC (シラン処理したシリカゲル KG60 F254) に適用し、(7/2/1) で展開した。

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。

Mepiquat-Chloride

生成した $^{14}\text{CO}_2$ の計測 : 0.08ppm 処理 Neuhofen 砂質壤土を密閉系容器に入れ、 CO_2 -除去湿潤空気を通し、気流はフェニルエチルアミン シンチレーターを入れた捕集液に通した。捕集液は毎日交換し、放射能を計測した。

試験結果 :

次表に、添加放射能の経時的消失および残留放射能の分布を親化合物当量、かつ土壌の生重量に対する ppm として示す。

供試土壌	添加濃度 (ppm)	処理後採取時期 (日)	総残留放射能 (ppm)	不溶性残留 (ppm)	ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出液 (ppm)	水層 (ppm)
Neuhofen 砂質壤土	0.08	0	0.0716	0.0062	0.0654	0.0019
		7	0.0360	0.0204	0.0141	0.0027
		14	0.0310	0.0214	0.0066	0.0014
		30	0.0271 (38)	0.0206	0.0052 (8)	0.0012
		60	0.0232 (32)	0.0179	0.0037 (6)	0.0010
		90	0.0205	0.0169	0.0027	0.0007
		120	0.0186 (26)	0.0141	0.0024	0.0007
	1	0	1.038	0.054	1.088	0.022
		7	1.070	0.059	1.008	0.014
		14	0.090	0.075	0.869	0.017
		31	0.353 (34)	0.175	0.132 (12)	0.020
		60	0.310 (30)	0.153	0.092 (8)	0.017
		90	0.237	0.155	0.079	0.013
		120	0.275 (26)	0.179	0.066	0.014
		160	0.238	0.159	0.054	0.012
		180	0.239	0.147	0.055	0.011
		210	0.216 (21)	0.135 (13*)	0.052	0.011
		Pfungstadt 埴壤土	0.1	0	0.110	0.006
3	0.100			0.008	0.088	0.001
7	0.084			0.012	0.061	0.001
14	0.054			0.015	0.026	0.002
21	0.049			0.017	0.020	0.002
30	0.038 (36)			0.015	0.015 (16)	0.002
60	0.029 (26)			0.016	0.008 (9)	0.002

()内の数値は処理直後の燃焼法による土壌中放射能 (TRR) および各抽出画分の放射能に対する残存比率%

(*)内の数値は処理 0 日の TRR に対する残存比率%

好氣的土壌条件下における Neuhofen 砂質壤土 (処理量 : 0.08 および 1ppm) および Pfungstadt 埴壤土 (処理量 : 0.1ppm) において、土壌中の残留放射能は処理 30 日後には処理放射能 (TAR) の 34~38% に減少し、処理 60 日後には 26~32% TAR に減少した。ジピクリルアミン/ジクロロメタン可溶性放射能のほとんどが未変化の親化合物であり、分解物は極微量 (<0.01 ppm) のため同定は不可能であった (TLC クロマトグラムの例を図 1 に示す)。従って、親化合物は速やかに消失し、処理 30 日後には 8~16% TAR、処理 60 日後には 6~9% TAR に減少した。分解物として、処理後の初期段階から $^{14}\text{CO}_2$ の発生がみられ、処理後 30 日以内に 70% に達した。

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。

Mepiquat-Chloride

推奨処理量の約 10 倍 (1ppm) を処理した Neuhofen 砂質壤土における処理 210 日後の土壤結合残渣は 13%のみであった。

以上の結果から、土壌に処理された ^{14}C -メピコートクロリドは速やかに $^{14}\text{CO}_2$ に分解し、土壌中に蓄積することはないと考えられる。

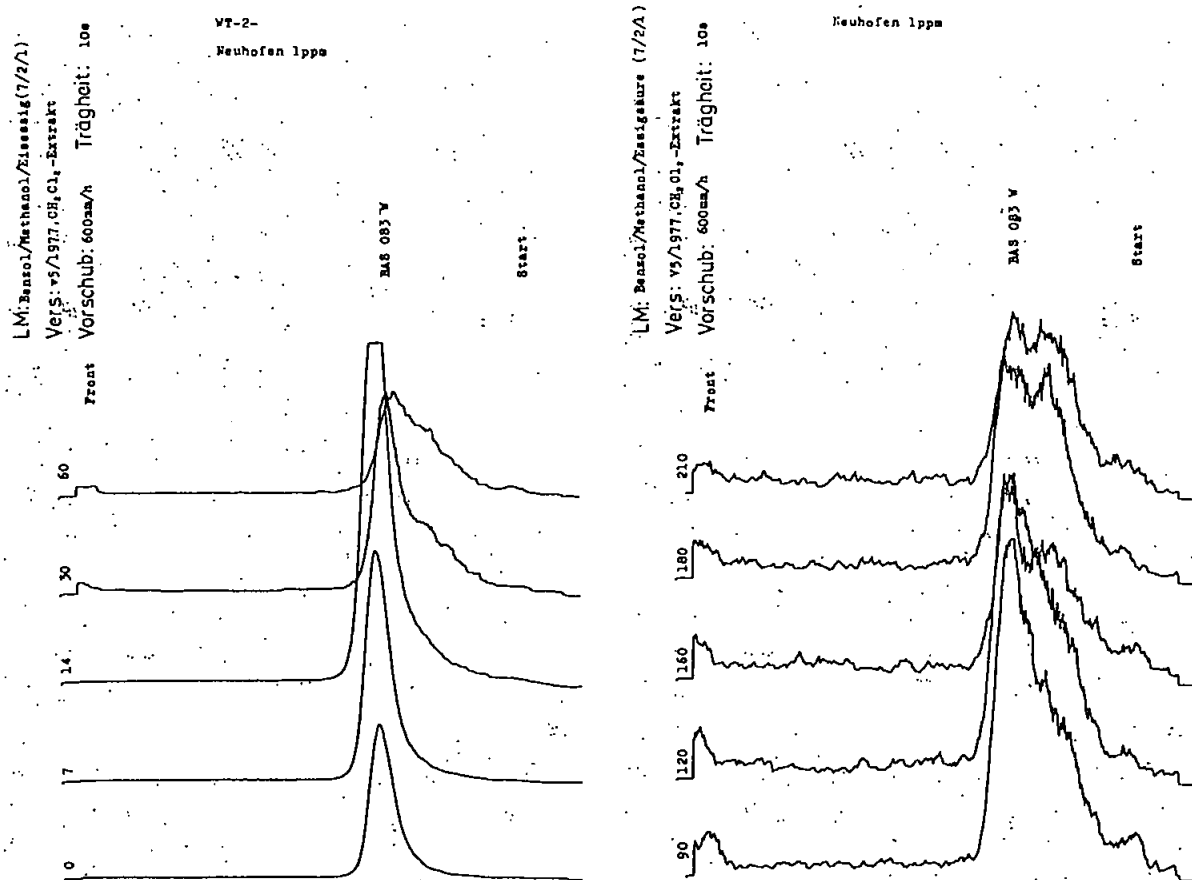


図 1. 好氣的条件下の Neuhofen 砂質壤土 (処理量 : 1ppm) における検体の分解に関するラジオ-TLC クロマトグラムの例

溶媒 :

(7/2/1)

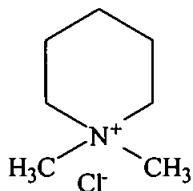
2) 好氣的/嫌氣的/滅菌好氣的土壤中動態試験

(資料 代-S2)

試験実施機関

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



*: 標識部位

化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度 :

比放射能 :

供試土壌: 下記特性の Neuhofen 壤質砂土

有機質 (%)	: 2.6
CEC (meq/100 g)	: 10
pH	: 6.8
見かけ比重 (g/cc)	: 1.4
土性 砂 (%)	: 83
シルト (%)	: 7
粘土 (%)	: 10

試験方法

処理土壌の調製: 風乾土壌 170g (水分 0.5~1%) を三角フラスコに秤取後、メタノール (1mL) に溶解した標識体 0.22mg を添加後、混合した。

好氣的土壌: 標識体処理土壌に蒸留水を加えて水が土壌に均質になるまで混合した (最大容水量の 40% 相当の 15.7%) 。

嫌氣的土壌: 標識体処理土壌に蒸留水を加えて約 1cm 湛水した。次いで、窒素ガスを通して嫌氣条件とした。

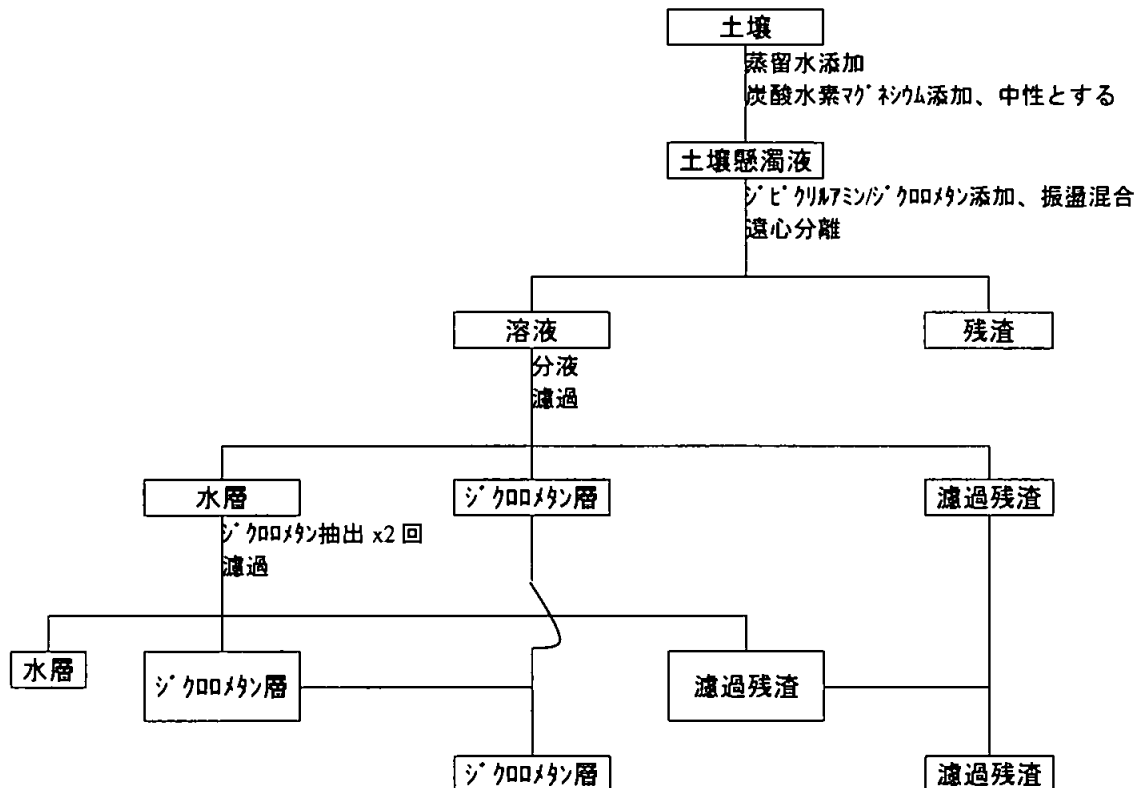
滅菌土壌: 土壌を秤取したフラスコを毎日 1 時間ずつ 3 日間連続オートクレーブ滅菌した。この土壌に標識体を添加し、滅菌蒸留水を添加して、所定の土壌水分とした。

土壌の保管条件: 上記の条件にした後、アルミホイルで包み暗条件とし、温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 、湿度 60% の室内で培養した。培養時土壌水分は必要により添加した。

試料採取時期: 処理 0、3、7、14、21、30 および 60 日後に採取した。なお、嫌氣的土壌は処理 0、30 および 60 日後に採取した。

土壤試料の分析：

抽出：メピコートクロリドはジピクリルアミンとの結合によりジクロロメタン可溶性の錯体を生成するので、有効成分は以下の様に抽出した。



放射能の計測：液体試料にはシンチレーションカクテルを添加後液体シンチレーションカウンター(LSC)で計測した。非抽出性土壤残渣は燃焼後発生した¹⁴C₂をシンチレーションカクテルに捕集し、LSCで計測した。

ジピクリルアミン/ジクロロメタンで抽出可能放射能の薄層クロマトグラフィー(TLC)による特徴付け：ジクロロメタン蒸発乾固し、残渣をジクロロメタンに再溶解し、TLC(シラン処理した KG60 F254)に適用し、(70/30/1)で展開した。

土壤微生物の検査：好氣的、嫌氣的および滅菌土壤の細菌、放線菌および糸状菌数を検査した。

試験結果：

添加放射能の消失：表1に、添加放射能(1.1ppm)の経時的消失および残留放射能の分布を示す。

好氣的土壤では処理60日後に残存放射能は43%であり、57%が消失した。嫌氣的土壤および滅菌土壤では消失は認められなかった。

ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出可能放射能は好氣的土壤では経時的に漸減し、処理60日後には20%(処理0日の抽出性放射能に対し)まで減少した。嫌氣的土壤で

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。

Mepiquat-Chloride

は抽出性放射能は好氣的土壤に比較して、僅かに減少した。滅菌好氣的土壤では減少はみられなかった。

ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出性画分の TLC 分析で未変化の親化合物のみ検出された (図 1)。

表 1. 放射能の経時的消失および放射能の分布 (ppm)

	処理後 日数	総残留 放射能 ^a	ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出性 ^b	水層	非抽出性 土壤残渣 ^c
好氣的 土壤	0 ^d	1.065	0.806	0.066	0.193
	3	1.164	0.909	0.036	0.219
	7	1.149	0.891	0.032	0.226
	14	0.958 (87)	0.707 (89)	0.033	0.218
	21	0.863 (78)	0.606 (75)	0.026	0.231
	30	0.754 (69)	0.456 (57)	0.035	0.263
	60	0.476 (43)	0.165 (20)	0.026	0.285
嫌氣的 土壤	0 ^d	1.107	0.813	0.078	0.216
	30	1.179	0.823	0.071	0.285
	60	1.119 (102)	0.724 (89)	0.026	0.369
滅菌好氣的 土壤	0 ^d	1.049	0.746	0.109	0.194
	3	1.098	0.841	0.061	0.196
	7	0.947	0.757	0.059	0.131
	14	1.020	0.768	0.053	0.199
	21	1.032	0.724	0.046	0.262
	30	1.120	0.757	0.076	0.287
	60	1.090 (99)	0.752 (101)	0.035	0.303

^a: ()内の数値は添加放射能 (1.1ppm) に対する残存比率%

^b: ()内の数値は処理 0 日の抽出可能放射能に対する残存比率%

^c: 土壤の生重量に換算

^d: 処理 2 時間後

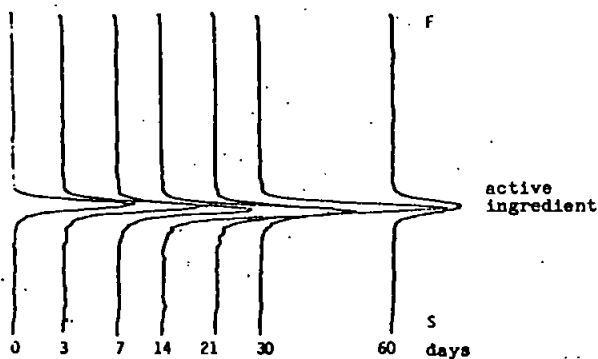


図 1. 好氣的土壤における検体の分解に関する TLC クロマトグラム

溶媒: (70/30/1)

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。

Mepiquat-Chloride

土壌微生物の検査：好気的および嫌氣的土壌中の細菌、放線菌および糸状菌数を検査した結果を表 2 に示す。

好氣的土壌では検体を通常使用量の 10 倍処理したが、微生物活性に悪影響はなく、検体は速やかに分解された。検体を添加後、一時的にグラム陰性菌の増加が認められ、これにより検体は代謝されている可能性がある。既実施の試験で検体は好氣的条件下で速やかに分解されており、このために、中間分解物が検出されなかったと考えられる。

以上の結果より通常使用量の 10 倍を処理した好氣的条件下では検体は速やかに分解し、処理 60 日後の残留放射能は添加量の 43% に減少した。同様に処理した嫌氣的土壌および滅菌土壌では検体の消失は認められなかった。抽出性放射性画分から分解物は検出されず、未変化の親化合物のみ検出された。

表 2. 土壌微生物の検査結果

土壌条件		処理後 日数	細菌数 $\times 10^6/g$ 土壌	グラム陰性菌の割 合%	糸状菌 $\times 10^4/g$ 土壌	放線菌 $\times 10^5/g$ 土 壌
好氣的 土壌	対照	0	15	10.36	4.8	5.5
		3	17	1.59	3.9	6.9
		7	24	7.89	4.7	4.1
		14	6.7	12.29	4.6	6.3
		21	14	6.54	5.3	4.0
		30	9.8	5.37	3.4	4.2
		60	13	5.08	3.8	5.0
	処理	0	15	11.53	3.3	6.2
		3	100	30.79	2.5	0.6
		7	58	33.51	50	5.7
		14	5.1	35.81	70	7.4
		21	9.0	16.91	64	7.5
		30	13	14.04	65	3.2
		60	13	6.90	45	0.2
嫌氣的 土壌	対照	0	15	8.69	4.0	5.3
		30	13	9.61	2.7	5.7
		60	13	3.22	1.2	3.1
	処理	0	11	14.11	2.3	6.6
		30	11	10.45	1.4	4.3
		60	21	25.53	7.2	0.6

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。

Mepiquat-Chloride

(資料 代-S3)

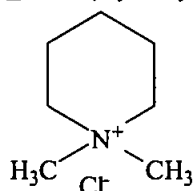
3) 好氣的土壤中動態試験

試験実施機関

[GLP 対応]

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



* : 標識部位

化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度 :

比放射能 :

供試土壌 : Holly spring, NC に所在する BASF コーポレーションの圃場試験現地施設から採取した土壌 (表層 0~6 インチ) を 2 mm の篩で篩過後使用した。土壌水分は圃場容水量の約 75 % に調整した。土壌の特性¹を下に示す。

土性分類	: 壤質砂土
有機質 (%)	: 1.6
CEC (meq/100 g)	: 4.8
pH	: 5.7
水分含量 (% , 1/3 bar)	: 7.8
かさ密度 (g/cc)	: 1.33
土性 砂 (%)	: 86
シルト (%)	: 4
粘土 (%)	: 10

試験条件 :

試験温度 : 25±1°C、暗所

試料の採取 : 試験開始直後、1、3、5、7、10、15 及び 30 日目

揮発性成分の捕集 : エチレングリコール (揮発性有機物質)、0.1N 硫酸 (塩基性揮発性物質) 及び 2N NaOH (二酸化炭素) を使用し、各土壌試料採取時に捕集液を採取した。インキュベーション期間が 3 日以上 of 土壌については捕集液を数回交換した。

¹ : Agvise Laboratories で分析

試験方法：

試験溶液の処理： ^{14}C -メピコートクロリドをアセトニトリルに溶解し、約 50g の土壌を入れた三角フラスコに土壌中濃度が 0.265 ppm になるように処理し、混合した。処理濃度は、最高処理量 0.25 lb/A の約 210 %に相当する。土壌の水分含量は、圃場容水量の約 75 %とし、1/3 bar の約 80%に相当する 6.67%であった。試験期間中土壌水分は調整しなかった。

土壌試料の抽出： 抽出スキーム図 1 に従って、抽出分画した。

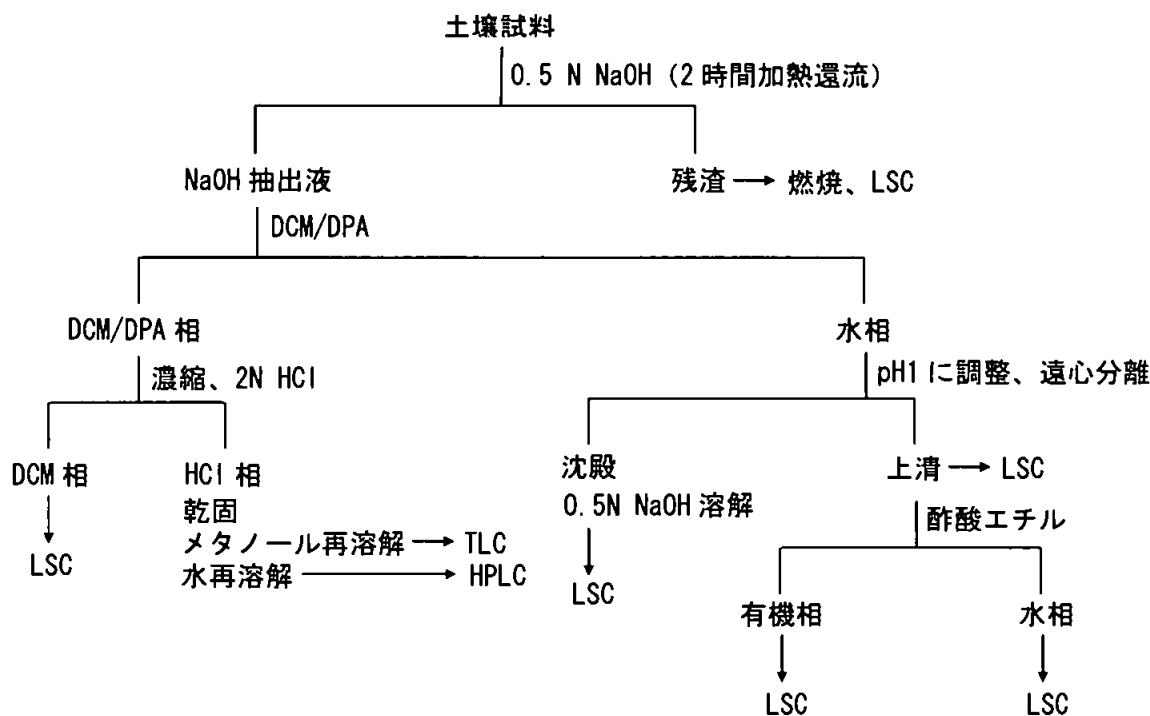


図 1 抽出スキーム

試料採取直後に各土壌試料の全量を、0.5N NaOH で加熱還流抽出した。NaOH 相は DCM/DPA (ジクロロメタン/ジピクリルアミン) により分配した。有機相 (DCM/DPA) は 2N HCl を用いて抽出し、HCl 相は乾固後メタノールに再溶解し、その一部を順層 TLC 分析に供した。メタノール溶液の一部は蒸発乾固後、水に溶解し、逆層 HPLC 分析に供した。DCM/DPA 分配後の水相は、濃塩酸で pH1 に調整後、遠心分離した。沈殿としてフミン酸を分離した。上清は酢酸エチルで抽出し、有機相及び水相 (フルボ酸) を得た。その沈殿を NaOH にて再溶解した。

放射能の分析： 各抽出液、揮発性物質捕集液等の液体試料は直接液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。抽出残渣等の固体試料は燃焼して発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集した後、液体試料と同様に放射能を計測した。

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。

Mepiquat-Chloride

NaOH 捕集液は、捕集されている放射能が二酸化炭素であることを確かめるため、一部を 5N 硫酸と反応させ、生成する放射能を計測した。また、一部を BaCl₂ と反応させ、上清に残存した放射能を計測した。

物質収支：NaOH 土壌抽出溶液、残渣及び揮発性物質捕集溶液に含まれる放射能を合計して算出した。総処理放射能 (TAR) は、処理溶液の放射能を計測して算出した。

親化合物及び代謝物の定量及び同定/特徴付：親化合物及び代謝物の定量及び特徴付は、シリカゲル 60 F254 プレートに DCM/DPA 分配後の HCl 相を細い線状に塗布し、(60/40/1) を用い、親化合物および代謝物 4-ヒドロキシ体の標品とともに次元展開した。しかし、これらは一緒に展開し、R_f 値が約 0.45 であったので、TLC では定量できなかった。

そこで、HPLC 分析 (カラム：逆相 C-18 PRP-1; 移動相 A: 含有 2mM、移動相 B: 含有 2mM) にて行った。親化合物の同定は、上記分析により得られた親化合物のピークを MS 分析に供して行った。

分解・減衰速度の推定：時間に対し親化合物の濃度をプロットした、Gastafson と Holden の曲線回帰分析を用いて算出した。

試験結果：

物質収支：表 1 に、投与放射能 (TAR) に対する割合 (%) 及び土壌に対する親化合物に換算した化合物濃度 (ppm) にて、物質収支及び抽出効率を示す。

物質収支は、試験期間を通し、96.2 ~ 105.2 % TAR であった。

揮発性物質：NaOH 捕集液中のすべての放射能は二酸化炭素で、試験経過とともに増加し、30 日後には 69.2 % TAR (0.183 ppm) が生成した。有機揮発性物質は 0.5 % TAR 以下であった。

抽出性および非抽出性放射能：抽出性残留放射能は試験開始時に 89.2 % TAR (0.24 ppm) が、30 日後には 23.8 % TAR (0.063 ppm) に減少した。非抽出性放射能は試験開始 0 から 3 日の間に、10 から 20 % TAR に増加し、次いで、試験開始 7 から 10 日の間に約 9% TAR に減少し、30 日後には 5.7 % TAR (0.017 ppm) に減少した。

代謝物の定量及び同定/特徴付：層の代謝物分析結果に関し、TAR に対する割合 (%) 及び親化合物に換算した化合物濃度 (ppm) を表 1 に示した。

メピコートクロリドは経時的に分解し、30 日後には 10.4 % TAR (0.028 ppm) まで減少した。主要代謝物は 30 日後に 69.2 % TAR (0.183 ppm) 生成した二酸化炭素であった。その他、Peak 1 が、最高で試験開始 7 日後に 1.6 % TAR (0.004 ppm) 生成し、30 日後には 1 % TAR 以下に減少した。この化合物は、HPLC 分析において、親化合物のが水酸化された化合物と同じ保持時間を示した。

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。

Mepiquat-Chloride

水溶性残留のフミン酸およびフルボ酸への分画：フミン酸に関連する残留は試験期間中

1%TAR 以下であった。フルボ酸に関連する残留は7~9%TAR、有機画分は2%TAR 以下であった。

半減期：親化合物の半減期 (DT50) は 4.24 日、90%消失期 (DT90) は 62.98 日であった。

以上の結果より、好氣的土壤条件下で親化合物は主要な残留であったが、速やかに分解して $^{14}\text{CO}_2$ を生成した。有機分解物として (2%TAR) が同定され、その他の有機分解物は極微量 (2%TAR 以下) であった。DT50 は 4.24 日、DT90 は 62.98 日であった。

表 1 物質収支、抽出効率及び代謝物の分析 (上段の数値は%TAR、括弧内の数値は親化合物換算濃度 ppm)

画分	経過日数							
	0	1	3	5	7	10	15	30
TAR (ppm)	0.265	0.265	0.265	0.265	0.265	0.265	0.265	0.265
NaOH	89.19 (0.236)	93.55 (0.248)	70.08 (0.186)	58.35 (0.155)	50.41 (0.134)	42.74 (0.113)	27.76 (0.074)	23.84 (0.063)
水相	2.95 (0.008)	13.06 (0.035)	3.32 (0.009)	6.08 (0.016)	8.89 (0.024)	11.98 (0.032)	9.67 (0.026)	9.85 (0.026)
フミン酸	-	-	-	-	-	0.78 (0.002)	0.98 (0.003)	0.86 (0.002)
フルボ酸	-	-	-	-	-	9.27 (0.025)	7.21 (0.019)	7.27 (0.019)
有機画分	-	-	-	-	-	1.93 (0.005)	1.48 (0.004)	1.71 (0.005)
	90.73 (0.240)	70.34 (0.186)	66.68 (0.177)	47.29 (0.125)	37.33 (0.099)	31.23 (0.083)	13.90 (0.037)	11.34 (0.030)
相	0.13 (0.000)	0.17 (0.000)	0.00 (0.000)	0.00 (0.000)	0.04 (0.000)	0.05 (0.000)	0.00 (0.000)	0.00 (0.000)
相	90.77 (0.241)	67.29 (0.178)	56.03 (0.148)	48.92 (0.130)	38.13 (0.101)	22.51 (0.060)	14.02 (0.037)	11.64 (0.031)
Peak1 ^{a)}	0.00 (0.000)	0.29 (0.001)	0.79 (0.002)	0.73 (0.002)	1.57 (0.004)	1.02 (0.003)	1.17 (0.003)	0.97 (0.003)
親化合物	89.07 (0.236)	65.62 (0.174)	54.26 (0.144)	46.93 (0.124)	35.73 (0.095)	21.30 (0.056)	12.56 (0.033)	10.43 (0.028)
その他	1.70 (0.005)	1.38 (0.004)	0.99 (0.003)	1.27 (0.003)	0.83 (0.002)	0.19 (0.001)	0.29 (0.001)	0.24 (0.001)
残渣	14.63 (0.042)	10.70 (0.031)	20.29 (0.060)	12.20 (0.036)	9.12 (0.026)	9.22 (0.027)	6.78 (0.020)	5.70 (0.017)
有機性揮発成分	0.00 (0.000)	0.04 (<0.001)	0.00 (0.000)	0.00 (0.000)	0.00 (0.000)	0.35 (0.001)	0.00 (0.000)	0.26 (0.001)
CO ₂	0.00 (0.000)	0.87 (0.002)	8.76 (0.023)	25.60 (0.068)	37.59 (0.100)	48.65 (0.129)	63.38 (0.168)	69.16 (0.183)
回収率	103.82 (0.278)	105.16 (0.281)	99.13 (0.269)	96.15 (0.259)	97.12 (0.260)	100.96 (0.270)	97.92 (0.262)	98.96 (0.264)

a) Peak1 は、HPLC 分析において親化合物の 4 位が水酸化された化合物()と同じ保持時間を持つ

- : 未分析

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。

Mepiquat-Chloride

図 2 にメピコートクロリドの推定代謝経路を示す。



図 2 推定代謝経路

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

Mepiquat-Chloride

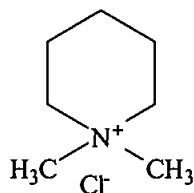
4) 土壌表面における光分解に関する試験

(資料 代-S4)

試験実施機関

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



*: 標識部位

化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度 :

比放射能 :

供試土壌 : 下記特性の Neuhofen 壤質砂土

有機質 (%)	: 2.6
CEC (meq/100 g)	: 10
pH	: 6.8
見かけ比重 (g/mL)	: 1.4
土性 砂 (%)	: 83
シルト (%)	: 7
粘土 (%)	: 10

試験方法

処理土壌の調製 : 少量の水に溶解した標識体を土壌 (Neuhofen 壤質砂土、土壌水分約 1%) に均一に添加し、次いで室温で乾燥した。

インキュベーションの条件:

試験温度 : 25°C以下

装置 : 共栓付 Duran-ガラス三角フラスコ

光条件 : 光源 : Osram HQLS 400 sunlamp

照度 : 土壌表面付近で平均 40000 ルクス

処理濃度 : 1ppm

揮発性物質の捕集 : 未実施 (予備試験で揮発性物質は生じなかったため、空気交換が自由にできるように開放条件とした)

試料採取 : 処理後 18 および 31 日 (照射および暗所対照試料を採取) に 10~30g の土壌を採取した。

反復数 : 1

分析方法：

総放射能の測定：照射試料および抽出液の放射能はシンチレーションカクテルを添加後 LSC で測定した。

放射性成分の抽出および同定：照射終了後、土壤に水を添加した後、ジピクリルアミン/ジクロロメタン、さらにジクロロメタンで抽出し、水層と有機層に分配した。有機層の溶媒を蒸発させたのち、シンチレーションカクテルを加え、放射能を SL30 で計測した。また、ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出液は直接ラジオ-TLC に供した。さらに、ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出液は 1N HCl で分配を 2 回繰り返し、有機層を蒸発乾固した後、残渣をメタノールに再溶解した。この一部を 0.1M クエン酸ナトリウム緩衝液にあらかじめ浸潤した電気泳動ペーパーに適用し、展開した。

試験結果：

土壤/抽出液中の放射能の収支について表 1 に示す。

光照射 31 日後および暗所試料の 1N HCl 抽出液中の放射能濃度から光照射による土壤表面上の検体に影響がなかったことは明らかである。ラジオ-TLC およびラジオペーパー電気泳動 (図 1) は、ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出液中に親化合物以外に分解物がないことを示している。

表 1. 土壤/抽出液中の放射能の収支 (濃度 ppm は親化合物当量)

試料番号	インキュベーション期間(日)	土壤中の総放射能 ^a		ジピクリルアミン/ジクロロメタン抽出液(A)		水層(B)		抽出残渣土壤(C)		1N HCl 抽出液		HCl 抽出後有機層	
		ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%
1	18(照射)	1.1914	100 ^b	1.1315	95	0.0044	0	0.0555	5	0.9048	76	0.0079	1
2	18(暗所)	1.1094	100 ^b	1.0709	97	0.0022	0	0.0363	3	0.9500	86	0.0043	0
3	31(照射)	1.0171	100	0.8806	82	0.0026	0	0.2645	25	0.8937	83	0.0277	3
4	31(暗所)	1.2212	100	0.9265	76	0.0024	0	0.0764	6	1.0313	84	0.0149	1

^a: 処理 0 日の値 : 1.0872ppm ^b: A+B+C

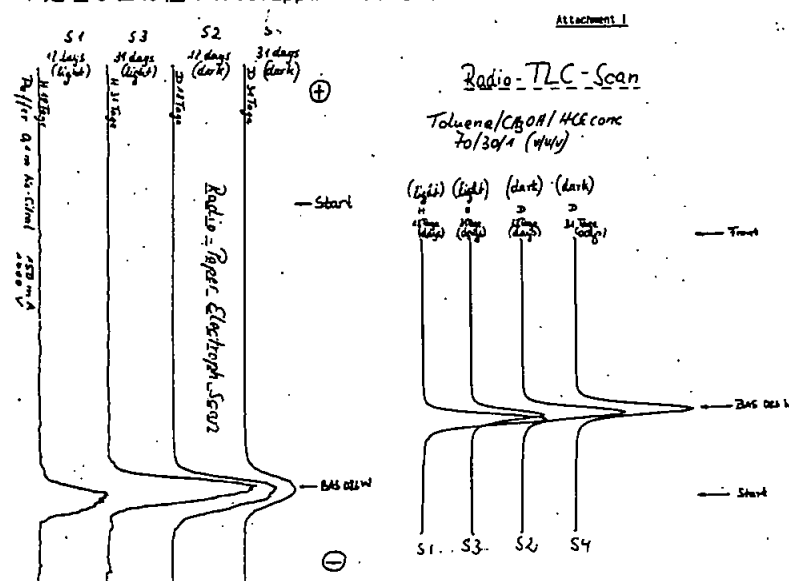


図 1. ペーパー電気泳動およびラジオ-TLC

以上の結果より、土壤表面上の検体は光により分解されないことが確認された。

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

Mepiquat-Chloride

5) 土壌における挙動 (カラムリーチング) 試験

(資料 代-S5)

試験実施機関

報告書作成年

目的 : 土壌中における検体の移動性に関する知見を得るために室内試験を行った。

実験方法 : BBA-Merkblatt No. 37 の要求に基づいて行った。

供試製剤および処理量 : 製剤を用いた。

処理量 : 0.075kg/ha (有効成分として)、1.786kg/ha (製剤として)

分析法の検出限界が $5 \mu\text{g}/\text{kg}$ であったので、本製剤の処理量は 5 倍量の 8.93kg/ha (有効成分 0.375kg/ha) とした。

供試土壌 : 土壌の特性を以下に示す。

土壌		LUFA 砂土 [2.1]*	Neuhofen 壤質砂土 [2.2] *	Hatzenbühl 砂壤土 [2.3]*	Pfungstadt 壤土
有機質%		0.5	2.6	1.12	0.7
粒径 $20 \mu\text{m}$ の%		5	17	22	34
pH		6.8	6.1	7.1	7.4
がけ交換容量 (mVal/100g)		3.7	10	8.6	13
見かけ比重 (g/mL)		1.4	1.4	1.13	1.3
粒径 分布%	砂 (2000-200 μ)	83	67	62	29
	砂 (200-20 μ)	12	16	16	37
	シルト (20-2 μ)	1	7	11	18
	粘土 (2μ)	4	10	11	16

* : BBA-Merkblatt No. 37 の表示

装置 : ガラスカラム ; 300 mm、内径 50 mm

ガラスフリット ; 内径 50 mm (カラム内に取り付け)

カラムの調整 : 篩を通した風乾土をカラムに充填し、水で飽和させ、用量を 223mL とした。

検体の処理 : 検体の水溶液 (1mL) を水飽和土壌カラム表面に処理した ($0.0735 \text{mg ai}/19.6 \text{cm}^2$)。

水による溶出 : カラムを調製直後に、脱イオン水 393mL (降雨 200 mm 相当) を加え、流速約 $0.1 \sim 0.2 \text{mL}/\text{分}$ で溶出した。

実験温度 : $22 \sim 26^\circ\text{C}$

製剤の定量 : *記載の残留分析法 (GC) で溶離液を分析した。検出限界は $5 \mu\text{g}/\text{L}$ であった。

* BAS 083 W Plant Growth Regulator, Temporary Tolerance and EUP for Cotton; Book 3A, Section D, Part II, Report DR-1

試験結果：

移動性測定の結果を次表に示す。検体の溶出（移動）は認められなかった。

土壌	採取溶出液 (mL/2 日)	採取溶出液あ たり検体 μg	処理量に対 する比率%
LUFA 砂土 [2. 1]	360	nd	0
Neuhofen 壤質砂度 [2. 2]	365	nd	0
Hatzenbuhl 砂壤土 [2. 3]	365	nd	0
Pfungstadt 壤土	370	nd	0

nd: 検出されず (<5ppb)

4. 水中動態に関する試験

4-1. 加水分解動態試験

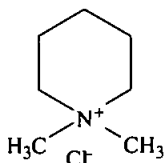
(資料 代-W1)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物：¹⁴C-メピコートクロリド



*：標識部位

化学名：1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度：

比放射能：

水溶解度：

緩衝液： pH 3、5、7 および 9 の緩衝液は、下記のように調製した緩衝液 200mL を共栓付ガラス製三角フラスコに入れ、121°C、15 分間滅菌した。

調製方法

pH3：フタル酸水素カリウム 6.13g + 水 2.25L、0.01M HCl で pH3 に調整

pH5：フタル酸水素カリウム 6.13g + 水 2.25L、0.01M NaOH で pH5 に調整

pH7：トリヒドロキシメチル-アミノメタン 3.63g + 水 1.5L、0.01M HCl で pH7 に調整

pH9：ホウ酸 1.86g + 水 2.25L、0.01M NaOH で pH9 に調整

試験溶液の調製：¹⁴C 標識体 112.84mg を蒸留水 25mL に溶解して 4.5136g/L の溶液を調製し、緩衝液で希釈して、10 mg/L () の試験溶液を調製した。

インキュベーションの条件：

試験温度：25±1°C

装置：インキュベーター

光条件：暗所

試料採取時点：処理直後(0日)、処理後2、5、9、16 および 30 日

反復数：1

分析方法：

総放射能の計測：各溶液を 2 点ずつ分取後、シンチレーションカクテルを添加後、LSC で放射能を計測した。

放射性成分の同定/特徴付：検体は pH7~9 の範囲で に溶解したヘキサニトロ

ジフェニルアミンと錯塩を生成し、に可溶性であることから、pH3 および 5 の溶液は pH8 に調整した。各分取試料を

で 3 回抽出し、有機層を乾固後、残渣をアセトンに溶解し、ラジオ-薄層クロマトグラフィー [プレート: シリカゲル G1500/LS254、溶媒:

(90/10/4)] で想定分解物の標品とともに展開した。また、ラジオ-HPLC (カラム: Zorbax SCX、移動相: 0.2%リン酸トリエチルアンモニウム水溶液) で標識検体とともに分析した。

試験結果:

試験溶液中の親化合物当量濃度 (mg/kg) を次表に試験溶液全量および分配による層および水層別に示す。

層の TLC および HPLC で親化合物の 1 ピークのみ検出された。25°C における pH3、5、7 および 9 の緩衝液中で親化合物は 30 日間安定であった。

残存放射能のほぼ全量が分配による層に検出され、水層中の放射能はごく少量であった。物質収支から揮発性物質の生成もなかったと考えられる。

経時的放射能濃度の推移 (mg/kg)

pH	経過日数	濃度	層	水層
3	0	9.89	9.99	0.03
	2	9.77	10.20	0.03
	5	9.78	10.00	0.04
	9	9.88	10.15	0.03
	16	9.93	10.05	0.03
	30	9.93	9.98	0.05
5	0	9.95	10.27	0.02
	2	9.90	10.09	0.05
	5	9.88	9.93	0.04
	9	9.88	10.03	0.03
	16	9.95	10.10	0.03
	30	9.92	10.20	0.05
7	0	10.03	10.10	0.03
	2	9.82	10.02	0.03
	5	10.01	9.95	0.03
	9	9.94	9.97	0.03
	16	9.97	10.08	0.04
	30	9.97	10.15	0.04
9	0	9.92	10.10	0.03
	2	9.95	10.08	0.03
	5	10.12	10.01	0.03
	9	9.98	10.12	0.03
	16	10.01	10.10	0.04
	30	10.65	10.36	0.04

以上の結果から検体は、25°C における pH3~9 の緩衝液中で、加水分解しないと判断される。

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

Mepiquat-Chloride

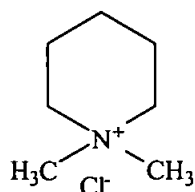
4-2-1. 水中光分解動態試験 (蒸留水)

(資料 代-W2)

試験実施機関

報告書作成年

供試標識化合物: ^{14}C -メピコートクロリド



* : 標識部位

化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度 :

比放射能 :

供試水 : 3 時間清浄空気を曝気した再蒸留水

検体は UV スペクトルから判るように光に対し反応しない。そこで、水中における検体の光反応に関する知見を得るために、光増感剤としてアセトンを使用した。

インキュベーション条件:

試験温度 : $20 \pm 2^\circ\text{C}$

装置 : 石英光照射装置

光条件 : 光源 : 高圧水銀灯 TQ150

照射波長 :

λ (nm)	TO 150 nachter Strahler		mit Tauchrohr DURAN 50	
	Strahlungsfluß Φ (W)	Molquanten pro Std. $\times 10^{-3}$	Strahlungsfluß Φ (W)	Molquanten pro Std. $\times 10^{-3}$
238/40	1,0	8	—	—
248	0,7	5	—	—
254	4,0	30	—	—
265	1,4	11	—	—
270	0,6	5	—	—
275	0,3	2	—	—
280	0,7	6	—	—
289	0,5	4	—	—
297	1,0	9	0,1	1
302	1,8	17	0,5	4
313	4,3	41	2,5	23
334	0,5	5	0,4	4
366	6,4	71	5,8	64
390	0,1	1	0,1	1
405/08	3,2	39	2,9	35
436	4,2	55	3,8	50
492	0,1	1	0,1	1
546	5,1	74	4,8	78
577/79	4,7	82	4,2	74

Strahlungsfluß Φ von 200–600 nm: 47 W

処理濃度 : 1.37ppm

(検体 362.3 μg を
水 260mL に溶解)

アセトン濃度 : 約
2%

揮発性物質の捕
集 : 未実施 (予備
試験で揮発性物質
は生じなかったの
で、空気交換が自
由にできるように
開放とした)

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。

Mepiquat-Chloride

試料の攪拌 : 照射試料はマグネチックスターラーで攪拌
試料採取 : 処理直後(0)、処理後 6、18、24 および 31 日
反復数 : 1

分析方法 :

総放射能の測定 : 照射試料および抽出液の放射能はシンチレーションカクテルを添加後 LSC で測定した。

放射性成分の抽出および同定 : 10%NaOH 溶液で照射溶液の pH を 11~13 に調整し、次いで、
で 3 回抽出し、水層と有機層に分配した。有機層の
成分はラジオ-薄層クロマトグラフィー (TLC) およびラジオ-ペーパー電気泳動で同定した。

TLC : 抽出液は濃縮後、アセトンに溶解し、シリカゲルプレートに塗布した。また、標識体
標品も塗布し、 (70/30/1) で同時に展開した。

ペーパー-高圧電気泳動 : 上記抽出液を 1N HCl で 2 回分配抽出を繰り返し、有機層を蒸発乾
固した後、残渣を に再溶解した。この一部を 0.1M クエン酸ナトリウム緩衝
液にあらかじめ浸潤した電気泳動ペーパーの中央部に適用し、展開した。

試験結果 :

物質収支 : 溶液中の供試標識化合物は 362.3 μg であった。物質収支は >97% であり、良好であった。

処理後経過日数	抽出液		水層の放射能	
	μg	%*	μg	%*
0	2.76	101	0.007	0.3
6	2.69	98	0.009	0.3
18	2.65	97	0.009	0.3
24	2.65	97	0.010	0.4
31	2.70	99	0.011	0.4

* : 分取量 (2mL) 中の検体の理論値 2.73 μg に基づく

揮発性物質 : 抽出液中の放射能がほぼ一定であることから揮発性物質は生成されなかったものと推定される。

ラジオ-TLC : TLC は親化合物のみ存在していた (図 1)。

ラジオ-ペーパー-高圧電気泳動 : TLC 同様に、親化合物のみ存在していた (図 2)。

以上の結果より、検体は光増感剤を用いた水中光分解試験で分解しないことを示している。

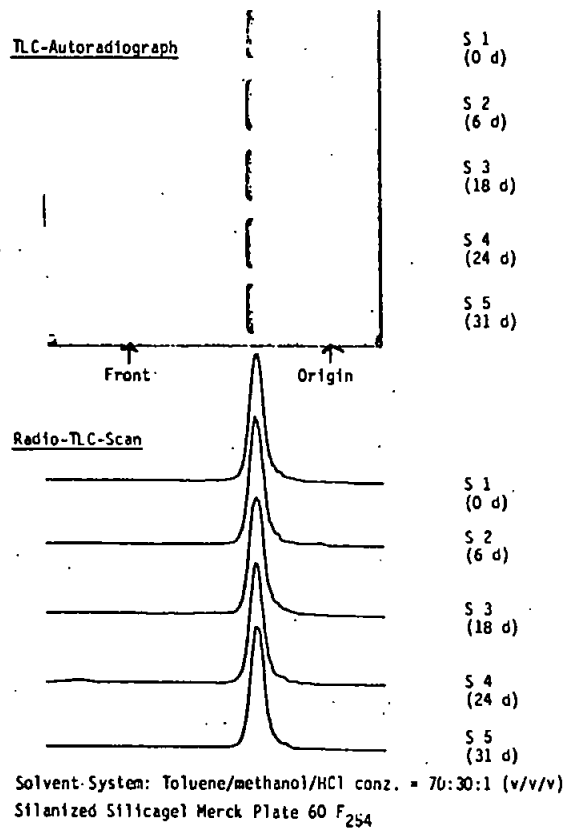


図 1. ラジオ-TLC S=試料、d=日 [例：S1(0d)=試料 1 (処理後 0 日)]

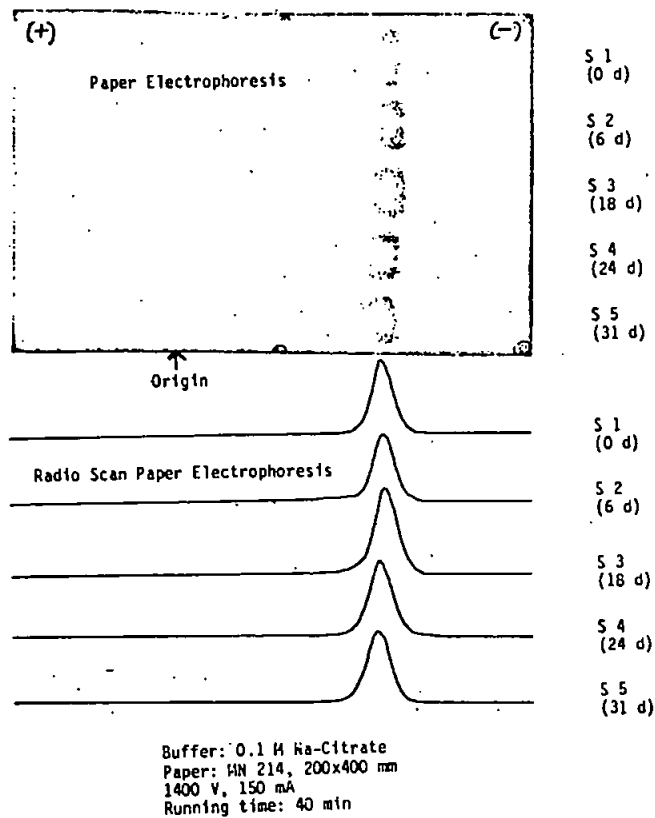


図 2. ラジオ-ペーパー電気泳動
S=試料、d=日 [例：S1(0d)=試料 1 (処理後 0 日)]

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。

Mepiquat-Chloride

4-2-2. 水中光分解動態試験（緩衝液）

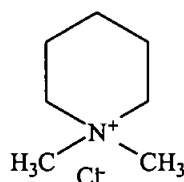
（資料 代-W3）

試験実施機関：

（GLP 対応）

報告書作成年：

供試標識化合物：¹⁴C-メピコートクロリド



*：標識部位

化学名：1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

放射化学的純度：

比放射能：

水溶解度：

供試水：石英製蒸留器で再蒸留し、Milli Q 水精製システムを通した水。

緩衝液：メピコートクロリドは pH5~9 で加水分解に対して安定であったので、緩衝液は pH7 として以下の様に調製し、2000mL に定容した。使用前に 121℃、20 分間滅菌した。

緩衝液 I, pH7 (0.01M)：トリス(ヒドロキシメチル) アミノメタン 2.42g+水 1000mL +0.01M HCl で pH を調整（光増感剤無添加用）

緩衝液 II, pH7 (0.01M)：リン酸一ナトリウム（一水和物）2.76g+水 1500mL+0.01M NaOH で pH を調整（光増感剤添加用）

インキュベーション条件：

反応容器：石英ガラスで密閉可能光照射用特殊容器

暗所対照は 250mL 容ガラス共栓付三角フラスコ

試験温度：25±1℃

装置：Suntest 光照射装置

光条件：光源：キセノンランプ

照度：80000 ルクス（Limburgerhof の晴天の照度：518.9W/m²）

照射波長：290nm 未満をカット

図 1（次頁）にスペクトルエネルギー分布および照度を示す。

処理濃度：光増感剤無添加緩衝液：20ppm（42816000dpm）

光増感剤添加緩衝液：10ppm（21408000dpm）

増感剤（アセトン）濃度：0.5%

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。

Mepiquat-Chloride

試料採取：処理直後(0)、処理後 2、4、5、9、10、15、18、19 および 23 又は 24 (光増感剤添加区) 日。光増感剤無添加区は処理後 5、10 および 19 日に 1 日中点灯しなかった。

反復数： 光増感剤無添加：2

光増感剤添加：3

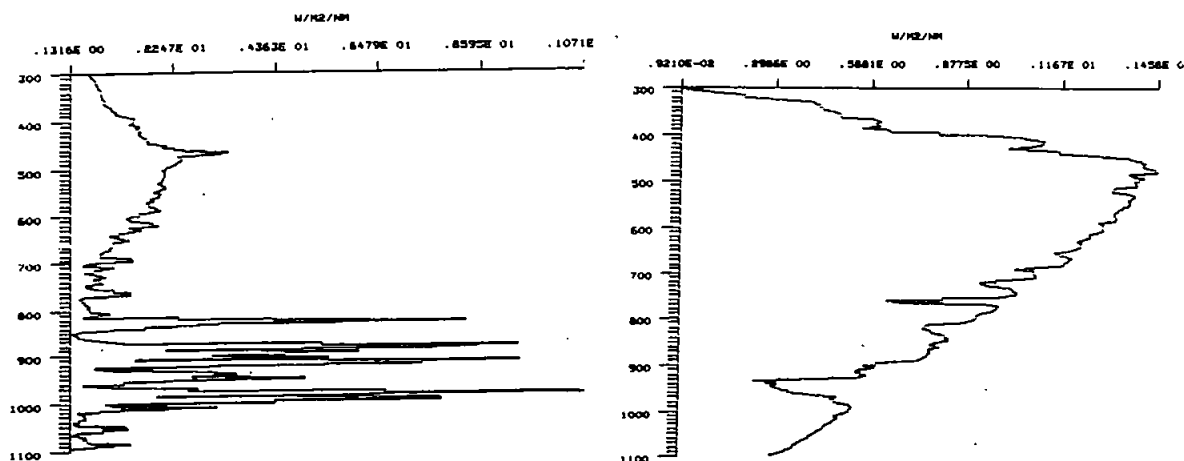


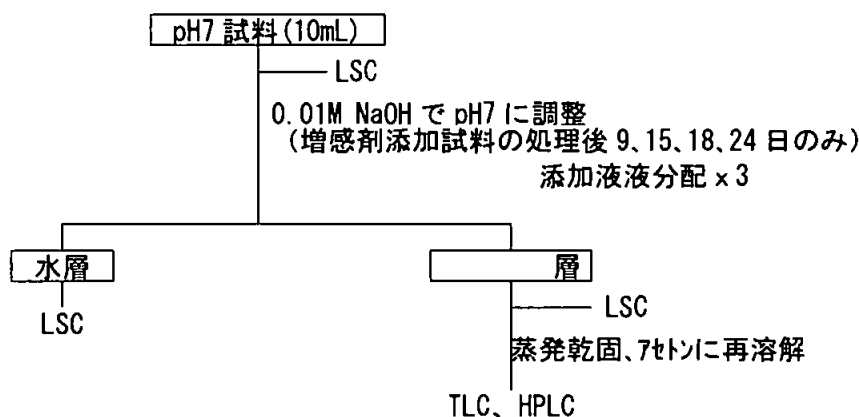
図 1. スペクトルエネルギー分布および照度

右：Limburgerhof, ドイツ 左：キセノンランプ

分析方法：

総放射能の測定：照射試料、捕集液および抽出液の放射能はシンチレーションカクテルを添加後 LSC で測定した。

放射性成分の抽出および同定：有効成分は pH7~9 の範囲で 中で
と 可溶性の錯体を生成する。増感剤添加試料の pH は不安定で実験中に 4.3 に低下した。これは蟻酸および/または酢酸が生成したためである。そこで、0.01N NaOH で元の pH に調整した。この錯体は 溶液中でのみ安定であり、
を除去、HCl のような無機酸あるいはシリカゲルのような吸着物質は錯体を元の成分に分解する。有効成分は以下の様に抽出した。



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。

Mepiquat-Chloride

ラジオ-薄層クロマトグラフィー (TLC) : シリカゲル TLC プレートに抽出液を線状に塗布した。また、非標識体標品も塗布し、 (90/10/4) で同時に展開した。

ラジオ-高速液体クロマトグラフィー (HPLC) : 有機層の定量および特徴付のために HPLC (カラム : Zorbax SCX、移動相 : 0.2%リン酸トリエチルアンモニウム蒸留水) で分析した。

試験結果 :

全ての結果は親化合物当量とし、添加放射能 (ITR) に対する割合 (%) は最初の添加量 (増感剤無添加区は 20mg/kg、増感剤添加区は 10mg/kg) に基づいて算出し、表 1 に示した。

抽出液および水層中放射能の合計として、試験期間中に増感剤無添加照射区で約 95.8%、増感剤添加区で約 90.5% が回収された。増感剤無添加および添加区ともほとんどの放射能が 抽出液中にあり、水層の放射能は 10% 以下 (増感剤添加区の処理後 24 日が最大で 9.6%) であった。また、揮発性物質は極微量 (0.0%) であった。

ラジオ-TLC およびラジオ-HPLC 分析では、親化合物以外の分解物は照射および暗所対照区とも検出されなかった。

以上の結果より、メピコートクロリドは増感剤無添加および添加に係らず水中光分解はほとんどなく、安定であった。

表 1. 各画分における放射能の経時的消失 (申請者が平均値として算出した)

試験区	処理後 日数	抽出液		水層		揮発性物質			
		mg/kg	% ITR	mg/kg	% ITR	mg/kg	% ITR	捕集液	
20ppm 区 (増感剤無 添加)	照射	0	19.787	98.9	0.034	0.2	-	-	
		2	19.985	99.9	0.057	0.3	0.0016	0.0	(1)
		4	19.548	97.8	0.072	0.4	0.0009	0.0	シンチレーショ ンカクテル
		9	19.978	99.9	0.148	0.8	0.0016	0.0	
		15	19.745	98.7	0.197	1.0	0.0021	0.0	
		18	19.295	96.5	0.221	1.2	0.0025	0.0	
		23	20.457	102.3	0.181	1.0	0.0140	0.0	(2)
	遮光	23	20.451	99.8	0.038	0.2	-	-	
10ppm 区 (増感剤添 加)	照射	0	9.972	99.8	0.021	0.2	-	-	
		2	10.266	102.7	0.183	1.9	0.0627	0.0	(3)
		4	9.793	97.9	0.325	3.3	0.0413	0.0	シンチレーショ ンカクテル
		9	9.583	95.7	0.469	4.7	0.0561	0.0	
		15	9.370	93.7	0.648	6.5	0.0698	0.0	
		18	9.139	91.9	0.786	7.9	0.0753	0.0	
		24	8.434	84.4	0.959	9.6	0.2583	0.0	(4)
	遮光	24	10.159	99.8	0.022	0.2	-	-	

(1) : シンチレーションカクテル、0.5M H₂SO₄ およびエチレングリコール捕集液の合計。それぞれ、0.0005mg/kg 含有。

(2) : シンチレーションカクテル、0.5M H₂SO₄ およびエチレングリコール捕集液の合計。それぞれ、0.0046、0.0047 および 0.0046mg/kg 含有。

(3) : シンチレーションカクテル、0.5M H₂SO₄ およびエチレングリコール捕集液の合計。それぞれ、0.0208、0.0210 および 0.0209mg/kg 含有。

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。

Mepiquat-Chloride

(4) : シンチレーションカクテル、0.5M H₂SO₄ およびエチレングリコール捕集液の合計。
それぞれ、0.0853、0.0871 および 0.0859mg/kg 含有。

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。

Mepiquat-Chloride

4-2-3. 水中光分解動態試験 (蒸留水/自然水)

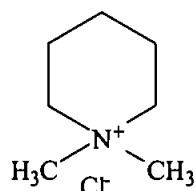
(資料 代-W4)

試験実施機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

被験物質 : ¹⁴C-メピコートクロリド



化学名 : 1,1-ジメチルピペリジニウム クロリド

純度 :

水溶解度 :

供試水 : 121°C、20 分間高圧蒸気滅菌した滅菌蒸留水および滅菌自然水 (神奈川県酒匂川支流の皆瀬川から採取) を用いた。供試水の特性は以下の通りであった。

検査項目	滅菌蒸留水		滅菌自然水	
	予備試験	本試験	予備試験	本試験
pH	5.84	5.82	6.73	6.34
電気伝導度 $\mu\text{S}/\text{cm}$	1.49	1.51	138	134
溶存酸素 mg/L	7.76	7.88	8.6	8.8
懸濁物質 mg/L	-	-	2	1
全蒸発残留物 mg/L	-	-	124	36

試験方法

装置 : サンテスト CPS+光照射装置、共栓付石英試験管

光条件 : 光源 ; キセノンランプ

照射波長 ; 290~800nm (290nm 以下をカットした)

照度 ; 平均 605 W/m² (300~800nm)

標準溶液の調製 : 被験物質を滅菌蒸留水および滅菌自然水に溶解して、次表の濃度とした。

試験水の実測濃度、pH および実験期間中の試験液の温度は次表の通りであった。

	試験水		mg/L		pH		試験液温度℃
			処理濃度	実測濃度	実験開始時	実験終了時	
予備試験	滅菌蒸留水		1.069	1.060	5.70	5.76	24.7~
	滅菌自然水		1.011	1.008	6.72	6.40	25.3
本試験	滅菌蒸留水	照射区	1.006	1.008	5.81	5.84	23.4~
		遮光区				5.79	24.8~ 25.1
	滅菌自然水	照射区	1.027	1.034	6.54	6.60	23.4~ 25.1
		遮光区				6.62	24.8~ 25.1

試料採取：予備試験；処理直後(0)、処理後3、29、96 および 120 時間

本試験；処理直後(0)、処理後3、24、48、72、96 および 120 時間

反復数：2

分析方法：試験溶液採取直後に滅菌蒸留水または滅菌自然水で希釈して、LC-MS で被験物質のみ測定した。

無菌性の確認：チオグリコール酸培地試験液を加え、7~8 日間培養し、嫌気性菌を含めた細菌の培養を行い無菌性の確認を行った。また、ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト培地で同様に培養し、好気性菌および真菌について無菌性の確認を行った。

試験結果：

予備試験結果：滅菌蒸留水および滅菌自然水中の被験物質の濃度は次表のとおりで、光照射による分解は認められなかった。

光照射時間	滅菌蒸留水濃度 (mg/L)	滅菌自然水濃度 (mg/L)
0	1.060	1.008
3	1.197	0.994
29	1.005	1.024
96	1.044	1.022
120	1.115	1.037

本試験結果：滅菌蒸留水および滅菌自然水中の被験物質の濃度は次表のとおりで、光照射による分解は認められなかった。また、遮光区の分解も認められなかった。

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

Mepiquat-Chloride

光照射/遮光時間				
	照射区	遮光区	照射区	遮光区
0	1.008		1.034	
3	1.025	0.984	1.047	1.049
24	1.011	1.023	1.038	1.046
48	1.016	1.005	1.035	1.054
72	1.050	1.042	1.006	1.012
96	1.025	1.025	1.021	1.028
120*	1.047	1.023	1.022	1.062

* : 120 時間の光照射は自然太陽光 [北緯 35 度 (東京) の春 (4~6 月)] に換算して 30.6 日に相当する。

無菌試験の結果、菌の発育は認められなかったので、無菌状態を維持していたことが確認された。

以上の結果より、検体は滅菌蒸留水および自然水中において、120 時間光照射 (東京の春季の 30.6 日に相当) しても分解せず、安定であった。

5. 土壌吸着性試験

(資料 代-S6)

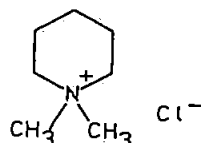
試験機関:

報告書作成年:

供試化合物: メピコートクロリド純品 >99%

化学名: 1,1'-ジメチルピペリジニウム=クロリド

化学構造式:



試薬及び装置:

塩化カルシウム (特級、0.01M 溶液)

ガラス容器は全てパイレックスガラス製

恒温振とう水槽: 大洋サービスセンター株式会社

TAIYO PLUS SHAKER + THERMO MINDER JR-100

遠心分離機: 国産遠心機 H-107

供試土壌: 供試土壌の特性を以下に示す。

試験土壌の特性

項目	I	II	III	IV
土壌採取場所 No.	11	13	15	20
土壌群名	—	細粒グライ土	灰色台地土	—
採取場所	十勝農試	石川農試	愛知農総試	日植防 宮崎試験農場
土性	埴壤土	軽埴土	砂質埴壤土	砂土
砂 (%)	57.1	53.1	68.0	87.1
シルト (%)	21.5	19.6	14.5	5.7
粘土 (%)	21.4	27.3	17.5	7.2
有機炭素含有率 (%)	2.56	1.02	0.76	1.50
pH H ₂ O	6.2	7.1	7.1	7.2
KCl	5.8	5.8	6.0	6.3
CEC (me/100g)	11.7	20.3	7.9	7.0
りん酸吸収係数	1330	720	290	660
粘土鉱物の種類	アロフェン パーミキュライト	モンモリロナイト カオリン鉱物	カオリン鉱物 イライト	アロフェン ハロイサイト
土壌水分含量 (%)	6.6	3.3	1.6	1.7

供試土壌のデータは(株)バリ・サーベイの測定による。

水分含量は日本食品分析センターの測定による。

試験溶液の調製

0.01M 塩化カルシウム溶液 200mL を 250mL のフラスコにとり、これにメピコートクロリド純品 55.0 mgを加え、25°Cの恒温槽で 16 時間攪拌したのちミリポアフィルターでろ過し水溶液を調製する。これを 0.01M 塩化カルシウム溶液で希釈し、29.85 µg/mL 溶液を調製する。これをさらに希釈して 14.00, 7.00 及び 3.50 µg/mL の溶液を調製する。

試験方法：

吸着平衡試験

あらかじめ 50 mL の共栓付遠沈管に各土壌 5g をはかりとり、純水 5mL を加えて密栓し室温で 24 時間放置し平衡化しておく。次に、上記で調製した 14.00 µg/mL の 0.01M 塩化カルシウム溶液 20mL を加えて共栓し、25±1°Cの恒温槽で攪拌する。4, 8 及び 16 時間後にそれぞれ取り出し、3000rpm で 20 分間遠心分離したのち、水相 20mL を分取し、分析に供する。試験は各土壌につき 2 回繰り返し行う。

平衡化時間は 16 時間であった。

吸着等温試験

あらかじめ 50 mL の共栓付遠沈管に各土壌 5g をはかりとり、純水 5mL を加えて密栓し室温で 24 時間放置し平衡化しておく。25±1°Cで 16 時間攪拌し吸着平衡化させる。終了後、懸濁液を 3000rpm で 20 分間遠心分離したのち水相を 20mL 分取し、試験物質の分析に供し水相濃度を求める。水相濃度と水分量から水相に存在する物質量を算出し添加量からこれを減じて、土壌吸着量を算出する。

同時に空試験として、各土壌に 0.01M 塩化カルシウム溶液を 20mL 加えたもの及び土壌なしで 29.85 µg/mL の 0.01M 塩化カルシウム溶液 20mL を加えたものを用意し同様に操作する。

結果：

メピコートクロリドの土壌吸着等温試験の結果及び物質収支の結果を以下に示す。

吸着等温試験結果

土壌番号	土性	吸着指数 1/n	吸着平衡定数 K_f^{ads}	相関係数 r	有機炭素含有量 OC%	有機炭素吸着係数 $K_f^{adsOC^*}$	土壌吸着率 %
11	埴壤土	0.972	1.71	0.94731	2.56	67	18
13	軽埴土	1.027	47.79	0.98524	1.02	4686	69
15	砂質埴壤土	0.953	5.49	0.98234	0.76	722	44
20	砂土	0.988	1.69	0.95201	1.50	113	25

$$*K_f^{adsOC} = K \times 100/OC\%$$

物質収支（回収率）

土壤 番号	土性	初期 添加量 μg	遠心管内 物質質量 μg	固相 水分中 物質質量 μg	プラトー 到着時 吸着量 μg	平衡 溶液中 物質質量 μg	不足量 μg	回収率 %	平均 回収率 %
11	埴壤土	280.0	90.0	38.35	51.65	192.35	36.00	87.1	87.5
			86.0	39.60	46.40	199.60	34.00	87.9	
13	軽埴土	280.0	200.0	4.55	195.45	24.55	60.00	78.6	77.5
			194.0	4.38	189.62	24.38	66.00	76.4	
15	砂質 埴壤土	280.0	154.0	28.55	125.45	150.55	4.00	98.6	97.1
			148.0	28.50	119.50	148.50	12.00	95.7	
20	砂土	280.0	108.0	39.59	68.41	205.59	6.00	97.9	97.1
			108.0	38.56	69.44	200.56	10.00	96.4	

各土壤の物質収支は 77.5%~97.1%の範囲にあった。

土壤への吸着率は 18~69%であった。

吸着平衡定数 K_f^{ads} は 1.69~47.79 で、その相関係数は 0.94731~0.98524 であり、水相濃度と吸着量の間で高い相関が見られた。

土壤の有機炭素含有率と吸着平衡定数との相関は相関係数 -0.42751 と低く、土壤吸着平衡定数 $K_f^{ads_{oc}}$ は -1209 であった。

その他土性との相関では CEC と相関が高く、その相関係数は 0.93018 であったが、粘土含量とは相関が低く、相関係数は 0.71788 であった。

供試土壤ブランクにはメピコートクロリドは検出されず、試薬のみのブランク回収は 90% であった。

代謝及び環境動態のまとめ

メピコートクロリドの哺乳動物、植物、土壌における代謝、分解の要約、経路図、は下記の通りであり、想定代謝経路図を代 57 頁に、代謝分解動態の概要を代 58 及び代 59 頁に示した。

動物（ラット雌雄）における吸収・排泄は早く、単回経口投与における低用量(1.2 mg/kg)・高用量(12mg/kg)群共、最大血中濃度は投与後 1 時間以内に認められ、大部分(70%以上)が 48 時間以内に主に尿を経由して排泄された。投与 168 時間までに尿中に 77~88%、糞中に 11~15%が排泄されたが、投与 24 時間までに胆汁への排泄が僅か(0.23~0.31%)であったため、糞中の化合物は未吸収のまま排泄されたものと考えられる。また、呼気への排泄は平均 0.2%で、ほぼ全群で投与量の 97%以上が回収された。体内への分布は速やかで、オートラジオグラフィーによると肝臓、腎臓および唾液腺に比較的高い放射能分布が認められたが、48 時間後までにほとんど放射能が検出されなくなった。また、連続投与によっても体内蓄積はなかった。尿、糞、胆汁および、各臓器内の残留放射能は全て親化合物のみであった。また、低用量(1.25 mg/kg)および高用量(12.08 mg/kg)を単回経口投与した試験では、投与 40 分(最高血中濃度時点)、6、24 および 48 時間後に体内分布を調査した結果、いずれの用量群においても吸収された放射能は体内の各臓器・組織から速やかに消失し、投与 24 時間後には初期濃度の 1%以下となった。また投与 40 分後の肝臓及び腎臓からは親化合物のみが検出され、代謝物は検出されなかった。従って、メピコートクロリドは動物体内において分解されることなく速やかに体外へ排泄されることが確認された。

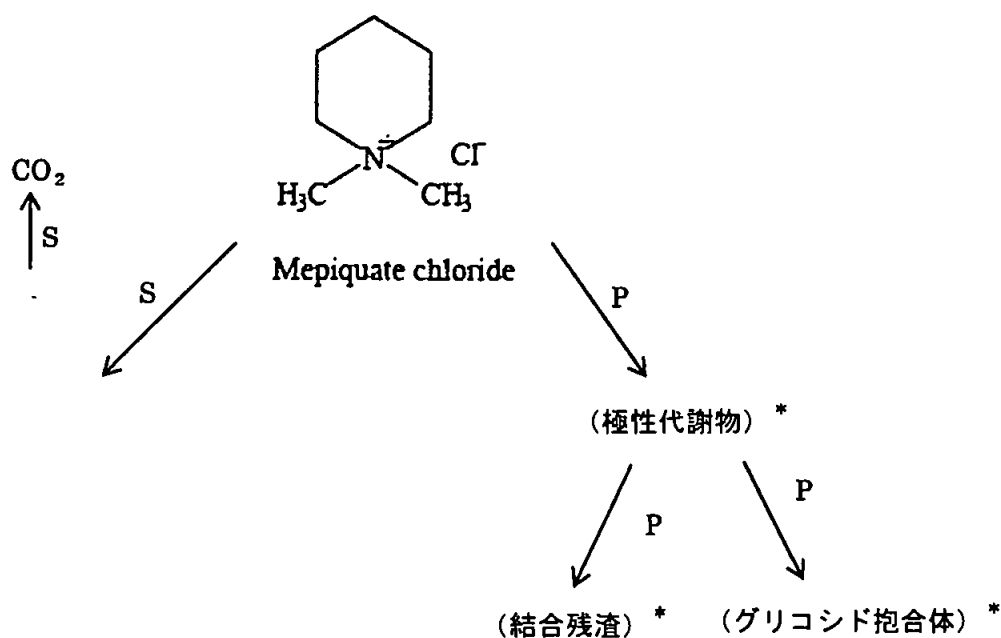
植物(棉およびぶどう)においては、開花期に処理すると、収穫期の棉子実には 3.58ppm、ぶどう果実に 1.06ppm(親化合物換算)の放射能が残留していたが、親化合物そのものであった。また、棉における放射能の減衰は遅く、根部やリントにも移行分布することが確認された。

土壌では、条件を変えて分解性を調査したが、好気条件において顕著な分解が起こり、嫌気条件および殺菌好気条件では、ほとんど分解しなかった。好気条件では、60 日後に土壌中放射能に 57~74%の減少があり、 $^{14}\text{CO}_2$ の発生が見られた。土壌微生物数は好気的条件下で増加が見られたが、他の条件では変動がなかった。また中間分解物が検出されなかったことから、メピコートクロリドは微生物によって、速やかに CO_2 へ分解されるものと考えられる。また、別の好気土壌代謝試験では、30 日間の試験期間において親化合物が 10.43%TAR に減少し、69.16%TAR の CO_2 が確認された。唯一、

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。

Mepiquat-Chloride

が最大で 1.57% TAR 確認された（7 日後）。水中および土壌表面での光分解試験を行ったが、どちらにおいても分解物は認められなかった。また、土性の異なる土壌カラムリーチング試験を実施したが、降雨 200mm 相当の水で溶出させてもメピコートクロリドは土壌から溶脱しなかった。従って、メピコートクロリドは土壌に吸着され、移動性が少ないことが確認された。



動物、土壌、水中におけるメピコートクロリドの想定代謝経路図

A: 動物体内、P 植物体内、S: 土壌中、W: 水中

*: 推定経路

(備考: 動物、植物、及び水中においては、親化合物のみ確認され、代謝・分解物は確認されなかった。)

代謝分解動態の概要（動物、植物、土壌、水中）

試験の種類	処理量 (gai/10a)	試験条件 (試料)	処理後期間	単位	A (親化合物)	B	未同定	抽出物 合計	非抽出 残渣	有機性 揮発成分	CO ₂	合計	
ラット (A1, 2)	♂1.24 mg/kg+	尿	0-168 時間	%	85.91	-	-	-	-	-	-	85.91	
		糞		%	14.98	-	-	-	-	-	-	14.98	
		組織		%	0.05	-	-	-	-	-	-	0.05	
		総合計		%	100.9	-	-	-	-	-	-	100.9	
	♀1.23 mg/kg+	尿	0-168 時間	%	87.53	-	-	-	-	-	-	-	87.53
		糞		%	10.57	-	-	-	-	-	-	10.57	
		組織		%	0.16	-	-	-	-	-	-	0.16	
		総合計		%	98.25	-	-	-	-	-	-	98.25	
	♂12.5 mg/kg+	尿	0-168 時間	%	77.28	-	-	-	-	-	-	-	77.28
		糞		%	14.73	-	-	-	-	-	-	14.73	
		組織		%	0.04	-	-	-	-	-	-	0.04	
		総合計		%	92.05	-	-	-	-	-	-	92.05	
	♀12.0 mg/kg+	尿	0-168 時間	%	84.26	-	-	-	-	-	-	-	84.26
		糞		%	13.27	-	-	-	-	-	-	13.27	
		組織		%	0.10	-	-	-	-	-	-	0.10	
		総合計		%	97.82	-	-	-	-	-	-	97.82	
ラット (A3)	♂1.2 mg/kg+	腎臓	40分 後	%	10.15	-	-	10.47	-	-	-	10.47	
		肝臓		%	3.85	-	-	4.00	-	-	-	4.00	
	♀1.2 mg/kg+	腎臓		%	4.83	-	-	5.53	-	-	-	5.53	
		肝臓		%	1.39++	-	-	1.39	-	-	-	1.39	
	♂12 mg/kg+	腎臓		%	6.57	-	-	7.24	-	-	-	7.24	
		肝臓		%	1.79	-	-	1.82	-	-	-	1.82	
	♀12 mg/kg+	腎臓		%	4.78	-	-	4.98	-	-	-	4.98	
		肝臓		%	0.97	-	-	1.04	-	-	-	1.04	
棉 (子実)	7.4	全面噴霧処理	80日	%TRR	89.9	-	-	89.9	6.9	-	-	96.8	
				ppm [#]	3.32	-	-	3.32	0.26	-	-	3.58	
ぶどう (果実)	約112	2回散布	98日	%TRR	95.8	-	-	95.8	4.2	-	-	100	
				ppm [#]	1.02	-	-	1.02	0.04	-	-	1.06*	
好気土壌 (壤質砂土)	1.1ppm**	均一混和 (20°C, 遮光)	0日	%TAR	79	-	-	79	18	-	-	97	
				ppm	0.872	-	-	0.872	0.193	-	-	1.065	
			30日	%TAR	45	-	-	45	24	-	-	69	
				ppm	0.491	-	-	0.491	0.263	-	-	0.754	
			60日	%TAR	17	-	-	17	26	-	-	43	
				ppm	0.191	-	-	0.191	0.285	-	-	0.476	

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。

Mepiquat-Chloride

試験の種類	処理量 (gai/10a)	試験条件 (試料)	処理後期間	単位	A (親化合物)	B	未同定	抽出物 合計	非抽出 残渣	有機性 揮発成分	CO ₂	合計
嫌気土壌 (壤質砂土)	1.1ppm**	均一混和 (20°C, 遮光)	0日	%TAR	81	-	-	81	20	-	-	101
				ppm	0.891	-	-	0.891	0.216	-	-	1.107
			30日	%TAR	81	-	-	81	26	-	-	107
				ppm	0.894	-	-	0.894	0.285	-	-	1.179
			60日	%TAR	68	-	-	68	34	-	-	102
				ppm	0.750	-	-	0.750	0.369	-	-	1.119
滅菌好気土壌 (壤質砂土)	1.1ppm**	均一混和 (20°C, 遮光)	0日	%TAR	78	-	-	78	18	-	-	95
				ppm	0.855	-	-	0.855	0.194	-	-	1.049
			30日	%TAR	76	-	-	76	26	-	-	102
				ppm	0.833	-	-	0.833	0.287	-	-	1.120
			60日	%TAR	72	-	-	72	28	-	-	99
				ppm	0.787	-	-	0.787	0.303	-	-	1.090
好気土壌 (壤質砂土)	0.265 ppm***	均一混和 (25°C, 遮光)	0日	%TAR	89.07	0.00	4.78	1.70	14.63	0.00	0.00	103.82
				ppm	0.236	0.00	0.013	0.005	0.042	0.00	0.00	0.278
			7日	%TAR	35.73	1.57	9.76	0.83	9.12	0.00	37.59	97.12
				ppm	0.095	0.004	0.026	0.002	0.026	0.00	0.100	0.260
			30日	%TAR	10.43	0.97	10.09	0.24	5.70	0.26	69.16	98.96
				ppm	0.028	0.003	0.027	0.001	0.017	0.001	0.183	0.264
水中光分解	20ppm 光増感 剤無添加	照射区	0日	%	98.9	-	0.2	99.1	-	-	-	99.1
				ppm	19.79	-	0.034	19.82	-	-	-	19.82
			23日	%	102.3	-	1.0	103.3	-	0.0	-	103.3
		ppm		20.46	-	0.181	20.64	-	0.014	-	20.65	
		遮光区	23日	%	99.8	-	0.2	100.0	-	-	-	100.0
				ppm	20.45	-	0.038	20.49	-	-	-	20.49
	10ppm 光増感 剤添加		照射区	0日	%	99.8	-	0.2	100.0	-	-	-
		ppm			9.972	-	0.021	9.993	-	-	-	9.993
		24日	%	84.4	-	9.6	94.0	-	0.0	-	94.0	
	ppm		8.434	-	0.959	9.393	-	0.258	-	9.651		
	遮光区	24日	%	99.8	-	0.2	100.0	-	-	-	100.0	
			ppm	10.16	-	0.022	10.18	-	-	-	10.18	

+ : 単回経口投与

++ : 計算上は1.40であるが、ここでは1.39とした。

* : 親化合物換算値

** : 風乾土壌 170g に標識体 0.22mg を添加後均一とした。

*** : 最高処理量(0.25 lb/A)の210%

: 申請者による算出結果

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。
Mepiquat-Chloride

開 発 年 表

化合物の
選 抜

特 許

登録状況

物理的
化学的
性 質

魚介類等
に及ぼす
影 響

薬 量
残 留

用 物
適 作

性 毒

代 耐