

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑬繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

ラットを用いた繁殖試験

[資料 No. 17]

試験機関：ロム・アント・ハース・カンパニー（米国）

[GLP対応]

報告書作成年：1997年

検体純度： %

試験動物：Cr1:CD(SD)BR系ラット（試験開始時約6～7週齢、体重：雄 246～249g、雌 160～161g）、1群雌雄各30匹

投与期間：P世代；投与開始からF1児離乳後親動物屠殺時までの20～21週間
F1世代；離乳時からF2児離乳後親動物屠殺時までの約23週間
（1995年2月15日～1995年12月1日）

投与方法：検体を0、200、2,000及び20,000ppmの濃度で混入した飼料を自由に摂取させた。

方法及び試験項目： 概要を表1にまとめた。

一般状態及び死亡率； 一般状態及び生死を毎日観察した。また、週1回詳細な身体検査を行った。

体重； 雄については投与期間中毎週測定した。雌については生育期間中は毎週、妊娠期間中及び哺育期間中はそれぞれ妊娠及び哺育 0、7、14及び21日に測定した。

摂餌量； 雄については生育期間中毎週測定した。雌については生育期間中は毎週、妊娠期間中及び哺育期間中はそれぞれ妊娠及び哺育 0、7、14及び21日に測定した。

検体摂取量； 体重、摂餌量及び飼料中の検体濃度から、1日当たりの平均検体摂取量を算出した。

交配及び妊娠の確認； 交配は雌の発情を膣洗浄液の細胞学的検査で確認し、同一群の雌雄を1:1で同居させて行った。翌日膣栓及び膣洗浄液中の精子の有無により交尾を確認した。膣栓の確認された日を妊娠0日した。

繁殖性に関する指標； 分娩日に、各腹について出産児数、生存産児数、死産児数及び性別を検査した。また、児動物については一般状態を毎日観察し、哺育0、7、14及び21日に外表異常の観察、性別の確認を行い、体重を測定した。哺育4日目に、同腹児数を8匹（可能な限り、雌雄各4匹を無作為に選抜）に調整した。同腹児数が8匹に満たない場合は、児動物数の調整を行わなかった。余分な児動物は屠殺した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

交配、妊娠、出産及び哺育期間中の観察に基づき、以下の指標を算出した。

雄の交尾率(%) = 交尾雄動物数 / 交配させた雄動物数 × 100

雌の交尾率(%) = 交尾雌動物数 / 交配させた雌動物数 × 100

雄の授胎率(%) = 雌を妊娠させた雄動物数 / 交尾雄動物数 × 100

雌の受胎率(%) = 妊娠した雌動物数 / 交尾雌動物数 × 100

出産率(%) = 生存児を出産した雌動物数 / 妊娠雌動物数 × 100

性比(%) = 生存雄児動物数 / 生存児動物数 × 100

生存産児率(%) = 出産時生存児数 / 総出産児数 × 100

哺育4日生存率(%) = 生後4日目の生存児数(同腹児数調整前)
/ 出産時生存児数 × 100

離乳時生存率(%) = 生後21日目の生存児数 / 生後4日目の生存児数
(同腹児数調整後) × 100

児動物の性成熟及び発育； 継代用に選抜したF1児動物及びF2雌児動物（腹あたり1匹を無作為に選抜）を対象に、雄は35日齢から包皮の開裂を、雌は28日齢から膣開口を毎日観察した。また、F2児動物を対象に産後0日目に性泌尿器距離を測定し、性分化を評価した。

精子の評価； 全てのP1及びP2世代の雄動物を対象に、計画屠殺時に精巣上体尾から精子を採取し、運動性精子率及び精子の形態を評価するとともに、精巣上体尾の総精子数(貯蔵精子数)及び精巣の精細胞数を測定した。

臓器重量； 親動物(P1及びP2)の子宮、卵巣、精巣、精巣上体(全体及び尾)、精囊(凝固腺及び内容液を含む)、前立腺及び肝の重量を測定し、体重比を算出した。

肉眼的病理検査； 死亡児動物、生後4日目に屠殺した児動物、F2親動物として選抜されなかったF1離乳児及びF2世代動物について胸腔及び腹腔の異常を肉眼的に検査した。全親動物を対象に完全な肉眼的病理検査を行った。

病理組織学的検査； 対照群及び20,000ppm群のP1及びP2動物ならびに途中死亡または切迫屠殺した全動物を対象とし、膣、子宮及び子宮頸管、卵巣及び輸卵管、精巣、精巣上体、精囊及び凝固腺、前立腺、下垂体及び肝について病理標本作製し、鏡検した。その他の投与群の全親動物についても、投与に関連した変化が認められた組織及び肉眼的異常が認められた全ての組織の病理組織学的検査を行った。さらに、200及び2,000ppm群の受精能の減少が疑われる全動物を対象に生殖器官の検査を行った。

統計学的分析；

* Fisherの直接確率法

妊娠率、親動物死亡率、吸収胚を有する動物数

* 分散分析後Dunnnett検定

親動物体重、摂餌量、児動物体重、臓器重量、発情周期、膈開口、
着床数、着床後損失

* Mann WhitneyのU検定後Fisherの直接確率法

結 果：

親動物；概要を表2に示す。

一般状態及び死亡率； いずれの濃度でも、投与に関連した死亡及び全身毒性を示唆する一般状態の変化は認められなかった。

体重変化； 20,000ppm群P1世代の雄で、投与開始後8週時から投与終了時まで体重及び体重増加量に投与に関連した有意な減少が認められたが、その他の用量及び世代では雌雄とも投与に関連した影響は認められなかった。

2,000及び20,000ppm群P1世代雌で妊娠14日に、全投与群P1世代雌で妊娠21日に、20,000ppm群P1世代雌で哺育14日に有意な体重の増加が認められたが、偶発的なものと考えられた。

摂餌量； いずれの用量でも、両世代の雌雄の摂餌量に検体投与に関連した影響は認められなかった。

発情周期に対する影響； P1及びP2世代とも、いずれの用量でも発情周期に対して検体投与による影響は認められなかった。

精子評価； P1及びP2世代のいずれの投与群でも、運動性精子率、副睾丸中の精子数及び濃度、精巣の精細胞数及び濃度に検体投与による影響は認められなかった。

繁殖性に関する指標； いずれの世代においても、繁殖性に関する指標には投与に関連した影響は認められなかった。20,000ppm群P1世代でみられた死産児を有する腹数及び死産児数の増加は、対照群での死産児を有する腹数及び死産児数が0と異常に低かったこと並びにP2世代の対照群と同等であったことより、検体投与に起因したものではないと考えられた。

臓器重量； 2,000ppm群P1世代の雄で肝の相対重量に投与に関連した増加が認められた。また、20,000ppm群P1及びP2世代の雌雄で、肝の絶対重量及び相対重量の増加が認められた。

肉眼的病理検査；両世代の雌雄とも、いずれの用量でも異常は認められなかった。

病理組織学的検査； 投与に関連した変化として、2,000及び20,000ppm群P1及びP2世代の雌動物ならびに20,000ppm群P1及びP2世代の雄動物で、肝の門脈周

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

囲から中心領域にかけて肝細胞肥大が認められた。20,000ppm群P1世代の雌ではクッパー細胞に軽度な色素沈着が認められ、20,000ppm群P2世代の雄では肥大した肝細胞に空胞化が認められた。その他の検査組織では、異常は認められなかった。

児動物； 概要を表3に示す。

一般状態及び死亡率； 検体投与に起因すると思われる一般状態の変化は認められなかった。児動物の生存率にも、投与に関連した影響は認められなかった。

体重； いずれの世代及び用量でも、動物の生育に対する影響は認められなかった。

性比； 20,000ppm群F2世代では、哺育0日の性比(全胎児に対する雄胎児の割合)に統計学的に有意な減少が認められたが、

- 1) 20,000ppm群F2世代の性比はF1世代対照群の性比と差が見られず、F2世代対照群の性比が異常に高かった
- 2) 子宮内で雄胎児に特異的な致死作用が認められない(すなわち、腹当り産児数の減少なし)
- 3) 雄児動物の雌性化を示唆する証拠が認められない(すなわち、排泄性器距離に対する影響なし)

ことから、偶発的な変化であると考えられた。

性成熟； 20,000ppm群F1世代の雌で膈開口時期に軽度ではあるが、統計学的に有意な遅延が認められた以外、両世代の雌児動物で性成熟に対する影響は認められなかった。F2世代では20,000ppm群でも膈開口に統計学的に有意な変化が認められず、性分化にはF2世代の雌雄とも投与に関連した影響が認められなかった。またP2世代の雌にも、そのほかには繁殖に対する影響を示唆する変化は認められず、いずれの用量でも繁殖能または児動物の発育に対する悪影響が認められなかったので、20,000ppm群のF1世代の雌のみで認められた膈開口の遅延は偶発的な変化であり、繁殖に対する悪影響ではないと考えられる。2,000ppm群F2世代の雌で性泌尿器距離に統計学的な有意差が認められたが、用量増との関連がないことから検体投与によるものとは考えられなかった。

以上の結果、メトキシフェノジドをラットに2世代にわたって摂食させた影響として、親動物において2,000ppm及び20,000ppmで肝に対する影響が認められた。児動物に対しては、20,000ppmでも投与に関連した影響が認められなかった。最高用量の20,000ppmでも繁殖能力には影響が認められなかった。

したがって、親動物に対する無毒性量は、200ppm(雄;15.4mg/kg/日、雌;17.9mg/kg/日)であると考えられる。また、繁殖性についての無毒性量は20,000ppm(雄;1,552mg/kg/日、雌;1,821mg/kg/日)と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(-

(-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑯ 催奇形性

ラットを用いた催奇形性試験

[資料 No. 18]

試験機関：Argus Research Lab. (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体純度： %

試験動物：Crl:CD BR VAF/Plus® (Sprague-Dawley由来) 妊娠ラット
(試験開始時約2カ月齢、体重;239-241g) 1群25匹

試験期間：1992年6月23日～1992年7月15日

投与期間10日間 (妊娠6日～15日)

投与方法： 検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、100、300及び1,000mg/kgの用量を、妊娠6日目から15日目までの10日間、10ml/kgの容量で毎日1回強制経口投与した。対照群には、0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。なお、雌雄1:1で同居させ、臍栓または臍垢塗抹検査で精子の認められた日を妊娠0日とした。

試験項目：

母動物；生死及び一般状態を妊娠6日目から毎日観察し、妊娠0日及び妊娠6日目以降帝王切開時まで毎日体重及び摂餌量を測定した。妊娠20日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数及び部位、早期及び後期吸収胚数、生存及び死亡胎児数を調べた。

生存胎児；体重を測定し、性別を判定し、外表異常の有無を検査した。各同腹児の約1/2について内臓異常の有無を検査し、残りの胎児は骨格標本作製し、骨格異常の有無を検査した。

統計学的分析；

* Bartlett検定及び分散分析後Dunnnett検定

母体重、体重変化、摂餌量、平均胎児体重、雄胎児率、異常を有する胎児率、胎児の化骨部位

* Kruskal-Wallis検定

着床数、平均黄体数、同腹児数、生存胎児数、吸収胚数、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結果：概要を次頁の表に示す。

母動物の毒性；各群とも検体投与によると思われる死亡例及び一般状態の異常は認められなかった。最高投与量の1,000mg/kgでも、母体重、体重変化、摂餌量に投与に関連した変化は認められなかった。

肉眼的病理検査で対照群2匹及び1,000ppm群1匹に腎盂拡張が認められたが、この変化はこの系統のラットで一般的にみられる変化であること及び発現頻度に用量増との関連が認められないことから、検体投与に関連した変化は考えられなかった。

胚・胎児毒性；いずれの投与群でも、平均黄体数、腹あたり着床数、同腹児数及び吸収胚数にも投与に関連した影響は認められなかった。胎児動物の体重、生存及び死亡胎児数、性比に投与に関連した影響は認められなかった。

奇形・変異；外表観察、内臓及び骨格検査において奇形及び変異の種類又は発現頻度に投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ラットに投与した場合の母動物及び発育毒性における無毒性量は、1,000mg/kg/日以上であると考えられる。

また、最高投与量の1,000mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(

(

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑩催奇形性

ウサギを用いた催奇形性試験

[資料 No. 19]

試験機関：ロム・アント・ハース・カンパニー（米国）

[GLP対応]

報告書作成年：1997年

検体の純度： %

試験動物：ニュージーランド・ホワイト種妊娠ウサギ

（試験開始時約5.5～6ヵ月齢、体重；3.73～3.80kg）1群16匹

試験期間：1996年4月29日～1996年5月24日

投与期間13日間（妊娠7日～19日）

投与方法：交尾雌（交尾日を妊娠0日とした）を購入した。検体を0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁させ、0、100、300及び1,000mg/kgの用量を、妊娠7日目から19日目までの13日間、10ml/kgの容量で毎日1回強制経口投与した。対照群には、0.5%メチルセルロース水溶液を同様に投与した。

試験項目：

母動物；生死及び一般状態を妊娠2日目から毎日観察し、妊娠0、7、9、11、17、20及び29日に体重を測定した。摂餌量は妊娠2日から29日まで毎日測定した。妊娠29日に帝王切開を行い、肉眼的病理検査を実施し、黄体数、着床数、妊娠子宮重量（妊娠が認められない動物の子宮も含む）、吸収胚数、生存及び死亡胎児数及びその子宮内位置を調べた。

生存胎児；体重を測定し、性別を判定した。外表、内臓及び骨格検査を実施し、奇形及び変異を調べた。

統計学的分析：

*Fisherの直接確率法

妊娠率、親動物死亡率、胎児数、吸収胚を有する動物数

*分散分析後Dunnnett検定

親動物体重及び体重変化、摂餌量

*Mann-WhitneyのU検定

着床数、生胎児数、死亡胎児数、黄体数、胎児異常数、平均胎児体重

結果：概要を次頁の表に示す。

母動物の毒性；各群とも検体投与によると思われる死亡例及び一般状態の異常は認められなかった。対照群の動物1匹が投与操作ミスで死亡した。母動物の体重、体重変化、補正体重、補正後の体重変化、妊娠子宮重量にも、投与に関連した変化が認められなかった。300mg/kg群で妊娠2日目から29日目にかけて摂餌量の有意な増加が認められたが、変化が増加であること及び1,000mg/kg群で有意でなかったことから、検体投与によるものとは考えられなかった。肉眼的病理検査でも、投与に関連した変化は認められなかった。

胚・胎児毒性；平均黄体数、腹当り着床数、着床前損失率、吸収胚数、生存及び死亡胎児数、性比にも、投与に関連した影響は認められなかった。1,000mg/kg群では生存雄胎児数の有意な減少が認められた（対照群で平均6.1匹/腹に対し、4.2匹/腹）が、当研究所の歴史的背景データ（4.1～4.7匹/腹）と比較し対照群の雄胎児数が異常に高かったことによるものであり、正常な変動の範囲内にあるものと考えられる。胎児の体重に投与に関連した影響は認められなかった。

奇形・変異；奇形及び変異の種類または発現頻度に投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与した場合の母動物及び発育毒性における無毒性量は、1,000mg/kg/日以上であると考えられる。

また、最高投与量の1,000mg/kg/日でも胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(-

(-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑰変異原性

遺伝子突然変異原性

細菌を用いた復帰変異性試験 (1)

[資料 No. 20]

試験機関：ロー・アント・ハース・カンパニー (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体の純度： %

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 Salmonella typhimurium (TA98, TA100, TA1535, TA1537株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。

試験結果： 結果を次表(次頁)に示した。

2回の試験において検体はS-9 Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた2-ANTH, 2NF, SA, 9-AAではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(第1回試験)

(-

(-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(第2回試験)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

細菌を用いた復帰変異性試験（2）

[資料 No. 21]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %

方法：トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下でAmes等の変法に準拠したプレート法およびYahagi等の方法に準拠したプレインキュベーション法で変異原性を検定した。

試験結果：結果を次表（次頁）に示した。

2回の試験において検体はS-9 Mixの有無にかかわらず、復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いたAF-2、2-AAでは明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(プレート法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(ブレインキューベーション法)

1-

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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。
チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を用いた HGPRT 座遺伝子突然変異試験

[資料 No. 22]

試験機関：SITEK Research Lab. (米国)

[G L P 対応]

報告書作成年：1994年

検体純度： %

試験方法： 累代培養 CHO 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、HGPRT 座遺伝子突然変異原性を検定した。

試験濃度は 0.5、1.0、5.0、10、50 及び 100 μ g/ml の 6 濃度とした。試験は 2 連制とし、2 回行った。陽性対照として、S-9 mix の非存在下では DMSO に溶解したエチルメタンスルフォネート(EMS)を 0.5 μ l/ml の濃度で処理し、S-9 mix の存在下ではアセトンに溶解した 7,12-ジメチルベンズ(a)アンスラセン(DMBA)を 5.0 μ g/ml の濃度で処理した。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

被験物質は 2 回の試験で、S-9 mix の有無に関係なく、試験した最高濃度 (100 μ g/ml) においても HGPRT 遺伝子座突然変異コロニー数の有意な増加を誘発しなかった。一方、陽性対照として用いた EMS 及び DMBA は明らかな突然変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果から、被験物質は代謝活性化系を含む本試験条件下で遺伝子突然変異誘発性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(1回目の試験)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(確認試験)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑰変異原性

染色体異常誘発性

チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

[資料 No. 23]

試験機関：SITEK Research Lab. (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1994年

検体純度： %

試験方法： チャイニーズハムスターの累代培養卵巣(CHO)細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 mix)の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検定した。

試験濃度は13、25、50、100及び150µg/mlの5濃度とし、S-9 mix非存在下では12時間及び22時間処理し、それぞれ処理後18及び42時間に細胞を収穫した。S-9 mixの存在下では2時間処理し、処理後18及び42時間に細胞を収穫した。試験は2連制とし、2回行った。被験物質処理群の染色体異常の評価は、50、100及び150µg/mlの3濃度について行った。陽性対照として、S-9 mixの非存在下ではマイトマイシンC(MMC)を用い、S-9 mix存在下ではシクロホスファミド(CP)を用いた。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体は2回の試験で、S-9 mixの有無に関係なく、試験した最高濃度(150µg/ml)においても染色体異常を有する細胞数の有意な増加を誘発しなかった。一方、陽性対照として用いたMMC及びCPは染色体異常を有する細胞数の明らかな増加を示した。

以上の結果から、メトキシフェノジドは代謝活性化系を含む本試験条件下で染色体異常誘発性を有さないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(一)

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある

⑰変異原性

マウス骨髄細胞を用いた小核試験

[資料 No. 24]

試験機関：ロム・アンド・ハース・カンパニー（米国）

[GLP対応]

報告書作成年：1995年

検体純度： %

供試動物： CD-1系マウス1群雌雄各5匹（高用量群は7匹）、40～44日齢、
体重範囲約23～35g

試験方法： 検体を0.5%メチルセルロースに懸濁させ、0、500、2,500及び5,000mg/kgの用量で単回経口投与した。投与後約24及び48時間で動物を屠殺し、両大腿骨から骨髄を採取し、各動物3枚の骨髄塗抹標本を作製した。陽性対照として、水に溶解させたマイトマイシンC(MMC)を0.35及び2.0mg/kgの用量で単回腹腔内投与し、24時間後に屠殺し、同様に骨髄塗抹標本を作製した。各動物少なくとも2000個の多染性赤血球(PCE)について小核の有無を検査し、小核を有する多染性赤血球(MN-PCE)数を算出した。さらに、少なくとも1000個の多染性赤血球及び正染性赤血球(NCE)数を数え、PCE/NCE比を算出した。

試験結果： 結果を次頁の表に示した。

検体はいずれの投与量でも溶媒対照と比較して小核を有する多染性赤血球数の有意な増加を誘発せず、PCE/NCE比の変化も示さなかった。

一方、陽性対照として用いたMMCは小核を有する多染性赤血球数の明らかな増加を示した。

(一)

以上の結果から、メトキシフェノジドは本試験条件下で CD-1 系マウス骨髄細胞試験系で小核を有する多染性赤血球数の増加を誘導せず、染色体損傷誘発性を有さないものと判断される。

(一)

⑱ 生体の機能に及ぼす影響

薬理試験

[資料 No. 25]

試験機関：(株)実医研

報告書作成年：1998年

検体の純度： %

供試動物：Crj:CD-1(ICR)系雌雄マウス(体重；雄24.2～34.8g、雌19.2～23.2g)

Crj:CD(SD)系雄ラット(体重；203～220g)

日本白色種雄ウサギ(2.20～2.57kg)

ビーグル雄犬(10.0～12.8kg)

適用方法：検体はポリエチレングリコール400に懸濁して所定の濃度とした。溶血性試験では1%アラビアゴム生理食塩水に懸濁して使用した。

(1) 一般状態及び行動に及ぼす影響

方法；1群雌雄各5匹のマウスに検体の0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、Irwinの多次元観察法に基づき経時的に一般症状および行動を観察した。

結果；2000mg/kg群の雌マウス1例で投与後15分に眼瞼下垂が見れた以外は、認知力、気分、運動性、中枢興奮、姿勢、運動失調、筋緊張、反射、自律神経症状およびその他の症状において投与後24時間に特記すべき変化は認められなかった。

(2) 中枢神経系に及ぼす影響

①自発運動量に及ぼす影響

方法；1群雄5匹のマウスに0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、経時的に投与後2時間まで自発運動量を測定した。

結果；各投与群とも投与後の自発運動量は漸次減少し、2時間後に251～312counts/10minになったが、何れの測定時間でも溶媒対照と比較して有意差は認められなかった。

②Hexobarbital睡眠に及ぼす影響

方法；1群雄5匹のマウスに0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、投与15分後にhexobarbital180mg/5ml/kgを腹腔内投与し、正向反射の消失から回復までの時間を睡眠時間として測定した(測定時間は最長120分)。

結果；各投与群の睡眠時間はどれも約40分であり、溶媒対照と比較して有意差は認められなかった。

③最大電撃痙攣に及ぼす影響

方法；1群雄5匹のマウスに0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、投与15分後に角膜に電気刺激装置を用いて最大電撃刺激を0.3秒間与え、強直性伸展痙攣、死亡および持続時間を測定した(観察時間は最長30分)。

結果；溶媒対照群と比較して検体投与群の強直性伸展痙攣発現数、持続時間および死亡例数に有意差は認められなかった。

④鎮痛作用

方法；1群雄5匹のマウスに0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、投与15分後に0.6%酢酸溶液0.1ml/10gを腹腔内投与し、投与後20分間のwrithing回数を測定した。

結果；各投与群ともwrithing回数は約40回/20分であり、溶媒対照群と比較して有意差は認められなかった。

⑤体温に及ぼす影響

方法；1群雄5匹のラットに0、20、200および2000mg/kgを3ml/kgの割合で経口投与し、サーミスターセンサーで直腸温を投与後2時間まで経時的に測定した。

結果；各検体投与群とも何れの測定時間においても体温に溶媒対照群と比較して有意差は認められなかった。

(3) 骨格筋に及ぼす影響

方法；1群雄5匹のマウスに0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、床上30cmに水平に張った針金にマウスを両前肢で懸垂させ、動物が後肢を針金に掛けるまでの時間を測定した。投与前、投与15分、30分、1時間および2時間後に懸垂試験を3回施し、最長の値を懸垂時間とした。

結果；各検体投与群とも何れの測定時間においても溶媒対照群と比較して懸垂時間に有意差は認められなかった。

(4) 自律神経系に及ぼす影響

方法；1群雄5匹のラットに0、20、200および2000mg/kgを3ml/kgの割合で経口投与した。40Wの蛍光灯から約1.5m動物を離し、両眼に等しい光量が当るようにし、投与前、投与15分、30分、1時間および2時間後に左右の瞳孔径を測定し、左右の瞳孔径の平均値を瞳孔径とした。

結果；各検体投与群とも何れの測定時間においても溶媒対照群と比較して瞳孔径に有意差は認められなかった。

(5) 呼吸および循環器系に及ぼす影響

方法；ビーグル犬3匹をペントバルビタールNaを投与して背位に固定し、呼吸数、血圧、血流量および心拍数を測定し、心電図を記録した。投与量は0、3、10および30mg/0.5ml/kgを左大腿静脈のカニューレから順次定速持続注入した。各パラメータの測定は30分間とした。

結果；3mg/kg群では各パラメーターとも溶媒対照群と比較して何れも有意差は認められなかった。10mg/kg群では呼吸数が投与直後に増加した以外は、対照群と比較して有意差は認められなかった。30mg/kg群では定速持続投与中から呼吸数が激増し、呼吸不全となり3例中2例が死亡した。

(6) 消化器系に及ぼす影響

方法：1群雄5匹のラットに0、20、200および2000mg/kgを5ml/kgの割合で経口投与し、投与15分後に5%炭末の10%アラビアゴム懸濁液を経口投与した。30分後に死亡させ、幽門から炭末先端までの長さを測定し、小腸の長さに対する比率を求めた。

結果：いずれの検体投与群でも溶媒対照群と比較して胃腸管内輸送率に有意差は認められなかった。

(7) 血液機能に及ぼす影響

①溶血性試験

方法：雄ウサギの耳介動脈から採取した血液を遠心分離して得た赤血球に10倍量の生理食塩水を加えて浮遊させ洗浄赤血球液とした。検体をアラビアゴムに懸濁させ 1×10^{-6} ～ 1×10^{-3} g/mlの範囲で4濃度とし、各検体液0.3mlに生理食塩水1.2mlおよび洗浄赤血球液1.5mlを加え、37°Cで30分間インキュベートした。遠心分離後、上清液の540nmでの吸光度を測定した。

結果： 10^{-4} g/ml以下の濃度では溶媒対照群と比較して有意差は認められなかったが、最高濃度の 10^{-3} g/mlでは僅かな(1.82%)溶血率があり、溶媒対照群とに有意差が認められた。

②血液凝固系に及ぼす影響

方法：1群雄3匹のウサギに0、20、200および2000mg/kgを3ml/kgの割合で経口投与した。投与前、投与15分、30分、1時間および2時間に耳介動脈から採血し、遠心分離により乏血小板血漿を得た。この血漿を使用して、プロトロンビン時間(PT)および活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)を測定した。

結果：いずれの検体投与群とも、また、全ての測定時間においてもPTおよびAPTTとも溶媒対照群と比較して有意差は認められなかった。

メトキシフェノジドの生体機能に及ぼす影響に関する試験の総括表を次頁にまとめた。

メトキシフェノジドは高濃度で僅かに溶血作用がある以外は、中枢神経系、自律神経系、骨格筋、消化管および血液凝固系には影響を与えなかった。呼吸・循環器系の試験において30mg/kgの静脈内投与で呼吸不全で3例中2例が死亡したが、この原因としては、メトキシフェノジドが水に極めて難溶のため30mg/kgでは濃厚な懸濁液となり、生体内で結晶が析出していると想像され、これが肺に集積して呼吸を抑制し、過呼吸の果てに呼吸不全に陥ったものと考えられる。従って、メトキシフェノジドは直接的には呼吸・循環器系に対しても影響を与えないものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑱その他の試験

ラットにおける肝薬物代謝酵素誘導能および甲状腺機能試験

(資料No.26)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(一

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(

(

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(一)

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

以上の結果より、本試験におけるメトキシフェノジドの無毒性量 (NOAEL) は250 ppm (18.6 mg/kg/日) であると判定された。また、メトキシフェノジドはチトクロームP-450アイソザイムCYP3A2およびUDPGT誘導剤であることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

ラットにおける肝薬物代謝酵素誘導能及び甲状腺機能試験：

血清中検体濃度及び肝組織中グルタチオン含量測定試験（追加試験）

（資料No. 27）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(一)

(一)

以上の様に、血清中の検体濃度はいずれの用量群においても投与2週時よりも投与4週後の方が低い値を示したことから、本検体を毎日反復投与した場合、検体の血中濃度は時間とともに徐々に減少

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。
する可能性が示唆された。一方、肝組織中のグルタチオン含量測定では、20000 ppm群において投与
2週時では還元型（GSH）および酸化型（GSSG）グルタチオンがともに有意な増加を示したが、投
与4週後ではGSHの増加はみられたがGSSGは対照群と同等であった。これらの結果から、本検体を
反復投与した場合、肝臓における過酸化水素や過酸化脂質などの有害物質に対する解毒処理機能が
亢進することが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

マウスにおける肝薬物代謝酵素誘導能試験

(資料No.28)

(一)

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(一)

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(一

以上の結果より、本試験におけるメトキシフェノジドの無毒性量 (NOAEL) は100ppm (13.8 mg/kg/日) であると判定された。また、メトキシフェノジドはフェノルパルビタールに類似した酵素誘導剤であることが示唆された。

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

マウスにおける肝薬物代謝酵素誘導能試験：

肝組織中グルタチオン含量測定試験（追加試験）

（資料No. 29）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

以上の様に、肝組織中のグルタチオン含量を測定した結果、7000 ppm群では投与2週時においてGSHおよびGSSGの増加傾向がみられ、軽度ながら酸素ストレスの影響を受けた可能性が示唆されたが、投与4週後では被験物質投与の影響は特に認められなかった。

(一)

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

2. 代謝物の毒性

①

の Maus における急性経口毒性試験 [資料 No. 30]

試験機関：ロ・ム・アント・ハース・カンパニー（米国）

[GLP 対応]

報告書作成年：1997年

検体の純度： %

試験動物： Cr1:CD-1 BR系マウス、成獣（雄；7週齢、雌；9週齢）
体重； 雄26.1～28.1g、雌21.8～25.9g、1群雌雄各6匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を0.5%メチルセルローズに懸濁して経口投与した。投与前3時間絶食した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。投与直前、7及び14日に体重を測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000

全身毒性を示す一般状態の変化は認められなかった。背景データと比較して雌雄ともに体重増加抑制(約38～53%)が認められた。

剖検では、肉眼的変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

- ② の細菌を用いた復帰変異性試験 [資料 No. 31]
試験機関：ロム・アント・ハス・カンパニー（米国）
[G.I.P対応]
報告書作成年：1998年

検体の純度： %

方法： ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA102株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。

濃度設定根拠； 検体はジメチルスルフォキシド (DMSO) に溶解し、

試験濃度は第1回試験では50、200、500、2000、5000 μ g/プレートの範囲の5用量とし、第2回試験では160、300、500、900、1600 μ g/プレートの範囲の5用量で、それぞれ3連制（溶媒及び陽性対照は6連制）でおこなった。

試験結果： 結果を次表（次頁）に示した。

2回の試験において検体は S-9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起さない最高容量（5000 μ g/プレート）においても、いずれの菌株でも復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照として用いた2-ANTH、2NF、SA、9-AA、MMCではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

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

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(第1回試験)

* : 結晶析出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(第2回試験)

(一)

(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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

3. 製剤毒性

①急性経口毒性

粉剤DLのラットにおける急性経口毒性試験

[資料 No. 1]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %粉剤DL

試験動物： CrI:CD(SD)IGS系ラット、5週齢
体重； 雄 137.9～154.1g、雌 119.2～126.4g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水に懸濁して経口投与した。投与前18時間絶食した。

試験項目： 中毒症状、体重変化及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
無毒性量 (mg/kg)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000

中毒症状及び体重変化として特記すべき変化は認められなかった。また、剖検所見でも、臓器に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

①急性経口毒性

粉剤DLのマウスにおける急性経口毒性試験

[資料 No. 2]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %粉剤DL

試験動物： Crj:CD-1(ICR)系マウス、5週齢

体重；雄 31.6～35.9g、雌 23.9～25.8g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水に懸濁して経口投与した。投与前3時間絶食した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
無毒性量 (mg/kg)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000

中毒症状及び体重変化として特記すべき変化は認められなかった。また、剖検所見でも、臓器に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

①急性経口毒性

フロアブルのラットにおける急性経口毒性試験

[資料 No.3]

試験機関：ローム・アソシエーツ・カンパニー（米国）

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度： %水和剤（液体フロアブル）

試験動物： Crl:CD(SD)BR系ラット、成獣（雄,53日齢、雌,65日齢）

体重；雄 200～212g、雌 190～211g、1群雌雄各6匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を希釈せずに経口投与した。投与前一夜絶食した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
無毒性量 (mg/kg)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000

特記すべき中毒症状は認められなかった。剖検所見でも、臓器に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

①急性経口毒性

フロアブルのマウスにおける急性経口毒性試験

[資料 No.4]

試験機関：ロー・アンド・ハース・カンパニー (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1997年

検体の純度： %水和剤 (液体フロアブル)

試験動物： Crl:CD-1(ICR)BR 系マウス、雄；7週齢、雌；9週齢
体重； 雄 28～33g、雌 25～27g、1群雌雄各6匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を希釈せずに経口投与した。投与前3時間絶食した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
無毒性量 (mg/kg)	雄 >5,000 雌 >5,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5,000 雌 5,000

特記すべき中毒症状は認められなかった。剖検所見でも、臓器に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

②急性経皮毒性

粉剤DLのラットにおける急性経皮毒性試験

[資料 No.5]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %粉剤DL

試験動物： Crj:CD(SD)IGS系ラット 7週齢

体重；雄 298～319.9g、雌 194.3～218g、1群雌雄各5匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を注射用水で湿らせて、ラットの刈毛した無擦過皮膚に24時間半閉塞貼付した。適用24時間後に注射用水で検体を洗浄除去した。

試験項目： 中毒症状、体重変化及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 2,000 雌 2,000
LD ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >2,000 雌 >2,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった。
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
無毒性量 (mg/kg)	雄 >2,000 雌 >2,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2,000 雌 2,000

中毒症状及び体重変化として特記すべき変化は認められなかった。また、剖検所見でも、臓器に特記すべき変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

②急性経皮毒性

フロアブルのラットにおける急性経皮毒性試験

[資料 No.6]

試験機関：ロム・アンド・ハース・カンパニー（米国）

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度： %水和剤（液体フロアブル）

試験動物： CrI:CD(SD)BR系ラット、成獣（雄;53日齢、雌;65日齢）

体重；雄 230～249g、雌 209～240g、1群雌雄各6匹

試験期間： 14日間観察

方法： 検体を希釈せずにラットの刈毛した無擦過皮膚に24時間半閉塞貼付した。
適用24時間後に湿った紙タオルを用いて検体を拭き取った。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 2,000 雌 2,000
L.D ₅₀ (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 >2,000 雌 >2,000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例はなかった。
症状発現時間及び消失時間	特記すべき症状の発現は観察されなかった。
無毒性量 (mg/kg)	雄 >2,000 雌 >2,000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2,000 雌 2,000

雄の体重増加量に背景データに比して低下が認められたが、剖検所見で、異常は認められなかった。また、投与部位の皮膚に対する影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

③急性吸入毒性

以下の理由により提出しなかった。

根拠条文	具体的理由
13 生産第 3986 号-4-(2)- ③-イ	本製剤は水和剤または粉剤であり、当該 農薬成分を気化させて使用する農薬では ない。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

④皮膚刺激性

粉剤DLのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

[資料 No.7]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %粉剤DL

試験動物： 日本白色種ウサギ雄、9～10週齢

体重；1.90～2.04kg、1群6匹

試験期間： 72時間観察

方法： 検体 0.5gを注射用蒸留水で湿らせ、2.5×2.5cm四方のリント布パッチに塗布し、刈毛した動物の背部1カ所に半閉塞貼付した。適用時間は4時間とし、皮膚に残った検体は注射用蒸留水で洗浄した。

観察項目： 検体除去後1、24、48及び72時間に塗布部位の刺激性変化（紅斑、浮腫）の有無等を観察し、農林水産省のガイドラインに従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は、次の表のとおりである。

項目	最高評点	投与後の時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

いずれの観察時でも紅斑及び浮腫は認められなかった。

上記の結果から、本粉剤DLはウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

④皮膚刺激性

フロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

[資料 No.8]

試験機関：ロム・アソト・ハース・カンパニー (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度： %水和剤 (液体フロアブル)

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ雄、24～38週齢
体重；2,623～3,845g、1群6匹

試験期間： 72時間観察

方法： 検体 0.5mlを2.5×2.5cm四方のガーゼに塗布し、刈毛した動物の背部1ヵ所に半閉塞貼付した。適用時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水道水を湿らせたペーパータオルを用いて拭き取った。

観察項目： 検体除去後1、24、48及び72 時間に塗布部位の刺激性変化 (紅斑、浮腫)の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は、次の表のとおりである。

項目	最高評点	投与後の時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

いずれの観察時でも紅斑及び浮腫は認められなかった。

上記の結果から、本フロアブルはウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑤眼刺激性

粉剤DLのウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

[資料 No. 9]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %粉剤DL

試験動物： 日本白色種ウサギ雄、9~10週齢

体重：1.89~2.18 kg、非洗眼群6匹、洗眼群3匹

試験期間： 72時間観察

方法： 検体 0.1g を右眼に投与し、3匹の動物については投与3分後に生理食塩水100mlで洗眼した。各動物の左眼は無処置対照群とした。

観察項目： 投与後1、24、48及び72時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は、次の表のとおりである。

項 目			最高評点	投 与 後 の 時 間			
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (6匹平均)	角膜	程 度	4	0	0	0	0
		混濁	面積	4	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	0.17	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計			20	0.17	0	0
洗 眼 群 (3匹平均)	角膜	程 度	4	0	0	0	0
		混濁	面積	4	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	0	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合 計			20	0	0	0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

検体投与後1時間に結膜の発赤が認められたが、24時間後には消失した。

上記の結果から、本粉剤DLはウサギの眼粘膜に対して刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑤眼刺激性

フロアブルのウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

[資料 No. 10]

試験機関：ロム・アンド・ハース・カンパニー（米国）

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

検体の純度： %水和剤（液体フロアブル）

試験動物： ニュージーランドホワイト種ウサギ雄、25週齢

体重：2,776～2,986 g、1群6匹

試験期間： 72時間観察

方法： 検体 0.1ml を片眼に投与し、投与後24時間の観察終了後、全例の両眼を生理食塩水で1分間洗浄した。

観察項目： 投与後1、24、48、72時間及び7日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は、次の表とおりである。

項目		最高評点	投与後の時間				
			1時間	24時間	48時間 (洗眼24時間)	72時間 (洗眼48時間)	
雄 (6匹平均)	角膜	程度	4	0	0	0	0
	混濁	面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0
	合計		20	0	0	0	0

いずれの観察時間でも変化は認められなかった。

上記の結果から、本フロアブルはウサギの眼粘膜に対して刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑥皮膚感作性

モルモットを用いた粉剤DLの皮膚感作性試験

[資料 No. 11]

試験機関：(株)実医研

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %粉剤DL

試験動物： ハートレー系モルモット雌、若齢成獣

一次刺激性試験 4匹

皮膚感作性試験 50匹 (体重 292~370g)

被験物質群 20匹

被験物質対照群 10匹

陽性物質群 10匹

陽性物質対照群 10匹

試験期間： 48時間観察

方法： Buehler 法の変法に従って実施した。

投与量設定の根拠；

本試験の感作暴露及び惹起暴露には注射用蒸留水に懸濁した70%の検体を用いた。

感作； 感作前日にモルモットの左側面を電気バリカンで刈毛し、感作暴露部位とした。被験物質群の動物には検体の70%注射用蒸留水懸濁液0.2mlをリント布パッチに広げて処理部位に貼布した。また陽性物質群の動物には80%エタノールに溶解した1.0%ジニトロクロロベンゼン(DNCB)溶液0.2mlを、被験物質対照群及び陽性物質対照群の動物にはそれぞれ注射用蒸留水0.2ml及び80%エタノール溶液0.2mlを同様に処理した。貼布後、粘着性伸縮包帯とサージカルテープで固定し、6時間閉塞貼付した。この感作処置を週1回、3週間にわたって行った。

誘発； 最終感作後14日の前日に供試動物の右側面の被毛を電気バリカンで刈毛して惹起部位とした。被験物質群及び被験物質対照群の動物には検体の70%注射用蒸留水懸濁液0.2mlを、陽性物質群及び陽性物質対照群の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

動物には80%エタノールに溶解した0.1%DNCB 溶液 0.2mlを感作暴露と同様の方法で処理して惹起暴露した。

観察項目： 誘発 24 及び 48時間後 に適用部分の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応の評価は惹起暴露終了後24及び48時間にMagnussonの評点基準に従って皮膚感作性を判定した。また、一般状態を毎日観察し、感作開始日及び最終判定日に体重を測定した。

(判定基準)

- 0： 肉眼的に変化なし
- 1： 軽度またはまばらな紅斑
- 2： 中等度の紅斑
- 3： 強度の紅斑及び浮腫

結果： 各観察時における感作変化の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

試験群	供試動物数	検体濃度 (%)		感作反応動物数								平均評点		感作陽性動物数	感作陽性率 (%)	
				皮膚反応評点								24時間	48時間			
				24時間				48時間								
感作	誘発	0	1	2	3	0	1	2	3							
検体	感作群	20	70	70	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	
	対照群	10	—	70	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	
DNCB	感作群	10	1.0	0.1	0	0	3	7	0	0	4	6	2.7	2.6	10	100
	対照群	10	—	0.1	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

$$\text{感作陽性率 (\%)} = \text{感作陽性動物数} / \text{供試動物数} \times 100$$

検体の感作群及び非感作群の両者とも誘発後に皮膚反応は認められなかった。一方、DNCB感作群では試験動物全てに皮膚反応が認められた。

以上の結果から、本粉剤DLはモルモットの皮膚に対して感作性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

⑥皮膚感作性

モルモットを用いたフロアブルの皮膚感作性試験 (Maximization法) [資料 No. 12]

試験機関：ローム・アンド・ハース・カンパニー (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1998年

検体の純度： %水和剤 (液体フロアブル)

試験動物： ハートレイ系モルモット雄 開始時週齢：6週齢、

開始時体重範囲：311～420g

一次刺激性試験 4匹

皮膚感作性試験	第A群	被験物質感作群	20匹
	第B群	被験物質陰性対照群	10匹
	第C群	陽性物質感作群	10匹
	第D群	陽性物質陰性対照群	5匹

観察期間： 惹起終了後48時間

方法： Maximization Test法

スケジュール：

0日：剪毛剃毛 (肩甲骨上部)、皮内感作

6日：剪毛剃毛 (肩甲骨上部)

7日：経皮感作 →48時間保持

21日：剪毛剃毛 (惹起5時間前) 惹起 (経皮) →24時間保持

22日：剪毛剃毛 (判定5時間前)、24時間後判定 (惹起終了後)

23日：48時間後判定 (惹起終了後)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

処 理 方 法 :

[被験物質の調製]

感作皮内投与液 ;

1 液 : フロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水の1:1混合液。

2 液 : 被験物質の滅菌生理食塩水懸濁液。

3 液 : 被験物質をフロイントの完全アジュバントに懸濁した液と滅菌生理食塩水の1:1混合液。

感作経皮、惹起経皮投与液 ; 無希釈液。

[陽性物質の調製]

陽性物質としてヘキシル桂皮アルデヒド (HCN) を用いた。

感作皮内投与濃度5%、感作経皮投与濃度100%、惹起経皮投与濃度25%とした。

感作皮内投与液 ;

1 液 : フロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水の1:1混合液。

2 液 : 陽性物質 (HCN) の鉱油懸濁液。

3 液 : 陽性物質 (HCN) をフロイントの完全アジュバントに懸濁した液と滅菌生理食塩水の1:1懸濁液。

感作経皮、惹起経皮投与液 ;

感作経皮投与液には無希釈液、惹起経皮投与液には鉱油と混合した混合物。

投与群及び動物数

投 与 群	使用動物数
A群 : 被験物質感作群	20匹
B群 : 被験物質陰性対照群	10匹
C群 : 陽性物質感作群	10匹
D群 : 陽性物質陰性対照群	5匹

[感作皮内投与]

モルモット肩甲骨上部を4cm×6cmに剪毛剃毛した。被験物質感作群 (A群) 及び陽性物質感作群 (C群) では感作皮内投与液である上記「1」、「2」及び「3」液を剪毛剃毛した肩甲骨上部の2cm×4cmの皮膚区画内の左右2ヶ所合計6ヶ所に皮内投与した。投与量は1ヶ所につき0.1mlとした。被験物質陰性対照群 (B群) では被験物質を用いず、被験物質感作群 (A群) と同じ処理を、陽性物質陰性対照群 (D群) はHCNを用いず、陽性物質感作群 (C群) と同様の処置をした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

[感作経皮投与]

感作皮内投与後7日に供試動物全例の感作皮内投与の区画を剪毛剃毛した。その後、ラウリル硫酸ナトリウム(SLS)をワセリンに10%混合した混合物を剪毛剃毛した区画に塗布した。翌日(感作皮内投与後8日)、SLSを水道水で

湿らせた紙タオルで拭き取り、被験物質感作群(A群)及び陽性物質感作群(C群)ではそれぞれの感作経皮投与用液約0.4mlをWhatman No. 3の濾紙(約2cm×4cm)に均一に塗布し、この面を投与区画にあてた。濾紙はBlendermテープで覆い、Elastoplastテープで胴体に巻くことにより閉塞貼付とした。被験物質陰性対照群(B群)では滅菌生理食塩水、陽性物質陰性対照群(D群)では鉱油のみを用いて同じ手順で閉塞貼付とした。閉塞貼付は48時間後に除去した。

[惹起経皮投与]

感作経皮投与後14日に供試動物全例の左右腹側部を5cm×5cmに剪毛剃毛した。剪毛剃毛後約5時間に、各投与液を2cm×2cmのWhatman No. 3の濾紙に飽和させ、被験物質感作群(A群)及び被験物質陰性対照群(B群)の右腹側部の投与区画には被験物質の惹起経皮投与液約0.2mlを、左腹側部の投与区画には溶媒である滅菌生理食塩水のみを閉塞貼付投与した。陽性物質感作群(C群)及び陽性物質陰性対照群(D群)の右腹側部の投与区画には陽性物質(HCN)の惹起経皮投与液約0.2mlを、左腹側部の投与区画には溶媒である鉱油のみを閉塞貼付投与した。使用閉塞貼付は感作経皮投与と同様の方法で行った。閉塞貼付は24時間後に除去した。

[惹起による皮膚反応の観察]

観察期間： 観察は惹起貼付除去後24及び48時間に行った。

観察及び採点方法： 惹起貼付除去後24時間の観察5時間前に惹起投与区画を、剪毛剃毛した。閉塞貼付除去24及び48時間後に皮膚の状況を以下の基準で観察した。

皮膚反応の評価	点数
反応なし	0
軽度の散在性紅斑	1
中等度の瀰漫性紅斑	2
浮腫をともなう強い紅斑	3

皮膚感作率の算出： 惹起貼付除去後24及び48時間の観察時期に採点された点数のうち最高点をその動物の評点とした。被験物質感作群(A群)及び被験物質陰性対照群(B群)において、それぞれの投与物質に対する陰性対照群に認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。
 られた最高評点より高い評点を示したものを感作陽性動物とした。

$$\text{皮膚感作率} = (\text{感作陽性動物数} / \text{使用動物数}) \times 100$$

結 果 :

群	性	匹数	感作処理		惹起処理		判 定				陽 性 反 応 動物数	感作率 (%)		
			皮内感作 (0日)	経皮感作 (7日)	(21日)		平均皮膚反応強度							
					右腹側部	左腹側部	項目\評点	0	1	2			3	
被験物質 感 作 群 (A群)	♂	20	5% フロアブル	100% フロアブル	100% フロアブル	溶媒のみ (生理 食塩水)	惹起反応 (最高点)	20	0	0	0	0/20	0	
							惹起 反応	24h	20	0	0	0		0/20
								48h	20	0	0	0		0/20
被験物質 陰性対照 群 (B群)	♂	10	溶媒のみ (FCA、生理 食塩水)	溶媒のみ (生理 食塩水)	100% フロアブル	溶媒のみ (生理 食塩水)	惹起反応 (最高点)	10	0	0	0	0/10	0	
							惹起 反応	24h	10	0	0	0		0/10
								48h	10	0	0	0		0/10
陽性物質 感 作 群 (C群)	♂	10	5% HCN	100% HCN	25% HCN	溶媒のみ (鉱油)	惹起反応 (最高点)	1	8	1	0	9/10	90	
							惹起 反応	24h	1	7	2	0		9/10
								48h	1	8	1	0		9/10
陽性物質 陰性対照 群 (D群)	♂	5	溶媒のみ (FCA、生理 食塩水)	溶媒のみ (鉱油)	25% HCN	溶媒のみ (鉱油)	惹起反応 (最高点)	5	0	0	0	0/5	0	
							惹起 反応	24h	5	0	0	0		0/5
								48h	5	0	0	0		0/5

被験物質陰性対照群(B群)で10例全例が評点0であり、被験物質感作群(A群)でも20例全例が評点0であったので、皮膚感作率は0%であった。

一方、陽性物質陰性対照群(D群)で5例全例が評点0であり、陽性物質感作群(C群)では10例中8例が評点1、1例が評点2であったので、皮膚感作率は90%であった。体重には被験物質処理の影響は認められなかった。

結 論 : 本試験においてフロアブルの皮膚感作率は0%であり、皮膚感作性はないと評価された。一方、陽性対照物質(HCN)の皮膚感作率が90%であり、本試験の信頼性は十分保証されているものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

以上の結果から、モルモットを用いた、**Maximization** 法による皮膚感作性試験において本フロアブルは皮膚感作性を有しないと判定された。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
1	血中濃度推移 体内分布及び 排泄試験	ラット (雌雄)	A環、B環、ブチル 標識体 経口：10mg/kg単回	血漿中濃度推移: Cmax 0.80~1.09 μ g/g Tmax; 0.25~0.50 hr、半減期; 4.6~8.2 hr 体内分布: 組織・血液 0.01~0.11% (120hr後) 血液 0.0026~0.0413 μ g/g 脂肪 0.0050~0.0109 μ g/g 肝 0.0262~0.3850 μ g/g 排泄: 尿 5.88~12.5%、糞 86.1~96.8% (120hrまで)	ロム・77 ト・ハース カンパニー (1998)	251
			A環、ブチル標識体 経口：1000mg/kg 単回	血漿中濃度推移: Cmax 21.9~35.5 μ g/g Tmax; 0.25~0.50 hr、半減期; 8.3~12.2 hr 体内分布: 組織・血液 0.07~0.13% (120hr後) 血液 0.353~4.000 μ g/g 脂肪 0.486~0.775 μ g/g 肝 1.805~19.99 μ g/g 排泄: 尿 4.82~8.89%、糞 89.8~93.5% (120hrまで)		
			A環標識体 経口：10mg/kg単回 パルス投与	体内分布: 組織・血液 0.01~0.16% (120hr後) 血液 ND~0.0135 μ g/g 脂肪 0.0068~0.0096 μ g/g 肝 0.0348~0.3850 μ g/g 排泄: 尿 7.61~12.3%、糞 90.0~90.9% (120hrまで)		
			A環、B環、ブチル 標識体 経口：10mg/kg単回	呼気中排泄 (7日間累積) ブチル標識体; CO ₂ 0.01(♀)~0.02(♂)% 揮発性物質 0.02~0.09% A環、B環; ND		
			A環標識体 経口：10mg/kg単回	胆汁排泄 (3日間累積) 雄: 胆汁 64.4% 尿 4.9% 糞 26.2% 雌: 胆汁 38.1% 尿 22% 糞 35.0%		

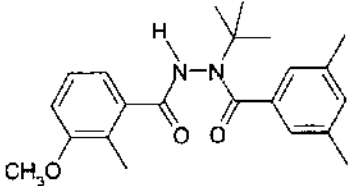
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	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
2	代謝物の同定	ラット (雌雄)	A環、B環、ブチル標識体 経口：10mg/kg単回 A環標識体経口 10mg/kg パルス投与	尿中代謝物 (24hrまで) : 糞中代謝物(48hrまで) : メキシフェゾト* 13.6~26.2%	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1998)	264
			A環、ブチル標識体 経口 : 1000mg/kg単回	尿中代謝物 (24hrまで) : 糞中代謝物(48hrまで) : メキシフェゾト* 30.4~39.3%		
			A環標識体 経口 : 10mg/kg単回	胆汁中代謝物 (6あるいは24hrまで)		
3	植物体内における代謝	水稻	A環、B環、ブチル標識体 2回散布 総計 1040~1200 gAI /Ha	残留濃度: 玄米0.524~0.712ppm、葉 19.7~41.9ppm 玄米中代謝物 : メキシフェゾト* 0.274~0.415ppm (52~58%) 稲葉中代謝物 : メキシフェゾト* 13.3~29.4ppm (65~69%)	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1999)	274
4	植物体内における代謝	りんご (圃場)	A環標識体 2回散布 総計227gAI/10a	収穫時残留濃度: 果実0.28ppm、葉 69ppm 収穫時果実中代謝物 : メキシフェゾト* 0.262ppm (91%)	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1998)	280

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	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
5	植物体内における代謝	ぶどう (圃場)	ブチル標識体 2回散布 総計227gAI/10a	収穫時残留濃度：果実 0.706ppm、葉108ppm 収穫時果実中代謝物： メキシフェノド 0.597ppm (81%)	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1998)	283
6	植物体内における代謝	ぶどう (圃場)	ブチル環標識体 2回散布 総計227gAI/10a	収穫時果実中代謝物： メキシフェノド 68.1ppm (86%)	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1998)	284
7	植物体内における代謝	棉	A環、B環、ブチル 標識体 2回散布 総計2130~2211 gAI/Ha	収穫時残留濃度：種子全体 0.080~0.109ppm 収穫時種子全体中代謝物： メキシフェノド 0.04~0.062ppm (46.3~67.3%)	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1996)	288
8	土壌代謝	砂壌土及び 埴土 水田状態 (容器内)	B環標識体 0.5ppm添加	土壌中半減期：砂壌土 962日、埴土 387日 土壌中代謝物：メキシフェノド 45~70% (1年後) 揮発性代謝物：CO ₂ 4.9~5.9% (1年間)	Xenobiotic Lab, Inc (1998)	294
9	土壌代謝	砂壌土及び 砂質埴壤土 畑地状態 (容器内)	B環標識体 1ppm添加	土壌中半減期：砂壌土 336日、砂質埴壤土 722日 土壌中代謝物：メキシフェノド 59~74% (1年後) 揮発性代謝物：CO ₂ 2.0~4.0% (1年間)	Xenobiotic Lab, Inc (1997)	300
10	水中光分解	pH7の緩衝液	B環標識体 1日12時間 30日間照射 (キノンランプ)	半減期：2166日	Xenobiotic Lab, Inc (1997)	306
11	水中光分解	自然水 (湖水)	ブチル標識体 1日12時間 30日間照射 (キノンランプ)	半減期：77日	Xenobiotic Lab, Inc (1994)	308
12	加水分解	pH5, 7, 9の 緩衝液	ブチル標識体 (試験濃度) 1.0ppm	半減期：pH5; 587日 pH7; 1572日 pH9; 695日	ローム・アンド・ハース・カンパニー (1994)	311
13	土壌吸着	4種類の 土 壤	標準品 OECDガイドライン106	K: 2.01~207 Koc: 134~17000 Koc=-6310, a=196, r=-0.639	化学分析 コンサルタント (1998)	313

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	動物 植物 土壌	親化合物 (RH-2485)	3,5-ジメチル安息香酸 N-tert-ブチル- N'-(3-メトキシ-2-メチルベンゾイル)- ヒドラジド	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

{-

{-

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(-

→

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

1. 動物における代謝

(1) ラットにおける血中濃度推移・体内分布及び排泄試験

[資料 No. 1]

試験機関：ロム・アント・ハース・カンパニー(米国)

(GLP対応)

報告書作成年：1998年

供試標識化合物：

構造式；

*：¹⁴C標識位置

▲：¹³C標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

構造式；

*：¹⁴C標識位置

▲：¹³C標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

なお、 ^{13}C 標識体については、GC/MS又はLC/MSにより尿及び糞から単離された代謝物の構造を確認するために用いた。

供試動物：Cr1:CD BR系ラット雌雄 体重；233~441g

投 与：0.5%メチルセルロースに懸濁した[A環- ^{14}C]、[B環- ^{14}C]及び[ブチル- ^{14}C]メトキシフェノジド10又は1,000mg/kgを10ml/kgの容量でラットに強制経口投与した。各試験の群構成を下表に示す。なお、1,000mg/kg群は比放射能を希釈するために非標識メトキシフェノジド を用いた。

<投与量設定根拠>

血中濃度推移試験

性別	標識体	投与量 (mg/kg)	動物数	投与後採取時間												
				時間							日					
				0.25	0.5	1	2	4	8	12	1	2	3	4	7	
雌/雄	ブチル	10	3/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B, K
雌/雄	ブチル	1,000	3/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B, K
雌/雄	A環	10	3/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B, K
雌/雄	A環	1,000	3/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B, K
雌/雄	B環	10	3/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B, K
雌/雄	B環	1,000	3/3	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B, K

B；全血、血漿を採取し、 ^{14}C 分析

K；採血後、屠殺。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

体内分布試験

性別	標識体	投与量 (mg/kg)	動物 数	投与後採取時間		
				0.25時間	1時間	2時間
雌/雄	ブチル	10	3/3	K*	K*	
雌/雄	ブチル	1,000	3/3	K*		K*
雌/雄	A環	10	3/3	K*	K*	
雌/雄	A環	1,000	3/3	K*		K*

K* ; 血漿中最高濃度(Cmax)及び1/2Cmax時点で屠殺。組織を提出し、¹⁴C分析。

排泄・物質収支・分布試験

性別	標識体	投与量 (mg/kg)	投与 経路	動物 数	投与後採取時間					
					0	1日	2日	3日	4日	5日
雌/雄	ブチル	10	経口	5/5	E*	E*	E*	E*	E*	E*,K
雌/雄	ブチル	1,000	経口	5/5	E	E	E	E	E	E,K
雌/雄	A環	10	パルス	5/5	E*	E*	E*	E*	E*	E*,K
雌/雄	A環	10	経口	5/5	E*	E*	E*	E*	E*	E*,K
雌/雄	A環	1,000	経口	5/5	E	E	E	E	E	E,K
雌/雄	B環	10	経口	5/5	E*	E*	E*	E*	E*	E*,K
雌/雄	A環	10	5日連続	3/3			E	E	E	E,K*

E* ; 尿、糞はドライアイスで冷却しながら採取。¹³C/¹⁴C及び代謝物の分析に供した。

E ; 尿、糞はドライアイスで冷却しながら採取。¹⁴Cの測定及び代謝物の同定に供した。

K ; 屠殺後組織を摘出し、放射能を測定及び代謝物の分析に供した。

パルス投与 ; メトキシフェノジド混餌投与による前処理によって排泄及び組織中の薬物濃度が変動するかどうか検討するために、10mg/kgのA環標識体を単回投与する前にメトキシフェノジド原体の200ppm(平均雄18.3、雌16.5mg/kg/日)を2週間混餌投与した。

K* ; 5日目の投与後15分に屠殺。組織を摘出し、放射能測定し、代謝物の分析に供した。

呼気捕集試験

性別	標識体	投与量 (mg/kg)	動物 数	投与後採取時間								
				0	1日	2日	3日	4日	5日	6日	7日	
雌/雄	ブチル	1,000	3/3	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	ECK
雌/雄	A環	1,000	3/3	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	ECK
雌/雄	B環	1,000	3/3	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	EC	ECK

E ; 尿、糞を採取。放射能測定に供した。

C ; 呼気を5%NaOHに捕集。揮発性物質は活性炭にトラップし7日後に採取。

K ; 屠殺し、カーカスを冷凍保存。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

胆汁排泄試験

性別	標識体	投与量 (mg/kg)	動物 数	投与後採取時間					
				0	0-6	6-12	12-24	24-48	48-72
雌/雄		10	4/4	B	B	B	B	B	BK

B；胆汁、尿、糞を採取。放射能測定及び代謝物の同定に供した。

K；屠殺後組織を摘出し、放射能を測定及び代謝物の分析に供した。

方 法：

血中濃度推移試験；1群雌雄3匹のラットにA環、B環あるいはブチル標識メトキシフェノジドを10mg/kgあるいは1,000mg/kgの割合で投与した。12時間後まで経時的に、その後は24時間毎に168時間後まで眼窩洞穿刺により血液を採取し、放射能を測定した。

体内分布試験；1群雌雄各6匹のラットにA環あるいはブチル標識メトキシフェノジドを10mg/kgあるいは1,000mg/kgの割合で投与し、上記試験で得られたCmax及び1/2Cmax時点で各3匹を屠殺し、下記組織をを摘出して、放射能を測定した。

全血、血漿、脳、肝、脂肪、腎、心、肺、脾、副腎、脳、清巢、卵巢、筋肉、骨髓、肝、心、精巢、甲状腺、胃及び内容物と洗液、腸管及び内容物と洗液、カーカス

排泄試験；1群雌雄各5匹のラットにA環、B環あるいはブチル標識メトキシフェノジドを10mg/kgあるいは1,000mg/kg投与し、尿及び糞は24時間毎に投与後120時間後まで採取し、放射能を測定した。120時間後にラットを屠殺し上記と同じ組織を摘出し、放射能を測定した。

連続投与試験；1群雌雄各3匹のラットにA環標識体を10mg/kgの割合で5日間連続投与して尿及び糞を採取し、放射能を測定した。5日目投与後15分(Cmax時)に屠殺し、上記と同じ組織を摘出し、放射能を測定した。

呼気捕集試験；1群雌雄各3匹のラットにA環、B環あるいはブチル標識メトキシフェノジドを1,000mg/kg投与し、投与後24時間毎に168時間まで呼気及び揮発性物質を5%NaOH及び活性炭トラップで捕集し、放射能を測定した。また、尿及び糞を同様に投与後168時間まで採取し、放射能を測定した。

胆汁排泄試験；胆管カニューレを挿入した1群雌雄各4匹のラットにA環標識体を10mg/kg投与して、投与後72時間まで胆汁、尿及び糞を採取し、放射能を測定した。投与後72時間に屠殺し、全血、血漿、肝、腎、胃及び内容物、腸管及び内容物、カーカスを採取し、放射能を測定した。

放射能の測定；採取した試料は液体シンチレーションカウンター(LSC)あるいは燃焼法で測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結果：

血中濃度の推移；血漿中濃度推移の結果の概要を次表に示す。

(μg メトキシフェノジド当量/g, 3匹平均)

投与後 経過 時間	10 mg/kg						1,000mg/kg					
	雄			雌			雄			雌		
	A環	B環	ブチル	A環	B環	ブチル	A環	B環	ブチル	A環	B環	ブチル
0.25hr	0.807	0.703	1.086	0.589	0.530	0.497	27.68	35.52	26.11	29.74	21.92	27.44
0.5hr	0.693	0.797	0.822	0.391	0.337	0.385	21.34	26.13	29.40	27.60	16.91	20.56
1hr	0.383	0.528	0.550	0.258	0.166	0.169	17.35	19.83	22.18	20.77	13.19	15.75
2hr	0.253	0.408	0.337	0.199	0.121	0.113	14.97	15.42	17.23	15.21	11.12	9.004
4hr	0.142	0.358	0.304	0.194	0.110	0.149	15.23	17.40	16.84	12.97	11.24	13.19
8hr	0.164	0.393	0.336	0.190	0.204	0.158	16.02	21.20	18.32	14.15	12.06	15.05
12hr	0.176	0.308	0.302	0.180	0.198	0.176	14.29	18.71	19.78	12.51	11.01	11.96
1日	0.086	0.115	0.277	0.084	0.119	0.109	11.87	12.99	12.73	5.845	8.929	15.28
2日	0.062	0.026	0.126	0.039	0.030	0.027	1.891	2.422	5.163	4.195	3.930	4.162
3日	0.013	0.008	0.069	0.008	0.008	0.010	0.692	0.497	2.263	1.432	0.868	1.028
4日	0.006	0.005	0.031	0.004	0.002	0.003	0.372	0.223	0.873	0.447	0.254	0.497
7日	0.015	0.001	0.008	0.001	0.002	0.054	0.142	0.319	0.277	0.091	0.040	0.147

上記の血漿中濃度推移の表より算出した体内動態パラメーターを次表に示す。

体内動態 パラメーター	10 mg/kg						1,000mg/kg					
	雄			雌			雄			雌		
	A環	B環	ブチル	A環	B環	ブチル	A環	B環	ブチル	A環	B環	ブチル
Cmax	0.81	0.80	1.09	0.59	0.53	0.50	27.68	35.52	29.40	29.74	21.92	27.44
Tmax(hr)	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25	0.25	0.25
α 相半減期(hr)	0.5	0.6	0.4	0.2	0.2	0.3	0.2	0.2	0.2	0.5	0.2	0.2
β 相半減期(hr)	26.4	15.2	35.0	19.6	30.8	31.0	24.2	25.3	35.6	22.5	28.8	35.6
全体消失速度 定数半減期(hr)	5.0	8.2	8.6	4.6	5.2	6.2	9.4	8.3	12.2	10.1	11.1	12.2

Cmax： μg メトキシフェノジド当量/g、

10mg/kg及び1,000mg/kg投与されたメトキシフェノジドは投与後15～30分にCmaxに到達した。Cmaxは雌雄ラットともA環、B環及びブチル標識体間で大きな差はなかった。血漿中濃度推移は2(α , β)相性を示し、雌雄ラットとも両濃度で標識位置の違いによる α 相半減期(15～30分)の差は見られなかったが、雌で高濃度では低濃度に比べて全体の消失速度定数の半減期が2倍長くなった。血中濃度は投与量と直線的には比例しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

体内分布；A環あるいはブチル標識体の10及び1,000mg/kg投与群のCmax, 1/2Cmaxにおける組織中放射能濃度をppmと投与量%でそれぞれ表1及び表2に示した。

Cmax及び1/2Cmax時の放射能の体内分布は肝で最大であり、1,000mg/kg投与群では雌の肝の放射能が雄に比べて高い傾向であった。血液と同様、肝の最高放射能濃度は投与量に比例せず、1,000mg/kg投与した動物の肝の最高放射能は10mg/kg投与した動物の濃度の37～75倍であった。胃及び腸管の高い放射能濃度は未吸収の検体によるものと判断された。

排泄・物質収支及び組織内分布；A環、B環及びブチル標識体を10mg/kg及び1,000mg/kgで単回またはパルスあるいは連続投与したラットの尿、糞への放射能排泄率及び投与5日後(120時間)の各組織内の放射能分布をそれぞれ表3及び表4に示した。

3標識体を経口投与した各ラットからの放射能の排泄は速やかであり、48時間で投与量の90%以上が尿糞中に排泄された。その主要な排泄経路は糞であり、24時間以内に投与放射能の58～77%が、24～48時間に11～22%が糞に排泄された。尿中への排泄は48時間に雄で4.5～6.7%、雌で8～11.6%であり、尿中に排泄された総割合は雌で雄の約2倍であった。2投与量間あるいは3標識体間での排泄パターンは類似していた。単回投与とパルス投与で尿糞への排泄率及び組織内分布で差がなく、蓄積性はないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

呼気への排泄；3標識体を各1,000mg/kg投与したラットからの呼気、尿、糞中への7日間累積放射能の測定結果を次表に示した。

排泄経路		累積排泄率及び回収率（投与量に対する%、3匹平均）					
		雄			雌		
		A環- ¹⁴ C	B環- ¹⁴ C	ブチル- ¹⁴ C	A環- ¹⁴ C	B環- ¹⁴ C	ブチル- ¹⁴ C
呼気	CO ₂	0.00	0.00	0.02	0.00	0.00	0.01
	揮発性物質	0.00	0.00	0.09	0.00	0.00	0.02
糞		89.21	89.26	92.62	87.00	85.54	89.31
尿		4.89	3.97	5.71	7.50	8.69	7.91
カーカス		0.10	0.06	0.16	0.05	0.05	0.04
総回収率		94.20	93.29	98.59	94.55	94.29	97.29

ブチル基標識体からのみ呼気中に僅かではあるが、放射能が回収され（0.03～0.11%）、A環及びB環標識体からは検出されなかった。これらのことからブチル基の切断が示唆された。

胆汁排泄；A環標識体10mg/kgを投与したラットからの胆汁、尿、糞中への放射能排泄の測定結果を次表に示した。

時間 / 部位	投与量に対する%（4匹平均）					
	雄			雌		
	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞
0～6 hr	36.62	1.60	0.11	17.24	9.69	0.02
6～12	13.11	0.80	3.53	4.74	3.01	5.24
12～24	12.19	1.36	17.75	5.92	5.31	18.93
24～48	2.34	1.01	5.17	5.93	2.71	5.31
48～72	0.11	0.14	0.52	4.32	1.28	5.55
(合計)	(64.38)	(4.90)	(26.16)	(38.14)	(21.99)	(35.04)
組織/カーカス	0.35			1.46		
総回収率	95.8			96.6		

投与された放射能は速やかに吸収され、胆汁中に排泄された。雄ラットの胆汁中排泄率は雌に比べ高く（64%対38%）、一方雌の尿中排泄率は雄に比べて高かった（22%対5%）。胆汁、尿、組織/カーカスから回収された投与量に対する%の合計、すなわち投与した標識体の62～70%が体内に吸収されたと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結論：ラットに経口投与されたメトキシフェノジドは速やかに吸収、代謝され、かつ完全に排泄された。3標識体間でメトキシフェノジドの吸収、代謝あるいは排泄パターンに顕著な差は認められなかった。

体内吸収率は60～70%であり、血漿中濃度は投与15～30分後に最高濃度に達し、2相性のパターンで消失した。

投与量のほとんどが投与後24時間以内に排泄された。投与量の大部分は糞(約90%)で回収され、尿(約10%)中では少なかった。胆管カニューレ挿入動物の試験で、胆汁排泄が主要経路であることが確認された。

投与量の0.25%以下が投与後5日の組織中に残存していたにすぎず、メトキシフェノジドは生体蓄積がないことを示している。A環標識体を単回投与した動物と比較して、原体を前処理として2週間混餌したり、あるいはA環標識体を5日間強制経口投与した動物におけるメトキシフェノジドの吸収あるいは分布に明らかな変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表 1 : A環あるいはブチル標識体の10mg/kg投与群のCmax, 1/2Cmaxにおける
組織中放射能濃度

組 織	10mg/kg投与時における組織中濃度・ μg トキシフェノゾド当量/g(投与量%)							
	雄				雌			
	A環- ^{14}C		ブチル- ^{14}C		A環- ^{14}C		ブチル- ^{14}C	
	15分	1時間	15分	1時間	15分	1時間	15分	1時間
血液	0.28 (0.06)	0.38 (0.08)	0.30 (0.07)	0.45 (0.10)	0.36 (0.08)	0.32 (0.08)	1.12 (0.31)	0.20 (0.05)
血漿	0.42	0.55	0.51	0.75	0.52	0.47	1.85	0.31
脳	0.02 (<0.01)	0.02 (<0.01)	0.02 (<0.01)	0.05 (<0.01)	0.03 (<0.01)	0.03 (<0.01)	0.09 (<0.01)	0.03 (<0.01)
肺	0.39 (0.01)	0.34 (0.01)	0.55 (0.03)	0.45 (0.02)	0.39 (0.02)	0.30 (0.01)	0.87 (0.04)	0.22 (0.01)
心	0.18 (0.01)	0.26 (0.01)	0.26 (0.01)	0.39 (0.02)	0.27 (0.01)	0.22 (0.01)	0.64 (0.03)	0.20 (0.01)
肝	10.39 (4.21)	6.37 (2.51)	9.79 (4.21)	6.93 (2.91)	12.43 (4.67)	5.04 (1.71)	26.97 (9.26)	3.81 (1.30)
腎	0.48 (0.03)	0.83 (0.06)	0.45 (0.04)	0.73 (0.06)	0.72 (0.05)	0.80 (0.06)	1.17 (0.09)	0.40 (0.03)
脾	0.19 (<0.01)	0.25 (<0.01)	0.56 (0.01)	0.26 (0.01)	0.39 (0.01)	0.22 (0.01)	1.36 (0.02)	0.21 (<0.01)
副腎	0.38 (<0.01)	0.45 (<0.01)	0.62 (<0.01)	0.81 (<0.01)	0.55 (<0.01)	0.44 (<0.01)	1.28 (<0.01)	0.41 (<0.01)
甲状腺	0.26 (<0.01)	0.25 (<0.01)	0.35 (<0.01)	0.33 (<0.01)	0.19 (<0.01)	0.59 (<0.01)	0.68 (<0.01)	0.21 (<0.01)
骨髄	0.11 (<0.01)	0.16 (<0.01)	0.14 (<0.01)	0.23 (<0.01)	0.15 (<0.01)	0.16 (<0.01)	0.48 (<0.01)	0.16 (<0.01)
精巣	0.02 (<0.01)	0.10 (0.01)	0.04 (0.01)	0.11 (0.01)	-	-	-	-
卵巣	-	-	-	-	0.42 (<0.01)	0.40 (<0.01)	0.58 (<0.01)	0.32 (<0.01)
筋肉	0.09 (<0.01)	0.18 (<0.01)	0.17 (<0.01)	0.24 (<0.01)	0.16 (<0.01)	0.18 (<0.01)	0.34 (<0.01)	0.12 (<0.01)
腸	20.09 (11.07)	19.93 (28.20)	12.84 (8.62)	15.05 (26.16)	19.75 (66.82)	35.80 (56.87)	31.01 (19.93)	29.44 (40.86)
胃	68.04 (75.98)	21.81 (55.46)	64.76 (76.51)	26.33 (59.35)	73.00 (13.04)	51.95 (37.99)	94.83 (45.79)	60.48 (37.07)
脂肪	0.05 (<0.01)	0.19 (0.01)	0.12 (<0.01)	0.35 (0.01)	0.52 (0.03)	0.36 (0.03)	0.42 (0.02)	0.50 (0.03)
カカス	0.18 (1.38)	0.21 (1.60)	0.45 (3.64)	0.37 (2.99)	0.26 (2.08)	0.38 (2.97)	0.43 (3.72)	0.47 (3.93)
合計	(92.75)	(87.94)	(93.16)	(91.64)	(86.80)	(79.87)	(79.20)	(83.29)

数値は3匹の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表2：A環あるいはブチル標識体の1,000mg/kg投与群のCmax, 1/2Cmaxにおける組織中放射能濃度

組 織	1,000mg/kg投与時における組織中濃度・ μg メキシフェゾト [®] 当量/g(投与量%)							
	雄				雌			
	A環- ¹⁴ C		ブチル- ¹⁴ C		A環- ¹⁴ C		ブチル- ¹⁴ C	
	15分	2時間	15分	2時間	15分	2時間	15分	2時間
血 液	12.61 (0.03)	16.39 (0.03)	12.19 (0.03)	19.56 (0.05)	37.84 (0.09)	16.71 (0.04)	35.77 (0.09)	9.23 (0.02)
血 漿	17.34	25.23	18.90	29.03	46.38	24.56	58.08	14.77
脳	0.88 (<0.01)	1.25 (<0.01)	0.78 (<0.01)	2.28 (<0.01)	2.64 (<0.01)	1.34 (<0.01)	2.60 (<0.01)	1.16 (<0.01)
肺	16.92 (0.01)	16.84 (0.01)	14.79 (0.01)	16.68 (0.01)	33.45 (0.01)	14.78 (0.01)	27.29 (0.01)	8.19 (<0.01)
心	9.89 (<0.01)	12.23 (<0.01)	10.21 (<0.01)	14.48 (0.01)	21.96 (0.01)	10.50 (<0.01)	24.50 (0.01)	7.15 (<0.01)
肝	368.12 (1.47)	271.26 (1.13)	500.07 (2.12)	284.20 (1.13)	927.28 (2.98)	154.92 (0.55)	1247.93 (4.58)	190.10 (0.68)
腎	33.77 (0.03)	39.28 (0.03)	22.62 (0.02)	34.03 (0.03)	61.40 (0.05)	30.61 (0.02)	59.52 (0.04)	17.77 (0.01)
脾	55.26 (0.01)	15.00 (<0.01)	51.49 (0.01)	10.41 (<0.01)	45.36 (0.01)	11.96 (<0.01)	59.70 (0.01)	5.38 (<0.01)
副 腎	32.38 (<0.01)	32.56 (<0.01)	15.45 (<0.01)	22.36 (<0.01)	51.56 (<0.01)	18.58 (<0.01)	83.44 (<0.01)	19.13 (<0.01)
甲状腺	20.81 (<0.01)	13.62 (<0.01)	11.83 (<0.01)	12.91 (<0.01)	19.51 (<0.01)	7.78 (<0.01)	25.45 (<0.01)	6.10 (<0.01)
骨 髄	6.24 (<0.01)	6.84 (<0.01)	6.64 (<0.01)	8.55 (<0.01)	14.48 (<0.01)	5.66 (<0.01)	17.27 (<0.01)	4.52 (<0.01)
精 巢	1.55 (<0.01)	4.89 (0.01)	1.12 (<0.01)	5.32 (0.01)	—	—	—	—
卵 巢	—	—	—	—	40.20 (<0.01)	20.07 (<0.01)	34.39 (<0.01)	9.09 (<0.01)
筋 肉	6.23 (<0.01)	6.38 (0.01)	7.70 (<0.01)	33.94 (<0.01)	11.61 (<0.01)	6.33 (<0.01)	19.57 (<0.01)	4.07 (<0.01)
腸	791.70 (7.66)	1493.84 (30.49)	689.24 (5.95)	2123.31 (37.15)	1294.08 (15.07)	1985.52 (45.55)	1541.78 (18.96)	2177.41 (37.16)
胃	6051.39 (87.19)	1547.58 (50.10)	3928.19 (88.05)	3973.57 (31.72)	3538.61 (60.41)	4129.65 (25.05)	10199.0 (45.96)	4476.15 (29.18)
脂 肪	5.30 (<0.01)	10.38 (<0.01)	2.80 (<0.01)	13.17 (0.01)	13.22 (0.01)	12.31 (0.01)	9.72 (0.01)	17.87 (0.01)
カーカス	8.53 (0.67)	8.97 (0.70)	20.61 (1.71)	30.03 (2.52)	34.61 (2.89)	30.10 (2.41)	32.20 (2.80)	34.11 (3.00)
合 計	(97.07)	(82.50)	(97.89)	(72.63)	(81.52)	(73.63)	(72.49)	(70.05)

数値は3匹の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表 3 : 排泄率・回収率

投 与 量 (mg/kg)	採 取 時 間 (hr)	累積排泄率及び回収率 (投与量に対する%)											
		雄						雌					
		A環- ¹⁴ C		B環- ¹⁴ C		ブチル- ¹⁴ C		A環- ¹⁴ C		B環- ¹⁴ C		ブチル- ¹⁴ C	
		尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
10 (単回)	0~24	5.86	77.1	5.57	74.7	4.71	75.1	9.05	68.7	8.69	62.0	7.76	58.2
	48	6.76	93.4	6.44	92.8	5.56	88.5	11.1	87.1	11.6	84.1	10.4	80.5
	72	6.94	96.1	6.64	95.7	5.76	90.5	11.7	91.2	12.3	89.6	11.2	84.9
	96	7.00	96.6	6.69	96.3	5.84	90.9	11.8	92.1	12.4	90.7	11.4	85.9
	120	7.03	96.8	6.71	96.5	5.88	91.0	11.9	92.3	12.5	91.0	11.5	86.1
	組織/血液	0.03		0.11		0.11		0.01		0.01		0.03	
	カーカス	0.03		0.08		0.01		0.10		0.09		0.08	
総回収率	103.9		103.4		97.0		104.3		103.6		97.7		
1,000 (単回)	0~24	4.13	74.7			3.69	74.6	6.18	65.8			6.45	76.3
	48	4.92	89.4			4.49	89.9	8.12	84.5			7.95	87.5
	72	5.17	92.6			4.71	92.4	8.68	88.7			8.28	89.8
	96	5.26	93.3			4.79	92.9	8.84	89.6			8.37	90.3
	120	5.30	93.5			4.82	93.0	8.89	89.8			8.40	90.3
	組織/血液	0.07				0.13		0.01				0.04	
	カーカス	0.09				0.10		0.10				0.06	
総回収率	99.0				98.1		98.8				98.8		
パルス 投与 14日間200 ppm混餌投 与後10mg (単回)	0~24	6.32	68.1					9.0	65.2				
	48	7.43	88.5					7	83.6				
	72	7.57	90.5					11.3	88.6				
	96	7.60	90.8					11.9	89.8				
	120	7.61	90.9					12.1	90.0				
	組織/血液	0.16						0.01					
	カーカス	0.07						0.06					
総回収率	98.7						102.4						
5日間10mg 連続投与後 15分に屠殺	24~48	1.14	13.7					1.94	12.1				
	48~72	2.50	33.7					4.06	31.5				
	72~96	3.72	52.4					6.13	47.9				
	96~120	4.92	71.5					8.31	66.3				
	組織/血液	19.1						17.4					
	カーカス	2.07						3.24					
総回収率	97.7						95.3						

数値は3匹(連続投与群)及び5匹の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表 4 : 投与後5日 (120時間後) の組織内分布

組 織	10mg/kg投与時における組織中濃度・ μg トキシフェノール当量/g(投与量%)							
	雄				雌			
	A環- ^{14}C	B環- ^{14}C	フチル- ^{14}C	パルス	A環- ^{14}C	B環- ^{14}C	フチル- ^{14}C	パルス
血液	0.0076 (<0.01)	0.0062 (<0.01)	0.0413 (0.01)	0.0135 (<0.01)	0.0039 (<0.01)	0.0026 (<0.01)	0.0210 (0.01)	ND (<0.01)
血漿	0.0031	0.0015	0.0070	0.0035	0.0013	0.0009	0.0085	0.0011
脳	0.0023 (<0.01)	0.0019 (<0.01)	0.0061 (<0.01)	0.0002 (<0.01)	0.0019 (<0.01)	0.0029 (<0.01)	0.0052 (<0.01)	0.0002 (<0.01)
肺	0.0039 (<0.01)	0.0034 (<0.01)	0.0141 (<0.01)	0.0029 (<0.01)	0.0032 (<0.01)	0.0020 (<0.01)	0.0073 (<0.01)	0.0003 (<0.01)
心	0.0026 (<0.01)	0.0031 (<0.01)	0.0104 (<0.01)	0.0012 (<0.01)	0.0013 (<0.01)	0.0018 (<0.01)	0.0112 (<0.01)	ND (<0.01)
肝	0.2466 (0.08)	0.2927 (0.11)	0.1857 (0.10)	0.3850 (0.16)	0.0262 (0.01)	0.0282 (0.01)	0.0354 (0.02)	0.0348 (0.01)
腎	0.0240 (<0.01)	0.0213 (<0.01)	0.0285 (<0.01)	0.0215 (<0.01)	0.0190 (<0.01)	0.0172 (<0.01)	0.0159 (<0.01)	0.0119 (<0.01)
脾	0.0061 (<0.01)	0.0049 (<0.01)	0.0246 (<0.01)	0.0020 (<0.01)	0.0034 (<0.01)	0.0039 (<0.01)	0.0182 (<0.01)	0.0001 (<0.01)
副腎	0.0100 (<0.01)	0.0102 (<0.01)	0.0392 (<0.01)	0.0250 (<0.01)	0.0102 (<0.01)	0.0049 (<0.01)	0.0188 (<0.01)	0.0008 (<0.01)
甲状腺	0.0537 (<0.01)	0.0439 (<0.01)	0.0520 (<0.01)	0.0454 (<0.01)	0.0312 (<0.01)	0.0116 (<0.01)	0.0509 (<0.01)	ND (<0.01)
骨髄	0.0176 (<0.01)	0.0040 (<0.01)	0.0226 (<0.01)	ND (<0.01)	0.0244 (<0.01)	0.0030 (<0.01)	0.0101 (<0.01)	ND (<0.01)
精巣	0.0004 (<0.01)	0.0017 (<0.01)	0.0043 (<0.01)	ND (<0.01)	—	—	—	—
卵巣	—	—	—	—	0.0035 (<0.01)	0.0078 (<0.01)	0.0110 (<0.01)	ND (<0.01)
筋肉	0.0022 (<0.01)	0.0029 (<0.01)	0.0068 (<0.01)	0.0005 (<0.01)	0.0007 (<0.01)	0.0025 (<0.01)	0.0038 (<0.01)	ND (<0.01)
腸	0.0075 (<0.01)	0.0105 (<0.01)	0.0325 (0.01)	0.0079 (<0.01)	0.0126 (<0.01)	0.0164 (<0.01)	0.0314 (0.01)	0.0113 (<0.01)
胃	0.0044 (<0.01)	0.0037 (<0.01)	0.0109 (<0.01)	0.0031 (<0.01)	0.0019 (<0.01)	0.0019 (<0.01)	0.0060 (<0.01)	0.0026 (<0.01)
脂肪	0.0067 (<0.01)	0.0050 (<0.01)	0.0107 (<0.01)	0.0068 (<0.01)	0.0109 (<0.01)	0.0103 (<0.01)	0.0082 (<0.01)	0.0096 (<0.01)
カーカス	0.0070 (0.06)	0.0094 (0.08)	0.0090 (0.09)	0.0081 (0.07)	0.0119 (0.10)	0.0112 (0.09)	0.0079 (0.08)	0.0082 (<0.01)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

表 4 (続き) : 投与後5日 (120時間後) の組織内分布

組 織	1,000mg/kg投与時における組織中濃度・ $\mu\text{g}/\text{kg}$ 当量/g(投与量%)			
	雄		雌	
	A環- ^{14}C	ブチル- ^{14}C	A環- ^{14}C	ブチル- ^{14}C
血液	0.4789 (<0.01)	4.0007 (0.01)	0.3530 (<0.01)	1.5618 (0.01)
血漿	0.0992	0.7376	0.0402	0.5755
脳	0.0936 (<0.01)	0.5757 (<0.01)	0.0404 (<0.01)	0.3626 (<0.01)
肺	0.3483 (<0.01)	1.1692 (<0.01)	0.1300 (<0.01)	0.5786 (<0.01)
心	0.2800 (<0.01)	0.9483 (<0.01)	0.1553 (<0.01)	0.3957 (<0.01)
肝	16.5151 (0.07)	19.9996 (0.11)	1.8051 (0.01)	4.0400 (0.02)
腎	1.3949 (<0.01)	2.9495 (<0.01)	0.9565 (<0.01)	1.0988 (<0.01)
脾	0.3702 (<0.01)	2.3451 (<0.01)	0.3895 (<0.01)	1.7749 (<0.01)
副腎	0.8300 (<0.01)	1.9227 (<0.01)	0.6631 (<0.01)	1.3435 (<0.01)
甲状腺	4.2711 (<0.01)	4.9066 (<0.01)	2.5416 (<0.01)	2.4501 (<0.01)
骨髄	0.6104 (<0.01)	0.9948 (<0.01)	1.4821 (<0.01)	0.6295 (<0.01)
精巣	0.0405 (<0.01)	0.3691 (<0.01)	—	—
卵巣	—	—	0.2964 (<0.01)	0.8250 (<0.01)
筋肉	0.1326 (<0.01)	0.4921 (<0.01)	0.0605 (<0.01)	0.2026 (<0.01)
腸	0.7872 (<0.01)	3.1561 (<0.01)	1.3753 (<0.01)	2.5689 (0.01)
胃	0.3644 (<0.01)	0.8792 (<0.01)	0.1960 (<0.01)	0.4170 (<0.01)
脂肪	0.4863 (<0.01)	0.6881 (<0.01)	0.7756 (<0.01)	0.5692 (<0.01)
カーカス	0.9230 (0.09)	0.8151 (0.10)	1.1200 (0.10)	0.5561 (0.06)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(2) ラットにおける代謝試験 (代謝物の同定)

[資料 No. 2]

試験機関：ロ・ム・アント・ハース・カンパニー (米国)

(GLP対応)

報告書作成年：1998年

供試標識化合物：

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能； 放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

なお、 ^{13}C 標識体については、GC/MS又はLC/MSにより尿及び糞から単離された代謝物の構造を確認するために用いた。

投与及び試料の採取；先に実施した「血中濃度推移・体内分布及び排泄試験(資料 No. 38-1)」においてA環、B環及びブチル標識メトキシフェノジドを投与したラットから投与後2日までに得られた尿糞及び胆汁排泄試験における投与後3日までに得られた胆汁を用いた。

放射能の抽出及び分画；尿は0.45 μm Acrodiscを通し濾過し、胆汁はそのまま分析に供した。糞は少量の水でホモジネート後アセトニトリル(CAN)で抽出し、次いでジクロロメタンで抽出しジクロロメタン画分と水層画分を得た。水層画分は凍結乾燥により濃縮した。A環標識体の10mg/kg投与群雄の糞の抽出残渣は更にメタノール及びメタノール水溶液で抽出した。

代謝物の分析；糞はジクロロメタン、水層、メタノール及びメタノール水溶液画分、濾過した尿及び胆汁そのままを用いた。これらの画分を逆相液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)に供し、分取した画分を薄層クロマトグラフィー(TLC)に供して得られた代謝物画分を液体シンプレクションカウンター(LSC)で定量した。また、濾過した尿をTLCに供し、各放射性バンドを掻き取りメタノールで抽出後、RP-HPLCに供して得られた代謝物画分を液体シンプレクションカウンター(LSC)で定量した。

代謝物の同定；RP-HPLCによる単離代謝物やそのトリメチルシリル誘導体あるいはジアゾメタンによるメチル誘導体を放射能モニター付きFID-GCに供し、また、GC/MSやLC/MSに供して構造を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

メトキシフェノジドのラットのにおける代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

2. 植物における代謝

(1) 水田圃場栽培イネにおける代謝試験

[資料 No. 3]

試験機関：ロム・アント・ハス・カンパニー(米国)

(GLP対応)

報告書作成年：1999年

供試標識化合物：

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

構造式；

*：¹⁴C標識位置

▲：¹³C標識位置

化学名；

比放射能； 放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

供試作物：イネ（品種；M-202）

方法；

検体の散布処理；¹⁴C標識、¹³C標識及び非標識メトキシフェノジドの混合物を10%乳剤とした。この乳剤を水で希釈し、一区2.3m²に仕切った3区の水稲に2回（1996年7月9日6日）散布した。有効成分総散布量はB環及びブチル標識体では1200g/ha、A環標識体では1040g/haであった。

試料の採取；未成熟稲を第1回目散布直後、2回目散布直前、直後、14及び31日、成熟稲を2回目散布後62日（無処理は40日）に採取した。上壤は収穫時に採取し、田水は第1回目散布直後、2回目散布直前、直後、14、31及び40日（無処理は35日）に採取した。

放射能の測定；茎葉、未成熟穂及び成熟穂は直接ドライアイスと共に粉碎し、冷凍保存した。乾燥させた成熟穂試料は籾殻及び玄米にわけて保存した。粉碎した稲藁、未成熟穂及び成熟穂の一部は自動試料燃焼装置で¹⁴C₂としCarbo-SorbE/Permaflour E+(1/2)に吸収させ、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。

放射能の抽出；玄米はメタノール/水(4/1)に浸漬・ホモジネート後、メタノール/水(4/1)で3回抽出した。残渣はアセトニトリル/水/塩酸(90/29/1)で2回、次いアセトニトリルで抽出した。全ての抽出液を合わせ濃縮後、ジクロロメタン/水(1/1)を加えジクロロメタン層と水層に分配した。ジクロロメタン層は濃縮し、水層はC-18SEP-PAKカラムによるクリーンアップに供してメタノール及び水画分に分けた。各抽出液は液体シンチレーションカウンター(LSC)で、抽出残渣は燃焼法により放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

稲藁はメタノール/水(4/1)で4回抽出した。抽出液は液体シンチレーションカウンター(LSC)で、抽出残渣は燃焼法により放射能を測定した。

非抽出性放射能の分画；玄米の抽出残渣はデンプンとの結合を確認するために、残渣に α -アミログリコシダーゼ加用酢酸緩衝液を加え55℃で23時間振とうした。上清と沈渣に分画し、残渣に同様な操作をさらに1回(72時間振とう)繰り返した。上清を合わせ、塩酸で酸性後、酢酸エチルで抽出した。さらに残渣はタンパクとの結合を確認するために、プロナーゼE加用トリス緩衝液を加え37℃で25時間振とうした。上清と沈渣に分画し、A環標識体玄米の沈渣に72%硫酸を加え室温で22時間振とうし上清に30%水酸化カリウムを加えた。各上清はLSCにて放射能を測定した。

代謝物の分析；玄米のジクロロメタン画分、水層画分及び稲藁のメタノール画分を想定代謝物標品との一次元 C_{18} -薄層クロマトグラフィー/ラジオイメジャー(TLC/RI)に供した。さらに、各TLCから放射能が検出されたバンドを掻き取り各種の展開溶媒でのTLC/RIに供し、代謝物を確認するとともに放射能を測定した。玄米からのC-18SEP PAKカラムで精製した水層画分のTLCで放射能が検出されたバンド6については1NHCl加水分解後TLCに供した。

代謝物の同定；TCLの親化合物相当部分を掻き取り、メタノール抽出物をLC/MSに供し、親化合物を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結 果：

放射能の推移・抽出；¹⁴Cメトキシフェノシドの最終散布後の未熟穂、成熟穂、玄米及稲藁の残留濃度及び玄米・稲藁の抽出結果を次表に示した。

放射能の推移

経過日数	A環標識体	B環標識体	ブチル標識体
最終散布直後	7.21	14.2	13.0
14日後	7.52	13.4	10.0
31日後	7.32	10.4	11.2
収穫時(成熟穂)	6.61	10.2	9.36
玄米	0.524	0.712	0.564
稲藁	20.6	44.1	37.2

(残留濃度；メトキシフェノシド当量ppm)

玄米及び稲藁の抽出結果

試 料		残留濃度 (メトキシフェノシド当量ppm)		
		A環標識体	B環標識体	ブチル標識体
玄米	抽出性放射能	0.421(80.3)	0.612(85.9)	0.495(87.7)
	非抽出性放射能	0.103(19.7)	0.100(14.1)	0.069(12.3)
	計	0.524	0.712	0.564
稲藁	抽出性放射能	18.2(88.1)	38.8(87.9)	33.9(91.1)
	非抽出性放射能	1.57(7.6)	3.16(7.2)	2.09(5.6)
	計	19.7	41.9	36.0

() 内は試料中放射能に対する割合(%)

最終散布直後から収穫時(成熟穂)までの残留放射能は6.61~14.2 ppmであり放射能の減少は僅かであった。玄米中の放射能は0.542~0.712と低濃度であり、一方、稲藁中の放射能は20.6~44.1ppmであった。玄米中の放射能はその80%以上が抽出され、稲藁中の放射能はその87%以上が抽出された。

代謝物の同定；玄米のジクロロメタン抽出画分及び稲藁のメタノール/水抽出画分における代謝物の同定結果を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代謝物	記号	残留濃度(ppm)					
		玄米			稲藁		
		A環- ¹⁴ C	B環- ¹⁴ C	フチル- ¹⁴ C	A環- ¹⁴ C	B環- ¹⁴ C	フチル- ¹⁴ C
メキシフェノシド	A	0.274 (52.4)	0.415 (58.2)	0.324 (57.5)	13.34 (64.7)	29.4 (66.6)	25.64 (68.8)
計							

()内は試料中放射能に対する割合(%)

玄米及び稲藁とも抽出された放射能の大部分は親化合物由来であり、総残留量の52~69%を占めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

非抽出性放射能の同定：玄米の抽出残渣を α -アミログルコシダーゼ、プロナーゼ及び硫酸処理後のLSCによる上清兩分の放射能分布を次表に示す。

試料	残留濃度(トキシフェノイド当量ppm)			
	非抽出放射能	アミログルコシダーゼ処理*	プロナーゼ処理	硫酸処理
A環標識玄米	0.103 (19.7)	0.038 (7.30)	0.014 (2.60)	0.040 (7.69)
B環標識玄米	0.100 (14.1)	0.023 (3.25)	0.016 (2.23)	—
フタル標識玄米	0.069 (12.3)	0.009 (1.49)	0.009 (1.60)	—

()内は試料中放射能に対する割合(%)

*：2回処理の合計、 : 実施せず

酵素処理により非抽出性放射能の27(フタル標識体)～50%(A環標識体)が抽出性放射能として回収され、A環標識体では硫酸処理により更に39%が回収され、非抽出性放射能物質はデンプン、蛋白質やセルロースに結合していることが示唆された。

玄米中から検出された親化合物の残留濃度は0.274～0.415ppmであり、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(2) りんごにおける代謝試験

[資料 No. 4]

試験機関：ロム・アント・ハース・カンパニー（米国）

(GLP対応)

報告書作成年：1995年

供試標識化合物：

構造式；

*：¹⁴C 標識位置

▲：¹³C 標識位置

化学名；

比放射能； 放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

方法：

検体の散布処理；¹⁴C標識、¹³C標識及び非標識メトキシフェノジドを混合しメタノールに溶解した。メタノール溶液を更にメタノール/水で希釈し、7月19及び8月3日レッドデリシャスに散布した。この散布量は有効成分2ポンド/エーカー/年(227g ai/10a)に相当。

試料の採取；りんご果実及び葉を第1回目散布後から第2回目散布後36日（収穫時）までに計6回採取した。葉については更に収穫後1回採取し、また、収穫時に土壌を採取した。

放射能の測定；果実はナイフで細切後及び葉は直接ドライアイスと共に粉碎し、冷凍保存した。試料の一部は自動試料燃焼装置で¹⁴CO₂としCarbo-Sorb E/Permaflour E+(1/2)に吸収させ、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。土壌は混合して均一にし、同様に燃焼法で放射能を測定した。

放射能の抽出；ホモジネートしたりんご果実をアセトニトリル/0.1N塩酸(4/1)で3回抽出した。抽出液を濃縮後、ジクロロメタン加えジクロロメタン層と水層に分配した。水層は酢酸エチルで分配後、セルラーゼで24時間加水分解処理し、酢酸エチルで分配した。各有機溶媒層及び水層はLSCで放射能を測定した。

代謝物の分析；ジクロロメタン画分を想定代謝物標品との一次元C₁₈薄層クロマトグラフィー/ラジオイメージャー(TLC/RI)に供し、代謝物を同定するとともに各代謝物の放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代謝物の同定；ジクロロメタン画分の一部を濃縮乾固し、メタノールに再溶解しミリポアフィルターでろ過後HPLCに供した。HPLCからの試料は質量分析(MS)に供して親化合物を確認した。

結 果：

放射能の推移；¹⁴Cメトキシフェノシドの最終散布後のりんごの果実及び葉の残留放射の濃度推移を次表に示した。

(残留濃度；メトキシフェノシド当量ppm)

経過日数	果実	葉
0	1.58	340
7	3.44	411
14	0.23	85
36 (収穫時)	0.28	69
69 (収穫後)	—	43
半減期	12 ± 9 日	23 ± 8 日

収穫時における残留濃度は果実及び葉でそれぞれ0.28及び69ppmであり、擬似一次速度式から算出した果実及び葉における総放射能濃度の半減期はそれぞれ12 ± 9日及び23 ± 8日であった。

放射能の抽出；最終散布後14日及び36日のりんご果実の放射能抽出結果を次表に示した。

(対総放射能%)

画 分	14日	36日
アセトニトリル/塩酸抽出液	96.9	97.2
ジクロロメタン層	93.5	93.0
酢酸エチル層	0.7	0.8
セルラーゼ加水分解一水層	2.7	3.4
アセトニトリル/塩酸抽出残渣	3.1	2.8
計	100	100

果実の放射能はアセトニトリル/塩酸で96%以上抽出され、抽出された放射能の大部分はジクロロメタンに分画された。

代謝物の同定；最終散布14日及び収穫時の果実のジクロロメタン抽出画分における代謝物の同定結果を次頁の表に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

総残留量放射能に対する割合 (%)

代謝物名	記号	14日	収穫時
親化合物	A	91.3 (0.273)	90.9 (0.262)

() 内は残留量(ppm)

抽出された放射能の大部分は親化合物由来であり、総残留量の91%を占めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(3) ぶどうにおける代謝試験

[資料 No.5]

試験機関：ロム・アンド・ハース・カンパニー（米国）
(GLP対応)

報告書作成年：1998年

供試標識化合物：

構造式：

*：¹⁴C標識位置

▲：¹³C標識位置

化学名：

比放射能； 放射化学的純度；

化学名：

同位体純度；

方法：

検体の散布処理；¹⁴C標識、¹³C標識及び非標識メトキシフェノジドを混合しメタノールに溶解した。メタノール溶液を更にメタノール/水で希釈し、7月7日および8月4日にConcordぶどうに散布した。この散布量は有効成分2ポンド/エーカー/年(227g ai/10a)に相当。

試料の採取；第2回目散布後27日に成熟ぶどうを収穫した。未成熟ぶどう及び葉は第1回目散布後から収穫時まで計10回採取し、葉については更に収穫後32日に採取した。また、収穫時及び収穫後32日に土壌を採取した。

放射能の測定；果実及び葉は直接ドライアイスと共に粉碎し、冷凍保存した。試料の一部は自動試料燃焼装置で¹⁴CO₂ Carbo-Sorb E/Permaflour E+(1/2)に吸収させ、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。土壌は混合して均一にし、同様に燃焼法で放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

放射能の抽出；ホモジネートしたぶどう果実をアセトニトリル／1%トリフルオロ酢酸で3回抽出した。抽出液を濃縮後、C-18SEP-PAKカートリッジカラムで精製し、メタノール画分と水画分を採取した。各有機溶媒層及び水層はLSCで放射能を測定した。

代謝物の分析；メタノール画分を想定代謝物標品との一次元Co-薄層クロマトグラフィー/ラジオイメージャー(TLC/RI)に供し、代謝物を同定するとともに各代謝物の放射能を測定した。TLCのバンド6の部分は掻き取り、グルコシダーゼによる加水分解に供し、C-18SEP-PAKカートリッジカラムで精製し、メタノール画分をTLCに供した。

代謝物の同定；TLCで親化合物に相当する部分のメタノール抽出液及びグルコシダーゼによる加水分解物のメタノール画分をHPLCに供した。

結 果：

放射能の推移；¹⁴Cメトキシフェノシドの最終散布後のぶどうの果実及び葉の残留放射能の濃度推移を次表に示した。

(残留濃度；メトキシフェノシド当量ppm)

経過日数	果実	葉
0	1.961	249
10	2.646	105
14	1.306	92
21	0.542	83
27(収穫時)	0.706	108
59(収穫後)	—	37
半減期	13日	26日

収穫時における残留濃度は果実及び葉でそれぞれ0.70及び108ppmであり、擬似一次速度式から算出した果実及び葉における総放射能濃度の半減期はそれぞれ13日及び26日であった。

放射能の抽出；収穫時のぶどう果実の放射能抽出結果を次表に示した。

画 分	割合(対総放射能%)
アセトニトリル/トリフルオロ酢酸抽出液	97.8
C18-SEP-PAK メタノール溶出液	97.7
C18-SEP-PAK 水溶出液	0.7
アセトニトリル/トリフルオロ酢酸抽出残渣	2.2
計	100

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

果実の放射能はアセトニトリル／トリフルオロ酢酸で97%以上抽出され、抽出された放射能の大部分はC18-SEP-PAKカラムのメタノール画分に溶出された。

代謝物の同定；収穫時の果実のメタノール溶出画分及びグルコシダーゼによる加水分解物のメタノール溶出画分における代謝物の同定結果を次表に示した。

代謝物名	記号	対総放射能% (残留値ppm)
親化合物	A	80.6 (0.597)

抽出された放射能の大部分は親化合物(A)由来であり、総残留量の80%を占めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(4) ぶどうの葉における代謝物の分析

[資料 No. 6]

試験機関：ロム・アント・ハース・カンパニー（米国）

(GLP対応)

報告書作成年：1998年

供試標識化合物：

構造式：

*：¹⁴C 標識位置

▲：¹³C 標識位置

化学名：

比放射能： 放射化学的純度；

化学名：

同位体純度；

方法：

検体の散布処理；¹⁴C標識、¹³C標識及び非標識メトキシフェノジドを混合しメタノールに溶解した。メタノール溶液を更にメタノール/水で希釈し、1995年7月7日及び8月4日にConcordぶどうに散布した。この散布量は有効成分2ポンド/エーカー/年(227g ai/10a)に相当。

試料の採取；第2回目散布後27日（収穫時）に成熟ぶどうを収穫した。未成熟ぶどう及び葉は第1回目散布後から収穫時までに計10回採取し、葉については更に収穫後32日に採取した。

放射能の測定；葉を直接ドライアイスと共に粉碎し、冷凍保存した。試料の一部は自動試料燃焼装置で¹⁴CO₂としCarbo-Sorb E/Permaflour E⁺(1/2)に吸収させ、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。

放射能の抽出；粉碎した収穫時のぶどうの葉を1%酢酸含有メタノール溶液で3回抽出した。抽出液に10%NaClを加え塩化メチレンで2回抽出した。塩化メチレン層を濃縮後、C-18SEP-PAKカートリッジカラムで精製し、メタノール/水画分(1/1)、次いでメタノール画分を採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代謝物の分析；メタノール/水画分及びメタノール画分を想定代謝物標品との順相Co-薄層クロマトグラフィー/ラジオイメージャー(TLC/RI)に供し、代謝物を同定するとともに各代謝物の放射能を測定した。さらに、いくつか想定代謝物との分析には順相TLCの相当部分を掻き取り、逆相Co-TLCに供した。

代謝物の同定；TLCで親化合物とみられた物質は液体クロマトグラフィー/質量分(LC/MS)に供し、化合物を確認した。

結 果：

放射能の抽出；収穫時のぶどう果実の放射能残留量は79.7ppmであり、その放射能抽出結果を次表に示した。

画 分	対総放射能% (残留値ppm)
酢酸メタノール抽出液	88.1 (70.2)
C18-SEP PAK メタノール/水溶出液	64.1 (51.1)
C18-SEP PAK メタノール溶出液	22.7 (18.1)
抽出残渣及び洗液	8.0 (6.4)
計	96.1

収穫時のぶどうの葉における放射能は1%酢酸含有メタノールで大部分抽出され、さらにC18-SEP PAKカラムからの2画分に殆ど溶出された。

代謝物の同定；収穫時の葉のメタノール/水溶出画分及びメタノール溶出画分を合わせた代謝物の同定結果を次表に示した。

代謝物名	記号	対総放射能% (残留値ppm)
親化合物	A	85.5 (68.14)

抽出された放射能の大部分は親化合物由来であり、総残留量の85%を占めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(5) 棉における代謝試験

[資料 No. 7]

試験機関：XenoBiotic Laboratories (米国)

ロ-ム・ア-ント・ハ-ス・カンパ-ニー (米国)

(GLP対応)

報告書作成年：1996年

供試標識化合物：

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

構造式；

* : ^{14}C 標識位置

▲ : ^{13}C 標識位置

化学名；

比放射能； 放射化学的純度；

化学名；

同位体純度；

供試作物：棉（品種；DPL50）

方法：

検体の散布処理； ^{14}C 標識、 ^{13}C 標識メトキシフェノジドの混合物を10%乳剤とした。この乳剤を水で希釈し、一区5.5m²に仕切った3区の棉に2回（1994年8月15日及び9月15日）茎葉散布した。有効成分総散布量はA環、B環及びブチル標識体でそれぞれ2200、2211及び2130g/haであった。

試料の採取；未成熟植物及び莢を第1回目散布直後、2回目散布直前、直後、7及び14日、成熟植物及び莢を2回目散布後21日（収穫時）に採取した。棉種子は綿毛を繰綿し、繰綿種子はさらに研削し綿毛を分離した。土壌は収穫時に採取した。

総放射能の測定；未成熟植物、成熟植物及び種子（種子/粉末）はドライアイスと共に粉碎し、冷凍保存した。未成熟莢及び綿毛（種子/綿毛）はそのまま冷凍保存した。粉碎した未成熟及び成熟植物、種子及び綿毛の一部は自動試料燃焼装置で ^{14}C O₂としCarbo-Sorb II/Permaflour（1/2）に吸収させ、液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

放射能の抽出；

＜種子＞ヘキサン、ついでメタノール、最後にメタノール/0.1N塩酸(3/1)で抽出し、各抽出液と残渣を得た。ヘキサン抽出液をヘキサン飽和アセトニトリルで抽出し、ヘキサン層とアセトニトリル層に分配し、濃縮した。

メタノール抽出液を濃縮・遠心分離後上清をクロロホルムで分配し、クロロホルム画分と水層画分を得た。

メタノール/塩酸抽出液を濃縮・遠心分離後上清をクロロホルムで分配した。水層は酢酸エチルで分配し、得られた水層画分はメタノール抽出液から得られた水層画分に合わせ、n-ブタノールで分配した。

＜綿毛＞ メタノールで1時間振とうした。

＜植物＞ メタノールで抽出し、抽出液をヘキサンで分配した。

各抽出液、沈殿物及び抽出残渣は燃焼法あるいは液体シンチレーションカウンター(LSC)により放射能を測定した。

非抽出性放射能の分画；

＜セルラーゼ処理＞A環標識体の種子からの抽出残渣にセルラーゼの酢酸緩衝液を加え、37℃で24時間インキュベーションした。分解液を遠心分離して上清と残渣に分画し、燃焼法及びLSCによる放射能測定に供した。

＜塩酸加水分解＞セルラーゼ処理から得られた残渣に1N塩酸を加えて80～90℃で1時間加熱した。濾液と残渣に分画し、濾液を酢酸エチルで分配した。得られた抽出画分及び残渣を燃焼法及びLSCによる放射能測定に供した。

＜綿毛塩酸加水分解＞A環標識体の綿毛からの抽出残渣に1N塩酸を加えて80～90℃で2時間加熱した。濾液と残渣に分画し、濾液を酢酸エチルで分配し、残渣には更に1N塩酸を加えて80～85℃で一夜加熱した。濾液と残渣に分画し、濾液を酢酸エチルで分配した。残渣を更に6N塩酸を加え85℃で一夜加熱した。濾液と残渣に分画し、濾液を酢酸エチルで分配した。各抽出画分及び残渣を燃焼法及びLSCによる放射能測定に供した。

代謝物の分析；種子、綿毛及び植物からの抽出液及び各分配画分を想定代謝物標品との C_{18} -薄層クロマトグラフィー/ラジオイメージャー(TLC/RI)及び逆相高速液体クロマトグラフィー(RP-HPLC)に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結 果：

放射能の推移・抽出；¹⁴Cメトキシフェノシドの未成熟植物、成熟植物、種子/粉末及び種子/綿毛中の放射能を次表に示した。

放射能の推移

経過日数	A環標識体	B環標識体	フチル標識体
1回目散布直後	87.1	105.8	53.0
2回目散布直前	14.1	17.1	13.1
2回目散布直後	94.7	132.8	89.1
2回目散布7日後	72.5	85.6	59.7
2回目散布14日後	49.2	69.0	42.9
収穫時(成熟)	16.9	17.4	12.9
種子全体	0.081	0.109	0.080
種子/粉末	0.072	0.057	0.054
種子/綿毛	0.089	0.162	0.107

(残留濃度；メトキシフェノシド^{*}当量ppm)

種子/粉末及び種子/綿毛の抽出結果

試 料		残留濃度 (メトキシフェノシド [*] 当量ppm)		
		A環標識体	B環標識体	フチル標識体
種子/ 粉末	抽出性放射能	0.053 (73.6)	0.035 (61.4)	0.047 (87.0)
	非抽出性放射能	0.019 (26.4)	0.022 (38.6)	0.007 (13.0)
	計	0.072	0.057	0.054
種子/ 綿毛	抽出性放射能	0.048 (53.9)	0.106 (65.4)	0.074 (69.2)
	非抽出性放射能	0.041 (46.1)	0.056 (34.6)	0.033 (30.8)
	計	0.089	0.162	0.107

() 内は試料中放射能に対する割合(%)

2回目散布直後の植物体の放射能は89.1～132.8ppmであったが、収穫時の残留放射能は12.9～17.4ppmであり、半減期は8.09日と算出された。種子/粉末及び種子/綿毛中の放射能はそれぞれ0.054～0.072ppm及び0.089～0.162ppmと低濃度であり、種子全体でも0.080～0.109ppmであった。種子/粉末、種子/綿毛中の放射能はその54～87%が抽出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代謝物の同定；種子全体の放射能の10%以上及び／または0.01ppm以上を占める抽出性放射能画分を想定代謝物とのCo-TLC及びHPLCに供した同定結果を次表に示した。

代謝物	記号	残留濃度(ppm)					
		A環- ¹⁴ C		B環- ¹⁴ C		フチル- ¹⁴ C	
		種子粉末	種子綿毛	種子粉末	種子綿毛	種子粉末	種子綿毛
メキシフェノシト*	A	0.011 (14.5)	0.025 (31.2)	0.013 (12.1)	0.049 (45.4)	0.018 (22.8)	0.036 (44.5)
計							

() 内は種子全体に対する割合(%)

種子/粉末及び種子/綿毛とも抽出された放射能の大部分は親化合物由来であり、種子全体残留量の46.3~67.3%を占めた。

種子/粉末中及び種子/綿毛中の親化合物はそれぞれ0.011~0.018ppm及び0.025~0.049ppmであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

非抽出性放射能の同定：A環標識体の種子/粉末、種子/綿毛抽出物残渣（非抽出性放射能）のセルラーゼ及び塩酸処理後の上清画分のLSCによる放射能分布を次表に示す。

試料	残留濃度(メトキシフェノゾド当量ppm)			
	非抽出放射能	セルラーゼ処理	1N塩酸処理	6N塩酸処理
A環標識種子/粉末	0.019	0.005 (26.3)	0.009 (47.4)	—
A環標識種子/綿毛	0.041	—	0.016* (39.0)	0.009 (22.0)

()内は試料中放射能に対する割合(%) *：2回処理の合計、-：実施せず

種子/粉末の抽出残渣のセルラーゼ処理により非抽出性放射能の26%が抽出性放射能として回収され、塩酸処理で更に47%が回収された。一方、種子/綿毛の抽出残渣の弱塩酸及び強塩酸処理により非抽出性放射能の61%が抽出性放射能として回収され、残渣中の放射能は多くは植物成分と結合しているものと思われた。

[A環-¹⁴C]、[B環-¹⁴C]及び[フタル-¹⁴C]メトキシフェノゾドを棉に散布し、収穫された種子/粉末及び種子/綿毛中の放射能は、それぞれ0.054~0.072ppm及び0.089~0.162ppmと低濃度であり、種子全体でも0.080~0.109ppmであった。種子全体中の放射能の46.3~67.3%は親化合物であり、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

3. 土壌における代謝

(1) 水田状態における代謝分解

[資料 No. 8]

試験機関：Xenobiotic Lab. (米国)

(GLP対応)

報告書作成年：1998年

供試標識化合物：

構造式：

*：¹⁴C標識位置

化学名：

比放射能：

放射化学的純度：

化学名：

同位体純度：

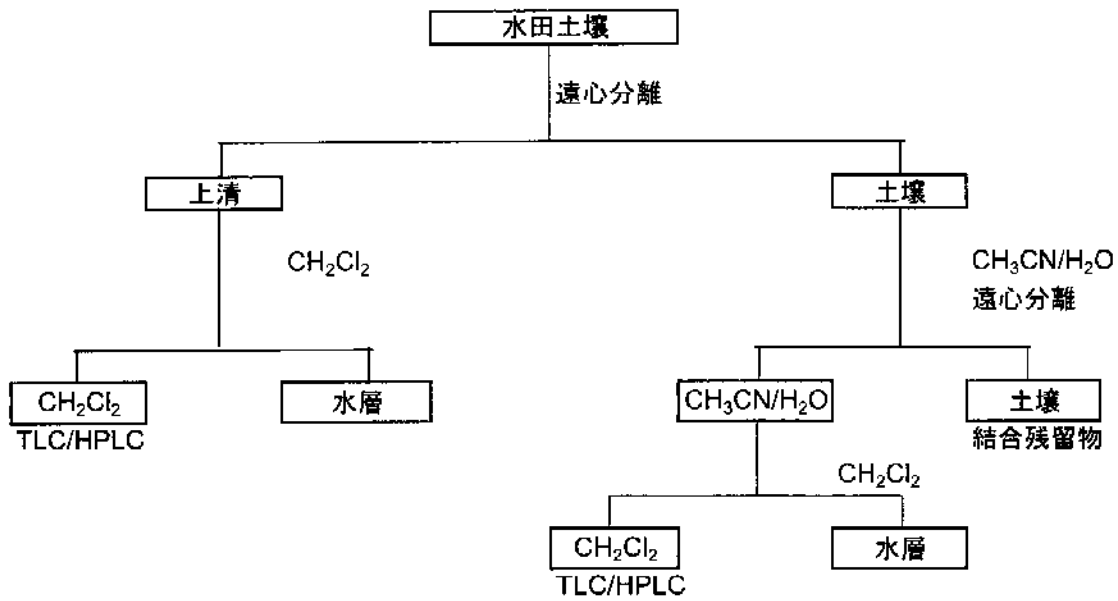
標識位置設定理由：

供試土壌：テキサス及びカリフォルニア土壌を用いた。供試した土壌の特性を下表に示した。

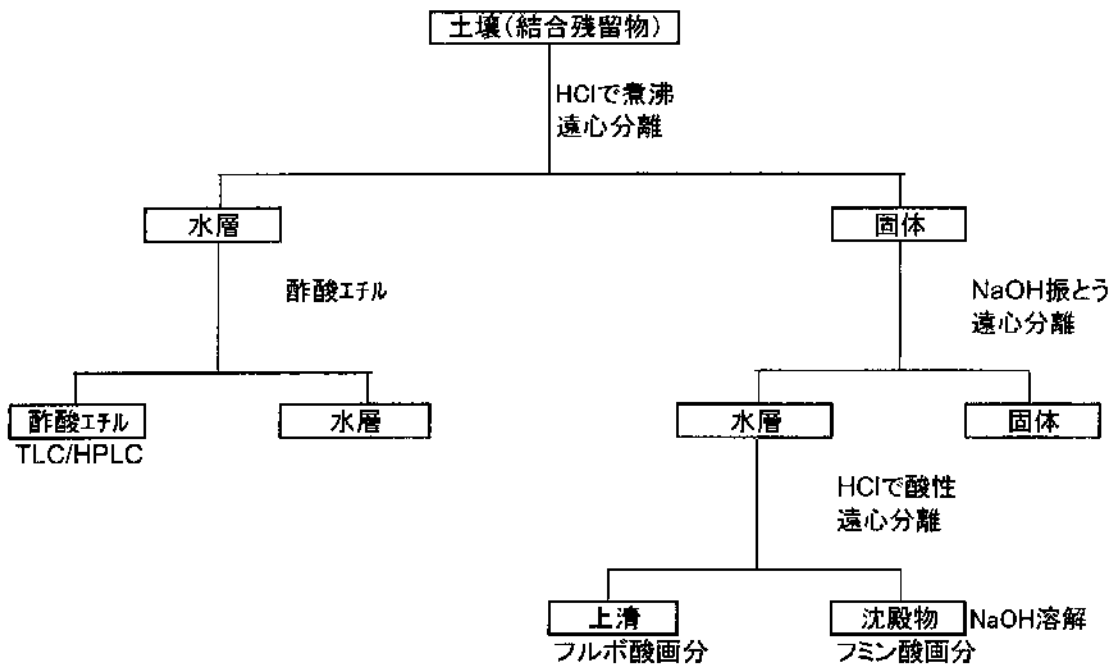
由来	土性	粗砂 (%)	微砂 (%)	粘土 (%)	有機物 (%)	pH	CEC*	かさ密度 (g/cm ³)
テキサス	砂壤土	62	29	9	0.9	5.7	4.7	1.38
カリフォルニア	埴上	18	23	59	3.0	5.4	30.1	1.00

*：陽イオン交換容量 (meq/100g)

水田土壌の抽出操作



(結合残留物の抽出)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

方 法 :

処 理 ; [^{14}C]メトキシフェノジドと [^{13}C]メトキシフェノジドを等量混合し、アセニトリルに溶解して検体溶液とした。土壌約5gをガラス製遠心管に入れ田水9-10mlを加えた後、検体の168ppmアセトニトリルを45 μl 添加し、土壌/水系(約15g)に対して約0.5ppm濃度とした。処理後揮散性放射能を捕集するため、エチレングリコール、1NKOH及び1NH₂SO₄トラップを装着し、25°C、暗所でインキュベートした。トラップは月2回あるいは試料採取時に交換した。

処理濃度の設定根拠 ;

試料の採取 ; 処理 0、3、7、14、30、60、91、120、179、270及び365後に2連の土壌を取り出し分析に供した。

放射能の抽出及び測定 ; 試料を2,5000rpmで10分間遠心分離し、田水中放射能はジクロロメタンで抽出した。土壌中放射能はアセトニトリル/水(4:1)又はアセトニトリル/0.01N塩酸(4:1)で抽出後、抽出液に水を加えジクロロメタンで抽出した。各抽出画分は液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、抽出後の残渣(結合残留物)は放射能を自動試料燃焼装置で $^{14}\text{CO}_2$ としLSCで測定した。

揮発性放射の確認 ; KOHトラップに捕集された放射能が $^{14}\text{CO}_2$ であることの確認はBa₂Cl₂を加え、生じた沈殿物をLSCに供した。

代謝分解物の分析 ; ジクロロメタン抽出物を想定代謝物標品との一次元 Co-薄層クロマトグラフィー/オートラジオグラフィー (TLC/ARG) に供し、代謝物を同定するとともにラジオスキャナーで定量した。91日後の抽出物については液体クロマトグラフィー(HPLC)に供し、想定代謝物と保持時間を比較した。

非抽出性放射能の分画 ; 270日後のテキサス土壌及びカリフォルニア土壌の抽出残渣を用いた。残渣を0.25N塩酸で1時間加熱還流し、冷却後遠心分離後、上清を酢酸エチルで抽出した。さらに、残渣に0.5N NaOHを加え24時間振とう抽出した。遠心分離後、沈殿物は風乾しフミン画分とし、上清は濃塩酸を加えてから再び遠心分離し、上清(フルボ酸)と沈殿物(フミン酸)に分画した。フミン酸を含む沈殿物は更に0.1N NaOHに溶解した。それぞれの抽出画及び残渣はLSC或いは燃焼法で放射能を測定した。また、酢酸エチル抽出物はTLC/ARGに供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結 果：

①放射能の推移；メトキシフェノジドを土壤に添加した後の放射能の推移を次表にまとめて示した。

テキサス土壤

面 分	添加放射能に対する割合 (%)										
	0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
田 水	72.8	56.2	51.5	51.9	55.8	56.1	57.8	59.6	56.8	55.2	54.0
(ジクロロメタン層)	72.6	55.4	50.0	48.4	52.5	50.5	53.0	53.9	51.2	49.4	45.6
(水 層)	0.2	0.8	1.6	3.5	3.3	5.6	4.8	5.7	5.6	5.8	8.4
土 壤	27.7	42.4	44.6	47.1	40.9	39.4	46.6	35.9	40.7	40.7	39.0
(ジクロロメタン層)	25.5	38.3	40.4	42.0	35.6	32.5	39.2	29.3	33.9	30.9	30.9
(水 層)	0.0	0.02	0.1	0.5	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0.5	0.4
(残 渣)	2.1	4.1	4.0	4.6	4.9	6.6	7.1	6.3	6.5	9.6	7.7
揮散性物質	0.0	0.03	0.08	0.21	0.72	1.33	1.77	2.24	3.10	4.19	6.18
(エチレングリコール)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.01	0.03	0.05	0.09	0.14	0.2
(KOH)	0.0	0.03	0.07	0.2	0.71	1.31	1.73	2.18	2.98	3.99	5.94
(H ₂ SO ₄)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.01	0.02	0.03	0.05	0.05
計	100.4	98.6	96.2	98.7	97.4	96.8	106.2	97.7	100.6	100.4	99.1

カリフォルニア土壤

面 分	0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
	田 水	41.5	17.7	13.7	11.1	9.7	8.2	7.8	4.7	4.1	1.6
(ジクロロメタン層)	41.3	17.5	13.0	10.0	8.9	7.0	6.4	3.5	1.6	1.4	1.8
(水 層)	0.2	0.2	0.7	1.1	0.9	1.3	1.4	1.2	2.5	0.3	0.3
土 壤	59.0	82.4	80.0	90.1	86.6	86.6	92.1	92.0	91.1	86.6	89.7
(ジクロロメタン層)	50.8	64.8	61.3	64.4	61.0	58.6	68.2	50.6	53.5	46.3	46.4
(水 層)	0.03	0.05	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2
(残 渣)	8.2	17.5	18.6	23.0	25.6	26.4	23.8	41.3	37.4	43.8	43.2
揮散性物質	0.0	0.03	0.05	0.20	0.45	1.04	1.5	1.75	2.72	3.93	5.06
(エチレングリコール)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.01	0.01	0.02	0.02	0.04	0.06	0.06
(KOH)	0.0	0.02	0.04	0.2	0.44	1.02	1.4	1.71	2.65	3.81	4.94
(H ₂ SO ₄)	0.0	0.0	0.0	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.03	0.05	0.05
計	100.5	100.0	93.7	98.8	96.7	94.3	101.3	98.5	97.9	95.9	96.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

添加直後のテキサス及びカリフォルニア土壌において土壌中放射能は各々27.7%及び59%であったが、1年後には各々39%及び90.0%まで増加した。また、1年後の田水中放射能は54%及び2%であった。土壌の非抽出性放射能（結合残留物）の割合は経過時間とともに徐々に増加し、1年後にはテキサス及びカリフォルニア各土壌で添加放射能の7.7%及び43%であった。また、1年間の積算¹⁴CO₂ (KOHトラップ)は各土壌で5.9%及び4.9%に達した。

②代謝分解物の分析；田水及び土壌から得られた抽出性放射能を一次元TLC/ARGで分析した結果を次表にまとめて示した。

テキサス土壌

代謝分解物	記号	添加放射能に対する割合 (%)											
		0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日	
メキシフェノシト	A	98.0	93.5	89.2	85.9	79.9	72.0	79.3	72.5	76.2	71.6	70.3	
¹⁴ CO ₂	nd	0.03	0.07	0.20	0.71	1.31	1.73	2.18	2.98	3.99	5.94		

カリフォルニア土壌

代謝分解物	記号	0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
		メキシフェノシト	A	92.2	81.9	73.7	72.3	63.2	53.2	58.0	45.0	46.3
¹⁴ CO ₂	nd	0.02	0.04	0.19	0.44	1.02	1.42	1.71	2.68	3.81	4.94	

nd；検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

メトキシフェノジドはテキサス及びカリフォルニア土壌において各々添加直後には添加放射能の98%及び92%であったが、91日には79%及び58%に、1年後には70%及び45%まで減少した。これらの値から算出したメトキシフェノジドの半減期はテキサス及びカリフォルニア土壌で各々962.5日及び387.1日であった。

③非抽出性放射能の分析； 270日後のテキサス及びカリフォルニア土壌の非抽出性放射能について分画の結果及び酢酸エチル抽出物中のTLC/ARGで確認された代謝物を次表に示した。

画 分	添加した放射能に対する割合 (%)	
	テキサス土壌	カリフォルニア土壌
酸抽出	3.6	6.9
EtoAC層	3.2	6.0
(親化合物)	(2.2)	(2.8)
水層	0.5	0.8
アルカリ抽出	5.3	30.5
フルボ酸	2.3	16.2
フミン酸	3.0	14.3
残渣 (フミン)	0.6	6.4
計	9.6	43.8

非抽出性放射能はフルボ酸及びフミン酸画分に多く検出され、カリフォルニア土壌ではそれぞれ16%及び14%であった。

メトキシフェノジドを用いて、水田状態の土壌での代謝分解を調べた。メトキシフェノジドは水田状態で緩やかに分解し、最終的にCO₂にまで無機化された。

365日間のデータをもとに擬一次動態での直線回帰分析から算出したメトキシフェノジドの半減期は、テキサス州砂壤土及びカリフォルニア州埴土で各々962日及び387日であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(2) 畑地状態での好氣的土壤代謝試験

[資料 No. 9]

試験機関：Xenobiotic Lab. (米国)
(GLP対応)

報告書作成年：1997年

供試標識化合物：

構造式；

*：¹⁴C標識位置

化学名：

比放射能； 放射化学的純度；

標識位置設定理由；

供試土壤：ジョージア及びテキサス土壤を用いた。供試した土壤の特性を下表に示した。

由来	土性	粗砂 (%)	微砂 (%)	粘土 (%)	有機物 (%)	pH	CEC*	嵩密度 (g/cm ³)
ジョージア	砂壤土	83	6	11	0.8	6.9	5.0	1.23
テキサス	砂質埴壤土	47	24	29	0.7	8.1	35.7	1.17

*：陽イオン交換容量 (meq/100g)

方法：

処理；乾土換算で50g相当のジョージア土壤及びテキサス土壤をサイドアームの付いた各バイオメーターフラスコに入れ、各々に [¹⁴C]メトキシフェノジドの1095ppmアセトニトリル溶液45ulを添加し、水を加えて容水能の75%に調整した。添加濃度は乾土につき約1ppmとし、処理後の揮散性放射能を捕集するため、1NKOHを入れたトラップを各フラスコに装着し、25°C、暗所でインキュベートした。KOHトラップは月2回あるいは試料採取時に液体シンチレーション(LSC)用に採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

処理濃度の設定根拠；

試料の採取；処理 0、3、7、14、30、60、91、120、179、270及び365日後に2連の土壌を取り出し分析に供した。

放射能の抽出及び測定；試料をアセトニトリル／水(4/1)で抽出し、抽出液をさらにジクロロメタンで抽出した。各抽出画分は液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、抽出後の残渣(結合残留物)は放射能を自動試料燃焼装置で $^{14}\text{CO}_2$ としLSCで測定した。

揮発性放射の確認；KOHトラップに捕集された放射能が $^{14}\text{CO}_2$ であることの確認は Ba_2Cl_2 を加え、生じた沈殿物をLSCに供した。

非抽出性残留物の分画；添加365日後のジョージア土壌及び270日後のテキサス土壌抽出残渣を用いた。残渣を0.25N塩酸で1時間加熱還流し、冷却後遠心分離し上清と固体に分画した。上清は酢酸エチルで抽出した。固体画分は室温下0.5N NaOHで24時間振とうし、遠心分離後、沈殿物はフミン画分とし、上清はさらに濃塩酸でpH 1とし、上清(フルボ酸画分)と沈殿物(フミン酸画分)に分けた。フミン酸を含む沈殿物は更に0.1N NaOHに溶解した。各抽出画分はLSCあるいは燃焼法により、またフミン画分は燃焼法により放射能を測定した。

代謝分解物の分析；ジクロロメタン抽出物及び酢酸エチル抽出物を想定代謝物標品との一次元Co-TLC/オートラジオグラフィー(ARG)に供し、代謝物を同定するとともにラジオスキャナーで定量した。両土壌の120日後のジクロロメタン抽出物については液体クロマトグラフィー(HPLC)に供し、想定代謝物標品と保持時間を比較した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結果：

(1) 放射能の推移；メトキシフェノジドを土壌に添加した後の放射能の推移を下表にまとめて示した。

(ジョージア土壌)

画 分	添加放射能に対する割合 (%)										
	0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
アセトニトリル画分	112.2	102.4	98.3	89.1	90.8	77.7	77.7	74.8	64.4	62.7	60.5
(ジクロロメタン層)	112.2	102.1	97.8	88.5	90.0	77.5	77.2	74.4	64.1	62.6	60.5
(水 層)	0.0	0.3	0.5	0.5	0.7	0.2	0.4	0.4	0.2	0.1	0.1
結合残留物画分	2.0	8.3	10.3	14.4	16.5	24.3	24.2	26.7	31.7	34.0	35.3
揮発性画分(KOH)	0.0	0.2	0.3	0.3	0.4	1.8	0.7	0.9	1.3	1.6	2.0
計	114.2	110.9	108.9	103.7	107.6	103.8	102.5	102.4	97.4	98.3	97.8

(テキサス土壌)

画 分	添加放射能に対する割合 (%)										
	0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
アセトニトリル画分	118.6	95.6	97.8	94.0	95.1	90.0	89.1	87.3	83.1	76.5	78.3
(ジクロロメタン層)	118.3	95.1	97.3	93.6	94.8	89.5	88.4	86.3	81.9	76.0	77.8
(水 層)	0.3	0.4	0.5	0.5	0.3	0.6	0.8	1.0	1.2	0.5	0.5
結合残留物画分	4.3	5.8	6.2	7.0	8.7	9.4	10.2	12.2	12.9	16.0	15.7
揮発性画分(KOH)	0.0	0.1	0.3	0.3	0.6	0.8	1.2	1.8	2.6	3.8	4.0
計	122.8	101.6	104.2	101.3	104.4	100.2	100.5	101.2	98.5	96.2	98.0

ジョージア土壌及びテキサス土壌において非抽出性放射能（結合残留物）の割合は経過時間と共に徐々に増加し、1年後にはそれぞれ添加放射能の35%及び15%であった。また、1年間の積算揮発性物質は各土壌で2%及び4%に達し、44日のKOHトラップ中の揮発性物質の92%以上は $^{14}\text{CO}_2$ であった。

(2) 代謝分解物の分析；

①アセトニトリル/水抽出液からのジクロロメタン抽出性放射能を一次元TLC/ARGで分析した結果を次表にまとめて示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(ジョージア土壌)

代謝分解物	記号	添加放射能に対する割合 (%)										
		0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
メキシフェノジト ^ト	A	111.7	101.5	97.2	88.0	89.2	76.4	76.0	73.1	62.6	60.9	58.7

(テキサス土壌)

代謝分解物	記号	添加放射能に対する割合 (%)										
		0日	3日	7日	14日	30日	60日	91日	120日	179日	270日	365日
メキシフェノジト ^ト	A	117.9	94.6	96.7	93.0	93.9	88.4	86.6	84.4	79.2	73.1	73.7

② 120日土壌のアセトニトリル/水抽出液のジクロロメタン抽出性放射能を液体クロマトグラフィーで分析した結果を次表に示した。

(%対総放射能)

代謝分解物	記号	ジョージア土壌	テキサス土壌
メキシフェノジト ^ト	A	98.3	97.2

ジョージア土壌及びテキサス土壌とも親化合物は徐々に減少し、365日にはそれぞれ58.7%及び73.7%となった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(3) 非抽出性放射能の分析

365日のジョージア土壌及び270日のテキサス土壌の溶媒非抽出性放射能についての分画の結果を次表に示した。

画 分	添加した放射能に対する割合 (%)	
	ジョージア土壌	テキサス土壌
酸抽出	10.9	5.5
EtoAC層	10.5	5.2
(親化合物)	(9.1)	(4.3)
水層	0.4	0.3
アルカリ抽出	19.6	8.6
フルボ酸	15.0	6.8
フミン酸	4.6	1.9
残渣 (フミン)	4.8	1.8
計	35.3	16.0

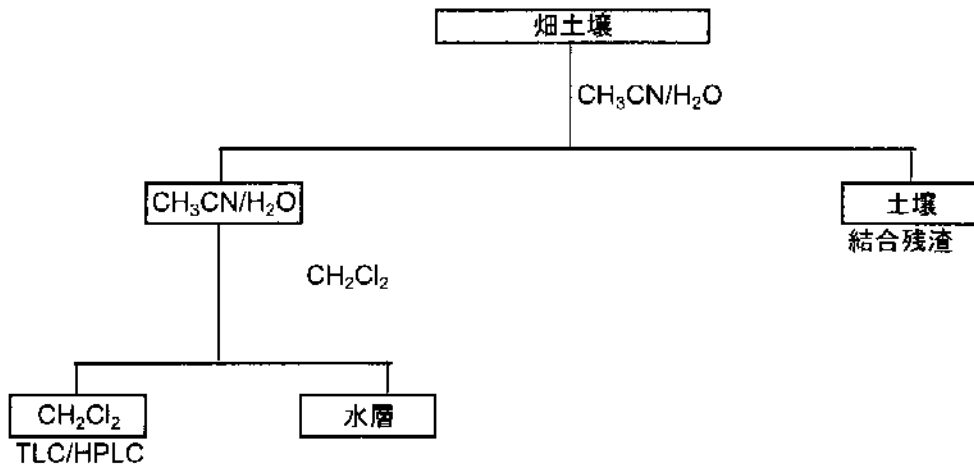
非抽出性放射能（結合残留物）は酸抽出によりジョージア土壌及びテキサス土壌からそれぞれ11%及び5.5%が抽出された。そのうち放射能は主に親化合物（9%及び4%）であったが、

酸抽出後のアルカリで抽出される結合残留物は主にフルボ酸画分に存在し、フミン酸及びフミン画分には2～5%認められた。

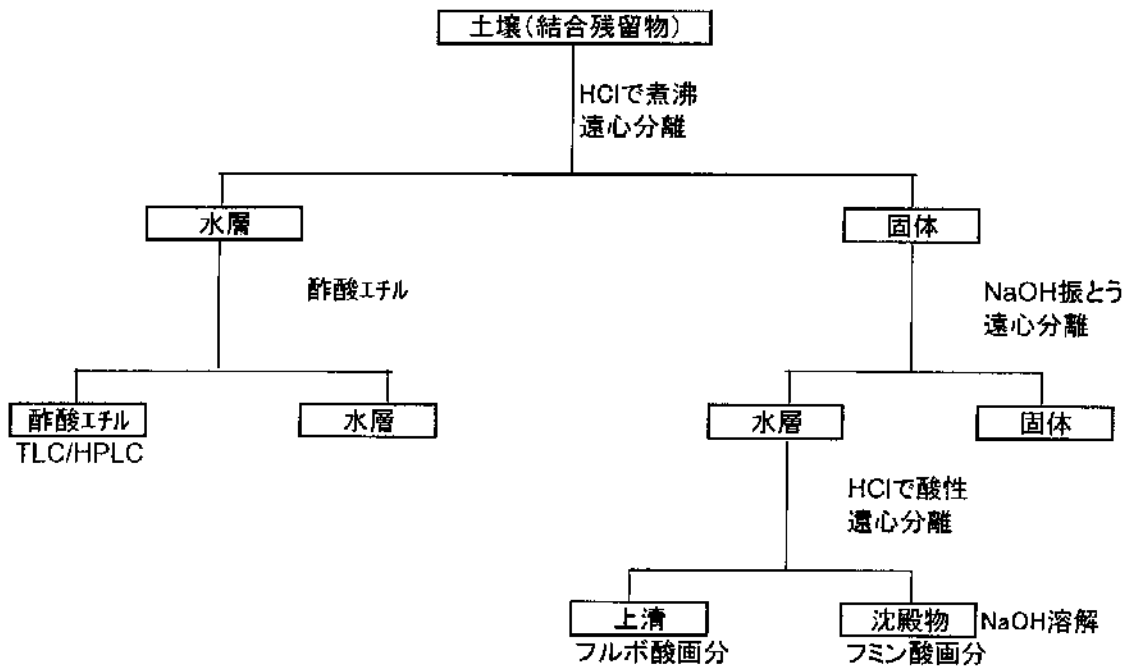
¹⁴C]メトキシフェノジドを用いて、畑地状態の土壌での代謝分解を調べた。メトキシフェノジドは畑地状態で緩やかに分解し、最終的にCO₂にまで無機化された。

結合性残留物は主にフルボ酸画分に存在した。365日間のデータをもとに擬一次動態での直線回帰分析から算出したメトキシフェノジドの半減期は、ジョージア州砂壤土及びテキサス州砂質植壤土で各々336日及び722日であった。

畑土壌の抽出操作



(結合残留物の抽出)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

4. 光分解

(1) 水中における光分解

[資料 No. 10]

試験機関: Xenobiotic Labo. (米国)

(GLP対応)

報告書作成年: 1997年

供試標識化合物:

構造式:

*: ¹⁴C標識位置

化学名:

比放射能: 放射化学的純度:

供試水: オートクレーブで滅菌した0.01モルTrizma(pH6.91)の緩衝液

光源: キセノンランプ(UVフィルター付、290nm以下カット)、168.1W/m²

測定波長範囲: 330~800nm

方法:

処理; 緩衝液をいれた試験管に¹⁴Cメトキシフェノジドのメタノール溶液を添加し、0.5ppmの水溶液を調製した。Pyrex製ガラス窓を有するステンレス製反応容器に試験管を入れ、照射後の揮発性放射能を捕集するためにポリウレタン、0.1NKOH、0.1NH₂SO₄を入れたトラップを装着し、Pyrex窓の上部からキセノン光を12時間の明暗サイクルで30日間25°Cで照射した。

試料採取; 0.5ppmの水溶液を照射後0、3、7、14、21及び30日に採取し、暗対照の試料については14及び30日に採取した。試料は2連制とした。

揮散性放射能の測定; KOH及びH₂SO₄捕集液は直接液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、ポリウレタンに捕集された放射能はメタノールで抽出後LSCで測定した。

放射能の抽出及び測定; 試験照射溶液の一部をLSCで測定後、ジクロロメタンで抽出し各画分の放射能をLSCで測定した。ジクロロメタンで抽出分画は薄層クロマトグラフィー(TLC)に供した。

光分解物の分析; ジクロロメタン抽出物を想定光分解物標品との一次元Co-TLCに供し、分解物を同定すると共にTLCラジオスキャナーで定量した。30日の試料の抽出物については液体クロマトグラフィー(HPLC)に供し、想定光分解物標品と保持時間を比較した。

半減期の算定; 半減期の算定は直線回帰分析から求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

結 果：

(1)放射能の分布；各画分の放射能の推移を下表に示した。

画 分	添加放射能に対する割合 (%)						
	0日	3日	7日	14日	21日	30日	暗対照 30日
ジクロロメタン層	102.3	101.8	101.8	102.5	100.4	102.2	101.7
水 層	0.16	0.24	0.28	0.37	0.46	0.54	0.19
揮散性物質	—	0.1	0.11	0.14	0.12	0.09	0.08
計	102	102	102	103	101	103	102

添加した放射能の大部分(~100%)はジクロロメタンで抽出されたが、水溶性画分が徐々に増加した。

(2)光分解物；ジクロロメタン抽出画分のTLCによる光分解物の分析結果を下表に示した。

光分解物	記号	添加放射能に対する割合 (%)						
		0日	3日	7日	14日	21日	30日	暗対照 30日
メキシフェノジド	A	102	101	101	102	100	102	101

抽出された放射能の大部分は親化合物であった

メトキシフェノジドはpH7の緩衝液中では極めてゆっくりと光分解を受け、30日間の結果をもとに算出した半減期は2,166日であった。

自然太陽光下での推定半減期（東京春換算値）は1770.3日と計算された（申請者による計算）。

$$I_s = 14.6 \times 168.1 / 138.1 = 17.77 (\text{MJ}/\text{m}^2/\text{d})$$

$$I_{DT50} = 168.1 \times 2166 \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} = 31458.6 (\text{MJ}/\text{m}^2/\text{d})$$

$$DT50_{\text{sun}} = 31458.6 / 17.77 = 1770.3 \text{日}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

(2) 自然水における光分解

[資料 No. 11]

試験機関：Xenobiotic Labo. (米国)
(GLP対応)

報告書作成年：1994年

供試標識化合物：

構造式：

*：¹⁴C 標識位置

化学名：

比放射能：

放射化学的純度：

供試水：1994年3月22日にAfton湖（ペンシルベニア州）から採取した湖水
(pH 6.55)。滅菌せず。

光源：キセノンランプ(UVフィルター付、290nm以下カット)、112.3W/m²

測定波長範囲：330～800nm

方法：

処理：湖水をいれた試験管に[¹⁴C]メトキシフェノジドのアセトニトリル溶液を添加し1.0ppmの水溶液を調製した。Pyrex製ガラス窓を有するステンレス製反応容器に試験管を入れ、照射後の揮発性放射能を捕集するためにポリウレタン、0.1NKOH、0.1NH₂SO₄を入れたトラップを装着し、Pyrex窓の上部からキセノン光を12時間の明暗サイクルで30日間25℃で照射した。

試料採取：1ppmの水溶液を照射後0、3、7、14、21及び30日に採取し、暗対照の試料については14及び30日に採取した。試料採取は2連制とした。

揮散性放射能の測定：KOH及びH₂SO₄捕集液は直接液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、ポリウレタンに捕集された放射能はメタノールで抽出後LSCで測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

放射能の抽出及び測定；試験照射溶液の1部をLSCで測定後、0、3、7日の試料はジクロロメタンで抽出し各画分の放射能をLSCで測定し、ジクロロメタン抽出分画は薄層クロマトグラフィー(TLC/ARG)に供した。14日の試料は抽出後の水層画分を更に塩酸酸性後ジクロロメタン抽出-エーテル抽出、次いでアルカリ性後ジクロロメタン抽出-エーテル抽出を行った。21及び30日の試料はSep-Pakカートリッジカラムで処理し、メタノールで溶出した。有機溶媒抽出画分はTLC/ARGに供した。

半減期の算定；半減期の算定は直線回帰分析から求めた。

光分解物の分析；有機溶媒抽出物をTLCに供し、分解物を同定すると共にTLCラジオスキャナーで定量した。また、21及び30日の試料の抽出物については液体クロマトグラフィー(HPLC)に供した。

結果：

(1)放射能の分布；各画分の放射能の推移を下表に示した。

画 分	添加放射能に対する割合 (%)						
	0日	3日	7日	14日	21日	30日	暗対照 30日
ジクロロメタン層 (或はメタノール層)	101.0	96.8	94.4	88.4	93.1*	92.7*	100.4*
水 層	0.20	1.1	2.6	8.7	4.6	5.5	0.24
揮散性物質	0.12	0.03	0.04	0.06	0.04	0.06	0.05
計	101.3	97.9	97	97.2	97.7	98.2	100.7

*：容器洗液を含む

添加した放射能の大部分はジクロロメタン或はメタノールで抽出されたが、水溶性画分が徐々に増加した。

(2) 光分解物；ジクロロメタン及びエーテル抽出画分とSep-Pakカラムからのメタノール溶出画分のTLCによる光分解物の分析結果を下表に示した。

光分解物	記号	添加放射能に対する割合 (%)						
		0日	3日	7日	14日	21日	30日	暗対照 30日
メキソフェノジド	A	101	96.8	93.2	77.0	79.2	79.0	98.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

抽出された放射能の大部分は親化合物であった。

メトキシフェノジドは自然水中では比較的速やかに光分解を受け、30日間の結果をもとに算出した半減期は77日であった。

自然太陽光下での推定半減期（東京春換算値）は62.9日と計算された（申請者による計算）。

$$I_s = 14.6 \times 112.3 / 138.1 = 11.87 (\text{MJ}/\text{m}^2/\text{d})$$

$$I_{DT50} = 112.3 \times 77 \times 24 \times 3600 \times 10^{-6} = 747.1 (\text{MJ}/\text{m}^2/\text{d})$$

$$DT50_{\text{sun}} = 747.1 / 11.87 = 62.9 \text{日}$$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

5. 加水分解性

[資料 No. 12]

試験機関：ローム・アント・ハース・カンパニー(米国)
(GLP対応)

報告書作成年：1994年

供試標識化合物：

構造式；

*：¹⁴C 標識位置

化学名；

比放射能；

放射化学的純度；

方法：pH5、7、及び9の緩衝液200mlを入れた瓶に[¹⁴C]メトキシフェノジドと非標識体のメタノール溶液1mlを添加した。検体の濃度は1.0ppmとした。
各緩衝液は、アルミホイルで包んだ箱に入れ24.9±1.6°Cでインキュベートした。
インキュベート開始後0、7、10、14、21、30日に各緩衝液から2連制で試料を採取し、液体シンチレーションにより放射能を測定した。

(緩衝液組成)

pH5：0.01M酢酸ナトリウム/酢酸

pH7：0.1M Trizma-HCl/0.1M Trizma-Base

pH9：0.01Mほう酸・塩化カリウム/0.1N塩化ナトリウム

各々の緩衝液は0.2μmのフィルターでろ過した。

半減期の算定：半減期の算定は直線回帰分析から求めた。

結果：添加量に対する各測定日における[¹⁴C]メトキシフェノジドの回収率(%)は以下のとおりであった。

pH	0日	7日	10日	14日	21日	30日
5	96.8	99.6	98.8	99.8	97.0	94.3
7	98.9	98.9	99.2	97.6	98.2	97.8
9	98.9	98.9	99.1	99.3	96.8	96.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

以上の結果から¹⁴C]メトキシフェノジドの緩衝液pH5、7及び9における半減期は次のとおりと推定された。

pH	半減期
5	587日
7	1572日
9	695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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

6. 土壌吸着性

(1) メトキシフェノジド標準品を用いた土壌吸着試験

[資料 No. 13]

試験機関：(株)化学分析コンサルタント

報告書作成年：1998年

供試化合物：

構造式：

化学名：

検体の純度：

試験温度：低温振とう恒温槽 25±1℃ (遮光下)

供試土壌：下記の4種類の土壌を用いた。

土 壌	水田土壌	水田土壌	畑地上壌	畑地土壌
採取場所	石川県農試	日植調研究所	日植防研牛久	日植防宮崎
土壌型(OECD106)		—	2	5
土壌群名	細粒灰色低地土	洪積埴壌土	淡色黒ぼく土	砂丘木熟土
土性	軽埴土	軽埴土	重埴土	壤質砂土
砂 %	45.8	39.8	24.8	86.0
シルト%	25.6	24.0	27.5	7.1
粘度 %	28.6	36.2	47.7	6.9
有機炭素含有率(%)	1.22	2.83	3.33	1.50
pH				
H ₂ O	6.8	6.4	7.0	5.9
KCl	5.7	5.7	6.2	5.3
0.01M CaCl ₂	—	—	6.1	5.4
陽イオン交換容量 (me/100g)	24.9	22.9	29.8	9.7
りん酸吸収係数	800	920	2220	1030
粘度鉱物の種類	イライト モンモリロナイト	アロフェン ハロサイト	アロフェン パーミキュライト	カオリン鉱物 パーミキュライト
最大容水量 (g/100g)	—	—	103.6	57.7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

試験方法：OECDガイドライン 106 による方法に準拠した。

あらかじめ遠沈管内に試験土壌（風乾細土）5gを秤取り、純水5mlを加え、一夜放置する。一定量を 0.01M-CaCl₂ 溶液で希釈した検体の 0.265, 0.530, 1.06及び 2.12ppm 溶液 20ml を遠沈管内に加えて密栓後、恒温槽内（25±1℃、遮光下）で平衡化試験結果に基づき24時間振とうする。平衡化に達した後、3000rpmで20分間遠心分離し、上澄液と残土を得る。上澄液は、ジクロロメタンで抽出後、フロリジルカラムクロマトグラフィーで精製し、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で測定する。一方、残土はメタノールで抽出後、ジクロロメタンに転溶し、フロリジルカラムクロマトグラフィーで精製したのち、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）で定量する。

結果：吸着試験の結果を以下に示した。

(1) K及びKoc'

土壌	土性	吸着指数 1/n ¹⁾	吸着平衡 定数(K)	相関係数 (γ) ¹⁾	有機炭素 含有量 (OC%) ²⁾	有機炭素 吸着係数 (Koc') ³⁾
石川農試	埴壤土	1.88	207	0.998	1.22	17000
日植調研	埴壤土	1.10	8.62	0.994	2.83	304
日植防研	壤土	0.926	5.43	0.998	3.33	163
日植防宮崎	砂壤土	1.19	2.01	0.993	1.50	134

1)：Freundlichの吸着等温式による定数項と相関係数

2)：土壌中の有機炭素含有率

3)：Kを土壌のOC%で除して求めた有機炭素吸着係数

(2) 物質収支 (1.06ppm 試験溶液)

土壌 No.	初期 添加量 (μ g)	プレート到着時 の吸着量 (μ g)	平衡溶液中 (μ g)	不足量 (μ g)	回収率 (%)	
					実測値	平均値
I	21.20	17.72	2.925	0.56	97.4	97.7
		17.71	3.079	0.42	98.0	
II	21.20	12.71	8.794	-0.30	101	102
		12.70	8.930	-0.43	102	
III	21.20	10.87	10.26	0.07	99.7	101
		10.70	10.87	-0.37	102	
IV	21.20	5.133	15.38	0.69	96.7	96.4
		5.120	15.27	0.81	96.2	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

石川農試の吸着平衡定数（K）が高い理由：

石川農試の吸着平衡定数 K は 207 と他の土壌に比べて非常に高い値を示した。その理由として石川農試の土壌は細粒灰色低地土で粒子が細かく、土壌表面積が大きいため吸着平衡定数が高いと考えられる。この事は以下に示した平衡化試験及び高次試験結果で石川農試の水相濃度が他の土壌よりかなり低い値であったことから支持される。

（平衡化試験－振とう後の水相中の濃度）

土壌No.	初期添加量 (μg)	振とう時間 (hr)	水相中の濃度/平均値 ($\mu\text{g/mL}$)
I	35.80	4	0.19
		8	0.16
		16	0.15
		24	0.14
II	35.80	4	0.61
		8	0.58
		16	0.56
		24	0.52
III	35.80	4	0.78
		8	0.74
		16	0.72
		24	0.70
IV	35.80	4	1.15
		8	1.10
		16	1.08
		24	1.08

（高次試験－水相濃度）

土壌No.	初期添加量 (μg)	水相濃度/平均値 ($\mu\text{g/mL}$)
I	5.300	0.0526
	10.60	0.0816
	21.20	0.1192
	42.40	0.1751
II	5.300	0.0953
	10.60	0.1664
	21.20	0.3517
	42.40	0.6513
III	5.300	0.0995
	10.60	0.1986
	21.20	0.4128
	42.40	0.8587
IV	5.300	0.1682
	10.60	0.3168
	21.20	0.6083
	42.40	1.2320

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代謝分解のまとめ

メトキシフェノジドの動物、植物、土壌及び光による代謝分解のまとめは以下の通りである。

1. 動物での代謝

[A 環- ^{14}C]、[B 環- ^{14}C]及び[ブチル- ^{14}C]メトキシフェノジド及びそれぞれの ^{14}C 標識体を用い、10 及び 1000mg/kg の用量で経口投与して、ラットでの血中濃度推移、体内分布、排泄、胆汁排泄及び代謝を調べた。

血漿中濃度は低濃度投与及び高濃度投与ともいずれの標識体でも投与後 15～30 分で最高濃度に達し、 C_{\max} は標識化合物間で大きな差はなかった。投与量と血漿中濃度との間に直線的な関係は認められなかった。血漿中濃度推移は 2 相性 (α , β) を示し、雌雄ラット間で両濃度とも標識位置の違いによる α 相の差は見られなかったが (0.2～0.6 時間)、雌で高濃度では低濃度に比べて全体の消失速度定数半減期が 2 倍長くなった (10～12 時間対 5～6 時間)。いずれの標識体でも肝、消化管での放射能濃度が高く、腎、脾、血漿及び副腎でも比較的高い放射能濃度であったが、組織への顕著な貯留性及び蓄積性は認められなかった。

単回投与された放射能の糞への排泄は、投与後 24 時間までに 58～77% であり、48 時間までには 80～93% 達した。一方、尿への排泄は投与後 24 時間までに 3.6～9.0%、48 時間までに 4.5 (雄)～11.6% (雌) であり、尿への排泄率は雌ラットの方が高かった。呼気への放射能の排泄は [ブチル- ^{14}C] 標識体の高用量投与で認められ、7 日間累積で投与量の 0.01% が $^{14}\text{CO}_2$ として、0.02% が揮発性物質として捕集され、ブチル基の基本骨格からの切断が示唆された。

胆汁への排泄は、[A 環- ^{14}C] 標識体を低用量投与した時、48 時間までに投与量の 34 (雌)～64% (雄) に達し、尿への排泄率を合計した消化管からの吸収率は 62～70% であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

2. 植物での代謝

メトキシフェノジドの植物での代謝は、[A 環- ^{14}C]、[B 環- ^{14}C]あるいは[ブチル- ^{14}C]標識体及びそれぞれの ^{13}C 標識体を圃場に栽培されているイネ、りんご、ぶどうに散布して調べた。

イネでは、玄米及び稲藁中にそれぞれ 0.524~0.712ppm 及び 20~42ppm の残留放射能が認められた。

玄米中の親化合物の残留濃度は 0.274~0.415ppm であり、

りんごでは、散布後 36 日に採取した果実に 0.28ppm の残留放射能が認められた。残留放射能の 91%(0.256ppm)を親化合物が占め、

ぶどうでは、散布後 27 日に採取した果実に 0.71ppm、葉に 108ppm 残留放射能が認められた。果実中の残留放射能の 81%(0.60ppm)を親化合物が占め、

棉では、散布後 21 日に採取した種子/綿毛及び種子/粉末にそれぞれ 0.089~0.162ppm 及び 0.054~0.072ppm の残留放射能が認められた。種子全体では 0.080~0.109ppm であった。種子全体中の残留放射能の 46.3~67.3%を親化合物が占め、種子/綿毛及び種子/粉末中の親化合物はそれぞれ 0.025~0.049ppm 及び 0.011~0.018ppm であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

3. 土壌での代謝分解

メトキシフェノジドの土壌での代謝・分解は、[B環- ^{14}C]標識体及び ^{13}C 標識体を容器内で水田あるいは畑地状態にした容器内の土壌に添加し、1年間に渡って調べた。

0.5ppm添加での水田状態で、メトキシフェノジドは半減期387(埴土)～962日(砂壤土)で緩やかに分解された。

非抽出性放射能は1年後に添加量の7.7～43%となり、270日後土壌の非抽出性放射能はフルボ酸及びフミン酸画分に存在した。1年間の $^{14}\text{CO}_2$ 発生は、砂壤土で5.9%、埴土で4.9%に達した。

一方、1ppm添加での畑地状態でメトキシフェノジドは半減期336(砂壤土)～722日(砂質埴壤土)で緩やかに分解された。

非抽出性放射能は1年後に添加量の約16～35%となり、主にフルボ酸画分に存在した。1年間の $^{14}\text{CO}_2$ 発生は、砂壤土で2%、砂質埴壤土で4%に達した。

4. 水中での光分解

[B環- ^{14}C]及び[ブチル- ^{14}C]メトキシフェノジドを用いて、キセノンランプ照射下で光分解を調べた。pH6.9の滅菌緩衝液に0.5ppm添加し、30日間光照射したが分解は殆ど見られなかった。一方自然水中では半減期77日で光分解を受け、

5. 加水分解

[ブチル- ^{14}C]メトキシフェノジドを用いて濃度1ppmでpH5, 7及び9での加水分解性を調べた結果、半減期それぞれのpHで587、1572及び695日であった。

6. 土壌吸着

2水田土壌及び2畑土壌でメトキシフェノジドの土壌吸着性を調べた結果、石川県農試の水田土壌では強い吸着性を示したが、他の3土壌では吸着性は中程度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

メトキシフェノジドの動植物等における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代謝分解の概要 (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ダウ・ケミカル日本株式会社にある。

代辦分解の概要 (2)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある。

[附] メトキシフェノジドの開発年表