

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。

Chloromequat

13. 遺伝毒性

13-1. 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 15)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

検体純度：

方法： Ames 試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*: TA1535, TA100, TA1537, TA1538, TA98 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*: WP2uvrA 株) を用い、ラット肝臓抽出物 (薬物代謝系酵素: S9 mix) の存在および非存在下で、蒸留水に溶解した検体を作用させた。

結果： 本試験における結果の概要を表 1 に示す。

本検体は、S9 mix の存在・非存在に関わらず、最高用量である 5000 μ g/plate でも復帰突然変異コロニーの増加は認められなかった。

これに対し、陽性対照処理群では、明らかな復帰突然変異コロニー数の増加が認められたため、試験系の信頼性が保証されている。

以上の結果より、本検体は復帰突然変異誘発性を有しないと判断する。

表 1. 試験成績概要

処理	濃度 μg/plate	S9 Mix	復帰突然変異コロニー数/plate											
			塩基対置換型						フレームシフト型					
			WP2uvrA		TA1535		TA100		TA1537		TA1538		TA98	
対照群 (蒸留水)			16	21	26	33	150	192	15	18	30	32	29	33
			19		30		171		17		31		31	
			14	27	13	26	142	156	17	19	33	45	25	31
			21		20		149		18		39		28	
			18	20	22	26	161	183	15	19	32	40	26	26
			19		24		172		17		36		26	
			11	14	19	31	147	176	16	16	38	40	21	36
			13		25		162		16		39		29	
			13	17	19	24	166	186	22	27	24	48	26	31
検体	10	-	15		22		176		25		36		29	
	50	-	16	18	19	26	173	219	15	20	24	39	27	33
	100	-	17		23		196		18		33		30	
	500	-	16	26	22	23	169	190	12	22	31	42	26	32
	1000	-	21		23		180		17		37		29	
	5000	-	15	28	15	16	163	173	30	32	30	41	34	44
	10	+	22		16		168		31		36		39	
	50	+	15	28	10	12	144	175	27	29	37	44	37	41
	100	+	22		11		160		28		41		39	
対照群 (蒸留水)			14	20	7	14	162	174	30	39	32	49	38	40
			17		11		168		35		41		39	
			12	20	10	15	179	180	25	37	39	41	39	41
			16		13		180		31		40		40	
			13	20	9	12	168	169	32	36	46	55	47	51
			17		11		169		34		51		49	
			19	23	8	20	144	170	32	35	45	52	31	36
			21		14		157		34		49		34	
			13	19	14	14	146	192	18	29	31	44	41	64
検体	10	+	16		14		169		24		38		53	
	50	+	AF-2		Na azide		AF-2		9-AA		4NOPD		AF-2	
	100	+	0.04		0.5		0.01		80		5		0.1	
	500	+	346	358	809	845	728	804	698	791	780	839	832	899
	1000	+	352		827		766		745		810		866	
	5000	+	2AA											
		+	40		2		0.5		2		0.5		0.5	
		+	446	978	496	672	320	322	156	177	181	233	100	118
		+	877		584		321		167		207		109	

上段は実測値、下段は平均値 (2 反復、1 回試験)

AF-2 : Furylfuramide

Na azide : Sodium azide

9-AA : O-aminoacridine hydrochloride

4NOPD : 4-nitro-o-phenylenediamine

2AA : 2-aminoanthracene

13-2. 細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 33)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

検体純度：

方法： Ames 試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*: 塩基対置換型 TA100、TA1535 およびフレームシフト型 TA98、TA1537、TA1538) およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli*: 塩基対置換型 WP2uvrA-株) を用い、ラット肝臓抽出物 (薬物代謝系酵素: S9 mix) の存在および非存在下で検体を作用させた。

本試験における溶媒対照には水を用い、陽性対照群は下表に従い処理した。

表. 各菌株と使用した陽性対照物質

菌株	+ S9 mix		- S9 mix	
	2-AA	5 μ g/plate		
TA98			2-NF	20 μ g/plate
TA100			MNNG	10 μ g/plate
TA1535			9-AA	50 μ g/plate
TA1537			2-NF	20 μ g/plate
TA1538			MNNG	10 μ g/plate
WP2uvrA-				

2-AA: 2-Aminoanthracene; 2-NF: 2-Nitrofluorene

9-AA: 9-Aminoacridine; MNNG: N-methyl-N'-nitro-nitrosoguanidine

結果： 本試験における結果の概要を表1に示す。

本試験では、検体処理群でいくつかの変動が認められたが、用量依存性が認められないことに加え、その後の試験で再現性が認められなかったことから、毒性学的意義はないものと判断した。

これに対し、陽性対照処理群では、明らかな復帰突然変異コロニー数の増加が認められたため、試験系の信頼性が保証されている。

以上の結果より、本検体には遺伝子突然変異を誘起する能力は認められず、変異原性物質ではないと判断する。

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。

Chloroquat

表 1. 試験成績概要

菌株処理 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		S9 mix	菌株					
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	WP2uvrA-
実験 1								
溶媒対照		+	63	8	3	6	27	8
検体	100		79	4	6	9	33	6
	500		83	6	5	10	25	7
	1000		82	5	4	12	28	10
	2500		78	3	4	10	23	9
	5000		80	6	4	10	29	9
陽性対照			1334	191	158	620	1129	79
溶媒対照		-	49	7	4	6	20	7
検体	100		70	11	3	9	22	7
	500		67	7	5	7	21	7
	1000		68	8	3	7	21	6
	2500		62	9	4	7	25	5
	5000		62	7	2	5	20	8
陽性対照			852	924	787	430	361	207
実験 2								
溶媒対照		+	72	5	5	7	25	10
検体	100		73	10	4	3	30	8
	500		80	5	4	5	31	9
	1000		81	7	5	7	29	10
	2500		83	7	5	7	29	12
	5000		74	8	5	5	22	9
陽性対照			1572	164	149	526	1438	176
溶媒対照		-	44	4	7	6	22	7
検体	100		58	8	7	2	16	10
	500		49	6	5	1	21	8
	1000		47	4	6	5	19	5
	2500		59	5	3	0	26	5
	5000		60	7	3	3	25	7
陽性対照			449	434	275	910	634	508
実験 3								
溶媒対照		+	/	6	9	13	/	/
検体	100			6	10	7		
	500			13	9	9		
	1000			10	10	2		
	2500			7	7	5		
	5000			3	7	9		
陽性対照				71	343	717		
溶媒対照		-	/	4	/	/	/	/
検体	100			5				
	500			7				
	1000			9				
	2500			5				
	5000			7				
陽性対照		804						

数値は 3 plate 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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

表 1. 試験成績概要 (つづき)

菌株処理 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)		S9 mix	菌株					
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	WP2uvrA-
実験 4								
溶媒対照		+	/	3.5	/	/	/	/
検体	100			1.4				
	500			1.4				
	1000			2.8				
	2500			1.4				
	5000			0.0				
陽性対照								
溶媒対照		-	/	1.0	/	/	/	/
検体	100			2.1				
	500			2.1				
	1000			2.3				
	2500			2.6				
	5000			3.2				
陽性対照								

数値は 3 plate の平均値

13-3. 培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 34)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 対応)

検体純度 :

方法 : HPRT 試験

チャイニーズハムスター卵巣細胞由来の培養細胞 (CHO-K1-BH4 細胞) のヒポキサンチン-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代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で 2 回行なった。

本試験では、溶媒対照を滅菌水とし、陽性対照には 7, 12-dimethylbenzanthracene (DMBA : 3.5 $\mu\text{g/mL}$ S9 mix 存在下) および ethylmethanesulfonate (EMS : 200 $\mu\text{g/mL}$ S9 mix 非存在下) を用いた。

細胞を 1×10^6 /フラスコで播種し、一晚培養した。その後、S-9 画分の存在または非存在下において被験物質による処理を 5 時間行い、暴露後リン酸緩衝液 (PBS) で 3 回、細胞を洗浄した。突然変異発現のため 7 日間培養した後、細胞を 1×10^5 /ml に培養液を用いて希釈し、選択培地中で 7-9 日間培養し突然変異コロニーを形成させた。各試験群で形成されたコロニーはコロニーカウンターで計測した。

試験の有効性基準 ; 以下の項目を満たした場合のみ、試験結果の有効性を認める。

- 1) 溶媒対照群のクローニング効率の絶対値平均が 70-115%以内であること。
- 2) 未処理群の平均突然変異頻度が $0-20 \times 10^{-6}$ 以内であり、 20×10^{-6} を越えないこと。
- 3) 少なくとも 3 容量を有する試験系であること。
- 4) 被験物質の変異活性が軽微または無活性である場合、最高容量の殺細胞効果が溶媒対照に対し 75-80%であること。
- 5) 陽性対照群の突然変異頻度が溶媒対照群よりも有意な高値を示すこと。

陽性反応基準 ; 用量依存性反応に加え以下の 2 項目を満たした場合、陽性反応とする。

- 1) 平均突然変異頻度は、溶媒対照群を統計学的有意に上回らなければならない。
- 2) 平均突然変異頻度は、試験実施施設で認められる自然発生頻度の範囲 ($0-15 \times 10^{-6}$) を上回らなければならない。

結果 : 本試験の結果概要を表に示す。

本検体を細胞に作用させた際、1 回目試験では S9 mix の有無に関わらず変異コロニー形成の増加は認められなかったが、2 回目試験の 2500 $\mu\text{g/mL}$ でのみ陽性反応が認められたが、用量依存性が認められず、また 1 回目試験では認められない再現性のない結果であったため、毒性学的意義はないものと判断した。

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。

Chloromequat

以上の結果より、本検体は HPRT 試験において陰性であり、変異原性を有さないものと判断する。

表. 試験結果概要

処理	S9 mix	細胞毒性				変異原性				
		試験 1	試験 2	平均	補正值	試験 1	試験 2	平均		
未処理	+	97.5	92.5	95.0	100.0	3.5	0.0	1.8		
溶媒対照		94.5	93.0	93.8	98.7	3.5	1.5	2.5		
検体		5000	111.5	89.0	100.3	105.6	1.5	4.0	2.8	
		4500	106.5	90.0	98.3	103.5	5.5	0.0	2.8	
		3500	110.0	95.5	102.8	108.2	0.0	11.0	5.5	
		2500	106.5	94.0	100.3	105.6	4.0	18.5	11.3	
		1250	92.0	89.0	90.5	95.3	0.0	0.5	0.3	
		500	101.0	86.5	93.8	98.7	2.0	1.5	1.8	
陽性対照		82.0	70.5	76.3	80.3	431.5	251.0	341.3		
未処理		-	104.0	75.0	89.5	100.0	2.0	0.0	1.0	
溶媒対照			94.5	78.0	86.3	96.4	2.0	1.5	1.8	
検体			5000	107.0	77.0	92.0	102.8	1.0	5.0	3.3
			4500	103.0	84.0	93.5	104.5	8.0	4.0	6.0
			3500	106.5	83.0	94.8	104.5	5.5	9.0	7.3
	2500		108.5	83.0	95.8	107.0	8.0	1.5	4.8	
	1250		102.0	81.0	91.5	102.2	6.5	6.5	6.5	
	500		112.0	80.5	96.3	107.6	6.0	3.5	4.8	
陽性対照	86.0		69.5	77.8	86.95	131.0	94.5	112.8		

補正值：未処理群を 100%として時の相対値 (%)

13-4. 培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

(資料 35)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

検体純度：

方法： HPRT 試験

チャイニーズハムスター肺細胞由来の培養細胞 (V79 細胞) のヒポキサンチン-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代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下でなつた。

本試験では、溶媒対照を 20 mM HEPES を含む培養液とし、陽性対照には Dimethylnitrosamine (DMN: 8 mM S9 mix 存在下) および ethylmethanesulfonate (EMS: 6 mM S9 mix 非存在下) を用いた。

細胞毒性試験 (用量設定試験)；

変異原性試験；細胞を、S9 mix 存在・非存在下において、検体 333、1000、3330 および 5000 μ g/mL で 2 時間処理し、突然変異発現のため 7 日間培養した後、選択培地中で 7-9 日間培養し突然変異コロニーを形成させた。

結果： 本試験における細胞毒性試験 (用量設定試験) および変異原性試験の結果概要を表 1 および 2 に示す。

細胞毒性試験；

変異原性試験；S9 mix の存在・非存在に関わらず、本検体はいかなる濃度においても、細胞数およびコロニー形成効率に影響をおよぼさなかつた。これに対し陽性対照群では、S9 mix の存在・非存在下の両方において 3 倍以上のコロニー形成が認められた。したがって、本試験系の信頼性は確保されていると考えられる。

以上の結果より、本検体は HPRT 法を用いた試験において陰性であり、変異原性を有さないものと判断する。

表 1. 細胞毒性試験

表 2. 変異原性試験

処理 (µg/mL)	S9 mix	実験 1		実験 2		
		生存活性 (%)	変異効率	生存活性 (%)	変異効率	
溶媒対照	-	100	6.0	100	6.4	
検体		333	116	7.9	93	7.1
		1000	14	4.5	140	6.1
		3330	121	3.9	84	7.0
		5000	113	5.4	106	8.1
陽性対照		62	28.5	106	50.8	
溶媒対照	+	100	5.3	100	7.7	
検体		333	93	5.3	132	6.5
		1000	106	2.7	148	6.7
		3330	101	4.8	106	6.3
		5000	118	7.6	123	6.8
陽性対照		33	47.6	134	24.6	

溶媒対照 : 20 mM HEPES 含有 F-10 培養液

変異効率 (Mutants/10⁵ survivors/HPRT-Locus) は以下の計算式により求めた

$$\text{コロニー効率} = \frac{\text{コロニーの平均数}}{200} \times 100$$

$$\text{変異効率} = \frac{100}{\text{コロニー効率}} \times \frac{\text{変異コロニー総数}}{\text{播種細胞数}}$$

13-5. チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞を用いた染色体異常試験 (資料 16)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 対応)

検体純度 :

方法 : チャイニーズハムスター肺由来線維芽細胞 (CHL) を用い、染色体異常誘発試験をラット肝臓より抽出した S9 mix の存在・非存在下で実施した。本試験に先駆け実施した細胞増殖抑制試験の結果から、本試験では 0.4、0.8 および 1.6 mg/mL の用量で細胞処理を行い (直接法・代謝活性化法ともに)、200 個の分裂中期像を観察、染色体異常を以下のように分類した。

構造異常 ; ギャップ (g)、染色分体切断 (ctb)、染色分体交換 (cte)、染色体切断 (csb)、染色体交換 (cse)、その他

数的異常 ; 倍数体

ギャップを含め、異常な細胞の出現率を算出、陰性 (5%未満)・擬陽性 (5%以上 10%未満)・陽性 (10%以上) に分類した。

結果 : 本試験の成績概要を表 1 に示す。

検体処理群は陰性対照群と同様に、直接法および代謝活性化法の両方で、染色体異常出現率の増加は認められなかった。

これに対し、陽性対照群では染色体異常の出現率が明らかに増加していた。本試験の有効性が保証される。

以上の結果より、本検体は *in vitro* 試験系において染色体異常誘発性を有さないものと判断する。

表 1. 試験成績の概要

S9 mix	時間 h	処理群	濃度 mg/mL	倍数性 %/判定	染色体構造異常 (%)								判定	
					g	ctb	cte	csb	cde	other	TA	TAG		
直接法														
-	24	陰性対照	未処理	0.5/-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-
			溶媒対照	0.0/-	0.0	0.0	0.5	0.5	1.0	0.0	2.0	2.0	-	
		検体	0.4	0.5/-	0.5	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	1.0	-	
			0.8	0.0/-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
			1.6	0.0/-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-	
		陽性対照		0.0/-	4.0	7.5	43.0	1.0	0.0	0.0	46.5	47.5	+	
-	48	陰性対照	未処理	0.0/-	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	-		
			溶媒対照	0.0/-	0.0	0.0	0.2	1.0	0.0	0.0	1.5	1.5	-	
		検体	0.4	0.0/-	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-	
			0.8	0.5/-	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-	
			1.6	0.0/-	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.5	-	
		陽性対照		0.5/-	4.0	13.5	68.0	2.5	2.5	0.0	72.5	72.5	+	
代謝活性化法														
-	6-18	陰性対照	未処理	0.0/-	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	-	
			溶媒対照	0.5/-	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
		検体	0.4	0.5/-	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.5	0.5	-	
			0.8	1.0/-	0.0	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	1.0	1.0	-	
			1.6	1.5/-	0.5	1.0	0.0	0.5	0.0	0.0	1.5	2.0	-	
		陽性対照		0.5/-	0.5	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	-	
+	6-18	陰性対照	未処理	0.0/-	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.5	1.0	-	
			溶媒対照	0.0/-	1.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.5	-	
		検体	0.4	2.0/-	0.5	0.5	1.0	0.0	0.0	0.0	1.5	2.0	-	
			0.8	1.0/-	1.0	0.0	0.5	0.5	0.0	0.0	1.0	2.0	-	
			1.6	0.5/-	0.0	0.5	0.0	0.5	0.5	0.0	1.5	1.5	-	
		陽性対照		0.0/-	2.0	8.0	44.0	1.5	0.5	0.0	48.5	4.0	+	

観察細胞数：200

陰性対照群溶媒対照：生理的食塩水

陽性対照：

直接法；Mitomycin C (0.05 μg/mL)

代謝活性化法；N-Nitrosodimethylamine (0.4 mg/mL)

時間（代謝活性化法）：処理時間-回復時間

染色体構造異常：

g：ギャップ（染色分体型・染色体型を含む）；ctb：染色分体切断；cte：染色分体交換；csb：

染色分体切断；cse：染色分体交換；other：その他異常；TA：ギャップを除く異常細胞総数；TAG：

ギャップを含む異常細胞総数

判定：-：陰性；+：陽性

13-6. ヒト末梢リンパ球を用いた染色体異常試験

(資料 36)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 対応)

検体純度 :

方法 : 男子健常人より採取したヒト末梢リンパ球を用い、細胞分裂率試験および染色体異常誘発試験をラット肝臓より抽出した S9 mix の存在・非存在下で実施した。本試験における試験系の概要を以下に示す。

細胞増殖抑制試験 (S9 mix 存在・非存在共通)

100、200、500、1000、2000、5000 $\mu\text{g/mL}$

染色体異常誘発試験 (S9 mix 存在・非存在共通)

検体 : 1000、2000、5000 $\mu\text{g/mL}$

参照化合物

Mitomycin-C (MM-C : S9 mix 非存在下陽性対照) : 0.4 $\mu\text{g/mL}$

Cyclophosphamide (CP : S9 mix 存在下陽性対照) : 10 $\mu\text{g/mL}$

Chlorocholinchloride (CCC-A : 分析標品) : 1000 $\mu\text{g/mL}$

コルヒチンにより分裂細胞を中期で停止させ、固定後にギムザ染色を実施、分裂率を算出するとともに中期分裂細胞 200 個に対し染色体異常の有無・種類を検査した。

結果 : 本試験における結果の概要を表 1 (細胞分裂率試験) および表 2 (染色体異常試験) に示す。

本検体を男子健常人より採取した末梢リンパ球に作用させ、染色体異常誘発性を検査したが、本試験では代謝活性化条件の有無 (S9 mix の存在・非存在) に関わらず、本試験の最高設定用量である 5000 $\mu\text{g/mL}$ まで有意な異常増加は認められなかった、これに対し、陽性対照群で処理した場合には有意な染色体異常の増加が認められたことから、試験系の信頼性は確保されていると考えられる。

以上の結果より、本検体は染色体異常誘発性を有さないと考えられる。

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

Chlormequat

表 1. 細胞分裂率試験結果

処理 ($\mu\text{g/mL}$)		S9 mix	中期分裂細胞数 ($/1 \times 10^3$ 細胞)			相対分裂率 (%) ^b	
			試験 1	試験 2	平均		
溶媒対照 ^a		-	24	32	28.0	100	
検体	100		18	31	24.5	88	
	200		16	22	19.0	68	
	500		35	19	27.0	96	
	1000		32	35	33.5	120	
	2000		57	31	44.0	157	
CCC-A	5000		27	22	24.5	88	
	500		38	28	33.0	118	
	1000		34	18	26.0	93	
陽性対照				11	18	14.5	52
溶媒対照 ^a			+	32	70	51.0	100
検体	100	21		63	42.0	82	
	200	26		28	27.0	53	
	500	31		73	52.0	102	
	1000	35		71	53.0	104	
	2000	27		32	29.5	58	
CCC-A	5000	31		50	40.5	79	
	500	56		62	59.0	116	
	1000	28		42	35.0	69	
陽性対照				10	15	12.5	25

溶媒対照^a: F10-HEPES (20 mM HEPES)

相対分裂率 (%)^b: 溶媒対照を 100%とした際の相対値

表 2. 染色体異常試験結果（分裂中期細胞 200 個中の数値）

処理 (μ g/mL)	S9 mix	染色体異常を 有する細胞数		染色体異常							
				染色分体		染色体		交換	その他	異常合計	
				Gap	切断	gap	断片			gap+	gap-
溶媒対照		2	0	1	0	1	0	0	Endo	2	0
検体	1000	6	5	1	1	0	4	0	Endo	6	5
	2000	4	3	1	1	0	2	0	0	4	3
	5000	6	5	1	2	0	3	0	0	6	5
CCC-A	1000	7 ↑	4	4	2	1	2	0	0	9	4
陽性対照		19 ↑↑	17 ↑↑	2	8	2	7	4	Sp	24	20
溶媒対照		13	7	5	4	2	4	0	2 Poly	15	8
検体	1000	2	2	0	2	0	0	0	0	2	2
	2000	3	1	2	0	0	1	0	0	3	1
	5000	4	2	1	0	1	2	0	0	4	2
CCC-A	1000	4	4	1	2	0	3	0	0	6	5
陽性対照*		24 ↑↑	22 ↑↑	1	14	1	10	5	0	30	28

各試験は、分裂中期細胞 200 個を検査した数値（分裂中期細胞 100 個／試験：2 試験分）

* 陽性対照群のうち 1 試験で、十分な数の分裂中期細胞が得られなかったため 1 試験にて検査した。

統計学的解析：chi-square test ↑：p < 0.05、↑↑：p < 0.001

Endo：Endoreduplication（核内倍加）

Poly：Polyploidy（倍数体）

Sp：Spot of chromosome material（泡状染色体物質）

13-7. ラット骨髓細胞を用いた *in vivo* 染色体異常試験 (資料 37)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

検体純度：

供試動物： CrI:SD 系ラット 1 群雌雄各 5 匹 (用量設定群は)

試験開始時週齢： 7-8 週齢

試験開始時体重：

用量設定試験：

染色体異常試験： 雄 162.5-205.7 g 雌 127.1-151.5 g

方法： 本試験の試験系を表 1 に示す。

表 1. 試験系

処理 (mg/kg)		処理後屠殺時間 (時間)					
		12		24		48	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀
検体	500	5	5	5	5	5	5
	250	5	5	5	5	5	5
	125	5	5	5	5	5	5
溶媒対照	ST-MQ : 10 mL/kg	5	5	5	5	5	5
陽性対照	CP : 40	-	-	5	5	-	-

ST-MQ : 滅菌超純水 CP : Cyclophosphamide - : 実施せず

検体・溶媒対照物質・陽性対照物質を強制経口投与 (10 mL/kg) し、投与後 12、24 および 48 時間後に屠殺し、骨髓細胞を脛骨より採取した。また細胞分裂を中期で停止させるため、屠殺 2-3 時間前にコルヒチンを腹腔内投与した (2 mg/kg)。

用量設定試験；

表 2. 用量設定試験結果

結果： 本検体投与後、最高用量投与群（500 mg/kg）では、様々な一般状態異常（流涎・鼻からの出血・下痢・多尿・色素涙）が認められた。また、12 時間後屠殺群で雄 1 匹、24 時間後屠殺群で雌 3 匹の死亡が認められた。

染色体異常試験の結果概要を表 3 に示す。

本試験では、検体投与群に染色体異常の有意な増加が認められなかった。これに対し陽性対照群では、有意な染色体異常増加が認められた。これは本試験の妥当性を示すものである。

したがって以上の結果より、本検体は染色体異常誘発性を有さないことが明らかである。

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

Chlormequat

表 3. 染色体異常試験

投与量・時間 (mg/kg・ 時間)	動物 数	染色体異常														発生 率	分裂 率	観察 細胞 数							
		gap		染色分体						染色体					その他										
		TG	SG	TB	TD	F	TR	QR	CR	CI	SB	AF	D	R	T				P	SD					
雄																									
溶媒 対照	12	5		1			1										2					1.2	1.4	250	
	24	5					1										2					1.2	2.1	250	
	48	5	2														3					1.2	3.2	250	
検体 125	12	5	2														2					0.8	1.2	250	
	24	5	4		1		2										1					1.6	0.9	250	
	48	5	1		1		1		1													1.2	1.6	250	
検体 250	12	5															1					0.4	0.4	250	
	24	5	1				2										2					1.6	2.1	250	
	48	5					1															0.4	3.6	250	
検体 500	12	4					1										1					0.5	0.1	200	
	24	5	1		1																	0.4	1.7	250	
	48	5															1					0.4	2.8	250	
陽性対照	24	4	17		31	5	39	6	3				3	26							1	5	0.3	0.3	200
雌																									
溶媒 対照	12	5				1	1										1					0.8	0.5	250	
	24	5																				0.0	2.7	250	
	48	5	1				1										3					1.6	3.3	250	
検体 125	12	5					1															0.4	1.3	250	
	24	5	1														1					0.4	1.6	250	
	48	5	1																			0.0	2.9	250	
検体 250	12	5					2															0.8	2.3	250	
	24	5															1					0.4	2.0	250	
	48	5	3		2												1					0.8	2.1	250	
検体 500	12	5	1	1			1										1					0.8	1.0	250	
	24	2																				0.0	2.1	100	
	48	5			1		1										1					1.2	2.1	250	
陽性対照	24	5	10		43	2	49	3	3	2			3	27							1	3	0.3	0.3	250

発生率：染色体異常を有する細胞の発生率（%：動物あたり）

分裂率：分裂中期細胞率（%）

統計学的解析：ANOVA（**■**は $p \leq 0.05$ ）

染色体異常の略語

TG： Chromatid gap（染色分体ギャップ）

SG： Chromosome gap（染色体ギャップ）

TB： Chromatid Break（染色分体切断）

TD： Chromatid Deletion（染色分体欠損）

F： Chromatid Fragment（染色分体断片）

TR： Triradial（三倍体）

QR： Quadriradial（四倍体）

CR： Complex Rearrangement（多倍数体）

CI： Chromatid Intrachange（染色分体内部転座）

SB： Chromosome Break（染色体切断）

AF： Isochromatid Fragment（無動原体断片）

D： Dicentric Chromosome（二動原体染色体）

R： Ring（環状）

T： Translocation（転座）

P： Pulverized Cell（完全に断片化された染色体を保有する細胞）

SD： Severly Damaged Cell（強い障害を受けた細胞）

13-8. マウス骨髄における小核試験

(資料 38)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 対応)

検体純度 :

試験動物 : NMRI KMF (異系交配、品質 - SPF) マウス、

試験開始時 : 6 週齢、体重範囲 20-38g、1 群雌雄各 6 匹

試験方法 : 検体を再蒸留水に溶解し、0、8.1、40.5 及び 202.5 mg/kg の用量で、10 mL/kg の容量を 1 日に 1 回連続 2 日間 24 時間間隔で強制経口投与した。なお、陰性対照群には賦形剤の蒸留水を同様に投与した。陽性対照として 0.9%生理食塩液に溶解したシクロホスファミド 50 mg/kg を同様に投与した。

最終投与 24 時間後 (初回投与 48 時間後) に屠殺して各動物から大腿骨の骨髄を採取してスライドガラスに塗抹後一晩乾燥させた。翌日この塗抹を Pappenheim の汎視染色法で染色した。

まず、雌雄及び群あたり各 5 匹の標本を検査し、動物あたり多染性赤血球 1000 個について、小核の有無を検査した。この結果から、全赤血球に対する多染性赤血球の割合及び多染性赤血球に対する小核を有する多染性赤血球の割合を算出した。

スライドあたり赤血球 1000 個の検査結果に基づき、多染性赤血球の正染性赤血球に対する計算比率 (PCE/NCE) で被験物質の毒作用を判断した。

用量設定根拠 :

試験結果 : 結果を次表に示した。

小核の出現頻度

薬 剤	用 量 (mg/kg)	雄		雌	
		小核数	PCE/NCE	小核数	PCE/NCE
陰性対照(蒸留水)	0	1.8±0.95	1.3±0.19	2.0±0.89	1.5±0.19
検 体	8.1	1.2±1.17	1.3±0.23	1.2±0.75	1.5±0.07
	40.5	1.8±0.75	1.6±0.24	1.2±0.75	1.4±0.38
	202.5	1.2±0.75	1.4±0.26	1.6±1.02	1.3±0.08
陽性対照(CPP)	50	58.5±18.85	0.4±0.15	38.0±11.75	0.4±0.05

Poissonの不均一性検定：検体投与群は有意差なし。

陽性対照は明らかに小核の出現頻度が高いので検定せず。

PCE：多染性赤血球 NCE：正染性赤血球 CPP：シクロホスファミド

被験物質の毒性影響は認められなかった。

検体投与群において、検体の投与に関連のある小核を有する多染性赤血球の増加は、陰性対照群と比較したとき、認められなかった。

シクロホスファミドを投与した陽性対照群では小核を有する多染性赤血球数の明らかな増加を認めた。

従って、この実験条件下で、検体は細胞分裂装置に対する染色体切断活性あるいは損傷による染色体異常を誘発しなかったので、*in vivo* マウス小核試験において変異原性は陰性であった。

13-9. 細菌を用いた DNA 修復試験

(資料 17)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

検体純度：

方法： 枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換修復機構保持株 (H-17 株) および欠損株 (M-45 株) を用い、代謝非活性化条件で、蒸留水に溶解した検体を作用させた。

結果： 本試験における結果の概要を表 1 に示す。

表 1. 試験成績の概要

処理群	濃度 mg/disk	阻止帯 (mm)		差 (mm)
		H-17	M-45	
検体	10	0.0	0.0	0.0
	5	0.0	0.0	0.0
	1	0.0	0.0	0.0
	0.5	0.0	0.0	0.0
陰性対照 (カナマイシン)	1	8.4	8.4	0.0
	0.5	7.0	7.4	0.4
陽性対照 (AF-2)	2	0.9	5.4	4.5
	1	1.2	3.8	2.6

AF-2 : Furylfuramide

検体投与群では、最高用量である 10 mg/disk においても、両株に生育阻止が認められなかった。これに対し、陽性対照群では両株の間に明らかな生育阻止の差が認められた。したがって、本試験系は保証されていると考えられる。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷誘発性を有しないと判断する。

13-10. ラット初代培養肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験

(資料 39)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

検体純度：

方法および結果：

肝細胞単離および薬液調整；麻酔下で灌流した雄性ラット (SD または Fischer 系；体重 200-325 g) より肝臓を摘出し collagenase 処理により肝細胞を単離、用量設定試験および不定期 DNA 合成試験に使用した。

本試験では、検体の希釈は脱イオン化滅菌水で行い、不定期 DNA 合成試験の陽性対照には 2-Acetylaminofluorene (2AAF) を 10.0 μg/mL で使用した。

用量設定試験；

表 1. 用量設定試験

不定期 DNA 合成試験；単離肝細胞を ³H 標識チミジン (0.37 MBq/mL) 存在下で 18 時間、検体・溶媒対照・陽性対照を含む培養液で処理した。処理後、autoradiography を行い、グレイン数および ³H 標識チミジンを取り込んだ核数を計測した。

本試験の結果を表 2 に示す。

本試験では、検体 4 用量群 (2.5-7.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$)、陽性対照群、溶媒対照群および未処理群の測定を実施した。検体処理群では、いかなる用量においても溶媒対照群・未処理群と同様に不定期 DNA 合成の有意な増加が認められなかった。これに対し、陽性対照群では、有意な不定期 DNA 合成増加が認められたため、試験系の信頼性は保たれていると判断する。

以上の結果より、本検体は不定期 DNA 合成誘導能を有さないものと判断する。

表 2. 不定期 DNA 合成試験結果

細胞処理 (18 時間)	平均グレイ数	グレイ数 5 以上の核		S 期細胞率 (%)	
		カウント	比率 (%)		
未処理	-0.12 \pm 3.02	5	3.3	1.11	
溶媒対照	EtOH	0.12 \pm 3.72	16	10.7	1.11
	滅菌水	-6.14 \pm 3.25	11	7.3	1.44
検体	2.5	0.32 \pm 3.82	18	12.0	1.67
	4.0	-0.16 \pm 3.54	5	6.0	1.56
	5.0	-0.05 \pm 3.26	13	8.7	1.22
	7.5	1.64 \pm 3.69	22	14.7	1.78
陽性対照	42.56 \pm 9.78	150	100.6	1.33	

3 スライド 150 核を測定

溶媒対照 : EtOH ; 陽性対照物質 (2AAF) の溶媒 ; 滅菌水 ; 検体の溶媒

13-11. マウスを用いた優性致死試験

(資料 40)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

検体純度：

供試動物： NMRI 系マウス 雄 80 匹 (1 群 40 匹) 雌 960 匹

試験開始時週齢： 14-16 週齢

試験開始時体重： 雄 30.7 g (平均) 雌 25-30 g

方法： 雄マウスに対し、検体 261 mg/kg または滅菌水 (両投与とも 10 mL/kg 容量) を単回経口投与し、非妊娠マウスと 4 日間交配、この操作を合計 12 回実施した。交配した雌マウスは、交配開始後 16-18 日で屠殺し、解析した。

試験項目および結果：

一般状態観察： 本試験期間中、全動物の一般状態を観察した。

検体投与動物では、異常呼吸、うずくまり姿勢および立毛が 2-3 時間認められた。

対照群では異常症状は認められなかったが、生殖器周囲の重度腫脹が雄 1 匹で認められた。

体重 (雄動物のみ)： 投与直前および各交配前に雄動物の体重を測定した。

検体投与による変化は認められなかった。

剖検 (雄動物のみ)： 12 回の交配が終了した後、雄動物は屠殺し剖検を実施した。

対照群の雄 1 匹で、カウパー腺の膿瘍が認められた。この動物を除き、対照群・検体投与群ともに異常所見は認められなかった。

雌動物検査： 各交配に使用した雌動物に対し、以下の検査を実施した。

受胎率 (交配動物総数に対する妊娠動物の割合)

総着床数

生存胚着床数

変異率 (総着床数に対する死亡胚着床数の割合)

死亡胚着床は、形状から以下の 2 種類に分類し、そのうち死亡胚跡が認められる胎盤を死亡胚着床として計測した。

脱落胎盤 (着床直後またはまもなくして死亡したとみられる壊死性着床)

死亡胚 (暗赤色の胎性胎盤と黄色の胎児残滓を伴う早期ステージと明らかな眼球原基を有する後期ステージとに分類した)

優性致死率 (対照群における生存胚着床数に対する検体投与群生存胚着床数の割合を算出し、これを 100% から引いた値)

本試験における結果の概要を表 1 に示す。

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

Chloromequat

検体投与群では、受胎率（1 回目交配時のみ）、総着床数（2、4 および 6 回目交配時）および生存胚着床数（2 回目交配時のみ）で有意な低下が、また優性致死率（2 回目交配時）で有意な増加が認められた。

1 回目交配時に認められた受胎率の有意な低下および優性致死率の増加に関与すると思われる 2 回目交配時の総着床数の有意な低下は、高用量の検体を投与したことに起因する毒性所見であると考えられるが、4 回目および 6 回目交配時に認められた総着床数の有意な減少は、死亡胚着床数や変異率に有意な変動が認められないことから、検体投与に起因しないものであると考えられる。

以上のように、本検体のマウス優性致死試験では、検体投与に起因すると思われる毒性徴候が認められたが、極めて一時的なものであり、総括すると本検体投与による明らかな変動は認められないと考えられる。したがって、本検体は優性致死活性を有さないものと判断する。

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。

Chlormequat

表 1. 試験結果概要

交配回数	対照群					検体投与群						
	交配	妊娠	受胎率	着床		交配	妊娠	受胎率	着床			
				総数	／腹				総数	／腹		
1	40	26	65.00	296	11.38	40	17	42.50*	193	11.35		
2	40	19	47.50	225	11.84	40	18	45.00	187	10.39*		
3	40	30	75.00	351	11.70	40	25	62.50	304	12.16		
4	39	25	64.10	295	11.80	40	30	75.00	328	10.93*		
5	40	30	75.00	365	12.17	40	37	92.50	425	11.49		
6	40	36	90.00	471	13.08	40	34	85.00	415	12.21*		
7	39	31	79.49	375	12.10	40	39	97.50	456	11.69		
8	40	32	80.00	367	11.47	40	35	87.50	444	12.69		
9	40	29	72.50	361	12.45	40	36	90.00	454	12.61		
10	40	35	87.50	411	11.74	40	31	77.50	384	12.39		
11	40	28	70.00	333	11.89	40	26	65.00	297	11.42		
12	40	28	70.00	314	11.21	40	30	75.00	359	11.97		
交配回数	生存胚着床		死亡胚着床		脱落胎盤		生存胚着床		死亡胚着床		脱落胎盤	
	総数	／腹	総数	／腹	総数	／腹	総数	／腹	総数	／腹	総数	／腹
1	268	10.31	28	1.08	18	0.69	174	10.24	19	1.12	9	0.53
2	211	11.11	14	0.74	12	0.63	181	10.06*	6	0.33	2	0.11
3	329	10.97	22	0.73	18	0.60	284	11.36	20	0.80	15	0.60
4	284	11.36	11	0.44	7	0.28	311	10.37	17	0.57	10	0.33
5	325	10.83	40	1.33	27	0.90	399	10.78	26	0.70	22	0.59
6	435	12.08	36	1.00	15	0.42	386	11.35	29	0.85	19	0.56
7	346	11.16	29	0.94	19	0.61	432	11.08	24	0.62	20	0.51
8	340	10.63	27	0.84	11	0.34	406	11.60	38	1.09	23	0.66
9	327	11.28	34	1.17	24	0.83	410	11.39	44	1.22	28	0.78
10	383	10.94	28	0.80	17	0.49	352	11.35	32	1.03	22	0.71
11	311	11.11	22	0.79	13	0.46	272	10.46	25	0.96	19	0.73
12	292	10.43	22	0.79	12	0.43	338	11.27	21	0.70	10	0.33
交配回数	早期ステージ		後期ステージ		変異	優性致死	早期ステージ		後期ステージ		変異	優性致死
	総数	／腹	総数	／腹			総数	／腹	総数	／腹		
1	5	0.19	5	0.19	9.46		7	0.41	3	0.18	9.84	1.00
2	1	0.05	1	0.05	6.22		1	0.06	3	0.17	3.21	9.00*
3	4	0.13	0	0	6.27		0	0	5	0.20	6.58	-4.00
4	1	0.04	3	0.12	3.73		5	0.17	2	0.07	5.18	9.00
5	6	0.20	7	0.23	10.96		2	0.05	2	0.05	6.12	0.00
6	8	0.22	13	0.36	7.64		3	0.15	5	0.15	6.99	6.00
7	6	0.19	4	0.13	7.73		1	0.03	3	0.08	5.26	1.00
8	12	0.38	4	0.13	7.36		6	0.17	9	0.26	8.56	-9.00
9	8	0.28	2	0.07	9.42		12	0.33	4	0.11	9.69	-1.00
10	5	0.14	6	0.17	6.81		6	0.19	4	0.13	8.33	-4.00
11	8	0.29	1	0.04	6.61		4	0.15	2	0.08	8.42	6.00
12	3	0.11	7	0.25	7.01		3	0.10	8	0.27	5.85	-8.00

14. 生体機能におよぼす影響：毒性薬理試験

(資料 18)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

検体純度：

14-1. 中枢神経系に対する作用

14-1-1. マウスの一般症状

供試動物： Slc:ddy 系マウス 1 群 雄 9 匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：21.4-25.0 g

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、3.2、4.9 および 7.4 mg/kg の用量で静脈内投与した (10 mL/kg)。投与後 15 分、30 分、1 時間および 2 時間で Irwin の多次元観察法に準じて一般状態観察を実施した。

結果： 3.2 mg/kg 投与群では一般状態異常は認められなかった。
4.9 mg/kg 投与群では、流涎および呼吸数減少が 9 例中 4 例に認められた。
7.4 mg/kg 投与群では、投与直後から 5 分間、ほぼ全例に流涎、呼吸数の減少および散瞳傾向が認められ、9 例中 2 例で死亡が認められた。生存例では、上記異常症状は 15 分後には回復し、以降も異常症状は認められなかった。

14-1-2. マウスの運動協調性に対する影響

供試動物： Slc:ddy 系マウス 1 群 雄 10 匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：21.4-27.4 g

方法： Rota-rod 法も用い運動協調性を調べた。

マウスを直径 3 cm の回転棒 (14 rpm: Rota-rod tread mil) に乗せ、1 分以上落下しなかった動物を選抜し 1 群 10 匹として試験を実施した。

検体を生理的食塩水に溶解し、3.2、4.9 および 7.4 mg/kg の用量で静脈内投与した (10 mL/kg)。投与後 15 分、30 分、1 時間および 2 時間で Rota-rod test を実施した。

結果： 本試験では、いずれの試験群においても協調運動障害は認められなかった。

14-2. 呼吸・循環器系に対する作用

供試動物： 雑種犬 1群4匹（雌雄混合）

試験開始時月齢：記載なし

試験開始時体重：6.0-10.0 kg

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、1、3、10、30、100、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、1、3 mg/kg の投与量を静脈内投与した（0.1 mL/kg）。投与後、麻酔下において2時間後まで血圧、心拍数、心電図（QRS 時間）および血流量を測定した。

結果：

呼吸数；10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の用量で、用量依存的に増加し、3 mg/kg 投与群では一過的な呼吸数増加が認められた後、呼吸停止に至った。

心電図；3-100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ で用量依存的な QRS 時間の延長が認められた。また、人工呼吸器による制御下で、3 mg/kg 投与群では、投与直後の一過的なものではあるが、QRS 波および T 波の消失が認められた。

心拍数；10-300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群で、投与直後の一過的な増加傾向が認められたが、1 mg/kg 以上の投与群では、逆に心拍数の著しい減少が認められた。

血圧；3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与用量で、一過的な血圧低下が用量依存的に認められた。

血流量；3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与量で、投与後の一過的な血流量減少と、続く一過的な血流量増加という二相的な反応が認められた。この二相反応の程度は、用量依存的に増強されたが、1 mg/kg 以上では、第一相の程度が逆に弱まった。

副交感神経抑制効果；本試験において、検体 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与により誘発された降圧反応、心拍数減少および二相的な血流量変化は、atropine 1 mg/kg を静脈内投与することで消失あるいは減弱化した。

14-3. 自律神経系に対する作用

供試動物： 雑種ネコ 1群4-5匹（雌雄混合）

試験開始時月齢：記載なし

試験開始時体重：2.5-3.0 kg

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、100、300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ および 1 mg/kg の投与量を静脈内投与した（0.1 mL/kg）。投与後、上顎交感神経節前線維刺激、迷走神経刺激、薬物静脈内投与（norepinephrine・1,1-dimethyl-4-phenylpiperazi・acetylcholine chloride）および両側総頸動脈閉塞による瞬膜、血圧および心拍数の反応に対する検体影響について検討した。

結果： 100 および 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では、各種刺激による瞬膜、血圧および心拍数の反応における検体投与による影響は認められなかった。また、1 mg/kg 投与群では norepinephrine 投与による 30 分後の昇圧反応が 15%抑制された。しかしながら、こ

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。

Chlormequat

の抑制効果は 60 分後には消失した。

また、本検体 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以上の投与では、一過的な瞬膜収縮反応および降圧反応が用量依存的に認められ、また 1 mg/kg 投与では一過的な心拍数減少が認められた。

本試験では、3 mg/kg 投与群の全例が、投与後 10 分で死亡した。

14-4. 消化器系に対する影響

供試動物： Slc:ddy 系マウス 1 群 雄 7-10 匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：23.2-28.6 g

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、3.2、4.9 および 7.4 mg/kg の用量で静脈内投与した (10 mL/kg)。また同時に、10%アラビアゴムに懸濁した 5%炭素粉末懸濁液を、1 例あたり 0.2 mL 強制経口投与した。投与 20 分後、クロロホルム過麻酔により動物を屠殺し、胃幽門部から炭素粉末到達先端までの腸の長さを測定し、胃幽門部から盲腸入り口までの小腸全長に対する炭素粉末の移動率を算出した。

結果： 本試験では、3.2 および 4.9 mg/kg 投与群では、腸管輸送能に対する検体投与の影響は認められなかった。しかしながら、7.4 mg/kg 投与群では抑制傾向が認められ、なおかつ 10 例中 3 例が投与直後に死亡した。

14-5. 骨格筋に対する影響

供試動物： 日本白色種ウサギ 1 群 雄 4 匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：2.61-2.96 kg

方法： 検体を生理的食塩水に溶解し、0.1、0.3、1.0 および 3.0 mg/kg を静脈内投与した (0.1 mL/kg)。動物はウレタン麻酔下で腓骨神経と前脛筋を露出・剝離し、腓骨神経の電気刺激による前脛筋の収縮を 1 時間測定した。

結果： 100 および 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与群では、本検体の神経・筋接合部に対する影響は認められなかった。しかしながら、1 mg/kg 投与群では投与直後より一過的な遮断作用が認められた (約 35%)。また 3 mg/kg 投与群では、神経刺激による筋収縮は、ほぼ完全に抑制され、筋刺激による直接誘発も約 89%抑制された。この 3 mg/kg 投与群で認められた抑制作用は、随時回復に向かい、投与後 60 分でほぼ回復していた。また、検体 1 mg/kg 投与で誘発する筋収縮抑制は、d-tubocurarine (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) で拮抗し、neostigmine (1 mg/kg) 投与では増強された。

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。

Chlormequat

14-6. 血液凝固系に対する影響

供試動物： Slc:Wistar 系ラット

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時体重：220-247 g

方法： エーテル麻酔下において、腹大動脈より採取した血液 0.9 mL に対し、生理的食塩水に溶解した検体を 0.1 mL 添加した（検体の最終濃度： 1×10^{-3} および 3×10^{-3} g/mL）。血液凝固時間の測定は、37°C 恒温中で Lee-White 法に準じ実施した。

結果： 本試験では、血液凝固に対する本検体の影響は認められなかった。

以上の結果から、本検体の生体機能に対する影響を表 1 に総括する。本検体は、副交感神経刺激作用、神経・筋接合遮断作用および腸管輸送抑制作用を有すると判断する。

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。

Chlormequat

表 1. 生体機能に対する影響

試験動物種	投与経路	投与量 (mg/kg)	動物数 (群あたり)	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果概要
中枢神経系						
一般状態 [Irwin法] マウス	静脈内	3.2	♂9	4.9	3.2	4.9 mg/kg 以上で流涎、呼吸数増加。 7.4 mg/kg で散瞳傾向、2例の死亡。 15分後には回復。
		4.9				
		7.4				
運動協調性 [Rota-rod法] マウス	静脈内	3.2	♂10	-	7.4	異常なし。
		4.9				
		7.4				
呼吸器・循環器系						
血圧 心拍 心電図 麻酔下イヌ	静脈内	0.001	♂♀混合 4	0.003	0.001	呼吸数：増加（高用量では低下） 心電図：QRS 時間延長（低用量）。QRS/T 波消失（高用量）。 心拍数：一過性増加（低用量）。顕著 な減少（高用量）。 血流・血圧：高用量での血流異常およ び血圧低下。 以上は、atropine 投与により回復
		0.003				
		0.01				
		0.03				
		0.1				
		0.3				
		1				
3						
自律神経系						
瞬膜収縮 血圧・心拍 ネコ	静脈内	0.1	♂♀混合 4-5	0.1	-	norepinephrine による血圧上昇を抑制。 一過的な、瞬膜収縮、血圧低下、 心拍数減少。最高用量で全例死亡。
		0.3				
		1				
消化器系						
腸管輸送能 麻酔下マウス	静脈内	3.2	♂7-10	7.4	4.9	腸管輸送の抑制。 3/10 が死亡。
		4.9				
		7.4				
骨格筋						
筋収縮 麻酔下ウサギ	静脈内	0.1, 0.3	♂4	1	0.3	筋収縮抑制。d-tubocurarine 投与で筋 収縮抑制は回復。neostigmine 投与で 筋収縮抑制悪化。
		1, 3				
血液凝固系						
in vitro 血液凝固 ラット		1×10 ⁻³ 3×10 ⁻³ g/mL		-	3×10 ⁻³ g/mL	異常なし。

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。

Chlormequat

15. その他（メカニズム、解毒および治療）

15-1. ムスカリン受容体に対する親和性試験

（資料 41）

試験機関：

報告書作成年：（GLP 対応）

検体純度：

方法：

表 1. ムスカリン受容体：isotype による発現組織と陽性対照

受容体 isotype	調整組織	陽性対照	溶媒

以上の結果より、本検体はムスカリン受容体に対する結合が認められるが、その親和性は極めて低く、また各 isotype に対する選択性は無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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

表 2. ムスカリン受容体に対する Ki 値の比較

受容体 isotype		Ki 値		
被験物質	検体			
	陽性対照			

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。

Chlormequat

15-2. マウス単離骨格筋を使用した *in vitro*におけるニコチン受容体に対する影響

(資料 42)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

検体の純度：

方法：

結果：

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。

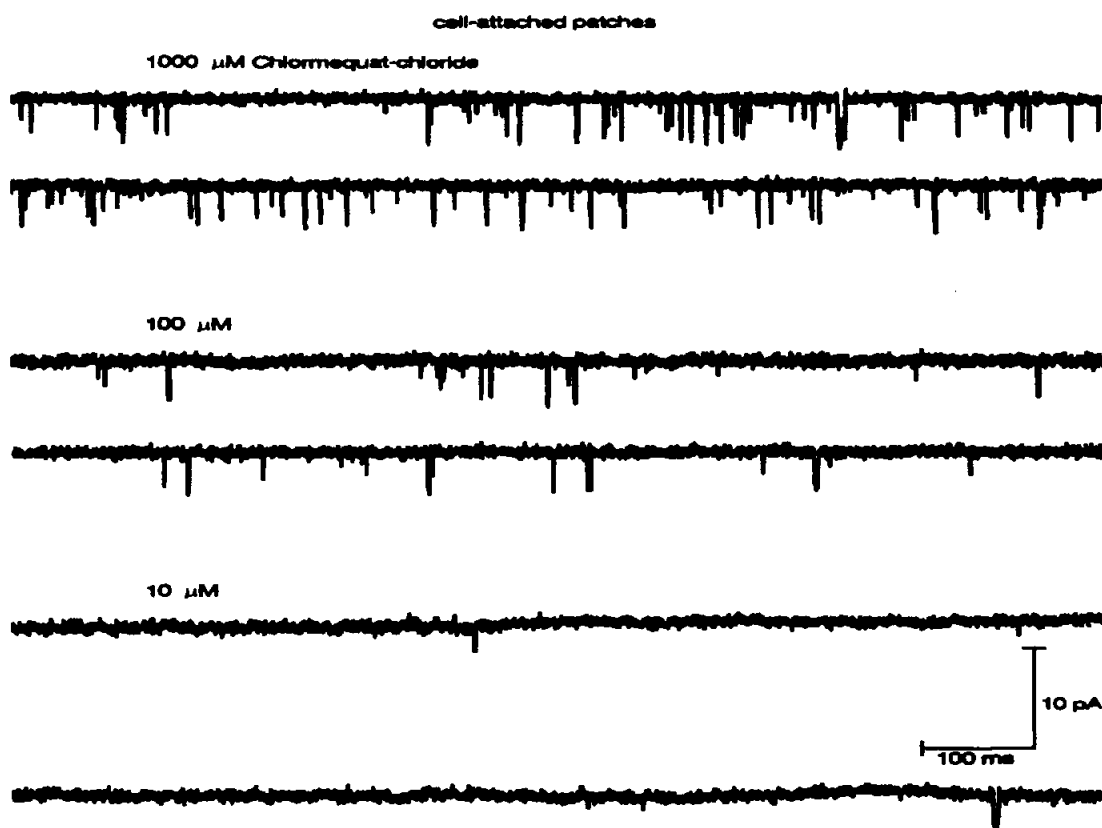


図 1. Cell-attached patch 筋電位波形

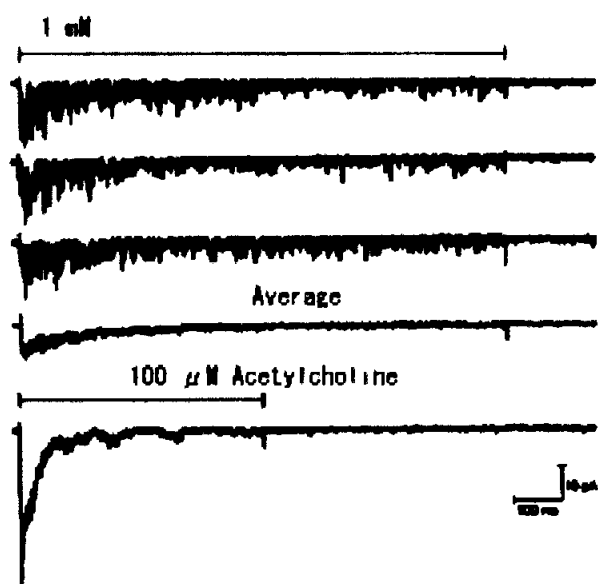


図 2. outside-out patch 筋電位波形 (筋電図スケールは図 1 と同じ)

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。

Chlormequat

15-3. ラットを用いた急性中毒に対するアトロピン治療の効果

(資料 19)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

検体純度：

供試動物：

方法：

結果：

表 1. 検体単剤およびアトロピン併用後の平均生存時間

処置群	検体投与量 (mg/kg)	平均生存時間 (分)
検体単剤投与		
検体+アトロピン 20 mg/kg 併用		

以上の結果より、アトロピンは本検体の中毒症状に対し解毒効果はなく、むしろ症状を増悪化させた。したがって、本検体にたいしてアトロピンを処方することは禁忌であると判断する。

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。

Chloromequat

原体毒性：参考資料

参考資料 1：ラットを用いた 2 年間混餌投与慢性毒性試験

(資料 参 1)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度：

供試動物： SD 系ラット 1 群雌雄各 50 匹

試験開始時月齢：記載なし

試験開始時体重：雄雌約 100g

試験期間： 24 ヶ月

投与方法： 検体 (CCC) を 1%セルロース溶液に懸濁し、飼料に混入して摂取させた。また検体とコリンクロライド (CC) を同日 1%セルロース溶液に懸濁し、同様に飼料混入後摂取させた。本試験における、試験群構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群構成

試験群		CCC (ppm)	CC (ppm)
1 : Control-1 *		1%セルロース	
2 : Control-2 *		1%セルロース	
CCC 単剤群	3	500	-
	4 *	1000	-
CCC+CC 併用群	5	500	350
	6	1000	700
	7 *	5000	3500

* : 投与開始後 400 日目、雌雄各 5 匹を選抜し、病理学的検査を実施した。

試験項目および結果：

一般状態および死亡率；本試験期間中、一般状態および死亡を観察した。

本試験期間中、検体投与に起因する一般状態異常は認められなかった。

試験終了時の死亡率を表 2 に示す。

表 2. 死亡数および死亡率 (%)

試験群		1	2	3	4	5	6	7
		Control-1	Control-2	CCC 500	CCC 1000	CCC 500 +CC 350	CCC 1000 +CC 700	CCC 5000 +CC 3500
雄	死亡数	4/45	8/45	9/50	5/45	14/50	9/50	14/45
	死亡率	8.9	17.8	18.0	11.1	28.0	18.0	31.1
雌	死亡数	13/45	16/45	20/50	18/45	20/50	26/50	13/45
	死亡率	28.9	35.6	40.0	40.0	40.0	52.0	28.9

対照群と比べ、明らかな差は各投与群に認められなかった。

体重変化；投与開始直後および投与開始後 1 ヶ月で体重を測定し、以降は 3 ヶ月毎に体重を測定した。

本試験では、雌雄ともに対照群と投与群との間に明らかな差は認められなかった。

摂餌量；各群 2-3 匹の動物を一つのケージに収容し、投与期間中一定量の飼料を与えた。

与えられた飼料は完全に摂取されていた。本検体投与は、摂餌量に影響をおよぼさない。

検体摂取量；本試験における平均検体摂取量を表 3 に示す。

表 3. 平均検体摂取量

試験群	3	4	5	6	7
	CCC 500	CCC 1000	CCC 500 +CC 350	CCC 1000 +CC 700	CCC 5000 +CC 3500
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	25	50	25 +17.5	50 +35	250 +175

血液学的検査；試験開始時および投与開始後 95-122 日、367-407 日、704-715 日に採血し、採取した血液を、以下の項目について検査した。

白血球数 (WBC)、赤血球数 (RBC)、ヘモグロビン (Hgb)、ヘマトクリット (Hct)、白血球百分比 (WBC-Dif)

対照群および各投与群ともに異常は認められなかった。

血液生化学的検査；試験開始時および投与開始後 95-122 日、367-407 日、704-715 日に採血し、採取した血液を、以下の項目について検査した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、尿素 (Urea)

対照群および各投与群ともに異常は認められなかった。

尿検査；試験開始時および投与開始後 95-122 日、367-407 日、704-711 日に採尿し、以下の項目について検査した。

pH、蛋白、グルコース、ウロビリノーゲン、沈渣

対照群および各投与群ともに異常は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象とし、剖検後に以下の臓器を摘出し重量を測定

した。また動物の体重も測定し、対体重値も算出した。

腎臓、肝臓

対照群および各投与群ともに異常は認められなかった。

肉眼的病理検査：試験途中死亡動物、投与開始後 400 日の中間屠殺群および試験終了時の全生存動物を対象とし、剖検を実施した。

本試験では、投与群に慢性気道炎、中耳炎、腎糸球体硬化症、脾臓ヘモジデリン沈着症などが肉眼的病理検査異常所見として認められた。しかしながら、これらの所見は対照群にも同様に認められるため、検体投与に起因しないものと判断した。

病理組織学的検査：肉眼的病理検査を実施した動物を対象とし、下記の組織を摘出、病理標本を作製して鏡検を行った。

心臓、肺、肝臓、副腎、脾臓、胃、小腸、甲状腺、精巣、卵巣、中枢神経系組織（大脳・小脳・脳橋）、腫瘍部位、肉眼的病理検査異常部位

本試験で認められた腫瘍の発生症例数を表 4 に示す。

いずれの腫瘍形成も、出現頻度、出現部位および腫瘍分類に対照群と比べて明らかな差は認められず、また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。また、腫瘍総数や担腫瘍動物数にも明らかな差は認められなかった。

（統計検定未実施）

以上の結果から、本剤を 24 ヶ月間混餌投与しても、本試験の最高用量である 1000 ppm でも毒性所見は認められない。したがって、最大無作用量は雌雄ともに 1000 ppm (50 mg/kg/day) であると判断する。また、コリンクロライドとの併用投与実験においても、本試験の最高用量（検体 5000 ppm+コリンクロライド 3500 ppm）で毒性徴候は認められなかった。さらに、本試験では投与に起因する腫瘍形成が認められなかったことから、本検体は催腫瘍性を有しないと判断する。

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。

Chlormequat

表 4. 腫瘍症例数

性別	雄							雌						
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
試験群	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
甲状腺														
濾胞細胞腺癌 : M	22	17	21	24	22	17	11	24	22	16	19	14	17	18
腎臓														
腺腫 : B	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
肉腫 : M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
分離腫 : U	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
副腎														
腺腫 : B	1	1	0	0	0	2	1	0	1	0	1	1	1	0
癌 : M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
下垂体														
腺腫 : B	0	0	0	0	0	0	5	0	2	1	1	3	2	3
癌 : M	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0
血管腫 : B	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脾臓														
肉腫 : M	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0
脾臓														
腺腫 : B	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
大脳														
星状細胞腫 : M	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
膠肉腫 : M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脳質上衣細胞腫 : U	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肉腫 : M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
癌 : M	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
小脳														
星状細胞腫 : M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
膠肉腫 : M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脳質上衣細胞腫 : U	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
脳橋														
星状細胞腫 : M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
膠肉腫 : M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
脳質上衣細胞腫 : U	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
後腹膜														
肉腫 : M	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
癌 : M	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腹膜														
肉腫 : M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
上皮小体														
腺腫 : B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
皮膚														
線維腫 : B	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	1
癌 : M	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
線維腺腫 : B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
腺腫 : B	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0
乳頭腫 : B	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	1
肉腫 : M	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
頸														
癌 : M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
耳道														
癌 : M	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

表 4. 腫瘍症例数 (つづき)

性別	雄							雌							
	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	
試験群	1	2	3	4	5	6	7	1	2	3	4	5	6	7	
検査動物数	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	
乳腺															
線維腺腫 : B	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
良性腫瘍 : B	0	0	0	0	0	0	0	16	18	19	18	18	23	12	
悪性腫瘍 : M	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	1	0	
精巣															
肉腫 : M	0	0	0	0	1	0	0								
子宮															
肉腫 : M								0	0	0	1	1	1	0	
癌 : M								0	0	0	0	2	0	0	
膣															
線維腫 : B								0	0	0	1	0	0	0	
卵巣															
顆粒細胞腫 : B								0	0	0	0	1	0	0	
肺															
癌 : M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
胸腺															
胸腺腫 : U	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
腸間膜															
リンパ管腫 : B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	
唾液腺															
腺腫 : B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
小腸															
肉腫 : M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
癌 : M	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
合計															
腫瘍数	良性 : B	1	4	1	1	0	6	7	16	22	21	22	27	27	19
	悪性 : M	27	18	23	24	26	24	14	24	24	18	26	20	21	19
	不分類 : U	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0
腫瘍総数		28	22	24	28	26	30	21	40	46	40	48	48	48	38
担腫瘍動物数		26	22	23	25	24	26	20	31	33	36	35	36	34	26

B : 良性腫瘍 ; M : 悪性腫瘍 ; U : 良性か悪性か分類不可能な腫瘍

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。

Chlormequat

参考資料 2 : イヌを用いた 2 年間混餌投与慢性毒性試験

(資料 参 2)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : ビーグル犬 1 群雌雄各 3 匹 (対照群は雌雄各 10 匹)

試験開始時月齢 ; 記載 8 ヶ月

試験開始時平均体重 ; 約 8kg

試験期間 : 24 ヶ月

投与方法 : 検体 (CCC)、コリンクロライド (CC) を単剤または併用して飼料に混入し、24 ヶ月間にわたり随時摂食させた。

試験群構成 ; 本試験における群構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群構成

試験群	CCC (ppm)	CC (ppm)
1 : 対照群	-	-
単剤群	2	100
	3	300
	4	1000
併用群	5	1000
		700

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および生死を試験期間中観察した。

本試験では、対照群雄 1 例が試験開始後 533 日でかみ傷のために死亡した。また、検体単剤 1000 ppm 投与群 (試験群 4) の雌雄各 1 匹が、投与開始後 22 (雌) または 38 (雄) 日で死亡した。

本試験では、試験開始後 1 日分の飼料 350g を 1 度に与えていた。この投与方法により、対照群および検体単剤 100 および 300 ppm 投与群では、一般状態の異常所見は認められなかった。しかしながら、検体単剤 1000 ppm 投与では投与 1 ヶ月目に飼料摂取後 2-3 時間で多量の流涎と後軀筋脱力が認められた (飼料摂取後 6-7 時間で同症例が再発するケースもあり)。そこで、1 日に与える分の飼料を 2 度に分けて与えたところ、このような症例は認められなくなった。また、併用群 (試験群 5) では投与開始時に流涎がわずかに認められたが、飼料を 2 度に分けて与えることで症例は認

められなくなった。

多量の流涎と後軀筋脱力が認められた試験群 4 では、上述のように死亡例が雌雄で各 1 例認められている。しかしながら、同群の一般状態異常症例の発症と死亡の因果関係については不明である。

体重変化；試験期間中、週に 1 度体重を測定した。

体重増加の平均値では、対照群と検体投与群との間に明らかな差は認められなかった。

摂餌量；試験開始後 1 ヶ月までは、1 日分飼料 350g を正午頃に与えた。上記、一般状態観察の結果から、投与開始後 1 ヶ月以降は飼料を午前 10 時 (200g) と午後 3 時 (150g) の 2 度に分けて与えた。ともに午後 4 時の時点で残された飼料から 1 日あたりの摂餌量を算出した。

対照群と検体投与群との間に明らかな差は認められなかった。

検体摂取量；本試験における平均検体摂取量を表 2 に示す。

表 2. 平均検体摂取量

試験群 (ppm)		2: CCC 100	3: CCC 300	4: CCC 1000	5: CCC 1000 +CC 700
平均検体摂取量 (mg/kg/day)	雌雄	2.5	7.5	25	25+17.5

血液学的検査；投与直前および投与開始後 180、370、550、725 日目に採血し、以下の項目について検査を実施した。

ヘモグロビン (Hgb)、ヘマトクリット (Hct)、赤血球数 (RBC)、白血球数 (WBC)、白血球百分比 (WBC-Dif)

本試験では、検体投与に起因する変化は認められなかった。

血液生化学的検査；投与直前および投与開始後 180、370、550、725 日目に採血し、以下の項目について検査を実施した。

アラニントランスアミナーゼ (ALT)、尿素 (Urea)、コリンエステラーゼ活性 (血清・赤血球 : S. ChE, E. ChE)、グルコース (Gluc)、総ビリルビン (T. Bil)、総タンパク (T. Pro)

本試験では、検体投与に起因する変化は認められなかった。

尿検査；投与直前および投与開始後 180、370、550、725 日目に採尿し、以下の項目について検査を実施した。

pH、蛋白、グルコース、ウロビリノーゲン、沈渣

本試験では、検体投与に起因する変化は認められなかった。

臓器重量；試験終了時の全生存動物を対象とし、以下の組織を摘出、臓器重量を測定した。

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

Chlormequat

脳、下垂体、甲状腺、肺、心臓、脾臓、腎臓、副腎、精巣、卵巣

本試験では、検体投与に起因する変化は認められなかった。

病理組織学的検査：上記の重量測定組織に加え、以下の組織から病理標本を作製、鏡検を実施した。

気管、胃、腸管、膵臓、膀胱、子宮、リンパ節

腎臓の被膜下に回虫感染性肉芽が雌の全ての投与群に認められたが、対照群と同程度であった。また、その他の臓器においても、検体投与に起因する異常所見は認められなかった。

本試験では、300 ppm 投与群雌 1 例の子宮に良性嚢腫が認められたのみで、検体投与に起因する腫瘍形成は認められなかった。

以上の結果から、本検体を飼料混入により 24 ヶ月間イヌに摂取させた場合、1000 ppm で流涎や後軀筋脱力のような一般状態異常が誘起される。したがって、無毒性量は 300 ppm (雌雄ともに 7.5 mg/kg/day) であると判断する。また本検体 1000 ppm にコリンクロライド 700 ppm を併用した場合、流涎が軽減されていた。

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。

Chlormequat

参考資料 3 : マウスを用いた発癌性試験

(資料 参 3)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : C57BL/6 系マウス 1 群雌雄各 52 匹

試験開始時週齢 : 約 5 週齢

試験開始時体重 : 雄 20-31g 雌 21-29g

試験期間 : 78 週間

投与方法 : 検体を 1000 ppm の濃度になるように飼料に混入し、78 週間に渡り自由摂取させた。
また、飼料調整は 2 週間に 1 度行った。

試験項目および結果 :

一般状態および死亡率 ; 一般状態および生死を毎日観察した。

一般状態観察では、検体投与に起因する異常は認められなかった。

試験終了時の死亡率は、対照群で 40 (雄) および 38 (雌) %、検体投与群で 40 (雄) および 35 (雌) % と、検体投与による影響は認められなかった。

体重変化 ; 投与開始から 6 週間は週に 1 回、それ以降は 1 ヶ月に 1 回全生存動物を対象とし、体重を測定した。

投与開始後 24 週間は雌雄ともに対照群・検体投与群間で明らかな変動は認められなかった。しかしながら、その後ゆるやかな体重減少が認められ、試験終了時点では検体投与群で 6% の体重減少が認められた。

検体摂取量 ; 本試験における平均検体摂取量を算出した。

検体投与群 (1000 ppm) における平均検体摂取量は、150 mg/kg/day であった。

肉眼的病理検査 ; 死亡動物、切迫屠殺動物および試験終了時生存動物を対象とし、剖検を実施した。

検体投与に起因する肉眼的病理検査異常所見は認められなかった。

病理組織学的検査 ; 死亡動物、切迫屠殺動物および試験終了時生存動物より以下の組織を摘出、病理標本を作製し鏡検を行った。

腎臓、副腎、脾臓、脳、肝臓、脾臓、肺、胃、空腸、盲腸、結腸、胆嚢、心臓、骨髄、胸腺、腸間膜リンパ節、松果体、甲状腺 (上皮小体を含む)、下垂体、膀胱、眼球 (ハーダー腺を含む)、乳腺 (雌のみ)、精巣、卵巣、前立腺、子宮、肉眼的病理

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。

Chlormequat

検査異常部位

本試験で認められた腫瘍およびその合計を表1に示す。

表1. 発生した腫瘍の症例数

性別		雄		雌	
投与量 (ppm)		対照群	1000	対照群	1000
検査動物数		51	50	52	49
所見および症例数					
腎臓	腺腫 (B)	0	1	0	0
	癌 (M)	0	0	0	1
	肥満細胞肉腫 (M)	0	2	0	0
膵臓	腺腫 (B)	0	0	1	0
脳	髄膜腫 (U)	0	0	0	1
下垂体	腺腫 (B)	0	0	0	2
肝臓	血管肉腫 (M)	3	0	0	0
	肝細胞腫瘍 (U)	16	13	7	5
	肥満細胞肉腫 (M)	0	1	0	0
肺	肺腫瘍 (U)	13	23	20	13
消化器	肥満細胞肉腫 (M)	0	1	0	0
腸間膜 リンパ節	肥満細胞肉腫 (M)	0	1	0	0
膀胱	血管腫 (B)	1	0	0	0
精巣	間質細胞腫 (B)	1	0		
卵巣	顆粒膜細胞腫 (B)			0	1
子宮	平滑筋腫 (B)			2	1
皮膚	扁平上皮癌 (M)	1	0	0	0
	基底細胞癌 (M)	1	0	0	0
	線維肉腫 (M)	0	1	0	0
リンパ 細網	悪性リンパ腫 (M)	5	2	6	5
	細網細胞肉腫 (M)	0	2	3	0
ハーダー腺	腺腫 (B)	0	1	0	0
合計					
腫瘍数	良性 (B)	2	2	3	4
	悪性 (M)	10	11	9	6
	未分類 (U)	29	36	27	19
腫瘍数合計		41	49	39	29
担腫瘍動物数		30	32	29	22

本試験では、腫瘍数、腫瘍の悪性度および腫瘍発生動物数に明らかな変動は認められなかった。

以上の結果より、本検体は 150 mg/kg/day (雌雄) の濃度において、78 週間投与しても明らかな毒性徴候は認められず、また催腫瘍性も有さないと判断する。

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。

Chlormequat

参考資料 4 : げっ歯類における発癌性試験

(資料 参 4)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 :

ラット ; Fischer 系 F344 ラット 1 群雌雄各 50 匹 (対照群は雌雄各 20 匹)

試験開始時週齢 : 雌雄 6 週齢

試験開始時体重 : 雄 90-105g 雌 80-95g

マウス ; B6C3F1 系マウス 1 群雌雄各 50 匹 (対照群は雌雄各 20 匹)

試験開始時週齢 : 雌雄 6 週齢

試験開始時体重 : 雄 18-22g 雌 17-21g

試験期間 : 108 週 (ラット) および 102 週 (マウス)

投与方法 : 検体を飼料に混入し 108 (ラット) または 102 (マウス) 週にわたり自由摂取させた。

本試験での検体投与量は、ラットで 1500 および 3000 ppm、マウスで 500 および 2000 ppm とした。飼料調整は週に 1 回または 1 週半に 1 回行った。

用量設定根拠 :

試験項目および結果 :

臨床的検査および死亡率 ; 本試験では、臨床的観察として状態異常観察および触診を行った。これらの臨床的検査および生死は、毎日観察した。

検体投与に起因する臨床的検査異常は認められなかった。

本試験における死亡率を表 1 に示す。

表 1. 死亡率

ラット	対照群	1500 ppm 群	3000 ppm 群
雄	6/20 (30%)	13/50 (26%)	18/50 (36%)
雌	7/20 (35%)	15/50 (30%)	9/50 (18%)
マウス	対照群	500 ppm 群	2000 ppm 群
雄	4/20 (20%)	1/50 (2%)	8/50 (16%)
雌	4/20 (20%)	9/50 (18%)	4/50 (8%)

表 1 に示すように、死亡率において検体投与による影響は認められなかった。

体重；月に 1 回、体重を測定した。

ラットでは、雌雄ともに検体投与に起因すると思われる体重減少が認められた。

マウスでは、雄は試験期間を通じ検体投与に起因するような影響は認められなかった。しかしながら、雌では試験開始後 40 週間は影響が認められなかったが、それ以降は僅かな体重減少が認められた。

(統計学的解析：One-tailed P value/Two-tailed P value、 $P < 0.05$)

病理学的検査；死亡後の自己融解また共喰いによる回収困難な動物を除き、剖検を実施した後、以下の組織を摘出し病理標本を作製、鏡検を行った。

皮膚、肺、気管支、気管、骨髓（大腿骨）、脾臓、リンパ節（腸間膜および下顎）、胸腺、心臓、唾液腺（耳下腺、舌下腺および顎下腺）、肝臓、膵臓、食道、胃（前胃および腺胃）、小腸、大腸、腎臓、膀胱、下垂体、副腎、甲状腺（上皮小体を含む）、精巣、前立腺、乳腺、卵巣、子宮、脳（大脳および小脳）、組織塊

本試験で認められた腫瘍の症例数を表 2（ラット）および 3（マウス）に示す。

各組織での腫瘍発生には、検体投与に起因するような変動は認められず、また本試験で認められた腫瘍の発生総数や担腫瘍動物数にも検体投与に起因する変動は認められなかった。

(統計学的解析：Fischer exact test)

以上の結果より、本検体を 102 または 108 週間、飼料混入により投与しても検体投与に起因する腫瘍発生は認められなかった。したがって、本検体は、本試験の最高用量である 3000（ラット）および 2000（マウス）ppm でも催腫瘍性を有さないものと判断する。

表 2. ラットにおける腫瘍の発症例数

性別		雄			雌			
		投与量 (ppm)	1500	3000	1500	3000		
検査動物数		20	50	50	20	50	50	
皮膚	基底細胞腫 (B)	0	1	0	0	0	0	
	毛包上皮腫 (B)	1	2	0	0	1	0	
	線維腫 (B)	0	0	2	0	0	0	
	乳頭腫 (B)	0	0	0	0	1	0	
	扁平上皮癌 (M)	0	0	0	0	1	0	
	角質棘細胞腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
皮下組織	肉腫 (M)	1	0	1	0	0	0	
	線維腫 (B)	1	1	3	0	0	1	
	脂肪細胞腫 (B)	0	0	2	0	0	0	
	線維肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
肺	癌 (M)	0	1	0	0	0	0	
	肺胞上皮腺腫 (B)	0	3	0	0	2	1	
	肺胞上皮癌 (M)	0	1	2	0	0	0	
	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	
気管	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	
造血系組織	複数組織	悪性リンパ腫 (M)	6	9	12	0	6	13
		単球リンパ腫 (M)	0	1	0	1	1	0
		白血病 (M)	0	0	0	1	0	0
	脾臓	悪性リンパ腫 (M)	0	0	1	1	1	1
		癌 (M)	0	1	0	0	0	1
	血液	単球白血病 (M)	0	0	0	0	1	0
		白血病 (M)	0	0	0	0	2	0
下顎リンパ	腺癌 (M)	0	0	0	1	0	0	
肝臓	肝細胞癌 (M)	1	2	2	0	0	1	
膵臓	腺房細胞腺腫 (B)	0	1	1	0	0	0	
	島細胞腺腫 (B)	0	2	7	0	0	0	
胃	扁平上皮癌 (M)	0	1	0	0	0	0	
盲腸	腺腫性ポリープ (B)	0	0	0	0	0	1	
腎臓	管状細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	
	脂肪肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	
腎囊	肉腫 (M)	1	0	0	0	0	0	
膀胱	移行上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	1	
下垂体	癌 (M)	0	0	0	0	1	0	
	嫌色素性細胞腺腫 (B)	6	11	16	5	22	20	
	嫌色素性細胞癌 (M)	0	4	0	1	2	1	
	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
副腎	癌 (M)	0	1	0	0	0	0	
	皮質癌 (M)	0	1	0	0	0	0	
	皮質腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
	褐色細胞腫 (B)	1	3	0	0	0	1	
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	1	0	0	0	
	癌 (M)	0	0	0	0	0	1	
	濾胞細胞腺癌 (M)	0	0	2	0	0	0	
	旁濾胞細胞腺腫 (B)	3	7	0	0	3	2	
	旁濾胞細胞腺癌 (M)	0	1	0	1	1	0	
	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
	嚢胞腺腫 (B)	0	1	0	0	0	0	

表 2. ラットにおける腫瘍の発症例数 (つづき)

性別		雄			雌					
投与量 (ppm)		対照群	1500	3000	対照群	1500	3000			
検査動物数		20	50	50	20	50	50			
乳腺	線維腺腫 (B)	0	1	0	4	7	2			
	腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1			
	嚢胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0			
	線維腫 (B)	0	0	0	1	0	0			
精巣	間質細胞種 (B)	17	42	38						
	脂肪細胞種 (B)	0	0	1						
前立腺	腺腫 (B)	0	1	0						
子宮	腺癌 (M)							0	1	0
	平滑筋腫 (B)							0	1	0
	平滑筋肉腫 (M)				1	0	1			
脳	骨肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0			
	希突起膠細胞腫 (U)	0	0	1	0	0	0			
	嫌色素性細胞癌 (M)	0	0	0	0	1	1			
	星状細胞腫 (M)	0	0	0	1	0	0			
体腔	中皮腫 (B)	0	0	1	0	0	0			
腹膜	線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0			
胸膜	癌 (M)	1	0	0	0	0	0			
	中皮腫 (B)	1	0	0	0	0	0			
その他組織	線維肉腫 (M)	0	0	1	0	0	0			
	悪性中皮腫 (M)	1	0	0	0	0	0			
合計										
腫瘍数	良性 (B)	30	76	73	11	37	33			
	悪性 (M)	12	24	23	10	18	23			
	未分類腫瘍 (U)	0	0	1	0	0	0			
腫瘍総数		42	100	97	21	55	56			
担腫瘍動物数		20	47	49	13	41	37			

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。

Chlormequat

表 3. マウスにおける腫瘍の発症例数

性別		雄			雌			
		投与量 (ppm)	500	2000	対照群	500	2000	
検査動物数		20	50	50	20	50	50	
皮膚	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
皮下組織	血管腫 (B)	0	0	1	1	0	0	
	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0	
	横紋筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
肺	肺胞上皮腺腫 (B)	2	3	2	0	1	1	
	肺胞上皮癌 (M)	2	7	3	1	2	1	
	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
造血系組織	複数組織	悪性リンパ腫 (M)	3	7	2	7	8	10
	腸間膜リンパ	血管腫 (B)	0	1	0	0	0	0
		悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	0	0	0
	血液	白血病 (M)	0	0	0	1	0	2
	骨髄	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	1	0
	胸腺	悪性胸腺腫 (M)	0	1	0	0	0	0
		悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	0	1	1
	脾臓	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	2	1
		悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	1
	腎臓	悪性リンパ腫 (M)	0	1	0	0	0	1
肝臓	肝細胞癌 (M)	7	13	23	4	7	4	
	血管肉腫 (M)	0	1	0	0	0	0	
	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	1	0	
腸間膜	悪性リンパ腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
	平滑筋肉腫 (M)	0	0	0	0	0	1	
食道	乳頭腫 (B)	1	0	0	0	0	0	
胃	扁平上皮癌 (M)	0	0	1	0	0	0	
	腺腫性ポリープ (B)	0	1	0	0	0	0	
唾液腺	嚢胞腺腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
十二指腸	血管腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
下垂体	腺腫 (B)	0	0	0	2	2	0	
副腎	皮質腺腫 (B)	2	1	0	0	1	0	
甲状腺	濾胞細胞腺腫 (B)	0	0	0	1	1	0	
乳腺	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	
	腺癌 (M)	0	0	0	0	0	1	
子宮	平滑筋腫 (B)	0	0	0	0	0	1	
	嚢胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	
卵巣	嚢胞腺腫 (B)	0	0	0	1	0	0	
	顆粒膜細胞腫 (B)	0	0	0	0	2	0	
その他組織	血管肉腫 (M)	0	0	0	0	0	2	
合計								
腫瘍数	良性 (B)	5	6	3	5	7	4	
	悪性 (M)	12	32	29	13	23	30	
	未分類腫瘍 (U)	0	0	0	0	0	0	
腫瘍総数		17	38	32	18	30	34	
担腫瘍動物数		12	29	29	14	25	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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chloromequat

参考資料 5 : マウスを用いた催奇形性試験

(資料 参 5)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : NMRI 系マウス 1 群雌 5-11 匹 (対照群は 151 匹)

投与期間 : 表 1 に示す

投与方法 : 本試験では、検体 (LD50 量の約半量 : 資料 1 参照) を腹腔内投与および強制経口投与した。各試験構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群構成

試験群	対照群	1	2	3
投与経路	不明	腹腔内投与	腹腔内投与	強制経口投与
投与量 (mg/kg)	0	30	30	200
投与期間	-	妊娠 14・15 日 2 日間	妊娠 11-15 日 5 日間	妊娠 11-15 日 5 日間
動物数	♀151	♀11	♀4	♀5

試験項目 :

親動物 : 妊娠 19 日目に屠殺し、着床部位、生存胎児数および死亡胎児数を調べた。

児動物 : 体重、体長および身体異常 (外表および骨格) について調べた。

結果 : 本試験結果を表 2 に示す。

各検体投与群での着床所見、胎児の大きさ (体重および体長)、身体異常発生率は、対照群と比べ明らかな変化は認められなかった。

(統計解析の実施については不明)

以上の結果より本検体は、腹腔内および強制経口投与しても胎児の発生に影響をおよぼさないと判断する。

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。

Chlormequat

表 2. 試験成績概要

		試験群	対照群	1	2	3	
親動物	着床 所見	胎児吸収率 (%)	7.5	9.4	3.2	4.0	
		生存胎児数	10.1	9.6	7.5	9.6	
児動物	胎児体重 (g)		1.2	1.2	1.2	1.2	
	胎児体長 (cm)		2.2	2.3	2.4	2.3	
	身体異常						
	検査動物数		1417	106	30	30	
	外表 異常	口蓋裂	13	2	0	0	
		小頭症	2	0	0	0	
	骨格 異常	脊椎：形成不全		3	0	0	0
		脊椎：発育不全		1	0	0	0
		下顎骨：形成不全		1	0	0	0
		肋骨：変形		1	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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

参考資料 6 : マウスを用いた催奇形性試験

(資料 参 6)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : NMRI 系マウス 1 群雌 5-15 匹 (対照群は 7 匹)

投与期間 : 妊娠 1-15 日までの 15 日間または妊娠 11-15 日までの 5 日間

投与方法 : 検体を 1%トラガカント懸濁液を用いて飼料に混入し、表 1 に示す用量および期間で投与した。対照群には、1%セルロースを混入した飼料を与えた。

本試験では、25000 ppm 群のみ投与期間を短縮している。これは、同用量を用いた予備試験において、投与開始後 1 週間で親動物に影響が認められたためである。

表 1. 試験群構成

試験群	対照群	1	2	3
投与量 (ppm)		1000	10000	25000
投与期間		妊娠 1-15 日までの 15 日間		妊娠 11-15 日までの 5 日間
動物数	♀7	♀5	♀8	♀15

試験項目 :

親動物 ; 摂餌量を測定した。妊娠 19 日目に屠殺し、吸収胎児数および生存胎児数を調べた。

児動物 ; 体重および体長を測定し、身体異常 (外表・骨格) について検査した。

結果 : 本試験の結果概要を表 2 に示す。

本試験では、25000 ppm 投与群において摂餌量の明らかな減少 (対照群の約半量) が認められ、この摂餌量減少は 10000 ppm 投与群でも僅かに認められた。

児動物の身体異常検査では、25000 ppm 投与群に口蓋裂が外表異常として認められ、10000 ppm 投与群では肋骨や脊椎の奇形が骨格異常として認められた。しかしながら、これらの異常は検体投与に起因するものではなく、親動物の摂餌量減少に伴うものと判断する。

以上の結果より、本検体を混餌投与した場合、1000 ppm で催奇形性を有さないものと判断する。

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。

Chlormequat

表 2. 試験成績概要

試験群		対照群	1	2	3	
親動物	摂餌状態		異常なし		僅かに減少	減少 (約半量)
	着床所見	生存胎児数	62	49	78	149
		生存対児率 (%)	83	98	85	89
		吸収胎児数	13	1	13	19
		吸収対児率 (%)	17	2	14	11
児動物	胎児平均体重 (g)		1.1	1.1	1.1	1.0
	胎児平均体長 (cm)		2.1	2.2	2.2	2.0
	奇形胎児数		1	1	3	6
	外表異常	転位	0	0	1	0
		口蓋裂	0	0	0	6
	骨格異常	肋骨の奇形	1	1	1	0
		肋骨および脊椎の奇形	0	0	1	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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

参考資料 7 : マウスを用いた催奇形性試験

(資料 参 7)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : NMRI 系マウス 1 群雄 30 匹 雌 150 匹

試験開始時体重 : 雄 30-35 g 雌 25-30 g

投与方法 : 検体を 1%トラガカント懸濁液を用いて 1000 および 5000 ppm になるように飼料へ混入し、検体を含まない飼料と毎日交互に以下の要領で与えた。

試験 a ; 雌雄ともに混餌投与し、投与開始 1、3、4 および 10 週間後に交配を行った。

試験 b ; 雄には検体を含まない飼料を与え、雌のみに検体が混入した飼料を与えた。また、その逆も実施した。混餌投与の期間は、雌が 5 週間、雄が 4 週間半とした。各投与期間終了後に交配を行った。

交配は、雄 1 匹と雌 5 匹を 2 時間同居させることで行い、膣栓が認められた雌個体を交配から隔離した。その後、全ての動物に、妊娠前と同様に飼料を与え、妊娠動物は妊娠 19 日目に屠殺し、以下の試験項目に使用した。

試験項目 :

親動物 ; 各交配ごとに、交配数、妊娠数、生存胎児数、死亡・吸収胎児数を調べた。

児動物 ; 体重および体長を測定し、体表異常の検査を実施した後、骨格標本作製、骨格異常検査を実施した。

結果 : 本試験の成績概要を表 1 に示す。

親動物における着床所見、および児動物における体重、体長、胎児吸収率、奇形発生数については、各検体投与群で対照群と明らかな変動は認められなかった。

また、5000 ppm 投与の交配前 1 週間投与群で口蓋裂の増加が認められたため再試験を実施したところ、再現性は認められず、対照群と同様の結果となった。

以上の結果より、本検体を妊娠前後の動物に投与しても、最高用量である 5000 ppm でも催奇形性を示さないものと判断する。

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。

Chlormequat

表 1-1. 試験成績概要：試験 a

投与量 (ppm)		対照群				1000				5000			
交配前投与期間 (週)		1	3	4	10	1	3	4	10	1	3	4	10
親動物	交配数	150	135	126	82	150	136	127	92	150/150	140	124	97
	妊娠数	15	8	19	3	14	8	11	6	10/15	11	7	10
	妊娠率 (%)	10.0	5.9	15.1	3.7	9.3	5.9	8.7	6.5	6.7/10.0	7.9	5.6	10.3
	生存胎児数	161	93	176	28	147	88	120	71	117/161	120	77	101
	胎児生存率 (%)	91.0	94.9	92.1	82.4	93.6	88.9	96.0	92.2	92.1/93.0	90.2	95.1	94.4
	死亡胎児数	0	0	0	0	0	1	0	0	1/1	1	0	0
	胎児死亡率 (%)	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0	0.0	0.0	0.8/0.6	0.8	0.0	0.0
	吸収胎児数	16	5	15	6	10	10	5	6	9/11	12	4	6
胎児吸収率 (%)	9.0	5.1	7.9	17.6	6.4	10.1	4.0	7.8	7.1/6.4	9.0	4.9	5.6	
児動物	平均体重 (g)	1.2	1.3	1.4	1.4	1.3	1.1	1.2	1.3	1.2/1.2	1.1	1.2	1.2
	平均体長 (cm)	2.3	2.3	2.4	2.4	2.3	2.2	2.3	2.3	2.2/2.3	2.1	2.3	2.2
	奇形発生数	3	2	2	0	2	0	3	2	14/3	1	2	5

表 1-2. 試験成績概要：試験 b

投与量 (ppm)		対照群		1000		5000	
交配前投与期間	雄	未混入	対照 4.5 週	未混入	検体 4.5 週	未混入	検体 4.5 週
	雌	対照 5 週	未混入	検体 5 週	未混入	検体 5 週	未混入
親動物	交配数	104	100	109	100	107	100
	妊娠数	16	8	11	16	8	10
	妊娠率 (%)	15.4	8.0	10.1	16.0	7.5	10.0
	生存胎児数	173	72	107	156	81	96
	胎児生存率 (%)	94.5	94.7	84.9	88.6	94.2	94.1
	死亡胎児数	1	0	1	2	1	1
	胎児死亡率 (%)	0.5	0.0	0.8	1.1	1.2	1.0
	吸収胎児数	9	4	10	18	4	5
胎児吸収率 (%)	4.9	5.3	8.4	10.2	4.7	4.9	
児動物	平均体重 (g)	1.1	1.3	1.2	1.3	1.2	1.3
	平均体長 (cm)	2.2	2.4	2.2	2.3	2.2	2.3
	奇形発生数	3	0	4	4	1	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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

参考資料 8 : ラットを用いた催奇形性試験

(資料 参 8)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : SD 系ラット 1 群雌 9-16 匹

投与期間 : 妊娠 1-21 日目までの 21 日間

投与方法 : 検体を 1%トラガカント懸濁液を用いて 1000 および 5000 ppm になるよう飼料に混入し、妊娠 1-21 日目までの 21 日間摂取させた。本試験では、対照群として 1%セルロースを混入した飼料を与えている。

試験項目 :

親動物 : 体重および摂餌量を測定した。妊娠 21 日目に屠殺し、帝王切開にて胎児を摘出した後、生存胎児数、死亡胎児数および吸収胎児数を調べた。

児動物 : 体重および体長を測定し、外表および骨格異常検査を実施した。

結果 : 本試験の成績概要を表 1 に示す。

本試験では、体重、摂餌量および着床所見に大きな変化は認められなかった。また表に示すような外表異常および骨格異常が認められたが、対照群と同程度または用量依存性が認められず、検体投与に起因しないものと判断した。

表 1. 試験成績概要

投与量 (ppm)		対照群	1000	5000	
雌動物数		9	11	16	
摂餌量 (g/head/day)		13.5	13.5	13.5	
体重変化		異常なし			
親動物	着床所見	生存胎児数	84	136	161
		胎児生存率 (%)	91.3	97.8	96.4
		吸収胎児数	8	3	6
		胎児吸収率 (%)	8.7	2.2	3.6
平均体重 (g)		3.6	3.4	3.4	
平均体長 (cm)		3.4	3.4	3.4	
胎児	外表異常	浮腫	1	0	0
		転位症	0	1	0
	骨格異常	胸椎減形成	16	24	22
		胸椎および肋骨減形成	0	1	0

以上の結果より、本検体を妊娠ラットに投与した場合の、親動物に対する無毒性量は 5000 ppm であり、また最高等用量である同用量において検体は催奇形性を有さないものと判断する。

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。

Chlormequat

参考資料 9 : ウサギを用いた催奇形性試験

(資料 参 9)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : ウサギ (ロシア種、野うさぎ、白色ウィーン種) 1 群雌 7 匹

投与期間 : 妊娠 1-28 日目までの 28 日間

投与方法 : 検体を水を用いて溶解後、1000 ppm になるよう飼料に混入し、妊娠 1-28 日目までの 28 日間摂取させた。

試験項目 :

親動物 ; 生存胎児数、死亡胎児数および吸収胎児数を調べた。

児動物 ; 体重および体長を測定し、奇形発生について調べた。

結果 : 本試験の成績概要を表 1 に示す。

表 1. 試験成績概要

投与量 (ppm)		1000
親動物	摂餌量	
	着床所見	生存胎児数
		吸収胎児数
児動物	平均体重 (g)	25.6
	平均体長 (cm)	7.8
	奇形発生数	0

以上の結果より、本検体を妊娠ウサギに 1000 ppm 投与しても親動物や胎児に対する影響は認められない。

参考資料 10 : ハムスターを用いた催奇形性試験

(資料 参 10)

試験機関 :

報告書作成年 : (GLP 非対応)

(1) GLP 非対応試験 (2) 試験実施年が古い (3) 新たに GLP 下で試験が行われている (4) 現在の試験プロトコールに合わない (5) 試験目的が明確ではない、などの理由から本資料から削除し、参考資料とした。

検体純度 :

供試動物 : ゴールデンハムスター 1 群雌 8 匹 (対照群は 15 匹)

投与期間 : 妊娠 7-9 日の 3 日間または妊娠 8 日のみ

投与方法 : 検体を水に溶解し、25、50、100、200、300 および 400 mg/kg の用量で妊娠 8 日目にのみ強制経口投与した。また、同様にして調整した検体 100 mg/kg を妊娠 7-9 日の 3 日間、強制経口投与した。

対照群には、水 1 mL を投与した。

試験項目 :

親動物 : 一般状態を観察した。また、妊娠 14 日 (通常出産日の 2 日前) に帝王切開し、胎児を摘出した後、着床数、生存胎児数、死亡胎児数および吸収胎児数を調べた。

児動物 : 体重および体長を測定し、身体異常 (外表・内臓・骨格) を調べた。

結果 : 本試験における結果の概要を表 1 に示す。

親動物では、200 mg/kg 以上の投与で一般状態異常が認められた。

児動物の単回投与群では、対照群と比べて胎児数が減少し、100 mg/kg 以上の投与群で吸収胎児数の増加が認められた。体重および体長検査では、200 mg/kg 以上で有意に減少し、奇形および発育不全の発生増加が認められた。本試験では、3 回投与群では、体長や体重測定では有意な変動は認められなかったが、奇形および発育不全の発生増加が認められた。

本試験で認められた奇形は、無眼球症、小眼球症、脳ヘルニア、頭部奇形、兔唇、指過剰、皮下出血および体浮腫であった。

以上の結果より、本検体を妊娠ハムスターに単回投与した場合、100 mg/kg が親動物に対する無毒性である。また、200 mg/kg 以上で奇形胎児が認められたことから、催奇形性に対する無毒性量も 100 mg/kg 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。

Chlormequat

表 1. 試験成績概要

投与群		単回投与群						3回投与群	
投与量 (mg/kg)		対照群	25	50	100	200	300	400	100
群内動物数		15	8						
親動物	死亡数	0	0	0	0	0	0	5	0
	死亡率 (%)	0	0	0	0	0	0	62.5	0
	一般状態	異常なし				流涎、食欲不振 動作緩慢			異常なし
						軽度	中等度	重度	
						回復	回復	3匹が回復	
	着床数	159	77	100	85	95	85	34	97
	生存胎児数	151	72	95	73	78	69	23	87
	胎児生存率 (%)	94.9	91.6	95.0	85.9	82.1	81.2	67.6	89.7
	吸収胎児数	8	5	5	12	16	14	10	10
	胎児吸収率 (%)	5.0	6.4	5.0	14.1	16.8	16.5	29.4	10.3
	死亡胎児数	0	0	0	0	1	2	1	0
	胎児死亡率 (%)	0	0	0	0	1.1	2.3	2.9	0
	未熟胎児数	0	0	1	0	2	5	1	0
胎児未熟率 (%)	0	0	1.0	0	2.1	5.9	2.9	0	
胎児	平均体重 (mg)	894.7	971.2↑	875.5	861.1	773.1↓	781.1↓	674.6↓	873.4
	平均体長 (cm)	19.9	21.0↑	19.8	19.6	18.6↓	18.9↓	18.6↓	19.6
	奇形胎児数	0	0	0	0	1	5	3	3

↑ ↓ : p < 0.01 (統計学的解析手法不明)

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。

Chloromequat

11. 製剤

1. 50%液剤

1-1. ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 F1)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 50%
界面活性剤・水など 50%

供試動物： SD系ラット 1群雌雄各5匹
試験開始時週齢；記載なし
試験開始時体重；記載なし

観察期間： 14日間

投与方法： 検体を0.5%カルボキシメチルセルロースで懸濁し、464、562、681、825、1000および1210 mg/kgを15-20時間絶食した動物に強制経口投与した(10 mL/kg)。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡および試験終了時の全生存動物は、主要臓器の肉眼的病理検査を実施した。

結果： 結果の概要を以下に示す。

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	464, 562, 681, 825, 1000, 1210
LD50 (mg/kg)	雄：834 雌：590
死亡開始および終了時間	雄(825以上)雌(681以上)共に1時間後から発現 投与後1日まで
死亡の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	464
症状発現開始および終了時間	報告書に観察時間の記載なし
毒性徴候の認められなかった最高用量 (mg/kg)	なし

中毒症状；雌雄の全群で、呼吸困難、無関心、立毛、流涎、衰弱が求められた。またこれらの症状に加え、歩行異常、振戦、攣縮、姿勢異常、跳躍性痙攣、挙尾反応、眼球突出、流涎、筋線維束攣縮およびふるえなどが認められた。

肉眼的病理所見；死亡動物では、心臓に両側急性拡張および急性充血、肺に軽度の浮腫を伴う局部的鬱血が認められた。生存動物では、異常は認められなかった。

1-2. サルを用いた急性経口毒性試験

(資料 F2)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 50%

界面活性剤・水など 50%

供試動物： ベンガルサル (*Macaca mulatta*) 1 群雄 4 匹

試験開始時週齢；記載なし

試験開始時体重；記載なし

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体を水に溶解し、100、200、400 および 800 mg/kg を強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状および生死を 7 日間観察した。全動物を対象とし、胸腔および腹腔内主要臓器の肉眼的病理検査を実施した。

結果： 結果の概要を以下に示す。

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	100 200 400 800
LD50 (mg/kg)	400 以上
死亡開始および終了時間	800 mg/kg 投与群の 1 匹のみが 78 分後に死亡
症状発現および消失時間	22 分後に発現 5 時間後に消失
死亡の認められなかった最高用量 (mg/kg)	400

中毒症状；800 mg/kg 投与群で、ふるえ（軽微）、動作緩慢、頭部をあげられない、元気喪失などが認められた。また 400 mg/kg 以下の投与量では、活動低下症状が 1 時間程度持続して観察された。

肉眼的病理検査；400 mg/kg 投与群の 1 匹に、全身黄疸、肝充血（中等度）、胆汁着色（黄緑色）が認められた。また、400 mg/kg 投与群の 1 匹および 800 mg/kg 投与群での死亡例に重度の胃腸炎が認められた。

本試験では、800 mg/kg 投与群に死亡例の他、嘔吐が 2 例認められた。したがって、LD50 値は 400 mg/kg 以上と判断した。

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。

Chloromequat

1-3. ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 F3)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 50%
界面活性剤・水など 50%

供試動物： SD系ラット 1群雌雄各5匹

試験開始時週齢；記載なし

試験開始時平均体重；雄 228 g 雌 198 g

観察期間： 14日間

投与方法： 検体を希釈せずに、背部および側腹部の刈毛した皮膚 (50 cm²) に、半閉塞帯を用いて24時間適用した。適用後は、温水で洗浄した。

試験項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。死亡動物および全生存動物を対象とし、肉眼的病理検査を実施した。

結果： 結果の概要を以下に示す。

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	4000
LD50 (mg/kg)	4000 以上
死亡開始および終了時間	雌2匹が投与1-24時間に死亡
症状発現および消失時間	-
最大無作用量 (mg/kg)	-

中毒症状としては、呼吸困難、感情鈍麻、歩行異常、状態低下および痙攣性歩行が雌雄に認められた。

肉眼的病理検査では、死亡動物の1匹に心臓の急性拡張、急性受動性充血および灰白色化 (軽微) が認められたが、生存動物に異常な所見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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

1-4. ラットを用いた急性吸入毒性試験

(資料 F4)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 50%
界面活性剤・水など 50%

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 179 g 雌 179 g

観察期間： 14日間

方法： 圧縮空気を用いて検体をエアロゾル化し、動物の鼻部より5時間吸入させた。

通気量； 1500 L/hr

設定濃度； 11.09 mg/L

実測濃度； 4.03 mg/L

暴露条件に関し、粒子径分布、空気力学的質量中位径、呼吸可能な粒子径の割合およびチャンバー容積は報告書に未記載。

試験項目： 暴露中および暴露後14日間、中毒症状および生死を観察した。また、試験終了時の全生存動物に対し、肉眼的病理検査を実施した。

結果： 結果の概要を以下に示す。

投与経路		吸入
投与量 (mg/L)	設定値	11.09
	実測値	4.03
LC50 (mg/L)	設定値	雌雄 11.09 以上
	実測値	雌雄 4.03 以上
死亡開始および終了時間		死亡なし
症状発現および終了時間		3日後には回復した
死亡の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	設定値	11.09
	実測値	4.03

中毒症状としては、微量の赤色物付着、切迫呼吸、振戦、貧血性蒼白および被毛の汚れが性別に関係なく認められた。

肉眼的病理検査では、特筆すべき異常所見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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

1-5. ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 F5)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 50%
界面活性剤・水など 50%

供試動物： ウィーン白色ウサギ 1群雄6匹

試験開始時週齢：記載なし

試験開始時平均体重：3.25 kg

観察期間： 8日間観察

方法： 検体 0.5 mL を刈毛した動物の背部皮膚 (25 cm²) に 24 時間塗布した。適用部位の固定法や適用後の洗浄に関する記載は、報告書に無い。

試験項目： 塗布終了後、24 時間、72 時間および 8 日に、塗布部分の皮膚刺激性変化 (紅斑・痂皮・浮腫) の有無を観察した。刺激性の評価は、Draize 法に基づき、表 1 に示す基準を用いて評価した。

表 1. Draize 法刺激性評価基準

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： 本試験における結果の概要を表 2 に示す。

非擦過皮膚では、塗布後 24 時間で、非常に弱い紅斑が認められた。

擦過皮膚では、塗布後 8 日で明らかな紅斑、浮腫および壊死性所見が認められた。

以上の結果より、本検体は弱い刺激性を有すると判断する。

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。

Chlormequat

表 2. 試験成績

動物番号	項目	最高評点	非擦過皮膚			擦過皮膚		
			24 時間	72 時間	8 日	24 時間	72 時間	8 日
# 1 021	紅斑・痂皮	4	0	0	0	2	2	2
	浮腫	4	0	0	0	2	2	1
# 2 039	紅斑・痂皮	4	1	0	0	2	1	0
	浮腫	4	0	0	0	2	0	0
# 3 0744	紅斑・痂皮	4	0	0	0	2	4	4
	浮腫	4	0	0	0	2	2	2
# 4 0369	紅斑・痂皮	4	0	0	0	2	2	2
	浮腫	4	0	0	0	2	2	2
# 6 019	紅斑・痂皮	4	1	0	0	2	3	1
	浮腫	4	0	0	0	2	2	0
合計 (B)	紅斑・痂皮	20	2	0	0	10	12	9
	浮腫	20	0	0	0	10	8	5
平均 (C)	紅斑・痂皮	4	0.4	0	0	2	2.4	1.8
	浮腫	4	0	0	0	2	1.6	1

A: 壊死性皮膚所見により判定不能

B: 動物# 5が、壊死により判定不能なため# 5を除く5匹の合計を記載

C: 動物# 5が、壊死により判定不能なため# 5を除く5匹の平均を記載

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。

Chlormequat

1-6. ウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 F6)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 非対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 50%

界面活性剤・水など 50%

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；雄 3.25 kg 雌 3.46 kg

観察期間： 8 日間観察

方法： 検体 0.1 mL を右眼結膜嚢に点眼投与した。点眼後の洗眼は、本試験では実施しなかった。

試験項目： 適用、24、48、72 時間および 8 日後の角膜、虹彩、結膜の刺激性所見を観察した。本試験での刺激性評価は、Draize 法に基づき、表 2 に示す基準で実施した。

結果： 本試験の成績概要を表 2 に示す。

本試験では、角膜の混濁が認められたが、非常に軽微なものであり、また発症頻度が低く、かつ発症時期も 8 日後のみと非常に遅いものであったため、検体投与に起因するものではないと判断した。虹彩に刺激性変化は認められなかったが、結膜では、非常に軽度の発赤および分泌物が 24 時間後に認められた。しかしながら、これら結膜での症状は、8 日後にはほぼ回復していた。

以上の結果より、本検体は眼刺激性を有しないと判断する。

表 1. 眼の刺激性／腐食性の評価基準

<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 0</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 1</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 2</p> <p>真珠用光沢部位あり、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 3</p> <p>角膜不透明、混濁部を通して虹彩は見分けられない 4</p> <p>(B) 混濁面積</p> <p>> 0 ≤ 1/4 1</p> <p>> 1/4 < 1/2 2</p> <p>> 1/2 < 3/4 3</p> <p>> 3/4 4</p> <p>評点 : A x B x 5 (最高評点 80)</p>	
<p>(A) 虹彩</p> <p>正常 0</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) 1</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) 2</p> <p>評点 : A x 5 (最高評点 10)</p>	
<p>結膜</p> <p>(A) 発赤</p> <p>血管正常 0</p> <p>一部の血管が明らかに充血 (網状充血) 1</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 2</p> <p>瀰漫性の牛肉様赤色 3</p> <p>(B) 浮腫</p> <p>浮腫なし 0</p> <p>正常を越える腫脹 (瞬膜を含む) 1</p> <p>眼瞼の部分外反を伴った明らかな腫脹 2</p> <p>眼瞼の 1/2 未満の閉鎖を伴った腫脹 3</p> <p>眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹 4</p> <p>(C) 分泌物</p> <p>分泌物なし 0</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) 1</p> <p>眼瞼及び眼瞼に隣接する被毛の湿潤を伴う分泌物 2</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 3</p> <p>評点 : (A + B + C) x 2 (最高評点 20)</p>	

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。

Chlormequat

表 2. 試験成績の概要

項目			最高評点	適用後時間				24-72 時間 間 平均値
				24 時間	48 時間	72 時間	8 日後	
動物番号 1 024 雄	角膜混濁	程度	4	0	0	0	1	0
		面積	4	0	0	0	1	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	1
		浮腫 分泌物	4 3	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0
動物番号 2 0101 雌	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	0	1	0	0.7
		浮腫 分泌物	4 3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
動物番号 3 0898 雌	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	1
		浮腫 分泌物	4 3	0 1	0 0	0 0	0 0	0 0.3
動物番号 4 0899 雌	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	1	1
		浮腫 分泌物	4 3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
動物番号 5 0893 雌	角膜混濁	程度	4	0	0	0	1	0
		面積	4	0	0	0	1	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	1	0	0	0.3
		浮腫 分泌物	4 3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
動物番号 6 0892 雌	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1	1	1	0	1
		浮腫 分泌物	4 3	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0
Draize 法評点		合計	660	14	10	10	12	10.6
		平均	110	2.3	1.7	1.7	2.0	1.8

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

Chloromequat

2. 46%液剤

2-1. モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 F7)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

製剤組成： クロルメコート・クロリド 46%
界面活性剤・水など 54%

供試動物： Hartley 系モルモット 1 群雄 15 匹 (陽性対照群・陰性対照群は 10 匹)

試験開始時週齢；4-5 週齢

試験開始時体重；263-308 g

観察期間： 24 および 48 時間後観察

方法： Buehler 法

感作処置；検体の 5%水溶液 0.5 mL をリント布 (2 x 2 cm) に塗布し、刈毛した背部皮膚 (5 x 5 cm) に 6 時間、閉塞適用した。この処置を 7 日おきに、計 3 回実施した。

本試験では、陽性対照として DNCB を用い、0.1%水溶液 0.5 mL を同様にして作用させた。

惹起処理；最終感作処置の 2 週間後、検体 0.2%水溶液 0.5 mL を感作処置と同様にして適用した。また、陽性対照 DNCB は、1%水溶液 0.5 mL で適用した。本処置は、24 時間閉塞貼付とした。

皮膚反応の判定；惹起処置後 24 および 48 時間で皮膚所見の判定を、表 1 に示す基準に従い実施した。

表 1. 皮膚所見判定基準

皮膚反応の程度	評点
反応なし	0
散在性の軽度紅斑	1
中程度紅斑	2
重度の紅斑および浮腫	3

結果： 本試験結果を表 2 に示す。

検体処理群では、24 および 48 時間後に、散在性の軽微紅斑 (評点 1) が認められたが、同対照群でも同程度の発症が認められた。一方で、陽性対照群では、散在性の軽微紅斑 (評点 1) および中程度紅斑 (評点 2) が全例に認められたことから、本試験の妥当性が証明されている。

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。

Chlormequat

表 2. 試験成績

試験群	処置		動物数	皮膚反応動物数								陽性率 (%)
	感作処置	惹起処置		24 時間後				48 時間後				
				0	1	2	3	0	1	2	3	
検体群	検体 5%	検体 0.2%	15	12	3	0	0	12	3	0	0	20.0
検体対照群	蒸留水	検体 0.2%	14	11	3	0	0	11	3	0	0	21.4
無処置群	無処置	検体 0.2%	15	10	5	0	0	10	5	0	0	33.3
陽性群	DNCB 0.1%	DNCB 1%	10	0	2	8	0	1	3	6	0	100
陽性物質対照群	ワセリン	DNCB 1%	10	8	1	1	0	8	2	0	0	20.0

以上の結果から、本試験は陽性であり、検体は皮膚感作性を有しないと判断する。

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。

Chlormequat

3. 67.3%液剤

3-1. ウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 F8)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

製剤組成：

有効成分； クロルメコート・クロリド 67.3% (770.1 g/L)

その他成分； 水 32.7%

供試動物： ニュージーランド・ホワイト系ウサギ 雄 2 匹 雌 1 匹

試験開始時週齢； 7-9 ヶ月齢

試験開始時体重； 雄 3.82-3.89 kg 雌 4.08 kg

観察期間： 72 時間

投与方法： テストパッチ (2.5 x 2.5 cm) を用い、検体 0.5 mL を非擦過皮膚に 4 時間適用、半閉塞帯で適用部位を固定した。適用処理後、皮膚に付着している検体は、LUTROL® (ポリエチレングリコール) および LUTROL® 水混合液 (1:1) で洗浄除去した。また本試験では、同じ動物の未処理部位を陰性対照とした。

検査項目： 適用直後、適用後約 1、24、48 および 72 時間に皮膚刺激性について観察した。動物の生死および一般状態は投与当日に数回、その後は 1 日 1 回の頻度で観察し、体重は投与当日および投与後 6 日に測定した。皮膚反応の判定は、Draize の基準に従って適用後 1、24、48 および 72 時間の測定について紅斑、痂皮形成および浮腫の合計評点を観察回数 (4 回) で除し、個別の P. I. I および平均値を算出し、評価した。

表 皮膚刺激性・腐食性の評価基準

紅斑および痂皮形成	評点
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
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑から軽度の痂皮形成	4
浮腫の形成	
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

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。

Chlormequat

結果： 本試験の結果概要を表1に示す。

本試験では、適用直後から1時間で全動物に紅斑（評点1）が認められた。しかしながら、24時間後には全動物で完全な回復が認められた。各動物の24-72時間平均評点は紅斑、浮腫ともに0.0であった。また、各動物においてその他の異常はみとめられず、体重も順調に推移した。

以上の結果より、本検体は皮膚刺激性を有さないと考えられる。

表1. 結果概要

動物番号	項目	最高 評点	検体除去後時間					24-72時間 平均
			0	1	24	48	72	
検体処置部								
動物番号 01 ♂	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
動物番号 02 ♂	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
動物番号 03 ♀	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	3	3	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4.0	1.0	1.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	浮腫	4.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

対照領域（無処置部）に異常な所見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 BASF ジャパン株式会社にある。

Chlormequat

3-2. ウサギにおける眼刺激性試験

(資料 F9)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

製剤組成：

有効成分；クロルメコート・クロリド 67.3% (770.1 g/L)

その他成分；水 32.7%

供試動物： ニュージーランド・ホワイト系ウサギ 雄1匹 雌2匹

試験開始時週齢；約4ヶ月齢

試験開始時体重；雄 2.98 kg 雌 3.14-3.35 kg

観察期間： 72時間

投与方法： 検体 0.1 mL を右眼瞼の結膜嚢に点眼投与した。適用 24 時間後、適用部位を温水で洗淨した。また本試験では、無処置の左眼を対照とした。

検査項目： 適用後 1・24・48・72 時間で、眼刺激を表 1 に示す基準に従い評価した。
本試験期間中、生死を毎日観察した。また適用直前および観察期間終了時に体重を測定した。

結果： 本試験の結果概要を表 2 に示す。

本試験では、観察期間を通して、角膜および虹彩に刺激反応は認められなかった。一方結膜では、適用後 1 時間で全動物に発赤 (評点 2)、浮腫 (評点 2) および分泌物 (評点 2) が認められた。分泌物は、24 時間後に全例で完全な回復が認められ、浮腫も 24 時間後に 1 例で陽性 (評点 1) が認められたが、48 時間後には完全に回復していた。発赤反応は、24 時間後以降で回復傾向が認められたが、全例が完全に回復したのは、適用後 72 時間であった。

以上の結果より、本剤は眼に対し極めて弱い刺激性を有すると考えられる。

表 1. 眼刺激性・腐食性の評価基準

角膜	
(A) 混濁の程度	
潰瘍または混濁を認めない	0
散在性または瀰漫性の混濁（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	1
透明な部分は残っている 虹彩の全体がやや不明瞭	2
乳白色領域あり 虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかるうじて見分けられる	3
白濁しており虹彩は見分けられない	4
(B) 角膜損傷域	
正常	0
$0 < X \leq 1/4$	1
$1/4 < X \leq 1/2$	2
$1/2 < X \leq 3/4$	3
$3/4 < X$	4
評点：A x B x 5（最大値：80）	
虹彩 (A)	
正常	0
深いひだ・充血・腫脹・角膜周囲の充血（いずれかまたは組合せ） 虹彩はまだ光に反応する（遅く鈍い反応は陽性）	1
対光反応消失・出血・著しい組織崩壊（いずれかまたは全て）	2
評点：A x 5（最大値：10）	
結膜	
発赤 (A)	
血管正常	0
一部の血管が明らかに充血	1
瀰漫性の深紅色 個々の血管は容易には見分けられない	2
瀰漫性の牛肉様赤色	3
結膜浮腫 (B)	
浮腫なし	0
正常を越える腫脹（瞬膜を含む）	1
眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹	2
眼瞼の1/2未満の閉鎖を伴った腫脹	3
眼瞼の1/2以上の閉鎖を伴った腫脹	4
分泌物 (C)	
分泌物なし	0
正常とは異なる分泌量（正常動物の内眼角に観察される少量は含まない）	1
眼瞼および眼瞼に隣接する被毛の湿潤を伴う分泌物	2
眼瞼および被毛並びに眼周囲の相当範囲の湿潤を伴う分泌物	3
評点：(A + B + C) x 2（最大値：20）	

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。

Chlormequat

表 2. 結果概要

動物番号	項目	最高 評点	検体除去後時間				24-72 時間 平均	
			1	24	48	72		
非洗眼群								
動物番号 01♀	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0.0
		混濁領域	4	0	0	0	0	0.0
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	1	0	0	0.3
		浮腫	4	2	0	0	0	0.0
		分泌物	3	2	0	0	0	0.0
動物番号 02♀	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0.0
		混濁領域	4	0	0	0	0	0.0
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	2	1	0	1.0
		浮腫	4	2	1	0	0	0.3
		分泌物	3	2	0	0	0	0.0
動物番号 03♂	角膜	混濁程度	4	0	0	0	0	0.0
		混濁領域	4	0	0	0	0	0.0
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	1	1	0	0.7
		浮腫	4	2	0	0	0	0.0
		分泌物	3	2	0	0	0	0.0
評点	合計	330	36	10	4	0	4.6	
	平均	110.0	12.0	3.3	1.3	0.0	1.5	

適用後 72 時間で完全に回復したので観察期間終了とした。

IX. 動植物における代謝及び土壌等における動態

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物、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
A1	動物代謝	ラット雄	用量(単回経口投与): 5.19mg (μ Ci)、 11.2mg (μ Ci) 試料採取: 5.19mg—呼気、尿、糞を投与 48 時間後まで、組織採取。 11.2mg—尿、糞を投与 120 時間後まで	排泄: 排泄物から 98.3%を回収、大部分は投与後 24 時間以内に尿に排泄。呼気排泄は無視できる程度。 代謝物: 尿から親化合物のみ検出。 組織内分布: 肝臓、腎臓(0.3-0.5ppm)が多く、その他は<0.1ppm 以下。		代 4
A2	動物代謝	ラット雄	組織内分布: 400mg/kg: 単回経口 30ppm: 100 日間反復経口、投与終了 6 日後屠殺	400mg/kg: 投与 20 日後で腎臓の残留が最大。 30ppm: 横隔膜の残留が最大。		代 6
A3 (GLP)	動物代謝	ラット雌雄	用量: 0.5, 30mg/kg (経口) 0.1mg/kg (静注) 吸収・排泄: 呼気は投与後 24 時間まで採取。尿/糞は投与後 168 時間まで採取。屠殺後組織を採取。 血中濃度: 経口は投与 168 時間後、静注は投与 96 時間後まで採血。 組織内分布: 単回/反復経口投与とも投与 168 時間後までに 5 時点で組織を採取。 胆汁排泄: 単回経口投与 24 時間後まで採取。	吸収・排泄: 呼気排泄: 0.4%TAD で無視可能。 排泄率: 単回静注、単回/反復経口投与で尿は>90%、ほとんどを 24 時間以内に排泄。糞は<6%。主要排泄経路は尿経由。反復経口投与による排泄経路に変化なし。吸収率は>94。 組織内合計残留: \leq 0.3%TAD。 全血/血漿中濃度: 単回経口 0.5, 30mg/kg で投与後 2 時間、単回静注投与で投与後 5 分で最高。 組織内分布: 投与 168 時間後組織内残留濃度は \leq 0.24 μ g Eq/g で、肝臓、腎臓が最大。 胆汁排泄は<1%TAD。		代 8
A4 (GLP)	動物代謝	ラット雌雄	A3 の試験で採取した、尿、糞、胆汁、腎臓、肝臓を用い代謝物を検索。	尿、糞、胆汁: 放射能はほとんどが CCC、少量の CCC より Rf の高い少量の代謝物を検出。 腎臓、肝臓: CCC、 を検出。		代 18
A5	動物代謝	豚雄	単回投与/吸収、排泄、組織内分布 用量: 10mg/kg、 尿、糞、血液: 投与後 48 時間後まで採取 組織: 48 時間後採取	血清中濃度: 投与 2-3 時間で最高濃度。 尿/糞排泄: 投与後 24 時間までに大部分排泄 残留の高い臓器: 腎臓、肝臓		代 26
A6	動物代謝	豚雄	4 週間反復投与/吸収、排泄、組織内分布 用量: 10mg/kg、 血液: 最終投与 24 時間後まで採取 尿、糞: 最終投与後 72 時間後まで採取 組織: 最終投与 72 時間後採取	血清中濃度: 投与 2 時間で最高濃度。24 時間後にはほとんど消失。 尿/糞排泄: 投与後 24 時間までに大部分排泄 残留の高い臓器: 腎臓		代 28
参考	動物代謝	ラット雌雄	吸収・排泄: 用量: 330mg/kg、 投与: 単回経口 尿: 投与 72 時間後まで採取	死亡: 雄 1/10、雌 2/10 例が死亡 吸収・排泄: 尿中の排泄ピークは投与後 1-8 時間、投与 56 時間後には不検出。		代 31

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
P1 (GLP)	植物代謝	小麦	処理量：1308g/ha 処理時期/方法：播種 78 日後茎葉全面処理 試料採取：処理 0, 28, 84, 118 日後 採取部位：青刈り茎葉、麦わら、種子	TRR： 青刈り茎葉：0 日 49.24mg/kg、28 日 41.98mg/kg、84 日 14.35mg/kg、 収穫時：麦わら 45.84mg/kg、種子 1.32 mg/kg 残留の抽出性：青刈り茎葉、麦わらで 85-90%、種子で 50%TRR 同定代謝物：親化合物以外に を同定。		代 32
P2	植物代謝	大麦キク	CCC水溶液に根部切断茎葉を入れ、24時間後に取り出し、分析	コリンを検出、その他にコリンの代謝物3個を検出。		代 46
P3	植物代謝	小麦	1) 比放射能 2.3 μ Ci/mL 水溶液に茎葉を浸漬処理後、1.3 週後に葉、根、土壌を分析。 2) 上記のように処理し、12 週後に葉及び穀粒を分析。	CCCは葉から吸収され、根部に僅かに移行。CCC以外の放射性物質は未検出。		代 48
S1 (GLP)	好気土壌代謝	4 種土壌	好気的条件下 処理量：1.5kg/ha相当(実測値) 温度：20 \pm 2 $^{\circ}$ C、暗所 期間：224日間(代謝)、112日間(分解)	主代謝物は CO ₂ で最大 %TAR。 4 未知物質を検出、最大は原点に残る物質で 7.2%TAR。 DT ₅₀ は 21-34 日、DT ₉₀ は 99-191 日。		代 49
S2 (GLP)	好気土壌代謝	3 種土壌	好気的条件下 設定処理量：1.5kg/ha相当 実処理量：6.46mg/kg 温度：20 \pm 2 $^{\circ}$ C、暗所 期間：120日間	主代謝物は CO ₂ で最大 %TAR。 4 未知物質を検出したが、全て < 2.6%TAR。 DT ₅₀ は 10-37 日、DT ₉₀ は 34-121 日。		代 57
S3 (GLP)	土壌吸着	4 種土壌	吸着試験：供試化合物が 1.074, 0.538, 0.105, 0.052ppm の 0.01M 塩化カルシウム溶液 25mL に各土壌 5g を加え、平衡化後上清液を分析した。 脱着試験：土壌残渣に 0.01M 塩化カルシウム溶液 25mL を加え、平衡化後上清液及び土壌残渣を分析した。	フロイントリッヒの土壌吸着係数は、4種の土壌について 1.89~4.95 であった。従って、クロルメコートクロリドの土壌吸着性は中等度であると考えられた。		代 66
W1 (GLP)	加水分解	緩衝液	pH：4, 7, 9 濃度：2.5mg/L 温度：50 \pm 0.1 $^{\circ}$ C、暗所 期間：5日間	半減期：>1年 緩衝液中で分解せず、安定。		代 68
W2 (GLP)	水中光分解	滅菌蒸留水 河川水	照射波長：290-800nm 照度：167.0 W/m ² 温度：25 \pm 1 $^{\circ}$ C 濃度：981.2 μ g/mL 期間：16日間	半減期：蒸留水、河川水とも >1年。 水中光分解せず、安定。		代 70

<試験機関略称>

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。
Chlormequat

<代謝物一覧表>

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
CCC	親化合物	クオルメコ ート	2-クロロエチルトリメチルアンモニ ウム=クロリド	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{[CH}_3\text{-N}^+\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl]} \text{Cl}^- \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$

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。

Chlormequat

1. 動物代謝に関する試験

1-1. ラットにおける ^{14}C -クロルメコートを用いた代謝試験

(資料 A1)

雑誌名 :

[試験機関 :

]

供試化合物 : ^{14}C -標識クロルメコート (^{14}C -CCC)

構造式 :

* : 標識部位

化学名 : 2-クロロエチル-トリメチルアンモニウム=クロリド (CCC と称する)

比放射能 : $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

供試動物 : ラット雄、2 匹 (体重 : ラット 1 は 180g、ラット 2 は 225g)

試験方法 :

ラット 1 については、 ^{14}C -CCC 5.19mg を含む 0.8mL 水溶液を経口投与 (μCi) し、液体シンチレーションカウンター (LSC) を用いて投与 4、5、6.5、22.5、30.5、46.5、48 時間後に呼気、糞及び尿中に排泄された放射能及び投与 48 時間後にラットを屠殺し肝臓、腎臓、腸管、筋肉及び脂肪に分布した放射能を測定した。ラット 2 については、 ^{14}C -CCC 11.2mg を含む 1mL 水溶液を経口投与 (μCi) し、投与後 24、48、120 時間後に糞及び尿中に排泄された放射能を測定した。尿試料及び ^{14}C -CCC をペーパークロマトグラフィー及び薄層クロマトグラフィー (TLC) によりその同一性を確かめた。

試験結果 : ラットにおける排泄率 (%TAD) 及び組織内分布 (投与量に対する分布率 %TAD および残留濃度 CCC 相当 ppm) を次表に示す。

尿試料のクロマトグラフィー分析の結果、CCC 以外の放射性物質の存在はみられず、ラットにおいて未変化のまま尿中に排泄されることが確認された。また、尿中排泄は投与後 4 時間までに 60.6%TAD、48 時間までに 95.6%TAD であった。投与後 48 時間までに糞から 2.3%TAR、呼気から 0.4%TAD が排泄され、総排泄率は 98.3%TAD で、投与後速やかに吸収排泄された。各組織中における分布は低濃度であった。

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

Chloromequat

供試動物	投与方法	検査試料	投与後時間/%TAD (ppm) *									
			4	5	6.5	22.5	24	30.5	46.5	48	120	合計
ラット1	5.19mg 単回経口 (μ Ci)	呼吸		0.2		0.2		0.04				0.4
		尿	60.6		19.1	13.9		1.4	0.6			95.6
		糞				1.9			0.4	0.1**		2.3
		組織								0.3**		0.3
		肝臓								0.08 (0.53)		
		腎臓								0.01 (0.32)		
		腸管								0.11 (0.36)		
		筋肉								0.004 (0.06)		
		脂肪								0.002 (0.04)		
		加加								0.25 (0.09)		
ラット2	11.2mg 単回経口 (μ Ci)	尿					70.9			1.7	0.8	73.4
		糞						2.8		0.3	0.2	3.3

* : 表中の数値は%TAD および()内の数値は残留濃度 ppm

** : 0.1は腸管の値、0.3はそれ以外の組織の値を示す。

空欄は該当なし (測定せず)

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

Chlormequat

1-2. ラットにおける ^{15}N -標識クロルメコートを用いた代謝試験

(資料 A2)

雑誌名 : Arch. exp. Vet. Med., 24(4);1023-1025.1970

供試化合物 : ^{15}N -標識クロルメコート (^{15}N -CCC)

構造式 ;

^{15}N : 標識部位

化学名 : 2-クロロエチル-トリメチルアンモニウム=クロリド (CCC と称する)

供試動物 : アルビノラット雄、各濃度各 4 匹

試験方法 :

- (1) 1 匹当り (平均体重 150g)、検体 60mg (平均 52 Atom %、400mg/kg に相当) を 1 回強制経口投与し、投与後 1、2、10 及び 20 日に各 4 匹ずつを屠殺して、脳、心臓、肝臓、腎臓、横隔膜及び大腿筋における分布を検討した。
- (2) 1 匹当り (平均体重 100g)、検体 2mg (平均 96 Atom %) を、飼料に混入して (飼料中約 30ppm に相当) 100 日間投与した。投与終了後 6 日に屠殺して、脳、心臓、肝臓、腎臓、横隔膜及び腹筋における分布を検討した。

組織中の検体濃度の定量は、エーテルを用いた均質化抽出後、イオン交換樹脂で分離し、エミッションスペクトロフォトメトリックアイソトープ分析により行った。

試験結果 : 組織内分布における濃度 ($\mu\text{g/g}$) を次表に示した。

ラットに 400mg/kg 単回経口投与で、投与 20 日後でも臓器/組織内に残留が認められ、腎臓の濃度は特異的に多く、蓄積がみられた。

30ppm を 100 日間反復投与終了 6 日後の腎臓の残留量は $1.96 \mu\text{g/g}$ で、若干蓄積がみられた。心臓 ($8.15 \mu\text{g/g}$) や横隔膜 ($28.2 \mu\text{g/g}$) では蓄積がみられた。

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

Chlormequat

組織内分布における濃度 (μg/g)

試験	投与量	検査組織	投与後経過日数				
			1日	2日	6日	10日	20日
1	400mg/kg 単回強制 経口	脳	19.5	12.1		3.3	0.35
		心臓	3.6	41.2		90.0	3.2
		肝臓	0.85	31.6		9.4	1.6
		腎臓	6.4	20.1		15.1	11.1
		横隔膜	21.5	45.5		—	2.3
		大腿筋	3.3	16.0		4.3	2.5
2	約 30ppm 100日間 混餌投与	脳			2.63		
		心臓			8.15		
		肝臓			1.84		
		腎臓			1.95		
		横隔膜			28.2		
		腹筋			1.35		

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。

Chlormequat

1-3. ラットにおける ^{14}C -標識検体を用いた動態試験

(資料 A3)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

供試化合物：クロルメコート (^{14}C -CCC)

構造式：2-クロロエチルトリメチルアンモニウムクロリドの α -位炭素を ^{14}C で標識した
標識体

^{14}C ：標識部位

化学名：2-クロロエチルトリメチルアンモニウムクロリド

比放射能： MBq/mmol

放射化学的純度(%)：

96.6% [溶媒系 2；n-ブタノール/蟻酸/水(70/20/10；v/v/v)]

98.1% [溶媒系 3；n-ブタノール/エタノール/氷酢酸/水(80/20/10/30；v/v/v/v)]

化学的純度(%)：(記載なし)

非標識体：化学的純度 96.75%

供試動物：非近交系ウィスター系 (SPF) ラット雌雄、体重約 200±20g

試験方法：

投与液の調製および投与方法：経口投与用の投与液は所定量の標識体を水に溶解して調製し、
胃ゾンデで投与した。

静注用の投与液は生理的食塩水に溶解して調製し、麻酔下で尾静脈から投与した。

実験群：表 1 に実験群の構成を示した。

採取試料：採血は麻酔下で後眼窩静脈叢から行い、血漿を分離した。

尿および糞は投与 168 時間後まで採取し、屠殺後にケージ洗液を採取した。

胆汁はカテーテル埋入ラットを用い、投与 24 時間後まで採取した。

呼気は投与 24 時間後まで捕集液に捕集して採取した。

全身オートラジオグラフは投与 1.5、5、8、72 および 168 時間後に屠殺した。

臓器/組織は麻酔下で後眼窩静脈叢穿刺により放血殺後、肝臓、腎臓、胃腸管、脳、筋肉、脾臓、骨、肺、心臓、脂肪、生殖腺を摘出した。

放射能の測定：尿、血漿、胆汁はシンチレーションカクテルを加えて直接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。糞は水で懸濁後、臓器/組織は均質化後、

組織溶解剤で溶解し、脱色後、LSC で放射能を計測した。血液は燃焼後、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集して LSC で計測した。

表 1. 実験群の構成

実験群	実験項目	供試動物数	投与回数	投与量 mg/kg	投与経路	採取試料・時期	
A0	一般症状	雌雄各 1	単回	0.5	経口	毒性影響のチェック	
B0				30			
C0				0.1	静注		
AA	血中濃度	雄 2		0.5	経口	採血時期決定用予備実験	
AB		雄 2		30			
AC		雄 1		0.1	静注		
Aa		雌雄各 5		0.5	経口	採血時期: 投与 5, 10, 20, 40, 60 分, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 時間後	
Ba				30			
Ca				0.1	静注		採血時期: 投与後 5, 10, 20, 40, 60 分, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96 時間
D	吸収/排泄	雄 2		30	経口	0-24 時間呼気排泄	
E		雌雄各 5		0.1	静注	尿、糞: 投与後 0-10, 10-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-168 時間まで 組織: 投与 168 時間後	
F				0.5	経口		
G				30	経口		
H ^a		反復		0.5	経口		
I	組織内分布	雌雄各 10	単回	30	経口	屠殺時期: 投与 1.5, 5, 8, 72, 168 時間後に雌雄各 2 づつ屠殺	
J ^b			反復	0.5		屠殺時期: 投与 40 分, 2, 5, 72, 168 時間後に雌雄各 2 づつ屠殺	
K	全身オートラジオグラフィ	雌雄各 5	単回	30	経口	屠殺時期: 投与 1.5, 5, 8, 72, 168 時間後に雌雄各 1 づつ屠殺	
L	胆汁排泄	雌雄各 3		0.5		経口	胆汁: 投与 0-24 時間後まで採取
M				30			
N	対照実験	雌雄各 1	反復	0.5	経口	尿、糞、組織/臓器、血液、血漿の自然放射能測定	

^a: 反復投与は非標識体を 1 日に 1 回 14 日間投与後、15 日目に標識体を単回投与した。

^b: 7 回標識体を反復投与した。

結果:

一般症状: 静注で 0.1mg/kg、経口で 0.5 および 30mg/kg を単回投与した結果、試験期間中動物の健康状態は良好で、中毒症状は認められなかった。

血中濃度:

採血時期決定用予備実験(群 AA、AB、AC): 経口投与では雄各 2 匹、静注投与では雄 1 匹を用いた血中濃度の平均値を表 2 に示す。

表 2 の結果から、以下の採血時期を選定した。

単回経口投与: 投与 5, 10, 20, 40, 60 分, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 時間後

単回静注投与: 投与 5, 10, 20, 40, 60 分, 2, 4, 6, 8, 24, 48, 72, 96 時間後

表 2 採血時期決定用予備実験における血中濃度($\mu\text{g Eq/g}$) の推移

試料採取時期 (投与後時間)	単回経口		単回静注
	0.5 mg/kg	30 mg/kg	0.1 mg/kg
5 分			0.070
10 分			0.056
18 分			0.048
20 分	0.097	0.696	
30 分			0.043
40 分	0.106	1.844	
45 分			0.040
1 時間	0.085	2.652	0.031
1.5 時間	0.086	2.469	0.024
2 時間	0.063	2.757	0.018
2.5 時間		2.102	
3 時間	0.041		0.010
3.5 時間		2.197	
4 時間	0.021	1.827	0.007
5 時間	0.018	1.474	
6 時間	0.011	0.713	0.004
7 時間		0.713	
8 時間	0.006	0.386	0.003
10 時間	0.007		
11.5 時間		0.334	
24 時間	0.003	0.166	0.002
48 時間	0.003	0.121	0.001
72 時間	0.002	0.099	0.001
96 時間	0.001	0.091	<0.0005
120 時間	0.001	0.095	
168 時間	0.001	0.062	0.001

空欄は採血せず。

数字の太字は最高濃度を示す。

全血/血漿中濃度測定実験(群 Aa、Ba、Ca) : 雌雄各 5 匹で行った結果を表 3 (経口投与) および 4 (静注投与) に示す。

単回経口投与では 0.5 および 30 mg/kg 群とも投与後 2 時間で全血および血漿中濃度とも最高に達した。

単回静注投与 (0.1 mg/kg) では投与後 5 分で全血および血漿中濃度とも最高に達した。

表 3. 経口投与による全血/血漿中濃度の経時的変化

試料採取時期 (投与後時間)	単回経口							
	全血				血漿			
	0.5 mg/kg		30 mg/kg		0.5 mg/kg		30 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
5分	0.006	0.008	0.075	0.228	0.007	0.014	0.101	0.330
10分	0.019	0.020	0.170	0.532	0.026	0.028	0.223	0.697
20分	0.027	0.024	0.345	1.176	0.035	0.034	0.440	1.578
40分	0.040	0.036	0.654	1.981	0.049	0.047	0.814	2.570
60分	0.041	0.041	0.998	2.634	0.048	0.053	1.210	3.303
2時間	0.064	0.083	3.024	3.426	0.072	0.089	3.485	3.965
4時間	0.036	0.029	2.093	1.562	0.039	0.028	2.120	1.485
6時間	0.015	0.014	0.790	0.726	0.016	0.014	0.831	0.714
8時間	0.009	0.009	0.489	0.482	0.010	0.010	0.529	0.499
24時間	0.003	0.004	0.149	0.172	0.003	0.004	0.173	0.179
48時間	0.002	0.002	0.112	0.127	0.001	0.002	0.099	0.105
72時間	0.002	0.002	0.088	0.102	0.001	0.001	0.065	0.072
96時間	0.011	0.001	0.076	0.082	0.001	0.001	0.031	0.033
120時間	0.001	0.001	0.065	0.073	<0.0005	<0.0005	0.037	0.041
144時間	0.001	0.001	0.056	0.068	<0.0005	0.001	0.027	0.035
168時間	0.001	0.001	0.047	0.059	<0.0005	<0.0005	0.020	0.025

検出限界=0.0005

数字の太字は最高濃度を示す。

表 4. 静注投与による全血/血漿中濃度の経時的変化

試料採取時期 (投与後時間)	単回静注		単回静注	
	全血		血漿	
	0.1 mg/kg		0.1 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
5分	0.040	0.039	0.055	0.058
10分	0.030	0.033	0.042	0.045
20分	0.027	0.028	0.033	0.035
40分	0.022	0.022	0.025	0.027
60分	0.018	0.018	0.019	0.020
2時間	0.011	0.011	0.011	0.014
4時間	0.005	0.004	0.040	0.003
6時間	0.002	0.002	0.030	0.002
8時間	0.002	0.001	0.002	0.001
24時間	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
48時間	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
72時間	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005
96時間	<0.0005	<0.0005	<0.0005	<0.0005

検出限界=0.0005

数字の太字は最高濃度を示す。

単回経口および静注投与による AUC および消失半減期 (T1/2) を表 5 に示す。

血中濃度のプロフィールはいずれの群とも 2 コンパートメントモデルに最も適合し AUC は経口投与では用量の増加が 60 倍 (0.5 から 30 mg/kg) であるのに対して、全血で雄では約 49 倍、雌では約 62 倍、血漿では雄で約 54 倍、雌で約 52 倍で、用量依存性であった。静注投与を含め全血および血漿並びに雌雄間で AUC に顕著な差は認められなかった。経口投与による消失半減期は雌雄で顕著な差は認められなかった。

表 5. 標識体単回経口及び静注投与後、全血及び血漿中 ¹⁴C-濃度動態パラメータ

パラメータ	単回経口								単回静注			
	0.5mg/kg				30 mg/kg				0.1 mg/kg			
	全血		血漿		全血		血漿		全血		血漿	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
AUC _{0-∞} *	0.595	0.600	0.433	0.570	28.955	37.007	23.485	29.902	0.064	0.065	0.087	0.070
T1/2(時間)	84.7	56.2	22.2	36.3	92.9	96.7	45.8	51.8	1.5	2.0	5.5	2.5

* : μg Eq 時間/g

吸収/排泄実験 :

呼気中の排泄 (群 D) : 雄 2 匹を用い、30mg/kg で単回経口投与後、24 時間呼気を採取した呼気中排泄実験の平均物質収支を表 6 に示す。

表 6. 呼気中放射能の排泄実験の平均物質収支

採取試料	放射能の投与量に対する比率%
呼気	0.4
尿	51.2
糞	35.0
カーカス	1.6
ケージ洗液	4.9
合計	93.1

呼気中に検出された放射能は投与放射能の 1% 以下と少なかったもので、この経路の排泄は無視できると判断した。したがって、以降の実験では呼気は採取しなかった。

本実験でのみ糞中排泄が非常に高かったが、給餌後一度に摂取したことによると思われる。

吸収/排泄 (群 F, G および H) ; 単回および反復投与後の吸収・排泄について表 7 に示す。

静注投与 (群 E ; 0.1mg/kg)、単回経口投与 (群 F ; 0.5mg/kg、群 G ; 30mg/kg) および反復経口投与 (群 H ; 0.5mg/kg) 群の雌雄とも投与後 168 時間までの合計回収率に対する尿排泄率は 90% 以上で、そのほとんどが投与後 24 時間以内に排泄された。糞排泄率は 6% 以下と少なく、主要な排泄経路が尿経路であることを示していた。単回および反復経口投与を比較したとき、主要な排泄経路に変化はみられないが、糞中排泄がわずかに増加していた。臓器/組織中の投与量 (TAD) に対する合計残留率は静注投与で 0.3%TAD、単回および反復経口投与ともに 0.2%TAD と非常に少なかった。

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。

Chlormequat

臓器/組織中の残留濃度は静注投与では腎臓で雄 0.001 $\mu\text{g Eq/g}$ 、雌 0.003 $\mu\text{g Eq/g}$ が検出されたのみであった。0.5mg/kg の単回および反復投与では残留量にほとんど差がなく、肝臓および腎臓（群 H の雌腎臓を除き 0.002 $\mu\text{g Eq/g}$ ）、肺（群 F の雄および群 H の雌で 0.002 $\mu\text{g Eq/g}$ ）で残留が高く、その他の組織は $\leq 0.001 \mu\text{g Eq/g}$ であった。単回 30mg/kg 経口投与では肝臓、腎臓および脾臓（雌）が高く 0.1-0.2 $\mu\text{g Eq/g}$ で、その他の組織はいずれも $< 0.1 \mu\text{g Eq/g}$ であった。組織中の合計残留率は $\leq 0.3\%$ TAD であった。

表 7 単回および反復投与後の吸収・排泄(%TAD または $\mu\text{g Eq/g}$)

実験群			群 E		群 F		群 G		群 H	
	試料	試料採取時期 (投与後時間)	単回静注		単回経口				反復経口 ^a	
			0.1 mg/kg		0.5 mg/kg		30 mg/kg		0.5 mg/kg	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
%TAD	尿	0-10	84.1	71.7	76.7	60.4	71.0	75.0	81.2	81.0
		10-24	9.8	16.0	9.8	15.5	9.4	12.7	4.8	4.4
		24-48	3.9	4.4	2.9	7.0	4.5	4.1	1.4	2.7
		48-72	1.1	1.5	1.0	1.9	1.3	1.2	0.5	0.9
		72-96	0.7	1.3	0.5	1.3	0.8	0.7	0.6	0.7
		96-168	1.0	1.4	0.7	1.5	1.0	1.0	0.6	1.3
		計 (回収率比 ^b)	100.6 (97.3)	96.4 (95.5)	91.6 (95.7)	87.6 (90.7)	88.0 (91.1)	94.7 (95.2)	89.1 (90.8)	91.0 (93.2)
	糞	0-10	0.5	0.1	0.9	0.3	2.6	0.0	4.4	1.8
		10-24	0.5	0.5	1.1	1.5	1.5	1.7	0.8	1.0
		24-48	0.4	0.3	0.4	0.3	0.2	0.3	0.3	0.3
		48-72	0.1	0.0	0.2	0.0	0.4	0.0	0.0	0.0
		72-96	0.1	0.0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0.1
		96-168	0.2	0.1	0.4	0.1	0.1	0.2	0.1	0.0
		計 (回収率比 ^b)	1.8 (1.7)	1.0 (1.0)	3.0 (3.1)	2.3 (2.4)	4.7 (4.9)	2.3 (2.3)	5.6 (5.7)	3.2 (3.3)
	ケージ洗液	1.1	3.2	0.9	6.5	3.7	2.3	3.1	3.3	
	臓器/組織	0.3	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	
合計回収率	103.4	100.9	95.7	96.6	96.6	99.5	98.1	97.6		
吸収率 ^c	-	-	96.9	97.6	95.1	97.7	94.2	96.8		
$\mu\text{g Eq/g}$	臓器/ 組織	肝臓			0.002	0.002	0.170	0.193	0.002	0.002
		腎臓	0.001	0.003	0.002	0.002	0.137	0.113	0.002	0.001
		胃腸管					0.045	0.056		
		心臓			0.001	0.001	0.064	0.072	0.001	0.001
		脳			0.001		0.030	0.035	0.001	
		筋肉			0.001	0.001	0.058	0.055	0.001	0.001
		脂肪			0.001	0.001	0.068	0.046	0.001	0.001
		骨			0.001		0.050	0.049	0.001	
		全血			0.001	0.001	0.041	0.037	0.001	0.001
		脾臓			0.001	0.001	0.087	0.113	0.001	0.001
		生殖腺			0.001	0.001	0.054	0.056	0.001	0.001
		肺			0.002	0.001	0.076	0.089	0.001	0.002
カーカス			0.001		0.063	0.076	0.001	0.001		

^a: 14 日間毎日 1 回非標識体を投与後、15 日目に標識体を単回投与。

^b: 合計回収率を 100 としたときの尿および糞排泄の比率

^c: 申請者が次式により求めた。吸収率 = (尿排泄 + ケージ洗液 + 臓器・組織内残留) / 合計回収率 $\times 100$
臓器/組織中の空欄は検出限界以下 ($< 0.0005 \mu\text{g Eq/g}$)

申請者が求めた吸収率は、単回経口及び反復経口投与群とも非常に高く、 $\geq 94\%$ であった。

胆汁排泄実験(群 L ; 30mg/kg、群 M ; 0.5mg/kg) : 投与後 24 時間胆汁排泄を調べた結果を表 8 に示す。

表 8. 単回経口投与後胆汁排泄の経時的変化 ($\mu\text{g Eq/g}$ および %TAD)

実験群 試料採取時期 (投与後時間)	群 L		群 M	
	単回経口			
	0.5 mg/kg		30 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
1	0.030	0.114	3.289	3.230
2	0.084	0.361	8.015	5.245
3	0.124	0.293	7.987	7.148
4	0.204	0.162	6.818	11.293
5	0.131	0.083	5.065	13.124
6	0.075	0.077	4.557	12.618
7	0.057	0.058	2.642	10.648
8	0.040	0.051	1.796	8.400
9	0.033	0.047	1.241	7.192
10	0.025	0.053	0.836	6.270
11	0.022	0.046	0.690	5.012
12	0.017	0.040	0.602	4.422
13	0.015	0.030	0.509	3.121
14	0.012	0.039	0.402	2.270
15	0.011	0.039	0.350	1.654
16	0.010	0.024	0.288	1.306
17	0.008	0.023	0.240	1.110
18	0.007	0.020	0.198	0.984
19	0.006	0.019	0.183	0.809
20	0.006	0.021	0.159	0.676
21	0.005	0.021	0.161	0.599
22	0.005	0.018	0.230	0.542
23	0.005	0.017	0.149	0.460
24	0.005	0.014	0.129	0.374
%TAD				
尿	71.45	69.09	88.43	82.95
糞	0.04	0.61	0.72	0.01
ケージ洗液	5.25	3.98	1.85	4.35
胆汁 0-24 時間	0.47	0.49	0.39	0.66
カーカス	4.50	8.10	1.85	7.15
合計回収率	84.08 ^a	82.20	97.65	95.12

^a : 0.5mg/kg 群雄の合計回収率は 3 例のうち 1 例は飲水瓶から水が漏れ、採尿容器に混ざったので、2 例の平均値である。
数字の太字は最高濃度を示す。

胆汁排泄は両群の雌雄とも顕著な差はなく、1%TAD 以下と非常に少なかった。胆汁中最高濃度は投与後 2-5 時間の間に認められた。

組織内分布 :

30mg/kg 単回経口投与群 (群 I) : 単回経口投与 1.5、5、8、72 および 168 時間後の組織内分布を表 9 に示す。

投与後 1.5 時間後に屠殺したとき、雄では腎臓、胃腸管、肝臓、心臓、脂肪、脾臓および肺、雌では胃腸管、腎臓、肝臓および心臓の残留が高く 10 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上であった。

5 時間後の屠殺では 10 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄の腎臓のみであった。

8 時間後の屠殺では 1 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄では腎臓、胃腸管、肝臓、筋肉、カーカスおよび精巢、雌では胃腸管、肝臓、筋肉およびカーカスであった。

72 時間後では 0.1 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄では腎臓、肝臓、脾臓、精巢、骨、脂肪、肺、心臓、胃腸管およびカーカス、雌では腎臓、肝臓、脾臓、心臓および肺であった。

168 時間後屠殺では 0.1 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄で肝臓および腎臓、雌では肝臓、腎臓、胃腸管および心臓で、腎臓 (雄 0.180 $\mu\text{g Eq/g}$ 、雌 0.235 $\mu\text{g Eq/g}$) が最大であった。

表 9. 単回 30mg/kg 経口投与後の組織内分布の経時的消失 ($\mu\text{g Eq/g}$)

屠殺時期 (投与後時間)	雄					雌				
	1.5	5	8	72	168	1.5	5	8	72	168
肝臓	29.289	4.139	2.676	0.326	0.159	22.038	2.981	1.993	0.296	0.234
腎臓	86.530	24.632	8.299	0.372	0.180	34.532	5.786	0.299	0.301	0.235
胃腸管	69.640	8.088	3.190	0.112	0.042	61.091	7.585	4.176	0.077	0.142
心臓	19.283	3.918	0.959	0.128	0.095	20.511	3.231	0.930	0.112	0.130
脳	0.565	0.143	0.090	0.058	0.045	0.506	0.127	0.078	0.051	0.038
筋肉	8.458	5.177	2.308	0.088	0.064	6.765	3.426	1.981	0.067	0.081
脂肪	14.481	0.921	0.370	0.133	0.058	1.738	0.726	0.231	0.077	0.065
骨	4.645	1.997	0.858	0.135	0.057	4.704	1.666	0.479	0.075	0.054
全血	3.849	0.801	0.367	0.093	0.059	3.176	0.733	0.367	0.064	0.050
脾臓	11.340	1.788	0.733	0.199	0.085	8.571	1.209	0.664	0.147	0.096
生殖腺	9.236	2.049	1.655	0.138	0.056	9.964	0.683	0.572	0.094	0.085
肺	10.815	2.274	0.805	0.130	0.058	5.813	1.374	0.681	0.104	0.081
カーカス	9.754	4.416	2.013	0.114	0.083	6.252	2.529	1.149	0.085	0.089

数字の太字は最高濃度を示す。

0.5mg/kg 反復経口投与群 (群 J) : 標識体を 7 日間反復経口投与 40 分、2、5、72 および 168 時間後の組織内分布を表 10 に示す。

投与 40 分後に屠殺したとき、1 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雌雄とも腎臓および肝臓のみであった。

2 時間後の屠殺では 0.1 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雌雄とも腎臓、肝臓、心臓、胃腸管、筋肉、肺、脾臓およびカーカスであった。

5 時間後では 0.1 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄では腎臓、胃腸管、肝臓、筋肉およびカーカス、雌では腎臓、胃腸管および肝臓であった。

72 時間後では 0.01 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄では肝臓、腎臓および脾臓、雌では肝臓、腎臓、脾臓および肺であった。

168 時間後屠殺では 0.01 $\mu\text{g Eq/g}$ 以上の残留は雄で腎臓および肝臓、雌では肝臓のみであった。

表 10. 標識体 0.5mg/kg 7日間反復経口投与後の組織内分布の経時的消失 ($\mu\text{g Eq/g}$)

屠殺時期 (投与後時間)	雄					雌				
	40分	2	5	72	168	40分	2	5	72	168
肝臓	1.601	0.381	0.137	0.021	0.011	1.301	0.210	0.115	0.023	0.012
腎臓	8.509	2.458	0.572	0.017	0.014	1.577	0.341	0.242	0.019	0.009
胃腸管	0.687	0.240	0.144	0.005	0.003	0.957	0.207	0.184	0.008	0.004
心臓	0.634	0.357	0.085	0.009	0.006	0.457	0.202	0.079	0.010	0.007
脳	0.029	0.014	0.007	0.003	0.003	0.023	0.010	0.007	0.004	0.003
筋肉	0.199	0.201	0.116	0.007	0.006	0.192	0.198	0.093	0.008	0.006
脂肪	0.309	0.061	0.022	0.010	0.008	0.115	0.043	0.029	0.008	0.005
骨	0.155	0.070	0.031	0.005	0.003	0.124	0.062	0.024	0.006	0.003
全血	0.173	0.063	0.025	0.006	0.005	0.136	0.052	0.028	0.008	0.005
脾臓	0.487	0.133	0.051	0.013	0.008	0.438	0.114	0.052	0.012	0.007
生殖腺	0.190	0.100	0.074	0.007	0.005	0.440	0.087	0.050	0.009	0.006
肺	0.437	0.184	0.066	0.009	0.006	0.349	0.107	0.053	0.012	0.006
カーカス	0.297	0.382	0.121	0.010	0.008	0.278	0.300	0.081	0.010	0.009

数字の太字は最高濃度を示す。

全身オートラジオグラフ (群 K) : 30mg/kg を単回経口投与し、雌雄各 1 例ずつ投与 1.5、5、8、72 および 168 時間後に屠殺し、全身オートラジオグラフを作製した。

1.5 時間後、多くの放射能が胃腸管、肝臓、腎臓、心臓および唾液腺で検出され、筋肉ではむらなく分布していた。骨および脳では放射能は検出されなかった。

5 時間後では放射能が腸管および腎髄質で最も多く、次いで、筋肉および肝臓が多く、ほとんど同じであった。

8 時間後では放射能が腸管で最も多く、腎臓、肝臓および筋肉ではほとんど同じであった。

72 時間後では薄灰色のレベルで検出されたが、肝臓が最も多かった。

全身オートラジオグラフでは、雌雄間で差は認められなかった。

まとめ

クロルメコートを単回静注投与 (0.1mg/kg)、単回経口投与 (0.5 および 30mg/kg)、反復経口投与 (0.5mg/kg で非標識体を 14 日間、次いで標識体を 15 日目に 1 回、あるいは標識体 7 日間) し、代謝動態について試験した。

単回 30mg/kg 経口投与で呼気中に検出された放射能は投与放射能の 1% 以下と少なかった。

血中濃度は単回静注および単回 0.5 および 30mg/kg 経口投与とも投与後約 2 時間で最高濃度に達した。AUC は経口投与では用量の増加が 60 倍 (0.5 から 30 mg/kg) であるのに対して、雄の全血では約 49 倍、雌では約 62 倍、雄の血漿では約 54 倍、雌では約 52 倍で、用量依存性があった。静注投与を含め全血および血漿並びに雌雄間で AUC に顕著な差は認められなかった。経口投与による消失半減期には雌雄で顕著な差は認められなかった。

単回静注および経口投与、反復経口投与 (0.5mg/kg で非標識体を 14 日間、次いで標識体を

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。

Chlormequat

15 日目に 1 回) とも投与後 168 時間までの合計回収率に対する尿排泄率はいずれの群とも >90% で、そのほとんどが投与後 24 時間以内に排泄された。糞排泄率は <6% と少なく、主要な排泄経路が尿経由であった。反復経口投与による主要な排泄経路に変化はみられなかった。臓器/組織中の合計残留は $\leq 0.3\%$ TAD と非常に少なかった。経口投与による吸収率は $\geq 94\%$ であった。

単回経口投与 (0.5 から 30 mg/kg) による胆汁排泄は雌雄とも顕著な差はなく、1% TAR 以下と非常に少なかった。従って、腸肝循環は無視できる。

30mg/kg 単回及び 0.5mg/kg 7 日間反復経口投与による組織内分布実験において、投与 168 時間後の臓器/組織中の残留濃度は $\leq 0.24 \mu\text{g Eq/g}$ で、肝臓および腎臓の濃度が最も高かった。

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。

Chlormequat

1-4. ラットにおける ^{14}C -標識検体を用いた代謝試験

(資料 A4)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

代謝物の検索に用いた試料の由来：

クロルメコートの ^{14}C -位炭素を ^{14}C で標識した標識体を投与した動態試験 (資料 A3) で採取した尿、糞および胆汁並びに腎臓および肝臓試料を用いて、代謝物の検索を行った。

供試化合物：クロルメコート

構造式：2-クロロエチルトリメチルアンモニウムクロリドの ^{14}C で標識した標識体

^{14}C ：標識部位

化学名：2-クロロエチルトリメチルアンモニウムクロリド

比放射能： MBq/mmol

化学的純度 (%)：試験開始時 TLC 分析による。

96.6% [溶媒系 2；n-ブタノール/ギ酸/水 (70/20/10；v/v/v)]

98.1% [溶媒系 3；n-ブタノール/エタノール/酢酸/水 (80/20/10/30；v/v/v/v)]

化学的純度 (%)：(記載なし)

非標識体：化学的純度 96.75%

供試動物：非近交系ウィスター系 (SPF) ラット雌雄、体重約 $200 \pm 20\text{g}$

試験方法：

投与液の調製および投与方法：経口投与用の投与液は所定量の標識体を水に溶解して調製し、胃ゾンデで投与した。

静注用の投与液は生理的食塩水に溶解して調製し、麻酔下で尾静脈から投与した。

分析試料：表 1 に示す動態試験 (資料 A3) で採取した尿、糞および胆汁並びに腎臓および肝臓試料を用いて TLC 分析を行った。

放射能の測定：尿、胆汁並びに抽出液および加水分解後上清はシンチレーションカクテルを加えて直接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。糞は水で懸濁後、臓器/組織は均質化後、組織溶解剤で溶解し、脱色後、LSC で放射能を測定した。血液は燃焼後、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集して LSC で測定した。

表 1. 代謝物の分析に用いた試料

実験群	実験項目	供試動物数	投与回数	投与量 mg/kg	投与経路	分析試料
D	呼気排泄	雄 2	単回	30	経口	尿、糞：投与後 0-24 時間
E	吸収/排泄	雌雄各 5		0.1	静注	尿、糞：投与後 0-10, 10-24 時間
F				0.5	経口	尿、糞：投与後 0-10, 10-24, 24-48 時間
G				30		尿：投与後 0-10, 10-24, 24-48, 48-72 時間 糞：投与後 0-10, 10-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-168 時間
H ^a				反復	0.5	経口
I	組織内分布	雌雄各 2	単回	30	経口	投与 1.5 時間後屠殺動物の肝臓、腎臓
L	胆汁排泄	雌雄各 3	単回	0.5	経口	胆汁：投与後 0-2, 2-3, 3-4 時間
M				30		

^a：反復投与は非標識体を 1 日に 1 回 14 日間投与後、15 日目に標識体を単回投与した。

分析方法：

尿および胆汁は前処理することなく直接 TLC プレートに適用した。

糞は凍結乾燥後、肝臓および腎臓は で 5 回抽出し、プール抽出液の放射能を測定した後、放射能が約 7000 dpm/mL となるまで濃縮後、TLC に適用した。

糞の酸加水分解は 5M HCl を用い 80°C で 2 時間、加熱処理し、上清を濾過後、濾液中の HCl のほとんどを蒸発させた後、放射能を測定した。上清液の放射能が約 7000 dpm/mL となるまで濃縮後、TLC に適用した。

TLC 分析：TLC による代謝物の分離は下記のプレートおよび溶媒系を用いた。

シリカゲルプレート

溶媒系 3； (80/20/10/30; v/v/v/v)

セルロースプレート

溶媒系 2； (70/20/10; v/v/v) を用いた。

結果：

尿：2 溶媒系を用いた TLC による代謝物の分析結果を表 2 に示す。TRR は TLC に添加放射能に対する比率、%TAD は投与放射能に対する比率を示す。

2 溶媒系を用いた TLC 分析で親化合物はすべての尿試料で 93%TRR 以上を占めていた。適用部位の原点に残存する放射能は最大 4%TRR、 は %TRR 以下で検出され、親化合物より Rf 値の高い非極性代謝物は約 3%TRR 以下であった。

表 2. 2 溶媒系を用いた TLC による尿中代謝物の分析

群	用量/投与経路 (mg/kg)	性別/供試動物数	採取試料* (投与後時間)		溶媒系 3			溶媒系 2		
					TLC 原点	親化合物	非極性代謝物	TLC 原点	親化合物	非極性代謝物
D	30 単回 経口	雄 2	0-24	%TRR		96.8			100.0	
				%TAD		44.6			46.0	

表 2. 2 溶媒系を用いた TLC による尿中代謝物の分析 (つづき)

群	用量/投与経路 (mg/kg)	性別/ 供試数	採取試料* (投与後時間)		溶媒系 3				溶媒系 2			
					TLC 原点		親化合 物	非極性 代謝物	TLC 原点		親化合 物	非極性 代謝物
E	0.1 単回 静注	雄5	0-10	%TRR	2.1		94.2		0.8		98.9	
				%TAD	1.8		79.2		0.7		83.2	
			10-24	%TRR	4.2		94.9		1.2		94.9	
			%TAD	0.4		9.3		0.1		9.3		
		計	%TAD	2.2		88.5		0.8		92.5		
			雌5	0-10	%TRR	2.7		94.4	1.8	0.1		99.5
		%TAD	1.9		68.0	1.3	0.1		71.3			
		10-24	%TRR			96.7	3.3			95.2		
		%TAD			15.5	0.5			15.2			
		計	%TAD	1.9		83.5	1.8	0.1		86.5		
F	0.5 単回 経口	雄5	0-10	%TRR			96.9				100.0	
				%TAD			74.3				76.7	
			10-24	%TRR	0.6		93.1	1.7			100.0	
			%TAD	0.1		9.1	0.2			9.8		
		24-48	%TRR	1.5		96.8				99.2		
		%TAD	<0.05		2.8				2.9			
		計	%TAD	0.1		86.2	0.2			89.4		
		雌5	0-10	%TRR	0.4		96.8				100.0	
				%TAD	0.2		58.4				60.4	
			10-24	%TRR			94.8		0.4		99.3	
			%TAD			14.7		0.1		15.4		
		24-48	%TRR	1.4		97.2				100.0		
%TAD	0.1		6.8				7.0					
計	%TAD	0.3		79.9		0.1		82.8				
G	30 単回 経口	雄5	0-10	%TRR	0.1		97.3	1.0			98.8	1.2
				%TAD	0.1		69.1	0.7			70.2	0.9
			10-24	%TRR	0.9		95.7	1.2	0.2		99.8	
			%TAD	0.1		9.0	0.1	<0.05		9.4		
		24-48	%TRR	0.6		95.5				99.7		
		%TAD	<0.05		4.3				4.5			
		48-72	%TRR	0.4		95.8				100.0		
		%TAD	<0.05		1.3				1.3			
		計	%TAD	0.2		83.7	0.8			85.4	0.9	
		雌5	0-10	%TRR	0.2		97.8	0.9			98.7	1.3
				%TAD	0.2		73.3	0.7			74.0	1.0
			10-24	%TRR	0.2		97.4	1.4			99.5	0.5
%TAD	<0.05			12.4	0.2			12.7	0.1			
24-48	%TRR	0.4		95.9				100.0				
%TAD	<0.05		4.0				4.1					
48-72	%TRR			95.9				99.2				
%TAD			1.1				1.2					
計	%TAD	0.2		90.8	0.9			92.0	1.1			
H	0.5 反復 経口	雄5	0-10	%TRR	0.4		96.0				100.0	
				%TAD	0.3		78.0				81.2	
			10-24	%TRR	1.8		95.7				100.0	
		%TAD	0.1		4.6				4.8			
		計	%TAD	0.4		82.6				86.0		
		雌5	0-10	%TRR	0.4		97.5				100.0	
%TAD	0.3				78.9				81.0			
10-24	%TRR		1.1		93.7	0.7			100.0			
%TAD	0.1		4.1	<0.05			4.4					
計	%TAD	0.4		83.0	<0.05			86.0				

空欄は検出せず

*: 試料採取欄の%TRRはTLCに添加した放射能に対する各代謝物の比率。%TADは投与放射能に対する各代謝物の比率(斜字体で示した)

糞：糞抽出液の 2 溶媒系を用いた TLC による代謝物の分析結果を表 3 に示す。

表 3. 2 溶媒系を用いた TLC による糞中代謝物の分析

群	用量/投与経路 (mg/kg)	性別/ 供試数	採取試料* (投与後時間)		溶媒系 3			溶媒系 2		
					TLC 原点	親化合 物	非極性 代謝物	TLC 原点	親化合 物	非極 性代 謝物
D	30 単回 経口	雄 2	0-24	%TRR	0.2	98.1	0.4		100.0	
				%TAD	0.1	38.3	0.2	39.0		
E	0.1 単回 静注	雄 5	0-10	%TRR		100.0			100.0	
				%TAD		0.5		0.5		
			10-24	%TRR	17.4	82.6		89.4		
				%TAD	0.1	0.3		0.4		
		計	%TAD	0.1	0.8		0.9			
		雌 5	0-10	%TRR		76.1	23.9		100.0	
				%TAD		0.1	<0.05		0.1	
			10-24	%TRR	30.0	70.0		82.2		
%TAD	0.1			0.3		0.4				
計	%TAD	0.1	0.4	<0.05		0.5				
F	0.5 単回 経口	雄 5	0-10	%TRR	3.2	94.6		1.1	98.9	
				%TAD	<0.05	0.8		<0.05	0.9	
			10-24	%TRR	4.2	86.1		100.0		
				%TAD	0.1	1.0		1.1		
		24-48	%TRR		92.8	5.2	100.0			
			%TAD		0.3	<0.05	0.4			
		計	%TAD	0.1	2.1	<0.05	<0.05	2.4		
		雌 5	0-10	%TRR		96.9		100.0		
%TAD				0.4		0.4				
10-24	%TRR		12.8	87.2		100.0				
	%TAD		0.2	1.3		1.5				
24-48	%TRR		92.6		100.0					
	%TAD		0.3		0.3					
計	%TAD	0.2	2.0		2.2					
G	30 単回 経口	雄 5	0-10	%TRR		99.6	0.4		100.0	
				%TAD		2.6	<0.05		2.6	
			10-24	%TRR	9.8	76.9		94.5		
				%TAD	0.1	0.4		0.4		
			24-48	%TRR		92.6	2.4	98.4		
				%TAD		0.2	<0.05	0.2		
			48-72	%TRR		94.7	2.5	100.0		
				%TAD		0.3	<0.05	0.4		
72-96	%TRR		100.0		100.0					
	%TAD		<0.05		<0.05					
96-168	%TRR		100.0		100.0					
	%TAD		<0.05		<0.05					
計	%TAD	0.1	3.3	<0.05		3.6				

空欄は検出せず

*: 試料採取欄の%TRRはTLCに添加した放射能に対する各代謝物の比率。%TADは投与放射能に対する各代謝物の比率(斜字体で示した)

表 3. 2 溶媒系を用いた TLC による糞中代謝物の分析 (つづき)

群	用量/投与経路 (mg/kg)	性別/ 供試数	採取試料* (投与後時間)		溶媒系 3			溶媒系 2		
					TLC 原点	親化合 物	非極性 代謝物	TLC 原点	親化合 物	非極性 代謝物
G	30 単回 経口	雌 5	0-10	%TRR %TAD	3.6 0.1	86.0 2.2	6.4 0.2	100.0 2.6		
			10-24	%TRR %TAD	6.2 0.1	78.3 1.2		95.5 1.4		
			24-48	%TRR %TAD		92.7 0.2		98.0 0.2		
			48-72	%TRR %TAD		94.4 0.3		100.0 0.4		
			72-96	%TRR %TAD		100.0 <0.05		95.2 <0.05		
			96-168	%TRR %TAD		97.6 <0.05		100.0 <0.05		
			計	%TAD	0.2	3.9	0.2	4.6		
H	0.5 反復 経口	雌 5	0-10	%TRR %TAD	0.6 <0.05	95.2 4.1	1.3 0.1	100.0 4.4		
			10-24	%TRR %TAD	1.5 <0.05	94.1 0.8	2.1 <0.05	100.0 0.8		
			24-48	%TRR %TAD		97.0 0.3	3.0 <0.05	100.0 0.3		
			計	%TAD	<0.05	5.2	0.1	5.5		
		雌 5	0-10	%TRR %TAD	2.0 <0.05	83.3 1.5	7.4 0.1	100.0 1.8		
			10-24	%TRR %TAD	1.1 <0.05	91.5 0.9	2.3 <0.05	100.0 1.0		
			24-48	%TRR %TAD		85.0 0.2	15.0 <0.05	100.0 0.3		
			計	%TAD	<0.05	2.6	0.1	3.1		

空欄は検出せず

*: 試料採取欄の%TRR は TLC に添加した放射能に対する各代謝物の比率。%TAD は投与放射能に対する各代謝物の比率 (斜字体で示した)

平均で糞中放射能の約 53%が で抽出され、抽出液中の主要な成分は親化合物で、その他に微量の および親化合物より RF 値の高い非極性物質が検出された。実験群別におけるすべての分析糞試料中の親化合物の占める平均割合は次表のとおり、82%以上であった。

実験群	溶媒系 3	溶媒系 2
D	98.1	100
E	82.4	92.9
F	91.7	99.8
G	92.7	98.4
H	91.0	100

酸加水分解した糞：酸加水分解後、糞中放射能の約 53-71%TRR が上清から得られ、溶媒系 3 を用いて TLC 分析を行った。結果を表 4 に示す。

上清液中放射能の約 64-74%が親化合物で、約 25-36%が原点に留まっていた。¹⁴C-標識体を試料と同一の条件下で加水分解し、TLC 分析を行った結果、¹⁴C-標識体は安定であり、

極性代謝物は検出されなかった。

表 4. 糞の加水分解後上清の溶媒系 3 を用いた TLC による代謝物の分析

群	用量/投与経路 (mg/kg)	性別/供試数	採取試料* (投与後時間)		溶媒系 3			
					TLC 原点		親化合物	非極性代謝物
G	30 単回経口	雄 5	24-48	%TRR %TAD	35.9 0.1		64.1 0.1	
		雌 5	24-48	%TRR %TAD	25.6 0.1		74.4 0.2	

* : 試料採取欄の%TRR は TLC に添加した放射能に対する各代謝物の比率。
%TAD は投与放射能に対する各代謝物の比率 (斜字体で示す)

胆汁 : 胆汁は 1 時間間隔で投与後 24 時間まで採取したが、胆汁中の最高濃度は投与後 4 時間までに排泄されたので、投与後 4 時間までの胆汁について TLC による分析を行った。結果を表 5 に示す。

表 5. 2 溶媒系を用いた TLC による胆汁中代謝物の分析

群	用量/投与経路 (mg/kg)	性別/供試数	採取試料* (投与後時間)		溶媒系 3			溶媒系 2			
					TLC 原点		親化合物	非極性代謝物	TLC 原点		親化合物
L	0.5 単回経口	雄 3	0-2	%TRR			100		11		89
			2-3	%TRR	4		96		15		85
			3-4	%TRR	6		91		13		87
		雌 3	0-2	%TRR	14		84	2	13		82.3
			2-3	%TRR	23		75	2	139		79.7
			3-4	%TRR	18		78	4	16.5		75.1
M	30 単回経口	雄 3	0-2	%TRR	13.1		81.3	3.6	21		79
			2-3	%TRR	17		79	2	11		89
			3-4	%TRR	22		76	2	19		81
		雌 3	0-2	%TRR	17		81		20		79
			2-3	%TRR	17		81		17		83
			3-4	%TRR	19		74		15		85

空欄は検出せず

* : 試料採取欄の%TRR は TLC に添加した放射能に対する各代謝物の比率。

胆汁の主要な成分は親化合物で、その他に微量の および非極性代謝物が検出されたが、%TAD はすべての試料で検出限界 (0.05%TAD) 未満であった。実験群別におけるすべての分析試料の親化合物の占める平均割合は次表のとおり、約 79%以上であった。

実験群	溶媒系 3	溶媒系 2
L	87.3	79.0
M	78.7	82.7

臓器/組織 : 組織内分布実験において肝臓および腎臓の残留が最も多かったので、投与後 1.5 時間で屠殺した動物のこれら臓器のプール試料を用いて TLC で分析した。結果を表 6 に示す。

肝臓において、肝臓中放射能の 94.2%、腎臓中放射能の 93.6%が抽出された。抽出液の TLC 分析の結果、肝臓では放射能の 90%以上が親化合物で、 が %であった。

腎臓では 94%以上が親化合物で、
 が %以下であった。

表 6. 投与 1.5 時間後屠殺動物の肝臓および腎臓中における代謝物

群	用量/投与経路 (mg/kg)	臓器	性別	採取試料 (投与後時間)	溶媒系 3				溶媒系 2				
					TLC 原点		親化合物	非極性代謝物	TLC 原点		親化合物	非極性代謝物	
I	30 単回経口	肝臓	雄 2	1.5	%TRR	1.4		90.5				93.1	
					%TAD	0.1		3.5			3.6		
			雌 2		%TRR	2.0		91.0			96.8		
					%TAD	0.1		2.6			2.8		
		腎臓	雄 2		%TRR			96.0			100.0		
					%TAD			2.7			2.8		
			雌 2		%TRR			96.3			94.0		
					%TAD			1.0			1.0		

空欄は検出せず

*: 試料採取欄の%TRR は TLC に添加した放射能に対する各代謝物の比率。%TAD は投与放射能に対する各代謝物の比率 (斜字体で示す)

まとめ

1, 2-¹⁴C-クロルメコートを用い、0.1 mg/kg (静注投与)、0.5 および 30 mg/kg (経口投与) の 3 用量でラットに投与し、代謝について検討した。分析に用いた試料は動態試験 (資料 A3) で採取した尿、糞および胆汁並びに腎臓および肝臓試料を用いて、代謝物の検索を行った。

吸収/排泄実験において、投与後 168 時間までの合計回収率に対する尿排泄率はいずれの群とも >90%TAD で、そのほとんどが親化合物 (約 95%以上 ; 80%TAD 以上) であった。その他に (%TAD)、親化合物より Rf 値の高い非極性代謝物が (<2%TAD) 検出された。

糞排泄率は <6%TAD と少なかったが、約 50%TRR が で抽出され、その 82%以上 (<6%TAD) が親化合物であった。その他に (%TAD)、親化合物より Rf 値の高い非極性代謝物が (<0.2%TAD) 検出された。糞の酸加水分解で、約 53-71%TRR が上清から得られ、その約 70% が親化合物で、約 25%が TLC の原点に留まる極性物質であった。

単回経口投与 (0.5 から 30 mg/kg) による胆汁排泄は 1%TAD 以下と非常に少なく、TLC 分析による成分は約 79%以上が親化合物であった。その他に微量の および非極性代謝物が検出された。%TAD はすべての試料で検出限界 (0.05%TAD) 以下であった。

単回 30 mg/kg 経口投与ラットで、肝臓および腎臓の濃度が最も高く、投与 1.5 時間後の肝臓および腎臓を TLC 分析した結果、臓器中放射能の 90%以上が親化合物で、 が % であった。

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

Chloromequat

ラットにおける想定代謝経路は以下のとおりである。



CCC (クロルメコート)

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。

Chlormequat

1-5. イヌにおけるクロルメコートクロリド単回投与による動態試験

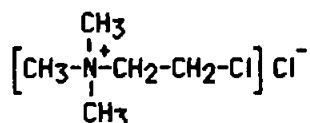
(資料 A5)

試験機関：

報告書作成年：

供試化合物：クロルメコートクロリド

構造式：



化学名：2-クロロエチル-トリメチルアンモニウム=クロリド (CCC と称する)

純度：

供試動物：ビーグル犬雄 3 頭、体重 11.0-13.4kg、投与時 12-14 ヶ月齢

試験方法：

投与方法：所定量の供試化合物を秤量してゼラチンカプセルに充填し、1 回強制経口投与した。投与 6 時間後に給餌した。

投与量：10mg/kg

<投与量設定根拠>：予備試験の結果を参考にして 10mg/kg とした。

試料採取：投与 48 時間後まで尿、糞および血液を採取し、投与 48 時間後に屠殺後、組織を採取した。

採取時期：

血液：投与前、投与後 0.5、1、2、3、4、6、8、24 および 48 時間に外頸静脈から採血し、遠心分離して血清を得た。

尿および糞：投与前、投与後 0-8、8-24 および 24-48 時間

組織：脳、心臓、肝臓、腎臓、横隔膜、大腿筋

分析方法：

試料を抽出し、ヘキサン洗浄、活性炭処理およびカラムクロマトグラフィーで精製後、反応で精製したものをガスクロマトグラフィー (NPD) で定量した。

試験結果：

血中濃度 (表 1)：

血清中濃度は投与 2-3 時間で最高濃度に達した。

表 1. 血清中濃度 (ppm) (2 分析の平均値)

試料	経過時間	動物 No. 1	動物 No. 2	動物 No. 3	平均*
血清	投与前	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	0.5 時間	1.0	<0.1	<0.1	<0.4
	1 時間	1.2	0.8	0.8	0.9
	2 時間	2.8	0.8	2.8	2.1
	3 時間	2.0	1.4	1.8	1.7
	4 時間	1.0	0.9	0.6	0.8
	6 時間	0.7	0.4	0.3	0.5
	8 時間	0.4	0.2	0.2	0.3
	24 時間	<0.1	<0.1	0.2	0.1
	48 時間	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

*: 申請者が算出した。

排泄物中濃度 (表 2):

尿および糞とも投与後 24 時間までに大部分が排泄された。また糞中排泄物より尿中排泄物の方が多く認められた。

表 2. 排泄物中濃度 (ppm) (2 分析の平均値)

試料	経過時間	動物 No. 1	動物 No. 2	動物 No. 3	平均*
尿	投与前	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	0-8 時間	212	103	129	148
	8-24 時間	102	166	116	128
	24-48 時間	10.0	7.4	8.2	8.5
糞	投与前	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	0-8 時間	28.9	37.8	32.0	32.9
	8-24 時間	19.0	92.2	6.7	39.3
	24-48 時間	3.8	3.2	0.8	2.6

*: 申請者が算出した。

組織内濃度 (表 3):

腎臓の濃度が最も高く、次いで肝臓であった。

表 3. 組織内濃度 (ppm) (2 分析の平均値)

試料	動物 No. 1	動物 No. 2	動物 No. 3	平均*
脳	0.07	0.08	0.06	0.07
心臓	0.08	0.07	<0.05	0.07
肝臓	0.21	0.24	0.22	0.22
腎臓	0.38	0.26	0.18	0.27
横隔膜	0.10	0.09	0.08	0.09
大腿筋	0.12	0.10	0.10	0.11

*: 申請者が算出した。

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。

Chlormequat

1-6. イヌにおけるクロルメコートクロリド 4 週間反復投与による動態試験

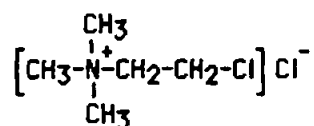
(資料 A6)

試験機関：

報告書作成年：

供試化合物：クロルメコートクロリド

構造式：



化学名：2-クロロエチルトリメチルアンモニウム＝クロリド (CCC と称する)

純度： %

供試動物：ビーグル犬雄 3 頭、体重 10.6-10.8kg、投与時 12-14 ヶ月齢

試験方法：

投与方法：所定量の供試化合物を秤量してゼラチンカプセルに充填し、1日1回、4週間にわたり反復強制経口投与した。投与6時間後に給餌した。

投与量：10mg/kg

<投与量設定根拠>：予備試験の結果を参考にして10mg/kgとした。

試料採取：投与期間中および投与終了後24ないし72時間後まで尿、糞および血液を採取し、最終投与72時間後に屠殺後、組織を採取した。

血液：投与前、投与1、8、15および27日の投与前、最終投与後0.5、1、2、3、4、6、8および24時間に外頸静脈から採血し、遠心分離して血清を得た。

尿および糞：投与前、投与0、7、14日の0-24時間および最終投与日の投与後0-24、24-48、48-72時間

組織：脳、心臓、肝臓、腎臓、横隔膜、大腿筋

分析方法：

試料を で抽出し、ヘキサン洗浄、活性炭処理および カラムクロマトグラフィーで精製後、 反応で精製した をガスクロマトグラフィー (NPD) で定量した。

試験結果：

血中濃度 (表1)：

最終投与後2時間で最高血清中濃度に達し、24時間後にはほとんど消失し、0.2ppmとなった。投与後の経時的濃度からすると蓄積性はみられない。

表 1. 血清中濃度 (ppm) (2 分析の平均値)

試料	経過時間	動物 No. 1	動物 No. 2	動物 No. 3	平均*	
血清	投与前	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
	1 日	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
	8 日	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
	15 日	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
	27 日	<0.1	0.2	<0.1	0.1	
	28 日	0.5 時間	0.2	<0.1	<0.1	0.1
		1 時間	1.0	0.4	0.4	0.6
		2 時間	2.3	2.4	3.0	2.6
		3 時間	0.4	1.4	1.6	1.1
		4 時間	0.6	1.3	1.0	1.0
		6 時間	0.3	1.0	0.6	0.6
		8 時間	0.2	0.6	0.2	0.3
24 時間	0.2	0.3	0.1	0.2		

*: 申請者が算出した。

排泄物中濃度 (表 2):

尿および糞とも投与後 24 時間までに大部分が排泄された。また糞中排泄物より尿中排泄物の方が多く認められた。

表 2. 排泄物中濃度 (ppm) (2 分析の平均値)

試料	経過時間	動物 No. 1	動物 No. 2	動物 No. 3	平均*	
尿	投与前	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	
	0 日	160	<0.1	136	98.7	
	7 日	76.1	77.7	51.7	68.5	
	14 日	83.6	124	39.0	82.2	
	28 日	0-24 時間	228	177	204	203
		24-48 時間	11.1	5.9	1.6	6.2
		48-72 時間	0.8	0.4	1.4	0.9
	糞	投与前	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
0 日		11.8	<0.1	68.8	26.9	
7 日		8.0	7.1	3.1	6.1	
14 日		2.6	9.6	4.8	5.7	
28 日		0-24 時間	44.0	53.4	31.3	42.9
		24-48 時間	0.4	1.2	0.8	0.8
		48-72 時間	0.8	1.1	1.0	1.0

*: 申請者が算出した。

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。

Chlormequat

組織内濃度 (表 3) :

腎臓の濃度が最も高かった。

表 3. 組織内濃度 (ppm)

(2 分析の平均値)

試料	動物 No. 1	動物 No. 2	動物 No. 3	平均*
脳	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
心臓	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
肝臓	<0.05	0.07	<0.05	<0.06
腎臓	0.06	0.10	0.10	0.09
横隔膜	<0.05	0.06	0.06	<0.06
大腿筋	0.06	0.08	0.09	0.08

* : 申請者が算出した。

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。

Chlormequat

参考. ラットにおける経口投与後の排泄試験

(資料 参考)

試験機関 :

報告書作成年 :

被験物質 : クロルメコート (CCC)

検体純度 :

供試動物 : 自家繁殖 SD 系ラット、雌雄各 10 匹/群

試験方法 :

投与方法および投与量 : 10%に希釈した検体を容量 8mL/kg で、用量 330mg/kg (LD₅₀の約 1/3 相当)を単回強制経口投与した。

尿採取 : 投与後 0.5、1、2、4、8、12、24、30、36、48、56 および 72 時間にすべてのラットの膀胱から強制的に採尿した。ラットは投与 4 日目に屠殺した。

分析方法 : 各試料は薄層クロマトグラフィー (シリカゲルプレート、溶媒系 ; 氷酢酸 : アセトン : 25%塩酸 (85 : 10 : 5) で展開し、CCC の含有量を分析した。

試験結果 :

投与後 2.5-3.5 時間に中毒症状を示した雄 1 例および雌 2 例が死亡した。残りのラットは数時間 CCC の典型的な中毒症状*を示したが、実験終了まで生存していた。

CCC は投与 0.5 時間後には尿中に十分検出され、投与 1-8 時間後に排泄ピークが認められた。投与後 36-48 時間の尿ではわずかに検出されたにすぎなかった。投与 56 時間後では薄層クロマトグラフィーで検出できなかった。

以上の結果から、CCC は投与後 2 日以内に完全に尿中に排泄されるので、反復投与しても組織中に蓄積される危険性はないと申請者は判断する。