

農薬評価書

ミルベメクチン (第3版)

2013年8月
食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯.....	4
○ 食品安全委員会委員名簿.....	5
○ 食品安全委員会農業専門調査会専門委員名簿.....	5
○ 要約.....	9
I. 評価対象農薬の概要.....	10
1. 用途.....	10
2. 有効成分の一般名.....	10
3. 化学名.....	10
4. 分子式.....	11
5. 分子量.....	11
6. 構造式.....	11
7. 開発の経緯.....	11
II. 安全性に係る試験の概要.....	12
1. 動物体内運命試験.....	12
(1) ラット①.....	12
(2) ラット②.....	18
(3) ヤギ.....	23
2. 植物体内運命試験.....	23
(1) みかん.....	23
(2) オレンジ.....	25
(3) りんご.....	25
(4) なす.....	26
(5) 茶.....	27
(6) いちご.....	27
3. 土壌中運命試験.....	28
(1) 好氣的土壌中運命試験.....	28
(2) 嫌氣的土壌中運命試験.....	29
(3) 土壌溶脱試験.....	29
(4) 土壌吸着試験.....	30
4. 光分解試験.....	30
(1) 光分解性 (M. A ₃ 、M. A ₄ 及びミルベメクテン).....	30
(2) 光分解物の検索.....	30
(3) 光分解性 (光分解物).....	30
5. 水中運命試験.....	31
(1) 加水分解試験① (¹⁴ C-M. A ₃ 及び ¹⁴ C-M. A ₄).....	31

(2) 加水分解試験② (M. A ₃ 及び M. A ₄)	31
(3) 加水分解試験③ (M. A ₃ 及び M. A ₄)	31
(4) 水中光分解試験① (¹⁴ C-M. A ₃ 及び ¹⁴ C-M. A ₄)	31
(5) 水中光分解試験② (M. A ₃ 及び M. A ₄)	32
6. 土壌残留試験	32
7. 作物残留試験	32
8. 一般薬理試験	33
9. 急性毒性試験	34
(1) 急性毒性試験 (原体)	34
(2) 急性毒性試験 (代謝物及び原体混在物)	35
(3) 急性毒性試験 (M. A ₃ 及び M. A ₄)	35
(4) 急性神経毒性試験 (ラット)	36
10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性	36
11. 亜急性毒性試験	37
(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)	37
(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)	38
(3) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)	38
(4) 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット)	39
12. 慢性毒性試験及び発がん性試験	39
(1) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)	39
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	40
(3) 2年間発がん性試験 (マウス)	40
13. 生殖発生毒性試験	41
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	41
(2) 発生毒性試験 (ラット)	42
(3) 発生毒性試験 (ウサギ) ①	42
(4) 発生毒性試験 (ウサギ) ②	43
14. 遺伝毒性試験	43
15. その他の試験	45
(1) ラットの切歯の伸長に及ぼす影響試験	45
(2) 神経作用機序検討試験	46
III. 食品健康影響評価	47
・別紙1: 代謝物/分解物/原体混在物略称	51
・別紙2: 検査値等略称	55
・別紙3: 作物残留試験成績 (国内)	56
・別紙4: 作物残留試験成績 (海外)	61
・別紙5: 推定摂取量	62

<審議の経緯>

○第1版関係

- | | | | |
|-------|-----|-----|--|
| 1990年 | 11月 | 7日 | 初回農薬登録 |
| 2003年 | 5月 | 28日 | 農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準値設定依頼（適用拡大：だいず、えだまめ、さやいんげん等） |
| 2005年 | 11月 | 8日 | 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第1108002号）、関係書類の接受（参照1～62） |
| 2005年 | 11月 | 10日 | 第119回食品安全委員会（要請事項説明） |
| 2005年 | 11月 | 29日 | 残留農薬基準告示（参照63） |
| 2006年 | 6月 | 7日 | 第1回農薬専門調査会総合評価第一部会 |
| 2006年 | 7月 | 18日 | 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0718033号）、関係書類の接受（参照64） |
| 2006年 | 7月 | 20日 | 第153回食品安全委員会（要請事項説明） |
| 2008年 | 5月 | 15日 | 追加資料受理（参照69） |
| 2008年 | 8月 | 1日 | 第23回農薬専門調査会総合評価第二部会 |
| 2008年 | 11月 | 18日 | 第45回農薬専門調査会幹事会 |
| 2009年 | 2月 | 19日 | 第274回食品安全委員会（報告） |
| 2009年 | 2月 | 19日 | から3月20日まで 国民からの意見・情報の募集 |
| 2009年 | 4月 | 1日 | 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告 |
| 2009年 | 4月 | 2日 | 第280回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）（参照70） |
| 2010年 | 10月 | 20日 | 残留農薬基準告示（参照71） |

○第2版関係

- | | | | |
|-------|-----|-----|--|
| 2011年 | 4月 | 27日 | インポートトレランス要請（ホップ及びアボカド） |
| 2011年 | 8月 | 9日 | 農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準値設定依頼（適用拡大：さといも、いちじく等） |
| 2011年 | 10月 | 6日 | 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安1006第19号） |
| 2011年 | 10月 | 11日 | 関係書類の接受（参照72～84） |
| 2011年 | 10月 | 13日 | 第403回食品安全委員会（要請事項説明） |
| 2012年 | 4月 | 18日 | 第82回農薬専門調査会幹事会 |
| 2012年 | 5月 | 8日 | 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告 |
| 2012年 | 5月 | 10日 | 第430回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣に通知）（参照85） |
| 2013年 | 5月 | 15日 | 残留農薬基準告示（参照86） |

○第3版関係

- 2013年 3月 19日 農林水産省から厚生労働省へ農薬登録申請に係る連絡及び基準値設定依頼（適用拡大：あんず及びすもも）
- 2013年 6月 11日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0611第11号）
- 2013年 6月 12日 関係書類の接受（参照87～89）
- 2013年 6月 17日 第478回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2013年 8月 5日 第484回食品安全委員会（審議）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2006年6月30日まで)	(2006年12月20日まで)	(2009年6月30日まで)
寺田雅昭（委員長）	寺田雅昭（委員長）	見上 彪（委員長）
寺尾允男（委員長代理）	見上 彪（委員長代理）	小泉直子（委員長代理*）
小泉直子	小泉直子	長尾 拓
坂本元子	長尾 拓	野村一正
中村靖彦	野村一正	畑江敬子
本間清一	畑江敬子	廣瀬雅雄**
見上 彪	本間清一	本間清一

*：2007年2月1日から

**：2007年4月1日から

(2012年6月30日まで)	(2012年7月1日から)
小泉直子（委員長）	熊谷 進（委員長）
熊谷 進（委員長代理*）	佐藤 洋（委員長代理）
長尾 拓	山添 康（委員長代理）
野村一正	三森国敏（委員長代理）
畑江敬子	石井克枝
廣瀬雅雄	上安平冽子
村田容常	村田容常

*：2011年1月13日から

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2006年3月31日まで)		
鈴木勝士（座長）	小澤正吾	出川雅邦
廣瀬雅雄（座長代理）	高木篤也	長尾哲二
石井康雄	武田明治	林 真
江馬 眞	津田修治*	平塚 明

太田敏博

津田洋幸

吉田 緑

* : 2005年10月1日から

(2007年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)

廣瀬雅雄 (座長代理)

赤池昭紀

石井康雄

泉 啓介

上路雅子

臼井健二

江馬 眞

大澤貫寿

太田敏博

大谷 浩

小澤正吾

小林裕子

三枝順三

佐々木有

高木篤也

玉井郁巳

田村廣人

津田修治

津田洋幸

出川雅邦

長尾哲二

中澤憲一

納屋聖人

成瀬一郎

布柴達男

根岸友恵

林 眞

平塚 明

藤本成明

細川正清

松本清司

柳井徳磨

山崎浩史

山手丈至

與語靖洋

吉田 緑

若栗 忍

(2008年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)

林 眞 (座長代理*)

赤池昭紀

石井康雄

泉 啓介

上路雅子

臼井健二

江馬 眞

大澤貫寿

太田敏博

大谷 浩

小澤正吾

小林裕子

三枝順三

佐々木有

代田眞理子****

高木篤也

玉井郁巳

田村廣人

津田修治

津田洋幸

出川雅邦

長尾哲二

中澤憲一

納屋聖人

成瀬一郎***

西川秋佳**

布柴達男

根岸友恵

平塚 明

藤本成明

細川正清

松本清司

柳井徳磨

山崎浩史

山手丈至

與語靖洋

吉田 緑

若栗 忍

* : 2007年4月11日から

** : 2007年4月25日から

*** : 2007年6月30日まで

**** : 2007年7月1日から

(2012年3月31日まで)

納屋聖人 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
浅野 哲**
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
白井健二
太田敏博
小澤正吾
川合是彰
川口博明
桑形麻樹子***
小林裕子
三枝順三

佐々木有
代田真理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
永田 清
長野嘉介*
西川秋佳
布柴達男
根岸友惠
根本信雄
八田稔久

平塚 明
福井義浩
藤本成明
細川正清
堀本政夫
本間正充
増村健一**
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

*: 2011年3月1日まで

** : 2011年3月1日から

*** : 2011年6月23日から

(2012年4月1日から)

・幹事会

納屋聖人 (座長)
西川秋佳 (座長代理)
赤池昭紀
上路雅子

三枝順三
永田 清
長野嘉介
本間正充

松本清司
吉田 緑

・評価第一部会

上路雅子 (座長)
赤池昭紀 (座長代理)
相磯成敏

津田修治
福井義浩
堀本政夫

山崎浩史
義澤克彦
若栗 忍

・評価第二部会

吉田 緑 (座長)
松本清司 (座長代理)
泉 啓介

桑形麻樹子
腰岡政二
根岸友惠

藤本成明
細川正清
本間正充

・評価第三部会

三枝順三 (座長)
納屋聖人 (座長代理)
浅野 哲

小野 敦
佐々木有
田村廣人

永田 清
八田稔久
増村健一

・評価第四部会

西川秋佳（座長）
長野嘉介（座長代理）
川口博明

代田真理子
玉井郁巳
根本信雄

森田 健
山手丈至
與語靖洋

<第 82 回農薬専門調査会幹事会専門参考人名簿>

小澤正吾

林 真

要 約

16員環マクロライド骨格を有する殺虫剤である「ミルベメクチン」[M.A₃ (CAS No. 51596-10-2)、M.A₄ (CAS No. 51596-11-3)] について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。なお、今回、作物残留試験(すもも)の成績等が新たに提出された。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット)、植物体内運命(みかん、なす等)、作物残留、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、ミルベメクチン投与による影響は、主に体重(増加抑制)、腎臓(慢性腎症等)、副腎(重量増加等)、血液(小球性貧血)及び切歯(伸長:げっ歯類)に認められた。発がん性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をミルベメクチン(親化合物のみ)と設定した。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、イヌを用いた1年間慢性毒性試験の3 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数100で除した0.03 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺虫剤

2. 有効成分の一般名

和名：ミルベメクチン (M.A₃ と M.A₄ の混合物)

英名：milbemectin (ISO 名)

3. 化学名

IUPAC

M.A₃

和名：(10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*R*,6'*R*,8*R*,13*R*,20*R*,21*R*,24*S*)-21,24-ジヒドロキシ-5',6',11,13,22-ペンタメチル-3,7,19-トリオキサテトラシクロ [15.6.1.1.1^{4,8,0^{20,24}}]ペンタコサ-10,14,16,22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

英名：(10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*R*,6'*R*,8*R*,13*R*,20*R*,21*R*,24*S*)-21,24-dihydroxy-5',6',11,13,22-pentamethyl-3,7,19-trioxatetracyclo [15.6.1.1.1^{4,8,0^{20,24}}]pentacosa-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-tetrahydropyran-2-one

M.A₄

和名：(10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*R*,6'*R*,8*R*,13*R*,20*R*,21*R*,24*S*)-6'-エチル-21,24-ジヒドロキシ-5',11,13,22-テトラメチル-3,7,19-トリオキサテトラシクロ [15.6.1.1.1^{4,8,0^{20,24}}]ペンタコサ-10,14,16,22-テトラエン-6-スピロ-2'-テトラヒドロピラン-2-オン

英名：(10*E*,14*E*,16*E*,22*Z*)-(1*R*,4*S*,5'*S*,6*R*,6'*R*,8*R*,13*R*,20*R*,21*R*,24*S*)-6'-ethyl-21,24-dihydroxy-5',11,13,22-tetramethyl-3,7,19-trioxatetracyclo [15.6.1.1.1^{4,8,0^{20,24}}]pentacosa-10,14,16,22-tetraene-6-spiro-2'-tetrahydropyran-2-one

CAS

M.A₃ (No. 51596-10-2) M.A₄ (No. 51596-11-3)

和名：(6*R*,25*R*)-5-*O*-デメチル-28-デオキシ-6,28-エポキシ-25-エチルミルベマイシン B と (6*R*,25*R*)-5-*O*-デメチル-28-デオキシ-6,28-エポキシ-25-メチルミルベマイシン B の混合物

英名：(6*R*,25*R*)-5-*O*-demethyl-28-deoxy-6,28-epoxy-25-ethylmilbemycin B mixture with (6*R*,25*R*)-5-*O*-demethyl-28-deoxy-6,28-epoxy-25-methylmilbemycin B

4. 分子式

M.A₃ : C₃₁H₄₄O₇

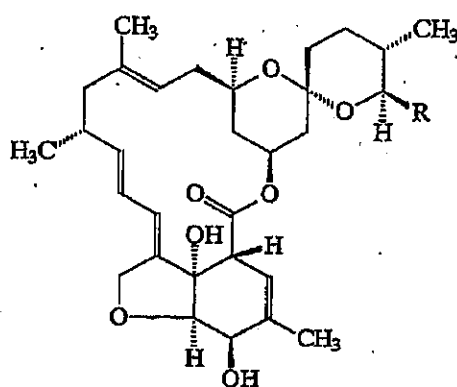
M.A₄ : C₃₂H₄₆O₇

5. 分子量

M.A₃ : 528.68

M.A₄ : 542.71

6. 構造式



M.A₃:R=CH₃

M.A₄:R=C₂H₅

7. 開発の経緯

ミルベメクチンは、1967年に北海三共株式会社により発見された16員環マクロライド骨格を有する殺虫剤である。上記のとおり、M.A₃ (22~32%)とM.A₄ (60~70%)の混合物である。本剤は、ダニ、昆虫及び線虫の神経-筋接合部位の塩素イオンチャンネルに作用し、殺虫活性を示す。韓国、ニュージーランド、ブラジル等で農薬登録されている。我が国では、1990年11月に茶を対象に初めて登録されており、原体ベースで年間3.7トン(平成15農薬年度)生産されている。(参照68)

今回、農薬取締法に基づく農薬登録申請(適用拡大:あんず及びすもも)がなされている。

II. 安全性に係る試験の概要

ミルベメクチンは M.A₃ と M.A₄ の混合物であり、以下単に「ミルベメクチン」と表した場合は M.A₃ と M.A₄ の混合物を指す。

各種運命試験（II.1~4）に用いたミルベメクチン（M.A₃, M.A₄）の放射性標識化合物については、以下の略称を用いた（表1）。放射能濃度及び代謝物濃度は、特に断りがない場合は比放射能（質量放射能）からミルベメクチンに換算した値（mg/kg 又は µg/g）を示した。代謝物/分解物/原体混在物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示されている。

表1 各種運命試験に用いた標識体一覧

略称	標識位置
¹⁴ C-M.A ₃	3,7,11,13,23 位の炭素を ¹⁴ C で標識した M.A ₃
¹⁴ C-M.A ₄	3,7,11,13,23,25 位の炭素を ¹⁴ C で標識した M.A ₄
[5- ³ H]M.A ₃	5 位の水素を ³ H で標識した M.A ₃
[5- ³ H]M.A ₄	5 位の水素を ³ H で標識した M.A ₄
[26- ³ H]M.A ₄	26 位の水素を ³ H で標識した M.A ₄
[29- ³ H]M.A ₄	29 位の水素を ³ H で標識した M.A ₄
[30- ³ H]M.A ₃	30 位の水素を ³ H で標識した M.A ₃
[30- ³ H]M.A ₄	30 位の水素を ³ H で標識した M.A ₄

1. 動物体内運命試験

(1) ラット①

① 吸収

Fischer ラット（一群雌雄各3匹）に、[5-³H]M.A₃ と ¹⁴C-M.A₄ の混合物（混合比3:7）を 2.5 mg/kg 体重（以下、[1.]において「低用量」という。）又は 25 mg/kg 体重（以下、[1.]において「高用量」という。）で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

血中放射能濃度推移は表2に示されている。

[5-³H]M.A₃ 及び ¹⁴C-M.A₄ のいずれも投与3時間後までに C_{max} に達し、その後、T_{1/2} は 7~8 時間と速やかに減少した。高用量群と低用量群間、雌雄間に大差は認められず、同じ減衰パターンを示した。（参照2）

表2 血中放射能濃度推移 (µg/mL)

投与量	2.5 mg/kg 体重				25 mg/kg 体重			
	[5- ³ H]M.A ₃		¹⁴ C-M.A ₄		[5- ³ H]M.A ₃		¹⁴ C-M.A ₄	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与1時間後	0.082	0.070	0.31	0.26	0.24	0.35	0.6	1.0
投与3時間後	0.092	0.056	0.29	0.27	0.78	0.63	2.1	1.6

投与 9 時間後	0.027	0.014	0.11	0.10	0.17	0.26	1.0	1.2
投与 168時間後	<0.002	<0.002	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02	<0.1	<0.1

② 分布

a. 単回投与

Fischer ラット（一群雌雄各 3 匹）に、 $[5\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$ と $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ の混合物（混合比 3:7）を低用量又は高用量で単回投与、 $[5\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$ を 250 mg/kg 体重で、 $^{14}\text{C}\text{-M.A}_3$ 又は $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ を高用量でそれぞれ単独で単回経口投与¹し、分布試験が実施された。

単回投与における主要組織の残留放射能濃度は表 3 に示されている。

投与 6 時間後には脂肪及び肝臓において比較的高く、筋肉、骨、生殖器官、脳等においては比較的低かった。投与 168 時間後には肝臓、脂肪等の一部に放射能が僅かに検出されたが、その他ほとんどの組織では検出限界以下となった。臓器中の放射能濃度の減少は、 M.A_3 の方が M.A_4 よりやや早い傾向にあったが、雌雄又は 2 投与量の間には大差は認められなかった。（参照 2）

表 3 単回投与における主要組織の残留放射能濃度 (µg/g)

投与条件	標識体	性別	6 時間後	168 時間後
2.5 mg/kg 体重 (混合投与)	$[5\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$	雄	盲腸内容物(15.3)、盲腸(1.01)、胃(0.30)、肝臓(0.29)、小腸(0.16)、腹腔脂肪(0.14)、皮下脂肪(0.11)、副腎(0.072)、腎臓(0.068)、血液(0.040)、心臓(0.035)、肺(0.032)、脾臓(0.027)	肝臓(0.011)、腹腔脂肪(0.008)、皮下脂肪(0.007)、腎臓(0.005)、盲腸内容物(0.003)、脾臓、心臓、精囊、胃及び小腸(いずれも 0.002)、脳下垂体(0.02 未満)、その他(0.002 未満)
		雌	盲腸内容物(14.4)、盲腸(1.14)、肝臓(0.19)、腹腔脂肪(0.18)、小腸(0.17)、胃(0.16)、皮下脂肪(0.15)、副腎(0.064)、腎臓(0.060)、心臓(0.036)、肺(0.032)、卵巣(0.031)、脾臓(0.026)、輸卵管(0.024)、筋肉及び胸腺(いずれも 0.023)、脳下垂体(0.02)、血液(0.019)	肝臓(0.007)、腹腔脂肪(0.005)、皮下脂肪(0.004)、腎臓(0.003)、脾臓、胃、小腸及び盲腸内容物(いずれも 0.002)、脳下垂体(0.02 未満)、その他(0.002 未満)

¹ $^{14}\text{C}\text{-M.A}_3$ の高用量群では、尿及び糞試料の採取のみ行われた。

	¹⁴ C-MA ₄	雄	盲腸内容物(47.0)、盲腸(3.42)、腹腔脂肪(1.99)、肝臓(1.74)、皮下脂肪及び胃(1.55)、小腸(1.16)、副腎(0.80)、腎臓(0.58)、心臓(0.30)、肺(0.29)、脾臓(0.26)、胸腺(0.21)、脳下垂体(0.2)、筋肉及び精囊(いずれも 0.19)、血液(0.16)	肝臓(0.04)、腎臓(0.01)、脳下垂体(0.1未満)、その他(0.01未満)
		雌	盲腸内容物(43.7)、盲腸(3.50)、腹腔脂肪(2.13)、皮下脂肪(1.73)、肝臓(1.19)、小腸(1.07)、胃(0.77)、副腎(0.58)、腎臓(0.44)、卵巣(0.27)、心臓(0.26)、肺(0.24)、脾臓(0.21)、輸卵管(0.20)、脳下垂体(0.2)、胸腺(0.17)、筋肉(0.16)、骨(0.11)、血液(0.10)	肝臓(0.03)、腎臓(0.01)、脳下垂体(0.1未満)、その他(0.01未満)
25 mg/kg 体重 (混合投与)	[5- ³ H] M.A ₃	雄	盲腸内容物(82.4)、盲腸(6.14)、肝臓(3.23)、腹腔脂肪(2.35)、皮下脂肪(2.26)、副腎(1.34)、小腸(1.10)、胃(1.00)、腎臓(0.82)、心臓(0.52)、肺(0.50)、脾臓(0.40)、胸腺(0.38)、脳下垂体(0.35)、筋肉(0.32)、精囊(0.30)、血液(0.22)	肝臓(0.08)、腹腔脂肪(0.06)、皮下脂肪(0.05)、副腎及び盲腸内容物(0.03)、胸腺、胃及び小腸(いずれも 0.02)、脳下垂体(0.2未満)、その他(0.02未満)
		雌	盲腸内容物(79.7)、腹腔脂肪(5.10)、盲腸(4.96)、皮下脂肪(4.30)、肝臓(3.93)、副腎(2.66)、小腸(2.31)、胃(1.70)、腎臓(1.60)、心臓(1.18)、肺(1.09)、卵巣(0.95)、脾臓(0.92)、胸腺(0.84)、筋肉(0.72)、輸卵管(0.63)、骨(0.59)、脳下垂体(0.49)、血液(0.37)	肝臓(0.08)、皮下脂肪(0.06)、腹腔脂肪(0.05)、腎臓及び副腎(いずれも 0.03)、胃(0.02)、脳下垂体(0.2未満)、その他(0.02未満)
	¹⁴ C-MA ₄	雄	盲腸内容物(238)、腹腔脂肪(23.1)、皮下脂肪(22.3)、盲腸(18.9)、肝臓(16.4)、副腎(11.7)、小腸(7.0)、腎臓(5.7)、胃(5.1)、心臓(3.8)、肺(3.7)、胸腺(3.1)、脾臓(3.0)、脳下垂体(2.4)、筋肉(2.2)、精囊(2.0)、骨(1.7)、血液(1.4)	肝臓(0.3)、皮下脂肪、腎臓及び盲腸内容物(いずれも 0.2)、腹腔脂肪(0.1)、脳下垂体(1未満)、その他(0.1未満)

		雌	盲腸内容物(22.1)、皮下脂肪(22.0)、腹腔脂肪(19.9)、肝臓(15.0)、盲腸(13.3)、副腎(12.9)、小腸(10.0)、腎臓(6.6)、胃(6.2)、心臓(5.6)、卵巣(5.0)、肺(4.7)、胸腺(4.1)、脾臓(3.8)、筋肉(2.9)、輸卵管(2.7)、骨(2.3)、脳下垂体(1.8)、血液(1.5)	皮下脂肪及び肝臓(いずれも 0.3)、腹腔脂肪、腎臓及び盲腸内容物(いずれも 0.2)、脳下垂体(1 未満)、その他(0.1 未満)
--	--	---	---	--

b. 反復投与

Fischer ラット（雌雄各 3 匹）に、 ^{14}C -M.A₄ を低用量で 10 日間反復経口投与し、分布試験が実施された。

反復投与における主要組織の残留放射能濃度は表 4 に示されている。

最終投与 168 時間後では全ての組織で 0.4 $\mu\text{g/g}$ 未満であり、特定の組織への蓄積は認められなかった。（参照 2）

表 4 反復投与における主要組織の残留放射能濃度 ($\mu\text{g/g}$)

投与条件	標識体	性別	24 時間後	168 時間後
2.5 mg/kg 体重 /日	^{14}C - M.A ₄	雄	盲腸内容物(17.5)、肝臓(1.12)、盲腸(0.93)、腹腔脂肪(0.61)、腎臓(0.47)、皮下脂肪(0.46)、脳下垂体(0.3)、副腎(0.29)、小腸(0.27)、胃(0.18)、心臓(0.16)、脾臓(0.13)、肺(0.12)、血液及び胸腺(いずれも 0.10)	肝臓(0.21)、腎臓及び盲腸内容物(いずれも 0.19)、小腸(0.09)、皮下脂肪及び脾臓(いずれも 0.07)、血液、腹腔脂肪、副腎及び盲腸(いずれも 0.05)、その他(0.05 未満)
		雌	盲腸内容物(18.5)、肝臓(0.87)、盲腸(0.74)、腹腔脂肪(0.55)、皮下脂肪(0.47)、腎臓(0.42)、小腸(0.36)、副腎(0.35)、脳下垂体(0.3)、胃(0.27)、卵巣(0.18)、脾臓(0.16)、心臓(0.15)、肺(0.13)、血液(0.12)	肝臓(0.30)、腎臓(0.19)、盲腸内容物(0.11)、副腎(0.09)、皮下脂肪及び脾臓(いずれも 0.08)、小腸(0.07)、血液、腹腔脂肪及び心臓(いずれも 0.06)、その他(0.06 未満)

③ 代謝物同定・定量

^{14}C -M.A₃ 又は ^{14}C -M.A₄ を用いた単独投与による排泄試験[1. (1)④a.]、胆汁中排泄試験[1. (1)④c.]及び雄ラットを用いた高用量単回経口投与試験（血液及び肝臓中の放射能の性質を調べるために別途実施）で得られた尿、糞、胆汁、血液及び肝臓を試料として代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、糞、胆汁、血液及び肝臓中代謝物は表 5 に示されている。

代謝反応としては水酸化、エポキシ化、脱水素などの酸化反応が、また、水酸化の位置としては 13、23、26、27、28、29、30 位が確認された。M.A₄ は

13位等の酸化、さらに引き続いての酸化でM.A₄-⑥、M.A₄-⑦へと代謝が進み、より極性の高い代謝物となって体外に排泄されると考えられた。一部の水酸化体はグルクロン酸抱合体となり、胆汁中排泄されることが示唆された。M.A₃も全く同様の代謝経路によって代謝を受けているものと考えられた。(参照2)

表5 尿、糞、胆汁、血液及び肝臓中代謝物

投与条件	標識体	試料	M.A ₃ 又は M.A ₄	代謝物
25 mg/kg 体重 単回経口 (単独投与)	¹⁴ C- M.A ₃	尿 (%TAR)	0.1	M.A ₃ -⑥(7.4~12.3)、M.A ₃ -⑤(0.4~0.6)
		糞 (%TAR)	5.0~9.0	M.A ₃ -⑥(11.9~12.7)、M.A ₃ -⑦(5.9~6.1)、 M.A ₃ -⑤(1.8~2.8)
25 mg/kg 体重 単回経口 (単独投与)	¹⁴ C- M.A ₄	尿 (%TAR)	0.1	M.A ₄ -⑥(4.4~6.7)、M.A ₄ -⑤(0.1~0.2)
		糞 (%TAR)	5.3~6.4	M.A ₄ -⑥(5.9~6.1)、M.A ₄ -⑦(3.9~4.9)、 M.A ₄ -⑤(1.6~2.4)
2.5 mg/kg 体重 単回経口 (胆汁中排泄試験)	¹⁴ C- M.A ₄	胆汁 (%TAR)	—	M.A ₄ -⑥(2.0)、M.A ₄ -⑦(1.5)、M.A ₄ -⑥の グルクロン酸抱合体(0.5)、M.A ₄ -⑤(0.4)
25 mg/kg 体重 単回経口 (排泄試験)	¹⁴ C- M.A ₄	血液 (%TRR)	3.0	M.A ₄ -⑤(53)、M.A ₄ -⑥(12)
		肝臓 (%TRR)	8.0	M.A ₄ -⑤(51)、M.A ₄ -⑥(5)、M.A ₄ -②(2)、 M.A ₄ -③(2)、M.A ₄ -⑧(1)

④ 排泄

a. 尿及び糞中排泄 (単回投与)

Fischer ラット (一群雌雄各3匹) に、[5-³H]M.A₃ と ¹⁴C-M.A₄ の混合物 (混合比 3:7) を低用量又は高用量で単回投与、[5-³H]M.A₃ を 250 mg/kg 体重で、¹⁴C-M.A₃ 又は ¹⁴C-M.A₄ を高用量でそれぞれ単独で単回経口投与²し、排泄試験が実施された。

単回投与における尿及び糞中排泄率は表6に示されている。

混合投与において、低用量群、高用量群のいずれも放射能の排泄は³H、¹⁴Cともに速やかで、両群間で大きな違いは認められなかった。98%TAR以上が168時間までに糞尿中に排泄された。

糞中が主要排泄経路であったが、雄の方が雌に比べ尿中への放射能の排泄量がやや多かった。投与後168時間で、尿中にM.A₃は9~17%TAR、M.A₄は5~8%TAR、糞中にM.A₃は82~90%TAR、M.A₄は91~94%TARが排泄され、尿中への放射能の排泄率はM.A₃の方がM.A₄よりも多かった。(参照2)

² ¹⁴C-M.A₃の高用量群では、尿及び糞試料の採取のみ行われた。

表 6 単回投与における尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与量	2.5 mg/kg 体重 (混合投与)							
標識体	$[5\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$				$^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$			
性別	雄		雌		雄		雌	
試料	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
投与後 24 時間	13.4	70.6	7.8	68.6	7.3	73.8	4.2	68.9
投与後 168 時間	14.5	84.2	8.8	89.5	7.8	91.4	4.7	93.7
投与量	25 mg/kg 体重 (混合投与)							
標識体	$[5\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$				$^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$			
性別	雄		雌		雄		雌	
試料	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
投与後 24 時間	16.0	58.8	11.3	48.6	7.5	60.4	5.1	43.8
投与後 168 時間	17.3	81.5	13.3	84.7	8.4	90.8	6.5	92.0
投与量	250 mg/kg 体重 (単独投与)				25 mg/kg 体重 (単独投与)			
標識体	$[5\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$				$^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$			
性別	雄		雌		雄		雌	
試料	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
投与後 24 時間	2.1	69.7	1.8	80.3	11.4	73.8	5.9	50.2
投与後 168 時間	3.0	95.9	2.6	96.2	12.3	86.3	6.7	91.7

b. 尿及び糞中排泄 (反復投与)

Fischer ラット (雌雄各 3 匹) に、 $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ を低用量で 10 日間反復経口投与し、排泄試験が実施された。

1 回の投与量に対する放射能の尿及び糞への排泄率及び排泄バランスは、連続投与期間中 (投与 2 日後以降) ほとんど変化はみられず、蓄積性はないものと考えられた。(参照 2)

c. 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Fischer ラット (雄 2 匹) に、 $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ を低用量で単回経口投与し、胆汁中排泄試験が実施された。

放射能の胆汁中への排泄量は、投与後 24 時間で 42%TAR であった。胆汁中と糞中のそれぞれの中性成分の代謝の組成が極めて類似していたことから、糞中代謝物の多くは胆汁中排泄によるものと考えられた。(参照 2)

(2) ラット②

① 吸収

a. 血中濃度推移

Fischer ラット (一群雌雄各 5 匹) に、 ^{14}C -M.A₄ を低用量又は高用量で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

血漿中放射能濃度推移は表 7 に、薬物動態学的パラメータは表 8 に示されている。

T_{\max} は投与 2~3 時間であった。血漿中濃度は、投与 24 時間後までに急速に減衰し、その後は徐々に減少した。各項目とも各群の雌雄でほぼ同様な値となり、性差は認められなかった。高用量群では、低用量群に対し C_{\max} が約 10 倍となり、 $T_{1/2}$ も延長されることが認められた。(参照 3)

表 7 血漿中放射能濃度推移 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

投与量	2.5 mg/kg 体重		25 mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌
投与 1 時間後	0.240	0.233	1.25	1.80
投与 2 時間後	0.308	0.255	2.64	2.29
投与 3 時間後	0.313	0.244	1.99	2.00
投与 6 時間後	0.127	0.159	1.70	1.30
投与 24 時間後	0.007	0.018	0.139	0.226
投与 168 時間後	ND	ND	0.003	0.008

注) ND : 検出せず。

表 8 血漿中薬物動態学的パラメータ

投与量	2.5 mg/kg 体重		25 mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌
T_{\max} (hr)	3.0	2.0	2.0	2.0
C_{\max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0.313	0.255	2.64	2.29
$T_{1/2}$ (hr)	10.9	13.0	27.4	31.7
$\text{AUC}_{0-168\text{hr}}$ ($\mu\text{g} \cdot \text{hr}/\text{g}$)	2.48	3.14	27.1	37.9

b. 吸収率

胆汁中排泄試験 [1. (2) ④c.] より得られた胆汁中排泄、尿中排泄及び体内残留放射能から吸収率を算出した。M.A₄ の吸収率は、低用量群で 49.1~49.6%、高用量群で 32.9~41.9%であった。

② 分布

a. 単回投与

Fischer ラット (一群雌雄各 9 匹) に、 ^{14}C -M.A₄ を低用量又は高用量で単回経口投与し、分布試験が実施された。

単回投与における主要組織の残留放射能濃度は表 9 に示されている。

単回投与では両投与群とも投与 2～6 時間後では、消化管及び肝の放射能濃度が最も高く、次いで副腎、腎臓、脾臓、リンパ節及び脂肪の放射能濃度が高かった。投与 24 時間後では、全ての組織器官で放射能濃度は急速に減少し、投与 168 時間後ではさらに減少が進み放射能が検出されない組織器官が認められた。(参照 3)

表 9 単回投与における主要組織の残留放射能濃度 (μg/g)

投与条件	標識体	性別	T _{max} 付近*	168 時間後
2.5 mg/kg 体重	14C-M.A4	雄	胃(23.9)、腸管(6.72)、肝臓(4.09)、胃内容物(3.74)、副腎(1.88)、腸管内容物(1.60)、生殖器部位脂肪(1.55)、脾臓(1.14)、腸間膜リンパ節(1.13)、腎臓(0.894)、大腿骨骨髓(0.777)、心臓(0.722)、下垂体(0.699)、膀胱(0.669)、脾臓(0.608)、甲状腺+胸腺+上皮小体(0.543)、皮膚(0.522)、骨格筋筋肉(0.503)、血液(0.359)	肝臓(0.029)、腎臓(0.016)、生殖器部位脂肪(0.009)、皮膚(0.007)、カーカス ³ (0.006)、腸間膜リンパ節及び脾臓(いずれも 0.005)、血液(0.004)、その他(0.004 未満)
		雌	胃(38.4)、胃内容物(28.2)、腸管(6.07)、腸管内容物(2.78)、肝臓(2.59)、副腎(2.09)、腸間膜リンパ節(1.65)、生殖器部位脂肪(1.62)、脾臓(1.59)、大腿骨骨髓(1.46)、卵巣(0.856)、腎臓(0.778)、甲状腺+胸腺+上皮小体(0.760)、心臓(0.749)、下垂体(0.722)、皮膚(0.654)、脾臓(0.647)、骨格筋筋肉(0.529)、肺(0.489)、子宮(0.435)、膀胱(0.395)、大腿骨(0.353)、血液(0.297)	肝臓(0.040)、腎臓(0.028)、生殖器部位脂肪(0.019)、皮膚(0.016)、脾臓(0.013)、副腎、腸間膜リンパ節及びカーカス(いずれも 0.008)、血液及び脾臓(いずれも 0.007)、その他(0.007 未満)

³ 組織・臓器を取り除いた残渣のことをカーカスという (以下同じ)。

25 mg/kg 体重	¹⁴ C- M.A ₄	雄	胃(217)、腸管(59.3)、肝臓(48.5)、腸管内容物(45.1)、胃内容物(40.8)、副腎(22.4)、生殖器部位脂肪(20.4)、腸間膜リンパ節(20.2)、脾臓(19.5)、腎臓(15.1)、大腿骨骨髓(11.7)、心臓(9.94)、肺(9.64)、下垂体(9.35)、甲状腺+胸腺+上皮小体(7.82)、脾臓(6.95)、皮膚(5.90)、骨格筋筋肉(5.36)、膀胱(5.10)、大腿骨(3.26)、血漿(3.09)、血液(2.70)	肝臓(0.274)、腎臓(0.145)、生殖器部位脂肪(0.114)、腸間膜リンパ節(0.058)、副腎及び皮膚(いずれも0.056)、脾臓(0.049)、心臓(0.045)、脾臓(0.035)、血液及び肺(いずれも0.032)、その他(0.03 未満)
		雌	胃(164)、腸管(57.8)、肝臓(48.1)、腸管内容物(43.4)、胃内容物(41.0)、副腎(25.4)、脾臓(22.7)、大腿骨骨髓(18.9)、腸間膜リンパ節(17.5)、生殖器部位脂肪(14.4)、腎臓(13.7)、肺(10.2)、心臓(10.1)、卵巣(9.75)、下垂体(9.30)、甲状腺+胸腺+上皮小体(8.97)、脾臓(7.71)、骨格筋筋肉(4.87)、皮膚(4.42)、子宮(4.38)、膀胱(3.86)、大腿骨(3.43)、血漿(2.98)、血液(2.51)	肝臓(0.310)、生殖器部位脂肪(0.238)、皮膚(0.197)、腎臓(0.188)、脾臓(0.086)、大腿骨骨髓(0.072)、副腎(0.068)、腸間膜リンパ節(0.067)、脾臓(0.065)、卵巣(0.059)、心臓(0.057)、膀胱(0.052)、肺(0.048)、血液(0.047)、その他(0.040 未満)

※低用量群の雄は投与3時間後、低用量群の雌及び高用量群の雌雄は投与2時間後

b. 反復投与

Fischer ラット (雌雄各 5 匹) に、低用量の非標識体を 14 日間反復経口投与後、15 日目に ¹⁴C-M.A₄ を低用量で単回経口投与し、分布試験が実施された。

最終投与 168 時間後に動物体内に残留する放射能は 0.44% TAR 以下であり、各組織器官の放射能濃度は単回投与群とほぼ同様であった。反復投与による蓄積性は認められないと考えられた。(参照 3)

③ 代謝物同定・定量

¹⁴C-M.A₄ を用いた単回投与による分布試験 [1. (2) ②a.] 及び排泄試験 [1. (2) ④a.]、反復投与による分布試験 [1. (2) ②b.] 及び排泄試験 [1. (2) ④b.] 並びに胆汁中排泄試験 [1. (2) ④c.] で得られた尿、糞及び胆汁を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、糞及び胆汁における代謝物は表 10 に示されている。

尿中では M.A₄ は検出されず、主要代謝物として M.A₄-⑥が認められた。未

同定物については、10種以上の成分より構成されていることが認められた。

糞抽出物の放射能分布パターンは、低用量群の雌雄における単回投与と反復投与ではほぼ同様であった。主要代謝物としてM.A₄-⑥及びM.A₄-⑦が認められ、M.A₄は検出されなかった。高用量投与群の糞ではM.A₄が主要成分で、31.0～37.4%TAR 検出された。

胆汁抽出物の放射能分布パターンは、投与量及び雌雄にかかわらず、採取した各時点でほぼ同様であった。主要代謝物としてM.A₄-⑥及びM.A₄-⑦が認められ、M.A₄は検出されなかった。

ラットにおけるM.A₄の代謝経路は、主に13位水酸化、それに続く30位等のさらなる水酸化であると推定された。胆汁抽出物のグルクロニダーゼ処理により、ジヒドロキシ化合物の生成を認めた。このことから、ジヒドロキシ体はグルクロン酸抱合されていると考えられた。(参照3)

表 10 尿、糞及び胆汁における代謝物 (%TAR)

試験	投与条件	試料	M.A ₄	代謝物
分布・排泄試験	2.5 mg/kg 体重 (単回経口)	尿	ND	M.A ₄ -⑥(2.62~6.20)
		糞	ND	M.A ₄ -⑥(6.81~9.97)、M.A ₄ -⑦(1.60~3.05)
	25 mg/kg 体重 (単回経口)	尿	ND	M.A ₄ -⑥(2.04~4.20)
		糞	31.0~37.4	M.A ₄ -⑥(3.31~4.47)、M.A ₄ -⑦(0.89~1.00)
胆汁中排泄試験	2.5 mg/kg 体重 (単回経口)	胆汁	ND	M.A ₄ -⑥(1.17~2.10)、M.A ₄ -⑦(0.72~1.04)
	25 mg/kg 体重 (単回経口)		ND	M.A ₄ -⑥(0.48~0.94)、M.A ₄ -⑦(0.67~0.80)
分布・排泄試験	2.5 mg/kg 体重 (反復経口)	尿	ND	M.A ₄ -⑥(1.95~4.56)
		糞	ND	M.A ₄ -⑥(7.95~10.1)、M.A ₄ -⑦(2.73~2.91)

注) 胆汁中排泄試験の値は投与24時間後までのものを採用。ND: 検出せず。

④ 排泄

a. 尿及び糞中排泄 (単回投与)

Fischer ラット (一群雌雄各5匹) に、¹⁴C-M.A₄ を低用量又は高用量で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

単回投与における尿及び糞中排泄率は表11に示されている。

投与した放射能の回収率は93.7～106%TARであり、糞中には81.5～100%TAR、尿中には3.6～13.9%TARの放射能が排泄された。投与放射能の排泄は速やかで、投与後24時間以内に約80%TAR以上が排泄された。(参照3)

表 11 単回投与における尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与量	2.5 mg/kg 体重				25 mg/kg 体重			
	雄		雌		雄		雌	
性別								
試料	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
投与後 24 時間	7.9	78.3	4.1	77.2	5.7	73.5	2.8	74.8
投与後 168 時間	13.9	84.8	5.7	100	11.8	81.5	3.6	92.8

注) 投与後 168 時間の尿試料にはケージ洗浄液を含む。

b. 尿及び糞中排泄 (反復投与)

Fischer ラット (雌雄各 5 匹) に、低用量の非標識体を 14 日間反復経口投与後、15 日目に $^{14}\text{C-M.A}_4$ を低用量で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

反復投与における尿及び糞中排泄率は表 12 に示されている。

大部分が糞中に排泄された。また、単回投与と比べ反復投与に排泄パターンの差は認められなかった。(参照 3)

表 12 反復投与における尿及び糞中排泄率 (%TAR)

性別	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
最終投与後 24 時間	6.1	78.9	4.1	82.1
最終投与後 168 時間	9.4	84.7	5.3	91.6

注) 最終投与後 168 時間の尿サンプルにはケージ洗浄液を含む。

c. 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入した Fischer ラット (一群雌雄各 4 匹) に、 $^{14}\text{C-M.A}_4$ を低用量又は高用量で単回経口投与し、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率は表 13 に示されている。

胆汁中には低用量群で約 40%TAR、高用量群で約 30%TAR が認められたことから、胆汁中排泄は本剤の主排泄経路であると考えられた。(参照 3)

表 13 投与後 48 時間の胆汁、尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与量	2.5 mg/kg 体重		25 mg/kg 体重	
	雄	雌	雄	雌
胆汁	41.0	43.8	35.7	27.6
尿	8.9	5.1	8.6	5.6
糞	36.2	44.7	55.3	64.8

注) 尿試料にはケージ洗浄液を含む。

(3) ヤギ

泌乳期ヤギ（品種：アルパイン種、ヌビアン種及びトッケンブルグ種、各群雌1匹）に¹⁴C-M.A₄を飼料中濃度10又は51 ppmで5日間反復カプセル経口投与し、体内運命試験が実施された。

最終投与24時間後の残留放射能濃度は表14に、乳汁及び各組織中の代謝物は表15に示されている。

残留放射能濃度は胆汁で高く、血中放射能濃度よりも高い残留放射能が肝臓、脂肪、腎臓及び筋肉で認められた。乳汁、脂肪及び筋肉において、主要代謝物はM.A₄-⑤であり、そのほかにM.A₄-⑥及びM.A₄-②が認められた。

投与開始後5日に乳汁中には0.21%TAR認められ、尿中へ3.73%TAR、糞中へ73.4%TAR排泄された。（参照74）

表14 最終投与24時間後の残留放射能濃度

試料	残留放射能濃度 (µg/g)
血液	0.015
脂肪	0.153
腎臓	0.091
肝臓	0.590
筋肉	0.021
胆汁	5.11

表15 乳汁及び各組織中の代謝物

試料	M.A ₄ (%TRR)	代謝物 (%TRR)
乳汁 ^a	16.5	M.A ₄ -⑥(6.17)、M.A ₄ -⑤(19.1)、M.A ₄ -②(4.30)
脂肪	33.0	M.A ₄ -⑤(14.4)、M.A ₄ -②(6.10)
腎臓	ND	—
肝臓	ND	—
筋肉	7.78	M.A ₄ -⑤(13.6)、M.A ₄ -⑥(7.07)

^a：投与4及び5日目

ND：検出せず —：同定可能な代謝物は検出されなかった。

2. 植物体内運命試験

(1) みかん

温州みかんの葉の表裏及び果実に、乳剤に調製した各種標識体を[5-³H]M.A₃又は[30-³H]M.A₃では3 µg/mL、[5-³H]M.A₄、[26-³H]M.A₄、[29-³H]M.A₄又は[30-³H]M.A₄では7 µg/mLとなるように水で希釈し塗布し、処理0、1、3、6、15、30、60及び90日後に葉を、処理0、15、30、60及び90日後に果実を採取した。また、乳剤に調製した¹⁴C-M.A₃を30 µg/mL又は¹⁴C-M.A₄を

70 µg/mLとなるように希釈して葉及び果実に塗布し、処理1及び3日後に葉及び果実試料を採取して、植物体内運命試験が実施された。

各³H標識M.A₄を塗布した葉の残留放射能は、3日後で33.6~70.0%TARであり、15日後では22.5~54.8%TARに減少した。M.A₄本体は処理1日後で90%TAR以上が分解し、15日後には1%TAR程度しか残存していなかった。³H標識M.A₄は分解によりトリチウム水等の揮散物質となって消失した。葉の表面の³H標識M.A₄の半減期は1日以内であったが、葉に取り込まれたM.A₄は葉の表面のM.A₄に比べて安定で、処理1日後に1.1~3.1%TAR、15日後に0.3~1.2%TARが残存し、葉中M.A₄の半減期は10~20日であった。M.A₄の代謝曲線は2相性であり、処理直後の速やかな消失の原因は葉面での光分解が関与していると考えられた。

未処理葉及び未処理果実と処理直後の処理葉の放射能濃度比は、処理15~90日後のいずれの時点においても、最高でM.A₃の場合500分の1以下、M.A₄で200分の1以下、未処理果実ではいずれも1,000分の1以下であり、処理葉からの放射能の移行性はほとんどなかった。

また、M.A₃及びM.A₄の5-³H標識体と30-³H標識体を比較すると、いずれの経過日数においても5-³H標識体の全放射濃度が低く、これは5-³H標識体が30-³H標識体より速やかに系外に消失するためと考えられた。

果実表面に処理した³H標識のM.A₃及びM.A₄の果皮中の放射能は、処理15日後以降、ほとんどが果皮中に取り込まれており、表面洗浄液からは僅かに2%TARが検出された。90日後には果皮中の残留放射能濃度は5-³H標識体と30-³H標識体の間に消失速度の差は認められず、4分の1から5分の1に減少した。M.A₃及びM.A₄の代謝は、葉の場合と同様に処理直後は急速に進行し、15日後の移行はゆるやかに進行する2相性を示した。果肉中の残留放射能濃度は処理放射能の250分の1以下であり、M.A₃及びM.A₄そのものはいずれも検出限界の0.01 µg/kg以下で可食部への移行性はなかった。

¹⁴C-M.A₄を塗布した葉では、処理1日後に61.1%TARが洗浄液に、19.9%TARが抽出液に、4.7%TARが残渣中に分布し、14.3%TARが¹⁴CO₂として消失した。3日後には42.1%TARが洗浄液に、25.7%TARが抽出液に、7.0%TARが残渣に分布し、25.2%TARが¹⁴CO₂として消失した。また、葉の表面のM.A₄は、処理1日後に14.5%TAR、3日後に3.0%TAR残存した。葉に取り込まれたM.A₄は、1日後4.0%TAR、3日後1.3%TARとなった。

代謝物としてM.A₄-②、③、④、⑧、⑨、⑩、⑪及び⑫が同定されたが、5%TARを越すものはなく、多数の微量代謝物が検出された。

¹⁴C-M.A₄を処理した葉及び果実から処理1日後から15日後にかけて20~30%TARの酸性物質が分離された。環状ラク톤のエステル開裂や加水分解物から酸性物質が生成したものと推定された。これらは多数の微量成分を含み、成分相互の分離を行うことができなかった。¹⁴C-M.A₃の場合も¹⁴C-M.A₄と代

謝様式は同等であった。また、 $[30\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_3$ 及び $[30\text{-}^3\text{H}]\text{M.A}_4$ の葉及び果実における代謝物の生成は、 $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ と同様であった。(参照 4)

(2) オレンジ

オレンジに、 $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ を、28.0 g ai/ha 又は 57.2 g ai/ha (標準量又は 2 倍量) の用量で散布処理し、処理 7 日後及び 14 日後に果実及び葉を採取して植物体内運命試験が実施された。

各試料中の総残留放射能及び代謝物は表 16 に示されている。

果実及び葉における主要な残留放射能成分は M.A_4 で、果皮において 0.007 ~ 0.039 mg/kg、葉において 0.167 ~ 0.878 mg/kg 検出された。代謝物として $\text{M.A}_4\text{-}\textcircled{10}$ 、 $\text{M.A}_4\text{-}\textcircled{4}$ が同定されたが、いずれも 10%TRR を超えなかった。(参照 75)

表 16 各試料中の総残留放射能及び代謝物

処理区	処理後日数	試料	総残留放射能濃度 (mg/kg)		M.A ₄		代謝物 (%TRR)
			抽出画分	抽出残渣	mg/kg	%TRR	
標準量	7 日	果皮	0.021	0.002	0.008	34.7	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (6.5)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (<4.6)
		果肉	0.003		/		
		葉	1.03	0.210	0.456	37.6	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (6.9)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (<6.9)
	14 日	果皮	0.031	0.005	0.007	19.2	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (4.7)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (<4.7)
		果肉	0.003		/		
		葉	0.989	0.252	0.258	23.1	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (4.8)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (<4.8)
2 倍量	7 日	果皮	0.066	0.006	0.039	55.3	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (8.5)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (3.3)
		果肉	0.005		/		
		葉	2.02	0.426	0.878	36.2	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (5.6)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (5.5)
	14 日	果皮	0.105	0.013	0.034	31.2	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (6.2)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (<4.8)
		果肉	0.009	0.002	/		
		葉	1.90	0.458	0.167	7.3	M.A ₄ - $\textcircled{10}$ (2.5)、M.A ₄ - $\textcircled{4}$ (<2.5)

斜線：分析せず

(3) りんご

りんご (品種：Granny Smith) に、 $^{14}\text{C}\text{-M.A}_4$ を、27.8 g ai/ha 又は 55.3 g ai/ha (標準量又は 2 倍量) の用量で散布処理し、処理 7 日後及び 14 日後に果実及び葉を採取して植物体内運命試験が実施された。

各試料中の総残留放射能及び代謝物は表 17 に示されている。

果実及び葉において、残留放射能濃度は、経時的に減少する傾向を示した。

果実中の M.A_4 の残留放射能濃度はいずれの処理区においても 0.003 mg/kg 以下であった。10%TRR を超える代謝物は認められなかった。(参照 76)

表 17 各試料中の総残留放射能及び代謝物

処理区	処理後日数	試料	試料内分布	総残留放射能濃度 (mg/kg)	M.A ₄		M.A ₄ - ¹⁰ (%TRR)	抽出残渣 (mg/kg)	
					mg/kg	%TRR			
標準量	7日	果実	抽出画分	メタノール	0.015	<0.001	<3.7	<3.7	0.003
				メタノール/水	0.001				
		果皮	抽出画分	メタノール	0.094				
				メタノール/水	0.008				
		果肉	抽出画分	メタノール	0.006				0.001
				メタノール/水	0.001				
	葉	抽出画分	メタノール	1.22	0.131	7.6	1.9	0.421	
			メタノール/水	0.125	0.001	0.1	0.1		
	14日	果実	抽出画分	メタノール	0.009	0.001	4.8	2.0	0.002
				メタノール/水	0.001				
		果皮	抽出画分	メタノール	0.026				
				メタノール/水	0.004				
		果肉			ND				
		葉	抽出画分	メタノール	0.693				0.055
メタノール/水	0.091			<0.002	<0.2	<0.2			
2倍量	7日	果実	抽出画分	メタノール	0.032	0.003	7.0	4.9	0.005
				メタノール/水	0.002				
		果皮	抽出画分	メタノール	0.192				
				メタノール/水	0.019				
		果肉	抽出画分	メタノール	0.015				0.002
				メタノール/水	0.001				
	葉	抽出画分	メタノール	2.28	0.095	3.1	1.8	0.626	
			メタノール/水	0.261	0.006	0.2	<0.2		
	14日	果実	抽出画分	メタノール	0.011	0.001	4.2	3.4	0.003
				メタノール/水	0.001				
		果皮	抽出画分	メタノール	0.113				
				メタノール/水	0.015				
		果肉			0.007				
		葉	抽出画分	メタノール	1.61				0.109
メタノール/水	0.233			<0.015	<0.6	<0.6			

斜線：分析せず

ND：検出せず

(4) なす

三葉期のなす (品種：千両2号) を[30-³H]M.A₄を0.5 mg/kgとなるように混和した土壌に定植し、処理1、3、6、9及び30日後に根部と茎葉部を採取して、植物体内運命試験が実施された。

残留放射能は、処理 30 日後において茎葉部で 0.04% TAR、根部で 0.08% TAR であり、いずれも吸収、移行性は少なかった。茎葉部の放射能の性質を調べたところ、移行した 80% 以上が水溶性物質あるいは酸性物質であり、M.A₄ が土壌あるいは根で代謝分解し、生成した高極性の代謝物が移行したものと考えられた。なお、土壌中の放射能は、処理 30 日後には 68.7% TAR に減衰し、土壌中で分解されて揮発性物質を生成して消失したと考えられた。(参照 4)

(5) 茶

茶(品種: やぶきた)葉の表裏に、乳剤に調製した [30-³H]M.A₃ 又は [30-³H]M.A₄ を、M.A₃ では 3 µg/mL、M.A₄ では 7 µg/mL、¹⁴C-M.A₃ 又は ¹⁴C-M.A₄ では 100 µg/mL となるように水で希釈して 0.4 mL 塗布し、処理 0、1、3、6 及び 15 日後に葉を採取して、植物体内運命試験が実施された。

4 種類の放射能標識ミルベメクチンの処理葉における残留放射能は、処理 1 日後で 82.9~84.9% TAR であり、15 日後で 62.8~63.1% TAR に減少した。処理葉における親化合物は、処理 1 日後で 12.6~13.9% TAR、15 日後では 1.9~2.1% TAR であり、処理葉からの消失は速やかであった。M.A₃ 及び M.A₄ の処理直後の減少速度は、半減期が 1 日以内と速やかであり、葉の表面での光分解が主原因であり、処理 6 日以降のゆるやかな分解には主として植物による代謝分解(半減期 10~15 日)が関与しているものと考えられた。

未処理葉と [30-³H]M.A₃ の処理葉の処理 1~15 日後の放射能濃度比は 1,000 分の 3 以下であり、放射能の移行性はほとんどなかった。その他の M.A₃ 及び M.A₄ の場合も同様であった。

¹⁴C-M.A₃ 又は ¹⁴C-M.A₄ を処理した葉から同定された代謝物は、M.A₃ (同 M.A₄) -②、③、④、⑧、⑨、⑩、⑪及び⑫であった。処理 1 日後では、これら代謝物の生成量はいずれも少なく、3 日後ではさらに代謝が進み、多数のより極性の高い代謝物が生成した。

[30-³H]M.A₃ 及び [30-³H]M.A₄ 処理葉における親化合物は、処理 1 日後でそれぞれ 13.9 及び 12.6% TAR であり、15 日後には 2.1 及び 1.9% TAR に減少した。処理 1 日後には既に多数の代謝物 (M.A₃-及び M.A₄-②、③、④、⑧、⑨、⑩、⑪及び⑫) が生成したが、5% TAR を超すものはなかった。また、酸性成分が 26.5 及び 24.0% TAR 生成したが、15 日後には 17.3 及び 15.5 %TAR に減少した。これらはラクトン環の加水分解によると考えられた。なお、処理 15 日後には代謝物の残留量はそれぞれ 0.1% TAR 以下となった。(参照 5)

(6) いちご

ポット栽培したいちご(品種: Tristar)に、乳剤に調製した ¹⁴C-M.A₄ を、22.3 g ai/ha (1 倍処理区) 又は 88.0 g ai/ha (4 倍処理区) 散布処理し、処理 1 日後に 1 倍処理区及び 4 倍処理区から、処理 3 日後に無処理区、1 倍処理区

及び4倍処理区から果実及び茎葉部(葉柄を含む)を採取して植物体内運命試験が実施された。

1倍処理区で認められた放射能濃度は、処理1及び3日後における果実で0.040及び0.037 mg/kg、茎葉部で1.17及び1.43 mg/kg、洗浄果実で0.025及び0.028 mg/kgであった。4倍処理区で認められた放射能濃度は、処理1及び3日後における果実で0.146及び0.168 mg/kg、茎葉部で4.31及び3.79 mg/kg、洗浄果実で0.102及び0.114 mg/kgであり、1倍処理区の値と比較して処理量に比例した濃度であった。

各試料の残留放射能の主要成分は親化合物であり、果実、茎葉部及び洗浄果実で総残留放射能(TRR)の43.5~88.8%検出された。代謝物としてM.A₄⑩のみが認められ、茎葉部試料から2.1~4.1%TRR、4倍処理区の洗浄果実から0.9%TRR検出された。(参照6)

3. 土壤中運命試験

(1) 好氣的土壤中運命試験

6種類の国内土壌を用いて、次の4条件で好氣的土壌運命試験が実施された。

- i) [5-³H]M.A₄を沖積土・砂壤土(滋賀:野洲土壌)、火山灰土・埴壤土(栃木:宇都宮土壌、静岡:静岡土壌)、沖積土・埴壤土(福岡:福岡土壌)、鈹質土・埴壤土(広島:広島土壌)及び火山灰土・軽埴土(茨城:牛久土壌)に0.5 mg/kg 乾土となるように添加し、25℃の暗条件下で、野洲土壌及び宇都宮土壌は180日間、福岡土壌、広島土壌、静岡土壌及び牛久土壌は30日間インキュベート。
- ii) [5-³H]M.A₃を野洲土壌及び宇都宮土壌に0.5 mg/kg 乾土となるように添加し、25℃の暗条件下で180日間インキュベート。
- iii) [5-³H]M.A₃と¹⁴C-M.A₄の3対7の混合物を、野洲土壌及び宇都宮土壌に0.5 mg/kg 乾土となるように添加し、25℃の暗条件下で180日間インキュベート。
- iv) [5-³H]M.A₄を滅菌宇都宮土壌(120℃で1時間オートクレーブ)に0.5 mg/kg 乾土となるように添加し、25℃の暗条件下で60日間インキュベート。

好氣的条件下において、M.A₃及びM.A₄はいずれの土壌でも土性にかかわらず速やかに分解し、その推定半減期は10~15日であった。野洲土壌及び宇都宮土壌での処理180日後において、[5-³H]M.A₃は1.4~2.3%TAR、[5-³H]M.A₄は0.9~2.0%TARが認められるのみであった。

系外に消失する放射能(¹⁴CO₂又は水)は、15日後に[5-³H]M.A₃処理で19.7~25.2%TAR、[5-³H]M.A₄処理では16.8~19.0%TAR、180日後には[5-³H]M.A₃処理で70.6~89.5%TAR、[5-³H]M.A₄処理では59.0~83.3%TARであった。なお、無菌条件下では[5-³H]M.A₄は60日間の試験で分解は認められなかった。

主な分解物として、処理 30 日後に M.A₃(同 M.A₄)-③+⑫が最大 9.8%TAR、M.A₃(同 M.A₄)-④が最大 18.7%TAR に達したが、180 日後にはそれぞれ 2.3 及び 5.4%TAR に減少した。その他 M.A₃(同 M.A₄)-⑧及び②が生成したが、残留放射能はいずれも 3%TAR 以下であった。

[5-³H]M.A₃ と ¹⁴C-M.A₄ が混在した時の両者の分解性は、M.A₃ と M.A₄ を単独で処理した際とほぼ同様であった。¹⁴CO₂ 及び水が処理後 180 日で 58.3 ~ 76.7%TAR 及び 72.7 ~ 82.5%TAR 生成しており、³H の消失が ¹⁴CO₂ の発生とほぼ並行して認められた。(参照 7)

(2) 嫌氣的土壤中運命試験

[5-³H]M.A₄ を沖積土・砂壤土(滋賀：野洲土壤)及び火山灰土・埴壤土(栃木：宇都宮土壤)に 0.5 mg/kg 乾土となるように添加し、25°C の暗条件下で 180 日間インキュベートし、M.A₄ の嫌氣的土壤運命試験が実施された。

M.A₄ は野洲土壤及び宇都宮土壤においてほとんど分解せず、180 日後においても 85 ~ 87%TAR が M.A₄ として認められた。分解物は全く検出されなかった。(参照 7)

(3) 土壤溶脱試験

火山灰土・埴壤土(岩手：東北土壤)及び沖積土・砂壤土(滋賀：大中土壤)の土壤薄層を用いた移動試験、並びに沖積土・砂壤土(滋賀：野洲土壤)及び火山灰土・埴壤土(栃木：宇都宮土壤)の土壤カラムを用いた溶脱試験が実施された。土壤薄層試験では、¹⁴C-M.A₃ 及び ¹⁴C-M.A₄ を用い、¹⁴C-2,4-D 及び ¹⁴C-シマジン を対照化合物とした。土壤カラム溶脱試験では、[30-³H]M.A₃ 又は [30-³H]M.A₄ を 5 mg/kg 乾土となるように添加し、処理直後又は 20 日間放置した後、カラム試験に供した。土壤カラムには 1 週間水を 120 ~ 130 mL/日流した後、分割して放射能の分布を調べた。

土壤薄層上では、2,4-D とシマジンは原点から移動したが、M.A₃ 及び M.A₄ は原点から移動しなかった。土壤カラムによる溶脱試験では、[30-³H]M.A₃ 及び [30-³H]M.A₄ 処理土壤のいずれにおいても、処理直後では表層 4 cm までの土壤中にほとんどの放射能が存在しており、77.5 ~ 95.5%TAR が残存していた。そのうち、M.A₃ は 55.5 ~ 57.0%TAR、M.A₄ は 52.3 ~ 62.6%TAR が残存し、分解物として M.A₃(同 M.A₄)-②、③+⑫、④が検出されたが、いずれも 10%TAR 以下であった。

[30-³H]M.A₄ 処理の 20 日間放置後土壤においても、表層 4 cm までの土壤中に大部分の放射能(53.1 ~ 54.7%TAR)が残存し、分解物プロファイルは処理直後土壤と類似していた。

これらの試験の結果から、分解物を含め M.A₃ 及び M.A₄ には溶脱性がないと考えられた。(参照 7)

(4) 土壤吸着試験

4種類の国内土壌〔埴壤土（北海道）、埴壤土（福島）、砂質埴壤土（岡山）、砂土（宮崎）〕を用いてミルベメクチン（M.A₃ 22.8%、M.A₄ 73.0%含有）の土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 7.49～37.4、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 438～3,850 であった。（参照 8）

4. 光分解試験

(1) 光分解性（M.A₃、M.A₄ 及びミルベメクチン）

M.A₃、M.A₄ 又はミルベメクチンのアセトニトリル溶液をシャーレに 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後、太陽光、ブラックランプ又は殺菌灯を照射し、M.A₃、M.A₄ 及びミルベメクチンの光分解試験が実施された。また、石英三角フラスコを用い、酸素を遮断した区における光分解性を別途確認した。

薄膜状態での M.A₃ 及び M.A₄ の太陽光による光分解推定半減期は、日本の5月の晴天下で 2～3 時間であった。ミルベメクチン中の M.A₃ 及び M.A₄ の推定半減期は単独で処理した場合と同じであった。

酸素を遮断した区では、太陽光による分解は抑えられた。

M.A₃、M.A₄ 及びミルベメクチンの分解は、ブラックランプ、殺菌灯下においても分解速度は光源の波長特性により異なったが、速やかに進行した。（参照 9）

(2) 光分解物の検索

¹⁴C-M.A₃ 又は ¹⁴C-M.A₄ のアセトニトリル溶液をシャーレに 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後、太陽光を照射し、M.A₃、M.A₄ の光分解物の検索が実施された。

同定された分解物は、M.A₃（同 M.A₄）-②、③、④、⑧、⑩及び⑫であった。M.A₃ 及び M.A₄ は速やかに分解し、5 日後には M.A₄ 以外 2 次元 TLC 上でスポットとしてまとまるものはなく、テーリング状となり多数の微量分解物となった。（参照 9）

(3) 光分解性（光分解物）

M.A₄ の光分解物である M.A₄-②、③、⑧又は⑩のアセトニトリル溶液をシャーレに 1 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 塗布し、溶媒を留去後、太陽光を照射し、M.A₄ 分解物の光分解試験が実施された。

分解物 M.A₄-②、③、⑧及び⑩の光分解推定半減期は 0.2～2.4 時間であり、速やかに分解した。（参照 9）

5. 水中運命試験

(1) 加水分解試験① ($^{14}\text{C-M.A}_3$ 及び $^{14}\text{C-M.A}_4$)

$^{14}\text{C-M.A}_3$ 又は $^{14}\text{C-M.A}_4$ を、pH 9.0 のリン酸塩緩衝液にそれぞれ約 400 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗条件下で 31 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

M.A_3 及び M.A_4 の減少は緩やかで、処理後 31 日の放射エネルギーはそれぞれ 94.5 及び 95.9% TAR であった。 M.A_3 及び M.A_4 の推定半減期は、それぞれ 385 及び 365 日であった。

分解物として M.A_3 (同 M.A_4) -⑩が認められたが、生成量は微量であり定量はできなかった。(参照 10、11)

(2) 加水分解試験② (M.A_3 及び M.A_4)

M.A_3 又は M.A_4 を pH 4.0 及び 7.0 (ともにリン酸塩緩衝液) 並びに pH 9.0 (ホウ酸塩緩衝液) の各緩衝液にそれぞれ 12 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し、 $50 \pm 1^\circ\text{C}$ で 5 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

M.A_3 及び M.A_4 は、pH 4.0 及び 7.0 の緩衝液において 83~95% TAR、pH 9.0 の緩衝液では 60~69% TAR となり、減少が認められた。(参照 12、13)

(3) 加水分解試験③ (M.A_3 及び M.A_4)

M.A_3 あるいは M.A_4 を pH 1.2 (塩酸緩衝液)、pH 4.0 (クエン酸塩緩衝液)、pH 7.0 (リン酸塩緩衝液) 及び pH 9.0 (ホウ酸塩緩衝液) の滅菌緩衝液にそれぞれ 400 $\mu\text{g/L}$ となるように添加し、pH 1.2 では 37°C の暗条件下で 30 日間、pH 4.0、7.0 及び 9.0 では 25 及び 40°C で 60 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

M.A_3 及び M.A_4 の推定半減期は、pH 4.0 及び 7.0 で 1 年以上と安定であったが、pH 9.0 では、 25°C で 270~340 日、 40°C で 43~45 日であった。また、pH 1.2 での推定半減期は 35~40 日であった。(参照 14、15)

(4) 水中光分解試験① ($^{14}\text{C-M.A}_3$ 及び $^{14}\text{C-M.A}_4$)

$^{14}\text{C-M.A}_3$ 又は $^{14}\text{C-M.A}_4$ のメタノール溶液を、蒸留水 (pH 7.44)、自然水 (河川水、滋賀、pH 7.19) に加えて約 400 $\mu\text{g/L}$ の溶液を調製し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ でキセノンランプ (光強度: 99~102 W/m^2 、測定波長: 300~700 nm) を 3 日間連続照射して水中光分解試験が実施された。

両供試水において M.A_3 及び M.A_4 の分解は速やかで、照射 3 日後の放射エネルギーは蒸留水及び自然水で、 M.A_3 が 15.0 及び 27.6% TAR、 M.A_4 が 16.9 及び 24.0% TAR であった。光分解物として M.A_3 (同 M.A_4) -⑩が照射 3 日後に 4.0~8.0% TAR 認められた。他に、 M.A_3 (同 M.A_4) -②、③及び⑤を同定したが、生成量は微量であった。照射 3 日後には $^{14}\text{CO}_2$ が 0.3~1.8% TAR 検出された。

推定半減期は M.A₃ で 22.9～35.5 時間、M.A₄ で 26.5～31.9 時間であった。太陽光（北緯 35°、春）照射に換算した推定半減期は、M.A₃ で 28.6～44.4 時間、M.A₄ で 33.1～39.9 時間であった。また、主分解物 M.A₃（同 M.A₄）^⑩の推定半減期も 26.6～45.0 時間と短かった。（参照 16、17）

（5）水中光分解試験②（M.A₃ 及び M.A₄）

M.A₃ 又は M.A₄ を滅菌した蒸留水（pH 6.75）及び自然水（河川水、滋賀、pH 7.03）に約 400 µg/L となるように加えた後、25.2°C でキセノンランプ（光強度：100 W/m²、測定波長：300～700 nm）を 7 日間連続照射して水中光分解試験が実施された。

両供試水において M.A₃ 及び M.A₄ の分解は速やかで、照射 7 日後の残存率は極めて小さかった（0.6% TAR 以下）。推定半減期は、蒸留水及び自然水いずれも M.A₃ で 16.8～19.2 時間（0.7～0.8 日）、M.A₄ で 14.4 時間（0.6 日）であった。（参照 18、19）

6. 土壌残留試験

火山灰土・埴壤土（茨城）及び沖積土・砂壤土（滋賀）を用いて、ミルベメクチン（M.A₃ 及び M.A₄）を分析対象化合物とした土壌残留試験（容器内及び圃場）が実施された。推定半減期は表 18 に示されている。（参照 20）

表 18 土壌残留試験成績

試験	濃度*	土壌	推定半減期（日）
			ミルベメクチン
容器内試験	0.8 mg/kg	火山灰土・埴壤土	12
		沖積土・砂壤土	18
圃場試験	150 g ai/ha ×2	火山灰土・埴壤土	33
		沖積土・砂壤土	16

※容器内試験で純品、圃場試験で乳剤を使用

7. 作物残留試験

野菜、果実、豆類及び茶を用いて、ミルベメクチン（M.A₃ 及び M.A₄）を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

結果は別紙 3 及び 4 に示されている。国内で実施された試験におけるミルベメクチン（M.A₃+M.A₄）の最大残留値は、しそ（葉）の最終散布 1 日後における 1.46 mg/kg であった。海外の試験における最大残留値は、アボカド（果肉）の最終散布 1 日後における 0.021 mg/kg であった。（参照 21～23、77、78、88、89）

別紙3の作物残留試験の分析値を用いて、ミルベメクチンを暴露評価対象化合物とした際に食品中から摂取される推定摂取量が表19に示されている（別紙5参照）。

なお、本推定摂取量の算定は、登録されている又は申請された使用方法からミルベメクチンが最大の残留を示す使用条件で、全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表19 食品中から摂取されるミルベメクチンの推定摂取量

	国民平均 (体重:53.3 kg)	小児 (1~6歳) (体重:15.8 kg)	妊婦 (体重:55.6 kg)	高齢者 (65歳以上) (体重:54.2 kg)
摂取量 ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	20.6	16.5	18.9	20.6

8. 一般薬理試験

マウス、ラット及びウサギを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表20に示されている。（参照24）

表20 一般薬理試験

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要
中枢神経系	ddY マウス	雄 12	0, 1, 10, 100 (経口) ^a	100	—	ほとんど影響なし
		雄 10		10	100	100 mg/kg 体重で麻酔 持続時間延長
				10	100	100 mg/kg 体重で軽度 の抑制
				10	100	100 mg/kg 体重で軽度 の抑制
				100	—	ほとんど影響なし
呼吸循環器系	SD ラット	雄 5	0, 100 (十二指腸) ^a	100	—	ほとんど影響なし
平滑筋	日本 白色種 ウサギ	雄 5	10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} g/mL (<i>in vitro</i>) ^b	10^{-5} g/mL	10^{-4} g/mL	10^{-4} g/mL で、摘出ウ サギ回腸自発運動に対 して軽度の抑制

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	最大無作用量 (mg/kg 体重)	最小作用量 (mg/kg 体重)	結果の概要	
消化器系	腸管内輸送能	ddY マウス	雄 10	0, 1, 10, 100 (経口) ^a	100	—	ほとんど影響なし
骨格筋	神経-筋	SD ラット	雄 5	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL (<i>in vitro</i>) ^b	10 ⁻⁵ g/mL	10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁴ g/mL 投与群で、 軽度の収縮力抑制
血液	血液凝固	SD ラット	雄 10	0, 1, 10, 100 (経口) ^a	100	—	ほとんど影響なし

注) 溶媒として^aは1%Tween80を、^bは10%DMSOを用いた。

—: 最小作用量が設定できない。

9. 急性毒性試験

(1) 急性毒性試験 (原体)

ミルベメクチン原体のマウス、ラット及びイヌを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 21 に示されている。(参照 25~29)

表 21 急性毒性試験結果概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	ICR マウス 雌雄各 10 匹	324	313	鎮静、歩行異常及び歩行困難
	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	762	456	呼吸不整、うずくまり、ふらつき歩行、歩行不能若しくは正向反射消失、体温低下及び流涙、体重減少又は増加抑制
	ビーグル犬 雌雄各 2 匹	確実中毒量		嘔吐、流涎、鎮静、振戦、体重減少、摂餌量減少、肺暗赤色化及び水腫、胃粘膜の赤色化及び偽膜様物附着
	400	400		
経皮	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
吸入	Fischer ラット 雌雄各 10 匹	LC ₅₀ (mg/L)		閉眼及び遅くて深い呼吸、口鼻及び眼周囲の赤褐色の汚れ、異常姿勢、自発運動低下、陰部及び口鼻周囲の濡れ、よろめき歩行、眼球色の暗調化、流涙、陰部周囲の被毛の汚れ及び眼周囲の脱毛、体重減少又は増加抑制、途中死亡動物で鼻吻部・陰部

		1.90	2.80	周囲の被毛の汚れ、喉頭・気管内白色内容物、眼脂又は流涙
--	--	------	------	-----------------------------

(2) 急性毒性試験（代謝物及び原体混在物）

ミルベメクチンの代謝物及び原体混在物の ddY マウス（雌雄各 6～10 匹）を用いた急性経口毒性試験が実施された。結果は表 22 に示されている。（参照 30）

表 22 急性経口毒性試験結果概要（代謝物及び原体混在物）

被験物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
	雄	雌	
M.A ₃ -②	>5,000	>5,000	行動不活発、腹位の姿勢及び立毛
M.A ₄ -②	>5,000	>5,000	自発行動の抑制、腹位の姿勢、失禁及び下痢
M.A ₃ -④	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
M.A ₄ -④	3,880	3,550	行動不活発、ふらつき及び脱力
M.A ₃ -⑧	>2,000	≥2,000	自発行動抑制、腹這い、呼吸数減少及び異常鼻音
M.A ₄ -⑧	204	176	自発行動抑制、腹這い、呼吸数減少及び異常鼻音
M.A ₃ -⑩	490	520	自発行動抑制、ふらつき歩行、脱力及び呼吸数減少
M.A ₄ -⑩	1,570	1,520	行動停止、脱力、腹這い及び呼吸数減少
A	>5,000	>5,000	軽度の行動不活発、腹這い及び呼吸数減少
B	>5,000	>5,000	行動不活発、呼吸数減少及び脱力症状

(3) 急性毒性試験（M.A₃ 及び M.A₄）

M.A₃ 及び M.A₄ のマウス及びラットを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 23 に示されている。（参照 31～32）

表 23 急性毒性試験結果概要（M.A₃ 及び M.A₄）

投与経路	動物種	被験物質	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	M.A ₃	3,100	1,650	鎮静、伏臥位、流涙、尿失禁、呼吸微弱、体温降下及び体重増加抑制
		M.A ₄	340	390	鎮静、呼吸微弱及び体温降下
経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	M.A ₃	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし
		M.A ₄	>2,000	>2,000	症状及び死亡例なし

(4) 急性神経毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 5~10 匹) を用いた強制経口 (原体: 0、20、60、100 及び 500 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。なお、最初の日に 500 mg/kg 体重を投与した雌 5 匹が死亡したため、500 mg/kg 体重投与群の残りの雌 5 匹への投与量を変更し、これら 5 匹と代替用の 3 匹に 60 mg/kg 体重の用量で投与した。

本試験での死亡率は表 24 に示されている。500 mg/kg 体重投与群の雌で死亡率が 100%となった。

表 24 急性神経毒性試験 (ラット) における死亡率

投与量 (mg/kg 体重)		0	20	60	100	500
死亡数 /供試動物数	雄	0/10	0/10	—	0/10	0/10
	雌	0/10	0/10	0/8	1/10	5/5

各投与群で認められた毒性所見は表 25 に示されている。

500 mg/kg 体重投与群の雄で、投与 1 日に握力の低下がみられ、これは同群の全体的な自発運動の減少と相関していた。20 mg/kg 体重以上投与群の雌雄では投与 1 日に自発運動量の低下が認められた。

本試験において、20 mg/kg 体重以上投与群の雌雄に自発運動量低下が認められたので、無毒性量は雌雄とも 20 mg/kg 体重未満であると考えられた。(参照 33)

表 25 急性神経毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
500 mg/kg 体重	・握力低下	・うずくまり姿勢 ・活動不活発 ・角膜反応の欠如を伴う接近 又は接触に対する無反応及び空中正向反射の欠如
100 mg/kg 体重以上	・運動失調、活動低下	・死亡
60 mg/kg 体重以上		・振戦、運動失調、活動低下、横臥及び呼吸不整
20 mg/kg 体重以上	・自発運動量低下	・自発運動量低下

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施され、ミルベメクチン原体にウサギの眼に対して軽度の刺激性が認められ、皮膚刺激性は認められなかった。(参照 34、35)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法及び Maximization