

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## 1. 動物体内運命に関する試験

### (1) $^{14}\text{C}$ 標識ベンチアバリカルブイソプロピルを用いたラット体内における代謝試験

(資料B-1)

試験機関：

[GLP 対応]

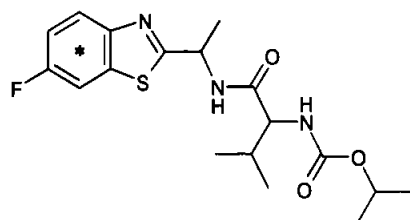
報告書作成年：2001 年

供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl[(S)-1-{{(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl}carbamoyl}-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造；



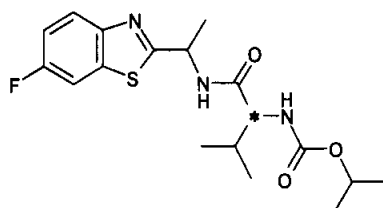
\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Val- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造；



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

[標識位置の設定理由]

供試動物：Fischer CDF Crl:BR (F-344) 系ラット、1群雌雄各2または5匹

各試験項目に使用したラットの週齢と体重を表1に示す。

表1 ラット週齢及び体重

試験項目		ラット週齢 (入荷時)	ラット体重 (入荷時)
単回投与 [Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	予備試験 薬物キネティクス 排泄バランス 胆汁排泄 (雄) 組織分布	約 6-10 週齢	105-256 g
単回投与 [Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	胆汁排泄 (雌) (胆管カニュレト装着済み ラットを購入)	約 6-10 週齢	128-153 g

飼育環境；入手後から屠殺時まで飼料及び水道水を自由に摂取させ、下記環境に飼育した。

馴化期間；3 日以上

温度；19～24℃

湿度；42～67 %

照明；12 時間の明暗サイクル (6:00 - 18:00 明期)

空調；最低 10 回交換/h

ケージ； 馴化期間；金網床ポリプロピレンケージで群飼育 (max 5 匹/ケージ)

予備試験；ガラス製代謝ケージで、投与直後から屠殺まで個別別に飼育

薬物動態試験、組織分布試験；金網床ポリプロピレンケージで群飼育

排泄バランス試験；ガラス製代謝ケージで、投与直後から屠殺まで個別別に飼育

胆汁排泄試験；ガラス製代謝ケージで、処置前から屠殺まで個別別に飼育

#### 試験方法：

##### 1) 投与用量

用量；5 mg/kg 及び 400 mg/kg

投与方法；単回経口強制投与

用量設定；低用量の 5mg/kg は毒性試験における無影響量より設定した。

ラットを用いた急性経口毒性における LD50 値は、5000 mg/kg 以上であるので、1000 mg/kg の用量を目標としたが、高濃度では放射性物質の投与液が不均一となり調製できなかった。そこで技術的に調製可能な 400 mg/kg を高用量として設定した。

投与液の調製；<sup>14</sup>C 標識ベンチアバリカルブイソプロピルを非放射性標品 (純度 99.96 %) で希釈し、Tween 80 及び 0.5 %カルボキシメチルセルローズ水溶液に均一に懸濁し投与液とした。

投与液は 72 時間安定。均一性は投与前後に確認し良好であった。

##### 2) 試験群

試験群の構成を表 2 に示す。

表2 試験群の構成

群識別	試験項目	標識体	用量 (mg/kg)	投与回数 経路	群構成	採取試料及び採取時点 (投与後時間)	
A1 A2 A3 A4	予備試験	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C] [Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	400	単回 経口	♂2・♀2 ♂2・♀2 ♂2・♀2 ♂2・♀2	呼吸； 0～12, 12～24, 24～48 h 尿、糞、ケージ洗液、ケージ残渣； 約24 h 毎に168 h まで 血液； 168 h 屍体； 168 h	
B1	薬物動態試験	[Bz- <sup>14</sup> C]	5	単回 経口	♂5・♀5	血液； 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72 h	
C1			400		♂5・♀5	血液； 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72, 120, 168 h	
B2		[Val- <sup>14</sup> C]	5	単回 経口	♂5・♀5	血液； 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72 h	
C2			400		♂5・♀5	血液； 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72, 120, 168 h	
D1 E1	排泄バランス	[Bz- <sup>14</sup> C]	5	単回 経口	♂5・♀5	尿； 6, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144, 168 h 糞； 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 144, 168 h ケージ洗液、ケージ残渣； 糞採取時点と同じ	
D2 E2			[Val- <sup>14</sup> C]				5
F1 G1		組織分布		[Bz- <sup>14</sup> C]	5	単回 経口	♂12・♀12
F2 G2			400		♂12・♀12		
	[Val- <sup>14</sup> C]		5	単回 経口		♂12・♀12	血液、組織、屍体； 2, 6, 24 h (各時点♂・♀各4匹)
			400		血液、組織、屍体； 8, 24, 48 h (各時点♂・♀各4匹)		
H1 I1	胆汁排泄	[Bz- <sup>14</sup> C]	5	単回 経口	♂3・♀3	尿、糞、ケージ洗液、ケージ残渣； 24, 48 h	
H2 I2			[Val- <sup>14</sup> C]				5
		[Val- <sup>14</sup> C]		400	単回 経口	♂3・♀3	屍体； 48 h
			400	屍体； 48 h			

結果：

1) 予備試験

主要排泄経路は糞であった。また、炭酸ガストラップの放射能は無視できるレベル（投与量対比 0.05%以下）であった。従って本試験では炭酸ガスの捕集は行わなかった。

2) 吸収・排泄

① 血中濃度推移

各採取時点でラットの外側尾静脈から血液約 250  $\mu$ L を採取した。最終血液採取後、動物は二酸化炭素で窒息死させ、その屍体は廃棄。血液・血漿は放射能を液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

血中濃度の分析値より計算した薬物動態パラメータを表 3 及び 4 に示す。

ベンチアバリカルブイソプロピルの吸収は標識体及び用量に関係なく速やかであった。低用量の [Bz-<sup>14</sup>C] 群では血中からほぼ完全に排泄されたが、[Val-<sup>14</sup>C] 群では完全には消失しなかった。また、高用量では [Bz-<sup>14</sup>C] 群、[Val-<sup>14</sup>C] 群ともに 168 時間内では完全には消失しなかった。

薬物動態パラメーターは、性間に顕著な差はなかったが、用量間及び標識体間に差があった。血漿 C<sub>max</sub> では投与用量の 80 倍増加に対し、[Bz-<sup>14</sup>C] では 15 倍、[Val-<sup>14</sup>C] では約 40~50 倍の増加であった。また、[Val-<sup>14</sup>C] の C<sub>max</sub>、T<sub>1/2elim</sub> 及び AUC は [Bz-<sup>14</sup>C] に比べて高い値であった。

表 3-1 ベンチアバリカルブイソプロピルを 5 mg/kg の用量で投与したラットの平均血中濃度  
( $\mu$ g equiv./g)

標識体 試験群	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
	B1				B2			
試料 時間	血漿		血液		血漿		血液	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1 h	0.514	0.460	0.302	0.331	0.476	0.526	0.382	0.391
2 h	0.378	0.386	0.217	0.263	0.586	0.509	0.415	0.391
4 h	0.349	0.357	0.212	0.283	0.507	0.532	0.395	0.418
6 h	0.411	0.509	0.267	0.373	0.681	0.646	0.544	0.469
8 h	0.349	0.506	0.263	0.393	0.616	0.579	0.454	0.465
12 h	0.218	0.413	0.209	0.378	0.509	0.503	0.358	0.406
16 h	0.156	0.315	0.116	0.260	0.379	0.354	0.291	0.288
24 h	0.087	0.197	0.088	0.157	0.338	0.297	0.250	0.228
48 h	0.021	0.062	0.011	0.064	0.145	0.104	0.200	0.167
72 h	0.005	0.024	ND	0.038	0.086	0.078	0.175	0.156
120 h	—	—	—	—	0.084	0.070	0.144	0.131
168 h	—	—	—	—	0.056	0.046	0.140	0.118

ND：検出せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 3-2 ベンチアバリカルブイソプロピルを 5 mg/kg の用量で投与したラットの薬物動態パラメーター

標識体	試料	性	C <sub>max</sub> ( $\mu$ g equiv./g)	T <sub>max</sub> (h)	T <sub>1/2elim</sub> (h)	AUC(0-t) ( $\mu$ g equiv.h/g)	AUC(0- $\infty$ ) ( $\mu$ g equiv.h/g)
[Bz- <sup>14</sup> C] 試験群 ; B1	血漿	♂	0.53	2.0	16.27	6.86	7.91
		♀	0.55	4.4	20.62	12.68	13.57
	血液	♂	0.32	3.4	15.05	4.52	5.99
		♀	0.42	9.2	34.91	10.70	12.97
[Val- <sup>14</sup> C] 試験群 ; B2	血漿	♂	0.68	6.0	148.5	27.18	38.69
		♀	0.65	6.0	126.6	24.04	32.46
	血液	♂	0.56	5.4	312.0	32.80	96.72
		♀	0.50	6.8	362.7	29.91	91.88

表 4-1 ベンチアバリカルブイソプロピルを 400 mg/kg の用量で投与したラットの平均血中濃度

( $\mu$ g equiv./g)

標識体	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
	試験群							
	C1				C2			
試料	血漿		血液		血漿		血液	
時間	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1 h	3.370	3.557	0.621	0.545	4.061	8.101	2.924	5.471
2 h	4.317	4.171	3.288	3.718	8.880	12.94	6.945	10.92
4 h	5.141	5.594	4.238	4.967	14.70	17.63	12.48	14.66
6 h	6.783	6.874	5.823	6.563	20.51	20.39	15.08	12.86
8 h	6.269	7.272	5.464	6.112	26.07	24.42	19.72	19.46
12 h	6.857	7.920	6.156	6.651	33.09	24.36	25.59	20.57
16 h	5.134	5.734	4.718	5.700	33.33	19.70	24.39	17.00
24 h	3.295	4.434	2.765	4.102	25.14	12.68	19.32	11.43
48 h	0.381	0.904	ND	ND	12.44	7.137	12.61	8.278
72 h	ND	ND	ND	ND	7.672	4.985	10.35	7.528
120 h	-	-	-	-	5.553	3.400	9.249	6.204
168 h	-	-	-	-	3.616	2.389	8.118	5.606

NS : 試料なし。ND : 検出せず。

表 4-2 ベンチアバリカルブイソプロピルを 400 mg/kg の用量で投与した

ラットの薬物動態パラメーター

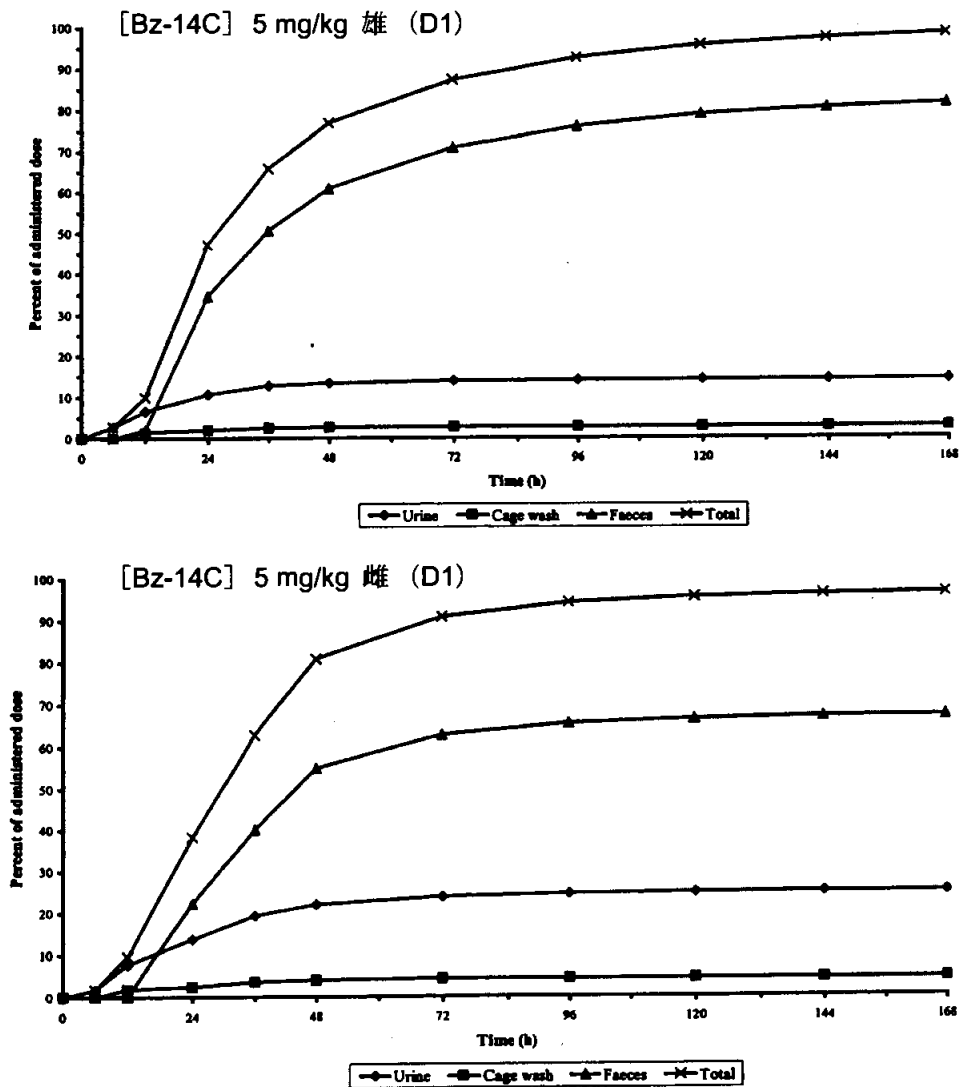
標識体	試料	性	C <sub>max</sub> ( $\mu$ g equiv./g)	T <sub>max</sub> (h)	T <sub>1/2elim</sub> (h)	AUC(0-t) ( $\mu$ g equiv.h/g)	AUC(0- $\infty$ ) ( $\mu$ g equiv.h/g)
[Bz- <sup>14</sup> C] 試験群 ; C1	血漿	♂	7.50	10.5	15.17	139.5	200.1
		♀	8.06	10.4	14.40	189.5	238.4
	血液	♂	6.55	9.5	10.42	107.3	149.1
		♀	7.18	9.6	35.67	126.2	368.5
[Val- <sup>14</sup> C] 試験群 ; C2	血漿	♂	34.67	13.6	102.8	1830	2359
		♀	25.69	9.6	108.9	1172	1541
	血液	♂	26.22	12.0	258.6	2000	5079
		♀	20.57	12.0	214.2	1412	3156

② 排泄

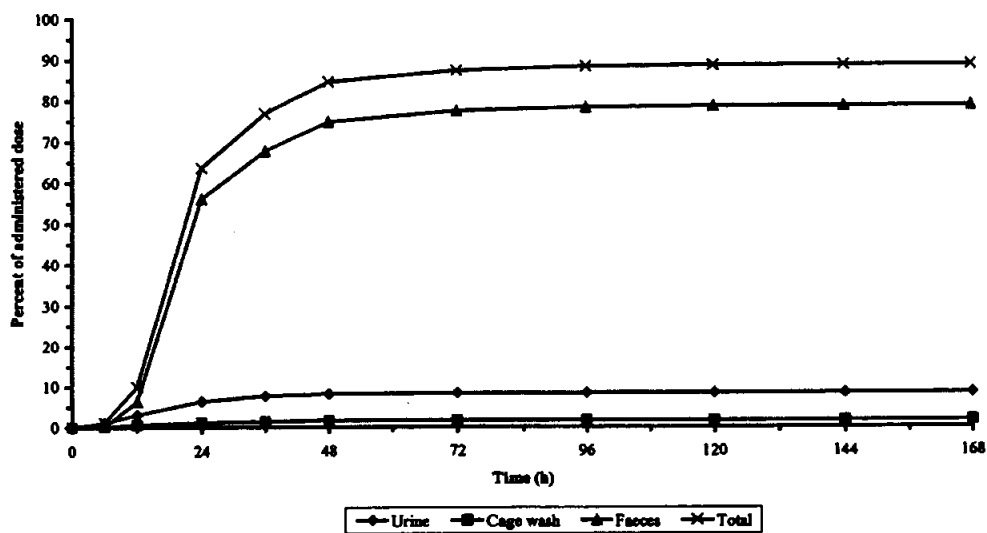
ラットを代謝ケージで個別飼育し尿・糞を個別別に採取した。ケージは水で洗浄し、最終採取時点にはメタノールでも洗浄した。最終採取時点（168時間）では、血液を心臓から採血し、また各組織を採取した。放射能測定は尿・血漿・ケージ洗液は直接LSCで測定し、糞・ケージ残渣は水で均一化し、燃焼処理後LSCで測定した。組織試料の骨は凍結乾燥後、砕粉し、燃焼処理後、LSCで測定した。その他の組織は溶解剤または40%水酸化カルシウム/メタノール溶液で可溶化したのち、可溶化物をLSCで測定した。

経時的な累積排泄率を下図に、また、最終採取時点の各試料中<sup>14</sup>Cの割合を表5に示す。すべてのラットで投与した<sup>14</sup>Cは168時間でほぼ定量的（約89~100%）に回収された。投与した<sup>14</sup>Cの大部分は糞へ排泄され、投与量に対する割合（以下%ADと略す）は低用量群で約63~82%AD、高用量群で約78~83%ADであった。また尿への排泄量は低用量群及び高用量群でそれぞれ約9~25%AD及び約7~13%ADであった。ケージ洗液及び消化管を含む屍体及び組織には各試験群でそれぞれ約2~5%AD及び約0.4~2.9%ADが検出された。

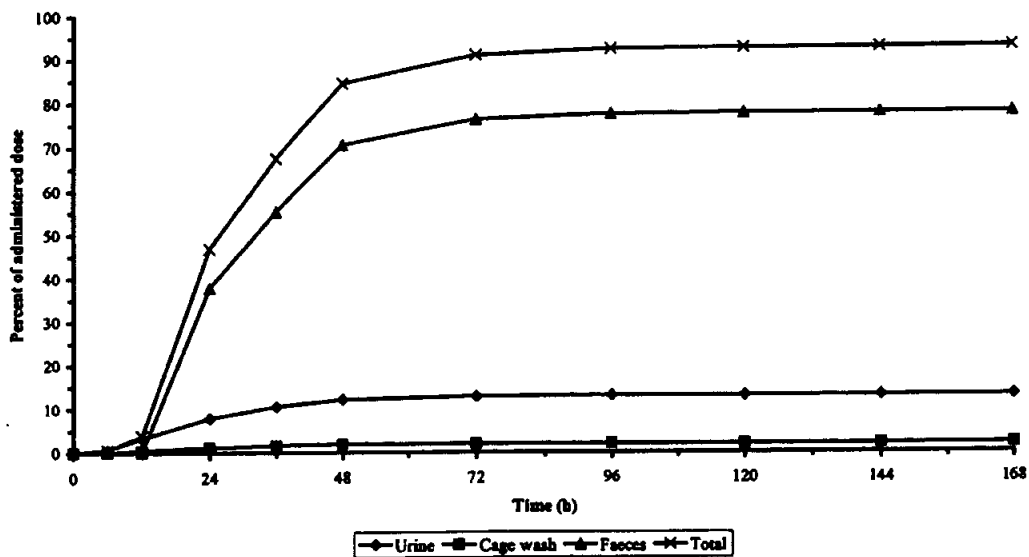
排泄経路及び速度において、性差及び標識体間の差はなく何れの試験群でも放射能の排泄は速く投与後48時間で72%以上が排泄された。



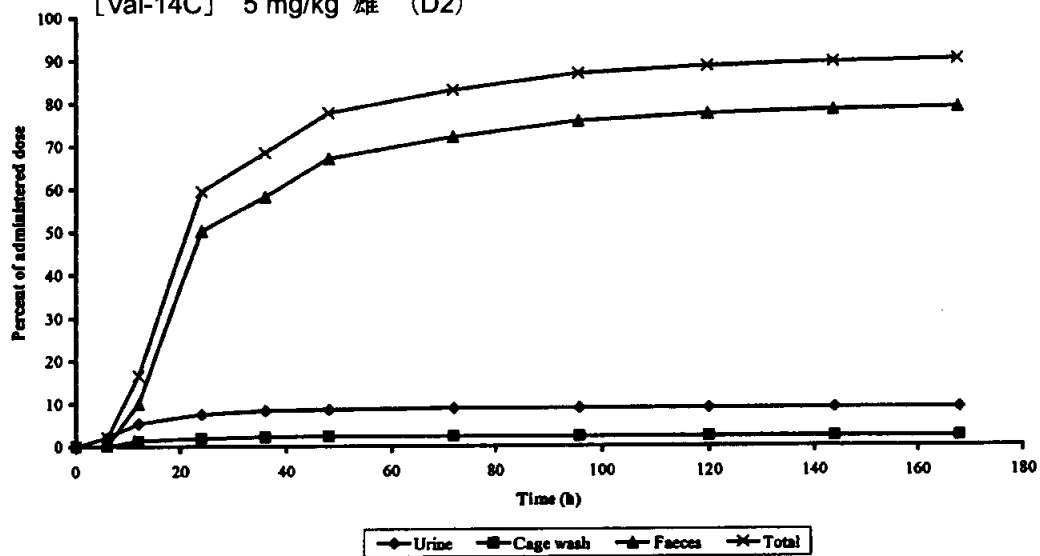
[Bz-14C] 400 mg/kg 雄 (E1)



[Bz-14C] 400 mg/kg 雌 (E1)



[Val-14C] 5 mg/kg 雄 (D2)



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

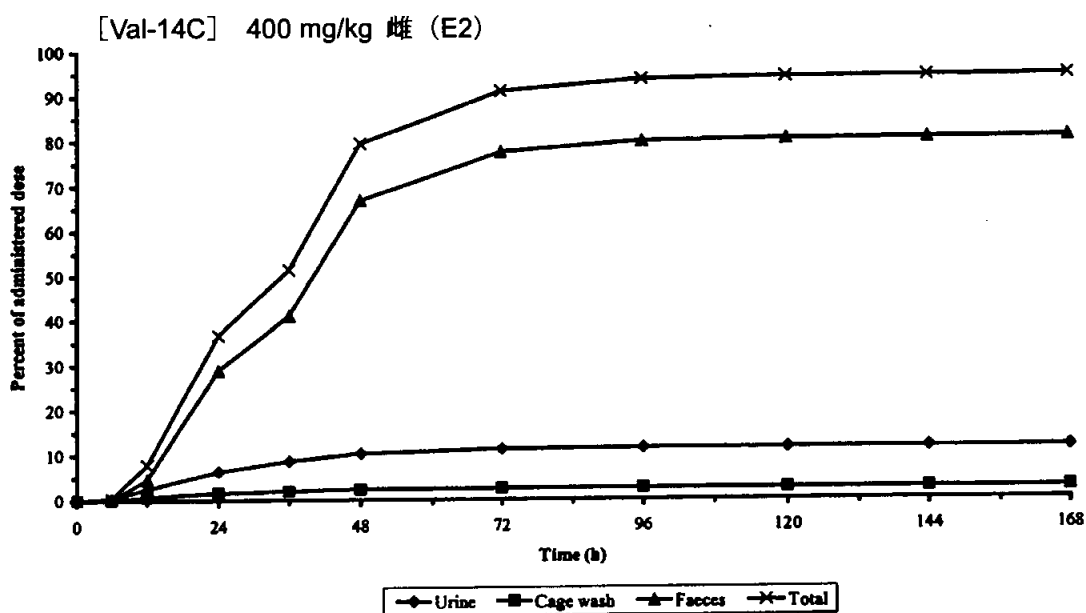
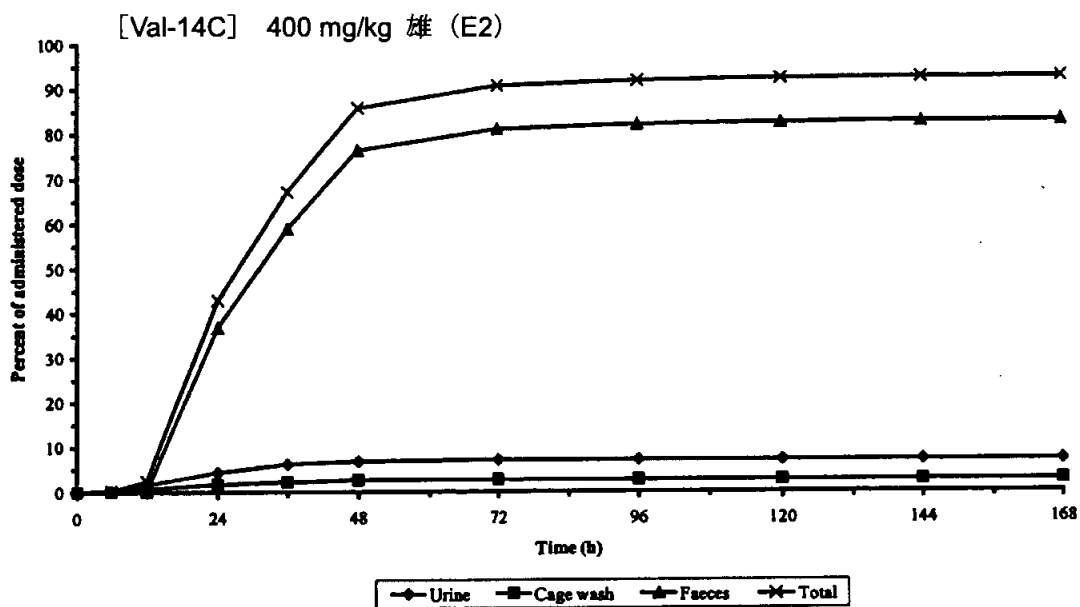
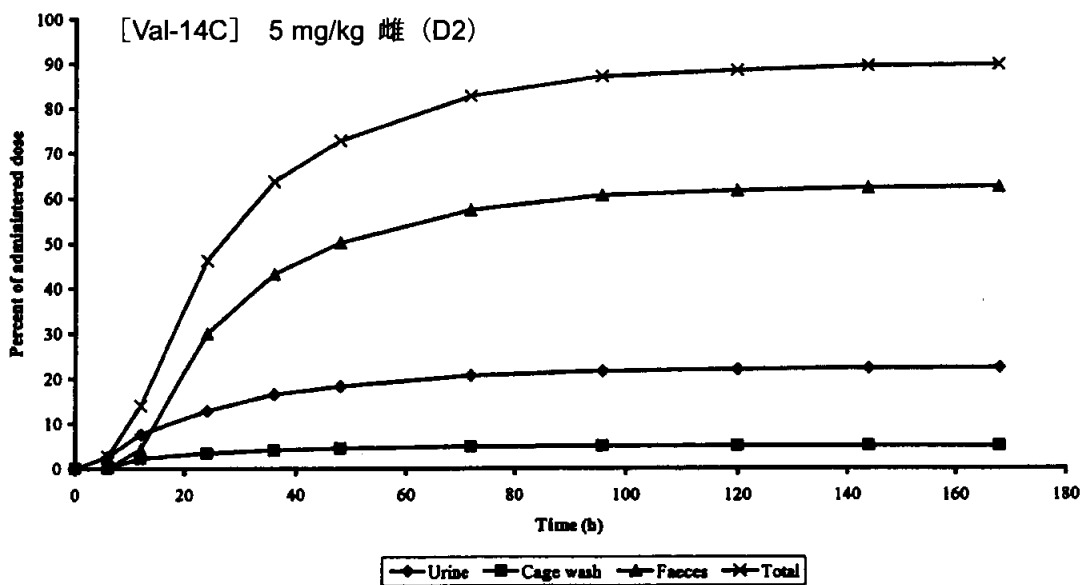




表5 168時間後における累積排泄バランス（投与量に対する% (%AD)）

標識体	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
	5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
試験群	D1		E1		D2		E2	
性	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
尿	14.25	24.93	8.409	13.05	8.968	22.33	7.119	11.53
糞	81.77	67.26	78.95	78.04	79.20	62.65	83.05	80.64
ケージ洗液	2.703	4.239	1.594	2.046	2.288	4.993	2.709	2.532
ケージ残渣	0.046	0.707	0.012	0.066	0.021	1.211	0.161	0.156
屍体	0.076	0.039	0.166	0.408	1.501	0.840	1.470	1.124
組織	1.510	0.359	0.231	0.170	1.385	0.715	0.460	0.338
計	100.4	97.53	89.36	93.78	93.37	92.74	94.97	96.32

③ 胆汁排泄

胆管カニューレーションを施したラットを代謝ケージで個別飼育し、各試料を採取した。雄は挿入処置を施術したが、雌は胆管カニューレーションラットを購入した。胆汁は室温で採取し、その他の試料は排泄バランス試験と同様の操作で採取し、放射エネルギーを測定した。また胆汁は直接LSCで測定した。

結果を表6に示す。

カニューレーションラットに投与した<sup>14</sup>Cは、胆汁、糞、尿、ケージ洗液、ケージ残渣及び屍体中に合計で約86~107%ADとほぼ定量的に回収された。推定吸収率は低用量群で88.7~97.2%、高用量群で41.1~53.6%であり、低用量群で高用量群に比べ高かった。両用量群ともに吸収された放射能の大部分は胆汁に排泄された（約28~90%）。一方、糞に排泄された量は5 mg/kg用量群では約1.1-3.8%であったが、400 mg/kg用量群ではそれに比べると高く約32~61%であった。

以上のことからベンチアバリカルブイソプロピルの胆汁排泄には性及び標識体間の差はないが、用量間で明らかな差が認められた。ベンチアバリカルブイソプロピルの主要排泄経路は、高用量群では直接糞中に排泄されたが、低用量群では胆汁への排泄を経由して糞中に排泄されたと考えられる。

表6-1 48時間後における累積胆汁排泄バランス（投与量に対する% (%AD)）

標識体	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
	5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
試験群	H1		I1		H2		I2	
性	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
尿	5.961	4.231	10.34	2.069	9.249	19.10	13.14	3.830
糞	1.107	1.890	32.16	60.88	1.494	3.784	42.19	54.00
ケージ洗液	1.141	1.598	2.427	0.280	0.874	3.941	4.504	2.253
ケージ残渣	NS	0.233	0.014	0.011	0.005	ND	0.035	2.122
胆汁	86.57	90.42	37.40	40.32	78.10	63.56	27.76	30.73
屍体	2.281	0.946	3.432	3.750	2.095	2.074	3.837	4.287
計	97.06	99.32	85.77	107.3	91.82	92.46	91.47	97.22

NS：試料なし。ND：検出せず。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 6-2 48 時間後における放射能の推定吸収率 (%)

標識体	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
	5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
試験群	H1		I1		H2		I2	
性	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
推定吸収率*	96.0	97.2	53.6	46.4	90.3	88.7	49.2	41.1

\*推定吸収率は表 6-1 を基に尿+ケージ洗液+胆汁+屍体/合計より算出した。

### 3) 組織分布

組織内放射能分布を血漿中濃度最高時点 (2, 8 時間) 及び 6, 24, 48, 168 時間で調査した。採取組織、採取方法及び放射能測定操作は排泄バランス試験と同様に実施した。

結果を表 7~14 に示す。

放射能は速やかにラット体内臓器及び組織に分布 (低用量群: 2 時間、高用量群: 8 時間) したが、蓄積は見られず速やかに排泄された。概して消化管、胆管、膀胱、屍体を除き各時点で肝臓と腎臓に高レベルの放射能が検出された。肝臓における最高濃度は低用量群では雌雄ともに 6 時間以内に達し (2.849~3.994  $\mu$ g/g eq.)、高用量群では 8 時間に達した (91.02~109.0  $\mu$ g/g eq.)。腎臓における最高濃度は低用量群では雌雄ともに 6 時間以内に達し (1.120~3.122  $\mu$ g/g eq.)、高用量群では 8 時間に達した (34.39~46.27  $\mu$ g/g eq.)。

何れの試験群においても組織中放射能は速やかに減少し、肝臓及び腎臓を含む全組織で 168 時間後には [Val-<sup>14</sup>C] 雄の屍体 (約 1.1~1.5%) を除き投与量の 1% を超える組織はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表7 [Bz-<sup>14</sup>C] を投与後の雄ラットの経時的体内組織分布 (μg/g equivalents of [Bz-<sup>14</sup>C])

用量 試験群	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F1			D1	G1			E1
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	1.067	1.108	0.111	0.020	81.05	10.72	ND	ND
大動脈	1.195	1.083	0.094	0.016	80.53	36.69	9.568	ND
胆管	3.812	6.451	1.993	0.019	175.6	73.19	20.32	ND
膀胱	10.80	8.427	0.907	0.006	329.8	89.02	26.63	0.132
血液	0.198	0.259	0.057	0.009	9.731	3.700	1.104	0.093
骨	0.087	0.074	0.007	0.002	0.716	0.344	ND	ND
骨髓	0.341	0.359	ND	ND	24.41	3.427	ND	ND
褐色脂肪	0.742	0.481	0.089	ND	42.04	0.985	ND	ND
屍体	0.216	0.167	0.066	0.005	11.58	15.38	3.171	0.877
小脳	0.109	0.093	0.015	ND	8.500	ND	ND	ND
大脳	0.078	0.068	ND	ND	5.201	ND	ND	ND
精巣上体	5.252	0.447	0.065	ND	24.60	8.963	ND	ND
眼球	0.143	0.101	0.026	ND	6.612	4.228	0.444	ND
脂肪	0.515	0.970	0.092	ND	57.71	9.612	1.239	ND
ハーダー腺	0.452	0.423	0.158	ND	32.83	11.78	4.583	ND
心臓	0.210	0.297	0.066	0.006	12.57	2.472	1.201	ND
腎臓	3.122	0.953	1.997	0.077	34.39	10.41	2.640	0.945
肝臓	2.436	3.464	1.045	0.139	91.02	46.58	20.55	3.238
肺	0.358	0.420	0.079	0.016	18.05	8.703	2.260	2.618
リンパ節	1.222	1.095	0.100	ND	102.6	10.41	2.533	ND
筋	0.147	0.188	0.028	ND	11.24	2.962	0.895	ND
膵臓	0.974	0.690	0.086	ND	44.03	7.305	ND	ND
脳下垂体	0.493	1.755	0.157	ND	26.18	ND	7.928	ND
血漿	0.285	0.360	0.075	ND	11.06	4.252	1.437	ND
前立腺	1.386	1.344	0.180	0.015	55.16	15.01	8.466	ND
皮膚	0.564	0.284	0.041	ND	21.72	30.82	5.123	1.607
脾臓	0.232	0.347	0.086	0.006	14.02	ND	3.590	2.510
顎下腺	0.547	0.447	0.089	ND	29.58	3.061	1.642	ND
精巣	0.521	0.168	0.028	0.003	6.276	2.804	0.368	0.262
胸腺	0.299	0.334	0.052	ND	15.97	6.002	ND	ND
甲状腺	0.921	1.183	0.046	ND	68.15	17.15	ND	ND
気管	0.446	0.406	0.060	0.043	30.40	13.74	9.346	0.637
胃	140.9	43.02	2.400	0.064	3109	217.6	25.82	3.115
十二指腸	6.801	8.545	3.791	0.298	139.5	73.26	26.61	5.882
空腸	15.65	80.98	7.492	1.819	349.8	371.9	75.01	5.141
回腸	116.4	70.38	39.57	1.987	4147	868.7	305.2	28.45
盲腸	1.008	85.63	9.000	0.359	5147	1295	220.2	9.086
結腸	0.447	18.94	6.974	0.492	3644	1282	161.4	14.40

ND : 検出せず。リンパ節=腸間膜リンパ節

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 8 [Bz-<sup>14</sup>C] を投与後の雌ラットの経時的体内組織分布 ( $\mu\text{g/g}$  equivalents of [Bz-<sup>14</sup>C])

用量	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F1			D1	G1			E1
試験群	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	1.487	1.219	0.178	ND	91.54	15.43	1.018	ND
大動脈	0.751	0.985	0.195	ND	83.85	25.87	18.52	0.364
胆管	2.902	3.216	3.277	ND	122.4	53.49	41.56	ND
膀胱	2.004	2.271	0.238	0.004	157.9	27.66	7.662	ND
血液	0.317	0.242	0.079	0.015	14.08	4.704	1.880	0.101
骨	0.104	0.100	0.013	ND	1.476	0.316	ND	ND
骨髄	0.866	0.555	0.079	ND	64.53	5.345	ND	ND
褐色脂肪	1.156	0.786	0.120	ND	90.19	13.15	ND	ND
屍体	0.266	0.179	0.082	0.003	27.01	10.44	6.124	2.244
小脳	0.134	0.086	0.009	ND	10.72	ND	ND	ND
大脳	0.091	0.065	ND	ND	8.504	ND	ND	ND
眼球	0.186	0.098	0.028	ND	8.067	5.707	1.260	ND
脂肪	1.225	1.398	0.176	ND	129.2	29.90	1.627	ND
ハーダー腺	0.597	0.647	0.146	ND	46.89	8.980	ND	ND
心臓	0.307	0.292	0.098	ND	19.95	4.290	ND	ND
腎臓	1.011	1.120	1.106	0.028	45.82	14.96	3.151	0.858
肝臓	2.849	2.777	1.359	0.110	92.55	42.60	24.16	4.206
肺	0.462	0.438	0.125	ND	25.19	8.817	ND	0.454
リンパ節	5.428	2.252	0.624	ND	141.6	22.77	5.134	ND
筋	0.230	0.209	0.065	ND	15.05	4.480	ND	ND
卵巣	1.474	1.000	0.217	ND	63.34	13.98	4.627	ND
膵臓	1.661	0.831	0.206	ND	51.16	12.30	ND	ND
脳下垂体	0.118	1.685	0.126	ND	111.5	ND	ND	ND
血漿	0.457	0.328	0.102	ND	16.37	6.075	1.981	ND
皮膚	0.683	0.397	0.120	ND	47.25	40.59	14.16	ND
脾臓	0.396	0.387	0.117	ND	22.94	7.103	ND	ND
顎下腺	0.532	0.461	0.073	ND	42.09	5.419	ND	ND
胸腺	0.350	0.342	0.081	ND	29.55	ND	ND	ND
甲状腺	1.548	0.776	0.238	ND	54.30	7.258	ND	ND
気管	0.455	0.491	0.136	0.037	43.73	12.86	7.855	0.805
子宮	1.011	0.441	0.192	ND	37.87	10.12	ND	ND
胃	104.6	12.68	5.579	0.038	1882	35.26	6.204	4.200
十二指腸	6.597	4.266	5.141	0.057	170.5	88.22	30.30	ND
空腸	30.37	15.89	13.59	0.186	616.0	212.8	75.85	5.905
回腸	211.9	159.0	29.21	0.432	5413	1031	416.8	13.02
盲腸	4.730	111.7	11.83	0.096	6826	1838	239.2	4.545
結腸	1.125	29.81	4.514	0.127	5269	915.1	168.1	5.745

ND : 検出せず。リンパ節 = 腸間膜リンパ節

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表9 [Bz-<sup>14</sup>C] を投与後の雄ラットの経時的体内組織分布 (%AD)

用量 試験群	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F1			D1	G1			E1
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	0.004	0.004	<0.001	<0.001	0.003	0.001	ND	ND
大動脈	0.007	0.004	<0.001	<0.001	0.002	0.001	<0.001	ND
胆管	0.102	0.007	0.002	<0.001	0.002	0.001	<0.001	ND
膀胱	0.052	0.047	0.004	<0.001	0.017	0.005	0.002	<0.001
屍体	4.032	3.032	1.239	0.076	2.397	3.148	0.647	0.166
小脳	0.002	0.003	0.001	ND	0.004	ND	ND	ND
大脳	0.009	0.008	ND	ND	0.008	ND	ND	ND
精巣上体	0.155	0.039	0.005	ND	0.039	0.013	ND	ND
眼球	0.002	0.002	<0.001	ND	0.002	0.001	<0.001	ND
ハーダー腺	0.008	0.008	0.003	ND	0.007	0.003	0.001	ND
心臓	0.014	0.019	0.004	<0.001	0.011	0.002	0.001	ND
腎臓	0.331	0.120	0.257	0.014	0.058	0.018	0.005	0.002
肝臓	1.754	2.331	0.772	0.096	0.748	0.396	0.198	0.026
肺	0.029	0.038	0.007	0.002	0.023	0.010	0.003	0.003
膵臓	0.073	0.050	0.003	ND	0.033	0.007	ND	ND
脳下垂体	<0.001	<0.001	<0.001	ND	<0.001	ND	<0.001	ND
前立腺	0.020	0.019	0.002	<0.001	0.010	0.002	0.001	ND
脾臓	0.011	0.017	0.004	<0.001	0.007	ND	0.002	0.001
顎下腺	0.020	0.018	0.004	ND	0.017	0.003	0.001	ND
精巣	0.119	0.039	0.007	0.001	0.019	0.009	0.001	0.001
胸腺	0.011	0.009	0.002	ND	0.005	0.002	ND	ND
甲状腺	0.001	0.001	<0.001	ND	0.001	<0.001	ND	ND
気管	0.005	0.004	0.001	<0.001	0.003	0.002	0.001	<0.001
計	6.758	5.816	2.315	0.190	3.416	3.622	0.862	0.198
胃	32.91	7.662	0.688	0.011	8.962	0.674	0.065	0.006
十二指腸	0.403	0.755	0.311	0.019	0.114	0.065	0.025	0.011
空腸	4.240	23.08	2.084	0.606	0.994	1.241	0.247	0.007
回腸	38.08	15.62	14.44	0.424	14.98	2.868	0.955	0.086
盲腸	0.499	39.42	3.446	0.196	30.64	5.492	1.166	0.055
結腸	0.105	5.264	1.741	0.140	10.58	2.159	0.420	0.034
計	76.24	91.81	22.70	1.396	66.26	12.50	2.877	0.199
総計	83.00	97.62	25.02	1.586	69.68	16.12	3.739	0.397

ND：検出せず。リンパ節＝腸間膜リンパ節

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 10 [Bz-<sup>14</sup>C] を投与後の雌ラットの経時的体内組織分布 (%AD)

用量 試験群	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F1			D1	G1			E1
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	0.006	0.007	0.001	ND	0.006	0.001	<0.001	ND
大動脈	0.004	0.004	0.001	ND	0.002	0.002	0.001	<0.001
胆管	0.006	0.004	0.003	ND	0.001	0.001	0.001	ND
膀胱	0.013	0.011	0.001	<0.001	0.006	0.002	<0.001	ND
屍体	5.434	3.650	1.708	0.039	5.680	2.783	1.343	0.408
小脳	0.005	0.004	0.001	ND	0.004	ND	ND	ND
大脳	0.014	0.010	ND	ND	0.017	ND	ND	ND
眼球	0.004	0.003	0.001	ND	0.003	0.002	<0.001	ND
ハーダー腺	0.015	0.016	0.004	ND	0.011	0.003	ND	ND
心臓	0.021	0.020	0.007	ND	0.016	0.004	ND	ND
腎臓	0.123	0.145	0.192	0.004	0.075	0.027	0.005	0.002
肝臓	1.561	1.444	0.879	0.068	0.604	0.344	0.197	0.033
肺	0.037	0.039	0.011	ND	0.029	0.010	ND	0.001
卵巣	0.014	0.012	0.002	ND	0.006	0.002	0.001	ND
脾臓	0.132	0.056	0.012	ND	0.030	0.011	ND	ND
脳下垂体	<0.001	<0.001	<0.001	ND	<0.001	ND	ND	ND
脾臓	0.019	0.019	0.005	ND	0.013	0.004	ND	ND
顎下腺	0.025	0.021	0.005	ND	0.029	0.004	ND	ND
胸腺	0.011	0.010	0.003	ND	0.011	ND	ND	ND
甲状腺	0.001	0.001	<0.001	ND	0.001	<0.001	ND	ND
気管	0.006	0.005	0.002	<0.001	0.005	0.002	0.001	<0.001
子宮	0.064	0.025	0.010	ND	0.021	0.007	ND	ND
計	7.511	5.503	2.846	0.112	6.570	3.208	1.548	0.444
胃	20.75	2.064	1.795	0.015	4.049	0.078	0.015	0.016
十二指腸	0.541	0.387	0.415	0.005	0.237	0.110	0.042	ND
空腸	9.355	3.790	3.420	0.046	2.250	0.734	0.234	0.015
回腸	42.82	26.84	7.788	0.127	16.65	2.650	1.333	0.055
盲腸	1.898	47.83	5.158	0.054	35.42	10.77	1.430	0.027
結腸	0.325	8.533	0.705	0.039	15.26	2.086	0.603	0.020
計	75.68	89.43	19.28	0.286	73.87	16.43	3.656	0.134
総計	83.19	94.94	22.13	0.398	80.44	19.64	5.203	0.578

ND：検出せず。リンパ節＝腸間膜リンパ節

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 11 [Val-<sup>14</sup>C] を投与後の雄ラットの経時的体内組織分布 (μg/g equivalents of [Val-<sup>14</sup>C])

用量	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F2			D2	G2			E2
試験群	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	1.680	1.303	0.572	0.163	77.48	24.89	15.83	11.38
大動脈	1.102	0.889	0.314	0.216	53.85	17.21	12.66	9.873
胆管	4.491	7.192	2.446	0.091	153.5	51.42	22.63	18.59
膀胱	3.964	4.508	0.933	0.119	282.1	49.20	10.95	8.699
血液	0.335	0.501	0.279	0.105	18.66	11.03	7.421	7.242
骨	0.149	0.141	0.071	0.029	1.723	1.596	0.957	3.565
骨髄	0.909	0.733	0.359	0.137	35.15	19.38	11.32	6.439
褐色脂肪	1.109	0.755	0.200	ND	41.27	3.368	ND	ND
屍体	0.368	0.288	0.152	0.096	27.10	7.842	4.822	7.576
小脳	0.203	0.146	0.091	ND	8.593	1.553	ND	ND
大脳	0.170	0.128	0.071	0.041	9.837	4.217	4.244	0.805
精巣上体	0.749	0.631	0.129	ND	42.74	0.483	5.978	ND
眼球	0.207	0.178	0.065	0.051	10.44	3.697	2.893	2.719
脂肪	1.153	1.063	0.084	ND	50.63	5.760	1.313	ND
ハーダー腺	0.729	0.723	0.616	0.223	44.39	36.19	24.64	ND
心臓	0.439	0.407	0.344	0.153	23.01	12.14	9.353	9.614
腎臓	1.109	1.143	0.535	0.198	43.28	22.04	16.90	12.46
肝臓	3.528	3.994	1.633	0.339	109.0	48.64	33.98	18.10
肺	0.704	0.545	0.284	0.137	29.79	13.25	10.41	8.185
リンパ節	2.301	1.166	0.121	0.016	158.6	9.494	5.358	ND
筋	0.331	0.251	0.095	0.097	14.48	5.847	4.847	5.131
膵臓	2.014	1.643	0.395	0.099	69.69	22.77	15.27	ND
脳下垂体	6.041	0.599	0.589	ND	88.19	ND	ND	ND
血漿	0.613	0.681	0.355	0.051	24.73	14.63	8.556	3.825
前立腺	1.207	0.970	0.365	0.124	66.42	18.42	10.08	6.140
皮膚	0.732	0.423	0.526	0.109	26.07	8.832	9.733	1.958
脾臓	0.671	0.585	0.604	0.062	35.44	16.67	14.08	2.280
顎下腺	0.698	0.771	0.244	0.027	39.37	15.79	11.95	ND
精巣	0.518	0.218	0.286	0.077	12.98	5.696	5.040	5.137
胸腺	1.043	0.532	0.298	0.028	26.07	14.66	11.46	ND
甲状腺	1.494	1.418	0.566	0.140	79.89	26.20	12.88	2.934
気管	0.630	0.511	0.274	0.106	40.59	12.31	9.128	6.296
胃	152.7	29.26	1.254	0.177	8403	134.6	12.25	5.078
十二指腸	10.24	10.74	4.730	0.318	227.6	65.28	49.68	16.12
空腸	103.8	19.62	40.16	1.124	1113	302.1	97.15	14.33
回腸	93.48	89.37	37.29	1.242	3828	485.3	217.9	18.70
盲腸	1.904	62.30	23.23	0.267	5051	448.2	85.70	5.804
結腸	0.556	34.43	19.46	0.381	4318	605.9	122.9	8.320

ND : 検出せず。リンパ節=腸間膜リンパ節

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 12 [Val-<sup>14</sup>C] を投与後の雌ラットの経時的体内組織分布 ( $\mu\text{g/g}$  equivalents of [Val-<sup>14</sup>C])

用量 試験群	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F2			D2	G2			E2
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	1.607	1.377	0.347	0.123	85.05	24.12	9.583	7.639
大動脈	1.184	1.001	0.336	0.102	82.86	19.97	8.599	8.514
胆管	3.892	4.985	1.766	0.145	157.8	89.19	29.10	12.70
膀胱	1.602	0.807	0.316	0.097	125.1	13.49	8.856	6.495
血液	0.444	0.397	0.167	0.072	20.09	10.04	6.169	5.692
骨	0.212	0.127	0.029	0.348	1.997	0.917	0.519	1.975
骨髄	1.385	0.796	0.203	0.090	65.78	16.43	6.973	4.549
褐色脂肪	1.499	1.092	0.187	ND	70.03	12.15	1.695	ND
屍体	0.416	0.332	0.151	0.054	23.15	10.98	5.268	5.959
小脳	0.261	0.184	0.068	ND	8.980	2.524	2.168	ND
大脳	0.225	0.138	0.058	ND	12.12	3.828	3.270	ND
眼球	0.243	0.187	0.063	0.028	13.05	3.331	2.352	1.709
脂肪	1.196	1.561	0.191	ND	53.32	30.25	2.856	ND
ハーダー腺	0.757	1.041	0.420	ND	52.13	27.77	23.89	ND
心臓	0.460	0.477	0.133	0.044	26.73	11.16	6.777	3.067
腎臓	1.211	1.123	0.427	0.135	46.27	22.19	15.55	10.26
肝臓	3.081	3.205	1.219	0.286	99.96	52.35	35.40	15.71
肺	0.658	0.671	0.203	0.081	33.88	14.97	9.946	4.320
リンパ節	4.596	4.117	0.716	ND	123.3	44.55	6.902	ND
筋	0.388	0.450	0.076	0.061	18.20	5.430	4.022	1.991
卵巣	1.888	1.375	0.342	0.068	67.50	23.26	8.418	4.638
脾臓	2.637	1.823	0.425	0.027	71.37	66.69	13.09	ND
脳下垂体	0.846	0.773	0.576	ND	143.6	19.06	ND	ND
血漿	0.582	0.504	0.197	0.038	25.64	14.55	6.941	2.915
皮膚	0.839	0.688	1.836	ND	39.23	105.3	43.02	ND
脾臓	0.712	0.725	0.262	ND	30.22	14.67	13.81	ND
顎下腺	0.926	0.901	0.166	ND	42.69	15.98	9.098	ND
胸腺	0.731	0.477	0.263	ND	41.59	22.84	16.14	ND
甲状腺	1.341	1.239	0.525	0.029	53.93	21.46	2.448	ND
気管	0.687	0.585	0.226	0.068	40.91	12.05	6.756	4.309
子宮	0.841	1.540	0.258	ND	29.20	26.32	11.98	ND
胃	112.8	29.48	3.135	0.055	3538	722.1	36.56	2.233
十二指腸	5.796	5.082	1.366	0.183	174.4	118.1	66.80	6.792
空腸	18.81	18.21	6.684	0.341	2139	1399	249.6	6.784
回腸	210.7	119.3	25.20	1.228	5437	1256	282.2	21.62
盲腸	5.585	209.9	15.18	0.162	7752	2950	178.5	6.063
結腸	2.284	56.09	14.71	0.190	4156	3369	228.8	6.618

ND : 検出せず。リンパ節=腸間膜リンパ節



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 13 [Val-<sup>14</sup>C] を投与後の雄ラットの経時的体内組織分布 (%AD)

試験群	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F2			D2	G2			E2
	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	0.006	0.005	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001	0.001
大動脈	0.004	0.004	0.001	0.001	0.002	0.001	<0.001	0.001
胆管	0.006	0.006	0.002	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001
膀胱	0.015	0.015	0.004	0.001	0.019	0.004	0.001	0.001
屍体	6.963	5.328	2.799	1.501	5.369	1.532	0.944	1.470
小脳	0.005	0.004	0.003	ND	0.010	0.001	ND	ND
大脳	0.017	0.013	0.007	0.005	0.010	0.008	0.007	0.001
精巢上体	0.103	0.083	0.014	ND	0.064	0.009	0.008	ND
眼球	0.004	0.003	0.001	0.001	0.003	0.001	0.001	0.001
ハーダー腺	0.015	0.013	0.013	0.005	0.011	0.010	0.006	ND
心臓	0.027	0.025	0.021	0.011	0.019	0.011	0.008	0.008
腎臓	0.138	0.133	0.065	0.027	0.072	0.040	0.029	0.020
肝臓	2.264	2.368	1.127	0.251	0.864	0.510	0.345	0.175
肺	0.069	0.050	0.025	0.013	0.035	0.016	0.012	0.009
脾臓	0.167	0.083	0.017	0.006	0.050	0.012	0.009	ND
脳下垂体	0.001	<0.001	<0.001	ND	<0.001	ND	ND	ND
前立腺	0.022	0.015	0.005	0.002	0.010	0.003	0.001	0.001
脾臓	0.032	0.027	0.029	0.003	0.019	0.010	0.008	0.001
顎下腺	0.035	0.044	0.011	0.001	0.022	0.009	0.005	ND
精巢	0.107	0.046	0.059	0.020	0.037	0.017	0.015	0.013
胸腺	0.028	0.015	0.010	0.001	0.010	0.007	0.005	ND
甲状腺	0.001	0.001	0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001
気管	0.006	0.006	0.002	0.001	0.005	0.001	0.001	0.001
計	10.03	8.284	4.214	1.851	6.636	2.200	1.404	1.705
胃	26.53	4.771	0.162	0.035	25.32	0.595	0.064	0.015
十二指腸	0.711	0.669	0.400	0.032	0.291	0.097	0.071	0.032
空腸	25.22	5.067	6.190	0.338	4.672	1.449	0.312	0.045
回腸	25.09	20.22	8.948	0.377	13.25	1.969	1.097	0.065
盲腸	0.738	25.26	9.886	0.147	27.97	2.939	0.601	0.038
結腸	0.136	7.919	4.880	0.106	13.93	2.004	0.341	0.032
計	78.42	63.90	30.47	1.035	85.43	9.054	2.486	0.226
総計	88.46	72.18	34.68	2.886	92.07	11.25	3.890	1.930

ND : 検出せず。リンパ節=腸間膜リンパ節

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 14 [Val-<sup>14</sup>C] を投与後の雌ラットの経時的体内組織分布 (%AD)

用量	5 mg/kg				400 mg/kg			
	F2			D2	G2			E2
試験群	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
組織	2 h	6 h	24 h	168 h	8 h	24 h	48 h	168 h
副腎	0.008	0.007	0.003	0.001	0.006	0.002	0.001	0.001
大動脈	0.008	0.008	0.002	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001
胆管	0.010	0.009	0.002	0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001
膀胱	0.006	0.004	0.002	0.002	0.006	0.001	0.001	0.001
屍体	8.521	6.847	3.109	0.840	4.925	2.325	1.108	1.124
小脳	0.008	0.007	0.003	ND	0.004	0.002	0.001	ND
大脳	0.036	0.023	0.009	ND	0.025	0.007	0.006	ND
眼球	0.006	0.006	0.002	0.001	0.005	0.001	0.001	0.001
ハーダー腺	0.018	0.027	0.008	ND	0.016	0.009	0.007	ND
心臓	0.031	0.034	0.009	0.003	0.022	0.010	0.006	0.003
腎臓	0.155	0.146	0.055	0.019	0.071	0.035	0.025	0.018
肝臓	1.695	1.661	0.747	0.176	0.646	0.425	0.279	0.126
肺	0.068	0.066	0.022	0.008	0.040	0.021	0.013	0.005
卵巣	0.020	0.016	0.003	0.001	0.008	0.003	0.001	0.001
脾臓	0.214	0.129	0.016	0.001	0.050	0.029	0.012	ND
脳下垂体	0.001	<0.001	<0.001	ND	<0.001	<0.001	ND	ND
脾臓	0.033	0.034	0.012	ND	0.016	0.009	0.008	ND
顎下腺	0.053	0.049	0.010	ND	0.024	0.008	0.005	ND
胸腺	0.022	0.013	0.009	ND	0.015	0.008	0.004	ND
甲状腺	0.002	0.002	0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	ND
気管	0.008	0.007	0.003	0.001	0.005	0.002	0.001	0.001
子宮	0.047	0.111	0.011	ND	0.023	0.017	0.008	ND
計	10.97	9.203	4.031	1.055	5.907	2.911	1.486	1.281
胃	20.69	5.835	0.712	0.012	6.929	2.179	0.109	0.006
十二指腸	0.344	0.316	0.113	0.020	0.250	0.156	0.065	0.017
空腸	5.316	4.631	1.717	0.100	4.815	2.701	0.875	0.023
回腸	41.87	26.69	5.819	0.227	12.26	3.307	0.695	0.072
盲腸	2.126	88.89	6.067	0.085	43.66	16.98	1.048	0.038
結腸	0.609	13.56	3.149	0.057	11.57	5.814	0.733	0.024
計	70.96	139.9	17.58	0.500	79.47	31.14	3.525	0.180
総計	81.92	149.1	21.61	1.555	85.38	34.05	5.010	1.462

ND : 検出せず。リンパ節=腸間膜リンパ節

4) 代謝

代謝物検討用試料を表 15 に要約する。

表 15 代謝物検討用試料の一覧

試料	標識体	試験群		用量 (mg/kg)	採取試料 (投与後時間 (h))	調製方法
尿*	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	D1 D2	排泄 バランス	5	0~24、24~72	各試料重の 約 10%をプール
	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	E1 E2		400	0~24、24~72	各試料重の 約 10%をプール
糞*	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	D1 D2	排泄 バランス	5	0~24、24~120	各試料重の 約 10%をプール
	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	E1 E2		400	0~24、24~96	各試料重の 約 10%をプール
血漿 肝臓 腎臓	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	F1 F2	組織分布	5	2~6	各群/性毎に 約等重量をプール
	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	G1 G2		400	8~24	
胆汁	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	H1 H2	胆汁排泄	5	0~6、6~24	各群/性毎に 約等重量をプール
	[Bz- <sup>14</sup> C] [Val- <sup>14</sup> C]	I1 I2		400	0~6、6~48	

\*胆汁排泄試験 0~24 hr 糞尿についても分析

各試料中の放射性成分は HPLC コクロマトグラフィーにより分析した。

- ・尿及び胆汁は で分析。
- ・糞は で分析。
- ・血漿は で分析。
- ・肝臓は で分析。
- ・腎臓は で分析。

同定及び構造推定した各試料中の代謝物を表 16 に要約する。

表 16 各試料中の同定代謝物等の一覧

試料	同定代謝物等
尿	
糞	親化合物,
血漿	親化合物,
肝臓	親化合物,
腎臓	親化合物,
胆汁	

\* : 胆汁排泄試験の尿に検出

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

① 尿中代謝物

尿中代謝物の分析結果を表 17 に示す。

尿中の代謝物の多くは、  
及び  
であり、この分布は標識体間ではほぼ同じであった。  
標識体間の差は [Bz-<sup>14</sup>C] から保持時間 13 分、[Val-<sup>14</sup>C] から 10 分に未同定代謝物が検出されたことであった。また、保持時間 19.5 分に検出された同定代謝物（  
）は雄より雌で量が多かった。さらに [Val-<sup>14</sup>C] では [Bz-<sup>14</sup>C] に比べ多くの極性物質が存在した。これらの物質はベンチアバリカルブイソプロピルが  
の代謝物と推察された。

胆汁排泄試験の尿中試料で同定率を求めた。LC/MS または参照標品とのクロマトグラフィーで同定された代謝物（  
）は低用量群では約 1.9~13.3%AD であり、高用量群では約 0.8~6.9%AD であった。また未同定代謝物は低用量群では約 1.2~3.1%AD であり、高用量群では約 0.5~1.4%AD であった。

表 17-1 尿中の放射能量 (%AD)

試料	標識体	試験群 (排泄 バランス)	性	採取試料 (投与後 時間(h))	放射能量 (%AD)	試験群 (胆汁 排泄)	性	採取試料 (投与後 時間(h))	放射能量 (%AD)
尿	[Bz- <sup>14</sup> C] 5 mg/kg	D1	♂	0~72	13.83	H1	♂	0~24	5.16
			♀	0~72	23.75		♀	0~24	4.068
	[Val- <sup>14</sup> C] 5 mg/kg	D2	♂	0~72	8.717	H2	♂	0~24	8.45
			♀	0~72	20.61		♀	0~24	18.81
	[Bz- <sup>14</sup> C] 400 mg/kg	E1	♂	0~72	8.315	I1	♂	0~24	8.46
			♀	0~72	12.76		♀	0~24	1.91
	[Val- <sup>14</sup> C] 400 mg/kg	E2	♂	0~72	7.00	I2	♂	0~24	12.46
			♀	0~72	11.13		♀	0~24	3.73

表 17-2 尿中の主要代謝物分布：排泄バランス試験 0~72 h (%AD)

代謝物 (0~72 h)	HPLC 保持 時間 (分)	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
		5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
		試験群 D1		試験群 E1		試験群 D2		試験群 E2	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
親化合物		ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 17-3 尿中の主要代謝物分布：胆汁排泄試験 0～24 h (%AD)

代謝物 (0-24 h)	HPLC 保持 時間 (分)	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
		5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
		試験群 H1		試験群 I1		試験群 H2		試験群 I2	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
	---								----
		----							
親化合物	33.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

：

：

：

② 糞中代謝物

糞中代謝物の分析結果を表 18 に示す。

低用量群での主代謝物は であつた。その他に少量の親化合物、 が検出された。高用量群では未変化の親化合物が多くの割合を占めた。

胆汁排泄試験の糞中試料で同定率を求めた。MS または参照標品とのコクロマトグラフィーで同定された代謝物 ( ) は低用量群では であり、高用量群では であつた。また未同定代謝物は低用量群では であり、高用量群では であつた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 18-1 糞中の放射エネルギー (%AD)

試料	標識体	試験群 (排泄 バランス)	性	採取試料 (投与後 時間(h))	放射エネルギー (%AD)	試験群 (胆汁 排泄)	性	採取試料 (投与後 時間(h))	放射エネルギー (%AD)
糞	[Bz- <sup>14</sup> C] 5 mg/kg	D1	♂	0~24 24~120	34.53 44.56	H1	♂	0~48	1.107
			♀	0~24 24~120	22.15 44.33		♀	0~48	1.887
	[Val- <sup>14</sup> C] 5 mg/kg	D2	♂	0~24 24~120	50.27 27.32	H2	♂	0~48	1.494
			♀	0~24 24~120	29.99 31.65		♀	0~48	3.784
	[Bz- <sup>14</sup> C] 400 mg/kg	E1	♂	0~24 24~96	56.11 22.24	I1	♂	0~48	32.16
			♀	0~24 24~96	37.79 39.72		♀	0~48	60.88
	[Val- <sup>14</sup> C] 400 mg/kg	E2	♂	0~24 24~96	36.78 45.38	I2	♂	0~48	42.20
			♀	0~24 24~96	28.87 51.02		♀	0~48	54.00

表 18-2 糞中の主要代謝物分布：排泄バランス試験 0~24 h (%AD)

代謝物	HPLC 保持 時間 (分)	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
		5 mg/kg (0~24h)		400 mg/kg (0~24h)		5 mg/kg (0~24h)		400 mg/kg (0~24h)	
		試験群 D1		試験群 E1		試験群 D2		試験群 E2	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
親化合物	33.6	0.76	0.31	17.23	4.95	0.98	0.26	7.19	5.12
									----

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 18-3 糞中の主要代謝物分布：排泄バランス試験 24～120 h/24～96 h (%AD)

代謝物	HPLC 保持 時間 (分)	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
		5mg/kg (24～120h)		400 mg/kg (24～96h)		5mg/kg (24～120 h)		400 mg/kg (24～96h)	
		試験群 D1		試験群 E1		試験群 D2		試験群 E2	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
親化合物	33.6	1.45	0.78	4.97	7.13	1.01	ND	12.07	8.20

表 18-4 糞中の主要代謝物分布：排泄バランス試験 0～120 h/0～96 h (%AD)

代謝物	HPLC 保持 時間 (分)	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
		5 mg/kg (0～120 h)		400 mg/kg (0～96 h)		5 mg/kg (0～120 h)		400 mg/kg (0～96 h)	
		試験群 D1		試験群 E1		試験群 D2		試験群 E2	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
親化合物	33.6	2.21	1.09	22.20	12.08	1.99	0.26	19.26	13.32

表 18-5 糞中の主要代謝物分布：胆汁排泄試験 0～48 h (%AD)

代謝物 (0～48 h)	HPLC 保持 時間 (分)	[Bz- <sup>14</sup> C]				[Val- <sup>14</sup> C]			
		5 mg/kg		400 mg/kg		5 mg/kg		400 mg/kg	
		試験群 H1		試験群 I1		試験群 H2		試験群 I2	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
親化合物	33.6	0.32	0.28	27.74	42.44	0.19	1.18	34.07	33.25

：

：

：

③ 血漿中代謝物

血漿中の代謝物プロフィールは全試験群で類似しており、主要代謝物は 、 及び未変化の親化合物であった。[Val-<sup>14</sup>C] 試験群では血漿にこの標識体特有の代謝物（保持時間 16 分）が検出された。ベンチアバリカルブイソプロピルが 生成する のこれら代謝物の存在が薬物動態における標識体間の差の原因であると推察される。

④ 肝臓中代謝物

肝臓中の代謝物プロフィールは全試験群で類似しており、主要代謝物は 、 及び未変化の親化合物であった。

⑤ 腎臓中代謝物

腎臓中の代謝物は肝臓と類似しており 、 及び親化合物が検出された。さらに 及び が同定され、その他多くのマイナー代謝物が検出された。

⑥ 胆汁中代謝物

胆汁中代謝物の分析結果を表 19 示す。  
胆汁中の代謝物は全用量群でよく類似していたが、他の試料の代謝物とは異なっていた。HPLC 分析で 21 個の代謝物が検出され、15～20 分の保持時間に少なくとも 7 個の代謝物が存在した。最大の代謝物は であり、ベンチアバリカルブイソプロピルの と同定した。多くのマイナーな代謝物が検出され、 及び も検出された（個々の代謝物同定については次項に詳しく述べる）。  
胆汁中で LC/MS または参照標品とのコクロマトグラフィーで同定された代謝物（ ） は低用量群では約 であり、高用量群では約 であった。また未同定代謝物は低用量群では約 であり、高用量群では約 であった。

表 19-1 胆汁中の放射エネルギー (%AD)

試料	標識体	試験群 (胆汁排泄)	性	採取試料 (投与後時間 (h))	放射エネルギー (%AD)
胆汁	[Bz- <sup>14</sup> C] 5 mg/kg	H1	♂	0-24	78.09
			♀	0-24	90.23
	[Val- <sup>14</sup> C] 5 mg/kg	H2	♂	0-24	77.76
			♀	0-24	63.35
	[Bz- <sup>14</sup> C] 400 mg/kg	I1	♂	0-48	37.40
			♀	0-48	40.32
[Val- <sup>14</sup> C] 400 mg/kg	I2	♂	0-48	27.76	
		♀	0-48	30.73	





本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

び<sup>19</sup>F-NMR で分析し、代謝物のラット試料での存在を調べた。その結果、ラット試料には本代謝物は検出されなかった。

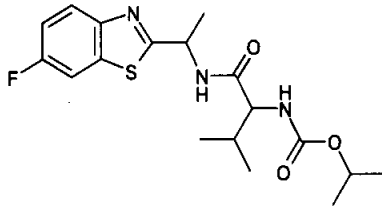
下記に同定した化合物の構造式と保持時間を示す。

また代謝分解経路を図1に示す。

### 同定化合物等の構造式

ベンチアザリカルブイロブピル (保持時間：約 33.6 分)

(保持時間：約 分)



(保持時間：約 分)

(保持時間：約 分)

(保持時間：約 分)

(保持時間：約 分)

(保持時間：約 分) :

(保持時間：約 分) :

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(保持時間：約                      分) :                      (保持時間：約                      分) :

(保持時間：約                      分) :

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

図1 推定代謝経路

結論:

- ・ベンチアバリカルブイソプロピルをラットに経口投与した場合、用量によって吸収量は比例せず、低用量では胆汁排泄を経由して糞中に排泄され、高用量では吸収されないまま糞中に直接排泄されたと考えられる。
- ・ベンチアバリカルブイソプロピルは速やかに体内組織に分布するが、蓄積は見られず速やかに排泄された。
- ・ベンチアバリカルブイソプロピルの吸収は用量依存性であった。
- ・主代謝物は基本骨格の  $\text{C}_9$  及び  $\text{C}_{10}$  であった。また  $\text{C}_9$  も認められた。代謝物パターンには雌雄に差はなく、用量間で差が認められた。低用量の主代謝物は  $\text{C}_9$  であり、高用量では未変化のベンチアバリカルブイソプロピルであった。ベンチアバリカルブイソプロピルは、 $\text{C}_9$  を経て  $\text{C}_9$  を受け代謝されると推定された。各代謝物の  $\text{C}_9$  は  $\text{C}_9$  、  $\text{C}_{10}$  を経て  $\text{C}_9$  に代謝変換され、さらに  $\text{C}_9$  は  $\text{C}_9$  に分解され、次いで  $\text{C}_9$  に  $\text{C}_9$  されるものと推定された。

同定された代謝物の構造に基づき、以下のような代謝経路が推定された。

第一段階反応

第二段階反応

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) ベンチアバリカルブイソプロピルのラット肝 S-9 における代謝試験 (資料 B-2)

試験機関：:

報告書作成年：2001 年

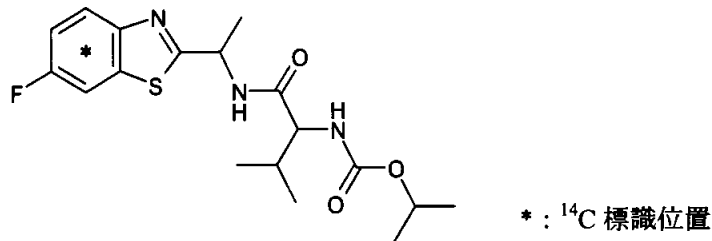
試験目的：ラット *in vivo* 代謝試験で認められた代謝物の生成経路をより明らかにする目的で、ラット肝 S-9 (9000G 上清画分) における代謝速度の測定、ならびに代謝物の同定を行った。

- 試験項目：
- 1) ベンチアバリカルブイソプロピルの代謝速度及び代謝物プロファイルの検討
  - 2) 代謝物 の同定
  - 3) 代謝物の同定
  - 4) 代謝物 及び の同定

供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識  
ベンチアバリカルブイソプロピルを  $^{13}\text{C}$  で標識

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

構造式；

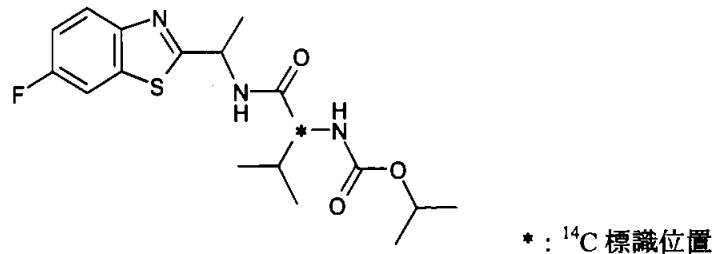


Lot No. :

比放射能 MBq/mg 放射化学的純度 % (TLC 法)

バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Val- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

構造式；



Lot No. :

比放射能 MBq/mg 放射化学的純度 % (TLC 法)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

安定同位元素  $^{13}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では  $^{13}\text{C}$  と称す)

構造式 :

# :  $^{13}\text{C}$  標識位置

分析標準品 ( )

代謝物標品 : ベンチアバリカルブイソプロピル、  
より入手した。

標識位置の設定理由 :

S-9 溶液の調製 : 変異原性試験用 (オリエンタル酵母株式会社) ラット肝 S-9 を用い、氷冷下、下記の割合で試薬と混合し S-9 溶液 (プロテイン約 2 mg/mL を含む) を調製した。

S-9	20 mL	0.6N-KCl	18 mL
0.1M-MgCl <sub>2</sub> (6H <sub>2</sub> O)	6 mL	0.02M-EDTA (2K)	1.2 mL
G6P	340 mg	$\beta$ -NADP+	84 mg
G6DPH	80 units	0.1M リン酸緩衝液 (pH7.4)	50 mL

最終 pH 7.4, 0.025M リン酸緩衝液 200 mL

試験方法 :

1) ベンチアバリカルブイソプロピルの代謝速度及び代謝物プロファイルの検討

[Bz- $^{14}\text{C}$ ] 及び [Val- $^{14}\text{C}$ ] を用い、代謝速度及び代謝物プロファイルを調べた。

<代謝速度及び代謝物プロファイル>

試料 : S-9 溶液 に [Bz- $^{14}\text{C}$ ] , メタノール溶液 : または [Val- $^{14}\text{C}$ ] ,  
606 ppm メタノール溶液 20  $\mu$ l を添加、37°C でインキュベート

添加濃度 : [Bz- $^{14}\text{C}$ ] ,

[Val- $^{14}\text{C}$ ] ,

インキュベート時間 : 1, 2, 4, 6 及び 10 分間

分析操作 : 採取後直ちに氷冷により反応を止め、固相抽出カートリッジ (Mega Bond Elut C18, Varian) で精製後、HPLC で分析

2) 代謝物の同定

ラット肝 S-9 代謝物 について、

同定を行っ

た。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

<co-TLC による同定>

試 料 :

TLC 条件 :

検出方法 :

同定方法 :

<LC/MS マススペクトル及び<sup>1</sup>H-NMR 測定>

試 料 :

単離方法 :

分析機器 :

同定方法 :

3) 代謝物の同定

ラット肝 S-9 代謝物 について、TLC 及び HPLC での挙動、酸分解による構造  
検討、さらに SIMS マススペクトル及び<sup>1</sup>H-NMR 測定による構造推定を行った。

<TLC 及び HPLC での挙動>

試 料 :

精製方法 :

検出方法 :

<酸分解による構造検討>

試 料 :

分解条件 :

分析方法 :

<SIMS マススペクトル>

試 料 :

精製方法 :

分析機器 :

<<sup>1</sup>H-NMR 測定>

試 料 :



精製方法：

分析機器：

4) 代謝物 及び の同定

及び との co-TLC、ならびに LC/MS により代謝物を同定した。

<co-TLC による同定>

試 料：

TLC 条件：

検出方法：

同定方法：

<LC/MS による同定>

試 料：

単離方法：

分析機器：

同定方法：

結 果：

1) ベンチアバリカルブイソプロピルの代謝速度及び代謝物プロファイルの検討

ベンチアバリカルブイソプロピル及び代謝物の定量結果を次表に示した。ベンチアバリカルブイソプロピルは経時的に減少し、一次反応速度式で算出した半減期は 1.8~1.9 分であった。両標識体共に主代謝物は 及び (1, 2, 3 ピーク) であった。両代謝物は反応開始後速やかに生成し、概ね処理量の でプラトーに達した。その他に 9 個以上のマイナーピーク が検出されたが、ベンチアバリカルブイソプロピルの は検出されなかった。

供試標識体	濃度	半減期
[Bz- <sup>14</sup> C] ベンチアバリカルブイソプロピル	5.62 ppm, 7.1 μ mol/g protein	1.8 分
[Val- <sup>14</sup> C] ベンチアバリカルブイソプロピル	6.06 ppm, 7.6 μ mol/g protein	1.9 分

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

供試標識体	代謝物	HPLC 保持時間 (分)	S-9 反応 (処理量に対する%)				
			反応時間 (分)				
			1	2	4	6	10
[Bz- <sup>14</sup> C]	親化合物	28.5	33.2	27.9	13.9	5.5	1.5
	合計		106.2	103.3	99.7	98.9	99.9
	親化合物	28.5	40.0	25.3	19.2	11.1	1.8
[Val- <sup>14</sup> C]							
	合計		102.7	106.1	105.6	95.2	97.4

注：U ナンバーは本試験での未同定代謝物

2) 代謝物の同定

主代謝物 と 標品とが co-TLC で一致した。 をシリカカラム  
 で精製し機器分析を行った。LC/MS で擬分子イオン  $[M+H]^+$  が測定され分子量  
 が と推定された。また、<sup>1</sup>H-NMR 測定結果より  
 と同定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

3) 代謝物の同定

<TLC 及び HPLC での挙動>

は順相系 TLC ならびに逆相系 TLC で2つのスポットに分離した ( )。更にこれらは HPLC で3つのピークに分離し、  
は  
少なくともこれら2つの代謝物の混合物であることが示唆された。

<酸分解による構造検討>

<SIMS マススペクトル及び  $^1\text{H-NMR}$  測定>

4) 代謝物 及び の同定

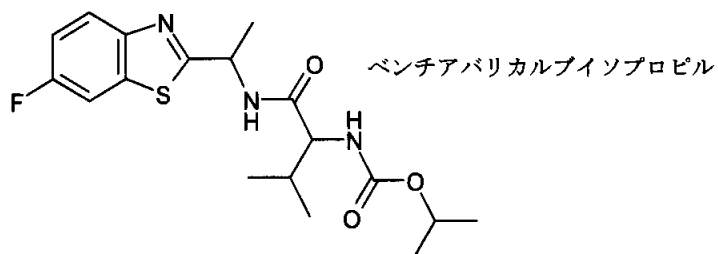
本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

推定代謝経路：

本試験結果から推定されるラット肝 S-9 での代謝経路を下図に示す。

ベンチアバリカルブイソプロピルの主代謝経路は  
ると推定された。

であ



ベンチアバリカルブイソプロピルのラット肝 S-9 での推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(3) ラットを用いた 14 日間連続投与後の組織内分布及び消長調査に関する代謝試験

(資料B-15)

試験機関：

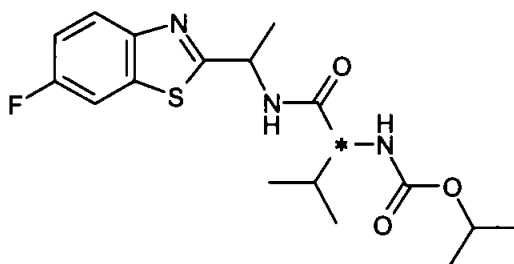
[GLP 対応]

報告書作成年：2003 年

供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識。

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl[(S)-1-[[*(R)*-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

化学構造及び標識位置



比放射能：

放射化学的純度： %

標識位置の設定理由

供試動物：Fisher (CDR CrI:BR (F344)) 系ラット雌雄、試験開始時約 7 周齢

1 群雌雄各 4 匹、開始時体重 雄 約 164~199 g、雌 約 161~179 g

投与量、投与回数及び各群における屠殺時期を次表に示す。

投与群	投与量	投与回数	屠殺時期*
A	5 mg/kg (2.75 MBq/kg)	7	8
B		14	15
C		14	17
D		14	21
E		14	28

\*：初回投与後の経過日数

試験方法：

投与溶液の調製：非標識体（純度 99.9%）及び標識体の適切な量を秤取し、アセトンで溶解後アセトンを窒素気流で除いた後、Tween 80 を少量含む 0.5%メチルセルロース溶液で懸濁した。この溶液を連続 7 日間（7 回投与）にわたって強制経口投与し、最終回投与後 24 時間に屠殺した（投与群 A）。投与群 B~E には、連続 14 日間（14 回投与）にわたって強制経口投与し、最終回投与後 24 時間、3、7 及び 14 日に屠殺した。

試料の採取：屠殺後各動物から下記の組織／臓器を採取した。

褐色脂肪、大脳、小脳、下垂体、眼球、ハーダー腺、甲状腺、気管、顎下腺、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、脂肪、骨、筋肉（大腿四頭筋）、皮膚、骨髄、動脈、腸間膜リンパ節、胆管、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、膀胱、精巣、精巣上体、前立腺、子宮、卵巣、尿、糞、血液及び血漿

〔胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸の場合には、内容物を除去した〕

なお、投与群 A 及び B の場合には、血漿の最初の測定後に性別毎にプールされた。投与群 E の場合には、尿及び糞試料は 14 回投与終了後 24 時間に収集され、最初の測定後に性別毎にプールされた。

試料の調製及び放射能の測定：全ての組織／臓器試料の重量あるいは容積が適宜測定され、糞試料は脱イオン水で均質化された。血液、血漿、尿及び液様試料は、シンチラントを添加後、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定された。

血液、糞磨砕液、凍結乾燥後の骨及び骨髄は、酸化器で酸化燃焼された。その他の試料の場合には、可溶化剤あるいは溶解剤（メタノール性水酸化カリウム溶液）で溶液化して、シンチラントを添加後 LSC で測定された。これらの測定後、データは  $\mu\text{g}$  当量/g あるいは投与放射能に対する割合（%）で報告された。なお、血液、脂肪、筋肉、皮膚及び骨における投与放射能に対する割合（%）の計算を行う場合には、下記の各組織の体重に対する割合（%）に基づいて行われた。

組織	%平均
血液	6.3
脂肪	4.986
筋肉	35.35
皮膚	17.099
骨	10.9

これらは以下の出典をもとにした。

- ・血液：Experimental and Surgical Technique in the Rats
- ・骨：Ratte und Maus (E Hageman & G Schmidt, Walter Gruyter & Co.
- ・脂肪、筋肉及び皮膚：Use of Allometry in predicting anatomical and physiological parameters of mammals; S L Lidstedt & P J Schaeffer, Laboratory Animals, (2002), 36, 1-19

尿糞中代謝物の同定は、「試料の採取」の項で記述したように、投与群 E の尿及び糞試料は 14 回投与終了後 24 時間に収集され、最初の測定後に性別毎にプールされた。分析には HPLC/MS が用いられ、更に、HPLC/MS/MS を用いて特徴付けを行った。

#### 試験結果：

組織内残留放射能の割合：結果を後頁の表 1 及び表 2 に示す。

投与後 8 日では既に体内全体に広く放射能が分布し、組織中放射能の割合は雄では投与放射能の 3.326%、雌では 1.933%であった。雌雄とも、半分以上の組織では、0.01%未満であった。投与後 8 日に高い分布割合を示した組織（全投与放射能の 0.1%以上を含む）は、雄では皮膚、肝臓、血液、回腸及び盲腸の順であった。雌では肝臓、回腸、皮膚、盲腸、結腸及び空腸の順であった。投与後 15 日では、同様に雄で 2.376%、雌で 1.005%であり、雄では組織の半分以上、雌では 2/3 の組織で 0.01%未満であった。投与後 15 日における雄では、皮膚、肝臓、回腸、血液及び盲腸の順であり、いずれも全投与放射能の 0.1%以上を含有していた。雌において、全投与放射能の 0.1%以上を含有する組織は肝臓及び皮膚であった。

組織内残留放射能の割合は、時間経過とともに減少し、投与後 28 日においては、雌雄ともに、皮膚及び血液を除き、おおむね 0.1%以下となった。また、投与後 8 日における分析対象臓器／組織内に存在する平均残留放射能量は、雄で 3.326%及び雌で 1.933%であったが、投与後 28 日における分析対象臓器／組織内に存在する平均残留放射能量は、雄で 1.168%、雌で 0.446%に減少し、雌雄とも大部分の組織では 0.01%未満であった。いずれの測定時期における組織内残留放射能は、雌に比較して雄の方が高い傾向を示した。

〔申請者註〕これらの結果を勘案すると、特に放射能の残留する組織はないものと考えられた。

#### 組織内放射能残留濃度及びその消長

各測定時点で得られた結果（組織内分布及び放射能濃度の消長）を後頁の表（表 3 及び表 4）に示す。

試験期間を通して、多くの組織内放射能残留濃度は雌に比べ、雄で高い傾向を示した。14 回投与後の組織内放射能残留濃度（投与後 15 日）は、投与後 8 日比べ、雄では大多数の組織で高かったが、雌では高い濃度を示す組織もあったが、低い濃度を示した組織／臓器がみられた。いずれの時期においても雌雄ともに消化管に最も高い濃度がみられ、投与後 8 日の雄では盲腸及び回腸でその濃度は、各々 7.969 及び 5.844  $\mu\text{g}$  当量/g、雌では回腸及び盲腸でその濃度は、各々 15.289 及び 14.743  $\mu\text{g}$  当量/g であった。投与後 15 日の雄では回腸及び盲腸で、各々 18.599 及び 12.341  $\mu\text{g}$  当量/g、雌で各々盲腸及び回腸で、各々 7.938

及び7.368  $\mu\text{g}$  当量/gであった。雌雄ともこれらの組織内濃度は、時間の経過とともに速やかに減少した。その他の組織における放射能残留濃度も投与中止後の時間の経過とともに暫時減少した。投与後21及び28日において最も高い放射能残留濃度を示した組織は、雌雄とも肝臓及び腎臓であり、その濃度は雄では各々0.812及び0.779  $\mu\text{g}$  当量/g、雌では各々0.526及び0.513  $\mu\text{g}$  当量/gであった。

投与後8日後において最も低い組織内放射能残留濃度を示した組織は、雄では脂肪及び大脳で約2  $\mu\text{g}$  当量/g、雌では大脳及び眼球で各々0.207及び0.168  $\mu\text{g}$  当量/gであった。投与後17日における組織は、雄では脂肪及び眼球で各々0.218及び0.282  $\mu\text{g}$  当量/g、雌でも雄と同様で、各々0.112及び0.150  $\mu\text{g}$  当量/gであった。

投与後21及び28日は、暫時減少し、投与後28日には雄では心臓及びハーダー腺を除いて、その他の組織中放射能残留濃度は、血液中濃度(0.934  $\mu\text{g}$  当量/g)以下であり、雌では測定した全ての組織でその放射能残留濃度は、血液中濃度(各々0.575及び0.779  $\mu\text{g}$  当量/g)以下であった。

＋：報告書には、“雄と同様に組織内放射能残留濃度の平均が上昇した”と記載されているが、申請者の計算によれば、ほぼ同じか、むしろ低い結果であった。

#### 血漿及び尿糞中代謝物の同定／特徴付け

先ず14回投与後24時間(投与群E)における尿糞中への排泄割合の結果を次表に示す。

項目	全投与放射エネルギーに対する割合(%)	
	雄	雌
尿	0.491	0.845
糞	4.898	3.542
合計	5.389	4.388

血漿中代謝物の特徴付けを行うために、投与群Eから採取した試料を用いて、HPLC分析した結果、痕跡程度にしかラジオクロマトグラムに認識されなかったことから、代謝物の特徴付けるには困難であったため、これ以上の操作は行わなかった。

次いで、尿糞試料についてHPLC/MSで同定及び特徴付けを試みた結果、尿試料中に、少量ではあるが代謝物、及びの存在が確認された(先に実施した単回投与による代謝試験、特に $^{14}\text{C}$ -ベンゼン標識ベンチアバリカルブイソプロピルでは、これらは主要代謝物であった[資料B-1])。なお、本標識体投与により得られた尿糞中における代謝物として、先の試験で同定されたと同じ分子量を有するの存在が示唆された。

及び想定されたそのの化学構造を次図に示す。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

以上のことから、 $^{14}\text{C}$ -バリリン標識ベンチアバリカルブイソプロピルを用いて、5 mg/kg の投与量で7及び14日間連続経口した結果、投与後8日で体内全体に広く分布し、分布割合の多い臓器/組織は、雄では皮膚、肝臓及び消化管、並びに雌では肝臓及び消化管の順であり、濃度では雌雄とも、消化管及び肝臓の順であった。消化管の部位で言えば、概ね盲腸、回腸、空腸及び結腸に相対的に高い放射能残留濃度がみられた。7回投与後及び14回投与24時間後に屠殺されたラットの結果を比較すると、組織中平均放射濃度は、雄では1.9倍に上昇し、雌では1.3倍上昇した。投与中止して臓器/組織中における放射能残留濃度及び存在割合を検討したところ、放射能残留濃度は暫時減少し、投与後28日（投与中止後14日）には心臓及びハーダー腺を除き、血中濃度以下になった。放射能割合では、雌雄とも皮膚及び血液を除いて、概ね0.1%以下となった。従って、本剤の毒性上における想定標的である臓器/組織である肝臓、甲状腺及び子宮を含めて、特異的に蓄積するものではないものと考えられる。

代謝面では、少量ではあるが、 $^{14}\text{C}$ -バリリン及び $^{14}\text{C}$ -ベンチアバリカルブイソプロピルの存在が確認され、基本的な代謝様式に変化がないことが推察された。しかしながら、尿中に従来検出されていない代謝物として、少量ではあるが1個検出され、暫定的に $^{14}\text{C}$ -バリリン及び $^{14}\text{C}$ -ベンチアバリカルブイソプロピルとして同定され、分子量が同じである $^{14}\text{C}$ -バリリンと推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

1) 雄における組織内残留放射能の割合

試料	試料採取時期及び残留放射能の割合 (全投与放射能に対する%)				
	投与後 8 日*	投与後 15 日 **	投与後 17 日 **	投与後 21 日 **	投与後 28 日 **
血液#	0.1713	0.1468	0.1095	0.1078	0.1089
血漿	0.0037	0.0014	0.0008	0.0004	0.0004
盲腸	0.1464	0.1119	0.260	0.0040	0.0023
小脳	0.0016	0.0019	0.0016	0.0014	0.0014
大脳	0.0039	0.0048	0.0056	0.0049	0.0050
結腸	0.0460	0.0335	0.0091	0.0055	0.0033
胆管	0.0009	0.0006	0.0002	0.0001	0.0001
十二指腸	0.0161	0.0219	0.0049	0.0028	0.0017
脂肪#	0.0317	0.0327	0.179	0.0039	0.0118
心臓	0.0079	0.0083	0.0089	0.0061	0.0061
回腸	0.1684	0.3352	0.0294	0.0094	0.0055
空腸	0.0695	0.0705	0.0104	0.0043	0.0028
腎臓	0.0277	0.0250	0.0191	0.0123	0.0086
肝臓	0.4034	0.3380	0.2010	0.1140	0.0598
皮膚#	1.3780	0.3521	0.2878	0.2411	0.2480
脾臓	0.0082	0.0071	0.0051	0.0038	0.0028
胃	0.0166	0.0133	0.0090	0.0059	0.0042
甲状腺	0.0002	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001

\* : 7 回投与後の初回投与後からの経過日数

\*\* : 14 回投与後の初回投与後からの経過日数

# : 文献に基づく組織の体重に対する割合から算出

[申請者註] 上表の「組織内残留放射能」には、相対的に分布割合の高い臓器／組織及び推定された標的臓器／組織を選び、記載した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

2) 雌における組織内残留放射能の割合

試料	試料採取時期及び残留放射能の割合 (全投与放射能に対する%)				
	投与後 8 日*	投与後 15 日**	投与後 17 日**	投与後 21 日**	投与後 28 日**
血液#	0.0972	0.0683	0.0597	0.0610	0.0533
血漿	0.0024	0.0009	0.0005	0.0003	0.0003
盲腸	0.1607	0.0468	0.0115	0.0022	0.0014
小脳	0.0015	0.0013	0.0013	0.0010	0.0011
大脳	0.0047	0.0030	0.0038	0.0032	0.0031
結腸	0.1128	0.0307	0.0074	0.0028	0.0015
胆管	0.0009	0.0004	0.0003	0.0001	0.0001
十二指腸	0.0239	0.0082	0.0025	0.0015	0.011
脂肪#	0.0799	0.0284	0.0084	0.0059	0.0062
心臓	0.0054	0.0040	0.0045	0.0033	0.0028
回腸	0.3116	0.0752	0.0200	0.0039	0.0019
空腸	0.1069	0.110	0.0058	0.0024	0.0015
腎臓	0.0190	0.0132	0.0103	0.073	0.0048
肝臓	0.3759	0.2204	0.1334	0.0708	0.0277
卵巣	0.0015	0.0006	0.0005	0.0003	0.0001
皮膚#	0.1745	0.1153	0.1134	0.0781	0.0800
脾臓	0.0060	0.0038	0.0045	0.0023	0.0018
胃	0.0106	0.0193	0.0048	0.0032	0.0023
甲状腺	0.0002	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
子宮	0.0065	0.0028	0.0027	0.0016	0.0012

\* : 7 回投与後の初回投与後からの経過日数

\*\* : 14 回投与後の初回投与後からの経過日数

# : 文献に基づく組織の体重に対する割合から算出

[申請者註] 上表の「組織内残留放射能」には、相対的に分布割合の高い臓器／組織及び推定された標的臓器／組織を選び、記載した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

3) 雄における組織内分布及び放射能濃度の消長

試料	試料採取時期及び放射能残留濃度、 $\mu\text{g}$ 当量/g				
	投与後 8 日*	投与後 15 日**	投与後 17 日**	投与後 21 日**	投与後 28 日**
血液	0.866	1.448	1.056	0.964	0.934
血漿	0.614	0.922	0.531	0.278	0.146
副腎	1.080	1.904	1.427	1.065	0.425
動脈	0.995	1.587	2.427	1.060	0.780
骨	0.429	0.772	0.682	0.512	0.440
骨髓	1.611	2.120	2.765	0.747	0.566
褐色脂肪	0.713	1.471	1.057	0.864	0.574
盲腸	7.969	12.341	3.063	0.700	0.454
小脳	0.361	0.738	0.796	0.610	0.597
大脳	0.198	0.552	0.605	0.513	0.523
結腸	2.614	4.932	1.914	0.674	0.499
胆管	3.007	5.216	2.423	0.831	0.606
精巣上体	0.452	0.828	0.793	0.544	0.555
十二指腸	1.744	4.921	1.409	0.723	0.612
眼球	0.260	0.553	0.282	0.405	0.380
脂肪	0.201	0.407	0.218	0.164	0.128
ハーパー腺	1.403	2.664	2.009	1.241	0.958
心臓	0.795	1.620	1.600	1.131	1.041
回腸	5.844	18.599	2.244	0.623	0.444
空腸	3.679	7.547	1.558	0.622	0.459
腎臓	1.374	2.426	1.865	1.166	0.779
肝臓	3.129	5.108	3.032	1.578	0.812
肺	0.860	1.538	1.180	0.877	0.660
腸間膜リンパ節	0.669	1.413	0.664	0.432	0.339
筋肉	0.543	1.178	1.064	0.960	0.883
下垂体	1.627	2.537	3.105	0.878	0.486
皮膚	2.584	1.279	1.022	0.759	0.784
脾臓	1.099	1.880	1.385	0.960	0.679
胃	1.008	1.665	1.206	0.771	0.525
顎下腺	0.918	1.609	1.437	0.903	0.679
精巣	0.384	0.783	0.697	0.554	0.448
甲状腺	1.225	2.134	1.768	1.120	0.652
気管	0.776	1.229	0.944	0.674	0.533
胸腺	0.951	1.783	1.301	0.704	0.510
膀胱	0.844	1.895	0.992	0.711	0.554

\* : 7 回投与後の初回投与後からの経過日数

\*\* : 14 回投与後の初回投与後からの経過日数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

4) 雌における組織内分布及び放射能濃度の消長

試料	試料採取時期及び放射能残留濃度、 $\mu\text{g}$ 当量/g				
	投与後 8 日*	投与後 15 日**	投与後 17 日**	投与後 21 日**	投与後 28 日**
血液	0.537	0.735	0.629	0.652	0.575
血漿	0.447	0.532	0.309	0.184	0.082
副腎	0.832	1.041	0.852	0.569	0.293
骨	0.217	0.289	0.259	0.168	0.153
骨髓	0.882	1.009	0.844	0.444	0.333
褐色脂肪	0.684	1.000	0.738	0.573	0.314
盲腸	14.743	7.938	2.489	0.527	0.284
小脳	0.299	0.407	0.460	0.426	0.396
大脳	0.207	0.289	0.328	0.301	0.276
結腸	6.721	4.595	1.199	0.415	0.323
胆管	2.551	4.236	1.851	0.722	0.305
十二指腸	3.129	1.688	0.905	0.508	0.442
眼球	0.168	0.241	0.150	0.186	0.158
脂肪	0.557	0.386	0.112	0.080	0.083
ハーダー腺	1.010	1.181	0.830	0.762	0.527
心臓	0.577	0.871	0.900	0.698	0.570
回腸	15.289	7.368	2.151	0.469	0.268
空腸	5.820	2.190	0.917	0.466	0.310
腎臓	0.980	1.003	1.057	0.778	0.513
肝臓	3.647	4.299	2.354	1.378	0.526
肺	0.641	0.828	0.683	0.547	0.394
腸間膜リンパ節	0.884	1.163	0.394	0.346	0.167
筋肉	0.320	0.540	0.505	0.480	0.401
卵巣	0.786	0.708	0.532	0.318	0.147
下垂体	0.889	1.667	0.885	0.582	0.273
皮膚	0.356	0.457	0.440	0.308	0.307
脾臓	0.807	1.069	1.232	0.624	0.471
胃	0.741	2.570	0.657	0.483	0.320
顎下腺	0.681	0.920	1.269	0.527	0.394
胸腺	0.705	0.947	0.771	0.508	0.341
甲状腺	1.525	1.276	1.114	0.774	0.385
気管	0.525	0.617	0.520	0.338	0.246
膀胱	0.534	0.647	0.552	0.476	0.220
子宮	0.864	0.753	0.570	0.345	0.291

\* : 7 回投与後の初回投与後からの経過日数      \*\* : 14 回投与後の初回投与後からの経過日数

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

## 2. 植物体内運命に関する試験

### (1) ばれいしょにおけるベンチアバリカルブイソプロピルの代謝試験

(資料B-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

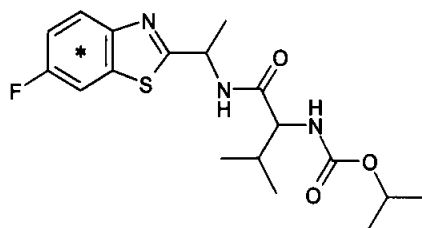
供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-[(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル

(本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造；



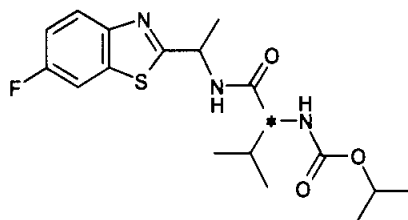
\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Val- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造；



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：ばれいしょ (品種： )

栽培条件；容量 70 L のプラスチック製ポットに堆肥を入れ、ポット当り種イモ 2 個を植え付け、温室内で栽培。1998 年 3 月から 9 月まで温室管理し、温室内の各月の

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

平均温度は 13～23℃、最低温度は 1～10℃、最高温度は 28～39℃であった。

水は適切に与え、肥料は市販のものを定期的に施用した。

植物が生育すると盛り土をして塊茎を完全に土に埋めた。

アブラムシ防除の為にピリミホスメチルを 1998 年 6 月 23 日、1998 年 7 月 8

日に散布した。

種イモの植付け；1998 年 4 月 14 日

方法：

1) 施用液

施用濃度：100 g ai/ha

設定根拠；慣行圃場施用濃度

製剤；水和剤 1 kg/ha を水 1000 L/ha で散布した。

調製方法：

未成熟作物採取茎葉散布及び成熟作物採取土壌処理試験区；

供試標識化合物をアセトニトリル約 1 mL に溶解し、1 mg/mL の濃度に調製した製剤白試料で希釈し施用液を調製した。

成熟作物採取試験区；

供試標識化合物をアセトン及びアセトニトリルに溶解し、供試標識化合物の原液を調製した。この原液の適量を 1 mg/mL の濃度に調製した製剤白試料に添加し施用液を調製した。

2) 処理

処理部位、処理回数、採取予定時期及び試験容器数；下表に要約する。

標識体	処理部位	処理回数	採取予定時期	ポット数
[Bz- <sup>14</sup> C]	茎葉	1	未成熟作物	1
[Val- <sup>14</sup> C]	茎葉	1	未成熟作物	1
[Bz- <sup>14</sup> C]	土壌	1	成熟作物	1
[Val- <sup>14</sup> C]	土壌	1	成熟作物	1
[Bz- <sup>14</sup> C]	茎葉	6	成熟作物	4
[Val- <sup>14</sup> C]	茎葉	6	成熟作物	4
対照試料	無処理	—	成熟作物	2

処理方法：

① 未成熟作物採取茎葉散布試験区

供試標識化合物製剤（供試標識化合物 2.29～2.39 mg/24 mL）を調製してバイアルに移し、動力噴霧器を用いてプラスチックシートで周囲を覆った植物に散布。プラスチックシートは一夜そのまま放置した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

② 成熟作物採取土壌処理試験区

供試標識化合物製剤（供試標識化合物 2.29～2.39 mg/24 mL）を調製してバイアルに移し、パスツールピペットを用いて直接土壌に滴下処理した。

③ 成熟作物採取茎葉散布試験区

供試標識化合物製剤（供試標識化合物 9.5～9.8 mg/100 mL）を手動式噴霧器に調製し、プラスチックシートで周囲を覆った植物に散布した。

処理日：

① 未成熟作物採取茎葉散布試験区

1998/5/14（種イモの発芽後 15 日）

② 成熟作物採取土壌処理試験区

1998/5/14（種イモの発芽後 15 日）

③ 成熟作物採取茎葉散布試験区

7 日間隔で 6 回散布した。

1998/6/12、6/19、6/26、7/3、7/10、7/17（採取前 14 日）

採取時期：

① 未成熟作物採取茎葉散布試験区

散布後 12 日（1998/5/26）

② 成熟作物採取土壌処理試験区

処理後 90 日（1998/8/12）

③ 成熟作物採取茎葉散布試験区

最終散布後 14 日（1998/7/31）

④ 対照区

1998/8/12

採取部位：

① 未成熟作物採取茎葉散布試験区

未成熟葉部

② 成熟作物採取土壌処理試験区

成熟葉部及び塊茎

③ 成熟作物採取茎葉散布試験区

成熟葉部及び塊茎

④ 対照区

成熟葉部及び塊茎

採取方法：

葉部；土壌表面に近い所で茎をカットし地上部を採取。細断後プラスチック袋に合わせ 1 試験区 1 試料を調製し、凍結保存した。

塊茎；地中から採取し、水で洗浄後乾燥させたのちプラスチック袋に合わせ 1 試験区 1 試料を調製し、凍結保存した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

分析方法：

- 1) 原液中の供試標識化合物の放射化学的純度：散布前に HPLC 法で測定
- 2) 供試標識化合物の製剤中での安定性確認：室温に 3 時間保存後 HPLC で測定
- 3) 試料の均一化：凍結試料をブレンダーでドライアイスと共に均一化
- 4) 未成熟葉部試料の分析
  - ① 総放射性残留物量の測定  
均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで 3 回磨砕混合抽出後、遠心分離した。  
抽出液は LSC で測定、残渣は燃焼処理後 LSC で測定した。総放射性残留物量（以下 TRR と略す）を抽出物と残渣の含量として計算した。
  - ② 残留物の特徴付け  
均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで 3 回磨砕混合抽出後、遠心分離した。  
抽出液は LSC で測定、残渣は燃焼処理後 LSC で測定した。  
アセトニトリル抽出物を図 1 のスキームで操作し HPLC で分析した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

図1 未成熟ばれいしょ葉部の分析操作法

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

#### 5) 成熟試料の分析

##### ① TRR の測定

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで抽出後、抽出液を LSC で測定、残渣は燃焼処理後 LSC で測定。TRR を抽出物と残渣の合量として計算した。

##### ② 残留物の特徴付け

選定した試料について、アセトニトリルで 3 回磨砕混合抽出後、遠心分離。更に残渣を水及びアセトンで抽出後、抽出物と残渣に分離。各抽出液は LSC で測定、残渣は燃焼処理後 LSC で測定。

アセトニトリル及び水抽出物を合わせ、図 2 のスキームで操作し HPLC 及び TLC で分析した。

図 2 成熟ばれいしょの分析操作法

6) クロマトグラフィー

塊茎及び葉部の抽出物を非標識体参照標品との HPLC または TLC コクロマトグラフィーを行い、抽出物中代謝物の同定を行った。また茎葉散布成熟葉部試料の酢酸エチル画分についてはキラルカラムを用いた HPLC 法により、ベンチアバリカルブイソプロピルの光学異性体の存在を調べた。

7) 酵素処理

一部選定した抽出物を  $\beta$ -グルコシダーゼで 37°C 約 24 時間処理し、処理後の反応生成物を HPLC で分析し、代謝物の特性を調べた。

8) 酸及びアルカリ処理

一部選定した抽出物を塩酸または水酸化ナトリウムで 75°C 約 24 時間処理し、処理後の反応生成物を HPLC で分析し、代謝物の特性を調べた。

9) 質量分析

一部選定した抽出物と代謝物（ 等）をエレクトロスプレー方式イオントラップ LC/MS 質量分析計を用いて分析し、代謝物の特性を調べた。

結 果：

1) 施用原液中の供試化合物の放射化学的純度

98.0%以上であった。

2) 製剤中での安定性

調製 3 時間後の放射化学的純度に減少は認められず安定であった。

3) 放射性残留物の分布

ばれいしょ試料中放射能の定量結果を表 1 に要約する。

表 1-1 未成熟作物採取用試験（予備調査）

試料	標識体	アセトニトリル抽出物		抽出残渣		TRR ( $\mu$ g/g)
		残留量 ( $\mu$ g/g)	TRR 対比 (%)	残留量 ( $\mu$ g/g)	TRR 対比 (%)	
葉部	[Val- $^{14}$ C]	0.1877	94.6	0.0106	5.4	0.1983
		0.2140	97.9	0.0045	2.1	0.2185
葉部	[Bz- $^{14}$ C]	0.3243	98.4	0.0053	1.6	0.3296
		0.3171	97.7	0.0074	2.3	0.3245

各標識体処理試料の TRR は 0.1983-0.3296  $\mu$ g/g であり、その約 95%以上がアセトニトリルで抽出され、抽出残渣には 5.4%以下であった。

表 1-2 [Val-<sup>14</sup>C] を土壌処理した試料

試料	分析法*	画分	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)	液々分配層	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)
塊茎	A	アセトニトリル	0.0007	68.6	NA	NA	NA
		残渣	0.0003	31.4	NA	NA	NA
		TRR	0.0010				
葉部	A	アセトニトリル	0.0673	86.2	NA	NA	NA
		残渣	0.0108	13.8	NA	NA	NA
		TRR	0.0781				
	B	アセトニトリル	0.0525	84.8	酢酸エチル	0.0380	61.4
		水	0.0032	5.1		水	0.0176
		残渣	0.0008	1.3			
TRR	0.0055	8.8					
TRR	0.0619						

\*分析法：A は試料分析①による方法、B は試料分析②による方法。 NA：適用せず。

表 1-3 [Bz-<sup>14</sup>C] を土壌処理した試料

試料	分析法*	抽出物	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)	液々分配層	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)
塊茎	A	アセトニトリル	0.0008	84.9	NA	NA	NA
		残渣	0.0001	15.1	NA	NA	NA
		TRR	0.0009				
葉部	A	アセトニトリル	0.0361	87.9	NA	NA	NA
		残渣	0.0050	12.1	NA	NA	NA
		TRR	0.0411				
	B	アセトニトリル	0.0412	84.4	酢酸エチル	0.0297	60.9
		水	0.0022	4.5		水	0.0137
		残渣	0.0007	1.4			
TRR	0.0048	9.8					
TRR	0.0488						

\*分析法：A は試料分析①による方法、B は試料分析②による方法。 NA：適用せず。

[Val-<sup>14</sup>C] を土壌処理した塊茎と葉部中の放射エネルギーの比率は 1 : 99 であり大部分が葉部に検出された。[Bz-<sup>14</sup>C] を土壌処理した塊茎と葉部中の放射エネルギーの比率は 3 : 97 であり大部分が葉部に検出された。

塊茎中の TRR は 0.0009~0.0010  $\mu\text{g/g}$  であり、その大部分がアセトニトリルで抽出された (68.6~84.9%)。

葉部中の TRR は 0.0411~0.0781  $\mu\text{g/g}$  であった。

TRR の分布は、<sup>14</sup>C の大部分がアセトニトリルで抽出され (84.4~84.8%)、さらに少量が水で抽出された (4.5~5.1%)。抽出液 (アセトニトリル+水抽出物) を酢酸エチルと液々分配した場合、酢酸エチル画分には TRR の 60.9~61.4% が、水層画分には TRR の 28.0~28.4% が分画された。また抽出残渣中には TRR の 8.8~9.8% が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 1-4 [Val-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟試料

試料	分析法*	画分	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)	液々分配層	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)		
塊茎	A	アセトニトリル	0.0086	84.1	NA	NA	NA		
		残渣	0.0016	15.9	NA	NA	NA		
		TRR	0.0103						
	B	アセトニトリル	0.0109	75.0	酢酸エチル	0.0034	23.5		
		水	0.0010	6.7		水	0.0085	58.2	
		アセトン	0.0001	0.9					
		残渣	0.0025	17.5					
		TRR	0.0145						
		葉部	A	アセトニトリル	4.5154	98.9	NA	NA	NA
				残渣	0.0502	1.1	NA	NA	NA
TRR	4.5656								
B	アセトニトリル		4.5946	96.8	酢酸エチル	4.4929	94.7		
	水		0.0672	1.4		水	0.1688	3.6	
	アセトン		0.0242	0.5					
	残渣		0.0583	1.2					
	TRR		4.7443						

\*分析法：A は試料分析①による方法、B は試料分析②による方法。 NA：適用せず。

表 1-5 [Bz-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟試料

試料	分析法*	抽出物	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)	液々分配層	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)		
塊茎	A	アセトニトリル	0.0024	71.3	NA	NA	NA		
		残渣	0.0010	28.7	NA	NA	NA		
		TRR	0.0034						
	B	アセトニトリル	0.0016	62.4	酢酸エチル	0.0008	30.2		
		水	0.0001	3.7		水	0.0009	35.8	
		アセトン	0.0002	8.9					
		残渣	0.0007	25.0					
		TRR	0.0026						
		葉部	A	アセトニトリル	5.1790	98.6	NA	NA	NA
				残渣	0.0748	1.4	NA	NA	NA
TRR	5.2538								
B	アセトニトリル		5.5378	94.4	酢酸エチル	5.4957	93.7		
	水		0.1471	2.5		水	0.1892	3.2	
	アセトン		0.0518	0.9					
	残渣		0.1281	2.2					
	TRR		5.8648						

\*分析法：A は試料分析①による方法、B は試料分析②による方法。 NA：適用せず。

[Val-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟試料での塊茎と葉部中の放射能の比率は 2 : 998 であり大部分が葉部に検出された。[Bz-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟試料でも塊茎と葉部中の放射能の比率は 1 : 999 であり大部分が葉部に検出された。

塊茎中の TRR は 0.0034-0.0103  $\mu\text{g/g}$  であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

TRR の分布は、 $^{14}\text{C}$  の大部分がアセトニトリルで抽出され (62.4~75.0%)、さらに少量が水で抽出された (3.7~6.7%)。抽出液 (アセトニトリル+水抽出物) を酢酸エチルと液々分配した場合、酢酸エチル画分には TRR の 23.5~30.2%が、水層画分には 35.8~58.2% (0.0085  $\mu\text{g/g}$ ) が分画された。また塊茎の抽出残渣には TRR の 17.5~25.0%が検出された。

葉部中の TRR は 4.5656~5.8648  $\mu\text{g/g}$  であり、塊茎中に比べ非常に多い量であった。葉部におけるアセトニトリルで抽出された  $^{14}\text{C}$  の比率 (94.4~96.8%) は塊茎試料で抽出された比率に比べ高かった。抽出液を酢酸エチルと液々分配した場合、酢酸エチル画分には TRR の 93.7~94.7%が、水層画分には 3.2~3.6%が分画された。また葉部の抽出残渣には TRR の 1.2~2.2%が検出された。

#### 4) 代謝

ばれいしょ試料を分析し、代謝物の同定または特徴を調べた。結果を表 2 に要約する。

表 2 ばれいしょ試料中の放射性成分

標識体	試験	作物部位	代謝物等
[Val- $^{14}\text{C}$ ]	予備	葉部	親化合物
		塊茎	NA
	土壌処理	塊茎	親化合物
		葉部	親化合物
	茎葉散布	塊茎	親化合物
		葉部	親化合物
[Bz- $^{14}\text{C}$ ]	予備	葉部	親化合物
		塊茎	NA
	土壌処理	塊茎	親化合物
		葉部	親化合物
	茎葉散布	塊茎	NA
		葉部	親化合物

NA : 残留 TRR が極少量の為、実施せず。





表 4-2 [Bz-<sup>14</sup>C] を土壌処理した葉部試料の HPLC 分析

代謝物等	酢酸エチル層		水層		計	
	μg/g	%TRR	μg/g	%TRR	μg/g	%TRR
親化合物	0.0043	8.9	0.0006	1.3	0.0050	10.2

試料中の TRR=0.0488 μg/g。 ND：検出せず。 NA：適用せず。

[Bz-<sup>14</sup>C] を土壌処理した葉部には親化合物、  
 が検出され、その残留量は 0.0050 μg/g (10.2%TRR)、  
 酢酸エチル画分には親化合物及び  
 検出され、水層画分には  
 れぞれ TRR の 1.3%、  
 及び  
 がそれぞれ TRR の 8.9、  
 認められず、親化合物及び  
 検出された。  
 であった。酢  
 がそ

4-3) 茎葉 6 回散布試験

結果を表 5-1、表 5-2 及び表 5-3 に示す。

[Val-<sup>14</sup>C] を茎葉処理した成熟塊茎には親化合物、  
 その残留量はそれぞれ 0.0007 μg/g (4.7%TRR)、  
 (23.4%TRR) であった。酢酸エチル画分には親化合物及び  
 の 4.7、  
 TRR の  
 及び  
 検出され、水層画分には親化合物は認められず  
 検出された。  
 及び  
 がそれぞれ TRR  
 それぞれ

表 5-1 [Val-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟塊茎試料の HPLC 分析

代謝物等	酢酸エチル層		水層		計	
	μ g/g	%TRR	μ g/g	%TRR	μ g/g	%TRR
親化合物	0.0007	4.7	ND	ND	0.0007	4.7

試料中の TRR=0.0145 μ g/g。 ND：検出せず。 NA：適用せず。

表 5-2 [Val-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟葉部試料の HPLC 分析

代謝物等	酢酸エチル層		水層		計	
	μ g/g	%TRR	μ g/g	%TRR	μ g/g	%TRR
親化合物	4.2592	89.8	0.0234	0.5	4.2826	90.3

試料中の TRR=4.7443 μ g/g。 ND：検出せず。 NA：適用せず。

[Val-<sup>14</sup>C] を茎葉処理した成熟葉部には親化合物、及び  
 が検出され、その残留量はそれぞれ 4.2826 μ g/g (90.3%TRR)、  
であった。 酢酸エチル画分中の残留物の大部  
 分は親化合物 (89.8% TRR、4.2592 μ g/g) であり、その他に 認められたがそ  
 の量は TRR の 及び であった。水層画分には親化合物、が検出され、  
 その量はそれぞれ TRR の 0.5%、であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 5-3 [Bz-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した成熟葉部試料の HPLC 分析

代謝物等	酢酸エチル層		水層		計	
	μg/g	%TRR	μg/g	%TRR	μg/g	%TRR
親化合物	5.1436	87.7	0.0073	0.1	5.1509	87.8

試料中の TRR=5.8648 μg/g。 ND：検出せず。 NA：適用せず。

[Bz-<sup>14</sup>C] を茎葉処理した成熟葉部には親化合物、及び  
 が検出され、その残留量は各々 5.1509 μg/g (87.8%TRR)、  
及び であった。 酢酸エチル画分には主要成分と  
 して親化合物が TRR の 87.7% 検出された。また未同定代謝物として がそれ  
 ぞれ TRR の 検出された。 水層画分には親化合物、 が検  
 出され、各々 TRR の 0.1%、 であった。

5) 塊茎及び葉部水層抽出物の β-グルコシダーゼによる処理

結果を下表に示す。

%=HPLC カラム注入量に対する割合

標識体	試料	代謝物等	酵素処理前	酵素処理後
[Val- <sup>14</sup> C]	塊茎			
	葉部			
[Bz- <sup>14</sup> C]	葉部			

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

この結果より

になることが示唆された

代謝物概要表

同定/未同定	HPLC 検出代謝物	酵素処理により検出された代謝物	
同定			
未同定			

6) ベンチアバリカルブイソプロピルの 分析

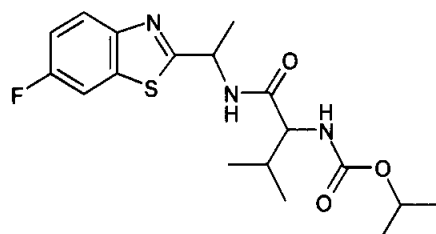
[Bz-<sup>14</sup>C] または [Val-<sup>14</sup>C] を茎葉散布した薬部の酢酸エチル抽出物を、キラルカラムを用いて HPLC で分析した。その結果、試料中には、ベンチアバリカルブイソプロピルの検出されなかった。

7) 質量分析

及び代謝物参照標品 ( 等) を質量分析し、構造の比較及び同定を行った。負及び正イオンの MS 及び MS/MS 分析を行った結果、 には が含まれ、これらを と識別した。各 3 成分の MS、MS/MS フラグメント及び HPLC 保持時間を 及び 標品と比較し、構造を推定した。その結果を図 3 に想定代謝経路として示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

図3 ベンチアバリカルブイソプロピルのばれいしょにおける想定代謝経路



ベンチアバリカルブイソプロピル

## 結論

- $^{14}\text{C}$ で標識したベンチアバリカルブイソプロピルをばれいしょに  $100\text{ g ai/ha}$  濃度で土壌処理した成熟塊茎中の総放射性残留量 (TRR) は  $0.0009\sim 0.0010\ \mu\text{g/g}$  であった。
- $^{14}\text{C}$ で標識したベンチアバリカルブイソプロピルをばれいしょに各  $100\text{ g ai/ha}$  濃度で6回茎葉散布した成熟塊茎中の TRR は  $0.0026\sim 0.0145\ \mu\text{g/g}$  (分析法 B での値) であった。
- バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピルを茎葉散布した塊茎中の残留物は、ベンチアバリカルブイソプロピル ( $0.0007\ \mu\text{g/g}$ 、塊茎中 TRR の 4.7%)、  
及び抽出残渣 ( $0.0025\ \mu\text{g/g}$ 、塊茎中 TRR の 17.5%) であった。さらに、  
を  $\beta$ -グルコシダーゼと反応させることにより、その一部 (塊茎中 TRR の約 20%) が  
として存在することを明らかにした。
- $^{14}\text{C}$ で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを処理したばれいしょ葉部中の TRR は、土壌処理で  $0.0488\sim 0.0619\ \mu\text{g/g}$ 、茎葉散布で  $4.7443\sim 5.8648\ \mu\text{g/g}$  (分析法 B での値) であった。
- 葉部中の未変化のベンチアバリカルブイソプロピルは、土壌処理で TRR の約 10%、茎葉散布で TRR の約 90% であった。
- ばれいしょでの主代謝物はベンゾチアゾール環が水酸化された親化合物の  
であった。これらの構造を、 $\beta$ -グルコシダーゼ処理した後の質量分析により推定した。葉部と塊茎部では代謝物量に差が認められた。これら代謝物の総量は、  
であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(2) トマトにおけるベンチアバリカルブイソプロピルの代謝試験

(資料B-4)

試験機関：

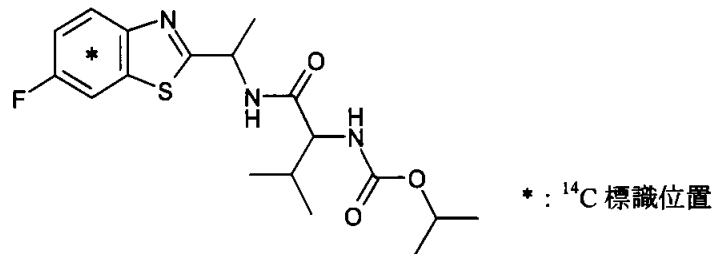
[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC)； Isopropyl [(S)-1-[(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)



比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：トマト (品種： )

栽培条件；容量 70 L のプラスチック製ポットに堆肥を入れ、ポット当たりトマトの種約 15 個を播種し温室内で栽培。ヒーターを用い、適切な最低温度を維持し、また 400W のナトリウム灯を補充照射して適切な日長時間を管理した。1999 年 6 月から 12 月まで温度管理し、温室内の各月の平均温度は 15~26°C、最低温度は 11~15°C、最高温度は 23~35°C であった。

水は必要に応じて与え、肥料は市販のものを定期的に施用した。

植物が生育した時に 1 ポットあたり 2 個の健全な植物を残して間引きした。主枝は支柱に緩く縛って支え、すべての側芽及び黄化した葉は除去した。植物が約 5 ft (約 150 cm) の背丈になった時、成長点を摘心した。

病害虫について定期的に検査したが、農薬の施用は必要でなかった。

栽培トマト本数；試験区：6 ポット×2 本=12 本

対照区：1 ポット×2 本=2 本

播種；1999 年 7 月 20 日

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

方法：

1) 施用液

施用濃度：100 g ai/ha

設定根拠；慣行圃場施用濃度

製 剤；水和剤 1 kg/ha を水 1000 L/ha 散布した。

調製方法：供試化合物をアセトニトリル及びアセトンに溶解し、施用液調製用の原液を調製。

この原液中の供試化合物濃度を LSC で測定後、適量を 1 mg/mL の濃度に調製した製剤白試料に添加し施用液を調製した。

2) 処理

処理部位：茎葉

処理回数：発芽後 7-14 日間隔で 6 回

処理年月日；1999/9/7、9/21、9/28、10/5、10/12、10/19

処理方法：供試化合物製剤（供試化合物 2.0 mg/20 mL）をガラス製バイアル内で調製し、手動式噴霧器に移した。トマトをプラスチックシートで周囲を覆い、製剤調製液を散布した。

採取時期：6 回散布の最終散布 14、28、35、42、49 及び 56 日後

採取部位及び個数：各ポットから 3 個の果実及び葉部を下表の採取時点に採取し、全生重量を測定した。対照区は 5 個採取した。

試料		14 日	28 日	35 日	42 日	49 日	56 日
処理区	果実	1344 g	754 g	375 g	693 g	4401 g	7013 g
	葉部	NA	NA	NA	NA	NA	16724 g
対照区	果実	351 g	204 g	NA	NA	NA	1197 g
	葉部	NA	NA	NA	NA	NA	2420 g

NA：採取せず

56 日後の果実試料は個々に水で洗浄し、全洗浄液を合わせ、一つの洗浄液試料を調製した。洗浄後の試料を分析試料とした。

3) 分析方法

原液中の供試化合物の放射化学的純度：1 回目の散布前、最終散布後及びこの間の 2 時点で HPLC 法により測定した。

供試化合物の製剤中での安定性確認：室温に約 3 時間保存後 HPLC で測定し、約 4℃で 6 ヶ月保存後 HPLC で再測定

試料の均一化：凍結試料をブレンダーでドライアイスと共に均一化した。

分析操作のスキームを図 1 及び 2 に示した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

図1 トマト果実の分析操作法

図2 トマト葉部の分析操作法

果実試料の分析：

①総放射性残留量の測定（14, 28, 35, 42, 49 及び 56 日後の試料）

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで1回磨砕混合抽出後、遠心分離。抽出液はLSCで測定、残渣は燃焼処理後LSCで測定した。総放射性残留量（以下TRRと略す）を抽出液と残渣の合量として計算した。

②残留物の特徴付け（14 及び 56 日後試料）

選定した試料について、アセトニトリルで2回、次いで水で2回磨砕混合抽出した。抽出液はLSCで測定した。残渣は燃焼処理後LSCで測定した。

アセトニトリル抽出物を減圧濃縮し、濃縮液を水で希釈した。これをC<sub>18</sub>固相抽出（SPE）カラムに供し、溶出液を‘水SPE層’として分取。次いでカラムをアセトニトリルで洗浄し、‘アセトニトリルSPE層’として分取した。各分取液を減圧濃縮し、HPLC及びTLCで分析した。

56 日後試料水洗液の分析：

①TRR の測定

LSCで測定した。

②残留物の特徴付け

試料の全量をC<sub>18</sub>固相抽出（SPE）カラムに供し、‘水SPE層’と‘アセトニトリルSPE層’とに分画した。各面分を減圧濃縮し、HPLC及びTLCで分析した。

葉部試料の分析（56日後試料）：

①TRRの測定

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで1回磨砕混合抽出後、遠心分離した。抽出液はLSCで測定し、残渣は燃焼処理後LSCで測定した。TRRを抽出液と残渣の含量として計算した。

②残留物の特徴付け

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで2回、次いで水で2回磨砕混合抽出した。抽出液はLSCで測定し、残渣は燃焼処理後LSCで測定した。

アセトニトリル抽出物を減圧留去後、HPLC及びTLCで分析した。

代謝物の同定は、非標識体標品とのHPLCまたはTLCコクロマトグラフィーにより行った。

結果：

1) 原液中の供試化合物の放射化学的純度

98.0%以上であった。

2) 製剤中での安定性

調製3時間後の放射化学的純度は98.2%であり、安定であった。

約4℃で6ヶ月保存後の放射化学的純度は97.7%であり、ベンチアバリカルブイソプロピルの分解が若干みられた。

3) 放射性残留物の分布

トマト試料中のTRRの分布を表1に示した。

表 1-1 トマト果実中の放射性残留物

画分	残留量 $\mu\text{g/g}$ カッコ内は%TRR							
	14日	14日*	28日	35日	42日	49日	56日	56日*
水洗浄液	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.0023 (31.9)	0.0023 (34.3)
アセトニトリル抽出物	0.0161 (89.0)	0.0207 (97.6)	0.0139 (89.1)	0.0148 (87.1)	0.0161 (85.6)	0.0113 (83.1)	0.0033 (45.8)	0.0042 (62.7)
水抽出物	NA	ND	NA	NA	NA	NA	NA	ND
抽出残渣	0.0020 (11.0)	0.0005 (2.4)	0.0017 (10.9)	0.0022 (12.9)	0.0027 (14.4)	0.0023 (16.9)	0.0016 (22.2)	0.0002 (3.0)
総放射性残留物	0.0181	0.0212	0.0156	0.0170	0.0188	0.0136	0.0072	0.0067

NA：分析せず。ND：検出せず。\*分析操作②による方法の結果。

表 1-2 トマト葉部中の放射性残留物

画分	残留量 $\mu\text{g/g}$	カッコ内は%TRR
	56 日	56 日*
アセトニトリル抽出物	1.8723 (84.7)	2.1501 (92.3)
水抽出物	NA	0.0863 (3.7)
抽出残渣	0.3382 (15.3)	0.0942 (4.0)
総放射性残留物	2.2105	2.3306

NA：分析せず。 \*分析操作②による方法の結果。

トマト果実中の TRR は、 $0.0067 \mu\text{g/g}$  (56 日後) から  $0.0212 \mu\text{g/g}$  (14 日後) であった。果実中の 14 日及び 28 日後の残留物はアセトニトリルに高い比率 (89.0~97.6% TRR、 $0.0139 \sim 0.0207 \mu\text{g/g}$ ) で抽出され、抽出残渣には極少量 (2.4~11.0% TRR、 $0.0005 \sim 0.0020 \mu\text{g/g}$ ) が検出された。それ以降の果実試料 (35, 42 及び 49 日後) ではアセトニトリルに抽出される割合は減少 (49 日後で 83.1%、 $0.0113 \mu\text{g/g}$ ) し、それに伴って抽出残渣の量が増加 (49 日後で 16.9%、 $0.0023 \mu\text{g/g}$ ) した。

56 日後の果実試料は水で洗浄した後、アセトニトリルで抽出した。TRR の分布は水洗液に TRR の 34.3% ( $0.0023 \mu\text{g/g}$ )、アセトニトリル抽出物に TRR の 62.7% ( $0.0042 \mu\text{g/g}$ ) が検出された。抽出残渣に 3% ( $0.0002 \mu\text{g/g}$ ) が検出された。

トマト葉部中の TRR は  $2.2105 \sim 2.3306 \mu\text{g/g}$  であり、TRR の分布はアセトニトリル抽出物中に 92.3% ( $2.1501 \mu\text{g/g}$ )、水抽出物に 3.7% ( $0.0863 \mu\text{g/g}$ ) 及び抽出残渣に 4.0% ( $0.0942 \mu\text{g/g}$ ) が検出された。

#### 4) 代謝

14 日後及び 56 日後の試料を分析し、TRR 中の代謝物の同定または特徴を調べた。結果を表 2 及び 3 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表2 トマト試料の HPLC 分析

試料	画分	残留量 $\mu\text{g/g}$ カッコ内は%TRR				
		総抽出物	親化合物	総未同定物	最大未同定物	その他
14 日後果実	アセトニトリル SPE 層	0.0190 (89.6)	0.0188 (88.8)	ND	ND	0.0001 (0.6)
	水 SPE 層	0.0017 (8.0)	ND	0.0017 (8.2)	0.0009 (4.2)	<0.0001 (<0.1)
	計	0.0207 (97.6)	0.0188 (88.8)	0.0017 (8.2)	0.0009 (4.2)	0.0001 (0.6)
56 日後果実	水洗液	0.0023 (34.3)	0.0023 (34.1)	ND	ND	<0.0001 (0.3)
	アセトニトリル SPE 層	0.0027 (40.3)	0.0014 (20.7)	0.0012 (18.4)	0.0005 (6.8)	<0.0001 (0.7)
	水 SPE 層	0.0015 (22.4)	ND	0.0015 (22.5)	0.0006 (9.4)	<0.0001 (0.4)
	計	0.0065 (97.0)	0.0037 (54.7)	0.0027 (40.9)	0.011 (16.2)	0.0001 (1.4)
56 日後葉部	抽出濃縮物	2.2364 (96.0)	2.2163 (95.1)	ND	ND	0.0206 (0.9)

ND : 検出せず。

表3 トマト試料の TLC 分析

試料	画分	残留量 $\mu\text{g/g}$ カッコ内は%TRR				
		総抽出物	親化合物	未同定物	原点	その他
14 日後果実	アセトニトリル SPE 層	0.0190 (89.6)	0.0179 (84.4)	ND	0.0010 (4.8)	0.0001 (0.3)
	水 SPE 層	0.0017 (8.0)	ND	ND	0.0017 (8.0)	<0.0001 (0.2)
	計	0.0207 (97.6)	0.0179 (84.4)	ND	0.0027 (12.8)	0.0001 (0.4)
56 日後果実	水洗液	0.0023 (34.3)	0.0022 (33.1)	ND	0.0001 (1.1)	<0.0001 (0.1)
	アセトニトリル SPE 層	0.0027 (40.3)	0.0023 (35.1)	ND	0.0003 (4.6)	<0.0001 (0.1)
	水 SPE 層	0.0015 (22.4)	ND	ND	0.0015 (22.3)	<0.0001 (0.6)
	計	0.0065 (97.0)	0.0046 (68.2)	ND	0.0019 (28.0)	0.0001 (0.8)
56 日後葉部	抽出濃縮物	2.2364 (96.0)	2.0470 (87.8)	ND	0.1867 (8.0)	0.0025 (0.1)

ND : 検出せず。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

果実中の TRR の大部分 (62.7~97.6%) がアセトニトリルで抽出された。アセトニトリル抽出物を 'アセトニトリル SPE 層' 及び '水 SPE 層' とに分画した。それぞれからは TRR の 40.3~89.6% 及び 8.0~22.4% が検出された。'アセトニトリル SPE 層' には親化合物 (0.0014~0.0188  $\mu\text{g/g}$ 、20.7-88.8%TRR) のみが検出された。'水 SPE 層' には親化合物は検出されず、未同定代謝物が検出された (0.0005~0.0017  $\mu\text{g/g}$ 、6.8~8.2%TRR)。

56 日後の果実はアセトニトリル抽出前に水で洗浄した。TRR の 34.3% (0.0023  $\mu\text{g/g}$ ) が水で除去された。水洗液には未変化の親化合物 (0.0023  $\mu\text{g/g}$ 、34.1%TRR) のみが検出された。

56 日後採取葉部中の TRR の大部分はアセトニトリル及び水で抽出され、未変化の親化合物 (合算で 2.2163  $\mu\text{g/g}$ 、95.1%TRR) のみが検出された。

#### 結論

- $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを各 100 g ai/ha 濃度で 6 回茎葉散布したトマトにおける総放射性残留量 (TRR) は、最終散布 14 日後の果実で 0.0181~0.0212  $\mu\text{g/g}$  であり、56 日後の果実で 0.0067~0.0072  $\mu\text{g/g}$  であった。
- 14 日後のトマト果実中の残留物は、ベンチアバリカルブイソプロピル (0.0188  $\mu\text{g/g}$ 、88.8%TRR)、未同定代謝物 (総量 0.0017  $\mu\text{g/g}$ 、8.2%TRR) 及び抽出残渣 (0.0005  $\mu\text{g/g}$ 、2.4%TRR) であった。未同定代謝物は最大で 4.2%TRR (0.0009  $\mu\text{g/g}$ ) 検出された。
- 56 日後のトマト果実中の残留物は、ベンチアバリカルブイソプロピル (0.0037  $\mu\text{g/g}$ 、54.7%TRR)、未同定代謝物 (総量 0.0027  $\mu\text{g/g}$ 、40.9%TRR) 及び抽出残渣 (0.0002  $\mu\text{g/g}$ 、3.0%TRR) であった。未同定代謝物は最大で 9.4% TRR (0.0006  $\mu\text{g/g}$ ) であった。
- 56 日後のトマト葉部には 2.2105~2.3306  $\mu\text{g/g}$  の TRR が検出され、ベンチアバリカルブイソプロピルが 95.1%TRR 及び抽出残渣が 4%TRR であった。
- ベンチアバリカルブイソプロピルはトマトにおいて代謝されず、ベンチアバリカルブイソプロピルがトマトにおける主要な残留物であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(3) ぶどうにおけるベンチアバリカルブイソプロピルの代謝試験

(資料B-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

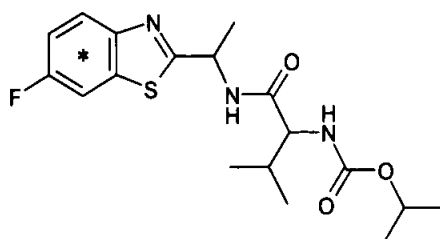
供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-{{(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl}-carbamoyl}-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル

(本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造；



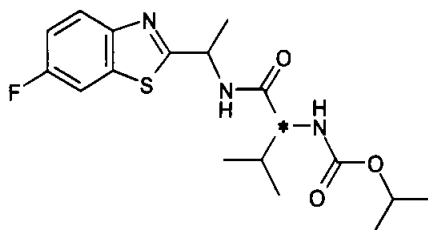
\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Val- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造；



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：ぶどう（品種： ）；10年生植物

栽培条件；容量70Lのプラスチック製ポットに堆肥を入れ、ポット当りぶどう樹1本を植え、温室内で栽培。1998年3月から9月まで温度管理し、温室内の各月の平均温度は13～23℃、最低温度は1～10℃、最高温度は28～39℃であった。水は適切に与え、肥料は市販のものを定期的に施用した。

栽培ぶどう本数；1試験区2ポット×1本=2本

移植；1998年3月19日

方法：

1) 施用液

施用濃度：100 g ai/ha

設定根拠；慣行圃場施用濃度

製 剤；水和剤 1 kg/ha を水 1000 L/ha で散布した。

調製方法；供試化合物をアセトン及びアセトニトリルに溶解し、供試化合物の原液を調製。

この原液の適量を 1 mg/mL の濃度に調製した製剤白試料に添加して施用液を調製した。

2) 処理

処理部位；茎葉

処理回数；7～14日間隔で6回

処理年月日；1998/7/23, 7/30, 8/13, 8/21, 8/28, 9/4

処理方法；供試化合物製剤（供試化合物 4.8 mg/50 mL）を手動式噴霧器に調製し、ぶどう樹の周囲をプラスチックシートで覆い、製剤調製液を散布した。

採取時期；6回散布の最終散布17日後（1998年9月21日）

採取部位；ぶどう果実及びぶどう葉部

3) 分析方法

原液中の供試化合物の放射化学的純度；散布前に HPLC 法で測定した。

供試化合物の製剤中での安定性確認；室温に3時間保存後 HPLC で測定した。

試料の均一化；凍結試料をブレンダーでドライアイスと共に均一化した。

分析操作のスキームを図1に示す。



図 1 ぶどう果実及び葉部の分析操作法

葉部試料の分析：

①総放射性残留量の測定

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで3回磨碎混合抽出。抽出液は液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定、残渣は燃焼処理後 LSC で測定。抽出液の一部を採取、アセトニトリルを留去後 HPLC で分析。総放射性残留量 (TRR) を抽出液と残渣の合量として計算した。

②残留物の特徴付け

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで3回、次いで水で1回磨砕抽出。抽出液はLSCで測定。残渣はアセトンで洗浄し、燃焼処理後LSCで測定した。

アセトニトリル抽出物を減圧濃縮後、水抽出物と合わせ、酢酸エチルで液々分配し、酢酸エチル層と水層に分離した。各層の放射エネルギーをLSCで測定後、減圧濃縮し、酢酸エチル抽出物はHPLC及びTLCで分析、水層はHPLCで分析した。また、水層をβ-グルコシダーゼで処理し生成物をHPLCで分析した。

ぶどう果実分析：

①TRRの測定

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで3回磨砕混合抽出。抽出液はLSCで測定、残渣は燃焼処理後LSCで測定。抽出液の一部を採取、アセトニトリルを留去後HPLCで分析。TRRを抽出液と残渣の含量として計算した。

②残留物の特徴付け

均一化した試料の一部を採取し、アセトニトリルで3回磨砕混合抽出。抽出液はLSCで測定。残渣はアセトンで洗浄し、燃焼処理後LSCで測定した。

アセトニトリル抽出物を減圧濃縮後、酢酸エチルで液々分配し、酢酸エチル層と水層に分離した。各層の放射エネルギーをLSCで測定後、減圧濃縮し、酢酸エチル抽出物はHPLC及びTLCで分析、水層はHPLCで分析した。

ぶどう果実及び葉部の代謝物の同定は、抽出物を非標識体標品とHPLCクロマトグラフィーを行った。酢酸エチル抽出物についてはキラルカラムを用いたHPLC法により、ベンチアバリカルブイソプロピルの光学異性体の存在を調べた。

結 果：

- 1) 原液中の供試化合物の放射化学的純度  
98.0%以上であった。
- 2) 製剤中での安定性  
調製3時間後の放射化学的純度に減少は認められず安定であった。
- 3) 放射性残留物の分布  
ぶどう試料中のTRRの分析結果を表1に示す。

表 1-1 [Val-<sup>14</sup>C] 散布試料

試料 分析法*	画分	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)	液々分配層	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)
ぶどう 果実	A アセトニトリル抽出物	0.2675	98.4	NA	NA	NA
	残渣	0.0044	1.6	NA	NA	NA
	計	0.2719				
	アセトニトリル抽出物	0.2365	98.2	酢酸エチル 水	0.2314	96.1
	B 水抽出物	0.0009	0.4		0.0051	2.1
	残渣	0.0034	1.4			
計	0.2408					
ぶどう 葉部	A アセトニトリル抽出物	22.6713	98.2	NA	NA	NA
	残渣	0.4148	1.8	NA	NA	NA
	計	23.0861				
	アセトニトリル抽出物	19.4669	89.9	酢酸エチル 水	20.3525	94.0
	B 水抽出物	1.1486	5.3		0.2629	1.2
	アセトン洗浄液	0.5250	2.4			
残渣	0.5223	2.4				
計	21.6627					

\*分析法：A は試料分析①による方法、B は試料分析②による方法。 NA：適用せず。

B でのアセトン洗浄液は残渣を洗浄したもの

表 1-2 [Bz-<sup>14</sup>C] 散布試料

試料 分析法*	画分	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)	液々分配層	残留量 ( $\mu\text{g/g}$ )	TRR 対比 (%)
ぶどう 果実	A アセトニトリル抽出物	0.2892	99.3	NA	NA	NA
	残渣	0.0020	0.7	NA	NA	NA
	計	0.2912				
	アセトニトリル抽出物	0.3217	98.4	酢酸エチル 水	0.3133	95.8
	B 水抽出物	0.0019	0.6		0.0084	2.6
	アセトン洗浄液	0.0035	1.1			
計	0.3271					
ぶどう 葉部	A アセトニトリル抽出物	17.0291	95.3	NA	NA	NA
	残渣	0.8406	4.7	NA	NA	NA
	計	17.8697				
	アセトニトリル抽出物	12.7169	90.8	酢酸エチル 水	13.2399	94.5
	B 水抽出物	0.7267	5.2		0.2037	1.5
	アセトン洗浄液	0.2469	1.8			
残渣	0.3195	2.3				
計	14.0101					

\*分析法：A は試料分析①による方法、B は試料分析②による方法。 NA：適用せず。

B でのアセトン洗浄液は残渣を洗浄したもの

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

果実中の TRR は、[Val-<sup>14</sup>C] 及び [Bz-<sup>14</sup>C] の試料でそれぞれ 0.2408~0.2719  $\mu\text{g/g}$  及び 0.2912~0.3271  $\mu\text{g/g}$  であった。TRR の大部分 (98%以上) がアセトニトリルで抽出された。さらにアセトニトリル抽出物を酢酸エチルで液々分配した場合、酢酸エチル層に TRR の 95.8~96.1%が、水層に 2.1~2.6%が分画された。抽出残渣には 0.7~1.6%TRR が検出された。

葉部中の TRR は、[Val-<sup>14</sup>C] 及び [Bz-<sup>14</sup>C] の試料でそれぞれ 21.6627~23.0861  $\mu\text{g/g}$  及び 14.0101~17.8697  $\mu\text{g/g}$  であった。TRR の大部分 (90%以上) が、アセトニトリルで抽出された。

#### 4) 代謝

ぶどう試料を分析し、代謝物の同定または特徴を調べた。結果を表 2 及び 3 に示す。

表 2-1 [Val-<sup>14</sup>C] 散布ぶどう果実試料の HPLC 分析

放射能の同定	酢酸エチル層		水層		計	
	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR
親化合物	0.2312	96.0	0.0013	0.5	0.2324	96.5
					-----	---

試料中の TRR=0.2408  $\mu\text{g/g}$ 。ND : 検出せず

表 2-2 [Bz-<sup>14</sup>C] 散布ぶどう果実試料の HPLC 分析

放射能の同定	酢酸エチル層		水層		計	
	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR
親化合物	0.3114	95.2	0.0017	0.5	0.3131	95.8

試料中の TRR=0.3271  $\mu\text{g/g}$ 。ND : 検出せず

表 3-1 [Val-<sup>14</sup>C] 散布ぶどう葉部試料の HPLC 分析

放射能の同定	酢酸エチル層		水層		計	
	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR	$\mu\text{g/g}$	%TRR
親化合物	20.2914	93.7	0.0678	0.3	20.3593	94.0
	---		-----			

試料中の TRR=21.6627  $\mu\text{g/g}$ 。ND : 検出せず

表 3-2 [Bz-<sup>14</sup>C] 散布ぶどう葉部試料の HPLC 分析

放射能の同定	酢酸エチル層		水層		計	
	μ g/g	%TRR	μ g/g	%TRR	μ g/g	%TRR
親化合物	13.1869	94.1	0.0623	0.5	13.2493	94.6
						---

試料中の TRR=14.0101 μ g/g。ND：検出せず

[Val-<sup>14</sup>C] または [Bz-<sup>14</sup>C] 処理した果実及び葉部試料の酢酸エチル画分には未変化の親化合物のみが検出され、水画分には極少量の親化合物が検出された。その含量は果実でそれぞれ TRR の 96.5% (0.2324 μ g/g) 及び 95.8% (0.3131 μ g/g) であり、葉部では TRR の 94.0% (20.3593 μ g/g) 及び 94.6% (13.2493 μ g/g) であった。水画分には数個の未同定代謝物が認められた。主要代謝物の検出量は果実で TRR の であり、葉部で TRR の であった。

- 5) ベンチアバリカルブイソプロピルの 分析  
ぶどう葉部の酢酸エチル画分を、キラルカラムを用いて HPLC で分析した。その結果、試料中には は認められなかった。
- 6) ぶどう葉部水画分の による処理  
ぶどう葉部水画分の による処理前及び処理後のクロマトグラムに変化がなかったことから、水画分中の未同定代謝物は でないことが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

#### 結論

- $^{14}\text{C}$ で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを各 100 g ai/ha 濃度で6回茎葉散布したぶどうにおける果実中の総放射性残留量 (TRR) は 0.2408~0.3271  $\mu\text{g/g}$  (分析法 B による値) であった。
- ぶどう果実中の残留物はベンチアバリカルブイソプロピル (0.2324~0.3131  $\mu\text{g/g}$ 、約 96%TRR)、未同定代謝物 (総量  $\mu\text{g/g}$ 、約 TRR) 及び抽出残渣 (抽出率 %、約 TRR) であった。最も多かった未同定代謝物は TRR の僅か ( %) であった。
- ぶどう葉部中の TRR は 14.0101~23.0861  $\mu\text{g/g}$  であった。未変化のベンチアバリカルブイソプロピルが TRR の約 94%検出され、未同定の代謝物は約 %であった。
- ベンチアバリカルブイソプロピルはぶどうにおいて代謝されず、ベンチアバリカルブイソプロピルがぶどうにおける主要な残留物であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(4) ベンチアバリカルブイソプロピルのトマト幼苗における代謝・移行性試験 (資料B-6)

試験機関:

報告書作成年: 2001年

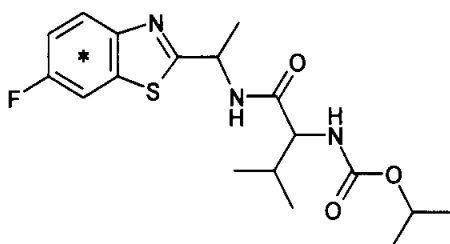
供試標識化合物: ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC); Isopropyl [(S)-1-[(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル

(本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造;



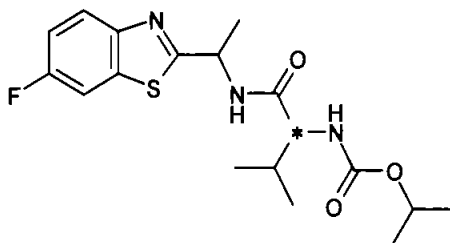
\*:  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能;

放射化学的純度;

バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Val- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造;



\*:  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能;

放射化学的純度;

標識位置の設定理由;

供試植物: トマト幼苗 (品種 )、水耕栽培で第四本葉期まで生育した苗を供試した。

栽培条件; 試験中はグロースキャビネット内でくみあい液肥1号の2000倍希釈液にて水耕栽培

温度: 昼間 25°C、夜間 20°C (12時間サイクル) 湿度: 60%

光源: 3波長域発光型ツイン蛍光灯及び白熱灯 (光強度 30,000 lux)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

処理方法：処理方法、処理液及び採取時期を表1に要約する。

表1 ベンチアバリカルブイソプロピルの処理方法

処理方法	標識体	処理液	処理部位	試料採取時期
水耕	[Bz- <sup>14</sup> C]	0.443 $\mu$ g/mL 水耕液	根	2, 7 日後 (分析用) 1, 3, 7 日後 (オートラジオグラム用)
	[Val- <sup>14</sup> C]	0.533 $\mu$ g/mL 水耕液	根	4, 7 日後 (分析用)
葉茎	[Bz- <sup>14</sup> C]	1.6 $\mu$ g/mL メタノール	第4本葉 基部及び葉	2, 7 日後 (分析用) 1, 3, 7 日後 (オートラジオグラム用)
	[Val- <sup>14</sup> C]	0.177 $\mu$ g/mL 水和剤	第2本葉 基部及び葉	4, 7 日後 (分析用) 1, 4, 7 日後 (オートラジオグラム用)

分析方法：試料の分画及び抽出は以下の図の通り行った。

代謝物の検出は、植物抽出物の酢酸エチル画分を直接、または酵素で加水分解した後の抽出物について薄層クロマトグラフィー (TLC) により行った。水画分については酵素での加水分解後同様に行った。代謝物は標品との照合により同定した。



移行性は植物のオートラジオグラムを作成し、イメージングアナライザーにより検出することにより調べた。

結果：

1) 吸収、移行

水耕処理ならびに茎葉処理での放射能分布を表2に示す。

水耕処理： $^{14}\text{C}$ は植物に吸収され、主に酢酸エチル画分及び酵素遊離画分に検出された。

茎葉処理： $^{14}\text{C}$ は処理葉の酢酸エチル画分及びメタノール洗液に検出され、他の部位への移行は極微量であった。

表2-1 水耕処理での放射能分布

処理方法	標識体	試料	画分	処理量に対する%		
				2日	7日	
水耕	$[\text{Bz-}^{14}\text{C}]$	茎葉	酢酸エチル	15.2	36.5	
			水	0.4	1.9	
			酵素遊離	0.1	0.8	
			水溶性	0.2	1.1	
			抽出残渣	0.1	0.7	
			合計	15.7	39.1	
		根	酢酸エチル	2.2	7.2	
			水	0.6	1.6	
			酵素遊離	0.4	1.1	
			水溶性	0.1	0.5	
			抽出残渣	0.1	0.4	
			合計	2.9	9.2	
	水耕液	酢酸エチル	73.5	46.2		
		水	<0.1	<0.1		
		合計	73.5	46.2		
	合計		92.9	94.5		
					4日	7日
		$[\text{Val-}^{14}\text{C}]$	茎葉	酢酸エチル	19.9	32.3
	水			0.6	1.4	
	酵素遊離			0.3	0.7	
水溶性	0.3			0.7		
抽出残渣	0.1			0.6		
合計	20.6			34.3		
根	酢酸エチル		5.3	13.5		
	水		0.2	0.4		
	酵素遊離		0.1	0.1		
	水溶性		<0.1	0.4		
	抽出残渣		0.8	1.1		
	合計		6.3	15.0		
水耕液	酢酸エチル	71.5	48.9			
	水	1.4	1.0			
	合計	72.9	49.9			
合計		99.8	99.2			

表 2-2 茎葉処理での放射能分布

処理方法	標識部位	試料	画分	処理量に対する%		
				2日	7日	
茎葉	[Bz- <sup>14</sup> C]	処理葉	メタノール洗液	87.3	92.2	
			酢酸エチル	0.8	0.9	
			水	0.48	0.4	
			酵素遊離	0.1	0.1	
			水溶性	0.3	0.3	
			抽出残渣	<0.1	0.1	
			合計	88.5	93.6	
		非処理の茎葉	—	<0.1	<0.1	
		根	—	<0.1	<0.1	
		水耕液	—	<0.1	<0.1	
	合計	—	88.5	93.6		
				4日	7日	
		[Val- <sup>14</sup> C]	処理葉	メタノール洗液	97.8	94.0
	酢酸エチル			5.9	5.1	
	水			0.3	0.4	
	酵素遊離			0.2	0.2	
	水溶性			0.1	0.2	
	抽出残渣			0.1	0.2	
合計	104.1			99.7		
非処理の茎葉	—	—	<0.1			
根	—	<0.1	<0.1			
水耕液	—	<0.1	<0.1			
合計	—	104.1	99.7			

— : 分画せず

オートラジオグラフィーで移行性を調べた結果、処理部位から他部位への移行のし易さは次の通りであった。

根 部 > 茎葉基部 > 頂葉、第3葉

## 2) 代謝

水耕処理での代謝物の分析結果を表3に示す。水耕処理では茎葉中の主残留物は未変化の親化合物であった。代謝物として M-II を co-TLC で同定し、酵素処理で遊離する として を同定した。また、[Val-<sup>14</sup>C] 処理の酢酸エチル画分を酵素処理して、 が検出された。茎葉処理ではメタノール洗液及び葉抽出物の酢酸エチル画分中の代謝物を検討した。主たる残留物は未変化の親化合物であり、その量は処理量対比で [Bz-<sup>14</sup>C] ではメタノール洗液中に 97.4%、葉抽出物中に 0.9%、[Val-<sup>14</sup>C] ではメタノール洗液中に 93.7%、葉抽出物中に 4.8% 検出された。また、[Val-<sup>14</sup>C] を処理した葉部からは が検出されたが、その量は極微量 ( 、 処理量対比 ) であった。

表3 水耕処理での代謝物分析結果

処理方法	標識部位	試料	画分	代謝物等	7日後の分析値	
					試料中割合 %	濃度 mg/kg
水耕	[Bz- <sup>14</sup> C]	茎葉	酢酸エチル	親化合物	89.0	5.96
				合計	93.4	6.26
			酵素遊離	親化合物	0.5	0.03
				合計	2.0	0.13
		根	酢酸エチル	親化合物	73.8	1.75
				合計	77.6	1.84
			酵素遊離			
				合計	11.8	0.28
	水耕液	酢酸エチル	親化合物	100.0	0.21	
			合計	100.0	0.21	
	[Val- <sup>14</sup> C]	茎葉	酢酸エチル*	親化合物	90.2	6.63
				合計	94.1	6.92
			酵素遊離	親化合物	0.4	0.03
				合計	2.1	0.16
		根	酢酸エチル*	親化合物	87.3	4.98
合計				89.8	5.12	

酢酸エチル\* : 酵素処理後に分析した画分

結 論：

ベンチアバリカルブイソプロピルの根部処理での吸収・移行は速やかに起こるが、茎葉処理での他の部位への移行は極微量であった。トマト幼苗における主たる残留物は未変化のベンチアバリカルブイソプロピルであり、代謝物は少数で少量であった。水耕処理でトマト幼苗中に検出された代謝物は主に [Bz-<sup>14</sup>C] を処理した根の酵素遊離画分中に ( %TRR) 検出された。この他に、 及び が検出された。茎葉処理では放射能の大部分が処理部位に未変化のベンチアバリカルブイソプロピルとして検出され、代謝物はほとんど検出されなかった。

同定した代謝物から推定されるトマト幼苗での代謝分解経路を図1に示す。

トマト幼苗に吸収されたベンチアバリカルブイソプロピルは、主に に代謝される。

に代謝される。これら代謝物は、等の植物構成成分に取り込まれるものと推察された。

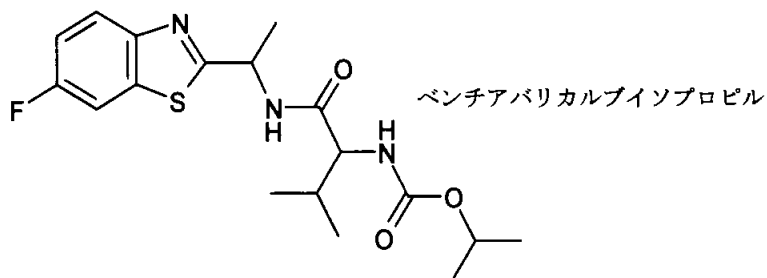


図1 ベンチアバリカルブイソプロピルのトマト幼苗における想定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(5) はくさいにおけるベンチアバリカルブイソプロピルの代謝試験

(資料B-14)

試験機関：

[GLP 対応]

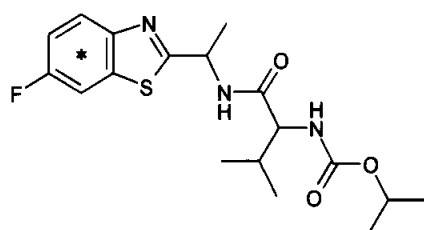
報告書作成年：2002 年

供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-[[*(R)*-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学構造：



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：はくさい (品種： )

5 株 (2 株 (分布調査区) + 2 株 (代謝物調査区) + 1 株 (無処理対照))

栽培条件；プラスチック製ポット (直径約 30 cm、高さ約 35 cm) に赤玉土約 1.4 kg、試験土壌 (東京都農業試験場の火山灰埴壤土：化成肥料：消石灰=1000：1：1 (湿重量比)) 17 kg を順に詰め、播種 47 日後のはくさい幼苗を定植し、ファイトトロン (昼間設定温度 10.2~12.9℃、夜間設定温度 7.0℃、設定湿度 55%) 内で栽培した。ポットあたり 1 株を定植した。

水 (試験機関付近の井戸水を濾過処理・殺菌処理したもの) を 1 日 2 回、植物体に水がからないように処理した。また、定植 3 週間及び 6 週間後に追肥を行った。試験期間中、農薬は処理しなかった。

方法：

1) 施用

施用量：22.5 g a.i./300 L/10 a

(ポットの面積が 707 cm<sup>2</sup> であるので、1.591 mg a.i./21.2 mL/707 cm<sup>2</sup>)

設定根拠；ベンチアバリカルブイソプロピルのはくさいの適用薬量 (15% 顆粒水和剤を 2000 倍希釈した薬液を 300 L/10 a 散布) に基づいて設定した。

調製及び処理方法：播種 112 日後、定植 75 日後に、供試化合物約 6.75 mg を 0.1 mL のメタノ

ールに溶解し、製剤白試料 38.3 mg 及び 90 mL のミリ Q 水を加えて超音波処理し、手動噴霧器で 4 株（分布調査用 2 株 + 代謝物調査用 2 株）に各 21.2 mL を処理した。

分布調査区では葉液を植物体全体に均一に、代謝物調査区では葉液を採取予定部位（結球部の外側の葉）を重点的に散布した。また、両区ともに、葉液処理時は、プラスチックシートで植物体の周囲を覆った。

## 2) 試料採取

採取時期：分布調査試料 葉液処理 21 日後

代謝物調査試料 葉液処理 56 日後

採取部位：分布調査試料 結球部および外葉を分けて採取

代謝物調査試料 葉液付着量の多い部位（結球部の外側の葉）を採取

## 3) 分析方法

### ① 散布液中の供試標識化合物の放射化学的純度

散布液の一部（0.05 mL）を 5 点採取し、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定を行い、放射能の濃度を確認した。さらに HPLC により化学的な純度を測定し、放射化学的純度を算出した。

### ② 試料の分析

#### (1) 試料の抽出・分画

図 1 に示す方法で試料を抽出し、分画した。

HPLC 装置は、UV 検出器を通過した溶出液にシンチレーターを加えて放射能検出機を通し、フラクションコレクターを用いて分画した。これらを LSC 分析した。

#### (2) 代謝物の同定・定量

代謝物調査試料について、図 1 の操作で生成したメタノール層について、図 2 の操作により塩酸または酵素（セルラーゼ）処理を行い、有機層を HPLC で分析し、加水分解前の HPLC プロファイルと比較した。

#### (3) 代謝物の同定または特徴づけ

図 1 の操作で生成したメタノール層における HPLC のフラクション（極性代謝物）を HPLC 操作を繰り返すことにより単離・精製し、LC/MS により同定または特徴付けを行った。

また、あらためて図 1 の操作で生成したメタノール層を酵素処理を行わずに HPLC 操作を条件を変えて繰り返し、精製されたフラクション（7, 12）について図 3 の操作（ペクチナーゼ処理）を行い、ペクチナーゼ処理操作前の HPLC プロファイルと比較した。

なお各代謝物は、それぞれの標準品を用いたクロマトグラフィー（HPLC および TLC）により照合した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

図1 試料の抽出及び分画

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

図2 試料の抽出及び分画

図3 高極性代謝物の分析



4) 結果：

1) 散布液中の供試化合物の有効成分濃度及び放射化学的純度

有効成分濃度は約 73.1 mg/L (目標濃度は 75 mg/L)、放射化学的純度は 98.3%であった。

2) 放射能の分布

図 1 に示した操作結果 (すなわち、抽出液および残渣における放射エネルギー、外葉、結球部における放射エネルギーの割合、抽出液の分画後の分配状況)、これらを表 1 及び表 2 に示す。

表 1 外葉及び結球部の分布調査試験結果 (n=2 の平均値)

画分\試料	分布調査試験用試料 (最終散布 21 日後)				代謝物調査試験用試料 (最終散布 56 日後)	
	結球部		外葉部		mg eq./kg	%TRR
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR		
抽出液	1.0353	99.33	1.1818	98.80	11.9702	98.48
(水層)	(0.0026)	(0.25)	(0.0041)	(0.34)	(0.0563)	(0.46)
(ヘキサン/酢酸エチル層)	(0.9662)	(92.71)	(1.1389)	(95.22)	(11.2688)	(92.65)
(メタノール層)	(0.0658)	(6.32)	(0.0545)	(4.56)	(0.8850)	(7.29)
残渣	0.0070	0.67	0.0014	1.20	0.1841	1.52
合計	1.0423	100	1.1962	100	12.1543	100

分布調査試験用試料において、結球部及び外葉部ともに放射能の濃度はほぼ同等であった。

なお、両者の重量は約 1800 g 及び 600 g であり、これにともない、両者の放射エネルギーの比率は 73 : 27 となった。

分布調査用試料、代謝物検討用試料、双方に共通して、残渣からはほとんど放射エネルギーが検出されず、抽出液の分画処理では、ヘキサン/酢酸エチル層中に放射エネルギーの大部分が検出され、メタノール層や水層から検出される放射エネルギーは少なかった。

各試料のヘキサン/酢酸エチル層、メタノール層における TLC および HPLC/LSC 操作後の各画分の状況を表 2 (次頁以降) に示す。

いずれの試料においても、フラクション 16 が TRR の 90%程度を占めており、これは TLC との照合等も含めた検討から、親化合物と確認された。なお、フラクション 12, 13, 15 中にそれぞれ の存在を TLC で確認したが HPLC では痕跡量レベルまたは存在を確認できる量未満であった。

また、フラクション 8, 9, 12 (代謝物検討試料では、フラクション 7, 9, 12) に大きなピークが見られたが、メタノール中に多く含まれたことから、これは と推定された。これらの特定は後述の 3) 4) で検討した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 2-1 分布調査区の結球部抽出液のヘキサン/酢酸エチル画分、メタノール画分における HPLC/LSC 分画状況

フракシオン No.	分画時間 (分)	化合物名	ヘキサン/酢エチ層		メタノール層		合計	
			mg/eq. kg	%TRR	mg/eq. kg	%TRR	mg/eq. kg	%TRR
1	0.0-3.0		<0.0006	<0.06	<0.0007	<0.06	N.D.	N.D.
2	3.0-7.0		<0.0006	<0.06	<0.0007	<0.06	N.D.	N.D.
3	7.0-10.0		<0.0006	<0.06	<0.0007	<0.06	N.D.	N.D.
4	10.0-14.0		<0.0006	<0.06	<0.0007	<0.06	N.D.	N.D.
5	14.0-18.0		<0.0006	<0.06	0.0014	0.14	0.0014	0.14
6	18.0-22.0		0.0008	0.08	0.0047	0.45	0.0055	0.53
7	22.0-25.0		0.0007	0.07	0.0028	0.27	0.0035	0.34
8	25.0-27.0		0.0010	0.09	0.0132	1.26	0.0141	1.36
9	27.0-30.0		0.0023	0.22	0.0207	1.99	0.0230	2.20
10	30.0-31.5		<0.0006	<0.06	0.0014	0.13	0.0014	0.13
11	31.5-33.0		0.0019	0.18	<0.0007	<0.06	0.0019	0.18
12	33.0-35.8		0.0096	0.92	0.0164	1.57	0.0259	2.49
13	35.8-37.5		0.0023	0.22	0.0010	0.09	0.0033	0.31
14	37.5-39.0		0.0008	0.08	0.0017	0.16	0.0025	0.24
15	39.0-42.0		0.0052	0.50	0.0007	0.07	0.0059	0.57
16	42.0-45.0	親化合物	0.9349	89.71	0.0012	0.12	0.9361	89.83
17	45.0-48.0		0.0030	0.29	<0.0007	<0.06	0.0030	0.29
18	48.0-51.0		0.0015	0.15	<0.0007	<0.06	0.0015	0.15
19	51.0-55.0		0.0018	0.18	<0.0007	<0.06	0.0018	0.18
合計			0.9662	92.71	0.0658	6.32	1.0321	99.03

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 2-2 分布調査区の外葉部抽出液のヘキサン/酢酸エチル画分、メタノール画分における HPLC/LSC 分画状況

フракシオン No.	分画時間 (分)	化合物名	ヘキサン/酢エチ層		メタノール層		合計	
			mg/eq. kg	%TRR	mg/eq. kg	%TRR	mg/eq. kg	%TRR
1	0.0-3.0		<0.0010	<0.08	<0.0008	<0.07	N.D.	N.D.
2	3.0-7.0		<0.0010	<0.08	<0.0008	<0.07	N.D.	N.D.
3	7.0-10.0		<0.0010	<0.08	<0.0008	<0.07	N.D.	N.D.
4	10.0-14.0		<0.0010	<0.08	<0.0008	<0.07	N.D.	N.D.
5	14.0-18.0		<0.0010	<0.08	0.0027	0.22	0.0027	0.22
6	18.0-22.0		0.0005	0.04	0.0043	0.36	0.0048	0.40
7	22.0-25.0		0.0011	0.10	0.0026	0.22	0.0038	0.32
8	25.0-27.0		0.0023	0.20	0.0181	1.52	0.0205	1.71
9	27.0-30.0		0.0039	0.32	0.0105	0.88	0.0144	1.20
10	30.0-31.5		0.0013	0.11	<0.0008	<0.07	0.0013	0.11
11	31.5-33.0		0.0028	0.23	<0.0008	<0.07	0.0028	0.23
12	33.0-35.8		0.0145	1.21	0.0070	0.58	0.0214	1.79
13	35.8-37.5		0.0051	0.42	0.0012	0.10	0.0063	0.52
14	37.5-39.0		0.0013	0.11	<0.0008	<0.07	0.0013	0.11
15	39.0-42.0		0.0086	0.72	0.0012	0.10	0.0098	0.82
16	42.0-45.0	親化合物	1.0868	90.85	0.0021	0.17	1.0889	91.03
17	45.0-48.0		0.0060	0.50	0.0011	0.09	0.0070	0.59
18	48.0-51.0		0.0023	0.20	0.0024	0.20	0.0047	0.40
19	51.0-55.0		0.0025	0.21	<0.0008	<0.07	0.0025	0.21
合計			1.1389	95.22	0.0658	6.32	1.1934	99.77

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 2-3 代謝物調査区の葉部抽出液のヘキサン/酢酸エチル画分、メタノール画分における HPLC/LSC 分画状況

フракシオン No.	分画時間 (分)	化合物名	ヘキサン/酢エチ層		メタノール層		合計	
			mg/eq. kg	%TRR	mg/eq. kg	%TRR	mg/eq. kg	%TRR
1	0.0-3.0		<0.0059	<0.05	0.0017	0.01	0.0017	0.03
2	3.0-7.0		<0.0059	<0.05	0.0041	0.03	0.0041	0.03
3	7.0-10.0		<0.0059	<0.05	0.0018	0.01	0.0018	0.01
4	10.0-14.0		<0.0059	<0.05	0.0044	0.04	0.0044	0.04
5	14.0-18.0		<0.0059	<0.05	0.0129	0.11	0.0129	0.11
6	18.0-22.0		0.0094	0.08	0.0729	0.60	0.0824	0.68
7	22.0-25.0		0.0179	0.15	0.1033	0.85	0.1211	0.99
8	25.0-27.0		0.0325	0.27	0.0537	0.45	0.0862	0.71
9	27.0-30.0		0.0689	0.56	0.2291	1.89	0.2980	2.45
10	30.0-31.5		0.0116	0.09	0.0232	0.19	0.0348	0.28
11	31.5-33.0		0.0247	0.20	0.0228	0.19	0.0475	0.39
12	33.0-35.8		0.1053	0.86	0.2394	1.98	0.3448	2.85
13	35.8-37.5		0.0480	0.39	0.0279	0.22	0.0751	0.62
14	37.5-39.0		0.0164	0.13	0.0078	0.06	0.0242	0.20
15	39.0-42.0		0.1032	0.85	0.0259	0.21	0.1291	1.06
16	42.0-45.0	親化合物	10.7237	88.19	0.0356	0.29	10.7593	88.48
17	45.0-48.0		0.0479	0.39	0.0091	0.07	0.0570	0.47
18	48.0-51.0		0.0251	0.21	<0.0058	<0.05	0.0251	0.21
19	51.0-55.0		0.0306	0.25	<0.0041	<0.03	0.0306	0.25
合計			11.2688	92.65	0.0658	6.32	12.1538	99.94

### 3) の酵素分解

図2に示した操作方法によりメタノール画分を酵素および塩酸処理し、処理前後でHPLCプロファイルに変化があるかを調べた。

酵素処理により、フラクション7と12の減少、フラクション6と9の上昇が確認された。他に、新たなフラクションの出現も見られたが、構造特定にはいたらなかった。

酸処理により、ほとんどのフラクションのピークが消失し、2つのフラクションピークが出現したが、これらは (アーティファクト) であった。

### 4) フラクションの精製及びLC/MS操作による特徴づけ

HPLCのフラクション6,7,9,12それぞれを、HPLCを繰り返すことで精製し、LC/MSでの分析を試みた。その結果を以下に示す。

#### ・フラクション9

フラクション9は分子量 であることが判明し、分子量 及び のフラグメントが見出されたことから、親化合物のバリン鎖の不特定部位が され、さらに と考えられた。

#### ・フラクション12

フラクション12は分子量 であることが判明し、分子量 及び のフラグメントが見出されたことから、フラクション9 (親化合物のバリン鎖の不特定部位が、 されたもの) が を受けたものと考えられた。

上記の酵素処理により見られたフラクション12の減少は、フラクション9の増加と連動していると考えられた。

なお、フラクション12について図3に示したペクチナーゼ処理を試みたところ、 と推測されるスポットが見られたが、 とは一致しなかった。

#### ・フラクション6・7

フラクション6・7はLC/MSによるイオン化が困難であり、分子量の特定からのアプローチでは特徴づけができなかった。

一方、フラクション7を図3に示すペクチナーゼ処理を行いHPLCプロファイルの変化を調べたところ、フラクション6に該当するピーク、及び に相当するピークが出現した。

このことから、フラクション6は 、フラクション7はフラクション6の であろうと推測された。

ここまでの知見を踏まえて、全体の収支をまとめる。

本資料に記載された情報は、情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

画分\試料 (フラクション No.)	分布調査試験用試料 (最終散布 21 日後)			代謝物調査試験用試料 (最終散布 56 日後)		
	結球部		外薬部	結球部		外薬部
	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR	mg eq./kg	%TRR
抽出液	1.0353	99.33	1.1818	98.80	11.9702	98.48
水層	0.0026	0.25	(0.0041)	(0.34)	(0.0563)	(0.46)
有機層	1.0320	99.03	(1.1934)	(99.78)	(12.1538)	(99.94)
Fr.6						
Fr.8 (Fr.7)						
Fr.9						
Fr.12						
Fr.13						
Fr.15						
Fr.16	0.9361	89.83	1.0889	91.03	10.7593	88.48
親化合物	0.0070	0.67	0.0014	1.20	0.1841	1.52
残渣	1.0423	100	1.1962	100	12.1543	100
合計						

\*それぞれ、親化合物のバリン鎖に

(Fr.9)、及び、さらに (Fr.12)。

\*\* の検出量は痕跡量程度である。各試料における検出量は、フラクション全体 (=親化合物のバリン鎖に

もの) の放射エネルギーを便宜的に示している。

\*\*\* の検出量は痕跡量程度である。各試料におけるカッコ付きの検出量は、フラクション全体の放射エネルギーを便宜的に示している。

結論：

- ・ $^{14}\text{C}$ で標識したベンチアバリカルブイソプロピルをはくさいに処理（22.5 g a.i./300 L/10 a）した場合、結球部に 73%、外葉に 27%の放射能が存在した。
- ・ $^{14}\text{C}$ で標識したベンチアバリカルブイソプロピルをはくさいに処理した場合、はくさい中の放射能のおよそ 90%TRR は親化合物（ベンチアバリカルブイソピル）であった。抽出残渣には放射能はほとんど含まれていなかった。
- ・代謝物 が TLC で検出されたが、ごく微量であった。HPLC によるフラクションの精製後の LC/MS や、 により、 が少量検出された。このことから、はくさい葉上において、ベンチアバリカルブイソプロピルは、一部がバリン側鎖の の存在すると考えられた。代謝経路を以下に示す。

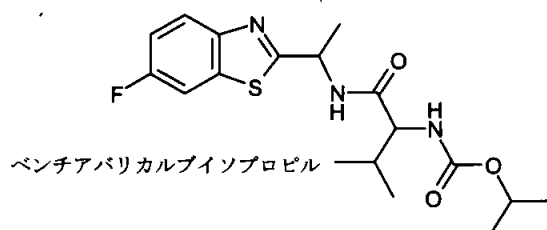


図 ベンチアバリカルブイソプロピルのはくさいにおける代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

### 3. 土壌中運命に関する試験

#### (1) 好氣的土壌中運命試験 (その1)

(資料B-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

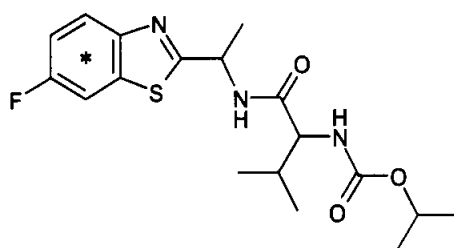
供試標識化合物：ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-[[*(R)*-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl] carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル

(本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

構造式：



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

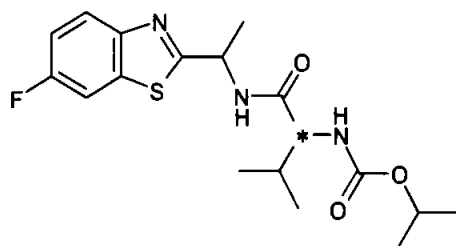
ロット番号；

比放射能；

放射化学的純度；

バリン部  $^{14}\text{C}$  標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Val- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

構造式；



\* :  $^{14}\text{C}$  標識位置

ロット番号；

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由：

供試土壌：試験には2種類の砂壤土と2種類の埴壤土を使用した。各土壌の特性を以下に示す。いずれの土壌も過去5年間農薬を使用していない圃場から採取したものである。土壌は採取後、2 mm の篩を通し、試験に使用するまで29~76日間、約4℃の暗所で保管した。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験グループ	A, B, F	C	D	E	G, H, I
試験グループ	A, B, F	C	D	E	G, H, I
粒径分布 (UK)					
砂 (2000~63 μm)	54	75	21	37	50
シルト (63~2 μm)	36	12	59	34	38
粘土 (<2 μm)	10	13	20	29	12
土性分類	砂壤土	砂壤土	埴壤土	埴壤土	砂壤土/砂質シルト壤土
粒径分布 (BBA)					
砂 (2000~63 μm)	54	75	21	37	50
シルト (63~2 μm)	36	12	59	34	38
粘土 (<2 μm)	10	13	20	29	12
土性分類	壤質砂土	粘土質砂土	シルト壤土	砂質埴壤土	粘土質砂土/壤質砂土
粒径分布 (USDA)					
砂 (2000~53 μm)	55	76	24	39	51
シルト (53~2 μm)	35	11	56	32	37
粘土 (<2 μm)	10	13	20	29	12
土性分類	砂壤土	砂壤土	シルト壤土	埴壤土	壤土
有機炭素量 (%)	2.5	1.3	3.0	4.0	2.9
有機物量 (%)	4.3	2.2	5.2	6.9	5.0
陽イオン交換容量 (mEq/100g)	20.3	10.2	23.2	41.6	19.8
pH (H <sub>2</sub> O)	7.0	5.1	6.7	7.7	7.3
pH (1N KCl)	6.6	4.2	6.0	7.2	6.7
含水量 (pF2.5, %)	22.7	11.8	34.8	74.7	20.8
含水量 (pF0, %)	60.4	38.8	103.4	74.7	58.9
微生物量 (試験開始時, μg C/g)	528.2	176.9	559.9	965.6	522.3
微生物量 (試験終了時, μg C/g)	GA : 477.3 GB : 525.9 GF : 400.3	691.1	154.0	1161.3	GG : 511.8 GH : 316.6 GI : 478.1

方 法 :

試験グループの設定 : 試験グループ、処理放射能標識体、処理量及び試験の種類を下表に示す。

グループ	土壌の名称	土 性	処理標識体	処理量	試験の種類
A		砂壤土	Val	2 ppm	分解経路試験
B		砂壤土	Bz	2 ppm	分解経路試験
C		砂壤土	Bz	2 ppm	分解速度試験
D		埴壤土	Bz	2 ppm	分解速度試験
E		埴壤土	Bz	2 ppm	分解速度試験
F		砂壤土	Bz	20 ppm	高処理量
G		砂壤土	Val	2 ppm	分解経路追加試験
H		砂壤土	Bz	2 ppm	分解経路追加試験
I		砂壤土	Bz	20 ppm	高処理量追加

標識化合物をアセトニトリルに溶解し、試験条件（温度 20℃、水分は最大容水量の 45%、暗所）で予備培養した土壌 50 g（乾燥重量）に必要量を滴下し、アセトニトリルを揮発させた後、土壌をよく混和した。微生物量測定用土壌については、非標識供試化合物を同様に処理した。処理量は圃場における本剤の使用量を想定し 2 ppm とした。また、質量分析用試料を得るために 10 倍量（20 ppm）処理グループを設定した。

培養方法及び試料採取時期：試験土壌に供試化合物を処理し、混合攪拌した後、直ちに土壌容器には加湿空気供給用パイプ、揮発性物質捕集用のエタンジオール捕集管、キシレン捕集管各 1 本及び炭酸ガス捕集用の水酸化ナトリウム（0.5 M）捕集管 2 本を連結した。培養は 20℃の暗所で行い、試料採取時または 30～40 日間隔で捕集液を交換した。試料採取時期を下表に示す。

土壌容器の重量を週 2 回測定し、必要に応じて水分を調整するために脱イオン水を土壌に加えた。但し、グループ A 及び B については 183 日以降水酸化ナトリウム捕集管の水酸化ナトリウム濃度を 2 M に変更し、グループ G、H 及び I については水酸化ナトリウム捕集管を 0.5 M/2 本の代わりに 2 M/3 本を使用した。

グループ	試料採取時期（日）
A	試験 0 日（処理直後）、1 日、3 日、7 日、14 日、30 日、59 日、120 日、183 日、269 日及び 365 日
B	
C	試験 0 日（処理直後）、2 日、7 日、14 日、28 日、58 日、90 日及び 120 日
D	
E	
F	試験 185 日及び 367 日
G	試験 61 日、120 日及び 225 日（225 日試料は分析していない）
H	
I	試験 30 日、61 日及び 120 日

なお、土壌中微生物量を試験開始時（供試化合物未添加）及び終了時に、薫蒸・抽出（fumigation-extraction）法で測定した。その結果を前頁「供試土壌」の項、表中に記した。

放射エネルギーの測定：各土壌試料について、下図に示すように土壌中放射能を抽出し、液体シンチレーションカウンター（LSC）により放射エネルギーを測定した。抽出残渣中の放射エネルギーは燃焼法により測定した。捕集液中放射エネルギーは LSC により測定した。また、水酸化ナトリウムに捕集された放射能については、水酸化バリウム沈殿法で炭酸ガスであることを確認した。

土壌抽出物中放射能については HPLC 法で分析を行うとともに、標品とのクロマトグラフィーにより、代謝物の同定を行った。また、質量分析計（LC-MS）により、代謝物の最終的な確認を行った。土壌抽出残渣についてはフミン酸、フルボ酸及びフミン質に画分した。

結 果：

放射能回収率：[Val-<sup>14</sup>C] 及び [Bz-<sup>14</sup>C] を処理後 365 日間又は 120 日間の培養期間中における放射能回収率の推移を下表に示す。

グループ A (PT102 土壌、[Val-<sup>14</sup>C]) における処理放射エネルギーに対する回収率は処理後 30 日までは 91~97%、その後は 80~88%であった。グループ A における 365 日後の炭酸ガス発生量は処理放射エネルギーの 54%であった。

炭酸ガス捕集能力を増強させた追加試験グループ (グループ G) では、120 日後に処理放射エネルギーの 53%が <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> 捕集管から回収された。この値をグループ A における 45%と比較して、グループ A では全ての <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> が完全には捕集されなかったことが示唆された。

グループ B (PT102 土壌、[Bz-<sup>14</sup>C]) における放射能の回収率は概ね 92~98%であった。グループ C、D 及び E (PT102 土壌、[Bz-<sup>14</sup>C]) における放射能の平均総回収率は 94%であった。

グループ B では 365 日後に処理放射エネルギーの 20%の炭酸ガスが、グループ C、D 及び E では処理後 120 日に 4~12%の炭酸ガスが回収された。全てのグループで、炭酸ガス以外の揮発性物質は 0.1%であった。

PT102 土壌において経時的に土壌から抽出される放射能は減少したが、その減少は [Bz-<sup>14</sup>C] (グループ B) より [Val-<sup>14</sup>C] (グループ A) が速かった。グループ C、D 及び E では、[Bz-<sup>14</sup>C] 処理後の総抽出放射エネルギーは 0 日の 92~96%から 120 日後の 12~40%に低下した。[Val-<sup>14</sup>C] 処理土壌 (グループ A) における抽出残渣中放射エネルギーは 59 日後に 41%まで達した後、減少に転じ、365 日後では 27%であった。[Bz-<sup>14</sup>C] 処理後の土壌抽出残渣中放射エネルギーの最大値はグループ B、C、D 及び E でそれぞれ 62% (365 日)、23%、46%及び 58% (各々 120 日) であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験グループ	土壌	標識物質	処理量 (ppm)	培養期間 (日)	アセト／水抽出物	還流抽出物	抽出残渣	揮発性物質	物質収支
A		[Val- <sup>14</sup> C]	2	0	94.9	NA	1.7	NA	96.6
				1	91.1	NA	5.1	1.0	97.1
				3	77.9	2.2	11.5	4.6	96.0
				7	69.1	2.3	15.9	8.8	96.0
				14	48.4	2.4	26.0	15.1	92.0
				30	27.9	2.4	34.3	26.4	90.9
				59	8.8	1.4	41.2	35.2	86.5
				120	3.3	1.7	36.3	44.8	86.0
				183	2.4	1.6	34.4	45.9	84.2
				269	2.7	1.5	25.2	53.4	82.7
				365	1.7	2.3	26.5	54.0	84.5
G			2	61	10.4	2.8	35.3	40.2	88.6
				120	3.8	1.8	34.6	53.3	93.4
B		[Bz- <sup>14</sup> C]	2	0	96.5	NA	1.7	NA	98.2
				1	93.7	NA	3.3	NA	96.9
				3	89.6	NA	5.6	0.1	95.3
				7	87.4	4.6	4.2	0.1	96.2
				14	78.6	7.8	10.4	0.4	97.1
				30	61.1	13.6	20.9	1.2	96.4
				59	37.2	8.1	44.1	3.6	93.0
				120	19.2	15.7	47.2	7.8	89.8
				183	10.7	12.1	57.5	12.9	93.1
				269	8.2	10.8	50.0	17.2	86.1
				365	5.2	8.4	61.6	20.1	95.2
H			2	61	38.2	15.8	35.8	4.3	94.0
				120	19.8	14.4	52.1	9.1	95.3
C			2	0	94.9	NA	1.1	NA	95.8
				2	91.2	NA	5.8	0.1	97.1
				7	77.3	11.7	4.5	0.3	93.8
				14	76.9	10.8	7.8	0.5	96.0
				28	62.1	15.4	15.1	1.7	94.3
				58	47.9	21.5	21.2	2.6	93.2
				90	46.9	19.9	21.0	2.7	90.5
				120	41.6	20.3	22.5	3.6	88.0
D		[Bz- <sup>14</sup> C]	2	0	92.1	NA	3.4	NA	95.5
				2	86.4	6.1	4.1	0.1	96.7
				7	76.9	9.5	9.4	0.2	96.0
				14	62.5	15.2	18.7	0.9	97.3
				28	54.3	16.8	24.3	1.6	97.0
				58	34.5	19.8	32.5	5.6	92.4
				90	26.3	17.2	37.6	9.6	90.7
				120	18.4	14.8	45.5	11.7	90.4
E			2	0	95.7	NA	2.9	NA	98.6
				2	89.1	NA	6.6	0.1	95.8
				7	79.5	8.3	7.3	0.1	95.2
				14	63.1	13.6	18.8	0.3	95.8
				28	46.5	16.4	32.8	1.0	96.7
				58	22.0	16.5	49.0	5.4	92.9
				90	15.9	13.8	49.9	8.4	88.0
				120	12.3	11.4	58.2	10.7	92.7

値は処理放射エネルギーに対する% NA：未測定

放射能分布：[Val-<sup>14</sup>C] 及び [Bz-<sup>14</sup>C] を処理した土壌抽出物中における放射能分布の推移を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験グループ	標識物質	培養期間(日)	アセトン/水抽出物			還流抽出			
			抽出放射能量	DCM画分	水溶性画分	抽出放射能量	SPE濃縮有機溶媒画分	SPE酸性化有機溶媒画分	SPE水溶性画分
A	[Val- <sup>14</sup> C]	0	94.9	96.9	0.2	NA	NA	NA	NA
		1	91.1	92.7	0.3	NA	NA	NA	NA
		3	77.9	79.3	0.3	2.2	1.7	NA	0.4
		7	69.1	69.8	0.2	2.3	1.5	NA	0.6
		14	48.4	47.2	0.3	2.4	1.6	ND	NA
		30	27.9	27.7	0.4	2.4	1.4	ND	0.8
		59	8.8	8.5	0.4	1.4	0.6	NA	0.6
		120	3.3	2.5	0.3	1.7	0.1	ND	1.0
		183	2.4	2.1	0.3	1.6	0.7	ND	0.8
		269	2.7	2.3	0.4	1.5	0.7	ND	0.8
	365	1.7	1.5	0.3	2.3	0.8	NA	1.2	
B	[Bz- <sup>14</sup> C]	0	95.8	96.3	0.2	NA	NA	NA	NA
		1	93.7	96.2	0.3	NA	NA	NA	NA
		3	89.6	90.8	0.2	NA	NA	NA	NA
		7	87.4	86.9	1.0	4.6	3.4	NA	0.5
		14	78.6	76.8	2.3	7.8	5.8	0.2	0.8
		30	61.1	57.0	2.6	13.6	9.5	NA	0.8
		59	37.2	33.3	2.7	8.1	5.3	0.6	0.9
		120	19.2	17.0	2.2	15.7	1.5	0.1	5.3
		183	10.7	8.9	0.9	12.1	5.6	0.4	2.8
		269	8.2	6.1	1.5	10.8	6.5	0.3	2.3
	365	5.2	4.5	0.8	8.4	5.2	0.3	0.8	

値は処理放射能量に対する% NA:未測定、ND:未検出

試験グループ	標識物質	培養期間(日)	アセトン/水抽出物	DCM画分	初期抽出物の水溶性画分			還流抽出物				
					水溶性画分	SPE水溶性画分	SPE濃縮有機溶媒画分	SPE酸性化有機溶媒画分	還流抽出物	SPE濃縮有機溶媒画分	SPE酸性化有機溶媒画分	SPE水溶性画分
C		0	94.7	97.4	0.3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	91.2	91.5	0.4	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		7	77.3	78.1	0.8	NA	NA	NA	11.7	7.7	0.5	1.3
		14	76.9	76.1	1.9	NA	NA	NA	10.8	7.3	0.6	0.1
		28	62.1	45.2	16.9	0.1	14.9	NA	15.4	8.0	1.0	3.1
		58	47.9	24.5	23.7	0.2	26.1	0.2	21.5	12.9	0.5	4.8
		90	46.9	27.8	18.8	0.2	7.7	4.6	19.9	13.6	NA	3.7
		120	41.6	27.4	14.3	0.2	7.1	5.0	20.3	10.8	0.7	4.6
D	[Bz- <sup>14</sup> C]	0	92.1	95.2	0.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	86.4	88.8	0.6	NA	NA	NA	6.1	4.4	0.5	0.1
		7	76.9	76.2	1.8	NA	NA	NA	9.5	6.4	0.2	0.3
		14	62.5	59.6	4.5	NA	NA	NA	15.2	9.6	NA	2.0
		28	54.3	54.1	1.2	NA	NA	NA	16.8	10.9	0.9	1.1
		58	34.5	24.2	9.2	0.2	7.9	0.7	19.8	10.6	0.2	4.9
		90	26.3	23.5	3.4	NA	NA	NA	17.2	11.9	0.9	1.5
		120	18.4	16.8	1.7	NA	NA	NA	14.8	9.1	0.2	1.9
E		0	95.7	93.4	0.5	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		2	89.1	92.7	0.2	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		7	79.5	80.3	0.2	NA	NA	NA	8.3	6.2	0.2	0.2
		14	63.1	64.4	0.5	NA	NA	NA	13.6	10.2	NA	0.4
		28	46.5	43.5	3.1	NA	NA	NA	16.4	13.6	0.4	0.9
		58	22.0	17.6	3.4	NA	NA	NA	16.5	10.2	0.7	2.6
		90	15.9	14.9	0.8	NA	NA	NA	13.8	8.4	0.7	1.3
		120	12.3	10.3	0.6	NA	NA	NA	11.4	6.5	0.6	1.5

値は処理放射能量に対する% NA:未測定

処理放射能量の 0.5%以上（グループ A 及び B）または 10%以上（グループ C～E）が含まれるアセトン：水（4：1=v/v）抽出物について、ジクロロメタンで分配し、減圧濃縮してアセトンを除去した。

各グループとも、試料中放射能の大部分が土壌抽出物のジクロロメタン画分に存在し、水溶性画分には少量の放射能が分画された。グループ C では最大 24%の放射能が水溶性画分から検出された。処理量の 9%以上の放射能が検出されたこの水溶性画分については、C<sub>18</sub> SPE カートリッジによる固相抽出を行った。

土壌還流抽出物についても C<sub>18</sub> SPE カートリッジで固相抽出を行った。グループ A では 3～30 日培養土壌の還流抽出物中放射能の大部分が C<sub>18</sub> カートリッジに保持され、中性有機溶媒中に溶出した。SPE 水溶性画分中放射能は処理量の約 1%であった。グループ B, C, D 及び E では、いずれの試料についても、大部分の放射能が C<sub>18</sub> カートリッジに保持され、中性有機溶媒中に溶出したが、土壌培養期間が長くなるに伴い SPE 水溶性画分中の量が増加した。

親化合物及び代謝物の分析：アセトン／水抽出物のジクロロメタン画分、還流抽出物の SPE 有機溶媒画分（酸性画分は除く）について、HPLC による親化合物及び代謝分解物の分析を行った。その結果を以下の表に示す。尚、グループ C 及び D の一部試料については、アセトン／水抽出物の水画分について HPLC 分析した定量値を前述画分の分解物数量に加えて示した。

グループ A（[Val-<sup>14</sup>C] 処理）ではアセトン／水抽出物及び還流抽出物の分析において、唯一親化合物のみが検出された。0 日試料では、処理放射能の 97%が親化合物として存在しており、それが 30 日には 28%、365 日には 1%以下に低下した。

グループ B, C, D 及び E（[Bz-<sup>14</sup>C] 処理）では、

グループ B, C, D 及び E では、0 日に処理量の 92%以上存在した親化合物が 120 日後にはそれぞれ 2%、1%、2%及び 2%に低下した。グループ B における 365 日後の親化合物は処理量の 0.3%であった。

グループ B, C, D 及び E では 4 種類の主要代謝物（ ）が認められた。各代謝物の最大量（処理量に対する%）及びその時期（日）を下表に示す。

グループ				
B (砂壤土)				
C (砂壤土)				
D (埴壤土)				
E (埴壤土)				

これらの主要な代謝分解物に加え、少量の がグループ B、D 及び E において検出された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

未同定の代謝分解物の最大値はグループ B の 30 日後において処理量の であり、成分から構成され、うち 成分は処理量の であった。

なお、代謝物の化学構造は、LC-MS 測定して標品との比較により確認した。また、培養期間中の親化合物 は認められなかった。

試験グループ	標識物質	培養期間(日)	抽出物	親化合物					
A	[Val- <sup>14</sup> C]	0	96.9	96.6					
		1	92.7	92.5					
		3	81.0	78.7					
		7	71.3	70.8					
		14	48.8	48.5					
		30	29.1	28.3					
		59	9.0	8.9					
		120	2.6	2.4					
		183	2.8	2.0					
		269	3.0	2.9					
		365	2.3	0.4					
B		0	96.3	95.9					
		1	96.2	93.9					
		3	90.8	88.0					
		7	90.2	84.3					
		14	82.5	66.2					
		30	66.5	37.5					
		59	38.6	9.9					
		120	18.4	2.1					
		183	14.4	1.9					
		269	12.6	2.6					
		365	9.6	0.3					
C	[Bz- <sup>14</sup> C]	0	97.4	96.3					
		2	91.5	87.8					
		7	85.8	72.9					
		14	83.4	64.9					
		28*	68.5	22.1					
		58*	56.5	5.3					
		90*	53.1	2.9					
		120*	45.7	1.3					
D		0	95.2	94.5					
		2	93.2	85.8					
		7	82.6	66.2					
		14	69.2	38.0					
		28	65.0	13.8					
		58*	42.9	5.9					
		90	35.4	2.6					
		120	25.9	1.5					
E		0	93.4	92.7					
		2	92.7	87.4					
		7	86.5	68.2					
		14	74.6	31.9					
		28	57.1	15.5					
		58	27.8	4.2					
		90	23.3	2.9					
		120	16.8	2.4					

値は処理放射線量に対する% ND: 未検出

\*アセトン/水抽出物の水成分代謝物の定量を実施した試料

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験グループ	標識物質	培養期間 (日)	確 認 試 験											
			抽出物	親化合物										
B	[Bz- <sup>14</sup> C]	14	76.8	67.3										
		30	57.0	38.6										
		59	33.3	12.7										
		120	17.0	3.1										
		183	14.4	2.2										
		269	12.5	2.2										
C		14	76.1	66.7										
		28	68.6	23.5										
		58	56.6	6.1										
		90	53.2	3.0										
		120	45.8	1.7										
D		7	76.2	65.6										
		14	59.6	38.7										
		28	65.0	13.8										
		58	42.9	5.7										
		90	35.4	1.6										
E		120	25.9	0.9										
		7	80.3	67.0										
		14	64.4	34.0										
		28	57.1	16.7										
		58	27.8	4.0										
		90	23.3	3.0										
		120	16.8	2.8										

値は処理放射能に対する% ND: 検出せず #: ベンチアバリカルブイソプロピル

[Bz-<sup>14</sup>C] 処理後 183 日間培養した 土壌 (グループ B) をフルボ酸、フミン酸及びフミン質に画分した結果を下表に示す。

フルボ酸	フミン酸	フミン質	残留放射能量
22.1	8.7	26.8	57.5

消長速度: 以上の結果から求めたベンチアバリカルブイソプロピル及び の半減期 (DT<sub>50</sub>) 及び 90%減衰期 (DT<sub>90</sub>) は以下の通りであった。 及び については試験を別途行い、消失速度を求めた (資料 B-9~B-11)。

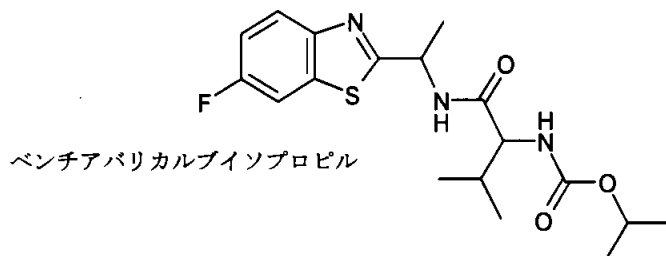
ベンチアバリカルブイソプロピル			
グループ	標識位置	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
A ( 砂壤土)	Val- <sup>14</sup> C	16.2	53.9
B ( 砂壤土)	Bz- <sup>14</sup> C	19.1	63.3
C ( 砂壤土)	Bz- <sup>14</sup> C	16.4	54.6
D ( 埴壤土)	Bz- <sup>14</sup> C	11.0	36.7
E ( 埴壤土)	Bz- <sup>14</sup> C	10.6	35.3

代 謝 物		
グループ	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
B ( 砂壤土)	----	
C ( 砂壤土)		
D ( 埴壤土)		
E ( 埴壤土)		



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

想定代謝分解経路：以上の結果から想定されるベンチアバリカルブイソプロピルの想定代謝分解経路を以下に示す。



ベンチアバリカルブイソプロピルは

となる。

に変化する。

に

わずかながら認められた。

[Bz-<sup>14</sup>C] 処理した土壌でのその他の代謝物は、土壌抽出残渣中 <sup>14</sup>C 及び炭酸ガスであった。  
なお、[Val-<sup>14</sup>C] 処理での主要代謝物は、土壌抽出残渣中 <sup>14</sup>C 及び炭酸ガスであった。

(2) 好氣的土壤中運命試験 (その2)

(資料B-8)

試験機関 :

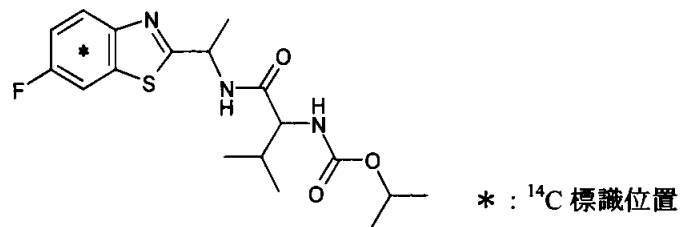
報告書作成年 : 2001 年

供試標識化合物 : ベンチアバリカルブイソプロピルのベンゼン環を  $^{14}\text{C}$  で標識

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-[(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

構造式 ;



ロット番号 ;

比放射能 ;

放射化学的純度 ;

供試土壌 : 試験には 土壌及び 土壌を 2 mm の篩を通して使用した。各土壌の特性を以下に示す。土壌は採取後、2000 年 2 月 28 日に試験に使用するまでの約 6 ヶ月間、約 4℃の暗所で保管した。

土壌 (火山灰) :

土壌 (造成地) :

	土壌	土壌
土性	軽埴土	埴壤土
pH (H <sub>2</sub> O)	6.71	7.0
pH (KCl)	6.21	5.7
粒径組成 (%)	粗砂	6.8
	細砂	44.7
	シルト	29.9
	粘土	18.6
主粘土鉱物の種類	アロフェン	クロライト
全炭素 (%)	4.71	0.8
CEC (me/100g)	37.8	7.9
水分含量 (生土%)	35.3	17.2
最大容水量 (乾土%)	107	72

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

方 法：

試験グループの設定；試験土壌及び処理量を下表に示す。

グループ	条件	土壌	土性	処理量
A	非滅菌土壌		火山灰	0.75 ppm
			造成地	0.75 ppm
B	滅菌土壌		火山灰	0.75 ppm
			造成地	0.75 ppm

標識化合物をアセトンに溶解し、試験条件（温度 30℃、最大容水量の 55%水分、暗所）で 14 日間前培養した土壌 30 g（乾燥重量）に必要量を加え、土壌とよく混和した。また滅菌区として、前培養した土壌をオートクレーブ滅菌（120℃、122 kPa、20 min）し、クリーンベンチ内で標識化合物を同様に処理した。

処理量は、圃場における本剤の使用量を 15%顆粒水和剤 2000 倍希釈 300 L/10a の 3 回使用（0.7 kg a.i./ha）と仮定し 0.75 ppm とした。

培養方法及び試料採取時期；試験土壌はフラスコ内に <sup>14</sup>C 炭酸ガスを捕集するため 2N 水酸化ナトリウム水溶液を入れたバイアルを吊し 30℃暗下で培養した。培養期間中は、適宜、試料重量を測定し、滅菌蒸留水を加えることにより水分の減少を 1 g 以内に保った。また、培養 7 日を超える試料の炭酸ガス捕集溶液は、7 日毎に新たな 2 N 水酸化ナトリウム水溶液と交換した。試料採取時期を下表に示す。

グループ	試料採取時期（日）
A	試験 0 日（処理直後）、3 日、7 日、14 日、28 日及び 56 日後
B	試験 28 日及び 56 日後

放射エネルギーの測定；各土壌試料について、下図に示すように土壌中放射能を抽出し、液体シンチレーションカウンター（LSC）により放射エネルギーを測定した。抽出残渣中の放射エネルギーは燃焼法により測定した。水酸化ナトリウム捕集液中の放射エネルギーは LSC により測定した。また、この捕集液については、水酸化バリウム沈殿法で放射エネルギーが炭酸ガスであることを確認した。土壌抽出物中の放射エネルギーについては TLC 法で分析し、代謝物を標品とのコクロマトグラフィーにより同定した。また、土壌抽出残渣についてはアルカリ抽出法によりフミン酸、フルボ酸及びフミン質に画分した。

結 果：

放射能回収率；土壤試料を抽出・分画した場合の各画分中<sup>14</sup>Cを処理量に対する割合（%）として下表に示した。試験系の物質収支は試験期間を通して82.4～104.1%であった。土壤から抽出された放射能のほとんどが酢酸エチル画分に分配され、水画分中の放射能は少量であった。酢酸エチル画分中の放射能は経時的に減少し、処理56日後には処理量の：21.0%、：7.1%になった。それに伴い土壤抽出残渣画分の割合が増加し、最大で処理量の：54.8%（処理56日後）、：58.1%（処理28日後）を示した。また、最終採取時期（56日後）までの<sup>14</sup>C炭酸ガス発生量（積算量）は：6.1%、：17.5%であった。滅菌土壤では、放射能の大部分が酢酸エチル画分に分画され、水画分及び土壤抽出残渣画分は少量であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

試験グループ	土 壤	処理量 (ppm)	培養期間 (日)	酢酸エチル画分	水画分	抽出残渣	<sup>14</sup> C02	物質収支
A		0.75	0	96.3	<0.1	1.7	—	98.0
			3	86.6	0.7	8.3	<0.1	95.5
			7	77.7	1.9	14.8	<0.1	94.3
			14	61.3	3.2	27.9	0.5	92.9
			28	41.6	4.0	41.2	1.9	88.7
			56	21.0	2.4	54.8	6.1	84.2
		0.75	0	97.6	<0.1	1.5	-	99.0
			3	74.2	1.7	18.7	0.2	94.7
			7	50.6	4.2	37.1	1.5	93.4
			14	33.0	5.0	49.4	4.7	91.9
			28	15.9	3.6	58.1	10.9	88.4
			56	7.1	2.4	55.5	17.5	82.4
B		0.75	28	100.1	0.1	3.0	<0.1	103.2
			56	94.6	0.4	7.4	<0.1	102.3
		0.75	28	101.9	0.6	1.7	<0.1	104.1
			56	100.5	0.7	2.2	<0.1	103.3

試験グループ A : 非滅菌土壌

分析値は処理量に対する%、2連の平均値

試験グループ B : 滅菌土壌

親化合物及び代謝物の分析；土壌から抽出した酢酸エチル画分について、TLCによる親化合物及び代謝分解物の分析を行った。その結果を次表以下に示す。

非滅菌土壌 (グループ A)

土 壤	培養期間 (日)	抽出物	親化合物						
	0	96.3	94.4						
	3	86.6	72.7						
	7	77.7	50.8						
	14	61.3	23.1						
	28	41.6	9.3						
	56	21.0	3.8						
	0	97.6	96.9						
	3	74.2	51.1						
	7	50.6	16.9						
	14	33.0	3.1						
	28	15.9	1.3						
	56	7.1	0.8						

分析値は処理量に対する% - : <0.1%

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

滅菌土壌（グループ B）

土壌	培養期間（日）	抽出物	親化合物						
	28	100.1	98.0						
	56	94.6	88.1						
	28	101.9	100.8						
	56	100.5	98.8						

分析値は処理量に対する% - : <0.1%

主分解物として 及び が標品との co-TLC で同定された。この他に少量の が検出された。 及び は検出されなかった。

主分解物 の最大生成量（処理量に対する%）及びその時期（日）を下表に示す。これら主分解物は何れも処理 7~28 日後に最大となったのち減少した。

滅菌土壌では、酢酸エチル画分中放射能のほとんどが未分解のベンチアバリカルブイソプロピルであり、微量ではあるが分解物として両土壌で 及び が検出された。

土壌				

最終採取時期（処理 56 日後）の土壌抽出残渣について、アルカリ抽出法により抽出・分画した結果を下表に示す。

グループ	土壌	分画割合（%）			
		フミン	フミン酸	フルボ酸-水	フルボ酸-酢酸エチル
A		43.4	26.5	20.9	9.3
		42.3	28.4	19.8	9.5
B		43.6	23.4	25.1	7.9
		45.3	22.6	23.9	8.2

消長速度；以上の結果から求めた親化合物の畑土壌（非滅菌）における半減期（DT<sub>50</sub>）及び 90% 減衰期（DT<sub>90</sub>）は以下の通りであった。

（ベンチアバリカルブイソプロピル）

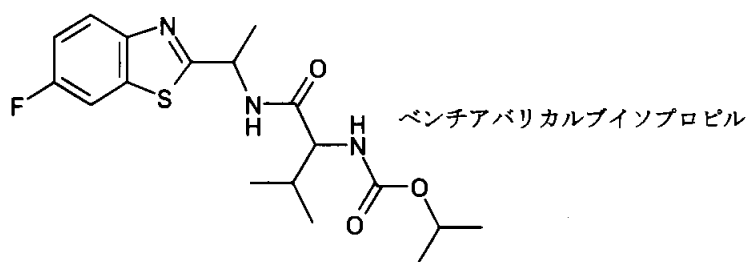
土壌（グループ A）	半減期（DT <sub>50</sub> ）	90% 減衰期（DT <sub>90</sub> ）
	7.2 日	27 日
	3.1 日	11 日

また、分解物の最大値からの半減期（DT<sub>50</sub>）は以下の通りであった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(分解物)		半減期 (DT <sub>50</sub> )		
土壌 (グループ A)				

想定代謝分解経路：以上の結果から想定されるベンチアバリカルブイソプロピルの想定代謝分解経路を以下に示す。



ベンチアバリカルブイソプロピルは土壌中で土壌微生物の関与により速やかに分解し、  
 などの分解物を経て最終的に 推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(3) の好氣的土壤における分解

(資料B-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001年

ベンチアバリカルブイソプロピルの土壤中主要代謝物である について分解試験を行った。

供試化合物：試験には以下の化合物を使用した。

化学名；

構造式；

分子式；

分子量；

純度；

供試土壤：試験には3種類の土壤を使用した。各土壤の特性を以下に示す。

土壤の名称			
試験グループ	A	B	C
粒径分布 (UK)			
砂 (2000~63 μm)	23	71	33
シルト (63~2 μm)	57	14	35
粘土 (<2 μm)	20	15	32
土性分類	埴壤土	砂壤土	埴壤土
粒径分布 (BBA)			
砂 (2000~63 μm)	23	71	33
シルト (63~2 μm)	57	14	35
粘土 (<2 μm)	20	15	32
土性分類	シルト壤土	極壤質砂土	軽埴壤土
粒径分布 (USDA)			
砂 (2000~53 μm)	24	72	35
シルト (53~2 μm)	56	13	33
粘土 (<2 μm)	20	15	32
土性分類	シルト壤土	砂壤土	埴壤土
有機炭素量 (%)	4.5	1.4	2.7
有機物量 (%)	7.8	2.4	4.7
pH (H <sub>2</sub> O)	6.7	5.5	8.0
pH (1M KCl)	6.2	4.9	7.2
陽イオン交換容量 (mEq/100g)	17.4	8.3	19.6
含水量 (pF2.5, %)	48.5	16.2	25.0
含水量 (pF0, %)	107.7	47.6	56.6
微生物量 (試験開始時、μg C/g)	604.77	434.86	526.48
微生物量 (試験終了時、μg C/g)	187.63	537.45	526.03



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

方 法：

試験グループの設定；試験グループ及び処理量を下表に示す。

グループ	土壌の名称	土 性	処理量
A		埴壤土	1 ppm
B		砂壤土	1 ppm
C		埴壤土	1 ppm

供試化合物をアセトニトリルに溶解し、試験条件下（温度 20℃、水分は最大容水量の 45%、暗所）で予備培養した土壌 50 g（乾燥重量）に必要量を滴下し、アセトニトリルを揮発させた後、土壌とよく混和した。

培養方法及び試料採取時期：試験土壌に供試化合物を滴下し、溶媒を揮発させた後、水分量を調整して、20±2℃、暗所における培養を開始した。試験容器の重量を 3～5 日間隔で測定し、脱イオン水を添加して土壌水分を維持した。土壌採取時期は次の通りである。

土壌 A：0, 2, 7, 11, 14, 22, 30, 60 日

土壌 B：0, 2, 7, 11, 14, 22, 30, 60, 90, 120 日

土壌 C：0, 2, 7, 11, 14, 22, 30, 60, 90 日

分析方法；土壌試料をアセトン：水（4：1=v/v）で抽出、ジクロロメタン分配し、さらに固相抽出法で精製後、逆相系 HPLC（UV 検出器）で供試化合物濃度を測定した。

分解速度の計算；二相性モデルを用いてコンピューターで 50%及び 90%減衰速度（DT<sub>50</sub>及び DT<sub>90</sub>）を算出した。

微生物量の測定；試験開始時（供試化合物未添加時）及び終了時の土壌中微生物量を薫蒸・抽出（fumigation-extraction）法で測定した。その結果を「供試土壌」の項、表中に記した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

結 果：

の土壤中濃度推移を処理量に対する残存率（%）で次表に示す。

培養期間	A	B	C
	埴壤土	砂壤土	埴壤土
0 日			
2 日			
7 日			
11 日			
14 日			
22 日			
30 日			
60 日			
90 日			
120 日			

値は処理量に対する%

上記の結果から、二相性モデルを適用して求めた減衰速度を下表に示す。

	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
A		
B		
C		

試験開始前及び終了時の土壤中微生物量は供試土壌の特性表に記載した通りであり、培養期間中、適正な量の微生物が維持されたものと考えられた。

以上の結果、ベンチアバリカルブイソプロピルの好氣的土壤中主要分解生成物の1つである        は、好氣的土壤中ですやかに分解することが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(4) の好氣的土壤における分解

(資料B-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2001 年

ベンチアバリカルブイソプロピルの土壤中主代謝物である について分解試験を行った。

供試化合物：試験には以下の化合物を使用した。

化学名；

構造式；

分子式；

分子量；

ロット番号；

純度；

供試土壤：試験には3種類の土壤を使用した。各土壤の特性を以下に示す。

土壤の名称			
試験グループ	A	B	C
粒径分布 (UK)			
砂 (2000~63 μm)	23	71	33
シルト (63~2 μm)	57	14	35
粘土 (<2 μm)	20	15	32
土性分類	埴壤土	砂壤土	埴壤土
粒径分布 (BBA)			
砂 (2000~63 μm)	23	71	33
シルト (63~2 μm)	57	14	35
粘土 (<2 μm)	20	15	32
土性分類	シルト壤土	極壤質砂土又は中壤質砂土	軽埴壤土
粒径分布 (USDA)			
砂 (2000~53 μm)	24	72	35
シルト (53~2 μm)	56	13	33
粘土 (<2 μm)	20	15	32
土性分類	シルト壤土	砂壤土	埴壤土
有機炭素量 (%)	4.5	1.4	2.7
有機物量 (%)	7.8	2.4	4.7
pH (H <sub>2</sub> O)	6.7	5.5	8.0
pH (1M KCl)	6.2	4.9	7.2
陽イオン交換容量 (mEq/100 g)	17.4	8.3	19.6
容水量 (pF2.5, %)	48.5	16.2	25.0
容水量 (pF0, %)	107.7	47.6	56.6
微生物量 (試験開始時, μg C/g)	604.77	434.86	526.48
微生物量 (試験終了時, μg C/g)	190.83	101.53	359.00

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

方 法 :

試験グループの設定 ; 試験グループ及び処理量を下表に示す。

グループ	土壌の名称	土 性	処理量
A			ppm
B			ppm
C			ppm

供試化合物をアセトニトリルに溶解し、試験条件 (温度 20℃、水分は最大容水量の 45%、暗所) で予備培養した土壌 50 g (乾燥重量) に必要量を滴下、アセトニトリルを揮発させた後、土壌とよく混和した。

培養方法及び試料採取時期 ; 試験土壌に供試化合物を滴下し、溶媒を揮発させた後、水分量を調整して、20±2℃、暗所における培養を開始した。試験容器の重量を 3~5 日間隔で測定し、脱イオン水を添加して土壌水分を維持した。土壌採取時期は次の通りである。

土壌採取時期 : 0, 2, 4, 7, 10, 14, 30 日

分析方法 ; 土壌試料をアセトン : 水 (4 : 1=v/v) で抽出、ジクロロメタン分配し、固相抽出法で精製後、逆相系 HPLC (UV 検出器) で供試化合物濃度を測定した。

分解速度の計算 ; 単相 (土壌 A 及び B) 及び二相性モデル (土壌 C) を用いてコンピューターで 50% 及び 90% 減衰速度 (DT<sub>50</sub> 及び DT<sub>90</sub>) を算出した。

微生物量の測定 ; 試験開始時 (供試化合物未添加時) 及び終了時の土壌中微生物量を薫蒸・抽出 (fumigation-extraction) 法で測定した。その結果を「供試土壌」の項、表中に記した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

結 果：

の土壤中濃度推移を処理量に対する残存率（%）で次表に示す。

培養期間	A	B	C
	埴壤土	砂壤土	埴壤土
0 日			
2 日			
4 日			
7 日			
10 日			
14 日			
30 日			

値は処理量に対する%

上記の結果から二相性モデルを適用して求めた減衰速度を下表に示す。

	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
A		
B		
C		

試験開始前及び終了時の土壤中微生物量は供試土壌の特性表に記載した通りであり、培養期間中、適正な量の微生物が維持されたと考えられた。

以上の結果、ベンチアバリカルブイソプロピルの好氣的土壤中主要分解生成物の1つである は、好氣的土壤中ですばやく分解することが明らかになった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(5) の好氣的土壌における分解

(資料B-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

ベンチアバリカルブイソプロピルの土壌中主代謝物である について分解試験を行った。

供試化合物：試験には以下の化合物を使用。

化学名；

構造式；

分子式；

分子量；

純度；

供試土壌：試験には3種類の土壌を使用した。各土壌の特性を以下に示す。土壌は採取後、2mmの篩を通し、受領してから試験に使用するまで34~48日間約4℃暗所で保管した。

土壌の名称			
試験グループ	A	B	C
粒径分布 (UK) 砂 (2000~63 μm) シルト (63~2 μm) 粘土 (<2 μm) 土性分類			
粒径分布 (BBA) 砂 (2000~63 μm) シルト (63~2 μm) 粘土 (<2 μm) 土性分類			
粒径分布 (USDA) 砂 (2000~53 μm) シルト (53~2 μm) 粘土 (<2 μm) 土性分類			
有機炭素量 (%)			
有機物量 (%)			
pH (H <sub>2</sub> O)			
pH (1M KCl)			
pH (0.01M CaCl <sub>2</sub> )			
陽イオン交換容量 (mEq/100g)			
容水量 (pF2.5, %)			
容水量 (pF0, %)			
微生物量 (試験開始時、μg C/g)			
微生物量 (試験終了時、μg C/g)			

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

方 法：

試験グループの設定；試験グループ及び処理量を下表に示す。

グループ	土壌の名称	土 性	処理量
A			ppm
B			ppm
C			ppm

供試化合物をアセトニトリルに溶解し、試験条件（温度 20℃、水分は最大容水量の 45%、暗所）で予備培養した土壌 50 g（乾燥重量）に必要な量を滴下、アセトニトリルを揮発させた後、土壌とよく混和した。

培養方法及び試料採取時期；試験土壌に供試化合物を滴下し、溶媒を揮発させた後、水分量を調整して、20±2℃、暗所における培養を開始した。試験容器の重量を 3～5 日間隔で測定し、脱イオン水を添加して土壌水分を維持した。供試化合物の分解速度が当初の予想より大幅に速いことが明らかになったので、正確な減衰速度を求めるために土壌試料を途中で追加した。土壌採取時期を下表に示す。

	試料採取時期（日）
第 1 回培養	試験 0 時間（処理直後）、2, 5, 7, 29, 61 及び 90 日
追加培養	試験 0, 2, 6 及び 24 時間

第 1 回培養グループにおける 0 時間試料の抽出は処理後約 1.5 時間に行った為、本試験における初期濃度測定用試料としては適切でないことがわかったので、この値は半減期の計算に使用しなかった。

分析方法；土壌試料をアセトン：水：酢酸（50：50：1=v/v/v）で抽出し、固相抽出法で精製後、LC/MS/MS 質量分析計で供試化合物濃度を測定した。

分解速度の計算；二相性モデルを用いてコンピューターで 50%及び 90%減衰速度（DT<sub>50</sub> 及び DT<sub>90</sub>）を算出した。

微生物量の測定；試験開始時（供試化合物未添加）及び終了時の土壌中微生物量を薫蒸・抽出（fumigation-extraction）法で測定した。その結果を前頁の「供試土壌」の項、表中に記した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

結 果：

の土壌中濃度推移を処理量に対する残存率 (%) で下表に示す。

培養期間	A 埴壤土	B 砂壤土	C 埴壤土
0 時間			
2 時間			
6 時間			
24 時間			
2 日			
5 日			
7 日			
29 日			
61 日			
90 日			

処理量に対する%

上記の結果から二相性モデルを適用して求めた減衰速度を下表に示す。

	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
A		
B		
C		

試験開始前及び終了時の土壌中微生物量は供試土壌の特性表に記載した通りであり、培養期間中、適正な量の微生物が維持されたと考えられた。

以上の結果、ベンチアバリカルブイソプロピルの好氣的土壌中主要分解生成物の1つである は、好氣的土壌中で極めて速やかに分解することが明らかになった。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

#### 4. 水中運命に関する試験

##### (1) 加水分解運命試験

(資料C-1)

試験機関：

[GLP 対応]

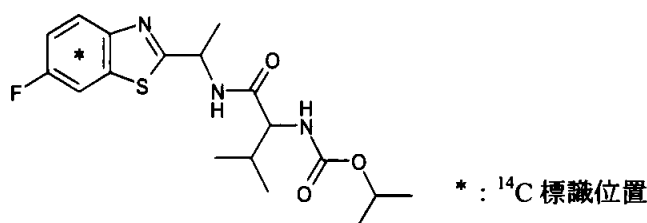
報告書作成年：2000 年

供試化合物：ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル

(本試験の抄録中では [Bz- $^{14}\text{C}$ ] と称す)

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-{{(R)-1-(6-fluoro-1, 3-benzothiazol-2-yl)ethyl}-carbamoyl}-2-methylpropyl]carbamate

構造式；



比放射能；

放射化学的純度；

ロット番号；

供試水溶液：

pH 4；クエン酸緩衝液 (10 mM クエン酸水溶液に 10 mM クエン酸三ナトリウム水溶液を加えて pH を  $4.0 \pm 0.2$  に調整した。)

pH 7；トリスマレイン酸ナトリウム緩衝液 (10 mM トリスマレイン酸水溶液に 10 mM 水酸化ナトリウム水溶液を加えて pH を  $7.0 \pm 0.2$  に調整した。)

pH 9；四ホウ酸ナトリウム緩衝液 (10 mM 四ホウ酸ナトリウム水溶液に 10 mM 水酸化ナトリウム水溶液を加えて pH を  $9.0 \pm 0.2$  に調整した。)

滅菌の有無；オートクレーブ滅菌

試験方法：

OECD テストガイドライン 111 (1982 年 10 月採択) に準拠した。

試験濃度；4 mg/L (溶解補助剤として試験溶液 3 ml に対しアセトニトリル 26  $\mu\text{l}$  添加)

試験温度； $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$

試験期間；30 日間

分析方法；固相抽出法により精製し、光学異性体カラムを用いた HPLC 法で定量  
一部の試料について TLC 法で確認分析を実施

滅菌の確認；微生物コロニーを培地で検出

半減期算定方法；作図法

試験結果：

1) 分布

30日後の物質収支は下表の通りであり、ベンチアバリカルブイソプロピルはほとんど分解しなかった。

試験温度	pH	物質収支 (処理量に対する%)				合計
		ベンチアバリカルブ イソプロピル				
25℃	4	101.44				102.15
	7	101.08				101.95
	9	101.42				102.60

—：検出せず

2) 代謝

複数の未同定分解物が検出された。主要な分解物は であり、生成量は (pH 5, 21日) であった。ベンチアバリカルブイソプロピルの は認められなかった。

3) 推定半減期

ベンチアバリカルブイソプロピルの分解が緩慢であったため正確な半減期は算出できなかった。

(2) 水中光分解運命試験

(資料C-2)

試験機関：

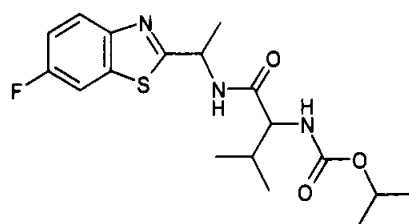
[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

供試化合物：ベンチアバリカルブイソプロピル

化学名； Isopropyl [(S)-1-{[(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl}  
-2-methylpropyl]carbamate

構造式；



純度；

水溶解度；

供試水：

蒸留水；高速液体クロマトグラフ用（和光純薬工業株式会社）

自然水；

水質項目	分析値
pH	7.3/18℃
電気伝導率	6.4 mS/m
蒸発残留物	52.0 mg/L
BOD	0.5 mg/L 未満
COD	2.7 mg/L
SS	2.7 mg/L

滅菌の有無；滅菌

光源：

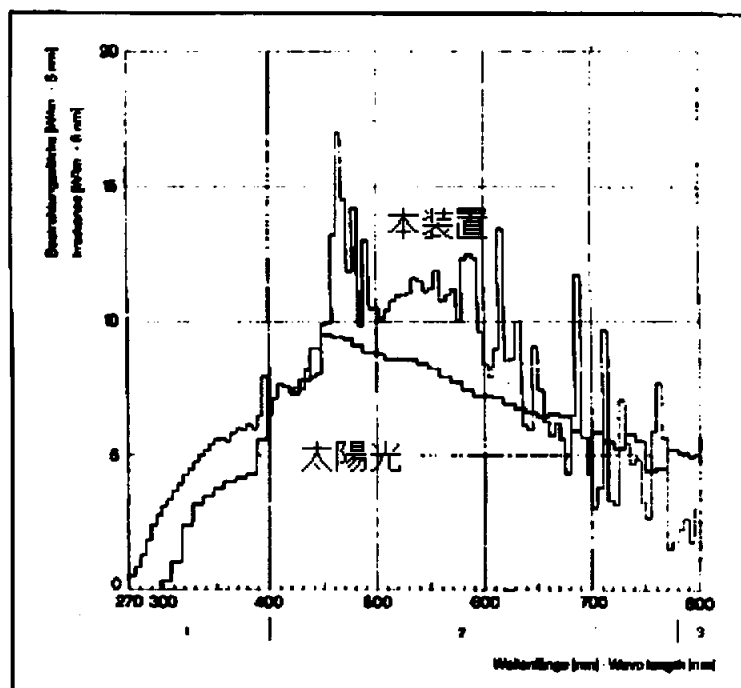
機種；卓上型キセノン耐光促進試験機サンテスト CPS+

光源；キセノンアークランプ（1.5kw）

フィルター；290 nm をカットする UV フィルター使用

光強度；400 W/m<sup>2</sup>（波長範囲 300-800 nm）

波長分布；



試験方法：農林水産省農産園芸局長通知 9 農産第 5089 号（農薬の物理的・化学的性状に関する試験方法；水中光分解性）に準拠した。

試験濃度； $2 \mu\text{g/ml}$ （溶解補助剤無添加）

試験温度； $24.8^\circ\text{C}$

試験期間；14 日間光照射（太陽光換算約 80 日）

試験容器；石英蓋付 PYREX ガラス製小型セパラブルフラスコ

分析方法；試料水  $40 \mu\text{l}$  を HPLC に注入し、検量線により定量

半減期算定方法；一次反応速度式を用いてコンピュータ計算

試験結果：

1) 分布

光照射 14 日後の濃度及び物質収支は下表の通りであり、ベンチアバリカルブイソプロピルはキセノン光照射により分解され難かった。

供試水	試験濃度	光照射区		暗所対照区	
		ベンチアバリカル ブイソプロピル	物質収支	ベンチアバリカル ブイソプロピル	物質収支
蒸留水	$2 \mu\text{g/ml}$	$1.88 \mu\text{g/ml}$	93.5%	$2.08 \mu\text{g/ml}$	103.5%
自然水	$2 \mu\text{g/ml}$	$1.98 \mu\text{g/ml}$	97.1%	$2.05 \mu\text{g/ml}$	100.5%

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

2) 代謝

蒸留水及び自然水を直接 HPLC に注入し、UV (240 nm) で測定した場合、ベンチアバリカルブイソプロピルの分解はわずかであり、異性体などの代謝物は検出されなかった。

3) 推定半減期

ベンチアバリカルブイソプロピルの推定半減期は下表の通りであった。

供試水	光照射区		暗所対照区
	キセノン光照射 半減期	太陽光換算 半減期	キセノン光照射 半減期
蒸留水	131 日	740 日	NA
自然水	301 日	1700 日	NA

NA : 分析値増加のため半減期算出不能

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

5. 土壌吸着性試験

(資料C-3)

試験機関：

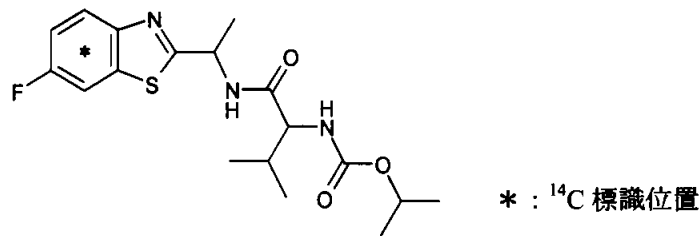
[GLP 対応]

報告書作成年：1999年

供試標識化合物：ベンゼン環 <sup>14</sup>C (U) 標識ベンチアバリカルブイソプロピル (本試験の抄録中では [Bz-<sup>14</sup>C] と称す)

化学名 (IUPAC) ; Isopropyl [(S)-1-[(R)-1-(6-fluoro-1,3-benzothiazol-2-yl)ethyl]-carbamoyl]-2-methylpropyl]carbamate

構造式；



比放射能；

放射化学的純度；

供試土壌：4種類の土壌を使用した。

- |     |    |            |
|-----|----|------------|
| I   | 土壌 | (一般畑地、火山灰) |
| II  | 土壌 | (畑地、火山灰)   |
| III | 土壌 | (畑地)       |
| IV  | 土壌 | (一般水田)     |

項目	I	II	III	IV
土壌群名	黒ボク土	黒ボク土	造成土	灰色低地土
土性	SL	CL	CL	LS
砂%	68.0	42.3	51.5	87.5
シルト%	20.8	33.8	29.9	4.4
粘土%	11.2	23.9	18.6	8.1
有機炭素含有率%	3.9	4.3	0.8	0.4
pH (H <sub>2</sub> O)、(KCl)	6.2、5.4	6.4、5.8	7.0、5.7	5.2、4.2
陽イオン交換容量 (me/100g)	15.9	25.8	7.9	3.2
有効態リン酸 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/乾土 100 g)	29.7	23.3	36.6	13.6
リン酸吸収係数 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/乾土 100 g)	1530	1720	640	150
粘土鉱物の種類				
OECD の土壌番号 (No.) 注1)	3	2	3	5

注1)：有機炭素含有率及び粘土%を主体に分類した場合の土壌番号

試験方法：OECD テストガイドライン 106（1981年5月12日採択）に準拠した。

供試土壌の調整；2 mm の篩いを通した土壌を使用

土壌 5 g に水 5 ml を加え  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  で 24 時間コンディショニング

土壌/水比；土壌/水=1/5

試験溶液；被験物質 0.04, 0.2, 1.0, 4.0  $\mu\text{g/ml}$  濃度の 0.01M- $\text{CaCl}_2$  水溶液

吸着平衡化時間；1.0  $\mu\text{g/ml}$  濃度、4 土壌で 4, 8, 24, 48 時間振とう。平衡化時間は上澄液中濃度の 8 時間あたりの変化率が 10% 以下になった時点とした。

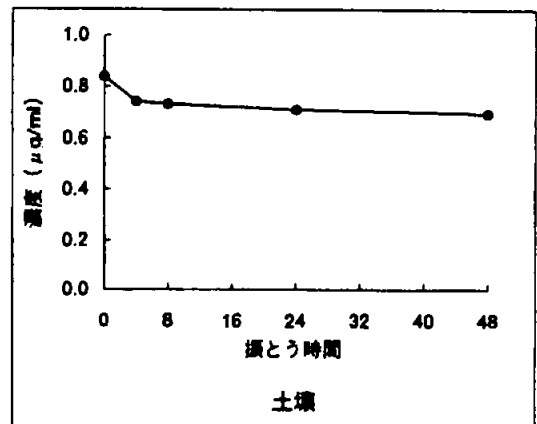
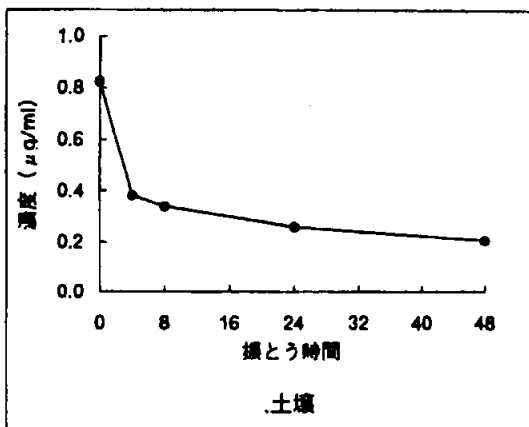
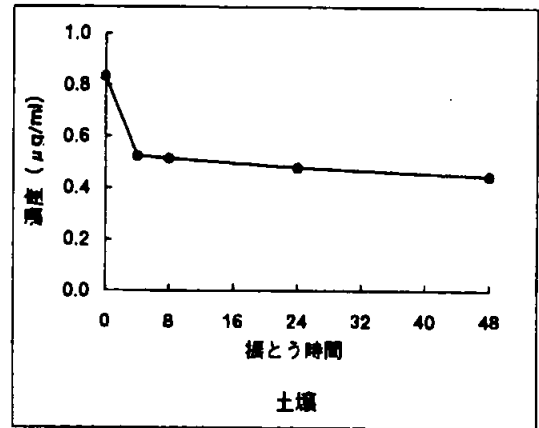
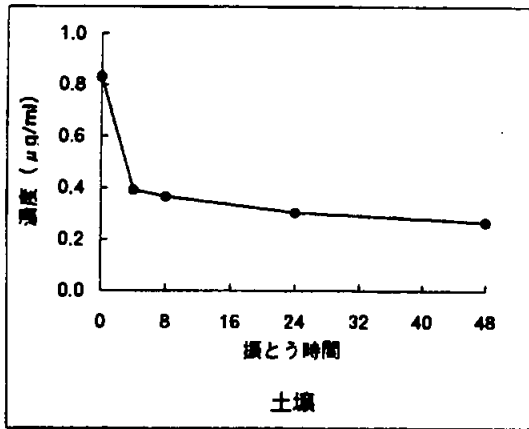
物質収支；1.0  $\mu\text{g/ml}$  濃度、4 土壌、48 時間振とう試料で測定した。

吸着操作；コンディショニングした土壌に 4 濃度の被験物質溶液を加え、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、暗下で 48 時間振とうした。

分析操作；土壌と上澄液を遠心分離後、上澄液中の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定、二次元 TLC によりベンチアバリカルブイソプロピルを分離・検出し液体シンチレーションカウンター (LSC) で定量した。

試験結果：平衡化時間は：24 時間、：48 時間、：8 時間、：8 時間であった。

吸着試験では 4 種土壌で共に平衡となる 48 時間を吸着平衡化時間とした。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

物質収支；下表の通り、全ての土壌で95.8%以上であった。

土壌	振とう時間 (時間)	試料	回収率 (%)				合計
			上澄液	土壌			
				酢酸エチル層	水層	土壌抽出残渣	
I	48	1	27.0	59.5	0.1	9.2	95.8
		2	26.7	58.8	0.1	10.7	96.3
II	48	1	20.3	57.7	0.2	19.0	97.2
		2	20.3	57.3	0.2	18.8	96.6
III	48	1	45.7	46.8	0.1	4.0	96.6
		2	46.8	45.7	0.1	4.1	96.7
IV	48	1	77.2	19.3	0.0	1.3	97.8
		2	76.5	19.8	0.0	1.2	97.5

吸着試験結果；Freundlichの吸着等温式により求めた吸着係数は下表の通りであった。

土壌	1/n <sup>1)</sup>	K <sub>F</sub> <sup>ads1)</sup>	r <sup>1)</sup>	oc% <sup>2)</sup>	K <sub>F</sub> <sup>ads oc</sup> <sup>3)</sup>
I	0.841	8.56	1.00	3.9	219
II	0.812	10.76	1.00	4.3	250
III	0.786	3.76	1.00	0.8	470
IV	0.911	0.90	1.00	0.4	225

1) Freundlichの吸着等温式による定数項と相関係数

2) 土壌中の有機炭素含有率

3) K<sub>F</sub><sup>ads</sup>値を各ocで割り求めた有機炭素吸着係数

その他結果；次式によりベンチアバリカルブイソプロピルのパラメータを求めた。

$$K_{F^{ads}oc} = K_{oc} \times \text{有機炭素含有割合} + a$$

K<sub>oc</sub>：傾き a：Y切片 r：相関係数

K <sub>oc</sub>	a	r
215	0.945	0.975



## 6. 代謝分解のまとめ

ベンチアバリカルブイソプロピルの動物、植物、土壌、水中における代謝、分解、残留の要約は以下のとおりであり、代謝経路及び結果の概要を次々頁以降に示した。

動物：(資料 B-1~B-2, B-15)

### 吸収・分布・排泄

ベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを低用量 (5 mg/kg) ならびに高用量 (400 mg/kg) で単回経口投与した雌雄ラットにおける吸収・分布・排泄を調べた。吸収は、雌雄共に速やかであった。C<sub>max</sub> 及び T<sub>max</sub> には用量間及び標識体間に差が認められた。体内臓器及び組織へは速やかに分布し、その後排泄され蓄積は認められなかった。低用量では投与量の約 90%の胆汁排泄が観察された。高低用量ともに体外への主たる排泄経路は糞であり、次いで尿であった。呼吸へは排泄されなかった。バリン部位を  $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを低用量 (5 mg/kg) で 7 日間または 14 日間反復経口投与した。7 日間投与により体内全体に放射能が分布し投与 7 日間では体内全体に放射能が分布していることが確認された。14 日間投与終了後、組織内の放射能は徐々に減少し、肝臓、皮膚、血液以外の検出量は 0.1%未満となった。7 日間あるいは 14 日間連続投与した場合であっても、特定臓器/組織への蓄積は見られず、尿糞中に排泄された代謝物についても、単回投与した際に得られた代謝物と基本的に同様と考えられた。

### 代謝

主代謝物は であり、また も認められた。代謝物パターンには雌雄に差はなく、用量間で差が認められた。低用量の主代謝物は であり、高用量では未変化の親化合物であった。ベンチアバリカルブイソプロピルは を経て、 を受け代謝され、胆汁中に排泄されるものと推定された。各代謝物の 体は を経て を生成した。 は に分解され、次いで に酸化されるものと推定した。肝 S-9 を用いた in vitro 試験での主代謝物も 及び複数の であり、これら主代謝物の肝臓での代謝生成を確認した。

植物：(資料 B-3~B-6 及び B-14)

ベンゼン環またはバリン部を  $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを 100 g ai/ha 濃度で 1 回土壌処理ならびに 6 回茎葉散布し、ばれいしょ塊茎及び植物中の代謝物を調べた。土壌処理での塊茎には残留が認められなかった (<0.001  $\mu\text{g/g}$ )。茎葉処理した茎葉中の約 90%は、未変化体であった。主代謝経路は であった。葉では が検出された。

トマト、ぶどう及びはくさいでの試験結果では、収穫物中の主残留物は未変化の親化合物であり、代謝物は少量であった。

トマト幼苗代謝試験では、茎葉からの吸収は極めて少なくベンチアバリカルブイソプロピルは未変化の

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

まま処理部に留まり代謝され難いこと、また、根からは吸収され主に ( ) の生成)、  
( )、 ( ) により代謝されることが  
わかった。これら代謝物は、グルコース、セルロース等の植物構成成分に取り込まれるものと推察され  
た。

#### 土壌：(資料 B-7~B-11)

ベンゼン環またはバリン部の  $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを 2 ppm 濃度で 4 種類の  
英国土壌に処理し容器内試験 (20°C、畑条件、暗所下) を行った。ベンチアバリカルブイソプロピルの  
半減期は 11~19 日であり、速やかに分解された。ベンチアバリカルブイソプロピルは、  
として を生成した。これら分解物は一部抽出残渣に  
取込まれたが、最終的に二酸化炭素にまで分解された。バリン部は、速やかに に分解された。  
2 種類の国内土壌 (0.75 ppm、30°C、畑条件、暗所下) を用いても検討した結果、半減期は 3.1~7.2 日  
と速やかであり、分解には土壌微生物が関与することがわかった。分解経路は英国土壌と同様であった。

#### 水中：(資料 C-1~C-2)

ベンゼン環を  $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルを 4  $\mu\text{g/ml}$  濃度で pH4、pH7、pH9 の緩衝  
液に溶解し、25°C での加水分解性を調べた。ベンチアバリカルブイソプロピルの 30 日後の残存率は  
101.08~101.44% であり、殆ど分解しなかった。

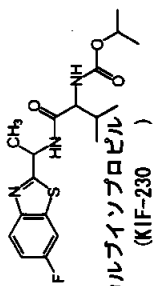
滅菌した蒸留水及び自然水にベンチアバリカルブイソプロピルを 2  $\mu\text{g/ml}$  濃度で溶解し、人工光 (300  
~800 nm 波長範囲での光強度 400  $\text{w/m}^2$ ) を 14 日間 (太陽光換算で 80 日間) 照射して水中光分解性を調  
べた。供試した化合物の 93.5~97.1% が未変化体として回収され、太陽光に換算した半減期は蒸留水 740  
日、自然水 1700 日と推定された。分解は僅かであり、代謝物は検出されなかった。

ベンチアバリカルブイソプロピルは水中では加水分解及び光分解を受け難いものと推定された。

#### 土壌吸着性：(資料 C-3)

性質の異なる 4 種類の土壌を用いて、ベンゼン環を  $^{14}\text{C}$  で標識したベンチアバリカルブイソプロピルの  
土壌吸着性を調べた。Freundlich の吸着等温式により求めた  $K_{\text{F}}^{\text{ads}}$  は : 8.56、 : 10.76、 : 3.76、  
: 0.90 であり、この数値を有機炭素含有率で割り求めた  $K_{\text{F}}^{\text{adsoc}}$  は : 219、 : 250、 :  
470、 : 225 であった。

権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。



ベンチアバリカルブイソプロピル  
(KIF-230)

ベンチアバリカルブイソプロピルの推定代謝経路

代謝分解の概要

動物	代謝分解物		製品との照合により同定した代謝物										機器分析等により同定した代謝物										総 回収率		
	Bz 標識 5mg/kg	尿 雄 雌 時間	ベンチア バリカルブ インプロピル (糖化合物)																						
ラット	Bz 標識 400mg/kg	尿 雄 雌 時間	NO NO																					13.83 23.75	
	Bz 標識 400mg/kg	尿 雄 雌 時間	NO NO																					79.09 66.48	
	Bz 標識 5mg/kg (胆汁排泄)	胆汁 雄 雌 時間	22.2 12.08																					8.315 12.76	
	Bz 標識	肝900G 上清	6分	5.5																					78.35
げんい しよ	Val 標識	肝900G 上清	6分	11.1																					77.51
	Bz 標識 100g ai/ha	1回土壌散布 葉	90日	10.2(0.0050)																					98.9
	Val 標識 100g ai/ha	6回土壌散布 葉	14日	87.8(5.1509)																					95.2
	Bz 標識 100g ai/ha	1回土壌散布 葉	90日	10.9(0.0057)																					100
	Val 標識 100g ai/ha	6回土壌散布 葉	14日	4.7(0.0007) 90.3(4.2826)																					100
	Bz 標識 100g ai/ha	6回土壌散布 葉	56日	54.7(0.0037) 95.1(2.2163)																					100
ぶどう	Bz 標識 100g ai/ha	6回土壌散布 果実	17日	95.8 (0.3131) 94.6(13.2483)																					100
	Val 標識 100g ai/ha	6回土壌散布 果実	17日	96.5(0.2324) 94.0(20.3593)																					100
	Bz 標識 0.443 μl/ml	水耕処理 根	7日	73.8 (1.75)																					100
	Val 標識 0.533 μl/ml	水耕処理 根	7日	92.1 (24.2) 87.3 (4.98) 96.5 (8.71)																					93.6 100 99.7
はく さい	Bz 標識 225g ai/ha	1回土壌散布 結球	21日	89.8 (0.94) 91.0 (1.09) 88.5 (10.76)																					100 100 100

ラット代謝物ではベンゼン系代謝物 (Bz 標識) 及びピリジン系代謝物 (Val 標識) を用いたが、代謝物ごとの回収率が異なるが、ベンゼン系代謝物の結果のみ記載した。

ラット肝S-9 及び土壌では代謝物が検出最大量を示した時間の代謝結果を記載した。

表中の数字は収量または IRR に対する %、植物の根圏内は濃度 ppm で示した。未同定等は総回収率から同定代謝物総量を引いて求めた。

\*

\*\* 胆汁排泄物で尿に検出された代謝物を示した。

#

試験系	代測分解物		ヘプタアリカル フィンプロピル (酸化合物)	標品との照合により同定した代測物										機器分析等により同定した代測物	総 回収率			
	英国 燐土燐	国内 燐土燐		砂燐土 30日	砂燐土 58日	燐燐土 28日	燐燐土 14日	砂燐土 365日	燐燐土 14日	燐燐土 14日	PH 4 (25°C)	PH 7 (25°C)	PH 9 (25°C)			蒸留水	自然水	
土質	Be 燐燐 2ppm	Val 燐燐 2ppm	37.5														96.4	
			5.3															93.2
																	97.0	
																	95.8	
国内 燐土燐	Be 燐燐 0.75ppm		23.1														84.5	
			3.1														92.9	
水中 加水分解	Be 燐燐 4mg/L		101.44														102.15	
			101.06															101.96
			101.42															
水中 光分解	純品 2mg/L		93.5														93.5	
			97.1															97.1

本資料に記載された情報は、情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

【附】 ベンチアバリカルブイソプロピルの開発年表

	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
化合物選抜																				
特許 出願																				
物理化学的性質																				
環境生物に及ぼす影響																				
農薬残留量																				
適用農作物																				
毒性																				
代謝分解 動物、植物、土壌																				
製剤検討																				

(ラット慢性毒性/発癌性)  
 (マウス繁殖性)  
 (ラット次世代)  
 (イヌ慢性毒性)  
 (その他)