

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(3)プロマシルのオレンジ苗木における代謝試験

(資料 代3)

試験機関：
報告書番号：
報告書作成年：1969年

供試標識化合物： プロマシル
構造式：

*： 標識位置

化学名：5-ブロモ-3-*sec*-ブチル-6-メチルウラシル
比放射能：
放射化学的純度：
標識位置の設定理由：

供試植物：オレンジ苗木（品種：Hamilton）

サワーオレンジの枝に接ぎ木した2年生もの。

石英砂を入れた4Lステンレス製ビーカーにオレンジ苗木を移植した後、数週間、キレート鉄を含む培養液で栽培した。

試験方法：

処理方法；[カルボニル-2-¹⁴C]プロマシル 10.3 mg を 1000 mL の培養液に加え、オレンジ苗木を約4週間砂耕栽培した。試験は2反復で行った。

試料採取；処理後約4週間目にオレンジ苗木を採取し、根部、下部の幹、上部の幹及び葉部に分画した。

分析；採取した試料はそれぞれ80%エタノールを用いて2回抽出し、抽出液及び抽出残渣中の放射エネルギーを測定した。抽出液はさらに標品とのTLCコクロマトグラフィーに供し、代謝物の同定・定量を行った。

結果：

処理後約4週間目に採取したオレンジ苗木の各部位の放射能分布を表1に示す。オレンジ苗木に取り込まれた放射能は、処理放射能の5%以下であった。そのうち約83%は根部(8.5 ppm)に存在し、残りの約17%は幹及び葉部(それぞれ約1.1 ppm)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

に存在した。TLC 分析の結果、植物抽出液は 3 個の成分からなり、プロマシル、
() 及び が、10 : 5 : 1 の比率で存在するこ
とが明らかになった。[申請者注：

]

表 1 プロマシル処理後約 4 週間砂耕栽培したオレンジ苗木における放射能分布

植物部位	プロマシル換算放射能濃度(ppm)		
	反復 1	反復 2	平均
根部	10.6	6.6	8.5
下部の幹	1.3	0.6	1.0
上部の幹	1.9	0.3	1.1
葉部	1.8	0.7	1.2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

3. 土壌中動態に関する試験

(1)プロマシルの好氣的土壌中動態試験

(資料 代5)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年 :1988 年[GLP 対応]

供試化合物： プロマシル

構造式：

*： 標識位置

化学名： 5-ブromo-3-sec-ブチル-6-メチルウラシル

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試土壌：米国 Delaware 州 Newark の DuPont 社 Stine 農場から、1986 年 3 月に採取し、水分（水 12.2g/土壌 100g）を維持したまま 2mm の篩に通し、暗所にて 4°C で約 3 ヶ月間保存した。土壌特性を以下に示す。

土壌分類	シルト質埴壤土
砂 (%)	12
シルト (%)	60
粘土 (%)	28
pH	6.6
有機物含量 (%)	1.4
陽イオン交換容量 (meq/100g)	6.1
圃場容水量 (g H ₂ O/100g 乾土)	40.4

試験方法：非滅菌条件及び滅菌条件の 2 種類の試験系を設定した。

被験物質処理； プロマシルを蒸留脱イオン水に溶解して、濃度 54.2 μg/mL の処理原液（水溶液）を調製した。土壌各 50g（乾土換算）を 250mL 容三角フラスコに入れ、処理原液 8.3mL を土壌に添加して混合し、土壌中プロマシル濃度を 9 μg/g（乾土換算）とした。この処理量は、11 ポンド a.i./エーカーの圃場処理量に相当し、土壌のかさ密度を 1.35g/cm³、深さを 4 インチと想定した場合の推奨最大圃場施用量である 12 ポンド a.i./エーカーに近似している。水分含量を圃場容水量の 75%に調整し、試験期間中維持した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

非滅菌系は、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗条件下で1年間インキュベートした。連続的に通気してエチレングリコール及び1N NaOHトラップを用いて、揮発性成分を捕集した。滅菌系では、土壌をオートクレーブ滅菌した後、ろ過滅菌した処理原液を添加し、非滅菌系と同条件で無菌的にインキュベートした。週1回通気して揮発性成分を捕集し、また平板培養法により無菌性を確認した。他に、微生物活性を確認するため、非滅菌土壌に ^{14}C セルロースを処理してインキュベートし、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集してLSC分析に供した。

試料の採取時期：試料採取は下記日程で実施した。

非滅菌系：処理0、14、28、93、154、184、240、304及び365日後

滅菌系：処理0、14、42、92、184及び365日後

分析方法：土壌試料を下記のスキームに従い処理して、HPLC分析に供して、分解物の同定及び定量を実施した。トラップ中捕集液は、一部を採取してLSC分析に供した。NaOHトラップには飽和 BaCl_2 溶液を添加して $^{14}\text{CO}_2$ を沈殿させ、上清中放射能を測定して、 $^{14}\text{CO}_2$ の存在確認を行った。

半減期算出方法；プロマシルの分解が一次反応速度式に従うと仮定して、最小二乗法を用いて速度定数を求め、下式より半減期を算出した。

$$\text{半減期} = 0.693/k \quad k: \text{回帰直線の勾配から得た速度定数}$$

結果：

試験系の維持：微生物活性確認用試料における $^{14}\text{CO}_2$ の分析により、微生物活性が保たれていることが確認された。また、滅菌系における無菌性は試験期間中維持されていることも確認された。

分布：非滅菌及び滅菌系の放射能分布及び分解物の経時変化を表1に示す。物質収支は、非滅菌系で86.4~99.8%AR(平均 $90.9 \pm 4\%$ AR)(%AR：処理放射能に対する割合)、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

滅菌系で 83.6~98.7%AR (平均 91.9±5%AR) であった。プロマシル[P]は、非滅菌系で 0 日後の 98.5%AR から 365 日後には 38.6%AR に減少した。滅菌系では分解は僅かであり、0 日後に 92.6%AR であり、365 日後には 87.5%AR が残存していた。抽出残渣は少量であり、非滅菌系で最大 5.8%AR、滅菌系で最大 4.7%AR であった。抽出液中分解物量も少量で、

であった。滅菌系では

であった。

CO₂ は、非滅菌系において、試験終了時に累積値として 40.3%AR に達したが、滅菌系では、試験期間を通して 0.1%AR であり、プロマシルの好氣的分解は土壤微生物により大きく促進されることが示された。エチレングリコール中放射能は、非滅菌及び滅菌系ともに 0.5%AR 未満であった。

表 1 非滅菌及び滅菌系の放射能分布及び分解物の経時変化

試験系	処理後 日数	処理放射能に対する割合 (%)					
		抽出液			土壌残渣	CO ₂ (累積値)	物質収支
		プロマシル[P]	分解物	合計			
非滅菌	0	98.5			0.5	0.1	99.8
	14	85.5			5.6	0.4	95.5
	28	84.2			2.4	3.8	95.1
	93	66.5			2.0	15.3	88.0
	154	58.1			4.6	19.6	87.5
	184	53.1			4.5	24.3	87.7
	240	48.6			4.1	28.2	86.4
	304	40.3			3.8	36.5	87.3
	365	38.6			5.8	40.3	90.5
滅菌	0	92.6			0.7	0.1	94.1
	14	92.8			4.7	0.1	98.7
	42	87.6			0.9	0.1	89.3
	92	88.1			2.0	0.1	91.2
	184	78.4			1.9	0.1	83.6
	365	87.5			3.8	0.1	94.4

分解物：抽出液中分解物の経時変化について表 2 に示す。非滅菌系では、5 個の微量分解物が認められ、
 が
 検出され、
 及び
 は、試験期間を通して
 であった。滅菌系では、非滅菌系と同じ分解物が検出されたが、より微量であり、
 が
 検出され、
 及び
 は試験期間を通して
 であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表2 抽出液中分解物の経時変化

試験系	処理後 日数	処理放射能に対する割合 (%) (括弧内は濃度 (ppm))						
							プロマシル [P]	合計
非滅菌	0						98.5 (8.90)	
	14						85.5 (7.73)	
	28						84.2 (7.61)	
	93						66.5 (6.01)	
	154						58.1 (5.25)	
	184						53.1 (4.80)	
	240						48.6 (4.39)	
	304						40.3 (3.64)	
	365						38.6 (3.49)	
滅菌	0						92.6 (8.4)	
	14						92.8 (8.4)	
	42						87.6 (7.9)	
	92						88.1 (8.0)	
	184						78.4 (7.1)	
	365						87.5 (7.9)	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

推定半減期：プロマシルの好氣的土壤中分解半減期は、非滅菌系では 275 日（相関係数 $r^2=0.97$ ）であり、滅菌系では 1 年以上であった。

推定分解経路：プロマシルの好氣的土壤中における推定分解経路を図 1 に示す。プロマシル[P]は、
、
及び
を生成し、さら
に
及び
は、
を生成し、最
終的に二酸化炭素に無機化されたと考えられた。また
も、最終的に二酸化炭素に無機化されたと考えられた。

図 1 プロマシルの好氣的土壤中における推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(2)プロマシルの嫌氣的土壤中動態試験

(資料 代6)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1988年[GLP 対応]

供試化合物： プロマシル

構造式：

*： 標識位置

化学名： 5-ブロモ-3-sec-ブチル-6-メチルウラシル

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試土壌：米国 Ohio 州 West Jefferson 付近の Battelle 研究所の池から、1986年6月に土壌（底質）及び水を採取した。土壌特性を以下に示す。

土壌分類	埴壤土
砂 (%)	30
シルト (%)	45
粘土 (%)	25
pH	7.2
有機物含量 (%)	6.8
陽イオン交換容量 (meq/100g)	31
圃場容水量 (g H ₂ O/100g 乾土)	47.9

試験方法：非滅菌条件及び滅菌条件の2種類の試験系を設定した。

被験物質処理； 標識プロマシルを蒸留脱イオン水に溶解して、濃度 54.2 μg/mL の処理原液（水溶液）を調製した。土壌各 50g（乾土換算）に、微生物生育のためにアルファルファミール微粉末 2g を混合して、250mL 容三角フラスコに入れ、池水 100mL を添加した。フラスコ内空気を窒素置換し、25±1℃の暗条件下で2週間ブレインキュベーションして、嫌氣的条件を確立した。その後、処理原液 8.3mL を添加して混合し、プロマシル処理濃度を 9 μg/g とした。この処理量は、11 ポンド a.i./エーカーの圃場処理量に相当し、土壌のかさ密度を 1.35g/cm³、深さを 4 インチと想定した場合の推奨最大圃場施用量である 12 ポンド a.i./エーカーに近似してい

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

た。試験系は、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗条件下で1年間インキュベートした。定期的に窒素を通して、エチレングリコール及び1N NaOH トラップを用いて、揮発性成分を捕集した。

滅菌系では、土壌をオートクレーブ滅菌し、ろ過滅菌した窒素を通気して嫌気的条件を確立した後、ろ過滅菌した処理原液を添加し、無菌的にインキュベートした。また各試料採取時に平板培養法により無菌性の確認も行った。

他に、微生物活性を確認するため、非滅菌土壌に $[^{14}\text{C}]$ セルロースを処理してインキュベートし、発生した $^{14}\text{CO}_2$ 及びメタンを捕集して分析した。

試料の採取時期：試料採取は下記日程で実施した。

非滅菌系：処理 0、14、28、93、154、184、240、304 及び 365 日後

滅菌系：処理 0、14、42、92、184 及び 365 日後

分析方法：試験系を下記のスキームに従い水相と土壌に分画したのち、HPLC 分析により水相及び土壌抽出液中の分解物の同定及び定量を実施した。トラップ中捕集液は、一部を採取してLSC分析に供した。NaOH トラップには飽和 BaCl₂ 溶液を添加して $^{14}\text{CO}_2$ を沈殿させ、上清中放射能を測定して、 $^{14}\text{CO}_2$ の存在確認を行った。

半減期算出；非滅菌系では処理 28 日後までほとんど分解がみられなかったため、処理 28 日後以降の分解が一次反応速度式に従うと仮定して速度定数を求め、下式より一次分解半減期に 28 日を加えて半減期とした。

$$\text{半減期} = 0.693 / k + 28 \quad k : \text{速度定数 (/ 日)}$$

結 果：

インキュベーション条件の確認：微生物活性確認用試料において、 $^{14}\text{CO}_2$ の発生と高濃度のメタンが検出されることから、嫌氣的微生物活性が保たれていたことを確認した。また、滅菌系において、微生物コロニーが認められないこと及びメタンが検出されないことから、無菌性が維持されていたことを確認した。非滅菌及び滅菌系における溶存酸素濃度がそれぞれ平均で0.2ppm及び0.4ppmであったことから、嫌氣性が維持されていたことを確認した。

分 布：非滅菌及び滅菌系の放射能分布及び分解物の経時変化を表1に示す。

物質収支は、非滅菌系で86.5～92.1%AR（平均 $90.1 \pm 2\%$ AR）（%AR：処理放射能に対する割合）、滅菌系で72.4～95.4%AR（平均 $86.8 \pm 9\%$ AR）であった。土壌と水相の放射能分布は、非滅菌系では28日後まで土壌中放射能が高く、93日後以降は水相が高かった。滅菌系では、試験期間を通して土壌中放射能が高かった。

抽出残渣は、両試験系について平均6%ARと少量であった。

プロマシルは、非滅菌系では土壌及び水相中で、それぞれ0日後の47.3%AR及び36.2%AR（合計83.5%AR）から28日後までは同等で47.6%AR及び30.5%AR（合計78.1%AR）であったが、93日後には、急速に減少して1.3%AR及び検出限界未満（合計1.3%AR）となり、365日後まで同程度であった。滅菌系では分解は僅かであり、土壌及び水相中において、それぞれ0日後に48.0%AR及び44.3%AR（合計92.3%AR）であり、365日後には41.3%AR及び34.4%AR（合計75.7%AR）が残存しており、プロマシルの嫌氣的分解が嫌氣的微生物により大きく促進されることが示された。

土壌抽出液中及び水相中分解物量は、非滅菌系では、0～28日後までは同等で

を維持した。滅菌系では、分解物量は僅かであり、であった。

$^{14}\text{CO}_2$ などの揮発性成分は、非滅菌系及び滅菌系ともに、試験期間を通して検出されなかった（0.1%AR未満）。

表1 非滅菌及び滅菌系の放射能分布及び分解物の経時変化

試験系	経過日数	処理放射能に対する割合 (%)											
		土壌残渣	土壌抽出液			水相			土壌抽出液+水相			CO ₂ (累積値)	物質収支
			プロマシル	分解物	合計	プロマシル	分解物	合計	プロマシル	分解物	合計		
非滅菌系	0	4.3	47.3			36.2			83.5			<0.1	91.3
	14	4.5	44.2			31.3			75.5			<0.1	91.8
	28	4.5	47.6			30.5			78.1			<0.1	90.9
	93	5.4	1.3			<0.2			1.3			<0.1	90.0
	154	6.5	0.6			<0.2			0.6			<0.1	89.3
	184	5.7	0.4			<0.2 ^a			0.4			<0.1	86.5
	240	6.6	0.6			0.3			0.9			<0.1	87.5
	304	5.9	0.7			0.3			1.0			<0.1	91.5
	365	6.3	0.8			0.4			1.2			<0.1	92.1
	平均	6											
滅菌系	0	2.2	48.0			44.3			92.3			<0.1	95.2
	14	2.5	54.4			31.9			86.3			<0.1	90.5
	42	7.2	45.5			36.6			82.1			<0.1	91.3
	92	4.4	43.2			23.6			66.8			<0.1	75.7
	184	5.6	43.3			15.4			58.7			<0.1	72.4
	365	11.3	41.3			34.4			75.7			<0.1	95.4
	平均	6											

a : 報告書 Table 5 の数値 (0.3) を申請者が修正した。

分解物：水相及び土壌抽出液中分解物の経時変化を、非滅菌系については表 2、滅菌系については表 3 に示す。非滅菌系における主要分解物はプロマシルであり、28 日後までは少量であったが、184 日には水相及び土壌抽出液でそれぞれ 0.4% となり、試験終了時まで同程度であった。滅菌系では、他の試料採取時にはプロマシル及び分解物が検出されたが、試験期間を通してそれぞれ 0.3% 以下であった。滅菌系では、非滅菌系と同じ分解物が検出されたが、より微量であり、最大で 0.4% となり、試験期間を通してそれぞれ 0.4% 以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表2 非滅菌系における水相及び土壌抽出液中分解物の経時変化

処理後 日数		処理放射能に対する割合 (%) (括弧内は濃度 (ppm)) ^a					合計
						ブロマシル [P]	
0	水相					36.2 (1.82)	
	土壌					47.3 (4.73)	
	合計 ^b					83.5	
14	水相					31.3 (1.57)	
	土壌					44.2 (4.42)	
	合計					75.5	
28	水相					30.5 (1.53)	
	土壌					47.6 (4.76)	
	合計					78.1	
93	水相					ND	
	土壌					1.3 (0.13)	
	合計					1.3	
154	水相					ND	
	土壌					0.6 (0.06)	
	合計					0.6	
184	水相					ND	
	土壌					0.4 (0.04)	
	合計					0.4	
240	水相					0.3 (0.02)	
	土壌					0.6 (0.06)	
	合計					0.9	
304	水相					0.3 (0.02)	
	土壌					0.7 (0.07)	
	合計					1.0	
365	水相					0.4 (0.02)	
	土壌					0.8 (0.08)	
	合計					1.2	

ND：検出限界 (0.2%AR) 未満

a：水相中濃度はブロマシル換算 mg/L 水相、土壌中濃度はブロマシル換算 mg/kg 乾土重量を示す。

b：水相+土壌の合計値はすべて申請者が計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表3 滅菌系における水相及び土壌抽出液中分解物の経時変化

処理後 日数		処理放射能に対する割合 (%) (括弧内は濃度 (ppm)) ^a					プロマシル [P]	合計
0	水相						44.3 (2.22)	
	土壌						48.0 (4.80)	
	合計 ^b						92.3	
14	水相						31.9 (1.59)	
	土壌						54.4 (5.44)	
	合計						86.3	
42	水相						36.6 (1.83)	
	土壌						45.5 (4.55)	
	合計						82.1	
93	水相						23.6 (1.18)	
	土壌						43.2 (4.32)	
	合計						66.8	
184	水相						15.4 (0.77)	
	土壌						43.3 (4.33)	
	合計						58.7	
365	水相						34.4 (1.72)	
	土壌						41.4 (4.14)	
	合計						75.8	

ND：検出限界 (0.2%AR) 未満

a：水相中濃度はプロマシル換算 mg/L 水相、土壌中濃度はプロマシル換算 mg/kg 乾土重量を示す。

b：水相+土壌の合計値はすべて申請者が計算した。

推定半減期：非滅菌系において、プロマシルは処理 28 日後までほとんど分解がみられず、それ以降の分解半減期が 11 日であったことから、嫌氣的土壌中分解半減期は順化期間も含めて 39 日と算出された。また、滅菌系における半減期は 1 年以上であった。

推定分解経路：プロマシルの嫌氣的土壌中における推定分解経路を図 1 に示す。非滅菌条件下で、主として還元的脱臭素により が生成し、別の経路として 、 及び が生成し、さらに が生成すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

図1 プロマシルの嫌氣的土壤中における推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

図1 ブロマシルの圃場条件下の土壌中における推定代謝分解経路*

* 申請者注：申請者が同定された代謝分解物をもとに推定代謝分解経路図を作成した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

分析方法：試験溶液及びトラップ溶液の一部を2連または3連で採取し、LSCにより放射能を測定した。試験溶液に0.01N HClを添加してpH5に調整し、直接、シリカゲルTLC及び逆相TLCに供して、プロマシルの含有量(プレート上の総放射能に対する割合[%])を求めた。pH7の試験溶液については、標品とのクロマトグラフィーにより分解物の同定及び定量を実施した。

結果：

分布：物質収支を表1に、各試験溶液中のプロマシル含有量の経時変化を表2に、2種類のTLC分析によるpH7試験溶液中のプロマシル及び分解物の経時変化を表3に示す。全ての試験溶液における物質収支は平均105.3±3.9%AR(%AR：処理放射能に対する割合)であり、また揮発性成分は0.01%AR以下であった。試験した全てのpHにおいて、プロマシルの分解は認められず、また顕著な分解物は検出されなかった。

分解物及び推定半減期：プロマシルは本試験条件下、いずれの緩衝液中においても安定であったため、分解物の同定及び推定半減期の算出は実施しなかった。

表1 物質収支(処理放射能に対する割合(%)^a)

試験溶液	処理後日数(日)				
	0	3	7	10	17
pH5	107.1	101.3	101.8	106.2	107.4
pH7	103.9	94.9	106.2	102.8	105.2
pH9	109.3	108.6	107.7	108.6	109.1

a：揮発性成分は、0.01%以下。

表2 各試験溶液中のプロマシル含有量の経時変化(TLCプレート上の総放射能に対する割合(%))

試験溶液		処理後日数(日)				
		0	3	7	10	17
シリカゲル分析	pH5	97.8	97.8	98.2	98.1	96.4
	pH7	97.8	97.8	98.1	98.3	98.6
	pH9	97.9	98.0	98.0	98.4	98.8
逆相分析	pH5	100	100	100	100	100
	pH7	100	100	100	100	100
	pH9	100	100	100	100	100

数値は2連の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表3 2種類のTLC分析によるpH7試験溶液中のプロマシル及び分解物の経時変化

処理後 日数	TLCプレート上の総放射能に対する割合(%)						
	シリカゲル TLC					逆相 TLC	
	ピーク I	ピーク II	ピーク III	プロマシル[P]	合計	プロマシル[P]	合計
0				97.8		100.0	
3				97.8		100.0	
7				98.1		100.0	
10				98.3		100.0	
17				98.6		100.0	

数値は2連の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

試験温度：25±1℃

試験期間：17日間

試験容器：光照射区：ホウケイ酸ガラス製蓋付 100mL 容ガラス製ビーカー

暗所対照区：125mL 容パイレックスフラスコ

試料採取：処理 0、3、7、10 及び 17 日後（照射 0、65、161、225 及び 360 時間後）

分析方法：試験溶液及びトラップ溶液の一部を 2 連または 3 連で採取し、LSC により放射能を測定した。試験溶液に 0.01N HCl を添加して pH5 に調整し、直接、シリカゲル TLC 及び逆相 TLC に供して、プロマシルの含有量（プレート上の総放射能に対する割合 (%)）を求めた。pH7 の試験溶液については、標品とのクロマトグラフィーにより分解物の同定及び定量を実施した。NaOH トラップには飽和 BaCl₂ 溶液を添加して、CO₂ を沈殿させ、上清中放射能を測定して、CO₂ の存在確認を行った。

半減期算出：光分解反応が擬一次反応速度式に従うと仮定して、下式により半減期を算出した。さらに、1 日の照射時間を 12 時間として、半減期を換算（半減期=T_{1/2}×2）した。

$T_{1/2}=0.693/-k$ (T_{1/2}: 照射時間に基づく半減期、k: 速度定数)

結果：

分布：物質収支を表 1 に、各試験溶液中のプロマシル含有量の経時変化を表 2 に示す。物質収支は、光照射区で平均 104.1±3.8%AR (%AR: 処理放射能に対する割合)、暗所対照区で平均 105.3±3.9%AR であった。プロマシルは、処理 17 日後 (360 時間照射後) に、pH5、7 及び 9 の光照射区において、それぞれ、シリカゲル TLC 分析では 92.7、78.2 及び 4.4%、逆相 TLC 分析では 89.0、80.8 及び 3.4% 検出された。プロマシルは pKa=9.1 のイオン性化合物であり、pH9 では約 50% が陰イオン型として存在しており、pH9 において、速やかに分解したことから、陰イオン型は分子型より光分解を受けやすいと考えられた。揮発性成分は極微量であり、最大 0.5%AR が pH9 光照射区試料で処理 17 日後までに捕集され、その大部分が NaOH トラップに回収され、飽和 BaCl₂ 溶液を用いた処理により、NaOH トラップ中放射能の全量が CO₂ であることが確認された。暗所対照区では、全ての pH において分解が認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表1 物質収支(処理放射能に対する割合(%))

試験溶液		処理後日数(日)				
		0	3	7	10	17
照射区	pH5	108.9	110.4	104.0	106.7	104.6 ^a
	pH7	107.8	105.8	99.9	101.3	100.4 ^a
	pH9	107.4	103.9	99.4	103.8	97.7 ^b
*暗所対照	pH5	107.1	101.3	101.8	106.2	107.4
	pH7	103.9	94.9	106.2	102.8	105.2
	pH9	109.3	108.6	107.7	108.6	109.1

a: 揮発性成分 0.1%AR を含む

b: 揮発性成分 0.5%AR を含む

*: 揮発性成分は 0.01%AR 未満であった。

表2 各試験溶液中のプロマシル含有量の経時変化(総放射能に対する割合(%))

試験溶液			処理後日数(日)				
			0	3	7	10	17
照射区	シリカゲル分析	pH5	97.2	96.2	94.8	94.0	92.7
		pH7	97.1	89.2	85.8	83.4	78.2
		pH9	98.0	46.4	18.9	15.1	4.4
	逆相分析	pH5	98.0	95.8	93.9	91.4	89.0
		pH7	99.2	94.8	90.2	86.2	80.8
		pH9	96.4	38.1	15.8	12.6	3.4
暗所対照	シリカゲル分析	pH5	97.8	97.8	98.2	98.1	96.4
		pH7	97.8	97.8	98.1	98.3	98.6
		pH9	97.9	98.0	98.0	98.4	98.8
	逆相分析	pH5	100	100	100	100	100
		pH7	100	100	100	100	100
		pH9	100	100	100	100	100

数値は2連の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

分解物： 2種類の TLC 分析による pH7 試験溶液中のプロマシル及び分解物の経時変化について表 3 に示す。照射区において、シリカゲル TLC 分析では 6 個、逆相 TLC 分析では 8 個の分解物が認められたが、標品と一致するものはなく、
 () であった。分解物の濃度が低かったため、これら光分解物の同定は行わなかった。

表 3 2種類の TLC 分析による pH7 試験溶液中のプロマシル及び分解物の経時変化
 照射区・シリカゲル TLC 分析

処理後 日数	プレート上の総放射能に対する割合 (%)							プロマシル	合計
	ピーク I	ピーク II	ピーク III	ピーク IV	ピーク V	ピーク VI			
0								97.1	
3								89.2	
7								85.8	
10								83.4	
17								78.2	

暗所対照区・シリカゲル TLC 分析

処理後 日数	プレート上の総放射能に対する割合 (%)				プロマシル	合計
	ピーク I	ピーク II	ピーク III			
0					97.8	
3					97.8	
7					98.1	
10					98.3	
17					98.6	

照射区・逆相 TLC 分析

処理後 日数	プレート上の総放射能に対する割合 (%)									合計
	プロマシル	ピーク II	ピーク III	ピーク IV	ピーク V	ピーク VI	ピーク VII	ピーク VIII	ピーク IX	
0	99.2									
3	94.8									
7	90.2									
10	86.2									
17	80.8									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

暗所対照区・逆相 TLC 分析

処理後 日数	プレート上の総放射能に対する割合 (%)	
	ブロマシル	合計
0	100.0	100.0
3	100.0	100.0
7	100.0	100.0
10	100.0	100.0
17	100.0	100.0

数値は2連の平均値

ブロマシル以外のピークはすべて未同定分解物。

注：上記の表において、ピーク番号が同一であっても、同一分解物を示すものではない。

推定半減期：ブロマシルの緩衝液中における光分解半減期を下表に示す。本試験の光照射条件下での半減期は、326日 (pH5)、102日 (pH7) 及び7日 (pH9) であった。東京春季 (4~6月) の自然太陽光換算の半減期は、pH5では1年以上であったが、pH7では268日、pH9では18日と計算された。なお暗所対照区では安定であったため、半減期の加水分解についての補正は不要であった。

ブロマシルの緩衝液中における光分解半減期

pH	TLC 分析の種類	速度定数 ^a (/時間)	相関係数 (r)	半減期 ^b (日)	東京春季自然太陽光換算半減期*
pH5	シリカゲル	-1.32×10^{-4}	0.994	437	1年以上 (857日)
	逆相	-2.69×10^{-4}	0.994	214	
				平均 326	
pH7	シリカゲル	-5.59×10^{-4}	0.974	103	268日
	逆相	-5.68×10^{-4}	0.998	102	
				平均 102	
pH9	シリカゲル	-8.32×10^{-3}	0.993	7	18日
	逆相	-8.8×10^{-3}	0.990	7	
				平均 7	

a：総照射時間に基づく計算値

b：1日の照射を12時間として算出

* 申請者注：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(3)プロマシルの水中光分解動態試験（自然水）

(資料 代 8)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1982 年

供試化合物： プロマシル

構造式：

*： 標識位置

化学名：5-ブromo-3-sec-ブチル-6-メチルウラシル

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試水：以下の7種類の水は滅菌処理を行わずに使用した。

- 自然水：
 - 標準水：米国の標準的な表層水の無機成分微量を含有 (pH7.0) (自然水①)
 - 河川水：Brandywine 川 (米国) より採取 (pH6.3) (自然水②)
 - 河川水及び底質：Brandywine 川 (米国) より採取、底質の深さ1インチ (pH6.5) (自然水③)

- 蒸留水：
 - 蒸留脱イオン水 (pH4.3) (蒸留水①)
 - 光増感剤リボフラビン (10ppm) を添加した蒸留水 (pH3.8) (蒸留水②)
 - 光増感剤メチレンブルー (3ppm) を添加した蒸留水 (pH4.1) (蒸留水③)
 - 光増感剤メチレンブルー (3ppm) を添加した蒸留水 (pH9.4) (蒸留水④)

光源：自然太陽光 (1800 μ E/m²/s) (1980年7月2日照射開始)

試験方法： 標識プロマシルの適量を各供試水に添加して、250ppmの試験溶液を調製した。各試験溶液 200mL を試験容器に入れて、自然太陽光を照射した。暗所対照区は設定しなかった。また揮発性化合物の捕集は実施しなかった。

試験温度：18~20°C

試験期間：3 ヶ月間

試験容器：石英製蓋付 400mL 容ビーカー

試料採取：自然水①：処理0日後、1、2週間後、1、2及び3ヵ月後

自然水②③及び蒸留水①~③：処理0日、1、3週間、1.5及び3ヵ月後

蒸留水④：処理0時間及び5時間後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

分析方法：試験溶液を蒸留水で 200mL に定容し、1mL を酢酸エチル 1mL で 3 回抽出し、各画分を LSC に供して、放射能を測定した。標品との TLC コクロマトグラフィーにより分解物の同定及び定量を実施した。3 ヶ月後の試料は下記のスキームのように処理し、GC/MS 分析に供して、同定確認を行った。

結果：

分布：各試験溶液中のプロマシル及び分解物の経時変化を表 1 に示す。プロマシルは、自然水中で分解され、標準水では 1 ヶ月後に 54%AR (%AR：処理放射能に対する割合) まで減少し、3 ヶ月後には 31%AR となった。河川水では 3 ヶ月後に 43%AR に減少したが、底質を含む河川水では、分解が加速され、1 週間後には 50%AR となり、3 ヶ月後には 1.1%AR まで減少した。蒸留水中では、ほとんど光分解されず、プロマシルは 3 ヶ月後に 93%AR 残存していた。分解は、光増感剤リボフラビン添加またはアルカリ化によって促進され、リボフラビン添加蒸留水では、3 ヶ月後に 37%AR まで減少した。メチレンブルー添加では、3 ヶ月後に 87%AR のプロマシルが残存しており、分解は加速されなかったが、アルカリ性になると、非常に早く分解が進み、5 時間後に残存率は 0.1%AR 未満となった。放射能回収率は、底質を含む河川水を除き、98.0~101.0%AR であり、揮発性成分が発生しなかったことが示された。底質を含む河川水中では、多くの放射能が底質に結合し、3 ヶ月後には約 41%AR が結合した。底質に結合した放射能の同定は実施しなかった。

分解物：表 1 に示すように、主要分解物は、
、
及び であり、微量分解物として
、
が検出された。
は、アルカリ性条件下の蒸留水で多く、 を占めた。標準水及び河川水中では、 は経時的に増加し、
、底質存在下では、
減少した。

は底質を含む河川水中で最も多く、3 ヶ月後に 40%AR を占めたことから、土壌微生物による分解、懸濁している土壌無機物の光増感効果のいずれか一方、あるいはその両方の要因によって生成が促進されたと考えられた。

は、標準水及び河川水中では、3 ヶ月後にほぼ同量（

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

) であり、リボフラビン添加蒸留水中ではより多く、 を占めた。
ほかに、 が、 河川水中で 、アルカリ性条件下
の蒸留水で となり、 は、底質を含む河川水中で、
 を占めた。アルカリ条件下の蒸留水では が 認め
られた。

ブロマシルの自然水中における推定光分解経路を図1に示す。ブロマシル[P]は
分解されて、初めに が生成し、さらに分解されて、
を経て、 及び が生成すると考えられた。また、
及び も生成すると考えられた。底質の存在によって、
分解経路は変化し、 が 生成した。

推定半減期：夏季の自然太陽光照射下におけるブロマシルの水中光分解半減期を下表に
示す。ブロマシルの自然水中における水中光分解半減期は1~2ヵ月であった*1
アルカリ性にした蒸留水 (pH9.4) では、分解速度は著しく増加し、推定半減期は
約1時間であった。

供試水	水中光分解半減期
自然水①(標準水)	約1ヵ月
自然水②(河川水)	約2ヵ月
蒸留水②(RB添加)	約2ヵ月
蒸留水④(MB添加、pH9.4)	約1時間

RB：リボフラビン MB：メチレンブルー

申請者注*1：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表1 各試験溶液中のプロマシル及び分解物の経時変化

供試水	採取時期	処理放射能に対する割合 (%)						
		プロマシル [P]					その他	合計
自然水① (標準水)	0日後	94						
	1週間後	86						
	2週間後	73						
	1ヵ月後	54						
	2ヵ月後	39						
	3ヵ月後	31						
自然水② (河川水)	0日後	92						
	1週間後	86						
	3週間後	80						
	1.5ヵ月後	66						
	3ヵ月後	43						
自然水③ (河川水+ 底質)	0日後	86						
	1週間後	50						
	3週間後	32						
	1.5ヵ月後	14						
	3ヵ月後	1.1						
蒸留水①	0日後	92						
	1週間後	96						
	3週間後	98						
	1.5ヵ月後	94						
	3ヵ月後	93						
蒸留水② (RB 添加)	0日後	94						
	1週間後	81						
	3週間後	59						
	1.5ヵ月後	77						
	3ヵ月後	37						
蒸留水③ (MB 添加)	0日後	93						
	1週間後	95						
	3週間後	94						
	1.5ヵ月後	92						
	3ヵ月後	87						
蒸留水④ (MB 添加、 pH9.4)	0時間後	100						
	5時間後	<0.1						

RB：リボフラビン MB：メチレンブルー

1：非極性物質を含む。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

図1 ブロマシルの自然水中における推定光分解経路*2

申請者注*2：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

(4)プロマシルの水中光分解試験 (滅菌水)

(資料 代9)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：2001年[GLP 対応]

供試化合物：プロマシル (純度)

化学名：5-プロモ-3-sec-ブチル-6-メチルウラシル

供試水：滅菌水 (ミリポア水)

光源：キセノンアーク灯、波長 300~800nm

光強度：765W/m²

試験方法：

被験物質処理：プロマシルの適量をアセトニトリルに溶解して調製した試験原液を、供試水で希釈して 39.92 mg/L の試験溶液を調製した。最終溶液におけるアセトニトリル含有率は1%未満であった。試験溶液 50mL を試験容器に入れて、25±1℃ の恒温槽に維持し、人工光を照射した。

試験温度：25±1℃

試験容器：50mL 石英ガラスセル (光行路長 2cm)

試料採取：処理 0、1.5、3、4.5、6、8 時間及び 10 時間後

分析方法：採取した試料溶液 2mL に内標準物質 ()

溶液 1mL を加え、アセトニトリルで 10mL に定容して UV 検出器付き高速液体クロマトグラフィーで分析した。

半減期の算出方法；各試料における被験物質濃度の初期濃度に対する濃度比の対数値を縦軸に、時間を横軸にとったところ、水中光分解が一次反応速度式に従わなかったため、得られた近似曲線から推定半減期を求めた。

結果：

分解：各試験溶液中のプロマシル濃度の経時変化を表 1 に示す。試料中プロマシル濃度は光照射区において経時的に低下し、光照射後 6 時間では初期濃度の 51.8~55.6% になり、光照射後 10 時間では 27.7~28.3% となった。

暗所対照区ではインキュベーションの 10 時間後も初期濃度の 99% 以上が残存しており、分解はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表1 各試験溶液中のプロマシル濃度及び残存率の経時変化

試験系	試料採取 時間(時間)	試料 1		試料 2	
		濃度(mg/L)	残存率(%)	濃度(mg/L)	残存率(%)
光照射区	0	39.2	100.0	39.2	100.0
	1.5	34.3	87.5	34.9	89.0
	3	29.6	75.5	30.5	77.8
	4.5	25.0	63.8	26.3	67.1
	6	20.3	51.8	21.8	55.6
	8	15.16	38.7	16.26	41.5
	10	10.86	27.7	11.09	28.3
暗所対照	0	39.2	100.0	39.2	100.0
	10	38.9	99.2	39.0	99.5

推定半減期：試験条件下及び北緯 35°（東京）春における太陽光下でのプロマシルの水
中光分解半減期を下表に示す。

試験系	試験条件下 半減期(時間)	北緯 35° 春太陽光下 半減期(時間)
光照射区	6.72	52.0
暗所対照区	1070	—

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

5. 土壌吸着性

プロマシルの土壌吸着性試験

(資料 代10)

試験機関：

報告書番号：

報告書作成年：1990年

供試化合物：プロマシル純品()

化学名：5-プロモ-3-sec-ブチル-6-メチルウラシル

供試土壌：以下の土壌を2mmの篩を通して風乾させたものを試験に用いた。また、試験に先立ち水分含量を測定した。供試土壌の物理化学的性質を以下に示す。

土壌採取場所 No.	No.14	No.16	No.17	No.18
土壌群名	褐色火山灰土壌	(報告書に記載なし)	(報告書に記載なし)	(報告書に記載なし)
採取場所	日植防研 牛久圃場	和歌山農試	岡山農試	日植防 高知試験農場
土性	シルト質埴壤土	軽埴土	砂質埴壤土	軽埴土
砂%	26.2	41.7	60.5	47.6
シルト%	50.9	29.4	17.5	27.2
粘土%	22.9	28.9	22.0	25.2
有機炭素含有率%	3.61	1.75	0.69	1.15
pH				
H ₂ O	7.7	6.0	6.7	7.2
KCl	6.9	5.2	5.5	6.4
陽イオン交換容量 me/100g	21.4	11.0	8.7	10.2
リン酸吸収係数	2000	410	350	370
粘土鉱物	アロフェン パーミキュライト	カオリン鉱物 パーミキュライト	ハロイサイト	クロライト イライト
土壌水分含量	12.7	2.4	2.7	1.6

試験方法：

試験溶液；被験物質 2.275 mg を 0.01M CaCl₂ 溶液 500mL に溶解し、24 時間攪拌し 4.55 μg/mL 溶液を調製した。この溶液を 0.01M CaCl₂ 溶液で希釈し、0.91、0.182 及び 0.0364 μg/mL の処理液をそれぞれ調製した。

吸着操作；50mL 容共栓付遠沈管に乾土 5g 相当の土壌を量りとり、純水 5mL を添加した。

遠沈管を密栓し、24 時間の予備平衡化後、各濃度の処理液 20mL をそれぞれ添加

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

した。試験容器を 25±1℃で 4 時間振とう後に遠心分離し、得られた水層を分析に供した。試験は 2 反復で行った。

吸着平衡時間；吸着平衡到達時間決定に際し予備検討を行ない、その結果から吸着平衡到達時間を 4 時間とした。

予備試験は、0.91µg/mL 処理液を用いて上述と同様の操作で振とう操作を行い、2、4 及び 8 時間後それぞれ取り出し遠心分離した後、水相を分取し分析に供した。各経過時間における水相濃度変化率を次式から求め、この変化率が全ての土壌で 10%以内となった経過時間を吸着平衡時間とした。

吸着平衡試験の結果を以下に示す。吸着平衡試験の結果、平衡化時間を 4 時間とした。

$$\text{水相濃度変化率(\%)} = \frac{\text{n時点濃度} - (\text{n-1})\text{時点濃度}}{(\text{n-1})\text{時点濃度}} \times 100$$

土壌番号 土性	振とう時間 (時間)	平均水相濃度 (µg/mL)	水相濃度変化率 (%)
No.14 シルト質埴壌土	2	0.59	—
	4	0.58	-2
	8	0.58	0
No.16 軽埴土	2	0.66	—
	4	0.63	-5
	8	0.63	0
No.17 砂質埴壌土	2	0.68	—
	4	0.68	0
	8	0.67	-1
No.18 軽埴土	2	0.68	—
	4	0.64	-6
	8	0.61	-5

分析；遠心分離により土壌と上清に分離した後、得られた水相は 6N 塩酸及びジクロロメタンを用いた振とう抽出を 2 回繰り返した。ジクロロメタン層をあわせ無水硫酸ナトリウムで脱水ろ過し、ろ液を濃縮し、ガスクロマトグラフによりプロマシル濃度を定量した。

固相は 1.5%水酸化ナトリウム溶液/アセトン (10:20) を用いた振とう抽出及びろ過を 2 回繰り返した。あわせた抽出ろ液を濃縮後、NaOH、6N 塩酸及びジクロロメタンを添加し振とう抽出し、得られたジクロロメタン層を濃縮した。濃縮液を NaOH 水溶液で 2 回抽出し、ジクロロメタン層を分取後、NaOH 層をさらにジクロロメタンで抽出した。得られたジクロロメタン層をあわせて脱水ろ過し、ロータリーエバポレーターで濃縮した。濃縮物をフロリジルカラムクロマトグラフィー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

で精製し、ガスクロマトグラフにより試料中のプロマシル量を定量した。

結 果：

物質収支：物質収支は、吸着平衡後の水相及び土壌の試験物質量を測定し、両者を加えたものを初期添加量で除して求めた。物質収支は、93.5～96%の範囲内であった。

吸着試験結果：ガスクロマトグラフ分析により得られた測定値を用いて、吸着定数等の各種吸着パラメータを算出した。土壌吸着定数、及びその有機炭素含有率補正值等各パラメータを以下に示す。

土壌番号	吸着指数 $1/n$	吸着平衡係数 K_F^{ads}	相関係数 r	有機炭素 含有量 oc%	有機炭素 吸着係数 K_F^{adsoc}
No.14	0.828	1.34	0.99556	3.61	37
No.16	0.804	0.87	0.97949	1.75	50
No.17	0.865	0.48	0.98155	0.69	69
No.18	0.757	0.84	0.99194	1.15	73

代謝分解のまとめ

標識した化合物（以下、
プロマシルと称す）を種々の代謝分解試験に使用した。プロマシルの哺乳動物（ラット）、植物（パイナップル及びオレンジ）、土壌及び水中における代謝分解の要約は下記の通りであり、代謝分解経路を図1に、代謝分解の概要を表1-1～1-3に示す。

哺乳動物：

ラット代謝試験

プロマシルをラットに 10mg/kg（低用量）及び 1000mg/kg（高用量）で単回経口投与した（低用量群は I 群、高用量群は III 群と称す）。また、非標識プロマシルを 10mg/kg の用量で 14 日間連続経口投与した後に、
プロマシルを 10mg/kg で 1 回経口投与した（反復投与群は II 群と称す）。

1) 血中濃度推移

I 群において、血漿及び全血の放射能は、雄で投与後 1 時間目に Cmax（血漿：4.23µg/mL、全血：4.96µg/mL）、雌で 2 時間目に Cmax（血漿：4.51µg/mL、全血：5.30µg/mL）に達し、その後減少した。III 群においては、投与後 12 時間目に血漿 Cmax（雄：116µg/mL、雌：106µg/mL）に達し、全血 Cmax は雄で投与後 12 時間目（139µg/mL）、雌で 24 時間目（134µg/mL）に認められた。

2) 排泄

全ての投与群において、投与後 120～168 時間には投与量の 90%以上の放射能が排泄された。II 群の雄において、尿及び糞中排泄がほぼ同程度（46%）であったが、他の投与群では尿が主排泄経路であった（約 54～60%）。I 群と II 群はほぼ同様の排泄パターンを示し、投与後 12 時間目までに投与量の約 23～34%が尿中に、投与後 16～18 時間目までに投与量の約 50%が尿及び糞中に排泄された。III 群での排泄パターンも類似していたが、排泄はやや遅れ、投与量の約 50%が排泄されるのに雄で 37 時間、雌で 49 時間を要した。各投与群の雌雄 1 匹について測定した呼気中排泄量は I 群及び II 群で投与量の 0.1%、III 群で 0.4%であった。

3) 組織中濃度

血漿 Cmax 到達時点（投与後 1 または 2 時間）では、肝臓、腎臓、消化管、甲状腺及び副腎に高い濃度が認められた。I 群では投与量の 44.8%及び 28.7%がそれぞれ雄及び雌の組織及び臓器中に存在した。III 群では、組織及び臓器中に投与量の約 7%が存在し、消化管内容物に約 90%が存在した。中間屠殺時点（投与後 12 または 24 時間）での組織及び臓器中濃度は、投与量の約 90%が排泄された時点（投与後 120～168 時間）と比べると、血漿では 1/50 以下、全血では 2.6～3.5 分の 1、他のほとんどの組織及び臓器では 1/5 以下に、濃度の低下が認め

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

られた。約 90%が排泄された時点での血漿中濃度は、I 群及び II 群で 0.008µg/mL 以下、III 群では 0.7µg/mL 以下であった。全ての投与群で高い濃度が認められたのは全血、全血球、肝臓及び腎臓であった。III 群において、全血中の濃度はほとんどの組織及び臓器の 2 倍以上であった。雌雄間の比較では、全般的に雌のほうが高い値を示したが、肝臓は II 群の雄が I 群の雄雌及び II 群の雌より高い値を示した。III 群では、投与量が I 群及び II 群の 100 倍であることに相応した高い値がみられた。

以上の結果から、ブロマシル及びその代謝物は全血での保持時間はやや長い、特定の組織及び臓器への蓄積性はないと考えられた。

4) 代謝

尿中代謝物の比率は全ての投与群でほぼ同じであり、性差も認められなかった。主要代謝物は、親化合物の [P] であり、投与量の [P] 認められた。他に [M] 代謝物 ([M]) とそれらの [M] ([M])、 [M]、 [M] 代謝物 ([M])、 [M]、 [M] 代謝物 ([M]) や [M] 代謝物 ([M]) も検出された。これら代謝物はそれぞれ [M] であり、また未変化のブロマシル[P]も最大 0.4%検出された。糞中代謝物は尿中代謝物とほぼ同様であったが、 [M]、及び [M] は [M] よりも存在する量が多かった。血漿中代謝物として、 [M]、及び [M] とそれらの [M] が検出された。肝臓及び腎臓中放射能の大部分は未変化の親化合物であったが、 [M]、及び [M] と [M] が検出され、また腎臓中には [M] も検出された。

以上の同定された代謝物に基づいて、ブロマシルのラットにおける代謝経路は、主として

[M] と推定された。

ラット尿中代謝物の同定試験

非標識ブロマシルを濃度 1250 ppm で含有する飼料を 1 ヶ月間摂食させたラットの尿から代謝物を単離精製し、機器分析により代謝物の構造決定を行った。主要代謝物として、親化合物の [M] が認められ、主として [M] として存在した [M])。他にマイナーな代謝物として、 [M]、 [M]、 [M]、及び [M] が同定され、これら代謝物濃度は、 [M] の範囲と推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

植 物：

オレンジ代謝試験

ブロマシルを製剤化した処理液を圃場で栽培しているオレンジ果樹の下の土壌に 4.8 ポンド a.i./エーカー (約 5.4kg a.i./ha) の用量で散布処理した後、経時的に葉及び果実を採取して分析した。放射能は比較的速やかに土壌中から植物体に取り込まれ、葉では処理 34 日後に最高濃度 (5.77ppm) に達し、以後低下して、処理 117 日後の濃度は 2.94ppm であった。果実中の濃度は処理 34 日後に 0.044ppm に達し、最終収穫時までほぼ一定していた。葉においては、処理 7 日後に未変化のブロマシル[P]が検出された (22.1%TRR, 0.068ppm) (%TRR：試料中総残留放射能に対する割合) が、それ以降は検出されなかった。また、処理 34 日後の葉試料のみに

が
検出された。主要代謝物は、
、及び
と
の混合物
であった。他に HPLC 保持時間 10~13 分に 3 個の成分を含むピークも検出された。果実においては、すべての採取時点で未変化のブロマシル[P]は検出されなかった。主要代謝物は
であり、
検出された。次に多量に
検出された代謝物は、
と
の混合物であり、
であった。他に HPLC 保持時間 11~15 分にいくつかの微量成分を含むピークも検出された。土壌処理されたブロマシルのオレンジ果樹における代謝経路は、
の生成、続いて
() の生成、
さらにその
() の生成であった。

パイナップル代謝試験

ブロマシルを製剤化した処理液を用いて 3 種類の処理方法でパイナップルに処理した。土壌処理では、処理液をポットの土壌表面に 4.8 ポンド a.i./エーカーの用量で注ぐことにより行い、その後パイナップルの上部 (クラウン) を植え付けた。2 回目の処理は、処理 15 ヶ月後 (開花直後) に 3.2 ポンド a.i./エーカーの用量で同様に処理液を処理した。土壌/茎葉処理では、上記と同じ様にして 1 回目の土壌処理を行ったポットに、処理 15 ヶ月後 (開花直後) に 1.6 ポンド a.i./エーカーの用量で茎葉への散布処理を行った。茎葉処理では、ポット中で約 2 年間栽培した後、開花し始めの植物に 1.6 ポンド a.i./エーカーの用量で処理液を茎葉散布した。処理した植物は、土壌処理及び土壌/茎葉処理では 1 回目処理後 22 ヶ月間、茎葉処理では 6 ヶ月間、温室内で栽培し、経時的に葉及び果実を採取して分析した。

土壌処理後、放射能は土壌から速やかに根を經由して植物体に吸収され、葉及び果実に分布した。葉における放射能濃度 (燃焼分析により求めた値) は 1 回目処理 2 ヶ月後に最高 12.1ppm に達したが、15 ヶ月後には 2.95ppm に減少した。収穫期 (1 回目処理 22 ヶ月後) における果実及び葉の放射能濃度は、それぞれ 2.13 及び 7.71ppm であった。一方、土壌/茎葉処理の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

収穫期の果実及び葉における放射能濃度はそれぞれ 0.26 及び 4.01ppm であり、土壌処理だけの試料より放射能濃度がかなり低かった。茎葉処理だけの植物において、放射能はパイナップル葉の表面に留まり容易に浸透しなかった。また果実及びクラウンに存在した放射能は微量であり、葉の表面から果実へ移行しないことが示唆された。

土壌処理では、収穫期の果実において未変化のプロマシルは検出されなかった。土壌処理での主要代謝物は、HPLC 保持時間 14~15 分の成分（

の混合物と推定）及び 17 分の成分（ と推定）であり、それぞれ 検出された。 も 検出され、その他の代謝物として、 、 及び がそれぞれ

検出された。土壌/茎葉処理の果実において、 の割合が少なかったものの、同様の代謝物プロファイルが認められた。一方、土壌処理した葉においては、未変化のプロマシル[P]は 1 回目処理 2 ヶ月後に 0.84ppm 検出されたが、それ以降は検出されなかった。収穫期における葉の主要代謝物は HPLC 保持時間 5~6.6 分の成分（酵素加水分解により 3~4 成分が生成し、そのうちの 1 成分は と暫定的に同定）であり、

検出された。次いで 14~15 分の成分（酵素及び酸加水分解により 2~6 成分が生成し、生成した成分は 、 及び ）及び 11~13 分の成分（酵素及び酸加水分解により 5~7 成分が生成し、そのうちの 1 成分は ）であり、それぞれ 検出された。他に、 及び がそれぞれ

検出され、17 分の成分（酵素及び酸加水分解により、 、 及び が生成）が 検出された。また、茎葉処理では、葉の表面洗浄液中にはプロマシル[P]のみが検出された。茎葉処理の収穫期の果実の代謝物プロファイルは、土壌処理の果実と同様であり、 が主要代謝物であった。

プロマシルのパイナップルにおける主な代謝経路は、

、 及び の生成、 の生成、それに続く であった。またマイナーな経路として、 の生成と 存在すると考えられた。

オレンジ苗木代謝試験

サワーオレンジの枝に接ぎ木した 2 年生のオレンジの苗木を、 プロマシルを約 10 ppm 含む培養液で約 4 週間砂耕栽培した。オレンジ苗木に取り込まれた放射能は、処理放射能の 5%以下であり、そのうち約 83%は根部（8.5 ppm）に存在し、残りの約 17%は幹及び葉部（それぞれ約 1.1 ppm）に存在した。植物の抽出液には 3 個の成分が含まれ、プロマシル、 （ ）及び未知成分が、10:5:1 の比率で存在した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

に微量分解物として、
、
及び代
が検出されたが、試験期間
を通してそれぞれ
であった。滅菌系では、非滅菌系と同じ分解物が検出されたが、
より微量であり、最大で
が
となり、
、
、
及び
は、試験期間を通してそれぞれ
であ
った。

ブロマシルは嫌氣的土壤中において、主として
により
が生成し、
別の経路として
、
及び
が生成し、さらに
が生成すると考えられた。

土壤中動態試験（容器内及び圃場）

ガラス容器（直径 3 インチ、長さ 4 インチ）に詰めた土壤の表面に、
ブロ
マシルを約 20 ポンド/エーカーで処理した後、土壤を湿潤に保ちながら紫外線を土壤の上か
ら週 5 日、1 日 8 時間で照射した。処理 9 週間後、土壤中には処理量の 47.5%の放射能が残
存し、土壤抽出液の 94%以上が未変化のブロマシルであった。また、試験期間中に発生した
 $^{14}\text{CO}_2$ 量は、処理量の 25.3%であった。

地中に埋め込んだステンレス管（直径 4 インチ、長さ 12 インチ）内の土壤に

ブロマシルを約 4 ポンド/エーカーで春季に処理した後、野外に曝した。処理 1 年後、
処理量の 23.5%の放射能がステンレス管中の土壤から回収され、土壤抽出液中放射能の約
90%は未変化のブロマシルであった。微量な代謝分解物として、
、
及び
が同定された。

圃場条件下の土壤中において、ブロマシルは
、
及び
を生成したのち、これら代謝物はさらに
、炭酸
ガス、アンモニア、及び臭素酸にまで完全分解されると考えられた。

土壤吸着性試験

土壤への吸着の強さを表す K_f^{adsoc} 値は、火山灰土壤を含む 4 種の土壤において 37~73 の範
囲内にあった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

水 中：

加水分解動態試験

プロマシルを pH5、7 及び 9 の滅菌緩衝液に添加して濃度が 20ppm の試験溶液を調製し、25±1℃の暗条件下で 17 日間インキュベートした。プロマシルはいずれの緩衝液中においても安定的に存在し、顕著な分解物は検出されなかった。

水中光分解動態試験（緩衝液）

プロマシルを pH5、7 及び 9 の滅菌緩衝液に添加して 20ppm の試験溶液を調製し、25±1℃においてキセノンアーク灯光（光強度 520W/m²、波長範囲 300～800nm）を 12 時間毎の明／暗サイクルで照射した。プロマシルは pH5 及び 7 では比較的安定に存在したが pH9 では速やかに分解したことから、陰イオン型は分子型より光分解を受けやすいと考えられた。

光照射区において、シリカゲル TLC 分析では 6 個、逆相 TLC 分析では 8 個の分解物が認められたが、標品と一致するものはなく、であった。分解物の濃度が低かったため、これら光分解物の同定は行わなかった。

プロマシルの光分解半減期は、326 日（pH5）、102 日（pH7）及び 7 日（pH9）と算出された。また東京春季（4～6 月）の自然太陽光換算の半減期は、pH5 では 1 年以上であったが、pH7 では 268 日、pH9 では 18 日と計算された。

水中光分解動態試験（自然水）

プロマシルを 7 種の供試水（標準水、河川水、底質を含む河川水、蒸留水、リボフラビン添加蒸留水、メチレンブルー添加蒸留水及びメチレンブルー添加アルカリ性蒸留水）に添加して濃度 250ppm の試験溶液を調製し、18～20℃において夏季の自然太陽光（1800μE/m²/s）を照射した。プロマシルは、自然水中で分解され、標準水では 1 ヶ月後に 54%AR（%AR：処理放射能に対する割合）まで減少し、3 ヶ月後には 31%AR となった。河川水では 3 ヶ月後に 43%AR に減少したが、底質を含む河川水では、分解が加速され、1 週間後には 50%AR となり、3 ヶ月後には 1.1%AR まで減少した。蒸留水中では、ほとんど光分解されず、プロマシルは 3 ヶ月後に 93%AR 残存していた。分解は、光増感剤リボフラビン添加またはアルカリ化によって促進され、リボフラビン添加蒸留水では、3 ヶ月後に 37%AR まで減少した。メチレンブルー添加では、3 ヶ月後に 87%AR のプロマシルが残存しており、分解は加速されなかったが、アルカリ性にするると、非常に早く分解が進み、5 時間後に残存率は 0.1%AR 未満となった。プロマシルの自然水中における水中光分解半減期は 1～2 ヶ月であったが、アルカリ性にした蒸留水（pH9.4）では、分解速度は著しく増加し、推定半減期は約 1 時間であった。主要分解物は、及び
が
であり、微量分解物としてが
検出された。

プロマシルは供試水中において光照射により分解されて、初めにが生成し、さらに分解されて、をを経て、及び
が生成すると考

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

えられた。また、

及び

も生成すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表 1-1 代謝・動態の概要① - 動物における代謝 -

*:代謝物の番号は、後頁の代謝分解経路図を参照

(単位:投与または処理放射能に対する割合(%))

試料		[P]																	未同定	抽出 残渣	揮発性 物質 (CO ₂ を 含む)	その他	合計			
動物代謝 ラット	単回経口 投与、 10mg/kg	0~48 時間尿	雄	2.7	0.1																					
			雌	3.1	0.2																					
		0~36 時間糞	雄	1.8																						
			雌	1.2																						
		1 時間後血漿*	雄	48.5																						
			雌	39.8																						
		1 時間後肝臓*	雄	78.8																						
			雌	65.1																						
	1 時間後腎臓*	雄	79.4																							
		雌	48.6																							
	反復経口 投与、 10mg/kg	0~48 時間尿	雄	0.4																						
			雌	0.1																						
	単回経口 投与、 1000 mg/kg	0~48 時間糞	雄	1.2																						
			雌	1.2																						
		0~72 時間尿	雄	<0.1																						
			雌	<0.1																						
		0~72 時間糞	雄	1.0																						
			雌	1.2																						
		1 時間後血漿*	雄	ND																						
			雌	ND																						
1 時間後肝臓*	雄	21.2																								
	雌	77.2																								
1 時間後腎臓*	雄	71.1																								
	雌	77.8																								
1250ppm 含有飼料 を1ヵ月 間混餌投 与	投与後3~4週 の尿 ^{*A}	雄	20																							

空欄：分析せず、ND：検出されず
*1：抽出放射能に対する割合(%)を示す。

*A：プロマシル換算濃度(ppm)を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表 1-2 代謝・動態の概要② - 植物における代謝 -

*:代謝物の番号は、後頁の代謝分解経路図を参照 (単位:投与または処理放射能に対する割合(%))

試料		[P]										未同定	抽出 残渣	揮発性 物質 (CO ₂ を 含む)	その他	合計
植物代謝	オレンジ 土壌処理、 4.8ボンド ai/ エーカ	処理 34 日後葉部 ^{*4}	ND													
		処理 117 日後葉部 ^{*4}	ND													
		処理 34 日後果実 ^{*4}	ND													
		処理 117 日後果実 ^{*4}	ND													
	パイナップル 土壌処理、 8.0ボンド ai/ エーカ 土壌/茎葉処理	収穫期(1 回目処理後 22 ヶ月) 葉部 ^{*4}	ND													
		収穫期果実 ^{*4}														
収穫期果実 ^{*4}																

空欄：分析せず、ND：検出されず

*4：試料中の総残留放射能に対する割合(%TRR)を示す。また、括弧内は、プロマシル換算濃度(ppm)を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。

表 1-3 代謝・動態の概要③ - 土壌・水中における動態 -

*:代謝物の番号は、後頁の代謝分解経路図を参照

(単位: 投与または処理放射能に対する割合(%))

試料		[P]												未同定	抽出 残渣	揮発性 物質 (CO ₂ を 含む)	その他	合計		
土 壌 中 動 態	好氣的土壌 9ppm 処理、 25°C、 暗条件	非滅菌 184 日後	53.1																	
		非滅菌 365 日後	38.6																	
		滅菌 184 日後	78.4																	
		滅菌 365 日後	87.5																	
	嫌氣的土壌 9ppm 処理、 25°C、 暗条件	非滅菌 28 日後	78.1																	
		非滅菌 93 日後	1.3																	
		非滅菌 184 日後	0.4																	
		非滅菌 365 日後	1.2																	
		滅菌 184 日後	58.7																	
	滅菌 365 日後	75.8																		
容器内試験、 約 20 ポイント/ヘカ で処理、紫外線 照射	9 週間後																			
圃場試験、 約 4 ポイント/ヘカ で処理	5 週間後 (0~1 インチ層土壌) ^D	4.9																		
水 中 動 態	加水分解 20ppm 処理、 25°C、暗条件	pH5、17 日後 ^{*12}	100																	
		pH7、17 日後 ^{*12}	100																	
		pH9、17 日後 ^{*12}	100																	
	水中光分解 (緩衝液) 20ppm 処理、 25°C、 人工太陽光照射	pH5、17 日後 ^{*12}	89.0																	
		pH7、17 日後 ^{*12}	80.8																	
		pH9、17 日後 ^{*12}	3.4																	
	水中光分解 (自然水) 250ppm 処理、18~20°C、 自然太陽光照射	標準水 1 ヶ月後	54																	
		標準水 3 ヶ月後	31																	
		河川水 1.5 ヶ月後	66																	
		河川水 3 ヶ月後	43																	
	蒸留水 3 ヶ月後	93																		

空欄：分析せず、ND：検出されず

*D：プロマシル換算濃度(ppm)を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は丸和バイオケミカル株式会社にある。