

I. 動物における代謝分解

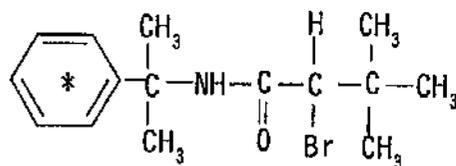
I-1. プロモブチドのラットおよびマウスにおける代謝試験

(資料 I-1)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚研究所

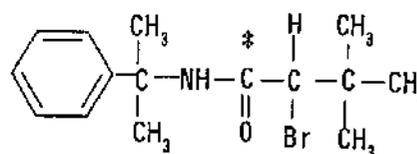
報告書作成年：1984年

供試標識化合物：



Ph-¹⁴C-プロモブチド

(フェニル基¹⁴C標識プロモブチド)



¹⁴CO-プロモブチド

(カルボニル基¹⁴C標識プロモブチド)

*：標識位置

化学名： (RS)-2-bromo-N(α,α-dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide

比放射能および放射科学的純度

標識化合物	比放射能	放射科学的純度
Ph- ¹⁴ C-プロモブチド		
¹⁴ CO-プロモブチド		

標識位置の設定理由

供試動物：SD系雌雄ラット (供試時：7~9週齢)

ICR系雌雄マウス (供試時：7週齢)

*1 申請者註：申請者が記載した。

試験方法：

投与；2種の標識プロモプチドのコーンオイル溶液をラットおよびマウスに経口投与した。
 ^{14}C O-プロモプチドについては、2種の投与液（低用量用及び高用量用）、Ph- ^{14}C -プロモプチドについては、1種の投与液（低用量用）を調製した。低用量は、5mg/kg、高用量は、125mg/kgとした。

投与用量設定根拠

●排泄バランス・組織残留・排泄物中代謝物分析実験

2種の標識プロモプチドのコーンオイル溶液をラットおよびマウスに経口投与した。投与後、尿、糞および呼気中に排泄された ^{14}C 量および代謝物の同定と定量を行った。また、投与7日目に屠殺し、各種臓器・組織および消化管内容物の残存 ^{14}C 量を測定した。

また、全身オートラジオグラフィーも行った。

●胆汁排泄・排泄物中代謝物分析実験

胆管カニュレーションラットに ^{14}C O-プロモプチドのコーンオイル溶液（低用量：5mg/kg）を経口投与した後、尿、糞および胆汁を48時間採取し、 ^{14}C 量および代謝物の同定と定量を行った。動物は48時間後に屠殺し、腸内容物の ^{14}C 量を測定した。また、 ^{14}C O-プロモプチドを経口投与した後、採取した胆汁を他の胆管カニュレーションラットの十二指腸に投与し、同様の試験を行った。

標識化合物	動物種	用量	回数・経路	動物数	検討項目	分析(試料採取)時点
^{14}C - プロモプチド	ラット	低用量	単回経口	雌雄各5匹	排泄・残留・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び呼気： 投与後1、2、3、4、5、6、7日目 組織残留： 投与後7日目 代謝物分析(糞、尿)： 投与後3日目まで
		高用量	単回経口	雄5匹	排泄・残留・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び呼気： 投与後1、2、3、4、5、6、7日目 組織残留： 投与後7日目 代謝物分析(糞、尿)： 投与後3日目まで
		低用量	単回経口	雄1匹	組織分布(全身オートラジオグラフィ)	投与後96時間目
		低用量	単回経口	雄3匹	胆汁排泄・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び胆汁： 投与後1、2日目 代謝物分析(尿・胆汁)： 投与後1日目まで
		低用量	十二指腸投与	雄3匹	腸肝循環・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び胆汁 投与後1、2日目 代謝物分析(尿・糞)： 投与後1日目まで
	マウス	低用量	単回経口	雌雄各5匹	排泄・残留・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び呼気： 投与後1、2、3、4、5、6、7日目 代謝物分析(糞、尿)： 投与後3日目まで
		低用量	単回経口	雄各時点1匹	組織分布(全身オートラジオグラフィ)	投与後1、4、168時間目
$\text{Ph-}^{14}\text{C}$ - プロモプチド	ラット	低用量	単回経口	雄5匹	排泄・残留・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び呼気： 投与後1、2、3、4、5、6、7日目 組織残留： 投与後7日目 代謝物分析(糞、尿)： 投与後3日目まで

試験結果： プロモプチドのカルボニル基 ^{14}C 標識体またはフェニル基 ^{14}C 標識体を5mg/kg体重の割合で雌雄のラットおよびマウスに1回経口投与すると、いずれの場合も ^{14}C は速にかつほぼ完全に糞および尿中に排泄され、投与後7日目の器官・組織中 ^{14}C 残留量は1g組織当り0.2 μg プロモプチド相当量以下であった。主な代謝反応は、ラット、マウス共に、脱ブロム化、フェニル基の水酸化、*o*-ブチル基メチルの酸化、及び、それらのグルクロン酸抱合化であった。プロモプチドの水酸化物のグルクロン酸抱合体は、ラットでは胆汁、マウスでは尿中に多く排泄された。

ラットは胆汁排泄代謝物を腸肝循環し、この間に更に酸化や脱ブロム化が進行した。アミン側メチル基の水酸化物は少なく、アミドの水解物や硫酸あるいはアミノ酸抱合体は糞尿中に検出されなかった。雄ラットに高用量(125mg/kg)の¹⁴C O-プロモブチドを1回経口投与すると、酸化部位が少ない代謝物が低用量(5mg/kg)投与時に比べ、糞中に多く排泄されたが、代謝物の種類は同様であり、¹⁴Cの排泄や組織残留¹⁴C量への影響は認められなかった。

表1 ^{14}C 標識プロモプチドを1回経口投与した雌雄ラットの投与後7日目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度

	^{14}C 濃度 a)			
	雄			雌
	$^{14}\text{CO-}^{\text{14}}\text{C-}^{\text{14}}\text{C-}^{\text{14}}\text{C}$ 5mg/kg	Ph- $^{14}\text{C-}^{\text{14}}\text{C-}^{\text{14}}\text{C}$ 5mg/kg	$^{14}\text{CO-}^{\text{14}}\text{C-}^{\text{14}}\text{C}$ 125mg/kg	$^{14}\text{CO-}^{\text{14}}\text{C-}^{\text{14}}\text{C}$ 5mg/kg
組織	[ng プロモプチド相当量/g 組織]			
副腎				
血液				
骨				
脳				
盲腸				
眼				
脂肪				
毛				
心臓				
小腸				
大腸				
腎臓				
肝臓				
肺				
筋肉				
卵巢				
脾臓				
坐骨神経				
脊髄				
脾臓				
胃				
精巣				
胸腺				
子宮				
残屍体				
内容物	[ngプロモプチド相当量/動物]			
胃				
小腸				
盲腸				
大腸				

a) 数値は5匹の動物の平均値±S.E.値

b) 投与後15日目には 21 ± 3 ngプロモプチド相当量/g組織であった。

c) 投与後15日目には 30 ± 2 ngプロモプチド相当量/g組織であった。

d) 定量せず。

表2 ^{14}C -プロモフチドを1回経口投与した雌雄マウスの投与後7日目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度

	^{14}C 濃度 ^{a)}	
	雄	雌
組織	[ngプロモフチド相当量/g組織]	
副腎		
血液		
骨		
脳		
盲腸		
脂肪		
毛と皮膚		
心臓		
小腸		
大腸		
腎臓		
肝臓		
肺		
筋肉		
卵巣		
膵臓		
脊髄		
脾臓		
胃		
精巣		
胸腺		
子宮		
残屍体		
内容物	[ngプロモフチド相当量/動物]	
胃		
小腸		
盲腸		
大腸		

a) 数値は5匹の動物の平均値±S.E.値

表3 14C-O-およびPh-14C-プロモブチドを1回経口投与した雌雄ラットが投与後7日間の尿および糞中に排泄した代謝物量

代謝物	投与した ¹⁴ C量に対する割合(%) ^{a)}					
	糞		尿		糞	
	¹⁴ CO ₂ 7 BE7 弁 5mg/kg	Ph- ¹⁴ C 7 BE7 弁 5mg/kg	¹⁴ CO ₂ 7 BE7 弁 125mg/kg	¹⁴ CO ₂ 7 BE7 弁 尿	¹⁴ CO ₂ 7 BE7 弁 糞	¹⁴ CO ₂ 7 BE7 弁 糞
7 BE7 弁						
deBr-7 BE7 弁						
N2-OH-7 BE7 弁						
Ph-OH.OCH ₃ -7 BE7 弁						
4-OH-7 BE7 弁						
p-OH-7 BE7 弁						
deBr-Ph-OH.OCH ₃ -7 BE7 弁						
deBr-3-COOH-7 BE7 弁						
deBr-α-CH ₂ OH-7 BE7 弁 (3)						
deBr-4-OH-7 BE7 弁						
Ph-OH.OCH ₃ -4-OH-7 BE7 弁						
deBr-p-OH-7 BE7 弁						
2-OH-3-COOH-7 BE7 弁						
未同定(1)						
未同定(2)						
p-OH-4-OH-7 BE7 弁						
deBr-Ph-OH.OCH ₃ -4-OH-7 BE7 弁						
deBr-p-OH-3-COOH-7 BE7 弁						
deBr-p-OH-4-OH-7 BE7 弁						
p-OH-2-OH-3-COOH-7 BE7 弁						
未同定(3)						
未同定(4)						
未同定(5)						
未同定(6)						
4-OH-7 BE7 弁 Glu, p						
p-OH-7 BE7 弁 Glu.						
deBr-4-OH-7 BE7 弁 Glu.						
deBr-p-OH-7 BE7 弁 Glu.						
p-OH-4-OH-7 BE7 弁 Glu.						
deBr-p-OH-3-COOH-7 BE7 弁 Glu.						
deBr-p-OH-4-OH-7 BE7 弁 Glu.						
未同定(2) Glu.						
p-OH-2-OH-3-COOH-7 BE7 弁 Glu.						
その他 ^{b)}						
糞 糞 ^{c)}						
合計						

a) 数値は5匹の動物の平均値±S.E.値 b) 検出されず c) 投与量の0.1%未満 d) 80%メタノールで抽出された代謝物
 e) 80%メタノールで抽出されない代謝物 f) グルグルン酸抱合体

表4 ^{14}C -プロモブチドを1回経口投与(5mg/kg)した雌雄マウスが投与後7日間の尿および糞中に排泄した代謝物量

代謝物	投与した ^{14}C 量に対する割合 (%)			
	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
ブチド				
deBr-ブチド				
N-2-OH-ブチド				
Ph-OH, OCH ₃ -ブチド				
4-OH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
p-OH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
deBr-4-OH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
deBr-3-COOH-ブチド				
2-OH-3-COOH-ブチド				
Ph-OH, OCH ₃ -4-OH-ブチド				
deBr-p-OH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
p-OH-4-OH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
deBr-p-OH-4-OH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
deBr-p-OH-3-COOH-ブチド		Free Glu. ^{a)}		
その他				
未抽出 ^{b)}				
合計				

a) グルクロン酸抱合体

b) メタノール/水 (4/1, v/v)で3回抽出

表5 ^{14}C -プロモプチドを1回経口投与(5mg/kg, p.o.)または ^{14}C -プロモプチドを1回経口投与したラットの胆汁を十二指腸 (i.d.) 投与した胆管カニュレーションラットにおける投与後2日目までの胆汁、尿及び糞中 ^{14}C 排泄量

	投与した ^{14}C 量に対する割合 (%) ^{a)}	
	p.o.	i.d.
胆汁		
尿		
糞		
消化管内容物		
合計		

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

表6 ¹⁴C-O-プロモブチドを1回経口投与 (5mg/kg) した胆管カニュレーションラット (A) と手術を施さないラット (B) における排泄物中代謝物量

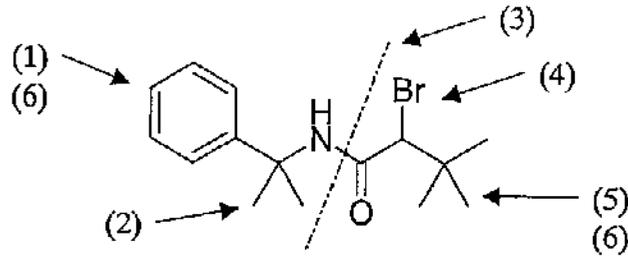
代謝物	投与した ¹⁴ C量に対する割合 (%)			
	A ^{a)}		B ^{b)}	
	胆汁	尿	糞	尿
ブチド				
deBr-ブチド				
N ² -OH-ブチド				
Ph-OH,OCH ₃ -ブチド				
4-OH-ブチド				
p-OH-ブチド				
deBr-Ph-OH,OCH ₃ -ブチド				
deBr-3-COOH-ブチド				
deBr-α-CH ₂ OH-ブチド				
deBr-4-OH-ブチド				
Ph-OH,OCH ₃ -4-OH-ブチド				
deBr-p-OH-ブチド				
2-OH-3-COOH-ブチド				
未同定(1)				
未同定(2)				
p-OH-4-OH-ブチド				
deBr-Ph-OH,OCH ₃ -4-OH-ブチド				
deBr-p-OH-3-COOH-ブチド				
deBr-p-OH-4-OH-ブチド				
p-OH-2-OH-3-COOH-ブチド				
未同定(3)				
未同定(4)				
未同定(5)				
未同定(6)				
4-OH-ブチド Glu. ^{c)}				
p-OH-ブチド Glu.				
deBr-4-OH-ブチド Glu.				
deBr-p-OH-ブチド Glu.				
p-OH-4-OH-ブチド Glu.				
deBr-p-OH-3-COOH-ブチド Glu.				
deBr-p-OH-4-OH-ブチド Glu.				
未同定(2) Glu.				
p-OH-2-OH-3-COOH-ブチド Glu.				
その他				
残渣				
合計				

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値。投与後24時間に排泄された胆汁及び尿中代謝物につき計算した。

b) 数値は5匹の動物の平均値±S.E.値 (表3より)。

c) グルクロン酸抱合体

表7 プロモブチドのラットにおける代謝



	投与した ¹⁴ C量に対する割合 (%) ^{a)}							
	雄				雌			
	¹⁴ CO -ブチド 5mg/kg		Ph- ¹⁴ C -ブチド 5mg/kg		¹⁴ CO -ブチド 125mg/kg		¹⁴ CO -ブチド 5mg/kg	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
フェニル基水酸化(1)								
ジメチル基酸化(2)								
アミド加水分解(3)								
脱ブロム化(4)								
t-ブチル基酸化(5)								
グルクロン酸抱合(6)								
総排泄率								

表8 ラット及びマウスにおけるプロモブチドの代謝

代謝反応	代謝物量 (投与量に対する割合 (%)) ^{a)}			
	ラット		マウス	
	雄	雌	雄	雌
酸化反応				
フェニル基				
t-ブチル基				
脱ブロム化反応				
グルクロン酸抱合反応				
総排泄量				

a) 各範疇に属する代謝物量を合計した

表9 胆管カニュレーションラット (A) 及び無処置ラット (B) におけるプロモブチドの代謝の比較

代謝反応	代謝物量 (投与量に対する割合 (%)) ^{a)}	
	A ^{b)}	B ^{c)}
酸化反応		
フェニル基		
t-ブチル基		
合計		
脱ブロム化反応		
グルクロン酸抱合反応		
未同定代謝物		
総排泄量		

a) 各範疇に属する代謝物量を合計した

b) 投与後24時間に排泄された胆汁及び尿中代謝物につき計算した

c) 投与後7日間に排泄された糞及び尿中代謝物につき計算した

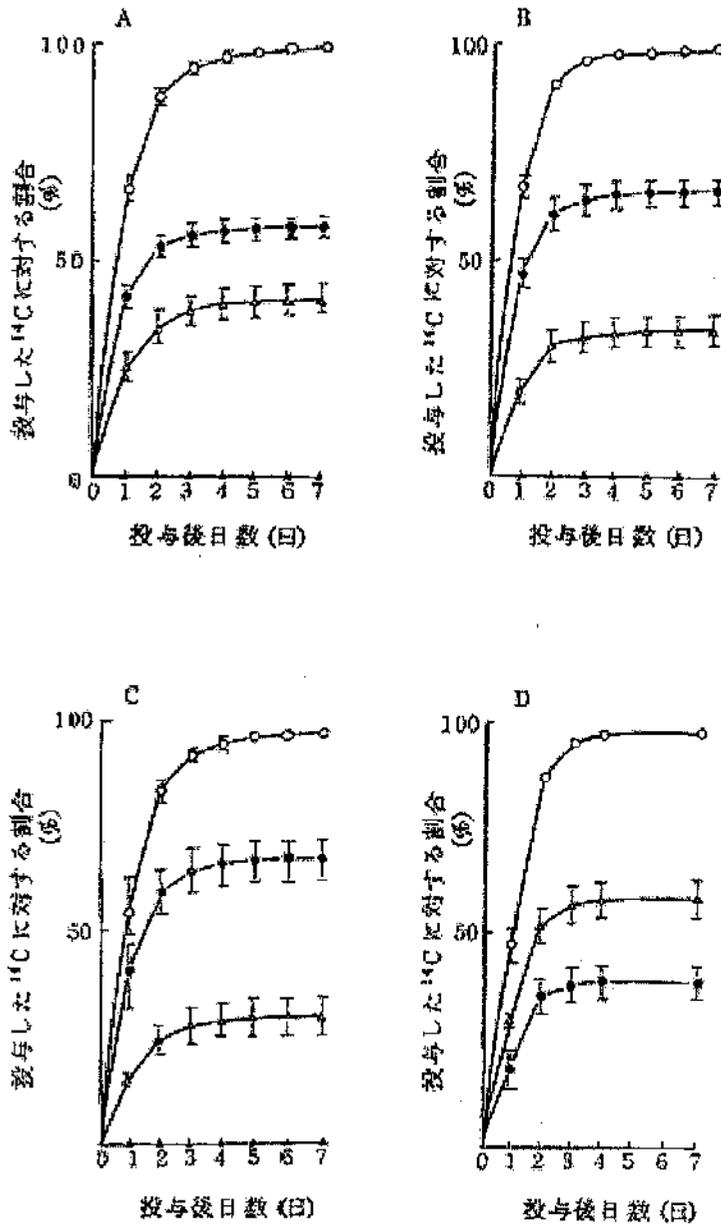


図1 ^{14}C 標識プロモプチドを1回経口投与したラットの尿、糞及び呼気中に排泄された ^{14}C 量

- A : ^{14}C O-プロモプチドを5mg/kgの割合で雄ラットに投与
- B : Ph- ^{14}C -プロモプチドを5mg/kgの割合で雄ラットに投与
- C : ^{14}C O-プロモプチドを125mg/kgの割合で雄ラットに投与
- D : ^{14}C O-プロモプチドを5mg/kgの割合で雌ラットに投与

○ : 総排泄 ^{14}C 量、△ : 尿中 ^{14}C 量、● : 糞中 ^{14}C 量、▲ : 呼気中 ^{14}C 量
各5匹の動物の平均値±S.E.値を示している。

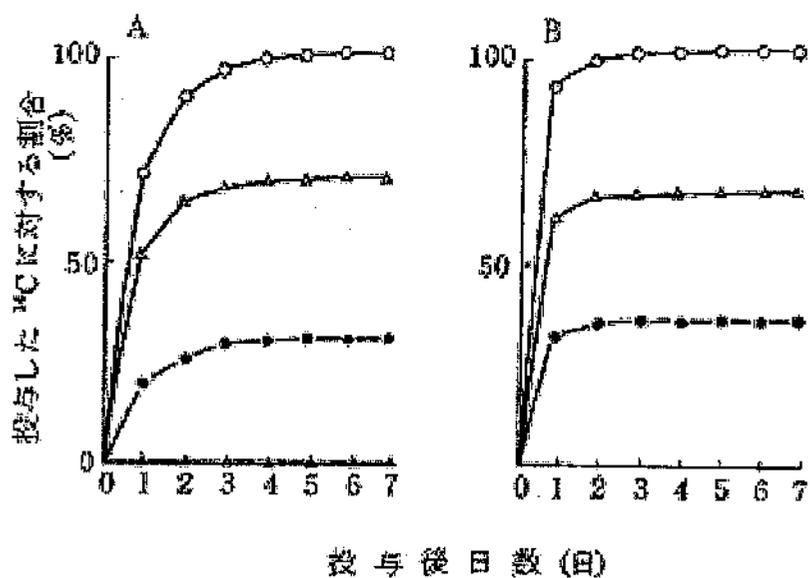


図2 ¹⁴C標識プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与したマウスの尿、糞及び呼気中に排泄された¹⁴C量

A : 雄マウス、B : 雌マウス、

○ : 総排泄¹⁴C量、△ : 尿中¹⁴C量、● : 糞中¹⁴C量、▲ : 呼気中¹⁴C量
各5匹の動物の平均値を示している。

図3 ラットおよびマウスにおけるプロモブチドの代謝経路

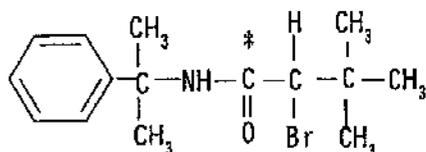
I-2. ^{14}C -標識プロモブチドのラットにおける代謝試験

(資料 I-2)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚総合研究所

報告書作成年：1987年

供試標識化合物：



^{14}C O-プロモブチド

(カルボニル基 ^{14}C 標識プロモブチド)

*：標識位置

化学名： (R,S)-2-bromo-N(α,α-dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide

比放射能および放射科学的純度

標識化合物	比放射能	放射科学的純度
^{14}C O-プロモブチド		

標識位置の設定理由

供試動物：SD系ラット(供試時：7週齢、体重：雄 221~263g、雌 165~179g)

試験方法：

投与；比放射能を3.46mCi/mmolに調整した ^{14}C O-プロモブチドをコーンオイルに溶解し、

雌雄各18匹のラットに5mg/kgの割合で1回経口投与した。

用量設定根拠

●組織中放射能濃度分析試験；

投与後1、2、4、8、24および48時間目に雌雄各3匹のラットを屠殺し、以下の臓器組織を摘出した。

骨、脳、脂肪、精巣、卵巣、子宮、心、腎、肝、肺、筋肉、脾、
副腎、皮膚と毛、脾、盲腸

全血、血漿、摘出した各種臓器組織および盲腸内容物中に分布する¹⁴C量を定量した。

●代謝物分析試験；

組織分布試験で得られた肝、腎、全血および盲腸内容物中に分布する代謝物を分析した。

試験結果：

●組織中放射能濃度分析

各組織に分布する¹⁴C濃度は、投与後1～8時間目に最高となり以後減少した。

雄：盲腸を除いて、肝および腎に比較的高濃度の¹⁴Cが分布した。それぞれ投与後2および4時間目に最高値2.97および0.71ppmとなり、以後、半減期26～28時間で減少した。

全血および血漿に分布する¹⁴C濃度は投与後8時間目に最高値0.23～0.24ppmとなり、以後、半減期35～38時間で減少した。

各種臓器組織に分布する¹⁴C濃度の減少は比較的緩徐であったが、これは一部の代謝物が腸肝循環するためと考えられる。

なお、投与した¹⁴Cは投与後7日目までにほぼ全量が糞および尿中に排泄され、投与後7日目の各種臓器に分布する¹⁴C濃度は最も高い肝でも0.11ppmであった。

雌：盲腸を除いて肝、腎および肺に比較的高濃度の¹⁴Cが分布した。肝では投与後2、8時間目に、腎では8時間目に最高(それぞれ2.43および0.84ppm)となり、以後、半減期15～17時間で減少した。

また、肺では投与後2時間目に最高(0.63ppm)となり、以後、半減期41時間で雄(27時間)に比べ、ゆっくりと減少した。

全血および血漿に分布する¹⁴C濃度は、それぞれ投与後8時間目と1時間目に最高値0.29～0.31ppmとなり、以後、半減期18～29時間で減少した。肝や血中¹⁴C濃度に認められる二炭性のピークは、代謝物が腸肝循環するためと考えられる。

●肝、腎、全血液および盲腸内容物中代謝物の分析

雄：肝には投与後1～4時間目まで各種代謝物のうち、プロモブチドが最も多量に分布したが、以後減少し8時間目には検出限界以下となった。肝に分布する主要代謝物はdeBr-3-COOH・プロモブチドおよび4-OH・プロモブチドであった。

腎、血液では、プロモブチドは殆んど検出されなかったが、代謝物としては、p-OH・プロモブチドおよびdeBr-3-COOH・プロモブチドを検出した。

盲腸内容物ではプロモブチドが投与後4時間目に最高値(12.70 μ g/g内容物)に達した後、速やかに減少した。

また、deBr・プロモブチド、deBr-3-COOH・プロモブチド、deBr-4-OH・プロモブチド、deBr-p-OH・プロモブチドを検出した。

雌：肝にはプロモブチドが多量分布し、投与後1時間の濃度1.13ppmを最高として減少し、24時間目には検出限界以下となった。代謝物としてp-OH・プロモブチド、4-OH・プロモブチド、deBr-3-COOH・プロモブチド、deBr-4-OH・プロモブチドおよびdeBr-p-OH・プロモブチドを検出した。

腎のプロモブチド濃度は雄より高く、投与後1時間目に0.21ppmであったが、24時間目には検出されなかった。

また、代謝物としてdeBr-p-OH・プロモブチドおよびdeBr-3-COOH・プロモブチドを検出した。

血液中でのプロモブチドおよび代謝物の増減は腎とはほぼ同様であった。

盲腸内容物ではプロモブチドおよび代謝物の濃度は雄に比べて全般に低かった。

糞への 14 C排泄率および投与後7日目の消化管内容物中の 14 C濃度はいずれも雄に比べて低かった。

表1 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雄ラットの投与後1、2、4、8、24、48時間目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度

	^{14}C 濃度 (ngプロモブチド相当量/g組織) a)					
	投与後時間 (時間)					
	1	2	4	8	24	48
副腎						
血液						
血漿						
骨						
脳						
脂肪						
心臓						
腎臓						
肝臓						
肺						
筋肉						
脾臓						
毛と皮膚						
脾臓						
精巣						
盲腸						
盲腸 (内容物)						

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.D.値

表2 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雌ラットの投与後1、2、4、8、24、48時間目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度

	^{14}C 濃度 (ngプロモブチド相当量/g組織) ^{a)}					
	投与後時間 (時間)					
	1	2	4	8	24	48
副腎						
血液						
血漿						
骨						
脳						
脂肪						
心臓						
腎臓						
肝臓						
肺						
筋肉						
卵巣						
脾臓						
毛と皮膚						
脾臓						
子宮						
盲腸						
盲腸 (内容物)						

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.D.値

表3 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雄ラットの投与後1、2、4、8、24、48時間目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 量

	^{14}C 量 (投与量に対する割合 (%)) ^{a)}					
	投与後時間 (時間)					
	1	2	4	8	24	48
血液						
脂肪						
腎臓						
肝臓						
肺						
筋肉						
膵臓						
脾臓						
盲腸						
盲腸 (内容物)						

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.D.値

表4 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雌ラットの投与後1、2、4、8、24、48時間目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 量

	^{14}C 量 (投与量に対する割合 (%)) ^{a)}					
	投与後時間 (時間)					
	1	2	4	8	24	48
血液						
脂肪						
腎臓						
肝臓						
肺						
筋肉						
膵臓						
脾臓						
盲腸						
盲腸 (内容物)						

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.D.値

表5 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雄ラットの投与後1、2、4、8、24、48時間目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度と血漿中 ^{14}C 濃度との比^{*1}

	器官・組織中濃度／血漿中濃度比					
	投与後時間（時間）					
	1	2	4	8	24	48
副腎						
血液						
血漿						
骨						
脳						
脂肪						
心臓						
腎臓						
肝臓						
肺						
筋肉						
脾臓						
毛と皮膚						
脾臓						
精巣						
盲腸						
盲腸 （内容物）						

*1 申請者註： 報告書のデータを使用して申請者が計算した。

表6 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雌ラットの投与後1、2、4、8、24、48時間目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度と血漿中 ^{14}C 濃度との比^{*1}

	器官・組織中濃度／血漿中濃度比					
	投与後時間（時間）					
	1	2	4	8	24	48
副腎						
血液						
血漿						
骨						
脳						
脂肪						
心臓						
腎臓						
肝臓						
肺						
筋肉						
卵巣						
脾臓						
毛と皮膚						
脾臓						
子宮						
盲腸						
盲腸 (内容物)						

*1 申請者註： 報告書のデータを使用して申請者が計算した。

表7 ^{14}C O-プロモプチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雌雄ラットの各種器官・組織および消化管内容物中に分布した ^{14}C の消失半減期(時間)*1

	消失半減期(時間) a)	
	雄	雌
副腎		
血液		
血漿		
骨		
脳		
脂肪		
心臓		
腎臓		
肝臓		
肺		
筋肉		
卵巣		
脾臓		
毛と皮膚		
脾臓		
精巣		
子宮		
盲腸		
盲腸(内容物)		

a) 数値は投与後8~48時間目までの ^{14}C 濃度を用いて算出した。

b) 括弧内の数字は、報告書に記載されていた値。*2

*1 申請者註： 報告書のデータを使用して申請者が計算した。

*2 申請者註： 括弧内の数値(報告書内のデータ)と計算値で、1位の値に差が認められたものがあるが、これは、消失半減期算出に際して、計算途中段階での数値の加工の有無等によって発生してきた誤差と考えられる。

表8 ^{14}C -プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雄ラットの肝、腎、血液および盲腸内容物におけるプロモブチドおよび代謝物の推移

器官 組織	代 謝 物	濃度 (μg プロモブチド相当量/g組織)					
		投与後経過時間(時間)					
		1	2	4	8	24	48
肝	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						
腎	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						
血液	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						
盲腸 内容物	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						

N.D. ; 検出せず

表9 ¹⁴C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雌ラットの肝、腎、血液
および盲腸内容物におけるプロモブチドおよび代謝物の推移

臓器 組織	代 謝 物	濃度(μgプロモブチド相当量/g組織)					
		投与後経過時間(時間)					
		1	2	4	8	24	48
肝	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						
腎	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						
血液	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						
盲腸内容物	プロモブチド						
	deBr-プロモブチド						
	4-OH-プロモブチド						
	p-OH-プロモブチド						
	deBr-3-COOH-プロモブチド						
	deBr-4-OH-プロモブチド						
	deBr-p-OH-プロモブチド						
	その他抽出						
	未抽出						
	合計						

N.D. : 検出せず

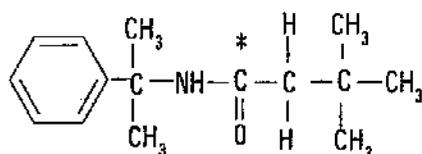
I-3. プロモブチドとその脱ブロム体のラットおよびマウスにおける比較代謝試験

(資料I-3)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚研究所

報告書作成年：1984年

供試標識化合物：



¹⁴C O-deBr-プロモブチド

(¹⁴C 標識 deBr-プロモブチド)

*：標識位置

化学名： (RS)-N(α,α-dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide

比放射能および放射科学的純度

標識化合物	比放射能	放射科学的純度
¹⁴ C O-deBr-プロモブチド		

標識位置の設定理由 *1：

供試動物：SD系雄ラット (供試時：6~8週齢)

ICR系雄マウス (供試時：6~7週齢)

*1 申請者註：申請者が記載した。

試験方法：

投与；比放射能を20.4mCi/mmolに調整した¹⁴C O-deBr-プロモブチドをコーンオイルに溶解し、ラットおよびマウスに5mg/kgの割合で1回経口投与した。

用量設定根拠*1；

●排泄バランス・組織残留・排泄物中代謝物分析実験

¹⁴C O-deBr-プロモブチドのコーンオイル溶液をラットおよびマウスに経口投与し、投与後7日目まで、24時間ごとに糞、尿および呼気を採取し、排泄された¹⁴C量および代謝物の同定と定量を行った。また、投与後、7日目に屠殺し、器官・組織および消化管内に残存する¹⁴C量を測定した。

●胆汁排泄・排泄物中代謝物分析実験

胆管カニューレションラットに¹⁴C O-deBr-プロモブチドを経口投与し、尿、糞、胆汁を48時間後まで採取し、¹⁴C量および代謝物の同定と定量を行った。また、¹⁴C O-deBr-プロモブチドを経口投与した後、採取した胆汁を他の胆管カニューレションラットの十二指腸に投与し同様の試験を行った。

標識化合物	動物種	用量	回数・経路	動物数	検討項目	分析（試料採取）時点
¹⁴ C O- プロブチド	ラット	5mg/kg	単回 経口	雄3匹	排泄・残留・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び呼気： 投与後1、2、3、4、5、6、7日目 組織残留： 投与後7日目 代謝物分析（糞、尿）： 投与後3日目まで
		低用量	単回 経口	雄3匹	胆汁排泄・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び胆汁： 投与後1、2日目 代謝物分析（尿・胆汁）： 投与後1日目まで
		低用量	十二 指腸 投与	雄3匹	腸肝循環・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び胆汁 投与後1、2日目 代謝物分析（尿・糞）： 投与後1日目まで
	マウス	低用量	単回 経口	雄3匹	排泄・残留・排泄物中代謝物分析	糞、尿及び呼気： 投与後1、2、3、4、5、6、7日目 代謝物分析（糞、尿）： 投与後3日目まで

*1 申請者註： 申請者が記載した。

試験結果： deBr-プロモブチドのカルボニル炭素¹⁴C標識体を5mg/kgの割合でラットおよびマウスに1回経口投与し、その生体内運命を調べ、プロモブチドの結果と比較した。ラットでは、deBr-プロモブチドは速かにフェニル基とt-ブチル基の酸化を受けた後、ほぼ定量的に排泄された。投与後の¹⁴C排泄速度はプロモブチドより速く、糞への排泄¹⁴C量、組織残留¹⁴C量および腸内容物中¹⁴C量はプロモブチドより少なかった。deBr-プロモブチドとプロモブチドのラットにおける主要代謝物はアルコールおよびフェノール誘導体のグルクロン酸抱合体で、これらは腸肝循環した。deBr-プロモブチドの主要代謝物であるアルコール誘導体のグルクロン酸抱合体は、速かにカルボン酸となり、尿中に排泄されるが、プロモブチドの主要代謝物であるフェノール誘導体のグルクロン酸抱合体は前者に比べ体内に長くとどまった。マウスは代謝物をほとんど尿中に排泄した。2種の水酸化活性に基質特異性が認められ、種差もあったが、deBr-プロモブチドはプロモブチドとほぼ同様に代謝され、代謝経路は完全にプロモブチドのものに包含された。

表1 ¹⁴C O-deBr-プロモフチドを5mg/kgの割合で1回経口投与した雄ラットおよびマウスの投与後7日目の各種器官・組織および消化管内容物に残存する¹⁴C濃度

	¹⁴ C濃度 a)	
	ラット	マウス
組織	[ng deBr-プロモフチド相当量/g組織]	
副腎		
血液		
骨		
脳		
盲腸		
眼		
脂肪		
毛と皮膚		
心臓		
小腸		
大腸		
腎臓		
肝臓		
肺		
筋肉		
膵臓		
坐骨神経		
脊髓		
脾臓		
胃		
精巣		
胸腺		
残屍体		
内容物	[ng deBr-プロモフチド相当量/動物]	
胃		
小腸		
盲腸		
大腸		

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

表2 ^{14}C O-deBr-プロモブチドを1回経口投与(5mg/kg、p.o.)または ^{14}C O-プロモブチドを1回経口投与したラットの胆汁を十二指腸(i.d.)投与した胆管カニュレーションラットにおける投与後2日目までの胆汁、尿及び糞中 ^{14}C 排泄量

	投与した ^{14}C 量に対する割合 (%) ^{a)}	
	p.o. ^{b)}	i.d. ^{c)}
胆汁		
尿		
糞		
消化管内容物		
合計		

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

b) ^{14}C O-deBr-プロモブチドを5mg/kgの割合で雄ラットに1回経口投与した

c) ^{14}C O-deBr-プロモブチドを経口投与した他のラットから採取した胆汁を、 3.56×10^5 dpm/0.4 mL胆汁/動物の割合で十二指腸へ注入した。

表3 ^{14}C O-deBr-プロモブチドを1回経口投与した雄ラットと ^{14}C O-deBr-プロモブチドを投与したラットの胆汁を十二指腸へ注入した胆管カニュレーションラットの排泄した代謝物量

代謝物	代謝物量 (投与量に対する割合 (%))					
	無処置ラット		胆管カニュレーションラット			
	経口投与		経口投与		十二指腸投与	
	糞	尿	胆汁	尿	胆汁	尿
deBr-p-OH ^{a)}						
deBr-N-2-OH -p-OH ^{a)}						
deBr-4-OH -p-OH ^{a)}						
deBr-3-COOH -p-OH ^{a)}						
2-OH-3-COOH -p-OH ^{a)}						
deBr-p-OH -p-OH ^{a)}						
deBr-p-OH-4-OH -p-OH ^{a)}						
deBr-p-OH-3-COOH -p-OH ^{a)}						
p-OH-2-OH-3-COOH -p-OH ^{a)}						
deBr-4-OH-p-OH ^{a)} Glu. ^{b)}						
deBr-p-OH-p-OH ^{a)} Glu.						
deBr-p-OH-4-OH -p-OH ^{a)} Glu.						
deBr-p-OH-3-COOH -p-OH ^{a)} Glu.						
その他						
合計						

a) グルクロン酸抱合体

b) β -グルクロニダーゼの処理により生成したアグリコンの割合より求めた。

表4 ^{14}C -deBr-プロモプチドを1回経口投与したマウスの排泄した代謝物量

代謝物	代謝物量 (投与量に対する割合 (%))	
	糞	尿
deBr-7' 吡7' 卅'		
deBr-N-2-OH-7' 吡7' 卅'		
DeBr-4-OH-7' 吡7' 卅'		
deBr-3-COOH-7' 吡7' 卅'		
2-OH-3-COOH-7' 吡7' 卅'		
DeBr-p-OH-7' 吡7' 卅'		
deBr-p-OH-4-OH-7' 吡7' 卅'		
deBr-p-OH-3-COOH-7' 吡7' 卅'		
p-OH-2-OH-3-COOH-7' 吡7' 卅'		
deBr-4-OH-7' 吡7' 卅' Glu. a)		
deBr-p-OH-7' 吡7' 卅' Glu.		
deBr-p-OH-4-OH-7' 吡7' 卅' Glu.		
deBr-p-OH-3-COOH-7' 吡7' 卅' Glu.		
その他 b)		
抽出残渣 b)		
合計		

a) グルクロン酸抱合体

b) 80%メタノールで抽出した。

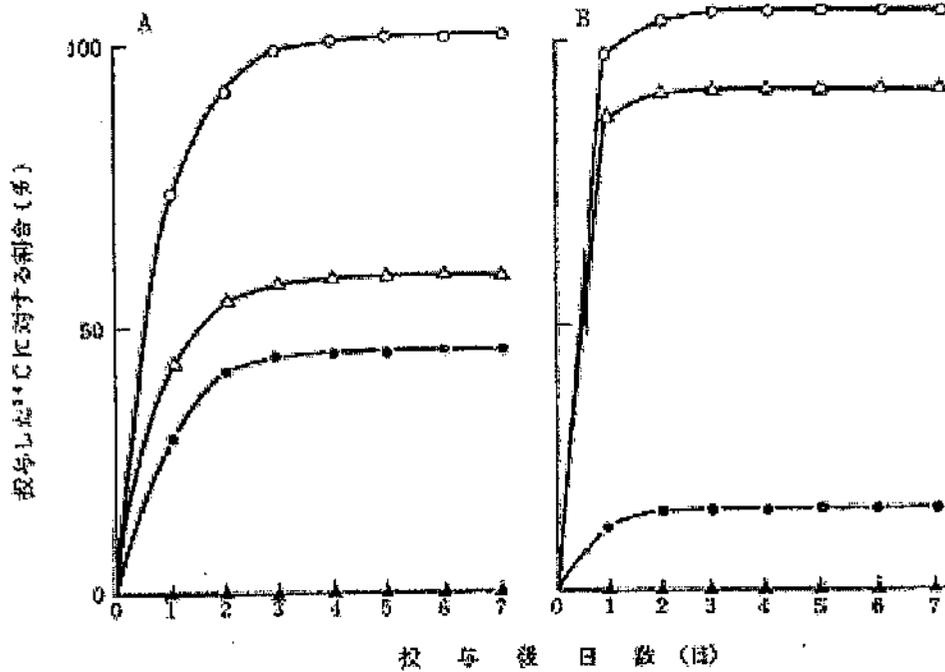


図1 ^{14}C O-deBr-プロモブチドを1回経口投与した雄ラットおよび雄マウスの尿、糞及び呼気中に排泄された ^{14}C 量

A: 雄ラット、B: 雄マウス、
 ○: 総排泄 ^{14}C 量、△: 尿中 ^{14}C 量、●: 糞中 ^{14}C 量、▲: 呼気中 ^{14}C 量
 各3匹の動物の平均値を示している。

図2 ラット、マウスにおけるプロモブチドおよびdeBr-プロモブチド（円内）の代謝経路

I-4. プロモブチドおよびその脱ブロム体のラットにおける代謝試験^{*1}

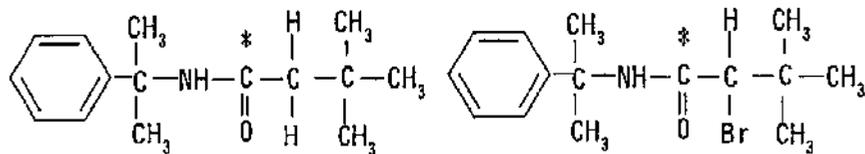
—連続投与試験—

(資料 I-4)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚総合研究所

報告書作成年：1984年

供試標識化合物：



¹⁴C O-プロモブチド

(¹⁴C 標識プロモブチド)

¹⁴C O-deBr プロモブチド

(¹⁴C 標識 deBr-プロモブチド)

* : 標識位置

化学名：

プロモブチド； (RS)-2-bromo-N(α,α-dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide

deBr-プロモブチド； (RS)-N(α,α-dimethylbenzyl)-3,3-dimethylbutyramide

比放射能および放射科学的純度

標識化合物	比放射能	放射科学的純度
¹⁴ C O-プロモブチド		
¹⁴ C O-deBr-プロモブチド		

標識位置の設定理由^{*2}：

*1 申請者註：

*2 申請者註： 申請者が記載した。

供試動物：SD系雄ラット（供試時5週齢）

試験方法：

投与；比放射能を2.04mCi/mmolに調整した ^{14}C O-プロモブチド、あるいは、比放射能を1.02mCi/mmolに調整した ^{14}C O-deBr-プロモブチドをコーンオイルに溶解し、ラットに14日間連続投与した。

用量設定根拠*1；

●排泄バランス・組織残留・排泄物中代謝物分析実験

^{14}C O-プロモブチド、あるいは、 ^{14}C O-deBr-プロモブチドのコーンオイル溶液を14日間連続して経口投与し、糞と尿は最終投与後7日目まで毎日採取した。また、 ^{14}C O-プロモブチド、あるいは、 ^{14}C O-deBr-プロモブチドのコーンオイル溶液を1、6、10および14回投与した後、24時間目および14回投与した後7日目のラットを屠殺し、各種器官・組織および消化管内容物中の ^{14}C 量を測定した。

●胆汁排泄・排泄物中代謝物分析実験

プロモブチドのコーンオイル溶液を連続投与実験と同様に、14日間連続して経口投与し、最終投与の翌日、胆管カニューレーション手術を施し、最終投与後24時間目に ^{14}C O-プロモブチドを1回経口投与した。

^{14}C 標識体投与後24時間目および48時間目に胆汁、尿および糞の排泄 ^{14}C 量を調べた。また、胆汁および尿については代謝物の分析を行った。

●*in vitro*実験

7週齢の無処理ラットおよびプロモブチドを14日間連続投与した後24時間目のラットの肝ミクロソームを調製し、 ^{14}C O-プロモブチドおよび ^{14}C O-deBr-プロモブチドの好気条件下での代謝反応、 ^{14}C O-プロモブチドおよびその主要代謝物である4-OH-プロモブチドの嫌氣的代謝反応、蛋白の定量およびチトクロムP-450の定量を行った。

また、7週令齢の無処理ラットの肝ミクロソームによる上記各種代謝反応のみかけの K_m 値および V_{max} 値を求めた。

*1 申請者註：

試験結果：ラットに ^{14}C 標識したプロモブチド(^{14}C O-プロモブチド)あるいはプロモブチドの主代謝物である脱ブロム化プロモブチド(^{14}C O-deBr-プロモブチド)を別個に14日間連続して強制経口投与すると、いずれの場合も各種の組織に分布する ^{14}C 濃度は一定となり定常状態に達し、最終投与終了後は速かに減少し残留しないこと、また、投与した ^{14}C は糞および尿にほぼ完全に排泄されることが明らかとなった。糞および尿中代謝物を同定・定量した結果、代謝物の種類および割合はそれぞれの1回投与時(資料I-1、2)と同様であり、かつdeBr-プロモブチドの代謝経路はプロモブチドのそれに完全に包含されていることが判明した。

プロモブチドを14日間連続投与したラットに ^{14}C O-プロモブチドを1回経口投与した後、0~24時間に採取した胆汁および尿中代謝物を分析した結果、プロモブチドの初期代謝を反映していることおよび投与した ^{14}C 量の18.3%が脱ブロム化された代謝物として排泄されていることが明らかとなった。

また、ラット肝を用いた*in vitro*代謝実験の結果、肝ミクロゾームのプロモブチドとdeBr-プロモブチドの酸化活性およびプロモブチドと4-OH-プロモブチドの脱ブロム化活性はそれぞれほぼ等しいことが証明された。以上の結果から、プロモブチドを連続投与して代謝的に定常状態にあるラットにおけるdeBr-プロモブチドの生成率は、投与したプロモブチドの9.2% (18.3%/2) と算出された。

表1 ^{14}C オープロモブチドを5mg/kgの割合で1、6、10又は14回経口投与した後24時間目及び14回経口投与後7日目（第20日）の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度

	^{14}C 濃度 ^{a)}				
	投与後時間（日）				
	1	6	10	14	20 ^{b)}
組織	(μg プロモブチド相当量/g組織)				
副腎					
血液					
骨					
脳					
盲腸					
眼					
脂肪					
心臓					
小腸					
大腸					
腎臓					
肝臓					
肺					
筋肉					
脾臓					
坐骨神経					
脊髄					
脾臓					
胃					
精巣					
胸腺					
毛と皮膚					
残屍体					
内容物	(μg プロモブチド相当量/g組織)				
胃					
小腸					
盲腸					
大腸					

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

b) 14回投与後7日目

表2 ^{14}C O-deBr-プロモプチドを5mg/kgの割合で1、6、10又は14回経口投与した後24時間目及び14回経口投与後7日目（第20日）の各種器官・組織および消化管内容物に残存する ^{14}C 濃度

	^{14}C 濃度 ^{a)}				
	投与後時間（日）				
	1	6	10	14	20 ^{b)}
組織	(μg deBr-プロモプチド相当量/g組織)				
副腎					
血液					
骨					
脳					
盲腸					
眼					
脂肪					
心臓					
小腸					
大腸					
腎臓					
肝臓					
肺					
筋肉					
脾臓					
坐骨神経					
脊髄					
脾臓					
胃					
精巣					
胸腺					
毛と皮膚					
残屍体					
内容物	(μg deBr-プロモプチド相当量/g組織)				
胃					
小腸					
盲腸					
大腸					

a) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

b) 14回投与後7日目

表3 ¹⁴C-O-プロモブチドを5mg/kg/日の割合で14日間連続経口投与したラットの糞および尿中代謝物の割合 a)

代謝物	代謝物量 (投与量に対する割合 (%)) b)	
	尿	糞
ブチド		
deBr-ブチド		
N ² -OH-ブチド		
Ph-OH, OCH ₃ -ブチド		
4-OH-ブチド		
p-OH-ブチド		
deBr-8-COOH-ブチド		
deBr-4-OH-ブチド		
deBr-p-OH-ブチド		
2-OH-3-COOH-ブチド		
p-OH-4-OH-ブチド		
deBr-p-OH-3-COOH-ブチド		
p-OH-2-OH-3-COOH-ブチド		
4-OH-ブチド Glu.		
p-OH-ブチド Glu.		
deBr-4-OH-ブチド Glu.		
deBr-p-OH-ブチド Glu.		
p-OH-4-OH-ブチド Glu.		
deBrp-OH-3-COOH-ブチド Glu.		
deBr-p-OH-4-OH-ブチド Glu.		
未同定 Glu.		
p-OH-2-OH-3-COOH-ブチド Glu.		
その他 (抽出物) c)		
未抽出物 c)		
合計		

a) 投与開始後17日間の糞および尿を用いた

b) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

c) 80%メタノール(v/v)で抽出した

表4 ^{14}C - O - deBr -プロモプチドを5mg/kg/日の割合で14日間連続経口投与したラットの糞および尿中代謝物の割合 ^{a)}

代謝物	代謝物量 (投与量に対する割合 (%)) ^{b)}	
	尿	糞
deBr -7'- H ' H '		
deBr - N^2 - OH -7'- H ' H '		
deBr -4- OH -7'- H ' H '		
deBr -3- COOH -7'- H ' H '		
2- OH -3- COOH -7'- H ' H '		
deBr - p - OH -7'- H ' H '		
deBr - p - OH -3- COOH -7'- H ' H '		
p - OH -2- OH -3- COOH -7'- H ' H '		
deBr -4- OH -7'- H ' H ' Glu.		
deBr - p - OH -7'- H ' H ' Glu.		
deBr - p - OH -4- OH -7'- H ' H ' Glu.		
deBr - p - OH -3- COOH -7'- H ' H ' Glu.		
その他 (抽出物) ^{c)}		
未抽出物 ^{c)}		
合計		

a) 投与開始後17日間の糞および尿を用いた

b) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

c) 80%メタノール(v/v)で抽出した

表5 ^{14}C -O-プロモプチドあるいは ^{14}C -O-deBr-プロモプチドを5mg/kg/日の割合で1回あるいは14日間連続経口投与時の尿および糞中代謝物比較

代謝反応	代謝物量 (投与量に対する割合 (%))			
	^{14}C -O-プロモプチド		^{14}C -O-deBr-プロモプチド	
	単回投与	連続投与	単回投与	連続投与
酸化反応				
フェニル基				
t-ブチル基				
脱ブロム化反応				
グルクロン酸抱合反応				
合計				

a) 該当せず

表6 ^{14}C -O-プロモプチドを5mg/kg/日の割合で1、6、10又は14回経口投与した後24時間目及び14回経口投与後7日目 (第20日) のラットの肝臓中代謝物濃度

	^{14}C 濃度 (μg プロモプチド相当量/g組織)				
	投与後時間 (日)				
	1	6	10	14	20 ^{a)}
deBr-3-COOH-7' 吡ゾチド					
deBr-p-OH-7' 吡ゾチド					
p-OH-4-OH-7' 吡ゾチド					
deBr-p-OH-3-COOH-7' 吡ゾチド					
グルクロン酸抱合体					
その他 (抽出物) ^{b)}					
未抽出物 ^{b)}					
合計					

a) 14回投与後7日目

b) メタノールで抽出した

表7 ^{14}C -O-deBr-プロモブチドを5mg/kg/日の割合で1、6、10又は14回経口投与した後24時間目及び14回経口投与後7日目（第20日）のラットの肝臓中代謝物濃度

	^{14}C 濃度 (μg deBr-プロモブチド相当量/g組織)				
	投与後時間 (日)				
	1	6	10	14	20 ^{a)}
DeBr-3-COOH-7' 0Et7' 7'					
DeBr-p-OH-7' 0Et7' 7'					
DeBr-p-OH-3-COOH-7' 0Et7' 7'					
グルクロン酸抱合体					
その他 (抽出物) ^{b)}					
未抽出物 ^{b)}					
合計					

a) 14回投与後7日目

b) メタノールで抽出した

表8 ^{14}C -O-プロモブチドを5mg/kg/日の割合で1、6、10又は14回経口投与した後24時間目及び14回経口投与後7日目（第20日）のラットの盲腸内容物中代謝物濃度

	^{14}C 濃度 (μg プロモブチド相当量/g組織)				
	投与後時間 (日)				
	1	6	10	14	20 ^{a)}
DeBr-3-COOH-7' 0Et7' 7'					
DeBr-4-OH-7' 0Et7' 7'					
DeBr-p-OH-7' 0Et7' 7'					
2-OH-3-COOH-7' 0Et7' 7'					
p-OH-4-OH-7' 0Et7' 7'					
DeBr-p-OH-3-COOH-7' 0Et7' 7'					
p-OH-2-OH-3-COOH-7' 0Et7' 7'					
4-OH-7' 0Et7' 7' Glu.					
p-OH-7' 0Et7' 7' Glu.					
DeBr-4-OH-7' 0Et7' 7' Glu.					
DeBr-p-OH-7' 0Et7' 7' Glu.					
その他 (抽出物) ^{b)}					
未抽出物 ^{b)}					
合計					

a) 14回投与後7日目

b) メタノールで抽出した

表9 ^{14}C O-deBr-プロモブチドを5mg/kg/日の割合で1、6、10又は14回経口投与した後24時間目及び14回経口投与後7日目（第20日）のラットの盲腸内容物中代謝物濃度

	^{14}C 濃度 (μg deBr-プロモブチド相当量/g組織)				
	投与後時間 (日)				
	1	6	10	14	20 ^{a)}
DeBr-3-COOH-プロモブチド					
DeBr-4-OH-プロモブチド					
DeBr-p-OH-プロモブチド					
DeBr-p-OH-3-COOH-プロモブチド					
p-OH-2-OH-3-COOH-プロモブチド					
グルクロン酸抱合体					
その他 (抽出物) ^{b)}					
未抽出物 ^{b)}					
合計					

a) 14回投与後7日目

b) メタノールで抽出した

表10 プロモブチド (非標識体) を連続投与後、 ^{14}C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与後2日目までの胆汁、尿および糞中 ^{14}C 排泄率^{a)}

	排泄量 (投与量に対する割合 (%)) ^{b)}
胆汁	87.8 \pm 5.3
尿	8.8 \pm 5.0
糞	3.6 \pm 0.9
消化管内容物	0.3 \pm 0.1
合計	100.5 \pm 0.4

a) プロモブチド (非標識) を5mg/kg/日の割合で14日間連続投与し、最終投与後の翌日に胆管カニューレーション手術を施し、 ^{14}C O-プロモブチドを単回経口投与した。

b) 数値は3匹の動物の平均値 \pm S.E.値

表11 プロモブチド（非標識体）を連続投与後、¹⁴C O-プロモブチドを5mg/kgの割合で1回経口投与したラットにおける胆汁および尿中代謝物の割合 a)

代謝物	代謝物量（投与量に対する割合（%）） ^{b)}	
	胆汁	尿
ブチド		
deBr-ブチド		
N ² -OH-ブチド		
Ph-OH, OCH ₃ -ブチド		
4-OH-ブチド		
p-OH-ブチド		
DeBr-3-COOH-ブチド		
DeBr-4-OH-ブチド		
DeBr-p-OH-ブチド		
2-OH-3-COOH-ブチド		
p-OH-4-OH-ブチド		
deBr-p-OH-3-COOH-ブチド		
p-OH-2-OH-3-COOH-ブチド		
4-OH-ブチド Glu.		
p-OH-ブチド Glu.		
deBr-4-OH-ブチド Glu.		
deBr-p-OH-ブチド Glu.		
p-OH-4-OH-ブチド Glu.		
DeBr-p-OH-3-COOH-ブチド Glu.		
deBr-p-OH-4-OH-ブチド Glu.		
未同定 Glu.		
その他		
合計		

a) プロモブチド（非標識）を5mg/kg/日の割合で14日間連続投与し、最終投与後の翌日に胆管カニューレーション手術を施し、¹⁴C O-プロモブチドを単回経口投与した。

b) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

表12 プロモブチド（非標識体）を連続投与した胆管カニューレションラット（B）^{a)}とプロモブチド（非標識体）を連続投与しなかった（無処置）の胆管カニューレションラット（A）に、¹⁴C O-プロモブチドを5mg/kg体重の割合で1回経口投与した後の代謝物の比較 ^{a)}

代謝反応	代謝物量（投与量に対する割合（%）） ^{a)}	
	A	B
酸化反応		
フェニル基		
t-ブチル基		
脱ブロム化反応		
グルクロン酸抱合反応		
合計		

- a) プロモブチド（非標識）を5mg/kg/日の割合で14日間連続投与し、最終投与後の翌日に胆管カニューレション手術を施し、胆管カニューレションラットに¹⁴C O-プロモブチドを単回経口投与した（B）。
- b) 胆管カニューレションラットに¹⁴C O-プロモブチドを単回経口投与した（資料I-1にて実施）（A）。
- c) 数値は3匹の動物の平均値±S.E.値

表13 ラット肝ミクロソームによるNADPH依存性代謝反応の各種パラメータ

代謝反応	代謝反応部位	基質	K _m (μM)	V _{max} (pmol/mg蛋白/分)
水酸化	t-ブチル基	プロモブチド	11.8	169
		deBr-プロモブチド	14.7	286
	フェニル基	プロモブチド	2.3	7.4
		deBr-プロモブチド	3.9	12
脱ブロム化		プロモブチド	2.4	0.69
		4-OH-プロモブチド	1.7	1.07

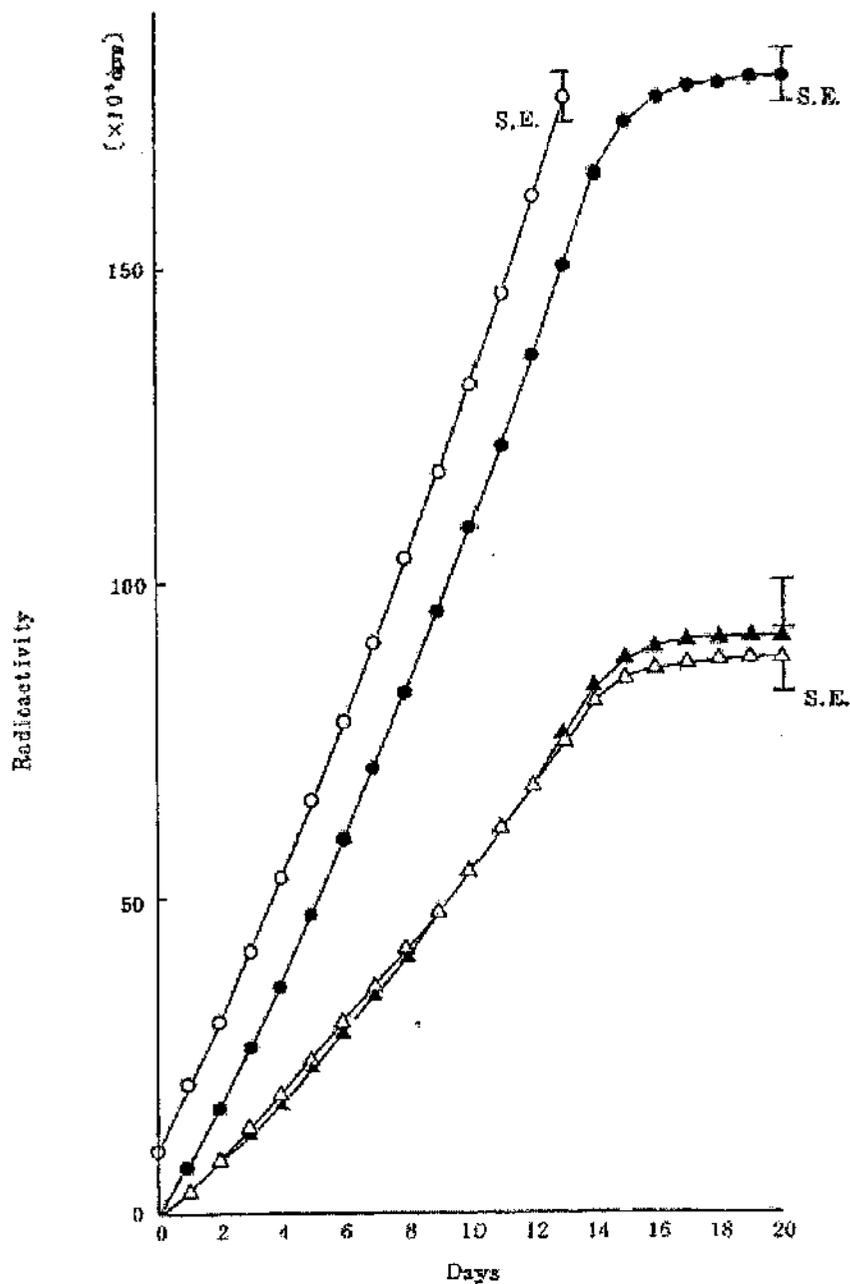


図1 ¹⁴C標識プロモプチドを5mg/kg/日の割合で14日間連続経口投与したS.D.系雄ラットの糞及び尿中¹⁴C排泄量

○：投与¹⁴C量（累積）、●：総排泄¹⁴C量（累積）、
 △：尿中¹⁴C量（累積）、▲：糞中¹⁴C量（累積）
 各5匹の動物の平均値を示している。

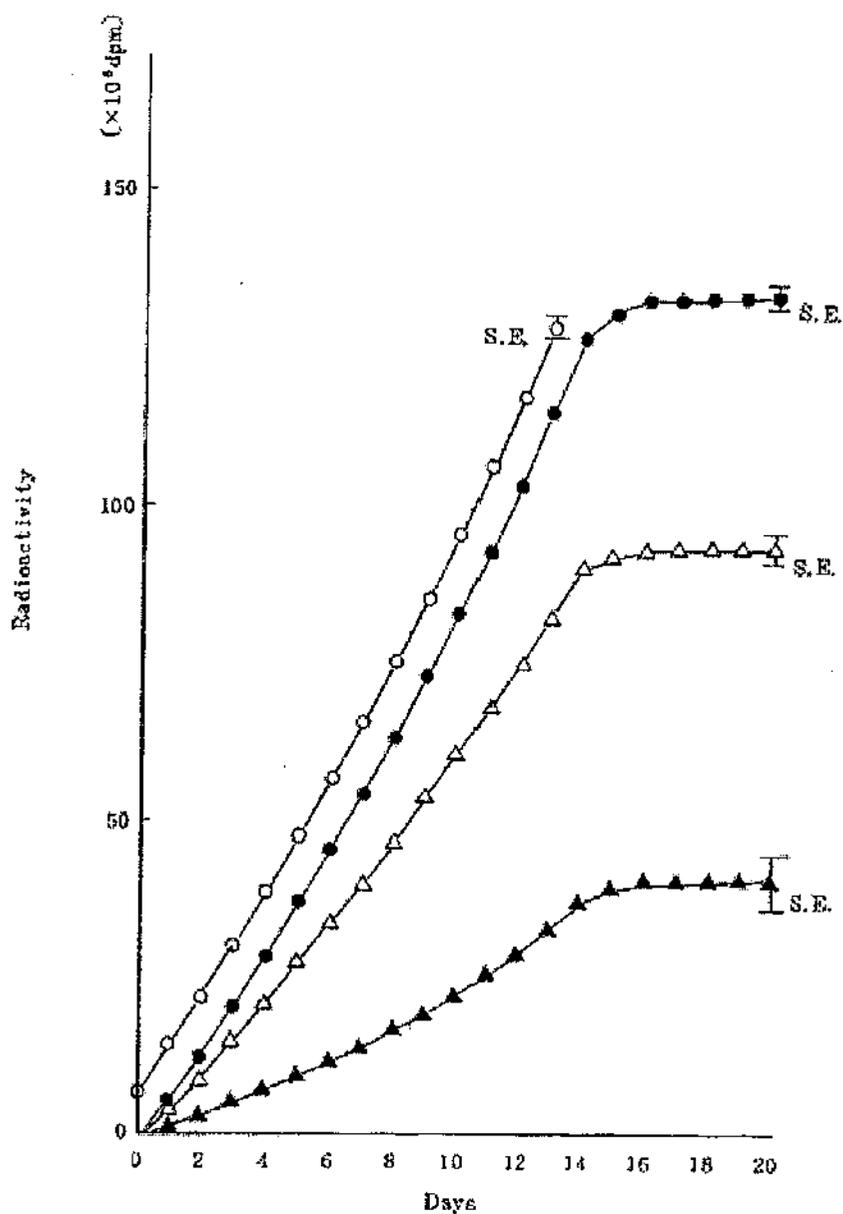


図2 ¹⁴C標識deBr-プロモプチドを5mg/kg/日の割合で14日間連続経口投与したS.D.系雄ラットの糞及び尿中¹⁴C排泄量

○：投与¹⁴C量（累積）、●：総排泄¹⁴C量（累積）、
 △：尿中¹⁴C量（累積）、▲：糞中¹⁴C量（累積）
 各5匹の動物の平均値を示している。

II. 植物における代謝試験

II-1. プロモブチドの水稻における代謝試験

(資料II-1)

試験機関：住友化学工業株式会社農薬事業部

報告書作成年：1982年

供試化合物

化学名：(RS)-2-ブromo-N-(α , α -ジメチルベンジル)-3, 3-ジメチルブチルアミド

	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ CO-プロモブチド
化学構造 (*: 標識位置)		
比放射能 (mCi/mmol)		
放射化学純度 (%)		

供試植物：イネ(金南風)

方法：

試験溶液の調製：各標識体を非標識体標品で希釈し、500 ppmのアセトン原液を作成し、蒸留水で希釈し、5 ppmの処理溶液を調製した。

処理方法：a/5000ワグネルポットに水田土壌を入れ、3葉期のイネを移植、施肥後、あらかじめ調製した5 ppmの¹⁴C-プロモブチド処理溶液を1 L (水深4 cm) 添加し(250g a. i./10a相当；年間最大施用量の1.25倍)、自然光の入る25℃石英ガラス温室内に静置し、収穫期まで栽培した。

分析方法：水田水、土壌は0.5N塩酸を添加後、酢酸エチルで分配抽出し、それぞれ放射能を測定した。その後、抽出層は減圧濃縮し、TLC分析に供した。

イネは根ごと抜きとり、分けつ点で地上部と地下部に分け、それぞれ細砕後、メタノール/クロロホルム(2/1)で抽出し、抽出層と残渣に分け、それぞれ放射能を測定した。その後、抽出層は減圧濃縮し、TLC分析に供した。収穫したモミ米については風乾後、モミがらと玄米に分け、玄米は更に、白米、種皮、胚の部分に分画した。胚および種皮はメタノールで振とう抽出に供し、白米はメタノール/クロロホルム(2/1)、メタノール粉碎抽出後、メタノールにてソックスレー抽出を行った。ろ過により抽出層と残渣に分け、それぞれ放射能を測定した。その後、抽出層は減圧濃縮し、TLC分析に供した。

さらに白米および稲藁については抽出残渣¹⁴Cの更なる化学的特徴付けを行った。白米の澱粉画分に取り込まれた¹⁴CはDMSO/水 (9/1) で抽出後、加水分解により生成したグルコースをグルコースオキサジンに誘導化し、オキシダイザーにて定量した。また、稲藁からNaOHで溶解し再結晶化したものをリグニン画分、その残渣をセルロース画分とし、上記と同様の方法にて¹⁴Cを定量した。

結果：

¹⁴C分布：¹⁴Cのイネへの取り込み量は経時的に増加し、処理90～150日後（収穫時）では添加¹⁴Cの約15%に達し、そのうち地上部に11～12%、地下部に3～4%が分布した。収穫時の¹⁴C濃度は土壌で0.63 ppm、イネ地上部で9.53 ppm、モミがら、種皮、胚で4.1～9.2 ppmであったが、玄米、白米ではそれぞれ1.0～1.2 ppm、0.6～0.7 ppm と他のフラクションにくらべ低かった。（表1）

代謝：プロモブチドは水田水、水田土壌から直接あるいは脱ブロム化を受けた後、吸収され、イネ体全身に分布するが、植物中で*o*-ブチル基、ベンジル位メチル基、フェニル基4位の水酸化、アミド結合の開裂を受けて速かに代謝され、これらは更に糖と抱合体を形成した。なお、DMBz-AmineはPh-¹⁴C-プロモブチド、Br-DMBu-Acidは¹⁴C₀-プロモブチド標識体のみで微量検出されたが、その他の代謝物は両標識体で検出された。

玄米中の主要代謝物は、土壌中で脱ブロム化を受けた後、植物体に吸収された*deBr*-プロモブチドであり、その残留量は親化合物の2.7倍であった。また、4-OH-プロモブチドと*p*-OH-プロモブチドも合計すると親化合物と同程度の残留量を示すが、両化合物は主にグリコシド抱合体としてほぼ等量ずつ存在しており（個々の抱合体の割合は求められなかったものの、酵素処理によりほぼ等量のアグリコンを遊離することを確認している）、親化合物の約1/2相当量が残留していると考えられる。他に微量ではあるが、DMBz-Amine、*N*-2-OH-プロモブチド、*deBr-p*-OH-プロモブチドやそれらの抱合体が検出された。一方、イネの地上部における主要残留物は玄米と同様の傾向が認められ、プロモブチド、*deBr*-プロモブチド、4-OH-プロモブチドと*p*-OH-プロモブチドであった。

また、白米抽出残渣¹⁴Cの91～92%が澱粉、稲藁抽出残渣の¹⁴Cの約2%がセルロース、約42～84%がリグニン画分に取り込まれることが明らかとなった。

植物中のプロモブチドの代謝物分布（表2）および予想代謝経路（図1）を以下に示す。

表1 収穫したもみ米中の¹⁴C残留量

	残留量 (ppm)	
	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ CO-プロモブチド
モミ米		
モミがら		
玄米		
白米		
胚		
種皮		

表2 収穫時におけるプロモブチドと代謝物の残留量(Ph-¹⁴C-プロモブチド)

	残留量: ppm (総残留放射能に対する割合: %TRR)								
	土壌	イネ 地上部	イネ 地下部	モミ米					
				白米	もみがら	種皮	胚	玄米**	
抽出 ¹⁴ C									
プロモブチド									
deBr-プロモブチド									
4-OH-プロモブチド									
p-OH-プロモブチド									
N-2-OH-プロモブチド									
DMBz-Amine									
deBr-p-OH-プロモブチド									
他									
抽出残渣 ¹⁴ C									
全 ¹⁴ C									

* : グリコシド抱合体を含む。

** : 玄米中の重量比から算出した。

図1 プロモブチドの水田土壌-イネ中での代謝分解経路

Ⅲ. 土壌中における代謝分解

Ⅲ-1. プロモブチドの水田土壌中における代謝分解試験

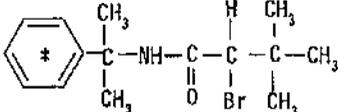
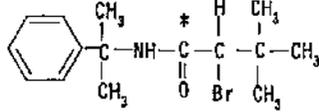
(資料Ⅲ-1)

試験機関：住友化学工業株式会社農薬事業部

報告書作成年：1982年

供試化合物

化学名：(RS)-2-ブromo-N-(α,αジメチルベンジル)-3,3ジメチルブチアミド

	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ CO-プロモブチド
化学構造 (*: 標識位置)		
比放射能 (mCi/mmol)		
放射化学純度 (%)		

供試土壌：岩手壇壤土、茨城砂壤土および安土壇壤土。土壌の物理化学的性質を表1に示した。

試験方法：100ml ビーカーに風乾土のおよそ40gを秤取し、これに、蒸留水を4cmの深さになるよう加え、上部をパラフィルムで包み、25±2℃の暗所で酸化還元電位が+300mV以下の還元状態になるまでインキュベートした。その後、上部の水をデカンテーションにより除き、この水田土壌に、2 μCiの¹⁴CO-プロモブチドもしくはPh-¹⁴C-プロモブチドを含むメタノール溶液100 μlを加え〔乾土当り 2.97 ppm(¹⁴CO-プロモブチド)、3.12 ppm(Ph-¹⁴C-プロモブチド)〕、よくかき混ぜた後、除去した水を戻した。これらの土壌は、アルミ箔で遮光したガラス容器中に静置(25±2℃)し、二酸化炭素を予め除去した空気を50 ml/minの割合で絶えず通気した。揮散した化合物はポリウレタントラップとNaOH水溶液で捕集した。土壌および田面水はあわせてメタノールで抽出した。その後、抽出物と抽出残渣とに分けて放射能を測定後、抽出層は減圧濃縮により溶媒を除去後、水層をジクロロメタンで転溶した。抽出層はTLC分析に供し、内容物の経時変化を調べた。

申請者注：

試験結果：プロモブチドの水田条件土壌中での消失半減期は岩手、安土、茨城土壌で各々25日、34日、54日であり、210日後のPh-¹⁴C-プロモブチドの残留量は各々添加放射エネルギーの0.4-1.7%、0.8-2.3%および0.4-6.1%であった。

プロモブチドの土壌中での主代謝分解物は、いずれの土壌においてもdeBr-プロモブチドであり、処理90日後に、添加放射エネルギーの12.7~38.8%と最高値に達したが、その後、急速に減少し、処理210日後には1.3~8.6%であった。プロモブチドのその他の分解物はt-ブチル基、ベンジル位メチル基の酸化物、あるいはアミド結合の開裂物であり、これらの分解物は試験期間中を通じて添加放射エネルギーの1.2%以下であった。これらの分解物は更にCO₂にまで分解し、その割合は処理210日後に27.3~43.2%に達した(表2-3)。

一方、結合¹⁴Cは土壌、標識位置に関わらずフルボ酸画分への結合が主でその割合は経時的に増加した(表2-3)。

好氣的湛水土壌における予想代謝・分解経路を図1に示した。

表1 供試土壌の特性

土壌名	岩手	茨城	安土
土性	埴壤土	砂壤土	埴壤土
有機物含量 (%)	2.5	6.3	2.4
pH	5.4	5.6	5.1
陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	21.5	36.9	16.7
砂含有量 (%)	36.5	65.3	53.9
シルト含有量 (%)	39.8	27.3	20.2
粘土含有量 (%)	23.7	7.4	25.8
最大飽和容水量 (meq/100g 乾土)	82.7	109.0	91.5

図1. プロモブチドの水田土壌中での代謝分解経路

IV. 水中運命に関する試験

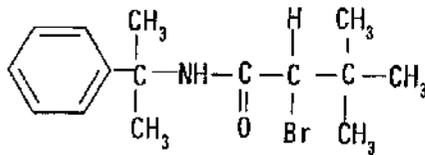
IV-1、2. プロモブチドの加水分解運命試験*

(資料IV-1、2)

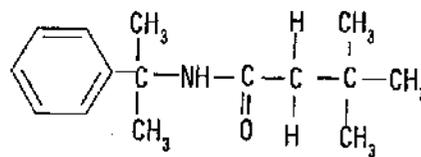
試験施設：株式会社住化分析センター

報告作成年：1992年

供試化合物：プロモブチドおよび deBr-プロモブチド



プロモブチド



(deBr-プロモブチド)

純度：プロモブチド、deBr-プロモブチド

供試緩衝液：各 pH の緩衝液は、以下のとおり調製した。

pH5 緩衝液 0.05M フタル酸水素カリウム水溶液に 1M 水酸化ナトリウムを添加して、pH 調整した。

pH7 緩衝液 0.05M リン酸一カリウム水溶液に 1M 水酸化ナトリウムを添加して、pH 調整した。

pH9 緩衝液 0.05M ホウ酸/0.05M 水酸化カリウム水溶液に 1M 水酸化ナトリウムを添加して、pH 調整した。

試験方法： プロモブチドあるいは deBr-プロモブチドの 50 ppm アセトニトリル溶液 5 mL を 500 mL 三角フラスコ(オートクレーブ滅菌済；120℃、1.2 気圧、15 分)に入れ、アセトニトリルを留去後、滅菌した各緩衝液を 500 mL 加え、30 分間振盪し、供試化合物の濃度が 0.5ppm となるように調製した。

このように調製した試験溶液について、事前に pH に変化がないことを確認した後、密栓して 25℃の暗条件下でインキュベート処理した。

処理後、0、1、2、4 (又は 5)、7、14、21 (又は 24) および 28 (又は 29) 日に試料 20mL を採取した。

採取した各試料は、次のとおり処理し、定量を行った。

*；申請者注：プロモブチドおよび deBr-プロモブチドの加水分解試験を実施した結果 (株式会社住化分析センター、1992 年)、本抄録に示すとおり、pH 5、7、9 の緩衝液での半減期は 1 年以上と推定されたことから、プロモブチドは加水分解的に安定であり、加水分解運命については、当該試験成績で評価可能と考えられた。

ブロモブチド；試料に塩化ナトリウム 1 g、ヘキサン (20 mL × 2 回) を加え、振盪分配 (10 分間 × 2 回) した後、ヘキサン層を無水硫酸ナトリウムを載せた三角ロートにて脱水濾過し、浴温 40℃ 以下でロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮した。濃縮残渣を適量のヘキサンに溶解し、ガスクロマトグラフで定量した。

脱ブロム体；試料に塩化ナトリウム 1 g、ジクロロメタン (20 mL × 2 回) を加え、振盪分配 (10 分間 × 2 回) した後、ジクロロメタン層を無水硫酸ナトリウムを載せた三角ロートにて脱水濾過し、浴温 40℃ 以下でロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮した。濃縮残渣を適量のアセトニトリルに溶解し、高速液体クロマトグラフで定量した。

試験結果： 試験期間中の試験溶液の温度、pH およびプロモブチドあるいは deBr-プロモブチドの分析値を表 1、表 2 に示した。

処理後、pH 5、7、9 で供試化合物の分析値は約 0.5ppm で推移し、処理量に対する残留量は、プロモブチドの場合、処理 29 (又は 28) 日で 100% (pH 5)、113% (pH 7)、100% (pH 9)、deBr-プロモブチドの場合、処理 28 日で 105% (pH 5)、104% (pH 7)、103% (pH 9) であった。

従って、プロモブチドあるいは deBr-プロモブチドの加水分解半減期は、1 年以上であると推定され、両供試化合物は加水分解的に安定であると考えられる (申請者注)。

申請者注：

プロモブチド及び deBr-プロモブチドの処理量に対する残留量および次の一次反応速度式から、各 pH 緩衝液での半減期は 1 年以上であると推定される。

$$\begin{aligned} \text{一次反応速度式} & C/100 = \exp(-k t) \\ \text{半減期} & DT_{50} = (\ln 2)/k \end{aligned}$$

$$\left(\begin{array}{l} \text{処理量に対する残留量の割合： } C (\%) \\ \text{反応速度定数： } k (\text{日}^{-1}) \\ \text{処理後の日数： } t (\text{日}) \\ \text{半減期： } DT_{50} (\text{日}) \end{array} \right)$$

また、OECD111 によれば、「25℃における半減期が 1 年を超える化合物は、加水分解的に安定と考えられる」といわれていることから、プロモブチドは加水分解的に安定であると考えられる。

表1 各緩衝液中のプロモプチドの分析値/経時変化 (設定温度: 25℃)

インキュベーション 期間 (日)	温度 (℃)	pH	分析値 (ppm)		処理量に対する 割合 ^{a)}
			実測値	平均値	
<pH 5>					
0	27	5.00			
1	25	5.01			
2	24	5.01			
5	24	5.01			
7	24	5.02			
14	23	5.02			
24	24	5.02			
28	24	5.01			
<pH 7>					
0	27	6.99			
1	25	6.99			
2	24	7.00			
5	25	6.99			
7	25	6.99			
14	23	7.01			
24	24	7.00			
29	24	6.98			
<pH 9>					
0	27	8.99			
1	25	8.99			
2	24	8.97			
4	24	8.97			
7	24	8.97			
14	22	8.99			
24	24	8.98			
29	24	8.96			

a) : インキュベーション時間 0 日の分析値(平均値)に対する各分析値(平均値)の割合(%)を示す。

表2 各緩衝液中の deBr-プロモプチドの分析値/経時変化 (設定温度: 25°C)

インキュベーション 期間 (日)	温度 (°C)	pH	分析値 (ppm)		処理量に対する 割合 ^{a)}
			実測値	平均値	
<pH 5>					
0	22.1	5.00			
1	23.0	4.99			
2	22.5	5.01			
4	23.2	5.01			
7	21.2	5.02			
14	22.4	5.05			
21	23.5	5.00			
28	22.0	5.00			
<pH 7>					
0	22.4	7.00			
1	23.2	6.99			
2	22.5	6.99			
4	22.7	7.00			
7	21.4	6.96			
14	22.3	7.00			
21	23.4	6.97			
28	22.3	6.98			
<pH 9>					
0	23.2	8.96			
1	24.0	8.96			
2	21.9	8.96			
4	22.6	8.95			
7	21.6	8.95			
14	22.2	8.99			
21	23.9	8.95			
28	22.3	8.95			

a): インキュベーション時間 0 日の分析値(平均値)に対する各分析値(平均値)の割合 (%) を示す。

IV-3. プロモブチドの水中における光分解試験

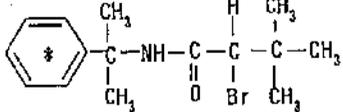
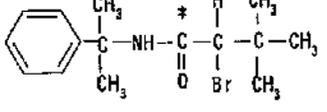
(資料IV-3)

試験機関：住友化学工業株式会社農薬事業部

報告書作成年：1982年

供試化合物

化学名：(RS)-2-ブト-N-(α, α -ジメチルベンジル)-3,3-ジメチルブチアミド

	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ C0-プロモブチド
化学構造 (*: 標識位置)		
比放射能 (mCi/mmol)		
放射化学純度 (%)		

供試水：水田水 (pH 8.3) (住友化学工業株式会社 加西農場 無処理区水田)

海水 (pH 8.0) (兵庫県西宮付近の海)

2%アセトン水

蒸留水

光源：自然太陽光 (宝塚、1981年8月6日から14週間)

光強度：

	太陽光強度 ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)		
	午前10時	正午	午後4時
8月	1010	1640	270
11月	330	390	60

波長測定範囲：300~400nm

試験方法：1L石英製三角フラスコにPh-¹⁴C-プロモブチドあるいは¹⁴C0-プロモブチドのクロロホルム溶液 (500 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1mLを分注し、減圧下溶媒を除去した後、試験供試直前に濾過滅菌した各々の供試水500mlを加えて1mg/Lの試験供試水を調製した。各水溶液は1981年8月6日から1日当たり約8時間の割合で太陽光に当てた。光分解期間中、水面上には二酸化炭素を除去した空気を約100 mL/minの割合で絶えず通気し、揮散した化合物はポリウレタンフォームと水酸化ナトリウム水溶液で捕集した。さらに、試料採取時にHClで¹⁴CO₂を除去した水溶液は、酢酸エチル抽出物と抽出残渣に分けて経時変化を調べた。なお、フラスコをアルミホイルで遮光したものを暗条件の対照とした。

試験結果：プロモブチドの水中での光分解半減期は蒸留水、水田水、海水中で約11~13週

であり、自然水に光増感物質が存在することを想定した2%アセトン水中で1.3週間であった¹。プロモブチドは太陽光により主に脱ブロム化を受け、その他に

フェニル基の水酸化、ベンジル位メチル基の酸化、*t*-ブチル基の酸化、ベンジル位α炭素-窒素結合の開裂、酸アミド結合の開裂、末端メチル基の水素引抜き、あるいはこれらの組み合わせにより、20個以上の光分解物を生成し、これらは更に¹⁴C₂まで完全分解された。なお、試験期間中処理量の10%を越える分解物は検出されなかった(表1および2及び図1*)。

申請者注)

* : 東京春換算半減期について

OECDドラフトガイドライン (Phototransformation of Chemicals on Soil Surfaces, January 2002) 記載の通り正午の太陽光強度の75%の12時間照射が1日の照射量に等しいとして、前記の8月及び11月の正午の太陽光強度の実測値の平均値を用いて東京春換算の半減期を計算した。結果は以下の通りであった。

	半減期(週)	
	試験結果	東京春換算
蒸留水	約13	約6
海水	約12	約6
水田水	約11	約5
2%アセトン水	1.3	0.6

** : deBr-Ac-プロモブチド、deBr-AcMe-プロモブチド、deBr-deBu-Ac-プロモブチドは光増感作用のある2%アセトン水溶液でのみ認められており、自然水では認められていないことから、自然環境中では生成し難いと考えられるため、図1への記載は省略した。

表1 Ph-¹⁴C-プロモブチド及び¹⁴C0-プロモブチドの太陽光照射条件下での蒸留水、2%アセトン水中における分解物の割合
添加放射能に対する割合(%)

	処理後の経過週数			
	2	10	14	2%アセトン水
揮散 ¹⁴ C				
¹⁴ CO ₂				
Others				
Polyurethane trap				
抽出 ¹⁴ C				
プロモブチド				
N-2-OH-プロモブチド				
N-1-COOH-プロモブチド				
4-OH-プロモブチド				
3-COOH-プロモブチド				
p-OH-プロモブチド				
deBr-プロモブチド				
deBr-N-2-OH-プロモブチド				
deBr-N-1-COOH-プロモブチド				
deBr-4-OH-プロモブチド				
deBr-3-COOH-プロモブチド				
deBr-p-OH-プロモブチド				
2-OH-4-OH-プロモブチド				
2-OH-3-COOH-プロモブチド				
deBr-Cyclo-プロモブチド				
deBr-Ac-プロモブチド				
deBr-AcMa-プロモブチド				
deBr-deBu-Ac-プロモブチド				
DMBz-Amine				
COOH-DMBz-Amine				
Br-DMBu-Amide				
DMBu-Amide				
Br-DMBu-Acid				
DMBu-Acid				
PP1				
PP2				
Others				
残渣 ¹⁴ C				
全 ¹⁴ C	2	10	14	8
	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ C0-プロモブチド	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ C0-プロモブチド
	2	2	1	1
	10	10	8	8
	14	14		

表2 Ph-¹⁴C-プロモブチド及び¹⁴CO-プロモブチドの太陽光照射条件下での水田水、海水における分解物の割合

	添加放射能に対する割合(%)					
	処理後の経過回数					
	水田水		海水		海水	
	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ CO-プロモブチド	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ CO-プロモブチド	Ph- ¹⁴ C-プロモブチド	¹⁴ CO-プロモブチド
揮散 ¹⁴ C	2	10	14	2	10	14
¹⁴ CO ₂						
Others						
Polyurethane trap						
抽出 ¹⁴ C						
プロモブチド						
N-2-OH-プロモブチド						
N-1-COOH-プロモブチド						
4-OH-プロモブチド						
3-COOH-プロモブチド						
p-OH-プロモブチド						
deBr-プロモブチド						
deBr-N-2-OH-プロモブチド						
deBr-N-1-COOH-プロモブチド						
deBr-4-OH-プロモブチド						
deBr-3-COOH-プロモブチド						
deBr-p-OH-プロモブチド						
2-OH-4-OH-プロモブチド						
2-OH-3-COOH-プロモブチド						
deBr-Cyclo-プロモブチド						
deBr-Ac-プロモブチド						
deBr-AcMe-プロモブチド						
deBr-deBu-Ac-プロモブチド						
DMBz-Amine						
COOH-DMBz-Amine						
Br-DMBu-Arnide						
DMBu-Arnide						
Br-DMBu-Acid						
DMBu-Acid						
PP1						
PP2						
Others						
残渣 ¹⁴ C						
全 ¹⁴ C	2	10	14	2	10	14

図1 プロモブチドの蒸留水、水田水、海中における光分解経路

V. 土壌吸着性およびリーチング

V-1. プロモブチドの土壌吸着/脱着試験

(資料 No. V-1)

試験機関：PTRL West, Inc.

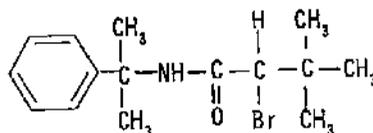
[GLP 対応]

報告書作成年：2002 年

供試化合物：プロモブチド

化学名：(RS)-2-ブトキシ-N-(α,α-ジメチルベンジル)-3,3-ジメチルプロパミド

化学構造：



純度：

供試土壌： 下表の4種類の土壌を使用した。

表1 供試土壌の特性

土壌番号	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20
採取場所	高知	北海道	和歌山	宮崎
土壌群名	灰色低地土	淡色黒ボク土壌	灰色低地土	砂丘未熟土
土性	軽埴土	壤土	軽埴土	砂土
有機炭素含有率	1.24	2.45	2.17	0.96
pH(CaCl ₂)	5.2	4.7	4.7	4.6
陽イオン交換容量	9.8	12.0	14.3	6.4
リン酸吸収係数	500	1470	610	510
粘土含有量	26.4	14.6	35.1	4.7
粘土鉱物の種類	クロライト イライト	アロフェン パーミキュライト	カオリン パーミキュライト	アロフェン ハロイサイト
土壌の種類*	鉱質	火山灰	鉱質	鉱質
OECD分類*	ほぼ3	ほぼ4	該当せず	5

*：申請者が分類した。

試験方法：

[試験溶液の作成]

1 ppmの0.01 M 塩化カルシウム(CaCl₂)水溶液を調製した。

[平衡化時間]

遠沈管内にNo. 8 (高知) およびNo. 16 (和歌山) の各試験土壌5gを量り取り、その後、上記試験溶液35 mlを加えて4、6、24および48時間、恒温室(25℃、遮光下)内で振盪した。各所定時間後、試料を取り出し5000rpmで5分間遠心分離を行い、

上澄液の5mlを分取し、ジクロロメタン抽出後、ガスクロマトグラフィー(GC-NPD)分析に供し、プロモブチド濃度を求めた。

[高次試験]

試験溶液の作成：0.05、0.10、0.25、0.5 および 1.0ppm の濃度の 0.01 M 塩化カルシウム (CaCl_2) 水溶液を調製した。

吸着および脱着操作および分析方法： 遠沈管内に各試験土壌 5g を量り取り、その後、上記試験溶液 35ml を加えて 48 時間、恒温室 (25℃、遮光下) 内で振盪した。所定時間後、試料を取り出し 5000rpm で 5 分間遠心分離を行い、上澄液をデカンテーション法により分離した後、その 5ml を分取し、ジクロロメタンで抽出した。ジクロロメタン層は減圧濃縮後、ガスクロマトグラフィー(GC-NPD)で定量してプロモブチドの水層濃度を求めた。その後の脱着過程では、分離した水層と同体積の新しい 0.01 M CaCl_2 を添加し、吸着過程と同様に操作した。脱着操作終了後、土壌はメタノール/水 (2/1) で抽出後、抽出層をジクロロメタンで転溶した。ジクロロメタン層は減圧濃縮後、ガスクロマトグラフィー(GC-NPD)で定量してプロモブチドの土壌中濃度を求めた。

結 果：

[平衡化試験]

平衡化試験におけるプロモブチドの土壌への吸着割合の経時変化を表 1 に示す。土壌/溶液比を 1:7 とした際に、処理量の 20 から 80%の範囲の適した吸着を得られた。振盪 48 時間後に平衡に達しなかったが、OECD ガイドライン 106 に最大平衡化時間を 48 時間と規定しており、また長時間の平衡化により被験物質が分解する可能性があるため、吸着および脱着平衡化時間を 48 時間とした。

表1 平衡化試験の結果

土壌	振盪時間 (hr)	土壌へのプロモプチドの吸着割合 (%)		変化率 (%) [*]
		実測値	平均値	
No. 8 (高知)	4	31.9, 38.9	35.4	—
	6	22.8, 29.9	26.4	25.4
	24	18.5, 11.1	14.8	43.9
	48	35.6, 40.6, 25.2, 28.2 31.9, 34.6, 25.5, 22.1	30.5	-106.1
No. 11 (北海道)	4	18.3, 24.2	21.3	—
	6	21.4, 27.0	24.2	-13.6
	24	30.7, 30.1	30.4	-25.6
	48	32.3, 37.0, 33.9, 32.9 33.9, 38.8, 35.7, 33.5	34.8	-14.5
No. 16 (和歌山)	4	46.3, 49.7	48.0	—
	6	39.6, 41.9	40.8	15.0
	24	30.9, 38.6	34.8	14.7
	48	42.6, 43.3, 45.3, 41.3 44.3, 41.3, 49.3, 39.6	43.4	-24.7
No. 20 (宮崎)	4	21.1, 14.6	17.9	—
	6	18.0, 15.5	16.8	6.1
	24	16.1, 15.8	16.0	4.8
	48	25.5, 30.7, 30.1, 21.4 22.0, 16.1, 35.7, 20.5	25.3	-58.1

* : 変化率 = ((n-1 回時の吸着割合) - (n 回時の吸着割合)) / (n-1 回時の吸着割合)

[高次試験]

プロモプチドの Freundlich 係数を表 2 に、また平衡時の物質収支を表 3 に示した。プロモプチドの土壌への吸着および脱着は Freundlich 式によく適合し、吸着係数および有機炭素吸着係数はそれぞれ 1.6~4.7 および 163~306、脱着係数および有機炭素脱着係数はそれぞれ 11~140 および 507~5714 であった。

表 2 吸脱着試験結果

供試土壌	吸着				脱着			
	K ¹⁾	Koc ²⁾	1/n ¹⁾	r ^{2 1)}	K ¹⁾	Koc ²⁾	1/n ¹⁾	r ^{2 1)}
土壌番号 8	3.8	306	1.064	0.951	64	5161	1.536	0.851
土壌番号 11	4.0	163	1.148	0.920	140	5714	1.758	0.935
土壌番号 16	4.7	217	0.9218	0.978	11	507	1.006	0.943
土壌番号 20	1.6	167	0.9269	0.878	15	1563	1.078	0.926

- 1) Freundlich の等温式による定数項と相関係数
- 2) K 値を各土壌の有機炭素含有率で割り求めた有機炭素吸着および脱着係数
有機炭素含有率は表 1 に示す。

表3 物質収支

処理濃度 (µg/mL)	1.0				0.5				0.25			
土壌番号	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20
吸着溶液	57.5	59.6	55.8	80.9	61.6	62.6	49.4	65.5	56.7	49.4	45.5	67.5
脱着溶液	17.9	19.7	29.4	18.2	16.1	12.6	17.3	11.6	16.0	20.8	22.5	14.7
脱着後の土壌	4.9	5.3	11.0	1.8	10.6	10.5	20.3	3.7	12.6	13.4	21.7	3.9
合計	80.2	84.6	96.2	92.9	88.3	85.7	87.0	80.8	85.3	83.6	89.7	86.1
合計の平均値±SD	88.5±7.7				85.6±4.7				86.2±4.8			

処理濃度 (µg/mL)	0.10				0.05			
土壌番号	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20	No. 8	No. 11	No. 16	No. 20
吸着溶液	69.9	69.9	51.6	77.4	58.6	66.7	48.4	72.6
脱着溶液	21.8	19.7	22.7	12.4	21.0	21.4	20.0	12.0
脱着後の土壌	11.4	10.8	25.3	8.5	10.2	10.0	31.6	8.8
合計	103.1	100.4	99.6	98.3	89.8	98.1	100.0	93.4
合計の平均値±SD	100.3±4.8				95.0±7.3			

表中の数値は3連の平均値を表す。(ただし濃度 0.5 µg/mL の土壌番号 11 および濃度 0.05 µg/mL の土壌番号 18 については2連の平均値)
 処理濃度 1.0 µg/mL の脱着溶液の値は2回の脱着の合計値(土壌番号 20 については1回目みの値)

吸着 Koc 値からプロモブチドは試験に使用した土壌において中程度の移行性を示すと予測された。脱着 Koc 値が吸着 Koc 値より高値を示すことから、土壌に一度吸着したプロモブチドは水によって容易に脱着されないかまたはこれらの土壌から水により容易にリーチングしないことが示唆された。

V-2. プロモプチドの水田土壌におけるリーチング試験

(資料V-2)

試験機関：住友化学工業株式会社宝塚総合研究所

報告書作成年：1984年

供試化合物

化学名：(RS)-2-7'- $\text{Et-N}(\alpha, \alpha\text{-ジメチルベンジル})\text{-3, 3-ジメチルプロピト}$

化学構造 (*: 標識位置)	^{14}C -プロモプチド
比放射能 (mCi/mmol)	
放射化学純度 (%)	

供試土壌： 岩手埴壤土および茨城砂壤土。土壌の物理化学的性質を表1に示した。

表1 供試土壌の特性

土壌名	岩手	茨城
土性	埴壤土	砂壤土
有機物含量 (%)	2.5	6.3
pH	5.4	5.6
陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	21.5	36.9
砂含有量 (%)	36.9	65.3
シルト含有量 (%)	39.8	27.3
粘土含有量 (%)	23.7	7.4
最大飽和容水量 (meq/100g 乾土)	82.7	109.0

試験方法：風乾後2mmの篩を通した茨城土壌(107.5 g)、岩手土壌(119.5 g)を直径30 mm ×長さ400 mmのガラス製カラム中に詰め、高さ250 mmの土壌カラムを調製した。この土壌カラムに蒸留水を加えて湛水し、25±2℃で7日間水田条件に保った。一方、酸化還元電位が+300 mV以下の還元状態になるまで25±2℃でブレインキュベートした茨城土壌(乾土当り21.5 g)と岩手土壌(乾土当り23.9 g)に、 ^{14}C -プロモプチドのメタノール溶液100 μl (乾土当り3 ppm)を処理してよくかきまぜた後、これを調製した土壌カラム上に添加した。この土壌カラムをアルミホイルで遮光した後、マイクロポンプを用いて土壌カラム上に絶えず1.5 ml/hrの速度で蒸留水1L^hを4週間にわたって滴下した。滴下後、ガラスカラムから土壌を抜きとり処理土壌を分離後、残りの土壌カラムを5 cmごとに5等分した。土壌はメタノールで、溶出液は塩酸酸性にした後、酢酸エチルで抽出した。抽出物と抽出残渣とに分けて放射能を測定後、それぞれの抽出層は

減圧濃縮により溶媒を除去後、TLC分析に供し、内容物の経時変化を調べた。

試験結果：プロモブチドの畑土壌を用いたリーチング試験の結果、茨城土壌および岩手土壌ともに¹⁴Cは処理部より下層へ移行し、各々添加¹⁴Cの21.5%および39.4%が土壌カラムより溶出した。茨城土壌の場合、溶出液中に未変化のプロモブチドとdeBr-プロモブチドが各々11.2%、8.7%検出されたのに対し、岩手土壌の場合にはdeBr-プロモブチドが35.9%を占め、未変化のプロモブチドは0.5%であった。その他に、プロモブチドおよびdeBr-プロモブチドの α -ブチル基がカルボン酸に酸化された分解物（3-COOH-プロモブチド、deBr-3-COOH-プロモブチド）やアミド結合の加水分解物（Br-DMBu-Acid）がわずかに認められた。

* 申請者注：この滴下量は約1400 mmに相当し、この量は日本における年間地下水流出量(400 mm, 出典：地下水ハンドブック編集委員会編、地下水ハンドブック(1989))の約3.5倍に相当する。

表1 土壌カラムおよび溶出海中のプロモブチドと分解物の割合(茨城土壌)

	添加 ¹⁴ Cに対する割合(%)						
	土壌カラム						
	処理部	0~5cm	5~10cm	10~15cm	15~20cm	20~25cm	溶出液
抽出 ¹⁴ C							
プロモブチド							
diBr-プロモブチド							
3-COOH-プロモブチド							
deBr-3-COOH-プロモブチド							
Br-DMBu-Acid							
その他							
残渣 ¹⁴ C							
全 ¹⁴ C							

表2 土壌カラムおよび溶出液中のプロモブチドと分解物の割合(岩手土壌)

	添加 ¹⁴ Cに対する割合(%)						
	土壌カラム						
	処理部	0~5cm	5~10cm	10~15cm	15~20cm	20~25cm	溶出液
抽出 ¹⁴ C							
プロモブチド							
deBr-プロモブチド							
3-COOH-プロモブチド							
deBr-3-COOH-プロモブチド							
Br-DMBu-Acid							
その他							
残渣 ¹⁴ C							
全 ¹⁴ C							

プロモブチドの動植物および土壌における代謝分解のまとめ

プロモブチドの哺乳動物、植物および土壌による代謝・分解は下記の通りであり、予想代謝経路を図1に、また、結果の概要は添付の表にまとめた。

哺乳動物：

フェニル基あるいはカルボニル基の炭素を ^{14}C で標識したプロモブチドを用いて、ラットおよびマウスにおけるプロモブチドの体内動態を調べた。プロモブチドは、いずれの動物種においても、速やかに吸収、代謝され、投与した放射能は投与後7日間でほぼ定量的に、糞及び尿経路で体外へと排泄された。投与した放射能の器官・組織中における残留量は少なく、投与7日後における器官・組織中 ^{14}C 残留量は 1g 器官・組織あたり $0.2\mu\text{g}$ プロモブチド相当量以下であった。プロモブチドの哺乳動物における主要な代謝反応は、脱ブロム化、フェニル基の水酸化、*o*-ブチル基の酸化、及び、それらのグルクロン酸抱合化であった。

植物：

水稲

3葉期の水稲を移植したポットの田面水にフェニル基あるいはカルボニル基の炭素を ^{14}C で標識したプロモブチドを処理 (5 ppm) した結果、収穫期の白米、玄米およびイネ地上部(稲わら)での ^{14}C 濃度はそれぞれ 0.6~0.7、1.0~1.2 および 9.5 ppm であった。白米、玄米および稲わらにおける主要残留物はいずれの試料においても未変化体であるプロモブチド [9.2~19.2%総放射能残留量 (TRR)], deBr-プロモブチド (20.5~30.8%TRR)ならびに 4-OH-プロモブチド/*p*-OH-プロモブチドおよびその糖抱合体 (9.2~16.3%TRR) であった。

以上の結果、田面水に処理したプロモブチドあるいは田面水および土壌中の微生物等により脱ブロム化された deBr-プロモブチドが、植物中で *o*-ブチル基、ベンジル位メチル基およびフェニル基 4 位に於ける水酸化 (4-OH-プロモブチド、*p*-OH-プロモブチド、*N*-2-OH-プロモブチド)、ならびにアミド結合の開裂 (DMBz-Amine、Br-DMBz-Acid) により速やかに代謝され、これら代謝分解物はさらに糖抱合体を生成することが示唆された。また、白米および稲わらの抽出残渣で認められた ^{14}C の大分分はそれぞれデンプンおよびリグニン画分に取り込まれることも明らかとなった。

土壌：

水田土壌中における代謝分解試験

岩手土壌 (埴壤土)、茨城土壌 (砂壤土) および安土土壌 (埴壤土) にフェニル基あるいはカルボニル基の炭素を ^{14}C で標識したプロモブチドを乾土あたり約 3 ppm の割合で添加し水田条件下での代謝分解試験を実施した結果、プロモブチドは比較的速やかに消失し、そ

の半減期は 25～54 日であった。また、試験期間中に処理量の 10%を超えて生成した主要代謝分解物は deBr-プロモブチドのみであった。

プロモブチドの水田状態における主要代謝分解経路は脱ブロム化 (deBr-プロモブチド) であり、その他に同定された代謝分解物から 1-ブチル基、ベンジル位メチル基の酸化 (3-COOH-プロモブチド、*N*-2-OH-プロモブチド、deBr-3-COOH-プロモブチド)、あるいはアミド結合の開裂 (DMBz-Amine、Br-DMBu-Acid) が示唆された。これら生成した代謝分解物も、最終的に二酸化炭素にまで無機化されるか、あるいは土壤に強固に吸着することが明らかとなった。

水中運命：

プロモブチドおよび水田状態の土壤中における主要代謝分解物、deBr-プロモブチドは、加水分解 (25℃) に対して非常に安定であり、その半減期は 1 年以上であると推定された。一方、プロモブチドの水中での太陽光下における半減期は蒸留水、水田水および海水で 11～13 週、2%アセトン水中で 1.3 週間であった。なお、試験期間中種々の分解物を生成したが 10%を超えて生成する分解物はなく、これら分解物も最終的には二酸化炭素にまで無機化されることが明らかとなった。

図1 プロモブチドの動植物および土壌における代謝分解経路

丸印は主代謝分解経路を示す。

M：哺乳動物、P：植物、S：土壌、L：太陽光線

[]は推定物質

