

カフェンストロールのラットにおける分布ならびに胎児移行

(資料代謝 NO.2)

試験機関 中外製薬株式会社
第一化学薬品株式会社
報告書作成年 1994年

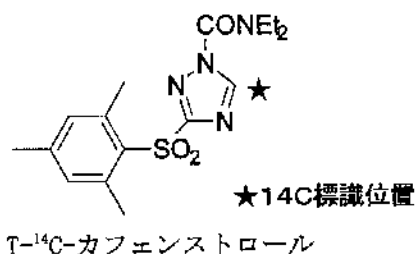
供試標識化合物

1) T-¹⁴C-カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル) [5-¹⁴C]-1,2,4-
トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4(非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置設定理由：

供試標識化合物の合成法：

供試動物

1) ラット (Jcl : SD、各々1群4匹)

- ・雄：5週齢(159~182g)、6週齢(211~220g)、7週齢(250~263g)、8週齢(251~300g)
- ・雌：8週齢(181~189g)
- ・妊娠12日目(241~280g)および19日目(299~388g)

方法

1) 投与液の調製および投与方法

T-¹⁴C-カフェンストロールの投与液は5%HPC-L懸濁液とし、経口ゾンデを用いて胃内に投与した。

2) 定量法

各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンターで計測した。

3) 組織内分布 (MARG 法)

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与し、放射能の組織内分布を全身オートラジオグラフィ (MARG) により検討した。

4) 組織内分布 (組織摘出法)

(1) 単回および反復経口投与

雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を 1 日 1 回、21 日間にわたって反復経口投与し、1 回、7 回、14 回および 21 回投与後、それぞれ所定の時間に下記に示す各組織を摘出し、放射能の組織内分布について検討した。

[摘出組織]

血液、大脳、小脳、延髄、下垂体、脊髄、眼球、ハーダー腺、甲状腺、舌、顎下腺、気管、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、腸間膜リンパ節、白色脂肪、褐色脂肪、骨格筋、皮膚、骨、骨髄、大動脈、坐骨神経、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、膀胱、胃、十二指腸、空腸、回腸上部、回腸下部、盲腸、結腸および各消化管内容物

(2) 妊娠 12 日目、19 日目ラット

妊娠 12 日目および 19 日目のラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与し、所定の時間に下記に示す母体および胎児の組織を摘出し、放射能の組織内分布について検討した。

[摘出組織]

血液、脳、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、子宮、卵巣、胎盤、胎児、卵黄嚢液¹⁾、羊水²⁾、羊膜²⁾、胎児血液²⁾、胎児脳²⁾、胎児心臓²⁾、胎児肺²⁾、胎児肝臓²⁾、胎児腎臓²⁾

注 1) 妊娠 12 日目、2) 妊娠 19 日目

結果

1) 組織内分布 (摘出法)

(1) 単回経口投与

雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与した時の各組織中放射能濃度と、血漿中放射能濃度に対する各組織中放射能濃度比 (以下 T/P 比) を併せて表 1. に示した。

血漿中放射能濃度は、投与後 4 時間に最高値 64.37 μ g eq./ml を示した後、比較的速やかに減少し、投与後 24 時間には 1.43 μ g eq./ml と、最高値の 2.2% となった。全血中放射能の T/P 比は投与後いずれの時点においても約 0.6 であり、血球への移行性は低いものと考えられた。消化管を除いた各組織中放射能濃度は、血漿の場合と同様、投与後 4 時間に最高値を示したものの、いずれも、T/P 比が 1 以下であった。また、大半の組織中放射能濃度推移は、血漿中放射能濃度推移と類似した消失パターンを示し、24 時間後において、T/P 比が 1 以上の組織は副腎のみであった。

放射能の組織分布率 (組織中放射能/投与放射能 \times 100) (表 2.) でみると、T-¹⁴C-カフェンスト

ロールの消化管吸収を反映して、胃から結腸までの消化管内容物中には、投与後 0.5、4、8 時間のそれぞれにおいて、投与放射能の 91.55%、48.53%、25.23%が認められ、時間の経過とともに減少した。投与 24 時間後の消化管内容物中には 2.21%と更に少なく、ほとんどが尿中および糞中に排泄され、それぞれ投与放射能の 69.9%および 28.5%の排泄率であった。ほとんどの組織で最高放射能濃度を示した投与 4 時間後で、1%以上の分布率が認められた組織は、骨格筋、皮膚、全血および肝臓であり、それぞれ 7.06%、5.96%、5.25%および 1.87%であった。投与 24 時間後、すべての組織での分布率は減少し、0.2%以下となった。

(2) 反復経口投与

雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を 1 日 1 回、21 日間にわたって反復経口投与し、初回、7 回、14 回および 21 回投与後、各 24 時間後の組織中放射能濃度と T/P 比を併せて表 3. に、また 21 回経口投与後の経時的な組織中放射能濃度と T/P 比を併せて表 4. に示した。

1 回から 21 回投与後 24 時間の各組織中放射能濃度はほぼ一定の値を示した。21 回反復投与時の各投与後 24 時間までの尿中、糞中排泄量は各投与量のほぼ 100%に達しており組織への蓄積性は低いものと考えられた。

21 日間反復経口投与した時の血漿中放射能濃度は、投与後 4 時間に最高値 44.52 μg eq./ml を示し、24 時間後では 1.72 μg eq./ml であり、いずれの時点においても単回投与時の場合とほぼ同様であった。組織中放射能濃度は、投与 4 時間後あるいは 8 時間後に最高値を示したものの、いずれの測定時点でも、ほとんどの組織の T/P 比は単回投与時の場合とほぼ同様であったことから、反復投与においても組織への分布特性は変わらないものと考えられた。

2) 組織内分布 (MARG 法)

全身オートラジオグラフィの結果は、上述の組織摘出法による結果と良く一致していた。また、雌性ラットの場合、子宮および卵巣に全血と同程度の放射能の分布が認められた以外、他の組織への放射能の分布パターンは雄性ラットの場合と類似していた。

3) 胎児移行性

妊娠 12 日目および 19 日目のラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与した時の母体組織および胎児中の放射能濃度と T/P 比を表 5., 6. に示した。

投与後、いずれのラットあるいは、いずれの測定時点においても組織中放射能濃度は、母体血漿が最も高く、また、母体の主要組織および胎児で投与 4 時間後に最高値を示した。この時、妊娠 12 日目ラットの場合、子宮、卵巣および胎盤にも放射能が認められ、T/P 比はそれぞれ 0.36、0.21 および 0.19 であり、妊娠 19 日目ラットの場合は、それぞれ 0.35、0.25 および 0.28 であった。

母体血漿中放射能濃度に対する胎児中放射能濃度の比は、いずれの測定時点においても、妊娠 12 日目ラットの場合 0.04 以下、妊娠 19 日目ラットの場合 0.18 以下と低く、胎児への放射能の移行は低いものと考えられた。

妊娠 12 日目および 19 日目ラットのいずれにおいても、母体組織中および胎児中放射能濃度推移は、血漿中の場合と同様な推移で減少した。

表 1. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度(μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	21.93(1.00)*	64.37(1.00)	42.44(1.00)	1.43(1.00)
血 液	13.22(0.60)	37.40(0.58)	25.14(0.59)	0.86(0.60)
眼 球	0.75(0.03)	3.32(0.05)	2.32(0.05)	0.19(0.13)
ハーダー腺	3.18(0.15)	10.76(0.17)	6.89(0.16)	0.30(0.21)
舌	4.84(0.22)	16.29(0.25)	10.52(0.25)	0.43(0.30)
顎下腺	4.09(0.19)	11.70(0.18)	7.45(0.18)	0.24(0.17)
心 臓	6.97(0.32)	20.64(0.32)	13.57(0.32)	0.61(0.43)
肺	4.14(0.19)	15.35(0.24)	9.23(0.22)	0.37(0.26)
肝 臓	8.43(0.38)	18.63(0.29)	16.18(0.38)	0.87(0.61)
腎 臓	23.05(1.05)	28.41(0.44)	14.24(0.34)	0.95(0.66)
副 腎	7.68(0.35)	14.71(0.23)	11.08(0.26)	1.92(1.34)
膝 臓	2.67(0.12)	7.71(0.12)	4.19(0.10)	0.17(0.12)
腸間膜リンパ節	3.38(0.15)	10.98(0.17)	6.10(0.14)	0.25(0.17)
褐色脂肪	4.15(0.19)	12.70(0.20)	8.73(0.21)	0.30(0.21)
皮 膚	3.63(0.17)	12.35(0.19)	7.91(0.19)	0.39(0.27)
骨	1.12(0.05)	3.54(0.05)	2.17(0.05)	0.18(0.13)
精 巣	1.04(0.05)	8.58(0.13)	6.99(0.16)	0.29(0.20)
精巣上部	2.19(0.10)	10.93(0.17)	8.46(0.20)	0.36(0.25)
精 囊	1.30(0.06)	6.26(0.10)	4.31(0.10)	0.15(0.10)
前立腺	2.02(0.09)	9.95(0.15)	5.45(0.13)	0.18(0.13)
膀 胱	19.95(0.91)	50.95(0.79)	25.01(0.59)	0.74(0.52)
胃	48.73(2.22)	31.23(0.49)	7.52(0.18)	0.25(0.17)
空 腸	12.73(0.58)	18.40(0.29)	6.46(0.15)	0.31(0.22)
回腸上部	2.92(0.13)	28.22(0.44)	9.22(0.22)	0.62(0.43)
回腸下部	1.53(0.07)	26.42(0.41)	14.72(0.35)	1.24(0.87)
盲 腸	2.10(0.10)	14.44(0.22)	44.40(1.05)	4.15(2.90)
結 腸	1.74(0.08)	7.20(0.11)	27.88(0.66)	4.23(2.96)

注) 投与 24 時間後の放射能濃度が検出限界以下の組織については省略
数値は 4 例の平均値

*: 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 2. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストール 50mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能分布率

組 織	投与量に対する百分率(%)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 液	1.85	5.25	3.53	0.12
心 臓	0.05	0.13	0.09	0.00
肺	0.03	0.14	0.09	0.00
肝 臓	0.93	1.87	1.55	0.10
腎 臓	0.46	0.57	0.27	0.02
白色脂肪	0.12	0.33	0.24	0.00
骨格筋	2.12	7.06	4.55	0.00
皮 膚	1.75	5.96	3.81	0.20
精 巢	0.02	0.19	0.15	0.01
胃	0.42	0.32	0.07	0.00
空 腸	0.19	0.32	0.09	0.00
回腸上部	0.03	0.24	0.08	0.01
回腸下部	0.02	0.28	0.14	0.01
盲 腸	0.01	0.10	0.31	0.03
結 腸	0.02	0.09	0.33	0.05
胃内容物	77.11	22.01	0.80	0.00
十二指腸内容物	0.40	0.24	0.00	0.00
空腸内容物	13.63	6.66	1.06	0.00
回腸上部の内容物	0.41	8.86	1.59	0.00
回腸下部の内容物	0.00	7.96	3.34	0.29
盲腸内容物	0.00	2.60	8.72	0.88
結腸内容物	0.00	0.20	9.72	1.04
残 骸	5.9	17.1	12.0	0.8
尿	1.9	17.7	49.9	69.9
糞	0.0	0.0	0.1	28.5

注) 投与後 24 時間までの全ての測定時点で分布率が 0.10%以下の組織については省略
 数値は 4 例の平均値、血液、骨格筋、脂肪および皮膚の重量はそれぞれ体重の 6.4%、
 40%、5%および 22%とした。

表 3. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストール 50mg/kg を反復経口投与後 24 時間の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度(μg eq./g or ml)			
	1 回投与	7 回投与	14 回投与	21 回投与
血 漿	1.43(1.00)*	1.46(1.00)	0.73(1.00)	1.72(1.00)
血 液	0.86(0.60)	0.90(0.62)	0.50(0.68)	1.02(0.59)
眼 球	0.19(0.13)	0.42(0.29)	0.30(0.41)	0.36(0.21)
ハーパー腺	0.30(0.21)	0.37(0.25)	0.32(0.44)	0.38(0.22)
舌	0.43(0.30)	0.49(0.34)	0.67(0.92)	0.50(0.29)
顎下腺	0.24(0.17)	0.38(0.26)	0.18(0.25)	0.43(0.25)
胸 腺	N.D	N.D	0.16(0.22)	0.28(0.16)
心 臓	0.61(0.43)	0.66(0.38)	N.D	0.80(0.47)
肺	0.37(0.26)	0.44(0.30)	0.28(0.38)	0.70(0.41)
肝 臓	0.87(0.61)	0.95(0.65)	0.53(0.73)	1.17(0.68)
腎 臓	0.95(0.66)	1.04(0.71)	0.59(0.81)	1.71(0.99)
副 腎	1.92(1.34)	1.88(1.29)	0.98(1.34)	2.06(1.20)
脾 臓	0.17(0.12)	0.24(0.16)	N.D	0.32(0.19)
腸間膜リンパ節	0.25(0.17)	0.32(0.22)	N.D	0.40(0.23)
褐色脂肪	0.30(0.21)	0.35(0.24)	0.23(0.32)	0.31(0.18)
骨格筋	N.D	0.20(0.14)	0.15(0.21)	0.37(0.22)
皮 膚	0.39(0.27)	0.42(0.29)	0.37(0.51)	0.58(0.34)
骨	0.18(0.13)	N.D	0.17(0.23)	0.32(0.19)
坐骨神経	N.D	1.17(0.80)	N.D	1.27(0.74)
精 巣	0.29(0.20)	0.29(0.20)	0.22(0.30)	0.38(0.22)
精巣上体	0.36(0.25)	0.37(0.25)	0.29(0.40)	0.33(0.19)
精 囊	0.15(0.10)	0.25(0.17)	0.17(0.23)	0.24(0.14)
前立腺	0.18(0.13)	0.22(0.15)	0.16(0.22)	0.24(0.14)
膀 胱	0.74(0.52)	0.81(0.55)	0.43(0.59)	0.68(0.40)
胃	0.25(0.17)	0.34(0.23)	N.D	0.46(0.27)
十二指腸	N.D	0.37(0.25)	N.D	0.64(0.37)
空 腸	0.31(0.22)	0.33(0.23)	0.13(0.18)	0.66(0.38)
回腸上部	0.62(0.43)	0.78(0.53)	N.D	1.23(0.72)
回腸下部	1.24(0.87)	1.01(0.69)	0.27(0.37)	2.09(1.22)
盲 腸	4.15(2.90)	3.25(2.23)	0.76(1.04)	5.23(3.04)
結 腸	4.23(2.96)	2.75(1.88)	0.92(1.26)	5.65(3.28)

注) 21 回投与まで全て検出限界以下であった組織については省略

数値は 4 例の平均値、N.D. : 検出限界以下

* : 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 4. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストール 50mg/kg を 21 日間反復経口投与した時の
組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度 (μg eq./g or ml)					
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後	48 時間後	168 時間後
血 漿	35.25(1.00)*	44.52(1.00)	43.82(1.00)	1.72(1.00)	0.21(1.00)	0.14(1.00)
血 液	21.37(0.61)	24.80(0.56)	24.33(0.56)	1.02(0.59)	N. D.	N. D.
大 脳	0.90(0.03)	1.26(0.03)	1.31(0.03)	N. D.	N. D.	N. D.
小 脳	1.04(0.03)	1.32(0.03)	1.42(0.03)	N. D.	N. D.	N. D.
延 髄	0.91(0.03)	1.36(0.03)	1.38(0.03)	N. D.	N. D.	N. D.
下垂体	7.53(0.21)	8.45(0.19)	10.77(0.25)	N. D.*	N. D.	N. D.
脊 髄	1.08(0.03)	1.32(0.03)	1.52(0.03)	N. D.	N. D.	N. D.
眼 球	1.77(0.05)	2.86(0.06)	2.73(0.06)	0.36(0.21)	0.22(1.05)	N. D.
ハート腺	6.07(0.17)	7.35(0.17)	7.40(0.17)	0.38(0.22)	N. D.	N. D.
甲状腺	6.61(0.19)	7.29(0.16)	7.13(0.16)	N. D.	N. D.	N. D.
舌	8.50(0.24)	10.59(0.24)	11.14(0.25)	0.50(0.29)	0.11(0.52)	0.09(0.64)
顎下腺	6.90(0.20)	8.06(0.18)	8.35(0.19)	0.43(0.25)	0.14(0.67)	N. D.
気 管	5.24(0.15)	7.51(0.17)	9.31(0.21)	N. D.	N. D.	N. D.
胸 腺	3.71(0.11)	3.92(0.09)	4.04(0.09)	0.28(0.16)	N. D.	N. D.
心 臓	12.33(0.35)	15.69(0.35)	15.71(0.36)	0.80(0.47)	N. D.	N. D.
肺	7.40(0.21)	12.86(0.29)	10.92(0.25)	0.70(0.41)	N. D.	N. D.
肝 臓	14.66(0.42)	16.06(0.36)	16.87(0.38)	1.17(0.68)	0.31(1.48)	N. D.
腎 臓	37.08(1.05)	24.88(0.56)	19.65(0.45)	1.71(0.99)	0.32(1.52)	N. D.
副 腎	12.16(0.34)	12.92(0.29)	13.58(0.31)	2.06(1.20)	N. D.	N. D.
脾 臓	3.50(0.10)	4.10(0.09)	4.16(0.09)	N. D.	N. D.	N. D.
膵 臓	4.38(0.12)	4.97(0.11)	5.06(0.12)	0.32(0.19)	N. D.	N. D.
腸間膜リンパ節	6.63(0.19)	7.46(0.17)	7.61(0.17)	0.40(0.23)	N. D.	N. D.
白色脂肪	1.51(0.04)	1.64(0.04)	1.99(0.05)	N. D.	N. D.	N. D.
褐色脂肪	5.37(0.15)	7.48(0.17)	9.02(0.21)	0.31(0.18)	N. D.	N. D.
骨格筋	3.42(0.10)	4.84(0.11)	4.63(0.11)	0.37(0.22)	N. D.	N. D.
皮 膚	5.97(0.17)	8.37(0.19)	7.87(0.18)	0.58(0.34)	0.25(1.19)	N. D.
骨	1.98(0.06)	2.27(0.05)	2.19(0.05)	0.32(0.19)	N. D.	N. D.
骨 髄	6.19(0.18)	6.18(0.14)	6.80(0.16)	N. D.	N. D.	N. D.
大動脈	6.73(0.19)	7.64(0.17)	8.06(0.18)	N. D.	N. D.	N. D.
坐骨神経	4.57(0.13)	6.99(0.16)	8.96(0.20)	1.27(0.74)	N. D.	N. D.
精 巣	2.47(0.07)	6.68(0.15)	7.87(0.18)	0.38(0.22)	0.09(0.43)	N. D.
精巣上体	4.01(0.11)	6.75(0.15)	8.01(0.18)	0.33(0.19)	N. D.	N. D.
精 囊	2.92(0.08)	2.88(0.06)	3.41(0.08)	0.24(0.14)	0.10(0.48)	N. D.
前立腺	4.02(0.11)	5.30(0.12)	4.31(0.10)	0.24(0.14)	N. D.	N. D.
膀 胱	24.81(0.70)	21.09(0.47)	27.37(0.62)	0.68(0.40)	N. D.	N. D.
胃	37.60(1.07)	25.61(0.58)	14.72(0.34)	0.46(0.27)	N. D.	N. D.
十二指腸	13.64(0.39)	13.60(0.31)	9.65(0.22)	0.64(0.37)	N. D.	N. D.
空 腸	25.68(0.73)	14.47(0.33)	10.23(0.23)	0.66(0.38)	N. D.	N. D.
回腸上部	13.08(0.37)	26.88(0.60)	15.65(0.36)	1.23(0.72)	N. D.	N. D.
回腸下部	4.46(0.13)	37.29(0.84)	24.89(0.57)	2.09(1.22)	N. D.	N. D.
盲 腸	8.18(0.23)	27.10(0.61)	50.32(1.15)	5.23(3.04)	N. D.	N. D.
結 腸	5.88(0.17)	9.44(0.21)	35.86(0.82)	5.65(3.28)	N. D.	N. D.

注) 数値は平均値 (n=4)

N. D. : 検出限界以下

* : 活弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 5. 妊娠 12 日目ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度(μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	32.51(1.00)*	101.84(1.00)	76.81(1.00)	26.06(1.00)
血 液	21.09(0.65)	59.55(0.58)	47.23(0.61)	16.61(0.64)
脳	0.84(0.03)	2.47(0.02)	2.06(0.03)	0.50(0.02)
心 臓	9.98(0.31)	29.20(0.29)	20.21(0.26)	9.00(0.35)
肺	7.27(0.22)	18.40(0.18)	15.45(0.20)	5.43(0.21)
肝 臓	12.51(0.38)	29.52(0.29)	24.55(0.32)	8.81(0.34)
腎 臓	14.15(0.44)	30.07(0.30)	18.41(0.24)	6.90(0.26)
副 腎	9.48(0.29)	20.01(0.20)	16.28(0.21)	8.18(0.31)
子 宮	8.08(0.25)	36.73(0.36)	32.25(0.42)	8.74(0.34)
卵 巢	6.31(0.19)	21.83(0.21)	15.30(0.20)	5.64(0.22)
胎 盤	4.84(0.15)	19.46(0.19)	17.50(0.23)	4.63(0.18)
卵黄囊液	0.80(0.02)	3.60(0.04)	3.08(0.04)	0.83(0.03)
胎 児	0.94(0.03)	3.83(0.04)	2.85(0.04)	0.94(0.04)

注) 数値は 4 例の平均値

* : 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 6. 妊娠 19 日目ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度(μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	52.03(1.00)*	77.66(1.00)	64.51(1.00)	49.27(1.00)
血 液	33.13(0.64)	51.72(0.67)	43.02(0.67)	31.22(0.63)
脳	1.40(0.03)	2.96(0.04)	2.53(0.04)	1.59(0.03)
心 臓	11.79(0.23)	20.04(0.26)	15.44(0.24)	14.77(0.30)
肺	11.94(0.23)	16.84(0.22)	11.81(0.18)	9.83(0.20)
肝 臓	17.87(0.34)	28.54(0.37)	23.45(0.36)	17.23(0.35)
腎 臓	22.79(0.44)	20.83(0.27)	18.69(0.29)	16.83(0.34)
副 腎	13.81(0.27)	20.96(0.27)	16.99(0.29)	13.37(0.27)
子 宮	14.73(0.28)	26.81(0.35)	23.51(0.36)	16.38(0.33)
卵 巢	10.95(0.21)	19.53(0.25)	17.96(0.28)	11.59(0.24)
胎 盤	8.91(0.17)	21.49(0.28)	19.55(0.30)	12.75(0.26)
羊 水	0.59(0.01)	4.71(0.06)	5.85(0.09)	7.61(0.15)
羊 膜	2.33(0.04)	8.67(0.11)	8.09(0.13)	7.88(0.16)
胎 児	4.12(0.08)	12.63(0.16)	10.85(0.17)	8.83(0.18)
胎児血漿	9.72(0.19)	24.11(0.31)	23.80(0.37)	18.78(0.38)
胎児血液	6.64(0.13)	16.39(0.21)	15.87(0.25)	13.12(0.27)
胎児脳	1.88(0.04)	5.63(0.07)	4.88(0.08)	3.78(0.08)
胎児心臓	4.09(0.08)	10.41(0.13)	9.54(0.15)	7.76(0.16)
胎児肺	2.69(0.05)	8.51(0.11)	7.06(0.11)	5.32(0.11)
胎児肝臓	3.99(0.08)	11.36(0.15)	10.31(0.16)	7.18(0.15)
胎児腎臓	3.60(0.07)	10.20(0.13)	9.21(0.14)	7.14(0.14)

注) 数値は 4 例の平均値

* : 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

カフェンストロールのラットにおける組織内分布

(資料代謝 No. 2-1)

試験機関 第一化学薬品株式会社
報告書作成年 1995年

雌雄ラットで2用量における組織内分布試験の追加として、雄性ラットの1mg/kgならびに雌性ラットの1mg/kgおよび50mg/kgについて検討した。

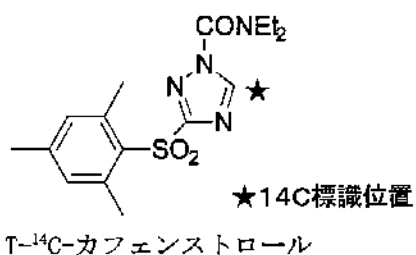
供試標識化合物

1) T-¹⁴C-カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル)[5-¹⁴C]-1,2,4-
トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4(非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置設定理由：

供試標識化合物の合成法：

供試動物

1) ラット (Jc1: SD、各々1群4匹)

- ・ 雄性ラット：8週齢、286.4~328.1g
- ・ 雌性ラット：8週齢、180.2~206.5g

方法

1) 投与液の調製および投与方法

T-¹⁴C-カフェンストロールの投与液は 5%HPC-L 懸濁液とし、経口ゾンデを用いて胃内に投与した。

2) 定量法

各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンターで計測した。

3) 組織内分布

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を単回経口投与し、所定の時間に下記に示す各組織を摘出後、放射能の組織内分布について検討した。

[摘出組織]

雄性ラット：

血液、大脳、小脳、延髄、下垂体、脊髄、眼球、ハーダー腺、甲状腺、舌、顎下腺、気管、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、副腎、脾臓、膵臓、腸間膜リンパ節、白色脂肪、褐色脂肪、骨格筋、皮膚、骨、骨髄、大動脈、坐骨神経、精巣、精巣上体、精囊、前立腺、膀胱、胃、十二指腸、空腸、回腸上部、回腸下部、盲腸、結腸および各消化管内容物

雌性ラット：

上記組織から精巣、精巣上体、精囊、前立腺を除き、卵巣、子宮を加えた。

結果

本実験結果に、資料代謝 No. 2「2. カフェンストロールのラットにおける分布ならびに胎児移行」の中の雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与した時の組織内分布の結果も併せ記載した。

1) 組織内分布

(1) 雄性ラット

雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を単回経口投与した時の各組織中放射能濃度と、血漿中放射能濃度に対する各組織中放射能濃度比(以下 T/P 比)を併せて表 1., 2. に、各組織中放射能分布率を表 5., 6. に示した。

1mg/kg 投与した時の血漿中放射能濃度は、投与後 0.5 時間に最高値 1.84 μ g eq./ml を示した後、比較的速やかに減少し、投与後 24 時間には 0.06 μ g eq./ml と、最高値の 3.3% になった。また、その他のほとんどの組織も放射能濃度は、血漿の場合と同様、投与後 0.5 時間に最高値を示し、T/P 比は胃の 2.17 を除き、全て 1 以下であった。投与後いずれの時点においても全血中放射能の T/P 比は、0.57 以下であり、血球への移行性は低いものと考えられた。

50mg/kg 投与した時の血漿中放射能濃度は、投与後 4 時間に最高値 64.37 μ g eq./ml を示し、投与後 24 時間には 1.43 μ g eq./ml に減少し、最高値の 2.2% になった。

血球への移行性(T/P 比 0.6 以下)は 1mg/kg の場合と同様に低いものと考えられた。

両投与量群とも、ほとんどの組織の放射能濃度推移は、血漿中放射能濃度推移と類似していた。

放射能の組織分布率(組織中放射能/投与放射能 \times 100)でみると、胃から結腸までの消化管

内容物中には、投与 0.5、4、8 時間後に、1mg/kg の場合、それぞれ投与放射能の 56.33%、35.66% および 23.69%、50mg/kg の場合、それぞれ 91.55%、48.53% および 25.23% 認められ、両投与量群とも時間の経過とともに減少した。投与 24 時間後の消化管内容物中には 1mg/kg 投与時 3.65%、50mg/kg 投与時 2.21% と更に少なく、ほとんどが尿中および糞中に速やかに排泄され、1mg/kg 投与時、それぞれ投与放射能の 67.7% および 22.4%、50mg/kg 投与時、それぞれ 69.9% および 28.5% の排泄率であった。ほとんどの組織で最高放射能濃度を示した投与 0.5 あるいは 4 時間後で、1% 以上の分布率が認められた組織は、1mg/kg では全血、骨格筋、皮膚、肝臓、胃および腎臓であり、それぞれ 6.91%、5.41%、5.33%、3.65%、1.83% および 1.16%、50mg/kg では骨格筋、皮膚、全血および肝臓であり、それぞれ 7.06%、5.96%、5.25% および 1.87% であった。両投与量群とも、投与 24 時間後、消化管内容物を除いた全ての組織での分布率は減少し、0.23% 以下となった。

(2) 雌性ラット

雌性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を単回経口投与した時の各組織中放射能濃度と、血漿中放射能濃度に対する各組織中放射能濃度比(以下 T/P 比)を併せて表 3., 4. に、各組織中放射能分布率を表 7., 8. に示した。

1mg/kg および 50mg/kg 両投与量群とも最高血漿中放射能濃度は、投与後 4 時間に認められそれぞれ 2.42 μ g eq./ml および 88.16 μ g eq./ml であった。投与後 24 時間にはそれぞれ 0.40 μ g eq./ml および 20.18 μ g eq./ml に減少し、最高値の 16.5% および 22.9% となり、雄性ラットの場合に比べ消失がやや緩慢であった。ほとんどの組織における放射能濃度は、血漿の場合と同様、投与後 4 時間に最高値を示したものの、T/P 比は 1 以下であった。また、各組織中放射能濃度推移は、血漿中放射能濃度推移と類似していた。両投与量群の投与後、全血中放射能の T/P 比は、いずれの時点も 0.65 以下であり、血球への移行性は低いものと考えられた。

放射能の組織分布率で見ると、1mg/kg および 50mg/kg 投与時の消化管内容物中には、投与 0.5 時間後に、それぞれ投与放射能の 50.68% および 79.21% が存在し、投与 24 時間後には、それぞれ 2.45% および 4.92% と減少した。投与放射能のほとんどが尿中および糞中に速やかに排泄され、1mg/kg 投与時、それぞれ投与量の 77.4% および 9.4%、50mg/kg 投与時、それぞれ 62.8% および 33.6% の排泄率であった。ほとんどの組織で最高放射能濃度を示した投与 4 時間後で、1% 以上の分布率が認められた組織は、1mg/kg では皮膚、全血、骨格筋および肝臓で、それぞれ 9.75%、9.06%、6.66% および 4.63%、50mg/kg では全血、皮膚、骨格筋および肝臓であり、それぞれ 6.56%、6.14%、4.08% および 2.67% であった。両投与量群とも投与 24 時間後、全ての組織での分布率は減少し、1.79% 以下となった。

表 1. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストール 1mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度(μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	1.84(1.00)*	1.34(1.00)	0.54(1.00)	0.06(1.00)
血 液	1.04(0.57)	0.73(0.54)	0.28(0.52)	0.03(0.50)
ハート腺	0.24(0.13)	0.19(0.14)	0.08(0.15)	0.01(0.17)
舌	0.42(0.23)	0.31(0.23)	0.14(0.26)	0.01(0.17)
顎下腺	0.28(0.15)	0.21(0.16)	0.09(0.17)	0.01(0.17)
心 臓	0.64(0.35)	0.47(0.36)	0.16(0.30)	0.02(0.33)
肺	0.35(0.19)	0.22(0.16)	0.11(0.20)	0.01(0.17)
肝 臓	0.73(0.40)	0.61(0.46)	0.24(0.44)	0.03(0.50)
腎 臓	1.47(0.80)	0.86(0.64)	0.30(0.56)	0.04(0.67)
副 腎	1.60(0.87)	1.66(1.24)	0.73(1.35)	0.10(1.67)
脾 臓	0.16(0.09)	0.11(0.08)	0.05(0.09)	0.01(0.17)
膵 臓	0.19(0.10)	0.14(0.10)	0.06(0.11)	0.01(0.17)
腸間膜リンパ節	0.27(0.15)	0.24(0.18)	0.10(0.19)	0.01(0.17)
褐色脂肪	0.29(0.16)	0.24(0.18)	0.09(0.17)	0.01(0.17)
骨格筋	0.13(0.07)	0.10(0.07)	0.04(0.07)	0.01(0.17)
皮 膚	0.23(0.13)	0.21(0.16)	0.08(0.15)	0.01(0.17)
骨 髄	0.26(0.14)	0.15(0.11)	0.06(0.11)	0.01(0.17)
坐骨神経	0.17(0.09)	0.17(0.13)	0.10(0.19)	0.03(0.50)
精 巢	0.11(0.06)	0.25(0.19)	0.10(0.19)	0.01(0.17)
精巣上部	0.20(0.11)	0.27(0.20)	0.09(0.17)	0.01(0.17)
膀 胱	0.78(0.42)	0.77(0.57)	0.26(0.48)	0.02(0.33)
胃	4.00(2.17)	1.38(1.03)	0.18(0.33)	0.01(0.17)
十二指腸	0.75(0.41)	0.26(0.19)	0.19(0.35)	0.01(0.17)
空 腸	0.65(0.35)	0.44(0.33)	0.11(0.20)	0.02(0.33)
回腸上部	0.48(0.26)	0.88(0.66)	0.30(0.56)	0.03(0.50)
回腸下部	0.20(0.11)	1.03(0.77)	0.45(0.83)	0.05(0.83)
盲 腸	0.85(0.46)	1.01(0.75)	1.11(2.06)	0.16(2.67)
結 腸	0.24(0.13)	0.18(0.13)	0.62(1.15)	0.10(1.67)

注) 投与 24 時間後の放射能濃度が検出限界以下の組織については省略

数値は 4 例の平均値

*: 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 2. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度 (μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	21.93(1.00) *	64.37(1.00)	42.44(1.00)	1.43(1.00)
血 液	13.22(0.60)	37.40(0.58)	25.14(0.59)	0.86(0.60)
眼 球	0.75(0.03)	3.32(0.05)	2.32(0.05)	0.19(0.13)
ハーパー腺	3.18(0.15)	10.76(0.17)	6.89(0.16)	0.30(0.21)
舌	4.84(0.22)	16.29(0.25)	10.52(0.25)	0.43(0.30)
顎下腺	4.09(0.19)	11.70(0.18)	7.45(0.18)	0.24(0.17)
心 臓	6.97(0.32)	20.54(0.32)	13.57(0.32)	0.61(0.43)
肺	4.14(0.19)	15.35(0.24)	9.23(0.22)	0.37(0.26)
肝 臓	8.43(0.38)	18.63(0.29)	16.18(0.38)	0.87(0.61)
腎 臓	23.05(1.05)	28.41(0.44)	14.24(0.34)	0.95(0.66)
副 腎	7.68(0.35)	14.71(0.23)	11.08(0.26)	1.92(1.34)
脾 臓	2.57(0.12)	7.71(0.12)	4.19(0.10)	0.17(0.12)
腸間膜リンパ節	3.38(0.15)	10.98(0.17)	6.10(0.14)	0.25(0.17)
褐色脂肪	4.15(0.19)	12.70(0.20)	8.73(0.21)	0.30(0.21)
皮 膚	3.63(0.17)	12.35(0.19)	7.91(0.19)	0.39(0.27)
骨	1.12(0.05)	3.54(0.05)	2.17(0.05)	0.18(0.13)
精 巢	1.04(0.05)	8.58(0.13)	6.99(0.16)	0.29(0.20)
精巣上部	2.19(0.10)	10.93(0.17)	8.46(0.20)	0.36(0.25)
精 囊	1.30(0.06)	6.26(0.10)	4.31(0.10)	0.15(0.10)
前立腺	2.02(0.09)	9.95(0.16)	5.45(0.13)	0.18(0.13)
膀 胱	19.95(0.91)	50.95(0.79)	25.01(0.59)	0.74(0.52)
胃	48.73(2.22)	31.23(0.49)	7.52(0.18)	0.25(0.17)
空腹	12.73(0.58)	18.40(0.29)	6.46(0.15)	0.31(0.22)
回腸上部	2.92(0.13)	28.22(0.44)	9.22(0.22)	0.62(0.43)
回腸下部	1.53(0.07)	26.42(0.41)	14.72(0.35)	1.24(0.87)
盲 腸	2.10(0.10)	14.44(0.22)	44.40(1.05)	4.15(2.90)
結 腸	1.74(0.08)	7.20(0.11)	27.88(0.66)	4.23(2.96)

注)資料代謝 No. 2「2. カフェンストロールのラットにおける分布ならびに胎児移行」より引用

投与 24 時間後の放射能濃度が検出限界以下の組織については省略
数値は 4 例の平均値

*: 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 3. 雌性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度(μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	2.32(1.00) *	2.42(1.00)	1.80(1.00)	0.40(1.00)
血 液	1.37(0.59)	1.30(0.54)	1.01(0.56)	0.22(0.56)
大 腦	0.05(0.02)	0.06(0.02)	0.04(0.02)	0.01(0.03)
小 腦	0.05(0.02)	0.06(0.02)	0.04(0.02)	0.01(0.03)
延 髄	0.05(0.02)	0.06(0.02)	0.04(0.02)	0.01(0.03)
下垂体	0.38(0.16)	0.48(0.20)	0.29(0.16)	0.07(0.18)
脊 髄	0.05(0.02)	0.06(0.02)	0.04(0.02)	0.01(0.03)
眼 球	0.07(0.03)	0.11(0.05)	0.08(0.04)	0.02(0.05)
ハーパー腺	0.38(0.16)	0.40(0.17)	0.27(0.15)	0.05(0.13)
甲状腺	0.30(0.13)	0.34(0.14)	0.32(0.18)	0.05(0.13)
舌	0.50(0.22)	0.62(0.21)	0.41(0.23)	0.08(0.20)
顎下腺	0.35(0.15)	0.35(0.14)	0.23(0.13)	0.06(0.15)
気 管	0.50(0.22)	0.44(0.18)	0.31(0.17)	0.05(0.13)
胸 腺	0.15(0.06)	0.17(0.07)	0.12(0.07)	0.03(0.08)
心 臓	0.73(0.31)	0.75(0.31)	0.56(0.31)	0.13(0.33)
肺	0.42(0.18)	0.48(0.20)	0.31(0.17)	0.07(0.18)
肝 臓	0.98(0.42)	0.94(0.39)	0.80(0.44)	0.15(0.38)
腎 臓	0.97(0.42)	0.89(0.37)	0.61(0.34)	0.15(0.38)
副 腎	1.91(0.82)	1.79(0.74)	1.38(0.77)	0.40(1.00)
脾 臓	0.17(0.07)	0.19(0.08)	0.16(0.09)	0.03(0.08)
膝 臓	0.22(0.09)	0.21(0.09)	0.16(0.09)	0.04(0.10)
腸間膜リンパ節	0.34(0.15)	0.35(0.14)	0.24(0.13)	0.07(0.18)
白色脂肪	0.12(0.05)	0.16(0.07)	0.09(0.05)	0.02(0.05)
褐色脂肪	0.39(0.17)	0.46(0.19)	0.38(0.21)	0.08(0.20)
骨格筋	0.15(0.06)	0.15(0.06)	0.12(0.07)	0.04(0.10)
皮 膚	0.31(0.13)	0.41(0.17)	0.29(0.16)	0.07(0.18)
骨	0.10(0.04)	0.13(0.05)	0.11(0.06)	0.02(0.05)
骨 髄	0.32(0.14)	0.37(0.15)	0.22(0.12)	0.06(0.15)
大動脈	0.42(0.18)	0.40(0.17)	0.32(0.18)	0.08(0.20)
坐骨神経	0.17(0.07)	0.27(0.11)	0.33(0.18)	0.13(0.33)
卵 巣	0.41(0.18)	0.46(0.19)	0.37(0.21)	0.08(0.20)
子 宮	0.50(0.22)	0.56(0.23)	0.53(0.29)	0.09(0.23)
膀 胱	1.02(0.44)	0.72(0.30)	0.61(0.34)	0.11(0.28)
胃	3.88(1.67)	0.91(0.38)	0.49(0.27)	0.05(0.13)
十二指腸	0.50(0.22)	0.37(0.15)	0.79(0.44)	0.06(0.13)
空 腸	0.49(0.21)	0.37(0.15)	0.23(0.13)	0.05(0.13)
回腸上部	0.54(0.23)	0.55(0.23)	0.27(0.15)	0.07(0.18)
回腸下部	0.18(0.08)	0.83(0.34)	0.34(0.19)	0.08(0.20)
盲 腸	0.22(0.09)	0.75(0.31)	1.04(0.58)	0.16(0.40)
結 腸	0.18(0.08)	0.24(0.10)	0.31(0.17)	0.10(0.25)

注) 投与 24 時間後の放射能濃度が検出限界以下の組織については省略
 数値は 4 例の平均値

*: 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 4. 雌性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能濃度

組 織	放射能濃度 (μg eq./g or ml)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 漿	51.86(1.00)*	88.16(1.00)	83.07(1.00)	20.18(1.00)
血 液	30.18(0.58)	49.11(0.56)	41.06(0.49)	13.10(0.65)
大 脳	0.86(0.02)	1.94(0.02)	2.06(0.02)	0.41(0.02)
小 脳	0.85(0.02)	2.08(0.02)	2.06(0.02)	0.46(0.02)
延 髄	0.87(0.02)	2.03(0.02)	2.04(0.02)	0.42(0.02)
下垂体	7.08(0.14)	11.88(0.13)	19.11(0.23)	3.60(0.18)
脊 髄	0.75(0.01)	2.16(0.02)	1.99(0.02)	0.43(0.02)
眼 球	1.26(0.02)	4.05(0.05)	3.63(0.04)	0.99(0.05)
ハーパー腺	6.89(0.13)	14.16(0.16)	13.98(0.17)	3.10(0.15)
甲状腺	5.23(0.10)	11.68(0.13)	13.35(0.16)	2.68(0.13)
舌	10.17(0.20)	19.28(0.22)	18.13(0.22)	4.46(0.22)
顎下腺	6.69(0.13)	12.78(0.14)	10.92(0.13)	2.80(0.14)
気 管	7.14(0.14)	14.95(0.17)	13.75(0.17)	2.99(0.15)
胸 腺	3.09(0.06)	6.24(0.07)	5.61(0.07)	1.25(0.06)
心 臓	13.04(0.25)	23.11(0.26)	18.80(0.23)	5.98(0.30)
肺	8.37(0.16)	16.33(0.19)	14.95(0.18)	3.32(0.16)
肝 臓	16.05(0.31)	28.65(0.32)	27.72(0.33)	7.38(0.37)
腎 臓	19.01(0.37)	25.60(0.29)	23.07(0.28)	6.17(0.31)
副 腎	9.98(0.19)	13.93(0.16)	15.57(0.19)	5.96(0.30)
脾 臓	3.87(0.07)	6.72(0.08)	6.76(0.08)	1.66(0.08)
膵 臓	5.00(0.10)	8.53(0.10)	7.29(0.09)	2.01(0.10)
腸間膜リンパ節	7.47(0.14)	13.96(0.16)	12.56(0.15)	2.89(0.14)
白色脂肪	2.27(0.04)	4.22(0.05)	4.42(0.05)	1.00(0.05)
褐色脂肪	7.07(0.14)	19.97(0.23)	17.68(0.21)	3.87(0.19)
骨格筋	2.56(0.05)	4.89(0.06)	4.77(0.06)	1.26(0.06)
皮 膚	5.39(0.10)	13.37(0.15)	12.61(0.15)	2.73(0.14)
骨	1.72(0.03)	3.44(0.04)	3.84(0.05)	0.74(0.04)
骨 髄	6.76(0.13)	11.40(0.13)	11.69(0.14)	2.81(0.14)
大動脈	4.85(0.09)	8.40(0.10)	9.73(0.12)	2.35(0.12)
坐骨神経	2.87(0.06)	10.70(0.12)	14.19(0.17)	6.20(0.31)
卵 巣	9.77(0.19)	16.44(0.19)	15.41(0.19)	3.48(0.17)
子 宮	11.08(0.21)	20.01(0.23)	22.39(0.27)	5.08(0.25)
膀 胱	21.25(0.41)	21.39(0.24)	19.27(0.23)	4.92(0.24)
胃	45.93(0.89)	41.23(0.47)	22.07(0.27)	2.44(0.12)
十二指腸	8.86(0.17)	11.49(0.13)	11.55(0.14)	2.40(0.12)
空 腹	35.77(0.69)	11.63(0.13)	11.41(0.14)	2.90(0.14)
回腸上部	16.32(0.31)	22.97(0.26)	15.71(0.19)	4.27(0.21)
回腸下部	18.16(0.35)	30.12(0.34)	18.83(0.23)	7.06(0.35)
盲 腸	5.10(0.10)	17.66(0.20)	48.01(0.58)	12.65(0.63)
結 腸	4.32(0.08)	8.00(0.09)	23.36(0.28)	5.10(0.25)

注) 投与 24 時間後の放射能濃度が検出限界以下の組織については省略
 数値は 4 例の平均値

*: 括弧内は血漿中放射能濃度に対する組織中放射能濃度比

表 5. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能分布率

組 織	投与量に対する百分率(%)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 液	6.91	4.82	1.87	0.23
心 臓	0.20	0.14	0.05	0.01
肺	0.14	0.09	0.05	0.01
肝 臓	3.65	2.85	1.10	0.14
腎 臓	1.16	0.67	0.23	0.04
白色脂肪	0.42	0.24	0.10	0.02
骨格筋	5.41	4.16	1.54	0.16
皮 膚	5.33	4.64	1.86	0.21
精 巢	0.11	0.24	0.10	0.01
胃	1.83	0.66	0.09	0.00
十二指腸	0.15	0.06	0.04	0.00
空 腸	0.48	0.21	0.08	0.01
回腸上部	0.24	0.46	0.13	0.01
回腸下部	0.11	0.44	0.17	0.03
盲 腸	0.23	0.29	0.35	0.04
結 腸	0.13	0.09	0.29	0.05
胃内容物	42.95	9.78	0.24	0.00
十二指腸内容物	1.17	0.49	0.18	0.00
空腸内容物	7.47	1.25	0.53	0.11
回腸上部の内容物	4.13	7.97	1.53	0.79
回腸下部の内容物	0.10	6.40	3.06	0.49
盲腸内容物	0.10	9.44	12.95	1.24
結腸内容物	0.41	0.33	5.20	1.02
残 骸	22.3	16.8	6.5	1.1
尿	4.4	42.5	49.2	67.7
糞	0.0	0.0	0.4	22.4

注) 投与後 24 時間までの全ての測定時点で分布率が 0.10%以下の組織については省略
数値は 4 例の平均値

血液、骨格筋、脂肪および皮膚の重量はそれぞれ体重の 6.4%、40%、5%および 22%
とした。

表 6. 雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能分布率

組 織	投与量に対する百分率(%)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 液	1.85	5.25	3.63	0.12
心 臓	0.05	0.13	0.09	0.00
肺	0.03	0.14	0.09	0.00
肝 臓	0.93	1.87	1.55	0.10
腎 臓	0.46	0.57	0.27	0.02
白色脂肪	0.12	0.33	0.24	0.00
骨格筋	2.12	7.06	4.65	0.00
皮 膚	1.75	5.96	3.81	0.20
精 巢	0.02	0.19	0.15	0.01
胃	0.42	0.32	0.07	0.00
空 腸	0.19	0.32	0.09	0.00
回腸上部	0.03	0.24	0.08	0.01
回腸下部	0.02	0.28	0.14	0.01
盲 腸	0.01	0.10	0.31	0.03
結 腸	0.02	0.09	0.33	0.06
胃内容物	77.11	22.01	0.80	0.00
十二指腸内容物	0.40	0.24	0.00	0.00
空腸内容物	13.63	6.66	1.06	0.00
回腸上部の内容物	0.41	8.86	1.59	0.00
回腸下部の内容物	0.00	7.96	3.34	0.29
盲腸内容物	0.00	2.60	8.72	0.88
結腸内容物	0.00	0.20	9.72	1.04
残 骸	5.9	17.1	12.0	0.8
尿	1.9	17.7	49.9	69.9
糞	0.0	0.0	0.1	28.5

注)資料代謝 No. 2「2. カフェンストロールのラットにおける分布ならびに胎児移行」より引用

投与後 24 時間までの全ての測定時点で分布率が 0.10%以下の組織については省略
数値は 4 例の平均値

血液、骨格筋、脂肪および皮膚の重量はそれぞれ体重の 6.4%、40%、5%および 22%
とした。

表 7. 雌性ラットに T-¹⁴C-カフェンストール 1mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能分布率

組 織	投与量に対する百分率(%)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 液	9.04	9.06	6.76	1.50
心 臓	0.24	0.27	0.19	0.05
肺	0.20	0.26	0.17	0.04
肝 臓	4.97	4.63	3.65	0.78
腎 臓	0.93	0.88	0.58	0.15
白色脂肪	0.62	0.84	0.47	0.11
骨格筋	6.02	6.66	5.15	1.52
皮 膚	6.90	9.75	6.74	1.53
子 宮	0.09	0.15	0.11	0.02
胃	2.10	0.52	0.26	0.03
十二指腸	0.15	0.10	0.22	0.01
空 腸	0.39	0.36	0.20	0.05
回腸上部	0.36	0.44	0.17	0.05
回腸下部	0.11	0.61	0.27	0.06
盲 腸	0.08	0.32	0.45	0.06
結 腸	0.12	0.17	0.21	0.07
胃内容物	39.95	3.26	1.31	0.00
十二指腸内容物	1.09	0.23	0.14	0.00
空腸内容物	3.75	0.96	0.54	0.16
回腸上部の内容物	5.45	3.86	0.96	0.37
回腸下部の内容物	0.31	6.43	2.30	0.55
盲腸内容物	0.13	4.79	8.44	0.78
結腸内容物	0.00	0.34	1.62	0.59
残 骸	24.2	28.8	21.5	4.8
尿	3.1	31.9	44.2	77.4
糞	0.0	0.2	0.6	9.4

注) 投与後 24 時間までの全ての測定時点で分布率が 0.10%以下の組織については省略
 数値は 4 例の平均値、
 血液、骨格筋、脂肪および皮膚の重量はそれぞれ体重の 6.4%、40%、5%および 22%
 とした。

表 8. 雌性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与後の組織中放射能分布率

組 織	投与量に対する百分率(%)			
	0.5 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後
血 液	4.04	6.56	5.54	1.79
心 臓	0.09	0.16	0.15	0.04
肺	0.09	0.18	0.16	0.04
肝 臓	1.64	2.67	2.51	0.72
腎 臓	0.36	0.44	0.43	0.12
白色脂肪	0.24	0.44	0.47	0.11
骨格筋	2.13	4.08	4.01	1.08
皮 膚	2.48	6.14	5.84	1.27
胃	0.51	0.50	0.25	0.03
空 腸	0.59	0.19	0.20	0.06
回腸上部	0.21	0.30	0.17	0.06
回腸下部	0.24	0.36	0.25	0.11
盲 腸	0.04	0.14	0.40	0.10
腺 腸	0.06	0.11	0.30	0.07
胃内容物	35.52	5.71	5.67	0.00
十二指腸内容物	0.68	0.16	0.95	0.00
空腸内容物	30.33	1.27	1.36	0.29
回腸上部の内容物	6.48	13.52	3.47	0.66
回腸下部の内容物	5.96	11.86	3.12	1.33
盲腸内容物	0.08	17.93	18.47	1.52
結腸内容物	0.16	0.50	8.94	1.12
残 骸	10.3	21.1	19.7	4.6
尿	1.0	12.1	26.9	62.8
糞	0.0	0.0	1.7	33.6

注) 投与後 24 時間までの全ての測定時点で分布率が 0.10%以下の組織については省略
数値は 4 例の平均値

血液、骨格筋、脂肪および皮膚の重量はそれぞれ体重の 6.4%、40%、5%および 22%
とした。

カフェンストロールのラットおよびイヌにおける代謝

(資料代謝 No.3)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1994年

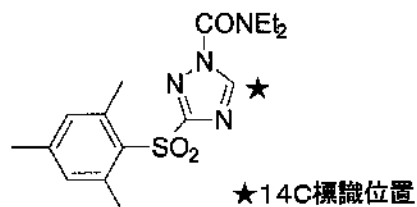
供試化合物

1) T-¹⁴C-カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル) [5-¹⁴C]-1,2,4-
トリアゾール

化学構造：



T-¹⁴C-カフェンストロール

分子量：350.4(非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置設定理由：

供試標識化合物の合成法：

2) d₂-カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチル [3,5-²H₂] フェニルスルホニル)-1,2,4-トリアゾール

重水素化率：

供試標識化合物の合成法：

CHM-03 を重硫酸中で加熱し、ベンゼン環の水素を重水素で置換した。得られた d₂-CHM-03 をジエチルカルバモイル化して d₂-カフェンストロールを得た。

3)代謝想定化合物

供試化合物の合成法：

供試動物

1)ラット(Jcl:SD)

- ・雄：8週齢(257~292g)、1群5~6匹
- ・雌：8週齢(167~178g)、1群4~5匹

2)イヌ(Beagle/CSK)

- ・雄：17~23ヵ月齢(12~14.5kg)、1群1~4匹

方法

1)投与液の調製および投与方法

T-¹⁴C-カフェンストロール(一部 d₂-カフェンストロールを混合)の投与液は 5%HPC-L 懸濁液とし、ラットの場合経口ゾンデ、イヌの場合カテーテルを用いて胃内に投与した。

2)代謝物の検討

雄性ラットおよび雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与し、血漿中、尿中および胆汁中(糞中)の代謝物について、ラジオー高速液体クロマトグラフィー(Radio-HPLC)、薄層クロマトグラフィー(TLC)、質量分析法(MS 法)および核磁気共鳴法(NMR 法)により検討した。また、グルクロン酸抱合体の検索のために、β-グルクロニダーゼ処理を行い検討した。

3)代謝物の排泄比率

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg あるいは 50mg/kg を、また、雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与し、尿中および胆汁中(糞中)代謝物の排泄比率を Radio-HPLC により検討した。

結果

1)代謝物の構造解析および代謝物の排泄比率

(1)ラット(図1、表1)

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロールを経口投与した時の血漿中、尿中、胆汁中代謝物の HPLC ラジオクロマトグラムを図1に示した。

雌雄ラットの血漿中には1種の代謝物(RP1)のみが、尿中には主として
が、胆汁中には主として が認められた。

については、代謝想定化合物との HPLC における保持時間(t_R 値)、NMR あるいは MS スペクトルの比較により、それぞれ、CH-900 より

であると同定した。

胆汁中代謝物 については、β-グルクロニダーゼ処理ならびに NMR および MS スペクトル等の検討より、 であると決定した。また、 については、

と決定したイヌ尿中代謝物 の t_R 値ならびに質量分析/質量分析 (MS/MS) スペクトルとの比較から、 と同定した。

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg あるいは 50mg/kg を経口投与した時の投与後 24 時間までの尿中および胆汁中代謝物の排泄率を表 1 に示した。

雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg あるいは 50mg/kg 投与した時の尿中にはそれぞれ投与放射能の 26.5% あるいは 23.9%、また がそれぞれ 18.5% あるいは 14.0% 排泄された。胆汁中には がそれぞれ投与放射能の 10.9% あるいは 7.9%、 がそれぞれ 8.0% あるいは 7.1% 排泄された。雌性ラットの場合もほぼ同様の結果が得られ、雌雄ラット間における代謝物の排泄量比に有意な差はなく、両者の代謝挙動に質的な差はないことが示唆された。

(2) イヌ (図 2、表 2)

雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時の血漿中、尿中および糞中代謝物の HPLC ラジオクロマトグラムを図 2 に示した。

雄性イヌの血漿中には のみが、尿中には主として が、糞中には主として が認められた。

HPLC の t_R 値、NMR あるいは MS スペクトルにより、 DF5 は未変化体 CH-900 であると同定した。尿中代謝物 は、NMR および MS スペクトルより、 と決定した。

雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時の投与後 24 時間までの尿中および糞中代謝物の排泄率を表 2 に示した。尿中へ がそれぞれ投与放射能の 11.3%、2.1% および 9.9% 排泄され、また、糞中へは未変化体、 がそれぞれ投与放射能の 34.7%、9.3%、2.1% および 3.2% 排泄された。

2) 推定代謝経路

ラット、イヌいずれにおいても、経口投与されたカフェンストロールは速やかに へと代謝された。

へと代謝され、平行して へと酸化された。

ラットの場合には、 へと代謝された。図 3 に同定あるいは構造決定した代謝物の構造より推定した代謝経路を示した。

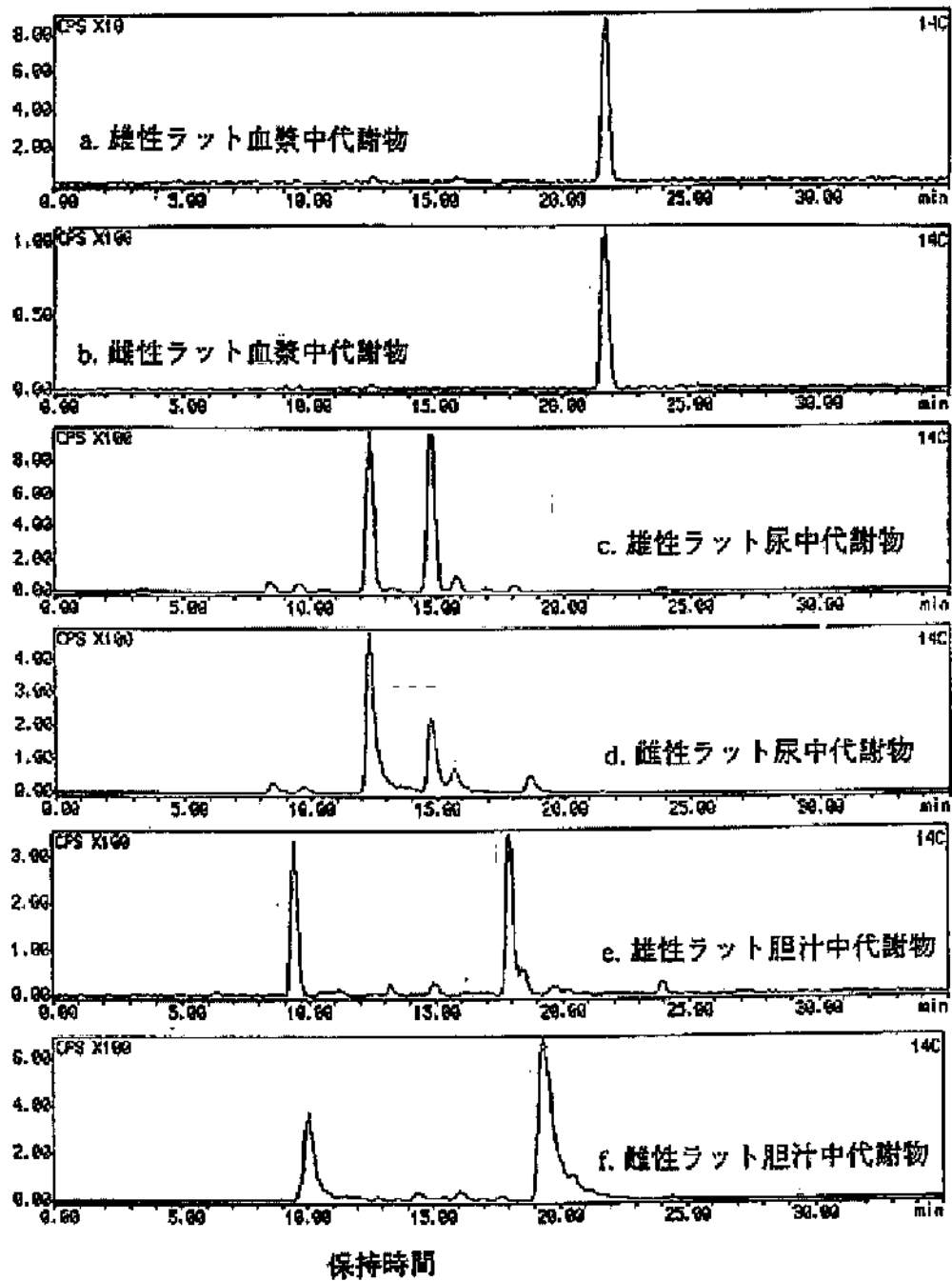


図 1. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時の血漿中、尿中および胆汁中代謝物の HPLC ラジオクロマトグラム

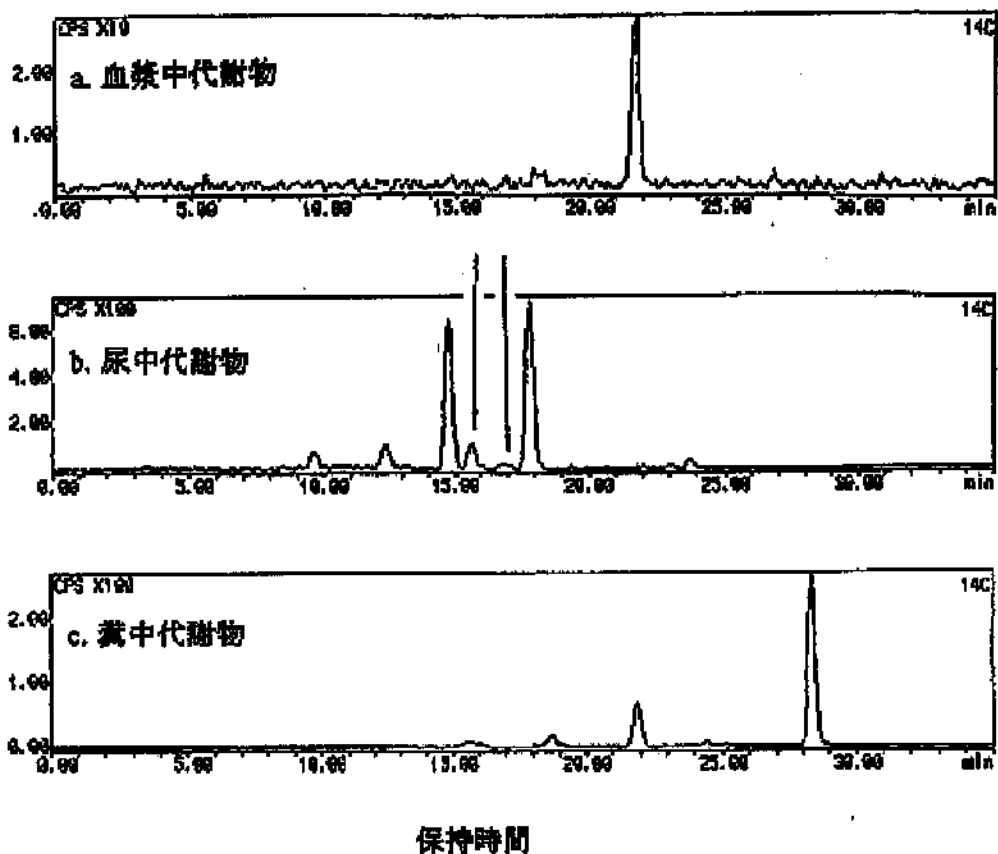


図 2. 雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時の血漿中、尿中および糞中代謝物の HPLC ラジオクロマトグラム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図3. ラットおよびイヌにおけるカフェンストロールの推定代謝経路

表 1. 雄雌ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg あるいは 50mg/kg を経口投与した時の投与後 24 時間までの尿中および胆汁中代謝物の累積排泄比率

代謝物*	排泄比率 (%)							
	1mg/kg 投与				50mg/kg 投与			
	雄性 (n=6)		雌性 (n=4)		雄性 (n=5)		雌性 (n=5)	
	尿中	胆汁中	尿中	胆汁中	尿中	胆汁中	尿中	胆汁中
計								

注) 数値は平均値、T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg あるいは 50mg/kg 投与後 0~24 時間の排泄比率が 2%を越えた代謝物について表記し、未同定かつ排泄比率が 2%以下の代謝物はその他としてまとめた。なお、 t_R 値が同一であるが未同定のためは空欄とした。

*: 括弧内は代謝物と一致した想定代謝化合物 (未同定の代謝物については unknown)
 N. D. : 検出限界以下、- : 未同定かつ 2%以下の代謝物

表 2. 雄性イヌに T-¹⁴C-カフェンストロール 50mg/kg を経口投与した時の投与後 24 時間までの尿中および糞中代謝物の排泄比率

代謝物*	排泄比率 (%、n=1)	
	尿中	糞中
計		

注)*: 括弧内は代謝物と一致した想定代謝化合物 (未同定の代謝物については unknown)、
 N. D. : 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロールのラットにおける尿中および糞中代謝物

(資料代謝 No. 3-1)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995年

ラットにおける糞中代謝物の分析を行った。

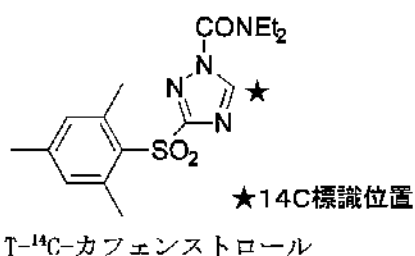
供試化合物

1) T-¹⁴C-カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル) [5-¹⁴C]-1,2,4-
トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4(非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置設定理由：

供試標識化合物の合成法：

2) 代謝想定化合物

供試化合物の合成法：

供試動物

1) ラット (Jc1: SD, 1群3匹)

- ・ 雄性ラット: 8週齢、体重 230~278g
- ・ 雌性ラット: 8週齢、体重 162~185g

方法

1) 投与液の調製および投与方法

T-¹⁴C-カフェンストロールの投与液は 5%HPC-I, 懸濁液とし、経口ゾンデを用いて胃内に投与した。

2) 代謝物の検討

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与し、尿中および糞中の代謝物について、ラジオ高速液体クロマトグラフィー (Radio-HPLC) により検討した。

3) 代謝物の排泄比率

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与し、尿中および糞中代謝物の排泄比率を Radio-HPLC により検討した。

結果

1) 尿中および糞中放射能排泄率

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与後 48 時間までの尿中および糞中放射能排泄率を表 1. に示した。

雌雄ラットの両投与量群とも、投与後 48 時間までに、投与放射能のほとんどが尿中に排泄され、それらの排泄率は 75.0~79.6%であった。また、その時の糞中には 12.0~18.2%が排泄された。

2) 尿中および糞中各代謝物の排泄比率

雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与後 24 時間までの尿中および糞中各代謝物の排泄比率を表 2. に示した。

雄性ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与後の尿中には多く排泄され、それぞれ投与放射能の 36.8%および 43.4%であった。次いで がそれぞれ 21.7%および 19.9%排泄され、これらが尿中の主代謝物であることが明らかになった。糞中には がそれぞれ投与放射能の 4.0%および 4.1%、 が 1.4%および 1.0%、 が 1.4%および 1.5%排泄された。カフェンストロールの糞中排泄比率はそれぞれ投与放射能の 0.3%および 6.2%となり、50mg/kg 投与時の排泄比率の増加は未吸収分の増加によるものと考えられた。雌性ラットの場合もほぼ同様な結果が得られ、両者の代謝挙動に質的な差はないことが示唆された。

表 1. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与後 48 時間までの尿中および糞中放射能排泄率

性	投与後の時間	放射能排泄率(投与放射能に対する割合%)					
		1mg/kg			50mg/kg		
		尿中	糞中	尿+糞	尿中	糞中	尿+糞
雄性	0~24h	76.2	11.8	88.0	75.8	16.3	92.2
	0~48h	78.5	12.5	91.0	77.7	17.7	95.5
雌性	0~24h	73.3	9.5	82.8	67.7	15.9	83.6
	0~48h	79.6	12.0	91.5	75.0	18.2	93.1

注) 数値は平均値 (n=3)

表 2. 雌雄ラットに T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を経口投与後 24 時間までの尿中および糞中各代謝物の排泄比率

1) 雄性ラット

代謝物*	排泄比率 (%)					
	1mg/kg			50mg/kg		
	尿中	糞中	尿+糞	尿中	糞中	尿+糞
計						

2) 雌性ラット

代謝物*	排泄比率 (%)					
	1mg/kg			50mg/kg		
	尿中	糞中	尿+糞	尿中	糞中	尿+糞
計						

注) 数値は平均値 (n=3)、T-¹⁴C-カフェンストロール 1mg/kg および 50mg/kg を投与後 24 時間までの尿または糞中排泄比率のいずれかが 2% を越えた代謝物については表記し、それら以外の代謝物はその他としてまとめた。

*: 未同定の代謝物については unknown

括弧内は試料中に検出された放射性ピークの番号

-: 検出限界以下、または未同定かつ 2% 以下の代謝物

2. 植物体内運命に関する試験

^{14}C 標識カフェンストロールを用いた水稲における吸収・移行および分布試験

(資料代謝 No. 4)

試験機関 株式会社三菱化成安全科学研究所
報告書作成年 1994 年

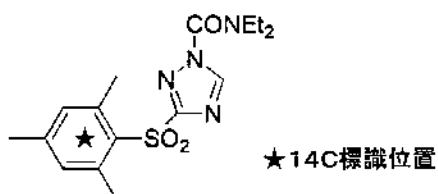
供試標識化合物

1) ベンゼン環- ^{14}C 標識カフェンストロール (B- ^{14}C -カフェンストロールとする)

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチル[U- ^{14}C]フェニルスルホニル)-1,2,4-
トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4 (非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

供試標識化合物の合成法：

供試植物

イネ (品種：日本晴) を育苗箱に播種し、3 葉期まで管理育成した。このイネ苗をポットに移植し、移植 14 日後に B- ^{14}C -カフェンストロールを 10a 当たり 30g 播下処理した。その後慣行の肥培管理を行って、収穫期までイネを栽培して、吸収・移行および分布試験を行った。

方法

1) 吸収・移行試験

ポット栽培し、移植 1 ヶ月後、2 ヶ月後、出穂期および収穫期に採取したイネを分割し、その 1/4 を用い、オートラジオグラフィー法により、 ^{14}C を測定して吸収・移行を検討した。また、イネを根、茎、葉および穂に分け、燃焼法により各部位の放射能を測定し、それらの植物体中放射

能に対する割合(%)、処理放射能に対する割合(%)を求めた。

2) 分布試験

ポット栽培し、移植1ヵ月後、2ヵ月後、出穂期および収穫期に採取したイネを分割し、その3/4を用い、根、茎、葉および穂に分け、溶媒抽出と分画操作を行った。有機溶媒可溶性画分(OS画分)、水溶性画分(WS画分)および抽出残渣画分(PBR画分)に分画し、試料燃焼装置、液体シンチレーションカウンターおよびRI検出器付き高速液体クロマトグラフィーを用いて、各画分の放射能を測定し、それらの植物体中の放射能に対する割合(%)およびカフェンストロール換算濃度(ppb)を求めた。

結果

1) 吸収・移行試験

オートラジオグラフィ法により、移植1ヵ月後の試料では¹⁴Cは茎に多く検出された。移植2ヵ月後では根に多く認められたが、地上部ではほぼ全体に分布した。出穂期以降でも根の分布が最大であったが、穂ではほとんど検出されなかった。収穫期でも穂にはほとんど分布しなかった。燃焼法による試験結果を表1.に示した。植物に吸収・移行した放射能は処理量に対して移植1ヵ月後、2ヵ月後、出穂期および収穫期で2.68、17.88、14.96 および13.32%であった。部位別では根の分布割合が多く、植物体中放射能の41.8~71.1%が分布した。茎では13.2~38.8%、葉では14.7~17.1%、穂では、出穂期において0.11%および収穫期において0.72%と少なかった。

2) 分布試験

部位別の各画分の溶媒分画結果を表2.に示した。移植1ヵ月後でカフェンストロール換算濃度として、葉に198ppb、茎に233ppb、根に255ppbであったが、収穫期では玄米に13ppb、籾殻および枝梗に42ppb、葉に668ppb、根に611ppbであった。OS、WSおよびPBR画分の分布割合は、移植1ヵ月後では各部位ともに3画分の割合がほぼ同じであった。

一方、収穫期では根のPBR画分が約50%と最大で、次に根のWS画分および葉のPBR画分が約10%であり、その他の画分は2~7%であった。なお、玄米中のPBR画分をさらに分画したところ、その75%が粗澱粉画分に分布した。

未変化体カフェンストロールのイネ体中の濃度は表3.~表6.に示したように、移植1ヵ月後で37ppb、収穫期で8ppbであったが、そのほとんどが根に分布した。代謝物としては

が検出されたが、これらはいずれも50ppb以下であった。特に玄米中には
が検出されたが、その濃度は0.3ppb以下であった。また、次に述べる代謝試験で推定または同定された代謝物がポット栽培のイネにおいても認められることから、代謝経路はイネ苗試験と同様であることが推察された。

表 1. イネ体中への ^{14}C 標識カフェンストロールの吸収・移行

部位	割合	移植後経過日数における割合 (%)			
		1 ヶ月	2 ヶ月	出穂期	収穫期
穂	植物体中 ¹⁾	—	—	0.11	0.72
	処理量 ²⁾	—	—	0.00	0.04
葉	植物体中 ¹⁾	16.4	15.7	17.1	14.7
	処理量 ²⁾	0.44	2.80	2.56	1.96
茎	植物体中 ¹⁾	38.8	13.2	17.9	15.3
	処理量 ²⁾	1.04	2.36	2.68	2.04
根	植物体中 ¹⁾	44.8	71.1	64.9	69.3
	処理量 ²⁾	1.20	12.72	9.72	9.24
植物全体	植物体中 ¹⁾	100	100	100	100
	処理量 ²⁾	2.68	17.88	14.96	13.32

1) 植物体中とは植物体中の全放射能に対する割合 (%)。

2) 数値はイネの 1/4 を用いた処理量に対する放射能割合 (%) を植物全体に換算*したもの。

*原報から申請者が換算した。

表 2. 移植 1 ヶ月後および収穫期イネの溶媒分画結果

移植後 経過日数	部位	生体重量 (g)	画分	分布割合(%)			カフェンストール換算	
				処理量 ²⁾	処理量 ³⁾	植物体中 ⁴⁾	量(μg)	濃度(ppb)
1 ヶ月	葉	10.31	OS ¹⁾	0.10	0.13	4.4	0.59	58
			WS ¹⁾	0.16	0.21	6.7	0.89	86
			PBR ¹⁾	0.10	0.13	4.1	0.55	54
			小計	0.36	0.47	15.2	2.04	198
	茎	21.23	OS	0.36	0.48	16.4	2.06	97
			WS	0.29	0.39	12.5	1.68	79
			PBR	0.21	0.28	9.1	1.22	57
			小計	0.87	1.15	37.0	4.96	233
	根	25.17	OS	0.41	0.55	17.6	2.35	93
			WS	0.34	0.45	14.4	1.93	77
			PBR	0.37	0.49	15.9	2.13	85
			小計	1.13	1.49	47.8	6.40	255
植物全体	56.81	OS	0.88	1.17	37.3	5.00	88	
		WS	0.79	1.05	33.6	4.50	79	
		PBR	0.69	0.92	29.1	3.90	69	
		合計	2.36	3.14	100.0	13.40	236	
収穫期	玄米	82.18	OS	0.001 ₃	0.001 ₇	0.01	0.04 ₁	0.5
			WS	0.002 ₃	0.002 ₉	0.02	0.06 ₇	0.8
			PBR	0.033 ₆	0.044 ₀	0.27	0.98 ₆	11.9
			小計	0.036 ₆	0.048 ₆	0.30	1.09 ₆	13.3
	籾殻 および 枝梗	27.17	OS	0.007 ₄	0.0100	0.06	0.23	8
			WS	0.010 ₁	0.0136	0.09	0.31	12
			PBR	0.020 ₁	0.0272	0.17	0.61	22
			小計	0.038 ₆	0.0510	0.32	1.15	42
	葉	90.93	OS	0.52	0.69	4.3	15.7	172
			WS	0.31	0.41	2.6	9.3	103
			PBR	1.20	1.60	9.9	35.8	394
			小計	2.04	2.70	16.9	60.7	668
茎	421.01	OS	0.68	0.91	5.7	20.4	48	
		WS	0.49	0.65	4.1	14.7	35	
		PBR	0.84	1.12	7.0	25.1	60	
		小計	2.02	2.68	16.7	60.3	143	
根	388.05	OS	0.80	1.07	6.7	24.0	62	
		WS	1.26	1.68	10.5	37.7	97	
		PBR	5.88	7.84	48.7	175.4	452	
		小計	7.95	10.59	65.8	237.1	611	
植物全体	1009.34	OS	2.02	2.69	16.7	60.3	60	
		WS	2.08	2.77	17.3	62.2	62	
		PBR	7.98	10.64	66.0	238.0	236	
		合計	12.08	16.10	100.0	360.5	357	

注)表示した数値は全て表示最終桁の一桁下を四捨五入した値。

- 1) OS とは有機溶媒画分、WS とは水溶性画分、PBR とは抽出残さ画分。
- 2) イネの 3/4 を用いた処理量に対する放射能分布割合(%)。
- 3) 植物全体に換算*した処理量に対する放射能分布割合(%)。
- 4) 植物体中とは植物体中の全放射能に対する分布割合(%)。

*原報から申請者が換算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3. 移植 1 ヶ月後のイネ体中のカフエンストロールおよび¹⁴C 標識代謝物濃度¹⁾

代謝物 [標品]	葉		茎		根		植物全体	
	[生体重量: 10.31g]	[生体重量: 21.33g]	[生体重量: 25.17g]	[生体重量: 56.81g]				
¹⁴ C (%) ²⁾	0.26	0.66	0.75	1.67	カフエンストロール換算 ³⁾ (%) ²⁾	1.67	カフエンストロール換算 ³⁾ (%) ²⁾	1.67
(μg) (ppb)	1.48	3.74	4.23	9.47	(μg) (ppb)	170	(μg) (ppb)	163
抽出性画分	0.26	0.66	0.75	1.67				

合計

注 1) 表示した数値は表示最終桁の一桁下を四捨五入した値である。ただし、植物全体の代謝物濃度は一桁下を切捨てた。

注 2) ¹⁴C 処理量に対する割合

注 3) ポット当たり 284 μg を処理し、2 ポット (568 μg) を使用することから、1% 当たり 5.68 μg となる。

注 4) S/N 比 3 以上のピークとして検出される未同定代謝物

注 5) S/N 比 3 以下のピークとして検出されない ¹⁴C 代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 4. 移植 2 ヶ月後のイネ体中のカフェンストロロールおよび¹⁴C 標識代謝物濃度¹⁾

代謝物[標品]	葉		根		植物全体	
	[生体重量: 28.55g]		[生体重量: 135.42g]		[生体重量: 223.9g]	
¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾
	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)		(μg) (ppb)		(μg) (ppb)
抽出性成分	1.09 6.22 218	0.97 5.52 92	3.74	21.3 157	5.8	33.04 147

合計

注 1) 表示した数値は表示最終桁の一桁下を四捨五入した値である。ただし、植物全体の代謝物濃度は一桁下を切捨てた。

注 2) ¹⁴C 処理量に対する割合

注 3) ポット当たり 284 μg を処理し、2 ポット (568 μg) を使用することから、1% 当たり 5.68 μg となる。

注 4) S/N 比 3 以上のピークとして検出される未同定代謝物

注 5) S/N 比 3 以下のピークとして検出されない ¹⁴C 代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5. 出穂期のイネ体中のカフェインストロロールおよび¹⁴C 標識代謝物濃度¹⁾

代謝物 [標品]	穂		葉		茎		根		植物全体	
	¹⁴ C (%) ²⁾	(μg) (ppb)	¹⁴ C (%) ²⁾	(μg) (ppb)	¹⁴ C (%) ²⁾	(μg) (ppb)	¹⁴ C (%) ²⁾	(μg) (ppb)	¹⁴ C (%)	(μg) (ppb)
	[生体重量: 37.99g]		[生体重量: 145.60g]		[生体重量: 428.58g]		[生体重量: 406.24g]		[生体重量: 1018.4g]	
	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	カフェインスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%)	カフェインスト ロール換算 ³⁾
抽出率	0.004 ₅	0.13 ₆	0.74	22.1	152	0.9	25.8	62	1.5	44.7
合計		3.3							3.14	93.7
										92

合計

注 1) 表示した数値は表示最終桁の一桁下を四捨五入した値である。ただし、穂および植物全体の代謝物濃度は一桁下を切捨てた。

注 2) ¹⁴C 処理量に対する割合

注 3) ポット当たり 1491 μg を処理し 2 ポット (2982 μg) を使用することから、1% 当たり 29.82 μg となる。

注 4) S/N 比 3 以上のピークとして検出される未同定代謝物

注 5) S/N 比 3 以下のピークとして検出されない ¹⁴C 代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 6. 収穫期のイネ体中のカフェンストロロールおよび¹⁴C標識代謝物濃度¹⁾

玄米		初穀		葉		茎		根		植物全体	
[生体重量: 82.38g]		[生体重量: 27.17g]		[生体重量: 90.93g]		[生体重量: 421.01g]		[生体重量: 388.05g]		[生体重量: 1009.3g]	
代謝物[標品]	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾	カフェンスト ロール換算 ³⁾	¹⁴ C (%) ²⁾
	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)	(μg) (ppb)
抽出性画分	0.004	0.1	0.013	0.5	20	0.84	25	275	1.18	35.1	83
									2.06	61.7	159
											4.1
											122.5
											121

合計

注 1) 表示した数値は表示最終桁の一桁下を四捨五入した値である。ただし、初穀, 玄米および植物全体の代謝物濃度は一桁下を切捨てた。

注 2) ¹⁴C 処理量に対する割合

注 3) ポット当たり 1491 μg を処理し, 2 ポット (2982 μg) を使用することから, 1% 当たり 29.82 μg となる。

注 4) S/N 比 3 以上のピークとして検出される未同定代謝物

注 5) S/N 比 3 以下のピークとして検出されない ¹⁴C 代謝物

^{14}C 標識カフェンストロールを用いた水稻における代謝試験

(資料代謝 No. 5)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995 年

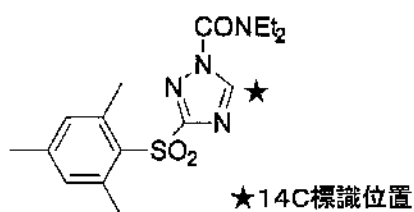
供試標識化合物

1) トリアゾール環- ^{14}C 標識カフェンストロール(T- ^{14}C -カフェンストロールとする)

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2, 4, 6-トリメチルフェニルスルホニル) [5- ^{14}C]-1, 2, 4-トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4 (非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

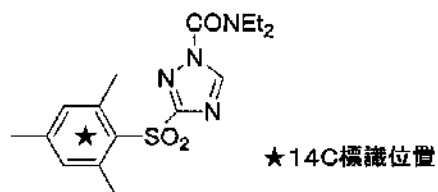
供試標識化合物の合成法：

2) ベンゼン環- ^{14}C 標識カフェンストロール(B- ^{14}C -カフェンストロールとする)

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2, 4, 6-トリメチル[U- ^{14}C]フェニルスルホニル)-1, 2, 4-トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4(非標識体)

比放射能：

放射化学的純度：

供試標識化合物の合成法：

供試植物

イネ(品種：日本晴)を育苗箱に播種し、3葉期まで管理育成した。このイネ苗を根洗いし、前記標識化合物の0.1ppm水溶液に6日間浸漬した後、春日井氏の水耕液中で14日間栽培し、放射性代謝物を検討することにより、代謝試験を行った。

方法

1)代謝試験

3葉期イネ苗を0.1ppmのT-¹⁴C-カフェンストロールまたはB-¹⁴C-カフェンストロール水溶液中に6日間浸漬した後、春日井氏水耕液で14日間栽培した。地上部と根部に分け、溶媒抽出後、分画操作を行って、抽出画分として地上部の有機溶媒可溶性画分(OS画分)、地上部の水溶性画分(WS画分)、根部のメタノール抽出画分(MS画分)およびクロロフィル画分と抽出残さ画分(PBR画分)とに分画した。抽出画分中の¹⁴C標識代謝物についてはHPLCを用いて代謝想定化合物とのコクロマトグラフィーを行い、また、単離してHPLC、NMRおよびMSを用いて同定した。PBR画分についてはさらに硫酸リグニン、粗澱粉画分などに分画した。各代謝物と画分の存在割合(%)とカフェンストロール換算濃度(ppb)を求めた。

結果

1)代謝試験

水耕栽培法によりイネ苗における代謝試験を行いその結果を表1.～表3.に示した。

イネ苗中における放射能の存在割合は、硫酸リグニン画分が最大でありカフェンストロール換算濃度としてT-¹⁴C-カフェンストロール処理およびB-¹⁴C-カフェンストロール処理でそれぞれ53.8ppbまたは64.4ppbであり、次には粗澱粉画分が44.1ppbまたは54.5ppbであった。抽出画分中の代謝物としては動物における主要代謝物である が最大の存在割合であり、31.0ppbまたは23.6ppbであった。その他 の存在が明らかとなり、そのうち について構造の推定または同定を行った。これらの代謝物の内、存在割合の多い代謝物については、イネ苗から抽出・単離し、HPLC、MSおよびNMRを用いて代謝想定化合物と比較検討を行って、同定または構造の推定を行った。その結果をもとにカフェンストロールのイネ苗における代謝経路を推定した(図1.)。イネ苗におけるカフェンストロールは、となり、一般的な生体内解毒機構であるグルコース抱合または

となった。また、
となり、さらに
となり、これが還元されて に、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

図 1. カフェンストロールのイネ苗における代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

代謝物の作物残留試験

(参考資料)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995年

1. 分析法の原理と操作概要

2. 分析対象の化合物名

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1. 作物残留分析結果 (CH-907 粒剤)

作物名 (栽培形態) (分析部位)	剤型(有効成分量) 希釈倍数 又は 使用量 使用方法	試験調 製場所	使用回数	経過日数	分 析 結 果 (ppm)											
					分析機関 (財団法人 残留農薬研究所)						分析機関 (中外製薬株式会社)					
					代 謝 物			代 謝 物			代 謝 物			代 謝 物		
最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値			
水稻 (玄米) 1993 年度	CH-907 粒 剤 (CH-900) 1% 3kg/10a 散布	栃木農試	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		
			1	126	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		
		福岡 農総試 豊前分場	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		
			1	78	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

表 2. 作物残留分析結果 (NC-335 ドライフロアブル)

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年 度	利型(有効成分量) 希釈倍数 又は 使用量 使用方法	試験調製場所	使用回数	経過日数	分 析 結 果 (ppm)					
					分析機関 (財団法人 残留農薬研究所)		分析機関 (中外製薬株式会社)			
					代 謝 物		代 謝 物			
最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値			
水稲 (玄米) 1994 年度	NC-335 ドライフロアブル (CH-900) 50% 60g/10a 散布	植調古川	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			1	102	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		植調島根	0	—	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			1	116	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

3. 土壌中運命に関する試験

土壌における運命（湛水試験）

（資料代謝 No. 6）

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995年

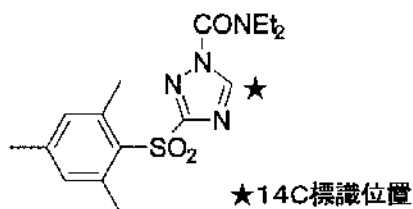
供試標識化合物

- 1) トリアゾール環- ^{14}C 標識カフェンストロール (T- ^{14}C -カフェンストロールとする)

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニルスルホニル) [5- ^{14}C]-1,2,4-トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4（非標識体）

比放射能：

放射化学的純度：

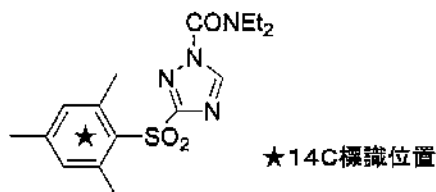
供試標識化合物の合成法：

- 2) ベンゼン環- ^{14}C 標識カフェンストロール (B- ^{14}C -カフェンストロールとする)

一般名：カフェンストロール

化学名：1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチル [U- ^{14}C]フェニルスルホニル)-1,2,4-トリアゾール

化学構造：



分子量：350.4（非標識体）

比放射能：

放射化学的純度：

供試標識化合物の合成法：

供試土壌

湛水試験用の水田土壌として栃木県農業試験場（栃木土壌）、静岡県中外製薬(株)藤枝圃場（藤枝土壌）を用いた。

方法

農薬の土壌残留試験実施に関する指針に準じて、褐色ガラス瓶に栃木土壌および藤枝土壌を乾土当たり 30 g 充填し、蒸留水を加えて攪拌した。試験容器は 30 °C に設定した恒温槽内に暗所保存して、前培養した。

T-¹⁴C-カフェンストロールまたは B-¹⁴C-カフェンストロールを各土壌に 0.3 ppm 添加し、均一に混合した後、2 週間毎に水分を補給して 30 °C の恒温槽中で所定の期間培養した。各試験期間中、30 °C の恒温槽中で培養した試料は分画操作を行い、有機溶液抽出画分（OS 画分）、水溶性画分（WS 画分）および土壌残渣画分（S. B. R. 画分とした）に分画した。S. B. R. 画分はさらに腐植分析を行い、ヒューミン、腐植酸およびフルボ酸に分画した。

藤枝土壌を用い、滅菌条件における土壌分解試験（滅菌分解試験）、嫌気条件における土壌分解試験（嫌気分解試験）、好氣的振とう条件における土壌分解試験（振とう分解試験）および主分解物 CHM-03 による分解経路の確認試験を行った。また、CO₂ 発生量も測定した。

これらの画分中のカフェンストロールおよび土壌分解物の同定は、主として下記の測定条件の高速液体クロマトグラフィーにより行った。

HPLC 測定条件

カラム	:
保護カラム	:
移動相	:
流速	:
測定波長	:
カラム温度	:
装置	:
RI 検出器	:

結果

1) 土壌分解試験（湛水試験）

- (1) 栃木土壌では、カフェンストロールは半減期 25 日で減少し、主分解物 が生成した（図 1. 表 1. および 2.）。
- (2) 藤枝土壌では、カフェンストロールは半減期 14 日で減少した。主分解物である は薬剤添加 60 日後または 92 日後で最大値である 0.114 ppm または 0.122 ppm を示したのち、減少した。また、 は薬剤添加 60 日後から生成し、120 日後で T-¹⁴C-カフェンストロールまたは B-¹⁴C-カフェンストロール添加区においてそれぞれ 0.011 ppm、0.014 ppm であった。さらに、 は 120 日後にそれぞれ 0.007 ppm、0.006 ppm 生成した（図 2. 表 3. および 4.）
- (3) カフェンストロールの土壌分解物について検討し、分解経路を推定し、図 3. に示した。

カフェンストロールはまず、に分解した。さ
らに、に、または、

へと分解した。その後、

は土壤に吸着し、Soil Bound Residue (以下 S.B.R. とする) となった。S.B.R. となった分解物は土壤微生物によりさらに分解されて、最終的には二酸化炭素などになると考えられた。

2) 土壤分解補完試験 (灌水試験)

(1) 滅菌分解試験では、カフェンストロールは1年間の培養でも添加放射能に対して80%残存した。また、は1年後には添加放射能に対して2.6%生成した。本試験においては、は検出されなかった。

(2) 嫌氣的分解試験では、カフェンストロールは半減期40日で減少した。は薬剤添加90日後で最大値である0.131 ppmを示したのち、減少する傾向を示した。また、は薬剤添加90日後から生成し、210日後で0.011 ppmであった。さらに、は150日後に0.004 ppm生成した。

(3) 振とう分解試験における分解物はであった。カフェンストロールの半減期は振とう分解試験と土壤分解試験でほぼ同じであった。また、の生成時期は振とう分解試験と土壤分解試験において変らなかったが、濃度は振とう分解試験の方が土壤分解試験より低かった。さらに、の生成時期は振とう分解試験の方が土壤分解試験より早かった。振とう分解試験と土壤分解試験におけるカフェンストロールの半減期がほぼ同じであったことから、は振とう分解試験においても土壤分解試験と同様に、カフェンストロールの分解によりまず最初に生成すると考えられた。しかし、土壤を振とうすることにより土壤微生物の活動が活発となった結果、、または、への分解が促進されての濃度が低くなり、また、の生成時期が振とう分解試験で早くなったものと考えられた。なお、推定分解経路は、土壤分解試験と同じと考えられた。

(4) を用いた分解経路の確認試験により、への分解およびへの分解が分解経路であると推定した。

(5) 供試した両土壤から $^{14}\text{CO}_2$ の発生が確認され、1年間の積算で栃木土壤処理量の0.99~2.88%、藤枝土壤処理量の4.27~4.28%であった。

3) 主要分解物の同定

土壤分解試験および土壤分解補完試験において、存在が確認された主要分解物

を、非標識および重水素標識カフェンストロールを添加した藤枝土壤を用いて培養後、抽出、精製したのち、ガスクロマトグラフィー質量分析計および高速電子衝撃質量分析計を用いて同定した。

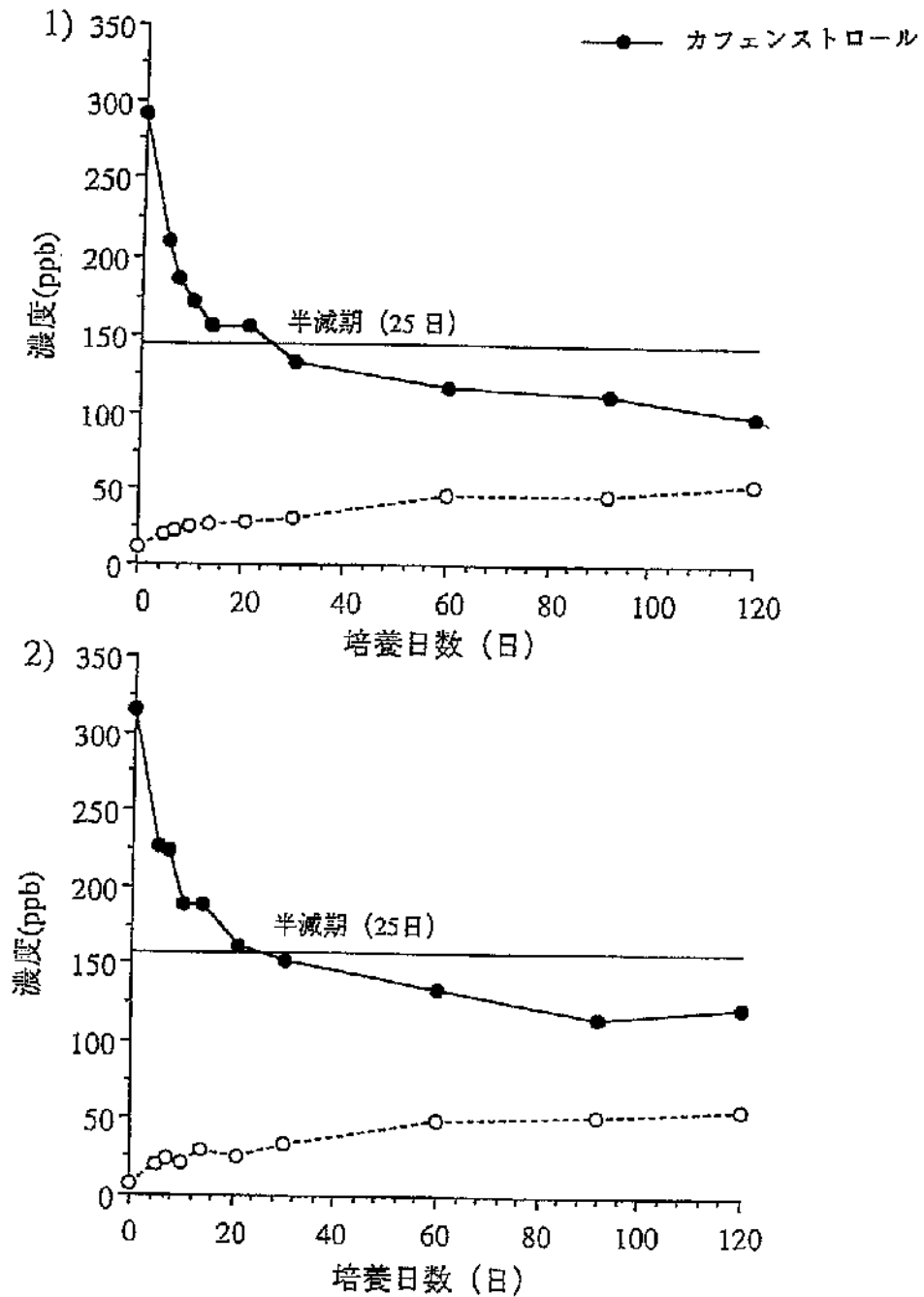


図1. 栃木土壌におけるカフェンストロールおよびその分解物の消長

1) T-¹⁴C-カフェンストロール添加

2) B-¹⁴C-カフェンストロール添加

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1. 土壌分解試験における栃木土壤中でのCH-900の分解 (T-¹⁴C-CH-900、0.31 ppm 添加)

(処理放射エネルギーに対する%で表示)

	培養日数 (日)									
	直後	5	7	10	14	21	30	60	92	120
OS画分	97.9	74.7	67.3	63.6	59.3	59.9	53.4	53.0	51.8	49.5
CH-900	94.3	68.2	60.1	55.6	50.6	50.7	43.1	38.1	36.6	32.1
回収率	99.1	96.6	95.7	95.1	93.8	91.7	99.6	99.7	100.0	95.8

—: 不検出

表 2. 土壌分解試験における栃木土壤中でのCH-900の分解 (B-¹⁴C-CH-900、0.33 ppm 添加)

(処理放射エネルギーに対する%で表示)

	培養日数 (日)									
	直後	5	7	10	14	21	30	60	92	120
OS画分	96.5	72.5	74.0	62.5	65.4	61.6	55.5	54.4	50.2	53.3
CH-900	94.4	66.4	67.0	56.4	56.6	54.9	45.4	39.9	34.4	36.5
回収率	97.3	91.0	93.3	92.2	95.2	94.6	100.0	95.0	93.9	98.3

—: 不検出

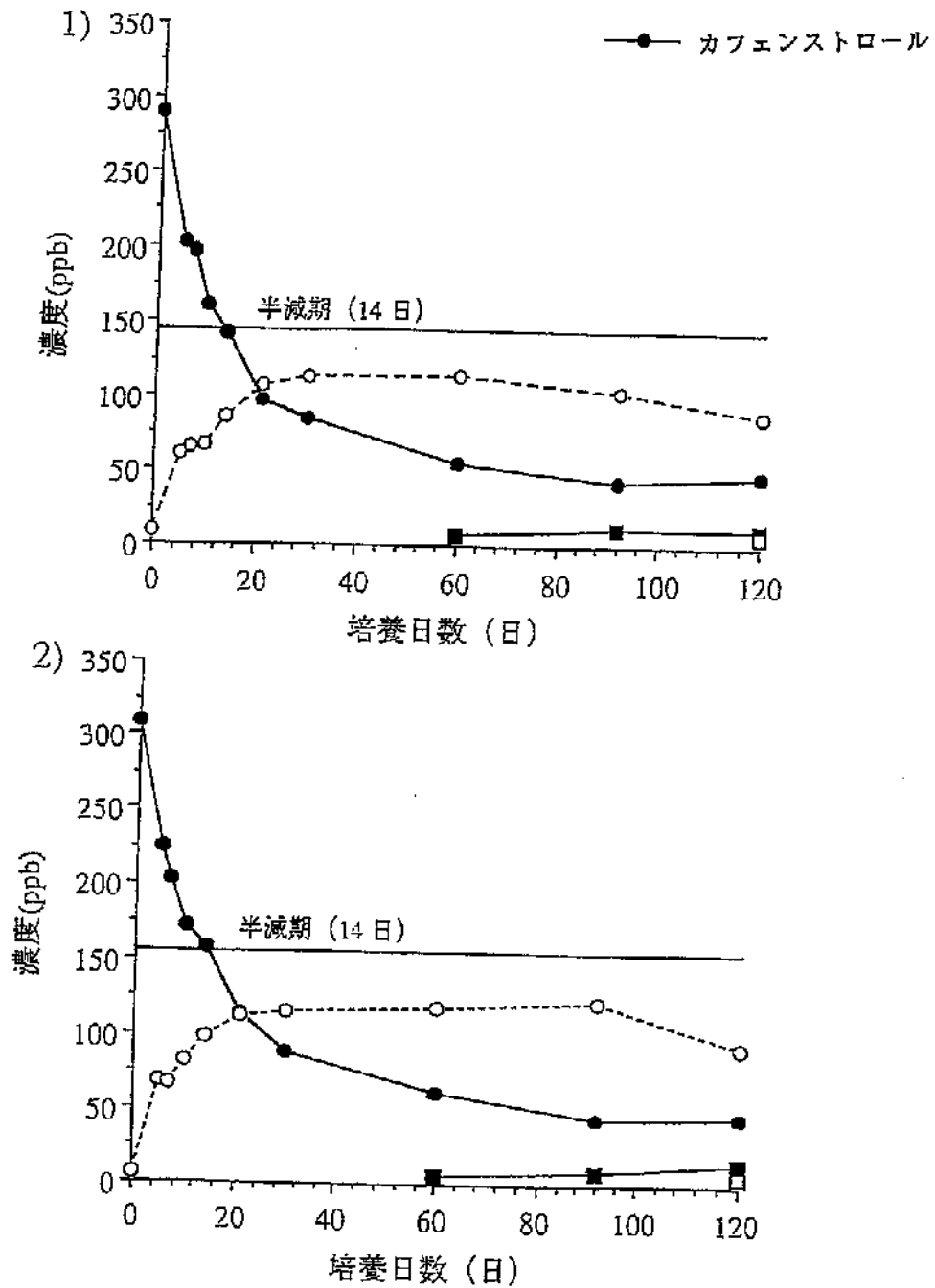


図 2. 藤枝土壌におけるカフェンストロールおよびその分解物の消長

1) T-¹⁴C-カフェンストロール添加

2) B-¹⁴C-カフェンストロール添加

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3. 土壌分解試験における藤枝土壌中でのCH-900の分解 (T-¹⁴C-CH-900、0.31 ppm 添加)

(処理放射エネルギーに対する%で表示)

	培養日数 (日)									
	直後	5	7	10	14	21	30	60	92	120
OS画分	96.9	85.7	85.0	73.5	73.8	66.2	63.6	57.1	51.7	49.5
CH-900	93.9	65.8	63.9	52.0	46.0	31.6	27.1	17.8	14.2	15.5
回収率	97.8	98.4	98.6	93.8	94.8	95.8	97.5	100.3	95.7	100.0

— : 不検出

表 4. 土壌分解試験における藤枝土壌中でのCH-900の分解 (B-¹⁴C-CH-900、0.33 ppm 添加)

(処理放射エネルギーに対する%で表示)

	培養日数 (日)									
	直後	5	7	10	14	21	30	60	92	120
OS画分	94.4	87.7	80.8	76.6	77.0	67.7	61.3	55.9	52.8	47.5
回収率	95.1	100.3	94.5	95.3	97.0	95.4	93.8	95.4	96.1	94.5

— : 不検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

図 3. カフェンストロールの推定土壌分解経路

土壌における運命 (畑条件試験)

(資料代謝 No. 7)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1994年

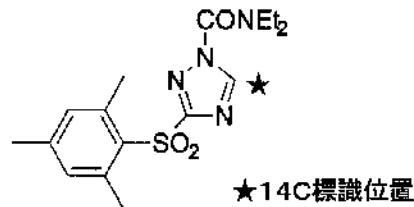
供試標識化合物

1) トリアゾール環- ^{14}C 標識カフェンストロール ($\text{T-}^{14}\text{C}$ -カフェンストロールとする)

一般名: カフェンストロール

化学名: 1-ジエチルカルバモイル-3-(2,4,6-トリメチルフェニル)スルホニル [5- ^{14}C] -1,2,4-トリアゾール

化学構造:



分子量: 350.4 (非標識体)

比放射能:

放射化学的純度:

供試標識化合物の合成法:

供試土壌

芝生用の畑地土壌として栃木県那須那須サーセリー (那須土壌) を用いた。

方法

農薬の土壌残留試験実施に関する指針に準じて、三角フラスコに那須土壌を乾土当たり 20 g 充填し、最大容水量の 60% になるように蒸留水を加えて攪拌した。試験容器は 30 °C に設定した恒温槽内に暗所保存して、前培養した。

$\text{T-}^{14}\text{C}$ -カフェンストロールを各土壌に 2.0 ppm 添加し、均一に混合した後、土壌水分含量が最大容水量の約 60% になるように毎日水分を補給して 30 °C の恒温槽中で所定の期間培養した。

各試験期間中、30 °C の恒温槽中で培養した試料は分画操作を行い、有機溶媒抽出画分 (OS 画分)、水溶性画分 (WS 画分) および土壌残滓画分 (S. B. R. 画分とした) に分画した。S. B. R. 画分はさらに腐植分析を行い、ヒューミン、腐植酸およびフルボ酸に分画した。

これらの画分中のカフェンストロールおよび土壌分解物の同定は、主として下記の測定条件の高速液体クロマトグラフィーにより行った。

HPLC 測定条件

カラム	:
保護カラム	:
移動相	:
流速	:
測定波長	:
カラム温度	:
装置	:
RI 検出器	:

結果

1) 土壌分解試験

畑条件におけるカフェンストロールの半減期は図 1. に示したように 22 日であった。主分解物は で、添加 1 ヶ月後に最大値 18.7 %を示したのち、減少した。 は 0.4 % 生成した。S. B. R. 画分は経時的に増加し、154 日後に 66.2 %となった。S. B. R. 画分の腐植分析を行ったところ、ヒューミン、フルボ酸、腐植酸の順に放射能が分布した。また、フルボ酸画分中から が検出された (表 1.)。以上の結果から畑条件におけるカフェンストロールの分解経路を推定したところ (図 2.)、湛水試験結果とほぼ同じでカフェンストロールはまず、 に分解した。さらに、 に分解して、これらは土壌と吸着して S. B. R. となった。S. B. R. となったこれら分解物は土壌微生物により、さらに分解されて、最終的には二酸化炭素などになると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

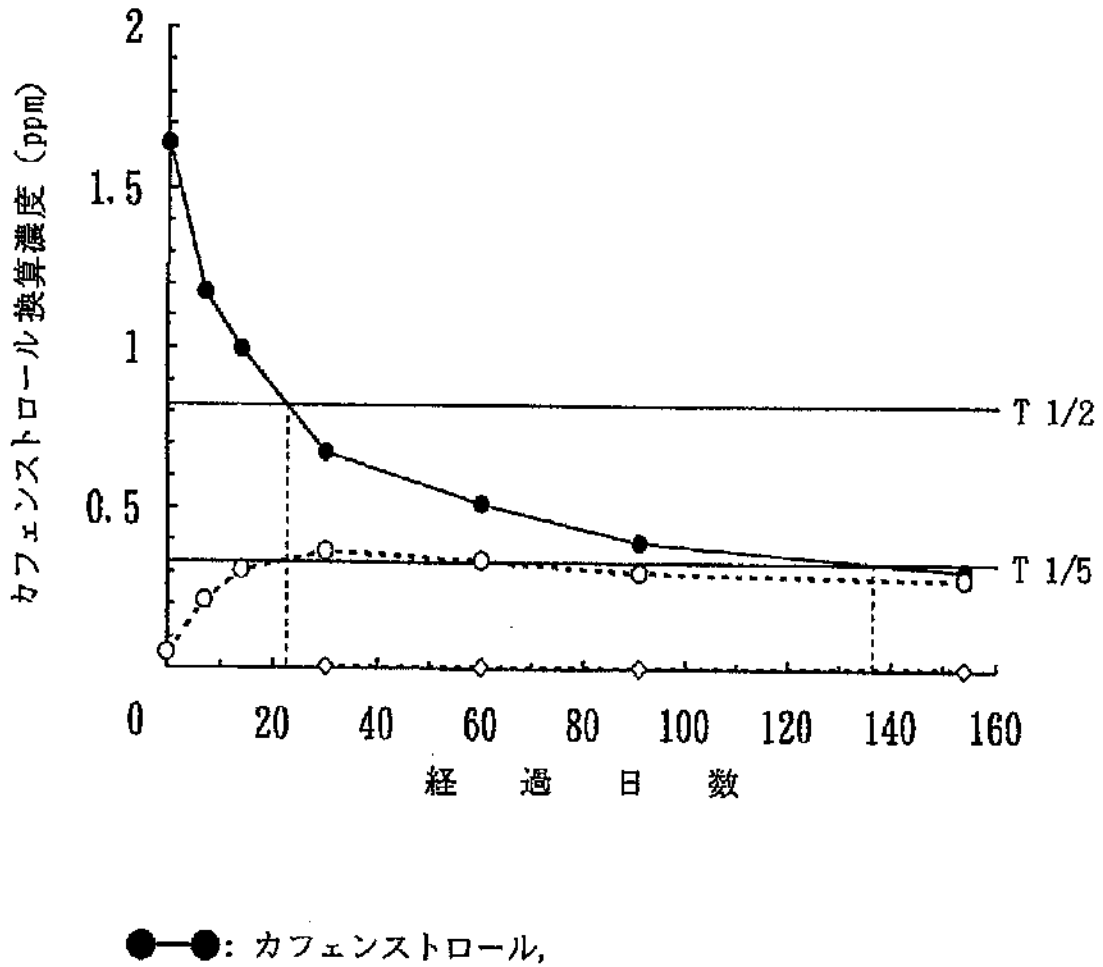
表 1. CH-900 を添加した土壌における各画分への放射能の分布割合と
各¹⁴C画分中のCH-900および主な放射分解物の生成量
(処理放射エネルギーに対する%で表示)

	培養日数 (日)						
	直後	7	14	30	60	91	154
OS画分	91.1	75.8	70.1	56.1	45.3	37.4	31.8
CH-900	84.8	60.5	51.1	34.6	26.4	20.1	15.9
WS画分	0.8	0.6	0.9	0.9	0.7	0.7	0.9
CH-900	< 0.4	< 0.4	< 0.4	—	—	< 0.4	0.4
CH-900	< 0.4	< 0.4	< 0.4	< 0.4	0.4	0.5	0.4
回収率	98.3	102.5	101.5	102.5	101.5	100.9	99.5

— : 不検出

1) : 0.4 % 以下のピークとして検出された未同定分解物の合計値

2) : 単一のピークとして検出されない¹⁴C分解物の合計値



〔図-1〕 カフェンストロールおよび主要な分解物の経時的変化

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

〔図-2〕 カフェンストロールの推定土壌分解経路

————→ : 分解経路, - - - - -> : 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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

4. 水中運命に関する試験

4. 1 加水分解運命試験

加水分解試験

(資料代謝 No. 10)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995 年

材料および方法

1) 試験溶液の調製

カフェンストロールを Clark Lubs の緩衝液 (pH3.0、7.0 および 9.0) で溶解して、1.0ppm 水溶液を調製し、10ml の共栓付き試験管に入れ、所定の温度の恒温槽 (暗所) 内に静置した。

2) 分析方法

試験溶液を酢酸エチルで抽出し、下記の測定条件の HPLC により分析してカフェンストロール濃度を求め、初期濃度に対する割合を算出して残存率とした。また、初期濃度の 50% 残存する時間を半減期とした。

HPLC 測定条件

機種 :

カラム :

移動相 :

流速 :

測定波長 :

カラム温度 :

結果

50°C、5 日間の予備試験結果によれば、pH3.0 では残存率が 93.0% であり、ほとんど加水分解しなかった。しかし、pH7.0 および 9.0 では、残存率は 50% 以下であったので、OECD の方法に従って加水分解速度定数を求め、その結果を図 1. および図 2. に示した。pH7.0 におけるカフェンストロールは、20°C においては加水分解が遅く、速度定数を求められなかった。

そこで、30°C および 40°C の測定値から外挿して速度定数を求めたところ、加水分解速度定数は $5.13 \times 10^{-9} (\text{Sec}^{-1})$ であり、半減期は 679 日 (20°C) であった。また、pH9.0 の加水分解速度定数は 20°C で $1.82 \times 10^{-8} (\text{Sec}^{-1})$ であり、半減期は 70.8 時間であった。

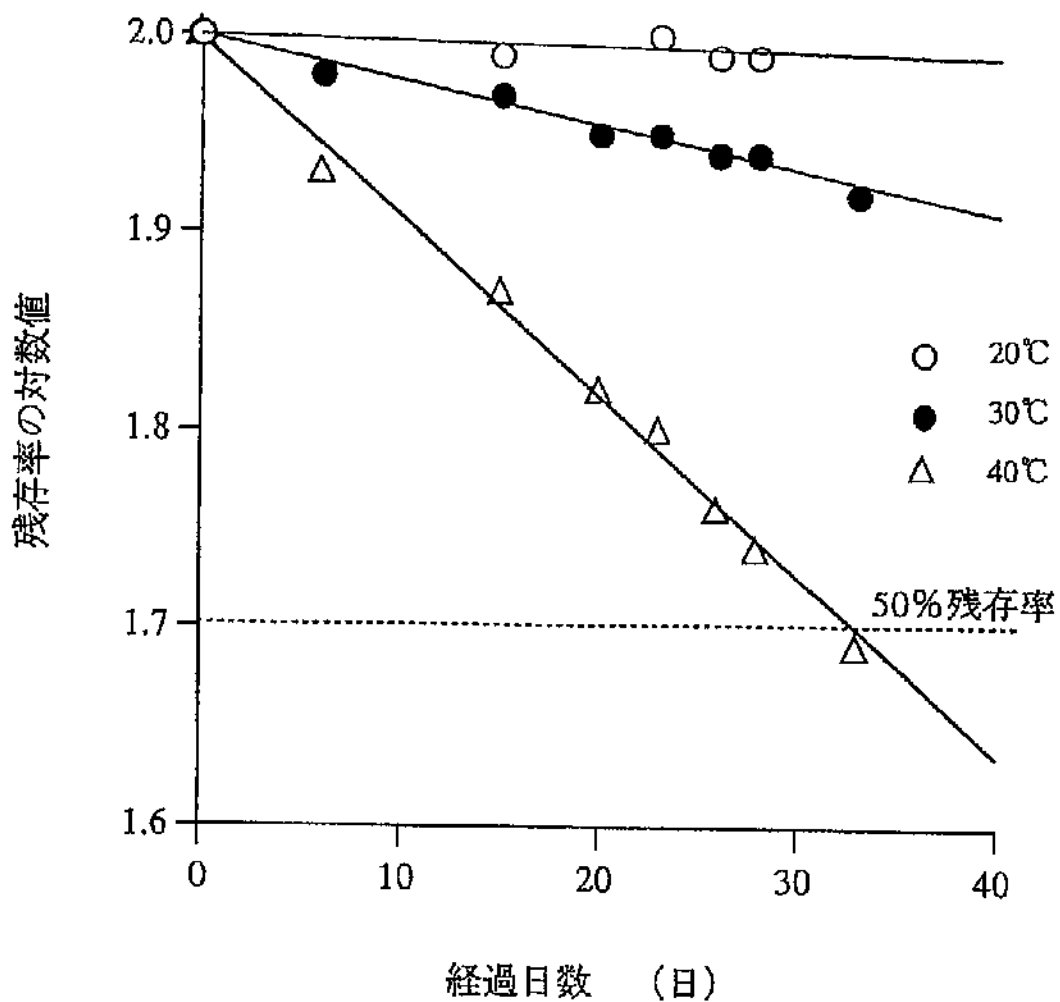


図 1. pH7.0における加水分解

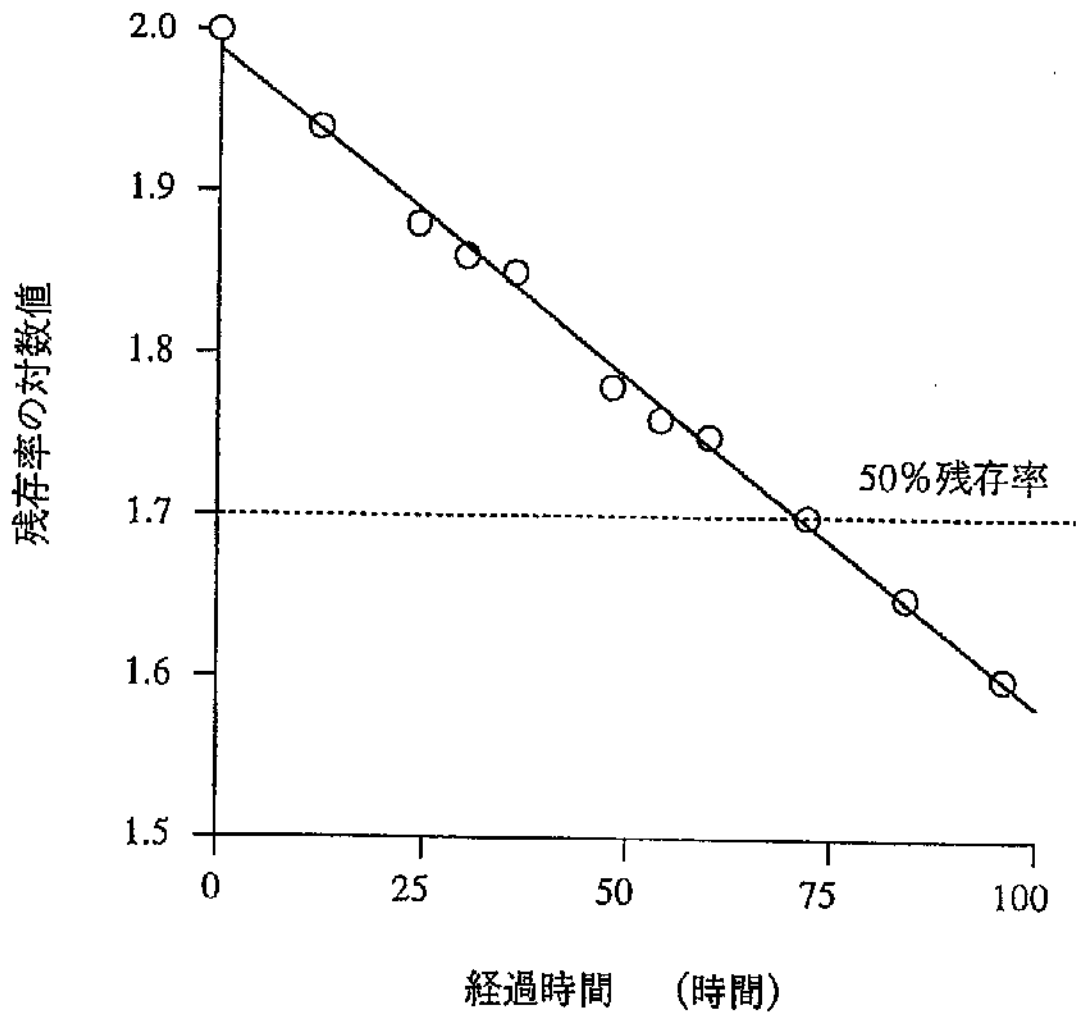


図 2. pH9.0における加水分解

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1. カフェンストロールの加水分解予備試験結果

残存率(%) / pH	3.0	7.0	9.0
①	92.2	46.2	0.0
②	94.0	45.3	0.0
平均値	93.1	45.8	0.0

表 2. カフェンストロールの pH7.0 における加水分解試験

温度/経過 日数(日)	直後	6	15	20	23	26	28	33	40
20°C	100.0	—	97.4	—	99.2	97.7	97.9	—	—
30°C	100.0	96.1	92.3	90.0	89.0	86.9	86.2	82.6	79.1
40°C	100.0	85.9	73.3	66.5	62.9	57.8	55.1	49.5	42.4

数値は残存率(%)を示す。

表 3. カフェンストロールの pH9.0 における加水分解試験

温度/経過時間 (hr)	直後	12	24	30	36	48	54	60	72	84	96
20°C	100.0	87.2	75.8	72.3	70.9	60.4	57.5	56.5	49.9	44.4	39.5

数値は残存率(%)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株式会社エス・ディー・エス パイオテックにある。

加水分解運命試験

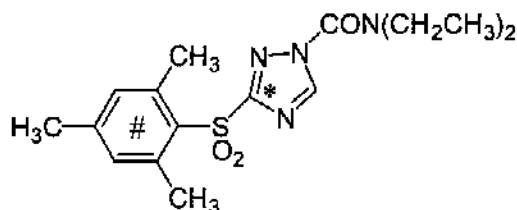
(資料代謝 No.10-1)

試験機関：Huntingdon Life Science Ltd.(英国)
[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

供試化合物：¹⁴C-カフェンストロール

構造式；



*：トリアゾール環標識位置
#：フェニル環標識位置

化学名；*N,N*-ジメチル-3-メチルスルホニル-1*H*-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミド

比放射能；[トリアゾール-3-¹⁴C]標識検体：
[フェニル-U-¹⁴C]標識検体：

放射化学的純度；[トリアゾール-3-¹⁴C]標識検体：
[フェニル-U-¹⁴C]標識検体：

標識位置及び理由；

供試水溶液；緩衝液の作用によって異常な結果が生じる可能性を最小限にするため、濃度を 0.01 モルとした。

pH 7 緩衝液；ナトリウム-2 水素-正リン酸塩(1.56g)を約 900mL の水に溶解し、1.0 モル水酸化ナトリウム溶液を加えて pH を 7.0 に調整した。この溶液に水を加えて容量を 1L とし、再度 pH を調整した。

pH 9 緩衝液；ホウ酸(0.618g)を約 900mL の水に溶解し、1.0 モル水酸化ナトリウム溶液を加えて pH を 9.0 に調整した。この溶液に水を加えて容量を 1L とし、再度 pH を調整した。以後、必要に応じて pH を調整した。

試験方法；

検体の調製及び処理；いずれの位置に標識した検体もアセトニトリルに溶解して原液を調製し、さらにアセトニトリルで原液の一部を希釈して、設定濃度 1.25mg/L となるように緩衝液に加えた。

インキュベーション；処理直後及び無菌試験用の試料を除き、検体を処理した緩衝液が入った容器を、暗所にて約 25℃でインキュベーションした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

試験期間；予備試験の結果に基づいて以下の時点で試料を採取した。開始時及びインキュベーション終了時に無菌試験用試料を採取した。

pH	インキュベーション期間(日)						
	7	0	5	10	15	20	25
9	0	0.5	1	2	3	5	7

測定及び分析；pH は pH メーター、放射能測定は液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。各成分は逆相 HPLC により分析し、TLC のクロマトグラフィーにより分解物を同定した。予備試験において揮発性の放射性物質が検出されなかったことから、本試験ではこれを測定しなかった。

無菌性についてはトリプトン大豆寒天培地プレートを調製し、30～35℃で5日間以上培養後に、細菌及び真菌生育の有無を検査した。

半減期の算定；加水分解速度は以下の式による一次反応カインेटィクスを適用して計算した。

$C_t = C_0 \times e^{-kt}$ C_t ：経過時間 t における検体の量

C_0 ：経過時間 0 における検体の量

k ：速度定数 t ：時間

この式を対数変換して $\ln C_t = \ln C_0 - kt$ とし、 t に対応する $\ln C_t$ をプロットして勾配 $-k$ を求め、 $[t_{1/2} = \ln 2/k]$ の式により半減期を算出した。

結果：表 1 にインキュベーション時間毎の試験溶液の pH、放射能回収率及び各成分の割合、表 2 に半減期の計算結果、図 1 に想定分解経路を示す。

検体処理量；処理直後の検体濃度実測値は以下のとおりであった。

[トリアゾール-3-¹⁴C]標識検体 pH7 緩衝液 1.18mg/L、pH9 緩衝液 1.19mg/L

[フェニル-U-¹⁴C] 標識検体 pH7 緩衝液 1.25mg/L、pH9 緩衝液 1.22mg/L

インキュベーション温度；全試験期間を通した温度は、pH7 の試験で 24.8±0.6℃、pH9 の試験では 24.4±0.4℃であった。

無菌性；無菌性試験の結果は、いずれの検査時期においても陰性であった。

試験溶液の pH；[フェニル-U-¹⁴C]標識検体を処理した pH9 の 5 日間インキュベーション試料の pH 値は異常に低い値(8.34)であり、この試料のデータは半減期の計算に含めなかった。他の全ての溶液においては pH 値が設定値に対して±0.1 の範囲内であった。

放射能回収率；放射能回収率は処理量に対して 94.2～104.2%であった。

各成分の分析；検体の量は、pH7 緩衝液では 30 日後に処理放射能に対して 81.8%、pH9 緩衝液中では 7 日後に 18.2%に低下した。

いずれの緩衝液においても、クロマトグラフィーにより主要分解物

が同定された。の量は、30

日間インキュベーション後の pH7 緩衝液中に処理放射能に対して平均 13.4%、pH9 緩衝液 7 日間インキュベーション後には 81.5%であった。この分解物は、試験期間中、それ以上分解しなかった。いずれの緩衝液においても、極性物質は処理放射能に対して 0.4%以下であった。

半減期；pH7 緩衝液中の半減期は 124 日であったが、pH9 では 2.84 日で、加水分解が著しく進行した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1. 試験溶液の pH、放射能回収率及び各成分の割合
(処理放射能に対する割合%)

検体 緩衝液	インキュベーション 時間(日)	pH	放射能 回収率	放射性成分			
				カフェストール			
[トリアツール -3- ¹⁴ C] 標識検体 pH7 緩衝液	0	6.97	104.2	99.6			
	5	6.98	97.0	94.0			
	10	6.93	100.0	94.1			
	15	6.93	100.7	90.7			
	20	7.01	101.7	88.8			
	25	6.97	101.9	86.5			
	30	6.97	97.2	82.5			
[フェニル -U- ¹⁴ C] 標識検体 pH7 緩衝液	0	6.99	102.7	99.0			
	5	6.93	96.6	93.6			
	10	6.92	97.2	92.5			
	15	6.94	99.0	90.0			
	20	7.02	99.0	88.3			
	25	6.96	99.9	87.6			
	30	6.94	94.2	81.0	12.8	0.2	0.2

検体 緩衝液	インキュベーション 時間(日)	pH	放射能 回収率	放射性成分			
				カフェストール			
[トリアツール -3- ¹⁴ C] 標識検体 pH9 緩衝液	0	8.95	101.5	97.4			
	0.5	8.94	101.3	86.1			
	1	8.91	101.4	75.1			
	2	8.90	100.7	54.4			
	3	8.91	103.3	47.1			
	5	8.90	103.5	23.3			
	7	8.90	103.0	17.5			
[フェニル -U- ¹⁴ C] 標識検体 pH9 緩衝液	0	8.95	102.2	98.1			
	0.5	8.97	101.4	86.3			
	1	8.93	103.3	76.3			
	2	8.91	103.3	58.5			
	3	8.90	102.6	66.5			
	5***	8.84	102.6	62.6			
	7	8.93	103.1	18.9			

***: この試料の pH 値及びクロマトグラムは異常値と考えられ、半減期の計算に含めなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2. 推定半減期

試験温度	pH	速度定数 k	半減期(日)	相関係数 r ²
25℃ (設定温度)	7	0.0056	124	0.94
	9	0.2442	2.84	0.96

速度定数の計算式 $C_t = C_0 \times e^{-kt}$

C_t : 経過時間 t における検体の量(処理放射能に対する%)

C₀ : 経過時間 0 における検体の量(処理放射能に対する%)

k : 速度定数

t : 時間

半減期の計算式 $t_{1/2} = \ln 2 / k$

図 1. 想定分解経路

4. 2 水中光分解運命試験

水中光分解試験

(資料代謝 No. 9)

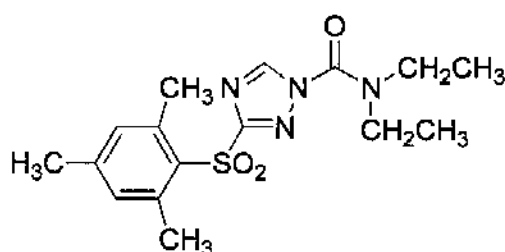
試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995年

供試化合物：

一般名：カフェンストロール

化学名：N,N-ジエチル-3-メシチルスルホニル-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミド

構造式：



供試水：

蒸留水	高速液体クロマトグラフィー用蒸留水 (純正化学)	pH 6.12	120℃、15分間高圧滅菌
-----	-----------------------------	------------	---------------

河川水	採取		pH	滅菌の有無
	場所	年月日		
北上川	岩手県一関市舞川字湯坪	1994年4月5日	5.72	不明
荒川	東京都江東区東砂町8丁目	1994年4月4日	7.08	不明
長良川	岐阜県海津郡南濃大橋付近	1994年4月5日	6.19	不明

光源：

蛍光ケミカルランプ (FL40SBL 360、三菱電機、紫外線波長 300~400 nm、最大吸収 360 nm)

光強度：

試験開始時 6.5~6.9 W/m²、試験終了時 3.7~4.1 W/m²

方法：

供試水を用いてカフェンストロールの 0.1 ppm 水溶液を調製し、試験溶液とした。その 10 ml を共栓付き石英製試験管に入れ、恒温恒湿器 (コイトロン HNL-35DA、小糸工業、温度 25℃) 内に水平に静置した。上方 30 cm から蛍光ケミカルランプを、所定の期間連続照射した。この期間の光強度は 0.59~0.46 mW/cm²であった。なお、暗所対照区としてアルミ箔で遮光した各試験溶液も設置した。

試験溶液の分析は溶液を酢酸エチルで抽出し、下記の測定条件の HPLC にてカフェンストロールおよび CIM-03 の濃度を求めた。カフェンストロールについては、試験開始時の初期濃度に対する照射後の濃度の割合を求めて残存率とし、初期濃度の 50% が残存する期間を求めて半減

期とした。また、東京(北緯 35°)春(4月から6月)での自然太陽光下における半減期も算出した。

HPLC 測定条件

機種	: 島津 LC-10A システム (島津製作所)
カラム	: YMC-Pack ODS-A (長さ; 150 mm1、内径; 6 mm、ワイエムシー)
移動相	: アセトニトリル:水 (3:2) カフェンストロールの分析 アセトニトリル:水 (1:1、pH3.0) CHM-03 の分析
流速	: 1 ml/min
測定波長	: 242 nm
カラム温度	: 50 °C

結果

1) 検出限界および回収率

本法におけるカフェンストロールおよび の検出限界は 0.01 ppm であった。また、カフェンストロールの 0.1 ppm 水溶液の回収率は、滅菌蒸留水で 96.1 %、北上川河川水で 99.1 %、荒川河川水で 97.3 % および長良川河川水で 97.6 % であった。一方、 の 0.1 ppm 水溶液の回収率は蒸留水で 102.3 % であった。

2) 試料の分析結果

光照射によるカフェンストロールの残存率の推移を表 1. および図 1. ~ 図 4. に示した。光照射区では、いずれも経時的にカフェンストロールの残存率が減少したが、それらの暗所対照区では、ほとんど分解が認められなかった。

カフェンストロールの半減期は、滅菌蒸留水で 17.1 日、北上川河川水で 13.8 日、荒川河川水で 10.7 日および長良川河川水で 19.1 日であった。東京・春換算の半減期は、滅菌蒸留水で 11.6 日、北上川河川水で 9.4 日、荒川河川水で 7.3 日および長良川河川水で 13.0 日であった。

光照射による の分析結果を表 2. に示した。北上川河川水および荒川河川水から が検出された。

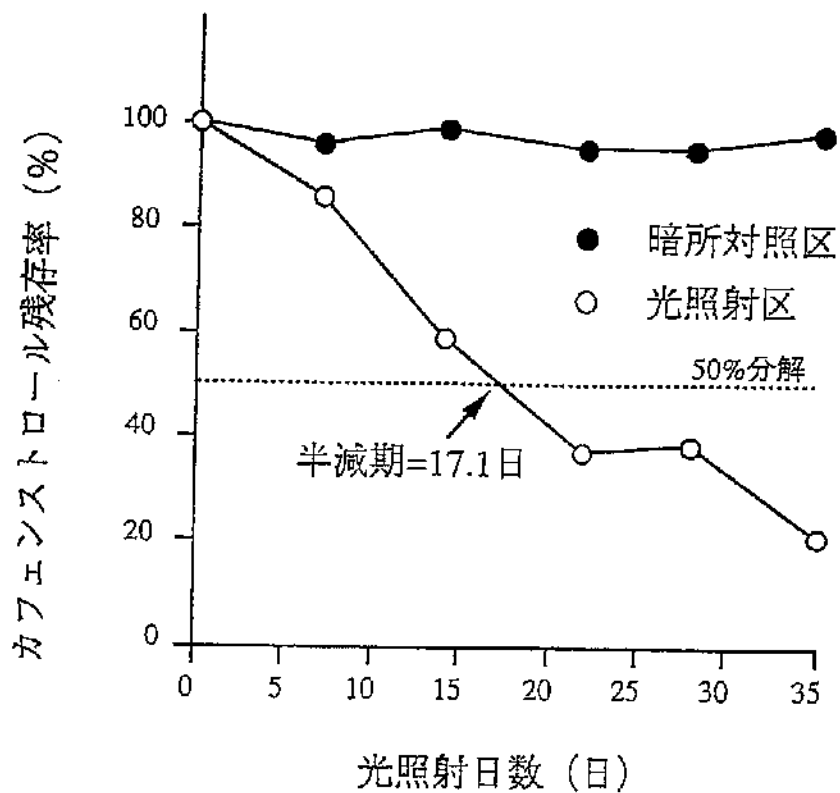


図 1. 滅菌蒸留水中におけるカフェンストロールの水中光分解

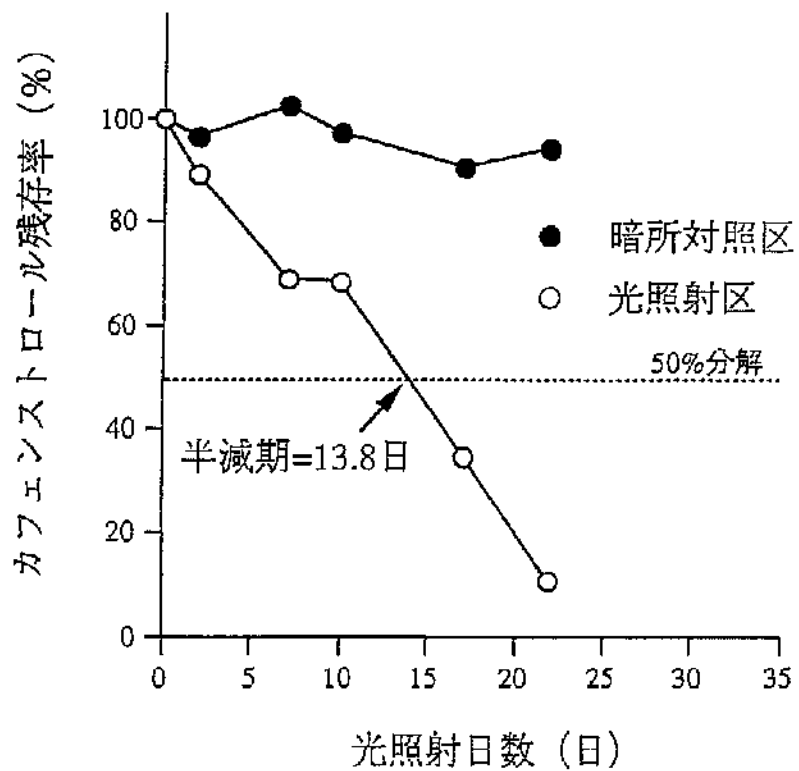


図2. 北上川河川水中におけるカフェンストロールの水中光分解

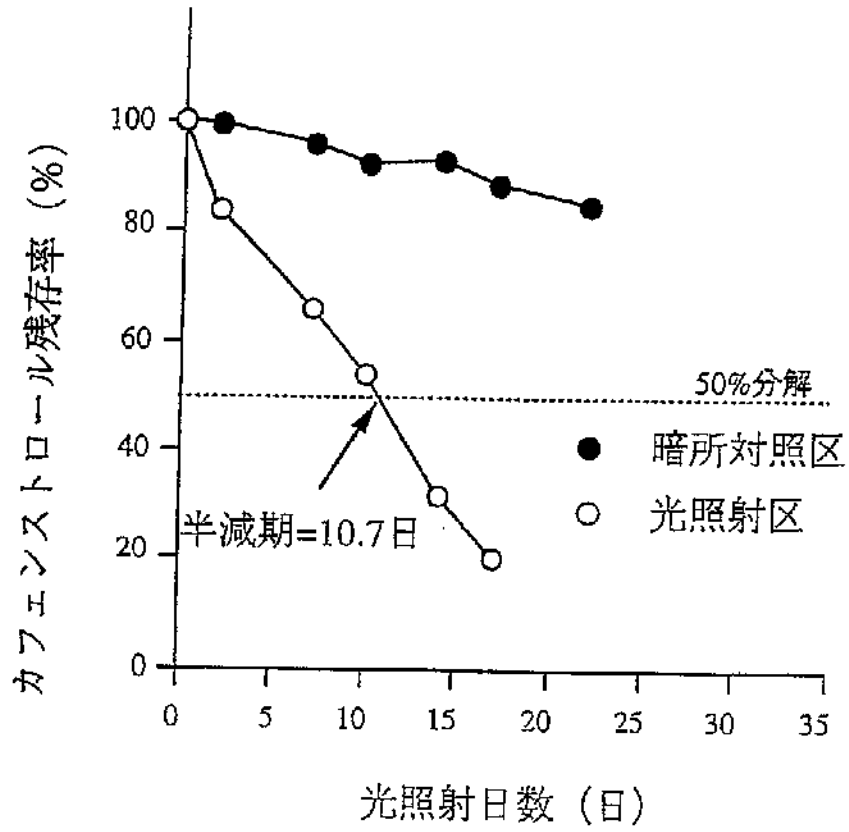


図 3. 荒川河川水中におけるカフェンストロールの水中光分解

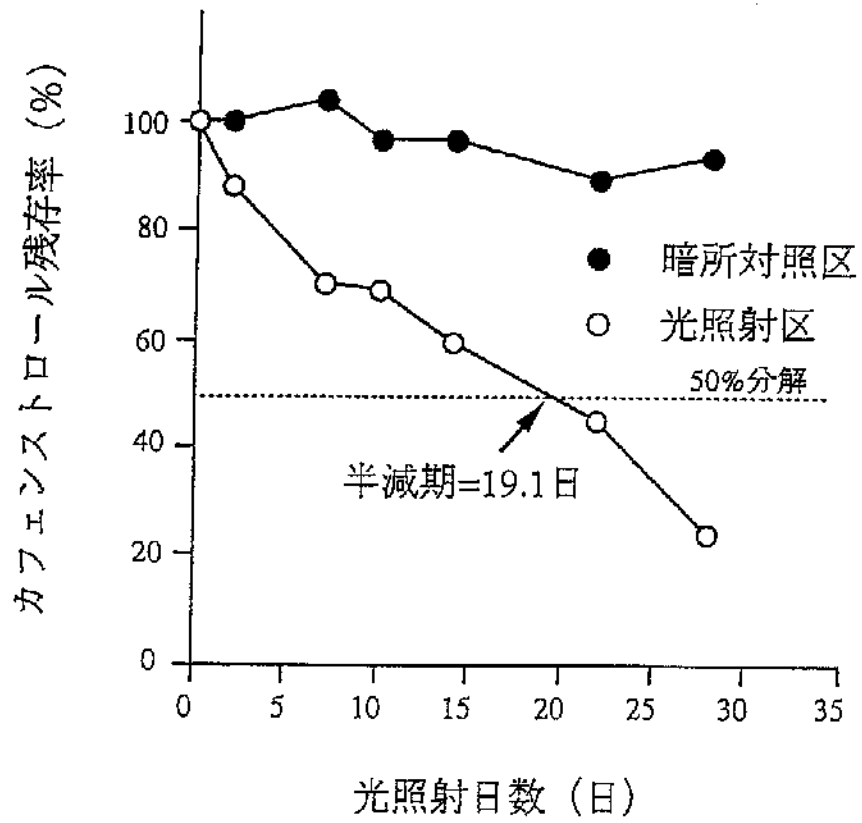


図4. 長良川河川水中におけるカフェンストロールの水中光分解

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1. カフェンストロールの試験溶液中の残存率 (%)

試験溶液	No.	光照射後の経過日数							
		2日後	7日後	10日後	14日後	17日後	22日後	28日後	35日後
蒸留水		—	85.7	—	58.3	—	36.8	38.2	20.9
北上川		89.1	68.7	68.3	—	34.8	10.8	—	—
荒川		84.0	65.7	53.9	31.7	20.3	<10.0	—	—
長良川		87.7	69.8	68.8	59.3	—	44.7	23.8	—
蒸留水/暗所	①	—	95.4	—	98.1	—	93.8	94.2	98.8
対照区	②	—	95.6	—	98.9	—	96.6	96.1	97.8
北上川/暗所	①	96.1	102.2	96.7	—	91.3	93.1	—	—
対照区	②	—	—	—	—	89.2	94.2	—	—
荒川/暗所	①	99.8	96.0	92.3	93.1	86.7	84.4	—	—
対照区	②	98.9	—	—	92.4	89.8	85.5	—	—
長良川/暗所	①	98.1	100.1	96.2	95.7	—	86.6	96.1	—
対照区	②	101.4	106.7	—	96.8	—	91.6	91.1	—

注) 単位は (%) である

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 2. の試験溶液中の濃度

試験溶液	No.	光照射後の経過日数							
		光照射前	2日後	7日後	10日後	17日後	22日後	28日後	35日後
蒸留水									
北上川									
荒川									
長良川									
蒸留水/暗所	①								
対照区	②								
北上川/暗所	①								
対照区	②								
荒川/暗所	①								
対照区	②								
長良川/暗所	①								
対照区	②								

注) 単位は ppb である

表 3. 推定半減期

試験水	半減期	東京・春換算半減期
滅菌蒸留水	17.1	11.6
北上川河川水	13.8	9.4
荒川河川水	10.7	7.3
長良川河川水	19.1	13.0

注) 単位は 日である

自然水及び蒸留水中光分解運命試験

(資料代謝 No. 9-1)

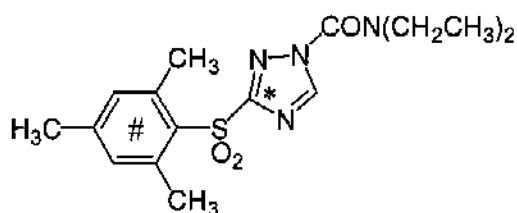
試験機関：Huntingdon Life Science (英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

供試化合物：¹⁴C-カフェンストロール

構造式：



*：トリアゾール環標識位置

#：フェニル環標識位置

化学名；N,N-ジメチル-3-メシチルスルホニル-1#-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキサミド

比放射能；[トリアゾール 3-¹⁴C]標識検体：

[フェニル-U-¹⁴C]標識検体：

放射化学的純度；[トリアゾール 3-¹⁴C]標識検体：

[フェニル U-¹⁴C]標識検体：

標識位置及び理由；

供試水：

自然水；英国 Cambridgeshire, Huntingdon River Great Ouse から 2005 年 8 月 23 日に河川水を採取し、212µm のフィルターを通過させて水中に懸濁する固形物を除去した後、4℃で暗所に保存し、検体処理の直前に除菌フィルターでろ過滅菌した。供試水の特性は以下のとおりであった。290~750nm の波長域における UV/VIS 吸収スペクトルについても測定した。

pH	8.2 ^a	総懸濁物質濃度 (g/L) ^b	<0.005
溶存酸素量	78.3 ^a	電気伝導度 (µS/cm) ^b	0.94
(飽和量に対する%)	86.2 ^b	全蒸発物質濃度 (g/L) ^b	0.55
		総溶存有機炭素濃度(mgC/L)	61.3

a：採水時、フィルター通過前に測定した。 b：滅菌後に測定した。

蒸留水；逆浸透水精製システムで得た HPLC 級の精製水を蒸留し、使用前に 121℃、15 分間オートクレーブ処理により滅菌した。

光源の種類；光源にはキセノンアーク光源を用い、フィルターで波長 290 nm 未満の紫外線をカットした。

光強度；照射期間内の平均光強度(波長範囲 300~400 nm)は、自然水で 56.0W/m²、蒸留水で 55.3W/m²であった。

試験方法：

予備試験；光照射期間、試料採取時期及び揮発性物質捕集の必要性を検討するため、供試化合物を含有する蒸留水に 72 時間光照射する予備試験を実施した。

この結果、放射能回収率は処理放射能に対して 83.9~100.4%であった。水酸化カリウムを充填した揮発性物質捕集器には[フェニル- ^{14}C]標識検体を処理した蒸留水試料からのみ、放射能が検出され、[トリアゾール- ^{14}C]標識検体の試料から揮発性の放射性物質は検出されなかった。蒸留水中のカフェンストロール濃度は、処理放射能に対して光照射 0 時間に 97.3%であったが、72 時間後には 1.9%となった。

試験液；各供試標識化合物のアセトニトリル溶液を自然水及び蒸留水にそれぞれ加えて、カフェンストロール濃度が水溶解度の 50%に相当する 1.25mg/L となるように試験液を調製した。

試験容器；内径 2.5cm、高さ 8.5cm の硼珪酸ガラス製（ただし入光部は石英ガラス製）円筒容器を用い、各容器に試験液 20mL を入れた。

揮発性物質の捕集；[フェニル- ^{14}C]標識検体の光照射装置には湿らせた空気を供給する装置を付け、他端の吸気口に以下の順で捕集トラップを装備し、最終トラップの排気口から流速 5mL/分で吸引して揮発性物質を捕集した。

ドライアイスで冷却した空容器

トラップ 1：ドライアイスで冷却したトルエン充填捕集トラップ及びそれに続くドライアイスで冷却した空容器

トラップ 2：エチルジゴール充填

トラップ 3：活性炭充填

トラップ 4：指示薬フェノールフタレイン入り、1 モル水酸化カリウム充填

トラップ 5：指示薬フェノールフタレイン入り、1 モル水酸化カリウム充填

試験液の試料採取と同じ時点にトラップ内の充填物を採取して分析し充填物を更新した。予備試験の結果から、[トリアゾール- ^{14}C]標識供試化合物の光照射装置には揮発性物質捕集トラップを装備しなかった。

インキュベーション；光照射対象の試験液を攪拌しながら約 25°C に維持し、連続して光照射した。

暗所対照試験液は攪拌しながら所定時間約 25°C に維持した。

試料採取；照射開始直前(0 時間)、照射開始後 3、6、12、18、24 及び 36 時間に試料を採取した。

これらの光照射時間は、北緯 35 度の東京における春季太陽光に換算すると、それぞれ自然水で 0.90、1.77、3.57、5.40、7.17 及び 10.8 日、蒸留水では 0.92、1.78、3.44、5.13、6.87 及び 10.28 日に相当した。

暗所対照試験液についても同時間に試料を採取した。

無菌検査；36 時間インキュベーション後の試験液試料について、トリプトン大豆寒天平板培地上、30~35°C で少なくとも 5 日間インキュベーションした後に、コロニーの有無を観察した。

pH 測定；インキュベーション開始直前及び 36 時間後に試料を採取して pH メーターで測定した。

放射能測定；試料にシンチレーションカクテルを添加し、自動クエンチング補正付きの液体シンチレーションカウンター(LSC)を用いて試料の放射能を測定した。活性炭試料は燃焼後、溶媒及びシンチレーションカクテルと混合して測定した。バックグラウンド値の 2 倍を定量限界とした。

放射性成分の分析；全ての試料について、UV 検出器及び放射能フロー検出器付き高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて各成分を定量分析した。

同 定；既存の標準品を用いて HPLC 及び薄層クロマトグラフィー(TLC)とのクロマトグラフィーで比較し、一部の試料については 2 次元 TLC で極性成分の特徴付けを行った。

さらに、[トリアゾール- ^{14}C]標識検体の試験液から得た の主要分解成分

を特徴付けるために、補足試験として、標識検体濃度 2.5mg/mL の自然水溶液 220 mL に 34 日間光照射後、質量分析機付き液体クロマトグラフィー(LC-MS)で化学構造を推定した。

半減期の計算；光照射によるカフェンストロールの減衰データを次頁の計算式による一次カイネティックモデルに適用して、半減期(DT₅₀)及び 90%減衰期(DT₉₀)を計算した。

$$C_t = C_0 \times e^{-kt}$$

但し、
Ct: t 時間におけるカフェンストロールの割合
C0: 0 時間におけるカフェンストロールの割合
k: 速度定数
t: 時間

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k} \quad , \quad DT_{90} = \frac{\ln 10}{k}$$

結 果:

無菌検査及び pH；全ての試験における試験液の無菌が確認された。

試験液の pH は、光照射開始直前に自然水及び蒸留水でそれぞれ 8.61、6.93、インキュベーション終了時には自然水の光照射試験液及び暗所対照試験液でそれぞれ 7.33 及び 7.20、蒸留水では光照射及び暗所対照試験液でそれぞれ 7.46 及び 7.11 であった。

放射性物質の回収率；表 1 に放射性物質の回収率(物質収支)を示す。回収率は、自然水において、[フェニル-U-¹⁴C]標識供試化合物溶液の放射能回収率は処理放射能に対して 89.1～97.3%、[トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識体では 100.9～102.5%、蒸留水では[フェニル-U-¹⁴C]標識体で 89.0～96.6%、[トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識体で 95.2～97.1%の範囲にあり、暗所対照試料ではそれぞれ、95.8～99.8%、98.2～102.6%、95.9～99.0%及び 95.6～102.3%であった。

[フェニル-U-¹⁴C]標識供試化合物溶液から捕集された揮発性物質の総量は、36 時間処理後に最大となり、自然水で処理放射能の 1.4%、蒸留水で 6.5%、二酸化炭素の量は、それぞれ 1.2%、6.0%であった。

放射性成分の分布；表 2 に各時点における各分解物の分布を示す。

[フェニル-U-¹⁴C]標識体から多数の放射性標識化合物が発生し、それらの多くは極性物質であった。個別には、いずれの化合物も自然水中で処理放射能の 7.9%以下、蒸留水中で 9.6%以下であった。自然水中の分解物のうち、1 化合物は標準品とのクロマトグラフィーにより、と同定された。

[トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識体からは少数の放射性標識化合物が認められた。量が多い 1 成分及び少量の 2 成分で構成された極性化合物の画分は、自然水で、処理放射能の最大 41.4%に達したが、蒸留水では最大 7.0%であった。その他に、が検出され、自然水で最大 20.4%、蒸留水では最大 66.3%に達した。この PT5 は[トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識体の試験液にのみ検出された。

は自然水中に少量(最大 6.4%)が検出された。

[トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識体 2.5mg/mL の自然水溶液を 34 日間光照射し、LC-MS で検討した結果、多くの分解物に未変化のトリメチルフェニルスルホニル-トリアゾール骨格が存続した。これらのうちの 1 つは と推定された。

代謝分解経路；図 1 に想定分解経路を示す。

カフェンストロールは水中光分解により多数の分解物を産生した。

は加水分解で生じるが、光照射によりを含めて多数のトリメチルフェニルスルホニル-トリアゾール骨格を有する分解物が生成した。[フェニル-U-¹⁴C]標識体の光分解で二酸化炭素が発生したことから、フェニル環の開裂が推察された。[フェニル-U-¹⁴C]標識体では自然水と蒸留水で同様の分解物がみられたが、[トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識体では、極性分解物の割合が蒸留水より自然水において高かった。

半減期；表 3 に半減期(DT₅₀)及び 90%減衰期(DT₉₀)を示す。カフェンストロールは、自然水及び蒸留水中で光照射により急速な分解を示した。人工光では自然水中の半減期(DT₅₀)は 24.5 時間、蒸留水中では 18.2 時間で、春季の東京における太陽光に換算すると、それぞれ 7.36 日、5.17 日であった。

表 1. 放射性物質の回収率

1-1. [フェニル-U-¹⁴C]標識カフェンストロール

処理放射能に対する割合 (%)

処理条件	供試水	処理期間 (時間)	容器内試料液		揮発性物質			回収率 総合計
			試験液	容器洗浄液	有機物	CO ₂	合計	
光照射	自然水	3	97.2 ^a		0.1	nd	0.1	97.3
		6	94.8 ^a		0.2	0.1	0.3	95.1
		12	93.8 ^a		0.4	0.1	0.5	93.8
		18	91.8 ^a		0.1	0.3	0.4	92.2
		24	89.5 ^a		0.1	0.2	0.3	89.8
		36	87.7 ^a		0.2	1.2	1.4	89.1
	蒸留水	3	94.6	1.8	0.1	0.1	0.2	96.6
		6	93.0	1.6	0.2	0.5	0.7	95.3
		12	91.6	1.2	0.4	1.3	1.7	94.5
		18	87.3	1.7	0.3	1.6	1.9	90.9
		24	88.2	0.7	0.5	1.8	2.3	91.2
		36	81.7	0.8	0.5	6.0	6.5	89.0
暗所	自然水	0	97.1	2.7	/	—	99.8	
		3	92.5	2.7		0.6	95.8	
		6	93.8	3.0		0.2	97.0	
		12	93.5	3.8		0.4	97.7	
		18	96.4	2.7		nd	99.1	
		24	92.6	2.9		0.3	95.8	
		36	95.2	2.2		0.1	97.5	
	蒸留水	0	94.6	1.8	/	—	96.4	
		3	97.1	1.8		0.1	99.0	
		6	92.7	3.1		0.1	95.9	
		12	96.3	2.6		0.1	99.0	
		18	94.9	1.5		nd	96.4	
		24	95.7	2.0		0.2	97.9	
		36	93.2	3.4		nd	96.6	

^a: 容器洗浄液の放射能を含む。 —: 該当なし。 nd: 不検出

1-2. [トリアゾール-³⁻¹⁴C]標識カフェンストロール

処理放射能に対する割合 (%)

処理期間 (時間)	光 照 射				暗 所			
	自然水			蒸留水	自然水			蒸留水*
	試験液	容器洗浄液	合計		試験液	容器洗浄液	合計	
0	—	—	—	—	99.8	2.8	102.6	95.6
3	99.0	1.9	100.9	97.1	98.5	2.9	101.4	97.9
6	99.2	1.7	100.9	97.0	99.1	2.1	101.2	97.2
12	99.5	1.6	101.1	96.6	95.1	3.1	98.2	97.7
18	100.6	1.9	102.5	95.2	98.8	3.0	101.8	98.1
24	98.3	3.3	101.6	96.3	97.8	3.0	100.8	102.3
36	99.9	2.1	102.0	95.8	97.5	3.3	100.8	98.4

*: 容器洗浄液の放射能を含む。容器洗浄液の放射能は 12 時間処理試料で 3.6%、24 時間処理試料で 8.7%、その他の処理時間の試料からは検出されなかった。

—: 該当なし。

表 2. 放射性成分の分布
2-1. 自然水

処理	標識位置 分解成分	保持時間(分)	フェニル-U- ¹⁴ C							
			処理期間(時間)							
			0	3	6	12	18	24	36	
光照射										
		カフェストール	21.0~23.0		89.1	82.5	64.4	49.5	38.6	25.3
		標識位置		トリアゾール-3- ¹⁴ C						
	カフェストール	21.0~23.0		84.6	86.4	60.2	70.5	39.1	59.9	
暗所	標識位置		フェニル-U- ¹⁴ C							
	分解成分	保持時間(分)	処理期間(時間)							
			0	3	6	12	18	24	36	
	カフェストール	21.0~23.0	97.7	93.7	84.6	92.7	95.8	91.7	91.3	
	標識位置		トリアゾール-3- ¹⁴ C							
	カフェストール	21.0~23.0	100.4	99.4	89.4	90.5	94.0	90.8	95.8	

nd : 不検出。

2-2. 蒸留水

処理放射能に対する割合 (%)

処理	標識位置	フェニル-U-14C								
	分解成分	保持時間(分)	処理期間(時間)							
			0	3	6	12	18	24	36	
光照射										
		カフェストール	21.0~23.0		86.5	69.3	59.4	51.1	43.3	23.8
		標識位置		トリアゾール-3-14C						
	カフェストール	21.0~23.0		82.9	69.5	80.1	80.5	37.2	20.2	
暗所	標識位置		フェニル-U-14C							
	分解成分	保持時間(分)	処理期間(時間)							
			0	3	6	12	18	24	36	
		カフェストール	21.0~23.0	94.9	97.5	94.2	96.8	95.4	96.6	95.5
		標識位置		トリアゾール-3-14C						
	カフェストール	21.0~23.0	94.8	97.3	95.8	95.9	97.6	100.8	97.5	

nd: 不検出。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 3. 推定半減期

供試水	半減期(DT ₅₀)		90%減衰期(DT ₉₀)	
	人工光	太陽光換算値*	人工光	太陽光換算値
自然水	24.5 時間	7.36 日	81.4 時間	24.4 日
蒸留水	18.2 時間	5.17 日	60.5 時間	17.2 日

* : 東京(北緯 35°)の春季太陽光

図 1. 想定分解経路

5. 土壌吸着性試験

(資料代謝 No. 8)

試験機関 中外製薬株式会社
報告書作成年 1995年

供試化合物

カフェンストロール

一般名：カフェンストロール

化学名：N,N-ジエチル-3-メシチルスルホニル-1H-1,2,4-トリアゾール-1-カルボキミド

供試土壌

宮城県古川農業試験場（古川土壌）、農水省北陸農業試験場（北陸土壌）、岡山県農業試験場（岡山土壌）および静岡県中外製薬（株）藤枝圃場（藤枝土壌）の土壌を用いた。

方法¹⁾

OECD法（ガラスビーズ法）²⁾ に準じてカフェンストロールの0.01M塩化カルシウム飽和水溶液を調製したのち、0.01M塩化カルシウム水溶液で希釈して1.24 ppm、0.62 ppm、0.31 ppm および0.16 ppmの試験液を調製した。吸着平衡時間の測定および物質収支は各風乾土壌の5gに蒸留水5mlを加えて24時間、25℃の室温に放置した後、0.62 ppmの試験液を用いて行った。各土壌の吸着平衡時間は、遠心分離後の上澄液中のカフェンストロールを高速液体クロマトグラフィー（以下HPLCと略した）を用いて測定することにより行った。また、物質収支に関しては、上澄液を分取後、土壌残渣にアセトニトリルを20ml添加し、30分間の振とう抽出を2回行い、抽出液をろ過した。ろ液を濃縮乾固したのち、アセトニトリルを10ml添加し、その所定量をHPLCに注入して、土壌中のカフェンストロールを測定し、物質収支を計算した。吸着平衡定数は、1.24 ppm、0.62 ppm、0.31 ppm および0.16 ppmの試験液を用い、各土壌を吸着平衡時間、往復振とうすることにより測定した。

HPLC 測定条件

機種 :
カラム :

移動相 :
流速 :
測定波長 :
カラム温度 :

結果

1) 吸着平衡時間³⁾

0.62 ppmの試験液を古川土壌、北陸土壌、藤枝土壌および岡山土壌に添加して吸着平衡時間を測定

した結果、古川土壌では4時間、北陸土壌、藤枝土壌および岡山土壌では8時間であった（表1.）。

2) 物質収支

0.62 ppm の試験液を古川土壌、北陸土壌、藤枝土壌および岡山土壌に添加して吸着平衡時間、往復

振とうし、物質収支を計算した結果、古川土壌では 93.7 %、北陸土壌では 88.8 %、藤枝土壌では 93.6 % および岡山土壌では 92.2 % であった (表 2.)。

3) 土壌吸着平衡定数

古川土壌、北陸土壌、藤枝土壌および岡山土壌に対する吸着平衡定数および土壌中の有機炭素含有率に対する吸着の度合いを表 3. に示した。各土壌ごとに得られたカフェンストロールの吸着平衡定数 (K 値) は 27.5~236.1 の範囲であり、また、有機炭素吸着係数は 2212~7690 の範囲であった。さらに、K 値と各土壌の有機炭素含有率の一次相関式の勾配が土壌吸着定数 (Koc) と定義され、カフェンストロールの Koc は 9424 であった (表 3.)。

参考文献

1) 吸着試験測定実施要領

土壌吸着試験について (土壌吸着試験打合せ会 平成元年 3 月 10 日)

2) 日本環境協会編、化学物質の物理化学性状測定法、p.1, 産業図書, 1987

3) 日本環境協会編、化学物質の物理化学性状測定法、p.39, 産業図書, 1987

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 1. カフェンストロールの古川土壌、北陸土壌、藤枝土壌および岡山土壌に対する吸着平衡時間

		上澄液中のカフェンストロールの濃度			
		古川土壌	北陸土壌	藤枝土壌	岡山土壌
振とう時間	1時間	0.0161(---)	0.0157(---)	0.0499(---)	0.0586(---)
	2時間	0.0142(11.8)	0.0111(29.3)	0.0467(6.4)	0.0654(10.1)
	4時間	0.0143(0.7)	0.0084(24.3)	0.0492(5.4)	0.0655(1.6)
	6時間	0.0141(1.4)	0.0074(11.9)	0.0403(18.1)	0.0505(22.9)
	8時間	---	0.0091(23.0)	0.0412(2.2)	0.0492(2.6)
試験濃度		0.62	0.62	0.62	0.62 ppm
吸着平衡時間		4時間	8時間	8時間	8時間

注) 表中、() は $[(n \text{ 回時の濃度}) - (n-1 \text{ 回時の濃度})] / (n-1 \text{ 回時の濃度})$ で計算された濃度の変化率 (%) を示した。

表 2. 古川土壌、北陸土壌、藤枝土壌および岡山土壌に対するカフェンストロールの物質収支

	古川土壌	北陸土壌	藤枝土壌	岡山土壌
カフェンストロール	93.7	88.8	93.6	92.2 %

表 3. カフェンストロールの吸着平衡定数および土壌中の有機炭素含有率に対する吸着の度合い

供試土壌	$1/n^{1)}$	$K^{1)}$	$r^{1)}$	oc% ²⁾	$Koc^{3)}$
古川土壌	0.995	126.5	0.996	2.94	4303
北陸土壌	1.136	236.1	0.999	3.07	7690
藤枝土壌	1.018	46.9	0.996	2.12	2212
岡山土壌	0.953	27.5	0.999	1.21	2273

注) 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 を各土壌の oc% で割り求めた有機炭素吸着係数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 4. 供試土壌の特性

項 目	古川土壌	北陸土壌	藤枝土壌	岡山土壌
土壌群名 ¹⁾	グライ土	グライ土	グライ土	灰色低地上
採取場所	宮城県古川農業試験場	農水省北陸農業試験場	静岡県中外製薬(株)藤枝圃場	岡山県農業試験場
土 性 ²⁾	SiC	LiC	CL	L
砂 (%)	17.7	25.8	56.7	64.7
シルト (%)	51.0	35.9	24.9	23.5
粘土 (%)	31.3	38.3	18.4	11.8
有機炭素含有率	2.94	3.07	2.12	1.21
有機炭素測定法	CNオートアナライザー	チュールン法	チュールン法	チュールン法
pH (H ₂ O)	5.3	4.8	5.6	6.0
pH (KCl)	4.4	3.9	4.6	5.0
陽イオン交換容量	26	23.9	10.0	8.6
りん酸吸収係数	900	1140	339	607
粘土鉱物の種類	モンモリナイト	モンモリナイト	カオリナイト	カオリナイト

(注) 1) 地力保全基本調査による農耕地の分類による。

2) 国際土壌学会法による。

土壌吸着性試験

(資料 No. PC-10-1)

試験機関 保土谷コントラクトラボ
[GLP 対応]
報告書作成年 2007 年

供試化合物

カフェンストロール

供試土壌

青森県農業試験場（青森土壌）の土壌を用いた。これは OECD テストガイドライン 106 のタイプ 3 に相当する。（表 1）

方法

農薬のテストガイドライン「土壌吸着性に関する試験」および OECD テストガイドライン 106 に準拠して実施した。土壌 2g (乾土重) に 0.01M 塩化カルシウム水溶液 45mL を加え 12 時間振とうし、平衡化した。これにカフェンストロールの初期設定濃度の 10 倍相当の原液 (0.01M 塩化カルシウム水溶液で調製) を 5mL 添加し、初期濃度 0.0546、0.0710、0.0923、0.120、0.156 mg/L の試験溶液各 50 mL (乾土/溶液=1/25) を得、遮光下、25°C で所定時間振とうした。振とう終了後遠心分離し、その上澄み液中のカフェンストロールを定量分析した。加えてカフェンストロールを添加しなかったもの (ブランク試験)、土壌を含まないもの (コントロール) についても同様の操作を行った。初期設定濃度 0.0923 mg/L の試験については遠心分離後の土壌をアセトニトリルで抽出しカフェンストロールを定量し物質収支を測定した。

HPLC 測定条件

機種 :
カラム :
溶離液 :
流速 :
測定波長 :
カラム温度 :

結果

- 1) 吸着平衡時間³⁾
設定濃度 0.0923 mg/L の試験で、青森土壌の吸着平衡時間は 6 時間であった。（表 2）
- 2) 物質収支
物質収支を計算した結果は 89.3 および 84.7 % で、平均 87.0 % であった。
- 3) 土壌吸着係数
カフェンストロールの青森土壌に対する土壌吸着係数 (K_{Foc}^{ads}) は 350 であった（表 3）。

表 1. 供試土壌の特性

土壌名	青森土壌
採取場所	青森県農業試験場
土壌群名	黒ボク土
土 性 ²⁾ (USDA 法)	SL(砂壤土)
粘土含量 (%)	12.9
有機炭素量 (%)	2.86
pH (CaCl ₂)	5.6
陽イオン交換容量 (cmol(+)/kg)	21.8
りん酸吸収係数 (10mg/kg)	1390

表 2. カフェンストロールの青森土壌に対する吸着平衡時間

振とう時間 (時間)	No.	上澄液中のカフェ ンストロールの 濃度 (mg/L)	変化量 (%)	初期実測濃度に対 する上澄み液濃度 の割合 (%)
4	1	0.0540	—	60.0
	2	0.0578	—	64.2
6	1	0.0560	3.70	62.2
	2	0.0558	-3.46	62.0
8	1	0.0514	-8.21	57.1
	2	0.0552	-1.08	61.3

・初期設定濃度 (初期実測濃度) : 0.0923 mg/L (0.0900 mg/L)

・変化量 : $\{[(n \text{ 回時の濃度}) - (n-1 \text{ 同時の濃度})] / (n-1 \text{ 回時の濃度})\} \times 100$

表 3. カフェンストロールの土壌吸着係数の算出結果

設定 濃度 (mg/L)	上澄中検 体濃度 (C _w) (mg/L)	吸着量 (m ^{ads} _s)	log (C _w)	log (m ^{ads} _s / m _{soil})	log K ^{ads} _F	吸着 係数 (K ^{ads} _F)	有機 炭素 含有量 (oc%)	土壌 吸着 係数 (K ^{ads} _{Foc})
0.0546	0.0304	1.22	-1.52	-0.215	1.00	10.0	2.86	350
0.0710	0.0402	1.54	-1.40	-0.114				
0.0923	0.0498	2.08	-1.30	0.0170				
0.120	0.0733	2.52	-1.13	0.100				
0.156	0.0947	3.06	-1.02	0.185				

代謝分解まとめ

カフェンストロールの動物、植物および土壌における代謝、分解および残留の要約は下記のとおりであり、代謝経路を 313 頁に、結果の概要を 314～318 頁に示した。

動物

ラットおよびイヌにカフェンストロールを経口投与し、生体内動態について検討した。雌雄ラットにカフェンストロールを経口投与した時、放射能は比較的速やかに吸収されたものの、血漿中には代謝物のみが存在し、主として、尿中に排泄された。

雌性ラットでの血漿中放射能の消失は雄性ラットの場合に比べて遅く、両者の体内動態に差がみられた。こうした雌雄差は代謝物の消失速度の差によるものと推察された。

一方、雌雄ラットにカフェンストロール 1mg/kg を経口投与した時、投与後 24 時間までの尿中、胆汁中排泄および残部屍体中放射能から求めた推定吸収率は 92%以上であり、吸収は良好であった。また、投与後 48 時間までの尿中および糞中には、投与放射能のほぼ 100%が排泄され、体内への残留性は低いものと考えられた。

雌雄ラットにカフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与した後の各組織中放射能濃度は、投与後 4 時間に最高値を示した。が、各組織へ分布した放射能の濃度は血漿中放射能濃度に比べて低い値であった。また、1 日 1 回、21 日間にわたって反復経口投与した時、各回投与 24 時間後までに投与放射能のほぼ 100%が尿中および糞中へ排泄され、組織への蓄積性は低いものと考えられた。21 回投与後の各組織における T/P 比が単回投与の場合とほぼ同等であったことから、反復投与においても組織への分布特性は変わらないものと考えられた。一方、雌雄ラットにカフェンストロール 50mg/kg を単回経口投与した後の全身オートラジオグラムから、主要組織などの放射能の分布パターンは雌雄でほぼ同様であった。

妊娠ラットにカフェンストロールを経口投与した時、母体の主要組織および胎児へ放射能が移行し、4 時間後に最高値を示したものの、いずれの測定時点においても、母体血漿中放射能濃度に対する母体の主要組織中放射能濃度の比は 0.44 以下、また胎児中放射能濃度の比は、妊娠 12 日目ラットで 0.04 以下、妊娠 19 日目ラットで 0.18 以下であり、カフェンストロールの妊娠ラットの主要組織への放射能移行性は雄性ラットの場合と比較し T/P 比は同等あるいは低く、また胎児移行性も低いことが判明した。

ラットおよびイヌのいずれにおいても、経口投与されたカフェンストロールは速やかに
へと代謝され、さらに、
を生成する代謝経路に加え、
が
に酸化され、ラットにおいては、さらに、
に代謝する経路が明らかになった。血漿中主代謝物はいずれの動物種においても
であり、尿中主代謝物は、ラットの場合
、イヌの場合
であった。また、糞中の主排泄物は、ラットの場合代謝物の
、イヌの場合未吸収のカフェンストロールであった。

植物

¹⁴C 標識カフェンストロールを供試して、イネにおける吸収・移行試験、分布試験および代謝試験を行った。まず、オートラジオグラフィ法と燃焼法による吸収・移行試験結果によれば、移植 1 ヶ月後から収穫期のイネへの放射能の吸収・移行割合は処理放射能の 16.0%以下であった。部位別では根の分布割合が大きく、穂にはほとんど放射能が検出されなかった。

次に分布試験結果によれば、イネ体中の放射能はカフェンストロール換算で、収穫期では玄米に 13ppb、籾殻および枝梗に 43ppb、葉に 668ppb および根に 611ppb 検出された。

各部位の放射能を溶媒可溶性画分、水溶性画分および抽出残渣画分に分画したところ、根の抽出残渣画分が最大であった。また、玄米中の放射能の多くは粗澱粉画分に存在した。

イネ中の代謝物として

が検出された。玄米中に が検出されたが、その濃度は 0.3ppb 以下であった。

イネ苗の水耕栽培による代謝試験結果によれば、イネ苗中における放射能の存在割合は、硫酸リグニン画分が最大であり、次には粗澱粉画分であった。抽出画分中の代謝物としては動物における主要代謝物である が が最大の存在割合を占め、その他の代謝物の存在が明らかとなった。

イネ苗からこれらの代謝物を抽出・単離し、HPLC、MS および NMR を用いて代謝想定化合物と比較検討を行い、同定または構造の推定を行った。また、その結果をもとにカフェンストロールのイネ苗における代謝経路を推定した。

イネ苗におけるカフェンストロールは、まず、 となり、一般的な生体内解毒機構であるグルコース抱合または となった。

また、 は除草剤アミトロールの代謝と同様の となり、さらに となり、これが に、 になると推定した。

は、 によって各々生成し、また、 され、さらに酸化や還元を受けて生成すると推定した。一方、これら同定または推定された代謝物は、最終的にリグニンや澱粉などの生体内高分子化合物として生体内同化されると推察された。

これら代謝物はポット栽培における試験でも、移植 1 ヶ月後から収穫期のイネ生体内に同様に検出され、イネにおけるカフェンストロールの運命が明らかとなった。

未変化体と主要代謝物である の玄米と稲藁中の残留量を分析したところ、玄米中のこれらは全て検出限界(0.005ppm または 0.01ppm)以下であり、稲わらでは検出限界程度の残留量であった。

土壌

土壌分解試験(水稲用)として、カフェンストロールを 0.3ppm 添加した栃木土壌および藤枝土壌を用いて土壌分解試験を実施し、以下の結果を得た。

- 1) 栃木土壌では、カフェンストロールは半減期 25 日で減少し、主分解物 が生成した。
- 2) 藤枝土壌では、カフェンストロールは半減期 14 日で減少した。主分解物は であり、また、 が生成した。
- 3) カフェンストロールの土壌分解物について検討し、分解経路を推定した。カフェンストロールはまず、 に分解した。さらに、 は に、または、 へと分解した。その後、 は土壌に吸着し、Soil bound residue (S. B. R. とする)となった。S. B. R. となった分解物は土壌微生物によりさらに分解されて、最終的には二酸化炭素などになると考えられた。

土壌分解補完試験として藤枝土壌を用い、滅菌条件における土壌分解試験(滅菌分解試験)、嫌気条件における土壌分解試験(嫌気分解試験)、好氣的振とう条件における土壌分解試験(振とう分解試験)および主分解物 による分解経路の確認試験を行った。また、CO₂ 発生量も測定した。

- (1) 滅菌分解試験では、カフェンストロールは1年間の培養でも添加放射能に対して80%残存した。また、 は1年後には添加放射能に対して2.6%生成した。本試験においては、 は検出されなかった。

- (2) 嫌気分解試験では、カフェンストロールは半減期 40 日で減少した。 は薬剤添加 90 日後で最大値である 0.131ppm を示したのち、減少する傾向を示した。また、 が生成した。

- (3) 振とう分解試験における分解物は であった。カフェンストロールの半減期は振とう分解試験と土壌分解試験でほぼ同じであった。また、 の生成時期は振とう分解試験と土壌分解試験において変わらなかったが、濃度は振とう分解試験の方が土壌分解試験より少なかった。さらに、 の生成時期は振とう分解試験の方が土壌分解試験より早かった。なお、推定分解経路は、土壌分解試験と同様と考えられた。

- (4) を用いた分解経路の確認試験により、 への分解および への分解が分解経路であると推定した。

- (5) 供試した両土壌から ¹⁴CO₂ の発生が確認された。

土壌分解試験(芝生用)として畑地条件におけるカフェンストロールの分解を検討したところ、半減期は 22 日であった。主分解物は で、添加 1 ヶ月後に最大値を示した後、減少した。

も生成した。S. D. R. は経時的に増加した。腐植分析を行ったところ、ヒューミン、フルボ酸、腐植酸の順であった。以上の結果から畑地におけるカフェンストロールの分解経路を推定したところ、水田条件とほぼ同じであった。

古川土壌、北陸土壌、藤枝土壌、岡山土壌および青森土壌に対する吸着平衡定数および土壌中

の有機炭素含有率に対する吸着の度合いを検討した。各土壌ごとに得られたカフェンストロールの吸着平衡定数(K値または $K^{nd_s}_p$ 値)は10.0~236.1の範囲であり、また、土壌吸着係数は350~7690の範囲であった。

土壌残留試験として栃木土壌および岡山土壌の水田状態の容器内試験ではカフェンストロールの半減期は13.9日および8.9日であった。主分解物は最大値0.04および0.09ppm残留したが、は両土壌ともに検出限界(0.02ppm)以下であった。また、圃場試験においても未変化体および分解物の長期間の残留は認められなかった。

畑地状態における容器内試験でカフェンストロールの半減期は、福島土壌で11日、藤枝土壌で15日および福岡土壌で18日であった。圃場試験では那須土壌で半減期は11日および福岡土壌で4日であった。

水

カフェンストロールは酸性域ではほとんど加水分解せず、またpH7.0においても20℃では加水分解が遅く、25℃での半減期は124日であった。これに対し、pH9.0では速やかに加水分解し、半減期は70.8時間および2.84日であった。いずれのpHにおいても、主要代謝物はであった。

pH6~7で光(蛍光ケミカルランプ)を照射した場合、滅菌蒸留水、自然水ともに分解し、東京春季太陽光換算の半減期は滅菌蒸留水11.6日、北上川河川水9.4日、荒川河川水7.3日および長良川河川水13.0日であった。光照射による加水分解化合物が北上川河川水および荒川河川水から検出された。また、中性域で光(キセノンアーク光源)を照射した場合も、滅菌蒸留水、自然水ともに分解し、東京春季太陽光換算の半減期は滅菌蒸留水7.36日、自然水(英国Huntingdon River Great Ouse河川水)5.17日であった。

水中光分解により多数の分解物が産生した。は加水分解で生じるが、光照射により水酸化体を含めて多数のトリメチルフェニルスルホニル・トリアゾール骨格を有する分解物が生成した。[フェニル- U - ^{14}C]標識体の光分解で二酸化炭素が発生したことから、フェニル環の開裂が推察された。

これらの水中光分解試験の結果から、カフェンストロールは自然条件下で光により速やかに分解されると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

カフェンストロールの動植物等における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

代謝分解の概要(1) 動物

代謝分解物	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	未測定	回収率 ^{*)}
動物(ラット) (1mg/kg)	尿	0~24時間	雄													56.9
			雌													51.7
	胆汁	0~24時間	雄													28.2
			雌													26.3
動物(ラット) (50mg/kg)	尿	0~24時間	雄													47.2
			雌													40.0
	胆汁	0~24時間	雄													24.0
			雌													33.0
動物(イス) (50mg/kg)	尿	0~24時間	雄													27.4
	糞	0~24時間	雄													50.3
動物(ラット) (50mg/kg)	肝臓	4時間後	雄													1.47
		8時間後	雄													1.23
	腎臓	4時間後	雄													0.45
		8時間後	雄													0.21

注)動物代謝にはT-¹⁴C-カフェンストロールを用いた。

*) : 投与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株式会社エス・ディー・エスバイオテックにある。

代謝分解の概要(2) 植物

代謝分解物	A	B	C	D	F	G	H	I	J	K	L	M	N	未同定	回収率
植物(木耕試験) (0.1ppm)	地上部	14日後 T													33.6 (208.4)
	根	14日後 T													66.4 (483.0)
	合計														100
(0.1ppm)	地上部	14日後 B													34.2 (214.1)
	根	14日後 B													65.8 (458.1)
	合計														100
植物(ポット試験) (30g/10a)	葉														0.62 (55.0)
収穫期	葉														16.9 (669.0)
	根														16.7 (143.0)
	合計														65.8 (611.0)
	合計														100.02

TはT-¹⁴C-カフエンストロール処理を示す。

BはB-¹⁴C-カフエンストロール処理を示す。

括弧内の数値はカフエンストロール換算濃度(ppb)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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

代謝分解の概要(3) 土壌

代謝分解物	A	B	C	D	F	G	H	I	J	K	L	M	N	未同定	¹⁴ C ₀₂	回収率
木田土壌 (分解試験)	30日後 T	栃木土壌														99.6 (306.5)
			120日後 T													
栃木土壌	30日後 B														100.0 (333.3)	
		120日後 B														98.3 (327.6)
藤枝土壌	30日後 T														97.5 (300.0)	
		120日後 T														100.0 (307.7)
藤枝土壌	30日後 B														93.8 (312.6)	
		120日後 B														94.5 (315.0)
(嫌気分解)	藤枝土壌	210日後														91.8 (353.1)
(振とう分解)	藤枝土壌	70日後 T														95.6 (367.7)
			B													
畑地土壌	那須土壌	30日後														102.5 (1988.5)
			154日後													

注) 括弧内の数値はカフエンストロール模算濃度(ppb)を示す。

TはT-¹⁴C-カフエンストロール処理を示す。

BはB-¹⁴C-カフエンストロール処理を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エスバイオテックにある。

代謝分解の概要(4) 水

代謝分解物		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	未同定	¹⁴ C ₂	回収率		
加水分解	pH7	30日後	トリアノール-3-																97.2	
			¹⁴ C-CH-900																	
	緩衝液	30日後	7α-エノール-3-																	94.2
			¹⁴ C-CH-900																	
pH9	7日後	トリアノール-3-																	103.5	
		¹⁴ C-CH-900																		
		7日後	7α-エノール-3-																103.1	
			¹⁴ C-CH-900																	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

代謝分解の概要(4) 水

代謝分解物	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	未測定	¹⁴ C ₂	回収率
水中光分解 蒸留水																	96.1 (96.1)
荒川河川水																	97.3 (97.3)
北上川河川水																	99.1 (99.1)
長良川河川水																	97.6 (97.6)

注)括弧内の数値はカフエンストロロール換算濃度(ppb)を示す。

代謝分解物	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	Ps	未測定	¹⁴ C ₂	回収率
水中光分解	36 時間	トリプル-β- ¹⁴ C-CH-900																	97.5
																			89.1
蒸留水	36 時間	トリプル-β- ¹⁴ C-CH-900																	96.6
																			89.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

[附] カフェンストロールの開発年表