

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

② ^{14}C -キノメチオナート：ラットにおける薬物動態試験

(資料 No. M-2)

試験機関：

報告年月日：1986年3月25日

供試標識化合物： ^{14}C -キノメチオナート[A]
(102 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$,)

供試動物：SPRA系雌雄ラット(体重約200g)

試験方法：一群約5匹の雄又は雌ラットに ^{14}C -[A]を1mg/kgと10mg/kgで一回経口投与した。以下に示す様に、全身オートラジオグラフィ、呼気、排泄物、血漿、組織・臓器中の総放射能を経時的に測定した。また、胆管挿管した雄ラットに1mg/kgで経口投与して、胆汁及び排泄物中の総放射能も測定した。

投与量	動物数	性	試料	採取時期(投与後時間)
10mg/kg	5	♂	オートラジオグラフィ	1.5, 4, 8, 24, 48
1mg/kg	4	♂	呼気	8, 24, 48
			尿	8, 24, 48
			糞	24, 48
1mg/kg 又は 10mg/kg ¹⁾	5	♂♀	尿	2, 4, 6, 8, 24, 32, 48
			糞	24, 48
			血漿	0.17, 0.33, 0.67, 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48
胆管挿管 1mg/kg	5	♂	胆汁	1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 48
			尿	1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 18, 24, 30, 36, 48
			糞	24, 48
10mg/kg	1群5	♂	組織・臓器	1.5, 4, 8, 24, 48, 72, 144, 240

¹⁾ 10mg/kgは雄のみ投与

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結果：

1) 排泄

1mg/kg を経口投与後 2 日以内に呼気中に排泄された放射能は回収放射能の 0.0014%以下であり、
に標識された放射能は として呼気へ排泄される分解に対し、安定であることが分かる。

放射能の排泄は、性差や投与量に依存しなかった。投与 2 日以内に回収放射能の 29~36%が尿に、55~62%が糞に排泄された。試験期間中の総排泄量は回収放射能の 90~92%であった。また、投与後 2 日目に回収放射能の 7.3~8.6%が動物体で見られた。尿中に排泄された放射能の 50%が約 6 時間以内に、90%が投与後 1 日で排泄された。

胆管挿管して 1mg/kg を経口投与したラットは、投与 2 日以内に胆汁と共に回収放射能の約 65%を排泄し、そのうち 50%は 4 時間以内に、90%は 80 時間以内に排泄された。また、尿中には総回収量の約 16%、糞中には約 10%が排泄された。これより、わずかに腸肝循環されていることが示唆される。

2) 吸収率

胆汁排泄試験から、1mg/kg を経口投与した後の吸収率は回収放射能の約 90%であることが示唆された。

表 1 ラットに経口投与した ^{14}C -[A] の投与後 48 時間の糞尿及び呼気等への排泄及び動物体内残留

試料	排泄量又は残留量 (%) ¹⁾				
	1mg/kg 胆管挿管♂	1mg/kg ♂	1mg/kg ♂	1mg/kg ♀	10mg/kg ♂
尿	15.0±0.9	31.8±4.0	32.7±2.6	32.3±2.1	27.4±4.5
糞	9.1±2.1	59.0±4.5	55.7±5.1	49.7±2.4	58.6±3.5
胆汁	60.0±2.4	—	—	—	—
呼気	—	< 0.0014	—	—	—
動物体 ²⁾	8.0±0.4	7.5±0.7	7.0±0.3	7.5±0.6	7.1±1.7
胃・腸管	0.63±0.04	0.99±0.07	0.97±0.13	0.72±0.17	1.6±0.1
総回収	92.7±3.7	99.3±1.8	96.4±3.0	90.2±2.9	94.7±6.6

¹⁾ 排泄量及び残留量は投与した ^{14}C に対する割合で示した。

²⁾ 胃・腸管を除く

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

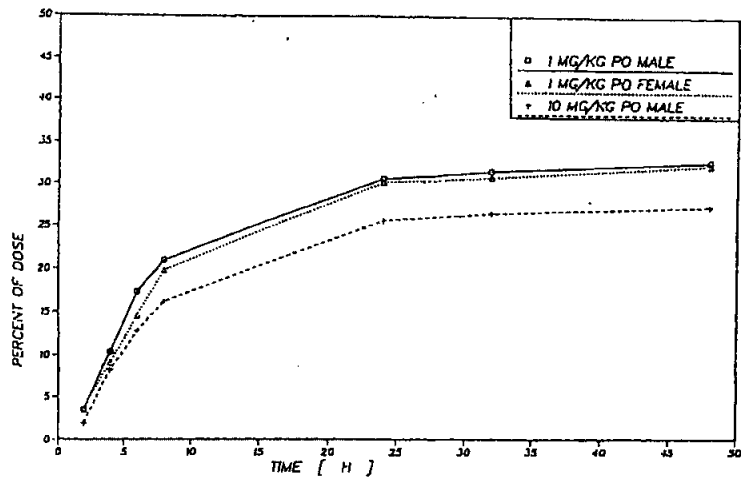


図1. 各経口投与群における尿中への総放射能の排泄

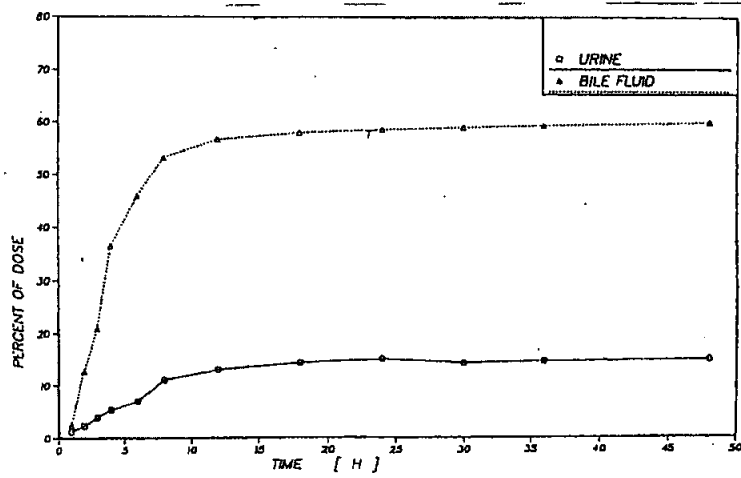


図2. 胆管挿管ラットにおける胆汁及び尿中への総放射能の排泄

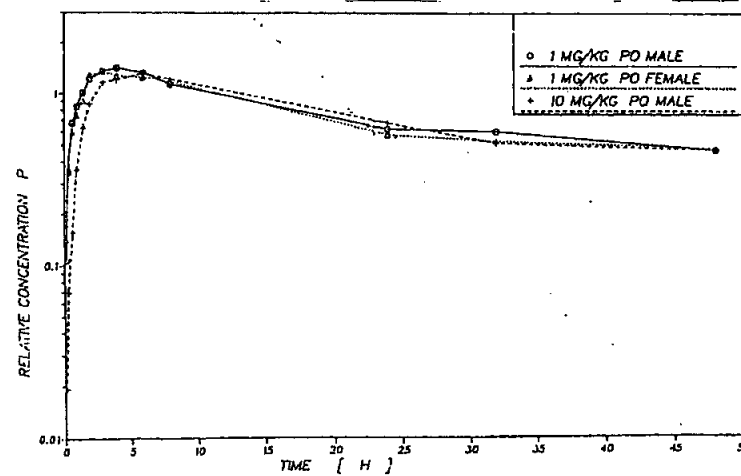


図3. 各経口投与群における血漿中への総放射能の排泄

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

2) 分布

大部分の組織・臓器中の放射能の最大濃度は投与後 4 時間に認められた。この時の動物体の平均換算濃度は 2.4 $\mu\text{g/g}$ であった。定量測定及びオートラジオグラフィーによる組織分布試験では、比較的高濃度な組織は血漿（平均動物体濃度の 5~7 倍）、肝（投与後短時間で最大 10 倍まで）、腎（3~4 倍）及び肺、リンパ系、結合組織の線維構造部であった。最も低い濃度は脳で見られ、平均動物体濃度の 1/7~1/10 であり、キノメチオナート標識の放射能は血液・脳関門をわずかしか通過しないことが分かる。最大値に到達後に動物体の平均濃度は投与後 2 日までに約半分に減少した。各組織と臓器の濃度はこの消失相の経過中にお互い等しくなった。血漿と腎のみはそれぞれ 6.5 倍及び約 3 倍と高い値を示した。同様の比較で筋肉（約 1/3）と脳（1/10）で低い数値が認められた。

表 2 雄ラットに 10mg/kg で投与した ^{14}C - [A] の組織・臓器中の換算濃度

組織・臓器	換算濃度 ($\mu\text{g/g}$) ¹⁾							
	投与後時間							
	1.5 時間	4 時間	8 時間	24 時間	48 時間	72 時間	6 日	10 日
筋肉・大腿骨	0.488	0.675	0.734	0.604	0.380	0.350	0.148	0.071
大腿骨	1.470	2.020	1.920	1.320	0.941	0.845	0.402	0.189
心	1.860	2.470	1.830	1.080	0.776	0.646	0.306	0.116
脳	0.270	0.304	0.329	0.148	0.103	0.107	0.056	0.017
皮膚	0.857	1.560	1.740	2.130	1.430	0.100	0.579	0.186
動物体 ²⁾	1.860	2.380	1.960	1.600	1.030	0.853	0.411	0.155
甲状腺	2.170	2.960	2.600	1.470	1.360	1.110	0.547	0.192
カーカス	0.921	1.590	1.390	1.170	0.777	0.660	0.290	0.124
赤血球	1.840	3.630	3.720	1.810	1.410	0.671	0.334	0.134
血漿	13.900	21.400	16.700	10.100	6.660	5.220	2.580	0.765
脾	2.070	1.660	1.070	0.622	0.470	0.366	0.180	0.078
肝	18.700	13.200	7.160	2.240	1.550	1.200	0.690	0.266
腎	7.010	6.750	4.690	2.950	2.760	2.230	1.990	0.490
副腎	1.820	2.230	1.900	1.190	0.948	0.648	0.387	0.155
腎脂肪	1.300	2.270	1.520	0.900	0.601	0.522	0.352	0.212
精巣	0.847	1.810	1.750	1.060	0.811	0.781	0.344	0.104

¹⁾ 親化合物換算

²⁾ 胃・腸管を除く

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

3) 薬物動態パラメーター

経口投与後、キノメチオナート標識の放射能は大部分(回収放射能の約90%)がラットの腸管より緩徐に吸収された。血漿中の最大相対濃度(P_{max})は1.36~1.46であり、到達時間(T_{max})は3.6~5時間であった。血漿中の消失半減期($t_{1/2}$)は雌で34時間、雄は50時間であり、比較的緩徐であった。血漿の曲線下面積(AUC)は56~71時間と比較的高かった。

表3 各投与群における薬物動態パラメーター

薬物速度論パラメーター	1mg/kg	1mg/kg	10mg/kg
	♂	♀	♂
t_a ¹⁾ (時間)	1.32±0.44	1.86±0.75	1.30±0.17
$t_{1/2}$ (時間)	50.28±7.85	33.90±6.29	43.71±1.85
AUC ²⁾ (時間)	71.53±9.34	56.38±9.59	61.80±6.77
P_{max} ³⁾	1.46±0.07	1.36±0.14	1.37±0.19
T_{max} (時間)	3.60±0.54	4.00±2.35	5.00±1.41

¹⁾ t_a は血漿中の放射能が最大値の25%から75%まで増加する期間の指標

²⁾ AUC(曲線下面積)は、検体の血漿中相対濃度(P)より求めた値

³⁾ Pは“血漿又は組織1g当りの測定放射能/動物の体重1g当りの投与放射能”で定義され、 P_{max} はその最大値を表す。

4) 全身オートラジオグラフィ

10mg/kg 経口投与後4時間目のオートラジオグラムでは最も高い濃度は胃・腸管の内容物で観察された。また肝でも高い濃度が認められ、血液、リンパ組織、肺、腎、動物体の結合組織構造及び特に褐色脂肪(頸部から肩甲骨部)においても比較的高い濃度が観察された。中間の濃度は皮膚、唾液腺、鼻粘膜、心筋、副腎、骨髄、舌の筋肉、胃・腸管壁で見られた。動物体の白色脂肪、神経組織(脳と脊髄)、筋肉の濃度は低かった。

投与後8時間での放射能の相対的な分布パターンにはわずかな変化しかなく、動物体の結合組織構造(靭帯、腱、軟骨)の濃度が高くなった。

投与後24時間では、極めて高い濃度を示していた腸管内容物が糞排出のため濃度が低下した。この時点で相対的に最も高い濃度を示したのは結合組織構造と血管の多い臓器であった。筋肉、白色脂肪、神経組織の濃度は低いままであった。

投与後48時間では相対的な分布パターンに著明な変化はなかったが、全体的に濃度の減少が見られた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

③ ^{14}C -キノメチオナート：ラットにおける一般代謝試験

(資料 No. M-3)

試験機関：

報告年月日：1990年1月31日

供試標識化合物： ^{14}C -キノメチオナート[A]
(102 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$,)
非標識[A]

供試動物：ウイスター系雌雄ラット
(体重約200g、雄：約8週齢、雌：約12週齢)

方法：

一群雌雄各5匹のラットに ^{14}C -[A]を2mg/kgと100mg/kgで一回経口投与した。また、非標識[A]を2mg/kgで14日間経口投与し、15日目に ^{14}C -[A]を2mg/kgで経口投与した。排泄物中の放射能を以下の様に採取・測定し、動物体と各臓器・組織中の総放射能は屠殺時に測定した。また、糞尿中の代謝物を同定した。

追加試験として、雄ラット5匹を用いて ^{14}C -[A]を100mg/kgで経口投与し、呼気(CO_2)中の放射能を以下の様に測定した。

更に、雄ラット7匹に胆管挿管後、 ^{14}C -[A]を10mg/kgで十二指腸投与し、尿、糞及び胆汁を以下の様に採取し、代謝物を同定した。

投与経路	投与量	試料	採取時期 (投与後時間)
経口	2mg/kg 又は 100mg/kg	尿	0-4, 4-8, 8-24, 24-32, 32-48, 48-56, 56-72
		糞	0-24, 24-48, 48-72
		臓器・組織	72
非標識 14日間前投与+ 経口投与	2mg/kg	尿	0-4, 4-8, 8-24, 24-32, 32-48, 48-56, 56-72
		糞	0-24, 24-48, 48-72
		臓器・組織	72
経口	100mg/kg	呼気	0-8, 8-24, 24-32, 32-48, 48-72
十二指腸	10mg/kg	尿	0-8, 8-24
		糞	0-24
		胆汁	0-8, 8-24

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結果：

1) 吸 収

尿中及び屠殺時の胃・腸管を除く動物体中より回収された放射能は総回収量の25% (100mg/kg 投与群、雌) ~44% (100mg/kg 投与群、雄) であり、吸収速度は緩徐であった。

2) 分 布

^{14}C -[A] 投与後 72 時間目の試験終了時には、胃・腸管を除く動物体中の残留量は各投与群で投与放射能の 3.8~5.8% であった。各投与群を比較すると、100mg/kg 群雄で残留量が有意に高く、前投与に関しては前投与群雌の値が有意に高かった (表 1)。

胃・腸管を除く相対濃度 P^{*1} は 2mg/kg 1 回投与群と前投与群で $P=0.043$ から 0.057、高投与量群雌雄で 0.061~0.066 であった。平均動物体内濃度 (換算濃度 C : 親化合物として計算) は、2mg/kg 投与群で 0.086~0.114 $\mu\text{g/g}$ 、また 100mg/kg 群の雄と雌は各々 6.6 と 6.1 $\mu\text{g/g}$ であった。

全投与群の各臓器・組織中濃度の大部分は、平均動物体内濃度^{*2}の 2 倍以内の範囲であり、平均動物体内濃度より著しく高い値が認められたのは、血漿 (7~9 倍)、腎 (4~9 倍) と肺 (3~4 倍) であった。また、比較的低い値が筋肉と骨で認められ、有意に低い値 (1/6~1/7) が脳で見られたことより、キノメチオナートに標識した放射能は血液・脳関門をほとんど通過しないことが示唆される (表 2)。

^{*1} 相対濃度 $P = \frac{\text{血漿又は組織の単位重量(g) 当りに検出された放射能}}{\text{動物単位重量(g) 当りの投与した放射能}}$

^{*2} 平均動物体内濃度は換算濃度 C で表され、換算濃度 C は相対濃度 P に投与量 (mg/kg) をかけた値で、単位は $\mu\text{g/g}$ または $\mu\text{g/mL}$ で表される。

3) 排 泄

100mg/kg 投与群では投与放射能の 0.01 % のみが投与後 72 時間以内に呼気中に認められたことより、 ^{14}C に標識された放射能は ^{14}C として呼気へ排泄される分解に対して安定である事が示唆される。

2mg/kg 又は 100mg/kg 投与後 72 時間以内に、各動物群で投与放射能の 85.15~100.55 % が尿と糞中に排泄され、投与量の 52.28~67.27% が糞中に、17.88~35.88% が尿中に認められた。尿への排泄は緩徐であり、尿中総排泄量の約 50% が投与後 4~17 時間に、90% が投与後 24~56 時間以内に排泄された (図 1、2)。

総回収量は 92.22%~106.26 % であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表1 ラットに投与した¹⁴C-[A]の投与後72時間の糞尿及び呼気への排泄及び動物体内残留

投与方法及び投与量 (mg/kg)	供試動物	排泄量 (%) ¹⁾			残留量 (%) ¹⁾		総回収量 (%) ¹⁾
	性別	尿	糞	呼気	動物体 ²⁾	胃・腸管	
経口							
2.0	♂	27.68	60.29	—	3.82	0.43	92.22
2.0	♀	28.89	61.93	—	4.43	0.44	95.68
100.0	♂	35.88	52.28	—	5.79	0.62	94.57
100.0	♀	17.88	67.27	—	5.55	3.34	94.04
100.0	♂	34.12	56.36	0.01	5.61	0.64	97.75
14日前投与+経口投与							
2.0	♂	34.87	65.68	—	5.14	0.56	106.26
2.0	♀	34.33	57.97	—	5.51	0.41	97.86

¹⁾ 排泄量及び残留量は投与した¹⁴Cに対する割合で示した。

²⁾ 胃・腸管を除く

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

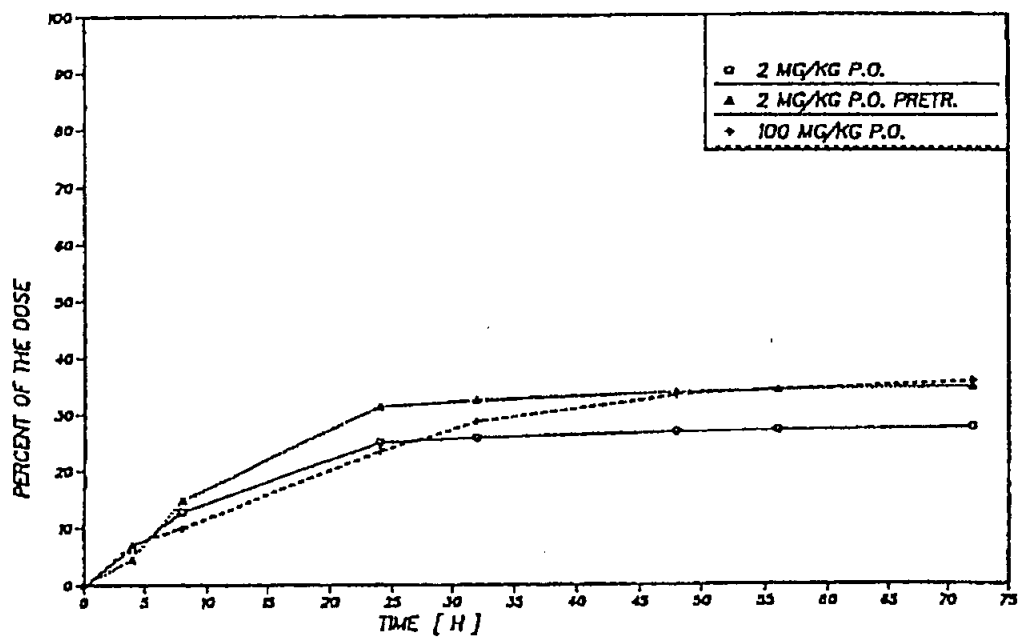


図1 各経口投与群における尿中への総放射能の排泄 (雄)

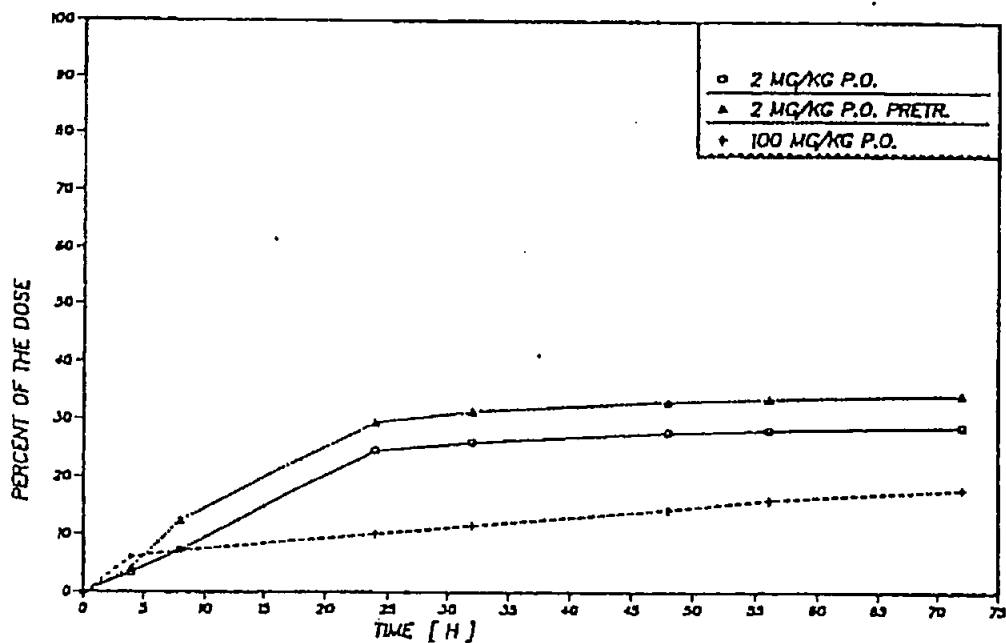


図2 各経口投与群における尿中への総放射能の排泄 (雌)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表2 ラットに投与した¹⁴C-[A]の投与72時間後の換算濃度

組織・臓器	換算濃度 (μg/g) ¹⁾					
	経口 (2.0mg/kg)		経口 (100.0mg/kg)		14日間前投与+経口 (2.0mg/kg)	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
肝	0.1738	0.2022	10.130	13.070	0.2250	0.2042
脾	0.0482	0.0654	3.870	5.610	0.0682	0.0752
腎	0.7804	0.6958	11.860	23.900	0.4692	0.9116
腎脂肪	0.0878	0.0570	6.720	4.380	0.0670	0.0696
精巣/卵巣	0.0850	0.1822	5.910	11.880	0.1162	0.2584
子宮	—	0.2374	—	15.600	—	0.2616
筋肉・大腿骨	0.0344	0.0374	2.630	1.710	0.0454	0.0436
大腿骨	0.0444	0.0562	2.870	2.970	0.0508	0.0466
皮膚	0.0988	0.1242	8.610	6.500	0.1362	0.1452
血漿	0.5858	0.8148	45.870	55.140	0.8868	0.9836
赤血球	0.1644	0.2652	13.820	17.750	0.2506	0.2486
心	0.1464	0.1356	8.750	7.510	0.1498	0.1596
脳	0.0148	0.0134	0.927	1.050	0.0186	0.0169
肺	0.2616	0.3780	15.970	22.190	0.3310	0.4080
カーカス	0.0598	0.0660	4.940	4.370	0.0812	0.0754
胃・腸管	0.0780	0.0910	5.420	35.660	0.1324	0.0840
動物体 ²⁾	0.0860	0.0980	6.560	6.130	0.1122	0.1142

1) 親化合物換算 2) 胃・腸管を除く

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

4) 代 謝

胆管挿管し 10mg/kg で十二指腸投与した雄動物は、投与放射能の 23%が 24 時間以内に胆汁中に排泄された。採取直後の分析で胆汁中に数種の代謝物が認められたが、これは約 4℃で一晩放置して分析(NMR、MS)すると、

となり不安定

な抱合体の可能性が示唆された。

経口投与試験の糞抽出物と同様に、尿は低 pH 溶液内でアリルスルファターゼ / グルクロニダーゼで処理後、単離して代謝物を同定した。単離した代謝物 (アグリコン) について溶媒をメタノールまたはエタノールを用いて分光分析(NMR、MS)すると、

が検出された。また、いくつかのマ

イナー代謝物も同定され、一つは

、他は

であり、こ

れは尿より単離された。糞抽出物から単離したもう一つの代謝物は

と同定された。

本試験における推定代謝経路を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

キノメチオナートのラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

2. 植物体内運命に関する試験

① 植物体内運命試験

(資料 No. M-4)

1) 吸収及び移行性

^{14}C -キノメチオナートをオレンジやりんごに散布して、果皮と果肉の放射能の分析割合を調べたところ、果皮に比べて果肉は極めて少なく、施用後 36 日にわたって残留量は 0.01 ppm 以下であった⁹⁾。またきゅうりでも同様に、果皮から果肉への移行はほとんど無視しうる量であった。

きゅうりの茎部に ^{14}C -キノメチオナート アセトン溶液を注入して、3 日及び 6 日後に放射能を測定したが、果実への放射能の移行は全く見られなかった¹⁰⁾。

りんご、オレンジ及びきゅうりの果実に散布したキノメチオナートは、果実の果皮から果肉への浸透移行性はほとんどなく、きゅうり茎部に処理した時、果実への移行は全く認められなかったことから、キノメチオナートは植物中では浸透移行性はほとんどないことが確認された。

2) 残 留

植物におけるキノメチオナートの残留性は、りんご⁹⁾、オレンジ^{9), 11)}、いちごときゅうり¹⁰⁾、牧草¹²⁾などについて、 ^{14}C -キノメチオナートまたは非標識のキノメチオナートを用いて研究されている。これらの結果を総合すると、散布したキノメチオナートは、植物体上で速やかに減少する。そして、果皮から果肉、茎部から果実への浸透移行性はなく、オレンジ、りんご、きゅうりの果皮と果肉の分布割合は、果肉には極めて少なく、0.01 ppm 程度であった。各植物での半減期を示すと、次のようになる。

植物	⁹⁾ りんご果皮	^{9), 11)} オレンジ果皮	¹⁰⁾ いちご葉	¹⁰⁾ きゅうり葉	¹⁰⁾ きゅうり果皮	牧草 ¹²⁾
半減期 (日)	5	14.5	< 6	< 6	2	3-4

キノメチオナートの植物での半減期は約 5 日（オレンジ果皮を除く）であるが、主代謝物の ^{14}C はオレンジとりんごで散布 7 日後に最高値として約 0.2ppm 検出されたが、その残留量は検出されたキノメチオナートの 1/2 ~ 1/3 量に過ぎず、そして時間とともに減少して、散布 25~30 日後で親化合物キノメチオナートとほぼ同じ残留量になったが、キノメチオナート残留量を上廻ることはなかった。一方、キノキサリン核をもつと考えられる未同定の放射性代謝物は、散布後やや増加する傾向が見られ、オレンジ果皮ではわずかであるが、りんご果皮では散布 7 日後に約 0.5ppm の残留レ

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

ベルに達し、以後徐々に減少するが、散布後 28 日経過すると、検出された放射能の大部分は、未同定の代謝物であった (図 3、4) ⁹⁾。この傾向は、オレンジ果皮、いちごの葉、きゅうりの葉や果実でも同様に見られた ⁹⁾、¹⁰⁾、¹¹⁾。

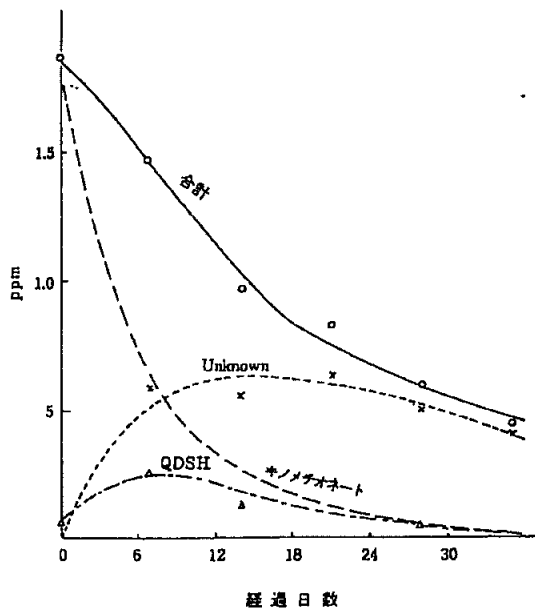


図3 キノメチオナート ^{14}C を散布した
りんごでの残留

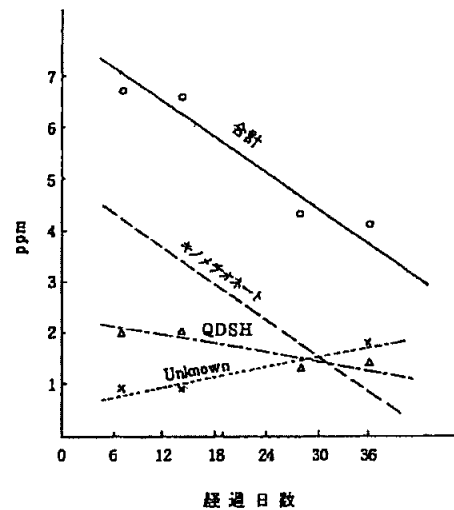


図4 キノメチオナート ^{14}C を散布した
オレンジでの残留

植物にキノメチオナートを散布すると、親化合物は比較的速やかに分解して消失する。そして、総残留量は時間とともに減少してゆくが、水溶性や不溶性の放射能残留物が多くなる。また、りんごやオレンジの果肉での残留量は非常に少なく、ほとんど残留しなかった。

3) 代謝

動物での主代謝物 は散布したキノメチオナートの減少とともに、オレンジやりんごより検出されはじめ、7~14 日後に最大に達した後 (最高値 0.2ppm)、時間とともに減少した。そして、果皮中の放射能は散布 30 日経つと、有機溶媒に不溶性の未同定代謝物が増加してきた (図 3、4)。これらの不溶性の未同定代謝物は、アミラーゼ、グリコシダーゼなどの酵素処理では可溶化されず、酸処理ではほとんど効果がなかった。アルカリ処理で効果的に可溶化されたが、 は分解された。次に、各種のジスルフィド還元分解試薬を試したところ、Sodium Sulphydrate 処理で良好な可溶化率を示した。この還元生成物はメタノールに可溶だが、水-メチレンクロリド

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

で液-液分配すると水に分配される。そこで、ジアゾメタンでメチル化すると、果皮の不溶性残留物の約 80%がメチレンクロリドに可溶化された。

この結果から不溶性の放射性代謝物は、ジスルフィドあるいは、スルフィド結合で植物体の高分子（蛋白など）に結合していると推定された⁹⁾。

いちごの葉、きゅうりの葉や果実では、①表面をクロロホルムで洗浄後 (External)、アセトン-水 (2:1) で抽出、②固形物残渣 (Solids) と抽出物に分け、抽出物をクロロホルムと水で液-液分配して、③有機溶媒可溶区と④水可溶区に分けた。散布時間が経つと、いずれの植物も水可溶分画と、Solids 分画は著しく増加するが、キノメチオナートと β -グルクロシダーゼを含む External と有機溶媒可溶分画は減少した (表 8)¹⁰⁾。

①の表面洗浄は、きゅうりの場合、大部分キノメチオナートであったが、いちごでは、キノメチオナートの比率は低かった。③有機溶媒可溶区を TLC で分離したところ、キノメチオナート (Rf 0.56、きゅうりのみ)、 β -グルクロシダーゼ (Rf 0.35) と原点付近に、放射活性の代謝物が認められた。原点を還元-ホスゲン化処理したところ、42%がキノメチオナートに変換されたことから、 β -グルクロシダーゼを有しているものが多いことが示唆された。一方、④の水溶性分画は、投与 2 週間以後約 50%と高くなった。そこでセファデックス G10 のカラムクロマトグラフィーで分画したところ、3つのピークに分離した (P-1 mw >700 ; P-2 mw ~400 ; P-3 mw ~350)。主要ピーク P-3 を β -グルクロシダーゼ処理すると、mw ~400 の新しいピークを得たことから、Peak-3 は β -グルクロシダーゼで加水分解後ダイマーになったと考えられた。また、②の固形物残渣を還元ホスゲン化処理すると、一部キノメチオナートに変換された¹⁰⁾。

以上の結果から、キノメチオナートの植物での代謝の第一段階は、 β -グルクロシダーゼへの変換であり、さらに、抱合、酸化あるいは他の経路で代謝が進められる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 8 ^{14}C -キノメチオナートを散布後のいちごの葉、きゅうりの葉や果実の放射活性の分布

材料	経過日数	投与放射能		各分画の放射活性 (%)			
		%	ppm	External	有機溶媒	水可溶区	Solids
いちごの葉	0	100.0	34	100.0	—	—	—
	6	49.9	13	3.0	26.2 (2.1)*	29.7	41.1
	14	47.4	12	2.1	17.1 (0)	54.6	26.2
	21	66.3	17	1.7	17.5 (0)	55.1	25.7
	27	44.2	13	1.2	15.5 (0)	44.8	38.6
	50	14.0	4.5	4.2	18.7 (0)	54.3	22.7
きゅうりの葉	0	100.0	28.0	100.0	—	—	—
	6	64.4	19.0	29.7	16.9 (5.4)	14.5	38.8
	14	55.7	12.2	7.8	7.4 (1.3)	54.1	30.6
	21	51.1	15.6	4.7	7.4 (0.7)	54.9	32.6
	27	27.7	11.3	0.9	7.1	51.5	40.5
きゅうりの果実	0	100.0	10.0	100.0	—	—	—
	2	74.0	0.7	62.7	10.5 (5.3)	11.9	14.9
	6	38.4	0.3	29.9	11.1 (4.4)	34.3	24.8
	9	45.7	0.2	23.3	9.4 (3.3)	35.5	31.7
	12	28.1	0.2	18.1	9.8 (2.9)	38.8	33.3

* キノメチオナート

4) 作物の残留量

キノメチオナートの残留分析法はアセトンで抽出後、硫黄を特異的に検出できる蛍光光度型検出器によるガスクロマトグラフ法が官報に公示されている¹³⁾。

残留基準値は残留実態を考慮して、果実（いちご、スイカ、まくわうり、みかん、メロン）、野菜（かぼちゃ、きゅうり、ナス、ピーマン）は、それぞれ 0.5ppm と定められている¹³⁾。各作物の残留実態は、水和剤の通常の使用方法で、最大残留値はいちごで 0.35ppm（4回散布 1日後収穫）、きゅうりで 0.10ppm（10回散布 1日後収穫）であったが、みかん果肉やメロンはいずれの使用法でもキノメチオナートは検出限界以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

5) 加工処理による消失

¹⁴C-キノメチオナートを散布して 60 日後に収穫したオレンジ (残留量 0.67ppm) を常法によって加工処理した時、洗浄処理で残留量の 27.1%が除去された。果皮と果肉に分けて、果肉をジュースにした時、0.01%しか検出されなかったが、果皮には 70.7%残留しており、次に加温処理後家畜の飼料にするため乾燥圧縮した果皮に 47.3%残留していた。このうちキノメチオナートは 6.9%であった¹⁴⁾。

モレスタン[®]水和剤の 600 及び 900ppm 希釈液を 3 回散布したパパイヤは、最終散布 0-7 日に採取すると、3.1ppm と 4.4ppm 残留していた。これをピューレにすると、1.1ppm と 1.7ppm となり、さらに皮を除去してピューレにすると、0.17ppm と 0.29ppm に減少した¹⁵⁾。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

② ^{14}C -キノメチオナート：りんごにおける代謝試験（第2報）

（資料 No. M-5）

試験機関：

報告年月日：1989年6月30日

供試標識化合物：

^{14}C -キノメチオナート[A]（96.3 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ ）

方法：25%水和剤に製剤化した供試化合物をりんご（Golden Delicious）の果実表面に14日間隔で3回塗布処理^{*}した。処理溶液の濃度は、製剤換算で1回目と2回目が0.2%（0.033mg a.i./果実）、3回目が0.25%（0.036mg a.i./果実）であった。処理後0、7、14日に果実を採取し、表面をアセトンで洗浄後、果皮と果肉に分けた。果皮と果肉は、溶媒抽出により有機溶媒可溶、水可溶及び未抽出画分に分画した。

処理後14日の未抽出画分の結合性残留物は化学的/酵素的分画法（表2参照）によりリグニン分画を含む7分画に分けた。リグニン分画はゲルろ過法で分子量の範囲を測定し、さらにHBr/酢酸による加水分解によって結合成分の定性を試みた。

各画分はTLCとHPLCにより直接代謝物を定量するとともに、以下の方法で抱合体を化学変換した後、TLCで分析した。

法-NaHSで加熱分解後 CH_3I にメチル化

法-NaOH/ H_2O_2 で加水分解

法-ジメチルホルムアミド/アセトニトリル中 PdCl_5 で塩素化

^{*} 申請者注) 原文には処理方法は“application”との記載があり、刷毛の付いたピペットで各りんごに処理と記載があるため、塗布処理したと判断された

結果：りんごの放射能は極くわずかしき減少せず、最終散布直後（0日）に認められた放射能（1.64mg/kg）の90%以上（1.25mg/kg）が14日後にも残存していた。アセトン洗浄液の放射能は、48%（0日）から17%（14日）まで減少し、これに伴って果皮の放射能が増加し、14日後には82%に達した。果肉への放射能の移行は約1%と少なかった。

アセトン洗浄液の放射能の主要成分は未変化のキノメチオナート[A]であった。量的には散布直後43%、14日後には13%まで減少した。他の代謝物としてはTLC分析で原点に見いだされる極性代謝物群（グループ1）が4-7%検出された。果皮の放射能のうち法あるいは法で遊離

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

する成分は少なかったが、有機溶媒可溶、水可溶及び未抽出画分ではいずれの場合も 法で遊離する量が多く、果皮では 他にも存在することを示唆していた。 法では化学変換率が悪く、 や の塩素化が効率良く進行しなかった (表 1)。

表 1. りんごにおける放射能の分布及び残留成分

画分	全 ^{14}C に対する%			抱合体の化学変換%		
	0日	7日	14日	法	法	法
アセトン洗浄液	48	31	17	15.4		
キノメチオナート	43	24	13			
極性代謝物群 (グループ 1)	5	7	4		0.7	0.5
果皮	51	68	82			
有機溶媒可溶	4	3	5	0.4	1.1	0.2
水可溶	8	11	17	0.2	1.9	1.9
未抽出	39	54	60	1.8	3.8	
果肉	1	1	1			
合計	100	100	100	17.8	7.5	2.6

14日後の果皮の結合性残留物の多くはリグニン(画分 7.1 =12.2%、画分 7.2 = 32.8%)に多く分布しており、他の植物成分への放射能の取り込みは少なかった。リグニンの放射性成分は画分 7.1 と 7.2 の分子量が、いずれも低分子量から 20000 以上に広く分布しており、放射能がリグニンと共有結合によって取り込まれていることが示唆された(表 2)。放射能が多く分布していたリグニン画分 7.2 を HBr/酢酸で加水分解すると、68 時間の加水分解でより極性の高い成分に遊離したが同定することはできなかった。

表 2. 結合性残留物(果皮 14 日後)の化学的/酵素的画分及び放射能の分布

画分	植物成分	方法	全結合性残留物に対する%	りんごの全 ^{14}C に対する%
1	水溶性多糖類	食塩/還流	3.7	2.3
2	デンプン	アミラーゼ	1.0	0.6
3	タンパク質	プロテアーゼ	0.5	0.3
4	ペクチン	EDTA	1.4	0.8
5	セルロース	セルラーゼ	0.8	0.5
6	ヘミセルロース	NaOH	14.8	8.9
7.1	リグニン	ジオキサン/水	20.4	12.2
7.2	リグニン	ジオキサン/塩酸	54.7	32.8
	固形残渣	—	2.7	1.6
合計			100	60

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

③ ナスにおける代謝試験

(資料 M-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

供試標識化合物：

化学名	
化学構造	
略称	[¹⁴ C]キノメチオナート
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	45 mCi/mmol (426,376 dpm/μg)

* ; ¹⁴C 標識位置

標識位置の選定理由：

供試植物：ナス

品種；Long Purple

設定根拠；

栽培場所：Research For Hire, Porterville, California 所有の圃場。

栽培方法：12 インチのポットに土壌を詰め、1 ポットにナス植物体 1 本を適切な生育段階で移植し、慣行栽培により、栽培した。土壌は Research For Hire の実験圃場の過去に放射性物質の施用がない区域から、採取したものであり、その土性は砂壤土であった。

散布液の調製：放射能希釈した [¹⁴C]キノメチオナート及び 25%WP 製剤白試料を混合、水で希釈して散布液を調製した。

試験設計：下表に各試験区の概要を纏める。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

試験区		処理区	無処理区
試験植物の数		5 植物体 (1 本/ポット x 5 ポット)	3 植物体 (1 本/ポット x 3 ポット)
ポットの設置区画の 処置		フェンスで隔離	処理区から 87 フィート風上に設置
目標施用濃度及び容量		250 g a.i./ha、2000 L/ha (1.83 mg/ポット、14.6 mL/ポット)	適用なし
施用濃度の設定根拠		想定最大施用量に基づく	
施用面積		0.0730 m ² /ポット (総面積 0. 365 m ²)	適用なし
施用回数		3 回 (最終収穫前 21、14 及び 7 日)	
施用方法		葉面散布 (施用後 1 週間雨よけ対策をした)	
試料採取時期	果実	第 3 回施用後 1 日及び 7 日 (最終収穫期)	
	葉部	第 3 回施用後 7 日 (最終収穫期)	

分析方法：

1) 収穫後試料の抽出及び分析方法；

果実及び葉部組織の抽出及び分析方法の概要を図 1 に示す。収穫後、栽培場所で試料をアセトニトリルで表面洗浄し、洗浄液及び洗浄済みの試料を分析場所 (Ricerca Bioscience, LLC) に送付した。送付された試料を細切、ドライアイス下で均質化し、順次 1%酢酸/アセトニトリル、アセトニトリル：水：酢酸、アセトニトリル：水：HCl で抽出した。液体試料は直接 LSC 分析し、固形物は燃焼後、LSC 分析して試料中の放射能を定量した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

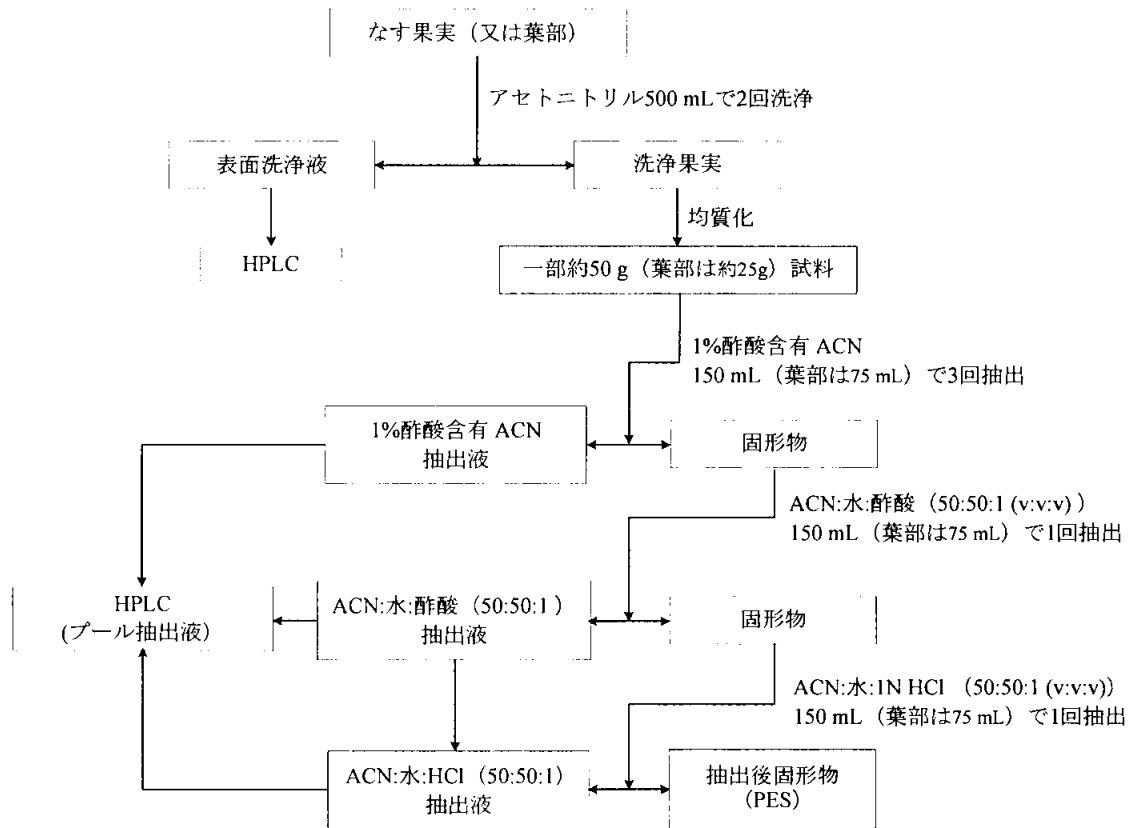


図1 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナートを処理したナスの抽出・分析法

1) 放射性総残留物 (TRR) の測定

果実及び葉部組織の TRR は、以下のように各画分中の放射性残留物の合計として求めた。

$$\text{TRR} = \text{表面洗浄液} + \text{洗浄試料の抽出液} + \text{洗浄試料の抽出後固形物}$$

2) 放射能の分布

果実及び葉部試料について、表面洗浄液及び各抽出液のプール試料を濃縮し、HPLC 分析により ^{14}C 残留物の定性的、定量的測定を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

3) 代謝物の同定及び／又は特徴づけ

表面洗浄液及び抽出性放射能；主要成分を HPLC で精製し、クロマトグラフの保持時間及び参照物質とのコクロマトグラフィー（HPLC 及び／又は TLC）で同定した。

抽出後固形物 (PES)；最終収穫期の果実または葉部の PES を、一連の加水分解（1.0N HCl, 40°C, 17 時間→6.0N HCl, 80°C, 4 時間→1.0N NaOH, 40°C, 16 時間）に供し、遊離した放射性残留物及び残存する固形物を LSC 及び燃焼分析で定量し、特徴づけた。

4) 加水分解安定性、抽出効率及び保存安定性

加水分解安定性；PES の加水分解に使用した条件下における親化合物の安定性を測定した。

抽出効率；対照区の果実及び葉部試料に¹⁴C]キノメチオナートを添加して回収率を測定した。

保存安定性；親化合物及び代謝物の保存安定性は、最終収穫期の果実試料を約 6 ヶ月凍結保存後に再抽出し、HPLC 分析して確認した。また、最終収穫期の果実洗浄液及び葉部抽出液をそれぞれ約 4 ヶ月間及び 6 ヶ月間保存した試料を再 HPLC 分析して、初回分析結果と比較した。

結 果：

1) 施用液の放射化学的純度

3 回施用した製剤の放射化学的純度は、すべて 99%以上であった。

2) 施用量の実測値

第 1 回施用；8.869 mg/5 ポット (243 g a.i./ha)

第 2 回施用；8.868 mg/5 ポット (243 g a.i./ha)

第 3 回施用；8.868 mg/5 ポット (243 g a.i./ha)

3) 放射性総残留物 (TRR)

各試料の表面洗浄液及び洗浄試料の TRR を表 1 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 1 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナートを処理したナスにおける総放射性残留物 (TRR)

分析部位	ppm (キノメチオナート相当量)		
	果実		葉部
収穫期	1 日後	7 日後	7 日後
表面洗浄液	0.007	0.003	1.151
ナス果実/葉部	0.039 (0.035)	0.027 (0.027)	4.326 (3.978)
合計	0.045 (0.042)	0.030 (0.029)	5.477 (5.129)

括弧内の数値は抽出法で求めた TRR との比較のため、表面洗浄液の LSC 分析及び洗浄試料の燃焼分析により求めた値。

燃焼分析と抽出法による TRR 値はよく一致した。

250 g a.i./ha で 3 回処理後の成熟ナス植物体中の総 ^{14}C 残留物のごくわずかであった (0.030~0.045 ppm)。

最終施用 7 日後に収穫したナス葉部中の放射性総残留物 (TRR) は 5.477 ppm であった。

4) 放射能の分布

4-1) 果実

果実における放射能の分布を表 2 にまとめる。

表 2 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナートを処理したナス果実における TRR

	1 日後		7 日後	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
表面洗浄液	0.007	15.0	0.003	9.3
表面洗浄した果実				
1% 酢酸含有アセトニトリル	0.008	16.7	0.006	18.5
ACN:水:酢酸 (50:50:1)	0.006	12.9	0.004	14.8
ACN:水:6N HCl (50:50:1)	0.002	5.2	0.001	3.9
抽出性	0.016	34.8	0.011	37.3
未抽出性 (PES)	0.023	50.2	0.016	53.4
表面洗浄果実の合計	0.039	85.0	0.027	90.7
放射性総残留物 (TRR)	0.045	100.0	0.030	100.0

果実中の TRR の約 9.3~15.0%がアセトニトリルによる洗浄で除去され、約 35~37%が果実抽出液中に認められた。果実の抽出性残留物 (表面洗浄液+含水有機溶

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

媒抽出液)はTRRの約47~50%であり、未抽出性残留物はTRRの50~53%(0.016~0.023 ppm)であった。

4-2) 葉部

葉部における放射能の分布を表3にまとめた。

表3 [14C]キノメチオナートを処理したナス葉部におけるTRR

	7日後	
	ppm	%TRR
表面洗浄液	1.151	21.0
表面洗浄した葉部		
1% 酢酸含有アセトニトリル	1.379	25.2
ACN:水:酢酸 (50:50:1)	0.514	9.4
ACN:水:6N HCl (50:50:1)	0.298	5.4
抽出性	2.191	40.0
未抽出性 (PES)	2.135	39.0
表面洗浄葉部の合計	4.326	79.0
放射性総残留物 (TRR)	5.477	100.0

葉部表面の放射性残留物はTRRの21.0%(1.151 ppm)であり、TRRの40%が葉部抽出液に検出された。抽出性残留物(表面洗浄液+含水有機溶媒抽出液)はTRRの約61%であり、未抽出性残留物はTRRの39%(2.135 ppm)であった。

5) 抽出性放射能の分布及び特徴づけ

果実及び葉部における抽出性放射能の分布を、HPLC分析により測定し、特徴づけた。

5-1) 果実

最終散布1日後及び7日後における放射性残留物の分布を、それぞれ表4及び表5に示す。

ナス果実中の主要な¹⁴C残留物はキノメチオナートであり、TRRの4.7%(1日後)及び7.7%(7日後)が表面洗浄液のみに認められた。

主要代謝物は であり、果実の洗浄液及び抽出液中で認められた。果実中の は、1日後及び7日後でそれぞれTRRの3.0%及び3.5%であった。

その他の微量代謝物は、何れも0.002 ppm (TRRの5.4%)を超えなかった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 4 [14C]キノメチオナート最終散布 1 日後の果実における放射性残留物の分布

	表面洗浄液		抽出液		合計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性	0.007	15.0	0.016	34.8	0.023	49.8
3.27 分	---	---	0.001	1.2	0.001	1.2
3.60 分	<0.001	0.3	0.001	2.1	0.001	2.3
4.07 分	---	---	<0.001	0.7	<0.001	0.7
4.33 分	---	---	<0.001	0.5	<0.001	0.5
26.27 分	---	---	0.001	1.4	0.001	1.4
27.47 分	---	---	0.001	1.5	0.001	1.5
28.00 分	---	---	<0.001	1.0	<0.001	1.0
28.47 分	---	---	0.001	1.2	0.001	1.2
(29.13 分)	<0.001	0.8	0.001	2.2	0.001	3.0
29.47 分	---	---	0.001	1.4	0.001	1.4
30.00 分	---	---	0.001	1.3	0.001	1.3
30.27 分	<0.001	0.3	0.001	1.9	0.001	2.2
30.73 分	---	---	<0.001	1.0	<0.001	1.0
31.07 分	---	---	0.001	1.7	0.001	1.7
31.47 分	---	---	0.001	1.8	0.001	1.8
32.07 分	<0.001	0.6	0.001	1.2	0.001	1.8
32.80 分	---	---	0.001	1.8	0.001	1.8
33.20 分	---	---	<0.001	0.7	<0.001	0.7
33.93 分	---	---	0.001	2.1	0.001	2.1
34.80 分	0.001	1.8	0.002	3.6	0.002	5.4
35.8 分	---	---	0.001	1.9	0.001	1.9
36.60 分	0.001	1.7	0.001	1.9	0.002	3.6
38.07 分	<0.001	0.2	---	---	<0.001	0.2
38.73 分	<0.001	0.3	<0.001	0.6	<0.001	0.9
39.73 分	<0.001	0.2	---	---	<0.001	0.2
44.40 分	0.001	1.3	---	---	0.001	1.3
45.07 分	<0.001	0.3	---	---	<0.001	0.3
45.73 分	0.001	2.0	---	---	0.001	2.0
キノメチオナート (51.67 分)	0.002	4.7	---	---	0.002	4.7
53.20 分	<0.001	0.6	---	---	<0.001	0.6
PES	---	---	---	---	0.023	50.2
Total	0.007	15.0	0.016	34.8	0.045	100.0

--- 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表5 [14C]キノメチオナート処理7日後果実における放射性残留物の分布

	表面洗浄液		抽出液		合計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性	0.003	9.3	0.011	37.3	0.014	46.6
3.47分	---	---	0.001	3.5	0.001	3.5
3.73分	<0.001	0.4	0.001	3.2	0.001	3.6
4.27分	---	---	0.001	1.7	0.001	1.7
4.80分	---	---	<0.001	0.8	0.000	0.8
19.53分	---	---	<0.001	0.5	<0.001	0.5
21.93分	---	---	<0.001	0.4	<0.001	0.4
26.00分	---	---	<0.001	0.5	<0.001	0.5
27.93分	---	---	0.001	1.8	0.001	1.8
28.60分	---	---	<0.001	1.1	<0.001	1.1
(29.33分)	<0.001	0.1	0.001	3.3	0.001	3.5
30.00分	---	---	<0.001	0.8	<0.001	0.8
30.33分	---	---	<0.001	1.2	<0.001	1.2
30.67分	---	---	<0.001	0.5	<0.001	0.5
30.93分	---	---	<0.001	1.2	<0.001	1.2
31.47分	---	---	0.001	1.9	0.001	1.9
32.07分	---	---	<0.001	1.3	<0.001	1.3
32.53分	---	---	0.001	2.0	0.001	2.0
33.00分	---	---	<0.001	1.4	<0.001	1.4
34.00分	---	---	0.001	1.8	0.001	1.8
34.40分	---	---	<0.001	0.5	<0.001	0.5
34.73分	---	---	0.001	1.7	0.001	1.7
35.67分	---	---	0.001	3.8	0.001	3.8
36.60分	---	---	0.001	1.7	0.001	1.7
39.40分	---	---	<0.001	0.4	<0.001	0.4
42.87分	<0.001	0.6	---	---	<0.001	0.6
46.40分	<0.001	0.4	---	---	<0.001	0.4
キノメチオナート (53.67分)	0.002	7.7	---	---	0.002	7.7
PES	---	---	---	---	0.016	53.4
Total	0.003	9.3	0.011	37.3	0.030	100.0

--- 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表6 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナート処理7日後葉部における放射性残留物の分布

	表面洗浄液		抽出液		合計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性	1.151	21.0	2.191	40.0	3.342	61.0
2.80分	---	---	0.196	3.6	0.196	3.6
3.60分	0.025	0.5	0.069	1.3	0.094	1.7
4.40分	0.004	0.1	0.027	0.5	0.031	0.6
19.20分	---	---	0.046	0.8	0.046	0.8
22.47分	---	---	0.080	1.5	0.080	1.5
26.00分	---	---	0.052	1.0	0.052	1.0
26.80分	---	---	0.036	0.7	0.036	0.7
27.27分	---	---	0.027	0.5	0.027	0.5
27.53分	---	---	0.023	0.4	0.023	0.4
28.00分	---	---	0.049	0.9	0.049	0.9
28.53分	---	---	0.060	1.1	0.060	1.1
(29.27分)	0.016	0.3	0.230	4.2	0.247	4.5
30.00分	---	---	0.051	0.9	0.051	0.9
30.40分	---	---	0.062	1.1	0.062	1.1
30.93分	---	---	0.045	0.8	0.045	0.8
31.40分	---	---	0.060	1.1	0.060	1.1
31.73分	---	---	0.073	1.3	0.073	1.3
32.13分	---	---	0.049	0.9	0.049	0.9
32.53分	---	---	0.080	1.5	0.080	1.5
33.27分	---	---	0.148	2.7	0.148	2.7
33.73分	---	---	0.052	0.9	0.052	0.9
34.20分	---	---	0.082	1.5	0.082	1.5
34.53分	---	---	0.059	1.1	0.059	1.1
35.13分	0.002	<0.1	0.061	1.1	0.063	1.1
35.73分	0.003	0.1	0.034	0.6	0.038	0.7
36.73分	---	---	0.164	3.0	0.164	3.0
37.40分	---	---	0.028	0.5	0.028	0.5
38.33分	0.005	0.1	0.041	0.8	0.046	0.8
38.93分	---	---	0.017	0.3	0.017	0.3
39.40分	---	---	0.017	0.3	0.017	0.3
40.67分	0.003	<0.1	---	---	0.003	<0.1
43.07分	0.085	1.6	0.036	0.7	0.121	2.2
45.53分	0.002	<0.1	---	---	0.002	<0.1
46.33分	0.036	0.7	---	---	0.036	0.7
49.33分	0.002	<0.1	---	---	0.002	<0.1
キノメチオナート (54.60分)	0.968	17.7	0.137	2.5	1.105	20.2
PES	---	---	---	---	2.135	39.0
Total	1.151	21.0	2.191	40.0	5.477	100.0

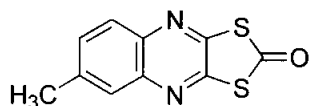
--- 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

6) 代謝物の同定及び／又は特徴づけ

[¹⁴C]キノメチオナート；

[¹⁴C]キノメチオナートは参照標準品との HPLC コクロマトグラフィー及び/又は TLC コクロマトグラフィーで確認した。



キノメチオナート

[¹⁴C] ;

[¹⁴C] は “[¹⁴C]キノメチオナートの好氣的土壤中運命試験” において同定された [¹⁴C] との HPLC コクロマトグラフィーにより確認した。

未抽出性放射能（抽出残渣中放射能）；

果実及び葉部の最終抽出後の抽出残渣（PES）中の放射能を、一連の加水分解を行ない特徴づけた結果を表 7 に示す。

表 7 最終散布 7 日後試料の PES の加水分解の結果

	果実			葉部		
	%分布	ppm	%TRR	%分布	ppm	%TRR
PES	---	0.016	53.4	---	2.135	39.0
1N HCl (40°C)	2.18	<0.001	1.2	25.53	0.545	10.0
6N HCl (80°C)	18.43	0.003	9.9	21.58	0.461	8.4
1N NaOH (40°C)	12.93	0.002	6.9	43.26	0.924	16.9
残留固形物	66.45	0.011	35.5	9.64	0.206	3.8
合計	100.0	0.016	53.4	100.0	2.135	39.0

果実の PES 中の放射能（53.4%TRR）は、1N 塩酸及び 6N 塩酸加水分解でそれぞれ TRR の 1.2%及び 9.9%が抽出され、1N NaOH の加水分解により TRR の 6.9%が抽出された。しかしながら TRR の 35.5%は結合残留物であった。

同様に、葉部の PES 中の放射能（39.0%TRR）も、1N 塩酸及び 6N 塩酸加水分解でそれぞれ TRR の 10%及び 8.4%が抽出され、さらに 1N NaOH の加水分解で、TRR の 16.9%が抽出された。結合残留物は TRR の 3.8%であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

④ 温州みかんにおける代謝試験

(資料 M-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2008 年

供試標識化合物：

化学名	
化学構造	* ; ¹⁴ C 標識位置
略称	[¹⁴ C]キノメチオナート
ロット番号	
放射化学的純度	
比放射能	45 mCi/mmol (426,376 dpm/μg)

標識位置の選定理由：

供試植物：みかん，樹齢約 17 年（直径約 10 ft，高さ約 7 ft），
過去 3 年間，キノメチオナートの散布歴のない健全な樹木
品種；温州みかん

設定根拠：

栽培場所：Research For Hire, Porterville, California 所有の果樹園

栽培方法：慣行栽培

試験方法：試験設計の概要を次表に纏める。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

	処理区	無処理区
試験区画 ^{a)}	約 10 平方フィート (0.929 m ²)	
植物体数	1 本	1 本
目標施用濃度	92.9 mg/区画/施用	
処理量の 設定根拠	想定最大施用量 (1000 g a.i./ha 相当量/施用) に基づく	
施用回数	3 回 (最終収穫前 77, 49 及び 21 日)	
散布剤の 調製	① [¹⁴ C]キノメチオナート原液調製 (100 mg/15 mL) ② [¹⁴ C]キノメチオナートの放射能希釈溶液調製 (324 mg/25 mL) ③ ②の溶液と 25%WP 製剤白試料を混合、水を加えて散布剤溶液を施用毎に調製	
施用法	約 4000 L/ha 相当量を葉面散布 (施用後 1 週間雨よけ対策をした)	
採取時期	第 3 回施用後, 7 日, 21 日	
採取部位	果実及び葉部	

a) 処理区画はフェンスで囲み、立ち入り制限をし、無処理区画は処理区画から 117 ft 風上に設置した。

分析方法：

1) 収穫後試料の抽出及び分析方法

1-1) 果実

各採取試料うち、果実 5 個を分取し、その後の分析に使用した。果実の抽出及び分析方法の概要を図 1 及び図 2 に示す。果実はアセトニトリルで表面洗浄し、表面洗浄液及び表面洗浄果実を 5 日以内に栽培場所から分析場所 (Ricerca Bioscience, LLC) に送付 (表面洗浄液：冷凍状態、表面洗浄試料：冷蔵状態で) した。表面洗浄果実は皮を剥き、皮を除いた果肉は均質化後、アセトニトリルで抽出し、抽出液及び抽出後固形物 (PES) に分画した。

果皮はドライアイスとともに均質化した。ヘキサンで抽出後、抽出液及び PES に分画した。PES はアセトニトリル：水、アセトニトリル：水：酢酸、アセトニトリル：水：HCl で順次抽出した。PES は、さらに 1N HCl を加えて 0.2 NHCl 溶液とし、加水分解後、加水分解液と PES に分画した。

液体試料は直接 LSC 分析した後、HPLC で分析した。固形物は燃焼後、LSC 分析した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

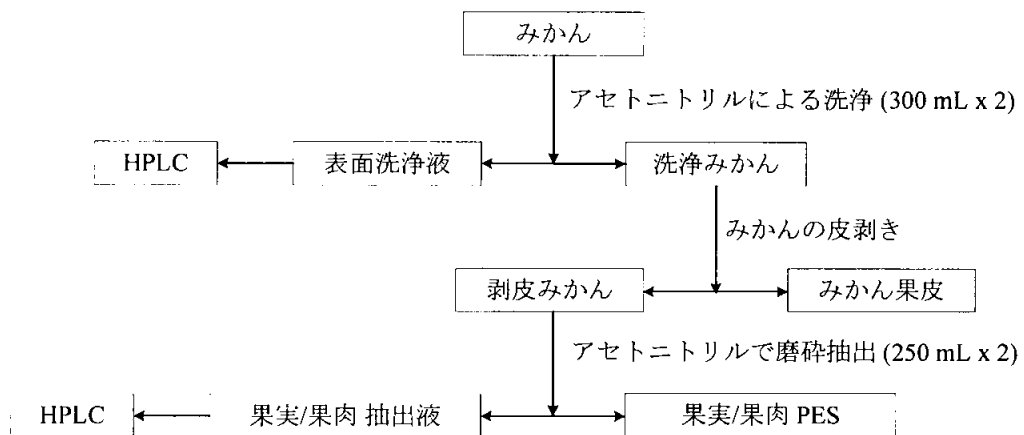
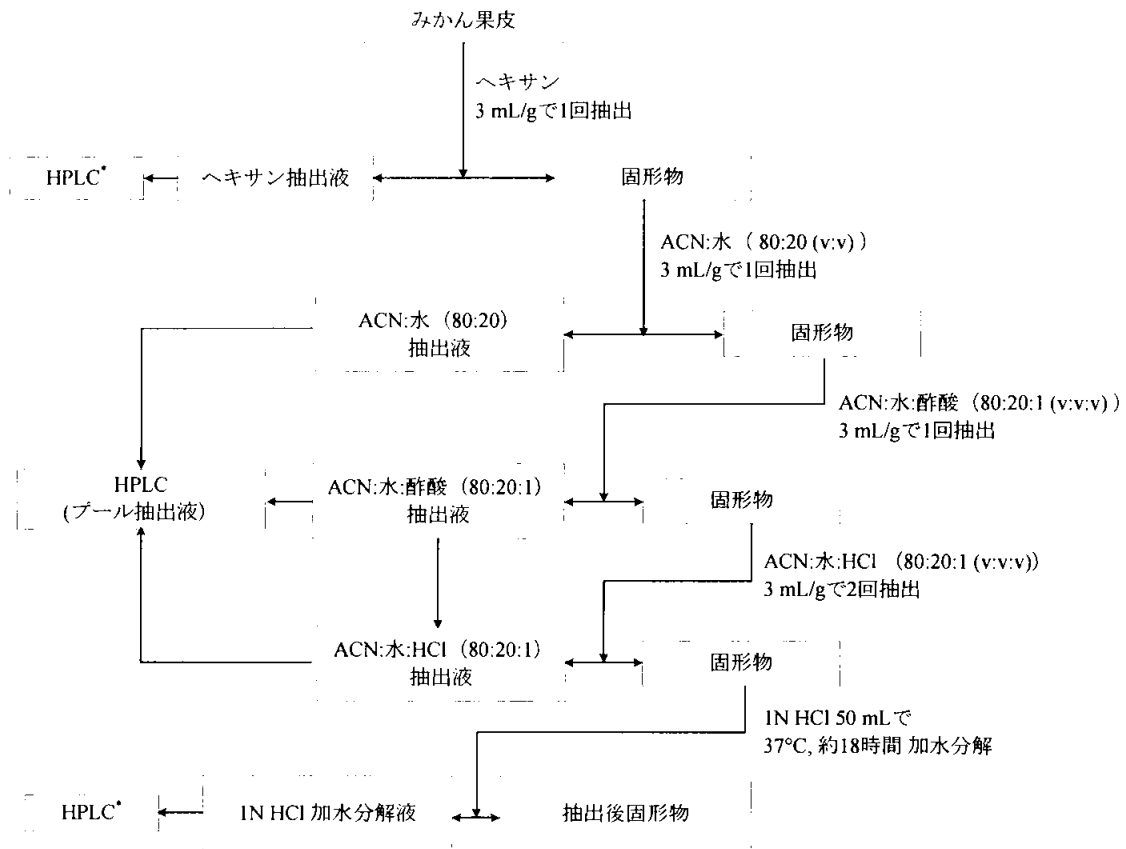


図1 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナート処理の温州みかん果実の抽出・分析法

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。



HPLC*: 最終収穫試料でのみ実施

図2 [14C]キノメチオナート処理の温州みかん果皮の抽出・分析法

1-2) 葉部

各採取試料うち、約 300 g を分取し、その後の分析に使用した。葉部試料の抽出及び分析方法の概要を図 3 に示す。葉部試料はアセトニトリルで表面を洗浄し、表面洗浄液及び表面洗浄葉部を 5 日以内に栽培場所から分析場所に送付（表面洗浄液：冷凍状態、表面洗浄試料：冷蔵状態で）した。洗浄葉部を均質化後 1%酢酸/アセトニトリルで抽出し、抽出液と PES に分画した。PES はアセトニトリル：水：酢酸、アセトニトリル：水：HCl で順次抽出した。PES はさらにアセトニトリル：水：酢酸でソックスレー抽出を行なった。

液体試料は直接 LSC 分析した後、HPLC で分析した。固形物は燃焼後、LSC 分析した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

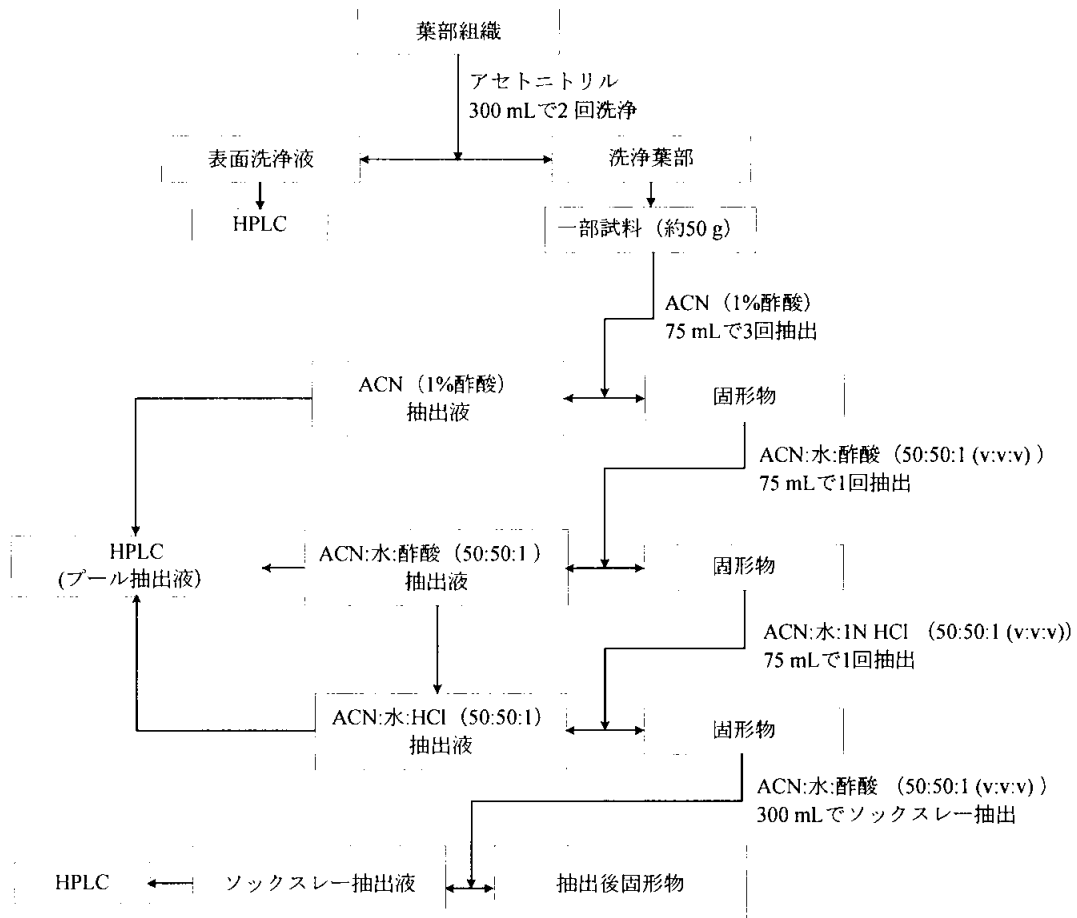


図3 [14C]キノメチオナート処理の温州みかん葉部の抽出・分析法

2) 放射性総残留物 (TRR) の測定

果実及び葉部試料の TRR は、以下のように求めた。

果実の TRR = 表面洗浄液 + 果肉抽出液 + 果肉 PES + 果皮抽出液 + 果皮 PES

葉部の TRR = 表面洗浄液 + 葉部抽出液 + 葉部 PES

3) 放射能の分布

果実及び葉部試料の種々の抽出画分を HPLC で分析し、抽出性放射能の分布を求め、特徴づけを行った。

4) 代謝物の同定及び／または特徴付け

主要放射性成分を HPLC で精製・単離後、HPLC で分析した。

[14C]キノメチオナートは、HPLC クロマトグラムの保持時間の比較及び参照物質との

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

コクロマトグラフィー (HPLC/TLC) により同定した。^[14C] は, “^[14C]キノメチオナートの好氣的土壤中運命試験” で同定した^[14C] との HPLC クロマトグラム の保持時間の比較及びコクロマトグラフィー (HPLC/TLC) により同定した。

果皮試料の PES は 0.2 N HCl で, 80°C, 6 時間加熱して加水分解した。加水分解液を HPLC で分析し, 特徴づけた。

葉部試料の PES は, 一連の加水分解 (1.0 N HCl, 40°C, 20 時間→6.0 N HCl, 80°C, 4 時間→1.0 N NaOH, 40°C, 19 時間) に供し, 遊離した放射性残留物及び残存固形物を燃焼及び LSC で定量し, 特徴付けた。

5) 抽出効率及び保存安定性

対照区の葉部試料に^[14C]キノメチオナートを添加して回収率を測定した。

親化合物及び代謝物の保存安定性は, 凍結保存 (約 14 ヶ月) 後の果皮試料の再分析, 又は抽出液を凍結保存 (約 3 ヶ月~16 ヶ月) 後に HPLC で再分析して, 各々初回の HPLC 分析のプロファイルと比較して確認した。

結 果 :

1) 施用製剤液中の^[14C]キノメチオナートの放射化学的純度

3 回施用に用いた製剤液中の^[14C]キノメチオナートの放射化学的純度は, すべて 98% 以上であった。

2) 実際の施用濃度

第 1 回施用 : 93.977 mg (1012 g a.i./ha)

第 2 回施用 : 93.831 mg (1010 g a.i./ha)

第 3 回施用 : 95.259 mg (1025 g a.i./ha)

3) 放射性総残留物 (TRR) の分布

3-1) 果実

果実における TRR の分布を表 1 にまとめる。

放射性総残留物は, 7 日後試料及び 21 日後試料でそれぞれ 3.705 ppm 及び 0.547 ppm であった。

7 日後試料では, アセトニトリル洗浄により 90.7%TRR が除去され, 果肉及び果皮中にはそれぞれ 0.2%と 9.1%TRR が認められた。

21 日後試料では, アセトニトリル洗浄により除去された放射性総残留物は 28.4%TRR であり, TRR の大部分は, 果皮中に認められた (66.8%TRR)。一方, 果肉には 4.8%TRR が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

果肉及び果皮における抽出性放射能はそれぞれ 0.1~3.8%及び 8.0%~58.2%TRR であった。

果実における抽出性放射能は 90.4~98.8% TRR であり、未抽出性残留物は 1.2%~9.6%であった。

表 1 [14C]キノメチオナート処理の温州みかん果実における TRR の分布

果実	7日後		21日後		
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	
表面洗浄液	3.361	90.7	0.155	28.4	
洗浄果実	果肉				
	果肉抽出液	0.005	0.1	0.021	3.8
	果肉 PES	0.002	0.1	0.006	1.0
	果肉 合計	0.007	0.2	0.026	4.8
	果皮				
	果皮抽出液	0.297	8.0	0.318	58.2
	果皮 PES	0.041	1.1	0.047	8.6
	果皮 合計	0.337	9.1	0.365	66.8
総抽出性放射能	3.663	98.8	0.494	90.4	
総未抽出性放射能	0.043	1.2	0.053	9.6	
果実 TRR	3.705		0.547		

3-2)葉部

葉部における TRR の分布を表 2 にまとめる。

表 2 [14C]キノメチオナート処理の温州みかん葉部における TRR の分布

葉部	7日後		21日後		
	PPM	%TRR	PPM	%TRR	
表面洗浄液	23.818	76.8	10.248	67.7	
洗浄葉部	抽出液	3.319	10.7	2.746	18.1
	アセトニトリル (1%酢酸)	1.146	3.7	0.800	5.3
	ACN:水:酢酸(50:50:10)	0.713	2.3	0.609	4.0
	ACN:水:HCl (50:50:1)	0.629	2.0	0.490	3.2
	ソックスレー抽出	0.831	2.7	0.847	5.6
	PES	3.865	12.5	2.150	14.2
	洗浄葉部 合計	7.184	23.2	4.896	32.3
TRR	31.002		15.145		

放射性総残留物は 7 日後試料で 31.002 ppm, 21 日後試料では 15.145 ppm であった。

表面洗浄液には TRR の 67.7~76.8%, 溶媒抽出液には 8.0~12.5%TRR 及びソックスレー抽出液には 2.7~5.6%TRR がそれぞれ認められ、計 85.8~87.5%TRR が抽出

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

性放射能として検出された。未抽出性放射能は 12.5～14.2%TRR であった。

4) 放射性残留物の分布；

果実及び葉部における放射性残留物の分布を、抽出性画分の HPLC 分析により測定し、特徴づけた。

4-1)果実

7 日後試料における¹⁴Cキノメチオナート放射性残留物の分布を表 3 に示す。また、21 日後試料における放射性残留物の分布をそれぞれ TRR 及び ppm で表 4 及び表 5 に示す。

ミカン果実における主要 ¹⁴C 残留物はキノメチオナートであり、そのうちほぼ全てが表面洗浄液中で検出された (28.4～90.7%TRR)。キノメチオナートは果肉には検出されず、果皮中に 0.6% TRR が認められた。また分解生成物 が果皮中に 0.2～1.1%TRR 検出された。その他の微量放射性残留物は、いずれも 10%TRR を超えなかった。

表 3 ¹⁴Cキノメチオナート処理 7 日後果実における放射性残留物の分布

	表面洗浄液		果肉抽出液 ^b		果皮抽出液		果実合計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性成分	3.361	90.7	0.005	0.1	0.274	7.4	3.640	98.2
キノメチオナート(53.47分)	3.361	90.7	---	---	---	---	3.361	90.7
(29.20分)	---	---	---	---	0.006	0.2	0.006	0.2
	---	---	D	D	D	D	0.009	0.3
微量未知物質	---	---	---	---	D	D	0.286	7.7
果皮ヘキササン抽出液 ^a	---	---	---	---	0.004	0.1	0.004	0.1
果皮 1N HCl 加水分解液 ^a	---	---	---	---	0.019	0.5	0.019	0.5
PES	---	---	0.002	0.1	0.041	1.1	0.043	1.2
合計	3.361	90.7	0.007	0.2	0.337	9.1	3.705	100.0

---: 検出されず, D: 検出成分あり。

極性物質: HPLC 保持時間 3.13 分と 3.93 分の成分。

微量未知物質: 果肉抽出液及び全果皮抽出液中に多数の成分が検出されたが、個々には何れの成分も 10%TRR 未満であった。

^a 果皮ヘキササン抽出液及び果皮 1N HCl 加水分解液は放射能残留量が低かったため分析しなかった。

^b 果肉抽出液は、HPLC 抽出分画 (1 分) の分析に基づいた。果肉抽出液中の極性領域の分布は果皮抽出物中の 3.13 分と 3.93 分のピークの標準化した分布に基づいた

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

表 4 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナート処理 21 日後果実における放射性残留物の分布 (TRR)

	表面 洗浄液	果肉 抽出液	果皮 抽出液 1 ヘキサン	果皮抽出液 2:5 (ACN:水:酸)	果皮抽出液 (1N HCl 加水分解)	果皮 合計	果実 合計
抽出性	28.4	3.8	1.1	53.5	3.6	58.2	90.4
キノメト(52.27 分)	28.4	<0.1	0.6	---	---	0.6	28.9
(29.07 分)	---	<0.1	---	1.0	0.1	1.1	1.1
	---	D	---	D	D	/	2.9
微量未知物質	---	D	D	D	D		57.4
PES	---	1.0	---	---	---	8.6	9.6
合計	28.4	4.8	1.1	53.5	3.6	66.8	100

---: 検出されず, D: 検出成分あり。

極性物質: HPLC 保持時間 3.20 分, 3.53 分と 3.93 分の成分。

微量未知物質: 果肉抽出液及び全果皮抽出液中に多数の成分が検出されたが, 個々には何れの成分も 10%TRR 未満であった。

表 5 $[^{14}\text{C}]$ キノメチオナート処理 21 日後果実における放射性残留物の分布 (ppm)

	表面 洗浄液	果肉 抽出液	果皮 抽出液 1 ヘキサン	果皮抽出液 2:5 (ACN:水:酸)	果皮抽出液 (1N HCl 加水分解)	果皮 合計	果実 合計
抽出性	0.155	0.021	0.006	0.293	0.02	0.318	0.494
キノメト(52.27 分)	0.155	<0.001	0.003	---	---	0.003	0.158
(29.07 分)	---	<0.001	---	0.005	0.001	0.006	0.006
	---	D	---	D	D	/	0.016
微量未知物質	---	D	D	D	D		0.314
PES	---	0.006	---	---	---	0.047	0.053
合計	0.155	0.026	0.006	0.293	0.02	0.365	0.547

---: 検出されず, D: 検出成分あり。

極性物質: HPLC 保持時間 3.20 分と 3.53 分の成分。

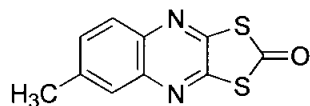
微量未知物質: 果肉抽出液及び全果皮抽出液中に多数の成分が検出されたが, 個々には何れの成分も 10%TRR 未満であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

5) 代謝物の同定及び／または特徴付け

① キノメチオナート

標準品との HPLC コクロマトグラフィー及び／または TLC コクロマトグラフィーで確認した。



キノメチオナート

好氣的土壤中運命試験において同定された単離物との HPLC 同時注入により確認した。

③ 果皮 PES の特徴づけ

酸加水分解後の HPLC 分析で保持時間 20 分に新規ピークがみられたが、既知代謝物とは一致しなかった。

④ 葉部試料のソックスレー抽出後の PES の特徴づけ

一連の加水分解の結果を表 8 に示す。

表 8 最終収穫葉部 PES の加水分解結果

	%分布	ppm	%TRR
葉部 PES	---	2.150	14.2
1N HCl (40°C)	29.4	0.632	4.2
6N HCl (80°C)	33.9	0.728	4.8
1N NaOH (40°C)	3.7	0.080	0.5
残留固形物	33.0	0.710	4.7
Total	100.0	2.150	14.2

1N HCl, 6N HCl 及び 1N NaOH で加水分解され、抽出された放射能はそれぞれ、4.2%TRR, 4.8%TRR 及び 0.5%TRR であり、4.7%TRR が葉部 PES に結合していた。

6) 抽出効率及び保存安定性

対照区葉部試料の¹⁴Cキノメチオナートの添加回収試験で 90%以上が回収された。果皮試料及び各試料の表面洗浄液および抽出液の凍結保存後に再分析した HPLC プロファイルは初回の HPLC プロファイルと類似しており、キノメチオナート及び代

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

謝物が冷凍保存条件下で安定であることが示された。

7) 温州みかんにおけるキノメチオナートの想定代謝経路

キノメチオナートの温州みかんにおける想定代謝経路を図4に示す。

図4 キノメチオナートの温州みかんにおける想定代謝経路

以上の結果から、キノメチオナートは温州みかんにおいて急速に代謝され、広範囲にわたった。温州みかんにおけるキノメチオナートの主要な代謝経路には、
の加水分解であった。