

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

1. 動物代謝に関する試験

1) 光学異性体の in vitro 代謝の比較検討 (ラセミ体、P 体)

(資料 A-1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

供試標識化合物: ジメテナミド () の
ジメテナミドと称す)

に ^{14}C を標識した標識体 (以下、 ^{14}C)

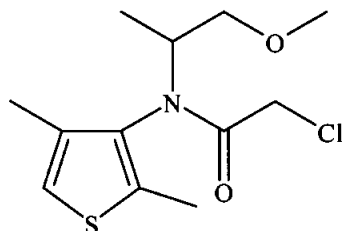
化学名: (RS)-2-chloro-N-(2,4-dimethyl-3-thienyl)-N-(2-methoxy-1-methylethyl)acetamide

分子式: $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{ClNO}_2\text{S}$

分子量: 275.7982

	^{14}C -ジメテナミド
標識体	^{14}C
比放射能 [MBq/mg]	
比放射能 [dpm/ μg]	
放射化学的純度	

化学構造:



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

供試標識化合物：ジメテナミドP () の に ^{14}C を標識した標識体(以下、
[^{14}C]ジメテナミドP と称す)

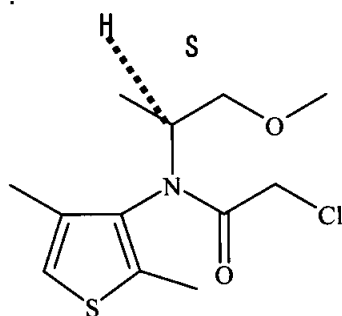
化学名：(S)-2-chloro-N-(2,4-dimethyl-3-thienyl)-N-(2-methoxy-1-methylethyl)acetamide

分子式： $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{ClNO}_2\text{S}$

分子量： 275.7982

	[^{14}C]ジメテナミドP
標識体	^{14}C
比放射能 [MBq/mg]	
比放射能 [dpm/ μg]	
放射化学的純度	

化学構造：



供試非標識化合物：ジメテナミド()

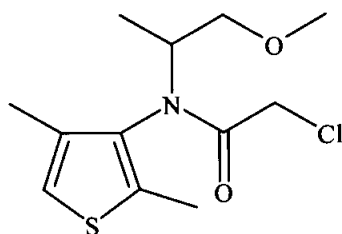
化学名：(RS)-2-chloro-N-(2,4-dimethyl-3-thienyl)-N-(2-methoxy-1-methylethyl)acetamide

分子式： $\text{C}_{12}\text{H}_{18}\text{ClNO}_2\text{S}$

分子量： 275.7982

純度：

化学構造：



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

供試非標識化合物：ジメテナミドP ()

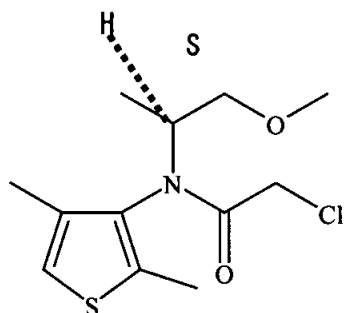
化学名：(S)-2-chloro-N-(2,4-dimethyl-3-thienyl)-N-(2-methoxy-1-methylethyl)acetamide

分子式：C₁₂H₁₈ClNO₂S

分子量：275.7982

純度：

化学構造：



供試動物：Wistar 系ラット (CrIGlxBrIHan: WI)

用量設定：

化合物	用量	
テストステロン (システムバリデーションのため)	12.5, 25, 37.5, 50, 100 μM	肝酵素の影響を検討するためそれぞれに熱変性させた対照群を置いた。
	12.5, 25, 37.5, 50, 100 μM	肝酵素の影響を検討するためそれぞれに熱変性させた対照群を置いた。
		肝酵素の影響を検討するため熱変性させた対照群を置いた。

試験方法：

肝切片作成： 約 200 μm の厚さにスライスして、95%酸素と 5%窒素で飽和し氷冷した Krebs Henseleit buffer に保存した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

インキュベーション：6穴の標本プレートの各穴に5mLのWilliams E培養液と2枚の肝切片を入れて約37°Cで培養した。熱変性させた対照標本は沸騰水中で約10分間加熱して用いた。プレートは双方向に振とうさせ、95%酸素と5%窒素のガスを供給し続けた。30分間のプレインキュベーションの後、培養液に被験物質を含む溶液に置き換え、約24時間培養した。培養後、切片は-20°Cにて冷凍保存した。

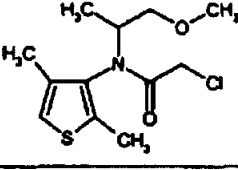
放射能活性の測定：一定量の標本をシンチレーターで混合し、液体シンチレーション計測器で測定した。また、HPLC、LC-MS及びLC-MS/MS、並びにNMRによる測定を行った。

試験結果：

ラット肝切片における の代謝経路：37.5µMの用量群において代謝率が50%を超え、20の代謝物がHPLCによる測定で確認された。そのうち主要な代謝物である7種類を同定した(表-1)。ラット肝切片を用いた本試験(in vitro)における代謝経路を図-1に示した。また、in vivo試験(資料A-3)での代謝経路を図-2に示した。In vitro試験での主要な代謝経路は、
、
、
、及び
形成のための
形成のための
反応であり、基本的にはin vivo試験での代謝経路と同様であった。

のラセミ体とS-光学異性体との代謝の比較：37.5µMの用量群において、ラセミ体とS-光学異性体の比較をするために、酵素存在下(非熱変性)で10サンプルのインキュベーションを並行して行った。ラセミ体での代謝率は56.8%から96.5%の間であり、平均値は84±12%であった(表-2)。S-光学異性体の代謝率は46.0%から76.5%の間であり、平均値は63±11%であった(表-3)。個々の値からはラセミ体の代謝率が高いようにみえるが、ばらつきの範囲内であり、有意と思われる差はなかった(図-3)。

表 - 1 本試験での の主要代謝物

Metabolite Identity	Ret. Time [min] HPLC-system LC3	Structure
		

* two isomers detected
 ** three isomers detected

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

図 - 1 の in vitro での代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

図 - 2 の in vivo (ラット) での代謝経路

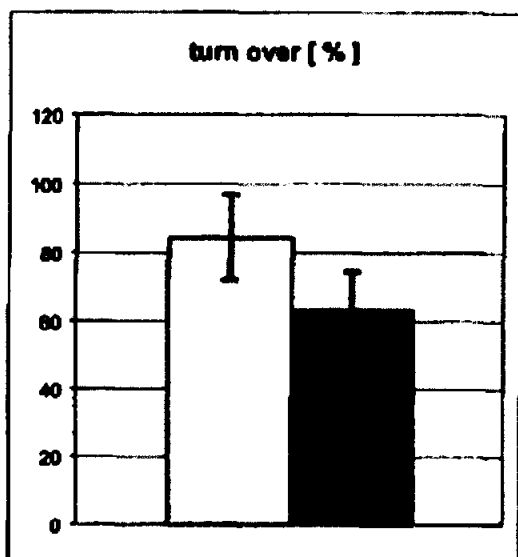
表 - 2 (ラセミ体) の代謝率

サンプル番号	代謝率 (%)
1	88.22
2	87.66
3	92.99
4	96.50
5	67.42
6	90.20
7	87.11
8	56.75
9	88.06
10	88.87
平均値±標準偏差 84.38±12.35	

表 - 3 (S-光学異性体) の代謝率

サンプル番号	代謝率 (%)
1	76.00
2	52.27
3	55.37
4	59.00
5	70.50
6	53.40
7	72.99
8	46.03
9	76.54
10	70.30
平均値±標準偏差 63.24±11.21	

図 - 3 (ラセミ体) と (S-光学異性体) の代謝率の比較



□ : ラセミ体、■ : S-光学異性体

ラセミ体と S-光学異性体の主要代謝物の比較を行うために、HPLC 測定で得られた 7 つのピークの総和を 100 とした場合の、それぞれのピークの比を 10 の独立したインキュベーションそれぞれについて求めた (表 - 4 及び 5)。LC-MS 分析により求められた in vitro の主要代謝物である M4 は相対比で、それぞれラセミ体で 85%、S-光学異性体で 65%であった。また、同様に最も極性の高い代謝物である MX は、ラセミ体で 10%及び S-光学異性体で 10%であった。M33 はラセミ体で 10%及び S-光学異性体で 10%である M25 はラセミ体で 10%及び S-光学異性体で 10%代謝物である iso M35 はラセミ体で 10%及び S-光学異性体で 10%、iso M35 の光学異性体である M35 はラセミ体で 10%及び S-光学異性体で 10%であった。また一方、M35 のラセミ体は M36 は、それぞれラセミ体で 10%及び S-光学異性体で 8%であった (図-4)。

以上のことから、代謝物 MX、M33、M4、M25、光学異性体 iso M35 及び

M36 は、ラセミ体と S-光学異性体で同様な相対量を示した。代謝物である M35 についてはラセミ体よりも S-光学異性体で相対量が大きかったが、iso M35 の

(M36) 及び M35 はいずれも iso M35 からの代謝経路の第 II 相での産物であり、iso M35 の相対量を比較した場合にはラセミ体と S-光学異性体で差はみられなかった。

結論として、in vitro でラット肝切片を用いた試験でのラセミ体 () と S-光学異性体 () の代謝は質的にも量的にも同様であると考えられた。

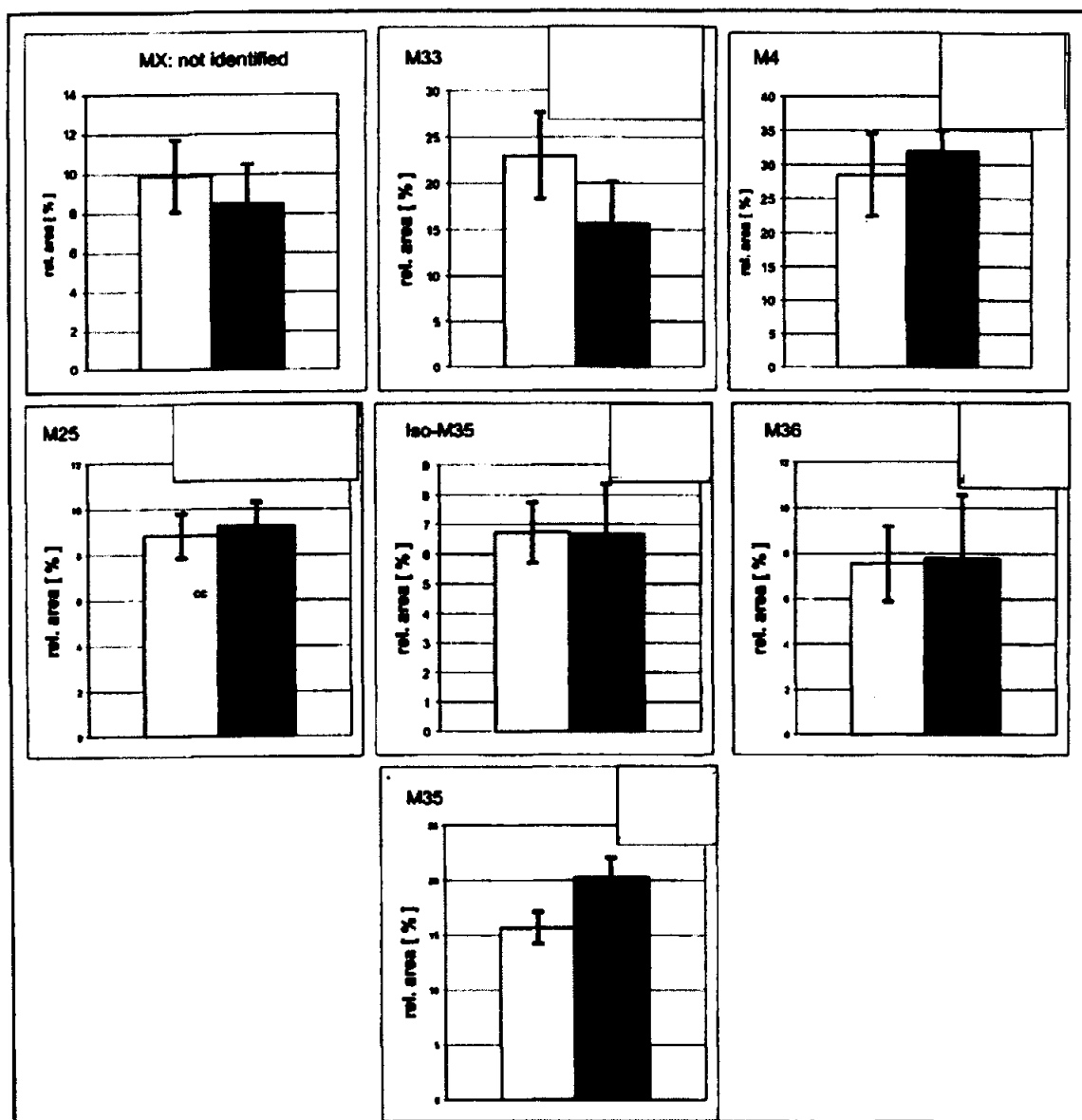
表 - 4 (ラセミ体) の主要代謝物の比率

番号	代謝物	保持時間	各サンプルでのピーク面積 (%)										平均±標準偏差
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
1	MX	16											
2	M33	17											
3	M4	22											
4	M25	24											
5	iso M35	28											
6	M36	28											
7	M35	30											

表 - 5 (S-光学異性体) の主要代謝物の比率

番号	代謝物	保持時間	各サンプルでのピーク面積 (%)										平均±標準偏差
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

図 - 4 (ラセミ体) と (S-光学異性体) の主要代謝物比率の比較



□ : ラセミ体、 ■ : S-光学異性体

2) ¹⁴C-ジメテナミドを用いたラット体内における代謝試験

単回及び反復投与後のラットにおける吸収、分布及び排泄（ラセミ体）

（資料 A-2 代替 既提出 A-1）

試験機関：

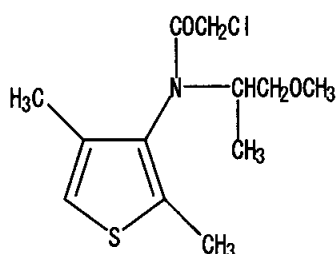
[GLP 対応]

報告書作成年：

本試験はラセミ体を用いた試験成績で代替した。

供試標識化合物：

標識化合物：



(RS)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

バッチ番号：

放射化学的純度：

比放射活性：

非標識化合物： バッチ番号

供試動物： Kfm:WIST 系ラット 成熟雄 215±12g

成熟雌 191±6g

方法：

1) 基礎実験

溶媒にポリエチレングリコールを用いて調製し、単回及び反復の最終投与では標識被験物質は非標識被験物質で希釈して投与放射能を、約 Ci とした。

投与方法	投与量	動物数
低用量 単回経口投与	(10 mg/kg)	♂6 ♀6
低用量 単回静脈内投与	(10 mg/kg)	♂6 ♀6
高用量 単回経口投与	(1000 mg/kg)	♂6 ♀6
低用量 反復経口投与	(1日1回、14日間の非標識 SAN582-H 低投与量経口投与の後、1回の放射性低用量投与)	♂6 ♀6

投与後 168 時間までの、あらかじめ定めた時間間隔中の放射能の尿、糞中への排泄ならびに屠殺時における特定の組織または、カルカス中の残留放射エネルギーを測定した。

2) 追加実験

更に以下の追加試験を行った。

・ 所定組織への放射能分布試験

低用量 単回経口投与	(10 mg/kg)	♂3 ♀3
高用量 単回経口投与	(1000mg/kg)	♂3 ♀3

1、4、24、72 時間後に組織中放射エネルギーを測定した。

・ 胆管カニューレを施したラットにおける胆汁排泄

低用量 単回経口投与	(10 mg/kg)	♂3 ♀3
------------	-------------	-------

胆管カニューレを施したラットの尿、糞については基礎実験の方法に従って採取した。胆汁は投与後、0~7、7~24、24~48、48~72、72~168 時間の間隔で採取した。

・ 血液中放射能濃度の測定

低用量 単回経口投与	(10 mg/kg)	♂3 ♀3
低用量 単回静脈内投与	(10 mg/kg)	♂3 ♀3
高用量 単回経口投与	(1000mg/kg)	♂3 ♀3

0.25、0.5、0.75、1、1.5、2、3、4、5、6、7、24、48、72、168 時間後に血液 0.5mL をラットの尾静脈から採取し、放射能を液体シンチレーションカウンターにより測定した。

結 果:

1) 吸収

胆管カニューレ挿入ラットの尿、糞及び胆汁中への経時的排泄は以下の通りであった。

	投与量	単回経口 (10mg/kg)	
	経過時間(時間)	雄	雌
尿	0- 7	3.2± 0.8	4.2± 2.2
	0- 24	5.8± 0.5	9.9± 1.7
	0- 48	6.9± 0.8	11.6± 1.8
	0- 72	7.3± 0.8	11.9± 1.9
	0-168	7.6± 0.6	12.4± 2.0
糞	0- 24	—	—
	0- 48	1.9± 0.8	3.4± 0.8
	0- 72	2.1± 0.7	3.6± 0.9
	0-168	2.2± 0.7	3.7± 1.0
胆汁	0- 7	63.7±17.8	45.1±18.7
	0- 24	74.5± 7.3	72.0± 3.1
	0- 48	81.6± 1.1	74.8± 2.7
	0- 72	82.0± 1.3	74.9± 2.7
	0-168	82.2± 1.3	75.1± 2.7
合計(0-168)		92.0± 0.7	91.2± 1.5
カルカス		4.7± 1.2	5.3± 0.3
回収率		96.7± 1.8	96.5± 1.4

表中の値は平均値±標準偏差で投与放射能に対する割合(%)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 BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

ジメテナミドは雄及び雌で、それぞれ $82.2 \pm 1.3\%$ 及び $75.1 \pm 2.7\%$ が胆汁中に排泄される。胆汁中排泄の少なくとも 90% は投与後 1 日で起こり、肝クリアランスはかなり速かった。

(申請者算定)

上記の胆管カニューレ挿入ラットの試験の結果における尿、胆汁及び屍体の放射能の回収の合計により、消化管からの放射能(親化合物及び/または代謝物)の吸収率を算出したところ、雄: 94.5% 雌: 92.8% であった。

2) 血中濃度: 結果は下表に示した。

投与後経過 時間(時間)	低投与量(10mg/kg) 単回経口投与		低投与量(10mg/kg) 単回静脈内投与		高投与量(1000mg/kg) 単回経口投与	
	♂ ¹⁾	♀	♂	♀	♂	♀ ²⁾
0.25	0.35	0.92	10.81	9.56	5.00	18.00
0.50	0.67	1.87	13.41	13.01	8.00	41.00
0.75	1.02	2.61	14.50	13.89	13.00	59.00
1.00	1.24	2.86	15.49	14.66	19.00	71.00
1.50	1.43	3.34	15.73	16.58	25.00	89.00
2.00	1.60	3.95	15.52	16.31	37.00	106.00
3.00	2.09	5.07	16.37	16.60	136.00	79.00
4.00	2.47	5.64	16.88	18.11	132.00	142.00
5.00	2.87	6.22	16.53	16.36	131.00	166.00
6.00	3.28	6.63	16.86	17.20	168.00	221.00
7.00	3.03	7.31	16.24	15.44	224.00	233.00
24.00	4.13	8.14	18.10	16.34	406.00	264.00
48.00	5.45	8.60	16.98	15.98	586.00	320.00
72.00	5.04	9.83	18.93	13.31	580.00	434.00
168.00	5.14	7.04	13.56	10.44	580.00	416.00
AUC(0-168) ^{a)}	806.6	1397.8	2814.1	2261.9	87680	61990
C _{max}	5.45	9.83	18.93	18.11	586	434
T _{max}	48	72	72	4	48	72

数値は 3 匹の平均値を示す (μg ジメテナミド当量/g)。

a) : AUC 血中濃度時間曲線下面積

1) : 1 例が 7-24 時間に死亡したため 24 時間以降は 2 例の平均値

2) : 1 例が 4-5 時間に死亡したため 5 時間以降は 2 例の平均値

- ・低用量単回経口投与後の血液中濃度は雄より雌で高かった。すべてのラットで最高血液中濃度への到達は非常に遅く、消失半減期は雄(n=3)及び雌(n=3)でそれぞれ 255 ± 79 及び 334 ± 192 時間であった。
- ・静脈内投与後には投与後 0.25 から 3 時間の間に上昇し、投与後 3 から 72 時間の間はほぼ一定であった。血液中濃度の低下は遅く、平均半減期は雄及び雌で 359 ± 12 、及び 294 ± 211 時間であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

- ・高用量を単回経口投与した際の平均血液中濃度は、低用量に比べ、雄では最初は低く(投与 24 時間まで)、以降は同じ、雌では明らかに低かった。血液中濃度は投与後、72 時間から 168 時間の間、明らかな低下をせず、半減期は算出できなかった。
- ・AUC(0-168)が高い値を示す事から、放射能は何らかの血液成分に結合していると考えられる。(資料 A-6 のラット及びヒトヘモグロビンとの共役結合能に関する試験を参照)

3) 尿及び糞への排泄： 結果は下表に示した。

サンプル	時間	低用量 単回経口投与 (10mg/kg)		低用量単回静脈 内投与(10mg/kg)		高用量 単回経口投与 (1000mg/kg)		低用量 反復経口投与 (10mg/kgx14日)	
		♂	♀	♂	♂	♀	♂	♂	♀
尿	0- 7	6.5	14.1	12.9	17.7	1.7	2.2	10.0	12.1
	0- 24	23.2	35.5	24.4	36.5	11.9	16.4	24.5	38.5
	0- 48	30.2	41.6	27.9	43.1	45.3	47.9	30.2	46.5
	0- 72	32.8	44.6	29.4	46.2	59.7	60.3	32.3	50.2
	0-168	35.3	46.9	31.2	49.4	61.6	63.1	34.9	53.3
糞	0- 24	34.0	32.1	45.1	18.3	4.5	2.7	36.1	20.3
	0- 48	50.5	41.1	52.0	28.9	20.0	12.8	48.7	33.8
	0- 72	54.2	44.8	54.0	33.7	28.9	24.3	58.4	37.1
	0-168	57.7	47.6	56.4	36.6	30.1	26.1	61.6	39.9
全(0-168)	93.0	94.6	87.6	85.9	91.6	89.2	96.5	93.2	
カルカス	6.7	8.0	11.1	9.9	3.4	3.7	4.4	3.6	
回収率(%)		99.7	102.6	98.7	95.8	95.0	92.9	100.9	96.8

表中の数値は投与量に対する百分率(%)

反復投与による影響は観察されなかった。

すべての低用量実験(単回又は反復投与)で、雄及び雌の尿中排泄率は投与量の約 35 及び 53% であり、尿中に検出された放射能の 3/4 が投与 24 時間以内に排泄された。

高用量経口投与後の尿中への排泄は、低用量に比べて明らかに高く、雄雌とも投与量の約 63% であった。しかし、0~7 及び 0~24 時間の排泄は、それぞれ低用量に比べ著しく遅かった。

4) 放射能の組織内分布

①-a 低用量 (10mg/kg) 単回経口投与した雌雄ラットの組織内分布の経時変化を以下の表に示す。

時間	1		4		24		72		168	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
血液	6.18	13.06	6.18	10.90	6.18	9.93	6.25	7.39	5.59	7.50
血漿	0.72	1.00	0.59	1.34	0.20	0.19	0.11	0.08	0.04	0.03
脳	0.17	0.72	0.21	0.67	0.12	0.23	0.10	0.11	0.09	0.14
睾丸	0.15	—	0.15	—	0.07	—	0.03	—	0.03	—
副睾丸	0.32	—	0.29	—	0.12	—	0.08	—	0.06	—
子宮	—	0.93	—	4.64	—	0.28	—	0.17	—	0.10
卵巣	—	2.03	—	2.07	—	0.57	—	0.42	—	0.49
筋肉	0.23	0.45	0.26	1.04	0.12	0.16	0.10	0.11	0.06	0.08
皮膚	0.50	1.00	0.33	1.14	0.19	0.20	0.12	0.13	0.10	0.08
腎脂肪	0.80	4.48	0.61	2.10	0.10	0.25	0.11	0.09	0.07	0.09
心臓	0.70	1.21	0.76	1.90	0.59	0.72	0.47	0.56	0.38	0.61
胸腺	0.27	0.58	0.32	1.07	0.14	0.27	0.13	0.15	0.08	0.11
脾臓	0.50	1.23	0.82	1.94	0.26	0.55	0.25	0.25	0.18	0.23
甲状腺	2.23	4.90	2.21	4.18	0.82	1.69	0.65	0.94	0.45	0.55
骨髓	1.11	2.98	0.88	2.36	0.57	1.08	0.43	0.48	0.31	0.42
リンパ球	0.37	0.76	0.47	1.17	0.16	0.25	0.14	0.14	0.11	0.11
唾液腺	0.38	0.81	0.39	1.30	0.20	0.29	0.19	0.18	0.12	0.16
脾臓	1.64	4.56	1.41	3.41	1.64	3.61	2.13	4.37	2.44	4.58
副腎	1.49	2.33	0.72	2.28	0.35	0.69	0.34	0.48	0.27	0.50
腎臓	6.97	14.25	3.41	6.75	1.34	1.82	1.11	1.21	0.68	1.14
肺	2.06	4.68	2.02	4.17	1.25	2.34	1.28	1.62	0.98	1.77
肝臓	8.21	10.90	4.00	6.41	1.57	1.47	1.44	0.85	0.82	0.75

数値は μg -当量/g を示す。

①-b 低用量単回経口投与した雌雄のラットの各組織での投与量に対する%

(文献上の数値から申請者が計算した。)

組織名	時間(hr) 体重比/ 性別	1.0		4.0		24.0		72.0		168.0	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
血液	6.41% ¹	4.084	8.456	4.084	7.058	4.084	6.430	4.130	4.785	3.694	4.856
血漿	4% ⁶	0.297	0.404	0.243	0.541	0.082	0.077	0.045	0.032	0.016	0.012
脳	1% ⁵	0.018	0.073	0.022	0.068	0.012	0.023	0.010	0.011	0.009	0.014
睾丸	1% ⁵	0.015	—	0.015	—	0.007	—	0.003	—	0.003	—
副睾丸	0.265% ⁸	0.009	—	0.008	—	0.003	—	0.002	—	0.002	—
子宮	0.226% ⁷	—	0.021	—	0.037	—	0.006	—	0.004	—	0.002
卵巣	0.1% ⁵	—	0.021	—	0.021	—	0.006	—	0.004	—	0.005
筋肉	45.5% ²	1.079	2.068	1.220	4.780	0.563	0.735	0.469	0.506	0.281	0.368
皮膚	17% ⁴	0.876	1.717	0.578	1.958	0.333	0.343	0.210	0.223	0.175	0.137
腎脂肪	0.048% ⁸	0.004	0.022	0.003	0.010	0.000	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000
心臓	0.4% ⁵	0.029	0.049	0.031	0.077	0.024	0.029	0.019	0.023	0.016	0.025
胸腺	0.07% ⁵	0.002	0.004	0.002	0.008	0.001	0.002	0.001	0.001	0.001	0.001
脾臓	0.243% ⁸	0.013	0.030	0.0221	0.048	0.007	0.014	0.006	0.006	0.004	0.006
甲状腺	0.005% ⁵	0.001	0.002	0.001	0.002	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
骨髄	0.028% ⁸	0.003	0.008	0.003	0.007	0.002	0.003	0.001	0.001	0.001	0.001
リンパ球	0.002% ⁵	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
唾液腺	0.155% ⁸	0.006	0.013	0.006	0.020	0.003	0.005	0.003	0.003	0.002	0.002
脾臓	0.2% ⁵	0.034	0.092	0.029	0.069	0.034	0.073	0.044	0.088	0.050	0.093
副腎	0.04% ⁵	0.006	0.009	0.003	0.009	0.001	0.003	0.001	0.002	0.001	0.002
腎臓	0.8% ⁵	0.575	1.152	0.281	0.545	0.110	0.147	0.092	0.098	0.056	0.092
肺	0.6% ⁵	0.127	0.284	0.125	0.253	0.077	0.142	0.079	0.098	0.060	0.107
肝臓	3% ⁵	2.539	3.303	1.237	1.942	0.486	0.445	0.445	0.258	0.254	0.227
合計 ^a	77.092%	9.420	17.324	7.669	16.912	5.747	8.408	5.516	6.111	4.609	5.938

a: 血漿の値を除いた合計

1: Altman, P.L. and Dittmer, D.S. eds., Biology Data Book, Vol III, 2nd ed. Federation of American Societies for Experimental Biology, 1972, page 2041.

2: Gastor, W.O. et al. (1956) Proc Soc Exptl Biol Med, 91:122.

3: Altman, P.L. and Dittmer, D.S. eds., Biology Data Book, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1964, page 264.

4: Rogers, K.L., Savides, M.C. and Demboski, J.R., "Relative Percents of Skin Weight to Carcass Weight in Male and Female CD Sprague-Dawley Rats", Ricerca, Inc., File Number ANMET 031588-6, 1988

5: H.B.Waynforth, "Experimental and Surgical Technique in the Rat", page 244.

6: 吐山 豊秋, 総合食品安全事典, p254, 1994.

7: 日本クレア(株), Wistar ラットデータ集 I, 1990.

8: 社内データ, SAN619F 代謝実験, 1993.

②-a 高用量単回経口投与した雌雄ラットの組織内分布の経時変化を以下に示す。

時間 (hr)	1.0		4.0		24.0		72.0		168.0	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
血液	538	87	174	216	702	480	810	560	491	567
血漿	59	10	18	21	91	38	17	17	4	5
脳	38	8	7	15	27	10	14	9	8	11
睾丸	49		5		29		6		2	
副睾丸	43		8		44		15		8	
子宮		18		26		26		20		11
卵巣		25		50		59		50		32
筋肉	47	7	7	15	39	14	22	11	7	11
皮膚	52	13	14	24	47	28	28	29	11	24
腎脂肪	237	98	26	78	153	29	25	12	5	7
心臓	100	13	22	34	91	44	92	38	48	47
胸腺	58	7	10	19	47	18	25	18	7	16
脾臓	770	16	21	37	76	34	36	23	13	19
甲状腺	110	21	38	48	129	67	66	60	34	40
骨髓	144	18	36	53	217	99	249	34	28	44
リンパ球	51	11	9	24	57	19	23	12	10	9
唾液腺	58	9	12	23	52	23	24	16	14	15
脾臓	585	40	52	79	271	195	294	253	191	494
副腎	824	58	36	55	91	50	66	50	23	45
腎臓	633	94	139	154	400	205	227	153	76	86
肺	180	31	53	64	202	119	212	113	83	119
肝臓	399	72	118	132	298	156	107	106	55	62

数値は μg -当量/g を示す。

脾臓を除くほとんどの組織での濃度は投与後1時間で最高に達した。その後、血液及び脾臓以外の組織では放射能は急速に消失したが、血液及び脾臓からは168時間後も、かなりの放射能が検出された。

②-b 高用量単回経口投与した雌雄のラットの各組織での投与量に対するパーセント

(文献上の数値から申請者が計算した。)

組織名	時間 (hr)	1.0		4.0		24.0		72.0		168.0	
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
血液	6.41% ¹	3.456	0.571	1.118	1.417	4.509	3.149	5.203	3.674	3.154	3.720
血漿	4% ⁵	0.236	0.041	0.072	0.086	0.365	0.156	0.068	0.070	0.016	0.020
脳	1% ⁵	0.038	0.008	0.007	0.015	0.027	0.010	0.014	0.009	0.008	0.011
睾丸	1% ⁵	0.049		0.005		0.029		0.006		0.002	
副睾丸	0.265% ⁸	0.011		0.002		0.012		0.004		0.002	
子宮	0.226% ⁷		0.004		0.006		0.006		0.005		0.003
卵巣	0.1% ⁵		0.003		0.005		0.006		0.005		0.003
筋肉	45.5% ²	2.143	0.326	0.319	0.699	1.778	0.652	1.003	0.512	0.319	0.512
皮膚	17% ⁴	0.886	0.226	0.238	0.418	0.801	0.487	0.477	0.505	0.187	0.418
腎脂肪	0.048% ⁸	0.011	0.005	0.001	0.004	0.007	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000
心臓	0.4% ⁵	0.040	0.005	0.009	0.014	0.036	0.018	0.039	0.016	0.019	0.019
胸腺	0.07% ⁵	0.004	0.001	0.001	0.001	0.003	0.001	0.002	0.001	0.000	0.001
脾臓	0.243% ⁸	0.187	0.004	0.005	0.009	0.018	0.008	0.009	0.006	0.003	0.005
甲状腺	0.005% ⁵	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
骨髓	0.028% ⁸	0.004	0.001	0.001	0.002	0.006	0.003	0.007	0.001	0.001	0.001
リンパ球	0.002% ⁵	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
唾液腺	0.155% ⁸	0.009	0.001	0.002	0.004	0.008	0.004	0.006	0.003	0.002	0.002
脾臓	0.2% ⁵	0.117	0.008	0.010	0.016	0.054	0.040	0.059	0.052	0.038	0.101
副腎	0.04% ⁵	0.033	0.002	0.001	0.002	0.004	0.002	0.003	0.002	0.001	0.002
腎臓	0.8% ⁵	0.507	0.077	0.111	0.126	0.321	0.168	0.182	0.125	0.061	0.070
肺	0.6% ⁵	0.108	0.019	0.032	0.039	0.121	0.073	0.127	0.069	0.050	0.073
肝臓	3% ⁵	1.199	0.221	0.355	0.405	0.896	0.479	0.322	0.325	0.165	0.190
合計 ^a	77.092%	8.803	1.482	2.217	3.182	8.631	5.107	7.460	5.311	4.012	5.131

a: 血漿の値を除いた合計

1: Altman, P.L. and Dittmer, D.S. eds., *Biology Data Book*, Vol III, 2nd ed. Federation of American Societies for Experimental Biology, 1972, page 2041.

2: Castor, W.O. et.al. (1956) *Proc Soc Exptl Biol Med*, 91:122.

3: Altman, P.L. and Dittmer, D.S. eds., *Biology Data Book*, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1964, page 264.

4: Rogers, K.L., Savides, M.C. and Demboski, J.R., "Relative Percents of Skin Weight to Carcass Weight in Male and Female CD Sprague-Dawley Rats", *Ricerca, Inc.*, File Number ANMET 031588-6, 1988

5: H.B. Waynforth, "Experimental and Surgical Technique in the Rat", page 244.

6: 吐山 豊秋、総合食品安全事典、p254、1994.

7: 日本クレア(株)、Wistar ラットデータ集 I、1990.

8: 社内データ、SAN619F 代謝実験、1993.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

3) ラットにおける代謝 (ラセミ体)

(資料 A-3 代替 既提出 A-2)

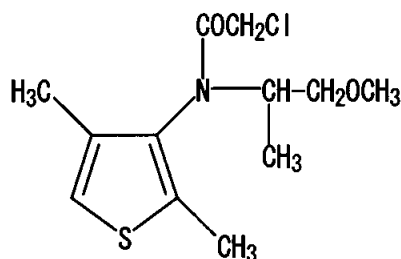
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

本試験はラセミ体を用いた試験成績で代替した。

供試標識化合物:



(RS)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

放射化学的純度

比放射活性

供試動物: Kfm: WIST 系ラット雌雄

方法: “ジメテナミドの単回及び反復投与後のラットにおける吸収、分布及び排泄”[資料 A-1]の試験で採取した尿、糞及び胆汁の投与後 0~72 時間の排泄物を別々にプールした。尿試料はアンバーライト XA02 カラムで脱塩し、
水相は酵素的加水分解を行い、
的加水分解を行い、
抽出を行った。抽出後の水相は更に化学的加水分解を行い、
抽出を行った。抽出後の水相はアセチル化、及びメチル化を行った。
糞の水性懸濁液は遠心分離して上清と沈殿に分ける。沈殿はメタノールに再懸濁し、
ホモジナイズ後、ろ過する。ろ液は濃縮し、遠心分離上清に加え、
抽出を行った。抽出後の水相は化学的加水分解を行った。また、糞の抽出残渣についても加水分解を行った。
各液体試料は LSC 法により、残渣は燃焼法により放射能を測定した。
各抽出物中の代謝物は薄層クロマトグラフィー及び HPLC によって定性的、定量的確認を行い、NMR、MS によって同定した。

結果:

1) 尿、糞及び胆汁からの抽出結果

動物(性)		低用量 単回経口投与		低用量 単回静脈投与		高用量 単回経口投与		低用量 反復経口投与		
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
尿	全量(0~3日)	32.8	44.6	29.4	46.2	59.7	60.3	32.3	50.2	
	検出	29.6	41.1	26.7	43.5	58.4	59.2	30.2	49.4	
	抽出	pH7	8.5	12.9	10.6	21.3	9.3	11.6	7.6	15.8
		pH2	6.6	9.0	5.1	11.7	10.9	10.6	6.7	10.6
		合計	15.1	21.9	15.7	33.0	20.2	22.2	14.3	26.4
	酵素処理後 抽出	pH7	3.7(0.7)	9.2(0.5)	0.9(1.3)	0.9(0.7)	24.4(1.1)	23.3(0.8)	5.2(1.2)	12.2(1.2)
		pH2	0.6(0.8)	0.7(0.7)	1.3(1.5)	0.6(0.9)	2.6(1.7)	2.5(1.7)	1.0(1.7)	1.1(1.6)
		合計	4.3(1.5)	9.9(1.2)	2.2(2.8)	1.5(1.6)	27.0(2.8)	25.8(2.5)	6.2(2.9)	13.3(2.8)
	化学的加水 分解後 抽出	pH7	0.9	0.5	0.7	0.8	1.0	1.0	0.5	0.8
		pH2	0.6	0.7	0.6	0.9	1.1	1.0	0.5	1.2
合計	1.5	1.2	1.3	1.7	2.1	2.0	1.0	2.0		
水相残留		8.3	7.9	7.2	7.0	9.0	9.1	8.3	7.3	
固形物		0.4	0.5	0.3	0.3	0.1	0.1	0.4	0.4	
糞	全量(0~3日)	54.2	44.8	54.0	33.7	28.9	24.3	58.4	37.1	
	検出	44.5	34.3	34.9	19.9	23.4	19.2	47.1	28.1	
	抽出	pH7	20.9	19.5	14.4	10.3	12.6	8.4	23.9	15.5
		pH2	6.4	4.0	5.2	2.3	3.0	1.8	6.1	4.0
		合計	27.3	23.5	19.6	12.6	15.6	10.2	30.0	19.5
	化学的加水 分解後 抽出	pH7	1.6	2.4	2.1	1.2	0.7	1.7	1.7	1.5
		pH2	1.4	1.1	1.7	0.8	0.9	1.0	1.8	0.9
		合計	3.0	3.5	3.8	2.0	1.6	2.7	3.5	2.4
	水相		13.7	6.5	9.8	4.4	6.0	6.3	12.8	5.7
	固形物		0.5	0.8	1.7	0.9	0.2	0.1	0.8	0.7
	抽出不可能 合計		9.7	10.5	19.1	13.8	5.5	5.1	11.3	8.8
	化学的加水 分解後 抽出	pH7	2.0	1.6	2.6	1.7	1.1	0.8	2.7	2.0
		pH2	1.3	2.2	3.2	2.6	1.1	1.1	1.8	1.7
合計		3.3	3.8	5.8	4.3	2.2	1.9	4.5	3.7	
水相		4.8	4.8	9.1	5.4	2.6	2.6	5.8	3.8	
残渣		1.6	1.9	4.2	4.1	0.7	0.5	1.0	1.3	

数値は投与量に対する割合の百分率表示を示す。

括弧内の数値は酵素を加えないで、酵素処理と同じ条件で処理した時の値を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

動物(性)			低用量胆管カニューレ	
			♂	♀
胆汁	全量		82.0	74.9
	抽出	pH7	4.8	3.1
		pH2	10.7	7.9
		合計	15.5	11.0
	酵素処理後抽出	pH7	17.1(1.6)	11.4(1.6)
		pH2	0.6(0.5)	1.4(0.4)
		合計	17.7(2.1)	12.8(2.0)
	化学的加水分解後抽出	pH7	8.5	12.8
		pH2	6.8	10.7
		合計	15.3	23.5
水相		32.1	26.4	
固形物		1.4	1.2	

数値は投与量に対する割合の百分率表示を示す。

括弧内の数値は酵素を加えないで、酵素処理と同じ条件で処理した時の値を示す。

尿中排泄率は雄ラット(31~62%)より雌ラット(47~63%)が高く、糞中排泄率は雌ラット(26~47%)より雄ラット(30~62%)が高かった。

2) 尿、糞及び胆汁中の代謝物の同定及び定量

動物性)	低用量 単回 経口投与						低用量 単回 静脈投与						高用量 単回 経口投与						低用量 反復 経口投与						低用量 胆管カニール		
	♂			♀			♂			♀			♂			♀			♂			♀			♂	♀	
	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	胆汁	胆汁	
ジメナムド																											
M 1.7																											
M 2																											
M 3																											
M 4																											
M 5																											
M 6																											
M 8																											
M 9																											
M 10																											
M 11																											
M 12																											
M 13																											
M 14																											
M 15																											
M 16																											
M 17																											
M 18																											
M 19																											
M 20																											
M 21																											
M 22																											
M 23																											
M 24																											
M 25																											
M 26																											
M 27																											
M 30																											
M 31																											
M 32																											
未知物質等																											
全排泄物(0-72hr)																											

数値は投与量に対する百分率(%)を示す。

M27 及びM31 は別試験で尿或は糞中で確認されている。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

以上のように投与経路または投与方法もしくは供試動物の性別に関係なく、SAN582H はラットによって広範に代謝され、多数の代謝物が生成することが認められた。雌ラットでは、SAN582H 及びその代謝物の尿中への排泄率が雄に比べて高いことが認められた。代謝は複雑であったが、多数の代謝物が同定され、包括的で代表的な代謝経路図が得られた。主要代謝経路は、

の形成、ついでへの分解、または酸化による
から の生成及び から の生成、また
の加水分解による の生成、ついでメチル化及び酸化による
及び の生成である。別の主要代謝経路は、O-脱メチル化による
側鎖の の生成及びチオフェン環の

の酸化により が生成する。

その他の代謝経路として、 、閉環及び が認められた。還元脱塩素化及び への酸化、またチオフェン環の による

の生成等の反応も、わずかではあるが認められた。全ての投与群で、同じ代謝物が検出された。代謝経路には、性差もしくは投与量による差がみられなかった。大豆及びとうもろこしで同定された代謝物 M23、M25、M26 及び M30 がラットの排泄物からも検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

4) ラットにおける植物代謝物の検索 (ラセミ体)

(資料 A-4 代替 既提出 A-3)

試験機関:

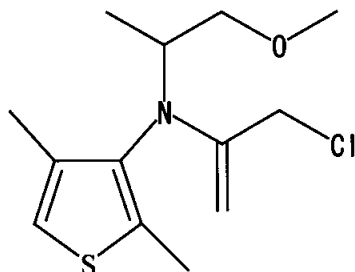
[GLP 対応]

報告書作成年:

本試験はラセミ体を用いた試験成績で代替した。

目的 : 植物代謝物の (M32)、
(M31) 及び (M27) がラット代謝において生成することを確認
する。

供試標識化合物:



(RS)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

放射化学的純度:

比放射活性:

供試動物: チャールズリバー CD系ラット雌雄(各5匹)

方法: 標識被験物質を下表の通り投与し、尿及び糞を3日間採取した。

投与方法	投与量	供試動物
低用量単回経口投与	1mg/kg	♂5 ♀5
高用量単回経口投与	100mg/kg	♂5 ♀5

3日間採取した尿試料を各群毎にプールし、尿の代表試料を調製し、3mLを取り、C18環境カートリッジを通し溶出した。使用前に、ついで水で前処理し、尿試料3mLをカートリッジに通した(画分1)。

(9:1)2.5mL(画分2)、(1:1)3mL(画分3)、3.5mL(画分4)で順次洗滌した。画分2、3及び4を合せて有機溶媒抽出し、薄層クロマトグラフィーにて各種溶媒系を用いて分離定量した。

糞について同様に各群毎にプールし、十分混合し、10gの試料2点を探り、水15mLでホモジナイズし、凍結乾燥し、水分を除去し、

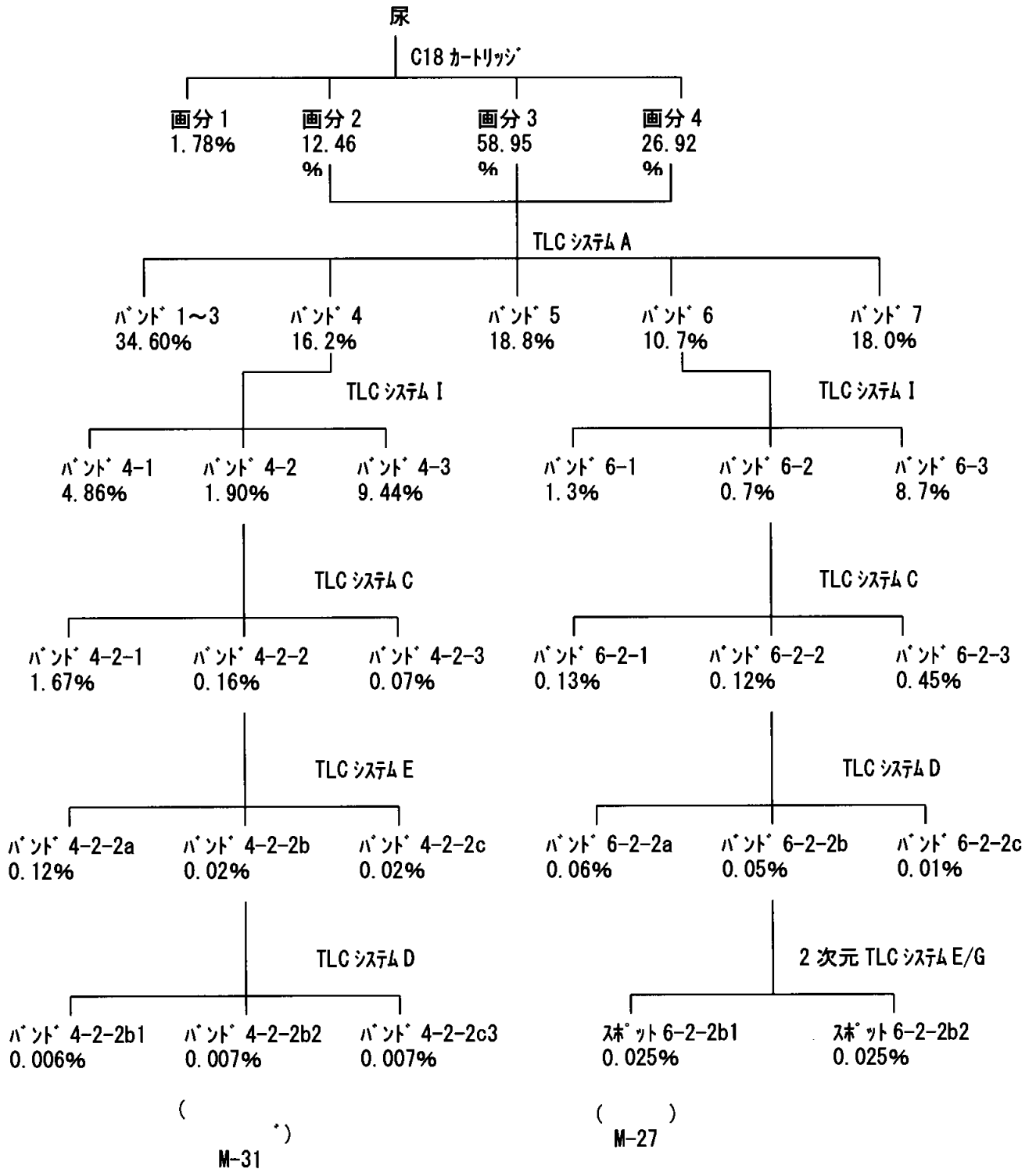
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

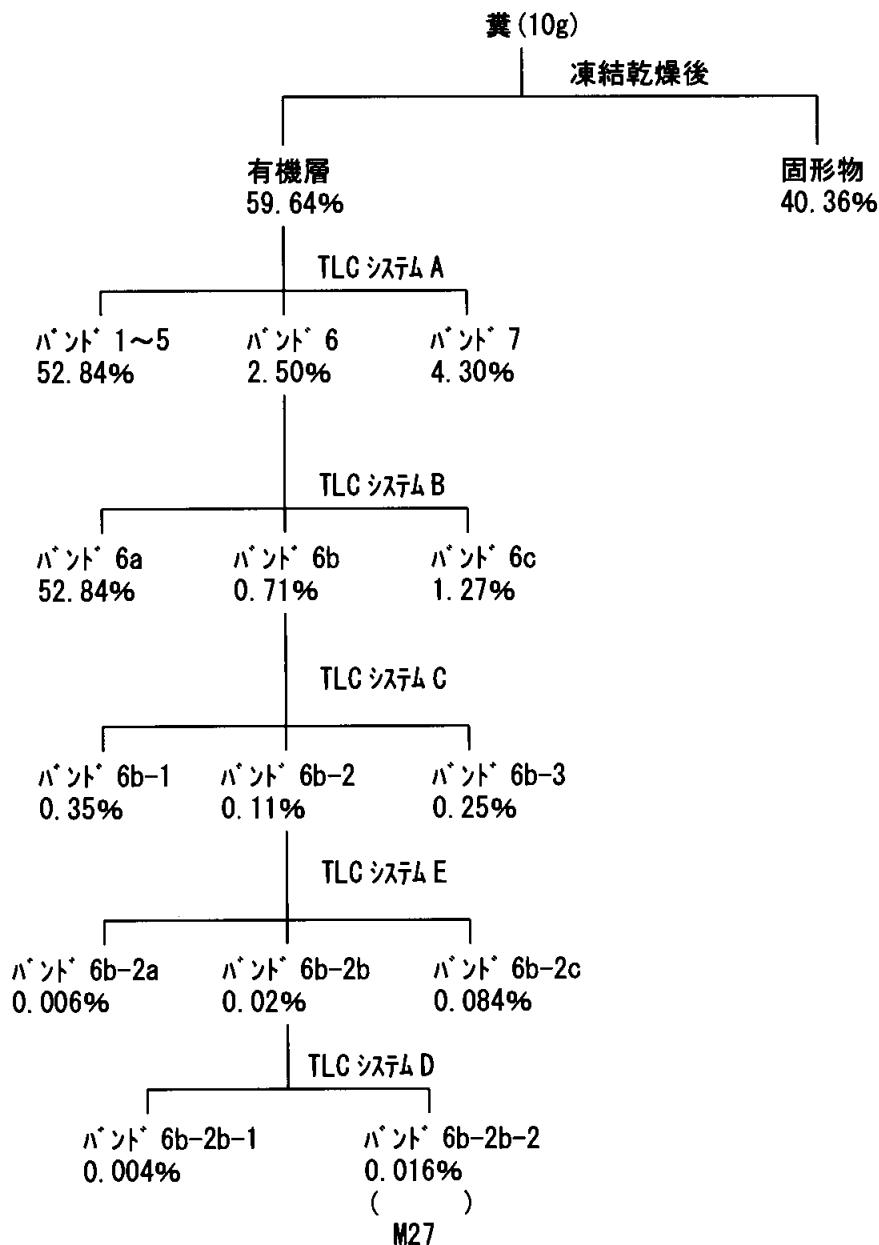
Dimethenamid-P

(111) 75mL で抽出し有機溶媒抽出液を濃縮し、薄層クロマトグラフィーにて各種溶媒系を用いて分離定量した。

結果：結果は以下の通りである。

1) 低用量群 (1mg/kg)





2) 高用量 (100mg/kg)

1) と同様な操作により
量した。

尿 <

糞

(M31) と

(M27) を分離定

(M31) 0.002%

(M27)

0.03%

(M27)

0.02%

以上のように、尿及び糞中に
(M31) 代謝物が確認されたが、

(M27) 代謝物及び尿中に

(M32) 代謝物は確認されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

5) in Vitro(肝及び腎)代謝の定量的検討 (ラセミ体) (資料 A-5 参考 既提出 A-4)

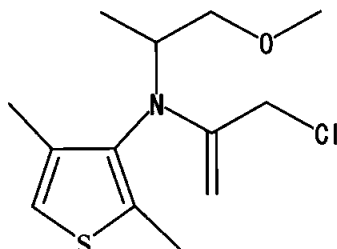
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

目的: 動物体内で生じ得る代謝物を検出・確認すること。

供試標識化合物:



2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)
アセトアミド

バッチ No ;

放射性化学的純度:

比放射活性:

供試動物: 雄ラット肝サイトゾール/グルタチオン
肝ミクロソーム
肝ミクロソーム/サイトゾール/腎 S9

方法: 雄ラットを二酸化炭素で窒息死させ、組織(肝及び腎)を採取し、S9 画分は 9000g、ミクロソーム画分及びサイトゾール画分は 105000g で遠心分離し、新鮮な細胞画分を調製し、直ちに試料を用いない場合は、液体窒素中に保存した。
インキュベーションは、Tris 塩酸緩衝液 (PH7.4, 100mM, 3mMMgCl₂) 中最終濃度を肝ミクロソームタンパクは約 2mg/mL、肝サイトゾールタンパクは約 2mg/mL、腎 S9 タンパクは約 1 mg/mL とし、総容量 1,755mL に対し基質 (SAN582H, 76.9 μg/mL; 5 μL (約 0.5~0.7 μCi)/mL の 14C-SAN582H) を 1mL (またはその倍数) として行った。また試験によっては、インキュベーション混合液に補助因子として、3mMNADPH、1mM 還元 GSH、50 μM MFAD 及び 20 μM ピリドキサール-5-リン酸を加え、37°C でインキュベーションした。
インキュベーション開始 5 分、30 分、60 分及び 120 分後に各インキュベーション液から試料 200~400 μL を採取した。氷冷トリフルオロ酢酸 (20%、最終濃度約 2%) を加え、反応を停止させた。沈降したタンパクは遠心分離により取除き上清をオンカラム洗滌付き HPLC に直接注入した。

結果:

(1) 肝サイトゾールにおける SAN582H の 反応

- a. ^{14}C 標識 SAN582H 及び非標識 SAN582H を NADPH 及び GSH の存在下で 30 分間、ラット肝サイトゾールと 30 分間インキュベートした。

M7/M24 の大きなピークと少量の M25 (M17 の前駆体) が認められ、M17/M24 は分離条件を変えるとピークは主として M24 であった。

- b. NADPH、GSH、FAD 及びピリドキサルリン酸の存在下でラット肝サイトゾールと SAN582H を 30 分間インキュベートした。

SAN582H が主に M24 (一部 M25) に代謝されることを確認した。

(2) 肝ミクロゾームにおける SAN582H の 反応

- a. NADPH 存在下で GSH 非存在下で 5 分及び 30 分間インキュベートした。

SAN582H はインキュベーション時間 5 分で 15%、30 分で 52% が代謝された。

インキュベーション 5 分で M27、M31、M17/24 及び M25 がインキュベーション 30 分間で M27、M31、M17/24、M25 及び M32 が検出された。

- b. NADPH 及び GSH 存在下で 30 分間インキュベートした。

GSH 非存在下と代謝物のプロフィールは同じであったが、代謝速度は GSH 存在下の方がわずかに増加した。

(3) 肝サイトゾール/ミクロゾーム及び腎 S9 における SAN582H の代謝物の RP-8 及び RP-18 カラムを用いた分離検討

NADPH、GSH、FAD 及びピリドキサルリン酸存在下で 5 分、30 分、60 分及び 120 分間インキュベーションした。

これらのインキュベーション条件下で SAN582H の代謝速度は急激に増加し、5 分後には SAN582H の 41%、30 分後には 93%、60 分後には 97%、120 分後には 98% 代謝された。

インキュベーション時間 5 分及び 30 分では M27、M30、M31、M17/24、M25 が、60 分及び 120 分では M27、M2、M30、M31、M17/24、M25 及び M32 が検出された。

インキュベーション時間中に M25 及び M30 は増加し、M17/24 は減少した。

(4) 肝サイトゾール/ミクロゾームにおける代謝物の同定

NADPH、GSH、FAD 及びピリドキサルリン酸存在下で 5 分、30 分、60 分及び 120 分間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 BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

サイトゾールを加えなかったマイクロゾームのみのインキュベーション(2)に比べ、SAN582H 急速に分解され、5 分後には 36%、30 分後には 90%、60 分後には 95%、120 分後には 97% 代謝された。M17/24、M30、M31 及び M2 はいずれの時間においても検出され、M27 はインキュベーション開始 30 分及び 60 分後で検出された。

M17/24 及び M30 は経時的に増加した。

以上の如く、SAN582H は in vitro においてラット肝及びラット肝/腎酵素により急速に、かつ広範囲に代謝された。In vitro における代謝経路は第一段階として することが考えられ M24 が生成し、その後硫黄を含む代謝物(例えば M17、M25、M30、M32)が肝及び腎の連続的な酵素反応(主に酸化)によって生成されると考えられる。

肝及び腎画分を用いた in vitro 試験で、下記の代謝物が検出された。

M2	-
M17/24	-
M25	-
M27	-
M30	-
M31	-
M32	-

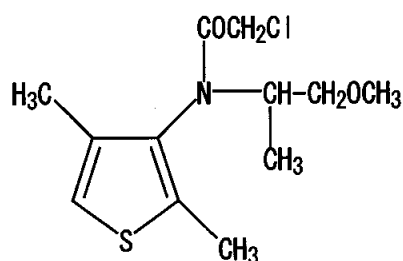
- 6) [¹⁴C]-ジメテナミド()またはその誘導体のラット及び
ヒトヘモグロビンとの共役結合能に関する研究(ラセミ体)(資料 A-6 参考 既提出 A-5)

試験機関:

報告書作成年:

目的: 本化合物及びその代謝物とラットの血液との相互作用の性質を特定し、ヒトに対する関連性を明らかにすること。

供試標識化合物:



2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-
メチルエチル)アセトアミド

放射化学的純度

比放射活性

供試動物: Wistar 系雄ラット 1 群 6 匹(メトヘモグロビン測定用)
Wistar 系雌ラット 3 匹(電気泳動及び結合試験用)
健康成人男子血液(電気泳動及び結合試験用)

方法: 1) メトヘモグロビンの測定

被験物質がヘモグロビンをメトヘモグロビン(MetHb)に変化させるか否かを検討した。

コーンオイルを溶媒として被験物質(非標識)を 0、25、100、200 及び 400 mg/kg の投与量で 4 日間連続投与した。投与終了時に舌下静脈よりヘパリン処理した試験管に血液を採取し、Hemoximeter を用いてメトヘモグロビン値を測定した。

2) アガロースゲルでのヘモグロビンの電気泳動

被験物質のヘモグロビンへの結合特性を、ラベルしていない被験物質とアイソトープラベルした被験物質を用い、分析手段としてアガロースゲルでの電気泳動を行い検討した。

採取した血液から遠心分離(15°C、850g)して得た赤血球を生理食塩水で洗浄し、溶血試薬(リン酸 1 ナトリウム、リン酸 2 ナトリウム、nonylphenol Polythlene

glycol ether、sodium azide 含有)と混合し溶血赤血球液を調整した。ラットの溶血赤血球液と被験物質 20mM、ヒトの溶血赤血球液と被験物質 25、50、75 及び 98mM の溶液との混合液を 25 分間 150 ボルトで電気泳動した。また、ラット及びヒトのそれぞれの溶血赤血球液を被験物質(非標識)2mM 及び $\mu\text{Ci}^{14}\text{C}$ 標識被験物質と混合し、上記と同一条件で電気泳動した。

その後 Imaging Scanning System200 で放射能を分析した。

また、ラット及びヒトの溶血赤血球液をそれぞれ 5 シアン化カリ鉄と反応させて得た MetHb のパターンを比較のために分析した。

3) 被験物質のグロビン鎖への結合

被験物質とラット血液との相互作用を特定し、またヒトに対する外挿を行なうために、グロビン鎖とヘムを分離して放射能を測定した。ラットの透析溶血赤血球液 23.8mL 及びヒトの透析溶血赤血球液 22.4mL を、アイソトープラベルした被験物質 1 μL (μCi) とそれぞれ 37°C で 15 分間反応させた。反応混液を酸/アセトン沈澱法 (Alter, et. al., 1976 及び Winter-halter, et. al., 1964) によりグロビン分画とヘム分画に分離し、それぞれの放射能を測定した。

結 果: 1) メトヘモグロビンの測定

結果を次表に示す。雄ラットの血液の分析では、無処置対照動物と比較してメトヘモグロビンの増加は認められなかった。

群投与量 (mg/kg)	メトヘモグロビン (ヘモグロビンに対する%)
0	0.28±0.16
25	0.25±0.13
100	0.25±0.19
200	0.18±0.16
400	0.23±0.15

2) アガロースゲルでのヘモグロビンの電気泳動

被験物質を赤血球に反応させて得た電気泳動パターンは、溶血対照赤血球のパターンあるいはヘモグロビンを化学的に酸化させて得たメトヘモグロビンのパターンとも異なるものであった。ヒト溶血赤血球と被験物質 20、25、50、75 あるいは 98mM と反応させても、対照と比較してゲル電気泳動パターンに変化はなく、被験物質はヒト溶血赤血球に影響を与えないことを示していた。これに対して、ラットの溶血赤血球は、対照のパターンと比較して、被験物質及び 5 シアン化カリ鉄の存在下のいずれも同様のゲル泳動パターンを示したが、同一条件下に処置されたヒト溶血赤血球のパターンとは異なるものであった。

アイソトープラベルした被験物質を用いて得られた結果では、被験物質は、共役結合を示唆するラットヘモグロビンとの強力な結合を示していた。溶解したヘモグロビンへの放射能の取り込みが、Imaging Scanning System200 での分析結果あきら

かに認められた。1本の強いピークが、ラットヘモグロビンの未同定の型として得られた。アイソトープラベルした被験物質とヒトの溶血赤血球について、上述した方法と同様にして行なった分析では、放射能の取り込みは認められなかった。

3) 被験物質のグロビン鎖への結合

結果を下表に示す。ラットあるいはヒトのヘモグロビンのいずれのヘム分画にも、放射能は殆ど検出されなかった。対照的に、ラットのグロビンは大部分の放射能を含み、ヒトのグロビンにはきわめて少量の放射能しか検出されなかった。

分画	ヒト赤血球	ラット赤血球
グロビン	2.5%	97.3%
ヘム	2.2%	1.6%
遊離放射活性	87.7%	12.3%
回収率	92.4%	111.2%

考 察: データは被験物質とヘモグロビンとの相互作用が種特異的な反応であることを示している。ラットとヒト血液との異なる反応性は、これらヘモグロビンの3次構造の相違として説明付けられると考えられる。

ラットのヘモグロビンの β 鎖の125番目の残基は、化学置換を受け易いことが知られている。ラットのヘモグロビンは、2本の α 鎖と2本の β 鎖からなり、それぞれ3個(α -13、 α -104、 α -111)と2個(β -93、 β -125)のシステイン残基を含む。 β 鎖の125番目の残基は完全にヘモグロビン分子の表面に位置しており、被験物質との接触が妨げられることがない。triazine系化合物は同様の動態を示し、S-triazineの代謝物は、殆どの哺乳類のヘモグロビンに存在する反応性のより高い β -93よりも、ラットヘモグロビンの β 鎖中の125番目の残基と結合する。一方ヒトのヘモグロビンは、2本の α 鎖と2本の β 鎖からなり、それぞれ1個(α -104)と2個(β -93、 β -112)のシステイン残基を含み、これら3個の残基は化学置換を受けない。従って、被験物質の化学的に活性化した塩素原子とラットのヘモグロビンの β 125番目の残基との相互作用はヒトに対応するものではないと考えられる。

結 論: 以上、被験物質とヘモグロビンとの相互作用は種特異的な反応であると結論され、ラットのヘモグロビンにおける被験物質との相互作用はヒトの場合に対応するものではなく、ラット血液における特殊な所見に関しては、被験物質はヒトに対する危険性を保有していないと、結論付けられる。

7) マウスにおけるスルホン酸代謝物の検出 (ラセミ体)

(資料 A-7 参考)

試験機関 :

[GLP 対応]

報告書年 :

供試標識化合物 :

化合物名 ; 標識ラセミ体 (RS)-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3- ¹⁴ C]-チエン-3-イル)-アセチミド パッチ番号 ; 記載なし 放射化学的純度 ; 比放射活性 ;

供試動物 : CD-1 系マウス、1 群雌雄各 5 匹

開始時週齢記載なし 体重 約 30g

方法 : 標識被験物質をコーン油に希釈して調製し、動物に単回強制経口投与して代謝ケージに移した。尿及び糞は別々に毎日 4 日間採取し、動物ごとにプールした。動物は投与 96 時間後に屠殺した。

試験設定

群	溶媒対照	A 群	B 群
動物数	♂5♀5	♂5♀5	♂5♀5
投与用量 (mg/kg 体重)	0(コーン油)	1	100
比放射能 (dpm/μg)	-		
投与容量 (Volume)	200 μL	200 μL	200 μL
試料採取時点 (尿、糞)	0-24、24-48、48-72、72-96hr		
屠殺時間 (投与後)	96hr		

試験項目と結果 :

一般状態 ; 試験期間中動物に毒性徴候はみられなかったが、100mg/kg 群の餌の摂取が少なく、尿及び糞の量が A 群に比べて少なかった。

吸収及び排泄 ; 尿及びケージ洗浄液はシンチレーションカクテルに入れて液体シンチレーションカウンターで直接放射能を測定した。糞は燃焼して ¹⁴CO₂ にして計測した。

群	試料	放射能 [投与した ¹⁴ C に対する割合 (%)]	
		雄	雌
A (1mg/kg)	尿	43.99	46.25
	糞	47.26	42.12
	ケージ洗浄	1.68	2.92
	合計	92.93	91.29
B (100mg/kg)	尿	59.60	59.89
	糞	33.64	28.30
	ケージ洗浄	0.99	0.62
	合計	94.23	88.81

雌雄で吸収及び排泄は同等であった。低用量と高用量では高用量群の尿排泄が増加し、糞からの排泄は低下した。

回収率は平均で約 91% であり、酸化した ¹⁴C の喪失はほとんどなかったと考えられた。

1) 代謝物の検出/同定；

尿試料は凍結乾燥し、 で 2 回抽出したものを 5 種類の薄相クロマトグラフィー (TLC) でのコクロマトグラフィーにかけて、 代謝物を分離・精製し、さらに 2 種の TLC により確認・同定した。

糞試料は、 で 4 回抽出したものを 5 種の TLC で分離・精製し、2 種の TLC で確認・同定した。さらに高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で確認した。

分離・精製・確認方法

TLC システム	尿	糞	展開液
A	1	1	酢酸エチル/トルエン/ホルマリン酸/水=87:3:5:5
B	2	2	ブタノール/水/酢酸=60:25:15
C	3	3	酢酸エチル/酢酸/メタノール=75:5:20
D	4	4	酢酸エチル/イソブタノール/ホルマリン酸/水=60:30:5:5
E1	5	-	酢酸エチル/酢酸/メタノール=80:5:15
E2	-	5	クロロホルム/酢酸/メタノール=80:10:10
F	○	○	酢酸エチル/酢酸/メタノール=85:5:10
G	○	○	ブタノール/ホルマリン酸/メタノール=85:5:10

各試料のカラムの数値は分離精製スキームに用いた順番。F, G の○は確認に用いたことを示す。展開液の比率は容量で示した。

分析結果

群 (用量)	排泄物中の放射能に対する スルホン酸代謝物の割合 (%)	
	尿	糞
A (1mg/kg)	0.060	0.25
B (100mg/kg)	0.096	0.25

以上の結果より、マウスにおいてジメテナミドは代謝されて代謝物が生成することが確認された。

2) 代謝物の検出／同定

試験で得られた尿と糞は、群ごとにプールして凍結乾燥させた後、有機溶媒で抽出した(図1)。抽出物を3種の溶媒を用いた1次元 TLC で展開し、により、

の標準品とコクロマトグラフィーして分離・精製した。

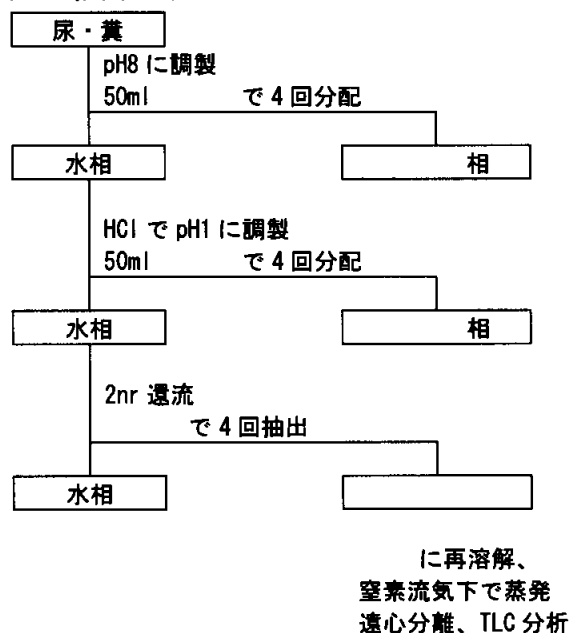
この結果はさらに2種の2次元 TLC コクロマトグラフィーにより確認した。糞についてはさらに HPLC で確認した。

TLC システム	尿	糞	展開液
A	10	10	=87:3:5:5
B	2	2	=60:30:5:5
C	3	3	=60:15:25
D	0	0	=85:5:10

展開液の比率は容量で示した。

各試料のカラムの数値は分離精製スキームに用いた順番。○は確認に用いたことを示す。

図1. 抽出スキーム



結果

群		放射能 [排泄された ¹⁴ C に対する割合 (%)]	
		尿	糞
A (1mg/kg)	抽出液	44.9	44.8
	TLC A	6.6	8.8
	TLC B	26.1	206
	TLC C	46.6	41.0
	TLC A&D	70.7	71.0
		0.25	0.25
B (100mg/kg)	抽出液	46.4	46.9
	TLC A	4.3	9.3
	TLC B	35.3	37.3
	TLC C	25.5	28.6
	TLC A&D	79.8	86.1
		0.24	0.40

以上の結果より、マウスにおいてジメテナミドは代謝されて
が生成することが確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

用いた代謝物標品

8) ラットにおける ^{14}C -標識 RS-ジメテナミド及び ^{14}C -S-ジメテナミドの経皮吸収試験

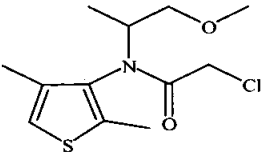
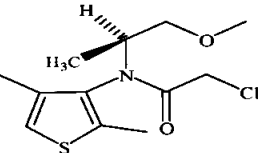
(資料 A-8 参考)

試験機関 :

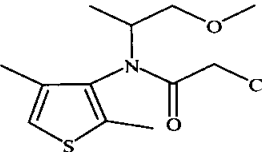
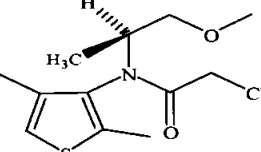
[GLP 対応]

報告書年 :

供試標識化合物 :

	
<p>化合物名 ; 標識ラセミ体 (RS)-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3-^{14}C]-チエン-3-イル)-アセタミド バッチ番号 放射化学的純度 比放射活性</p>	<p>化合物名 ; 標識 P 体 (S)-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3-^{14}C]-チエン-3-イル)-アセタミド バッチ番号 放射化学的純度 比放射活性</p>

供試非標識化合物 :

	
<p>化合物名 ; ラセミ体 (RS)-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3-^{14}C]-チエン-3-イル)-アセタミド バッチ番号 純度</p>	<p>化合物名 ; P 体 S-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3-^{14}C]-チエン-3-イル)-アセタミド バッチ番号 純度</p>

供試動物 : Wistar 系 (Chbb:THOM) ラット、雄 1 群 16 匹
 開始時週齢 約 7 週齢、体重 203.5-264.3g

投与液の調製 : 標識被験物質はトルエンに溶解して原液を調製し、目的の比放射能を得るため非標識被験物質のトルエン溶液を必要に応じて加え、溶媒をエバポレーター

で飛ばした。これに市販されている製剤のブランクとなる媒体を添加して、規定の濃度の試験液を調製した。以下に用いた媒体及び用量を示す。

投与前に試験液を均一化するため攪拌し、超音波にかけた。

用量群及び試験液の概要

被験物質	用量群	媒体	名目投与量 (mg/cm ²)	動物数
ラセミ体	A	Frontier6.0 ¹⁾ 用ブランク	0.004	16
	B		0.04	16
	C		0.4	16
	H	²⁾ 用ブランク	0.4	16
P体	E	²⁾ 用ブランク	0.004	16
	F		0.04	16
	G		0.4	16

名目投与量は暴露モデルを用いて、農業従事者に対し、手及び前腕に暴露が予想される量として算出した。

方 法： 動物の肩背部を投与 24 時間前に刈毛し、アセトンで洗浄した。シリコン製のリングを皮膚に接着させて、その中に試験液(約 10 μL/cm²)をシリンジで投与した。投与部位はナイロンメッシュで表面を覆い、さらにバンドで固定し、動物を代謝ケージに入れ、尿及び糞を採取した。4 または 8 時間の暴露後、バンド、リングを取り外し、投与部位を洗剤及び水で洗浄した。投与開始 4、8、24 または 72 時間後に動物を屠殺し、尿、糞、洗浄液、血球、血漿、肝臓、腎臓、カーカス、皮膚(投与部位及び非投与部位)における放射能の分布を調べた。組織はホモジネートして凍結乾燥させた後、SOLUENE®に溶解し、イソプロパノール及び過酸化水素により脱色した後、シンチレーションカクテルを加えて液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を計測した。被験物質の総吸収量は、尿、糞、各臓器/組織、カーカス、洗浄液の合計とした。

申請者注：いずれの製剤も国内登録/販売なし。

¹⁾： 海外販売品

²⁾： フィールドスターP 乳剤と類似処方品

結 果：

試験 1 (A 群)； ラセミ体 (Frontier 6.0 媒体)

名目濃度 (mg/cm ²)	0.4			
投与量 (mg/kg 体重)	21			
投与時間	4	8		
屠殺時間 (投与後時間)	4	8	24	72
実際投与用量 (mg/cm ²)	0.464	0.470	0.465	0.459
投与放射能 (MBq/動物)				
投与した放射能に対する割合 (%)				
尿	0.20	0.56	2.07	3.85
糞	0.00	0.11	1.42	3.48
ケージ洗浄	0.07	0.13	0.12	0.18
血球	0.12	0.12	0.27	0.15
血漿	0.01	0.01	0.00	0.00
腎臓	0.08	0.06	0.03	0.02
肝臓	0.27	0.21	0.15	0.10
カーカス	3.99	3.71	3.32	1.32
合計 (吸収)	4.74	4.89	7.38	9.09
皮膚 (周囲；非投与部位)	2.95	5.80	4.31	4.53
保護カバー	21.61	36.15	32.82	27.28
皮膚 (投与部位)	18.82	8.43	9.20	5.30
皮膚洗浄液	53.41	47.70	55.81	62.35
回収率合計	101.52	102.96	109.51	108.56
動物当りの 被験物質吸収量 (mg/動物)	0.2188	0.2310	0.2434	0.4203
単位面積当りの吸収量 (mg/cm ²)	0.02188	0.02310	0.03434	0.04203

各臓器、洗浄液、器具の項の数値は投与した被験物質質量に占める割合 (%) 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 BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

試験 2 (B 群) : ラセミ体 (Frontier 6.0 媒体)

名目濃度 (mg/cm ²)	0.04			
投与量 (mg/kg 体重)	2.2			
投与時間	4	8		
屠殺時間 (投与後時間)	4	8	24	72
実際投与用量 (mg/cm ²)	0.0464	0.0488	0.0459	0.0462
投与放射能量 (MBq/ラット)				
尿	0.16	0.90	2.96	4.19
糞	0.00	0.10	2.00	3.23
ケージ洗浄	0.05	0.15	0.17	0.18
血球	0.07	0.19	0.23	0.34
血漿	0.01	0.01	0.00	0.00
腎臓	0.08	0.09	0.05	0.03
肝臓	0.16	0.24	0.25	0.21
カーカス	2.35	4.11	3.30	1.45
合計 (吸収)	2.87	5.78	8.95	9.62
皮膚 (周囲 ; 非投与部位)	4.59	1.26	0.35	2.43
保護カバー	23.00	22.67	26.84	26.80
皮膚 (投与部位)	19.64	23.60	10.23	5.19
皮膚洗浄液	52.64	46.47	56.09	58.33
回収率合計	102.73	99.77	102.45	102.56
動物当りの 被験物質吸収量 (mg/動物)	0.0134	0.0287	0.0411	0.0445
単位面積当りの吸収量 (mg/cm ²)	0.00134	0.00287	0.00411	0.00445

各臓器、洗浄液、器具の項の数値は投与した被験物質に占める割合 (%) を示す。

試験 3 (C 群) : ラセミ体 (Frontier 6.0 媒体)

名目濃度 (mg/cm ²)	0.004			
投与量 (mg/kg 体重)	0.2			
投与時間	4	8		
屠殺時間 (投与後時間)	4	8	24	72
実際投与用量 (mg/cm ²)	0.0041	0.0044	0.0044	0.0041
投与放射能量 (MBq/ラット)				
尿	0.74	1.77	4.89	8.93
糞	0.03	0.26	2.42	5.43
ケージ洗浄	0.15	0.21	0.28	0.24
血球	0.23	0.46	0.42	0.45
血漿	0.01	0.02	0.01	0.00
腎臓	0.16	0.17	0.08	0.05
肝臓	0.32	0.45	0.35	0.27
カーカス	9.33	8.02	5.90	2.81
合計 (吸収)	10.98	11.35	14.34	18.18
皮膚 (周囲 ; 非投与部位)	9.08	7.64	4.69	1.11
保護カバー	26.00	25.45	19.91	20.57
皮膚 (投与部位)	9.90	11.82	9.67	5.89
皮膚洗浄液	47.12	48.00	50.07	54.06
回収率合計	103.07	104.25	98.67	99.81
動物当りの 被験物質吸収量 (mg/動物)	0.0045	0.0049	0.0063	0.0075
単位面積当りの吸収量 (mg/cm ²)	0.00045	0.00049	0.00063	0.00075

各臓器、洗浄液、器具の項の数値は投与した被験物質に占める割合 (%) を示す。

3つの用量の皮膚浸透性を比較すると、放射能の吸収率は投与時間及び投与後屠殺までの時間が長くなるにつれて増加した。一方、投与用量が高くなるにつれて吸収率は低下したが、これは中・高用量での皮膚透過性の飽和を示唆していた。

試験 4&5 (E, F, G, H 群) : P 体及びラセミ体(媒体)

被験物質	P 体			ラセミ体
	0.004	0.04	0.4	0.4
名目濃度 (mg/cm ²)	0.004	0.04	0.4	0.4
投与量 (mg/kg 体重)	0.2	1.8	17	21
投与時間	8			8
屠殺時間 (投与後時間)	72			72
実際投与用量 (mg/cm ²)	0.0042	0.0416	0.409	0.5179
投与放射能量 (MBq/ラット)				
尿	5.03	10.55	8.38	11.6
糞	6.27	10.91	10.95	10.58
ケージ洗浄	0.38	0.39	0.29	0.30
血球	0.42	1.28	0.61	0.63
血漿	0.00	0.01	0.00	0.01
腎臓	0.04	0.06	0.04	0.05
肝臓	0.31	0.32	0.24	0.24
カーカス	2.72	3.80	2.77	2.95
合計 (吸収)	15.17	27.32	23.29	25.81
皮膚 (周囲 ; 非投与部位)	1.04	3.03	5.67	6.55
保護カバー	32.69	34.87	34.43	29.88
皮膚 (投与部位)	2.54	2.39	3.01	2.76
皮膚洗浄液	49.15	31.72	36.34	33.54
回収率合計	100.06	99.34	102.74	98.54
動物当りの被験物質吸収量 (mg/動物)	0.0064	0.1140	0.9503	1.3414
単位面積当りの吸収量 (mg/cm ²)	0.00064	0.0114	0.09503	0.13414

各各臓器、洗浄液、器具の項の数値は投与した被験物質質量に占める割合 (%) を示す。

P 体の吸収は用量の増加に伴って増加し、飽和はみられなかった。中・高用量の吸収率はラセミ体の 2.5-3 倍で皮膚浸透性の飽和を示さなかった。よって、組織濃度もラセミ体と比較して高かったが、その分布は同等であった。

ラセミ体では投与に用いた製剤の媒体が異なっていたので、高用量を P 体と同じ媒体 (BAS 656 07 H) を用いて 8 時間投与、72 時間後に屠殺して放射能を計測したところ、吸収量、分布ともに P 体と同等の結果が得られた。このことはラセミ体と P 体の吸収の違いは用いた媒体によるものであり、P 体に用いられた媒体 (BAS 656 07 H) は Frontier 6.0 媒体に比べて 2.5-3 浸透性を高めたことを示唆している。

以上より、Frontier 6.0 媒体を用いたラセミ体の経皮吸収は投与量の約 18% に限定され、用量を上げて吸収は増加せず、皮膚浸透性の飽和が示唆された。一方、P 体の吸収量は最大 27% で、用量関連的に増加し、皮膚浸透性に飽和は示唆されなかった。ラセミ体と P 体にみられた皮膚浸透性の違いは、用いた製剤媒体の違いによるもので、同じ媒体を用いた場合には同等であり、ラセミ体及び P 体固有の浸透性によるものではない。

9) ¹⁴C 標識体のヒト及びラットの皮膚への *in vitro* 浸透性

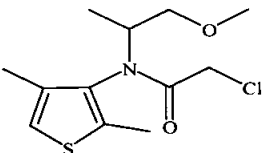
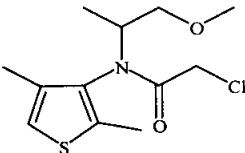
(資料 A-9 参考)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書年：

供試標識化合物及び非標識化合物：

	
化合物名：標識ラセミ体 (RS)-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3- ¹⁴ C]-チエン-3-イル)-アセタミド パッチ番号 放射化学的純度 比放射活性	化合物名：非標識ラセミ体 (RS)-2-クロロ-N-[(1-メチル-2-メトキシ)エチル]-N-(2,4-ジメチル-[3- ¹⁴ C]-チエン-3-イル)-アセタミド パッチ番号 放射化学的純度

供試材料及びその調製：

ラットの皮膚： 3匹のWistar系雄ラット(約53-58週齢)を二酸化炭素で窒息死させた後、腰背部の被毛を刈り、その後皮膚を切り取った。皮膚の脂肪を取り除き、拡散相にすえつけた。

ヒトの皮膚： 死亡した白色人種女性3人(71、82及び83歳)の死亡直後の胸腹部の皮膚を入手し、脂肪を除いた皮膚を4-5°Cで保存し、死亡24時間以内に試験に用いた。皮膚膜の厚さは約300µmで、上皮上部に基本的な拡散バリアとしてのケラチン層約15µmを有し、隣接した上皮は最大150µmの厚さ及びわずかな上部真皮で成る。皮膚膜の有効性は、試験前に皮膚の電気抵抗がヒトで35KΩ/cm²以上及びラットで1KΩ/cm²以上であることにより確認した。

試験液の調製： 非標識被験物質をEtOH/PBS(50:50)に溶解し50µLの標識被験物質と混合して、以下の濃度を調製した。

群	種	設定濃度	相の数
A	ラット	80 (mg/mL) (µCi/相)	3
B	ラット	20	3
C	ラット	5	3
D	ヒト	80 (mg/mL) (µCi/相)	3
E	ヒト	20	3
F	ヒト	5	3

試験設定： 拡散相 1 つ当り 400 μ L を滴下し、パラフィルムで二重に覆い 24 時間保持した。受容相には 50% EtOH/PBS を用いた。0、2、4、6、8、20、22 及び 24 時間後に受容流体をシリンジを用いて 250 μ L サンプルングした。シリンジはメタノールで洗浄した。各相へは代わりに等量の受容流体を補充した。試験終了時にドナーチャンバーを取り外し、パラフィルムの蓋とともにメタノールで洗浄した。残余の試験液はピペットで回収し、皮膚は受容流体で洗浄した。洗浄液は 1 つのバイアルに回収した(上部残余)。拡散相から皮膚膜を取り外し、残余の受容流体を採取し、受容相はメタノールで洗浄し別のバイアルに採取した。取り出した皮膚を燃焼して発生させた $^{14}\text{CO}_2$ を試薬に吸収させシンチレーションカクテルと混合した。得られたサンプルの放射能は液体シンチレーションカウンターを用いて 2 連、最大 10 分間計測した。

各時点での放射能を以下の計算式で計算した。

$$\begin{aligned}t_1 &= c_1V & t_n &= n \text{ 時間} \\t_2 &= c_2V + c_1V & c_n &= \text{サンプル } n \text{ の濃度} \\t_3 &= c_3V + c_2V + c_1V & V &= \text{サンプル量/cm}_2 \\ \text{または} & & & \\t_n &= V \cdot c_n + V^{n-1} \sum c_i \quad i = 1\end{aligned}$$

吸収率は以下の計算式を用いた。

$$Kp(\text{cm h}^{-1}) = J/Cd$$

Kp = 皮下浸透性係数
 J = 吸収率
 Cd = ドナーチャンバーの濃度

結 果： 試験の結果を以下に示す。

皮膚の有効性； ヒトの皮膚の電気抵抗は 62.4~140.7K Ω 、及びラット皮膚の電気抵抗は 17.3~66.8K Ω でいずれも基準を満たしており、皮膚の有効性が確認された。

放射能の回収率； 94.7~105.36% で良好であった。

0~8 時間で浸透した被験物質はヒト及びラットともに暴露量の 1%未満と低く、皮膚のバリアー機能が確認された。

0~24 時間においてはヒト及びラットでそれぞれ 2.9% \pm 0.4%及び 2.4% \pm 0.7% であった。24 時間でのヒトの値は多過ぎる一方、ラットの値が低いことは、皮膚の厚さ及び皮膚の浸透性を高める極性の高い溶媒を使用したことによると思われる。

表 1. 放射能の回収率 (%)

ラット										
		ドナー-1			ドナー-2			ドナー-3		
濃度 (mg/mL)		80	20	5	80	20	5	80	20	5
初期放射能 (dpm)										
% 初期量	拡散相	75.58	85.59	84.67	83.45	86.96	88.21	79.97	86.35	89.89
	受容相	1.11	2.38	2.56	2.93	3.58	3.53	0.80	2.85	2.04
	皮膚	18.35	7.47	7.88	11.45	8.47	7.98	16.63	7.96	6.69
	回収率	95.66	96.08	95.76	98.19	99.37	99.72	98.25	97.96	99.47
ヒト										
		ドナー-1			ドナー-2			ドナー-3		
濃度 (mg/mL)		80	20	5	80	20	5	80	20	5
初期放射能 (dpm)										
% 初期量	拡散相	95.00	97.8	100.53	100.53	96.08	97.98	87.86	92.96	94.12
	受容相	4.15	3.58	3.67	1.73	1.60	1.59	4.34	2.82	2.83
	皮膚	1.59	1.44	1.05	1.77	1.22	1.42	2.14	1.40	1.41
	回収率	100.87	102.94	105.36	104.22	99.09	101.18	94.7	97.57	98.74

表 2. 8 及び 24 時間時における受容相の放射能 (初期放射能に対する割合 (%))

		受容相へ浸透した割合 (%初期量)				
		80 mg/mL	20 mg/mL	5 mg/mL	総平均±S. D. (n=9)	
8 時間	ヒト	ドナー-1	0.71	0.62	0.73	0.59±0.04
		ドナー-2	0.28	0.33	0.32	
		ドナー-3	0.75	0.50	0.64	
		平均	0.58±0.26	0.64±0.32	0.56±0.22	
	ラット	ドナー-1	0.02	0.095	0.12	0.11±0.03
		ドナー-2	0.14	0.17	0.19	
		ドナー-3	0.005	0.12	0.07	
		平均	0.07±0.06	0.13±0.04	0.13±0.06	
24 時間	ヒト	ドナー-1	4.15	3.58	3.67	2.9±0.4
		ドナー-2	1.73	1.60	1.59	
		ドナー-3	4.35	2.82	2.83	
		平均	3.41±1.46	2.67±0.99	2.69±1.05	
	ラット	ドナー-1	1.11	2.38	2.56	2.4±0.7
		ドナー-2	2.93	3.58	3.53	
		ドナー-3	0.80	2.85	1.04	
		平均	1.61±1.15	2.94±0.61	2.71±0.76	

表 3. 各濃度における皮下吸収率(J)

濃度 (mg/mL)	皮下吸収率 (J) ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{時}$)	
	ヒト	ラット
80	66.987 \pm 27.87	30.817 \pm 24.82
20	11.761 \pm 4.44	13.200 \pm 2.84
5	3.212 \pm 1.35	3.261 \pm 0.88

表中の数値は 3 例の平均値 \pm 標準偏差を示す。

表 4. 浸透性係数 (Kp)

濃度 (mg/mL)	浸透性係数 (Kp) ($\times 10^{-4} \text{ cm/h}$)	
	ヒト	ラット
80	20.93 \pm 8.70	9.63 \pm 7.76
20	14.69 \pm 5.55	16.50 \pm 3.54
5	16.08 \pm 6.77	16.20 \pm 4.38
平均 \pm S. D.	17.23 \pm 3.28	14.11 \pm 3.88

10) ^{14}C 標識体のヒト及びラットの皮膚への *in vitro* 浸透性 (ラセミ体)

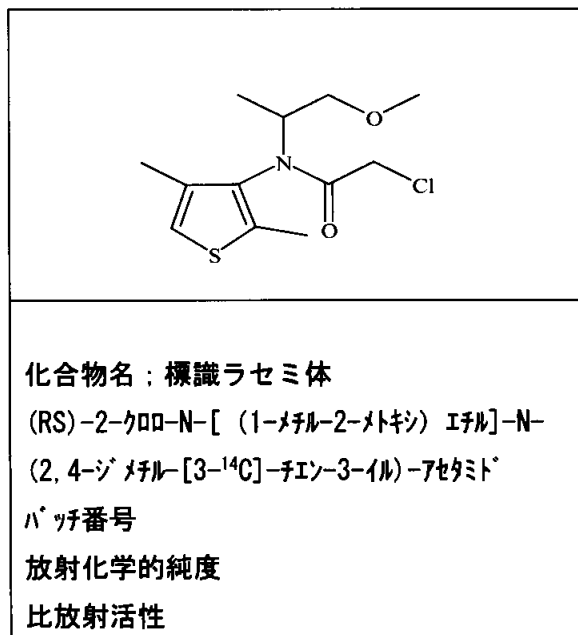
(資料 A-10 参考)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書年:

供試標識化合物:



供試材料及びその調製:

ラットの皮膚: 32匹のWistar (CrI:CD WI)系雌ラット(約3-5週齢)を二酸化炭素で窒息死させた後、腰背部の被毛を刈り、その後皮膚を切り取った。皮膚サンプルは試験まで -10°C 以下に保存した。

皮膚を2M 臭化ナトリウム中で一晩、室温湯でインキュベートして上皮を分離し、脱イオン水で洗浄して試験まで24時間 $1-10^{\circ}\text{C}$ の脱イオン水に保持した。

ヒトの皮膚: コーカサス人の解剖用死体または形成外科患者からできる限り無処置の背または腹の皮膚を入手し、 -10°C 以下に保存した。

皮下脂肪を除き $60\pm 2^{\circ}\text{C}$ の湯に約1分浸して上皮を分離し、試験まで $1-10^{\circ}\text{C}$ の脱イオン水に24時間保持した。

試験液の調製: 被験物質の水溶解性が低いのでエタノール:水(1:1)を流体受容体として用いた。標識被験物質を非標識被験物質で希釈してアセトニトリルに溶解し、窒素流気下で溶媒を飛ばした後、市販の製剤(Frontier 6.0)のブランクを適量加えて、0.4、4及び40mg/mL濃度の製剤を調製した。

試験設定： 以下の表に示した。

群	種	皮膚 サンプル数	暴露 時間	暴露設定		
				濃度 (mg/mL)	μg/cm ²	kBq/cm ²
A	ラット	10	24	40	400	
B	ラット	10	24	4	40	
C	ラット	10	24	0.4	4	
D	ヒト	10	24	40	400	
E	ヒト	13	24	4	40	
F	ヒト	10	24	0.4	4	

1、2、4、6、10、24 時間に流体受容体を 0.1mL サンプルングし、放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定し、各時点における皮膚から吸収されたジメテナミドを算出し、累積、時間当たりの透過率及び係数を算出した。受容相にはサンプルングと等量の新しい流体受容体を添加して初期容量を保持した。

24 時間の暴露終了時には皮膚、流体受容体、皮膚洗浄液、受容相洗浄液、投与相洗浄液の各放射能を測定してその分布と回収率を求めた。

浸透率は以下の計算式で計算した。

$$\text{流体受容体の濃度} [\mu\text{g 等量/部分流体受容体}] = R / (2.22 \times 10^3 \times S) = K$$

$$T \text{ 時間における浸透した被験物質の累積量} [\mu\text{g 等量}]$$

$$= \{ (Kt / Vt \times T) + 2 \sum_{t=1}^{T-1} K \} \times 1 / A = Pt$$

$$J [\mu\text{g 等量/cm}^2/\text{h}] = \Delta P / \Delta t$$

$$\text{サンプル当り添加した放射能の濃度\%}$$

$$= (K \times T) / (10 \times D \times V \times A) \quad \text{または}$$

$$= (K \times T) / (10 \times D \times W \times A)$$

$$\text{浸透係数} [\text{cm/h}] = Kp = J / \Delta C$$

$$R = \text{分析した流体受容体又はサンプルの放射能回収量} \\ [\text{dpm}] (\text{サンプル dpm} - \text{バックグラウンド dpm})$$

$$S = \text{被験物質の比放射能} [\mu\text{Ci/mg}]$$

$$\text{分析した流体受容体の総量} = T [\text{mL 又は g}]$$

$$\text{分析した流体受容体の容量} = V [\text{mL}]$$

$$\text{皮膚表面積} (1.77\text{cm}^2) = A [\text{cm}^2]$$

$$\Delta P = \text{グラフの初期直線性から求めた浸透率}$$

$$\Delta t = \text{浸透率を計算した時間}$$

$$\text{分析したサンプル重量} = W [\text{g}]$$

$$\text{分析した流体受容体又はサンプルの放射能回収量} \\ (\text{サンプル dpm} - \text{バックグラウンド dpm}) = R [\text{dpm}]$$

$$\text{流体受容体又はサンプルの放射能濃度} \quad C = R / V [\text{dpm/mL}]$$

$$\text{被験物質の比放射能} = S [\mu\text{Ci/mg}]$$

$$\text{各皮膚に投与した被験物質の重量} = D [\text{mg/cm}^2]$$

$$\text{各皮膚に投与した放射能} = S \times D \times A [\mu\text{Ci}]$$

皮膚の有効性の確認： 試験に先立ち、用いる皮膚サンプルが試験系に有効であることを ³H₂O の透過性で確認し、有効でない皮膚は試験系または結果の解釈からは除いた。

結果： 試験の結果を以下に示す。

累積吸収

投与量	平均累積 ¹⁴ C-ジメテナミド吸収 (μg/cm ² 皮膚)					
	400 μg/cm ²		40 μg/cm ²		4 μg/cm ²	
	ラット A	ヒト D	ラット B	ヒト E	ラット C	ヒト F
暴露時間 (h)						
1	6.272	1.806	0.305	ND	0.082	0.011
2	21.01	3.893	1.123	0.035	0.273	0.028
4	44.03	9.397	2.849	0.212	0.496	0.081
6	73.30	17.15	4.725	0.398	0.702	0.142
10	96.18	26.78	7.766	0.672	1.023	0.297
24	160.2	61.18	13.37	2.149	1.682	0.794
Lag time (h)	0.636	2.441	0.839	5.238	0.296	2.487
平均浸透率 (μg/cm ² /h)	12.18	2.629	0.880	0.131	0.119	0.035
浸透係数 (x10 ⁻⁴ cm/h)	3.388	0.732	2.236	0.330	2.923	0.869

全投与濃度において、ヒトと比較してラットの皮膚からの吸収は少なくとも 3.4 倍は高かった。

¹⁴C-ジメテナミドの分布及び回収率

投与量	平均放射能回収率 (投与量に対する割合%)					
	400 μg/cm ²		40 μg/cm ²		4 μg/cm ²	
群	ラット A	ヒト D	ラット B	ヒト E	ラット C	ヒト F
サンプル						
流体受容体	41.82	12.18	34.61	9.783	39.29	18.75
皮膚表面洗浄液	16.53	77.97	11.96	80.31	10.60	31.42
皮膚	7.652	7.659	40.89	8.420	34.40	26.41
投与相	29.89	4.926	8.514	2.510	5.148	13.09
受容相	7.265	2.795	12.81	0.946	6.782	3.344
合計	103.2	105.5	108.7	102.0	96.22	93.14

試験終了時の回収率は 93.14-108.7% (ラット平均 102.7%、ヒト平均 100.2%) で良好であった。

24 時間の暴露ではラットにおいては用量に関係なく約 40%が皮膚へ浸透した。ヒトでは低用量で最大 26%であった。

ヒトでは皮膚洗浄液から最も多くの放射能が検出され、暴露した場合はその部位を洗浄することが有効であることが示唆される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

11) ^{14}C -ジメテナミドPのラットにおける排泄及び代謝試験

(資料 A-11)

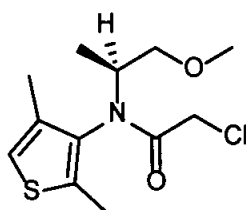
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物： [^{14}C]ジメテナミドP

構造式：



化学名： (S)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：CD(SD)系ラット

尿及び糞分析用：1群10匹、約9週齢 平均体重；雄338.4 g、雌222.9 g

胆汁中代謝物分析用：雄のみ、1群6匹（うち3匹を分析に使用）、約10週齢、

体重（分析に供した3匹の数値）；低用量群平均377.0 g、高用量群433.1~455.5 g

試験方法：

投与液の調製： ^{14}C -ジメテナミドP、 ^{13}C -ジメテナミドP（の炭素を ^{13}C で標識）及び非標識体を混合して、ポリオキシエチレンヒマシ油（1%）を含有する0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に溶解して、投与液を調製した。

投与方法及び試料採取：全ての投与群に単回強制経口投与を実施した。尿及び糞分析のための投与群（雄：DXM群、雌：DXF群とする）と胆汁中代謝物分析のための投与群（低用量：RM群、高用量：SM群とする）を設定した。詳細を表1に示す。

表 1 試験群の構成

試験群	設定用量 (mg/kg 体重)	投与回数 と経路	性別と 動物数	採取 試料	試料採取時間
DXM	250.0	単回経口	雄 10 匹	尿、糞 ^a	投与後 0~6 ^b 、6~12、12~24 時間目、 以降 7 日目まで 24 時間毎
DXF	250.0	単回経口	雌 10 匹	尿、糞 ^a	投与後 0~6 ^b 、6~12、12~24 時間目、 以降 6 日目まで 24 時間毎
RM	10.0	単回経口	雄 6 匹 ^c	胆汁	投与後 0~72 時間目まで 3 時間毎
SM	250.0	単回経口	雄 6 匹 ^c	胆汁	投与後 0~72 時間目まで 3 時間毎

a: ケージ洗浄液も物質収支に含めた。良好な物質収支が得られたため、屠殺後に肝臓、腎臓、脾臓、血液、血漿及び屍体を採取したが、分析に供さなかった。

b: 糞については、投与後 6 時間目の採取は実施しなかった。

c: 6 匹中、十分な胆汁排泄がみられた 3 匹を分析に供した。

分析方法: 尿及び胆汁は、直接 LSC 分析に供して放射エネルギーを測定した。糞はホモジナイズして、燃焼分析により放射エネルギーを測定した。尿及び胆汁は前処理せずに直接 (図 1)、糞は図 2 に示すスキームに従って処理した後、HPLC 分析に供して、代謝物を定量した。代謝物の同定は、図 3 に示すように、DXF 群 (雌) の投与後 12~48 時間の尿をプールした試料を用いて、HPLC により多数の放射性画分に分離し、それぞれの画分を HPLC-MS/MS に供することにより実施した。DXM 群 (雄) の尿中代謝物の分析は、図 4 に示すように、DXM 群の投与後 24~48 時間の尿を用いて、前処理前の試料又は前処理後の試料を、DXF 群の投与後 24~48 時間の尿又は DXF 群の投与後 12~48 時間の尿から分離・同定した HPLC 画分と、HPLC コクロマトグラフィーを行うことにより実施した。一部の尿中代謝物 (M656PH002 (iso) [代謝物 M2P]、M656PH036 (iso) [M36P] 及び M656PH098 (iso) [M98P]) については、NMR による同定も行った。表 2 に、代謝物の定量及び同定に供した試料を示す。他の試料の代謝物同定又は化学的特徴付けは、同定に使用した画分とのコクロマトグラフィー又は保持時間やピークパターンの比較により行った。

なお、ジメテナミド P の代謝物のいくつかは、HPLC 分析において 2 個のピークとして現れることがあるが、これはチオフェン環と窒素原子の間の結合の回転が妨げられるために起こる回転異性であり、立体的障害あるいはアミド基の二重結合的な性質によるものと考えられた。親化合物由来のキラリティー要素の他にキラリティー要素がない場合には、従来の代謝物コードに接尾辞 (rota) を付記した。回転異性体以外に他の立体異性体が形成された可能性がある場合には、接尾辞 (iso) を付記した。

表 2 代謝物の定量及び同定に使用した試料

代謝物定量に供した試料			
試験群	試料	試料採取時間	
DXM	尿	全採取時間（投与後 0～168 時間目）	
DXF	尿	全採取時間（投与後 0～148 時間目）	
DXM	糞の抽出液	投与後 12～120 時間目	
DXM	糞の抽出残渣の加水分解物	投与後 12～72 時間目	
DXF	糞の抽出液	投与後 12～96 時間目	
DXF	糞の抽出残渣の加水分解物	投与後 12～48 時間目	
RM	胆汁	投与後 0～18 時間目	
SM	胆汁	投与後 0～30 時間目	
HPLC-MS/MS による代謝物同定に供した試料			
同定された代謝物	試験群	試料	試料採取時間
尿中の全代謝物	DXF	尿	投与後 12～48 時間目
ジメテナミド P M656PH001 (rota) [M1P] M656PH014 (rota) [M14P] M656PH022 (iso) [M22P] M656PH067 (rota) [M67P]	DXF	糞のメタノール抽出液 (SPE カートリッジで精製後、 HPLC により、5 画分を採取)	投与後 24～48 時間目
M656PH082 (iso) [M82P]	DXM	糞のメタノール抽出液	投与後 12～24 時間目
M656PH083 (rota) [M83P]	DXM	糞抽出残渣を水で還流後の上清	投与後 12～24 時間目
M656PH025 (iso) [M25P]	RM	胆汁	投与後 0～3 時間目
M656PH007 [M7P]	RM	胆汁	投与後 3～6 時間目

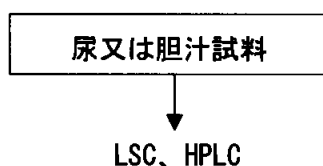


図 1 尿及び胆汁の分析スキーム

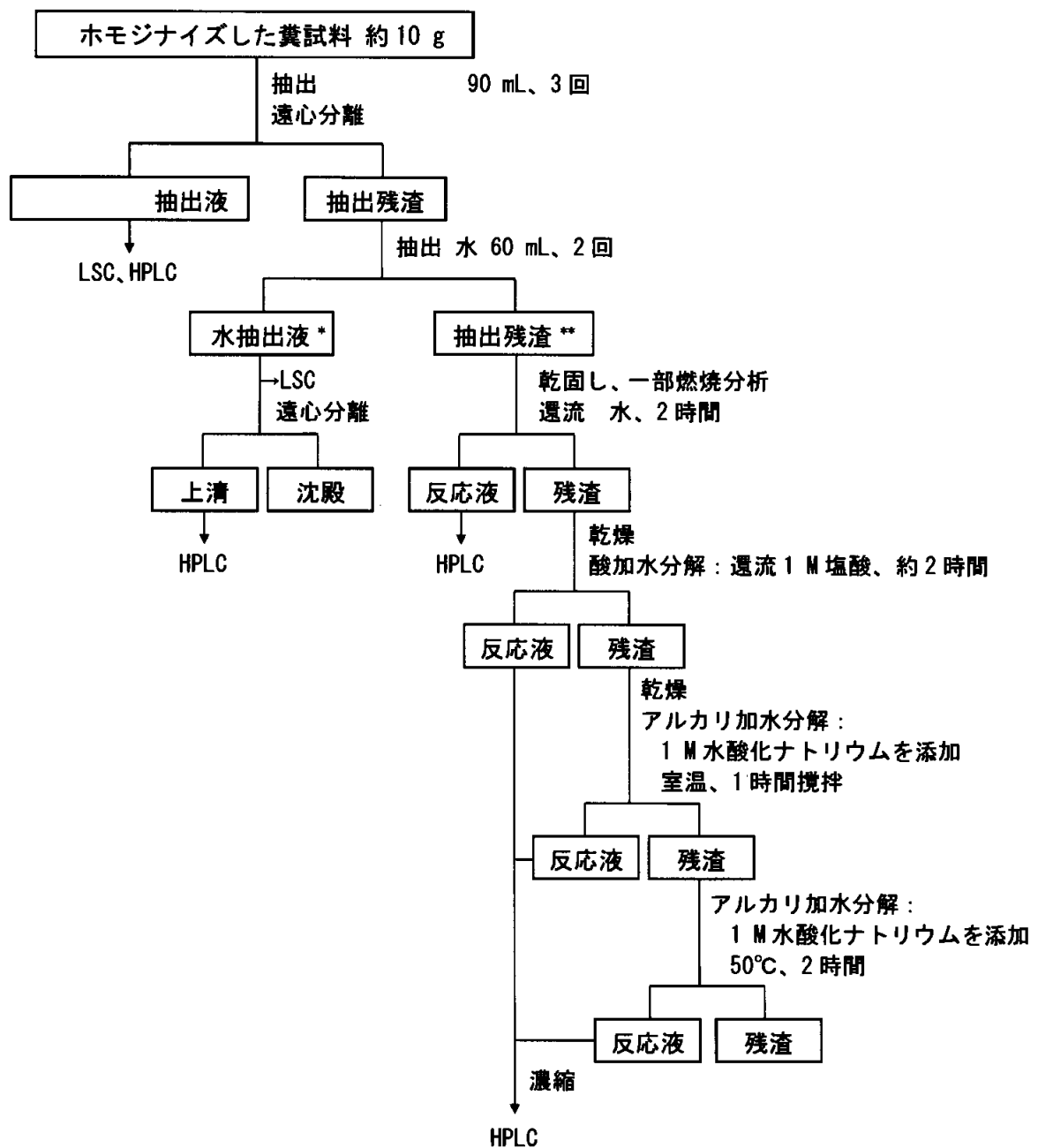


図2 糞の抽出・分析スキーム

* : DXM 及び DXF 両投与群の投与後 12~24 時間目及び 24~48 時間目の水抽出液について、以降の処理を実施した。

** : DXM 群の投与後 12~24、24~48、48~72 時間目と DXF 群の 12~24、24~48 時間目の抽出残渣について、以降の処理を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

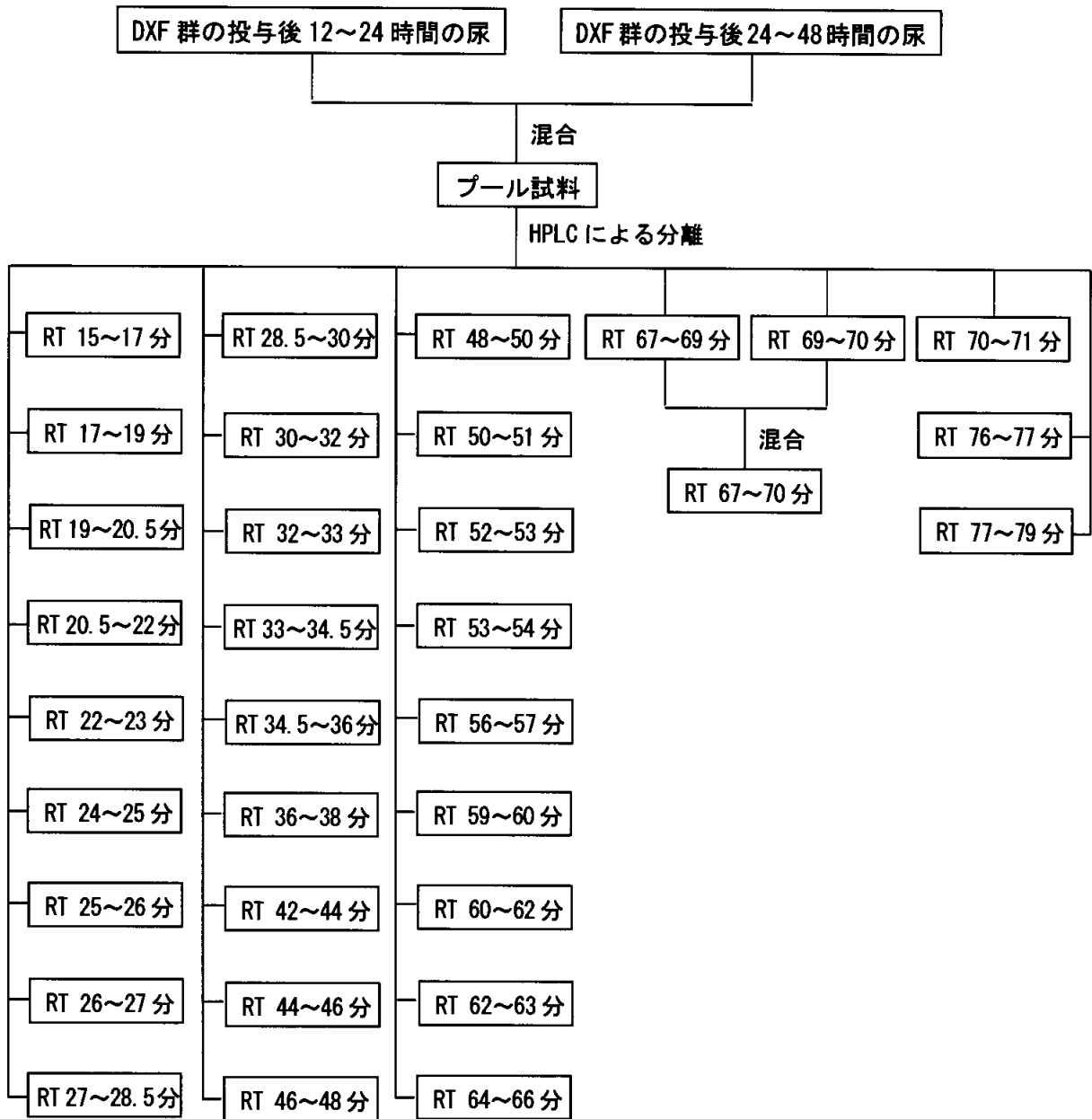


図3 DXF 群の投与後 12~48 時間の尿のプール試料の HPLC による放射性画分の分離
(HPLC により分離した各画分は、HPLC-MS/MS 分析に供した。)

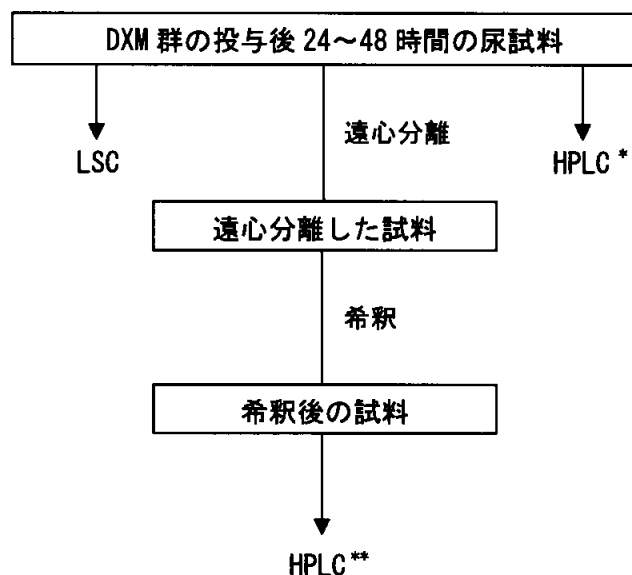


図 4 DXM 群の投与後 24~48 時間の尿試料の代謝物分析スキーム

* : DXF 群の投与後 24~48 時間の尿試料と HPLC コクロマトグラフィーを実施した。

** : DXF 群の投与後 12~48 時間の尿のプール試料から分離・同定した HPLC 画分と HPLC コクロマトグラフィーを実施した。

試験結果 :

排泄 : 投与放射能の尿及び糞中排泄率の経時変化を表 3 に示す。雄及び雌について、それぞれ投与後 168 時間目及び 148 時間目までに、合計 89.35%TAR (%TAR : 投与放射能に対する割合) 及び 89.44%TAR が排泄された。尿中への排泄は、投与後 120 時間目までにほぼ完了し、雄及び雌について、それぞれ最終試料採取時までに、合計 40.89%TAR 及び 54.87%TAR が排泄された。糞中への排泄は、投与後 72~96 時間目までにほぼ完了し、雄及び雌について、それぞれ最終試料採取時までに、合計 46.41%TAR 及び 32.20%TAR が排泄された。

代謝 : 代謝物分布を、尿、糞の抽出性放射能、糞の溶媒抽出後残渣及び胆汁について、それぞれ表 4~7 に示した。尿、糞及び胆汁中の同定された代謝物を表 8 にまとめた。

尿及び糞中の代謝物パターンは雌雄間で大差はなかった。未変化のジメテナミド P は、糞中でのみ検出された。また、胆汁中の代謝物パターンも、投与量に関係なく類似していた。

尿中の主要代謝物は であつた。M656PH096(iso) [M96P]は、2個の異性体の合計として、雄では %TAR、雌では %TAR を占め、M656PH095(iso) [M95P]は、雌で多く %TAR 検出され、雄では %TAR であつた。他に、雌では、M656PH017(iso) [M17P]が2個の異性体の合計として %TAR 検出されたが、雄では認められなかつた。M656PH098(iso) [M98P]の4個の異性体(そのうち1個は M656PH100(iso) [M100P]と分離できなかつた)は、

%TAR の範囲で検出された。雄では分子量 305、424、319 の代謝物(分子式は、それぞれ 、 、 と推定)が多く、合計で %TAR (雌では %TAR) を占めた。

ほかに、M656PH002(iso) [M2P]、M656PH034(iso) [M34P]、M656PH036(iso) [M36P]、M656PH093(rota) [M93P]RT42.7分/M656PH091(iso) [M91P]が同定され、分子量 287(分子式 $C_{12}H_{17}O_3NS_2$ と推定)/M656PH003[M3P]が帰属された。雄及び雌について、同定された放射能は、それぞれ合計で %TAR 及び %TAR、帰属された放射能は %TAR 及び %TAR であり、その他の代謝物は雄雌とも最大で 51 個存在したが、各約 %TAR 未満であつた。

以上の代謝物の他に、HPLC では定量できなかつたが HPLC-MS/MS により同定された代謝物も多数存在した。これらの代謝物を以下に示す(表 8)。

M656PH010(2種類 of 回轉異性体) [M10P]、M656PH013(iso) [M13P]、M656PH016(iso) [M16P]、M656PH080(rota) [M80P]、M656PH085(iso) [M85P]、M656PH086(iso) [M86P]、M656PH087(rota) [M87P]、M656PH088(iso) [M88P]、M656PH092(iso) [M92P]/RT26.3分、M656PH092(iso) [M92P]/RT27.9分、M656PH093(rota) [M93P]/RT40.7分、656PH097(iso) [M97P]/RT52.0分、656PH097(iso) [M97P]/RT53.0分、656PH099(iso) [M99P]、656PH101(iso) [M101P]/RT20.9分、656PH101(iso) [M101P]/RT21.8分、M656PH102(rota) [M102P]、M656PH103(iso) [M103P]、M656PH105(iso) [M105P]、M656PH106(iso) [M106P]、M656PH107(iso) [M107P]、M656PH108(iso) [M108P]。

糞の 抽出液中では、雄雌ともに主要代謝物として M656PH001(rota) [M1P](雄 %TAR、雌 %TAR) 及び M656PH022(iso) [M22P](雄 %TAR、雌 %TAR) が検出された。未変化のジメテナミド P も認められ、M656PH067(rota) [M67P]と分離できなかつたが、雄及び雌について、合計でそれぞれ %TAR 及び %TAR を占めた(雌の投与後 24~48 時間目の試料ではジメテナミド P/M656PH067(rota) [M67P]=約 1/4 の存在比であつた)。他に M656PH014(rota) [M14P]の2個の異性体が、雄雌でそれぞれ合計 %TAR 及び %TAR 検出された。雄雌の相違点として、雄では M656PH082(iso) [M82P]が %TAR 検出されたが、雌では認められなかつた。他に 及び水の両抽出液中で、分子量 287(分

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

子式と推定) /M656PH003 [M3P]が、雄及び雌で、それぞれ %TAR 及び %TAR 検出されたほか、M656PH083 (rota) [M83P]も認められた。糞の水抽出液中でも、抽出液中で同定された M656PH001 (rota) [M1P]及び M656PH082 (iso) [M82P]が帰属された。抽出残渣を水で還流し、酸及びアルカリ加水分解により可溶化した画分では、M656PH083 (rota) [M83P]が同定され、M656PH001 (rota) [M1P]が帰属された。雄及び雌について、糞抽出液及び抽出残渣を可溶化した画分中に同定された放射能は、それぞれ合計で %TAR 及び %TAR、帰属された放射能は %TAR 及び %TAR であった。その他の代謝物は、雄雌について、それぞれ最大で 63 個及び 59 個存在し、各 %未満及び %TAR 未満であった。

胆汁中主要代謝物は、低用量群及び高用量群ともに、M656PH025 (iso) [M25P]であり、2 個の異性体の合計として、それぞれ %TAR 及び %TAR の範囲で存在した。さらに、M656PH034 (iso) [M34P] (低用量 %TAR、高用量 %TAR) 及び M656PH017 (iso) [M17P] の 2 個の異性体 (合計で低用量 %TAR、高用量 %TAR) が検出された。M656PH098 (iso) [M98P]のうち 2 個の異性体 (RT25.4 分及び 24.2 分) が同定され、低用量群で 0.824~2.572%TAR、高用量群で 0.179~1.214%TAR を占めた。他に、M656PH095 (iso) [M95P]が帰属された。M656PH007 [M7P]は、HPLC-MS により同定されたが、HPLC では検出されず、定量できなかった。低用量及び高用量群について、同定された放射能は、それぞれ %TAR 及び %TAR、帰属された放射能は %TAR 及び検出限界未満~ %TAR であった。その他の代謝物は、低用量及び高用量群について、それぞれ最大 66 個及び 65 個存在し、各約 %TAR 未満及び約 %TAR 未満であった。

推定代謝経路：推定代謝経路を図 5~7 に分けて示す。ジメテナミド P の代謝パターンは雌雄で類似しており、広範囲に代謝された。主要経路として、ジメテナミド P は、初めに された後、酵素による開裂を受けて、図 6 に示すように、(M656PH025 [M25P]) となり、加水分解により (M656PH080) [M80P] が生成した。からは、(M656PH022 [M22P]) や (M656PH093 [M93P]) が生成した。また、及び (M656PH091 [M91P]) されたほか、雄ラットでのみ、のにより (M656PH082 [M82P]) が生成した。別の経路として、の (M656PH017 [M17P]) が雌のみで認められ、続いてによる (M656PH100 [M100P]) の生成もみられた。他に、図 7 に示すように、は、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

(M656PH067[M67P])に続き、(M656PH001[M1P])され、さらに
 された(M656PH095[M95P])ほか、により、
 が生成した(M656PH002[M2P]、M656PH098[M98P])。は、さらに酸
 化されて、スルホン(M656PH014[M14P]、M656PH096[M96P])となった。生成割合は
 低い、図5に示すように、ジメテナミドPは、直接、された(M656PH
 007[M7P])後、(M656PH034[M34P])を受け、また
 された後、された(M656PH036[M36P])。ま
 た、糞中のとの反応による(M656PH083[M83P])の生成や、還元
 的脱塩素反応もみられた(M656PH003[M3P])。他にも、分子内の数か所において、
 が認められた。

表3 ¹⁴C-ジメテナミドPを単回経口投与したラットにおける尿及び糞中への排泄率の推移 (%TAR)

投与後経過時間 (時間)	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
0~6	2.36	NA	3.53	NA
6~12	5.00	0.45	6.14	0.09
12~24	10.00	18.56	17.12	9.63
24~48	14.02	18.33	19.15	17.38
48~72	4.66	5.46	4.70	3.65
72~96	2.54	1.81	2.04	0.74
96~120	1.29	0.93	1.32	0.46
120~144*	0.55	0.54	0.87	0.26
144~168	0.46	0.32	NA	NA
回収率	40.89	46.41	54.87	32.20
ケージ洗浄液	2.05		2.37	
合計	89.35		89.44	

NA: 適用なし 数値は10匹の平均値

*: 雌については投与後148時間目に最終の採取を実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

表 4 ¹⁴C-ジメテナミドP を単回経口投与したラットの尿中代謝物分布 (%TAR)

代謝物	雄	雌
同定代謝物		
M656PH098 (iso) [M98P]/RT25.4分		
M656PH098 (iso) [M98P]/RT24.2分		
M656PH002 (iso) [M2P]		
M656PH096 (iso) [M96P]/RT37.0分		
M656PH096 (iso) [M96P]/RT38.9分		
M656PH096 (iso) [M96P]の合計		
M656PH093 (rota) [M93P]/RT42.7分, M656PH091 (iso) [M91P]		
M656PH036 (iso) [M36P]		
M656PH034 (iso) [M34P]		
M656PH095 (iso) [M95P]		
M656PH017 (iso) [M17P]/RT73.0分		
M656PH017 (iso) [M17P]/RT73.5分		
M656PH017 (iso) [M17P]の合計		
同定代謝物の合計		
帰属された代謝物		
分子量 305/424/319 の代謝物		
M656PH098 (iso) [M98P]/RT22.8分		
M656PH098 (iso) [M98P]/RT23.4及び23.8分, M656PH100 (iso) [M100P]		
分子量 287 の代謝物/M656PH003 [M3P]		
帰属された代謝物の合計		
その他の代謝物		
数		
最大ピーク		
その他の代謝物の合計		
特徴付けされた代謝物 (帰属された代謝物+その他の代謝物)		
総計 (同定代謝物+特徴付けされた代謝物)		

ND : 検出せず

数値はすべて、10匹の平均値であり、雄及び雌について、それぞれ投与後0~168時間目及び0~148時間目の合計値を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

表5 ^{14}C -ジメテナミドPを単回経口投与したラットの糞の抽出性代謝物分布 (%TAR)

代謝物	雄	雌
同定代謝物		
M656PH082 (iso) [M82P]		
M656PH014 (rota) [M14P]/RT52.7分		
M656PH014 (rota) [M14P]/RT54.0分		
M656PH014 (rota) [M14P] (2種類の回転異性体)の合計		
M656PH001 (rota)		
ジメテナミドP/M656PH067 (rota) [M67P]		
M656PH022 (iso) [M22P]		
同定代謝物の合計		
帰属された代謝物		
M656PH082 (iso) [M82P]		
M656PH083 (rota) [M83P]		
M656PH001 (rota) [M1P]		
分子量 287 の代謝物/M656PH003 [M3P]		
帰属された代謝物の合計		
その他の代謝物 数 最大ピーク		
その他の代謝物の合計		
特徴付けされた代謝物 (帰属された代謝物+その他の代謝物)		
水で抽出された放射能*		
総計 (同定代謝物+特徴付けされた代謝物+水抽出放射能)		
抽出後残渣		

ND: 検出せず

数値はすべて、10匹の平均値であり、雄及び雌について、それぞれ投与後12~120時間目及び12~96時間目の合計値を示した。

*: 雄及び雌について、それぞれHPLC分析を実施しなかった投与後48~120時間目及び投与後48~96時間目の合計値(水での抽出性により特徴付けが行われたと考えた。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャハン株式会社にある。

Dimethenamid-P

表 6 ¹⁴C-ジメテナミドP を単回経口投与したラットの糞の溶媒抽出後残渣中の代謝物分布 (%TAR)

代謝物	雄	雌
同定代謝物 M656PH083 (rota) [M83P]		
帰属された代謝物 M656PH001 (rota) [M1P]		
その他の代謝物 数 最大ピーク		
その他の代謝物の合計		
特徴付けされた代謝物 (帰属された代謝物+その他の代謝物)		
総計 (同定代謝物+特徴付けされた代謝物)		

数値はすべて、10匹の平均値であり、雄及び雌について、それぞれ投与後12~72時間目及び12~48時間目の合計値を示した。

表 7 ¹⁴C-ジメテナミドP を単回経口投与したラットの胆汁中代謝物分布 (%TAR)

代謝物	10 mg/kg	250 mg/kg		
		動物 A	動物 B	動物 C
同定代謝物				
M656PH098 (iso) [M98P]/RT25.4分				
M656PH098 (iso) [M98P]/RT24.2分				
M656PH025 (iso) [M25P]/RT47.9分				
M656PH025 (iso) [M25P]/RT48.9分				
M656PH025 (iso) [M25P]の合計				
M656PH034 (iso) [M34P]				
M656PH017 (iso) [M17P]/RT73.0分				
M656PH017 (iso) [M17P]/RT73.5分				
M656PH017 (iso) [M17P]の合計				
同定代謝物の合計				
帰属された代謝物 M656PH095 (iso) [M95P]				
その他の代謝物 数 最大ピーク				
その他の代謝物の合計				
特徴付けされた代謝物 (帰属+その他)				
総計 (同定+特徴付けされた代謝物)				

ND: 検出せず

10 mg/kg 投与群の数値はすべて、3匹の平均値であり、投与後0~18時間目の合計値を示した。250 mg/kg 投与群の数値はすべて、投与後0~30時間目の合計値を示した。

M656PH007[M7P]が、投与後3~6時間目の低用量群の胆汁中で、HPLC-MS/MSにより認められたが、HPLCでは検出されず、定量できなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

表 8 ¹⁴C-ジメテナミドP を単回経口投与したラットの尿、糞及び胆汁中において同定された代謝物 (まとめ)

代謝物	尿	糞	胆汁
ジメテナミドP			
M656PH001 (rota) [M1P]			
M656PH002 (iso) [M2P]			
M656PH003 [M3P]			
M656PH007 [M7P]			
M656PH010 (2 種類の回転異性体)			
M656PH013 (iso) [M13P]			
M656PH014 (rota) [M14P]/RT52.7 分			
M656PH014 (rota) [M14P]/RT54.0 分			
M656PH016 (iso) [M16P]			
M656PH017 (iso) [M17P]/RT73.0 分			
M656PH017 (iso) [M17P]/RT73.5 分			
M656PH022 (iso) [M22P]			
M656PH025 (iso) [M25P]/RT47.9 分			
M656PH025 (iso) [M25P]/RT48.9 分			
M656PH034 (iso) [M34P]			
M656PH036 (iso) [M36P]			
M656PH067 (rota) [M67P]			
M656PH080 (rota) [M80P]			
M656PH082 (iso) [M82P]			
M656PH083 (rota) [M83P] (2 種類の回転異性体)			
M656PH085 (iso) [M85P]			
M656PH086 (iso) [M86P]			
M656PH087 (rota) [M87P]			
M656PH088 (iso) [M88P]			
M656PH091 (iso) [M91P]			
M656PH092 (iso) [M92P]/RT26.3 分			
M656PH092 (iso) [M92P]/RT27.9 分			
M656PH093 (rota) [M93P]/RT40.7 分			
M656PH093 (rota) [M93P]/RT42.7 分			
M656PH095 (iso) [M95P]			
M656PH096 (iso) [M96P]/RT37.0 分			
M656PH096 (iso) [M96P]/RT38.9 分			
M656PH097 (iso) [M97P]/RT52.0 分			
M656PH097 (iso) [M97P]/RT53.0 分			
M656PH098 (iso) [M98P]/RT22.8 分			
M656PH098 (iso) [M98P]/RT23.4, 23.8 分 (2 種類の異性体)			
M656PH098 (iso) [M98P]/RT24.2 分			
M656PH098 (iso) [M98P]/RT25.4 分			
M656PH099 (iso) [M99P]			
M656PH100 (iso) [M100P]			
M656PH101 (iso) [M101P]/RT20.9 分 (2 種類の異性体)			
M656PH101 (iso) [M101P]/RT21.8 分 (2 種類の異性体)			
M656PH102 (rota) [M102P] (2 種類の異性体)			
M656PH103 (iso) [M103P] (2 種類の異性体)			
M656PH105 (iso) [M105P]			
M656PH106 (iso) [M106P] (2 種類の異性体)			
M656PH107 (iso) [M107P]			
M656PH108 (iso) [M108P]			

+ : 同定され、定量された代謝物。 + (n. q.) : 同定されたが、定量できなかった代謝物。

(+) : 糞あるいは胆汁中において暫定的に帰属された代謝物。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

図5 ジメテナミドPのラットにおける推定代謝経路（パート1）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

図6 ジメテナミドPのラットにおける推定代謝経路（パート2：
誘導体）

後の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

図 7 ジメテナミド P のラットにおける推定代謝経路（パート 3 : 代謝物の誘導体）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASFジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

12) ^{14}C -ジメテナミドPのラットにおける胆汁排泄試験

(資料 A-12)

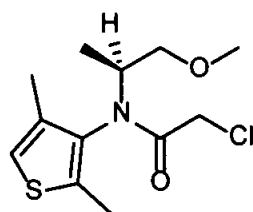
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：

供試標識化合物： [^{14}C]ジメテナミドP

構造式：



化学名： (S)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：CD(SD)系雄ラット、1群6匹（うち3匹を分析に使用）、約10週齢、
平均体重（分析に供した3匹の数値）；低用量群 377.0 g、高用量群 444.3 g

試験方法：

投与液の調製： ^{14}C -ジメテナミドP、 ^{13}C -ジメテナミドP（ の炭素を ^{13}C で標識）及び非標識体を混合して、ポリオキシエチレンヒマシ油（1%）を含有する0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に溶解し、濃度 1.05 mg/mL（低用量群用）及び 25.0 mg/mL（高用量群用）の投与液を調製した。

用量設定根拠：異なる用量においてバイオアベイラビリティを評価するために、また前行試験と関連付けるために、10 mg/kg 体重及び 250 mg/kg 体重の2つの用量を設定した。

投与方法及び試料採取：低用量群及び高用量群を設定し、両群に単回強制経口投与を実施した。詳細を表1に示す。胆汁は挿入したカテーテルから採取した。投与後72時間目に、ラットを屠殺し、胃、胃内容物、腸、腸管内容物及び屍体を採取した。ケージ洗浄液も採取した。

表 1 試験群の構成

試験群	設定用量 (mg/kg 体重)	性別と 動物数	採取 試料	採取時間
低用量	10	雄 3 匹*	胆汁 尿・糞	胆汁：投与後 0～72 時間目まで 3 時間毎
高用量	250			尿及び糞；投与後 0～72 時間目まで 24 時間毎

*：6 匹に投与を行い、十分な胆汁分泌がみられた 3 匹を分析に使用した。

分析方法：胆汁、尿及びケージ洗浄液は、直接 LSC 分析に供して放射エネルギーを測定した。糞、胃内容物及び腸内容物は超純水に懸濁し、屍体は超純水とともにホモジナイズして、それぞれ凍結乾燥させた。凍結乾燥試料、胃及び腸を可溶化及び脱色して、LSC により放射エネルギーを測定した。

試験結果：

排泄： 投与放射能の尿、糞及び胆汁への排泄量と組織中残留量を表 2 に示す。

平均総放射能回収率は、低用量群及び高用量群について、それぞれ 98.45%TAR (%TAR：投与放射能に対する割合) 及び 88.60%TAR であった。投与後 72 時間目までの胆汁中放射能の合計値は、低用量群及び高用量群について、それぞれ平均 78.73%TAR 及び 50.34%TAR であった。投与後 72 時間目までに尿中に排泄された放射能は、低用量群及び高用量群について、それぞれ平均 13.12%TAR 及び 30.29%TAR であった。投与後 72 時間目までに糞中に排泄された放射能は少なく、低用量群及び高用量群について、それぞれ平均 4.36%TAR 及び 3.76%TAR であった。屍体中放射能は、低用量群及び高用量群について、それぞれ平均 1.93%TAR 及び 2.91%TAR であった。バイオアベイラビリティを、尿、胆汁、ケージ洗浄液、屍体中放射能の和として算出したところ、低用量群及び高用量群について、それぞれ平均 94.03%TAR 及び 84.64%TAR となり、低用量群の方が高値であった。

以上より、ジメテナミド P の高いバイオアベイラビリティと速やかな排泄が示された。

表2 ¹⁴C-ジメテナミドPを単回経口投与したラットの尿、糞及び胆汁への排泄量の推移と組織中残留量(%TAR)

試料	10 mg/kg 投与群	250 mg/kg 投与群	
尿	投与後 0~24 時間目	12.26	26.82
	投与後 24~48 時間目	0.62	2.92
	投与後 48~72 時間目	0.24	0.56
尿試料合計	13.12	30.29	
糞	投与後 0~24 時間目	2.87	0.43
	投与後 24~48 時間目	1.11	2.92
	投与後 48~72 時間目	0.38	0.41
糞試料合計	4.36	3.76	
胆汁	投与後 0~3 時間目	68.36	9.98
	投与後 3~6 時間目	6.94	7.43
	投与後 6~9 時間目	2.66	4.81
	投与後 9~12 時間目	0.93	3.23
	投与後 12~15 時間目	0.19	3.44
	投与後 15~18 時間目	0.15	4.55
	投与後 18~21 時間目	0.06	5.08
	投与後 21~24 時間目	0.06	5.85
	投与後 24~27 時間目	0.03	4.01
	投与後 27~30 時間目	0.03	0.88
	投与後 30~33 時間目	0.02	0.36
	投与後 33~36 時間目	0.02	0.23
	投与後 36~39 時間目	0.02	0.11
	投与後 39~42 時間目	0.02	0.06
	投与後 42~45 時間目	0.02	0.05
	投与後 45~48 時間目	0.02	0.05
	投与後 48~51 時間目	0.02	0.05
	投与後 51~54 時間目	0.02	0.03
	投与後 54~57 時間目	0.01	0.04
	投与後 57~60 時間目	0.01	0.04
投与後 60~63 時間目	0.01	0.02	
投与後 63~66 時間目	0.01	0.02	
投与後 66~69 時間目	0.01	0.03	
投与後 69~72 時間目	0.01	0.02	
胆汁試料合計	78.73	50.34	
ケージ洗浄液	0.25	1.10	
胃内容物	0.00	0.01	
胃	0.02	0.01	
腸管内容物	0.02	0.16	
腸	0.02	0.03	
屍体	1.93	2.91	
総計	98.45	88.60	
バイオアベイラビリティ*	94.03	84.64	

数値はすべて3匹の平均値

* : バイオアベイラビリティ = 尿試料合計 + 胆汁試料合計 + ケージ洗浄液 + 屍体

2. 植物代謝に関する試験

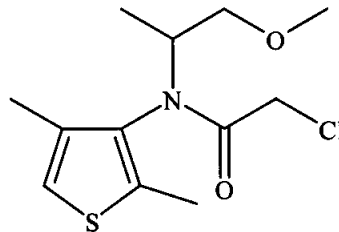
2-1. とうもろこしにおける植物代謝試験 (ラセミ体) (資料 P-1 代替 既提出 P-1)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

供試標識化合物:



(RS)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

放射化学的純度: %

比放射能 ; mCi/mmol

供試作物: とうもろこし

試験方法:

処理液の調製及び処理: 処理液は ^{14}C -ジメテナミド及び非標識ジメテナミドを混合後、720EC 市販乳剤と同様の製剤に調製し、蒸留水で希釈した (比放射能は $\text{dpm}/\mu\text{g}$)。この処理液を、ラベル表示最高薬量 1.68 kg a. i./ha (168 g/10 a) 及び過剰薬量 4.48 kg a. i./ha (448 g/10 a) 濃度となるように、播種一日後、圃場の土壌全面に発芽前処理した。

試料の採取: 処理後 50 日、116 日及び収穫期である 130 日にとうもろこしを採取した。116 日及び 130 日試料は茎葉、穂軸及び穀粒に分け、分析に供試した。

総残留放射能 (TRR) 測定: サンプルオキシダイザーにて各試料を酸化燃焼後、発生した二酸化炭素を捕集 (燃焼法) して、液体シンチレーションカウンター (LSC) を用いて TRR を計測した。

試料の処理及び抽出: 両処理区、各採取日の試料は表 1 に示した抽出スキームに従って抽出を行った。はじめに試料を含水 及び で抽出し、抽出液 (A1) と 非抽出残渣 (S1) に分けた。

A1 は、ロータリーエバポレーターにて を留去後、残った水溶液分を (A2) 及び (A3) で抽出した。次いで水相を塩酸にて酸性とした後、 で抽出した (A4)。残った水相は、中和、凍結乾燥後 で抽出し (A5)、残渣は水に溶解した (A6)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

留去した (M)、容器洗浄液及び各抽出液は LSC にて、S1 は燃焼法及び LSC にて放射能を計測した。

物質収支：物質収支は、TRR に対する M、A2-A6 及び S1 に含まれる放射能の合計から算出した。

残渣の再抽出：S1 は、1N 塩酸を用いて酸加水分解し、上清は酸性及び中性条件で を用いて抽出した (EtOAc- I、II)。各 抽出液及び残渣の水溶解液は LSC にて放射能を計測した。

残渣はさらにアルカリ加水分解を行い、上清は酸性にしてリグニンを分離後、LSC にて放射能を計測した。アルカリ加水分解後の残渣（セルロース等）及びリグニンは燃焼法及び LSC にて放射能を計測した。

代謝物の分離、定量及び同定/特徴付：代謝物の同定/特徴付には主に過剰薬量処理試料を使用した。

各種試料の溶媒画分 A2、A3、A4 及び A5、また、特定の試料の EtOAc- I、II ACID-III 及び Alkaline-II 画分は TLC 分析に供し、代謝物の分離、定量及び同定あるいは特徴付を行った。特定試料の A3 及び A4 画分は、TLC 分析後、数種のスポットを単離し、HPLC、MS、GC/MS、NMR 等によりさらなる特徴付あるいは同定を行った。画分 A5 及び A6 は HPLC 分析に供した。

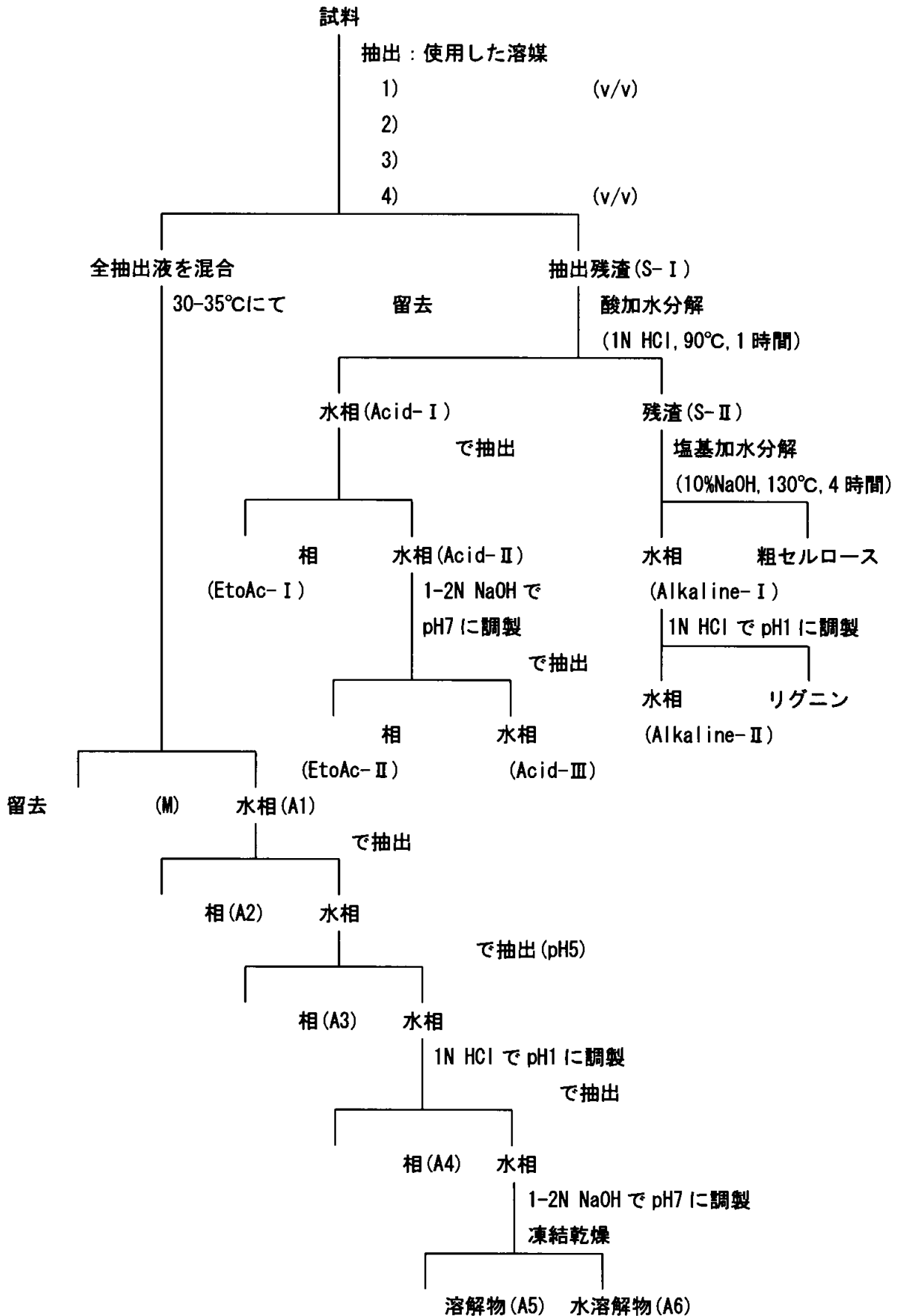


表1 抽出スキーム

試験結果：

TRR、放射能分布及び吸収率：表 1 に、植物体新鮮重量 (g) あたりの親化合物に換算した化合物濃度として TRR (ppm)、各植物部位への放射能分布及び処理量に対する植物体への放射能吸収率を示す。

とうもろこしは土壌よりジメテナミドを吸収し、TRR は処理量と比例して増加した。放射能吸収率は両処理区とも処理 50 日後に収穫した試料において最大であり、処理量の % であった。

放射能の移行性は、処理 116 日後及び 130 日後に収穫した試料にて検討した。両処理区の試料において、植物体内における茎葉部から穂軸及び穀粒への放射能の移行は小さく、TRR の % 以上の放射能が茎葉部に存在し、穂軸及び穀粒の放射能は TRR の % から % であった。

表 1 各生育期における放射能分布及び吸収率

処理後 経過日数	試料	ラベル表示最高薬量			過剰薬量		
		TRR (ppm)	分布 ^{a)} (%)	吸収率 ^{b)} (%)	TRR (ppm)	分布 ^{a)} (%)	吸収率 ^{b)} (%)
50 日	茎葉						
116 日	茎葉 穂軸 未成熟穀粒						
	合計						
130 日	茎葉 穂軸 成熟穀粒						
	合計						

a) 各植物部位の放射能/植物体全体の放射能 × 100

b) 各植物部位に含まれる放射能/総処理放射能 × 100

値は 4 連の平均値を示す

放射能の抽出及び物質収支：表 2 及び表 3 に、各植物体における放射能分布及び物質収支を、TRR に対する割合 (%) 及び親化合物に換算した植物体新鮮重に対する濃度 (ppm) で示す。

物質収支は、全試料において % 以上であった。放射能は、とうもろこしの生育に伴い

非抽出性放射能の割合が増加し、ラベル表示最高薬量及び過剰薬量において、

抽出後の残渣に含まれる放射能は、処理後 50 日の茎葉ではそれぞれ TRR の % (ppm)

及び % (ppm)、処理後 130 日の茎葉では % (ppm) 及び % (ppm)、成

熟穀粒では % (ppm)、 % (ppm) であった。抽出液の各種溶媒に

よる分画では、全試料において、各溶媒画分に放射能が分布した (表 2、3)。

残渣の再抽出：非抽出性放射能は酸加水分解により両処理区的全試料において TRR の %

の放射能が遊離した。また、塩基加水分解によっても一部の放射能が遊離し、そのうち TRR の

% の放射能はリグニンに、TRR の % 以下の放射能はセルロースに取り込まれていた

(表 2、3)。

表 2 放射能の分布-TRR に対する割合及び濃度(ラベル最高表示薬量)

画分	TRR に対する割合 (%)				
	50	116		130	
	茎葉	茎葉	未成熟穀粒	茎葉	成熟穀粒
TRR					
留去 (M)					
容器付着物 ^{a)}					
相 (A2)					
相 中性 (A3)					
酸性 (A4)					
相 (A5)					
水相 (A6)					
非抽出残渣 (S- I)					
酸性 相 (EtOAc- I)					
中性 相 (EtOAc- II)					
水相 (Acid-III)					
非抽出残渣 (S- II)					
リグニン					
粗セルロース					
水相 (Alkaline- II)					
回収率					

a) 容器付着物：容器洗浄液及び抽出時に生成したエマルジョン等

b) B. D. L: 検出限界以下

c) N. A. : 実施せず

()内は新鮮重あたりの親化合物に換算した化合物濃度を表す (ppm)
値は 4 連試料の平均値を示す

表 3 放射能の分布-TRR に対する割合及び濃度(過剰薬量)

画分	TRR に対する割合 (%)				
	50	116		130	
	茎葉	茎葉	未成熟 穀粒	茎葉	成熟穀粒
TRR					
留去 (M)					
容器付着物 ^{a)}					
相 (A2)					
相 中性 (A3)					
相 酸性 (A4)					
相 (A5)					
水相 (A6)					
非抽出残渣 (S-I)					
酸性 相 (EtOAc-I)					
中性 相 (EtOAc-II)					
水相 (Acid-III)					
非抽出残渣 (S-II)					
リグニン					
粗セルロース					
水相 (Alkaline-II)					
回収率					

a) 容器付着物: 容器洗浄液及び抽出時に生成したエマルジョン等

b) N. A.: 実施せず

()内は新鮮重あたりの親化合物に換算した化合物濃度を表す (ppm)

茎葉の値は 4 連試料の 1 連の数値であり、穀粒は 4 連試料の平均値を示す

代謝物の分離、定量及び同定/特徴付: 表 4 に A2-A6、EtOAc I-II 及び Alkaline II に含まれる代謝物の同定、特徴付及び定量結果の合計を、TRR に対する割合及び親化合物に換算した新鮮重あたりの濃度で示す。

代謝物の内訳は、両処理区、50、116、130 日後の茎葉試料においてほぼ同様であり、親化合物はいずれの試料からも検出されなかった。したがって表 4 にはラベル表示最高薬量試料の結果の

みを示す。 (M23)、 抱合体 (M26)、 体 (M27)、 (M30)、 (M31) 及び 抱合体 (M32) が検出、同定されたが、いずれの代謝物も TRR の %以下であった。最も多く検出された代謝物は 体 (M27) であり、処理後 116 日茎葉に、最大で TRR の % (ppm) 生成した。未同定代謝物は 30 を越えたが、ラベル最高表示薬量試料において、個々の代謝物は TRR の %及び ppm 以下であった。穀粒試料については TRR が少なかったため代謝物の同定は行わなかった (<0.01 ppm)。

図 2 にともろこしにおけるジメテナミドの推定代謝経路を示す。

表 4 代謝物の同定及び定量(ラベル最高表示薬量)

画分		TRR に対する割合 (%)		
		50 日	116 日	130 日
		茎葉	茎葉	茎葉
TRR (ppm)				
ジメテナミド	A2~A6	N. D. ^{a)}	N. D.	N. D.
(M23)	A3+A4			
(M30)	A3+A4			
(M31)	A3+A4			
抱合体 (M26)	A3+A4			
抱合体 (M32) ^{c)}	A3+A4			
体 (M27)	A5			
同定化合物の合計				
未同定化合物の合計 ^{d)}				
総合計				

a) N. D. : 検出限界以下 (検出限界: 0.001-0.005ppm)

b) 抱合体の合計

c) M32 の他、M11 及び M9 を含む可能性あり

d) TRR の 10%以下、0.05 ppm 以下の 30 以上の化合物を含む

()内は新鮮重に対する親化合物に換算した化合物濃度 (ppm) を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

とうもろこしにおけるジメテナミドの推定代謝経路

* : []内は検出されていない推定中間抱合体、** : Gは

2-2. 大豆における植物代謝試験(ラセミ体)

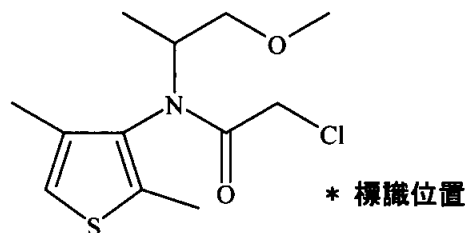
(資料 P-2 代替 既提出 P-2)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

供試標識化合物:



(RS)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

放射化学的純度: %

比放射能 : mCi/mmol

供試作物: 大豆

試験方法:

処理液の調製及び処理: 処理液は ^{14}C -ジメテナミド及び非標識ジメテナミドを混合後、720EC 市販乳剤と同様の製剤に調製し、蒸留水で希釈した(比放射能は $\text{dpm}/\mu\text{g}$)。この処理液を、ラベル表示最高薬量 $1.68 \text{ kg a. i.}/\text{ha}$ ($168 \text{ g}/10 \text{ a}$)及び過剰薬量 $3.37 \text{ kg a. i.}/\text{ha}$ ($336 \text{ g}/10 \text{ a}$)濃度になるように、播種1日後、圃場の土壌全面に発芽前処理した。

試料の採取: 処理後49日、100日及び収穫期である118日に大豆を採取した。100日の試料は茎葉部及び未成熟穀粒に、118日の試料は茎葉部、種子及び根に分けた後ホモジナイザーで均一化し、分析に供試した。

総残留放射能(TRR)測定: サンプルオキシダイザーにて各試料を酸化燃焼後、発生した二酸化炭素を捕集(燃焼法)して、液体シンチレーションカウンター(LSC)を用いてTRRを計測した。

試料の処理及び抽出: 抽出は表1に示した抽出スキームに従って行った。各試料は (a)(種子のみ)、(b)、(c)、(d)及び水で順次抽出した。水抽出物は更に酸加水分解(1N HCl、 90°C 、1時間還流)をし、(e)で抽出した。各抽出画分はLSCにより放射能を計測した。

物質収支: 物質収支は、TRRに対する各抽出液及び残渣に含まれる放射能の合計から算出した。

残渣の再抽出: 両薬量の処理後49日茎葉部、100日茎葉部、118日種子の水抽出後の残渣に関して再抽出を行なった。残渣は、1N塩酸を用いて酸加水分解し、上清は酸性及び中性条件下

で抽出した。ラベル表示最高薬量の酸加水分解残渣はアルカリ加水分解を行い、上清は酸性にしてリグニンを分離した。各抽出溶液は LSC にて放射能を計測し、アルカリ加水分解残渣及びリグニンは燃焼法及び LSC によって放射能を計測した。過剰薬量試料に関してはアルカリ加水分解処理を行わず、ラベル表示最高薬量の結果から数値を外挿した。

代謝物の分離、定量及び同定/特徴付：両処理区の 49 日茎葉部、100 日茎葉部及び 118 日種子の (a)～(e) 各抽出液を標準品とともに数種の溶媒を用いた薄層クロマトグラフィー (TLC) に供した。各放射能領域を回収、抽出し、LSC により放射能を計測後、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析により、さらなる同定/特徴付を行った。

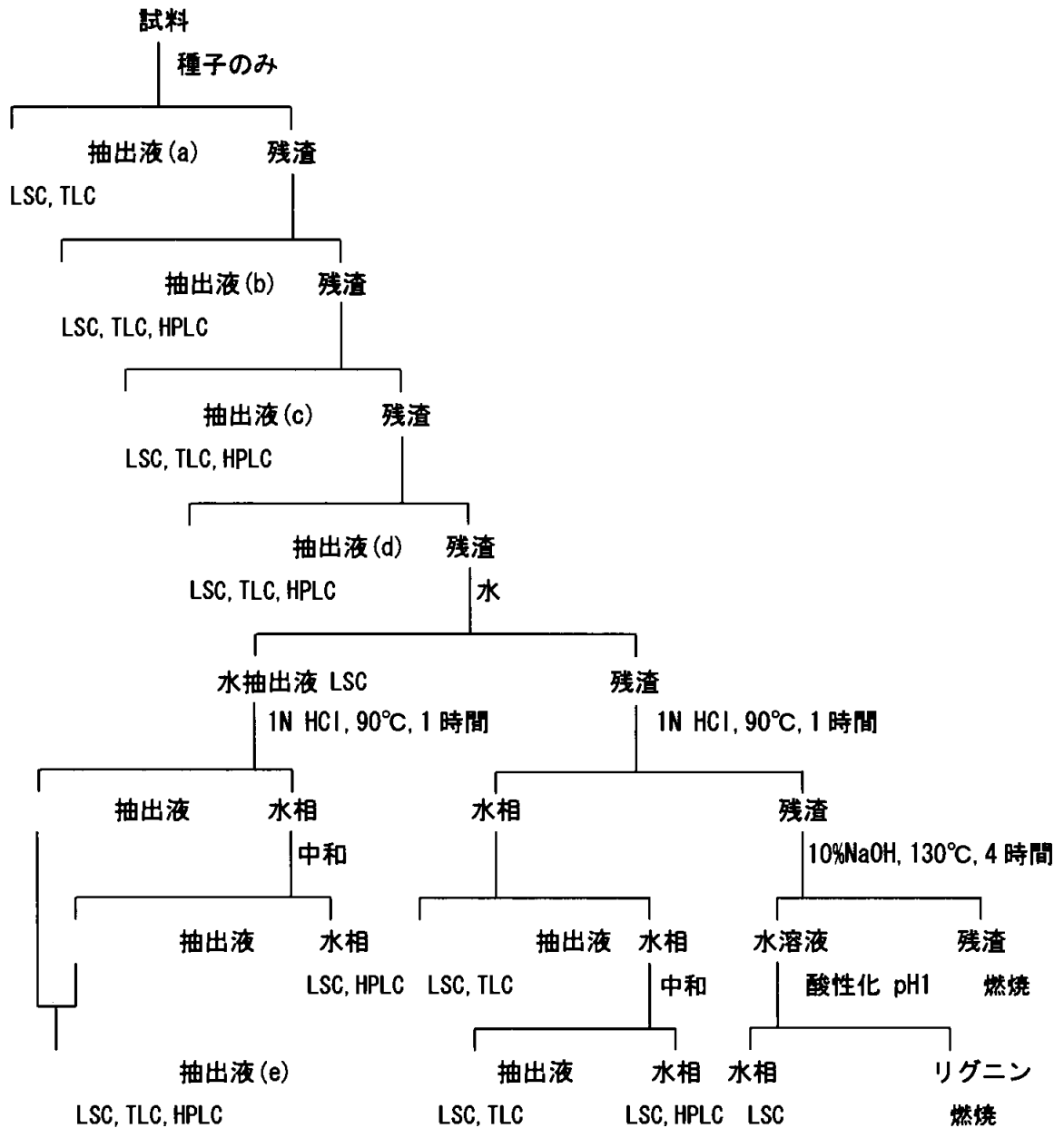


図 1 抽出スキーム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

再試験：1988 年に試験を実施したが、この年は例年より乾燥した年であったので 1990 年に再試験を行った。1990 年は基本的に気温及び降雨量とも正常な年であった。

処理量、処理方法、試料の採取及び TRR 測定は 1988 年とほぼ同様の方法で行った。放射能抽出は 98 % で抽出することにより 抽出画分及び残渣にわけ、抽出液は LSC にて、残渣は燃焼法及び LSC にて放射能を計測した。代謝物分析は、抽出画分を 及び HPLC にて精製後、TLC 分析及び HPLC 分析を用いて行った。

1988 年試料に関しても同様の方法で処理し、両年試料の比較を行った。

結果：

放射能分布及び吸収率：表 1 に、植物体新鮮重量 (g) あたりの親化合物に換算した化合物濃度として TRR (ppm)、各植物部位への放射能の分布及び植物体への放射能吸収率を示す。

大豆は、土壌よりジメテナミドを吸収し、TRR は処理量と比例して増加した。ラベル表示最高薬量を処理した試料において、処理 100 日の茎葉部及び未成熟種子にそれぞれ (TRR の %) 及び ppm (%)、処理 118 日の茎葉部、種子及び根部にそれぞれ (TRR の %)、 (%) 及び ppm (%) の放射能が検出された。この結果は、吸収された放射能はほとんどが根及び茎葉部に留まることを示す。

過剰薬量試料においても同様の結果がえられた。

表 1 各生育期における放射能分布及び吸収率 (1988 年)

経過 日数	作物部位	ラベル表示最高薬量			過剰薬量		
		TRR (ppm)	分布 (%) ^{a)}	吸収率 ^{b)} (%)	TRR (ppm)	分布 (%) ^{a)}	吸収率 ^{b)} (%)
49	茎葉						
100	茎葉						
	未成熟種子						
118	茎葉						
	種子						
	根						

a) 各植物部位の放射能/植物体全体の放射能 x100

b) 各植物部位に含まれる放射能/総処理放射能 x100

値は 4 連の平均値を示す

物質収支及び放射能の抽出：表 2 及び表 3 に各植物部位における物質収支及び放射能分布を TRR に対する割合及び親化合物に換算した植物体新鮮重に対する濃度で示す。

物質収支は、全試料において % 以上であった。放射能は、大豆の生育に伴い、溶媒抽出性放射能が徐々に減少し、非抽出性放射能の割合が増加し、ラベル表示最高薬量において、処理後 49 及び 118 日の茎葉部で水抽出後の残渣にそれぞれ TRR の % (ppm) 及び % (ppm) が残留した。

過剰薬量試料においても同様の結果が得られた。

残渣の再抽出：酸加水分解により、両処理薬量試料の水抽出後の残渣から TRR の %の放射能が遊離した。酸加水分解後残渣の塩基加水分解は、ラベル表示最高薬量試料において TRR の約 %の放射能がリグニン画分に取り込まれていることを示した(表 2、3)。

表 2 物質収支及び放射能の分布-TRR に対する割合及び濃度 (ラベル表示最高薬量)
(1988 年)

画分	TRR に対する割合 (%)				
	49 日 茎葉	100 日 茎葉	100 日 未成熟種子	118 日 茎葉	118 日 種子
総放射能					
水					
酸性					
pH7					
水可溶					
残渣					
酸性					
中性					
水可溶成分					
残渣					
リグニン画分					
水可溶成分					
残渣					
合計					

a) 未分析

b) 未検出

値は 4 連のうち 1 連の値を示す

()内は親化合物に換算した濃度 (ppm) を示す

表 3 物質収支及び放射能の分布-TRR に対する割合及び濃度(過剰薬量)(1988 年)

画分	TRR に対する百分率(%)				
	49 日 茎葉	100 日 茎葉	100 日 未成熟種子	118 日 茎葉	118 日 種子
総放射能					
(a)					
(b)					
(c)					
(d)					
水					
酸性 (e)					
pH7 (e)					
水可溶					
残渣					
酸性					
中性					
水可溶成分					
残渣					
リグニン画分 ^{b)}					
水可溶成分 ^{b)}					
残渣 ^{b)}					
合計					

a) 未分析

値は 4 連のうち 1 連の値を示す

()内は親化合物に換算した濃度(ppm)を示す

b) ラベル表示最高薬量での結果を外挿した値

代謝物の分離、定量及び同定/特徴付：表 4 にラベル表示最高薬量における各溶媒抽出液(a)～(e)の代謝物の同定、特徴付及び定量結果を、TRR に対する割合 (%) 及び親化合物に換算した濃度 (ppm) で示す。

代謝物の内訳は、49 及び 100 日後の茎葉部及び 118 日後の種子においてほぼ同様であり、親化合物はいずれの試料からも検出されなかった。主要代謝物は (M23)、体 (M27)、(M30) 及び 抱合体の (M31) であった。M23 は最高で 49 日の茎葉部に TRR の % (ppm) 検出され、100 日には % (ppm) まで減少し、118 日種子には % (ppm) のみ検出された。M27 は最高で 100 日の茎葉部に TRR の % (ppm) 検出され、118 日の種子に、 % (ppm) 検出された。M30 及び M31 は 最高で 118 日種子に合計 % (ppm) が検出された。未同定化合物は全ての試料において TRR の % 及び ppm 以上を占めたが、これは多種化合物を含み、個々の代謝物はいずれも TRR の % 及び ppm 以下であった。

過剰量処理区の試料も類似したパターンを示した。

表 4 抽出溶媒中における代謝物の同定及び定量(1988)

代謝物	TRR に対する割合 (%)		
	49 日 茎葉	100 日 茎葉	118 日 種子
親化合物	N. D ^{a)}	N. D	N. D
(M23)			
体 (M27)			
^{b)} (M30、M31)			
未同定化合物 ^{c)}			
合計			

値は 4 連のうち 1 連の値を示す

() 内は親化合物に換算した濃度 (ppm) を示す

a) 検出限界 (0.003ppm) 以下

b) (M30) 及び

(M31) の合計

c) 30 種以上の化合物を含み、それぞれの化合物は 0.02 ppm 以下

1988 年及び 1990 年に行なった試験の比較：2 試験におけるラベル表示最高薬量処理での各生育期における物質収支、放射能分布及び による抽出結果を、TRR に対する割合にて表 5 に示す。

両年において、植物体に残留する絶対総放射能には差がみられるが、各生育期における放射能分布はほぼ同じであった。また、1990 年試験の過剰薬量処理においても 1988 年試験と同様、TRR が増加するのみで放射能分布はラベル表示最高薬量処理と同様であった。

表 6 に両年における代謝物の定量結果を TRR に対する割合 (%) で示す。1990 年試験においても、1988 年試験にて検出された主要代謝物である M23、M27、M30 及び M31 の 4 種の化合物が検出さ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

れた。その他、数種の未同定代謝物が検出されたが、全ては TRR の %及び ppm 以下であった。

表 5 各生育期における物質収支、放射能分布及び抽出効率比較(ラベル表示最高薬量)

	日数	年度	TRR (ppm)	TRR に対する割合 (%)			
				抽出		残渣	合計
				98% 水			
茎葉	49	1988					
	42	1990					
茎葉	100	1988					
		1990					
種子	118	1988					
	128	1990					

a) この値のみ 3 連試料の平均値。その他の TRR 値は 4 連の平均値

表 6 主要代謝物の比較(ラベル表示最高薬量)

	日数	年度	TRR (ppm)	TRR に対する割合 (%)				
				親化合物	M23	M27	M30 ^{b)}	M31 ^{b)}
茎葉	49	1988		ND ^{a)}				
	42	1990		ND				
茎葉	100	1988		ND				
		1990		ND				
種子	118	1988		ND				
	128	1990		ND				

TRR 値は 4 連の平均値

a) 検出限界(0.003 ppm)以下

b) きれいな分離はできていない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

大豆におけるジメテナミドの推定代謝経路

* : []内は検出されていない推定中間抱合体、** : G は
*** : 一時的に微量検出。定量不可能。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

2-3. てんさいにおける植物代謝試験(ラセミ体)

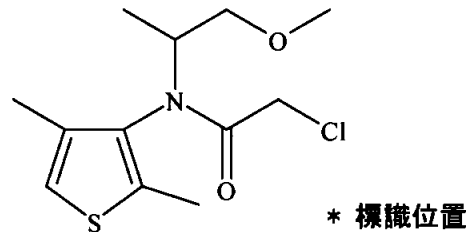
(資料 P-3 代替 既提出 P-3)

試験機関:

(GLP 対応)

報告書作成年:

供試標識化合物:



(RS)-2-クロロ-N-(1-メチル-2-メトキシ)エチル)-N-(2,4-ジメチルチエン-3-イル)アセトアミド

放射化学的純度: %

比放射能 ; mCi/mmol

供試作物: てんさい(*Beta vulgaris* L. var. GALA 品種)

種子(VV-A/ZR 10329)はドイツから購入し、殺菌剤チウラム及び殺虫剤カルボフランを被覆した。深さ 1.5 cm の表土に上記処理を行ったてんさいの種子を約 9 cm の間隔を保って播種し、41 日間温室内で栽培した後、覆いをした屋外に置いた。

試験方法:

処理液の調製: 処理濃度としてラベル表示最高薬量及び過剰薬量を設定した。両処理液ともに 900g/LEC 乳剤ブランク中で ^{14}C -ジメテナミド及び非標識ジメテナミド(99.8%)を混合し、蒸留水で希釈することにより調製した。比放射能はラベル表示最高薬量試験溶液が $\text{dpm}/\mu\text{g}$ 、過剰薬量試験溶液が $\text{dpm}/\mu\text{g}$ であった。

処理液の処理: 処理は、ノズル付圧縮空気スプレー装置を用いて処理液を植物体全体に散布した。ラベル表示最高薬量処理試料には、子葉展開後に 0.45 kg a. i./ha を 3 回、合計 1.35 kg a. i./ha を処理し、処理間隔は 1 回目と 2 回目は 9 日、2 回目と 3 回目は 12 日とした。これは 135 g/10 a に相当する。過剰薬量処理試料には、0.9~1.8 kg a. i./ha を 4 回、処理間隔を 8~21 日として合計 5.4 kg a. i./ha を処理した。

試料の採取: 最終処理後、収穫期前 126 日にラベル表示最高薬量を処理したてんさいを、105 日に過剰薬量を処理したてんさいを収穫し、根部と茎葉部にわけた。その後の操作にはラベル表示最高薬量を処理した試料のみを使用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

総残留放射能 (TRR) 測定：各試料は液体窒素にて粉碎し、サンプルオキシダイザーにて酸化燃焼後、生成した二酸化炭素を捕集（燃焼法）して、液体シンチレーションカウンター (LSC) を用いて総残留放射能を計測した。

試料の処理及び抽出：各試料は /水 (80/20, v/v) 及び水で抽出し、それぞれの抽出液の放射能を LSC にて計測した。この時点で残渣に存在する放射能を非抽出性放射能とした。

/水抽出物は、 で液液分配し、 相は LSC にて放射能を計測した。水相は SPE カラム (PRP-1 樹脂) 精製に供し、3 種溶媒で溶出した。得られたカラム溶出液 3 画分の放射能をそれぞれ LSC にて計測した。残渣は、燃焼法及び LSC によって放射能を計測した (図 1)。

残渣の再抽出：根試料のみ、水抽出残渣を 6N HCl (20°C)、6N NaOH (30°C)、6N NaOH (40°C) にて順次再抽出した。各抽出液は LSC にて放射能を計測した (図 1)。

代謝物の分離、定量及び同定/特徴付： 相及びカラム溶出液 2 画分はそれぞれ代謝物標品とともに薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析に供し、代謝物の分離、定量及び同定/特徴付を行った。また、カラム溶出液 3 画分はそれぞれ標品とともにラジオ高速液体クロマトグラフィー (RI-HPLC) 分析に供した (図 1)。

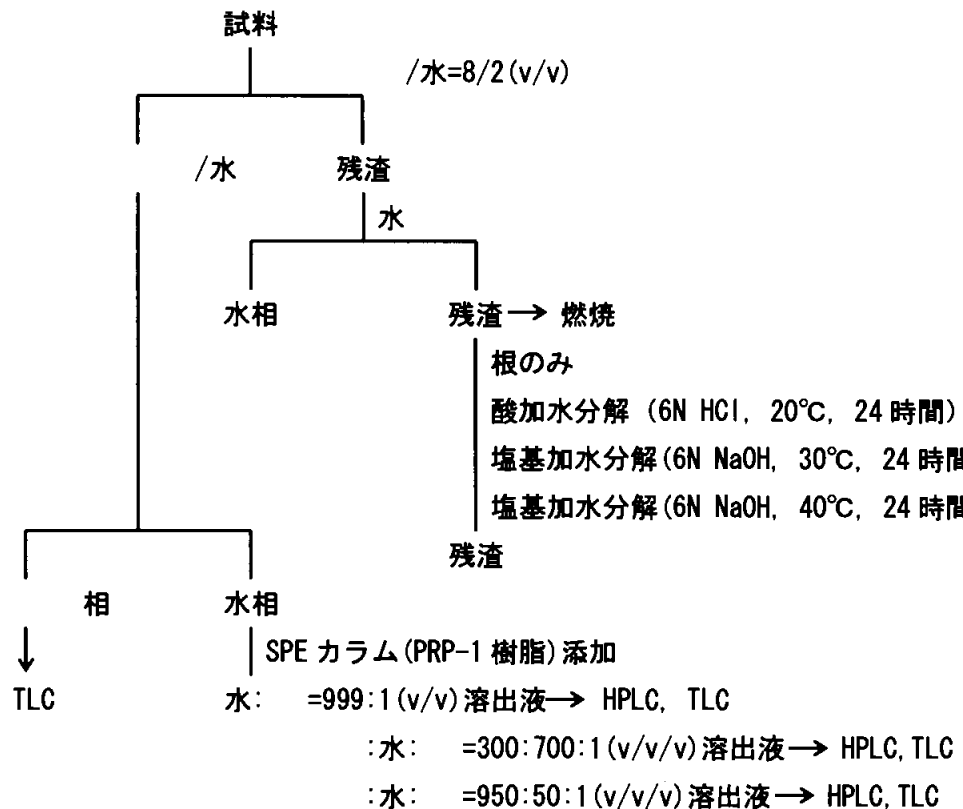


図 1 抽出スキーム

試験結果:

物質収支及び放射能分布: 表 1 に、物質収支及び放射能分布を TRR に対する割合及び植物体新鮮重に対する濃度で示す。

ラベル表示最高処理薬量、収穫前 126 日試料において根部及び茎葉部中の TRR はそれぞれ及び ppm であり、物質収支は、両部において 100 % 以上であった。

/水抽出物を で分配した 相の総放射能は根部及び茎葉部ともに低く、それぞれ TRR の %(ppm) 及び %(ppm) であった。水相を SPE カラム (PRP-1 樹脂) 分析に供した結果、放射能は各溶出画分に分布し、カラム精製における放射能回収率は根及び茎葉においてそれぞれ TRR の % (カラムに添加した放射能に対し %) 及び %(%) であった。

水抽出後の残渣には、根部及び茎葉部において、それぞれ TRR の %(ppm) 及び %(ppm) が残留した。

残渣の再抽出 (根のみ): 根部の水抽出後の残渣に関して酸及び塩基加水分解による再抽出を行った。その結果、20°C における酸加水分解にて TRR の %(ppm)、30°C での塩基加水分解にて %(ppm) 及び 40°C での塩基加水分解にて %(ppm) の放射能が遊離した (表 1)。

表 1 物質収支及び放射能分布-TRR に対する割合 (%) 及び濃度 (ラベル表示最高薬量、収穫前 126 日)

試料	根		茎葉	
	/TRR (%)	濃度 (ppm) ^{d)}	/TRR (%)	濃度 (ppm) ^{d)}
TRR				
/水抽出計				
相				
水相				
溶出液 1 ^{a)}				
溶出液 2 ^{b)}				
溶出液 3 ^{c)}				
回収率				
水抽出計				
残渣 (非抽出性放射能)				
6N HCl (20°C)				
6N NaOH (30°C)				
6N NaOH (40°C)				
回収率				

a) 水/ =999:1 (v/v)

b) /水/ =300:700:1 (v/v/v)

c) /水/ =950:50:1 (v/v/v)

d) 各植物部位新鮮重あたりの親化合物に換算した化合物濃度

-: 未実施

代謝物の分離、定量及び同定/特徴付：表 4 に、
相及び水相カラム溶出液の代謝物同定及び定量の合計を TRR に対する割合及び各植物
部位新鮮重あたりの濃度で示す。

根部及び茎葉部において親化合物は検出されなかった。

根部では、極めて低濃度であるがいくつかの化合物が同定された。これらは (M23)、
体 (M27)、 (M28) 及び 抱合体
(M29) であり、生成量は収穫前 126 日においてそれぞれ TRR の % (ppm)、 %
(ppm)、 % (ppm) 及び % (ppm) であった。

茎葉部では M27、M29 及び (M30) が同定され、生成量はそれぞれ TRR
の % (ppm)、 % (ppm) 及び % (ppm) であった。

根部、茎葉部において、それぞれ TRR の % 及び % が同定あるいは化学的特徴付された。

図 2 にてんさいにおけるジメテナミドの推定代謝経路を示す。

表 4 代謝物の定量及び同定/特徴付 (ラベル表示最高薬量、収穫前 126 日)

試料	根		茎葉	
	/TRR (%)	濃度 ^{b)} (ppm)	/TRR (%)	濃度 ^{b)} (ppm)
TRR	100.00		100.00	
ジメテナミド ^{a)}	-	-	-	-
(M23)				
体 (M27)				
(M28)				
抱合体 (M29)				
(M30)				
総同定代謝物				
未同定代謝物 ^{a)}				
合計				

a) TRR の 10 % 以下である 50 種以上の少量代謝物を含む

b) 各植物部位新鮮重における親化合物あるいは代謝物に換算した化合物濃度

- : 未検出

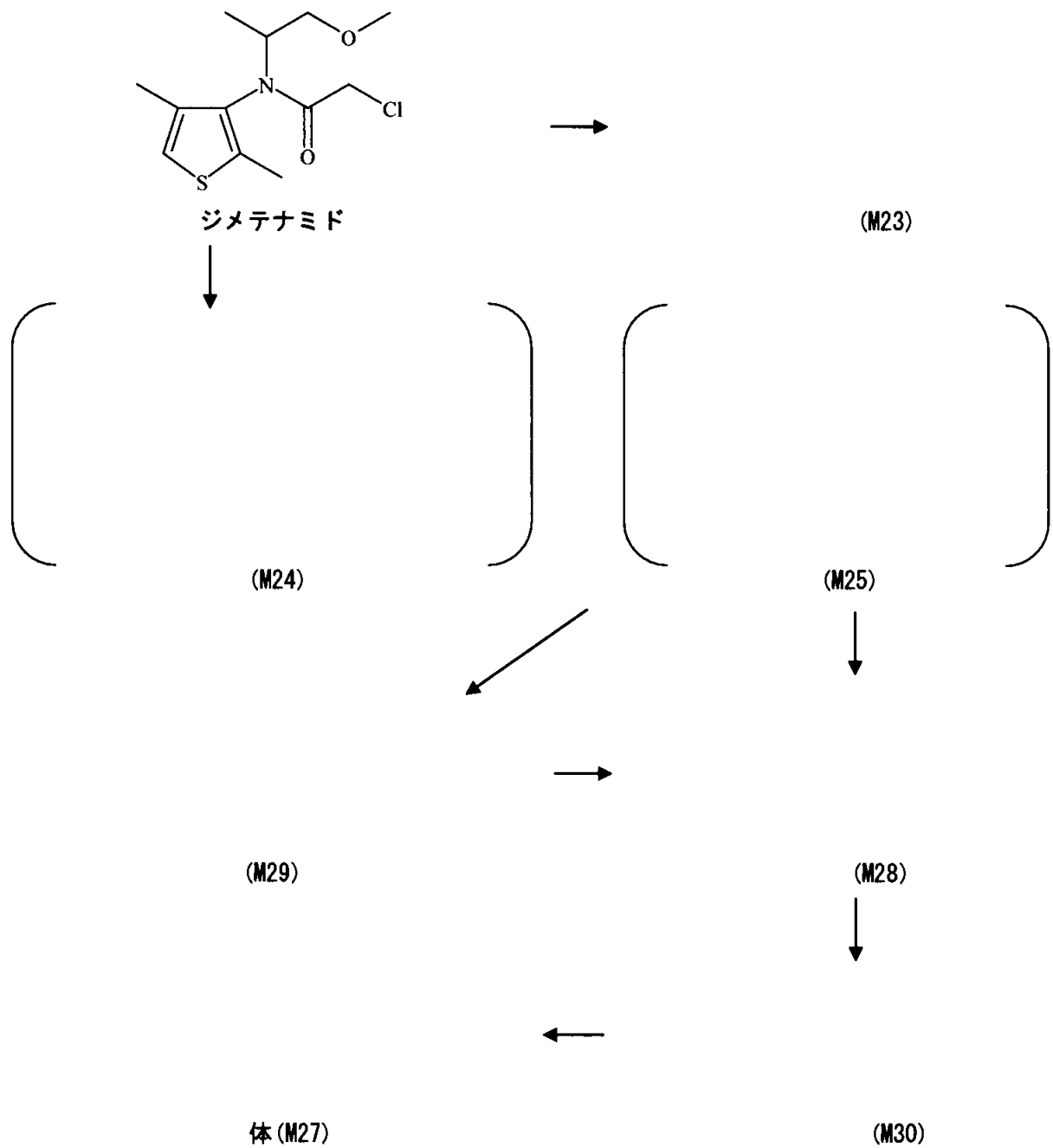


図2 てんさいにおけるジメテナミドの推定代謝経路
()内は検出されていない推定中間抱合体

2-4. 大豆における植物代謝試験 (P 体)

(資料 P-4)

試験機関:

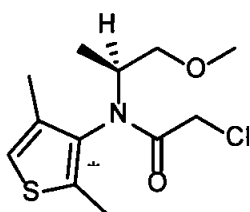
[GLP 対応]

報告書作成年:

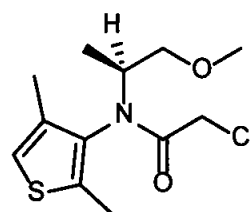
修正書作成年:

供試標識化合物: [^{-14}C] 又は [^{-14}C] ジメテナミド P

構造式:



[^{-14}C] ジメテナミド P



[^{-14}C] ジメテナミド P

*: 標識位置

化学名: (S)-2-クロロ-N-(2,4-ジメチル-3-チエニル)-N-(2-メトキシ-1-メチルエチル)アセトアミド

標識位置:

比放射能: MBq/mg

放射化学的純度: %

供試植物: 大豆 (品種: Pioneer 9091)

供試土壌: 表 1 の特性を持つ土壌を試験に使用した。

表 1 土壌の特性

採取場所	ドイツ、Limurgehof
粒径分布 ¹⁾	
粘土 (%)	11.9
シルト (%)	21.7
砂 (%)	66.4
土性 ¹⁾	砂壤土
有機炭素含量 (%)	1.48
pH (H ₂ O)	7.8
陽イオン交換容量 (cmol/kg)	11.8
最大含水量 (g/100 g 乾燥土)	30.2
微生物バイオマス (mg C/100 g 乾燥土)	37.8
容積重 (g/L)	1220

1) USDA 分類に従う。

試験方法:

処理液の調製: ^{14}C -ジメテナミド P のアセトニトリル溶液と非標識ジメテナミド P (純度 99.4%) を約 40:60 の割合で混合後、アセトニトリルを窒素ガスで除去した。その後、空製剤(EC)と水との混合物に溶解後、超音波処理を行い、製剤化された均一な処理液を調製した。

処理方法: 2011 年 3 月 24 日に、容器あたり 26 個の大豆の種を容器 (0.4 m × 0.6 m、8 個) に播き、その直後に設定処理量 1008 g ai/ha で散布処理を行った。実際の処理量は 1006.22 g ai/ha (散布量 217.919 L/ha に相当) であった。

栽培管理: 植物は BASF 農業研究センター (ドイツ、Limurgehof) にある温室で栽培した。

試料の採取: 2011 年 7 月 21 日 (処理後 119 日目) に植物を採取し、葉、種子 (さやから分離)、さや及び植物体の残りの部位に分けた。

分析方法: 葉、さや及び植物体の残りの部位の抽出スキームを図 1 に、種子の抽出スキームを図 2 に、すべての植物試料の抽出後残渣の分析スキームを図 3 に示す。

ジメテナミド P の代謝物は、葉の抽出液から該当画分を単離精製し、LC/MS 分析に供して構造決定を行った。次に単離した代謝物を標品として用い、葉の抽出液と HPLC コクロマトグラフィーを行うことにより、HPLC ピークの帰属を行った。精製した極性成分については、糖類分析用の HPLC を用いて、 ^{14}C -グルコース、 ^{14}C -フルクトース及び ^{14}C -スクロース標品とのコクロマトグラフィーにより同定した。葉以外の植物試料については、葉の抽出液と HPLC 保持時間を比較し、代謝物の存在を確認した。

なお、ジメテナミド P の従来の代謝物コードに付記する接尾辞 (rota) は、2 個の回転異性体 (チオフェン基とアミドの窒素原子との間の結合の回転が妨げられることにより生じる) が存在する化合物を示し、接尾辞 (iso) は、この回転異性に加えてあるいは回転異性のない場合にも、さらに立体異性的特徴 (すなわち、さらなる光学中心又は E/Z 異性) が加わることにより多数ピークとなる化合物を示す。



図 1 葉、さや及び植物体の残りの部位の抽出スキーム

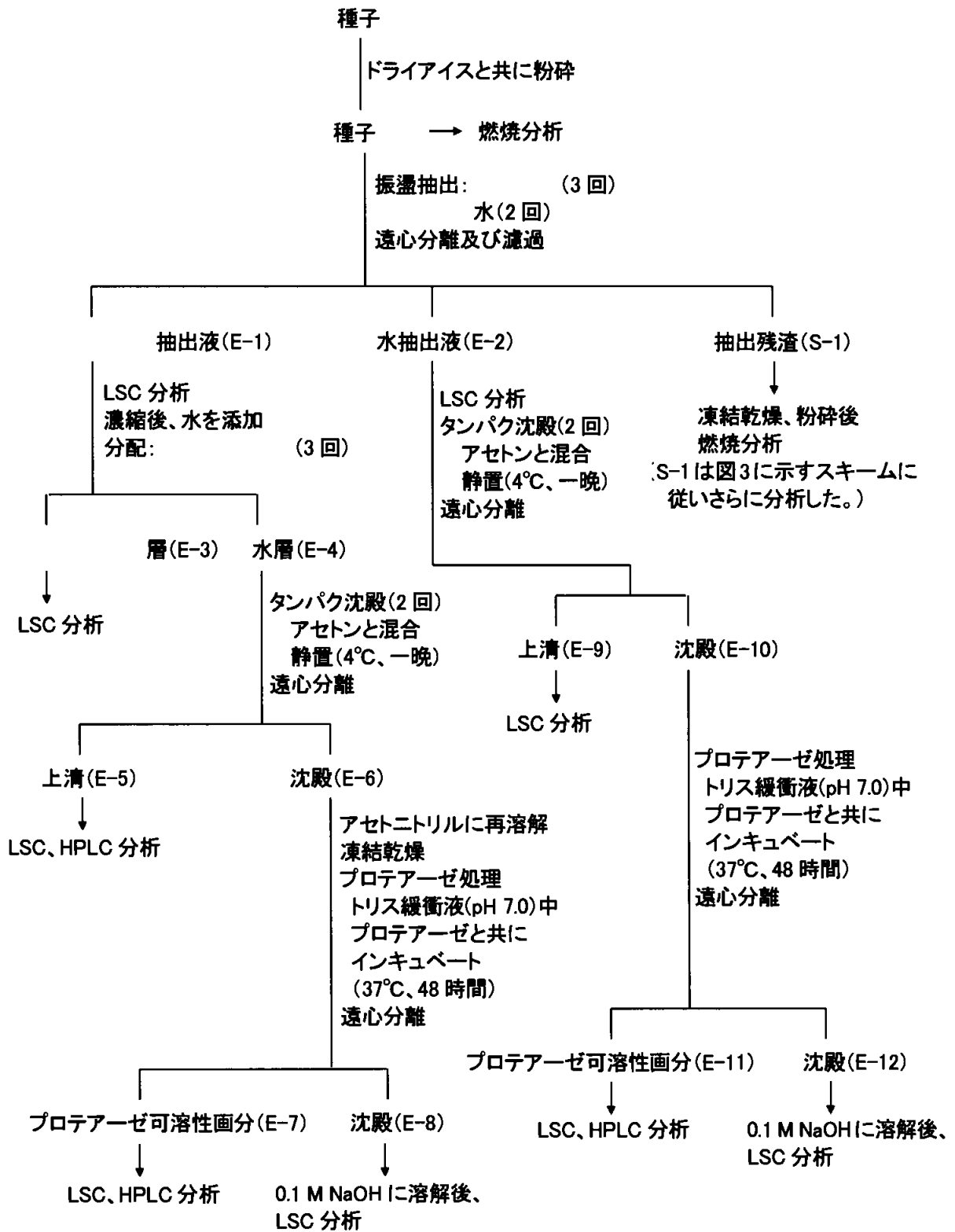


図2 種子の抽出スキーム

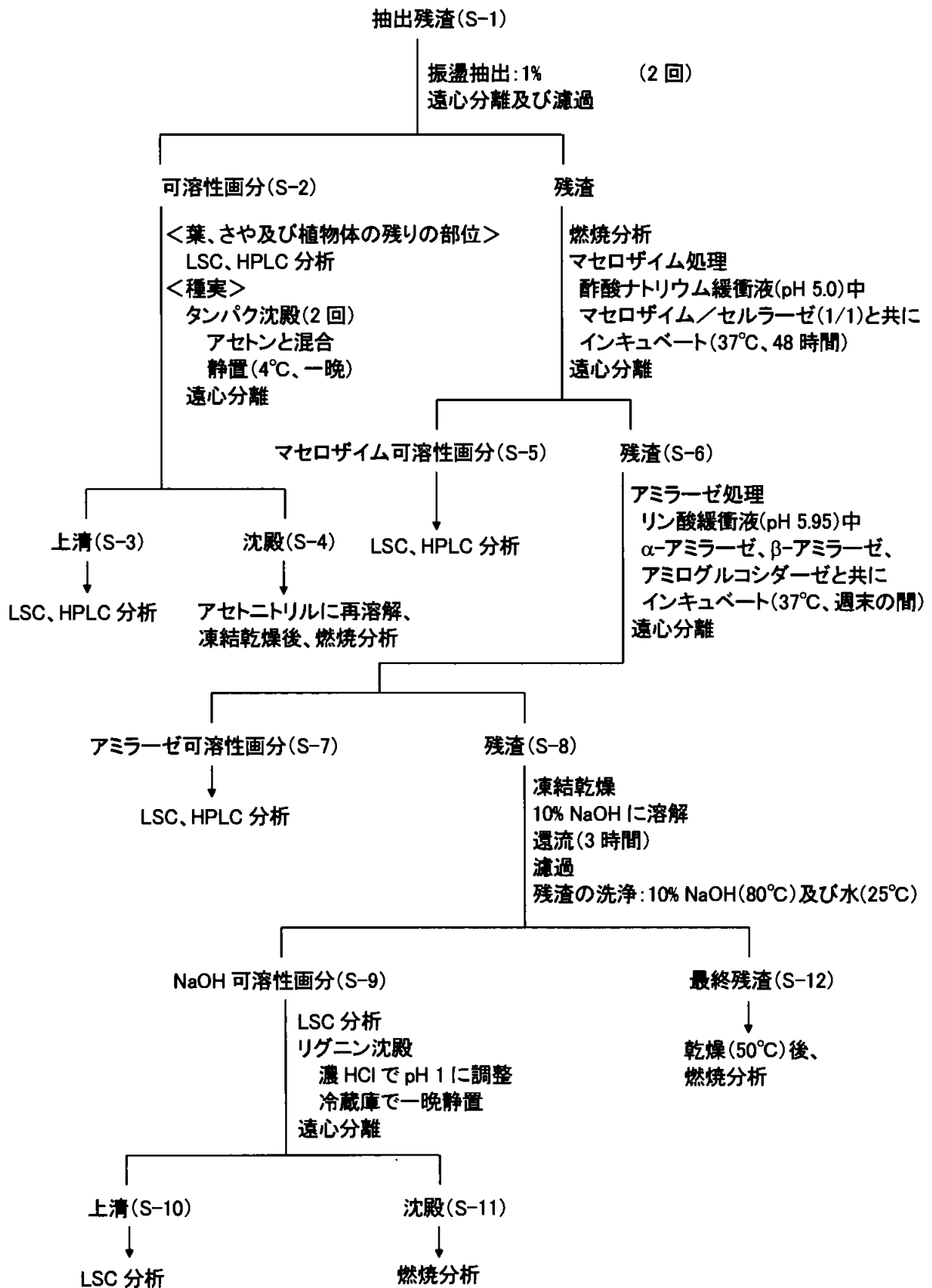


図3 すべての植物試料の溶媒抽出後残渣の分析スキーム

試験結果:

総残留放射能(TRR):大豆各試料における総残留放射能(TRR)を表 2 に、大豆各試料の溶媒抽出後残渣の分析結果を表 3 に示す。

葉の TRR 濃度は mg/kg と最も高く、その他の植物試料の TRR 濃度はそれより約 3~4 倍低く、種子、さや及びその他の植物部位において、それぞれ mg/kg であった。また試料を直接燃焼分析することにより求めた TRR 濃度と抽出操作により求めた TRR 濃度に大きな違いはなかった。

抽出された放射能の割合は葉において最も高く、 %TRR(%TRR は試料中総放射能に対する割合を示す)であり、種子、さや及びその他の植物部位においては、それぞれ %TRR、 %TRR 及び %TRR であった。抽出後残渣に残存する放射能は、葉、種子、さや及びその他の植物部位において、それぞれ %TRR、 %TRR、 %TRR 及び %TRR であったが、抽出、マセロザイム処理、アミラーゼ処理、NaOH 加水分解により、最終的にはそれぞれの試料において、 %TRR(mg/kg)、 %TRR(mg/kg)、 %TRR(mg/kg)及び %TRR(mg/kg)に減少した。

表 2 各組織中の総残留放射能(TRR)

	葉		種子		さや		残りの部位	
	mg/kg ^a	%TRR ^b	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
直接燃焼分析 TRR ^c								
抽出液								
抽出液(E-1)								
水抽出液(E-2)								
抽出残渣(S-1)								
合計								

a: ジメテナミド P 換算濃度

b: 抽出液と抽出残渣の合計より求めた、各試料中の総残留放射能(TRR)に対する割合(%)

c: 試料を直接燃焼分析して求めた総残留放射能(TRR)

表 3 各組織中の溶媒抽出後残渣の分析結果

	葉		種子		さや		残りの部位	
	mg/kg ^a	%TRR ^b	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
抽出残渣 ^c								
可溶性画分(S-2)								
マセロザイム可溶性画分 (S-5)								
アミラーゼ可溶性画分(S-7)								
NaOH可溶性画分(S-9)								
可溶性画分の合計								
最終残渣(S-12)								
合計								

a: ジメテナミド P 換算濃度

b: 抽出液と抽出残渣の合計より求めた、試料中の総残留放射能 (TRR) に対する割合 (%)

c: 及び水抽出後の残渣 (S-1)

代謝: 葉、種子、さや及び植物体の残りの部位の代謝物分析の結果をそれぞれ表 4、表 5、表 6 及び表 7 に示す。

いずれの試料においても、未変化のジメテナミド P は検出されなかった。

葉における主要残留物は極性成分(一部はグルコース、フルクトース及びスクロース等の糖類から成る)及び 体(M27P())であり、それぞれ %TRR(mg/kg)及び %TRR(mg/kg)検出された。それ以外の代謝物として M81P((iso))、(M50P((rota))、M40P((iso))、M14P((rota)) /M30P()/その他、(M31P())、(M23P())/M51P()及び (M26P()) /M11P()が検出されたが、いずれも %TRR(mg/kg)以下であった。

種子における主要残留物は極性成分であり、 %TRR(mg/kg)検出された。抽出液中成分のなかで、アセトンで沈殿しプロテアーゼ処理により可溶化される放射性成分は、HPLC 分析により主に極性成分からなることが示され、取り込まれたタンパク質に由来すると考えられた。また、プロテアーゼ処理後沈殿する画分(E-8 及び E-12)もタンパク質に由来すると考えられた。同様に、抽出残渣中成分のなかで、 可溶性画分のタンパク沈殿後の沈殿(S-4)中の放射性成分も、アセトンで沈殿したことから、タンパク質に由来すると考えられた。

さやにおける主要残留物は極性成分であり、 %TRR(mg/kg)検出された。それ以外の代謝物として M14P((rota))/M30P()/その他、M31P()、M27P()及び M23P()/M51P()も検出されたが、いずれも %TRR(mg/kg)以下であった。

植物体の残りの部位における主要残留物は極性成分であり、 %TRR(mg/kg)検出され

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。
Dimethenamid-P

た。それ以外の代謝物として M81P((iso))、M14P((rota))/M30P
()/その他、M31P()、M27P()及び M23P()
/M51P()も検出されたが、いずれも %TRR(mg/kg)以下であった。

表 4 葉の代謝物分析の結果

	抽出液 ^a		抽出残渣 ^b		合計	
	mg/kg ^c	%TRR ^d	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
葉における総残留放射能						
同定された成分						
極性成分 ^e						
M81P						
M50P						
M40P						
M14P/M30P/その他						
M31P						
M27P						
M23P/M51P						
M26P/M11P						
特徴付された成分						
HPLC のその他のピーク						
リグニン沈殿後の上清(S-10)						
リグニン沈殿後の沈殿(S-11)						
同定及び特徴付された成分						
最終残渣(S-12)						
合計						
ND: 検出せず						
a: 抽出液(E-1)及び水抽出液(E-2)の合計						
b: 可溶性画分(S-2)、マセロザイム可溶性画分(S-5)及びアミラーゼ可溶性画分(S-7)の合計						
c: ジメテナミドP 換算濃度						
d: 抽出液と抽出残渣の合計より求めた、葉中の総残留放射能(TRR)に対する割合(%)						
e: 一部はグルコース、フルクトース及びスクロース等の糖類から成る。						
f: HPLC により 60 個のピークに分離され、最大ピークは %TRR(mg/kg)						
g: HPLC により 40 個のピークに分離され、最大ピークは %TRR(mg/kg)						

表 5 種子の代謝物分析の結果

	抽出液 ^a		抽出残渣 ^b		合計	
	mg/kg ^c	%TRR ^d	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
種子における総残留放射能						
同定された成分						
極性成分 ^e						
特徴付された成分						
HPLC のその他のピーク						
抽出液の分配後の						
層 (E-3) ^h						
水抽出液のタンパク						
沈殿後の上清 (E-9) ⁱ						
抽出液のプロテアーゼ処理						
後の沈殿 (E-8)						
水抽出液のプロテアーゼ処理後						
の沈殿 (E-12)						
可溶性画分の						
タンパク沈殿後の沈殿 (S-4)						
リグニン沈殿後の上清 (S-10)						
リグニン沈殿後の沈殿 (S-11)						
同定及び特徴付された成分						
最終残渣 (S-12)						
合計						
a:	抽出液のタンパク沈殿後の上清 (E-5)、続くプロテアーゼ処理後のプロテアーゼ可溶性画分 (E-7) 及び水抽出液のプロテアーゼ可溶性画分 (E-11) の合計					
b:	可溶性画分の上清 (S-3)、マセロザイム可溶性画分 (S-5) 及びアミラーゼ可溶性画分 (S-7) の合計					
c:	ジメテナミド P 換算濃度					
d:	抽出液と抽出残渣の合計より求めた、種子中の総残留放射能 (TRR) に対する割合 (%)					
e:	一部はグルコース、フルクトース及びスクロース等の糖類から成る。					
f:	HPLC により 109 個のピークに分離され、最大ピークは 1.2%TRR (0.008 mg/kg)					
g:	HPLC により 3 個のピークに分離され、最大ピークは 0.7%TRR (0.005 mg/kg)					
h:	HPLC 分析を実施					
i:	HPLC 分析を実施					

表 6 さやの代謝物分析の結果

	抽出液 ^a		抽出残渣 ^b		合計	
	mg/kg ^c	%TRR ^d	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
さやにおける総残留放射能						
同定された成分						
極性成分 ^e						
M14P/M30P/その他						
M31P						
M27P						
M23P/M51P						
特徴付された成分						
HPLC のその他のピーク						
リグニン沈殿後の上清(S-10)						
リグニン沈殿後の沈殿(S-11)						
同定及び特徴付された成分						
最終残渣(S-12)						
合計						
ND: 検出せず						
a:	抽出液(E-1)及び水抽出液(E-2)の合計					
b:	可溶性画分(S-2)、マセロザイム可溶性画分(S-5)及びアミラーゼ可溶性画分(S-7)の合計					
c:	ジメテナミドP 換算濃度					
d:	抽出液と抽出残渣の合計より求めた、さや中の総残留放射能(TRR)に対する割合(%)					
e:	一部はグルコース、フルクトース及びスクロース等の糖類から成る。					
f:	HPLC により 75 個のピークに分離され、最大ピークは %TRR(mg/kg)					

表 7 植物体の残りの部位の代謝物分析の結果

	抽出液 ^a		抽出残渣 ^b		合計	
	mg/kg ^c	%TRR ^d	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
植物体の残りの部位における総残留放射能						
同定された成分						
極性成分 ^e						
M81P						
M14P/ M30P/その他						
M31P						
M27P						
M23P/M51P						
特徴付された成分						
HPLC のその他のピーク						
リグニン沈殿後の上清(S-10)						
リグニン沈殿後の沈殿(S-11)						
同定及び特徴付された成分						
最終残渣(S-12)						
合計						
ND: 検出せず						
a: 抽出液(E-1)及び水抽出液(E-2)の合計						
b: 可溶性画分(S-2)、マセロザイム可溶性画分(S-5)及びアミラーゼ可溶性画分(S-7)の合計						
c: ジメテナミド P 換算濃度						
d: 抽出液と抽出残渣の合計より求めた、植物体の残りの部位中の総残留放射能(TRR)に対する割合(%)						
e: 部分的にグルコース、フルクトース及びスクロース等の糖類から成る。						
f: HPLC により 71 個のピークに分離され、最大ピークは 1.2%TRR(0.007 mg/kg)						
g: HPLC により 2 個のピークに分離され、最大ピークは 0.3%TRR(0.002 mg/kg)						

推定代謝経路: ジメテナミド P の大豆における推定代謝経路を図 4 に示す。

ジメテナミド P は大豆において、最初に塩素原子が [] に置換([] 抱合)されたのち、 [] 側鎖の [] 及び [] の脱離に続く [] ならびに還元、さらにチオエーテルの [] への酸化(S-酸化)を受ける。続いて [] 、酸化に続く [] の [] への酸化(S-酸化)、さらなる [] 後の酸化又はエーテルの開裂、それに続く [] を経て代謝されることが考えられる。他の経路として、ジメテナミド P は加水分解的脱塩素化を受けたのち、酸化、それに続くエーテルの開裂、又は、 [] によっても代謝されることが考えられる。いずれにしても、ジメテナミド P は、最終的には C1 及び/又は C2 化合物に分解され、糖類やタンパク質などの天然化合物に取り込まれると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Dimethenamid-P

図 4 ジメテナミド P の大豆における推定代謝経路