

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 動物体内運命に関する試験

^{14}C 標識フェンアミドンを用いたラットにおける代謝試験（吸収、分布、代謝及び排泄）
（資料 No. 運命-1）

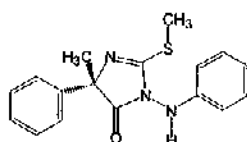
試験機関：Rhône-Poulenc Agro(仏) Sophia Antipolis 研究所
報告書作成年：1999年

供試化合物：

非標識フェンアミドン（以下、非標識体とする）：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン（IUPAC）

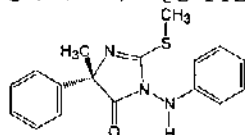
構造式：



純度： %以上

放射性炭素同位体標識フェンアミドン：次の二種類を供試した。

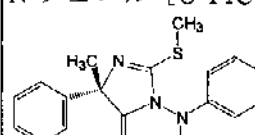
C-フェニル-[U- ^{14}C]フェンアミドン



*：標識位置

放射化学的純度：
バッチ CFQ 9085： % (HPLC)
バッチ CFQ10015： % (HPLC)
比放射能：
バッチ CFQ 9085： GBq/mmol
バッチ CFQ10015： GBq/mmol
以下、CP 標識体とする。

N-フェニル-[U- ^{14}C]フェンアミドン



*：標識位置

放射化学的純度：
バッチ CFQ9086： % (HPLC)
比放射能：
バッチ CFQ9086： GBq/mmol
以下、NP 標識体とする。

標識位置設定理由：

供試動物：Sprague-Dawley ラット雌雄、体重範囲140~330 g

投与液の調製：

CP 標識体投与液：CP 標識体を、非標識体で混合希釈し、メチルセルロース水溶液（0.75%）中で懸濁させてラットに強制経口投与した。

NP 標識体投与液：NP 標識体を、CP 標識体投与液と同様に調製してラットに強制経口投与した。

試験項目及び用量：

本代謝試験では、ADME 試験（試験Ⅰ）、血中動態試験（試験Ⅱ、報告書では血中カイネティックス試験表示）、組織内分布・消長試験（試験Ⅲ、報告書では組織カイネティックス試験と表示）及び胆汁排泄試験（試験Ⅳ、報告書では胆汁カイネティックス試験と表示）の計4種類の試験を行った。

本動物代謝試験で実施した各試験の試験群及び用量を下表にまとめた。（なお、試験Ⅰ~Ⅳの番号は本報告書では使用されていないが、申請者が本抄録中で便宜的に使用する。）

各試験の試験群及び用量

試験	試験	投与液の種類	試験群	試験群当り動物数	CP 標識体の用量 (mg/kg)	NP 標識体の用量 (mg/kg)
I	吸収、分布、代謝及び排泄試験 (ADME 試験)	CP 標識体	高用量 単回投与	雌雄各 5匹	300	/
			低用量 単回投与		3	
			低用量 反復投与		3	
		NP 標識体	低用量 単回投与		3	
			低用量 反復投与		3	
II	血中動態試験	CP 標識体	高用量 単回投与	雌雄各 5匹	300	/
			低用量 単回投与		3	
		NP 標識体	低用量 単回投与		3	
III	組織内分布・消長試験	CP 標識体	高用量 単回投与	雌雄各 16匹	300	/
			低用量 単回投与		3	
IV	胆汁排泄試験	CP 標識体	低用量 単回投与	雌雄各 5匹	3	/
		NP 標識体	低用量 単回投与		3	

投与量設定の根拠：

試験方法

ラットへの投与（試験 I～IV）：

単回投与：CP 標識体投与液を、300mg/kg（高用量）又は3mg/kg（低用量）の一用量でそれぞれラットに強制経口投与した。NP 標識体投与液に関しては、3mg/kg（低用量）の一用量のみをラットに強制経口投与した。

反復投与：非標識体を1日1回14日間反復投与した後、15日目に CP 標識体及び NP 標識体投与液をそれぞれ3mg/kg（低用量）の一用量で単回強制経口投与した。

試料採取：

試験 I（ADME 試験）

投与後7日間（168時間）に渡り、24時間ごとに尿および糞試料を採取した。投与後168時間目にラットを屠殺し、次の組織/臓器を採取した。また屠殺後に、代謝ケージを洗浄してケージ洗浄液を採取した。

肝臓、腎臓、心臓、肺、脳、脾臓、筋肉、腹部脂肪、卵巣（生殖腺：雌）、精巣（生殖腺：雄）、腸管（消化管）および内容物、胃および内容物、骨および骨髄、副腎、子宮（雌）、膵臓、眼球、甲状腺、ハーダー腺、皮膚および被毛、カーカス、心臓血（心臓血を採取し、遠心分離して血漿を分離した。）

なお、CP 標識投与液を高用量（300mg/kg）で投与した予備試験において、投与後48時間の呼気から放射能が検出されなかったため、本試験では呼気の測定は行わなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験Ⅱ（血中動態試験）

投与前、投与後 0.5、1、2、3、4、5、6、8、及び24時間、その後は24時間間隔で最終採血時点として投与後166時間まで、ラットの尾の先端部から血液を採血した。（なお、「CP 標識体一高用量単回投与群」の雌ラットについては、最終採血時点を投与後366時間とした。）

試験Ⅲ（組織内分布・経時的消長試験）

試験Ⅱ（血中動態試験）の各採血時点のうち、最も高い血中濃度を示した時点を T_{max} とし、 T_{max} 時の濃度がそれぞれ $1/2$ ($1/2 T_{max}$)、 $1/4$ ($1/4 T_{max}$) 及び $1/10$ ($1/10 T_{max}$) となると考えられる時点でラットを屠殺した。屠殺したラットから、試験Ⅰ（ADME試験）で採取した組織/臓器（心臓血を除く）を採取した。

試験Ⅳ（胆汁排泄試験）

投与24時間前に胆管にカニューレを挿入したラットから、次の採取時間帯で尿、糞及び胆汁を採取した。

尿：投与後 0～6時間、6～24時間および24～48時間

糞：投与後 0～24時間および24～48時間

胆汁：投与後 0、0～6時間、6～24時間および24～48時間

投与後48時間目にラットを屠殺し、次の組織/臓器を採取した。また屠殺後に代謝ケージを洗浄してケージ洗浄液を採取した。

消化管および内容物、胃および内容物、カーカス

心臓血（心臓血を採取し、遠心分離して血漿を分離した。）

放射能測定（試験Ⅰ～Ⅳ）：

液体試料：尿（試験Ⅰ及びⅣ）、血漿（試験Ⅰ～Ⅳ）、ケージ洗浄液（試験Ⅰ及びⅣ）、糞抽出液（試験Ⅰ及びⅣ）および胆汁（試験Ⅳ）

液体試料には、シンチレーションカクテルを加え、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。血液に関しては、一部を秤量して乾燥させた後、燃焼させて放射能を測定した。

固体試料：糞試料（試験Ⅰ及びⅣ）に関しては、アセトニトリル/水 混液による抽出液を液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。糞試料の残渣は燃焼させて放射能を測定した。

試験Ⅰ、Ⅱ及びⅢで採取した組織/臓器試料のうち、「脂肪、精巢、骨および骨髄、脾臓」は細切りした各組織の一部を、「甲状腺、ハーダー腺、卵巣、副腎」は組織全体を燃焼させてLSCで放射能を測定した。

その他の組織/臓器は、ホモジネートした後に、一部をセルロース粉末と共に燃焼させて放射能をLSCで測定した。

なお、血漿分離後の血液試料については、乾燥させた後、燃焼させて放射能を測定した。

代謝物の分離と同定又は推定（試験Ⅰ（ADME試験）および試験Ⅳ（胆汁排泄試験））

試験Ⅰ及び試験Ⅳから得られた「尿試料」、「糞試料のアセトニトリル/水 抽出液」および「胆汁試料」は、試験群、性および採取時点ごとに保存し、ラジオ高速液体クロマトグラフィー（ラジオHPLC）で分析した。

一部の「尿試料」、「糞試料の抽出液」及び「胆汁試料」について、液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（LC/MS）で、代謝物の化学構造を同定および推定した。また一部の試料について、酵素分解（ β -グルクロニダーゼ[牛肝および/又は *E. Coli* 由来]およびスルファターゼ）および化学的加水分解（1N HClおよび1N NaOH）を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイオクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果

排泄

試験 I (ADME 試験)における投与放射能の経時的排泄パターンを、下表に示した。

試験 I (ADME 試験)における投与放射能の排泄パターン

(数値は投与放射能に対する%, n=5の平均値)

試験群		CP 標識体					NP 標識体					
		投与後 時間	尿試料 (累積値)	糞試料 (累積値)	ケージ 洗浄液	組織内 放射能	合計*	尿試料 (累積値)	糞試料 (累積値)	ケージ 洗浄液	組織内 放射能	合計*
高用量 単回投与 (300 mg/kg)	雄	0~24	4.65	54.54	—	—	59.19					
		0~48	8.65	76.53	—	—	85.18					
		0~72	10.02	82.38	—	—	92.40					
		0~96	10.37	83.35	—	—	93.37					
		0~120	10.48	83.54	—	—	94.02					
		0~144	10.52	83.61	—	—	94.13					
		0~168	10.56	83.65	2.53	0.29	97.02					
	雌	0~24	5.66	72.00	—	—	77.66					
		0~48	10.86	87.95	—	—	98.81					
		0~72	12.39	90.39	—	—	102.78					
		0~96	12.82	90.80	—	—	103.62					
		0~120	12.94	90.92	—	—	103.86					
		0~144	12.98	90.96	—	—	103.94					
		0~168	13.01	90.99	2.47	0.27	106.74					
低用量 単回投与 (3mg/kg)	雄	0~24	6.74	47.84	—	—	54.58	15.99	41.56	—	—	57.55
		0~48	10.48	69.90	—	—	80.38	23.48	57.57	—	—	81.05
		0~72	11.94	77.70	—	—	89.64	25.57	63.08	—	—	88.65
		0~96	12.42	79.82	—	—	92.24	26.22	63.91	—	—	90.13
		0~120	12.64	80.44	—	—	93.08	26.44	64.15	—	—	90.59
		0~144	12.73	80.61	—	—	93.34	26.54	64.23	—	—	90.77
		0~168	12.79	80.69	2.35	0.65	96.47	26.59	64.28	4.09	0.53	95.49
	雌	0~24	27.45	30.78	—	—	58.23	26.17	32.53	—	—	59.00
		0~48	36.21	47.33	—	—	83.54	36.74	44.80	—	—	81.54
		0~72	38.64	50.94	—	—	89.58	39.28	47.85	—	—	87.13
		0~96	39.38	51.64	—	—	91.02	39.96	49.08	—	—	89.04
		0~120	39.66	51.91	—	—	91.57	40.25	49.40	—	—	89.65
		0~144	39.85	52.04	—	—	91.89	40.37	49.48	—	—	89.85
		0~168	39.94	52.11	5.68	0.45	98.27	40.45	49.55	5.44	0.62	96.05
低用量 反復投与 (3mg/kg)	雄	0~24	6.34	32.91	—	—	39.25	25.91	13.82	—	—	39.73
		0~48	9.10	72.35	—	—	81.45	35.48	31.94	—	—	67.42
		0~72	10.53	81.35	—	—	91.88	38.72	38.87	—	—	77.59
		0~96	11.08	83.84	—	—	94.92	39.86	49.51	—	—	89.37
		0~120	11.25	84.44	—	—	95.69	40.28	51.42	—	—	91.70
		0~144	11.34	84.60	—	—	95.94	40.48	51.89	—	—	92.37
		0~168	11.39	84.68	3.98	0.54	100.59	40.58	52.03	4.68	0.66	97.95
	雌	0~24	23.17	44.52	—	—	67.69	33.04	28.94	—	—	61.98
		0~48	28.66	56.91	—	—	85.57	41.56	39.45	—	—	81.01
		0~72	30.44	59.58	—	—	90.02	44.73	41.68	—	—	86.41
		0~96	31.02	60.15	—	—	91.17	45.92	44.08	—	—	90.00
		0~120	31.18	60.31	—	—	91.41	46.23	44.54	—	—	90.77
		0~144	31.26	60.40	—	—	91.66	46.40	44.65	—	—	91.20
		0~168	31.31	60.45	10.49	0.52	102.76	46.49	44.71	7.82	0.65	99.66

— : 採取および分析せず。 * : 投与終了後0~144時間の数値は申請者が算出した。

CP 標識体：ADME 試験において、高用量および低用量（単回投与および反復投与）を投与したラットの主排泄経路は共通して糞であった。投与放射能の糞中／尿中排泄率は、次のとおりであった。

CP 標識体	糞中排泄率		尿中排泄率	
	雄	雌	雄	雌
高用量単回投与群	83.65%	90.99%	10.56%	13.01%
低用量単回投与群	80.69%	52.11%	12.79%	39.94%
低用量反復投与群	84.68%	60.45%	11.39%	31.31%

低用量反復投与群および低用量単回投与群の雌雄では、投与回数によって尿中および糞中排泄率に大きな変動が認められなかった。従って、反復投与（投与回数の増加に伴う）による¹⁴C標識フェンアミドンの代謝の亢進は無いものと考えられる。

NP 標識体：ADME 試験において、低用量で単回投与および反復投与したラットの主排泄経路に、性差が認められた。雄では、単回及び反復投与群とも主要排泄経路は糞であった。一方、雌において、糞中及び尿中に同程度排泄された。投与放射能の糞中／尿中排泄率は、次のとおりであった。

NP 標識体	糞中排泄率		尿中排泄率	
	雄	雌	雄	雌
低用量単回投与群	64.28%	49.55%	26.59%	40.45%
低用量反復投与群	52.03%	44.71%	40.58%	46.49%

単回投与と比較して、反復投与した場合、雄の尿中排泄率が変化（増加）した。単回投与された雄の尿中排泄率は26.59%、反復投与された雄の尿中排泄率は40.58%であった。一方、雌の尿中排泄率は投与回数によって変化しなかった（単回投与：40.45%、反復投与：46.49%）。

なお、CP 標識体または NP 標識体を単回投与（高用量および低用量）したラット雌雄では、投与後48時間で投与放射能の約80%が排出された。このことから、フェンアミドンの排泄は比較的早いと考えられる。また、CP 標識体または NP 標識体を反復投与したラット雌雄では、投与終了後48時間以内に雄で約70~80%（CP 標識体：81.45%、NP 標識体：67.42%）、雌で約80~85%（CP 標識体：85.57%、NP 標識体：81.01%）が排出された。従って、反復投与による排泄率の低下は無視するか、または極めて僅かであると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験Ⅳ(胆汁排泄試験)：試験Ⅳにおける投与放射能の排泄パターンを、下表に示した。

試験Ⅳ(胆汁排泄試験)における投与放射能の排泄パターン

(数値は投与放射能に対する%[累積値], n=5の平均値)

		投与後 採取時間 (hour)	尿 試料	糞 試料	胆汁 試料	ケージ 洗浄液	組織内 放射能	合計*
CP 標識体	雄	0~ 6	4.39	—	70.71	—	—	75.10
		0~ 24	9.91	2.73	79.74	—	—	92.38
		0~ 48	10.67	4.11	79.72	1.13	0.68	96.31
低用量単回投与 (3mg/kg)	雌	0~ 6	4.46	—	49.64	—	—	54.10
		0~ 24	10.75	0.21	68.06	—	—	79.10
		0~ 48	11.69	1.08	72.62	1.90	5.37	92.66
NP 標識体	雄	0~ 6	3.18	—	76.76	—	—	79.94
		0~ 24	6.07	2.46	83.15	—	—	91.68
		0~ 48	6.33	4.46	83.41	0.92	1.01	96.13
低用量単回投与 (3mg/kg)	雌	0~ 6	7.04	—	35.95	—	—	42.99
		0~ 24	15.76	0.11	61.01	—	—	76.88
		0~ 48	17.62	1.36	71.30	1.50	5.43	97.21

—：採取および分析せず。 *：投与終了後0~48時間の数値は申請者が算出した。

CP 標識体：投与放射能の尿中排泄率は、雄で10.67%および雌で11.69%であった。雌雄の糞中排泄率は、試験Ⅰ(ADME試験)で得られた結果(CP 標識体 低用量単回投与後の0~48時間：雄 69.90%、雌 47.33%)よりも低く、雄で4.11%、雌で1.08%であった。

一方、胆汁排泄率は雄で79.72%および雌で72.62%であった。これらの結果から、試験Ⅰ(ADME試験)で糞から回収された放射能の大部分は、胆汁排泄によるものと考えられる。

NP 標識体：投与放射能の尿中排泄率は、雄で6.33%および雌で17.62%であり、試験Ⅰ(ADME試験)で認められた尿中排泄率(NP 標識体 低用量単回投与後の0~48時間：雄23.48%、雌 36.74%)を下回った。また雌雄の糞中排泄率も、雄で 4.46%、雌で1.36%であり、試験Ⅰ(ADME試験)で得られた結果(投与後0~48時間、雄：57.57%、雌44.80%)を下回った。

一方、胆汁排泄率は雄で83.41%および雌で71.30%であった。これらの結果から、試験Ⅰ(ADME試験)で糞から回収された放射能の大部分は、胆汁排泄によるものと考えられる。

吸 収

試験IV（胆汁排泄試験）の結果（表 5）から、フェンアミドンの吸収率を投与後0～48時間における「胆汁中の放射能」＋「尿中放射能」＋「組織内放射能」として、申請者が算出した。

吸収率	雄	雌
低用量(3mg/kg)単回投与（CP標識体）	91.07 %	89.67 %
低用量(3mg/kg)単回投与（NP標識体）	90.75 %	94.35 %

組織内分布

試験 I（ADME試験）：投与終了後168時間日の、ラット各組織への分布を表 1（残留濃度： ^{14}C 標識フェンアミドン μg 当量/g）及び表 2（投与放射能に対する%）に、また組織/血漿比を表 3に示した。

CP 標識体

組織内分布：各投与群に共通して、甲状腺に最も高い組織内濃度が認められた。また血液、肝臓、腎臓、皮膚及び被毛に比較的高い組織内濃度が認められた。

低用量を単回または反復投与した雄において、反復投与時の各組織内濃度が上昇する傾向が認められた。一方、この反復投与時の組織内濃度の上昇は、雌では認められなかった。従って、反復投与後に雄の分布レベルの相対的変化があったものと推察される。

組織/血漿比：各投与群及び雌雄を通じて、甲状腺で最も高い組織/血漿比が認められた。従って、CP 標識体は血漿と比較して甲状腺への親和性を示し、かつ平衡化していると考えられる。また多くの臓器（特に血液）で、組織/血漿比が1以上となった。

NP 標識体

組織内分布：各投与群を通じて、血液、肝臓、腎臓、脾臓及び甲状腺において、比較的高い放射能が認められたが、組織内濃度はいずれも「 $0.11\mu\text{g}$ 当量/g」以下であった。

組織/血漿比：投与群及び雌雄を通じて、血液で最も高い組織/血漿比が認められた。従って NP 標識フェンアミドンは、血漿と比較して血液への親和性を示し、かつ平衡化していると考えられる。また多くの臓器（特に肝臓）で、組織/血漿比が1以上となった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 1: ラット各組織への分布 (投与後168時間目、残留濃度)

ラット組織	[¹⁴ C]標識フェンアミドン μg 当量/組織 g (各数値は $n=5$ の平均値)									
	CP 標識体						NP 標識体			
	高用量単回投与		低用量単回投与		低用量反復投与		低用量単回投与		低用量反復投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝 臓	1.68	1.50	0.04	0.04	0.055	0.047	0.060	0.064	0.10	0.07
腎 臓	0.71	0.81	0.02	0.01	0.032	0.014	0.029	0.022	0.08	0.03
心 臓	0.60	0.90	0.007	0.01	0.008	0.007	0.010	0.013	0.02	0.016
肺	0.82	1.63	0.01	0.01	0.024	0.018	0.013	0.022	0.03	0.03
脳	n. d.	0.12	0.002	0.002	0.004	0.002	0.001	0.002	0.0027	0.002
脾 臓	0.62	1.10	0.01	0.01	0.014	0.015	0.020	0.030	0.05	0.06
筋 肉	n. d.	0.05	0.001	n. d.	0.001	n. d.	n. d.	0.001	0.004	0.003
脂 肪	n. d.	0.15	0.01	0.003	0.009	0.003	0.001	0.002	0.007	0.004
生 殖 腺 (雄: 精巣) (雌: 卵巣)	n. d.	0.12	0.001	0.01	0.004	0.005	0.0003	0.003	0.003	0.007
腸及び内容物	0.46	0.50	0.01	0.01	0.013	0.007	0.006	0.010	0.03	0.010
骨及び骨髓	0.08	0.15	0.003	0.004	0.005	0.003	0.004	0.006	0.007	0.005
副 腎	n. d.	n. d.	0.01	0.01	0.011	n. d.	n. d.	0.009	0.014	0.012
カ ー カ ス	0.47	0.58	0.01	0.01	0.011	0.010	0.006	0.007	0.009	0.009
血 液	2.68	5.01	0.03	0.05	0.061	0.043	0.070	0.085	0.11	0.10
血 漿	0.25	0.40	0.005	0.005	0.009	0.005	0.001	0.002	0.008	0.006
皮膚及び被毛	0.91	1.12	0.03	0.02	0.026	0.022	0.014	0.027	0.02	0.03
子 宮	/	0.36	/	0.005	/	0.005	/	0.004	/	0.005
眼	n. d.	n. d.	0.004	0.004	0.003	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
ハーダー腺	0.25	0.19	0.01	0.01	0.022	0.006	0.003	0.004	0.006	0.005
腺 臓	0.10	0.31	0.002	0.004	0.006	0.003	0.003	0.004	0.007	0.005
甲 状 腺	26.45	28.17	2.30	2.23	4.73	2.22	n. d.	0.010	0.07	0.06
胃及び内容物	n. d.	0.04	n. d.	n. d.	0.001	0.001	0.001	0.001	0.003	0.002

n. d. : 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2: ラット各組織への分布 (投与終了後168時間目、投与放射能に対する%)

ラット組織	投与放射能に対する% (各数値はn=5の平均値)									
	CP 標識体						NP 標識体			
	高用量単回投与		低用量単回投与		低用量反復投与		低用量単回投与		低用量反復投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝 臓	0.04	0.028	0.08	0.07	0.083	0.076	0.132	0.119	0.14	0.12
腎 臓	0.003	0.003	0.006	0.004	0.008	0.004	0.011	0.007	0.02	0.01
心 臓	0.001	0.001	0.001	0.002	0.0010	0.0009	0.002	0.0022	0.003	0.002
肺	0.002	0.004	0.003	0.003	0.003	0.003	0.003	0.005	0.005	0.005
脳	n. a.	0.0004	0.001	0.001	0.0009	0.0008	0.0004	0.0008	0.0005	0.0007
脾 臓	0.0008	0.0010	0.001	0.001	0.0009	0.0014	0.002	0.003	0.003	0.004
筋 肉	n. a.	0.0004	0.0004	n. a.	0.001	n. a.	n. a.	0.001	0.002	0.002
脂 肪	n. a.	0.0001	0.0001	0.0003	0.0004	0.0003	0.0002	0.0002	0.0004	0.0004
生殖腺 (雄: 精巣) (雌: 卵巣)	n. a.	0.00003	0.0004	0.0002	0.0020	0.0001	0.0002	0.0001	0.0020	0.0001
腸及び内容物	0.02	0.02	0.04	0.03	0.030	0.025	0.025	0.034	0.06	0.03
骨及び骨髄	0.0003	0.0005	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.0018	0.002	0.002
副 腎	n. a.	0.0002	0.0002	0.0001	0.0001	n. a.	n. a.	0.001	0.0001	0.0002
カーカス	0.11	0.12	0.23	0.16	0.188	0.215	0.141	0.160	0.17	0.19
血 液	0.04	0.02	0.04	0.05	0.050	0.049	0.086	0.100	0.10	0.09
血 漿	0.0013	0.0006	0.002	0.002	0.002	0.002	0.0004	0.001	0.002	0.002
皮膚及び被毛	0.07	0.07	0.24	0.12	0.154	0.135	0.121	0.188	0.15	0.19
子 宮	/	0.0004	/	0.0004	/	0.0005	/	0.0004	/	0.0005
眼	n. a.	n. a.	0.0002	0.0002	0.0001	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
ハーダー腺	0.0001	0.0001	0.0006	0.0003	0.0009	0.0003	0.00015	0.0002	0.0002	0.0002
膵 臓	0.0001	0.0004	0.0002	0.0004	0.0004	0.0003	0.0004	0.0006	0.0004	0.0005
甲 状 腺	0.001	0.001	0.008	0.007	0.01	0.006	n. a.	0.00004	0.00015	0.00012
胃及び内容物	n. a.	0.0003	n. a.	n. a.	0.001	0.001	0.001	0.001	0.003	0.002
合 計	0.29	0.27	0.65	0.45	0.54	0.52	0.53	0.62	0.66	0.65

n. a. : 検出限界以下のため、算出不可能

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイオエルクroppサイエンス株式会社にある。

表 3：ADME 試験における組織/血漿比（投与終了後168時間目）

ラット組織	組織/血漿比（各数値はn=5の平均値）									
	CP 標識体						NP 標識体			
	高用量単回投与		低用量単回投与		低用量反復投与		低用量単回投与		低用量反復投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
肝 臓	7.20	4.67	8.34	8.03	6.92	10.94	29.30	27.38	14.14	15.02
腎 臓	2.96	2.32	3.97	2.50	3.90	3.20	15.90	9.95	11.09	6.37
心 臓	2.50	2.47	1.55	1.94	0.96	1.43	6.44	5.73	3.33	3.19
肺	3.64	4.66	2.57	2.89	2.75	4.04	6.78	10.02	3.94	5.21
脳	n. a.	0.30	0.49	0.40	0.46	0.55	1.05	0.86	0.38	0.42
脾 臓	2.68	2.96	2.24	2.16	1.67	3.46	10.44	13.07	6.49	11.34
筋 肉	n. a.	0.05	0.31	n. a.	0.29	n. a.	n. a.	1.43	0.52	0.57
脂 肪	n. a.	0.30	2.53	0.63	0.89	0.61	1.32	1.09	0.83	0.81
生殖腺 (雄：精巣) (雌：卵巣)	n. a.	0.14	0.30	1.95	0.45	1.58	0.32	3.29	0.42	1.31
腸及び内容物	1.95	1.45	1.95	1.88	1.42	1.67	3.24	4.87	3.33	2.01
骨及び骨髄	0.30	0.34	0.77	0.69	0.56	0.61	2.61	2.62	1.02	1.02
副 腎	n. a.	n. a.	3.43	3.74	1.34	n. a.	n. a.	4.42	1.93	2.20
カーカス	2.02	1.79	2.32	1.53	1.29	2.23	2.50	3.11	1.27	1.68
血 液	11.74	13.95	7.61	10.62	7.94	9.73	34.94	38.78	14.61	18.18
皮膚及び被毛	4.02	3.42	6.65	3.99	3.17	4.86	7.17	11.73	3.39	6.00
子 宮	/	1.07	/	0.89	/	1.22	/	1.75	/	1.02
眼	n. a.	n. a.	0.93	0.78	0.29	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.	n. a.
ハーダー腺	0.95	0.48	2.35	1.24	2.62	1.26	1.71	2.08	0.88	0.98
膝 臓	0.40	0.74	0.47	0.67	0.67	0.75	1.71	1.83	0.94	0.92
甲 状 腺	105.29	83.51	494.01	394.79	523.51	467.88	n. a.	16.47	10.71	15.24
胃及び内容物	n. a.	0.11	n. a.	n. a.	0.20	0.56	0.82	1.43	0.39	0.43

n. a. : 検出限界以下のため、算出不可能

血中動態

試験Ⅱ（血中動態試験）における、血中濃度の経時的推移を表4に記す。

表 4：血中濃度の経時的推移

投与後 時間 (hour)	血中濃度： [¹⁴ C]標識フェンアミドン当量 $\mu\text{g}/\text{組織 g}$ (各数値は n = 5の平均値)					
	CP 標識体				NP 標識体	
	高用量単回投与		低用量単回投与		低用量単回投与	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0	0.00	0.00	0.000	0.000	0.000	0.000
0.5	1.90	4.30	0.154	0.229	0.230	0.263
1	3.12	5.62	0.155	0.226	0.222	0.227
2	4.43	6.32	0.175	0.235	0.218	0.189
3	6.25	7.79	0.249	0.289	0.338	0.305
4	7.97	9.63	0.270	0.291	0.228	0.232
5	8.75	10.93	0.236	0.271	0.227	0.255
6	9.97	11.84	0.238	0.264	0.199	0.235
8	10.74	14.58	0.233	0.263	0.192	0.222
24	9.43	17.60	0.140	0.162	0.131	0.178
48	6.28	13.26	0.086	0.109	0.119	0.107
72	3.96	10.35	0.067	0.093	0.079	0.092
96	3.03	8.34	0.043	0.064	0.064	0.085
120	2.27	7.03	0.035	0.055	0.057	0.066
144	2.20	5.78	0.026	0.044	0.050	0.059
168	1.54	4.86	0.022	0.037	0.045	0.052
216		3.75				
288		2.29				
336		1.70				

表4の結果を基に、TOPFIT コンピュータープログラムで算出した薬物動学的パラメーターを次表に示す。

フェンアミドンの 薬物動学的 パラメーター	CP 標識体				NP 標識体		
	高用量単回投与		低用量単回投与		低用量単回投与		
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
算出に用いた投与後の最終時点	168 h	168 h	336 h	168 h	168 h	168 h	168 h
最高血中濃度 C_{MAX} (μg 当量/g)	12.16	17.70	17.70	0.29	0.31	0.34	0.31
最高血中濃度到達時間 T_{MAX} (hour)	14.64	25.68	25.68	4.29	3.71	3.02	2.63
血中濃度半減期 $T_{1/2}$ (hour)	71.98	83.5	103.48	61.50	72.84	109.24	129.60
血中濃度-時間曲線下面積 $AUC_{0-\infty}$ (μg 当量 \cdot h/g)	775.66	1674.82	2194.36	12.79	16.61	15.37	17.59

C_{MAX} ：最高血中濃度、 T_{MAX} ：最高血中濃度到達時間、 $T_{1/2}$ ：血中濃度半減期

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

CP 標識体：

雌雄の血中濃度曲線下面積に関して、高用量（300mg/kg）単回投与時と低用量（3mg/kg）単回投与時で性差が認められた。

雌の血中濃度曲線下面積は、高用量投与時で1674.82 μg 当量・h/g、低用量投与時で16.61 μg 当量/gであり、投与量に比例して増大した。一方、雄の血中濃度曲線下面積は、高用量投与時で775.66当量 μg ・h/g、低用量投与時で16.61当量 μg ・h/gであり、投与量に比例しなかった。

従って、高用量投与した雄では、CP 標識体の吸収が飽和したと考えられる。

NP 標識体（低用量単回投与）

NP 標識体を低用量単回投与した場合に、薬物動学的パラメーターに雌雄間の差は認められなかった。

組織内分布・経時的消長

試験Ⅲ（組織内分布・経時的消長試験）における各組織内濃度の経時的推移を、表 5（CP 標識体－高用量単回投与群）及び表 6（CP 標識体－低用量単回投与群）に示した。なお試験Ⅱ（血中動態試験）において最も高い濃度が認められた採血時点を第一回目の採取時点（ T_{max} ）とし、その後以下の通り経時的に採取した。

試験Ⅲ（組織内分布・経時的消長試験）における各組織の採取時点	CP 標識体			
	高用量単回投与		低用量単回投与	
	雄	雌	雄	雌
T_{max} （投与後時間）	8	24	4	4
1/2 T_{max} （投与後時間）	56	94	25.5	32
1/4 T_{max} （投与後時間）	104	168	72	96
1/10 T_{max} （投与後時間）	200	292	114	168
表4：最も高い血中濃度が認められた時点（hour）	8	24	4	4

結果を、表 5（CP 標識体－高用量単回投与群）及び表 6（CP 標識体－低用量単回投与群）に示す。

高用量単回投与群（表 5）：組織内残留は、経時的に減少した。最終時点（雄：投与後200時間、雌：投与後292時間）における組織内残留は、投与放射能に対して雄：0.28%、雌：0.26%と低く、雌雄間に差は認められなかった。

投与後8時間（雄）及び24時間（雌）において、高い組織内残留濃度が認められた組織は、「腸及び内容物」、「胃及び内容物」及び「甲状腺」であった。

低用量単回投与群（表 6）：組織内残留は、高用量単回投与群と同様に、経時的に減少した。最終時点（雄：投与後144時間、雌：投与後168時間）における組織内残留は、投与放射能に対して雄：0.69%、雌：0.72%と低く、雌雄間に差は認められなかった。

投与後4時間（雄）及び24時間（雌）において、高い組織内残留濃度が認められた組織は、「腸及び内容物」及び「胃及び内容物」であった。また同時点において、比較的高い組織内残留が認められた組織は、雌雄とも「甲状腺」、「血液」、「肝臓」、「腎臓」、「脂肪」、「脾臓」及び「子宮（雌のみ）」であった。

試験Ⅲの結果（組織内分布・経時的消長：表 5及び表 6）及び試験Ⅱ（血中動態試験）の結果から、（各臓器および組織における） $[^{14}\text{C}]$ 標識フェンアミドン及びその代謝物の吸収は高いが、緩やかに排出されるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 5：ラット各組織内濃度の経時的消長（CP 標識体－高用量単回投与群）

表の上段は「 $[^{14}\text{C}]$ 標識フェンアミドン μg 当量/ g ：略称 $\mu\text{g}/\text{g}$ 」を、下段は「投与放射能に対する%：略称：%」を示す。

ラット組織		CP 標識体－高用量単回投与群 (n=5の平均値)							
		雄 (投与後採取時点)				雌 (投与後採取時点)			
		8 h	56 h	104 h	200 h	24 h	94 h	168 h	292 h
肝 臓	$\mu\text{g}/\text{g}$	38.85	6.43	2.60	1.01	15.29	2.74	1.08	0.40
	%	0.65	0.12	0.05	0.02	0.33	0.06	0.02	0.01
腎 臓	$\mu\text{g}/\text{g}$	12.30	2.69	1.03	0.47	7.76	1.22	0.60	0.32
	%	0.04	0.01	0.004	0.002	0.03	0.004	0.002	0.001
心 臓	$\mu\text{g}/\text{g}$	4.35	0.91	0.37	0.26	2.74	1.56	0.43	0.23
	%	0.01	0.001	0.0006	0.001	0.005	0.003	0.001	0.0004
肺	$\mu\text{g}/\text{g}$	5.70	1.49	0.75	0.34	6.67	2.40	1.04	0.46
	%	0.01	0.004	0.002	0.001	0.01	0.006	0.003	0.001
脳	$\mu\text{g}/\text{g}$	1.87	0.33	0.04	n.d.	0.70	0.19	n.d.	n.d.
	%	0.006	0.001	0.0001	n.a.	0.003	0.001	n.a.	n.a.
脾 臓	$\mu\text{g}/\text{g}$	4.18	1.11	0.61	0.18	4.08	1.68	1.14	0.54
	%	0.004	0.001	0.001	0.002	0.004	0.002	0.001	0.0007
脾 臓	$\mu\text{g}/\text{g}$	13.23	0.80	n.d.	n.d.	5.36	0.34	0.13	0.04
	%	0.02	0.001	n.a.	n.a.	0.007	0.0004	0.0002	0.0001
筋 肉	$\mu\text{g}/\text{g}$	2.72	0.39	n.d.	n.d.	1.11	0.07	n.d.	n.d.
	%	0.02	0.002	n.a.	n.a.	0.01	0.001	n.a.	n.a.
脂 肪	$\mu\text{g}/\text{g}$	16.72	0.64	0.05	n.d.	4.12	0.20	n.d.	n.d.
	%	0.010	0.0004	0.0001	n.a.	0.004	0.0003	n.a.	n.a.
生殖腺 (雄：精巣) (雌：卵巣)	$\mu\text{g}/\text{g}$	3.76	0.45	n.d.	n.d.	4.12	0.17	n.d.	n.d.
	%	0.02	0.003	n.a.	n.a.	0.001	0.0001	n.a.	n.a.
胃及び 内容物	$\mu\text{g}/\text{g}$	257.84	1.34	0.18	0.21	1.20	0.52	0.08	0.07
	%	3.09	0.012	0.002	0.002	0.01	0.006	0.0004	0.0004
腸及び 内容物	$\mu\text{g}/\text{g}$	2314.37	47.99	2.85	0.66	408.61	8.98	1.95	0.40
	%	83.35	1.98	0.11	0.03	16.23	0.37	0.08	0.02
骨及び 骨 髄	$\mu\text{g}/\text{g}$	1.98	0.45	0.18	n.d.	1.30	0.35	0.15	n.d.
	%	0.004	0.001	0.0005	n.a.	0.004	0.0007	0.0004	n.a.
皮膚及び 被 毛	$\mu\text{g}/\text{g}$	4.73	2.86	0.90	0.93	4.74	3.53	1.76	1.06
	%	0.31	0.20	0.07	0.09	0.33	0.28	0.15	0.10
副 腎	$\mu\text{g}/\text{g}$	5.99	0.28	n.d.	n.d.	3.23	0.61	n.d.	n.d.
	%	0.001	0.00003	n.a.	n.a.	0.0005	0.0001	n.a.	n.a.
子 宮	$\mu\text{g}/\text{g}$					6.27	0.42	n.d.	n.d.
	%					0.005	0.0004	n.a.	n.a.
血 液	$\mu\text{g}/\text{g}$	8.10	4.55	2.68	1.41	16.57	8.35	4.40	1.98
	%	0.08	0.05	0.03	0.02	0.19	0.10	0.08	0.02
血 漿	$\mu\text{g}/\text{g}$	5.64	1.07	0.30	n.d.	3.52	0.42	0.07	n.d.
	%	0.02	0.004	0.0010	n.a.	0.01	0.002	0.0005	n.a.
甲 状 腺	$\mu\text{g}/\text{g}$	56.97	133.44	64.07	36.29	53.78	52.72	36.85	16.82
	%	0.002	0.005	0.002	0.001	0.002	0.0017	0.001	0.0005
カ ー カ ス	$\mu\text{g}/\text{g}$	32.57	1.24	0.62	0.40	3.46	0.96	0.57	0.43
	%	6.18	0.27	0.14	0.11	0.82	0.25	0.16	0.12
眼	$\mu\text{g}/\text{g}$	1.71	0.33	n.d.	n.d.	1.03	0.06	n.d.	n.d.
	%	0.001	0.0002	n.a.	n.a.	0.0006	0.00004	n.a.	n.a.
ハ ー グ 一 腺	$\mu\text{g}/\text{g}$	3.80	1.00	0.85	n.d.	1.82	0.52	n.d.	n.d.
	%	0.002	0.0006	0.0005	n.a.	0.001	0.0003	n.a.	n.a.
% 合計		93.82	2.68	0.41	0.28	18.01	1.08	0.49	0.26

n. d. : 検出限界以下, n. a. : 検出限界以下のため、算出不可能

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 6：ラット各組織内濃度の経時的消長（CP 標識体—低用量単回投与群）

表の上段は「 $[^{14}\text{C}]$ 標識フェンアミド μg 当量/g：略称 $\mu\text{g/g}$ 」を、下段は「投与放射能に対する%：略称：%」を示す。

ラット組織		CP 標識体—低用量単回投与群							
		雄（投与後採取時点）				雌（投与後採取時点）			
		4 h	25.5 h	72 h	144 h	4 h	32 h	96 h	168 h
肝 臓	$\mu\text{g/g}$	2.41	0.32	0.11	0.04	1.01	0.25	0.07	0.04
	%	3.36	0.88	0.27	0.12	1.61	0.49	0.16	0.08
腎 臓	$\mu\text{g/g}$	0.58	0.19	0.06	0.02	0.44	0.13	0.02	0.01
	%	0.17	0.07	0.02	0.01	0.14	0.04	0.01	0.003
心 臓	$\mu\text{g/g}$	0.16	0.04	0.01	0.005	0.13	0.03	0.01	0.006
	%	0.02	0.01	0.003	0.001	0.02	0.005	0.002	0.001
肺	$\mu\text{g/g}$	0.26	0.07	0.02	0.01	0.24	0.06	0.02	0.01
	%	0.05	0.02	0.005	0.003	0.05	0.01	0.005	0.003
脳	$\mu\text{g/g}$	0.06	0.02	0.005	0.002	0.05	0.01	0.002	0.002
	%	0.02	0.006	0.002	0.001	0.02	0.004	0.001	0.001
脾 臓	$\mu\text{g/g}$	0.15	0.05	0.02	0.01	0.14	0.03	0.02	0.01
	%	0.01	0.005	0.002	0.001	0.02	0.003	0.003	0.001
膵 臓	$\mu\text{g/g}$	0.44	0.09	0.01	0.003	0.34	0.03	0.005	0.002
	%	0.04	0.01	0.001	0.0004	0.03	0.003	0.0005	0.0003
筋 肉	$\mu\text{g/g}$	0.09	0.02	0.005	0.002	0.20	0.02	0.003	n. d.
	%	0.06	0.02	0.004	0.001	0.17	0.01	0.003	n. a.
脂 肪	$\mu\text{g/g}$	0.32	0.04	0.006	0.002	0.51	0.02	0.003	n. d.
	%	0.04	0.004	0.001	0.0004	0.12	0.003	0.0003	n. a.
生殖腺 (雄：精巣) (雌：卵巣)	$\mu\text{g/g}$	0.12	0.03	0.005	0.002	0.24	0.03	0.008	n. d.
	%	0.06	0.01	0.002	0.001	0.006	0.001	0.0002	n. a.
胃及び 内容物	$\mu\text{g/g}$	9.65	0.03	0.04	0.005	1.32	0.03	0.02	0.003
	%	4.69	0.04	0.09	0.008	1.87	0.03	0.02	0.004
腸及び 内容物	$\mu\text{g/g}$	36.93	4.81	0.38	0.03	22.98	3.05	0.13	0.03
	%	92.03	20.80	1.78	0.13	82.63	12.41	0.55	0.14
骨及び 骨 髄	$\mu\text{g/g}$	0.07	0.02	0.01	0.004	0.06	0.01	0.003	0.002
	%	0.02	0.006	0.002	0.001	0.02	0.003	0.001	0.001
皮膚及び 被 毛	$\mu\text{g/g}$	0.14	0.05	0.02	0.01	0.17	0.11	0.10	0.03
	%	1.04	0.37	0.17	0.13	1.13	0.85	0.81	0.24
副 腎	$\mu\text{g/g}$	0.22	0.05	0.01	0.003	0.18	0.03	0.01	n. d.
	%	0.002	0.0006	0.0002	0.00003	0.003	0.0005	0.0001	n. a.
子 宮	$\mu\text{g/g}$					0.49	0.04	0.01	0.003
	%					0.04	0.003	0.0004	0.0003
血 液	$\mu\text{g/g}$	0.31	0.12	0.06	0.05	0.26	0.12	0.07	0.04
	%	0.36	0.13	0.09	0.07	0.36	0.15	0.09	0.04
血 漿	$\mu\text{g/g}$	0.33	0.07	0.01	0.004	0.21	0.04	0.01	0.003
	%	0.13	0.03	0.01	0.003	0.10	0.02	0.003	0.001
甲状腺	$\mu\text{g/g}$	0.62	4.73	3.37	2.10	0.35	2.10	1.42	1.60
	%	0.002	0.02	0.01	0.007	0.001	0.01	0.005	0.005
カーカス	$\mu\text{g/g}$	0.15	0.06	0.01	0.01	0.20	0.04	0.01	0.01
	%	3.21	1.40	0.31	0.20	4.45	1.04	0.28	0.20
眼	$\mu\text{g/g}$	0.06	0.02	0.004	0.001	0.06	0.01	0.01	n. d.
	%	0.003	0.001	0.0002	0.0001	0.003	0.0006	0.0004	n. a.
ハート 一 腺	$\mu\text{g/g}$	0.15	0.05	0.02	0.01	0.12	0.03	0.07	0.001
	%	0.01	0.003	0.001	0.0006	0.01	0.002	0.004	0.002
% 合計		105.34	23.81	2.76	0.69	92.81	15.09	1.95	0.72

n. d. : 検出限界以下, n. a. : 検出限界以下のため、算出不可能

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代 謝

試験群、性および採取時点ごとに保存しておいた「尿試料」、「糞試料のアセトニトリル/水抽出液」および「胆汁試料」を、ラジオ HPLC で分析した。その結果、「尿試料」から計22画分、「糞試料抽出液」から計24画分、「胆汁試料」から計22画分からなる放射性成分が認められた。従って、ラットに経口投与した [¹⁴C] 標識フェンアミドンは、広範に代謝されるものと考えられた。

尿、糞及び胆汁中に検出された各放射性成分の画分について、極性の高いものから順に次のとおり成分番号を付けた。

	尿 (Urine)	糞 (Faeces)	胆汁 (Bile)
成分番号	UMET 1~16, 19~24	FMET/ 1~24	BMET 1~17, 19, 21~24

ラジオ HPLC で分析した尿/糞/胆汁試料中の放射性成分の投与放射能に対する割合 (%) 及びその同定/構造推定について、尿試料/糞試料/胆汁試料の順に以下に示す。

1. 尿試料中の放射性成分及びその同定
尿試料中放射性成分の投与放射能に対する割合 (%) を、表 7 に示した。

表 7: 尿試料中放射性成分の投与放射能に対する割合 (%)

放射 性 成分画分 番 号	CP 標識体						NP 標識体			
	高用量単回		低用量単回		低用量反復		低用量単回		低用量反復	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	(投与後 0 ~ 120 h)		(投与後 0 ~ 120 h)		(投与後 0 ~ 144 h)		(投与後 0 ~ 120 h)		(投与後 0 ~ 120 h)	
UMET 1										
UMET 2										
UMET 3										
UMET 4										
UMET 5										
UMET 6										
UMET 7										
UMET 8										
UMET 9										
UMET10										
UMET10bis										
UMET11										
UMET12										
UMET13										
UMET14										
UMET15										
UMET16										
UMET19										
UMET20										
UMET21										
UMET22										
UMET23										
UMET24										
合 計										

n. d. : 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

その他にも放射性成分画分が検出されたが、いずれも痕跡量であった。

未変化の親化合物フェンアミドンに一致した画分は、CP 標識体—高用量単回投与群の雌雄の UMET 24のみであった。

グルクロニダーゼ、スルファターゼによる酵素加水分解及び化学的加水分解の結果、極性画分の性質について次のように推察した。

CP 標識体投与群		NP 標識体投与群	
放射性画分	推察結果	放射性画分	推察結果
UMET 1+2, UMET 3 及び UMET 7	のグルクロン酸抱合体	UMET 1+2	の硫酸抱合体
		UMET 3	のグルクロン酸抱合体
UMET 7	のグルクロン酸抱合体	UMET 7	のグルクロン酸抱合体

また加水分解試験において、CP 標識体投与群の尿試料から及び
のグルクロン酸抱合体が検出された。

構造同定の結果、尿中放射性画分は次のように同定/推定された。

UMET 7 = 2種類の画分 a 及び b からなる混合物 画分 a : 存在すると推定された。 画分 b : 又は の 存在すると推定された。
UMET 10 = 次の構造 (NP 標識体投与群のみ) が考えられた。
UMET 13 = と同定。
UMET 15 = と同定。
UMET 21 = と同定。
UMET 24 = 未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号 A]と同定 (但し、CP 標識体高用量単回投与群のみ)。 その他は と同定。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

尿中放射性画分について、構造同定/推定された割合を申請者が次の2表にまとめた（表中の数値は、投与放射能に対する割合（％））。

CP 標識体投与群						
尿 中 放 射 性 画 分	構 造	高用量単回		低用量単回		低用量反復
		雄	雌	雄	雌	雄 雌
		(投与後 0~120 h)		(投与後 0~120 h)		(投与後 0~144 h)
UMET 1+2+3						
UMET 7						
UMET 13						
UMET 15						
UMET 21						
UMET 24	フェンアミドン [代謝物記号 A]	0.13	0.25	/		
合 計						

NP 標識体投与群					
尿 中 放 射 性 画 分	構 造	低用量単回		低用量反復	
		雄	雌	雄	雌
		(投与後 0~120 h)		(投与後 0~120 h)	
UMET 1+2					
UMET 3					
UMET 7					
UMET 10					
UMET/13					
UMET/15					
UMET/21					
UMET/24	フェンアミドン [代謝物記号 A]	/		/	
合 計					

n. d. : 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 糞試料中の放射性成分及びその同定

糞試料中放射性成分の投与放射能に対する割合（%、ラジオ HPLC で分析）を、表 8 に示した。

表 8：糞試料中放射性成分の投与放射能に対する割合（%）

放射 性 成分 画分 番 号	CP 標識体						NP 標識体			
	高用量単回		低用量単回		低用量反復		低用量単回		低用量反復	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
	(投与後 0 ~ 120 h)		(投与後 0 ~ 120 h)		(投与後 0 ~ 144 h)		(投与後 0 ~ 120 h)		(投与後 0 ~ 144 h)	
FMET 1										
FMET 2										
FMET 3										
FMET 4										
FMET 5										
FMET 6										
FMET 7										
FMET 8										
FMET 9										
FMET10										
FMET11										
FMET12										
FMET13										
FMET14										
FMET15										
FMET15bis										
FMET16										
FMET17										
FMET18										
FMET19										
FMET20										
FMET21										
FMET22										
FMET23										
FMET23bis										
FMET24										
合 計										

n. d. : 検出限界以下

その他にも放射性成分画分が検出されたが、いずれも痕跡量であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

グルクロニダーゼ、スルファターゼによる酵素加水分解及び化学的加水分解の結果、極性画分の性質について次のように推察した。

CP 標識体投与群		NP 標識体投与群	
放射性画分	推察結果	放射性画分	推察結果
FMET 1+3	。	FMET 1+3	。

構造同定の結果、糞中放射性画分は次のように同定/推定された。

FMET 7 (CP 標識体投与群のみ) = : 2種類の画分 a 及び b からなる混合物と考えられた。 画分 a については、 と同定された。 画分 b : 次の構造が考えられた。													
FMET 13 = と同定。													
FMET 15 (NP 標識体投与群のみ) = 次の構造 が考えられた。													
FMET 16 = と推定された。													
FMET 21 = と同定。													
FMET 23 (NP 標識体投与群のみ) = 次の構造 が考えられた。													
FMET 24 = フェンアミドン [代謝物記号 A] 及び の混合物と同定。存在比率は次のとおりと考えられた。													
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>フェンアミドン</th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>高用量単回投与時</td> <td style="text-align: center;">約90%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>低用量反復投与時</td> <td style="text-align: center;">約10%</td> <td></td> </tr> <tr> <td>低用量単回投与時</td> <td style="text-align: center;">-</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		フェンアミドン		高用量単回投与時	約90%		低用量反復投与時	約10%		低用量単回投与時	-	
	フェンアミドン												
高用量単回投与時	約90%												
低用量反復投与時	約10%												
低用量単回投与時	-												

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

糞中放射性画分について、構造同定/推定された割合を申請者が次の2表にまとめた（表中の数値は、投与放射能に対する割合（％））。

CP 標識体投与群							
糞中 放射性 画分	構 造	高用量単回		低用量単回		低用量反復	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
		(投与後 0~120 h)		(投与後 0~120 h)		(投与後 0~144 h)	
FMET 1+3							
FMET 7							
FMET 13							
FMET 16							
FMET 21							
FMET 24	フェンアミドン[代謝物記号 A]	49.92	67.78	/		0.38	0.63
合 計							

n. d. : 検出限界以下。

NP 標識体投与群					
糞中 放射性 画分	構 造	低用量単回		低用量反復	
		雄	雌	雄	雌
		(投与後 0~120 h)		(投与後 0~144 h)	
FMET 1+3					
FMET 13					
FMET 15					
FMET 16					
FMET 21					
FMET 23					
FMET 24	フェンアミドン[代謝物記号 A]	/		0.04	0.52
合 計					

n. d. : 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 胆汁試料中の放射性成分及びその同定

胆汁試料中放射性成分の投与放射能に対する割合（％）を、表 9に示した。

表 9：胆汁試料中放射性成分の投与放射能に対する割合（％）

放射 成分 画分 番号	CP 標識体		NP 標識体	
	低用量単回		低用量単回	
	雄	雌	雄	雌
	(投与後0～48時間)		(投与後0～48時間)	
BMET 1				
BMET 2				
BMET 3				
BMET 4				
BMET 5				
BMET 6				
BMET 7				
BMET 8				
BMET 9				
BMET10				
BMET11				
BMET12				
BMET13				
BMET14				
BMET15				
BMET16				
BMET17				
BMET19				
BMET21				
BMET22				
BMET23				
BMET24				
合計				

表中の数値は投与後0～48時間の合計値， n. d. : 検出限界以下，

グルクロニダーゼ、スルファターゼによる酵素加水分解の結果、極性画分（
、
、
及び
）が消失又は著しく減少し、
画分
、
及び
が増加した。
従って、胆汁試料中に抱合体（グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体）が存在しているものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

構造同定の結果、胆汁中放射性画分は次のように同定された。

BMET 2 =	の硫酸抱合体と推定された。
BMET 10 =	のグルクロン酸抱合体 及び のグルクロン酸抱合体 の混合物と推定された。
BMET 14 =	と同定。
BMET 19 =	と同定。
BMET 21 =	と同定。
BMET 24 =	と同定。

未変化の親化合物フェンアミドンは、胆汁中から検出されなかった。

以下に胆汁中放射性画分について、構造同定/推定された割合を申請者がまとめた。

放射 成分画 番号	構 造	CP 標識体		NP 標識体	
		低用量単回		低用量単回	
		雄	雌	雄	雌
		(投与後 0 ~ 48時間)		(投与後 0 ~ 48時間)	
BMET 2					
BMET 10					
BMET 14					
BMET 19					
BMET 21					
BMET 24					
合 計					

n. d. : 検出限界以下

以上の試験 I (ADME 試験) ~ 試験 IV (胆汁排泄試験) の結果から、フェンアミドンのラットにおける代謝を要約する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

吸 収

フェンアミドンは比較的良好に吸収されると考えられる。「試験Ⅳ：胆汁排泄試験」の結果から、フェンアミドンの吸収率は約90%と考えられる。

「試験Ⅱ：血中動態試験」において、高用量（300mg/kg）で経口投与した $[^{14}\text{C}]$ 標識フェンアミドン（CP標識体）の場合、その血中濃度曲線下面積（ $\text{AUC}_{0-\infty}$ ）は、低用量（3mg/kg、CP標識体）の $\text{AUC}_{0-\infty}$ と用量相関的に比例しなかった。従って高用量投与時のフェンアミドンの吸収は、飽和するものと考えられた。

分 布

「試験Ⅰ：ADME試験」において、フェンアミドンの組織内分布は「甲状腺」、「血液」、「肝臓」および「腎臓」で顕著であった。

「試験Ⅲ：組織内分布・経時的消長試験」において、CP標識体を高用量及び低用量単回投与したところ、各臓器/組織における放射能残留は経時的に減少した。

代 謝

経口投与した $[^{14}\text{C}]$ 標識フェンアミドン（CP標識体／NP標識体）は、雌雄に関係なく比較的良好に吸収され、 $[^{14}\text{C}]$ の反応及びその反応を受け、広範に代謝される。

フェンアミドンの主要動物代謝物として、

及び

及び

が同定された。

排 泄

ラット体外への $[^{14}\text{C}]$ 標識フェンアミドン（CP標識体／NP標識体）の排泄は速やかである。低用量投与時では、投与量の大部分が胆汁排泄された。

「試験Ⅳ：胆汁排泄試験の結果」及び「試験Ⅰ：ADME試験における回収放射能（尿/糞排泄放射能）」の比較から、低用量（3mg/kg）を単回経口投与した場合に糞から回収された放射能の大部分は、胆汁排泄によるものと考えられた。また、胆汁排泄された放射能の一部は再吸収（腸管循環）され、その後尿中に再排泄されると考えられた。

薬物動力的パラメーター

「試験Ⅱ：血中動態試験」から得られたフェンアミドンの薬物動力的パラメーターは、以下の通りであった。

フェンアミドンの 薬物動力的 パラメーター	CP標識体				NP標識体		
	高用量単回投与		低用量単回投与		低用量単回投与		
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
算出に用いた投与後の最終時点	168 h	168 h	336 h	168 h	168 h	168 h	168 h
最高血中濃度 C_{MAX} (当量 $\mu\text{g}/\text{組織g}$)	12.16	17.70	17.70	0.29	0.31	0.34	0.31
最高血中濃度到達時間 T_{MAX} (hour)	14.64	25.68	25.68	4.29	3.71	3.02	2.63
血中濃度半減期 $T_{1/2}$ (hour)	71.98	83.5	103.48	61.50	72.84	109.24	129.60
血中濃度-時間曲線下面積 $\text{AUC}_{0-\infty}$ (当量 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{g}$)	775.66	1674.82	2194.36	12.79	16.61	15.37	17.59

C_{MAX} ：最高血中濃度、 T_{MAX} ：最高血中濃度到達時間、 $T_{1/2}$ ：血中濃度半減期

本試験に基づいた、フェンアミドンの想定動物代謝経路を次頁に記す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ラットにおけるフェンアミドンの(想定)代謝経路

—→ : 直接経路, --→ : 間接経路 (複数の中間体を經由して) . [] : 想定代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 動物体内運命に関する試験

¹⁴C 標識フェンアミドンを用いたラットにおける経皮吸収試験

(資料 No. 運命-1-2)

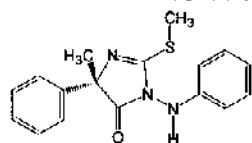
試験機関：Covance Laboratories Inc. (米)

報告書作成年：1999年

供試化合物：

放射性標識フェンアミドン (以降、標識体と称す。)

構造式



*：標識位置

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン (IUPAC)

放射化学的純度： % (HPLC)、比放射能：41 mCi/mmol

投与液の調製：

標識体をフェンアミドン製剤 (TADS 13218；有効成分含有量3.2%、フロアブル) 又は製剤 (TADS 13218) 白試料と混合し、投与液を調製した。

供試動物：CrI: CD(SD)BR 雄ラット (8週齢)、

体重範囲：163~186 g (予備試験) 及び206~250 g (本試験)

投与 (曝露開始) 16時間前に体幹背部及び肩部を除毛し、除毛部位を水で洗浄した。

また試験期間中は代謝ケージでラットを収容した。

投与 (適用)：投与液の適用部位 (約12.5cm²) を規定し、保護具 (閉塞性プラスチック製パッチ及び非閉塞性濾紙) で保護した。およそ0.1mL の各投与液をパッチ内に適用し、ガラス棒を用いて適用部位全体に均一に拡散させた。

試験方法：当該試験は予備試験と本試験から構成されている。

適用方法及び皮膚洗浄方法を確立するため、予備試験として低用量 (設定用量 2.688µg ai/cm²) 又は高用量 (268.8µg ai/cm²) を雄ラット (4匹/群) の皮膚に0.5時間におたって適用した。

本試験では、低用量 (設定用量 2.688µg ai/cm²)、中用量 (設定用量29.3µg ai/cm²) 又は高用量 (268.8µg ai/cm²) を米国 EPA 及び EU のガイドラインが定める曝露期間におたって皮膚へ適用した。

皮膚洗浄は、曝露終了時 (屠殺直前) に行った。ラットを麻酔後、保護具を取り除き、ガーゼパットと綿棒を用いて皮膚を洗浄した。ガーゼパットと綿棒は皮膚洗浄物として放射能測定に供した。

所定の時点で尿及び糞を採取した。

ラットの屠殺は所定の時点で心臓穿刺により行い、血液を採取した。また適用部位の皮膚及びカーカスを採取した。

表1に試験群の構成を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表1：試験群の構成

試験	群	匹数 (計)	設定投与量 ($\mu\text{g ai}/\text{cm}^2$)	曝露期間 (準拠ガイドライン)	皮膚洗浄	屠殺	採取試料
予備 試験	低用量	4	2.688	0.5時間	曝露 終了時	皮膚洗浄後	屠殺時点での尿及び糞、 適用部位の皮膚及びカー カス
	高用量	4	268.8				
本 試 験	対照	2	0	24時間(製剤白試料)	曝露 終了時	皮膚洗浄後	屠殺時点での尿及び糞、 適用部位の皮膚及びカー カス
	低用量	24	2.688	0.5、1、2、4、10及 び24時間 (EPA)	各曝露 期 間 終了時	各皮膚洗浄後 に各4匹	各屠殺時点での ・尿及び糞、 ・保護具、 ・皮膚洗浄物、 ・血液、 ・ケージ洗浄液及びケー ジワイプ、 ・膀胱の残尿、 ・適用部位の皮膚及びカ ーカス
	中用量	24	29.3				
	高用量	24	268.8				
	低用量	12	2.688	8時間 (EU)	曝露 終了時	曝露(8時間) 終了時、曝露 後16時間及び 40間に各4匹	
	中用量	12	29.3				
	高用量	12	268.8				

試料の加工及び放射能測定：

固体試料（皮膚洗浄物、ケージワイプ及び保護具）は、メタノール（皮膚洗浄物）、メタノール/水混合液（糞、ケージワイプ及び保護具）でそれぞれ浸漬し、抽出処理をおこなった。抽出物を液体シンチレーションカウンター（LSC）により抽出物の放射能を測定した。

液体試料（尿及び血液）は均質化し、LSCで放射能を測定した。

糞及びカーカスはオキシダイザーで燃焼させ、得られた放射能をLSCで分析した。

皮膚は1N水酸化ナトリウムで温浸し、均質化後にLSCで分析した。

本試験における経皮吸収率の算出

本試験における経皮吸収率として、直接吸収（全身的吸収）と非直接吸収を算出した。

直接吸収（全身的吸収）は、血液、カーカス、ケージ洗浄液、ケージワイプ、尿及び糞に認められた放射能の合計であり、皮膚を介して体内に取り込まれ且つ全身的に利用された量である。

非直接吸収は上記の直接吸収量に皮膚洗浄後の適用部位の皮膚に認められた放射能を足した量（直接吸収量+洗浄後の適用部位の皮膚放射能）である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
試験結果：

実投与量：予備試験及び本試験における実投与量を表2に示す。
 本試験における実投与量は、設定投与量に対して95.2%～100.8%の範囲にあった。

表2：予備試験及び本試験における実投与量

試験	群	設定投与量 ($\mu\text{g ai/cm}^2$)	実投与量 ($\mu\text{g ai/cm}^2$)	対設定量%	
予備 試験	低用量	2.688	4.98	185.3	
	高用量	268.8	260	96.7	
本 試 験	低用量	EPA	2.688	2.69	100.1
		EU		2.71	100.8
	中用量	EPA	29.3	28.1	95.9
		EU		28.0	95.6
	高用量	EPA	268.8	257	95.6
		EU		256	95.2

物質収支：予備試験における物質収支を表3に、本試験における物質収支を表4（曝露期間：EPA）及び表5（曝露期間：EU）に示す。

予備試験（表3）

0.5時間の曝露後に屠殺したラットから、投与放射能に対して96.5%（低用量群）～97.4%（高用量群）が回収された。低用量及び高用量群では、それぞれ投与放射能の8.22%及び10.9%が適用部位の皮膚に認められた。

表3：予備試験における物質収支（曝露期間：0.5時間）

群	保護具		皮膚 洗浄物	皮膚 (適用 部位)	カーカス	ケージ		尿	糞	総回収率
	閉塞性 パッチ	非閉塞性 濾紙				洗浄液	ワイブ			
低用量	0.37	ND	87.7	8.22	0.26	ND	ND	ND	NS	96.5
高用量	0.34	0.03	85.9	10.9	0.10	ND	ND	ND	NS	97.4

表中の数値は n = 4 の平均値（対投与放射能%）。ND：非検出、NS：該当試料無し。

本試験（表4：曝露期間 EPA、表5：曝露期間 EU）

各時点での回収率は投与放射能に対して94.9%～102%の範囲にあった。放射能の大部分（76.3%～95.7%）は皮膚洗浄物から回収された。

洗浄後の適用部位の皮膚に認められた放射能は、投与放射能に対して3.38%～15.6%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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表4：本試験における物質収支（曝露期間：EPA）

群	曝露 期間 (hr)	保護具		皮膚 洗浄物	皮膚 (適用 部位)	血液	カーカス	ケージ		尿	糞	総回 収率
		閉塞性 パッチ	非閉塞性 濾紙					洗浄液	ワイブ			
低 用 量	0.5	0.75	ND	91.9	5.26	ND	0.27	ND	ND	0.01	ND	98.1
	1	0.77	ND	88.5	6.57	ND	0.51	ND	ND	0.01	ND	96.4
	2	0.75	0.90	89.5	5.64	ND	0.90	<0.005	ND	0.01	ND	97.7
	4	0.04	1.64	85.9	8.16	0.01	1.47	ND	ND	0.04	ND	97.3
	10	0.01	1.29	87.9	6.05	0.02	2.23	0.01	ND	0.10	0.02	97.6
	24	0.12	1.04	83.4	6.59	0.03	3.13	0.06	0.02	0.39	2.10	96.9
中 用 量	0.5	0.28	0.02	93.9	3.84	ND	0.20	ND	ND	0.01	NS	97.7
	1	0.27	1.08	92.5	5.26	ND	0.26	ND	ND	0.01	NS	99.4
	2	0.78	0.04	93.9	3.38	ND	0.97	ND	ND	0.02	ND	99.1
	4	0.60	0.71	86.7	9.13	ND	1.37	ND	ND	0.04	ND	98.5
	10	0.51	0.02	90.8	3.54	ND	1.97	0.01	ND	0.13	ND	97.0
	24	0.92	0.08	86.9	4.60	0.03	2.92	ND	ND	0.32	1.12	96.9
高 用 量	0.5	1.24	0.01	95.0	5.51	ND	ND	ND	ND	0.01	ND	102
	1	0.69	0.22	95.6	4.30	ND	0.18	ND	ND	0.01	ND	101
	2	1.19	0.01	93.0	7.65	ND	0.10	ND	ND	0.02	ND	102
	4	1.02	0.04	95.7	4.86	ND	0.44	0.03	0.01	0.04	ND	102
	10	0.85	0.50	95.7	3.72	ND	0.72	ND	ND	0.06	ND	102
	24	1.43	0.03	87.6	11.1	ND	0.98	ND	0.03	0.18	0.56	102

表中の数值はn=4の平均値（対投与放射能%）。ND：非検出、NS：該当試料無し。

A：血液、カーカス、ケージ洗浄液及びワイブ、尿及び糞の放射能の総計。B：A＋皮膚（適用部位）の放射能。

表5：本試験における物質収支（曝露期間：EU－8時間）

群	曝露 (8時間) 終了後 (hr)	保護具		皮膚 洗浄物	皮膚 (適用 部位)	血液	カーカス	ケージ		尿	糞	総回 収率 (%)
		閉塞性 パッチ	非閉塞性 濾紙					洗浄液	ワイブ			
低 用 量	0	1.30	0.02	89.3	4.17	ND	2.06	ND	ND	0.08	ND	96.9
	16	2.97	0.02	76.3	6.93	0.03	3.93	0.27	0.68	0.58	3.08	94.9
	40	3.43	0.01	86.2	3.61	ND	0.95	0.03	0.16	0.42	2.75	97.5
中 用 量	0	0.52	0.02	87.1	7.37	0.02	2.63	0.01	0.10	0.11	0.06	98.0
	16	1.21	0.02	85.9	6.59	0.02	1.04	ND	ND	0.35	1.75	96.9
	40	1.44	0.07	86.9	5.42	0.02	0.82	ND	0.02	0.49	2.95	98.2
高 用 量	0	0.98	0.01	92.5	6.80	ND	1.04	ND	ND	0.06	ND	101
	16	1.39	0.01	83.0	15.6	ND	0.61	ND	0.11	0.22	0.60	102
	40	2.03	0.01	89.7	7.29	ND	0.51	ND	ND	0.23	0.99	101

表中の数值はn=4の平均値（対投与放射能%）。ND：非検出。

A：血液、カーカス、ケージ洗浄液及びワイブ、尿及び糞の放射能の総計。B：A＋皮膚（適用部位）の放射能。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本試験における経皮吸収：本試験における経皮吸収率及び量を表6（曝露期間 EPA）及び表7（曝露期間 EU）に示す。

なお経皮吸収は、直接吸収（全身的吸収：血液、カーカス、ケージ洗浄液及びワイプ、尿及び糞の放射能の合計）及び非直接吸収（直截吸収された放射能と適用部位の皮膚の放射能の合計）に分けて算出した。

曝露期間：EPA（表6）

各用量群とも、投与放射能に対して軽微な直接吸収（全身的吸収）が認められた。直接吸収された放射能は、曝露時間の長さ及び用量の増加とともに増加し、何れも24時間曝露後に最大となった。24時間曝露後に認められた直截吸収の最大値は、低用量、中用量及び高用量群でそれぞれ投与量の5.72%（1.92µg ai/動物）、4.40%（15.46µg ai/動物）及び1.75%（56.22µg ai/動物）であった。

直截吸収された放射能は主としてカーカスに認められ、次いで糞に認められた。

また非直接吸収は、低及び高用量群で24時間曝露後に、中用量群では4時間曝露後に最大となった。非直接吸収の最大値は、低用量、中用量及び高用量でそれぞれ12.3%（4.14µg ai/動物、24時間曝露後）、10.26%（36.04µg ai/動物、4時間曝露後）及び12.9%（414.41g ai/動物、24時間曝露後）となった。

表6：経皮吸収率及び量（曝露期間 EPA）

群	曝露 期間 (hr)	対投与量%							吸収放射能			
		皮膚 (適用 部位)	血液	カーカス	洗浄液	ワイプ	尿	糞	直接吸収(A)		非直接吸収(B)	
									%	µg(*)	%	µg(*)
低 用 量	0.5	5.26	ND	0.27	ND	ND	0.01	ND	0.28	0.09	5.54	1.86
	1	6.57	ND	0.51	ND	ND	0.01	ND	0.52	0.17	7.10	2.39
	2	5.64	ND	0.90	<0.005	ND	0.01	ND	0.92	0.31	6.56	2.21
	4	8.16	0.01	1.47	ND	ND	0.04	ND	1.52	0.51	9.68	3.25
	10	6.05	0.02	2.23	0.01	ND	0.10	0.02	2.38	0.80	8.43	2.83
	24	6.59	0.03	3.13	0.06	0.02	0.39	2.10	5.72	1.92	12.3	4.14
中 用 量	0.5	3.84	ND	0.20	ND	ND	0.01	NS	0.12	0.42	3.95	13.87
	1	5.26	ND	0.26	ND	ND	0.01	NS	0.27	0.95	5.53	19.42
	2	3.38	ND	0.97	ND	ND	0.02	ND	0.99	3.48	4.37	15.35
	4	9.13	ND	1.37	ND	ND	0.04	ND	1.41	4.95	10.6	36.04
	10	3.54	ND	1.97	0.01	ND	0.13	ND	2.12	7.45	5.66	19.88
	24	4.60	0.03	2.92	ND	ND	0.32	1.12	4.40	15.46	9.01	31.65
高 用 量	0.5	5.51	ND	ND	ND	ND	0.01	ND	0.01	0.32	5.53	177.46
	1	4.30	ND	0.18	ND	ND	0.01	ND	0.20	6.43	4.50	144.56
	2	7.65	ND	0.10	ND	ND	0.02	ND	0.12	3.86	7.75	248.97
	4	4.86	ND	0.44	0.03	0.01	0.04	ND	0.51	16.38	5.37	172.51
	10	3.72	ND	0.72	ND	ND	0.06	ND	0.78	25.06	4.50	144.56
	24	11.1	ND	0.98	ND	0.03	0.18	0.56	1.75	56.22	12.9	414.41

表中の数値はn=4の平均値（対投与放射能%）。ND：非検出、NS：該当試料無し。（*）：µg ai/動物

A：血液、カーカス、ケージ洗浄液及びワイプ、尿及び糞の放射能の総計。B：A + 皮膚（適用部位）の放射能。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

曝露期間：EU（表7）

8時間にわたる曝露の直後（曝露終了後0時間）、曝露後16時間及び曝露後40時間に屠殺した動物の直接吸収の最大値は、低用量群では曝露後16時間に、中用量及び高用量群では曝露後40時間に認められた。直接吸収の最大値は、低用量、中用量及び高用量群でそれぞれ 8.59%（2.91 $\mu\text{g ai/動物}$ ）、4.50%（15.05 $\mu\text{g ai/動物}$ ）及び1.74%（55.6 $\mu\text{g ai/動物}$ ）であった。

非直接吸収の最大値は、低用量及び高用量群では曝露後16時間に、中用量群では投与開始後8時間に認められた。非直接吸収の最大値は、低用量、中用量及び高用量群でそれぞれ15.5%（5.25 $\mu\text{g ai/動物}$ ）、10.3%（36.05 $\mu\text{g ai/動物}$ ）及び17.1%（547.2 $\mu\text{g ai/動物}$ ）であった。

表7：経皮吸収率及び量（曝露期間 EU：8時間）

群	曝露 (8時間) 終了後 (hr)	対投与量%							吸収放射能			
		皮膚 (適用 部位)	血液	カーカス	ケージ		尿	糞	直接吸収(A)		非直接吸収(B)	
					洗浄液	ワイプ			%	μg	%	μg
低 用 量	0	4.17	ND	2.06	ND	ND	0.08	ND	2.14	0.73	6.31	2.14
	16	6.93	0.03	3.93	0.27	0.68	0.58	3.08	8.59	2.91	15.5	5.25
	40	3.61	ND	0.95	0.03	0.16	0.42	2.75	4.31	1.46	7.92	2.68
中 用 量	0	7.37	0.02	2.63	0.01	0.10	0.11	0.06	2.90	10.15	10.3	36.05
	16	6.59	0.02	1.04	ND	ND	0.35	1.75	3.15	11.03	9.74	34.09
	40	5.42	0.02	0.82	ND	0.02	0.49	2.95	4.30	15.05	9.72	34.02
高 用 量	0	6.80	ND	1.04	ND	ND	0.06	ND	1.10	35.2	7.91	253.1
	16	15.6	ND	0.61	ND	0.11	0.22	0.60	1.54	49.3	17.1	547.2
	40	7.29	ND	0.51	ND	ND	0.23	0.99	1.73	55.6	9.02	288.6

表中の数値はn=4の平均値（対投与放射能%）。ND：非検出。（*）： $\mu\text{g ai/動物}$
A：血液、カーカス、ケージ洗浄液及びワイプ、尿及び糞の放射能の総計。B：A + 皮膚（適用部位）の放射能。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 植物体内運命に関する試験

ぶどうにおける代謝試験

(資料No. 運命-2)

試験機関：RCC(スイス)

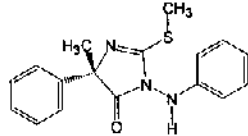
報告書作成年：1999年

供試化合物：

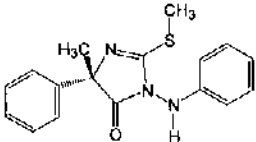
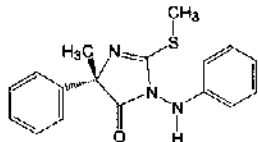
非標識フェンアミドン；

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン
(TUPAC)

構造式：  ， 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の二種類を供試した。

<p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC, 平均値) 比放射能： MBq/mg (平均値)</p> <p>以下、CP標識フェンアミドンとする。</p>	<p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>純度： %</p> <p>以下、[13C]標識フェンアミドンとする。</p>
<p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>	

供試植物：ぶどう(品種：Pinot Noir)

15~20年生樹の野外ぶどう畑に 4.8m² (ぶどう樹 2本) /区の試験区を計 2区設けた。1区を処理区とし、他を対照区とした。試験期間中、試験区には他の農薬を使用しなかった。

処理溶液の調製：

CP標識フェンアミドンを非標識フェンアミドン及び[13C]標識フェンアミドンと混合した。この混合物に製剤白試料を加え、水で所定濃度に希釈してフェンアミドン処理溶液とした。

作物への処理/栽培/収穫

処理区：フェンアミドン処理溶液を1回当たり400g有効成分/haの薬量で、試験圃場のぶどう樹に計4回散布処理した。本試験の累計施用量(有効成分:1600g/ha)は、フェンアミドンの年間実用処理量に等しかった。

対照区：製剤白試料をぶどう樹1本に散布処理し、残りの1樹には何も処理しなかった。

本試験の処理日、収穫日及び採取試料を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

処 理 日		実処理量 (g/ha)	生育ステージ	採 取 日		採取試料
第1回散布	1997年 6月10日	505	開花期	/	/	/
第2回散布	1997年 7月16日	485	開花期の終期			
第3回散布	1997年 8月 7日	504	果房の垂れ下り期			
最終散布	1997年 9月30日	156	成熟期の初期	未成熟期収穫*	1997年 9月30日	果房 及び 葉
				成熟期収穫	1997年10月24日	果房 及び 葉

*：最終散布の直前に収穫した。

試料からの抽出及び分析

分析試料の調製は次のとおり行った。

果房を水、メタノール/水(1:1, v/v)、ついでメタノールで洗浄した。洗浄後、果房を果柄と果実に分割し、果柄はアセトニトリルで洗浄した。

果実は果皮と果肉に分割し、果皮は圧搾して果汁を採取した。果柄洗浄液および果皮から圧搾した果汁は、果肉と一緒にした。果肉から種子を分け、種子をアセトニトリルで洗浄した。種子洗浄液は、果肉抽出液と一緒にした。

分析試料の分画、抽出手順を図 1に示す。

なお、分析及び代謝物の同定に用いた手法は次のとおりであった。

放射能測定

液体シンチレーションカウンター (LSC) :

高速液体クロマトグラフィー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

液体クロマトグラフィー/マスマスペクトロメトリー (LC-MS)
液体クロマトグラフィー条件

試験結果

全放射性残留量（TRR）：未成熟期及び成熟期のぶどう果房のTRRを表1に示す。

表 1：未成熟期及び成熟期のぶどう果房におけるTRR

		未成熟期－ぶどう果房（3回処理）		成熟期－ぶどう果房（4回処理）	
		ppm	%	ppm	%
果柄	抽出性放射能	0.210	12.09	0.166	13.98
	残渣	0.063	3.64	0.056	4.67
果皮	抽出性放射能	0.219	12.60	0.204	17.19
	残渣	0.056	3.20	0.045	3.79
種子	抽出性放射能	0.057	3.27	0.024	2.01
	残渣	0.062	3.00	0.024	2.05
果肉	抽出性放射能	0.292	16.81	0.261	21.95
	残渣	0.003	0.17	0.005	0.39
表面洗淨液	水	0.042	2.41	0.042	3.49
	メタノール/水	0.062	3.57	0.037	3.08
	メタノール	0.682	39.22	0.326	27.39
	計	0.786	45.20	0.404	33.97
果房	抽出性放射能	1.565	89.98	1.060	89.10
	残渣	0.174	10.02	0.130	10.90
果房（合計）		1.739	100.00	1.190	100.00

ppm：親化合物換算、%：果房TRRに対する百分率

対照区のぶどう試料から、放射能は検出されなかった。

放射能の各部位への分布は、未成熟期ぶどう果房及び成熟期ぶどう果房とも、同様の結果であった。

合計4回の散布処理を行った成熟期ぶどう果房の全放射性残留濃度（親化合物換算、単位：ppm）が、未成熟期ぶどう果房（処理回数：3回）の全放射性残留濃度（親化合物換算、単位：ppm）を下回ったことは、成熟の最終段階でぶどう果実が肥大したためと考えられた。

未成熟期及び成熟期のぶどう果房において、それぞれのTRRの45.2%（未成熟期）及び34.0%（成熟期）が表面上に存在していた。

放射能残留の大部分は抽出性（表面洗淨液を含む）であり、未成熟期及び成熟期ぶどう果房のTRRのそれぞれ約90%が抽出された。

ぶどう果房における残渣は、未成熟期では果房TRRに対して10.02%（親化合物換算、0.174 ppm）、成熟期では果房TRRに対して10.9%（親化合物換算、0.130 ppm）であった。

ぶどう果房の残渣に関して、酵素処理、続いて酸及び塩基加水分解処理を行って特

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

徴付けた。表2に、未成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果を、表3に成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果を示す。

表2：未成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果

未成熟期ぶどう果房—残渣	果 柄		種 子		果 皮		果 肉		果 房*		
	対残渣%	%TRR	対残渣%	%TRR	対残渣%	%TRR	対残渣%	%TRR	対残渣%	%TRR	
	100.0	3.64	100.0	3.00	100.0	3.20	100.0	0.17	100.0	10.01	
酵素処理：遊離放射能	13.65	0.50	1.8	0.05	4.34	0.14	25.41	0.04	7.29	0.73	
苛酷抽出 ：遊離放射能	0.1N HCl	4.77	0.17	0.24	0.01	1.5	0.05	5.09	0.01	2.40	0.24
	0.1N NaOH	5.3	0.19	1.27	0.04	1.56	0.05	23.12	0.04	3.19	0.32
酸/塩基加水分解 ：遊離放射能	6N NaOH	7.87	0.29	11.97	0.36	4.73	0.15	31.13	0.05	8.49	0.85
	6N HCl	9.08	0.33	27.41	0.82	8.91	0.29	8.11	0.01	14.49	1.45
遊離放射能（計）	40.67	1.48	42.69	1.28	21.04	0.67	92.86	0.16	35.86	3.59	
非遊離性放射能	59.33	2.16	57.31	1.72	78.96	2.53	7.14	0.01	64.14	6.42	

対残渣%：ぶどう各部位の残渣に対する百分率，%TRR：ぶどう果房TRRに対する百分率
*：申請者が計算

表3：成熟期ぶどう果房の残渣に関する特徴付け結果

成熟期ぶどう果房—残渣	果 柄		種 子		果 皮		果 肉		果 房*		
	対残渣%	%TRR	対残渣%	%	対残渣%	%	対残渣%	%	対残渣%	%	
	100.0	4.67	100.0	2.05	100.0	3.79	100.0	0.39	100.0	10.90	
酵素処理：遊離放射能	14.63	0.68	1.83	0.04	7.89	0.30	16.49	0.06	9.91	1.08	
苛酷抽出 ：遊離放射能	0.1N HCl	4.49	0.21	0.22	<0.01	2.04	0.08	5.15	0.02	2.84	0.31
	0.1N NaOH	7.08	0.33	1.10	0.02	4.14	0.16	27.45	0.11	6.69	0.62
酸/塩基加水分解 ：遊離放射能	6N NaOH	9.08	0.42	13.65	0.28	5.09	0.19	37.34	0.15	9.54	1.04
	6N HCl	8.83	0.41	26.84	0.55	11.17	0.42	6.84	0.03	12.94	1.41
遊離放射能（計）	44.11	2.06	43.64	0.89	30.33	1.15	93.27	0.36	40.92	4.46	
非遊離性放射能	55.89	2.61	56.36	1.16	69.67	2.64	6.73	0.03	59.08	6.44	

対残渣%：ぶどう各部位の残渣に対する百分率，%TRR：ぶどう果房TRRに対する百分率
*：申請者が計算

酵素処理の後、酸及び塩基加水分解処理を行ったが、低レベルの非遊離性放射能が残渣に残存した。残渣中の放射能が最も多く遊離された部位は果肉であった。成熟期ぶどう果房の残渣中放射能のうち、合計で約40%が遊離された。

抽出した放射性成分についての検討

二種類のグラジエント条件を用いた、表面洗浄液及び各抽出液のHPLC分析において、2種類の主要成分が認められ、これらはそれぞれ「フェンアミドン[代謝物記号A]の認証済み標準物質」及び「の認証済み標準物質」に対

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

応していた。

これらの2成分を含め、計13種類の放射性成分が認められた。

表4に未成熟期ぶどうにおける放射性成分の分布を、表5に成熟期ぶどうにおける放射性成分の分布を示す。

表4：未成熟期ぶどうにおける放射性成分及び分布

		果柄	果皮	種子	果肉	洗浄液	果房 (合計)
フェンアミドン【代謝物記号A】	%	5.8	2.0	0.6	4.0	15.2	57.7
	ppm	0.102	0.035	0.010	0.070	0.786	1.003
(%						
	ppm						
	%						
	ppm						
	%						
	ppm						
	%						
	ppm						
	%						
	ppm						
	%						
	ppm						
残	%						
	ppm						
渣	%						
	ppm						
	%						
	ppm						
	%						
	ppm						

ppm：親化合物換算、 %：ぶどう果房TRRに対する百分率、 n.d.：検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表5：成熟期ぶどうにおける放射性成分及び分布

		果柄	果皮	種子	果肉	洗浄液	果房(合計)	
放射 性 成 分 (抽)	フェンアミドン [代謝物記号A]	%	8.0	5.1	0.3	8.2	34.0	55.6
		ppm	0.095	0.061	0.004	0.098	0.404	0.662
		%						
		ppm						
		%						
		ppm						
		%						
		ppm						
		%						
		ppm						
		%						
		ppm						
		%						
		ppm						
	残 渣		%					
		ppm						
		%						
		ppm						
		%						
	ppm							
	%							
	ppm							

ppm：親化合物換算， %：ぶどう果房TRRに対する百分率， n.d.：検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

未成熟期ぶどう果房

未成熟期ぶどう果房における主要放射性成分は、未変化のフェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物 であつた。ぶどう果房におけるフェンアミドンは、果房TRRに対して57.7% (1.003ppm) を占めた。一方、ぶどう果房における は、果房TRRに対して (親化合物換算、 ppm) を占めた。

合計 種類認められた少量放射性成分のうち、量的に最も多く生成したものは であり、果房TRRに対して % (親化合物換算、 ppm) を占めた。

成熟期ぶどう果房

成熟期ぶどうの主要放射性成分は、未成熟期ぶどうと同様に、未変化のフェンアミドン[代謝物記号A]及び であつた。ぶどう果房におけるフェンアミドンは、果房TRRに対して55.6% (0.662 ppm) を占めた。一方、ぶどう果房における は、果房TRRに対して % (親化合物換算、 ppm) を占めた。

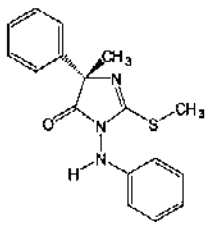
合計 種類認められた少量放射性成分のうち、量的に最も多く生成したものは であつた。放射性成分 は果房TRRに対して % (親化合物換算、 ppm) を占めた。

なお、未成熟期ぶどうにおいて認められた代謝物 は、成熟期ぶどうでは認められなかった。

代謝物の構造に関する同定又は推定

主要放射性成分として、未変化の親化合物フェンアミドン及び が考えられた。また少量放射性成分のうち、代謝物 及び代謝物 の量が比較的多かつた。

フェンアミドン及び の構造同定は、LC-MSにおける質量ピークの比較及びの質量数の比較から、確認できた。

フェンアミドン[代謝物記号A]	
	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物M1及びM2の構造は、LC-MSによる分析から、次のように推定された。

代謝物 (質量数): []	代謝物 (質量数): []

以上の結果から、フェンアミドンの野外栽培ぶどうにおける代謝について下記のとおり要約する。

1. ぶどう果房におけるTRRの大部分が抽出性（表面洗浄を含む）であり、未成熟期ぶどう及び成熟期ぶどうでは、それぞれ90.0%及び89.1%が抽出された。
2. ぶどう果房における残渣は、未成熟期では果房TRRに対して10.02%（親化合物換算、0.174 ppm）であり、成熟期では果房TRRに対して10.9%（親化合物換算、0.130 ppm）であった。
未成熟期及び成熟期ぶどう果房の残渣について、酵素処理、その後の酸及び塩基加水分解を行った。その結果、未成熟期ぶどう果房では残渣の35.86%が、成熟期ぶどう果房では残渣の40.92%が遊離した。
3. 主要放射性成分は、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物であった。

成熟期ぶどう果房において、フェンアミドンは果房TRRに対して57.7%（0.662 ppm）を占め、
は果房TRRに対して %（親化合物換算、
ppm）を占めた。

フェンアミドン[代謝物記号A及び の構造は、LC-MSによって同定された。また代謝物 及び の化学構造は、 が「
の（置換は）」、 が「 の（置換は）」と推定された。

4. 合計 種類の少量放射性成分のうち、最も多く認められたものは、未成熟ぶどう果房では代謝物 であり、成熟期ぶどう果房では代謝物 であった。

未成熟ぶどう果房における代謝物 は、果房TRRに対して %（親化合物換算、 ppm）を占めた。

成熟期ぶどう果房における代謝物 は、果房TRRに対して %（親化合物換算、 ppm）を占めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ぶどうにおけるフェンアミドンの代謝経路を示す。

ぶどうにおけるフェンアミドンの代謝経路

(資料No. 運命-3)

トマトにおける代謝試験

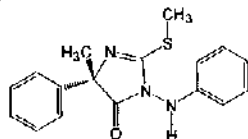
試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)
報告書作成年：1999年

供試化合物：

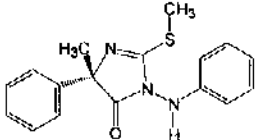
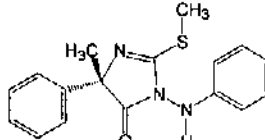
非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン
(IUPAC)

構造式：  , 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の二種類を供試した。

<p>構造式：</p> <p style="text-align: center;">標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC) 比放射能： Bq/μg</p> <p>以下、CP標識体とする。</p>	<p>構造式</p> <p style="text-align: center;">標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC) 比放射能： Bq/μg</p> <p>以下、NP標識体とする。</p>
<p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>	

供試植物：トマト(品種：Gardeners Delight)

12インチのポットにトマト苗1本を移植し、ガラス温室内で栽培した。

処理溶液の調製：

CP標識体処理溶液：CP標識体を非標識フェンアミドンと混合し、製剤白試料を加えて10%乳剤とし、水で所定濃度に希釈してCP標識体処理溶液とした。

NP標識体処理溶液：NP標識体を非標識フェンアミドンと混合し、CP標識体処理溶液と同様に調製した。

試験区及び植物への処理：

CP標識体処理区：8本のトマトに、CP標識体処理溶液及びNP標識体処理溶液をそれぞれ、一回当たり有効成分 約500 g/ha (有効成分 約3.53mg/ポット) の薬量で計3回の散布処理を行った。累積施用量は1500 g 有効成分/haで、これは本剤の年間圃場施用量に等しいものであった。また、処理トマトの間に無処理トマト4本を設置し、区内対照とした。また、処理区の周囲に無処理トマト4本を設置し、区外対照とした。

NP標識体処理区：CP標識体処理区と同様に処理した。また、CP標識体処理区と同様に、区内対照及び区外対照を設けた。

実処理量：CP標識体及びNP標識体処理区における実処理量を次表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

処理	設定処理量 (mg/ポット)	CP標識体処理区		NP標識体処理区	
		投下薬量 (mg/ポット)	設定処理量 に対する%	投下薬量 (mg/ポット)	設定処理量 に対する%
第1回	3.53	3.44	97.5	3.36	95.2
第2回	3.53	3.13	88.7	3.28	92.9
第3回	3.53	3.28	92.9	3.28	92.9
平均		3.28	93.0	3.31	93.7

植物への処理日/植物の栽培及び収穫

植物への処理及び栽培は、ガラス温室において実施した。
処理日及びトマト果実収穫日を以下に示す。

処 理 日		採 取 日	
第 1 回 処 理	1996年 8月 1日		
第 2 回 処 理	1996年 8月 21日	第 1 回 中 間 収 穫	1996年 8月 21日
最 終 (第 3 回) 処 理	1996年 9月 5日	第 2 回 中 間 収 穫	1996年 9月 5日
		最 終 (第 3 回) 収 穫	1996年 9月 12日

1996年8月21日及び9月5日に関し、処理前に収穫を行った。
なお、区内対照植物及び区外対照植物については、中間収穫時には採取しなかった。
採取したトマト植物は、果実と茎に分割し、重量を測定してアセトニトリルで洗浄した。

試料からの抽出及び抽出液の分析

本試験で用いられた抽出/分析過程を図 1に示す。

なお、抽出性放射能成分について、次の方法の組み合わせを用いて定量分析及び「同定及び特徴付け」を行った。

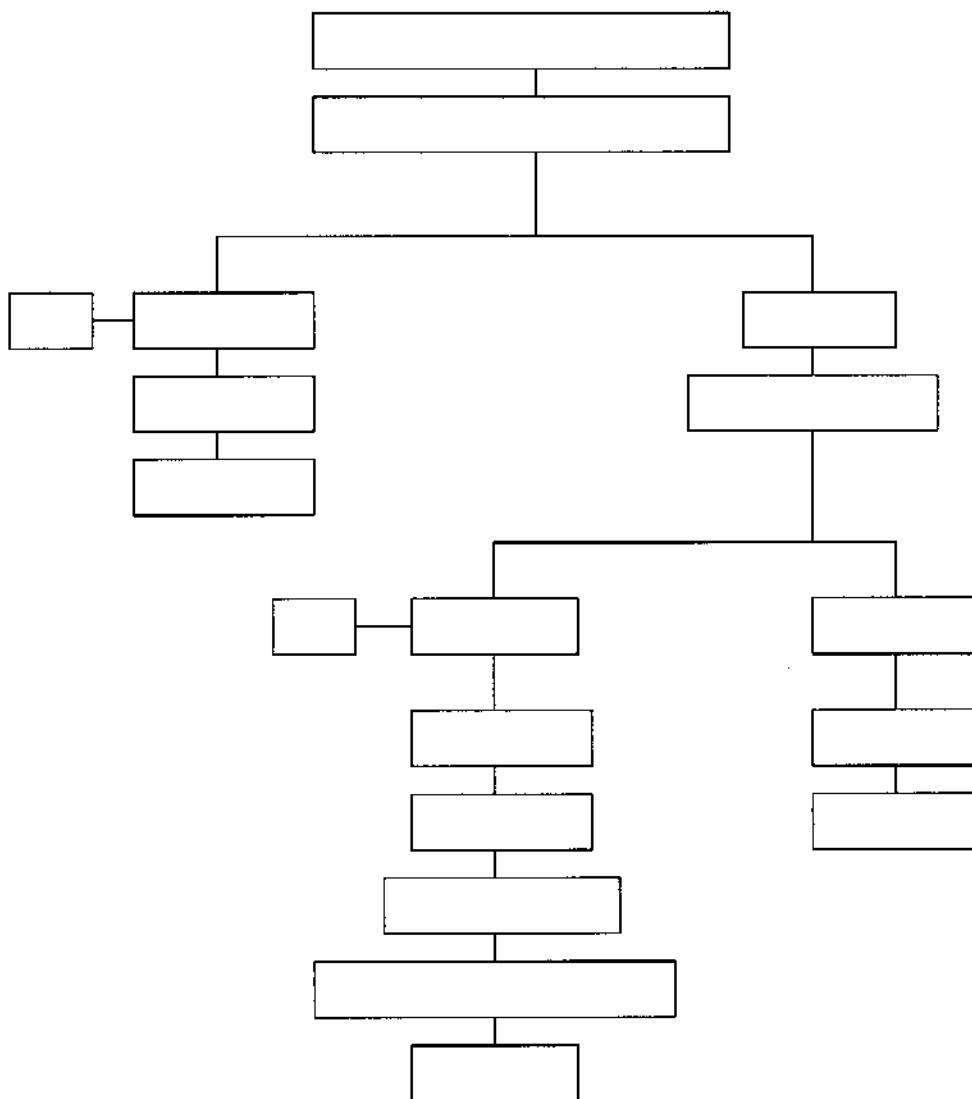
高速液体クロマトグラフィー (HPLC) :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー (HPLC-MS)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 1 : 抽出/分析過程 フローチャート



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果；

全放射性残留量（TRR）の推移：

CP標識体及びNP標識体処理トマト果実、並びに各対照トマト果実におけるTRR（単位はmg/kgは、親化合物換算）を次に示す。

(n=2の平均値, 単位: mg/kg)

処理トマト果実	中間収穫		最終収穫
	第1回	第2回	
CP標識体処理	0.012	0.181	0.186
NP標識体処理	0.055	0.038	0.207

(n=2の平均値, 単位: mg/kg)

対照トマト果実	中間収穫		最終収穫
	第1回	第2回	
CP標識体 区内対照	n. a.	n. a.	0.000
NP標識体 区内対照	n. a.	n. a.	0.000
区外対照	n. a.	n. a.	0.000

n. a. : 試料採取及び分析を実施せず

最終収穫時の対照トマト果実において、放射能が認められなかったことから、処理植物から顕著な揮発性物質は放出されず、また隣接植物に取り込まれないものと考えられた。

全放射性残留量（TRR）の抽出性

CP標識体処理 トマト果実		中間収穫		最終収穫
		第1回	第2回	
アセトニトリル	%TRR	8.3	32.0	30.6
表面洗浄液	mg/kg	0.001	0.058	0.057
アセトニトリル	%TRR	83.3	59.7	56.5
抽出液	mg/kg	0.010	0.108	0.105
抽出残渣	%TRR	8.3	7.7	12.9
	mg/kg	0.001	0.014	0.024
各収穫時点に	%TRR	99.9	99.4	100.0
おける合計	mg/kg	0.012	0.180	0.186

NP標識体処理 トマト果実		中間収穫		最終収穫
		第1回	第2回	
アセトニトリル	%TRR	29.1	26.3	41.1
表面洗浄液	mg/kg	0.016	0.010	0.085
アセトニトリル	%TRR	52.7	63.1	50.7
抽出液	mg/kg	0.029	0.024	0.105
抽出残渣	%TRR	18.2	10.5	8.2
	mg/kg	0.010	0.004	0.017
各収穫時点に	%TRR	100.0	99.9	100.0
おける合計	mg/kg	0.055	0.038	0.207

%TRR：全放射性残留量に占める割合（%），mg/kg：親化合物換算

最終収穫時のCP標識体処理及びNP標識体処理トマト果実とも、それぞれTRRの約90%が表面洗浄液及び抽出液から回収された。最終収穫時のトマト果実の抽出残渣は、CP標識体処理でTRRに対して12.9%（親化合物換算、0.024mg/kg）、NP標識体処理でTRRに対して8.2%（親化合物換算、0.017mg/kg）であった。両処理トマト果実とも、表面残留放射能が散布回数の増加につれて増加する傾向にあった。

HPLCによる放射能成分の定量分析

表1に、各収穫時における放射性成分を示す。また、検出された放射性成分の構造は以下のとおりである。これらの放射性成分は、認証済み標準物質の保持時間と一致した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

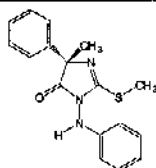
親化合物フェンアミドン [代謝物記号A]	[]	[]
		

表1. 各収穫時点における放射性成分

放射能成分			CP標識体処理トマト果実			NP標識体処理トマト果実		
			中間収穫		最終収穫	中間収穫		最終収穫
			第1回	第2回		第1回	第2回	
放 射 性 成 分		% TRR						
		mg/kg						
		% TRR						
		mg/kg						
		% TRR						
		mg/kg						
		% TRR						
		mg/kg						
		% TRR						
		mg/kg						
	フェンアミドン [代謝物記号A]	RRT : 1.00	87.6	62.1	65.8	62.9	51.2	75.6
			0.010	0.112	0.122	0.034	0.019	0.157
		% TRR						
		mg/kg						
放射性成分 合計			% TRR					
			mg/kg					

RRT : 相対保持時間, %TRR : 全放射性残留量(TRR)に占める割合(%),
n. d. : 検出されず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物の同定及び特徴付け：

最終収穫時のアセトニトリル表面洗浄液及びアセトニトリル抽出液について、HPLC-MS-MSによって分析した。認証済み標準物質との比較から、次の化合物が同定された。

CP標識体処理トマト果実：親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物
NP標識体処理トマト果実：親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]及び代謝物

また、 ～ については、逆相HPLCにおいてと考えられた。

以上の結果から、フェンアミドンのトマトにおける代謝について下記のとおり要約する。

1. CP標識体及びNP標識体フェンアミドンをそれぞれ別個にトマトに4回散布処理した結果、最終収穫時の全放射性残留 (TRR) はCP標識体処理トマト果実で0.186mg/kg (親化合物換算)、NP標識体処理トマト果実で0.207mg/kg (親化合物換算) であった。
2. 最終収穫時のCP標識体及びNP標識体処理トマト果実において、それらの総放射能残留 (TRR) の抽出性は高かった。CP標識体処理ではTRRの87.1% (0.162mg/kg：親化合物換算)、NP標識体処理ではTRRの91.8% (0.190mg/kg：親化合物換算) が、それぞれアセトニトリル表面洗浄液及びアセトニトリル抽出液から回収された。最終収穫時のトマト果実における抽出残渣は、CP標識体処理ではTRRに対して12.9% (0.024mg/kg：親化合物換算)、NP標識体処理ではTRRに対して8.2% (0.017mg/kg：親化合物換算) であった。
3. 最終収穫時のトマト果実における主要放射性残留成分は、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]であり、CP標識体処理トマト果実ではTRRに対して65.8% (0.122mg/kg：親化合物換算)、NP標識体処理トマト果実ではTRRに対して75.6% (0.157mg/kg：親化合物換算) であった。
最終収穫時のトマトにおけるフェンアミドンの主要代謝物は、 であり、CP標識体処理トマト果実ではTRRに対して % (mg/kg：親化合物換算)、NP標識体処理トマト果実ではTRRに対して % (mg/kg：親化合物換算) であった。
フェンアミドン及び主要代謝物 の構造は、HPLCによる認証済み標準品とのクロマトグラフィー及びHPLC-MS-MSによって同定された。
4. 主要代謝物 に次ぐ代謝物として、 がHPLCによるクロマトグラフィーによって暫定的に同定された。 はCP標識体処理トマト果実においてTRRに対して % (mg/kg：親化合物換算)、NP標識体処理トマト果実においてTRRに対して % (mg/kg：親化合物換算) 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

トマトにおけるフェンアミドンの代謝経路を次に示す。

(資料No. 運命-4)

レタスにおける代謝試験

試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)

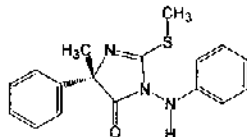
報告書作成年：1999年

供試化合物：

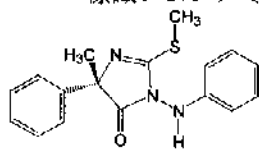
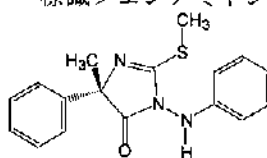
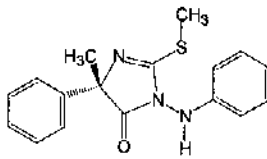
非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン
(IUPAC)

構造式：  , 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の三種類を供試した。

<p>構造式： </p> <p>放射化学的純度： % (HPLC) 比放射能： Bq/μg 以下、CP標識体とする。</p>	<p>構造式： </p> <p>放射化学的純度： % (HPLC) 比放射能： Bq/μg 以下、NP標識体とする。</p>
<p>[13C]標識フェンアミドン</p> <p>構造式：  純度： %</p>	
<p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>	

供試植物：レタス(品種：アイスバーグレタス)

処理溶液の調製：

CP標識体処理溶液：CP標識体を非標識フェンアミドンと混合し、製剤白試料を加えて10%乳剤とし、水で所定濃度に希釈してCP標識体処理溶液とした。

NP標識体処理溶液：[N-フェニル]標識フェンアミドンを非標識フェンアミドンと混合し、[C-フェニル]処理溶液と同様に調製した。

CP標識体：[13C]処理溶液：CP標識体を[13C]標識フェンアミドンで希釈し、その後はCP標識体処理溶液と同様に調製した。

試験方法：

試験区及び植物への処理

CP標識体処理区：CP標識体処理溶液を一回当たり有効成分20.11mg/容器の設定薬量で、レタスに計4回の散布処理を行った。なお、散布処理日は次のとおりであった。

第1回処理：1996年8月30日、 第2回処理：1996年9月12日、

第3回処理：1996年9月24～25日、 第4回処理：1996年10月4日

NP標識体処理区：NP標識体処理溶液を一回当たり有効成分20.11mg/容器の設定薬量で、レタスに計4回の散布処理を行った（散布処理日はCP標識体処理区と同一である）。

CP標識体：[13C]処理区：「CP標識体：[13C]処理溶液」を400g有効成分/haの薬量で、レタスに1回の散布処理（散布処理日：1996年8月30日）を行った。

また別途、無処理の対照レタス区を設けた。

実処理量：植物に処理したCP標識体及びNP標識体の実際量を、下表に示す。CP標識体の累積施用量は有効成分1438g/ha、NP標識体の累積施用量は有効成分1426g/haであり、これは本剤の年間圃場施用量（有効成分1600g/ha）に等しいものであった。

処理	設定処理量 (mg/容器)	容器への処理量			
		CP標識体		NP標識体	
		mg/容器	対設定処理量(%)	mg/容器	対設定処理量(%)
第1回	20.11	16.06	79.9	15.90	79.1
第2回	20.11	11.65	57.9	9.21	45.8
第3回*	31.00	26.98	87.0	28.99	93.5
第4回	20.11	17.61	87.6	17.61	87.6
総処理量		72.31	89.9	71.71	89.1

*：第2回処理において想定処理量に対する達成率が低かったため、第3回処理量を増加して補正した。

植物への処理日/植物の栽培及び採取：

植物への処理及び栽培は、屋外にて実施した。

以下の採取日に、CP標識体処理レタス、NP標識体処理レタス、CP標識体：[13C]処理レタス及び対照レタスを採取した。

採取時期		採取処理区	採取レタスの分割
第1回 中間収穫	1996年9月12日 (第2回処理の前に実施)	CP標識体処理区 及び NP標識体処理区	レタスが成長過程であったため、分割しなかった。
第2回 中間収穫	1996年10月4日 (第4回処理の前に実施)	CP標識体処理区 及び NP標識体処理区	「外葉」及び「結球」に分割した。
最終収穫	1996年10月11日	CP標識体処理区、 NP標識体処理区、及び CP標識体：[13C]処理区	「外葉」及び「結球」に分割した。

また分割したレタス各部位は、重量を測定し、アセトニトリルで洗浄した。分割試料を風乾後、-20℃でホモジネートした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試料からの抽出及び抽出液の分析

本試験で用いられた抽出工程及び全放射性残留量の分析過程を、図 1 にフローチャートで示す。

対照レタスについては、抽出等の処理を行わず、そのまま燃焼させて放射能を測定した。

CP 標識体処理レタス及び NP 標識体処理レタスの放射能成分の検討には、表面洗浄及び抽出工程で得られた洗浄液及び濃縮抽出液（各抽出液を濃縮したもの）を、次の分析法を用いて検討した。なお各分析では、認証済み標準物質との比較を行った。

逆相高速液体クロマトグラフィー（HPLC）

〔原報告書では、分析法 A として記載されている〕

なお、確認として次の薄層クロマトグラフィー（順相 TLC）を用いた。

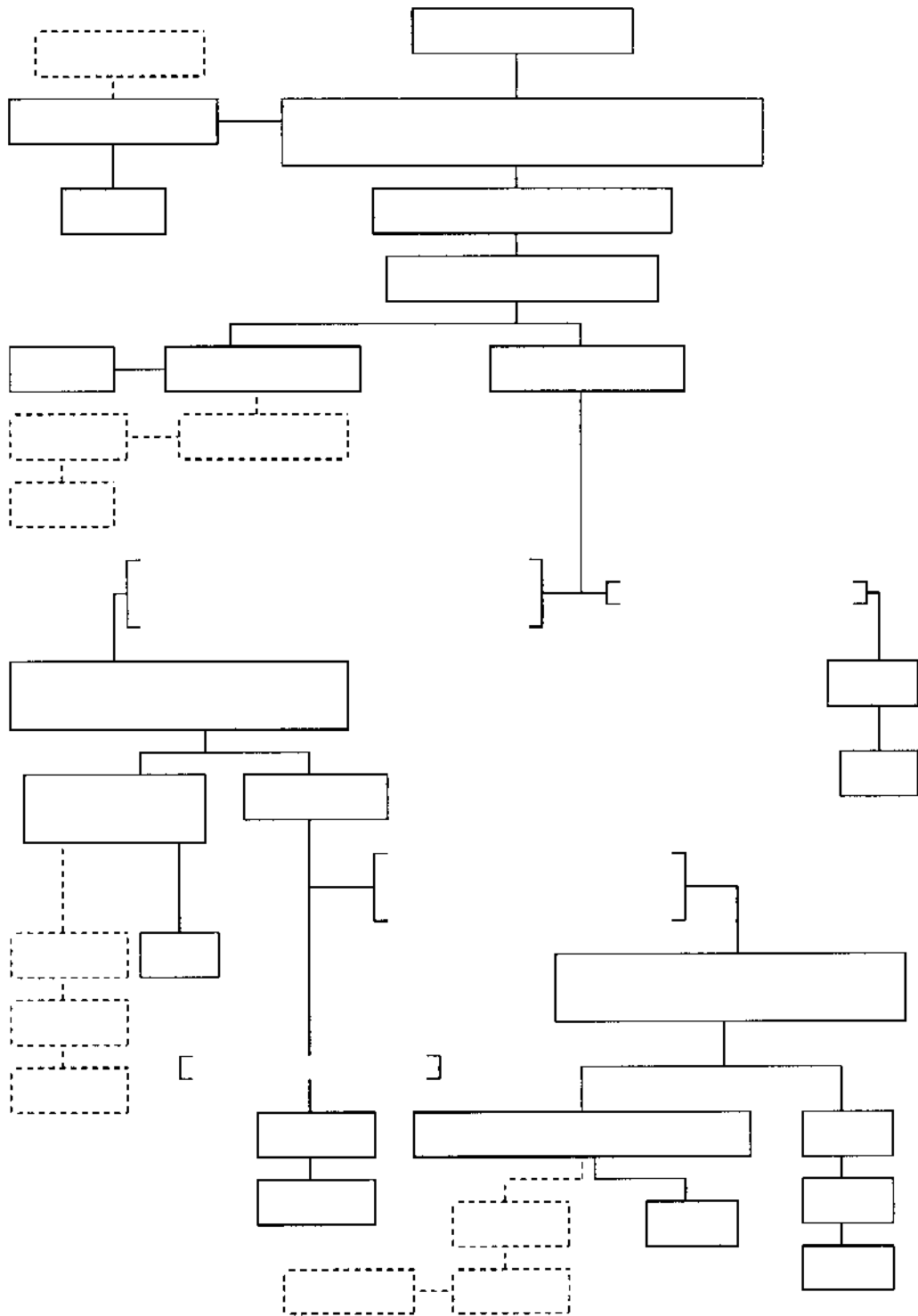
代謝物の同定

第 2 回中間収穫レタスの外葉抽出液を、固相抽出して精製し、液体クロマトグラフィー/マススペクトロメトリー（LC-MS）で代謝物の同定を試みた。また、抱合体である代謝物については、[C-フェニル]：[13C] 処理レタスの外葉抽出液を固相抽出して精製し、LC-MS で分析した。なお、固相抽出の手順を図 2 にフローチャートで示した。

代謝物同定に用いた LC-MS の概要は、以下のとおりであった。

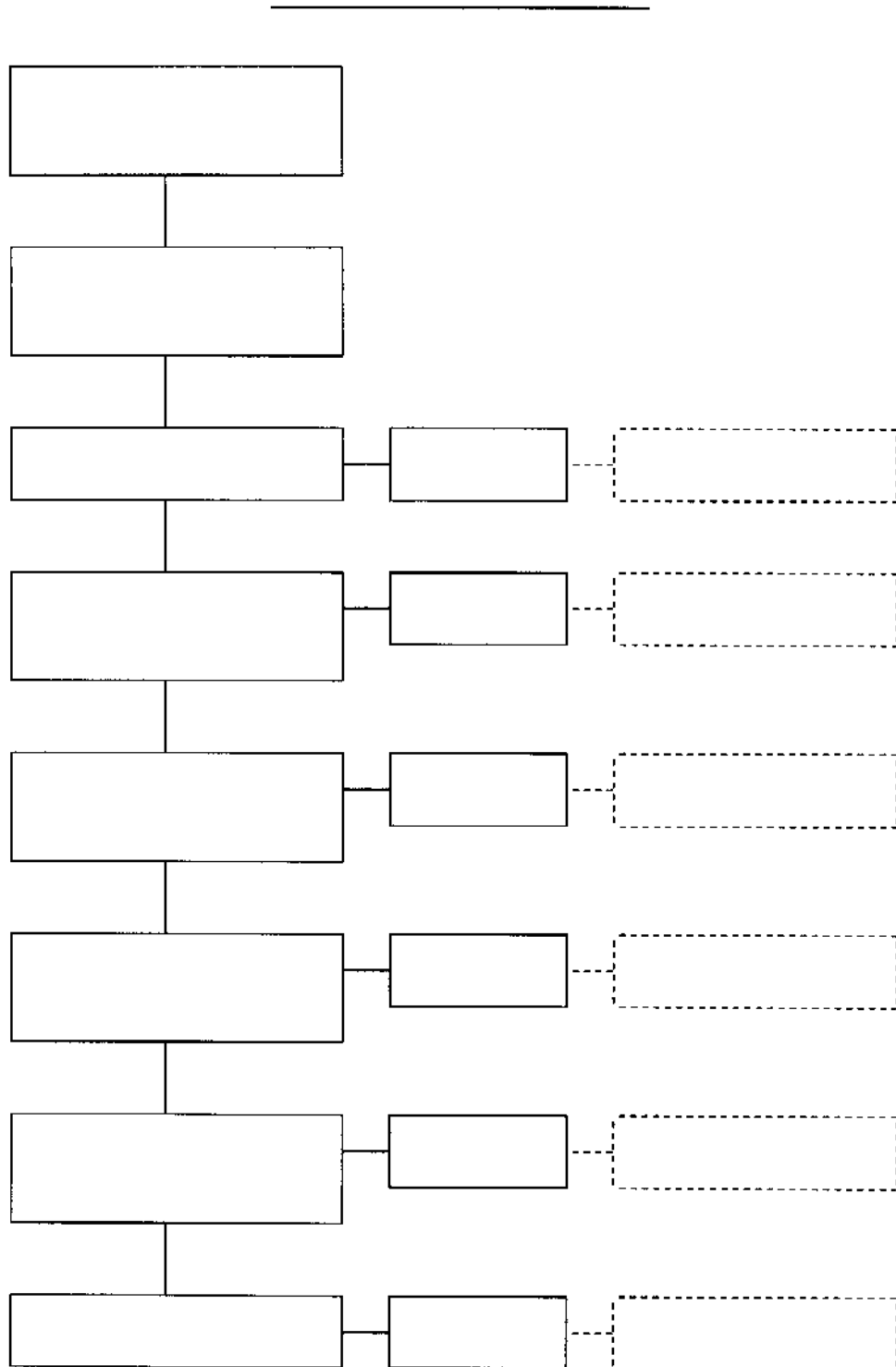
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図1：本試験で用いられた抽出工程及び全放射性残留量の分析



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図2：第2回中間収穫レタス外葉及び「CP標識体：[13C]処理レタス外葉」



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果

全放射線残留量 (TRR) の濃度に関する経時的推移:

各収穫時点における全放射線残留量 (各部位及びレタス全体) の推移は、次のとおりであった。

(mg/kg : 親化合物換算, n=2)

収穫時期	CP 標識体処理レタス					NP 標識体処理レタス				
	第1回中間収穫 (処理: 1回)	第2回中間収穫 (処理: 3回)		最終収穫 (処理: 4回)		第1回中間収穫 (処理: 1回)	第2回中間収穫 (処理: 3回)		最終収穫 (処理: 4回)	
レタス部位	レタス全体	結球	外葉	結球	外葉	レタス全体	結球	外葉	結球	外葉
CH ₃ CN 洗浄液	0.313	n.a.	0.707	n.a.	1.142	0.311	n.a.	0.574	n.a.	1.487
CH ₃ CN 抽出液	1.607	0.117	5.194	0.239	10.100	1.244	0.085	4.204	0.186	8.833
CH ₃ OH/水 抽出液	0.164*	0.021	0.432	0.023	0.463	0.108*	0.014	0.139	0.010	0.414
CH ₃ CN/水 抽出液	n.a.	0.003#	0.083#	0.009	0.182	n.a.	0.002#	0.061#	0.004	0.165
抽出残渣	0.357*	0.017#	0.631#	0.019	0.569	0.290*	0.015#	0.618#	0.014	0.690
部位合計	2.441	0.158	7.048	0.291	12.446	1.952	0.116	5.597	0.214	11.589
		[0.46%]	[99.54%]	[0.80%]	[99.20%]		[0.44%]	[99.46%]	[0.54%]	[99.46%]
レタス全体		5.872 [100.0%]	9.338 [100.0%]			4.641 [100.0%]	9.023 [100.0%]			

* : CH₃OH/水による追加抽出での補正值, # : CH₃CN/水による追加抽出での補正值
n.a. = 当該処理 (洗浄・抽出) を行わなかった。 [] : 各部位への放射能分布率

CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスの両方において、フェンアミドンの処理量の増加に伴って各部位のTRR及びレタス全体のTRRが増加した。

また結球のTRRは外葉のTRRの約50分の1程度であった。これは、きつく巻いている結球と比較して、外葉は処理フェンアミドンに暴露する表面積が大きいためと考えられた。

対照レタスのTRRを下表に示す。

(mg/kg : 親化合物換算)

	アセトニトリル 洗浄液 (mg/kg)	燃焼 (mg/kg)	TRR (mg/kg)
第1回中間収穫	0.000	0.000	0.000
第2回中間収穫	0.000	0.000	0.000
最終収穫	0.000	0.002	0.002

この結果から、処理植物から顕著な揮発性物質は放出されず、また隣接植物に取り込まれないものと考えられた。

放射線の抽出効率:

CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスの各部位における抽出効率 (結球の表面洗浄液を含む) を、以下に示す。

CP標識体処理レタス

NP標識体処理レタス

レタス部位	第1回中間収穫		第2回中間収穫		最終収穫	
	抽出率 (%)	非抽出率 (%)	抽出率 (%)	非抽出率 (%)	抽出率 (%)	非抽出率 (%)
外葉	/	/	89.5	10.3	93.5	6.5
結球	/	/	91.0	9.0	95.5	4.5
レタス全体	85.4	14.6	91.0	9.0	95.5	4.5

レタス部位	第1回中間収穫		第2回中間収穫		最終収穫	
	抽出率 (%)	非抽出率 (%)	抽出率 (%)	非抽出率 (%)	抽出率 (%)	非抽出率 (%)
外葉	/	/	87.0	13.7	93.5	6.5
結球	/	/	88.9	10.9	94.0	6.0
レタス全体	85.1	14.7	89.0	11.0	94.0	6.0

(%) : 各部位またはレタス全体のTRRに対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 : レタス結球における放射性成分の推移(数値はn-2の平均値)

放射 性 成 分			CP標識体処理レタス結球		NP標識体処理レタス結球	
			第 2 回 中間収穫	最終収穫	第 2 回 中間収穫	最終収穫
フェンアミドン	RRT:1.00	%TRR	35.20	70.44	42.38	73.40
[代謝物記号A]		mg/kg	0.056	0.205	0.049	0.157

RRT : 逆相HPLCにおけるフェンアミドンに対する相対保持時間,
 mg/kg : レタス全体における放射性残留濃度 (親化合物換算)
 %TRR : レタス全体のTRRに対する%, n. d. : 検出されず, * : 申請者が計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3：レタス全体における放射性成分の推移(数値はn=2の平均値)

放射 性 成 分			CP標識体処理レタス全体			NP標識体処理レタス全体		
			中間収穫		最終収穫	中間収穫		最終収穫
			第 1 回 (未成熟期)	第 2 回		第 1 回 (未成熟期)	第 2 回	
フェンアミドン	RRT:1.00	%TRR	52.86	71.62	91.80	52.68	74.34	91.33
[代謝物記号△]		mg/kg	1.286	4.206	8.572	1.217	3.450	8.241

痕跡量の が、最終収穫時のCP標識体処理レタスの外葉洗浄液のみから確認された。

RRT : 逆相HPLCにおけるフェンアミドンに対する相対保持時間,
 mg/kg : レタス全体における放射性残留濃度 (親化合物換算)
 %TRR : レタス全体のTRRに対する%, n. d. : 検出されず, * : 申請者が計算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

CP標識体処理レタス全体

最も多くの種類の代謝物が認められたのは、第2回中間収穫試料であった。

CP標識体処理レタスの主要残留性分は未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]であり、第2回中間収穫時ではTRRの71.62% (4.206mg/kg)、最終収穫時ではTRRの91.80% (8.572mg/kg) を占めた。

第2回中間収穫時及び最終収穫時を通じて、フェンアミドンの代謝物として複数の
及び
が認められた。

また
は、第2回中間収穫時には認められたが、最終収穫時には認められなかった。

NP標識体処理レタス全体

NP標識体処理レタスの主要残留性分は、CP標識体処理レタスと同様に未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]であった。未変化のフェンアミドン[代謝物記号A]は、第2回中間収穫時ではTRRの74.34% (3.450mg/kg)、最終収穫時ではTRRの91.33% (8.241mg/kg) を占めた。

第2回中間収穫時及び最終収穫時を通じて、フェンアミドンの代謝物として2種類の
及び
が認められた。

CP標識体処理レタスで認められた
及び
は、その標識位置 (N-フェニル環) のため認められなかった。

以上の結果から、フェンアミドンのレタスにおける代謝を以下に要約する。

1. CP標識体フェンアミドン及びNP標識体フェンアミドンをそれぞれ別個にレタスに4回散布処理した。最終収穫時のレタス全体の主要放射性成分は、CP標識体処理レタス全体及びNP標識体処理レタス全体とも未変化の親化合物フェンアミドンであった。

最終収穫時における未変化のフェンアミドンは、CP標識体処理レタス全体ではTRRに対して91.80% (8.572mg/kg)、NP標識体処理レタス全体ではTRRに対して91.33% (8.241mg/kg) であった。

2. 最終収穫時におけるフェンアミドンの代謝物は、CP標識体処理レタス及びNP標識体処理レタスとも
、各種
及び
であった。

また第2回中間収穫時のCP標識体処理レタスにおいて、
及び
が認められたが、これら2種類の代謝物はNP標識体処理レタスでは認められなかった。

フェンアミドンのレタスにおける想定代謝経路を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

フェンアミドンのレタスにおける（想定）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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ばれいしょにおける代謝試験

(資料No. 運命-5)

試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)

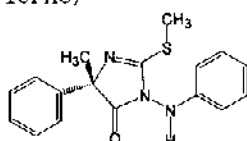
報告書作成年：1999年

供試化合物：

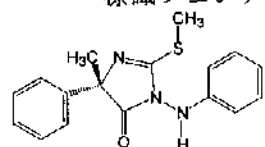
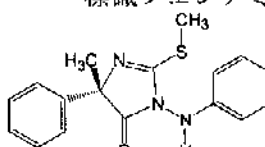
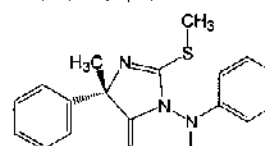
非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン
(IUPAC)

構造式：  , 純度： %



炭素同位体標識フェンアミドン：次の三種類を供試した。

<p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC) 比放射能： G Bq/mmol (圃場試験) G Bq/mmol (温室試験) 以下、CP標識体とする。</p>	<p>構造式：</p> <p>標識フェンアミドン</p>  <p>放射化学的純度： % (HPLC) 比放射能： G Bq/mmol (圃場試験) G Bq/mmol (温室試験) 以下、NP標識体とする。</p>
<p>[13C]標識フェンアミドン</p> <p>構造式：</p>  <p>純度： %</p>	
<p>なお、構造式中の * は、炭素同位体の標識位置を示す。</p>	

供試植物：ばれいしょ(品種：Desiree)

植物栽培方法：「圃場栽培」及び「温室栽培」を行った。圃場栽培は、ばれいしょ発芽後にフェンアミドンを3回処理した場合の残留物の量及びその性質を検討するために実施し、また温室栽培は、代謝物の同定に役立てるために実施した。

圃場栽培

処理溶液の調製：

・CP標識体処理溶液

CP標識体を非標識フェンアミドンで希釈し、その後、乳剤白試料と混合して10%乳剤を調製した。本製剤を脱イオン水で希釈して、CP標識体処理溶液とした。

・NP標識体処理溶液

NP標識体を非標識フェンアミドンで希釈し、その後はCP標識体処理溶液と同手順で調製した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ばれいしょへの処理：

円筒形ポットに種いもを植え付け、屋外で栽培した。試験区は次のとおりであり、一区当たりのポット数は3個であった。

- ・CP標識体処理ばれいしょ：CP標識体処理溶液を、ばれいしょ発芽後に植物体の上から散布処理した。散布処理は計3回（1回当たりの設定薬量：有効成分500 g/ha [有効成分25.13mg/試験区]）行い、その累計設定薬量（有効成分1500 g/ha）は本剤の年間圃場施用量と同水準であった。
- ・NP標識体処理ばれいしょ：[C-フェニル-U-14C]処理溶液と同じ方法で、植物体に処理した。

また、14C-揮発性成分の取り込みを測定するために、対照ばれいしょを処理ポットの周辺に設置した。

圃場栽培における実処理量を下表に示す。

処 理	設定薬量 (mg/試験区)	試験区への処理量			
		CP標識体処理		NP標識体処理	
		mg/試験区	対設定薬量(%)	mg/試験区	対設定薬量(%)
第1回	25.13	13.90	55.3	14.95	59.5
第2回	25.13	25.57	101.7	25.81	102.7
第3回	25.13	26.00	103.5	27.67	110.1
総処理量		65.47	86.8	68.43	90.8

温室栽培

処理溶液の調製：

- ・CP標識体：[13C]処理溶液
“非標識フェンアミドンで希釈したCP標識体”及び[13C]標識フェンアミドン（CP標識体：[13C]=4：1）をアセトニトリル/水混合液で希釈して、CP標識体：[13C]処理溶液を調製した。
- ・NP標識体：[13C]処理溶液
“非標識フェンアミドンで希釈したNP標識体”及び[13C]フェンアミドン（NP標識体：[13C]=4：1）を[C-フェニル-U-14C]：[13C]と同じ方法で調製した。

ばれいしょへの処理：円筒形ポットに種いもを植え付け、温室内で栽培した。試験区は次のとおりであり、一区当たりのポット数は3個であった。

- ・「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ：
「CP標識体：[13C]」処理溶液を、設定薬量として有効成分1500 g/ha [有効成分10.6mg/試験区]で、ばれいしょ植物体の葉及び茎の基部に単回処理した。なお、処理溶液を入れたバイアルの水洗浄液を、ばれいしょの葉及びその周辺の土壌に処理した。
- ・「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ：
「NP標識体：[13C]」処理溶液を、「CP標識体：[13C]」処理溶液の場合と同じ方法で、ばれいしょ植物体に処理した。

温室栽培における実処理量を下表に示す。

設定薬量 (mg/試験区)	試験区への処理量			
	CP標識体：[13C]処理		NP標識体：[13C]処理体	
	mg/試験区	対設定薬量(%)	mg/試験区	対設定薬量(%)
10.6	11.17	105.4	9.80	92.4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試料採取：圃場栽培における、試料採取日は次のとおりであった。第一回及び第二回中間収穫は、第二回及び第三回(最終)処理の直前に行われた。

処 理 日		収 穫 日	
第一回	1996年8月 1日		
第二回	1996年8月15日	第一回収穫	1996年8月15日
第三回	1996年8月30日	第二回収穫	1996年8月30日
		最終収穫	1996年9月13日

温室栽培における試料採取日は、次のとおりであった。

処 理 日	収 穫 日	
1998年8月19日	CP標識体：[13C]処理区	1998年10月5日
	NP標識体：[13C]処理区	1998年11月3日

圃場栽培及び温室栽培で採取した「ばれいしょ」植物体は、次のとおり分割/脱イオン水で洗浄しその後ホモジナイズ処理を行って、全放射性残留量（TRR）測定及び代謝物〔抽出性放射能成分〕の検測試料とした。このホモジナイズした試料を、抽出処理及び分析まで-20℃～-25℃で凍結保存した。

栽培区分	収穫ばれいしょ	分割試料の形態
圃 場	第一回中間収穫	「茎部」及び「皮付き塊茎部」
	第二回中間収穫	「茎部」及び「皮付き塊茎部」
	最終収穫 *	「茎部」、「皮剥き塊茎部」及び「(塊茎の)皮」
温 室	—	「皮付き塊茎」

*：対照ばれいしょに関しては、「茎部」と「皮付き塊茎部」に分割した。

なお、茎部は可食部ではないが、代謝物同定に役立てるために分析した。

試料からの抽出及び抽出液の分析

本試験で用いられた抽出/分析過程を、図 1（各部位のTRR測定用の抽出工程）及び図 2（抽出性放射能の検討）にフローチャートで示した。また、フローチャート内で示されている各分析方法の概要は、以下のとおりであった。なお、対照ばれいしょに関しては、抽出処理を行わずに燃焼させ、放射能を測定した。

抽出性の放射性成分について、次の方法の組み合わせを用いて同定及び特徴付けを行った。同定及び特徴付けに関しては、認証済み参照物質の(クロマトグラム上の)保持時間/Rf値及び(LC-MS/MSの)マススペクトルとの比較によって行った。

A. 抽出性放射能成分の同定及び特徴付け

順相 薄層クロマトグラフィー（順相TLC）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

逆相高速液体クロマトグラフィー（逆相HPLC）①

〔原報告書では、HPLC法Dとして記載されている〕

液体クロマトグラフィー-マススペクトロメトリー/マススペクトロメトリー
(LC-MS/MS)

液体クロマトグラフィー条件

マススペクトロメーター条件

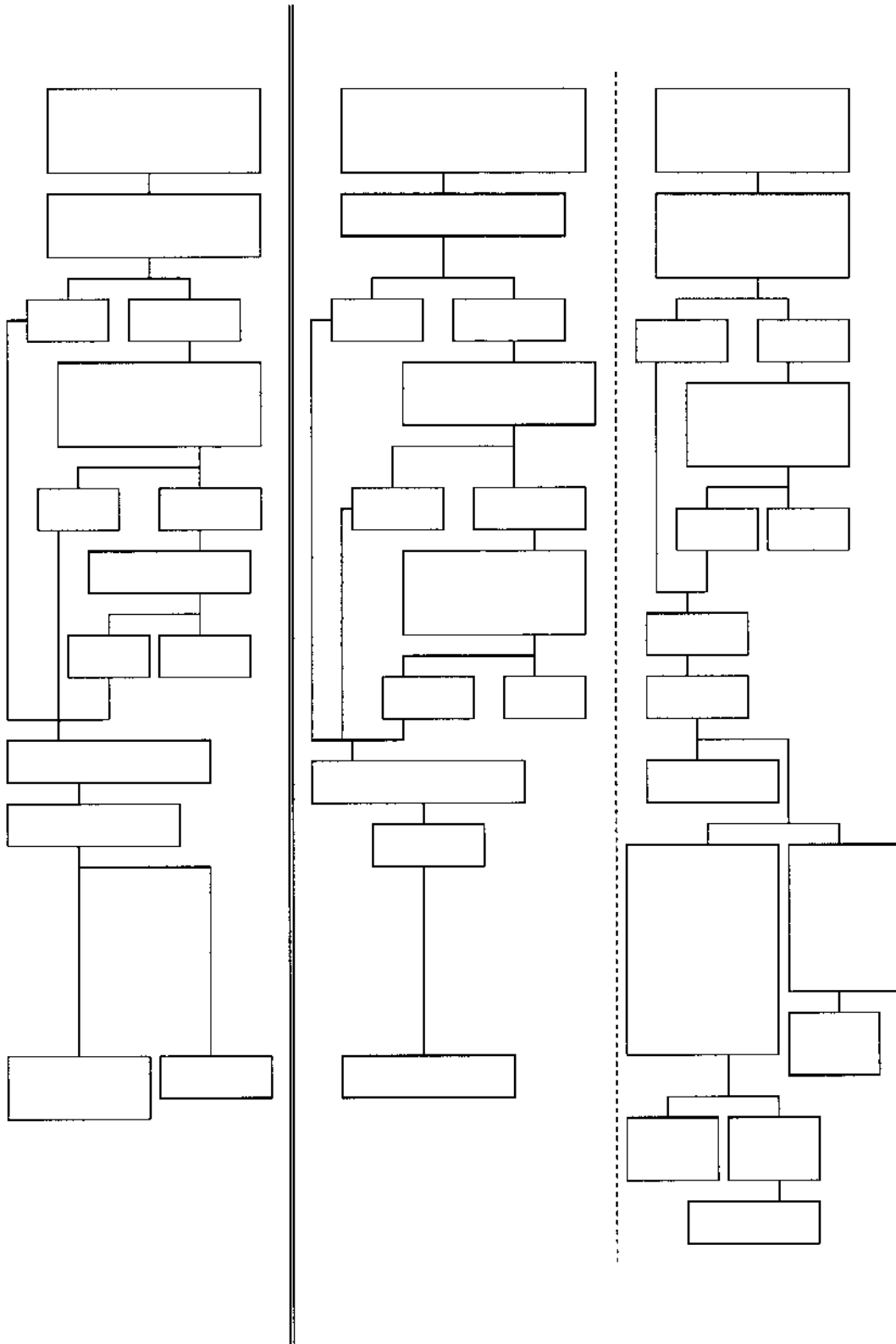
なお、上記A.「抽出性放射能成分の同定及び特徴付け」で認められた「極性成分」に関しては、以下の方法を用いて特徴付けを行った。

B.「極性成分」についての特徴付け

逆相HPLC②（逆相）〔原報告書では、HPLC法Eとして記載されている〕

特徴付けに関しては、認証済み参照物質の(クロマトグラム上の)保持時間との比較によって行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



結 果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

全放射性残留量 (TRR) : 圃場栽培ばれいしょの各部位におけるTRR、及び対照ばれいしょ中のTRRを表1及び表2にまとめた。

表 1 : 圃場栽培ばれいしょの各部位におけるTRR (mg/kg、親化合物換算)

ばれいしょ 作物部位	CP標識体処理ばれいしょ			NP標識体処理ばれいしょ		
	中間収穫		最終収穫	中間収穫		最終収穫
	第一回	第二回		第一回	第二回	
茎部	1.289 [99.68%]	2.682 [98.13%]	6.575 [98.29%]	1.366 [99.74%]	1.916 [99.33%]	5.895 [98.94%]
塊茎部(皮剥き)			0.080 [1.27%]			0.032 [0.95%]
皮			0.116 [0.44%]			0.060 [0.12%]
皮付き塊茎部	0.007 [0.32%]	0.050 [1.87%]	0.087 [1.71%]	0.006 [0.26%]	0.019 [0.67%]	0.038 [1.07%]
ばれいしょ全体	0.815[100.0%]	1.350[100.0 %]	2.892[100.0 %]	0.857[100.0 %]	1.147[100.0 %]	2.760[100.0 %]

注：第一回及び第二回中間収穫時の塊茎部試料は、皮及び塊茎部(皮剥き)に分割しなかった。

[] : 各部位への放射能分布率 (申請者が算出した。)

フェンアミドンの処理回数が増えるにつれて、各部位におけるTRRが増加した。各収穫時点において、皮付き塊茎部のTRRは茎部の全放射性残留濃度は皮付き塊茎部のTRRを著しく上回った。この部位におけるTRRの違いは、表面積の広い葉が放射性炭素標識フェンアミドンに暴露されたこと、またフェンアミドン及びその代謝物の茎部から皮付き塊茎部への移行が限られているためと考えられた。

表 2 : 対照ばれいしょの各部位におけるTRR (単位 : mg/kg、親化合物換算)

	CP標識体処理区の対照ばれいしょ						NP標識体処理区の対照ばれいしょ					
	中間収穫				最終収穫		中間収穫				最終収穫	
	第一回		第二回				第一回		第二回			
	塊茎部	茎部	塊茎部	茎部	塊茎部	茎部	塊茎部	茎部	塊茎部	茎部	塊茎部	茎部
洗浄液	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	0.001	
燃 焼	<0.001	0.002	0.001	0.006	0.001	0.009	<0.001	0.001	0.001	0.006	0.001	0.008
TRR	<0.001	0.002	0.002	0.006	0.001	0.009	<0.001	0.001	0.001	0.006	0.001	0.009

対照ばれいしょでは、塊茎部から検出された放射能は<0.001~0.001mg/kg (親化合物換算)であり、茎葉部から検出された放射能は最高で0.009mg/kg (親化合物換算)であった。従って、塊茎部及び茎部のTRRに影響を及ぼす¹⁴C揮発性生成物の取り込みは、起こらないものと考えられた。

放射能の抽出性 : 圃場栽培ばれいしょ各部位のTRR抽出性は、表3のとおりであった。

表3 : 圃場栽培ばれいしょ各部位のTRR抽出性 (各部位のTRRに対する%)

ばれいしょ	CP標識体処理		NP標識体処理	
	中間収穫		中間収穫	

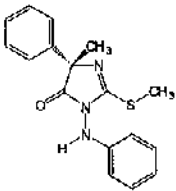
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

作物部位	第一回		第二回		最終収穫		第一回		第二回		最終収穫	
	抽出	非抽出	抽出	非抽出	抽出	非抽出	抽出	非抽出	抽出	非抽出	抽出	非抽出
茎部	79.3	20.7	69.6	30.4	76.7	23.3	73.6	26.4	72.9	27.1	77.6	22.4
塊茎部(皮剥き)	/				75.8	24.2	/				45.5	54.5
皮					65.6	34.4					47.5	52.5
皮付き塊茎部	85.7	14.3	86.0	14.0	73.2	26.8	66.6	33.3	63.2	36.8	46.1	53.9

抽出：抽出性の放射性成分、非抽出：非抽出性の放射性成分
 第一回及び第二回中間収穫時の塊茎部試料は、皮及び塊茎部(皮剥き)に分割しなかった。

皮付き塊茎部では、CP標識体処理及びNP標識体処理ばれいしょともに、経時的に非抽出性の放射性成分の量が増大した。また、皮付き塊茎部におけるNP標識体処理ばれいしょの非抽出性の放射性成分は、CP標識体処理ばれいしょに対して約2～3倍となった。

抽出性の放射性成分の特徴付け及び同定：逆相HPLC法①及び順相TLCにおける、各認証済み標準物質との比較から、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]、及び
 の存在が確認された。また皮抽出液から、低レベルのが検出された。

フェンアミドン [代謝物記号A]	[]	[]	[]	[]
				

LC-MS/MSにより、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]、
 が同定された。

最終収穫時のばれいしょ各部位TRR中での、放射性成分の内訳(逆相HPLC①による)を表4に示す。なお、表中の%は、各部位のTRRに対する百分率を示し、mg/kgは親化合物換算である。

表4：圃場栽培 — 最終収穫時の CP標識体処理ばれいしょ及び NP標識体処理ばれいしょ

{塊茎部(皮剥き)：n=2, 皮：n=3, 茎部：n=2の各平均値}

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物記号A]であり、莖部TRRに対して51.41% (3.380mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いで [] が莖部TRRに対して % (mg/kg)、 [] が莖部TRRに対して % (mg/kg)認められた。その他の放射性成分として、 [] が莖部TRRに対して % (mg/kg)、 [] が莖部TRRに対して % (mg/kg)認められた。

皮付き塊莖部

皮付き塊莖部において最も多い放射性成分は、多成分からなる [] であり、最終収穫時の皮付き塊莖部TRRに対して % (mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いで [] が皮付き塊莖部TRRに対して % (mg/kg) が認められた。

その他の放射性成分として、皮付き塊莖部TRRに対して [] が % (mg/kg)、 [] が % (mg/kg)、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]が2.28% (0.002mg/kg)、 [] が % (mg/kg)、 [] が % (mg/kg)認められた。

なお [] は莖部からは検出されなかったのに対し、塊莖部からそのTRRに対して % (mg/kg) 検出された。塊莖部で認められた [] は植物体内を移行したのではなく、むしろ周囲の土壌粒子から皮付き塊莖部に吸収された放射性成分に由来するものと示唆された。従って皮付き塊莖部中の放射性成分は、莖部から移行した放射性成分及び周囲の土壌から吸収した放射性成分から構成されていると考えられる。

NP標識体処理ばれいしょ

莖 部

莖部において最も多く認められた放射性成分は、未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]であり、その莖部TRRに対して68.89% (4.061mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いで [] が莖部TRRに対して % (mg/kg)、 [] が莖部TRRに対して % (mg/kg)認められた。

皮付き塊莖部

皮付き塊莖部における主要成分は、CP標識体処理ばれいしょの皮付き塊莖部と同様に [] であり、そのTRRに対して % (mg/kg、親化合物換算：以下同じ)であった。次いでTRRに対して未変化の親化合物フェンアミドン[代謝物記号A]が5.77% (0.002mg/kg)、 [] が % (<0.001mg/kg)、 [] が % (mg/kg)認められた。

CP標識体処理ばれいしょで認められた [] 及び [] は、NP標識体の標識位置のため認められなかった。 [] は、皮付き塊莖部TRRに対して % (mg/kg)であった。

極性物質の特徴付け：温室栽培ばれいしょ皮付き塊茎部の抽出液を濃縮し、逆相HPLC①で分析した。その結果、相対保持時間から同一の極性成分が圃場栽培及び温室栽培ばれいしょ塊茎部に存在しているものと考えられた。

逆相HPLC①による、温室栽培した「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ及び「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょの各皮付き塊茎部の、分析結果を表5及び表6に示す。

表5：温室栽培－「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ

分析部位		フェンアミドン	極性物質(計)#	抽出残渣	合計
皮付き塊茎部	%TRR				
	mg/kg				

: 相対保持時間0.12の一本のピークが確認された。
 %TRR : TRRに対する百分率、 mg/kg : 親化合物換算

表6：温室栽培－「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ

分析部位		フェンアミドン	RPA 405862	極性物質(計)#	未知代謝物2	抽出残渣	合計
皮付き塊茎部	%TRR						
	mg/kg						

: 相対保持時間0.14の一本のピークが確認された。
 %TRR : TRRに対する百分率、 mg/kg : 親化合物換算

温室栽培ばれいしょ皮付き塊茎部の濃縮抽出液を分析した結果、極性物質は複数のピークに分離した。「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部では、極性物質は9ピークに分離し、「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部では、極性物質が4ピークに分離した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

これらの結果を基に、別の最終収穫したCP標識体処理及びNP標識体処理ばれいしょの各塊茎部（皮剥き塊茎部及び皮）中の極性物質組成の特徴について、逆相HPLC②で分析した温室栽培ばれいしょの各皮付き塊茎部の分布パターンを外挿した。

表7～8に、温室栽培ばれいしょ塊茎部中の極性物質の分離パターン及び圃場栽培ばれいしょ塊茎部への外挿結果を示す。

表7：温室栽培－「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部中の極性物質の分離パターン及び圃場栽培－CP標識体処理ばれいしょ塊茎部への外挿

HPLC② に おけるピーク		極 性 物 質										
		ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5	ピーク 6	ピーク 7	ピーク 8	ピーク 9	極性物質 (計)**	
相対保持時間												
温室栽培 (精製後)	%TRR											
	mg/kg											
圃場栽培	%TRR**											
	表4：皮付き塊茎部における極性物質(計)： mg/kg (TRRの %)											
	mg/kg*											

*：報告書に記載された外挿値， **：申請者が算出

%：「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ又はCP標識体処理ばれいしょの各塊茎部TRRに対する割合

表8：温室栽培－「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部中の極性物質の分離パターン及び圃場栽培－NP標識体処理ばれいしょ塊茎部への外挿

HPLC② におけるピーク		極 性 物 質				極性物質 (計) **
		ピークA	ピークB	ピークC	ピークD	
相対保持時間						
	%TRR					
	mg/kg					
圃場栽培 *	%TRR**					
	表4：皮付き塊茎部における極性物質(計)： mg/kg (TRRの %)					
	mg/kg					

*：報告書に記載された外挿値， **：申請者が算出

%：「NP標識体：[13C]」処理ばれいしょ又はNP標識体処理ばれいしょの各塊茎部TRRに対する割合

また、「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部の精製抽出液に濃ギ酸による酸加水分解処理を行い、HPLC②で分析した。この結果、上記のピーク3及びピーク4に相当するピークは認められず、RPA717879と同じ保持時間のピークが認められ、その塊茎部TRRに対する割合が増加した。

表9に、「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部の濃縮抽出液を酸加水分解した

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

後のプロファイルを示す。

表9：「CP標識体：[13C]」処理ばれいしょ塊茎部 — 濃縮抽出液の酸加水分解による分離パターンの変化
(酸加水分解前)

HPLC②に おけるピーク		極 性 物 質									極 性 物 質 (計)	のピーク	合 計
		ピーク 1	ピーク 2	ピーク 3	ピーク 4	ピーク 5	ピーク 6	ピーク 7	ピーク 8	ピーク 9			
相対保持時間													
温室栽培 (精製後)	%TRR												
	mg/kg												

(酸加水分解後)

HPLC②に おけるピーク		極 性 物 質						極 性 物 質 (計)	のピーク	合 計
		ピーク 1	ピーク 2	ピーク 5	ピーク 6及び7	ピーク 8	ピーク 9			
相対保持時間										
温室栽培*	%TRR									
(精製後)	mg/kg									

従って、HPLC②のピーク3及び4は、RPA717879の抱合体と推定された。

以上の結果から、最終収穫時の圃場栽培ばれいしょ塊茎部における放射能分布を、申請者が以下のようにまとめた。

圃場栽培：CP標識体処理ばれいしょ（最終収穫時）

代謝物記号		A										
分析部位	名称	フェンアミドン										
皮付き	mg/kg	0.002										
塊茎部	%	2.28										

圃場栽培：NP標識体処理ばれいしょ（最終収穫時）

代謝物記号		A									
分析部位	名称	フェンアミドン									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイオエルクroppサイエンス株式会社にある。

皮付き	mg/kg	0.002							
塊茎部	%	5.77							

以下にフェンアミドンのばれいしょにおける代謝を要約する。

- 最終収穫時の茎部の全放射性残留濃度(5.895~6.575mg/kg、親化合物換算)は、最終収穫時の皮付き塊茎部の全放射性残留濃度(0.038~0.087mg/kg、親化合物換算)を著しく上回った。この部位における全放射性残留濃度の違いは、表面積の広い葉が放射性炭素標識フェンアミドンに暴露されたこと、またフェンアミドン及びその代謝物の茎部から皮付き塊茎部への移行が限られているためと考えられた。
- 最終収穫時の茎部における主要放射性成分は、未変化のフェンアミドンであり、茎部 TRR に対して 51.41%~68.89% (3.380~4.061mg/kg、親化合物換算)認められた。最終収穫時の茎部におけるその他の主要放射性成分は、
及び
であった。
その他の放射性成分として、
及び
が認められ、その生成量は TRR に対して約 % (mg/kg、親化合物換算)であった。
- 最終収穫時の皮付き塊茎部における主要放射性成分は、
であった。
は、CP 標識体処理では皮付き塊茎部 TRR に対して % (mg/kg、親化合物換算)、NP 標識体処理では皮付き塊茎部 TRR に対して 30.78% (mg/kg、親化合物換算)であり、CP 標識体処理が NP 標識体処理を上回った。最終収穫時の皮付き塊茎部におけるその他の主要放射性成分は、
であった。
は、CP 標識体処理では TRR に対して % (mg/kg、親化合物換算)、NP 標識体処理では TRR に対して % (mg/kg、親化合物換算)であり、NP 標識体処理が CP 標識体処理を上回った。
- 最終収穫時の皮付き塊茎部におけるこれら極性物質及び抽出残渣の生成量の違いは、供試標識体の標識位置によるものと考えられた。NP 標識体の代謝過程で、N-N 結合の開裂により非標識の
及び
が生成する。この過程で
が生成するものと考えられる。
は植物成分と結合することが知られており、これが抽出残渣の生成量の違いにつながったものと考えられる。
- 最終収穫時の皮付き塊茎部におけるその他の放射性成分として、CP 標識体処理では未変化のフェンアミドン[代謝物記号 A]、
、
及び
が認められ、NP 標識体処理では未変化のフェンアミドン[代謝物記号 A]、
が認められた。
は茎部から認められなかったが、皮付き塊茎部から認められた。このこと

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

から、むしろ周囲の土壌粒子から皮付き塊茎部に吸収された放射性成分に由来するものと考えられた。従って皮付き塊茎部中の放射性成分は、茎部から移行した放射性成分及び周囲の土壌から吸収した放射性成分から構成されていると考えられる。

6. 最終収穫時の皮付き塊茎部から認められた について、CP標識体処理で
は から構成されており、NP標識体では から構成されていると
考えられた。CP標識体処理の の内、2
と考えられた。

フェンアミドンのばれいしょにおける植物代謝経路は、次のとおりと考えられた。

ばれいしょにおける想定代謝経路

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 土壤中運命に関する試験
好氣的土壤中運命試験

(資料No. 運命-6)

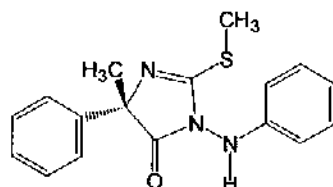
試験機関：Rhone-Poulenc Agri. (英国)
報告書作成年：1999年

供試化合物：

非標識フェンアミドン：

化学名：(S)-1-アニリノ-4-メチル-2-メチルチオ-4-フェニルイミダゾリン-5-オン
(IUPAC)

構造式：



，純度：99.6%

炭素同位体標識フェンアミドン：次の三種類を供試した。

[14C]標識フェンアミドン	
<p>[C-フェニル-U-¹⁴C]-フェンアミドン (以下、CP標識体とする) 構造式：</p> <p>*：標識位置</p> <p>放射化学的純度： % (ラジオHPLC) 比放射能： GBq/μmol</p>	<p>[N-フェニル-U-¹⁴C]-フェンアミドン (以下、NP標識体とする) 構造式：</p> <p>*：標識位置</p> <p>放射化学的純度： % (ラジオHPLC) 比放射能： GBq/μmol</p>
[13C]標識フェンアミドン (以下、[13C]標識体とする)	
<p>[¹³C]-フェンアミドン 構造式：</p> <p>*：標識位置</p>	<p>純度： %</p>

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

供試土壌：英国“Vorded Barns Farm, Ongar, Essex”土壌—埴壤土（96/52）、供試土壌の組成等を次表に示す。

土壌参照番号 96/52			
英国ADASによる分類：埴壤土		有機炭素含量	2.2 %
		有機物質含量	3.8 %
砂	(63~2000 μm) 25.88 %	カチオン交換容量 (計)	14.5 (meq/100g)
シルト	(2~ 63 μm) 50.56 %	嵩比重	1.23 g/cm ³
粘土	(< 2 μm) 23.56 %	pH (水)	7.3
		” (1m KCl)	6.6
		” (0.01M CaCl ₂)	6.8
米国農務省による分類：埴土		最大容水量	59.46 %
砂	(50~2000 μm) 34.65 %	微生物バイオマス	
シルト	(2~ 50 μm) 41.79 %	(被験物質の処理前)	455 $\mu\text{g C/g}$ 土壌
粘土	(< 2 μm) 23.56 %	(試験終了時)	339 $\mu\text{g C/g}$ 土壌

試験方法：

試験に先立ち、土壌中水分を最大容水量の約45%となるよう調整し、試験期間を通じて維持した。ブレインキューベーションを、8日間行った。また、被験物質の処理前及び試験終了時に土壌中の微生物バイオマスを測定した（測定結果は、「供試土壌」の項の表中に記載した）。

被験物質の処理：

2種類の[14C]標識フェンアミドン処理土壌を設けた。それぞれ対応する[14C]標識フェンアミドン処理溶液を、フラスコ中の土壌約100g(乾燥重量)に処理した。

- ・CP標識体処理土壌：CP標識体と非標識フェンアミドン混合物のアセトニトリル溶液を、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコ [圃場処理量1600g有効成分/ha, 最大累積圃場処理量 8×200g有効成分に相当]の用量で土壌に処理した。
- ・NP標識体処理土壌：NP標識体と非標識フェンアミドン混合物のアセトニトリル溶液を、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコの用量で土壌に処理した。

また代謝物同定の補助とするため、次に記す2種類の[14C]標識フェンアミドン・[13C]標識フェンアミドン処理土壌を設けたが、報告しなかった。

- ・CP標識体/[13C]標識体処理土壌：CP標識体と[13C]標識体混合物のアセトニトリル溶液を、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコの用量で土壌に処理した。
- ・NP標識/¹³C標識処理溶液：NP標識体と[13C]標識フェンアミドン混合物のアセトニトリル溶液。代謝生成物の同定用として、フェンアミドン0.16mg(名目重量)/フラスコの用量で、この処理溶液を土壌に処理した。

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

土壌試料のインキュベーション：

被験物質で処理された各フラスコを、遮光性プラスチックバックに入れ、20℃でインキュベートした。各フラスコには、水分を含みかつ二酸化炭素を含まない空気を供給した。

一本のフラスコには、二本の揮発性物質捕集用トラップを接続し、これをフラスコに接続した。フラスコに接続した二本の揮発性物質捕集用トラップには、一本の溶剤としてエチレングリコールを、他方の溶剤として2M水酸化カリウム溶液を用いた。

土壌試料の採取：土壌試料の採取は、次の時点で行った。

処理直後（添加直後：0時間）、処理後1, 3, 7, 14, 28, 64, 90, 120, 182, 273及び365日

揮発性放射能の測定：

各揮発性物質捕集溶剤の一部を、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。水酸化カリウム溶液に捕集した揮発性物質が二酸化炭素であることを確認するため、炭酸バリウムとして沈殿させて同定した。

抽出放射能及び抽出残渣の放射能測定：各土壌試料を次の方法で抽出した。

- 1) アセトニトリル（CH₃CN）による抽出及びアセトニトリル/水（1：1）混液による抽出
- 2) CH₃CN/水（1：1）混液によるソックスレー抽出
この抽出法は、上記1)アセトニトリル；アセトニトリル/水混液による抽出で、処理放射能の回収率が90%以下であった場合に実施した。また、本抽出法は、処理後1日以降のCP標識及びNP標識土壌に適用した。
- 3) 水の環流による抽出
本抽出法は、NP標識土壌で処理後1日以降、CP標識土壌で処理後8日以降の土壌試料に適用した。

得られた抽出液について、それぞれ濃縮操作を行った。

抽出後、各抽出液を遠心分離して上澄み液を採取し、その一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）にて放射能を測定した。

抽出残渣は、風乾後、一部を粉砕して燃焼させ、燃焼生成物を液体シンチレーションカウンター（LSC）にて放射能を測定した。

また各抽出液について、クロマトグラフィー分析にかける前に、それぞれ濃縮操作を行った。

抽出残渣の特徴付け：

処理後90日の両土壌試料から得られた抽出残渣について、0.01M塩化カルシウムを用いて振とうし、その後「フミン画分」、「フルボ酸画分」及び「フミン酸画分」への放射能分布を調べた。

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

濃縮抽出物のクロマトグラフィー分析及び放射性成分の特徴付け/定量：

ラジオ液体クロマトグラフィー（ラジオHPLC）を用いて、抽出液中の放射性成分のキャラクタリゼーション及びその定量を行った。また、ラジオ薄層クロマトグラフィー（ラジオTLC）を、ラジオHPLCによるキャラクタリゼーションの確認のために用いた。

・ラジオHPLC（放射性成分のキャラクタリゼーション及びその定量）

・ラジオTLC（ラジオHPLCによるキャラクタリゼーションの確認）

代謝物の同定：

一部の濃縮抽出物について、放射性成分の同定を行った。一部の濃縮抽出物について、液体クロマトグラフィー/質量分析法（LC-MS）を行い、RPA407213（親化合物）、
、
、
及び
の各認証標準物質と比較した。条件は次のとおりであった。

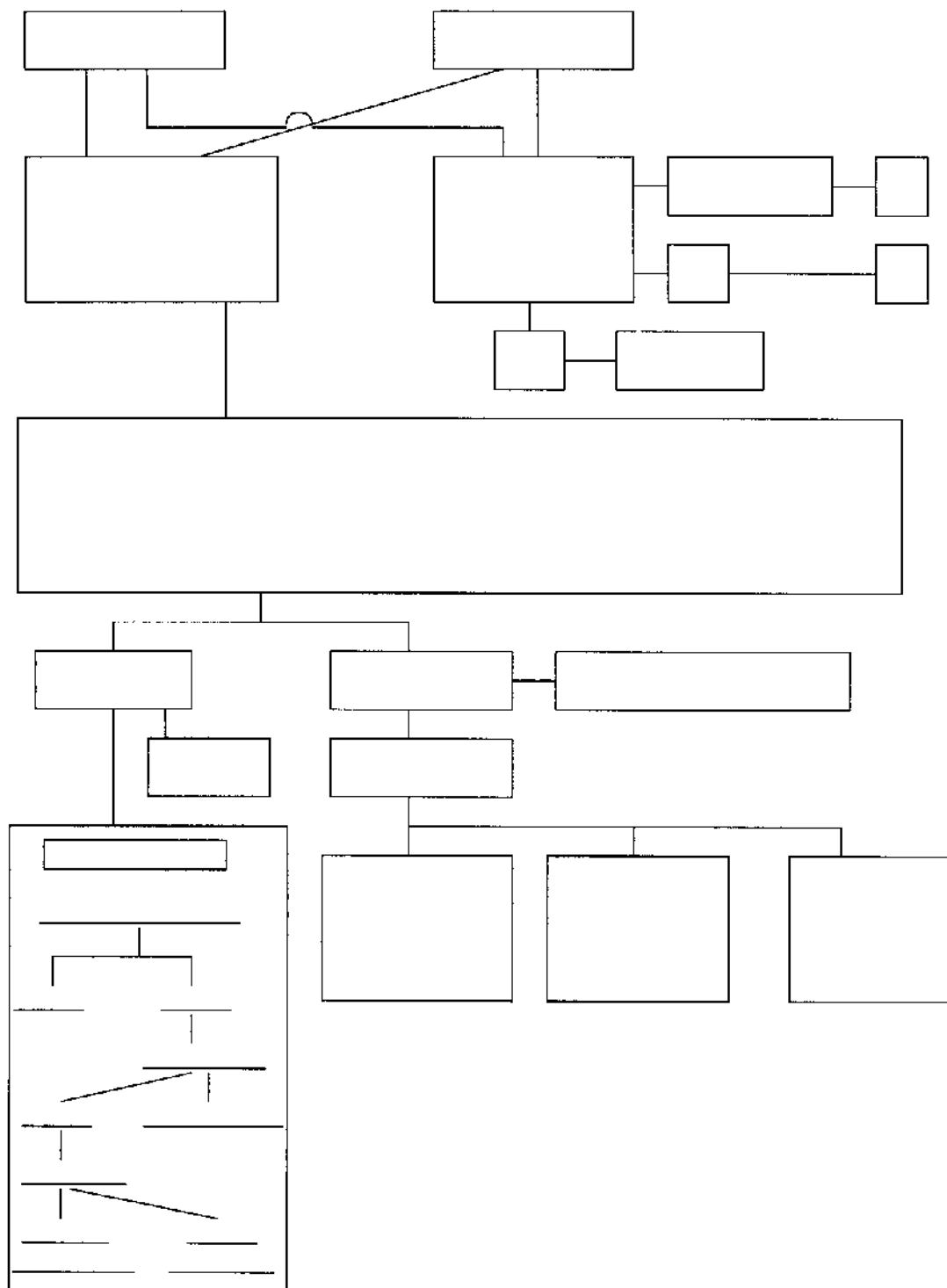
・液体クロマトグラフィー

・質量分析

[¹⁴C]分析

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験手順を、フローチャートにまとめた。



本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果 :

放射能の回収率 :

表1~2に、CP標識体処理土壌の回収率及び放射能の分布を表1.に、NP標識体処理土壌の回収率及び放射能の分布を表2.に示す。

表1 : CP標識体処理土壌に関する回収率及び放射能の分布

	処理後日数												
	0時間	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日	
抽出性放射能(計)	97.33	91.98	87.84	76.84	66.24	62.93	51.67	54.95	53.24	55.77	47.56	49.50	
CH ₃ CN抽出+CH ₃ CN/水 抽出	97.33	87.17	77.97	63.71	48.10	42.59	33.29	33.83	34.53	32.54	25.52	26.20	
CH ₃ CN/水 ソックス抽出	N/A	4.81	7.29	8.36	8.48	9.70	10.84	8.08	8.23	12.75	10.61	13.78	
水の還流 抽出	N/A	N/A	2.58	4.78	9.66	10.63	7.54	13.05	10.48	10.47	11.43	9.52	
揮発性放射能	N/A	0.19	0.40	0.60	1.00	1.70	3.14	4.99	5.88	7.48	9.95	8.39	
結 合 残 渣	2.76	6.29	9.78	17.38	25.32	28.83	35.73	32.39	34.86	30.78	33.16	31.38	
合計(回収率)	100.10	98.45	98.02	94.82	92.56	93.45	90.53	92.34	93.98	94.03	90.67	89.26	
試験期間を通じた平均回収率 : 94.0%													

N/A : 測定せず。表中の数字は、処理放射能に対する%(平均値, n=2)

CP標識体処理土壌では、処理放射能の試験期間を通じた平均回収率は94.0%であった。抽出性放射能は、処理後0時間における97.3%から処理後365日における49.5%に減少した。

揮発性放射能は、経時的に増加した。結合残渣は、処理後64日に35.7%で最高に達し、その後は30~35%の範囲で推移した。

表2 : NP標識体処理土壌に関する回収率及び放射能の分布

	処理後日数												
	0時間	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日	
抽出性放射能(計)	97.90	88.13	82.45	68.82	54.57	43.34	38.97	36.48	32.70	33.50	28.63	31.60	
CH ₃ CN抽出+CH ₃ CN/水 抽出	97.90	85.68	75.88	61.14	46.16	34.32	30.29	28.69	25.10	23.14	20.06	20.99	
CH ₃ CN/水 ソックス抽出	N/A	2.09	5.41	5.97	5.33	5.63	5.42	3.47	3.60	6.44	4.80	6.85	
水の還流 抽出	N/A	0.36	1.16	1.71	3.08	3.40	3.26	4.32	4.00	3.92	3.77	3.76	
揮発性放射能	N/A	0.12	0.34	0.89	1.98	3.13	4.82	4.51	6.90	8.47	8.98	8.52	
抽 出 残 渣	2.89	11.21	12.14	22.93	36.77	43.68	45.89	47.23	50.55	48.71	48.94	46.15	
合計(回収率)	100.80	99.46	94.94	92.63	93.31	90.16	89.69	88.25	90.15	90.67	86.56	86.27	
試験期間を通じた平均回収率 : 91.9%													

N/A : 測定せず。表中の数字は、処理放射能に対する%(平均値, n=2)

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

NP標識体処理土壌では、試験期間を通じた平均回収率は91.9%であった。抽出性放射能は、処理後0時間における97.9%から処理後365日における31.6%に減少した。

揮発性放射能は、CP標識体処理土壌と同様に経時的に増加した。結合残渣は、CP標識体処理土壌と比較して高く、処理後120日に50.6%で最高に達し、その後は46~49%の範囲で推移した。

結合残渣の特徴付け：処理後90日の土壌試料における非抽出性放射能の内訳は、次のとおりであった。

CP標識体処理土壌			NP標識体処理土壌		
	抽出残渣の内訳 (%)	処理放射能に対する%		抽出残渣の内訳 (%)	処理放射能に対する%
塩化カルシウム	0.35	0.12	塩化カルシウム	0.07	0.03
フルボ酸画分	30.65	9.97	フルボ酸画分	10.49	4.97
フミン酸画分	22.68	7.38	フミン酸画分	31.37	14.84
フミン画分	46.34	15.06	フミン画分	58.08	27.47

表中の数字は、平均値：n=2

揮発性放射能の測定：放射能は、主に水酸化カリウム捕集溶液中に認められ、エチレングリコール捕集溶液中にも少量認められた。塩化バリウムを用いて沈殿させた結果、捕集溶液中の放射能の大部分は、 $^{14}\text{CO}_2$ として存在していた。

代謝生成物の同定：HPLC、TLC、LC/MSにおける標準物質との比較から、次の代謝生成物が同定された。

	フェンアミドン [代謝物記号A]				
CP標識処理土壌	同定				
NP標識処理土壌	同定				

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

抽出性放射能の組成：

表3. に、CP標識体処理土壌における抽出性放射能の経時的変化を、表4. に、NP標識体処理土壌における抽出性放射能の経時的変化を示す。

表3. : CP標識体処理土壌における抽出性放射能の経時的変化

		「処理放射能に対する%」(表中の数字は、n-2の平均値)											
		0日	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日
抽 出 性 放 射 能	フェンアミドン[代謝物記号A]	97.33	88.03	74.78	49.50	23.71	12.25	4.25	3.31	2.63	2.30	2.10	1.64

親化合物は64日後に処理放射能の5%未満に減少し、365日後には2%未満となった。親化合物は「アセトニトリル抽出及びアセトニトリル/水」による最初の振とう抽出でその大部分が抽出され、アセトニトリル/水ソックスレー抽出液中には少量しか観察されなかった。

主要代謝物 は、365日後に処理放射能の %を占めた。
別の主要代謝物 は、 日後に処理放射能の %を占めたが、日後には %に減少した。

表4. : NP標識体処理土壌における抽出性放射能の経時的変化

	「処理放射能に対する%」(表中の数字は、n=2の平均値)											
	0日	1日	3日	7日	14日	28日	64日	90日	120日	182日	273日	365日
フェンアミドン[代謝物記号A]	97.90	83.84	76.57	59.45	34.87	17.15	5.03	4.26	2.85	2.73	2.56	2.13

NP標識体処理土壌でも、CP標識体処理土壌と同様に親化合物が急激に減少した。親化合物は、2ヶ月後に処理放射能の5.0%に減少し、12ヶ月後には2.1%まで減少した。

代謝物 は、 後に最高平均濃度（処理放射能の %）に達したが、 ヶ月後には %に減少した。

は、 後に最高平均濃度に達し処理放射能の %を占めたが、 後には %に減少した。

は、 後に最高平均濃度（処理放射能の %）に達した。

CP標識体処理土壌及びNP標識体処理土壌から得られた に
ついて、次のHPLC条件を用いてさらに検討した。

本資料に記載された情報の権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

フェンアミドンの想定代謝経路を以下に示す。