

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. 動物における動態と代謝試験

(2) ^{14}C -フェントラザミドを用いた
ラット体内における代謝試験

(代謝資料 No. 2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年9月12日

供試標識化合物：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位：

標識：

(比放射能：、放射化学的純度)

【方法】

1. 投与量、投与群

[I] が低毒性であり、水溶解度が低い (0.0023g/L) こと、また、標識の試験結果の基に低投与量として 1.5mg/kg また、高投与量は 75mg/kg を設定した。

試験の概要を表 1 に示した。

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. 試験群の概要

| 投与経路 | 投与量 (mg/kg) | 投与 回数 | 性 (試験群) | 動物数 (匹) | 生物 試料 | 採取時間 (投与後時間) (時間) |
|----------------------------|----------------|----------|------------|------------|------------------------|--|
| ①呼気への排泄 | | | | | | |
| 経口 | 1.5 | 1 | 雄 (1) | 5 | 呼気 | 8, 24, 48, 72 |
| | | | | | 尿 | 4, 8, 24, 48, 72 |
| | | | | | 糞 | 24, 48, 72 |
| | | | | | 皮膚、胃腸管、 動物残体 | 72 |
| ②経口投与による吸収、分布、代謝、排泄 | | | | | | |
| 経口 | 1.5 | 1 | 雄(2)雌(3) | 各 5 | 血漿 | 5, 10, 20, 40 (分) |
| | 75 | 1 | 雄(4) | 各 5 | | 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48, (56, 72) ²⁾ |
| | | | | | 尿 | 4, 8, 24, 48, (72) ²⁾ |
| | | | | | 糞 | 24, 48, (72) ²⁾ |
| | | | | 臓器 | 48, (72) ²⁾ | |

1) 1 mg/kg、1回経口投与群の雄。

2. 呼気への排泄 (試験群 1)

呼気への排泄を調べるため、雄に 1.5mg/kg で経口投与し 72 時間後まで経時的に呼気、糞、尿を採取した。

3. 経口投与後の吸収、分布、代謝、排泄

(1.5mg/kg、75mg/kg の投与群)

投与した¹⁴Cが呼気へ排泄されないことを確認した後、通常の試験群では [I] を経口投与した後にラットより尾静脈血液を経時的に (48 時間あるいは 72 時間後まで) 採取して薬物動態パラメータを解析した。また、糞、尿は経時的に、屠殺時には 18 種類の臓器、組織を採取した。経時的に採取した各試料毎に放射能を測定し、また、代謝物の同定、定量は尿及び糞をそれぞれ混合して分析した。

【結果】

1. 投与した放射能の回収

¹⁴C - [I] を経口した後の試験系 [試験群により排泄物、臓器、組織、動物残体 (選抜した臓器、組織を採取した残りの動物体)、呼気を含む] からの回収率は 93—107% であり、ほぼ定量的に回収された。従って、以下に示す結果では原則的に投与した放射能に対する割合 (%) で示した。

2. 呼気への排泄

雄ラットへ ^{14}C -[I]を1.5mg/kgで経口した後、72時間にわたり呼気を捕集したが、 $^{14}\text{C}\text{O}_2$ 及びその他の揮発性化合物の量は投与量の平均0.034%であった。従って、前述の回収率の知見と合わせると、[I]は動物体内では代謝されるものの、二酸化炭素やその他の揮発性物質には代謝されないと考えられた。以上から、他の通常の試験群では呼気の捕集を行わなかった。

3. 放射能の吸収、薬物動態パラメータ、糞、尿、胆汁への排泄

1) 吸収

血漿中の ^{14}C -[I]の濃度は、投与した直後から吸収が始まり、血漿濃度は投与後約70~100分(低投与量群)、また、180分(高投与量群)に最高に達した。

標識の十二指腸投与実験から吸収率は投与量の約103.4%、また、回収量(105.8%)に対する吸収率は97.7%となることから、投与された ^{14}C -[I]はほぼ完全に吸収されたことが示されている。

2) 薬物動態パラメータ(表2~表4、図1~図2)

各経口投与群の尾静脈血漿中の ^{14}C の濃度から薬物動態パラメータを解析した。[I]は経口投与後直ちに吸収が始まり、血漿中の相対濃度P(説明後述*)は短時間で最大となり(T-max:低投与量群;約70~100分、高投与量群;180分)、その濃度は等量分布(P=1)より低かった(P-max:低投与量群;0.54~0.78、高投与量群;0.14)。AUC[P]は低投与量群で19.3(雄)と19.9(雌)での性による差は認められず、高投与量群では低く3.89であった。

一方、腎クリアランスが比較的大きく0.7~3.1mL/min/kgであり、これらの値は腎系球体口過能の最大に近いことから、 ^{14}C は再吸収されることなく速やかに排泄されるものと考えられた。さらに、平均滞留時間は比較的短かく(MRT:24~43時間)、また、消失半減期($T_{1/2}$)が比較的短かったことから(約16~37時間)、投与した ^{14}C はやはり体内から速やかに消失することが示唆された。

薬物動態パラメータ値を比較すると、吸収量、血漿中の挙動(濃度分布、最高濃度到達時間、消失半減期)について投与量、雌雄の性の間に大きな差は認められなかった。薬物動態パラメータを全体的に考察すると、パラメータ値の一部には雌雄間並びに投与量の違いにより若干の変動が認められたが、これは[I]が吸収された後、排泄へ至る基本的な動態に顕著な違いを呈するものではなかった。

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。

* : 相対濃度 $P = \text{組織中の}^{14}\text{C (mg/kg 組織)} / \text{投与した}^{14}\text{C (mg/kg 体重)}$
 相対濃度が $P = 1$ のときは等量分布濃度となる。
 相対濃度 P を用いると、投与量が異なる群の吸収・分布等に関するパラメータを直接比較することが可能である。
 また、血漿や臓器中の ^{14}C の濃度は次式で換算され、“換算濃度”と表現する。
 血漿や臓器中の ^{14}C の換算濃度 ($\mu\text{g/mL}$ または $\mu\text{g/g}$) = 相対濃度 $P \times$
 投与量 (mg/kg 体重)

表 2. $^{-14}\text{C [I]}$ の経口投与群における
 薬物動態学的パラメータ

| 薬物動態パラメータ | 経口投与 | | |
|--|--------------------|-------|---------|
| | 1.5mg/kg | | 75mg/kg |
| | 雄(2) ¹⁾ | 雌(3) | 雄(4) |
| AUC [P] | 19.3 | 19.9 | 3.89 |
| AUC [$\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$] | 24.6 | 25.9 | 166 |
| $T_{1/2}$ [h] | 16.1 | 37.0 | 16.4 |
| CL [$\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$] | 1.01 | 0.966 | 7.51 |
| CL_R [$\text{mL}/\text{min}/\text{kg}$] | 0.72 | 0.74 | 3.05 |
| MRT [h] | 24.6 | 43.2 | 24.4 |
| $P\text{-max}$ | 0.78 | 0.54 | 0.14 |
| $C\text{-max}$ [$\mu\text{g/g}$] | 1.01 | 1.71 | 6.38 |
| $T\text{-max}$ [h] | 1.10 | 1.67 | 2.28 |

1) 試験群

| | |
|---|---------------------------|
| AUC | : 血中薬物濃度曲線下面積 |
| $T_{1/2}$ [h] | : 消失半減期 |
| CL [mL/min] | : 全身クリアランス |
| CL_R [$\text{mL}/\text{min}/\text{rat}$] | : 腎クリアランス |
| MRT [h] | : 平均滞留時間 |
| $P\text{-max}$ | : 最高血中薬物濃度 (相対濃度) (申請者計算) |
| $C\text{-max}$ [$\mu\text{g/g}$] | : 最高血中薬物濃度 (親化合物換算濃度) |
| $T\text{-max}$ [h] | : 最高血中薬物濃度到達時間 |

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. ^{14}C [I] の経口投与群における血漿中の総放射能の
経時変化 (相対濃度 P 及び換算濃度 C [$\mu\text{g/g}$])

| 投与後時間 (時:分) | 投与量/性 (mg/kg) | 血漿中の相対濃度 [P] | | |
|----------------|------------------|----------------------------|--------------|-------------|
| | | 1.5/雄 (2) ¹⁾ | 1.5/雌 (3) | 75/雄 (4) |
| 0:05 | | 0.105 | 0.044 | 0.009 |
| 0:10 | | 0.306 | 0.136 | 0.032 |
| 0:20 | | 0.555 | 0.262 | 0.058 |
| 0:40 | | 0.691 | 0.376 | 0.098 |
| 1 | | 0.738 | 0.454 | 0.119 |
| 1:30 | | 0.782 | 0.516 | 0.134 |
| 2 | | 0.758 | 0.544 | 0.136 |
| 3 | | 0.673 | 0.528 | 0.134 |
| 4 | | 0.621 | 0.509 | 0.132 |
| 6 | | 0.589 | 0.473 | 0.123 |
| 8 | | 0.529 | 0.472 | 0.116 |
| 24 | | 0.262 | 0.197 | 0.051 |
| 32 | | 0.198 | 0.158 | 0.039 |
| 48 | | 0.126 | 0.106 | 0.026 |
| 56 | | 0.100 | — | — |
| 72 | | 0.064 | — | — |

1) 試験群

| 投与後時間 (時:分) | 投与量/性 (mg/kg) | 血漿中の換算濃度 C [$\mu\text{g/g}$] | | |
|----------------|------------------|--------------------------------|--------------|-------------|
| | | 1.5/雄 (2) | 1.5/雌 (3) | 75/雄 (4) |
| 0:05 | | 0.1457 | 0.0577 | 0.4103 |
| 0:10 | | 0.4242 | 0.1792 | 1.4588 |
| 0:20 | | 0.7677 | 0.3452 | 2.6890 |
| 0:40 | | 0.9511 | 0.4942 | 4.5058 |
| 1 | | 1.0131 | 0.5977 | 5.5151 |
| 1:30 | | 1.0712 | 0.6788 | 6.1696 |
| 2 | | 1.0376 | 0.7168 | 6.2778 |
| 3 | | 0.9202 | 0.6954 | 6.1583 |
| 4 | | 0.8491 | 0.6711 | 6.1086 |
| 6 | | 0.8048 | 0.6230 | 5.6716 |
| 8 | | 0.7229 | 0.6214 | 5.3527 |
| 24 | | 0.3588 | 0.2602 | 2.3585 |
| 32 | | 0.2712 | 0.2081 | 1.8219 |
| 48 | | 0.1724 | 0.1393 | 1.1849 |
| 56 | | 0.1368 | — | — |
| 72 | | 0.0882 | — | — |

1) 試験群

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。

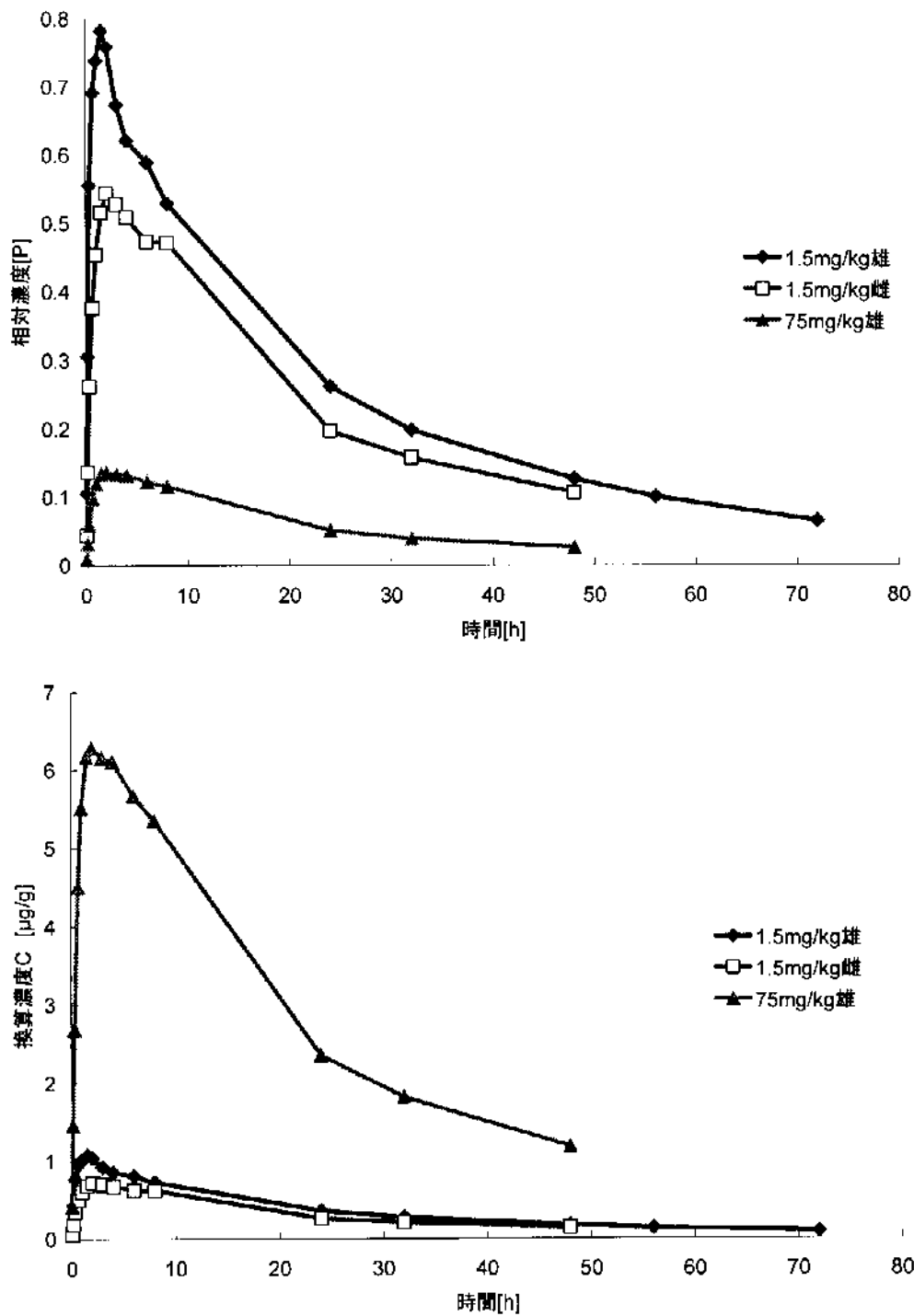


図 1. ^{14}C [I]の経口投与群における血漿中の放射能の経時変化 (相対濃度P、換算濃度C)

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. ラットに ^{14}C [I] を投与した後 24、48、72 時間の糞、尿への排泄及び動物残体への残留

| 投与経路 | 投与量 mg / kg | 性・試験群 | 投与後時間 hr | 投与放射エネルギーに対する割合 (%) | | | | | | | 総回収率 |
|------|----------------|------------------------|-------------|---------------------|-------|-------|-------|-------|--------------------|-------|------|
| | | | | 排泄率 | | | 残留量 | | | | |
| | | | | 糞 | 尿 | 計 | 胃・腸管 | 皮膚 | 動物残体 ¹⁾ | 計 | |
| 経口 | 1.5 | 雄 (2) ²⁾ | 24 | 16.7 | 63.0 | | | | | | |
| | | | 48 | 17.5 | 68.2 | | | | | | |
| | | | 72 | 18.2 | 70.8 | 89.0 | 0.211 | 0.375 | 3.662 | 4.248 | 93.1 |
| | (3) | 24 | 12.5 | 70.5 | | | | | | | |
| 48 | | 13.8 | 76.2 | 90.0 | 0.351 | 0.823 | 5.866 | 7.042 | 97.0 | | |
| 経口 | 75 | 雄 (4) | 24 | 53.8 | 38.5 | | | | | | |
| | | | 48 | 55.1 | 40.6 | 95.7 | 0.189 | 0.370 | 2.384 | 2.944 | 98.8 |

1) 胃・腸管、皮膚を除く臓器・組織の動物体内の合計

2) 試験群

呼吸を捕集した実験は別に実施し（経口、雄、1.5mg/kg、72 時間）、呼吸への排泄率は 0.034%、総回収率は 107%であった。

3) 排泄（表 4、表 5、図 2、図 3）

[I] を 1.5mg/kg 及び 75mg/kg の割合で経口投与すると、48 時間あるいは 72 時間以内に投与量の >90% が糞及び尿中へ排泄された。主排泄経路は尿で、尿中に低投与量群雄で約 71%、低投与量群雌で約 76%、高投与量群雄で約 41% が排泄された。一方、糞中排泄率は低投与量群の雄で約 18%、雌で 14%、高投与量群雄で 55% であった。従って、尿：糞の排泄比率は低投与量群で (3.9~5.5) : 1、高投与量群で 0.7 : 1 であった。高投与量群で糞の排泄比率が高いのは、投与した [I] の多くが吸収されずに排泄されたためと考えられた。

排泄速度は速く、糞・尿ともに投与後 24 時間までに投与量の >89% が排泄された。（表 4、表 5、図 2）。

表5. $-^{14}\text{C}$ [I]の経口投与後の糞・尿中への放射能の排泄
(a)雄

| 投与後 時間(h) | 投与量/性 (mg/kg) | 糞・尿中への積算排泄率[投与放射エネルギーに対する割合(%)] | | | | | |
|--------------|------------------|---------------------------------|------|----------|------|---------|------|
| | | 1.5/雄(2) ¹⁾ | | 1.5/雌(3) | | 75/雄(4) | |
| | | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 | 糞 | 尿 |
| 4 | | - ²⁾ | 13.9 | - | 12.1 | - | 7.5 |
| 8 | | - | 41.3 | - | 20.5 | - | 19.7 |
| 24 | | 16.7 | 63.0 | 12.5 | 70.5 | 53.8 | 38.5 |
| 48 | | 17.5 | 68.2 | 13.8 | 76.2 | 55.1 | 40.6 |
| 72 | | 18.2 | 70.8 | - | - | - | - |

1) 試験群

2) 採取せず

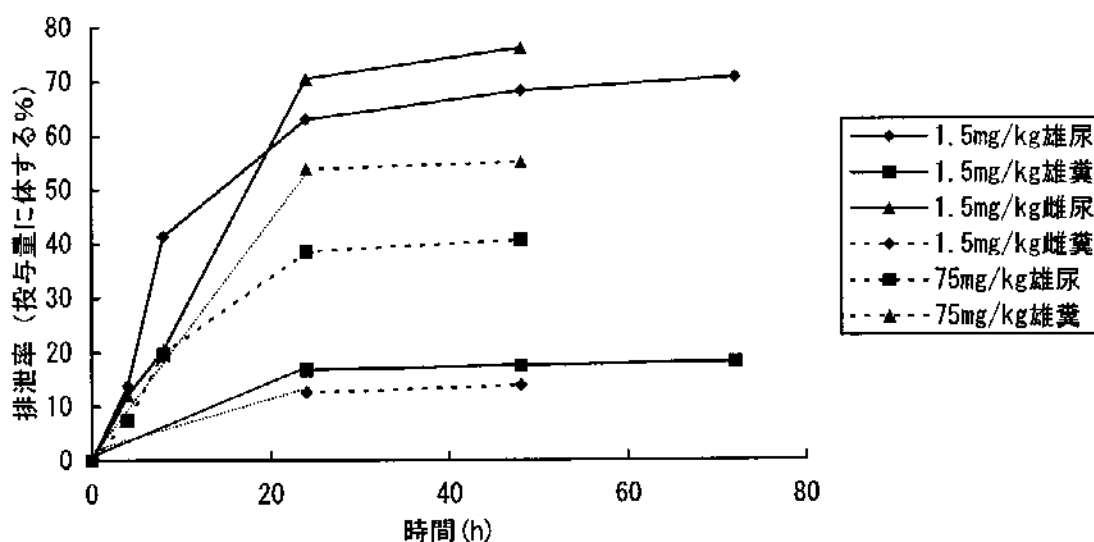


図3. $-^{14}\text{C}$ [I]の経口投与後の糞、尿中への放射能の排泄

4. 放射能の臓器、組織への分布、残留 (表8、表9、表10)

^{14}C - [I] を経口投与した後の屠殺時の動物体内 (胃腸管及び ^{14}C の汚染の恐れのある皮膚を除く) における ^{14}C 残留量は投与量の2.3~5.4%であった (表4)。

糞、尿中への排泄、 ^{14}C の血漿中の速度論的挙動から、これらの残留はさらに体外へ排泄されていくものと考えられた。

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。

臓器組織中の中で最高濃度を示したのは肝臓で相対濃度 P は低投与量群雄で 0.541、低投与量群雌で 0.893、高投与量群雄で 0.168 であった。高投与量群で低い値を示していることから吸収量が低いことが示唆されており、薬物速度論パラメータの AUC [P] と比較しても同様の知見が得られた。一方、換算濃度はそれぞれ 0.6899 (低投与量群雄)、1.1628 (低投与量群雌)、7.1975 (高投与量群雄) であった。次いで高い濃度を示したのは腎臓で、相対濃度 P が 0.115 (低投与量群雄)、0.255 (低投与量群雌)、0.054 (高投与量群雄) であった。肝臓中で比較的高い濃度を示したのは、肝臓が代謝をつかさどる主要臓器であり、次いで腎臓が高いのは主排泄経路が尿であることに起因すると考えられた。

表 7. $-^{14}\text{C}$ [I] を経口投与した後の
屠殺時の臓器・組織中における放射能の相対濃度 P

| 臓器・組織 | 投与後 48 時間の臓器・組織中の 相対濃度 P | | |
|-------|-----------------------------|-------|---------|
| | 1.5mg/kg | | 75mg/kg |
| | 雄(2) ¹⁾ | 雌(3) | 雄(4) |
| 赤血球 | 0.029 | 0.036 | 0.038 |
| 血漿 | 0.068 | 0.105 | 0.028 |
| 肝臓 | 0.541 | 0.893 | 0.168 |
| 腎臓 | 0.115 | 0.255 | 0.054 |
| 脾臓 | 0.013 | 0.027 | 0.010 |
| 精巣 | 0.018 | - | 0.020 |
| 卵巣 | - | 0.047 | - |
| 子宮 | - | 0.047 | - |
| 筋肉 | 0.008 | 0.012 | 0.005 |
| 骨 | 0.007 | 0.011 | 0.022 |
| 心臓 | 0.019 | 0.034 | 0.013 |
| 肺 | 0.093 | 0.222 | 0.030 |
| 脳 | 0.008 | 0.010 | 0.014 |
| 甲状腺 | 0.039 | 0.116 | 0.100 |
| 皮膚 | 0.018 | 0.041 | 0.010 |
| カーカス | 0.015 | 0.025 | 0.008 |
| 胃・腸管 | 0.018 | 0.036 | 0.009 |

1) 試験群

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 8. $-^{14}\text{C}$ [I] の経口投与群の
臓器・組織中における放射能の換算濃度 C

| 臓器・組織 | 投与後 48 時間の臓器・組織中の 換算濃度 C ($\mu\text{g/g}$) | | |
|-------|---|--------|---------|
| | 1.5mg/kg | | 75mg/kg |
| | 雄(2) ¹⁾ | 雌(3) | 雄(4) |
| 赤血球 | 0.0372 | 0.0471 | 1.6193 |
| 血漿 | 0.0867 | 0.1366 | 1.1982 |
| 肝臓 | 0.6899 | 1.1628 | 7.1975 |
| 腎臓 | 0.1466 | 0.3320 | 2.3201 |
| 脾臓 | 0.0172 | 0.0351 | 0.4429 |
| 精巣 | 0.0234 | - | 0.8704 |
| 卵巣 | - | 0.0616 | - |
| 子宮 | - | 0.0611 | - |
| 筋肉 | 0.0097 | 0.0152 | 0.2062 |
| 骨 | 0.0091 | 0.0138 | 0.9376 |
| 心臓 | 0.0243 | 0.0447 | 0.5422 |
| 肺 | 0.1186 | 0.2892 | 1.2882 |
| 脳 | 0.0102 | 0.0124 | 0.5857 |
| 甲状腺 | 0.0495 | 0.1509 | 4.2898 |
| 皮膚 | 0.0228 | 0.0535 | 0.4081 |
| カーカス | 0.0195 | 0.0330 | 0.3240 |
| 胃・腸管 | 0.0225 | 0.0464 | 0.3800 |

1) 試験群

2) 検出限界以下

注) [I] の換算濃度 C ($\mu\text{g/g}$) = P (相対濃度) × D (投与量 $\mu\text{g/g}$)

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。

7. 吸収、排泄に関する性、投与量による差

吸収、排泄については性差は認められなかったが、 ^{14}C の体内残留量において雌の方が雄よりも約2倍高い残留が認められた。このことは薬物速度論パラメータの消失半減期や体内滞留時間MRTが雌において長いことと相応していたが、一方、腎クリアランスが雌雄で同等であったことから、これらの残留はいずれ体内から排泄されるものと考えられた。

尿、糞の排泄比率が低投与量で(3~4):1、一方、高投与量群で0.7:1であった。このことは、薬物動態パラメータから得られた知見と合わせて考えると、高投与量群の場合は投与した[I]の多くが吸収されず排泄されたものと推察された(申請者考察)。

8. 代謝

[I]は経口投与後ラット体内で大部分が代謝され、低投与量群では糞中に[I]が少量成分として見いだされたのみであった。一方、いずれの試験群も尿中には[I]は検出されなかった。糞と尿から共通の代謝物として

が認められた(表10)。

1) 尿

尿は0-48時間(試験群4:0-24時間)の分画を投与群、性毎に混合し、濃縮後直接分析した。これらの混合尿分画は尿中の全排泄量中の約95-100%に相当した。

尿から生ずる主代謝物は、[I]のテトラゾリノン環(Tz)の側鎖のカルボニル(C=O)基が生体内有機酸や水酸基により求核攻撃を受けた後、Tz窒素Nと(C=O)間のCN結合部分が開裂して生成した cyclohexyl ethylamine 及びそのグループで、さらにシクロヘキシル部分に水酸化を受けた代謝物、また、エチル基が脱離した代謝物である。最も多く生成した代謝物は [XII]で、それぞれ投与量の36.5%(低投与量群雄)、25.3%(低投与量群雌)、25.1%(高投与量群雄)であった。次いで、多く認められた代謝物は [XI]及び [XIV]でそれぞれ投与量の8.1%、11.4%(低投与量群雄)、16.9%、12.9%(低投与量群雌)、1.5%、4.2%(高投与量群雄)であった。その他、
、
、
が生体内のグルタミン酸やタウリン酸、システイン及びその関連有機酸と結合した代謝物が少量ずつ6種類尿中のみから検出され、その量は雌雄、投与量による差はなく投与量の<3%であった。

2) 糞

糞は試験群2-4の0-24時間の試料を抽出し、抽出物をHPLCにより

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。

分析し定量した。

投与した [I] は速やかに代謝され、低投与量群ではわずかに（投与量の 0.4-0.6%）検出されたのみであったが、高投与量群では未吸収と考えられる分を含めて 18.8% が検出された。低投与量群における主成分は [X II] で投与量の 7.5%（雄）～5.1%（雌）が検出された。

表 10. ラットにおける $-^{14}\text{C}$ [I] の経口投与後の糞・尿における代謝物

| 試験群 | 性別 | 試料 (試料毎の 総回収 量%) | 投与放射能に対する割合 (%) | | | | | | | | | | |
|--------------------|----------|---------------------------|-----------------|------|------|------|-----|------|-------|-------|-------|--------|------|
| | | | I | X I | X II | X IV | X V | X VI | X VII | X I X | X X I | X X II | 合計 |
| 経口 1.5 mg/kg | 雄 (2) | 糞(18.2) | 0.6 | 1.6 | 7.5 | 1.0 | - | - | - | - | - | - | 10.7 |
| | | 尿(70.8) | - | 8.1 | 36.5 | 11.4 | 1.2 | - | 1.3 | 1.4 | 1.4 | 1.0 | 62.3 |
| | | 合計 | 0.6 | 9.7 | 44.0 | 12.4 | 1.2 | - | 1.3 | 1.4 | 1.4 | 1.0 | 73.0 |
| | 雌 (3) | 糞(13.8) | 0.4 | 1.4 | 5.1 | 0.5 | - | - | - | - | - | - | 7.4 |
| | | 尿(76.2) | - | 16.9 | 25.2 | 12.9 | 1.1 | 1.2 | 2.6 | 2.9 | 2.9 | 1.9 | 67.6 |
| | | 合計 | 0.4 | 18.3 | 30.3 | 13.4 | 1.1 | 1.2 | 2.6 | 2.9 | 2.9 | 1.9 | 75.0 |
| 経口 75 mg/kg | 雄 (4) | 糞(55.1) | 18.8 | 6.0 | 4.6 | 0.1 | - | - | - | - | - | - | 29.5 |
| | | 尿(40.6) | - | 1.5 | 25.1 | 4.2 | - | - | 2.2 | 0.2 | 0.8 | 0.9 | 34.9 |
| | | 合計 | 18.8 | 7.5 | 29.7 | 4.3 | - | - | 2.2 | 0.2 | 0.8 | 0.9 | 64.4 |

その他の代謝物として、遊離の [X I] と [X I V] が少量ずつ検出され、その量は [X I] が 1.4~1.6%、[X I V] が 0.5~1.0% であった。一方、高投与量群では [X II] が 4.6% 検出されたが遊離体の [X I] も多く (6.0%) 検出された。

9. 同定率

糞及び尿を分析した低投与量群及び高投与量群より算出すると総同定率は低投与量群で投与量の 73-75%、また、高投与量群で約 64% であった。また、高投与量群では [I] が糞中に多く検出された。尿中で排泄された総放射エネルギーに占める尿中代謝物の同定率は >86% 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。

10. 推定代謝経路 (図4)

経口投与された [I] はテトラゾリノン環 (Tz) の側鎖のカルボニル (C=O) の基が水酸基により求核攻撃をうけ、Tzの窒素Nと (C=O) 間のCN結合が開裂した後、脱炭酸を受けて H_2O や CO_2 が生成する一方、(C=O) が生体内有機酸によって求核攻撃をうけて前述と同様の機構により抱合体が生成する。

推定代謝経路図を図4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。

図4. フェントラザミドの動物中の推定代謝経路
-----> 申請者が考察

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. 動物における動態と代謝試験

(3) ^{14}C -フェントラザミド及び
 ^{14}C -フェントラザミドを経口投与した後の動物体内における消長、動態

(代謝資料 No. 3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年10月6日

供試標識化合物：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位

標識：
(比放射能：、放射化学的純度)
：
(比放射能：、放射化学的純度)

【方法】

1. 投与量、試験群

投与方法、投与设计は既報(本抄録中代謝資料1、2)に合わせて実施した(経口、1回、1.5mg/kg)(表1)。雄ラットに1.5mg/kgの割合で1回経口投与し、 ^{14}C -[I]の投与群では投与後30、60、180分後に、また、 ^{14}C -[I]の投与群では60、120、360分後に屠殺し、血液、臓器、組織、尿、糞を採取した。屠殺時間は各標識を用いた代謝試験から得られた薬物速度論の結果に基づき、 ^{14}C の血中濃度の最大到達時間とその前(増加相)、後(減少相)の3点を選択した。分析対象とした臓器、組織は血漿、肝臓、腎臓で、これらは抽出、精製した後分析に付し、また、尿は直接分析した。

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。

表 1. 試験群の概要

| 試験群 | 投与薬剤 | 投与経路 | 投与量 (mg/kg) | 屠殺時間 (分) | 分析対象 |
|-----|-------------------|------|-------------|----------|------------|
| 1 | - ¹⁴ C | 経口 | 1.5 | 60 | 血漿、肝臓、腎臓、尿 |
| 2 | | | | 120 | |
| 3 | | | | 360 | |
| 4 | - ¹⁴ C | 経口 | 1.5 | 30 | 血漿、肝臓、腎臓、尿 |
| 5 | | | | 60 | |
| 6 | | | | 180 | |

【結果】

1. 屠殺時の放射能の収支

屠殺時の放射能の収支を表 2 に示す。

表 2. [I] を経口投与した後の屠殺時の放射能の収支 (投与量に対する割合)

| 生物試料 | 投与量に対する割合 (%) | | | | | |
|------|---------------------------------------|------------|------------|-------------------|-----------|------------|
| | - ¹⁴ C | | | - ¹⁴ C | | |
| | 1 ¹⁾ (60) ²⁾ | 2 (120) | 3 (360) | 4 (30) | 5 (60) | 6 (180) |
| 尿 | 4.9 | 14.6 | 21.5 | 3.8 | 32.8 | 49.7 |
| 糞 | 0 | 0 | 0.2 | 0 | 0 | 0 |
| 血漿 | 0.9 | 0.9 | 0.6 | 1.4 | 0.7 | 0.2 |
| 肝臓 | 4.4 | 8.8 | 6.5 | 0.9 | 2.5 | 0.6 |
| 腎臓 | 1.4 | 1.1 | 0.7 | 1.5 | 2.2 | 0.5 |
| 皮膚 | 2.9 | 3.4 | 2.5 | 8.1 | 5.1 | 1.3 |
| 胃腸管 | 59.7 | 63.5 | 34.6 | 51.1 | 30.7 | 27.3 |
| 動物残体 | 10.4 | 11.6 | 9.9 | 13.6 | 9.1 | 2.6 |
| 合計 | 84.4 | 103.9 | 76.5 | 80.4 | 83.1 | 82.2 |

1) 試験群

2) 投与後屠殺時間 (分)

2. 血漿

1) $-^{14}\text{C}$ 標識 [I]

^{14}C -[I] を経口投与した後 30、60、180 分に採取した血漿中濃度を表 3 に示す。最大濃度は 0.99ppm (60 分) に認められ 180 分後には 0.17ppm に減少し (減少率 17%)、 ^{14}C 標識と比較しても血漿クリアランスは大きいことが示された (表 3)。

検出、同定された代謝物 (表 4) は [II] 及びその [X] で、量は [II] が 30 分後で回収量の 47.3%、180 分後で 27.6% であり、また、[X] は 46.9% (30 分後)、51.5% (180 分後) であった。同定率は回収量の >79% であった。

2) $-^{14}\text{C}$ 標識 [I]

[I] を経口投与した後の 60、120、360 分に採取した血漿中濃度は 120 分後が最大で 0.80ppm、360 分後には 0.44ppm に減少した (減少率 55%) (表 3)。

検出、同定された代謝物 (表 5) は [XI]、及び、[XII]、[XIV]、[XXII] の 4 種が検出された。最大は [XIV] で 60 分後に回収量の 21.1% であったが、360 分後には 2.6% に減少した。次いで [XII] が約 4~5% 検出され、[XI] や [XXII] が 0.3~3.3% の範囲で検出され、経時的には量が大きく変動せず、安定して見い出された。

表 3. [I] を経口投与した後経時的に採取した臓器、組織の放射能残留

| 試験群 | 投与薬剤 | 投与経路 | 投与量 (mg/kg) | 屠殺時間 (分) | 総放射能残留 (µg/g) | | |
|-----|------------------|------|-------------|----------|---------------|------|------|
| | | | | | 血漿 | 肝臓 | 腎臓 |
| 1 | $-^{14}\text{C}$ | 経口 | 1.5 | 60 | 0.65 | 1.64 | 2.43 |
| 2 | | | | 120 | 0.80 | 3.43 | 2.00 |
| 3 | | | | 360 | 0.44 | 2.59 | 1.23 |
| 4 | $-^{14}\text{C}$ | 経口 | 1.5 | 30 | 0.64 | 0.35 | 2.75 |
| 5 | | | | 60 | 0.99 | 0.96 | 4.30 |
| 6 | | | | 180 | 0.17 | 0.18 | 0.96 |

3. 肝臓

1) $-^{14}\text{C}$ 標識 [I]

経時的に採取した肝臓中の総放射能濃度は血漿と同様に 60 分後に最大 (0.96ppm) に達し、180 分後には 0.18ppm にまで減少した (減少率 19%) (表 3)。

肝臓中で同定された代謝物 (表 4) は [II]、[X]、
([VIII]) で、[X] が優先的に検出され、経時的な消長は認められなかった (回収量の 63.4~71.8%)。[II] 及び [VIII] の生成量は約 4~5% の範囲でやはり経時的傾向は認められなかった。代謝物の同定率は >73% であった。

2) $-^{14}\text{C}$ 標識 [I]

屠殺時の肝臓中の総放射能濃度は血漿と同様にやはり 120 分後に最大となり (3.43ppm)、360 分後には 2.59ppm に減少した。

標識 (表 5) の肝臓中の代謝物は血漿中で検出された [X I]、
[X II]、[X IV]、[X X II] の他に [X X I]、
[X I X] が見い出された。最も多く検出された代謝物は [X II] で 60 分後で 17.8%、120 分後で 11.4%、360 分後で 5.4% に減少した。次いで量的に多い代謝物は [X IV] 及び [X I] で、[X IV] が 6.0%、4.8%、1.5% に減少したが [X I] は 3.7%~5.1% の間の範囲であった。その他の 3 種の代謝物 [X X I]、[X X II]、[X I X] は量が少なく 60 分後にそれぞれ 1.9%、1.7%、0.8% で、360 分後にはいずれも 0.2%~0.4% に減少した。

4. 腎臓

1) $-^{14}\text{C}$ 標識 [I]

経時的に採取した肝臓中の総放射能濃度は血漿と同様に 60 分後に最大 (4.30ppm) に達した後、180 分後には 0.96ppm に減少した (表 3)。

腎臓で検出された代謝物はやはり [II] 及び [X] で、[II] は回収量の 54.0% (30 分後) から 36.3% (180 分後) に減少した一方、[X] は 42.5% (30 分後) から 55.8% (180 分後) に増加した。同定率は >92% であった。

2) $-^{14}\text{C}$ 標識 [I]

腎臓中の総放射能量は 60 分後に最大で (2.43ppm)、その後減少し 360 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

後に 1.23ppm となった。

検出された代謝物は血漿と同じ4種類で [X I]、[X II]、[X IV]、[X X II] で、[X I] は増加傾向が認められたが (15.4%から 28.4%へ)、[X II]、[X IV] は 22.5%から 9.3%へ ([X II])、また、14.4%から 3.8%へ ([X IV]) 減少した。[X X II] は他の3種類の代謝物と比較すると相対的に量が少なく 5.9%から 0.5%へ減少した。

5. 尿

[I] を投与した後、標識は投与後 30 分～180 分、標識は 60 分～360 分の間採取し代謝物を分析した。尿中で検出、同定された代謝物は臓器、組織中で検出された種類と同様であり、回収量に対して高い割合で検出された。

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

表 4. $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ を経口投与した後の臓器、組織中の代謝物
生物試料 回収放射能に対する割合 (%)

| | II | X | VIII | |
|-----------|------|------|-----------------|----------|
| <u>血漿</u> | | | | [II] : |
| 30分 | 47.3 | 46.9 | - ¹⁾ | [X] : |
| 60分 | 29.8 | 54.0 | - | [VIII] : |
| 180分 | 27.6 | 51.5 | - | |
| <u>肝臓</u> | | | | [XI] : |
| 30分 | 5.1 | 71.8 | 3.7 | [XII] : |
| 60分 | 5.3 | 63.4 | 4.6 | [XIV] : |
| 180分 | 4.3 | 66.8 | 4.1 | [XIX] : |
| <u>腎臓</u> | | | | |
| 30分 | 54.0 | 42.5 | - | [XXII] : |
| 60分 | 36.3 | 57.3 | - | |
| 180分 | 36.3 | 55.8 | - | [XXI] : |
| <u>尿</u> | | | | |
| 30分 | 39.0 | 56.6 | - | |
| 60分 | 19.6 | 75.9 | - | |
| 180分 | 20.2 | 76.7 | - | |

1) 検出されず

表 5. $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ を経口投与した後の臓器、組織中の代謝物
生物試料 回収放射能に対する割合 (%)

| | XI | XII | XIV | XIX | XXII | XXI |
|-----------|------|------|------|-----|------|-----------------|
| <u>血漿</u> | | | | | | |
| 60分 | 1.1 | 4.0 | 21.1 | - | 1.1 | - ¹⁾ |
| 120分 | 1.3 | 4.5 | 10.2 | - | 0.8 | - |
| 360分 | 3.3 | 3.9 | 2.6 | - | 0.3 | - |
| <u>肝臓</u> | | | | | | |
| 60分 | 3.7 | 17.8 | 6.0 | 0.8 | 1.7 | 1.9 |
| 120分 | 3.4 | 11.4 | 4.8 | 0.5 | 0.4 | 1.0 |
| 360分 | 5.1 | 5.4 | 1.5 | 0.4 | 0.2 | 0.2 |
| <u>腎臓</u> | | | | | | |
| 60分 | 15.4 | 22.5 | 14.4 | - | 5.9 | - |
| 120分 | 14.1 | 16.8 | 13.0 | - | 1.4 | - |
| 360分 | 28.4 | 9.3 | 3.8 | - | 0.5 | - |
| <u>尿</u> | | | | | | |
| 60分 | 2.9 | 23.9 | 18.4 | - | 3.03 | - |
| 120分 | 5.0 | 26.6 | 22.9 | - | 15.7 | - |
| 360分 | 6.4 | 31.5 | 23.9 | - | 14.4 | - |

1) 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。

1. 動物における動態と代謝試験

(3-1) フェントラザミドを経口投与したラットの赤血球におけるフェントラザミド及び代謝物の分析

(代謝資料 No. 3-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年2月18日

| 分析対象化合物 | 化学名 | 標準品 純度 |
|-----------------|--|-----------|
| フェントラザミド [I] | 4-(2-chlorophenyl)-N-cyclohexyl-N-ethyl-4,5-dihydro-5-oxo-1H-tetrazole-1-carboxamide | |
| | | |
| | | |
| | | |

試験動物： ウィスター系ラット， 1群雄4匹

試験開始時： 7週齢(205～222g)

試験期間： 1時間観察

【試験の目的】

基を指標として体内分布を調べた動物代謝試験(代謝資料 No. 1)においては、血漿中に比し血球中で高い放射能分布が認められており、ラット亜急性、慢性発がん性併合試験(毒性資料 No. 14, 18)でみられた赤血球関連項目の変動への関与が伺われている。

一方 基を指標として体内分布を調べた動物代謝試験(代謝資料 No. 2)においては、血球中の放射能は血漿中に比し必ずしも高い傾向は認められていないが、それらの血球に対する作用も否定できない。

これらのことから、フェントラザミド[I]及び血漿中代謝物として同定されているに加え、
、
、
を対象化合物として分析を行い、ラット代謝試験における赤血球中の放射性残留と血液に対する影響との関連について考察するための基礎情報を得ることを目的とした試験を実施した。

用量設定の理由

フェントラザミド[I]あるいはその代謝物がこの影響に関連したと仮定した場合、血中濃度はある程度高い状態で推移したものと推定される。更に代謝試験(代謝資料 No. 1, No. 2)において単回投与後の血漿中濃度を経時的に調べた結果、1時間後

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。

をピークに 20 分～6 時間ほど高濃度で持続する傾向がみられていることなどから、本試験では経口投与 1 時間の赤血球試料を用いて分析を行った。

また動物代謝試験における高用量群との対比を可能にするため、同試験で用いられた高用量群の 75mg/kg を投与量として選択した。さらに代謝パターンに性差は認められず、
標識体動物代謝試験の 75mg/kg 群(代謝資料 No. 2)及び動物体内における消長、動態を調べた試験(代謝資料 No. 3)では、雄で試験を実施していることから、試験結果の比較をより可能とするために、本試験では雄を選択いたしました。

【方法】

フェントラザミド[I] (標準品)を所定量秤量し、クレモホア EL を含む(2%)蒸留水で調製した。

投与前約 16～18 時間絶食させたラットに胃ゾンデを用いて強制的に単回経口投与した。

投与容量は、体重 100g あたり 1 mL とした。

投与後 1 時間にラットをエーテル麻酔下で腹大動脈から全採血した。各ラットの血液を遠心分離し赤血球を分離採取した。重量を測定後、赤血球を合せ等量の生理食塩水を加え均一に混和し、分析 (LC-MS/MS) に付した。

【結果】

フェントラザミド[I]を 75mg/kg の用量で投与したラットの赤血球におけるフェントラザミド[I]及び動物代謝試験で血漿中代謝物として見出されている 4 種類の代謝物を対象として分析した。

結果を下表に示した。

表 フェントラザミド[I]を投与(75 mg/kg)したラットの赤血球におけるフェントラザミド[I]及び代謝物の残留濃度

| 化合物 | 残留濃度 (ppm) ^{a)} | | |
|-------------|--------------------------|-------|-------|
| | 実測値 | | 平均値 |
| フェントラザミド[I] | 0.027, | 0.025 | 0.026 |
| | 3.45, | 3.29 | 3.37 |
| | 0.033, | 0.030 | 0.032 |
| | 0.90, | 0.76 | 0.83 |
| | 0.16, | 0.13 | 0.14 |

a) フェントラザミド[I]換算値

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。

フェントラザミド[I]は赤血球から 0.026ppm 検出された。赤血球中の残留成分としては、いずれの代謝物よりも低濃度であった。

基を有する代謝物である は、3.37ppm を示し、分析対象化合物中最高の濃度を示した。代謝試験(代謝資料 No. 3)において はその と共に血漿中の主要な代謝物であることが認められているが、赤血球においても同様の分布を示したものと推察される。従って、動物代謝試験でみられた血漿に比して血球中で高い放射能分布は、主として (更に) が関与していたものと考えられた。

一方、 基を有する代謝物については、 が赤血球に分布した主要な成分であり 0.83ppm であった。次いで が 0.14ppm、 が 0.032ppm 検出された。この分布パターンは代謝試験(代謝資料 No. 3)における血漿中の代謝物分布と同様であった。また より低レベルでの分布であった。

上記のように、フェントラザミド[I]を経口投与後のラット赤血球からは、血漿と同様に、主な代謝物として 、このほか量的には少ないが 及び が検出された。

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

1. 動物における動態と代謝試験

(4) ^{14}C -フェントラザミド及び ^{14}C - フェントラザミドを用いた亜急性毒性試験のラット体内における代謝

(代謝資料 No. 4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年3月5日

供試標識化合物

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位：

標識：
（比放射能：、放射化学的純度）
：
（比放射能：、放射化学的純度）

代謝物の構造：抄録 p. 370 を参照。

【試験目的】

ラットを用いた亜急性毒性試験（毒性資料 No. 14）の 6400ppm 及び慢性毒性／発癌性併合試験（毒性資料 No. 17）の高用量群において認められた膀胱の毒性徴候の発現機構が、長期間の高用量の投与により特異的な代謝物が生成したことに依存しているかを検証するため、亜急性毒性試験の 50ppm と 6400ppm の投与量群（13 週間投与後）に 1 回 ^{14}C -被験物質を投与し、低用量を用いた短期的代謝様式との相異点を検討した。また、長期間投与の比較対照群として 50ppm と 6400ppm（3 日間投与）群を設定した。

投与量 50ppm と 6400ppm 及び投与期間の違いにおける酵素や代謝経路上の差を確

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。

認するため、放射能標識体の投与量は全試験群で1.5mg/kgに統一した。

【方法】

1. 試験群 (表1)

亜急性毒性試験において50ppmと6400ppmの投与群で13週間経口投与した後に、2種の¹⁴C-標識体をそれぞれの群に別々に投与し、一方、長期間投与の比較対照群として別に50ppmと6400ppmで3日間投与した後に2種の¹⁴C-標識体を投与する群を設定した。投与後、経時的に血漿、尿、糞を採取し、72時間後に屠殺し皮膚、胃腸管、動物残体を採取して放射能を測定した。

表1. 試験群の概要

投与経路：経口

動物の性：雌

| 試験群 | 亜急性毒性試験 | | 放射能標識体代謝試験 | | | | | |
|-----|-----------|------|------------|-------------|------|---------|---------------------|-----------------------------------|
| | 投与量 (ppm) | 投与期間 | 標識体 | 投与量 (mg/kg) | 投与回数 | 動物数 (匹) | 生物試料 | 採取時間 (標識体投与後時間) (時間) |
| 1 | 50 | 13週 | | 1.5 | 1 | 3 | いずれの群においても同様 | |
| 2 | 6400 | 13週 | | | | | 血漿 | 5, 10, 20, 40 (分) |
| 3 | 50 | 13週 | | | | | 尿 | 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48 |
| 4 | 6400 | 13週 | | | | | 糞 | 4, 8, 24, 48, 72 |
| 5 | 50 | 3日 | | | | | 皮膚、 胃腸管、 動物残体 | 72 |
| 6 | 6400 | 3日 | | | | | | |
| 7 | 50 | 3日 | | | | | | |
| 8 | 6400 | 3日 | | | | | | |

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. 経口投与後の吸収、分布、代謝、排泄 (1.5mg/kg)

投与した¹⁴Cが呼気へ排泄されないことは既報告(代謝資料1、2)により報告されており、本試験では¹⁴C-標識体を経口投与した後、ラット尾静脈血液を経時的(72時間後まで)に採取し、血漿中放射エネルギーから薬物動態パラメーター(最高血中濃度到達時間及び最高血中濃度)を解析した。また、経時的に採取した糞、尿から代謝物を定性、定量的に分析した。

屠殺時には胃腸管、皮膚、動物残体を採取し、放射能を測定して回収量を測定した。

【結果】

1. 回収率(表2、3)

前処理の投与量や投与期間、また、放射能の標識位置により回収率に顕著な差はなく、約87-98%であった。

2. 血漿中濃度の薬物動態パラメーター(表4~7、図1~2)

2-1) 標識[I]の投与

本試験と既報告(標識[I]の1.5mg/kgの1回経口投与、代謝資料1)の結果を比較すると、血漿中濃度の動態、消長に顕著な差はなかった。薬物動態パラメーターから、最高血中濃度到達時間T-maxは20-60分であり、最高血中濃度C-maxは0.288-1.01µg/gであった。前処理投与の投与量と投与期間の関係では、50ppm/3日間(試験群5)におけるT-maxが最も遅く、6400ppm/13週間(試験群2)で最短のT-maxであった。一方、C-maxの挙動はT-maxの関係と逆で、50ppm/3日間(試験群5)及び6400ppm/3日間(試験群6)のC-maxは最低で、50ppm/13週間(試験群1)が最高のC-maxを示した。

| 試験群 (標識) | C-max (µg/g) | T-max (分) |
|----------------|-----------------|--------------|
| 1 50ppm/13週間 | 1.0130 | 40 |
| 2 6400ppm/13週間 | 0.5084 | 20 |
| 5 50ppm/3日間 | 0.2877 | 60 |
| 6 6400ppm/3日間 | 0.2878 | 40 |

注) 申請者が結果の表からC-max、T-maxを判定。

これらから以下の点が考察された：

- ①生体外異物の代謝物を可溶性抱合体に変換するために量的に限りある生体内成分が機能している。そして、50ppm/3日間(試験群5)の場合は正常な時間内で十分完全に代謝変換された。

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

②一方、6400ppm/3日間（試験群6）の場合、代謝誘導が起きない短期間内では、高用量の生体外異物を代謝するため、量的に限りある生体内成分が、短時間に消費しつくされた（短時間の投与のため生体内成分が生成誘導される間もなく消費しつくされたため）。

③13週間の前投与の場合（50ppm/試験群1及び6400ppm/試験群2）、酵素誘導が誘発され、短期間投与と比較すると生体内成分が体内に多く存在しており、放射能標識体に対しても代謝に利用されたものと考えられた。

2-2) 標識 [I] の投与

本試験結果と既報告（ 標識 [I] の 1.5mg/kg の 1 回経口投与）と比較すると、本試験ではC-max はやや低い値を示したものの顕著な差はなかった。

本試験の結果からT-max が40-90分、また、C-max は0.221-0.498 μ g/gであった。

| 試験群 (標識) | C-max (μ g/g) | T-max (分) |
|----------------|--------------------|-----------|
| 3 50ppm/13週間 | 0.4975 | 90 |
| 4 6400ppm/13週間 | 0.2326 | 60 |
| 7 50ppm/3日間 | 0.3101 | 90 |
| 8 6400ppm/3日間 | 0.2207 | 40 |

注) 申請者が結果の表からC-max、T-maxを判定

2-3) 13週間と3日間の投与期間後の血中濃度の比較

前処理投与の投与量と投与期間の関係を比較すると(表4, 表6)、50ppm/3日間の血漿中濃度は50ppm/13週間と比較し試験期間を通じて大概低い値であったことから、酵素あるいは他の代謝機構が誘導され低濃度の結果になったものと示唆された。

一方、6400ppm群における13週間と3日間の濃度の比較では逆の現象が認められ、3日間投与の血漿中濃度は13週間投与の場合より高かった。これは、大量に投与された被験物質を代謝する過程の誘導が起きるが、代謝物を抱合化及び排泄するために必要な生体内成分は長期の前処理によって消費しつくされ、抱合化成分の不足分を補償することはできなかったものと考えられた。

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2. ラットに $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ を投与した後 24、48 時間の糞、尿、胆汁への排泄及び動物残体への残留

| 試験群 | 標識位置 | 性試験群 | 投与後時間 hr | 投与放射エネルギーに対する割合 (%) | | | | | | | | 総回収率 |
|---------------------|------|------|-------------|---------------------|-------|-------|-------|-----------------|--------------------|-------|-------|------|
| | | | | 排泄率 | | | 残留量 | | | | | |
| | | | | 糞 | 尿 | 計 | 胃・腸管 | 皮膚 | 動物残体 ¹⁾ | 計 | | |
| 1 50ppm 13週 | | 雌 | 72 | 16.04 | 80.17 | 96.21 | 0.02 | - ²⁾ | 0.11 | 0.14 | 96.35 | |
| 2 6400ppm 13週 | | 雌 | 72 | 24.12 | 62.62 | 86.74 | 0.110 | 0.039 | 0.094 | 0.243 | 86.98 | |
| 3 50ppm 13週 | | 雌 | 72 | 19.46 | 69.33 | 88.79 | 0.11 | 0.31 | 1.28 | 1.70 | 90.49 | |
| 4 6400ppm 13週 | | 雌 | 72 | 33.97 | 57.49 | 91.46 | 0.226 | 0.160 | 0.594 | 0.980 | 92.44 | |
| 5 50ppm 3日 | | 雌 | 72 | 12.25 | 76.39 | 88.64 | 0.02 | - | 0.12 | 0.15 | 88.78 | |
| 6 6400ppm 3日 | | 雌 | 72 | 31.88 | 62.61 | 94.49 | 0.038 | 0.037 | 0.145 | 0.220 | 94.7 | |
| 7 50ppm 3日 | | 雌 | 72 | 20.63 | 76.38 | 97.01 | 0.093 | 0.205 | 0.825 | 1.123 | 98.13 | |
| 8 6400ppm 3日 | | 雌 | 72 | 37.28 | 58.30 | 95.58 | 0.081 | 0.283 | 1.141 | 1.505 | 97.09 | |

1) 胃・腸管及び皮膚を除く臓器・組織等の動物体内の合計

2) 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3. ラットに ^{14}C -[I] を投与した後 24、48 時間の糞、尿、胆汁への排泄及び動物残体への残留

| 試験群 | 標識位置 | 性 試験群 | 投与後時間 hr | 回収放射エネルギーに対する割合 (%) | | | | | | | | 総回収率 |
|---------------------|------|----------|-------------|---------------------|-------|-------|-------|-----------------|--------------------|-------|-----|------|
| | | | | 排泄率 | | | 残留量 | | | | | |
| | | | | 糞 | 尿 | 計 | 胃・腸管 | 皮膚 | 動物残体 ¹⁾ | 計 | | |
| 1 50ppm 13週 | | 雌 | 72 | 16.68 | 83.17 | 99.85 | 0.025 | - ²⁾ | 0.110 | 0.135 | 100 | |
| 2 6400ppm 13週 | | 雌 | 72 | 27.86 | 71.86 | 99.72 | 0.125 | 0.046 | 0.108 | 0.279 | 100 | |
| 3 50ppm 13週 | | 雌 | 72 | 21.51 | 76.62 | 98.13 | 0.126 | 0.345 | 1.412 | 1.883 | 100 | |
| 4 6400ppm 13週 | | 雌 | 72 | 36.69 | 62.25 | 98.94 | 0.247 | 0.175 | 0.641 | 1.063 | 100 | |
| 5 50ppm 3日 | | 雌 | 72 | 13.87 | 85.97 | 99.84 | 0.025 | - | 0.139 | 0.164 | 100 | |
| 6 6400ppm 3日 | | 雌 | 72 | 33.9 | 65.86 | 99.76 | 0.040 | 0.04 | 0.153 | 0.233 | 100 | |
| 7 50ppm 3日 | | 雌 | 72 | 21.02 | 77.83 | 98.85 | 0.095 | 0.21 | 0.84 | 1.145 | 100 | |
| 8 6400ppm 3日 | | 雌 | 72 | 38.39 | 60.08 | 97.47 | 0.082 | 0.29 | 1.165 | 1.537 | 100 | |

1) 胃・腸管及び皮膚を除く臓器・組織等の動物体内の合計

2) 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 4. 標識[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(相対濃度 P、雌)

| 投与後時間 (時：分) | 血漿中の相対濃度 [P] | | | |
|----------------|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | 試験群 1 50ppm/13 週 | 試験群 2 6400ppm/13 週 | 試験群 5 50ppm/3 日 | 試験群 6 6400ppm/3 日 |
| 0:05 | 0.136 | 0.060 | 0.060 | 0.038 |
| 0:10 | 0.484 | 0.244 | 0.215 | 0.154 |
| 0:20 | 0.674 | 0.322 | 0.360 | 0.271 |
| 0:40 | 0.754 | 0.287 | 0.490 | 0.276 |
| 1 | 0.741 | 0.236 | 0.510 | 0.254 |
| 1:30 | 0.619 | 0.172 | 0.461 | 0.244 |
| 2 | 0.475 | 0.135 | 0.391 | 0.204 |
| 3 | 0.308 | 0.116 | 0.228 | 0.164 |
| 4 | 0.259 | 0.089 | 0.184 | 0.142 |
| 6 | 0.146 | 0.070 | 0.115 | 0.107 |
| 8 | 0.099 | 0.048 | 0.130 | 0.075 |
| 24 | 0.007 | 0.011 | 0.012 | 0.011 |
| 32 | 0.005 | 0.008 | 0.013 | 0.011 |
| 48 | 0.003 | 0.002 | 0.003 | 0.007 |
| 56 | 0.002 | 0.002 | 0.007 | 0.007 |
| 72 | 0.005 | 0.002 | 0.001 | 0.004 |

表 5. 標識[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(換算濃度 $\mu\text{g/g}$ 、雌)

| 投与後時間 (時：分) | 血漿中の換算濃度 [$\mu\text{g/g}$] | | | |
|----------------|------------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | 試験群 1 50ppm/13 週 | 試験群 2 6400ppm/13 週 | 試験群 5 50ppm/3 日 | 試験群 6 6400ppm/3 日 |
| 0:05 | 0.1822 | 0.0940 | 0.0343 | 0.0400 |
| 0:10 | 0.6512 | 0.3848 | 0.1225 | 0.1607 |
| 0:20 | 0.9054 | 0.5084 | 0.2039 | 0.2827 |
| 0:40 | 1.0130 | 0.4534 | 0.2767 | 0.2878 |
| 1 | 0.9957 | 0.3715 | 0.2877 | 0.2650 |
| 1:30 | 0.8326 | 0.2713 | 0.2603 | 0.2545 |
| 2 | 0.6378 | 0.2139 | 0.2211 | 0.2123 |
| 3 | 0.4131 | 0.1827 | 0.1286 | 0.1703 |
| 4 | 0.3480 | 0.1404 | 0.1036 | 0.1479 |
| 6 | 0.1958 | 0.1106 | 0.0653 | 0.1118 |
| 8 | 0.1325 | 0.0761 | 0.0743 | 0.0779 |
| 24 | 0.0101 | 0.0178 | 0.0071 | 0.0112 |
| 32 | 0.0066 | 0.0128 | 0.0071 | 0.0111 |
| 48 | 0.0035 | 0.0030 | 0.0017 | 0.0073 |
| 56 | 0.0033 | 0.0028 | 0.0042 | 0.0074 |
| 72 | 0.0067 | 0.0036 | 0.0007 | 0.0038 |

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. 標識[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(相対濃度 P、雌)

| 投与後時間 (時：分) | 血漿中の相対濃度 [P] | | | |
|----------------|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | 試験群 3 50ppm/13 週 | 試験群 4 6400ppm/13 週 | 試験群 7 50ppm/3 日 | 試験群 8 6400ppm/3 日 |
| 0:05 | 0.070 | 0.022 | 0.038 | 0.014 |
| 0:10 | 0.206 | 0.085 | 0.128 | 0.079 |
| 0:20 | 0.290 | 0.123 | 0.201 | 0.151 |
| 0:40 | 0.341 | 0.117 | 0.244 | 0.187 |
| 1 | 0.353 | 0.138 | 0.258 | 0.186 |
| 1:30 | 0.353 | 0.119 | 0.270 | 0.180 |
| 2 | 0.337 | 0.111 | 0.260 | 0.161 |
| 3 | 0.317 | 0.102 | 0.259 | 0.134 |
| 4 | 0.296 | 0.087 | 0.254 | 0.115 |
| 6 | 0.269 | 0.073 | 0.239 | 0.109 |
| 8 | 0.252 | 0.064 | 0.227 | 0.089 |
| 24 | 0.169 | 0.038 | 0.133 | 0.032 |
| 32 | 0.114 | 0.026 | 0.094 | 0.023 |
| 48 | 0.072 | 0.016 | 0.063 | 0.016 |
| 56 | 0.058 | 0.015 | 0.050 | 0.014 |
| 72 | 0.051 | 0.011 | 0.036 | 0.011 |

表 7. 標識[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(換算濃度 $\mu\text{g/g}$ 、雌)

| 投与後時間 (時：分) | 血漿中の相対濃度 [$\mu\text{g/g}$] | | | |
|----------------|------------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | 試験群 3 50ppm/13 週 | 試験群 4 6400ppm/13 週 | 試験群 7 50ppm/3 日 | 試験群 8 6400ppm/3 日 |
| 0:05 | 0.0989 | 0.0374 | 0.0435 | 0.0162 |
| 0:10 | 0.2895 | 0.1429 | 0.1472 | 0.0937 |
| 0:20 | 0.4073 | 0.2054 | 0.2319 | 0.1779 |
| 0:40 | 0.4797 | 0.1970 | 0.2813 | 0.2207 |
| 1 | 0.4965 | 0.2326 | 0.2969 | 0.2201 |
| 1:30 | 0.4975 | 0.1979 | 0.3101 | 0.2122 |
| 2 | 0.4740 | 0.1850 | 0.2995 | 0.1895 |
| 3 | 0.4459 | 0.1691 | 0.2977 | 0.1581 |
| 4 | 0.4159 | 0.1448 | 0.2919 | 0.1360 |
| 6 | 0.3791 | 0.1226 | 0.2752 | 0.1280 |
| 8 | 0.3542 | 0.1075 | 0.2613 | 0.1050 |
| 24 | 0.2371 | 0.0645 | 0.1529 | 0.0382 |
| 32 | 0.1609 | 0.0437 | 0.1078 | 0.0273 |
| 48 | 0.1018 | 0.0276 | 0.0727 | 0.0189 |
| 56 | 0.0811 | 0.0255 | 0.0574 | 0.0164 |
| 72 | 0.0719 | 0.0185 | 0.0415 | 0.0126 |

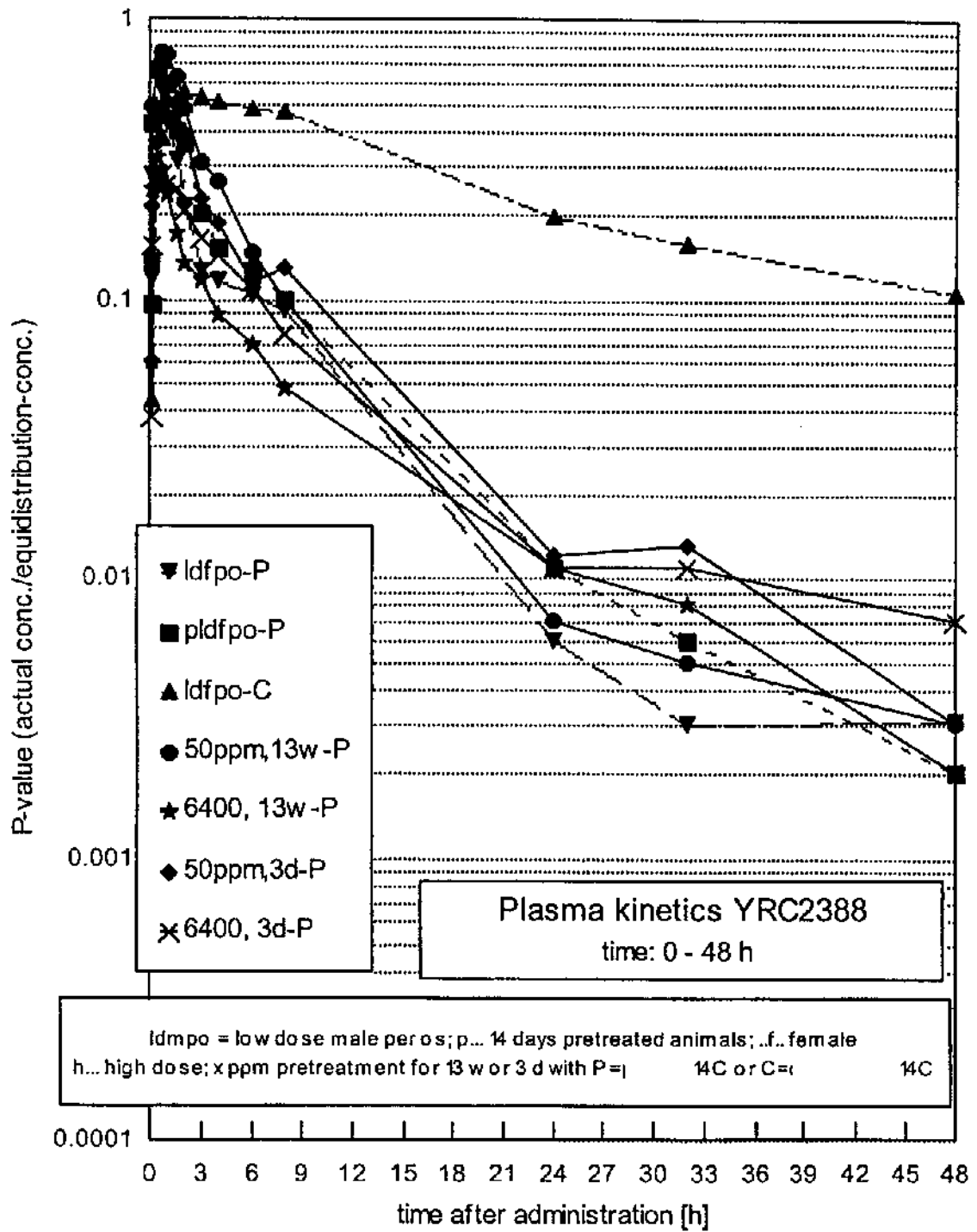


図1. 標識群の経口投与群における血漿中放射能濃度の経時変化
(相対濃度P、雌)
報告書の図を転載

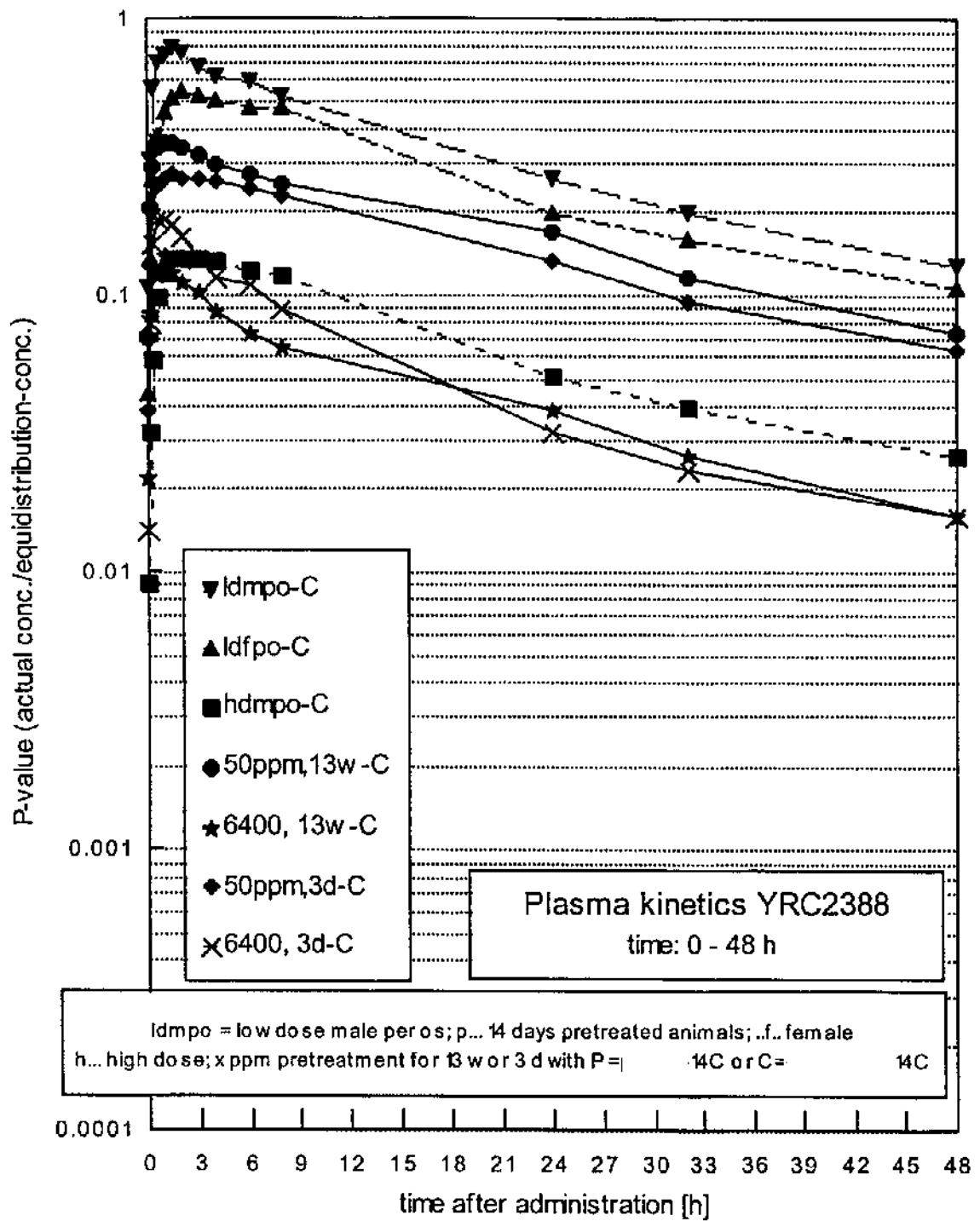


図2. 標識群の経口投与群における血漿中放射能濃度の経時変化
(相対濃度P、雌)
報告書の図を転載

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. 排泄

尿中排泄が高く、既報告書の放射能標識体の1回経口投与と同様の傾向であった。50ppm群では尿中に回収放射能の77-86%、糞中に14-22%、また、6400ppm群では尿中に60-72%、糞中に28-38%が排泄された。

投与期間を比較すると、50ppm群では13週間投与の方が尿中排泄率がやや低く、逆に6400ppm群では13週間投与の方がやや高かった。

標識体投与群は 標識体投与群よりも低い尿中排泄率であった。

4. 動物体中の放射能残留

標識体投与群の動物残体中の残留放射能量は0.1-0.3%と低かったが、 標識体投与群の場合は約10倍高い濃度を示した。

5. 代謝 (表8~11、図3)

5-1) 標識 [I] の投与

[II] から [X] への抱合化の誘導が認められ、

このことから以下の仮説が示唆された：

① 50ppm/13週間では50ppm/3日間よりも高濃度の [X] が認められた (46%に対し42%)。

② 6400ppm/3日間では抱合化のための生体内成分 () が不足し、通常の代謝過程が完結せず、 も の生成量も少なかった。

以上から、6400ppm群は量的に未同定、未定性物質が多くなったが、HPLC分析のクロマトグラムの比較から試験群間で代謝物の種類にはなく、生成量の違いであった。

5-2) 標識 [I] の投与

標識体を用いた試験群より検出された代謝物のうち、主代謝物は [XII] で (28-37%)、次いで、 [XIV] (10-14%)、 [XI] (6-14%)、 (4.5-8.2%) であった。

主代謝物は概して50ppm群に相対的に多く認められ、一方、 は6400ppm群に多かった。この差は主に糞中で認められた。この代謝物は既報告(代謝資料3)の試験においては、短期間の間に主代謝物から少量代謝物に量的な変化を示した。

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

標識体の群についても 標識体群と同様で、試験群間で代謝物の種類には差がなく、生成量の違いであった。

同定率は全ての場合において、50ppm 群で高く（試験群 5：83%）、6400ppm 群で低かった（試験群 6：53%）。

C-max 後の短期間内に屠殺した場合（既報告代謝資料 3）、 標識体の 1 回経口投与後の 0-60 分に採取した尿中の主代謝物は約 30%が（ [X X II] ）であった。しかし、60-120 分、120-360 分後には約 13-16%に減少した。

この極性水溶性代謝物は、本試験における前投与動物の血漿中速度論に寄与する主成分と考えられ、この代謝物の抱合化に必須であるグルタチオンの動物体内における量が限られていることから、この代謝物の量が減少したものと考えられた。

5-3) 6400ppm/13 週間（試験群 4）とその他の試験群との代謝様式の比較

6400ppm の 13 週間投与後に見出された尿中代謝物は同群の 3 日間投与や 50ppm の 13 週間及び 3 日間投与のそれらと基本的に同じであった。

また、 標識試験群では前投与の投与量や投与期間にかかわらず尿中代謝物の HPLC クロマトグラムには差はなく、長期間高用量投与による特異的な代謝物が生成していることはなかった。

【結論】

検体の 6400ppm の 13 週間投与による代謝様式は既報告代謝試験（代謝資料 1、2）で報告したものと大差なく、投与量に相関した代謝物それぞれの量的な変化のみが伺えた。

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

表 8. 標識体群の排泄物中の代謝物

| 化合物 | 回収量に対する割合 (%) | | | |
|---------------|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | 試験群 1 50ppm/13 週 | 試験群 2 6400ppm/13 週 | 試験群 5 50ppm/3 日 | 試験群 6 6400ppm/3 日 |
| Y R C 2 3 8 8 | 1.2 | 1.3 | 1.0 | 0.8 |
| | 30.2 | 17.9 | 39.4 | 20.2 |
| | 46.1 | 51.0 | 42.3 | 31.5 |
| 同定率 | 77.5 | 70.2 | 82.7 | 52.5 |
| 未同定物質計 | 13.1 | 20.1 | 9.8 | 38.3 |

注) この表には放射能の含有量が少ないため分析しなかった分画や未抽出分画、胃腸管、皮膚、動物残体は含まれていない。

表 9. 標識体群の排泄物中の代謝物

| 化合物 | 回収量に対する割合 (%) | | | |
|---------------|---------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| | 試験群 3 50ppm/13 週 | 試験群 4 6400ppm/13 週 | 試験群 7 50ppm/3 日 | 試験群 8 6400ppm/3 日 |
| Y R C 2 3 8 8 | 0.3 | 0.6 | 0.1 | 1.3 |
| | 13.9 | 9.5 | 14.1 | 12.2 |
| | 11.4 | 5.8 | 14.4 | 7.2 |
| | 34.6 | 32.6 | 37.0 | 27.5 |
| | 4.5 | 5.9 | 6.1 | 8.2 |
| | 1.9 | 1.9 | 1.8 | 1.4 |
| 同定率 | 66.6 | 56.3 | 73.5 | 67.7 |
| 未同定物質計 | 23.2 | 32.4 | 17.1 | 30.8 |

注) この表には放射能の含有量が少ないため分析しなかった分画や未抽出分画、胃腸管、皮膚、動物残体は含まれていない。

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

表 1 0. 標識体群の尿中同定代謝物

| 化合物 | 尿中回収量に対する割合 (%) | | | |
|-----|-----------------|--------------|-----------|-------------|
| | 試験群 1 | 試験群 2 | 試験群 5 | 試験群 6 |
| | 50ppm/13 週 | 6400ppm/13 週 | 50ppm/3 日 | 6400ppm/3 日 |
| | 29.5 | 14.8 | 37.6 | 15.4 |
| | 46.1 | 50.3 | 41.4 | 30.0 |

表 1 1. 標識体群の尿中同定代謝物

| 化合物 | 尿中回収量に対する割合 (%) | | | |
|-----|-----------------|--------------|-----------|-------------|
| | 試験群 3 | 試験群 4 | 試験群 7 | 試験群 8 |
| | 50ppm/13 週 | 6400ppm/13 週 | 50ppm/3 日 | 6400ppm/3 日 |
| | 13.6 | 8.5 | 13.9 | 11.1 |
| | 11.0 | 5.4 | 14.0 | 6.2 |
| | 24.9 | 22.9 | 27.2 | 16.9 |
| | 3.9 | 4.3 | 5.6 | 6.1 |
| | 1.8 | 0.5 | 1.8 | 0.6 |

表 1 2. 動物 1 日当りの尿中生成量

| 化合物 | 尿中の生成量 (mg/動物/日) | | | |
|-----|------------------|--------------|-----------|-------------|
| | 試験群 3 | 試験群 4 | 試験群 7 | 試験群 8 |
| | 50ppm/13 週 | 6400ppm/13 週 | 50ppm/3 日 | 6400ppm/3 日 |
| [1] | - ¹⁾ | - | - | - |
| | 0.104 | 6.773 | 0.108 | 8.536 |
| | 0.084 | 4.303 | 0.109 | 4.768 |
| | 0.191 | 18.247 | 0.212 | 12.997 |
| | 0.030 | 3.426 | 0.044 | 4.691 |
| | 0.014 | 0.398 | 0.014 | 0.461 |

算出法：

[1 日の摂餌量 (20 g/動物/日)] × [飼料中の検体濃度 (50 µg/g または 6400 µg/g)] × [投与放射能に対する尿中放射能排泄率] × [尿中の代謝物の生成割合]

1) [1]の生成量が検出限界以下のため算出せず。

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。

【亜急性毒性試験・慢性／発がん併合試験での膀胱の病変と代謝物との関連性】

慢性毒性試験で 4000 ppm 投与の雌で低頻度ながら膀胱の腫瘍と上皮過形成の頻度の増加が、亜急性毒性試験では 6400 ppm 投与の雌雄で上皮過形成の頻度の増加が報告された。この機序として代謝物の

と
の腐食性により膀胱上皮への持続的な刺激性または細胞毒性に起因している可能性が考察されている。そこで、以下では 環標識には言及せずに 環標識による代謝物のみについて考察する。

本亜急性投与後の代謝試験では、[結論]に述べられているように、6400 ppm の 13 週間の投与により検体の代謝様式には特別な差はなかったと結論されている。

しかし、申請者は 標識での尿中の代謝物についてさらに検討してみた。表 9、10 から回収放射能に対する代謝物生成割合及び尿中の回収放射能に対する代謝物生成割合は 4 試験でおおむね同等であった。50 ppm と 6400 ppm のそれぞれの投与量を 3 日と 13 週間投与後の代謝物として、

がいずれも最も多く、次いで と の順で見出された。しかし、これらの実験結果の記述からでは検体の 4000 ppm 以上の投与群で膀胱に病変が発現したと 50 ppm のような低濃度で膀胱に病変を認めなかったことへの説明とはならない。

そこで、50 ppm と 6400 ppm の濃度比は 128 倍であり、6400 ppm 群での代謝物生成量は 50 ppm に比較して単純に 128 倍と考えることもできる。また、試みに標識化合物の挙動が動物に混餌投与された検体の挙動に一致しているとの前提で、1 日当りの尿中の代謝物の生成量 (mg/動物/日) を投与放射能に対する尿中放射能排泄率、尿中の代謝物の生成割合、1 日の摂餌量 (20 g/動物/日)、飼料中の検体濃度から算出してみた (表 12)。50 ppm と 6400 ppm の 13 週間投与後での尿中の代謝物の生成量の比較では、 で約 95 倍、 で約 50 倍、 で約 65 倍であった。これらの生成量の差が高投与量での膀胱での病変の差になったのではないかと推測された。

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

2. 植物における代謝試験

(1) [^{14}C] フェントラザミドの稲における代謝
(代謝資料 No. 5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年8月26日

供試標識化合物：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位

標識：

(比放射能：、放射化学的純度)

【方法】

1. 作物

用いた稲の品種は日本晴で、表面積 2000cm² のプラントコンテナの沖積水田土壤中
湛水状態で生育させた。栽培は温室内で行い、適宜な灌水及び最小限の病虫害防除と
加肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

稲移植 10 日後に、 ^{14}C - [I] 粒剤 (含有量 2.656%) 200mg/プラントコンテナ
を水面に均一に処理し、その処理量は圃場における水面施用法とほぼ同等に相当する
量 (0.266kg a. i. /ha¹⁾) とした。出穂前の稲を薬剤処理後 59 日 (移植後 69 日) に
青刈りとして、また、薬剤処理後 132 日 (移植後 142 日) に収穫期の稲体を採取した。
各試験の詳細を表 1 に示した。

1) 放射能標識薬剤の調製と処理の際の実験上の変動により、処理量が 0.3kg a. i. /ha を下回った
と考えられる。(申請者注)

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. 試験の詳細

| 試験区 | 処理量 (kg a. i. /ha) | 採取部位 | 採取時 (処理後日数) |
|------|-----------------------|--------------|----------------|
| 試験 1 | 0.266 | 青刈り | 59 日 (出穂前青刈り) |
| 試験 2 | 0.266 | 稲わら、玄米、籾殻、枝梗 | 132 日 (収穫時) |

3. 試料の抽出

青刈り、稲わら、玄米の均質化した試料を次のように連続的に抽出した：

ステップ 1：80%アセトニトリル水溶液で 15 分間、連続的に 3 回磨砕抽出（通常抽出）

ステップ 2：50%アセトニトリル水溶液で連続的に 2～3 回マイクロウェーブ抽出（加圧、加温による苛酷抽出）

1 回目：80℃で 15 分間

2 回目：100℃で 30 分間

3 回目：150℃で 50 分間

4. 分析

(1) 吸収移行量及び残留量の測定

稲の青刈り及びわら、枝梗、籾殻、玄米をそれぞれ均質化して燃焼し、放射エネルギーを測定した。

(2) 青刈り

ステップ 1 及び 2 の 2 種の抽出液はそれぞれ濃縮し、遠心分離して上澄（水相）を *n*-ヘキサンで洗浄した。洗浄後、C18 カートリッジを用いた固相抽出で精製・分画し、分画物の精製が不十分な場合には再度 C18 カートリッジを用いた固相抽出精製を行った。精製後の各画分は TLC で分析し代謝物を定量した。代謝物の同定または特性化には HPLC、LC/MS、LC/MS/MS を用いた。マイクロウェーブ抽出後の残渣は燃焼分析した。

(3) 稲わら

ステップ 1 及び 2 の 2 種の抽出液はそれぞれ濃縮し遠心分離し、上澄を C18 カートリッジを用いた固相抽出で精製・分画した。分画物の精製が不十分な場合には再度 C18 カートリッジを用いた固相抽出精製を行った。精製後の各画分は TLC で分析し代謝物を定量した。代謝物の同定または特性化には HPLC、LC/MS、LC/MS/MS を用いた。マイクロウェーブ抽出後の残渣は燃焼分析した。

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。

(4) 玄米

ステップ 1 及び 2 の 2 種の抽出液はそれぞれ濃縮し遠心分離し、上澄を C 1 8 カートリッジを用いた固相抽出で精製・分画した。精製後の各画分は TLC で分析し代謝物を定量した。代謝物の同定または特性化には HPLC、LC/MS、LC/MS/MS を用いた。

マイクロウエーブ抽出後の残渣は天然成分（アミノ酸、デンプン、タンパク質）に分画するため、メタノール/塩酸で還流し、還流後 NaOH 溶液で中和し、遠心分離した。沈殿を NaOH 溶液で抽出して遠心分離し、上澄を塩酸で pH 6 に調整しさらに遠心分離した。これらの操作で得られた上澄及び沈殿の放射能を測定した。

放射能は、液体試料は直接、また、固体試料はオキシダイザーで燃焼した後、液体シンチレーションカウンターで測定した。

【結果】

1. 吸収移行量及び残留量（表 2）

処理後 59 日に採取した青刈り稲には処理量の約 17.3% が移行していた。その後吸収移行量は増大し、収穫期（処理後 132 日）においては稲わらに約 22%、玄米へは 0.03% であった。収穫期地上部の放射能の約 97% は稲わらに局在し、玄米には 0.14% が分布していた。また、放射能の残留量（[I]換算値）は青刈りで 0.937ppm、稲わらで 2.380ppm、玄米で 0.048ppm、籾殻で 0.156ppm、枝梗で 0.500ppm であった。

表 2. 稲体における各部位の¹⁴C吸収量

| 試験 | 採取日 (処理後) | 採取部位 | 吸収量 ¹⁾ (%) | 換算残留値 ³⁾ (ppm) |
|-----------------------------|--------------|------|-------------------------------|------------------------------|
| 試験 1 (0.266kg a. i. /ha) | 59 日 | 青刈り | 17.33 | 0.937 |
| 試験 2 (0.266kg a. i. /ha) | 132 日 | 稲わら | 21.66 (97.17) ²⁾ | 2.380 |
| | | 玄米 | 0.03 (0.14) | 0.048 |
| | | 籾殻 | 0.02 (0.09) | 0.156 |
| | | 枝梗 | 0.58 (2.60) | 0.500 |
| | | (計) | 22.29 (100.0) | |

1) 処理放射エネルギーに対する割合 (%)

2) 地上部存在量中の分布割合 (%)

3) [I] への換算値

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。

2. 青刈り及び稲わらにおける放射能の分布と代謝

①青刈り

青刈りの場合、アセトニトリル／水による磨砕抽出(通常抽出)で放射能の75.2%、マイクロウェーブ抽出(苛酷抽出)で15.4%が抽出され、未抽出分画に9.4%が分布していた。通常抽出、苛酷抽出による抽出液をそれぞれTLCで分析した結果を表3に示す。また、青刈り全体の代謝分解物の割合を表5にまとめた。

青刈り中でフェントラザミド [I] は検出されなかった。主代謝物は [VI] で青刈り中の放射能の50.3% (0.471ppm) を占めていた。その他の代謝として [VII] (14.0%)、 [V] (6.2%)、 [II] (3.2%) が見出された。

表3. 青刈り抽出液中の代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 青刈り中の放射能の分布 (回収放射エネルギーに対する割合%) | | |
|--------------|--------------------------------|-------|-----|
| | 通常抽出 | 苛酷抽出 | 未抽出 |
| 合計 | 75.22 | 15.38 | 9.4 |
| フェントラザミド [I] | n. d. | n. d. | |

②稲わら

稲わらの場合、アセトニトリル／水による磨砕抽出(通常抽出)で放射能の67.9%、マイクロウェーブ抽出(苛酷抽出)で23.8%が抽出され、未抽出分画に8.26%が分布していた。通常抽出、苛酷抽出による抽出液をそれぞれTLCで分析した結果を表4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。

表 4. 稲わら抽出液中の代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 稲わら中の放射能の分布 (回収放射エネルギーに対する割合%) | | |
|--------------|--------------------------------|-------|------|
| | 通常抽出 | 苛酷抽出 | 未抽出 |
| 合計 | 67.90 | 23.84 | 8.26 |
| フェントラザミド [I] | n. d. | n. d. | |

稲わら全体における代謝分解物の分布を表 5 にまとめた。

稲わら中でフェントラザミド [I] は検出されなかった。主代謝物は青刈りと同様に [VI] で稲わら中の放射能の 43.0% (1.023ppm) を占めていた。その他の代謝物として [VII] (14.9%) が見出されたが、[IV] と青刈りで見られた [V] 及び [II] は検出されなかった。

表 5. 青刈り及び稲わらにおける代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 青刈り (試験 1、59 日後) (0.266kg a. i. /ha) | | 稲わら (試験 2、132 日後) (0.266kg a. i. /ha) | |
|--------------|---|------------------------------|--|------------------------------|
| | 残留量 ¹⁾ (%) | 換算残留値 ²⁾ (ppm) | 残留量 ¹⁾ (%) | 換算残留値 ²⁾ (ppm) |
| フェントラザミド [I] | n. d. | — | n. d. | — |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

1) 青刈り又は稲わら中の回収放射エネルギーに対する割合 (%)

2) [I] への換算値

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。

3. 玄米における放射能の分布と代謝

玄米の場合、アセトニトリル/水による磨砕抽出(通常抽出)で放射能の57.34%、マイクロウェーブ抽出(苛酷抽出)で9.62%が抽出され、未抽出分画に33.04%が分布していた。通常抽出、苛酷抽出による抽出液をそれぞれTLCで分析した結果を表6に示す。

表6. 玄米抽出液中の代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 玄米中の放射能の分布 (回収放射能量に対する割合%) | | |
|--------------|----------------------------|-------|-------|
| | 通常抽出 | 苛酷抽出 | 未抽出 |
| 合計 | 57.34 | 9.62 | 33.04 |
| フェントラザミド [I] | n. d. | n. d. | |

玄米における代謝分解物の分布を表7にまとめた。玄米中でフェントラザミド [I] は検出されなかった。主代謝物は青刈り、稲わらと同様に [VI] で玄米中の放射能の48.4% (0.024ppm) を占めていた。その他の代謝物として [II] 及び/または [IV] が3.62% (0.001ppm) で、用いたTLC条件では判別できなかった。青刈り及び稲わらで見られた [VII]、青刈りのみで見られた [V] は検出されなかった。

未抽出分画区を天然成分に分け、放射能の取り込み量を調べた。アミノ酸区は16.5%と未抽出分画区の1/2で、デンプン区が11.6%、タンパク区が4.9%であった。

玄米を精米して白米と糠に分け、放射能の分布を調べたところ、白米には玄米に見出された放射能の85.9%、糠には14.1%であった(表8)。

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 7. 玄米における代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 試験 2 (0.266kg a. i. /ha) | |
|--------------|--------------------------|------------------------------|
| | 残留量 ¹⁾ (%) | 換算残留値 ²⁾ (ppm) |
| フェントラザミド [I] | n. d. | — |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

1) 玄米中の回収放射エネルギーに対する割合 (%)

2) [I] への換算値

表 8. 玄米における放射能の分布

| 試料 | 試験 2 (0.266kg a. i. /ha) | |
|----|--------------------------|------------------------------|
| | 残留量 ¹⁾ (%) | 換算残留値 ²⁾ (ppm) |
| 白米 | 85.89 | 0.041 |
| 糠 | 14.11 | 0.007 |

1) 玄米中の回収放射エネルギーに対する割合 (%)

2) [I] への換算値

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。

4. 結論

収穫時回収された放射能のほとんどは稲わら中に存在し、次に枝梗及び籾殻であり、玄米からは最も少ない量（処理量の0.03%：0.048mg/kg a. i. 換算）が検出された。

親化合物〔I〕は全ての試料において検出されなかった。〔I〕製剤の圃場での処理方法は湛水表面処理で行うため、〔I〕は加水分解及び土壌代謝を受けると考えられ、主に〔II〕が生成する。親化合物〔I〕及び〔II〕が稲体に吸収され、吸収された〔I〕は稲体中でも〔II〕に分解すると推定される。稲体中の〔II〕がさらに抱合化を受ける。

主代謝物は〔III〕が抱合化された〔IV〕〔VI〕で青刈り、稲わら、玄米の全ての試料において総放射性残留物の約半分を占めていた。その他の主要代謝物は〔VII〕と〔VIII〕〔V〕であった。総放射性残留物における青刈り中では73.7%、稲わら中では57.9%、玄米中では85.1%が同定あるいは特性化された。

稲におけるフェントラザミドの推定代謝経路（図1）を次頁に示す。

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。

図1. フェントラザミドの稲における推定代謝経路

- : 主要な代謝経路
- : 副次的な代謝経路

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。

2. 植物における代謝試験

(2) [^{14}C] フェントラザミドの稲における代謝
(代謝資料 No. 6)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年9月9日

供試標識化合物：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位

標識：

(比放射能：、放射化学的純度)

【方法】

1. 作物

用いた稲の品種は日本晴で、表面積 2000cm² のプラントコンテナの沖積水田土壌中
湛水状態で生育させた。栽培は温室内で行い、適宜な灌水及び最小限の病害虫防除と
施肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

稲移植 10 日後に、 ^{14}C -[I] 粒剤 (含有量 2.657%) 200mg/プラントコンテナ
を水面に均一に処理し、その処理量は圃場における水面施用法とほぼ同等に相当する
量 (0.266kg a. i. /ha¹⁾) とした。出穂前の稲を薬剤処理後 59 日 (移植後 69 日) に
青刈りとして、また、薬剤処理後 131 日 (移植後 141 日) に収穫期の稲体を採取した。
各試験の詳細を表 1 に示した。

1) 放射能標識製剤の調製と処理の際の実験上の変動により、処理量が 0.3kg a. i. /ha を下回った
と考えられる。(申請者注)

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. 試験の詳細

| 試験区 | 処理量 (kg a. i. /ha) | 採取部位 | 採取時 (処理後日数) |
|------|-----------------------|--------------|----------------|
| 試験 1 | 0.266 | 青刈り | 59 日 (出穂前青刈り) |
| 試験 2 | 0.266 | 稲わら、玄米、籾殻、枝梗 | 131 日 (収穫時) |

3. 試料の抽出

青刈り、稲わら、玄米の均質化した試料を次のように連続的に抽出した：

ステップ 1-8：以下の溶媒で 10 分間、連続的に磨砕抽出（通常抽出）

- i) 50%アセトニトリル水溶液で 5 回
- ii) アセトニトリル/1%塩化ナトリウム溶液(1:1)
- iii) アセトニトリル/1%リン酸溶液(1:1)
- iv) アセトニトリル

ステップ 9-11：以下の溶媒で連続的にマイクロウェーブ抽出
(加圧、加温による苛酷抽出)

- i) アセトニトリル/0.5%リン酸溶液(1:1) (80°C、10 分間)
- ii) アセトニトリル/0.5%水酸化ナトリウム溶液(1:1)
(100°C、20 分間)
- iii) 50%含水プロパノール (150°C、30 分間)

4. 分析

(1) 吸収移行量及び残留量の測定

稲の青刈り及び稲わら、枝梗、籾殻、玄米をそれぞれ均質化して燃焼し、放射能量を測定した。

(2) 青刈り

各抽出法による抽出液はそれぞれ濃縮し、TLCで分析した。マイクロウェーブ抽出後の残渣は燃焼分析した。

(3) 稲わら

各抽出法による抽出液はそれぞれ濃縮し、TLCで分析した。マイクロウェーブ抽出後の残渣を酸性溶液及びアルカリ性溶液を用いてリグニン画分とセルロース画分に分離し、この操作からの抽出液、残渣の放射能を測定した。

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。

(4) 玄米

各抽出法による抽出液はそれぞれ濃縮し、ブタノール/水分配を行った。マイクロウェーブ抽出後の残渣は燃焼分析した。磨砕抽出液からの分配後のブタノール及び水相をTLCで分析した。マイクロウェーブ抽出液からの分配後の水相の一部を2つに分け取り、塩酸及び水酸化ナトリウム溶液をそれぞれ加えて加熱還流により加水分解した。還流後、それぞれブタノール/水分配を行った。水酸化ナトリウム溶液で加熱還流したブタノール相をTLCで分析した。その他の相は放射能を測定した。

(5) 代謝物の単離と同定

青刈り及び稲わら、玄米のTLCでの代謝物のパターンが類似していたため、残留量の多い稲わらから代謝物を単離、同定した。代謝物の精製はシリカゲルカラムクロマトグラフィー及びHPLCで行い、同定はTLCとHPLCを用いた対照化合物とのコクロマトグラフィー及びLC/MS/MS分析で行った。

放射能は、液体試料は直接、また、固体試料はオキシダイザーで燃焼した後、液体シンチレーションカウンターで測定した。

【結果】

1. 吸収移行量及び残留量 (表2)

処理後59日に採取した青刈り稲には処理量の約4.5%が移行していた。その後吸収移行量はほとんど変わらず、収穫期(処理後131日)においても稲わらで約5.0%であったが、玄米への移行量は0.06%であった。収穫期地上部の放射能の約95%は稲わらに局在し、玄米には1.2%が分布していた。また、放射能の残留量([I]換算値)は青刈りで0.164ppm、稲わらで0.624ppm、玄米で0.040ppm、籾殻で0.081ppm、枝梗で0.123ppmであった。

表2. 稲体における各部位の¹⁴C吸収量

| 試験区 | 採取日 (処理後) | 採取部位 | 吸収量 ¹⁾ (%) | 換算残留値 ³⁾ (ppm) |
|----------------------------|--------------|------|---------------------------|------------------------------|
| 試験1 (0.266kg a. i. /ha) | 59日 | 青刈り | 4.54 | 0.164 |
| 試験2 (0.266kg a. i. /ha) | 131日 | 稲わら | 4.72 (95.1) ²⁾ | 0.624 |
| | | 玄米 | 0.06 (1.2) | 0.040 |
| | | 籾殻 | 0.03 (0.6) | 0.081 |
| | | 枝梗 | 0.15 (3.1) | 0.123 |
| | | (計) | 4.96 (100.0) | |

1) 処理放射能に対する割合 (%)

2) 地上部存在量中の分布割合 (%)

3) [I] への換算値

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。

2. 青刈りにおける放射能の分布と代謝

青刈りの場合、アセトニトリル／水による磨砕抽出(通常抽出)で放射能の61.3%、マイクロウェーブ抽出(苛酷抽出)で32.2%が抽出され、未抽出分画に6.5%分布していた。通常抽出、苛酷抽出による抽出液をそれぞれTLCで分析した結果を表3に示す。

表3. 青刈り抽出液中の代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 青刈り中の放射能の分布 (回収放射エネルギーに対する割合%) | | |
|--------------|-----------------------------------|-------|-----|
| | 通常抽出 | 苛酷抽出 | 未抽出 |
| 合計 | 61.3 | 32.2 | 6.5 |
| フェントラザミド [I] | n. d. | n. d. | |

青刈りにおける代謝分解物の分布を表4にまとめた。

青刈り中でフェントラザミド [I] は検出されなかった。主要な代謝物は [XI]、 [XXIV]、 [XII] で青刈り中の放射能のそれぞれ10.4% (0.017ppm)、10.1% (0.017ppm)、25.6% (0.042ppm) を占めていた。その他の代謝物として [XIV] (3.0%) が見出された。

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

表 4. 青刈りにおける代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 試験 1 (0.266kg a. i. /ha) | |
|--------------|--------------------------|----------------------------|
| | 分布 ¹⁾ (%) | 残留値 ²⁾ (ppm) |
| フェントラザミド [I] | n. d. | — |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| 合計残留値 | 100 | |

1) 青刈り試料における回収放射能に対する割合 (%)

2) [I] への換算値

3. 稲わらにおける放射能の分布と代謝

稲わらの場合、アセトニトリル/水による磨砕抽出(通常抽出)で放射能の63.1%、マイクロウェーブ抽出(苛酷抽出)で17.5%が抽出され、未抽出分画に19.4%分布していた。未抽出分画はさらに酸性溶液、続いてアルカリ性溶液で抽出し、酸抽出分画(0.3%)、リグニン分画(0.2%)、アルカリ抽出分画(14.6%)、セルロース分画(4.2%)とした。通常抽出、苛酷抽出、アルカリ抽出による抽出液をそれぞれTLCで分析した結果を表5に示す。

表 5. 稲わら抽出液中の代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 稲わら中の放射能の分布 (回収放射能に対する割合%) | | | |
|--------------|-------------------------------|------|--------|------------------------------------|
| | 通常抽出 | 苛酷抽出 | アルカリ抽出 | 天然成分 |
| 合計 | 63.1 | 17.5 | 14.6 | 4.7 |
| フェントラザミド [I] | n. d | n. d | n. d | リグニン:0.2 セルロース:4.2 酸抽出分画:0.3 |

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。

稲わらにおける代謝分解物の分布を表6にまとめた。

稲わら中でフェントラザミド [I] は検出されなかった。主要な代謝物は青刈り同様 [XI]、 [XXIV]、 [XII] で稲わら中の放射能のそれぞれ 17.0% (0.107ppm)、7.5% (0.047ppm)、26.5% (0.164ppm) を占めていた。その他の代謝物として [XIV] (3.6%) が見出された。未抽出分画区を天然成分に分け、放射能の取り込み量を調べた。リグニン区は0.2%で、セルロース区が4.2%であった。

表6. 稲わらにおける代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 試験2 (0.266kg a. i. /ha) | |
|---------------|-------------------------|----------------------------|
| | 分布 ¹⁾ (%) | 残留値 ²⁾ (ppm) |
| フェントラザミド [I] | n. d. | — |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |
| 酸抽出分画 | 0.3 | 0.002 |
| 未抽出分画 (リグニン) | 0.2 | 0.001 |
| 未抽出分画 (セルロース) | 4.2 | 0.026 |
| 合計残留値 | 100 | 0.624 |

1) 稲わら試料における回収放射能に対する割合 (%)

2) [I] への換算値

4. 玄米における放射能の分布と代謝

玄米の場合、アセトニトリル/水による磨砕抽出 (通常抽出) で放射能の 27.1%、マイクロウェーブ抽出 (苛酷抽出) で 69.8% が抽出され、未抽出分画に 3.1% が分布していた。

通常抽出液を濃縮し、ブタノール/水分配するとブタノール相に 17.6%、水相に 9.5% とに分配された。通常抽出液のブタノール相及び水相を TLC で分析した結果を表7に示す。苛酷抽出液のブタノール相はさらなる分析は行わなかった。

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。

表 7. 玄米通常抽出液中の代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | 玄米中の放射能の分布 (回収放射能に対する割合%) | | | | |
|--------------|---------------------------|-------|--------|------|-----|
| | 通常抽出 | | 苛酷抽出 | | 未抽出 |
| | ブタノール相 | 水相 | ブタノール相 | 水相 | |
| 合計 | 17.6 | 9.5 | 8.7 | 61.1 | 3.1 |
| フェントラザミド [I] | n. d. | n. d. | | | |

苛酷抽出液を濃縮し、ブタノール/水分配を行ったところ、通常抽出液の場合とは逆に放射能は水相に多く分配された (ブタノール相 : 8.7%、水相 : 61.1%)。水相は2つに分け取り、酸及びアルカリでそれぞれ加水分解を行った。加水分解後、ブタノール/水分配を行い、酸及びアルカリともブタノール相に約 20%、水相に約 40%とに分配され、その水相には可溶化した天然成分 (デンプン等) として放射能が含まれていた (表 8)。ブタノール相については酸加水分解の場合 TLC により分析不可能であったが、アルカリ加水分解の場合は TLC により [XI]、[XIV]、[XII] がコクロマトグラフィーで確認された (定量はしていない)。

玄米における代謝分解物の分布を表 8 にまとめた。

玄米中でフェントラザミド [I] は検出されなかった。代謝物は [XI]、[XXIV]、[XII] (異性体 2 種)、[XIV] で玄米中の放射能のそれぞれ 1.7% (0.001ppm)、1.4% (0.001ppm)、2.4% (0.001ppm)、0.5% (<0.001ppm) を占めていた。また、天然成分に分けて放射能の取り込み量を調べた結果 42.8%であった。

米を精米して白米と糠に分け、放射能の分布を調べたところ、白米には玄米に見出された放射能の 91.6%、糠には 8.4%であった (表 9)。

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 8. 玄米における代謝分解物の割合

| 代謝分解物 | | 試験 2 (0.266kg a. i. /ha) | |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------|----------------------------|
| | | 分布 ¹⁾ (%) | 残留値 ²⁾ (ppm) |
| フェントラザミド [I] | | n. d. | — |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| 苛 酷 抽 出 分 画 | ブタノール相 2 ⁴⁾ | 8.7 | 0.004 |
| | 水相 3 b (天然成分) ⁵⁾ | 42.8 | 0.018 |
| | ブタノール相 3 b ⁶⁾ | 18.3 | 0.008 |
| 残渣 | | 3.1 | 0.001 |
| 合計残留値 | | 100 | 0.040 |

- 1) 玄米試料における回収放射エネルギーに対する割合 (%)
- 2) [I] への換算値
- 3) ピークを形成しないクロマトグラフィー上の原点等の総計
- 4) 苛酷抽出液のブタノール/水分配後のブタノール相 (定性及び定量はしていない)
- 5) 苛酷抽出液のブタノール/水分配後の水相をアルカリ加水分解した場合のブタノール/水分配後の水相 (デンプン等の天然成分への取り込み)
- 6) 苛酷抽出液のブタノール/水分配後の水相をアルカリ加水分解した場合のブタノール/水分配後のブタノール相 ([XI]、[XII]、[XIV] が含まれるが定量していない)

表 9. 玄米における放射能の分布

| 試料 | 試験 2 (0.266kg a. i. /ha) | |
|----|--------------------------|----------------------------|
| | 分布 ¹⁾ (%) | 残留値 ²⁾ (ppm) |
| 白米 | 91.6 | 0.037 |
| 糠 | 8.4 | 0.003 |

- 1) 玄米に見出された放射能に対する割合 (%)
- 2) [I] への換算値

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。

5. 結論

収穫時回収された放射能のほとんどは稲わら中に存在し、次に枝梗、玄米、籾殻の順で、玄米から検出された量は処理量の0.06% (0.040mg/kg a. i. 換算)であった。

親化合物 [I] は全ての試料において検出されなかった。[I] 製剤の圃場での処理方法は湛水表面処理で行うため、[I] は加水分解及び土壌代謝を受けると考えられ、主に [XI] が生成する。親化合物 [I] 及び [XI] が稲体に吸収され、吸収された [XI] はシクロヘキサン環が水酸化される [XII] かエチル基が脱離する [XIV] に代謝されると推定し、吸収された [I] は [XI] に分解するか、

を經由して [XXIV] となると推定される。

青刈り試料では総放射性残留物の49.1%、稲わらでは59.3%、玄米では75.8%が同定あるいは特性化された。



青刈り及び稲わら中の代謝物とその残留割合はほぼ同様に、主要な代謝物は[XI]、[XXIV]、[XII]であった。

玄米中では代謝物[XI]、[XXIV]、[XII]は検出されたが少量で、総放射性残留物の約43%が天然成分のデンプンに取り込まれていた。

稲におけるフェントラザミドの推定代謝経路(図1)を次頁に示す。

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。

図1. フェントラザミドの稲における推定代謝経路

-  : 主要な代謝経路
-  : 副次的な代謝経路

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。

3. 土壌における運命

(1) フェントラザミドの水田土壌中の分解・代謝

(代謝資料 No. 7)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年9月4日

供試標識化合物：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位

標識：

(比放射能：、放射化学的純度)

(比放射能：、放射化学的純度)

【方法】

1. 土壌

以下の2種類の新鮮土壌を用いた。

| 土 壌 | 採取地 | 土 性 | pH (H ₂ O) | CEC (meq/100g) | リン酸吸 収係数 | 有機炭素 含量(%) | 粘土 含量(%) |
|----------------|------------|-----------|--------------------------|-------------------|-------------|---------------|-------------|
| 日植防協会 (牛久) | 茨城県 牛久 | 火山灰 壤土 | 6.4 | 36.2 | 1850 | 8.76 | 7.5 |
| 日植防協会 (竜ヶ崎) | 茨城県 竜ヶ崎 | 沖積 埴壤土 | 6.7 | 21.5 | 820 | 2.60 | 23.2 |

2. 処理及び処理量

土壌は2mmの篩にかけ、乾土重で50gを300mLの三角フラスコに入れた後、脱イオン水を水深1.5cmになるように加えた。この時の土壌層の厚みは13mm(沖積)及び19mm(火山灰)であった。

¹⁴C-[I]のエタノール溶液を灌水状態の表層水に添加し(標識 [I])：

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。

93 μ L、 標識 [I] : 95 μ L) 、 土壌と水相を緩やかに攪拌した後、揮発性物質の捕捉装置を取り付けた。

処理量は圃場における推奨施用量 (30g ai/10a) を基に設計し、2種の試験群に対して以下の通り処理した：

試験群 1：基本実験群、15 μ g ai/50g 乾土重 (=30g ai/10a)

試験群 2：代謝物単離・構造検索用、150 μ g ai/50g 乾土重 (=300g ai/10a、推奨施用量の 10 倍)

3. インキュベーション及び試料採取

湛水土壌を入れた 300mL 三角フラスコに揮発性物質の捕捉用装置 (CO₂：ソーダ石灰、揮発性有機化合物：ポリウレタン) を取り付け、暗所、28.1 \pm 1 $^{\circ}$ C 条件下で振とう機上に設置した。振とう速度は表層水の酸素交換は維持されるが、土壌は攪乱されない速度である 50rpm とした。

溶存酸素、還元電位、pH の測定、土壌中バイオマス、試料採取の計画を表 1 に示す。

表 1. 試料の採取、測定日

| 測定項目 | 測定日 (インキュベーション後の日数) |
|--------------------------------------|---------------------|
| 溶存酸素、還元電位、pH | 0、3、7、16、35、70、105 |
| 揮発性物質 (CO ₂ 、揮発性有機化合物) | 3、7、16、35、70、105 |
| 湛水土壌試料 | 0、3、7、16、35、70、105 |
| 土壌中呼吸量 | 0、105 |

4. 抽出、放射エネルギー測定、分析

1) 揮発性物質及び¹⁴CO₂

ポリウレタン栓 (揮発性有機化合物捕捉用) は酢酸エチルで抽出した。

ソーダ石灰 (¹⁴CO₂ 捕捉用) は 18% 塩酸を徐々に滴下し、発生した¹⁴CO₂ を冷却した 3 連のオキシダイザー用吸収剤 (Carbosorb) と液体シンチレーション測定用カクテル (Permafluor) の混合液に吸収させ、液体シンチレーションカウンターで測定した。

2) 水相

三角フラスコの内容物は遠心分離した後、上清を分取し、水相は酸性及びアルカリ性条件下で放射エネルギーを測定した。また、水相を直接 TLC で分析し [I] 及び代謝物を検索した。

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。

3) 土壌

遠心分離後の土壌はアセトニトリル／水系で3回超音波抽出(40°C)し、上清を分取し混合した。抽出物は放射エネルギーを測定し、また、直接TLCで分析した。

4) 土壌の結合性残留物

結合性残留物は燃焼分析により放射エネルギーを測定した。一方、残留物をアセトニトリル／水(1:1)及びブタノール／酢酸／水(4:1:1)を用い Soxtec 抽出器で加熱抽出し、それぞれの抽出物をTLCで分析した。

【結果】

1. 土壌中の微生物活性

用いた2種類の土壌のバイオマスはインキュベーション0日及び105日後に測定したが、経過日数による活性低下は認められなかったが、[I]の添加によって活性が上昇する徴候が一部認められた。

| | 微生物活性 | | | | | |
|-----|---------------------------------------|-------------------|-----------------|---------------------------------------|-------------------|-----------------|
| | 沖積土壌 | | | 火山灰土壌 | | |
| | 土壌呼吸量 (mgCO ₂ /h/kg 土壌) | | p H (1N KCl) | 土壌呼吸量 (mgCO ₂ /h/kg 土壌) | | p H (1N KCl) |
| | +ai ¹⁾ | -ai ¹⁾ | | +ai ¹⁾ | -ai ¹⁾ | |
| 0 | 49 | 19-20 | 5.4-5.7 | 27-29 | 37-38 | 5.4-5.8 |
| 105 | 22-27 | 19-20 | 5.3-5.7 | 43-69 | 33-35 | 5.4 |

1) +ai = [I] の添加、-ai = [I] を添加せず

2. 物質収支 (表2)

抽出放射エネルギー、未抽出結合性残留物、揮発性物質の総量に基づく総回収量は、両標識体の沖積土壌及び火山灰土壌の全試験群で91.2~100.5%の範囲であった。

3. 揮発性物質の生成 (表2)

湛水土壌系に添加した¹⁴C-[I]は¹⁴CO₂にまで代謝され、発生した¹⁴CO₂量は経時的に増加して、インキュベーション105日後においては 標識 [I] で処理量の16.0% (沖積土壌) 及び11.8% (火山灰土壌) であり、また、

標識 [I] では43.2% (沖積土壌) 及び33.3% (火山灰土壌) であった。

揮発性有機化合物の生成量は両標識体及び両土壌系においていずれも同様の状況で、105日後における発生量は非常に少なく0.009~0.026%の範囲であった。

表 2. 放射能の分布

| 経過 | 処理量に対する割合 (%) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|----------|-------------------------------|------|--------|-------|-------|-------------------------------|------|--------|------------------------|-------|-------------------------------|-----|--------|-------|------|-------------------------------|-----|-------|--------|----|------|
| | - ¹⁴ C-[I] | | | | | | | | - ¹⁴ C-[II] | | | | | | | | | | | | |
| | 沖積土壌 | | | | 火山灰土壌 | | | | 沖積土壌 | | | | 火山灰土壌 | | | | | | | | |
| 数 (日) | ¹⁴ CO ₂ | 表層水 | 土壌抽出物 | 土壌未抽出 | 合計 | ¹⁴ CO ₂ | 表層水 | 土壌抽出物 | 土壌未抽出 | 合計 | ¹⁴ CO ₂ | 表層水 | 土壌抽出物 | 土壌未抽出 | 合計 | ¹⁴ CO ₂ | 表層水 | 土壌抽出物 | 土壌未抽出 | 合計 | |
| | | | (94.2) | | | | | (95.1) | | | | | (93.7) | | | | | | (95.7) | | |
| 0 | a) | 4.1 | 85.2 | 9.0 | 98.3 | - | 3.3 | 84.3 | 10.8 | 98.4 | - | 3.4 | 86.9 | 6.8 | 97.1 | - | 3.4 | 83.2 | 12.5 | | 99.1 |
| | | | (90.6) | | | | | (95.5) | | | | | (95.4) | | | | | | (97.7) | | |
| 3 | <0.1 | 6.6 | 84.4 | 6.2 | 97.2 | <0.1 | 3.5 | 87.4 | 8.1 | 99.0 | <0.1 | 2.0 | 84.5 | 10.9 | 97.4 | 0.1 | 1.3 | 87.5 | 10.2 | | 99.1 |
| | | | (85.7) | | | | | (94.8) | | | | | (93.3) | | | | | | (96.8) | | |
| 7 | 0.1 | 12.7 | 77.4 | 8.3 | 98.5 | 0.1 | 5.6 | 85.8 | 11.0 | 100.5 | 0.5 | 3.3 | 76.4 | 16.9 | 97.1 | 0.4 | 1.2 | 82.0 | 14.8 | | 98.4 |
| | | | (70.7) | | | | | (84.1) | | | | | (85.6) | | | | | | (89.5) | | |
| 16 | 1.9 | 24.0 | 60.5 | 10.2 | 96.6 | 1.2 | 12.3 | 71.4 | 12.7 | 97.6 | 4.0 | 4.8 | 56.8 | 28.8 | 94.4 | 4.6 | 1.7 | 68.3 | 21.2 | | 95.8 |
| | | | (59.2) | | | | | (76.8) | | | | | (76.5) | | | | | | (76.1) | | |
| 35 | 5.9 | 28.2 | 47.3 | 11.9 | 93.3 | 4.5 | 14.9 | 61.4 | 15.4 | 96.2 | 11.1 | 3.6 | 42.5 | 34.0 | 91.2 | 14.0 | 1.2 | 50.4 | 25.7 | | 91.3 |
| | | | (56.4) | | | | | (79.2) | | | | | (60.4) | | | | | | (69.4) | | |
| 70 | 10.7 | 30.0 | 40.6 | 15.8 | 97.1 | 6.5 | 12.2 | 61.0 | 18.2 | 97.9 | 32.8 | 1.3 | 25.3 | 35.1 | 94.5 | 21.9 | 1.0 | 39.5 | 29.9 | | 92.3 |
| | | | (53.9) | | | | | (73.4) | | | | | (53.1) | | | | | | (59.1) | | |
| 105 | 16.0 | 26.8 | 35.5 | 18.4 | 96.7 | 11.8 | 12.3 | 52.7 | 20.7 | 97.5 | 43.2 | 0.8 | 18.4 | 34.7 | 97.1 | 33.3 | 0.6 | 29.8 | 29.3 | | 93.0 |

a) - : 測定せず

4. 表層水

1) 総放射エネルギーの消長 (表 2)

[I] を添加した直後の表層水中の総放射エネルギーの分布割合はいずれの場合においても 3.3~4.1% の範囲であった。しかし、その後の表層水中の消長に関しては 標識と 標識で大きく異なっており、 標識 [I] では表層水中の放射エネルギーは徐々に増加し、沖積土壌では 70 日後に最大約 30%、また、火山灰土壌では 35 日後に最大約 15% に達したが、その後 105 日には少量 (2~3%) 減少していた。一方、 標識 [I] の場合は、表層水中の放射エネルギーの割合は試験期間を通じて 0.6~5% の範囲を推移しており、沖積土壌は最大約 5% (16 日後)、火山灰土壌は最大約 3.5% (0 日後) でその後徐々に減少し、105 日後にはそれぞれ 1% かそれ以下となった。

2) 表層水中の代謝 (表 3-6)

表層水中の [I] の割合はいずれの試験群においても処理直後で 2~4% の範囲であったが、その後急速に減少し (半減期は短くて正確に測定できず、1 時間未満と想定された)、7 日後には約 1% かそれ以下、105 日後では n. d. となった。一方、 標識では主代謝物の [II] が経時的に増加し、沖積土壌では最大で約 28% (70 日後)、火山灰土壌では最大約 13% (35 日後) に達した後徐々に減少した。火山灰土壌において存在割合が少ないのは土壌に含有される有機物炭素に対する吸着が影響しているものと考えられた。

一方、 標識を用いた試験群から生ずる開裂体の [XI] の割合は相対的に非常に少なく約 1% かそれ以下であった。

標識 [I] からは [IV] がわずかであるが検出された。は 35 日後から検出され始め、105 日後において沖積土壌で約 2%、火山灰土壌で約 1% であった。

、 以外のその他の代謝物の存在量は非常に少なく約 2% かそれ以下であった。

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 3. フェントラザミド及び代謝物の分布 (沖積土壌、 $-^{14}\text{C} - [\text{I}]$)

| 経過日数 | 処理量に対する割合 (%) | |
|------|-------------------------------|-------|
| | $-^{14}\text{C} - [\text{I}]$ | |
| | 沖積土壌 / 表層水 ¹⁾ | 土壌抽出物 |
| 0 | 2.73 | 79.80 |
| 3 | 1.39 | 73.16 |
| 7 | 1.18 | 65.76 |
| 16 | 0.71 | 42.28 |
| 35 | 0.24 | 27.13 |
| 70 | n. d. | 18.16 |
| 105 | n. d. | 10.74 |

n. d. : 検出せず

1) : 酸性条件下の水相の ^{14}C

表 4. フェントラザミド及び代謝物の分布 (火山灰土壌、 $-^{14}\text{C} - [\text{I}]$)

| 経過日数 | 処理量に対する割合 (%) | |
|------|-------------------------------|-------|
| | $-^{14}\text{C} - [\text{I}]$ | |
| | 火山灰土壌 / 表層水 ¹⁾ | 土壌抽出物 |
| 0 | 2.08 | 76.42 |
| 3 | 0.96 | 77.95 |
| 7 | 0.44 | 70.54 |
| 16 | 0.18 | 51.10 |
| 35 | 0.10 | 33.41 |
| 70 | n. d. | 27.32 |
| 105 | n. d. | 16.91 |

n. d. : 検出せず

1) : 酸性条件下の水相の ^{14}C

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. フェントラザミド及び代謝物の分布 (沖積土壌、 $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$)

| 経過 日 数 | 処理量に対する割合 (%) | |
|--------------|-----------------------------------|--------------|
| | 沖積土壌/ $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ | |
| | 表層水 ¹⁾ | 土壌抽出物 |
| 0 | [I] 3.05 | [I] 84.31 |
| 3 | 1.23 | 77.66 |
| 7 | 0.84 | 60.75 |
| 16 | 0.36 | 39.56 |
| 35 | 0.43 | 27.68 |
| 70 | 0.17 | 18.41 |
| 105 | n. d. | 12.02 |

n. d. : 検出せず

1) : 酸性条件下の水相の ^{14}C

表6. フェントラザミド及び代謝物の分布 (火山灰土壌、 $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$)

| 経過 日 数 | 処理量に対する割合 (%) | |
|--------------|------------------------------------|--------------|
| | 火山灰土壌/ $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ | |
| | 表層水 ¹⁾ | 土壌抽出物 |
| 0 | [I] 3.27 | [I] 80.42 |
| 3 | 0.73 | 77.62 |
| 7 | 0.56 | 62.51 |
| 16 | 0.45 | 48.01 |
| 35 | 0.11 | 35.32 |
| 70 | n. d. | 26.83 |
| 105 | n. d. | 19.26 |

n. d. : 検出せず

1) : 酸性条件下の水相の ^{14}C

2

5. 土壌

1) 総放射能の消長 (表 2)

^{14}C -[I] を表層水に処理したのであるが、0 日後において既に両土壌、両標識体共に土壌部分に大部分の放射能が分布していた (処理量の 93.7-95.7%、表 2)。その後、土壌中の放射エネルギーは減少し、105 日後の土壌中の ^{14}C 量は沖積土壌で 53.9% (標識)、53.1% (標識) に、また、火山灰土壌では 73.4% (標識)、59.1% (標識) に減少した。

土壌からの抽出放射エネルギーは経時的に減少し、試験期間 0 日と 105 日後において沖積土壌では 標識で処理放射エネルギーに対して 85.2% から 35.5% へ、

標識で 86.9% から 18.4% へ、また、火山灰土壌では 3 日後と 105 日後において 標識で 87.4% (3 日後) から 52.7% へ、 標識で 87.5% (3 日後) から 29.8% へ減少した。 標識と 標識を比較すると、いずれの土壌種においても、抽出放射エネルギーは 標識でより高く、逆に発生した CO_2 量と土壌結合性残留物の量は相対的に少なかった。

土壌抽出物中の有効成分 [I] は試験期間中経時的に減少し、沖積土壌においては 0 日後及び 105 日後に 79.8% から 10.7% (標識)、84.3% から 12.0% (標識) に、また、火山灰土壌においては 3 日後及び 105 日後では 78.0% から 16.91% (標識)、77.6 から 19.3% (標識) に減少した。以上のように、[I] の消失傾向には標識体、土壌により大きな差はなく、同様の傾向であった。

2) 土壌中の代謝 (表 3-6)

標識 [I] からは主代謝物として [II] が生成し、被験物質の添加直後から徐々に増加し 35 日後には沖積土壌で最大約 13%、また、火山灰土壌で最大約 19% に達した後、減少し、105 日後には沖積土壌で約 8%、火山灰土壌で約 15% となった。 は水田土壌系ではほぼ同様の量が生成していたが、表層水と土壌間での分布割合は沖積土壌で表層水に多く、逆に、火山灰土壌は土壌抽出物に高く、有機物含量による の保持が推定された (申請者の考察)。

標識 [I] から代謝物として [IV] が検出された。土壌抽出物中には が 35 日後から検出され始め、その量は徐々に増えて 105 日後には沖積土壌で約 9%、火山灰土壌で約 12% となった。この の量は が最大に達した後の減少に相応して増加していた。

一方、 標識 [I] の主代謝物として が認められ、添加直後から徐々に増加し、最大が沖積土壌では 35 日後に約 6%、また、火山灰土壌では 16 日後に約 9% に達し、その後減少して 105 日後には沖積土壌で約 2%、火山灰土壌で約 5% となった。

その他の代謝物は両標識体共に処理量の 5% を超えるものはなく構造の同定には至らなかった。

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。

6. 結合性残留物

結合性残留物は徐々に増加し、105 日後において最大となり、標識 [I] は約 18% (沖積土壌)、約 21% (火山灰土壌) であった。また、標識 [I] は共に 70 日後に最大となり、沖積土壌で約 35%、火山灰土壌で約 30% に達した後、105 日後にかけて若干減少した。

標識 [I] の 70 及び 105 日後の結合性残留物を苛酷条件下で抽出すると、抽出された量は沖積土壌で処理量の約 9% (70 日後)、約 10% (105 日後) であり、また、火山灰土壌では約 8% (70 日後)、約 9% (105 日後) であった。結合性残留物からの抽出効率は 24–25% であった (申請者による考察)。

抽出された成分はいずれの分画においても [I] が少量で、主成分は分解物であった。

7. 水田土壌系におけるフェントラザミド及び代謝物の分布

表 7~10 及び図 1~4 に水田土壌系の表層水に標識 [I] を処理した後の [I]、代謝物、二酸化炭素の消長を試験系全体の収支として示した。

8. 水田土壌中のフェントラザミドの半減期

1) 表層水中のフェントラザミドの半減期

表層水中の [I] は速やかに消失して、土壌へ移行した。表層水中の半減期は非常に短くて実測はできず、1 時間未満と想定された。

2) 土壌中のフェントラザミドの半減期

[I] は大部分が土壌中に分布しており、土壌中の [I] の半減期は水田土壌系全体の半減期と同じであった (下記)。

3) 水田土壌系全体のフェントラザミドの半減期

水田土壌系の [I] の半減期は Timme らの方法により算出し、表 11 に示した。

表 11. フェントラザミドの水田土壌系の半減期

| 土性 | 標識位置 | 半減期 (日) |
|-----|------|---------|
| 沖積 | | 10.0 |
| | | 10.7 |
| 火山灰 | | 16.8 |
| | | 18.7 |

半減期の算出は平方 1 次式 (最適化 Best fit 法) による。

9. 水田土壌系におけるフェントラザミドの動態

[I] は水田の表層水から急速に消失し、土壌へ移行して二酸化炭素にまで代謝分解されるものと考えられ、水田土壌系に蓄積することはないと考えられた。105 日間

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。

の室内実験から、[I]の主代謝物として と が、また、少量代謝物として が検出されたが、これらも徐々に二酸化炭素にまで分解されていく経路が観察された。推定代謝経路を図5に示す。

表7. 水田土壌系のフェントラザミド及びその代謝物

| 経過 | 沖積土壌 / $-^{14}\text{C}$ -[I] | |
|-----|------------------------------|--|
| | 処理量に対する割合 (%) | |
| 日数 | [I] | |
| 0 | 82.53 | |
| 3 | 74.55 | |
| 7 | 66.94 | |
| 16 | 42.99 | |
| 35 | 27.37 | |
| 70 | 18.16 | |
| 105 | 10.74 | |

表8. 水田土壌系のフェントラザミド及びその代謝物

| 経過 | 火山灰土壌 / $-^{14}\text{C}$ -[I] | |
|-----|-------------------------------|--|
| | 処理量に対する割合 (%) | |
| 日数 | [I] | |
| 0 | 78.50 | |
| 3 | 78.91 | |
| 7 | 70.98 | |
| 16 | 51.28 | |
| 35 | 33.51 | |
| 70 | 27.32 | |
| 105 | 16.91 | |

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 9. 水田土壌系のフェントラザミド及びその代謝物

| 経過 | 沖積土壌 / $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ |
|---------------|------------------------------------|
| 処理量に対する割合 (%) | |
| 日数 | [I] |
| 0 | 87.36 |
| 3 | 78.89 |
| 7 | 61.59 |
| 16 | 39.92 |
| 35 | 28.11 |
| 70 | 18.58 |
| 105 | 12.08 |

表 10. 水田土壌系のフェントラザミド及びその代謝物

| 経過 | 火山灰土壌 / $-^{14}\text{C}-[\text{I}]$ |
|---------------|-------------------------------------|
| 処理量に対する割合 (%) | |
| 日数 | [I] |
| 0 | 83.69 |
| 3 | 78.35 |
| 7 | 63.07 |
| 16 | 48.46 |
| 35 | 35.43 |
| 70 | 26.92 |
| 105 | 19.26 |

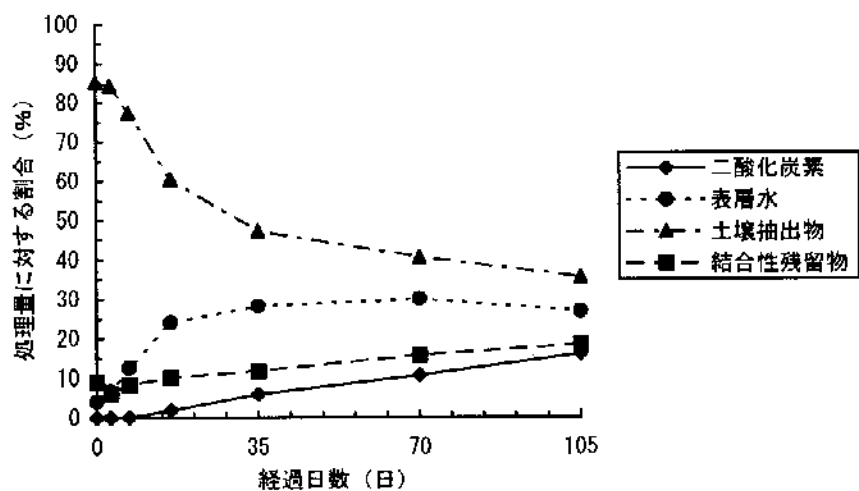


図 1. フェントラザミドを処理した後の放射能の分布・消長
 ^{14}C -[I] / 沖積土壌

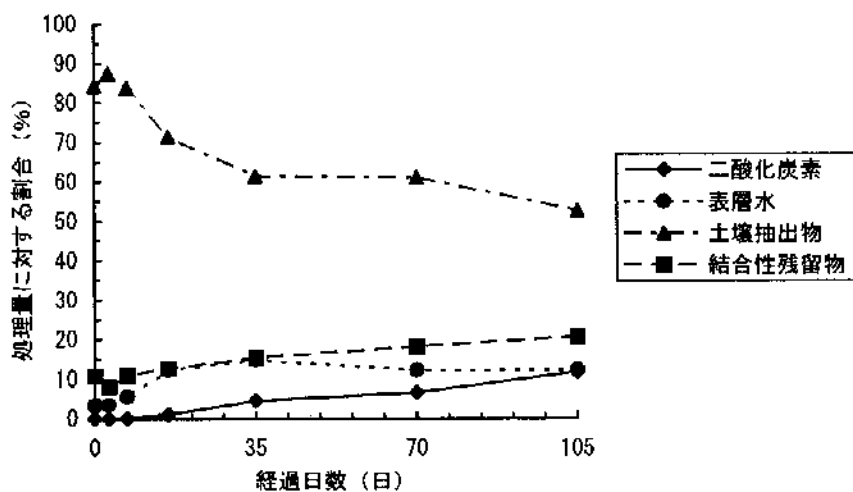


図 2. フェントラザミドを処理した後の放射能の分布・消長
 ^{14}C -[I] / 火山灰土壌

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。

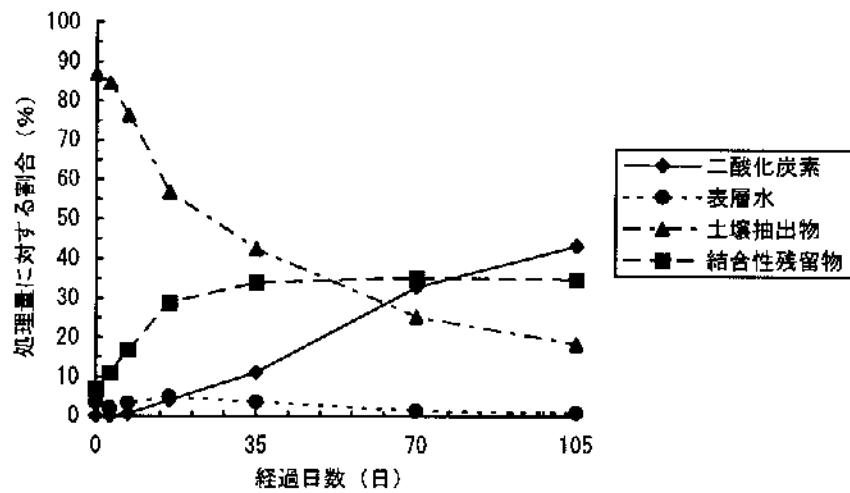


図3. フェントラザミドを処理した後の放射能の分布・消長
 ^{14}C - [I] / 沖積土壌

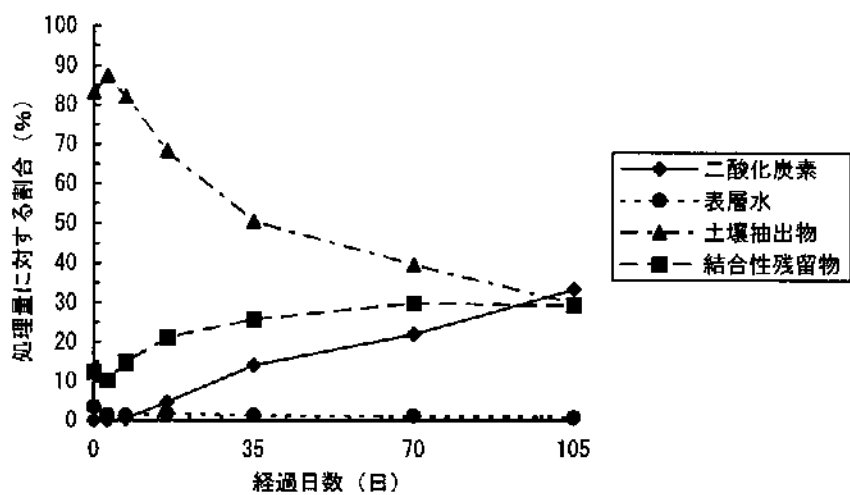


図4. フェントラザミドを処理した後の放射能の分布・消長
 ^{14}C - [I] / 火山灰土壌

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5. フェントラザミドの水田土壌中における推定代謝経路
——→ : 主要な代謝経路
——→ : 副次的な代謝経路

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。

4. 土壌吸着試験

(1) フェントラザミドの土壌吸着試験

(代謝資料 No. 8)

試験機関 :

報告年月日 : 1997 年 4 月 30 日

供試標識化合物 :

化学名 : 4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造 :

* : 標識部位

標識 :

(比放射能 : 、放射化学的純度)

【方法】

^{14}C -[I]を表1に示した4種類の水田土壌を用いて、供試濃度 0.009、0.041、0.185、0.91mg/Lの4種濃度、温度 25℃、平衡化時間 24 時間の条件で、OECDガイドラインに従って吸着試験を行った。また、0.185mg/L 濃度区の試料を用いて総放射能を定量し、物質収支を算出した。

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。

表 1. 供試土壌

| 土壌 | 採取場所 | 土壌群名 | 土性 ¹⁾ | OC% ²⁾ | pH ³⁾ (H ₂ O) | pH ⁴⁾ (KCl) | CEC ⁵⁾ | PAC ⁶⁾ | 粘土鉱物の種類 |
|----|---------|---------|------------------|-------------------|--|---------------------------|-------------------|-------------------|-----------------|
| 1 | 日植調(古川) | 細粒強グライ土 | LiC | 3.18 | 5.2 | 4.9 | 27.7 | 830 | モンモリロナイト、カオリン鉱物 |
| 2 | 石川農試 | 細粒灰色低地土 | LiC | 1.22 | 6.8 | 5.7 | 24.9 | 800 | モンモリロナイト、イリイト |
| 3 | 日植調 | — | LiC | 2.60 | 6.7 | 6.0 | 21.5 | 820 | モンモリロナイト |
| 4 | 日植防(宮崎) | 灰色低地土 | SL | 1.56 | 5.2 | 5.5 | 8.3 | 490 | パーキユライト、カオリン鉱物 |

- 1) 土性: LiC (軽埴土)、SL (砂壤土)
- 2) 土壌中の有機炭素含有率 (%)
- 3) 蒸留水中で測定
- 4) KCl 溶液中で測定
- 5) 陽イオン交換容量 (me/100g 乾土)
- 6) リン酸吸収係数 (mg/100g 乾土)

【結果】

1. 物質収支

放射能の回収率は 91.4~93.1% と良好な値を示した。

2. K (吸着係数) 及び K_{oc}' (有機炭素吸着係数)

| 土壌 | K ¹⁾ | 1/n ¹⁾ | r ¹⁾ | OC% ²⁾ | K _{oc} ' ³⁾ |
|----|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|---------------------------------|
| 1 | 22.1 | 1.17 | 0.988 | 3.18 | 695 |
| 2 | 40.8 | 1.04 | 0.990 | 1.22 | 3344 |
| 3 | 13.0 | 1.14 | 0.999 | 2.60 | 500 |
| 4 | 12.2 | 1.06 | 0.995 | 1.56 | 782 |

- 1) Freundlich の吸着等温式による定数項と相関係数
- 2) 土壌中の有機炭素含有率
- 3) K を各土壌中の OC% で割り、求めた有機炭素吸着係数

4. 考察

相関が低い理由は、他の土壌と比較して土壌 2 (石川農試) における吸着係数が、有機炭素含有率に対して高いことによる。すなわち、他の三種の土壌より有機炭素含有率は低かったが、吸着率は一番高かった。

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。

5. 水中光分解試験

(1) フェントラザミドの水中光分解 (純水及び自然水)

(代謝資料 No. 9)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年月日 : 1997年9月30日

供試標識化合物

化学名 : 4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造 :

* : 標識部位

標識 :
(比放射能 : 、放射化学的純度)
(比放射能 : 、放射化学的純度)

【方法】

1. 材料

供試水 : 純水 : 滅菌精製水
 自然水 : ライン川、モンハイム/ドイツ
 1995年9月13日に採取、pH7.9

光源 : 太陽光の類似波長を発するキセノンランプ
 (UVガラスフィルター付、低波長下限 : 290nm)
分光分布 : 290~800nm
光量 : 10.2 mW/cm² (波長範囲、300~400nm)

2. 操作

[I] の各標識体のアセトニトリル溶液を各供試水にそれぞれ添加し約 0.6mg/L とした（アセトニトリルの添加濃度：0.7%）。各滅菌純水試験溶液を 5.0mL ずつ蒸気圧滅菌した石英容器（最大容量 25mL、長さ 52mm、幅 30mm、高さ 19mm、液表面面積 15cm²）に分注し、自然水試験溶液の場合には滅菌していない石英容器に 5.0mL ずつ分注した。各容器に揮発性成分捕集装置（揮発性有機化合物吸収用にポリウレタン栓、¹⁴C O₂ 吸着用にソーダライム層のカラム）を装着し、光照射装置に入れ、キセノンランプを用いて 25±1℃、最長 22 日間連続照射で分解試験を行った。試料は試験開始時、1、2、4、7、11、16、22 日後に採取し、揮発性物質の発生の有無の測定、また、溶液中の総放射エネルギーを液体シンチレーションカウンターで測定、定量した。対照区として、各試験溶液をメスフラスコに 5.0mL ずつ分注し、各容器に揮発性成分捕集装置を付けて、全体をアルミホイルで覆って暗条件とし、同温度条件下の乾燥器中でインキュベーションした。照射試料と同時期に採取、処理して回収量を測定した。また、全ての溶液を濃縮を行わずに直接 TLC で分析に付し、[I] 及び代謝物の生成、及び、その生成量を測定した。代謝物は HPLC により単離、精製し、LC/MS、LC/MS/MS を用いて構造を解析した。

【結果】

1. 回収率

試験開始時の放射エネルギーを処理放射エネルギーとし、処理放射エネルギーに対する総回収率を求めた。22 日間の照射またはインキュベーションを通じ、純水の場合、標識の照射条件で処理量の約 88～97%、暗条件で約 98～99% であり、標識の照射条件で処理量の約 85～97%、暗条件で 96～104% であった。自然水の場合、標識の照射条件で処理量の約 84～97%、暗条件で 97～101% であり、標識の照射条件で処理量の約 87～99%、暗条件で 96～100% であった（表 1-4）。

2. 揮発性物質の発生

[I] は光照射により分解され、CO₂ への無機化が経時的に進行し、照射 22 日間に揮発した ¹⁴C O₂ は、純水の場合で標識の照射条件で処理量の約 13%、暗条件では検出されず、また、標識の照射条件で約 2%、暗条件では検出されなかった。自然水の場合の標識の照射条件で処理量の約 10%、

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。

暗条件で0.1%であり、標識の照射条件で約2%、暗条件で0.1%であ
 った。揮発性有機化合物は微量検出され、処理放射能に対して最大で約0.5%であった
 (表1-4)。

3. 推定半減期

キセノン光の連続照射及び暗条件下インキュベーションによる [I] の消失半減期を一次反応に基づき計算し表5に示した。[I] は暗条件でも加水分解により分解するが、光照射により分解速度は3~5倍速くなった。純水と自然水中における分解速度にはほとんど差がなかった。

環境中(北緯40度)における半減期を推定するため、[I] の光吸収波長295~400nm のにおけるキセノンランプの光強度を、北緯40度の真夏正午における太陽光の光強度と比較したところ、キセノンランプの光強度は0.94倍(純水の試験を行った光照射装置)、0.92倍(自然水の試験を行った光照射装置)倍であった。キセノンランプの連続照射を、昼夜があること等を考慮に入れて北緯40度における真夏の日照時間に換算して推定半減期を算出し表5に示した。環境中に換算すると、暗条件の半減期とほとんど変わらなかった。

表5：25℃でのフェントラザミドのDT₅₀計算(一次式)

| 水 | ¹⁴ C-標識 | 試験 | 半減期 [実験上連続 照射日数] | 半減期 [北緯40度 における日数] |
|------|--------------------|----|------------------------|--------------------------|
| 純水 | | 暗 | 46 | |
| 純水 | | 暗 | 46 | |
| ライン川 | | 暗 | 64 | |
| ライン川 | | 暗 | 49 | |
| 純水 | | 光 | 14 | 62 |
| 純水 | | 光 | 17 | 75 |
| ライン川 | | 光 | 13 | 55 |
| ライン川 | | 光 | 11 | 46 |

表 1. 標識 [I] の光照射及び暗条件の代謝分解物の割合 (純水)

| 分解物 | 処理放射能量に対する代謝物の割合 (%) | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|----------------------|-------|------|------|------|------|------|------|--------------------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 照射時間 (H) | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 0 | | 1 | | 2 | | 4 | | 7 | | 11 | | 16 | | 22 | |
| | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 |
| [I] | 97.0 | 97.0 | 89.1 | 95.2 | 83.6 | 95.5 | 72.4 | 87.6 | 61.5 ⁴⁾ | 82.5 | 36.9 | 72.3 | 38.1 | 73.3 | 37.4 | 72.4 |
| 合計 | 100.0 | 100.0 | 95.8 | 97.6 | 96.8 | 98.1 | 90.7 | 97.8 | 91.5 | 97.6 | 88.7 | 98.4 | 81.6 | 99.1 | 73.9 | 97.2 |
| CO ₂ | n.a. ³⁾ | n.a. | <0.1 | <0.1 | 0.1 | <0.1 | 0.4 | <0.1 | 1.0 | 0.1 | 2.2 | <0.1 | 7.8 | 0.1 | 13.4 | <0.1 |
| 揮発性物質 | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | 0.1 | <0.1 | 0.1 | 0.1 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.1 | 0.3 | 0.4 |
| 総回収率 | 100.0 | 100.0 | 95.8 | 97.6 | 96.9 | 98.1 | 91.1 | 97.8 | 92.7 | 97.7 | 91.1 | 98.7 | 89.6 | 99.2 | 87.6 | 97.7 |

表 2. 標識 [I] の光照射及び暗条件の代謝分解物の割合 (純水)

| 分解物 | 処理放射能量に対する代謝物の割合 (%) | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|----------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|-------|------|------|------|------|------|------|
| | 照射時間 (日) | | | | | | | | | | | | | | | |
| | 0 | | 1 | | 2 | | 4 | | 7 | | 11 | | 16 | | 22 | |
| | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 |
| [I] | 97.4 | 97.4 | 91.2 | 96.5 | 86.5 | 96.3 | 76.9 | 92.3 | 60.8 | 94.2 | 49.8 | 88.5 | 45.8 | 77.6 | 42.0 | 69.4 |
| 合計 | 100.0 | 100.0 | 96.3 | 98.9 | 97.4 | 99.9 | 94.4 | 99.2 | 94.0 | 104.0 | 91.3 | 98.9 | 83.5 | 96.5 | 84.9 | 96.0 |
| CO ₂ | n.a. ³⁾ | n.a. | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | 0.2 | <0.1 | 0.5 | <0.1 | 0.9 | <0.1 | 1.8 | <0.1 |
| 揮発性物質 | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | 0.1 | <0.1 | 0.2 | <0.1 | 0.2 | 0.1 | 0.4 | <0.1 | 0.3 | 0.3 |
| 総回収率 | 100.0 | 100.0 | 96.3 | 98.9 | 97.4 | 99.9 | 94.5 | 99.2 | 94.5 | 104.1 | 92.0 | 99.1 | 84.8 | 96.5 | 87.0 | 96.3 |

表 3. 標識 [I] の光照射及び暗条件の代謝分解物の割合 (自然水)

| 分解物 | 処理放射能量に対する代謝物の割合 (%) | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|----------------------|-------|------|------|------|-------|------|------|-------|------|------|------|------|------|------|
| | 照射時間 (日) | | | | | | | | | | | | | | |
| | 0 | | 1 | | 2 | | 4 | | 7 | | 11 | | 16 | | 22 |
| 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 |
| [I] | 97.5 | 97.5 | 86.5 | 95.4 | 77.9 | 97.1 | 93.1 | 48.2 | 94.3 | 39.6 | 85.1 | 36.4 | 84.4 | 28.2 | 76.0 |
| 合計 | 100.0 | 100.0 | 96.1 | 97.9 | 97.2 | 100.7 | 99.2 | 92.5 | 100.9 | 86.3 | 97.2 | 81.1 | 99.4 | 74.2 | 97.7 |
| CO ₂ | n.a. ³⁾ | n.a. | <0.1 | <0.1 | 0.2 | <0.1 | <0.1 | 0.1 | <0.1 | 1.8 | <0.1 | 5.3 | <0.1 | 9.7 | <0.1 |
| 揮発性物質 | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | 0.8 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | 0.1 | 0.4 | 0.1 | 0.1 |
| 総回収率 | 100.0 | 100.0 | 96.2 | 97.9 | 97.4 | 100.7 | 87.4 | 94.3 | 100.9 | 91.7 | 97.3 | 90.9 | 99.8 | 83.8 | 97.9 |

- 1) 試験開始時の放射能量を処理放射能量とした。
- 2) 放射能量が 5 % 以下の未同定光分解物の含量
- 3) 未分析

表 4. 標識 [I] の光照射及び暗条件の代謝分解物の割合 (自然水)
処理放射能量に対する代謝物の割合 (%)

| 分解物 | 照射時間 (日) | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|--------------------|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | | 1 | | 2 | | 4 | | 7 | | 11 | | 16 | | 22 | |
| | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 | 光 | 暗 |
| フェントサミド [I] | 96.5 | 96.5 | 86.9 | 91.8 | 88.0 | 95.9 | 66.0 | 91.7 | 52.4 | 93.1 | 59.0 | 76.8 | 27.1 | 82.0 | 25.9 | 69.0 |
| 合計 | 100.0 | 100.0 | 96.4 | 97.3 | 99.0 | 99.4 | 96.4 | 97.5 | 93.4 | 99.7 | 88.9 | 99.4 | 87.1 | 95.2 | 84.9 | 97.2 |
| CO ₂ | n.a. ³⁾ | n.a. | <0.1 | <0.1 | <0.1 | <0.1 | 0.1 | <0.1 | 0.3 | 0.1 | 0.8 | 0.1 | 2.5 | 0.2 | 1.7 | 0.1 |
| 揮発性物質 | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | n.a. | 0.2 | <0.1 | 0.2 | <0.1 | 0.2 | <0.1 | 0.3 | 0.2 | 0.5 | 0.1 |
| 総回収率 | 100.0 | 100.0 | 96.4 | 97.3 | 99.0 | 99.4 | 96.7 | 97.5 | 93.9 | 99.8 | 89.9 | 99.5 | 90.0 | 95.5 | 87.1 | 97.3 |

1) 試験開始時の放射能量を処理放射能量とした。

2) 放射能量が 5 % 以下の未同定光分解物の含量

3) 未分析

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。

4. フェントラザミドの分解、代謝

[I] は連続光照射により 22 日後純水中で処理量の約 40%、自然水中で約 30% が残存していた。[I] は加水分解されるため、暗条件下でも 22 日後に純水及び自然水中共に約 70% の残存であった。

純水と自然水とで分解速度、分解パターンはほぼ同様であった。同定された分解物は 標識体から [II]、 標識体から [XI]、 [XXIII]、 [XXV]、 [XXVI] の 5 種であった。その他の未同定分解物は全て 5% 以下であった。照射した場合、[II] は純水で 11 日後に最大 (21.7%) となり、自然水で 11 日後及び 22 日後に最大 (18.0%) となった。[XI] は純水で 7 日後に最大 (14.5%) となり、自然水で 22 日後に最大 (12.4%) となった。[XXIII] は 22 日後に最大 (純水 : 7.5%、自然水 : 9.7%) となり、[XXV] は同様に 22 日後に最大 (純水 : 5.0%、自然水 : 5.8%) となった。[XXVI] は 16 日後に最大 (純水 : 4.5%、自然水 : 6.0%) となった。[I] の 環及び 環は最終的に開裂し、CO₂へ分解した。

5. 推定代謝経路 (図 1)

フェントラザミドの水中における光分解の推定代謝経路を図 1 に示す。

テトラゾリノン環窒素とカルボニル基の CN 結合が開裂して [II] と [XI] のカルバモイル体が中間体として生成し、後者が脱炭酸して [XI] になり、一方、アンモニアや尿素が反応し [XXIII]、[XXV]、[XXVI] がさらに生成する経路が認められ、生成した代謝物はさらに分解し CO₂ への無機化が進むものであった。

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. フェントラザミドの純水及び自然水中の光分解による推定代謝経路

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。

6. 加水分解試験

(1) フェントラザミドの緩衝液中における加水分解

(代謝資料 No. 10)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年月日 : 1997年10月8日

供試標識化合物

化学名 : 4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造 :

* : 標識部位

標識 :
(比放射能 : 、放射化学的純度)
(比放射能 : 、放射化学的純度)

供試水溶液 : a) 0.01Mクエン酸緩衝液 (pH4)
 b) 0.01Mトリス緩衝液 (pH7)
 c) 0.01Mホウ酸緩衝液 (pH9)

【方法】

実験はOECDガイドラインNo. 111「pHの関数としての加水分解」(1981年5月12日)に基づいて実施した。 標識及び 標識 [1] をそれぞれ0.6mg a. i. /Lの濃度で含むpH4、7、9の3種類の緩衝液(1%以下のアセトニトリルを含む)を、最大35日間、25°C及び40°Cの暗黒下でインキュベーションした。添加直後及びインキュベーション開始後1、3、7、14、21、28、35日目に試料を採取し、試料を薄層クロマトグラフィー(TLC)に供試して、[1]及び加水分解生成物を定量した。また、供試溶液の滅菌性及びpHを1、14、35日後に測定した。

分解生成物の同定にはHPLC、LC/MS、LC/MS/MSを用いた。

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】

1. 試験溶液の滅菌性及びpH

インキュベーション後1、14、35日に採取した試料を用いて滅菌性及びpHを確認した結果、試験期間を通じて滅菌条件が維持されていることが証明された。また、pHも調整した値におおよそ維持されていたことが確認された。

2. 物質収支 (表1、表2)

試験系からの放射能の総回収率は35日間のインキュベーション期間を通じ、
標識の場合、25℃で処理量の約98~100% (pH4)、98~104% (pH7)
92~99% (pH9)であり、40℃で処理量の約96~101% (pH4)、104~107%
(pH7)、96~99% (pH9)であった。標識の場合、25℃で
処理量の約97~101% (pH4)、94~100% (pH7)、96~99% (pH9)で
あり、40℃で処理量の約99~100% (pH4)、95~103% (pH7)、81~99%
(pH9)であった。

pH9緩衝液中の 標識は40℃ではインキュベーション期間が長くなるにつれて放射能の回収が減少する傾向にあった。この原因は生成した主加水分解物 [XI]の一部が試験溶液から揮発することによっていた。

3. [I] 及び加水分解生成物の定性及び定量 (表1、表2)

[I] は25℃の場合pH4及びpH7において 標識、 標識共にほぼ安定であったが、pH9においては両標識共に分解し、35日には63~72%に分解した。一方、40℃の場合pH4、pH7においても分解し、両標識、両pHとも35日には46~54%の範囲であった。

それぞれの標識で1種の主加水分解物が生成し、 標識の場合には [II]、 標識の場合には [XI]が検出された。試験溶液からの [I] 及びそれぞれの主分解物を対照化合物とともにHPLC、LC/MS、LC/MS/MS測定することにより同定した。

25℃で35日間インキュベーションした場合、pH4及び7の緩衝液中では2種の主分解物は10%以下であったが、pH9の緩衝液中では両分解物とも20%をこえていた。

40℃で35日間インキュベーションした場合、pH4及び7の緩衝液中では [I] はほぼ半減し2種の主分解物は50%前後生成した。pH9の緩衝液中では [I] は10%以下まで分解した。

2種の主分解物のさらに分解が進んだ生成物(TLC上の原点または他のピーク)は明らかになっていないが、少量であった。

[I] 及び主分解生成物の各条件下での分布・消長を図1-4に示した。

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

表 1. 緩衝液中 (pH 4、7、9) の加水分解 (25°C)

| 緩衝液 | 試験期間 (処理後日数) | 処理量に対する割合 (%) | | | | | | | |
|------|-----------------|---------------|------|-------|-------|---------|-------|-------|-------|
| | | 標識 [I] | | | | 標識 [XI] | | | |
| | | [I] | [II] | その他*) | 合計 | [I] | [XI] | その他*) | 合計 |
| pH 4 | 添加直後 | 98.3 | 0.7 | 1.0 | 100.0 | 99.4 | n. d. | 0.6 | 100.0 |
| | 1 | 97.7 | 1.0 | 0.9 | 99.6 | 98.7 | n. d. | 0.9 | 99.6 |
| | 3 | 97.0 | 1.4 | 1.0 | 99.4 | 92.6 | 0.8 | 3.1 | 96.5 |
| | 7 | 96.0 | 2.5 | 1.0 | 99.5 | 96.1 | 1.6 | 1.1 | 98.8 |
| | 14 | 94.4 | 3.3 | 1.6 | 99.3 | 98.0 | 2.3 | 0.5 | 100.8 |
| | 21 | 91.8 | 4.7 | 1.5 | 98.0 | 95.4 | 4.0 | 1.0 | 100.4 |
| | 28 | 91.7 | 5.9 | 2.1 | 99.7 | 90.9 | 5.3 | 0.7 | 96.9 |
| | 35 | 90.5 | 7.3 | 1.1 | 98.9 | 91.2 | 5.5 | 0.7 | 97.4 |
| pH 7 | 添加直後 | 98.2 | 0.9 | 0.9 | 100.0 | 99.3 | n. d. | 0.7 | 100.0 |
| | 1 | 97.6 | 0.9 | 0.7 | 99.2 | 98.8 | n. d. | 1.0 | 99.8 |
| | 3 | 95.3 | 1.7 | 0.9 | 97.9 | 96.1 | 0.8 | 2.3 | 99.2 |
| | 7 | 94.4 | 2.9 | 1.7 | 99.0 | 91.3 | 1.6 | 1.0 | 93.9 |
| | 14 | 94.2 | 3.7 | 1.3 | 99.2 | 97.4 | 2.5 | 0.4 | 100.3 |
| | 21 | 93.3 | 5.1 | 1.2 | 99.6 | 94.9 | 4.1 | 0.9 | 99.9 |
| | 28 | 92.6 | 6.8 | 1.5 | 100.9 | 93.4 | 5.6 | 0.7 | 99.7 |
| | 35 | 95.1 | 8.2 | 1.0 | 104.3 | 90.8 | 5.3 | 0.7 | 96.8 |
| pH 9 | 添加直後 | 98.2 | 0.8 | 1.0 | 100.0 | 98.5 | 0.8 | 0.7 | 100.0 |
| | 1 | 94.8 | 2.4 | 1.9 | 99.1 | 96.9 | 1.5 | 0.9 | 99.3 |
| | 3 | 85.0 | 5.0 | 2.0 | 92.0 | 92.0 | 5.1 | 0.7 | 97.8 |
| | 7 | 86.1 | 9.8 | 2.5 | 98.4 | 89.3 | 7.0 | 1.3 | 97.6 |
| | 14 | 84.2 | 13.7 | 1.2 | 99.1 | 86.8 | 11.0 | 0.7 | 98.5 |
| | 21 | 75.3 | 20.0 | 2.8 | 98.1 | 81.4 | 16.9 | 0.9 | 99.2 |
| | 28 | 70.4 | 25.2 | 3.1 | 98.7 | 73.0 | 22.1 | 0.8 | 95.9 |
| | 35 | 62.6 | 29.9 | 1.0 | 93.5 | 72.0 | 23.5 | 1.1 | 96.6 |

n. d. : 検出せず

*) : TLC上の原点または他のピーク

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. 緩衝液中 (pH 4、7、9) の加水分解 (40℃)

| 緩衝液 | 試験期間 (処理後日数) | 処理量に対する割合 (%) | | | | | | | |
|------|-----------------|--------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------|-------|-------------------|-------|
| | | 標識 [I] | | | | 標識 [I] | | | |
| | | [I] | [II] | その他 ¹⁾ | 合計 | [I] | [XI] | その他 ¹⁾ | 合計 |
| pH 4 | 添加直後 | 98.3 | 0.7 | 1.0 | 100.0 | 99.4 | n. d. | 0.6 | 100.0 |
| | 1 | 92.0 | 2.7 | 1.1 | 95.8 | 95.7 | 2.3 | 1.0 | 99.0 |
| | 3 | 89.9 | 7.2 | 1.3 | 98.4 | 91.1 | 6.3 | 1.7 | 99.1 |
| | 7 | 80.2 | 15.2 | 1.1 | 96.5 | 84.1 | 14.3 | 1.3 | 99.7 |
| | 14 | 73.5 | 24.7 | 3.1 | 101.3 | 76.6 | 22.1 | 1.0 | 99.7 |
| | 21 | 57.1 | 34.6 | 7.6 | 99.3 | 63.2 | 34.4 | 1.7 | 99.3 |
| | 28 | 51.2 | 42.3 | 5.5 | 99.0 | 57.0 | 42.2 | 1.0 | 100.2 |
| | 35 | 46.0 | 50.8 | 2.1 | 98.9 | 54.3 | 43.2 | 1.2 | 98.7 |
| pH 7 | 添加直後 | 95.6 | 1.3 | 3.1 | 100.0 | 99.3 | n. d. | 0.7 | 100.0 |
| | 1 | 56.8 ²⁾ | 2.5 ²⁾ | 0.5 ²⁾ | 59.8 ²⁾ | 92.1 | 2.4 | 0.8 | 95.3 |
| | 3 | 94.0 | 8.7 | 1.3 | 104.0 | 91.2 | 7.2 | 1.7 | 100.1 |
| | 7 | 86.3 | 20.1 | 0.6 | 107.0 | 82.8 | 16.1 | 1.9 | 100.8 |
| | 14 | 74.0 | 28.6 | 1.0 | 103.6 | 76.1 | 23.6 | 1.8 | 101.5 |
| | 21 | 63.1 | 40.8 | 1.4 | 105.3 | 62.5 | 35.0 | 4.0 | 101.5 |
| | 28 | 54.0 | 49.4 | 1.5 | 104.9 | 56.8 | 44.2 | 1.8 | 102.8 |
| | 35 | 46.5 | 58.7 | 1.5 | 106.7 | 53.1 | 45.3 | 2.3 | 100.7 |
| pH 9 | 添加直後 | 98.2 | 0.8 | 1.0 | 100.0 | 98.5 | 0.8 | 0.7 | 100.0 |
| | 1 | 87.0 | 8.9 | 3.2 | 99.1 | 90.2 | 8.2 | 0.8 | 99.2 |
| | 3 | 72.3 | 24.2 | 1.8 | 98.3 | 70.1 | 19.3 | 0.8 | 90.2 |
| | 7 | 50.8 | 46.0 | 1.3 | 98.1 | 48.9 | 40.5 | 1.2 | 90.6 |
| | 14 | 31.7 | 64.7 | 1.7 | 98.1 | 36.4 | 54.9 | 2.0 | 93.3 |
| | 21 | 17.9 | 77.3 | 2.1 | 97.3 | 19.5 | 63.4 | 3.3 | 86.2 |
| | 28 | 10.1 | 83.6 | 2.3 | 96.0 | 11.7 | 69.2 | 1.5 | 82.4 |
| | 35 | 5.9 | 89.9 | 1.4 | 97.2 | 8.2 | 71.5 | 1.5 | 81.2 |

n. d. : 検出せず

1) : TLC上の原点または他のピーク

2) : 異常値

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。

4. [I] の緩衝液中の分解速度 (表 3)

[I] の緩衝液中それぞれの温度及び p II での分解速度を算出し表 3 に示した。

表 3 : フェントラザミド加水分解速度 (1 次式)

| 試験溶液 | 温度 | 半減期 [日] | | |
|-----------------------|------|---------|-------|-----|
| | | 標識 | 標識 | 平均 |
| pH4 (0.01Mクエン酸緩衝液) | 25°C | 289.2 | 357.2 | 319 |
| | 40°C | 31.8 | 38.6 | 35 |
| pH7 (0.01Mトリス緩衝液) | 25°C | 663.9 | 391.4 | 501 |
| | 40°C | 32.5 | 38.6 | 36 |
| pH9 (0.01Mホウ酸緩衝液) | 25°C | 62.3 | 77.7 | 69 |
| | 40°C | 8.8 | 9.7 | 9 |

5. 結論

[I] は常温の酸性及び中性条件下では比較的加水分解しにくいと見なされるが (半減期 : >約 320 日)、アルカリ条件下では比較的分解しやすい (半減期 : 約 70 日)。試験が行われた p II の範囲 (p II 4 - 9) では 2 種の主分解物が生成し、それ以上分解が進んだ生成物はわずかであった。

自然界でのフェントラザミドの分解に、加水分解 (特にアルカリ水中での加水分解) が関与すると結論づけられる。

フェントラザミドの加水分解経路を図 5 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。

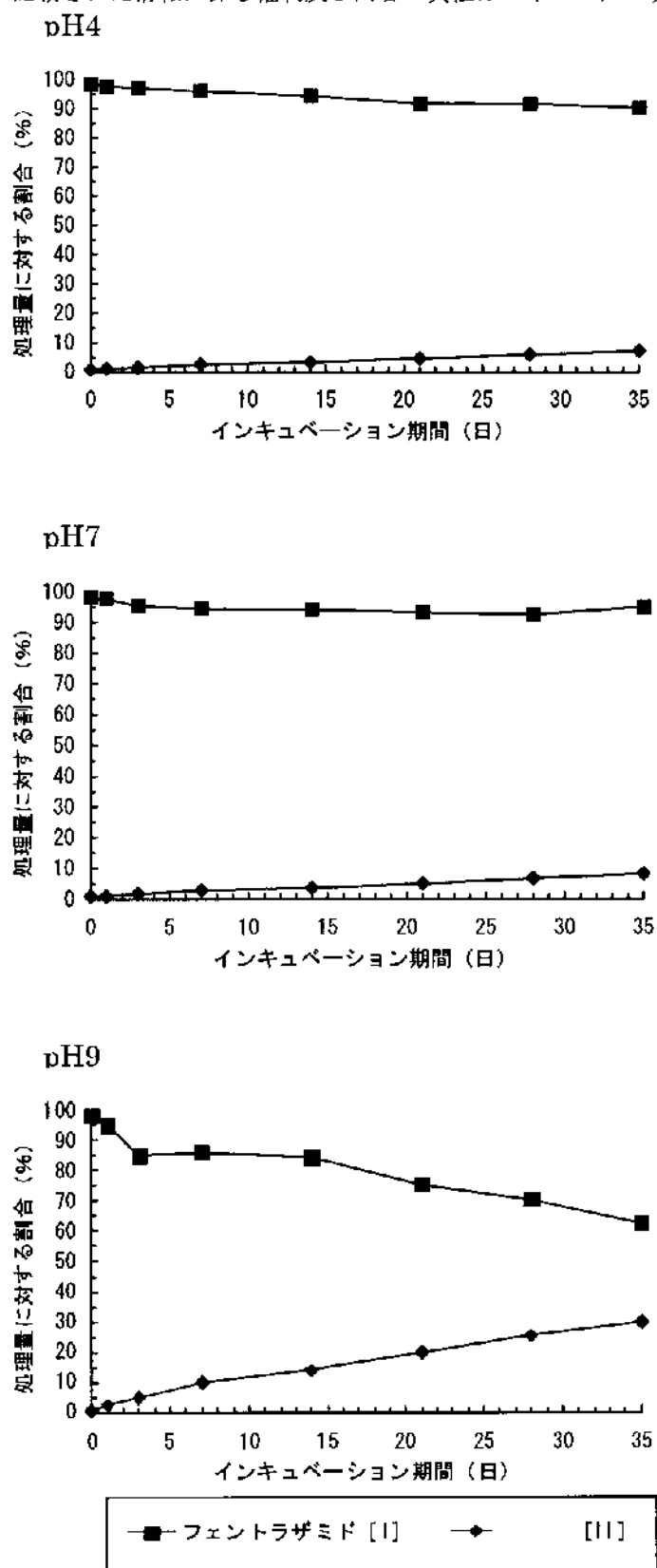


図1. 緩衝液中での 標識フェントラザミドの消長 (25℃)

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。

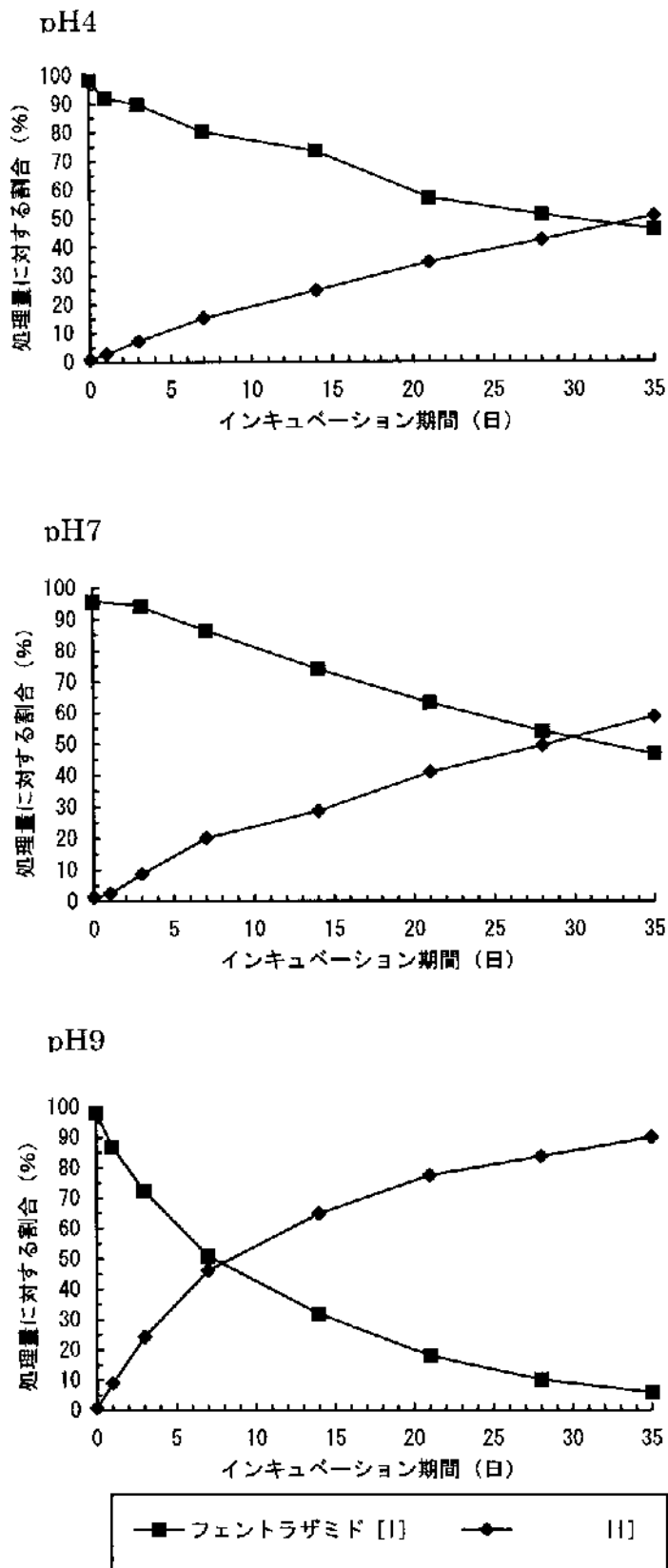


図2. 緩衝液中での 標識フェントラザミドの消長 (40°C)

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。

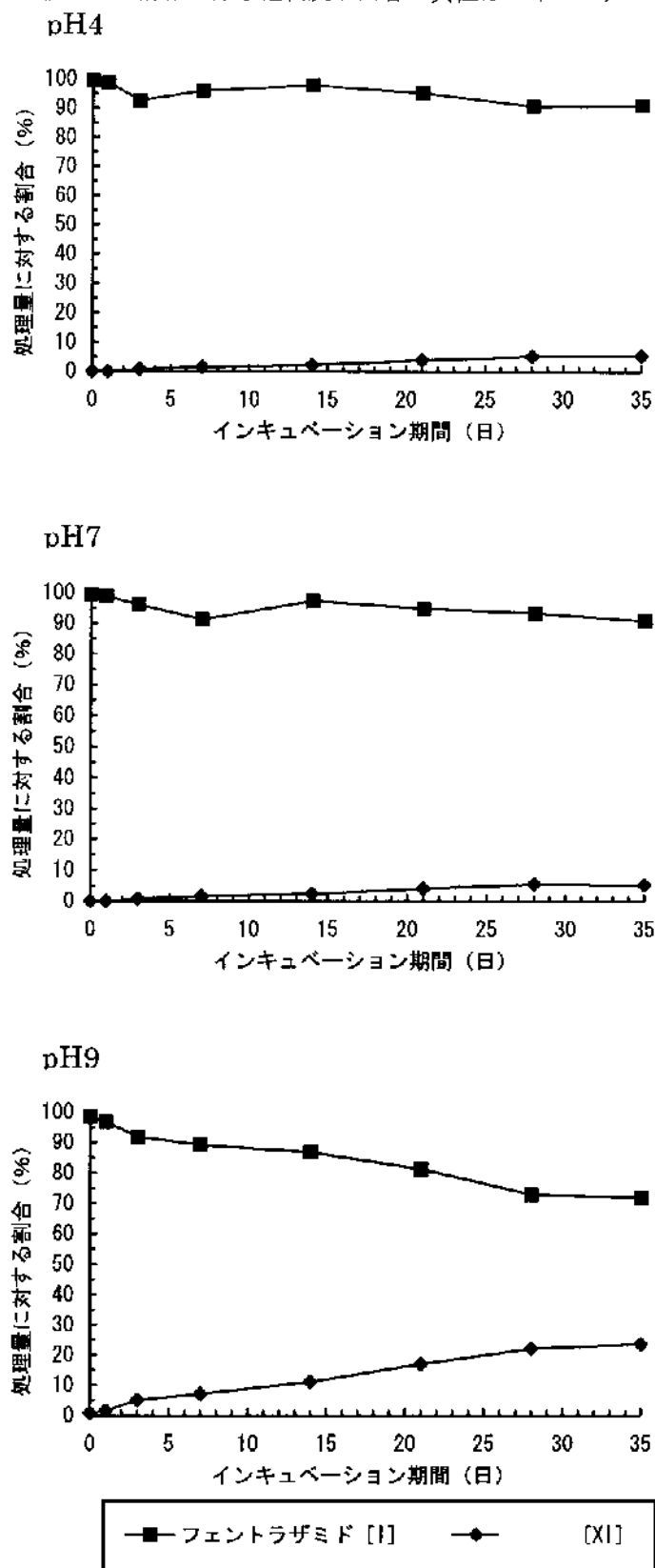


図 3. 緩衝液中での 標識フェントラザミドの消長 (25°C)

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。

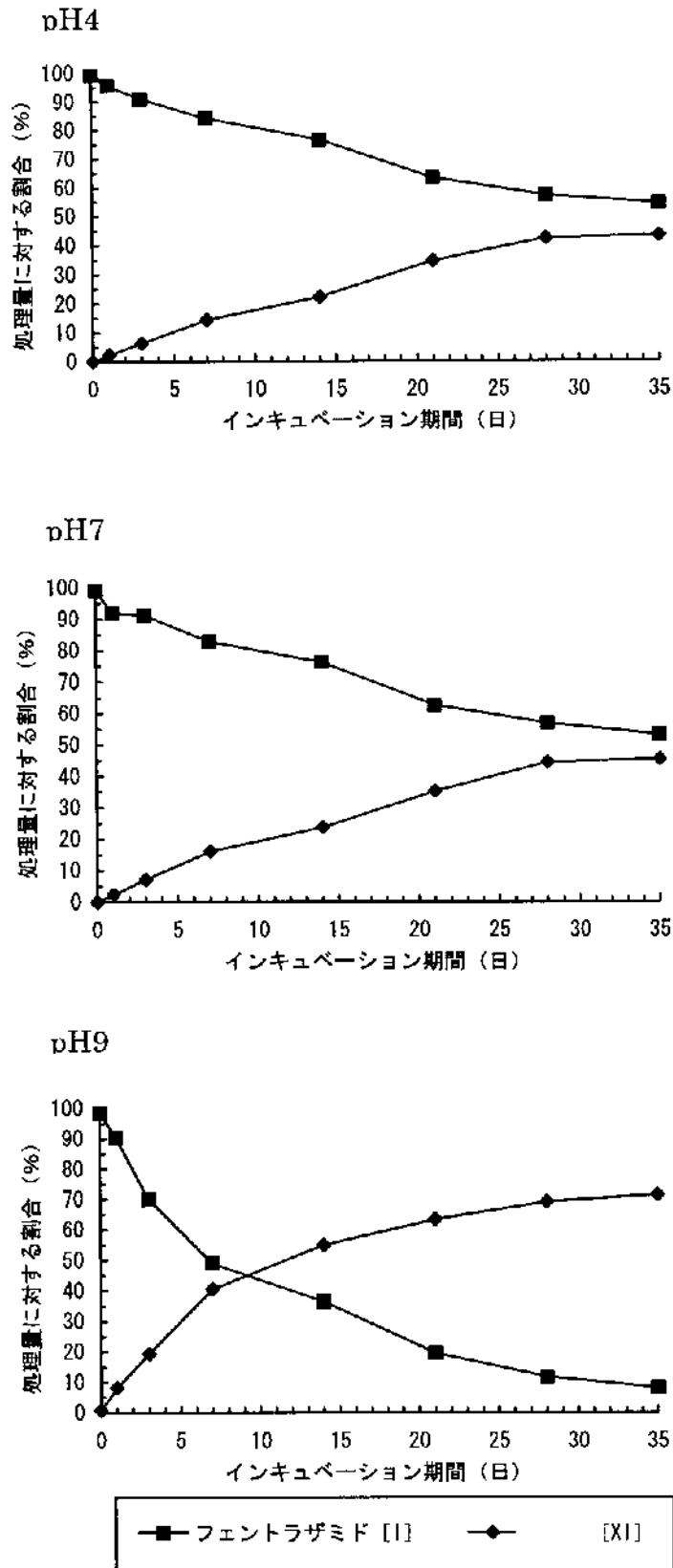


図4. 緩衝液中での 標識フェントラザミドの消長 (40℃)

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 5. フェントラザミドの推定加水分解経路

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

7. フェントラザミドの次作物残留試験

(代謝資料 No. 11)

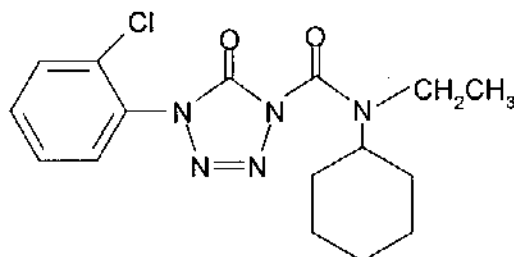
試験機関：

報告書作成年月日：1997年10月2日

供試化合物

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：



供試製剤：フェントラザミド [I] 粒剤① ([I] 2%含有)
フェントラザミド [I] 粒剤② ([I] 3%含有)

供試作物：次作物は下表の通りである。

| 作物 | 栽培時期・方法 |
|--------|--------------|
| 小麦 | 平成7年11月16日播種 |
| ほうれんそう | 平成8年1月12日播種 |
| にんじん | 平成8年3月27日播種 |

【方法】

水田（沖積土壌）に [I] の2%粒剤及び3%粒剤を表1の通り処理し、稲を収穫した後に小麦、ほうれんそう、にんじんを栽培・収穫して、各作物中の [I] 及び代謝物 ([II]、[IV]、[VI]、[XI]) の残留量を測定した。また、土壌中の [I] 及び代謝物 ([II]、[IV]、[XI]) の残留量についても稲収穫後の耕起前後及び次作物収穫時に測定した。耕起前の土壌は層別に採取した。

表1. 水田への処理法

| 薬剤 ¹⁾ | 処理回数 | 処理法 | 処理時期 | 処理量 |
|------------------|------|------|--------|----------|
| 2%粒剤 | 1 | 水面施用 | 移植後5日 | 1 kg/10a |
| 3%粒剤 | 1 | 水面施用 | 移植後25日 | 1 kg/10a |

1) 試験年：平成7年、稲移植：平成7年5月19日、収穫：平成7年9月19日

【結果】

フェントラザミド [I] 及び代謝物の土壌残留は全ての採取時期で検出限界以下 ([I] : <0.01mg/kg、代謝物 : <0.02mg/kg) あるいは痕跡量が検出される程度であった。土壌残留量からも予想されたように供試した全ての次作物から [I] 及び代謝物は検出されなかった。従って、[I] を施用した水田で次作物を栽培した場合、[I] 及び代謝物の土壌中からの吸収残留はないものと考えられた。

表2. 土壌におけるフェントラザミド及び代謝物の残留量

| 土壌試料 ^{a)} | 処理後日数 (日) | 残留濃度 (mg/kg) ^{b)} | | | | |
|--------------------|--------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------------|
| | | [I] | [II] | [IV] | [XI] | |
| 耕起前 0-5 cm | 142 | <0.01 | <0.02 | 0.02 | 0.03 | |
| | 5-10cm | 142 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | 0.02, <0.02 |
| | 10-20cm | 142 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02 |
| | 20-30cm | 142 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02 |
| 耕起後 | 224 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | |
| 小麦収穫時 | 383 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | |
| ほうれんそう収穫時 | 317 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | |
| にんじん収穫時 | 384 | <0.01 | <0.02 | <0.02 | <0.02 | |

a) 耕起前試料以外は深さ0-10cmの土壌層を採取。

b) フェントラザミド換算、2反復の平均値。

表3. 次作物におけるフェントラザミド及び代謝物の残留量

| 試料 ^{a)} | 処理後 日数 (日) | 栽培 期間 (日) | 残留濃度 (mg/kg) ^{b)} | | | | |
|------------------|------------------|-----------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| | | | [I] | [II] | [IV] | [VI] | [XI] |
| 小麦 | 383 | 227 | <0.005 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| ほうれんそう | 317 | 104 | <0.005 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| にんじん | 384 | 96 | <0.005 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |

a) 小麦は種子、ほうれんそうは茎葉部、にんじんは根部を試料とした。

b) フェントラザミド換算、2反復の平均値。

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。

8. 生物濃縮性に関する試験

魚類濃縮性試験

(代謝資料 No. 12)

試験機関： [GLP対応]

報告書作成年：2007年

供試標識化合物：

化学名：4-(2-クロロフェニル)-*N*-シクロヘキシル-*N*-エチル-4,5-ジヒドロ
-5-オキソ-1*H*-テトラゾール-1-カルボキサミド

化学構造：

*：標識部位

標識： $-^{14}\text{C}$ -フェントラザミド [I]
(比放射能：、放射化学的純度)

供試生物：ブルーギル (*Lepomis macrochirus*)

群各 60 匹、開始時体長：6.0±0.6cm (平均±標準偏差)、体重：3.8±1.1g (平均±標準偏差)

方法：暴露条件；流水式、各濃度区 100L 容の水槽を用い、25L/時間/水槽の流速で爆気した試験水で置換した。試験期間；取込期間 28 日間、排泄期間 14 日間。試験濃度区；高濃度区 0.05mg/L、低濃度区 0.005mg/L および溶媒対照区。試験液の調製；被験物質はジメチルホルムアミドに溶解し高濃度区では 500mg/L、低濃度区では 50mg/L のストック溶液を調製した後、それぞれ試験水と 1:10000 の割合で混合希釈した。対照区では溶媒のみを添加した。試験水における最終溶媒濃度は 100 μg/L であった。試験水温；24.4~25.1℃。溶存酸素濃度；飽和濃度の 71~99% (約 5.8~8.0mg/L)、pH；6.7~7.0、魚体中の平均脂質含量；7.94%、魚の生死および症状；毎日 (週末を除く) 実施した。魚体中の被験物質濃度；取込期間は 1、3、7、10、15、21 および 28 日目に、排泄期間は 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3、7、10 および 14 日目に各水槽から 4 匹ずつ魚を採取し、食用部および非食用部（内蔵）に分別した後、個体ごとに残留放射エネルギーを測定した。魚体中の脂質含量；試験 0、28 および 42 日目に各水槽から被験物質測定用とは別に 4 匹を採取し、脂質含量を測定した。試験水中の被験物質濃度；取込期間は 0、1、2、3、6、7、10、15、21 および 28 日目に、排泄期間は 1、3、7、10 および 14 日目に試験水を各水槽から 10ml×3 ずつ採取し放射エネルギーを測定した。代謝試験；別の水槽で 30 匹の魚を 0.05mg/l の被験物質に暴露させ、7 および 15 日目にそれぞれ 15 匹ずつ採取し、食用部と非食用部に分別したのち、残留放射成分の定性および定量に供した。

結果：

(1) 魚体中の総残留量 (mg 当量/kg)

| 試験区 | 部位 | 取込期間 (日) | | | | | | | 排泄期間 (日) | | | | |
|---------------|------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 3 | 7 | 10 | 15 | 21 | 28 | 1 | 3 | 7 | 10 | 14 |
| 0.05 mg/L | 食用部 | 3.44 | 7.21 | 4.37 | 5.52 | 6.11 | 5.08 | 4.05 | 1.60 | 1.71 | 0.05 | 0.01 | 0.01 |
| | 非食用部 | 14.3 | 18.0 | 27.3 | 33.5 | 31.2 | 16.4 | 26.0 | 3.48 | 4.44 | 0.18 | 0.06 | 0.04 |
| | 全体* | 7.70 | 12.2 | 14.3 | 16.2 | 14.7 | 9.90 | 12.5 | 2.34 | 2.71 | 0.10 | 0.03 | 0.02 |
| 0.005 mg/L | 食用部 | 0.395 | 0.741 | 0.477 | 0.669 | 0.563 | 0.634 | 0.661 | 0.209 | 0.089 | 0.003 | 0.004 | 0.000 |
| | 非食用部 | 1.12 | 1.49 | 2.20 | 2.51 | 2.46 | 2.55 | 2.31 | 0.43 | 0.41 | 0.03 | 0.02 | 0.01 |
| | 全体* | 0.68 | 1.04 | 1.07 | 1.33 | 1.26 | 1.26 | 1.26 | 0.31 | 0.21 | 0.012 | 0.009 | 0.004 |

*魚体全体の総残留濃度は食用部および非食用部の結果から算出した。

食用部、非食用部および魚体全体における総放射能残留濃度は取込期間中高濃度区ではそれぞれ 3.44~6.11、14.3~33.5 および 7.70~16.2mg 当量/kg、低濃度区ではそれぞれ 0.395~0.669、1.12~2.55 および 0.68~1.33 の範囲で推移した。何れの濃度区とも魚体中の総放射能残留濃度は暴露 7 日以降定常状態に達したと判断された。

何れの濃度区とも各部位からの排泄は速やかであり、排泄期間 7~10 日目にはそれぞれ定常状態における残留量の 1%以下となった。

(2) 水中の総残留量 (μg 当量/L)

| 試験区 | 取込期間 (日) | | | | | | | | | | 排泄期間 (日) | | | | |
|------------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----------|-----|-----|-----|-----|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 6 | 7 | 10 | 15 | 21 | 28 | 1 | 3 | 7 | 10 | 14 |
| 0.05 mg/L | 48 | 41 | 47 | 46 | 47 | 48 | 48 | 48 | 50 | 48 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 0.005 mg/L | 2.9 | 3.4 | 3.0 | 2.9 | 4.4 | 4.0 | 4.8 | 4.9 | 5.6 | 4.8 | 0.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

取込期間中の水中の放射能濃度は高濃度区では 46~50 μg 当量/L、低濃度区では 2.9~5.6 μg 当量/L であり、それぞれ設定濃度の 82~100%、58~112%で推移した。

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。

(3) 濃縮係数

①BCF_{ss} (TRR に基づく)

取込期間の各サンプリング日の魚体中濃度および0日～各サンプリング日の平均水中濃度より、各サンプリング日におけるBCFを下表の通り算出した。BCF_{ss}は定常状態(7～28日)における平均として以下のとおり計算された。

| 試験区 | 部位 | 取込期間 (日) | | | | | | | BCF _{ss} : 定常状態(7-28日) における平均 |
|---------------|------|----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|---|
| | | 1 | 3 | 7 | 10 | 15 | 21 | 28 | |
| 0.05 mg/L | 食用部 | 75.7 | 159.4 | 95.1 | 119.3 | 131.4 | 108.4 | 86.1 | 108.1 |
| | 非食用部 | 323.6 | 397.1 | 595.3 | 723.1 | 669.6 | 350.5 | 553.7 | 578.4 * |
| | 全体 | 174.2 | 269.6 | 312.1 | 350.4 | 317.0 | 212.0 | 266.4 | 291.6 |
| 0.005 mg/L | 食用部 | 124.0 | 242.5 | 139.1 | 184.3 | 148.3 | 158.8 | 162.0 | 158.5 |
| | 非食用部 | 350.3 | 487.6 | 641.1 | 692.4 | 649.1 | 639.5 | 566.4 | 637.7 * |
| | 全体 | 213.2 | 300.4 | 311.2 | 367.2 | 332.0 | 315.5 | 307.9 | 326.8 |

*申請者による試算

なお、定常状態(7～28日)における平均魚体中濃度および0～28日の平均水中濃度に基づくBCF_{ss}は下表の通り計算された。

| 試験区 (mg/L) | 魚体中濃度(mg 当量/kg) | | | 水中濃度(Cw) (mg 当量/L) | 濃縮係数(BCF _{ss})* | | |
|------------|-----------------|------|--------|-----------------------|---------------------------|------|-----|
| | 食用部 | 非食用部 | 全体(Cf) | | 食用部 | 非食用部 | 全体 |
| 0.05 | 5.03 | 26.9 | 13.6 | 0.047 | 107 | 572 | 289 |
| 0.005 | 0.601 | 2.41 | 1.24 | 0.0041 | 147 | 588 | 302 |

* 申請者による試算

②BCF_k (TRR に基づく)

| 試験区 (mg/L) | 取込速度定数(Ku) | | | 排泄速度定数(Kd) | | | 濃縮係数(BCF _k) | | |
|------------|------------|--------|-------|------------|------|------|-------------------------|-------|-------|
| | 食用部 | 非食用部 | 全体 | 食用部 | 非食用部 | 全体 | 食用部 | 非食用部 | 全体 |
| 0.05 | 86.8 | 1027.5 | 452.3 | 0.742 | 1.98 | 1.64 | 116.9 | 520.1 | 275.5 |
| 0.005 | 146.2 | 860.3 | 363.0 | 0.952 | 1.62 | 1.25 | 153.6 | 530.1 | 289.8 |

(4) 観察

試験期間を通じて何れの濃度区とも魚の死亡および異常は認められなかった。

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

なお、魚体中の被験物質の代謝を明らかにするため、生物濃縮性試験の高濃度区と同一の条件でブルーギル（暴露開始時体長：10.8±0.7cm（平均±標準偏差）、体重：20.4±3.5g（平均±標準偏差））を飼育した。7および15日目にそれぞれ魚15匹および試験水を採取し、魚体については食用部および非過食部に分けた後、残留放射能を同定した。また、試験水を生物濃縮性試験の高濃度水槽から0、1および28日目、代謝試験水槽から7および15日目に採取し、プロファイルを確認した。

その結果、食用部における主要成分は（TRRの55.9～60.6%）であり、次いで親化合物（TRRの29.8～33.5%）が認められた。非食用部における および親化合物のTRRに対する割合はそれぞれ20.7～25.3%および11.0～16.3%であった。その他非食用部の主要代謝物として親化合物の抱合体が同定された。フェントラザミドの魚体中の代謝経路として以下の経路が推定された。

残留放射能のプロファイル(%TRR)

| | 7日目 | | 15日目 | |
|----------|------|------|------|------|
| | 食用部 | 非食用部 | 食用部 | 非食用部 |
| 抽出画分 | 98.6 | 98.9 | 99.2 | 98.6 |
| フェントラザミド | 33.5 | 11.0 | 29.8 | 16.3 |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

nd：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。

試験水のプロファイルは下表の通りであった。7日目以降、親化合物はTRRの76.6～79.3%であり、
 が最大TRRの12%程度認められた。試験開始時には親化合物の分解は認められなかったことから、この分解は魚体中で起こったものと推定された。

試験水中のプロファイル (%TRR)

| 採取日 | 生物濃縮性試験高濃度水槽 | | | 代謝試験水槽 | |
|----------|--------------|------|------|--------|------|
| | 0 | 1 | 28 | 7 | 15 |
| 抽出画分 | 96.2 | 87.3 | 95.2 | 83.1 | 82.2 |
| フェントラザミド | 96.2 | 86.3 | 78.5 | 79.3 | 76.6 |
| | | | | | |
| | | | | | |

nd: 検出限界以下

本試験の試験濃度 0.05mg/Lにおける定常状態(7-28日目)におけるTRRに基づくBCF値および魚体ならびに水中における代謝試験の結果より、試験濃度 0.05mg/Lの定常状態における親化合物に関する魚体全体のBCFは71と計算された¹。

[申請者補足] 作物および水中における規制対象として が含まれること、フェントラザミドに関する食品中に残留する農薬に関する試験法(通知試験法)では誘導化法により親化合物と を一括測定する方法のみ記載されていることから、魚介類における規制対象設定のための参照数値として親化合物および の総量に関するBCFも試算した。本試験の試験濃度 0.05mg/Lにおける定常状態(7-28日目)におけるTRRに基づくBCF値および魚体ならびに水中における代謝試験の結果より、親化合物および の総量に関するBCFは165と計算された²(申請者による試算)。

¹食用部におけるTRR濃度: 5.03mg/kg, 食用部における親化合物%: 29.8%, 非食用部におけるTRR濃度: 26.9mg/kg, 非食用部における親化合物%: 16.3%, 食用部の平均重量: 0.0034kg, 非食用部の平均重量: 0.0022kg, 試験水中の平均TRR濃度: 0.047mg/L, 水中における親化合物%: 78.5%より計算。

²食用部におけるTRR濃度: 5.03mg/kg, 食用部における親化合物%: 29.8%, 食用部における %: 55.9%, 非食用部におけるTRR濃度: 26.9mg/kg, 非食用部における親化合物%: 16.3%, 非食用部における %: 25.3%, 食用部の平均重量: 0.0034kg, 非食用部の平均重量: 0.0022kg, 試験水中の平均TRR濃度: 0.047mg/L, 水中における親化合物%: 78.5%, 水中における %: 11.7%より計算。

9. フェントラザミドの代謝分解の要約

[I] の動物、植物、土壌における代謝分解、加水分解及び光分解に関する試験結果を以下に要約し、概要を表 1 に、全体の推定代謝経路を図 1 に示した。

[I] の動物、植物、環境条件下における主代謝経路は、テトラゾリノン環

(Tz) 窒素の側鎖のカルボニル (C=O) 基に水酸基や生体内アミノ酸が求核攻撃し、その結果 Tz 窒素と C=O 間の CN 結合が開裂し [II] 部分と [XI] 部分の 2 つの基本骨格に開裂するため、開裂後の各分子の位置を別々に標識したもの (標識及び 標識) を個々に投与して試験を実施した。

(1) 動物

標識-I [I] をラットに 1.5mg/kg で十二指腸内投与した後の胆汁中、尿中、呼気中への排泄率、胃腸管を除く動物体内残留量の合計から吸収率を算出すると、約 98% であった。尚、呼気中への排泄率は 0.003% であった。

^{14}C -[I] をラットに 1.5mg/kg 及び 75mg/kg で経口投与すると、放射能 (^{14}C) は速やかに糞、尿中へ排泄され、投与 48~72 時間後には尿中に投与量の約 41~94% (標識) 及び約 41~76% (標識) が、糞には約 11~55% (標識) 及び約 14~55% (標識) が排泄され、その他の胃腸管や動物残体を合わせた総排泄率は 95~106% (標識) 及び 93~99% (標識) であった。

血漿中放射能の薬物動態学的解析から、 T_{\max} は約 30~70 分 (標識) 及び約 30~180 分 (標識) であった。一方、消失半減期は約 10~41 時間 (標識)、16~37 時間 (標識)、また、体内滞留時間は 6~14 時間 (標識)、24~43 時間 (標識) であった。糞、尿中の排泄率の比は尿：糞 = (7~8) : 1 (標識、低投与量群) 及び (3.9~5.5) : 1 (標識、低投与量群) であり、高投与量群では両標識共に 0.7 : 1 であった。排泄速度は速く、糞、尿ともに投与後 24 時間までに投与量の >89% が排泄された。

[I] をラットに経口投与した後の吸収、分布、排泄に関しては、性差は認められなかったが、尿：糞の排泄比率は投与量によって異なっていた (上述)。これは、高投与量群において、投与した [I] の多くが吸収されずに排泄されたものと推察された。

屠殺時の体内残留量の合計は 標識投与で 0.06~0.18% であり、一方、 標識投与では 2.3~5.4% であった。両標識による

差は 標識で消失半減期や腎クリアランスが相対的に大きいことと関連していると考えられたが、糞、尿中への排泄、 ^{14}C の血漿中の速度論的解析からこれらの体内残留はさらに時間とともに体外へ排泄されていくものと考えられた。

標識を用いたオートラジオグラムでは速やかな排泄が観察され、また、蓄積性のある臓器、組織は認められなかった。

ラット中の [I] の主代謝経路は、テトラゾリノン環 (Tz) 窒素の側鎖のカルボニル (C=O) 基に水酸基や生体内アミノ酸が求核攻撃し、その結果 Tz 窒素と C=O 間の CN 結合が開裂して [II] 部分と [XI] 部分の基本骨格が生成し、さらに代謝されるものである。

排泄物中の主代謝物は [II] 及びその [X] で、量的には [X] の方が多く検出された。[II] と [X] の合計量で尿中では投与量の 65~85% (低投与量群)、32~37% (高投与量群) が検出された。これらの量は糞中ではく 3% であった。その他糞中から少量代謝物として [I] やその抱合体、

[IX] が検出された。

一方、 標識の投与では主代謝物は [XI]、 [XII]、 [XIV] であった。量的に多く検出されたものは [XII] で糞と尿の合計が投与量の 30~44%、 [XI] が 8~18%、 [XIV] が 4~13% 検出された。その他の少量代謝物として と生体内アミノ酸の抱合体、 のアンモニアや尿素の抱合体がそれぞれく 3% 検出された。

同定率は 標識投与で 79~87% (低投与量群)、 投与群で 73~75% であった。

(2) 植物

[I] は水稻を対象とした除草剤で水面施用で処理するものである。

^{14}C - [I] 実圃場と同等の処理量で水面施用した後、吸収移行性及び代謝について調べた。

青刈りの稲体には処理量の約 17% (標識)、約 5% (標識) が移行しており、また、収穫期では稲わらに約 22% (標識)、約 5% (標識) であったが、玄米への移行量は両標識共低く処理量の 0.03~0.06% であった。

総 ^{14}C の残留量は稲わらで 2.4 p p m (標識)、0.6 p p m (標識) であり、一方、玄米は 0.048 p p m (標識)、0.040 p p m (標識) であった。

玄米をアセトニトリル/水で磨砕抽出した抽出分画から 標識 では [I] は認められず 4 種類の代謝物が検出された。最も多い代謝物

は [VI] で回収放射能の約 48%が検出され、[I] への換算濃度は 0.024 p p mであった。一方、標識の処理ではやはり [I] は検出されず少量の 4 種類の代謝物が認められた。それらは [XI]、[XXIV] [XIV]、[XII] で回収放射能の < 3%、濃度は 0.001 p p m以下であった。

未抽出分画の¹⁴Cは標識で多く玄米放射能中の 33%であり、この¹⁴Cは天然成分に取り込まれていた。(アミノ酸:16.5%、デンプン:11.6%、タンパク質:4.9%)。一方、標識の場合は未抽出分画はわずか 3.1%であり、分析には供さなかった。

同定、特性化率は標識で 85%、また、標識で 76%であった。

(3) 土壌

水田条件下において火山灰土壌及び沖積土壌に¹⁴C-[I]を処理すると分解はCO₂まで無機化が進み、標識において処理量の 12~16%、標識で 33~43%のCO₂が生成した。表層水中の¹⁴Cの分布は標識で多く(12~27%)、標識で少なかった(< 1%)。土壌からの抽出量は標識で多く 36~53%、標識でやや少なく 18~30%であった。標識による代謝では [I] は表層水中で少なく経時的に検出されなくなった。表層水中の主代謝物は [II] で量は徐々に増加し 105 日後において処理量の 10~24%であった。土壌抽出物中では主成分は [I] であったが、105 日後には 11~17%にまで減少した。その反面、代謝物の [II] は一旦増加して 35 日に最大(10~16%)に達し、その後減少した。その他に見出された代謝物として [IV] があり、土壌中で徐々に増加し 105 日後に 9~12%となった。一方、標識でも同様の傾向で [I] は表層水中で少なく、土壌中では 105 日後に 12~19%に減少した。検出された代謝物は表層水中では大きな変動がなく約 < 1%で検出され、土壌中では 16~35 日後に最大 (6~9%) に達し、その後減少した。

その他の代謝物は両標識体共に処理量の 5%を超えるものではなく構造の同定には至らなかった。[I] の消失傾向には標識体、土壌による大きな差はなく同様の傾向であった。

水田土壌系において [I] は水田の表層水から急速に消失し、土壌へ移行して二酸化炭素にまで代謝分解されるものと考えられ、水田土壌系に蓄積することはないと考えられた。[I] の主代謝物としてとが、また、少量代謝物としてが検出されたが、これらも徐々に二酸化炭素にまで分解されていくと考えられる。

[I] の水田土壌における半減期は 標識、 標識共同様で 10~19 日であった。

(4) 土壌吸着性

日本の 4 種類の水田土壌（有機物炭素含量：1.22~3.18%）を用いると、吸着係数 K は 12.2~40.8 であり、有機炭素吸着係数 K_{oc} は 500~3344 であった。

(5) 加水分解

[I] を OECD 法 No. 111 に従って、pH 4、7、9 の緩衝液中、25℃及び 40℃で 35 日間加水分解試験を行ったところ、[I] は pH 4 及び 7 では比較的安定であったが、pH 9 では分解が進行した。25℃における半減期両標識からの平均値を一次式で算出すると pH 4 で 319 日、pH 7 で 501 日、pH 9 で 69 日であった。

生成した代謝物は [II] 及び [XI] であった。

(6) 光分解 [純水及び自然水（河川水）]

[I] の純水及び自然水（河川水）中の光分解試験において分解を受け、純水と自然水との間で大きな差はなかった。連続照射した時の半減期は 11~17 日で、この値を北緯 40 度における自然環境下の半減期に外挿すると 46~75 日であった。ただし、[I] は加水分解も受けるので前述の値は加水分解の要因も含まれている。

光分解により生成した代謝物は [II] と [XI] であり、これらは他の代謝試験の結果と同様にテトラゾリノン環窒素とカルボニル環の CN 結合が開裂して [II] と [XI] が生成する経路によるもので、一方、[XI] カルバモイル体がさらにアンモニアや尿素が反応し [XXIII]、[XXV]、[XXVI] が生成する経路も認められた。そして、生成した代謝物はさらに分解し CO_2 への無機化が進むものであった。

全ての試験において、代謝物は同様の経路によって分解することが確認された。すなわち、[I] の主代謝経路は、テトラゾリノン環 (Tz) 窒素の側鎖のカルボニル (C=O) 基に水酸基や生体内アミノ酸が求核攻撃し、その結果 Tz 窒素と C=O 間の CN 結合が開裂して [II] 部分と [XI] 部分の基本骨格が生成するものである。攻撃する生体内アミノ酸は動物、植物、水中等で特有の化合物が関与し、生体内ではそれらとの抱合体となり排泄されることから解毒のための経路と考えられる。また、環境中においても生成した [II] や [XI] 及びそれらの関連代謝物はさらに CO_2 にまで分解される。

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。

以上を総合的に考察すると、フェントラザミド [I] 及びその代謝分解物はヒトを含めた自然環境中に長期間残留して悪影響を及ぼすことは少ないと考えられる。

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。

表1. 代謝分解の概要

| 試験群 | 代謝物の処理放射能に対する割合 (%) (斜体数字は回収放射能に対する割合 (%)) | | | | | | | | | | 総回収量 (%) | |
|-----|---|---|------|--|--|--|--|--|--|--|----------|-------|
| | I | | | | | | | | | | | |
| 動物 | 経口 1.5mg/kg 48時間 | ♂ | 糞 | | | | | | | | | 95.5 |
| | | ♀ | 糞 | | | | | | | | | 106.0 |
| ラット | 経口 75mg/kg 48時間 | ♂ | 糞 | | | | | | | | | 96.5 |
| | | ♀ | 糞 | | | | | | | | | 98.5 |
| マウス | 経口 1.5mg/kg 48時間 | ♂ | 糞 | | | | | | | | | 99.4 |
| | | ♀ | 糞 | | | | | | | | | 94.6 |
| 標 | 経口 1.5mg/kg 48時間 | ♂ | 糞 | | | | | | | | | 105.8 |
| | | ♀ | 糞 | | | | | | | | | |
| 標 | 経口 1.5mg/kg 血液 | | 胆汁 | | | | | | | | | |
| | | | 60分 | | | | | | | | | |
| 標 | 経口 1.5mg/kg 肝臓 | | 120分 | | | | | | | | | |
| | | | 180分 | | | | | | | | | |
| 標 | 経口 1.5mg/kg 腎臓 | | 60分 | | | | | | | | | |
| | | | 120分 | | | | | | | | | |
| 標 | 経口 1.5mg/kg 72時間 | ♂ | 糞 | | | | | | | | | 93.1 |
| | | ♀ | 糞 | | | | | | | | | 97.0 |
| 標 | 経口 75mg/kg 48時間 | ♂ | 糞 | | | | | | | | | 98.8 |
| | | ♀ | 糞 | | | | | | | | | |

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

| 試験群 | 代謝物の処理放射能に対する割合 (%) (総体数字は回収放射能に対する割合 (%)) | | | | | | | | | | 総回 収量 (%) | |
|----------------------------|---|------|--|--|--|--|--|--|--|--|-----------------|-------|
| | I | | | | | | | | | | | |
| 経口 .. 5mg/kg 血漿 (連続) | 60分 | | | | | | | | | | | |
| | 120分 | | | | | | | | | | | |
| | 180分 | | | | | | | | | | | |
| 経口 .. 5mg/kg 肝臓 | 60分 | | | | | | | | | | | |
| | 120分 | | | | | | | | | | | |
| | 180分 | | | | | | | | | | | |
| 経口 .. 5mg/kg 腎臓 | 60分 | | | | | | | | | | | |
| | 120分 | | | | | | | | | | | |
| | 180分 | | | | | | | | | | | |
| 標識 沖積土壌 | 3日 | 74.6 | | | | | | | | | | 97.2 |
| | 7日 | 66.9 | | | | | | | | | | 98.6 |
| | 35日 | 27.4 | | | | | | | | | | 93.3 |
| | 105日 | 10.7 | | | | | | | | | | 96.7 |
| 標識 火山灰土壌 | 3日 | 78.9 | | | | | | | | | | 99.0 |
| | 7日 | 71.0 | | | | | | | | | | 100.5 |
| | 35日 | 33.4 | | | | | | | | | | 96.2 |
| | 105日 | 16.0 | | | | | | | | | | 97.5 |
| 標識 沖積土壌 | 3日 | 78.9 | | | | | | | | | | 97.4 |
| | 7日 | 61.6 | | | | | | | | | | 97.1 |
| | 35日 | 28.1 | | | | | | | | | | 91.2 |
| | 105日 | 12.1 | | | | | | | | | | 97.1 |
| 標識 火山灰土壌 | 3日 | 73.8 | | | | | | | | | | 99.1 |
| | 7日 | 60.7 | | | | | | | | | | 98.4 |
| | 35日 | 34.7 | | | | | | | | | | 91.3 |
| | 105日 | 9.4 | | | | | | | | | | 93.0 |
| 25°C、22日 標識 | 純水 | 37.4 | | | | | | | | | | 87.6 |
| | 0.6mg/L 自然水 | 28.2 | | | | | | | | | | 83.8 |
| 25°C、22日 標識 | 純水 | ±2.0 | | | | | | | | | | 87.0 |
| | 0.6mg/L 自然水 | 25.9 | | | | | | | | | | 87.1 |

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

| 試験群 | 代群物の処理放射能量に対する割合 (%) | | | | | | | | | | 総回 収量 (%) | |
|--------------------------|----------------------|------|--|--|--|--|--|--|--|--|-----------------|-------|
| | I | | | | | | | | | | | |
| 緩衝液、25℃ 標識 0.5mg/L | pH4.35 | 90.4 | | | | | | | | | | 98.9 |
| | pH7.35 | 95.1 | | | | | | | | | | 104.3 |
| | pH9.35 | 62.6 | | | | | | | | | | 93.5 |
| 緩衝液、25℃ 標識 0.5mg/L | pH4.35 | 91.2 | | | | | | | | | | 97.4 |
| | pH7.35 | 90.8 | | | | | | | | | | 96.8 |
| | pH9.35 | 72.0 | | | | | | | | | | 96.6 |
| 緩衝液、40℃ 標識 0.5mg/L | pH4.35 | 46.0 | | | | | | | | | | 98.9 |
| | pH7.35 | 46.5 | | | | | | | | | | 106.7 |
| | pH9.35 | 5.9 | | | | | | | | | | 97.2 |
| 緩衝液、40℃ 標識 0.5mg/L | pH4.35 | 54.2 | | | | | | | | | | 98.5 |
| | pH7.35 | 53.1 | | | | | | | | | | 100.7 |
| | pH9.35 | 8.2 | | | | | | | | | | 81.2 |

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

| 試験群 | 代謝物の回収放射能に対する割合 (%) (個体数字は回収放射能に対する割合 (%)) | | | | | | | | | | | | | | | 総回 収量 (%) | |
|--|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-----------------|-----|
| | I | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 種 59日 青刈り | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 植 水面施用 132日 稲わら 標識 0.266kg/ha | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 |
| 種 59日 青刈り | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 物 水面施用 131日 稲わら 標識 0.266kg/ha | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 |

表2. 植物代謝分解の概要

| 試験群 | 代謝物の回収放射能に対する割合 (%) () 内数値は親化合物換算濃度 | | | | | | | | | | | | | | | 総回 収量 (%) | |
|--|---|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|--|-----------------|----------------|
| | I | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 種 59日 青刈り | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 (0.937) |
| 植 水面施用 132日 稲わら 標識 0.266kg/ha | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 (2.380) |
| 種 59日 青刈り | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 (0.648) |
| 物 水面施用 131日 稲わら 標識 0.266kg/ha | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 (0.164) |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 (0.624) |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | 100 (0.040) |

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。

A：動物体内 P：植物体内 S：土壌中 L：水中光分解 W：加水分解
フエントフラザミドの動物等における代謝経路図

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

フェントラザミドの開発年表

| | 1990 | 91 | 92 | 93 | 94 | 95 | 96 | 97 | 98 |
|------------|------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 化合物選抜 | | | | | | | | | |
| 特許 | | | | | | | | | |
| 物理的・化学的性質 | | | | | | | | | |
| 魚介類等に及ぼす影響 | | | | | | | | | |
| 適用作物等 | | | | | | | | | |
| 毒性 | | | | | | | | | |
| 代謝 | | | | | | | | | |
| 製造 | | | | | | | | | |