

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2. 製剤

(1) 急性毒性

1) 急性経口毒性

ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No. FA-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度： 80%顆粒水和剤

組成：ホルベット原体 ; 80%

 鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 20%

供試動物： Sprague-Dawley 系ラット、約 5~8 週齢

試験開始時体重：雄 150~173 g 雌 150~161 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁して経口投与した。投与前 1 夜及び投与後約 2 時間まで絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 2000 雌 > 2000
死亡開始時間及び終了時間	雄 投与後 3 日から開始、 投与後 4 日に終了 雌 死亡例は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	毒性症状の発現は認められなかった。
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 求められなかった。 雌 2000

雄 2 匹で死亡が認められた。

中毒症状は、雌雄共に観察されなかった。

剖検では、試験期間中に死亡した雄 2 匹に、肺の出血、肝及び腎の暗色化及び胃粘膜の出血が観察されたが、試験終了時まで生存した動物では雌雄共に何ら異常所見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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) 急性経口毒性

ラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 No. FA-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： 80%顆粒水和剤

組成：ホルベット原体 ; 80%

 鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 20%

供試動物： CD® (SD) BR 系ラット、約 8~12 週齢

試験開始時体重：雄 269~281 g 雌 236~242 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁して経口投与した。投与前 17~20 時間は絶食した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を 14 日間観察した。試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 5000 雌 > 5000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄 死亡は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	雌雄 投与後 1 時間から開始 投与後 6 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 5000 雌 5000

臨床症状として、外観の消瘦、体温低下、顔面における赤色の汚れ、軟便及び液状便、泌尿生殖器部分に湿りや黄色及び/又は暗色の汚れが認められた。

剖検では、異常所見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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) 急性経皮毒性

ラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 No. FA-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： 80%顆粒水和剤

組成：ホルペット原体 ; 80%

 鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 20%

供試動物： CD® (SD) BR 系ラット、約 9~12 週齢

試験開始時体重：雄 298~299 g 雌 245~266 g、一群雌雄各 5 匹

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体を蒸留水で湿らせて、刈毛した背部皮膚に塗布し、24 時間保持した。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死を 14 日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 > 2000 雌 > 2000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄 死亡は認められなかった。
症状発現時間及び消失時間	雄 投与後 1 日から発現、 投与後 7 日に消失 雌 投与後 4 時間から発現、 投与後 7 日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

中毒症状は、雌雄共に認められなかったが、投与後 24 時間内に雌雄各 1 例の顔面に赤色の汚れが観察された。

投与部位の皮膚に、軽度から中等度の紅斑及び浮腫、軽度の落屑がみられた。

剖検では、主要な組織器官に特記すべき変化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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

1) 皮膚一次刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No. FI-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

検体純度： 80%顆粒水和剤

組成：ホルベット原体 ; 80%

 鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 20%

供試動物： ニュージーランドホワイトウサギ、約 12~16 週齢

体重：雄 2.49~2.83 kg 雌 2.72 kg、一群雄 2 匹、雌 1 匹

観察期間： 7 日間

投与方法： 0.5 g の検体を 0.5 mL の蒸留水で湿潤させて、ガーゼパッチ (2.5 cm×2.5 cm) に広げ、刈毛した動物の背部皮膚に貼付した。暴露時間は 4 時間とし、暴露終了後皮膚に残った検体は蒸留水を含ませた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目： 暴露終了 1、24、48、72 時間及び 7 日後に貼付部分の刺激性変化 (紅斑・痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize 法に従って採点した。

結 果： 観察した刺激性変化の採点は下表の通りである。

動物 番号	項 目	最高 評点*	暴露後時間				
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日
43 雄	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
	浮 腫	4	2	1	0	0	0**
47 雄	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0	0
	浮 腫	4	1	1	0	0	0
49 雌	紅斑・痂皮	4	2	1	1	1	0**
	浮 腫	4	2	2	1	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	4	3	3	2	0
	浮 腫	12	5	4	1	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.3	1	1	0.7	0
	浮 腫	4	1.7	1.3	0.3	0	0

* 判定基準の最高評点

** 落屑

暴露後 1 時間の全ての動物の貼付部位に、非常に軽度からはっきりとした紅斑がみられ、24、48 及び 72 時間後観察時には非常に軽度な紅斑が観察された。暴露後 1 及び 24 時間の全ての動物の貼付部位に、また暴露後 48 時間に 1 匹の貼付部位に非常に軽度から軽度の浮腫がみられた。暴露後 7 日目には 2 匹の貼付部位に落屑がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して、弱い刺激性があると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) 眼一次刺激性

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No. FI-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1996 年

検体純度： 80%顆粒水和剤

組成：ホルベット原体 ; 80%

鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 20%

供試動物： ニュージーランドホワイトウサギ、一群 3 匹

観察期間： 15 日間

投与方法： 検体 0.1 g を左眼に適用した。なお、右眼を無処置対照群とした。

観察項目： 適用後 1、24、48 及び 72 時間に、その後 15 日後までは 1 日 1 回、角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、OECD ガイドラインに従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の個体別の採点結果は下表の通りである。

動物番号 1：

項目	最高 採点*	適用後時間				
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日
角膜混濁	4	0	0	0	0	0
虹彩	2	0	0	0	0	0
結膜	発赤	3	2	2	1	0
	浮腫	4	2	2	0	0
	分泌物	3	1	2	-	-

動物番号 3：

項目	最高 採点*	適用後時間							
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日
角膜混濁	4	0	0	0	0	0	0	0	0
虹彩	2	0	0	0	0	0	0	0	0
結膜	発赤	3	2	3	2	2	1	1	1
	浮腫	4	3	3	2	2	1	1	1
	分泌物	3	1	3	2	1	1	1	1

動物番号 2：

項目	最高 採点*	適用後時間															
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日	9 日	10 日	11 日	12 日	13 日	14 日	15 日
角膜混濁	4	0	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1	0	0
虹彩	2	0	**	**	**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
結膜	発赤	3	2	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	1	1	0
	浮腫	4	4	4	4	4	3	3	2	2	2	2	2	2	1	1	0
	分泌物	3	2	3	3	3	2	2	2	2	2	#	#	#	#	#	-

* 判定基準の最高採点

** 重度の角膜混濁のため、虹彩の評価が出来なかった。 # 脱毛、 - 採点評価なし。

中等度から重度の結膜の発赤及び浮腫、少量から中等量の眼分泌物が全ての動

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

物において観察された。1匹の動物において投与後24時間から13日目まで角膜混濁が認められたが、これらの変化は適用後15日には消失した。

以上の結果から、検体はウサギの眼粘膜に対して、1993年4月27日付けEEC指令93/21/EEC及び1994年9月29日付けGefahrstoffverordnung (BGBl.T, p.2557)によって非刺激性であると分類された。しかし、1匹の動物における眼の反応の重症度及び他動物におけるこれらの反応の評価平均が殆ど刺激性であったことを考慮すると、検体を刺激性として分類することが推奨される。

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No. FS-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

検体純度： 80%顆粒水和剤

組成：ホルペット原体 ; 80%

鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 20%

供試動物： Cri : (HA) BR 系モルモット、約 6~9 週齢、体重：432~547 g

検体投与群；一群雄 20 匹、陰性対照群；雄 10 匹

観察期間： 30 日間観察

試験方法： [Maximization 法]

投与量設定根拠；

① 感 作

[皮内]；モルモットの肩部を刈毛し、正中線をはさんだ皮膚 (4 × 6 cm) の両側各 3 箇所を投与部位として以下の被験液を 1 箇所当たり 0.1 mL ずつ皮内投与した。

上 部；Freund's complete adjuvant (FCA) と滅菌水の 1 : 1 の混合物

中間部；滅菌水中 1% w/v 検体懸濁液

下 部；FCA と滅菌水中 1% w/v 検体懸濁液 (FCA と滅菌水は 1 : 1)

陰性対照として滅菌水を皮内投与した。

[経皮]；皮内感作の 6 日後、10% w/w ラウリル硫酸ナトリウム (SLS) 含有ワセリンを皮内注射部位に塗布した。更に皮内感作の 7 日後、50% w/w 検体含有ワセリン及び対照物質 (ワセリン) を均一な層にした紙フィルター (2×4 cm) を、それぞれ右側及び左側に 48 時間閉塞貼付した。

陰性対照としてワセリンを貼付した。

② 惹 起；第 2 回感作の 2 週間後に刈毛した腹側部に 50% w/w 検体含有ワセリン及び対照物質 (ワセリン) を、それぞれ右側及び左側に 24 時間閉塞貼付した。

なお、陽性対照群として本試験実施の 6 ヶ月以内 (1998 年 1 月 15 日~4 月 17 日) に行った 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) 及びヘキシルシンナムアルデヒド (HCA) を用いた試験データを使用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

観察項目： 惹起の貼付パッチ除去後、24 及び 48 時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。体重は適用前及び観察終了時の 2 回測定した。紅斑及び浮腫等の症状の判定基準を以下に示す。

皮膚反応の判定基準

- 0 = 反応無し
 1 = 軽度の散在性の紅斑
 2 = 中等度のび漫性の紅斑
 3 = 激しい紅斑と浮腫

結果： 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

群	感 作	惹 起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率%	
				24 時間後					48 時間後					24 時間	48 時間
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計		
0	1	2	3	0	1	2	3								
検体	(1) 1%w/v 検体皮内	50%w/w 検体ワセリン	20	1	14	5	0	19/20	7	9	3	1	13/20	95	65
	(2) 50%w/w 検体含有ワセリン塗布														
陰性対照	(1) 滅菌水皮内	50%w/w 検体ワセリン	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
	(2) ワセリン塗布														
陽性対照	(1) 0.1%w/v DNCB 皮内	0.1%w/v DNCB	10	0	0	5	5	10/10	0	2	6	2	10/10	100	100
	(2) 0.3%w/v DNCB 塗布														
陽性対照	(1) 5%w/v HCA 皮内	HCA	10	0	0	5	5	10/10	0	4	4	2	10/10	100	100
	(2) HCA 塗布														

陽性対照は定期的実施した試験

陽性対照；2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) 及びヘキシルシナムアルデヒド (HCA)

試験期間；1998 年 1 月 15 日～4 月 17 日

検体投与群の 20 匹のうち 19 匹が、検体の惹起適用に対して軽度から激しい皮膚反応を呈した。検体投与群のうち 5 匹の貼付部位内に皮下出血が認められた。一方、別途実施した陽性対照試験では、陽性対照群 (DNCB 及び HCA) は、全ての動物に紅斑及び浮腫が認められた。

以上の結果から、検体は強い皮膚感作性を有すると判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

参考資料

(資料 No. MC-6)

IX. 動植物、土壌及び水中運命

<運命試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
MA-1	動物体内運命	ラット	<p>標識体 75 mg/kg 単回及び反復投与* 排泄、血中濃度、組織分布、代謝物同定</p> <p>*非標識体 (75 mg/kg/日×7日) + 標識体 (75 mg/kg, 8 日目)</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・排泄；(反復投与) 最終投与後 72 時間までに、尿、糞及び呼気中に 71.2、21.6 及び 2.0% が排泄された。排泄率に性差はみられなかった。 ・血中濃度；(単回投与) 放射能濃度は投与後 45 分でピークに達し、3 時間後までに急速に減少した。6 時間後には 2 番目の小ピークがみられたが、その後減少した。(反復投与) 30 分後に最大に達し、その後、急速に減少して 24 時間後では単回投与と同レベルまで減少した。 ・分布；投与後 30 分で全組織に放射能が検出されたが、吸収及び排泄に関与しない組織では放射能は低かった。 ・代謝； 	(1974 年)	323
MA-2		ラット	<p>標識体 14.6~16.4 mg/kg 単回投与 排泄、組織分布、代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・排泄；放射能は速やかに吸収され、投与 6 時間以内に尿及び糞中に 15~29%、24 時間以内に 84~97% が排泄された。 ・分布；投与後 2 時間に全ての組織で放射能を検出された。24 時間後では消化管、肝を除き組織中放射能は低レベルとなった。 ・代謝； 	(1980 年)	331

資料 No.	試験の種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
MA-3 (GLP)	動物体内運命	ラット	<p>環標識体 低用量：10 mg/kg 高用量：500 mg/kg 単回及び反復投与* 排泄、組織分布、代謝</p> <p>*非標識体 (10 mg/kg/日×14日) + 標識体 (10 mg/kg, 15日目)</p>	<ul style="list-style-type: none"> 排泄；低用量群では、120時間までに雌雄平均で尿及び糞中に投与放射能の 92.2 及び 5.8%が排泄され、性差はなかった。高用量群では、120時間までに雌雄平均で尿及び糞中に投与放射能の 58.5 及び 40.4%が排泄され、性差はなかった。反復投与では、排泄率及び排泄経路は低用量群と類似した。120時間までに雌雄平均で尿及び糞中に放射能の 87.8 及び 7.7%が排泄され、性差はなかった。反復投与による排泄への影響はない。 分布；低用量、高用量及び反復投与の各投与群 120 時間後の各血液（血漿）及び全組織においてほぼ検出限界を下回り性差も認められなかった。 代謝； 	(1991年)	337
MA-4 (GLP)		ヤギ	<p>標識体 飼料中 20 ppm 相当 3日間経口投与 排泄、組織分布</p>	<ul style="list-style-type: none"> 排泄；最終投与 71 時間内の尿、糞及び呼気中の回収放射能は 10.2、41.9 及び 31.4%、消化管に 16.9%が認められた（総回収率は 102%）。 分布；乳汁及び組織中の放射能は、投与量の 1.0 及び 0.8%であった。 	(1997年)	347

資料 No.	試験 の 種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
MA-5 (GLP)	動物 体内 運命	ヤギ	標識体 飼料中 24 ppm 標識体 飼料中 14 ppm 6日間経口投与 排泄、組織分布、代謝	<ul style="list-style-type: none"> ・排泄； 標識体では、前試験類似の排泄パターンを示した。少量の放射能が肝、腎及び筋 (0.02~0.25 µg/g)、乳汁中に平均 0.18 µg/mL が認められた。 標識体最終投与 23 時間内の尿及び糞に 58.3 及び 34.9%が回収され、組織及び乳汁の放射能は 0.1%未満 (0.004~0.05 µg/g) であった (総回収率 95.3%)。 ・代謝； 	(1997 年)	349
参考文献	動物 体内 運命	ラット	標識キブタン 100 mg/kg 経口・腹腔 内投与 排泄、組織分布、代謝	<ul style="list-style-type: none"> ・排泄：経口投与したキブタンは、9時間以内に投与量の約50%が排泄された。一方、腹腔内投与では、投与後2日目の排泄量は50%に達せず、経口投与に比較して排泄が緩慢であったが、尿、糞、呼気への排泄の割合は同等であった。 ・分布：投与後1日目の放射能の分布は、腸、膀胱、腎及び肝で高値を示したが、以後急速に減少し、8日目には膀胱 (1.97 ppm)、腎 (2.11 ppm)、肺 (1.01 ppm) を除いて各組織とも1 ppm以下になった。投与4日後に組織中に残留している放射能は投与量の 0.6%に過ぎず、また、何れの組織においても蓄積性は認められなかった。 ・代謝； 	文献	360

資料 No.	試験の種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
参考資料 MP-1	植物体内運命	トマト	<p>標識体</p> <p>栄養液中 4 ppm の濃度で根部を浸漬して栽培</p> <p>根部、茎葉部の放射能分布及び代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・分布；栄養液中の放射能の 85% が処理 1 日後に根から吸収され、その 60% が茎葉部に移行した。 ・代謝； 	(1980 年)	364
MP-2 (GLP)		ばれいしょ	<p>標識体</p> <p>2.0 kg/ha で 20 日間隔 5 回散布</p> <p>1、3、5 回散布後、中間及び収穫時（最終散布 7 日後）に茎葉及び塊茎を採取</p> <p>残留及び代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・残留；茎葉部では 60~110 ppm、うち大部分 (> 85%) は 洗浄液中に、1~15% が で抽出された。塊茎部は 0.6~1.1 ppm、うち大部分 (0.5~1.0 ppm、> 86%) は で抽出された。 ・代謝； 	(1999 年)	367
MP-3 (GLP)		ぶどう	<p>標識体</p> <p>1.5 kg/ha を 3 回散布</p> <p>収穫時（最終散布 23 日後）に果実及び葉部を採取</p> <p>残留及び代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・残留；果実及び葉部の残留量は、約 8 及び 294 ppm であり、葉部では水洗浄液中に放射能の大部分が認められ、果実では有機溶媒/水性溶媒抽出液中に総放射能の約 75% が認められた。 ・代謝； 	(1994 年)	378
MP-4 (GLP)		アボカド	<p>標識体</p> <p>3ポンド/エーカーで 3 回散布</p> <p>最終散布後 21 (未成熟) 及び 97 日に成熟果実及び葉部を採取</p> <p>残留及び代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・残留；未成熟期の果実及び葉部における総残留放射能は 10.1 及び 88.1 ppm、成熟果実の果皮、果肉及び葉部では 16.9、8.2 及び 52.7 ppm で、うち大半 (70~92%) は有機溶媒に抽出された。 ・代謝； 	(1994 年)	386


資料 No.	試験の種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
MP-5 (GLP)	植物体内運命	冬小麦	<p>標識体 1.6 kg/ha で 2 回散布 初回及び 2 回目各散布 翌日、2 回目散布から 14 及び 23 日後に試料 を 4 回採取 根部、茎葉部、穀粒の 残留及び代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 残留；根部 (0.03~0.74 ppm)、茎葉部 (4.5 ~15.1 ppm) 及び穀粒 (3.2~23.9 ppm) 共残留濃度は経時的に増加傾向にあり、乾燥による重量減少に伴う濃縮が考えられた。 ・ 代謝； 	(1995 年)	395
MP-6 (GLP)		キャベツ	<p>標識 約 2.7 kg/ha で 14 日間 隔 2 回散布 第 2 回散布直後及び 14 日後 (収穫時) に茎葉 部及び根部を採取 残留及び代謝</p>	<ul style="list-style-type: none"> ・ 残留；第 2 回散布直後及び収穫時の総残留放射能は根部及び茎葉部でそれぞれ 1.2 及び 42.8 ppm、2.4 及び 7.4 ppm で、第 2 回散布直後及び収穫時の茎葉部総残留放射能の 70.2 及び 16.5%が洗浄液中にみられた。根部からは第 2 回散布直後及び収穫時試料からそれぞれ 67.6 及び 51.7%が抽出された。 ・ 代謝； 	(2004 年)	404

資料 No.	試験の種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
MS-1	土壌中運命 (好氣的)	砂壤土	標識体 処理濃度 ca.6 ppm 室温、暗条件で1年間	・親化合物は14日以内に約98%分解され、半減期は約2日と推定された。	(1976年)	414
MS-2 (GLP)		砂壤土	標識体 処理濃度 10 ppm 25℃、暗条件で1年間	・親化合物 [A] の分解は開始14日間の一次分解に基づき、半減期は4.3日と推定された。	(1991年)	420
MS-3	土壌中運命 (嫌氣的)	壤質砂土	標識体 処理濃度 ca.5 ppm 湛水下嫌氣的条件 25℃、暗条件で1年間	・親化合物 [A] は処理1週間後には完全に分解された。代謝分解物は、1、6及び12ヵ月間の発生量は処理量の、及びであった。	(1980年)	425
MS-4 (GLP)		砂壤土	標識体 処理濃度 10 ppm 25℃で4日間好氣的条件に維持後、湛水して25℃で、60日間嫌氣的条件を維持	・好氣的条件4日後に処理量の28%が親化合物 [A] として残留し、嫌氣的条件下60日後では3.6%が残留した。 ・親化合物 [A] の半減期；好氣的及び嫌氣的条件下で2.3及び14.6日と推定された。	(1991年)	430
物化資料 No. 9	土壌吸着	速やかに加水分解するため、土壌吸着係数は測定不可能			(2003年)	435

資料 No.	試験の種類	試験系	試験方法及び内容	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
MW-1 (GLP)	水中運命 (加水分解)	緩衝液	<p>標識体 pH 5, 7 及び 9 の緩衝液 処理濃度 1~1.2 ppm 25℃、遮光条件下で最長 24 時間</p>	<ul style="list-style-type: none"> 物質収支は 84~104%。加水分解は急速で、半減期は pH 5 で 2.6 時間、pH 7 で 1.1 時間及び pH 9 で 67 秒であった。 	(1988 年)	436
参考資料 MW-2 (GLP)		緩衝液	<p>標識体 pH 5, 7 及び 9 の緩衝液 処理濃度 ca.1 ppm 19~23℃、遮光条件下で 24 時間</p>	<ul style="list-style-type: none"> 物質収支は 1 時間後で 83~91%、24 時間後で 17~67%。親化合物 [A] は pH 5 及び 7 で 1 時間後に 47~52%認められたが、pH 9 では検出されなかった。 pH 7 及び 9 では、 が 分解物であったが、pH 5 では僅かであった。 	(1992 年)	442
MW-3 (GLP)	水中運命 (光分解)	緩衝液	<p>標識体 pH 3 の緩衝液 処理濃度 0.95 ppm 太陽光 (25℃) 及び紫外光 (30℃) に 8 時間暴露</p>	<ul style="list-style-type: none"> 物質収支は、自然光で 101.7%、紫外光で 99.4%であった。 	(1989 年)	447
MW-4 (GLP)		緩衝液	<p>非標識化合物 クエン酸緩衝液 (pH 4) 及び ピリン酸緩衝液 (pH 4) 処理濃度 0.4 ppm 人工光 (キセノンランプ) に 16 時間暴露</p>	<ul style="list-style-type: none"> 親化合物 [A] の半減期はクエン酸緩衝液及びピリン酸緩衝液において、人工光暴露では 1.8 及び 1.4 時間、暗対照では 6.5 及び 5.2 時間で照射により分解が加速された。 太陽光 (東京) における半減期は、クエン酸緩衝液及びピリン酸緩衝液において 11.2 及び 8.7 時間と算出された。 	(2004 年)	450

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	ホルベット	N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(1) 動物体内運命に関する試験

1) ホルペットのラットにおける代謝運命 (資料 No. MA-1)

試験機関：

報告書作成年：1974 年

供試標識化合物： ホルペット (標識ホルペット)
構造式：

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ)フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

供試動物： Sprague-Dawley 系 Carworth CFY 成獣雌雄ラット、体重；200 ± 10 g

試験方法： 試験の概要を以下の表に示す。

投 与： 所定量の 標識ホルペットをコーン油に懸濁して、75 mg/kg の投与量で強制経口投与した。

投与量	回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時期 (時間)
75 mg/kg/日	反復経口*	雌雄 各 10 匹	排 泄 分 布 代 謝	尿及び糞：1, 2, 3, 8 日後 呼気：3 日後 組織：30 分, 1, 3, 8 日後
75 mg/kg	単回経口	雌雄 各 3 匹	血中濃度	0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 24 時間
75 mg/kg/日	反復経口*	雌雄 各 3 匹	血中濃度	0.5, 0.75, 1, 2, 3, 4, 6, 24 時間
75 mg/kg/日	反復経口*	雄 6 匹	分 布	0.5, 2, 4, 8, 24, 72 時間 (オートラジオグラフィ)

* 非標識ホルペットを 1 日 1 回 7 日間投与後、8 日目に標識ホルペットを 1 回投与

排泄・組織内分布試験；予め非標識ホルペットを 7 日間連続投与したラットに標識ホルペットを強制胃内投与後、動物をガラス製代謝ケージに収容し、尿及び糞を分別採取した。呼気は で捕集した。標識ホルペット投与後、所定の時点でラットを屠殺して各組織を採取した。組織及びカーカスは -20℃ に保存した。試験終了後、全てのケージを水で洗浄し、洗浄液中の放射能を尿由来とみなした。

補足試験として、雌雄各 1 匹に標識 (15 mg) のコーン油懸濁液

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

を単回強制胃内投与した。

血中濃度試験；無処置のラット又は予め非標識ホルペットを 75 mg/kg/日で 7 日間連続投与したラットに、標識ホルペットを 75 mg/kg で強制胃内投与した後、所定の時期に尾静脈から血液を採取してヘパリン加試験管に回収した。

組織分布試験（オートラジオグラフィ）；予め非標識ホルペットを 7 日間連続投与したラットに標識ホルペットを強制胃内投与後、所定の時期に炭酸ガス吸入により動物を屠殺して、石油エーテル-ドライアイスで直ちに凍結し、凍結動物を薄切後、水性カルボキシメチルセルロースに包埋して主要臓器を含むように、全身の異なる位置で 20 ミクロンの矢状断にした。切片を凍結乾燥し、X 線フィルムに露光してオートラジオグラムを得た。

放射能の測定；糞、消化管、肝、カーカスの抽出液、尿、呼気捕集液、ケージ洗浄液及び から掻き取った担体は、 に加えて で計測した。組織及び抽出残渣等の固形試料は で処理し、生成した の吸収剤を と混合して で計測した。血中の放射能は、 による脱色処理後に で計測した。

代謝物の同定及び定量；雌雄各 2 匹から得られた 0~24 時間尿を集め、濃縮後、 に可溶部分を で精製して代謝物を得た。代謝物の同定は標準品との

により行なった。単離した代謝物は による の反応に供し、反応物を で分析すると共に における挙動を検討した。

結 果：

放射能の排泄；反復経口投与後の尿、糞及び呼気中の放射能排泄速度及び排泄量を表 1 及び 2 に示す。

表 1 反復経口投与（非標識体 7 日間+標識体 1 回）後の排泄（投与量%）

投与後時間	尿	糞	消化管	カーカス	ケージ 洗浄液	呼 気	合 計
30 分後	—	—	86.3	7.2	1.5*	—	95.0
1 日後	68.5	17.0	8.2	1.0	3.2	—	97.9
3 日後	71.2	21.6	0.15	<0.9**	1.5	2.0	97.0
8 日後	68.4	26.4	<0.005	<0.9	1.0	—	95.8

表中の値は 4 匹（雌雄各 2 匹）の平均、* 尿とケージ洗浄液の合算値、** 平均値は 0.5 —：分析せず。

表 2 反復経口投与（非標識体 7 日間+標識体 1 回）後の排泄（投与量%）

時 間 (h)	3 日後屠殺				8 日後屠殺			
	尿	糞	呼 気	合 計	尿	糞	呼 気	合 計
0~24	63.8	8.2	2.0	74.0	62.6	16.6	—	79.2
24~48	6.6	12.6	0.0	19.2	4.0	7.0	—	11.0
48~72	0.8	0.8	0.0	1.7	0.6	2.2	—	2.8
0~72	71.2	21.6	2.0	94.8	67.2	25.8	—	93.0
0~192	—	—	—	—	68.4	26.4	—	94.8

—：分析せず。

放射能は速やかに吸収されて、直ちに主として尿中に排泄された。投与後 3 日の屠殺群では、尿中に 24 時間以内に投与放射能の 63.8%が、3 日間で 71.2%が排泄された。糞中には 24 時間以内に投与放射能の 8.2%が、3 日間で 21.6%が排泄された。呼気中に排泄された放射能は僅かであった。標識

を投与した試験でも同様な結果が得られ、24 時間以内に尿中に投与放射能の 76.6%が、3 日後には 78.8%が排泄された。

投与後 8 日の屠殺群では、24 時間以内に尿中に投与放射能の 62.6%が、3 日後には 67.2%が、8 日後には 68.4%が排泄された。糞中には 24 時間以内に投与放射能の 16.6%が、3 日後には 25.8%が、8 日後には 26.4%が排泄された。

これらより、投与後 48 時間以内に投与放射能の殆どが排泄されることが示された。投与後 3 及び 8 日後に屠殺した動物のカーカスの放射能は 0.9%未満であった。放射能の排泄率に性差はみられなかった。

血中放射能濃度；単回又は反復経口投与した場合の濃度変化を表 3 に示す。

表 3 単回及び反復投与後の血中における放射能の変化（投与量%/mL）

時 間 (h)	単回投与		反復投与*	
	雄	雌	雄	雌
0.5	0.042	0.036	0.056	0.088
0.75	0.047	0.043	0.046	0.071
1	0.040	0.040	0.039	0.050
2	0.017	0.016	0.035	0.048
3	0.011	0.012	0.026	0.048
4	0.015	0.010	0.020	0.022
6	0.016	0.031	0.018	0.018
24	0.006	0.005	0.001	0.003

* 非標識ホルベットを 7 日間連続投与後、8 日目に標識ホルベットを 1 回投与
表中の値は 6 匹（雌雄各 3 匹）の平均

単回投与では、血中放射能濃度は投与後 45 分にピーク（雌雄平均値で投与量の 0.045%/mL、以下同様）に達した後、投与後 3 時間まで急速に減少し、6 時間後には第 2 番目のピーク（投与量の 0.024%/mL）がみられた。24 時間後の濃度は投与量の 0.005%/mL 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

反復投与では、血中放射能濃度は投与後 30 分で最大（投与量の 0.072%/mL）に達し、その後、投与後 24 時間まで急速に低下（投与量の 0.002%/mL）した。投与後 1~4 時間での血中濃度-時間曲線に単回経口投与した場合に認められた第 2 番目のピークに相当すると思われる明確な変化がみられた。この変化/第 2 番目のピークの原因は不明である。反復投与したラットでは、血中ピーク値が高く、早期に到達したが、血中濃度-時間曲線の終末相は単回投与したラットとほぼ等しく、反復投与が本剤の代謝に顕著な影響を及ぼさないことが示唆された。

体重 200 g のラットの血液量を 5% と仮定すると、投与 30 分後に血中を循環する総放射能量は投与量の 0.7% と算出された。

組織内放射能分布；非標識ホルペットを 7 日間投与後、標識ホルペットを単回経口投与した場合の結果を表 4-1 及び 4-2 に示す。

表 4-1 反復投与による各組織における放射能の分布

臓器 \ 時間	30 分後		1 日後		3 日後		8 日後	
	投与量 %*	投与量 %/g**	投与量 %*	投与量 %/g**	投与量 %*	投与量 %/g**	投与量 %*	投与量 %/g**
全血***	0.43	0.048	0.054	0.006	< 0.008	< 0.001	< 0.008	< 0.001
肝	1.8	0.17	0.212	0.021	< 0.03	< 0.003	< 0.03	< 0.003
腎	0.35	0.217	0.049	0.026	< 0.005	< 0.003	< 0.005	< 0.003
筋肉***	0.98	0.0108	< 0.27	< 0.003	< 0.27	< 0.003	< 0.27	< 0.003
脂肪（皮下）***	0.31	0.016	< 0.054	< 0.003	< 0.054	< 0.003	< 0.054	< 0.003
脂肪（腹腔内）***		0.014		< 0.003		< 0.003		< 0.003
心	0.018	0.023	< 0.002	< 0.003	< 0.002	< 0.003	< 0.002	< 0.003
脳	0.011	0.0064	< 0.005	< 0.003	< 0.005	< 0.003	< 0.005	< 0.003
消化管	81.2	4.59	12.4	0.828	0.28	0.020	< 0.005	< 0.003
カーカス	4.6	0.014	1.25	0.0037	< 0.9	< 0.003	< 0.9	< 0.003

数値は各 4 匹による 2 回の試験の平均値

* : 各臓器当たりの投与量%、** : 各臓器湿重量 (g) 当たりの投与量%

*** : 体重のそれぞれ 5% (全血)、45.5% (筋肉) 及び 7% (脂肪) と仮定

表 4-2 反復投与による各組織における放射能の分布

臓器	30 分後		1 日後		3 日後		8 日後	
	µg	ppm	µg	ppm	µg	ppm	µg	ppm
全 血	63.8	7.2	8.1	0.93	< 0.15	< 0.2	< 0.15	< 0.2
肝	263	25.5	31.7	3.1	< 4.5	< 0.5	< 4.5	< 0.5
腎	52.5	32.6	7.3	3.93	< 0.75	< 0.5	< 0.75	< 0.5
筋 肉	147	1.7	< 40.5	< 0.5	< 40.5	< 0.5	< 40.5	< 0.5
脂肪 (皮下)	45.8	2.4	< 8.1	< 0.5	< 8.1	< 0.5	< 8.1	< 0.5
脂肪 (腹腔内)		2.2		< 0.5		< 0.5		< 0.5
心	2.63	3.4	< 0.3	< 0.5	< 0.3	< 0.5	< 0.3	< 0.5
脳	1.68	1.0	< 0.75	< 0.5	< 0.75	< 0.5	< 0.75	< 0.5
消化管	12180	688.5	1860	124.1	13.7	3.2	< 0.75	< 0.5
カーカス	690	2.05	188	0.58	< 135.0	< 0.5	< 135.0	< 0.5

数値は各 4 匹による 2 回の試験の平均値 (ホルベット換算値)

投与 30 分後では検査した全ての組織において放射能が検出されたが、外来物質の吸収、生体内変化及び排泄に関与しない組織では放射能は低かった。脳、心、筋肉及び脂肪中の放射能濃度は血中濃度よりも低く、ホルベットの吸収性は高いものの組織に広範には分布しないことが示唆された。このことは、

でも確認された。投与 24 時間後には投与量の 3/4 以上が排泄され、放射能は消化管、肝、腎及び血液にのみ検出された。3 日後には消化管にのみ放射能が検出され、8 日後では何れの組織にも検出されなかった。従って、ホルベット及び/又はその代謝物がラットにおいて蓄積されず、特異的な取込みがないことが示された。

では、標識ホルベット投与後放射能が、外来物質の吸収、生体内変化及び排泄に関与する臓器、即ち消化管、肝及び腎にほぼ限定されたが、何れの検査時期にも多量の放射能がこれら以外の臓器で検出されることはなかった。

放射能の局在領域が消化管であったことは、恐らくホルベットが不溶性のために投与調製液中で凝集し、消化管内で分散せず吸収が抑制された結果と考えられた。このことは、投与後 8 及び 24 時間に屠殺したラットの

で確認された。しかしながら、投与量の 70% 以上は吸収された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

尿中代謝物の同定；尿中に排泄された代謝物の割合を表5に示す。

表5 ホルペット又は 標識ホルペット* の単回経口投与後24時間以内に尿中に排泄された放射能の割合

成分 (Rf 値)	標識ホルペット*				標識	
	雄		雌		雌	
	総放射能%	投与量%	総放射能%	投与量%	総放射能%	投与量%

* 24 時間以内に雄では 64.5%、雌では 78.9%の放射能が尿中に排泄された。

[申請者註]

[申請者註]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ホルペットのラットにおける代謝運命 (資料 No. MA-2)

試験機関：

報告書作成年：1980年

供試標識化合物：ホルペット (標識ホルペット)
構造式；

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

放射化学的純度；

標識体の合成方法；

供試動物： Sprague-Dawley 系雌ラット 5匹、体重 168~185 g
4匹を投与群、1匹を対照とした。

試験方法：

投与； 標識ホルペットのアセトン溶液 (0.5 mL) を 15 mg/kg の設定用量
(実際の投与量は 14.6~16.4 mg/kg) で胃管を用いてラットに単回強制経口投
与した。

試料採取；投与後 2、6、24 及び 96 時間に動物を屠殺し、糞、尿、血液、脳、肝、腎、
心、消化管、筋肉及びカーカスを採取した。

試料の処理及び抽出；採取試料にドライアイスを加えて Waring ブレンダーで磨砕した。
磨砕試料に を加えて抽出した。各抽出液は遠心分離後、上清を濃縮
し、濃縮物を に溶解し、 分析試料とした。

放射能測定；溶媒抽出液及び の掻き取った担体は、 に加
えて で計測した。組織等の固形試料
は で 処理し、生成した の吸収剤を
と混合して で測定した。

代謝物の分析；抽出液中の代謝物は を用いて分離、分析した。代謝物は展開後のプ
レート を に で検出し、
との による比較で同定した。非放射性標準物質
は、 における で確認した。また、代謝物を
し、 により同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

放射能の排泄及び組織への分布；表 1 に尿及び糞中への排泄データを示す。

表 1. 尿及び糞中に排泄された総放射能 単位：投与量%

屠 殺 \ 投与後	0~2 時間	2~6 時間	6~24 時間	24~96 時間
2 時間	0.0			
6 時間	0.0	15.2		
24 時間	0.0	28.9	68.2	
96 時間	0.0	16.8	67.6	10.3

ホルペットは速やかに吸収され排泄された。投与放射能は主として尿中に排泄された。投与後 6 時間以内に投与放射能の 15~29%が、24 時間以内に 84~97%が尿及び糞中へ排泄された。

ラットの組織中及び排泄物中の放射能分布を表 2 に示す。

表 2. 組織及び排泄物中の放射能分布 単位：ppm（親化合物換算）

試 料 \ 屠殺時間	2 時間後	6 時間後	24 時間後
血 液	1.03	0.20	0.03
脳	0.12	0.88	0.01
肝	3.04	0.47	0.46
腎	0.42	1.03	0.10
心	—	0.17	0.03
消化管	58.78	74.28	2.23
筋 肉	0.37	0.11	0.03
カーカス	0.87	0.26	0.10
糞	—	54.8	28~105
尿	—	140~197	218~256

—：該当なし。

放射能は速やかに組織に分布し、投与後 2 時間で全ての組織に放射能が検出された。尿中の放射能は 140~256 ppm、糞中では 28~105 ppm であった。

代謝物の同定及び定量；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

また、糞の 24 時間試料の抽出物を で分析した結果、代謝物として、 が同定された。その他に、 の も検出されたが、ホルペット [A] 及び は検出されなかった。異なる時点で屠殺したラット組織の 抽出物中代謝物の による同定及び定量（濃度及び比率）結果を表 3-1～3-3 に示す。

表 3-1. 2 時間後屠殺ラットの各組織（ ）における代謝物の分布

組 織	成 分	[A]							
	R _f 値*	0.95							
血 液	%	0.0							
	ppm	0.00							
脳	%	0.0							
	ppm	0.00							
肝	%	0.0							
	ppm	0.00							
腎	%	0.0							
	ppm	0.00							
心	%	0.0							
	ppm	0.00							
消化管	%	0.0							
	ppm	0.00							
筋 肉	%	0.0							
	ppm	0.00							
カーカス	%	0.0							
	ppm	0.00							

[A]：ホルペット、

*： による R_f 値
%：各組織中の割合、ppm：各組織における濃度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 3-2. 6 時間後屠殺ラットの各組織 () における代謝物の分布

組 織	成 分	[A]							
	R _f 値*	0.95							
血 液	%	0.0							
	ppm	0.00							
脳	%	0.0							
	ppm	0.00							
肝	%	0.0							
	ppm	0.00							
腎	%	0.0							
	ppm	0.00							
心	%	0.0							
	ppm	0.00							
消化管	%	0.0							
	ppm	0.00							
筋 肉	%	0.0							
	ppm	0.00							
カーカス	%	0.0							
	ppm	0.00							

[A] : ホルベット、

* : による R_f 値
% : 各組織中の割合、ppm : 各組織における濃度

表 3-3. 24 時間後屠殺ラットの各組織 () における代謝物の分布

組 織	成 分	[A]							
	R _f 値*	0.95							
血 液	%	0.0							
	ppm	0.00							
脳	%	0.0							
	ppm	0.00							
肝	%	0.0							
	ppm	0.00							
腎	%	0.0							
	ppm	0.00							
心	%	0.0							
	ppm	0.00							
消化管	%	0.0							
	ppm	0.00							
筋 肉	%	0.0							
	ppm	0.00							
カーカス	%	0.0							
	ppm	0.00							

[A] : ホルベット、

* : による R_f 値
% : 各組織中の割合、ppm : 各組織における濃度

組織中 の が で抽出された。組織中総放射

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

能の が 及び であった。
は 2 及び 6 時間後の消化管及び脳の 代謝物であった。その
他の組織では何れの時点においても が 代謝物であっ
た。また、 の が何れの組織においても検出された。親化合
物 [A] は検出されなかった。 及び
は検出されたが であったことから、 はラ
ットにおけるホルペットの重要な生体内変化ではないことが示唆された。

得られた代謝物からホルペットのラットにおける推定代謝経路を図 1 に示す。

生化学的反応は以下が含まれると考えられる：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図 1. ラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) ホルペットのラットにおける代謝運命 (資料 No. MA-3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1991 年

供試標識化合物: ホルペット (標識ホルペット)

構造式:

*: 標識位置

化学名; N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性;

放射化学的純度;

供試動物: Sprague-Dawley 系ラット、

雄; 6~8 週齢、体重 200~250 g、雌; 8~10 週齢、体重 175~225 g

試験方法: 試験の概要を以下の表に示す。

投 与; 標識ホルペットを 1%カルボキシメチルセルロースナトリウムに懸濁して低用量は 10 mg/kg、高用量は 500 mg/kg とし、強制経口投与した。

投与量設定根拠;

試験	用量	回数・経路	動物数	検討項目	試料採取時期 (時間)
予備試験	低用量	単回経口	雌雄 各 1 匹	排 泄	尿: 6, 24, 48, 72, 96, 120 糞: 24, 48, 72, 96, 120 呼気: 24, 48
本試験	低用量	単回経口	雌雄 各 5 匹	排 泄 分 布 代 謝	尿: 6, 24, 48, 72, 96, 120 糞: 24, 48, 72, 96, 120 血液及び各臓器: 120
	高用量	単回経口	雌雄 各 5 匹	排 泄 分 布 代 謝	尿: 6, 24, 48, 72, 96, 120 糞: 24, 48, 72, 96, 120 血液及び各臓器: 120
	低用量	反復経口*	雌雄 各 5 匹	排 泄 分 布 代 謝	尿: 6, 24, 48, 72, 96, 120 糞: 24, 48, 72, 96, 120 血液及び各臓器: 120

* 非標識ホルペットを 1 日 1 回 14 日間投与後、15 日目に標識ホルペットを単回投与

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

分析方法；放射能の測定：水性試料及び溶媒抽出液は、に加えて
でで計測した。組織及び糞試料は
で 処理し、生成したの吸収剤を
と混合してで測定した。得られた値はで補正した。総カ
ウントがバックグラウンドの2倍に満たない放射能は、定量限界未滿と判断した。
なお、所定の組織の総放射能（%）の算出に当たってはそれぞれの体重比を
以下のように仮定した—筋肉（45.5%）、脂肪（7.1%）、全血（7.0%）及び血漿
（4.0%）。

代謝物の同定：高用量群の6～24時間尿を集め、で分配して生体成
分に由来する非放射性成分を除去した後、試料をしてで抽出
した。抽出液を減圧下で濃縮乾固し、濃縮物をに懸濁して放射
能をで測定し、代謝物を及びで精製、分析した。

糞のプール試料（高用量群及び反復投与群：0～24時間及び24～48時間、低
用量群：0～24時間）をと混合し、で攪拌抽出し、遠心分離
して上清を集めた。低用量糞については放射能の回収率が低かったため、残渣
をで抽出し、抽出液と併せた。これらの抽出濃縮物
を尿と同様に及びで分析した。

尿中又は糞中の代謝物は、試料から得られた濃縮物/精製物と
との及びにおけるによって同定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

予備試験；標識ホルペットの 10 mg/kg を単回投与した結果を表 1 に示す。

表 1. 予備試験における放射能の排泄 単位：投与量%

時 間 (h)	雄			雌		
	尿	糞	呼 気	尿	糞	呼 気
0～6	65.4	8.4	ND	62.1	4.6	ND
6～24	24.2			29.1		
24～48	1.0	0.6		0.7		
48～72	0.5	0.1	—	0.3	0.2	—
72～96	0.2	0.1	—	0.1	0.1	—
96～120	ND	ND	—	0.8	ND	—
合 計	91.3	9.2	ND	93.1	5.9	ND
ケージ洗浄液	ND (0～120 h)			0.1 (0～120 h)		
カーカス	0.2 (120 h)			0.1 (120 h)		
総回収率	100.7			99.2		

ND：検出限界以下 (<0.1 投与量%)

—：分析せず。

投与 0～24 時間で尿中に投与量の 89.6% (雄) 及び 91.2% (雌) が排泄され、120 時間ではそれぞれ 91.3% (雄) 及び 93.1% (雌) が排泄された。糞中へは 120 時間で投与量の 9.2% (雄) 及び 5.9% (雌) が排泄された。また、120 時間後のカーカスの放射能は投与量の 0.5% 未満であり、投与 48 時間までの呼気中には放射能は検出されなかった。従って、本試験では呼気中の放射能は測定しなかった。放射能の総回収率は雄雌でそれぞれ 100.7 及び 99.2% であった。

排泄及び分布 (低用量群)；低用量群の排泄試験結果を表 2 に示す。

表 2. 低用量群における放射能の排泄 単位：投与量% (雌雄各 5 匹の平均値)

時 間 (h)	雄		雌		雄+雌	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞
0～6	75.6	4.5	79.4	3.5	77.5	4.0
6～24	14.2		11.5			
24～48	0.9	1.8	1.2	1.1	1.1	1.5
48～72	0.2	0.1	0.3	0.3	0.3	0.2
72～96	0.3	ND	0.2	0.1	0.3	0.1
96～120	0.4	ND	0.2	0.1	0.3	0.1
合 計	91.7	6.4	92.7	5.1	92.2	5.8
ケージ洗浄液	0.4 (0～120 h)		0.3 (0～120 h)		0.3 (0～120 h)	
カーカス	ND (120 h)		ND (120 h)		ND (120 h)	
総回収率	98.5		98.2		98.4	

ND：検出限界以下 (<0.1 投与量%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

120 時間後の放射能の尿中排泄量は、雄及び雌で投与量のそれぞれ 91.7 及び 92.7%であり、その大半が 6 時間以内に排泄された（雄 75.6%、雌 79.4%）。120 時間後までの糞中への放射能排泄は雄及び雌で 6.4 及び 5.1%であった。また、組織採取後のカーカスにおける残留放射能は検出限界未満（投与量の<0.1%）であった。120 時間後の投与放射能の総回収率（ケージ洗浄液を含む）は、雄及び雌で 98.5 及び 98.2%で、放射能の排泄速度又は経路に雌雄差はみられなかった。

投与 120 時間後に解剖した各組織における残留放射能の分布を表 3 に示す。一部ラットの消化管及び 1 匹のラットの胃及び腎において検出限界に近い濃度が検出された以外、血漿、血液及び何れの組織においても検出限界以下であった。従って、投与放射能は 120 時間後にはほぼ完全に消失したことが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 3. 低用量群の各組織における残留放射能の分布 (雌雄各 5 匹の平均値)

臓器・組織	雄		雌		雄+雌	
	ppm	%	ppm	%	ppm	%
副腎	ND	ND	ND	ND	ND	ND
骨髄	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	ND	ND	ND	ND	ND	ND
心	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎	ND*	ND*	ND	ND	ND	ND
肝	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肺	ND	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	ND	ND	ND	ND	ND	ND
卵巣	/	/	ND	ND	ND	ND
膵	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脾	ND	ND	ND	ND	ND	ND
精巣	ND	ND	/	/	ND	ND
甲状腺	ND	ND	ND	ND	ND	ND
子宮	/	/	ND	ND	ND	ND
胃	ND*	ND*	ND	ND	ND	ND
消化管	ND*	ND*	0.043	0.031	0.057	0.050
全血液	ND	ND	ND	ND	ND	ND
血漿	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ppm : μg 親化合物換算/g, % : 対投与量

ND : 検出限界以下 (総投与量%では、 < 0.001 投与量%)

* : 1 匹に検出されたが、平均値算出時には除外した。

消化管は内容物を含む。

(高用量群) ; 高用量群の排泄試験結果を表 4 に示す。

表 4. 高用量群における放射能の排泄 単位 : 投与量% (雌雄各 5 匹の平均値)

時間 (h)	雄		雌		雄+雌	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞
0~6	6.3	23.2	8.9	20.4	7.6	21.8
6~24	40.9		37.3		39.1	
24~48	8.4	16.8	12.1	15.3	10.3	16.1
48~72	0.6	1.1	1.7	3.3	1.1	2.2
72~96	0.2	0.1	0.3	0.45	0.3	0.3
96~120	0.1	ND	0.2	0.2	0.1	0.1
合計	56.5	41.3	60.5	39.6	58.5	40.4
ケージ 洗浄液	0.6 (0~120 h)		0.2 (0~120 h)		0.4 (0~120 h)	
カーカス	ND (120 h)		ND (120 h)		ND (120 h)	
総回収率	98.4		100.3		99.3	

ND : 検出限界以下 (< 0.1 投与量%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

120 時間後の放射能の尿中排泄量は、雄及び雌でそれぞれ投与量の 56.5 及び 60.5%で、その大部分が 6~24 時間に排泄された（雄 40.9%、雌 37.3%）。低用量群と比較して尿中排泄に遅延がみられたが、高用量のためにより分解が遅く、吸収が阻害されたことによると思われる。120 時間までの糞中への排泄は雄及び雌で 41.3 及び 39.6%であり、その大半が 48 時間以内に排泄された（雄 40.0%、雌 35.7%）。糞抽出物の分析により、0~48 時間の糞中放射能の約 90%（投与量の約 35%）が親化合物と確認されたことから、低用量に比して高い糞中排泄率は未吸収の親化合物に由来すると考えられた。120 時間後における放射能の総回収率（ケージ洗浄液を含む）は、雄及び雌で 98.4 及び 100.3%であった。放射能の排泄速度又は排泄経路に雌雄差はみられなかった。組織内放射能濃度の測定結果を表 5 に示す。

表 5. 高用量群の各組織における残留放射能の分布 (雌雄各 5 匹の平均値)

臓器・組織	雄		雌		雄+雌	
	ppm	%	ppm	%	ppm	%
副腎	ND	ND	ND	ND	ND	ND
骨髄	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	ND	ND	ND	ND	ND	ND
心	ND	ND	ND	ND	ND	ND
腎	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肝	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肺	ND	ND	ND	ND	ND	ND
筋肉	ND	ND	ND	ND	ND	ND
卵巣			ND	ND	ND	ND
膵	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脾	ND	ND	ND	ND	ND	ND
精巣	ND	ND			ND	ND
甲状腺	ND	ND	ND	ND	ND	ND
子宮			ND	ND	ND	ND
胃	ND	ND	0.357	0.001	ND*	0.001
消化管	1.05	0.017	2.16	0.029	1.61	0.023
全血液	ND	ND	ND	ND	ND	ND
血漿	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ppm : μg 親化合物換算/g、% : 対投与量

ND : 検出限界以下 (総投与量%では、 <0.001 投与量%)

* : 2 匹に検出されたが、平均値算出時には除外した。消化管は内容物を含む。

消化管及び胃において放射能が検出された以外、血漿及び何れの組織においても検出限界以下であり、120 時間後の残留放射能は投与量の $<0.1\%$ であった。(反復投与群) ; 非標識ホルペットを 10 mg/kg/日で 14 日間連続投与後に標識ホルペットの 10 mg/kg を単回投与した場合の排泄試験結果を表 6 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

投与量のほぼ全量が尿中に排泄された。即ち、120 時間後までの尿中排泄量は雄及び雌で投与量の 89.3 及び 86.3%で、投与後 24 時間以内に 88.3 及び 84.0%が排泄された。糞中排泄量は120時間後までに雄及び雌で7.6及び7.8%であり、カーカスは雌雄共に検出限界付近又はそれ以下であった。ケージ洗浄液を含む放射能の総回収率は雄及び雌で 97.1 及び 94.4%であった。

表 6. 反復投与群における放射能排泄 単位：投与量% (雌雄各 5 匹の平均値)

時 間 (h)	雄		雌		雄 + 雌	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞
0~6	75.1	4.4	65.5	4.8	70.3	4.6
6~24	13.2		18.5		15.9	
24~48	0.7	3.0	1.2	2.3	0.9	2.7
48~72	0.2	0.2	0.4	0.4	0.3	0.3
72~96	0.1	<0.1	0.2	0.2	0.2	0.1
96~120	0.1	ND	0.4	<0.1	0.2	ND
合 計	89.3	7.6	86.3	7.8	87.8	7.7 ± 4.0
ケージ洗浄液	0.2 (0~120 h)		0.3 (0~120 h)		0.2 (0~120 h)	
カーカス	ND (120 h)		0.1 (120 h)		ND (120 h)	
総回収率	97.1		94.4		95.8±5.0	

ND：検出限界以下 (<0.1 投与量%)

反復投与群の投与 120 時間後の組織内放射能濃度を表 7 に示す。

表 7. 反復投与群の各組織における残留放射能の分布 (雌雄各 5 匹の平均値)

臓器・組織	雄		雌		雄+雌	
	ppm	%	ppm	%	ppm	%
副腎	ND	ND	ND	ND	ND	ND
骨髄	ND	ND	ND*	ND*	ND*	ND*
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	ND*	ND*	ND	ND	ND*	ND*
心	ND*	ND*	ND*	ND*	ND**	ND**
腎	0.005a	0.001a	0.004a	ND**	0.005c	0.001d
肝	ND	ND	ND	ND	ND	ND
肺	ND	ND	ND*	ND	ND*	ND
筋肉	ND	ND	ND	ND	ND	ND
卵巣			ND	ND	ND	ND
膵	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脾	ND**	ND**	ND	ND	ND**	ND**
精巣	ND*	ND			ND*	ND
甲状腺	ND	ND	ND	ND	ND	ND
子宮			ND**	ND	ND**	ND
胃	ND**	ND**	ND*	ND*	ND***	ND***
消化管	0.007b	0.005b	0.041±0.031	0.026±0.021	0.024	0.015
全血液	ND*	ND*	ND	ND	ND*	ND*
血漿	ND	ND	ND*	ND*	ND*	ND*

ppm: µg 親化合物換算/g, %: 対投与量

ND: 検出限界以下 (総投与量%では、<0.001 投与量%)、消化管は内容物を含む。

*: 1 匹に検出、**: 2 匹に検出、***: 3 匹に検出されたが、平均値算出からは除外した。

a: 2 匹で検出されず、b: 1 匹で検出されなかったが、平均値は計算した (値は 5 匹の平均値)。

c: 4 匹で検出されず、d: 5 匹で検出されなかったが、何れも平均値は計算した (値は 10 匹の平均値)。[申請者註: 報告書では平均値算出時に検出されなかった動物を除外したと記載されていたが、個体別値から除外せずに計算したことを確認した]

複数のラットの腎及び大半のラットの消化管に低濃度の放射能が検出されたことを除き、その他の組織及び血漿、血液では検出限界付近又はそれ以下であった。

代 謝;

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 8. 尿中 の割合 単位:尿中放射能%(5匹の平均値)

尿採取時期 (時間)	低用量群		高用量群		反復投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0~6						
6~24						
0~24						

表 9 に各投与群における の尿中生成量を示す。

表 9. 尿中 の生成量 単位:投与量%(5匹の平均値)

尿採取時期 (時間)	低用量群		高用量群		反復投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0~6						
6~24						
0~24*						
尿中総放射能 0~24**						

*: 、 **: 尿中排泄された総放射能

24 時間以内に尿中に排泄された は、低用量(単回及び反復投与)では投与量の、高用量では を占めた。単離・精製した尿中放射能成分を で処理した場合、上で本放射性成分に見かけの変化はなく、主要ピークの放射能の割合にも変化がみられなかった。従って、尿中に排泄されたホルペットの代謝物は であることが確認された。

一方、糞中放射能の が で抽出された。 で との比較によって同定された糞抽出液中の放射能の割合を表 10 に示す。

表 10. による糞抽出液中のホルペット代謝物の分析 単位:糞中放射能%

成 分	低用量群		高用量群				反復投与群			
	0~24 時間		0~24 時間		24~48 時間		0~24 時間		24~48 時間	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ホルペット [A]	15	27	94	93	92	91	18	17	11	2
糞中総放射能 (投与量%)	4.5	3.5	23.2	20.4	16.8	15.3	4.4	4.8	3.0	2.3

では の存在は確認されなかった。

低用量(単回及び反復投与)ではほぼ同じ傾向を示し、 成分は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

であり、時間の経過と共にその割合が増加した（反復投与群の 24～48 時間）。その他に主要成分としてホルペット [A] 及び が、
として が検出された。

一方、高用量群の糞中の主成分は、未吸収の親化合物で、何れも糞中総残留放射能の 90%以上を示し、その他に の が認められた。各用量とも雌雄による代謝物パターンに差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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4) ホルペットのヤギにおける代謝運命 - 1 (資料 No. MA-4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

供試標識化合物: ホルペット (標識ホルペット)

構造式:

*: 標識位置

化学名; N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性;

放射化学的純度;

供試動物: ミニヤギ、品種: Miniature (Pygmy)、雌 1 頭、2~3 年齢、体重 21.5 kg

試験方法:

投 与; 飼料中 12 ppm の設定濃度に相当 (投与期間中の飼料摂取量から実際の飼料中濃度は 20 ppm に相当した) する 標識ホルペットを調製したゼラチンカプセルを、閉鎖系の代謝ケージに収容したヤギに 3 日間連続経口投与した。最終投与 23 時間後に屠殺した。

試料採取; 尿及び糞は投与開始日から屠殺まで 24 時間ごとに採集し、一部を放射能分析に供し、残りを凍結保存した。呼気は代謝ケージから一定の流量で

を含む 2 連のトラップに誘導した。捕集液は 12 時間ごとに交換し、一部を で分析した。またヤギは 1 日に 2 回搾乳し、乳汁中の放射能を で測定した。また、試験終了時にケージを で洗浄し、放射能を分析した。最終投与 23 時間後に屠殺し、以下の組織、臓器及び試料を採取した。

肝、皮下脂肪、腹部脂肪、前肢の筋、臀部の筋、腎、胆汁、膀胱尿、第 1 胃・第 2 胃及び内容物、第 3 胃・第 4 胃及び内容物、腸及び内容物

放射能の分析; 呼気捕集液、尿、ケージ洗浄液、乳汁、糞の溶媒抽出液、消化管内容物抽出液は、

に加えて で計測した。また、組織のホモジネート、糞抽出残渣等の固形物は 処理後、 を吸収剤を含む に捕集して、 により測定した。

結 果:

放射能の物質収支; 投与した放射能の尿、糞、呼気、乳汁への排泄及び臓器・組織中における残留量を表 1 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

5) 及び ホルペットのヤギにおける代謝運命 - 2
(資料 No. MA-5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1997 年

供試標識化合物:

1. ホルペット (標識ホルペット)
構造式;

*: 標識位置

化学名; N- (トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()
比放射活性;
放射化学的純度;

2. ホルペット (標識ホルペット)
構造式;

*: 標識位置

化学名; N- (トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()
比放射活性;
放射化学的純度;

供試動物: ヤギ (品種: British Saanen)、雌 2 頭、3~5 年齢、体重 60 及び 49 kg
各 1 頭に 標識又は 標識ホルペットを投与した。

試験方法:

投 与; 飼料中 10 ppm の設定濃度に相当する 標識ホルペット又は 標識ホルペットを調製したゼラチンカプセルを閉鎖系の代謝ケージに収容したヤギに 6 日間連続経口投与した。投与期間中の飼料摂取量から実際の飼料中濃度は、前者では 24 ppm、後者では 14 ppm に相当した。最終投与 23 時間後に屠殺した。試料採取; 尿及び糞は投与開始日から屠殺まで 24 時間ごとに採集し、一部を放射能分析

に供し、残りを凍結保存した。ケージも24時間ごとに洗浄し、洗浄液を採取した。また、ヤギは1日に2回(午前、午後)搾乳し、午後の搾乳量の半量と翌日午前の搾乳量の半量を併せて1日分とした。乳汁中の放射能を で測定した。最終投与23時間後に屠殺し、以下の組織、臓器及び試料を採取した。

肝、皮下脂肪、腹部脂肪、前肢の筋、臀部の筋、腎、胆汁、膀胱尿、第1胃・第2胃及び内容物*、第3胃・第4胃及び内容物*、腸及び内容物* (* 資料 No. MA-4 で確認したことから、 標識体投与では採取しなかった。また、

標識体投与では、95%以上の回収率が得られたことから消化管内容物の残留放射能は測定しなかった。)

放射能の分析；尿、ケージ洗浄液、乳汁、糞の溶媒抽出液等は、

に加えて で計測した。また、組織のホモジネート、糞抽出残渣等の固形物は 処理後、 を吸収剤を含む に捕集して、 により測定した。

放射能の抽出及び処理；両標識体を投与して得られたヤギの尿は直接 で、糞は で抽出し、抽出物をまとめて で分析した。

臓器・組織のうち肝について、 標識体投与では、 で順次抽出した。

及び 抽出液は濃縮して 分析し、 画分は を加えて沈殿した を遠心分離し、上清を 分析した。最初の溶媒抽出後の残渣に を加えて抽出し、 を加えて を再沈殿させ、沈殿に を加えて加熱して に分解し、更に で処理して生成した を で により分配した。 抽出残渣は を加えて 加熱し、溶媒を 後、水性液として で により分配し、 画分を乾固して、 成分を と に加水分解した。濃縮物を で処理し 分析に供した。上記の 画分の を沈殿除去した上清を で を用いて分配し、また上清の 処理による誘導體形成により性状分析した。一方、 標識体投与ヤギの肝は

で順次抽出し、抽出物の放射能を により定量し、代謝物を で分析した。

腎については、 標識体投与では、 で順次抽出した。

画分は肝に準じて処理、分析し、最初の溶媒抽出残渣は、 で抽出後、残りの残渣を もしくは あるいは 又は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

で処理した。 で処理した後、
 で と分配し、 画分を 分析に供した。 標識体投与
 では、
 で順次抽出し、それぞれの抽出物の放射能を で、代謝物を で
 分析した。
 乳汁は、 標識及び 標識体投与共に、遠心分離して水相と乳脂肪
 に分離し、それぞれを で抽出して で分析したが、
 標識体の 画分は放射エネルギーが少なく、また共抽出物が多く分析できなかつ
 た。更に 標識体では、 画分は を加え、遠心分離して得た沈殿
 を 処理後に、 抽出残渣は 処理後に、抽出放射
 能を 分析した。 標識体投与の筋（前肢及び臀部）及び脂肪（皮下及び
 腹部）は
 で順次抽出し、 で放射能を測定した（ 標
 識体の筋及び脂肪は、残留放射能が低レベルであったことから抽出による分析
 せず）。

代謝物の同定；尿、糞及び組織中の代謝物は、 及び による との比較に
 よって同定した。

結 果：

放射能の物質収支；投与した放射能の尿、糞、ケージ洗浄液及び乳汁/組織中における回
 収率を表1に示す。

表1 投与放射能の回収率

時間 (h)	標識体					標識体				
	尿	糞 ¹	胆汁	ケージ 洗浄液	組織及 び乳汁	尿	糞 ¹	胆汁	ケージ 洗浄液	組織及 び乳汁
0~24	0.5	0.5	—	—	—	9.2	1.4	—	—	—
24~48	1.0	5.3	—	—	—	12.1	6.4	—	—	—
48~72	0.5	6.6	—	—	—	8.7	7.7	—	—	—
72~96	1.6	12.7	—	—	—	6.4	6.1	—	—	—
96~120	0.7	8.5	—	—	—	11.2	6.3	—	—	—
120~143	0.4	1.3	—	—	—	10.7	7.0	—	—	—
屠殺後	0.1*	—	<0.1	0.2	0.7	—	—	<0.1	2.1	<0.1
小 計	4.8	34.9	<0.1	0.2	0.7	58.3	34.9	<0.1	2.1	<0.1
合 計	40.6					95.3				

1 糞中の総回収放射能は、抽出液及び残渣の合計から求めた。 * 膀胱尿
 標識体では、呼気中に31.4%及び消化管内容物に16.9%の放射能が確認された(資料MA-4)。
 —：該当なし。

標識ホルペット投与の場合、尿及び糞にそれぞれ4.8及び34.9%が排泄さ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

れ、組織及び乳汁の残留放射能は1%未満であった。先行試験（資料 No. MA-4）における総放射能回収率は102%で、尿、糞、呼気及び消化管内容物でそれぞれ10.2、41.9、31.4 及び 16.9%であり、本試験でも尿及び糞について同様の結果が得られた。

標識ホルペット投与後の総放射能回収率は 95.3%で、大部分が尿（58.3%）、糞（34.9%）及びケージ洗浄液（2.1%）に回収された。組織及び乳汁の回収率は0.1%未満であった。

乳汁、組織中の放射能分布；乳汁及び臓器・組織中の放射能濃度及び分布を表2に示す。

表2 乳汁及び組織中の放射能分布

組織又は乳汁		標識体		標識体	
		ホルペット当量 ($\mu\text{g/g}$ 又は $\mu\text{g/mL}$)	投与量%	ホルペット当量 ($\mu\text{g/g}$ 又は $\mu\text{g/mL}$)	投与量%
乳汁	0~24 時間	0.098	< 0.1	0.004	< 0.1
	24~48 時間	0.163	0.1	0.006	< 0.1
	48~72 時間	0.174	0.1	0.005	< 0.1
	72~96 時間	0.177	0.1	0.005	< 0.1
	96~120 時間	0.203	0.1	0.005	< 0.1
	120~143 時間	0.192	0.1	0.006	< 0.1
臓器・ 組織	皮下脂肪	< 0.01	< 0.1	0.004	< 0.1
	腹部脂肪	< 0.01	< 0.1	< 0.001	< 0.1
	前肢の筋	0.02	< 0.1	0.003	< 0.1
	臀部の筋	0.03	< 0.1	0.003	< 0.1
	腎	0.16	< 0.1	0.052	< 0.1
	肝	0.25	0.2	0.022	< 0.1

標識体投与では、少量の放射能が肝 ($0.25 \mu\text{g/g}$)、腎 ($0.16 \mu\text{g/g}$) 及び筋 ($0.02 \mu\text{g/g}$) で認められ、脂肪では $0.01 \mu\text{g/g}$ 未満であった。試料採取期間中の乳汁中の放射能は、試験 2~6 日の平均値が $0.182 \mu\text{g/mL}$ であった。標識体投与では、少量の放射能が肝 ($0.022 \mu\text{g/g}$) 及び腎 ($0.052 \mu\text{g/g}$) に認められた。筋及び脂肪では $0.004 \mu\text{g/g}$ 未満であった。乳汁中の放射能は、試験 2~6 日の平均値が $0.006 \mu\text{g/mL}$ であった。

尿中及び糞中放射能成分；尿中及び糞中放射能成分の割合を表 3 及び 4 に示す。

表 3 尿中放射能成分の分布

放射能成分	標識体		標識体	
	残留放射能%	投与量%	残留放射能%	投与量%
合計	100.0	4.8	100.0	58.4

－：検出されず。

表 4 糞中放射能成分の分布

放射能成分	標識体		標識体	
	残留放射能%	投与量%	残留放射能%	投与量%
ホルベット [A]	8.0	2.8	0.9	0.3
合計	100.0	34.9	100.0	34.9

－：検出されず。

標識体の尿中主要成分は

で、投与放射能の を占めた。少なくとも 種類の 代謝物が確認されたが、何れも投与量の であった。その他に が認められた。 標識体投与の尿中 成分は

で、投与放射能の を占めた。少なくとも 種類の 代謝物が確認されたが、何れも投与量の で、その他の も であった。

糞中放射能成分（表 4）については、 標識体投与では、 抽出により投与量の が抽出性で、 は非抽出性であった。抽出放射能の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

うち及びホルペット [A] (2.8%) が同定され、種類
 類の代謝物が確認された。標識体投与では
 抽出性の放射能が、非抽出性がであった。抽出放射能の
 うち及びホルペット [A] (0.3%) が同定された。

乳汁及び各組織の放射能；標識体の各抽出液中の放射能を表 5 に、放射能成分の分
 析及び同定結果を表 6 に示す。

表 5 標識体の乳汁及び各組織の抽出による放射能の分布

抽出溶媒	肝		腎		筋		乳 汁		脂 肪	
	%	µg/g**	%	µg/g**	%	µg/g**	%	µg/mL**	%	µg/g**
	—	—	0.9	0.001	5.1	0.001	0.1	<0.001	22.5	0.002
	7.6	0.019	3.3	0.005	13.4	0.004	3.9	0.007	1.6	<0.001
	10.0	0.025	18.7	0.030	13.8	0.004	—	—	43.8	0.004
	46.2	0.117	31.6	0.051	9.6	0.003	—	—	14.6	0.002
	3.5	0.009	6.4	0.010	23.9	0.006	58.4	0.106	—	—
	4.8	0.012	4.4	0.007	2.3	0.001	—	—	1.9	<0.001
	17.9	0.045	9.1	0.015	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	1.8	0.003	—	—
	10.0	0.025	25.7	0.042	31.8	0.009	35.9	0.065	15.8	0.002
総残留放射能*	100	0.254	100	0.162	100	0.027	100	0.181	100	0.010

*：総残留放射能は表 2 に基づく、**：ホルペット換算量
 —：分析せず。脂肪は、皮下脂肪と腹部脂肪の値を合算した。

肝及び腎では、一連の抽出による各画分のうち、(肝：46.2%、
 0.117 µg/g；腎：31.6%、0.051 µg/g) に含まれる放射能が最も多く、
 (肝：10.0%、0.025 µg/g；腎：18.7%、0.030 µg/g) 及び 2%SDS (肝：17.9%、
 0.045 µg/g；腎：9.1%、0.015 µg/g) がこれに次ぎ、(肝：7.6%、
 0.019 µg/g；腎：3.3%、0.005 µg/g)、(肝：3.5%、0.009 µg/g；腎：6.4%、0.010
 µg/g)、(肝：4.8%、0.012 µg/g；腎：4.4%、0.007 µg/g) 及び
 (腎：0.9%、0.001 µg/g) であった。非抽出性放射能は、肝及び腎で、それぞれ
 総残留放射能の 10.0% (0.025 µg/g) 及び 25.7% (0.042 µg/g) であった。肝の、
 画分、非抽出残渣及び腎のへ画分については、
 何れも総残留放射能の 10%未満であったことから、これ以上の分析は実施しな
 かった。

乳脂肪と脱脂乳に分離した乳汁は、により 3.9% (0.007 µg/mL)
 が、により 58.4% (0.106 µg/mL) が抽出された。非抽出性放射能は 35.9% (0.065
 µg/mL) であった。抽出では、それぞれ 0.1% (< 0.001
 µg/mL) 及び 1.8% (0.003 µg/mL) で、その後の分析はしなかった。

筋では、放射能の多い順に (23.9%、0.006 µg/g)、(13.8%、
 0.004 µg/g)、(13.4%、0.004 µg/g)、(9.6%、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

0.003 µg/g)、 (5.1%、0.001 µg/g) 及び (2.3%、0.001 µg/g) と
なり、非抽出性放射能は 31.8% (0.009 µg/g) であった。非抽出性放射能及びア
セトン画分はこれ以上の分析はしなかった。

は、 (22.5%、0.002 µg/g)、 (1.6%、<0.001 µg/g)、
(43.8%、0.004 µg/g)、 (14.6%、0.002 µg/g)
及び (1.9%、<0.001 µg/g) であり、非抽出性放射能は 15.8% (0.002 µg/g)
であった。何れの画分も 0.01µg/g 未満であったためその後の分析はしなかった。

表 6 標識ホルペット投与の組織における放射能成分の分布

放射能成分	肝		腎		乳 汁		筋	
	%*	µg/g**	%*	µg/g**	%*	µg/mL**	%*	µg/g**
分析抽出画分								
	11.9	0.030	16.5	0.027	20.1	0.036	35.8	0.010
	0.8	0.002	2.7	0.004	—	—	—	—
	0.6	0.002	—	—	—	—	—	—
	0.4	0.001	—	—	—	—	—	—
	13.2	0.034	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	32.6	0.059	—	—
	10.8 (8) [3.5]	0.027	20.5 (9) [8.7]	0.033	3.6 (3) [3.0]	0.007	10.9 (5) [6.0]	0.004
	9.6	0.024	10.3	0.017	6.8	0.012	2.3	0.001
	9.8	0.025	21.2	0.035	11.6	0.021	12.8	0.004
分析成分合計	57.1	0.145	71.2	0.116	74.7	0.135	61.8	0.018
未分析抽出画分								
	—	—	0.9	0.001	1.9	0.003	—	—
	—	—	—	—			—	—
	4.8	0.012	4.4	0.007	—	—	2.3	0.001
	—	—	2.6	0.004	—	—	—	—
	3.5	0.009	6.4	0.010	—	—	—	—
	10.0	0.025	—	—	15.9***	0.029	31.8	0.009
	17.9	0.045	9.1	0.015	—	—	—	—
	6.7	0.017	5.3	0.009	6.8	0.012	4.1	0.001
合 計	100	0.254	100	0.162	100	0.181	100	0.027

*：総残留放射能に対する割合、**：ホルペット換算量、***：2画分の合計（最大 14.9%）

—：該当なし。

肝、腎及び筋の放射性成分の多くは、 などの天然成分と共に分
離される成分の複雑な混合物から構成されることが示された。ホルペットが検
出されなかったことから、ホルペットが広範に代謝されて天然物成分に取込ま

れることが示唆された。肝の場合、
0.034 $\mu\text{g/g}$) 及び
腎の場合、
筋の場合、
と共に分離される成分 (13.2%、
と共に分離される成分 (11.9%、0.030 $\mu\text{g/g}$) を除き、
(16.5%、0.027 $\mu\text{g/g}$) 及び
(21.2%、0.035 $\mu\text{g/g}$) を除き、
(35.8%、0.010 $\mu\text{g/g}$) 及び
(12.8%、0.004 $\mu\text{g/g}$) を除いて、総残留放射能の 10%以上を占める化学的に識別可能な単一成分や画分はなかった。

また、乳汁では放射能は多くが
及び
など天然物と共に分離される成分の複雑な混合物から構成されることが示された。この場合もホルベットは検出されず、広範に代謝されることが示唆された。
(32.6%、0.059 $\mu\text{g/mL}$)、
(20.1%、0.036 $\mu\text{g/mL}$) 及び
(11.6%、0.021 $\mu\text{g/mL}$) の成分を除き、総残留放射能の 10%以上を占める化学的に識別可能な単一成分又は画分は認められなかった。残渣画分は、放射エネルギーの低い天然成分の分析時の共抽出物に起因すると考えられた。

標識体の各抽出液中の放射能を表 7 に、放射性成分の分析及び同定結果を表 8 に示す。

表 7 標識体の肝、腎及び乳汁の抽出による放射能の分布

抽出溶媒	肝		腎		乳 汁	
	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/g}$	%	$\mu\text{g/mL}$
	3.0	0.001	3.2	0.002	19.6	0.001
	7.3	0.002	3.0	0.002	—	—
	49.7	0.011	85.3	0.044	—	—
	2.5	0.001	—	—	—	—
	—	—	—	—	1.9	<0.001
	—	—	0.4	<0.001	0.3	<0.001
	5.8	0.001	3.9	0.002	74.1	0.004
	31.5	0.007	4.4	0.002	4.2	<0.001
総残留放射能*	100	0.022	100	0.052	100	0.006

*: 総残留放射能は表 2 に基づく。—: 分析せず。

肝及び腎では、一連の抽出による各画分のうち、
(肝: 49.7%、0.011 $\mu\text{g/g}$; 腎: 85.3%、0.044 $\mu\text{g/g}$) に含まれる放射能が最も多く、
(肝: 7.3%、0.002 $\mu\text{g/g}$; 腎: 3.0%、0.002 $\mu\text{g/g}$)、
(肝: 5.8%、0.001 $\mu\text{g/g}$; 腎: 3.9%、0.002 $\mu\text{g/g}$)、
(肝: 3.0%、0.001 $\mu\text{g/g}$; 腎: 3.2%、0.002 $\mu\text{g/g}$)、
(肝: 2.5%、0.001 $\mu\text{g/g}$) 及び
(腎: 0.4%、<0.001 $\mu\text{g/g}$)
では何れも総残留放射能の 10%未満であった。非抽出性放射能は、肝及び腎で、それぞれ総残留放射能の 31.5% (0.007 $\mu\text{g/g}$) 及び 4.4% (0.002 $\mu\text{g/g}$) であった。肝の
画分及び腎の
及び非抽出性放射能は、これ以上の分析は行なわなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

乳脂肪と脱脂乳に分離した乳汁では、
 が、
 抽出された放射能は、それぞれ 0.3 及び 1.9% (何れも < 0.001 µg/mL) で、非抽出性の放射能は 4.2% (< 0.001 µg/mL) であった。
 はこれ以上の分析は行なわなかった。

表 8 標識ホルペット投与の組織における放射能成分の分布

放射能成分	肝		腎		乳 汁	
	%*	µg/g**	%*	µg/g**	%*	µg/mL**
分析抽出画分						
分析成分合計	66.4	0.015	95.1	0.049	19.6	0.001
未分析抽出画分						
	2.5	0.001	—	—	—	—
	—	—	0.4	< 0.001	0.3	< 0.001
	—	—	—	—	1.9	< 0.001
	0.3	< 0.001	—	—	—	—
	23.9	0.005	0.3	< 0.001	74.1	0.004
	—	—	4.4	0.002	4.1	< 0.001
	6.9	0.002	0.2	< 0.001	—	—
合 計	100	0.022	100	0.052	100	0.006

*: 総残留放射能に対する割合、**: ホルペット換算量、***: 2 画分の合計 (最大で 43.4%)

表 8 に示す通り、肝の放射性成分は

及び残渣であった。ホルペットは検出されず、広範に代謝されたことが示された。

を除いて総残留放射能の 10%以上を占める化学的に識別可能な単一成分又は画分はなかった。

腎の放射性成分は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

及び残渣も認められた。肝同様にホルペットは検出されず、総残留放射能の 10%以上の化学的に識別可能な単一成分又は画分も認められなかった。

乳汁中の総残留放射能は

であることが示された。

ホルペットは検出されず、総残留放射能の 10%以上の化学的に識別可能なその他の単一成分又は画分はなかった。

以上より、ホルペットは速やかに分解されることが示唆された。ホルペット分子の代謝されて、標識されたホルペット分子は速やかに代謝されて、標識されたホルペット分子に取込まれることが示された。標識された

ホルペット分子に存在することが示された。

ホルペット 標識部分は、主としてホルペットに代謝されることが示された。

推定分解経路図を図 1 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 ヤギにおけるホルペットの想定分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(参考文献)

ラットにおける

(キャプタン) の運命

The fate of

(captan) in the rat.

著者：

投稿雑誌： 1974,

供試標識化合物：

キャプタン

構造式：

*： 標識位置

比放射活性；

放射化学的純度；

供試動物： Simonsen 系アルビノラット、雌雄各 8 匹、体重 180~215 g

方 法：

投与方法；吸収排泄及び体内分布を検討するために0.34 mCi/mmolのキャプタンを0.05% Tween-20を含む1%トラガカントガム水溶液に懸濁し、雌雄各8匹のラットに経口投与した（平均投与量100 mg/kg）。また同等の比活性を有するキャプタンを DMSO-コーン油（1：6、v/v）に懸濁し、20 mg/kg量を2匹の雄ラットに腹腔内投与した。

一方、尿中代謝物を検討するために0.05 mCi/mmolのキャプタンを上記と同様の0.05% Tween-20及びトラガカントガムを含む水溶液に懸濁し、200 mgを雄ラット10匹に経口投与した。

吸収排泄；100 mg/kgを投与したラットのうち雌雄各2匹を対象として尿、糞及び呼気を経時的に採取し で放射能を測定した。

体内分布；投与後1、2、4及び8日目に雌雄各2匹のラットを屠殺し、膀胱、生殖腺、脳、腎、肝、腸、脂肪（輸精管周辺）、胃、肺、筋（腓腹筋）、血液及びカーカスを採取した。そしてこれら組織について放射能を測定した。

代謝物の分析；0~72時間の尿を分析に供した。尿中代謝物は、

、 、 及び

を用いて分離同定した。またこれとは別に あるいは

とキャプタンの同時投与、 とキャプタンあるいは

の同時投与により、代謝経路を推定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

吸収排泄；排泄率（投与量に対する%、平均値）は以下の通りであった。

投与量	検査試料	時 間 (hr)					
		0~9	9~15	15~24	24~48	48~96	計
雌雄各2匹 単回経口投与 平均100 mg/kg	呼 気	18.1	3.2	1.0	0.5	—	22.8
	尿	28.2	9.5	4.0	7.7	2.4	51.8
	糞	14.3			0.8	0.8	15.9
	ケージ 洗浄液	0.6					0.6
投与量	検査試料	時 間 (日)			計		
		0~4	4~10				
雄2匹 単回腹腔内投与 20 mg/kg	呼 気	18.4		—	18.4		
	尿	45.5		14.8	60.3		
	糞	5.8		18.8	24.6		

—：分析せず。

¹⁴Cキャプタンを単回経口投与した場合、9時間以内に投与量の約50%が排泄された。

一方、腹腔内投与では、投与後2日目における排泄量は50%に達せず、経口投与と比較して排泄が緩慢であったが、尿、糞、呼気への排泄の割合は、経口投与のそれとほぼ等しかった。

体内分布；各組織における残留濃度（ppm、キャプタン換算）は以下の通りであった。

投与量	組 織	時 間 (日)			
		1	2	4	8
単回経口投与 平均100 mg/kg	膀 胱	6.13	3.87	1.83	1.97
	血 液	2.95	2.22	1.44	0.98
	脳	1.22	0.93	0.69	0.60
	脂 肪	0.27	0.22	0.22	0.16
	生殖腺	2.49	2.13	1.31	0.69
	腸	31.17	2.31	0.62	0.22
	腎	11.55	7.36	4.27	2.11
	肝	4.22	2.61	1.53	0.69
	肺	3.93	2.62	1.90	1.01
	筋	1.43	1.08	1.08	0.85
	胃	33.78	9.47	2.69	0.42
カーカス	0.66	0.39	0.32	0.22	

雌雄各2匹の平均値。

投与後1日目の各組織における放射能の分布は、腸、膀胱、腎及び肝で高値を示したが、以後急速に減少し、8日目には膀胱（1.97 ppm）、腎（2.11 ppm）、肺（1.01 ppm）を除いて各組織とも1 ppm以下になった。投与4日後に組織中に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

残留している放射能は投与量の0.6%に過ぎなかった。また、何れの組織においても特異的な蓄積性は認められなかった。組織内残留量に雌雄差は認められなかった。

代謝物の分析;尿中に検出された代謝物は 種で、

(尿中放射能の %)、 の

の (同 %)及び

(同 %)と同定された。親化合物は検出されなかった。また、腹腔内投与の場合は のみ検出された。呼気中放射能の殆どは 由来であった。

推定代謝経路;投与経路(経口及び腹腔内)が異なることによって、キャプタンの代謝物が相違することから、経口投与の場合は、消化管内における が主要な役割を果たしていると考えられた。消化管内においてキャプタンはまず

を生成し、更にこれから、 が生じ、次の3経路を経て代謝されると推定された。

- 1) 又は による の生成
- 2) との反応による の生成
- 3) との反応による の生成

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

[キャプタンのラットにおける推定代謝経路]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表1 植物体及び栄養液中の放射能分布 単位：処理%

処理後日数	地上部	根 部	栄養液
1	52.9	32.6	14.5
4	68.9	15.2	15.8
7	77.3	11.2	11.5
11	84.0	9.0	7.0

栄養液中の放射能は、トマトの根から速やかに吸収されて地上部に移行した。処理1日後では、栄養液中の放射能の約85%が根から吸収され、吸収された放射能の約60%が地上部へ移行した。

代 謝； 植物体中の放射能の大半（86～98%）が で抽出された。
抽出液中の放射能分布を表2に示す。

表2 抽出液の による放射能分布

成 分	R _f		の放射能の割合 (%)								
			処理1日後		処理4日後		処理7日後		処理11日後		
	A	D	地上部	根 部	地上部	根 部	地上部	根 部	地上部	根 部	
ホルペット [A]	0.98	0.92	<0.1	0.2	<0.1	0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

A： 溶媒（ ）、D： 溶媒（ ）

ホルペットはほぼ完全に代謝されて となった。種類の代謝物、及び が認められた。栄養液から回収された分解物は主として であり、 のも認められた。及び又は は認められなかった。

ホルペットのトマトにおける推定代謝経路を図1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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 トマトにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ホルペットのばれいしょにおける代謝試験 (資料 No. MP-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1999 年

供試標識化合物：ホルペット (標識ホルペット)

構造式；

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

供試植物：ばれいしょ (品種：Maris Piper)

種芋は砂質植壤土を入れた個別のポット (φ 40 cm, 32 L) に植え付け、肥料を混合した。ばれいしょは屋外の通常的环境条件で栽培し、必要に応じて灌水した。

試験方法：

試験溶液の調製；有効成分の1回の散布量が 2.0 kg/ha となるように、 標識ホルペット (約 26 mg) と非標識ホルペット (約 230 mg) のアセトン溶液をバイアル中で窒素下蒸発乾固し、これをアセトン (6 mL) に再溶解した。これを、蟻酸で pH 4 に調整したホルペット 80% 顆粒水和剤の不活性成分 (白試料、約 64 mg) の蒸留水液 (45 mL) に加えて混合し、調製した。

処理方法；8 株を 1 組とし、植付けから約 1 ヶ月間栽培したばれいしょに試験溶液を約 20 日間間隔で 5 回散布した。ばれいしょは、組ごとに木枠及びプラスチックシートで組み立てた散布テントで覆い、切れ込みを入れた散布テント上部からスプレーガンで均等に散布液を散布した。

散布量の設定根拠；

試料採取；

採取時期及び採取部位；第 1 回及び第 3 回散布日 (各 PHI 77 及び 37 日) に各 1 株を採取し、茎葉部と塊茎部に分け、分析に供した。第 5 回散布日 (PHI 7 日)、中間日 (PHI 3 日) 及び収穫時には各 2 株を採取して 1 株を分析に供し、他の 1 株を冷凍保存した。

試料の処理及び代謝物の分離；茎葉部試料は、図 1 に示すように、まず

で 2 回洗浄し、洗浄した茎葉部をドライアイス存在下でホモジナイズした。洗浄液及びホモジネート中の放射能の和を総残留放射能 (TRR) とした。ホモジネートを で反復抽出し、抽出液をまとめて濃縮し、得られた 残渣を で抽出して蒸留水で希釈した。残渣の一部は 40℃ で 4 日間インキュベートした後、 分析した。先の洗浄液及び有 抽出液は濃縮乾固して、 に溶解して 及び で分析した。本処理の各工程における 試料に含まれる放射能は、 で、また 試料の放射能は 処理して生成した を捕集後 で測定した。

塊茎部試料も、図 2 に示すように、まず で洗浄したが、洗浄液中の放射能は土壌に由来すると考えられたので、塊茎の TRR には含めなかった。塊茎部試料も 存在下でホモジナイズし、凍結乾燥して 処理により TRR を求めた。ホモジネートの一部は茎葉部に準じて で抽出し、 で濾過した。抽出液を濃縮して得られた 残渣の濃縮物に を加えて抽出した。第 5 回散布後及び収穫時に採取した塊茎部の 残渣は、40℃ で 4 日間インキュベートした後、 分析した。先の洗浄液及び 抽出液は濃縮乾固後、 に再溶解して 及び 分析に供した。

塊茎部の抽出後の残渣は順次、 による 還流、 による振盪抽出、 による振盪抽出、 による振盪抽出及び 2 段階の 処理 (第 1 段階： ; 第 2 段階：) し、更に への取り込みの有無を確認するために、残渣に を加えた。試料を遠心分離し、上清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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

放射能の分布；各試料採取時におけるばれいしょの放射能分布を表 1 に示す。

表 1 ばれいしょにおける各試料採取時の放射能分布 (単位：ppm 親化合物換算)

分析部位	試料採取時期				
	第 1 回散布後 (PHI 77 日)	第 3 回散布後 (PHI 37 日)	第 5 回散布後 (PHI 7 日)	中間収穫時 (PHI 3 日)	収穫時
茎葉部	106.5	64.4	102.6	57.0	110.4
塊茎部	NA	0.56	0.86	0.71	1.10

NA：分析せず。

第 1 回目散布後の茎葉部における濃度は 106.5 ppm であり、第 3 回散布後では茎葉部及び塊茎部でそれぞれ 64.4 及び 0.56 ppm、最終散布後では 102.6 及び 0.86 ppm であった。概略して茎葉部では約 60~110 ppm、塊茎部では 0.5~1.1 ppm の範囲であった。

洗浄、抽出による放射能の分布；茎葉部及び塊茎部の 洗浄液及び抽出による放射能の分布を表 2 に示す。

表 2 ばれいしょ茎葉部及び塊茎部における放射能の分布

試料採取時期	第 1 回散布後 (PHI 77 日)		第 3 回散布後 (PHI 37 日)		第 5 回散布後 (PHI 7 日)		中間収穫時 (PHI 3 日)		収穫時	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
茎葉部										
TRR	100.0	106.5	100.0	64.4	100.0	102.6	100.0	57.0	100.0	110.4
	98.3	104.7	91.4	58.8	89.0	91.3	85.2	48.6	89.8	99.0
	1.2	1.3	7.1	4.6	11.0	11.3	14.6	8.3	10.2	11.2
	0.6	0.7	3.4	2.2	5.6	5.7	6.6	3.7	4.1	4.5
	0.6	0.6	3.7	2.4	5.3	5.5	7.8	4.5	6.2	6.8
	0.2	0.2	0.8	0.5	1.0	1.1	1.2	0.7	0.9	1.0
合 計^a	99.8	106.2	99.3	64.0	101.1	103.7	101.0	57.6	100.8	111.3
塊茎部										
TRR	—	—	100.0	0.56	100.0	0.86	100.0	0.71	100.0	1.10
	—	—	87.1	0.49	92.7	0.80	85.9	0.61	92.6	1.02
	—	—	ND	ND	1.5	0.01	1.4	0.01	2.1	0.02
	—	—	84.5	0.47	88.5	0.76	79.3	0.56	86.4	0.95
	—	—	17.2	0.10	16.6	0.14	22.2	0.16	14.7	0.16
合 計^b	—	—	104.3	0.58	109.3	0.94	108.1	0.77	107.3	1.18

ND：検出せず。—：分析せず。

茎葉部の洗浄液は、第 1 回散布後試料採取時の 98.3%TRR (104.7 ppm) から収穫時の 89.8%TRR (99.0 ppm) に減少した。茎葉部抽出液の割合は、第 1 回散布後の試料採取時の 1.2%TRR (1.3 ppm) から収穫時の 10.2%TRR (11.2 ppm) に増加した。茎葉部から抽出された放射能のうち、約半分は 抽出物で、

残りは 残渣に分布した。非抽出性放射能は、第1回散布時 (0.2%TRR、0.2 ppm) から収穫時 (0.9%TRR、1.0 ppm) まで増加した。

塊茎部では表面を で洗浄した場合、その後の分析で放射能は主として親化合物であることが判明し、土壌に由来すると考えられた。従って、塊茎部洗浄液については、その後の分析はしなかった。塊茎部抽出液の放射能割合は 85.9~92.7%TRR (0.49~1.02 ppm) であった。塊茎部から抽出された放射能のうち、大部分は 残渣であり、 に含まれる抽出性の放射能は最大で 2.1%TRR (0.02 ppm) であった。非抽出性放射能は 14.7~22.2%TRR (0.10~0.16 ppm) であった。

塊茎部の非抽出性放射能については、更に性状分析を行った (表3)。

表3 塊茎部非抽出性放射能の各抽出画分における分布

試料採取時期	第3回散布後 (PHI 37日)		第5回散布後 (PHI 7日)		中間収穫時 (PHI 3日)		収穫時	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
非抽出性放射能	17.2	0.10	16.6	0.14	22.2	0.16	14.7	0.16
	3.4	0.02	2.3	0.02	3.9	0.03	3.0	0.03
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	6.8	0.04	3.8	0.03	5.4	0.04	5.4	0.06
	-	-	-	-	-	-	ND	ND
	-	-	-	-	-	-	5.2	0.06
	-	-	-	-	-	-	0.4	0.00
	ND	ND	2.9	0.03	ND	ND	2.1	0.02
	2.6	0.02	2.6	0.02	2.9	0.02	1.3	0.01
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	0.1	0.001	0.2	0.002	0.1	0.001	0.1	0.001
合計	13.0	0.07	11.9	0.10	12.3	0.09	11.9	0.13

ND: 検出せず。-: 該当せず。

還流下で溶媒抽出した場合に遊離した放射能は 2.3~3.9%TRR (0.02~0.03 ppm) であった。 抽出では放射能の遊離は認められず、 抽出

で遊離した放射能は 3.8~6.8%TRR (0.03~0.06 ppm) であり、 試料を で分配したところ放射性物質が を有することが判明

した。 処理では、遊離放射能は 2.9%TRR (0.03 ppm) 以下であった。

(第1回

処理) で処理すると 1.3~2.9%TRR (0.01~0.02 ppm) が遊離したが、

(第2回 処理) 又は 処理では放射能は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

遊離しなかった。 残渣に残留した放射能は、0.1～0.2%TRR (0.001～0.002 ppm) であった。

代 謝； ばれいしょの濃縮洗浄液、 抽出物及び を で分析し、各成分を との で同定した。同定は、特定試料の により確認した。茎葉部及び塊茎部における同定された成分の放射能の割合を表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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表4 ばれいしょの抽出物における代謝物の同定及び分布

試料採取時期	第1回散布後 (PHI 77日)		第3回散布後 (PHI 37日)		第5回散布後 (PHI 7日)		中間収穫時 (PHI 3日)		収穫時	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
茎葉部										
洗浄液 ホルベット [A]	97.9	104.3	87.8	56.5	87.9	90.2	84.9	48.4	89.0	98.2
抽出物 ホルベット [A]	0.1	0.088	1.8	1.132	2.6	2.618	2.6	1.483	1.6	1.817
残渣										
合計	99.1	105.5	97.9	63.0	98.8	101.3	99.2	56.5	99.2	109.5
塊茎部										
抽出物 ホルベット [A]										
残渣										
合計	—	—	76.1	0.424	83.6	0.721	76.1	0.539	84.0	0.922

0.0 : < 0.05, 0.000 : < 0.0005

ND : 検出せず。— : 該当せず。括弧内は保持時間を示す。

茎葉部の 洗浄液中に認められた放射性成分からは、何れの試料採取時においてもホルベット [A] (48.4~104.3 ppm) が検出され、第3回散布後の試料採取時では が

みられた。

茎葉部の抽出物中にもホルペット [A] 及び が認められ、ホルペット [A] は第 1 回散布後に採取した試料では 0.1%TRR (0.088 ppm) であったが、葉内部への浸透により 1.6~2.6%TRR (1.132~2.618 ppm) に増加した。 は第 1 回散布後の試料であったが、ホルペット [A] の代謝に伴い に増加した。

茎葉部抽出液の 残渣には、 、 、 及び が認められた。 抽出後の に の が認められた。 は、第 3 回散布後試料採取時以降

の量で認められた。 の割合は、吸収されたホルペット [A] の代謝に伴い増加した。

また、 残渣を 40℃で 4 日間インキュベートした結果、フ 及び/又は が認められ、 保持時間 分及び 分の成分は に変化した。 は 1

であった。 も認められ、その量はホルペット [A] の代謝と共に増加した。

塊茎部では、 抽出物中に、ホルペット [A]、 が認められた。極微量のホルペット [A] が最終散布以降に採取した試料に認められ (0.1%TRR、0.001 ppm)、恐らく による洗浄後に塊茎表面に残留した土壤中ホルペット [A] に由来すると考えられた。同様に、

が の 及び が 抽出液に認められた (それぞれ、)。 が、保持時間

分の位置に、何れも の量で認められた。 残渣中には 及び が、それぞれ 及び で認

められた。また、 及び/又は が認められ、 保持時間 分の成分はインキュベートにより に変化する。これら は、 であった。

表 5 に示すように、茎葉部における主要残留放射能はホルペット [A] であり、収穫時において 90.6%TRR (100.0 ppm) であった。茎葉部における TRR (110.4 ppm) のうち、96.6%TRR (106.6 ppm) が同定された。一方、塊茎部における

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

残留放射能の大部分 (> 85.9%TRR、表 2) は抽出可能であり、抽出性放射能の
 が とそ であった。
 は、最高で 6.8%TRR (0.059 ppm) であった。 放射能は、収穫時
 に 14.7%TRR (0.161 ppm) であり、
 残渣であった。塊茎部の TRR のうち、83.8%TRR (約
 0.917 ppm) が同定され、11.9%TRR (0.130 ppm) が化学的に特徴付けられた。
 ホルペットの推定代謝経路を図 3 に示す。

表 5 ばれいしょにおける代謝物の同定及び分布

試料採取時期	第 1 回散布後 (PHI 77 日)		第 3 回散布後 (PHI 37 日)		第 5 回散布後 (PHI 7 日)		中間収穫時 (PHI 3 日)		収穫時	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
茎葉部										
TRR	100.0	106.5	100.0	64.4	100.0	102.6	100.0	57.0	100.0	110.4
ホルペット [A]	98.0	104.4	89.5	57.7	90.5	92.8	87.5	49.9	90.6	100.0
合 計	100.0	106.4	100.0	64.4	100.0	102.6	100.4	57.2	100.1	110.5
塊茎部										
TRR	—	—	100.0	0.557	100.0	0.863	100.0	0.709	100.0	1.097
ホルペット [A]	—	—	—	—	0.1	0.001	0.1	0.001	0.1	0.001
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
合 計	—	—	100.0	0.557	100.2	0.864	100.0	0.709	100.0	1.097

ND : 検出せず。 — : 該当せず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 ばれいしょ茎葉部の抽出処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図2 ばれいしょ塊茎部の抽出処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図3 ばれいしょにおけるホルペットの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) ホルペットのぶどうにおける代謝試験 (資料 No. MP-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1994 年

供試標識化合物： ホルペット (標識ホルペット)
構造式；

*： 標識位置

化学名；N- (トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

供試植物： ぶどう (品種：Thompson Seedless), 約 9 m² (9×10⁻⁴ ha) の試験区画に 2 本の木を栽培

試験方法：

試験溶液の調製；第 1～3 回の各散布日に調製した。87.1、100.7 及び 100 mg ai の

標識ホルペットをそれぞれ 2 mL のイソプロパノールに溶解し、2500 mg の 50%ホルペット水和剤 (1250 mg ai) と混合した後、それぞれ 840、840 及び 1200 mL の蒸留水に懸濁して散布液とした。

処理方法；処理区及び対照区共に 2 本のぶどうの木を使用した。対照区には散布せず、汚染を防ぐため処理区から適切な距離をとって設置した。処理区では果実の着粒期 (Berry set)、肥大期 (mid-berry) 及び登熟期 (late berry) の各生育段階に計 3 回散布した。散布間隔は第 1～3 回までが 32 及び 28 日間とし、第 3 回散布から収穫時までは 23 日間とした。処理区では木の周りにフェンスをめぐらしてドリフトを避け、また、処理区以外の蔓との重なりを避けるため刈り込んだ。処理区の土壌表面及びフェンスの内側にはシートを張り、灌漑用水が汚染されないようにした。

散布量； 1 回当たりの圃場散布量を 1.5 kg/ha に設定した。放射能から計算した実際の散布量は第 1 回 (Berry set) 1.4 kg/ha、第 2 回 (mid-berry) 1.6 kg/ha 及び第 3 回 (late berry) 1.6 kg/ha であった。

試料の採取；第 1 回散布後に 2 本の木から無作為に 5 枚の葉及び 4 房の果実を 2 反復で

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

採取した。このうち 1 セットを洗浄用試料、他を非洗浄用試料とした。第 2 及び 3 回散布後にも同様に試料を採取した。最終収穫時では、上記と同様に採取した後、残りの葉部及び果実を全て採取した。最終収穫時の洗浄液、果実及び葉部試料を定性分析に供した。

試料の処理及び抽出；図 1 に示すように、最終収穫時のぶどう果実又は葉部試料はそれぞれで洗浄し、洗浄液の放射能を で測定し、その凍結乾燥物を又は に再溶解し、 で分析した。洗浄後の試料は 溶液で抽出し、濾過して濾液と残渣に分離し、残渣は風乾し、 で放射能を測定した。濾液は で分配し、 可溶抽出液と 抽出液に分け、それぞれの抽出液に含まれる放射能を で測定した。洗浄液、残渣、 可溶抽出液及び 抽出液中の放射能の和を総残留放射能 (TRR) とした。 可溶抽出液は濃縮後 で分析した。葉部の 抽出物は、凍結乾燥後に で分析した。また、果実の 抽出物は、逆相の で処理し、カートリッジを で溶出した。溶出液は、 放射能を測定する一方、減圧下で最小量まで濃縮し、その濃縮物を で分析した。

放射能及び代謝物の分析；洗浄液、抽出液及びその他の 試料に含まれる放射能は、 に加えて で、また 試料は で 処理し、生成した を捕集後 で測定した。また、抽出物、濃縮物及び精製後の各試料に含まれる各代謝物は、放射能及び の を用いる との によって同定、定量した。

果実の 抽出物は、さらに に供して分析した。即ち、 抽出液の一部に 溶液を加え ()、室温で 1 時間振とう後、 で抽出し、 抽出液と 抽出液の放射能を測定した。 分解による 抽出液は濃縮後、 で分析した。

また、果実の 抽出液の一部は に適用し、 で溶出して、放射能が検出された区分を に供し、次いで 溶出した。 抽出液を蒸発乾固して、 に再溶解し、 で分離後、再度 に供して、得られた 抽出液を で分析した。

第 1 回散布直後、第 2 回散布直前及び直後、第 3 回散布直前及び直後、並びに、収穫時の葉及び果実について残留量を測定した。

結 果：

収穫時採取試料における放射能の性状分析；収穫時の果実及び葉部における TRR の分布

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

を表1に示す。

果実及び葉部に認められた TRR は、それぞれ 7.6 及び 293.7 ppm であった。果実及び葉部の洗浄液には、それぞれ 25.7% (2.0 ppm) 及び 87.8% (257.9 ppm) が認められ、葉部では洗浄液に放射能の大部分が検出された。

表1 ぶどうの果実及び葉部における放射能の分布

	果 実		葉 部	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm
洗浄液	25.7	2.0	87.8	257.9
抽出液	18.8	1.4	6.5	19.0
抽出液 溶出液	54.0 (41.4)	4.1 (3.1)	4.6	13.5
溶出残渣	(4.1)	(0.3)	—	—
残 渣	1.5	0.1	1.1	3.2
TRR	100.0	7.6	100.0	293.7

括弧内は、SPE 処理後の分析値。—：該当せず。

及び 抽出液に殆どの放射能が抽出され、果実ではそれぞれ 18.8% (1.4 ppm) 及び 54.0% (4.1 ppm)、葉部ではそれぞれ 6.5% (19.0 ppm) 及び 4.6% (13.5 ppm) であった。果実の 抽出液を 抽出した場合、溶出液には、抽出液の 77% (TRR の 41.4%、3.1 ppm) の放射能が含まれた。また、抽出後の残渣における放射能は果実及び葉部で、それぞれ 1.5% (0.1 ppm) 及び 1.1% (3.2 ppm) 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

収穫時採取試料の放射能成分の同定；収穫時に採取した果実及び葉部の各試料について HPLC で同定した各成分の分布を表 2 に示す。

表 2 ぶどうの果実及び葉部における各成分の同定及び分布

		果 実		葉 部	
		%TRR	ppm	%TRR	ppm
洗浄液	ホルペット [A]	13.88	1.05	85.39	250.77
	小 計	25.72	1.95	87.83	257.94
抽出液	ホルペット [A]	12.77	0.97	5.19	15.25
	小 計	18.77	1.43	6.47	19.01
抽出液*					
	小 計				
洗浄液 + 抽出液 + 抽出液	ホルペット [A]	26.65	2.02	90.58	266.02
残 渣		1.49	0.11	1.09	3.21
TRR		87.37*	6.63*	100.0	293.66

空欄：検出されず。

* 果実の抽出液は抽出液であるため、TRR の値が表 1 と異なる。

** は、何れもであることが確認された。

果実では、まず洗浄液を、で分析した結果、ホル
 ペット [A] (TRR の 14%)、
 が同定された。果実の抽出液では、ホルペット [A] (TRR の 13%)、
 が同定され、
 が確認された。ホルペット
 [A] 及びの存在は、で確認した。果実の抽
 出液にはが検出され、TRR のを占めた。の
 保持時間 () から、と同一物質と考えられた。
 同定されず(での分析結果は抽出前後で変化がなかつ
 た)、を用いる分析を実施したが何

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

れも確認できなかった。 の分析結果から を示し、
溶液において、溶媒フロントに溶出した。
でも不純物に起因すると
考えられる非常に多くの質量スペクトルが認められ、ピークの帰属を明らか
にできなかった。この 抽出液を 分解後、 で抽出し
た。抽出された放射能と との保持時間の比較によって、
であることが確認された。
葉部では、洗浄液にホルペット [A] 及び が TRR のそれぞれ
約 85 及び %存在することが示された。 抽出液には、ホルペット
[A]、 が、TRR のそれぞれ 5.19、
存在した。ホルペット [A] 及び に
より確認された。 抽出液からは により、
及び が検出され、それ
ぞれ TRR の であつた。葉部の 抽出液に認められ
た であつたため、同定しなかつた。
果実及び葉部の 抽出液を で分析した結果、
が同定されたが、非標識物質に対する放射能の割合が低かつたために
では検出できなかった。
第 1 回散布直後、第 2 回散布直前及び直後、第 3 回散布直前及び直後、並び
に収穫時の葉及び果実について試料調製施設で測定したホルペット等量の残
留量を表 3 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表3 ホルペット残留量

サンプル		ppm*	
第1回散布後	非洗浄	葉	413
		果実	10
	洗浄	葉	12
		果実	2
第2回散布前	非洗浄	葉	230
		果実	4
	洗浄	葉	32
		果実	3
第2回散布後	非洗浄	葉	246
		果実	8
	洗浄	葉	22
		果実	3
第3回散布前	非洗浄	葉	233
		果実	3
	洗浄	葉	47
		果実	2
第3回散布後	非洗浄	葉	229
		果実	9
	洗浄	葉	41
		果実	2
収穫時	非洗浄	葉	513
		果実	7
	洗浄	葉	62
		果実	7

* ホルペット等量 ppm

以上のことから、本試験条件下で処理されたホルペットの収穫期のぶどうの果実及び葉部における残留量は、2.02 及び 266.02 ppm を示し、残留放射能の大部分は葉部から検出された。果実には代謝物として がそれぞれ
検出され、他に と考えられる放射能（ ）も
抽出物から
 認められた。

得られた代謝物からホルペットの推定代謝経路を図2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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 ぶどう果実及び葉部の抽出処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図2 ぶどうにおけるホルペットの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(2) 植物体内運命に関する試験

4) ホルペットのアボカドにおける代謝試験 (資料 No. MP-4)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1994 年

供試標識化合物: ホルペット (標識ホルペット)

構造式:

*: 標識位置

化学名; N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性;

放射化学的純度;

供試植物: アボカド (品種: Zutano)、樹齢: 10 年以上

試験方法:

散布液の調製; 圃場における目標使用量 3.0 lb ai/エーカーの割合で試験区面積 0.0009 エーカーに散布するのに必要なホルペット量は 1253 mg ai/回であることから、
標識ホルペットを 53 mg とし、これに 50%ホルペット水和剤を 2400 mg (1200 mg ai) を加え、水に懸濁して散布液を調製した。

処理方法; 試験にはアボカドの木 3 本を用いた。1 本の木に果実の生長期中、散布液を 3 週間間隔で 3 回散布した。各散布時の実測散布量は、3.03~3.07 lb ai/エーカーであった。他の 2 本の木は対照群とし、無処置とした。

試料採取; 最終散布 21 日後に未成熟果実及び葉部を採取し、最終散布 97 日後に成熟果実及び葉部を採取した。

試料の処理及び抽出; 採取試料は で洗浄し、洗浄液の残留放射能を 及び で分析した。未成熟果実は種子及び果皮を除去せずに細切した。成熟果実は、果皮、果肉及び種子に分け、果皮及び果肉を抽出に供した。葉部は細切した。未成熟果実、その葉部、成熟果実の果皮、果肉及びその葉部の各試料は で反復抽出し、各抽出後濾過して抽出液をまとめた。抽出液は一部を放射能測定に供する一方、濃縮して残渣に 及び を順次加えて振盪し溶解した。 相及び 相の一部は放射能測定に供し、 相は 及び で分析した。

その後の抽出; 未成熟果実及び葉部の 抽出残渣は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

及び/又は 溶液（ ）によって抽出し、
更に未成熟果実については による抽出及び
による 抽出を実施した。成熟果実及び葉部の各試料については、
抽出残渣を 溶液で抽出し、残渣を更に で
抽出した。各抽出残渣は、室温で乾燥後、 処理して放射能を測定し
た。

による放射能の分離；分析対象の抽出液をプレートにスポットして展開後、放射能
を で可視化した。放射能を含有する各バンド
を掻き取り、 、 又は で抽出し、一部を放射能
分析した。

抽出液の分画化；一部の試料を に供し、各フラクションの放射能を測定して
を作成した。

中の濃縮試料を に適用し、

、
で順次溶出し、放射能の分布に基づいて、
各画分をまとめて で再分析した。

放射能の分析； 試料は に加えて、 試料は
で 処理して発生する を捕集した吸収剤を に加
えて、 により測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

洗浄液中の放射能；未成熟期（最終散布 21 日後）及び成熟期（最終散布 97 日後）の果実及び葉部各試料の洗浄液中の総残留放射能（TRR）を表 1 に示す。

表 1 果実及び葉部の洗浄液中の TRR 単位：ppm

	最終散布 21 日後		最終散布 97 日後	
	果 実	葉 部	果 実	葉 部
洗浄液	0.698	47.51	0.014	20.91

数値は 2 回洗浄の合計値を示す。

最終散布 21 日後の果実及び葉部の洗浄液中の TRR は、それぞれ 0.698 及び 47.51 ppm で、果実に比して葉部に得られた著しく高い値は、散布されたそれぞれの相対面積を反映していると考えられた。最終散布 97 日後の果実及び葉部の洗浄液中放射能は、それぞれ 0.014 及び 20.91 ppm であり、最終散布 21 日後に比して、何れも極めて低い値を示した。

葉部に比較して果実では最終散布 21 日後と 97 日後の放射能に差が認められたが、これは葉部に比べ果実が早く生育した結果と考えられた。

及びその後の抽出による放射能の分布； 及びその後の抽出処理によって回収された放射能の分布を表 2 に示す。

表 2 果実及び葉部における TRR 及び抽出による分布

	最終散布 21 日後				最終散布 97 日後					
	果 実		葉 部		果 皮		果 肉		葉 部	
	ppm	TRR (%)	ppm	TRR (%)	ppm	TRR (%)	ppm	TRR (%)	ppm	TRR (%)
	8.789		67.918		13.717		7.543		37.322	
	7.764		66.094		12.769		7.149		30.418	
	7.662		63.944		11.941		6.248		30.207	
	0.001		0.096		0.000		0.000		0.158	
	1.360		20.198		3.213		0.655		15.395	
	—		11.735		—		—		—	
	1.401		5.878		2.814		0.588		13.224	
	0.095		—		—		—		—	
	0.065		—		0.072		0.035		0.630	
	0.012		1.151		0.002		0.005		0.030	
計	10.149		88.116		16.913		8.198		52.717	

—：該当せず。

最終散布 21 日後の果実の TRR は 10.15 ppm で、そのうちの 8.79 ppm（ %TRR）が に抽出され、葉部の TRR は 88.12 ppm で、67.918 ppm（ %TRR）が に抽出された。果実の 抽出液を で乾燥後の放射能は 7.76 ppm（ %TRR）で、これを濃縮乾固

後、溶解-分配して得られた 相に 7.66 ppm (%TRR)、また
相に 0.001 ppm (%TRR) が検出された。同様に最終散布 21 日後
の葉部の 抽出液 (乾燥後) には 66.09 ppm (%TRR)、
相に 63.94 ppm (%TRR)、 相に 0.096 ppm (%TRR) が
検出された。

最終散布 97 日後の成熟果実の果皮、果肉及び葉部における TRR はそれぞれ
16.91、8.20 及び 52.72 ppm であり、うち に抽出された放射能は、
13.72 ppm (%TRR)、7.54 ppm (%TRR) 及び 37.32 ppm (%TRR)
で、抽出残渣にはそれぞれ 3.21 ppm (%TRR)、0.66 ppm (%TRR) 及び
15.40 ppm (%TRR) が検出された。 抽出液を で
乾燥すると、果皮、果肉及び葉でそれぞれ 12.77 ppm (%TRR)、7.15 ppm
(%TRR) 及び 30.42 ppm (%TRR) を示した。従って、大部分の放射
性 がこの操作により抽出、回収され、また、乾燥剤に が吸収さ
れて放射能の一部が消失したと考えられた。これを濃縮乾固し、 の高
い不活性成分を除くために 分配を行った。その結果、
葉部における微量の放射能 (%) を除き大部分が 相に分配
された。

最終散布 21 日後の果実の 抽出残渣を更に順次処理して得られた
抽出液、 抽出液、
抽出液及び抽出残渣には、それぞれ 1.40 ppm (%TRR)、0.10 ppm (%TRR)、
0.07 ppm (%TRR) 及び 0.01 ppm (%TRR) の放射能が検出された。葉部
の 抽出残渣を で
順次処理した場合、それぞれ 11.74 ppm (%TRR) 及び 5.88 ppm (%TRR)
が抽出され、抽出残渣には 1.15 ppm (%TRR) が残存した。

最終散布 97 日後試料の果皮及び果肉の 抽出残渣を更に順次処理し
て得られた 抽出液、 抽出液及び抽出残渣
には、果皮の場合、それぞれ 2.8 ppm (%TRR)、0.07 ppm (%TRR) 及
び 0.002 ppm (%TRR) が、果肉の場合、それぞれ 0.59 ppm (%TRR)、
0.04 ppm (%TRR) 及び 0.01 ppm (%TRR) が検出された。葉部の
抽出残渣を同様に処理した場合、 抽出液、
抽出液及び抽出残渣には、それぞれ 13.22 ppm (%TRR)、0.63 ppm
(%TRR) 及び 0.03 ppm (%TRR) が認められた。

代謝分解物の分析、同定及び定量；未成熟果実及び葉部試料の洗浄液及び各抽出液、及
び成熟果実 (果皮及び果肉) における代謝物を含む各成分につき、
と比較して 及び で分析した結果を表 3 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表3 未成熟及び成熟果実及び葉部におけるホルペット及びその代謝物の分布

	最終散布 21 日後				最終散布 97 日後					
	果 実		葉 部		果実全体				葉 部	
	ppm	%	ppm	%	ppm		%		ppm	%
洗浄液 (1 回目)	0.62	100	41.34	100	0.013		100		18.50	100
ホルペット [A]	0.29	46.9	23.61	57.1	0.004		26.7		11.27	60.9
	果 実		葉 部		果 皮***		果 肉***		葉 部	
	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%	ppm	%
相	7.66	100	63.94	100	0.744	100	4.083	100	30.21	100
ホルペット [A]	0.23	3.1	53.31	83.4	0.008	1.1	—	—	26.73	88.5
抽出	1.40	100	11.74*	100*	0.216	100	0.413	100	13.22	100
ホルペット [A]	—	—	0.32	2.7	0.013	5.7	—	—	1.31	9.9
抽出	0.10**	100**	/	/	0.005	100	0.024	100	0.63	100
ホルペット [A]	0.01	11.7			0.001	14.8	0.004	17.2	—	—
同定化合物合計	ppm	%	ppm	%	同定化合物合計 (果実全体)				ppm	%
	8.57	/	104.24	/	ppm		%		47.88	
						5.485	100			
ホルペット [A]	0.53		77.24		0.026		0.5		39.31	

* 抽出液、** 抽出液

*** 果皮及び果肉中の放射能 (ppm) は、果実全体 (果皮+果肉+種子) の重量に基づいて算出した。

\$ 97 日の果実全体のみ、その他成分を更に特徴付けした。

— : 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

最終散布 21 日後：

未成熟果実洗浄液では、ホルペット [A] (0.29 ppm)、
が同定され、この 3 者で 92.5%を占めた。葉部の洗浄液についても果実同様に、ホルペット [A] (23.61 ppm)、
が同定され、これらが殆ど (91.9%) を占めた。

未成熟果実の抽出液の相では、ホルペット [A]、
が同定され、更に の
が確認された。抽出残渣の抽出液には、
が同定され、他に の が
認められた。抽出液には、ホルペット [A]、
が同定された。葉部の相でも、ホルペット [A] (53.31 ppm)、
が同定され、 の が確認された。

抽出液から、ホルペット [A]、
並びに の が確認された。葉部における主要な残留物はホルペット [A] であり、果実のそれは であることから、果実ではホルペット [A] が容易に 分解されることが示唆された。なお、未成熟果実及び葉部の各抽出液の 分解物を 分析した結果、
が単一又は主要成分であることが確認された。これは 分析によっても確認された。

最終散布 97 日後：

成熟果実の洗浄液の 分析では、何れも < 0.01 ppm の放射能を示す多くのピークが分布したが、ホルペット [A]、
が、それぞれ 0.004、 ppm 検出、同定された。葉部の洗浄液では、主要なピークはホルペット [A] で 60.9% (11.27 ppm) を占めた他に、
のピークも認められ、それぞれ であった。葉部の場合、試料採取時期による成分間の放射能分布に殆ど差はなかった。成熟期の葉部の抽出液の相、
抽出液及び抽出液を 分析した結果、相ではホルペット [A] が主成分 (88.5%) であったが、抽出液及び抽出液では、それぞれ 及び であった。
は、相で であったが、その後の抽出では認められなかった。及び は相では 抽出液ではそれぞれ主要成分 であった。 は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

で処理したところ、果肉では が消失したことから、この には を含むことが示唆された。果皮では、保持時間 分のピークの代わりに のピークが出現したことから、暫定的に は と考えられた。

; 成熟果肉及び果皮の 相を 中 で処理した結果、 の と考えられるピークが出現した。しかし、この結果によって が されたか否かを確認することは不可能であった。従って、これらの試料を で したところ、新しい多くのピークが出現したが、代謝物の性状に関する結論には至らなかった。果皮及び果肉の 抽出液を で すると、保持時間の長い位置にピークが出現したが、 の処理により溶媒フロントの物質に影響はなかった。これらより、 と反応しないが、容易に を受ける の存在が示唆され

成熟果肉の 相を に通して2画分を得た。これらの画分を で分析すると95%が最初の画分に、5%が2番目の画分に分布し、それぞれの画分を更に分画化すると、最初の画分は6画分に、2番目の画分は7画分に分離した。両画分の 分析では、何れも2本のバンドを示し、一方は に相当し、一方は を含むと考えられた。 の各画分を採取混合して に供すると3つに分画化され(画分Ⅰ～Ⅲ)、画分Ⅰには が含まれ、 に相当する画分Ⅱは で不安定であった。画分Ⅲは を含むと考えられた。画分Ⅰ及びⅡを した結果、画分Ⅰでは が であり、画分Ⅱでは であることが示唆された。また、画分Ⅰの 分析では、 の一方又は両方が であることが示唆された。

その他の検討; は と考えられたが、 において標準 の 分解物と果皮及び果肉抽出液の代謝物に類似の保持時間を有するものはなく、従って、 は代謝物ではなく、一時的な中間体であると考えられた。また、 も と考えられたが、成熟果実果肉抽出液中の何れの放射性成分とも保持時間は一致しなかった。

以上より、本試験では、アボガド成熟果実におけるホルペット [A] の分解経路は に至る一連の であり、 が主たる最終分解物であると考えられた。

ホルペットのアボガドにおける推定代謝経路を図1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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 アボカドにおける推定代謝経路（申請者作成）

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

5) ホルペットの冬小麦における代謝試験 (資料 No. MP-5)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1995 年

供試標識化合物: ホルペット (標識ホルペット)

構造式:

*: 標識位置

化学名; N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性;

放射化学的純度;

供試植物: 冬小麦 (品種: Mercia)

栽培条件; 38×38 cm のポットに播種し、播種 6 週間後に植物を間引いてポット当たり 16 本とした。必要に応じて灌水及び追肥した。以下の試験群を設定した。

ポット 1 及び 2 を 標識ホルペット処理区 (試験区)、ポット 3 を予備区、ポット 4 を非標識ホルペット処理区 (対照区) とした。試験の評価にはポット 1 及び 2 のみを用いた。

試験方法:

散布液の調製; 各散布時に圃場散布量 (有効成分 1.6 kg/ha) となるよう、植物当たり散布 1 回当たり 1.6 mg の 標識ホルペットで散布液を調製した。即ち、56 mg の 標識ホルペットを 4 mL のアセトニトリル (初回散布) 又はアセトン (2 回目散布) に溶解した。11.6 mg のホルペットを各スプレー容器に量り取り、約 1 mL の 標識ホルペット溶液を加えた。これに水に懸濁した 80% 顆粒水和剤のブランク製剤 (46 mg/100 mL) 14 mL を加えて総量を 15 mL とした。対照群では、15 mL の 80% 顆粒水和剤ブランク製剤懸濁液にホルペット 11.6 mg を加えた。実際の散布量は、第 1 回目が 1.4~1.6 kg ai/ha、第 2 回目が 1.0~1.2 kg ai/ha であった。

散布方法; 十進コードステージ 49 (DC49) 及び 69 (DC69) の 2 回散布した。各ポットをポリエチレンバッグで被覆し、ポットの底部周辺を密封した。スプレーガンをバッグの穴から挿入して植物に散布した。散布後 24 時間は被覆状態を維持した。

試料採取; 初回散布翌日 (DC49+1 日)、第 2 回散布翌日 (DC69+1 日)、DC83 及び DC92

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(収穫時)に試料を無作為に採取した。当初の3回の採取時期にはポット1、2からは植物体全部を各2本、ポット3、4からは各4本採取し、収穫時(DC92)には残りの植物全てを採取した。採取した試料は、茎葉部、穀粒及び根部に分け重量を測定した。各部位を凍結乾燥して重量測定した。

試料の処理及び抽出；各試料の処理及び抽出手順を図1に示す。試料を粉碎後に重量測定し、

処理して総残留放射能(TRR)を測定した。粉碎試料に

を加えて振盪抽出した。濾過後残渣に

抽出液(画分1)を得た。収穫時(DC92)の茎葉部及び穀粒の抽出残渣に

を加え振盪抽出し、濾過して抽出液(画分2)を得た。抽出液に

を加えて分配し、相(画分3)を得た。残渣は

で繰返し抽出した(画分4)。次いで、残渣の一部を40℃で6日間インキュベーションした後、

で繰返し抽出し、抽出液(画分5)を得た。残渣に

を加えて希釈した(画分6)。各画分の放射能を

で分析した。収穫時(DC92)の茎葉部の試料については、

残留物の放射能を測定するため、図2に示したように抽出後の残渣を更に抽出処理した。抽出残渣に

を加え、処理後、約18時間振盪抽出し、抽出液(画分7)を得た。これに

を加えて分配し、抽出液(画分8)を分取した。更に残渣に

を加えて抽出した(画分9)。また、残渣を40℃で一夜インキュベーションし、

で抽出(画分10)した。その残渣を40℃で6日間インキュベーションし、

で抽出して、抽出液(画分11)と残渣(画分12)に分け、各画分の放射能を

で分析した。放射能の分析；試料は

に加えて、試料は

で処理して発生する

を捕集した吸収剤を

に加えて、

により測定した。

放射能成分の同定；茎葉部及び穀粒の各抽出液(画分1)の一部を窒素下40℃で乾固し、

に再溶解して

分析に供した。DC92の茎葉部及び穀粒の抽出液(画分3~5)は1つにまとめ、減圧下で濃縮し、濃縮液を遠心分離して得られた上清を窒素下で乾固し、

に溶解して

及び

で分析した。茎葉部試料の

残渣に由来する抽出液(画分8~11)を1つにまとめて減圧下で濃縮し、上記同様に処理して得られた乾固物を

に溶解し、

及び

分析に供した。

では試料液と

を

に供し、展開したプレート

の放射能を

で放射能を検出、定量した。

では逆相

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

カラムを用い、同様に試料と を同時に注入し、溶出される放射能を放射能検出器により検出、定量した。

結 果：

総残留放射能 (TRR) の分布；試料採取後の根部、茎葉部及び穀粒を燃焼処理して測定した TRR を基に、その後の抽出液及び残渣中の TRR に対する放射能の割合 (%TRR) を求めた。表 1 に各試料採取時における放射能の分布を示す。

表 1 各試料採取時における根部、茎葉部及び穀粒における残留放射能の分布

試料採取時	項 目	根 部		茎葉部		穀 粒	
		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
DC 49 +1 日	TRR	100	0.03	100	4.50	100	3.18
	残 渣	49.2	0.02	88.3	3.98	84.4	2.69
		28.2	0.01	12.5	0.56	17.3	0.55
	合 計	77.3	0.03	101	4.54	102	3.24
DC 69 +1 日	TRR	100	0.23	100	9.42	100	7.50
	残 渣	26.5	0.06	64.1	6.04	80.1	6.01
		88.6	0.20	26.8	2.52	17.3	1.30
	合 計	115	0.26	90.9	8.56	97.4	7.31
DC 83	TRR	100	0.63	100	13.31	100	10.26
	残 渣	11.7	0.07	69.6	9.26	71.6	7.35
		115	0.72	46.7	6.21	39.5	4.06
	合 計	127	0.79	116	15.47	111	11.41
DC 92 (収穫時)	TRR	100	0.74	100	15.05	100	23.92
	残 渣	10.7	0.08	48.8	7.34	58.3	13.95
		54.5	0.40	50.0	7.52	33.7	8.07
	合 計	65.2	0.48	98.7	14.86	92.0	22.02

* 画分 1 (図 1 参照)

一般に 抽出液と残渣における放射能の和が TRR に一致する傾向が認められた。根部において TRR と抽出液と残渣の和が一致しなかった原因は、放射能が少量で試料全体に分散せず、TRR が過大/過小評価されたためと考えられた。初回試料採取時 (DC49+1 日) の根部、茎葉部及び穀粒中の TRR はそれぞれ、0.03、4.50 及び 3.18 ppm、第 2 回試料採取時 (DC69+1 日) では、それぞれ 0.23、9.42 及び 7.50 ppm、第 3 回試料採取時 (DC83) では、それぞれ 0.63、13.31 及び 10.26 ppm、また、第 4 回試料採取時 (DC92、収穫時) では、それぞれ 0.74、15.05 及び 23.92 ppm であった。採取時期を追うにつれ、茎葉部及び穀粒中の放射能濃度が増加したが、これは乾燥により植物の重量が減少したためと考えられた。

各試料採取時の 抽出液における根部、茎葉部及び穀粒中の TRR に対する放射能は、DC49+1 日では、49.2、88.3 及び 84.4%、DC69+1 日では、26.5、64.1 及び 80.1%、DC83 では、それぞれ 11.7、69.6 及び 71.6% と茎葉部及び穀粒で大部分の放射能が抽出された。DC92 では、それぞれ 10.7、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

48.8 及び 58.3%の放射能が検出された。

DC92 では茎葉部及び穀粒の抽出後の残渣を、図 1 及び 2 のフローチャートに従って処理抽出した。得られた各画分における放射能の分布を表 2 に示す。

表 2 DC92 採取各植物部位の処理による放射能の分布

	根 部		茎葉部		穀 粒	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
TRR	100	0.74	100	15.05	100	23.92
	10.7	0.08	48.8	7.34	58.3	13.95
	—	—	29.4	4.42	25.8	6.16
	—	—	6.6	1.00	5.6	1.30
	—	—	1.5	0.20	2.1	0.50
	—	—	14.1	2.10	12.9	3.10
	—	—	6.0	0.90	4.0	1.00
小 計 (画分 3~6)	—	—	28.2	4.20	24.6	5.90
抽出液 (画分 7)	—	—	9.8	1.50	—	—
	—	—	0.2	0.00	—	—
	—	—	2.4	0.40	—	—
	—	—	2.9	0.40	—	—
	—	—	1.6	0.20	—	—
	—	—	2.4	0.40	—	—
小 計 (画分 8~12)	—	—	9.5	1.40	—	—
残 渣	54.5	0.40	9.6	1.40	7.9	1.90
合 計	65.2	0.48	97.4	14.60	92.0	22.01

表中画分 1~6 は図 1 を、画分 7~12 は図 2 を参照。

— : 該当せず。

茎葉部及び穀粒の抽出後の残渣は茎葉部及び穀粒でそれぞれ 2.39 及び 1.90 ppm であった。茎葉部の残渣は 10%TRR (1.50 ppm) を超えたため、更に分析を行い、穀粒の残渣は 10%TRR (2.39 ppm) を下回ったことから、これ以上の分析は行わなかった。抽出後の DC92 の茎葉部試料で更に抽出 (画分 7) したところ、1.50 ppm の放射能が抽出された。抱合体の加水分解を目的に残渣を 40℃にて数日間静置後に抽出を繰り返した結果、抽出液に含まれる放射能の大部分が (画分 9~11) に分配された (1.0 ppm)。

抽出液に存在する大部分の放射能が (画分 3~5) に分配され (画分 3~5)、それぞれ 22.2 及び 20.6%であった。DC92 の茎葉部及び穀粒では、それぞれ 78.2 及び 84.1%TRR の放射能が抽出された。

抽出後の残渣は茎葉部及び穀粒でそれぞれ 2.39 及び 1.90 ppm であった。茎葉部の残渣は 10%TRR (1.50 ppm) を超えたため、更に分析を行い、穀粒の残渣は 10%TRR (2.39 ppm) を下回ったことから、これ以上の分析は行わなかった。抽出後の DC92 の茎葉部試料で更に抽出 (画分 7) したところ、1.50 ppm の放射能が抽出された。抱合体の加水分解を目的に残渣を 40℃にて数日間静置後に抽出を繰り返した結果、抽出液に含まれる放射能の大部分が (画分 9~11) に分配された (1.0 ppm)。

抽出液に含まれる放射能の大部分が (画分 9~11) に分配された (1.0 ppm)。

代 謝 ; DC49+1 日、DC69+1 日及び DC83 の茎葉部及び穀粒に由来する抽出液につ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

いて 分析により得られたホルペット及びその代謝物の残留量を表 3 に示す。

また、DC92 の茎葉部及び穀粒に由来する抽出液並びに茎葉部の 残留物について 及び 分析により得られたホルペット及びその代謝物の残留量を表 4 に示す。

表 3 DC49+1 日、DC69+1 日及び DC83 の茎葉部及び穀粒におけるホルペット及びその代謝物の分布

同定化合物	DC49+1 日				DC69+1 日				DC83			
	茎葉部		穀粒		茎葉部		穀粒		茎葉部		穀粒	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
ホルペット [A]	76.9	3.46	57.1	1.82	50.2	4.73	63.4	4.76	51.9	6.91	46.2	4.74

ND：未検出。－：該当せず。

表 3 に示すように、DC49+1 日の茎葉部及び穀粒にはホルペット [A] 及び が存在し、茎葉部ではそれぞれ 3.46 及び ppm、穀粒中ではそれぞれ 1.82 及び ppm であった。DC69+1 日においてもホルペット [A] 及び が存在し、茎葉部ではそれぞれ 4.73 及び ppm、穀粒ではそれぞれ 4.76 及び ppm であった。DC83 の茎葉部では、ホルペット [A]、 及び がそれぞれ 6.91、 及び ppm 検出された。穀粒では、それぞれ 4.74、 及び ppm 認められ、その他に が ppm 検出された。

表 4 DC92 の茎葉部及び穀粒におけるホルペット及びその代謝物の分布

同定化合物	HPLC				TLC				平均値			
	茎葉部		穀粒		茎葉部		穀粒		茎葉部		穀粒	
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
ホルペット [A]	31.2	4.69	38.9	9.32	23.1	3.48	32.6	7.79	27.2	4.09	35.8	8.56
残留物												

ND：未検出。*：TLC 分析の結果を示す。

DC92 の茎葉部及び穀粒の分析では、ホルペット [A]、 及び が確認され、 及び による測定の前平均値から、茎葉部では、それぞれ 4.09、 及び ppm、穀粒では、それぞれ 8.56、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

及び ppm が認められた。DC92 では DC83 と比較し、
及び の量が増加していることから、継続的な代謝が示唆された。
DC92 の茎葉部 残留物中には、 分解後の 及び 分析によ
り の存在 (ppm) が確認され、 の
(ppm) も のみで確認された。従って、茎葉部結合性残留物中の放
射性物質は主に と考えられた。
ホルペットの小麦における推定代謝経路を図 3 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図 1 小麦試料の処理及び抽出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図 2 小麦茎葉部の結合性残留物の処理及び抽出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図3 ホルペットの冬小麦における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

6) ホルペットのキャベツにおける代謝試験 (資料 No. MP-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

供試標識化合物： ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N-（トリクロロメチルチオ）フタルイミド（ ）

比放射活性；

放射化学的純度；

供試植物： キャベツ（品種：Stonehead F1）

栽培条件；砂壤土を含む約 70×50×30 cm のプラスチック製コンテナに各 6 株の苗を移植し、初回散布前に間引いて 1 コンテナ当たり 3 株とした。試験には 7 個のコンテナを用い、うち 6 個は検体処理区とし、1 個は無処理対照区とした。栽培は屋外のポリトンネルを設置したフェンス付きの囲い内で行った。定期的に灌水し、必要に応じて農薬及び肥料を処理した。

試験方法：

散布液の調製；各散布時の設定量を葉菜類への散布量 2667 g ai/ha とした。 標識ホルペット 14.94 mg 及び非標識ホルペット 1161.65 mg を混合し、ジクロロメタン-ヘキサン（2：1 v/v）の混液に溶解して 2 等分し、それぞれを窒素下で蒸発乾固後、<-15℃で保存した。

各散布時に上記の一方の乾固物をアセトン（14 mL）に溶解し、これを蒸留水に懸濁した 80% 顆粒水和剤の白試料（約 147 mg）に加えて散布液を調製した。

実際の散布量は初回及び 2 回の散布でそれぞれ 2759 及び 2512 g ai/ha であった。

散布方法；処理区を 2 コンテナずつ 3 区に分けた。各区 2 個のコンテナを散布用のスリットを備えた透明ポリエチレンシートで覆った木枠内に設置し、手動のスプレーガンを用いて散布した。木枠は散布 2~4 時間後に除去した。散布は、BBCH の生育ステージ 45 及び 47 に約 2 週間の間隔を設けて 2 回実施し、第 2 回散布は収穫の 14 日前とした。対照区には散布せず、汚染を防ぐため処理区から適切な距離を離れた。

試料採取；第 2 回散布直後、第 2 回散布 7 日後（中間）及び収穫時に、それぞれ処理区の 2 コンテナから 6 株及び対照区の 1 コンテナから 1 株を採取した。根部に付着

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

した土壌は手で取除き、茎葉部と根部に分け、それぞれの重量を測定した。第2回散布7日後(中間)試料については茎葉部と根部に分け、洗浄し、代謝物同定の検討まで冷凍保存した。

試料の処理及び抽出; 茎葉部及び根部の各試料(中間試料を除く)の処理、抽出操作の概要を図1及び2に示す。

キャベツの茎葉部は、まず で繰返し洗浄し、
洗液の一部を放射能及び の各分析に供した。洗浄後の茎葉部は
存在下でホモジナイズし、総残留放射能(TRR)算出のためホモジ
ネートの放射能を で測定した。ホモジネートを
で反復振盪抽出し、遠心分離して上清を集めた。抽
出残渣は風乾し、 で放射能を測定した。収穫時の茎葉部の抽出液は、
減圧下で を留去し、 で分配して、 画分
と 画分とに分けた。それぞれを で分析し、後者の画分は更
に40℃で4日間反応して で分析した。

キャベツの根部は、水洗後 存在下でホモジナイズし、総残留放射
能(TRR)算出のためホモジネートの放射能を で測定した。茎葉部
試料に準じて で反復振盪抽出し、遠心分離して上清
を集めた。収穫時の根部の 抽出後の残渣を、順次
による 抽出()、 による 抽出(約24時間)、
による 抽出(約24時間)、 による 抽出(約24
時間)、

による 反応I(37℃、20時間)及び
による 反応II(37℃、20時間)、
による抽出、 による 抽出(1時間)、及び による
抽出(1時間)の各処理操作を連続して実施した。 抽出物は更に
で 相及び 相に分配抽出した。各処理工程の試料につい
て放射能を で、成分の同定については で分析した。また抽出
残渣の放射能は乾燥後、 で分析した。

また、収穫時の根部抽出液は、茎葉部と同様に減圧下で を留去
し、 で分配して、 画分と 画分とに分けた。それ
ぞれを で分析し、後者の画分は更に40℃で4日間反応して
で分析した。

放射能の分析; 試料は に加えて、 試料は で
処理して発生する を捕集した吸収剤を に加え
て、 により測定した。

放射能成分の同定; 茎葉部及び根部の各洗浄液/抽出液試料はそのまま/又は濃縮し、適宜
に再溶解して 分析に供した。 では順相及

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

び逆相の担体を用い、試験液と を に付した。展開したプレートは でクロマトグラム化した。では を用い、TLC 同様に試料と を同時に注入し、溶出される放射能を放射能及び により同定、定量した。

結 果：

放射能の分布；第 2 回散布直後及び収穫時におけるキャベツの茎葉部及び根部における TRR 及び処理、抽出に伴う各試料への放射能の分布を表 1 に示す。

表 1 キャベツ茎葉部及び根部における放射能の分布

試料採取時期	茎葉部				根 部			
	第 2 回散布後		収穫時		第 2 回散布後		収穫時	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
TRR	42.753	100.0	7.404	100.0	1.204	100.0	2.379	100.0
表面洗浄液	30.017	70.2	1.225	16.5	—	—	—	—
ホモジネート	12.736	29.8	6.179	83.5	1.204	100.0	2.379	100.0
	12.379	29.0	5.932	80.2	0.814	67.6	1.230	51.7
	—	—	3.524	47.6	—	—	0.245	10.3
	—	—	2.408	32.6	—	—	0.985	41.4
	0.357	0.8	0.247	3.3	0.390	32.4	1.149	48.3
	—	—	—	—	—	—	0.117**	4.9
	—	—	—	—	—	—	0.105	4.4
	—	—	—	—	—	—	0.533***	22.4
	—	—	—	—	—	—	0.196	8.3
	—	—	—	—	—	—	0.045	1.9
	—	—	—	—	—	—	nd	nd
	—	—	—	—	—	—	0.017	0.7
	—	—	—	—	—	—	0.075	3.1
	—	—	—	—	—	—	0.046	1.9
	—	—	—	—	—	—	0.014	0.6

ppm：μg 当量ホルペット/g、

—：該当せず。

**：pH 1 で 1.8%TRR (0.04 ppm) が、pH 13 で 3.1%TRR (0.07 ppm) が 相に分配。

***：

茎葉部の TRR は洗浄液及びホモジネート試料の放射能を合計して算出した。第 2 回散布直後の茎葉部では、表面洗浄液に 30.02 ppm (TRR の 70.2%) が認められ、ホモジネートに 12.74 ppm (29.8%) が認められた。このホモジネートのうち、12.38 ppm (29.0%) が で抽出され、残渣に残留した放射能は僅か 0.36 ppm (0.8%) であった。収穫時の茎葉部では、表面洗浄液に 1.23 ppm (TRR の 16.5%)、また、茎葉部ホモジネートに 6.18 ppm (TRR の 83.5%) が認められた。ホモジネート中の大部分の放射能 (5.93 ppm、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

80.2%) が で抽出され、 の放射能 (0.25 ppm、3.3%) が残渣に認められた。 抽出液を濃縮して溶媒を留去して得られた 試料を で分配したところ、3.52 ppm (TRR の 47.6%) が 画分に、2.41 ppm (32.6%) が水 画分に認められた。

第 2 回散布直後の根部のホモジネートには 1.20 ppm (TRR) の放射能が認められ、0.81 ppm (TRR の 67.6%) が で抽出され、0.39 ppm (32.4%) が残渣に認められた。収穫時の根部には、2.38 ppm (TRR) の放射能が認められ、第 2 回散布直後に比して増加した。TRR の 51.7% (1.23 ppm) が で抽出され、48.3% (1.15 ppm) が残渣に認められた。また、 抽出液を濃縮後、 による分配では、TRR の 10.3% (0.25 ppm) が 画分に、41.4% (0.99 ppm) が 画分に認められた。根部の 抽出残渣を更に特徴付けしたところ、 抽出液中に TRR の 4.9% (0.12 ppm)、抽出液中に 4.4% (0.11 ppm)、 抽出液中に 22.4% (0.53 ppm)、抽出液中に 8.3% (0.20 ppm)、 中に 1.9% (0.05 ppm)、抽出液中に 0.7% (0.02 ppm)、 抽出物中に 3.1% (0.08 ppm)、2 抽出物中に 1.9% (0.05 ppm) が認められ、TRR の 0.6% (0.01 ppm) が残渣として残った。なお、 中では検出限界未満の放射能であった。

代 謝； キャベツの茎葉部を処理して得られた洗浄液及び各抽出物中のホルベットに由来する代謝物を により分析した結果を表 2 及び 3 に示す。

表 2 第 2 回散布直後のキャベツ茎葉部における放射性成分の割合

放射性成分	洗浄液		抽出液		合 計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
ホルベット [A]	30.02	70.2	8.54	20.0	38.56	90.2
合 計	30.02	70.2	12.68	29.8	42.70	100.0

放射性成分： により分離された成分。
ppm：μg 当量ホルベット/g、nd：検出限界未満、 na：該当せず。

合計欄の数値は、数字を丸めているため表 1 の数値とは若干異なる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

第 2 回散布直後の茎葉部表面洗浄液に認められた唯一の放射性化合物はホル
ペット [A] (30.02 ppm、70.2%TRR) であった。抽出
出液ではホルペット [A] が最も多く (8.54 ppm、20.0%) 認められ、以下

であった。また、
認められた (表 2)。

収穫時の茎葉部表面洗浄液中にはホルペット [A] が最も多く (1.22 ppm、
16.4%)、

抽出液の
分配による画分では、ホルペット [A] (2.74 ppm、36.9%)、

が認められ、その他
が TRR の範囲で認められた。画分ではフ

及びホルペット [A] (0.03 ppm、0.4%) が認めら
れ、その他
の範囲で認められた。画分を 40℃で 4 日間反応した場合には、

がこの反応
で
に変換されたことから、画分中における
の存在が示唆された。その他
が
の範囲で認められた (表

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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 3 収穫時のキャベツ茎葉部における放射性成分の割合

放射性成分	表面洗浄液		抽出液 (による分配)						合 計	
			画分		画分					
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	(無処理)		(40℃、4日)*		ppm	%TRR
ホルペット [A]	1.216	16.4	2.735	36.9	0.029	0.4	nd	nd	3.980	53.7
合 計	1.224	16.5	3.546	47.8	2.658	35.8	2.655	35.9	7.428	100.1

放射性成分： により分離された成分、*：合計値に含めない。
 ppm：μg 当量ホルペット/g、nd：検出限界未満、ns：該当せず。
 その他：クロマトグラム上、明確なピークはみられないが0以上である部分の合計。
 合計欄の数値は、数字を丸めているため表1の数値とは若干異なる。

第 2 回散布直後及び収穫時の根部ホモジネートを処理して得られた抽出液に由来するホルペット [A] 及び をにより分析した結果を表 4 に示す。

第 2 回散布直後の 抽出物には、ホルペット [A] が 0.39 ppm (32.6%TRR)、 が認められた。

収穫時の根部からは、 、ホルペット [A] が 0.28 ppm (11.7%)、 が認められ、その他 の範囲で認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表4 キャベツ根部の 抽出液の放射性成分の割合

放射性成分	第2回散布後		収穫時					
	抽出液		抽出液（ による分配）					
			画分		画分		合計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
ホルペット [A]	0.39	32.6	0.19	8.1	0.09	3.6	0.28	11.7
合計	0.81	67.5	0.25	10.3	0.99	41.4	1.23	51.7

放射性成分：HPLCにより分離された成分。

ppm：μg 当量ホルペット/g、nd：検出限界未満、－：該当せず。

その他：クロマトグラム上、明確なピークはみられないが0以上である部分の合計。

合計欄の数値は、数字を丸めているため表1の数値とは若干異なる。

画分に認められ、ホルペット [A]、
 は主に 画分で認められ
 た。収穫時のホルペット [A]、 は第2
 回散布後に比し減少したが、 は増加した。

以上のことから、ホルペット [A] のキャベツにおける推定代謝経路は
 が生成し、更に
 へと代謝されと考えられた。
 が形成される。

推定代謝経路を図3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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図 1 茎葉部の処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図2 根部の処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図3 キャベツにおけるホルペットの推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(3) 土壌中運命に関する試験

1) ホルペットの好氣的土壌中運命試験 (資料 No. MS-1)

試験機関:

報告書作成年: 1976 年

供試標識化合物: ホルペット (標識ホルペット)

構造式:

*: 標識位置

化学名; N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性;

放射化学的純度;

申請者註;

供試土壌: 砂壤土、採取地; 米国カリフォルニア州 Oakley

土 性 (%)			有機質 (%)	pH
砂 質	シルト質	粘土質		
67	17	16	1.78	6.8

試験方法:

土壌試料の調製; 土壌 25 g (乾燥重量 22.5 g) にアセトンに溶解した 標識ホルペット溶液 200 μ L (ホルペット 133 μ g) を添加し、初期濃度 5.92 ppm (乾燥重量に基づく) の土壌試料を調製した。

及び 放射能の捕集・分析 (気体トラップ装置); 調製した土壌試料を三角フラスコに入れ、水で飽和した空気を通気し、出口からの空気を水分除去用の乾燥剤、 及び 捕集用の吸収剤 ()、最後に 除去の確認のための に通した。試験は 1 年間とし、この間に適宜吸収剤を交換した。当初、 以外の 放射能を捕集するために のみの吸着剤を の前方に設置したが、この 吸着剤には が検出されなかったことから、当初 2、3 試料について実施した後にこの方法を中止した。1 年の終了時には次の代謝物の分離用試料と同様に、土壌抽出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

土壌中代謝物の分析(Mason 容器) ; Mason 容器に、調製した土壌試料 25 g(乾燥重量 22.5 g) を入れ、ポリエチレンフィルムで被覆して室温に維持した。必要に応じて脱イオン水を加えて土壌水分を補給した。本試験容器は 2 反復とし、所定の時期に土壌を採取して土壌に残留する放射能及び代謝分解物の分析に用いた。試料採取、処理及び分析方法 ; 吸収剤については試験開始後に当初は週 2 回前後、また発生量の減少後は、週 1 回交換して放射能を
で計測した。

Mason 容器の土壌試料は、試験開始時 (0)、7、14、34、59、118、181、240 及び 365 日後に一部を取り出し、 で総残留放射能を で測定し、残りの土壌を した後、 、次いで で抽出した。各抽出液に含まれる放射能は で測定し、 抽出液は濃縮後、 に供して代謝分解物を分析した。 との により親化合物及び代謝物を同定した。また、抽出後の土壌に残留した 放射能は 水溶液で抽出し、抽出物を 化して 及び の各画分に分画した。更に 画分を 抽出した。

抽出方法を図 1 に示す。

結 果 :

放射能の分布 ; Mason 容器及び気体トラップ装置における土壌試料及び揮発性成分の放射能の分布及び物質収支の経時変化を表 1 に示す。

表 1 好氣的土壌条件における放射能の分布及び物質収支 単位 : 処理量%

処理後 日 数		抽出物	抽出物	残渣	合 計
0		97.5	0.28	1.35	99.1
7		13.7	0.78	5.34	79.1
14		3.12	0.72	5.43	89.2
34		1.83	0.72	4.58	98.5
59		0.84	0.26	3.34	97.8
118		0.68	0.19	3.27	100.0
181		0.45	0.16	2.78	100.2
240		0.45	0.51	3.36	101.7
365		0.39	0.14	1.22	99.6
		0.42*	0.11*	1.42*	99.8*

値は 2 反復の平均値。

* 気体トラップ装置を用いた試料から得られたデータ (1 反復)。

放射能の 成分への変化は迅速であり、当初設置した 吸収剤に 代謝物は検出されなかったため、 吸着剤に吸着された が唯一の 代謝物であった。 処理 7 日後には処理量の が として発生し、34 日後には処理量の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

が、1年後には が として遊離した。
 0日には殆どの放射能が によって抽出されたが、抽出可能な放射能は59日までに処理量の1%未満へと速やかに減少した。抽出液中の放射能は微量で、7日に約0.8%に増加した後、365日後に約0.1%まで減少した。結合残渣も、7日及び14日に約5%（申請者註：
 ）に増加したが、365日には約1%まで減少した。

抽出物中の代謝分解物； 抽出物について の展開溶媒系を組み合わせ
 実施した 系ペアの により同定され
 た主要各成分の割合を表2に示す。

表2 抽出物の による分析結果 単位：処理量%

	処理後時間（日）								
	0	7	14	34	59	118	181	240	365
ホルペット [A]	96.8	9.9	1.58	1.35	0.40	0.41	0.30	0.32	0.28

溶媒系：①a () -b ()、②a () -c ()

ホルペット [A] 及び

2 溶媒系ペアで が確認されたが、その最大値は、2 溶媒系ペア②の原点で認められた処理量の であった。
 ND：オートラジオグラム上でスポットが確認されないことを示す。

代謝物として が 同定された。これらの 種類の代謝物は34日以内にピークに達し、59日までに減少した。その他の微量スポットの多くは、59日までに完全に消失しているか、大幅に減少していた。

及び で抽出後の土壌残渣から に抽出され、 により沈殿した と上清に残る の各画分における放射能を表3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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表3 結合残渣(土壌残渣)中の 及び 単位：処理量%

	処理後時間(日)								
	0	7	14	34	59	118	181	240	365
抽出後残渣	0.09	0.55	0.76	1.13	0.74	0.58	0.48	0.59	0.19

土壌残渣中の放射能の大部分が により可溶化され、最大で処理量の約0.8%(34日後)が 画分に認められた。抽出放射能の大部分は上清の 画分に検出され、14日後に最大の約4%に達した後は若干減少する傾向を示した。更に、この上清を 抽出したところ、当初は 相に多く分配されたが、次第に減少した。365日後には処理量の約0.4%が 相に、0.6%が 相に検出された。 抽出による放射能を表4に示す。

表4 抽出の上清(画分)の 抽出における分配

単位：処理量%

	処理後時間(日)								
	0	7	14	34	59	118	181	240	365

ホルペットの好氣的土壌における推定分解経路を図2に示す。

申請者註：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 土壌試料の抽出処理の概略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図2 好氣的土壤中における推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2) ホルペットの好氣的土壤中運命試験 (資料 No. MS-2)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

供試標識化合物： ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N- (トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

申請者註；

供試土壌： 砂壤土、採取地；米国 Georgia 州の農地

土 性 (%)			有機質 (%)	陽イオン交換容量 (meq/100 g)	pH
砂 質	シルト質	粘土質			
64	19	17	2.0	3.9	5.4

試験には風乾後、篩過 (2 mm) した土壌を用いた。

試験方法：

検体濃度；ホルペットの圃場処理量は通常 1.5~3.0 lb ai/エーカーである。これを 1 lb ai/エーカーとし、取り込み土壌を 1 cm とすると想定濃度は 7.73 ppm となる。これを基に土壌設定濃度を 10 µg/g とした。

予備試験；

本試験；

土壌試料の調製；圃場容水量の約 50%の水分を含有する土壌 (約 450 g) を代謝容器に入れ、25 ± 1℃で 5 日間、好氣的にブレインキュベートした後、土壌の一部に

標識ホルペットのアセトン原液 (159 µg/mL ; 約 22 mL) を添加した。窒素気流で溶媒を除去後、加湿土壌 (343 g) を加えて 5 時間以上転倒混和し、検体を均一に分散させた。次に土壌試料の各 10 g (乾燥重量) ずつを培養試験管に測り取り、脱イオン水を圃場容水量の 75~80%まで加えて代謝容器に収容した。代謝容器には、 を除去した水飽和空気を導入し、排気口には一連の捕集液を含む各トラップ (

) を接続して揮発性放射性物質を捕集した。別の試験管に標識ホルペット無添加の試験土壌を調製して対照とした。試験は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、暗所条件で実施した。土壌の微生物活性は、処理 3 日後、5 及び 12 ヶ月後に細菌及び真菌数を測定した。

試料採取及び処理 ; 処理 0、1、2、3、4、5、7 及び 14 日後並びに 1、2、3、4、6、9 及び 12 ヶ月後に各 2 反復の試料を採取した。各採取試料のうち 1 試料は、採取当日に分析し、残りの 1 試料は凍結保存した。土壌試料を

抽出した。抽出物の放射能は

で測定した。土壌試料から更に残留放射能を抽出するため、処理 0、1、2、3、4、5、7 日後及び 1 ヶ月後の各土壌残渣試料については、その後、 で抽出したが、有意な量の放射能が回収されず、2 ヶ月以降の試料については中止した。なお、14 日後の土壌試料は、

溶媒を に蒸発させた乾燥土壌を で 抽出し、抽出液の放射能を 分析した。続いて で抽出を行ったが、後にホルペットは

中で安定でないことが判明したため、保存試料を再分析した。更に 残渣中の放射能を抽出するために、まず、土壌試料を乾燥後、を加え 還流した。遠心分離して抽出液を 分析した。次に 抽出後の土壌試料に を加えて振盪抽出した。抽出液に を加えて pH を とし、遠心分離により と に分画した。

分 析 ; 各トラップの捕集液及び各抽出液の放射能は、 により測定した。また、土壌を含む 試料は して、 を捕集液に吸収させ、分析した。

ホルペット及びその代謝分解物の検出、同定、定量には

及び を用いた。 分析には を使用し、 と共に 後、 作成し、 で に対応するスポットを確認し、該当部位の担体に含まれる放射能を抽出して 分析した。一部の土壌試料については でホルペット及び代謝分解物を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

土壤微生物；土壤試料の総微生物数及び真菌数を処理 3 日後並びに 5 及び 12 ヶ月後にプレート法で測定した結果を表 1 に示す。

表 1 好氣的条件下における総微生物数及び真菌数

経過日数	微生物活性	
	総微生物数 (コロニー数/g)	真菌数 (コロニー数/g)
3 日後	拡散状	5.0×10^3
5 ヶ月後	1.0×10^7	4.2×10^4
12 ヶ月後	7.1×10^6	1.0×10^3

土壤試料は、試験期間中、微生物的に活性であることが示された。

放射能の分布及び物質収支；試験期間中における放射能の分布を表 2 に示す。

表 2 放射能の分布及び物質収支

単位：処理量%^a

経過日数	物質				抽出性放射能					非抽出性残渣	総回収放射能 ^b	
				合計								合計
0 日					95.6	1.2	2.5	0.6	0.0	99.9	0.1	100.0
1 日					94.5	1.7	5.5	1.4	0.0	103.1	0.1	103.2
2 日					95.3	1.9	7.5	2.1	0.0	106.8	0.3	107.0
3 日					80.3	NA	11.2	2.6	0.2	94.3	0.5	95.1
4 日					73.8	NA	13.5	3.3	0.1	90.8	0.4	91.7
5 日					79.8	2.3	13.6	4.2	0.2	100.1	1.1	103.6
7 日					68.2	1.7	12.6	5.2	0.6	88.3	2.6	96.6
14 日					15.7	NA	14.0	14.6	0.6	45.0	9.2	89.7
1 ヶ月					10.8	1.4	11.1	10.6	1.5	35.3	7.8	91.6
2 ヶ月					7.2	NA	12.3	10.2	1.2	30.9	5.0	92.3
3 ヶ月					5.9	NA	9.4	8.5	1.5	25.2	5.9	91.4
4 ヶ月					5.2	NA	8.2	6.1	1.8	21.3	7.6	91.5
6 ヶ月					4.2	NA	6.9	5.9	2.3	19.2	6.5	91.1
9 ヶ月					3.6	NA	6.7	6.9	1.6	18.8	5.2	92.0
12 ヶ月					3.3	NA	6.0	5.9	1.0	16.1	5.0	91.1

a 初期処理量 = 11.87 µg ホルベット当量/g 土壤

b 平均回収放射能 = 95.2%

NA：抽出を行なわなかった (3 及び 4 日試料は、容器破損のため再分析し、その際、抽出を行なわなかった)。

物質は、処理 12 ヶ月後において %であり、放射能の大部分 (%)が に捕集され、 によって沈殿したことから であることが確認された。 で抽出された放射能は、試験期間中に処理 0 日後の %から処理 12 ヶ月後の %まで一貫して減少した。 で更に抽出した場合には、添加量の %

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

しか抽出されなかった（2 ヶ月以降の試料については本操作を中止した）。

による 抽出では、処理0日後の試料から処理量の2.5%が回収され、14日後の14.0%をピークに以後減少し、1年後には6.0%であった。

による抽出では処理14日後に15.2%まで増加し、以後終了時の6.9%まで漸減する傾向にあった。

画分は、処理0日後の0.6%から処理14日後には最大値の14.6%まで増加したが、 分画は0~2.3%の範囲であり、処理6ヵ月後で最大値を示した。非抽出性の放射能は、処理0日後の0.1%から最大値を示した14日後の9.2%の範囲で、12ヵ月後は5.0%を示した。以上から求められた放射能の物質収支は、平均で95.2%（89.7~107.0%）であった。

代謝分解物の同定、定量；土壌試料から抽出された各抽出物を 分析により得られた結果を表3に示す。

表3 抽出性放射能の による分析^a 単位：処理量%

経過 日数	総抽出 性放射 能 ^b									合計*
		ホルペット [A]								
0日	99.9	86.9								99.2
1日	103.1	79.6								101.8
2日	106.8	67.5								104.6
3日	94.3	35.5								91.7
4日	90.8	22.2								86.8
5日	100.1	20.8								96.2
7日	88.3	16.2								82.3
14日	45.0	10.0								29.7
1ヵ月	35.3	6.8								23.1
2ヵ月	30.9	4.9								19.2
3ヵ月	25.2	4.1								15.3
4ヵ月	21.3	3.3								13.0
6ヵ月	19.2	2.8								10.9
9ヵ月	18.8	2.1								11.0 ^c
12ヵ月	16.1	2.0								9.5

^a 及び 抽出物の分析結果の総和。

^b 抽出物の放射能を含む。

^c を含む（ は処理9ヵ月後のみにデータが得られ、処理量の0.1%であった）。

-：該当なし。

分析により、親化合物及び代謝分解物が同定され、抽出性のホルペットと同定された総放射能は処理0日後の86.9%から処理12ヵ月後の2.0%まで減少した。主要分解物は で、0日後では %であったが5日後には最大値の %を示し、1年後には %まで減少した。また、 は5日後に最大値の %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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

本試験におけるホルペットの減衰は、処理開始後 14 日間の一次分解に基づき半減期 4.3 日（相関係数：0.899）と推定された。処理 14 日から 1 年後までは分解が緩やかとなり、半減期は 164.5 日（相関係数：0.917）と算出された。処理開始から 1 年間を通しての半減期は 75.4 日（相関係数：0.784）であった。

以上より、ホルペットは好氣的土壌条件下では速やかに分解され、土壌にまで分解される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

3) ホルペットの嫌氣的土壤中運命試験 (資料 No. MS-3)

試験機関：

報告書作成年：1980年

供試標識化合物：ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ)フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

申請者註；

供試土壌： 壤質砂土、採取地； 米国カリフォルニア州 Oakley

土 性 (%)			有機質 (%)	陽イオン交換容量 (meq/100 g)	pH
砂 質	シルト質	粘土質			
84.5	6.2	9.3	1.4	7.5	7.3

試験方法：

土壌試料の調製；

及び 放射能の捕集・分析 (気体トラップ装置)；三角フラスコ中で加湿土壌 (乾燥重量 24.2 g、水分 14%) に 標識ホルペットのアセトン溶液 43 μ L を添加して 5.33 ppm に調製した。土壌試料容器の入り口に、水で飽和した圧搾窒素気流を送り、出口を水分除去用の乾燥剤、及び 捕集用の吸収剤 () に連結した。吸収剤は週 1 回交換した。試験の最初の 3 ヶ月間は吸収剤の前方に、 の を捕集するための を連結した。本装置は発生気体の分析に用い、試験は 25 $^{\circ}$ C で 1 年間とした。

代謝物の分析 (Mason 容器)；Mason 容器に土壌試料 (乾燥重量 24.2 g) を分取し、水 100 mL を添加し、窒素を 2 分間通気した後、容器を密閉して 2 ヶ月間静置して嫌気状態とした。各試料に 標識ホルペットの 溶液 (129 μ g/75 μ L) を添加して 5.33 ppm に調製し、再度窒素を通気して密封した。容器は 25 $^{\circ}$ 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

の恒温器内で暗所に静置した。本試験容器は 2 反復とし、所定の時期に土壌を採取して土壌に残留する放射能及び代謝分解物の分析に用いた。

試料採取及び処理； 吸収剤については 1 週間ごとに交換して放射能を で測定した。Mason 容器の土壌試料は、試験開始時 (0)、7、14、31、49、77、112、187、256 及び 365 日後に取り出し、相の上清をデカントで回収し、遠心分離して濾過した。濾過した上清を に調整後、 を加えて飽和させ、 で反復抽出した。抽出液の放射能は で測定した。また、土壌を とした後、 、次いで で抽出した。各抽出液に含まれる放射能は で測定し、抽出液は濃縮後、 に供して代謝分解物を分析した。 との により親化合物及び代謝物を同定した。主要代謝物 () は、一部の 相上清試料の 抽出液物を濃縮乾固後、 溶液中で と反応させて することにより確認した。反応物を で展開後、主要バンドから得られた抽出物を で分析した。また、抽出後の土壌に残留した放射能は、 により測定した。

結 果：

放射能の分布；Mason 容器及び気体トラップ装置から得られた放射能の分布及び物質収支の経時変化を表 1 に示す。

表 1 嫌氣的土壌条件における放射能の分布及び物質収支 単位：処理量%

処理後 日数	水 相 (上清)		土 壤			合計 回収率
	抽出物	抽出物	抽出物	抽出物	非抽出性	
0	89.3	1.1	0	0.9	2.0	93.3
7*	67.4	1.5	7.9	1.1	1.8	79.8
14	74.5	6.6	8.6	0.6	1.5	92.1
31*	48.5	0.7	0.9	0.4	10.0	64.6
49*	54.7	0.9	2.5	0.3	7.6	72.2
77	53.1	4.1	7.4	0.5	3.8	83.9
112*	54.1	3.8	6.9	0.9	2.5	102.3
187	26.4	3.4	5.2	0.3	4.9	116.0
256	7.5	1.2	2.7	0.2	4.4	93.4
365	15.0	0.6	2.6	0.2	4.4	101.5

(申請者註)。

** 気体トラップ装置を用いた試料から得られたデータ (1 回)、他は 2 反復データの平均値。

1 年間に処理量の %が遊離した。 吸収剤に放射能は認められなかった。 及び に吸収された が唯

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

一の代謝物であった。抽出処理の結果、多くの試料で高い回収率が得られたが、一部の試料からの回収率が低く、これらの試料では好气的状態となり、がに変化したことが疑われた。放射能の大部分は相（上清）に認められ、そのがで抽出可能であった。大半の試料において、処理量の1/3未満が土壤中に存在し、これも大部分がで抽出可能であった。非抽出性の放射能は処理量の10%未満であった。

代謝分解物；抽出物について種類の展開溶媒系のうち種類の溶媒系を用いたにより同定された主要各成分の割合の平均値を表2に示す。幾つかのが確認されたが、そのの最大値は、処理7日後の相で認められた処理量の%であった。

表2 抽出物のによる分析結果 単位：処理量%

成分	処理後時間							
	7日		112日		187日		365日	
	水相/土壌	計	水相/土壌	計	水相/土壌	計	水相/土壌	計
ホルベット [A]	<0.1/<0.1	<0.1	<0.1/<0.1	<0.1	<0.1/<0.1	<0.1	<0.1/<0.1	<0.1
合計	67.2/6.6	73.8	48.2/7.2	55.4	46.7/9.1	55.8	17.3/3.0	20.3

溶媒系：①a () - b ()、②a () - c ()

-：上でスポットが確認されないことを示す。

* 複数成分の合計（最大値は (処理7日後の相)）

試料採取時点の抽出液において満足なクロマトグラムが得られなかったが、これは、恐らく土壌から抽出された夾雑物がクロマトグラムの分離に影響を及ぼしたためと考えられる。従って、上記以外のデータは得られなかった。

抽出物をとに供した結果、代謝分解物として

が同定された。抽出画分をし、で分離後により分析した結果、主要分解物の上の保持時間及びがと完全に一致したことから、が主要代謝物であることが確認された。

は既知の分解物であり、動物、植物及び好气的土壌の代謝物であることから、これらが

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

生成されることは予想される。 の生成については
である の嫌氣的土壤代謝試験において、
確認されている。なお、
の場合、本物質が として分離され、 により同定された。

以上より、ホルペットを嫌氣的土壤条件下で処理した土壤からは の遊離が顕著で、1
年後には処理量の約 80%が遊離した。 代謝物は に認められなかった。ホル
ペットは処理後 1 週間の間に完全に分解された。

想定代謝経路を図 1 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 ホルペットの嫌氣的土壤における推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

4) ホルペットの好氣的/嫌氣的土壤中運命試験 (資料 No. MS-4)

試験実施機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1991 年

供試標識化合物：ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

申請者註；

供試土壌： 砂壤土、採取地；米国 Georgia 州の農地

土 性 (%)			有機質 (%)	陽イオン交換容量 (meq/100 g)	pH
砂 質	シルト質	粘土質			
64	19	17	2.0	3.9	5.4

試験には風乾後、篩過 (2 mm) した土壌を用いた。

試験方法：

検体濃度；ホルペットの圃場処理量は通常 1.5~3.0 lb ai/エーカーである。これを 1 lb ai/エーカーとし、取り込み土壌を 1 cm とすると想定濃度は 7.73 ppm となる。これを基に土壌設定濃度を 10 µg/g とした。

予備試験；

本試験；

土壌試料調製；圃場容水量の 50%の水分を含有する土壌 (約 500 g) を代謝容器に入れ、25±1℃で 5 日間、好氣的にプレインキュベートした後、土壌の一部にベンゼン環標識ホルペットのアセトン原液 (97.1 µg/mL；約 28 mL) を添加した。乾燥窒素気流で溶媒を除去後、加湿した試験土壌 (219 g) を加えて 2 時間以上転倒

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

混和し、検体を均一に分散させた。次に土壌試料の各 10 g (乾燥重量) ずつを培養試験管に測り取り、脱イオン水を圃場容水量の 75%まで加えて代謝容器に収容した。代謝容器には、
を除去した水飽和空気を導入し、排気口には一連の捕集液を含む各トラップ(

)を接続して 物質を捕集した。別の試験管に

標識ホルベット無添加の試験土壌を調製して対照とした。試験は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、暗所条件で実施した。好氣的条件を 4 日間維持した後、全ての試験管を代謝容器から取り出し、窒素を通気した水 (30 mL) とグルコース (0.1 g) を加え、ポルテックスにかけて土壌に残留する空気を除去し、再び代謝容器に戻し、容器に窒素ガスを送気して 60 日間嫌氣的条件でインキュベートした。土壌の微生物活性は、好氣的条件 1 日後と嫌氣試験終了時に総微生物数及び真菌数を測定した。また、嫌氣的条件下 30 及び 45 日後に酸化還元電位を測定して、嫌氣度を確認した。

試料採取及び処理；試験の好氣的段階の 0、1、2、3 及び 4 日後並びに試験の嫌氣的段階の 0、3、15、30、45 及び 60 日後に 2 反復で試料を採取した。各採取試料のうち 1 試料は、採取当日に分析し、残りの 1 試料は予備試料として凍結保存した。嫌氣的試料は遠心分離して 相を分離し、湛水中の放射能を で測定した。土壌試料は で抽出した。抽出物の放射能は で測定した。好氣的土壌試料の各残渣及び嫌氣的条件の 0 から 15 日後まで各土壌残渣についてはその後、 で抽出したが、顕著な量の放射能が回収されず、それ以降の試料については中止した。次に、嫌氣的条件の 30 日後の土壌試料についてのみ溶媒を窒素下に蒸発させた乾燥土壌を で 抽出し、抽出液の放射能を 分析したが、殆ど放射能が抽出されず、その他の試料については による抽出は中止した。更に 残渣中の放射能を抽出するために、まず、土壌試料を乾燥後、を加え 還流した。遠心分離して抽出液を 分析した。次に 抽出後の土壌に を加えて振盪抽出した。抽出液 を加えて pH を とし、遠心分離により と に分画した。

分 析；各トラップの捕集液及び各抽出液の放射能は、 により測定した。また、土壌を含む 試料は して、 を捕集液に吸収させ、分析した。ホルベット及びその代謝分解物の検出、同定、定量には 及び を用いた。 分析には逆相シリカプレートを使用し、 と共に 後、 を作成し、 の に対応するスポットを確認し、該当部位の担体に含まれる放射能を抽出して、 分析した。一部の土壌試料については でホルベット及び代謝分解物を確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

結 果：

土壌微生物；試験土壌好氣的条件下 1 日後及び嫌氣的条件下 60 日後に測定した総微生物数及び真菌数の結果を表 1 に示す。

表 1 好氣的及び嫌氣的条件下における総微生物数及び真菌数

経過日数	微生物活性	
	総微生物数 (コロニー数/g)	真菌数 (コロニー数/g)
好氣的条件下 1 日後	1.8×10 ⁶	5.2×10 ³
嫌氣的条件下 60 日後	4.2×10 ⁴	NA

NA：該当なし。

土壌は微生物的に活性であることが示された。また、試験系の嫌氣度を 30 及び 45 日に測定した結果、それぞれ -2 及び -108 mV であった。

放射能の分布及び物質収支；試験期間中における放射能の分布を表 2 に示す。

表 2 放射能の分布及び物質収支

単位：処理量%^a

経過 (日)	物質				抽出性放射能						非抽出性 残渣	総回収放射能 ^c	
				合計						合計			
好氣的 条件	0				94.7	1.1	2.8	1.3	0.0	NA	99.9	0.1	100.0
	1				91.2	1.7	7.0	1.5	0.1	NA	102.1	0.3	102.4
	2				89.9	1.7	7.9	1.9	0.1	NA	101.8	0.5	102.4
	3				84.9	1.6	11.1	2.4	0.2	NA	101.0	0.8	103.7
	4				71.7	1.8	13.0	2.9	0.5	NA	90.7	2.5	99.3
嫌氣的 条件	0				67.4	1.2	5.9	0.7	0.4	14.0	89.5	1.4	97.1
	3				61.1	1.9	9.3	3.0	0.8	11.3	87.2	2.8	96.4
	15				38.7	1.3	11.0	3.7	1.6	22.2	78.5	3.3	96.2
	30				28.0	NA	4.6	2.9	0.5	31.2	70.5 ^d	2.3	94.4
	45				21.0	NA	7.3	2.9	1.3	36.5	69.3	2.9	97.2
60				17.4	NA	5.7	2.6	0.9	38.3	63.5	2.8	92.7	

a：初期添加量：9.83 μg ホルベット当量/g 土壌、b：湛水試料の放射能及び土壌試料の抽出後の相中の放射能の和。c：平均回収放射能 = 98.9%、d：抽出物中の放射能 (5.4%) を含む。NA：該当なし。

好氣的条件下では 4 日後に処理放射能の % であり、放射能の % が に捕集され、 によって沈殿したことから であることが確認された。総抽出性放射能は、試験開始 3 日間の約 100% から 4 日後に 90.7% となり若干減少した。 で抽出可能な放射能は 94.7% から 71.7% と一貫して減少した。 抽出では処理放射能の 1.1 から 1.8% が回収されたのみであった。 の 抽出により 0 日後では 2.8% が回収され、4 日後には 13.0% まで増加した。 抽出により

と の各画分は前者の放射能が % (0日後) から % (4日後) に増加し、後者は %から %が回収された。非抽出性放射能は、0日後の0.1%から4日後の2.5%であった。

嫌氣的条件下で、 は、試験終了時(嫌氣条件下 60日後)に処理添加放射能の %を占め、このうちの %が に捕集され、 に よって沈殿したことから であった。抽出性の放射能は0日後の89.5%から60日後の63.5%に減少した。 で抽出された放射能は、0日後

の67.4%から60日後の17.4%と一貫して減少した。湛水試料中及び土壤試料の 抽出後の水相における放射能は、0日後の14%から60日後の38.3%に増加した。0、3及び15日後の試料の による抽出では、平均で処理放射能の1.5%が回収されたのみであった。 による

抽出により4.6%から11.0%の放射能が回収された。 抽出及び分画により、 画分は0日後に最低値(%)、15日後に最大値(%)を示した。 画分も同様に0日後に最低値(%)、15日後に最大値(%)を示した。両者とも15日後をピークにその後は減少した。嫌氣的条件下における放射能の回収率は92.7%~97.2%の範囲であり、好氣的及び嫌氣的条件の平均回収率は98.9%であった。

代謝分解物の同定、定量；土壤試料から抽出された各抽出物を 分析により得られた結果を表3に示す。

表3 抽出性放射能の による分析 単位：処理量%

経過 (日)	放射能									合計
	ホパット [A]									
好氣的 条件	0	88.0								98.9
	1	77.2								99.8
	2	63.8								98.9
	3	41.6								98.0
	4	28.1								86.5
嫌氣的 条件	0	27.6								88.9
	3	20.4								83.1
	15	11.0								72.0
	30	7.3								63.8
	45	5.1								64.7
	60	3.6								61.4

抽出物及び 相試料の分析結果の総和。

好氣的条件下における土壤抽出物の 分析により、親化合物の88.0%(0日後)から28.1%(4日後)が回収された。主要分解物は であり、0日後に処理放射能の %が、4日後には %が回収された。その他の分解

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

物として が最大で %認められた。抽出性放射能の 分析より、好氣的条件下におけるホルペットの推定半減期は2.3日と計算された。嫌氣的条件下における各土壌抽出物及び 試料の 分析により、親化合物 [A] は嫌氣的条件下においても分解することが示された。親化合物は0日後において処理放射能の27.6%であり、60日後には3.6%まで減少した。

は0日後の %から60日後の %に減少した。

は0日後の %から60日後の %に増加した。非抽出性放射能は % (0日後) から % (3日後) の範囲にあった。嫌氣的条件下における推定半減期は 日であった。

以上の結果、ホルペットは好氣的土壌条件下において速やかに微生物により分解され、嫌氣的土壌条件下において引き続き分解されることが明らかとなった。ホルペットは土壌に するが、 にまで代謝分解される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

土壌吸着性

(物化資料 No. 9)

試験実施機関：

報告書作成年：2003 年

OECD テストガイドライン (No. 106, 2000) に準拠した土壌吸着性試験が実施可能か判断するため、ホルペットの加水分解試験を行い、水中での安定性を確認した。

土壌吸着性試験で用いる溶媒 (0.01M 塩化カルシウム水溶液) と pH が同等と考えられる水溶液 (アセトニトリル 1%含有) を使用して、水中での安定性試験を実施した結果、ホルペット水溶液 (アセトニトリル 1%含有) の 20℃における推定水中半減期は 10.2 時間であり、ホルペットは水中で不安定であることが判明した。

土壌吸着性試験において、検体の土壌への吸着平衡操作は通常 24 時間程度であるが、その操作中にホルペットの約 80%が加水分解すると予想されるため、土壌吸着性試験は実施できないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

(4) 水中運命に関する試験

1-1) ホルペットの加水分解試験 (資料 No. MW-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1988 年

供試標識化合物： ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

供試水溶液：pH 5、7 及び 9 の緩衝液を試験に用いた。

pH 5；(酢酸-酢酸ナトリウム)

146 mL の 0.1 N 酢酸を 100 mL の 0.1 N 水酸化ナトリウムに添加し、蒸留水を加えて 1 L とし、酢酸で pH 5 に調整した。

pH 7；(リン酸二水素カリウム-リン酸水素二ナトリウム)

25.8 mL の 0.1 M リン酸水素二ナトリウムを 22.4 mL の 0.1 M リン酸二水素カリウムに添加し、蒸留水を加えて 1 L として、pH 7 に調整した。

pH 9；(ホウ酸ナトリウム-塩酸)

46 mL の 0.04 N 塩酸を 500 mL の 0.01 M ホウ酸ナトリウムに添加し、蒸留水を加えて 1 L とし、0.1 N の水酸化ナトリウムで pH 9 に調整した。

それぞれの緩衝液を調製後、0.45 μm のフィルターで濾過滅菌した。

試験方法： 標識ホルペットをアセトニトリル (溶解補助剤) に溶解して原液とし、250 mL 容の滅菌したガラス製共栓フラスコに 120 mL の pH 供試水溶液に加えてマグネチックスターラーで攪拌しながら 0.9~1.0 mL の原液を加え、各試験液を調製した。各 pH における試験液中の 標識ホルペットの濃度は pH 5；1.20 ppm、pH 7；1.11 ppm、pH 9；1.01 ppm であった。各 pH とも試験液容器をそれぞれ 2 反復とし、試験期間を通してマグネチックスターラーで攪拌を続けた。各試験液容器はホイルで包み暗黒条件とし、25±1℃に調整した恒温器内に設置した。試験期間は pH 5、7 及び 9 でそれぞれ、24 時間、8 時間及び約 10 分間であった。

分析方法；以下の時点に各 pH の試験液から 10 mL の試料を採取した。

pH 5：0、1.0、3.0、5.0、9.5 及び 24 時間

pH 7：0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 及び 8 時間

pH 9：15～30、70～71、131～147、191～196、366～371 及び 611～613 秒

各試料は、試料採取直後に を加えて pH を として、加水分解を停止した。各試料における放射能は、試料液を所定の に加え、 によって測定した。

各試料中の親化合物及びその加水分解物の同定と定量には 、 及び を用いて分析した。 ではカラムからの溶出液画分の放射能を で測定して を作成し、保持時間を比較して同定、定量した。また、 は試料を所定の溶媒系で展開後、 を作成し、 に供した との による R_f 値を比較した。分解物のうち の検出、同定に一部の試料を で し、得られた を で分析、同定した。

親化合物の半減期の算定；各試料採取時間におけるホルペット [A] の濃度から一次反応速度式に基づき、コンピューターを用いて加水分解速度定数及び半減期を求めた。

結 果：

分布と物質収支；各 pH における 標識ホルペット及びその加水分解物の分布と物質収支を表 1 に示す。

各試料採取時間における各試料の物質収支は 92～104% の範囲であり、各 pH で平均 98.8% (96.1～103.7%：pH 5)、98.1% (94.5～99.9%：pH 7) 及び 95.7% (94.0～96.8%：pH 9) であった。各 pH での物質収支平均値が 95～99% であったことから、何れの pH においても、揮発性の加水分解物が試験期間内に生成したとは考えられなかった。

分解物の生成及び減衰； 標識ホルペットの加水分解物として、 、 及び によって、 が同定された。

pH 5 では上記の分解物が生成され、時間と共に

で一定となった。pH 7 では

となった。pH 9 では

が優位となった。従って、低い pH ではホルペット [A]

は の重要な供給源であり、高い pH では が効率的に分解されて が生成されることが示された。

加水分解経路；同定された加水分解物から、

標識ホルペットは

に加水分解され、更に へ

加水分解されたと考えられた。高い pH ではホルペット [A] 及び

の両方が加水分解され、一方、低い pH ではホルペット [A] のみが加水分解されたと考えられる。このことは、pH 5 で が分解されなかったことにより裏付けられた。

表 1 各 pH における 標識-ホルペット及びその代謝物の分布と物質収支 (n=2: 平均値)

pH	時間	加水分解物 (%)	
		ホルペット [A] (%)	回収率 (%)
5	0 時間 ^b	89.7	96.2
	1.0 時間	76.7	98.0
	3.0 時間	49.3	96.1
	5.0 時間	28.5	96.5
	9.5 時間	9.7	102.8
	24 時間	0.5	103.7
7	0 時間 ^b	90.6	94.5
	0.5 時間	60.1	84.3 ^c
	1.0 時間	50.5	97.9
	2.0 時間	26.8	98.8
	3.0 時間	24.6	98.7
	4.0 時間	17.3	99.1
	8.0 時間	3.0	99.9
9	15~30 秒 ^d	59.5	94.0
	70~71 秒	47.2	94.9
	131~147 秒	27.2	95.7
	191~196 秒	16.0	96.4
	366~371 秒	4.4	96.6
	611~613 秒	0.3	96.8

a () 内は 2 反復の測定で認められた の数。最大の は処理量の 1.7% (pH 5)、4.4% (pH 7) 及び 3.9% (pH 9)。

b 試料採取、 化、放射能分析及び凍結保存の各作業間で 0.5 分の間隔がある。

c 回収率が他に比べて低く、操作ミスによるものと考えられた。

d ホルペット [A] の半減期が短いために 0 時間試料は必然的に分解している。

推定半減期：各 pH において算出された半減期を下表に示す。

試験温度 (°C)	pH	半減期
25±1	5	2.6 時間
	7	1.1 時間
	9	67 秒

以上より、本試験条件下において、ホルペット [A] は pH 5、7 及び 9 の何れでも急速な加水分解を受け、半減期はそれぞれ 2.6 時間、1.1 時間及び 67 秒であった。得られた分解物は、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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図 1 ホルペット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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

申請者註：

1-2)

ホルペットの加水分解試験

(資料 No. MW-2)

[GLP 対応]

報告書作成年：1992 年

供試標識化合物：

ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N- (トリクロロメチルチオ) フタルイミド ()；

比放射活性；

放射化学的純度；

供試水溶液：pH 5、7 及び 9 の緩衝液を以下の通り調製した。

pH 5；(氷酢酸-水酸化ナトリウム)

167 μ L の氷酢酸及び 2 mL の 1N 水酸化ナトリウムを 100 mL の脱イオン水に添加し、更に脱イオン水で希釈して 200 mL とした。

pH 7；(リン酸二水素カリウム-リン酸水素二ナトリウム)

0.076 g のリン酸二水素カリウム及び 0.173 g のリン酸水素二ナトリウムを 100 mL の脱イオン水に添加し、更に脱イオン水で希釈して 250 mL とした。

pH 9；(四ホウ酸二ナトリウム・十水和物-塩酸)

3.840 g の四ホウ酸二ナトリウム・十水和物を含む 100 mL の脱イオン水に 30 μ L の 12 M 塩酸を添加し、更に脱イオン水を加えて 200 mL とした。

それぞれの緩衝液は調製後に 0.22 μ m のフィルターで濾過滅菌した。

試験方法：

標識ホルペットを用いた前試験により親化合物の半減期は既に求められている (資料 No. MW-1 抄録参照；pH 5、7 及び 9 でそれぞれ 2.6 時間、1.1 時間及び 67 秒)。従って、本試験は 部位の加水分解経路の解明を主な目的とした。

標識ホルペットをアセトニトリル (溶解補助剤) に溶解して原液とし、この 17 mL を滅菌したバイオメーターフラスコに入れた各 pH の供試水溶液 20 mL に加えて、1 ppm の試験液を調製した。ゴム製セプタムを装着したトラップ管には を捕集するために を入れた各 pH とも試験液容器をそれぞれ 2 反復とし、試験期間を通してマグネチックスターラーで攪拌を続けた。各試験液容器をアルミホイルで包み暗条件とした。試験温度は 19~

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

23℃であった。処理後 1 及び 24 時間にそれぞれの試料を採取した。試料採取時には注射筒を用いて容器内上部空間から を繰り返し採取し、 捕集用の 中に注入してにて測定した。気体採取後、 測定用に各試験液の一部を採取した。pH 7 及び 9 の試験液には を添加して溶液中の を沈殿させ、30 分後に一部を遠心分離し、上清を 及び 分析に供した。また 中の放射能も で測定した。全ての試験試料の一部を と共に注入し で分析して親化合物を定量した。また で生成した加水分解物を検出、分離した。

結 果：

分布及び物質収支；各 pH における 1 及び 24 時間後の放射能の分布及び回収率を表 1 に示す。

表 1 放射能の分布及び回収率

単位：処理量%

試験温度	試 料	試験液			総回収率*	
		添加前	添加後	試料 溶液		
19~23℃	pH 5	1 時間		0.4	0.7	83.2
		24 時間		0.1	1.6	17.1
	pH 7	1 時間		1.5	0.6	87.8
		24 時間		0.9	13.3	44.9
	pH 9	1 時間		0.7	0.2	91.0
		24 時間		0.9	5.8	66.8

* 総回収率：試験液（ 添加前）、 試料及び 溶液回収率の和。

-：該当なし。

加水分解試験開始後 1 時間の物質収支は十分であったが（83.2~91.0%）、24 時間後では低下した。ホルペット [A] の加水分解によって が相当量生成したが、この は主に試験液中に存在し（ 添加前後の差；約 %）、 溶液に捕捉されたものは少量で（約 %以下）、処理時間が短かったため の拡散が不十分であったことによると考えられた。 試料からは約 %程度の放射能が得られた。pH 5、24 時間後で加水分解による消失は最も大きく、これは捕捉されなかった が存在するためと考えられた。

加水分解物；ホルペット [A] 及びその加水分解物の消長を表 2 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表2 ホルベット及びその加水分解物の消長

単位：処理量%

試験温度	試料	ホルベット [A]	回収率
19~23℃	pH 5	1時間	47.0
		24時間	14.9
	pH 7	1時間	52.0
		24時間	1.1
	pH 9	1時間	0.0
		24時間	0.0

* その他のには種のピークが含まれ、全て処理量の %未満であった。

** 表1の試験液の「 添加前」と「 添加後」の差と 溶液の回収率の和から算出。

未同定化合物1及び2は、文献等の情報から
と推定された。

及び

pH 5 及び 7 では、処理後 1 時間で放射能の 47~52% がホルベット [A] として回収され、約 1 時間で半減期に達したと考えられた。pH 9 の 1 時間試料ではホルベット [A] は認められず、1 時間で既に半減期を越えたと考えられたが、処理放射能の多くは試験溶液中に存在していた。

処理後 24 時間では、14.9% (pH 5) 及び 1.1% (pH 7) のホルベット [A] が検出された。pH 7 及び 9 では が主な分解物であった。pH 5 において放射能が大幅に消失したのは、pH 5 では高 pH 試験液と同程度には

が生成されないため、試験液中の放射性 を固定できなかったことに起因すると考えられた。試験容器内上部空間から採取した 試料には少量の放射性 しか検出されず、これは、 中に十分捕集されなかったためと考えられた。 剤 (中に) を入れたトラップでの捕集も試みたが、上部空間の を十分捕集することはできなかった。

ホルベット [A] の他に加水分解物として が認められた。

は一次分解物と考えられ、初回採取時 (1 時間) により多く生成した (pH 5 で約 %, pH 9 で約 %)。処理後 1 時間 (pH 9) の加水分解物を冷凍庫に静置した結果、 では が消失し、それに相当する放射能は では検出されなかった。処理後 1 時間 (pH 9) の加水分解物を 24 時間静置した結果、1 時間試料に比べ の顕著な減少がみられた。pH 9 の 1 及び 24 時間試料の回収率の差から約 % の放射能が消失しており、 は主要な の供給源であると考えられた。pH 7 の処理後 1 時間試料では加水分解物として のみが確認され、処理後 24 時間ではホルベット [A] も殆ど検出されず がほぼ唯一の成分であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

pH 5 では反応速度が遅く、処理後 1 時間ではホルペット [A] が加水分解物の 57% (処理量の 47%) を占め、
が主要な分解物であった。処理後 24 時間では
は消失し、ホルペットは処理量の 15% まで減少した。

これらの結果から、
標識ホルペットを用いた試験では
を生成しないことから、
は確実に
から生成されていると考えられた。
については確定的な同定はできなかったが、これら分解物の分析及び参考文献により、それぞれ
及び
と推定された。これらは、
、
に分解され、最終的に
を生成すると考えられ、その他原子については
及び
を生成すると考えられる。
推定加水分解経路を図 1 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図1 ホルペット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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2-1) ホルペットの水中光分解試験 (資料 No. MW-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1989 年

供試標識化合物： ホルペット (標識ホルペット)

構造式：

*： 標識位置

化学名；N-(トリクロロメチルチオ)フタルイミド ()

比放射活性；

放射化学的純度；

供試水： pH 3 の緩衝液を試験に用いた。

146 mL の 及び 100 mL の を混合し、蒸留水を加えて 1 L とし、 で pH 3 に調整した。緩衝液は 0.45 μm のフィルターで濾過滅菌した。

光源： 試験に用いた光源の種類及び光強度等を以下に示す。

	太陽光	紫外光**
波 長	太陽光スペクトル	350 nm で最大
光強度* ($\mu\text{W}/\text{cm}^2$)	13153 \pm 8384	9200
温 度 ($^{\circ}\text{C}$)	25.6 \pm 1.7	32 (最高)
暴露時間 (時間)	8	8

* 太陽光の標準偏差は 24 時間当たりの数値を示す。

** 16RPR3500 ランプを備えた Rayonet Photoreactor (The Southern New England Ultraviolet Co., Hamden, CT)

試験方法： 太陽光照射区では 標識ホルペットをアセトニトリル (溶解補助剤) に溶解して原液とし、この 100 μL を滅菌した石英製試験管に入れた pH 3 緩衝液 10 mL に加え、0.95 ppm の試験液を調製した。紫外光照射区及び暗対照区ではパイレックス製試験管を用いて同様の操作を行った。各試験用に 2 セット (2 反復の照射区及び暗対照区試料) 用意した。太陽光及び紫外光照射区における温度をそれぞれ約 25 及び 30 $^{\circ}\text{C}$ とし、何れも 8 時間照射した。太陽光照射区は石英ガラス製試験管を水槽内の水中に 60 $^{\circ}$ の垂直角で設置した。対照は暗条件とした。8 時間照射後の各試料の一部を採取し、 に加えて放射能を により測定した。残りの試

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

料は直ちに凍結し、分析時まで保存した（24 時間以内）。

ホルペット及びその分解物は、
との
及び又は

により同定、定量した。

結 果：

放射能の分布及び物質収支；照射開始時及び終了時の各照射条件下における放射能の回収率を表 1 に示す。

表 1 光照射による放射能の分布及び物質収支 (n=2: 平均値)

試 料	開始時 dpm	終了時 dpm	回収率 (%)	同平均値 (%)	
太陽光	照射区	799394	814440	101.9	101.7±2.3*
	暗対照区	799394	811510	101.5	
紫外光	照射区	813650	814750	100.1	99.4±1.8*
	暗対照区	813650	802820	98.7	

* 平均±標準偏差

放射能の回収率は太陽光で 101.7±2.3%、紫外光で 99.4±1.8%であった。このことから揮発性物質が顕著には生成されなかったことは明らかである。

加水分解と光分解の比較；pH 3 緩衝液中、照射区（太陽光及び紫外光）及び暗対照区における 8 時間後の
標識ホルペット及び主要な分解物の消長を表 2 に示す。

表 2 8 時間照射後のホルペット [A] 及び分解物の
による分析

単位：回収率%

試 料	ホ ル ペ ッ ト [A]	合 計	
太陽光	照射区	34.2	100.0
	暗対照区	38.4	100.0
紫外光	照射区	15.3	100.0
	暗対照区	22.5	100.0

* その他
は太陽光で %、紫外光で %を超えるものはなかった。

照射区と暗対照区との間におけるホルペット [A] の分解程度に顕著な差は認められず、従って、太陽光及び紫外光照射下における主な反応は
分解によるものと考えられた。分解物も暗対照区と殆ど同じものが同程度で得られ、主要分解物は
であった。推定分解経路を図 1 に示す。

以上より、本試験条件下では、
標識ホルペットの分解は
によるものが圧倒的であり、
分解は、
と比較して非常に遅い、又は存在しないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

申請者註：

。

図 1 推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

2-2) ホルペットの水中光分解試験

(資料 No. MW-4)

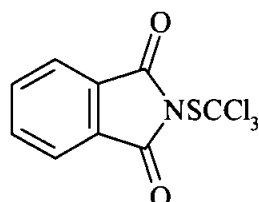
試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2004 年

供試化合物：ホルペット

構造式：



化学名；N-（トリクロロメチルチオ）フタルイミド

供試水： pH 4 緩衝液及び pH 4 緩衝合成フミン酸溶液を試験に用いた。

pH 4 緩衝液は、0.1 M クエン酸二水素ナトリウム 2 L に 0.1 N NaOH 360 mL 及び脱イオン水 1.64 L を混合し調製した。pH 4 緩衝合成フミン酸溶液は、pH 4 緩衝合成フミン酸溶液原液 2.8 mL を pH 4 緩衝液 1000 mL で希釈し調製した。pH 4 緩衝合成フミン酸溶液原液は、フミン酸ナトリウム 5 g と 0.1%水酸化ナトリウム 0.5 L の混合液を遠心分離して上清を 0.45 μ m フィルターで濾過し、濾液を 0.1M 硫酸で pH を 4 に調整して 0.22 μ m フィルターで滅菌濾過後 24 時間人工光に照射して得た。

これらの供試水は、試験開始前に 0.22 μ m フィルターで濾過滅菌した。

高 pH 値では、ホルペットの急速な加水分解が起こるため、pH 4 緩衝液を選択した。

光源： 試験に用いた光源の種類及び光強度等を以下に示す。

光源の種類	キセノンランプ
波長範囲	300~800 nm
光学フィルター	UV カットガラスフィルター (290 nm 以下をカット)
光強度	48.4 W/m ² (波長範囲 300~400 nm)

試験方法： ホルペットをアセトニトリル（溶解補助剤）に溶解して原液とし、この 300 μ L を滅菌した石英製試験管に入れた供試水（pH 4 緩衝液又は pH 4 緩衝合成フミン酸溶液）75 mL に加え、0.4 μ g/mL の試験液を調製した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

試験液を入れた石英試験管（下図）を人工光照射装置内に置き 25±1℃で最大 16 時間照射した。暗対照試料は石英又はパイレックス製容器を用い、遮光下で同じ温度で静置した。



図 試験容器の形状

試料採取；試験開始直後（0）、1、2、4、6、8 及び 16 時間後に試料を採取した。

試料の処理及び抽出；採取した試料は直ちに を加えて に調整し、
で繰り返し分配抽出した。抽出物は減圧下に
で濃縮し、濃縮物を褐色バイアルに移し窒素気流下で乾固し、
で再溶解し混合した。溶液はオートサンプラーバイアルに移し、 で分析
した。

ホルペット及び分解物の検出及び定量；本試験における分析対象化合物を、現在までの
知見から上記の抽出法が適用できるホルペット [A] 及びフタルイミド [B]
とし、 によりそれぞれの標準品を用いて検量線を作成し、各試料におけ
る両成分を定量した。

半減期及び 90% 分解 (DT₉₀) の計算；ホルペット [A] 及び主要な分解物である
の半減期 (t_{1/2}) 及び分解速度定数 (k) を一次速度論に従うものと
仮定し、次式を用いて算出した。

$$\ln C = kt + \ln C_0 \quad (y = mx + b) \quad (m = \text{傾き})$$

ただし、k = 分解速度定数、C = ホルペット [A] 又は 濃度
(ホルペット添加量に対する百分率として表す。)、t = 時間、C₀ = 初期濃度
また、次式からホルペット [A] 及び の半減期及び DT₉₀ を
算出した。 の初期濃度は、 が最高濃度
になった時点の濃度とした。

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{-m} = \frac{0.693}{k} ; \quad DT_{90} = \frac{\ln 10}{-m} = \frac{2.30}{k}$$

結 果：

物質収支；試験開始時（0）、1、2、4、6、8、16 時間後の各試験液における平均回収率を表 1 及び 2 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

表 1 平均物質収支 (%) (n=3: 平均値)

		0 hr	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	16 hr
pH 4 緩衝液	照射区							
	ホルペット [A]	104.4	74.4	49.7	50.3	5.1	7.2	0.0 ^a
	総回収率	104.4	92.0	83.1	79.2	55.9	55.8	26.5 ^a
	暗対照区							
	ホルペット [A]	NA	93.4	79.4	66.0	53.8	44.0	11.7 ^a
	総回収率	NA	100.3	93.0	90.3	86.9	87.7	71.7 ^a

NA: 分析せず。

a: n=2

表 2 平均物質収支 (%) (n=3: 平均値)

		0 hr	1 hr	2 hr	4 hr	6 hr	8 hr	16 hr
pH 4 フミン酸 溶液	照射区							
	ホルペット [A]	106.4	94.3	61.2	57.8	14.2	1.5	0.0
	総回収率	106.4	100.1	88.8	79.5	66.5	52.7	41.6
	暗対照区							
	ホルペット [A]	NA	92.3	84.8	60.2	51.9	36.0	12.9
	総回収率	NA	100.6	98.6	84.2	85.9	74.7	67.6

NA: 分析せず。

申請者註:

半減期及び DT₉₀; ホルペット [A] 及び の半減期並びに DT₉₀ を一次速度論に従うものと仮定して算出した結果及び太陽光に換算した結果を表 3 に示す。

表3 ホルペット[A]及び の半減期及び DT₉₀

		半減期 (時間)		DT ₉₀ (時間)	
		人工光	太陽光換算	人工光	太陽光換算
ホルペット [A]					
pH 4 緩衝液	照射区	1.8 (r ² =0.843)	11.2	6.1	37.9
	暗対照区	6.5 (r ² =0.996)	NA	21.5	NA
pH 4 フミン酸溶液	照射区	1.4 (r ² =0.8601)	8.7	4.7	29.2
	暗対照区	5.2 (r ² =0.997)	NA	17.4	NA
pH 4 緩衝液	照射区				
pH 4 フミン酸溶液	照射区				

NA：計算せず。

ホルペット [A] は照射及び暗対照試料共に pH 4 緩衝液では急速に分解した。pH 4 緩衝液におけるホルペット [A] の半減期は照射試料において 1.8 時間 (r² = 0.843) 及び暗対照試料において 6.5 時間 (r² = 0.996) と算出された。pH 4 緩衝液合成フミン酸溶液における半減期は照射試料及び暗対照試料でそれぞれ 1.4 時間 (r² = 0.860) 及び 5.2 時間 (r² = 0.997) と算出された。照射試料中のホルペット [A] の半減期を東京 (北緯 37.45 度) における 300~400 nm の範囲の太陽光の強度に基づき算出した。ホルペット [A] の太陽光換算の半減期は pH 4 緩衝液及び緩衝液合成フミン酸溶液でそれぞれ 11.2 時間及び 8.7 時間と算出された。照射試料の太陽光換算 DT₉₀ は pH 4 緩衝液及び緩衝液合成フミン酸溶液でそれぞれ 37.9 及び 29.2 時間であった。

は全ての試料で主な分解物であった。pH 4 緩衝液照射試料では、 は試験 6 時間までに最大 %まで増加し、その後減少して試験 16 時間に %となった。 は pH 4 緩衝液暗対照試料において、試験 16 時間に %まで着実に増加した。pH 4 緩衝液合成フミン酸溶液照射試料では、 は試験 6 時間までに最大 %に達し、試験 16 時間に %まで減少した。pH 4 緩衝液合成フミン酸溶液暗対照試料では、 は試験期間中増加し、試験終了までに添加量の %まで増加した。フタルイミド [B] の半減期は、照射した pH 4 緩衝液及び緩衝液合成フミン酸溶液でそれぞれ、 及び 時間で、また、太陽光換算では、それぞれ 及び 時間に相当した。DT₉₀ は、pH 4 緩衝液では 時間、pH 4 緩衝液合成フミン酸溶液では 時間で太陽光換算では、それぞれ 及び 日間であった。

照射区では暗対照区に比較して、速度が軽度に加齢され、加速は光分解によると考えられるが、人工光源の 300~400 nm (東京、春) の範囲の光強度を太陽光の光強度に換算すると、暗対照区試料で観察された加水分解速度より

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

も長いものであった。高 pH 値においてホルペット [A] は急速に 分解すること（資料 No.MW-1 及び 2）から、大部分の環境条件下において、 分解が優勢な様式であると示唆された。

は照射及び暗対照の両方で主な分解物であり、
の環境中での分解には 分解が寄与していることが示唆された。pH 4 緩衝液（照射区）に比べて pH 4 緩衝合成フミン酸溶液（照射区）で
の分解速度が軽度な遅延した理由として、 による分解の妨害による可能性が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

図 1 推定分解経路

代謝分解のまとめ

ホルペットの哺乳動物、植物、土壌及び水中における代謝、分解、残留の要約は下記の通りであり、結果の概要及び推定代謝経路をそれぞれ 459 及び 467 頁に示した。

動物： 標識体（ ）又は 標識）をラットに経口投与した場合、低用量（約 10 mg/kg）の単回投与では速やかに吸収された後、速やかに排泄され、投与後最初の 24 時間内に約 90%が尿中に、約 6%が糞中に排泄された。低用量の反復投与においても、単回投与とほぼ同じ傾向を示し、排泄率及び排泄経路に雌雄差はみられなかった。 標識体 75 mg/kg を単回又は反復投与した場合、血中における最高濃度到達時間（ T_{max} ）は単回投与では投与後 45 分、反復投与では投与後 30 分にみられ、何れも速やかに減少した。吸収された放射能は速やかに各組織に分布するが、速やかに消失し、全組織において検出限界未満となり、反復投与でも組織中に残留しないことが明らかであった。高用量（500 mg/kg）の単回投与では、120 時間までに尿中に約 59%、糞中に約 40%が排泄された。用量に関係なく尿中放射能の殆どが として同定され、その他に の 及び が認められたことから、親化合物は速やかに代謝されて尿中に排泄されることが示唆された。また、低用量投与では糞中からも が主要代謝物として検出され、その他に 及び が認められたが、高用量投与の糞中では親化合物が大部分を占め、低用量投与で認められた代謝物は僅かであった。

飼料中残留を想定して投与した泌乳ヤギにおける試験では、 標識体を投与した場合、約 1 日後までの主要な排泄経路は尿中（約 58%）及び糞中（約 35%）で、尿では が、糞では 及び親化合物 [A] が確認され、また、乳汁及び組織における残留量は 0.1%未満で、 の他に が検出された。以上から、ホルペットの泌乳ヤギにおける代謝は、親化合物 [A] → → に至る が優先されると考えられる。

標識体を投与した場合、投与約 6 日後までの主要な排泄経路は糞中（約 35%）で、尿中排泄（約 5%）は少なく、乳汁及び組織における残留量は、投与量の 0.7%であった。組織及び乳汁の抽出性放射能の分析では、親化合物は広範に代謝されて、 に取り込まれたことが示された。

植物： 標識体をトマトの根部に浸漬処理した場合、放射能は速やかに吸収され、その大半が茎葉部に移行した。植物体中でホルペット [A] はほぼ完全に代謝され、 となり、他に の 及び がみられた。

標識体を圃場の実用場面に準じて、ばれいしょ、ぶどう、アボカド、冬小麦及びキャベツに散布処理した。ばれいしょでは、5 回散布後の収穫時における茎葉部及び塊茎部の放射能は、それぞれ約 110 及び 1.0 ppm で、前者の殆どは親化合物 [A] であ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

ったのに対し、後者では、及び
が主要代謝物であり、これらの他に両者に の 及び/又は
がみられた。ぶどうでは、3回散布後の収穫時の葉部及び果実にそれぞれ約 294 及び 8 ppm に相当する放射能が検出され、葉部からはばれいしょ同様に殆どが親化合物として、また果実からは親化合物 [A]、及び
が検出された。アボカドでは、3回散布後の収穫時の果実の果皮及び果肉にそれぞれ約 17 及び 8 ppm の放射能が残留し、うち大半は有機溶媒に抽出されて、全体では
として同定され、その他に親化合物 [A]、及び
を含む が確認された。小麦では、2回散布後の収穫時試料について、親化合物 [A]、及び の各化合物が、穀粒及び茎葉部にそれぞれ ppm 及び ppm の範囲で検出された。キャベツでは、2回散布後の収穫時の茎葉部に残留した 7.4 ppm のうち、親化合物 [A]、及び
が、それぞれ 54、及び %の割合で認められ、他に の 及び/又は 等もみられた。各植物の代謝試験で同定された代謝物から、動物体内と同様に、供試植物の種類に関係なく が優先する経路で代謝されると考えられる。

土 壤： 標識体を用いた好氣的土壤中運命試験で、親化合物は 14 日以内に約 98%が分解され、半減期は約 2 日であった。主要代謝分解物は で、処理 7 日及び 14 日後の生成量は、それぞれ 及び %で、その他の代謝物として、
、 が、また、
画分及び 画分も 検出された。

標識体を用いた場合（半減期：4.3 日）、1 及び 12 ヶ月後の主要代謝分解物である の生成量は、それぞれ処理量の 及び %で、12 ヶ月後の親化合物の残留量は 2%であった。その他の代謝物は 及び
であり、前者は最大に達した後急速に減少した。 画分及び
画分は、最大でそれぞれ処理量の 及び %検出された。

標識体を用いた嫌氣的土壤中運命試験では、処理後 1 週間で親化合物は完全に分解され、唯一の として が、1、6 及び 12 ヶ月間にそれぞれ処理量の、及び %生成した。その他の代謝物として、
、 及び が
同定された。

標識体を用いた好氣的条件 4 日間+嫌氣的条件 60 日間の運命試験において、各条件の最終日における親化合物の割合は、それぞれ処理量の 28 及び 3.6%で、その半減期はそれぞれ 2.3 及び 14.6 日と推定された。試験終了時の は処理量の %で、
であった。主要代謝物は、 及び
で、試験終了時にそれぞれ処理量の 及び %が認められ、また

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

画分及び 画分は嫌気 15 日後に最大値の 及び %となり、その後減少した。

これらの土壌における試験結果から、ホルペットの土壌における主分解経路は動植物と同様と考えられるが、他に、親化合物 [A] から が生成される経路も存在し、この経路は嫌氣的土壌に特有のものと考えられた。

水 中： 標識体を用いた試験で、加水分解は急速で、半減期は pH 5 で 2.6 時間、pH 7 で 1.1 時間及び pH 9 で 67 秒であった。主要分解物は、及び で、 は でより多くの生成がみられた。

標識体を用いた場合、pH 7 及び 9 では が主要な分解物であったが、pH 5 では僅かに検出された。親化合物 [A] の他に の放射性成分が検出され、暫定的に 及び と同定された。後者は 、 を経て に変化すると推定された。

また、 標識体を用い、pH 3 の緩衝液中で太陽光又は紫外光を照射した場合、光照射又は暗対照における親化合物の分解程度、分解物の種類やその生成量に顕著な差は認められず、従って、本試験条件下では 分解反応が優先され、 の影響は殆ど認められなかった。一方、非標識ホルペットを用いた緩衝液 (pH 4) 及びフミン酸緩衝液 (pH 4) の人工光 (キセノンランプ) 照射による半減期は、人工光照射区ではそれぞれ 1.8 及び 1.4 時間、暗対照区ではそれぞれ 6.5 及び 5.2 時間で、 試験で確認された以外の分解生成物は確認されなかった。 は照射及び暗対照の両方で主な分解物であり、 の環境中での分解には 分解が寄与していることが示唆された。

以上のように、ホルペットは動物、植物、土壌及び水系環境中の何れにおいても速やかに代謝分解されて長期に残留、蓄積することはないと判断できる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

代謝分解の概要

代謝分解物			A																		投与量回 収率 (%) 又は濃度				
項目																									
ラ ット 内	標識体 75mg/kg 単回	尿 (0-24 時間)	雄																		64.5				
			雌																				78.9		
	標識体 15 mg/kg 単回		血液(24 時間)																				0.03 ppm		
			脳(24 時間)																					0.01 ppm	
			肝(24 時間)																					0.46 ppm	
			腎(24 時間)																					0.10 ppm	
			心(24 時間)																					0.03 ppm	
			消化管(24 時間)																					2.23 ppm	
			筋肉(24 時間)																					0.03 ppm	
			カーカス(24 時間後)																						0.10 ppm
			標識体 10 mg/kg 単回	尿 (0-24 時間)	雄																				89.8
	雌																							90.9	
	糞 (0-24 時間)	雄		0.68																				4.5	
		雌		0.95																				3.5	
	標識体 500 mg/kg 単回	尿 (0-24 時間)	雄																				47.2		
			雌																					46.2	
		糞 (0-24 時間)	雄	21.8																				23.2	
			雌	19.0																				20.4	
	10 mg/kg/日 非標識体 14 日 間+ 標 識体単回	尿 (0-24 時間)	雄																				88.3		
			雌																					84.0	
糞 (0-24 時間)		雄	0.79																				4.4		
		雌	0.82																				4.8		

*: 括弧内の数値は、各採取試料中の残留放射能を 100%とした際の割合。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項目		代謝分解物																投与量回収率 (%) 又は濃度
		A																
動物体内	標識体** 飼料中 20 ppm 相当、3日間	尿(3日間)	雌															10.2
		糞(3日間)	雌															41.9
		呼気(3日間)	雌															31.4
		乳汁(3日間)	雌															1.0
		肝(4日後)	雌															0.34 ppm
		腎(4日後)	雌															0.26 ppm
		筋(4日後)	雌															0.04 ppm
		脂肪(4日後)	雌															0.01 ppm
	標識体** 飼料中 24 ppm 相当、6日間	尿(6日間)	雌															4.8
		糞(6日間)	雌	2.8														34.9
		乳汁(6日間)	雌															0.18 ppm
		肝(7日後)	雌															0.25 ppm
		腎(7日後)	雌															0.16 ppm
		筋(7日後)	雌															0.03 ppm
	標識体 飼料中 14 ppm 相当、6日間	脂肪(7日後)	雌															0.01 ppm
		尿(6日間)	雌															58.4
		糞(6日間)	雌	0.3														34.9
		乳汁(6日間)	雌															0.01 ppm
		肝(7日後)	雌															0.02 ppm
		腎(7日後)	雌															0.05 ppm
		筋(7日後)	雌															< 0.01 ppm
	脂肪(7日後)	雌															< 0.01 ppm	

標識体** : 標識体、括弧内の数値は、各採取試料中の残留放射能を 100%とした際の割合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項目		代謝分解物																	投与量回収率 (%) 又は濃度
		A																	
植 物 内 体	ぶどう	標識体 1.5 kg/ha、3 回散 布、最終散布 23 日後に収穫	果実	洗浄液	1.05 (13.9)														2.0 ppm
				全体 (洗浄液含む)	2.02 (26.7)														7.6 ppm
		葉部	洗浄液	250.8 (85.4)															257.9 ppm
			全体 (洗浄液含む)	266.0 (90.6)															293.7 ppm
		アボカド	標識体 3 lb/エーカー 3 回散布 最終散布 21、97 日後に収穫	葉部	21 日後 (洗浄液)	23.6 (49.7)													47.5 ppm
					21 日後 (洗浄液を除く)	53.6 (62.9)												88.1 ppm	
	97 日後																52.7 ppm		
	果実		21 日後 (洗浄液)	0.29 (41.7)														0.70 ppm	
			21 日後 (洗浄液を除く)	0.24 (2.4)													10.1 ppm		
			果皮(97 日)	0.03 (0.5)													16.9 ppm		
	果肉(97 日)														8.2 ppm				

数値：上段 ppm、下段 (%TRR)

註：抽出物の合計

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項目		代謝分解物														投与量	
		A														収率 (%) 又は濃度	
植 物 体 内	冬 小 麦 1.6 kg/ha、 2 回散布(DC49、 69) DC92 に収穫	茎 葉 部	DC49+1 日後	3.46 (76.9)												4.54 ppm (101)	
			DC69+1 日後	4.73 (50.2)												8.56 ppm (90.9)	
			DC83	6.91 (51.9)													15.5 ppm (116)
			DC92	4.09 (27.2)													14.9 ppm (98.7)
		穀 粒	DC49+1 日後	1.81 (57.1)													3.24 ppm (102)
			DC69+1 日後	4.76 (63.4)													7.31 ppm (97.4)
			DC83	4.74 (46.2)													11.4 ppm (111)
			DC92	8.56 (35.8)													22.0 ppm (92.0)
	キ ャ ベ ツ	茎 葉 部	洗浄液、 2 回散布後	30.02 (70.2)												42.70 ppm (100.0)	
			抽出物、 2 回散布後	8.54 (20.0)													
			洗浄液、 収穫時	1.22 (16.4)													7.43 ppm (100.1)
			抽出物、 収穫時	2.76 (37.3)													
		根 部	2 回散布後	0.39 (32.6)													1.20 ppm (100.0)
			収穫時	0.28 (11.7)													2.38 ppm (100.0)

数値：上段 ppm、下段 (% TRR)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

		代謝分解物		A															投与量回 収率 (%) 又は濃度	
項目																				
土 壌 中	好 気 土 壌	標識体 処理 ca 6 ppm 室温、1年間	砂 壌 土	7日後	9.9															79.1
				14日後	1.6															89.2
				34日後	1.4															98.5
				59日後	0.4															97.8
				118日後	0.4															100.0
				365日後	0.3															99.7
		標識体 処理 ca 10 ppm 25℃、1年間	砂 壌 土	1日後	79.6															103.2
				3日後	35.5															95.1
				7日後	16.2															96.6
				1ヵ月後	6.8															91.6
				3ヵ月後	4.1															91.4
				12ヵ月後	2.0															91.1
	嫌 気 土 壌	壤 質 砂 土	7 日後	水相	<0.1															79.8
				土壌	<0.1															
			112 日後	水相	<0.1															102.3
				土壌	<0.1															
			187 日後	水相	<0.1															116.0
				土壌	<0.1															
	365 日後	水相	<0.1															101.5		
		土壌	<0.1																	
好 気 / 嫌 気 土 壌	砂 壌 土	好 気	2日後	63.8															102.4	
			4日後	28.1															99.3	
		嫌 気	3日後	20.4															96.4	
			15日後	11.0															96.2	
			30日後	7.3															94.4	
			60日後	3.6															92.7	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

代謝分解物																投与量回 収率 (%) 又は濃度				
項目		A																		
水 分 解	加水 1.0~1.2 ppm 緩衝液中 室温	pH 5	1 時間	76.7															98.0	
			3 時間	49.3															96.1	
			5 時間	28.5																96.5
			9.5 時間	9.7																102.8
			24 時間	0.5																104.3
		pH 7	0.5 時間	60.1																84.3
			1 時間	50.5																97.9
			2 時間	26.8																98.8
			4 時間	17.3																99.1
		pH 9	8 時間	3.0																99.9
			15-30 秒	59.5																94.0
			70-71 秒	47.2																94.9
			131-147 秒	27.2																95.7
		pH 9	191-196 秒	16.0																96.4
			611-613 秒	0.3																96.8
	pH 5		1 時間	47.0																83.2
			24 時間	14.9																17.2
	pH 7	1 時間	52.0																87.8	
		24 時間	1.1																44.9	
	pH 9	1 時間	0.0																91.0	
24 時間		0.0																66.6		
光 分 解	標識体 0.95 ppm pH 3 緩衝液中 8 時間照射	太陽 光	照射	34.2														101.9		
			暗対照	38.4															101.5	
		紫外 光**	照射	15.3																100.1
			暗対照	22.5																98.7

標識体* : 標識体

** 光源には 16RPR3500 ランプを備えた Rayonet Photoreactor 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アリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

項目		代謝分解物																投与量回 収率 (%) 又は濃度		
		A																		
水 中	光 分 解	非標識 ホルペット 処理 0.4 ppm 25℃ キセノンランプ 16時間照射	pH4 緩 衝 液	1時間	74.4													92.0**		
				2時間	49.7														83.1**	
				4時間	50.3															79.2**
				8時間	7.2															55.8**
				16時間	0.0															26.5**
		1時間	フ ミ ン 酸 溶 液	1時間	94.3															100.1**
				2時間	61.2															88.8**
				4時間	57.8															79.5**
				8時間	1.5															52.7**
				16時間	0.0															41.6**

** : ホルペット (A) +

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

ホルペットの動植物、土壌及び水中における代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアリスタ ライフサイエンス株式会社にある。

〔附〕 ホルペットの開発年表

項 目	年 代											
	'52	'69	'85	'97	'98	'99	'00	'01	'02	'03	'04	
化合物の発見	●—●											