

1. 動物中運命に関する試験

AH-01 を用いたラットにおける体内運命試験

(資料 運-1)

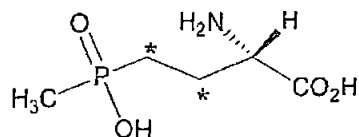
(1) 排泄/バランス試験および代謝物同定

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

放射能標識化合物：[¹⁴C] AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： Bq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

供試動物；雌雄のフィッシャー系(F344/DuCrIj) ラット、9 週齢 (投与時)

投与時体重；低用量 (雄：189.1~193.2g、雌：127.6~134.0g)、高用量 (雄：190.7~191.7g、雌：141.5~145.9g)

飼育環境；温度 23±2°C、湿度 55±15%、換気回数 20 回以上/時間、照明時間 12 時間/日で、水および保証飼料 MF 固形を自由に摂取させて飼育した。

投与；低用量は[¹⁴C]AH-01、及び高用量は[¹⁴C]AH-01 と非放射性 AH-01 を蒸留水で完全に溶解して投与液 (水溶液) とした。

投与量・投与経路・投与回数；低用量を 2 mg/kg 体重、高用量を 100 mg/kg 体重とし、ゾンデで胃内に単回強制経口投与した。投与液量は約 10 g/kg 体重とした。

投与量設定根拠；

試験群構成：

動物数：雌雄各 4 匹

屠殺時点：投与 72 時間後

試料採取：

尿：投与 6, 24, 48, 72 時間後

糞：投与 24, 48, 72 時間後

呼吸：予備試験（資料 運-4）で有意な排泄が認められなかったため、採取せず。

ケージ洗液：72 時間後（メタノール及び水洗液）

臓器・組織：最終調査時点（投与 72 時間後）に消化管（含内容物）とカーカスを採取。

分析法：液体試料は直接液体シンチレーション計測法（LSC 法）にて定量した。糞ホモジネートは可溶化処理、濾過後の濾紙上の残渣は酸化燃焼処理、消化管は溶媒にて均一化（溶解）および残部体組織（カーカス）は磨砕・均一化して LSC 法で定量した。

代謝物分析：尿試料（0-72 時間）および糞抽出試料（0-72 時間）について HPLC 分析法により定量した。同定は参照化合物との比較による HPLC コクロマトグラフィー、および分取精製した尿と糞中の主要成分について LC-MS(MS)分析した。

結果：

排泄バランス（表 1）： $[^{14}\text{C}]$ AH-01 投与後 72 時間でほぼ全量が体外に排泄され、排泄の経路と速度に顕著な性差および用量差はなかった。尿中に投与量の 7.8～9.1%、糞中に 88.4～88.9%が排泄され、主排泄経路は糞への排泄であった。消化管（含内容物）には投与量の 0.2～0.8%、カーカスには 0.2～0.9%であり、体内残留量は微量であった。

表 1 : [¹⁴C]IAH-01 単回経口投与後の排泄バランス

採取試料及び間隔		投与量%			
		低用量: 2 mg/kg		高用量 100 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
尿	0-6 hr	4.06	3.25	3.13	3.60
	6-24 hr	2.62	4.18	3.26	4.00
	24-48 hr	1.16	1.09	1.02	1.24
	48-72 hr	0.38	0.33	0.35	0.26
	累積	8.22	8.85	7.76	9.10
糞	0-24 hr	59.27	47.64	54.25	49.63
	24-48 hr	26.73	38.28	31.93	37.05
	48-72 hr	2.89	2.96	2.60	1.76
	累積	88.89	88.89	88.78	88.45
ケージ洗液	0-72 hr	0.23	0.19	0.32	0.34
総排泄量		97.33	97.93	96.86	97.89
消化管(含内容物)		0.71	0.79	0.42	0.18
カーカス		0.86	0.47	0.32	0.21
総回収率		98.91	99.20	97.60	98.28

数値は 4 匹の平均値

代謝物分析: 表 2 に示すように用量および雌雄に係わりなく糞試料中の放射能は、98%以上が抽出可能代謝物であった。

表 2 : 糞試料中の放射能の抽出率

投与用量	画分	雄		雌	
		糞中%	投与量%	糞中%	投与量%
低用量 (2mg/kg)	抽出	98.78	87.80	98.97	87.97
	非抽出残渣	1.22	1.08	1.03	0.92
	合計	100.00	88.89	100.00	88.89
高用量 (100mg/kg)	抽出	98.93	87.83	98.37	87.01
	非抽出残渣	1.07	0.95	1.63	1.44
	合計	100.00	88.78	100.00	88.45

代謝物:

表 3：単回投与後(低用量：2mg/kg)の尿及び糞試料中の代謝物とその生成量

代謝物	低用量・雄			低用量・雌		
	尿	糞	計	尿	糞	計
	投与量%					

合計	8.22	88.89	97.11	8.85	88.89	97.74
----	------	-------	-------	------	-------	-------

表 4：単回投与後(高用量：100mg/kg)の尿及び糞試料中の代謝物とその生成量

代謝物	高用量・雄			高用量・雌		
	尿	糞	計	尿	糞	計
	投与量%					

合計	7.76	88.78	96.54	9.10	88.45	97.55
----	------	-------	-------	------	-------	-------

—)：試料なし ND)：検出限界未満

代謝経路：

図1 : [¹⁴C] AH-01 のラットにおける主要推定代謝経路
() : 推定代謝中間体 (未検出)

1. 動物中運命に関する試験

AH-01 を用いたラットにおける体内運命試験

(資料 運・2)

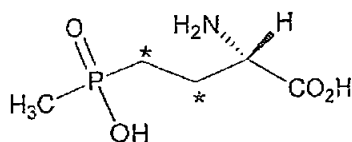
(2) 薬物動態および組織分布

試験機関：

【GLP 対応】

報告書作成年：2006 年

放射能標識化合物：[¹⁴C] AH-01



* : ¹⁴C・標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homocysteine 4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： MBq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

供試動物：雌雄のフィッシャー系(F344/DuCrI) ラット、9～10 週齢 (投与時)

飼育環境：温度 19～25℃、湿度 30～70%、換気回数 10 回以上/時間、照明時間 12 時間/日で、水および保証済げっ歯飼料 (Lab Diet®) を自由に摂取させて飼育した。

投与：低用量は[¹⁴C]AH-01、および高用量は[¹⁴C]AH-01 と非放射性 AH-01 を蒸留水で完全に溶解して投与液 (水溶液) とした。

投与量・投与経路・投与回数：低用量を 2 mg/kg 体重、高用量を 100 mg/kg 体重とし、ゾンデで胃内に単回強制経口投与した。投与液量は約 10g/kg 体重とした。

投与量設定根拠：

試験項目：表 1 に示す試験項目を設定した。

表 1：試験設計

試験項目	試験群	性、動物数	最終屠殺時点 (hr)	試料採取	体重 (g)
血漿中薬物動態	低用量	雄 8 匹	24	投与 0.25,0.5,1,2,4,6,9,12,24 時間後の血漿採取	182-207
		雌 8 匹	24		127-139
	高用量	雄 8 匹	24		186-211
		雌 8 匹	24		120-141
全血液薬物動態	低用量	雄 8 匹	24	投与 0.25,0.5,1,2,4,6,9,12,24 時間後の血液採取	183-209
		雌 8 匹	24		128-143
	高用量	雄 8 匹	24		184-225
		雌 8 匹	24		121-147
組織分布	低用量	雄 9 匹	1, 6, 72	臓器・組織中の放射能 量、尿、糞、消化管(含 内容物)、カーカス	
	高用量	雄 9 匹	1, 9, 72		

試料採取：

血液試料；投与 0.25, 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 24 時間後

臓器・組織試料；投与 1, 6(低用量), 9(高用量), 72 時間後

血漿キネティクス調査：頸静脈にカニューレーション手術を施した動物を購入し、飼育環境に馴化した個体を使用した。各時点で約 0.25 mL を採血して血漿を採取した。

分析：

- ・全放射エネルギーの測定；液体試料は直接、骨及び全血は酸化燃焼処理したのち、いずれも液体シンチレーション計数法 (LSC 法) で放射能を定量した。

試験結果：

血漿薬物動態パラメーター；表 2 と表 3 に示すように、血漿中 ^{14}C 濃度は、用量及び雌雄に係らず投与後 1.0~2.0 時間に最大値 (T_{max}) となった。最高血漿中濃度 (C_{max}) は低用量で 0.045~0.047 $\mu\text{g eq./g}$ であり、高用量は 2.333~2.360 $\mu\text{g eq./g}$ であった。吸収された放射能は血漿中に速やかに移行し、3.94~4.28 時間の半減期で血漿中から消失した。 C_{max} および AUC の低用量と高用量の比率は C_{max} で 49.6~52.4 倍、AUC で 60.1 ~66.4 倍であった。

全血薬物動態パラメーター；表 4 と表 5 に示すように、全血液中 ^{14}C 濃度は、低用量・

高用量および雌雄ともに投与後 0.5~1 時間に最大値 (Tmax) になった。最高全血液中濃度 (Cmax) は低用量で 0.029~0.035 $\mu\text{g eq./g}$ であり、高用量は 1.587~1.595 $\mu\text{g eq./g}$ であった。吸収された放射能は全血液中に速やかに移行し、4.65~5.04 時間の半減期で全血液中から消失した。Cmax 及び AUC の低用量と高用量の比率は Cmax で 45.6~54.7 倍、AUC は 56.2 ~58.8 倍であった。

表 2 : [^{14}C]AH-01 単回経口投与後の血漿中 ^{14}C 濃度の推移

投与後の時間(hr)	mg equivalent of [^{14}C]AH-01/g			
	低用量:2mg/kg		高用量:100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0.25	0.032	0.040	1.517	1.875
0.5	0.036	0.037	2.134	1.804
1	0.047	0.045	2.242	2.360
2	0.037	0.037	2.333	2.166
4	0.018	0.016	0.993	0.920
6	0.011	0.011	0.581	0.554
9	0.006	0.006	0.360	0.331
12	0.005	0.004	0.235	0.228
24	0.000	0.000	0.112	0.207

数値は 8 匹の平均値

表 3 : [^{14}C]AH-01 単回経口投与後の血漿薬物動態パラメーター

性	投与用量 (mg/kg)	Tmax (h)	Cmax	AUC _{0-∞}	半減期 (h)
			(mg equiv/g)	(mg equiv/g.h)	
雄	2	1.0	0.047	0.232	4.28
雌	2	1.0	0.045	0.219	3.94
雄	100	2.0	2.333	13.951	3.95
雌	100	1.0	2.360	14.538	4.03

表 4 : [¹⁴C]AH-01 単回経口投与後の全血中 ¹⁴C 濃度の推移

投与後の時間(hr)	mg equivalent of [¹⁴ C]AH-01/g			
	低用量:2mg/kg		高用量:100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0.25	0.022	0.024	1.000	1.093
0.5	0.035	0.024	1.378	1.587
1	0.028	0.029	1.595	1.413
2	0.030	0.024	1.296	1.347
4	0.014	0.012	0.795	0.683
6	0.012	0.008	0.811	0.432
9	0.006	0.005	0.335	0.341
12	0.005	0.004	0.285	0.199
24	0.002	0.002	0.151	0.166

数値は 8 匹の平均値

表 5 : [¹⁴C]AH-01 単回経口投与後の全血液薬物動態パラメーター

性	投与用量 (mg/kg)	Tmax (h)	Cmax	AUC _{0-∞}	半減期 (h)
			(mg equiv/g)	(mg equiv/g.h)	
雄	2	0.5	0.035	0.224	4.93
雌	2	1.0	0.029	0.188	5.04
雄	100	1.0	1.595	12.587	4.65
雌	100	0.5	1.587	11.055	4.80

以上の結果から、投与された AH-01 は、用量及び雌雄に係わりなく血漿中濃度は 2 時間以内に最高値に達し、約 4～5 時間の半減期で体内から速やかに消失した。また、全血液及び血漿中の薬物動態パラメーターから赤血球への移行は低いと推定された。

体内分布；表 6 と表 7 に示すように、最高血漿中 ¹⁴C 濃度 (Cmax) 時点である投与 1 時間後の低用量では、消化管に 90%以上が存在し、その他の臓器・組織は投与量の 1%未満であった。その後、精巣および精巣上体を除く各臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は投与後 72 時間までに減衰した。投与 72 時間後では雌雄の腎臓、肝臓、胸腺、および雄の精巣で 0.04 μg eq./g 以上の濃度を示したが、その他の臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は 0.04 μg eq./g 未満であった。高用量も低用量と同様に、投与 1 時間後で消化管に 90%以上が存在し、その他の臓器・組織は投与量の 1%未満であった。その後、精巣および精巣上体を含め、全ての臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は投与後 72 時間までに減衰した。投与 72 時間後では、雌雄の腎臓および胸腺、雄の腎臓および精巣で 1.0 μg eq./g 以上の濃度を示したが、その他の臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は 1.0 μg eq./g 未満であった。用量に係りなく性差は認められなかった。

表6: [¹⁴C]AH-01 単回経口投与後の体内¹⁴C濃度分布 (μg equiv/g)

臓器・組織	低用量: 2 mg/kg						高用量: 100 mg/kg					
	雄			雌			雄			雌		
	1hr	6 hr	72 hr	1hr	6 hr	72 hr	1hr	9 hr	72 hr	1hr	9 hr	72 hr
副腎	0.028	0.029	0.009	0.021	0.009	0.003	0.904	0.399	ND	0.857	0.303	ND
全血液	0.028	0.009	ND	0.031	0.009	ND	1.300	0.390	ND	1.782	0.343	ND
骨	0.010	0.013	0.002	0.013	0.014	0.001	0.814	0.521	0.084	0.588	0.511	0.057
骨髓	0.022	0.020	0.002	0.020	0.025	0.005	2.382	0.510	ND	1.865	0.267	0.049
脳	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.004	0.100	0.192	0.172	0.182	0.200	0.173
脂肪	0.060	0.009	0.001	0.008	0.003	0.001	0.883	0.128	0.051	0.660	0.090	0.030
精巣上体	0.018	0.027	0.027	NA	NA	NA	1.112	0.949	0.895	NA	NA	NA
心臓	0.014	0.005	0.001	0.015	0.006	ND	0.617	0.260	0.019	0.940	0.265	ND
消化管 (含内容物)	16.528	18.237	0.079	19.114	18.889	0.175	891.292	1020.282	2.296	1017.634	1095.070	5.548
腎臓	0.665	0.676	0.358	0.701	0.493	0.170	30.245	15.330	1.197	34.759	12.861	0.830
肝臓	0.181	0.172	0.074	0.132	0.161	0.047	9.293	7.045	0.898	7.698	6.608	0.686
肺	0.034	0.017	0.007	0.031	0.015	0.004	4.346	0.661	0.268	2.839	0.947	0.296
骨格筋	0.008	0.005	0.001	0.008	0.003	ND	0.414	0.376	0.012	0.502	0.193	ND
卵巣	NA	NA	NA	0.026	0.041	0.004	NA	NA	NA	1.613	0.609	0.183
赤血球	0.016	0.007	ND	0.017	0.006	ND	0.777	0.303	ND	1.009	0.253	ND
脾臓	0.075	0.077	0.035	0.070	0.085	0.035	2.244	2.934	1.559	2.345	4.068	1.789
脳下垂体	0.031	0.056	0.006	0.066	0.113	0.013	1.696	1.185	ND	2.460	1.876	0.209
血漿	0.050	0.014	0.001	0.052	0.012	ND	2.318	0.537	ND	2.878	0.427	ND
前立腺	0.164	0.091	0.008	NA	NA	NA	6.136	2.864	0.401	NA	NA	NA
皮膚	0.019	0.010	0.008	0.021	0.015	0.005	0.694	0.731	0.182	0.950	0.704	0.113
脾臓	0.041	0.048	0.014	0.042	0.058	0.013	1.411	1.850	0.547	1.612	2.197	0.562
精巣	0.027	0.074	0.175	NA	NA	NA	1.099	3.578	2.250	NA	NA	NA
胸腺	0.078	0.208	0.149	0.110	0.251	0.137	2.825	6.381	1.096	3.801	7.020	1.259
甲状腺	0.017	0.015	0.005	0.024	0.014	0.008	7.355	0.386	0.132	2.122	0.174	0.081
子宮	NA	NA	NA	0.031	0.030	0.005	NA	NA	NA	1.664	0.844	0.250
カーカス	0.019	0.019	0.008	0.015	0.016	0.008	1.157	0.939	0.243	0.899	0.442	0.308

NA): 試料無し

ND): 検出限界未満

表 7 : [¹⁴C]AH-01 単回経口投与後の¹⁴C の体内分布 (投与量%)

臓器・組織	低用量：2 mg/kg						高用量：100 mg/kg					
	雄			雌			雄			雌		
	1hr	6 hr	72 hr	1hr	6 hr	72 hr	1hr	9hr	72 hr	1hr	9 hr	72 hr
副腎	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND	<0.01%	<0.01%	ND
骨	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
骨髓	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND	<0.01%	<0.01%	<0.01%
脳	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
精巣上体	0.01%	0.01%	0.01%	NA	NA	NA	<0.01%	<0.01%	<0.01%	NA	NA	NA
脂肪組織	0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
心臓	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND
消化管 (含内容物)	93.85%	88.38%	0.40%	90.97%	89.01%	1.04%	92.53%	88.33%	0.24%	93.57%	89.15%	0.54%
腎臓	0.30%	0.30%	0.15%	0.30%	0.21%	0.07%	0.26%	0.13%	0.01%	0.27%	0.10%	0.01%
肝臓	0.39%	0.35%	0.15%	0.22%	0.25%	0.08%	0.38%	0.27%	0.04%	0.24%	0.19%	0.02%
肺	0.01%	0.01%	<0.01%	0.01%	0.01%	<0.01%	0.02%	<0.01%	<0.01%	0.02%	0.01%	<0.01%
骨格筋	0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND
卵巣	NA	NA	NA	<0.01%	<0.01%	<0.01%	NA	NA	NA	<0.01%	<0.01%	<0.01%
膵臓	0.01%	0.01%	<0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	<0.01%	0.01%	0.01%	0.01%
脳下垂体	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	ND	<0.01%	<0.01%	<0.01%
前立腺	0.01%	0.01%	<0.01%	NA	NA	NA	<0.01%	<0.01%	<0.01%	NA	NA	NA
皮膚	0.01%	<0.01%	<0.01%	0.02%	0.01%	<0.01%	0.01%	<0.01%	<0.01%	0.01%	0.01%	<0.01%
脾臓	0.01%	0.01%	<0.01%	0.01%	0.01%	<0.01%	<0.01%	0.13%	<0.01%	<0.01%	0.01%	<0.01%
精巣	0.02%	0.05%	0.12%	NA	NA	NA	0.01%	0.04%	0.03%	NA	NA	NA
胸腺	<0.01%	0.01%	0.01%	0.01%	0.02%	0.01%	<0.01%	0.01%	<0.01%	<0.01%	0.01%	<0.01%
甲状腺	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%	<0.01%
子宮	NA	NA	NA	<0.01%	<0.01%	<0.01%	NA	NA	NA	<0.01%	<0.01%	<0.01%
カーカス	0.69%	0.72%	0.31%	0.58%	0.60%	0.33%	0.79%	0.63%	0.17%	0.63%	0.30%	0.22%

NA) : 試料無し

ND) : 検出限界未満

<0.01%) : 放射能は検出されたが、投与量の 0.01%未満

1. 動物中運命に関する試験

AH-01 を用いたラットにおける体内運命試験

(資料 運-3)

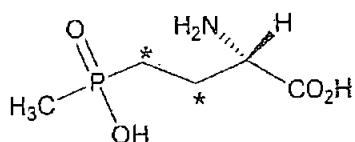
(3) 胆汁排泄試験

試験機関：

【GLP 対応】

報告書作成年：2006 年

放射能標識化合物：[¹⁴C] AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： Bq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

供試動物：雌雄のフィッシャー系(F344/NHsd) ラット、9 週齢 (投与時)

飼育環境：温度 19-25℃、湿度 30-70%、換気回数 10 回以上/時間、照明時間 12 時間/日、水および保証付飼料(Lab Diet)を自由に摂取させて飼育した。

投与：低用量は[¹⁴C]AH-01、および高用量は[¹⁴C]AH-01 と非放射性 AH-01 を蒸留水で完全に溶解して投与液 (水溶液) とした。

投与量・投与経路・投与回数：低用量を 2 mg/kg 体重、高用量を 100 mg/kg 体重とし、ゾンデで胃内に単回強制経口投与した。投与液量は 10 g/kg とした。

投与量設定根拠：

試験項目：表 1 に示す試験を設定した。

表 1：試験設計

試験項目	試験群	性、動物数	最終屠殺 時点 (hr)	試料採取	体重 (g)
胆汁排泄試験	低用量	雄 4 匹	48	胆汁、糞、尿、ケージ洗 液、消化管(含内容物) およびカーカス	178~193
		雌 4 匹	48		137~146
	高用量	雄 4 匹	48		159~192
		雌 4 匹	48		131~146

試料採取：

胆汁試料；投与 6, 12, 24, 48 時間後

尿試料；投与 6, 12, 24, 48 時間後

糞試料；投与 24, 48 時間後

ケージ洗液；投与 48 時間後

消化管(含内容物)・カーカス；最終調査時点 (投与 48 時間後)

胆汁排泄調査：胆管カニューレーション手術を施し、無拘束下で飼育環境に馴化した個体を使用した。

分析：

- ・全放射能量の測定；液体試料は直接、臓器・組織、血液、糞ホモジネートは組織溶解剤で溶解したのち、骨、残部体組織ホモジネート、濾過後の濾紙上残渣は酸化燃焼処理した後、いずれも液体シンチレーション計数法 (LSC 法) で放射能を定量した。

試験結果：

胆汁排泄バランス；表 2 に示すように、投与後 48 時間までに、雌雄とも体外にほぼ全量が排泄された。非胆管カニューレーションラット同様に主排泄経路は糞中であり、投与量の 82.1~87.2%であった。胆汁には投与量の 0.04~0.05%が排泄されたのみであることから、糞中放射能の大部分は未変化の AH-01 と推測された。尿には、投与量の 7.0~8.2%が排泄され、非胆管カニューレーションラットとほぼ同様であった。

以上の結果から、胆汁、尿、ケージ洗液およびカーカスに回収された放射能の合計量に基づいて、単回経口投与された AH-01 の消化管吸収率は投与後 48 時

間で、低用量雄で 10.6%、雌で 14.2%、高用量雄で 12.6%、雌で 13.2%であった。

表 2 : [¹⁴C]AH-01 胆管カニュレーションラットの単回経口投与後 48 時間の¹⁴C 胆汁排泄バランス (投与量%)

採取試料	低用量 : 2 mg/kg		高用量 : 100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
胆汁	0.04	0.05	0.05	0.05
糞	87.24	83.06	85.26	82.05
尿	7.01	8.04	7.56	8.18
ケージ洗液	2.82	5.31	4.43	4.58
消化管 (含内容物)	0.40	0.72	1.11	0.48
カーカス	0.72	0.80	0.53	0.43
総回収率	98.23	97.98	98.94	95.77
吸収率	10.60	14.20	12.57	13.24

1. 動物中運命に関する試験

AH-01 を用いたラットにおける体内運命試験

(資料 運-4)

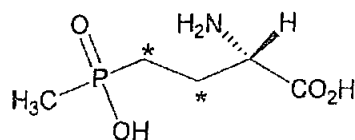
(4) 予備試験

試験機関：

[非 GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

放射能標識化合物：[¹⁴C] AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： Bq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

供試動物：雌雄のフィッシャー系(F344/DuCrj) ラット、9 週齢 (投与時)

飼育環境：温度 23±2℃、湿度 55±15%、換気回数 20 回以上/時間、照明時間 12 時間 /日、水および保証飼料 MF 固形を自由に摂取させて飼育した。

投与：低用量は [¹⁴C]AH-01、及び高用量は [¹⁴C]AH-01 と非放射性 AH-01 を蒸留水で完全に溶解して投与液 (水溶液) とした。

投与量・投与経路・投与回数：低用量を 2 mg/kg 体重、高用量を 100 mg/kg 体重とし、ゾンデで胃内に単回強制経口投与した。投与液量は約 10 g/kg 体重とした。

投与量設定根拠：

試験項目・試験群：表 1 に示す試験群を設定した。

表 1: 試験設計

試験項目	試験群	性、動物数	最終屠殺時 点 (hr)	試料採取	体重 (g)	
予備試 験	血漿キネティク ス	低用量	雄 1 匹	48	血漿	204.2
			雌 1 匹	48		130.7
		高用量	雄 1 匹	48		187.8
			雌 1 匹	48		129.0
	排泄バランス	低用量	雄 1 匹	72	尿、糞、呼気、ケージ洗 液、最終時点の体内分布	208.9
			雌 1 匹	72		132.9
		高用量	雄 1 匹	72		205.8
			雌 1 匹	72		132.8
	胆汁排泄	低用量	雄 1 匹	48	胆汁、尿、糞、ケージ洗 液、消化管内容物、カー カス	209.9
		高用量	雄 1 匹	48		207.5

試料採取：

血液試料；投与 0.5, 1, 2, 4, 6, 9, 12, 24, 48 時間後

呼気試料；投与 6, 24, 48 時間後

尿試料；投与 6, 24, 48, 72 時間後

糞試料；投与 24, 48, 72 時間後

ケージ洗液；投与 72 時間後

臓器・組織試料；最終調査時点（投与 72 時間後）

胆汁試験；胆汁と尿は投与 6, 24, 48 時間後、糞は投与 24, 48 時間後

血漿キネティクス調査：頸静脈にカニューレション手術を施し、無拘束下で飼育環境に馴化した個体を使用した。各時点で約 0.08~0.11g を採血して血漿を採取した。
胆汁排泄調査：胆管カニューレション手術を施し、無拘束下で飼育環境に馴化した個体を使用した。

分析：

- 全放射能量の測定；液体試料は直接、臓器・組織、血液、糞ホモジネートは組織溶解剤で溶解したのち、骨、残部体組織ホモジネート、濾過後の濾紙上残渣は酸化燃焼処理したのち、いずれも液体シンチレーション計数法 (LSC 法) で放射能を定量した。
- 代謝物等の分析；排泄バランス調査群の尿、ケージ洗液、および糞試料を分析用試料とした。尿は直接、糞は水で 3 回攪拌、超音波処理で抽出して全ての抽出液を合わせて試料とした。代謝物等は、放射能検出器で放射能ピークを検出した。LSC 法にて定量し、標準品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。

試験結果：

排泄バランス；表2に示すように、投与後72時間までに体外にはほぼ全量が排泄され、主排泄経路は糞中であり、投与量の89.7~92.2%であった。呼気中には投与量の0.2%以下であり、有意な量の放射能は検出されなかった。投与72時間後の体内には、用量及び雌雄に係わらず投与量の約0.3~1.2%であった。表3に示すように、主要排泄経路である糞中の放射能は胆汁ではなく直接糞に排泄されていた。

以上の結果から、本試験では呼気の補集及び分析を実施しなかった。また、投与後72時間でほぼ全量が排泄され、体内にも僅かな放射能が検出されたのみであったので、本試験においても最終調査時点は投与後72時間までとした。

表2：¹⁴C]AH-01 単回経口投与後の¹⁴C排泄バランス

採取試料及び間隔	投与量%			
	低用量：2mg/kg		高用量：100mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
呼気(CO ₂) 0-48 hr	0.19	0.17	0.08	0.08
尿 0-72 hr	6.89	7.54	7.43	6.84
糞 0-72 hr	89.72	90.81	91.24	92.19
ケージ洗液 0-72 hr	0.18	0.13	0.77	0.08
総排泄率	96.98	98.65	99.52	99.19
消化管 (含内容物)	0.48	0.18	0.73	0.15
カーカス	0.69	0.35	0.20	0.14
総回収率	98.16	99.19	100.45	99.49

表3：¹⁴C]AH-01 単回経口投与後の¹⁴C胆汁排泄

採取試料及び間隔	投与量%	
	2mg/kg	100mg/kg
	雄	雄
胆汁 0-48 hr	0.21	0.18
尿 0-48 hr	19.29	12.20
糞 0-48 hr	59.16	25.39
ケージ洗液 0-48 hr	1.38	0.85
総排泄率	80.04	38.63
消化管 (含内容物)	15.81	57.69
カーカス	3.61	3.14
総回収率	99.45	99.46
推定吸収率	23.10	15.53

薬物動態パラメーター；表4と表5に示すように、血漿中¹⁴C濃度は、低用量・高用量および雌雄ともに投与後0.5～1時間で最大値になった。2相性の1次減衰曲線で速やかに減衰し、半減期は5～12時間であった。

以上の結果から、本試験の血液採取時間は、投与初期を追加し、最終調査時点は24時間で問題ないと判断した。

表4：¹⁴C]AH-01単回経口投与後の血漿中¹⁴C濃度の推移

投与後の 時間 (hr)	mg equivalent of [¹⁴ C]AH-01/L			
	低用量 (2 mg/kg)		高用量 (100 mg/kg)	
	雄	雌	雄	雌*
0.5	0.0274	0.0384	1.8013	0.9587
1	0.0333	0.0360	1.2408	1.2465
2	0.0250	0.0243	1.0177	1.0077
4	0.0088	0.0123	0.5515	0.5727
6	0.0076	0.0080	0.4232	0.4288
9	0.0055	0.0063	0.3070	< 0.2421
12	0.0058	0.0048	< 0.2091	0.2008
24	< 0.0036	< 0.0047	< 0.2156	< 0.2875
48	—	< 0.0057	< 0.2190	< 0.2464

*：投与9時間後数値はキネティクス分析には用いなかった。

—)：試料無し

表5：¹⁴C]AH-01単回経口投与後の薬物動態パラメーター

投与用量	低用量：2 mg/kg		高用量：100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
Tmax (hr)	1.0	0.5	0.5	1.0
Cmax (mg eq./L)	0.033	0.038	1.80	1.25
AUC _(inf) (mg eq./L/hr)	0.23	0.20	8.60	7.93
t _{1/2β} (hr)	12.2	6.3	6.0	5.3

体内分布；表6と表7に示すように、投与72時間後の各臓器・組織中の¹⁴C濃度は、低用量試験においては腎臓が最も高く、胸腺および精巣がこれに次いだ（0.16～0.35 mg eq./kg）。高用量試験では精巣が最も高く（雄、2.42 mg eq./kg）、脾臓、精巣上体、胸腺および腎臓がこれに次いだ（0.8～1.9 mg eq./kg）。体内に残留していた放射能は投与量の約0.3～1.2%とわずかであった。

以上の結果から、本試験の採取時間は、低用量では投与1,6,72時間後、高用量では投与1,9,72時間後の3時点を調査した。

表6：[¹⁴C]AH-01 単回経口投与72時間後の体内¹⁴C濃度分布

投与用量	濃度 (mg equivalent/kg 組織)			
	低用量：2 mg/kg		高用量：100 mg/kg	
性	雄	雌	雄	雌
全血液	0.0023	0.0011	0.1123	0.0469
赤血球	0.0031	0.0043	0.2063	0.1207
血漿*	0.0009	0.0007	0.0292	0.0230
脂肪	< 0.0031	< 0.0032	< 0.1388	< 0.1631
副腎	0.0147	< 0.0039	0.2451	< 0.1816
骨	0.0024	0.0025	0.0920	0.0687
骨髓	0.0084	0.0112	0.4400	0.4600
脳	0.0029	0.0028	0.1300	0.1204
心臓	0.0023	0.0022	0.0608	0.0548
腎臓	0.3473	0.1812	1.3276	0.7654
肝臓	0.0701	0.0594	0.8031	0.5768
肺	0.0063	0.0056	0.2540	0.2349
脾臓	0.0392	0.0416	1.8628	1.6576
脳下垂体	0.0234	0.0287	< 1.5681	< 1.4999
骨格筋	0.0012	0.0010	0.0404	0.0369
皮毛	0.0089	0.0052	0.3638	0.1305
脾臓	0.0176	0.0159	0.5873	0.4874
胸腺	0.1880	0.1632	1.5929	1.1120
甲状腺	< 0.0132	< 0.0225	< 0.7263	< 0.8961
精巣上体	0.0474	—	1.8389	—
前立腺	0.0328	—	1.0827	—
精巣	0.1940	—	2.4154	—
卵巣	—	0.0079	—	< 0.2429
子宮	—	0.0035	—	0.1524

*：mg equivalent/L 血漿 —)：試料無し

表 7: [¹⁴C]AH-01 単回経口投与 72 時間後の ¹⁴C の体内分布

投与用量	分布率 (投与量 %)			
	低用量 : 2 mg/kg		高用量 : 100 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
副腎	0.0001	< 0.0001	0.0000	< 0.0001
脳	0.0012	0.0018	0.0011	0.0015
心臓	0.0004	0.0004	0.0002	0.0002
腎臓	0.1388	0.0682	0.0100	0.0060
肝臓	0.1499	0.1084	0.0333	0.0192
肺	0.0012	0.0013	0.0009	0.0010
脾臓	0.0048	0.0093	0.0062	0.0063
脳下垂体	0.0000	0.0001	< 0.0000	< 0.0001
膵臓	0.0020	0.0020	0.0013	0.0012
胸腺	0.0124	0.0156	0.0018	0.0022
甲状腺	< 0.0000	< 0.0001	< 0.0000	< 0.0001
精巣上体	0.0045	—	0.0032	—
前立腺	0.0012	—	0.0006	—
精巣	0.1199	—	0.0291	—
卵巣	—	0.0002	—	< 0.0001
子宮	—	0.0008	—	0.0006
消化管 (含内容物)	0.4847	0.1848	0.7304	0.1517
カーカス	0.6930	0.3503	0.2049	0.1407
総体内合計	1.1777	0.5350	0.9353	0.2923

一) : 試料なし

代謝物 ;

2. 植物中運命に関する試験

(1) AH-01 の水稻における代謝運命

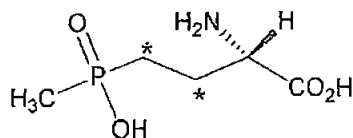
(資料 遅-5)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ AH-01



* : ^{14}C -標識位置

化学名： L-[3,4- ^{14}C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： MBq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

$[^{14}\text{C}]$ AH-01 の保存溶液の調製： $[^{14}\text{C}]$ AH-01 を市販の蒸留水 100 mL に溶解して保存溶液を調製した。

試験植物：ジャポニカ種イネ (*Oryza sativa* L.; 品種；コシヒカリ)

栽培環境：パイレックスガラス製の温室 (光源：太陽光) 内に設置したポットで栽培した。

ポット：埼玉県農林総合研究センター (熊谷市) の試験水田より採取した水田土壌を充填し、約 3 cm に湛水した 1/2000 a (処理区) または 1/5000 a (対照区) のワグネルポット。

温湿度：水稻慣行栽培期の茨城県つくば市の温湿度を基準に設定。

水管理：最終収穫期 (登熟期) の約 1 ヶ月前まで湛水深約 3 cm を維持したのち、落水し、以降、収穫日まで畑条件に維持した。

栽培時期：2005 年 5 月～2005 年 9 月

施用液の調製および施用：

施用液： $[^{14}\text{C}]$ AH-01 の保存溶液の計算量を採り、製剤白試料と製剤中和用 NaOH 水溶液を添加した後、水で希釈し、pH 6.55 に調整して施用液とした。

施用量：4.77mg/ポット (AH-01 の最大慣行施用量)

施用時期：水稻幼苗 (約第 2.5 葉期) のポットへの移植 10 日前。

施用部位：ポット内の土壌表面に添加し、続いて土壌と混和した。施用7日後に約3 cmに灌水した。

試験区の配置と試料採取：

処理区と非処理対照区の2試験区を設けた。処理区と非処理対照区のポットは同一室内の温室に設置した。水稻試料は施用127日後（最終収穫期）に収穫し、根部、稲わら（枝梗を含む茎葉部）、玄米、籾殻を採取した。処理区については施用66日後（中間採取）にも茎葉部を採取した。茎葉部、稲わら、根部（十分に水洗）はいずれも細切した。処理区は全ポット分の全試料を1点の混成試料にまとめ、混合した。

採取時期（施用後日数）	試験区	ポット数	採取試料
中間採取期（66）	処理区	2	茎葉部
最終収穫期（127）	処理区	6	玄米、籾殻、稲わら、根部
	非処理対照区	1	玄米、籾殻、稲わら、根部

上記の土壌処理試料の他に、水稻幼苗の茎葉部に ^{14}C AH-01の約10 ppm水溶液を処理し、代謝物同定を補佐するための実験を行った（幼苗茎葉処理実験）。

分析方法：

試料の均質化と放射性総残留物（TRR）の測定：処理区と非処理対照区の植物体各試料は、ドライアイスと共にミキサーで粉砕して均質化処理した。処理区の籾殻と根部、非処理対照区的全試料中のTRRは、ドライアイスと共にミキサーで粉砕した試料を燃焼処理することにより測定した。処理区の茎葉部、玄米および稲わら中のTRRは抽出法により測定した。

茎葉部、玄米、稲わら試料の抽出と精製：図1に示すように、試料に水を加え、ホモゲナイズおよび濾過により抽出し、抽出液と残渣に分離した。両画分の ^{14}C を測定し、それらを合計してTRRを求めた。抽出液を減圧濃縮した。

図 1 抽出操作フローシート

代謝物の定量：抽出液中の代謝物はフロースルー型放射能検出付きの陰イオン交換 HPLC で分析した。得られたラジオクロマトグラムを解析して 45 画分に分画し、代謝物を定量した。

主代謝物の同定：抽出液中の主放射性ピーク M1(AH-C)を単離し、参照標品との一次元 TLC コクロマトグラフィーおよび LC/MS により同定した。

抽出残渣の特徴付け分析：玄米抽出残渣は α -アミラーゼとプロテアーゼで酵素加水分解し、蛋白質画分とデンプン画分に取り込まれた¹⁴Cのレベルを測定した。稲わら抽出残渣は、水によるソックスレー抽出を行った後、ペクチン画分とリグニン画分、ヘミセルロース画分、およびセルロース画分に分画し、各画分に取り込まれた¹⁴Cのレベルを測定した。

放射能測定：すべての液体試料は液体シンチレーション計測 (LSC) して定量した。固体中の放射能量は酸化燃焼処理したのち、LSC 測定して定量した。

試験結果：

1) TRR の分布 (本文中の濃度はすべて植物体重量ベースでの AH-01 換算濃度)

表 1 に示すように、処理区の間採期(66日後)の茎葉部の TRR レベルは 0.230 mg eq./kg であった。最終収穫期(127日後)では TRR レベルは根部分が最も高く (2.109 mg eq./kg)、稲わら、玄米および籾殻では 0.308 mg eq./kg から 0.553 mg eq./kg の範囲であり、大きな差はなかった。一方、対照区試料からも有意な ^{14}C が認められ、そのレベルは玄米が最も高かった (0.105 mg eq./kg)。このことから、 ^{14}C AH-01 の土壌中での分解により生じた ^{14}C CO₂ がイネ体に取り込まれ、炭酸同化作用で ^{14}C -デンプンなどを生じ、それらが処理区 TRR の一部を形成すると推定された。

表 1 稲体中の放射性残留物の分布 (mg eq./kg)

	中間採取期 (処理 66 日後)	最終収穫期 (処理 127 日後)	対照区
茎葉または稲わら	0.2295	0.5518	0.0609
玄米	..	0.3082	0.1050
籾殻	..	0.5525	0.0946
根部	..	2.1086	0.0805

2) 抽出分析

表 2 に示すように、中間採取期(66日後)の茎葉部中の放射性残留物の水による抽出率は、TRR の 38.7%であり、最終収穫期(127日後)の稲わら中のそれは TRR の 46.0%であった。また玄米中の放射性残留物の抽出率は、TRR の 21.7%と低く、TRR の大部分は抽出残渣成分であった。

表 2 稲体中の放射性残留物の抽出

	中間採取茎葉 (処理 66 日後)		稲わら (処理 127 日後)		玄米 (処理 127 日後)	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
抽出液	0.0889	38.74	0.2539	46.03	0.0667	21.65
抽出残渣	0.1406	61.26	0.2978	53.97	0.2415	78.35
計	0.2295	100.00	0.5518	100.00	0.3082	100.00

3) 放射性成分の分析

表 3 に示すように、中間採取茎葉部の抽出液からは主要放射性成分として M1(AH-C) (0.067 mg eq./kg、TRR の 29.2%) および Fr. 3 (0.022 mg eq./kg、TRR の 9.5%) が検出された。最終収穫期の玄米および稲わら抽出液中の主要放射性成分も、中間採取茎葉部と同様であり、主な放射性成分として

が検出された。は、

抽出液から単離した後、参照標品との一次元 TLC コクロマトグラフィーおよび LC/MS により同定した。Fr. 3 はキャベツ及びトマト代謝試験における未知体 1 と同一と推定され、単一成分ではないと推定された。未変化の AH-01 はいずれの試料からも検出されなかった。

表 3 稲体抽出液中の放射性成分の HPLC 分析

HPLC 画分 No.	識別	中間採取茎葉 (処理 66 日後)		稲わら (処理 127 日 後)		玄米 (処理 127 日後)	
		mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
12	M1(AH-C)	0.0672	29.24	0.2106	38.17	0.0422	13.68

その他の HPLC 画分はすべて ND.

4) 抽出残渣

表 4 に示すように、玄米の抽出残渣の α -アミラーゼ処理で TRR の 24.4% が、またプロテアーゼ処理で TRR の 9.1% が、それぞれ可溶化した。また、表 5 に示すように稲わらを水で抽出後の固形物残渣中の放射性残留物について、化学的抽出による特徴付けを行った結果、大部分がヘミセルロースとセルロース画分に分布していた。これらの結果は、 $[^{14}\text{C}]$ AH-01 由来の放射性残留物がデンプン、ヘミセルロースおよびセルロースなどの植物体構成成分に取り込まれた可能性を示唆するものであった。なお、玄米のデンプンおよびタンパク画分として検出された放射性残留物の一部は、湛水土壤中で生成した放射性二酸化炭素が水稻に取り込まれて形成されたものと考えられた。

表 4 玄米の抽出残渣中 ^{14}C の特徴付け分析結果

	mg eq./kg	% TRR
抽出残渣の初期値	0.2415	78.35
緩衝液洗液	0.0148	4.79
デンプン画分	0.0751	24.37
蛋白質画分	0.0280	9.09
最終残渣	0.0994	32.25

表.5 稲わらの抽出残渣中 ^{14}C の特徴付け分析結果

	mg eq./kg	% TRR
抽出残渣の初期値	0.2978	53.97
ソックレー抽出液	0.0150	2.72
ペクチン画分	0.0006	0.11
リグニン画分	0.0126	2.29
ヘミセルロース画分	0.1370	24.84
セルロース画分	0.1150	20.85
最終残渣	0.0175	3.18

5) 保存安定性

最終収穫期の稲わら試料を取穫後 148 日間凍結保存したのち抽出し、HPLC で分析したところ、ほぼ同じ結果が得られ、 ^{14}C AH-01 由来の代謝物は凍結保存した試料中で安定であることが分かった。

6) 幼苗への茎葉処理実験

幼苗への茎葉処理実験で、処理 7 日後の抽出液から主放射性成分である AH-01 (TRR の約 60%) のほかに少量の と が検出され (TRR の 5-7%)、水稻は AH-01 を (酸化的脱アミノ) および の酸化的脱炭酸) へと代謝する能力を有していることが分かった。

7) 代謝経路

図 2：水稲における AH-01 の推定代謝経路

2. 植物中運命に関する試験

(2) AH-01 のキャベツにおける代謝運命

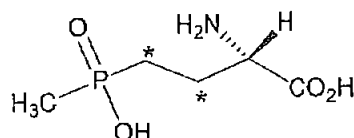
(資料 運-6)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homocysteine-4-yl(methyl)phosphinic acid
放射化学的純度： % (HPLC)
比放射能： Bq/mg
標識位置選定理由：

試験方法：

試験植物：キャベツ (*Brassica oleracea capitata*, var "Round Dutch")

栽培環境：野外露地 (米国カリフォルニア州) の試験圃場。非処理対照区と処理区を設定した。

処理区は 9 個体、非処理対照区は 10 個体のキャベツ (1.0 m² 区画) を用いた。最初の処理 (2005 年 3 月 16 日) から最終収穫 (2005 年 6 月 10 日) までの間の降雨は 2.43 インチであった。作物栽培の間、必要に応じて灌漑処理 (0.25~1.00 インチ/回) を行った。

[¹⁴C]AH-01 の保存溶液の調製：[¹⁴C]AH-01 を市販の蒸留水 100 mL に溶解して保存溶液を調製した。

栽培時期：2005 年 3 月~2005 年 6 月

施用液の調製および施用：

施用液：[¹⁴C]AH-01 の保存溶液の計算量を探り、製剤白試料と製剤中和用 NaOH 水溶液を添加した後、水で希釈し、pH 6.5~7.5 に調整して施用液とした。

施用量：77.2 mg/m² (処理 1 回目) および 79.7 mg/m² (処理 2 回目) (AH-01 の最大慣行施用量)

施用回数：2 回

施用時期：キャベツ幼苗（播種約 6.5 週間後）の定植 7 日前および最終収穫 14 日前。

施用部位：土壌表面に散布処理した。2 回目の散布処理時には、植物体に薬液がかからないように処置した。

以上の土壌処理試験区の他に、キャベツ 1 個体当たり 3.4 mg の ^{14}C]AH-01 を植物体地上部散布処理した植物体散布処理（過剰処理）試験区を設置した。最終収穫 14 日前に 4 個体に 1 回散布処理した。

試料採取：

中間収穫：土壌処理区から第 2 回処理の直前に処理区と非処理対照区の（地上部）各 2 個を収穫した。

最終収穫：土壌処理区から処理区と非処理対照区の収穫期のキャベツを収穫した。

前処理：土壌処理区のキャベツ試料は、表面を水で軽く洗浄して付着した土を取り除き、プールした。植物体散布処理区は、水での洗浄を行うことなく外葉と内部葉に分けた。各試料をドライアイスと一緒に磨砕し、分析時まで凍結保存した。

分析方法：図 1 に示すように試料約 50 g に水を加え、ホモゲナイズおよび濾過により抽出し、抽出液と残渣に分離した。両画分の ^{14}C を測定し、それらを合計して TRR を求めた。

図 1 抽出操作フローシート

放射能測定：すべての液体試料は液体シンチレーション計測（LSC）して定量した。固体中の放射能量は酸化燃焼処理したのち、LSC 測定して定量した。

代謝物の定量：抽出液中の代謝物は HPLC（陰イオン交換およびイオンペア）分析した。HPLC 溶出液を 0.5 分間隔で分取し、LSC 測定して代謝物を定量するとともにラジオクロマトグラムを得た。

主代謝物の同定：抽出液中の主放射性ピーク M1（AH-C）を単離し、必要に応じてジアゾメタンでメチル化した後、参照標品との保持時間の比較および一次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。

試験結果：

1) TRR の分布（本文中の濃度はすべて植物体重量ベースでの AH-01 換算濃度）

表 1 に示すように、土壌処理区のキャベツ中の放射性総残留物レベルは、中間収穫期で 0.036 mg/kg、最終収穫期で 0.043 mg/kg であり、大きな差はなかった。このことは、土壌に処理された¹⁴C]AH-01（またはその土壌中代謝物）がキャベツ中に吸収され、移行する事を示していた。キャベツ中の放射性残留物の多くは抽出性の残留物であり、抽出残渣には TRR の 13.9～17.8%が残っていたが、それらの濃度はいずれも 0.01 mg/kg 未満であった。

表 2 に示すように、散布処理区のキャベツ中の放射性総残留物レベルは、外葉で 2.72 mg/kg、内部葉で 0.063 mg/kg であり、多くが処理部位である外葉に分布していた。キャベツ中の放射性残留物の多くは抽出性の残留物であり、抽出残渣に残っていたのは TRR の 8.4%であった。

表 1：¹⁴C]AH-01 土壌処理区のキャベツ中の放射性総残留物レベル

	中間収穫		最終収穫	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
抽出液	0.031	86.1	0.035	82.2
抽出残渣	0.005	13.9	0.008	17.8
計	0.036	100.0	0.043	100.0

表 2 : [¹⁴C]AH-01 散布処理区のキャベツ中の放射性総残留物レベル

	外葉		内部葉	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
抽出液	2.492	91.6	NA	NA
抽出残渣	0.227	8.4	NA	NA
計	2.719	100	0.063	100

NA : 分析せず

2) 放射性残留物の分析

表 3 に示すように、土壌処理区中間採取のキャベツ抽出液からは主要放射性成分として M1(AH-C) (0.020 mg eq./kg, TRR の 54.2%) および未知体 1 (0.008 mg eq./kg, TRR の 21.6%) が検出された。最終収穫期のキャベツ抽出液中の主要放射性成分も、中間採取茎葉部と同様であり、主な放射性成分として M1(AH-C) (0.020 mg eq./kg, TRR の 46.4%) および未知体 1 (0.009 mg eq./kg, TRR の 20.2%) が検出された。M1(AH-C) は、抽出液から単離した後、ジアゾメタンでメチル化した後、同様にジアゾメタン処理した参照標品 M1(AH-C) のメチル化物 (LC-MS 分析によりジメチル化体と特徴付け) との HPLC 保持時間の比較および一次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。未知体 1 は 0.01 mg eq./kg 未満であったが、更に特徴づけを行った。HPLC で分取した未知体 1 を無水酢酸-ピリジンでアセチル化した後 HPLC で分析した。その結果、3 種の主要ピークを生じ、その中での最大ピークは TRR の約 8% であった。未変化の AH-01 は土壌処理区試料からは検出されなかった。

表 3 [¹⁴C]AH-01 土壌処理区のキャベツ抽出液中の放射性成分の HPLC 分析

識別	中間収穫		最終収穫	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
未知体 1	0.008	21.6	0.009	20.2
M1(AH-C)	0.020	54.2	0.020	46.4
その他	0.003	10.3	0.006	15.6
計	0.031	86.1	0.035	82.2

植物体散布処理 (過剰処理) 試験区試料 (外葉) の抽出液を HPLC で分析した結果、大部分は未変化の AH-01 であったが、一部 M1(AH-C) が検出された。

3) 保存安定性

最終収穫期のキャベツを収穫後 222 日間凍結保存したのち抽出し、HPLC で分析したところ、ほぼ同じ結果が得られ、[¹⁴C]AH-01 由来の代謝物は凍結保存した試料中で安定である

ことが分かった。

4) 代謝経路

AH-01 のキャベツ中における主代謝経路は、その酸化的脱アミノとそれに続く酸化的脱炭酸による M1(AH-C)の生成であった。主代謝物 M1(AH-C)は、土壤中で生成したものがキャベツに吸収された可能性も考えられた。

以下に AH-01 のキャベツ中における推定代謝経路を示す。

図 2：キャベツにおける AH-01 の推定代謝経路

()：推定代謝中間体（未検出）

2. 植物中運命に関する試験

(3) AH-01 のトマトにおける代謝運命

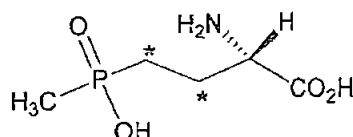
(資料 運-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： Bq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

試験植物：トマト (*Lycopersicon esculentum*, var "ACE55VF")

栽培環境：野外露地 (米国カリフォルニア州) の試験圃場。非処理対照区と処理区を設定。処理区と非処理対照区は 6 本のトマト (1.0 m² 区画) を用いた。最初の処理 (2005 年 4 月 27 日) から最終収穫 (2005 年 8 月 2 日) までの間の降雨は 1.23 インチであった。作物栽培の間、必要に応じて灌漑処理 (0.25~1.00 インチ/回) を行った。

[¹⁴C]AH-01 の保存溶液の調製：[¹⁴C]AH-01 を市販の蒸留水 100 mL に溶解して保存溶液を調製した。

栽培時期：2005 年 4 月~2005 年 8 月

施用液の調製および施用：

施用液：[¹⁴C]AH-01 の保存溶液の計算量を採り、製剤白試料と製剤中和用 NaOH 水溶液を添加した後、水で希釈し、pH 6.0~7.0 に調整して施用液とした。

施用量：84.0 mg/m² (処理 1 回目) および 82.3 mg/m² (処理 2 回目) (AH-01 の最大慣行施用量)

施用回数：2 回

施用時期：トマト幼苗 (播種約 11 週間後) の定植 7 日前および最終収穫 14 日前。

施用部位：土壌表面に散布処理を行った。2回目の散布処理時には、植物体に薬液がかからないように処置した。

以上の土壌処理試験区の他に、トマト1個体当たり3.4 mgの ^{14}C AH-01を植物体地上部散布処理した植物体散布処理（過剰処理）試験区を設置した。最終収穫14日前に4個体に1回散布処理した。

試料採取：

中間収穫（2005年7月19日）：土壌処理区では第2回処理の直前に処理区から7個、非処理対照区から6個のトマト果実を収穫した（2005年7月19日）。

最終収穫（2005年8月2日）：土壌処理区では非処理対照区の10個のトマト果実を収穫し、処理区はすべての果実と葉を収穫した。処理区果実は成熟したものと未成熟に分けた。植物体散布処理区も同様に行った。

前処理：土壌処理区のトマト試料（果実、葉）は、表面を水で軽く洗浄して付着した土を取り除き、プールした。植物体散布処理区は、水での洗浄を行わなかった。各試料をドライアイスと一緒に磨砕し、分析時まで凍結保存した。

分析方法：図1に示すように試料約50 gに水を加え、ホモゲナイズおよび濾過により抽出し、抽出液と残渣に分離した。両画分の ^{14}C を測定し、それらを合計してTRRを求めた。

放射能測定：すべての液体試料は液体シンチレーション計測 (LSC) して定量した。固体中の放射能量は酸化燃焼処理したのち、LSC 測定して定量した。

代謝物の定量：抽出液中の代謝物は HPLC (陰イオン交換およびイオンペア) 分析した。HPLC 溶出液を 0.5 分間隔で分取し、LSC 測定して代謝物を定量するとともにラジオクロマトグラムを得た。

主代謝物の同定：抽出液中の主放射性ピーク M1 (AH-C) を単離し、参照標品 [^{14}C]AH-C との保持時間の比較および一次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。

試験結果：

1) TRR の分布 (本文中の濃度はすべて植物体重量ベースでの AH-01 換算濃度)

表 1 に示すように、土壌処理区の果実中の放射性総残留物レベルは、中間収穫期で 0.010 mg/kg、最終収穫期で 0.013 mg/kg であり、大きな差はなかった。このことは、土壌に処理された [^{14}C]AH-01 (またはその土壌中代謝物) がトマト中に吸収され、移行する事を示していた。最終収穫期茎葉部の放射性総残留物レベルは果実よりも高く、0.068 mg/kg であった。

トマト果実中の放射性残留物の多くは抽出性の残留物であり、抽出残渣には TRR の 6.9 ~ 8.7% が残っていたが、それらの濃度はいずれも 0.001 mg/kg であった。茎葉も、抽出残渣の比率がやや高いものの (17.5%, 0.012 mg/kg)、多くは抽出性の残留物であった。

表 1 : [^{14}C]AH-01 土壌処理区のトマト中の放射性総残留物レベル

	中間収穫果実		最終収穫果実		最終収穫葉	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
抽出液	0.009	91.3	0.012	93.1	0.056	82.5
抽出残渣	0.001	8.7	0.001	6.9	0.012	17.5
計	0.010	100.0	0.013	100.0	0.068	100.0

2) 放射性残留物の分析

表 2 に示すように、土壌処理区中間採取の果実抽出液からは主要放射性成分として M1(AH-C) (0.006 mg eq./kg、TRR の 65.6%) および未知体 1 (0.002 mg eq./kg、TRR の 22.2%) が検出された。最終収穫期の果実抽出液中の主要放射性成分も、中間採取時と同様であり、主な放射性成分として M1(AH-C) (0.009 mg eq./kg、TRR の 73.1%) と未知体 1 (0.002 mg eq./kg、TRR の 15.2%) が検出された。また、最終収穫期の茎葉も基本的には同じであり、M1(AH-C) (0.049 mg eq./kg、TRR の 71.6%) および未知体 1 (0.004 mg eq./kg、TRR の 6.0%) が認められた。

M1(AH-C)は、抽出液から単離した後、参照標品 $[^{14}\text{C}]\text{AH}\cdot\text{C}$ との HPLC 保持時間の比較および一次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。未変化の AH-01 は土壌処理区試料からは検出されなかった。

表 2 $[^{14}\text{C}]\text{AH}\cdot\text{01}$ 土壌処理区のトマト抽出液中の放射性成分の HPLC 分析

識別	中間収穫果実		最終収穫果実		最終収穫葉	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
未知体 1	0.002	22.2	0.002	15.2	0.004	6.0
M1 (AH-C)	0.006	65.6	0.009	73.1	0.049	71.6
その他	0.001	3.5	0.001	4.8	0.003	4.9
計	0.009	91.3	0.012	93.1	0.056	82.5

植物体散布処理（過剰処理）試験区の果実と茎葉の抽出液を HPLC で分析した結果、大部分は未変化の AH-01 であったが、一部 M1(AH-C)が検出された。

3) 保存安定性

トマト果実の抽出液を凍結保存し、収穫から 244 日後に HPLC で分析したところ、ほぼ同じ結果が得られ、 $[^{14}\text{C}]\text{AH}\cdot\text{01}$ 由来の代謝物は凍結保存した抽出液中で安定であることが分かった。

4) 代謝経路

AH-01 のトマト中における主代謝経路は、その酸化的脱アミノとそれに続く酸化的脱炭酸による M1(AH-C)の生成であった。主代謝物 M1(AH-C)は、土壌中で生成したものがトマトに吸収された可能性も考えられた。

図 2 に AH-01 のトマト中における推定代謝経路を示す。

MI(AH-C)

図2：トマトにおけるAH-01の推定代謝経路

()：推定代謝中間体（未検出）

3. 土壌中運命に関する試験

(1) AH-01 の好氣的土壌代謝運命

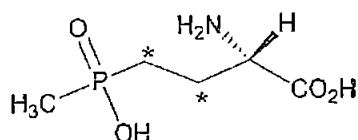
(資料 暹-8)

試験機関：

(GLP 対応)

報告書作成年：2006 年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid
放射化学的純度： % (HPLC)
比放射能： Bq/mg
標識位置選定理由：

試験方法：

被験物質[¹⁴C]AH-01 溶液の調製：

[¹⁴C]AH-01 を水に溶解して被験物質溶液とした。

供試土壌：2 mm の篩に通した表 1 の特性の日本の農耕地土壌(久喜土壌)を使用した。

試験濃度：圃場での最大慣行施用量 705 g a.i./ha に相当する 0.71 mg/kg。

表 1：供試土壌の採取地および特性

採取地		埼玉県久喜市
pH	H ₂ O	6.9
	KCl	5.6
	CaCl ₂	6.2
有機炭素 (有機物) (%)		1.0 (1.73)
陽イオン交換能 (cmolc/kg)		14.3
粒径分布	粗砂 (%)	4.0
	細砂 (%)	51.7
	シルト (%)	27.2
	粘土 (%)	17.1
土性分類 (ISSA)		埴壤土
主粘土鉱物		クロライト, アロフェン, クロラ イトーバーミキュライト中間体
最大容水量		41.2

インキュベーション条件：乾土 25 g 相当の試験土壌 (2 mm 篩別後) を試験容器 (125 mL 容の褐色ガラス瓶) に充填し (深さ 2.5 cm)、脱イオン水を加えて下記の水分条件に調整したのち、加湿空気を連続通気して下記温度条件の恒温槽で非滅菌土壌は約 7 週間、滅菌土壌は 2 週間プレインキュベートした。試験期間中は適宜脱イオン水を加えて土壌水分を設定範囲内に維持した。

水分	最大容水量の 50 ± 10%
温度	25 ± 1°C
照明	暗所

土壌の滅菌：久喜土壌の一部について、1 日に 1 回 30 分間のオートクレーブ滅菌を 4 日間行って滅菌土壌を調製した。

被験物質処理：プレインキュベーション後の試験容器内土壌に、0.71 mg/kg の濃度で被験物質溶液を添加したのち、振とうして [¹⁴C]AH-01 を均一に分布させた。処理後の各試験容器を揮発性物質の連続通気捕集装置と連結し、二酸化炭素フリーの加湿空気を通気して上記条件でインキュベートした。

揮発性物質捕集剤：試験容器から排出された空気は 2 本の 10% 水酸化ナトリウムトラップに通

して二酸化炭素を連続捕集した。各トラップは約1ヶ月ごとに交換した。

試料採取：各土壌とも処理直後のほか、次の各時点で、2 連の試験容器と揮発性物質トラップを採取した。

非滅菌	1、3、7、14、30、59、120 日
滅菌	5、15、20、30 日

土壌微生物の検定：非滅菌土壌の微生物活性はバイオマス (TOC) を測定することによって評価した。また、滅菌土壌については、土壌の水溶液を TSA、AIA、および PDA 培地で 2 日間培養し、好気性細菌、放線菌、糸状菌のコロニー数 (CFU) をそれぞれ測定した。

分析：土壌は 1 回当たり 50 mL の 0.1N NH_4OH 水溶液で 3 回振とう抽出し、抽出液は濃縮して HPLC または TLC で分析した (図 1)。抽出残渣は一部の試料に関して腐植成分の分画を行って分析した (図 2)。

抽出液、NaOH トラップなど、液体試料中の放射能は試料の一部 3 点を液体シンチレーション計測 (LSC) して定量した。

抽出残渣など固体試料中の放射能は試料の一部を酸化燃焼処理したのち LSC 測定して定量した。

HPLC プロファイル測定では抽出液をそのまましくは濃縮して HPLC に注入し、溶出液を 0.3~0.5 分間隔で分画した後、LSC 測定により検出し、定量した。または、HPLC 溶出液を β -ram フロースルー検出器によっても定量した。放射性ピークまたは標準品 (AH-01、M1(AH-C)、M2(AH-D)) と同じ HPLC 分画に溶出する放射能をそれらの定量値とした。

AH-01 と分解物の同定は、HPLC (陰イオン交換およびイオンペア) と一次元シリカゲル TLC における標準品とのコクロマトグラフィーによって確認した。TLC 上の放射性物質はラジオイメージングアナライザーで検出した。放射性二酸化炭素の生成は、NaOH トラップに塩化バリウムを加え、NaOH 溶液中の放射能が $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ 沈殿となって定量的に失われることから確認した。

図 1 : 土壌中残留物の分析フローシート

図 2 : 腐植画分への分画化フローシート

AH-01の半減期等の算定：2つの方法で算定した。

- 1) AH-01の消失を一次反応と見なして式1、式2および式3から50%消失期(DT₅₀)と90%消失期(DT₉₀)を算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (\text{式1}), \quad DT_{50} = 0.693/k \quad (\text{式2}), \quad DT_{90} = 2.303/k \quad (\text{式3})$$

k：分解速度定数，C：時間tにおける濃度，C₀：初濃度

- 2) グスタフソン式 $C = C_0(1 + \beta t)^{-\alpha}$ から、式4および式5で50%消失期(DT₅₀)と90%消失期(DT₉₀)を算出した。

$$DT_{50} = (0.5^{-1/\alpha} - 1) / \beta \quad (\text{式4}), \quad DT_{90} = (0.1^{-1/\alpha} - 1) / \beta \quad (\text{式5})$$

一相性の一次反応が適合しなかった場合には、グスタフソン式を用いて算定した。

また、主要代謝物であるM1(AH-C)のDT₅₀およびDT₉₀を、式1、式2および式3を用いて算出した。

結 果

試験系の微生物活性：

非滅菌土壌中の土壌微生物活性を試験開始時に確認した(表2)。また、滅菌土壌の滅菌状態の確認を行った結果、好気性細菌、放線菌、糸状菌ともに検出されなかった。

表2：非滅菌土壌の微生物バイオマス(mgC/g土壌)

試験開始時
25.53

物質収支と土壌中残留物：

表3に土壌中および揮発性物質トラップから回収された放射能または放射性成分の処理放射能比(物質収支)を、表4に土壌中の残留物濃度の各推移を示した。

設定処理濃度0.71 mg/kgに対して、非滅菌土壌、滅菌土壌でそれぞれ0.720、0.727 mg/kgの濃度で処理された。これら土壌から試験期間中の平均で、それぞれ処理量の93.8±4.1%および96.1±1.4%が土壌と揮発性物質トラップから回収された(表3)。

非滅菌土壌では、AH-01は極めて急速に分解され、AH-01の残存率は処理3日後で51%、120日後では0.2%にまで低下した。主要な分解物は

および¹⁴C¹⁴O₂は、処理7日後に処理量の19.9%の最高値に到達したが、その後は急速に分解し、120日後の残存率は1.4%であった。

も処理14日後に処理量の9.6%の最高値に到達したが、その後は急速に分解し、120日後には完全に消失した。¹⁴C¹⁴O₂の生成量は経時的に増大し、処理120日後までに処理量の64%に達

した。この分解は主に土壤微生物によると推定され、滅菌土壌では30日間でAH-01は初期量の75%に低下したのみであった。

非滅菌土壌では120日後に総回収率が87%前後となったが、これは ^{14}C の捕集が完全ではなかったためと推定された。

表3：土壌中放射能残留量回収率、 ^{14}C AH-01及び分解物の分布（処理量%）

	インキュベーション 期間(日)	抽出液			抽出残渣	^{14}C	総回収率
		合計	AH-01	その他			
非 滅 菌	0	92.2	88.8	2.3	4.1	NA	96.3
	1	72.3	58.8	4.2	25.2	1.1	98.6
	3	70.6	50.9	3.5	23.0	3.2	96.8
	7	53.7	24.1	2.0	30.5	12.0	96.2
	14	38.3	6.8	2.5	27.4	25.8	91.5
	30	28.9	2.9	1.4	26.2	38.6	93.7
	59	9.9	1.2	0.8	22.9	57.5	90.3
	120	4.4	0.2	2.8	18.3	64.4	87.1
滅 菌	0	94.9	93.0	1.9	2.3	NA	97.2
	5	85.8	81.2	4.6	10.2	NA	96.0
	15	84.4	80.2	4.2	12.6	NA	97.0
	20	80.1	74.2	5.9	14.5	NA	94.5
	30	79.5	75.1	4.4	16.6	NA	96.0

NA)：試料なし

ND)：検出限界未満

表4：土壤中放射能残留量回収率、 ^{14}C AH-01及び分解物の分布（放射能濃度、mg eq./kg）

	インキュベーション 期間(日)	抽出液			抽出残渣	^{14}C CO ₂	総回収率
		合計	AH-01	その他			
非 滅 菌	0	0.664	0.640	0.016	0.029	NA	0.693
	1	0.520	0.424	0.031	0.181	0.008	0.709
	3	0.508	0.366	0.025	0.166	0.023	0.697
	7	0.386	0.174	0.014	0.220	0.086	0.692
	14	0.276	0.049	0.018	0.197	0.186	0.659
	30	0.208	0.021	0.011	0.189	0.278	0.675
	59	0.072	0.009	0.006	0.165	0.414	0.651
	120	0.032	0.002	0.021	0.132	0.464	0.628
滅 菌	0	0.690	0.676	0.014	0.017	NA	0.706
	5	0.624	0.591	0.034	0.074	NA	0.698
	15	0.614	0.583	0.031	0.091	NA	0.705
	20	0.582	0.540	0.043	0.105	NA	0.687
	30	0.578	0.546	0.032	0.120	NA	0.698

添加濃度：非滅菌土壌 0.720、滅菌土壌 0.727 mg/kg

NA)：試料なし ND)：検出限界未満

結合残留物（抽出残渣）：処理後30日の非滅菌土壌の抽出残渣中の放射性成分を腐植成分に分離した。その結果を表5に示す。抽出残渣中の放射能の約1/2ずつがフルボ酸およびヒューミン画分から回収され、腐植酸画分の放射能が最も少なかった。

表5：腐植成分画分中の放射能分布（処理量%）

抽出残渣	フルボ酸画分	腐植酸画分	ヒューミン画分
26.2	11.5	3.1	11.6

分解速度：AH-01濃度の推移を一次反応式で解析し、DT₅₀、DT₉₀を算出した（表6、図3）が、非滅菌土壌の推移は一次反応式に合致しなかったため、グスタフソン式で解析した。その結果、AH-01の好気条件の非滅菌土壌におけるDT₅₀、DT₉₀はそれぞれ、3.3日と15.4日であった（表6、図4）。また、主代謝物である の濃度推移を一次反応式で解析した結果（図5）、好気条件の非滅菌土壌におけるDT₅₀、DT₉₀はそれぞれ27.1日と90.2日であった。

図 3 : 好氣的条件の非滅菌久喜土壤における AH-01 の一次減衰速度

図 4 : 好氣的条件の非滅菌久喜土壤における AH-01 のグスタフソン式減衰速度

図 5 : 好氣的条件の非滅菌久喜土壤における M1(AH·C)の一次減衰速度

表 6 : AH·01 および M1(AH·C)の土壤中分解速度 (DT₅₀および DT₉₀)

図 6 : AH-01 の好気条件土壌における推定代謝経路

() : 推定代謝中間体 (未検出)

3. 土壤中運命に関する試験

(2) AH-01 の好氣的湛水土壌代謝運命

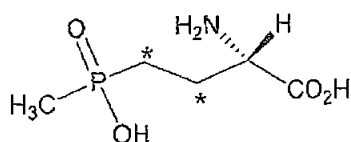
(資料 運-9)

試験機関：

【GLP 対応】

報告書作成年：2006 年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homocystein-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： MBq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

被験物質[¹⁴C]AH-01 溶液の調製：

[¹⁴C]AH-01 を水に溶解して被験物質溶液とした。

供試土壌：2 mm の篩に通した表 1 の特性の日本の農耕地土壌(熊谷土壌)を使用した。

試験濃度：圃場での最大慣行施用量 940 g a.i./ha に相当する 0.94 mg/kg

表 1：供試土壌の採取地および特性

採取地		埼玉県熊谷市
pH	H ₂ O	6.2
	KCl	4.6
	CaCl ₂	5.3
有機炭素（有機物）（%）		0.9 (1.54)
陽イオン交換能（cmolc/kg）		11
粒径分布	粗砂（%）	11.4
	細砂（%）	34.0
	シルト（%）	29.7
	粘土（%）	24.9
土性分類（ISSA）		埴壌土
主粘土鉱物		クロライト，イライト，モンモリ ロナイト
最大容水量（%）		35.8

インキュベーション条件：乾土 90 g 相当の試験土壌（2 mm 篩別後）を試験容器（125 mL 容の褐色ガラス瓶）に充填し（深さ 5 cm）、脱イオン水を加えて土壌表面から水深約 1cm 以上としたのち、加湿空気を連続通気して下記温度条件の恒温槽で非滅菌土壌は約 9 週間、滅菌土壌は 2 週間プレインキュベートした。試験期間中は適宜脱イオン水を加えて水深を設定範囲内に維持した。

温 度	25 ± 1℃
照 明	暗 所

還元層形成の確認：プレインキュベーション終了時（被験物質添加時）に酸化還元電位(Eh)が 200 mV 未満であることを確認した。

土壌の滅菌：熊谷土壌の一部について、1 日に 1 回 30 分間のオートクレーブ滅菌を 4 日間行って滅菌土壌を調製した。

被験物質処理：プレインキュベーション後の試験容器内の湛水土壌の水相に、0.94 mg/kg の濃度で被験物質溶液を添加したのち、攪拌して¹⁴C]AH-01 を試験系全体に均一に分布させた。処理後の各試験容器を揮発性物質の連続通気捕集装置と連結し、二酸化炭素フリーの加湿空気を通気して上記条件でインキュベートした。

揮発性物質捕集剤：試験容器から排出された空気は2本の10%水酸化ナトリウムトラップと1本のエチレングリコール (EG) トラップに通して二酸化炭素および揮発性有機物を連続捕集した。各トラップは2~3週ごとに交換した。

試料採取：各土壌とも処理直後のほか、次の各時点で、2連の試験容器と揮発性物質トラップを採取した。

非滅菌	3、7、14、21、32、59、119日
滅菌	7、14、21、32日

土壌微生物の検定：非滅菌土壌の微生物活性はバイオマス (TOC) を測定することによって評価した。また、滅菌土壌については、土壌の水溶液を TSA、AIA、および PDA 培地で2日間培養し、好気性細菌、放線菌、糸状菌のコロニー数 (CFU) をそれぞれ測定した。

分析：

試験系：pH、溶存酸素濃度及び酸化還元電位 (Eh) を測定後、傾斜法により水層と土壌を分離した。

水層試料：直接 LSC で分析して、放射エネルギーを測定した。また、pH 7 に調整後、HPLC および TLC で分析した。

土壌：1回当たり 100 mL の 0.1N NH₄OH 水溶液で3回振とう抽出した。抽出液は pH 7 に調整後、濃縮して HPLC および TLC で分析した (図 1)。抽出残渣は一部の試料に関して腐植成分の分画を行って分析した (図 2)。

水層試料、土壌抽出液、NaOH トラップなど、液体試料中の放射能は試料の一部3点を液体シンチレーション計測 (LSC) して定量した。

抽出残渣など固体試料中の放射能は試料の一部を酸化燃焼処理したのち LSC 測定して定量した。

HPLC プロファイル測定では抽出液を pH 7 に調整し、そのままもしくは濃縮して HPLC に注入し、溶出液を 0.3~0.5 分間隔で分画した後、LSC 測定により検出し、定量した。

または、HPLC 溶出液を β -ram フロースルー検出器によっても定量した。また、TLC により分離後、ラジオイメージングアナライザーで検出して定量した。放射性ピークまたは標準品 (AH-01、M1(AH-C)) と同じ HPLC 分画または TLC の R_f 値に検出される放射能をそれらの定量値とした。

AH-01 と分解物の同定は、HPLC (陰イオン交換およびイオンペア) と一次元シリカゲル TLC における標準品とのコクロマトグラフィーによって確認した。TLC 上の放射性

物質はラジオイメージングアナライザーで検出した。放射性二酸化炭素の生成は、NaOH
トラップに塩化バリウムを加え、NaOH 溶液中の放射能が $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ 沈殿となって定量的に失われることから確認した。

図1：土壤中残留物の分析フローシート

図 2：腐植画分への分画化フローシート

AH-01 の半減期等の算定：2つの方法で算定した。

- 1) AH-01 の消失を一次反応と見なして式 1、式 2 および式 3 から 50%消失期 (DT_{50}) と 90%消失期(DT_{90})を算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (\text{式 1}), \quad DT_{50} = 0.693/k \quad (\text{式 2}), \quad DT_{90} = 2.303/k \quad (\text{式 3})$$

k：分解速度定数，C：時間 t における濃度， C_0 ：初濃度

- 2) グスタフソン式 $C = C_0(1 + \beta t)^{-\alpha}$ から、式 4 および式 5 で 50%消失期 (DT_{50}) と 90%消失期(DT_{90})を算出した。

$$DT_{50} = (0.5^{-1/\alpha} - 1) / \beta \quad (\text{式 4}), \quad DT_{90} = (0.1^{-1/\alpha} - 1) / \beta \quad (\text{式 5})$$

一相性の一次反応が適合しなかった場合には、グスタフソン式を用いて算定した。

また、主要代謝物である M1(AH-C)の DT_{50} および DT_{90} を、式 1、式 2 および式 3 を用いて算出した。

結 果

試験系の微生物活性：

非滅菌土壌中の土壌微生物活性を試験開始時に確認した(表 2)。また、滅菌土壌の滅菌状態の確認を行った結果、好気性細菌、放線菌、糸状菌ともに検出されなかった。

表 2：非滅菌土壌の微生物バイオマス (mgC/g 土壌)

試験開始時
23.63

物質収支と土壌中残留物：

表 3 に水層、土壌中および揮発性物質トラップから回収された放射能の処理放射能比(物質収支)を、表 4 に残留物濃度の各推移を示した。

設定処理濃度 0.94 mg/kg に対して、非滅菌土壌、滅菌でそれぞれ 0.910、0.917 mg/kg の濃度で処理された。これら土壌から試験期間中の平均で、それぞれ処理量の 94.3±3.6%および 97.1±2.4%が土壌と揮発性物質トラップから回収された(表 3)。

表 3：放射能分布および物質収支 (処理量%)

	インキュベーション 期間 (日)	水層	土壌		揮発性物質		総回収率
			抽出液	抽出残渣	¹⁴ CO ₂	エチレン グリコール	
非 滅 菌	0	29.5	64.2	2.8	NA	NA	96.5
	3	54.6	38.9	5.4	0.3	ND	99.0
	7	35.6	52.9	10.6	0.9	ND	99.8
	14	21.6	46.5	17.0	5.8	0.2	91.0
	21	20.1	44.8	15.7	11.5	ND	92.1
	32	16.2	40.4	16.9	18.5	ND	91.9
	59	16.5	36.8	15.3	23.8	ND	92.3
	119	4.0	18.2	18.8	50.7	ND	91.7
滅 菌	0	30.7	65.2	2.6	NA	NA	98.4
	7	8.5	82.1	6.9	NA	NA	97.5
	14	6.3	83.3	8.9	NA	NA	98.5
	21	5.5	78.6	9.6	NA	NA	93.7
	32	5.8	81.4	10.5	NA	NA	97.7

NA)：試料無し

ND)：検出限界未満

表 4：放射能分布および物質収支（放射能濃度、mg eq./kg）

	インキュベーション 期間 (日)	水層	土壌		揮発性物質		総回収率
			抽出液	抽出残渣	¹⁴ CO ₂	エチレン グリコール	
非 滅 菌	0	0.269	0.584	0.026	NA	NA	0.878
	3	0.497	0.354	0.049	0.003	ND	0.901
	7	0.324	0.481	0.096	0.008	ND	0.908
	14	0.196	0.423	0.154	0.053	0.002	0.828
	21	0.183	0.408	0.143	0.105	ND	0.838
	32	0.147	0.367	0.154	0.168	ND	0.836
	59	0.151	0.334	0.139	0.217	ND	0.840
	119	0.037	0.166	0.171	0.461	ND	0.834
滅 菌	0	0.281	0.598	0.024	NA	NA	0.902
	7	0.078	0.753	0.064	NA	NA	0.894
	14	0.058	0.764	0.082	NA	NA	0.903
	21	0.051	0.721	0.088	NA	NA	0.859
	32	0.053	0.747	0.096	NA	NA	0.896

添加濃度：非滅菌土壌 0.910 mg/kg、滅菌土壌 0.917 mg/kg

NA)：試料無し、ND)：検出限界未満

水層と土壌中の残留物：

表 5 および表 6 に水層と土壌中の主要放射性成分の推移（それぞれ処理放射能比と成分濃度）を示した。

非滅菌土壌では、AH-01 は極めて急速に分解され、AH-01 の残存率は処理 7 日後で 66%、14 日後で 10%、59 日後では 1.0% にまで低下した。主要な分解物は ¹⁴CO₂ と抽出残渣であった。エチレングリコールは、処理 32 日後に処理量の 33.9% の最高値に到達したが、その後は比較的速やかに分解し、119 日後の残存率は 8.6% であった。その他の成分は処理 21 日後に処理量の 29.2% の最高値を示したが、単一の成分としては最大でも 9.6% と考えられた。その後は比較的速やかに分解し、119 日後の残存率は 13.0% であった。¹⁴CO₂ の生成量は経時的に増大し、処理 119 日後までに処理量の 50.7% に達した。この分解は主に土壌微生物によると推定され、滅菌土壌では 32 日間で AH-01 は初期量の 82% に低下したのみであった。

表 5 : 水層および土壌中の¹⁴C]AH-01 及び分解物の分布 (処理量%)

	インキュベーション期間 (日)	画分	放射性成分		
			処理量%		
			AH-01		その他
非 滅 菌	0	水層	28.4		0.8
		土壌抽出液	62.7		0.9
		合計	91.0		1.7
	3	水層	49.2		3.0
		土壌抽出液	32.9		1.6
		合計	82.1		4.6
	7	水層	28.0		2.2
		土壌抽出液	37.7		3.2
		合計	65.7		5.4
	14	水層	0.8		1.4
		土壌抽出液	9.5		4.5
		合計	10.3		5.8
	21	水層	0.1		0.4
		土壌抽出液	3.6		4.9
		合計	3.7		5.3
	32	水層	0.1		0.5
		土壌抽出液	1.9		3.8
		合計	2.0		4.3
	59	水層	0.1		0.7
		土壌抽出液	0.9		2.8
		合計	1.0		3.5
	119	水層	0.2		0.4
		土壌抽出液	0.5		2.3
		合計	0.7		2.6
滅 菌	0	水層	29.2		1.3
		土壌抽出液	61.8		3.0
		合計	91.0		4.3
	7	水層	8.1		0.4
		土壌抽出液	78.1		3.6
		合計	86.1		4.0
	14	水層	5.8		0.5
		土壌抽出液	78.9		3.9
		合計	84.7		4.4
	21	水層	5.1		0.4
		土壌抽出液	74.4		3.7
		合計	79.5		4.0
	32	水層	5.3		0.6
		土壌抽出液	76.5		4.6
		合計	81.7		5.1

ND) : 検出限界未満

表 6：水層および土壌中の¹⁴C]AH-01 及び分解物の分布（放射能濃度、mg eq./kg）

	インキュベーション期間（日）	画分	放射性成分	
			放射能濃度 mg eq./kg	
			AH-01	その他
非滅菌	0	水層	0.258	0.007
		土壌抽出液	0.570	0.008
		合計	0.828	0.015
	3	水層	0.448	0.028
		土壌抽出液	0.300	0.022
		合計	0.748	0.050
	7	水層	0.255	0.020
		土壌抽出液	0.343	0.032
		合計	0.598	0.052
	14	水層	0.007	0.031
		土壌抽出液	0.086	0.141
		合計	0.093	0.172
	21	水層	0.001	0.047
		土壌抽出液	0.033	0.177
		合計	0.033	0.224
	32	水層	0.001	0.010
		土壌抽出液	0.017	0.155
		合計	0.018	0.165
	59	水層	0.001	0.027
		土壌抽出液	0.008	0.142
		合計	0.009	0.169
	119	水層	0.002	0.004
		土壌抽出液	0.005	0.021
		合計	0.007	0.024
滅菌	0	水層	0.267	0.012
		土壌抽出液	0.567	0.028
		合計	0.834	0.040
	7	水層	0.074	0.004
		土壌抽出液	0.716	0.033
		合計	0.790	0.037
	14	水層	0.053	0.005
		土壌抽出液	0.724	0.035
		合計	0.777	0.040
	21	水層	0.047	0.004
		土壌抽出液	0.682	0.034
		合計	0.729	0.037
	32	水層	0.049	0.006
		土壌抽出液	0.701	0.042
		合計	0.750	0.048

添加濃度：非滅菌土壌 0.910 mg/kg、滅菌土壌 0.917 mg/kg

ND)：検出限界未満

結合残留物（抽出残渣）：処理後 32 日の非滅菌土壌の抽出残渣中の放射性成分を腐植成分に分離した。その結果を表 7 に示す。最も放射能が回収されたのはヒューミン画分であり、次いでフルボ酸画分であった。腐植酸画分の放射能が最も少なかった。

表 7：腐植成分画分中の放射能分布（処理量%）

抽出残渣	フルボ酸画分	腐植酸画分	ヒューミン画分
16.9	5.8	3.8	7.3

分解速度：AH-01 濃度の推移を一次反応式で解析し、 DT_{50} 、 DT_{90} を算出した（表 8、図 3）が、非滅菌土壌の推移は一次反応式に合致しなかったため、グスタフソン式で解析した。その結果、AH-01 の好氣的湛水条件の非滅菌土壌における DT_{50} 、 DT_{90} はそれぞれ、6.9 日と 22.9 日であった（表 8、図 4）。また、主代謝物である M1(AH-C)の濃度推移を一次反応式で解析した結果（表 8、図 5）、好氣的湛水条件の非滅菌土壌における DT_{50} 、 DT_{90} はそれぞれ 30.1 日と 100.1 日であった。

図 3：好氣的湛水の非滅菌熊谷土壌における AH-01 の一次減衰速度

図 4：好氣的湛水の非滅菌熊谷土壌における AH-01 のグスタフソン式減衰速度

図 5：好氣的湛水の非滅菌熊谷土壌における M1(AH-C)の一次減衰速度

表 8：AH-01 の土壌中分解速度 (DT₅₀ および DT₉₀)

図 6 : AH-01 の好氣的湛水条件土壤における推定代謝経路

4. AH-01の土壌吸着性試験

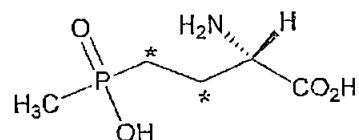
(資料 連・10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homocystein-4-yl(methyl)phosphinic acid
放射化学的純度： % (HPLC)
比放射能： MBq/mg
標識位置選定理由：

試験土壌：使用した の土壌名とその特性を表 1 に示す。供試土壌は、全て 2 mm の篩を通過させ、水分含有量を測定した風乾土壌である。

表 1 試験土壌の特性

土壌試料名					
採取場所					
土性 (USDA)	SL: 砂壤土	L: 壤土	SiL: シルト 質壤土	SiC: シルト 質埴土	S: 砂土
砂 (%)	56.8	50.8	17.6	11.1	95.7
シルト (%)	30.3	32.0	64.2	42.3	2.7
粘土 (%)	12.9	17.2	18.2	46.6	1.6
有機炭素含有率 (%)	2.88	0.57	8.83	4.25	0.06
有機物含有率 (%)	4.97	0.98	15.2	7.33	0.10
pH in 0.01 mol/L CaCl ₂	5.4	5.8	4.6	5.3	8.3
陽イオン交換容量 (cmol/kg)	20.9	11.1	36.4	32.3	1.9
リン酸吸収係数 (mg/100g)	1390	320	2500	1180	50
土壌水分量 (%)	3.6	0.7	34.0	7.4	0.6
粘土鉱物の種類	アロフェン	ハロサイト, イライト	アロフェン ⁰	イライト, ク ロライト	モンモリロ ナイト, カオ リン鉱物

試験設計：試験は予備検討（吸着平衡時間の設定試験および土壌/溶液比の設定試験）及び本試験（¹⁴C]AH-01 の吸着等温線）に分けて実施した。

試験方法：適量の試験土壌をガラス製遠沈管（25 mL 容）に量り採り、適量の 0.01 mol/L 塩化カルシウム水溶液を加えた。室温で少なくとも 12 時間以上振とうして予備平衡化した後、被験物質の標準水溶液を適量添加した。試料を速やかに 25℃ に設定した恒温槽中の振とう機で暗所下にて振とうした。土壌と水の分離は遠心分離機を用い（3948×g, 25℃, 20 分）、放射能測定は液体シンチレーションカウンター(LSC)、AH-01 の測定は HPLC を用いた。

最初に、予備検討として吸着平衡化時間、最適な土壌/溶液比及び AH-01 の安定性を確認するための予備試験を 5.72 mg/L の濃度で実施した。平衡化時間は水相中放射能の変化率が 10% 以下となる時間を選択した。土壌/溶液比は吸着平衡化時に吸着率が可能な限り 20% 以上となるように選択した。

吸着平衡時における物質収支及び安定性確認は図 1 の分析フローに従って測定した。本試験は、水相中初期濃度 5.72, 1.14, 0.572, 0.114 及び 0.0572 mg/L の 5 濃度を用いて吸着等温試験を実施し、フロインドリッヒの吸着係数を算出した。

図1 吸着平衡試験と物質収支測定の実験フローシート

結 果

表2に示す土壌/溶液比で予備検討を行った。この土壌/溶液比における吸着平衡化時間と吸着率の結果を表2に、各土壌の吸着平衡化のグラフを図2に示した。

表2 各土壌における土壌/溶液比

土壌	土壌/溶液比	吸着平衡化時間(hr)	吸着率(%)
青森(OECDタイプ3)	1:5	48	69
福島(OECDタイプ4)	1:5	4	27
栃木(OECDタイプ2)	1:50	48	89
埼玉(OECDタイプ1)	1:5	4	22
徳島(OECDタイプ5)	1:1	4	1

予備検討で採用した土壌/溶液比は、徳島土壌を除き、適切であったため、本試験についてもこの土壌/溶液比を採用した。徳島土壌は吸着率が著しく低く、土壌/溶液比の

最適化が困難であったため、上澄液の採取可能な上限値 (5 g/5 mL) に設定した。

図 2 吸着溶液中の被験物質濃度の濃度推移

表 3 に吸着平衡 48 時間後における物質収支 (AH-01 残存率) をまとめた。

表 3 48 時間吸着振とう時の物質収支

土壌	上澄液中濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	土壌画分濃度 ($\mu\text{g/g}$)	土壌画分被験物 質量 (μg)	物質収支 (%)
青森(OECD タイプ 3)	1.880	17.97	17.97	91
福島(OECD タイプ 4)	3.430	10.77	10.77	90
栃木(OECD タイプ 2)	0.646	237.3	23.73	94
埼玉(OECD タイプ 1)	3.869	10.89	10.89	92
徳島(OECD タイプ 5)	5.678	1.749	8.74	99

予備検討の結果から、表 4 に示す条件で本試験を実施した。吸着等温試験の結果を表 5

にフロインドリッヒの吸着等温線を図3にまとめた。

表4 本試験の実施条件

試験温度：	25℃ (±0.5℃)
平衡化媒体：	0.01 mol/L 塩化カルシウム水溶液
試験容器：	25 mL 容ガラス製遠沈管
試験濃度	水相中初期濃度 5.72, 1.14, 0.572, 0.114, 0.0572 mg/L (水相中初期濃度は水溶解度の 1/2 以下)
土/水比 (w/v)：	青森, 福島, 埼玉 1g/5 mL, 栃木 0.1g/5 mL, 徳島 5g/5 mL
遠心分離条件：	3948×g, 25℃, 20分
溶解補助剤：	無し

表5 吸着等温パラメーターおよびフロインドリッヒの吸着係数

土壌	1/n	K _F	γ ²	有機炭素含量, %	吸着係数, K _{roc}
	0.986	9.75	0.994	2.88	339
	1.08	0.873	0.931	0.57	153
	0.926	351	0.997	8.83	3975
	1.26	0.608	0.943	4.25	14.3
	—	—	—	0.06	—
				平均	1120

フロインドリッヒの土壌吸着係数は 14.3 から 3975 の範囲であった。この土壌吸着係数から、McCall らの化学物質の移動度に関する報告¹⁾に基づき、AH-01 の移動性を分類すると「」に該当した。徳島土壌は吸着率が著しく低いため、吸着等温線を作成することが出来なかった。

- ¹⁾ P. J. McCall et al.: "Measurement of Sorption Coefficients of Organic Chemicals and Their Use in Environmental Fate Analysis", Test Protocols for Environmental Fate and Movement of Toxicants, A.O.A.C. Symposium Proceeding, 94 th annual meeting, Oct.21-22, 1980, pp. 89-106.

図3 フロインドリットの吸着等温線

5. 水中運命に関する試験

(1) AH-01の加水分解運命試験

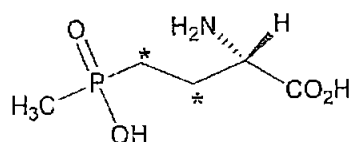
(資料 運-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2006年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



*：¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid
放射化学的純度： % (HPLC)
比放射能： MBq/mg
標識位置選定理由：

試験方法：

農林水産省ならびに米国 EPA のガイドラインに準拠して、pH 4、5、7、9 において 25℃ で試験した。

被験物質 [¹⁴C]AH-01 溶液の調製：

[¹⁴C]AH-01 を水に溶解して被験物質溶液とした。

試験系および被験物質の添加：

pH 4、5、7、9 の下記 4 種類の緩衝液をオートクレーブまたはポアサイズ 0.2 μm の滅菌フィルターで滅菌したのち、窒素ガスを 5 分間通気発泡して緩衝液中の酸素を除去し、次いで pH を調整した。これに [¹⁴C]AH-01 の水溶液および非放射性 AH-01 の水溶液を加えて [¹⁴C]AH-01 濃度約 5 mg/L の試験溶液を調製した。この試験濃度は AH-01 の水溶解度 (>500 g/L、20℃) を十分に下回るものである。オートクレーブ滅菌した 7 mL の褐色ガラスバイアルに試験溶液 5 mL を分注して試験系とした。

緩衝液：pH 4-クエン酸緩衝液 (0.05 M)、pH 5-クエン酸緩衝液 (0.05 M)、pH 7-燐酸緩衝液 (0.0048 M)、pH 9-ホウ酸緩衝液 (0.005 M)

インキュベーション条件：

25 ± 1°Cの恒温室内、暗条件で最長 29 日間インキュベートした。

試料採取：

次の 7 時点で各 pH につき 2 点の試験容器を採取した。

pH 4：0、3、7、11、14、23、29 日

pH 5：0、3、7、11、14、23、29 日

pH 7：0、2、6、10、13、22、29 日

pH 9：0、3、7、11、14、23、29 日

分析：

試験溶液の一部を採取し、pH、放射能濃度、および陰イオン交換 HPLC によるプロファイルを測定した。HPLC プロファイルでは試験溶液をそのままもしくは水で希釈して HPLC に注入し、溶出液を 0.3~0.5 分間隔で分画し、放射エネルギーを液体シンチレーション計測した。または、HPLC 溶出液を β -ram フロースルー検出器によっても定量した。AH-01 の確認は、標準品との HPLC コクロマトグラフィー（陰イオン交換法、逆相イオンペアー法、キラル分析法）で行った。

0 時点および 29 日後の全試料の一部を TSA 培地で平板培養し、微生物数を計測し、滅菌状態を検証した。

結 果：

滅菌状態の維持：

各 pH の 0 時点および 29 日間培養した試料中における微生物数を計数し、試験期間中滅菌が維持されていたことが確認された。

pH の維持：

各採取時点における pH 測定値の範囲を表 1 に示す。試験期間中、試験溶液の pH は概ね設定 pH に維持されていた。

表 1：各採取時点における試験溶液の pH 測定値範囲

緩衝液	各採取時点の pH の範囲
pH 4	3.93 ~ 4.03
pH 5	4.97 ~ 5.03
pH 7	6.96 ~ 7.04
pH 9	8.88 ~ 9.00

放射能回収率および分解物プロファイル：

各 pH および採取時点における試験溶液中放射能の処理放射エネルギーに対する割合 (%) と HPLC 分析結果を表 2 に示す。

pH 4、5、7、9 のいずれの pH においても、インキュベーション期間 0 日では処理した放射活性は定量的に回収されており、被験物質が試料調製操作中安定であること、ならびに試験容器壁面への吸着のないことが確認された。

全ての pH および採取時点で処理放射能は定量的に回収された (全試料の平均回収率、pH 4：100.4%、pH 5：100.0%、pH 7：100.9%、pH 9：100.9%)。全ての pH において 29 日間のインキュベーションで AH-01 の有意な分解は認められなかった。AH-01 以外に検出された HPLC 放射性画分は最大でも処理量の 1.6%であった。

試験期間中、AH-01 から光学異性体 (D-ホモアラニン・4-イル (メチル) ホスフィン酸) への異性化は認められなかった。

AH-01 が加水分解に対して安定であったため、擬似一次反応に基づく意味ある半減期ならびに 90%消失期を計算することはできなかった。従って、25℃、pH4~9 の範囲での半減期は 1 年以上と推定された。

表 2-1：各 pH における放射能回収率および HPLC プロファイル (処理放射能に対する%)

インキュベーション期間 (日)	pH 4			pH 5			pH 7			pH 9		
	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他
0	100.8	100.8	0.0	101.3	101.2	0.1	100.5	100.5	0.0	100.9	100.9	0.0
2	—	—	—	—	—	—	100.8	99.7	1.1	—	—	—
3	100.5	97.9	2.8	100.1	98.1	2.1	—	—	—	101.1	99.8	1.4
6	—	—	—	—	—	—	101.1	99.8	1.3	—	—	—
7	100.9	97.3	3.7	100.6	99.1	1.5	—	—	—	101.2	100.7	0.5
10	—	—	—	—	—	—	101.5	100.8	0.8	—	—	—
11	99.3	97.8	1.5	100.1	99.0	1.1	—	—	—	101.4	99.6	1.9
13	—	—	—	—	—	—	99.5	98.4	1.2	—	—	—
14	99.4	98.8	0.6	98.6	97.5	1.1	—	—	—	99.0	97.8	1.3
22	—	—	—	—	—	—	101.4	100.1	1.3	—	—	—
23	101.9	101.8	0.1	100.1	99.6	0.5	—	—	—	101.9	100.6	1.3
29	100.3	99.1	1.2	99.5	98.3	1.2	101.5	100.3	1.2	101.1	100.1	1.1

数値は 2 反復試料の平均値、—)：該当試料なし

表 2-2：各 pH における放射能回収率および HPLC プロファイル (放射能濃度, mg eq./L)

インキュベーション期間 (日)	pH 4			pH 5			pH 7			pH 9		
	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他	回収 ¹⁴ C	AH-01	その他
0	5.14	5.14	0.00	5.18	5.17	0.01	5.23	5.23	0.00	5.17	5.17	0.00
2	—	—	—	—	—	—	5.24	5.18	0.06	—	—	—
3	5.13	4.99	0.15	5.12	5.01	0.12	—	—	—	5.18	5.11	0.07
6	—	—	—	—	—	—	5.26	5.19	0.07	—	—	—
7	5.15	4.96	0.19	5.14	5.06	0.08	—	—	—	5.18	5.16	0.03
10	—	—	—	—	—	—	5.28	5.24	0.04	—	—	—
11	5.06	4.99	0.08	5.12	5.06	0.06	—	—	—	5.19	5.10	0.10
13	—	—	—	—	—	—	5.17	5.12	0.07	—	—	—
14	5.07	5.04	0.04	5.04	4.98	0.06	—	—	—	5.07	5.01	0.07
22	—	—	—	—	—	—	5.27	5.21	0.07	—	—	—
23	5.20	5.19	0.01	5.12	5.09	0.03	—	—	—	5.22	5.16	0.07
29	5.12	5.05	0.06	5.08	5.03	0.06	5.28	5.22	0.07	5.18	5.12	0.06

数値は 2 反復試料の平均値、—)：該当試料なし

5. 水中運命に関する試験

(2) AH-01 の水中光分解運命試験

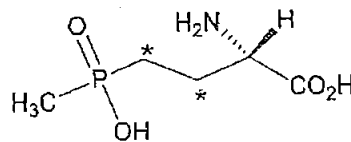
(資料 運-12)

試験機関：

〔GLP 対応〕

報告書作成年：2006 年

放射性標識化合物：[¹⁴C]AH-01



* : ¹⁴C-標識位置

化学名： L-[3,4-¹⁴C]homoalanin-4-yl(methyl)phosphinic acid

放射化学的純度： % (HPLC)

比放射能： MBq/mg

標識位置選定理由：

試験方法：

被験物質[¹⁴C]AH-01 溶液の調製：

[¹⁴C]AH-01 を水に溶解して被験物質の保存溶液とした。

試験系：

緩衝液：AH-01 は解離性物質であり、水中光分解運命は pH の影響を受けると想定されるため、次の 3 種 pH 条件の緩衝液中で試験を実施した。

pH 5：0.01M酢酸緩衝液、pH 7：0.005M磷酸緩衝液および pH 9：0.005Mホウ酸緩衝液

自然水：以下に示す性質の米国カリフォルニア州ハーマン湖の湖水を用いた。

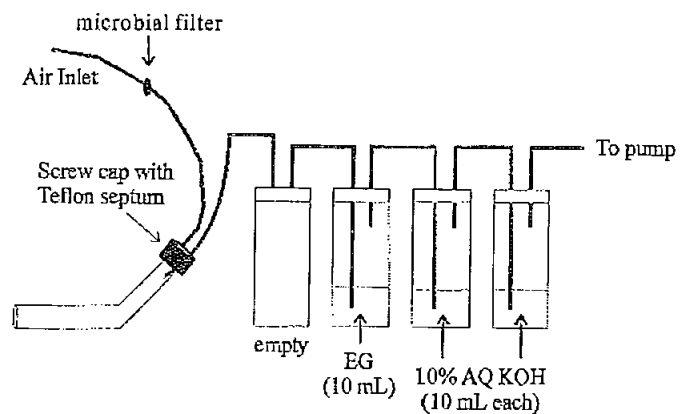
pH	8.3
カルシウム	32 ppm
マグネシウム	20 ppm
ナトリウム	47 ppm

硬度	163 mg eq. CaCO ₃ /L
伝導度	0.52 mmhos/cm
ナトリウム吸収率	1.61
全溶解固形物	368 ppm
全懸濁物	6 ppm

試験容器：光照射区用には石英試験管を、暗所対照区用にはアルミホイルで覆ったパイレックスガラス試験管を使用した。いずれもオートクレーブ滅菌して使用した。

被験物質の添加：[¹⁴C]AH-01 の保存溶液を水で希釈し、希釈水溶液を各緩衝液および自然水に加えて、[¹⁴C]AH-01 の設定濃度 2.0 mg/L の試験溶液を調製した。この試験濃度はこの試験濃度は AH-01 の水溶解度 (>500 g/L, 20°C) を十分に下回るものである。各試験溶液はポアサイズ 0.22 μm の滅菌フィルターで滅菌した。その 5 mL を試験容器に分注し、試験を開始した。

揮発性物質の捕集：右図のように、各試験容器をエチレングリコール (EG; 1 連) および 10% 水酸化ナトリウム溶液 (2 連) を捕集剤とするトラップにつなぎ、各試験容器の空隙部に連続通気して発生した揮発性物質を捕集した。



照射・インキュベーション条件：290 nm 以下の光をカットする UV フィルターを通したキセノンショートアーク光を光源としたサンテスト CPS+装置で試験を実施した (照射区)。試料設置面での平均光強度は 300~800 nm で 455.0 W/m²、300~400 nm で 48.4 W/m² であった。

試験容器は平均水温 25±1°C に維持した水槽に浸して、最長 295.5 時間連続照射するか (照射区)、同温度に維持したインキュベーター内の暗所に設置した (暗所対照区)。

試料採取：次の各時点で試料 (試験容器) を採取した。

緩衝液／光照射区：

pH 5；0、8、28.3、67.5、139.5、208.6、293.7時間

pH 7；0、7、29.8、69.5、139.1、208.6、295時間

pH 9；0、8、28.3、67.5、139.5、208.6、293.7時間

緩衝液／暗所対照区：各 pH の最終分析時点

自然水／光照射区：0、7.1、29.8、69.5、139.1、208.6、295.5時間

自然水／暗所対照区：7.1、29.8、69.5、139.1、208.6、295.5時間

量子収率測定：AH-01の量子収率は *p*-ニトロアセトフェノン (PNAP) とピリジン (PYR) から成る化学光量計を用いて測定した。

分析：

pH、放射能、分解物：試験溶液の一部を採取し、pH、放射能濃度、および陰イオン交換 HPLC 分析 (またはイオンペア-HPLC) によるプロファイルを測定した。また、捕集液の一部を採取して放射能濃度を測定した。放射能はすべて液体シンチレーション計測法 (LSC) で定量した。HPLC プロファイル測定では試験溶液をそのままもしくは水で希釈して HPLC に注入し、溶出液を 0.3~0.5 分間隔で分画し、LSC で定量した。または、HPLC 溶出液を β -ram フロースルー検出器によっても定量した。放射性ピークまたは標準品 (AH-01、M1(AH-C)) と同じ HPLC 分画に溶出する放射能をそれらの定量値とした。

分解物の同定・定量：AH-01 および M1(AH-C) の確認は、標準品との HPLC コクロマトグラフィー (陰イオン交換法、逆相イオンペア法、キラル分析法)、および一次元 TLC コクロマトグラフィーの 2 つの方法で行った。

滅菌状態：0 時点および最終採取時点の試料の一部を TSA 培地で平板培養し、微生物数を計測して滅菌状態を検証した。

分解速度および半減期の算定：

光分解を一次反応とみなし、AH-01 の減衰半減期を算出した。

自然太陽光下での半減期は、春 (4~6 月) の東京 (N35°) における自然太陽光の 1 日積算照度 (300~400 nm) が 7.78 W/m^2 ($=0.672 \text{ mJ/m}^2$) であり、試験条件のキセノン光の 3.9 時間に相当することから ($7.78 \text{ W/m}^2 \div 48.4 \text{ W/m}^2 \times 24 \text{ hr}$)、東京の春の太陽光に対する半減期も算定した。

結果：

滅菌状態の維持：各緩衝液および自然水の各試料採取時点で微生物数を計数し、試験期間中滅菌がほぼ維持されていたことが確認された。

pHの維持:表1に示すように、試験期間中、試験溶液のpHは概ね設定pHに維持されていた。

表1:各採取時点における試験溶液のpH測定値範囲

試験水	各採取時点のpHの範囲
湖水	8.35 ~ 9.28
pH 5	4.94 ~ 5.04
pH 7	6.99 ~ 7.05
pH 9	8.67 ~ 8.99

分解速度および分解物:各採取時点における試験溶液および捕集液中に回収された放射能の処理放射能に対する割合(%)と濃度(mg/L;揮発性物質については試験溶液中濃度に換算した濃度)を表2に示す。

全ての試験水および採取時点で処理放射能は定量的に回収された(全試料の平均回収率、pH 5:100.3%、pH 7:98.9%、pH 9:99.8%、自然水:96.9%)。また、揮発性物質の発生は認められなかった。

pH 5とpH 7においては293.7または295時間の光照射でAH-01の有意な分解は認められなかった。AH-01以外に検出されたHPLC放射性画分は最大でも処理量の1.6%であった。

一方、pH 9の条件においてはAH-01の光分解が認められ、293.7時間の光照射でAH-01は81.1%に減衰した。主要光分解物として が認められた。 これらは光照射により経時的に増加したが、293.7時間後でも10%未満(それぞれ8.7%及び7.6%)であった。

また、自然水(湖水;pH 8.3)中ではpH 9緩衝液中よりも速やかに光分解され、295.5時間の光照射でAH-01は71.6%に減衰した。主要光分解物として、pH 9と同様、

が認められた。これらは光照射により経時的に増加し、

は295.5時間後に12.9%となったが、PD-1は6.9%であった。

暗所対照区では、3種の緩衝液および自然水のいずれにおいてもAH-01の有意な分解は認められなかった。また、揮発性物質の有意の発生も認められなかった。

試験期間中、いずれの試験溶液中でもAH-01から光学異性体(D-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィン酸)への異性化は認められなかった。

表 2-1: pH 5 試料における物質収支および HPLC プロファイル

	照射時間 (h)	溶液			揮発性物質		総回収率
		AH-01	その他の HPLC 成分	小計	エチレン グリコール	NaOH	
処理量%							
照射区	0	99.5 a	0.3 b	99.8	—	—	99.8
	8	97.8 a	1.4 b	99.2	0.0	0.0	99.2
	28.3	101.0 a	1.4 b	102.4	0.0	0.0	102.4
	67.5	100.1 a	1.3 b	101.4	0.0	0.1	101.5
	139.5	99.4 a	1.4 b	100.7	0.0	0.2	100.9
	208.6	99.5 a	1.4 b	100.9	0.1	0.1	101.0
	293.7	98.0 a	0.5 b	98.4	0.1	0.1	98.6
対照区	293.7	99.1 a	ND b	99.1	0.0	0.0	99.1
mg eq/kg							
照射区	0	1.905 a	0.006 b	1.911	—	—	1.911
	8	1.873 a	0.027 b	1.900	<0.001	<0.001	1.900
	28.3	1.933 a	0.027 b	1.960	<0.001	<0.001	1.960
	67.5	1.916 a	0.025 b	1.941	<0.001	0.002	1.943
	139.5	1.903 a	0.026 b	1.929	<0.001	0.003	1.932
	208.6	1.905 a	0.026 b	1.931	0.001	0.002	1.934
	293.7	1.876 a	0.009 b	1.885	0.001	0.002	1.888
対照区	293.7	1.897 a	<0.001 b	1.897	<0.001	<0.001	1.897

a: イオン交換 HPLC で分析したため、未分離の M1(AH-C)画分を微量含む。イオンペア-HPLC による 0 時点と 293.7 時間試料の分析で、M1(AH-C)画分と PD-1 画分は 2%未満であることを確認。

b: HPLC で検出された残りの全ピークの合計。

—): 試料なし NA): 分析せず

表 2-2: pH 7 試料における物質収支および HPLC プロファイル

	照射時間 (h)	溶液			揮発性物質		総回収率
		AH-01	その他の HPLC 成分	小計	エチレン グリコール	NaOH	
処理量%							
照射区	0	97.4 a	1.3 b	98.7	—	—	98.7
	7	98.1 a	1.1 b	99.1	0.0	0.0	99.1
	29.8	98.3 a	1.0 b	99.2	0.0	0.0	99.2
	69.5	97.5 a	0.6 b	98.1	0.0	0.0	98.1
	139.1	97.8 a	1.0 b	98.8	0.0	0.1	98.8
	208.6	97.5 a	1.6 b	99.1	0.0	0.1	99.2

	照射時間 (h)	溶液		揮発性物質		総回収率	
		AH-01	その他の HPLC 成分	小計	エチレン グリコール		NaOH
	295.0	97.8 a	1.5 b	99.3	0.0	0.1	99.4
対照区	295.0	98.3 a	0.6 b	98.9	0.0	0.0	98.9
mg eq./kg							
	0	1.961 a	0.026 b	1.987	—	—	1.987
	7	1.974 a	0.021 b	1.995	<0.001	<0.001	1.995
	29.8	1.978 a	0.019 b	1.997	<0.001	<0.001	1.997
	69.5	1.962 a	0.012 b	1.974	<0.001	<0.001	1.974
	139.1	1.969 a	0.019 b	1.988	<0.001	0.001	1.989
	208.6	1.963 a	0.032 b	1.995	<0.001	0.002	1.997
	295.0	1.969 a	0.029 b	1.998	<0.001	0.002	2.000
対照区	295.0	1.979 a	0.011 b	1.990	<0.001	<0.001	1.990

a: イオン交換 HPLC で分析したため、未分離の M1(AH-C)画分を微量含む。イオンペアーHPLC による 0 時点と 295.0 時間試料の分析で、M1(AH-C)画分と PD-1 画分は 3%未満であることを確認。

b: HPLC で検出された残りの全ピークの合計。

—: 試料なし NA: 分析せず

表 2-3: pH 9 試料における物質収支および HPLC プロファイル

	照射時間 (h)	溶液		揮発性物質		総回収率	
		AH-01	その他の HPLC 成分	小計	エチレン グリコール		NaOH
処理量%							
	0	95.5	2.8	99.7	—	—	99.7
	8	93.2	2.5	99.6	0.0	0.0	99.6
	28.3	95.1	1.5	101.3	0.0	0.0	101.3
	67.5	85.7	1.9	95.8	0.0	0.0	95.8
	139.5	87.3	2.0	101.4	0.0	0.0	101.4
	208.6	89.3	2.5	100.5	0.0	0.0	100.5
	293.7	81.1	2.4	99.5	0.0	0.2	99.7
対照区	293.7	99.8 a	0.9 b	100.6	0.0	0.0	100.6
mg eq./kg							
	0	1.866	0.054	1.949	—	—	1.949
	8	1.822	0.048	1.946	<0.001	<0.001	1.946
	28.3	1.860	0.029	1.981	<0.001	<0.001	1.981
	67.5	1.676	0.037	1.873	<0.001	<0.001	1.873

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

照射時間 (h)	AH-01	溶液		揮発性物質		総回収率	
		その他の HPLC 成分	小計	エチレン グリコール	NaOH		
139.5	1.706	0.039	1.981	<0.001	<0.001	1.981	
208.6	1.745	0.049	1.965	<0.001	<0.001	1.965	
293.7	1.585	0.046	1.945	<0.001	0.004	1.949	
対 照 区	293.7	1.950 a	0.017 b	1.967	<0.001	<0.001	1.967

a: 暗所対照区はイオン交換 HPLC で分析したため、未分離の M1(AH-C)画分を微量含む。イオンペア-HPLC による 293.7 時間試料の分析で、M1(AH-C)画分と PD-1 画分は 2%未満であることを確認。

b: HPLC で検出された残りの全ピークの合計。

—): 試料なし NA): 分析せず

表 2-4：自然水試料における物質収支および HPLC プロファイル

	照射時間 (h)	溶液			揮発性物質		総回収率
		AH-01	その他の HPLC 成分	小計	エチレン グリコール	NaOH	
処理量%							
照射区	0	92.7	2.4	96.7	—	—	96.7
	7.1	86.4	5.1	95.2	0.0	0.0	95.2
	29.8	86.1	5.6	97.2	0.0	0.0	97.2
	69.5	86.6	2.5	98.0	0.0	0.0	98.0
	139.1	83.7	3.8	99.4	0.0	0.0	99.4
	208.6	73.1	4.5	95.2	0.0	0.1	95.3
	295.5	71.6	5.4	96.7	0.0	0.1	96.8
対照区	7.1	95.5 a	1.0 b	96.4	0.0	0.0	96.4
	29.8	96.3 a	0.0 b	96.3	0.0	0.0	96.3
	69.5	97.4 a	2.2 b	99.5	0.0	0.0	99.5
	139.1	97.1 a	1.1 b	98.1	0.0	0.0	98.1
	208.6	94.8 a	1.1 b	95.8	0.0	0.0	95.8
	295.5	94.1 a	1.6 b	95.7	0.0	0.0	95.7
mg eq./kg							
照射区	0	1.786	0.046	1.862	—	—	1.862
	7.1	1.664	0.098	1.834	<0.001	<0.001	1.834
	29.8	1.657	0.107	1.871	<0.001	<0.001	1.871
	69.5	1.667	0.048	1.887	<0.001	<0.001	1.887
	139.1	1.612	0.074	1.914	<0.001	<0.001	1.914
	208.6	1.408	0.037	1.834	<0.001	0.001	1.835
	295.5	1.378	0.103	1.863	<0.001	0.001	1.864
対照区	7.1	1.839 a	0.018 b	1.857	<0.001	<0.001	1.857
	29.8	1.855 a	<0.001 b	1.855	<0.001	<0.001	1.855
	69.5	1.876 a	0.042 b	1.917	<0.001	<0.001	1.917
	139.1	1.869 a	0.020 b	1.890	<0.001	<0.001	1.890
	208.6	1.825 a	0.020 b	1.845	<0.001	<0.001	1.845
	295.5	1.813 a	0.031 b	1.844	<0.001	<0.001	1.844

a：暗所対照区はイオン交換 HPLC で分析したため、未分離の M1(AH-C)画分を微量含む。イオンペアー HPLC による 295.5 時間試料の分析で、M1(AH-C)画分と PD-1 画分は 4%未満であることを確認。

b：HPLC で検出された残りの全ピークの合計。

—)：試料なし NA)：分析せず

pH 9 および自然水における AH-01 の減衰を一次反応式で解析した結果をそれぞれ図 1 および図 2 に示す。また、表 3 に試験条件下および春の東京における自然太陽光下での光分解による 50% 消失期および 90% 消失期をまとめた。

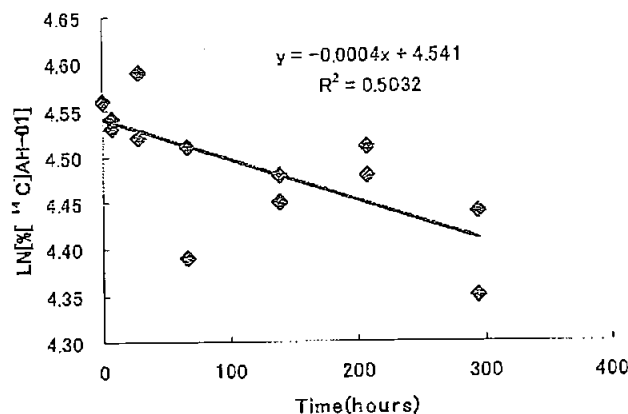


図 1 pH 9 における AH-01 の一次減衰速度

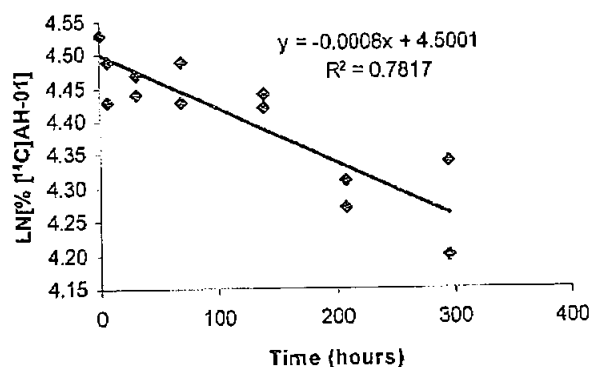


図 2 自然水における AH-01 の一次減衰速度

表 3：試験条件下および春（4～6 月）の東京（北緯 35 度）における AH-01 の DT₅₀ および DT₉₀

	試験条件			太陽光（東京、春）	
	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	r ²	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
pH 5	173	—	—	>1 年	—
pH 7	852	—	—	>1 年	—
pH 9	64.8	215	0.503	399	1326
湖水	35.8	119	0.782	220	731

以上のように、AH-01 の光分解には pH の影響が認められたほか、湖水中成分による光増感度作用が認められたが、主要な分解生成物のパターンは類似していた。添加放射能の 10% を超えて検出された主要な分解物は、
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Meiji Seikaファルマ株式会社にある。

図 3 : AH-01 の水中光分解推定経路 (緩衝液および自然水中)

() : 推定代謝中間体 (未検出)

代謝分解のまとめ

[¹⁴C] AH-01 を用いて実施した動物、植物、土壌および水中における代謝、分解、残留の概要は以下の通りであり、想定代謝経路および結果の概要を以降の項に示した。

動物（資料番号：運-1、運-2、運-3、運-4）

2 mg/kg、100 mg/kg の単回経口投与による動物体内における試験を行った。

排泄バランス試験では、[¹⁴C]AH-01 は 72 時間後で約 89% が糞中に、約 8% が尿中に排泄された。投与 72 時間後における体内残留率（消化管および内容物を除く）は 1% 未満であった。糞中の主要代謝物は（低用量群：54.9%、高用量群 76.4~76.9%）、（低用量群：23.6~26.4%、高用量群：5.0~8.6%）および（低用量群：6.5~7.5%、高用量群：2.2~2.4%）であった。また、尿中の主要代謝物は（低用量群：2.3~3.7%、高用量群 2.4~3.3%）、（低用量群：1.7~1.8%、高用量群：1.3~1.8%）および（低用量群：1.3~1.6%、高用量群：1.7~1.8%）であり、

血中キネティクス試験では、血漿中の薬物動態パラメータは次の通りであった。低用量の単回経口投与で T_{max} ：1 時間（雄）、1 時間（雌）、 C_{max} ：0.047 $\mu\text{g eq/g}$ （雄）、0.045 $\mu\text{g eq/g}$ （雌）、

$AUC_{0-\infty}$ ：0.232 $\mu\text{g eq/g.h}$ （雄）、0.219 $\mu\text{g eq/g.h}$ （雌）、 $T_{1/2}$ ：4.23 時間（雄）、3.94 時間（雌）であった。一方、高用量の単回経口投与で T_{max} ：2 時間（雄）、1 時間（雌）、 C_{max} ：2.333 $\mu\text{g eq/g}$ （雄）、2.360 $\mu\text{g eq/g}$ （雌）、 $AUC_{0-\infty}$ ：13.951 $\mu\text{g eq/g.h}$ （雄）、14.538 $\mu\text{g eq/g.h}$ （雌）、 $T_{1/2}$ ：3.95 時間（雄）、4.03 時間（雌）であった。低用量と高用量の AUC の比は 60.1（雄）、66.4（雌）であった。性差は認められなかった。

組織分布試験では、最高血漿中 ¹⁴C 濃度（ C_{max} ）時点である投与 1 時間後の低用量において、消化管以外の臓器・組織への分布は投与量の 1% 未満であった。投与 72 時間後では雌雄の腎臓、肝臓および胸腺、雄の精巣で 0.04 $\mu\text{g eq/g}$ 以上の濃度を示したが、その他の臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は 0.04 $\mu\text{g eq/g}$ 未満であった。精巣および精巣上体を除く各臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は投与後 72 時間までに減衰した。

高用量も低用量と同様に、投与 1 時間後で消化管に 90% 以上が存在し、その他の臓器・組織は投与量の 1% 未満であった。投与 72 時間後では、雌雄の脾臓および胸腺、雄の腎臓および精巣で 1.0 $\mu\text{g eq/g}$ 以上の濃度を示したが、その他の臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は 1.0 $\mu\text{g eq/g}$ 未満であった。精巣および精巣上体を含め、全ての臓器・組織中 ¹⁴C 濃度は投与後 72 時間までに減衰した。用量に係わりなく性差は認められなかった。

胆汁排泄では、性、用量に関係無く が胆汁中に排泄され、胆汁排泄率は であつた。吸収率は 10.6~14.2% と推定された。

以上、ラットへの AH-01 の経口投与では主要代謝経路は であり、投与量の約 89% が糞に排泄された。吸収率は 10.6~14.2% であった。糞中の代謝物は 、 および

であり、尿中の代謝物は、 および であった。

植物 (資料番号: 運-5、運-6、運-7)

水稻、キャベツおよびトマトを用いて実用濃度で土壌処理を行って試験した。その結果、水稻では最終収穫時に、玄米において0.31ppm、稲わらにおいて0.55ppm、籾殻において0.55ppmおよび根部において2.11ppmのTRRレベルが認められた。玄米においては78%が、稲わらにおいては54%が結合残渣に放射能が存在した。玄米および稲わらにおける主要代謝物としては、それぞれが0.042ppm (TRRの14%)、0.21ppm (TRRの38%) 検出されたが、 は検出されなかった。キャベツにおいては最終収穫時に0.043ppmのTRRレベルが認められた。主要代謝物としては、 が0.020ppm (TRRの46%) が検出されたが、 は検出されなかった。トマトにおいては実に0.013ppm、葉に0.068ppmのTRRレベルが認められた。主要代謝物としては水稻、キャベツと同様に、実および葉それぞれ が0.009ppm (TRRの73%)、0.049ppm (TRRの72%) が検出され、 は検出されなかった。以上、全ての作物、植物部位に共通して代謝物としては主に が確認され、親化合物は検出されず、代謝経路は同一であった。

土壌 (資料番号: 運-8、運-9、運-10)

好氣的条件下において0.72 mg/kgの濃度で処理をして試験を実施した。その結果、DT₅₀は3.3日、DT₉₀は15.4日であり、速やかに分解した。CO₂無機化率は120日後で約64%であった。主要分解物としては (最大19.9%) および (最大9.6%) が検出されたが、いずれの分解物も120日後には1.5%以下まで減少した。

また、好氣的湛水条件下において0.91 mg/kgの濃度で処理をして試験を実施した。その結果、DT₅₀は約6.9日、DT₉₀は約22.9日であり、速やかに分解した。CO₂無機化率は119日後で約51%であった。主要分解物としては が検出されたが、119日後には8.6%まで減少した。

また、土壌吸着試験では、日本の の土壌)を用いて試験を行った。その結果、K_{Foc}は14.3~3975であった。

水中 (資料番号: 運-11、運-12)

加水分解試験をpH 4、5、7および9の緩衝液を用いて、濃度5 ppm、25°Cの条件で29日間実施した。その結果、AH-01は極めて安定であり、加水分解性は見られなかったため、DT₅₀は1年以上と推測された。

また、水中光分解試験をpH 5、7、9の緩衝液および自然水を用いて、濃度2 ppm、25°Cの条件で約300時間照射して実施した。その結果、pH 5、7では分解が見られなかったため、DT₅₀は1年以上と推測された。一方、pH 9および自然水においては がそれぞれ8.7%および12.9%生成した。東京の春の太陽光に換算したDT₅₀はpH9においては399日、自然水においては220日

と推定された。

想定される代謝経路は以下の通りである。

(凡例)

Ⓐ：動物 Ⓟ：植物 Ⓢ：土壌 Ⓛ：水中光分解 ()：推定代謝中間体 (未検出)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はMeiji Seikaファルマ株式会社にある。

ゲルホシネットPの開発年表