

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

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
1	動物における動態と代謝	ラット ① 5分 ② 1、4、8、24、48 時間	メチレン- ¹⁴ C ① 静脈内投与 1mg/kg ② 経口 1mg/kg	全身オートラジオグラフィ	1) 分布 代謝に関与する肝臓、主排泄器官の腎臓で高濃度が認められた。 その他の臓器、組織では相対的に腺組織でやや高い濃度が認められた。 蓄積性を示す標的臓器は認められなかった。 2) 経時的消長 半減期を減衰曲線から推定すると8~10時間未満で、48時間後には初期濃度から数桁の割合で減少した。	(1996年)	代 17
2	動物における動態と代謝	ラット 48時間	メチレン- ¹⁴ C ① 経口投与 雄 5匹 ・ 1mg/kg	呼気 排泄 ①	呼気 (¹⁴ CO ₂ 、揮発性物質) への排泄率: 0.05%	(1998年)	代 23
			② 静脈内投与/雄、雌 各5匹 1mg/kg ・ 経口投与 各群雄 各5匹 ・ 1mg/kg ・ 非標識 1mg/kg 14日間+ 標識 1mg/kg ・ 100mg/kg	吸収 分布 排泄 ②	<ul style="list-style-type: none"> ・ 吸収率: >87% ・ 尿中排泄率: <ul style="list-style-type: none"> 静脈内投与; 61~68% 経口投与; 53~66% ・ 動物残体: 0.3~0.7% ・ 薬物動態パラメーター <ul style="list-style-type: none"> C Nmax(経口)=0.5~0.8 T max(経口)=1~4 時間 ・ 排泄 <ul style="list-style-type: none"> - 経口投与 <ul style="list-style-type: none"> 糞: 雄 30~39% 雌 25~34% 尿: 雄 61~66% 雌 53~60% - 静脈内投与 <ul style="list-style-type: none"> 糞: 雄 29% 雌 27% 尿: 雄 68% 雌 61% 		
				組織 残留 ②	臓器・組織中(16種類)の残留量(胃腸管を除く) 48時間後: (µg/g) 雄 0.001~2.09 雌 0.001~30.23 肝臓で高い濃度を示した。 ・ [I]の構造保持している代謝物: 21~50% 解裂した代謝物: 21~50%		

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
2 継続	動物における動態と代謝	ラット 48時間	②・静脈内投与/雄、雌 各5匹 1mg/kg ・経口投与 各群雌雄 各5匹 ・1mg/kg ・非標識 1mg/kg 14日間+ 標識 1mg/kg ・100mg/kg	代謝 ②	主成分 糞：[I]；1～6% 4-OH体[M1]；1～6% 尿：[I]；2～6% 6-CN グリシン[M7]；12～34% 6-CNA[M3]；4～10% 4-OH体[M1]；2～5% SCH ₃ グリシン体[M9]；1～6% <u>少量代謝物</u> 尿：N-OHアミド体[M11] ニコチン酸体[M6]	(1998年)	
3	動物における動態と代謝	ラット 48時間	チアゾリジン- ¹⁴ C ①経口投与 雄5匹 ・1mg/kg ②・経口投与 各群雌雄 各5匹 ・1mg/kg ・100mg/kg	呼吸 排泄 ①	呼吸 (¹⁴ CO ₂ 、揮発性物質) への排泄率：0.86%	(1998年)	代 45
				吸収 分布 排泄 ②	・吸収率： 尿中排泄率として 60～83% ・動物残体：1～8% ・薬物動態パラメーター P _{max} =0.5～0.8 T _{max} =2～4時間 T _{1/2} (分布相)=2～4時間 ・排泄 -経口投与 糞：雄 13～15%雌 10% 尿：雄 60～77%雌 83%		
				組織 残留 ②	臓器・組織中(19種類)の残留量(胃腸管を除く) 48時間後：(μg/g) 雄 0.001～36.08 雌 0.006～0.07 肝臓で高い濃度を示した。 ・[I]の構造保持している代謝物：32.8～49.8% 解裂した代謝物：5.5～31.5%		
代謝 ②	主成分 糞：[I]；(2～3%) 4-OH体[M1]；2～7% 尿：[I]；2～4% [M19]；4～10% [M22]；2～22% <u>少量代謝物</u> ： 尿：[M18]；1～6% [M23]；2～5%						

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
4	植物における移行性、分布、代謝	稲 ①62日(青刈) ②142日 ③142日	メソ- ¹⁴ C-メチル ①通常量処理区 0.2kg ai/ha (1mg ai/移植穴) ②通常量処理区 0.2kg ai/ha (1mg ai/移植穴) ③過剰処理区 代謝物同定用 1kg ai/ha (5mg ai/移植穴) 植穴処理	吸収移行	吸収移行量： ①青刈り (62日) 0.28mg/kg ②玄米 (142日) 0.03mg/kg 稲わら (142日) 1.00mg/kg	(1998年)	代 67
				分布代謝	主成分： ①青刈り [I]; 6.4% アミド体[M2]; 19.8% 4-OH-アミド体[M37]; 8.4% ②稲わら(通常量処理区) [I]; 4.9% アミド体[M2]; 9.8% 4-OH-アミド体[M37]; 4.0% 6-CPA[M36]; 3.6% スルホン酸体[M30]; 9.8% イミン体[M29]; 4.8% ③玄米(過剰処理区) [I]; 3.2% アミド体[M2]; 12.8% その他の代謝物は0.01mg/kg(玄米)で、通常量処理区に換算すると0.001mg/kgでいずれも6-CNA骨格を有していた。		
5	植物における移行性、分布	トマト ①3、14日後 収穫	メソ- ¹⁴ C-メチル フロアブル剤 ①土壌処理2回 1回目: 0.55mg ai 2回目: 0.58mg ai	吸収移行 ①	土壌処理した後3日、14日後の果実には処理放射能の0.01~0.04%が検出され、土壌から果実へは移行しないことが示された。	(1997年)	代 77
6	植物における移行性、分布、代謝	トマト ①0、3、14日 後収穫	メソ- ¹⁴ C-メチル フロアブル剤 ①トマト樹(果実、葉、茎)に散布	分布代謝	1) トマト果実中の放射能の分布 0日後(0.74mg/kg) 3日後(0.77mg/kg) 14日後(0.94mg/kg) 2) 14日後の放射能の分布 表面洗浄液中に8%、メタノール抽出液中に14%、固形残留物は1.6% 3) 代謝物(14日後) 代謝物は遊離体、抱合体の含量として以下の通り	(1997年)	代 79

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
6 続き	植物における移行性、分布、代謝	トマト ①0、3、14日 後収穫	メチレン- ¹⁴ C-メチル フロアブル剤 ①トマト樹(果実、葉、茎)に散布	分布 代謝	主成分 [I] 94.4% 4-OH 体[M1] 0.4% 6-CNA[M3] 0.2% 6-CPA グルコシド [M4] 0.3% 6-クロビ [®] コルアルコール配糖体複合体[M5] 2.8% 同定率：98.1%	(1997年)	代 79
7	植物における移行性、分布、代謝	りんご ①0、14日後 収穫 ②14日後 収穫	メチレン- ¹⁴ C-メチル 600SC ①薬に塗布処理 ②りんご表皮に塗布	吸収 移行 ①	直上、直下の葉に塗布処理した後14日後の果実には処理放射能の0.04-0.06%のみが検出され、果実へは移行しないことが示された。	(1997年)	代 84
				分布 代謝 ②	14日後： TRR 平均値は 0.74mg/kg で、 ¹⁴ C の約 84% が表面洗浄液から回収された。抽出後の有機相に約 13%、水相、固型残留物は 3%であった。 りんご全体の代謝物 主成分 [I]； 90.8% 4-OH 体[M]； 2.2% アミド体[M2]； 1.3%		
8	培養細胞における代謝 りんご 大豆 小麦 ふともも科植物 棉 カンキツ トマト ばれいしょ	7日間培養	メチレン- ¹⁴ C-メチル 50μM	代謝	放射能の分布 (対回収量%) 培養液 細胞 りんご 77.76 21.80 大豆 73.01 26.10 小麦 91.48 8.28 ふともも科植物 87.82 11.89 棉 98.14 1.71 カンキツ 94.55 5.33 トマト 76.18 23.19 ばれいしょ 82.37 17.33 [I] りんご 93.67 大豆 77.54 小麦 97.96 ふともも科植物 87.28 棉 97.86 カンキツ 93.94 トマト 79.81 ばれいしょ 89.95	(1998年)	代 89

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
8-2	植物における移行性、分布、代謝	棉	メチレン- ¹⁴ C-メチル 707P [®] 剤 散布 125g a. i. /ha 相当 ×3 回	分布 代謝	分布(放射能濃度) : 落葉・落花生 ; 29.77mg/kg ジントラッシュ ; 2.92mg/kg 種子 ; 1.06mg/kg 可食部(種子) 中の主な代謝物 [I] ; 0.6% 6-CNA[M] ; 45.8% 6-CNA 抱合体 ; 29.7%	(1998 年)	代92-2
8-3	植物における移行性、分布、代謝	小麦	メチレン- ¹⁴ C-メチル 707P [®] 剤 散布 50g a. i. /ha 相当 ×2 回	分布 代謝	分布(放射能濃度) : 青刈り ; 2.04mg/kg 麦わら ; 12.36mg/kg 種子 ; 0.21mg/kg 可食部(種子) 中の主な代謝物 [I] ; 80.9% 4-OH体[M] ; 0.7% 6-CNA 配糖複合体[M1] ; 1.7%	(2001 年)	代92-9
9	土壌代謝 (水田条件下)	水田土壌 2 種類 火山灰土壌 沖積土壌	メチレン- ¹⁴ C 添加濃度 : ① 推奨施用用量区 10 µg/50g 乾土 (0.2 kg ai/ha 相当) ② 10 倍過剰施用用量区 代謝物同定用 150 µg/50g 乾土 (3 kg ai/ha 相当)	代謝	① 土壌中微生物活性 : 試験期間を通じて微生物学的活性を維持 ② 半減期 : 2.4~7.2 日 ③ 総放射能分布割合(%) : C O ₂ : 0 日後 ND 10 日後 0.6-0.8 70 日後 3.8-6.2 161 日後 8.1-15.4 189 日後 19.5 表層水 : 0 日後 40.6-58.6 10 日後 3.9-11.5 70 日後 3.4-10.4 161 日後 3.1-3.5 189 日後 3.1 土壌抽出物 : 0 日後 34.5-57.2 10 日後 71.6-83.8 70 日後 50.5-70.4 161 日後 38.2-64.4 189 日後 33.2 未抽出物 : 0 日後 5.5-7.8 10 日後 9.1-12.1 70 日後 20.5-30.6 161 日後 19.8-35.3 189 日後 44.8	(1997 年)	代 93

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
9 続き	土壌代謝 (水田条件下)	水田土壌 2種類 火山灰土壌 沖積土壌	メチレン- ¹⁴ C 添加濃度: ①推奨施用量区 10 µg/50g 乾土 (0.2 kg ai/ha 相当) ②10倍過剰施用量区 代謝物同定用 150 µg/50g 乾土 (3 kg ai/ha 相当)	代謝	④代謝(%): 表層水: [I] [M2] [M30] 0日後 40.6-58.5 <0.1 <0.1 10日後 <0.1 3.7-9.7 0.3-0.8 70日後 <0.1-0.5 0.5-2.2 2.2-4.8 161日後 <0.1 0.2-1.0 0.6-0.8 土壌抽出物: [I] [M2] [M30] 0日後 33.7-57.2 <0.1 <0.1 10日後 13.6-25.2 52.6-56.1 <0.1 70日後 8.7-14.0 30.2-49.2 5.3-5.7 161日後 3.5-11.5 25.7-44.2 <0.1-1.0 結合性残留物: 火山灰: 19.8%(161日後) 沖積: 44.8%(189日後) 苛酷抽出により約38%(沖積)、 45%(火山灰)が抽出された (フミン、フミン酸、フルボ酸分画) 水田土壌系: [I] [M2] [M30] 0日後 92.2-97.8 <0.1 <0.1 10日後 13.6-25.2 59.8-62.3 0.3-0.8 70日後 9.2-14.0 32.4-49.7 7.9-10.1 161日後 3.5-11.5 26.7-44.4 0.6-1.8 同定率: 70日後(CO ₂ 、水中炭酸イオン、 フミン、フミン酸、フルボ酸分 を加える) 沖積土: 70% 火山灰土: 85%	(1997年)	
10	土壌代謝 (畑地条件下)	畑地土壌 4種類 砂土 砂壤土 シル質壤土 砂壤土	メチレン- ¹⁴ C 添加濃度: 約37 µg/100g 乾土 (0.3~0.35 kg ai/ha 相当)	代謝	①土壌中微生物活性: 経時的に減少した。 ②半減期: 0.4~2.6日 ③総放射能分布割合(%): CO ₂ : 0日後 14日後 1.4-7.5% 100日後 6.5-33.6% 365日後 24.7% 抽出物: 0日後 96.7-98.4% 14日後 74.4-93.3% 100日後 34.3-70.3% 365日後 45.2% 未抽出物: 0日後 1.6-3.3% 14日後 7.8-15.7% 100日後 21.7-29.9% 365日後 30.9%	(1998年)	代 103

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
10 続き	土壌代謝 (畑地条件下)	畑地土壌 4種類 砂砂土 砂壤土 シルト質壤土 砂壤土	メチレン- ¹⁴ C 添加濃度： 約37 µg/100g 乾土 (0.3~0.35 kg ai/ha 相当)	代謝	④代謝： 8日後： [I]；3.0-26.0 アミド体[M2]；58.8-72.3 スルホン酸体[M30]；1.8-5.3 イミン体[M29]；0.6-2.2 ウレア体[M31]；0-0.8 ジアミド体[M32]；0.1-0.2 30日後： [I]；1.4-6.7 アミド体[M2]；40.4-66.4 スルホン酸体[M30]；3.6-15.1 イミン体[M29]；2.1-3.0 ウレア体[M31]；0.3-2.8 ジアミド体[M32]；0.2-1.0 100日後： [I]；0.6-2.0 アミド体[M2]；16.9-47.0 スルホン酸体[M30]；3.2-17.6 イミン体[M29]；3.4-4.0 ウレア体[M31]；0.8-1.6 ジアミド体[M32]；0.7-1.5	(1998年)	
11	土壌吸着	畑地土壌 4種類 32時間	添加濃度： 0.042、0.21、 1.04、5.27 ppm	吸着係数 Kd, Koc	OECDガイドライン OC%=1.02-3.30 Kd=3.6-9.7 Koc'=231-657 Koc=161	(1998年)	代 118
12	水中光分解 (緩衝液)	①暗黒下緩衝液 (pH7) ②緩衝液 (pH7) 人工光源 (キセノンランプ) 18日間連続照射	メチレン- ¹⁴ C 添加濃度 385µg/L 24.3±1°C	光分解	半減期： ①分解しない ②実験条件下；79.7日 野外環境下外挿；324日 代謝物： 1日後： [I]；97.1% Dewar-pyridone [M35]；1.3% 18日後： [I]；82.8% Dewar-pyridone [M35]；5.3%	(1998年)	代 121

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

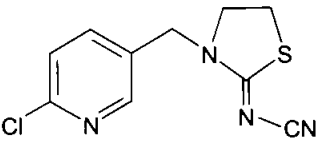
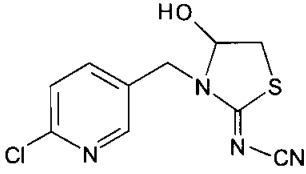
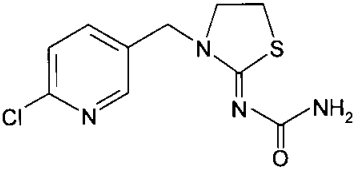
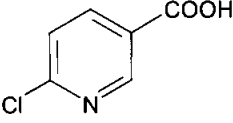
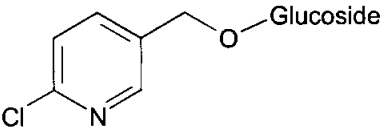
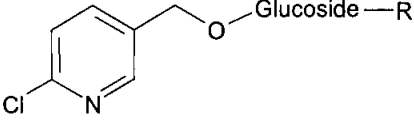
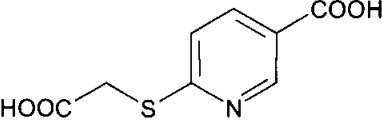
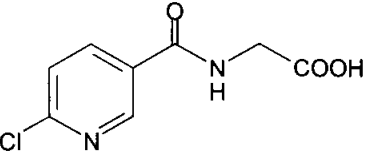
資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
1 3	水中光分解 (自然水)	①暗黒下 自然水 ②自然水 (河川水) 人工光源 (キルティング) 42 日連続照射	メチレン- ¹⁴ C 添加濃度 644µg/L 24.9±2°C	光分解	半減期： ①分解しない ②実験条件下;42.5 日 野外環境下外挿;178 日 代謝物： 1 日後： [I];90.7% Dewar-pyridone[M35];1.5% 6-クロロコチン酸[M3];2.0% 14 日後： [I];75.6% Dewar-pyridone[M35];8.9% 6-クロロコチン酸[M3];5.2% 42 日後： [I];44.6% Dewar-pyridone[M35];19.3% 6-クロロコチン酸[M3];9.9%	(1997 年)	代 125
1 4	加水分解	pH5、7、9 (緩衝液) 25°C 30 日	メチレン- ¹⁴ C 0.35mg/L	加水分解	EPAガイドライン 物質収支:99~105% pH5、7、9で分解せず。 pH9においてのみ投与放射 エネルギーの2%以下(4~8種類の 合計)の加水分解生成物が観察 された。総合的には、環境中 において加水分解は寄与しないと 考えられる。	(1998 年)	代 132
1 7	田面水中消長試験	火山灰土壌または沖積土壌 (50cm 深度) による稲栽培 人工水田 (ライメーター) 田面水 処理後 1 時間 ~56 日	稲移植直後 水面均一散布 1.5%粒剤 [I] (1kg/10a) 1回	田面水中消長	火山灰土壌： [I] ; 61ppb (4 時間) - <5ppb 半減期: 12 時間 [M2] ; <5ppb (全期間) [M35] ; <5ppb (全期間) 沖積土壌： [I] ; 189ppb (4 時間) - <5ppb 半減期: 23 時間 [M2] ; 43ppb (4 時間) - <5ppb [M35] ; <5ppb (全期間)	(1998 年)	代 130
1 8	土壌カラム試験	HOWE 標準土壌 (砂壤土) 2 日間エージングの後、カラム (内径 50mm 充填高さ 30cm) 上層 6cm に処理土壌を詰め上部から 5 日間で合計 508mm (996mL) を灌水	メチレン- ¹⁴ C 土壌 49g (450g 乾土重) に (309µg a. i.) を 添加 混和 カラム当たりエージング土壌 を約 111g (68.6µg a. i.) 積層(6cm)	土壌リーチング	エージング後の物質収支： 14C02・揮発性化合物:0.86% 土壌抽出物:90.17% 未抽出:8.98% 土壌抽出物中成分： [I] :48.8% [M2] :35.4% [M30] :1.3% [M38] :2.2% リーチング後の放射能収支： 14C02・揮発性化合物:0.06% 土壌カラム:93.96% (処理層 46.70%, 次層 33.50%) 溶出液:2.33% 合計:96.35%	(1995 年)	代 113

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験 項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
15	次作物 試験	レタス 大根 小麦 を栽培 最終処理後 158~343日	稲(水田)への処理 1.5%粒剤 [I] 箱処理 50g/箱 (1kg/10a) 1回 稲収穫後に次作物播種	次作物 への残 留	全ての次作物： [I] ; <0.005ppm [M2] ; <0.005ppm [M30] ; <0.004ppm 土壌残留： [I] ; <0.005ppm(158日) [M2] ; 0.026-0.017ppm(158-343日) [M30] ; <0.004ppm(158日)	(1998年)	代 136
16	次作物 試験	きゅうり レタス 大根 を栽培 最終処理後 14~73日	ピーマン(畑地)への処 理 30%顆粒水和剤 [I] 2000倍、200L/10a 3回散布 ピーマン収穫後に次作 物播種	次作物 への残 留	全ての次作物： [I] ; <0.005ppm [M2] ; <0.005ppm [M30] ; <0.005ppm 土壌残留： [I] ; 0.074-0.014ppm (14-73日) [M2] ; 0.154-0.138ppm (14-73日) [M30] ; 0.005-<0.004ppm (158-343日)	(1998年)	代 138

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

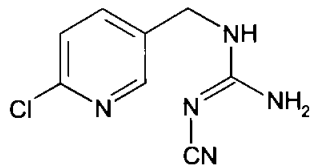
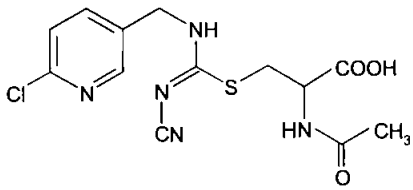
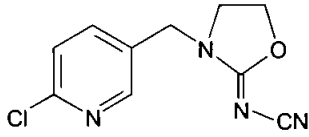
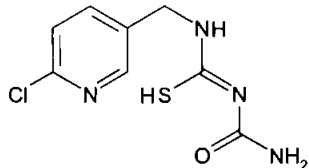
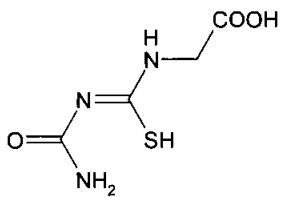
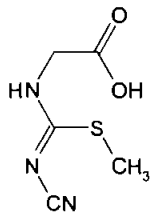
<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
I	親化合物	チアクロプリド YRC2894	{3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-2-thiazolidinylidene}cyanamide {3-[(6-クロロ-3-ピリジン-2-イル)メチル]-2-チアゾリジン-2-イルイデン}シアナミド	
M1	動物植物	4-OH体 WAK6856 4-hydroxy- YRC2894	3-(6-chloro-3-pyridin-3-ylmethyl)-4-hydroxy-thiazolidine-2-ylidene-cyanamide 3-(6-クロロ-3-ピリジン-3-イルメチル)-4-ヒドロキシチアゾリジン-2-イルイデンシアナミド	
M2	植物土壌	アミド体 KKO2254 YRC2894- amide	{3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-2-thiazolidinylidene}urea {3-[(6-クロロ-3-ピリジン-2-イル)メチル]-2-チアゾリジン-2-イルイデン}ウレア	
M3	動物植物土壌光	6-クロロニコチン酸 BNF5518A 6-CNA NTN41919	6-chloronicotinic acid 6-クロロニコチン酸	
M4	植物	6-CPA-グルコシド 6-CPA-glucoside	Glucoside of 6-chloropicolylalcohol 6-クロピコリルアルコール グルコシド	
M5	植物	6-CPA-配糖複合体 6-CPA-complex glucoside	Complex glucoside of 6-chloropicolylalcohol 6-クロピコリルアルコール グルコシド複合体	
M6	動物	6-CMT-ニコチン酸 KNO1886 6-CMT-nicotinic acid	6-[(carboxymethyl)thio]-3-pyridine-carboxylic acid 6-[(カルボキシメチル)チオ]-3-ピリジン-カルボン酸	
M7	動物	6-CN-グリシン WAK3583 6-CN-glycine	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)carbonyl]glycine N-[(6-クロロ-3-ピリジン-2-イル)カルボニル]グリシン	

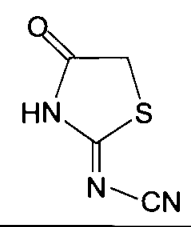
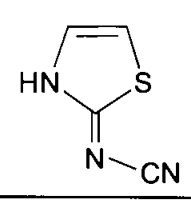
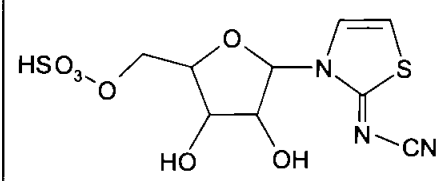
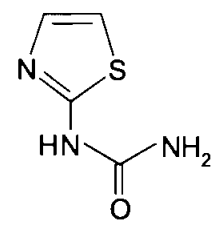
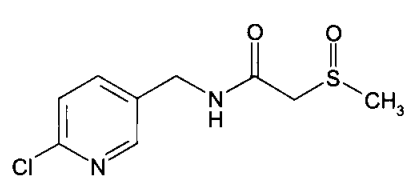
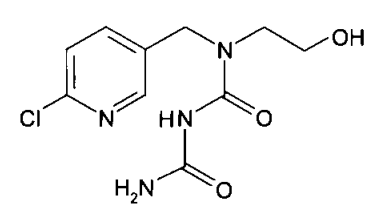
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
M8	動物	KNO2672 6-CP-urea sulfoxide	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- N'-cyano-N-[2-(methylsulfinyl)ethyl] urea N-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]- N'-シアノ-N-[2-(メチルスルフィニル)エチル]ウレア	
M9	動物	S-メチルグリシン体 KNO1889 Methylthio nicotinoyl glycine	N-[[6-(methylthio)-3-pyridinyl]- carbonyl]glycine N-[[6-(メチルチオ)-3-ピリジン-3-イル]カルボニル]グリシン	
M10	動物	KNO1891 6-CP-biuret sulfoxide	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- N-N-[2-(methylsulfinyl)ethyl]imi odi carbonic diamide N-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]- N-N-[2-(メチルスルフィニル)エチル]イミノジカル ボニルシアンミド	
M11	動物	N-OHアミド体 KNO1893 YRC2894-hydro xylamide	N-{3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- 2-thiazolidinylidene}-N'-hydrox yurea N-{3-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-2-チ アゾリジン-2-イルイデン}-N'-ヒドロキシウレア	
M12	動物	KNO2621 Glucuronic acid conjugate of hydroxy-YRC28 94	Glucuronic acid conjugate of 3- (6-chloro pyridin-3-ylmethyl)-4- hydroxy-thiazolidine-2-ylidene-cy anamide Glucuronic acid conjugate of 3- (6-クロロピリジン-3-イルメチル)-4-ヒドロキシチ アゾリジン-2-イルイデンシアンミド グルクロン酸抱 合体	
M13	動物	KNO2665 Isomer of M12	Glucuronic acid conjugate of {3- [(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-5(or 4)-hydroxy-2-thiazolidinylidene}= cyanamide {3-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-5(or 4)- ヒドロキシ-2-チアゾリジン-2-イルイデンシアンミド} グル クロン酸抱合体	

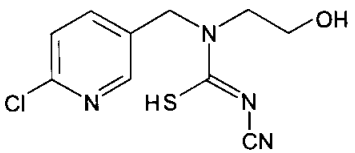
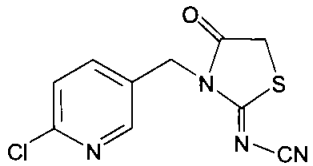
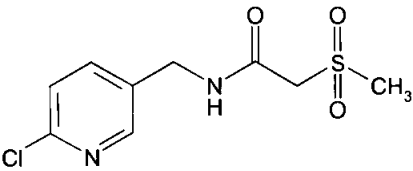
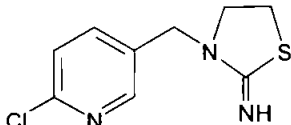
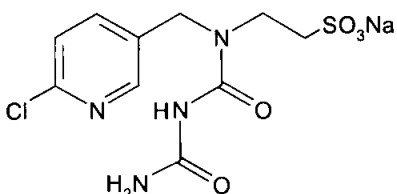
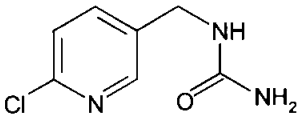
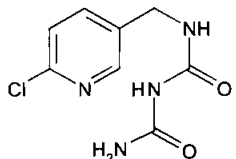
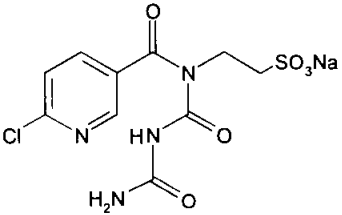
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
M14	動物	KN01872 6-CP-cyano guanidine	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- N'-cyanoguanidine N-[(6-クロロ-3-ピリジンニル)メチル]-N'-シアノグア ニジン	
M15	動物	KN02684 S-(6-CP-cyanoa midino)-acetyl cystein	N-acetyl-3-([N-[(6-chloro-3-pyrid inyl)methyl]-N'-cyano]amidinothio) alanine N-アセチル-3-([N-[(6-クロロ-3-ピリジンニル)メチ ル]-N'-シアノ]アミジノチオ)アラニン	
M16	動物	NTN35078 PIZ1266 YRC2894 O-analogue	3-(6-chloro-pyridin-3-ylmethyl)-ox azolidin-2-ylidene-cyanamide 3-(6-クロロ-3-ピリジンニル)メチル)-オキサゾリジン -2-イリデノン-シアナミド	
M17	動物	KN01864 6-CP-thiobiure t	1-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- 2-thiobiuret 1-[(6-クロロ-3-ピリジンニル)メチル]-2-チオビウ レット	
M18	動物	PIZ1241C 1-CM-2-thiobiu ret	N-[[(aminocarbonyl)amino]= thioxomethyl]glycine N-[[(アミノカルボニル)アミノ]=チオキソメチル]グリ シン	
M19	動物	PIZ1252	N-[cyanimino(methylthio)methyl]= glycine N-[シアンイミノ(メチルチオ)メチル]=グリ シン	

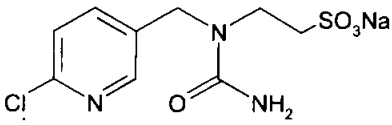
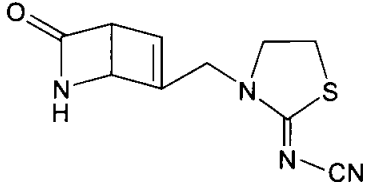
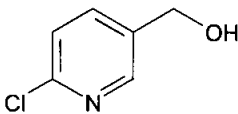
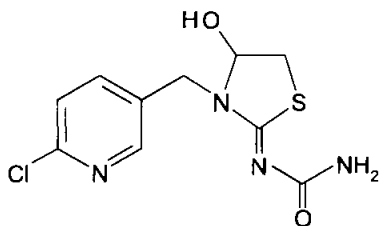
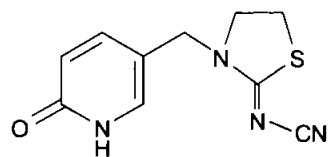
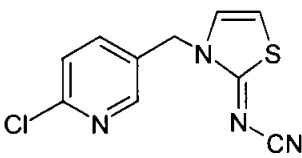
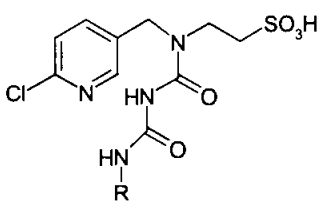
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
M20	動物	PIZ1297B	(4-oxo-2-thiazolidinylidene)= cyanamide (4-オキソ-2-チアゾリジニリデン)=シアナミド	
M21	動物	PIZ1245	2-thiazolylcyanamide 2-チアゾリルシアナミド	
M22	動物	PIZ1243	[3-(5-O-sulfonyl-furanosyl)-2-thiazolyl]cyanamide [3-(5-O-スルフォニルフラノシル)-2-チアゾリル]シアナミド	
M23	動物	PIZ1249	2-thiazolylurea 2-チアゾリルウレア	
M24	動物	PIZ1297E	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- 2-(methylsulfinyl)acetamide N-[(6-クロロ-3-ピリジンル)メチル]-2-(メチルフル ソニル)アセタミド	
M25	動物 植物	ヒドキシエチルジ アミド体 WAK6935 YRC2894 hydroxyethyl diamide	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]- N-(2-hydroxyethyl)imidodicarbonic diamide N-[(6-クロロ-3-ピリジンル)メチル]-N-(2-ヒド キシエチル)イミドジカルボニックジアミド	

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

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
M26	動物	PIZ1253	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-N'-cyano-N-(2-hydroxyethyl) thiourea N-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-N'-シアノ-N-(2-ヒドロキシエチル)チオウレア	
M27	動物	PIZ1297D	{3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-4-oxo-2-thiazolidinylidene} cyanamide {3-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-4-オキソ-2-チアゾリジン-2-イルイデン}シアナミド	
M28	動物	PIX1269X	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-2-(methylsulfonyl)acetamide N-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-2-(メチルスルホニル)アセタミド	
M29	植物 土壌	イミン体 YRC2894 imine	3-[(6-Chloro-3-pyridinyl)methyl]-2-thiazolidinimine 3-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-2-チアゾリジンイミン	
M30	植物 土壌	スルホン酸 体 WAK6999 YRC2894 sulfonic acid	2-[1-(6-chloropyridine-3-ylmethyl)-3-carbamoyl-ureido]-ethane sulfonic acid sodium salt 2-[1-(6-クロロピリジン-3-イルメチル)-3-カルバモイルウレイト]-エタン スルホン酸塩	
M31	土壌	ウレア体 Ja752-H YRC2894 urea	[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]urea [(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]ウレア	
M32	植物 土壌	ジアミド体 Ja752-I YRC2894 diamide	N-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-imidodicarbonic diamide N-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-イミドジカルボニックジアミド	
M33	土壌	Ja752-B YRC2894 oxo-sodium sulfonate	Sodium 2-[[[(aminocarbonyl)amino]-carbonyl][(6-chloro-3-pyridinyl)-carbonyl]amino]ethanesulfonate 2-[[[(アミノカルボニル)アミノ]-カルボニル][(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)-カルボニル]アミノ]エタンスルフォネート ナトリウム	

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

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
M34		YRC sulfonic acid amide	Sodium 2-[(aminocarbonyl)[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]amino] ethanesulfonate Sodium 2-[(アミノカルボニル)[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]アミノ]エタン sulfonate	
M35	光	デュワーピ リドン WAK7259A YRC2894 dewar pyridone	[3-[(3-oxo-2-azabicyclo[2.2.0]hex-5-en-6-yl)methyl]-2-thiazolidinylidene]-cyanamide [3-[(3-オキソ-2-アザビシクロ[2.2.0]ヘキサ-5-エン-6-イル)メチル]-2-チアゾリジニリデン]シアナミド	
M36	植物	6-CPA	6-chloropicolyl alcohol 6-クロピコリル アルコール	
M37	植物	4-OH-アミ ド体 4-hydroxy -KK02254	{3-[(6-chloro-3-pyridinyl)methyl]-4-hydroxy-2-thiazolidinylidene} urea {3-[(6-クロロ-3-ピリジン-3-イル)メチル]-4-ヒドロキシ-2-チアゾリジニリデン}ウレア	
M38	土壌	ピリドン体 BNF5577B WAK7052	{3-[(6-pyridonyl)methyl]-2-thiazolidinylidene} cyanamide {3-[(6-ピリドン-2-イル)メチル]-2-チアゾリジニリデン}シアナミド	
M39	植物	オレフィン体 YRC2894 olefine	{3-[(6-chloropyridin-3-yl)methyl]-1,3-thiazol-2(3H)-ylidene} cyanamide {3-[(6-クロロピリジン-3-イル)メチル]-1,3-チアゾル-2(3H)-イリデン}シアナミド	
M40	植物	スルホン酸 体抱合体	conjugate of 2-[1-(6-chloropyridine-3-ylmethyl)-3-carbamoyl-ureido]-ethane sulfonic acid 2-[1-(6-クロロピリジン-3-イルメチル)-3-カルバモイルウレイト]-エタン スルホン酸抱合体	

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

供試化合物

一般名：チアクロプリド (thiacloprid)

試験番号：0831、YRC2894

商品名：バリアード (Bariard)

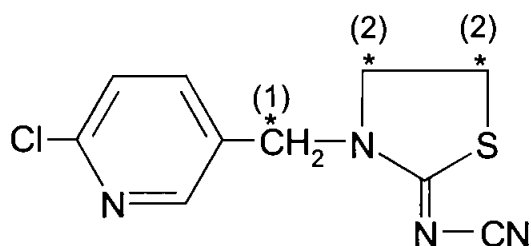
化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシ
ナミド

分子式：C₁₀H₉ClN₄S

分子量：252.8g/mol

代謝経路図での記号：[I]

化学構造式及び¹⁴Cの標識位置：



(1) * : メチレン-¹⁴C 標識

(2) * : チアゾリジン-¹⁴C 標識

標識位置の設定理由： 合成しやすいこと、また、化学構造的に安定なピリジニルメチル基（メチレン基と称する）（1）、あるいは、チアゾリジン環のエチレン基（2）を標識。

動物の代謝試験ではピリジニルメチル基が開裂・脱離するため、（1）及び（2）の両標識体を用いて試験を実施した。一方、その他の植物、土壌、光による代謝試験ではチアクロプリドの構造は開裂せず、[I]の基本骨格は保持されており、従って、メチレン標識の試験結果のみで植物、環境中の代謝試験を実施した。

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

1. 動物における動態と代謝試験

(1) メチレン- ^{14}C -チアクロプリドを用いた
ラット体内における吸収・分布

(代謝資料 No. 1)

試験機関：

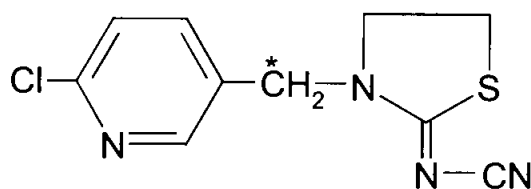
[GLP対応]

報告書作成年月日：1996年6月26日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-
イリデンシアナミド

化学構造：



[*： ^{14}C 標識部位]

標識：メチレン- ^{14}C -チアクロプリド [I]

(比放射能：4.07MBq/mg、放射化学的純度>99%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 投与量、投与群 (表1)

本試験には代謝試験の低投与量 (1mg/kg) に相当させて1mg/kg で静脈内1回投与、及び5mg/kg で経口1回投与を実施し、投与後の吸収、分布、排泄を中心とした体内動態をオートラジオグラフィの手法により研究した。試験の概要を表1に示した。

表1. 試験群の概要

投与経路	投与量 (mg/kg)	投与回数	性	動物数 (匹)	採取時間 (投与後時間) (時間)
経口	5	1	雄	5	1、4、8、24、48
静脈内	1	1	雄	1	5分

対照群として非標識体を5mg/kgで経口投与して4時間後に屠殺し、オートラジオグラムを作成した。

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

2. 全身オートラジオグラフィ

5 mg/kg の用量で雄ラットに1回経口投与した後、1、4、8、24、48 時間後に各1匹を屠殺し、金属保定器で身体を伸ばした状態で保定し、直ちに約 -70°C で凍結した。その後、動物を保定器からはずして、マイクロトームのブロック作成器上で carboxymethylcellulose (7~8%) 中に包埋した。切片は $50\mu\text{m}$ 厚で粘着テープに固着させて作成し、マイクロトームの冷却室中で最低24時間凍結乾燥した。次いで、切片をX線感応フィルム及びイメージングプレートに対して露光した。露光後、X線感応フィルムは自動現像し、また、イメージングプレートは Fuji BAS2000* Image Analyser でスキャンし、得られた映像をカラープリンター (Fuji Pictography High Grade*) で印刷した。

3. 定量的全身オートラジオグラフィ

BAS 2000 でスキャンし得られたイメージ中の放射能はソフトウェアを用い以下の方法により定量した:各臓器あるいは臓器の一部において、一定の面積を積分し、バックグラウンドを減算した後、 mm^2 当りの光感応ルミネッセンス [Photostimulated luminescence (PSL)] 値を、ある特定の組織中の放射能の濃度に対する比 (単位 PSL/mm^2) として求めた。既知濃度の放射能標準線源をラット切片と共に同時に露光し、同じ手法で積分して、20mm 切片厚の脳の灰色部分に対して自動-吸収特性用に検量した。組織中の濃度範囲は約 $40\sim 1100\text{nCi}/\text{g}$ 組織であった。これらの値は本試験で用いた $50\mu\text{m}$ の切片厚に対して、臓器・組織毎の自己吸収の差の関係から補正した。この補正係数は、20nmにおける透過性が41%であり、 $50\mu\text{m}$ においては33%であることから1.24と算出された。積分後、 PSL/mm^2 と DPM/g 組織間の関係を一次回帰分析より解析し、この関係を用いて凍結乾燥したラット切片中の放射能濃度を算出し、次いで、凍結乾燥時の水分損失に基づいて、これらの濃度を補正して新鮮重 g 当りの μg (すなわち、ppm) で放射能濃度を算出した。

組織の自己吸収率は生物学的試料の構成成分によって異なり、組織の放射能の透過性の比較から、肺は測定値に0.82 (肺は気胞組織のため透過率が高い)、脂肪に対して1.33、骨には1.6を乗じた。

【結果】

1. 静脈内投与後のオートラジオグラム

静脈内投与5分後においては代謝分解は無視できる量と考えられ、オートラジオグラムは [I] による分布と評価される。

1 mg/kg で静脈内投与した後の総放射能の初期分布から、速やかに放射能が全身に分布し、黒化度の比較から肝臓、腎臓 (皮質が最高)、筋肉、血管 (大動脈) 壁、副腎、唾液腺、甲状腺において放射能濃度が血液より高濃度で分布し、一方、脂肪組織、骨の鈣質部は顕著に低濃度であった。

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

2. 経口投与後のオートラジオグラム

5 mg/kg の経口投与後 1 時間に胃腸管内容物に最も強い黒化度が認められたことから [I] の吸収は完了していないことが示唆された。既に吸収された量は全身に均一に分布しており、分布様式は静脈内投与後に認められた状態と同様であった。血液中よりも高濃度の放射能は肝臓、腎臓、筋肉、皮膚、大動脈壁、副腎、唾液腺、包皮腺、甲状腺で認められ、その他結合組織である脊髄と密接する部分に高い黒化度が認められた。血液よりも低い放射能濃度は肺、脂肪組織、骨の鈣質部分に認められた。その他の全ての組織は血中濃度と同程度の黒化度を示した。

経口投与後 4 時間の種々臓器・組織間の放射能の相対分布は投与後 1 時間のオートラジオグラムと同様であった。多くの放射能が腸内容物に認められ、糞による排泄が始まっていることが示唆された。臓器・組織に吸収された放射能分布は、試験の初期に観察された分布様式と比較し大きな変化がなかった。

経口投与後 8 時間では、胃中にはほとんど放射能は残留していなかったが、一方で、消化管には非常に強い黒化度が認められた。同時に、糞排泄も認められた。

経口投与 24 時間後に放射能濃度は顕著に減少した。最高濃度の黒化度が排泄に伴い腸内容物で検出された。全体的に低い黒化であったため、脊髄、大動脈、皮膚、結合組織壁中の放射能は比較的顕著であった。相対的に高放射能濃度を有した他の臓器は鼻粘膜、肝臓、腎臓、副腎、甲状腺、包皮腺、硝子体であった。その他の組織・臓器において放射能濃度は非常に低かった。

経口投与 48 時間後のオートラジオグラムから放射能が体外へさらに排泄されていることが示された。オートラジオグラムから唯一肉眼的に認められた組織は皮膚、鼻粘膜、肝臓、腎臓、甲状腺、大動脈壁、脊髄の結合組織であった。

3. 定量的オートラジオグラフィ

方法に記載した手法に基づき、1 mg/kg の静脈内投与の 5 分後、及び 5 mg/kg における経口投与後の経時的な組織・臓器における濃度を解析し、定量的な速度論的挙動を解析した (表 1、図 1、図 2)。

換算濃度における定常的な減衰が投与後の 1 ~ 48 時間の全臓器に観察された。全般的に包皮腺、副腎、外涙腺等の腺臓器中における濃度が最大であった。同時に鼻粘膜及び結合組織で高い放射能濃度が認められた。しかし、全ての場合で 48 時間の試験期間中に数桁の割合で減少した。

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

表2. 雄ラットに経口及び静脈内投与した後の臓器・組織中の総放射能濃度

臓器・組織	経口 5 mg/kg					静脈内 1 mg/kg
	1 時間後	4 時間後	8 時間後	24 時間後	48 時間後	5 分後
	放射能濃度 [$\mu\text{g/g}$ 生重量]					
血液	1.444	1.383	0.568	0.039	0.0034	0.422
副腎皮質	3.761	3.200	1.748	0.088	0.0049	1.112
副腎髓質	2.366	2.185	0.932	0.059	0.0033	0.760
骨	2.734	1.992	0.617	0.065	<0.0005	0.326
骨髓	1.621	1.587	0.683	0.040	<0.0005	0.391
脳	1.044	0.827	0.418	0.021	<0.0005	0.352
褐色脂肪	1.660	1.453	0.811	0.053	<0.0005	0.335
結合組織	2.771	2.605	1.306	0.152	0.0598	0.616
心臓	1.532	1.318	0.695	0.037	0.0009	0.532
外涙腺	2.569	2.323	1.238	0.092	0.0172	0.756
肝臓	4.243	3.732	2.088	0.169	0.0368	1.324
肺	0.655	0.680	0.402	0.025	<0.0005	0.278
筋肉	1.479	1.154	0.573	0.029	<0.0005	0.503
鼻粘膜	5.120	4.261	2.214	0.442	0.1617	0.622
包皮腺	12.362	9.738	7.071	1.025	0.0288	1.029
腎皮質	2.835	2.661	1.397	0.095	0.0218	0.735
腎脂肪	3.374	1.918	1.174	0.044	0.0063	0.504
腎髓質	2.215	2.260	1.016	0.056	0.0029	0.567
唾液腺	1.786	1.418	0.760	0.046	<0.0005	0.632
皮膚	1.721	1.371	0.671	0.039	0.0017	0.408
脾臓	1.389	1.047	0.511	0.027	0.0006	0.415
精巣	0.737	0.629	0.314	0.020	<0.0005	0.130
甲状腺	1.964	1.606	0.786	0.058	0.0237	0.631

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

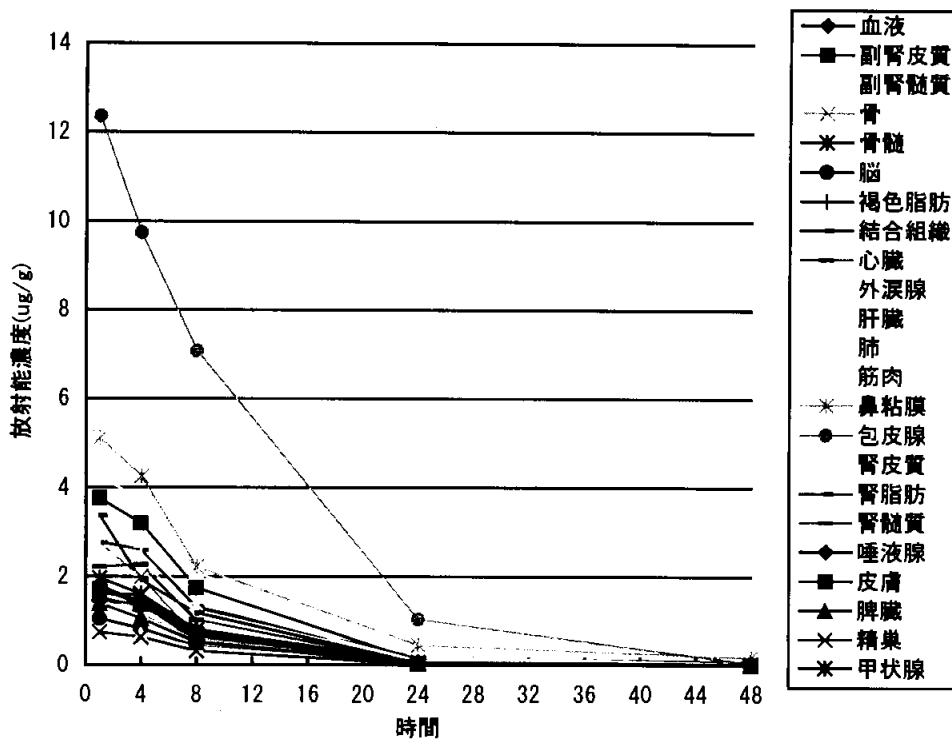


図1. 経口投与後の経時的な臓器内濃度 (ug/g)

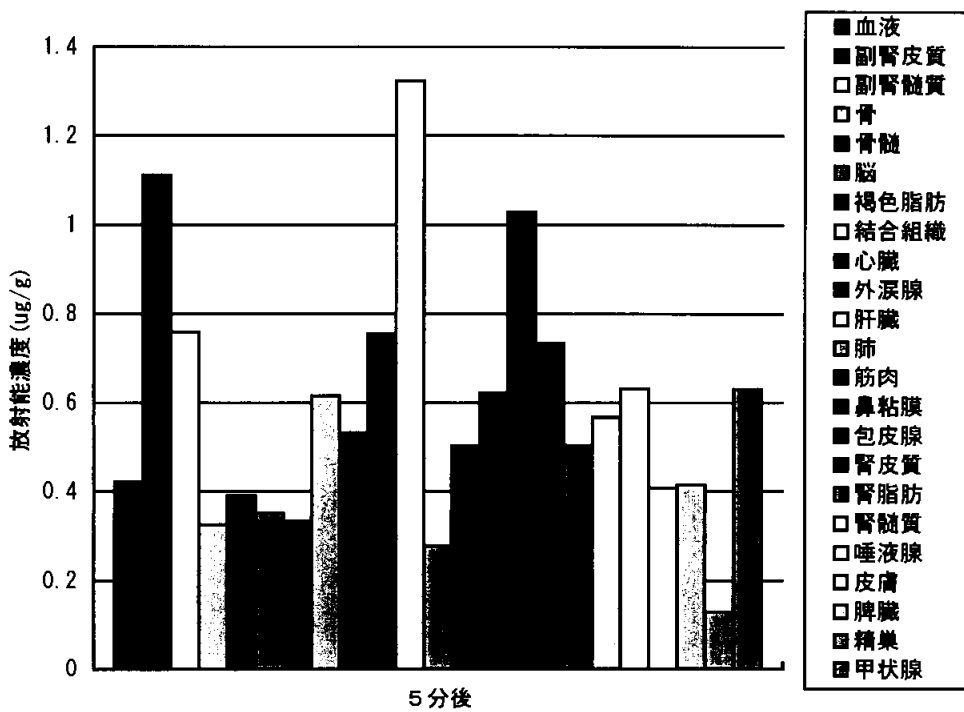


図2. 静脈内投与5分後の臓器内濃度 (ug/g)

【結論】

静脈内投与（5分後）においては代謝分解は無視できる量と考えられ、オートラジオグラムは〔I〕による分布と評価される。

静脈内注入直後（5分後）に放射能の急速かつ一様な分布が認められたことから〔I〕は組織に対して高い浸透性を有していることが示され、血中濃度が多くの臓器（例、肝臓、腎臓、筋肉、包皮腺、副腎、甲状腺、唾液腺、大動脈壁）より低濃度であることから、〔I〕はラット体内で速やかに循環していることが示唆された。

〔I〕が5mg/kgの経口投与1時間後に放射能が全組織・臓器に見出されたことから、胃腸管から急速に吸収され、さらに、腎臓全体に黒化度が高かったことから尿排泄が既に始まっていることが示唆された。この知見は〔I〕の高い極性及び水溶解度と良い相関を示していた。その他の濃度の高い組織は主たる代謝臓器である肝臓、副腎、甲状腺、唾液腺、包皮腺等の腺臓器であり、他に皮膚、大動脈壁、脊髄に関わる結合組織であった。

投与4時間後、胃中の放射エネルギーは依然として高かったが、一方では、既に糞排泄が始まっていた。投与後4時間及び8時間に腎全体に強い黒化が認められ、放射能の尿排泄が高い割合及び速度で維持されている。

試験後半の投与後24時間及び48時間では排泄臓器とは別に、全身に分布した総放射能が非常に低濃度であるため皮膚、大動脈壁の結合組織、また、甲状腺、包皮腺、副腎といった腺臓器、さらに、脊髄に依然として、放射能が相対的に高く認められた。試験の定量あるいは速度論部分から、経口投与後48時間以内に回収放射能の96%以上が尿及び糞から排泄されたことが示された。

投与1時間後に認められた全般的な分布様式は48時間までの全観察期間を通じて同様であり、投与後初期に認められた臓器・組織間の濃度の差が、尿と糞排泄によって放射エネルギーが減少した時においても大きく変化しなかったことが示唆された。

一方、最終屠殺時点を除く全ての時点で包皮腺に高濃度の放射能が認められたことは、麻酔や屠殺時の筋肉の緊張による死後の放尿が頻繁に起こり、その尿がペニスの後部に位置している包皮腺を汚染したと考えられる。この考察は調査期間（投与後48時間）終了時において包皮腺の濃度が非常に低下していた知見からも示唆された。

全観察期間の脂肪組織中に認められた低濃度は、〔I〕及びその代謝物が共に高極性の特徴を有していることを反映している。観察期間終了時の鼻粘膜中の高い黒化度は、放射能が尿や糞から排泄されていたことだけではなく、少量が汗として排泄されていたことが示唆された。

オートラジオグラムから、放射能が蓄積する標的臓器は認められなかった。

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

(2) メチレン-¹⁴C-チアクロプリドを用いた
ラット体内における代謝試験

(代謝資料 No. 2)

試験機関：

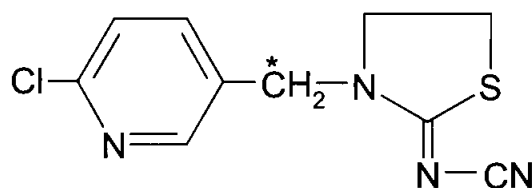
[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年2月5日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-
イリデンシアナミド

化学構造：



[*：¹⁴C標識部位]

標識：メチレン-¹⁴C-チアクロプリド [I]
(比放射能：4.07MBq/mg、放射化学的純度>99%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 投与量、投与群 (表1)

高低2種類の投与量を設定した。低投与量は、ラット亜急性試験において無影響量である7.3-7.6 mg/kg/日より低い1 mg/kgとし、高投与量はその100倍の濃度となる100 mg/kgとした。また、静脈内投与も低投与量の1 mg/kgで実施し、吸収率及び動態を調べた。

試験の概要を表1に示した。

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

表 1. 試験群の概要

投与経路	投与量 (mg/kg)	投与 回数	性 (試験群)	動物数 (匹)	生物 試料	採取時間 (投与後時間) (時間)
①呼気への排泄						
経口	1	1	雄 (1)	5	呼気	8, 24, 48
					尿	4, 8, 24, 48
					糞	24, 48
					皮膚、胃腸管、 動物残体	48
②静脈内投与による代謝、排泄						
静脈内	1	1	雄(8) 雌(9)	5	血漿	5, 10, 20, 40 (分) 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48
					尿	4, 8, 24, 48
					糞	24, 48
					皮膚、胃腸管、 動物残体	48
③経口投与による吸収、分布、代謝、排泄						
経口	1	1	雄(2)雌(3)	各 5	血漿	5, 10, 20, 40 (分) 1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48
	100	1	雄(6)雌(12)	各 5		
	1	14 + 1 ¹⁾	雄(4)雌(5)	各 5		
					尿	4, 8, 24, 48
					糞	24, 48
					皮膚、胃腸管、 動物残体	48

1) 14日間非標識[I]を連続投与した後、¹⁴C-標識[I]を1回投与した。

注) 供試動物: Wistar系ラット、体重約200g

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

2. 呼気への排泄（試験群1）

呼気への排泄を調べるため、雄に1 mg/kg で経口投与し48時間後まで経時的に呼気、糞、尿を採取した。

3. 静脈内投与後及び経口投与後の吸収、分布、代謝、排泄

（静脈内投与：1 mg/kg の1回、経口投与：1 mg/kg の1回及び15日間の反復投与群、100 mg/kg の投与群）

投与した ^{14}C が呼気へ排泄されないことを確認した後、通常の試験群では[I]を静脈内投与及び経口投与した後に雌雄ラットより尾静脈血液を経時的に（48時間後まで）採取して薬物動態パラメーターを解析した。また、糞、尿は経時的に、また屠殺時には15種類の臓器、組織を採取した。採取した各試料毎に放射能を測定し、さらに、代謝物の同定、定量には尿及び糞をそれぞれ混合して分析した。

【結果】

1. 投与した放射能の回収

^{14}C - [I] を投与した後の試験系[試験群により排泄物、臓器、組織、動物残体（選抜した臓器、組織を採取した残りの動物体）、呼気を含む]からの回収率は85-106%であり、ほぼ定量的に回収された。従って、以下に示す結果は原則的に投与した放射能に対する割合（%）で示した。

2. 呼気への排泄

雄ラットへ ^{14}C - [I] を1 mg/kg で経口した後、48時間にわたり呼気を捕集したが、 $^{14}\text{C}\text{O}_2$ 及びその他の揮発性化合物の量は投与量の平均0.05%であった。従って、分子のメチレン標識部位は動物体内では代謝的に安定で二酸化炭素やその他の揮発性物質には代謝されないと考えられた。（また、代謝資料 No. 3に示すチアゾリジン標識においても吸気中への排泄率は投与量の約0.9%であり、やはり同様の評価であった。）

以上から、他の通常の試験群では呼気の捕集を行わなかった。

3. 放射能の吸収、薬物動態パラメーター、糞、尿への排泄

1) 吸収率

血漿中の ^{14}C - [I] の濃度は、投与した直後から増加が始まり、血漿濃度は低投与量群では投与後1~1.5時間に、また、高投与群は3~4時間後に最高に達した。

腎排泄量が高く、その排泄量から少なくとも投与量の約60%が吸収されたことが示唆された。（回収放射能に対する割合：表5）。また、1 mg/kg の静脈内投与後と経口投与後の尿中排泄率の比較から（静脈内投与：約61~68%、

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

経口投与:約 53~66%)、低投与量群では定量的に吸収されたものと推察され、反復投与量群 (>93%)、高投与量群 (>87%) もほぼ定量的に吸収されたものと推察された。

2) 薬物動態パラメーター (表 2~表 4、図 1~図 2)

各投与群の尾静脈血漿中の¹⁴Cの濃度から薬物動態パラメーターを解析した。[I]は経口投与後直ちに吸収が始まり、血漿中の投与量標準化濃度CN (説明後述*)は低投与量群及び反復経口投与が短時間で最大となり(T_{max}:1~1.5時間)、高投与量群はやや遅れて3~4時間で最大となった。また、その濃度は等量分布(CN=1)より低く、放射能が血漿から末梢コンパートメントへ速やかに分布したことが示唆された(CN_{max}:低投与量群及び反復投与量群0.71~0.76、高投与量群約0.46~0.48)。

1mg/kgの静脈内投与での血漿中濃度曲線の解析から、みかけの初期分布容積(V_e)値は雌雄ともに全体容積の約7%から10%であり、放射能が血漿から末梢のコンパートメントへ速やかに分布したことを示唆していた(表2、図3)。

ほとんどの試験群で総放射能の血漿からの消失は2つの対数項の組合せによって近似することができ、その手法により消失半減期を計算すると、最終消失相の半減期は約7~80時間の範囲にあった(表2)。中央コンパートメントにおける総放射能の平均滞留時間(MRT)が7~25時間と短かったこと、さらに、全クリアランス(CL)も約1~3.1mL/min/kgで前述の知見を支持していた。反復投与群の雌に関しては、3つの消失相コンパートメントを用いたが曲線近似が充分でなく、最終消失相の半減期は約400時間、平均滞留時間は238時間と算出された(表2)。しかしながら、この最終消失相は極めて低濃度レベルであり、薬物動態学的パラメーターAUCは影響を受けなかった。反復投与群雌に関するこのような大きな値は曲線近似の不充分上によるもので、全クリアランス(CL)も他の試験群と同様なレベルであり、投与後48時間以内にほぼ定量的に排泄されたこと、反復投与群雄は他の群と同様の傾向であることを考慮すると[I]は同等の挙動をしているものと推察される。

定常状態での分布容積(V_{ss})は多くの場合、体容積に対し>100%であり、放射能が速やかに末梢コンパートメントへ分布したことを示し、親化合物あるいは標識代謝物が組織へ浸透する傾向が強いことが示唆された。

血漿中濃度曲線の比較から、高投与量群ではCN_{max}が相対的に低く、T_{max}がやや遅れたが、これは吸収が相対的に遅く、不完全であったためと想定された。

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

* : 投与量標準化濃度 $CN = \text{組織中の}^{14}\text{C (mg/kg 組織)} / \text{投与した}^{14}\text{C (mg/kg 体重)}$

投与量標準化濃度 $CN = 1$ のときは等量分布濃度となる。

投与量標準化濃度 CN を用いると、投与量が異なる群の吸収・分布等に関するパラメータを直接比較することが可能である。

また、血漿や臓器中の ^{14}C の濃度は次式で換算され、“親換算濃度”と表現する。

血漿や臓器中の ^{14}C の親換算濃度 ($\mu\text{g/mL}$ または $\mu\text{g/g}$) = 投与量標準化濃度 $CN \times$ 投与量 (mg/kg 体重)

表 2. メチレン- ^{14}C -[I]の静脈内・経口投与群における薬物動態学的パラメーター

薬物動態 パラメーター	静脈内投与		経口投与					
	1 mg/kg		1 mg/kg		100mg/kg		1 mg/kg (反復)	
	雄(8) [#]	雌(9)	雄(2) ¹⁾	雌(3) [#]	雄(6)	雌(12)	雄(4)	雌(5) [#]
AUC[h]	9.25	12.90	5.54	5.82	8.99	16.80	5.44	9.06
$T_{1/2}$ [h]	81.40	7.42	82.00	25.20	9.15	12.30	38.10	405.00
CL[mL/min]	1.80	1.30	3.00	2.87	1.85	0.99	3.07	1.83
CL_R [mL/min]	1.25	0.89	2.04	2.02	1.14	0.59	2.06	1.16
MRT[h]	11.50	7.10	21.70	9.82	15.20	25.30	11.10	238.00
V_{-ss} [L/kg]	1.24	0.55	3.76	1.48	1.34	0.70	1.77	26.10
V_c [L/kg]	0.068	0.114	計算せず		計算せず		計算せず	
$CN_{-max}^{1)}$	8.260	7.669	0.754	0.705	0.459	0.480	0.735	0.758
C_{-max} [$\mu\text{g/g}$] ¹⁾	7.199	7.775	0.756	0.794	29.213	50.59	0.675	0.887
T_{-max} [h] ¹⁾	5分	5分	1	1.5	3	4	1.5	1.5

() : 試験群番号 1) : 申請者がデータから判断して記載
: 4コンパートメント解析 (3減衰相) マーク無し : 3コンパートメント解析(2減衰相)

AUC[h]	: 血中薬物濃度時間曲線下面積
$T_{1/2}$ [h]	: 最終相における消失半減期
CL[mL/min]	: 全身クリアランス
CL_R [mL/min]	: 腎クリアランス
MRT[h]	: 中央コンパートメントにおける平均滞留時間
V_{-ss} [L/kg]	: 定常状態における分布容積
V_c [L/kg]	: 見かけの初期分布容積
CN_{-max}	: 最高血中投与量標準化濃度 CN
C_{-max} [$\mu\text{g/g}$]	: 最高血中薬物濃度 (親化合物換算濃度)
T_{-max} [h]	: 最高血中薬物濃度到達時間

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

表3. メチレン-¹⁴C-[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(投与量標準化濃度)

(a) 雄

投与後時間 (時:分)	投与量(mg/kg): (試験群):	血漿中の投与量標準化濃度			
		1(静脈) (8)	1(経口) (2)	100(経口) (6)	1(反復経口) (4)
0:05		8.260	0.142	0.024	0.067
0:10		4.722	0.303	0.089	0.242
0:20		2.236	0.555	0.176	0.469
0:40		1.322	0.714	0.296	0.648
1		1.032	0.754	0.347	0.716
1:30		0.871	0.737	0.404	0.735
2		0.786	0.689	0.435	0.689
3		0.678	0.580	0.459	0.620
4		0.582	0.496	0.447	0.524
6		0.414	0.330	0.453	0.354
8		0.292	0.211	0.402	0.233
24		0.025	0.013	0.119	0.013
32		0.013	0.008	0.092	0.008
48		0.008	0.004	0.009	0.005

(b) 雌

投与後時間 (時:分)	投与量(mg/kg): (試験群):	血漿中の投与量標準化濃度			
		1(静脈) (9)	1(経口) (3)	100(経口) (12)	1(反復経口) (5)
0:05		7.669	0.120	0.024	0.093
0:10		6.556	0.300	0.073	0.290
0:20		5.715	0.503	0.166	0.502
0:40		3.132	0.660	0.307	0.677
1		1.874	0.698	0.393	0.747
1:30		1.177	0.705	0.438	0.758
2		0.938	0.688	0.452	0.729
3		0.718	0.580	0.467	0.621
4		0.605	0.500	0.480	0.516
6		0.443	0.343	0.469	0.351
8		0.334	0.245	0.461	0.254
24		0.047	0.030	0.332	0.022
32		0.019	0.014	0.205	0.013
48		0.008	0.005	0.113	0.006

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

表4. メチレン-¹⁴C-[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(親換算濃度、C [μg/g])

(a) 雄

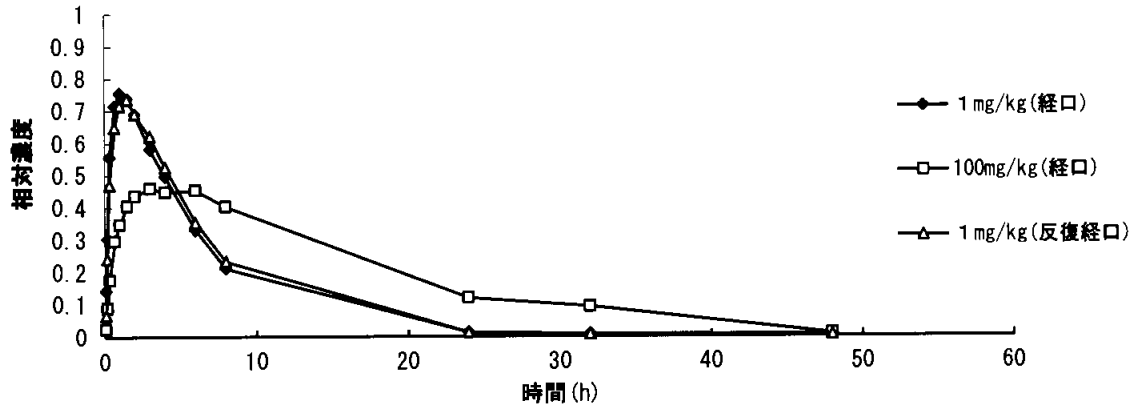
投与後時間 (時:分)	投与量(mg/kg): (試験群):	血漿中の親換算濃度 C [μg/g]			
		1(静脈) (8)	1(経口) (2)	100(経口) (6)	1(反復経口) (4)
0:05		7.199	0.142	1.555	0.062
0:10		4.125	0.303	5.694	0.221
0:20		1.953	0.556	11.246	0.431
0:40		1.156	0.715	18.880	0.596
1		0.903	0.756	22.096	0.658
1:30		0.762	0.739	25.724	0.675
2		0.688	0.690	27.749	0.634
3		0.593	0.582	29.213	0.570
4		0.509	0.497	28.493	0.481
6		0.362	0.331	28.864	0.324
8		0.255	0.212	25.642	0.213
24		0.022	0.013	7.600	0.012
32		0.012	0.008	5.860	0.008
48		0.007	0.004	0.605	0.004

(b) 雌

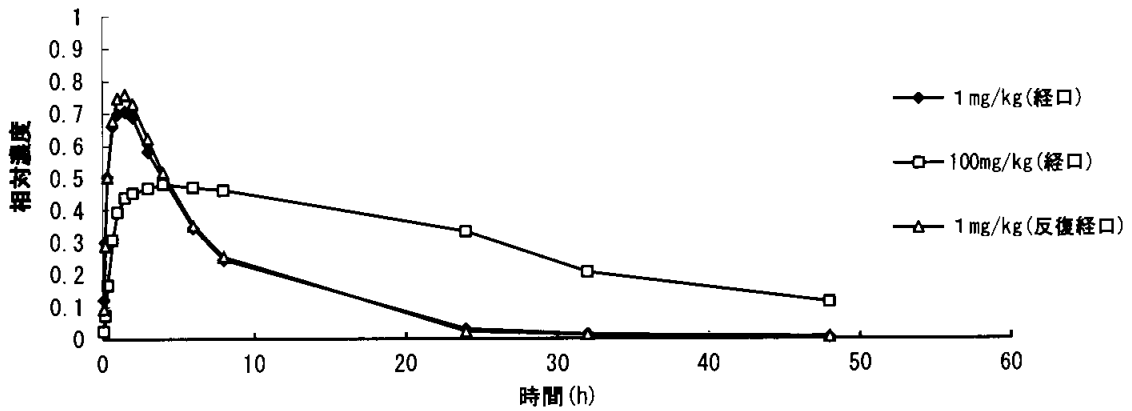
投与後時間 (時:分)	投与量(mg/kg): (試験群):	血漿中の親換算濃度 C [μg/g]			
		1(静脈) (9)	1(経口) (3)	100(経口) (12)	1(反復経口) (5)
0:05		7.775	0.135	2.553	0.109
0:10		6.636	0.339	7.739	0.339
0:20		5.790	0.568	17.54	0.587
0:40		3.175	0.745	32.43	0.792
1		1.900	0.787	41.49	0.874
1:30		1.194	0.794	46.26	0.887
2		0.952	0.775	47.65	0.853
3		0.730	0.652	49.22	0.727
4		0.615	0.560	50.59	0.604
6		0.451	0.383	49.41	0.411
8		0.340	0.272	48.59	0.298
24		0.047	0.033	35.03	0.026
32		0.019	0.016	21.56	0.015
48		0.008	0.006	11.87	0.007

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

(a) 雄



(b) 雌



(c) 雄、雌

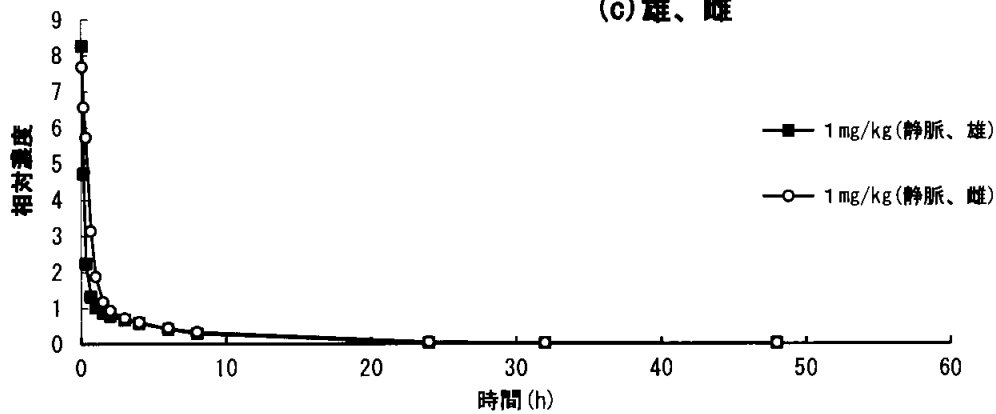


図1. メチレン-¹⁴C-[I]の雌雄ラット各投与群における血漿中の放射能の経時変化 (投与量標準化濃度 CN)

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

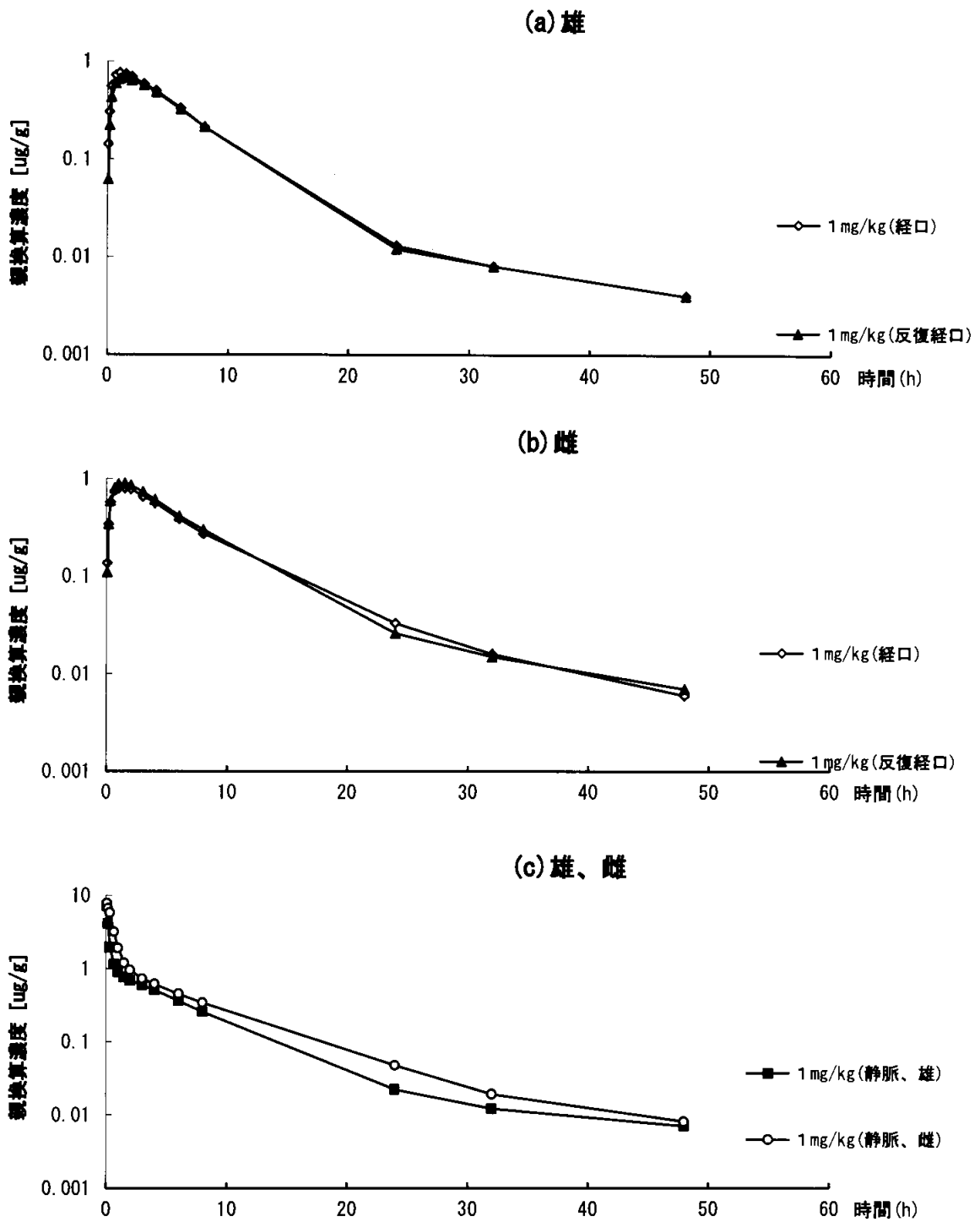


図 2-1. メチレン- ^{14}C -[I]の雌雄ラット各投与群における血漿中の放射能の経時変化 (親換算濃度 C [$\mu\text{g/g}$])

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

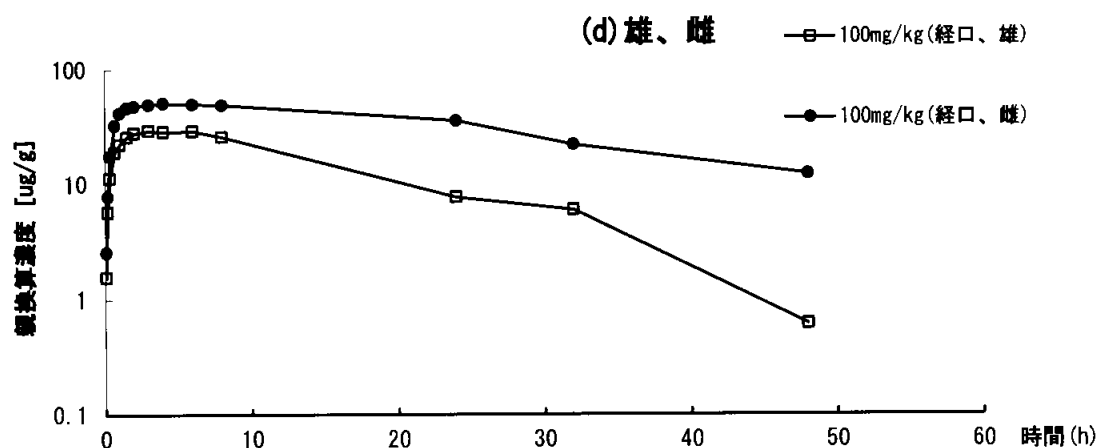


図 2-2. メチレン- ^{14}C -[I]の雌雄ラット高薬量経口投与群における血漿中の放射能の経時変化

(親換算濃度 C [$\mu\text{g/g}$])

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

表 5. ラットにメチレン-¹⁴C-[I] を投与した後 24、48 時間の糞、尿への排泄及び動物残体への残留 (積算量)

投与経路	投与量 mg / kg	性 試験群	投与後時間 hr	投与放射エネルギーに対する積算割合 (%)					
				排泄率			残留量 ¹⁾		総回収率 (48h)
				糞	尿	計	胃・腸管	動物残体 ²⁾	
経口	1	雄	24	28.00	63.16	91.16			95.4
		(2)	48	30.11	64.70	94.81	0.10	0.43	
		雌	24	21.18	57.28	78.46			
経口	100	(3)	48	24.70	60.25	84.95	0.12	0.37	85.4
		雄	24	14.96	46.66	61.62			106.3
		(6)	48	39.11	65.52	104.63	0.95	0.68	
雌	24	—	23.51	23.51					
反復経口	1	(12)	48	9.12	52.97	62.09	17.63	8.96	88.7
		雄	24	25.96	59.57	85.53			91.4
		(4)	48	29.60	61.28	90.88	0.13	0.33	
雌	24	31.30	57.96	89.26					
静脈内	1	(5)	48	34.01	60.12	94.13	0.11	0.30	94.5
		雄	24	25.63	65.45	91.08			98.1
		(8)	48	29.29	68.11	97.40	0.28	0.37	
雌	24	23.30	57.30	80.60					
静脈内	1	(9)	48	27.48	61.30	88.78	0.20	0.36	89.3

1) 屠殺時の残留量

2) 胃・腸管を除く動物体内の合計

呼吸を捕集した実験は別に実施し (経口、雄、1 mg/kg、48 時間)、呼吸中への排泄率は 0.05%、総回収率は 98.4% であった。

3) 排泄 (表 5、表 6、図 3、図 4)

経口投与後、全試験群の平均として投与放射能の約 80~105% が、48 時間以内に尿及び糞を経由して排泄された (表 5)。[I] を 1 mg/kg で静脈内投与、また、1 mg/kg 及び 100 mg/kg の割合で経口投与とすると、48 時間以内に投与量の約 80% 以上が排泄物中に排泄された (注: 屠殺時の胃腸管残留量を含む)。主たる排泄経路は尿で、尿中の排泄率は投与経路、投与量、性差によって顕著な差はなく、約

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

53~68%であった。一方、糞中においても投与経路、投与量、性差によって顕著な差はなく、約25~39%が排泄され、従って、尿：糞の比は全試験群の平均で2.5：1であった。

低投与量群においては、腎と糞からの排泄速度は比較的早く、投与後24時間以内に78%を超える放射能がそれらの経路で排泄された。これは前述のように分布及び再分布過程が迅速であるという結果であり、一方、高投与量群においては緩やかな吸収過程の結果として排泄速度が減少したものと考えられる。

尿排泄が主排泄経路であることは薬物動態パラメーターにおいて腎クリアランスと全クリアランスの値がほぼ同じレベルにあったことから説明され、また、高投与量群においてAUCが他の試験群と比較し相対的に高い値であり、一方、クリアランスが小さい値であったことから、これは排泄速度が遅いことと関連している。しかしながら、MRT及びT_{1/2}が他試験群とほぼ同じであることから、[I]を高投与量で投与した後の動態においては同様の挙動をとるものと考えられた。

表6. メチレン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞・尿中への放射能の排泄

(a)雄

投与後 時間(h)	糞・尿中への積算排泄率[投与放射エネルギーに対する割合(%)]							
	1 ¹⁾ (8)(静脈内)		1(2)(経口)		100(6)(経口)		1(反復経口)(4)	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿
4	- ²⁾	15.22	-	20.14	-	6.73	-	16.23
8	-	38.09	-	45.83	-	20.15	-	38.27
24	25.63	65.45	28.00	63.16	14.96	46.66	25.96	59.57
48	29.29	68.11	30.11	64.70	39.11	65.52	29.60	61.28

1)投与量 mg/kg (試験群)

2)採取せず

(b)雌

投与後 時間(h)	糞・尿中への積算排泄率[投与放射エネルギーに対する割合(%)]							
	1 ¹⁾ (9)(静脈内)		1(3)(経口)		100(12)(経口)		1(反復経口)(5)	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿
4	- ²⁾	14.68	-	15.48	-	3.47	-	12.83
8	-	31.66	-	32.67	-	7.39	-	26.39
24	23.30	57.30	21.18	57.28	-	23.51	31.30	57.96
48	27.48	61.30	24.70	60.25	9.12	52.97	34.01	60.12

1)投与量 mg/kg (試験群)

2)採取せず

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

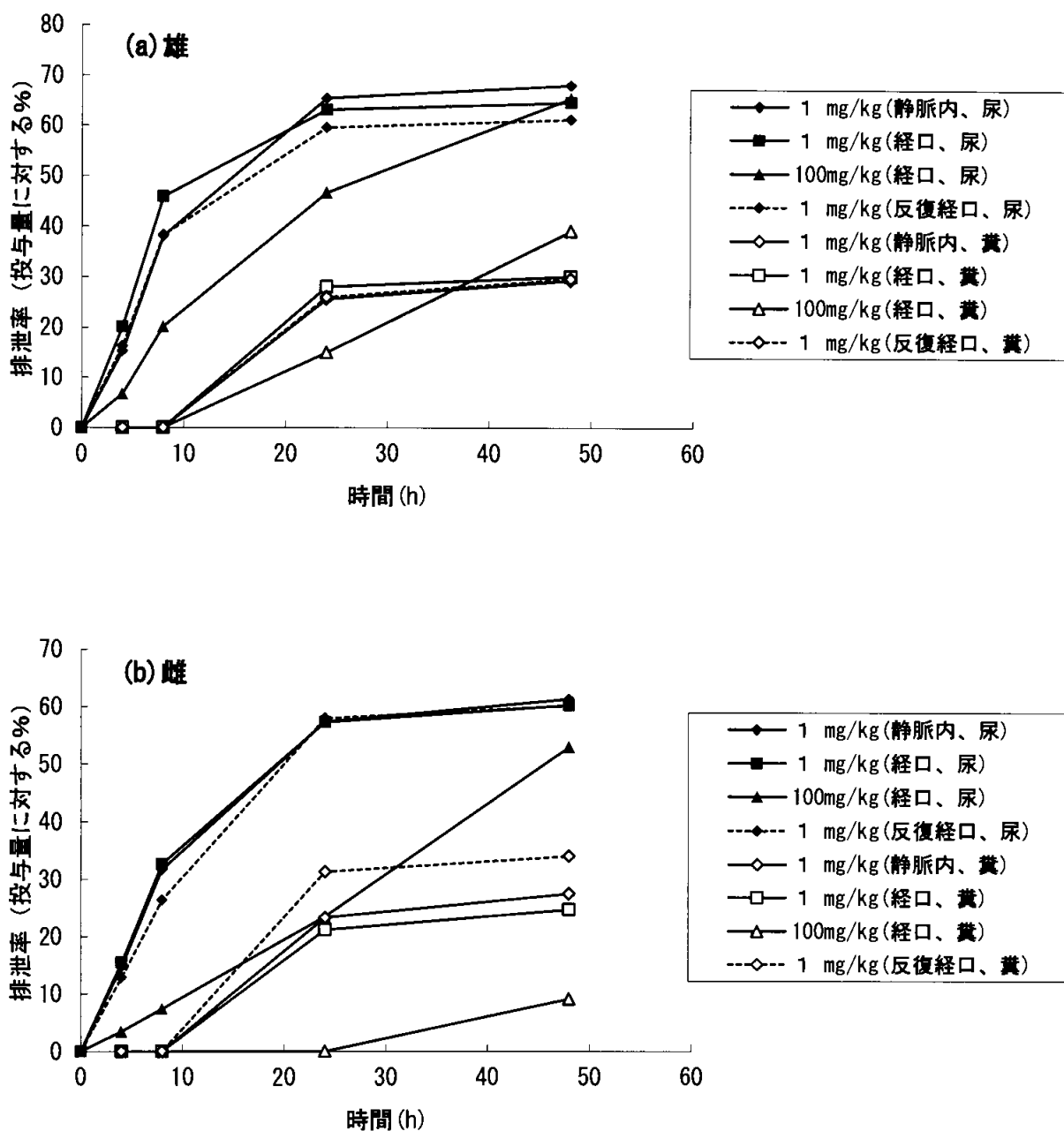


図3. メチレン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞、尿中への放射能の排泄

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

4. 放射能の臓器、組織への分布、残留 (表8、表9、表10)

定常状態における分布容積 (V_{ss}) が多くの場合、体容積に対し >100% であり、放射能は体内の広い範囲に分布し、血漿以外の臓器、組織への分布が示唆された (表2)。しかし、屠殺時 (48 時間後) のラット体内の放射能の残留量は投与量に対して、胃、腸管を除く動物体合計で約 0.3~0.7% とわずかであった (高投与量群の雌を除く) (表5)。しかし、雌の高投与量群においても尿及び糞中への排泄 (図3)、及び血漿中からの総放射能の消失挙動 (図2) から、体内に残留する放射能も経時的に更に体外へ排泄されることが推察された。

臓器中・組織中の投与量標準化濃度はいずれも低く <0.01 であり、高投与量群の肝臓においてのみ 0.01 を超える値が認められ 0.014~0.015 であった (表8、表9)。臓器・組織間で相対的に高い濃度を示したのは肝臓及び腎臓で低投与群では 0.01~0.02 で、高投与量群は 0.0002~0.003 であった。親換算濃度 C は低投与量群で 0.01~0.02 µg/g、高投与量群で 0.02~0.26 µg/g であった (表9)。

肝臓・腎臓中の濃度がやや高かったのは、肝臓が有効成分、代謝物の主代謝経路であること、腎臓が主排泄経路によることと合致していた。

屠殺時における臓器・組織中の残留濃度は投与経路、反復投与、投与量によって顕著な差はなかった。

表8. メチレン-¹⁴C-[I]を経口投与した後の屠殺時の臓器・組織中における放射能の投与量標準化濃度

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の投与量標準化濃度							
	1 mg/kg (静脈内)		1 mg/kg (経口)		100mg/kg (経口)		1mg/kg (反復経口)	
	雄(8)	雌(9)	雄(2) ¹⁾	雌(3)	雄(6)	雌(12)	雄(4)	雌(5)
赤血球	0.0034	0.0034	0.0030	0.0032	0.0067	0.0835	0.0030	0.0027
血漿	0.0036	0.0040	0.0033	0.0037	0.0069	0.1046	0.0033	0.0030
肝臓	0.0173	0.0143	0.0168	0.0126	0.0340	0.2648	0.0194	0.0147
腎臓	0.0109	0.0167	0.0111	0.0144	0.0239	0.2018	0.0148	0.0167
脾臓	0.0047	0.0031	0.0033	0.0028	0.0057	0.0736	0.0036	0.0027
精巣	0.0025	—	0.0020	—	0.0045	—	0.0019	—
子宮	— ²⁾	0.0058	—	0.0026	—	0.0765	—	0.0027
筋肉	0.0026	0.0021	0.0023	0.0022	0.0040	0.0862	0.0020	0.0017
骨	0.0028	0.0032	0.0022	0.0031	0.0051	0.0456	0.0029	0.0037
心臓	0.0034	0.0030	0.0028	0.0030	0.0065	0.1078	0.0026	0.0026
肺	0.0067	0.0062	0.0066	0.0059	0.0115	0.1148	0.0052	0.0048
脳	0.0017	0.0018	0.0014	0.0017	0.0026	0.0623	0.0014	0.0015
脂肪	0.0023	0.0032	0.0021	0.0015	0.0046	0.0589	0.0016	0.0014
皮膚	0.0048	0.0043	0.0061	0.0038	0.0084	0.0879	0.0035	0.0041
カーカス	0.0029	0.0031	0.0036	0.0037	0.0050	0.0920	0.0024	0.0023
胃・腸管	0.0245	0.0187	0.0087	0.0126	0.0905	1.8774	0.0139	0.0099

1) 試験群 2) 該当臓器なし

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

表9. メチレン-¹⁴C-[I]を経口投与した後の臓器・組織中における放射能の親換算濃度C

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の親換算濃度 C (μg/g)							
	1 mg/kg (静脈内)		1 mg/kg (経口)		100mg/kg (経口)		1mg/kg (反復経口)	
	雄(8)	雌(9)	雄(2) ¹⁾	雌(3)	雄(6)	雌(12)	雄(4)	雌(5)
赤血球	0.0029	0.0035	0.0030	0.0036	0.4118	9.572	0.0027	0.0032
血漿	0.0031	0.0042	0.0032	0.0041	0.4265	11.970	0.0030	0.0035
肝臓	0.0147	0.0148	0.0165	0.0140	2.0905	30.230	0.0178	0.0171
腎臓	0.0093	0.0173	0.0109	0.0160	1.4715	23.040	0.0136	0.0195
脾臓	0.0040	0.0032	0.0032	0.0031	0.3510	8.395	0.0033	0.0032
精巣	0.0022	—	0.0020	—	0.2796	—	0.0017	—
子宮	— ²⁾	0.0059	—	0.0029	—	8.763	—	0.0032
筋肉	0.0022	0.0022	0.0022	0.0025	0.2489	9.865	0.0018	0.0020
骨	0.0024	0.0033	0.0022	0.0034	0.3112	5.223	0.0026	0.0044
心臓	0.0029	0.0031	0.0027	0.0034	0.4028	12.330	0.0024	0.0031
肺	0.0057	0.0064	0.0065	0.0066	0.7116	13.150	0.0047	0.0056
脳	0.0014	0.0019	0.0013	0.0018	0.1623	7.129	0.0013	0.0018
脂肪	0.0019	0.0033	0.0020	0.0016	0.2810	6.747	0.0015	0.0016
皮膚	0.0041	0.0044	0.0060	0.0042	0.5190	10.070	0.0032	0.0048
カーカス	0.0025	0.0032	0.0035	0.0041	0.3095	10.470	0.0022	0.0027
胃・腸管	0.0209	0.0193	0.0086	0.0140	5.5612	215.500	0.0127	0.0116

1) 試験群

2) 該当臓器なし

注) [I]の親換算濃度 C (μg/g) = CN (投与量標準化濃度) × D (投与量 μg/mg)

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

表 10. メチレン-¹⁴C-[I]を経口投与した後の臓器・組織中における放射能の残留量

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の残留量 [投与量に対する割合 (%)]							
	1 mg/kg (静脈内)		1 mg/kg (経口)		100mg/kg (経口)		1mg/kg (反復経口)	
	雄 (8)	雌 (9)	雄 (2) ¹⁾	雌 (3)	雄 (6)	雌 (12)	雄 (4)	雌 (5)
赤血球	0.0046	0.0048	0.0051	0.0056	0.0100	0.1562	0.0039	0.0044
血漿	0.0045	0.0042	0.0044	0.0047	0.0080	0.1125	0.0035	0.0038
肝臓	0.0854	0.0657	0.0774	0.0493	0.1811	1.1060	0.0860	0.0604
腎臓	0.0087	0.0126	0.0087	0.0105	0.0178	0.1416	0.0113	0.0118
脾臓	0.0012	0.0009	0.0007	0.0006	0.0010	0.0119	0.0007	0.0006
精巣	0.0031	—	0.0025	—	0.0057	—	0.0023	—
子宮	— ²⁾	0.0016	—	0.0007	—	0.0180	—	0.0008
筋肉	0.0023	0.0017	0.0017	0.0019	0.0037	0.0743	0.0018	0.0018
骨	0.0006	0.0011	0.0007	0.0011	0.0013	0.0167	0.0008	0.0011
心臓	0.0014	0.0012	0.0012	0.0010	0.0026	0.0453	0.0009	0.0010
肺	0.0044	0.0041	0.0035	0.0039	0.0064	0.0915	0.0032	0.0030
脳	0.0014	0.0015	0.0010	0.0014	0.0021	0.0515	0.0010	0.0014
脂肪	0.0006	0.0007	0.0004	0.0003	0.0007	0.0124	0.0005	0.0004
皮膚	0.1056	0.0929	0.1361	0.0846	0.1749	1.9252	0.0744	0.0870
カーカス	0.1498	0.1677	0.1819	0.2014	0.2684	5.2012	0.1350	0.1226
胃・腸管	0.2838	0.1978	0.1040	0.1249	0.9526	17.6312	0.1344	0.1074

1) 試験群

2) 該当臓器なし

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

5. 吸収、排泄に関する性、投与量、反復投与による差

統計的有意差の判定には、マン・ホイットニーの U 検定を適用した。データ数が少ないため、99%以上の確率で有意差が認められた場合を有意とみなし（下表中の+表示）、以下考察した。

表：ラットにおける[メチレン-¹⁴C] 標識チアクロプリドの投与経路、投与量、性別または反復投与（非放射性標識体 14 日+標識体 1 日）による排泄と体内残留の統計的有意差結果(U検定：有意差の程度比率)

(対比試験群番号)	静脈内 1 mg/kg	経口 1 mg/kg	経口 1 mg/kg 反復投与	経口 100mg/kg
	雄(8) / 雌 (9)	雄(2) / 雌 (3)	雄(4) / 雌 (5)	雄(6) / 雌 (12)
尿 糞 胃・腸管を除く体内	-1.01	-0.96	± 1.06	-1.04
	-0.97	-1.09	± 0.90	+3.71
	-0.95	-1.05	-1.13	+0.06

(対比試験群番号)	経口 100mg/kg / 1 mg/kg		経口 1 mg/kg 反復投与 / 1 mg/kg		1 mg/kg 経口 / 静脈内	
	雄 (6) / (2)	雌 (12) / (3)	雄 (4) / (2)	雌 (5) / (3)	雄 (2) / (8)	雌 (3) / (9)
尿 糞 胃・腸管を除く体内	+0.91	+0.85	-0.99	± 0.90	-0.98	-1.03
	+1.16	+0.34	-1.03	± 1.24	-1.06	-0.94
	+1.44	+23.9	+0.80	± 0.74	± 1.18	-1.08

U検定における有意差：+：S ≥ 99% (非常に顕著な有意差) ±：S ≥ 95% (顕著な有意差) ∓：S < 95% (有意差なし)

1) 性

高投与量群において認められた有意な性差（48 時間後の糞中排泄率：雄 39.11%、雌 9.12%及び胃・腸管を除く体内残留率：雄 0.68%、雌 8.96%、表 5）の理由については、48 時間後の胃・腸管内放射エネルギー（雄 0.95%、雌 17.63%、表 5）の結果を反映しているものと推定された。すなわち、雌では排泄が完了していなかったために上記の性差が見出されたものと考えられた。雌においてのみ排泄が完了しなかった理由については、雌雄ラットの代謝能の量的・質的な差異を反映しているためと考えられた。

2) 投与量

雄ラットの高投与量群(高)と低投与量群(低)間で認められた有意差(48 時間後の尿中排泄率：(高)65.52%、(低)64.70%、糞中排泄率：(高)39.11%、(低)30.11%及び胃・腸管を除く体内残留率：(高)0.68%、(低)0.43%、表 5) は、高投与量群では吸収速度が低かったことを反映しているものと考えられた。

同様に、雌ラットで認められた有意差（48 時間後の尿中排泄率：(高)60.25%、(低)52.97%、糞中排泄率：(高)9.12%、(低)24.70%及び胃・腸管を除く体内残留率：(高)8.96%、(低)0.37%、表 5）の理由については、前節で言及した代謝能の量的・質的な性差（雌は雄と比較して代謝能が低いこと）により説明が可能である。

3) 反復投与

非標識体前処理の有無による放射能排泄パターンにおいて唯一認められた有意差は、雌ラットの胃腸管以外の器官・組織における体内残留放射能が、単回投与において高かった点である（単回経口投与 0.37%、反復投与 0.30%、表 5）。これが生理学的な差異に起因するかどうかは不明確であるが、体内放射能の絶対残留量としては非常に低い値であった。

6. 代謝

[I] の投与後、大部分の [I] が代謝され、主代謝経路は6-クロロニコチン酸[M3]とそのグリシン抱合体[M7]、次いで、チアゾリジン環の水酸化体[M1]とそのグルクロン酸抱合体[M12]+[M13]、また、酸化によるN-水酸化アミド体[M11]であった。[I]の構造を保持している代謝物は総量で21~50%であり、一方、解裂したチアゾリジン環由来の代謝物はやはり21~50%であった。

1) 尿

尿は0-24時間あるいは0-48時間の分画を投与群、性毎に混合し、RP-18カラム及び疎水性樹脂XAD-4の固相抽出法により精製し、HPLC、LC/MS/MS、NMR等により分析、構造決定した。これらの混合尿分画は全尿中排泄率中の約98-99%に相当した。

全ての代謝物が全投与群で検出され、代謝物の分布様式は同様であった。

尿中の主代謝物は雌の高投与量群を除く全ての試験群で6-クロロニコチン酸のグリシン抱合体[M7]であり、回収放射能に対し平均で約26%を占めた(表11)。遊離型の6-クロロニコチン酸[M3]もまた多く生成していた。これらは尿中において特異的な代謝物であった。雌の高投与量群における尿中主代謝物はモノ水酸化体[M1]のグルクロン酸抱合体[M12]であった。N-水酸化アミド型化合物[M11]は雄の尿中における主代謝物の一つであった。投与放射能は極めて速く排泄され、全ての試験群で未変化の親化合物が認められた。

2) 糞

0-24、24-48時間の糞を混合してメタノール抽出し、精製後、HPLC分析に付し、コクロマトグラフィーにより代謝物の構造を同定した。

糞抽出物中の代謝物様式は基本的に尿における代謝物の分布と同様であったが、遊離型及び抱合型の6-クロロニコチン酸[M3]が糞中には検出されなかった点が異なっていた。量的に見れば糞中代謝物はマイナーな割合であった(表11)。

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

表 1 1. ラットにおけるメチレン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞・尿における代謝物
a) 雄

化合物	投与放射能に対する割合 (%)											
	静脈内 1 mg/kg			経口 1 mg/kg			経口 100mg/kg			反復経口 1 mg/kg		
	雄(8)			雄(2)			雄(6)			雄(4)		
	糞	尿	合計	糞	尿	合計	糞	尿	合計	糞	尿	合計
[I]	2.9	3.4	6.3	2.1	2.5	4.6	6.4	4.5	10.9	2.0	1.8	3.8
M1	3.2	2.6	5.8	2.8	2.8	5.6	5.8	2.8	8.6	3.1	2.4	5.5
M3	-	6.8	6.8	-	7.1	7.1	-	9.0	9.0	-	8.0	8.0
M6	1.2	1.6	2.8	1.4	1.7	3.1	1.2	1.2	2.4	1.5	1.7	3.2
M7	-	34.2	34.2	-	33.4	33.4	-	15.6	15.6	-	30.3	30.3
M8	1.3	1.2	2.5	1.4	0.8	2.2	1.3	1.9	3.2	1.2	1.1	2.3
M9	0.3	2.4	2.7	0.6	3.3	3.9	0.3	1.4	1.7	0.5	3.6	4.1
M10	0.4	1.4	1.8	-	1.4	1.4	-	-	-	-	1.2	1.2
M11	1.2	5.4	6.6	1.1	3.6	4.7	1.0	12.4	13.4	1.0	5.8	6.8
M12+M13	0.7	1.2	1.9	0.6	0.9	1.5	0.9	2.2	3.1	0.4	0.9	1.3
M14	0.4	1.2	1.6	0.6	1.1	1.7	0.7	2.7	3.4	0.5	1.3	1.8
M15	-	-	-	-	-	-	0.3	0.8	1.1	-	0.3	0.3
M16	0.8	2.9	3.7	1.0	2.8	3.8	1.2	4.0	5.2	0.8	2.4	3.2
M17	0.3	1.0	1.3	0.2	0.7	0.9	0.4	0.4	0.8	0.3	0.7	1.0

表 1 2. ラットにおけるメチレン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞・尿における代謝物
b) 雌

化合物	投与放射能に対する割合 (%)											
	静脈内 1 mg/kg			経口 1 mg/kg			経口 100mg/kg			反復経口 1 mg/kg		
	雌(9)			雌(3)			雌(12)			雌(5)		
	糞	尿	合計	糞	尿	合計	糞	尿	合計	糞	尿	合計
[I]	2.6	3.3	5.9	1.5	2.8	4.3	0.9	5.9	6.8	1.8	1.9	3.7
M1	1.6	3.9	5.5	1.4	3.8	5.2	1.4	4.7	6.1	1.9	3.9	5.8
M3	-	9.7	9.7	-	8.7	8.7	-	4.2	4.2	-	9.1	9.1
M6	1.5	2.8	4.3	1.8	2.8	4.6	0.4	3.5	3.9	2.2	2.3	4.5
M7	-	27.1	27.1	-	31.5	31.5	-	11.5	11.5	-	27.2	27.2
M8	1.5	2.2	3.7	1.0	1.5	2.5	0.4	1.2	1.6	1.2	1.5	2.7
M9	0.7	6.1	6.8	0.4	5.1	5.5	0.2	1.1	1.3	0.4	5.6	6.0
M10	-	1.2	1.2	-	1.7	1.7	-	1.6	1.6	0.4	0.9	1.3
M11	0.5	-	0.5	0.7	-	0.7	0.3	1.1	1.4	0.8	1.0	1.8
M12+M13	0.6	1.4	2.0	0.5	1.6	2.1	0.2	13.0	13.2	0.4	1.5	1.9
M14	0.7	1.2	1.9	0.4	1.1	1.5	0.2	2.1	2.3	0.5	0.9	1.4
M15	0.5	0.5	1.0	-	0.4	0.4	0.2	1.7	1.9	0.9	-	0.9
M16	0.3	1.3	1.6	0.3	1.1	1.4	0.2	1.1	1.3	1.0	0.6	1.6
M17	0.2	0.7	0.9	0.2	0.8	1.0	0.1	0.6	0.7	0.3	0.4	0.7

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

7. 排泄物中代謝物のまとめ

尿及び糞を合わせた代謝物の量的分布を表 11 に示す。合計値から、雌の高投与量群を除く全ての試験群で主代謝物は 6-クロロニコチン酸 [M3] のグリシン抱合体 [M7] であり、投与放射能の約 26% であった。遊離型の 6-クロロニコチン酸 [M3] も多く生成していた。高投与群ではこれら代謝物の生成量は相対的に少なく、これに対応して未変化の親化合物がより多く検出された。このほかの主代謝物としてモノ水酸化体 [M1] が認められ、これもまたグルクロン酸抱合体 [M12] となっていた。他の代謝物では [M11] を除き量的な重要度は低かった。

要約すると、投与量が多いほど代謝割合が低いことが明らかであった。すなわち高投与量群では雌雄共に未代謝の親化合物の寄与率が高くなり、[M7] の量は低くなっていた。また、N-水酸化アミド体 [M11] が雄の排泄物中に多く、オキサゾール体 [M16] も同様であった。一方、脱塩素体 [M6] と [M9] が雌でより多かった。

総同定率は雌の高投与量群を除き投与放射能に対し平均 70% 以上であった。

8. 結論

経口投与後、全ての試験群で回収放射能の 95% が 48 時間以内に尿及び糞を經由して排泄された。その大部分は尿中に排泄された [平均比率: 2.5:1 (尿: 糞)]。低投与量群において尿及び糞への排泄割合が比較的高く、投与 24 時間後までに投与放射能の 78% がどちらかの経路から排泄された。これは速やかな分布と再分布過程の結果である。高投与量群で糞への排泄量が明らかに低く、吸収速度がより遅いことがその原因であった。

経口投与後 48 時間の屠殺時における胃消化管を除く動物体中残留量は、低投与量では各群とも回収放射能の 1% 未満であった。雌の 100mg/kg 投与量群では残留量は約 10% と高かった。しかし、この放射能は更に体内から排泄されるものと考えられた。いくつかの臓器又は組織では雄と雌の間で顕著な差が認められた。一般に投与量標準化濃度は低く、0.02 を超えることはなかった。肝、腎、肺及び皮膚の濃度が最も高かった。

ラットにおける主な代謝過程は親分子骨格の酸化的開裂であり、この反応によって 6-クロロニコチン酸 [M3] を生じ、更にグリシンと反応して馬尿酸型の抱合体 [M7] が生成した。両代謝物とも速やかに、尿中にのみ排泄され、これらが排泄物中の同定代謝物の大部分を占め、回収放射能に対し約 34% に達した。他の代謝物過程は親分子上の数ヶ所で起きており、N-ニトリル基は酸化され、アミド体 ([M11] 及び [M17]) が生成し、またチアゾリジン環は酸化的に開裂してスルホキシド体

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

([M8] 及び [M10]) が生成した。オキサゾール体 [M16] の生成はこれら環開裂体の一つが再び閉環したものと考えられる。もう一つの生物変換過程は、クロロニコチン酸のピリジニル環上の塩素原子のメルカプツール酸による置換であった ([M6]) 。この代謝物が脱カルボキシル化された後グリシン抱合されて [M9] が生成した。開環グアニジン体 [M14] のアセチルシステイン抱合体 [M15] も同定された。

投与放射能に対し平均で約 6 % が未変化の親化合物として排泄されたことは、YRC 2894 が動物体内を速やかに通過することを示すものである。このことは投与量の 90% 以上が投与後 24 時間以内に排泄された事実によって裏付けられた。

動物体内における推定代謝経路を図 4 に示す。

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

(3) チアゾリジン- ^{14}C -チアクロプリドを用いた
ラット体内における代謝試験

(代謝資料 No. 3)

試験機関：

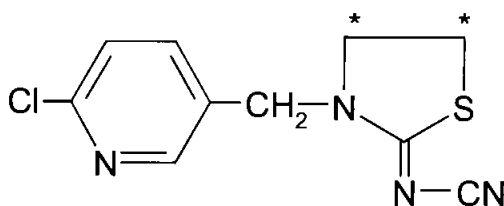
[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年12月8日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-
イリデンシアナミド

化学構造：



[*： ^{14}C 標識部位]

標識：チアゾリジン-4, 5- ^{14}C -チアクロプリド [I]
(比放射能：3.92MBq/mg、放射化学的純度>99%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 投与量、投与群 (表1)

[I] は低投与量として1mg/kg、また、高投与量として100mg/kgを設定した。
試験の概要を表1に示した。

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

表 1. 試験群の概要

投与経路	投与量 (mg/kg)	投与 回数	性 (試験群)	動物数 (匹)	生物 試料	採取時間 (投与後時間) (時間)
①呼気への排泄						
経口	1	1	雄 (1)	5	呼気	8, 24, 48
					尿	4, 8, 24, 48
					糞	24, 48
					皮膚、胃腸管、 動物残体	48
②経口投与による吸収、分布、代謝、排泄						
経口	1	1	雄(2)雌(3)	各 5	血漿	5, 10, 20, 40 (分)
	100	1	雄(4)	各 5		1, 1.5, 2, 3, 4, 6, 8, 24, 32, 48
					尿	4, 8, 24, 48
					糞	24, 48
					皮膚、胃腸管、 動物残体	48

注) 供試動物 : Wistar 系ラット、体重約 200g

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

2. 呼気への排泄（試験群1）

呼気への排泄を調べるため、雄に1 mg/kg で経口投与し 48 時間後まで経時的に呼気、糞、尿を採取した。

3. 経口投与後の吸収、分布、代謝、排泄

（経口投与1 mg/kg の1回経口投与群（雄、雌）、100mg/kg の投与群（雄））
投与した ^{14}C が呼気へ排泄されないことを確認した後、通常の試験群では [I] を経口投与した後に雌雄ラットより尾静脈血液を経時的に（48 時間後まで）採取して薬物動態パラメーターを解析した。また、糞、尿は経時的に、また屠殺時には約17種類の臓器、組織を採取した。採取した各試料毎に放射能を測定し、さらに、代謝物の同定、定量には尿及び糞をそれぞれ混合して分析した。

【結果】

1. 投与した放射能の回収

^{14}C - [I] を投与した後の試験系[試験群により排泄物、臓器、組織、動物残体（選抜した臓器、組織を採取した残りの動物体）、呼気を含む]からの回収率は86-100%であり、ほぼ定量的に回収された。従って、以下に示す結果は原則的に投与した放射能に対する割合（%）で示した。

2. 呼気への排泄

雄ラットへ ^{14}C - [I] を1 mg/kg で経口した後、48 時間にわたり呼気を捕集したが、 $^{14}\text{C}\text{O}_2$ 及びその他の揮発性化合物の量は投与量の平均0.86%であった。従って、分子中のチアゾリジン環標識部位は動物体内では代謝的に安定で二酸化炭素やその他の揮発性物質には代謝されないと考えられた。（また、代謝資料No. 2に示すメチレン標識においても吸気中への排泄率は投与量の約0.05%であり、やはり同様の評価であった。）

以上から、他の通常の試験群では呼気の捕集を行わなかった。

3. 放射能の吸収、薬物動態パラメーター、糞、尿への排泄

1) 吸収率

血漿中の ^{14}C - [I] の濃度は、投与した直後から増加が始まり、血漿濃度は低投与量群では投与後2～3時間に、また、高投与群は4時間後に最高に達した。

腎排泄量が高く、その排泄率が投与量の約60～83%で（回収放射能に対する割合：表5）投与量の少なくとも約60%が吸収されたことが示唆された。

また、メチレン標識を用いた試験（代謝資料2）において実施した静脈内投

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

与と経口投与試験の結果の比較から投与した [I] はほぼ定量的に吸収されたことが示唆され、本試験も同様の状況と考えられる。

2) 薬物動態パラメーター (表2～表4、図1～図2)

各投与群の尾静脈血漿中の ^{14}C の濃度から薬物動態パラメーターを解析した。[I]は経口投与後直ちに吸収が始まり、血漿中の投与量標準化濃度P(説明後述*)は低投与量及び高投与量群共に短時間で最大となった(T-max: 2～4時間)。また、その濃度は等量分布(P=1)より低く、放射能が血漿から末梢コンパートメントへ速やかに分布したことが示唆された(P-max: 低投与量群0.71～0.78、高投与量群約0.54)。

血漿中総放射能を分析し、消失半減期を計算すると、第1の消失相(分布相)半減期は2.2時間から4.0時間の範囲であった。また、最終消失相半減期は低投与量群で約19～45時間、高投与量群で約10時間であった。平均排泄滞留時間(MRT)は約17～25時間の範囲であった(表2)。全クリアランス(CL)も約1～1.8mL/min/kgで、前述の短い消失半減期、MRTの知見を支持していた。

低投与量群では、定常状態におけるみかけの分布容積(V_{ss})は雄、雌それぞれ1.45L/kg及び1.72L/kgであり、体容積に対し>100%で放射能が速やかに末梢コンパートメントへ分布したことを示し、親化合物あるいは標識代謝物が組織へ浸透する傾向が強いことが示唆された。高投与量の V_{ss} は0.7L/kgであったが、投与量標準化濃度Pの最大値が1未満(低投与量: 0.71～0.78、高投与量: 0.54)であることから ^{14}C -[I]の放射能はラットの血液から組織・臓器に速やかに分布していることが示唆された。この結果は[メチレン- ^{14}C] YRC 2894投与後の全身オートラジオグラフィーにより得られた結果(代謝資料1)と一致している。

チアゾリジン- ^{14}C -[I]の血漿中における吸収、分布、排泄に関する速度論的挙動はメチレン- ^{14}C -[I]とほぼ同様のものであった。

* : 投与量標準化濃度P = 組織中の ^{14}C (mg/kg 組織) / 投与した ^{14}C (mg/kg 体重)

投与量標準化濃度P = 1のときは等量分布濃度となる。

投与量標準化濃度Pを用いると、投与量が異なる群の吸収・分布等に関するパラメータを直接比較することが可能である。

また、血漿や臓器中の ^{14}C の濃度は次式で換算され、“親換算濃度”と表

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

現する。

血漿や臓器中の¹⁴Cの親換算濃度 (µg/mL または µg/g) = 投与量標準化濃度 P × 投与量 (mg/kg 体重)

表 2. チアゾリジン-¹⁴C- [I] の経口投与群における薬物動態学的パラメーター

薬物動態 パラメーター	経口投与		
	1 mg/kg		100mg/kg
	雄(2)	雌(3)	雄(4)
AUC[µg/mL*h] [モデル値]	9.19	10.40	1560
T _{1/2} [h] (分布相)	0.18	0.20	0.17
T _{1/2} [h] (消失相 1)	2.2	3.3	4.0
T _{1/2} [h] (消失相 2)	19.0	44.5	9.9
V-ss[L/kg 体重]	1.45	1.72	0.70
吸収ラグタイム[h]	0.03	0.04	0.11
尿排泄ラグタイム[h]	2.58	2.49	1.31
MRT 総放射能[h]	16.50	22.80	25.30
MRT 排泄放射能[h]	13.30	18.00	10.90
CL[mL/min*kg 体重]	1.82	1.60	1.07
腎排泄率[対投与量%]	81.4	87.3	70.3
CL _R [mL/min*kg 体重]	1.48	1.40	0.75
C-max[µg/mL] [モデル値]	0.77	0.68	42.20
T-max[h] [モデル値]	1.61	3.04	9.82
P-max ¹⁾	0.78	0.71	0.54
C-max[µg/mL] [実験値] ²⁾	0.66	0.69	50.34
T-max[h] [実験値]	2.00	3.00	4.00

() : 試験群番号 1) : 申請者がデータから判断して記載

2) : 試験群内 5 ラットの各最高値の平均値

AUC[µg/mL*h]	: 血中薬物濃度時間曲線下面積
T _{1/2} [h]	: 消失半減期
CL[mL/min*kg 体重]	: 全身クリアランス
CL _R [mL/min*kg 体重]	: 腎クリアランス
MRT[h]	: 中央コンパートメントにおける平均滞留時間
V-ss[L/kg]	: 定常状態における分布容積
P-max	: 最高血中薬物濃度 (投与量標準化濃度)
C-max[µg/mL]	: 最高血中薬物濃度 (親化合物換算濃度)
T-max[h]	: 最高血中薬物濃度到達時間

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

表 3. チアゾリジン-¹⁴C-[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(投与量標準化濃度)

投与後時間 (時:分)	投与量(mg/kg): (試験群):	経口血漿中の投与量標準化濃度		
		1(経口) 雄(2)	1(経口) 雌(3)	100(経口) 雄(4)
0:05		0.128	0.076	0.016
0:10		0.276	0.191	0.062
0:20		0.508	0.355	0.140
0:40		0.670	0.526	0.273
1		0.750	0.593	0.354
1:30		0.769	0.654	0.381
2		0.775	0.680	0.347
3		0.689	0.709	0.420
4		0.649	0.696	0.544
6		0.496	0.603	0.355
8		0.376	0.494	0.373
24		0.080	0.068	0.249
32		0.055	0.038	0.270
48		0.029	0.021	0.112

表 4. チアゾリジン-¹⁴C-[I]の経口投与群における血漿中の総放射能の経時変化
(親換算濃度、C [μg/g])

投与後時間 (時:分)	投与量(mg/kg): (試験群):	血漿中の親換算濃度 C [μg/g]		
		1(経口) 雄(2)	1(経口) 雌(3)	100(経口) 雄(4)
0:05		0.108	0.074	1.459
0:10		0.234	0.186	5.749
0:20		0.430	0.346	13.066
0:40		0.568	0.513	25.377
1		0.636	0.578	32.935
1:30		0.651	0.638	35.491
2		0.657	0.664	32.340
3		0.584	0.692	39.041
4		0.551	0.679	50.344
6		0.421	0.588	33.074
8		0.319	0.482	34.844
24		0.068	0.066	23.162
32		0.046	0.037	25.152
48		0.025	0.020	10.384

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

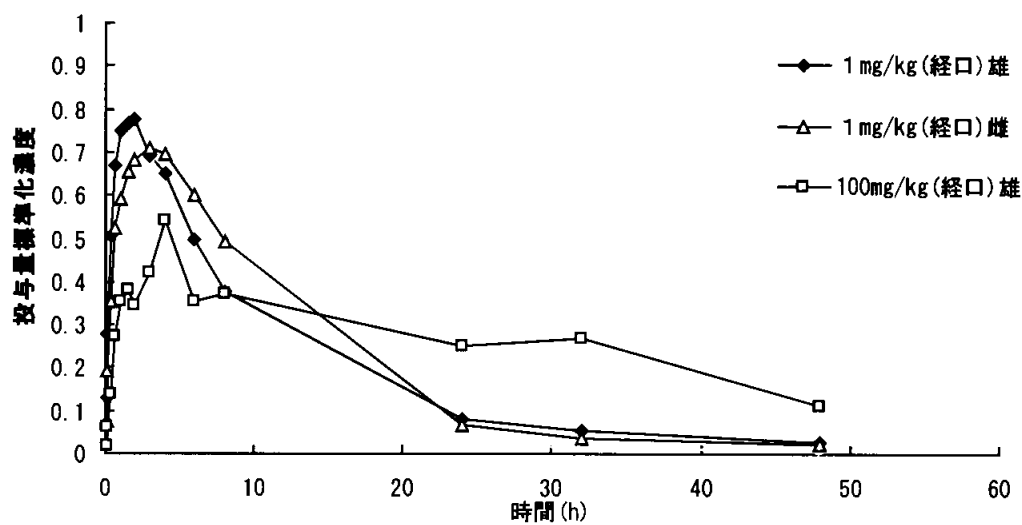


図1. チアゾリジン- ^{14}C -[I]の経口投与群における血漿中の放射能の経時変化 (投与量標準化濃度)

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

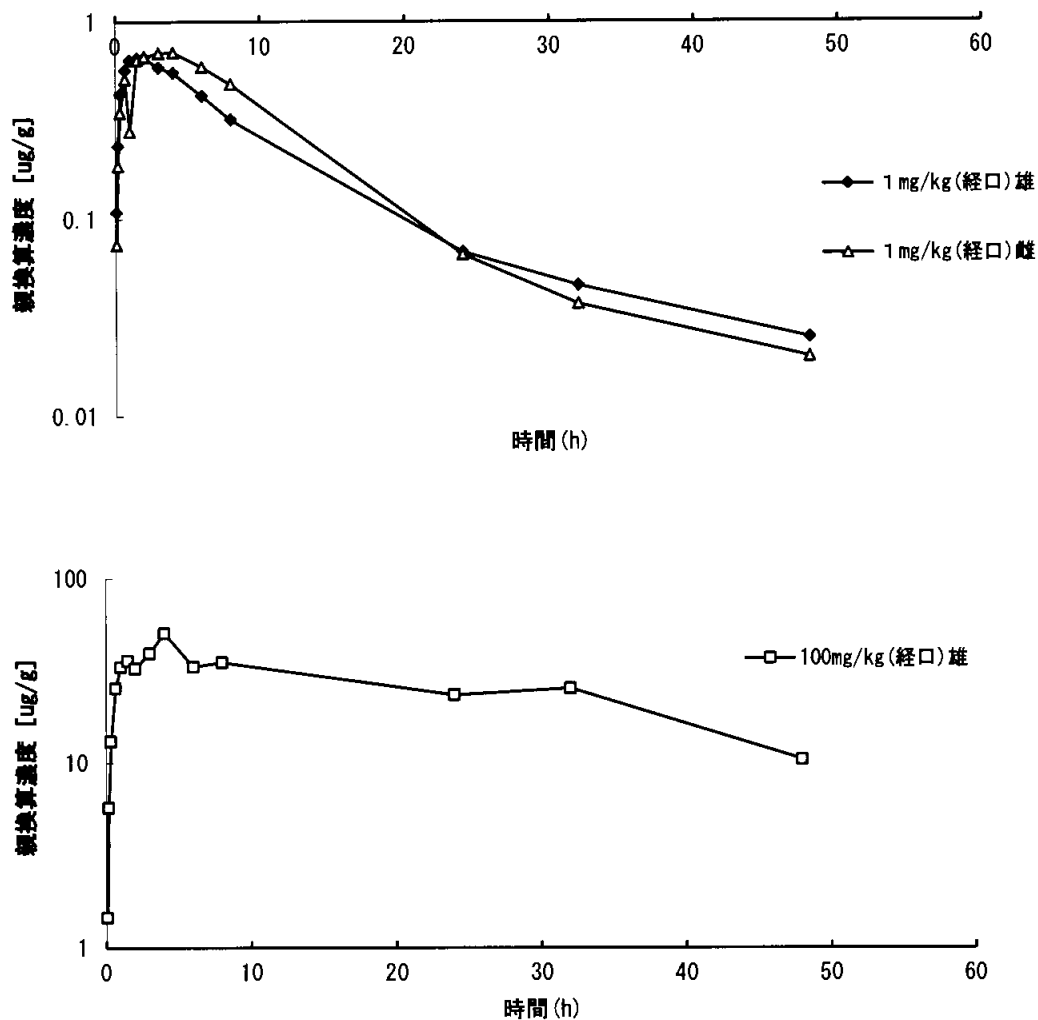


図 2. チアゾリジン- ^{14}C -[I]の経口投与群における血漿中の放射能の経時変化 (親換算濃度C [$\mu\text{g/g}$])

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

表 5. ラットにチアゾリジン-¹⁴C-[I] を投与した後 24、48 時間の糞、尿への排泄及び動物残体への残留 (積算量)

投与経路	投与量 mg / kg	性 試験群	投与後時間 hr	投与放射エネルギーに対する積算割合 (%)					
				排泄率			残留量 ¹⁾		総回収率 (48h)
				糞	尿	計	胃・腸管	動物残体 ²⁾	
経口	1	雄	24	11.95	71.31	83.26			94.45
		(2)	48	14.46	76.82	91.28	0.40	2.77	
		雌	24	8.47	77.01	85.48			
		(3)	48	10.47	82.90	93.37	0.21	1.36	94.94
経口	100	雄	24	0.98	32.18	33.16			85.88
		(6)	48	13.28	60.23	73.51	4.25	8.12	

1) 屠殺時の残留量

2) 胃・腸管を除く動物体内の合計

呼吸を捕集した実験は別に実施し (経口、雄、1 mg/kg、48 時間)、呼吸中への排泄率は 0.86%、総回収率は 99.7% であった。

3) 排泄 (表 5、表 6、図 3、図 4)

チアゾリジン-¹⁴C-[I] の経口投与後の排泄率は投与放射能の約 78~94% が、48 時間以内に尿及び糞を経由して排泄された (表 5)。(注: 屠殺時の胃腸管残留量を含む)。主たる排泄経路は尿で、尿中の排泄率は投与量、性差によって顕著な差はなく、放射能の尿/糞における比率は約 8 : 1 であった (表 5)。低投与量群においては、雄は投与量の 76.8% が尿より、14.5% が糞より排泄された (比率: 約 5 : 1、表 5)。一方、雌では投与量の 82.9% が尿より、10.5% が糞より排泄された。また、高投与量群では、投与量の 60.2% が尿、13.3% が糞において測定された (比率: < 5 : 1、表 5)。尿による放射能の排泄は低投与量群に比べ高投与量群において少なかった。しかし、低投与試験における雌雄の間に有意な差は観察されなかった。糞中においても投与量、性差によって顕著な差はなく、約 10~15% が排泄され、従って、尿: 糞の比は全試験群の平均で 5-8 : 1 であった。

低投与量群において腎と糞からの排泄速度が早く、投与後 24 時間以内に尿で約 81-83、糞で約 93% がそれぞれの経路で排泄された。これは前述のように分布及び再分布過程が迅速であるという結果であり、一方、高投与量群においては緩やかな

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

吸収過程の結果として排泄速度が減少したものと考えられ、総排泄量からみると投与 24 時間後において投与量の 33%が排泄された。

尿排泄が主排泄経路であることは薬物動態パラメーターにおいて腎クリアランスと全クリアランスの値がほぼ同じレベルにあったことから説明され、また、高投与量群においてはAUCが他の試験群と比較し相対的に高い値であり、一方、クリアランスが小さい値であったことから、これは排泄速度が遅いことと関連している。しかしながら、MRT及びT1/2が他試験群とほぼ同じであることから、[I]を高投与量で投与した後の動態においては同様の挙動をとるものと考えられた。

表 6. チアゾリジン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞・尿中への放射能の排泄

投与後 時間(h)	糞・尿中への積算排泄率[投与放射能量に対する割合(%)]					
	1 (2) ¹⁾ 雄(経口)		1 (3)雌(経口)		100(4)雄(経口)	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿
4	- ²⁾	6.64	-	9.62	-	4.64
8	-	36.57	-	27.31	-	10.98
24	11.95	71.31	8.47	77.01	0.98	32.18
48	14.46	76.82	10.47	82.90	13.28	60.23

1) 投与量 mg/kg (試験群)

2) 採取せず

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

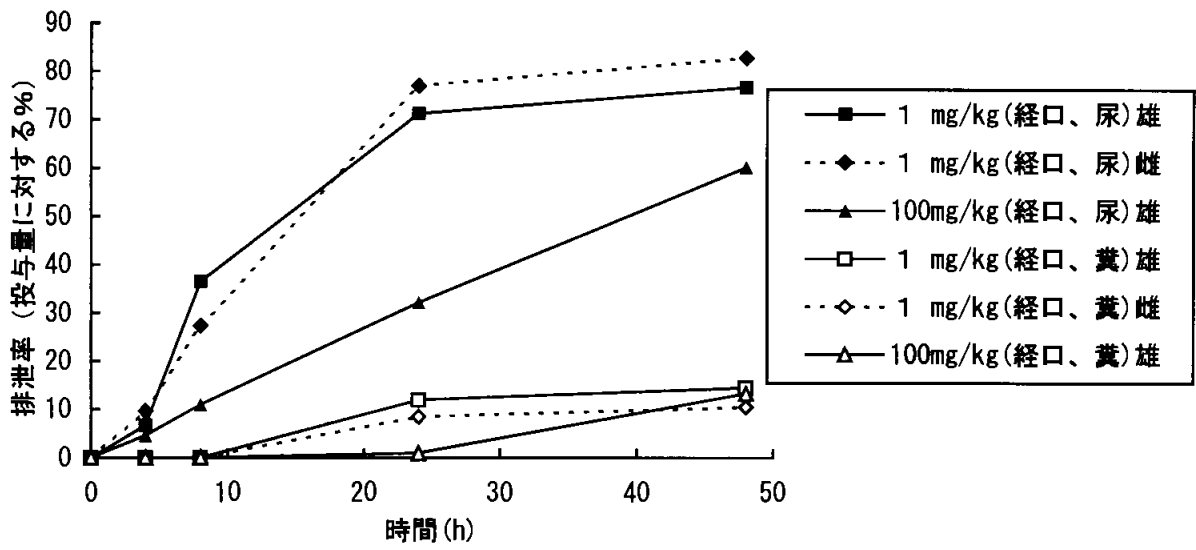


図3. チアゾリジン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞、尿中への放射能の排泄

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

4. 放射能の臓器、組織への分布、残留 (表 8、表 9、表 10)

定常状態における分布容積 (V_{ss}) が低投与量群においては、体容積に対し $>100\%$ であり、放射能は体内の広い範囲に分布し、血漿以外の臓器、組織への分布が示唆された (表 2)。しかし、屠殺時 (48 時間後) のラット体内の放射能の残留量は投与量に対して、胃・腸管を除く動物体合計で低投与量群では約 $1.4\sim 2.8\%$ とわずかであった (表 5)。しかし、高投与量群/雄においては屠殺時に約 8.1% 体内に残留していたが、これは放射能の排泄が遅いためと考えられ、尿及び糞中への排泄 (図 3)、及び血漿中からの総放射能の消失挙動 (図 2) から、体内に残留する放射能も経時的に更に体外へ排泄されるものと推察された。

屠殺時における血漿中の標準化濃度は 0.029 (雄、低投与量)、 0.019 (雌、低投与量) 及び 0.105 (雄、高投与量、表 4) であり、血漿中よりも高い標準化濃度が脾臓、肝臓、腎臓、副腎、肺、甲状腺及び子宮 (低投与量群、雌) で認められ、最も高い濃度が肝臓 ($0.075\sim 0.374$ 、表 4) 及び腎臓 ($0.048\sim 0.202$ 、表 4) で認められた。これはやはり血液/血漿からの末梢臓器・組織への分布が速やかであることを反映している。

屠殺時における親換算濃度は、低投与量群で $0.001\sim 0.1\mu\text{g/g}$ 、また高投与量群で $5\sim 36\mu\text{g/g}$ であった。

肝臓・腎臓中の濃度がやや高かったのは、肝臓が有効成分、代謝物の主代謝経路であること、腎臓が主排泄経路によることと合致していた。

屠殺時における臓器・組織中の残留濃度は投与量によって顕著な差はなかった。

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

表 8. チアゾリジン-¹⁴C-[I]を経口投与した後の屠殺時の臓器・組織中における放射能の投与量標準化濃度

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の投与量標準化濃度		
	1 mg/kg (経口)		100mg/kg (経口)
	雄(2) ¹⁾	雌(3)	雄(4)
赤血球	0.025	0.016	0.079
血漿	0.029	0.019	0.105
肝臓	0.135	0.075	0.374
腎臓	0.078	0.048	0.202
脾臓	0.040	0.022	0.107
副腎	0.075	0.042	0.306
甲状腺	0.062	0.057	0.187
精巣	0.018	—	0.070
子宮	— ²⁾	0.020	—
卵巣	—	0.026	—
筋肉	0.016	0.007	0.058
骨	0.029	0.013	0.068
心臓	0.022	0.013	0.084
肺	0.035	0.024	0.114
脳	0.009	0.005	0.052
副腎脂肪	0.001	0.005	0.065
皮膚	0.036	0.019	0.091
カーカス	0.021	0.009	0.068
胃・腸管	0.035	0.020	0.365

1) 試験群

2) 該当臓器なし

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

表 9. チアゾリジン-¹⁴C-[I]を経口投与した後の臓器・組織中における放射能の親換算濃度 C

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の親換算濃度 C (μg/g)		
	1 mg/kg(経口)		100mg/kg(経口)
	雄(2) ¹⁾	雌(3)	雄(4)
赤血球	0.021	0.015	7.612
血漿	0.023	0.018	10.086
肝臓	0.109	0.072	36.080
腎臓	0.063	0.046	19.484
脾臓	0.032	0.021	10.329
副腎	0.061	0.040	29.561
甲状腺	0.050	0.055	17.975
精巣	0.015	—	6.698
子宮	— ²⁾	0.019	—
卵巣	—	— ³⁾	—
筋肉	0.013	0.006	5.533
骨	0.024	0.012	6.602
心臓	0.018	0.012	8.020
肺	0.029	0.023	10.996
脳	0.008	0.005	5.000
副腎脂肪	0.001	0.005	6.306
皮膚	0.029	0.014	8.745
カーカス	0.017	0.009	6.540
胃・腸管	0.028	0.019	34.674

1) 試験群

2) 該当臓器なし

3) 採取せず

注) [I]の親換算濃度 C (μg/g) = P (投与量標準化濃度) × D (投与量 μg/mg)

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

表 10. チアゾリジン-¹⁴C-[I]を経口投与した後の臓器・組織中
における放射能の残留量

臓器・組織	投与後 48 時間の臓器・組織中の残留量 [投与量に対する割合(%)]		
	1 mg/kg (経口)		100mg/kg (経口)
	雄 (2) ¹⁾	雌 (3)	雄 (4)
赤血球	0.040	0.026	0.143
血漿	0.031	0.018	0.098
肝臓	0.690	0.299	1.934
腎臓	0.060	0.035	0.148
脾臓	0.008	0.005	0.024
副腎	0.001	0.001	0.006
甲状腺	3.14E-4	3.48E-4	0.001
精巣	0.024	—	0.094
子宮	— ²⁾	0.006	—
卵巣	—	— ³⁾	—
筋肉	0.008	0.004	0.036
骨	0.009	0.004	0.022
心臓	0.008	0.004	0.029
肺	0.022	0.017	0.079
脳	0.007	0.004	0.041
副腎脂肪	2.55E-4	0.002	0.008
皮膚	0.806	0.300	1.951
カーカス	1.053	0.532	3.508
胃・腸管	0.404	0.213	4.246

1) 試験群

2) 該当臓器なし

3) 採取せず

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

5. 吸収、排泄に関する性、投与量による差

1) 性差

低投与量において、総放射能の排泄挙動には性差は認められなかった。

屠殺時の臓器・組織中放射能において低投与量群には性差は認められなかった。

2) 投与量

雄では高投与量群が低投与量群に比較し尿中排泄率が低かったが、これは高投与量群で吸収率が低くなったためと考えられた。

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

6. 代謝

[I] の投与後、大部分の [I] が代謝され、尿では 16 種類の代謝物が、糞では 4 種類の代謝物が検出された。[I] の構造を保持している代謝物の総量は低投与量雄：42.9%、雌：32.8%、高投与量雄：49.8%であり、一方、ピリジニルメチル基が脱離したチアゾリジン由来の代謝物の総量は低投与量雄：15.3%、雌 31.5%、高投与量雄：5.5%であった。

1) 尿

尿は 0 48 時間を投与群、性毎に混合し、RP-18 カラムにより精製し、HPLC、LC/MS/MS、NMR 等により分析、構造決定した。

3 種類の量の少ない代謝物が低投与量群で検出されなかったことを除き、その他の全ての代謝物が全投与群で検出され、代謝物の分布様式に顕著な相違はなかった。

尿中には [I] が 2~4% 残存していた。

尿中の主代謝物は全投与量群の評価から分子骨格のピリジニルメチル部分の脱離とさらに 5 位の C-原子の酸化や硫黄原子のメチル化によって生成する代謝物 [M19] (低投与量群：約 9~10%、高投与量群 4%) 及び [M18] (低投与量群：約 4~6%、高投与量群 0.84%)、また、[I] のピリジニルメチル部分の脱離後に生成する代謝物にペントース及び硫酸が抱合して生じた代謝物 [M22] (低投与量群：約 6~22%、高投与量群：約 2%) であった。

その他に尿中では 14 種類の代謝物が投与量の約 0.4~7% 検出された。それらは [I] の分子骨格を有する代謝物では、チアゾリジン環の 4 位の水酸化体 [M1] (3~4%)、さらに酸化を受けたケトン体 [M27] の生成、その解裂体 [M20] (1~3%)、また、[M1] のグルクロン酸抱合 (1~7%) を生じたものが認められた。また、[I] の骨格のチアゾリジン環が開裂した後、側鎖が酸化を受けたものと、ピリジニルメチル基が脱離し、チアゾリジン環部分が水酸化・酸化、二重結合、環開裂を受けた代謝物が生じた。一方、のチアゾリジン環が開裂した後、オキサゾリジンに再開環した代謝物 [M16] (1~6%) も検出された。

尿より同定された代謝物の割合は投与量の 44~60% の範囲であった。

2) 糞

0-48 時間の糞を混合して n-ヘキサン、エタノール、メタノール、水の連続 15 段階で抽出し、その後精製、HPLC 分析に付し、コクロマトグラフィーにより代謝物の構造を同定した。

糞抽出液において [I] は 2.2~3.1% が検出された他、5 種の代謝物

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

[M1]、[M19]、[M10]、[M11]、[M16]が同定された。同定された代謝物の全てがそれぞれの尿中にも存在した。

尿中の主代謝物[M19]は糞中では0.4~1%が認められた。糞中の主代謝物は[I]のチアゾリジン環の4位水酸化体[M1]で1.6~6.7%検出された他、[I]のニトリル部分のヒドロキシアミド体[M11]やチアゾリジン環の再閉環オキサゾリジン環体[M16]が若干量ずつ検出された。糞中で検出された代謝物は[I]の骨格を有している代謝物が主であり、糞中で同定された代謝物の割合は投与量の5~11%であった。

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

表 1 1. ラットにおけるチアゾリジン-¹⁴C-[I]の経口投与後の糞・尿における代謝物

化合物	投与放射能に対する割合 (%)								
	経口 1 mg/kg			経口 1mg/kg			経口 100mg/kg		
	雄(2)			雌(3)			雄(4)		
	糞	尿	合計	糞	尿	合計	糞	尿	合計
チアクロプリド [I]	2.21	2.32	4.53	2.22	3.28	5.50	3.10	3.71	6.81
4-OH体 [M1]	3.22	3.02	6.23	1.63	3.76	5.39	6.72	3.58	10.30
M8	— ¹⁾	1.50	1.50	—	1.85	1.85	—	1.81	1.81
M10	—	1.86	1.86	—	2.38	2.38	—	0.67	0.65
M10/M11 (糞)	0.35	—	0.35	0.20	—	0.20	0.47	—	0.47
M11	—	1.84	1.84	—	0.40	0.40	—	1.91	1.91
M12/M13	—	2.03	2.03	—	1.19	1.19	—	6.52	6.52
M16	0.51	2.67	3.18	0.16	1.12	1.28	0.61	5.60	6.21
M18	—	6.14	6.14	—	3.91	3.91	—	0.84	0.84
M19	1.02	10.42	11.44	0.86	9.14	9.99	0.42	4.05	4.47
M20	—	3.34	3.34	—	2.85	2.85	—	0.96	0.96
M21	—	0.61	0.61	—	1.29	1.29	—	0.62	0.62
M22	—	5.92	5.92	—	22.16	22.16	—	2.33	2.33
M23	—	5.43	5.43	—	5.23	5.23	—	1.60	1.60
M24	—	—	—	—	—	—	—	0.88	0.88
M25	—	—	—	—	—	—	—	0.62	0.62
M26	—	2.83	2.83	—	—	0	—	5.73	5.73
M27	—	0.99	0.99	—	0.74	0.74	—	2.53	2.53

1) 検出されず

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

7. 排泄物中代謝物のまとめ

尿及び糞を合わせた代謝物の量的分布を表 11 に示し、代謝経路を以下にまとめる。

①ラットにおけるチアゾリジン-4, 5- ^{14}C -[I] の1つの代謝過程はチアゾリジン環の4位が水酸化(代謝物 [M1]) されることにより始まり、続いてグルクロン酸と抱合体を生成した [M12/M13]。水酸化された代謝物はさらにケトンへと酸化され [M27]、このケトンはピリジルメチル部分が脱離して代謝物 [M20] を生成した。

② [I] のシアナミド部分が水酸化され、代謝物 [M11] を生成した。

③チアゾリジン環は以下の2ヶ所の部位で開裂した：

③-1. 5位の炭素原子が水酸化された代謝物 [M26] とそのウレア体 [M25] を生成する。また、ピリジルメチル部分の脱離とさらに5位のC-原子の酸化や硫黄原子のメチル化によって代謝物 [M19] 及び [M18] が生成した。また、試験の過程で単離された代謝物 [M26] から人工的に代謝物 [M16] が生成した可能性が示された。

③-2. チアゾリジン環の硫黄原子の酸化及びメチル化は代謝物 [M8] 及びそのウレア体 [M10] を生成し、さらに尿素体は代謝物 [M24] 及び [M23] へと酸化された。

④ [I] のピリジルメチル部分の脱離により代謝物 [M21] 及びそのウレア体 [M23] を生成した。代謝物 [M23] は更にペントース及び硫黄酸と抱合され代謝物を生成した。

総同定率は投与放射エネルギーに対し約 55~64%以上であった。

8. 結論

①経口投与後胃消化管からの総放射能の迅速な吸収

吸収は投与後、間もなく始まり、極めて速やかであった。チアゾリジン-4, 5- ^{14}C -[I] の経口投与後、低投与量群において平均で投与量の約 75% が吸収されたことが腎排泄から結論づけられた。高投与量群においても、放射能の吸収は投与後間もなく始まった。

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

②血漿から末梢のコンパートメントへの総放射能の迅速かつ均等な分布

血漿中濃度曲線の解析結果から、吸収された放射能は速やかにラットの血漿から末梢の臓器及び組織へと分布した。

③低投与量群における総放射能の迅速かつ完全な排泄、高投与量試験における遅延かつ不完全な排泄

低投与量群では投与放射能の91.3%~93.4%が投与後48時間以内に尿及び糞から排泄され、腎排泄が優先的であった。高投与量群では、投与量の73.5%のみが尿及び糞経路で排泄されたにすぎず、投与量の約8%が屠殺時のラットの臓器・組織から検出された（胃腸管を除く）。高投与量試験においては腎排泄による積算放射能がプラトーに達せず、この事から放射能は更に排泄されていくであろうと推察された。

④屠殺時のラットの臓器及び組織における総放射能の残留

低投与量群において、屠殺時のラットの臓器・組織における総放射能の残留量は投与放射能の1.6%（雌）及び3.2%（雄）であった。血漿における投与量標準化濃度は0.029（雄、低投与量）、0.019（雌、低投与量）及び0.105（雄、高投与量）であった。投与量標準化濃度は脾臓、肝臓、副腎、肺、甲状腺及び子宮（低投与量群、雌）において血漿より高いことが見出された。また、主代謝器官の肝臓、主排泄器官の腎で最も濃度が高かった。

⑤被験物質の徹底的な代謝

経口投与後、チアゾリジン-4, 5-¹⁴C-[I]はラットにおいて徹底的に代謝され、全部で17種の代謝物が高投与量群（雄）の尿から単離、同定され、それらの量は低投与量群の尿を用いても測定された。糞中では、親化合物の他に5つの代謝物が同定され、糞で同定された代謝物は全て尿試料中에서도見出された。

⑥代謝経路

- ・チアゾリジン環の4位が水酸化され、続いてグルクロン酸との抱合化。更に、ケトンへの酸化、ピリジルメチル部分の脱離。
- ・[I]のシアナミド部分の水酸化。
- ・チアゾリジン環の5位の炭素原子の水酸化による開裂、続いてピリジルメチル部分の脱離、更なる酸化によるカルボン酸の生成、そして硫黄のメチル化。
- ・オキサゾール環（代謝物[M16]）は開環後に再閉環して生じ、この反応は代謝物[M26]の操作中に人工的に生じたことが示唆された。
- ・チアゾリジン環の硫黄の酸化とメチル化及びこの代謝物の更なる酸化。
- ・[I]のピリジルメチル部分の脱離及びそのウレア体の生成、ペントース及び硫酸とチアゾリル部分との抱合体の生成。

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

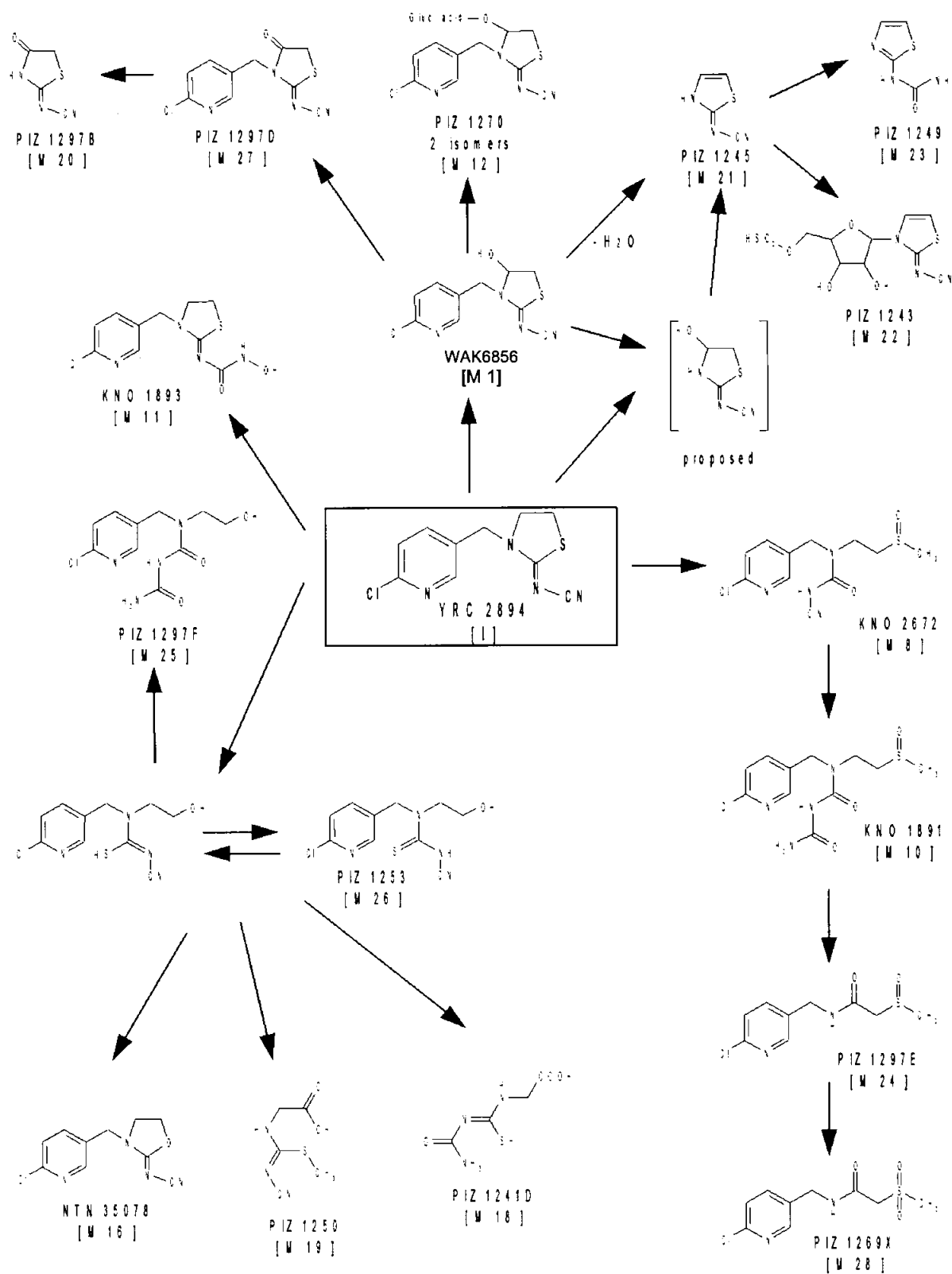


図4. チアゾリジン標識チアクロプリドの動物体中の推定代謝経路

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

2. 植物における代謝試験

(1) チアクロプリドの稲における代謝

(代謝資料 No. 4)

試験機関：

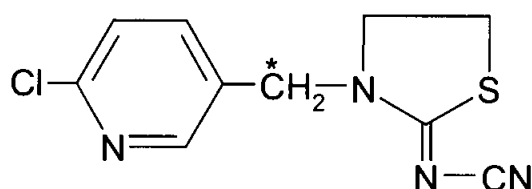
[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年2月25日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシアナミド

化学構造：



[*：¹⁴C標識部位]

標識：ピリジニル-¹⁴C-メチル-チアクロプリド[I]
(比放射能：4.3MBq/mg、放射化学的純度>99%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 作物

用いた稲の品種は日本晴で、沖積水田土壤中湛水状態で生育させた。栽培は温室内で行い、適宜な灌水及び最小限の病害虫防除と施肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

沖積水田土壌を入れた6つの容器に、それぞれ4つのガラス製の筒を置き、その中に稲移植用の穴を作った。処理溶液(原体を1mLのアセトニトリルに溶解したもの)を添加し、溶媒が完全に揮発した後に各穴に1本ずつ3-4葉期の稲を移植した。なお、5つの容器に対して、通常の2倍過剰量の薬剤(200g a. i./ha、1mg a. i./移植穴)を、1つの容器には10倍過剰量の薬剤(1kg a. i./ha、5mg a. i./移植穴)を処理した。

2倍過剰量処理区の1つの容器より処理62日後に青刈りとして採取し、また、残りの4つの容器より142日後に稲体を収穫した。10倍過剰量処理区の容器の稲は、処理142日後に収穫した。各試験の詳細を表1に示した。

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

表 1. 試験の詳細

試験区	処理量 (kg a. i. /ha)	採取部位	採取時 (処理後日数)
試験 1	0.2	青刈り	62 日 (出穂前青刈り)
試験 2	0.2	稲わら、玄米、籾殻、枝梗	142 日 (収穫時)
試験 3	1	稲わら、玄米、籾殻、枝梗	142 日 (収穫時)

3. 試料の抽出

(1) 青刈り

試料をアセトニトリル、次いでアセトニトリル/水 (1 : 1、2 回) を用いて磨碎抽出した。抽出液に水を加えた後、アセトニトリルがなくなるまで濃縮し、この溶液をジクロロメタン (3 回)、次いで酢酸エチル (3 回) で分配した。それぞれの有機層を少量になるまで濃縮した。

(2) 玄米及び稲わら

玄米試料を水に 1 晩浸せきした後、磨碎抽出した。残渣は更にメタノール/水 (1 : 1、1 回)、次いでメタノール (2 回) で磨碎抽出し、抽出液を合わせて濃縮した。次いで、この溶液を *n*-ヘキサン (2 回) で分配、濃縮し、更にジクロロメタン (2 回)、次いで酢酸エチル (2 回) で分配した。残渣は更にアセトニトリル/水 (1 : 1) を用いてマイクロウェーブ装置 (CEM) で 30 分間、120°C で抽出した。抽出液はろ過し、残渣は更にアセトニトリル/水 (1 : 1、60mL) を用いてマイクロウェーブ装置で 30 分間、150°C で抽出した。更にろ過後の残渣は風乾し、KOH 水溶液 (2 N) 中で 2.5 時間、室温で攪拌し (継続的に磁氣的に攪拌した)、次いでろ過した。抽出液は濃塩酸で中和、遠心し (2000rpm で 30 分)、上清は静かに別容器に移した。残渣に水 (100mL) を加えてかき混ぜ遠心し (2000rpm で 30 分)、上清は再度静かに別容器に移した。2 つの上清は合わせて濃縮した。

4. 分析

放射エネルギーは、抽出液は直接、また、抽出残渣試料は燃焼した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。抽出液は濃縮後、TLC、HPLC、GC/MS、¹H-NMR で分析した。

また、代表的な画分の試料 (マイクロウェーブ抽出液と KOH 抽出液) に対して 32% 水酸化ナトリウム水溶液と 5% 過マンガン酸カリウム溶液を用いて 6-CNA への酸化を行い、放射エネルギーを測定した後、構造と濃度をラジオ-TLC コクロマトグラフィーで確認した。

【結果】

1. 稲における放射能の総残留量及び分布 (表2)

稲の各画分における全放射能残留量 (TRR) は、ジクロロメタン、酢酸エチル及び水相中の放射エネルギー、もし実施してあればマイクロウェーブ及びKOH抽出液の放射エネルギー、更に抽出後の均質化した残渣の放射エネルギーを合計することで決定した。

青刈りにおけるTRRは0.28 mg/kgであり、その33.0% (0.09 mg/kg) がジクロロメタンに、7.8% (0.08 mg/kg) が酢酸エチルに分配された。TRRの31.6% (0.09 mg/kg) が水相に残り、27.6% (0.08 mg/kg) は未抽出だった。

稲わらの場合、TRRは1.00 mg/kgだった。稲わら抽出液は放射エネルギーの損失をおこさずに脂肪性の植物成分を除くために、最初にn-ヘキサンで分配した。0.01% (<0.01 mg/kg) がn-ヘキサン相から検出され、これは廃棄した。抽出液をジクロロメタンに続いて酢酸エチルで分配し、この2つの相を合わせ、その合計はTRRの30.1% (0.30 mg/kg) だった。分配後、TRRの25.4% (0.25 mg/kg) が水相に残った。更に放射エネルギーをマイクロウェーブ法で2回抽出し、マイクロウェーブ抽出1でTRRの14.3% (0.14 mg/kg) そしてマイクロウェーブ抽出2で7.4% (0.07 mg/kg) が抽出された。KOHによる最後の抽出ではTRRの8.5% (0.09 mg/kg) が更に可溶化した。

玄米のTRRは非常に低く0.03 mg/kgにすぎなかった。TRRの少量がn-ヘキサン (4.3%、<0.01 mg/kg) に分配されたが、この相はこれ以上調べなかった。TRRは酢酸エチル (2.7%、<0.01 mg/kg) よりジクロロメタン (23.3%、0.01 mg/kg) に分配され、TRRの28.8% (0.01 mg/kg) が水相に残った。更にTRRの15.2% (<0.01 mg/kg) がマイクロウェーブで抽出された。玄米における残留は非常に低く、それ以上の定量や同定は不可能だったので、更に過剰量処理区の玄米も調べた。この場合、TRRは0.20 mg/kgだった。分配の結果は通常量処理区の玄米の結果と同等だった。TRRの少量がn-ヘキサン (5.2%、0.01 mg/kg) に、大部分が酢酸エチル (4.2%、0.01 mg/kg) よりジクロロメタン (34.6%、0.07 mg/kg) に分配され、そしてTRRの26.3% (0.05 mg/kg) が水相に残った。マイクロウェーブ抽出液1及び2はTRRのそれぞれ9.6% (0.02 mg/kg) 及び6.2% (0.01 mg/kg) だった。

KOHによる最後の抽出ではTRRの9.2% (0.02 mg/kg) が可溶化した。

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

表 2. 放射能の残留量及び分布

画分	回収放射能に対する割合							
	青刈り		稲わら		玄米		玄米 (過剰量処理区)	
	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg
n-ヘキサン	—	—	0.1	<0.01	4.3	<0.01	5.2	0.01
ジクロロメタン	33.0	0.09	25.0	0.25	23.3	0.01	34.6	0.07
酢酸エチル	7.8	0.02	5.1	0.05	2.7	<0.01	4.2	0.01
水	31.6	0.09	25.4	0.25	28.8	0.01	26.3	0.05
マイクロウエーブ 1	—	—	14.3	0.14	15.2	<0.01	9.6	0.02
マイクロウエーブ 2	—	—	7.4	0.07	—	—	6.2	0.01
KOH抽出	—	—	8.5	0.09	—	—	9.2	0.02
固型残留物	27.6	0.08	14.2	0.14	25.7	0.01	4.7	0.01
合計	100.0	0.28	100.0	1.00	100.0	0.03	100.0	0.20

2. 稲における放射能の分布と代謝

①青刈り (表 3)

青刈りのジクロロメタン相/酢酸エチル相の主要な代謝物/構成物として親化合物[I] (6.4%、0.02 mg/kg)、アミド体[M2] (19.8%、0.05 mg/kg) 及び4-OHアミド体[M37] (8.4%、0.02 mg/kg) が同定された。他の代謝物は全て0.01 mg/kg 以下だった。

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

表 3. 青刈りにおける代謝分解物の割合

代謝分解物	回収放射エネルギーに対する割合	
	%	mg/kg
<u>ジクロロメタン/酢酸エチル相</u>	<u>40.8</u>	<u>0.11</u>
チアコプロリド [I]	6.4	0.02
アミド体 [M2]	19.8	0.06
4-OHアミド体 [M37]	8.4	0.02
未同定代謝物 1 (F1)*	1.7	<0.01
未同定代謝物 2 (F2)*	4.1	0.01
未同定代謝物 3 (F6)*	0.4	<0.01
<u>水相</u>	<u>31.6</u>	<u>0.09</u>
未同定代謝物 4 (F7)*	4.3	0.01
未同定代謝物 5 (F8)*	4.8	0.01
未同定代謝物 6 (F9)*	3.1	0.01
原点	19.4	0.06
<u>固型残留物</u>	<u>27.6</u>	<u>0.08</u>
合計	100.0	0.28

*) 報告書中の代謝物コード

② 稲わら (表 4)

稲わらのジクロロメタン相/酢酸エチル相の主要な代謝物/構成物として親化合物 [I] (4.9%、0.05 mg/kg)、アミド体 [M2] (9.8%、0.10 mg/kg) 及び 4-OHアミド体 [M37] (4.0%、0.04 mg/kg) が同定された。この相で同定されたもう一つの代謝物は 6-クロロピコリルアルコール [M36] (3.6%、0.03 mg/kg) だった。稲わらの水相の個々の代謝物は放射能濃度が低いので、スルホン酸体 [M30] (9.8%、0.10 mg/kg) のみが同定された。

マイクロウェーブ抽出液 1 及び 2 の個々の代謝物濃度は水相より低く、イミン体 (それぞれ、2.7%、0.03 mg/kg 及び 2.1%、0.02 mg/kg) のみが同定された。

しかし、全抽出液の過マンガン酸カリウム酸化により、両相の放射能の大部分 (それぞれ 85.7% 及び 81.5%) は 6-CNA 骨格を有すると特徴づけられた。

KOH によって可溶化した放射能のクロマトグラフィーは出来なかったが、全抽出液を過マンガン酸カリウムで酸化した結果、抽出液の放射能の 77.2% は 6-CNA 骨格を有すると特徴づけられた。

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

表 4. 稲わらにおける代謝分解物の割合

代謝分解物	回収放射エネルギーに対する割合	
	%	mg/kg
<u>n-ヘキサン相</u>	<u>0.1</u>	<u><0.01</u>
<u>ジクロロメタン/酢酸エチル相</u>	<u>30.1</u>	<u>0.30</u>
チアコプロリド [I]	4.9	0.05
アミド体 [M2]	9.8	0.10
4-OHアミド体 [M37]	4.0	0.04
6-クロピコリルアルコール (6-CPA) [M36]	3.6	0.03
未同定代謝物 1 (S1)*	1.1	0.01
未同定代謝物 2 (S3)*	4.1	0.04
原点	2.6	0.03
<u>水相</u>	<u>25.4</u>	<u>0.25</u>
スルホン酸体 [M30]	9.8	0.10
未同定代謝物 3 (S9)*	2.8	0.03
未同定代謝物 4 (S10)*	3.0	0.03
原点	9.8	0.09
<u>マイクロウエーブ 1</u>	<u>14.3</u>	<u>0.14</u>
イミン体 [M29]	2.7	0.03
未同定代謝物 5 (S12)*	3.7	0.04
未同定代謝物 6 (S13)*	1.4	0.01
未同定代謝物 7 (S14)*	1.1	0.01
未同定代謝物 8 (S15)*	1.0	0.01
未同定代謝物 9 (S16)*	0.6	<0.01
原点	3.8	0.04
<u>マイクロウエーブ 2</u>	<u>7.4</u>	<u>0.07</u>
イミン体 [M29]	2.1	0.02
未同定代謝物 10 (S13)*	1.1	0.01
未同定代謝物 11 (S14)*	0.5	<0.01
未同定代謝物 12 (S15)*	0.3	<0.01
未同定代謝物 13 (S16)*	0.5	<0.01
未同定代謝物 14 (S19)*	1.8	0.02
原点	1.1	0.01
<u>KOH抽出</u>	<u>8.5</u>	<u>0.09</u>
<u>固型残留物</u>	<u>14.2</u>	<u>0.14</u>
合計	100.0	1.00

*) 報告書中の代謝物コード

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

③玄米（表5、6）

通常量処理区の玄米のTRRは非常に低く 0.03 mg/kg にすぎなかった。TRRの決定以外の試験はこの試料では不可能だった。そこで、過剰量処理区を代謝物の定量と同定のために用いた。10倍過剰量区の試料においても残留は低く、0.20 mg/kgのTRRは多くの少量代謝物から成り、最も多かったのはアミド体[M2]の 0.03 mg/kg であり、ほとんど 0.01 mg/kg 以下だった。

過剰量処理区の玄米のジクロロメタン相における主要代謝物／構成物は、親化合物 (3.2%、0.015 mg/kg) 及びアミド体[M2] (12.8%、0.03 mg/kg) と同定された。水相における個々の代謝物全ては 0.01 mg/kg 以下であり、この結果を実際の処理量に外挿すると個々の代謝物の残留量は 0.001 mg/kg 以下となる。水相の個々の代謝物の量が少ないため同定は出来なかった。

マイクロウェーブ抽出液 1 及び 2 の放射能濃度は非常に低かった（それぞれ、0.02 mg/kg 及び 0.01 mg/kg）。全抽出液の過マンガン酸カリウム酸化の結果、両相の放射能は（それぞれ、60.4%及び64.8%）6-CNA骨格を有すると特徴づけされた。

KOHによって可溶化した放射能のクロマトグラフィーは出来なかったが、全抽出液の過マンガン酸カリウム酸化の結果、放射能の 48.7%は6-CNA骨格を有すると特徴づけられた。

玄米の放射能の 18.6% (0.004 mg/kg) が実質的にはぬかに存在し、大部分 (81.4%、0.019 mg/kg) は白米に含まれていた（表6）。白米の重量に比較してぬかの重量が非常に小さいことが理由と考えられる。

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

表 5. 玄米（過剰量処理区）における代謝分解物の割合

代謝分解物	回収放射エネルギーに対する割合	
	%	mg/kg
<u>n-ヘキサン相</u>	<u>5.2</u>	<u>0.01</u>
<u>ジクロロメタン相</u>	<u>34.6</u>	<u>0.07</u>
チアコプリド [I]	3.2	0.01
アミド体 [M2]	12.8	0.03
未同定代謝物 1 (G1)*	11.3	0.02
未同定代謝物 2 (G2)*	3.0	<0.01
未同定代謝物 3 (G3)*	3.5	0.01
未同定代謝物 4 (G6)*	0.8	<0.01
<u>酢酸エチル相</u>	<u>4.2</u>	<u>0.01</u>
<u>水相</u>	<u>26.3</u>	<u>0.05</u>
未同定代謝物 5 (G7)*	2.1	<0.01
未同定代謝物 6 (G8)*	2.6	<0.01
未同定代謝物 7 (G9)*	4.3	0.01
未同定代謝物 8 (G10)*	5.7	0.01
未同定代謝物 9 (G11)*	4.6	0.01
原点	7.0	0.01
<u>マイクロウェーブ 1</u>	<u>9.6</u>	<u>0.02</u>
<u>マイクロウェーブ 2</u>	<u>6.2</u>	<u>0.01</u>
<u>KOH抽出</u>	<u>9.2</u>	<u>0.02</u>
<u>固型残留物</u>	<u>4.7</u>	<u>0.01</u>
合計	100.0	0.20

*) 報告書中の代謝物コード

表 6. 玄米における放射能の分布

試料	玄米の回収放射エネルギーに対する割合	
	%	mg/kg
糠	18.6	0.004
白米	81.4	0.019
合計	100.0	0.023

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

4. 結論

青刈り、稲わら及び玄米における全放射能残留量(TRRs)はそれぞれ0.28 mg/kg、1.00 mg/kg 及び0.03 mg/kg だった。過剰量処理区の玄米におけるTRRは0.20 mg/kg だった。青刈りのTRRのうち72.4%が通常の手段で抽出された。稲わらではTRRの55.6%が通常の手段で、更に21.7% (0.21 mg/kg) がマイクロウェーブで抽出され、最後にTRRの8.5%がKOH抽出(セルロース画分)で可溶化した。玄米ではTRRの59.1%が通常の手段で可溶化し、更に15.2%がマイクロウェーブ抽出で遊離した。

青刈り、稲わら及び玄米の全ての画分において共通した成分は2成分のみだった。これらは未変化の親化合物[I] (それぞれ6.4%、4.9%及び3.2%) と親化合物の加水分解物であるアミド体[M2] (それぞれ19.8%、9.8%及び12.8%) だった(玄米の値は10倍過剰量処理区から採取したもの)。青刈り及び稲わらでは、4-OHアミド体[M37]も検出された(それぞれ8.4%及び4.0%)。稲わらにのみ検出された代謝物は6-CPA[M36] (3.6%) スルホン酸体[M30] (9.8%) 及びイミン体[M29] (4.8%) だった。

稲におけるチアクロプリドの推定代謝経路(図1)を次頁に示す。

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

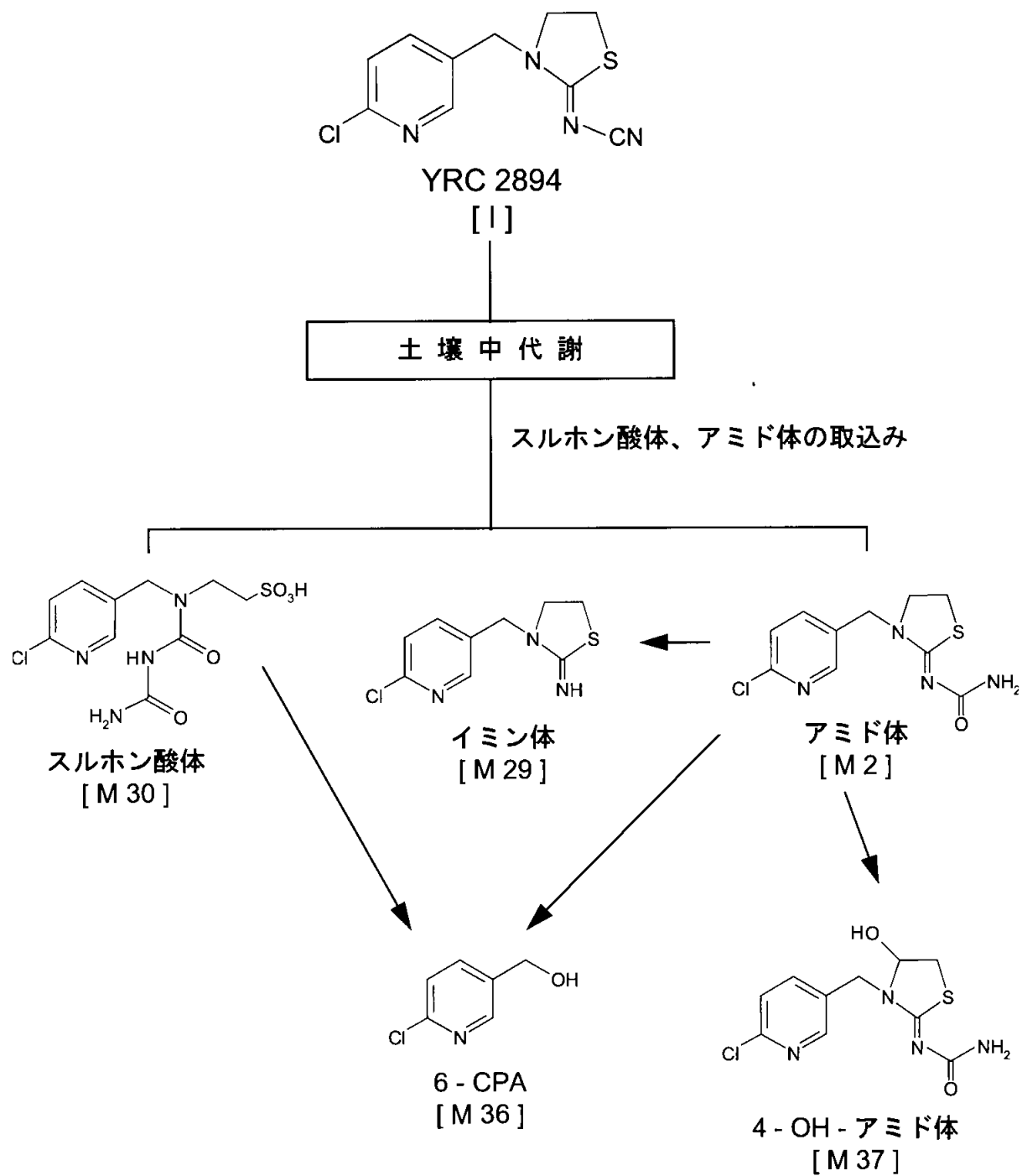


図1. チアクロプリドの稲における推定代謝経路

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

(2) チアクロプリドのトマトにおける移行性

(代謝資料 No. 5)

試験機関：

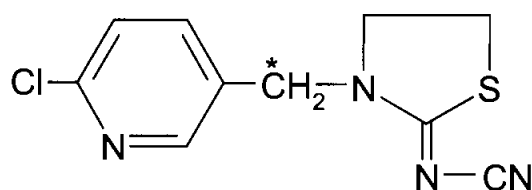
[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年8月19日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシアナミド

化学構造：



[*：¹⁴C標識部位]

標識：ピリジニル-¹⁴C-メチル-チアクロプリド[I]
(比放射能：4.0MBq/mg、放射化学的純度>99%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 作物

用いたトマトの品種は Bonset F1 でポット中で生育させた。栽培は温室内で行い、適宜な灌水、及び最小限の病害虫防除と加肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

ピリジニル-¹⁴C-メチル-チアクロプリド[I]のフロアブル製剤（含有量 50.6%）を蒸留水に溶解して保存溶液とした。この溶液をフィンガーチップノズルを装備したスプレー器具を用いて、14日間隔で2回、トマトを植えた4個のポットの土壌に均一に全面散布した。

この土壌処理は、通常の散布溶液量（約 188g a. i. /ha）のうち、一部の量が散布中または散布直後に土壌に到達し、根から取り込まれて移行することを仮定して行った。1本のトマト当たりの処理割合は、散布全量の約半量が土壌に到達する設定で、1回目散布が 0.55mg a. i.、2回目散布が 0.58mg a. i. で、合計 1.13mg a. i. (89.7g a. i. /ha、

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

約 48%) を土壌に処理した。

各植物から 2 回目処理後の 3 日後及び 14 日後に収穫し、緑色及び赤みがかった果実、赤い果実を混合して 1 つの試料とした。

3. 試料の抽出

採取したトマトは小片に細切した後、ホモジナイザーを用いて均質化し、メタノールで 3 回連続的に抽出し、減圧ろ過で抽出液を得た。抽出後の繊維状残渣は室温で約 3 日間風乾した。

4. 分析

放射エネルギーは、抽出液は直接、また、抽出残渣試料は燃焼した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。抽出液は濃縮後、TLC、HPLC、GC/MS、¹H-NMR で分析した。

【結果】

¹⁴C-[I] をトマトの土壌表面に処理した後、3 日目及び 14 日目にトマト果実を採取して放射能の移行量を測定したところ、処理放射エネルギーに対して < 0.05% が検出された。また、TRR (総放射能残留量) 計算値はいずれも < 0.001 mg/kg であった (表 1)。そのため、親化合物及び/または代謝物の同定、定量のための分析は行わなかった。

これらの実験結果から、この条件下では土壌からトマト果実への有意な移行が起らないと結論づけられた。

表 1. 土壌処理した ¹⁴C-[I] のトマト果実への移行性

画分	植物 1、3 日後		植物 2、3 日後		植物 3、14 日後		植物 4、14 日後	
	処理量に対する割合 (%)	有効成分換算濃度 (mg/kg)	処理量に対する割合 (%)	有効成分換算濃度 (mg/kg)	処理量に対する割合 (%)	有効成分換算濃度 (mg/kg)	処理量に対する割合 (%)	有効成分換算濃度 (mg/kg)
抽出液	0.031	<0.001	0.012	<0.001	0.009	<0.001	0.041	<0.001
抽出残渣	0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.001	<0.001
合計	0.032	<0.001	0.013	<0.001	0.010	<0.001	0.042	<0.001

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

(3) チアクロプリドのトマトにおける代謝

(代謝資料 No. 6)

試験機関：

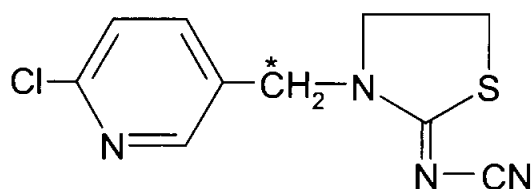
[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年8月15日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシアナミド

化学構造：



[*：¹⁴C標識部位]

標識：ピリジニル-¹⁴C-メチル-チアクロプリド[I]
(比放射能：4.14MBq/mg、放射化学的純度98.7%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 作物

用いたトマトの品種は Bonset F1 でポット中で生育させた。栽培は温室内で行い、適宜な灌水、及び、最小限の病害虫防除と施肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

ピリジニル-¹⁴C-メチル-チアクロプリド[I]のSC剤に水を加えた溶液を14日間隔で2回、フラットファンノズルを装着したメータージェットスプレーガンを用いて、トマト82個及びその周りの葉、茎に散布した。

処理量は圃場での推奨処理量(約188g ai/ha)の約2倍で、5本の樹の10本の枝に対してそれぞれ7.9mg a.i.ずつ、合計15.8mg a.i. (放射エネルギー65.2MBq)を散布した。

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

1 回目処理直後に、処理放射エネルギーの確認のためにトマト 2 個を採取した。2 回目処理（0 日後）直後に、放射エネルギーならびに代謝物の定量分布の分析用、さらに表面洗浄の有効性の測定用に 5 個収穫した。また、代謝試験用に 2 回目処理 3 日後に 29 個、14 日後に 38 個を採取した。残りの 8 個は残留分析法の有効性確認の予備として用いた。

3. 試料の抽出

1 回目処理後のトマト果実はジクロロメタンで表面洗浄した。処理後 0 日目のものは 2 個をメタノールで表面洗浄し、残り 3 個は洗浄せずに細切後混合器で均質化し、3 回メタノール抽出した。処理後 3 日目及び 14 日目のトマト果実は洗浄後、同様に抽出した。抽出液は濃縮後ジクロロメタンで分配した。

4. 分析

抽出物は有機層（ジクロロメタン層）と水層に分画し、有機層は原則としてそのまま分析に付し、一方、水層は C-18 カートリッジで精製し、また、抱合体はセルラーゼにより酵素分解し分析した。さらに代謝物の特性化のために、6-クロロピコリル部位を持つ化合物を過マンガン酸カリウムで 6-クロロニコチン酸に酸化し分析を行った。各成分は TLC、HPLC、GC/MS、¹H-NMR で分析し、代謝物の構造を同定した。放射エネルギーは、液体試料は直接、また、固体試料は燃焼した後、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

【結果】

1. トマトにおける放射能の総残留量及び分布（表 1）

トマト中の総放射エネルギーは表面洗浄液、均質化したトマトの抽出後のメタノール抽出液及び抽出残渣中の放射エネルギーから計算した。この値は有効成分換算した総放射性残留量（TRR）の計算に用い、0 日後（最終処理後日数）で 0.76mg/kg だった。TRR の大部分が表面洗浄液中に検出され（95.8%、0.72mg/kg）、抽出液中には 4.0%（0.03mg/kg）、残渣中の未抽出物は 0.2%（<0.01mg/kg）にすぎなかった。

3 日後及び 14 日後に収穫したトマトの TRR 値はそれぞれ 0.77、0.94mg/kg であった。また、TRR の大部分が表面洗浄により除かれ、その量は 3 日後で 87.8%

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

(0.68mg/kg)、14日後で84.3% (0.79mg/kg)であった。表面洗浄液中の放射能割合の減少に対応して、メタノール抽出液中のそれぞれの割合が0日から14日まで増加した。3日後で11.2% (0.09mg/kg)、14日後で14.1% (0.13mg/kg)が抽出され、時間の経過につれ放射能の吸収量のわずかな増加が示された。同様に残渣中の低放射能含有量が0日から3日後でわずかに増加し(1.0%、<0.01mg/kg)、14日後にさらに増加した(1.6%、0.02mg/kg)。

表1. トマト果実中の放射能の残留量及び分布

画分	回収放射能に対する割合					
	経過日数					
	0		3		14	
	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg
表面洗浄液	95.8	0.72	87.8	0.68	84.3	0.79
メタノール抽出液	4.0	0.03	11.2	0.09	14.1	0.13
固形残留物	0.2	<0.01	1.0	<0.01	1.6	0.02
合計	100.0	0.76	100.0	0.77	100.0	0.94

2. 表面洗浄液中で同定された成分 (表2)

表面洗浄液中には未変化の親化合物のみが存在し、HPLCクロマトグラフィー、NMR、MSスペクトルから同定され、その量はトマトより回収された放射エネルギーの84.3%、0.79mg/kgであった。

3. メタノール抽出液中の親化合物と代謝物

総放射能の84.3% (0.79mg/kg)がメタノールでの表面洗浄で除かれ、さらに14.1% (0.13mg/kg)が均質化後抽出され、1.6% (0.02mg/kg)は未抽出残渣中にあった。回収した放射エネルギー (すなわち表面洗浄液及び抽出液中の放射エネルギー) の94.4% (0.88mg/kg)を親化合物として同定し、さらに6種の代謝物を、<0.01~0.03mg/kgの範囲で少量検出した。主代謝物を6-クロロピコリルアルコール配糖複合体[M5] (2.8%、0.03mg/kg)として同定した。さらに3種の配糖体が検出され (含量0.6%、<0.01mg/kg)、そのうちの1種は6-クロロピコリルアルコール配糖体[M4] (0.3%、<0.01mg/kg)であった。他の2種については6-クロロピコリルアルコール配糖体[M4]として特性化した。他に2種の代謝物を4-ヒドロキシチアクロプリド[M1] (0.4%、<0.01mg/kg)と6-クロロニコチ

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

ン酸[M3] (0.2%、<0.01 mg/kg) として同定した。

表2. ^{14}C -[I] をトマトに散布した後の代謝 (14日後)

成分	回収放射能に対する割合 ¹⁾	
	%	mg/kg
<u>表面洗浄液</u>	(84.3)	(0.79)
チアクロプリド [I]	84.3	0.79
<u>メタノール抽出液</u>	(14.1)	(0.13)
<同定代謝物>	(13.8)	(0.13)
チアクロプリド [I]	10.1	0.09
4-OH体 [M1] (met. 1) ²⁾	0.4	<0.01
6-クロロニコチン酸 [M3] (met. 2)	0.2	<0.01
6-クロロニコチン-OH体グルコシド [M4] (met. 4)	0.3	<0.01
6-クロロニコチン-OH体グルコシド複合体 [M5] (met. 6)	2.8	0.03
<特性化合物>	(0.3)	(<0.01)
(met. 3)	0.1	<0.01
(met. 5)	0.2	<0.01
<u>固体残留物</u>	1.6	0.02
合計	100.0	0.94

1) トマト中で回収された放射能を 100%とした割合

2) 報告書中の代謝物コード

4. 親化合物、代謝物の同定率

表面洗浄液、メタノール抽出液中の放射能成分同定率はトマト中のTRRの98.1%であった。

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

5. 推定代謝経路 (図1)

[I] のトマトにおける代謝経路は2種類考えられ、1つはメチレン部分での断裂後、抱合化またはカルボン酸へ酸化される経路であり、もう1つはチアゾリジニリデン環の4位が水酸化される経路である。これら2種の経路の割合は小さく、放射能の大部分は未変化の親化合物としてトマト中に残留していた。

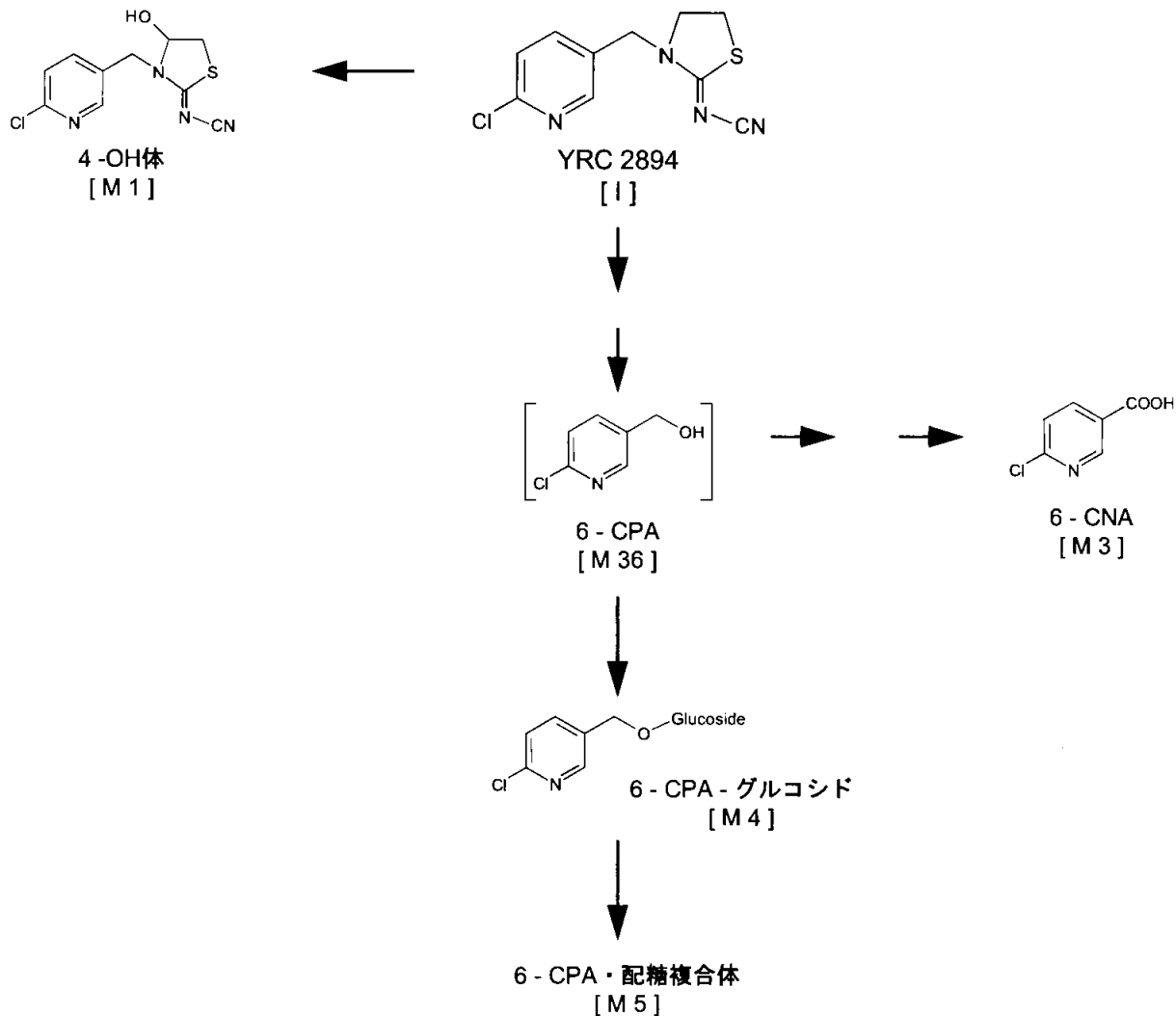


図1. チアクロプリドのトマト中の推定代謝経路

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

(4) チアクロプリドのりんごにおける代謝

(代謝資料 No. 7)

試験機関：

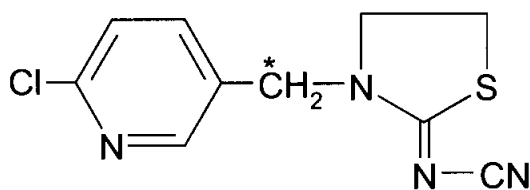
[GLP対応]

報告書作成年月日：1997年10月2日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシアナミド

化学構造：



[*：¹⁴C標識部位]

標識：ピリジニル-¹⁴C-メチル-チアクロプリド [I]
(比放射能：4.14MBq/mg、放射化学的純度98.7%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 作物

用いたりんごの品種は James Grive で土壌“Laacher Hof”を入れたポットの中で生育させた。栽培は温室内で行い、適宜な灌水と、最小限の病虫害防除と加肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

(1) 代謝試験

[ピリジニル-¹⁴C-メチル]チアクロプリド [I] の 600 フロアブル製剤 (50.6 % a. i.) を調製し、その 6.5mg に水 12.4mL を添加した。この溶液 200μL (600 フロアブル製剤として 104.8 μg 相当量 = 53.0 μg a. i., 0.22 MBq) をチップの先に羽毛を取り付けたエッペンドルフを用いて、2回 (処理間隔 14 日)、50 個のりんごに塗布した (但し、途中 1 個落下したため、2回目処理は 49 個)。従って、総処理量は 106.0 μg a. i., 0.44 MBq となる。

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

(2) 移行性試験

1個のりんごに対して、直上、直下 20cm 離れた葉各 2枚に、[ピリジニル-¹⁴C-メチル]チアクロプリド[I]の 600 フロアブル製剤水希釈液 200 μ L を、代謝試験と同一日に 2回塗布した。処理時には、汚染を防止するため、りんごをプラスチックで保護した。最終処理後 14 日に、標的とするりんごを採取した。総処理量は代謝試験と同様に 106.0 μ g a. i., 0.44 MBq となる。

3. 試料の抽出

(1) 代謝試験

14 日後に収穫したりんご果実の表面をジクロロメタンで洗浄した後、メタノール/水 (1回) 及びメタノール (2回) で磨砕抽出し、抽出液を濃縮した。固体の残留物は風乾した。

(2) 移行性試験

それぞれの試験での 4つの葉を合わせ、液体窒素中で磨砕した。採取後のりんごは、メタノール/水 (1回) 及びメタノール (1回) で抽出した。

4. 分析

メタノール/水抽出の含量区からメタノールを留去後、水溶性残渣を XAD-4 カラムで精製した後、TLC、HPLC、GC/MS、¹H-NMR で分析し、代謝物の構造を同定した。放射エネルギーは、液体試料は直接、また、固体試料は燃焼した後、液体シンチレーションカウンターで測定した。

【結果】

1. 放射能の移行性

2連で実施した移行性試験の結果、試験期間中に処理放射能の一部 (26.4 及び 23.2%) が失われていた。揮散したためと考えられる。回収された放射能のほぼ全量が処理葉から見出され (83.5 及び 76.7%)、処理葉の上下にあった果実からはごくわずかに (0.06 及び 0.04%) 検出されたにすぎなかった。

この結果より、葉に塗布した放射能はほとんど果実へは移行しないことが判明した。

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

2. 代謝試験

(1) 総残留量及び放射能分布 (表1)

りんご中の総放射エネルギーは表面洗浄液、均質化した果実の抽出液及び抽出残渣中の放射エネルギーを合計して求めた。この値を基に有効成分換算の総放射能残留量 (TRR) を計算したところ 0.74 mg/kg の値を得た。

TRRの大部分は表面洗浄液から回収された (84.4%、0.62 mg/kg)。12.9% (0.10 mg/kg) が抽出液から見出され、抽出残渣はわずか 2.7% (0.02 mg/kg) だった。残渣についてはこれ以上の分析は行わなかった。

表1. ^{14}C -[I] をりんご表面に塗布した後の総残留量及び放射能分布

分画	回収放射能に対する割合	
	%	mg/kg
表面洗浄液 (ジクロロメタン)	84.4	0.62
抽出液	12.9	0.10
固型残留物	2.7	0.02
合計	100.0	0.74

(2) 代謝物の分布 (表2)

表面洗浄液 (ジクロロメタン) 中には総放射エネルギー (TRR) の 84.4% (0.62mg/kg) が認められ、そのうち、未変化親化合物は 82.4% (0.61mg/kg) であった。その他に同定された代謝物は、4-OH体 [M1] (1.4%、0.01mg/kg) 及びアミド体 [M2] (0.6%、<0.01mg/kg) であった。

抽出液には、TRRの 12.9% (0.10mg/kg) が含まれており、4成分が検出された。そのうち親化合物が 8.4% (0.06mg/kg)、代謝物として 4-OH体 [M1] が 0.8% (0.01mg/kg)、アミド体 [M2] が 0.7% (0.01mg/kg) 認められた。最も極性の高かった成分 (3.0%、0.02mg/kg) については TLCにおいて原点に留まったため、それ以上の分析は行なわなかった。

固型残留物中の残留量は 2.7% (0.02mg/kg) であった。

りんご全体として、同定された化合物の量は TRR の 94.3%、(0.70mg/kg) であった。そのうち主成分は [I] で 90.8% (0.67mg/kg)、また、同定された主要な代謝物は、4-OH体 [M1] (2.2%、0.02mg/kg) と、アミド体 [M2] (1.3%、0.01mg/kg) だった (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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2. ^{14}C - [I] をりんご表面に塗布した後の各分画中の代謝物の分布¹⁾

分画/代謝物	%	mg/kg
表面洗浄液 (ジクロロメタン)	(84.4)	(0.62)
チアクロプリド [I]	82.4	0.61
4-OH体[M1]	1.4	0.01
アミド体[M2]	0.6	<0.01
抽出液	(12.9)	(0.10)
チアクロプリド [I]	8.4	0.06
4-OH体[M1]	0.8	0.01
アミド体[M2]	0.7	0.01
未同定極性化合物	3.0	0.02
固形残留物	2.7	0.02
合計	100	0.74

1) りんご中で回収された放射能を 100%とした割合

表 3. ^{14}C - [I] をりんごに塗布した後のりんご全体の代謝物の分布

代謝物	%	mg/kg
チアクロプリド [I]	90.8	0.67
4-OH体[M1]	2.2	0.02
アミド体[M2]	1.3	0.01
未同定極性化合物	3.0	0.02
固形残留物	2.7	0.02
合計	100	0.74

1) りんご中で回収された放射能を 100%とした割合

3. 推定代謝経路 (図 1)

[I]の代謝経路は、チアゾリジニリデン環4位の水酸化またはシアノ基のアミドへの加水分解だった。この2経路での変換はわずかしか起こらず、放射能のほとんどは未変化の親化合物としてりんごの表面に残留していた。これらの結果から、りんごでは親化合物のみが残留分析の対象となると結論づけることができる。

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

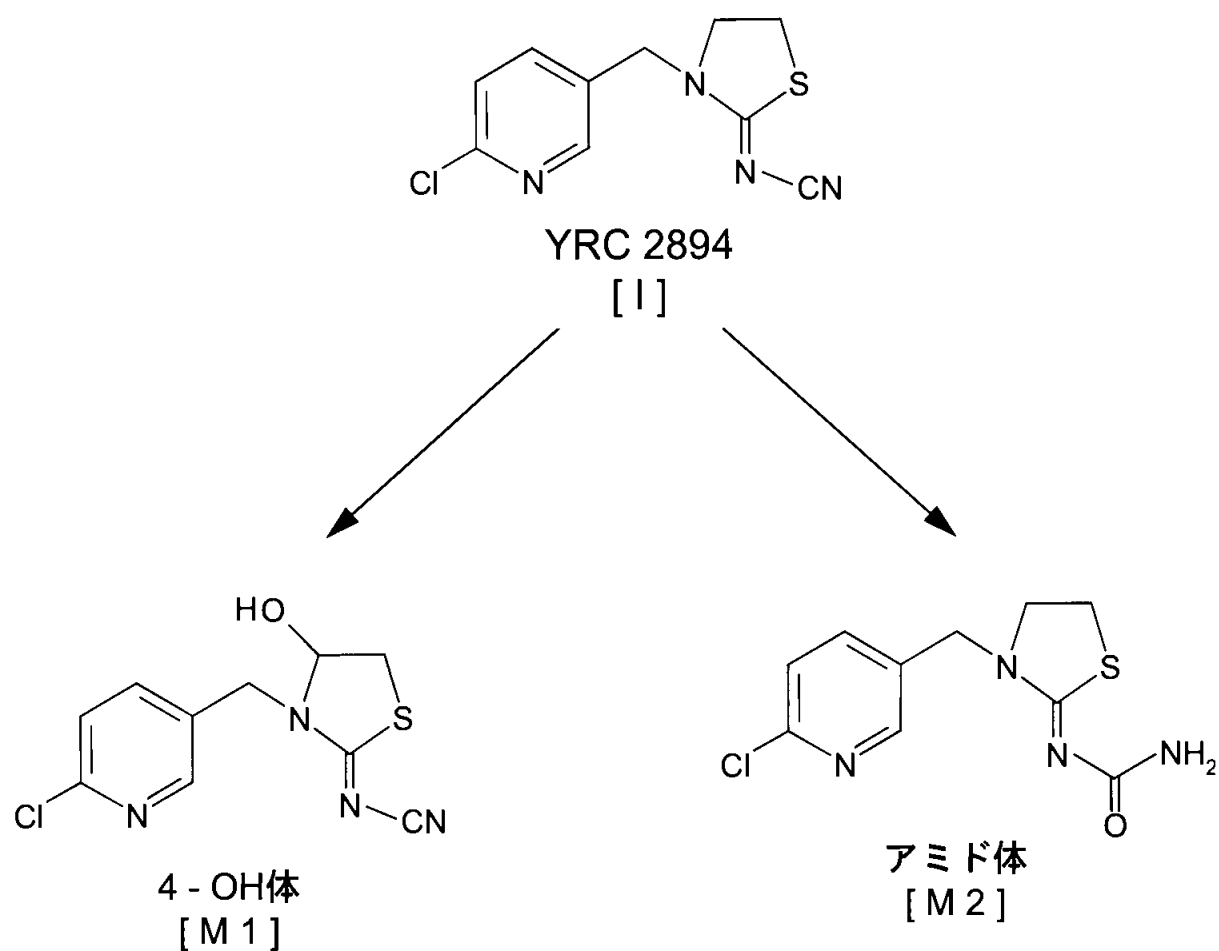


図1. チアクロプリドのりんご中の推定代謝経路

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

(5) チアクロプリドの培養細胞中における代謝

(代謝資料 No. 8)

試験機関：

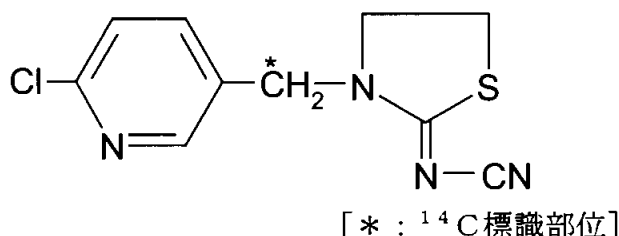
[G L P 対応]

報告書作成年月日：1998年3月10日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシアナミド

化学構造：



標識：ピリジニル- ^{14}C -メチルーチアクロプリド [I]
(比放射能：3.92MBq (106 μCi)/mg、放射化学的純度 98.7%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16 頁に記す。

【方法】

1. 培養細胞

以下の従属栄養型 (hcc, heterotrophic) あるいは光従属栄養混合型 (mcc, mixotrophic) の植物培養細胞を用いた。

- りんご (*Malus pumila* L. var. "Boskop") : hcc,
- 大豆 (*Glycine max.* L. var. "Merill v. Mandarin") : hcc,
- 小麦 (*Triticum aestivum* L. c.v. "Heines Koga II") : hcc,
- ふともも科植物 (*Catharanthus roseus* L.) : mcc,
- 綿 (*Gossypium hirsutum* L.) : hcc,
- カンキツ (*Citrus sinensis* L. var. "Keyline") : hcc,
- トマト (*Lycopersicon esculentum* L.) : hcc, and
- ばれいしょ (*Solanum tuberosum* L. var. "Grata") : hcc.

培養液は栄養液存在下、約+25°Cの人工気象キャビネット中、従属栄養型(hcc)培養細胞は暗所下で、また、光従属栄養混合型(mcc)培養細胞は白色蛍光ランプの明所下で培養した。

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

2. 薬剤の処理

放射能標識処理溶液（アセトニトリル溶液）は滅菌マイクロフィルター（0.2 μ m）でろ過した後、薬剤濃度 50 μ M=505 μ g/40mL 培養液の割合で定常的な成長期にある細胞培養液中に添加した。培養液に加えるアセトニトリルの量は細胞の生育に影響を与えない 50 μ L/40mL とした。

3. 試料の採取と処理

添加7日後に、試料を採取し、細胞と培養液はろ過により分離し、細胞は付着している液を水で洗浄し、洗浄液は培養液と混合した。

培養液は酢酸エチルで抽出した。

細胞は80%アセトニトリルで磨砕抽出し、抽出液はろ過、濃縮した後、残った水層を酢酸エチルで抽出した。

4. 放射エネルギーの測定

液体試料中の放射エネルギーは液体シンチレーションカウンターで、また、固体試料は燃焼後液体シンチレーションカウンターで測定した。

5. 放射能成分の分析

各試料を濃縮後、順相シリカゲルTLC（移動相：酢酸エチル/イソプロパノール/水=65：23：12(v/v/v)）により分析した。

【結果】

1. 放射エネルギーの収支

試験からの回収放射エネルギーはトマトで約83%であったが、他の作物の培養細胞では約96～103%であり、放射エネルギーはほぼ定量的に回収された（表1）。

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

表1 放射能の分布（処理量に対する割合）

	放射能の分布（処理量に対する割合%）							
	りんご	大豆	小麦	ふともも 科植物	綿	カンキツ	トマト	ばいしょ
フラスコ 洗浄液	0.08	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02
培養液	75.69	74.98	93.94	84.59	99.86	95.16	63.37	83.50
細胞 抽出液	21.22	26.80	8.50	11.45	1.74	5.36	19.29	17.57
残渣	0.35	0.89	0.21	0.25	0.12	0.09	0.50	0.29
計	97.34	102.70	102.69	96.32	101.75	100.64	83.17	101.38

表2 放射能の分布（回収量に対する割合）

	放射能の分布（回収量に対する割合%）							
	りんご	大豆	小麦	ふともも 科植物	綿	カンキツ	トマト	ばいしょ
フラスコ 洗浄液	0.08	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02
培養液	77.76	73.01	91.48	87.82	98.14	94.55	76.18	82.37
細胞 抽出液	21.80	26.10	8.28	11.89	1.71	5.33	23.19	17.33
残渣	0.36	0.86	0.21	0.26	0.11	0.09	0.60	0.28
計	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

2. 放射能の分布

回収放射能の約73～98%が培養液中から、また、約2～26%が細胞抽出液中から見出された。細胞残渣に残留している放射エネルギーはく1%であった（表2）。

培養液中放射能（全回収量の約73～98%）を酢酸エチルで分配すると大部分（全回収量の約68～98%）が有機層に転溶され、水層中の割合は低く0.6～8%であった。有機層と水層の比率を求めると有機層：水層＝（8～174）：1であった（表3）。

また、細胞抽出液の有機層の分配ではやはり有機層中の割合が高く、有機層と水層の比率はおおよそ有機層：水層＝約1～20：1であった。

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

表3 培養液、細胞抽出液の有機層、水層への分布（回収量に対する割合）

	分布割合（回収放射能に対する割合%）							
	りんご	大豆	小麦	ふともも 科植物	綿	カンキツ	トマト	ばいしょ
培養液	<u>77.76</u>	<u>73.01</u>	<u>91.48</u>	<u>87.82</u>	<u>98.14</u>	<u>94.55</u>	<u>76.18</u>	<u>82.37</u>
有機層	77.10	68.80	90.62	86.86	97.58	93.79	68.16	80.29
水層	0.62	4.21	0.86	0.96	0.56	0.77	8.03	2.08
	(124:1) ¹⁾	(16:1)	(105:1)	(90:1)	(174:1)	(122:1)	(8:1)	(39:1)
細胞抽出液	<u>21.80</u>	<u>26.10</u>	<u>8.28</u>	<u>11.89</u>	<u>1.71</u>	<u>5.33</u>	<u>23.19</u>	<u>17.33</u>
有機層	17.92	13.92	7.80	6.49	1.63	4.60	9.22	11.72
水層	3.89	12.18	0.48	5.41	0.08	0.72	13.97	5.62
	(5:1)	(1:1)	(16:1)	(1:1)	(20:1)	(6:1)	(0.7:1)	(2:1)

1)（有機層：水層）の比率

3. 代謝

培養細胞及び細胞抽出液から得られた有機層をTLCにより分析すると、主たる放射能成分は[I]であった（表4）。培養細胞試験系の全体から見い出された[I]の総量は総回収量の約78～98%であった。

代謝物として少量の放射能成分が検出され、量が少なく同定はできなかったが、これらの量は、多くても回収量の<4%であった。

表4 代謝物の分布（回収量に対する割合）

	分布割合（回収放射能に対する割合%）							
	りんご	大豆	小麦	ふともも 科植物	綿	カンキツ	トマト	ばいしょ
培養液	<u>77.76</u>	<u>73.01</u>	<u>91.48</u>	<u>87.82</u>	<u>98.14</u>	<u>94.55</u>	<u>76.18</u>	<u>82.37</u>
[I]	75.26	64.37	89.85	82.68	97.86	93.94	69.25	79.84
その他の代謝物	<2 (1種)	<4 (3種)	<2 (1種)	<4 (2種)	ND ¹⁾	<1 (1種)	<3 (3種)	<3 (1種)
細胞抽出液	<u>21.80</u>	<u>26.10</u>	<u>8.28</u>	<u>11.89</u>	<u>1.71</u>	<u>5.33</u>	<u>23.19</u>	<u>17.33</u>
[I]	18.41	13.17	8.11	4.60	— ²⁾	— ²⁾	10.56	10.11
その他の代謝物	<1 (2種)	<4 (8種)	<0.1 (3種)	<2 (10種)	— ²⁾	— ²⁾	<3 (8種)	<2 (5種)
[I]合計	93.67	77.54	97.96	87.28	97.86	93.94	79.81	89.95

1) 検出されず 2) 分析せず

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

(5-2) チアクロプリドの棉における代謝

(代謝資料 No. 8-2)

試験機関：

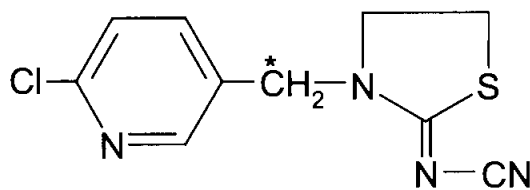
[GLP対応]

報告書作成年月日：1998年3月16日

供試標識化合物

化学名：3-(6-クロロ-3-ピリジルメチル)-1,3-チアゾリジン-2-イリデンシアナミド

化学構造：



[* : ^{14}C 標識部位]

標識：ピリジニル- ^{14}C -メチル-チアクロプリド [I]
(比放射能：4.1MBq/mg、放射化学的純度>99%)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-16頁に記す。

【方法】

1. 供試作物

供試した棉の品種は Coker 310 で、ドイツ国 Langenfeld で採取した土壌を入れたポットの中で栽培した。栽培は温室内で行い、適宜な灌水と、最小限の病害虫防除と施肥を行った。

2. 薬剤処理及び試料採取

[ピリジニル- ^{14}C -メチル]チアクロプリド [I] の 48%フロアブル製剤 (w/v) を調製し、その約 37mg に水を加え 80mL に定容した。この溶液 16mL を植物体地上部全体に散布した (125g a. i. /ha 相当)。散布は収穫 134、127 及び 120 日目の 3 回行った。散布液は用事調製した。

初回散布の 3 日後より収穫時まで、落葉及び落花生を採取し葉試料とした。播種 253 日後に植物体地上部を採取し、蒴果を分取した。蒴果からリントを取り出し、さらに棉実を取り出した。リント以外の部位はジントラッシュ試料としてまとめた。

また、代謝物の同定用の補助試料を調製する目的で、10 倍及び 50 倍量の土壌処理

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

区を設けた。

3. 試料分析

(1) 落葉・落花卉

ホモジナイズ試料 100g をアセトニトリル (2 回)、アセトニトリル/水 (1:1, v/v) (2 回) さらにアセトニトリル (2 回) で抽出し、各抽出物をろ過し、抽出液を合わせた (抽出液 A)。残渣は風乾した。抽出液及び残渣の一部を放射能測定に供した。抽出液 A は、さらに代謝物の分離定量に供した。

別途ホモジナイズ試料 100g をアセトニトリル (2 回)、アセトニトリル/水 (1:1, v/v) (2 回) さらにアセトニトリル (2 回) で抽出し、各抽出物をろ過し、残渣を水で洗浄した。各抽出液及び洗液を合わせ抽出液 B とし、ローリーエバポレーターを用いて濃縮した。濃縮液を代謝物の分離定量に供した。

(2) ジントラッシュ

ホモジナイズ試料 50g をアセトニトリル (2 回)、アセトニトリル/水 (1:1, v/v) (2 回) さらにアセトニトリル (2 回) で抽出し、各抽出物をろ過し、抽出液を合わせた。残渣は風乾した。抽出液及び残渣の一部を放射能測定に供した。抽出液は、さらに代謝物の分離定量に供した。

上記残渣にさらにアセトニトリル/水 (1:1, v/v, pH3) を加え、工業用マイクロウェーブオーブンで 2 回加熱抽出した。冷後抽出物をろ過し、ろ液と残渣の一部を放射能測定に供した。ろ液を濃縮し、濃縮液をジクロロメタン及び酢酸エチルで液-液分配した。有機溶媒層及び水層を放射能測定及び TLC に供した。

(3) 種子

ドライアイスとともにホモジナイズした種子約 30g をアセトニトリル (2 回)、アセトニトリル/水 (1:1, v/v) (2 回) さらにアセトニトリル (2 回) で抽出し、各抽出物をろ過し、抽出液を合わせた。残渣の一部を放射能測定に供した。抽出液を濃縮し、n-ヘキサンによって液-液分配した。n-ヘキサン層及び水層 (水層 1) の一部を放射能測定に供した。

上記残渣を n-ヘキサン、ジクロロメタン (2 回) 及びアセトンで抽出した。各抽出物をろ過し、抽出液を合わせた (有機溶媒抽出液)。さらに、残渣を酢酸水溶液 (pH3) 及びアセトン/水 (1:1, v/v) で抽出し、ろ過後抽出液を合わせ濃縮した。濃縮液を水層 1 に合わせた。

水層 1 をジクロロメタンで 3 回液-液分配し、ジクロロメタン層を先の有機溶媒抽出液に合わせ有機溶媒層 2 とした。さらに水層 1 を酢酸エチルで 3 回液-液分配し、酢酸エチル層を有機溶媒層 1、水層を水層 2 とした。

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

さらに、残渣にアセトン／水 (1:1, v/v) を加え、工業用マイクロウェーブオーブンで加熱抽出した。抽出物をろ過し、抽出液を濃縮した。濃縮液を水層 3 とし、残渣を残渣 4 とした。水層 3 は精製後、1N 塩酸で還流し加水分解した。

残渣 4 にアセトニトリル／水 (1:1, v/v ; オルトリン酸で pH1 に調整) を加え、工業用マイクロウェーブオーブンで加熱抽出した (第 1 マイクロウェーブ抽出)。残渣に 12.5%水酸化テトラメチルアンモニウム／n-プロパノール (2:8, v/v; pH12) を加え、工業用マイクロウェーブオーブンで加熱抽出し、次いで 12.5%水酸化テトラメチルアンモニウム／n-プロパノール (1:3.2, v/v) を加え、工業用マイクロウェーブオーブンで加熱抽出した (第 2 マイクロウェーブ抽出)。残渣は 6N 塩酸／アセトニトリル (1:1, v/v) 、次いで 2N 水酸化ナトリウムで還流し加水分解を行った。

各抽出液及び残渣については一部を採取し放射能測定に供した。また、有機溶媒層 1、水層 2 及び 3 は 6-クロロニコチン酸を定量するため、その一部を 32%水酸化ナトリウム溶液、次いで 5%過マンガン酸カリウム溶液で加熱分解処理した。さらに水層及び、必要に応じて、精製された代謝物画分をセルラーゼによる加水分解処理に供した。

4. 機器分析

各抽出液を精製した後、TLC、HPLC、HPLC/MS、HPLC/MS/MS、GC/MS、¹H-NMR で分析し、代謝物の構造を同定した。放射エネルギーは、液体試料は直接、また、固体試料は燃焼した後、液体シンチレーションカウンターで測定した。

【結果】

1. 放射能分布

(1) 落葉・落花卉

試料中放射能の 98.1%が抽出された。残渣中の放射能は 1.9%に留まった。

(2) ジントラッシュ

試料中放射能の 90.9%が抽出された。残渣中の放射能は 9.1%であった。

(3) 種子

各抽出操作により、合わせて試料中放射能の 95.0%が抽出された。残渣 4 中の放射能は 5.0%であり、このうちの 4.8%が加熱抽出、酸加水分解及びアルカリ加水分解により遊離した。最終残渣中の放射能は僅か 0.2%であった。