

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③ラットにおける吸収、分布、排泄

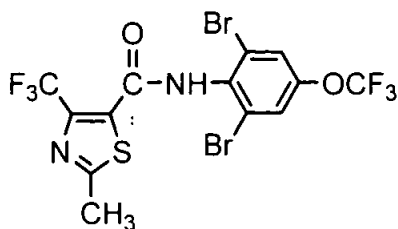
(資料 No. 33)

試験機関：モンサント社（米国）

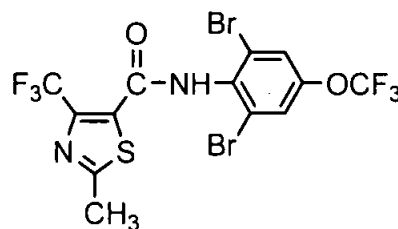
[GLP対応]

報告書作成年：1992年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mM)	放射化学的純度 (%)

標識体及び非標識体の純度は %であった。

供試動物：Sprague-Dawley系ラット、50～67日齢、体重；雄 219～402g, 雌 174～262g

方法：吸収、分布及び排泄

試験設計は以下の通りであった。

投与群	標識体	投与量 (mg/kg)	投与経路	比放射能 (mCi/mM)	動物数	採取試料(目的)	屠殺時期'
10		750	1回経口		雌雄各3	尿・糞、組織(分布)	投与24時間後
12		750	1回経口		雌雄各3	尿・糞、組織(分布)	投与62時間後
14		750	1回経口		雌雄各5	尿・糞(排泄動態)、 組織(分布)	投与168時間後
16		2.5	1回静脈		雌雄各5	尿・糞(排泄動態)、 組織(分布)	投与168時間後
18		2.5	1回経口		雌雄各3	尿・糞、組織(分布)	投与11時間後
20		2.5	1回経口		雌雄各3	尿・糞、組織(分布)	投与60時間後
22		2.5	1回経口		雌雄各5	尿・糞(排泄動態)、 組織(分布)	投与168時間後
24		2.5	反復 経口		雌雄各5	尿・糞(排泄動態)、 組織(分布)	投与168時間後

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

投与及び試料採取；上記のように投与群を設定し、それぞれ、

を使用した。経口投与の場合は乳化剤Emulphorを、静脈内投与の場合はEmulphor/エタノール/生理食塩水溶液を使用した。反復経口投与は、非標識体を14回投与後、標識体を1回投与した。試料は、目的が排泄動態の場合、尿及び糞を投与6、12、24、48、72、96、120、144、168時間後に採取し、その他の尿及び糞は24時間間隔で採取し、屠殺時にまとめて分析に供した。屠殺時には血液を採取し、次の臓器・組織を採取した。

肝臓、腎臓、肺、心臓、脳、脾臓、皮膚、胸腺、眼球、精巣、子宮、副腎、甲状腺、骨(大腿骨)、骨髓、骨格筋、腹部脂肪、胃(内容物を除く)、小腸、大腸、消化管内容物、屍体

用量設定根拠；

放射能の測定；尿、血漿及びケージ洗浄液はシンチレーション溶液に溶解し、直接液体シンチレーションカウンターによって放射能を測定した。血液、血球、組織及び糞は一部をオキシダイザーで燃焼し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ をシンチレーション溶液に吸収させて放射能を測定した。

吸収率算出；吸収率は経口投与と静脈内投与の投与後168時間までの尿中累積排泄率を比較して求めた。経口投与の高用量(750mg/kg)群の吸収率は、静脈内および経口投与後のラットにおいて薬物動態が同様であるという仮定の上で求めた。

吸収速度；見かけの吸収速度定数(Kab)及び投与量の50%が吸収される時間( $\text{AB}_{50}$ )を資料No. 32のデータを用いて算出した。

試験結果：

吸収率；尿中排泄率に基づいた経口投与による吸収率を表1に示した。

表1. 経口投与における吸収率(原報告書Table 17A)

投与経路(投与群)	性	投与量(mg/kg)	尿中排泄率(%)	吸収率(%)
経口(14)	雄	750	5.25	50
静脈内(16)	雄	2.5	10.3	
経口(14)	雌	750	15.7	80
静脈内(16)	雌	2.5	20.7	
経口(22)	雄	2.5	17.9	100
静脈内(16)	雄	2.5	10.3	
経口(22)	雌	2.5	17.9	90
静脈内(16)	雌	2.5	20.7	

低用量(投与群22)の経口投与後に標識化合物はほぼ吸収されたが(90~100%)、高用量(投与群14)の投与後の吸収率は50~80%であった。

吸収速度；表2に吸収速度定数(Kab)及び50%吸収時間( $\text{AB}_{50}$ )の結果をまとめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. 吸収速度に関するパラメータ (原報告書Table 17B、資料No. 32より算出)

投与経路 (投与群)	性	投与量 (mg/kg)	Kab (ppm/h)	AB <sub>50</sub> (h)
単回経口 (5及び6)	雄	2.5	0.20	3.5
	雌		0.43	1.6
単回経口 (7及び8)	雄	750	0.068	10.2
	雌		0.071	10.3

低用量投与時の雌の吸収速度は雄の2倍であり、高用量投与時は差がなかった。

尿中への排泄速度；投与後168時間の尿中への放射能の排泄動態について、C<sub>max</sub>、α相及びβ相の半減期を表3にまとめた。

表3. 尿中排泄動態に関するパラメータ (原報告書Table 18)

投与経路 (投与群)	性	投与量 (mg/kg)	C <sub>max</sub> (h)	半減期 (h)	
				α相	β相
単回経口 (14)	雄	750	54	13.6	ND
	雌		58	11.1	ND
単回静脈内 (16)	雄	2.5	0	14.5	ND
	雌		0	9.12	84.8
単回経口 (22)	雄	2.5	22	9.47	76.3
	雌		14	8.53	70.1
反復経口 (24)	雄	2.5	26	15.4	ND
	雌		27	13.3	ND
平均				11.9	77.1

ND：算出できず

尿中への放射能の排泄速度は平均半減期約12時間と速く、異なった投与経路、投与量、雌雄に関係なく同様であった。

排泄の経路；投与後168時間の尿糞中への累積排泄率を表4にまとめた。

表4. 投与後168時間の尿糞中累積排泄率 (原報告書Table 19及び20)

投与経路 (投与群)	性	投与量 (mg/kg)	排泄率 (% dose)		半減期 (h)	
			尿	糞	α相	β相
単回経口 (14)	雄	750	5.25	86.1	7.71	25.2
	雌		15.7	75.2	8.85	66.0
単回静脈内 (16)	雄	2.5	10.3	78.5	9.83	69.5
	雌		20.7	67.2	7.65	44.7
単回経口 (22)	雄	2.5	17.9	67.4	6.96	30.5
	雌		17.9	68.1	6.96	26.8
反復経口 (24)	雄	2.5	15.0	77.0	12.4	44.3
	雌		21.5	67.0	7.38	23.7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

検体の主要排泄経路は投与群に係わりなく糞であり、それは処理放射量の67～86%を占めた。尿中には投与量の5～22%が排泄された。検体2.5mg/kgを1回経口投与した場合、ほぼ100%吸収されていることから、糞中に回収された放射能の多くは、吸収された放射能が胆汁を介して糞中に排泄されたものと考えられた。各群の尿および糞への排泄動態は2相性であり、 $\alpha$ 相は速く、これに続く $\beta$ 相は遅かった。 $\alpha$ 相の半減期はすべての処理群で同様であり、7.0～12.4時間の範囲であった。また $\beta$ 相の半減期は23.7～69.5時間であった。

組織分布；経時的な放射能の組織分布を表5（濃度）及び表6（分布率）に示す。

単回経口低用量、反復経口低用量、単回経口高用量及び単回静脈内低用量のいずれにおいても、投与7日後の総残留率は0.6%以下であった。早期屠殺時点の全てのラットの肝臓及び脂肪に比較的高濃度の放射能が認められた。組織中放射能濃度を血中放射能濃度で除した対血中レベル比は、肝臓で最大40（反復経口低用量、投与7日後）、脂肪で最大11（単回経口低用量、投与11時間後）を示した。脂肪の対血中レベル比が経時的に減少したのに対し、肝臓は増加したことから、優先的に肝臓に蓄積する可能性が示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表5. 組織内濃度 (原報告書Table 21~36)

(チフルザミド換算ppm)

組織/ 臓器	性	750 mg/kg、単回経口			2.5 mg/kg 単回静脈内	2.5 mg/kg、単回経口			2.5 mg/kg 反復経口
		24h	62h	168h	168h	11h	60h	168h	168h
血液	雄	29.3	34.5	0.5	0.0018	0.26	0.03	<0.01	0.0017
	雌	20.8	25.1	0.2	0.0013	0.50	<0.01	<0.01	0.0011
骨髓	雄	37.0	33.2	0.2	0.0011	0.09	<0.01	<0.01	0.0027
	雌	34.3	60.9	0.2	0.0019	0.72	<0.01	<0.01	0.0026
血漿	雄	44.1	52.4	0.4	0.0024	0.44	0.06	<0.01	0.0021
	雌	30.0	36.4	0.2	0.0015	0.59	0.02	<0.01	0.0010
血球	雄	19.8	22.4	0.4	0.0019	0.14	0.01	<0.01	0.0017
	雌	14.6	20.0	0.2	0.0016	0.48	<0.01	<0.01	0.0014
副腎	雄	185.4	74.6	1.5	0.0027	0.37	0.02	<0.01	0.0039
	雌	210.9	121.4	0.6	0.0038	2.13	0.02	<0.01	0.0062
腹部脂肪	雄	194.8	146.2	0.7	0.0013	1.19	<0.01	<0.01	0.0031
	雌	177.2	203.0	0.7	0.0028	5.26	0.02	<0.01	0.0053
脳	雄	35.6	19.5	0.1	0.0002	0.05	<0.01	<0.01	0.0010
	雌	21.6	29.5	0.1	0.0003	0.35	<0.01	<0.01	0.0006
骨	雄	12.2	12.3	0.2	0.0009	0.06	<0.01	<0.01	0.0009
	雌	10.9	20.3	0.1	0.0009	0.21	<0.01	<0.01	0.0009
大腸	雄	110.9	201.9	0.7	0.0023	4.24	0.23	<0.01	0.0073
	雌	88.2	368.1	0.3	0.0015	3.91	0.15	<0.01	0.0043
屍体	雄	39.8	38.2	0.9	0.0016	0.24	0.01	<0.01	0.0061
	雌	34.9	60.5	0.5	0.0016	0.90	0.01	<0.01	0.0075
眼球	雄	5.9	8.9	0.3	0.0006	0.05	<0.01	<0.01	0.0008
	雌	11.8	9.5	0.2	0.0004	0.15	<0.01	<0.01	0.0010
消化管 内容物	雄	981.7	1063.1	0.7	0.0035	5.66	0.24	<0.01	0.0131
	雌	1042.1	1042.6	0.4	0.0010	2.25	0.10	<0.01	0.0050
心臓	雄	52.1	40.5	0.2	0.0010	0.15	0.01	<0.01	0.0020
	雌	31.8	47.4	0.2	0.0011	0.75	<0.01	<0.01	0.0017
腎臓	雄	59.7	73.3	0.9	0.0062	0.38	0.05	<0.01	0.0107
	雌	45.4	73.1	0.8	0.0041	0.91	0.02	<0.01	0.0060
肝臓	雄	164.4	215.4	4.4	0.0565	1.39	0.37	0.05	0.0669
	雌	113.1	199.4	3.3	0.0141	2.65	0.10	0.01	0.0149
肺	雄	70.4	41.8	0.3	0.0014	0.18	0.01	<0.01	0.0021
	雌	44.7	46.8	0.2	0.0018	0.68	<0.01	<0.01	0.0021
小腸	雄	125.7	110.4	0.5	0.0024	2.58	0.19	<0.01	0.0050
	雌	90.2	144.1	0.4	0.0018	2.83	0.07	<0.01	0.0055
皮膚	雄	78.1	36.7	0.8	0.0022	0.55	0.01	<0.01	0.0032
	雌	47.3	67.5	0.7	0.0040	1.65	<0.01	<0.01	0.0055
骨格筋	雄	26.3	18.3	0.1	0.0008	0.13	<0.01	<0.01	0.0018
	雌	23.0	26.7	0.1	0.0007	0.53	<0.01	<0.01	0.0020
脾臓	雄	28.6	20.6	0.3	0.0014	0.07	<0.01	<0.01	0.0019
	雌	17.3	25.1	0.1	0.0018	0.40	<0.01	<0.01	0.0019
胃	雄	1644.1	78.7	0.3	0.0011	0.25	<0.01	<0.01	0.0019
	雌	716.4	361.6	0.2	0.0013	0.99	<0.01	<0.01	0.0015
精巣 卵巢	雄	25.8	19.3	0.1	0.0004	0.09	<0.01	<0.01	0.0011
	雌	86.2	71.2	0.4	0.0018	1.62	<0.01	<0.01	0.0022
甲状腺	雄	523.8	66.5	0.6	0.0030	0.31	0.02	<0.01	0.0025
	雌	95.8	83.8	0.3	0.0005	0.98	0.02	<0.01	0.0031
胸腺	雄	30.0	18.5	0.1	0.0007	0.12	<0.01	<0.01	0.0010
	雌	18.5	24.4	0.1	0.0007	0.52	<0.01	<0.01	0.0014

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表6. 組織内分布率 (原報告書Table 9~16及び21~36)

(% dose)

組織/ 臓器	性	750 mg/kg、単回経口			2.5 mg/kg 単回静脈内	2.5 mg/kg、単回経口			2.5 mg/kg 反復経口
		24h	62h	168h	168h	11h	60h	168h	168h
血液	雄	0.225	0.255	0.005	0.0058	0.649	0.067	0.004	0.0047
	雌	0.151	0.173	0.002	0.0034	1.222	0.015	0.002	0.0029
骨髓	雄	0.002	0.001	<0.001	<0.0001	0.002	<0.001	<0.001	<0.0001
	雌	<0.001	0.002	<0.001	<0.0001	0.012	<0.001	<0.001	<0.0001
血漿	雄	0.099	0.194	0.002	0.0038	0.550	0.075	0.002	0.0030
	雌	0.109	0.125	<0.001	0.0021	0.722	0.020	0.001	0.0014
血球	雄	0.076	0.083	0.002	0.0030	0.171	0.019	0.002	0.0024
	雌	0.053	0.069	<0.001	0.0022	0.581	0.005	0.002	0.0018
副腎	雄	0.003	0.001	<0.001	<0.0001	0.002	<0.001	<0.001	<0.0001
	雌	0.006	0.004	<0.001	0.0001	0.025	<0.001	<0.001	0.0001
腹部脂肪	雄	2.555	1.875	0.011	0.0069	5.122	0.024	0.005	0.0142
	雌	2.192	2.420	0.010	0.0130	22.1	0.076	0.014	0.0244
脳	雄	0.030	0.014	<0.001	<0.0001	0.012	<0.001	<0.001	0.0002
	雌	0.024	0.032	<0.001	0.0001	0.154	<0.001	<0.001	0.0002
骨	雄	0.089	0.085	0.002	0.0026	0.141	0.011	0.003	0.0024
	雌	0.074	0.128	0.001	0.0023	0.471	0.004	0.002	0.0022
大腸	雄	0.115	0.136	<0.001	0.0011	1.684	0.090	0.001	0.0027
	雌	0.092	0.245	<0.001	0.0005	1.513	0.051	<0.001	0.0020
屍体	雄	3.436	3.338	0.096	0.0553	6.811	0.418	0.105	0.1943
	雌	2.961	4.949	0.046	0.0461	25.1	0.291	0.073	0.2347
眼球	雄	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001	0.001	<0.001	<0.001	<0.0001
	雌	0.001	0.001	<0.001	<0.0001	0.008	<0.001	<0.001	<0.0001
消化管 内容物	雄	84.3	21.5	0.040	0.0417	71.7	4.732	0.033	0.0896
	雌	113.7	35.6	0.023	0.0145	42.6	3.298	0.014	0.0419
心臓	雄	0.023	0.015	<0.001	0.0002	0.018	0.001	<0.001	0.0003
	雌	0.013	0.017	<0.001	0.0002	0.102	<0.001	<0.001	0.0003
腎臓	雄	0.072	0.070	0.001	0.0025	0.143	0.019	0.003	0.0039
	雌	0.044	0.070	0.001	0.0014	0.313	0.007	0.002	0.0023
肝臓	雄	0.881	1.170	0.030	0.1382	2.875	0.777	0.118	0.1467
	雌	0.527	0.980	0.024	0.0293	4.194	0.156	0.025	0.0305
肺	雄	0.041	0.019	<0.001	0.0003	0.027	0.002	<0.001	0.0003
	雌	0.023	0.023	<0.001	0.0004	0.140	0.001	<0.001	0.0004
小腸	雄	0.297	0.256	0.002	0.0026	2.478	0.176	0.002	0.0042
	雌	0.223	0.226	0.001	0.0019	2.512	0.056	0.001	0.0069
皮膚	雄	1.493	0.693	0.019	0.0177	3.455	0.084	0.028	0.0214
	雌	0.861	1.172	0.014	0.0268	10.1	0.051	0.028	0.0363
骨格筋	雄	1.381	0.949	0.007	0.0181	2.252	0.118	0.015	0.0336
	雌	1.141	1.272	0.007	0.0124	8.952	0.033	0.006	0.0358
脾臓	雄	0.008	0.005	<0.001	0.0002	0.007	<0.001	<0.001	0.0001
	雌	0.004	0.005	<0.001	0.0002	0.036	<0.001	<0.001	0.0002
胃	雄	0.797	0.051	<0.001	0.0002	0.049	0.002	<0.001	0.0004
	雌	0.347	0.206	<0.001	0.0003	0.190	0.001	<0.001	0.0003
精巣 卵巢	雄	0.034	0.025	<0.001	0.0002	0.031	0.002	<0.001	0.0004
	雌	0.005	0.005	<0.001	<0.0001	0.037	<0.001	<0.001	<0.0001
甲状腺	雄	0.001	<0.001	<0.001	<0.0001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001
	雌	<0.001	<0.001	<0.001	<0.0001	0.004	<0.001	<0.001	<0.0001
胸腺	雄	0.008	0.004	<0.001	0.0001	0.012	<0.001	<0.001	0.0001
	雌	0.005	0.005	<0.001	0.0001	0.042	<0.001	<0.001	0.0001
総残留率	雄	11.5	8.97	0.18	0.57	25.8	1.79	0.29	0.43
	雌	8.69	11.9	0.11	0.29	77.2	0.74	0.15	0.37

申請者注) 総残留率は器官、組織及び屍体の合計値として申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

④ラットにおける代謝試験(代謝物分析)

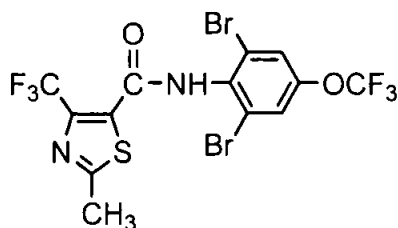
(資料 No. 34)

試験機関：モンサント社(米国)

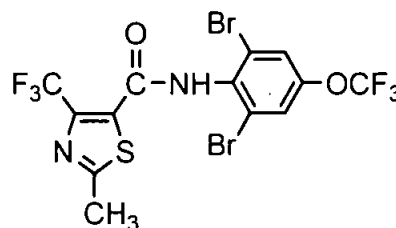
[GLP対応]

報告書作成年：1993年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mM)	放射化学的純度 (%)

標識体及び非標識体の純度は %であった。

供試動物：Sprague-Dawley系ラット、50~67日齢、体重；雄 219~402g、雌 174~262g

方 法：代謝物分析

試料；資料No. 33の8投与群から選択された尿、糞、消化管内容物、血漿、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉中の代謝物同定及び定量を実施した。また、代謝物の単離、同定及び特徴付けについては、資料No. 31の高用量投与した尿も使用し、同定された単離代謝物は、低用量試料とのコクロマトグラフィーに使用した。

放射能測定；残留放射能の測定は試料の内容及び種類によって、下記の方法を選択して用いた。

- 燃焼分析装置 (固体試料中の放射能の測定)
- 液体シンチレーションカウンター (液体試料中の放射能の測定)

尿の調製；尿試料に十分量のエタノールを加えて攪拌し、冷却、遠心分離により脱塩及び除タンパクを行った。上清液を濃縮し、HPLC分析に供した。

糞の抽出；含水アセトニトリル及び塩酸酸性含水アセトニトリルを用いて磨砕抽出し、抽出液をHPLC分析に供した。

消化管内容物の抽出；含水アセトニトリル及び塩酸酸性含水アセトニトリルを用いて磨砕抽出し、固相カラムで精製後HPLC分析に供した。

血漿の抽出；含水アセトンあるいはアセトニトリルで抽出し、HPLC分析に供した。

肝臓の抽出；含水アセトニトリル及び塩酸酸性含水アセトニトリルを用いて磨砕抽出し、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

固相カラムで精製後HPLC分析に供した。

腎臓の抽出；アセトニトリルで抽出後、必要に応じて含水アセトニトリル、含水メタノール、酸抽出し、HPLC分析に供した。

脂肪の抽出；アセトニトリルあるいはヘキサン/ジクロロメタンで抽出した。ヘキサン/ジクロロメタン抽出液の濃縮残渣はアセトニトリルで抽出した。各抽出液をHPLC分析に供した。

筋肉の抽出；アセトニトリルで抽出後、必要に応じて含水アセトニトリル、塩酸酸性含水アセトニトリル抽出し、HPLC分析に供した。

代謝物の単離、同定、特徴付け；尿及び糞抽出液を固相カラム及びHPLCによるフラクション分取で単離、精製した。単離された一部の代謝物はその試料の特性によりβ-グルクロニダーゼ、スルファターゼなどによる酵素処理、あるいは酸加水分解処理を行った。参照物質がある場合はコクロマトグラフィーを行い、下記の機器を適宜選択して使用し、その構造を決定及び推定した。同定された試料は他の試料とのコクロマトグラフィーに使用した。

ガスクロマトグラフィー／化学イオン化 (GC/CI) MS分析

直接導入／電子衝撃イオン化 (DP/EI) MS分析

直接導入／化学イオン化 (DP/CI) MS分析

脱離プローブ／電子衝撃イオン化 (DEP/EI) MS分析

脱離プローブ／化学イオン化 (DEP/CI) MS分析

インフュージョンイオンスプレー (インフュージョンIS) MS分析

液体クロマトグラフィー／イオンスプレー (LC/IS) MS分析

静的・高速原子衝撃 (スタティック FAB) MS分析

液体クロマトグラフィー／高速原子衝撃 (LC/FAB) MS分析

ダイナミック・高速原子衝撃 (ダイミック FAB) MS分析

静的・高分解能／高速原子衝撃 (スタティック HR/FAB) MS分析

スキヤニング・高分解能／高速原子衝撃 (スタティック HR/FAB) MS分析

核磁気共鳴分析 ( $^{19}\text{F}$ 及び $^1\text{H}$ )

#### 試験結果：

同定された代謝物；投与放射能の5%以上を占める主要代謝物を11種類（親化合物含む）及び10種類のマイナー代謝物が同定された。尿、糞、消化管内容物、血漿、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉中で同定された代謝物の定量結果を表1～8にまとめた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表1. 尿中代謝物の定量結果 (原報告書Table 9) (% dose)

代謝物	14 (高用量単回経口)		16 (低用量単回静脈)		22 (低用量単回経口)		24 (低用量反復経口)	
	0-96h		0-72h		0-72h		0-96h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チルザミト (1)	0.137	0.094					0.236	0.224
同定代謝物合計 (% dose)	4.529	13.249	5.924	15.696	11.256	13.583	10.60	16.84
尿中放射能 (% dose)	5.247	15.687	10.325	20.655	17.894	17.854	15.01	21.53
尿中同定率 (%)	86.30	84.46	57.38	75.99	62.90	76.08	70.60	78.20

尿中代謝物；主要代謝物として： が検出された。微量の代謝物として親化合物 (1) を含め16種の代謝物が同定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2. 糞中代謝物の定量結果 (原報告書Table 10)

(% dose)

代謝物	14 (高用量単回経口)		16 (低用量単回静脈)		22 (低用量単回経口)		24 (低用量反復経口)	
	0-96h		0-72h		0-72h		0-96h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チルザミド (1)	53.308	51.420	0.293	0.346			0.563	0.701
同定代謝物合計 (% dose)	81.882	73.213	48.951	65.082	46.625	62.585	41.821	57.083
糞中放射能 (% dose)	86.089	75.244	78.480	67.231	67.387	68.115	76.952	66.993
糞中同定率 (%)	95.11	97.30	62.37	96.80	69.19	91.88	54.35	85.21

糞中代謝物；最も含有量が多かった親化合物 (1) をはじめ

代謝物としては、

主要代謝物が検出された。マイナー代謝物が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 3. 消化管内容物中代謝物の定量結果 (原報告書Table 11) (% dose)

代謝物	10 (高用量単回経口)		12 (高用量単回経口)		18 (低用量単回経口)		20 (低用量単回経口)	
	24h		62h		11h		60h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チルザミド (I)	83.320	111.61	14.601	29.930	2.129	3.745		
同定代謝物合計 (% dose)	85.136	112.52	18.885	34.189	33.320	35.837	2.474	2.075
内容物中放射能 (% dose)	84.287	113.70	21.507	35.603	71.697	42.594	4.732	3.298
内容物中同定率 (%)	101.0	98.96	87.81	96.03	46.47	84.14	52.28	62.91

消化管内容物の代謝物；親化合物 (I) を含め、

主要代謝物と、  
微量代謝物が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表4. 血漿中代謝物の定量結果 (原報告書Table 13) (上段 : % dose、下段 : ppm)

代謝物	10 (高用量単回経口)		12 (高用量単回経口)		18 (低用量単回経口)		20 (低用量単回経口)	
	24h		62h		11h		60h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チルザミド (I)	0.009 4.212	0.023 6.452	0.006 1.536	0.019 5.471	0.032 0.026	0.195 0.160		
同定代謝物合計	0.068 30.481	0.098 26.973	0.119 32.160	0.117 33.949	0.259 0.207	0.571 0.467	0.000 0.000	0.000 0.000
血漿中放射能	0.099 44.116	0.109 29.957	0.194 52.353	0.125 36.383	0.550 0.439	0.722 0.591	0.075 0.057	0.020 0.016
血漿中同定率 (%)	69.10	90.05	61.45	93.28	47.14	79.10	0.00	0.00

血漿中の代謝物；親化合物 (I) が主要代謝物として、  
中から検出された。

血漿

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 5. 肝臓中代謝物の定量結果 (原報告書Table 15)

(上段 : % dose、下段 : ppm)

代謝物	10 (高用量単回経口)		12 (高用量単回経口)		18 (低用量単回経口)		20 (低用量単回経口)	
	24h		62h		11h		60h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
フルザミド (1)	0.119 22.187	0.111 23.864	0.053 9.789	0.102 20.748	0.262 0.127	1.061 0.669		
同定代謝物合計	0.830 154.91	0.661 141.96	1.021 188.01	0.893 181.73	1.379 0.667	3.916 2.470	0.096 0.046	0.035 0.023
肝臓中放射能	0.881 164.41	0.527 113.11	1.170 215.40	0.980 199.38	2.875 1.389	4.194 2.645	0.777 0.373	0.156 0.100
肝臓中同定率 (%)	94.22	125.51	87.28	91.15	47.97	93.37	12.40	22.47

肝臓中の代謝物 ; 親化合物 (1) を含めて

代謝物が肝臓中から検出された。

表6. 腎臓中代謝物の定量結果 (原報告書Table 17及び18) (上段: % dose, 下段: ppm)

代謝物	10 (高用量単回経口)		12 (高用量単回経口)		18 (低用量単回経口)		20 (低用量単回経口)	
	24h		62h		11h		60h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チルザミド (I)	0.009 7.246	0.008 8.545	0.002 2.428	0.006 6.032	0.026 0.068	0.095 0.276		
同定代謝物合計	0.069 56.840	0.052 53.366	0.045 46.752	0.050 52.221	0.107 0.284	0.294 0.857	0.002 0.006	0.002 0.001
腎臓中放射能	0.072 59.707	0.044 45.431	0.070 73.275	0.070 73.097	0.143 0.380	0.313 0.914	0.019 0.047	0.007 0.022
腎臓中同定率 (%)	95.15	117.42	63.78	71.57	74.97	93.74	11.83	2.78

腎臓中の代謝物；親化合物 (I) を含めて

代謝物が腎臓中から検出された。

表7. 脂肪中代謝物の定量結果 (原報告書Table 19及び20) (上段: % dose, 下段: ppm)

代謝物	10 (高用量単回経口)		12 (高用量単回経口)		18 (低用量単回経口)		20 (低用量単回経口)	
	24h		62h		11h		60h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チルザミド (I)	1.214 92.528	1.634 132.11	1.164 90.800	1.374 115.22	4.987 1.156	18.723 4.458	0.009 0.002	0.014 0.003
同定代謝物合計	1.766 134.68	2.13 171.59	1.816 141.65	1.909 160.10	5.183 1.202	22.580 5.376	0.009 0.002	0.04 0.008
脂肪中放射能	2.555 194.82	2.192 177.22	1.875 146.25	2.420 202.96	5.122 1.188	22.089 5.259	0.024 0.005	0.076 0.018
脂肪中同定率 (%)	69.13	96.83	96.86	78.88	101.19	102.22	39.66	44.08

脂肪中の代謝物；親化合物 (I) が主要代謝物として、  
から検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 8. 筋肉中代謝物の定量結果 (原報告書Table 21及び22) (上段 : % dose、下段 : ppm)

代謝物	10 (高用量単回経口)		12 (高用量単回経口)		18 (低用量単回経口)		20 (低用量単回経口)	
	24h		62h		11h		60h	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
チフルザミド (I)	0.365 6.959	0.427 8.620	0.269 5.201	0.364 7.620	1.374 0.080	5.409 0.322		
同定代謝物合計	1.360 25.903	1.121 22.628	0.914 17.686	1.183 24.786	1.927 0.112	9.703 0.577	0.009 0.001	0.004 0.000
筋肉中放射能	1.381 26.290	1.141 23.022	0.949 18.350	1.272 26.658	2.252 0.131	8.952 0.532	0.118 0.007	0.033 0.002
筋肉中同定率 (%)	98.53	98.29	96.38	92.98	85.54	108.38	7.62	10.51

筋肉中の代謝物；親化合物 (I) が主要代謝物として、  
中から検出された。

代謝物が筋肉

代謝様式；ラット中でチフルザミドは、

の反応が確認された。

推定代謝経路；図にラットにおけるチフルザミドの推定代謝経路を示した。

投与経路による代謝比較；低用量経口投与と静脈内投与における代謝を比較したところ、  
経口投与の方が有意な吸収が起き、その結果として速やかな代謝が起きていることが  
確認された。

投与回数による代謝比較；反復投与の最終回投与の代謝速度が1回投与後よりもやや低く  
なっており、代謝物の差が僅かしかないことから、酵素誘導は起きていないことが推  
測された。

性差；雄では

が主要代謝物として検出され、雌では



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

が主要代謝物として検出されたことから、雄では  
代  
謝パターンに本質的な性差は認められなかった。

図. ラットにおけるチフルザミドの推定代謝経路

⑤ラットにおける胆汁排泄試験

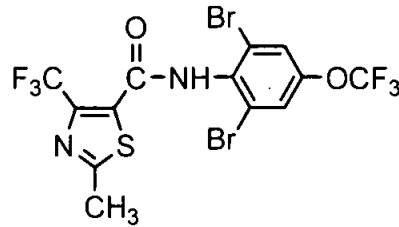
(資料No. 34-2)

試験機関：ローム・アンド・ハース社(米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1996年

供試標識化合物：下記の標識化合物を用いた。



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/g)	放射化学的純度 (%)

非標識体の純度は %であった。

供試動物：Crl:CD BR系ラット、51~65日齢、体重；雄 306~354g、雌 275~324g

方 法：胆汁排泄

試験設計は以下の通りであった。

投与群	標識体	単回経口投与量 (mg/kg)	動物数	採取試料(投与後時間)
1		2.5	雄5	尿及び糞：0, 6, 12, 24, 48, 72h
2		2.5	雌3	胆汁：6, 12, 24, 48, 72
3		750	雄4	屠殺：72h (消化管、消化管内容物、肝臓、腎臓、血液、屍体)
4		750	雌4	

手術及び管理；雌雄ラットの総胆管及び十二指腸にカニューレを施し、個別別拘束

ゲージに收容した。各動物の胆汁の流れが定常になった後、供試化合物を投与した。

投与後、飼料及び水は自由に摂取させ、タウロコール酸溶液を十二指腸に点滴した。

投与液の調製；2.5 mg/kg投与量群用は標識化合物をEmulphor EL-620に懸濁した。750 mg/kg投与量群用は標識化合物及び非標識化合物をアセトンに溶解し、Emulphor EL-620を加え150 mg/L溶液とし、アセトンを窒素気流にて除去した。

用量設定根拠；

投与量；各投与液を各ラットに5 ml/kg投与した。

放射能の測定；胆汁、尿(採尿漏斗洗浄液を含む)及び血漿は、そのまま液体シンチレー

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

シオン(LSC)で測定した。胃及び消化管はSoluene-350に溶解し、LSCで測定した。糞(水で均一化)、屍体(ドライアイスで均一化)、肝臓、腎臓及び血液は自動試料燃焼装置で $^{14}\text{CO}_2$ とし、LSCで測定した。胃内容物はメタノールに懸濁し、LSCで測定した。

結 果：

胆汁排泄率；以下の表に投与後72時間に採取した胆汁、尿糞及び72時間後の組織及び屍体中の投与放射能に対する物質収支を示した。

表. 胆汁、尿、糞及び組織中の放射能の物質収支 (原報告書Table 1~5)

試料		2.5 mg/kg群		750 mg/kg群	
		雄	雌	雄	雌
胆汁	0~6h	19.15	1.45	0.72	0.31
	6~12h	23.88 (43.03)	4.45 (5.90)	0.65 (1.37)	0.62 (0.93)
	12~24h	25.46 (68.49)	13.41 (19.31)	2.08 (3.45)	1.34 (2.27)
	24~48h	7.02 (75.51)	22.02 (41.33)	6.22 (9.67)	2.96 (5.23)
	48~72h	0.39 (75.90)	6.28 (47.61)	7.91 (17.58)	4.97 (10.20)
尿(含漏斗洗液)		14.83	19.88	2.79	8.43
糞		10.64	5.00	51.10	11.77
組織*		0.52	2.23	1.41	4.25
屍体		0.69	24.03	9.33	36.09
胃/消化管内容物**		0.18	0.12	15.97	29.08
ケージ洗液		1.20	1.39	0.82	0.89
合計		104.48	100.26	98.99	93.31
吸収率		91.94	93.75	31.11	58.97

数値は投与放射能に対する平均%、( )内の数値は累積率(%)を表す。

\*：肝臓、腎臓、血液、胃、消化管、\*\*：胃/消化管洗液を含む  
申請者注) 吸収率は胆汁+尿+組織+屍体から算出した。

2.5mg/kg投与群の雌雄で投与後72時間に投与放射能の48~76%が胆汁中に排泄され、尿中には15~20%が、また、糞中には5~11%が排泄された。一方、750mg/kg投与群の場合は雌雄で投与後72時間に投与放射能の10~18%が胆汁中に排泄され、尿中には3~8%、また、糞中には12~51%が排泄された。胆汁、尿、組織及び屍体中の総放射能分布率から、2.5mg/kg投与群では投与量の92~94%が、また、750mg/kg投与群では投与量の31~59%が動物体内に吸収されたと考えられた。尿糞中排泄比率と胆汁中排泄率の結果から、腸肝循環による再吸収率は低いことが推察された(資料No. 34-2の補足資料)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

⑥ラットにおける胆汁排泄試験（代謝物の同定）

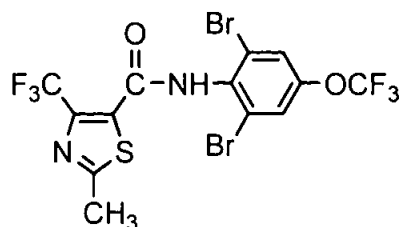
（資料No. 34-3）

試験機関：XenoBiotic Laboratories, Inc (米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1997年

供試標識化合物：下記の標識化合物を用いた。



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/g)	放射化学的純度 (%)

非標識体の純度は %であった。

供試動物：Crl:CD BR系ラット、51～65日齢、体重；雄 306～354g, 雌 275～324g

方 法：

試料； 資料No. 34-2で得た胆汁試料から胆汁中放射能の90%以上となる以下の試料を分析用に使用した。

投与群	投与量 (mg/kg)	性別	採取時間
1	2.5	雄	0-24h
2	2.5	雌	0-72h
3	750	雄	0-72h
4	750	雌	0-72h

代謝物の分析；代謝物の定量は逆相液体クロマトグラフィーを用い、同定及び構造解析は液体クロマトグラフィー/質量スペクトル分析(LC/MS)及び液体クロマトグラフィー/タンデム質量スペクトル分析(LC/MS/MS)を用いて行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

代謝物分析；以下の表に分析結果をまとめた。

表. 胆汁中代謝物分析結果（原報告書Table III）

代謝物	記号	2.5 mg/kg		750 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
合計		99.99	99.99	99.98	99.99
胆汁中の同定率 (%)		98.56	99.13	99.45	98.86

数値は胆汁中総放射能に対する比率 (%)、

未知代謝物最大値は1.55%

ラットの胆汁から  
検出されなかった。

代謝物が同定され、いずれの胆汁試料からも親化合物は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

代謝経路；胆汁中におけるチフルザミドの推定代謝経路を以下の図に示した。

図. 胆汁中におけるチフルザミドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

#### 動物代謝のまとめ（資料No. 31、32、33、34、34-2、34-3）

ラットに標識したチフルザミドを（1）2.5 mg/kg（低用量）の単回経口投与（資料No. 31、32、33、34、34-2、34-3）、（2）750 mg/kg（高用量）の単回経口投与（資料No. 31、32、33、34、34-2、34-3）、（3）2.5 mg/kgの15日間にわたる反復経口投与（資料No. 33、34）及び（4）2.5 mg/kgの単回静脈内投与（資料No. 33、34）の4種類の投与方法で投与し、チフルザミドの投与後の吸収、分布、代謝及び排泄試験を実施した。

#### 吸収（血漿中薬物動態）（資料No. 32、33、34-2）

チフルザミドをラットに単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は、低用量群では投与後4～12時間に最高値を示し、その後急速に減少し、投与後48時間には僅少となった。α相の半減期は、6.4～8.5時間、β相の半減期は48～108日を示す2相性の1次式キネティックスが最も良く適合した。AUC<sub>0-168</sub>は16～21 ppm・hであった。一方、高用量群では投与後48～72時間に最高値に達し、その後濃度は急速に減少し、投与後168時間には僅少になった。半減期は12～18時間の1相性の1次式キネティックスが最も良く適合した。AUC<sub>0-168</sub>は3777～7388 ppm・hであった。

経口と静脈内投与の尿中排泄率に基づく吸収率は、低用量で90～100%、高用量で50～80%であり、胆汁排泄率を基にした吸収率は、低用量で92～94%、高用量で31～59%であった。低用量における性差は認められなかった。

#### 分布（資料No. 31、33）

チフルザミドをラットに単回経口投与したとき、組織中放射能濃度は肝臓及び脂肪で比較的高かった。低用量群の組織中の放射能濃度は投与11時間後に最も高かったが、投与後7日以内に急速に消失した。高用量群では投与62時間後にも高濃度の放射能が検出されたが、7日以内に消失した。

#### 代謝（資料No. 34、34-3）

チフルザミドをラットに投与したとき、チフルザミドは糞、消化管内容物、血漿、脂肪及び筋肉中で主要残留物であった。尿、糞及び胆汁中の代謝物から、

雄では  
が主要代謝物として検出され、  
雌では  
が主要代謝物として検出されたことから、  
が示唆された。代謝パターンに本質的な性差は認められなかった。

#### 排泄（資料No. 31、33、34-2）

チフルザミドをラットに投与したとき、体外排泄は比較的速やかであり、いずれの投与方法の場合も120時間以内に大部分の放射能が排泄された。主要な排泄経路は糞であり、投与

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

量の67～90%を占め、残余は尿から排泄された。排泄について低用量群では性差はみられなかったが、高用量群では雄の糞中排泄量が雌より有意に高かった。チフルザミドの胆汁中への排泄率は低用量で48～76%、高用量で10～18%であった。

以下にラット全体の推定代謝経路を示した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

## 2. 植物における代謝試験

### ①水稲における代謝

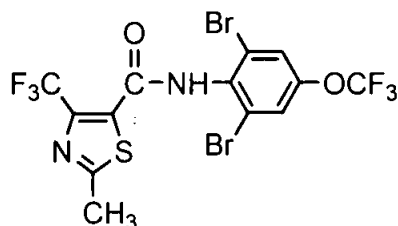
(資料 No. 35)

試験機関：モンサント社(米国)

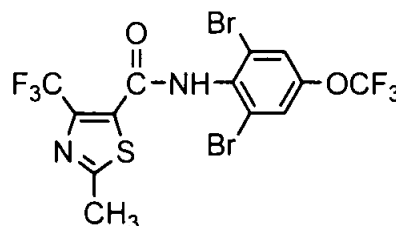
[GLP対応]

報告書作成年：1990年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

標識体及び非標識体の純度は %であった。

供試植物：水稲（品種；S-201、短粒、早生）

栽培条件；直径30cm、13.25L容のプラスチック製ポットに肥料を含む砂壤土を充填し、水深が約3 cmになるように水を加え、2週令の苗をポットあたり7本移植した。約2週間後に苗を間引き、ポットあたり5本とした。ポットは夜間17~27℃、昼間25~35℃の温室内に設置し、早朝と夕刻に人工光で補光した。

方 法：

試験設計；各処理群毎の処理及び試料採取について以下にまとめた。

処理群	ポット数	処理方法	処理量(回数)	処理時期	試料採取時期(DAT)
	6	無処理	-	-	1, 14, 50*, 62
	6	無処理	-	-	1, 14, 50*, 62
	18	土壌処理1回	2242g ai/ha(1)	出穂21日前	1, 7, 14, 21, 42, 50*, 62
	18	土壌処理1回	2242g ai/ha(1)	出穂21日前	1, 7, 14, 21, 42, 50*, 62
	11	茎葉処理1回	1121g ai/ha(1)	出穂14日前	1, 7, 14, 21, 42, 62
	11	茎葉処理1回	1121g ai/ha(1)	出穂14日前	1, 7, 14, 21, 42, 62
	7	茎葉処理2回	1121g ai/ha(2)	出穂14日前/出穂7日後	50*, 62
	7	茎葉処理2回	1121g ai/ha(2)	出穂14日前/出穂7日後	50*, 62

\*：オートラジオグラフィーのために分けつ葉を採取

DAT：1回目処理後日数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

処理方法； 処理区は 混合物として、 処理区は非標識体 (123mg) との混合物として調製した。含水アセトンに溶解して処理液とし、それぞれ上記の処理時期に田面水あるいは葉の表面に処理した。

処理量の設定根拠；

試料採取及び試料調製；処理後経時的に地上部及び水洗した根部を採取し、凍結乾燥後磨砕均一化し、燃焼法にて各試料中の放射能レベルを測定した。収穫時となる処理62日後の試料は、放射能レベル測定用に地上部から茎葉部、玄米、白米及び籾殻を調製した。茎葉部、玄米、籾殻及び根部は、抽出液を機器分析に供し、残留成分を定性及び定量した。

オートラジオグラフィー；放射能の移行性を見るために、処理50日後の分けつ葉をフィルムに密着させ、オートラジオグラムを得た。

分析方法；定量用試料は含水アセトニトリルで4回振とう抽出し、抽出液（放射能レベルに応じて濃縮）をHPLCにて定量した。残留成分の同定は、抽出液の有機溶媒画分を直接、あるいはHPLC分取で単離精製してGC/MS分析あるいはHPLCによるクロマトグラフィーにて同定した。また、一部の単離精製品は誘導体化して、GC/MS分析あるいはGCによるクロマトグラフィーにて同定した。

分析機器；

液体シンチレーションカウンター (LSC)：液体試料はシンチレーションカクテルと混合して放射能を測定した。

試料燃焼装置：固体試料中の放射能は試料燃焼装置にて燃焼後、トラップした $^{14}\text{CO}_2$ をLSCで測定した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：グラジエント機能付ポンプ、フラクションコレクター、ラジオ検出器及びUV検出器付HPLCを用いて、分取及び試料分析を行った。使用カラムは逆相系セミ分取カラムを使用した。

ガスクロマトグラフィー (GC)：FID検出器付GCにDB-5メガボアカラムを装着し、排気を放射能検出器でモニターした。

GC/質量分析計 (GC/MS)：DB-5キャピラリーカラムを装着し、化学イオン化により負イオンまたは正イオンを分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

植物体への吸収移行；稲体各部位の残留放射能の濃度推移を表1に、収穫時の地上部の残留濃度及び分布率を表2に示した。

表1. 稲体中の放射能濃度推移（原報告書Table 5及び6）

処理法	分析試料	標識体	放射能濃度(チフルザミド換算 $\mu\text{g}/\text{乾燥重量g}$ , ppm)					
			1日	7日	14日	21日	42日	62日
無処理	茎葉部		0.003	—	0.095	—	—	0.52
			0.004	—	0.12	—	—	0.65
	根部		—	—	0.02	—	—	0.079
			0.014	—	0.012	—	—	0.047
土壌処理	茎葉部		0.29	11	26	41	34	36
			1.3	19	25	30	30	41
	根部		1.8	33	34	—	15	43
			5.0	54	31	—	40	36
茎葉1回処理	茎葉部		53	—	—	—	—	—
			39	—	—	—	—	—
	根部		—	0.31	0.40	0.77	1.9	—
			1.6	2.5	1.6	2.9	2.6	—
茎葉2回処理	茎葉部		—	—	—	—	—	79
			—	—	—	—	—	73
	根部		—	—	—	—	—	1.1
			—	—	—	—	—	2.4

—：測定せず。

表2. 収穫時(62日)の地上部における残留濃度および分布率（原報告書Table 9）

処理法	標識体	残留濃度(チフルザミド換算 $\mu\text{g}/\text{乾燥重量g}$ , ppm)					
		茎葉部	根部	玄米	白米	糠	籾殻
無処理		0.52	0.079	0.004	0.003	—	0.083
		0.65	0.047	0.004	0.002	—	0.097
土壌処理		36 (18)	43 (22)	0.20 (0.10)	0.079 (0.040)	1.2 (0.6)	2.7 (1.4)
		41 (21)	36 (18)	0.20 (0.10)	0.077 (0.039)	1.4 (0.70)	2.8 (1.4)
茎葉1回処理		—	—	0.028	—	—	0.53
		—	—	0.033	—	—	0.87
茎葉2回処理		79 (20)	1.1 (0.28)	0.11 (0.028)	0.11 (0.028)	—	10 (2.5)
		73 (18)	2.5 (0.63)	0.17 (0.043)	0.14 (0.043)	—	10 (2.5)

—：測定せず。

申請者注) 土壌処理及び茎葉2回処理について、それぞれ2及び4で除して実用濃度を( )内に示した。

土壌処理の場合、茎葉部の放射能の濃度は処理後7日から増加し、収穫時には乾燥重量濃度で36~41 ppmに達し(実用換算濃度：18~21 ppm)、玄米中にも0.20 ppm 検出された(実用換算濃度：0.10 ppm)。玄米を白米と糠に分けた場合、白米(平

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

均0.078 ppm) よりも糠 (平均1.3 ppm) の方が放射能濃度が高かった。一方、根部も同様に処理後7日から増加し、収穫時には乾燥重量濃度で36~43ppmに達した (実用換算濃度: 18~22 ppm)。収穫時の茎葉部中の濃度 (平均38.5 ppm) から計算すると、処理量の46%が茎葉中に含まれていた (平均茎葉部重量: 197g、平均処理量: 16.6 mg)。処理50日後の分けつ葉のオートラジオグラフィーの結果、放射性残留物は茎葉部全体に均一に分布し、穂部は茎葉部よりも放射能レベルが低いことが示された。

茎葉処理の場合、1回処理による玄米中の放射能濃度は、0.028~0.033 ppmであり、2回処理では0.11~0.17 ppmであった (実用換算濃度: 0.028~0.043 ppm)。2回処理での収穫時の茎葉部の放射能濃度は、73~79 ppmであり (平均76 ppm)、処理量の90%を示した (平均茎葉部重量: 197g、平均処理量: 16.6 mg)。オートラジオグラフィーの結果から、茎葉処理の場合は容易に移動しないことが示された。無処理区の試料から放射能が検出された原因は、オートラジオグラフィーの結果から、処理区から揮散した親化合物が無処理区の植物表面に吸着されたことによると結論付けられた。

代謝物; 代謝物の分析結果を表3に結果を示した。

表3. 収穫時の稲体各部位における放射能分布 (原報告書Table 15及び16)

処理	試料	標識体	チフルザミド換算実用濃度、 $\mu\text{g}/\text{乾燥重量g}$ , ppm			
			チフルザミド (1)			抽出残渣
土壌処理	茎葉		14.4 (80)			1.80 (10)
			15.9 (77)			2.67 (13)
	玄米		0.075 (75)			0.008 (8)
			0.080 (82)			0.003 (3)
	根部		18.8 (87)			1.51 (7)
			16.1 (89)			1.44 (8)
茎葉2回処理	茎葉		18.4 (93)			1.58 (2)
			17.7 (97)			2.19 (3)
	玄米		0.022 (80)			0.001 (5)
			0.038 (87)			0.001 (3)
	籾殻		2.35 (94)			0.075 (3)
			2.40 (96)			0.050 (2)
	根部		0.21 (77)			0.025 (9)
			0.51 (82)			0.063 (10)

( )内は試料中残留放射能に対する比率 (% TRR)。ND: 検出せず。

申請者注) 原報告書Table 15の結果について、実用濃度を算出するために、土壌処理及び茎葉2回処理のデータをそれぞれ2及び4で除した。

土壌処理の場合、チフルザミド (1) は主として茎葉部及び根部に存在した。茎葉部、玄米、根部の総放射能の75~89% TRRは親化合物 (1) であり、他に

TRR検出された。また、茎葉部では、その他に TRR検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

茎葉処理の場合、チフルザミド (I) は主として茎葉部に存在した。玄米、籾殻、根部の総放射能の77~97% TRRは親化合物 (I) であり、他に  
検出された。

同定された3化合物を基に水稻中の推定代謝経路を図1に示した。

図1. 水稻におけるチフルザミドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②小麦における代謝

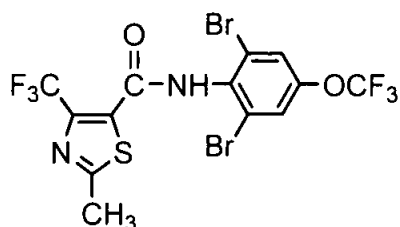
(資料 No. 35-2)

試験機関：モンサント社(米国)

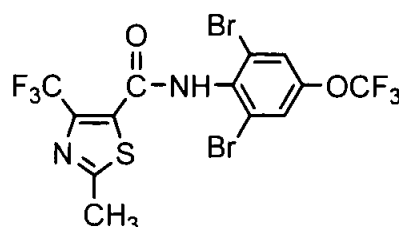
[GLP対応]

報告書作成年：1992年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

標識体及び非標識体の純度は %であった。

供試植物：小麦（品種；Anza）

栽培条件；15 cmのポットにMetromix 200（ピートモス、パーライト及び花崗岩砂を混合したポット用土壌）を詰めて灌水後に、各ポットの8ヶ所に2.5 cmの窪みを設け、小麦の種子を1粒ずつ入れて覆土し、温室内で栽培した。植物が第1節形成期に達した時点（約1ヶ月後）で、薬剤処理を行なうための供試植物とした。ポットは昼間17℃、夜間20℃に設定したチャンバー内に静置し、人工光（16/8時間明暗サイクル）で生育した。

方法：

試験設計；各試験区毎の処理及び試料採取について以下にまとめた。

試験区	ポット数	被験物質	処理量	処理時期	試料採取時期 (DAT)
対照区	15	非標識体	5940g ai/ha	第一節形成期	32 (茎葉部) 及び 98 (麦藁/粉殻/玄麦)
処理区	41	標識体	5940g ai/ha	第一節形成期	32 (茎葉部) 及び 98 (麦藁/粉殻/玄麦)

処理方法；非標識体、 標識体、 標識体及び 標識体を 混合したものを 被験物質とした。処理液は0.05%のTween20を含む50%アセトン水溶液を用いて調製した。第一節形成期（播種後約35日）に噴霧器を用いて地上部全体を処理した。

処理量の設定根拠；

試料採取及び試料調製；処理32日後（茎葉部）及び98日後（最終収穫）に地上部を採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

処理98日後の試料は、麦藁、籾殻及び玄麦に分け、全ての試料は粉碎して均一化した。

分析方法； 粉碎試料は燃焼法にて、各試料中の残留放射能濃度を測定した。定量用試料は含水アセトニトリルで4回振とう抽出し、抽出液をHPLCにて定量した。残留成分の同定は、抽出液から単離・精製し、HPLCクロマトグラフィー及びLC/MSあるいはGC/MSで同定した。また、未知代謝物の特徴付けのために、酸加水分解、イオンクロマトグラフィー、メチル化、<sup>19</sup>F-NMRスペクトルを用いた。

分析機器；

液体シンチレーションカウンター (LSC)：液体試料はシンチレーションカクテルと混合して放射能を測定した。

試料燃焼装置：固体試料中の放射能は試料燃焼装置にて燃焼後、トラップした<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>をLSCで測定した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：グラジエント機能付ポンプ、フラクションコレクター、ラジオ検出器及びUV検出器付HPLCを用いて、分取及び試料分析を行った。使用カラムは逆相系カラムを使用した。

ガスクロマトグラフィー/質量分析計 (GC/MS)：DB-5キャピラリーカラムを装着し、化学イオン化により正イオンを分析した。

HPLC/質量分析計 (LC/MS)：逆相系HPLCに高速原子衝撃質量分析計 (FAB-MS) を接続し、負イオンを分析した。

試験結果：

植物試料中総放射能； 燃焼法による各試料中の放射能レベルを表1にまとめた。実用放射能濃度は実測値を30で除した計算値である。

表1. 植物試料中の放射能比率及び濃度 (原報告書Table 6)

試料		地上部放射能に対する比率 (%)	濃度 (ppm) (実用換算濃度)	取込比率 (%)	
32日後	茎葉部	対照区	100	0.007 (0.00)	
		処理区	100	43.9 (1.46)	54.1
98日後	麦藁	対照区	71.8	0.037 (0.00)	-
		処理区	94.0	329 (10.97)	71.3
	籾殻	対照区	13.7	0.033 (0.00)	-
		処理区	6.0	30.0 (1.0)	3.8
	玄麦	対照区	14.5	0.004 (0.00)	-
		処理区	0.1	0.176 (0.006)	0.02

収穫時 (処理98日後) における小麦の各試料中の残留放射能の分布は、麦藁に地上部放射能の94% (残留濃度は329 ppm) が検出され、籾殻及び玄麦中の残留放射能は、それぞれ6% (残留濃度は30 ppm) 及び0.1% (残留濃度は0.176 ppm) であった。

対照区から検出された放射能は処理区からの揮発性<sup>14</sup>C及び<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>由来であると考えられた。

植物内代謝物の濃度及び比率； 各試料中の放射能分布を表2にまとめた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. 植物試料中放射能分布 (原報告書Table 7及び8)

試料 (抽出効率)		抽出画分				抽出 残渣	合計
		チフルザミド (1)					
茎葉部	32日後 (99.8%)	1.38 (94.4)				0.008 (0.2)	1.46 (100.0)
麦藁	98日後 (99.6%)	10.2 (93.4)				0.023 (0.4)	11.0 (100.0)
粉殻	98日後 (96.2%)	0.83 (86.2)				0.019 (3.8)	1.00 (100.0)
玄麦	98日後 (97.0%)	0.005 (82.7)				0.000 (3.0)	0.006 (100.0)

上段：チフルザミド 実用換算濃度 (ppm)、下段：% TRR。0.000：<0.0005。

申請者注) 原報告書Table 8の結果について、実用濃度を算出するために、実測データを30で除した。

各試料中放射能の96.2~99.8%は含水アセトニトリルで抽出された。HPLC分析の結果、チフルザミド (1) は植物体中では主要な残留成分であり (GC/MSで同定)、茎葉部、麦藁、粉殻及び玄麦における比率はそれぞれ94.4%、93.4%、86.2%及び82.7%であった。その他に2種類の少量の代謝物が検出され、HPLCコクロマトグラフィー及びLC/MSによって

として同定された。

実用処理での

これらの代謝物は、粉殻及び玄麦中では0.01 ppm未満の極めて低濃度となることが示唆された。

以上のことからチフルザミドは処理された部位からの移行性は低く、可食部 (玄麦) 中の残留性は低いことが示唆された。

同定された3化合物を基に小麦中の推定代謝経路を図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日産化学工業株式会社にある。

図1. 小麦におけるチフルザミドの推定代謝経路

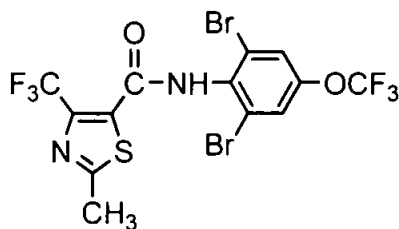
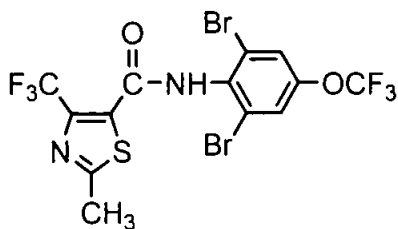
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

③落花生における代謝

(資料 No. 35-3)

試験機関：モンサント社(米国)  
[GLP対応]  
報告書作成年：1993年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物

標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

標識体及び非標識体の純度は %であった。

供試植物：落花生（品種；Florunner）

栽培条件；砂質壤土に肥料を加えたものを30 cmのポットに詰めて、子実9粒を播種し、覆土後、24℃に設定した温室内に静置した。人工光を用いて補光しながら生育させ、植物が開花/ペギング期（播種後69～82日後）に達した時、ポット当たり1本になるように間引き、薬剤処理を行なうための供試植物とした。

方法：

試験設計；各試験区毎の処理及び試料採取について以下にまとめた。

試験区	ポット数	被験物質	処理量	処理時期	試料採取時期 (DAT)
無処理区	6	-	-	-	1, 14, 107*
処理区	48		3400g ai/ha	開花/ペギング期	1, 14, 91, 107*
無処理区	6	-	-	-	1, 107*
処理区	47		3400g ai/ha	開花/ペギング期	1, 107*

\*：収穫期（収穫後3日間乾燥）を示す。収穫期以外の試料採取は放射能レベルの確認及び分析法検討用に使用された。

処理方法； 処理区は を混  
合したもの（比放射能 ））、 処理区は非標識体 (705.98 mg) 及び 標識体  
(704.89 mg) を混合したもの（比放射能 ）を被験物質とした。各標識チフ  
ルザミドのアセトン/水/Tween20 (50/48.6/0.4) 溶液を調製し、各ポット当たり5 ml (処理  
量として3400 g ai/ha) を開花/ペギング期の茎葉部に直接滴下した。

処理量の設定根拠；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試料採取及び試料調製；処理107日後（収穫期）に植物体を土壌から引き抜き、3日間の乾燥後  
茎葉部、殻及び子実に分けた。各試料は、粉碎して均一化した。

分析方法；粉碎試料は燃焼法にて、各試料中の残留放射能濃度を測定した。定量用試料は以下の分析操作に準拠した。残留成分の同定は、抽出液から単離・精製し、HPLCクロマトグラフィー及びLC/MSあるいはGC/MSで同定した。

#### 分析機器；

液体シンチレーションカウンター (LSC)：液体試料はシンチレーションカクテルと混合して放射能を測定した。

試料燃焼装置：固体試料中の放射能は試料燃焼装置にて燃焼後、トラップした $^{14}\text{CO}_2$ をLSCで測定した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：グラジエント機能付ポンプ、フラクションコレクター、ラジオ検出器及びUV検出器付HPLCを用いて、分取及び試料分析を行った。使用カラムは逆相系カラムを使用した。

ガスクロマトグラフィー (GC)：FID検出器付GCにDB-5メガポアカラムを装着し、排気を放射能検出器でモニターした。

GC/質量分析計 (GC/MS)：DB-5キャピラリーカラムを装着し、化学イオン化により正イオンを分析した。

HPLC/質量分析計 (LC/MS)：逆相系HPLCに高速原子衝撃質量分析計 (FAB-MS) を接続し、負イオンを分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

植物試料中総放射能； 燃焼法による収穫時の各試料中放射能レベルを表1にまとめた。実用放射能濃度は実測値を6で除した計算値である。

表1. 試料中の放射能濃度及び比率（原報告書Table 7及び9）

処理区	チフルザミド換算濃度, ppm					
	子実		殻		茎葉部	
	実測値	実用濃度	実測値	実用濃度	実測値	実用濃度
無処理	0.0132	0.0022	0.0243	0.0041	0.1757	0.0293
無処理	0.0124	0.0021	0.0973	0.0162	0.4314	0.0719
処理	0.5362 (0.17)	0.0894	7.6506 (0.74)	1.2751	78.566 (99.1)	13.094
処理	0.5955 (0.19)	0.0993	8.8642 (0.82)	1.4774	74.972 (99.0)	12.495

( )内の数値は植物中総放射能に対する比率 (%)

落花生植物体において、 標識体を処理した場合の各植物組織体中の残留放射能比率は、両標識間で良く一致した。放射能の分布は、茎葉部に植物中総放射能の99%が検出（実用濃度として約13 ppm）され、殻及び子実中の残留放射能は植物中総放射能のそれぞれ0.8%（実用濃度として約1.4 ppm）及び0.2%（実用濃度として約0.1 ppm）であった。

植物内代謝物の比率； 植物内代謝物の実用濃度（チフルザミド換算）及び代謝物の植物体内比率を表2に示した。実用濃度は実測値を6で除した計算値である。

表2. 試料中の代謝物実用濃度及び比率（原報告書Table 7、12及び13）

試料		上段：チフルザミド換算実用濃度, ppm、下段：% TRR					
		チフルザミド (1)					合計
子実		0.0855					0.0894
		95.6					100.0
		0.0925					0.0993
		93.2					100.0
殻		1.1328					1.2751
		88.8					100.0
		1.3135					1.4774
		88.9					100.0
茎葉部		12.683					13.094
		96.9					100.0
		12.272					12.495
		98.2					100.0

ND：検出せず

申請者注) 原報告書Table 12及び13に記載の濃度と原報告書Table 7の総放射能濃度と一致させるために申請者が補正し、% TRRを申請者が算出した。

代謝物の分析結果から、両環結合部の開裂は起こらないものと推測された。チフルザミド (1) は植物体中では主要な残留成分であり (GC/MSで同定)、子実、殻及び茎葉部

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

における比率はそれぞれ93% TRR以上、88% TRR以上及び96% TRR以上を占めた。その他に2種類の少量の代謝物が検出され、HPLCクロマトグラフィー、GCクロマトグラフィー及びLC/MSによってとして同定された。

これらの可食部（子実）中濃度は0.01 ppm未満の極めて低濃度となることが確認された。また、殻から検出された未知代謝物12minの特徴付けの結果、酸性化合物ではないことが示された。

以上のことからチフルザミドは処理された部位からの移行性は低く、可食部（子実）中の残留性は低いことが示唆された。

同定された3化合物を基に落花生中の推定代謝経路を図1に示した。

図1. 落花生におけるチフルザミドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

植物代謝試験のまとめ (資料No. 35、35-2、35-3)

チフルザミドの適用作物における作物残留分析成分を決定するため、水稻、小麦及び落花生の3作物での植物代謝試験を実施した。試験方法の概要を表1に示した。

表1. 植物代謝試験方法概要

作物	水稻	小麦	落花生
資料No.	35	35-2	35-3
供試標識体	別々に処理	混合物処理	別々に処理
処理液及び処理方法	含水7セトン溶液を田面水あるいは茎葉部に滴下	Tween 20を含む含水7セトン溶液を茎葉部に噴霧	Tween 20を含む含水7セトン溶液を茎葉部に滴下
処理量	土壌処理: 2242 g ai/ha 茎葉処理: 1121 g ai/ha (x2)	5940 g ai/ha	3400 g ai/ha
処理回数	土壌処理: 1回 茎葉処理: 2回 (処理間隔21日)	1回	1回
最終処理後収穫日	土壌処理: 62日 茎葉処理: 41日	98日	107日
試料分析部位	土壌処理: 茎葉部、玄米(白米/糠)、籾殻根部 茎葉処理: 茎葉部、玄米(白米)、籾殻、根部	麦藁、籾殻、玄麦	茎葉部、殻、子実

(1) 可食部及び茎葉部における放射能分布

各作物の収穫時期における総放射性残留物濃度 (TRR) 及び各画分への分布比率 (% TRR) を表2に示した。TRRは実用処理換算値を示す。

表2. 可食部及び茎葉部における放射能分布

水稻 (土壌処理)				水稻 (茎葉処理)				小麦				落花生			
玄米*		稲藁*		玄米*		稲藁*		玄麦		麦藁		子実*		茎葉部*	
TRR = 0.10 ppm		TRR = 19 ppm		TRR = 0.04 ppm		TRR = 19 ppm		TRR = 0.006 ppm		TRR = 11 ppm		TRR = 0.09 ppm		TRR = 13 ppm	
分画	% TRR	分画	% TRR	分画	% TRR	分画	% TRR	分画	% TRR	分画	% TRR	分画	% TRR	分画	% TRR
抽出	95	抽出	88	抽出	96	抽出	98	抽出	97	抽出	99.6	抽出	97	抽出	99.7
残渣	5	残渣	12	残渣	4	残渣	2	残渣	3	残渣	0.4	残渣	3	残渣	0.3
合計	100	合計	100	合計	100	合計	100	合計	100	合計	100	合計	100	合計	100

\*: 平均値を使用した

ほとんどの試料から95%以上の放射能が抽出され、残渣は5%以下であった。根から吸収された放射能及び茎葉部に処理された放射能は、ほとんどが茎葉部に留まり、可食部への移行性は低かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

(2) 可食部及び茎葉部における代謝物

各作物の可食部及び茎葉部における各代謝物の比率(% TRR)を表3に示した。

表3. 可食部あるいは茎葉部における代謝物の比率

代謝物	水稻 (土壌処理)		水稻 (茎葉処理)		小麦		落花生	
	% TRR		% TRR		% TRR		% TRR	
	玄米	稲藁	玄米	稲藁	玄麦	麦藁	子実	茎葉部
チフルザミド (I)	75-82	77-80	80-87	93-97	83	93	96-98	97-98

両標識体を別々に処理した場合は範囲で示す。

各植物間での代謝プロファイルは で、全植物体から共通の代謝物  
が検出された。

主要残留成分はチフルザミド (I) のみであり、処理形態及び植物間の代謝様式に大きな差はみられなかった。

申請者注) 適用作物は水稻のみである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

### 3. 土壌における運命

#### ①好氣的湛水土壌代謝

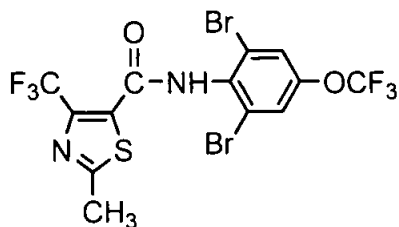
(資料 No. 36)

試験機関：モンサント社（米国）

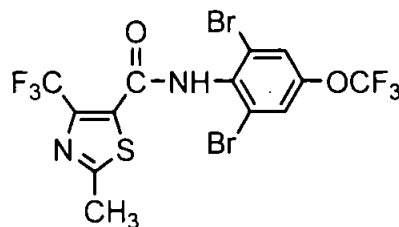
[GLP対応]

報告書作成年：1991年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

本試験では、

を被

験物質として使用した。

供試土壌：日本の火山灰水田土壌及び米国の粘土質水田土壌を本試験で使用した。以下に両土壌の物理化学的性質を示した。

	日本土壌	米国土壌
土 性	壤土	埴土
砂土 (%)	48	14
シルト (%)	38	32
粘土 (%)	14	54
有機物含量 (%)	3.9	1.9
1/3bar相当水分量	41.04	31.76
pH	5.7	7.7
リン (ppm)	9	62
カリウム (ppm)	67	293
マグネシウム (ppm)	192	809
カルシウム (ppm)	1212	3115
水素イオン置換能 (meq/100g)	2	0
陽イオン交換容量 (meq/100g)	9.9	23.1
比重 (g/cm <sup>3</sup> )	0.88	1.17



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

#### 試験方法：

土壌の調製；試験開始前に土壌を風乾し、2 mm目の篩を通した後、各土壌の水分を測定した。

乾土重量50 gに相当する生土を150 ml容の遠沈管に秤取し、田面水（水稻耕作用の灌漑水）を加えて土壌を完全に水で飽和させた後、さらに田面水を加えて土壌表層からの湛水深を2 cmに調整した。各土壌容器の口にポリウレタンフォームプラグを詰め、25℃に調節した培養室に静置した。各土壌の滅菌区土壌試料は同様に150 ml容のフラスコに秤取し、132℃、30分間、2回のオートクレーブ滅菌を行った後、0.2 μmの滅菌フィルターを通した田面水で湛水した。

処理方法；非滅菌区土壌試料は、2週間の予備培養後に、滅菌土壌試料は2回目のオートクレーブ処理1日後に被験物質のアセトニトリル溶液を87 μL添加し、乾土換算で1.5 ppm添加とした（実測値は1.73 ppm）。試料は試験系から発生する揮発性有機化合物と<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集しうるよう設計された特殊培養室で25℃、暗条件下で培養した。

申請者注）試験の中で土壌還元層の確認は行っていないが、2週間の予備培養を行っている点、また、還元反応により生成する、が日本土壌で処理30日以降、米国土壌で処理71日以降に検出されている点から、土壌は還元状態になっていると考えられる。

処理量の設定根拠；

CO<sub>2</sub>と揮発性分解物の捕集；試験系から揮発性物質として放出された物質は試料フラスコの口に詰めたポリウレタンフォームプラグと、エタノールアミントラップで、<sup>14</sup>C<sub>2</sub>は、エチレングリコール/エタノールアミンの混合液（2:1）からなるトラップで捕集した。

試料採取；非滅菌土壌については処理直後及び処理1、7、14、30、71、98、150、240、308及び363日後に、滅菌土壌については処理直後及び処理30、150及び363日後に2連の土壌試料を採取した。

放射能の測定；各試料について行った分析フローを以下に示した。

田面水の分析；採取した田面水の試料を4000 rpmで10分間遠沈し、上澄液の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。アセトニトリルを加え一部をHPLC分析に供した。

土壌の抽出；田面水を除いた後の土壌試料は放射性被験物質とその代謝物を抽出するためアセトニトリル及び含水アセトニトリル（または酸性含水アセトニトリル）で反復抽出した。抽出回数と抽出溶媒は土壌から抽出される代謝物の量を最大とするため、試料採取時期

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

により変えた。抽出液中の放射エネルギーはLSCで定量した。抽出液とアセトニトリル含有の田面水を混合し、減圧下で濃縮後、アセトニトリルを加えてHPLC分析に供した。

HPLC測定条件；C<sub>18</sub>セミ分取カラムを用い、移動相はアセトニトリルと1%酢酸水のグラジエントプログラムにより各成分を分離した。カラムからの溶出液は254 nmのUV検出器及び放射能フロー検出器でモニターした。本システムは各成分の分取用にも使用した。

抽出残渣；抽出残渣中の放射エネルギーは試料を試料燃焼装置を用いて燃焼させ、発生した<sup>14</sup>C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>は吸収剤で捕集しシンチレーションカクテルと混合してLSCで測定した。日本土壌の処理363日後の抽出残渣について特徴付けを行った。アセトニトリル/水/酢酸(80:18:2)で36時間ソックスレー抽出し(HPLC分析に供試)、更にその抽出残渣を0.5Nの水酸化ナトリウムで15時間振とう抽出し、抽出液中の放射エネルギーをLSCで測定した。最終抽出残渣は燃焼法により放射エネルギーを測定した。

揮発性物質と<sup>14</sup>C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>；試験系から揮散またはCO<sub>2</sub>に分解した放射性被験物質は、捕集溶液にシンチレーションカクテルを加えLSCで測定し、またウレタンフォームプラグ中に捕集された放射エネルギーはプラグをシンチレーションカクテルに入れて直接LSCで測定した。

放射性残留化合物の同定；HPLC分取によって各成分の画分を集め、合成標品とのHPLCクロマトグラフィーを行った。また一部の画分については標品と共にジアゾメタン処理を行い、HPLCクロマトグラフィーに供した。また、GC/MS分析により最終的な構造確認を行った。半減期の算出；縦軸にチフルザミドの処理放射エネルギーに対する比率の自然対数、横軸に処理後の日数をプロットし、一次減衰モデルによって半減期を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験結果：

放射能の収支；2種の土壌における処理放射能の経時的な回収率を表1及び2にまとめた。

表1. 日本土壌における放射能分布 (原報告書Table III)

採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)									
	非滅菌区					滅菌区				
	抽出液 (含田面水)	抽出 残渣	揮発性 物質	CO <sub>2</sub>	全回収 放射能	抽出液 (含田面水)	抽出 残渣	揮発性 物質	CO <sub>2</sub>	全回収 放射能
0	98.04	2.16	0.15	0.00	100.34	96.91	1.73	0.33	0.00	98.97
1	96.37	3.79	0.02	0.00	100.17	—	—	—	—	—
7	94.36	4.75	1.04	0.01	100.15	—	—	—	—	—
14	94.99	5.50	0.06	0.01	100.56	—	—	—	—	—
30	92.52	8.62	0.11	0.03	101.27	96.02	3.27	0.35	0.00	99.63
71	91.41	6.75	0.20	0.10	98.46	—	—	—	—	—
98	92.96	7.44	0.37	0.16	100.92	—	—	—	—	—
150	92.79	6.99	0.40	0.27	100.45	95.94	2.73	0.78	0.01	99.45
240	87.54	11.49	0.42	0.81	100.24	—	—	—	—	—
308	86.38	11.81	0.45	1.76	100.40	—	—	—	—	—
363	81.22	15.34	0.43	3.16	100.15	92.26	6.32	0.71	0.02	99.30

—：試料なし

表2. 米国土壌における放射能分布 (原報告書Table IV)

採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)									
	非滅菌区					滅菌区				
	抽出液 (含田面水)	抽出 残渣	揮発性 物質	CO <sub>2</sub>	全回収 放射能	抽出液 (含田面水)	抽出 残渣	揮発性 物質	CO <sub>2</sub>	全回収 放射能
0	97.52	1.33	0.05	0.00	98.90	97.75	0.93	0.10	0.00	98.78
1	96.25	2.13	0.00	0.00	98.38	—	—	—	—	—
7	95.07	4.11	0.28	0.01	99.46	—	—	—	—	—
14	94.67	4.48	0.03	0.01	99.18	—	—	—	—	—
30	92.00	6.73	0.07	0.08	98.88	96.41	2.40	0.08	0.00	98.90
71	91.60	6.96	0.16	0.18	98.89	—	—	—	—	—
98	93.72	4.75	0.14	0.24	98.84	—	—	—	—	—
150	91.10	7.18	0.29	0.31	98.88	95.20	3.25	0.35	0.01	98.81
240	88.22	7.91	0.46	0.90	97.48	—	—	—	—	—
308	85.39	8.04	0.84	1.96	96.22	—	—	—	—	—
363	80.88*	9.70*	1.11*	3.11*	94.80*	94.52	3.66	0.50	0.04	98.71

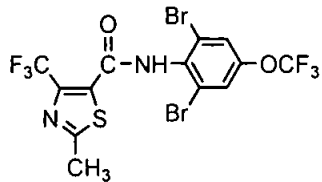
—：試料なし、\*：試料紛失による1連のみのデータ

両土壌ともに物質収支は良好であり、日本土壌で98~101%、米国土壌で95~99%であった。非滅菌区の両土壌における揮発性物質は、日本土壌で最大1.0%、米国土壌で最大1.1%検出されたが、日本土壌の場合は田面水によるポリウレタンフォームへの汚染の可能性が高く、揮発性物質は1%未満と考えられた。<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>は、両土壌とも経時的に増加し、処理363日後に最大値を示した(日本土壌：3.2%、米国土壌：3.1%)。滅菌区の両土壌から発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>は0.04%以下であり、非滅菌区ではチフルザミドがCO<sub>2</sub>まで分解される

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

ことが確認された。抽出残渣は、処理直後で1.3~2.2%であったが、経時的に増加し、処理363日後には日本土壌で15%、米国土壌で9.7%を示した。

代謝物の同定と定量；土壌の抽出液から未変化のチフルザミド及び下記の5種の代謝物が同定された。



チフルザミド (1)

これら代謝物の処理放射能に対する比率 (%) を表 3 及び 4 に示す。

表 3. 日本土壌における代謝物比率 (原報告書Table V)

試験区	試料 採取日	処理放射能に対する比率 (平均, %)					
		チフルザミド (1)					
非滅菌	0	97.68					
	1	95.79					
	7	93.82					
	14	94.24					
	30	91.40					
	71	88.16					
	98	88.13					
	150	82.79					
	240	72.43					
	308	68.53					
363	63.56						
滅菌	0	96.77					
	30	95.05					
	150	95.55					
	363	91.35					

— : 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日産化学工業株式会社にある。

表4. 米国土壌における代謝物比率（原報告書Table VI）

試験区	試料 採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)					
		チフルザミド (1)					
非滅菌	0	97.03					
	1	95.71					
	7	93.57					
	14	93.23					
	30	90.21					
	71	88.04					
	98	90.26					
	150	86.10					
	240	80.97					
	308	75.67					
363	72.83*						
滅菌	0	97.32					
	30	95.47					
	150	94.55					
	363	93.18					

— : 検出されず、\* : 1連のみのデータ

日本土壌において、処理放射能の10%以上となる主要代謝物は、のみであり、  
 処理30日後から検出され、経時的に増加し、処理363日後に11%検出された。その他に  
が処理71日後から確認され、処理308日後に最大6.0%検出され  
 た後、処理363日後には5.2%に減少した。マイナー代謝物として、  
検出さ  
 れた。

一方、米国土壌では主要代謝物はなく、  
 が最大であった。代謝物の種類は日本土壌と同様であり、

検出された。

各試験系の滅菌区の結果から、非滅菌土壌におけるチフルザミドの分解は土壌及び田面  
 水の微生物によることが示唆された。  
 非滅菌区におけるチフルザミドの半減期は一次減衰モデルを用いた計算により（図1）、  
 日本土壌で620日、米国土壌で976日と計算された。

抽出残渣の特徴付け；処理363日後の日本土壌の抽出残渣について、検討した結果を表5に示し  
 た。

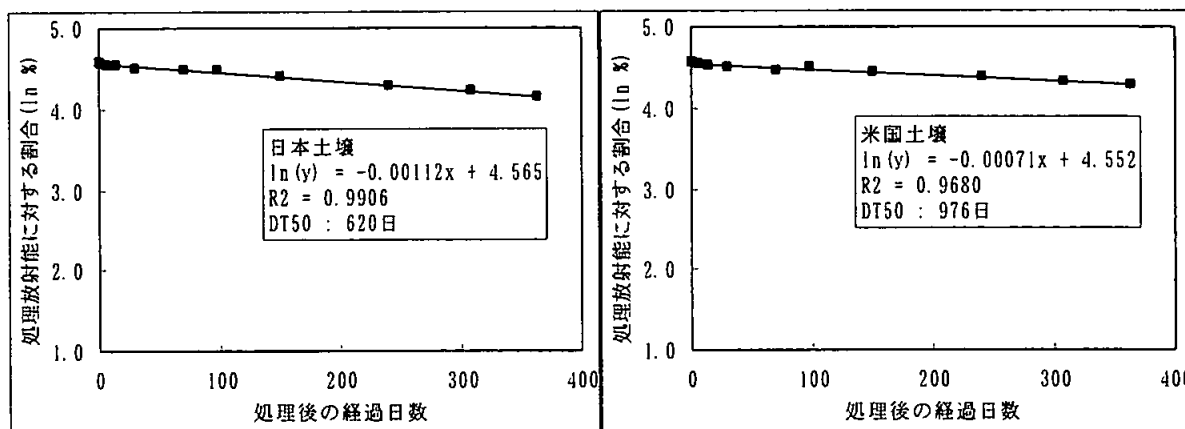


図1. チフルザミドの減衰曲線 (原報告書Figure 43及び44)

表5. 抽出残渣の特徴付け (原報告書Table VIII)

分画	処理放射能に対する比率 (%)
抽出残渣	15.34
ソックスレー抽出分 (緩やかな結合)	9.19
チフルザミド (I)	8.39
NaOH 抽出分 (土壌有機物との結合)	2.83
未抽出分 (強固な結合)	2.81
物質収支	96.66

数値は2連の平均値

抽出残渣の分画による特徴付けの結果、ソックスレー抽出によって9.2%の放射能が抽出され、そのうち91%はチフルザミド (I)、として確認された。更に強アルカリ抽出によって2.8%が抽出され、これは土壌有機物との結合画分と考えられた。未抽出分の2.8%は強固な結合画分と考えられた。

推定代謝経路；本試験で検出された代謝物に基づいてチフルザミドの好氣的湛水条件下における土壌中の推定代謝経路を図2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日産化学工業株式会社にある。

図2. チフルザミドの好気湛水土壌中の推定代謝経路 (原報告書Figure 46)  
申請者注) 抽出残渣の特徴付けの結果及び報告書の考察に基づき、「土壌残渣」及び「揮発・無機化」を申請者が追記した。