

IX. 動植物およ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	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																									
I-1	動物代謝	ラット	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン (標識位置およびその選定理由は、この表の最後の<標識化合物一覧表>に記載。)</p> <p>投与方法： 雄雌ラットに 50 mg/kg (A-E 群) または 1000 mg/kg (F-J 群) で単回経口投与。</p> <p>試料採取： [A, F 群]；(排泄) 糞・尿・呼気を投与後 24、48 および 72 時間に採取。 (組織中濃度測定) 投与後 72 時間に組織等を採取。(排泄物中代謝物分析) 投与後 24 時間まで採取した尿・糞について分析。 [B, G 群]；(血漿中濃度測定) 投与後 0.25、0.5、1、2、4、8、24 および 48 時間 [C 群]；(胆汁排泄) 胆汁・尿・糞・呼気を投与後 24、48 時間に採取。 (排泄物中代謝物分析) 投与後 48 時間まで採取した尿・糞・胆汁について分析。 [D 群]；(組織中濃度測定) 投与後 0.5、4 および 24 時間に組織等を採取。 [E 群]；(組織中濃度測定：全身 ARG 法) 投与後 0.5、4、24 および 72 時間に組織等を採取。 [I 群]；(組織中濃度測定) 投与後 1(雄)、2(雌)、4 および 48 時間に組織等を採取。 [J 群]；(組織中濃度測定)</p>	<p>・血漿中 ¹⁴C 濃度推移および薬物動態パラメーター</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3">投与後時間 (時間)</th> <th colspan="4">¹⁴C 濃度 (μg バリダマイシン相当量/g)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">50 mg/kg</th> <th colspan="2">1000 mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0.25</td> <td>16.75</td> <td>16.12</td> <td>71.3</td> <td>71.0</td> </tr> <tr> <td>0.50</td> <td>17.62</td> <td>16.66</td> <td>95.7</td> <td>109.1</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>14.76</td> <td>13.94</td> <td>103.8</td> <td>118.9</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>9.69</td> <td>10.39</td> <td>94.9</td> <td>134.2</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>6.37</td> <td>5.38</td> <td>41.8</td> <td>68.0</td> </tr> <tr> <td>8</td> <td>4.57</td> <td>3.84</td> <td>36.9</td> <td>45.1</td> </tr> <tr> <td>24</td> <td>2.09</td> <td>1.90</td> <td>20.7</td> <td>25.5</td> </tr> <tr> <td>48</td> <td>1.22</td> <td>1.04</td> <td>12.2</td> <td>14.6</td> </tr> <tr> <td>T_{max} (時間)</td> <td>0.50</td> <td>0.50</td> <td>1</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>C_{max} (μg バリダマイシン相当量/g)</td> <td>17.62</td> <td>16.66</td> <td>103.8</td> <td>134.2</td> </tr> <tr> <td>T_{1/2} (時間) (24-48 時間)</td> <td>30.9</td> <td>27.6</td> <td>31.5</td> <td>29.8</td> </tr> <tr> <td rowspan="2">AUC (μg バリダマイシン相当量・時間/g)</td> <td colspan="4">(0-48 時間)</td> </tr> <tr> <td>158</td> <td>141</td> <td>1329</td> <td>1689</td> </tr> <tr> <td colspan="4">(0-∞)</td> </tr> <tr> <td colspan="4"></td> <td>212</td> <td>183</td> <td>1883</td> <td>2318</td> </tr> </tbody> </table> <p>・排泄率 50 mg/kg 投与後 3 日間の総 ¹⁴C 排泄率は、雄ラットで 92.2% (尿：5.0%、糞：68.4%、呼気：18.8%)、雌ラットで 92.5% (尿：6.2%、糞：66.7%、呼気：19.6%) であった。 1000 mg/kg 投与では、雄ラットで 95.1% (尿：2.7%、糞：80.5%、呼気：12.0%)、雌ラットで 96.0% (尿：2.5%、糞：82.0%、呼気：11.5%) であった。 主要排泄経路は糞中排泄であり、投与後 1 日目までに投与 ¹⁴C の大部分が排泄された。尿および糞中への各総 ¹⁴C 排泄率に性差は無かったが (p>0.05)、1000 mg/kg 投与においては糞中排泄率が高くなった。胆管導出した雄ラットに 50 mg/kg 投与した時の胆汁への排泄率は投与 ¹⁴C 量の約 1% であった。</p> <p>・分布 50 mg/kg 投与後、¹⁴C は摘出採取した器官および組織中に広く分布した。投与後 4 時間目までは消化管およびその内容物で高い ¹⁴C 濃度を示したが、それ以降は急激に減少した。それら以外では脂肪など一部の器官および組織において ¹⁴C 濃度が僅かに上昇する傾向を示したが、投与後 24 時間目以降多くの器官および組織中の ¹⁴C は緩やかに消失し、その消失パターンは血漿よりも若干緩徐であった。消化管およびその内容物以外の器官および組織では ¹⁴C の血漿中からの組織移行性は経時的に高くなった。特に、肝臓、</p>	投与後時間 (時間)	¹⁴ C 濃度 (μg バリダマイシン相当量/g)				50 mg/kg		1000 mg/kg		雄	雌	雄	雌	0.25	16.75	16.12	71.3	71.0	0.50	17.62	16.66	95.7	109.1	1	14.76	13.94	103.8	118.9	2	9.69	10.39	94.9	134.2	4	6.37	5.38	41.8	68.0	8	4.57	3.84	36.9	45.1	24	2.09	1.90	20.7	25.5	48	1.22	1.04	12.2	14.6	T _{max} (時間)	0.50	0.50	1	2	C _{max} (μg バリダマイシン相当量/g)	17.62	16.66	103.8	134.2	T _{1/2} (時間) (24-48 時間)	30.9	27.6	31.5	29.8	AUC (μg バリダマイシン相当量・時間/g)	(0-48 時間)				158	141	1329	1689	(0-∞)								212	183	1883	2318	住友化学 (2005)	263
投与後時間 (時間)	¹⁴ C 濃度 (μg バリダマイシン相当量/g)																																																																																														
	50 mg/kg		1000 mg/kg																																																																																												
	雄	雌	雄	雌																																																																																											
0.25	16.75	16.12	71.3	71.0																																																																																											
0.50	17.62	16.66	95.7	109.1																																																																																											
1	14.76	13.94	103.8	118.9																																																																																											
2	9.69	10.39	94.9	134.2																																																																																											
4	6.37	5.38	41.8	68.0																																																																																											
8	4.57	3.84	36.9	45.1																																																																																											
24	2.09	1.90	20.7	25.5																																																																																											
48	1.22	1.04	12.2	14.6																																																																																											
T _{max} (時間)	0.50	0.50	1	2																																																																																											
C _{max} (μg バリダマイシン相当量/g)	17.62	16.66	103.8	134.2																																																																																											
T _{1/2} (時間) (24-48 時間)	30.9	27.6	31.5	29.8																																																																																											
AUC (μg バリダマイシン相当量・時間/g)	(0-48 時間)																																																																																														
	158	141	1329	1689																																																																																											
(0-∞)																																																																																															
				212	183	1883	2318																																																																																								

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																																																																																																																											
			<p>定：全身 ARG 法) 投与後 1 (雄)、2 (雌)、4、48 および 72 時間に組織等を採取。</p> <p>検査項目： 血漿中濃度、排泄率、組織中濃度、糞尿および胆汁中の代謝物分析</p>	<p>脊髄、胸腺、脳、副腎、下垂体および骨髄においてその傾向は顕著であった。全身 ARG 法にて組織抽出法で検討しなかった部位への ¹⁴C 分布を確認したところ、眼窩内涙腺、唾液腺および外耳道腺付近などへの分布が認められた。</p> <p>投与 ¹⁴C 量に対する器官および組織内分布率は、投与後 0.5 時間から 4 時間目にかけて特に小腸内容物および盲腸内容物で高かったが、投与後 24 時間目以降の消化管内の組織内分布率は急激に減少した。消化管およびその内容物以外では、肝臓および全血で比較的高く、投与 ¹⁴C 量の約 2% を示した。投与後 72 時間目の投与 ¹⁴C 量に対する体内残存率は最大で 4.5% であった。</p> <p>1000 mg/kg 投与後の器官および組織中 ¹⁴C 濃度推移、分布は、50 mg/kg 投与時とほぼ同様の傾向を示したが、消化管およびその内容物を除いて、器官および組織中 ¹⁴C 濃度には、投与量比 (20 倍) に依存した用量依存性は認められなかった。</p>																																																																																																																													
				<p>・尿、糞および呼気中の代謝物の割合 (A、F 群)</p>																																																																																																																													
				<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="3">代謝物</th> <th colspan="4">投与放射能に対する割合 (%TAR)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">50 mg/kg</th> <th colspan="2">1000 mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>抽出物</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>バリドキシルアミン A</td> <td>2.0</td> <td>1.7</td> <td>0.8</td> <td>0.7</td> </tr> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>1.0</td> <td>1.2</td> <td>1.1</td> <td>1.0</td> </tr> <tr> <td>未知代謝物-1</td> <td>0.6</td> <td>0.7</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>未知代謝物-2</td> <td>0.8</td> <td>1.2</td> <td>0.5</td> <td>0.6</td> </tr> <tr> <td>未知代謝物-3</td> <td>0.3</td> <td>0.8</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>小計</td> <td>4.7</td> <td>5.6</td> <td>2.4</td> <td>2.3</td> </tr> <tr> <td>未抽出物</td> <td>0.0</td> <td>0.1</td> <td>0.1</td> <td>0.0</td> </tr> <tr> <td>尿小計</td> <td>4.7</td> <td>5.7</td> <td>2.5</td> <td>2.3</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>水/メタノール抽出物</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>バリドキシルアミン A</td> <td>62.3</td> <td>50.8</td> <td>45.2</td> <td>42.7</td> </tr> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>ND</td> <td>2.9</td> <td>29.5</td> <td>33.3</td> </tr> <tr> <td>未知代謝物-3</td> <td>ND</td> <td>4.0</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>未知代謝物-7</td> <td>ND</td> <td>2.2</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>小計</td> <td>62.3</td> <td>59.9</td> <td>74.6</td> <td>76.0</td> </tr> <tr> <td>未抽出物</td> <td>4.5</td> <td>3.9</td> <td>4.8</td> <td>4.6</td> </tr> <tr> <td>糞小計</td> <td>66.8</td> <td>63.8</td> <td>79.4</td> <td>80.6</td> </tr> <tr> <td>呼気</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>二酸化炭素</td> <td>18.8</td> <td>19.6</td> <td>12.0</td> <td>11.5</td> </tr> <tr> <td>合計</td> <td>90.3</td> <td>89.1</td> <td>93.9</td> <td>94.4</td> </tr> </tbody> </table>	代謝物	投与放射能に対する割合 (%TAR)				50 mg/kg		1000 mg/kg		雄	雌	雄	雌	尿					抽出物					バリドキシルアミン A	2.0	1.7	0.8	0.7	バリダマイシン	1.0	1.2	1.1	1.0	未知代謝物-1	0.6	0.7	ND	ND	未知代謝物-2	0.8	1.2	0.5	0.6	未知代謝物-3	0.3	0.8	ND	ND	小計	4.7	5.6	2.4	2.3	未抽出物	0.0	0.1	0.1	0.0	尿小計	4.7	5.7	2.5	2.3	糞					水/メタノール抽出物					バリドキシルアミン A	62.3	50.8	45.2	42.7	バリダマイシン	ND	2.9	29.5	33.3	未知代謝物-3	ND	4.0	ND	ND	未知代謝物-7	ND	2.2	ND	ND	小計	62.3	59.9	74.6	76.0	未抽出物	4.5	3.9	4.8	4.6	糞小計	66.8	63.8	79.4	80.6	呼気					二酸化炭素	18.8	19.6	12.0	11.5	合計	90.3	89.1	93.9	94.4		
代謝物	投与放射能に対する割合 (%TAR)																																																																																																																																
	50 mg/kg		1000 mg/kg																																																																																																																														
	雄	雌	雄	雌																																																																																																																													
尿																																																																																																																																	
抽出物																																																																																																																																	
バリドキシルアミン A	2.0	1.7	0.8	0.7																																																																																																																													
バリダマイシン	1.0	1.2	1.1	1.0																																																																																																																													
未知代謝物-1	0.6	0.7	ND	ND																																																																																																																													
未知代謝物-2	0.8	1.2	0.5	0.6																																																																																																																													
未知代謝物-3	0.3	0.8	ND	ND																																																																																																																													
小計	4.7	5.6	2.4	2.3																																																																																																																													
未抽出物	0.0	0.1	0.1	0.0																																																																																																																													
尿小計	4.7	5.7	2.5	2.3																																																																																																																													
糞																																																																																																																																	
水/メタノール抽出物																																																																																																																																	
バリドキシルアミン A	62.3	50.8	45.2	42.7																																																																																																																													
バリダマイシン	ND	2.9	29.5	33.3																																																																																																																													
未知代謝物-3	ND	4.0	ND	ND																																																																																																																													
未知代謝物-7	ND	2.2	ND	ND																																																																																																																													
小計	62.3	59.9	74.6	76.0																																																																																																																													
未抽出物	4.5	3.9	4.8	4.6																																																																																																																													
糞小計	66.8	63.8	79.4	80.6																																																																																																																													
呼気																																																																																																																																	
二酸化炭素	18.8	19.6	12.0	11.5																																																																																																																													
合計	90.3	89.1	93.9	94.4																																																																																																																													
				<p>ND：検出されず</p>																																																																																																																													
				<p>バリダマイシンの主要な代謝反応は、エーテル結合の開裂によるバリドキシルアミン A および D-グルコースの生成、D-グルコースから CO₂ の生成であった。</p>																																																																																																																													

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																																																																							
II-1 (GLP)	植物代謝	水稻	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン</p> <p>処理方法： 育苗箱施用に続いて葉面散布を実施。 育苗箱施用：調製した液剤を4葉期の苗を移植前の植穴に0.0519 mg/ポット (15 g ai/ha 相当、2.5 倍量) の割合にて1回処理。 散布処理：調製した液剤を0.7785 mg/ポット (225 g ai/ha 相当、1.9 倍量) の割合にて7日間隔で植物全体に5回散布。 別途、上記の約3.3倍量処理にて試験を実施 (高濃度処理)。</p> <p>試料採取時期： 最終処理7日および14日後に稲藁 (茎葉部)、穀粒 (籾殻および玄米) を採取。</p> <p>試験項目： 総残留放射能濃度、代謝物の同定・定量</p>	<p>・処理14日後の水稻における放射能分布 (以下、「総残留放射能 (TRR) に対する割合 (%)」を「%TRR」と略す。ppmはバリダマイシン換算濃度。)</p> <table border="1" data-bbox="735 439 1278 644"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="2">稲藁</th> <th colspan="2">籾殻</th> <th colspan="2">玄米</th> </tr> <tr> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>表面洗浄</td> <td>69.4</td> <td>10.332</td> <td>45.2</td> <td>3.283</td> <td>NA</td> <td>NA</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>24.8</td> <td>3.689</td> <td>32.3</td> <td>2.351</td> <td>43.5</td> <td>0.145</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>5.8</td> <td>0.867</td> <td>22.5</td> <td>1.639</td> <td>56.5</td> <td>0.188</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>100.0</td> <td>14.887</td> <td>100.0</td> <td>7.273</td> <td>100.0</td> <td>0.333</td> </tr> </tbody> </table> <p>NA: 未分析</p> <p>・処理14日後の稲藁、籾殻および玄米における代謝物分布</p> <table border="1" data-bbox="735 780 1278 1052"> <thead> <tr> <th rowspan="2">代謝物/化合物</th> <th colspan="2">稲藁</th> <th colspan="2">籾殻</th> <th colspan="2">玄米</th> </tr> <tr> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>51.9</td> <td>7.722</td> <td>34.0</td> <td>2.477</td> <td>5.3</td> <td>0.018</td> </tr> <tr> <td>極性成分*</td> <td>17.4</td> <td>2.586</td> <td>29.7</td> <td>2.154</td> <td>24.8</td> <td>0.083</td> </tr> <tr> <td>バリトキシル</td> <td>24.9</td> <td>3.713</td> <td>13.8</td> <td>1.002</td> <td>13.4</td> <td>0.045</td> </tr> <tr> <td>アミンA</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>5.8</td> <td>0.867</td> <td>22.5</td> <td>1.639</td> <td>56.5</td> <td>0.188</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>100.0</td> <td>14.887</td> <td>100.0</td> <td>7.273</td> <td>100.0</td> <td>0.333</td> </tr> </tbody> </table> <p>*個々の成分は10%TRR未満 なお、高濃度処理区でも同様の代謝様式を示した。</p> <p>・籾殻抽出残渣中の¹⁴Cの特徴付け</p> <table border="1" data-bbox="735 1188 1166 1392"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>リグニン</td> <td>4.4</td> <td>0.322</td> </tr> <tr> <td>ヘミセルロース</td> <td>5.4</td> <td>0.395</td> </tr> <tr> <td>セルロース</td> <td>4.8</td> <td>0.348</td> </tr> <tr> <td>残渣</td> <td>7.9</td> <td>0.574</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>22.5</td> <td>1.639</td> </tr> </tbody> </table> <p>・玄米抽出残渣中の¹⁴Cの特徴付け</p> <table border="1" data-bbox="735 1460 1166 1687"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>緩衝液洗浄</td> <td>4.8</td> <td>0.016</td> </tr> <tr> <td>デンプン</td> <td>14.5</td> <td>0.048</td> </tr> <tr> <td>タンパク</td> <td>10.9</td> <td>0.036</td> </tr> <tr> <td>ペクチン</td> <td>2.2</td> <td>0.007</td> </tr> <tr> <td>残渣</td> <td>24.0</td> <td>0.080</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>56.5</td> <td>0.188</td> </tr> </tbody> </table> <p>・バリダマイシンの水稻における主要代謝分解経路は、グリコシド結合の開裂であり、最終的に植物構成成分に取り込まれた。</p>	画分	稲藁		籾殻		玄米		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	表面洗浄	69.4	10.332	45.2	3.283	NA	NA	抽出液	24.8	3.689	32.3	2.351	43.5	0.145	抽出残渣	5.8	0.867	22.5	1.639	56.5	0.188	計	100.0	14.887	100.0	7.273	100.0	0.333	代謝物/化合物	稲藁		籾殻		玄米		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	バリダマイシン	51.9	7.722	34.0	2.477	5.3	0.018	極性成分*	17.4	2.586	29.7	2.154	24.8	0.083	バリトキシル	24.9	3.713	13.8	1.002	13.4	0.045	アミンA							抽出残渣	5.8	0.867	22.5	1.639	56.5	0.188	計	100.0	14.887	100.0	7.273	100.0	0.333	画分	%TRR	ppm	リグニン	4.4	0.322	ヘミセルロース	5.4	0.395	セルロース	4.8	0.348	残渣	7.9	0.574	計	22.5	1.639	画分	%TRR	ppm	緩衝液洗浄	4.8	0.016	デンプン	14.5	0.048	タンパク	10.9	0.036	ペクチン	2.2	0.007	残渣	24.0	0.080	計	56.5	0.188	Ricerca (2009)	279
画分	稲藁		籾殻			玄米																																																																																																																																							
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm																																																																																																																																							
表面洗浄	69.4	10.332	45.2	3.283	NA	NA																																																																																																																																							
抽出液	24.8	3.689	32.3	2.351	43.5	0.145																																																																																																																																							
抽出残渣	5.8	0.867	22.5	1.639	56.5	0.188																																																																																																																																							
計	100.0	14.887	100.0	7.273	100.0	0.333																																																																																																																																							
代謝物/化合物	稲藁		籾殻		玄米																																																																																																																																								
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm																																																																																																																																							
バリダマイシン	51.9	7.722	34.0	2.477	5.3	0.018																																																																																																																																							
極性成分*	17.4	2.586	29.7	2.154	24.8	0.083																																																																																																																																							
バリトキシル	24.9	3.713	13.8	1.002	13.4	0.045																																																																																																																																							
アミンA																																																																																																																																													
抽出残渣	5.8	0.867	22.5	1.639	56.5	0.188																																																																																																																																							
計	100.0	14.887	100.0	7.273	100.0	0.333																																																																																																																																							
画分	%TRR	ppm																																																																																																																																											
リグニン	4.4	0.322																																																																																																																																											
ヘミセルロース	5.4	0.395																																																																																																																																											
セルロース	4.8	0.348																																																																																																																																											
残渣	7.9	0.574																																																																																																																																											
計	22.5	1.639																																																																																																																																											
画分	%TRR	ppm																																																																																																																																											
緩衝液洗浄	4.8	0.016																																																																																																																																											
デンプン	14.5	0.048																																																																																																																																											
タンパク	10.9	0.036																																																																																																																																											
ペクチン	2.2	0.007																																																																																																																																											
残渣	24.0	0.080																																																																																																																																											
計	56.5	0.188																																																																																																																																											

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																											
II-2 (GLP)	植物代謝	レタス	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン</p> <p>処理方法： 葉面散布：調製した液剤を伸長期のレタス植物全体に 3.511 mg/ポット (570 g ai/ha 相当、3 倍量) の割合にて 7 日間隔で 3 回散布。別途、約 10 倍量処理にて試験を実施。</p> <p>試料採取： 最終処理 7 日後に成熟レタスを採取。</p> <p>試験項目： 総残留放射能濃度、代謝物の同定・定量</p>	<p>・レタスにおける代謝物分布</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">代謝物 / 化合物</th> <th colspan="2">3 倍量処理区</th> <th colspan="2">10 倍量処理区</th> </tr> <tr> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>54.3</td> <td>4.421</td> <td>76.0</td> <td>16.360</td> </tr> <tr> <td>バリエチン</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>1.6</td> <td>0.344</td> </tr> <tr> <td>バリダミン</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.2</td> <td>0.041</td> </tr> <tr> <td>バリトキシルミン A</td> <td>35.1</td> <td>2.856</td> <td>16.8</td> <td>3.611</td> </tr> <tr> <td>その他</td> <td>3.4</td> <td>0.274</td> <td>3.1</td> <td>0.669</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>7.3</td> <td>0.597</td> <td>2.3</td> <td>0.505</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>100.0</td> <td>8.148</td> <td>100.0</td> <td>21.530</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND：未検出</p> <p>・バリダマイシンのレタスにおける主要代謝分解経路は、グリコシド結合の開裂であり、その後 C-N 結合の開裂が僅かに認められた。</p>	代謝物 / 化合物	3 倍量処理区		10 倍量処理区		%TRR	ppm	%TRR	ppm	バリダマイシン	54.3	4.421	76.0	16.360	バリエチン	ND	ND	1.6	0.344	バリダミン	ND	ND	0.2	0.041	バリトキシルミン A	35.1	2.856	16.8	3.611	その他	3.4	0.274	3.1	0.669	抽出残渣	7.3	0.597	2.3	0.505	計	100.0	8.148	100.0	21.530	Ricerca (2008)	291																																															
代謝物 / 化合物	3 倍量処理区		10 倍量処理区																																																																																														
	%TRR	ppm	%TRR	ppm																																																																																													
バリダマイシン	54.3	4.421	76.0	16.360																																																																																													
バリエチン	ND	ND	1.6	0.344																																																																																													
バリダミン	ND	ND	0.2	0.041																																																																																													
バリトキシルミン A	35.1	2.856	16.8	3.611																																																																																													
その他	3.4	0.274	3.1	0.669																																																																																													
抽出残渣	7.3	0.597	2.3	0.505																																																																																													
計	100.0	8.148	100.0	21.530																																																																																													
II-3 (GLP)	植物代謝	だいず	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン</p> <p>処理方法： 散布処理：調製した液剤を播種 3 ヶ月後のだいず植物全体に 5.544 mg/ポット (900 g ai/ha 相当、3 倍量) の割合にて 7 日間隔で 3 回散布。別途、約 10 倍量処理にて試験を実施。</p> <p>試料採取： 最終処理 7 日後に葉部、さや、穀粒を採取。</p> <p>試験項目： 総残留放射能濃度、代謝物の同定・定量</p>	<p>・だいずにおける放射能分布 (3 倍量処理区)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="2">葉部</th> <th colspan="2">さや</th> <th colspan="2">穀粒</th> </tr> <tr> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>表面洗浄</td> <td>94.8</td> <td>52.831</td> <td>96.0</td> <td>7.585</td> <td>NA</td> <td>NA</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>4.7</td> <td>2.603</td> <td>2.9</td> <td>0.230</td> <td>49.6</td> <td>0.114</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>0.5</td> <td>0.264</td> <td>1.1</td> <td>0.089</td> <td>50.4</td> <td>0.116</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>100.0</td> <td>55.697</td> <td>100.0</td> <td>7.905</td> <td>100.0</td> <td>0.229</td> </tr> </tbody> </table> <p>・穀粒における代謝物分布 (3 倍量処理区)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">代謝物 / 化合物</th> <th colspan="2">穀粒</th> </tr> <tr> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>27.3</td> <td>0.063</td> </tr> <tr> <td>極性成分</td> <td>11.6</td> <td>0.027</td> </tr> <tr> <td>バリトキシルミン A</td> <td>10.7</td> <td>0.025</td> </tr> <tr> <td>抽出残渣</td> <td>50.4</td> <td>0.116</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>100.0</td> <td>0.229</td> </tr> </tbody> </table> <p>なお、高濃度処理区でも同様の代謝様式を示した</p> <p>・穀粒抽出残渣中の ¹⁴C の特徴付け (3 倍量処理区)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>%TRR</th> <th>ppm</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>緩衝液洗浄</td> <td>4.1</td> <td>0.009</td> </tr> <tr> <td>デンプン</td> <td>4.8</td> <td>0.011</td> </tr> <tr> <td>タンパク</td> <td>7.8</td> <td>0.018</td> </tr> <tr> <td>ペクチン</td> <td>4.6</td> <td>0.010</td> </tr> <tr> <td>リグニン</td> <td>4.8</td> <td>0.011</td> </tr> <tr> <td>ヘミセルロース</td> <td>4.3</td> <td>0.011</td> </tr> <tr> <td>セルロース</td> <td>3.2</td> <td>0.007</td> </tr> <tr> <td>残渣</td> <td>16.8</td> <td>0.039</td> </tr> <tr> <td>計</td> <td>50.4</td> <td>0.116</td> </tr> </tbody> </table>	画分	葉部		さや		穀粒		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	表面洗浄	94.8	52.831	96.0	7.585	NA	NA	抽出液	4.7	2.603	2.9	0.230	49.6	0.114	抽出残渣	0.5	0.264	1.1	0.089	50.4	0.116	計	100.0	55.697	100.0	7.905	100.0	0.229	代謝物 / 化合物	穀粒		%TRR	ppm	バリダマイシン	27.3	0.063	極性成分	11.6	0.027	バリトキシルミン A	10.7	0.025	抽出残渣	50.4	0.116	計	100.0	0.229	画分	%TRR	ppm	緩衝液洗浄	4.1	0.009	デンプン	4.8	0.011	タンパク	7.8	0.018	ペクチン	4.6	0.010	リグニン	4.8	0.011	ヘミセルロース	4.3	0.011	セルロース	3.2	0.007	残渣	16.8	0.039	計	50.4	0.116	Ricerca (2009)	297
画分	葉部		さや			穀粒																																																																																											
	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm																																																																																											
表面洗浄	94.8	52.831	96.0	7.585	NA	NA																																																																																											
抽出液	4.7	2.603	2.9	0.230	49.6	0.114																																																																																											
抽出残渣	0.5	0.264	1.1	0.089	50.4	0.116																																																																																											
計	100.0	55.697	100.0	7.905	100.0	0.229																																																																																											
代謝物 / 化合物	穀粒																																																																																																
	%TRR	ppm																																																																																															
バリダマイシン	27.3	0.063																																																																																															
極性成分	11.6	0.027																																																																																															
バリトキシルミン A	10.7	0.025																																																																																															
抽出残渣	50.4	0.116																																																																																															
計	100.0	0.229																																																																																															
画分	%TRR	ppm																																																																																															
緩衝液洗浄	4.1	0.009																																																																																															
デンプン	4.8	0.011																																																																																															
タンパク	7.8	0.018																																																																																															
ペクチン	4.6	0.010																																																																																															
リグニン	4.8	0.011																																																																																															
ヘミセルロース	4.3	0.011																																																																																															
セルロース	3.2	0.007																																																																																															
残渣	16.8	0.039																																																																																															
計	50.4	0.116																																																																																															

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																																																																																																						
				・バリダマイシンのだいでにおける主要代謝分解経路は、グリコシド結合の開裂であり、最終的に植物構成成分に取り込まれた。																																																																																																								
III-1 (GLP)	土壌中動態	好気的土壌	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン</p> <p>供試土壌： 真壁農場土壌（埴埴土、pH (H₂O) 6.7)</p> <p>処理方法： 乾土当たり 2.0 ppm となるように [¹⁴C]バリダマイシン水溶液を処理後混合。</p> <p>試験条件： 25±2℃の暗所で 180 日間インキュベート。</p> <p>試料採取：処理直後、1、3、7、14、30、60、120 および 180 日後</p> <p>試験項目： 消失半減期、代謝分解物の同定・定量</p>	<p>・消失半減期 (DT₅₀) および DT₉₀ 値 (日)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>化合物</th> <th>DT₅₀</th> <th>DT₉₀</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>0.05</td> <td>0.44</td> </tr> <tr> <td>バリドキシルアミン A</td> <td>1.9</td> <td>10.7</td> </tr> </tbody> </table> <p>・好気的条件下での放射能分布 処理量に対する割合 (%) (%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="4">試料採取時間</th> </tr> <tr> <th>0 日</th> <th>1 日</th> <th>14 日</th> <th>180 日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>抽出液</td> <td>95.6</td> <td>40.7</td> <td>9.4</td> <td>7.1</td> </tr> <tr> <td>過酷抽出液</td> <td>NA</td> <td>23.7</td> <td>14.5</td> <td>14.0</td> </tr> <tr> <td>結合残留物</td> <td>8.6</td> <td>21.3</td> <td>29.8</td> <td>25.4</td> </tr> <tr> <td>¹⁴CO₂</td> <td>NA</td> <td>14.0</td> <td>48.5</td> <td>54.8</td> </tr> <tr> <td>VOC</td> <td>NA</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>平均物質収支</td> <td>104.2</td> <td>99.8</td> <td>102.2</td> <td>101.3</td> </tr> </tbody> </table> <p>NA：分析せず、ND：検出せず、VOC：揮発性有機物質</p> <p>・抽出液中のバリダマイシンおよび代謝物分布 (%TAR で示す)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="4">試料採取時間</th> </tr> <tr> <th>0 日</th> <th>1 日</th> <th>14 日</th> <th>180 日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>95.6</td> <td>4.6</td> <td>0.1</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>バリダミン</td> <td>ND</td> <td>0.3</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>バリエミン</td> <td>ND</td> <td>2.1</td> <td>8.4</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>バリドキシルアミン A</td> <td>ND</td> <td>49.9</td> <td>4.8</td> <td>7.0</td> </tr> <tr> <td>グルコース</td> <td>ND</td> <td>4.0</td> <td>3.6</td> <td>1.8</td> </tr> <tr> <td>原点</td> <td>ND</td> <td>3.5</td> <td>4.1</td> <td>5.0</td> </tr> <tr> <td>その他*</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>3.0</td> <td>7.3</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND：検出限界以下 *個々の成分は 2%TAR 未満</p> <p>土壌抽出残渣の特徴付け</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>14 日後</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>フルボ酸</td> <td>9.6</td> </tr> <tr> <td>フミン酸</td> <td>3.0</td> </tr> <tr> <td>ヒューミン</td> <td>15.1</td> </tr> <tr> <td>その他*</td> <td>2.2</td> </tr> </tbody> </table> <p>*その他：分画操作中の放射能の損失</p> <p>・バリダマイシンの好気的土壌における主要代謝経路はグリコシド結合の開裂に続く C-N 結合の開裂であり、最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、または土壌に強固に吸着された。</p>	化合物	DT ₅₀	DT ₉₀	バリダマイシン	0.05	0.44	バリドキシルアミン A	1.9	10.7	画分	試料採取時間				0 日	1 日	14 日	180 日	抽出液	95.6	40.7	9.4	7.1	過酷抽出液	NA	23.7	14.5	14.0	結合残留物	8.6	21.3	29.8	25.4	¹⁴ CO ₂	NA	14.0	48.5	54.8	VOC	NA	ND	ND	ND	平均物質収支	104.2	99.8	102.2	101.3	画分	試料採取時間				0 日	1 日	14 日	180 日	バリダマイシン	95.6	4.6	0.1	ND	バリダミン	ND	0.3	ND	ND	バリエミン	ND	2.1	8.4	ND	バリドキシルアミン A	ND	49.9	4.8	7.0	グルコース	ND	4.0	3.6	1.8	原点	ND	3.5	4.1	5.0	その他*	ND	ND	3.0	7.3	画分	14 日後	フルボ酸	9.6	フミン酸	3.0	ヒューミン	15.1	その他*	2.2	Ricerca (2009)	306
化合物	DT ₅₀	DT ₉₀																																																																																																										
バリダマイシン	0.05	0.44																																																																																																										
バリドキシルアミン A	1.9	10.7																																																																																																										
画分	試料採取時間																																																																																																											
	0 日	1 日	14 日	180 日																																																																																																								
抽出液	95.6	40.7	9.4	7.1																																																																																																								
過酷抽出液	NA	23.7	14.5	14.0																																																																																																								
結合残留物	8.6	21.3	29.8	25.4																																																																																																								
¹⁴ CO ₂	NA	14.0	48.5	54.8																																																																																																								
VOC	NA	ND	ND	ND																																																																																																								
平均物質収支	104.2	99.8	102.2	101.3																																																																																																								
画分	試料採取時間																																																																																																											
	0 日	1 日	14 日	180 日																																																																																																								
バリダマイシン	95.6	4.6	0.1	ND																																																																																																								
バリダミン	ND	0.3	ND	ND																																																																																																								
バリエミン	ND	2.1	8.4	ND																																																																																																								
バリドキシルアミン A	ND	49.9	4.8	7.0																																																																																																								
グルコース	ND	4.0	3.6	1.8																																																																																																								
原点	ND	3.5	4.1	5.0																																																																																																								
その他*	ND	ND	3.0	7.3																																																																																																								
画分	14 日後																																																																																																											
フルボ酸	9.6																																																																																																											
フミン酸	3.0																																																																																																											
ヒューミン	15.1																																																																																																											
その他*	2.2																																																																																																											

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																																																	
III-2 (GLP)	土壌中動態	好気的湛水土壌	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン</p> <p>供試土壌： 真壁農場土壌（軽埴土、pH (H₂O) 5.8)</p> <p>処理方法： 乾土 60.7 g 相当量の試験土壌と約 65 mL の水（水層の高さ 1.5 cm）をガラス製広口瓶に入れた試料に、乾土当たり 2.0 ppm となるように [¹⁴C]バリダマイシン水溶液を処理。</p> <p>試験条件： 25±2℃の暗所で 60 日間インキュベート。</p> <p>試料採取： 処理直後、0.25、1、3、7、14、30 および 60 日後</p> <p>試験項目： 消失半減期、代謝分解物の同定・定量</p>	<p>・消失半減期 (DT₅₀) および DT₉₀ 値 (日)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>化合物</th> <th>試料</th> <th>DT₅₀</th> <th>DT₉₀</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="2">バリダマイシン</td> <td>系全体</td> <td>0.42</td> <td>1.40</td> </tr> <tr> <td>田面水</td> <td>0.5</td> <td>1.5</td> </tr> <tr> <td>バリドキシルアミンA</td> <td>系全体</td> <td>27.0</td> <td>89.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>・好気的湛水条件での放射能分布 (%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="4">試料採取時間</th> </tr> <tr> <th>0日</th> <th>1日</th> <th>3日</th> <th>60日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>田面水</td> <td>93.1</td> <td>24.7</td> <td>11.3</td> <td>0.5</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>4.5</td> <td>18.3</td> <td>13.9</td> <td>2.4</td> </tr> <tr> <td>過酷抽出液</td> <td>NA</td> <td>16.1</td> <td>17.6</td> <td>6.9</td> </tr> <tr> <td>結合残留物</td> <td>6.4</td> <td>27.6</td> <td>37.8</td> <td>22.6</td> </tr> <tr> <td>¹⁴CO₂</td> <td>NA</td> <td>9.6</td> <td>16.6</td> <td>66.9</td> </tr> <tr> <td>VOC</td> <td>NA</td> <td><0.1</td> <td>0.1</td> <td>0.2</td> </tr> <tr> <td>平均物質収支</td> <td>104.0</td> <td>96.3</td> <td>97.3</td> <td>99.5</td> </tr> </tbody> </table> <p>NA：分析せず、VOC：揮発性有機物質</p> <p>・全試験系のバリダマイシンおよび代謝物分布 (%TAR)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="4">試料採取時間</th> </tr> <tr> <th>0日</th> <th>1日</th> <th>3日</th> <th>60日</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>97.6</td> <td>19.4</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>バリダミン</td> <td>ND</td> <td>2.4</td> <td>6.9</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>バリエナミン</td> <td>ND</td> <td>2.7</td> <td>5.9</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>バリドキシルアミンA</td> <td>ND</td> <td>31.5</td> <td>22.3</td> <td>5.5</td> </tr> <tr> <td>グルコース</td> <td>ND</td> <td>2.7</td> <td>4.6</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>原点</td> <td>ND</td> <td>0.3</td> <td>1.2</td> <td>1.0</td> </tr> <tr> <td>その他</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>2.0</td> <td>0.5</td> </tr> </tbody> </table> <p>ND：検出限界以下</p> <p>土壌抽出残渣の特徴付け</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>分画化</th> <th>7日後</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>フルボ酸</td> <td>10.0</td> </tr> <tr> <td>フミン酸</td> <td>3.2</td> </tr> <tr> <td>ヒューミン</td> <td>17.7</td> </tr> <tr> <td>その他*</td> <td>0.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>*その他：分画操作中の放射能の損失</p> <p>・バリダマイシンの好気的湛水土壌における主要代謝経路はグリコシド結合の開裂に続く C-N 結合の開裂であり、最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、または土壌に強固に吸着された。</p>	化合物	試料	DT ₅₀	DT ₉₀	バリダマイシン	系全体	0.42	1.40	田面水	0.5	1.5	バリドキシルアミンA	系全体	27.0	89.6	画分	試料採取時間				0日	1日	3日	60日	田面水	93.1	24.7	11.3	0.5	抽出液	4.5	18.3	13.9	2.4	過酷抽出液	NA	16.1	17.6	6.9	結合残留物	6.4	27.6	37.8	22.6	¹⁴ CO ₂	NA	9.6	16.6	66.9	VOC	NA	<0.1	0.1	0.2	平均物質収支	104.0	96.3	97.3	99.5	画分	試料採取時間				0日	1日	3日	60日	バリダマイシン	97.6	19.4	ND	ND	バリダミン	ND	2.4	6.9	ND	バリエナミン	ND	2.7	5.9	ND	バリドキシルアミンA	ND	31.5	22.3	5.5	グルコース	ND	2.7	4.6	ND	原点	ND	0.3	1.2	1.0	その他	ND	ND	2.0	0.5	分画化	7日後	フルボ酸	10.0	フミン酸	3.2	ヒューミン	17.7	その他*	0.6	Ricerca (2009)	317
化合物	試料	DT ₅₀	DT ₉₀																																																																																																																				
バリダマイシン	系全体	0.42	1.40																																																																																																																				
	田面水	0.5	1.5																																																																																																																				
バリドキシルアミンA	系全体	27.0	89.6																																																																																																																				
画分	試料採取時間																																																																																																																						
	0日	1日	3日	60日																																																																																																																			
田面水	93.1	24.7	11.3	0.5																																																																																																																			
抽出液	4.5	18.3	13.9	2.4																																																																																																																			
過酷抽出液	NA	16.1	17.6	6.9																																																																																																																			
結合残留物	6.4	27.6	37.8	22.6																																																																																																																			
¹⁴ CO ₂	NA	9.6	16.6	66.9																																																																																																																			
VOC	NA	<0.1	0.1	0.2																																																																																																																			
平均物質収支	104.0	96.3	97.3	99.5																																																																																																																			
画分	試料採取時間																																																																																																																						
	0日	1日	3日	60日																																																																																																																			
バリダマイシン	97.6	19.4	ND	ND																																																																																																																			
バリダミン	ND	2.4	6.9	ND																																																																																																																			
バリエナミン	ND	2.7	5.9	ND																																																																																																																			
バリドキシルアミンA	ND	31.5	22.3	5.5																																																																																																																			
グルコース	ND	2.7	4.6	ND																																																																																																																			
原点	ND	0.3	1.2	1.0																																																																																																																			
その他	ND	ND	2.0	0.5																																																																																																																			
分画化	7日後																																																																																																																						
フルボ酸	10.0																																																																																																																						
フミン酸	3.2																																																																																																																						
ヒューミン	17.7																																																																																																																						
その他*	0.6																																																																																																																						

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																													
IV-1 (GLP)	加水分解	滅菌緩衝液	<p>供試化合物： バリダマイシン (非標識化合物)</p> <p>供試水： 滅菌緩衝液 pH 4、7 および 9</p> <p>処理方法： 滅菌精製水で調製したバリダマイシン溶液を各供試水に添加し、被験物質濃度約 5.0 µg/mL の試験水を調製。</p> <p>試験条件： 各試験水を 50±1℃、5 日間、暗条件下でインキュベート。</p> <p>試料採取：開始前、処理後 5 日</p> <p>試験項目：消失半減期</p>	<p>・消失半減期 (25℃)</p> <table border="1"> <tr> <th>pH</th> <th>推定半減期*</th> </tr> <tr> <td>4</td> <td>1年以上</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>1年以上</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>1年以上</td> </tr> </table> <p>* 50℃の試験結果を外挿して求めた。</p> <p>・分解率 (50℃)</p> <table border="1"> <tr> <th rowspan="2">pH</th> <th colspan="2">測定値 (µg/mL)</th> <th rowspan="2">分解率 (%) *</th> </tr> <tr> <th>開始前</th> <th>5 日後</th> </tr> <tr> <td>4</td> <td>4.6</td> <td>4.8</td> <td>-4.3 (分解せず)</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>4.9</td> <td>4.8</td> <td>2.0</td> </tr> <tr> <td>9</td> <td>5.0</td> <td>4.9</td> <td>2.0</td> </tr> </table> <p>* 各 pH の初期濃度に対する 5 日後の分解率 (%)</p> <p>・バリダマイシンはいずれの pH においても加水分解的に安定であった。</p>	pH	推定半減期*	4	1年以上	7	1年以上	9	1年以上	pH	測定値 (µg/mL)		分解率 (%) *	開始前	5 日後	4	4.6	4.8	-4.3 (分解せず)	7	4.9	4.8	2.0	9	5.0	4.9	2.0	化学分析 (2000)	330																																																																			
pH	推定半減期*																																																																																																		
4	1年以上																																																																																																		
7	1年以上																																																																																																		
9	1年以上																																																																																																		
pH	測定値 (µg/mL)		分解率 (%) *																																																																																																
	開始前	5 日後																																																																																																	
4	4.6	4.8	-4.3 (分解せず)																																																																																																
7	4.9	4.8	2.0																																																																																																
9	5.0	4.9	2.0																																																																																																
IV-2 (GLP)	水中光分解	自然水および蒸留水	<p>供試化合物： [¹⁴C]バリダマイシン</p> <p>供試水： 滅菌自然水 (湖水、pH 7.6) および滅菌蒸留水 (pH 6.8)</p> <p>処理方法： 滅菌蒸留水で調製した¹⁴C-バリダマイシン溶液を各供試水に添加し、被験物質濃度約 5.0 mg/L の試験水を調製。</p> <p>試験条件： 25±2℃でキセノンランプを照射。</p> <p>光強度： 49.06 W/m² (波長範囲 300~400 nm)</p> <p>試料採取： 処理直後、1、2、3、5、7 および 9 日後</p>	<p>・推定半減期 (25℃)</p> <table border="1"> <tr> <th rowspan="2">供試水</th> <th colspan="2">光照射区</th> <th rowspan="2">暗対照区</th> </tr> <tr> <th>人工光照射</th> <th>自然光換算*</th> </tr> <tr> <td>自然水</td> <td>1.8 日</td> <td>11.4 日</td> <td>182 日</td> </tr> <tr> <td>蒸留水</td> <td>10.1 日</td> <td>63.7 日</td> <td>347 日</td> </tr> </table> <p>*：東京 (北緯 35°)、春 (4~6 月) の自然光換算値</p> <p>・自然水中における分解物の分布 (%TAR で示す)</p> <table border="1"> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="4">処理後日数</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>2</th> <th>7</th> <th>9</th> </tr> <tr> <td colspan="5">〈光照射区〉</td> </tr> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>102.0</td> <td>69.5</td> <td>2.8</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>グルコース</td> <td>ND</td> <td>9.0</td> <td>33.2</td> <td>38.4</td> </tr> <tr> <td>領域 1*</td> <td>ND</td> <td>19.2</td> <td>30.6</td> <td>16.4</td> </tr> <tr> <td>原点</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>6.7</td> <td>8.0</td> </tr> <tr> <td>領域 3*</td> <td>ND</td> <td>1.6</td> <td>18.1</td> <td>23.4</td> </tr> <tr> <td>その他</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>3.8</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>¹⁴CO₂</td> <td>NA</td> <td>0.6</td> <td>6.4</td> <td>9.1</td> </tr> <tr> <td>VOC</td> <td>NA</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>物質収支</td> <td>102.0</td> <td>100.0</td> <td>101.6</td> <td>95.5</td> </tr> <tr> <td colspan="5">〈暗対照区〉</td> </tr> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>102.0</td> <td>103.1</td> <td>99.6</td> <td>99.5</td> </tr> <tr> <td>その他</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>物質収支</td> <td>102.0</td> <td>103.1</td> <td>99.6</td> <td>99.5</td> </tr> </table> <p>NA：未分析、ND：未検出、VOC：揮発性有機物質 * 個々の成分は 10%TAR 未満</p>	供試水	光照射区		暗対照区	人工光照射	自然光換算*	自然水	1.8 日	11.4 日	182 日	蒸留水	10.1 日	63.7 日	347 日	画分	処理後日数				0	2	7	9	〈光照射区〉					バリダマイシン	102.0	69.5	2.8	ND	グルコース	ND	9.0	33.2	38.4	領域 1*	ND	19.2	30.6	16.4	原点	ND	ND	6.7	8.0	領域 3*	ND	1.6	18.1	23.4	その他	ND	ND	3.8	ND	¹⁴ CO ₂	NA	0.6	6.4	9.1	VOC	NA	ND	ND	0.1	物質収支	102.0	100.0	101.6	95.5	〈暗対照区〉					バリダマイシン	102.0	103.1	99.6	99.5	その他	ND	ND	ND	ND	物質収支	102.0	103.1	99.6	99.5	Ricerca (2009)	333
供試水	光照射区		暗対照区																																																																																																
	人工光照射	自然光換算*																																																																																																	
自然水	1.8 日	11.4 日	182 日																																																																																																
蒸留水	10.1 日	63.7 日	347 日																																																																																																
画分	処理後日数																																																																																																		
	0	2	7	9																																																																																															
〈光照射区〉																																																																																																			
バリダマイシン	102.0	69.5	2.8	ND																																																																																															
グルコース	ND	9.0	33.2	38.4																																																																																															
領域 1*	ND	19.2	30.6	16.4																																																																																															
原点	ND	ND	6.7	8.0																																																																																															
領域 3*	ND	1.6	18.1	23.4																																																																																															
その他	ND	ND	3.8	ND																																																																																															
¹⁴ CO ₂	NA	0.6	6.4	9.1																																																																																															
VOC	NA	ND	ND	0.1																																																																																															
物質収支	102.0	100.0	101.6	95.5																																																																																															
〈暗対照区〉																																																																																																			
バリダマイシン	102.0	103.1	99.6	99.5																																																																																															
その他	ND	ND	ND	ND																																																																																															
物質収支	102.0	103.1	99.6	99.5																																																																																															

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																				
			<p>試験項目： 消失半減期、分解物の同定・定量</p>	<p>・蒸留水中における分解物の分布 (%TAR で示す)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="4">処理後日数</th> </tr> <tr> <th>0</th> <th>2</th> <th>7</th> <th>9</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td colspan="5"><光照射区></td> </tr> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>99.7</td> <td>89.5</td> <td>69.2</td> <td>49.3</td> </tr> <tr> <td>グルコース</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>5.0</td> <td>12.4</td> </tr> <tr> <td>領域 1*</td> <td>ND</td> <td>7.1</td> <td>13.9</td> <td>9.9</td> </tr> <tr> <td>領域 2</td> <td>ND</td> <td>2.2</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>原点</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>0.9</td> <td>3.6</td> </tr> <tr> <td>領域 3*</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>2.2</td> <td>10.2</td> </tr> <tr> <td>その他</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>2.5</td> <td>5.3</td> </tr> <tr> <td>¹⁴CO₂</td> <td>NA</td> <td>0.8</td> <td>4.1</td> <td>5.6</td> </tr> <tr> <td>VOC</td> <td>NA</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>物質収支</td> <td>99.7</td> <td>99.5</td> <td>97.9</td> <td>96.4</td> </tr> <tr> <td colspan="5"><暗対照区></td> </tr> <tr> <td>バリダマイシン</td> <td>99.7</td> <td>99.4</td> <td>98.9</td> <td>99.5</td> </tr> <tr> <td>その他</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>物質収支</td> <td>99.7</td> <td>99.4</td> <td>98.9</td> <td>99.5</td> </tr> </tbody> </table> <p>NA：未分析、ND：未検出、VOC：揮発性有機物質 * 個々の成分は 10%TAR 未満</p> <p>・バリダマイシンの水中光分解における主要分解経路はグリコシド結合の開裂にともなうグルコースの生成であった。生成したグルコースおよび微量分解物もさらに分解を受けて、最終的には二酸化炭素まで無機化された。</p>	画分	処理後日数				0	2	7	9	<光照射区>					バリダマイシン	99.7	89.5	69.2	49.3	グルコース	ND	ND	5.0	12.4	領域 1*	ND	7.1	13.9	9.9	領域 2	ND	2.2	ND	ND	原点	ND	ND	0.9	3.6	領域 3*	ND	ND	2.2	10.2	その他	ND	ND	2.5	5.3	¹⁴ CO ₂	NA	0.8	4.1	5.6	VOC	NA	ND	ND	ND	物質収支	99.7	99.5	97.9	96.4	<暗対照区>					バリダマイシン	99.7	99.4	98.9	99.5	その他	ND	ND	ND	ND	物質収支	99.7	99.4	98.9	99.5		
画分	処理後日数																																																																																									
	0	2	7	9																																																																																						
<光照射区>																																																																																										
バリダマイシン	99.7	89.5	69.2	49.3																																																																																						
グルコース	ND	ND	5.0	12.4																																																																																						
領域 1*	ND	7.1	13.9	9.9																																																																																						
領域 2	ND	2.2	ND	ND																																																																																						
原点	ND	ND	0.9	3.6																																																																																						
領域 3*	ND	ND	2.2	10.2																																																																																						
その他	ND	ND	2.5	5.3																																																																																						
¹⁴ CO ₂	NA	0.8	4.1	5.6																																																																																						
VOC	NA	ND	ND	ND																																																																																						
物質収支	99.7	99.5	97.9	96.4																																																																																						
<暗対照区>																																																																																										
バリダマイシン	99.7	99.4	98.9	99.5																																																																																						
その他	ND	ND	ND	ND																																																																																						
物質収支	99.7	99.4	98.9	99.5																																																																																						
V-1	土壌吸着	土壌	<p>供試化合物： バリダマイシン (非標識化合物)</p> <p>処理方法： 4 種類の畑地および水田土壌 5 g (乾土相当) に純水 5 mL を入れて 24 時間静置。その後、被験物質濃度 4.94 µg/mL の 0.01 M 塩化カルシウム溶液を 20 mL 添加。</p> <p>試験条件： 25 ± 1℃ の暗条件下で 16 時間振盪 (平衡化)。</p> <p>試験項目： 土壌吸着係数を求めるためのスクリーニング試験</p>	<p>・4 種土壌におけるスクリーニング試験結果</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">供試土壌</th> <th rowspan="2">初期添加量 (µg)</th> <th colspan="2">分析結果</th> <th rowspan="2">物質収支 (%)</th> </tr> <tr> <th>水相濃度 (µg/mL)</th> <th>土壌相残留量 (µg)*</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>牛久</td> <td>98.8</td> <td>0.51</td> <td>13.15</td> <td>-2.9**</td> </tr> <tr> <td>香川</td> <td>98.8</td> <td>2.72</td> <td>68.5</td> <td>4.0</td> </tr> <tr> <td>真壁</td> <td>98.8</td> <td>1.62</td> <td>40.95</td> <td>3.75</td> </tr> <tr> <td>宮崎</td> <td>98.5</td> <td>2.08</td> <td>53.8</td> <td>-0.8**</td> </tr> </tbody> </table> <p>*：平均値は、申請者が計算 **：マイナス (-) 表示の吸着量 (µg) については 0 として計算</p> <p>スクリーニング試験を行った結果、バリダマイシンは 0.01 M 塩化カルシウム溶液中で安定であるが、土壌と共に 0.01 M 塩化カルシウム溶液中で 16 時間振盪すると不安定であることが判明した。従って高次試験の実施は不可能と考えられた。</p>	供試土壌	初期添加量 (µg)	分析結果		物質収支 (%)	水相濃度 (µg/mL)	土壌相残留量 (µg)*	牛久	98.8	0.51	13.15	-2.9**	香川	98.8	2.72	68.5	4.0	真壁	98.8	1.62	40.95	3.75	宮崎	98.5	2.08	53.8	-0.8**	化学分析 (2000)	344																																																									
供試土壌	初期添加量 (µg)	分析結果		物質収支 (%)																																																																																						
		水相濃度 (µg/mL)	土壌相残留量 (µg)*																																																																																							
牛久	98.8	0.51	13.15	-2.9**																																																																																						
香川	98.8	2.72	68.5	4.0																																																																																						
真壁	98.8	1.62	40.95	3.75																																																																																						
宮崎	98.5	2.08	53.8	-0.8**																																																																																						

住友化学：住友化学株式会社
Ricerca：Ricerca Biosciences, LLC
化学分析：株式会社化学分析コンサルタント

<標識化合物一覧表>

名称	¹⁴ C 標識位置
[¹⁴ C] パリダマイシン	

<代謝分解物一覧表>

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
親化合物	バリダマイシン (バリダマイシンA)		
動物 植物 土壌	バリドキシルアミンA		
植物 土壌	バリダミン		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
植物 土壌			
(動物) * 土壌 水中光分解			

* 括弧は推定化合物を示す。

1. 動物代謝に関する試験

(1) バリダマイシンのラットにおける代謝試験

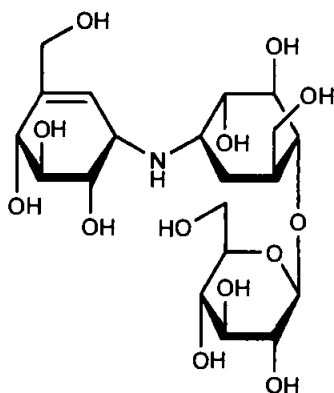
(資料 I-1)

試験機関：住友化学株式会社

報告書作成年：2005年

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式：



化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジ'ヒド'ロキシ-6-ヒド'ロキシメチル-4-[(1S, 4R, 5S, 6S)-4, 5, 6-トリヒド'ロキシ-3-ヒド'ロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル=β-D-グルコピ'ラノシド'

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置の設定理由：

供試動物：Cr1:CD (SD) ラット、7 週齢、1 群の数は次表参照

供試時体重：雄 201.4~266.1 g、雌 149.8~187.7 g

試験方法：

投与：比放射能が 50 mg/kg では 59.2 kBq/mg、1000 mg/kg では 2.96 kBq/mg となるよう標識化合物と非標識化合物を混合後、超純水に溶解して投与液を調整した。次表のように投与液を 5 mL/kg の割合で単回強制経口投与した。

投与量設定根拠：

¹⁴C 排泄実験 (A, F 群) : 投与後 1 匹ずつガラス製代謝ケージに入れ、尿および糞は氷冷下で、呼気は室温下で次表に示した時間にそれぞれ採取した。呼気はモノエタノールアミン/メタノール = 1/2 (v/v) 混合溶液に捕集した。尿および呼気捕集液は、動物毎および時点毎に全重量を測定後、その一部を LSC に供して放射能を測定した。糞は動物毎および時点毎に全重量を測定後、糞重量の 2~10 倍量 (v/w) の水を加えホモジナイズした。その一部を秤取しオキシダイザーで燃焼後、LSC に供して放射能を測定した。

血漿中 ¹⁴C 濃度測定 (B, G 群) : 投与後 1 匹ずつガラス製代謝ケージに入れ、次表に示した採取時間に、ジエチルエーテル麻酔下、眼窩静脈叢よりヘパリン処理済キャピラリーを用いて 1 匹あたり約 0.2~0.3 mL 採血した。得られた血液を微量高速冷却遠心機にて遠心分離し、血漿を得た。秤取した血漿をオキシダイザーで燃焼後、LSC に供して放射能を測定した。

胆汁排泄実験 (C 群) : 胆管カニューレーション手術を施したラットに被験物質を投与後、ラットを保定したボールマンケージを呼気回収用チャンバーに収容した。胆汁は氷冷下で、尿、糞および呼気は室温下で次表に示した時間にそれぞれ採取した。呼気はモノエタノールアミン/メタノール = 1/2 (v/v) 混合溶液に捕集した。投与後 2 日目にエーテル麻酔により安楽死させた後、解剖し、消化管を摘出した。尿、胆汁および呼気捕集液は、動物毎および時点毎に全重量を測定後、その一部を LSC に供して放射能を測定した。糞は動物毎および時点毎に全重量を測定後、糞重量の 2~10 倍量 (v/w) の水を加えホモジナイズした。その一部を秤取しオキシダイザーで燃焼後、LSC に供して放射能を測定した。
50 mg/kg (A 群) および 1000 mg/kg (F 群) の ¹⁴C 排泄率結果が同一傾向を示し、雌雄差も認められなかったため、胆汁排泄実験は 50 mg/kg (C 群) の雄ラットのみで実施した。

組織中 ¹⁴C 濃度測定 (A, D, E, F, I, J 群) : 血漿中 ¹⁴C 濃度測定試験結果を考慮して次表に示した測定時点を決し、組織摘出法 (雄 ; 計 33 種の器官および組織、雌 ; 同 34 種) および全身オートラジオグラフィー (ARG) 法にて測定した。

組織摘出法 (A, D, F, I 群) : 投与後 A および F 群は 1 匹ずつ、D および I 群は 2 匹ずつガラス製代謝ケージに入れた。次表に示した時間に、雌雄各 3 匹ずつをジエチ

ルエーテル麻酔下で開腹し全血を採取後、器官および組織を摘出した。摘出後の屍体は残屍体とした。全血は放射能測定のため秤量後、残りの一部を小型冷却遠心器にて遠心分離し、血漿および血球に分けた。消化管は管壁と内容物に分けて採取した。器官および組織は一部もしくは秤量可能な量を秤量し、オキシダイザーで燃焼後、LSC に供して放射能を測定した。残屍体は動物ごとに 3 mol/L の水酸化カリウムにて溶解後、その一部を秤量し LSC に供して放射能を測定した。A 群および F 群の雌雄各 1 匹はジエチルエーテル吸入により屠殺し、器官および組織の摘出を行わず、投与放射エネルギーに対する体内残存率を求めるため、残屍体と同様に放射能を測定した。

全身オートラジオグラフィ（ARG）法（E、J 群）：投与後 2 匹ずつガラス製代謝ケージに入れ、次表に示した採取時間に、雌雄各 1 匹をジエチルエーテル吸入により屠殺し、全身 ARG 測定に供した。ラット 1 匹について、眼球付近、副腎付近および正中線付近の計 3 箇所について切片を作成した。

代謝物定量および同定：¹⁴C 排泄実験（A、F 群）で得られた原尿は用量毎および雌雄毎に各個体の投与後 1 日目まで得られた試料の約 1/3 ずつを混合、糞ホモジネートは約 1/10 ずつを混合し測定試料とした。胆汁排泄実験（C 群）で得られた胆汁は各個体の投与後 1 日目および 2 日目に得られた試料の約 1/5 ずつを混合し、原尿については約 1/20、糞ホモジネートについては約 1/10 を混合してそれぞれ測定試料とした。

原尿および胆汁測定試料は、濃縮後、0.05 M 酢酸アンモニウム水溶液に溶解し、アセトニトリルを加え、代謝物定量時の HPLC の移動相の比率に調整した。遠心分離後、上清を分析試料とした。糞ホモジネートは 50%メタノールにて 2 回抽出し、抽出液を濃縮後、0.05 M 酢酸アンモニウム水溶液に溶解し、アセトニトリルを加え、代謝物定量時の HPLC の移動相の比率に調整し分析試料とした。各分析試料を HPLC に供し、代謝物の割合を算出した。代謝物および未変化体の同定は HPLC によるクロマトグラフィーおよび LC-MS 分析にて行った。

測定試料中に投与量の 5%以上の未知代謝物は検出されず、これに関わる同定操作は実施しなかった。

群	投与量	動物数	検討項目	試料採取時間（投与後時間）
A	50 mg/kg	雌雄各 4 匹	¹⁴ C 排泄	尿、糞、呼気：24、48、72 hr
			組織中 ¹⁴ C 濃度測定 (組織摘出法)	72 hr 後に各組織を摘出、但し雌雄各 1 匹は組織摘出せず。
			排泄物中代謝物分析	尿、糞：0~24 hr
B	50 mg/kg	雌雄各 3 匹	血漿中 ¹⁴ C 濃度推移	0.25、0.5、1、2、4、8、24、48 hr

群	投与量	動物数	検討項目	試料採取時間 (投与後時間)
C*	50 mg/kg	雄 4 匹	胆汁排泄	胆汁、尿、糞、呼気：24、48 hr 残屍体、消化管内容物：48 hr
			排泄物中代謝物分析	尿、糞、胆汁：0~48 hr
D	50 mg/kg	雌雄各 9 匹**	組織中 ¹⁴ C 濃度測定 (組織摘出法)	0.5 hr (T _{max})、 4 hr (C _{max} の約 1/2~1/4 時点)、 24 hr (C _{max} の約 1/10 時点)
E	50 mg/kg	雌雄各 4 匹	組織中 ¹⁴ C 濃度測定 (全身 ARG 法)	0.5、4、24、72 hr
F	1000 mg/kg	雌雄各 4 匹	¹⁴ C 排泄	尿、糞、呼気：24、48、72 hr
			組織中 ¹⁴ C 濃度測定 (組織摘出法)	72 hr 後に各組織を摘出、但し雌雄各 1 匹は組織摘出せず。
			排泄物中代謝物分析	尿、糞：0~24 hr
G	1000 mg/kg	雌雄各 3 匹	血漿中 ¹⁴ C 濃度推移	0.25、0.5、1、2、4、8、24、48 hr
H*	1000 mg/kg		胆汁排泄	
I	1000 mg/kg	雌雄各 9 匹**	組織中 ¹⁴ C 濃度測定 (組織摘出法)	雄：1 hr、雌：2 hr (T _{max})、 4 hr (C _{max} の約 1/2~1/4 時点)、 48 hr (C _{max} の約 1/10 時点)
J	1000 mg/kg	雌雄各 4 匹	組織中 ¹⁴ C 濃度測定 (全身 ARG 法)	雄：1、4、48、72 hr 雌：2、4、48、72 hr

*：胆汁排泄実験は、A および F 群の ¹⁴C 排泄率結果が同一傾向を示したため、C 群雄ラットのみで実施した。

**：試料採取時間毎に雌雄各 3 匹を解剖した。

結 果：

血漿中 ¹⁴C 濃度推移：血漿中 ¹⁴C 濃度推移および薬物動態パラメーターを表 1 に示した。

血漿中 ¹⁴C 濃度は、50 mg/kg 投与では雌雄ラットとも投与後 0.5 時間目に C_{max} (雄；17.62 μg バリダマイシン相当量/g (ppm)、雌；16.66 ppm) を示し、1000 mg/kg 投与では雄ラットで投与後 1 時間目、雌ラットで投与後 2 時間目に C_{max} (雄；103.8 ppm、雌；134.2 ppm) を示した。C_{max} 以降の血漿中 ¹⁴C 濃度は、用量および性に関係なく、投与後 24~48 時間目まで約 T_{1/2} 30 時間で減少した。また、AUC については顕著な性差はなかった。血漿中 ¹⁴C 濃度、C_{max} および AUC に投与量比 (20 倍) に依存した用量依存性は認められなかった。これは 1000 mg/kg でバリダマイシンの腸内細菌による代謝に飽和が生じてグルコースの生成量が減少し、結果として吸収本体と考えられるグルコースの吸収量が低下したためと考えられた。

排 泄：¹⁴C-バリダマイシン投与後 3 日目までの放射能排泄率を表 2 に、胆管カニキュレーション雄ラットにおける投与後 2 日目までの放射能排泄率を表 3 に示した。

50 mg/kg 投与後 3 日間の総 ^{14}C 排泄率は、雄ラットで 92.2% (尿: 5.0%、糞: 68.4%、呼気: 18.8%)、雌ラットで 92.5% (尿: 6.2%、糞: 66.7%、呼気: 19.6%) であった。

1000 mg/kg 投与では、雄ラットで 95.1% (尿: 2.7%、糞: 80.5%、呼気: 12.0%)、雌ラットで 96.0% (尿: 2.5%、糞: 82.0%、呼気: 11.5%) であった。総 ^{14}C 排泄率に投与後 3 日目における体内残存率を加算した総 ^{14}C 回収率は 96.4~98.0% であり、投与 ^{14}C はほぼ定量的に回収された。

主要排泄経路は糞中排泄であり、投与後 1 日目までに投与 ^{14}C の大部分が排泄された。尿および糞中への各総 ^{14}C 排泄率に性差は無かったが ($p > 0.05$)、1000 mg/kg 投与においては糞中排泄率が高くなった。これは 1000 mg/kg でバリダマイシンの腸内細菌による代謝に飽和が生じ、未変化体の糞中排泄が増加したためと考えられた。胆管導出した雄ラットに 50 mg/kg 投与した時の胆汁への排泄率は投与 ^{14}C 量の約 1% であった。

吸収率: 投与 ^{14}C の経口吸収率は、胆管導出した雄ラットに ^{14}C -バリダマイシンを 50 mg/kg で投与後 2 日間の胆汁、尿、呼気および残屍体中の ^{14}C 割合の総和から算出したところ 37.5% であった。1000 mg/kg 投与では、雌雄ラットに単回経口投与した際の投与後 3 日間の尿および呼気中 ^{14}C 排泄率の合計値から、約 14~15% と見積もられ、吸収率の低下が認められた。尚、未変化のバリダマイシンの経口吸収率は用量に依存せず約 1% と考えられた。

分布: 組織摘出法の結果を表 4~7 に示した。

50 mg/kg 投与後、 ^{14}C は摘出採取した器官および組織中に広く分布した。組織中 ^{14}C はほとんどの器官および組織で投与後 0.5 あるいは 4 時間に最高濃度を示した。投与後 4 時間目までは消化管およびその内容物で高い ^{14}C 濃度を示したが、それ以降は急激に減少した。それら以外では脂肪など一部の器官および組織において ^{14}C 濃度が僅かに上昇する傾向を示したが、投与後 24 時間目以降多くの器官および組織中の ^{14}C は緩やかに消失し、その消失パターンは血漿よりも若干緩徐であった。消化管およびその内容物以外の器官および組織では ^{14}C の血漿中からの組織移行性は経時的に高くなった。特に、肝臓、脊髄、胸腺、脳、副腎、下垂体および骨髄においてその傾向は顕著であった。これら器官および組織中 ^{14}C 濃度推移はそのほとんどがグルコースの体内動態を反映していると考えられた。全身 ARG 法にて組織摘出法で検討しなかった部位への ^{14}C 分布を確認したところ、眼窩内涙腺、唾液腺および外耳道腺付近などへの分布が認められた。

投与 ^{14}C 量に対する器官および組織内分布率は、投与後 0.5 時間から 4 時間目にかけて特に小腸内容物および盲腸内容物で高かったが、投与後 24 時間目以降

の消化管内の組織内分布率は急激に減少した。消化管およびその内容物以外では、肝臓および全血で比較的高く、投与 ^{14}C 量の約 2% を示した。投与後 72 時間目の投与 ^{14}C 量に対する体内残存率は最大で 4.5% であった。

1000 mg/kg 投与後の器官および組織中 ^{14}C 濃度推移、分布は、50 mg/kg 投与時とほぼ同様の傾向を示したが、消化管およびその内容物を除いて、器官および組織中 ^{14}C 濃度には、投与量比 (20 倍) に依存した用量依存性は認められなかった。これは 1000 mg/kg で腸内細菌によるバリダマイシンの代謝に飽和が生じてグルコースの生成量が減少し、結果として吸収本体と考えられるグルコースの吸収量が低下したためと考えられた。

代謝：尿、糞および呼気中代謝物の割合を表 8 に、胆管カニューレションラットにおける尿、糞および胆汁中の代謝物の割合を表 9 に、バリダマイシンのラットにおける推定代謝経路を図 1 に示した。

未変化のバリダマイシンに加え、バリドキシルアミン A および 7 種の未知代謝物を含む計 8 種類の代謝物が認められた。未知代謝物はいずれも投与 ^{14}C 量の 5% 未満であった。50 mg/kg 投与では、経口投与後、大部分のバリダマイシンは消化管内で腸内細菌によりバリドキシルアミン A およびグルコースに代謝された。これは金井ら (Validamycin A のラットとモルモットにおける生体内運命、技術報告 (1972)) (資料 参考-1) の腸内細菌を用いた *in vitro* 代謝においてバリダマイシンがほぼ定量的にバリドキシルアミン A に代謝されたことと一致する。1000 mg/kg 投与では、未変化のバリダマイシンが糞中に約 30% 認められたことから、腸内細菌の代謝に飽和が認められた。

グルコースは速やかに体内に吸収され、解糖系、TCA 回路、ペントースリン酸経路にて分解された後、最終的にそのほとんどは CO_2 として排泄された。バリドキシルアミン A は若干吸収され、一部は代謝されずに尿中に排泄されたが、一部は未知代謝物へと代謝されている可能性が示唆された。未変化のバリダマイシンはほとんど吸収されなかった。

以上の結果、バリダマイシンの主要な代謝反応は、エーテル結合の開裂によるバリドキシルアミン A およびグルコースの生成、グルコースから CO_2 の生成であった。

表1 バリダマイシンを単回経口投与（50または1000 mg/kg）した雌雄ラットにおける血漿中¹⁴C濃度推移および薬物動態パラメーター

投与後時間（時間）	¹⁴ C濃度（ μg バリダマイシン相当量/g）			
	50 mg/kg		1000 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0.25	16.75	16.12	71.3	71.0
0.50	17.62	16.66	95.7	109.1
1	14.76	13.94	103.8	118.9
2	9.69	10.39	94.9	134.2
4	6.37	5.38	41.8	68.0
8	4.57	3.84	36.9	45.1
24	2.09	1.90	20.7	25.5
48	1.22	1.04	12.2	14.6
T_{max} （時間）	0.50	0.50	1	2
C_{max} （ μg バリダマイシン相当量/g）	17.62	16.66	103.8	134.2
$T_{1/2}$ （時間） （24~48時間）	30.9	27.6	31.5	29.8
AUC （ μg バリダマイシン相当量・時間/g）（0~ ∞ ）	158	141	1329	1689
	212	183	1883	2318

¹⁴C濃度の値は3匹の平均値を示す。

表2 バリダマイシンを単回経口投与（50または1000 mg/kg）した雌雄ラットにおける尿、糞および呼気への放射能の排泄と残屍体中放射能

投与量 (mg/kg)	試料	累積排泄率（投与放射能に対する割合、%）			
		投与後の時間（時間）			
		0～24	0～48	0～72	
50	雄	尿	4.7	4.8	5.0
		糞	66.8	68.2	68.4
		呼気	16.9	18.2	18.8
		小計	88.4	91.2	92.2
		残屍体	---	---	4.5
		合計	88.4	91.2	96.7
	雌	尿	5.7	6.1	6.2
		糞	63.8	66.3	66.7
		呼気	17.0	18.8	19.6
		小計	86.5	91.2	92.5
		残屍体	---	---	3.9
		合計	86.5	91.2	96.4
1000	雄	尿	2.5	2.6	2.7
		糞	79.4	80.4	80.5
		呼気	10.6	11.5	12.0
		小計	92.6	94.5	95.1
		残屍体	---	---	2.9
		合計	92.6	94.5	98.0
	雌	尿	2.3	2.4	2.5
		糞	80.6	81.9	82.0
		呼気	9.9	11.0	11.5
		小計	92.9	95.3	96.0
		残屍体	---	---	1.9
		合計	92.9	95.3	97.9

表中の値は4匹の平均値を示す。

---：測定せず。

表3 バリダマイシンを単回経口投与 (50 mg/kg) した胆管導出雄ラットにおける放射能の排泄

	試料	累積排泄率 (投与放射能に対する割合、%)	
		投与後の時間 (時間)	
		0~24	0~48
雄	胆汁	0.7	0.9
	尿	9.5	16.2
	呼気	11.4	13.7
	残屍体	---	6.8
	小計	21.6	37.5
	糞	32.3	45.7
	消化管内容物	---	8.3
	小計	32.3	54.1
	合計	53.9	91.6

表中の値は4匹の平均値を示す。

--- : 測定せず。

表4 パリダマイシンを単回経口投与 (50 mg/kg) した雌雄ラットにおける組織中放射能濃度の経時変化

	組織中 ^{14}C 濃度 (μg パリダマイシン相当量/g 湿組織重量)							
	雄				雌			
	0.5 hr	4 hr	24 hr	72 hr	0.5 hr	4 hr	24 hr	72 hr
副腎	8.63	9.72	7.19	3.28	5.24	8.46	5.71	5.08
血液	12.86	6.66	1.36	1.00	13.50	5.45	1.18	0.80
血球	8.48	5.45	0.95	1.09	8.44	4.88	0.66	0.84
血漿	17.35	7.84	1.66	0.66	18.16	5.95	1.52	0.62
骨	4.07	3.03	1.48	1.22	3.27	2.65	1.33	1.32
骨髓	5.91	15.06	8.65	2.76	6.04	14.70	7.95	2.75
脳	16.01	14.66	5.41	3.81	15.90	14.06	5.08	4.10
盲腸	19.82	199.10	4.16	1.18	14.49	386.56	4.03	1.30
眼球	8.29	5.32	1.44	1.09	8.08	4.29	1.33	0.97
脂肪	1.53	1.70	1.77	2.48	1.87	1.18	1.75	2.65
毛と皮膚	7.63	4.92	3.06	2.27	8.69	3.40	2.74	2.05
心臓	5.37	4.22	1.34	0.89	4.36	3.10	1.21	0.89
腎臓	11.74	10.44	3.89	2.00	9.20	8.08	3.24	1.89
大腸	70.86	32.04	6.22	1.58	34.03	65.55	6.25	1.71
肝臓	17.11	14.26	13.17	7.89	15.20	12.78	12.91	7.00
肺	5.63	5.71	3.10	1.71	4.68	4.54	3.06	1.68
顎下腺	13.27	45.05	3.43	1.70	12.95	38.96	2.71	1.87
筋肉	2.30	2.67	1.85	1.34	1.90	2.12	1.31	1.30
卵巣	-----	-----	-----	-----	7.73	9.84	4.30	2.36
膵臓	8.56	16.90	2.35	1.44	5.79	12.74	1.96	1.27
下垂体	11.89	13.74	5.78	2.85	14.20	9.82	5.20	3.18
坐骨神経	1.58	4.04	2.41	2.51	1.36	3.30	2.31	2.38
小腸	161.81	44.05	3.69	1.08	340.64	28.06	2.80	1.04
脾臓	5.63	9.45	4.74	2.58	4.60	6.94	3.72	2.49
脊髄	8.67	13.14	5.63	6.04	8.71	11.83	6.51	5.28
胃	78.39	11.27	3.45	2.05	79.79	16.03	3.75	1.94
精巣	2.65	6.97	3.46	2.48	-----	-----	-----	-----
胸腺	5.09	12.33	6.93	4.24	5.14	12.85	7.52	4.24
甲状腺	21.15	8.72	3.69	2.02	6.68	6.01	3.64	2.48
子宮	-----	-----	-----	-----	9.13	8.36	5.12	2.00
盲腸内容物	29.09	1525.30	16.35	0.50	38.34	2319.56	9.86	0.54
大腸内容物	152.59	13.23	15.61	0.68	74.60	1929.97	15.70	0.75
小腸内容物	1531.89	339.06	4.43	0.75	1264.02	104.03	4.78	0.94
胃内容物	915.46	25.44	0.39	0.06	405.32	25.47	0.34	0.21

表中の値は3匹の平均値を示す。

----- : 該当器官なし。

表5 バリダマイシンを単回経口投与 (50 mg/kg) した雌雄ラットにおける組織中放射能分布の経時変化

	組織中 ¹⁴ C 分布 (投与放射能に対する%)							
	雄				雌			
	0.5 hr	4 hr	24 hr	72 hr	0.5 hr	4 hr	24 hr	72 hr
副腎	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
血液	1.6	0.8	0.2	0.2	1.7	0.7	0.2	0.1
脳	0.2	0.2	0.1	0.1	0.3	0.3	0.1	0.1
盲腸	0.1	1.0	0.0	0.0	0.1	2.4	0.0	0.0
眼球	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
心臓	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
腎臓	0.2	0.2	0.1	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0
大腸	0.6	0.2	0.1	0.0	0.4	0.7	0.1	0.0
肝臓	1.0	0.9	1.4	0.8	1.0	0.7	1.4	0.7
肺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
顎下腺	0.1	0.2	0.0	0.0	0.1	0.2	0.0	0.0
卵巣	-----	-----	-----	-----	0.0	0.0	0.0	0.0
膵臓	0.1	0.1	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0
下垂体	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
小腸	4.3	1.4	0.1	0.0	12.0	1.0	0.1	0.0
脾臓	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
胃	0.7	0.1	0.0	0.0	0.9	0.2	0.0	0.0
精巣	0.0	0.1	0.1	0.1	-----	-----	-----	-----
胸腺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0	0.0
甲状腺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
子宮	-----	-----	-----	-----	0.0	0.0	0.0	0.0
盲腸内容物	0.5	49.9	0.5	0.0	1.0	46.6	0.3	0.0
大腸内容物	0.8	0.1	0.2	0.0	0.4	4.3	0.4	0.0
小腸内容物	45.5	7.4	0.2	0.0	35.7	1.8	0.3	0.1
胃内容物	6.0	0.1	0.0	0.0	3.5	0.0	0.0	0.0
小計	62.0	62.9	3.1	1.4	57.5	59.3	3.1	1.2
残屍体	9.3	7.1	4.0	3.0	9.2	9.4	3.7	2.5
合計	71.3	70.0	7.2	4.4	66.7	68.7	6.8	3.7

表中の値は3匹の平均値を示す。

-----: 該当器官なし。

表6 バリダマイシンを単回経口投与(1000 mg/kg)した雌雄ラットにおける組織中放射性濃度の経時変化

	組織中 ¹⁴ C濃度(μgバリダマイシン相当量/g湿組織重量)							
	雄				雌			
	1 hr	4 hr	48 hr	72 hr	2 hr	4 hr	48 hr	72 hr
副腎	65.6	89.7	62.6	42.9	83.4	82.7	79.1	45.8
血液	102.5	40.8	15.7	9.3	112.9	39.2	15.1	9.0
血球	69.2	36.0	14.5	10.4	93.6	36.1	13.6	7.0
血漿	133.0	45.9	14.2	7.0	129.9	40.2	15.0	7.3
骨	27.4	24.4	15.6	11.4	34.4	22.6	14.5	8.9
骨髄	56.8	118.3	61.4	27.5	112.3	127.1	66.8	27.1
脳	130.1	88.4	47.2	35.1	182.5	99.7	50.4	33.4
盲腸	300.0	6886.5	40.8	19.6	7792.6	5379.2	64.4	15.8
眼球	69.5	30.4	12.5	8.9	86.6	33.0	12.7	8.3
脂肪	10.7	17.1	43.3	49.2	20.6	33.9	39.6	33.0
毛と皮膚	65.9	30.3	32.2	30.6	74.6	28.4	28.9	19.7
心臓	43.2	24.8	15.2	11.2	38.8	22.7	15.6	10.3
腎臓	83.6	80.1	43.2	24.3	129.7	74.8	41.3	21.3
大腸	509.5	3629.1	60.6	25.2	1773.9	1894.4	57.6	21.4
肝臓	150.1	250.5	145.5	163.2	194.6	322.7	176.4	91.9
肺	59.8	42.2	106.8	21.4	52.0	45.4	35.4	18.7
顎下腺	119.7	218.5	29.7	18.8	241.1	180.3	28.9	17.3
筋肉	18.4	21.3	21.2	14.0	25.1	31.0	14.4	16.1
卵巣	-----	-----	-----	-----	100.3	83.7	49.5	25.8
膵臓	67.2	136.1	25.0	16.6	127.8	79.3	31.0	15.2
下垂体	118.5	80.3	41.3	<L. O. Q.	158.2	99.4	50.3	32.1
坐骨神経	<L. O. Q.	27.9	23.9	20.8	45.5	33.0	25.4	22.4
小腸	6452.7	321.1	30.5	15.8	2692.2	258.2	30.3	13.8
脾臓	54.3	69.3	41.3	26.7	88.3	63.8	43.6	24.4
脊髄	88.0	76.4	56.2	46.9	159.1	93.6	63.6	49.3
胃	1602.8	240.3	44.3	23.9	349.4	307.0	40.9	20.1
精巣	31.2	52.6	30.6	22.8	-----	-----	-----	-----
胸腺	56.4	93.3	70.5	44.5	106.9	114.5	70.6	36.4
甲状腺	93.2	82.4	40.2	28.4	87.5	72.5	38.1	27.2
子宮	-----	-----	-----	-----	81.7	64.1	40.2	15.8
盲腸内容物	362.5	36135.6	30.7	7.9	30032.2	33206.3	90.9	9.3
大腸内容物	671.9	33195.0	39.3	8.7	4933.1	27303.6	106.2	9.3
小腸内容物	27342.6	875.7	30.2	11.1	14243.0	629.7	46.6	9.7
胃内容物	16860.1	116.2	<L. O. Q.	1.9	585.4	478.5	11.4	1.4

表中の値は3匹の平均値を示す。

<L. O. Q. : 検出限界以下。

----- : 該当器官なし。

表7 バリダマイシンを単回経口投与 (1000 mg/kg) した雌雄ラットにおける組織中放射能分布の経時変化

	組織中 ¹⁴ C 分布 (投与放射能に対する%)							
	雄				雌			
	1 hr	4 hr	48 hr	72 hr	2 hr	4 hr	48 hr	72 hr
副腎	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
血液	0.6	0.2	0.1	0.1	0.6	0.2	0.1	0.1
脳	0.1	0.1	0.0	0.0	0.2	0.1	0.0	0.0
盲腸	0.1	1.5	0.0	0.0	2.3	1.8	0.0	0.0
眼球	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
心臓	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
腎臓	0.1	0.1	0.0	0.0	0.1	0.1	0.0	0.0
大腸	0.2	1.3	0.0	0.0	0.9	0.9	0.0	0.0
肝臓	0.4	0.8	0.7	0.9	0.5	1.0	0.8	0.5
肺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
顎下腺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
卵巣	-----	-----	-----	-----	0.0	0.0	0.0	0.0
膵臓	0.0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
下垂体	0.0	0.0	0.0	<L. O. Q.	0.0	0.0	0.0	0.0
小腸	9.2	0.5	0.0	0.0	4.6	0.4	0.0	0.0
脾臓	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
胃	0.8	0.1	0.0	0.0	0.2	0.2	0.0	0.0
精巣	0.0	0.0	0.0	0.0	-----	-----	-----	-----
胸腺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
甲状腺	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
子宮	-----	-----	-----	-----	0.0	0.0	0.0	0.0
盲腸内容物	0.6	53.6	0.0	0.0	36.9	49.4	0.2	0.0
大腸内容物	0.2	16.9	0.0	0.0	3.6	12.4	0.2	0.0
小腸内容物	51.3	1.6	0.1	0.0	15.8	1.3	0.1	0.0
胃内容物	7.6	0.3	<L. O. Q.	0.0	0.1	1.8	0.0	<L. O. Q.
小計	71.2	77.1	1.3	1.2	66.0	69.8	1.6	0.8
残屍体	3.5	3.4	1.9	1.6	4.8	4.9	1.8	1.2
合計	74.7	80.5	3.2	2.8	70.8	74.7	3.4	2.0

表中の値は3匹の平均値を示す。

<L. O. Q. : 検出限界以下。

----- : 該当器官なし。

表8 バリダマイシンを単回経口投与（50 mg/kg または 1000 mg/kg）した雌雄ラットにおける尿（投与後1日目まで）、糞（投与後1日目まで）および呼気（投与後3日目まで）中の代謝物の割合

代謝物	投与放射能に対する割合 (%)			
	50 mg/kg		1000 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
尿				
抽出物				
バリドキシルアミン A	2.0	1.7	0.8	0.7
バリダマイシン	1.0	1.2	1.1	1.0
未知代謝物-1	0.6	0.7	N. D.	N. D.
未知代謝物-2	0.8	1.2	0.5	0.6
未知代謝物-3	0.3	0.8	N. D.	N. D.
小計	4.7	5.6	2.4	2.3
未抽出物	0.0	0.1	0.1	0.0
尿小計	4.7	5.7	2.5	2.3
糞				
水/メタノール抽出物				
バリドキシルアミン A	62.3	50.8	45.2	42.7
バリダマイシン	N. D.	2.9	29.5	33.3
未知代謝物-3	N. D.	4.0	N. D.	N. D.
未知代謝物-7	N. D.	2.2	N. D.	N. D.
小計	62.3	59.9	74.6	76.0
未抽出物	4.5	3.9	4.8	4.6
糞小計	66.8	63.8	79.4	80.6
呼気				
二酸化炭素	18.8	19.6	12.0	11.5
合計	90.3	89.1	93.9	94.4

表中の値は4匹の試料を混合して分析した値。

N. D. : 検出されず。

表9 バリダマイシンを単回経口投与 (50 mg/kg) した胆管カニュレーション雄ラットにおける尿、糞および胆汁 (各投与後2日間) 中の代謝物の割合

	投与放射能に対する割合 (%)		
	糞	尿	胆汁
抽出物			
バリドキシルアミン A	38.2	11.4	N. D.
バリダマイシン	N. D.	2.0	N. D.
未知代謝物-1	N. D.	0.5	N. D.
未知代謝物-2	N. D.	0.3	N. D.
未知代謝物-3	1.9	0.8	N. D.
未知代謝物-4	N. D.	N. D.	0.4
未知代謝物-5	N. D.	N. D.	0.1
未知代謝物-6	N. D.	N. D.	0.3
未知代謝物-7	2.7	0.9	N. D.
小計	42.9	16.0	0.9
未抽出物	2.8	0.2	0.0
合計	45.7	16.2	0.9

表中の値は4匹の試料を混合して分析した値。

N. D. : 検出されず。

図1 バリダマイシンのラットにおける推定代謝経路

2. 植物代謝に関する試験

(1) バリダマイシンの水稻における代謝試験

(資料 II-1)

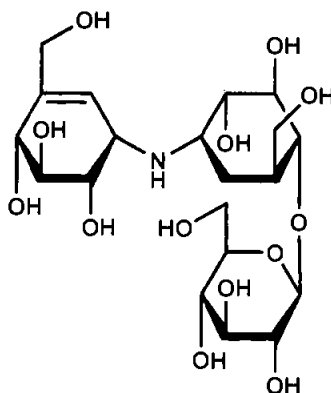
試験機関：Ricerca Biosciences, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式：



化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジ'ヒド'ロキシ-6-ヒド'ロキシメチル-4-[(1*S*, 4*R*, 5*S*, 6*S*)-4, 5, 6-トリヒド'ロキシ-3-ヒド'ロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル-β-D-グルコピ'ラノシド'

放射化学的純度：

比放射能：

ロット番号：

標識位置の選定理由：

供試植物：水稻（品種；コシヒカリ）

品種選定根拠；水稻の一般的実用品種であるため

方法：

試験土壌：オハイオ州 Geauga 地方の休閒地土壌 (Ricerca Biosciences 採取)。過去 5 年間、農薬の使用歴および放射能の検出なし。

土性；壤土

試験容器：直径 0.21 m のプラスチック製ポットに上から約 5 cm まで試験土壌を充填し、水深約 3 cm に湛水した。

試験植物の調製：4 葉期の苗をポット当たり 6 本移植したものを 20 ポット調製し、通常の農業栽培体系で栽培した。

栽培条件：温室栽培

環境条件：昼間 28℃、14 時間／夜間 21℃、10 時間の昼夜サイクル

施用液調製法：空製剤に [¹⁴C] バリダマイシンおよび水を加えて 5% 液剤として調製した。施用液の放射化学的純度は であった。

施用法：育苗箱施用と葉面散布の体系処理（育苗箱施用は、それを模した移植直前の植え穴処理とした。）

試験区	試験区 I (無処理)	試験区 II	試験区 III (代謝物同定用試料調製)
ポット数	5	10	5
施用液濃度	—	7.99 mg/53.365 mL	13.20 mg/27.526 mL
施用量	—	育苗箱施用； 0.0519 mg/ポット/施用 (15 g ai/ha/施用) 葉面散布； 0.7785 mg/ポット/施用 (225 g ai/ha/施用)	育苗箱施用； 0.173 mg/ポット/施用 (50 g ai/ha/施用) 葉面散布； 2.595 mg/ポット/施用 (750 g ai/ha/施用)
施用回数 および時期	—	育苗箱施用 1 回 (移植時) 葉面散布 5 回 (最終収穫前 42、35、28、21、14 日)	
採取時期	最終施用 7 日後；試験区 II (3ポット)、 最終施用 14 日後；試験区 I (全ポット)、試験区 II (7ポット)、試験区 III (全ポット)		
採取部位	稲わら (茎葉部)、穀粒 (粉殻および玄米)		

分析方法：収穫した各試験区の試料（稲わら、籾）は水、次いでメタノールで洗浄し、洗浄液中の ^{14}C 量を LSC で定量した後、籾試料は籾殻と玄米に分画した。稲わら、籾殻および玄米は、含水メタノールおよびメタノールで抽出し、抽出液および抽出残渣中の ^{14}C 量をそれぞれ LSC および試料燃焼/LSC で定量した。分析法の概略を図 1 に示した。

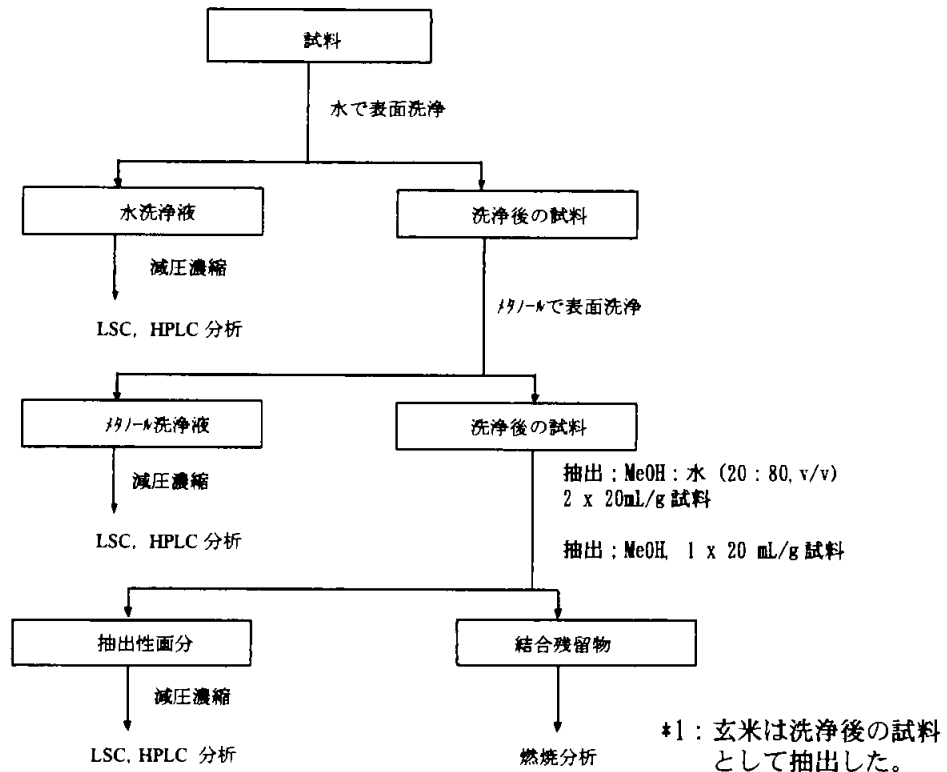


図 1 水稻試料の抽出操作

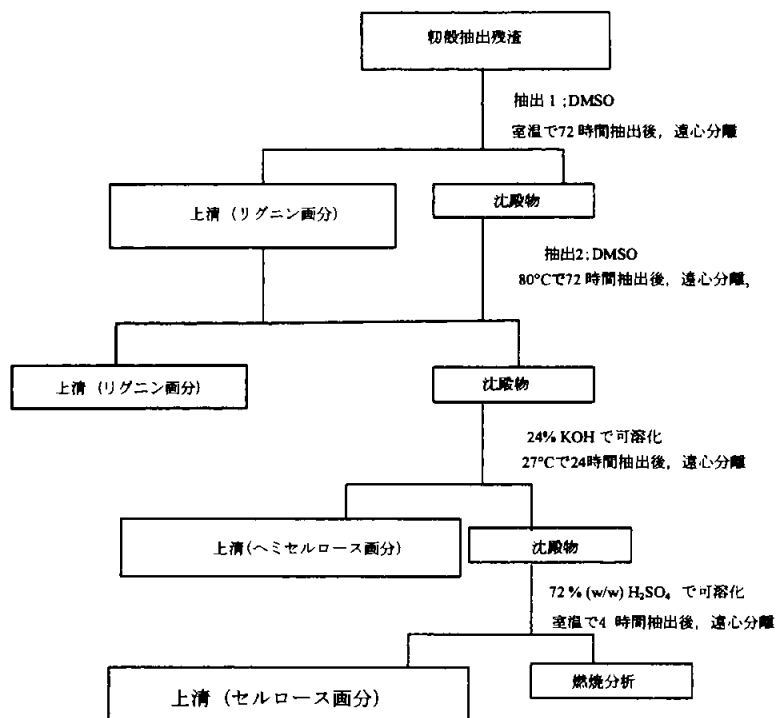


図2 籾殻の結合残留物の化学的特徴づけ

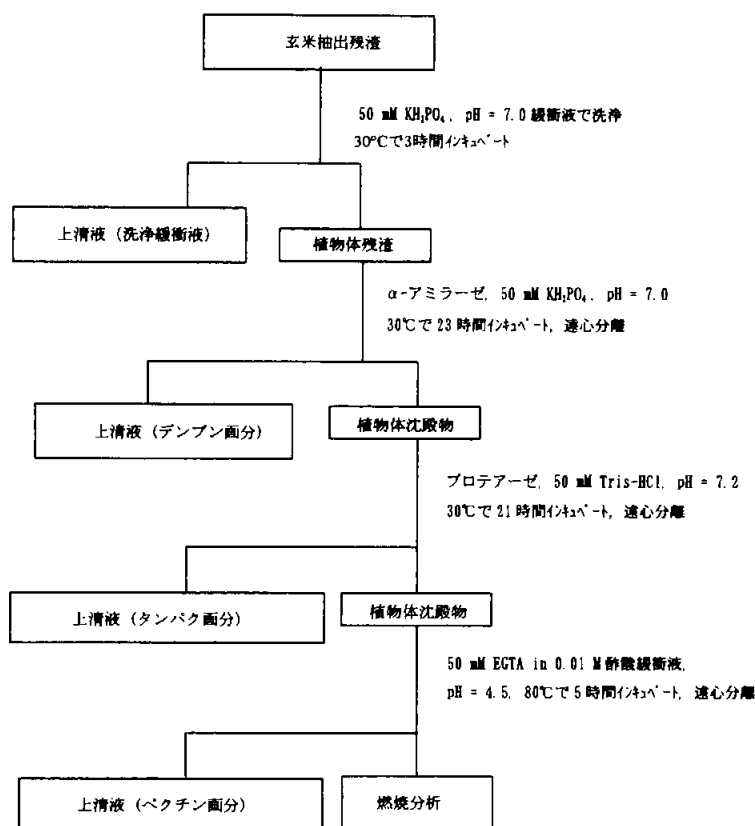


図3 玄米の結合残留物の化学的特徴づけ

放射性総残留物 (TRR) ;

稲わらまたは籾殻中の TRR

$$= \text{表面洗浄液中 } ^{14}\text{C} + \text{洗浄後試料の抽出液中 } ^{14}\text{C} + \text{抽出残渣中 } ^{14}\text{C}$$

$$\text{玄米中の TRR} = \text{抽出液中 } ^{14}\text{C} + \text{抽出残渣中 } ^{14}\text{C}$$

代謝分解物の定量 ; 表面洗浄液および抽出液の一部を HPLC 分析に供して、 ^{14}C の分布を求めた。

代謝分解物の単離、精製、特徴付け ; 本試験に供した標品、バリダマイシン、バリドキシルアミン A、バリダミンおよびバリエナミンとの HPLC 保持時間の比較により ^{14}C 残留物の特徴付けをおこなった。さらに、代謝分解物を同定するため、代謝分解物を HPLC により単離し、2D-TLC コクロマトグラフィーにより分析した。HPLC 分析にて保持時間 3~5 分に溶出した ^{14}C は、極性画分を分画可能な順相 HPLC 条件を用いて化学的特徴付けをおこなった。籾殻および玄米の未抽出 ^{14}C は図 2 および 3 に従い分画した。

回収率および保存安定性；無処理試料を用いて¹⁴Cバリダマイシンの添加回収試験をおこなったところ、99%以上が回収された。また HPLC カラムからの回収率は 90~110%であった。さらに、¹⁴Cバリダマイシンおよび代謝分解物の安定性については、稲わらにおける抽出液の初期 HPLC プロファイルと約 2 ヶ月間凍結保存後に再分析して得られた HPLC プロファイルを比較した結果、良好であった。

結果：

1) 放射能の分布

稲わら、籾殻および玄米の TRR ならびに¹⁴Cの分布を表 1 および 2 に示した。表面洗浄後の水稻中の¹⁴Cは燃焼法で求めた結果も合わせて示した。

表 1 試験区 II の試料の TRR および¹⁴Cの分布

試験区 II / 7 日後	稲わら		籾殻		玄米	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
水表面洗浄液	3.701	41.6	2.504	35.8	/	
メノール表面洗浄液	1.683	18.9	0.228	3.3		
洗浄試料	3.510 (3.554)	39.5	4.270 (4.036)	61.0		
抽出性放射能	2.872	32.3	2.846	40.7	0.118	52.1
未抽出性放射能	0.638	7.2	1.424	20.3	0.109	47.9
TRR	8.894 (8.937)	100.0	7.001 (6.768)	100.0	0.227 (0.214)	100.0
試験区 II / 14 日後	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
水表面洗浄液	7.227	48.5	2.972	40.9	/	
メノール表面洗浄液	3.105	20.9	0.311	4.3		
洗浄試料	4.556 (4.699)	30.6	3.990 (3.751)	54.8		
抽出性放射能	3.689	24.8	2.351	32.3	0.145	43.5
未抽出性放射能	0.867	5.8	1.639	22.5	0.188	56.5
TRR	14.887 (15.031)	100.0	7.272 (7.034)	100.0	0.333 (0.318)	100.0

() 内の数値は燃焼法により求めた値。

表2 試験区 III の試料の TRR および ¹⁴C の分布

試験区 III / 14 日後	稲わら		籾殻		玄米	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
水表面洗浄液	26.562	58.4	5.825	45.4	/	
メノール表面洗浄液	7.632	16.8	0.666	5.2		
洗浄試料	11.271 (10.836)	24.8	6.331 (6.599)	49.4		
抽出性放射能	8.919	19.6	3.717	29.0	0.192	41.0
未抽出性放射能	2.352	5.2	2.614	20.4	0.277	59.0
TRR	45.465 (45.029)	100.0	12.822 (13.090)	100.0	0.469 (0.432)	100.0

() 内の数値は燃焼法により求めた値。

収穫期（最終散布 14 日後）の稲わらにおける TRR は試験区 II で 14.877 ppm、試験区 III で 45.465 ppm であった。稲わらの植物表面に残留する ¹⁴C は 69.4~75.2%TRR、稲わら組織中に移行した ¹⁴C は 24.8~30.6%TRR であった。

収穫期の籾殻における TRR は試験区 II で 7.272 ppm、試験区 III で 12.822 ppm であった。籾殻表面および籾殻組織中に残留する ¹⁴C はそれぞれ 45.2~50.6%TRR および 49.4~54.8%TRR であった。

収穫期の玄米に残留する ¹⁴C 量は籾殻と比較して顕著に低く、試験区 II で 0.333 ppm、試験区 III で 0.469 ppm であった。

2) 放射性残留物の分布

試験区 II : 各組織における HPLC 分析結果を表 3 および 4 に示した。

各組織（稲わら、籾殻、玄米）とも採取時期の違いによる代謝分解物の種類およびその生成量に顕著な差はなかった。稲わらおよび籾殻で確認された主要残留物は未変化のバリダマイシン（稲わら：51.9~52.2%TRR、籾殻：32.2~34.0%TRR）およびバリドキシルアミン A（稲わら：24.0~24.9%TRR、籾殻：13.8~17.1%TRR）であった。なお、その他に確認された極性画分（3~5 分溶出画分、稲わら：16.6~17.4%TRR、籾殻：29.7~30.4%TRR）は、10%TRR 未満の複数成分から構成されていた。玄米でも同様の傾向が認められ、主要残留物としてバリダマイシン（5.3~12.3%TRR、0.018~0.028 ppm）、バリドキシルアミン A（13.4~14.1%TRR、0.032~0.045 ppm）および極性画分（24.8~25.7%TRR、0.058~0.083 ppm：10%TRR 未満の複数成分）が検出された。

表 3-1 試験区 II の稲わら試料の表面洗浄液および抽出液中の放射能の分布

試験区 II	水洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
7日後								
抽出性放射能	3.701	41.6	1.683	18.9	2.872	32.3	8.256	92.8
3-5分*	0.712	8.0	0.363	4.1	0.403	4.5	1.479	16.6
バリドキシルミンA	0.632	7.1	0.233	2.6	1.270	14.3	2.135	24.0
バリダマイシン	2.356	26.5	1.086	12.2	1.200	13.5	4.642	52.2
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.638	7.2
計	3.701	41.6	1.683	18.9	2.872	32.3	8.894	100.0
14日後								
抽出性放射能	7.227	48.5	3.105	20.9	3.689	24.8	14.02	94.2
3-5分*	1.280	8.6	0.629	4.2	0.677	4.5	2.586	17.4
バリドキシルミンA	1.705	11.5	0.656	4.4	1.352	9.1	3.713	24.9
バリダマイシン	4.242	28.5	1.819	12.2	1.660	11.2	7.722	51.9
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.867	5.8
計	7.227	48.5	3.105	20.9	3.689	24.8	14.887	100.0

na = 適用なし、 * : 個々には10%TRR未滿

表 3-2 試験区 II の籾殻試料の表面洗浄液および抽出液中の放射能の分布

試験区 II	水洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
7日後								
抽出性放射能	2.504	35.8	0.228	3.3	2.846	40.7	5.578	79.7
3-5分*	0.696	9.9	0.088	1.3	1.345	19.2	2.128	30.4
バリドキシルミンA	0.265	3.8	0.040	0.6	0.889	12.7	1.195	17.1
バリダマイシン	1.543	22.0	0.100	1.4	0.612	8.7	2.255	32.2
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	1.424	20.3
計	2.504	35.8	0.228	3.3	2.846	40.7	7.001	100.0
14日後								
抽出性放射能	2.972	40.9	0.311	4.3	2.351	32.3	5.634	77.5
3-5分*	1.117	15.4	0.147	2.0	0.891	12.3	2.154	29.7 ¹⁾
バリドキシルミンA	0.311	4.3	0.054	0.7	0.637	8.8	1.002	13.8 ¹⁾
バリダマイシン	1.544	21.2	0.110	1.5	0.823	11.3	2.477	34.0 ¹⁾
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	1.639	22.5
計	2.972	40.9	0.311	4.3	2.351	32.3	7.273	100.0

na = 適用なし、 * : 個々には10%TRR未滿

¹⁾報告書 47 および 64 ページに誤植があり、申請者が訂正

表 3-3 試験区 II の玄米試料中の放射能の分布

試験区 II	7日後				14日後			
	抽出液		計		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能	0.118	52.1	0.118	52.1	0.145	43.5	0.145	43.5
3-5分*	0.058	25.7	0.058	25.7	0.083	24.8	0.083	24.8
バリドキシルアミン A	0.032	14.1	0.032	14.1	0.045	13.4	0.045	13.4
バリダマイシン	0.028	12.3	0.028	12.3	0.018	5.3	0.018	5.3
未抽出性放射能	na	na	0.109	47.9	na	na	0.188	56.5
計	0.118	52.1	0.227	100.0	0.145	43.5	0.333	100.0

na = 適用なし、 * : 個々には 10%TRR 未満

試験区 III : 処理区 III における HPLC 分析結果を表 4 に示した。

試験区 III の水稻各組織における ¹⁴C の分布は、試験区 II の結果と類似していた。主要残留物としてバリダマイシンおよびバリドキシルアミン A が稲わらで 52.8%TRR (24.002 ppm) および 18.6%TRR (8.478 ppm)、籾殻で 36.2%TRR (4.644 ppm) および 14.0%TRR (1.790 ppm)、玄米で 5.8%TRR (0.027 ppm) および 14.6%TRR (0.068 ppm) 検出された。なお、全ての試料にて極性画分が 20.6~29.4%TRR 存在したが、いずれも 10%TRR 未満の微量代謝物から構成されていた。

表 4-1 試験区 III の稲わら 14 日後試料の表面洗浄液および抽出液中の放射能の分布

試験区 III	水洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
14 日後								
抽出性放射能	26.562	58.4	7.632	16.8	8.919	19.6	43.113	94.8
3-5分*	6.585	14.5	1.695	3.7	2.351	5.2	10.631	23.4
バリドキシルアミン A	4.027	8.9	1.242	2.7	3.208	7.1	8.478	18.6
バリダマイシン	15.948	35.1	4.694	10.3	3.360	7.4	24.002	52.8
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	2.352	5.2
計	26.562	58.4	7.632	16.8	8.919	19.6	45.462	100.0

na = 適用なし、 * : 個々には 10%TRR 未満

表 4-2 試験区 III の籾殻 14 日後試料の表面洗浄液および抽出液中の放射能の分布

試験区 III	水洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
14 日後								
抽出性放射能	5.825	45.4	0.666	5.2	3.717	29.0	10.208	79.6
3-5 分*	1.689	13.2	0.278	2.2	1.808	14.1	3.775	29.4
バリドキルアミン A	0.401	3.1	0.131	1.0	1.257	9.8	1.790	14.0
バリダマイシ	3.735	29.1	0.257	2.0	0.652	5.1	4.644	36.2
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	2.614	20.4
計	5.825	45.4	0.666	5.2	3.717	29.0	12.823	100.0

na = 適用なし、 * : 個々には 10%TRR 未満

表 4-3 試験区 III の玄米 14 日後試料中の放射能の分布

試験区 III	抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
14 日後				
抽出性放射能	0.192	41.0	0.192	41.0
3-5 分*	0.097	20.6	0.097	20.6
バリドキルアミン A	0.068	14.6	0.068	14.6
バリダマイシ	0.027	5.8	0.027	5.8
未抽出性放射能	na	na	0.277	59.0
計	0.192	41.0	0.469	100.0

na = 適用なし、 * : 個々には 10%TRR 未満

3) 未抽出性残留物の特徴づけ

化学的抽出法による特徴づけ：籾殻試料の抽出後の固形物 (PES) を図 2 の方法により分析した結果を表 5 に示した。

表 5-1 試験区 II の籾殻試料抽出残渣中 ¹⁴C の化学的特徴づけ

PES 試料 分画化	7 日後			14 日後		
	分析試料中%	ppm	%TRR	分析試料中%	ppm	%TRR
リグニン	27.4	0.391	5.6	19.7	0.322	4.4
ヘミセルロース	29.4	0.419	6.0	24.1	0.395	5.4
セルロース	12.3	0.175	2.5	21.3	0.348	4.8
抽出残渣	30.8	0.439	6.3	35.0	0.574	7.9
計	100.0	1.424	20.3	100.0	1.639	22.5

表 5-2 試験区 III の籾殻試料抽出残渣中 ^{14}C の化学的特徴づけ

PES 試料 分画化	14 日後		
	分析試料中%	ppm	%TRR
リグニン	27.1	0.709	5.5
ヘミセルロース	35.2	0.921	7.2
セルロース	21.0	0.550	4.3
抽出残渣	16.6	0.434	3.4
計	100.0	2.614	20.4

籾殻試料の抽出残渣中の ^{14}C について化学的特徴付けをおこなった結果、 ^{14}C は植物構成成分へ取り込まれていることが示唆された。

酵素抽出による特徴づけ：玄米試料の抽出後の固形物 (PES) を図 3 の方法により分析した結果を表 6 に示した。

表 6-1 試験区 II の玄米試料抽出残渣中 ^{14}C の化学的特徴づけ

PES 試料 分画化	7 日後			14 日後		
	分析試料中%	ppm	%TRR	分析試料中%	ppm	%TRR
緩衝液洗浄	9.9	0.011	4.8	8.5	0.016	4.8
デンプン	20.2	0.022	9.7	25.7	0.048	14.5
タンパク	24.1	0.026	11.5	19.3	0.036	10.9
ペクチン	7.0	0.008	3.3	4.0	0.007	2.2
抽出残渣	38.9	0.042	18.6	42.5	0.080	24.0
計	100.0	0.109	47.9	100.0	0.188	56.5

表 6-2 試験区 III の玄米試料抽出残渣中 ^{14}C の化学的特徴づけ

PES 試料 分画化	14 日後		
	分析試料中%	ppm	%TRR
緩衝液洗浄	9.1	0.025	5.4
デンプン	18.6	0.051	11.0
タンパク	20.8	0.057	12.2
ペクチン	6.1	0.017	3.6
抽出残渣	45.5	0.126	26.8
計	100.0	0.277	59.0

玄米試料の抽出残渣中の ^{14}C について化学的特徴付けをおこなった結果、 ^{14}C は植物構成成分へ取り込まれていることが示唆された。

4) 水稲におけるバリダマイシンの推定代謝分解経路

図4 バリダマイシンの水稲における推定代謝分解経路

(2) バリダマイシンのレタスにおける代謝試験

(資料 II-2)

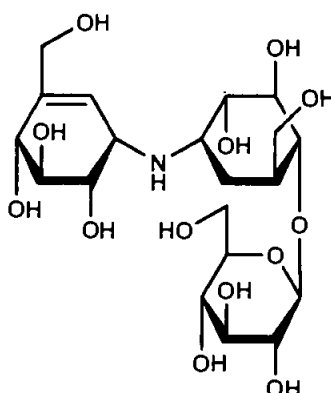
試験機関：Ricerca Biosciences, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年：2008年

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式：



化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-4-[(1S, 4R, 5S, 6S)-4, 5, 6-トリヒドロキシ-3-ヒドロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル-β-D-グルコピラノシド

放射化学的純度：

比放射能：

ロット番号：

標識位置の選定理由：

供試植物：レタス (品種；Simpson Elite)

品種選定根拠；レタスの一般的実用品種であるため

方法：

試験土壌：オハイオ州 Geauga 地方の休耕地土壌 (Ricerca Biosciences 採取)。過去5年間、農薬の使用歴および放射能の検出なし。

土性；壤土

試験容器：直径 0.28 m のプラスチック製ポットに上から約 5 cm まで土壌を充填した。

試験植物の調製：試験容器にレタスを播種後、13 日後に 4~6 植物体/ポットとし、計 12 ポットを通常の農業栽培体系で栽培した。

栽培条件：温室栽培

環境条件：昼間 22℃、14 時間/夜間 18℃、10 時間の昼夜サイクル

施用液調製法：空製剤に [¹⁴C] バリタマイシンおよび水を加えて 5%液剤として調製した。

施用液の放射化学的純度は であって。

試験区	試験区 I (無処理)	試験区 II	試験区 III
ポット数	2	7	3
施用液濃度	—	25.62 mg/135.81 mL	37.89 mg/60.75 mL
施用量	—	3.511 mg/ポット/施用 (570 g ai/ha/施用)	11.704 mg/ポット/施用 (1900 g ai/ha/施用)
施用回数 および時期	—	3 回 (収穫前 21、14、7 日)	
施用法	—	葉面散布	
採取時期	最終施用 7 日後		
採取部位	成熟レタス		

分析方法：

分析試料調製方法；収穫後、各試験区の試料は水、次いでメタノールで洗浄後、洗浄液の ¹⁴C 量については LSC により定量した。その後、洗浄レタスは、ドライアイスと共に粉碎して均質化後、含水メタノールおよびメタノールで抽出し、抽出液および抽出残渣中の ¹⁴C 量をそれぞれ LSC および試料燃焼/LSC で定量した。分析法の概要を図 1 に示した。

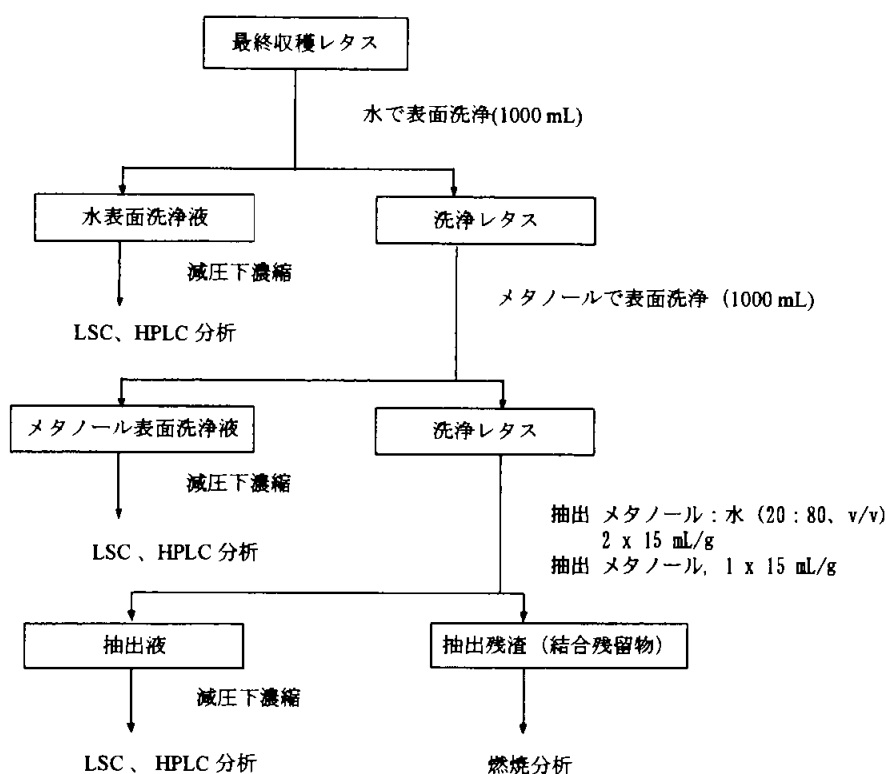


図1 レタスの処理操作

放射性総残留物 (TRR) ; 葉部中の TRR = 表面洗浄液中 ^{14}C + 洗浄後試料の抽出液中 ^{14}C + 抽出残渣中 ^{14}C

代謝分解物の定量 ; 表面洗浄液および抽出液の一部を HPLC 分析に供して、 ^{14}C の分布を求めた。

代謝分解物の単離、精製、特徴付け ; 本試験に供した標品、バリダマイシン、バリドキシルアミン A、バリダミンおよびバリエナミンとの HPLC 保持時間の比較により ^{14}C 残留物の特徴付けをおこなった。さらに代謝分解物を同定するために、代謝分解物を HPLC により単離し、2D-TLC コクロマトグラフィーにより分析した。HPLC 分析において極性画分に溶出した ^{14}C は、極性画分を分画可能な HPLC 条件を用いて化学的特徴付けをおこなった。

回収率および保存安定性 ; 無処理試料を用いて [^{14}C] バリダマイシンの添加回収試験を行ったところ、98%以上が回収された。また HPLC カラムからの回収率は 90~110% であった。さらに、 [^{14}C] バリダマイシンおよび代謝分解物の安定性については、表面洗浄液および抽出液の初期 HPLC プロファイルと約 5 ヶ月間凍結保存後再分

析して得られた HPLC プロファイルを比較した結果、良好であった。

結 果：

1) 放射能の分布

試験区 II (570 g ai/ha 処理) および試験区 III (1900 g ai/ha 処理) における各部位での放射性総残留物の分布・濃度を表 1 に示した。試験区 II および試験区 III における放射性総残留物 (TRR) は、それぞれ 8.146 ppm および 21.530 ppm であり、残留する ¹⁴C の大部分は表面洗浄液 (試験区 II : 67.3%TRR、試験区 III : 84.1%TRR) 中に回収され、洗浄後のレタス抽出液中の ¹⁴C および抽出残渣中の ¹⁴C はそれぞれ 13.6~25.4%TRR および 2.3~7.3%TRR であった。

表 1 レタスの TRR および放射能の分布

試験区	試験区 II		試験区 III	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
レタス				
水表面洗浄液	4.200	51.6	15.563	72.3
メタノール表面洗浄液	1.280	15.7	2.538	11.8
洗浄後レタス	2.665 (2.657)	32.7	3.429 (3.412)	15.9
抽出液	2.068	25.4	2.924	13.6
抽出残渣	0.597	7.3	0.505	2.3
TRR	8.146 (8.137)	100.0	21.530 (21.513)	100.0

() 内の数値は燃焼法により求めた値。

2) 放射性残留物の分布

試験区 II の表面洗浄液および抽出液中 ¹⁴C の HPLC 分析結果を表 2 に示した。バリダマイシンが 54.3%TRR (4.421 ppm) 検出され、主要代謝物としてバリドキシルアミン A が 35.1%TRR (2.856 ppm) 認められた。その他に 2 種類の微量代謝分解物 (≤2.1%TRR、≤0.169 ppm) が検出された。

表2 試験区 II のレタスにおける放射能の分布

試験区 II	水洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
最終収穫								
抽出性 ¹⁴ C	4.200	51.6	1.280	15.7	2.068	25.4	7.548	92.7
11.90分	0.041	0.5	0.021	0.3	0.043	0.5	0.105	1.3
13.30分	0.099	1.2	0.038	0.5	0.032	0.4	0.169	2.1
バリドキシルアミン A	1.023	12.6	0.627	7.7	1.205	14.8	2.856	35.1
バリダマイシン	3.038	37.3	0.593	7.3	0.790	9.7	4.421	54.3
抽出残渣中 ¹⁴ C	na	na	na	na	na	na	0.597	7.3
計	4.201	51.6	1.280	15.7	2.070	25.4	8.148	100.0

na = 適用なし

試験区 III の表面洗浄液および抽出液中 ¹⁴C の HPLC 分析結果を表 3 に示した。バリダマイシンが 76.0%TRR (16.360 ppm) 検出され、主要代謝物としてバリドキシルアミン A が 16.8%TRR (3.611 ppm) 認められた。その他にバリエナミンおよびバリダミンを含めて 5 種類 (≦2.5%TRR、≦0.540 ppm) の微量代謝分解物が検出された。

表3 試験区 III のレタスにおける放射能の分布

試験区 III	水洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
最終収穫								
抽出性放射能	15.563	72.3	2.538	11.8	2.924	13.6	21.025	97.7
9.8分	nd	nd	nd	nd	0.024	0.1	0.024	0.1
11.90分	nd	nd	0.079	0.4	0.026	0.1	0.105	0.5
13.30分	0.501	2.3	nd	nd	0.039	0.2	0.540	2.5
バリエナミン	0.271	1.3	0.056	0.3	0.017	0.1	0.344	1.6
バリダミン	nd	nd	0.032	0.1	0.009	0.04	0.041	0.2
バリドキシルアミン A	1.742	8.1	0.621	2.9	1.248	5.8	3.611	16.8
バリダマイシン	13.050	60.6	1.749	8.1	1.561	7.2	16.360	76.0
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.505	2.3
計	15.563	72.3	2.538	11.8	2.923	13.6	21.530	100.0

na = 適用なし、nd = 検出せず

3) レタスにおけるバリダマイシンの推定代謝分解経路

バリダマイシンのレタスにおける主要代謝分解経路は、図 2 に示したようにグリコシド結合の開裂にともなうバリドキシルアミン A の生成であった。なお、生成したバリドキシルアミン A はさらに代謝分解を受けバリダミン、バリエナミンを含む微量代謝分解物にまで代謝分解を受けた。

図2 バリダマイシンのレタスにおける推定代謝分解経路

(3) バリダマイシンのだいずにおける代謝試験

(資料 II-3)

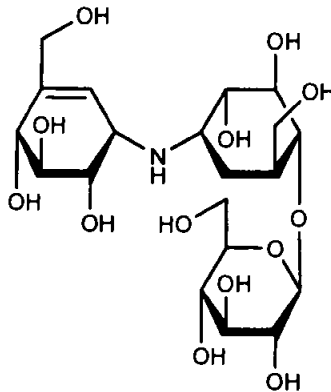
試験機関：Ricerca Biosciences, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式：



化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-4-[(1S, 4R, 5S, 6S)-4, 5, 6-トリヒドロキシ-3-ヒドロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル-β-D-グルコピラノシド

放射化学的純度：

比放射能：

ロット番号：

標識位置の選定理由：

供試植物：たいず（品種；S27-R1）

品種選定根拠；だいずの一般的実用品種であるため

方法：

試験土壌：オハイオ州 Geauga 地方の休閒地土壌（Ricerca Biosciences 採取）。過去 5 年間、農薬の使用歴および放射能の検出なし。

土性；壤土

試験容器：直径 0.28 m のプラスチック製ポットに上から約 5 cm まで試験土壌を充填した。

試験植物の調製：試験容器で育苗し、ポット当たり 4~6 本に間引きし、計 12 ポットを通常の農業栽培体系で栽培した。

栽培条件：温室栽培

環境条件：昼間 28℃、14 時間/夜間 21℃、10 時間の昼夜サイクル

施用液調製法：空製剤に [¹⁴C] バリダマイシンおよび水を加えて 5%液剤として調製した。

施用液の放射化学的純度は であった。

施用法：茎葉散布

試験区	試験区 I (無処理)	試験区 II	試験区 III
ポット数	2	7	3
施用液濃度	—	40.197 mg/134.831 mL	59.136 mg/59.511 mL
施用量	—	5.544 mg/ポット/施用 (900 g ai/ha/施用)	18.480 mg/ポット/施用 (3000 g ai/ha/施用)
施用回数および時期	—	葉面散布 3 回 (収穫前 21、14、7 日)	
採取時期	最終施用 7 日後		
採取部位	葉部、さや殻、穀粒		

分析方法：収穫後、各試験区の試料（葉部、さや）を部位毎に合わせ水、次いでメタノールで洗浄後、洗浄液の ¹⁴C 量については LSC により測定した。表面洗浄後、さやは穀粒とさや殻に分画した。各組織はドライアイスと共に粉碎して均質化後、残留 ¹⁴C 量を試料燃焼/LSC で定量した。さらに均質化した試料は、含水メタノールおよびメタノールで抽出し、抽出液および抽出残渣中の ¹⁴C 量をそれぞれ LSC および試料燃焼/LSC で定量した。次図に、分析法の概要を示した。

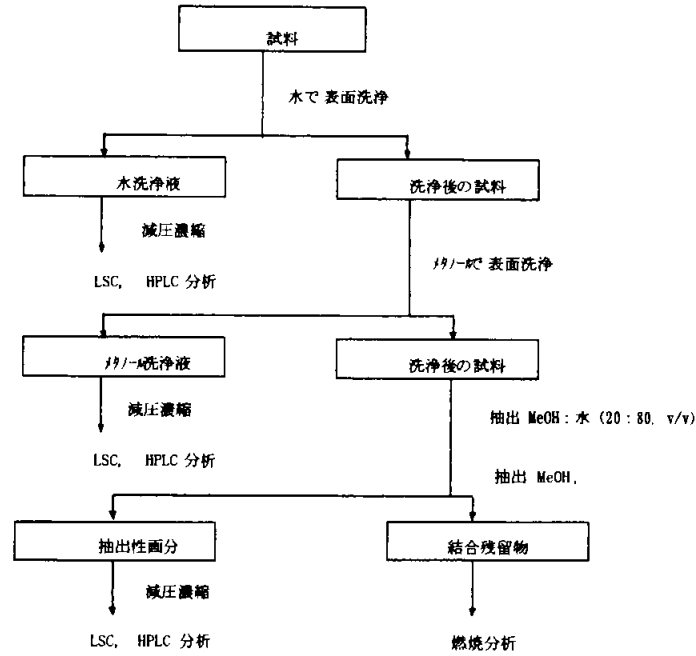


図1 だいずの処理操作

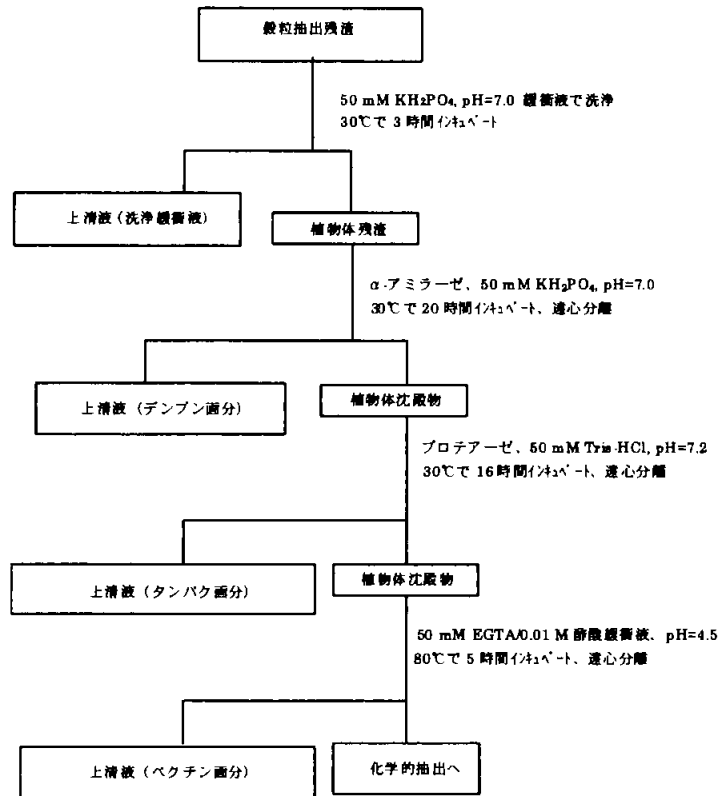


図2 だいず穀粒の酵素抽出による結合残留物の特徴付け

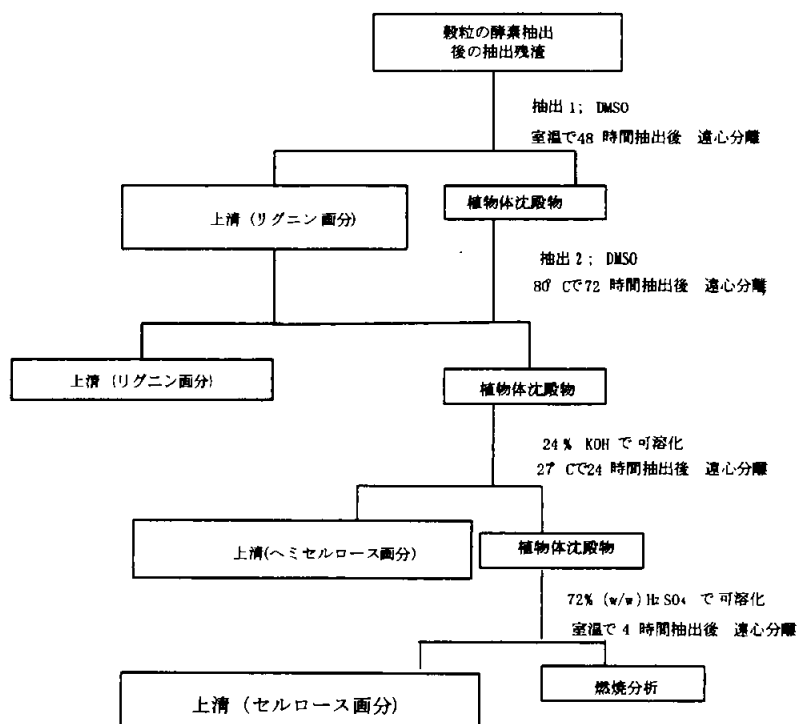


図3 だいでず穀粒の酵素抽出後結合残留物の化学的抽出による特徴付け

放射性総残留物 (TRR) ;

$$\begin{aligned} \text{葉部またはさや殻中の TRR} &= \text{表面洗浄液中 } ^{14}\text{C} + \text{洗浄後試料の抽出液中 } ^{14}\text{C} \\ &\quad + \text{抽出残渣中 } ^{14}\text{C} \\ \text{穀粒中の TRR} &= \text{抽出液中 } ^{14}\text{C} + \text{抽出残渣中 } ^{14}\text{C} \end{aligned}$$

代謝分解物の定量; 表面洗浄液および抽出液の一部を HPLC 分析に供して、 ^{14}C の分布を求めた。

代謝分解物の単離、精製、特徴付け; 本試験に供した標品、バリダマイシン、バリドキシルアミン A、バリダミンおよびバリエナミンとの HPLC 保持時間の比較により ^{14}C 残留物の特徴付けをおこなった。さらに代謝分解物の同定については、代謝分解物を HPLC により単離し、2D-TLC コクロマトグラフィーにより分析した。HPLC 分析において極性画分に溶出した ^{14}C は、極性画分を分画可能な HPLC 条件を用いて化学的特徴付けをおこなった。

回収率および保存安定性; 無処理試料を用いた [^{14}C] バリダマイシンの添加回収試験での ^{14}C 回収率は 98% 以上であった。また HPLC カラムからの回収率は 90~110% であっ

た。さらに、 ^{14}C バリダマイシンおよび代謝分解物の安定性は、だいた葉部試料の初期 HPLC プロファイルと約 8 ヶ月間凍結保存後再分析して得られた HPLC プロファイルを比較した結果、良好であった。

結果：

1) 放射能の分布

葉部、さや殻および穀粒の放射性総残留物 (TRR) ならびに ^{14}C の分布を表 1 に示した。表面洗浄後のだいた中の ^{14}C を燃焼法で求めた結果も合わせて示した。葉部およびさや殻における TRR は試験区 II でそれぞれ 55.697 ppm および 7.905 ppm、試験区 III でそれぞれ 172.288 ppm および 23.662 ppm であった。なお、葉部およびさや殻に残留した ^{14}C の大部分は表面に分布 (葉：94.8~97.2%TRR、さや殻：96.0~96.2%TRR) し、組織内に移行した ^{14}C は僅かであった (葉：2.8~5.2%TRR、さや殻：3.9~4.0%TRR)。

一方、穀粒に認められた ^{14}C 量はさや殻における ^{14}C 量に比較して顕著に少なく、試験区 II で 0.229 ppm、試験区 III で 0.576 ppm であった。

表 1 試験区 II および試験区 III における TRR および ^{14}C の分布

試験区 II/7 日後	葉部		さや殻		穀粒	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
水表面洗浄液	49.141	88.2	7.035	89.0	/	
メノール表面洗浄液	3.690	6.6	0.550	7.0		
洗浄試料	2.867 (2.822)	5.2	0.319 (0.308)	4.0		
抽出性放射能	2.603	4.7	0.230	2.9	0.114	49.6
未抽出性放射能	0.264	0.5	0.089	1.1	0.116	50.4
TRR	55.697 (55.653)	100.0	7.905 (7.893)	100.0	0.229 (0.223)	100.0
試験区 III/7 日後	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
水表面洗浄液	158.193	91.8	21.835	92.3	/	
メノール表面洗浄液	9.264	5.4	0.912	3.9		
洗浄試料	4.831 (4.742)	2.8	0.915 (0.910)	3.9		
抽出性放射能	4.284	2.5	0.679	2.9	0.303	52.7
未抽出性放射能	0.547	0.3	0.236	1.0	0.272	47.3
TRR	172.288 (172.199)	100.0	23.662 (23.657)	100.0	0.576 (0.568)	100.0

() 内の数値は燃焼法により求めた値。

2) 放射性残留物の分布

試験区 II：表面洗浄液および抽出液の HPLC 分析結果を表 2 に示した。

葉部およびさや殻に残留した ^{14}C の大部分は未変化のバリダマイシン (葉: 93.0%TRR、さや殻: 89.3%TRR) であり、代謝物としてバリドキシルアミン A (葉: 1.2%TRR、さや殻: 4.1%TRR) および極性画分 (5.4%TRR 以下、複数成分で構成) が検出された。

一方、穀粒において同定された残留物は未変化のバリダマイシン (27.3%TRR)、バリドキシルアミン A (10.7%TRR) および極性画分 (11.6%TRR、0.027ppm、複数成分で構成) であった。

表 2 試験区 II のだいち試料の水表面洗浄液および抽出液中の放射能の分布

葉部	水表面洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能	49.141	88.2	3.690	6.6	2.603	4.7	55.433	99.5
3.2分	2.295	4.1	0.349	0.6	0.344	0.6	2.987	5.4
バリドキシルアミン A	nd	nd	0.243	0.4	0.411	0.7	0.654	1.2
バリダマイシン	46.846	84.1	3.099	5.6	1.848	3.3	51.793	93.0
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.264	0.5
計	49.141	88.2	3.690	6.6	2.603	4.7	55.697	100.0
さや殻	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能	7.035	89.0	0.550	7.0	0.230	2.9	7.815	98.9
3.2分	0.430	5.4	nd	nd	nd	nd	0.430	5.4
バリドキシルアミン A	0.323	4.1	nd	nd	nd	nd	0.323	4.1
バリダマイシン	6.282	79.5	0.550	7.0	0.230	2.9	7.062	89.3
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.089	1.1
計	7.035	89.0	0.550	7.0	0.230	2.9	7.905 ¹⁾	100.0
穀粒	/				ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能					0.114	49.6	0.114	49.6
3.2分					0.027	11.6	0.027	11.6
4.6分					nd	nd	nd	nd
5.6分					nd	nd	nd	nd
バリドキシルアミン A					0.025	10.7	0.025	10.7
バリダマイシン					0.063	27.3	0.063	27.3
未抽出性放射能					na	na	0.116	50.4
計					0.114	49.6	0.229	100.0

na = 適用なし、nd = 検出せず

¹⁾ 報告書 55 ページに誤植があり、申請者が訂正

試験区 III: 表面洗浄液および抽出液の HPLC 分析結果は表 3 に示した。各組織における残留物は試験区 II の結果と類似していた。

葉部およびさや殻に残留した ^{14}C の大部分は未変化のバリダマイシン (葉: 91.7%TRR、さや殻: 91.4%TRR) であり、代謝物としてバリドキシルアミン A (葉:

2.3%TRR、さや殻：0.6%TRR)、および極性画分(6.9%TRR以下、複数成分で構成)が検出された。

一方、穀粒において同定された残留物は未変化のバリダマイシン(36.6%TRR)および極性画分(16.1%TRR、0.093 ppm、複数成分で構成)であった。

表3 試験区 III のだいず試料の水表面洗浄液および抽出液中の放射能の分布

葉部	水表面洗浄液		メタノール 洗浄液		抽出液		計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能	158.18	91.8	9.265	5.4	4.284	2.5	171.72	99.7
3.2分	8.669	5.0	0.639	0.4	0.572	0.3	9.881	5.7
バリドキシルミンA	2.563	1.5	0.485	0.3	0.881	0.5	3.929	2.3
バリダマイシン	146.95	85.3	8.140	4.7	2.831	1.6	157.92	91.7
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.547	0.3
計	158.18	91.8	9.265	5.4	4.284	2.5	172.27	100.0
さや殻	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能	21.835	92.3	0.912	3.9	0.679	2.9	23.426	99.0
3.2分	1.411	6.0	0.082	0.3	0.141	0.6	1.633	6.9
4.6分	nd	nd	nd	nd	0.031	0.1	0.031	0.1
バリドキシルミンA	nd	nd	nd	nd	0.146	0.6	0.146	0.6
バリダマイシン	20.424	86.3	0.831	3.5	0.362	1.5	21.617	91.4
未抽出性放射能	na	na	na	na	na	na	0.236	1.0
計	21.835	92.3	0.912	3.9	0.679	2.9	23.662	100.0
穀粒	/				ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性放射能					0.303	52.7	0.304	52.7
3.2分					0.093	16.1	0.093	16.1
4.6分					nd	nd	nd	nd
5.6分					nd	nd	nd	nd
バリドキシルミンA					nd	nd	nd	nd
バリダマイシン					0.211	36.6	0.211	36.6
未抽出性放射能					na	na	0.272	47.3
計	0.303	52.7	0.576	100.0				

na = 適用なし、nd = 検出せず

3) 未抽出性残留物の化学的特徴付け

穀粒試料抽出後の固形物(PES)を図2および図3に従って分析した結果を表4に示した。穀粒試料抽出残渣中の¹⁴Cは、植物構成成分へ取り込まれていることが示された。

表 4 穀粒試料抽出残渣中の ^{14}C の特徴付け

PES 試料	試験区 II			試験区 III		
	分析試料中%	ppm	%TRR	分析試料中%	ppm	%TRR
緩衝液洗浄	8.1	0.009	4.1	7.5	0.021	3.6
デンプン	9.5	0.011	4.8	9.7	0.026	4.6
タンパク	15.5	0.018	7.8	21.8	0.059	10.3
ペクチン	9.0	0.010	4.6	6.6	0.018	3.1
リグニン	9.5	0.011	4.8	13.7	0.037	6.4
ヘミセルロース	8.5	0.010	4.3	4.9	0.013	2.3
セルロース	6.4	0.007	3.2	4.8	0.013	2.3
抽出残渣	33.4	0.039	16.8	30.9	0.084	14.6
計	100.0	0.116	50.4	100.0	0.272	47.3

4) だいずにおけるバリダマイシンの推定代謝分解経路

バリダマイシンのだいずにおける主要代謝分解経路は、図 4 に示したようにグリコシド結合の開裂にともなうバリドキシルアミン A の生成であった。なお、生成したバリドキシルアミン A はさらに代謝分解を受け、植物構成成分に取り込まれた。

図4 バリダマイシンのだいずにおける推定代謝分解経路

3. 土壌中動態に関する試験

(1) バリダマイシンの好氣的土壌中動態試験

(資料 III-1)

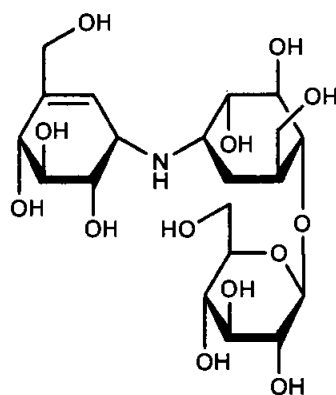
試験機関：Ricerca Biosciences, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式：



化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-4-[(1S, 4R, 5S, 6S)-4, 5, 6-トリヒドロキシ-3-ヒドロキシメチルシクロヘキサ-2-エチルアミノ]シクロヘキシル=β-D-グルコピラノシド

放射化学的純度：

比放射能：

ロット番号：

標識位置の選定理由：

供試土壌：供試土壌の物理化学的特性は表 1 の通りで、土壌は使用前に 2 mm の篩に通した。

表1 供試土壌の物理化学的特性

項目	分析値
入手先	住友化学株式会社 真壁農場
採取年月日/入手年月日	2007年8月/2007年10月17日 (入手後使用時まで約4℃で保存)
pH (水)	6.7
pH (KCl)	5.5
pH (CaCl ₂)	5.9
陽イオン交換容量 (cmol _c /kg)	25.1
有機炭素含量 (g/kg)	24.8
最大容水量 (%)	77.9
粘土鉱物	アロフェン
粗砂 (2.0~0.2 mm)	9.9
粒径、細砂 (0.2~0.02 mm)	35.2
重量% シルト (0.02~0.002 mm)	30.7
粘土 (< 0.002 mm)	24.2
土性 (ISSS分類)	CL (埴壤土)

方法:

土壌試料の調製; 乾土 37 g 相当量の試験土壌を 250 mL 容のガラス製広口瓶に入れ (土壌層の深さ: 2.5 cm)、最大容水量の 50%となるように蒸留水を添加して、25℃の暗所で2週間プレインキュベーションした。

[滅菌土壌の調製: オートクレーブ滅菌 (121℃、20分) を1日1回の割合で3日間連続して実施した]

被験物質の処理; 3.3 μg/μL に調製した [¹⁴C] バリダマイシンの水溶液 22 μL をプレインキュベートした土壌に処理した。なお、処理土壌における処理濃度は 2.0 ppm と設定した。

インキュベーション; 非滅菌土壌は施用後、通気装置付きのデシケーター内に入れ、25±2℃の暗所でCO₂フリーの加湿空気を通気し、試験期間中に生成する揮発性物質を捕集液 (エチレングリコール捕集液 1本、1 M NaOH 捕集液 2本) に捕集した。一方、滅菌土壌については、施用後デシケーター内に入れ、25±2℃の暗所でインキュベートした。

試験設計の概略を次表に記載した。

		非滅菌土壌試験系	滅菌土壌試験系
試験容器		250 mL 容プラスチック製瓶	250 mL 容ガラス製広口瓶
土壌量		乾土 37 g 相当	
土壌層の深さ		2.5 cm	3.0 cm
土壌の滅菌処理		なし	オートクレーブ滅菌 (1回/日 × 3日)
土壌水分量の調整 ¹⁾		最大容水量の 50%	
プレインキュベーション期間		施用前約 2 週間 (25±2℃、暗所)	
施用液		[¹⁴ C] パリダマイシンの約 3.3 µg/µL 水溶液	
設定施用濃度		乾土換算、2.000 ppm	
施用方法		施用液 22 µL を各容器に添加 (73.4 µg/容器/37.1 g 乾土)	
施用濃度実測値		1.985 ppm	
捕集装置の接続		有	無
インキュベーション		25±2℃、暗所、CO ₂ フリーの加湿空気を通気	
		180 日間	30 日間
採取 時点	土壌試料	施用直後、1、3、7、14、30、60、 120、180 日後	施用直後、8、30 日後
	捕集液 ²⁾	1、3、7、14、30、60、120、 180 日後	適用なし

1) 試験期間中、定期的に水分量をモニタリングして初期値に調整

2) 採取後、新溶液と交換

分析方法；揮発性物質用の捕集液は直接 LSC 分析した。

土壌試料は図 1 に示したように、メタノール/水混液で抽出後、さらに 0.1 M NH₄OH を用いて過酷抽出し、抽出液および抽出残渣（結合残留物）中の ¹⁴C 量をそれぞれ LSC および試料燃焼/LSC を用いて測定した。さらに、結合残留物はヒューミン、フミン酸、フルボ酸へ分画し、残存放射能の特徴づけをおこなった（図 2）。

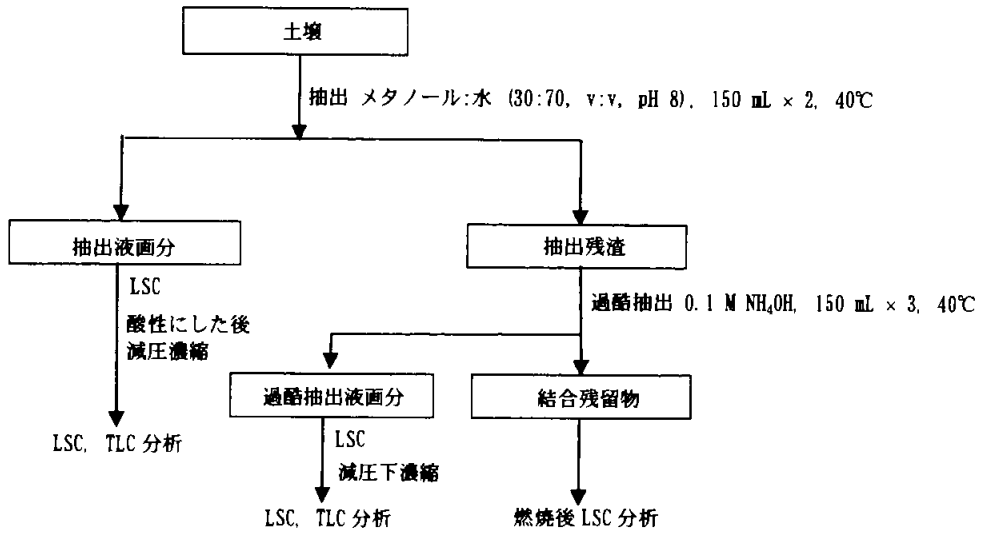


図1 抽出操作の概要

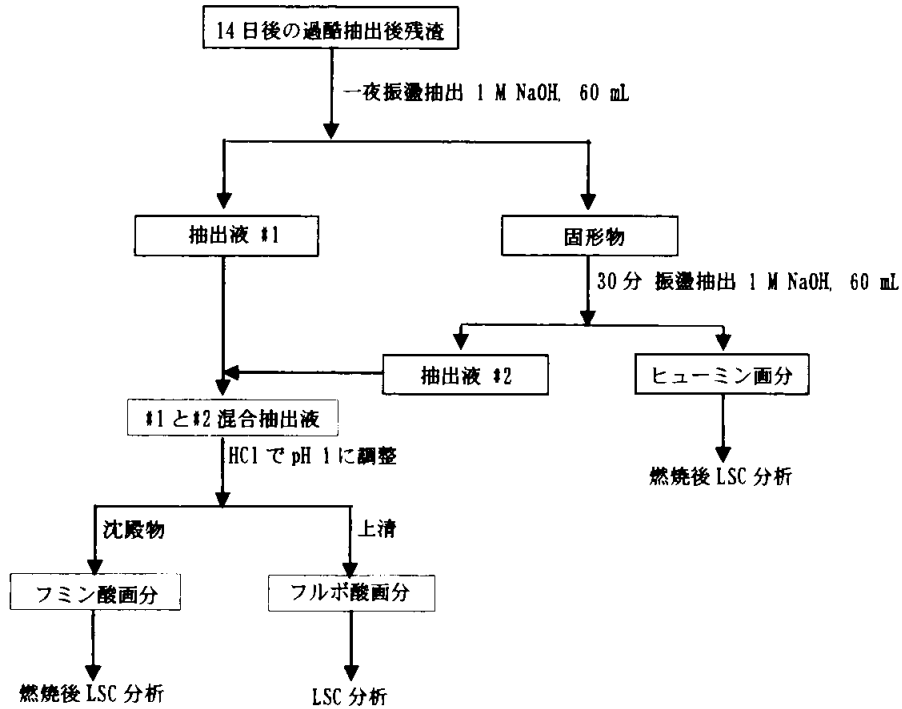


図2 土壌腐植の分画

$^{14}\text{CO}_2$ の確認；塩化バリウム沈殿法により、捕集液中の ^{14}C が $^{14}\text{CO}_2$ であることを確認した。

代謝分解物の特徴づけおよび同定；土壤抽出液および代謝分解物の単離物質は、参照標品とのHPLCまたはTLCコクロマトグラフィーにより同定した。

半減期の算定方法；以下の非線形回帰式を用い、バリダマイシンおよびバリドキシルアミンAの DT_{50} と DT_{90} を推定した。

$$C = C_0 (1 + \beta t)^{-\alpha} \text{ (Gustafson 式)}$$

ここで

C：任意の時間における土壤中の化合物の濃度

C_0 ：化合物の初期濃度

α ：定数（無次元）、 β ：定数（日 $^{-1}$ ）

t：時間（日）

DT_{50} および DT_{90} は下式により算出した。

$$\text{DT}_{50} = (0.5^{-1/\alpha} - 1) / \beta$$

$$\text{DT}_{90} = (0.1^{-1/\alpha} - 1) / \beta$$

結果：

1) 土壤の微生物活性

プレート培養法を用いて土壤中の微生物活性を測定した結果、試験期間中微生物活性が維持されていたことを確認した。

2) 物質収支

好気的非滅菌土壤；処理した ^{14}C の好気的非滅菌土壤における物質収支を表2に示した。

表2 ^{14}C バリダマイシンの好気土壌中における物質収支の経時変化 (2連の平均値)

試料 (日後)	対処理量%					
	抽出液	過酷抽出液	結合残留物	$^{14}\text{CO}_2$	VOC	回収率
0	95.6	na	8.6	na	na	104.2
1	40.7	23.7	21.3	14.0	nd	99.8
3	24.5	23.0	25.6	25.8	nd	99.0
7	17.3	14.5	27.5	40.2	nd	99.4
14	9.4	14.5	29.8	48.5	nd	102.2
30	5.1	12.9	29.1	53.5	nd	100.7
60	7.9	14.1	29.3	54.3	nd	105.5
120	8.3	13.7	28.7	54.6	nd	105.3
180	7.1	14.0	25.4	54.8	nd	101.3

na = 適用なし、nd = 検出せず、VOC:揮発性有機物質

処理した ^{14}C の物質収支はいずれの分析時点でも処理量の 99.0~105.5%であった。試験期間中の放射性二酸化炭素 ($^{14}\text{CO}_2$) の生成量は経時的に増加し、試験開始 30 日後に処理量の 53.5%、180 日後に処理量の 54.8%であった。

一方、抽出性- ^{14}C (抽出液 + 過酷抽出液) は経時的に減少し、処理直後で処理量の 95.6%、180 日後に 21.1%であった。なお、抽出残渣中の ^{14}C は処理 14 日後に 29.8%まで増加した後、180 日後に 25.4%まで減少した。

好氣的滅菌土壌 ; ^{14}C バリダマイシンの好氣的滅菌土壌における物質収支を表 3 に示した。

表3 ^{14}C バリダマイシンの好氣的滅菌土壌中における物質収支の経時変化(2連の平均値)

試料 (日後)	対処理量%					
	抽出液	過酷抽出液	結合残留物	$^{14}\text{CO}_2$	VOC	回収率
0	95.9	na	7.1	na	na	103.0
8	90.2	na	12.7	na	na	102.9
30	88.1	na	15.0	na	na	103.1

na = 適用なし、VOC:揮発性有機物質

処理した ^{14}C の物質収支はいずれの分析時点でも処理量の 102.9~103.1%であった。

抽出性 ^{14}C (抽出液) は徐々に減少し、処理直後で 95.9%、30 日後で 88.1%であった。一方、抽出残渣中の ^{14}C は経時的に増加し、処理 30 日後に処理量の 15.0%であった。

3) 抽出性放射能の分布

非滅菌土壌；土壌の抽出液および過酷抽出液をそれぞれ TLC で分析し、得られたバリダマイシンおよびその代謝物の分布を表 4 に示した。

バリダマイシンは処理直後の 95.6% から 1 日後に 4.6%、14 日後に 0.1% まで減少した。バリダマイシンの代謝分解にともないバリドキシルアミン A が 1 日後に最大 49.9% 検出された後、180 日後に 7.0% まで減少した。その他の代謝分解物は、バリダミン、パリエナミン、グルコースおよび未同定代謝分解物を含め全て処理量の 8.4% 以下であった。

表 4 好气的条件における土壌抽出液中のバリダマイシンおよび代謝分解物の経時変化 (2 連の平均値)

試料 (日後)	全試験系 (対処理量%)						
	バリダマイシン	バリダミン	パリエナミン	バリドキシルアミン A	グルコース	原点	その他*
0	95.6	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1	4.6	0.3	2.1	49.9	4.0	3.5	nd
3	1.6	1.6	1.8	28.9	6.4	7.2	nd
7	1.0	nd	6.6	10.9	7.5	3.5	2.3
14	0.1	nd	8.4	4.8	3.6	4.1	3.0
30	nd	nd	3.7	4.3	3.1	3.1	3.8
60	nd	nd	2.7	8.4	2.6	5.6	2.7
120	nd	nd	nd	7.5	3.2	4.5	6.9
180	nd	nd	nd	7.0	1.8	5.0	7.3

nd = 検出せず。

* = 個々には全て 2% TAR (0.050 ppm) 未満。

滅菌土壌；土壌の抽出液を TLC で分析した結果を表 5 に示した。

バリダマイシンは処理直後の 95.9% から、30 日後には 88.1% まで減少したが、試験期間中代謝分解物は認められなかった。

表 5 好气的条件における滅菌土壌抽出液中のバリダマイシンおよび分解物の経時変化 (2 連の平均値)

試料 (日後)	(対処理量%)	
	バリダマイシン	その他
0	95.9	nd
8	90.2	nd
30	88.1	nd

nd = 検出せず。

4) 代謝物の同定および/または特徴づけ

バリダマイシン、バリドキシルアミン A、バリエナミン、バリダミンおよびグルコースは土壌抽出液または単離物と参照標品との 2D-TLC コクロマトグラフィーにより同定した。さらにバリダマイシン、バリドキシルアミン A およびバリエナミンは土壌抽出液試料と参照標品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。

5) 未抽出性残留物（結合残留物）の特徴づけ

土壌抽出後の固形物を図 2 の方法に従い分画し、土壌腐植をヒューミン、フミン酸およびフルボ酸画分に分画した結果（表 6）、¹⁴C はヒューミン画分に比較的多く分布した。

表 6 未抽出性残留物の分画

抽出後固形物試料	フルボ酸	フミン酸	ヒューミン	その他
14 日後 反復試料 1	9.2	2.9	15.1	2.7
14 日後 反復試料 2	10.0	3.1	15.0	1.6
平均	9.6	3.0	15.1	2.2

その他：分画操作中の放射能の損失

6) 分解速度

バリダマイシン：好気的非滅菌土壌および好気的滅菌土壌における分解速度を表 7 に、減衰曲線を図 3~4 に示した。なお、非滅菌土壌では処理直後~14 日後のデータを用いて、滅菌土壌では処理直後~30 日後のデータを用いて、非線形回帰分析により分解速度を求めた。

表 7 好気的土壌におけるバリダマイシンの DT₅₀ および DT₉₀

試料	Gustafson パラメーター	DT ₅₀	DT ₉₀	r ²
好気的非滅菌土壌	α = 0.9568 β = 22.7908	0.05	0.44	0.9996
好気的滅菌土壌	α = 0.0183 β = 3.4235	8.1E+15	1.2E+54	0.9092

好気的非滅菌土壌中のバリダマイシンの半減期 (DT₅₀) および DT₉₀ 値はそれぞれ 0.05 日および 0.44 日であった。

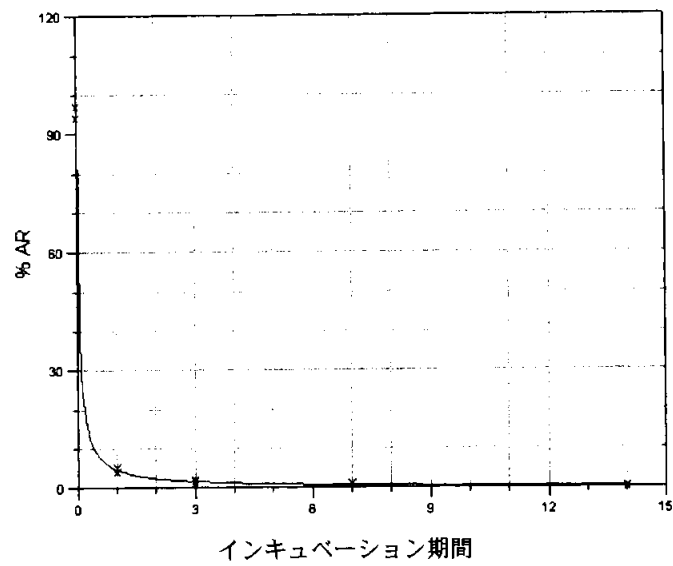


図3 好気的非滅菌土壌におけるバリダマイシンの減衰

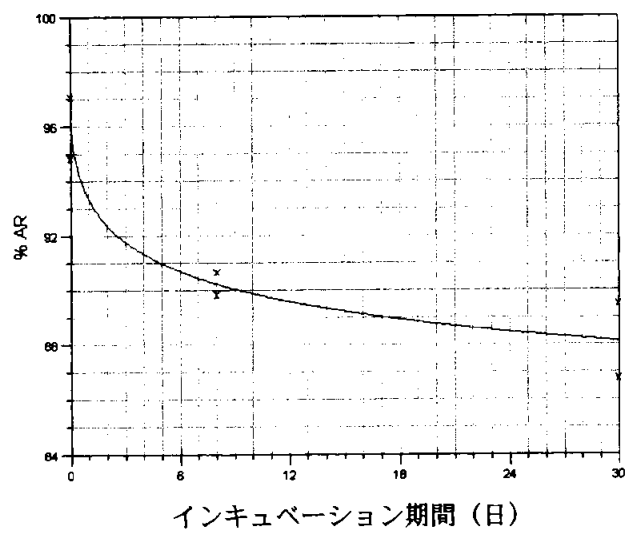


図4 好気的滅菌土壌におけるバリダマイシンの減衰

バリドキシルアミン A：好気的非滅菌土壌における分解速度を表 8 に、減衰曲線を図 5 に示した。分解速度は処理 1~30 日後のデータを用いて、非線形回帰分析により求めた。

表 8 好気的土壌におけるバリドキシルアミン A の DT_{50} および DT_{90}

試料	Gustafson パラメーター	DT_{50}	DT_{90}	r^2
好気的 非滅菌土壌	$\alpha = 1.7892$ $\beta = 0.2440$	1.9	10.7	0.9877

バリドキシルアミン A の半減期 (DT_{50}) および DT_{90} 値はそれぞれ 1.9 日および 10.7 日であった。

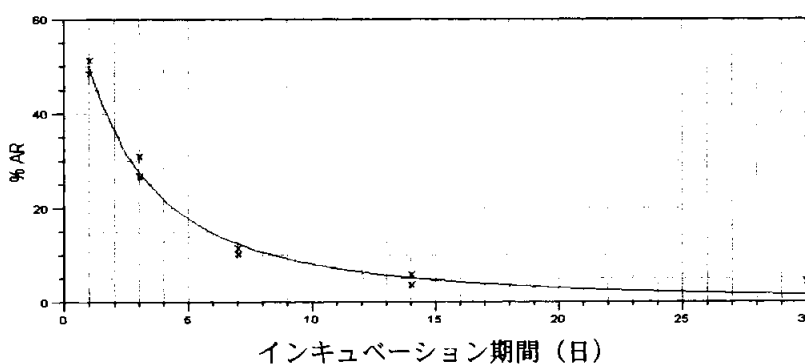


図 5 好気的
非滅菌土壌におけるバリドキシルアミン A の減衰

7) 推定代謝経路

バリダマイシンの好気的土壌中における予想分解経路を図 6 に示した。バリダマイシンは土壌微生物により速やかに消失 ($DT_{50} = 0.05$ 日) し、主要代謝分解物としてグリコシド結合が開裂したバリドキシルアミン A を生成した。生成したバリドキシルアミン A も速やかに ($DT_{50} = 1.9$ 日) 代謝分解を受け、バリエナミンおよびバリダミン等の微量代謝分解物を生成した。なお、生成したこれら代謝分解物もさらに代謝分解を受け、最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、または土壌結合性残留物として取り込まれた。

図6 バリダマイシンの好氣的土壌における推定分解経路

(2) バリダマイシンの好氣的湛水土壤中動態試験

(資料 III-2)

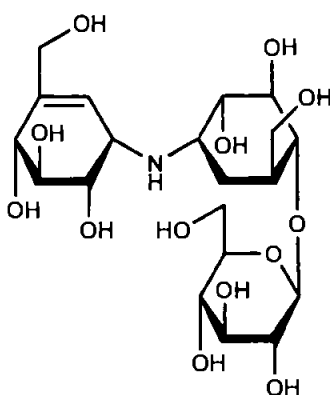
試験機関: Ricerca Biosciences, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

供試標識化合物: $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式:



化学名: 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジヒドロキシ-6-ヒドロキシメチル-4-[(1S, 4R, 5S, 6S)-4, 5, 6-トリヒドロキシ-3-ヒドロキシメチルシクロヘキサ-2-エノルアミノ]シクロヘキシル-β-D-グルコピラノシド

放射化学的純度:

比放射能:

ロット番号:

標識位置の選定理由:

供試土壌: 土壌の物理化学的特性は表 1 の通りで、土壌は使用前に 2 mm の篩に通した。

表1 供試土壌の物理化学的特性

項目	分析値
入手先	住友化学株式会社 真壁農場
採取年月日/入手年月日	2007年12月/2008年1月21日 (入手後使用時まで約4℃で保存)
pH (水)	5.8
pH (KCl)	4.7
pH (CaCl ₂)	5.1
陽イオン交換容量 (cmol _c /kg)	16.6
有機炭素含量 (g/kg)	27
リン酸吸収計数 (g/kg)	10.4
最大容水量 (%)	82.5
粘土鉱物	アロフェン
粒径、粗砂 (2.0~0.2 mm)	17.1
重量% 細砂 (0.2~0.02 mm)	30.0
シルト (0.02~0.002 mm)	23.5
粘土 (< 0.002 mm)	29.4
土性 (ISSS 分類)	LiC (軽埴土)

方法:

土壌試料の調製: 乾土 60.7 g 相当量の試験土壌をガラス製広口瓶に入れ(土壌層の深さ: 5.5 cm) た後、約 65 mL の水(水層の高さ: 1.5 cm) を加え、約 2 週間 25℃ 暗所でプレインキュベーションした。

[滅菌土壌の調製; オートクレーブ滅菌 (121℃、20 分) を 1 回/日の割合で 3 日間連続して実施した]

被験物質の処理: 4.73 µg/µL に調製した [¹⁴C] パリダマイシンの水溶液 25.5 µL をプレインキュベートした試料に処理した。なお、処理土壌における処理濃度は 2.0 ppm と設定した。

インキュベーション: 非滅菌土壌は施用後、25±2℃の暗所で系中に CO₂ フリーの加湿空気を通気し、試験期間中に生成した揮発性物質を捕集液(エチレングリコール捕集液 1 本、1 M NaOH 捕集液 2 本) に捕集した。一方、滅菌土壌については施用後デシケーター内に入れ、25±2℃の暗所でインキュベートした。

試験設計の概略を次表に記載した。

		非滅菌湛水土壌試験系	滅菌湛水土壌試験系
試験容器		ガラス製瓶	ガラス製広口瓶
土壌量		乾土 60.7 g 相当	
土壌層の深さ		5~5.5 cm	
水深 ¹⁾		1~1.5 cm (HPLC 用水, 65 g)	
土壌の滅菌処理		なし	オートクレーブ滅菌 (1回/日 × 3日)
還元土壌層の酸化還元電位 (ORP)		< 200 mV	
プレインキュベーション期間		施用前約 2 週間 (25±2℃、暗所、CO ₂ フリーの加湿空気を通気)	
設定施用濃度		乾土換算、2.000 ppm	
施用方法		施用液 25.5 μL を各容器に添加 (121.32 μg/容器/60.7 g 乾土)	
施用濃度実測値		2.001 ppm	
捕集装置の接続		有	無
インキュベーション		25±2℃、暗所、CO ₂ フリーの加湿空気を通気	
		60 日間	30 日間
採取 時点	土壌試料	施用直後、0.25、1、3、7、14、 30、60 日後	施用直後、7、30 日後
	捕集液 ²⁾	1、3、7、14、30、60 日後	適用なし

1) 試験期間中、定期的に水分量をモニタリングして初期値に調整

2) 採取後、新しい溶液と交換

分析方法：揮発性物質用の捕集液は直接 LSC 分析した。

土壌/田面水試料は、図 1 に示したように遠心分離後、傾斜法で水と土壌に分画し、水層における ¹⁴C 量は LSC を用いて定量した。一方、土壌画分はメタノール：水混液で抽出後、さらに 0.1 N NH₄OH を用いて過酷抽出し、抽出液および抽出残渣（結合残留物）中の ¹⁴C 量をそれぞれ LSC および試料燃焼/LSC を用いて測定した。さらに、結合残留物はヒューミン、フミン酸およびフルボ酸へ分画し、残存放射能の特徴づけをおこなった（図 2）。

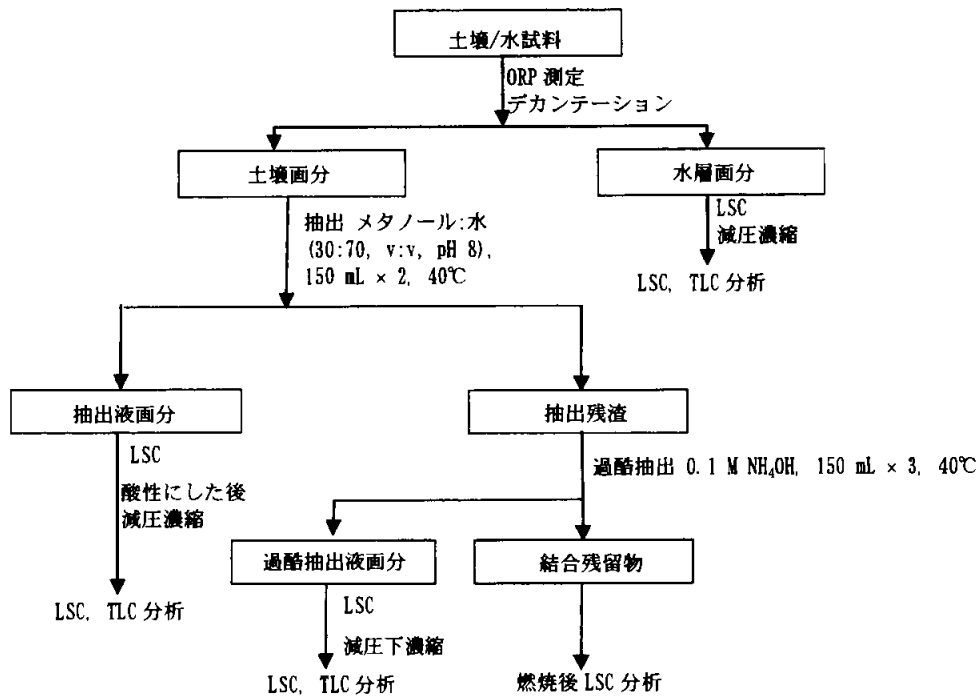


図1 抽出操作の概要

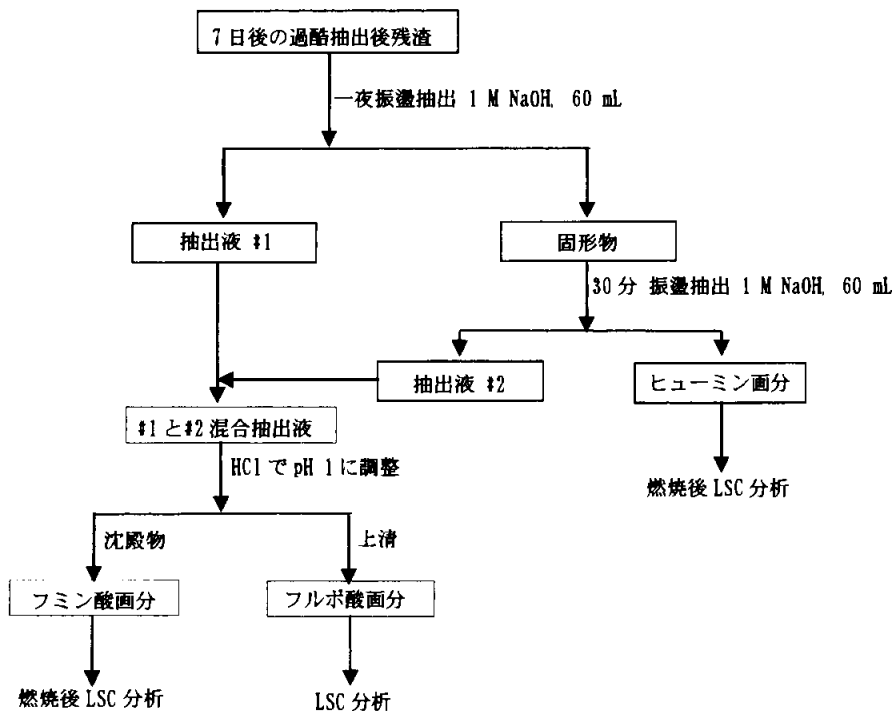


図2 土壌腐植の分画

$^{14}\text{CO}_2$ の確認：塩化バリウム沈殿法により、捕集液中の ^{14}C が $^{14}\text{CO}_2$ であることを確認した。

代謝分解物の特徴づけおよび同定：土壌抽出液および代謝分解物の単離物質は、参照標品との HPLC または TLC コクロマトグラフィーにより同定した。

半減期の算定方法：以下の式を用い、系全体または田面水中におけるバリダマイシンおよび代謝分解物の DT_{50} と DT_{90} を推定した。

$$\begin{aligned} \ln(C/C_0) &= -k \times t \\ \text{または } \ln(C) &= -k \times t + \ln(C_0) \end{aligned}$$

ここで C：任意の時間における土壌中の化合物の濃度
 C_0 ：0 時点での化合物の濃度
 k：速度定数
 t：日単位の時間

従って、 $\text{DT}_{50} = \ln(2)/k$ 、 $\text{DT}_{90} = \ln(10)/k$ となる。

結果：

1) 物質収支

好気的非滅菌湛水土壌；田面水、土壌のメタノール：水抽出液（以降抽出液と称す）、アンモニア抽出液（以降過酷抽出液と称す）、抽出後固形物（結合残留物）および揮発性物質捕集液中の ^{14}C の分布を表 2 に示した。

表 2 ^{14}C バリダマイシンの好気的湛水土壌中における物質収支の経時変化(2 連の平均値)

試料 (日後)	対処理量%						
	田面水	抽出液	過酷抽出液	結合残留物	$^{14}\text{CO}_2$	VOC	回収率
0	93.1	4.5	na	6.4	na	na	104.0
0.25	52.5	18.2	10.9	15.5	na	na	97.1
1	24.7	18.3	16.1	27.6	9.6	<0.1	96.3
3	11.3	13.9	17.6 ^a	37.8	16.6	0.1	97.3 ^a
7	2.9	11.3	14.0	40.1	25.7	0.2	94.2
14	1.6	5.9	12.0	35.7	37.7	0.2	93.0
30	0.4	2.3	11.6	24.9	57.7	0.2	97.0
60	0.5	2.4	6.9	22.6	66.9	0.2	99.5

na = 適用なし、VOC：揮発性有機物質

a：申請者が報告書の表を基に再計算し訂正した。

処理した ^{14}C の物質収支はいずれの時点においても処理量の 93.0~104.0%であった。

田面水中の ^{14}C 量は処理直後の 93.1%から7日後に 2.9%、60日後に 0.5%まで減少した。一方、土壌中の ^{14}C 量（抽出液 + 過酷抽出液 + 結合残留物）は、処理直後の 10.9%（抽出液：4.5%、結合残留物：6.4%）から3日後に 69.3%（抽出液：13.9%、過酷抽出液：17.6%、結合残留物：37.8%）に達した後、60日後に 31.9%（抽出液：2.4%、徹底抽出液：6.9%、結合残留物：22.6%）まで減少した。なお、試験期間中に生成する $^{14}\text{CO}_2$ は経時的に増加し 60日後で処理量の 66.9%であった。

滅菌湛水土壌；田面水、土壌の抽出液、結合残留物および揮発性物質捕集液中の放射能の分布を表3に示した。

表3 ^{14}C バリダマイシンの好氣的滅菌湛水土壌中における物質収支の経時変化
(2連の平均値)

試料 (日後)	対処理量%					
	田面水	抽出液	結合残留物	$^{14}\text{CO}_2$	VOC	回収率
0	95.8	na	6.1	na	na	101.9
7	38.3	27.2	31.9	na	na	97.5
30	19.7	32.2	43.4	na	na	95.3

na = 分析せず、VOC：揮発性有機物質

処理した ^{14}C の物質収支はいずれの時点においても処理量の 95.3~101.9%であった。

田面水中の ^{14}C は処理直後の 95.8%から7日後に 38.3%、30日後に 19.7%まで減少した。一方、土壌中の ^{14}C は処理直後の 6.1%（結合残留物：6.1%）から経時的に増加し、30日後には 75.6%（抽出液：32.2%、結合残留物：43.4%）まで増加した。

2) 抽出性放射能の分布

非滅菌湛水土壌；田面水、土壌の抽出液および過酷抽出液を TLC で分析し、バリダマイシンおよびその代謝分解物を定量した結果を表4に示した。

表 4 好氣的湛水土壤試験におけるバリダマイシンおよび代謝分解物の全試験系での経時変化 (2連の平均値)

試料 (日後)	全試験系 (%AR)						
	バリダマイシン	バリダミン	バリエナミン	バリドキシルアミン A	グルコース	原点	その他
0	97.6 (93.1, 4.5) ^a	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)
0.25	70.2 (52.5, 17.7)	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)	10.9 (nd, 10.9)	0.4 (nd, 0.4)	nd (nd, nd)	nd (nd, nd)
1	19.4 (19.4, nd)	2.4 (2.3, 0.1)	2.7 (2.7, nd)	31.5 (nd, 31.5)	2.7 (nd, 2.7)	0.3 (0.2, 0.1)	nd (nd, nd)
3	nd (nd, nd)	6.9 (4.5, 2.4)	5.9 (5.9, nd)	22.3 (nd, 22.3)	4.6 (0.9, 3.7)	1.2 (nd, 1.2)	2.0 (nd, 2.0)
7	nd (nd, nd)	2.8 (2.4, 0.4)	nd (nd, nd)	18.5 (nd, 18.5)	5.6 (nd, 5.6)	0.9 (0.2, 0.7)	0.4 (0.3, 0.1)
14	nd (nd, nd)	1.7 (1.4, 0.3)	nd (nd, nd)	12.0 (nd, 12.0)	4.3 (nd, 4.3)	1.3 (0.2, 1.1)	0.1 (0.1, nd)
30	nd (na, nd)	nd (na, nd)	nd (na, nd)	11.6 (na, 11.6)	nd (na, nd)	nd (na, nd)	2.7 ^b (na, nd)
60	nd (na, nd)	nd (na, nd)	nd (na, nd)	5.5 (na, 5.5)	nd (na, nd)	1.0 (na, 1.0)	3.4 ^b (na, 0.5)

a: 括弧内の数値は“田面水、土壤中”で記載

nd = 検出せず。na = 分析せず。

b: 未分析画分 (田面水、抽出液) を含む

バリダマイシンは好氣的湛水土壤中において速やかに現象し、処理直後の 97.6% (湛水および土壤画分: 93.1% および 4.5%) から処理 1 日後には 19.4% (同: 19.4% および nd)、3 日後には検出限界未満にまで減少した。一方、バリダマイシンの代謝分解により生成した主要代謝分解物はバリドキシルアミン A であり、処理 1 日後に最大 31.5% (同: nd および 31.5%) に達した後、60 日後には 5.5% (同: nd および 5.5%) まで消失した。その他代謝分解物はバリダミン、バリエナミン、グルコースおよび未同定代謝分解物を含め全て処理量の 6.9% 以下 (未同定代謝分解物画分: $\leq 2.0\%$) であった。

滅菌湛水土壤; 滅菌土壤における田面水および土壤抽出液を TLC で分析し、バリダマイシンおよびその代謝分解物を定量した結果を表 5 に示した。

表 5 好氣的滅菌湛水土壤試験におけるバリダマイシンおよび代謝分解物の全試験系での経時変化 (2 連の平均)

試料 (日後)	抽出液 (%AR)			
	バリダマイシン	バリエナミン	グルコース	その他
0	95.9	nd	nd	nd
	(95.9, na) *	(nd, na)	(nd, na)	(nd, na)
7	49.6	12.6	3.0	0.4
	(38.3, 11.3)	(nd, 12.6)	(nd, 3.0)	(nd, 0.4)
30	nd	19.0	30.1	2.2
	(nd, nd)	(8.2, 10.7)	(9.3, 20.7)	(2.2, nd)

* : 括弧内の数値は“田面水、土壤中”で記載
 nd = 検出せず。na = 分析せず。

滅菌土壤中において、バリダマイシン処理直後の 95.9% (湛水および土壌画分 : 95.9% および na) から処理 7 日後には 49.6% (同 : 38.3% および 11.3%)、30 日後には検出限界未満にまで消失した。一方、バリダマイシンの代謝分解により生成した主要代謝分解物はバリエナミンおよびグルコースでありそれぞれ 30 日後に 19.0% および 30.1% まで経時的に増加した。

3) 代謝物の同定および/または特徴づけ

バリダマイシン、バリドキシルアミン A、バリエナミン、バリダミンおよびグルコースは土壤抽出液試料または単離物と参照標品との 2D-TLC コクロマトグラフィーにより同定した。さらにバリダマイシンおよびバリドキシルアミン A は土壤抽出液試料と参照標品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定した。

4) 未抽出性残留物の特徴づけ

土壤抽出後の固形物を図 2 により分析し、土壤腐植をヒューミン、フミン酸およびフルボ酸画分に分画化した結果 (表 6)、¹⁴C はヒューミン画分に比較的多く分布した。

表 6 未抽出性残留物の分画

抽出後固形物試料	フルボ酸	フミン酸	ヒューミン	その他*
7 日後 反復試料 1	9.8	3.4	18.6	0.7
7 日後 反復試料 2	10.2	3.0	16.8	0.5
平均	10.0	3.2	17.7	0.6

* : 分画操作中の放射能の損失

5) 分解速度

バリダマイシン ; 好氣的非滅菌または滅菌湛水土壤における系全体での分解速度を表 7

に、減衰曲線を図3および図4に示した。なお、非滅菌湛水土壤では処理直後～1日後のデータを用いて、滅菌湛水土壤では処理直後～7日後のデータを用いて、分解速度を求めた。

好気的非滅菌または滅菌湛水土壤中のバリダマイシンの半減期 (DT_{50}) はそれぞれ0.42日または7.4日であった。また DT_{90} 値はそれぞれ1.40日または24.5日であった。

表7 好气的湛水土壤試験系の系全体のバリダマイシンの DT_{50} および DT_{90} 値

試料	速度定数 (日 ⁻¹)	DT_{50}	DT_{90}	r^2
好気的非滅菌湛水土壤	1.6472	0.42	1.40	0.9861
好气的滅菌湛水土壤	0.0941	7.4	24.5	0.9989

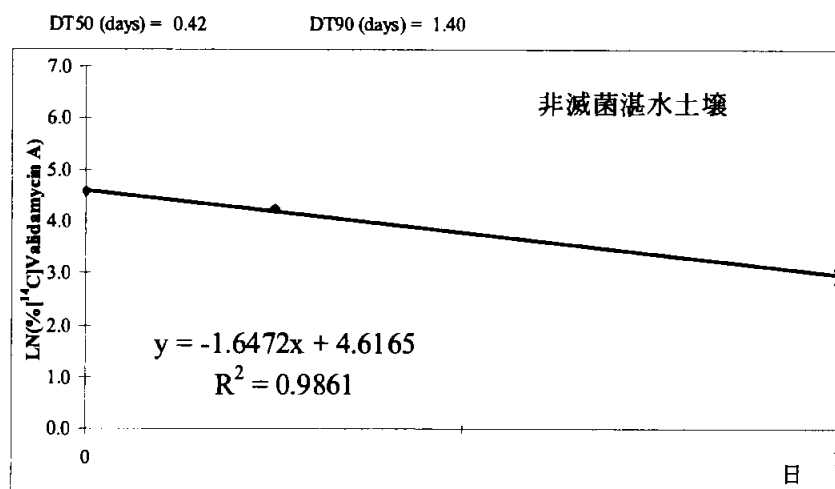


図3 好気的非滅菌湛水土壤におけるバリダマイシンの減衰

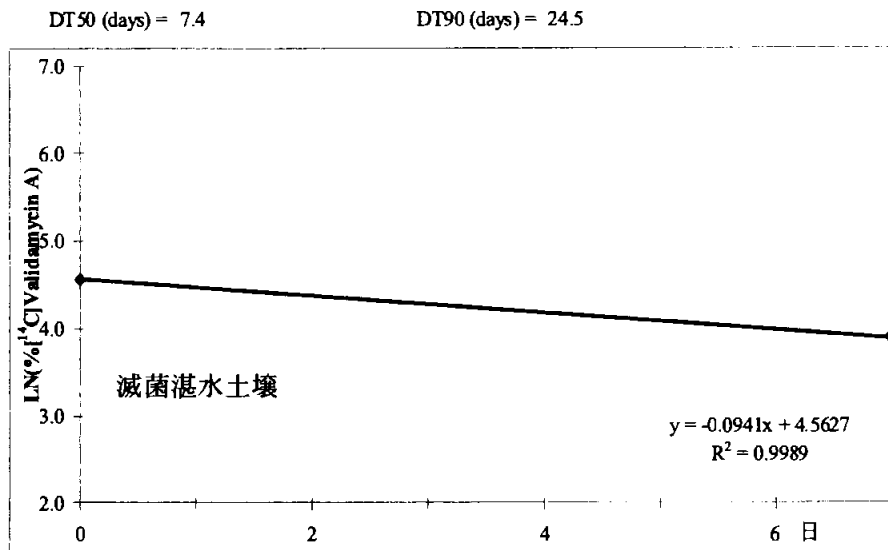


図4 好氣的滅菌湛水土壌におけるバリダマイシンの減衰

さらに、田面水中でのバリダマイシンの消失速度（非滅菌湛水土壌：処理直後～1日後、滅菌湛水土壌：処理直後～7日後）を表8および図5～6に示した。

表8 好氣的湛水土壌試験系の田面水中のバリダマイシンのDT₅₀およびDT₉₀値

試料	速度定数 (日 ⁻¹)	DT ₅₀	DT ₉₀	r ²
好氣的非滅菌湛水土壌	1.5214	0.5	1.5	0.9716
好氣的滅菌湛水土壌	0.1312	5.3	17.6	0.9971

好氣的非滅菌または滅菌湛水土壌の田面水中のバリダマイシンの半減期 (DT₅₀) はそれぞれ0.5日または5.3日であった。またDT₉₀値はそれぞれ1.5日または17.6日であった。

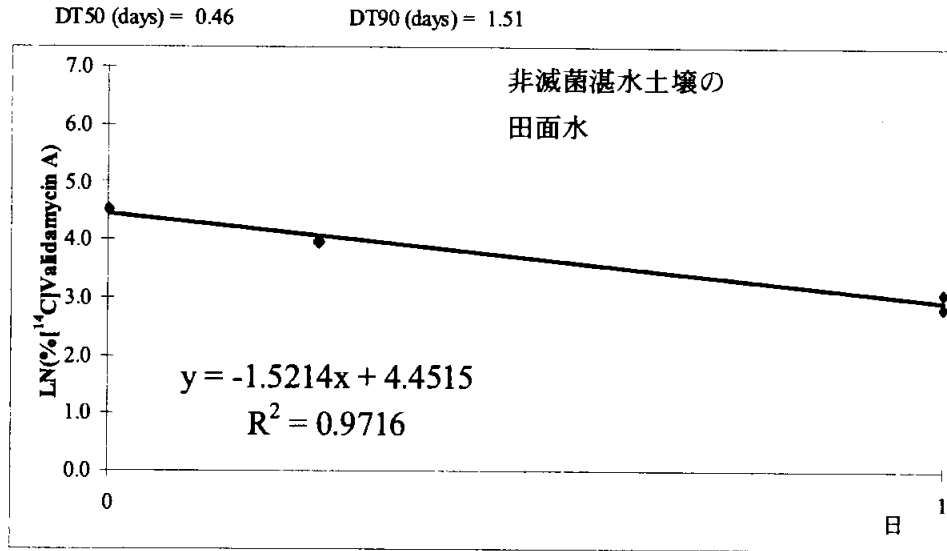


図5 好気的非滅菌湛水土壌の田面水におけるバリダマイシンの減衰

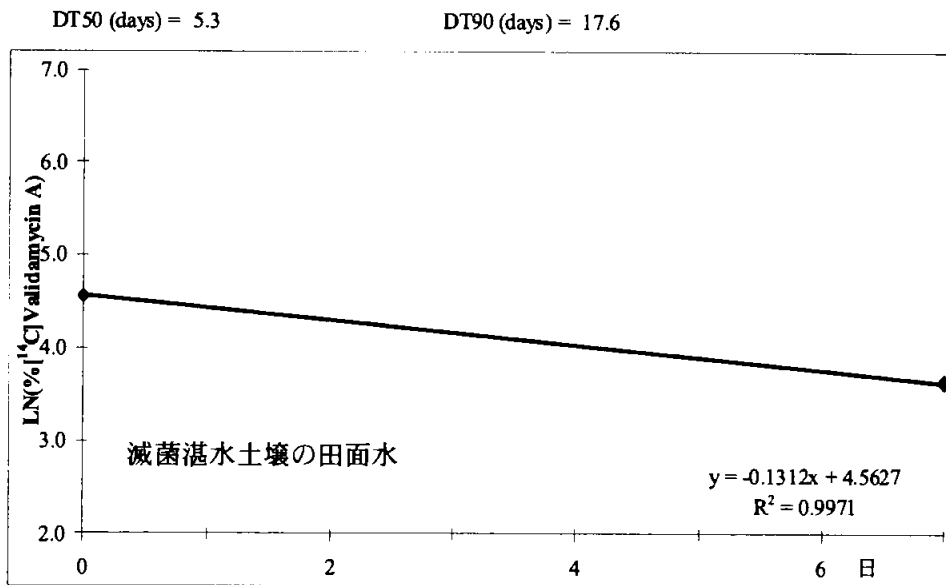


図6 好気的滅菌湛水土壌の田面水におけるバリダマイシンの減衰

バリドキシルアミン A：好気的非滅菌湛水土壌における分解速度を表9に、減衰曲線を図7に示した。なお、分解速度は1~60日後のデータを用いて、線形回帰分析により求めた。また、バリドキシルアミン A は田面水中に存在しなかったため、系全体の消失速度は土壌中のそれと等しい。

表 9 好氣的湛水土壌試験系の系全体または土壌中の DT_{50} および DT_{90} 値

試料	速度定数 (日 ⁻¹)	DT_{50}	DT_{90}	r^2
好氣的非滅菌湛水土壌	0.0257	27.0	89.6	0.8753

バリドキシルアミン A の系全体または土壌中の半減期 (DT_{50}) と DT_{90} 値はそれぞれ 27.0 日と 89.6 日であった。

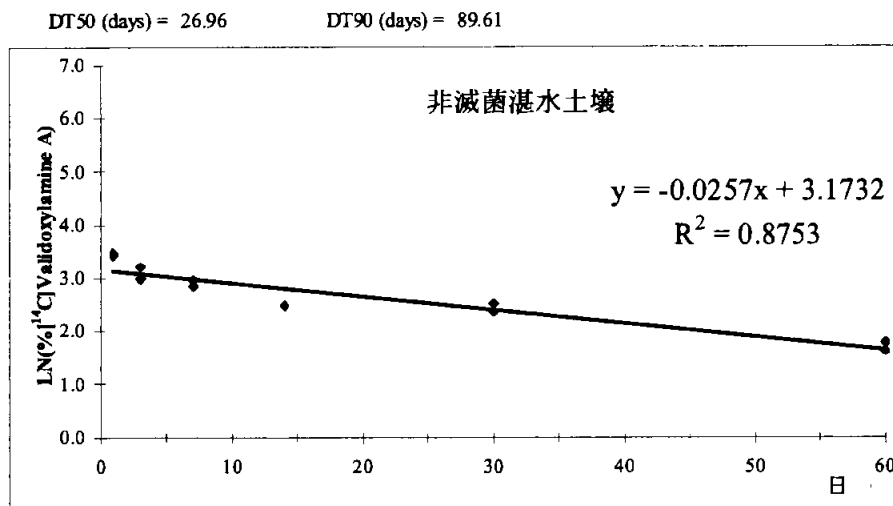


図 7 好氣的非滅菌湛水土壌におけるバリドキシルアミン A の減衰

5) 推定代謝経路

バリダマイシンは図 8 に示したように土壌微生物により速やかに消失(系全体の $DT_{50} = 0.42$ 日、田面水中の $DT_{50} = 0.50$ 日)し、主要代謝分解物としてグリコシド結合が開裂したバリドキシルアミン A を生成した。しかしながら、生成したバリドキシルアミン A もバリダマイシンと同様に代謝分解(系全体あるいは土壌中の $DT_{50} = 27.0$ 日)を受け、バリエナミンやバリダミン等の微量代謝分解物を生成した。なお、生成したこれら代謝分解物もさらに代謝分解を受けて最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、または土壌結合性残留物として取り込まれた。

図8 バリダマイシンの好氣的湛水土壌における推定分解経路

4. 水中動態に関する試験

(1) バリダマイシンの加水分解動態試験

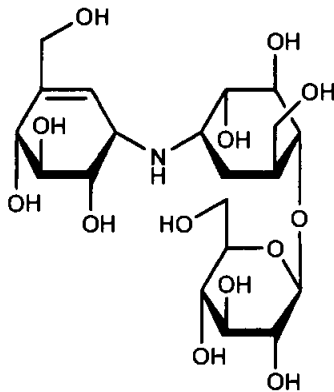
(資料 IV-1)

試験機関：(株)化学分析コンサルタント
[GLP 対応]

報告書作成年：2000 年

供試化合物：バリダマイシン

構造式：



M. W. : 497.50

化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジ'ヒド'ロキシ-6-ヒド'ロキシメチル-4-[(1*S*, 4*R*, 5*S*, 6*S*)-4, 5, 6-トリヒド'ロキシ-3-ヒド'ロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル-β-D-グルコピ'ラノシド'

化学的純度：

供試水溶液：以下の3種類の緩衝液を使用した。

- pH 4.0； 0.1 Mクエン酸一カリウム溶液 500 mL に 0.1 M水酸化ナトリウム溶液 90 mL を加えて混合し、精製水で 1 L とした後、0.1 Mクエン酸一カリウム溶液または 0.1 M水酸化ナトリウム溶液で pH 4.0 に調整した。
- pH 7.0； 0.1 Mりん酸一カリウム溶液 500 mL に 0.1 M水酸化ナトリウム溶液 296 mL を加えて混合し、精製水で 1 L とした後、0.1 Mりん酸一カリウム溶液または 0.1 M水酸化ナトリウム溶液で pH 7.0 に調整した。
- pH 9.0； 0.1 Mホウ酸/0.1 M塩化カリウム溶液 500 mL に 0.1 M水酸化ナトリウム溶液 213 mL を加えて混合し、精製水で 1 L とした後、0.1 Mホウ酸/0.1 M塩化カリウム溶液または 0.1 M水酸化ナトリウム溶液で pH 9.0 に調整した。

調製した各緩衝液は、実験開始直前に約 5 分間窒素ガスを通気して酸素を除去した後、滅菌ろ紙（孔径 0.22 μm）に通してろ過滅菌した。

器具類： オート高圧滅菌器内（121℃、120 kPa）で 30 分間、または定温乾燥器内（170℃）で 1 時間滅菌した。

試験方法：

溶解補助剤の使用の有無；無

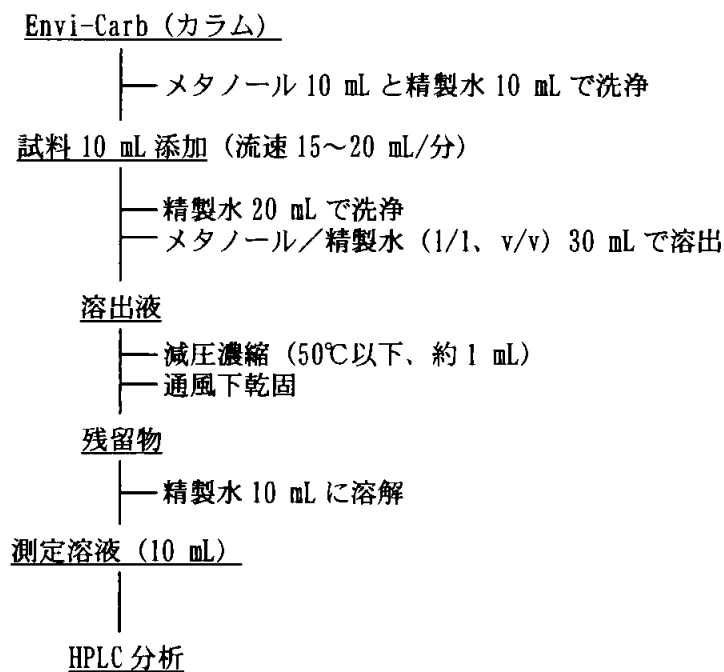
試験濃度；5 μg/mL

実測値（4.6 μg/mL [pH 4]、4.9 μg/mL [pH 7]、5.0 μg/mL [pH 9]）

試験溶液の調製；被験物質を滅菌精製水に溶解させて 1000 μg/mL のバリダマイシン原液を調製した。この原液 2.5 mL を 500 mL 容褐色メスフラスコに入れ、各滅菌緩衝液で 500 mL に定容して調製した。

試験温度および期間；各緩衝液の試験溶液はクリーンベンチ内で 10 mL 容共栓付試験管に満水になるよう分注し密栓後、アルミホイルで覆い、50±1℃の暗所に静置して 5 日間インキュベートした。処理 5 日後に各試験溶液を 2 連で採取した。

分析方法；採取した各試験溶液は Envi-Carb カラムを用い、以下のスキームに従って固相抽出した後、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）分析に供した。分析の妥当性は、各緩衝液に被験物質を添加した回収試験（0.25 μg/mL）および各緩衝液のブランク試験で確認した。



試験結果：

分析法の確認；添加回収試験の結果を表 1 に示した。バリダマイシンの添加量に対する平均回収率は pH 4.0 で 95%、pH 7.0 で 96%、pH 9.0 で 95%であった。
 ブランク試験において、いずれの緩衝液からも被験物質は検出されなかった。

表 1 添加回収試験の結果

添加濃度 (µg/mL)	回収率 (%) *		
	pH 4.0	pH 7.0	pH 9.0
2.5	95	96	95

* : 2 連の平均値

分解挙動；各試験溶液中のバリダマイシンの分解挙動を表 2 に示した。処理 5 日後におけるバリダマイシンの初期濃度に対する平均分解率は、pH 4.0 で-4.3%、pH 7.0 で 2.0%、pH 9.0 で 2.0%であった。各緩衝液における分解率はいずれも 10%以下であり、被験物質は安定であった。

表 2 分解率

試験温度	pH	測定値 (µg/mL) *		分解率 (%) **
		開始前	5 日後	
50°C	4.0	4.6	4.8	-4.3 (分解せず)
	7.0	4.9	4.8	2.0
	9.0	5.0	4.9	2.0

* : 2 連の平均値

** : 各 pH の初期濃度に対する 5 日後の分解率 (%)

推定半減期；バリダマイシンの各緩衝液における推定半減期を表 3 に示した。25°C における推定半減期はいずれも 1 年以上であり、加水分解的に安定であった。本試験結果に基づき、25 および 40°C での長期試験は実施しなかった。

表 3 推定半減期

試験温度	pH	推定半減期*
25°C	4.0	1 年以上
	7.0	1 年以上
	9.0	1 年以上

* : 50°C の試験結果を外挿して求めた

(2) バリダマイシンの水中光分解動態試験

(資料 IV-2)

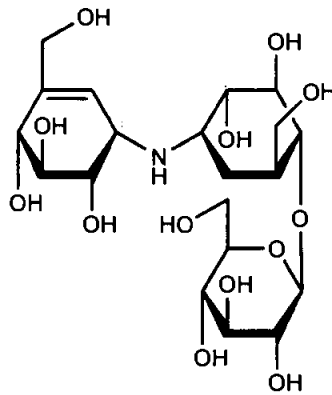
試験機関：Ricerca Biosciences, LLC

[GLP 対応]

報告書作成年：2009 年

供試標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシン

構造式：



化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジヒド^{*}ロキシ-6-ヒド^{*}ロキシメチル-4-[(1*S*, 4*R*, 5*S*, 6*S*)-4, 5, 6-トリヒド^{*}ロキシ-3-ヒド^{*}ロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル=β-D-グルコピ^{*}ラノシド^{*}

放射化学的純度：

比放射能：

ロット番号：

標識位置の選定理由：

供試水： 試験に用いた供試水について、次表にその特性をまとめた。

供試水	滅菌自然水（湖水）	滅菌蒸留水
供試水の調製方法	オハイオ州 Concord の Clear Lake から採取 (約 4℃で冷蔵庫に保存)	市販品を購入 (約 4℃で冷蔵庫に保存)
採取日	2008 年 9 月 3 日	2008 年 9 月 3 日
pH	7.6	6.8
溶存酸素 (mg/L)	9.8	9.4
電気伝導率 (mmhos/cm)	0.58	0.01
全蒸発残渣 (ppm)	378	18
全懸濁物質 (ppm)	4	4

光源：キセノンアークランプ (2200 W)

光照射装置；Suntest XLS+, Enhanced Model Tabletop Xenon Exposure System

光学フィルター；290 nm 未満の波長をカットするフィルターを使用した。

光強度；49.06 (52.11~46.01) W/m² (波長範囲 300~400 nm)

総放射照度；4.24 MJ/m²/日

東京・春における太陽光 (0.672 MJ/m²/日) 下に換算すると本試験における照射 9 日間は、56.8 日間の光照射に相当した (自然太陽光下へ換算する際の換算係数は 6.308)。

試験方法：

溶解助剤の使用；無

試験濃度；5.0 mg/L (水溶解度；> 610 g/L、20℃)

実測濃度 (滅菌自然水 5.10 mg/L、滅菌蒸留水 5.09 mg/L)

試験温度；25±2℃

試験期間；9 日間

試験容器；2 種類の石英製容器

試験容器 1；直径 6 cm、高さ 2 cm の蓋付容器 (光照射区および暗所対照区用試料)

試験容器 2；直径 10 cm、高さ 5 cm の揮発性物質捕集装置接続用ジョイント付容器
(揮発性物質捕集用光照射区試料)

供試水および容器の滅菌；供試水は濾過滅菌 (孔径 0.2 μm の滅菌フィルター) した。

石英製容器はメタノールでリンスし、数時間紫外線下で乾燥した。その他全てのガラス器具はオートクレーブ滅菌した。

試験溶液の調製；滅菌蒸留水で調製した [¹⁴C] バリダマイシンの施用液 489 μL を供試水に添加し、5.0 mg/L の各試験溶液 250 mL を調製した。

試験系の調製；経時的に試験溶液中の分解挙動を確認した試験区

光照射区および暗所対照区試料；試験容器 1 に上記調製試験溶液 8 mL を分注し（試験容器中における試験液の深さ：0.5 cm）、各容器は密封した。光照射区試料は光照射装置の温度制御の循環水中に光源から 39 cm の距離に静置した。暗所対照区試料は環境試験室内の暗所に静置した。

揮発性成分を確認した試験区；試験容器 2 に上記調製試験溶液 30 mL を分注後、光照射装置の温度制御の循環水中に静置した。揮発性成分を捕集するために捕集装置（エチレングリコール溶液 1 本および 1 M NaOH 溶液 2 本、各 100 mL）を接続し、CO₂ フリーの加湿空気を通気した。

試料採取；各試験において試料を採取した時点を表 1 に示した。

表 1 試料採取時点

採取試料	試験区		試料採取時点（日）
滅菌自然水および滅菌蒸留水	経時的に分解挙動を確認した試験区 （光照射区および暗所対照区）		0、1、2、3、5、7、9
	揮発性成分を確認した試験区 （揮発性物質捕集用 光照射区）	試験溶液中 分解物確認	9
		揮発性成分確認	1、2、3、5、7、9

分析方法：

放射性成分の分析および同定／特徴付け；各採取時点で、採取日に試料の ¹⁴C 量を LSC で測定した。さらに試料を濃縮後、2D-TLC で分析し、放射性成分の定量・特徴づけ分析を行った。

[¹⁴C] バリダマイシンおよび分解生成物（グルコース）は、参照標準品との 2D-TLC および HPLC コクロマトグラフィーで同定した。本分析法における TLC 回収率は 95.6%、HPLC 回収率は 90～105%であった。

試験設計の検証；光照射区および揮発性物質捕集用光照射区の 9 日後の試験溶液を分析し、¹⁴C の分布および放射性成分のプロファイルを比較して検証した。

¹⁴CO₂ の確認；揮発性物質捕集用（1 M NaOH）溶液中の ¹⁴CO₂ は、バリウム沈殿法により、Ba¹⁴CO₃ 沈殿後の上澄液中の ¹⁴C 量を LSC 分析により確認した。

滅菌維持の確認；微生物培養法により、添加直後および最終採取時点で確認し、試験液中の滅菌状態を確認した。

pHの確認；添加直後および最終採取時点で pH を確認した。

半減期の算出方法；バリダマイシンの分解速度を一次反応式とみなし、次式により半減期を算出した。

$$\ln(C/C_0) = -k \times t$$

$$\text{あるいは } \ln(C) = -k \times t + \ln(C_0)$$

C = 任意の時間における水中のバリダマイシンの濃度

C₀ = 0 時点におけるバリダマイシンの濃度

k = 分解速度定数

t = 日単位の時間

よって、DT₅₀ = ln(2)/k および DT₉₀ = ln(10)/k により半減期および 90% 消失時間を求めた。

結果：

1) [¹⁴C]バリダマイシンの放射化学的純度：

2) 試験系の pH および滅菌性の維持

試験系の pH：滅菌自然水；7.6~7.7、滅菌蒸留水；6.8~6.9

滅菌性の確認：滅菌状態は試験期間中維持されていた。

3) 物質収支

滅菌自然水および滅菌蒸留水における物質収支をそれぞれ表 2 および 3 に示した。表 2 および 3 から、各試験区における物質収支は滅菌自然水/暗対照区、滅菌自然水/光照射区、滅菌蒸留水/暗対照区および滅菌蒸留水/光照射区でそれぞれ処理量の 98.0~103.7%、92.8~104.2%、98.3~104.2% および 95.2~99.9% であった。また、光照射区の滅菌自然水および滅菌水において試験期間中に生成した ¹⁴CO₂ はそれぞれ処理量の 9.1% および 5.6% であった。

表 2 滅菌自然水における放射能の物質収支

試料 (日後)	光照射区								暗所対照区	
	対処理量%				ppm				対処理量%	ppm
	試験液	¹⁴ CO ₂	VOC	計	試験液	¹⁴ CO ₂	VOC	計	試験液	試験液
0	102.0	na	na	102.0	5.201	na	na	5.201	102.0	5.201
1	98.7	0.2	nd	98.9	5.038	0.009	nd	5.047	102.1	5.211
2	99.4	0.6	nd	100.0	5.072	0.029	nd	5.100	103.1	5.259
3	98.2	1.4	nd	99.6	5.011	0.071	nd	5.082	103.6	5.285
5	94.8	3.5	nd	98.4	4.838	0.181	nd	5.019	101.2	5.161
7	95.2	6.4	nd	101.6	4.856	0.325	nd	5.181	99.6	5.081
9	86.3	9.1	0.1	95.5	4.401	0.463	0.006	4.870	99.5	5.076
総平均値 (範囲)*				99.4 (92.8-104.2)	-				101.6 (98.0-103.7)	-

na : 採取せず、nd : 検出せず、* : 個別値の範囲、VOC : 揮発性有機物質、
試験液 : 2 反復の平均値

表 3 滅菌蒸留水における放射能の物質収支

試料 (日後)	光照射区								暗所対照区	
	対処理量%				ppm				対処理量%	ppm
	試験液	¹⁴ CO ₂	VOC	計	試験液	¹⁴ CO ₂	VOC	計	試験液	試験液
0	99.7	na	na	99.7	5.068	na	na	5.068	99.7	5.068
1	95.5	0.2	nd	95.7	4.855	0.013	nd	4.867	102.7	5.223
2	98.7	0.8	nd	99.5	5.020	0.039	nd	5.059	99.4	5.057
3	97.0	1.4	nd	98.3	4.930	0.069	nd	4.999	102.4	5.205
5	94.4	2.7	nd	97.1	4.798	0.137	nd	4.936	100.4	5.105
7	93.8	4.1	nd	97.9	4.769	0.210	nd	4.979	98.9	5.029
9	90.7	5.6	nd	96.4	4.614	0.286	nd	4.900	99.5	5.058
総平均値 (範囲)*				97.8 (95.2-99.9)	-				100.4 (98.3-104.2)	-

na : 採取せず、nd : 検出せず、* : 個別値の範囲、VOC : 揮発性有機物質、
試験液 : 2 反復の平均値

4) 試験液中の放射性成分の分布

(1) 光照射区試料

滅菌自然水 : 試験試料を 2D-TLC で分析して定量した結果を表 4 に示した。

表4 滅菌自然水光照射区試料における¹⁴Cの分布(2反復の平均値)

試料(日後)	対処理量%					
	バリダマイシン	グルコース	領域1	原点	領域3	その他*
0	102.0	nd	nd	nd	nd	nd
1	83.4	nd	15.3	nd	nd	nd
2	69.5	9.0	19.2	nd	1.6	nd
3	53.6	11.1	24.1	1.4	8.0	nd
5	22.4	16.2	28.7	3.8	16.7	6.9
7	2.8	33.2	30.6	6.7	18.1	3.8
9	nd	38.4	16.4	8.0	23.4	nd

nd: 検出せず

*: その他の成分は個々には2%未満であった

バリダマイシンは処理直後の102.0%から、2日後には69.5%に、9日後には検出限界以下となった。

バリダマイシンの光分解にともない主要分解物としてグルコースが2日後に9.0%検出された後、徐々に増加し、9日後には38.4%となった。その他、2D-TLC分析において処理量の10%以上¹⁴Cが分布した領域1および領域3のうち、領域1は経時的に増加して7日後に30.6%に達したが、9日後に16.4%まで減少し、領域3は経時的に増加して9日後には23.4%となった。なお、領域1および領域3に分布した¹⁴Cは複数の成分から構成しており、個々の分解物については処理量の10%未満であった。

滅菌蒸留水: 試験試料を2D-TLCで分析した結果を表5に示した。

表5 滅菌蒸留水光照射区試料における¹⁴Cの分布(2反復の平均値)

試料(日後)	対処理量%						
	バリダマイシン	グルコース	領域1	領域2	原点	領域3	その他*
0	99.7	nd	nd	nd	nd	nd	nd
1	91.3	nd	3.7	nd	0.5	nd	nd
2	89.5	nd	7.1	2.2	nd	nd	nd
3	80.8	3.9	8.4	1.4	0.6	1.9	nd
5	76.2	nd	14.7	nd	1.6	nd	1.9
7	69.2	5.0	13.9	nd	0.9	2.2	2.5
9	49.3	12.4	9.9	nd	3.6	10.2	5.3

nd: 検出せず

*: その他の成分は個々には5% (0.25 ppm) 未満であった

バリダマイシンは処理直後の 99.7%から経時的に減少し、9日後では 49.3%であった。

バリダマイシンの光分解にともない、主要分解物としてグルコースが徐々に増加し、9日後には処理量の 12.4%に達した。その他、2D-TLC 分析において処理量の 10%以上 ^{14}C が分布した領域 1 および領域 3 のうち、領域 1 は経時的に増加して 5 日後に 14.7%に達したが、9 日後に 9.9%まで減少し、領域 3 は経時的に増加し 9 日後には 10.2%となった。なお、領域 1 および領域 3 に分布した ^{14}C は複数の成分から構成しており、個々の分解物については処理量の 10%未満であった。滅菌自然水および滅菌蒸留水の照射区試料のいずれにおいても、その他のマイナーな放射性領域が検出されたが、それらは全て処理量の 5%未満であった。

(2) 暗所対照区試料（滅菌自然水および滅菌蒸留水）

試験試料を 2D-TLC で分析した結果を表 6 に示した。

暗所対照区試料中のバリダマイシンは、滅菌自然水および滅菌蒸留水の 0 日後でそれぞれ 102.0%および 99.7%、9 日後でもいずれも 99.5%であり、安定であった。

表 6 滅菌自然水および滅菌蒸留水の暗所対照区試料における放射能の分布
(2 反復の平均値)

試料 (日後)	対処理量%			
	滅菌自然水		滅菌蒸留水	
	バリダマイシン	その他	バリダマイシン	その他
0	102.0	nd	99.7	nd
1	102.1	nd	102.7	nd
2	103.1	nd	99.4	nd
3	103.6	nd	102.4	nd
5	101.2	nd	100.4	nd
7	99.6	nd	98.9	nd
9	99.5	nd	99.5	nd

nd : 検出せず

5) 試験設計の検証

照射区および揮発性物質捕集用照射区の 9 日後の試験溶液を分析した結果を表 7 に示した。

表7 光照射区および揮発性物質捕集用光照射区の9日後における試験溶液の分析結果

試料		水溶液	放射性成分の分布率 (対処理量%)						
			バリダ マイシン	グル コース	領域1	領域2	原点	領域3	その他
滅菌 自然水	光照射区	86.3	nd	38.4	16.4	nd	8.0	23.4	nd
	揮発性物質捕 集用光照射区	88.2	nd	38.3	10.9	nd	7.4	31.6	nd
滅菌 蒸留水	光照射区	90.7	49.3	12.4	9.9	nd	3.6	10.2	5.3
	揮発性物質捕 集用光照射区	90.4	51.8	16.1	13.5	nd	3.2	5.8	nd

nd : 検出せず、光照射区 : 2 反復の平均値

光照射区および揮発性物質捕集用光照射区の滅菌自然水ならびに滅菌蒸留水中の¹⁴C量および¹⁴Cの分布は近似しており、試験設計に問題はなかった。

6) ¹⁴C成分の同定および特徴づけ

次表に同定または特徴づけされた¹⁴C成分をまとめた。

化合物名	同定および/または特徴づけの方法と結果
[¹⁴ C] バリダマイシン	光照射区試料からの単離物、0 時間後試料または暗所対照区試料を用い、非標識参照標準品との 2D-TLC および HPLC コクロマトグラフィーにより同一性を確認した。
[¹⁴ C] グルコース	光照射区試料からの単離物を用い、標識参照標準品との HPLC コクロマトグラフィーおよび非標識参照標準品との 2D-TLC コクロマトグラフィーにより同一性を確認した。
¹⁴ CO ₂	BaCl ₂ によるバリウム沈殿法で確認した。
領域1	TLCにより単離した領域1をHPLC分析した。領域1には多数のピークが認められたが、何れも個々には処理量の10%未満であった。
領域3	TLCにより単離した領域3をHPLC分析した。領域3には多数のピークが認められたが、何れも個々には処理量の10%未満であった。

7) 推定半減期 (DT₅₀) および 90%消失時間 (DT₉₀)

バリダマイシンの水中における分解を一次反応とみなして求めたDT₅₀およびDT₉₀を表8に、減衰曲線を図1-1と1-2に示した。なお、半減期の算出にあたっては、滅菌自然水の光照射区では光照射開始直後から7日後までのデータを、他の試験区では光照射開始直後から9日後までのデータを用いて算出した。また、算出したデータを基に東京・春の太陽光に換算したDT₅₀およびDT₉₀値を表9に示した。

光照射区滅菌自然水および滅菌蒸留水中のバリダマイシンの半減期 (DT₅₀) はそれぞれ 1.8 日および 10.1 日、DT₉₀ はそれぞれ 6.0 日および 33.7 日であった。これを東京・春における自然太陽光下に換算すると、バリダマイシンの DT₅₀ および DT₉₀ は、滅菌蒸留水中で 11.4 日および 37.8 日、滅菌自然水中では 63.7 日および 212.6 日となった。

一方、暗所対照区試料中のバリダマイシンの半減期は、ほとんど分解を受けず滅菌自然水および滅菌蒸留水でそれぞれ 182 日および 347 日と安定であった。

表 8 バリダマイシンの DT₅₀ および DT₉₀ 値

[¹⁴ C]バリダマイシン	速度定数 (1/日)	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	r ²
光照射区滅菌自然水	0.3818	1.8	6.0	0.9218
光照射区滅菌蒸留水	0.0684	10.1	33.7	0.9149
暗所対照区滅菌自然水	0.0038	182	606	0.4811
暗所対照区滅菌蒸留水	0.0020	347	1152	0.1525

表 9 春の東京におけるバリダマイシンの DT₅₀ および DT₉₀ 値

[¹⁴ C]バリダマイシン	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)
光照射区滅菌自然水	11.4	37.8
光照射区滅菌蒸留水	63.7	212.6

換算係数：6.308

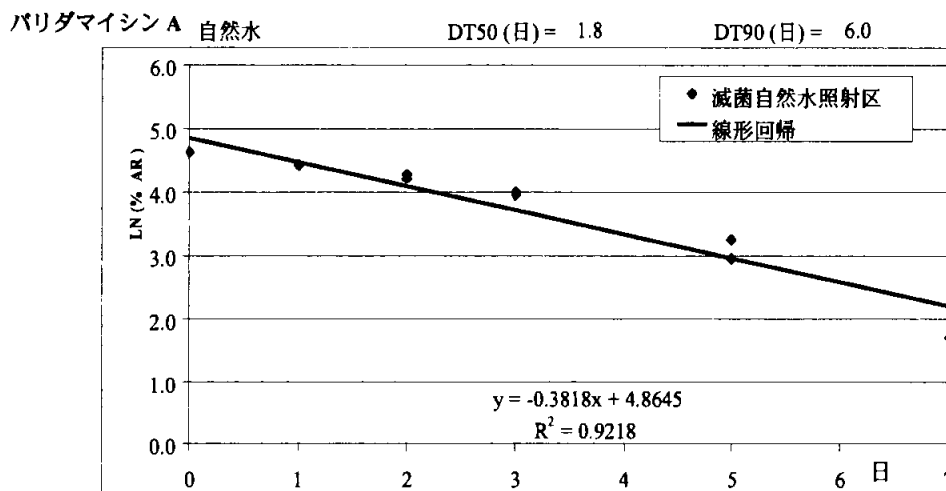


図 1-1 光照射区滅菌自然水中の [¹⁴C]バリダマイシンの減衰曲線

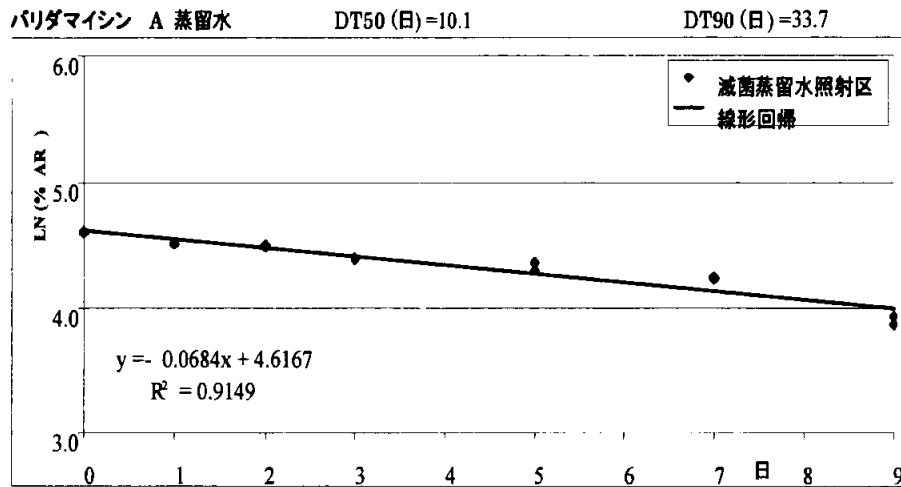


図 1-2 光照射区滅菌蒸留水中の $[^{14}\text{C}]$ バリダマイシンの減衰曲線

8) 推定分解経路

滅菌自然水および滅菌蒸留水中のバリダマイシンは光照射条件下で速やかに分解を受け、その主要光分解経路はグリコシド結合の開裂にともなうグルコースの生成であった。生成したグルコースおよび微量分解物もさらに分解を受けて、最終的には $^{14}\text{CO}_2$ まで無機化された。

バリダマイシンの推定光分解経路を図 2 に示した。

図2 滅菌蒸留水および滅菌自然水におけるバリダマイシンの推定光分解経路

5. 土壌吸着性

(1) バリダマイシンの土壌吸着性試験 (予備検討)

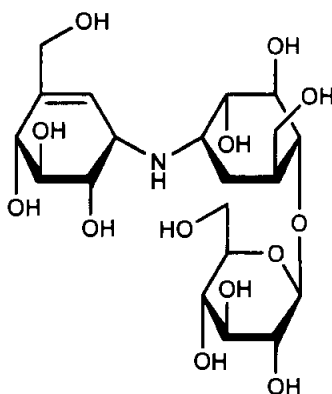
(資料 V-1)

試験機関：(株)化学分析コンサルタント

報告書作成年：2000年

供試化合物 非標識体バリダマイシン

構造式：



M. W. : 497.50

化学名： 1L-(1, 3, 4/2, 6)-2, 3-ジ'ヒト'ロキシ-6-ヒト'ロキシメチル-4-[(1*S*, 4*R*, 5*S*, 6*S*)-4, 5, 6-トリヒト'ロキシ-3-ヒト'ロキシメチルシクロヘキサ-2-エニルアミノ]シクロヘキシル=β-D-グルコピ'ラノシド'

供試土壌：土壌の特性を以下に示す。

採取場所	日植防 牛久研究所	香川農業 試験場	武田薬品工業(株) 真壁圃場	宮崎総合農業 試験場
土壌分類	畑土土壌	畑土土壌	水田土壌	畑土土壌
土性	重埴土	砂埴土	軽埴土	軽埴土
砂 (%)	24.9	66.6	48.1	49.5
シルト (%)	29.5	19.5	20.1	20.1
粘土 (%)	45.6	13.9	31.8	30.4
有機炭素含有率 (%)	2.89	1.24	3.25	5.92
pH (H ₂ O)	6.9	6.7	5.5	5.3
pH (CaCl ₂)	6.1	6.5	4.9	4.9
陽イオン交換容量 (me/100 g)	-	-	20.4	-

試験方法：9 農産第 5089 号農林水産省園芸局長通達「農薬の物理的・化学的性状に関する試験方法について」10 土壌吸着係数 (平成 9 年 8 月 29 日付) および OECD テストガ

イドライン 106 (吸着/脱着) に準拠した。

4 種類の畑地および水田土壌における被験物質の土壌吸着係数を求めるためにスクリーニング試験を実施した。

[スクリーニング試験]

供試土壌の調整：各土壌試料 (乾土 5 g 相当) を遠心管に入れ、これに精製水 5 mL を加えて密栓後 24 時間放置した (土壌：水スラリー)。

試験溶液の作成：被験物質を精製水に溶解して、1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 原液を調製した。その後、一定量の当原液に 0.01 M 塩化カルシウム溶液を加えて 4.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶液を調製した。

土壌スラリー調製：各土壌の土壌：水スラリーに試験溶液を 20 mL 加えた。

土水比：土壌 5 g：溶液 25 mL (1：5)

吸着操作：各遠心管を密栓後、遮光条件下の恒温水槽内 (25 $^{\circ}\text{C}$) で 16 時間連続振盪した。振盪終了後、試料を遠心分離して水相と土壌相に分けた。

分析方法：水相中の被験物質は、PLS-2 (上段) + Envi-Carb (下段) カラムで固相抽出および精製後、HPLC で定量して水相濃度を求めた (図 1)。

土壌相についてはメタノール/精製水 (1/1) を用いて振盪抽出し、得られた抽出液を減圧濃縮後、濃縮物に精製水を加えて定容した。その後、本水溶液を PLS-2 (上段) + Envi-Carb (下段) カラムで固相抽出および精製後、溶出液を濃縮乾固し、残留物に精製水を加えて HPLC で被験物質を定量して土壌相での濃度を求めた (図 1)。なお、ブランク試験およびコントロール試験 (土壌なし) を平行して行なうとともに、水相に 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、土壌相に 10 $\mu\text{g}/\text{g}$ となるように被験物質を添加して、添加回収試験も実施した。

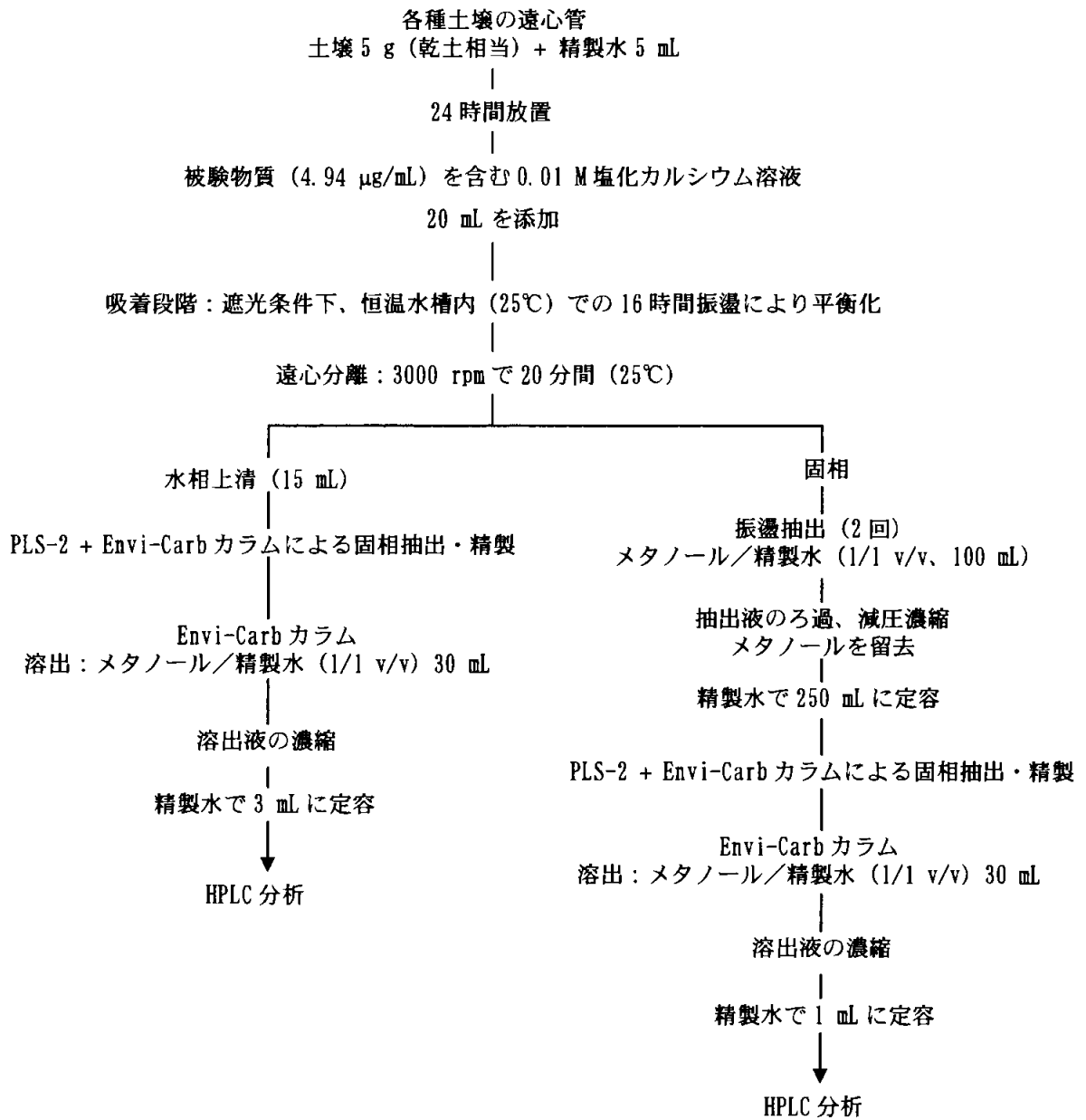


図1 吸着スクリーニング試験の実験操作

結果：スクリーニング試験を行った結果、水相中に残存する被験物質濃度は 0.51～2.72 μg/mL であり、残留量に換算すると 13.15～68.5 μg であった。一方、土壌相中の残留量は 2.9～3.75 μg であり、初期添加量 98.8 μg として物質収支を求めた結果、各試験系における平均物質収支は添加量の 13.3～73.4% であった (表 1)。なお、添加回収試験での平均回収率は、水相で 92～100%、土壌相で 86～95% (表 2)、コントロール試験 (土壌なし) の回収率は 98.6% であった (表 3)。ま

た、ブランク試験の結果、各試験土壌の水相および土壌相試料中の被験物質は、全て検出限界未満であった。

バリダマイシンは 0.01 M 塩化カルシウム溶液中で安定であるが、土壌と共に 0.01 M 塩化カルシウム溶液中で 16 時間振盪すると不安定であることが判明した。従って高次試験の実施は不可能と考えられた。

表 1 スクリーニング試験結果

供試土壌	初期添加量 (μg)	分析結果			物質収支 (%)
		水相 濃度 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	水相 残留量 (μg) *	土壌相 残留量 (μg) *	
牛久	98.8	0.51	13.15	-2.9**	13.3
香川	98.8	2.72	68.5	4.0	73.4
真壁	98.8	1.62	40.95	3.75	45.2
宮崎	98.5	2.08	53.8	-0.8**	54.4

振盪時間：16 時間

初期添加量：2 連の平均値を記載

*：平均値は、申請者が計算

**：マイナス (-) 表示の吸着量 (μg) については 0 として計算

表 2 添加回収試験の結果

試料	回収率 (%)	
	水相	土壌相
牛久	98	92
香川	92	92
真壁	100	86
宮崎	96	95

添加濃度：水相；1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、土壌相；10 $\mu\text{g}/\text{g}$

2 連の平均値を記載

表 3 分析操作におけるコントロール試験の回収率

初期添加量 (μg)	回収率 (%)
98.8	98.6

振盪時間：16 時間

2 連の平均値を記載

バリダマイシンの動植物および環境中における代謝分解

バリダマイシンの哺乳動物、植物、土壌及び水中における代謝分解性、残留の要約は以下の通りであり、予想代謝経路を図1に、また、結果の概要は添付の表にまとめた。

動物：

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを雌雄ラットに 50 mg/kg もしくは 1000 mg/kg にて強制単回経口投与した。経口投与されたバリダマイシンは 50 mg/kg では消化管内の腸内細菌により大部分がバリドキシルアミン A および D-グルコースに代謝された。腸内細菌の代謝には 1000 mg/kg で飽和が認められた。50 mg/kg での ^{14}C の経口吸収率は 37.5% であった。 ^{14}C の吸収は速やかであり、大部分は D-グルコースとして吸収されたが、一部はバリダマイシンおよびバリドキシルアミン A として吸収された。血漿中 ^{14}C 濃度は投与後 0.5 ~ 2 時間に最高濃度を示し、投与後 24~48 時間まで半減期約 30 時間で減少した。 ^{14}C は多くの器官および組織中に分布し、投与後 24 時間目以降 ^{14}C は緩やかに消失し、その消失パターンは血漿よりも若干緩徐であったが、特定の組織に蓄積する傾向は認められなかった。排泄は速やかで、主要排泄経路は糞中排泄であり、糞中主要代謝物はバリドキシルアミン A であった。尿中代謝物として未変化のバリダマイシン（投与放射能の 1.0~1.2%）およびバリドキシルアミン A（投与放射能の 0.7~2.0%）が検出されたが、これらは、吸収後、体内ではほとんど代謝を受けずに排泄されたものと考えられた。胆汁中への ^{14}C 排泄は僅かであった。体内に吸収された D-グルコースは最終的に CO_2 に代謝され、呼気中に排泄された。バリダマイシンの主要な代謝反応は、エーテル結合の開裂によるバリドキシルアミン A およびグルコースの生成、グルコースから CO_2 の生成であった。

植物：

水稻

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを 15 g ai/ha の割合で植穴に添加後、第 4 葉期の幼苗を移植し、さらに収穫 42、35、28、21 および 14 日目の 5 回、225 g ai/ha の割合で植物全体に散布した。最終散布 14 日後の稲藁、籾殻および玄米における ^{14}C 残留濃度は、それぞれ 14.887、7.273 および 0.333 ppm であった。各部位での未変化のバリダマイシンは総残留放射能 (TRR) の 51.9%、34.0% および 5.3% であり、主要代謝分解物としてバリドキシルアミン A が 24.9%TRR、13.8%TRR および 13.4%TRR 生成した。その他に高極性成分が多数検出されたが、いずれも微量であった。

バリダマイシンの水稻における主要代謝分解経路はグリコシド結合の開裂であり、最終的に植物構成成分に取込まれた。

レタス

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを伸長期のレタスに収穫 21、14 および 7 日目の 3 回、570 g ai/ha の割合で植物全体に散布した。最終散布 7 日後のレタスにおける ^{14}C

残留濃度は 8.148 ppm であった。主要残留物は未変化のバリダマイシン (54.3%TRR) であり、主要代謝分解物としてバリドキシルアミン A が 35.1%TRR 生成した。

バリダマイシンのレタスにおける主要代謝分解経路はグリコシド結合の開裂であった。

大豆

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを播種約 3 ヶ月後の大豆に収穫 21、14 および 7 日前の 3 回、900 g ai/ha の割合で植物全体に散布した。最終散布 7 日後の葉部、莢および子実における ^{14}C 残留濃度はそれぞれ 55.697、7.905 および 0.229 ppm であった。子実および葉部における主要残留物は未変化のバリダマイシンであり、それぞれ 27.3%TRR、93.0%TRR 検出された。主要代謝分解物としてバリドキシルアミン A が子実で 10.7%TRR および葉部で 1.2%TRR 生成した。その他に高極性成分が多数検出されたが、いずれも微量であった。

バリダマイシンの大豆における主要代謝分解経路はグリコシド結合の開裂であり、最終的に植物構成成分に取込まれた。

土壌：

好氣的土壌中動態試験

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを真壁土壌 (埴壤土、pH 6.7、有機炭素含量 24.8 g/kg) に乾土あたり 2.0 ppm の割合で添加し、好気条件下 25℃ の暗所で水分含量を最大容水量の 50% に調整し、180 日間インキュベーションした。バリダマイシンは土壌中で速やかに分解し、その消失半減期は 0.05 日であった。主要代謝分解物であるバリドキシルアミン A は処理 1 日後に処理放射能 (TAR) の 49.9% TAR 検出されたが、消失半減期 1.9 日で速やかに分解した。その他の代謝分解物としてバリダミン、バリエナミンおよびグルコースが最大 1.6% TAR (処理 3 日後)、8.4% TAR (同 14 日後) および 7.5% TAR (同 7 日後) 検出された。 $^{14}\text{CO}_2$ は処理 180 日後に 54.8% TAR 認められ、土壌残渣中の放射エネルギーは処理 14 日後に 29.8% TAR に達したが、同 180 日後には 25.4% TAR に減少した。試験期間中の物質収支は 99.0~105.5% TAR であった。

バリダマイシンの好気土壌中における主要代謝分解経路はグリコシド結合の開裂に続く C-N 結合の開裂であり、最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、または土壌に強固に吸着された。

好氣的湛水土壌中動態試験

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを真壁水田土壌 (軽壤土、pH 5.8、有機炭素含量 27 g/kg) と超純水により作成した水/底質系に乾土あたり 2.0 ppm の割合で添加し、好氣的湛水条件下 25℃ の暗所で 60 日間インキュベーションした。バリダマイシンは水層および系全体において消失半減期 0.5 および 0.42 日で速やかに分解した。主要代謝分解物のバリドキシルアミン A は処理 1 日後に土壌中でのみ最大 31.5% TAR 検出されたが、消失半減期 27.0 日で分解し、同 60 日後には 5.5% TAR に減少した。その他の代謝分解物としてバリダミン、バリエナミンおよびグルコースが系全体で最大 6.9% TAR (処理 3 日後)、

5.9%TAR(同3日後)および5.6%TAR(同7日後)検出された。 $^{14}\text{CO}_2$ は処理60日後に66.9%TAR認められ、土壤残渣中の放射エネルギーは処理7日後に40.1%TARに達したが、同60日後には22.6%TARに減少した。試験期間中の物質収支は93.0~104.0%TARであった。

バリダマイシンの好気土壌における主要代謝分解経路はグリコシド結合の開裂に続くC-N結合の開裂であり、最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、または土壌に強固に吸着された。

土壌吸着性

非標識バリダマイシンの濃度が4.94 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように調整した0.01 M塩化カルシウム水溶液20 mLを4種類の標準土壌〔牛久土壌(重埴土)、香川土壌(砂埴土)、真壁土壌(軽埴土)、宮崎土壌(軽埴土)〕各5 gに加えて、25°Cの暗条件下で16時間振盪した。水相および土壌相に分離後、バリダマイシンを測定したところ、系全体の物質収支は13.3~73.4%であり、好氣的湛水土壌中動態試験でも示された様に分解の速いことから土壌吸着係数を求めることは困難と考えられた。

水中：

加水分解動態試験

非標識バリダマイシンをpH 4、pH 7またはpH 9の滅菌緩衝液へ添加し、約5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の試験溶液を調製後、遮光条件下、 $50\pm 1^\circ\text{C}$ で5日間インキュベーションして加水分解試験を実施した。処理5日後におけるバリダマイシンの初期濃度に対する分解率はいずれの緩衝液においても10%未満であった。バリダマイシンの25°Cにおける加水分解半減期はいずれも1年以上であり、加水分解的に安定であった。

水中光分解動態試験

全ての炭素を ^{14}C で標識したバリダマイシンを滅菌自然水(オハイオ州ConcordのClear Lakeから採取、pH 7.6)あるいは滅菌蒸留水(pH 6.8)に添加して約5 mg/Lの試験溶液を調製し、波長290 nm未満の光をフィルター除去したキセノンランプ光(光強度：49.06 W/m^2 、波長範囲：300~400 nm)を $25\pm 2^\circ\text{C}$ で9日間連続照射して水中光分解試験を実施した。光照射下においてバリダマイシンは速やかに分解され、東京、春の自然太陽光下における消失半減期は自然水中で11.4日、蒸留水中で63.7日と算出された。10%TARを超える主要分解物は、いずれの試験溶液においてもグルコースのみであり、自然水中で最大38.4%TAR(処理9日後)、蒸留水中で最大12.4%TAR(同9日後)生成した。自然水中では蒸留水中よりも多くの $^{14}\text{CO}_2$ が生成し、処理9日後に9.1%TARおよび5.6%TARに達した。試験期間中の物質収支は92.8~104.2%と良好であった。

バリダマイシンの水中光分解における主要分解経路は、グリコシド結合の開裂であり、最終的に $^{14}\text{CO}_2$ まで無機化された。

図1 パリダマイシンの動植物、土壌および水中における推定代謝分解経路

表 1-1 代謝分解の概要

試料		投与または処理材料能に対する割合 (XTAR)									
		ナリゲイシ	ナリトキオキシシ	ナリシ	ナリロシ	グロノス	その他	抽出 残渣	揮発性 (CO ₂)	総回収率	
動物代謝 ラット	雌	0-1日間 尿	1.0	2.0	NA	NA	NA	1.7 ^{*)}	0.0	-	4.7
		0-1日間 糞	ND	62.3	NA	NA	NA	ND	4.5	-	66.8
		0-3日間 呼吸	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	18.8	18.8
	雄	0-1日間 尿	1.2	1.7	NA	NA	NA	2.7 ^{*)}	0.1	-	5.7
		0-1日間 糞	2.9	50.8	NA	NA	NA	6.2 ^{*)}	3.9	-	63.8
		0-3日間 呼吸	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	19.6	19.6
動物代謝 ラット	雌	0-1日間 尿	1.1	0.8	NA	NA	NA	0.5	0.1	-	2.5
		0-1日間 糞	29.5	45.2	NA	NA	NA	ND	4.8	-	79.4
		0-3日間 呼吸	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	12.0	12.0
	雄	0-1日間 尿	1.0	0.7	NA	NA	NA	0.6	0.0	-	2.3
		0-1日間 糞	33.3	42.7	NA	NA	NA	ND	4.6	-	80.6
		0-3日間 呼吸	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	11.5	11.5
動物代謝 ラット	雌	0-2日間 尿	2.0	11.4	NA	NA	NA	2.5 ^{*)}	0.2	-	16.2
		0-2日間 糞	ND	38.2	NA	NA	NA	4.6 ^{*)}	2.8	-	45.7
		0-2日間 胆汁	ND	ND	NA	NA	NA	0.8 ^{*)}	0.0	-	0.9
	雄	0-2日間 呼吸	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	13.7	13.7

NA: 分析せず。ND: 検出されず。-: 分析対象無しあるいは標識位置を含まない代謝物であるため確認できず。

*): 複数成分で構成

表 1-2 代謝分解の概要

試料				投与または処理放射能に対する割合 (XTAR)										
				バリダマイシン	バリダチキミンA	バリダミン	バリエチン	ゲノコース	その他	抽出残渣	揮発性 (CO ₂ ほか)	合計		
植物代謝	水稻	[¹⁴ C]バリダマイシン 育苗箱施用, 15 g ai/ha, 1回 葉面散布, 225 g ai/ha, 5回	最終散布 14日後	稲産	51.9 (7.722)	24.9 (3.713)	ND	ND	NA	17.4 ^{*3} (2.586 ^{*3})	5.8 (0.867)	-	100.0 (14.887 ^{*5})	
				初穀	34.0 (2.477)	13.8 (1.002)	ND	ND	NA	29.7 ^{*3} (2.154 ^{*3})	22.5 (1.639)	-	100.0 (7.273 ^{*5})	
				玄米	5.3 (0.018)	13.4 (0.045)	ND	ND	NA	24.8 ^{*3} (0.083 ^{*3})	56.5 (0.188)	-	100.0 (0.333 ^{*5})	
	レタス	[¹⁴ C]バリダマイシン, 葉面散布, 570 g ai/ha, 3回	最終散布 7日後	レタス	54.3 (4.421)	35.1 (2.856)	ND	ND	NA	3.4 (0.274)	7.3 (0.597)	-	100.0 ^{*5} (8.148)	
					[¹⁴ C]バリダマイシン, 葉面散布, 1900 g ai/ha, 3回	76.0 (16.360)	16.8 (3.611)	0.2 (0.041)	1.6 (0.344)	NA	3.1 (0.669)	2.3 (0.505)	-	100.0 (21.530)
	だいず	[¹⁴ C]バリダマイシン, 葉面散布, 900 g ai/ha, 3回	最終散布 7日後	穀粒	27.3 (0.063)	10.7 (0.025)	ND	ND	NA	11.6 ^{*4} (0.027 ^{*4})	50.4 (0.116)	-	100.0 (0.229 ^{*5})	
土壌中動態	好気的 条件	[¹⁴ C]バリダマイシン, 乾土あたり 2.0 ppm 処理, 25℃, 暗所	処理 1日後	土壌	4.6	49.9	0.3	2.1	4.0	3.5	21.3	14.0	99.8 ^{*5}	
			処理 14日後	土壌	0.1	4.8	ND	8.4	3.6	7.1	29.8	48.5	102.2 ^{*5}	
			処理 180日後	土壌	ND	7.0	ND	ND	1.8	12.3 ^{*3}	25.4	54.8	101.3	
	好気的 湛水条件	[¹⁴ C]バリダマイシン, 乾土あたり 2.0 ppm 処理, 25℃, 暗所	処理 1日後	全試験系	19.4	31.5	2.4	2.7	2.7	0.3	27.6	9.6	96.3 ^{*5}	
			処理 3日後	全試験系	ND	22.3	6.9	5.9	4.6	3.2	37.8	16.7	97.3 ^{*5}	
			処理 60日後	全試験系	ND	5.5	ND	ND	ND	4.4 ^{*5}	22.6	67.1	99.5 ^{*5}	
水中動態	加水分解 ^{*1}	バリダマイシン (非環状化合物), 試験濃度 5.0 µg/mL, 50℃, 暗所	pH 4	開始前	4.6 µg/mL	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	4.6 µg/mL	
				5日後	4.8 µg/mL	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	4.8 µg/mL	
			pH 7	開始前	4.9 µg/mL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	4.9 µg/mL
				5日後	4.8 µg/mL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	4.8 µg/mL
			pH 9	開始前	5.0 µg/mL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	5.0 µg/mL
				5日後	4.9 µg/mL	NA	NA	NA	NA	NA	NA	-	-	4.9 µg/mL
水中 光分解	[¹⁴ C]バリダマイシン, 試験濃度 5.0 mg/L, 25℃, 人工光照射 下	自然水 (湖水, pH 7.6)	2日後	69.5	ND	ND	ND	9.0	20.8 ^{*3}	-	0.6	100.0 ^{*5}		
			7日後	2.8	ND	ND	ND	33.2	59.2 ^{*3}	-	6.4	101.6		
			9日後	ND	ND	ND	ND	38.4	47.8 ^{*3}	-	9.1	95.5 ^{*5}		
		蒸留水 (pH 6.8)	2日後	89.5	ND	ND	ND	ND	9.3 ^{*4}	-	0.8	99.5 ^{*5}		
			7日後	69.2	ND	ND	ND	5.0	19.5 ^{*3}	-	4.1	97.9 ^{*5}		
			9日後	49.3	ND	ND	ND	12.4	29.0 ^{*3}	-	5.6	96.4 ^{*5}		

NA: 分析せず。ND: 検出されず。-: 分析対象無しあるいは標準位置を含まない代謝物であるため確認できず。
 *1: 総残留放射能に対する割合 (XTRR) を示す。括弧内の数値は、バリダマイシン換算濃度 (ppm) を示す。
 *2: バリダマイシン濃度 (µg/mL) を示す。
 *3: 個々の成分は 10XTRR (10XTAR) 未満
 *4: 複数成分で構成
 *5: 小数点第 2 位あるいは 4 位を四捨五入したため各成分の和と一致しない。
 *6: 未分析画分 (田面水: 0.5XTAR, 抽出液: 2.4XTAR) を含む。

