

(資料 代12)

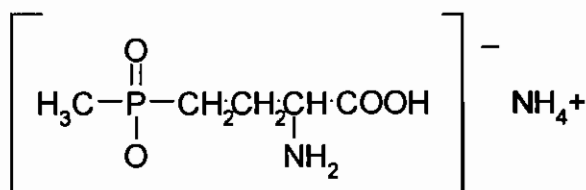
(12) 中間用量単回経口投与雄ラットにおける吸収、分布及び排泄

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



(*: ¹⁴Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能； 放射化学的純度；99.1%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雄15匹 (3群各5匹) (体重170.3～205.9g)

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートを水に溶解し、4mg/gの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い、強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は20mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として20mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
I	20	単回強制 経口投与	雄5匹	投与1時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取
II	20	単回強制 経口投与	雄5匹	投与6時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取
III	20	単回強制 経口投与	雄5匹	投与24時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取 尿、糞及びケージ洗液：0-24時間

試料の放射能測定；

尿試料及びケージ洗浄液は重量測定後、アロートを分取しシンプレクションカテルを加え、直接液体シンプレクションカウンター（Canberra-Packard製、TRI-Carb 2500TR）により放射能を測定した。糞試料は、アジ化ナトリウム溶液（約100mg/L）と共にホモジナイズし、アロートを風乾したのち、サンプルオキシゲナーで燃焼し放射能を測定した。血液試料は直接アロートを風乾したのち、サンプルオキシゲナーで燃焼し放射能を測定した。臓器試料は、メタノール+水（1+9 v/v）を加えホモジナイズで磨砕均質化したのち、アロートをDigestinに溶解したのちエタノール0.5mlもしくはPerhydrolを最大0.3ml添加し、試料を脱色したのちシンプレクションカテルを加え、液体シンプレクションカウンターにより放射能を測定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は糞中であり、尿中排泄は少なかった。排泄は非常に速やかであり、投与24時間後には95%以上の投与放射能が排泄された。静脈内投与試験において胆汁排泄が非常に少なかったことから、本試験における糞中放射能の大部分は未吸収の放射能由来と考えられた。

投与放射能の尿中及び糞中排泄率は、下表の通りであった。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	尿中排泄	糞中排泄	ケージ洗浄液	総排泄量
0-24	4.67	91.51	0.23	96.41

2) 臓器・組織分布

投与1時間後に最も高い放射能が認められた臓器は腎臓であった（投与放射能の0.137%）。吸収された放射能は主に尿中に排泄されること、吸排泄が早いことから、投与後短時間で腎臓中に高い放射能が認められたと考えられる。

また、投与1時間後に腎臓に次いで高い放射能が認められた臓器は肝臓であったが、腎臓と違い臓器中濃度は経時的に増加した。脳中の放射能は低い濃度を保った。

血中濃度は腎臓での排泄により減少し、投与1時間後から24時間後までに1/10以下となった。

各臓器及び組織における放射能濃度及び投与量に対する割合を表2に示した。

表2 各組織における放射能濃度及び投与量放射能に対する割合

臓器・組織	濃度（ μg 当量/g）			投与放射能に対する割合（%）		
	1時間後	6時間後	24時間後	1時間後	6時間後	24時間後
腎臓	3.480	2.958	1.394	0.137	0.116	0.059
肝臓	0.310	0.716	0.613	0.074	0.153	0.146
脳	0.024	0.024	0.034	0.001	0.001	0.001
血液*	0.218	0.056	0.022	0.054	0.014	0.005
血漿	0.339	0.085	0.029	-	-	-

*：血液は体重の5%として算出した。

3) まとめ

経口投与された放射能は、主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の90%以上が糞中に排泄された。

体内に吸収された放射能は、体内放射能の主排泄器官である腎臓に多く分布した。また、腎臓及び血中放射能のクリアランスは良好であった。

(資料 代13)

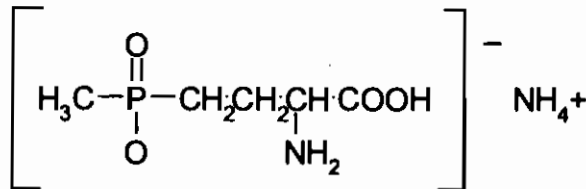
(13) 中間用量単回経口投与雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



(*: ¹⁴Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィート

比放射能；

放射化学的純度；99.1%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雄15匹（3群各5匹）（体重170.3～205.9g）

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートを水に溶解し、4mg/gの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い、強制経口投与した。投与は単回とし、投与量は20mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として20mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
I	20	単回強制 経口投与	雄5匹	投与1時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血漿を採取
II	20	単回強制 経口投与	雄5匹	投与6時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血漿を採取
III	20	単回強制 経口投与	雄5匹	投与24時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血漿を採取 尿、糞及びケージ洗液：0-24時間

試料の放射能測定；

尿試料及びケージ洗浄液は重量測定後、アロートを分取しシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Canberra-Packerd製、TRI-Carb 2500TR）により放射能を測定した。糞試料は、アジ化ナトリウム溶液（約100mg/L）と共にホモジナイズし、アロートを風乾したのち、サンプルホジナイザーで燃焼し放射能を測定した。血液試料は直接アロートを風乾したのち、サンプルホジナイザーで燃焼し放射能を測定した。臓器試料は、メタノール+水（1+9 v/v）を加えホジナイザーで磨砕均質化したのち、アロートをDigestinに溶解したのちエタノール0.5mlもしくはPerhydrolを最大0.3ml添加し、試料を脱色したのちシンチレーションカテルを加え、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。

代謝物の単離・同定；

HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物の同定及び定量を行った。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は糞中であつた。尿中排泄は糞中排泄に比較して非常に少なかつた。排泄は非常に速やかであり、投与24時間後には約96%の投与放射能が排泄された。投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、下表の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	尿中排泄	糞中排泄	ケージ洗液	総排泄量
0・24	4.65	91.59	0.23	96.47

2) 臓器・組織分布

投与1時間後に最も高い放射能が認められた臓器は腎臓であつた（投与放射能の0.14%）。吸収された放射能は主に尿中に排泄されること、吸排泄が早いことから、投与後短時間で腎臓中に高い放射能が認められたと考えられる。

また、投与1時間後に腎臓に次いで高い放射能が認められた臓器は肝臓であつたが、腎臓と違い臓器中濃度は経時的に増加した。脳中の放射能は低い濃度を保つた。

血漿濃度は腎臓での排泄により減少し、投与1時間後から24時間後までに1/10以下となつた。各臓器及び組織における放射能濃度及び投与量に対する割合を表2に示した。

表2 各組織における放射能濃度及び投与量放射能に対する割合

臓器・組織	濃度（ μg 当量/g）			投与放射能に対する割合（%）		
	1時間後	6時間後	24時間後	1時間後	6時間後	24時間後
腎臓	3.44	2.95	1.36	0.14	0.12	0.06
肝臓	0.30	0.71	0.59	0.07	0.15	0.15
脳	0.02	0.02	0.03	0.001	0.001	0.001
血漿	0.34	0.09	0.03	-	-	-

3) 代謝

尿、糞抽出物及び臓器抽出物中の放射性物質をHPLCにより分析した。

① 尿中代謝物

尿中放射能の大部分が未変化のグルホシネート[A]であり、尿中総放射能の70.1%を占めた。代謝物については、

にとどまった。

その他にも が生成されたが、生成量は極めて少なかった。

なお、尿中に認められた と考えられた。

② 糞中代謝物

尿と同様、糞中においても放射能の大部分が未変化のグルホシネート[A]であった（糞中放射能の94.7%）。代謝物については、

が最も多く生成されたが、その生成量は低く糞中放射能の に過ぎなかった。なお、この代謝物は肝臓中には認められなかったことから、グルホシネート[A]が消化管内の微生物によって 生成されたものと考えられる。

他には がごく少量認められた以外、同定に至った代謝物はなかった。

排泄物中の放射能特性を表3に示した。

表3 排泄物中の放射能特性

	投与放射能割合 (%)
尿	4.65
グルホシネート[A]	3.26 (70.1)
糞	91.59
グルホシネート[A]	86.74 (94.7)

カッコ内は尿あるいは糞中放射能に対する割合 (%)

③ 臓器中代謝物

腎臓中の放射能の大部分は未変化のグルホシネート[A]であり、試料採取期間中、臓器中放射能の常に90%以上を占めた。放射能濃度は経時的に減少し、投与1時間後が最も高濃度であった。代謝物については、 が同定されたが、いずれも生成量は低かった。

肝臓においても未変化のグルホシネート[A]が多く認められ、腎臓とは逆に試料採取期間中、経時的に濃度が上昇した。また、腎臓に比べて の臓器放射能中の割合が高く、投与6時間後はグルホシネートより多く認められた。

なお、臓器中に認められた と考えられた。

臓器中の放射能特性を表4に示した。

表4 臓器中の放射能特性

	投与1時間後		投与6時間後		投与24時間後	
	投与放射能割合(%)	濃度(mg/kg)	投与放射能割合(%)	濃度(mg/kg)	投与放射能割合(%)	濃度(mg/kg)
腎臓	0.14	3.51	0.12	2.95	0.06	1.39
グルホシネート[A]	0.12	3.11	0.10	2.46	0.06	1.30
肝臓	0.07	0.31	0.15	0.71	0.15	0.61
グルホシネート[A]	0.04	0.15	0.06	0.26	0.10	0.41

4) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、体内への吸収率が低く未変化のまま主に糞を介して排泄された。排泄は非常に速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約92%が糞中に排泄された。

体内に吸収された放射能は、体内放射能の主排泄器官である腎臓に多く分布した。また、総じて臓器・組織中放射能のクリアランスは良好であった。

グルホシネートの主代謝経路は

となり排泄された。

なお、糞中にはグルホシネートの が認められたが、肝臓中には認められなかったことから、腸内細菌によって生成されたものと考えられる。

グルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 雄ラットにおける推定代謝経路

(資料 代14)

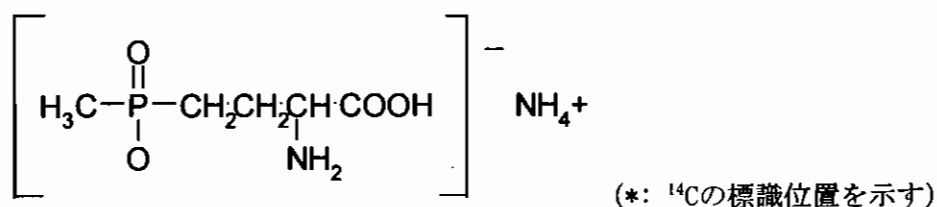
(14) 低用量静脈内投与雄ラットにおける吸収、分布及び排泄

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アソモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート

比放射能； 放射化学的純度；99.1%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雄10匹（2群各5匹）（体重168.6～202.1g）

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートを生理食塩水に溶解し、0.826mg/gの投与溶液を調製する。これを注射器を用い、尾静脈投与した。投与は単回とし、投与量は2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
I	2	単回 尾静脈内	雄5匹	投与2時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取
II	2	単回 尾静脈内	雄5匹	投与24時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取 尿及び糞：0-24時間 ケージ洗液：24時間後

試料の放射能測定；

尿試料及びケージ洗浄液は重量測定後、アリオートを分取しシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Canberra-Packerd製、TRI-Carb 2500TR）により放射能を測定した。糞試料は、ジ化ナトリウム溶液（約100mg/L）と共にホモジナイズし、アリオートを風乾したのち、サンプルシグマゲ-で燃焼し放射能を測定した。血液試料は直接アリオートを風乾したのち、サンプルシグマゲ-で燃焼し放射能を測定した。臓器試料は、メタノール+水（1+9 v/v）を加えホモジナイズで磨砕均質化したのち、アリオートをDigestinに溶解したのちエタノール0.5mlもしくはPerhydropolを最大0.3ml添加し、試料を脱色したのちシンチレーションカテルを加え、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は尿中であつた。また糞中にも僅かながら放射能が認められたことから、胆汁排泄も確認された。排泄は非常に速やかであり、投与24時間後には80%以上の投与放射能が排泄された。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、下表の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	尿中排泄	糞中排泄 (胆汁排泄)	ケージ洗浄液	総排泄量
0-24	77.742	2.356	2.740	82.834

2) 臓器・組織分布

投与2時間後に最も高い放射能が認められた臓器は腎臓であつた（投与放射能の7.28%）。投与放射能の多くが投与後24時間以内に尿中に排泄されたことから、投与後短時間において腎臓中に高い放射能が認められたことは、それを支持するものである。また24時間後の腎臓中の放射能は、投与放射能の0.50%に減少しており、24時間以降の尿中排泄は少ないものと推察された。

また、投与2時間後に腎臓に次いで高い放射能が認められた臓器は肝臓であつた（投与放射能の1.63%）が、放射能が極めて低かつた脳（投与放射能の0.02%）と同様24時間後でも減衰は少なかった。

血中濃度は腎臓での排泄により減少し、投与2時間後から24時間後までに約1/5となつた。各組織における濃度及び投与量に対する割合を表2に示した。

表2 各組織における放射能濃度及び投与量放射能に対する割合

臓器・組織	濃度 (µg当量/g)		投与放射能に対する割合 (%)	
	2時間後	24時間後	2時間後	24時間後
腎臓	15.308	1.342	5.483	0.498
肝臓	0.758	0.561	1.626	1.153
脳	0.057	0.041	0.023	0.015
血液*	0.070	0.013	0.149	0.028

*：血液は体重の5%として算出した。

3) まとめ

静脈内投与された放射能は、主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約78%が尿中に排泄された。胆汁排泄による消化管内への排泄は少なく、糞中放射能は投与放射能の僅か2.4%であった。

投与された放射能は、主排泄器官である腎臓に多く分布した。また、臓器・組織中の放射能のクリアランスは総じて良好であった。

(資料 代15)

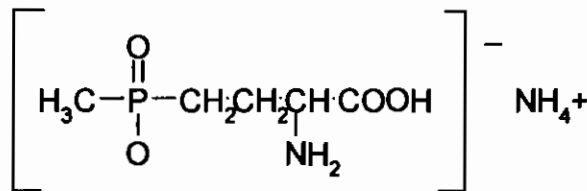
(15) 低用量単回尾静脈内投与による雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



(*: ¹⁴Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能； 放射化学的純度；99.1%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雄10匹(2群各5匹)(体重168.6～202.1g)

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートを生理食塩水に溶解し、0.826mg/gの投与溶液を調製する。これを注射器を用い、尾静脈投与した。投与は単回とし、投与量は2mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2000mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として2mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

試験群	投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
I	2	単回 尾静脈内	雄5匹	投与2時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取
II	2	単回 尾静脈内	雄5匹	投与24時間後屠殺 屠殺時に腎臓、肝臓、脳、血液を採取 尿及び糞：0-24時間、ケージ洗液：試験終了時

試料の放射能測定；

尿試料及びケージ洗浄液は重量測定後、アロートを分取しシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Canberra-Packard製、TRI-Carb 2500TR）により放射能を測定した。糞試料は、アジ化ナトリウム溶液（約100mg/L）と供にホモジナイズし、アロートを風乾したのち、サンプルキタガイで燃焼し放射能を測定した。血液試料は直接アロートを風乾したのち、サンプルキタガイで燃焼し放射能を測定した。臓器試料は、メタノール+水（1+9 v/v）を加えホモジナイズで磨砕均質化したのち、アロートをDigestinに溶解したのちエタノール0.5mlもしくはPerhydrolを最大0.3ml添加し、試料を脱色したのちシンチレーションカテルを加え、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。

代謝物の単離・同定；

HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物の同定及び定量を行った。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は尿中であつた。また糞中にも僅かながら放射能が認められたことから、胆汁排泄も確認された。排泄は非常に速やかであり、投与24時間後には80%以上の投与放射能が排泄された。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、下表の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	尿中排泄	糞中排泄（胆汁排泄）	ケージ洗液	総排泄量
0-24	77.85	2.33	2.74	82.92

2) 臓器・組織分布

投与2時間後に最も高い放射能が認められた臓器は腎臓であつた（投与放射能の5.47%）。投与放射能の多くが投与後24時間以内に尿中に排泄されたことから、投与後短時間において腎臓中に高い放射能が認められたことは、それを支持するものである。また24時間後の腎臓中の放射能は、投与放射能の0.52%に減少しており、24時間以降の尿中排泄は少ないものと推察された。

また、投与2時間後に腎臓に次いで高い放射能が認められた臓器は肝臓であつた（投与放射能の1.63%）が、放射能が極めて低かつた脳（投与放射能の0.02%）と同様24時間後でも減衰は少なかった。

血漿中濃度は排泄により減少し、投与2時間後から24時間後までに約1/10となつた。

各組織における濃度及び投与量に対する割合を表2に示した。

表2 各組織における放射能濃度及び投与量放射能に対する割合

臓器・組織	濃度（ μg 当量/g）		投与放射能に対する割合（%）	
	2時間後	24時間後	2時間後	24時間後
腎臓	15.08	1.39	5.47	0.52
肝臓	0.76	0.56	1.63	1.15
脳	0.06	0.04	0.02	0.02
血漿	0.10	0.01	—	—

3) 代謝

尿、糞抽出物及び臓器抽出物中の放射性物質をHPLCにより分析した。

① 尿中代謝物

尿中放射能の大部分が未変化のグルホシネート[A]であり、尿中総放射能の87.4%を占めた。代謝物については、

にとどまった。

その他にもごく少量の代謝物が認められたが同定には至らなかった。

② 糞中代謝物（胆汁排泄経由）

尿と同様、糞中においても放射能の大部分が未変化のグルホシネート[A]であった（糞中総放射能の84.1%）。代謝物については

。最も多く生成された代謝物は、であったが、生成量は低く糞中総放射能の

に過ぎなかった。他の代謝物は、

であり、その生成量は各々糞中総放射能の

であった。

排泄物中の放射能特性を表3に示した。

表3 排泄物中の放射能特性

	投与放射能割合 (%)
尿	77.85
グルホシネート[A]	68.06 (87.42)
糞	2.33
グルホシネート[A]	1.96 (84.12)

カッコ内は尿あるいは糞中放射能に対する割合 (%)

③ 臓器中代謝物

臓器中の放射能についても、その大部分は未変化のグルホシネート[A]であり、投与2時間後、腎臓では91.0%、肝臓では90.2%、脳ではほぼ100%を占めた。投与24時間後においても、絶対量は排泄により減少しているものの、総放射能に対するグルホシネート[A]の割合に大きな変化はなかった。

代謝物については、いずれの臓器においてものみが同定された。腎臓では、肝臓では、脳ではであった。

臓器中の放射能特性を表4に示した。

表4 臓器中の放射能特性

	投与2時間後		投与24時間後	
	投与放射能 割合(%)	濃度 (mg/kg)	投与放射能 割合(%)	濃度 (mg/kg)
腎臓 グルホシネート[A]	5.47	15.08	0.52	1.39
	4.98	13.72	0.49	1.33
肝臓 グルホシネート[A]	1.63	0.76	1.15	0.56
	1.47	0.68	0.93	0.45
脳 グルホシネート[A]	0.02	0.06	0.02	0.04
	0.02	0.04	0.01	0.03

4) まとめ

静脈内投与されたグルホシネート[A]はラット体内ではあまり代謝を受けず、未変化のまま主に尿を介して排泄された。

投与された放射能は、主排泄器官である腎臓に多く分布した。また、臓器・組織中の放射能のクリアランスは総じて良好であった。

ラットにおける主代謝経路は

が生成された。

糞中排泄が非常に低かったことから、胆汁による排泄は少なく腸肝循環はほとんど起こらないものと考えられる。なお、糞中にはグルホシネート[A]の

が認められたが、これは胆汁排泄により未変化のまま消化管内に排泄されたグルホシネート[A]が、腸内細菌によって生成したものと考えられる。

グルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 雄ラットにおける推定代謝経路

(資料 代16)

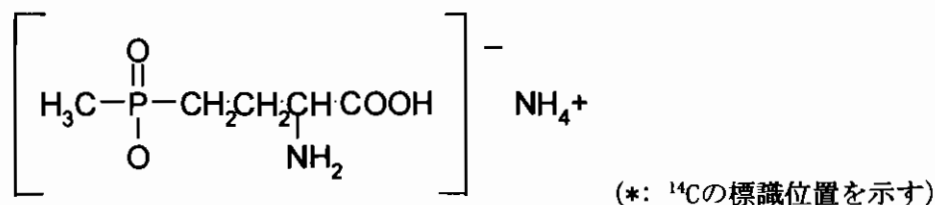
(16) 低用量単回経口投与による雌雄ビーグル犬における薬物動態及び排泄パターン

試験機関：

報告書作成年：1985年[GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；アノモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート

比放射能；

放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ビーグル犬、雌雄各2匹 (control区として別途各3匹) (体重4.8～7.1kg)

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートをカプセルに封入する。これを給餌直後に経口投与した。投与は単回とし、投与量は8mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

亜急性経口毒性試験におけるNOAELが2.0mg/kgであったことから、影響が考えられる濃度として8mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量	投与回数	動物数	試料採取
8mg/kg	¹⁴ C標識体： 単回経口投与	雌：2匹 雄：2匹	尿、糞：投与後6及び24時間の2回採取 臓器及び組織： 最終投与6及び24時間後の屠殺時に採取 血液：投与後0.25、0.5、1、2、4、6、8、12 及び24時間の計9回採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、試料にシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター (Packard製、Tri-Carb 460 CD) で測定した。糞、臓器及び組織試料については、凍結乾燥後、サンプルキタガ伊-で燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を測定した。また、血液は直接サンプルキタガ伊-で燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定；

TLC分析における標準品とのコクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には80%以上の投与放射能が糞を介して排泄された。

一方、尿中への排泄率は低く、試験終了時まで尿経路で排泄された放射能は雌雄とも投与放射能の10%程度であつた。

したがって投与24時間後までに雌雄とも大部分の投与放射能が体外に排泄された。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率を表1（投与24時間後屠殺個体のみ）に示した。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄			雌		
	尿	糞	総排泄率	尿	糞	総排泄率
投与後0-6	2.79	24.23	27.02	5.22	2.00	7.22
投与後6-24	6.93	57.42	64.35	4.00	81.21	85.21
小計	9.72	81.65	91.37	9.22	83.21	92.43
ケージ洗液	3.41			1.57		
合計	94.78			94.00		

2) 血中濃度

雌雄とも、投与後速やかに血中放射能濃度の上昇が認められ、投与後2～4時間でピークを迎えた。その後、24時間後までに速やかに減衰した。

また、血中放射能濃度に比較し血漿中放射能濃度が高く、血球成分への吸着や取り込みは少ないものと考えられた。

投与後の血中及び血漿中放射能濃度の推移を表2に示した。

表2 血中及び血漿中放射能（ μg 当量/g）

	雄		雌	
	全血	血漿	全血	血漿
投与0.25時間後	0.008	0.016	0.000	0.003
投与0.5時間後	0.048	0.086	0.003	0.008
投与1時間後	0.132	0.230	0.039	0.065
投与2時間後	0.184	0.312	0.090	0.151
投与4時間後	0.101	0.170	0.274	0.448
投与6時間後	0.074	0.126	0.094	0.144
投与8時間後	0.053	0.089	0.048	0.065
投与12時間後	0.044	0.071	0.033	0.056
投与24時間後	0.012	0.019	0.012	0.018

濃度はcontrolの平均値を差し引いた値、また6時間後までの値は投与6時間及び24時間後屠殺個体の平均値（いずれも申請者の計算による）

3) 放射能分布

屠殺後、腎臓、肝臓、心臓、脳及び脊髄を摘出し放射能濃度測定に供試した。腎臓については左右別々、肝臓については左葉のみ、心臓については右心室及び左心室、また脳については、大脳皮質、小脳、中脳（視床下部を含む）、脳幹に分けて分析に供した。

体内放射能の主排泄器官である腎臓中の濃度が最も高く、次いで肝臓中に高い放射能が認められた。他の臓器・組織中放射能はいずれも低かった。腎臓及び心臓では投与後6時間から24時間で減少傾向が認められたが、他の臓器・組織においては上昇した。これらは雌雄ともにほぼ同様の結果であった。

臓器・組織中の放射能濃度を表3に示した。

表3 臓器・組織中の放射能濃度 (µg当量/g生重)

	雄		雌	
	6時間後	24時間後	6時間後	24時間後
左心室	0.040	0.046	0.058	0.042
右心室	0.050	0.011	0.055	0.011
肝臓 (左葉)	0.370	1.247	0.442	1.222
腎臓 (左)	1.389	1.158	2.409	2.390
腎臓 (右)	1.555	1.214	2.256	2.331
大脳皮質	0.029	0.024	0.052	0.032
小脳	0.023	0.021	0.026	0.025
中脳(視床下部を含む)	0.014	0.056	0.018	0.034
脳幹	0.012	0.033	0.018	0.022
脊髄	0.020	0.063	0.047	0.051

数値は全てcontrolの値を差し引いたもの（申請者の計算による）である。なお、投与放射能割合については算出されていない。

4) 代謝

尿、糞、腎臓及び肝臓の代表試料について代謝物の分析を行った。

尿中放射能の多くは未変化のグルホシネート由来であった。代謝物としては
が認められたが、最大でも尿中放射能の16%程度であった。

最終投与0~24時間のプール尿中の放射能特性を表4に示した。

表4 尿中代謝物 (尿中放射能割合%)

	雄		雌	
	0-6時間	6-24時間	0-6時間	6-24時間
グルホシネート[A]	85.7(2.4)	88.7(6.1)	88.3(4.6)	83.9(3.4)
合計	100.0(2.8)	100.0(6.9)	100.0(6.2)	100.0(4.0)

カッコは投与放射能割合%

糞中放射能については、抽出された放射能の全てが未変化のグルホシネート[A]であった。

代謝物は全く認められなかった。

最終投与0～24時間のプール糞中の放射能特性を表5に示した。

表5 糞中代謝物（糞中放射能割合％）

	雄		雌	
	0-6時間	6-24時間	0-6時間	6-24時間
抽出性放射能 グルホシネート[A]	84.5(20.5)	68.1(39.1)	・	78.3(63.6)
非抽出性放射能	15.5(3.8)	31.9(18.3)	・	21.7(17.7)
合計	100.0(24.3)	100.0(57.4)	・	100.0(81.3)

・：分析せず、カッコは投与放射能割合％

また臓器については、腎臓及び肝臓中いずれにおいても、抽出放射能の全ては未変化のグルホシネート由来であった。投与24時間後にあっても代謝物は抽出液中には全く認められなかった。抽出率は全ての試料で90%以上であった。

臓器中の放射能特性を表6に示した。

表6 臓器中代謝物（臓器中放射能割合％）

	雄				雌			
	投与6時間後 屠殺個体		投与24時間後 屠殺個体		投与6時間後 屠殺個体		投与24時間後 屠殺個体	
	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓
抽出性放射能 グルホシネート[A]	98.0 n.d.	92.6 n.d.	98.4 n.d.	95.1 n.d.	98.3 n.d.	90.4 n.d.	97.2 n.d.	98.6 n.d.
非抽出性放射能	2.0	7.4	1.6	4.9	1.7	9.6	2.8	1.4
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

n.d.：検出されず

4) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、投与された放射能は未変化のまま主に糞を介して排泄され、雌雄ともに最終的には投与放射能の80%以上が糞中に排泄された。尿中排泄は約10%程度に留まった。

血中の放射能濃度は、投与後2～4時間でピークを迎え、その後急速に減衰した。

臓器中の放射能濃度は、排泄器官である腎臓で最も高く、次いで肝臓で高い放射能が認められた。体内に吸収された放射能の主排泄経路は尿中排泄であることから、腎臓で最高値が認められたと考えられる。腎臓及び心臓を除いては各臓器・組織ともに投与6時間後より投与24時間後で高い放射能が認められた。

体内に吸収されたグルホシネートは大部分が代謝を受けず未変化のまま排泄された。代謝物としては が尿中に認められた。糞及び臓器の抽出液中の放射能は全て未変化のグルホシネート由来であった。

(資料 代17)

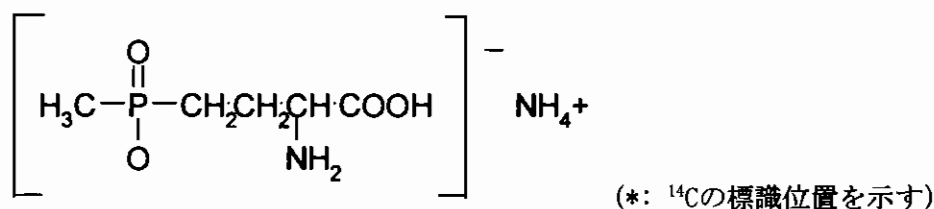
(17) 低用量反復経口投与による雌雄ビーグル犬における吸排泄及び代謝

試験機関：

報告書作成年：1986年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホスファニン-4-イル(メチル)ホスフィネート

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識することにより
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ビーグル犬、雌雄各18匹 (各6匹はcontrol区) (体重3.7~7.3kg)

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートをカプセルに封入する。これを給餌直後に経口投与した。投与は反復(10日間)とし(ただし、一匹は単回経口投与)、投与量は1mg/kg及び8mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

亜急性経口毒性試験におけるNOAELが2.0mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として1mg/kg、影響が考えられる濃度として8mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量	投与回数	動物数	試料採取
1及び8 (mg/kg)	¹⁴ C標識体： 反復経口投与 (10日間)	雌：6匹 雄：6匹	尿、糞：投与期間中は投与後24時間毎、最終投与後6、12、24時間以降96時間後まで24時間毎の計15回採取 臓器及び組織： 最終投与6、24、48及び96時間後の屠殺時に採取 血液：投与期間中は投与後1時間毎、最終投与後1、2、4、6、24時間以降96時間後まで24時間毎の計17回採取
	1匹のみ単回 経口投与		

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、試料にシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Packard製、Tri-Carb 460 CD）で測定した。糞、臓器及び組織試料については、凍結乾燥後、サンプルキタガイで燃焼し発生した¹⁴C₂O₂を捕集し、その放射能を測定した。また、血液は直接サンプルキタガイで燃焼し発生した¹⁴C₂O₂を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定；

TLC分析における標準品とのコクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には大部分の投与放射能が排泄された。試験終了時の最終投与96時間後には全投与放射能の約80%程度が糞を介して排泄された。

一方、尿中への排泄率は低く、試験終了時まで尿経由で排泄された放射能は雌雄とも全投与放射能の約15%程度であつた。

これらの排泄パターンは各投与群に共通していた。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率を表1-1～1-2に示した。

表1-1 1mg/kg投与群における排泄率（全投与放射能に対する割合％）

時間	雄			雌		
	尿	糞	総排泄率	尿	糞	総排泄率
1回目投与後0-24	1.3	7.5	8.8	1.0	7.4	8.4
2回目投与後0-24	0.9	8.6	9.7	1.1	6.3	7.4
3回目投与後0-24	1.2	8.7	9.9	1.4	7.3	8.7
4回目投与後0-24	1.6	7.5	9.1	1.4	9.7	11.1
5回目投与後0-24	1.6	8.4	10.0	1.3	8.3	9.6
6回目投与後0-24	1.3	8.3	9.6	1.7	6.8	8.5
7回目投与後0-24	2.1	7.2	9.3	1.2	9.3	10.5
8回目投与後0-24	0.9	9.0	9.9	1.8	7.9	9.7
9回目投与後0-24	1.5	7.7	9.2	1.3	7.1	8.4
最終投与後0-6	0.5	0.7	1.2	0.3	2.0	2.3
最終投与後6-12	0.3	8.1	8.4	0.7	0.9	1.6
最終投与後12-24	0.3	1.1	1.4	0.5	5.3	5.8
最終投与後24-48	0.2	0.3	0.5	0.3	1.3	1.6
最終投与後48-72	0.1	0.2	0.3	0.1	0.3	0.4
最終投与後72-96	<0.1	0.2	0.2	<0.1	0.3	0.3
小計	13.8	83.5	97.3	14.1	80.2	94.3
ケージ洗液		1.1			2.2	
合計		98.4			96.5	

表1-2 8mg/kg投与群における排泄率（全投与放射能に対する割合%）

時間	雄			雌		
	尿	糞	総排泄率	尿	糞	総排泄率
1回目投与後0-24	1.0	5.3	6.3	1.6	7.9	9.5
2回目投与後0-24	1.4	10.3	11.7	2.0	5.7	7.7
3回目投与後0-24	1.6	5.9	7.5	2.2	8.5	10.7
4回目投与後0-24	1.4	9.6	11.0	1.6	7.9	9.5
5回目投与後0-24	1.4	7.1	8.5	1.3	8.3	9.6
6回目投与後0-24	2.3	6.7	9.0	1.2	7.3	8.5
7回目投与後0-24	1.3	8.0	9.3	2.4	7.4	9.8
8回目投与後0-24	1.1	11.1	12.2	2.0	7.9	9.9
9回目投与後0-24	1.0	6.5	7.5	1.1	8.7	9.8
最終投与後0-6	0.5	4.8	5.3	0.5	2.0	2.5
最終投与後6-12	0.3	3.4	3.7	0.5	4.7	5.2
最終投与後12-24	0.4	0.9	1.3	0.3	1.1	1.4
最終投与後24-48	0.3	2.1	2.4	0.2	0.9	1.1
最終投与後48-72	0.1	0.2	0.3	0.1	0.4	0.5
最終投与後72-96	<0.1	0.1	0.1	<0.1	0.1	0.1
小計	14.1	82.0	96.1	17.0	78.8	95.8
ケージ洗液	1.2			1.5		
合計	97.3			97.3		

2) 血中濃度

雌雄とも、投与後速やかに血中放射能濃度の上昇が認められ、投与後4～6時間でピークを迎えた。その後、24時間後までに速やかに減衰し、以降緩やかな減衰を認めた。反復期間中の血中放射能濃度には蓄積傾向は認められなかった。

また、血中放射能濃度に比較し血漿中放射能濃度が概ね高く、血球成分への吸着や取り込みは少ないものと考えられた。

なお、8mg/kg投与群の雄代表個体（最終投与96時間後屠殺個体）における血中放射能濃度半減期は46.2時間、血漿中放射能濃度半減期は16.1時間であった。

各投与群の試験期間中の血中及び血漿中放射能濃度の推移を表2-1～2-2に示した。

3) 放射能分布

屠殺後、腎臓、肝臓、心臓、脳及び脊髄を摘出し放射能濃度測定に供試した。腎臓については左右別々、肝臓については左葉のみ、心臓については右心室及び左心室、また脳については、大脳皮質、小脳、中脳（視床下部を含む）、脳幹に分けて分析に供した。

第一回目投与の6時間後及び最終投与後経時的（96時間後まで）に臓器・組織中の放射能濃度を調べた結果、試験期間を通じて腎臓中の濃度が最も高く、次いで肝臓中に高い放射能が認められた。他の臓器・組織中放射能はいずれも低かった。

臓器・組織中の放射能濃度を表3-1～3-4に示した。

表2-1 1mg/kg投与群における血中及び血漿中放射能 (µg当量/g)

	雄		雌	
	全血	血漿	全血	血漿
1回目投与1時間後	0.007	0.012	0.007	0.008
2回目投与1時間後	0.010	0.013	0.007	0.013
3回目投与1時間後	0.006	0.012	0.003	0.010
4回目投与1時間後	0.018	0.008	0.008	0.011
5回目投与1時間後	0.009	0.010	0.008	0.010
6回目投与1時間後	0.026	0.014	0.012	0.013
7回目投与1時間後	0.014	0.025	0.011	0.014
8回目投与1時間後	0.010	0.010	0.011	0.018
9回目投与1時間後	0.018	0.026	0.009	0.010
最終投与1時間後	0.010	0.012	0.011	0.012
最終投与2時間後	0.018	0.024	0.019	0.024
最終投与4時間後	0.024	0.038	0.023	0.034
最終投与6時間後	0.022	0.031	0.032	0.047
最終投与24時間後	0.007	0.007	0.007	0.008
最終投与48時間後	0.006	0.002	0.007	0.006
最終投与72時間後	0.005	0.000	0.007	0.005
最終投与96時間後	0.002	0.000	0.006	0.003

表2-2 8mg/kg投与群における血中及び血漿中放射能 (µg当量/g)

	雄		雌	
	全血	血漿	全血	血漿
1回目投与1時間後	0.021	0.027	0.010	0.037
2回目投与1時間後	0.078	0.133	0.034	0.076
3回目投与1時間後	0.062	0.094	0.037	0.077
4回目投与1時間後	0.062	0.082	0.062	0.102
5回目投与1時間後	0.080	0.106	0.051	0.082
6回目投与1時間後	0.102	0.110	0.056	0.074
7回目投与1時間後	0.084	0.105	0.062	0.090
8回目投与1時間後	0.080	0.084	0.070	0.094
9回目投与1時間後	0.082	0.076	0.063	0.080
最終投与1時間後	0.114	0.126	0.051	0.056
最終投与2時間後	0.160	0.204	0.080	0.103
最終投与4時間後	0.190	0.260	0.176	0.271
最終投与6時間後	0.204	0.270	0.228	0.329
最終投与24時間後	0.074	0.048	0.049	0.039
最終投与48時間後	0.064	0.016	0.034	0.016
最終投与72時間後	0.061	0.011	0.028	0.010
最終投与96時間後	0.034	0.006	0.023	0.006

濃度はcontrolの平均値を差し引いた値 (申請者の計算による)

表3-1 臓器・組織中の放射能濃度 (雄・1mg/kg投与群)

	一回目処理後	最終処理後			
	6時間後	6時間後	24時間後	48時間後	96時間後
左心室	0.009	0.018	0.009	0.006	0.001
右心室	0.013	0.008	0.004	0.016	0.000
肝臓 (左葉)	0.037	0.204	0.606	0.467	0.094
腎臓 (左)	0.225	0.310	1.062	0.455	0.096
腎臓 (右)	0.228	0.311	1.091	0.463	0.098
大脳皮質	0.010	0.015	0.042	0.025	0.020
小脳	0.008	0.024	0.031	0.024	0.026
中脳(視床下部を含む)	0.000	0.005	0.038	0.038	0.008
脳幹	0.006	0.022	0.026	0.033	0.035
脊髄	0.011	0.000	0.019	0.023	0.012

表3-2 臓器・組織中の放射能濃度 (雄・8mg/kg投与群)

	一回目処理後	最終処理後			
	6時間後	6時間後	24時間後	48時間後	96時間後
左心室	0.048	0.094	0.039	0.023	0.023
右心室	0.068	0.098	0.043	0.046	0.010
肝臓 (左葉)	0.256	2.417	3.543	3.635	0.674
腎臓 (左)	1.268	3.549	6.413	3.165	0.798
腎臓 (右)	1.314	3.806	5.738	2.955	0.777
大脳皮質	0.035	0.192	0.183	0.216	0.130
小脳	0.021	0.240	0.206	0.274	0.211
中脳(視床下部を含む)	0.011	0.543	0.229	0.209	0.214
脳幹	0.018	0.390	0.317	0.203	0.306
脊髄	0.118	0.226	0.139	0.106	0.093

表3-3 臓器・組織中の放射能濃度 (雌・1mg/kg投与群)

	一回目処理後	最終処理後			
	6時間後	6時間後	24時間後	48時間後	96時間後
左心室	0.005	0.011	0.000	0.008	0.017
右心室	0.006	0.021	0.009	0.027	0.005
肝臓 (左葉)	0.027	0.332	0.401	0.222	0.085
腎臓 (左)	0.140	0.531	0.459	0.389	0.076
腎臓 (右)	0.137	0.494	0.480	0.385	0.081
大脳皮質	0.007	0.027	0.024	0.022	0.013
小脳	0.000	0.032	0.025	0.027	0.029
中脳(視床下部を含む)	0.009	0.057	0.037	0.027	0.022
脳幹	0.022	0.066	0.033	0.039	0.047
脊髄	0.005	0.015	0.031	0.025	0.027

表3-4 臓器・組織中の放射能濃度（雌・8mg/kg投与群）

	一回目投与後	最終投与後			
	6時間後	6時間後	24時間後	48時間後	96時間後
左心室	0.058	0.098	0.040	0.038	0.018
右心室	0.045	0.208	0.050	0.038	0.031
肝臓（左葉）	0.192	1.530	3.246	2.026	0.875
腎臓（左）	0.922	4.190	5.100	2.023	1.239
腎臓（右）	1.075	4.146	5.120	1.988	1.229
大脳皮質	0.031	0.196	0.166	0.154	0.077
小脳	0.016	0.223	0.240	0.234	0.114
中脳(視床下部を含む)	0.014	0.216	0.169	0.302	0.137
脳幹	0.034	0.418	0.352	0.313	0.150
脊髄	0.028	0.197	0.121	0.097	0.080

単位は μg 当量/g生重、数値は全てcontrolの値を差し引いたもの（申請者の計算による）である。なお、投与放射能割合は算出されていない。

3) 代謝

尿、糞、腎臓及び肝臓の代表試料について代謝物の分析を行った。

尿中放射能の多くは未変化のグルホシネート[A]由来であった。代謝物としては
が認められたが、最大でも尿中放射能
の
であった。

最終投与0～48時間のプール尿中の放射能特性を表4に示した。

表4 尿中代謝物（尿中放射能割合%）

	雄		雌	
	1mg/kg/日	8mg/kg/日	1mg/kg/日	8mg/kg/日
グルホシネート[A]	100.0	75.3	88.8	79.3
合計	100.0	100.0	100.0	100.0

糞中放射能については、抽出された放射能の全てが未変化のグルホシネート[A]であった。代謝物は全く認められなかった。

最終投与0～24時間のプール糞中の放射能特性を表5に示した。

表5 糞中代謝物（糞中放射能割合%）

	雄		雌	
	1mg/kg/日	8mg/kg/日	1mg/kg/日	8mg/kg/日
抽出性放射能 グルホシネート[A]	81.7	84.0	85.8	87.0
非抽出性放射能	18.3	16.0	14.2	13.0
合計	100.0	100.0	100.0	100.0

また臓器（8mg/kg/日投与群のみ供試）については、最終投与の24時間後では腎臓中で雌雄とも が明らかにグルホシネート[A]より多く認められたが、肝臓中ではグルホシネート[A]が多い傾向にあった。臓器中の放射能特性を表6に示した。

表6 臓器中代謝物（臓器中放射能割合%：8mg/kg/日投与群）

	雄				雌			
	最終投与6時間後		最終投与24時間後		最終投与6時間後		最終投与24時間後	
	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓	肝臓
抽出性放射能 グルホシネート[A]	25.7	21.9	16.7	34.7	22.2	39.9	11.3	73.8
非抽出性放射能	25.7	33.8	23.2	34.5	17.3	22.3	17.2	26.2
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

4) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、投与された放射能は主に糞を介して排泄され、雌雄ともに最終的には全投与放射能の約80%が糞中に排泄された。尿中排泄は約15%程度に留まった。

血中の放射能濃度については、反復投与による明確な濃度上昇は認められず最終投与4～6時間で最大値を認めた後は二相的に減衰し、第I相では比較的急速に減衰した。第II相では放射能濃度は低いものの減衰は緩慢であった。

また臓器中の放射能濃度は、排泄器官である腎臓で最も高く、次いで肝臓で高い放射能が認められた。体内に吸収された放射能の主排泄経路は尿中排泄であることから、腎臓で最高値が認められたと考えられる。心臓を除いては各臓器・組織ともに概ね最終投与後24時間で最高値を示し、その後急速に減衰したが、脳及び脊髄では減衰が緩やかであった。

体内に吸収されたグルホシネートは大部分が代謝を受けず未変化のまま排泄された。代謝物としては認められた。尿中及び糞、臓器の抽出液中には他の代謝物は全く認められなかった。糞中の抽出性放射能は全て未変化のグルホシネート[A]由来であった。

(資料 代18)

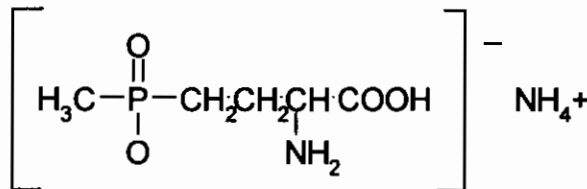
(18) 反復経口投与による泌乳ヤギにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年[GLP]

供試標識化合物：

構造式；



(*: ¹⁴Cの標識位置を示す)

化学名；アンモニウム-DL-ホモアアニン-4-イル(メチル)ホスフィケート

比放射能； 放射化学的純度；99%以上

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ヤギ、雌2頭（体重57～60kg）

試験方法：

投与；¹⁴C標識グルホシネートをカプセルに封入する。これを1日に2回経口投与した。投与は4日間の反復投与とし、投与量は164mg/頭/日（飼料中約100ppm相当）とした。

試験群・試験項目構成；

投与量	投与回数	動物数	試料採取
164mg/頭/日	¹⁴ C標識体： 反復経口投与	投与区： 雌：1匹 Control： 雌：1匹	尿、糞：投与期間中毎日午前、午後の2回、計8回採取 臓器及び組織： 最終投与15時間後の屠殺時に採取 乳汁：投与期間中毎日午前、午後の2回、計8回採取

試料の放射能測定；

尿、乳汁、胆汁及びケージ洗液中の放射能は、均質化試料にシンレーションカテルを加え、直接液体シンレーションカウンター（Beckman製、5000CE、6000SCもしくは6500SC）で測定した。糞、臓器及び組織試料については、均質化後凍結乾燥し、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を測定した。また、血液は均質化後直接サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を測定した。消化管内容物については均質化後遠心分離し、上清と沈殿物に分け、上清はシンレーションカテルを加え直接、沈殿物はサンプルオキシゲナーで燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定；

必要に応じ抽出、精製した後、HPLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

投与された放射能の主排泄経路は糞中であつた。排泄は速やかであり、最終投与15時間後には消化管内容物を含めると総投与放射能の80%以上が糞を介して排泄された。

一方、尿中への排泄率は低く、試験終了時までには尿経由で排泄された放射能は、総投与放射能の3%にも満たなかつた。

また乳汁中への排泄はごく僅かであり、試験終了時までには乳汁中に排泄された放射能は、総投与放射能の僅か0.018%に過ぎなかつた。

投与放射能の排泄率を表1に示した。

表1 排泄率（総投与放射能に対する割合%）

	尿	糞	乳汁*	総排泄率
第1投与日午前	0.16	n.d.	<0.001 (0.003)	0.16
午後	0.23	5.44	0.002 (0.009)	5.67
第2投与日午前	0.22	9.36	0.002 (0.016)	9.58
午後	0.51	11.30	0.003 (0.020)	11.81
第3投与日午前	0.12	9.26	0.003 (0.022)	9.38
午後	0.08	9.28	0.003 (0.020)	9.36
第4投与日午前	0.59	8.08	0.003 (0.020)	8.67
午後	0.98	16.00	0.002 (0.014)	16.98
小計	2.89	68.75	0.018	71.66
消化管内容物	11.37			
ケージ洗液	0.24			
合計	83.27			

*：カッコ内は残留濃度（ppm）

2) 放射能分布

屠殺後、腎臓、肝臓、骨格筋、脂肪組織、胆汁、血液及び消化管を摘出し放射能濃度測定に供試した。

体内放射能の主排泄器官である腎臓中の濃度が最も高く、次いで肝臓中に高い放射能が認められた。他の臓器・組織中放射能は消化管を除きいずれも低かつた。これは消化管内容物に高い放射能が認められており、内容物が完全には除去されなかつたためと思われる。

臓器・組織中の放射能濃度を表2に示した。

3) 代謝

尿、糞、乳汁、腎臓及び肝臓について代謝物の分析を行った。

尿、糞及び乳汁中の同定された放射能の多くは未変化のグルホシネート[A]由来であつ

た。主要代謝物は
 の他には
 であつた。そ
 が認められたがその生成量は少なかった。

臓器についても排泄物同様同定された放射能の多くは未変化のグルホシネート[A]由来であつた。代謝物についても排泄物中のものと変わらなかったが、
 が排泄物に比べて多かつた。

各試料中の放射能特性を表3に示した。

表2 臓器・組織中の放射能

	臓器・組織中放射能	
	放射能濃度 (μg当量/g生重)	総投与放射能割合 (%)
胆汁	0.006	<0.001
血液	0.027	<0.001
脂肪組織	0.004	0.001
消化管	1.530	0.844
腎臓	0.609	0.016
肝臓	0.401	0.063
骨格筋	0.007	0.003

表3 各試料中の代謝物 (各試料抽出液中放射能割合%)

	腎臓	肝臓	乳汁**	糞+	尿+
グルホシネート[A]	49.0	52.7	48.9	75.9	80.9
同定放射能	83.8	89.6	62.7	98.2	97.7
抽出放射能*	94.5	65.2	88.8	99.1	100.0

*: 各試料中の放射能割合 (%)、 **: 第2投与日午後搾乳試料、+: 最終採取試料

4) まとめ

グルホシネートは水溶性物質ではあるが、消化管からの吸収は少なく、投与された放射能の多くは未変化のまま主に糞を介して排泄され、屠殺時の消化管内容物を含めると総投与放射能の約80%が糞中に排泄された。尿中排泄は3%程度にとどまった。

臓器中の放射能濃度は、排泄器官である腎臓で最も高く、次いで肝臓で高い放射能が認められた。体内に吸収された放射能の主排泄経路は尿中排泄であることから、腎臓で最高値が認められたと考えられる。消化管の高値は内容物の除去が不完全だったためと考えられる。

体内に吸収されたグルホシネート[A]は
 に代謝される。
 された。またグルホシネートの
 に代謝
 も肝臓を除いて体内で認

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

められたが、これはヤギ体内で生成されたものではなく、腸内細菌により生成された後腸管より体内に吸収されたものと考えられる。

ヤギにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 泌乳ヤギにおけるグルホシネートの推定代謝経路

(資料 代19)

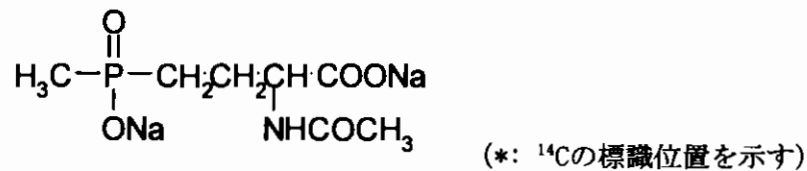
(19) ¹⁴C-標識Hoe 099730の低用量単回経口及び静脈内投与による雌雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルピロピコナート二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、各群雌雄各5匹（体重180～250g）

[但し、雄のみ代謝物測定用に2匹（経口投与群）、オートラジオグラフィ用に2匹（経口及び静脈内投与群各1匹）]

試験方法：

投与；¹⁴C標識Hoe 099730を生理食塩水に溶解し0.6及び1.1mg/gの投与溶液を調製する。これを胃ゾンデを用い強制経口投与もしくは尾静脈内投与した。投与量はいずれも3mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として3mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
3	¹⁴ C標識体： 単回経口投与 単回静脈内投与	各群： 雌：5匹 雄：5匹	尿：投与0-4、4-8、8-24、以降24時間毎に96時間までの6回採取 糞：投与降24時間毎に96時間までの4回採取 ケージ洗液：投与0-24、24-48及び48-96時間 臓器、組織及び血液：96時間後の屠殺時採取
	単回経口投与	代謝群：雄2匹	消化管内容物：投与4及び24時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアリコートにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackard製、model4530）で測定した。糞試料については、風乾後粉碎し、アリコートをサブメキシターで燃焼し発生した¹⁴C₂O₂を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は濾紙にしみ込ませ風乾した後、サブメキシターで燃焼し発生した¹⁴C₂O₂を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、水とともにホジナイズし（小さい臓器は細切しDigestinに溶解した）、アリコートにエタノール0.5ml加え、さらにパードロールで脱色した後シンチレーションカクテルを加えて測定した。

結果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は速やかであり、24時間後には95%以上の投与放射能が糞を介して排泄された。一方、尿中排泄率は低く、投与後96時間の間に尿経由で排泄された放射能はおよそ5~6%であつた。経口投与群の放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 経口投与群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-4	1.956	95.21	0.043	100.29	1.933	102.6	0.075	108.26
4-8	0.606				0.831			
8-24	2.476				2.825			
24-48	0.140	2.242	0.004	2.386	0.219	4.371	0.009	4.599
48-72	0.031	0.047	-	0.097	0.053	2.006	-	2.126
72-96	0.012	0.007			0.026	0.041		
合計	5.221	97.51	0.047	102.77	5.887	109.02	0.084	114.98

静脈内投与された放射能の主排泄経路は、経口投与群とは違い、雌雄ともに尿中であつた。排泄は速やかであり、わずか4時間後で85%以上の投与放射能が尿を介して排泄された。一方、糞中排泄率は低く、投与後96時間の間に糞経由で排泄された放射能はおよそ2%（雌）~4%（雄）であつた。

静脈内投与群の放射能の糞中及び尿中排泄率は、表2の通りであつた。

表2 静脈内投与群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-4	85.60	1.416	0.092	97.71	91.24	3.444	0.118	97.55
4-8	8.890				1.950			
8-24	1.709				0.794			
24-48	0.368	0.269	0.023	0.660	0.368	0.489	0.100	0.957
48-72	0.133	0.057	0.008	0.284	0.276	0.144	0.094	0.728
72-96	0.061	0.025			0.154	0.060		
合計	96.76	1.767	0.123	98.65	94.78	4.137	0.312	99.24

以上の結果から、尿中及び糞中放射能の半減期をもとめた。尿中の放射能の消長は二相性であり、各相について半減期を算出した。

表3に結果を示した。

表3 排泄物中放射能の半減期

投与経路		尿		糞	
		雄	雌	雄	雌
経口投与	半減期 (時間)				
	第Ⅰ相	3.6 ± 0.7	3.8 ± 0.3*	5.1 ± 0.3	6.2 ± 0.8
	第Ⅱ相	18.0 ± 3.5	25.6 ± 9.3*		
静脈内投与	半減期 (時間)				
	第Ⅰ相	1.7 ± 0.6	1.4 ± 0.4	12.1 ± 2.4	12.6 ± 1.5
	第Ⅱ相	18.2 ± 2.0	24.8 ± 3.9*		

*: 異常値を示した1個体を除いた。

2) 吸収

静脈内投与群における尿中及び糞中排泄の割合を用いて、経口投与群の尿中排泄率から算出した場合（申請者の計算による）、経口投与における被験物質の吸収率は雌雄とも5～6%であり、消化管からの吸収は少なかった。

$$\text{吸収率 (\%)} = \text{経口投与群尿中排泄率 (\%)} / \text{静脈内投与群尿中排泄率 (\%)}$$

3) 分布

試料採取時の投与96時間後においては、ほぼ排泄が終了しており、体内残留放射能は極めて低かった。

特に経口投与群においては、吸収率が低く体内に取り込まれた放射能が少なかったため、腎臓及び雌の肺である程度の放射能が認められた以外は臓器中の放射能濃度は非常に低かった。また、組織中の放射能は雄の骨を除いて、血液も含めいづれも検出限界以下であった。

静脈内投与群においては投与放射能の全てが体内に入るため、全ての臓器・組織において経口投与群よりも高い放射能濃度を示した。分布は経口投与群と類似しており、腎臓で最も高い放射能が認められた。次いで肝臓、脾臓及び雄の生殖腺で比較的高い放射能が認められた。しかしながら、臓器・組織中の放射能は最大でも投与放射能の僅か0.06%（静脈内投与群の雌の腎臓）に過ぎなかった。

また全身オートラジオグラフィの結果も上記の結果を指示するものであり、両投与群ともに腎臓において最も高い放射能が認められ、他の臓器・組織中の濃度は極めて低かった。

臓器・組織中の放射能分布を表4-1～2に示した。

4) 消化管内容物中の放射能特性

投与4時間後においては、既に多くの放射能が腸管内に移動しており（91.1%）胃部に残存している放射能は僅かに3.6%であった。抽出放射能のほぼ全てが未変化のHoe 099730[Z]であった。

代謝物としては

及び

が僅かに認められた。

投与24時間後では、すでに大部分の投与放射能が排泄されており、腸管内に僅か3.5%が残存しているに過ぎなかった。胃部には全く放射能は認められなかった。腸管内容物中の抽出放射能特性は4時間試料と同様であったが の割合が若干増加した。消化管内容物中の放射能特性を表5に示した。

表4-1 経口投与群における臓器・組織内分布

臓器・組織	雄		雌	
	放射能濃度(ppm)	投与放射能%	放射能濃度(ppm)	投与放射能%
脾臓	0.0032	0.0002	0.0037	0.0003
腎臓	0.1288	0.0347	0.0555	0.0161
生殖腺	0.0116	0.0053	<LOD	<LOD
肝臓	0.0052	0.0077	0.0065	0.0102
心臓	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
肺	<LOD	<LOD	0.0433	0.0263
骨格筋	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
皮下脂肪	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
腹膜後脂肪	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
脳	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
骨	0.0022	0.0023	<LOD	<LOD
血液	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
血漿	<LOD	-	<LOD	-
カーカス	0.0017	0.0397	0.0020	0.0438
合計	-	0.0900	-	0.0966

表4-2 静脈内投与群における臓器・組織内分布

臓器・組織	雄		雌	
	放射能濃度(ppm)	投与放射能%	放射能濃度(ppm)	投与放射能%
脾臓	0.0441	0.0039	0.0413	0.0030
腎臓	0.2014	0.0594	0.0735	0.0191
生殖腺	0.0255	0.0114	0.0048	0.0001
肝臓	0.0146	0.0235	0.0126	0.0190
心臓	0.0030	0.0005	0.0026	0.0003
肺	0.0051	0.0015	0.0050	0.0013
骨格筋	0.0016	0.0216	0.0016	0.0209
皮下脂肪	0.0036	0.0059	0.0052	0.0082
腹膜後脂肪	0.0031	0.0025	0.0028	0.0021
脳	0.0021	0.0006	0.0023	0.0006
骨	0.0075	0.0124	0.0071	0.0112
血液	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
血漿	<LOD	-	<LOD	-
カーカス	0.0036	0.0800	0.0076	0.1554
合計	-	0.2234	-	0.2413

表 5 消化管内容物中の放射能特性

	投与4時間後		投与24時間後	
	胃内容物	腸内容物	胃内容物	腸内容物
残留放射能（投与放射能%）	3.6	91.1	<0.01	3.5
抽出性放射能（%）	99.8	99.5	-	99.4
Hoe 099730[Z]	99.8	95.6	-	65.9
非抽出性放射能（%）	0.2	0.5	-	0.5

5) まとめ

Hoe 099730[Z]は経口投与においては消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。排泄は非常に速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の95%以上がほぼ未変化のまま排泄された。また、吸収率は約6%と低かった。

吸収率が低く排泄が速やかなため、屠殺時（投与96時間後）の臓器及び組織中の放射能は極めて低かった。

一方静脈内投与群においては、投与放射能の大部分が尿を介して排泄された。糞中排泄が少なかったことから、胆汁排泄は少ないものと考えられる。排泄は非常に速やかであり投与24時間後には、雌雄とも投与放射能の90%以上が尿を介して排泄された。

臓器及び組織中の放射能は経口投与群に比べれば高かったが、排泄が速やかなため屠殺時の放射能濃度は概して低いものであった。

Hoe 099730[Z]の主代謝経路は、
であった。

ラットにおけるHoe 099730の推定代謝経路を図1に示した。

図1 雌雄ラットにおけるHoe 099730の推定代謝経路

(資料 代20)

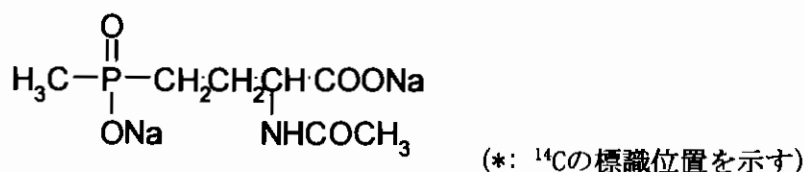
(20) ^{14}C -標識Hoe 099730の低用量単回経口投与によるラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルピロピラト二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雌雄各5匹（体重200～240g）

試験方法：

投与； ^{14}C 標識Hoe 099730（投与物質としてはHoe 099729のナトリウム塩であるHoe 099730）を生理食塩水に溶解し0.55mg/mlの投与溶液を調製する。これを胃ゾンデを用い強制経口投与した。投与量はいずれも3mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として3mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
3	^{14}C 標識体： 単回経口投与	雌雄：各5匹	尿及び糞：投与後24時間毎に96時間までの4 回採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアリコートにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackerd製、model4530）で測定した。糞試料については、風乾後粉碎し、アリコートをサンプルカウンタで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は濾紙にしみ込ませ風乾した後、サンプルカウンタで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、

水とともにホジナイズし（小さい臓器は細切しDigestinに溶解した）、アコートにエタノール0.5ml 加え、さらにパーヒトロールで脱色した後ソリションカテルを加えて測定した。

代謝物の同定；

HPLC及びTLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物を同定した。

結 果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は速やかであり、24時間後には90%以上の投与放射能が糞を介して排泄された。一方、尿中排泄率は低く、投与後96時間の間に尿経路で排泄された放射能は10%未満であつた。経口投与群の放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
0-24	4.9	97.5	8.2	93.2
24-48	0.5	2.4	0.8	2.3
48-72	0.1	0.04	0.3	0.2
72-96	0.1	0.01	0.1	0.1
合計	5.5	100.0	9.3	95.8

2) 排泄物中の放射能特性

尿及び糞ともに抽出放射能の大部分が未変化のHoe 099730[Z]であつた。

尿中の代謝物としては

められた他、ごく僅かな

糞中の代謝物としては

も認められた。

が最も多く認められた他は、

がごく少量認められ

た。

排泄物中の放射能特性を表2-1~2に示した。

表2-1 雄の排泄物中の放射能特性（投与放射能に対する割合%）

	尿				糞	
	0-24	24-48	48-72	72-96	0-24	24-48
試料中総放射能	4.9	0.5	0.1	0.1	97.5	2.4
抽出性放射能 (%)	-	-	-	-	94.7	2.5
Hoe 099730[Z]	3.5	0.3	0.1	0.1	68.2	1.7
非抽出性放射能 (%)	-	-	-	-	0.8	0.04

表 2-2 雌の排泄物中の放射能特性（投与放射能に対する割合％）

	尿				糞	
	0-24	24-48	48-72	72-96	0-24	24-48
試料中総放射能	8.2	0.8	0.3	0.1	93.2	2.3
抽出性放射能（％）	-	-	-	-	90.7	2.4
Hoe 099730[Z]	6.6	0.6	0.3	0.1	68.4	1.6
非抽出性放射能（％）	-	-	-	-	0.8	0.03

5) まとめ

Hoe 099730[Z]は経口投与においては消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。排泄は非常に速やかであり投与24時間後には、雌雄ともに投与放射能の90%以上が糞を介して排泄された。糞中放射能の大部分が未変化のHoe 099730[Z]であった。尿中放射能についても類似しており、その大部分が未変化体であった。

糞中の代謝物については、主代謝物は であり、その他には が僅かに認められた。 は尿中には認められなかった。

尿中の代謝物については、主代謝物は であった。

Hoe 099730[Z]のラットにおける主代謝経路は、 の生成、それに引き続 の生成であった。

Hoe 099730のラットにおける推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 Hoe 099730のラットにおける推定代謝経路

(資料 代 2 1)

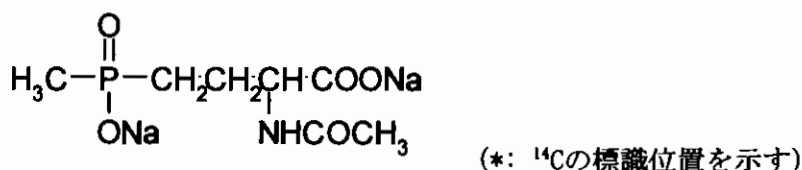
(21) ¹⁴C-標識Hoe 099730の低用量単回経口及び静脈内投与によるラットの血中濃度推移

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルホスフィノプロチレート二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識することにより
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、各群雌雄各3匹（体重180～200g）

試験方法：

投与；¹⁴C標識Hoe 099730（投与物質としてはHoe 099729のナトリウム塩であるHoe 099730）を生理食塩水に溶解し0.6及び1.1mg/gの投与溶液を調製する。これを胃ゾンデを用い強制経口投与もしくは尾静脈内投与した。投与量はいずれも3mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として3mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
3	¹⁴ C標識体： 単回経口投与 単回静脈内投与	各群： 雌：3匹 雄：3匹	血液：投与0.083*、0.25、0.5、1、2、4、6、 8、24、48、72、96時間後に採取 (*：静脈内投与のみ)

試料の放射能測定；

試料は濾紙にしみ込ませ風乾した後、サブマルチゲイザーで燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackerd製、model14530）で測定した。

結 果：

1) 血中濃度推移

経口投与群においては投与15分後には血中に放射能が認められ、その後放射能濃度は急速に上昇し1時間後には最大値となった。その後急速に減衰し、24時間後には既に検出限界未満となった。半減期はおよそ1時間であった。

静脈内投与群においても経口投与群同様血中放射能濃度は投与後急速に減衰した。投与5分後の濃度をもとにすると、半減期は僅か30分未満であった。

これらの傾向は雌雄ともに全く同様であった。

血中濃度の推移を表1に示した。

表1 血中放射能推移 (µg当量/g)

採取時間	雄		雌	
	経口投与群	静脈内投与群	経口投与群	静脈内投与群
0.083	-	6.185	-	7.442
0.25	0.0181	3.944	0.0288	4.186
0.5	0.0428	2.434	0.0431	2.128
1	0.0520	0.7374	0.0474	0.6975
2	0.0279	0.0878	0.0372	0.0942
4	0.0112	0.0170	0.0170	0.0128
6	0.0097	0.0091	0.0081	0.0098
8	0.0070	0.0077	0.0063	0.0101
24	<LOD	0.0036	<LOD	0.0075
48	<LOD	0.0043	<LOD	<LOD
72	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
96	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

上記の結果をもとに血中濃度キネティクスに関する各種パラメーターを算出した。静脈内投与群については、試料採取可能な最短時間であった投与5分後の値を最大値とした。血中放射能の減衰は二相性であり、半減期は各相毎に算出した。

血中濃度キネティックパラメーターを表2に示した。

表2 血中濃度キネティックパラメーター

	経口投与群		静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌
Cmax (µg当量/g)	0.052±0.009	0.051±0.008	6.19±0.64	7.44±0.27
tmax (時間)	1	1.167±0.764	0.083	0.083
半減期 (時間)				
第I相	0.82±0.37	0.86±0.18	0.35±0.09	0.3±0.01
第II相	6.3±1.6	7.4±4.2	12.9±5.1	15.41±2.1
AUC _{0-8h} (µg当量/g)	0.1504±0.0175	0.1224±0.0226	3.509±0.1279	3.692±0.098
AUC _{0-∞} (µg当量/g)	0.214±0.0311	0.1922±0.0639	3.656±0.1584	3.857±0.2065

3) まとめ

Hoe 099730はグルホシネート同様、経口投与においては消化管からの吸収は少ないが吸収速度は速く、投与後1時間で血中放射能濃度が最大となった。最大値を迎えた後の血中放射能の減衰は速やかであり、半減期はおよそ1時間であった。

静脈内投与群においても血中放射能の減衰は非常に速やかであり、投与5分後の濃度を最大値とした場合の半減期はおよそ20分であった。

血中濃度キネティクスに性差は認められなかった。

(資料 代22)

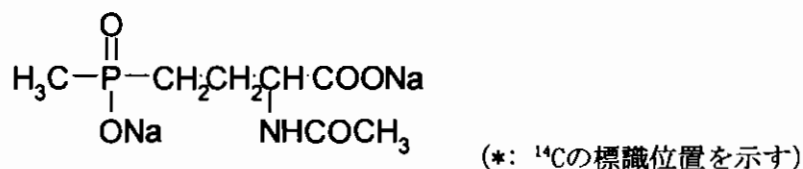
(22) ¹⁴C-標識Hoe 099730の高用量単回経口投与による雌雄ラットにおける薬物動態

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルホスフィンブチレート二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識することにより
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雌雄各12匹（体重188～234g）

試験方法：

投与；¹⁴C標識Hoe 099730（投与物質としてはHoe 099729のナトリウム塩であるHoe 099730）を生理食塩水に溶解し0.6及び1.1mg/gの投与溶液を調製する。これを胃ゾンデを用い強制経口投与もしくは尾静脈内投与した。投与量はいずれも3mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響の可能性が考えられる高投与量として1000mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
1000	¹⁴ C標識体： 単回経口投与	雌雄各12匹 (24、96時間後屠殺各5匹、2、6時間後屠殺各1匹)	尿、糞及びケージ洗液： 投与後24時間毎に96時間までの4回採取 臓器、組織及び血液： 投与2、6、24及び96時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアリコートにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackerd製、model4530）で測定した。糞試料については、水を加えた後ホジナイズし、アリコートをサンプルキタイザーで燃焼し発生した

^{14}C を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は濾紙にしみ込ませ風乾した後、サンプラキターで燃焼し発生した ^{14}C を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、水とともに経ジナイズした（小さい臓器は細切した）。試料をDigestinに溶解し、エタノール0.5mlもしくは最大0.3mlのパーヒトロールで脱色した後、アリコートにシチレシオンカゲルを加えて測定した。

結果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は低用量群に比較して遅延しており、24時間後には雄で約70%、雌では遅延は顕著であり約35%しか糞を介して排泄されなかつた。48時間後では、雄で約84%、雌においても約70%となっている。一方、尿中排泄率は低く、投与後96時間の間に尿経由で排泄された放射能は、雄で約7%、雌では雄よりもやや多く約13%であつた。

このことから雌においては雄に比べ吸収が若干多かつたことが考えられる。なお、投与96時間後には雌雄とも投与放射能の約95%が排泄物を通して体外に排泄された。

96時間後屠殺群の糞中及び尿中放射能排泄率を表1に示した。

表1 96時間後屠殺群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-24	4.423	69.05	0.666	74.139	7.501	35.68	2.170	45.351
24-48	1.063	14.73	0.461	16.254	3.735	33.81	2.346	39.891
48-72	0.884	1.470	0.388	2.742	1.181	5.763	0.834	7.778
72-96	0.424	1.504	0.195	2.123	0.292	1.423	0.544	2.259
合計	6.794	86.764	1.710	95.258	12.709	76.676	5.894	95.279

以上の結果から、尿中及び糞中放射能の半減期を算出した結果、排泄速度自体は雌雄ではほとんど差が認められなかつた。

表2に結果を示した。

表2 排泄物中放射能の半減期

排泄経路	性別	半減期（時間）
尿	雄	16.7 ± 10.1
	雌	19.3 ± 8.2
糞	雄	11.0 ± 3.3
	雌	10.2 ± 4.3

2) 分布

試料採取時の投与96時間後においては、ほぼ排泄が終了しており、体内残留放射能は低かつた。

雌雄とも投与6時間後まで吸収放射能の主排泄器官である腎臓において高い放射能が認められた以外は臓器及び組織中の放射能濃度は低かつた。血中濃度も24時間後には既に検出限界以下となっており、吸収放射能の血液を介した臓器及び組織への分配も24時間後までにほぼ終了していると考えられる。投与96時間後には雄の腎臓を除いて供試臓

器・組織中の放射能は全て検出限界以下であった。

臓器・組織中の放射能濃度推移を表3-1～2に示した。

表3-1 雄における臓器・組織内分布

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合 (%)			
	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	<LOD	1.388	2.674	<LOD	-	0.0003	0.0004	-
腎臓	56.15	66.97	6.831	1.029	0.0395	0.0466	0.0054	0.0005
生殖腺	1.696	1.728	0.914	<LOD	0.0022	0.0018	0.0011	-
肝臓	7.020	8.708	2.623	<LOD	0.0334	0.0360	0.0108	-
心臓	1.078	1.472	<LOD	<LOD	0.0004	0.0004	-	-
肺	2.572	2.631	1.321	<LOD	0.0018	0.0014	0.0005	-
骨格筋	8.471	1.094	<LOD	<LOD	0.3295	0.0418	-	-
皮下脂肪	1.826	1.317	<LOD	<LOD	0.0089	0.0063	-	-
腹膜後脂肪	2.463	1.752	<LOD	<LOD	0.0096	0.0067	-	-
脳	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	-	-
骨	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	-	-
血液	2.002	2.130	<LOD	<LOD	0.0097	0.0102	-	-
合計					0.4350	0.0900	0.0182	0.0005

表3-2 雌における臓器・組織内分布

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合 (%)			
	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	2.229	1.816	1.289	<LOD	0.0005	0.0003	0.0003	-
腎臓	76.57	36.68	5.085	<LOD	0.0501	0.0251	0.0037	-
生殖腺	6.493	1.814	<LOD	<LOD	0.0004	0.0001	-	-
肝臓	8.717	8.122	2.635	<LOD	0.0354	0.0268	0.0100	-
心臓	3.309	1.102	<LOD	<LOD	0.0013	0.0004	-	-
肺	6.960	4.066	<LOD	<LOD	0.0046	0.0021	-	-
骨格筋	1.577	0.736	<LOD	<LOD	0.0566	0.0246	-	-
皮下脂肪	3.843	2.193	<LOD	<LOD	0.0172	0.0092	-	-
腹膜後脂肪	3.107	<LOD	<LOD	<LOD	0.0112	-	-	-
脳	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	-	-	-	-
骨	2.284	<LOD	<LOD	<LOD	0.0103	-	-	-
血液	6.157	1.978	<LOD	<LOD	0.0276	0.0083	-	-
合計					0.2152	0.0969	0.0140	-

3) まとめ

Hoe 099730は経口投与においては消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。高用量であったため、排泄は低用量試験に比較してやや遅延したが、投与48時間後には糞中排泄の大部分が終了した。尿中排泄の割合は低く、投与96時間後までに尿を介して排泄された放射能は、雄で約7%、雌でやや多く約13%であった。投与96時間後までに雌雄とも投与放射能の約95%が排泄物を介して体外に排泄された。

放射能の体内分布については、吸収放射能の主排泄器官である腎臓で高値がみとめられ

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

た以外は放射能濃度は総じて低かった。投与放射能の大部分が排泄されていることから臓器及び組織中の顕著な放射能残留は認められなかった。

(資料 代23)

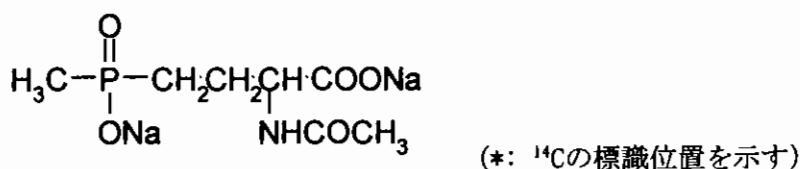
(23) ¹⁴C-標識Hoe 099730の高用量単回経口投与によるラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルピロリドンナトリウム塩

比放射能；

放射化学的純度；99%以上

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

を標識することにより

供試動物：ウイスター系ラット、雌雄各5匹（体重195～235g）

試験方法：

投与；¹⁴C標識Hoe 099730（投与物質としてはHoe 099729のナトリウム塩であるHoe 099730）を生理食塩水に溶解した。これを胃ゾンデを用い強制経口投与した。投与量は1000mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響の可能性が考えられる高投与量として1000mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
1000	¹⁴ C標識体： 単回経口投与	雌雄各12匹 (24、96時間後屠殺各5匹、2、6時間後屠殺各1匹)	尿、糞及びケージ洗液： 投与後24時間毎に96時間までの4回採取 臓器、組織及び血液： 投与2、6、24及び96時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿及びケージ洗液中の放射能は、 ^{14}C 化ナトリウム水溶液で定容した後分取したアロートにシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Pharmacia製、1219 RackBeta又はPackerd製、TRI-CARB1900CA）で測定した。糞試料については、 ^{14}C 化ナトリウム水溶液を加え振とうした後、アロートをサンプルオキシゲナーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。臓器・組織及び血液試料については、 ^{14}C 化ナトリウム水溶液とともにホジナイズした後、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。

代謝物の同定；

HPLC及びTLC分析における標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物を同定、定量した。

結 果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は雌雄ともに糞中であつた。排泄は低用量群に比較して遅延しており、24時間後の糞中排泄は雌雄ともに投与放射能の60%程度であつた。48時間後では、雄で約90%、雌においても約83%となっている。一方、尿中排泄率は低く、投与後96時間の間に尿経由で排泄された放射能は、雌雄ともに7%程度であつた。投与96時間後には雌雄とも投与放射能のほぼ全てが排泄物を通して体外に排泄された。96時間後屠殺群の糞中及び尿中放射能排泄率を表1に示した。

表1 96時間後屠殺群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	雄				雌			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-24	4.9	58.5	1.2	64.6	4.4	62.6	1.5	68.5
24-48	1.6	23.4	0.7	25.7	1.3	20.5	1.2	23.0
48-72	0.8	5.7	0.3	6.8	0.8	3.8	0.4	5.0
72-96	0.2	1.3	0.3	1.8	0.2	0.8	0.2	1.2
合計	7.5	88.9	2.5	98.9	6.7	87.7	3.3	97.7

2) 分布

試料採取時の投与96時間後においては、ほぼ全ての投与放射能が排泄物を介して体外に排泄されており、雌雄ともに肝臓で僅かな放射能が認められたのみであつた。雌雄とも投与6時間後まで吸収放射能の主排泄器官である腎臓において高い放射能が認められた以外は臓器及び組織中の放射能濃度は低かつた。血液中の放射能に関しては、血漿中にのみ放射能が認められ、血球中にはほとんど認められなかつたことから、Hoe 099730は血液中では主に血漿中に存在していると考えられた。血漿中においても投与96時間後には定量限界未満となつた。

投与96時間後には雌雄ともに、肝臓を除いて供試臓器・組織中の放射能は全て定量限界未満であつた。

なお、投与2時間後に雄の脾臓で高い放射能が認められたが、雌では定量限界未満であり、また代22においては雄であっても同様に投与2時間後で定量限界未満であつたことか

ら、おそらくこれは異常値であると考えられるが原因は特定されなかった。
臓器・組織中の放射能濃度推移を表2-1～2に示した。

表2-1 雄における臓器・組織内分布

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合 (%)			
	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	86.242	11.032	<LOQ	<LOQ	0.0215	0.0022	-	-
腎臓	151.723	43.544	4.319	<LOQ	0.1009	0.0315	0.0032	-
肝臓	9.906	17.318	2.435	0.393	0.0251	0.0459	0.0098	0.0015
脳	<LOQ	1.302	<LOQ	<LOQ	-	0.0008	-	-
血球	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	-	-	-	-
血漿	2.727	3.431	0.498	<LOQ	0.0029	0.0050	0.0005	-
合計					0.1504	0.0854	0.0135	0.0015

表2-2 雌における臓器・組織内分布

臓器・組織	放射能濃度 (μg当量/g)				投与放射能割合 (%)			
	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後	2時間後	6時間後	24時間後	96時間後
脾臓	<LOQ	7.003	1.876	<LOQ	-	0.0009	0.0003	-
腎臓	37.039	671.935	5.055	<LOQ	0.0159	0.3690	0.0022	-
肝臓	2.853	45.956	3.190	0.260	0.0071	0.0935	0.0085	0.0010
脳	<LOQ	0.777	<LOQ	<LOQ	-	0.0005	-	-
血球	<LOQ	3.013	<LOQ	<LOQ	-	0.0020	-	-
血漿	3.895	9.973	0.622	<LOQ	0.0024	0.0039	0.0005	-
合計					0.0254	0.4698	0.0115	0.0010

3) 排泄物中の放射能特性

尿及び糞ともに抽出放射能の大部分が未変化のHoe 099730[Z]であった。

尿中の代謝物としては となった後、

が0-24時間の尿中にのみごく少量認められた。24時間以降は未変化体のみ認められた。

糞中の代謝物としては が最も多く認められた他は、

が0-24時間の糞中にのみ少量認められた。また雄においては

も0-24時間の糞中にのみごく少量認められた。

また代謝経路について雌雄における性差は認められなかった。

なお、排泄物中に認められた

であると考えられた。

排泄物中の放射能特性を表3-1～2に示した。

表 3-1 雄の排泄物中の放射能特性 (投与放射能に対する割合%)

	尿				糞			
	0-24	24-48	48-72	72-96	0-24	24-48	48-72	72-96
試料中総放射能	4.9	1.6	0.8	0.2	58.5	23.4	5.7	1.3
抽出性放射能 (%)					56.3	22.6	6.0	1.4
Hoe 099730[Z]	4.76	1.63	0.78	0.20	55.42	22.21	5.92	1.35
非抽出性放射能 (%)					0.06	0.07	0.03	0.01

表 3-2 雌の排泄物中の放射能特性 (投与放射能に対する割合%)

	尿				糞			
	0-24	24-48	48-72	72-96	0-24	24-48	48-72	72-96
試料中総放射能	4.4	1.3	0.8	0.2	62.6	20.5	3.8	0.8
抽出性放射能 (%)					64.9	20.5	3.8	0.8
Hoe 099730[Z]	4.21	1.31	0.81	0.18	63.89	20.07	3.70	0.80
非抽出性放射能 (%)					0.06	0.08	0.02	0.01

5) まとめ

Hoe 099730[Z]は経口投与においては消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。排泄速度は低用量試験と比較して遅延しており投与24時間後では、雌雄ともに投与放射能の60%程度が糞を介して排泄されなかったが、48時間後までにはおよそ投与放射能の80%が排泄された。また糞中放射能の大部分は未変化のHoe 099730[Z]であった。

尿中排泄は少なく96時間後で投与放射能の7%前後であった。放射能特性については糞に類似しており、その大部分が未変化体であった。

糞中の代謝物については、主代謝物は であり、その他には および が僅かに認められた。

尿中の代謝物については、 が僅かに認められた。

Hoe 099730[Z]の主代謝経路は、 の生成、及びそれに引き続く の生成であった。

Hoe 099730のラットにおける推定代謝経路を図1に示した。

図1 Hoe 099730の雌雄ラットにおける推定代謝経路

(資料 代24)

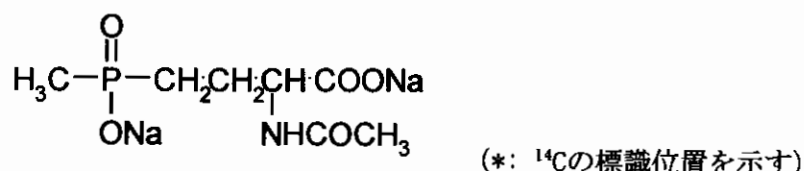
(24) ^{14}C -標識AE F099730の中間用量単回経口投与による雄ラットにおける吸収、分布及び排泄

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；L-2-アセアミド-4-チルスイノブチレート二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、雄3群15匹（体重182～220g）

試験方法：

投与； ^{14}C 標識AE F099730を水に溶解し6.551mg/gの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。投与量は30mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響が無いと考えられる中間用量群として30mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
30	^{14}C 標識体： 単回経口投与	投与1、6、24時間 後屠殺群：各5匹	尿、糞及びケージ洗液： 投与24時間後屠殺群のみ屠殺時に採集 臓器、組織及び血液： 投与1、6及び24時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、分取したアリコトにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター (Packard製、TRI-Carb 2500TR) で測定した。糞試料については、70℃化ナトリウム水溶液を加えた後ホモジナイズし、アリコトを風乾した。これをサンプルオキシゲナーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は風乾した後、サンプルオキシゲナーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$

を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、メーノル/水混液とともにホジナイズした（小さい臓器は細切しDigestinに溶解した）後、メーノル0.5mlもしくは最大0.3mlのハードロールで脱色し、アリコートにシンチレーションカテルを加えて放射能を測定した。

結 果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は糞中であつた。排泄は低用量群と同様速やかであり、24時間後には約88%の投与放射能が糞を介して排泄された。

一方、尿中排泄率は低く、投与後24時間の間に尿経路で排泄された放射能は僅か2%であつた。

なお、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を通して体外に排泄された。

24時間後屠殺群の糞中及び尿中放射能排泄率を表1に示した。

表1 24時間後屠殺群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-24	2.11	88.23	0.13	90.47

2) 分布

体内に吸収された放射能の主排泄器官である腎臓において高い放射能濃度が認められた以外は、他の臓器及び血液中の放射能濃度は低かつた。臓器中及び血中放射能濃度は経時的に減衰した。

なお、血液に関しては全血の放射能濃度より血漿中の放射能濃度が明らかに高かつたことから、被験物質は非血球成分中に多く存在していることが示唆された。

臓器・組織中の放射能濃度推移を表2に示した。

表2 臓器及び血中の放射能濃度推移

臓器・血液	放射能濃度 (μg当量/g)			投与放射能割合 (%)		
	1時間後	6時間後	24時間後	1時間後	6時間後	24時間後
腎臓	2.008	1.094	0.657	0.044	0.025	0.016
肝臓	0.364	0.458	0.209	0.051	0.061	0.028
脳	0.022	0.034	0.016	0.001	0.001	0.000
全血	0.203	0.096	0.026	0.030	0.014	0.004
血漿	0.329	0.142	0.038	-	-	-
合計				0.125	0.102	0.049

3) まとめ

AE F099730は経口投与においては消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を介して体外に排泄された。

放射能の体内分布については、吸収放射能の主排泄器官である腎臓で高値がみとめられた以外は放射能濃度は総じて低かつた。

(資料代25)

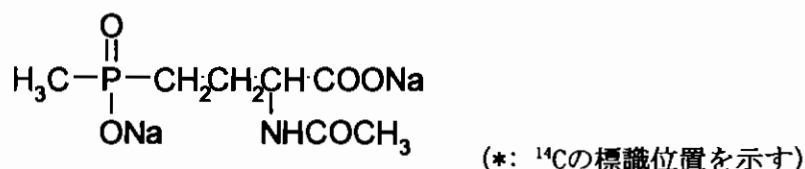
(25) ^{14}C -標識AE F099730の中間用量単回経口投与による雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルピロリン酸二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識することにより
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雄3群15匹（体重150～190g）

試験方法：

投与； ^{14}C 標識AE F099730を水に溶解し6.551mg/gの投与溶液を調製する。これを胃チューブを用い強制経口投与した。投与量は30mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響が無いと考えられる中間用量群として30mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
30	^{14}C 標識体： 単回経口投与	投与1、6、24時間 後屠殺群：各5匹	尿、糞及びケージ洗液： 投与24時間後屠殺群のみ屠殺時に採集 臓器、組織及び血液： 投与1、6及び24時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿及びケージ洗液中の放射能は、分取したアロートにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Packard製、TRI-Carb 2500TR）で測定した。糞試料については、アジ化ナトリウム水溶液を加えた後ホジナイズし、アロートを風乾した。これをサンプルオキシゲナーで燃焼し発生した $^{14}\text{C}\text{O}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は風乾した後、サンプルオキシゲナーで燃焼

し発生した¹⁴C₂O₂を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、メタノール/水混液とともに経ジナイズした後、アロートにシンチレーションカテルを加えて放射能を測定した。

代謝物の同定及び定量；

尿は直接、糞及び臓器についてはソックスレー抽出液をHPLC分析に供し、標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物の同定及び定量を行った。

結果：

1) 排泄

経口投与された放射能の主排泄経路は糞中であつた。排泄は低用量群と同様速やかであり、24時間後には約88%の投与放射能が糞を介して排泄された。

一方、尿中排泄率は低く、投与後24時間の間に尿経由で排泄された放射能は僅か2%であつた。

なお、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を通して体外に排泄された。

24時間後屠殺群の糞中及び尿中放射能排泄率を表1に示した。

表1 24時間後屠殺群の放射能排泄率

試料	投与放射能に対する割合%
尿	2.11
糞	88.30
ケージ洗液	0.13
合計	90.54

2) 臓器・組織内放射能推移

体内に吸収された放射能の主排泄器官である腎臓において高い放射能濃度が認められた以外は、他の臓器及び血液中の放射能濃度は低かつた。臓器中及び血中放射能濃度は経時的に減衰した。

臓器・組織中の放射能濃度推移を表2に示した。

表2 臓器・組織中の放射能濃度推移

臓器・血液	放射能濃度 (µg当量/g)			投与放射能割合 (%)		
	1時間後	6時間後	24時間後	1時間後	6時間後	24時間後
腎臓	2.01	1.10	0.66	0.04	0.02	0.02
肝臓	0.36	0.045	0.21	0.05	0.06	0.03
脳	0.02	0.03	0.02	0.001	0.001	0.0004
血漿	0.33	0.14	0.04	-	-	-

3) 排泄物中の放射能特性

尿及び糞ともに抽出放射能の大部分が未変化のAE F099730[Z]であつた。

尿中の代謝物としては

及びさらに

が少量認められた。

糞中の代謝物としては

のみが認められた。

なお、尿及び糞中ともに

であると考えられた。

排泄物中の放射能特性を表3に示した。

表3 排泄物中の放射能特性 (投与放射能に対する割合%)

	尿	糞
試料中放射能	2.11	88.30
AE F099730[Z]	1.67	81.71

4) 臓器中の放射能特性

臓器中のAE F099730[Z]は経時的に代謝され減衰した。

腎臓中の代謝物としては

臓では は殆ど認められず、
シネート[A]のアミノ基が水酸化基に置換された
なお、

が認められた。また、肝
が主代謝物でありのグルホ
も24時間後に認められた。

であると考えられた。

排泄物中の放射能特性を表4に示した。

表4 臓器中の放射能特性

	投与放射能割合 (%)			放射能濃度 (mg当量/kg)		
	1時間後	6時間後	24時間後	1時間後	6時間後	24時間後
腎臓	0.04	0.02	0.02	2.01	1.10	0.66
AE F099730[Z]	0.031	0.011	0.001	1.43	0.50	0.04
肝臓	0.05	0.06	0.03	0.36	0.45	0.21
AE F099730[Z]	0.018	0.011	0.007	0.13	0.08	0.05

5) まとめ

AE F099730[Z]は経口投与においては消化管からの吸収は少なく、主に糞を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を介して体外に排泄された。

排泄物中の放射能の大部分が未変化のAE F099730[Z]であり、代謝物としては
が少量認められた。

臓器中においては、投与1時間後から24時間後までAE F099730[Z]は経時的に減衰してお

り、排泄物と同様に代謝物としては が認められた。
肝臓においては腎臓中に認められていない も少量認められた。

雄ラットに投与されたAE F099730[Z]は、まず に代謝さ
れる。 に代謝
されるか、もしくは され へと代謝された。
へと代謝された。

雄ラットにおけるAE F099730の推定代謝経路を図1に示した。

図1 AE F099730の雄ラットにおける推定代謝経路

(資料 代26)

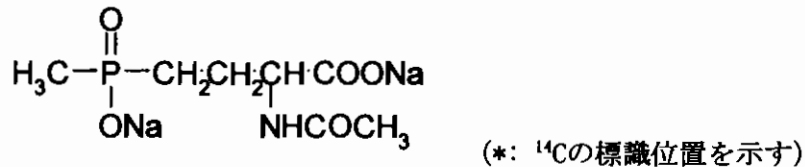
(26) ^{14}C -標識AE F099730の低用量単回静脈内投与による雄ラットにおける吸収、分布及び排泄

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；L-2-アセトアミド-4-メチルピリピラト二ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である

を標識することにより

代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物：ウイスター系ラット、2群10匹（体重194.3～212.3g）

試験方法：

投与； ^{14}C 標識AE F099730を生理食塩水に溶解し1.254mg/gの投与溶液を調製する。これを注射器を用い尾静脈内投与した。投与量は3mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響が無いと考えられる低用量群として3mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
3	^{14}C 標識体： 単回静脈内投与	投与2及び24時間 後屠殺群：各5匹	尿、糞及びケージ洗液： 投与24時間後屠殺群のみ屠殺時に採集 臓器、組織及び血液： 投与2及び24時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、分取したアリオートに直接シンチレーションカテルを加え、液体シンチレーションカウンター(Packard製、TRI-Carb 2500TR)で測定した。糞試料については、アジ化ナトリウム水溶液を加えた後ホジナイスし、アリオートを風乾した。これをサブ・ルキシングイヤーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は風乾した後、サブ・ルキシングイヤーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$

を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、メノール/水混液とともにホジナイズした（小さい臓器は細切しDigestinに溶解した）後、メノール0.5mlもしくは最大0.3mlのパーティールで脱色し、アリコートにシンチレーションカテルを加えて放射能を測定した。

結 果：

1) 排泄

静脈内投与された放射能の主排泄経路は尿中であつた。排泄は速やかであり、24時間後には約86%の投与放射能が尿を介して排泄された。

一方、糞中排泄率は低く、投与後24時間の間に糞経路で排泄された放射能は僅か2%程度であつた。

なお、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を通して体外に排泄された。

24時間後屠殺群の糞中及び尿中放射能排泄率を表1に示した。

表1 24時間後屠殺群の放射能排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-24	85.86	1.83	2.78	90.47

2) 分布

投与された放射能の主排泄器官である腎臓において最も高い放射能濃度が認められた。次いで肝臓がやや高く、脳及び血液中の放射能濃度は低かつた。臓器中及び血中放射能濃度は経時的に急速に減衰した。

なお、血液に関しては全血の放射能濃度より血漿中の放射能濃度が明らかに高かつたことから、被験物質は非血球成分中に多く存在していることが示唆された。

臓器・組織中の放射能濃度推移を表2に示した。

表2 臓器及び血中の放射能濃度推移

臓器・血液	放射能濃度 (µg当量/g)		投与放射能割合 (%)	
	2時間後	24時間後	2時間後	24時間後
腎臓	3.443	0.293	0.855	0.070
肝臓	0.339	0.100	0.484	0.137
脳	0.030	0.007	0.008	0.002
全血	0.079	0.004	0.120	0.006
血漿	0.123	0.005	-	-
合計			1.466	0.214

3) まとめ

AE F099730は静脈内投与においては、主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を介して体外に排泄された。糞中排泄率が極めて低かつたことから、胆汁排泄はあまり起こっていないと考えられる。

放射能の体内分布については、吸収放射能の主排泄器官である腎臓で高値がみとめられた以外は放射能濃度は総じて低かつた。

(資料 代27)

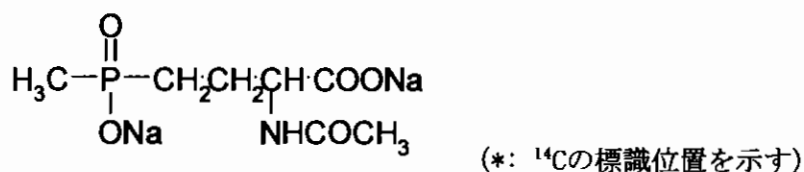
(27) ¹⁴C-標識AE F099730の低用量単回静脈内投与による雄ラットにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1999年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；L-2-アセトアミド^{*}-4-メチルピロリン酸^{*}ナトリウム塩

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識することにより
代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試動物；ウイスター系ラット、雄2群10匹（体重194.3～212.3g）

試験方法：

投与；¹⁴C標識AE F099730を生理食塩水に溶解し1.254mg/gの投与溶液を調製する。これを注射器を用い尾静脈内投与した。投与量は3mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が2895mg/kgであったことから、毒性的影響が無いと考えられる低用量群として3mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
3	¹⁴ C標識体： 単回静脈内投与	投与2及び24時間 後屠殺群：各5匹	尿、糞及びケージ洗液： 投与24時間後屠殺群のみ屠殺時に採集 臓器及び血漿： 投与2及び24時間後の屠殺時採取

試料の放射能測定；

尿及びケージ洗液中の放射能は、分取したアロートにシンチレーションカクテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Packard製、TRI-Carb 2500TR）で測定した。糞試料については、7%化ナトリウム水溶液を加えた後乾留し、アロートを風乾した。これをサンプリングイヤーで燃焼し発生した¹⁴CO₂を捕集し、その放射能を測定した。血液試料は風乾した後、サンプリングイヤーで燃焼

し発生した¹⁴C₂O₂を捕集し、その放射能を測定した。また、臓器及び組織については、メタノール/水混液とともにホジナイズした後、アリコートにシンチレーションカテルを加えて放射能を測定した。

代謝物の同定及び定量；

尿は直接、糞及び臓器についてはソックス抽出液をHPLC分析に供し、標準品とのクロマトグラフィーにより代謝物の同定及び定量を行った。

結 果：

1) 排泄

静脈内投与された放射能の主排泄経路は尿中であつた。排泄は速やかであり、24時間後には約86%の投与放射能が糞を介して排泄された。

一方、糞中排泄率は低く、投与後24時間の間に糞経由で排泄された放射能は僅か2%程度であつた。

24時間後屠殺群の尿中及び糞中放射能排泄率を表1に示した。

表1 24時間後屠殺群の放射能排泄率

試料	投与放射能に対する割合%
尿	85.86
糞	1.83
ケージ洗液	2.78
合計	90.47

2) 臓器・組織内放射能推移

体内に吸収された放射能の主排泄器官である腎臓において高い放射能濃度が認められた以外は、他の臓器及び血液中の放射能濃度は低かつた。臓器中及び血中放射能濃度は経時的に減衰した。

臓器・組織中の放射能濃度推移を表2に示した。

表2 臓器・組織中の放射能濃度推移

臓器・組織	放射能濃度 (mg当量/kg)		投与放射能割合 (%)	
	2時間後	24時間後	2時間後	24時間後
腎臓	3.44	0.29	0.85	0.07
肝臓	0.34	0.10	0.48	0.14
脳	0.03	0.01	0.01	0.002
血漿	0.12	0.005	-	-

3) 排泄物中の放射能特性

尿中の放射能は全て未変化のAE F099730[Z]であり、代謝物は全く認められなかつた。糞中放射能についても大部分が未変化のAE F099730[Z]であつた。代謝物としては唯一、が少量認められたのみであつた。

なお、尿及び糞中ともに

であると考えられた。

排泄物中の放射能特性を表3に示した。

表3 排泄物中の放射能特性（投与放射能に対する割合%）

	尿	糞
試料中放射能	85.86	1.83
AE F099730[Z]	84.82	1.71

4) 臓器中の放射能特性

臓器中のAE F099730[Z]は経時的に代謝され減衰した。

腎臓中の主代謝物は

であった。

も少量認められた。

肝臓中の代謝物としては腎臓同様

が認められたが

濃度はいずれも低かった。

なお、

であると考えられた。

臓器中の放射能特性を表4に示した。

表4 臓器中の放射能特性

	投与放射能割合 (%)		放射能濃度 (mg当量/kg)	
	2時間後	24時間後	2時間後	24時間後
腎臓	0.85	0.07	3.44	0.29
AE F099730[Z]	0.794	0.005	3.205	0.021
肝臓	0.48	0.14	0.34	0.10
AE F099730[Z]	0.389	0.120	0.273	0.088

5) まとめ

AE F099730[Z]は静脈内投与においては経口投与と違い、主に尿を介して排泄された。排泄は速やかであり、投与24時間後には投与放射能の約90%が排泄物を介して体外に排泄された。

排泄物中の放射能の大部分が未変化のAE F099730[Z]であり、代謝物としては糞中のみに僅かにが認められたのみであった。

臓器中においては、投与2時間後から24時間後までAE F099730[Z]は経時的に減衰しており、代謝物としてはが認められた。

雄ラットに静脈内投与されたAE F099730[Z]は、まずに代謝される。

に代謝された。

雄ラットにおける推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 AE F099730のラットにおける推定代謝経路

(資料 代28)

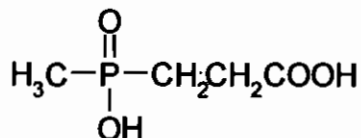
(28) 代謝物Hoe061517の単回経口及び静脈内投与による雌ラットにおける排泄

試験機関：

報告書作成年：1984年

供試標識化合物：

構造式；



(*: ^{14}C の標識位置を示す)

化学名；3-メチルホスフィニコプロピオン酸

比放射能；

放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である
るものと考えた。

を標識することにより代謝物の構造が把握できる

供試動物；ウイスター系ラット、雌10匹（体重175～200g）

試験方法：

投与； ^{14}C 標識Hoe061517を生理食塩水に溶解し4.18ml/mlの投与溶液を調製する。これを5匹には胃チューブを用い強制経口投与した。残りの5匹は尾静脈内投与した。投与は単回とし、投与量は20mg/kg体重とした。

投与量の設定根拠；

急性経口毒性試験におけるLD50が1900mg/kgであったことから、毒性的影響がないと予測される投与量として20mg/kgを設定した。

試験群・試験項目構成；

投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
20	^{14}C 標識体：		尿、糞：
	単回経口投与	5匹	投与後24時間毎に96時間までの4回採取
	単回尾静脈内投与	5匹	ケージ洗液： 投与後0-24、24-48及び48-96時間の3回採取

試料の放射能測定；

尿中の放射能は、エタノール/水混液で定容した後分取したアロートにシンチレーションカテルを加え、直接液体シンチレーションカウンター（Berthold製、BF-5000又はPackerd製、model2425）で測定した。糞試料については、ホジナイズし風乾後、サンプルキタガイザーで燃焼し発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、その放射能を測定した。

結 果：

投与された放射能の主排泄経路は経口投与群、静脈内投与群ともに尿中であつた。排泄は非常に速やかであり、24時間後には80%以上の投与放射能が尿を介して排泄された。試験終了時の96時間後には90%以上の投与放射能が排泄された。一方、糞中排泄率は非常に低く、投与後96時間の間に糞経由で排泄された放射能は投与放射能の僅か0.57%（静脈内）及び3.7%（経口）であつた。

経口投与群と静脈内投与群における尿中排泄率に違いが認められなかつたことからHoe061517は、投与放射能の大部分が消化管から吸収されたものと考えられた。

投与放射能の糞中及び尿中排泄率は、表1の通りであつた。

表1 排泄率（投与放射能に対する割合%）

時間	経口投与群				静脈内投与群			
	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率	尿	糞	ケージ洗液	総排泄率
0-24	80.80	2.826	2.356	85.982	85.85	0.076	0.807	86.733
24-48	7.338	0.854	0.258	8.450	4.608	0.329	0.292	5.229
48-72	0.911	0.030	0.078	1.397	0.883	0.015	0.132	1.541
72-96	0.361	0.017			0.360	0.151		
合計	89.410	3.727	2.692	95.829	91.701	0.571	1.231	93.503

以上の結果から、尿中放射能の半減期をもとめると、経口投与群では7.05時間、静脈内投与群では6.30時間であり、投与経路による違いは認められなかつた。

2. 植物体内運命試験

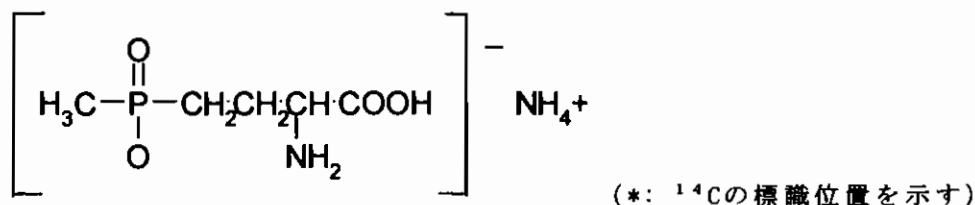
(資料代29)

(1) りんごによる土壌からの吸収

試験機関：
報告書作成年：1981年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能； 放射化学的純度；99%

標識位置の設定理由；

合成原料に由来すると考えられる。

供試植物；りんご(品種：コックスオレンジレネット)

栽培条件；露地に設置したライシメーターで栽培

試験方法；

処理溶液の調製；

^{14}C 標識グルホシネート遊離酸を水に溶解し、アンモニア水を添加しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネート水溶液を加え、 ^{14}C 標識グルホシネート溶液を調製した。

639mgの界面活性剤に上記 ^{14}C 標識グルホシネート溶液をグルホシネート150mg相当量を加え、さらに水を加えてグルホシネートとして19%製剤を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠；

プラスチック製ライシメーター(0.96m²)に培土を入れ、上記製剤に水を加え500mlとし、土壌表面に処理した。

試料採取時期；

処理1, 3, 6, 9, 14週間後に葉を収穫した(なお、最終収穫時は枝も採取した)。果実は処理3, 9, 14週間後に収穫した。また土壌も同様に処理3, 9, 14週間後に表面から30cmの深さまで採取し、5cm毎に分けた。

分析方法；

総放射能測定

試料は凍結乾燥し、サンプルオキシダイザーで燃焼、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

結果：

1) 植物体中の放射能分布

培土に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。しかしながら可食部である果実における分布率は、葉及び枝に比べて低かった。
各採取部位における放射能濃度（グルホシネートとして）を表1に示した。

表1 各採取部位における放射能濃度

経過週数	試料	濃度 (mg/kg)
1	葉 A	0.019
	B	0.018
3	葉 A	0.117
	B	0.086
	果実	0.033
6	葉 A	0.352
	B	0.202
9	葉 A	0.458
	B	0.285
	果実	0.083
14	葉 A	0.405
	B	0.304
	果実	0.104
	新梢	0.773
	短果枝	0.811
	旧梢	0.385

葉A：新梢より採取、B：短果枝より採取
濃度は生重量当たり

2) 土壌中の放射能分布

土壌表面に処理された放射能は、主に表面から10cmまでに分布した。表層から15cm以深からは殆ど検出されなかったことから、グルホシネートは水溶性ではあるが、土壌中における垂直移動は極めて少ないものと考えられた。
したがって植物体における放射能の吸収は、浅い部分の根が主に関与していると推測された。

土壌の各層における放射能濃度を表2に示した。

深度 (cm)	濃度 (mg/kg 乾重)		
	3週間後	9週間後	14週間後
0-5	1.10	0.30	0.41
5-10	0.71	0.14	0.14
10-15	0.09	0.06	0.03
15-20	<0.01	<0.01	<0.01
20-25	0.03	<0.01	<0.01
25-30	<0.01	<0.01	<0.01

培土表面に処理された放射能は、土壌を介しりんごに吸収され、植物体全体に分布した。収穫時の果実における放射能濃度は約0.1mg/kgであった。樹全体の重量及び各部位の放射能濃度から、処理放射能のおよそ1%程度が植物体に吸収されたと推測された。

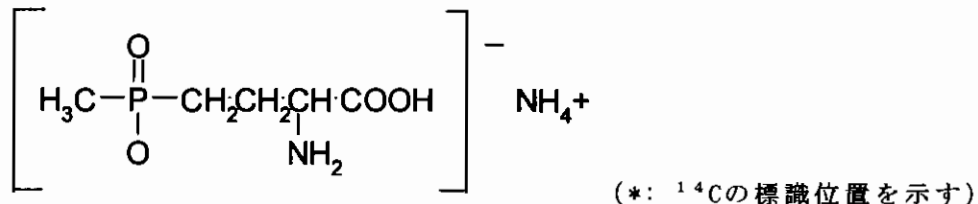
(資料 代30)

(2)りんごにおける代謝

試験機関：
報告書作成年：1983年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム＝DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能； 放射化学的純度；99%

標識位置の設定理由；

合成原料に由来すると考えられる。

供試植物；りんご(品種；コックスオレンジレネット)

栽培条件；露地に設置したライシメーターで栽培

試験方法；

処理溶液の調製；

^{14}C 標識グルホシネート遊離酸を水に溶解し、アンモニア水を添加しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネート水溶液を加え、 ^{14}C 標識グルホシネート溶液を調製した。

639mgの界面活性剤に上記 ^{14}C 標識グルホシネート溶液をグルホシネート150mg相当量を加え、さらに水を加えてグルホシネートとして19%製剤を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠；

プラスチック製ライシメーター(0.96m²)に培土を入れ、上記製剤に水を加え500mlとし、土壌表面に処理した。

試料採取時期；

処理14週間後に果実を収穫した。

分析方法；

抽出；

凍結乾燥試料に水を加え、ソックスレー抽出を行った。抽出液を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーに負し精製した。溶出液を濃縮した後、ジアゾメタンによりメチル化したものをGC-MS分析に供した。

機器分析；

総放射能測定

試料は凍結乾燥し、サンプルオキシダイザーで燃焼、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

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

GC-MS分析

代謝物の同定を行うためGC-MS分析を行った。

結果：

果実中の放射能濃度は0.1mg/kgであった。このうち89%が水で抽出され、その大部分がグルホシネート[A]がであった。

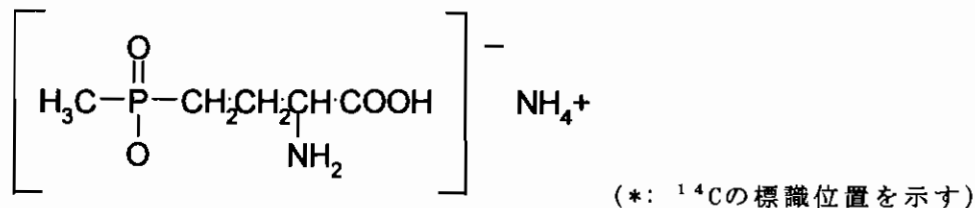
(資料 代 3 1)

(3) レタスにおける代謝

試験機関：
報告書作成年：1981年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能； 放射化学的純度；97%

標識位置の設定理由；

合成原料に由来すると考えられる。

供試植物；レタス(品種；Selma系)

栽培条件；施設内で水耕栽培

試験方法；

処理溶液の調製；

^{14}C 標識グルホシネート遊離酸を水に溶解し、アンモニア水を添加しアンモニウム塩を生成した。

処理方法及び処理量設定根拠；

水耕液中濃度が0.45mg/mlとなるよう、処理溶液を水耕液に添加した。

試料採取時期；

10日間水耕栽培した後収穫し、茎葉部と根部に分けた。

分析方法；

抽出；

茎葉部は等量の水とともに磨砕抽出した。ろ過後、残渣に水を加え再度同様に磨砕抽出した。ろ液を合わせ、陰イオン交換イオン交換樹脂に負し精製した。溶出液を濃縮後、ジブツメタンによりメチル化したものをTLCに負してさらに精製した。放射性スポットを掻き取り、放射性物質を抽出した後、GC-MS分析に供した。

機器分析；

総放射能測定

試料は凍結乾燥し、サンプラオキシダイザーで燃焼、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

GC-MS分析

代謝物の同定を行うためGC-MS分析を行った。

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

結果：

茎葉部及び根部の放射能濃度は各々 $0.85\mu\text{g/g}$ 及び $8.8\mu\text{g/g}$ であった。

茎葉部については抽出操作に供した。水抽出により試料中放射能の90%が抽出された。抽出放射能は、グルホシネート[A]が であつた。

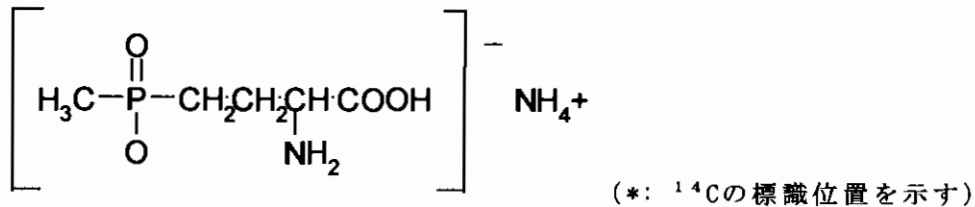
(資料 代 3 2)

(4) だいずによる土壌からの吸収

試験機関：
報告書作成年：1983年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能； 放射化学的純度；98%

標識位置の設定理由；

分子構造中最も安定した部位である を標識すること
により代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試植物；だいず (品種：Forest)

栽培条件；露地栽培

試験方法；

処理溶液の調製；

^{14}C 標識グルホシネート遊離酸を水に溶解し、アンモニア水を添加しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネート水溶液を加え、の ^{14}C 標識グルホシネート溶液を調製した。

228.1mgの製剤白試料に上記 ^{14}C 標識グルホシネート溶液をグルホシネート50.1mg相当量を加え、グルホシネートとして17.6%製剤を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠；

上記製剤に1Lの水を加え、土壌表面に処理した。処理量は1.0kg a. i. /haに相当した。

試料採取時期；

処理39, 81及び155日後に植物体を採取し、葉、茎及び根部に分けた (なお、81及び155日後試料についてはさやを採取し、莢と種実に分けた)。

また土壌を263日後に表面から20cmの深さまで採取し、5cm毎に分けた。

分析方法；

総放射能測定

試料はサンプラオキシダイザーで燃焼し、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

結果；

1) 植物体中の放射能分布

土壌に処理された放射能は植物体に吸収され、植物全体に分布した。

種実においてのみ81日後採取試料と比較して155日後採取試料で濃度の上昇が認められているのは、155日後採取試料が慣行収穫時に該当し、種実の乾燥による濃

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

度上昇があっためと考えられる（申請者考察）。
各採取部位における放射能濃度（グルホシネートとして）を表1に示した。

表1 各採取部位における放射能濃度

経過日数	濃度 (mg/kg)				
	種実	莢	葉	茎	根
39	-	-	0.156	0.052	0.2
81	0.016	0.049	0.214	0.153	0.17
155	0.034	0.04	0.137	0.089	0.026

濃度は生重量当たり

2) 土壌中の放射能分布

土壌表面に処理された放射能は、主に表面から5cmまでに分布した。表層から15cm以深からは検出されなかったことから、グルホシネートは水溶性ではあるが、土壌中における垂直移動は少なかった。

したがって植物体における放射能の吸収は、浅い部分の根が主に関与していると推測された。

土壌の各層における放射能濃度を表2に示した。

表2 土壌中放射能濃度

深度 (cm)	濃度 (mg/kg 乾重)
0-5	0.33
5-10	0.007
10-15	0.005
15-20	<0.001

土壌表面に処理された放射能は、土壌を介しだいに吸収され、植物体全体に分布した。収穫時の種実における放射能濃度は約0.03mg/kgであった。

(資料 代33)

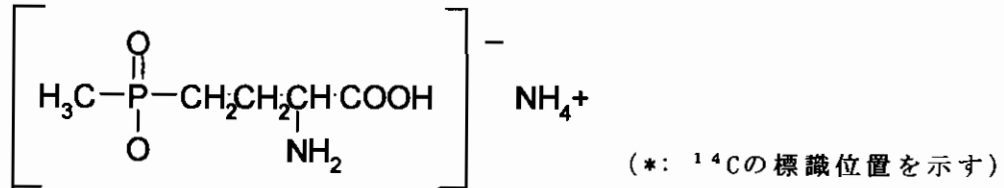
(5) どうもろこしにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1989年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル（メチル）ホスフィネート（以下 ${}^{14}\text{C}$ 標識グルホシネート）

比放射能； 放射化学的純度；98%

供試非標識化合物：

純度；99.5%（以下非標識グルホシネート）

標識位置の設定理由：

分子構造中最も安定した部位である を標識する
事により代謝物の構造が把握できるものと考えた。

供試植物：どうもろこし

栽培条件；1988年5月3日（供試化合物処理3日前）試験プロットに播種し、7月25日に植物体を、10月17日に成熟植物体を収穫した。

試験方法：

処理剤の調整；

${}^{14}\text{C}$ 標識グルホシネートを100.5mg、非標識グルホシネートを239.2mg秤り取り、これに製剤白試料1440mgを加え溶解し、18.9%の製剤を調製した。製剤の比放射能はであった。

処理方法及び処理量設定根拠；

上記製剤を90mlの水で希釈し、試験プロット（1.8m²）の土壌表面に全量直接散布した（340mg/1.8m² = 1.9kg a. i. /ha）。

処理量は圃場における本剤の最大処理量に準じた。

試料採取時期；

① 散布80日後に植物体を採取した。

② 散布164日後に植物体を採取し、飼葉（茎葉部）、種子、穂軸外皮及び穂軸に分けた。

各試料は凍結保存状態で分析場所へ送付された。

分析方法；

前処理法；各試料は生重量を測定後、細切もしくは粉砕し総放射能測定用に一部を分取した。残りの試料は分析時まで凍結保存した。

分析操作：

総放射能測定

全ての採取試料について、その一部をサンプルオキシゲイザーを用いて燃焼し、液体シンチレーションカウンター（LSC）により放射能を測定した。

抽出操作

最終収穫物の飼葉以外は残留放射能が低いため、飼葉のみ抽出分析を行なった。

①代謝物の同定及び化学的特徴付け

水で抽出し、抽出液と残渣に分けた。抽出液は透析膜チューブにより精製した。抽出液の一部を陰イオン交換カラムクロマトグラフィーにより精製し、ギ酸溶出液をHPLC及びTLC分析に供した。残りの抽出液は濃縮後、酢酸及びホル酢酸トリメチルで誘導化した後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、主な放射能画分を代謝物同定のためにGC分析に供した。

残渣はアルカリ加水分解した後、溶液（ヘミセルロース及びタンパク質分画）及び固形残渣に分ける。固形残渣をDMSOで抽出し、抽出液（リグニンI分画）及び残渣（セルロース及びリグニンII分画）に分け、残渣を酸加水分解した後さらに分解溶出液を酢酸/フェニルヒトラジソン溶液で加熱還流し黄色の沈殿（グルコース及びオキサロン分画）を得る。

各抽出液、溶出液及び残渣はLSCによる放射能測定に供した。

分析操作のフローチャートを図1に示した。

②酵素処理による結合残渣の化学的特徴付け

水で抽出し、抽出液と残渣に分けた。残渣をブローンゼEで処理し、溶液（タンパク質分画）及び固形残渣に分けた。残渣に酢酸緩衝液を加え、 α -アミラーゼ処理した後アミログロコシターゼで処理し、溶液（でんぷん分画）及び固形残渣（セルロース、リグニンII分画）に分けた。残渣をアセトニトリルで洗浄後、セルロースを溶解するためシュワイツァー試薬を加えたが、十分な溶解が認められなかったため引き続いて硫酸で溶解した。各抽出液、溶出液及び残渣はLSCによる放射能測定に供した。

分析操作のフローチャートを図2に示した。

機器分析：

総放射能測定

試料をサンプルオキシゲイザー（Packard Model 306）で燃焼し生成した ^{14}C を捕集し、捕集液を液体シンチレーションカウンター（Packard TRI-CARB 4530等）で放射能を測定する。抽出液についてはそのまま液体シンチレーションカウンターで放射能を測定する。

HPLC及びTLC分析

分解物を同定するため標準品とのコクロマトグラフを行った。

GC分析

HPLC分析等におけるコクロマトグラフィーにより同定された分解物を確認するため、試料を誘導化後、誘導体の標準品とのコクロマトグラフを行った。

図1 抽出操作のフローチャート

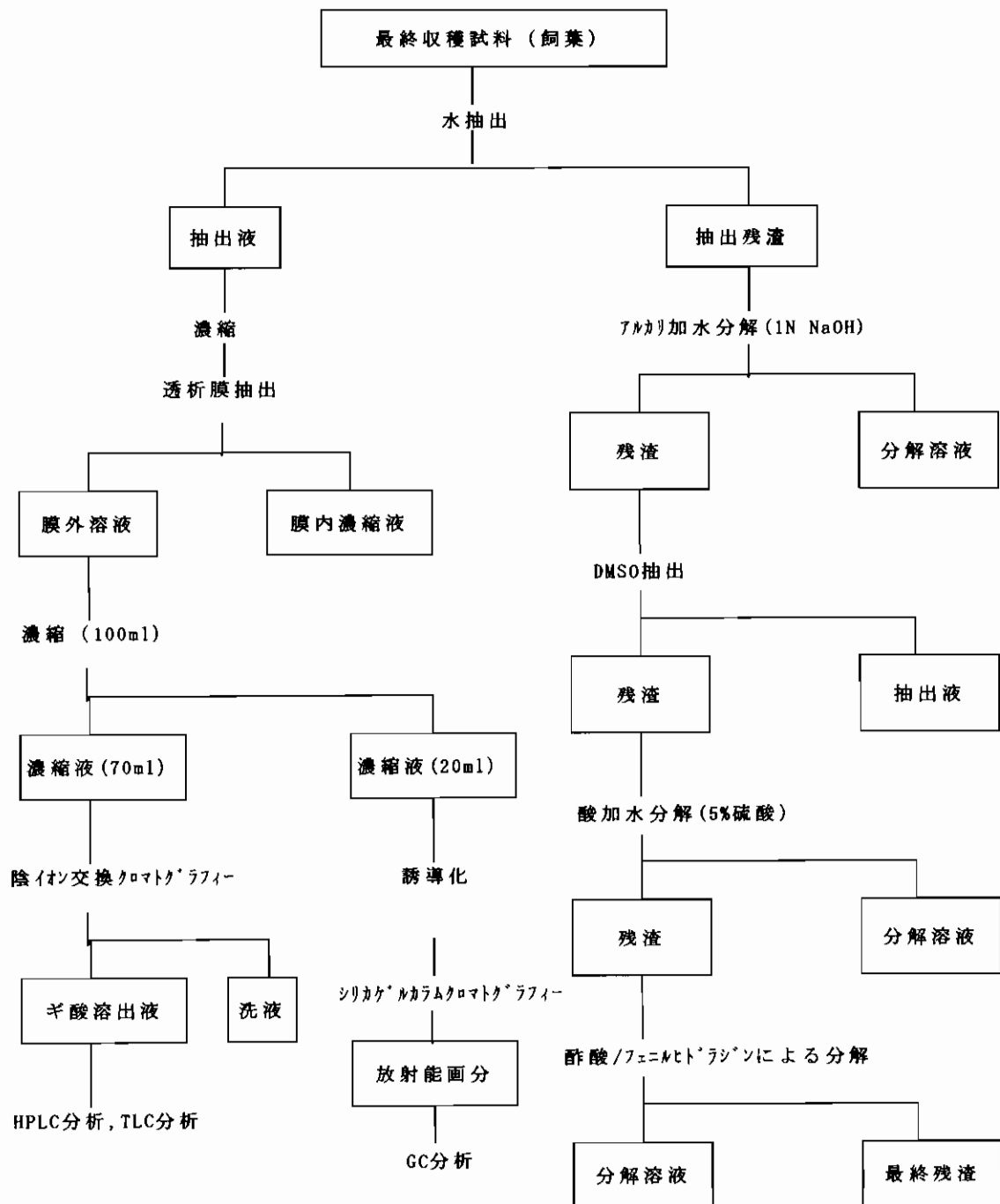
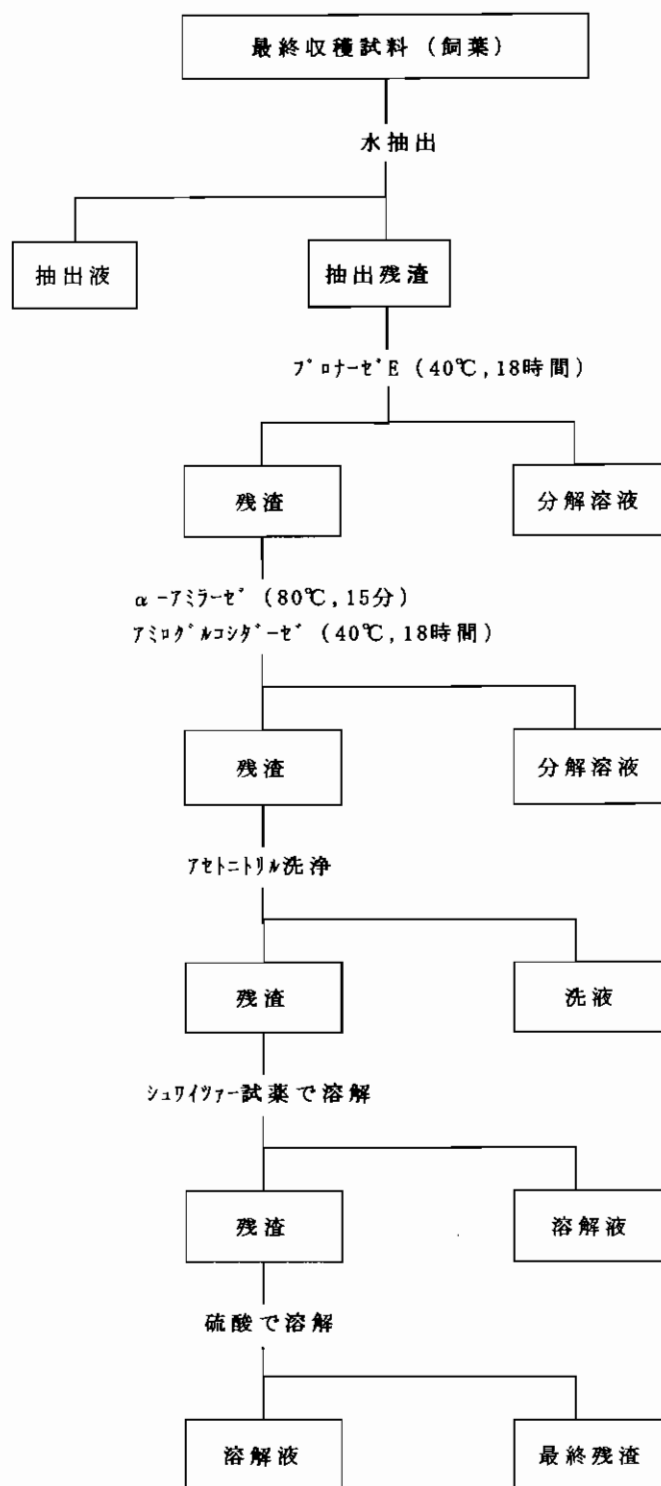


図 2 酵素処理操作のフローチャート



結果：

1) 放射能分布

最終試料採取時点において放射能の多くは飼葉部（茎葉部）に認められた。可食部である種子における濃度は低かった。

無処理区には有意な放射能は検出されなかった。

各組織における残留濃度を表 1 に示した。

表 1 各組織における残留濃度 (mg/kg)

	飼葉	種子	穂軸葉	穂軸
処理後80日試料	0.068			
最終採取試料	0.114	0.034	0.079	0.066

濃度は平均値

空欄は採取時に試料がなかったことを示す。

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

本試験は剤の性質上直接植物体に処理することができないため、全ての組織試料において放射能が低かった。その中でも最も放射能の高かった最終採取試料の飼葉試料について放射能の特徴付けを行うため抽出分析に供した。供試化合物が水溶性のため、抽出は蒸留水で行った。3回の水抽出により総放射能の59.5%の放射能が回収された。残渣中の放射能は42.4%であり、回収率は101.9%と良好であった。残渣中の放射能の分布を調べるため試薬処理ならびに酵素処理によって、ヘミセルロース、リグニン及びセルロース分画等を調製し、各分画の放射能を測定した。

② 代謝物の同定

飼葉試料において水抽出で抽出された放射能を、HPLC及びTLC分析に供した結果、それは単一化合物であり、標準物質とのコクロマトグラフィーにより同定された。これは GC分析によって確認された

飼葉中の放射能の分布を下表に示した。

	飼葉試料			
	試薬処理		酵素処理	
	濃度* (mg/kg)	%TRR**	濃度* (mg/kg)	%TRR**
水抽出	0.073	60.5	0.070	58.8
	0.066	55.2	NA	NA
抽出残渣	0.052	43.4	0.050	41.4
タンパク質分画	0.029	23.9	0.008	6.7
ヘミセルロース分画			0.037	30.6
リグニン分画				
セルロース分画				
その他				
でんぷん分画	0.005	4.5	0.005	4.1
合計	0.128	103.9	0.120	100.2

*: 生飼葉中の濃度として (申請者の計算による)

** : 抽出分析に供した部分の生飼葉中における総放射能を100%とした。

NA : 分析せず

③まとめ

グルホシネート[A]を処理した土壌で生育したとうもろこしにおいて、最終収穫時の植物体中に残留していた抽出性放射能は、グルホシネート[A]が
であった。抽出液中には他の代謝物あるいは親化合物は認められず、本代謝物が唯一の放射性化合物であった。
抽出残渣中の放射能については、試薬処理あるいは酵素処理に供してタンパク質、ヘミセルロース、リグニン、セルロース及びでんぷん分画における放射能の分布を調査した。これらの放射能は、土壌中でグルホシネートがCO₂あるいは酢酸等に分解され、それを植物体が吸収し、体内でヘミセルロース等に固定したものと考えられた。

とうもろこしにおいて代謝物として生成されたのはのみであった。この事は、他の植物体内中運命試験（りんご及びレタス）と全く同じ結果であった。

(資料 代34)

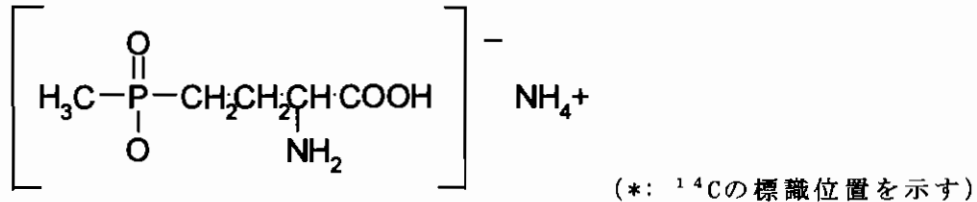
(6) 稲における代謝 (湛水処理)

試験機関 :

報告書作成年 : 2006年 [GLP]

供試標識化合物 :

構造式 :



化学名 ; アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィネート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能 ;

放射化学的純度 ; 99%以上

標識位置の設定理由 :

より多くの代謝物の構造を特定するため、他の試験において構造中最も安定していることが確認されている2つのメチレン基を標識位置とした。

供試植物 : 稲 (品種 : 日本晴)

栽培条件 : 温室内で栽培

温度 (移植後) 明時間 (6:00-20:00) 20-22℃

暗時間 (20:00-6:00) 15-16℃

試験方法 :

処理溶液の調製 ;

^{14}C 標識グルホシネート塩酸塩を水に溶解し、アンモニア水を添加しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネート水溶液を加え、 ^{14}C 標識グルホシネート溶液を調製した。

501.8mgの液剤白試料に上記 ^{14}C 標識グルホシネート溶液3.0ml (グルホシネート110mg相当)を加え、さらに水80mlを加えて混合し処理溶液を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠 ;

コンテナ (0.5m²) に100Lの培土を入れ (約20cm)、上記処理溶液の40mlを散布装置を用いて処理した。処理14日後に湛水状態とし、翌日3-4葉期の苗を移植した。

コンテナは同条件で2つ調製した。

処理量の設定は登録上の最大投下薬量 (1.0kg/ha) とした。

試料採取時期 ;

土壌処理104日後 (移植89日後) に収穫し、稲わら、もみ殻および玄米に分けた。

分析方法 ;

玄米 :

試料 (15.0g) を粉砕し、水150mlを加え1時間膨潤させた後、ポリトロンで磨砕抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をアセトリル/水 (1:1, v/v) 150mlで3回抽出した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した後、減圧濃縮した。濃縮液を70mlのジクロロメタンで5回抽出した。

水層は放射能測定後、代謝物を同定するためにHPLC及びTLC分析に供した。各ジクロロ

ろ層を混合し濃縮した後放射能を測定したが、定量限界以下であったので更なる分析は実施しなかった。

抽出残渣は風乾後、一部をサンプルオキシダイザーにより燃焼し放射能を測定した後、以下の分析操作に供した。

- a) 残渣の一部をテフロンチューブに秤り取り、2M塩酸50mlを加え加熱抽出を行った。抽出物を遠心分離し、上清はLSC、TLC及びHPLCに供した。沈殿物は風乾後、一部をサンプルオキシダイザーにより燃焼し放射能を測定した。
- b) 残渣5.0gを40mlのジアスターゼ緩衝液及びアジ化ナトリウム/クエン酸ナトリウム緩衝液とともに室温で6日間インキュベートした後、遠心分離により上清を分取し、沈殿物を再度同条件でインキュベートした。各々の上清を合わせ80mlの酢酸エチルで3回液-液分配を行った。水層をLSC、TLC及びHPLC分析に供した。酢酸エチル層には有意な放射能が認められなかったため詳細な分析を行わなかった。沈殿物は風乾後、一部をサンプルオキシダイザーにより燃焼し放射能を測定した。

稲わら：

試料（25.0g）を粉碎し、水250mlを加え1時間膨潤させた後、ポリトロンで磨砕抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をアセトリル/水（1:1, v/v）250mlで3回抽出した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定に供した後、減圧濃縮する。濃縮液を130mlのジクロロメタンで3回抽出した。

水層は放射能測定後、代謝物を同定するためにHPLC及びTLC分析に供した。各ジクロロメタン層を混合し濃縮した後放射能を測定したが、定量限界以下であったので更なる分析は実施しなかった。

抽出残渣は風乾後、一部をサンプルオキシダイザーにより燃焼し放射能を測定した後、テフロンチューブに量り取り、2M塩酸50mlを加え加熱抽出を行った。抽出物を遠心分離し、上清はLSC及びTLCに供した。沈殿物は風乾後、一部をサンプルオキシダイザーにより燃焼し放射能を測定した。

籾殻：

試料（10.0g）を粉碎し、水100mlを加え1時間膨潤させた後、ポリトロンで磨砕抽出した。抽出液を遠心分離し、上清と沈殿に分けた。沈殿をアセトリル/水（1:1, v/v）100mlで3回抽出した。各上清を合わせ減圧濃縮し、濃縮液を200mlのジクロロメタンで3回抽出した。

水層は放射能測定後、代謝物を同定するためにHPLC分析に供した。各ジクロロメタン層を混合し濃縮した後放射能を測定したが、定量限界値であったので更なる分析は実施しなかった。

抽出残渣は風乾後、一部をサンプルオキシダイザーにより燃焼し放射能を測定した

機器分析：

総放射能測定

各抽出液および個体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシダイザー（Zinsser Analytic, Oxysolve C400）で燃焼し生成した¹⁴C₂O₂を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

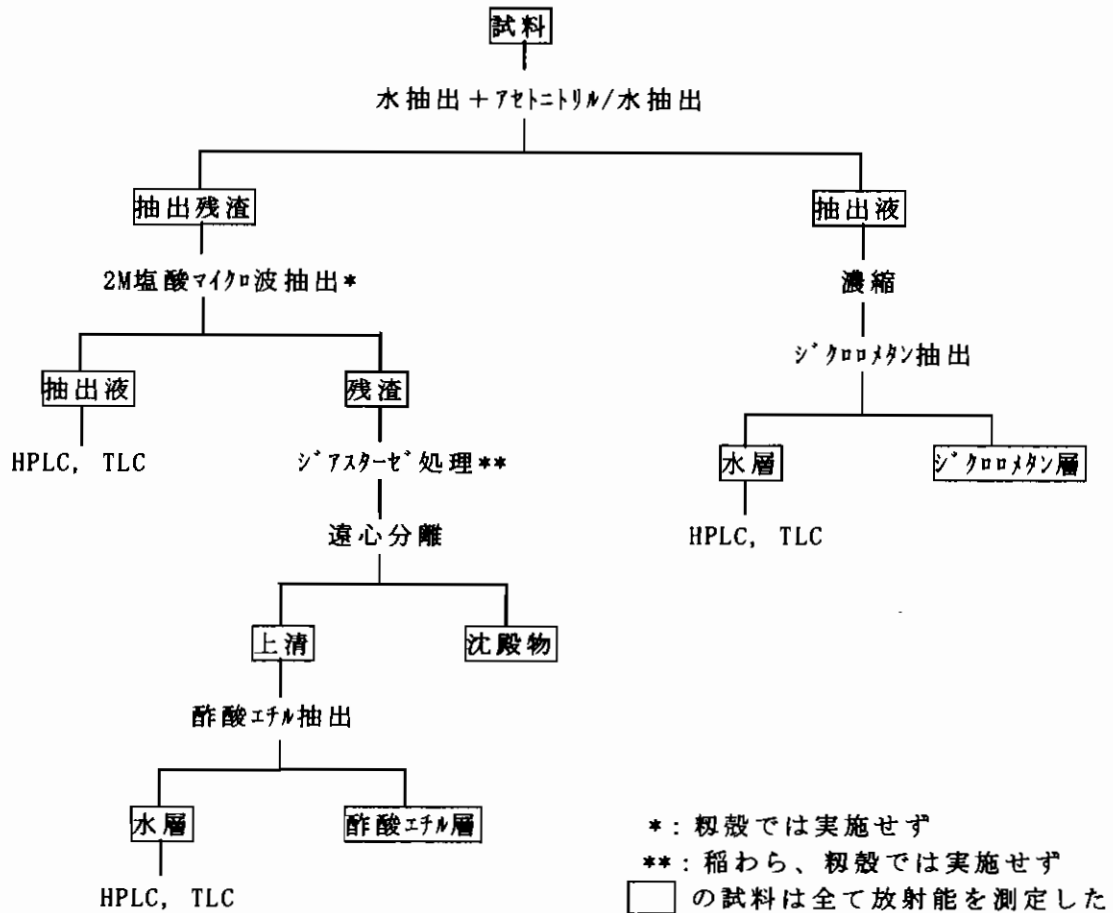
HPLC分析

分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器及び質量分析計を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

TLC分析

分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

分析操作フローチャート



結果:

1) 放射能分布

培土に処理された被験物質は植物体に吸収され、全体に分布した。しかしながら可食部における分布率は低く、稲わらの約1/20であった。各部における総残留濃度および放射能分布率を表1に示した。

表1 各部における総残留濃度および放射能分布率

稲わら		もみ殻		玄米	
濃度 (ppm)	分布率* (%)	濃度 (ppm)	分布率* (%)	濃度 (ppm)	分布率* (%)
1.87	86.0	3.97	9.2	0.52	4.8

*: 申請者の計算による

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

各試料の残留放射能の大部分が水及びアセトニトリル/水により抽出された。ただし稲わら及び玄米に関しては抽出残渣中に10%以上の残留放射能が認められたので2MHClでマイクロ波抽出を行った。この結果、最終結合残渣は稲わらで8.4%、玄米で3.1%と非常に少なかった。もみ殻に関しては通常の抽出操作のみで92.2%の放射能が回収されたためマイクロ波抽出は行わなかった。

各組織における抽出画分毎の放射能濃度を表2に示した。

表 2 各組織中の放射能濃度

	稲わら		もみ殻		玄米	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
水抽出 (1回)						
7セトニトリル/水抽出 (3回)	1.62	87.1	3.66	92.2	0.37	71.2
ジクロロメタン抽出						
ジクロロメタン層	<0.01	0.3	0.01	0.2	<0.01	0.3
水層	1.62	86.8	3.65	92.0	0.37	70.9
7セトニトリル/水抽出残渣	0.25	13.0	0.31	7.8	0.15	28.9
2MHC1マイクロ波抽出	0.09	4.6			0.13	25.8
最終残渣	0.16	8.4			0.02	3.1
合 計	1.87	100.1	3.97	100.0	0.52	100.1

空欄は分析せず

②代謝物の同定

水及び7セトニトリル/水抽出液はLSC分析とは別に、代謝物の同定のためHPLC及びTLC（もみ殻は除く）による標準物質とのココマトグラフを行った。さらにHPLC分析においてはMSD(ESI)による構造決定も同時に行った。

全ての分析部位に共通して未変化のグルホシネート[A]は全く検出されなかった。抽出放射能の大部分は、

(71.8~88.9%TRR)であった。

も同定されたが、
各々 及び とその生成量は少なかった。その他、2種の極性代謝物が認められたがその生成量はごく僅かであり同定には至らなかった。また玄米及び稲わら中には、土壤中の分解により生成された¹⁴C₂が供試作物に吸収され、植物体内で糖類に固定された放射能も検出された。

いずれの分析部位においても90%以上の放射能が同定された。

処理区試料の各組織中の代謝物の濃度を表3に示した。

表 3 各組織中の代謝物濃度

	稲わら		もみ殻		玄米	
	濃度 (mg/kg)	%TRR	濃度 (mg/kg)	%TRR	濃度 (mg/kg)	%TRR
同定						
小計	1.70	91.0	3.65	92.0	0.49	93.8
特徴付け						
	-	-	-	-	0.01	1.9
	<0.01	0.1	-	-	0.01	1.4
同定/特徴付け合計	1.71	91.1	3.65	92.0	0.51	97.1
抽出残渣	0.16	8.4	0.31	7.8	0.02	3.1
合 計	1.87	99.5	3.96	99.8	0.280	100.2

*: 1種類のみ、+: 5種類の合計

- は検出されず

③まとめ

稲わら

最初の水及びアセトニトリル/水抽出により総放射能の87.1%が抽出された。さらに2MHC1によるマイクロ波抽出により4.6%の放射能が抽出され、合わせて総放射能の91.7%がこれらの抽出操作により抽出された。最終残留物中の放射能は、総放射能の僅か8.4%であった。

稲わら中の主要な放射能は他の作物と同様に であり、
 を占めていた。その他の代謝物としては、
 が 、さらに が 認められた。
 その他では未同定の極性代謝物がトレース量認められた以外は、土壤中で生成された¹⁴C₂O₂が吸収されて糖類に固定された放射能が僅かに認められたのみであった。
 親化合物のグルホシネート[A]は全く認められなかった。

もみ殻

最初の水及びアセトニトリル/水抽出により総放射能の92.2%が抽出されたため、以降の抽出操作は行わなかった。

もみ殻中の主要な放射能は稲わらと同様に であり、
 を占めていた。その他の代謝物としては、
 がTRRの僅か
 程度認められたのみであった。

親化合物のグルホシネート[A]は全く認められなかった。

玄米

最初の水及びアセトニトリル/水抽出により総放射能の71.2%が抽出された。さらに2MHC1によるマイクロ波抽出により25.8%の放射能が抽出され、合わせて総放射能の97.0%がこれらの抽出操作により抽出された。最終残留物中の放射能は、総放射能の僅か3.1%であった。

玄米中の主要な放射能は他の部位と同様に であり、TRRの
 を占めていた。その他の代謝物としては、
 が 、さら
 に がTRRの6.1%認められた。その他では2種類の未同定極性代謝物
 が 認められた以外には、
 認められた。

親化合物のグルホシネート[A]は全く認められなかった。

グルホシネート[A]の稲体における代謝経路は、

が生成され、

の生成あるいは

の生成であった。

また処理土壤中での分解により生成された¹⁴C₂O₂の一部は稲体に吸収され後、糖に固定され、主に玄米中に貯蔵された。

土壌処理された稲体におけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 稲（湛水土壤処理）における推定代謝経路

(資料 代 3 5)

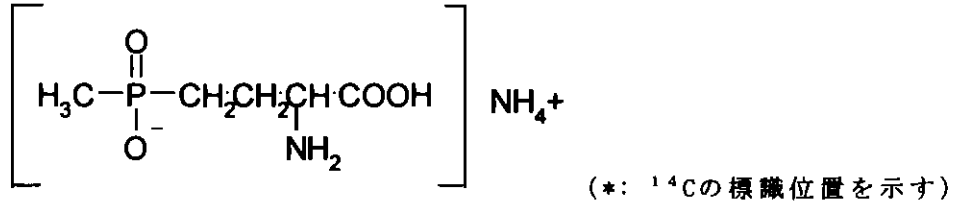
(7) だいず (遺伝子組み換え体) における代謝

試験機関:

報告書作成年: 1999年 [GLP]

供試標識化合物:

構造式:



化学名: アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィネート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能: 放射化学的純度: 98%以上

標識位置の設定理由:

より多くの代謝物の構造を特定するため、他の試験において構造中最も安定していることが確認されているを標識位置とした。

供試植物: だいず (遺伝子組み換え体、品種: Ignite)

栽培条件: ポット栽培 (露地に設置)

試験方法:

処理溶液の調製:

^{14}C 標識グルホシネート塩酸塩をアンモニア水に溶解しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネートを加え、これにIgnite 200SL (製剤白試料)を加えた後、蒸留水で定容し ^{14}C 標識グルホシネート溶液 (1.3mg/ml)を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠:

上記処理溶液をハンドスプレーを用いて、3葉期及び開花期の2回茎葉処理した。1回目処理はポット当たり52.7ml (グルホシネートとして0.66mg)、二回目はポット当たり53.9ml (グルホシネートとして0.65mg)であった。

処理量の設定は登録上の最大投下薬量 (0.45lb/acre)とした。

試料採取時期:

各処理直後及び2回目処理直前、更に最終散布85日後に収穫した。試料は地上部を切り取り、85日後に収穫した試料のみ茎葉部、莢及び種子に分けた。

分析方法:

抽出:

a) 処理直後試料

試料表面を水で洗浄後、水を加え磨砕抽出した。抽出液を濾過し、ろ液と残渣に分けた。残渣の一部にアセトニトリル/水 (1:1, v/v) 混液を加え、同様の操作を2回繰り返し、ろ液を合わせた。各抽出液及び残渣の一部を放射能測定に供した。

また抽出液及び洗浄液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

b) 2回目処理直前試料

試料表面を水で洗浄後、水を加え磨砕抽出した。抽出液を濾過し、ろ液と残渣に分けた。同様の操作を繰り返し、ろ液を合わせた。残渣の一部にアセトニトリル/水 (1:1, v/v)

混液を加え、同様の操作を2回繰り返し、ろ液を合わせた。さらに残渣をアセトニトリルで3回抽出し、全ろ液を合わせた。各抽出液及び残渣の一部を放射能測定に供した。また水抽出液及びアセトニトリル/水抽出液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

c) 最終散布85日後採取試料

茎葉部及び莢；

水を加え磨砕抽出した。抽出液を濾過し、ろ液と残渣に分けた。さらに同様の操作を2回繰り返し、全ろ液を合わせた。残渣にアセトニトリル/水(1:1, v/v)混液を加え、同様の操作を3回繰り返し、全ろ液を合わせた。各抽出液及び残渣の一部を放射能測定に供した。

また水抽出液及びアセトニトリル/水抽出液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

種子；

水で洗浄後、粉碎した。粉碎試料を水で磨砕抽出した。抽出液を濾過し、ろ液と残渣に分けた。同様の操作を繰り返し、ろ液を合わせた。残渣の一部をアセトニトリルで抽出し、ろ過した。残渣を引き続きエチルエーテルで抽出した。各ろ液を合わせた後溶媒を留去し、残留物にジクロロメタン及び水を加え液-液分配した。各抽出液及び残渣の一部を放射能測定に供した。

また水抽出液及び液-液分配後の水層を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

加水分解；

2回目処理直前試料及び最終散布85日後採取試料の最終抽出残渣については、以下の加水分解操作を行った。

a) 2回目処理直前試料及び最終散布85日後採取試料(茎葉部)

最終残渣より5gを分取し、10%塩酸ジギタリス溶液を加えた後、50℃で24時間加熱還流した。懸濁液をろ過し、ろ液中のジギタリスを留去した。濃縮液を1M水酸化ナトリウムで中和したのち、凍結乾燥した。凍結乾燥試料をエタノールで抽出した。残渣を蒸留水で溶解した。各溶液及び残渣の一部を放射能測定に供した。

また、エタノール抽出液(2回目処理直前試料のみ)及び最終水溶液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

b) 最終散布85日後採取試料(莢)

最終残渣より5gを分取し、1M水酸化ナトリウムを加えた後、50℃で24時間加熱還流した。懸濁液をろ過し、ろ液を希塩酸で中和したのち、凍結乾燥した。凍結乾燥試料をエタノール、次いでアセトニトリルで抽出した。残渣を蒸留水で溶解した。各溶液及び残渣の一部を放射能測定に供した。

また、エタノール抽出液(2回目処理直前試料のみ)及び最終水溶液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。アセトニトリル抽出液中には放射能が認められなかったためHPLC分析は行わなかった。

c) 最終散布85日後採取試料(種実)

最終残渣より2gを分取し、1M水酸化カリウム/エタノール溶液を加えた後、50℃で24時間加熱還流した。懸濁液をろ過し、ろ液中のエタノールを留去した。

ろ過残渣に10%塩酸ジギタリス溶液を加えた後、50℃で24時間加熱還流した。懸濁液をろ過した。各溶液及び残渣の一部を放射能測定に供した。

また、1M水酸化カリウム/エタノール溶液加熱還流後の懸濁液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

機器分析：

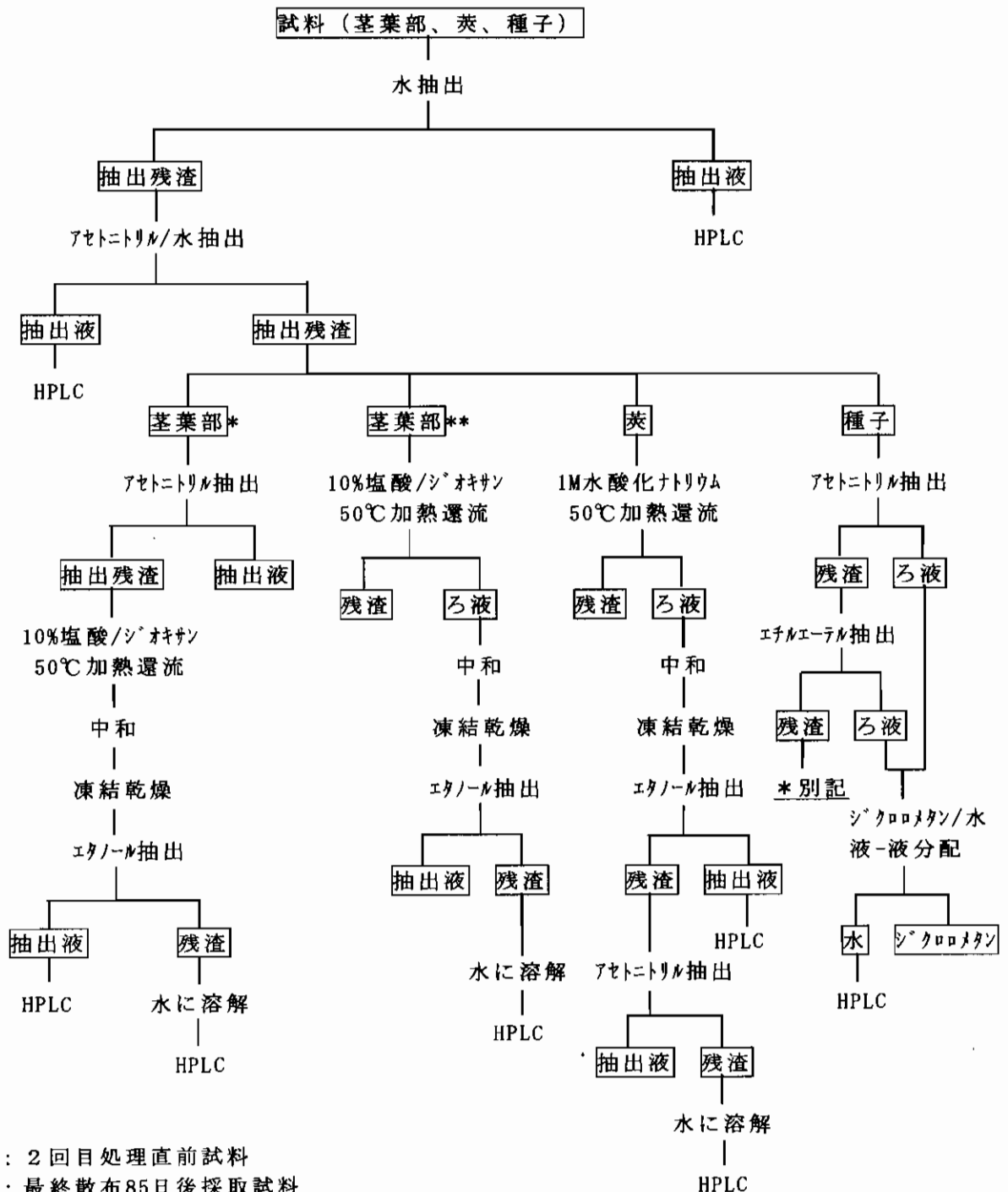
総放射能測定

各抽出液および個体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシダイザーで燃焼し生成した¹⁴CO₂を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

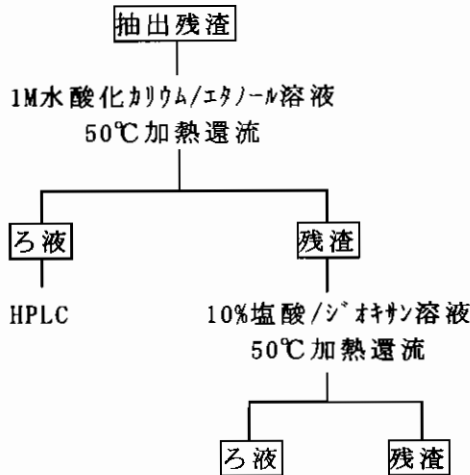
HPLC分析

分解物の標準品とのコクロマトグラフを行い、分解生成物の定性及び定量を行った。代謝物は紫外外部吸光が弱いため、放射能検出器を用いた。

分析操作フローチャート



* 別記



結果：

1) 放射能分布

莖葉部に処理された被験物質は植物体に吸収され、全体に移行したが、可食部への移行は他に比べてやや少なかった。
最終収穫試料の各部位における放射能濃度および放射能分布率を表1に示した。

表1 各部位における放射能濃度及び分布率

莖葉部		さや			
		莢殻		種子	
濃度 (ppm)	分布率 (%)	濃度 (ppm)	分布率 (%)	濃度 (ppm)	分布率 (%)
3.113	47.2	4.940	32.9	1.466	19.9

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

種子を除く各試料中の残留放射能の90%以上が抽出性放射能であった。種子では他に比べて非抽出性放射能が多く、抽出性放射能は80%であった。
非抽出性放射能が少なかった散布直後試料を除き、非抽出性放射能について加水分解による放射能の溶離を試みた。その結果、ほとんどの非抽出性放射能が溶離し、最終的な結合性放射能は1.5%未満と極めて低かった。
各試料における抽出画分毎の試料中放射能に対する割合を表2に示した。

表2 各組織中の放射能分布 (粉碎試料中総放射能割合%)

	1回目直後	2回目直前	2回目直後	最終収穫		
	莖葉*	莖葉	莖葉*	莖葉	莢殻	種子
抽出性放射能	99.6	92.5	98.9	94.0	96.2	80.0
水抽出	76.5	76.4	78.0	89.5	88.4	74.3
アセトニトリル/水抽出	23.1	16.1	20.9	4.6	7.8	3.2
非抽出性放射能	0.4	7.5	1.1	6.0	3.8	20.0
加水分解	-	6.3	-	4.5	2.9	22.6
最終残渣	-	1.2	-	1.4	0.9	0.0
合計	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

- は分析せず

*: 表面洗浄液中の放射能は考慮しない

②代謝物の同定

グルホシネート耐性遺伝子組み換え作物の解毒機構は、グルホシネート[A]の
である。

いずれの試料においても主代謝物は、
であり、試料中放射能の を占めた。

茎葉部試料では、次いで未変化のグルホシネート[A]が多く認められた。また、莢殻
及び種子中においては、
が多く認められた。

他にも

全ての試料中に認められたが、生成量は少なかった。

各試料中の総放射能に対する各代謝物の放射能割合及び濃度を表3に示した。

表3 各試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合及び濃度

	2回目直前		最終収穫					
	茎葉部		茎葉部		莢殻		種子*	
	放射能 割合%	濃度 (ppm)	放射能 割合%	濃度 (ppm)	放射能 割合%	濃度 (ppm)	放射能 割合%	濃度 (ppm)
グルホシネート[A]	23.2	0.448	18.5	0.575	5.8	0.287	6.2	0.091
同定代謝物合計	90.6	1.745	91.0	2.829	93.6	4.619	90.1	1.318

*：種子のみ加水分解により溶離した放射能を含む

③まとめ

茎葉部；

収穫時期に係わらず、試料中放射能の90%以上が抽出性放射能であった。処理直後の試料における非抽出性放射能は、およそ1%以下であった。2回目処理直前及び最終収穫試料においては非抽出性放射能が6~7%認められたが、加水分解操作によりその大部分が溶離した。

茎葉中の主要な放射能は、 であり、
試料中放射能の を占めた。他には、グルホシネート[A]、
が認められた。

なお、グルホシネート[A]に関しては に代謝された後、
と見え
られる。

さや；

a) 莢殻

試料中放射能の約96%抽出性放射能であった。また非抽出性放射能のうち、大部分が加水分解で溶離した。最終残渣中の放射能は1%に満たなかった。

莢中の主要な放射能は であり、次いで
が多く認められた。グルホシネート[A]及び も認められたが少
量であった。

b) 種子

他の試料と比較して、抽出性放射能は80%とやや低かった。非抽出性放射能については酸加水分解により全ての放射能が溶離した。したがって最終残渣には放射能は認められなかった。

種子の主要な放射能は であり、次いで
が多く認められた。グルホシネート[A]及び も認められたが少
量であった。

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

以上、遺伝子組み換えだいで茎葉処理されたグルホシネートは、代謝分解を受けながら植物全体に移行しが、可食部への移行は他の部位に比較して少なかった。植物体内に吸収されたグルホシネートは となる。この代謝過程は可逆的であり、一部は再びグルホシネートに戻る。一方でグルホシネートは、 となり、さらに へと分解された。

遺伝子組み換えだいでにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 遺伝子組み換えだいでにおけるグルホシネートの推定代謝経路

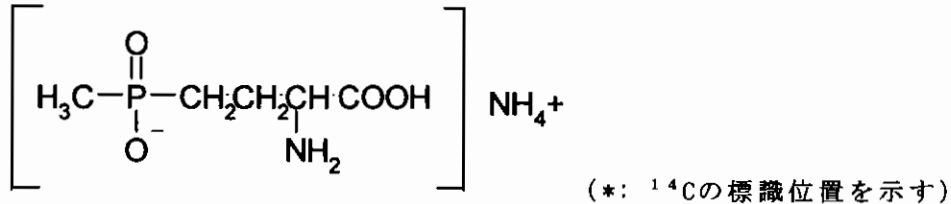
(8) てんさい (遺伝子組み換え体) における代謝

試験機関 :

報告書作成年 : 1996年 [GLP]

供試標識化合物 :

構造式 :



化学名 ; アンモニウム = DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能 ; 放射化学的純度 ; 98.3%

標識位置の設定理由 :

より多くの代謝物の構造を特定するため、他の試験において構造中最も安定していることが確認されているを標識位置とした。

供試植物 : てんさい (遺伝子組み換え体)

栽培条件 : ポット栽培 (露地に設置)

試験方法 :

処理溶液の調製 ;

^{14}C 標識グルホシネート塩酸塩をアンモニア水に溶解しアンモニウム塩を生成した。これを蒸留水で定容し ^{14}C 標識グルホシネート溶液 (1.5mg/ml) を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠 ;

試験コンテナ (0.7m²) 当たり、上記処理溶液の有効成分として42mg相当の溶液を散布装置を用いて茎葉処理した。処理は最終収穫日の169日及び146日前の2回処理とした。供試植物の生育ステージは1回目処理時は播種36日後、2回目処理時は播種59日後であった。

処理量の設定は登録上の最大投下薬量 (有効成分として600g/ha) とした。

試料採取時期 ;

1回目処理当日、8日後及び15日後、更に2回目処理当日、21日後及び146日後に収穫した。1回目処理後に採取した試料は根部が未成長なため茎葉部のみの採取とした。2回目処理後に収穫した試料は茎葉部及び根部に分けた。

分析方法 ;

抽出 :

茎葉試料は水で表面を洗浄した後細切し磨砕均質化した。根部は細切後磨砕均質化した。各試料の一部を燃焼による放射能測定に供した。

また、各試料を水/メタノール混液 (90/10、v/v) で抽出した。抽出液を遠心分離し、上清を濾過した。抽出操作は上清中の放射能が2%TRR以下、もしくはTRRの95%以上が抽出されるまで行った。

抽出液の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。抽出残渣は燃焼による放射能測定に供した。また全抽出液 (必要に応じて濃縮後) を代謝物の定性及び定量のためHPLC及びTLCに供した。

機器分析：

総放射能測定

各抽出液および個体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。固体試料はガンブルオキシダイザーで燃焼し生成した¹⁴C₂O₂を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

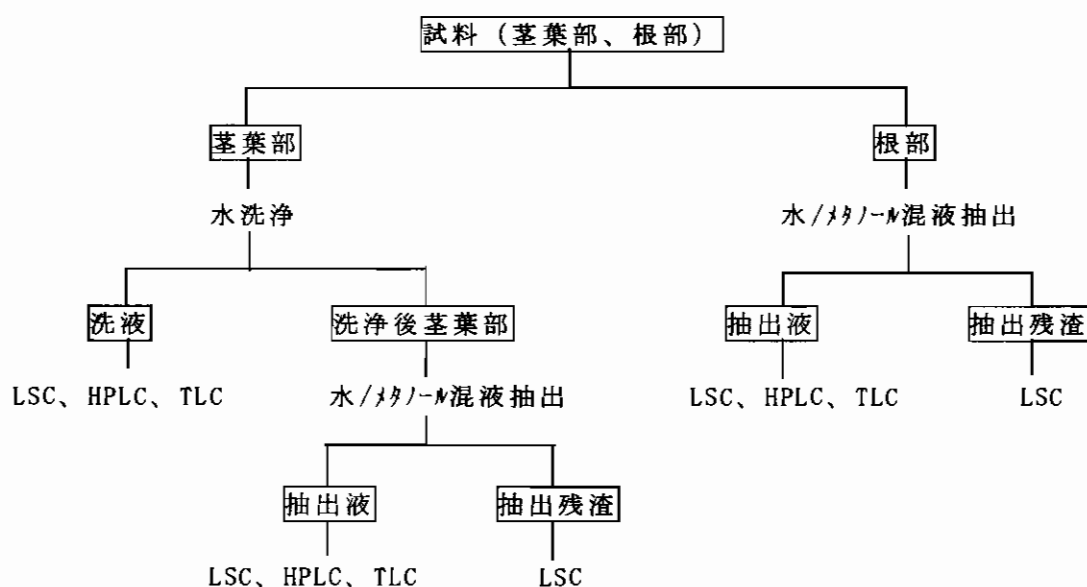
HPLC分析

分解物の標準品とのクロマトグラフを行い、分解生成物の定性及び定量を行った。代謝物は紫外外部吸光が弱いため、放射能検出器を用いた。

TLC分析

HPLC分析で同定された代謝物の確認のためTLC分析を行った。

分析操作フローチャート



結果：

1) 放射能分布

茎葉部に処理された被験物質は比較的速やかに植物体に吸収され、洗液中の放射能は経時的に減少した。

吸収された放射能は根部へも移行した。

各部位での放射能分布を表1-1～1-2に示した。

表1-1 1回目散布後試料中の放射能分布（総放射能割合%）

	洗液	抽出放射能	非抽出性放射能	合計
散布当日	40.5	57.8	1.8	100.1
8日後	18.8	74.5	6.2	100.0
15日後	13.8	80.0	5.7	99.9

表1-2 2回目散布後試料中の放射能分布（総放射能割合％）

		洗液	抽出放射能	非抽出性放射能	合計
散布当日	茎葉部	59.50 (11.95)	39.47 (7.93)	1.03 (0.21)	100.00 (20.08)
	根部	n. a.	97.39 (1.95)	2.61 (0.05)	100.00 (2.01)
21日後	茎葉部	13.68 (1.68)	85.03 (10.42)	1.29 (0.16)	100.00 (12.26)
	根部	n. a.	96.39 (6.50)	3.61 (0.24)	100.00 (6.75)
146日後	茎葉部	3.01 (0.06)	94.48 (1.94)	2.51 (0.05)	100.00 (2.05)
	根部	n. a.	96.25 (0.89)	3.75 (0.03)	100.00 (0.93)

n. a. : 分析せず

カッコ内の数値は放射能濃度（ μg 当量/g）

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

各試料の放射能の90%以上が水/メタノール混液で抽出された。非抽出性放射能が少なかったため、強制抽出、加水分解等は行わなかった。

② 代謝物の同定

グルホシネート耐性遺伝子組み換え作物の解毒機構は、
である。

いずれの試料においても植物体中の主代謝物は であり、1回目処理後試料では経時的に増加し、2回目処理後試料においては当日試料を除き、茎葉部及び根部ともに試料中放射能の55%~68%を占めた。次いで未変化のグルホシネート[A]が多く認められた。他の代謝物としては、2回目処理後試料中でのみ、
が認められたが少量であった。

また、1回目処理後試料について植物体中のグルホシネート[A]の
であった。これに比して葉面上に存在した洗液中のグルホシネート[A]は、
であった。
これは、

1回目処理後試料中の総放射能に対する各代謝物の放射能割合を表3-1に、2回目処理後試料中の総放射能に対する各代謝物の放射能割合を表3-2~4に示した。

表3-1 1回目処理後試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合（％）

	茎葉部			洗液		
	処理当日	8日後	15日後	処理当日	8日後	15日後
グルホシネート[A]	45.1	35.6	29.3	40.5	18.8	13.8
同定代謝物合計 (抽出放射能)	54.1 (57.8)	74.5 (74.5)	77.9 (80.0)	40.5 (40.5)	18.8 (19.3)	13.8 (14.2)

表3-2 2回目処理当日試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合 (%)

	グルホシネート[A]						
	%TRR	µg/g*					
洗液	59.4	11.92					
茎葉部	25.2	5.05					
合計	84.6	16.97					
根部	30.9	0.62					

*: グルホシネート当量として

表3-3 2回目処理21日後試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合 (%)

	グルホシネート[A]						
	%TRR	µg/g*					
洗液	13.7	1.68					
茎葉部	28.1	3.44					
合計	41.8	5.12					
根部	30.6	2.07					

*: グルホシネート当量として

表3-4 2回目処理146日後試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合 (%)

	グルホシネート[A]						
	%TRR	µg/g*					
洗液	2.3	0.05					
茎葉部	24.0	0.49					
合計	26.3	0.54					
根部	19.1	0.18					

*: グルホシネート当量として

③まとめ

茎葉部；

収穫時期に係わらず、水/メタノール混液による抽出により試料中放射能の90%以上が抽出された。

茎葉中の主要な放射能は、であり、処理当日の試料を除いて、試料中放射能のを占めた。他には、未変化のグルホシネート[A] (

) 及び少量のが

認められた。

なお、1回目処理後試料について植物体中のグルホシネート[A]の

によるものである。

根部；

茎葉部同様水/メタノール混液による抽出により試料中放射能の90%以上が抽出された。根部中の主要な放射能は、であり、

試料中放射能のを占めた。他には、未変化のグルホシネート[A] (

) 及び少量のが認められた。

以上、遺伝子組み換えてんさいに茎葉処理されたグルホシネートは、代謝分解を受けながら植物全体に移行した。

植物体内に吸収されたグルホシネートは

となる。但し、

また、この代謝過程は

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

一方でグルホシネートは、
となった。

遺伝子組み換えてんさいにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図 1 に示した。

図1 遺伝子組み換えてんさいにおけるグルホシネートの推定代謝経路

(資料 代 3 7)

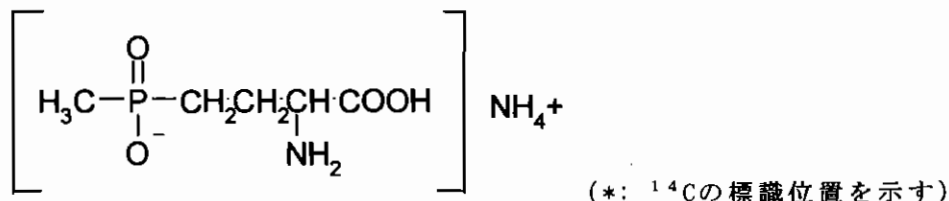
(9)とうもろこし (遺伝子組み換え体) における代謝

試験機関 :

報告書作成年 : 1994年 [GLP対応]

供試標識化合物 :

構造式 :



化学名 : アンモニウム = DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能 ; 放射化学的純度 ; 98%

標識位置の設定理由 :

より多くの代謝物の構造を特定するため、他の試験において構造中最も安定していることが確認されている
を標識位置とした。

供試植物 : とうもろこし (遺伝子組み換え体)

栽培条件 : 露地栽培

試験方法 :

処理溶液の調製 ;

^{14}C 標識グルホシネート塩酸塩をアンモニア水に溶解しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネートを加え、これにIgnite 150 (製剤白試料)を加えた後、蒸留水で定容し ^{14}C 標識グルホシネート溶液 (46.4mg/ml)を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠 ;

上記処理溶液の48.2mlを散布装置を用いて茎葉処理した (38株)。処理は慣行収穫予定日の112日及び102日前の2回処理とした。供試植物の生育ステージは1回目処理時は地上部の高さが約40cm、二回目は約60cmであった。

処理量の設定は登録上の最大投下薬量 (0.45lb/acre)とした。

試料採取時期 ;

各処理1時間後及び5日後、更に最終散布28日、55日及び102日後に収穫した。102日後に収穫した試料のみ茎葉部、皮、穂軸および種子に分けた。

分析方法 ;

抽出 :

全試料をドライアイスとともに粉砕した。この粉末試料に0.01%アジ化ナトリウム溶液を加え磨砕抽出した。抽出液を濾過し、残渣に再びアジ化ナトリウム溶液を加え同様の操作を繰り返した。ろ液及び残渣の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。また全抽出液を代謝物の定性及び定量のためラジオHPLCに供した。

沈殿物中の非抽出性放射能を以下の方法で強制溶離させた。

強制抽出

種子及び55日、120日後採取試料の茎葉部については抽出残渣中の放射能が比較的高かったため、以下の強制抽出を行った。

a) アルカリ抽出

上記残渣に0.1N水酸化アンモニウムを加えた後、室温で1時間振とう抽出した。懸濁液を遠心した後濾過した。

b) 酸抽出及び酸加水分解

上記残渣に0.1N塩酸を加え1時間振とう抽出した後、濾過した。残渣に再び0.1N塩酸を加え4時間還流行い加水分解した後、上記同様に濾過した。

c) α -アミラーゼ処理

種子試料のみ加水分解後に α -アミラーゼによる酵素処理を行った。酵素活性が確認された α -アミラーゼ溶液（pH6.9リン酸ナトリウム緩衝液で溶解したもの）を上記残渣に加え、25℃で3時間インキュベートした。

機器分析：

総放射能測定

各抽出液および個体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。固体試料はフッ素モキシダイザーで燃焼し生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

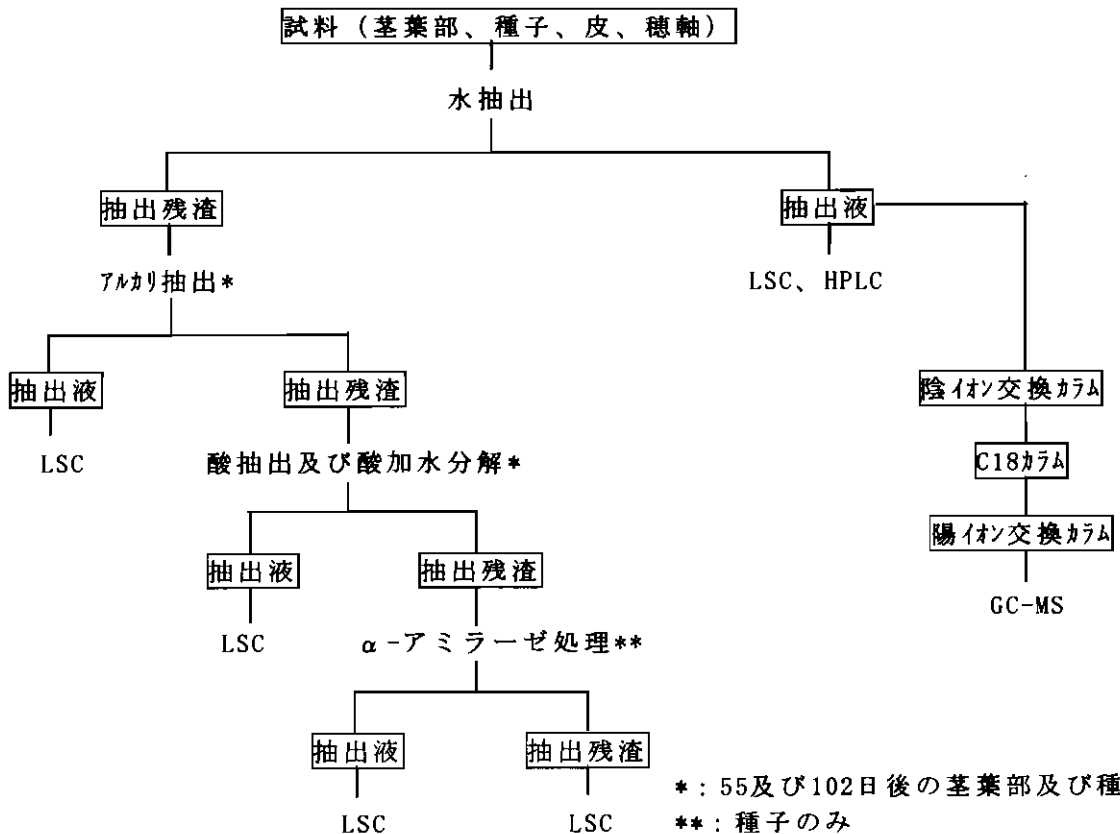
HPLC分析

分解物の標準品とのクロマトグラフを行い、分解生成物の定性及び定量を行った。代謝物は紫外外部吸光が弱い為、放射能検出器を用いた。

GC-MS分析

120日後採取試料のうち、茎葉部試料についてHPLC分析で同定された代謝物の化学構造確認をマススペクトルメトリで行った。

分析操作フローチャート



結果：

1) 放射能分布

茎葉部に処理された被験物質は植物体に吸収され、全体に移行したが、可食部を含む雌穂への移行は少なかった。

102日後採取試料の各部位における放射能濃度および放射能分布率を表1に示した。

表1 各部位における放射能濃度及び分布率

茎葉部		雌穂					
		種子		穂軸		皮	
濃度 (ppm)	分布率 (%)	濃度 (ppm)	分布率 (%)	濃度 (ppm)	分布率 (%)	濃度 (ppm)	分布率 (%)
2.01	93.7	0.130	2.4	0.251	1.5	0.872	2.3

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

種子を除く各試料の残留放射能の90%以上が水で抽出された。種子では他に比べて非抽出性放射能が多く、水での抽出率は80%に届かなかった。

55日後採取試料及び102日後採取試料（茎葉部及び種子のみ）については、非抽出性放射能が比較的多かったため、アルカリ及び酸による強制抽出ならびに酸加水分解による放射能の溶離を試みた。また種子については α -アミラーゼによる酵素分解も実施した。その結果、55日後試料では非抽出性放射能の90%近くが抽出あるいは溶離され、102日後試料では茎葉及び種子ともに非抽出性放射能およそ70%が抽出あるいは溶離された。

各試料における抽出画分毎の粉碎試料中放射能に対する割合を表2に示した。

表2 各組織中の放射能分布（粉碎試料中総放射能割合%）

	1回目	2回目	28日後	55日後	102日後			
	1時間後	1時間後			茎葉	種子	穂軸	皮
	茎葉	茎葉	茎葉	茎葉	茎葉	種子	穂軸	皮
抽出性放射能								
水抽出	104.8	110.9	96.0	92.2	89.8	76.7	97.9	91.1
非抽出性放射能	1.5	1.6	3.4	9.9	9.4	22.1	11.1	8.0
アルカリ抽出	-	-	-	3.5	2.3	2.8	-	-
酸抽出	-	-	-	1.7	1.3	1.0	-	-
酸加水分解	-	-	-	2.2	2.8	9.3	-	-
α -アミラーゼ分解	-	-	-	-	-	0.7	-	-
最終残渣	-	-	-	1.2	2.9	6.1	-	-
合計	106.3	112.5	99.4	102.0	99.2	98.8	109.0	99.2

- は分析せず

② 代謝物の同定

グルホシネート耐性遺伝子組み換え作物の
である。

いずれの試料においても茎葉部については、主代謝物は
であり、試料中放射能の
を占めた。次いで未変化のグルホシネート[A]及び

が認められたが、生成量は少なく
であった。

また、雌穂試料については茎葉部と異なり、いずれの部位（種子、穂軸及び皮）においても主代謝物は
であった（
）。次いで多く認められた

のが であり、グルホシネート[A]の残留はいずれの試料も2%前後と非常に低かった。なお、種子中には他の部位では全く認められていないグルホシネート[A]の 認められた。各試料中の総放射能に対する各代謝物の放射能割合を表3-1に、放射能濃度を3-2に示した。

表3-1 各試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合 (%)

	28日後 茎葉部	55日後 茎葉部	102日後試料			
			茎葉部	種子	穂軸	皮
グルホシネート[A]	13.3	11.3	9.9	1.5	2.6	2.1
同定代謝物合計	82.0	81.6	78.1	57.5	78.8	73.1

表3-2 各試料中の代謝物の放射能濃度 (ppm)

	28日後 茎葉部	55日後 茎葉部	102日後試料			
			茎葉部	種子	穂軸	皮
グルホシネート[A]	0.353	0.203	0.200	0.002	0.006	0.018
同定代謝物合計	2.178	1.461	1.580	0.076	0.181	0.643

③まとめ

茎葉部；

収穫時期に係わらず、水による抽出により試料中放射能の90%以上が抽出された。55日及び102日後採取試料については非抽出性放射能が約10%認められたため、さらにアルカリ及び酸による強制抽出、引き続き酸加水分解に供した。この操作により55日後採取試料においては非抽出性放射能の約90%が、102日後採取試料については約70%が溶出された。

茎葉中の主要な放射能は、 であり、試料中放射能の を占めた。他には、グルホシネート[A]、 が認められた。

なお、グルホシネート[A]に関しては

考え

られる。

雌穂；

a) 穂軸及び皮

茎葉部同様水による抽出により試料中放射能の90%以上が抽出された。非抽出性放射能についての強制抽出等を行わなかった。

穂軸及び皮中の主要な放射能は茎葉部と違い であり、いずれも試料中放射能の を占めた。他には が認められた。グルホシネート[A]も認められたがごく少量であった。

b) 種子

他の試料と違い、水による抽出率は約77%とやや低かった。非抽出性放射能についてのアルカリ及び酸による強制抽出、引き続き酸加水分解により、約60%の非抽出性放射能が溶離した。種子についてはさらにα-アミラーゼによる酵素処理を試みたが溶離放射能は僅か0.7%に留まった。

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

最終残渣中の放射能は、非抽出性放射能の約30%であった。
種子の主要な放射能は雌穂の他部位と同様であり、試料中放射能の を占めた。他には

が認められた。グルホシネート[A]も認められたがごく少量であった。

以上、遺伝子組み換えとうもろこしに茎葉処理されたグルホシネート[A]は、代謝分解を受けながら植物全体に移行したが、可食部を含む雌穂への移行は少なかった。植物体内に吸収されたグルホシネートは となる。この代謝過程は可逆的であり、一部は再びグルホシネート[A]に戻る。一方でグルホシネート[A]は、 となり、さらに様々な代謝を受け非抽出性の代謝物へと分解された。

遺伝子組み換えとうもろこしにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 遺伝子組み換えとうもろこしにおけるグルホシネートの推定代謝経路

(資料 代 3 8)

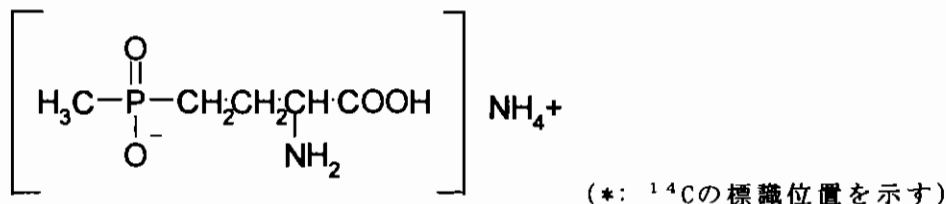
(10)なたね (遺伝子組み換え体) における代謝

試験機関 :

報告書作成年 : 1993年 [GLP]

供試標識化合物 :

構造式 :



化学名 ; アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィケート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能 ; 放射化学的純度 ; 98%

標識位置の設定理由 :

より多くの代謝物の構造を特定するため、他の試験において構造中最も安定していることが確認されているを標識位置とした。

供試植物 : なたね (品種 : Brassica napus、遺伝子組み換え体)

栽培条件 : 温室内で栽培

試験方法 :

処理溶液の調製 ;

^{14}C 標識グルホシネート塩酸塩をアンモニア水に溶解しアンモニウム塩を生成した。これに非標識グルホシネート水溶液を加え、さらにIgnite 150 (製剤白試料)を加えた後、二度蒸留水で定容し ^{14}C 標識グルホシネート溶液 (3.77mg/ml)を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠 ;

上記処理溶液の16.5mlを散布装置を用いて茎葉処理した (17株)。処理時期は慣行収穫予定日の120日前とした。供試植物の生育ステージは3-5葉期であった。試験は3反復で行った。

処理量の設定は登録上の最大投下薬量 (0.75kg/ha)とした。

試料採取時期 ;

処理1時間後、21日後及び120日後に収穫した。21日後に収穫した試料は、地上部と根部に分けた。120日後に収穫した試料は茎葉部、莢、種子および根部に分けた。

分析方法 ;

種子 :

試料 (5-7g)を磨砕均質化し、ヘキサンを加え (試料1gに対して35-50ml)振とう抽出した。抽出液を遠心し、上清と沈殿物に分けた。この抽出操作を3回繰り返した。各上清を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC)による放射能測定に供した。抽出残渣にアセトンを加え (試料1gに対して35-50ml)上記と同様の抽出操作を行った。アセトン抽出残渣に水/メタノール混液 (90:10、v/v)を加え (試料1gに対して10-100ml)、超音波に1時間負し抽出を行った後、遠心分離した。上清の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC)による放射能測定に供した。この水/メタノール抽出液は濃縮し、代謝物同定のためのHPLC分析に供した。

沈殿物中の非抽出性放射能を以下の方法で強制溶離させた。

a) 水溶性ポリリッカライト[®]/タンパク質画分

上記最終抽出残渣を100mlの0.05Mリン酸水素カリウムで懸濁させ5分間超音波に負した後4時間攪拌抽出した。懸濁液を遠心分離し、上清の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。

b) 脂質画分

上記残渣を50mlのメタノール/クロロホルム混液 (2:1, v/v) で懸濁させた後1時間攪拌抽出した。懸濁液を遠心分離し、上清の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。

さらに残渣を50mlのアセトンで懸濁させた後15分間攪拌抽出した。懸濁液を遠心分離し、上清の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。

c) 酸加水分解

上記残渣に1M塩酸を約40ml加え振とうした後、55℃で90分間超音波に負した。懸濁液を遠心し上清を移した後、沈殿物に約20mlの水を加え15分間攪拌抽出した。懸濁液を遠心し上清を移した後、さらに沈殿物に約20mlの0.5M水酸化ナトリウムを加え15分間攪拌抽出した。懸濁液を遠心し、全ての上清を合わせた後、その一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。

d) アルカリ加水分解

上記残渣に0.5M水酸化ナトリウムを約50ml加えた後、55℃で45分間超音波に負した。懸濁液を遠心し上清を移した後、沈殿物に約20mlの水を加え15分間攪拌抽出した。懸濁液を遠心し上清を移した後、さらに沈殿物に約20mlの水を加え10分間攪拌抽出した。懸濁液を遠心し、全ての上清を合わせた後、その一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。また沈殿物はサンプ[®]ノキシダイザーによる放射能測定に供するため凍結乾燥した。

英：

試料を磨砕均質化し、ヘキサンを加え (試料1gに対して35-50ml) 振とう抽出した。抽出液を遠心し、上清と沈殿物に分けた。この抽出操作を3回繰り返した。各上清を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。

抽出残渣にアセトンを加え (試料1gに対して35-50ml) 上記と同様の抽出操作を行った。アセトン抽出残渣に水/メタノール混液 (90:10, v/v) を加え (試料1gに対して10-100ml)、超音波に1時間負し抽出を行った後、遠心分離した。上清の一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。また沈殿物はサンプ[®]ノキシダイザーによる放射能測定に供するため凍結乾燥した。

地上部 (茎葉部) 及び根部：

放射能測定に供するため磨砕均質化した。これらの試料については抽出操作は行わなかった。

機器分析：

総放射能測定

各抽出液および個体試料 (抽出残渣を含む) について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。固体試料はサンプ[®]ノキシダイザーで燃焼し生成した¹⁴C₂O₂を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

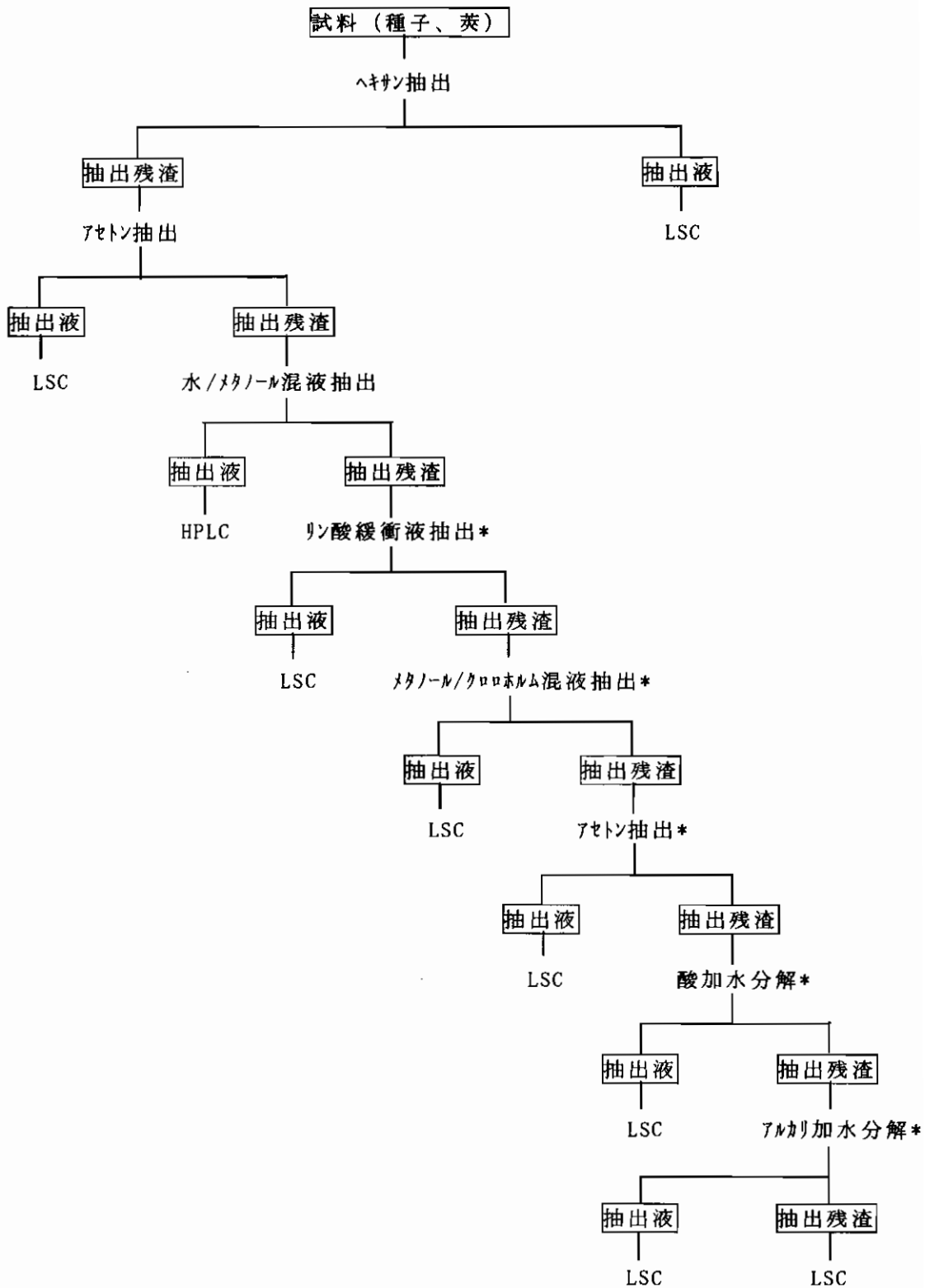
HPLC分析

分解物の標準品とのコクロマトグラフを行い、分解生成物の定性及び定量を行った。

測定条件は陰イオン交換カラムクロマトグラフィー (system I) 及び逆相カラムクロマトグラフィー (system II)

の2モードで実施した。

分析操作フローチャート



* : 種子のみ実施

結果：

1) 放射能分布

茎葉部に処理された被験物質は植物体に吸収され、全体に比較的均一に分布した。各部における総残留濃度を表1に示した。

表1 各部における残留濃度 (µg当量/g)

茎葉部			根部		種子	莢
1時間後*	21日後	120日後	21日後	120日後	120日後	120日後
145.1	4.33	0.04	4.50	0.17	0.07	0.14

*:植物全体

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

各試料の残留放射能の60%以上が抽出性放射能であり、その大部分が水/メタノール混液により抽出された。

種子の非抽出性放射能については、さらなる強制抽出及び加水分解による放射能の溶離を試みた。その結果、水溶性ポリリッカライト/タンパク質画分に最も多くの放射能が分布していた(11.5%)。脂質画分、酸加水分解物及びアルカリ加水分解物については同程度に認められ、いずれも総放射能の4-5%であった。また最終残渣中の放射能は6.4%であった。

各試料における抽出画分毎の放射能濃度を表2に示した。

表2 各組織中の放射能濃度 (総放射能割合%)

	種子	莢
抽出性放射能	65.3	20.5
ヘキサン抽出	4.2	0.07
アセトン抽出	6.1	0.2
水/メタノール混液抽出	55.0	20.2
非抽出性放射能	31.1	9.8
・水溶性ポリリッカライト/タンパク質画分 リン酸緩衝液抽出	11.5	-
・脂質画分 メタノール/クロロホルム混液抽出	1.2	-
アセトン抽出	3.1	-
・酸加水分解	4.5	-
・アルカリ加水分解	4.4	-
最終残渣	6.4	9.8
合計	96.4	30.3

- は分析せず

② 代謝物の同定

種子及び莢の抽出液(120日後試料)のうち、最も高濃度の放射能が認められた水/メタノール抽出液を代謝物の定性及び定量のためHPLC分析(System I及びII)に供した。

代謝物の同定は、標準品とのコマトグラフィーにより行った。

同定された放射能の大部分は、

であ

った。また、

も少量認められた。

なお、種子においては未変化のグルホシネートも相当量検出された。

各試料中の総放射能に対する各代謝物の放射能割合を表3に示した。

表3 各試料中総放射能に対する代謝物の放射能割合 (%)

	種子		莢	
	System I	System II	System I	System II
グルホシネート [A]	20	56	6.5	0
合計	73	70	64.7	76

③まとめ

種子；

ヘキサン、アセトン及び水/メタノール混液による抽出により試料中放射能の約65%が抽出された。さらにリン酸緩衝液、メタノール/クロロホルム混液及びアセトンによる強制抽出により約16%の放射能が抽出された。引き続き行った酸及びアルカリ加水分解物により約9%の放射能が分離した。最終残留物中の放射能は、総放射能の僅か6.4%であった。

種子中の主要な放射能は未変化のグルホシネート [A] 及び

も少量認められた。

莢；

ヘキサン、アセトン及び水/メタノール混液による抽出により試料中放射能の約20%が抽出された。抽出残渣中の放射能は、総放射能の約10%であった。

莢中の主要な放射能は

であった。また、

も認められた。未変化のグルホシネート [A] については、

System I では少量認められたが、System II においては認められていないことから、殆ど存在していないものと考えられた。

以上、遺伝子組み換えなたねに茎葉処理されたグルホシネートは、代謝分解を受けながら植物全体にほぼ均一に移行した。

植物体内に吸収されたグルホシネートは

となる。

一方でグルホシネートは、

となり、さらに様々な代謝を受け非抽出性の代謝物へと分解されたが、同定

に至ったものは無かった。

遺伝子組み換えなたねにおけるグルホシネートの推定代謝経路を図1に示した。

図1 遺伝子組み換えなたねにおけるグルホシネートの推定代謝経路

3. 土壌中運命に関する試験

(資料 代 3 9)

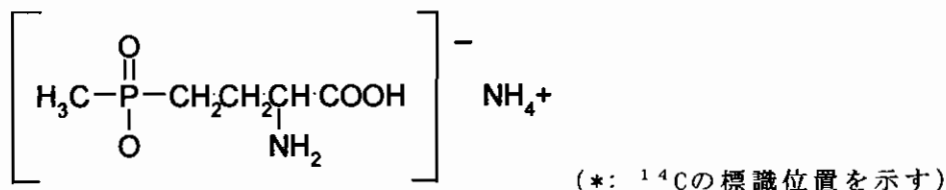
(1) 好氣的湛水土壌中運命試験

試験機関：

報告書作成年：1987年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィネート (以下¹⁴C標識グルホシネート)

比放射能； 放射化学的純度；98.4%

供試非標識化合物：

純度；>99% (以下非標識)

標識位置の設定理由：

分子内において最も安定であると考えられることから、当該2カ所を標識位置とした。

供試土壌：

採取した土壌は、礫および粗大有機物を取り除くため2mmの篩にかけた後供試した。
供試土壌の特性を下表に示した。

土壌	シルト質埴壌土	壤質砂土
採取地	Nidda川 (フランクフルト)	砂利採取場 (フランクフルト)
砂	20.9%	93.4%
シルト	57.8%	6.6%
粘土	21.3%	0.0%
有機物含量	1.9%	1.9%
pH	6.2	7.5
陽イオン交換容量	5.6meq/100g	2.1meq/100g
かさ密度	1.15g/cm ³	1.43g/cm ³
微生物バイオマス (1ml当たり)		
好気性細菌	5.2 × 10 ⁵	2.3 × 10 ⁶
放線菌類	80	40
真菌類	8.0 × 10 ²	1.2 × 10 ³

試験方法：

処理溶液調製；

¹⁴C標識グルホシネート1.657mgを水450μlに溶解し処理溶液とした。

土壌の調製；

500ml容フラスコに2mmの篩を通したのち乾燥させた沈泥40g (乾土相当)を採り、同じ池の水を試料全体が200gとなるよう加えた。水と乾燥土壌の重量比は約4:1であった。

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

被験物質の処理および処理量の根拠；

上記処理溶液全量を添加した（8.3ppmに相当）。これは実圃場投下薬量として2.071kg a. i. /haとなり、予想最大処理量に相当する。

土壌試料のインキュベーション；

被験物質を処理した容器を温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ に調節したチャンバー内に置いた。半数の容器に四本のトラップを接続し、そのうち二本は揮発性物質捕集用トラップとした。二本目にはエーリングリコールを入れ揮発性有機物質トラップとし、四本目はエタノール：メタノール(3:7, v/v)を用い $^{14}\text{CO}_2$ 捕集用とした。容器には毎日8時間空気を流し揮発放射能を捕集した。残りの容器は面栓した。全ての容器はアルミホイルで遮光した。

試料採取；

処理0、4、8、16、32、64、94日後に試験容器2本（トラップ付）を取り出し、分析に供した。閉鎖系試料は94日後のみ採取した。また、トラップ内の捕集溶液は84日後にも採取した。

分析方法；

揮発性物質の測定；

各試料採取時点で捕集溶液を一部採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて放射能を測定した。

抽出操作；

試料採取後、遠心分離し上澄液と土壌に分けた。

土壌：蒸留水を用いて2回抽出した。非抽出残渣が少なかったため更なる高次抽出は行わなかった。抽出液の一部を採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて放射能を測定した。抽出後の土壌については、その一部をサンプルオキシゲイザーで燃焼し放射能を測定した。

上澄液：一部を採取し、液体シンチレーションカウンターを用いて放射能を測定した。

代謝物の確認；

HPLCを用い標準品とのクロマトグラフィーにより同定した。

機器分析；

総放射能測定

抽出残渣はサンプルオキシゲイザー（Packard TRI-CARB 306）で燃焼し、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、捕集液の放射能を液体シンチレーションカウンター（Riedel-de Hean 808E）で測定した。抽出液、上澄液及び揮発性放射能捕集液についてはそのまま液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

HPLC分析

分解物を同定するため標準品とのクロマトグラフを行った。また、親化合物およびその分解生成物の定量を行った。

MS分析

クロマトグラフィーにより同定された代謝物について、マススペクトル分析を行い構造を決定した。

結果；

1) 放射能分布

処理放射能の大部分が湛水土壌中に分布した。揮発性放射能としては CO_2 がその大部分を占めておりその生成量は94日後に処理放射能の5~10%であった。その他の揮発性放射能の生成はごく僅かであった。

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

シルト質埴壤土

水中の放射能は徐々に減少し、64日後には処理放射能の約50%、94日後には約25%となった。土壌に移行した放射能は添加直後に20%程度であり、その後徐々に増加し試験終了時（94日後）にはおよそ40%であった。非抽出性放射能については16日後にピークとなり（約10%）、その後緩やかに減少した。揮発性分解物は少量ではあるが定常的に生成され試験終了時には処理放射能の約10%にまで達した。

壤質砂土

水中の放射能の減少は緩やかであり、試験終了時においても約60%が存在した。土壌に移行した放射能は添加直後に10%程度であり、その後徐々に増加するも試験終了時で25%程度であった。非抽出性放射能については試験期間を通じて少なく、試験終了時でも6%であった。揮発性分解物の生成も少なく試験終了時にあっても処理放射能の約4%であった。

土壌毎の処理放射能に対する回収放射能を表1-1～2に示した。

表1-1 シルト質埴壤土

処理後 日数	処理放射能に対する割合(%)					合計
	上澄液	土壌抽出	抽出後土壌	二酸化炭素	その他の 揮発性物質	
0	76.2	19.0	3.5	—	—	98.7
4	68.2	27.3	6.6	0.1	<0.1	102.3
8	68.2	25.2	6.8	0.1	<0.1	100.4
16	25.0	21.4	10.6	0.4	<0.1	57.5*
32	53.0	24.8	8.8	1.6	<0.1	88.3
64	52.2	27.0	9.0	5.1	0.3	93.6
84	—	—	—	7.5	0.4	
94	24.9	35.1	6.3	8.7	0.4	75.4

数値は2反復の平均値（申請者の計算による）

*：抽出の際の器具の破損により回収が不完全であった。

表1-2 壤質砂土

処理後 日数	処理放射能に対する割合(%)					合計
	上澄液	土壌抽出	抽出後土壌	二酸化炭素	その他の 揮発性物質	
0	89.5	9.7	1.8	—	—	101.0
4	87.8	13.8	3.2	0.1	<0.1	105.0
8	88.8	13.0	2.4	0.2	<0.1	104.5
16	86.2	14.4	3.2	0.8	<0.1	104.7
32	88.0	12.5	3.0	1.6	<0.1	105.2
64	79.6	15.0	4.3	2.8	<0.1	101.8
84	—	—	—	3.6	<0.1	
94	60.6	20.1	6.0	4.0	<0.1	90.8

数値は2反復の平均値（申請者の計算による）

② 代謝物の同定

グルホシネートは好氣的湛水条件下で比較的速やかに代謝された。

主要代謝経路は好気土壌条件下同様、

生成であった。処理後4日後より認められ、その後徐々に増加し、64日後にはい

ずれの土壌においてもピークに達したが、その生成量は壤質砂土で多かった。

その他の代謝物としては

が認められた

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

が、生成量はいずれも少なかった。なお、については生成量が極めて少なかったためマススペクトルによる構造決定には至らなかった。
 上澄液及び土壌抽出液中の未変化体及び代謝物の総放射能に対する割合を表2-1～2に示した。

表2-1 シルト質植壤土

処理後 日数	処理放射能に対する割合 (%)				合計
	グルホシネート [A]				
0 上澄液 抽出液	76.2 19.0				95.2
4 上澄液 抽出液	68.2 27.3				95.5
8 上澄液 抽出液	63.7 25.2				93.5
16* 上澄液 抽出液	22.0 20.2				46.4
32 上澄液 抽出液	39.0 20.2				77.9
64 上澄液 抽出液	25.4 18.0				79.2
94 上澄液 抽出液	8.8 18.4				60.1

数値は2反復の平均値（申請者の計算による）

*：抽出の際の器具の破損により回収が不完全であった。

表2-2 壤質砂土

処理後 日数	処理放射能に対する割合 (%)				合計
	グルホシネート [A]				
0 上澄液 抽出液	89.6 9.7				99.3
4 上澄液 抽出液	87.8 12.6				101.7
8 上澄液 抽出液	80.2 13.0				101.7
16 上澄液 抽出液	61.3 10.0				100.3
32 上澄液 抽出液	52.8 7.0				100.7
64 上澄液 抽出液	19.8 3.4				94.7
94 上澄液 抽出液	16.1 6.5				80.8

数値は2反復の平均値（申請者の計算による）

③まとめ

グルホシネートのDT₅₀はシルト質植壤土で49.1日、壤質砂土で32.2日であった。グルホシネートは好氣的湛水条件下において比較的速やかに分解した。主要代謝経路はの生成であった

た。これは動物、植物及び好気土壌中に共通した主要代謝物である。

はさらにを受け最終的には二酸化炭素等にまで
 分解される。

図1にグルホシネートの好氣的湛水土壌中における推定代謝経路を示した。

図1 好氣的湛水土壤中におけるグルホシネートの推定代謝経路

(資料 代40)

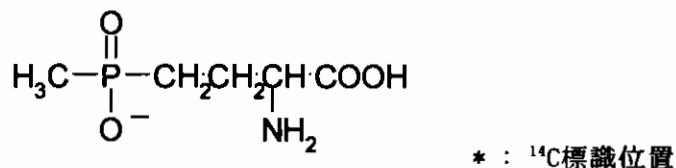
(2) 好氣的土壤における代謝

試験機関：

報告書作成年：1983年

供試標識化合物：

構造式；



化学名；DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィン酸 (Hoe 035956：グルホシネートの遊離酸体)

比放射能； 放射化学的純度；98.8%

標識位置の設定理由；

合成原料に由来すると考えられる。

供試土壤：西ドイツペイヤーから採取した次の土壤を用いた。

供試土壤	土性	有機物含量	シルト及び粘土含量*	pH
A Neuhofen, new土壤	壤質砂土	2.6%	10.1%	6.8
B Hatzenbuehl 土壤	砂壤土	1.0%	19.5%	5.2

*：粒径が20μm以下のもの

試験方法：

土壤の調製；

土壤を風乾し、16メッシュ(1mm径)のふるいにかけて、粗大成分を除去したのち、最大容水量の40%になるように蒸留水を加え、22±2℃で2週間暗所に静置して再活性化を行った。

処理及び試料の採取；

乾土重量で100g相当の再活性化土壤をフラスコに秤り取り、Hoe 035956を968.4μg含有する水溶液を加え(968g a. i./10a相当)、よく混合し、通気装置に固定した。1日に2時間通気(約30L/分)を行い、発生した¹⁴CO₂をエタノールアミン-メタノール混液をいれたトラップに、その他の揮散成分をメタノールを入れたトラップに捕集した。土壤は処理35日後、捕集液は処理7、14、21、28及び35日後に採取した。

抽出及び分析；

土壤中の放射能は、水を添加し、ソックスレーで抽出した。抽出液はイオン交換カラムクロマトグラフィーで分画した。代謝物の同定にはTLC及びGC-MS(メチル化後)を用いた。

放射能の測定；

土壤抽出液、捕集液及びTLCかき取り物中の放射能は、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。土壤の抽出残渣中の放射能は、試料をサンプルオキシダイザー中で燃焼さ

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

せ、発生した¹⁴C₂O₂を吸収剤に吸収させたのち、液体シンチレーションカウンターを用いて測定した。

結果：

1) 放射能回収率

経過日数	供試 土壌	処理量に対する割合 (%)		
		土 壤		¹⁴ C ₂ O ₂
		抽出画分	非抽出画分	
7	A			0.90
	B			2.74
14	A			2.60
	B			1.81
21	A			2.14
	B			1.45
28	A			1.60
	B			1.14
35	A	74.9	13.2	0.93
	B	81.4	9.2	0.57
回 収 率 (%)	A	88.1		8.17
	B	90.6		7.71
総回収率 (%)	A	96.3		
	B	98.3		

注) 空欄は分析せず

処理35日後の土壌では、土壌Aで処理量の74.9%、土壌Bで81.4%の放射能が抽出され、非抽出画分はそれぞれ、13.2及び9.2%であった。

¹⁴C₂O₂の発生は処理7日後ですでに認められ、35日間の総発生量は土壌Aで処理量の8.2%、土壌Bで7.7%であった。なお、¹⁴C₂O₂以外の放射性揮散成分は検出されなかった。35日後での放射能の総回収率は、土壌Aでは96.3%、土壌Bでは98.3%であった。

2) 分解生成物

経過 日数	供試 土壌	処理量に対する割合 (%)			回収率 (%)
		グルホシネート[A]			
35	A	45.7			74.9
	B	28.0			81.4

- : 検出されず

グルホシネート（遊離酸体）は土壌中で速やかに分解し、処理35日後には土壌A及びBで各々処理放射能の45.7%、28.0%にまで減少した。

主分解物は、
 であり、処理35日後には土壌A及びBでそれぞれ、処理量の 及び であった。

その他の分解物については土壌A中にもみ1種類認められたが、処理放射能の僅かであり同定には至らなかった。この未同定代謝物は、より強極性の化合物であった。また分解は無機化まで至っており、¹⁴C₂O₂も認められた。

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

グルホシネートの土壌中での分解は速やかであり、半減期は35日以内であった。主代謝物は であった。試験期間内に無機化も認められ、処理35日後までに処理放射能の約8%が $^{14}\text{CO}_2$ として検出された。

4. 水中運命に関する試験

(資料 環1)

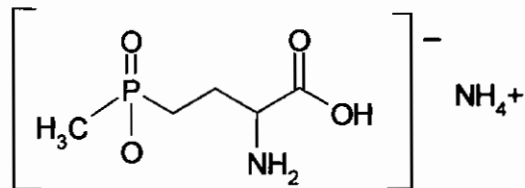
(1) 加水分解運命試験 (緩衝液)

試験機関:

報告書作成年: 1985年 [GLP]

供試標識化合物:

構造式:



化学名: アソモニウム = DL-ホモアラニン-4-イル (メチル) ホスフィンート

純度: 99.5%

供試水: 緩衝液 (pH5; クエン酸緩衝液、pH7; リン酸緩衝液、pH9; ホウ酸緩衝液)

試験方法:

試験に先立ち、試験容器/器具は180°Cで2時間加熱滅菌処理された。また供試水は20分間2度沸騰させ滅菌した。

被験物質処理:

グルホシネート60mgを各々の緩衝液に溶解し250mlとした。これは水溶解度の1/2より十分低い濃度である。

インキュベーション:

試験温度: 25±0.1°C

試験期間: 供試水を入れた容器を、インキュベーター内に暗黒下30日間設置した。

試験容器: パイレックス製三角フラスコ

試料採取時期:

0、6、13、17、22、27および30日後に試料を採取した。

分析方法:

HPLC分析

分解物を同定あるいは特徴付けするため標準品とのコクロマトグラフを行った。また、親化合物およびその分解生成物の定量を行った。

結果

1) 物質収支

試験期間を通じての回収率は97%以上と良好であった。

	0日	6日	13日	17日	22日	27日	30日
pH5	100.0	98.8	98.3	97.1	98.0	99.5	98.4
pH7	100.0	101.8	100.3	100.5	100.8	100.6	100.4
pH9	100.0	101.4	102.1	102.5	102.4	103.0	103.0

2) 分解物の同定

試験期間中全ての緩衝液で分解物は認められなかった。供試水中のピークは、

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

ほぼ全てが被検物質のグルホシネートであった。

3) 推定半減期

全ての緩衝液で明確な加水分解が認められなかったため、有意な半減期の算出は不可能であった。

以上の結果から、グルホシネートはpHにかかわらず緩衝液中では加水分解を受けないと考えられる。

(資料 環 2)

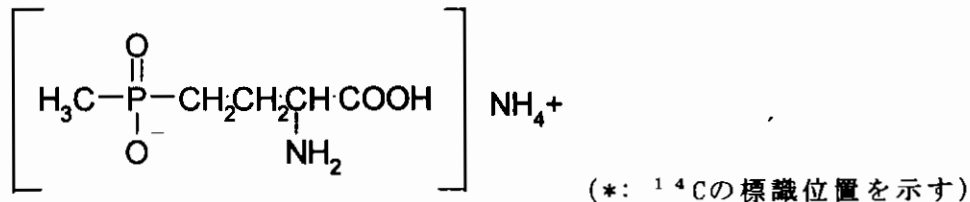
(2) 水中光分解運命試験 (緩衝液)

試験機関:

報告書作成年: 1989年 [GLP]

供試標識化合物:

構造式:



化学名: アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル (メチル) ホスフィナート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能: 放射化学的純度: 96.6%

標識位置の設定理由:

構造中最も安定な位置を標識位置とした。

供試水:

緩衝液 (pH5; 酢酸緩衝液、pH7; リン酸緩衝液、pH9; ホウ酸緩衝液)

試験方法:

試験に先立ち、試験容器/器具は180°Cで4時間もしくは80%エタノールによって滅菌処理された。また供試水はオートクレーブにより滅菌処理された。

被験物質処理:

試験溶液は、 ^{14}C 標識グルホシネート溶液(6mg/10ml)0.1mlを供試水に加えて40mlとし、濃度1.5mg/Lとして調製した。これは水溶解度の1/2より十分低い濃度である。

インキュベーション:

光照射区

試験温度: 25±2°C

試験容器: 石英製光反応容器に2本の捕集管 (揮発性有機物およびCO₂の捕集) を接続したもの。

試験期間: 供試水を入れた容器を光照射器内に192 (pH9については216) 時間設置した。

光照射器: Suntest (Hanau Quarzlampen)、キセノンランプ付き (290nm以下はフィルターで除去した。)

光強度: 523±66W/m² (測定波長範囲290nm~490nm)

暗対照区

試験温度: 21±2°C

試験期間: 供試水を入れた容器を、インキュベーター内に暗黒下192 (pH9については216) 時間設置した。

試験容器: パイレックス製容器に2本の捕集管 (揮発性有機物およびCO₂の捕集) を接続したもの。

試料採取時期:

光照射区、暗対照区とも0、6、24、48、72、96および192 (但しpH9については216) 時間後に試料を採取した。

分析方法；

総放射能測定

各試料採取時の試験溶液（捕集管中の捕集溶液も同時に採取）の一部を直接液体シンチレーションカウンター(Tricarb 4530, Packard)で測定した。

HPLC分析

分解物を同定あるいは特徴付けするため標準品とのコクロマトグラフを行った。また、親化合物およびその分解生成物の定量を行った。試料は濃縮したのち分析に供した。

結果

1) 放射能収支

試験期間を通じて光照射区および暗対照区とも放射能の回収率は96%以上と良好であった。

各採取時点における供試水中および捕集液中の放射能濃度と処理放射能に対する割合を下表に示した。

①pH5

光照射区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	6時間	24時間	48時間	72時間	96時間	192時間
供試水中の放射能	100.0	99.4	99.4	99.4	101.4	100.4	97.2
¹⁴ CO ₂		<0.01	0.01	0.02	0.02	0.04	0.05
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
合計	100.0	99.4	99.4	99.4	101.4	100.4	97.2

暗対照区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	6時間	24時間	48時間	72時間	96時間	192時間
供試水中の放射能	100.0	97.8	98.8	100.4	101.4	100.4	97.2
¹⁴ CO ₂		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
合計	100.0	97.8	98.8	100.4	101.4	100.4	97.2

②pH7

光照射区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	6時間	24時間	48時間	72時間	96時間	192時間
供試水中の放射能	100.0	98.6	96.0	97.8	98.7	97.8	99.4
¹⁴ CO ₂		<0.01	0.01	0.02	0.02	0.02	0.10
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
合計	100.0	98.6	96.0	97.8	98.7	97.8	99.5

暗対照区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	6時間	24時間	48時間	72時間	96時間	192時間
供試水中の放射能	100.0	96.0	97.6	97.8	98.2	97.8	99.0
¹⁴ CO ₂		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
合計	100.0	96.0	97.6	97.8	98.2	97.8	99.0

③ pH9

光照射区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	6時間	24時間	48時間	72時間	96時間	216時間
供試水中の放射能	100.0	100.0	100.0	99.3	101.6	100.6	99.2
¹⁴ CO ₂		<0.01	<0.01	0.01	0.01	0.02	0.04
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
合計	100.0	100.0	100.0	99.3	101.6	100.6	99.2

暗対照区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	6時間	24時間	48時間	72時間	96時間	216時間
供試水中の放射能	100.0	100.2	99.2	102.2	101.2	101.7	100.8
¹⁴ CO ₂		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
合計	100.0	100.2	99.2	102.2	101.2	101.7	100.8

2) 分解物の同定

試験期間中全ての緩衝液で分解物は認められなかった。供試水中の放射能はほぼ全てが被検物質のグルホシネートであった。

3) 推定半減期

全ての緩衝液で明確な光分解が認められなかったため、有意な半減期の算出は不可能であった。

以上の結果から、グルホシネートはpHにかかわらず緩衝液中では光分解を受けないと考えられる。

(資料 環 3)

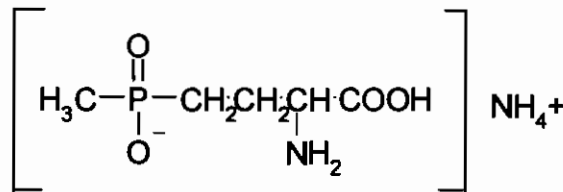
(3) 水中光分解運命試験 (自然水)

試験機関:

報告書作成年: 1992年 [GLP]

供試標識化合物:

構造式;



(*: ^{14}C の標識位置を示す)

化学名; アンモニウム=DL-ホモアラニン-4-イル (メチル) ホスフィケート (以下 ^{14}C 標識グルホシネート)

比放射能;

放射化学的純度; 98%

標識位置の設定理由:

構造中最も安定な

を標識位置とした。

供試水: 自然水 (砂利採掘溝より採取した表層水)

試験方法:

試験に先立ち、試験容器/器具、供試水等をオートクレーブで滅菌処理した。

被験物質処理;

試験溶液は、 ^{14}C 標識グルホシネート溶液 (9.35mg/25ml) 0.16mlを供試水に加えて40mlとし、濃度1.5mg/Lとして調製した。これは水溶解度の1/2より十分低い濃度である。

インキュベーション;

光照射区

試験温度: $25 \pm 2^\circ\text{C}$

試験容器: 石英製光反応容器に2本の捕集管 (揮発性有機物および CO_2 の捕集) を接続したもの。

試験期間: 供試水を入れた容器を光照射器内に118時間設置した。

光照射器: Suntest (Hanau Quarzlampen)、キセノンランプ付き (290nm以下はフィルターで除去した。)

光強度: $844 \pm 30 \text{ W/m}^2$ (測定波長範囲290nm~490nm)

暗対照区

試験温度: $25 \pm 2^\circ\text{C}$

試験期間: 供試水を入れた容器を、インキュベーター内に暗黒下118時間設置した。

試験容器: パイレックス製容器に2本の捕集管 (揮発性有機物および CO_2 の捕集) を接続したもの。

試料採取時期;

光照射区、暗対照区とも0、3、6、25、30、49および118時間後に試料を採取した。

分析方法;

総放射能測定

各試料採取時の試験溶液 (捕集管中の捕集溶液も同時に採取) の一部を直接液体シンチレーションカウンター (Tricarb 4530, Packard) で測定した。

HPLC分析

分解物を同定あるいは特徴付けするため標準品とのクロマトグラフを行った。また、親化合物およびその分解生成物の定量を行った。試料は濃縮したのち分析に供した。

結果

1) 放射能収支

試験期間を通じて光照射区および暗対照区とも放射能の回収率は91%以上と良好であった。

各採取時点における供試水中および捕集液中の放射能濃度と処理放射能に対する割合を下表に示した。

光照射区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	3時間	6時間	25時間	30時間	49時間	118時間
供試水中の放射能	100.0	99.4	97.3	98.4	95.6	91.4	97.5
¹⁴ C ₂		0.01	0.01	0.04	0.04	0.08	0.20
揮発性放射能		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.02	0.05
合計	100.0	99.4	97.3	98.4	95.6	91.5	97.8

暗対照区の放射能回収率（処理放射能に対する％）

	0時間	3時間	6時間	25時間	30時間	49時間	118時間
供試水中の放射能	100.0	95.2	100.0	98.7	95.9	95.6	95.0
¹⁴ C ₂		<0.01	<0.01	0.01	0.01	0.02	0.07
揮発性放射能		0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.04
合計	100.0	95.2	100.0	98.7	95.9	95.6	95.1

2) 分解物の同定

光照射区試料において、HPLC分析により1種類の分解物が認められた。標準品とのクロマトグラフィーにより同定された。生成量は少なく、試験終了時で処理放射能の4%程度であった。

揮発性分解物はほとんど無く、CO₂が試験終了時で0.2%、その他の揮発性分解物は僅か0.05%であった。

光照射区における各試料採取時点の放射能分布を下表に示した。

暗対照区においても同様の結果であり、分解物としては僅かなが認められたのみであった。揮発性分解物は0.1%未満であった。

各試料採取時点の放射能特性（処理放射能に対する％）

	光照射時間						
	0	3	6	25	30	49	118
グルホシネート[A]	98.0	97.7	95.6	95.1	93.1	89.2	91.9

3) 推定半減期

グルホシネートの水中分解反応を、擬一次反応に従うものとし($r^2=0.907-0.961$)、下記の計算式により半減期を求めた。

$$DT_{50}(\text{半減期}) = \ln(1/2)/k, \quad \ln(C/C_0) = kT$$

C₀ = グルホシネートの初期濃度

C = 時間Tにおけるグルホシネートの濃度

k = 速度定数

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

	Suntest日数	夏期太陽光日数	春期太陽光日数
		(北緯52°)	(北緯35°)
DT50	95日	639日	1187日

北緯35° 春期太陽光換算で半減期は3年を越えており、自然水中においても光分解はほとんど起こらないと考えられる。なお、暗対照区は半減期がマイナスとなり算出不可能であった。

5. 土壌吸着試験

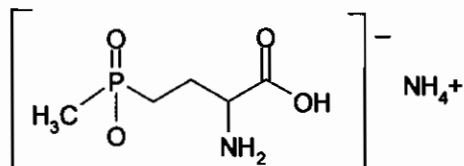
(資料 環4)

試験機関：

報告書作成年：1996年

供試標識化合物：

構造式：



化学名；アンモニウム-DL-ホモアラニン-4-イル(メチル)ホスフィナート

純度；99.6%

供試土壌：本試験においては、標準土壌のうち性質の異なる以下の4種類の土壌を用いた。

土壌番号*	5	8	14	16
土壌名	火山灰水田	沖積鈹質水田	褐色火山灰畑	洪積埴壤土畑
採取場所	日植調研究所	日植防高知	日植防牛久	和歌山農試
土性 (USDA)	silt loam	silt loam	silty clay loam	light clay
砂	39.8%	42.4%	26.2%	41.7%
シルト	24.0%	31.9%	50.9%	29.4%
粘土	36.2%	25.9%	22.9%	28.9%
有機炭素含有率	2.83%	1.21%	4.19%	1.37%
pH (KCl)	5.7	6.5	6.9	5.2
陽イオン交換用量 (me/100g)	22.9	11.3	21.4	11.0
陰イオン交換用量 (me/100g)	1.5	1.6	3.2	1.6
リン酸吸収係数	920	390	2000	410
粘土鈹物の種類	アロフェン ハロサイト	クライトライト	アロフェン- パーミキュライト	カオリン鈹物 パーミキュライト
土壌水分量	5.8%	2.5%	18.8%	2.3%

*：(社)日本植物防疫協会試料番号

試験方法：

1) 吸着平衡時間の設定

予備平衡化した試料に初期水相中濃度として1 μ g/mlの被検物質を施用後、25 $^{\circ}$ Cに設定した恒温振とう機で振とうし、4、8および16時間後に試料を採取し、各時点における上澄液中の被検物質濃度を測定し、吸着平衡時間を定めた。

2) 吸着試験

予備平衡化した試料に初期水相中濃度として0.05、0.5、1.0および5.0 μ g/mlの被検物質を施用後、25 $^{\circ}$ Cに設定した恒温振とう機で16時間振とうした。

上澄液中の被検物質濃度を測定し、Freundlichの吸着定数(K_F)等のパラメーターを求めた。

次いで、吸着平衡時における、吸着係数(K_d (eq))、有機炭素含有率により補正した吸着係数(K_{oc} (eq))を算出した。

分析方法；

上澄液画分

試料を0.1% 9-フルオレニルメチルクロホルムを用いて蛍光誘導化した後、HPLCで定量した。

土壌画分

0.2Nアンモニア水で抽出、抽出液を0.1% 9-フルオレニルメチルクロホルムを用いて蛍光誘導化した後、HPLCで定量した。

結果

1) 吸着平衡時間

連続する2時点の濃度差が10%以内となることを考慮し、各土壌における吸着平衡時間をNo. 5ならびに8で8時間、No. 14ならびに16で16時間とした。吸着平衡時の土壌特性パラメーターを下記に示した。

土壌 No.	振とう時間	吸着率 (%)	変化率 (%)
5	8	84.9	7.1
8	8	25.3	8.4
14	16	94.5	10.5
16	16	46.1	5.9

2) 吸着試験

各土壌において得られたFreundlichの吸着等温式の相関係数(γ^2)はいずれも0.98以上と有意な直線性が認められ、グルホシネートの土壌に対する吸着性はFreundlichの吸着等温式に従うと判断された。

Freundlichの吸着等温式から得られたパラメーターを下記に示した。

有機炭素含有率とFreundlichの吸着係数(K_F)の相関係数は0.998であり、有意な相関関係が認められた。またリン酸吸収係数とも高い相関性が認められた($\gamma^2=0.928$)。

Freundlichの吸着係数					
土壌 No.	1/n	K_F	γ^2	有機炭素含有率 OC(%)	K_{Foc}
5	0.906	20.274	0.99672	2.83	716
8	0.647	1.701	0.98575	1.21	141
14	0.972	33.031	0.99847	4.19	788
16	0.758	2.590	0.99707	1.37	102

3) 物質収支

各土壌において物質収支は89.2~102.1%と良好であった。

以上、グルホシネートの土壌吸着性については K_{Foc} が102~788であり、有機炭素含有率の高い土壌もしくはリン酸吸収係数の高い土壌に強く吸着されると考えられる。

代謝のまとめ

[動物体内運命試験]

— グルホシネート —

¹⁴C 標識グルホシネートを用いて、ラット、イヌ及び泌乳ヤギにおける動物体内運命試験を実施した。

吸収

グルホシネートは水溶性化合物であるが、経口投与された場合の消化管からの吸収率は低かった。しかしながら血中濃度のTmaxは数時間と短く、吸収速度は速かった。したがってグルホシネートの体内への吸収は、主に消化管上部で起こるものと考えられる。

分布

体内に吸収された放射能は、経口投与及び静脈内投与群ともに吸収放射能の主排泄器官である腎臓において最も高濃度の放射能が認められた。次いで肝臓、脾臓及び雄の生殖腺で他の臓器・組織と比較し高い放射能が認められた。

臓器・組織中の放射能は総じて経時的に減少し、良好なクリアランスが認められた。

血中放射能は投与経路に関係なくピークを迎えた後速やかに減衰した。T1/2は数時間であり、血中放射能のクリアランスは非常に良好であった。また反復投与群において、血中濃度の経時的な上昇は認められなかった。

代謝

動物体内におけるグルホシネートの重要な一次代謝は、

が生成される。はさらにに、引き続くへと代謝された。

また一方で、グルホシネートはへも代謝された。

また、経口投与群の糞中においてグルホシネートのが認められたが、静脈内投与群において全く認められていないことから、腸内細菌によって生成されたものと考えられた。

なお、グルホシネートのであり、ここでは代謝物記号を与えなかった。

排泄

投与放射能の排泄は速やかであり、主排泄経路は経口投与群では糞中、静脈内投与群では尿中であった。排泄物中の放射能の大部分は未変化のグルホシネートであった。

静脈内投与群における糞中排泄割合が低かったことから、胆汁排泄による消化管への排泄は少ないと考えられた。

— N-アセチルグルホシネート (Hoe 099730) —

¹⁴C 標識Hoe 099730を用いて、ラットにおける動物体内運命試験を実施した。

吸収

Hoe 099730は、経口投与された場合の消化管からの吸収率は非常に低かった。しかしながら血中濃度のTmaxは約1時間と短く、吸収速度は速かった。

したがってグルホシネート同様、Hoe 099730の体内への吸収は、主に消化管上部で起こるものと考えられる。

分布

体内に吸収された放射能は、経口投与及び静脈内投与群ともに吸収放射能の主排泄器官で

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

ある腎臓において最も高濃度の放射能が認められた。次いで肝臓、脾臓、肺及び雄の生殖腺で他の臓器・組織と比較し高い放射能が認められた。

臓器・組織中の放射能は総じて経時的に減少し、良好なクリアランスが認められた。

血中放射能は投与経路に関係なくピークを迎えた後速やかに減衰した。T1/2は1時間未満であり、血中放射能のクリアランスは非常に良好であった。

代謝

動物体内におけるHoe 099730の重要な一次代謝は、の
生成である。

へと代謝される。

へと代謝された。

また一方で、

へも代謝された。

排泄

投与放射能の排泄は速やかであり、主排泄経路は経口投与群では糞中、静脈内投与群では尿中であつた。排泄物中の放射能の大部分は未変化のHoe 099730であつた。静脈内投与群における糞中排泄割合が極めて低かつたことから、胆汁排泄による消化管への排泄は少ないと考えられた。

—Hoe 061517—

¹⁴C標識Hoe 061517を用いて、ラットにおける動物体内運命試験を実施した。

吸収

Hoe 061517はグルホシネートと違い、経口投与された大部分が消化管から吸収された。経口投与群と静脈内投与群における尿中排泄割合が全く同じであつたことから、吸収率はほぼ100%に近いものと推測された。

排泄

投与放射能の排泄は速やかであり、主排泄経路は経口投与群、静脈内投与群ともに尿中であつた。静脈内投与群における糞中排泄割合が極めて低かつたことから、胆汁排泄による消化管への排泄は少ないと考えられた。

[植物体内運命試験]

¹⁴C標識グルホシネートを用いて、非組み替え作物及びグルホシネート耐性遺伝子組み替え作物における植物体内運命試験を実施した。

—非組み替え作物—

分布

グルホシネートは非選択性除草剤であり茎葉処理が出来ないため、土壌(稲は田面水処理)もしくは水耕水処理した。処理放射能はいずれの植物体においても吸収され、植物全体に分布した。

代謝

主代謝物は動物同様であり、りんご、レタス及びとうもろこしにおいては
唯一の代謝物であつた。稲においては、はさらに
へ、また
への代謝が
認められた。

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

なお、グルホシネートは土壌処理効果が全くないため、植物体による根からの吸収は極めて少ないと考えられており、これらの試験で供試植物に認められた放射能は、土壌中での代謝分解物が吸収され植物体中に分布したものと考えられる。

— 遺伝子組み替え作物 —

分布

茎葉処理された放射能はいずれの植物体においても吸収され、植物全体に分布した。

代謝

グルホシネート耐性遺伝子組み替え作物は、グルホシネートを することにより無毒化するために

。したがって主代謝物は であった。
また一方で非組み替え作物同様の代謝経路も確認され、非組み替え作物の主代謝物である、さらに が認められた。またとうもろこしではも僅かではあるが種子中にのみ認められた。

[土壌中運命試験]

^{14}C 標識グルホシネートを用いて、土壌中運命試験を実施した。試験条件は好氣的湛水及び好氣的の2条件である。

好氣的湛水条件

グルホシネートは好氣的湛水条件下で比較的速やかに分解し、 DT_{50} はシト質埴壤土で約50日、壤質砂土で約32にちであった。

主代謝物は、動物及び植物と同様で であった。

に、引き続き へと分解された。

また $^{14}\text{C O}_2$ も認められたことから、土壌中では最終的には無機化されるものと考えられる。

好氣条件

グルホシネートは好氣条件下で比較的速やかに分解し、 DT_{50} は壤質砂土及び砂壤土の両土壌ともで35日未満であった。

主代謝物は好氣的湛水試験同様 であった。他には壤質砂土にのみ代謝物が認められたが生成量が少なく同定には至らなかった。

また $^{14}\text{C O}_2$ も認められたことから、土壌中では最終的には無機化されるものと考えられる。

[水中運命試験]

^{14}C 標識グルホシネートを用いて、水中運命試験を実施した。

加水分解

グルホシネートはpH5, 7, 9いずれの緩衝液中においても非常に安定であり有意な分解は認められなかった。

水中光分解（緩衝液）

グルホシネートはpH5, 7, 9いずれの緩衝液中においても光に対して非常に安定であった。光照射区において極僅かの $^{14}\text{C O}_2$ が認められたが、半減期を算出できる有意な分解ではなかった。

水中光分解（自然水）

自然水中においては、グルホシネートは僅かに分解したが、118時間の光照射後であっても処理放射能の約90%が未変化グルホシネートであった。計算上半減期はSUNTEST時間で95日であり、これは北緯35°における春期太陽光日数に換算して1187日に相当した。

計算上半減期は算出されたが、3年以上であり、自然水中においてもグルホシネートは光に対して安定であった。なお、暗対照区においては有意な分解は認められなかった。

自然水中での主要分解物は であった。また $^{14}\text{C O}_2$ 及びその他の揮発性分解物も僅かに認められた。

[土壌吸着試験]

3種の非火山灰土壌(シルト質壤土、シルト質埴壤土及び軽埴土)および1種の火山灰土壌(シルト質壤土)を用いて土壌吸着試験を行った。吸着平衡時の吸着率は25~94%、Freundlichの吸着等温式による吸着係数(K_F)は1.7~33.0、有機炭素含有率による補正值(K_{Foc})は102~788であった。

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

		A グロブネット										抽出	合計	
動物体内運命試験	低用量 (10mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~120 時間]	雄	尿	8.5									10.0	
		雌	糞	74.0									82.4	
		合計		82.5									92.4	
	高用量 (800mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~24 時間]	雄	尿	2.8									3.2	
		雌	糞	20.6							0.8		21.4	
		合計		23.4							0.8		24.6	
	高用量 (100mg/kg) 反復経口投与 [最終投与 24 時間後] (調剤は 24 時間後の屠殺時)	雄	尿	2.6									3.5	
			糞	22.8							1.1		23.9	
		雌	合計		25.4							1.1		27.4
			尿	2.7										3.5
			糞	89.8							4.4			99.7
	低用量 (2mg/kg) 単回経口投与 (非標識体 14 日間反復投与後) [投与後 0~48 時間]	雄	肝臓	0.010									0.024	
			腎臓	0.002							0.002		0.005	
		雌	脾臓	0.0006							0.0002		0.0010	
			脳	0.0004							0.0002		0.0008	
			合計		92.5						4.4		103.2	
	低用量 (2mg/kg) 単回経口投与 (非標識体 14 日間反復投与後) [投与後 0~48 時間]	雄	尿	3.7									4.9	
			糞	65.4							5.1		82.7	
		雌	合計		69.1						5.1		97.6	
			尿	4.6									4.6	
糞			60.8							5.8		80.4		
低用量 (2mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~24 時間]	雄	合計		65.4								85.0		
		尿	6.0									6.0		
	雌	糞	75.9							12.3		88.2		
		合計		81.9						12.3		94.2		
		尿	6.1									6.1		
低用量 (2mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~48 時間]	雄	糞	71.1							9.4		80.5		
		合計		77.2						9.4		86.6		
	雌	尿	4.7									9.2		
		糞	75.3									88.1		
		合計		80.0								97.3		
低用量 (2mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~48 時間]	雄	尿	4.3									8.4		
		糞	68.5									82.2		
	合計		72.8									90.6		

数値は臓器を除いて小数点第2位で四捨五入。空欄は検出されず。カッコは不純物由来 (但し合計に含めた)。

代謝の概要 2

動物体内運命試験	ラット	雄	高用量 (500mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~96 時間後]		中間用量 (20mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~24 時間] (臓器は 24 時間後の屠殺時)		低用量 (2mg/kg) 単回静脈内投与 [投与後 0~24 時間] (臓器は 24 時間後の屠殺時)		イヌ	雄	低用量 (8mg/kg) 単回経口投与 [投与後 0~24 時間]		雌	合計
			尿	糞	合計	尿	糞	合計			尿	糞		
			5.9		3.3									7.3
			72.1		86.7									74.5
			78.0		0.1									81.8
			4.3		0.2									5.0
			84.0		90.3									86.5
			88.3											91.5
			3.3		68.1									4.4
			86.7		2.0									91.1
			0.1		0.5									0.1
			0.2		0.9									0.2
			90.3		71.5									95.8
			68.1		8.5									78.0
			2.0		59.6									2.4
			0.5		68.1									0.5
			0.9		8.0									1.1
			0.0		63.9									0.0
			71.5		71.9									82.0
			8.5											9.7
			59.6											81.7
			68.1											91.4
			8.0											9.2
			63.9											81.6
			71.9											90.8

数値は臓器を除いて小数点第2位で四捨五入。空欄は検出されず。カッコは不純物由来（但し合計に含めた）。

代謝の概要 3

動物体内運命試験	A		抽出残渣	合計
	グムベネート			
ラット	雄	尿		5.1
		糞	10.4	82.9
		合計	10.4	87.4
	雌	尿	0.1	8.7
		糞	9.3	81.2
		合計	9.4	89.3
	雄	尿		7.5
		糞	0.9	86.5
		合計	0.9	94.0
	雌	尿	1.2	6.6
		糞	1.2	90.2
		合計	0.0	96.8
雄	尿	0.0	2.1	
	糞	5.2	88.3	
	腎臓	0.018	0.020	
	肝臓		0.027	
	合計	5.2	88.8	
	尿		85.8	
雄	糞	0.1	1.8	
	腎臓	0.064	0.070	
	肝臓	0.013	0.139	
	合計	0.2	86.8	

数値は臓器を除いて小数点第2位で四捨五入。空欄は検出されず。カッコは不純物由来（但し合計に含めた）。

代謝の概要 4

植物体内運命試験	A	グ°ホシネート	抽出		合計
			抽出	残渣	
レタス (水耕液処理：0.45mg/ml) とうもろこし (土壌表面散布：1.9kg/ha) 稲 (湛水処理：1.0kg/ha)	茎葉部	%TRR		10	100
		µg/g		0.08	0.85
	飼葉部	%TRR		43.4	98.6
		µg/g		0.05	0.12
	稲わら	%TRR		8.4	98.8
		µg/g		0.16	1.85
	もみ殻	%TRR		7.8	99.8
		µg/g		0.31	3.96
	玄米	%TRR		3.1	95.3
		µg/g		0.02	0.45
グルホシネート耐性だいず (遺伝子組み替え体) (茎葉処理：0.45lb/エーカー)	茎葉部	%TRR	18.5	6.0	97.0
		µg/g	0.575	0.187	3.016
	莢	%TRR	5.8	3.8	97.4
		µg/g	0.287	0.188	4.807
	種子	%TRR	6.2		90.1
		µg/g	0.091		1.318
グルホシネート耐性てんさい (遺伝子組み替え体) (茎葉処理：600g/ha)	茎葉部	%TRR	24.0		93.6
		µg/g	0.49		1.92
	根部	%TRR	19.1		93.0
		µg/g	0.18		0.86
	茎葉部	%TRR	9.9	9.4	87.5
グルホシネート耐性とうもろこし (遺伝子組み替え体) (茎葉処理：0.45lb/エーカー)	茎葉部	%TRR	0.200	0.189	1.769
		µg/g	1.5	22.1	79.6
	種子	%TRR	0.002	0.029	0.105
		µg/g	2.6	11.1	89.9
	穂軸	%TRR	0.006	0.028	0.209
		µg/g	2.1	8.0	81.1
	皮	%TRR	0.018	0.070	0.712
グルホシネート耐性なたね (遺伝子組み替え体) (茎葉処理：750g/ha)	莢	%TRR		9.8	68.0
		µg/g		0.003	0.020
	種子	%TRR	20	31.1	65.1
		µg/g	0.008	0.012	0.026

空欄は検出されず。

代謝の概要 5

土壤中運命試験	好氣的灌水条件 (8.3ppm : 2kg/ha 相当)	シルト質植 壤土	0日後 4日後 8日後 16日後 32日後 64日後 94日後	A グロブネット	抽出 残渣	合計		
							好氣的条件 (968g/10a 相当)	壤質砂土
水中運命試験	好氣的条件 (968g/10a 相当)	壤質砂土	0日後 4日後 8日後 16日後 32日後 64日後 94日後	95.2 95.5 88.9 42.2 59.2 43.4 27.2 99.3 100.4 93.2 71.3 59.8 23.2 22.7		95.2 95.6 93.6 46.8 79.5 84.6 69.2 99.3 101.8 101.9 101.1 102.3 97.5 84.8		
		砂礫土	35日後 35日後	45.7 28.0	13.2 9.2	89.0 91.2		
		pH5		98.4		98.4		
		pH7	30日後	100.4		100.4		
		pH9		103.0		103.0		
		加水分解 (0.24ppm)						
	光分解 (緩衝液: 1.5ppm)	光分解 (自然水: 1.5ppm)	pH5	192時間後	97.2		97.2	
			pH7	192時間後	99.4		99.5	
			pH9	216時間後	99.2		99.2	
				118時間後	91.9		96.3	

数値は小数点第2位で四捨五入。空欄は検出されず。

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

グルホシネートの推定代謝分解経路