

## IX. 動植物及び上壤等における代謝分解

### <代謝分解試験一覧表>

資料番号	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
—	代謝分解物一覧表					
運命 1 [GLP]	動物体内 運命試験 (吸収, 分布, 代謝, 排泄)  (予備試験の 結果から, Bz 標 識体と Pm 標識 体のラットに おける排泄, 組 織分布及び薬 物動態に本質 的な差はない ものと考えら れたことから, これらの試験 は Bz 標識体 を用いて主試験 を実施した.)	ラット	ベンゼン環 <sup>14</sup> C 及びピリ ミジン環 <sup>14</sup> C 標識体 単回強制経口投与 低用量 5 mg/kg 高用量 300 mg/kg  吸収 (薬物動態): 血液・血漿中濃度推移 を測定した (雄雌各 n=4).  吸収/胆汁排泄: 胆管カニューレーショ ンしたラットで 48 時間の 胆汁, 糞尿への排泄量 を測定 (雄雌各 n=3).  分布: 120 時間の組織分布を 調査した (雄雌各 n=3)	血漿中濃度 (Bz 標識体):  Cmax (µg/g) Tmax (hr) 低用量 雄 11.1 雌 12.4 雌雄 0.25 高用量 雄 516 雌 597 雌雄 1  全血中濃度 (Bz 標識体):  Cmax (µg/g) Tmax (hr) 低用量 雄 5.30 雌 6.38 雌雄 0.25 高用量 雄 319 雌 393 雌雄 1  血中濃度は雌雄, 標識体間に差が ない. 薬物動態パラメータは高用量 でクリアランスが減少することを示 唆した. 血漿中の半減期は高用量の 方が長い (t <sub>1/2</sub> : 高用量 16-32hr, 低用 量 6-21hr). 血漿中にはほとんど分布 しない.  胆汁排泄率:  低用量 高用量 胆汁 31.0-47.0% 31.6 39.4% 尿 42.6 57.3% 46.8-48.5% 糞 2.5- 4.3% 4.4- 5.5% 吸収率 89.3-91.4% 82.1 86.6% 吸収は速やかで標識体, 雌雄, 用量 間に差がない. 投与量に対する胆汁 排泄率が比較的高く, その割合は雄 が雌よりも高い.  臓器, 組織の分布は速やか. 肝臓, 腎 臓, 腸管が高濃度. 組織内半減期は 用量間に差がなく 3-4 時間. 胃腸管 で半減期が長い (4-12 時間). 概して 組織の排泄半減期は血漿の値とほぼ 同等. 組織での放射能の蓄積は低い.	(2005)	272

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

資料番号	試験の種類	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
運命-1 [GLP]	動物体内 運命試験 (吸収, 分布, 代謝, 排泄)	ラット	代謝: 0-48 時間までの糞尿, 0-24 時間までの胆汁, C <sub>max</sub> 時点の肝臓, 腎臓, 小腸, 血漿の代謝物を HPLC 及び TLC で分析. ま た参照物質と一致した 代謝物について LC/MS に よる確認同定を行った.  排泄: 120 時間の糞尿排泄量を 測定した. (雄雌各 n=4)	全体的に代謝は標識体間に差がない. が尿, 糞, 胆汁中の主代謝 物であった. Bz 標識体投与では が糞中の主代謝物であるが Pm 標識 体では相当する単一の代謝物は検 出されない. 胆汁中では が主代謝物であ った. 他に  が検出 された. 未変化の KIH-5996 は排泄 物には極少量検出されたのみであ るが組織内 (血漿, 肝臓, 腎臓, 小 腸) では主たる成分であった.  120 時間後の総回収率は 95.8 - 98.9%. 低用量 糞 50-51% 尿 44-45% 高用量 糞 37-42% 尿 49-52% 呼気排泄なし. 投与量の 88%以上が 72 時間以内に排泄された. 標識体間 に差はなし.	(2005)	272

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

資料 番号	試験の種類	供試動 植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
運命-2 [G.I.P.]	植物体内 運命試験	水稻	ベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体 0.67%模擬製剤を 1 kg/10a 相当量 (67 g ai/ha) で、イネ移植後 3 日に満水散布、中間採取 (処理 56 日後) 及び登 熟期 (処理 116 日後) に おける残留物の定量及 び代謝物の同定/特徴 付けを行った。分析は HPLC 法及び TLC 法で行っ た。	<u><sup>14</sup>C の残留量 (mg eq/kg)</u> 中間採取 登熟期 玄米 na 0.0101 籾 na 0.0262 茎葉部/稲わら 0.0573 0.124 根部 0.883 0.554  <u>植物体中の代謝物 (mg eq/kg)</u> [登熟期] 玄米 稲わら 抽出液全体 0.0026 0.0837 水画分 0.0003 0.0284 キシリ/酢酸 0.0004 0.0158 親 na 0.0009  メタノール 0.0017 0.0357  残渣 0.0075 0.0397 [na 放射エネルギーが少なかったことか ら分析せず] 玄米中残渣及び稲葉中残渣の <sup>14</sup> C は デンプン、タンパク質、植物体構成 成分等に取り込まれているものと 推定された。	(2005)	308

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

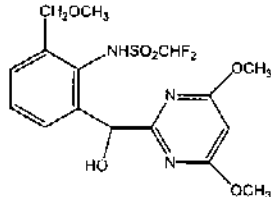
資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
運命-3 (GLP)	植物体内 運命試験	水稲	グリミジン環 $^{14}\text{C}$ 標識体 0.67% 模擬製剤を 1 kg/10a 相当量 (67 g ai/ha) で、処理区 1 で はイネ移植後 3 日及び 31 日の 2 回、処理区 2 では 移植後 3 日に 1 回、灌水 散布、中間採取 (1 回目 処理 56 日後) 及び登熟 期 (1 回目処理 112 日後) における残留物の定量 及び代謝物の同定/特 徴付けを行った。分析は HPLC 法及び TLC 法で行っ た。	$^{14}\text{C}$ の残留量 (mg eq/kg) [登熟期] 処理区 1 処理区 2 玄米 0.0326 0.0177 籾 0.0638 0.0214 茎葉部/稲わら 0.145 0.0589 根部 1.24 0.319  玄米中の代謝物 (mg eq/kg) [玄米] 処理区 1 処理区 2 抽出液全体 0.0066 0.0014 水面分 0.0021 0.0006 ヘキサン/酢酸 メタノール 0.0008 0.0001 0.0035 0.0006  残渣 0.0260 0.0163 [na 分析せず] 玄米中残渣及び稲藁中残渣の $^{14}\text{C}$ は デンプン、タンパク質、植物体構成 成分等に取り込まれているものと 推定された。	(2005)	321
運命 4 (GLP)	好氣的湛水上 壤中運命試験	国内 土壌	ベンゼン環 $^{14}\text{C}$ 及びピリ ミジン環 $^{14}\text{C}$ 標識体 水田土壌を用い田面水 に目標濃度 200 ppm (最 大施用量の 3 倍) で処理 し、25°C で 168 日間イン キュベートした。分析は HPLC 法及び TLC 法で行っ た。	$\text{DT}_{50}$ $\text{DT}_{90}$ Bz 標識体 12 日 150 日 Pm 標識体 13 日 180 日 親は処理後急速に減少し 28 日まで に 26% まで減衰したがその後の減衰 は緩やかで 2 相性を示した。 $^{14}\text{CO}_2$ は 168 日後で 0.5-1.2%。時間の経過 とともに土壌残渣中の $^{14}\text{C}$ が増加し た。標識体による差はなし。 土代謝物は を同 定。	(2005)	336
除外	好氣的土壌中 運命試験	水田にのみ適用のある農薬であり、かつ好氣的湛水土壌中運命試験における 50% 消失期 間 ( $\text{DT}_{50}$ ) が 100 日以下であることから試験を省略した。				346
除外	嫌氣的土壌中 運命試験	水田にのみ適用のある農薬であるため試験を省略した。				347

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

資料番号	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	頁
除外	加水分解 運命試験					348
			加水分解性試験の結果より、ピリミルスルフェンは加水分解性が無いと考えられたため試験を省略した。[加水分解性試験 (物化-13の概要を記載)]			
運命-5 [GLP]	水中光分解 運命試験	緩衝液 田面水	ピリミジン環 <sup>14</sup> C 標識体 pH7 のりん酸緩衝液及び 滅菌田面水を用い 5 mg/L の濃度で 21 日間キセノ ン光を照射。分析は HPLC 法、LC/MS 法で行った。	推定半減期(北緯 35°C 太陽光換算) 緩衝液 209 日 田面水 45 日 主代謝物は を同定。	(2005)	350
物化 -12 [GLP]	土壌吸着性 試験	埼玉 栃木 茨城 福島	ベンゼン環 <sup>14</sup> C 標識体 土壌 5 g に濃度 0.05, 0.2, 1, 2.5, 5 µg/ml の 0.01M CaCl <sub>2</sub> 溶液を添加 (土壌/溶液比: 1/2, 茨 城は 1/1)。25°C, 暗所で 48 時間まで振とう, 遠心 分離し上澄みの放射能 量を測定。	土性 K <sub>d</sub> <sup>oc</sup> 値 K <sub>f</sub> <sup>oc</sup> 値 埼玉 L 1.08 1.19 栃木 L 0.888 1.13 茨城 L 1.82 2.34 福島 L 0.365 0.412  4 種土壌の K <sub>d</sub> <sup>oc</sup> = 29 K <sub>f</sub> <sup>oc</sup> = 38	(2003)	355
	代謝運命試験のまとめ					360

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
親化合物	ピリミスルファン KIH 5996 KUH-021	(RS) 2'-[(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl) (hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6' (methoxymethyl)methanesulfonanilide	

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。


本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(1) 動物体内運命に関する試験

1) ピリミスルファンのラット体内における代謝試験

(資料 運命-1)

試験機関:

報告書作成年: 2005年 [GLP対応]

供試化合物: ピリミスルファン (KIH-5996)

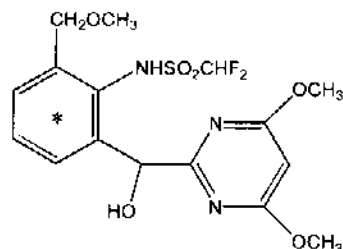
化学名: (RS)-2'-[(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)(hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6'-(methoxymethyl)methanesulfonanilide (IUPAC)

[申請者注: ピリミスルファンの IUPAC による化学名は (RS)-2'-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)hydroxymethyl-6'-methoxymethyl-1,1-difluoro-methanesulfonanilide の名称で ISO に申請し試験報告書ではこの名称で報告されているが, ISO により (RS)-2'-[(4,6-Dimethoxypyrimidin-2-yl)(hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6'-(methoxymethyl)methanesulfonanilide に変更された。本抄録では, ISO の命名による化学名で記載する.]

構造式及び標識位置:

[Phenyl-U-<sup>14</sup>C]KIH-5996

(Bz 標識体)



ロット番号:

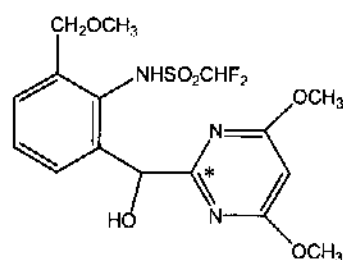
再精製後バッチ番号:

比放射能:

放射化学的純度: >

[Pyrimidine-2-<sup>14</sup>C]KIH-5996

(Pm 標識体)



ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度: >

標識位置の設定理由: ベンゼン環とピリミジン環の間, あるいはピリミジン環が開裂した場合でもそれぞれの代謝・分解物の挙動を把握するために, ベンゼン環あるいはピリミジン環の炭素を標識した。

供試動物: フィッシャー系ラット (F344/Ico) 8 - 10 週齢

体重: 雄 176 - 260 g, 雌 131 - 165 g (投与時)

試験方法及び結果:

投与方法: [<sup>14</sup>C]KIH-5996 を 0.5%CMC・1%Tween80 溶液に懸濁させ, 経口投与した。投与量は体重 kg 当り 5 mg 及び 300 mg とした。

投与経路及び投与量の設定根拠: ヒトが被験物質に暴露される経路として経口投与を選択



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

した。投与量は関連するガイドラインに示されている2用量レベルとし、観察される影響の見られる最低の用量 (LOAL) として 300 mg/kg を高用量に、及び無影響量 (NOEL) と予想される 5 mg/kg を低用量として選択した。計算上の比放射エネルギー及び投与液量は表1の通りである。

表1. 投与用量と比放射エネルギー及び投与液量

用量 (試験群)	計算上の比放射エネルギー ( $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ )	投与液量 ( $\text{ml}/\text{kg}$ )
低用量 (Groups 1, 2, 3, 5, 7, 9, 11)	20	5
高用量 (Groups 4, 6, 8, 10)	0.3	5

試験の構成:

試験は表2に示した試験項目及び試験群で実施した。

表2. 試験群の構成

試験群	試験項目	標識体	投与量 ( $\text{mg}/\text{kg}$ )	動物数	
				雄	雌
Group 1	排泄/バランス 予備試験	Bz- $^{14}\text{C}$	5	2	2
Group 2	同上	Pm- $^{14}\text{C}$	5	2	2
Group 3	排泄/組織分布 主試験	Bz- $^{14}\text{C}$	5	4	4
Group 4	同上	Bz- $^{14}\text{C}$	300	4	4
Group 5	胆汁排泄	Bz- $^{14}\text{C}$	5	3	3
Group 6	胆汁排泄	Bz- $^{14}\text{C}$	300	3	3
Group 7	血漿及び全血の薬物動態	Bz- $^{14}\text{C}$	5	16	16
Group 8	同上	Bz- $^{14}\text{C}$	300	16	16
Group 9	組織分布	Bz- $^{14}\text{C}$	5	9	9
Group 10	組織分布	Bz- $^{14}\text{C}$	300	9	9
Group 11	胆汁排泄	Pm- $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$	5	3	-
Group 12	代謝物の同定/特徴付け	Bz- $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$	300	2	-
Group 13	同上	Pm- $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$	300	2	-

1) 排泄/バランス予備試験 (Groups 1 and 2)

Bz 標識体及び Pm 標識体をそれぞれ 5 mg/kg の用量で、雄及び雌ラットに単回経口投与し、投与後 120 時間までに尿、糞及び呼気中に排泄される放射エネルギーを調べた (表3)。

試料の採取方法:

一夜絶食させたラットに単回経口投与し、個体別にケージ (Mctabowl®) に収容した。

尿 : 投与後, 0-6, 6-24, 24-48, 48-72, 72-96, 96-120 時間にドライアイスで冷却した受器に個体別に採取した。

糞 : 投与後 24 時間間隔で、ドライアイスで冷却した受器に個体別に採取した。

呼気 : 投与後 24 時間まで、2-エトキシエタノール: エタノールアミン (3/1, v/v)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

を入れた捕集管に捕集した。

屍体： ラットは投与 120 時間後に斃死させた。

放射能測定用試料の前処理法：

尿： 量の少ない試料は水で希釈した。

糞： アセトニトリルで抽出した後、アセトニトリル/水 (4/1, v/v) で 2 回抽出した。

糞抽出残渣の徹底的抽出： Group 1, 2, 3 については糞抽出残渣の残りをアセトニトリル/0.1 M HCl (4/1, v/v) で抽出し、糞の徹底抽出物として分析した。残渣は風乾後、燃焼/放射能測定を行った。

ケージ洗浄液： 解凍後、一部をそのまま測定した。

揮発性物質捕集液： 一部をそのまま測定した。

屍体： 屍体残渣部は、水酸化ナトリウム (80g/L) を含んだ水、メタノール及び Triton X-405 混合液 (6/3/1, v/v) で可溶化したのち、放射能測定を行った。

放射能測定：

試料中の放射能量は、液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。

表 3. Bz 標識体及び Pm 標識体の 5 mg/kg 投与による尿、糞及び呼気中排泄

投与量	Bz 標識体		Pm 標識体	
	5 mg/kg		5 mg/kg	
試料	雄	雌	雄	雌
尿 (hours)				
0 - 6	24.43	24.85	26.54	32.71
6 - 24	9.06	15.41	9.77	14.93
24 - 48	1.10	1.01	1.14	0.70
48 - 72	0.19	0.15	0.19	0.06
72 - 96	0.05	0.04	0.05	0.05
96 - 120	0.10	0.03	0.02	0.02
尿 Total	34.92	41.48	37.70	48.41
ケージ洗浄液	6.10	2.19	1.48	2.13
呼気 (0 - 24)	nd	nd	0.02	0.01
糞 (hours)				
0 - 24	51.08	26.04	42.70	32.94
24 - 48	4.65	21.85	14.72	13.95
48 - 72	0.48	3.49	0.95	0.92
72 - 96	0.12	0.47	0.10	0.07
96 - 120	0.11	0.08	0.04	0.02
糞 Total	56.43	51.92	58.51	47.89
屍体	0.19	0.05	0.14	0.10
総回収率	97.63	95.63	97.83	98.56

表中の数値は処理放射能量に対する%で示した。 nd 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

Bz 標識体では、尿中排泄量（ケージ洗浄液を含む）及び糞中排泄量は、それぞれ投与量の 41.0 - 43.7 % 及び 51.9 - 56.4 % であった。排泄は雄雌ともに大部分が 0 - 48 時間内に起き、その量は投与量の 89.2 - 90.3 % であった。0 - 24 時間内に揮発性物質として排泄された割合は検出下限未満であった。薬物投与 120 時間後に屍体に残存する割合は投与量の 0.2 % 未満であった。全体の回収率は投与量の 95.6 - 97.6 % であった。

Pm 標識体では、尿中排泄量は、雄及び雌ラットでそれぞれ投与量の 39.2 % 及び 50.6 % であった。糞中排泄量は雄では投与量の 58.5 %、雌では 47.9 % であった。排泄は大部分が 0 - 48 時間内に起き、その量は投与量の 94.9 - 95.2 % であった。揮発性物質として排泄された割合は投与量の 0.01 - 0.02 % であった。屍体に残存する割合は投与量の 0.2 % 未満であった。全体の回収率は投与量の 97.8 - 98.6 % であった。

以上の結果から、Bz 標識体と Pm 標識体のラットにおける排泄、組織分布及び薬物動態に本質的な差はないものと考えられたことから、これらの試験は Bz 標識体を用いて主試験を実施した。また、いずれの標識体を用いた試験においても揮発性物質として排泄された割合は非常に低かったことから、Bz 標識体投与による排泄/バランスの主試験 (Groups 3 及び 4) では、呼気のモニターは行わなかった。

## 2) 排泄 (Groups 3 and 4)

ラット雄雌各 4 頭に 5 mg/kg または 300 µg/kg の用量で単回経口投与した。尿は投与後 0 - 6, 6 - 24 時間、その後は 24 時間間隔で 120 時間まで個体ごとに採集した。糞は 24 時間間隔で投与後 120 時間まで個体ごとに採集した (表 4)。予備試験において揮発性物質として排泄された割合が検出下限を下回ったことから呼気中の放射能量の測定は実施しなかった。

試料の採取方法、前処理方法及び放射能の測定方法は、1) 排泄/バランス予備試験と同様に行った。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグミアイ化学工業株式会社にある。

表 4. Bz 標識体を単回投与したラットの尿, 糞中排泄 (Group 3, 4)

投与量	Bz 標識体			
	5 mg/kg		300 mg/kg	
試料	雄	雌	雄	雌
尿 (hours)				
0 - 6	38.0	40.1	14.6	15.0
6 - 24	4.7	4.2	32.5	32.9
24 - 48	1.0	0.5	1.4	3.0
48 - 72	0.1	0.3	0.4	0.4
72 - 96	0.1	0.1	0.2	0.2
96 - 120	0.1	0.1	0.1	0.1
尿 Total	43.9	45.1	49.1	51.5
ケージ洗浄液	3.2	2.8	4.5	8.1
糞 (hours)				
0 - 24	44.6	46.4	26.5	22.8
24 - 48	4.3	3.4	13.5	12.5
48 - 72	0.8	1.0	1.7	1.2
72 - 96	0.1	0.2	0.2	0.2
96 - 120	0.0	0.1	0.1	0.1
糞中 Total	49.8	51.0	42.1	36.9
屍体	0.0	0.0	0.1	0.2
総回収率	97.0	98.9	95.8	96.7

排泄量の累計 (尿+糞)

投与量	Bz 標識体			
	5 mg/kg		300 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
排泄量 (hours)				
0 - 24	87.3	90.7	73.6	70.7
0 - 48	92.6	94.5	88.5	86.2
0 - 72	93.5	95.8	90.6	87.8
0 - 96	93.6	96.0	91.1	88.2
0 - 120	93.7	96.1	91.2	88.4

表中の数値は処理放射エネルギーに対する%で示した。

大部分の放射能 (投与量の 88%以上) が 72 時間以内に尿及び糞中に排泄された。5 mg/kg 投与では 0 - 120 時間の尿中への排泄量は糞中よりもやや低かった (尿 44 - 45%dose ; 糞 50 - 51%dose)。300 mg/kg 投与では逆に 0 - 120 時間の尿中への排泄量が糞中のそれよりも高かった (尿 49 - 52%dose ; 糞 37 - 42%dose)。尿中の排泄量は雌が雄よりもやや高かった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 3) 吸収/胆汁排泄試験 (Groups 5, 6 and 11)

胆管カニューレションをしたラットを用い、胆汁及び糞尿への排泄を測定した (表 5)。胆管カニューレションを施したラット雄雌各 5 頭に Bz 標識体を 5 mg/kg または 300 mg/kg の用量で単回経口投与した。また胆管カニューレションを施した雄ラット 5 頭に Pm 標識体を 5 mg/kg の用量で単回経口投与した。胆汁は投与後 0 - 3, 3 - 6, 6 - 9, 9 - 12, 12 - 24 及び 24 - 48 時間に採取した。尿及び糞は投与後 0 - 24 及び 24 - 48 時間に採取した。48 時間後に、ラットを斃死させ、胃腸管、肝臓及び屍体を採取した。試料の分析は各群、性ごとに 3 頭について行い、2 頭の子備動物は分析に用いなかった。

放射能測定用試料の前処理法：

胆汁：量の少ない試料は水で希釈した。

肝臓：燃焼の後、放射能を測定した。

胃腸管：胃、胃内容物、大腸、大腸内容物、小腸及び小腸内容物に分け、燃焼/放射能測定を行った。

表 5. Bz 標識体及び Pm 標識体を単回投与した胆管カニューレ処置ラットの排泄 (Group 5, 6, 11)

投与量	Bz 標識体				Pm 標識体
	5 mg/kg		300 mg/kg		5 mg/kg
試料	雄	雌	雄	雌	雄
胆汁 (hours)					
0 - 3	35.5	24.1	9.1	6.3	36.2
3 - 6	5.1	5.7	11.4	6.3	8.6
6 - 9	2.2	0.9	11.0	1.5	1.9
9 - 12	1.0	0.1	5.9	5.5	0.2
12 - 24	0.3	0.1	1.8	8.3	0.1
24 - 48	0.1	0.0	0.2	0.7	0.1
胆汁 Total	44.2	31.0	39.4	31.6	47.0
尿 (hours)					
0 - 24	45.3	56.3	45.3	41.3	39.8
24 - 48	1.6	1.0	1.5	7.2	2.8
尿 Total	47.0	57.3	46.8	48.5	42.6
ケージ洗浄液	2.4	2.2	2.6	6.7	1.4
糞 (hours)					
0 - 24	1.3	1.4	3.9	2.5	2.6
24 - 48	1.4	1.0	1.6	1.9	1.7
糞 Total	2.7	2.5	5.5	4.4	4.3

表 5. ー続き

投与量	Bz 標識体				Pm 標識体
	5 mg/kg		300 mg/kg		5 mg/kg
試料	雄	雌	雄	雌	雄
肝臓	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
胃腸管及び その内容物	0.4	0.5	0.7	2.6	0.3
屍体	0.2	1.0	0.4	2.0	0.2
総回収率	96.9	94.3	95.3	95.1	95.8
吸収率 <sup>a</sup>	91.4	89.3	86.6	82.1	89.8

表中の数値は処理放射能量に対する%

<sup>a</sup> 胆汁, 尿, 肝臓及び屍体の合計

Bz 標識体を 5 mg/kg の薬量で単回経口投与した後, 胆汁中には 0 - 48 時間に投与量の 31.0 - 44.2 % が排泄された。胆汁中排泄は大部分が 0 - 12 時間に起き, その量は投与量の 30.8 - 43.9 % であった。0 - 48 時間の尿中排泄量は雄で投与量の 47.0 %, 雌で 57.3 % であった。0 - 48 時間の糞中排泄量は雄及び雌で, それぞれ投与量の 2.7 % 及び 2.5 % であった。全体の排泄は, 0 - 48 時間に投与量の 90 % を上回り, 速やかであった。全体の回収率は, 雄で投与量の 96.9 %, 雌で 94.4 % であった。

Bz 標識体を 300 mg/kg の薬量で単回経口投与した後, 胆汁中には 0 - 48 時間に投与量の 31.6 - 39.4 % が排泄された。胆汁中排泄は大部分が 0 - 24 時間に起き, その量は投与量の 30.9 - 39.1 % であった。0 - 48 時間の尿中排泄量は雄で投与量の 46.8 %, 雌で 48.5 % であった。0 - 48 時間の糞中排泄量は雄及び雌で, それぞれ投与量の 5.5 % 及び 4.4 % であった。全体の排泄は, 0 - 48 時間に投与量の 90 % を上回り, 速やかであった。全体の回収率は, 雄で投与量の 95.4 %, 雌で 95.1 % であった。

Pm 標識体を 5 mg/kg の薬量で雄に単回経口投与した後, 胆汁中には 0 - 48 時間に投与量の 47.0 % が排泄された。胆汁中排泄は大部分が 0 - 9 時間の間に起き, その量は投与量の 46.7 % であった。尿及び糞中排泄量は 0 - 48 時間内にそれぞれ投与量の 42.6 % 及び 4.3 % であった。全体の排泄は, 0 - 48 時間内に投与量の 90 % を上回り, 速やかであった。全体の回収率は 95.8 % であった。

単回経口投与した場合の吸収を, 胆汁, 尿, 肝臓及び屍体中の放射能量の合計で評価した。吸収はいずれの標識体・用量でも変わらず (5 mg/kg で 89 - 91% dose; 300 mg/kg で 82 - 87% dose) また雄雌にも差がなかった。また, 投与後 0 - 48 時間における胆汁中の投与量に対する放射能量の割合が比較的高かった (5 mg/kg で 31 - 47% dose; 300 mg/kg で 32 - 39% dose)。胆汁排泄は雄の方が雌よりも高かった。

以上のように, プリミルスルフェンの吸収は速やかで標識体, 雄雌及び用量間に差はなかった。投与量に対する 0 - 48 時間の胆汁中の量が比較的高かった。胆汁排泄率は雄が雌よりも高かった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

4) 血漿及び全血の薬物動態試験 (Groups 7 and 8)

ラット雄雌各 16 頭に Bz 標識体を 5 mg/kg または 300 mg/kg の用量で単回経口投与した。動物は雄雌各 4 頭の 4 小群に分けた。血液試料 (約 0.4 mL) を各小群から下記の時間に尾静脈から採取し、放射能濃度を測定した (表 6 及び 7)。

小群 1: 投与前, 2, 12, 96 時間

小群 2: 0.25, 3, 24, 120 時間

小群 3: 0.5, 4, 48 時間

小群 4: 1, 6, 72 時

全体: 投与前, 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 時間

放射能測定用試料の前処理法:

血漿はそのまま直接に、全血は燃焼の後、放射能を測定した。

表 6. Bz 標識体を単回投与した血漿中の放射能濃度 (Group 7, 8)

投与量	5 mg/kg		300 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
投与前	nd	nd	nd	nd
0.25	11.1	12.4	225	325
0.5	7.50	6.83	318	460
1	2.90	2.81	516	597
2	1.20	1.38	375	548
3	0.761	0.815	441	526
4	0.573	0.814	382	464
6	0.250	0.298	342	419
12	0.103	0.142	89.4	300
24	0.047	0.047	5.58	5.93
48	0.016	0.003	1.57	nd
72	0.013	nd	1.42	0.451
96	0.005	nd	1.03	0.278
120	nd	nd	0.500	nd

数値の単位は  $\mu\text{g equivalents/g}$

nd 検出せず

Bz 標識体を 5 mg/kg の用量で投与した後、血漿中の放射能濃度は、投与の 0.25 時間後に 11.1  $\mu\text{g eq./g}$  (雄) 及び 12.4  $\mu\text{g eq./g}$  (雌) とピークに達した。高用量の 300 mg/kg では血漿中の放射能濃度は投与 1 時間後に 516  $\mu\text{g eq./g}$  (雄) 及び 597  $\mu\text{g eq./g}$  (雌) とピークに達した (表 6)。

表 7. [Bz-<sup>14</sup>C]KIH-5996 を単回投与した全血中の放射能濃度 (Group 7, 8)

時 間 (時)	5 mg/kg		300 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
投与前	nd	nd	nd	nd
0.25	5.30	6.38	128	169
0.5	3.65	3.30	190	289
1	1.33	1.27	319	393
2	0.581	0.652	217	345
3	0.356	0.425	258	339
4	0.288	0.432	227	303
6	0.128	0.151	201	290
12	0.051	0.074	49.3	185
24	0.022	0.018	2.89	3.17
48	0.009	nd	1.14	0.680
72	nd	nd	0.990	nd
96	nd	nd	0.219	0.223
120	nd	nd	0.333	nd

数値の単位は  $\mu\text{g equivalents/g}$  として表示した。 nd 検出せず

全血中の放射能濃度は、低用量の 5 mg/kg では投与の 0.25 時間後に 5.30  $\mu\text{g eq./g}$  (雄) 及び 6.38  $\mu\text{g eq./g}$  (雌) とピークに達した。高用量の 300 mg/kg では全血中の放射能濃度は投与 1 時間後に 319  $\mu\text{g eq./g}$  (雄) 及び 393  $\mu\text{g eq./g}$  (雌) とピークに達した (表 7)。

表 8. Bz 標識体の単回投与による血漿及び全血における薬物動態パラメーター

基質	用量 (mg/kg)	性別	$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g eq./g}$ )	$T_{\text{max}}$ (hrs)	$AUC_t$ ( $\mu\text{g eq. h/g}$ )	AUC ( $\mu\text{g eq. h/g}$ )	$K_{01}$ ( $\text{hrs}^{-1}$ )	$\lambda_z$ ( $\text{hrs}^{-1}$ )	$t_{1/2}$ (hrs)
血漿	5	雄	11.1	0.25	14.1	14.3	12.63	0.0333	20.8
		雌	12.4	0.25	14.6	14.6	14.68	0.1085	6.4
	300	雄	516	1	4330	4350 <sup>a</sup>	1.051	0.0217 <sup>a</sup>	31.9 <sup>a</sup>
		雌	597	1	7040	7050	2.155	0.0441	15.7
全血	5	雄	5.30	0.25	6.54	6.72	27.58	0.0466	14.9
		雌	6.38	0.25	6.89	7.04	25.97	0.1181	5.9
	300	雄	319	1	2520	2530 <sup>a</sup>	0.9770	0.0249 <sup>a</sup>	27.9 <sup>a</sup>
		雌	393	1	4500	4500 <sup>a</sup>	0.8987	0.0349 <sup>a</sup>	19.9 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> 速度定数  $\lambda_z$  の推定値の標準誤差が大きいことから、近似的なものである

$C_{\text{max}}$ : 最大平均血中濃度,  $T_{\text{max}}$ : 最大血中濃度到達時間,  $AUC_t$ : 最終の測定可能な時点までの血中濃度-時間曲線下面積, AUC: 無限大時点の血中濃度-時間曲線下面積,  $K_{01}$ : 吸収速度定数,

$\lambda_z$ : 速度定数,  $t_{1/2}$ : 血中半減期

得られた薬物動態パラメーターを表 8 に示した。曝露の速さ及び程度を反映する、



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

血漿中放射能の  $C_{max}$  値及び  $AUC_t$  値は、用量レベル 5 mg/kg では雄雌で差がなかった。しかし、300 mg/kg では、雌の  $C_{max}$  及び  $AUC_t$  の数値が、雄に比べおよそ 1.2 及び 1.7 倍高かった。血漿での  $AUC_t$  値は投与量が増加するにつれ増加したが、用量増加に比例する割合よりも大きく、高用量でクリアランスが減少するものと考えられた。血漿中放射能の半減期  $t_{1/2}$  は、300 mg/kg (15.7 - 31.9 時間) が 5 mg/kg (6.4 - 20.8 時間) よりも長く、雌より雄で長かった。放射能は赤血球にはほとんど分布しなかった。

以上のように、血中濃度は標識体、雄雌、用量間に差がなかった。血漿中の  $C_{max}$  及び  $AUC_t$  値は低用量では雄雌で差がなかったが、高用量では雌が雄よりも高かった。血漿での  $AUC_t$  値は投与量の増加に比例するよりも大きく増加し、高用量でクリアランスが減少することを示唆した。血漿中の半減期は高用量の方が長く、最終的な半減期は雌が雄よりも長かった。放射能は血球中にはほとんど分布しなかった。

#### 5) 組織内の放射能分布 (Groups 3, 4, 9 and 10)

ラット雄雌各 9 頭に R<sub>z</sub> 標識体を 5 mg/kg もしくは 300 mg/kg の薬量で単回経口投与した。雄雌各 3 頭の動物よりなる群を血漿中  $T_{max}$  に基づく下記の時点、また、血漿中薬物動態試験から得た濃度に基づく別の 2 時点で斃死させた。

5 mg/kg: 0.25 時間, 0.75 時間ならびに 24 時間

300 mg/kg: 1 時間, 8 時間ならびに 24 時間

また、投与 120 時間後の組織試料を、2) 排泄/バランス試験の動物から採取した。

#### 試料の採取方法:

動物を麻酔し、心臓穿刺により血液試料を採取し、放射能及びヘマトクリット測定のために全血として一部を保管した。残りは遠心分離し血漿を分けた。表 9 に示した組織/器官を分析するため摘出した。

#### 放射能測定用試料の前処理法:

屍体: 1) 排泄/バランス予備試験と同様に行った。

組織・器官: 副腎、骨髄、甲状腺及び下垂体は全量分析をした。他の組織は均質化し、可溶化させた後、放射能を測定した。血漿はそのまま直接に、全血、胃腸管、胃腸管内容物、肝臓及び抽出後の組織残渣は、燃焼の後、放射能を測定した。

#### 血球中の放射能濃度の計算:

血球中の放射能濃度は以下の式を用いて計算した。

$$[Cb - Cp(1 - PCV)] / PCV$$

Cb 及び Cp はそれぞれ全血及び血漿中の放射能濃度、PCV はヘマトクリット値を示す。

#### 組織内放射能の排泄半減期の計算:

Groups 3, 4, 9 and 10 で得られた組織内濃度の平均値を用いて解析を行った。各々の排泄半減期は直線回帰分析により計算した。C<sub>max</sub> 値を最初として少なくとも 3 時点のデータを使用した。「検出下限未満」の数値は計算から除外した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグミアイ化学工業株式会社にある。

表 9. Bz 標識体 5 mg/kg 単回経口投与による器官・組織中放射能平均濃度

器官・組織中濃度 ([Bz- <sup>14</sup> C]KIH-5996 換算濃度: μg eq./g)								
投与量	5 mg/kg							
性別	雄				雌			
時間(hour)	0.25	0.75	24	120	0.25	0.75	24	120
副腎	3.23	1.10	0.003	nd	3.48	0.737	0.003	nd
骨	0.501	0.188	0.006	nd	0.829	0.445	nd	nd
骨髄	2.53	0.935	nd	nd	3.07	1.13	nd	nd
脳	0.896	0.243	nd	nd	0.834	0.158	nd	nd
眼	1.35	0.638	0.002	nd	1.26	0.477	nd	nd
脂肪	2.09	0.630	0.003	nd	2.03	0.407	nd	nd
心臓	3.91	1.52	0.006	nd	3.96	1.26	0.010	nd
腎臓	21.1	9.66	0.064	0.012	17.0	5.10	0.039	0.008
大腸	6.49	13.3	3.74	0.008	9.24	16.9	3.01	0.009
大腸内容物 <sup>a</sup>	2.99	8.48	4.51	0.010	4.48	9.36	3.26	0.011
肝臓	31.0	16.9	0.052	0.012	41.3	15.3	0.038	0.008
肺	4.19	1.74	0.010	nd	4.69	1.42	0.015	nd
筋肉	1.43	0.476	nd	nd	1.41	0.688	nd	nd
卵巣	ns	ns	ns	ns	4.52	1.47	0.016	nd
脾臓	2.64	1.06	0.009	nd	2.96	1.87	0.006	nd
下垂体	2.11	0.774	nd	nd	2.30	0.649	nd	nd
前立腺	2.23	2.27	0.029	nd	ns	ns	ns	ns
屍体残液	2.37	1.27	0.076	0.002	2.17	1.30	0.095	0.003
皮膚	3.27	1.37	0.013	nd	2.93	1.00	0.013	nd
小腸	20.4	45.7	1.08	0.003	20.5	38.0	0.888	0.003
小腸内容物 <sup>a</sup>	25.3	50.1	1.25	0.002	21.3	40.0	0.921	0.002
脾臓	1.99	0.720	nd	0.002	1.95	0.552	0.003	0.003
胃	46.6	19.2	0.829	nd	40.8	20.7	0.668	nd
胃内容物 <sup>a</sup>	111	11.2	0.153	nd	23.9	9.09	0.124	nd
精巣	1.32	0.822	0.007	0.001	ns	ns	ns	ns
胸腺	2.35	0.944	0.006	nd	2.50	0.698	nd	nd
甲状腺	4.18	1.40	nd	nd	3.67	1.39	0.016	nd
子宮	ns	ns	ns	ns	5.38	1.54	0.021	nd
全血	7.20	3.15	0.025	0.004	7.87	2.68	0.027	nd
赤血球 <sup>b</sup>	0.060	nd	0.003	0.003	nd	nd	nd	nd
血漿	12.7	5.72	0.041	0.006	13.6	4.77	0.047	nd

nd 検出せず, ns 試料なし

<sup>a</sup> 内容物の値は、水洗の後の測定値であることから参考値

<sup>b</sup> 血球中濃度はヘマトクリット値からの計算値

[申請者註: 器官・組織の記載順は英語表記のアルファベット順]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグマイ化学工業株式会社にある。

表 10. Bz 標識体 300 mg/kg 単回経口投与による器官・組織中放射能平均濃度

投与量	器官・組織中濃度 ([Bz- <sup>14</sup> C]KIII-5996 換算濃度; μg eq./g)							
	300 mg/kg							
	性別	雄				雌		
時間 (hour)	1	8	24	120	1	8	24	120
副腎	132	63.1	1.19	nd	177	152	0.886	nd
骨	16.4	11.1	0.350	nd	20.6	10.4	0.330	nd
骨髓	123	56.8	0.483	nd	141	88.4	1.96	nd
脳	53.8	17.9	nd	nd	76.2	47.7	nd	nd
眼	73.5	38.9	1.19	nd	103	91.6	2.00	nd
脂肪	87.1	27.1	1.18	nd	107	71.8	0.625	nd
心臓	120	70.4	1.41	nd	157	141	1.17	nd
腎臓	188	96.2	4.07	0.545	202	187	4.00	0.345
大腸	201	1050	422	0.660	227	841	280	0.702
大腸内容物 <sup>a</sup>	93.4	1410	479	0.896	262	836	363	0.920
肝臓	240	140	6.27	0.918	264	223	2.89	0.362
肺	253	73.2	1.73	0.261	193	173	1.96	0.095
筋肉	67.2	30.4	0.507	nd	89.9	68.5	0.417	0.105
卵巣	ns	ns	ns	ns	189	149	2.06	nd
脾臓	124	57.1	0.987	nd	143	106	0.918	nd
下垂体	114	59.4	nd	nd	154	121	nd	nd
前立腺	308	140	3.34	nd	ns	ns	ns	ns
屍体残渣	86.6	48.5	6.04	0.262	112	78.1	9.56	0.801
皮膚	113	56.2	2.09	0.219	147	116	2.14	0.152
小腸	521	377	91.3	0.447	390	832	94.0	0.622
小腸内容物 <sup>a</sup>	1100	558	82.6	0.432	527	1050	100	0.479
脾臓	93.7	45.8	0.811	nd	121	97.4	0.705	nd
胃	1800	245	69.5	0.355	643	1100	60.7	0.334
胃内容物 <sup>a</sup>	5150	1720	11.6	0.060	6560	4210	12.2	0.201
精巣	69.6	43.1	0.846	nd	ns	ns	ns	ns
胸腺	93.0	48.8	1.29	nd	130	117	0.893	nd
甲状腺	119	204	nd	nd	145	140	nd	nd
子宮	ns	ns	ns	ns	199	154	2.28	nd
全血	229	124	3.45	0.433	292	223	2.87	0.085
赤血球 <sup>b</sup>	26.4	5.27	0.047	0.085	47.0	60.1	nd	0.007
血漿	372	208	5.79	0.644	444	331	4.92	0.248

nd 検出せず, ns 試料なし

<sup>a</sup> 内容物の値は、水洗の後の測定値であることから参考値

<sup>b</sup> 血球中濃度はヘマトクリット値からの計算値

[申請者註：器官・組織の記載順は英語表記のアルファベット順]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

Bz 標識体を 5 mg/kg の用量で単回経口投与した場合、血漿  $C_{max}$  (雄 12.7  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 13.6  $\mu\text{g eq/g}$ ) である 0.25 時間後の放射能濃度は胃 (雄 46.6  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 40.8  $\mu\text{g eq/g}$ )、肝臓 (雄 31.0  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 41.3  $\mu\text{g eq/g}$ )、腎臓 (雄 21.1  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 17.0  $\mu\text{g eq/g}$ ) 及び小腸 (雄 20.4  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 20.5  $\mu\text{g eq/g}$ ) で高かった。その他の組織内の濃度は血漿中の数値よりも低かった。

放射能濃度は 120 時間では低下し、高い濃度を示したのは肝臓 (雄 0.012  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 0.008  $\mu\text{g eq/g}$ )、腎臓 (雄 0.012  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 0.008  $\mu\text{g eq/g}$ ) 及び大腸 (雄 0.008  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 0.009  $\mu\text{g eq/g}$ ) であった。血漿中の濃度は雄で 0.006  $\mu\text{g eq/g}$  であり、雌では検出下限値を下回った。(表 9)

Bz 標識体を 300 mg/kg の用量で単回経口投与した場合、血漿  $C_{max}$  (雄 372  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 444  $\mu\text{g eq/g}$ ) である 1 時間の放射能濃度は胃 (雄 1800  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 643  $\mu\text{g eq/g}$ ) 及び小腸 (雄 521  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 390  $\mu\text{g eq/g}$ ) で高かった。8 時間後では大腸 (雄 1050  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 841  $\mu\text{g eq/g}$ )、小腸 (雌のみ 832  $\mu\text{g eq/g}$ ) ならびに胃 (雌のみ 1100  $\mu\text{g eq/g}$ ) で放射能濃度が増加していた。その他の組織では放射能濃度は減少していた。投与後 24 時間では、放射能濃度は 8 時間より大幅に減少し、大腸で高い濃度を示した (雄 422  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 280  $\mu\text{g eq/g}$ )。投与 120 時間後では組織内の放射能濃度はさらに減少し、雄の肝臓 (0.918  $\mu\text{g eq/g}$ ) 及び大腸 (雄 0.660  $\mu\text{g eq/g}$  ; 雌 0.702  $\mu\text{g eq/g}$ ) で高かった。血漿中の濃度は雄雌それぞれ 0.644 及び 0.248  $\mu\text{g eq/g}$  であった。(表 10)

表 11. Bz 標識体 5 mg/kg 及び 300 mg/kg 単回経口投与した後の組織内放射能の排泄半減期 ( $t_{1/2}$ )

投与量	組織内放射能の排泄半減期 (hours)			
	5 mg/kg		300 mg/kg	
性別	雄	雌	雄	雌
副腎	2.5	2.6	3.3	2.8
骨	4.1	nc	3.9	3.9
骨髓	nc	nc	2.8	3.6
脳	nc	nc	nc	nc
眼	2.6	nc	3.7	3.8
脂肪	2.7	nc	3.7	2.9
心臓	2.7	3.0	3.4	3.0
腎臓	12.8 <sup>a</sup> (3.0)	12.8 <sup>a</sup> (3.0)	15.8 <sup>a</sup> (4.0)	13.8 <sup>a</sup> (3.8)
大腸	11.1	11.1	10.4	11.0
肝臓	12.1 <sup>a</sup> (2.7)	11.3 <sup>a</sup> (2.5)	16.5 <sup>a</sup> (4.2)	13.6 <sup>a</sup> (3.3)
肺	2.9	3.2	14.0 <sup>a</sup> (3.2)	11.5 <sup>a</sup> (3.2)
筋肉	nc	nc	3.2	13.6 <sup>a</sup> (2.8)
卵巣	ns	3.2	ns	3.3
脾臓	3.1	2.7	3.2	3.0
下垂体	nc	nc	nc	nc
前立腺	nc	ns	3.4	ns
屍体残渣	12.7 <sup>a</sup> (5.2)	13.6 <sup>a</sup> (5.7)	15.2 <sup>a</sup> (5.9)	17.8 <sup>a</sup> (6.2)
皮膚	3.2	3.3	14.7 <sup>a</sup> (3.9)	12.9 <sup>a</sup> (3.6)
小腸	9.2	9.4	11.7 <sup>a</sup> (8.9)	11.5
脾臓	nc	16.1 <sup>a</sup> (2.8)	3.2	2.9
胃	4.5	4.3	10.8 <sup>a</sup> (5.3)	10.5
精巣	12.9 <sup>a</sup> (3.3)	ns	3.4	ns
胸腺	2.9	nc	3.6	3.0
甲状腺	nc	3.3	nc	nc
子宮	ns	3.3	ns	3.4
全血	12.7 <sup>a</sup> (3.1)	3.2	14.7 <sup>a</sup> (3.7)	10.8 <sup>a</sup> (3.3)
赤血球	nc	nc	3.5 <sup>b</sup>	nc
血漿	12.4 <sup>a</sup> (3.0)	3.2	14.4 <sup>a</sup> (3.7)	11.8 <sup>a</sup> (3.3)

ns 試料なし, nc 計算不能

<sup>a</sup> 4 時点のデータを用いた; 括弧内は 3 時点を用いて計算した値

<sup>b</sup> 120 時間後の値は異常値として除いて計算

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

組織内濃度の平均値を用いて算出した  $C_{max}$  からの排泄半減期を表 11 に示した。

5 mg/kg 投与レベルでは組織内の排泄半減期は、3 時点のデータを用いて計算した場合は相関係数が 0.95 を超えており 3 - 4 時間であった。3 時点の値から計算された排泄半減期は大腸、屍体残渣、胃及び小腸で長かった (4 - 11 時間)。実質的な雄雌の差は認められなかった。限られた数の組織では 4 時点のデータを用いて排泄半減期が計算できたが、これらの半減期はより長く (11 - 16 時間)、相関係数は 3 時点のデータで計算した数値よりも低かった。血漿中放射能の排泄半減期 (3 - 12 時間) は、薬物動態試験で計算した値 (6 - 21 時間) よりも短かった。概して、組織の排泄半減期は血漿の値とほぼ同等であった。

300mg/kg 投与レベルでは組織内の排泄半減期は、3 時点のデータを用いて計算した場合は相関係数が 0.92 を超えており 3 - 4 時間であった。3 時点の値から計算された排泄半減期は大腸、屍体残渣、胃及び小腸で長かった (5 - 12 時間)。限られた数の組織では 4 時点のデータを用いて排泄半減期が計算できたが、これらの半減期はより長く (11 - 18 時間)、相関係数は 3 時点のデータで計算した数値よりも低かった。血漿中放射能の排泄半減期 (3 - 14 時間) は、薬物動態試験で計算した値 (16 - 32 時間) よりも短かった。概して、組織の排泄半減期は血漿の値とほぼ同等であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 12. Bz 標識体 5 mg/kg 単回経口投与による器官・組織中放射能の割合

投与量	器官・組織中の割合 (投与量に対する割合 ; %)							
	5 mg/kg							
	性別	雄				雌		
時間 (hour)	0.25	0.75	24	120	0.25	0.75	24	120
副腎	0.02	0.01	nd	nd	0.03	0.01	nd	nd
骨 <sup>a</sup>	0.56	0.21	0.01	nd	0.94	0.49	nd	nd
骨髄 <sup>a</sup>	0.18	0.07	nd	nd	0.22	0.08	nd	nd
脳	0.16	0.04	nd	nd	0.20	0.04	nd	nd
眼	0.04	0.01	nd	nd	0.04	0.02	nd	nd
脂肪 <sup>a</sup>	3.04	0.92	0.00	nd	3.00	0.58	nd	nd
心臓	0.27	0.10	nd	nd	0.31	0.09	nd	nd
腎臓	3.38	1.59	0.01	nd	2.65	0.78	0.01	nd
大腸	0.74	2.08	0.52	nd	1.84	2.19	0.46	nd
大腸内容物	0.80	2.46	4.26	0.01	1.42	3.79	3.06	0.01
肝臓	19.97	10.91	0.05	0.01	23.32	8.61	0.03	0.01
肺	0.41	0.16	nd	nd	0.52	0.14	nd	nd
筋肉 <sup>a</sup>	13.40	4.46	nd	nd	13.31	5.26	nd	nd
卵巣	ns	ns	ns	ns	0.06	0.02	nd	nd
脾臓	0.17	0.06	nd	nd	0.18	0.14	nd	nd
下垂体	nd	nd	nd	nd	0.00	nd	nd	nd
前立腺	0.03	0.04	nd	nd	ns	ns	ns	ns
屍体残渣	37.61	19.81	1.22	0.04	34.75	19.75	1.59	0.04
皮膚 <sup>a</sup>	12.08	5.08	0.05	nd	10.97	3.61	0.05	nd
小腸	4.86	9.82	0.22	nd	4.95	7.02	0.21	nd
小腸内容物	5.88	18.28	0.57	nd	5.19	14.08	0.37	n
脾臓	0.11	0.04	nd	nd	0.13	0.03	nd	nd
胃	4.60	1.99	0.09	nd	4.71	2.17	0.09	nd
胃内容物	5.51	6.10	0.04	nd	2.27	5.37	0.04	nd
精巣	0.36	0.23	nd	nd	ns	ns	ns	ns
胸腺	0.06	0.03	nd	nd	0.06	0.02	nd	nd
甲状腺	0.00	nd	nd	nd	0.00	nd	nd	nd
子宮	ns	ns	ns	ns	0.24	0.06	nd	nd
全血 <sup>a</sup>	10.35	4.54	0.04	0.01	11.45	3.76	0.04	nd
赤血球 <sup>a</sup>	0.04	nd	0.00	nd	nd	nd	nd	nd
血漿 <sup>a</sup>	10.45	4.71	0.04	0.01	11.26	3.82	0.04	nd
合計 <sup>b</sup>	86.98	69.23	5.87	0.03	88.01	59.35	4.36	0.02

<sup>a</sup> 放射能量は以下の%体重比からの推定値 : 5.46% (骨), 0.35% (骨髄), 7.1% (脂肪), 45.5% (筋肉), 18% (皮膚), 7% (全血), 4% (血漿), 3% (血球)

<sup>b</sup> 血漿, 血球及び屍体は除いた

nd 検出せず, ns 試料なし

[申請者中 : 器官・組織の記載順は英語表記のアルファベット順]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 13. Bz 標識体 300 mg/kg 単回経口投与による器官・組織中放射能の割合

投与量	器官・組織中の割合 (投与量に対する割合 ; %)							
	300 mg/kg							
	性別	雄				雌		
時間 (hour)	1	8	24	120	1	8	24	120
副腎	0.01	0.01	nd	nd	0.02	0.02	nd	nd
骨 <sup>a</sup>	0.30	0.21	0.01	nd	0.38	0.19	0.01	nd
骨髄 <sup>a</sup>	0.14	0.07	nd	nd	0.17	0.10	0.00	nd
脳	0.16	0.05	nd	nd	0.29	0.18	nd	nd
眼	0.03	0.02	nd	nd	0.06	0.05	nd	nd
脂肪 <sup>a</sup>	2.08	0.65	0.03	nd	2.55	1.72	0.02	nd
心臓	0.13	0.08	nd	nd	0.17	0.15	nd	nd
腎臓	0.50	0.27	0.01	nd	0.53	0.48	0.01	nd
大腸	0.36	1.97	0.91	nd	0.41	1.51	0.76	nd
大腸内容物	0.50	17.82	7.25	0.01	2.71	7.31	4.24	0.01
肝臓	2.64	1.70	0.11	0.02	2.58	2.23	0.04	0.00
肺	0.40	0.12	nd	nd	0.34	0.35	nd	nd
筋肉 <sup>a</sup>	10.29	4.67	0.08	nd	13.76	10.52	0.07	0.02
卵巣	ns	ns	ns	ns	0.04	0.03	nd	nd
脾臓	0.12	0.06	nd	nd	0.17	0.10	nd	nd
下垂体	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
前立腺	0.08	0.04	nd	nd	ns	ns	ns	ns
屍体残渣	22.07	12.52	1.56	0.07	28.04	19.78	2.45	0.21
皮膚 <sup>a</sup>	6.81	3.42	0.14	0.02	8.87	7.07	0.14	0.01
小腸	1.77	1.28	0.35	nd	1.08	2.61	0.36	0.00
小腸内容物	7.24	4.50	0.65	nd	2.74	5.35	0.73	0.00
脾臓	0.08	0.04	nd	nd	0.12	0.08	nd	nd
胃	3.05	0.41	0.13	nd	1.16	1.78	0.10	nd
胃内容物	61.39	14.07	0.06	nd	44.19	13.39	0.07	nd
精巣	0.30	0.20	nd	nd	ns	ns	ns	ns
胸腺	0.04	0.02	nd	nd	0.06	0.05	nd	nd
甲状腺	nd	0.00	nd	nd	0.00	nd	nd	nd
子宮	ns	ns	ns	ns	0.11	0.09	nd	nd
全血 <sup>a</sup>	5.40	2.94	0.09	0.01	6.86	5.27	0.08	nd
赤血球 <sup>a</sup>	0.27	0.05	nd	nd	0.47	0.61	nd	nd
血漿 <sup>a</sup>	5.00	2.80	0.08	0.01	5.96	4.46	0.07	nd
合計 <sup>b</sup>	103.83	54.71	9.82	0.06	89.40	60.60	6.64	0.05

<sup>a</sup> 放射能量は以下の%体重比からの推定値 : 5.46%(骨), 0.35%(骨髄), 7.1%(脂肪), 45.5%(筋肉), 18%(皮膚), 7%(全血), 4%(血漿), 3%(血球)

<sup>b</sup> 血漿, 血球及び屍体は除いた

nd 検出せず, ns 試料なし

[申請者註 : 器官・組織の記載順は英語表記のアルファベット順]



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

Bz 標識体を 5 mg/kg の用量で単回経口投与した場合、投与後 0.25 時間で放射能は組織内に広く分布し、全組織内に保持される割合は投与量の 87.0 - 88.0%であった。割合の高い組織は、屍体残渣 (34.8 - 37.6%dose)、肝臓 (20.0 - 23.3% dose)、筋肉 (13.3 - 13.4%dose)、全血 (10.4 - 11.5%dose) 及び血漿 (10.5 - 11.3%dose) であった。投与後 0.75 時間では保持割合は 59.4 - 69.4%dose へと減少し、割合の高い組織は屍体残渣 (19.8%dose) 及び小腸 (14.1 - 18.3%dose) であった。投与後 24 時間では放射能は 4.4 - 5.9%に減少しており、その大部分は大腸内容物 (3.1 - 4.3%dose) から検出された。投与後 120 時間では放射能は 0.02 - 0.03%dose に減少しており、その大部分が屍体残渣に存在した。(表 12)

Bz 標識体を 300 mg/kg の用量で単回経口投与した場合、投与後 1 時間で放射能は組織内に広く分布し、全組織内に保持される割合は投与量の 89.4 - 103.8%と計算された。割合の高い組織は胃の内容物 (44.2 - 61.4%dose)、屍体残渣 (22.1 - 28.0%dose) 及び筋肉 (10.3 - 13.8%dose) であった。投与後 8 時間では、保持される割合は 54.7 - 60.6%dose に減少しており、割合の高い組織は、雄の大腸内容物 (17.8%dose)、屍体残渣 (12.5 - 19.8%dose)、胃内容物 (13.4% - 14.1%dose) 及び雌の筋肉 (10.5%dose) であった。24 時間後に保持される割合は 6.6 - 9.8% dose に減少していたがその大部分が大腸内容物で回収された。投与後 120 時間では保持割合は 0.05 - 0.06%dose まで減少し、その大部分が屍体残渣にあった。(表 13)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 14. Bz 標識体 5 mg/kg 単回経口投与による器官・組織中濃度/血漿中濃度比

投与量	器官・組織中濃度/血漿中濃度比							
	5 mg/kg							
	雄				雌			
性別								
時間(hour)	0.25	0.75	24	120	0.25	0.75	24	120
副腎	0.254	0.191	0.094	nd	0.257	0.155	0.065	nc
骨	0.039	0.033	0.131	nd	0.061	0.094	nd	nc
骨髓	0.198	0.162	nd	nd	0.227	0.236	nd	nc
脳	0.071	0.043	nd	nd	0.061	0.033	nd	nc
眼	0.106	0.111	0.044	nd	0.093	0.100	nd	nc
脂肪	0.164	0.110	0.061	nd	0.150	0.085	nd	nc
心臓	0.308	0.268	0.141	nd	0.293	0.265	0.210	nc
腎臓	1.66	1.70	1.56	2.12	1.25	1.07	0.823	nc
大腸	0.511	2.30	89.7	1.45	0.676	3.51	63.7	nc
大腸内容物 <sup>a</sup>	0.235	1.48	108	1.83	0.329	1.93	68.9	nc
肝臓	2.44	2.96	1.31	2.10	3.05	3.20	0.811	nc
肺	0.329	0.304	0.255	nd	0.345	0.297	0.312	nc
筋肉	0.113	0.083	nd	nd	0.104	0.144	nd	nc
卵巣	ns	ns	ns	ns	0.334	0.307	0.334	nc
脾臓	0.207	0.185	0.226	nd	0.219	0.402	0.121	nc
下垂体	0.165	0.135	nd	nd	0.169	0.136	nd	nc
前立腺	0.175	0.394	0.791	nd	ns	ns	ns	nc
屍体残渣	0.186	0.220	1.87	0.333	0.160	0.272	2.04	nc
皮膚	0.257	0.240	0.317	nd	0.216	0.210	0.279	nc
小腸	1.60	8.06	25.5	0.511	1.51	8.00	18.9	nc
小腸内容物 <sup>a</sup>	1.99	8.84	29.9	0.363	1.57	8.41	19.6	nc
脾臓	0.157	0.126	nd	0.413	0.144	0.116	0.060	nc
胃	3.66	3.34	20.2	nd	3.00	4.41	14.3	nc
胃内容物 <sup>a</sup>	8.71	1.96	3.50	nd	1.77	1.92	2.63	nc
精巣	0.104	0.144	0.163	0.195	ns	ns	ns	nc
胸腺	0.185	0.166	0.145	nd	0.184	0.146	nd	nc
甲状腺	0.329	0.243	nd	nd	0.272	0.288	0.343	nc
子宮	ns	ns	ns	ns	0.397	0.322	0.453	nc
全血	0.566	0.551	0.615	0.798	0.581	0.562	0.579	nc
赤血球 <sup>b</sup>	0.005	nd	0.086	0.463	nd	nd	nd	nc
血漿	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	nc

nd 検出せず, ns 試料なし, nc 計算不能

<sup>a</sup> 内容物の値は、水洗の後の測定値であることから参考値

<sup>b</sup> 血球中濃度はヘマトクリット値からの計算値

[申請者註：器官・組織の記載順は英語表記のアルファベット順]

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 15. Bz 標識体 300 mg/kg 単回経口投与による器官・組織中濃度/血漿中濃度比

投与量	器官・組織中濃度/血漿中濃度比							
	300 mg/kg							
	雄				雌			
性別								
時間(hour)	1	8	24	120	1	8	24	120
副腎	0.354	0.298	0.211	nd	0.396	0.424	0.181	nd
骨	0.044	0.052	0.051	nd	0.048	0.030	0.076	nd
骨髓	0.331	0.275	0.070	nd	0.319	0.259	0.447	nd
脳	0.144	0.085	nd	nd	0.170	0.135	nd	nd
眼	0.197	0.186	0.209	nd	0.229	0.259	0.414	nd
脂肪	0.234	0.129	0.208	nd	0.236	0.206	0.127	nd
心臓	0.323	0.338	0.244	nd	0.353	0.408	0.238	nd
腎臓	0.512	0.470	0.705	0.842	0.455	0.562	0.819	1.39
大腸	0.553	5.25	70.6	1.01	0.498	2.87	57.4	2.83
大腸内容物 <sup>a</sup>	0.253	7.09	80.4	1.37	0.526	2.92	73.7	3.72
肝臓	0.644	0.677	1.07	1.43	0.597	0.661	0.592	1.47
肺	0.679	0.352	0.306	0.403	0.433	0.490	0.396	0.357
筋肉	0.180	0.145	0.088	nd	0.202	0.195	0.086	0.448
卵巣	ns	ns	ns	ns	0.423	0.437	0.418	nd
脾臓	0.322	0.264	0.169	nd	0.321	0.307	0.187	nd
下垂体	0.305	0.288	nd	nd	0.343	0.357	nd	nd
前立腺	0.842	0.696	0.537	nd	ns	ns	ns	ns
屍体残渣	0.230	0.234	1.02	0.446	0.246	0.229	1.96	3.31
皮膚	0.302	0.271	0.368	0.338	0.329	0.336	0.440	0.621
小腸	1.42	1.97	15.9	0.687	0.888	2.35	18.9	2.55
小腸内容物 <sup>a</sup>	2.84	2.81	14.1	0.656	1.24	2.93	20.3	1.96
脾臓	0.251	0.218	0.143	nd	0.271	0.278	0.144	nd
胃	4.7	1.24	11.8	0.543	1.49	4.21	12.4	1.35
胃内容物 <sup>a</sup>	14.2	9.33	1.89	0.078	14.6	14.4	2.47	0.840
精巣	0.186	0.206	0.146	nd	ns	ns	ns	ns
胸腺	0.250	0.233	0.218	nd	0.292	0.330	0.183	nd
甲状腺	0.319	0.913	nd	nd	0.326	0.389	nd	nd
子宮	ns	ns	ns	ns	0.447	0.457	0.466	nd
全血	0.616	0.597	0.598	0.665	0.655	0.665	0.584	0.322
赤血球 <sup>b</sup>	0.071	0.025	0.008	0.112	0.101	0.150	nd	0.029
血漿	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

nd 検出せず, ns 試料なし, nc 計算不能

a 内容物の値は、水洗の後の測定値であることから参考値

b 血球中濃度はヘマトクリット値からの計算値

[申請者中：器官・組織の記載順は英語表記のアルファベット順]

Bz 標識体を 5 mg/kg の用量で単回経口投与した場合、投与 0.25 時間後における組織：血漿の比は、胃、肝臓、腎臓ならびに小腸で最高 (1.25 - 3.66) であった。投与後 0.75 及び 24 時間では、組織：血漿の比は、大腸、小腸ならびに胃で増加し、24 時間の時点で 14.3 - 89.7 の範囲にあった。組織：血漿の比は、その他の組織ではすべて減少した。組織：血漿の比は、投与後 120 時間後の雄では、腎臓 (2.12)、大腸 (1.45) ならびに肝臓 (2.10) で高かった。一方 120 時間後の雌では、血漿中濃度が検出下限値を下回ったので、組織：血漿の比は算出できなかった。(表 14)

Bz 標識体を 300 mg/kg の用量で単回経口投与した場合、投与後 1 時間における組織：血漿の比は小腸 (雄, 1.42) 及び胃 (1.49 - 4.70) で最大であり、他の組織ではいずれも 1 より低かった。8 及び 24 時間では、組織：血漿の比は大腸、小腸ならびに胃で増加し、24 時間には 11.8 - 70.6 の範囲にあった。120 時間では、組織：血漿の比は大腸 (1.01 - 2.83)、肝臓 (1.43 - 1.47)、雌の腎臓 (1.39)、雌の屍体残渣 (3.31)、雌の小腸 (2.55) ならびに雌の胃 (1.35) で最大であった。他の組織では、組織：血漿の比はいずれも 1 より小さかった。(表 15)

以上のように、臓器及び組織への分布は速やかであった。放射能濃度は、 $C_{max}$  時点では肝臓、腎臓、胃及び小腸が高く、120 時間後では肝臓及び大腸が高かった。組織内半減期は用量間に差がなく 3-4 時間であったが、胃腸管での半減期はやや長かった (4-12 時間)。概して組織の排泄半減期は血漿の値とほぼ同等であった。放射能の組織への蓄積は 120 時間後で 0.04 - 0.21% と低かった。

## 6) 代謝-放射性成分の割合

供試試料：

分析には雄雌ラット別々にプール保管した表 16 に示す試料を供試した。

表 16. 代謝物の分析に用いた動物群及び試料

	Bz 標識体 5 mg/kg	Bz 標識体 300 mg/kg	Pm 標識体 5 mg/kg	備考
尿	Group 1 Group 3	Group 4	Group 2	0-24, 24-48 時間 0-48 時間
糞抽出物	Group 1 Group 3	Group 4	Group 2	0-24, 24-48 時間 0-48 時間
糞の徹底抽出物	Group 1 Group 3		Group 2	0-48 時間 0-24 時間
胆汁 <sup>a</sup>	Group 5	Group 6	Group 11	
組織	Group 9	Group 10		0.25, 1 時間

<sup>a</sup> Group 5: 0-12 時間, Group 6: 0-24 時間, Group 11: 0-9 時間

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

選定した組織からの抽出：

肝臓—Group 9 及び 10 から採取し、アセトニトリル(2回)ついでアセトニトリル/水(1/1, v/v, 2回)で抽出した。肝臓の抽出残渣は燃焼/放射能測定を行った。放射能の回収率は90%以上であった。

腎臓—Group 9 及び 10 から採取し、アセトニトリル(2回)ついでアセトニトリル/水(1/1, v/v, 1回)で抽出した。腎臓の抽出残渣は燃焼/放射能測定を行った。放射能の回収率は90%以上であった。

小腸—Group 9 及び 10 から採取し、アセトニトリル(2回)ついでアセトニトリル/水(1/1, v/v, 1回または2回)で抽出した。放射能の回収率は90%以上であった。

血漿—Group 9 及び 10 から採取し、アセトニトリル(2回)で抽出した。放射能の回収率は90%以上であった。

酵素による脱抱合：

尿—Group 2 及び 3 (雄, 0-48 時間) の尿試料は、 $\beta$ -グルクロニダーゼ/スルファターゼまたは、 $\beta$ -グルクロニダーゼ/スルファターゼ+ $\beta$  グルクロニダーゼの特異的阻害剤 (D-サッカリン酸-1,4-ラクトン 1 水和物) を加え、脱抱合させた。

胆汁—Group 5, 6 及び 11 からプールした胆汁濃縮液を乾固させ 0.1M 酢酸ナトリウム緩衝液に最懸濁させた後、尿試料と同様の処理を行った。

クロマトグラム分析及び代謝物の同定：

2種類の異なったクロマトグラム法、すなわち、逆相系 HPLC 及び順相系 TLC を用い合成標品とのコクロマトグラフ法で代謝物を同定した。

高速液体クロマトグラフ法 (HPLC)

同定は、参照物質とのコクロマトグラム法により、ラジオオートグラムと UV 吸収クロマトグラムとを照合した。定量は、HPLC に試料を注入した後、カラムからの溶出液を 30 秒毎に集め放射能を測定することで行った。

薄層クロマトグラフ法 (TLC)

下記の展開溶媒系 (順相系) を用い参照標品とコクロマトグラム法により照合した。

展開溶媒系 E1: クロロホルム/メタノール/水/ギ酸(90%) (75/25/3/3)

展開溶媒系 N: 酢酸エチル/ヘキサン/氷酢酸(80/20/5)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

代謝物の単離：

代謝物の同定／特徴付けを行うため、下記の試料より代謝物を HPLC 分析により単離した。

Group 2 (Pm 標識体, 5 mg/kg) : 雄の 0-24 時間の尿及び糞抽出物

Group 3 (Bz 標識体, 5 mg/kg) : 雄の 0-48 時間の尿及び糞抽出物

Group 5 (Bz 標識体, 5 mg/kg) : 雄の 0-12 時間の未処理胆汁及び酵素処理物

Group 6 (Bz 標識体, 300 mg/kg) : 雄の 0-12 時間の未処理胆汁及び酵素処理物

同定した代謝物：

尿、糞、胆汁及び組織・臓器器官中に同定した代謝物を各々表 17-25 に示した。また、表 26 に同定代謝物の生成量をまとめた。表記した代謝物の他、微量の尿、糞及び胆汁中に LC/MS により検出された。尿及び糞中の同定できた代謝物の総量は、5 mg/kg 投与の場合で投与量の 57.9 - 65.0 %、300 mg/kg 投与の場合で 69.2 - 72.2 %であった。

本資料に記載された情報は、報告に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 17. Bz 標識体を 5 mg/kg で単回投与した場合の尿及び糞中の代謝物 (Group 1)

		Bz 標識体, 5 mg/kg											
		雄					雌						
排泄率 (0-120 hr)	代謝物	尿		糞		糞 Ex. a	合計	尿		糞		糞 Ex. a	合計
		0-24hr	24-48hr	0-24hr	24-48hr			0-24hr	24-48hr	0-24hr	24-48hr		
34.9						56.4	91.3	41.5			51.9	93.4	
	同定化合物	33.5	1.1	41.5	3.2		82.9	40.3	1.0	17.1	15.2	6.4	80.0
	抽出物全体												
PhI20	KIII-5996	-	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.3	-	-	<0.1	0.1	<0.1	-
	抽出残留物												

表中の数値は処理放射能量に対する%

a. 糞 Ex. 糞抽出残渣からの徹底抽出画分

本資料に記載された情報は、報告に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 18. Pm 標識体を 5 mg/kg で単回投与した場合の尿及び糞中の代謝物 (Group 2)

		Pm 標識体, 5 mg/kg										
		雄					雌					
		尿		糞		糞 Ex. <sup>a</sup>	合計		尿		糞	
排泄率 (0-120 hr)		37.7		58.5		96.2		48.4		47.9		96.3
代謝物	抽出物全体	0-24hr	24-48hr	0-24hr	24-48hr	0-48hr	0-24hr	24-48hr	0-24hr	24-48hr	0-48hr	0-48hr
		36.3	1.1	31.2	10.1	5.4	47.6	0.7	23.4	8.8	4.8	85.3
PyF18	K111-5996	-	-	<0.1	0.2	<0.1	-	-	0.2	<0.1	<0.1	0.2
抽出残留物												

表の数字は処理放射能に対する%

<sup>a</sup> 糞 Ex. 糞抽出液からの徹底抽出成分



本資料に記載された情報は、報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 19. Bz 標識体を 5 mg/kg で単回投与した場合の尿及び糞中の代謝物 (Group 3)

		Bz 標識体, 5 mg/kg							
		雄			雌				
		尿	糞	糞 Ex. <sup>a</sup>	合計	尿	糞	糞 Ex. <sup>a</sup>	合計
排泄率(0-120 hr)		43.9	49.8		93.7	45.1	51.0		96.1
代謝物	同定化合物	0-48hr	0-48hr	0-24hr		0-48hr	0-48hr	0-24hr	
抽出物全体		43.7	37.3	4.6	85.6	44.7	36.0	4.7	85.4
P5F20	KIH-5996	-	0.1	<0.1	0.1	-	<0.1	0.1	0.1
抽出残留物									

表中の数値は処理放射能に対する%

<sup>a</sup> 糞 Ex. 糞抽出残渣からの徹底抽出画分

本資料に記載された情報は、報告に係る権利および内容の責任は、クマイ化学工業株式会社にある。

表 20. Bz 標識体を 300 mg/kg で単回投与した場合の尿及び糞中の代謝物 (Group 4)

		Bz 標識体, 300 mg/kg					
		雄			雌		
		尿	糞	合計	尿	糞	合計
排泄率 (0-120 hr)		49.1	42.1	91.2	51.5	36.9	88.4
代謝物	同定化合物	0-48hr	0-72hr		0-48hr	0-72hr	
抽出物全体		48.5	36.0	84.5	50.9	31.5	82.4
PhF20	KIH-5996	1.0	0.3	1.3	4.3	0.4	4.7

表中の数値は処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 21. Bz 標識体を 5 及び 300 mg/kg で単回投与した場合の胆汁中代謝物 (Group 5, 6, 11)

代謝物	同定化合物	Bz 標識体				Pm 標識体
		5 mg/kg		300 mg/kg		5 mg/kg
		雄	雌	雄	雌	雄
		0-12hr	0-12hr	0-24hr	0-24hr	0-9hr
処理放射能に対する胆汁中割合%		43.9	30.8	39.1	30.9	46.7
PhB24	KIH-5996	0.1	0.1	1.3	1.8	0.2

表中の数値は処理放射能に対する%

表 22. Bz 標識体を 5 及び 300 mg/kg で単回投与した場合の血漿中代謝物 (Group 9, 10)

代謝物	同定化合物	血漿中放射能に対する割合%			
		Bz 標識体			
		5 mg/kg		300 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
		0.25 hr	0.25 hr	1 hr	1 hr
		95.9	96.7	96.4	97.2
PhP14	KIH-5996	49.9	55.0	77.3	85.3

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はグミアイ化学工業株式会社にある。

表 23. Bz 標識体を 5 及び 300 mg/kg で単回投与した場合の肝臓中代謝物 (Group 9, 10)

		肝臓中放射能に対する割合%			
		Bz 標識体			
		5 mg/kg		300 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
		0.25 hr	0.25 hr	1 hr	1 hr
代謝物	同定化合物	99.1	98.8	99.2	99.6
PhL15	K1H-5996	20.6	15.5	59.5	78.4
残渣		0.9	1.2	0.8	0.4

表 24. Bz 標識体を 5 及び 300 mg/kg で単回投与した場合の腎臓中代謝物 (Group 9, 10)

		腎臓中放射能に対する割合%			
		Bz 標識体			
		5 mg/kg		300 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
		0.25 hr	0.25 hr	1 hr	1 hr
代謝物	同定化合物	88.4	92.3	96.7	98.1
PhK14	K1H-5996	7.2	7.5	39.0	54.1
残渣		11.6	7.7	3.3	1.9

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 25. Bz 標識体を 5 及び 300 mg/kg で単回投与した場合の小腸中代謝物 (Group 9, 10)

		小腸中放射能に対する割合%			
		Bz 標識体			
		5 mg/kg		300 mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
		0.25 hr	0.25 hr	1 hr	1 hr
代謝物	同定化合物	94.3	93.4	90.5	90.7
PhS23	KIH-5996	12.5	20.7	27.1	37.6
残渣		5.7	6.6	9.5	9.3

#### 7) 代謝物の確認同定

逆相系 HPLC 及び順相系 TLC によるコクマトグラフィーにより参照物質と一致した代謝物について、安定同位体で標識した被験物質を同時投与し、その試料を用い質量分析法により確認することで同定した。

#### 質量分析:

質量分析用試料を調製するために、 $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Bz 標識体または  $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Pm 標識体を雄ラットに 300mg/kg の用量で単回経口投与した。 $^{13}\text{C}$ -標識体及び非放射性被験物質のほぼ同量を投与に用いた (Group 12 及び 13)。尿及び糞を投与後 72 時間まで個体ごとに採取した。また、 $^{13}\text{C}/^{14}\text{C}$ -Pm 標識体の投与群 (Group 11) 雄の胆汁及び排泄試験で用いた群 (Group 3) 雄の糞抽出物についても質量分析を行った。

#### 確認同定した代謝物:

質量分析法により同定した尿、糞及び胆汁中の代謝物を表 27 に示した。

全体的に代謝は標識体間で差がなかった。が尿、糞、胆汁中の主代謝物であった。Bz 標識体投与では が糞中の主代謝物であったが Pm 標識体では相当する単一の代謝物は検出されなかった。胆汁中では が主代謝物であった。他に

が検出され、未変化の KIH-5996 は排泄物には極少量検出されたのみであるが組織内では主たる成分であった。

本資料に記載された情報は、報告に係る権利および内容の責任はクマアイ化学工業株式会社にある。

表 26. 同定した代謝物の要約

代謝物	尿 % dose	糞 % dose	胆汁 % dose	血漿 % plasma	肝臓 % liver	腎臓 % kidney	小腸 % s. i.
KIH-5996	H: trace <sup>a</sup>	H: trace <sup>a</sup>	H: trace <sup>a</sup>	L: 49.9 - 55.0 H: 77.3 - 85.3	L: 15.5 - 20.6 H: 59.5 - 78.4	L: 7.2 - 7.5 H: 39.0 - 54.1	L: 0.1 - 0.3 H: <0.1 - 0.3

本資料に記載された情報は、報告に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表 26. 同定した代謝物の要約—続き

代謝物	尿 % dose	糞 % dose	胆汁 % dose	血漿 % plasma	肝臓 % liver	腎臓 % kidney	小腸 % s. i.

H: 高用量 = 300 mg/kg

L: 低用量 = 5 mg/kg

a. LC/MS により検出





本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### 8) KIH-5996 のキラル分析

KIH-5996 はその構造に不斉炭素を一つ持つラセミ体である。異性体間の代謝の差異を明らかにする為に、被験物質である KIH-5996 ならびに尿中の主代謝物の についてキラル分析を行った。

##### キラル分析用試料の調製：

KIH-5996 は Group 3 の投与液である Bz 標識体を用い、代謝物 は Group 3 及び 4 の雄雌ラットの尿から単離した。

KIH-5996 及び の参照標品、ならびに Bz 標識体の投与液及び 単離物をメタノール溶液とし、キラルカラムを用い HPLC で検出した。また、2.0M トリメチルシリルジアゾメタンでメチル化し、キラルカラムを用い HPLC で検出した。

のメチル化反応を下図に示した。

##### キラル分析結果：

KIH-5996 はキラル分析で二本のピークに分離し、その比はほぼ 50 : 50 であった。KIH-5996 をメチル化すると、四本のピークが観察され、KIH-5996 の一つの異性体からは異性体 A と異性体 B の二つが検出され、他方の異性体からも同様に二つが検出された。異性体 A 及び異性体 B のピーク対はいずれも 50 : 50 であった。

Bz 標識体の投与液のメチル化物をキラル分析した結果、異性体の各ピーク対の比は 50:50 であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 28. ラット尿 のメチル化物のキラル HPLC 分析におけるピーク対の比率

	投与量	雄		雌	
		異性体 A 比率	異性体 B 比率	異性体 A 比率	異性体 B 比率
Bz 標識体	5 mg/kg				
	300 mg/kg				

註：値は M-1 の異性体を、メチル化後に生成するそれぞれの異性体 A 及び B から求めたもの

### 9) 想定代謝経路

想定代謝経路を図 1 に示した。

KIH-5996 は大部分がラット中で代謝され、主たる代謝経路は を生成した。 もう一つの主たる経路は を生成した。ラットで検出されたその他の代謝物は であつた。

KIH-5996 は、 を一連の反応を複合的に経て代謝されると推定された。

本資料に記載された情報は、報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

図 1. ピリミスルファンのラット体内における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(2) 植物体内運命に関する試験

(資料 運命-2)

1) ピリミスルファンの水稻における代謝運命試験 (ベンゼン環標識体)

試験機関:

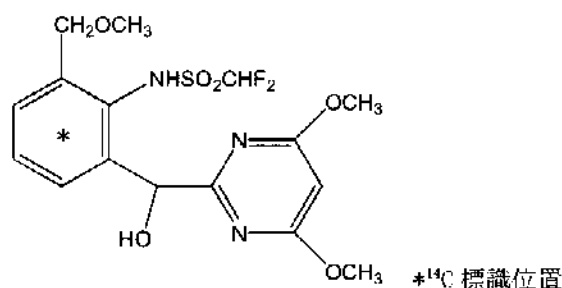
報告書作成年: 2005年 [GLP対応]

供試化合物: ピリミスルファン (KIH-5996)

化学名: (RS)-2'-[(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)(hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6'-(methoxymethyl)methanesulfonanilide (IUPAC)

構造式及び標識位置:

[Benzene- $^{14}$ C]KIH-5996 (Bz 標識体)



ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

標識位置の設定理由: ベンゼン環とピリミジン環の間, あるいはピリミジン環が開裂した場合でもそれぞれの代謝・分解物の挙動を把握するために, ベンゼン環あるいはピリミジン環の炭素を標識した。(ピリミジン環標識体の試験成績は[資料 運命-3]を参照)

試験方法:

供試植物: イネ (*Oryza sativa* L.) 品種: コシヒカリ

栽培条件:

土壌: 埴壤土 (埼玉県農林総合研究センター内水田土壌, 熊谷市久保島)

移植: 2003年5月26日に1/2000 aポットに各5個体または1/5000 aポットに2個体の幼苗(2.2葉期)を移植した。

栽培条件: 水稻の慣行栽培時期の東京地方における気象を模した条件設定をしたファイトロン内で栽培した。登熟期までは水深3cmを維持し, 収穫の約1ヶ月前からは落水して収穫日まで畑条件とした。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験設計：試験設計の概要を下表に示す。

試験区	採取時期	ポット数	採取試料
処理区	中間採取	2	茎葉部，根部
	登熟期	10	玄米，籾殻，稲わら，根部
対照区	登熟期	1	玄米，籾殻，稲わら，根部

処理方法：

模擬製剤の調製：メタノールに溶解させた Bz 標識体を、製剤白試料（粒剤）に吸収させ、溶媒を除去して 0.67% 粒剤の模擬製剤を調製した。

施用方法：処理回数は 1 回とし、2003 年 5 月 29 日に実施した。施用時期はイネ幼苗の移植 3 日後とした。施用方法は、本剤の適用上の使用量である 1 kg 製剤/10 a 相当量（67 g a. i./ha）を田面水に施用した。対照区は無処理のままとした。

試料採取：中間採取試料は、処理 56 日後の 2003 年 7 月 24 日に、登熟期試料は処理 116 日後の 2003 年 9 月 22 日に行った。試料は生重量を測定した後、分析時まで -20℃ で保存した。

分析方法：

1) 抽出及び放射性総残留物 (TRR) の測定

中間採取の茎葉部と登熟期の稲わら及び玄米試料は、アセトニトリル/水 (8/2, v/v) で 2 回抽出し、抽出液中の放射能を LSC で測定した。また残渣中の放射能を燃焼処理した後 LSC で測定した。(図 1)

中間採取の根部、登熟期の籾殻と根部試料及び対照区の植物体各試料は、燃焼処理し、TRR を測定した。

2) 放射性残留物の分画

抽出液中の放射性成分は固相抽出 (SPE) による分画化を行った (図 2)。保持された放射性成分は、ヘキサン/酢酸エチル (1/1, v/v) とメタノールで順次溶出させた。各溶出液は HPLC または TLC により定量分析を行った。(図 2)

3) 登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液の再分画化

登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液は、Oasis MAX SPE カラムを用いて水溶出液分画及び高極性両分に再分画し、LSC で放射能を測定した。高極性両分は濃縮し HPLC により定量分析を行った。(図 3)

4) 放射性成分の定量

中間採取の茎葉部と登熟期の稲わら抽出液は HPLC/LSC 法により定量した。また、登熟期の玄米抽出液中の放射性成分は TLC/BAS 法による定量を行った。

代謝物の同定及び特徴付け：

1) SPE-メタノール中の主要代謝物の同定／特徴付け

SPE-メタノール溶出液を濃縮し、HPLC に繰り返し注入して を分離、精製した。得られた をセルラーゼによる加水分解（図4）を行った。加水分解後の試料を SPE 精製の後、HPLC で分析した。

2) コクロマトグラフィーによる同定／特徴付け

植物体抽出液中の放射性成分はHPLCコクロマトグラフィーまたはTLCコクロマトグラフィーにより同定／特徴付けを行った。また、 は Pm 標識体の水稻における代謝運命試験（資料 運命-3）で検出され、同定された放射性代謝物試料との TLC コクロマトグラフィーを行った。

3) 抽出後の残渣中の放射性残留物の特徴付け

玄米の抽出残渣は酵素処理によりデンプン画分とタンパク質画分に取り込まれた放射エネルギーを測定した。また残渣は燃焼処理し放射エネルギーを測定した（図5）。稲わらの抽出残渣はソックスレー抽出を行った後、化学抽出を行いペクチン、リグニン、ヘミセルロース及びセルロースの各画分に分画し、放射エネルギーを測定した。また固形物残渣を燃焼処理し、放射エネルギーを調べた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

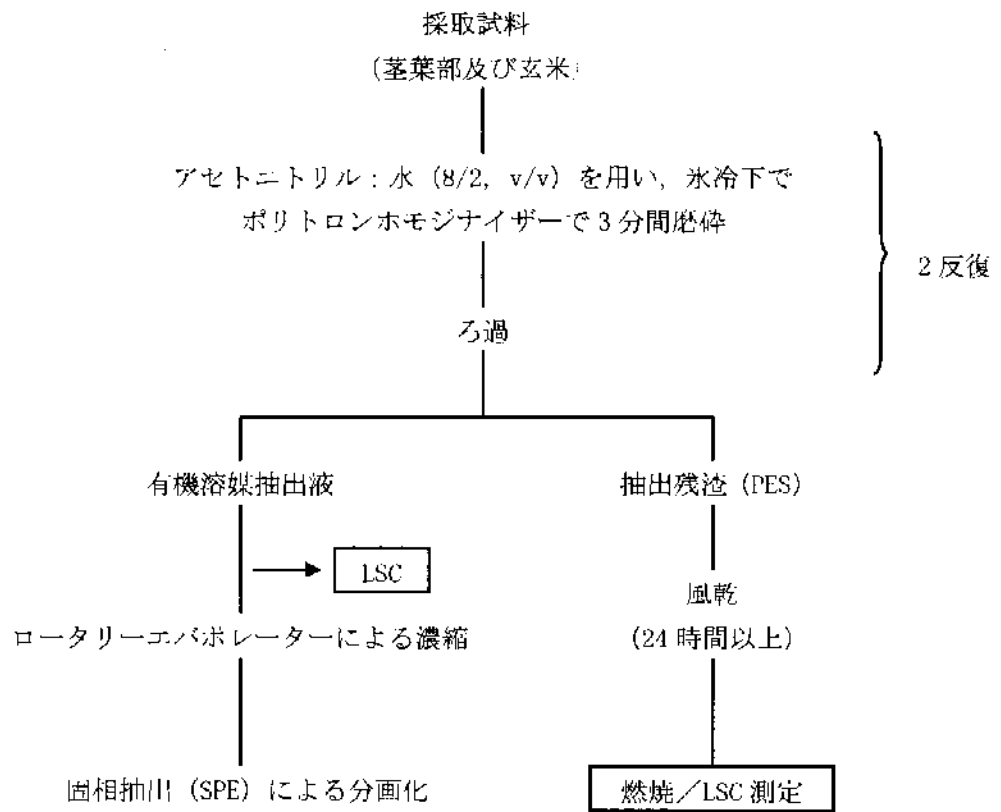


図 1. R<sub>2</sub> 標識体を処理したイネの茎葉部及び玄米中の放射性残留物の抽出法の概要

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

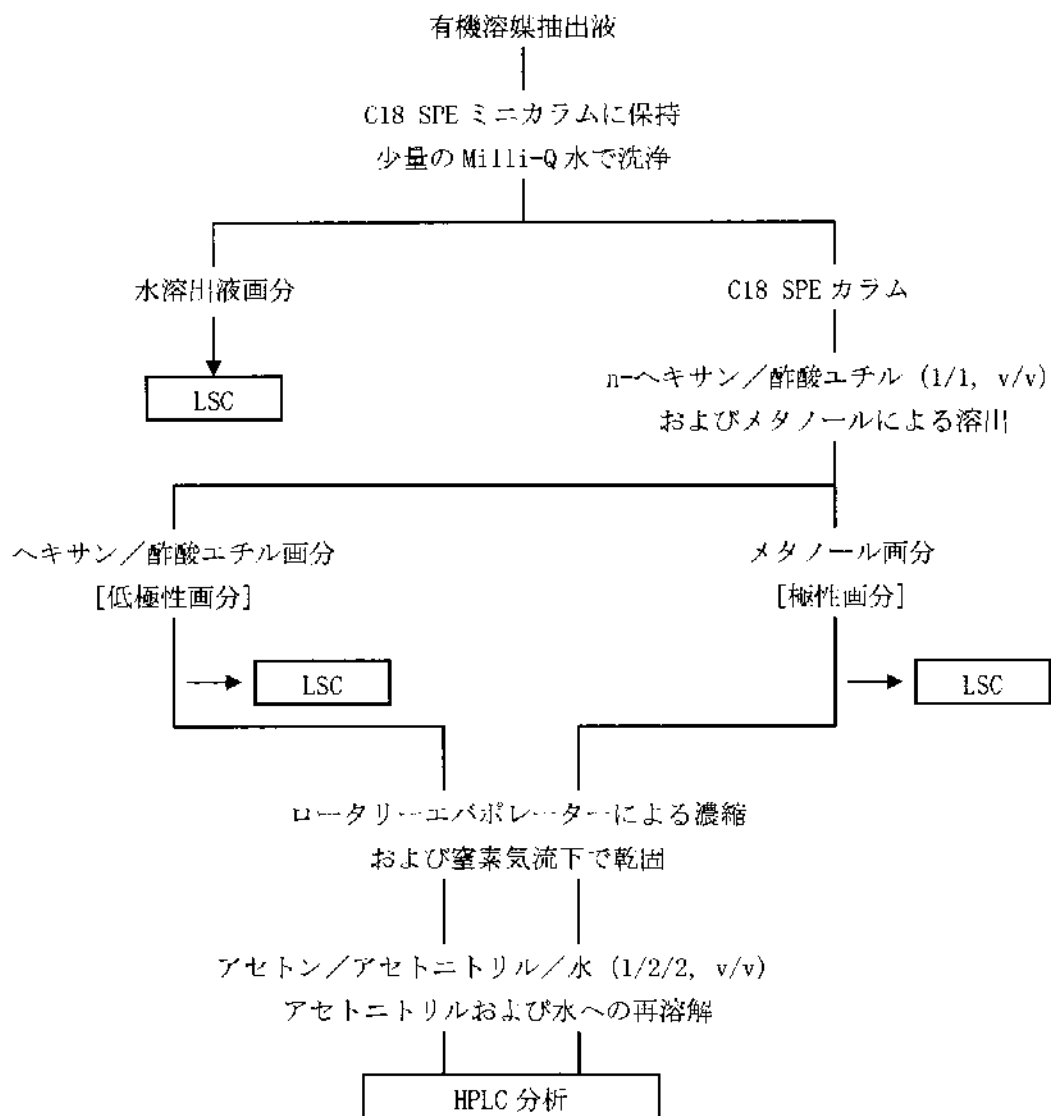


図 2. 茎葉部および玄米の放射性残留物の C18 SPE カラムによる固相抽出法 (SPE) の概要



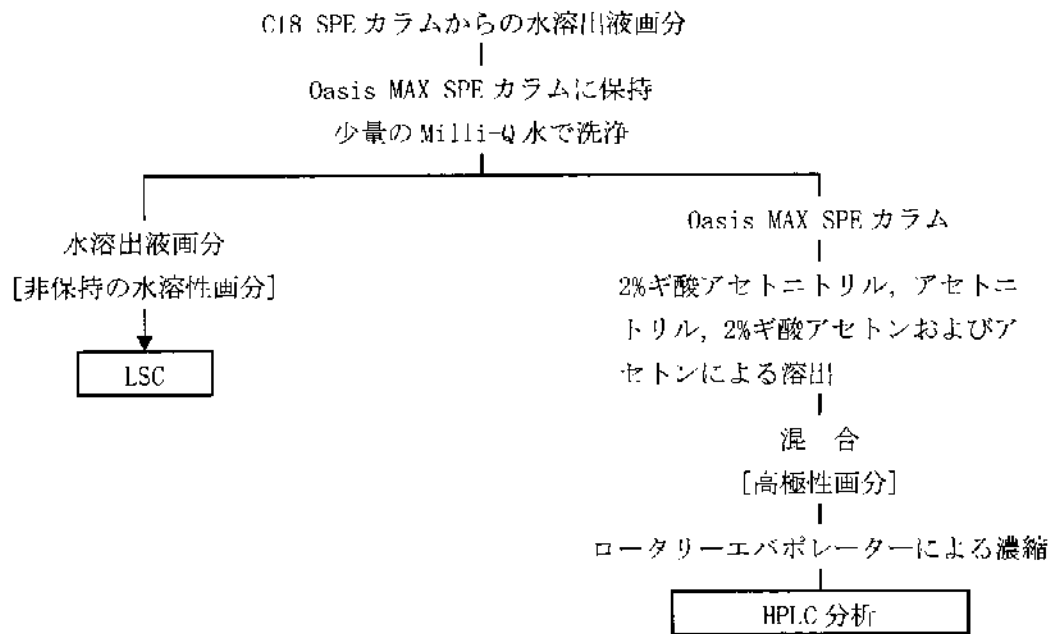


図 3. 登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶性画分の Oasis MAX SPE カラムによる再分画化

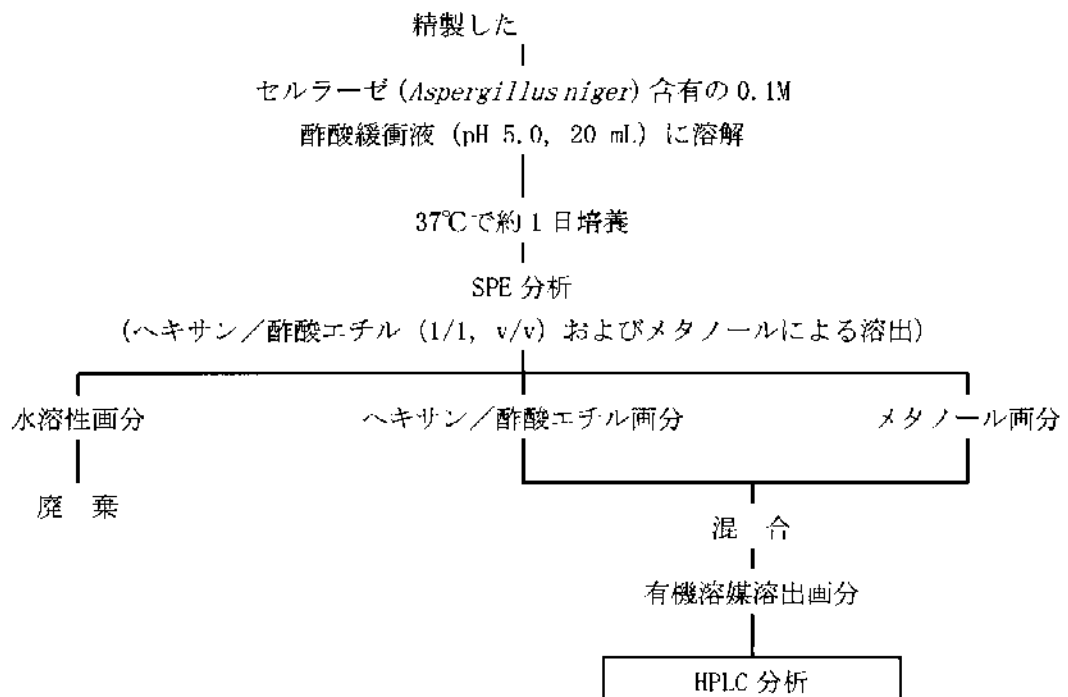


図 4. 精製したセルラーゼの加水分解スキーム

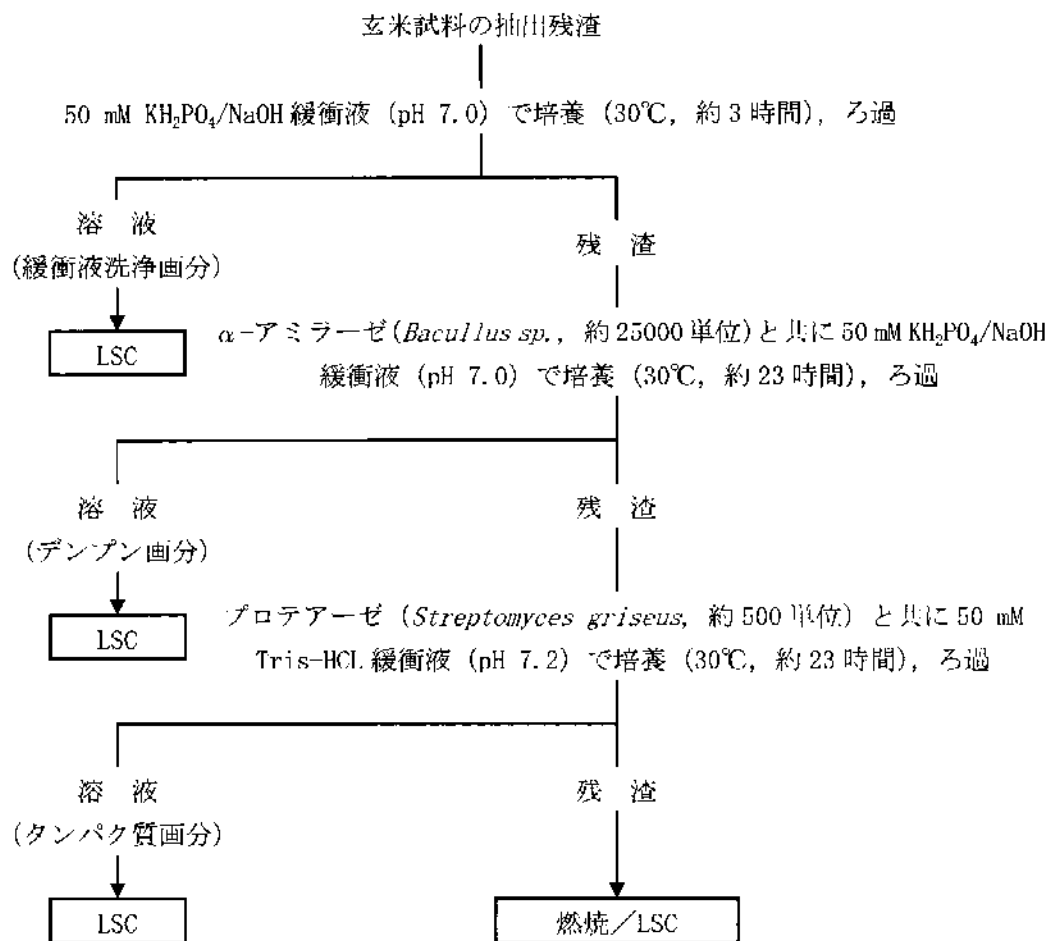


図 5. 酵素処理による玄米試料抽出後の残渣中の放射性残留物の特徴付け

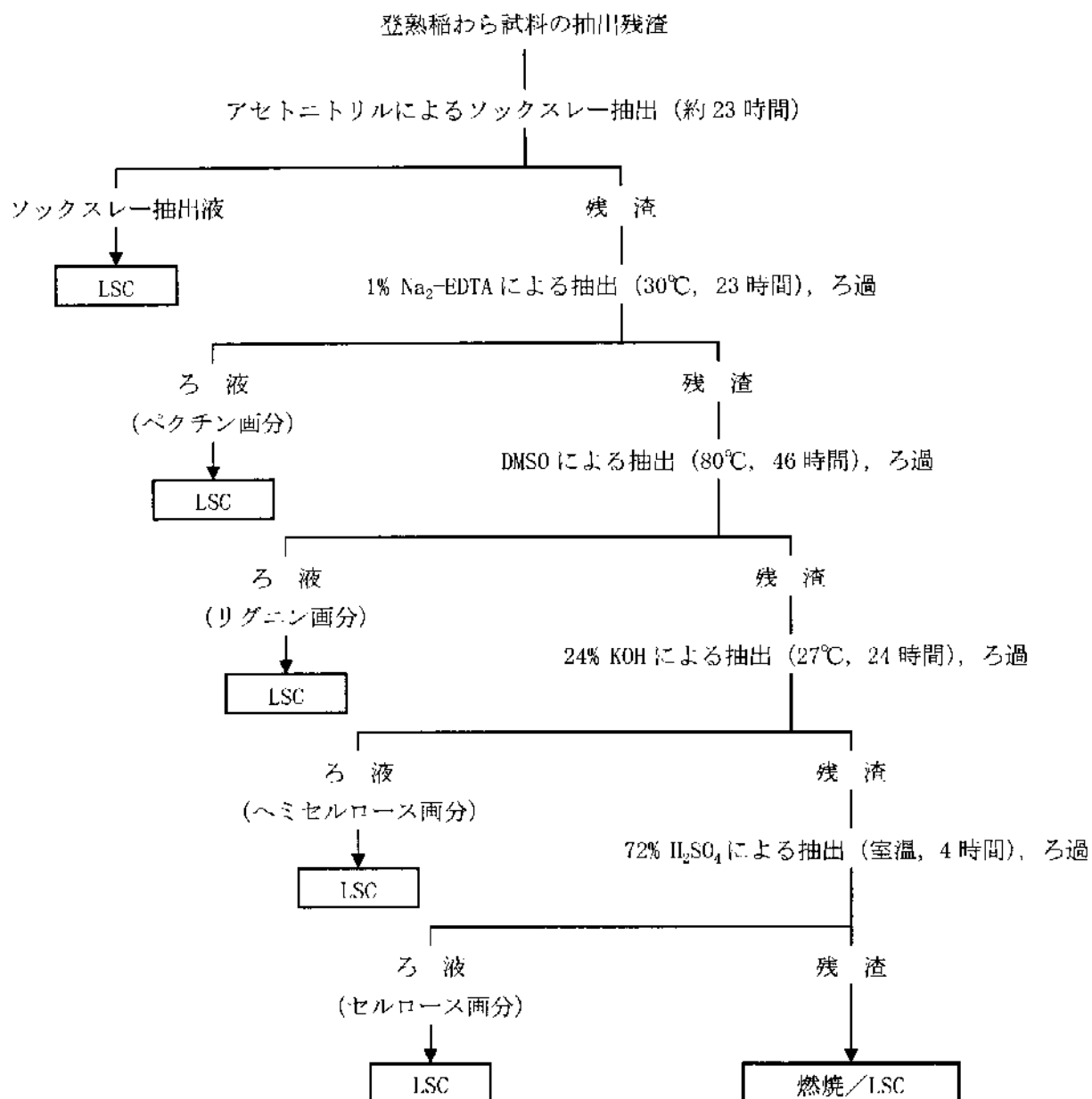


図 6. 化学的抽出による稲わら試料抽出後の残渣中の放射性残留物の特徴付け

試験結果：

抽出及び放射性総残留物（TRR）の測定結果を表1に示す。中間採取試料の茎葉部のTRRレベルは0.057 mg eq./kg.であり、根部は0.883 mg eq./kgであった。登熟期試料の稲わら中のTRRレベルは0.124 mg eq./kgであり、中間採取の処理56日後の茎葉部の約2倍に増加していた。可食部の玄米のTRRは0.010 mg eq./kgと極めて低レベルであった。処理区と同一室内で栽培した対照区試料から低レベルの放射能が検出されたが、これは処理区から発生した放射性揮発物質を取り込んだものと推定された。

表1. Bz 標識体処理におけるイネ体中の抽出及び放射性総残留物量

画分	中間採取試料 (56 DAT)		登熟期試料 (116 DAT)		対照区 (116 DAT)
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
玄米	ns	ns	0.0101	100.0	0.0020
抽出液	ns	ns	0.0026	25.8	na
残渣	ns	ns	0.0075	74.2	na
籾殻	ns	ns	0.0262	-	0.0025
茎葉部/稲わら	0.0573	100.0	0.1235	100.0	0.0036
抽出液	0.0468	81.6	0.0837	67.8	na
残渣	0.0106	18.4	0.0397	32.2	na
根部	0.8832	-	0.5544	-	0.0011

na 分析せず, ns 試料なし

放射性残留物のSPEによる画分の結果を表2に示す。中間採取試料の茎葉部抽出液中の放射性残留物の多くが極性成分で構成されていた。登熟期試料の玄米抽出液については、放射性残留物が低極性成分より極性成分を多く含有していることが示唆されたが、その濃度は極めて低レベル (<0.002 mg eq./kg) であった。稲わら抽出液については中間採取の茎葉部抽出液と同様に、放射性残留物の多くが極性成分で構成されていたが、中間採取の抽出液と異なり高極性成分と考えられる放射性残留物（水溶出液画分）が多いことも示唆された。

表2. Bz 標識体処理におけるイネ体試料抽出液のSPE分析

画分	中間採取試料		登熟期試料			
	茎葉部(56 DAT)		玄米(116 DAT)		稲わら(116 DAT)	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
抽出液全体	0.0468	81.6	0.0026	25.8	0.0837	67.8
水溶出液	0.0041	7.6	0.0003	3.1	0.0284	22.9
ヘキサン/酢酸エチル溶出液	0.0104	18.1	0.0004	4.4	0.0158	12.8
メタノール溶出液	0.0303	52.7	0.0017	17.3	0.0357	29.0
総回収率	0.0450	78.5	0.0025	24.8	0.0798	64.7

登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液の性質の異なる固相抽出カラム (MAX SPE) による再分画化の結果を表 3 に示す。SPE-水溶出液試料中の放射性残留物のうち、カラムに保持された後、有機溶媒で溶出された高極性画分には TRR の 13.3%の放射能が検出された。水溶出液からは微量の放射能 (TRR の 5.3%) が認められたのみであった。

表 3. Bz 標識体処理における稲わらの SPE-水溶出液中の放射性残留物の特徴付け

画分	放射能 mg/kg	% TRR
SPE カラム水溶出液の放射能	0.0284	22.9
水溶出液 (水可溶画分)	0.0066	5.3
有機溶媒溶出液 (高極性画分)	0.0164	13.3
総回収率	0.0230	18.6

放射性成分の定量結果を表 4 に示す。

中間採取試料の茎葉部の SPE-ヘキサン/酢酸エチル溶出液中からは、主放射成分として及び未代謝の KIH-5996 が検出された。これらの残留レベルはそれぞれ

及び 0.0009 mg eq./kg (TRR の 1.6%) であった。そのほかの放射性ピークはいずれも 0.002 mg eq./kg (TRR の 3.5%) 以下の微量成分であった。SPE-メタノール溶出液からは の 2 種類の放射性ピークが観察された。これらの残留レベルはそれぞれ

であった。 は HPLC クロマトグラムにおけるピーク形状から 2 種以上の代謝物から成るものと推定された。 は と同定された。他に顕著な放射性ピークは認められなかった。

登熟期試料の玄米抽出液から得られた SPE-水溶出液と SPE-ヘキサン/酢酸エチル溶出液は、放射性残留物の含有量が微量であったため、放射性成分の定量分析を行わなかった。また、SPE-メタノール溶出液は、放射能が少なかったため TLC で定量分析した。その結果

が検出された。以上のことから玄米中の主要な代謝物は であることが示された。

稲わら抽出液の SPE-ヘキサン/酢酸エチル溶出液中の放射性成分として が、また と KIH-5996 が微量の放射性ピークとして検出された。ただしこれらの代謝物の量は

であった。稲わら抽出液の SPE-メタノール溶出液は夾雑物が多く HPLC カラムの保持と溶出が良好ではなかったが、中間採取の茎葉部抽出液と同様に のピークが検出された。

稲わら抽出液の SPE-水溶出液の高極性画分を分析した結果、4 種類の主な放射性ピークが確認された。(表 5) これらの量は最大のピークである でであった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

他の放射性ピークは TRR の 2%未満であった。

表 4. Bz 標識体処理における SPE 溶出面分の同定／特徴付け

画分 (同定)	中間採取試料		登熟期試料			
	茅葉部 (56 DAT)		玄米 (116 DAT)		稲わら (116 DAT)	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
ヘキサン／酢酸エチル溶出面分 FH15 (KIH-5996)	0.0104	18.1	0.0004	4.4	0.0158	12.8
	0.0009	1.6	na	na	0.0009	0.7
メタノール溶出面分	0.0303	52.7	0.0017	17.3	0.0357	29.0

na 放射エネルギーが微量のため定量分析せず、 — 該当画分なし

表 5. Bz 標識体処理における稲わら抽出液 SPE 高極性画分の同定／特徴付け

画分	稲わら (116 DAT)	
	mg/kg	%TRR
有機溶媒溶出液 (高極性画分)	0.0164	13.3

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

抽出後の固形物残渣中の放射能残留物の特徴付けの結果を表6及び表7に示した。玄米試料では、緩衝液による洗浄液、 $\alpha$ -アミラーゼ及びプロテアーゼ処理による可溶化画分、これらの処理後に残る固形物残渣のいずれからも有意な量の放射能が検出され、水溶性画分、デンプン、タンパク質、植物体構成成分等の生体成分に放射能が取り込まれているものと推定された。(表6)

稲わらの固形物残渣中の放射性残留物は、わずかな量がソックスレー抽出で抽出された。ソックスレー抽出後の放射性残留物は大部分がリグニンとヘミセルロース画分に分布しており、ペクチン画分の放射能は少なく、またセルロース画分中の放射能量は検出限界以下であった。以上のことから稲わらの固形物残渣中の放射性残留物はそのほとんどが稲わらの植物体構成成分に取り込まれているものと推定された。(表7)

表6. Bz 標識体処理における玄米の固形物残渣中の放射性残留物の特徴付け

画分	玄米(116 DAT)	
	放射能量 mg/kg	% TRR
固形物残渣中の放射能量	0.0075	74.2
緩衝液洗浄液 $\alpha$ -アミラーゼ処理による可溶化画分 プロテアーゼ処理による可溶化画分 処理後の固形物残渣 総回収率		

表7. Bz 標識体処理における稲わらの固形物残渣中の放射性残留物の特徴付け

画分	稲わら(116 DAT)	
	放射能量 mg/kg	% TRR
固形物残渣中の放射能量	0.0397	32.2
ソックスレー抽出 ペクチン画分 リグニン画分 ヘミセルロース画分 セルロース画分 化学抽出後の固形物残渣 総回収率		

< LOD: 検出下限値未満

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

主要代謝物の残留レベル：本試験で同定された主要代謝物の残留レベルを表 8 に示す。

表 8. Bz 標識体処理における KIH-5996 の主要代謝物の残留量のまとめ

代謝物	中間採取試料		登熟期試料			
	草葉部 (56 DAT)		玄米 (116 DAT)		稲わら (116 DAT)	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
KIH-5996	0.0009	1.6	na	na	0.0009	0.7

na 放射エネルギーが微量のため定量分析せず

イネ体中における想定代謝経路：

KIH-5996 の想定代謝経路を図 7 に示す。KIH-5996 の水稻における主要代謝経路は、

であった。この代謝物は また代謝物はリ  
グニンやヘミセルロースなどの植物細胞壁構成成分に取り込まれて結合型残留物を形成す  
ると考えられる。

図 7. ピリミルスルファンのイネ体中における想定代謝経路



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

(資料 運命-3)

## 2) ピリミスルファンの水稲における代謝運命試験 (ピリミジン環標識体)

試験機関:

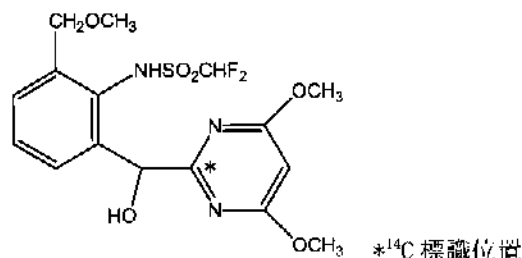
報告書作成年: 2005年 [GLP対応]

供試化合物: ピリミスルファン (KIH-5996)

化学名: (R<sub>S</sub>)-2'-[(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)(hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6-(methoxymethyl)methanesulfonanilide (IUPAC)

構造式及び標識位置:

[Pyrimidine-2-<sup>14</sup>C]KIH-5996 (P<sub>m</sub> 標識体)



ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

標識位置の設定理由: ベンゼン環とピリミジン環の間,あるいはピリミジン環が開裂した場合でもそれぞれの代謝・分解物の挙動を把握するために,ベンゼン環あるいはピリミジン環の炭素を標識した。(ベンゼン環標識体の試験成績は[資料 運命-2]を参照)

試験方法:

供試植物: イネ (*Oryza sativa* L.) 品種: コシヒカリ

栽培条件:

土壌: 埴壤土 (埼玉県農林総合研究センター内水田土壌, 熊谷市久保島)

移植: 2004年5月24日に1/2000 aポットに各5個体または1/5000 aポットに2個体の幼苗(2.0葉期)を移植した。

栽培条件: 水稲の慣行栽培時期の東京地方における気象条件を模した条件設定をしたファイトロン内で栽培した。登熟期までは水深3cmを維持し,収穫の約1ヶ月前からは落水して収穫日まで非灌水条件とした。

試験設計: 試験設計の概要を下表に示す。なお各試験区の栽培は同一のファイトロン室内で行った。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験区	採取時期	ポット数	採取試料
処理区 1 (2回施用)	青刈り期	2	茎葉部
	登熟期	6	玄米, 籾殻, 稲わら, 根部
処理区 2 (1回施用)	登熟期	6	玄米, 籾殻, 稲わら, 根部
対照区	登熟期	1	玄米, 籾殻, 稲わら, 根部

処理方法：

模擬製剤の調製：メタノールに溶解させた Pb 標識体を、製剤白試料（粒剤）に吸収させ、溶媒を除去して 0.67%粒剤の模擬製剤を調製した。

施用方法：施用は、本剤の適用上の使用量である 1 kg 製剤/10 a 相当量 (67 g a. i. /ha) を田面水に施用した。対照区は無処理のままとした。施用時期以下に示す。

- ・処理区 1：移植 3 日後（2004 年 5 月 27 日）及び 31 日後（2004 年 6 月 24 日）
- ・処理区 2：移植 3 日後（2004 年 5 月 27 日）

試料採取：中間採取試料は、第 1 回施用から 56 日後の 2004 年 7 月 22 日に、登熟期試料は第 1 回施用から 112 日後の 2004 年 9 月 16 日に採取した。試料は生重量を測定した後、分析時まで -20℃ で保存した。

分析方法：

#### 1) 抽出操作及び放射性総残留物 (TRR) の測定

中間採取の茎葉部と登熟期の稲わら及び玄米試料は、アセトニトリル：水 (8/2, v/v) で 2 回抽出し、抽出液中の放射エネルギーを LSC で測定した。また残渣中の放射エネルギーを燃焼処理した後 LSC で測定した。(図 1)

登熟期の籾殻と根部試料及び対照区の植物体各試料は、燃焼処理し、放射エネルギーを LSC で測定した。

#### 2) 放射性残留物の分画

抽出液中の放射性成分を固相抽出 (SPE) による分画化を行った (図 2)。カラムに保持された放射性成分はヘキサン/酢酸エチル (1/1, v/v) とメタノールで順次溶出させた。稲わら試料のヘキサン/酢酸エチル溶出液及びメタノール溶出液は、減圧濃縮、乾固した後、それぞれアセトン/アセトニトリル/水 (1/2/2, v/v/v) 及びメタノール/水 (1/1, v/v) を用いて残留物を再溶解し、HPLC による定量分析時まで約 -20℃ で保存した。玄米試料のヘキサン/酢酸エチル溶出液及びメタノール溶出液は、減圧濃縮、乾固した後、それぞれヘキサン/酢酸エチル (1/1, v/v) 及び水を用いて残留物を再溶解し、TLC による定量分析時まで約 -20℃ で保存した。ただし処理区 2 のヘキサン/酢酸エチル溶出液は、放射エネルギーが微量であったため以降の操作を実施しなかった。

3) 登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液の再分画化

登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液は、MAX SPE カラムを用いて水溶出液（水溶出液 1）に溶出する以外の放射性成分を保持させた後、2%ギ酸アセトニトリル、アセトニトリル、2%ギ酸アセトン、アセトンの順で順次溶出させ、各溶出液は合わせた（有機溶出液 1）。水溶出液 1 及び有機溶出液 1 はその一部を LSC で分析して各画分の放射エネルギーを測定した。水溶出液は再度上記同様に MAX SPE カラムに保持、分画した。再分画化で得られた水溶出液 2 及び有機溶出液 2 はその一部を LSC で分析して各画分の放射エネルギーを測定した。有機溶出液 1 及び 2 は合わせた後、減圧濃縮し（高極性画分）、HPLC により定量分析を行った。（図 3）

4) 放射性成分の定量

中間採取の茎葉部と登熟期の稲わら抽出液中の放射性成分は HPLC/LSC 法により定量した。また、登熟期の玄米抽出液（メタノール溶出液）中の放射性成分は TLC/BAS 法による定量を行った。

代謝物の同定及び特徴付け：

1) SPE-メタノール画分中の主要代謝物の同定

SPE-メタノール画分中の主要極性代謝物を精製し、LC-MS で化合物の同定／特徴付けを行うことを目的として処理区 1 の中間採取茎葉部試料の追加抽出を分析方法 1) と同様にして行った。各抽出液は分析方法 2) と同様に SPE 分析に供した。ただし溶出溶媒は、精製効果を高めるためヘキサン／酢酸エチル（1/1, v/v）、アセトン、メタノールを用いた。（図 4）

を含む SPE-アセトン溶出液は合わせて濃縮した後、HPLC に繰り返し注入して分取、精製した。は濃縮し、LC-ESI/MS で分析した。また、精製後のを酢酸緩衝液（pH 5.0）に再溶解し、セルラーゼによる酵素加水分解を行った。加水分解後の溶液試料を HPLC で分析した。

2) コクロマトグラフィーによる同定／特徴付け

植物体抽出液中の放射性成分は HPLC コクロマトグラフィーまたは TLC コクロマトグラフィーにより同定／特徴付けを行った。

3) 抽出後の残渣中の放射性残留物の特徴付け

玄米の抽出残渣は  $\alpha$ -アミラーゼとプロテアーゼで順次処理しデンプン画分とタンパク質画分に取り込まれた放射エネルギーを測定した。また固形物残渣は燃焼処理し放射エネルギーを測定した（図 5）。稲わらの抽出残渣はソックスレー抽出を行った後、1%  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 、ジメチルスルホキシド（DMSO）、24% KOH 及び 72%硫酸で順次抽出し、ペクチン、リグニン、ヘミセルロース及びセルロースの各画分に分画し、放射エネルギーを測定した。また固形物残渣を燃焼処理し、放射エネルギーを調べた（図 6）。

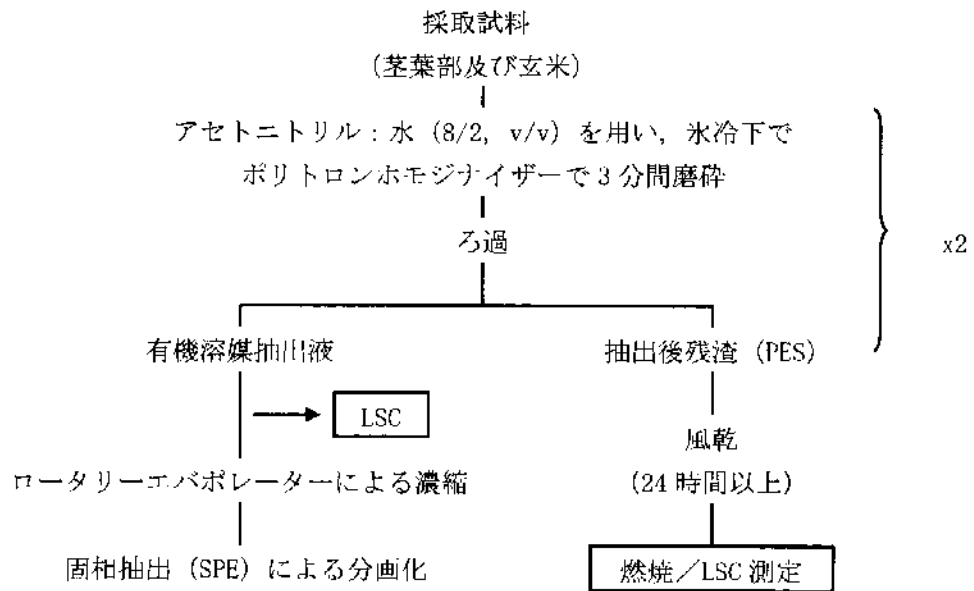


図1. Pm 標識体を処理したイネの茎葉部及び玄米中の放射性残留物の抽出法の概要

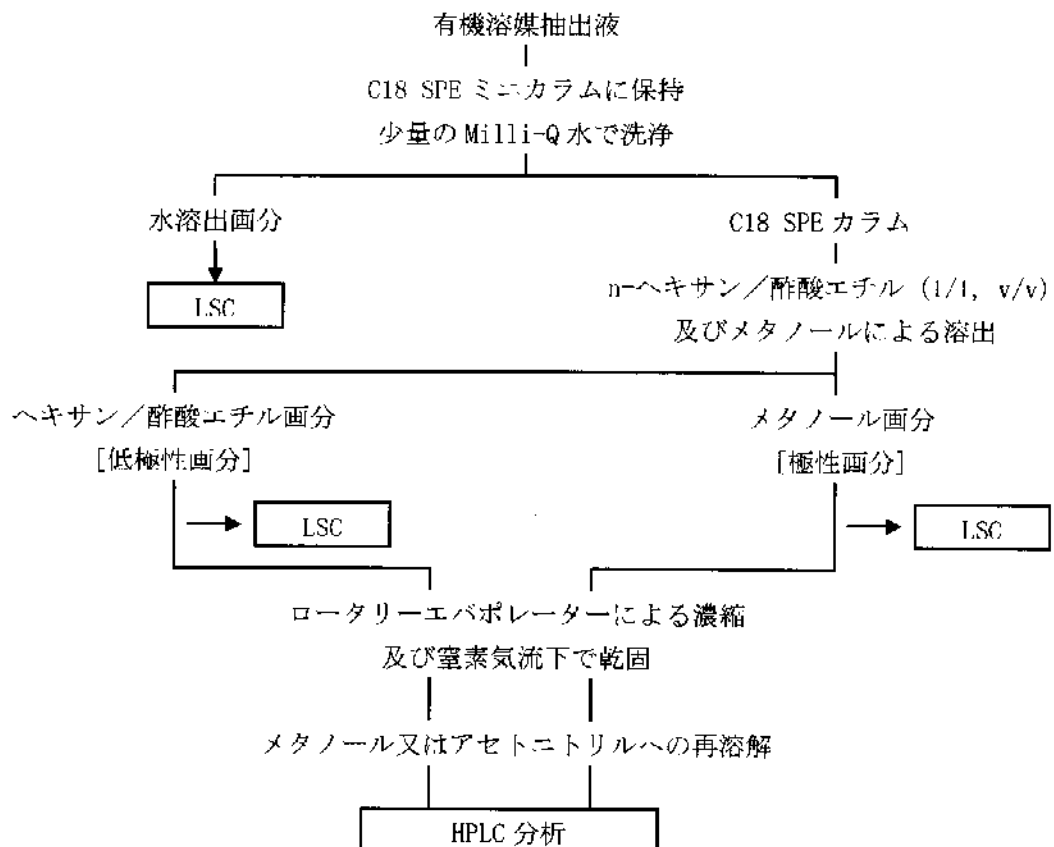


図2. 茎葉部及び玄米の放射性残留物の C18 SPE カラムによる固相抽出法 (SPE) の概要

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

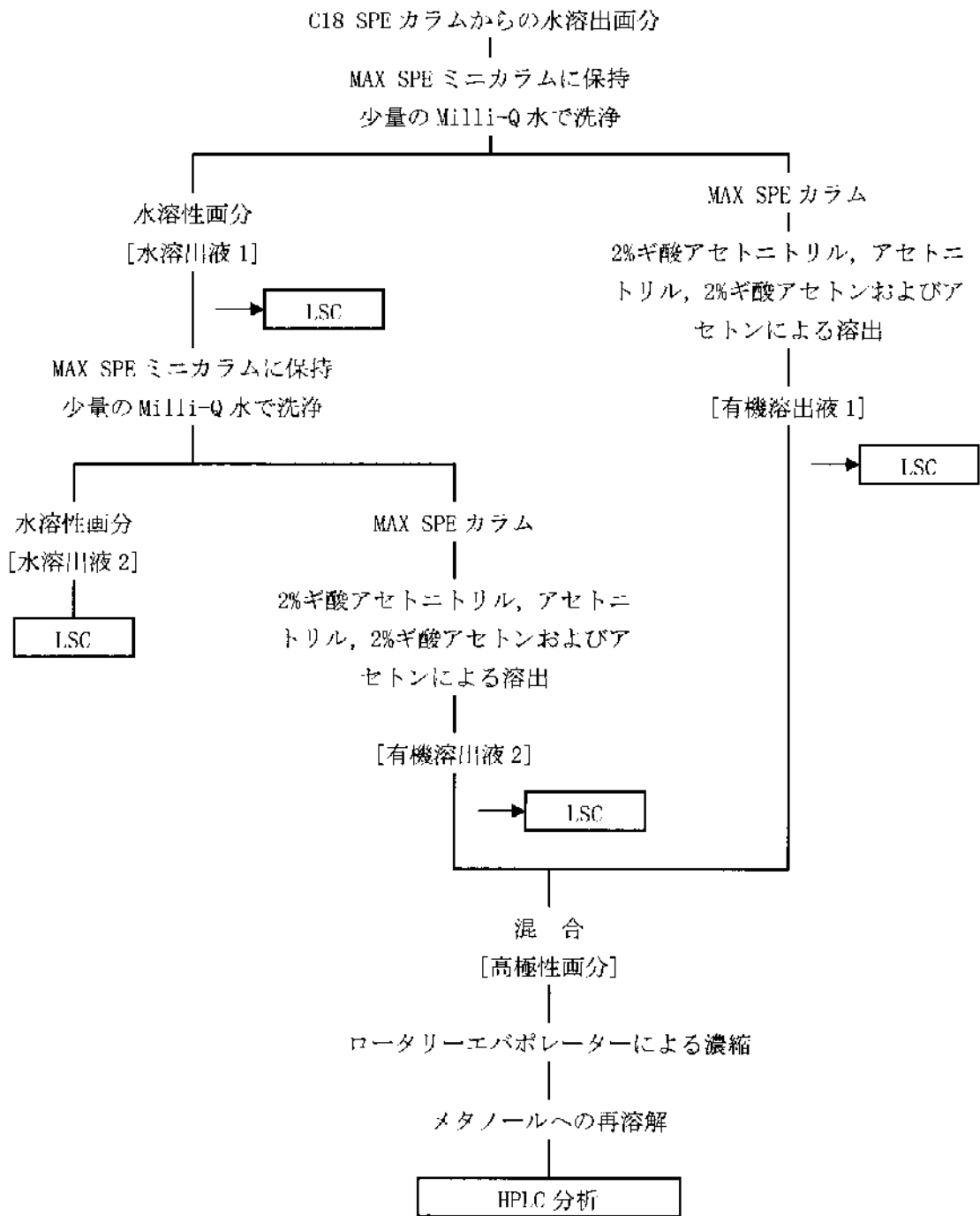


図 3. 登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液の MAX SPE カラムによる再分画化

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

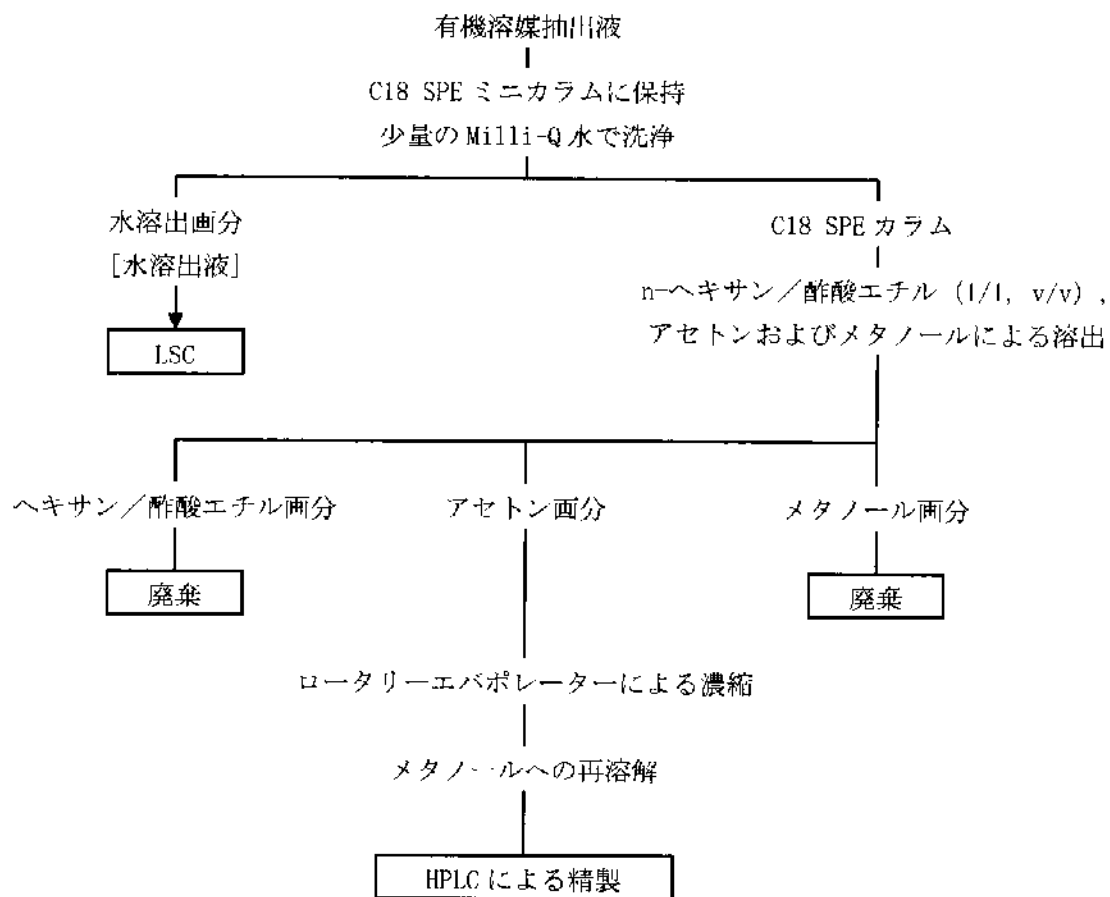


図4. 中間採取茎葉部試料中の放射性残留物の C18 SPE カラムによる精製

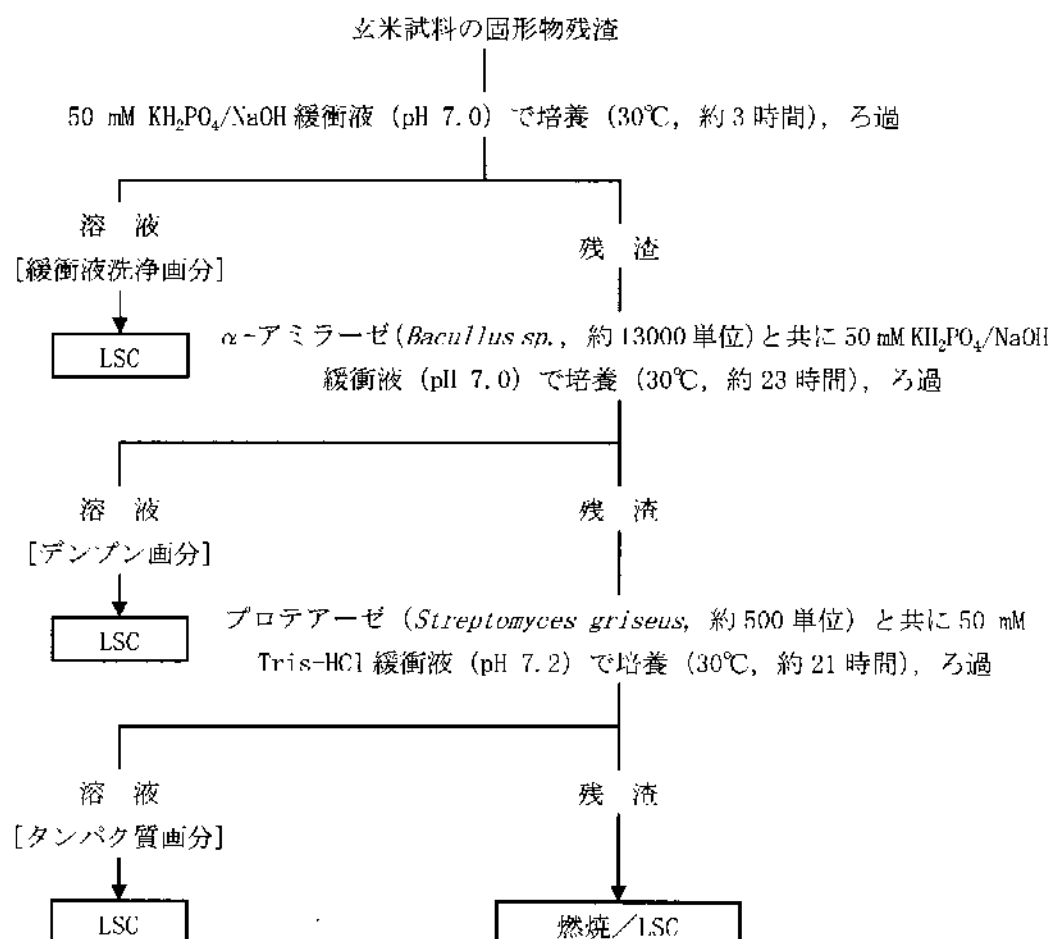


図 5. 酵素処理による玄米試料抽出後の残渣中の放射性残留物の特徴付け

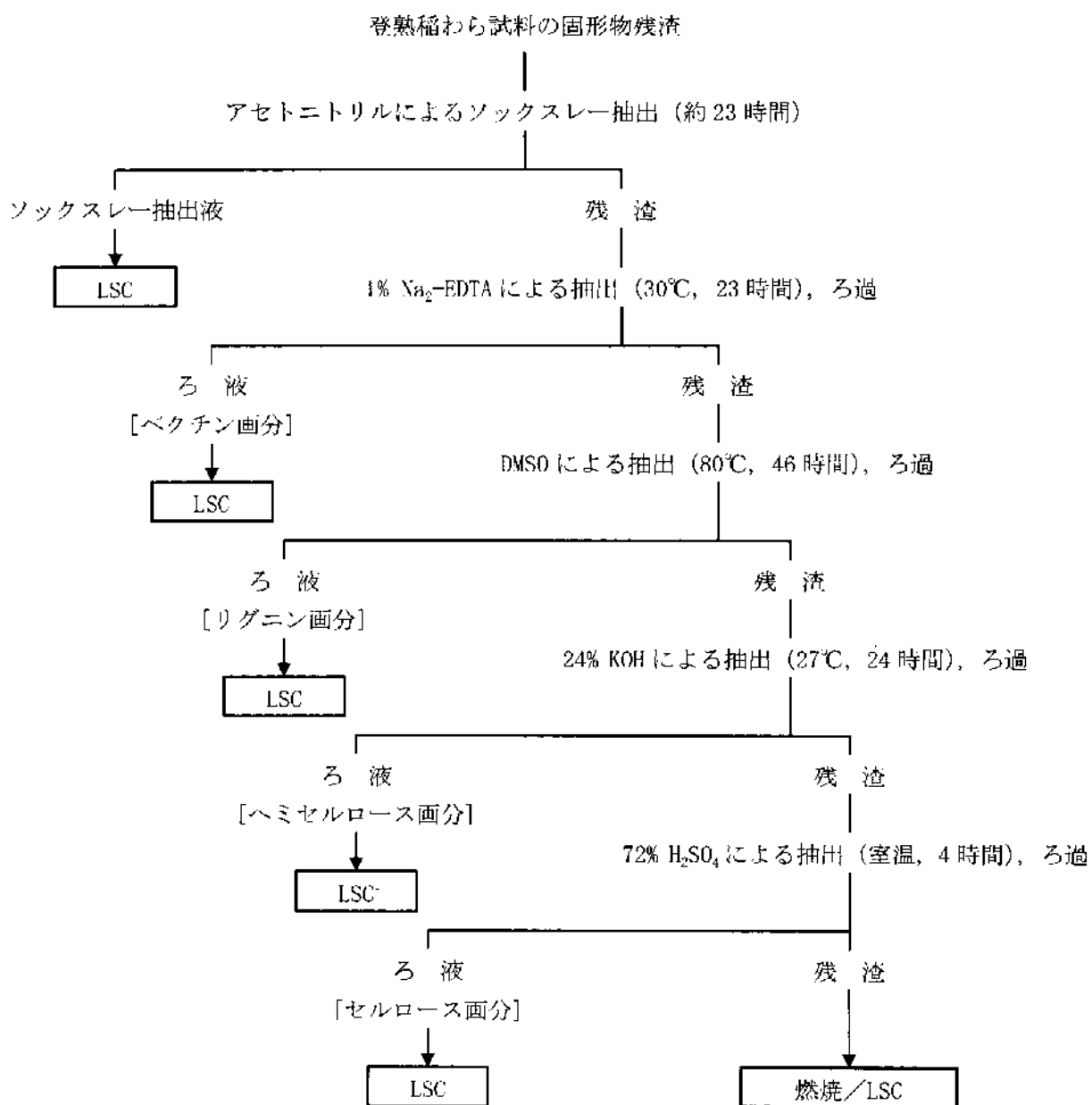


図6. 化学的抽出による稲わら試料抽出後の残渣中の放射性残留物の特徴付け



試験結果：

抽出及び放射性総残留物（TRR）の測定結果を表1に示す。

処理区1（2回施用）の中間採取試料の茎葉部中のTRRレベルは0.364 mg eq./kgであった。

処理区1の登熟期試料の稲わら中のTRRレベルは0.145 mg eq./kgであり、中間採取の処理56日後の茎葉部の約1/2以下に減少していた。可食部である玄米のTRRは0.033 mg eq./kgと低かった。また籾殻と根部のTRRレベルはそれぞれ0.064 mg eq./kgと1.236 mg eq./kgであった。

処理区2（1回施用）の稲わら中のTRRレベルは0.059 mg eq./kgであり、処理区1の稲わら中のレベルの1/2以下であった。可食部である玄米のTRRレベルは0.018 mg eq./kgと極めて低かった。また、籾殻と根部のTRRレベルはそれぞれ0.021 mg eq./kg及び0.319 mg eq./kgであった。

処理区と同一室内で栽培した対照区試料では、玄米試料から0.0089 mg eq./kgの放射能が検出され、これは処理区1及び2の玄米中のTRRレベルのそれぞれ約1/4、1/2に相当した。このことは処理区から発生したPm標識体由来の放射性揮発物質を取り込んだものと推定された。また籾殻からも0.0080 mg eq./kgの放射能が検出され、玄米同様に籾殻にも放射性揮発物質が取り込まれたことを示していた。稲わら及び根部試料からも放射能が検出されたが、これらのレベルは処理区に比べて顕著なものではなかった。

表1. Pm 標識体処理におけるイネ体中の抽出及び放射性総残留物量

画分	処理区1				処理区2		対照区 mg/kg
	中間採取試料 (56 DAT*)		登熟期試料 (112 DAT*)		登熟期試料 (112 DAT)		
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	
玄米	ns	ns	0.0326	100.0	0.0177	100.0	0.0089
抽出液	ns	ns	0.0066	20.2	0.0014	7.9	na
残渣	ns	ns	0.0260	79.8	0.0163	92.1	na
籾殻	ns	ns	0.0638	—	0.0214	—	0.0080
茎葉部/ 稲わら	0.3638	100.0	0.1453	100.0	0.0589	100.0	0.0043
抽出液	0.2917	80.2	0.1059	72.9	0.0388	65.8	na
残渣	0.0721	19.8	0.0395	27.1	0.0201	34.2	na
根部	na	na	1.2363		0.3185	—	0.0018

\* 第1回施用時からの日数（第2回施用は第1回施用の28日後）

na 分析せず、 ns 試料なし

玄米抽出液中の放射性残留物のSPEによる分画の結果を表2に示す。処理区1の玄米抽出液中の放射性残留物は、水溶出液中にはTRRの6.4%の放射能が回収された。SPE-ヘキサン/酢酸エチル及びSPE-メタノール溶出液中にはそれぞれTRRの2.4%及び10.6%の放射能が回収された。処理区2では、水溶出液、SPE-ヘキサン/酢酸エチル及びSPE-メタノール

抽出液にそれぞれ TRR の 3.6%, 0.5% 及び 3.3% が回収された。この結果は、玄米抽出液中の放射性残留物が極性成分を多く含有していることを示唆したが、その濃度はいずれも極めて低レベル (<0.004 mg eq./kg) であった。

表 2. Pm 標識体処理における玄米試料抽出液の SPE 分析

画分	玄米			
	処理区 1		処理区 2	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
抽出液全体	0.0066	20.2	0.0014	7.9
水溶出液	0.0021	6.4	0.0006	3.6
ヘキサン/酢酸エチル溶出液	0.0008	2.4	0.0001	0.5
メタノール溶出液	0.0035	10.6	0.0006	3.3
総回収率	0.0063	19.4	0.0013	7.3

中間採取の茎葉部抽出液及び登熟期の稲わら抽出液中の放射性残留物の SPE による分画の結果を表 3 に示す。茎葉部抽出液中の放射性残留物は、SPE-ヘキサン/酢酸エチル及び SPE-メタノール溶出液中にはそれぞれ TRR の 11.8% 及び 56.6% の放射能が検出された。水溶出液中の放射能は TRR の 10% 未満 (6.7%) であった。処理区 1 の稲わら抽出液中の放射性残留物は、水溶出液中には TRR の 24.1% の放射能が検出された。SPE-ヘキサン/酢酸エチル及び SPE-メタノール溶出液中にはそれぞれ TRR の 11.0% 及び 38.5% の放射能が回収された。処理区 2 では、水溶出液、SPE-ヘキサン/酢酸エチル及び SPE-メタノール抽出液にそれぞれ TRR の 16.0%, 8.7% 及び 36.5% が検出された。これらの SPE 分析の結果は、中間採取の茎葉部抽出液及び稲わら抽出液のいずれも、放射性残留物の多くが極性成分で構成されていることを示したが、稲わら抽出液では中間採取の茎葉部抽出液に比べて、高極性画分と考えられる放射性残留物 (水溶出液) が多いことが示唆された。

表 3. Pm 標識体処理における茎葉部/稲わら試料抽出液の SPE 分析

画分	処理区 1				処理区 2	
	中間採取茎葉部		稲わら		稲わら	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
抽出液全体	0.2917	80.2	0.1059	72.9	0.0388	65.8
水溶出液	0.0243	6.7	0.0351	24.1	0.0094	16.0
ヘキサン/酢酸エチル溶出液	0.0431	11.8	0.0159	11.0	0.0051	8.7
メタノール溶出液	0.2058	56.6	0.0559	38.5	0.0216	36.5
総回収率	0.2732	75.1	0.1070	73.6	0.0361	61.2

登熟期稲わら抽出液の SPE-水溶出液の性質の異なる固相抽出カラム (MAX SPE) による再分画化の結果を表 4 に示す。処理区 1 の SPE-水溶出液試料中の放射性残留物のうち、2

回の MAX カラムを用いた再分析で得られた高極性画分には TRR の 8.3% の放射能が回収された。水溶出液からは TRR の 6.3% が認められた。処理区 2 の SPE-水溶出液中では高極性画分及び水溶出液それぞれに TRR の 6.1% 及び 7.4% の放射能が検出された。この再分析で稲わら抽出液の SPE-水溶液中の放射能を有機溶媒画分（高極性画分）に分画できた。

表 4. Pm 標識体処理における稲わらの SPE-水溶出液中の放射性残留物の再分画

画分	処理区 1		処理区 2	
	mg/kg	% TRR	mg/kg	% TRR
SPE カラム水溶出液の放射能量	0.0351	24.1	0.0094	16.0
水溶出液 2 (水可溶画分)	0.0092	6.3	0.0043	7.4
有機溶媒溶出液 1+2 (高極性画分)	0.0121	8.3	0.0036	6.1
総回収率	0.0213	14.6	0.0079	13.5

玄米抽出液中の放射性成分の定量結果を表 5 に示す。

処理区 1 の玄米抽出液から得られた SPE-水溶出液と SPE-ヘキサン/酢酸エチル溶出液、及び処理区 2 の玄米抽出液から得られた各画分は、放射性残留物の含有量が微量であったため、放射性成分の定量分析を行わなかった。処理区 1 の玄米抽出液から得られた SPE-メタノール溶出液は、その放射能量が少なく HPLC による定量分析が困難なため TLC で定量分析をした。その結果、主放射性成分としてが検出された。(表 5)

表 5. Pm 標識体処理における玄米 SPE-メタノール溶出画分の放射性成分の定量

画分	処理区 1	
	mg/kg	% TRR
SPE-メタノール溶出画分の放射能量	0.0035	10.6

\* その他の画分の最大値を表示

中間採取の茎葉部抽出液及び稲わら試料抽出液中の放射性成分の定量結果を表 6 に示す。茎葉部抽出液の SPE-ヘキサン/酢酸エチル溶出液中からは主要な放射性成分として

及び未変化の KIH-5996 (FH15) の放射性ピークが検出された。これらの残留レベルはそれぞれ 及び 0.0033 mg eq./kg であった。その他に参照化合物と一致しないピークがいくつか確認されたが、それらはいずれも 0.0070 mg eq./kg (TRR の 1.9%) 以下の微量成分であった。SPE-メタノール溶出液からは主要な放射性成分としてが検出された。この代謝物のレベルはであった。これ以外に顕著な放射性ピークは見つからなかった。

処理区 1 の稲わら抽出液の SPE-ヘキサン/酢酸エチル溶出液中からは主要な放射性成分として の 2 つの放射性ピークが検出された。ただしこれらの量は

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

であった。一方、処理区2の稲わら抽出液の分析では各画分の放射能が微量のため HPLC クロマトグラム上に放射性ピークが確認できなかった。なお処理区2の HPLC 各画分中の%TRR は処理区1と類似しており、放射性成分の分布が処理区1とほぼ同様であることが示唆された。

処理区1の稲わら抽出液の SPE-メタノール溶出液を分析した結果、主要な放射性ピークとして

が検出された。他に

が検出された。従っ

て、稲わら抽出液の SPE メタノール溶出液の主要な放射性ピークは、

であることが確認された。処理区2の稲わら抽出液の SPE-メタノール溶出液では

を除いて各画分の放射能が微量なため HPLC クロマトグラム中の放射性ピークが確認できなかった。処理区2の SPE-メタノール溶出液についても HPLC 各画分の%TRR が処理区1と類似しており、放射性成分の分布が処理区1とほぼ同様であることが示唆された。

表 6. Pm 標識体処理における SPE 溶出画分の定量

画分 (同定)	処理区 1				処理区 2	
	中間採取莖葉部		稲わら		稲わら	
	mg eq/kg	%TRR	mg eq/kg	%TRR	mg eq/kg	%TRR
ヘキサン/酢酸エチル溶出画分 FH15 (KIH-5996)	0.0431	11.8	0.0159	11.0	0.0051	8.7
	0.0033	0.9	0.0003	0.2	< LOD	< LOD
メタノール溶出画分	0.2058	56.6	0.0559	38.5	0.0216	36.5
その他*						

\* その他の画分の最大値を表示

< LOD: 検出下限値未満

処理区1の稲わら抽出液の SPE-水溶出液の高極性画分を分析した結果、主に

に放射性ピークが確認された。(表7) これ以外に放射性ピークは認められなかった。処理区2の稲わら抽出液の高極性画分の分析では、各画分の放射能は微量であり HPLC クロマトグラム上に放射性ピークは検出されたが、同定できなかった。

表 7. Pm 標識体処理における稲わら抽出液 SPE 高極性画分の定量

画分	処理区 1		処理区 2	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
有機溶媒抽出液 (高極性画分)	0.0121	8.3	0.0036	6.1
その他*				

\* その他の画分の最大値を表示

抽出後の固形物残渣中の放射能残留物の特徴付けの結果を表 8 及び表 9 に示した。

各処理区の玄米については有機溶媒抽出後の固形物残渣中の残っている放射能濃度は低かったが (<0.03 mg eq. /kg), TRR の 80%以上であったため酵素処理による特徴付けを行った。その結果、酵素処理前の緩衝液による洗浄液、 $\alpha$ -アミラーゼ及びプロテアーゼ処理による可溶化画分、これらの処理後に残る固形物残渣のいずれからも有意な量の放射能が検出され、水溶性画分、デンプン、タンパク質の玄米構成成分に取り込まれているものと推定された。(表 8) なお処理区 1 と 2 で各成分の %TRR に大きな差は認められなかった。

稲わらの固形物残渣中の放射性残留物は、わずかな量 (TRR の 2.0%以下) がソックスレー抽出で抽出された。ソックスレー抽出後の放射性残留物はいずれの試料でも大部分がリグニンとヘミセルロース画分に分布しており、ペクチン画分の放射能は少なく、またセルロース画分中の放射能量はごく微量あるいは検出限界以下であった。以上のことから稲わらの固形物残渣中の放射性残留物はそのほとんどが稲わらの植物体構成成分に取り込まれているものと推定された。(表 9) なお処理区 1 と 2 で各成分の %TRR に大きな差は認められなかった。

表 8. Pm 標識体処理における玄米の固形物残渣中の放射性残留物の特徴付け

画分	処理区 1		処理区 2	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
固形物残渣中の放射能量	0.0260	79.8	0.0163	92.1
緩衝液洗浄液				
$\alpha$ -アミラーゼ処理による可溶化画分				
プロテアーゼ処理による可溶化画分				
処理後の固形物残渣				
総回収率				

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 9. Pm 標識体処理における稲わらの固形物残渣中の放射性残留物の特徴付け

画分	処理区 1		処理区 2	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
固形物残渣中の放射エネルギー	0.0395	27.1	0.0201	34.2
ソックスレー抽出				
ペクチン画分				
リグニン画分				
ヘミセルコース画分				
セルコース画分				
化学抽出後の固形物残渣				
総回収率				

< LOD: 検出下限値未満

主要代謝物の残留レベル:

本試験で同定された主要代謝物の残留レベルを表 10 に示す。両処理区間に代謝物の質的な差は認められなかった。

表 10. Pm 標識体処理における KIH-5996 の主要代謝物の残留量のまとめ

代謝物	処理区	中間採取試料		登熟期試料			
		茎葉部 (56 DAT)		玄米 (112 DAT)		稲わら (112 DAT)	
		mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
KIH-5996	処理区 1	0.0033	0.9	na	na	0.0003	0.2
	処理区 2	ns	ns	na	na	nd	nd
	処理区 1						
	処理区 2						
	処理区 1						
	処理区 2						

nd 検出せず, na 放射エネルギーが微量のため定量分析せず, ns 試料なし

イネ体中における想定代謝経路:

KIH-5996 の想定代謝経路を図 7 に示す。KIH-5996 の水稻における主要代謝経路は、  
と、

であった。この代謝物は また代謝物は  
はリグニンやヘミセルコースなどの植物細胞壁構成成分に取り込まれて結合型残留物を形成すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

(3) 土壌中運命に関する試験

(資料 運命-4)

1) ピリミスルファンの好氣的湛水土壌中運命試験

試験機関：

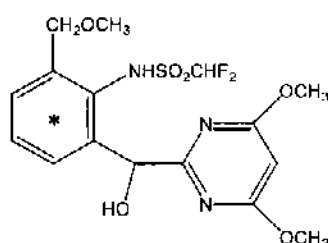
報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

供試化合物： ピリミスルファン (KIH-5996)

化学名： (RS)-2'-[4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl] (hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6'-  
(methoxymethyl)methanesulfonanilide (IUPAC)

構造式及び標識位置：

[Benzene- $^{14}\text{C}$ ]KIH-5996



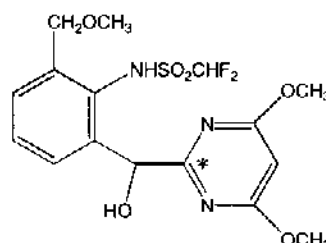
ロット番号：

比放射能：

放射化学的純度：

以下、[Benzene- $^{14}\text{C}$ ]KIH-5996 を Bz 標識体，[Pyrimidine-2- $^{14}\text{C}$ ]KIH-5996 を Pm 標識体と適宜記す。

[Pyrimidine-2- $^{14}\text{C}$ ]KIH-5996



ロット番号：

比放射能：

放射化学的純度：

供試土壌：

牛久土壌：

(茨城県牛久市柏田町)

水田圃場より 2004年3月29日に採取した新鮮土壌

表 1. 供試土壌の物理化学的特性

項目	
土性	軽埴土 (LiC)
粘土/シルト/細砂/粗砂含量 (%)	31.3/25.4/38.2/5.1
主要粘土鉱物	ハロイサイト及びクロライト
pH(H <sub>2</sub> O)	5.6 (26°C)
pH(KCl)	4.5 (27°C)
pH(CaCl <sub>2</sub> )	5.0 (27°C)
有機炭素含量 (g/kg 乾土)	35.8
陽イオン交換容量 (cmol <sub>c</sub> /kg 乾土)	22.7
最大含水量 (%)	110.56



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

試験方法：

施用液の調製： [Bz-<sup>14</sup>C]及び[Pm-<sup>14</sup>C]KIH-5996 の保存溶液からそれぞれの適量を測り取り、溶媒を除去後、適量のアセトンに溶解して目標濃度 200 ppm の施用液を調製した。

施用方法： 土壌への目標添加濃度は乾土当り 0.2 ppm とした。これはピリミルスルファンの水田での最大慣行施用量 (67 g a. i. /ha) を散布した際に、ピリミルスルファンが土壌の表層 10 cm に均一に分布した場合の土壌負荷濃度の約 3 倍に相当する。施用はマイクロシリンジを用い、施用液 60 μL を田面水に滴下し、土壌及び田面水の全体をスパーテルでよく混和した。達成施用濃度 (初期濃度) は Bz 標識体及び Pm 標識体処理試料でそれぞれ 0.1891 ppm 及び 0.1913 ppm であった。

[<sup>14</sup>C]KIH-5996 処理後の土壌容器は、二酸化炭素フリーの加湿空気を通気し、25±2° C で 168 日間インキュベートした。

試料採取：

標識体	実験内容	試料採取 (分析) 時点
Bz 標識体	土壌中残留物分析	施用直後, 2, 7, 14, 28, 56, 84, 168 日後
	揮発性物質定量	14, 28, 56, 84, 113, 140, 168 日後
Pm 標識体	土壌中残留物分析	施用直後, 7, 14, 28, 84, 168 日後
	揮発性物質定量	14, 28, 56, 84, 112, 141, 168 日後

分析方法： 各試料は田面水及び土壌画分に分けて分析した。抽出操作を図 1 及び 2 に示した。

田面水： 田面水はデカンテーションし、減圧濾過したのち、LSC で放射能 (14C) を定量した (田面水画分, FW)。田面水画分を BOND ELUT C18 ミニカラム (SPE カラム) に保持させ、水で洗浄した後、アセトニトリルで溶出した。水抽出液 (FW-SPE/AQ) 及び有機溶媒抽出液 (FW-SPE/OR) を LSC で分析し、<sup>14</sup>C を定量した。FW-SPE/OR を濃縮し、HPLC 分析を行った。

土壌： アセトニトリル/水で振とう抽出し、振とう抽出液の一部を LSC で <sup>14</sup>C を定量した。土壌残渣の全量をアセトニトリル/水でソックスレー抽出し、ソックスレー抽出液の一部を LSC で <sup>14</sup>C を定量した。振とう抽出液及びソックスレー抽出液を合わせ (土壌抽出液)、減圧濃縮した後、田面水画分と同様に SPE カラムで固相抽出を行った。水抽出液 (EXT-SPE/AQ) 及び有機溶媒抽出液 (EXT-SPE/OR) の一部を LSC で <sup>14</sup>C を定量した。抽出後の土壌残渣は風乾し、乾燥重量を測定した後、燃焼処理し放射能を測定した。

揮発性物質： 土壌中残留物分析時点で、揮発性物質定量を行った。

代謝物の同定： 田面水及び土壌抽出液の主要放射性成分は、参照化合物との比較による HPLC コクロマトグラフィー及び TLC コクロマトグラフィーにより同定を行った。放射性二酸化炭素は炭酸バリウム沈殿法により確認した。

ピリミルスルファンの光学異性体比の変化の確認： Bz 標識体処理後 168 日の土壌抽出液のピリミルスルファンの光学異性体比をキラルカラムを用いて測定し、施用時の光学異性体比と比較した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

抽出後の土壌残液中の放射性残留物の特徴付け： R<sub>22</sub> 標識体及び Pm 標識体処理後 84 日試料の抽出後の土壌残渣を用いて酸性溶媒でのソックスレー抽出、続いて腐植抽出法による抽出を行い、放射能を分画した。分画法の概要は図 3 に示した。

半減期の算出方法： ビリミスルファンの土壌中での分解を一次反応とみなし、半減期を算出した。

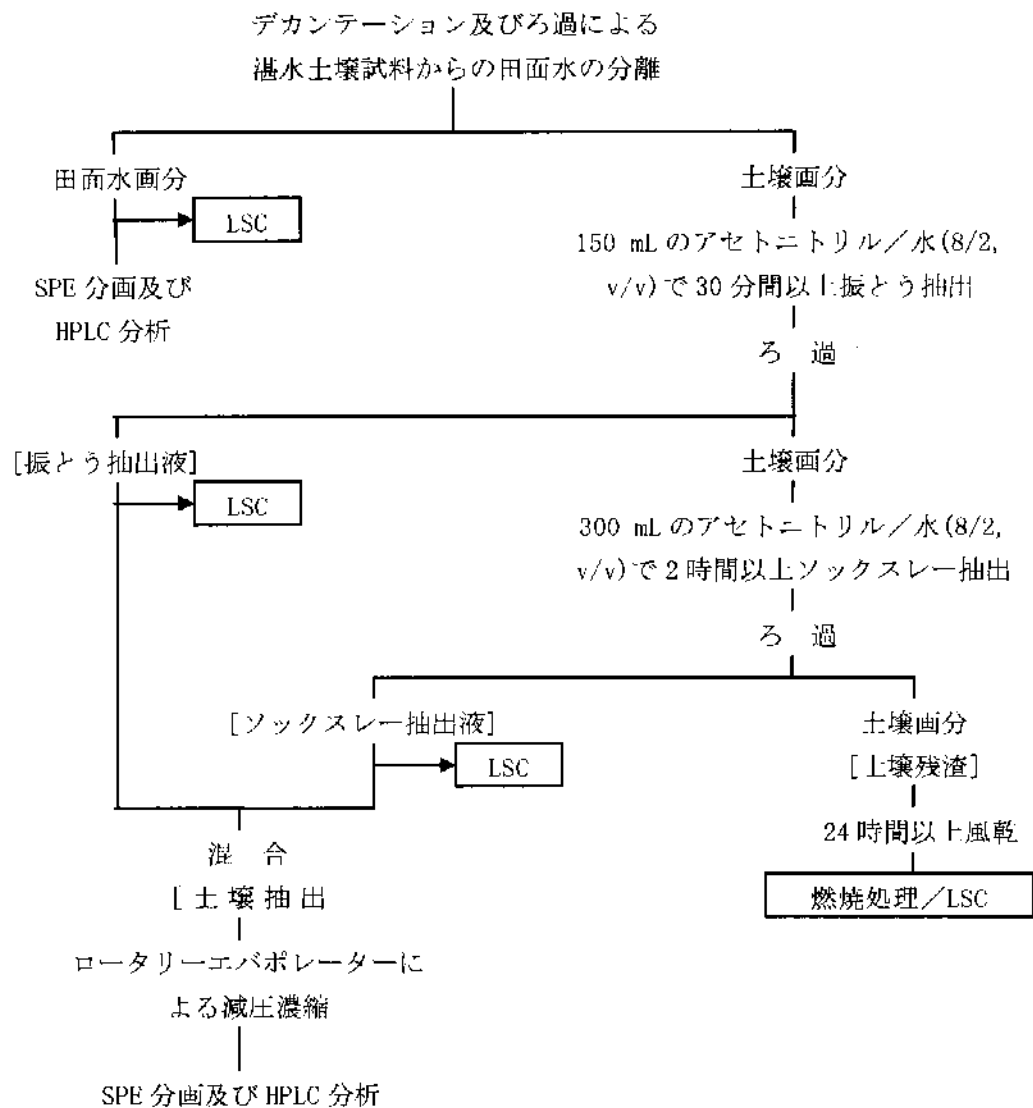


図 1. 好氣的湛水土壌の放射成分の抽出方法の概要

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

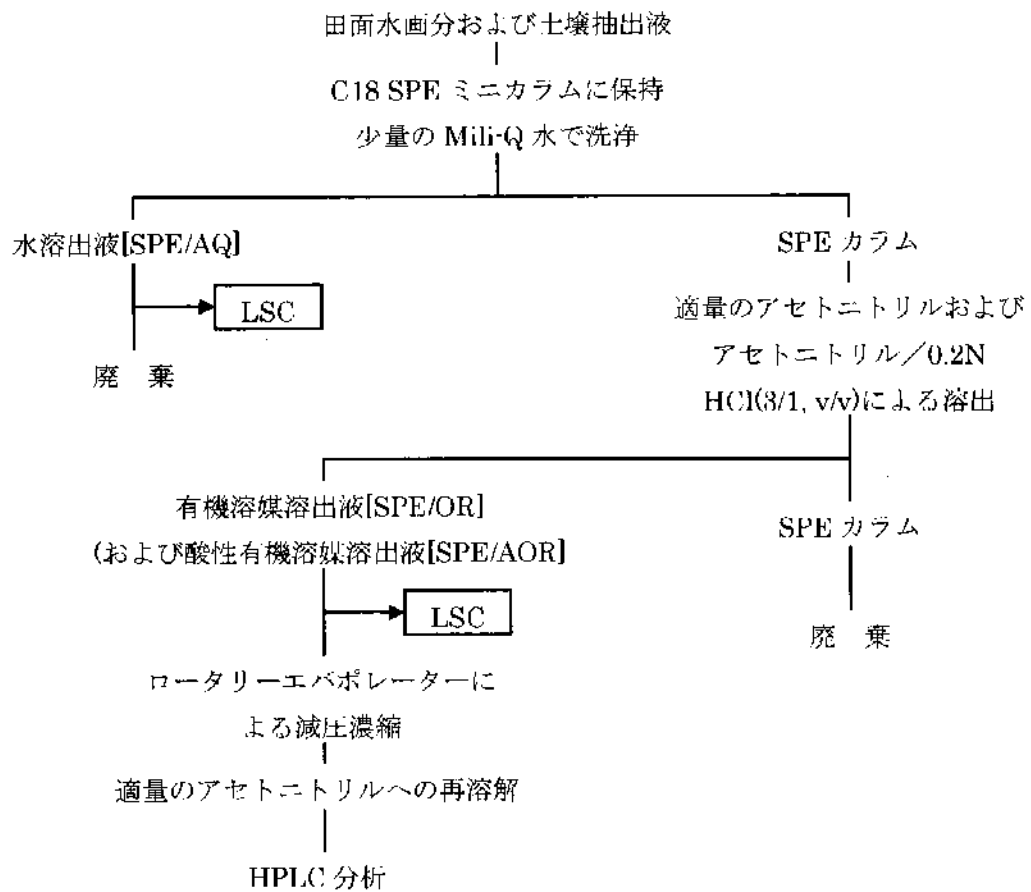


図 2. C18 SPE カラムを用いた川面水と土壌抽出液の放射成分の固相抽出法の概要

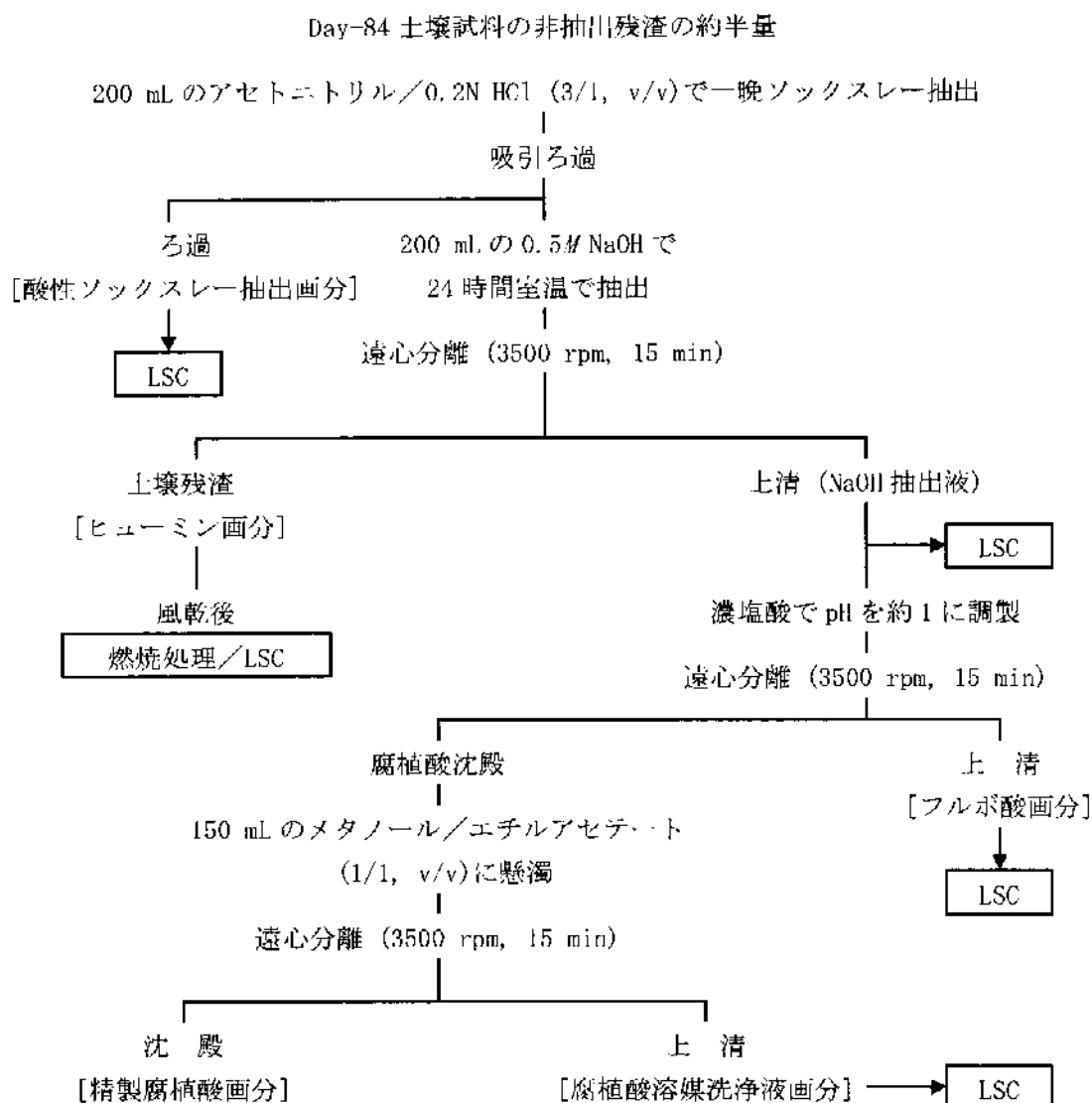


図 3. 酸性ソックスレー抽出及び土壌残渣中の放射能の分画

試験結果：

放射能回収率：

Bz 標識体： 放射能分布及び  $^{14}\text{C}$  回収率を表 2 に示した。山面水中の放射能は処理直後には約 10%であったが、2 日後には 4%に減少し、処理 56 日以降は約 2%台でほぼ一定であった。土壌から抽出可能な量は処理直後には 91%であったが処理後 28 日では処理量の 38%まで減少し、168 日後では 17%となった。抽出液中の放射能の減少に伴い土壌残渣中の放射能が増加し、施用後 28 日に 56%に達し、168 日後には 73%となった。 $^{14}\text{C}$  の総回収量はいずれの分析時点でも 92~104%とほぼ良好であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

Pm 標識体： 放射能分布及び  $^{14}\text{C}$  回収率を表 3 に示した。各画分における放射能分布の経時変化は Bz 標識体とほぼ同様であった。放射性二酸化炭素の量は 168 日間の累積で施用量の 1.2% と Bz 標識体より若干多かった。 $^{14}\text{C}$  の総回収量はいずれの分析時点でも 96~102% と良好であった。

表 2. Bz 標識体を施用した好氣的湛水土壌中の放射能分布

標識体	画分	試料採取時点 (日)							
		0	2	7	14	28	56	84	168
Bz	田面水	9.7	4.0	3.5	5.4	3.4	2.6	2.2	2.7
	土壌	92.0	100.2	99.2	94.1	94.6	92.8	91.3	89.1
	土壌抽出液	91.4	97.7	88.3	64.8	38.2	23.3	20.1	16.5
	振とう抽出液	80.6	77.5	64.7	42.9	22.7	13.4	11.0	9.0
	ソックスレー抽出液	10.7	20.3	23.6	21.9	15.5	9.9	9.1	7.5
	土壌残渣	0.7	2.5	10.9	29.3	56.4	69.5	71.3	72.7
	揮発性 $^{14}\text{C}$	na	na	na	0.1	0.2	0.2	0.3	0.5
	放射性有機物質	na	na	na	nd	nd	nd	nd	nd
	放射性 $\text{CO}_2$	na	na	na	0.1	0.2	0.2	0.3	0.5
	合計	101.7	104.3	102.7	99.5	98.1	95.6	93.9	92.3

数値は施用放射能に対する割合 (%)

na 分析せず, nd 検出せず

表 3. Pm 標識体を施用した好氣的湛水土壌中の放射能分布

標識体	画分	試料採取時点 (日)					
		0	7	14	28	84	168
Pm	田面水	6.3	5.5	6.9	3.8	2.5	2.3
	土壌	95.7	96.4	94.1	93.4	92.5	92.7
	土壌抽出液	94.9	86.6	68.1	37.6	19.2	16.8
	振とう抽出液	84.8	63.9	45.8	21.9	10.6	9.1
	ソックスレー抽出液	10.1	22.7	22.3	15.7	8.6	7.7
	土壌残渣	0.8	9.8	26.0	55.8	73.3	75.9
	揮発性 $^{14}\text{C}$	na	na	0.2	0.4	0.6	1.2
	放射性有機物質	na	na	nd	nd	nd	nd
	放射性 $\text{CO}_2$	na	na	0.2	0.4	0.6	1.2
	合計	102.0	101.9	101.1	97.6	95.7	96.2

数値は施用放射能に対する割合 (%)

na 分析せず, nd 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

ピリミスルファンの消長： ピリミスルファン及びその代謝物の経時的変化を表4及び5に示した。ピリミスルファンは、処理後急速に減少し、Bz 標識体、Pm 標識体ともに28日までに処理量の26%まで減衰するが、それ以降の減衰は緩やかとなり、最終分析時点ではそれぞれ9%及び10%であった。ピリミスルファンは土壌水中に存在する分子が容易に分解を受けると同時に、急速に土壌粒子ないし有機物に吸着し、溶媒による抽出を受け難い形態となったものと推定された。

Bz 標識体の50%消失期間 ( $DT_{50}$ ) は12日、90%消失期間 ( $DT_{90}$ ) は150日と算出された。減衰曲線は全体として明瞭な2相性を示し、第1相及び第2相の半減期はそれぞれ約8日及び137日と算出された。Pm 標識体の  $DT_{50}$  及び  $DT_{90}$  はそれぞれ13日及び180日と算出された。

代謝物の同定： 代謝物は、参照化合物との HPLC クロマトグラフィー及び TLC コクロマトグラフィーにより、  
が同定された。

Bz 標識体： 主要代謝物として が  
まで増加したがその後は速やかに減少した。そのほか施用量の1%以上あるいはピークとして検出された代謝物は少なくとも8両分が認められたが、生成量は少なく、  
であった。

Pm 標識体： 主要な放射性成分の動向は Bz 標識体における結果と同様であった。

表4. Bz 標識体を施用した好氣的湛水土壤中のピリミスルファン及び分解物の定量

標識体	画分/分解物	試料採取時点 (日)							
		0	2	7	14	28	56	84	168
Bz	21 (KIH-5996)	99.5	95.4	76.5	44.4	25.7	16.5	13.5	9.2

数値は施用放射エネルギーに対する割合 (%)

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表 5. Pm 標識体を施用した好氣的湛水土壤中の放射能分布

標識体	画分	試料採取時点 (日)					
		0	7	14	28	84	168
Pm	21 (KIII-5996)	101.2	76.9	49.1	25.8	13.7	10.4
		101.2	92.1	75.0	37.6	19.2	16.8

数値は施用放射能に対する割合 (%)

ピリミルスルフェンの光学異性体比の変化の確認： KIII-5996 の光学異性体のピーク面積比 ((S):(R))は施用液で 47:48, 施用後 168 日土壌抽出液で 49:46 であり, 光学異性体の存在比に変化は見られなかった。

抽出後の土壌残渣中の放射性残留物の特徴付け： 結果を表 6 に示した, 分画化した放射能の分布には両標識体で大きな差はなく, 土壌残渣中の放射能の一部約 8% (Pm 標識体) ~10% (Bz 標識体) が酸性溶媒でのソックスレー抽出により抽出された。腐植抽出では放射能の大部分がフルボ酸画分 (Bz 標識体で 47%, Pm 標識体で 43%) 及びヒューミン (Bz 標識体で 30%, Pm 標識体で 33%) に分布した。ソックスレー抽出液及びフルボ酸画分について固相抽出を行い, HPLC 分析を行った。ソックスレー抽出液中には親化合物が比較的多く検出されたほか  も検出されたが, 量的には少なかった (施用量の 2% 未満)。フルボ酸画分は  を主体とする複数の代謝物から構成されていた。

表 6. 標識体を施用した好氣的湛水土壌の土壌残渣の特徴付け

画分	Bz 標識体	Pm 標識体
	施用放射能に対する% (非抽出残渣中の放射能に対する%)	
土壌残渣	71.3 (100.0)	73.3 (100.0)
酸性ソックスレー抽出液 <sup>a</sup>	6.9 (9.7)	5.8 (7.9)
NaOH 抽出液	39.8 (55.9)	41.6 (56.8)
フルボ酸画分	33.5 (47.0)	31.8 (43.4)
腐植酸画分	6.3 (8.9)	9.8 (13.4)
精製腐植酸画分	2.1 (2.9)	6.2 (8.5)
腐植酸溶媒洗浄液画分	4.3 (6.0)	3.6 (4.9)
ヒューミン画分	21.2 (29.7)	24.0 (32.7)
総放射能回収率	67.9 (95.3)	71.4 (97.4)

<sup>a</sup> アセトニトリル/0.2N HCl (3/1, v/v) で抽出

推定土壌分解経路： 主要な経路を図 4 に示す。ピリミスルファンは、

に変換され、

様々な化合物へと代謝分解を受けることが推察された。それらの大部分は結合型残留物となるが、一部はベンゼン環標識体に固有（検出）及びピリミジン環に固有（不検出）の代謝物を経て、環開裂を受けたのち無機化されるものと推定された。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

図4. ピリミルスルファンの好氣的湛水上壤中の推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## 2) ピリミスルファンの好気的土壌中運命試験

ピリミスルファンは、その適用作物が「移植水稻」であることから、12農産8147号農林水産省農産園芸局長通知（平成12年11月24日）第4.試験成績の提出の除外について別表2の「水田においてのみ使用される場合」に該当し、かつ好気的湛水土壌中運命試験におけるピリミスルファンの50%消失期間（ $DT_{50}$ ）が100日以下であることから、当該試験成績の提出を除外される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

### 3) ピリミスルファンの嫌氣的土壤中運命試験

ピリミスルファンは、その適用作物が「移植水稻」であることから、12農産8147号農林水産省農産園芸局長通知（平成12年11月24日）第4.試験成績の提出の除外について別表2の「水田においてのみ使用される場合」に該当することから、当該試験成績の提出を除外される。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### (4) 水中運命に関する試験

(資料 物化-13)

##### 1) ピリミスルファンの加水分解運命試験

ピリミスルファンは、加水分解性試験(資料 物化-13)において、pH 4 から pH 9 の範囲での半減期が1年以上であったことから、13生産第3986号農林水産省生産資材課長通知(平成13年10月10日)記5の「加水分解運命試験」の第1項より、加水分解性がないと考えられ、当該試験を省略した。したがって、加水分解性試験の概要を記す。

##### ピリミスルファンの加水分解性試験

試験機関:

報告書作成年: 2004年 [GLP 対応]

供試化合物: ピリミスルファン (KIH-5996)

化学名: (RS)-2'-[(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl) (hydroxy)methyl]-1,1-difluoro-6'-(methoxymethyl)methanesulfonamide (IUPAC)

ロット番号:

純度:

被験物質水溶液: pH 4: 0.025 M クエン酸緩衝液

pH 7: 0.025 M リン酸緩衝液

pH 9: 0.025 M ホウ酸緩衝液

被験物質の飽和水溶液から調製した 20ppm 原液と 0.05 M の上記緩衝液を等量混合し、窒素ガスにより脱酸素したものを試験溶液とした。

試験方法:

OECD テストガイドライン III に準拠した、pH 当り 3 連の試料を調製した。

試験濃度: 10 mg/L

試験温度: 50±1° C

試験期間: 5 日間

分析方法: HPLC 法により定量した。

試験結果: 各 pH における初期および 5 日後の分析結果を表に示した。

KIH-5996 の 50°C における 5 日後の分解率は、pH 4, 7 及び 9 において 10% 以下であり、25°C での半減期は 1 年以上であると推定された。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表. 初期および5日後の pH および被験物質濃度分析結果

試験溶液の pH		被験物質濃度 <sup>a</sup> (mg/L)		分解率 (%)
初期値	5 日後	初期値	5 日後	
4.02	4.05	9.90	10.04	0
7.01	6.99	10.01	10.27	0
8.99	8.96	9.98	10.20	0

(資料 運命-5)

2) ピリミルスルファンの水中光分解運命試験

試験機関:

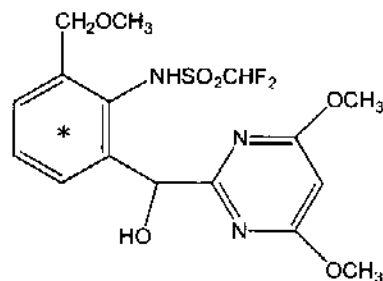
報告書作成年: 2005年 [GLP 対応]

供試化合物: ピリミルスルファン (KIH-5996)

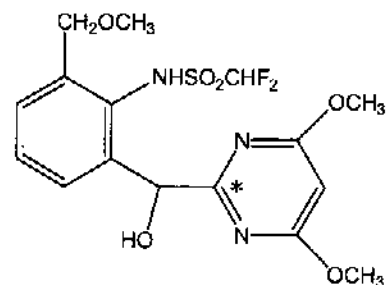
化学名: (RS)-2'-[(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)(hydroxy)methyl] 1,1-difluoro-6'-(methoxymethyl)methanesulfonanilide (IUPAC)

構造式及び標識位置:

[Benzene-U-<sup>14</sup>C]KIH-5996



[Pyrimidine-2-<sup>14</sup>C]KIH-5996



ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

以下適宜, [Benzene-U-<sup>14</sup>C]KIH-5996 を Bz 標識体,

[Pyrimidine-2-<sup>14</sup>C]KIH-5996 を Pm 標識体と記す。

ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

供試水: 緩衝液 (pH 7) 及び田面水

緩衝液: 0.01M リン酸緩衝液

田面水: 茨城県牛久市柏田町 (2004年4月30日採取)

供試水は濾過滅菌フィルターにより滅菌

表 1. 供試水の物理化学的特性

項目	緩衝液 (pH 7)	田面水
pH	7.0	7.7
電気伝導率 (mS/m)	144.3	14.2
全蒸発残留物量 (mg/L)	—	130
懸濁物質量 (mg/L)	—	< 2
溶存酸素量 (mg/L)	—	8.9

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

光照射装置：

機種： キセノン光照射装置 WXP-300S-65 型（ワコム製作所）  
光源： キセノンショートアークランプ（6.5kw）  
フィルター： 290 nm 以下及び 800 nm 以上をカットする 2 枚のフィルター  
放射照度： 20.7 W/m<sup>2</sup>（波長範囲 300-400 nm）

試験方法：

溶液の調製： 試験溶液の設定濃度はピリミルスルファンの水溶解度（87.3 mg/l, 20° C, 純水）の 1/2 以下である 5 mg/l とした。[Pm-14C]KIH-5996 及び非放射性 KIH-5996 の保存溶液からそれぞれの計算量を同一のナスフラスコに測り取り、溶媒を除去後、適量のアセトニトリルに溶解して約 500 mg/l の施用液を調製した。反応容器中の供試水 100 ml に施用液 1 ml を添加し試験溶液とした。試料調製時の濃度は 4.63~4.77 mg eq./L であった。

照射方法： 反応容器として光照射試料には密栓付 100 ml 容石英製試料瓶（直径約 50 mm - 光路長）、暗所対照には同様のサイズの密栓付褐色棚珪酸ガラス製試料瓶を用いた。

予備検討において検出された光分解物は Bz 標識体及び Pm 標識体で共通であったことから、Pm 標識体のみでピリミルスルファンの光分解運命を評価することが可能であると判断した。また、予備検討において施用放射能量の損失は認められず揮発性物質の発生がなかったことから、揮発性物質の捕集は行わなかった。試験温度は 25.0 ± 2° C に維持した。光照射は太陽光照射換算で 30 日を越える期間である 21 日間に設定し、その試料採取時点を以下の表に示した。

試料採取：

標識体	試験水	試験区	試料採取時点
Pm 標識体	緩衝液 (pH 7)	光照射区	0, 1, 3, 7, 10, 14, 21 日
		暗所対照区	0, 1, 3, 7, 10, 14, 21 日
	田面水	光照射区	0, 1, 3, 7, 10, 14, 21 日
		暗所対照区	0, 1, 3, 7, 10, 14, 21 日

分析方法： 各時点において採取した試料の一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射エネルギーを測定した。また試料の一部を直接 HPLC により分析し、放射性成分の定量を行った。各試験区の主要放射性成分は定量分析（HPLC 分析）時に参照化合物との保持時間との照合により一時的な同定／特徴付けを行った。同定／特徴付けは、適切な試料を LC/MS 測定に供し、それらの ESI/MS（及び ESI/MS/MS）スペクトルを測定し、参照化合物の MS スペクトルとの照合によって行った。さらに参照化合物との共注入による HPLC コクロマトグラフィーを行い保持時間が一致することを確認した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

半減期の算出方法：ピリミルスルファンの水中光分解を一次反応とみなし、半減期を算出した。

試験結果：

放射能回収率：各試料における<sup>14</sup>C回収率を表2に示した。緩衝液試験区では施用量の98～105%、田面水試験区では98～103%であり、いずれの時点でも全量が試験溶液中に回収され、放射能の損失はなかった。

表2. 試験期間中の<sup>14</sup>Cバランス

試験区		標識体	光照射期間 (日)						
			0	1	3	7	10	14	21
緩衝液 (pH 7)	光照射区	Pm	100	99	99	100	102	101	98
	暗所対照区	Pm	100	100	100	100	105	100	102
田面水	光照射区	Pm	100	99	99	99	102	99	98
	暗所対照区	Pm	100	99	100	99	103	99	101

表中の数値は施用放射能量に対する割合 (%)

ピリミルスルファン及び分解物の定量：

緩衝液／暗所対照区：Pm標識体はインキュベーション期間中まったく減少しなかった。

緩衝液／光照射区：放射性成分の定量結果を表3に示した。Pm標識体の残留量は0時点の98.1%から照射21日後には81.1%となり、照射時間の経過とともに緩やかに減少した。  
が検出され、照射期間中経時的に増加して となった。その他少量生成する分解物として 検出された。

田面水／暗所対照区：Pm標識体はインキュベーション期間中まったく減少しなかった。

田面水／光照射区：放射性成分の定量結果を表3に示した。Pm標識体の残留量は0時点の99.0%から照射21日後には41.1%となり、照射時間の経過とともに減少した。  
が検出され、照射期間中経時的に増加して となった。その他、微量生成する分解物として 検出された。



表 3. 緩衝液／田面水－施用放射能に対する (%)

供試水	画分	化合物	光照射期間 (日)						
			0	1	3	7	10	14	21
緩衝液	#18	KIH-5996	98.1	97.2	96.2	94.5	92.8	87.4	81.1
		合計	100	98.7	99.4	100.3	102.2	100.7	98.4
田面水	#18	KIH-5996	99.0	95.3	87.6	75.0	68.0	56.7	41.1
		合計	100.0	99.0	98.6	99.0	102.1	99.2	97.8

表中の数値は施用放射能に対する割合 (%)

nd 検出限界以下

推定半減期： ピリミルスルファンは、緩衝液 (pH 7) 中において半減期 78 日で、田面水中において半減期 17 日で分解した。自然太陽光下 (東京, 春) での推定光分解半減期はそれぞれ 209 日及び 45 日と算出された。(表 4)

表 4. ピリミルスルファンの推定半減期

供試水	光照射区	
	一次反応速度式	北緯 35° 春の太陽光換算
緩衝液	78 日	209 日
田面水	17 日	45 日

光学異性体比： 21 日間光照射後の試料中に残存するピリミルスルファンの光学異性体比をキラル HPLC 分析により測定した。光照射前の光学異性体比は 1.00 であり (S)-及び (R)-体は初期時点において等量存在した。21 日間光照射後の異性体比は田面水及び緩衝液 (pH 7) とも 1.07 であり、光照射前の値とほぼ同一であった。以上より一方の光学異性体への選択的な光異性化は認められなかった。(表 5)

表 5. 光照射前及び照射 21 日後のピリミルスルファン (S)-体及び (R)-体の比率

供試水	標識体	試験区	光照射期間 (日)	割合		(S)/(R) 比
				(S)-体	(R)-体	
緩衝液 (pH 7)	Pm	光照射区	21	51.7	48.3	1.07
田面水	Pm	光照射区	21	51.7	48.3	1.07
初期 (施用液)	Pm	—	—	50.1	49.9	1.00

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

推定光分解経路：主要な経路を図1に示した。ピリミスルファンは、緩衝液中において直接的な光分解により緩やかに分解し、分解物として CC1=NC(=O)NC(=O)N1 が生成した。一方、山面水中ではピリミスルファンは光増感物質の関与する間接的な光分解を受け、緩衝液中に比べ分解速度が加速され、CC1=NC(=O)NC(=O)N1 が主要な分解物として生成した。また微量生成する分解物として CC1=NC(=O)NC(=O)N1 が検出された。なお、全ての試験区において揮発性成分の発生は認められなかった。

図1. ピリミスルファンの推定水中光分解経路

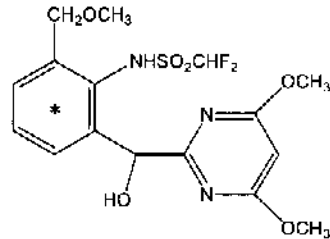
(資料 物化-12)

(5) ピリミスルファンの土壌吸脱着試験

試験機関:

報告書作成年: 2003年 [GLP 対応]

被験物質: ベンゼン環 <sup>14</sup>C 標識ピリミスルファン



ロット番号:

比放射能:

放射化学的純度:

供試土壌: 4種類の土壌を使用した。

- I: 埼玉土壌 埼玉県大里郡岡部町 (普通畑地)
- II: 栃木土壌 栃木県栃木市大塚町 (栃木県農業試験場栃木分場)
- III: 茨城土壌 茨城県牛久市結束町 (日本植物防疫協会研究所)
- IV: 福島土壌 福島県郡山市富田町 (福島県農業試験場)

項目	I	II	III	IV
土壌群名	黒ボク土	灰色低地土	黒ボク土	褐色森林土
土性	壤土	壤土	壤土	壤土
砂%	43.6	37.8	33.5	50.8
シルト%	40.4	41.7	47.0	32.0
粘土%	15.7	20.5	19.5	17.2
有機炭素含有率%	3.17	1.72	5.28	0.57
pH H <sub>2</sub> O, (CaCl <sub>2</sub> )	5.6 (5.4)	6.4 (5.7)	6.3 (5.8)	6.3 (5.8)
陽イオン交換容量 (me/100g)	24.6	15.3	31.5	11.1
リン酸吸収係数 (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> mg/乾土100g)	1840	830	2040	320
最大含水量(%)	86.1	50.8	103.7	57.0
水分含量(%) <sup>1)</sup>	11.20	8.00	8.55	1.79
粘土鉱物の種類	アロフェン・緑泥石・パーミキユライト中間体	カオリン鉱物	緑泥石(クロライト), アロフェン	7Åハロサイト, イライト
OECDの土壌番号 (No.) <sup>2)</sup>	4合致	3類似	2類似	5類似

<sup>1)</sup> 100°C・20時間乾燥による減量分を水分とする

<sup>2)</sup> 有機炭素含有率及び粘土%を主体に分類した場合の土壌番号。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

材料の調製方法：

供試土壌の調製（埼玉・栃木・福島土壌）：

土壌 5 g に 0.01M-CaCl<sub>2</sub> 水溶液 4.5 ml を加え、25±2℃・暗所で 20 時間振盪した。

供試土壌の調製（茨城）：

土壌 5 g に 0.01M-CaCl<sub>2</sub> 水溶液 9 ml を加え、25±2℃・暗所で 20 時間振盪した。

試験溶液：

被験物質 0.5, 2, 10, 25, 50 μg/ml 濃度の 0.01M-CaCl<sub>2</sub> 水溶液を調製した。

試験方法：OECD テストガイドライン 106 に準拠した。

1) 吸着平衡化試験： 被験物質 25 μg/ml の試験溶液を埼玉・栃木・福島土壌には 0.5 ml, 茨城土壌には 1 ml 加え（いずれも試験濃度 2.5 μg/ml）、25±2℃・暗所で 4, 8, 16, 24, 48 時間振盪。遠心分離（3000 rpm, 5 分, 25℃）後、上澄み液の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

48 時間振盪した試料については、物質収支についても調べた。すなわち、上澄みの液量を測定し、その放射エネルギーを LSC で測定。土壌はアセトンにより抽出、酢酸エチル分配で精製後、アセトニトリル／蒸留水／酢酸=50/50/1（v/v/v）に溶かし放射エネルギーを LSC で測定した。抽出後の土壌残渣については燃焼法で放射エネルギーを測定し、これら合計値より物質収支を求めた。また、上澄み液及び土壌抽出液の放射成分を HPLC で分析し、ピリミンスルファンが分解していないことを確認した。

2) 脱着平衡化試験： 被験物質 25 μg/ml の試験溶液を埼玉・栃木・福島土壌には 0.5 ml, 茨城土壌には 1 ml 加え（いずれも試験濃度 2.5 μg/ml）、25±2℃・暗所で 48 時間振盪。遠心分離（3000 rpm, 5 分, 25℃）後、上澄み液を除き、土壌に同量の 0.01M-CaCl<sub>2</sub> 水溶液を加えて、再度、25±2℃・暗所で 8, 16, 24 時間振盪。遠心分離（3000 rpm, 5 分, 25℃）後、上澄み液の放射エネルギーを LSC で測定した。

24 時間振盪した試料については、吸着平衡化試験と同様に物質収支を調べた。

3) 等温吸着試験： 被験物質 0.5, 2, 10, 25, 50 μg/ml の試験溶液を埼玉・栃木・福島土壌には 0.5 ml, 茨城土壌には 1 ml 加え（試験濃度 0.05, 0.2, 1.0, 2.5, 5.0 μg/ml）、25±2℃・暗所で 24 時間振盪。遠心分離（3000 rpm, 5 分, 25℃）後、上澄み液の放射エネルギーを LSC で測定した。

4) 等温脱着試験： 等温吸着試験で得られた土壌に、上澄み液と同量の 0.01M-CaCl<sub>2</sub> 水溶液を加え、25±2℃・暗所で 24 時間振盪。遠心分離（3000 rpm, 5 分, 25℃）後、上澄み液の放射エネルギーを LSC で測定した。土壌は加熱乾燥後、土壌重量を測定し、燃焼法で放射エネルギーを測定した。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

計算方法：

$$\text{溶液濃度} (\mu\text{g/ml}) = \text{LSC 測定値 (Bq)} \div \text{LSC 測定容量 (ml)} \div \text{比放射能 (Bq/\mu\text{g})}$$

$$\text{土壌中の量} (\mu\text{g}) = \text{LSC 測定値 (Bq)} \div \text{燃焼重量 (g)} \div \text{比放射能 (Bq/\mu\text{g})} \\ \times \text{土壌抽出残渣重量 (g)}$$

$$\text{土壌吸着量} (\mu\text{g}) = \text{処理量} (\mu\text{g}) - \text{吸着溶液濃度} (\mu\text{g/ml}) \times \text{溶液容量 (ml)}$$

$$\text{土壌吸着濃度} (\mu\text{g/g}) = \text{土壌吸着量} (\mu\text{g}) \div \text{供試乾土重量 (g)}$$

$$\text{脱着量} (\mu\text{g}) = \text{脱着溶液濃度} (\mu\text{g/ml}) \times \text{溶液容量 (ml)}$$

また、土壌濃度及び溶液濃度から、Freundlich の吸着・脱着係数、有機炭素吸着・脱着係数、土壌有機炭素吸着・脱着係数を求めた。

試験結果：

#### 1) 吸着平衡化試験

上澄み液中濃度の変化を下表に示した。この結果から、変化率が 10%/8h 以下となる 24 時間を平衡化時間とした。

なお、サンプリング n 回日の変化率 (%) 及び変化率 (%/8h) の計算は以下の通りである。

$$\text{変化率 (\%)} = \{(\text{サンプリング n-1 回日の濃度}) - (\text{サンプリング n 回日の濃度})\} \\ \div (\text{サンプリング n-1 回日の濃度}) \times 100$$

$$\text{変化率 (\%/8h)} = \text{変化率 (\%)} \div \\ [ \{(\text{サンプリング n 回日の振盪時間}) - (\text{サンプリング n-1 回日の振盪時間})\} \div 8 ]$$

サンプリング (回日)	振盪 時間 (時間)	I 埼玉		II 栃木		III 茨城		IV 福島	
		濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	変化率 (%/8h)	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	変化率 (%/8h)	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	変化率 (%/8h)	濃度 ( $\mu\text{g/ml}$ )	変化率 (%/8h)
1	0	2.34	-	2.42	-	2.51	-	2.58	-
2	4	1.45	75.8	1.64	64.6	1.64	69.4	2.12	35.9
3	8	1.36	12.4	1.55	11.0	1.54	12.2	2.08	3.8
4	16	1.25	8.1	1.45	6.5	1.46	5.2	2.01	3.4
5	24	1.23	1.6	1.38	4.8	1.39	4.8	1.95	3.0
6	48	1.20	0.8	1.25	3.1	1.25	3.4	1.85	1.7

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

吸着平衡化試験における振盪 48 時間後の物質収支は以下の通りであった。

画分	回収率(%)			
	I 埼玉	II 栃木	III 茨城	IV 福島
上澄液	17	27	26	37
土壌抽出液	74	55	63	56
土壌抽出残液	6	15	10	5
合計	98	97	99	98

吸着平衡化試験における土壌吸着量・吸着率は以下の通りであった。

画分	I 埼玉	II 栃木	III 茨城	IV 福島
処理量(μg)	13.44	13.44	26.88	13.44
上澄液中の量(μg)	6.76	6.79	13.09	9.42
土壌中の量(μg)	6.68	6.65	13.79	4.02
吸着率(%)	50	49	51	30

## 2) 脱着平衡化試験

上澄み液中濃度の変化は以下の通りであった。変化率が 10%/8h 以下となる 24 時間を平衡化時間とした。

尚、変化率は吸着平衡化時間の変化率計算と同様に行った。

サンプル リング (回目)	振盪 時間 (時間)	I 埼玉		II 栃木		III 茨城		IV 福島	
		濃度 (μg/ml)	変化率 (%/8h)	濃度 (μg/ml)	変化率 (%/8h)	濃度 (μg/ml)	変化率 (%/8h)	濃度 (μg/ml)	変化率 (%/8h)
1	0	0.80	-	0.55	-	0.57	-	0.91	-
2	8	0.93	16.3	0.79	43.6	0.76	33.3	1.09	19.8
3	16	0.91	2.2	0.78	-1.3	0.78	2.6	1.06	-2.8
4	24	0.92	1.1	0.76	-2.6	0.78	0.0	1.07	0.9

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

脱着平衡化試験における振盪 24 時間後の物質収支は以下の通りであった。

画分	回収率(%)			
	I 埼玉	II 栃木	III 茨城	IV 福島
上澄液(吸着時)	17	29	26	38
上澄液(脱着時)	14	17	17	21
土壌抽出液	62	37	45	35
土壌抽出残渣	7	14	10	5
合計	100	97	98	99

### 3) 等温吸着試験

Freundlich の吸着パラメーターは以下の通りであった。

	I 埼玉	II 栃木	III 茨城	IV 福島
$K_F^{ads}$	1.08	0.888	1.82	0.365
$K_F^{ads_{oc}}$	34	52	34	64

以上の結果から、ピリミスルファンの  $K_F^{ads_{oc}}=29$  が算出された。

### 4) 等温脱着試験

Freundlich の脱着パラメーターは以下の通りであった。

	I 埼玉	II 栃木	III 茨城	IV 福島
$K_F^{des}$	1.19	1.13	2.34	0.412
$K_F^{des_{oc}}$	38	66	44	72

以上の結果から、ピリミスルファンの  $K_F^{des_{oc}}=38$  が算出された。

また、等温吸着/脱着試験における各土壌の各濃度における回収率は90%以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## (6) 代謝分解試験のまとめ

ピリミスルファンの動物、植物、土壌、水中における代謝、分解、残留の要約は以下の通りであり、代謝経路及び結果の概要を次々頁以降に示した。

### 動物 (資料 運命-1)

#### <吸収、分布、排泄>

ベンゼン環及びピリミジン環の  $^{14}\text{C}$  標識体を低用量 (5 mg/kg) 及び高用量 (300 mg/kg) で単回経口投与した雄雌ラットを用いて、吸収・分布・排泄を調べた。吸収は雄雌ともに速やかで標識体、雄雌、投与量間に差がなかった。血中濃度は雄雌、標識体間に差がなかった。薬物動態パラメータは高用量でクリアランスが減少することを示唆した。血漿中の半減期は高用量の方が長かった。血球中には放射能はほとんど分布しなかった。臓器及び組織への分布は速やかであった。組織内半減期は用量間に差がなく 3-4 時間。胃腸管で半減期が長い傾向を示した。概して組織の排泄半減期は血漿の値とほぼ同等であった。放射能の組織への蓄積は認められなかった。投与量の 88%以上が 72 時間以内に排泄された。標識体間に差は認められなかった。呼吸へは排泄されなかった。

#### <代謝>

ピリミスルファンは大部分がラット中で代謝され、主たる代謝経路は \_\_\_\_\_ であり \_\_\_\_\_ を生成した。 \_\_\_\_\_ もう一つの主たる経路は \_\_\_\_\_ を生成した。ラットで検出されたその他の代謝物は \_\_\_\_\_ は \_\_\_\_\_ であった。

ピリミスルファンは、  
\_\_\_\_\_ これら一連の反応を複合的に経て代謝されると推定された。

### 植物 (資料 運命-2, 運命-3)

ベンゼン環の  $^{14}\text{C}$  標識体を 67 g a. i. /ha の施用量でイネの移植 3 日後に 1 回、またはピリミジン環の  $^{14}\text{C}$  標識体を 67 g a. i. /ha の施用量で移植 3 日後に 1 回あるいは移植 3 日及び 31 日後の 2 回、湛水散布し植物中の代謝物を調べた。玄米中の総残留量は 2 回散布で 0.03mg eq. /kg と極めて低く、ピリミスルファンは検出されなかった。ピリミスルファンのイネにおける主要代謝経路は、 \_\_\_\_\_ と \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ であった。この代謝物は \_\_\_\_\_ また代謝物はリグニンやヘミセルロースなどの植物細胞壁構成成分に取り込まれて結合型残留物を形成すると考えられた。



本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

#### 土壌（資料 運命－4）

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  及びピリミジン環  $^{14}\text{C}$  標識体を 200 mg/L（最大施用量の 3 倍）で湛水状態の水面に処理し、25℃で 168 日間の土壌中での分解を調べた。ピリミルスルファンは処理後急速に減衰し、その半減期は 11～12 日であった。ピリミルスルファンの土壌中での分解経路は

に交換され、へと代謝分解を受けることが推察された。それらの大部分は結合型残留物となるが、一部はブリッジ部分の開裂によりベンゼン環あるいはピリミジン環に分解され、さらに環開裂を受けたのち無機化されるものと推定された。

#### 水中（資料 物化－13, 運命－5）

##### <加水分解>

ピリミルスルファンを pH 4, pH 7, pH 9 の緩衝液に 10 mg/L の濃度で溶解し 50℃, 5 日間の分解率を測定した結果、いずれの pH においても分解率は 0% であり、25℃における  $\text{DT}_{50}$  は 1 年以上であると推定された。

##### <水中光分解>

ピリミジン環  $^{14}\text{C}$  標識体を pH 7 の緩衝液及び滅菌した田面水に 5 mg/L の濃度で溶解し、キセノン光（波長範囲 300-400 nm での放射照度：20.7 W/m<sup>2</sup>）を 21 日間照射した。自然太陽光下（東京、春）での推定光分解半減期は、緩衝液で 209 日、田面水で 45 日と算出された。

ピリミルスルファンは、緩衝液中において直接的な光分解により緩やかに分解し、分解物としてが生成した。一方、田面水中ではピリミルスルファンは光増感物質の関与する間接的光分解を受け、緩衝液中に比べ分解速度が加速され、主要分解物としてが生成した。また微量生成する分解物としてが検出された。なお、全ての試験区において揮発性成分の発生は認められなかった。

#### 土壌吸脱着性（資料 物化－12）

ベンゼン環  $^{14}\text{C}$  標識体を（濃度 0.05, 0.2, 1, 2.5, 5 μg/ml）を用い、性質の異なる 4 種の土壌で吸脱着性を調べた。Freundlich の式により求めた  $K_f^{\text{ads}}$  値は、埼玉：1.08, 栃木：0.888, 茨城：1.82, 福島：0.365 であり、 $K_f^{\text{des}}$  値は、埼玉：1.19, 栃木：1.13, 茨城：2.34, 福島：0.412 であった。これらを有機炭素含有率で割り求めた 4 種土壌の土壌有機炭素吸着・脱着係数を Freundlich 吸着または脱着係数の相関から算出した  $K_f^{\text{ads}_{\text{OC}}}$  及び  $K_f^{\text{des}_{\text{OC}}}$  はそれぞれ 29 及び 38 であった。

本資料に記載された情報は、報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

## 図. ピリミスルファンの想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要

代謝分解物		動物											
		ラット											
		Pm 標識体 <sup>a</sup>				Bz 標識体							
		5 mg/kg				5 mg/kg				300 mg/kg			
		尿 (48 h)		糞 (48 h)		尿 (48 h)		糞 (48 h)		尿 (48 h)		糞 (72 h)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
同定した代謝物	親化合物	-	-	0.2	0.2		-	0.1	0.1	1.0	4.3	0.3	0.4
推定代謝物													
未同定等													
非抽出物													
CO <sub>2</sub>													
総回収率		37.4	48.4	46.7	37.0	43.7	44.7	47.7	48.9	48.5	50.9	36.0	31.5

表中の数値は投与量または TRR に対する%。“-”は未検出；未同定等の値は総回収率から同定代謝物量を減じて求めた。

<sup>a</sup> Pm 標識体の分析結果は予備試験のもの

表. 代謝分解の概要—続き

試験系		動物									
		ラット									
		Pm 標識体		Bz 標識体							
		5 mg/kg		5 mg/kg		300 mg/kg		5 mg/kg		300 mg/kg	
		胆汁 (9 h)		胆汁 (12 h)		胆汁 (24 h)		血漿 (0.25 h)		血漿 (1 h)	
代謝分解物		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
同 定 し た 代 謝 物	親化合物	0.2	na	0.1	0.1	1.3	1.8	49.9	55.0	77.3	85.3
推 定 代 謝 物											
未同定等											
非抽出物											
CO <sub>2</sub>											
総回収率		46.7	na	43.9	30.8	39.1	30.9	95.9	96.7	96.4	97.2

表中の数値は投与量または TRR に対する%。“-”は未検出；未同定等の値は総回収率から同定代謝物量を減じて求めた。

na: 分析せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要—続き

試験系 代謝分解物		動物											
		ラット											
		Bz 標識体											
		5 mg/kg		300 mg/kg		5 mg/kg		300 mg/kg		5 mg/kg		300 mg/kg	
		肝臓 (0.25 h)		肝臓 (1 h)		腎臓 (0.25 h)		腎臓 (1 h)		小腸 (0.25 h)		小腸 (1 h)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
同定した代謝物	親化合物	20.6	15.5	59.5	78.4	7.2	7.5	39.0	54.1	12.5	20.7	27.1	37.6
推定代謝物													
未同定等													
非抽出物													
CO <sub>2</sub>													
総回収率		99.1	98.8	99.2	99.6	88.4	92.3	96.7	98.1	94.3	93.4	90.5	90.7

表中の数値は投与量または TRR に対する％，“-”は未検出；未同定等の値は総回収率から同定代謝物量を減じて求めた。

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要ー続き

試験系		植 物						土 壌	
		イネ						水田土壌	
		Bz 標識体		Pm 標識体				Bz 標識体	Pm 標識体
		67 g a. i. /ha×1 [回]		67 g a. i. /ha×2 [回]		67 g a. i. /ha× 2 [回]		0.2 mg	0.2 mg
		湛水散布		湛水散布		湛水散布		/kg 乾土	/kg 乾土
登熟期 (116 DAT)		登熟期 (112 DAT)		登熟期 (112 DAT)		168 DAT	168 DAT		
代謝分解物		玄米	稲わら	玄米	稲わら	玄米	稲わら	軽塩土 (牛久)	
同 定 し た 代 謝 物	親化合物	na	0.7 (0.0009)	na	0.2 (0.0003)	na	-	9.2	10.4
								1.0	0.9
推 定 代 謝 物									
未同定等									
非抽出物									
CO <sub>2</sub>									
総回収率		100	100	100	100	100	100	92.3	96.2

表中の数値は投与量または TRR に対する%, “-” は未検出; 未同定等は総回収率から同定代謝物量を減じて求めた。植物のカッコ内は濃度 (mg eq/kg) で示した。

na:分析せず

本資料に記載された情報に係る権利および内容の責任はクマイ化学工業株式会社にある。

表. 代謝分解の概要ー続き

試験系		水 中				
		加水分解			光分解	
		純品			Pm 標識体	
		10 mg/L			5 mg/L	
		50℃, 5 日			21 日	
代謝分解物		pH 4	pH 7	pH 9	緩衝液	田面水
同 定 し た 代 謝 物	親化合物	101.4	102.6	102.2	81.1	41.1
推 定 代 謝 物						
未同定等		-	-	-		
非抽出物		-	-	-		
CO <sub>2</sub>						
総回収率		101.4	102.6	102.2	98.4	97.8

表中の数値は投与量または TRR に対する%, “-” は未検出.

na:分析せず

本資料に記載された情報は、報に係る権利および内容の責任はクミアイ化学工業株式会社にある。

## 表. ビリミスルファンの開発年表