

(84.6~86.1%TAR)、全体の回収率は92%以上であった。(参照2)

表4 各試料における放射能(投与量に対する割合、%TAR)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	胆汁	尿及び ケージ洗浄液	糞	消化管 (内容物を含む)	肝臓	カーカス
ind- <sup>14</sup> C- アミスル ブロム	10	雄	40.8	9.3	44.0	0.2	0.2	0.3
		雌	39.5	9.9	44.0	2.7	0.09	0.6
	1000	雄	2.9	1.2	84.6	2.8	0.03	0.8
		雌	1.2	3.3	86.1	4.8	0.02	0.7

#### (4) 体内分布 (単回投与)

SD ラットに ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを低用量 (10 mg/kg 体重) 及び高用量 (1000 mg/kg 体重) で単回経口投与し、投与後 120 時間まで定期的に解剖し (tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロム投与群は投与 120 時間後のみ)、臓器・組織中の放射能濃度を測定した。

低用量及び高用量の単回投与における組織分布は表5に示されている。

ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロムの低用量投与群の T<sub>max</sub> 付近では、体内残留放射能の大部分が消化管 (内容物を含む、109~120 µg/g、85.9~96.7%TAR) に存在した。また、肝臓 (4.52~4.72 µg/g、1.6~1.8%TAR)、腎臓 (1.71~3.40 µg/g、0.1~0.2%TAR) 及び血漿 (1.71~2.47 µg/g、0.7~1.0%TAR) から放射能が検出された。その他の組織中の濃度は、全て血漿中濃度より低かった。投与 24 時間後、放射能濃度は減衰したが、消化管、肝臓、腎臓及び血漿中の放射能濃度は他の組織と比べると高かった。投与 120 時間後、放射能濃度はさらに減衰したが、肝臓 (0.11~0.22 µg/g、0.06~0.1%TAR) 及び腎臓 (0.07~0.10 µg/g、0.01%TAR) から放射能が認められた。消化管、全血、血球及び血漿からは、低濃度の放射能が検出された。その他の組織は全て検出限界未満であった。

ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロムの高用量群の T<sub>max</sub> 付近では、体内残留放射能の大部分が消化管 (2620~6380 µg/g、34~50%TAR) に存在した。また、肝臓、腎臓及び血漿から放射能が検出された。その他の組織中の濃度は、全て血漿中濃度より低かった。投与 72 時間後、放射能濃度は減衰したが、肝臓、消化管及び腎臓中の放射能濃度は他の組織と比べると高かった。その他の組織中の濃度は、全て血漿中濃度より低かった。投与 120 時間後では、特に肝臓及び血球から放射能が認められた。腎臓、全血 (雄) 及び血漿 (雄) からは、低濃度の放射能が検出された。その他の組織は全て検出限界未満であった。tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムの低用量投与群で投与 120 時間後では、ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロムと同様に、肝臓 (0.28~0.49 µg/g、0.1~0.2%TAR) 及び腎臓 (0.09~0.1 µg/g、0.01%TAR) において放射能濃度が高かった。また、全血及び血球中における濃度が ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム投与の場合より高かった。

tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムの高用量投与群で投与 120 時間後では、肝臓、全血及び血球における放射能濃度が高かったが腎臓では検出限界未満であった。(参照2)

表5 ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム投与後の主要組織中の残留放射能濃度 (μg/g)

投与量	性別	T <sub>max</sub> 付近 <sup>1)</sup>	最終試料採取時間 <sup>2)</sup>
10 mg/kg 体重	雄	消化管 (109), 肝 (4.52), 腎 (1.71), 血漿 (1.71), 副腎 (1.54), 下垂体 (1.19), 全血 (0.94)	肝 (0.222), 腎 (0.068), 血漿 (0.025), 全血 (0.016), 血球 (0.014), 消化管 (0.010), その他検出せず
	雌	消化管 (120), 肝 (4.72), 血漿 (2.47), 腎 (3.40), 副腎 (1.14), 全血 (1.27)	肝 (0.110), 腎 (0.102), 血漿 (0.024), 全血 (0.011), 消化管 (0.009), 肺 (0.007), 血球 (0.004), その他検出せず
1000 mg/kg 体重	雄	消化管 (2620), 肝 (33.4), 血漿 (11.7), 腎 (10.9), 全血 (7.05)	肝 (6.63), 血球 (1.87), 腎 (0.705), 血漿 (0.358), 全血 (0.900), その他検出せず
	雌	消化管 (6380), 肝 (39.5), 血漿 (28.0), 腎 (26.9), 全血 (14.2)	肝 (2.07), 腎 (1.24), その他検出せず

注) 消化管は内容物を含む。

1) 10 mg/kg 体重投与群は 2 時間後、1000 mg/kg 体重投与群は 12 時間後。

2) 120 時間後。

#### (5) 代謝物同定・定量

SD ラットに ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを低用量 (10 mg/kg 体重) 及び高用量 (1000 mg/kg 体重) で単回経口投与し、糞、尿及び胆汁試料中のアミスルブロムの代謝物の同定・定量試験が実施された。

尿、胆汁、糞、肝臓及び血漿中における代謝物は表 6 に示されている。

尿中からは H 及び J が同定されたが、いずれも 0.8% TAR 以下であった。H 及び J について酵素 (β-グルクロニターゼ) 処理を行ったが、実質的な変化はなかった。これにより、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体は存在しないことが示唆された。

胆汁からは主に X (D の N-グルクロン酸抱合体) 及び V (B の抱合体) が検出された。酵素処理の結果、C が増加したことから、W (C の抱合体) の存在が示唆された。

糞抽出液中の代謝物プロファイルは、いずれの用量群でも質的には類似しており、雌雄間及び標識位置の違いによる差は実質的には認められなかった。主要な糞中成分はアミスルブロムであり、低用量群及び高用量群でそれぞれ 40.5~52.4% TAR 及び 83.2~89.3% TAR を占めていた。その他 B、C、D、E、F、H 及び M が検出されたが、全て 3% TAR 以下であった。

肝臓抽出液中の代謝物プロファイルはいずれの用量群でも質的には類似しており、性差は実質的には認められなかった。主要な肝臓中成分は D 及び E であり、それぞれ肝臓中放射能の 10.4~19.6% を占めた。その他 F (2.6~2.7%) が微量成分として検出された。

血漿中の代謝物プロファイルは、いずれの用量群でも質的には類似しており、性差は実質的には認められなかった。主要な血漿中成分は D 及び E であった。D は低用量群及び高用量群でそれぞれ血漿中放射能の 20.5~21.8% 及び 13.8~18.2%、E は 21.9~23.1% 及び 42.5~55.7% を占めた。その他、F (1.6~2.2%) 及び H (1.1~4.0%) が微量成分として検出された。

以上より、ラットにおけるアミスルブロムの代謝反応は、主にトリアゾール環側鎖の脱離 (D)、インドール環 2 位のメチル基の水酸化 (B)、これらの両反応 (E)、インドール環の酸 (I)/水酸化 (C) 及びグルクロン酸抱合化 (V、W 及び X) と考えられた。また、インドール環の開裂 (H、M 及び T)、トリアゾール環の転位 (J) 等の反応も推定された。(参照 2)

表 6 尿、胆汁、糞、肝臓及び血漿中における代謝物 (投与量に対する割合、%TAR)

標識体	投与量	性別	部位	アミスル ブロム	代謝物
ind- <sup>14</sup> C- アミスル ブロム	10 mg/kg 体重	雄	尿	—	H(0.6), J(0.6)
			胆汁	—	Y(2.5), 成分 29(1.4), V(5.3), B(0.3), C(0.5), D(0.3), X(3.4), E(0.4), I(<0.1)
			糞	524	B(1.8), C(1.4), D(1.9), E(1.6), F(1.4), M(0.4)
			肝臓	—	D(13.6), E(11.6), F(2.6), その他(41.8)
			血漿	—	D(21.8), E(21.9), F(2.2), H(4.0), その他(12.4)
		雌	尿	—	H(0.5), J(0.8)
	胆汁	—	Y(3.7), 成分 29(1.3), V(5.3), B(<0.1), C(0.2), D(<0.1), X(3.4), E(0.4), I(<0.1)		
	糞	44.7	B(3.0), C(1.5), D(2.8), E(2.1), F(1.3), M(0.1)		
	肝臓	—	D(19.6), E(14.7), F(2.7), その他(42.2)		
	血漿	—	D(20.5), E(23.1), F(1.6), H(1.1), その他(10.1)		
	雌	糞	88.0	B(<0.5), C(<0.5), D(<0.5), E(<0.5)	
	1000 mg/kg 体重	雄	肝臓	—	D(10.4), E(≤19.3), F(≤12.3), その他(23.5)
血漿			—	D(18.2), E(42.5), F(<0.1), H(<0.1), その他(2.9)	
雌			糞	89.3	B(1.3), C(<0.9), D(<0.9), E(<0.9)
雌		肝臓	—	D(15.5), E(≤36.3), F(≤11.8), その他(≤18.0)	
		血漿	—	D(13.8), E(55.7), F(<0.1), H(<0.1), その他(<0.1)	
		tri- <sup>14</sup> C- アミスル ブロム	10 mg/kg 体重	雄	尿
糞	40.5	B(1.0), C(1.3), D(2.3), E(1.2), F(1.2), H(<0.3)			
雌	尿	—		H(0.1), J(0.1)	
	糞	42.5		B(2.1), C(1.1), D(2.1), E(1.7), F(0.9), H(<0.3)	

	1000 mg/kg 体重	雄	糞	86.0	B(0.5), C(<0.5), D(<0.5), E(<0.5)
		雌	糞	83.2	B(0.4), C(<0.4), D(<0.4), E(<0.4)

#### (6) 反復投与後の排泄・分布・代謝

Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に非標識体を低用量（10 mg/kg 体重）で 13 日間反復強制経口投与し、14 日目に tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを低用量（10 mg/kg 体重）で経口投与した（単回投与試験において投与 120 時間後の血液中放射能濃度は ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロムよりも tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムの方が高かった。トリアゾール環のみを有する代謝物の血液への残留性を明らかにすることも考慮し、本試験では tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを使用した）。試験期間中、定期的に尿、糞及びケージ洗浄液を採取した。最終投与 120 時間後に採血後、供試動物を解剖し、臓器・組織中の放射能濃度を測定した。

14 日間反復投与後 120 時間の尿、糞及び投与 120 時間後のカーカス中放射能は表 7 に示されている。投与後 120 時間に雄及び雌の尿中に排泄された放射能は 11~13% TAR（ケージ洗浄液含まず）、糞中に排泄された放射能は 82.5~84.0% TAR であり、投与 120 時間後のカーカス中放射能は 0.2% TAR 未満であった。全体の回収率は 94% TAR であった。72 時間以内に 90% TAR 以上が排泄された。性差は認められなかった。

投与 120 時間後における主要な臓器・組織中における放射能の分布は表 8 に示されている。放射能濃度は、血球、肝臓、全血及び腎臓で高かった。次いで、副腎、カーカス、脂肪、消化管、心臓、腎臓、肺、卵巣、皮膚、脾臓、子宮及び血漿から低濃度の放射能が検出された。各組織中の濃度及び分布率は、単回投与と類似しており、投与 120 時間後における組織残留は、0.4% TAR 未満と少なかった。

14 日間反復投与後の尿及び糞中における代謝物は表 9 に示されている。アミスルブロムが主要な成分であり、その他の代謝物として、B、C、D、E、F、H 及び J が同定された。また T が暫定的に同定された。尿試料を酵素処理したが、HPLC プロファイルには実質的に変化がなく、グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体は尿中に存在しないことが示唆された。これらの定量値は単回投与での結果と類似しており、連続投与しても代謝速度及びパターンに大きな変化はないことが示唆された。（参照 3）

表 7 14 日間反復投与後の尿、糞及びカーカス中放射能 (%TAR)

標識体	投与量 (mg/kg 体重)	性別	尿*	糞	カーカス
ind- <sup>14</sup> C- アミスルブロム	10	雄	11.9	82.5	0.09
		雌	14.3	84.0	0.16

※：ケージ洗浄液を含む。

表 8 投与 120 時間後の主要組織中の残留放射能濃度 (µg/g)

標識体	性別	最終投与後 120 時間
ind- <sup>14</sup> C-アミスル プロム	雄	血球(0.449), 肝(0.388), 全血(0.207), 腎(0.078), 脾(0.044), 肺(0.038), 血漿(0.032), 消化管(0.015), カーカ ス(0.012), 皮膚(0.011), 心臓(0.008), その他検出せず
	雌	血球(0.315), 肝(0.246), 全血(0.148), 腎(0.109), 血漿(0.053), 肺(0.031), 脾(0.030), カーカス(0.023), 消化管 (0.022), 脂肪(0.014), 心臓(0.012), 卵巣(0.010), 子宮(0.010), その他検 出せず

表 9 14 日間反復投与後の尿及び糞中における代謝物 (投与量に対する割合、%TAR)

標識体	投与量	部位	アミスル プロム	代謝物
ind- <sup>14</sup> C- アミスル プロム	10 mg/kg 体重	尿	—	F(0.2), H(1.1), J(0.4-0.5), T(0.1)
		糞	38.4-42.3	B(1.0-1.5), C(1.5-2.3), D(1.5-1.9), E(1.4-1.8), F(3.2)

数値の幅は雌雄の値を示す。

#### (7) 腸肝循環

胆管カニューレ処置を施した Wistar ラット (雄) に ind-<sup>14</sup>C-アミスルプロムを経口投与し (達成投与量 11.3~11.5 mg/kg 体重、投与放射能量 0.94 MBq/匹)、投与後 6 時間に排泄された胆汁を採取した。この採取した胆汁を投与液とし、約 1g (32-37 kBq) の胆汁を胆管カニューレ処置したラットの十二指腸内に注入した。その後 24 時間に排泄された、胆汁、尿及び糞を採取し、投与 24 時間後に屠殺、消化管及び肝臓を採取した。

投与後 6 時間に排泄された胆汁は 16~19%TAR であった。

投与後 24 時間の胆汁、尿、糞中排泄率及び投与 24 時間後の消化管、肝臓、カーカス中残存率は表 10 に示されている。

表 10 胆汁、尿、糞中排泄率及び消化管、肝臓、カーカス中残存率 (%TAR)

標識体	試料	時間	平均値	±	標準偏差
ind- <sup>14</sup> C-アミ スル プロム	胆汁	0-24	34.1	±	6.6
	尿	0-24	9.5	±	1.6
	糞	0-24	14.2	±	4.7
	消化管	24	39.0	±	10.1
	肝臓	24	0.9	±	0.1
	カーカス	24	3.6	±	1.0

投与後 24 時間の胆汁に 34%TAR が排泄され、尿及び糞中にはそれぞれ 9.5%TAR 及び 14%TAR が排泄された。肝臓、消化管及びカーカス中の残存率はそれぞれ 0.9% TAR、39.0%TAR 及び 3.6%TAR であり、全体で 101%TAR が回収された。胆汁中排泄、尿中排泄、肝中残存及びカーカス中残存の合計より、消化管からの胆汁の再吸収率は 48%と計算された。

胆汁、尿及び糞中代謝物は表 11 に示されている。

<sup>14</sup>C-胆汁投与後の胆汁中に確認された代謝物は、I、V、X 及び Y であった。また、酵素処理によりアグリコンとして B、C、D、E、F 及び I が検出された。これらの代謝物の組成は、ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム投与後の胆汁とほぼ同様であった。糞では B、C、D、E 及び F が、尿では F 及び H が検出された。

表 11 胆汁、尿及び糞中代謝物(投与量に対する割合、%TAR)

代謝物	ind- <sup>14</sup> C-アミスルブロム 投与後胆汁		再吸収後胆汁		糞	尿
	無処理	酵素処理	無処理	酵素処理		
B	<0.1	1.3	<0.1	0.7	0.3	<0.1
C	0.1	0.8	<0.1	2.4	0.3	<0.1
D	<0.1	0.6	<0.1	1.7	0.4	<0.1
E	0.2	0.6	<0.1	1.5	0.7	<0.1
F	<0.1	0.2	<0.1	0.8	0.5	0.1
H	—	—	—	—	<0.1	0.1
I	0.6	0.7	0.7	1.0	—	—
V	1.8#	<0.1#	2.8#	<0.1#	—	—
X	0.9#	0.9#	4.7#	3.7#	—	—
Y	1.0	0.5	1.5	0.7	—	—

—：検出されず。

#：HPLC 及び TLC による定量値を基に申請者が算出。

ラットに投与されたアミスルブロムは吸収後代謝を受け、主に胆汁中に B、C、D 及び E の抱合体として排泄されるが、その約半分が消化管より再吸収された後、再び主に胆汁中に排泄された。再吸収後の胆汁中代謝物は概ねアミスルブロム投与後の胆汁中代謝物と類似していたが、B の抱合体が減少して、C、E 及び F の抱合体比率が増加しており、再吸収によりさらに代謝を受けるものと考えられた。(参照 4)

## 2. 植物体内運命試験

### (1) ぶどう

ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロムあるいは tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを含む 20%フロアブル製剤を水で 2000 倍に希釈した散布液をぶどう(品種:Thompson)試験樹に散布し、

植物体内運命試験が実施された。1回の散布量は100 g ai/ha、散布間隔は10日、回数は3回であった(実測値は91.4~96.6 g ai/ha)。最終散布直後及び最終散布から7日後に果実を、14日後(収穫期)に果実及び葉を採取した。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及びtri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムのブドウ果実中における総残留放射能(TRR)は、散布直後でそれぞれ0.460 mg/kg及び0.971 mg/kg、14日後(収穫期)に0.289 mg/kg及び0.537 mg/kgであった。放射能の大部分(89.1~96.9%TRR)は洗浄液中に回収され、洗浄後の果実中の残留放射能はほとんどが抽出された。抽出されなかった放射能は収穫期のブドウ果実の場合で1.5~2.7%TRR(0.008 mg/kg)であった。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及びtri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した収穫期の果実で83.4~84.3%TRRがアミスルブロムであった。収穫期の果実中に、スルホニル架橋を維持したB、C、D、E、G、H、J及びスルホニル架橋が開裂したM、Rが少量検出された(0.0005~0.006 mg/kg; <0.05%TRR~1.2%TRR)。

葉部では、最終散布14日後に6.08~9.19 mg/kgの残留放射能を検出した。ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及びtri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した葉部の主残留放射能はアミスルブロムであり、それぞれ58.3%TRR及び52.1%TRRを占めた。果実と同様の代謝物が<0.05~3.0%TRRの範囲で検出された。

tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した葉の抽出物の水溶性画分に10.8%TRR(0.994 mg/kg)の残留放射能が検出された(ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム散布した葉では0.5%TRR)。この画分から4成分を分離し、0.3~4.3%TRR(0.024~0.395 mg/kg)の3成分及び5.0%TRR(0.454 mg/kg)の高極性成分より構成され、いずれも未同定であった。

散布時に被覆したブドウ果実では、tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロム散布区で0.0001 mg/kgの残留放射能を抽出残渣から検出した。ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム散布区の被覆果実からは放射能は検出されなかった。トリアゾール部分は若干移行性が認められた。(参照5)

## (2) ばれいしょ

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムあるいはtri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを含む20%フロアブル製剤を野外のポット栽培のばれいしょ(品種: Maris piper)の茎葉部に7日間隔で5回散布し、植物体内運命試験が実施された。1回の散布量は100 g ai/haとした(実測値は98.9~103 g ai/ha)。最終散布直後、最終散布から7日後及び14日後(収穫期)に茎葉及び塊茎を採取した。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した茎葉部の残留放射能濃度は、最終散布直後の6.03 mg/kgから14日後には3.11 mg/kgへ減少した。収穫期の茎葉部の残留放射能は、洗浄液から72.3%TRR、抽出液に9.9%TRR、残渣に17.8%TRRが検出された。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した収穫期の茎葉の残留放射能(3.11 mg/kg)のうち74.9%TRR(2.33 mg/kg)をアミスルブロムが占め、代謝物としてB、C、D、E、F、G、H、J、M及び多数の未同定代謝物が0.1~1.4%TRR検出された。

tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した茎葉部の残留放射能濃度は最終散布直後で8.48

mg/kg、最終散布 14 日後で 6.04 mg/kg であった。収穫期の残留放射能は、洗浄液から 77.0%TRR、抽出液に 14.7%TRR、残渣に 8.3%TRR が検出された。

tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロム散布区の収穫期の茎葉の残留放射能 (6.04 mg/kg) のうち 77.8%TRR (4.70 mg/kg) をアミスルブロムが占め、代謝物として B、C、D、G、H、I が 0.1~1.5%TRR 検出されたほか、未同定代謝物群が最大 3.4%TRR 検出された。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した収穫期の茎葉及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロム散布区の収穫期の茎葉抽出液の水溶性画分には、それぞれ 2.3%TRR 及び 6.4%TRR の放射能が含まれ、未同定の 4~6 成分が分離された。残渣中の残留放射能をソックスレー抽出、酸あるいはアルカリ加水分解、酵素加水分解することにより大半の放射能が可溶化し、0.5~1.2%TRR が抽出できなかった。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布したばれいしよの塊茎中の残留放射能は、それぞれ 0.005~0.008 mg/kg 及び 0.013~0.022 mg/kg であった。ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布したばれいしよの塊茎中の残留放射能は極めて低かったのでこれ以上の分析を実施しなかった。

tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロム散布区の収穫期塊茎より 82.2%TRR が抽出されたが、60.1%TRR が水溶性画分に存在した。この画分には極性の高い 4 つの成分が分離された。茎葉に散布されたアミスルブロムのトリアゾール環部分が分解代謝されて植物成分中に取り込まれたことを示している。これらの成分は、クロマトグラム上で糖類とは異なる挙動をし、第 1 級アミンの誘導化試薬 (Fmoc) と反応せず、トリアゾールアラニンやトリアゾール酢酸に似た挙動をするが、クロマトグラム上で一致はしなかった。また、LC/MS 分析で想定代謝物と一致するピークを検出することはできなかった。非抽出成分 24.9%TRR (0.005 mg/kg) から分離したでん粉中から 3.1%TRR の放射能が検出された。非抽出成分からは、ソックスレー抽出、酸あるいはアルカリ加水分解、酵素加水分解などにより可溶化した放射性成分から有機溶媒に抽出される成分はなかった。(参照 6)

### (3) トマト

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを含む 20%フロアブル製剤を水で希釈してプラスチックトンネル内のポット栽培トマト (品種: Moneymaker) に散布し、植物体内運命試験が実施された。1 回の散布量は 120 g ai/ha (散布濃度 120 ppm) で、7 日間隔で 3 回散布した。最終散布直後及び最終散布から 3 日後に果実を、7 日後 (収穫期) に果実及び葉を採取した。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した果実の残留放射能濃度は、アミスルブロム換算で最終散布当日にそれぞれ 0.300 mg/kg 及び 0.302 mg/kg であり、7 日後にそれぞれ 0.241 mg/kg 及び 0.182 mg/kg に減少した。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを散布した収穫期トマト果実の残留放射能は 91.5~92.0%TRR が表面洗浄液中に、6.0~6.6%TRR が洗浄後の抽出液中に、1.4~2.5%TRR が残渣中に分布した。収穫期の果実中の残留放射能の化学形態は、親化合物が 91.3~91.9%TRR を占めた。代謝物としてスルホニル架橋を維持しているものとして B、C、D、F、G、H 及び I、スルホニル架橋が開裂した代謝物と

して L 及び M、その他未同定の 10 種類以上の代謝物が検出されたが、いずれも <0.05%TRR (<0.0005 mg/kg) ~1.1%TRR (0.003 mg/kg) であった。

ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを散布した茎葉の残留放射能濃度は、アミスルブロム換算で最終散布当日にそれぞれ 4.91 mg/kg 及び 5.04 mg/kg であった。

ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを散布したトマト茎葉の残留放射能は 85.3~88.1%TRR が表面洗浄液中に、8.1~8.9%TRR が洗浄後の抽出液中に、3.8~5.8%TRR が残渣中に分布した。収穫期の果実中の残留放射能の化学形態は、アミスルブロムが 86.3~90.1%TRR を占めた。代謝物としてスルホニル架橋を維持しているものとして B、C、D、F、G、H 及び I、スルホニル架橋が開裂した代謝物として L 及び M、その他未同定の 10 種類以上の代謝物が検出されたが、いずれも <0.05%TRR (≦0.0005 mg/kg) から 1.1%TRR (0.066 mg/kg) であった。

アミスルブロムの植物における主代謝経路は、①トリアゾール環のスルホニルアミノ基の脱離、②脱臭素、③酸化/水酸化、④インドール環及びトリアゾール環のスルホニル架橋の開裂、⑤インドール環の開裂であり、多数の代謝物が生成した。(参照 7)

### 3. 土壌中運命試験

#### (1) 好氣的土壌中運命試験

森林土壌(砂壤土:米国ノースダコタ州)を用いてアミスルブロムの好氣的土壌中運命試験を実施した。試験土壌をガラス容器に取り、土壌の水分を圃場含水量(0.33 バール)の 75%に調整した。この土壌の表面に ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムを 0.5 mg/kg (乾土換算)の用量で均一に添加し、25±2℃の暗所で 365 日間インキュベートした。

アミスルブロムの試験土壌における放射能濃度は 365 日後に 1.8% TAR に減少した。ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロム処理土壌中で分解物 D が、31 日後に最大 30.8~33.3% TAR に達し、365 日後に 10.9~14.2% TAR に減衰した。E は、273 日後に最大 4.9~5.7% TAR に達した後、365 日後にやや減衰して 4.7~5.0% TAR となった。K は 365 日後に 7.7~8.2% TAR に達した。その他、B、F、G、H、I の生成量は 5% TAR 以下であった。極性分解物及び 4 個の未同定分解物を検出したが、その生成量は 1.2% TAR 以下であった。

365 日間の累積二酸化炭素発生量は、ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムで異なり、それぞれ 3.4% TAR 及び 0.6% TAR であった。

土壌から抽出された放射能は時間の経過とともに減少し、結合性残留放射能が増加して 365 日後には ind-<sup>14</sup>C-アミスルブロムで 69.4% TAR、tri-<sup>14</sup>C-アミスルブロムで 54.8% TAR となった。

アミスルブロムの推定半減期及び 90% 減衰期はそれぞれ 17 日及び 56 日であり、D のそれらはそれぞれ 34 日及び 114 日であった。

アミスルブロムの主要分解経路は、トリアゾール環上のスルホニルアミノ側鎖の開裂による D の生成であった。それに加え、脱臭素、酸化、メチル化及びインドール環の開裂等の反応の組み合わせの結果、その他の低濃度分解物が生成した。(参照 8)

## (2) 土壌表面光分解試験

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム又は tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを使用し、砂壤土（米国ノースダコタ州）における土壌表面光分解試験が実施された。土壌 5 g（乾土換算）をガラス製シャーレに入れ、土壌水分を調節し（最大容水量の 24.9%に相当）、ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム又は tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムのアセトニトリル溶液の 500 g ai/ha 相当量を均一に処理した。照射区用試料には、キセノンランプ（光強度：425 W/m<sup>2</sup>、測定波長：290～800 nm）の光を 25±2℃で 15 日間照射した。

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム又は tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを添加した土壌中のアミスルブロムは、処理直後にはそれぞれ 93.9%TAR (0.505 mg/kg) 及び 93.8%TAR (0.505 mg/kg) が回収され、分解物 D は処理 15 日後に照射区で最大 21.4~30.7%TAR、暗所で 33.0~35.9%TAR に達した。その他、照射区から B、E、G、I、Q 及び数種類の未知分解物、暗所区から B、E、G、I、K 及び 2 種類の未知分解物が検出されたが、生成量はいずれも 10%TAR 未満であった。照射によって G 及び I の生成率が若干高くなった。

アミスルブロムの推定半減期は、照射区で 12.5 日、暗所区で 10.9 日であり、光照射による消失速度への影響は小さかった。

分解物 D の生成は光分解に起因しないことが示唆された。光分解経路は脱臭素、酸化/水酸化、インドール環の開裂及び両環の開裂であった。これらの代謝物の更なる分解の結果、フルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分への結合、そして少量（15 日間の累積で 1.2~2.0%）の二酸化炭素が発生した。（参照 9）

## (3) 土壌吸着試験（アミスルブロム）

アミスルブロムの土壌吸着試験が 5 種類の土壌 [砂壤土（米国）、壤土（日本）、壤質砂土（英国）、埴壤土（英国）、埴土（スペイン）] を用いて実施された。

Freundlich の吸着温等式による吸着係数は  $K^{ads}=147\sim378$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は  $K_{oc}=8160\sim44200$  であった。アミスルブロムは 5 種類全ての土壌において非移動性と判断された。（参照 10）

## (4) 土壌吸着試験（土壌中分解物 D）

土壌中分解物 D の土壌吸着試験が 4 種類の土壌 [埴壤土（英国）、砂壤土（米国）、壤土（日本）、壤質砂土（英国）] を用いて実施された。

Freundlich の吸着温等式による吸着係数は  $K^{ads}=25.5\sim108$ 、有機炭素含量による補正吸着係数は  $K_{oc}=821\sim11400$  であった。移動性区分は低移動性～非移動性であった。（参照 11）

## 4. 水中運命試験

### (1) 加水分解試験

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムまたは tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを pH4 (0.01M 酢酸緩衝液)、7 (0.01M ホウ酸緩衝液) 及び 9 (0.01M ホウ酸緩衝液) の緩衝液に溶解して 50 µg/L

の溶液を調製した。この溶液を 25°C の暗所で、30 日間 (pH9 においては 20 日間) にわたり加水分解試験が実施された。

30 日後の pH4 及び 7 の緩衝液、20 日後の pH9 の緩衝液におけるアミスルブロムの残存率は、ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムにおいてはそれぞれ 75.3、69.9 及び 5.9% TAR であり、tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムにおいてはそれぞれ 72.6、75.0 及び 6.9% TAR であった。アミスルブロムの推定半減期は pH4、7 及び 9 の緩衝液において、それぞれ 78.5 日、76.5 日及び 5.0 日であった。pH4 及び 7 における主要分解物は D であった。pH9 において 10% 以上検出された分解物は D、L 及び Q であった。以上の結果、pH4 及び 7 ではトリアゾール環側鎖の開裂による D の生成が主要であり、pH が 7 及び 9 では D の生成に加え、インドール環とトリアゾール環の間のスルホニル結合の開裂 (L 及び Q の生成) が生じた。pH9 では L 及び Q の生成速度は D の生成速度よりも高くなり、アミスルブロムの推定半減期が pH4 及び 7 に比べると著しく短くなった。(参照 12)

## (2) 水中光分解試験 (滅菌緩衝液)

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを pH4 (0.01M 酢酸緩衝液) の滅菌緩衝液に溶解して 50 µg/L とし、25±2°C でキセノンランプ (光強度: 425 W/m<sup>2</sup>、測定波長: 290~800 nm) を 48 時間照射した。

滅菌緩衝液中において、アミスルブロムは光照射時間の経過とともに速やかに減少し、照射 48 時間後には検出されなかった。10% TAR 以上の主要な分解物として M、O、P、U 及び Q が検出された。M は照射 48 時間後に 52.2% TAR に増加した。O は照射 48 時間後に 19.6% TAR に増加した。P は照射 6 時間後に 21.3% TAR に増加し、48 時間後には 2.8% TAR に減少した。U は照射 6 時間後に 26.8% TAR に増加し、48 時間後には 3.7% TAR に減少した。Q は照射 48 時間後に 67.1% TAR に増加した。少量の分解物として I、J、L、S、T 及び少なくとも 6 個の未知分解物が検出された。二酸化炭素の 48 時間の累積発生量は ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムの場合 4.5% TAR、tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムの場合 0.4% TAR であった。一方、暗所ではアミスルブロムは安定であり、分解物は検出されなかった。

以上より、アミスルブロムの光分解により、脱臭素と酸化/水酸化による I の生成、転位による J の生成、2 種類の環の開裂による置換インドール及び置換トリアゾール系化合物の生成が認められた。L は酸化/水酸化及び二量化により P を生成したほか、インドール環が開裂して M 及び O を生成した。また、トリアゾール環上の側鎖は転位や脱離を受け、U 及び Q を経由して S と T が生成し、これらはさらに分解されて極性物質及び二酸化炭素を生成した。

以上の結果から算出したアミスルブロム、P 及び U の推定半減期はそれぞれ 6.1 時間、14.1 時間及び 14.6 時間であり、90% 減衰期はそれぞれ 20.4 時間、46.8 時間及び 48.5 時間であった。また、自然太陽光 (北緯 35°、春) 換算値による半減期はそれぞれ 26.2 時間、60.6 時間及び 62.8 時間と推定された。(参照 13)

## (3) 水中光分解試験 (滅菌自然水)

ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロム及び tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムを滅菌自然水（小貝川河川水）に溶解して 50 µg/L 溶液を調製した。この溶液に 25±2°C でキセノンランプ（光強度：425 W/m<sup>2</sup>、測定波長：290~800 nm）の光を 48 時間照射した。

滅菌自然水中において、アミスルブロムは光照射時間の経過とともに速やかに減少し、照射 48 時間後には検出されなかった。10%TAR 以上の主要な分解物として M、Q、S 及び T が検出された。M は照射 24 時間後に 51.7%TAR に増加し、次いで 48 時間後には 44.0%TAR に減少した。Q は照射 9 時間後に 22.8%TAR に増加し、48 時間後には 13.3%TAR に減少した。S は照射 48 時間後に 50.6%TAR に増加した。T は照射 24 時間後に 15.2%TAR に増加し、48 時間後には 12.8%TAR に減少した。その他の分解物として、D、I、J、L、N、R 及び少なくとも 3 個の未知分解物が検出された。二酸化炭素の 48 時間の累積発生量は ind-<sup>14</sup>C・アミスルブロムの場合 2.9%TAR、tri-<sup>14</sup>C・アミスルブロムの場合 0.1%TAR であった。暗所下ではアミスルブロムが分解し、分解物として D、I、L、Q 及び S（いずれも 6%TAR 未満）が検出された。

アミスルブロムへの光照射により、主に 2 種類の環の間の開裂による L 及び Q が生成した。また、インドール環の脱臭素と酸化/水酸化により I が、トリアゾール環の分子内転位により J が、スルファモイル基が脱離して D が生成した。L は I-5（推定される分解物）を経由して M へ変換された。M は加水分解反応により N へ変換された。Q はスルホニル基あるいはスルファモイル基の脱離により、R、S 及び T へ変換された。最終的にはいずれの分解物も極性化合物及び二酸化炭素へ変換された。

アミスルブロム、M、Q 及び T の推定半減期は、それぞれ 4.7 時間、103 時間、52.3 時間及び 97.8 時間であり、自然太陽光（北緯 35°、春）の換算値による半減期は、それぞれ 20.2 時間、442 時間、225 時間及び 420 時間であった。（参照 14）

## 5. 土壌残留試験

火山灰・埴土（茨城）、沖積・埴壤土（高知）及び沖積・砂壤土（埼玉）を用いて、アミスルブロム及び分解物 D を分析対象とした土壌残留試験（容器内及び圃場試験）が実施された。

推定半減期は表 12 に示されており、アミスルブロムとして容器内では 7.3~78.0 日、圃場では 24.5~28.2 日、アミスルブロムと分解物 D の含量として容器内では 23.4~210 日、圃場では 32.6~43.8 日であった。（参照 15）

表 12 土壌残留試験成績（推定半減期）

試験	濃度*	土壌	アミスルブロム	アミスルブロム +分解物D
容器内試験	0.27 mg/kg	火山灰・埴土	32.6 日	146 日
		沖積・埴壤土	78.0 日	210 日
	1.4 mg/kg	沖積・砂壤土	7.3 日	23.4 日
圃場試験	531 g ai/ha	火山灰・埴土	28.2 日	43.8 日

		沖積・埴壤土	24.5 日	32.6 日
--	--	--------	--------	--------

\* : 容器内試験で原体、圃場試験で 17.7%フロアブル剤を使用

## 6. 作物残留試験

野菜及び果実等を用いて、アミスルブロムを分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。分析は含水アセトニトリルで抽出した試料を精製後、UV 検出器付き高速液体クロマトグラフ (HPLC/UV) を用いて定量するものであった。

結果は表 13 に示されている。アミスルブロムの最高値は、ぶどう (小粒種) の最終散布 21 日後における 1.21 mg/kg であった。(参照 16)

表13 作物残留試験成績

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年	試験 圃場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)	
					アミスルブロム	
					最高値	平均値
ばれいしょ (露地) (塊茎) 2003年	2	133- 221	4	3	<0.01	<0.01
				7	<0.01	<0.01
				14	<0.01	<0.01
だいず (露地) (乾燥子実) 2004年	2	133- 266	3	3	0.10	0.07
				7	0.08	0.04
				14	0.03	0.02*
トマト (施設) (果実) 2003年	2	266	4	1	0.42	0.34
				7	0.39	0.28
				14	0.22	0.17
ミニトマト (施設) (果実) 2004年	2	266	4	1	0.67	0.50
				7	0.65	0.42
				4	0.29	0.28
きゅうり (施設) (果実) 2004年	2	133- 266	4	1	0.22	0.18
				3	0.16	0.14*
				7	0.04	0.03
メロン (露地) (果実) 2004年	2	375- 700	4	1	<0.01	<0.01
				3	<0.01	<0.01
				7	<0.01	<0.01
ぶどう 大粒種 (施設) (果実) 2003年	1	177	3	14	0.36	0.29
				21	0.23	0.20
				28	0.25	0.21
				42	0.11	0.11
ぶどう 小粒種 (施設) (果実) 2004年	1	207	3	14	0.83	0.77
				21	1.21	1.10
				28	1.14	0.91
				60	0.35	0.33

注) ・散布には25%フロアブル剤を使用した。

・一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は定量限界値を検出したものとして計算し、\*印を付した。

・全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。

表 13 の作物残留試験の分析値を用いて、アミスルプロムを暴露評価対象化合物として農産物から摂取される推定摂取量が表 14 に示されている（別紙 3 参照）。

なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からアミスルプロムが最大の残留を示す使用条件で、全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定のもとに行った。

表 14 食品中より摂取されるアミスルプロムの推定摂取量

	国民平均 (体重：53.3kg)	小児（1~6歳） (体重：15.8kg)	妊婦 (体重：55.6kg)	高齢者(65歳以上) (体重：54.2kg)
摂取量 ( $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ )	22.2	14.9	17.5	18.0

## 7. 一般薬理試験

ラット及びイヌを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 15 に示されている。（参照 17）

表 15 一般薬理試験

試験の種類		動物種	動物数 匹/群	投与量 mg/kg 体重 (投与経路)	無作用量 mg/kg 体重	作用量 mg/kg 体重	結果の概要
中枢 神経系	一般状態 (Irwin 法)	ラット	雄 5	0, 200, 600, 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし
呼吸・ 循環器系	呼吸数・ 血圧・ 心拍数・ 心電図	イヌ	雄 3*	0, 200, 600, 2000 (経口)	2000	—	投与による影響なし

\*：最初に 0 及び 200 mg/kg 体重投与群の検査を実施した後、1 週間以上の休薬期間を設けて、同じ動物を 600 及び 2000 mg/kg 体重投与群として使用した。

## 8. 急性毒性試験

アミスルプロムのラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験及び急性吸入毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 16 に示されている。（参照 18~20）

表 16 急性毒性試験概要（原体）

投与 経路	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	

経口	SD ラット 雌雄各 3 匹	>5000	>5000	死亡例及び症状なし
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5000	>5000	死亡例及び症状なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		雌雄：過呼吸、鼻/顎周囲の汚れ (褐色)
		>2.85	>2.85	

土壤中主要分解物 D 及び植物固有代謝物 G のラットを用いた急性経口毒性試験が実施された。

各試験の結果は表 17 に示されている。(参照 21、22)

表 17 急性毒性試験概要 (代謝物)

投与経路	化合物	動物種 性別・匹数	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	観察された症状
経口	分解物 D	Wistar ラット 雌各 3 匹	雌：50~300	50 で全動物生存、300 で全動物死亡、死亡例のみ軟便、腹側部陥凹、運動失調、呼吸困難
経口	代謝物 G	Wistar ラット 雌各 6 匹	雌：>2000	1 匹に嗜眠及び円背位

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW 雄ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、皮膚刺激性は認められなかったが、軽度の眼刺激性が認められた。(参照 23、24)

Hartley 雌モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施された。その結果、皮膚感作性は陰性であった。(参照 25)

## 10. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体：0、2000、6300 及び 20000 ppm: 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 18 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

投与群		2000 ppm	6300 ppm	20000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	171	525	1720
	雌	187	587	1880

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

眼科学的検査において、20000 ppm 投与群の雄でゴースト血管の発生数が増加したが、ゴースト血管は血管新生の名残であり、毒性学的意義はないと判断された。

血液学的検査において雄で認められた Hb 及び MCHC の低下及び雌で認められた