

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

(2) 変異原性

①原体混在物・動物、植物及び土壌中代謝物の細菌を用いた復帰突然変異試験 (資料 32)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年： 1985 年

検体の純度： %

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP 2 *uvrA* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下、非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解した。溶解限度である 16000 $\mu$ g/プレートを最高投与量とし、250~16000 $\mu$ g/プレートの範囲の 7 濃度で実施した。プレートは同一条件で 2 枚使用した。

試験結果：結果を次表に示した。

検体は、代謝活性化を含め最高投与量である 16000 $\mu$ g/プレートの濃度においても、復帰コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、ACR、2-NF 及び 2-AA ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

結果 (2 回測定した平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	0	-	23	19	134	7	16	23
検体	250	-	25	23	117	4	12	23
	500	-	17	20	129	9	11	15
	1000	-	17	13	111	4	13	17
	2000	-	16	14	111	6	9	13
	4000	-	14	15	105	5	9	13
	8000	-	17	21	123	4	11	13
	16000	-	14	18	119	7	15	21
対照 (DMSO)	0	+	37	8	144	13	38	33
検体	250	+	30	12	130	9	24	34
	500	+	26	7	110	9	27	33
	1000	+	29	11	127	5	24	27
	2000	+	27	13	106	6	22	20
	4000	+	34	9	85	5	15	23
	8000	+	26	11	94	9	18	22
	16000	+	36	13	107	9	24	35
陽性 対照	AF-2	0.01	-	136		632		
	AF-2	0.1	-					737
	ENNG	5	-		214			
	ACR	80	-				157	
	2-NF	2	-					455
	2-AA	0.5	+			289		442
	2-AA	2	+		147		179	
2-AA	40	+	1115					

- AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド  
 ENNG : 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン  
 ACR : 9-アミノアクリジン  
 2-NF : 2-ニトロフルオレン  
 2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

②原体混在物・動物、植物、土壌及び水中代謝物の細菌を用いた復帰突然変異試験  
(資料 33)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1985 年

検体の純度: %

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP 2 *uvrA* 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下、非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解した。予備試験の結果 (抗菌作用発現) から 9600 $\mu$ g/プレート を最高投与量とし、150~9600 $\mu$ g/プレートの範囲の 7 濃度で実施した。プレートは同一条件で 2 枚使用した。

試験結果: 結果を次表に示した。

検体は、代謝活性化を含め最高投与量である 9600 $\mu$ g/プレートの濃度においても、復帰コロニー数の増加は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた AF-2、ENNG、ACR、2-NF 及び 2-AA ではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、本検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

結果 (2回測定した平均値)

薬物	濃度 μg/プレート	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2 <sub>uvrA</sub>	TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	0	-	17	26	136	7	9	23
検体	150	-	13	28	127	6	10	17
	300	-	14	20	153	4	10	15
	600	-	21	25	129	6	12	13
	1200	-	15	25	130	3	12	26
	2400	-	23	19	87*	2*	6	23
	4800	-	21*	8*	72*	1*	1*	14*
	9600	-	13*	2*	5*	0*	0*	12*
対照 (DMSO)	0	+	25	16	152	12	30	30
検体	150	+	18	18	131	11	21	24
	300	+	22	18	133	10	31	28
	600	+	25	16	158	7	25	29
	1200	+	21	12	115*	8	19	38
	2400	+	18*	5*	73*	2*	6*	19*
	4800	+	12*	1*	31*	1*	1*	10*
	9600	+	12*	1*	12*	0*	1*	7*
陽性 対照	AF-2	0.01	-	126		822		
	AF-2	0.1	-					739
	ENNG	5	-		247			
	ACR	80	-			572		
	2-NF	2	-				360	
	2-AA	0.5	+			376	476	450
	2-AA	2	+		209		141	
2-AA	40	+	1109					

\*生育阻害

- AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド  
 ENNG : 1-エチル-2-ニトロ-3-ニトロソグアニジン  
 ACR : 9-アミノアクリジン  
 2-NF : 2-ニトロフルオレン  
 2-AA : 2-アミノアントラセン

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

③原体混在物・動物、植物及び土壌代謝物の細菌を用いた DNA 修復性試験

(資料 34)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1985 年

検体の純度: %

試験方法: 枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、代謝活性化 (S-9Mix 添加) 及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。最高投与量は非活性化法の場合溶解度限度である 8000 $\mu$ g/disk とし、活性化法ではその 1/2 とした。

結果:

代謝活性化の有無	薬物	濃度 ( $\mu$ g/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)	0	0	0	0
	検体	500	0	0	0
		1000	0	0	0
		2000	0	0	0
		4000	0	0	0
		8000	0	0	0
	陰性対照 (カナマイシン)	0.3	7.3	7.0	0.3
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.02	9.8	0	9.8	
活性化	対照 (DMSO)	0	0	0	0
	検体	250	0	0	0
		500	0	0	0
		1000	0	0	0
		2000	0	0	0
		4000	0	0	0
陽性対照 (Trp-P-1)	10	6.2	0	6.2	

(注) 数字は 3 回測定した平均値

検体投与群では代謝活性化を含め、本実験条件下で両株に生育阻止の差を認めなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C、Trp-P-1 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

④動物、植物、土壌及び水中代謝物の細菌を用いた DNA 修復性試験

(資料 35)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：1985 年

検体の純度： %

試験方法：枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、代謝活性化 (S-9Mix 添加) 及び非活性化法によって DNA の損傷の誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用いた。最高投与量は、予備試験の結果から非活性化法では 250 µg/disk 以上で生育阻害を示したため、2000µg/disk とした。活性化法ではその 1/2 とした。

結果：

代謝活性化の有無	薬物	濃度 (µg/disk)	阻止帯の径 (mm)		差 (mm)
			M-45	H-17	
非活性化	対照 (DMSO)	0	0	0	0
	検体	125	0	0	0
		250	8.0	8.8	< 0
		500	14.3	16.7	< 0
		1000	21.2	21.0	0.2
		2000	24.5	24.2	0.3
	陰性対照 (カナマイシン)	0.3	6.8	6.5	0.3
陽性対照 (マイトマイシン C)	0.02	8.7	0	8.7	
活性化	対照 (DMSO)	0	0	0	0
	検体	62.5	0	0	0
		125	3.0	2.3	0.7
		250	6.3	6.2	0.1
		500	11.0	10.7	0.3
		1000	14.8	14.3	0.5
	陽性対照 (Trp-P-1)	10	7.0	0	7.0

(注) 数字は 3 回測定した平均値

検体投与群では非活性化で 250、活性化で 125µg/disk 以上で濃度に比例して両株の間に生育阻止帯が増加したが、その差はいずれも 2 mm 未満であった。

一方、陽性対照のマイトマイシン C、Trp-P-1 では両株の間に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、本検体は DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

### 3. 製剤

ユニハーブフロアブルのラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 製剤-1)

試験機関:

報告書作成年: 1993年 [GLP対応]

検体純度: プレチラクロール・ベンゾフェナップ水和剤 (フロアブル)

組成	プレチラクロール原体	5.0%
	ベンゾフェナップ原体	20.0%
	界面活性剤及び水他	75.0%

試験動物: SD (Crj:CD) SPFラット、6週齢、1群雌雄6匹

体重: 雄175~185g、雌128~143g

試験期間: 14日間観察

投与方法: 未調製の被験物質を投与前約16時間絶食させた動物に4.67ml/kgの容量で単回経口投与した。対照群には注射用水を同様に投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。体重は投与直前、投与後7および14日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄雌 >5000
死亡開始および 終了時間	—
症状発現および 消失時間	投与後直後から発現 投与24時間後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—

中毒症状としては、流涎および軟便等が認められた。

体重については雌では対照群と同様に推移した。雄では対照群と比較して体重増加抑制が認められた。

剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ユニハーブフロアブルのマウスを用いた急性経口毒性試験

(資料 製剤-2)

試験機関:

報告書作成年: 1993年 [GLP対応]

検体純度: プレチラクロール・ベンゾフェナップ水和剤 (フロアブル)

組成	プレチラクロール原体	5.0%
	ベンゾフェナップ原体	20.0%
	界面活性剤及び水他	75.0%

試験動物: ICR (Crj:CD-1) SPFマウス、6週齢、1群雌雄6匹

体重: 雄30.0~32.1g、雌21.0~22.8g

試験期間: 14日間観察

投与方法: 未調製の被験物質を投与前約3時間絶食させた動物に4.67ml/kgの容量で単回経口投与した。対照群には注射用水を同様に投与した。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。体重は投与直前、投与後7および14日に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

試験結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄雌 >5000
死亡開始および 終了時間	—
症状発現および 消失時間	投与後直後から発現 投与4日後に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—

中毒症状としては、自発運動の低下および立毛等が認められた。体重については投与群の雄1匹を除いて対照群と同様に推移した。剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。



ユニハーブフロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 製剤-3)

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

検体純度：プレチラクロール・ベンゾフェナップ水和剤（フロアブル）

組成	プレチラクロール原体	5.0%
	ベンゾフェナップ原体	20.0%
	界面活性剤及び水他	75.0%

試験動物：SD (Crj:CD) SPFラット、雄7週齢、雌10週齢、1群雌雄6匹

体重：雄229～247g、雌200～237g

試験期間：14日間観察

試験方法：未調製の被験物質を1.87ml/kgの容量で剪毛した背部皮膚に24時間塗布した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。体重は、投与前日、投与後7および14日に測定した。試験終了時に全生存動物について剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	雌雄 > 2000
死亡開始および終了時間	死亡は認められなかった。
症状発現および消失時間	中毒症状は認められなかった。
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

死亡および中毒症状は認められなかった。

体重については、投与群雄に増加抑制が認められた。雌は対照群と同等に推移した。

剖検所見では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ユニハーブフロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 製剤-4)

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

検体純度：プレチラクロール・ベンゾフェナップ水和剤（フロアブル）

組成	プレチラクロール原体	5.0%
	ベンゾフェナップ原体	20.0%
	界面活性剤及び水他	75.0%

試験動物：日本白色種ウサギ、3ヶ月齢、1群雄6匹

体重：雄1.94~2.23kg

観察期間：3日間観察

投与方法：被験物質0.5mlをリント布に塗布し、刈毛した動物の体幹背部の皮膚(約2.5×2.5cm)に貼付した。投与4時間後にリント布を取り除き、微温湯で投与部位を清拭した。

観察項目：検体除去1、24、48および72時間後に、投与部位の刺激性変化（紅斑・痂皮および浮腫）の有無等を観察して、Draize法に従って採点、評価した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高 評点	暴露後時間				
		1時間	24時間	48時間	72時間	
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

検体除去1、24、48及び72時間後の観察で、いずれの動物とも紅斑および浮腫などの刺激性反応の出現は認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して「無刺激物」と考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ユニハーフフロアブルのウサギを用いた眼一次刺激性試験

(資料 製剤-5)

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

検体純度：プレチラクロール・ベンゾフェナップ水和剤（フロアブル）

組成	プレチラクロール原体	5.0%
	ベンゾフェナップ原体	20.0%
	界面活性剤及び水他	75.0%

試験動物：日本白色種ウサギ、3ヶ月齢、雄、非洗眼群6匹、洗眼群3匹  
 体重 1.95~2.24 kg

観察期間：14日間

試験方法：被験物質0.1mlを非洗眼群および洗眼群の左眼の結膜嚢内に適用した。洗眼群は投与約2分後に、非洗眼群は投与約24時間後に20mLの微温湯を用いて洗眼した。

観察項目：投与1、24、48および72時間、4、7および14日後に角膜、虹彩および結膜に対する刺激性変化をDraize法に従って採点し、Kay and Calandraの方法を参考にして評価した。

試験結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高 評点	投与後時間									
		1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	14日			
非洗眼群	動物番号 101	角膜混濁程度	4	0	0	0	0	0	0	0	
		角膜混濁面積	4	-	-	-	-	-	-	-	
		虹彩	2	0	1	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	0	0	0
			浮腫	4	1	3	0	0	0	0	0
	分泌物	3	2	3	0	0	0	0	0		
	合計**	110	8	21	2	2	0	0	0		
	動物番号 102	角膜混濁程度	4	0	0	0	0	0	0	0	
		角膜混濁面積	4	-	-	-	-	0	-	-	
		虹彩	2	0	5	0	0	0	0	0	
結膜		発赤	3	2	2	1	1	0	0	0	
		浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	
分泌物	3	1	3	0	0	0	0	0			
合計**	110	8	17	2	2	0	0	0			
動物番号 103	角膜混濁程度	4	0	0	0	0	0	0	0		
	角膜混濁面積	4	-	-	-	-	0	-	-		
	虹彩	2	0	1	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	0	0	
		浮腫	4	1	3	3	1	0	0	0	
分泌物	3	2	3	1	1	0	0	0			
合計**	110	8	21	12	6	2	0	0			

項目			最高 評点	投与後時間							
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	14日	
非 洗 眼 群	動物 番号 104	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	0	0
			面 積	4	-	-	-	0	-	-	
		虹 彩		2	0	1	0	0	0	0	0
			発 赤	3	2	2	2	1	0	0	0
		結 膜	浮 腫	4	1	4	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	3	1	0	0	0	0
	合 計**			110	10	23	8	2	0	0	0
	動物 番号 105	角膜混濁	程 度	4	0	1	2	2	2	1	0
			面 積	4	0	4	4	4	4	4	-
		虹 彩		2	0	1	1	1	0	0	0
			発 赤	3	2	2	2	2	1	1	0
		結 膜	浮 腫	4	2	4	1	1	0	0	0
			分泌物	3	1	2	1	1	1	0	0
	合 計**			110	10	41	53	53	44	22	0
	動物 番号 106	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	0	0
			面 積	4	0	-	-	-	-	-	-
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0	0
			発 赤	3	2	1	1	1	1	0	0
結 膜		浮 腫	4	2	3	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	1	0	1	0	0	0	0	
合 計**			110	10	8	4	2	2	0	0	
総 計			66	54	131	81	67	48	22	0	
平 均 (MTS)			110	9	21.8	13.5	11.2	8.0	3.6	0	

項目			最高 評点	投与後時間							
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	14日	
洗眼群 (3匹の 平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0	1.33	0.33	0.33	0	0	
		面 積	4	-	-	2.67	1.33	1.33	-	-	
	虹 彩		2	0	1	1	0.33	0	0	0	
		発 赤	3	1.67	2	2	1.33	0.67	0.33	0	
	結 膜	浮 腫	4	1.67	2.3	2.3	0.33	0	0	0	
		分泌物	3	1	1.67	1.67	0.33	0	0	0	
	合 計 (MTS)			110	8.7	17.0	43.7	12.4	8.0	0.7	0

\*\* : Draize法による評価点 合計=角膜(程度×面積×5) + 虹彩×5 + 結膜(発赤+浮腫+分泌物) ×2

非洗眼群では、投与1時間後に結膜に発赤、浮腫および分泌物が認められ、24時間後には虹彩うっ血及び角膜糜爛が認められた。72時間後から回復傾向がみられ、7～14日後にはすべてが回復した。

洗眼群では非洗眼群と同様の症状が認められ、7～14日後にはすべてが回復した。以上の結果から、被験物質はウサギの眼粘膜に対して「軽度の刺激性あり」と考えられ、投与直後における洗眼効果は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ユニハーブフロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製剤-6)

試験機関：

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

検体純度：プレチラクロール・ベンゾフェナップ水和剤（フロアブル）

組成	プレチラクロール原体	5.0%
	ベンゾフェナップ原体	20.0%
	界面活性剤及び水他	75.0%

試験動物：Dunkin-Hartley系白色モルモット、8～12週齢、

検体感作群 雌20匹、検体非感作群 雌20匹

陽性対照感作群 雌10匹、陽性対照非感作群 雌10匹 体重 301～372g

試験期間：48時間観察

試験操作：[Buehler法]

投与量設定根拠；100%の原液と蒸留水に懸濁した75、50および25%の懸濁液を用意し、2匹の動物の左右側胴部にこれら4濃度の被験液を6時間閉塞貼付した。いずれの濃度においても皮膚反応は認められなかった。

したがって、感作および惹起のいずれも最大濃度であり、かつ無刺激濃度と判断された100%を設定した。

感作；左側腹部を剃毛し、100%被験液0.5mlを6時間閉塞貼付した。

この操作を1週間間隔で3回行った。

検体非感作群は蒸留水0.5mlを同様に閉塞貼付した。

惹起；最終感作の2週間後に剃毛した右腹に100%被験液0.5mlを6時間閉塞貼付した。また、75%被験液も同様に剃毛した右腹の別の部位に貼付した。

観察項目；惹起24時間および48時間後に適用部位の皮膚を観察し、Magnusson & Kligmanの基準に従って採点した。

平均評価点；各観察時ごとに以下の式により求めた。

$$\text{平均評価点} = \frac{\text{皮膚反応の評価点の合計}}{\text{動物数}}$$

陽性率；評価点1以上を陽性とし、以下の式により求めた。

$$\text{陽性率} = \frac{\text{陽性動物数}}{\text{動物数}} \times 100$$

試験結果；各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

		感 作	惹 起	供試動物数	感作反応動物数										
					24時間後					48時間後					
検体		100%検体	100%検体	20匹	皮膚反応評点					皮膚反応評点					
					0	1	2	3	平均	0	1	2	3	平均	
		100%検体	100%検体	20匹	20	0	0	0	0	0	19	1	0	0	0
			75%検体	20匹	20	0	0	0	0	0	18	2	0	0	0.1
		注射用水	100%検体	20匹	19	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0
			75%検体	20匹	19	0	0	0	0	0	19	0	0	0	0

		感 作	惹 起	供試動物数	感作反応動物数					陽性率		
					72時間後					24時間	48時間	72時間
検体		100%検体	100%検体	20匹	皮膚反応評点							
					0	1	2	3	平均			
		100%検体	100%検体	20匹	19	1	0	0	0.1	0	1/20	1/20
			75%検体	20匹	19	1	0	0	0.1	0	2/20	1/20
		注射用水	100%検体	20匹	19	0	0	0	0	0	0	0
			75%検体	20匹	19	0	0	0	0	0	0	0

検体投与群は20例中3例に陽性皮膚反応（発赤グレード1）が認められた。

陽性物質DNCBについて、Buehler法による試験結果を次に示す。

		感 作	惹 起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率
					24時間後					48時間後					
D N C B		0.5% DNCB	0.05%DNCB	10匹	皮膚反応評点					皮膚反応評点					48時間
					0	1	2	3	平均	0	1	2	3	平均	
					0	2	8	0	1.8	0	4	6	0	1.6	10/10
		イタール	0.05%DNCB	10匹	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0

以上の結果から検体の皮膚感作性は軽度の陽性であると考えられた。

## IX 動植物及び土壌における代謝分解

### <代謝分解試験一覧表>

(資料 No. にアンダーラインを付した試験成績は残留農薬安全性評価委員会で評価済みの試験)

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法 処理量	結果概要	試験場所 (報告年)	抄録 記載頁
<u>35-1</u>	動物体内における代謝	ラット (雌雄)	経口 8.5mg/kg 50mg/kg 1回	<p>①血中濃度; <math>T_{max}</math>=6.8 時間、<math>T_{1/2}</math>=約 11 時間</p> <p>②排泄; 投与 24 時間までに尿中に 38~39%、糞中に 53~54% が排出された。呼気への排泄は認められなかった。胆汁排泄試験において 48 時間までに 35~40% が胆汁中に排泄された。</p> <p>③組織内濃度分布; 全身オートラジオグラムより測定した組織内放射能濃度は投与 8 時間に極大を示し、血液、腎、腎および肺に高い放射活性が認められたが、72 時間後には放射能の残留は殆ど認められなかった。</p> <p>④胎児移行性; 胎児移行性は低かった。</p> <p>⑤乳汁移行性; 授乳中ラットに投与した際、血中および乳汁中濃度は 8 時間に極大に達し、それぞれ 12、15 時間の半減期で消失した。血中濃度に比べ乳汁中濃度は 1/4 程度であり移行性は低かった。</p> <p>⑥代謝; 尿中の主要代謝物は [C] および [D] であった。糞中では未変化体が 80% を占め、その他 [B] が主代謝物として認められた。</p>	(1985 年)	代-4
<u>35-2</u>	動物体内における代謝 (追加)	ラット (雌雄)	経口 8.5mg/kg 50mg/kg 1回	<p>①血中放射能濃度は経口投与後 2 時間まで急激に上昇し、8 時間で最高濃度を示した後、半減期 12 時間で速やかに減少した。</p> <p>②吸収されたベンゾフェナップの主要分布臓器は、肝、腎、肺であったが血中濃度の低下に伴い速やかに低下した。投与後 168 時間では何れの分布率も投与量の 0.5% 以下に減少し、特異な残留性は認められなかった。また、生殖器官についても特異的分布および貯留傾向は認められなかった。</p>	(1985 年)	代-13
<u>36</u>	植物体内における代謝	稲 幼 植 物	水耕液 根部処理 1ppm 土壌混和 処理 4ppm	・吸収移行性について、ベンゾフェナップは根部および茎基部から吸収されるが、茎葉部への移行性は少なかった。幼植物体中に吸収されたベンゾフェナップからの主代謝物として [B] が認められ、その他 [E] が一部認められた。[B] はさらに極性代謝物又は非抽出代謝物へ変換することが推定された。	東京農工大学 (1985 年)	代-19
<u>38</u>	土壌中における代謝・分解	火山灰 壇 壇 土 および 鉍 質 壇 土	土壌混和 処理 畑地条件 湛水条件 5.4ppm	・土壌に施用されたベンゾフェナップは、湛水条件でより速やかに分解された。主代謝経路として、[E] を生成する経路の他 [B] を生成する経路が考えられた。なお [B] は土壌中に強く吸着した形で存在すると考えられた。CO <sub>2</sub> の生成も認められた。	東京農工大学 (1985 年)	代-26

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法 処理量	結果概要	試験場所 (報告年)	抄録 記載頁
39	加水分解試験			pH4: 安定 (50℃) pH7: 安定 (50℃) pH9: 推定半減期 573.5 時間 (25℃)	日本エコ テック (株) (1999 年)	代-36
40	水中 光分解試験 (滅菌蒸留水 及び自然水)			推定半減期 滅菌蒸留水: 18.4 時間 自然水: 17.9 時間	日本エコ テック (株) (1999 年)	代-40
12	土壌吸着試験			測定不能	化学品 検査協会 (1989 年)	代-45
41	生物濃縮 性試験	ヒメダカ	連続流水式 5.3µg/L (低濃度区) 10.6µg/L (高濃度区) 28 日間暴露	ベンゾフェナップの魚体中濃度は速やかに定常状態に達し、BCFss は低濃度区で 4.1、高濃度区で 3.8 と算出され、処理濃度による差が無く、またその値は極めて低いことから魚体における濃縮性は低いと結論された。	Korea Institute of Toxicology (2008 年)	代-46



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	ベンゾフェナップ	2-[4-(2,4-ジクロロ- <i>m</i> -トルオイル)-1,3-ジメチルピラゾール-5-イルオキシ]-4'-メチルアセトフェノン	
B				
C				
D				
E				
F				
G				

## 1. 動物代謝

ラット体内における代謝試験

(資料 No.35-1)

試験機関：

報告書作成年：1985年

### 供試標識化合物

標識化合物：	標識ベンゾフェナップ (P 標識体)	標識ベンゾフェナップ (D 標識体)
構造式：		
化学名：	2-[4-(2,4-ジクロロ- <i>m</i> -トルオイル)-1,3-ジメチルピラゾール-5-イルオキシ]-4'-メチルフセトフェノン	
比放射能：		
放射化学的純度：		

### 標識位置設定理由

### 供試動物

Wister系ラット

各試験項目において用いた性別、週齢は次のとおりである。

試験項目	匹数	週齢等	P 標識体		D 標識体			
			低投与量群		低投与量群		高投与量群	
			雄	雌	雄	雌	雄	雌
血中濃度	雌雄各3	6週齢	○	○	○	○	○	○
尿・糞中排泄率	雌雄各3	6週齢	○	○	○	○	○	○
ARG	雌雄各2	6週齢	○	○	○	○	○	○
胆汁中排泄	雄3	7週齢	○		○			
乳汁移行性	雌3	分娩後第2週の授乳中雌及び乳児				○		
胎児移行性 (胎盤通過性)	雌2	妊娠第18日の雌				○		
代謝物の同定		6~7週齢						

ARG：全身オートラジオグラフィー

## 試験方法

### 投与：

投与溶液は、P 標識体又は D 標識体に非標識ベンゾフェナップを加え、蒸留水中に懸濁させて調製した。低投与量は 8.5 mg/kg 体重、高投与量は 50 mg/kg 体重とし、単回経口投与を行った。

### 用量設定根拠

低投与量 (8.5mg/kg 体重) はラット 90 日間反復経口投与試験の最小中毒量に相当し、高投与量はこの 7 倍量である 50 mg/kg 体重とした。

### 投与群及び試験項目：

実施した試験項目は次のとおりであった。

#### 血中濃度の測定

単回経口投与後 10 時点 (投与後 0.5 時間、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、8 時間、12 時間、24 時間、48 時間及び 72 時間) に採血 (10~100 $\mu$ L) した。血液試料 Ashless 濾紙片にしみ込ませてしみこませて乾燥させ、燃焼法により生成した放射能を液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。

#### 排泄率の測定

単回投与後にラットを代謝ケージに移し、投与後 0~6 時間、6~24 時間、24~48 時間及び 48~72 時間間隔で尿及び糞試料を別個に採取した。またケージ洗浄液は尿試料と合わせた。

また呼気中の炭酸ガスをエタノールアミン溶液に捕集した。

試料の放射能測定は、液体試料 (尿及びエタノールアミン捕集液) はジオキサン液体シンチレーターと混合し、固体試料 (糞試料) は均質化後に燃焼法によりそれぞれ LSC で行った。

#### 全身オートラジオグラフィ (ARG)

単回投与後 4 時点 (投与後 2 時間、8 時間、24 時間及び 72 時間) でエーテル麻酔により屠殺した。急速凍結切片を作成し、全身オートラジオグラムを測定した。

またオートラジオグラムの黒化度及び標準臓器/器官重量から、主要臓器への分布濃度及び分布率を算出した。

#### 胆汁中排泄

胆管カニューレを処置したラットに単回経口投与し、投与後 0~6 時間、6~24 時間及び 24~48 時間の間隔で胆汁を採取した。胆汁試料をジオキサン液体シンチレーターと混合し、LSC による放射能測定を行った。

#### 胎盤通過性 (胎児移行性)

妊娠 18 日目 (周産期) ラットに単回経口投与し、投与後 4 時点 (投与後 2 時間、8 時間、24 時間及び 72 時間) で全身オートラジオグラムの作成及び組織内濃度の測定を行った。

### 乳汁移行性

分娩後 18 日目の保育中ラットに単回経口投与し、投与後 4 時点（投与後 2 時間、8 時間、24 時間及び 72 時間）の乳児胃腔内の乳汁塊及び母動物の血液を採取し、放射能を測定した。また乳児の全身オートラジオグラムを作成した。

### 代謝物の単離・同定分析

#### (1) 試料採取

内訳	標識体	投与用量 (mg/kg)	動物数 (雄)	採取試料
TLC*検索	P 標識体	8.5 mg/kg	1	肝臓、腎臓、血漿、尿、 糞、胆汁
	D 標識体	8.5 mg/kg	1	肝臓、腎臓、血漿、尿、 糞、胆汁
抽出、精製検討	D 標識体	23 mg/kg	3	尿、糞
同定	重水素標識体	25 mg/kg**	4	尿
定量分析	未標識体	25 mg/kg	5	尿、糞
定量分析	未標識体	25 mg/kg	1	胆汁

\*：薄層クロマトグラフィー

\*\*：重水素標識体および未標識体の混合物を単回経口投与

#### (2) 試料の分析

各試料は凍結乾燥後、クロロホルム-メタノール (4:5, v/v) で抽出し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分画した。

尿試料についてはさらにジクロロメタンによる薄層クロマトグラフィー (TLC) で分画した。分画々分をアルカリ条件下、ジクロロメタンで洗浄し、次いで塩酸酸性下ジクロロメタンで抽出し、代謝物の画分を得た。

抱合体の単離は、試料の一部に蒸留水を加え、酢酸-酢酸アンモニウム緩衝液、酢酸で pH 調整後、β-グルクロニダーゼを加え 37℃ で 20 時間インキュベーションし加水分解後、上記と同様に抽出した。

試料抽出液を TLC で展開後、オートラジオグラム (ARG) を作成した。<sup>14</sup>C の分布率はプレートよりシリカゲルをかきとり LSC で放射能を測定するか、あるいは ARG の黒化度をデンストメーターで測定し、放射能比率を算出した。

代謝物の同定は、合成標品とのコクロマトグラフィー又は GC-MS 等により同定した。非標識ベンゾフェナップ投与ラットの糞尿および胆汁中代謝物は、高速液体クロマトグラフにより定量分析した。

## 試験結果

### 血中濃度

<sup>14</sup>C-ベンゾフェナップを低薬量投与した場合の血中放射能濃度は投与後速やかに上昇し、6-8 時間で最高血中濃度 (9~11ppm) を示した。その後約 11 時間の半減

期で消失し、72 時間後にはいずれも血中濃度は 0.3ppm 以下となった。性差および  $^{14}\text{C}$ -ラベル位置による差は認められなかった。

高薬量投与の場合、雌雄ラットでは吸収消失が若干遅れる傾向を示した。

しかしいずれの投与群においても、血中放射能濃度は概ね一相性の一次反応式に従って減少した(表1、図1)。

#### 尿・糞・呼気中排泄

経口投与したベンゾフェナップは、投与後 24 時間までに尿中に 32~33%、糞中に 51%、48 時間までに尿中に 38~39%、糞中に 53~54%が排泄された。ベンゾフェナップの対外への排泄に  $^{14}\text{C}$  標識化合物および性差は認められず、投与 2 日間で 92% 以上と排泄はほぼ定量的であった(表1、図2)。

高投与量群では低投与量群と比較して尿中排泄率が低く、一方、糞中排泄率が高く、若干排泄が遅れる傾向が見られたが、累積排泄率はほぼ同様であり、投与 2 日間で約 90%が排泄された。

呼気中への排泄は認められなかった。

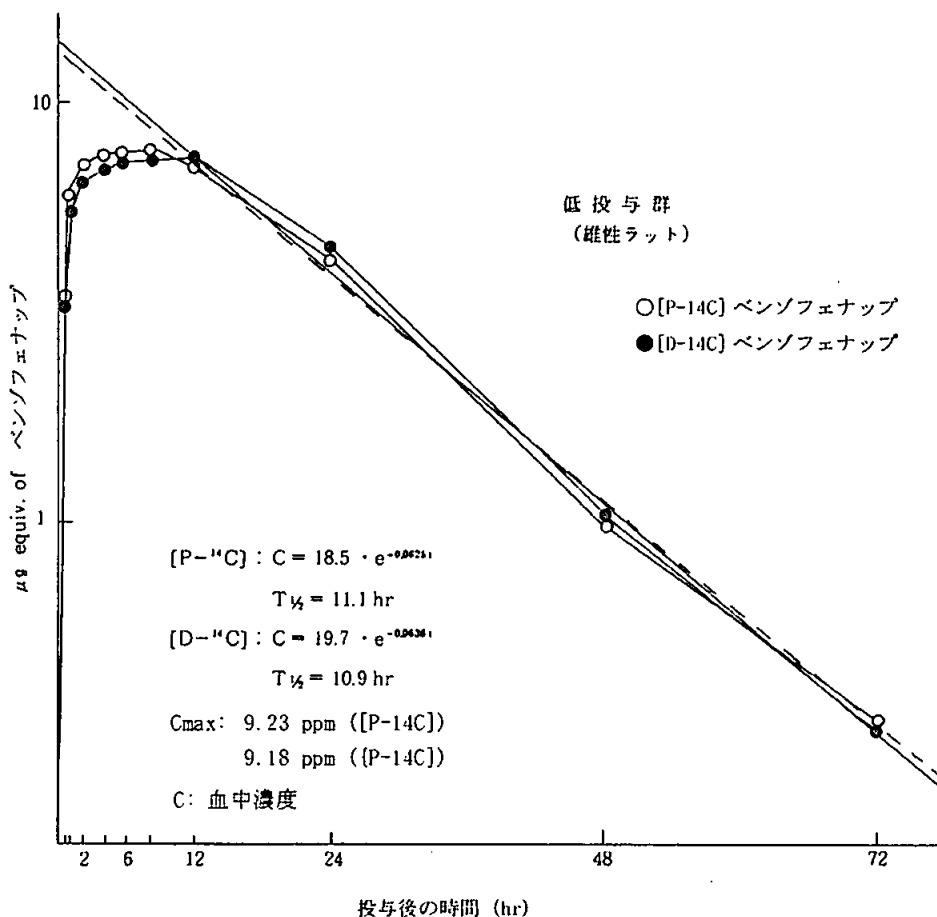


図1. ベンゾフェナップの血中放射能濃度

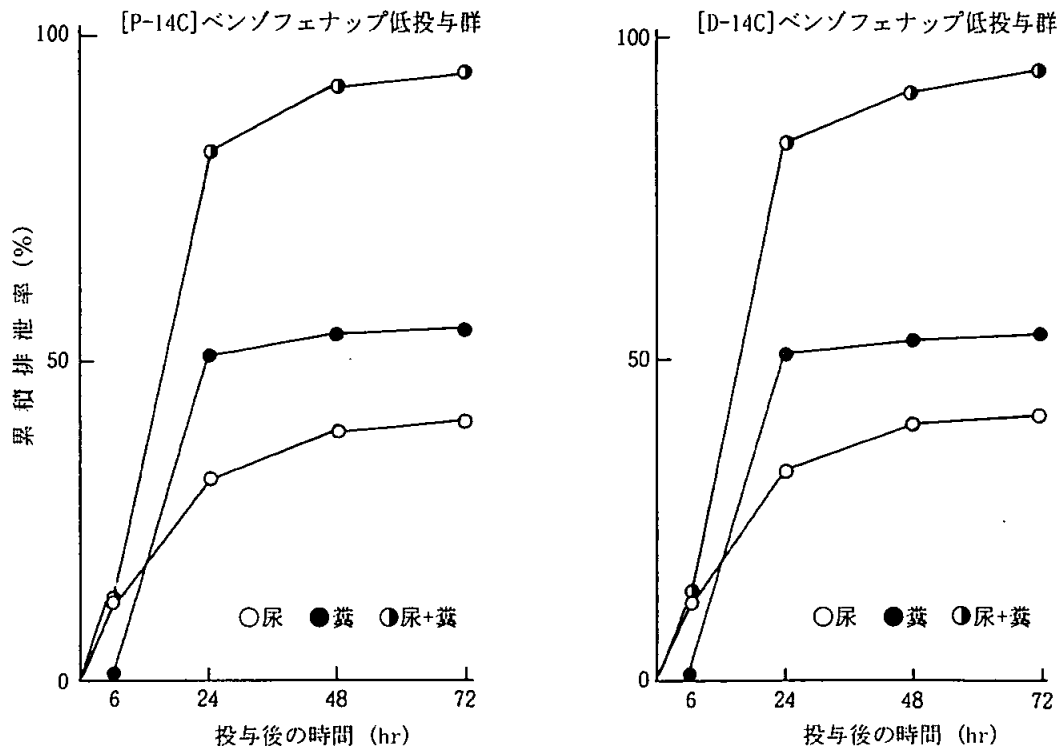


図2. ベンゾフェナップの尿糞中放射能累積排泄率 (雄性)

表1. 動物の吸収・排泄、体内分布の概要

投与量	組織検査	単位	[P- <sup>14</sup> C]ベンゾフェナップ				[D- <sup>14</sup> C]ベンゾフェナップ					
			0.5時間	2時間	6時間	72時間	0.5時間	2時間	6時間	72時間		
1回投与 8.5 mg/kg (100 μgCi/kg) (雄性ラット)	血液	濃度* μg/ml	3.68	8.60	9.23	0.22	3.53	7.63	8.76	0.21		
			胆汁		排泄率* (%)		0~6	6~24	24~48	48~72	0~6	6~24
	尿	12.1	19.5	6.9	1.8	12.3	20.3	6.7	2.0			
	糞	0.1	50.9	3.0	0.4	0.4	50.4	2.0	0.5			
	累積排泄率		12.1	82.6	92.5	94.7	12.8	83.5	92.2	94.7		
	肝 腎 心 肺 消化管 その他	分布率+ (%)	2時間	8時間	24時間	72時間	2時間	8時間	24時間	72時間		
			2.06	2.00	0.88	0.37	2.02	1.88	0.99	0.61		
			0.40	0.41	0.14	0.02	0.38	0.45	0.17	0.07		
			0.10	0.14	0.03	0.00	0.11	0.10	0.04	0.00		
			0.25	0.28	0.12	0.00	0.26	0.32	0.12	0.00		
88.00			72.21	8.43	0.45	81.1	68.90	4.13	0.62			
8.41	12.91	6.94	4.49	14.8	10.81	8.36	3.97					

(注) 血液濃度は親化合物換算濃度  
排泄率、分布率は投与量に対する割合

\* 数値は3匹の平均値

+ 数値は2匹の平均値

表1. 動物の吸収・排泄、体内分布の概要 (続き)

投与量	組織検査	単位	[D- <sup>14</sup> C]ベンゾフェナップ			
			0.5時間	2時間	6時間	72時間
1回投与 50 mg/kg (100 μgCi/kg) (雄性ラット)	血液	濃度* μg/ml	0.5時間	2時間	6時間	72時間
			6.80	23.78	37.04	1.08
	尿 糞	排泄率* (%)	0~6	6~24	24~48	48~72
			6.5	15.2	11.1	3.0
	累積排泄率		6.5	70.6	88.5	92.7
	肝 腎 心 肺 消化管 その他	分布率+ (%)	2時間	8時間	24時間	72時間
			0.84	1.57	0.72	0.23
			0.13	0.35	0.12	0.03
			0.02	0.09	0.03	0.00
			0.08	0.25	0.12	0.00
92.20			80.70	15.20	0.94	
4.70	9.82	10.80	1.97			

(注) 血液濃度は親化合物換算濃度  
排泄率、分布率は投与量に対する割合

\* 数値は3匹の平均値

+ 数値は2匹の平均値

#### 胆汁中排泄

胆汁中への排泄は時間とともに増加し、48時間までに投与量の35~40%が胆汁中に排泄された。

#### 全身オートラジオグラフィ

全身オートラジオグラムにより測定した組織内放射能濃度は、ベンゾフェナップ投与後消化管内容物の下降に伴い、胃、小腸、盲腸、大腸へと移動し、8時間に極大を示し、血中、肝(2%)、腎(0.4%)および肺(0.3%)に高い放射活性を示したが、血中濃度の低下とともに減少して低濃度となり、72時間には放射能の残留は殆ど認められなかった。すなわち、各組織における放射能濃度の減少傾向は血中濃度と平行し、血液依存型の分布を示した。組織内濃度より血中濃度が高いことから肝、腎が代謝物の体外排泄に伴う最終処理を担っていると考えられる。また、他の組織器官にも特異な貯留性は認められなかった(表1)。雌性ラット群および高投与群で若干消失が遅れる傾向を示した他は、<sup>14</sup>C-ラベル体間および投与量間に大きな差は認められなかった。

#### 胎盤通過(胎児移行)

妊娠18日目ラットを用いて検討した結果、母体の分布は雄性ラットと近似し、胎児移行性は低かった。胎児の組織内分布も母体と本質的な差は認められなかった。

#### 乳汁移行

授乳中ラットに投与した際、血中及び乳塊中濃度は8時間に極大に達し、それぞれ12、15時間の半減期で消失した。血中濃度と比較して、乳汁中濃度は最大濃度が1/4と著しく低く、移行性が低いことが判明した。

#### 代謝物の同定および定量

親化合物ベンゾフェナップ【A】の他、尿中代謝物として

【B】、

【C】、

【D】、

【E】が同定された。尿中の主要代謝物は【C】および【D】であり、【C】が代謝物の65%を、【D】が8%を占め、その他は微量であった。

糞中からは未変化の親化合物【A】の他、代謝物として【B】、【C】および【E】が同定された。【A】が大部分(80%)を占め、【B】は3%でその他の代謝物は微量であった(代-49頁、代謝分解の概要参照)。

胆汁中の代謝物も主として【A】および【B】であった。

#### 抱合体の有無の検討

ベンゾフェナップ【A】の経口投与後24時間までの尿をグルスラーゼを用いて加水分解し、アグリコンをHPLCで分析した結果、極く微量(0.1%未満)の【E】が得られたが、他の代謝物は認められなかった。胆汁においても同様に分析した結果、【E】および【B】が極く微量(0.1%未満)に検出された。これらの結果から、代謝物は尿および胆汁中に抱合体としてではなく、大部分は非抱合体として排泄されることが考えられた。

#### 代謝経路

次頁にラット体内におけるベンゾフェナップの推定代謝経路を示した。また「代謝分解経路図」(代-52頁)も参照されたい。

#### 試験結果のまとめ

ラットに経口投与されたベンゾフェナップ【A】は比較的速やかに吸収され、投与後6~8時間で最高血中濃度に達した後、約11時間の半減期で概ね一相性の一次速度式に従って血中より消失した。

体外への排泄は尿・糞を経路として投与後2日間でほぼ定量的に排泄された。

吸収されたベンゾフェナップのラット組織内の分布は、その大部分が血中濃度に依存し、最高血中濃度付近で最高濃度を示した。主要分布臓器は肝、腎、肺等であったが、いずれの濃度も血中濃度の低下とともに速やかに減少した。

以上のことから、ラットに経口投与されたベンゾフェナップは、その大部分が吸収され、加水分解および酸化反応を受けて尿中へ排泄されると考えられた。また、糞中へは胆汁を介し、あるいは一部は未吸収のまま主に未変化体として排泄され、組



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

織中への特異的な貯留性は無いと考えられた。さらに、胎盤通過性、乳汁への移行性は低いと考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

### ベンゾフェナップのラット体内における推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## ラットにおける代謝試験（その2-体内分布試験）

（資料 35-2）

試験機関：

報告書作成年：1988年

体内分布試験は先の試験（資料 35-1）で得られたオートラジオグラフの結果を補足するため実施されたものであり、 $^{14}\text{C}$ -ベンゾフェナップを経口投与後、器官および組織を摘出し $^{14}\text{C}$ 体内濃度と分布率を測定した。

なお、先の代謝試験ではWistar系ラットを用いたが、毒性試験にFischer系ラットを供試したのに合わせ体内分布試験ではFischer系ラットを用いた。このため体内分布試験を実施するにあたり、 $[\text{D-}^{14}\text{C}]$ ベンゾフェナップを低用量投与（8.5mg/kg）し血中濃度を比較した。

### 試験方法

供試標識化合物： $[\text{P-}^{14}\text{C}]$  ベンゾフェナップ：比放射能  
放射化学的純度  
 $[\text{D-}^{14}\text{C}]$  ベンゾフェナップ：比放射能  
放射化学的純度

供試動物：Fischer系雌雄ラット（6週令）

投与量及び方法：低投与量（8.5mg/kg）、高投与量（50 mg/kg）、単回経口投与  
本試験の実施項目と標識標品および投与量を要約すると次の通りである。

試験項目	使用個体 (数/群)	$[\text{P-}^{14}\text{C}]$ ベンゾフェナップ		$[\text{D-}^{14}\text{C}]$ ベンゾフェナップ			
		低投与量群		低投与量群		高投与量群	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
血中濃度	3			○			
体内分布	3	○	○	○	○	○	○

器官および組織：生殖器官を含め雄性ラットで23種、雌性ラットで21種の器官・組織を対象とした。摘出は検体投与後、所定時間にエーテル麻酔下で採血後、放血死させ、器官および組織を摘出した。

測定時点：投与後8時間（血中濃度最高時点）および168時間（ほぼ全量が排泄される時点）

放射能測定：各器官および組織は均質化後可溶化法により放射能を測定した。

## 試験結果

### 1. 血中濃度

雄性ラット群を用い血液中放射能濃度を測定した。第1図に示したように、経口投与後の血液中濃度は投与後2時間まで急速な濃度上昇が認められたが、その後の上昇はやや緩慢となり8時間で最高濃度を示した。その後は速やかに減少し、投与後12~712時間の値より求めた半減期は11.8時間であった。

これらの結果はWistar系雄性ラット群で得られた諸パラメーターとほぼ一致するものであり、両系統間に有意な差は認められなかった。

### 2. 体内濃度および分布

#### 低投与量群 (表1、2)

雄性ラットへ〔D-<sup>14</sup>C〕ベンゾフェナップを投与後8時間の体内<sup>14</sup>C濃度は消化管が最も高く次いで血液(血漿)肝・腎・肺・心臓・骨髄が高い値を示したが、消化管を除いていずれも血液より低濃度であった。

主要分布器官は消化管とその内容物(61%)及び、カーカス(15%)であり、これを除く器管で最も高い分布率を示したのは血液9%であり、次いで皮膚5%及び肝臓3%であった。他の器官は1%以下であった。

投与後168時間では<sup>14</sup>C濃度は全体的に著しく低下し、体内総残留量は投与量の1%以下となった。血漿より高い濃度を示したのは肝、腎であり、その他は血漿の約2分の1以下であった。分布率は肝0.5%、カーカス0.2%、その他0.1%以下であった。

これらの体内分布の傾向は雌性ラット群でも同様であり、性差は認められなかった。また、標識位置をかえた〔P-<sup>14</sup>C〕ベンゾフェナップ投与時の組織内濃度変化および体内残留量とともに、〔D-<sup>14</sup>C〕ベンゾフェナップ投与時とほぼ同等であり、標識位置による差は認められなかった。

#### 高投与量群 (表3)

雄性ラットへ〔D-<sup>14</sup>C〕ベンゾフェナップを投与後8時間の体内<sup>14</sup>C濃度は消化管が最も高く、次いで血液(血漿)、肝、腎、肺、骨髄等が高い値を示したが、消化管を除いていずれも血漿の2分の1以下であった。高投与群では消化管に残留する<sup>14</sup>Cが多く、投与量に比例した濃度上昇は認められなかった。

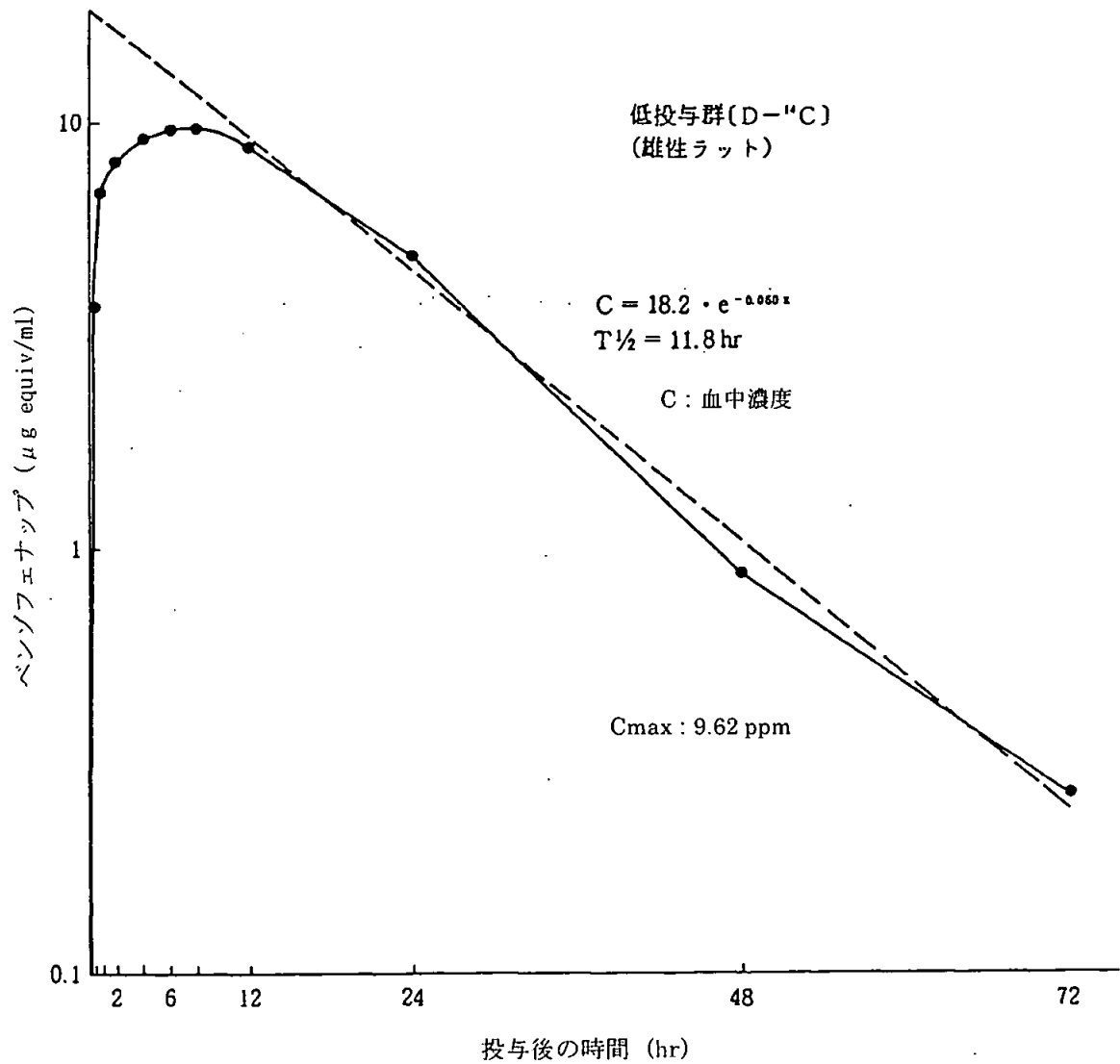
体内主要分布器官は消化管(77%)及び、カーカス(7%)であり、これを除く器官で最も高い分布率を示したのは血液5%であり、次いで皮膚2%、肝臓1%であった。他の器官は1%以下であった。

投与後168時間では<sup>14</sup>C濃度は全体的に著しく低下し、体内総残留量は投与量の1%となった。血漿より高い濃度を示した器官は肝、腎であり、その他は血漿の約2分の1であった。分布率は肝臓0.5%、カーカス0.15%、その他0.1%以下と極めて低くなった。

体内濃度および分布率の傾向は雌性ラット群においても同様であり、性差は認められなかった。

以上の結果、吸収されたベンゾフェナップの主要分布臓器は肝、腎、肺であったが、血中濃度の低下に伴っていずれも速やかに低下した。投与後168時間ではいずれの分布率も投与量の0.5%以下へ低下し、特異な貯留性は認められなかった。また、生殖器官についても特異的分布および貯留傾向は認められなかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。



第1図. 血中放射能濃度

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表1. [D-<sup>14</sup>C] ベンゾフェナップ・低投与量群の体内分布

(% of dose)

組 織	雄性ラット		雌性ラット	
	8 時間	168 時間	8 時間	168 時間
脳	0.08	0.00	0.08	0.00
顎 下 腺	0.05	0.00	0.05	0.00
甲 状 腺	0.00	0.00	0.00	0.00
胸 腺	0.03	0.00	0.06	0.00
心 臓	0.14	0.00	0.15	0.00
肺	0.56	0.00	0.62	0.00
肝 臓	3.16	0.49	3.12	0.52
腎 臓	0.60	0.07	0.70	0.08
副 腎	0.01	0.00	0.01	0.00
脾 臓	0.05	0.00	0.06	0.00
膵 臓	0.16	0.00	0.19	0.00
脂 肪				
骨 格 筋				
骨 髄				
精 巢	0.25	0.00		
精 巢 上 体	0.03	0.00		
前 立 腺	0.01	0.00		
貯 精 囊	0.01	0.00		
卵 巢			0.02	0.00
子 宮			0.04	0.00
消化管・内容物	61.20	0.09	60.04	0.06
皮 膚	4.91	0.04	4.25	0.05
カ ー カ ス	15.41	0.20	14.93	0.22
血 液	9.04	0.04	8.17	0.04
血 漿				
体内貯留計	95.70	0.93	92.49	0.97

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表2. [P-14C] ベンゾフェナップ・低投与量群の体内分布

(% of dose)

組 織	雄性ラット		雌性ラット	
	8 時間	168 時間	8 時間	168 時間
脳	0.09	0.00	0.09	0.00
顎 下 腺	0.04	0.00	0.05	0.00
甲 状 腺	0.00	0.00	0.00	0.00
胸 腺	0.03	0.00	0.05	0.00
心 臓	0.13	0.00	0.15	0.00
肺	0.56	0.00	0.62	0.00
肝 臓	3.27	0.54	3.02	0.51
腎 臓	0.56	0.08	0.65	0.08
副 腎	0.01	0.00	0.01	0.00
脾 臓	0.05	0.00	0.05	0.00
膵 臓	0.14	0.00	0.19	0.00
脂 肪				
骨 格 筋				
骨 髄				
精 巢	0.25	0.00		
精 巢 上 体	0.03	0.00		
前 立 腺	0.01	0.00		
貯 精 嚢	0.00	0.00		
卵 巢			0.01	0.00
子 宮			0.02	0.00
消化管・内容物	64.15	0.06	61.20	0.05
皮 膚	4.21	0.05	4.49	0.05
カ ー カ ス	13.72	0.22	15.24	0.21
血 液	8.53	0.04	8.93	0.04
血 漿				
体内貯留計	95.78	0.93	94.76	0.94

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表3. [D-<sup>14</sup>C] ベンゾフェナップ・高投与量群の体内分布

(%of dose)

組 織	雄性ラット		雌性ラット	
	8 時間	168 時間	8 時間	168 時間
脳	0.04	0.00	0.05	0.00
顎 下 腺	0.02	0.00	0.03	0.00
甲 状 腺	0.00	0.00	0.00	0.00
胸 腺	0.01	0.00	0.03	0.00
心 臓	0.07	0.00	0.08	0.00
肺	0.20	0.00	0.27	0.00
肝 臓	1.27	0.46	1.29	0.38
腎 臓	0.26	0.03	0.28	0.04
副 腎	0.00	0.00	0.01	0.00
脾 臓	0.02	0.00	0.03	0.00
膵 臓	0.07	0.00	0.08	0.00
脂 肪				
骨 格 筋				
骨 髄				
精 巢	0.09	0.00		
精 巢 上 体	0.02	0.00		
前 立 腺	0.00	0.00		
貯 精 嚢	0.00	0.00		
卵 巢			0.01	0.00
子 宮			0.02	0.00
消化管・内容物	77.48	0.05	78.34	0.04
皮 膚	2.01	0.04	2.24	0.03
カ ー カ ス	6.79	0.15	7.79	0.14
血 液	5.20	0.02	5.53	0.02
血 漿				
体内貯留計	93.55	0.75	96.08	0.65



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## 2. 植物代謝

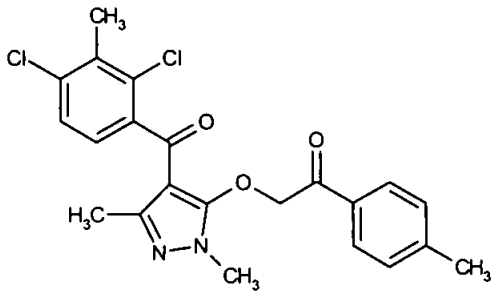
稲における代謝試験

(資料 No.36)

試験機関：東京農工大学

報告書作成年：1985年

供試標識化合物：

標識化合物：	(P 標識体)
構造式：	
化学名：	2-[4-(2,4-dichloro-m-toluoyl)-1,3-dimethyl-pyrazo-15-yloxy]-4'-methylacetophenone
比放射能：	
放射化学的純度：	

供試植物：稲 幼植物 (2~3 葉期) (*Oryza sativa L. Nihonbare*)

試験方法：

本試験は「水耕液試験」及び「土壌混和試験」で構成されている。

処理方法

水耕液試験：

P 標識体を含む水耕液 (ベンゾフェナップ濃度：1.0ppm) に稲苗 (3 葉期) の根部をファイトロン内で最長 8 日間にわたって浸漬した。

浸漬期間中、植物体を経時的 (処理開始後第 1 日、2 日、4 日及び 8 日) に採取した。

土壌混和試験：

P 標識体を 400ppm 含むアセトン溶液 1.0mL を土壌 (土壌乾土 100g 相当) 表面に処理し、十分に混和した (土壌中濃度：4.0ppm)。処理土壌を水 40mL で加湿し、稲苗 (2 葉期) を移植した。1~2cm の湛水深とし、ファイトト

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ロン内で稲を生育させた。植物体の採取は土壌処理後 5、10、15、22 及び 29 日に行った。

#### 代謝物の抽出・同定及び定量（水耕液試験及び土壌混和試験）

##### 抽出

稲試料の根部を水洗後に茎葉部と根部に分割し、80%アセトンによる摩砕抽出を行った。得られたアセトン抽出物のアセトンを留去後にジクロロメタン抽出を行い、有機相画分と水相画分に分画した。各画分の放射能を、液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定し、摩砕抽出後の植物体残渣は燃焼させ、吸収剤に吸収した放射性二酸化炭素を LSC で測定した。

##### 同定及び定量

溶媒留去後の有機相画分をメタノールに溶解し、薄層クロマトグラフィー（TLC）により各代謝物を分離した。水相画分はカラムクロマトグラフィー（アンバーライト XAD-4）に供し、80%エタノールで溶出した画分（極性代謝物）を TLC で分離した。

各代謝物の同定/特徴付けは、標準品との TLC コクロマトグラフィーにより行った。極性代謝物の TLC コクロマトグラフィーによる同定/特徴付けは、ジアゾメタンと反応させたメチル化誘導体について行った。

代謝物の定量は水耕液試験の試料について行い、かき取った TLC プレート上の放射活性スポットを LSC で測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## 抽出操作フローチャート

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

**試験結果：**

**吸収及び移行性（表1）**

水耕液試験では浸漬期間に応じて植物体に吸収される放射能が増加し、8日間浸漬により処理放射能の8.4%が植物体に吸収された。各採取時点とも吸収放射能の大部分は根部に認められ、吸収放射能の茎葉部への分布率は約7~14%であった。

土壌混和試験での植物体吸収放射能は1%以下と極めて少なかったが、経時的に増加した。水耕液試験と同じく、植物体内の吸収放射能の分布は主として根部に認められたが、茎葉部への移行は経時的に減少した。

土壌混和処理後の初期において、茎葉部の吸収放射能の分布率が高かった。この理由として、湛水条件下であったため根部の他、茎基部からも吸収されたと考えられた。

表1：植物体の吸収放射能

試験	採取時点(*) (日)	植物体の吸収放射能 (処理放射能に対する%)	吸収放射能の分布率 (%)		
			茎葉部	根部	合計
水耕液試験	1	1.5	10.1	89.9	100.0
	2	2.9	7.2	92.8	100.0
	4	7.0	10.1	89.9	100.0
	8	8.4	14.3	85.7	100.0
土壌混和 試験	5	0.03	36	64	100
	10	0.11	23	77	100
	15	0.22	17	83	100
	22	0.42	13	87	100
	29	0.66	7	93	100

(\*) 水耕液試験：浸漬開始後日数、土壌混和試験：処理後日数

**放射能の抽出性（表2）**

水耕液試験では、経時的な吸収放射能の増加（表1）とともに有機相画分、水相画分及び非抽出性残渣として回収された放射能が増加した。同試験の根部では、有機相画分、水相画分及び非抽出性残渣として回収される放射能比率は浸漬期間を通じてそれぞれ約42%、26%及び32%であり、変動は認められなかった。一方、茎葉部において有機相画分として回収された放射能が28.9%（浸漬開始後第1日）から12.4%（同第8日）へと減少し、これに対して水相画分として回収された放射能が61.3%（浸漬開始後第1日）から76.3%（同第8日）へと増加した。根部と比較して、茎葉部で活発な代謝反応が起こっていると示唆された。

土壌混和試験では、吸収放射能が少なかったため（表1）、各画分の放射能は少なかった。水耕液試験と比較して水相画分として回収された放射能が少なく、これに対して非抽出性残渣として回収された放射能が多かった。

表2：抽出放射能

試験	採取時点 (*) (日)	植物 部位	含水アセトン抽出画分				非抽出性残渣		合計	
			有機相画分		水相画分		ppm	%	ppm	%
			ppm	%	ppm	%				
水耕液 試験	1	茎葉部	0.315	28.9	0.668	61.3	0.107	9.8	1.09	100.0
		根部	7.76	42.9	5.39	27.5	4.99	29.6	18.1	100.0
	2	茎葉部	0.319	22.0	1.00	69.6	0.131	8.4	1.45	100.0
		根部	13.3	40.1	7.80	23.5	12.3	36.4	33.4	100.0
	4	茎葉部	0.729	19.0	2.73	71.3	0.381	9.7	3.84	100.0
		根部	32.5	43.9	19.1	25.8	22.6	30.3	74.2	100.0
8	茎葉部	0.678	12.4	4.17	76.3	0.622	11.3	5.47	100.0	
	根部	36.5	39.3	26.5	28.5	30.1	32.2	93.1	100.0	
土壌 混和 試験	5	茎葉部	0.10	36	0.09	31	0.09	33	0.28	100
		根部	0.31	52	0.09	16	0.19	32	0.58	100
	10	茎葉部	0.09	33	0.13	47	0.05	20	0.27	100
		根部	0.43	47	0.13	13	0.36	40	0.91	100
	15	茎葉部	0.06	38	0.04	29	0.05	33	0.15	100
		根部	0.69	50	0.18	13	0.51	37	1.38	100
	22	茎葉部	0.08	32	0.09	33	0.09	35	0.26	100
		根部	0.91	55	0.17	10	0.58	35	1.66	100
28	茎葉部	0.05	26	0.08	47	0.05	27	0.18	100	
	根部	1.44	62	0.10	8	0.69	30	2.33	100	

(\*) 水耕液試験：浸漬開始後日数、土壌混和試験：処理後日数。 %：回収放射能に対する百分率

代謝物の同定／特徴付け／生成量（表3）

標準品との TLC コクロマトグラフィーにより、親化合物ベンゾフェナップ【A】の他に代謝物として【E】、【F】及び TLC 原点に止まる極性物質が認められた。

極性物質は、根部及び茎葉部から回収された放射能に対して 10%以上認められた。TLC 原点近傍の放射能を更に TLC で分離した結果、根部で 5 種類、茎葉部で 3 種類のスポットが認められた。また根部では、【B】が認められた。

水相画分中の放射能は、その 20%が塩又は complex として存在し、8%が抱合体として存在していると考えられた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表3：代謝物の生成量 (表中の数値は植物部位から回収された放射能に対する%)

	根部				茎葉部			
	浸漬開始後日数				浸漬開始後日数			
	1	2	4	8	1	2	4	8
極性代謝物 (TLC 原点)	10.8	11.8	13.2	14.4	15.4	13.6	11.1	7.5
【代謝物 F】	2.7	1.0	1.4	2.1	2.7	1.1	1.8	1.6
【代謝物 E】	2.2	2.1	3.6	3.4	2.7	2.1	2.7	1.2
ベンゾフェナップ 【代謝物 A】	25.1	22.9	22.8	18.0	5.8	3.4	1.9	0.7
その他未知代謝物 (#)	2.1	2.2	2.8	2.7	2.4	1.7	1.5	0.9

(#) 根部では複数の成分で構成され、その最高生成量は 0.9%であった。

#### 代謝経路

次頁に、ベンゾフェナップの稲における推定代謝経路を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ベンゾフェナップの稲における推定代謝経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

### 3. 土壤中動態試験

好氣的湛水土壤中動態試験及び好氣的土壤中動態試験

(資料 No.38)

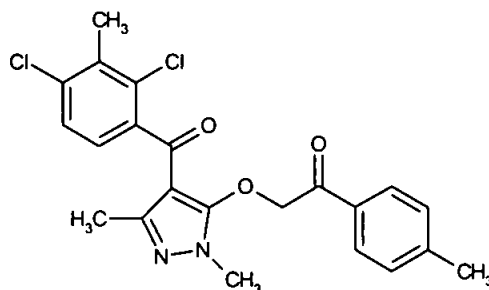
試験機関： 東京農工大学

報告書作成年： 1985年

供試標識化合物：

標識ベンゾフェナップ

化学名： 2-[4-(2,4-ジクロロ-*m*-トルオイル)-1,3-ジメチルピラゾール-5-イルオキシ]-4'-メチルアセトフェノン (IUPAC)



放射化学的純度： ， 比放射能：

供試土壤： 次の2種類の土壤を用いた。礫や植物体を除き、2mmメッシュの篩を通した生土を供試した。

供試土壤	土性	pH (H <sub>2</sub> O)	総炭素 含有量 (%)	カチオン 交換容量 (me/100g)	粘土含有量 (%)	最大 容水量
栃木土壤	水田土壤 火山灰壇壤土	6.2	9.20	32.0	16~19	34
愛知土壤	水田土壤 鈣質壇土	6.1	0.76	15.8	38.2	53

試験方法：

本試験は「湛水条件試験」、「畑地条件試験」及び「<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>発生試験」で構成されている。

処理量及び前培養： 湛水条件試験、畑地条件試験及び<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>発生試験の処理量は、乾土当たりの濃度として次のとおりであった。

	湛水条件試験	畑地条件試験	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub> 発生試験
処理量 (乾土当たり濃度)	5.4 ppm (1.41 × 10 <sup>5</sup> dpm/g 乾土)		4.9 ppm (1.272 × 10 <sup>5</sup> dpm/g 乾土)

土壤の前培養は、水分含量を最大保水量の45~50%に調整し、30℃の暗条件で2週間にわたって行った。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

・ 湛水条件試験：

供試土壌 30g (乾土相当量) を入れた 100mL 容三角フラスコに水を加え、湛水深を 2cm とした。P 標識体のアセトン溶液 0.1mL を添加し、混和処理した。水分の蒸発損失分を補充しながら、30℃ 暗条件下で最長 365 日間にわたって培養した。

・ 畑地条件試験：

100mL 容三角フラスコ内の供試土壌 30g (乾土相当量) に P 標識体のアセトン溶液 0.1mL を加え、土壌混和処理した。水分の蒸発損失分を補充しながら、30℃ 暗条件下で最長 365 日間にわたって培養した。

・  $^{14}\text{CO}_2$  発生試験：

側管付き 200mL 容三角フラスコ内の供試土壌 50 g (乾土相当量) に P 標識体のアセトン溶液 0.15mL を加え、混和処理した。側管に捕集液として 0.1N 水酸化カリウム (KOH) 溶液 10mL を入れて密栓し、30℃ の暗条件で最長 200 日間にわたって培養した。培養期間中、3~5 日ごとに 0.1N KOH 捕集液を交換した。

試料の採取 (湛水条件試験及び畑地条件試験)：

両試験とも、処理後 5 日、10 日、20 日、30 日、40 日、60 日、90 日、180 日、270 日及び 365 日 (計 10 時点) に土壌試料 (各採取時点で 2 フラスコ) を採取した。

土壌中放射能の抽出及び分画 (湛水条件試験及び畑地条件試験)：

湛水条件試験のフラスコにはアセトン 150mL、畑地条件試験のフラスコにはアセトン 150mL 及び水 40mL を加え、2 時間にわたって振とう抽出 (含水アセトン抽出) を行った。得られた含水アセトン抽出画分を、アセトン留去後にジクロロメタンで抽出し、有機相画分と水相画分に分画した。なお含水アセトン抽出画分には、親化合物ベンゾフェナップ及びその分解物が含まれる。

含水アセトン抽出後の土壌残渣には、アセトンによる洗浄後に 10% リン酸含有アセトニトリル (80%) 水溶液による 2 時間の振とう抽出次いで遠心分離を行った。アセトニトリル抽出画分を減圧濃縮し、ジクロロメタン分配により有機相と水相に分画した。

土壌中放射能の抽出及び分画に関するフローチャートを図 1 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

土壤残渣放射能の特徴付け分析（湛水条件試験及び畑地条件試験）：

含水アセトン抽出後の愛知土壤の土壤残渣について、0.2N 水酸化ナトリウム溶液による抽出を行い、腐植酸（フミン酸）画分、フルボ酸画分及びヒューミン（フミン）画分への特徴付け分析を行った。

代謝・分解物の同定及び定量（湛水条件試験および畑地条件試験）：

含水アセトン抽出後の有機相画分を薄層クロマトグラフィー（TLC、シリカゲル 60 F254、20×20cm、層厚 0.25mm）に供し、画分中の放射性成分を分離した。また土壤残留物のリン酸／アセトニトリル抽出後の有機相画分も、同様に TLC で放射性成分を分離した。

同定/特徴付けは、TLC プレートのオートラジオグラムを作成し、合成標準品との TLC コクロマトグラフィーにより行った。TLC 原点に止まる極性分解物はジアゾメタンでメチル化し、TLC コクロマトグラフィーを行った。

定量は、TLC の放射活性スポットをかき取り、液体シンチレーション法で行った。

$^{14}\text{CO}_2$  発生試験における  $^{14}\text{CO}_2$  確認は、0.1N KOH 捕集液を硫酸酸性とした場合に放射能が消失することで確認した。

放射能の測定：

液体試料は測定用バイアルに採取し、液体シンチレーションカクテルを加え、液体シンチレーション計測 (LSC) で測定した。固体試料は燃焼させ、生成する  $^{14}\text{CO}_2$  を吸収剤に捕集し LSC で測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

図1：湛水条件試験および畑地条件試験における抽出手順

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

**試験結果：**

放射能分布（湛水条件試験及び畑地条件試験）：

湛水条件試験及び畑地条件試験における抽出放射能の推移を、表 1（湛水条件試験）及び表 2（畑地条件試験）に示す。

処理後 5 日におけるアセトン抽出物とリン酸/アセトニル抽出物の放射能の合計は処理量の 95～100%であり、本実験における抽出および測定方法によって、効率的に放射能を抽出、検出できていた。

**湛水条件試験（表 1）**

栃木土壌では、アセトン抽出物として回収された放射能は処理後 180 日まで漸減した。アセトン抽出放射能は、処理後 180 日では処理放射能に対して約 30%となった後に漸増し、処理後 365 日では処理放射能に対して約 50%となった。愛知土壌では、アセトン抽出物として回収された放射能は培養期間（処理後経過日数）を通じて漸減し、処理後 365 日では処理放射能に対して 35%となった。栃木及び愛知両土壌とも、アセトン抽出放射能の大部分が有機相として分画された。

アセトン抽出放射能の減少に伴い、リン酸/アセトニル抽出物として回収された放射能が経時的に増加した。

リン酸/アセトニル抽出放射能は、処理後 365 日の栃木土壌及び愛知土壌においてそれぞれ処理放射能の 28%及び 30%となった。

処理後 365 日のアセトン抽出物とリン酸/アセトニル抽出物の放射能の合計は、栃木土壌及び愛知土壌においてそれぞれ処理量の 78%及び 65%であった。消失分は代謝分解による  $^{14}\text{CO}_2$  放出による系外への消失、bound residue としての残留によるものと考えられた。

表 1：湛水条件試験における抽出放射能の推移（表中の数値は処理放射能に対する%）

供試土壌	抽出物	処理後経過日数（日）									
		5	10	20	30	40	60	90	180	270	365
栃木土壌	アセトン抽出物(計)	83	92	71	74	74	69	72	32	38	50
	（有機相画分）	(80.3)	(85.5)	(67.9)	(73.3)	(70.2)	(69.6)	(73.5)	(32.9)	(36.9)	(50.9)
	（水相画分）	(0.25)	(0.02)	(-)	(0.03)	(0.05)	(0.06)	(0.46)	(0.14)	(0.12)	(0.26)
	リン酸/アセトニル抽出物	20	14	19	14	18	20	19	48	38	28
	抽出物の合計	103	106	90	88	92	89	91	80	76	78
愛知土壌	アセトン抽出物(計)	91	85	82	77	76	75	71	52	40	35
	（有機相画分）	(91.8)	(82.1)	(81.9)	(76.9)	(71.5)	(73.7)	(66.6)	(52.6)	(39.8)	(34.0)
	（水相画分）	(0.28)	(0.44)	(-)	(0.16)	(0.22)	(0.25)	(1.04)	(0.28)	(0.49)	(0.81)
	リン酸/アセトニル抽出物	9	12	15	17	19	19	17	30	31	30
	抽出物の合計	99	97	97	94	95	94	88	82	71	65

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

畑地条件試験（表2）

栃木土壌及び愛知土壌とも、湛水条件試験と同様の結果が認められた。

アセトン抽出物放射能は、愛知土壌では経時的に漸減し、栃木土壌では処理後180日まで漸減した以降は漸増した。アセトン抽出物として回収された放射能は、栃木及び愛知両土壌とも主として有機相として分画された。

リン酸/アセトニトリル抽出放射能は、培養期間（処理後経過日数）とともに増加した。

処理後365日のアセトン抽出物とリン酸/アセトニル抽出物の放射能の合計は、栃木土壌及び愛知土壌においてそれぞれ処理量の73%及び89%であった。

表2：畑地条件試験における抽出放射能の推移（表中の数値は処理放射能に対する%）

供試土壌	抽出物	処理後経過日数（日）									
		5	10	20	30	40	60	90	180	270	365
栃木土壌	アセトン抽出物(計)	78	86	73	78	71	69	74	28	34	47
	（有機相画分）	(75.9)	(78.3)	(71.4)	(75.6)	(69.7)	(68.1)	(73.5)	(29.2)	(34.3)	(46.2)
	（水相画分）	(0.14)	(0.55)	(-)	(0.03)	(0.05)	(0.04)	(-)	(0.12)	(0.10)	(0.18)
	リン酸/アセトニトリル抽出物	17	10	18	16	18	18	17	46	41	26
	抽出物の合計	95	96	91	94	89	87	91	74	75	73
愛知土壌	アセトン抽出物(計)	95	106	93	93	99	93	79	57	58	47
	（有機相画分）	(93.8)	(105)	(90.8)	(94.7)	(97.6)	(89.8)	(78.6)	(58.4)	(56.1)	(46.2)
	（水相画分）	(0.07)	(0.03)	(-)	(0.12)	(0.14)	(0.24)	(0.31)	(0.32)	(0.40)	(0.88)
	リン酸/アセトニトリル抽出物	4	4	6	8	10	14	24	23	32	42
	抽出物の合計	99	110	99	101	109	107	103	80	90	89

分解物の同定/特徴付け（湛水条件試験及び畑地条件試験）：

含水アセトン抽出後の有機相画分を TLC-オートラジオグラムで分離した結果、6~8種類の放射活性スポットが認められた。主要な成分として、未変化の親化合物ベンゾフェナップ【A】と【E】が認められた。また微量分解物として、【F】が推定された。TLC 原点の分解物は、

【B】、

【C】及び

【D】が存在していると

推定された。

土壌残留物のリン酸/アセトニトリル抽出後の有機相画分を TLC-オートラジオグラムにより分析した結果、5種類の放射活性スポット（帯）が認められ、主要分解物は

【B】であると認められた。またこの中には少量の親化合物

ベンゾフェナップ【A】、

【E】が含まれていた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

分解物の経時的推移（湛水条件試験及び畑地条件試験）：

含水アセトン抽出後の有機相画分における親化合物ベンゾフェナップ及び分解物の推移を、表3（湛水条件試験）及び表4（畑地条件試験）に示す。

湛水条件試験（表3）

栃木及び愛知両土壌とも、主要放射性成分は親化合物ベンゾフェナップ【A】と【E】であった。両土壌とも、経時的な親化合物ベンゾフェナップの減少に伴って【E】が増加する傾向が認められ、愛知土壌で顕著であった。また、培養期間（処理後経過日数）の後半においてベンゾフェナップの増加が認められた。微量な他の代謝物からの再生産ではその増加が説明できないことから、【E】の可逆的酸化による親化合物【A】の再生成が示唆された。

湛水条件試験における土壌中半減期は、栃木土壌及び愛知土壌でそれぞれおおよそ2週間及び1週間と推定された。

表3：湛水条件試験における放射性成分の推移（表中の数値は処理放射能に対する％）

土壌	分解物	処理後経過日数（日）									
		5	10	20	30	40	60	90	180	270	365
栃木土壌	代謝・分解物 B、C 及び D を含む極性放射性成分	0.7	1.3	1.3	1.0	0.9	1.2	1.4	0.6	0.8	1.5
	代謝・分解物 F	—	—	—	—	—	—	—	0.2	0.5	0.4
	代謝・分解物 E	16.4	26.2	25.1	27.5	28.3	29.0	31.8	16.1	16.5	22.1
	ベンゾフェナップ	65.9	64.5	44.5	45.5	44.7	38.8	38.8	14.5	19.4	24.8
	未知分解物	—	—	—	—	—	—	—	0.4	0.2	0.9
愛知土壌	代謝・分解物 B、C 及び D を含む極性放射性成分	1.1	1.4	1.8	1.9	1.9	2.6	2.8	2.7	2.7	3.3
	代謝・分解物 F	0.4	0.4	0.7	0.5	0.4	0.5	0.9	0.3	0.6	0.4
	代謝・分解物 E	37.9	58.9	69.8	63.4	60.9	46.6	46.6	24.2	13.6	8.1
	ベンゾフェナップ	51.1	22.9	8.8	9.4	10.7	19.5	19.5	23.7	22.2	21.8
	未知分解物	0.5	1.3	0.8	1.6	2.1	1.4	1.3	0.6	0.3	0.5

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

畑地条件試験（表4）

栃木及び愛知両土壤とも、湛水条件試験と同様に親化合物ベンゾフェナップ【A】と【E】が主要分解物であった。親化合物【A】及び分解物【E】の推移も、【A】の消失が比較的遅かったことを除き湛水条件試験と同様であった。

畑地条件試験における推定半減期は、栃木土壤及び愛知土壤でそれぞれ約20日及び150日と推定された。

表4：畑地条件試験における放射性成分の推移（表中の数値は処理放射能に対する%）

土 壤	分解物	処理後経過日数（日）									
		5	10	20	30	40	60	90	180	270	365
栃 木 土 壤	代謝・分解物 B、C 及び D を含 む極性放射性成分	1.3	1.5	1.4	1.9	2.1	2.3	3.7	1.0	1.4	2.3
	代謝・分解物 F	—	—	—	—	—	—	—	0.2	0.3	0.6
	代謝・分解物 E	22.3	22.6	21.4	22.5	20.8	21.0	21.6	8.5	9.6	12.4
	ベンゾフェナップ	54.4	53.9	50.2	53.6	48.1	45.7	48.7	18.3	22.1	31.2
	未知分解物	—	—	—	—	—	—	—	0.4	0.2	0.9
愛 知 土 壤	代謝・分解物 B、C 及び D を含 む極性放射性成分	1.1	1.9	2.7	4.6	4.5	5.3	4.9	4.8	5.4	6.1
	代謝・分解物 F	—	—	—	—	—	—	0.3	0.3	0.4	0.4
	代謝・分解物 E	13.3	20.9	19.1	17.4	17.6	15.1	12.9	7.5	6.8	5.2
	ベンゾフェナップ	81.7	77.6	71.2	71.9	76.8	72.6	68.1	44.1	44.8	34.3
	未知分解物	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6

—：検出されず

リン酸／アセトニトリル抽出後の有機相画分を TLC で分離した結果、5 種類のスポット（放射能活性帯）が認められた。主要な分解物は【B】と認められ、また少量の親化合物ベンゾフェナップ【A】及び【E】が含まれていた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

土壌残渣放射能の特徴付け分析（湛水条件試験及び畑地条件試験）：

土壌残渣放射能の大部分は、腐植酸画分及びフルボ酸画分に分布していた。

$^{14}\text{CO}_2$  発生試験結果：

$^{14}\text{CO}_2$  の生成量は培養期間を通じて経時的に増加し、処理後 200 日までの積算は栃木及び愛知両土壌では処理放射能に対してそれぞれ 10% 及び 4% 以上となった。

代謝分解の要約及び推定分解経路

ベンゾフェナップ【A】の土壌中における分解は、畑地条件下よりも湛水条件下で速やかに進行した。

次頁に、ベンゾフェナップの土壌中分解経路（推定）図を示す。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

ベンゾフェナップの土壌中分解経路（推定）

#### 4. 水中動態試験

##### (1) 加水分解動態試験

(資料 No.39)

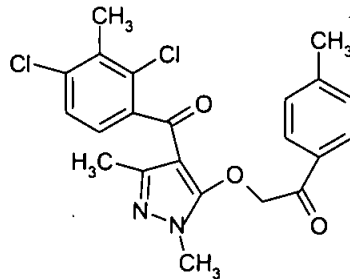
試験機関：Bayer CropScience (米国)

報告書作成年：2006年 [GLP]

供試標識化合物：

標識ベンゾフェナップ

化学名：2-[4-(2,4-ジクロロ-*m*-トルオイル)-1,3-ジメチルピラゾール  
-5-イルオキシ]-4'-メチルアセトフェノン (IUPAC)



放射化学的純度：                      、比放射能：

供試水：0.01M ホウ酸緩衝液 (pH 9)

調製方法：約 0.31g のホウ酸に 500mL の水を加え、0.1M 水酸化ナトリウムを加えて pH を 9 とした。

申請者注：ベンゾフェナップの加水分解性試験 (OECD ガイドライン No.111、予備試験) において、pH 4 及び 7 での加水分解性は認められなかった (pH 4 及び 7 における半減期：1 年以上)。

従って加水分解性が認められた pH 9 緩衝液のみで加水分解動態試験を行った。

試験濃度：ベンゾフェナップ 0.044 mg/L (共存溶媒としてアセトニトリル < 1.0% を含む)

試験温度：25±0.2℃ (平均 25.1℃)

##### 試験方法：

試験系：供試水を密封可能な 20mL 容琥珀色血清用バイアル (試験容器) に充填し、オートクレーブで 60 分間の滅菌を行った。冷却後、ベンゾフェナップの試験水中濃度が試験濃度となるようにベンゾフェナップ処理溶液を処理し、試験容器を密封した。なお、揮発性物質捕集装置は取り付けなかった。

試料採取：試験開始直後 (第 0 日)、開始後第 1 日、3 日、7 日、14 日、21 日及び 30 日に試料 (2 連) を採取し、供試水中の放射性成分の同定及び定量を行った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

放射能測定／分析方法／放射性成分の同定/特徴付け：

試験水中の放射能測定は、液体シンチレーションカウンターで直接測定した。試験水中の放射性成分は、ラジオ高速液体クロマトグラフィー（ラジオ HPLC）により定量した。

放射性成分の同定／特徴付けは、認証済み標準物質との HPLC コクロマトグラフィー又は保持時間の比較により行い、質量スペクトルの比較によって同一性を確認した。

滅菌性の確認：試験開始直後（第 0 日）、試験開始後第 14 日及び第 30 日に試験水を好氣的計測プレートに処理し、微生物増殖の有無を確認した。微生物増殖は認められず、試験期間を通じて滅菌が維持されていた。

試験結果：

物質収支：表 1 に物質収支を示す。試験水中の放射能（2 反復の平均）は、何れの試料採取時点でも処理放射能に対して 99.7%～111.7%の範囲にあった。

表 1：物質収支

試験水中放射能	反復	試料採取日（試験開始後日数）						
		0	1	3	7	14	21	30
物質収支 (処理放射能 に対する%)	1	98.5	103.3	101.2	100.4	104.4	108.8	113.2
	2	101.5	101.6	98.3	106.7	105.4	110.2	110.2
	平均	100.0	102.4	99.7	103.6	104.9	109.5	111.7

試験期間を通じた平均：104.5%

放射性成分の同定及び定量：放射性成分として、親化合物ベンゾフェナップ【A】の他、【B】が同定された。

表 2 に試験水中の放射性成分の経時的推移を示す。

親化合物ベンゾフェナップ【A】は、処理放射能に対して開始直後（第 0 日）の 100.0%から試験終了時点（第 30 日）の 25.9%へと減少した。

【A】の減少に伴い、主分解物として【B】の生成が認められた。【B】は経時的に増加し、処理放射能に対して最大値 81.8%が試験終了時点で認められた。

2 種類の微量分解物が認められたが、その生成量は何れも処理放射能に対して 3.0%以下であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

表2：放射性成分の経時的推移（単位：処理放射能に対する％）

放射性成分	試料採取日（試験開始後日数）（n=2の平均値）						
	0	1	3	7	14	21	30
ベンゾフェナップ 【A】	100.0	98.3	89.3	74.3	54.1	39.0	25.9
【B】	0.0	4.1	10.4	29.3	48.0	68.9	81.8
未知物質1	0.0	0.0	0.0	0.0	2.8	1.6	2.0
未知物質2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.9
計	100.0	102.4	99.7	103.6	104.9	109.5	111.7

pH 9におけるベンゾフェナップの加水分解キネティクス：

表3に、一次速度式に基づくpH 9におけるベンゾフェナップの加水分解キネティクスを示す。

表3：ベンゾフェナップのキネティクス

pH	一次速度式			DT <sub>50</sub> (days)	DT <sub>90</sub> (days)
	半減期 (days)	$c(t) = c_0 \cdot e^{-kt}$	R <sup>2</sup>		
9	15.7	$c(t) = c_0 \times e^{-0.044t}$	0.09957	15.74	52.29

pH 9におけるベンゾフェナップの加水分解経路：

以下にpH 9におけるベンゾフェナップの加水分解経路を示す。

次頁に加水分解経路図を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

### ベンゾフェナップの加水分解経路 (pH 9)

(2) 水中光分解動態試験

(資料 No. 40)

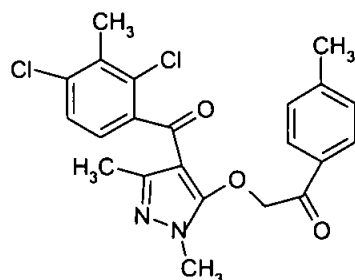
試験機関：Bayer CropScience (米国)

報告書作成年：2006年 [GLP]

供試標識化合物：

標識ベンゾフェナップ

化学名：2-[4-(2,4-ジクロロ-m-トルオイル)-1,3-ジメチルピラゾール  
-5-イルオキシ]-4'-メチルアセトフェノン (IUPAC)



放射化学的純度：、比放射能：

供試水：滅菌蒸留水及び滅菌自然水

試験濃度：ベンゾフェナップ 0.05µg/mL (共存溶媒としてアセトニトリル<0.1%を含む)

自然水は、2006年8月15日に米国カンザス州 Stilwell の池から採取した。

試験温度：25±1℃

照射装置 (光源) 及び光強度

照射装置：Suntest 装置 (キセノンランプ)

光強度：

測定波長 [nm]	光強度 [W/m <sup>2</sup> ]
300~800	380

試験方法：

試験系：滅菌蒸留水及び滅菌自然水を用いた本試験系は、光照射区と非照射区から構成された。なお光照射区及び非照射区とも、揮発性物質捕集装置を取り付けなかった。

・ 光照射区

試験容器：密封可能な石英製容器 (20mL 容)

試験水量：20mL

光照射：Suntest 装置から、290nm 以下の波長を除去した光を最長 8 日間 (192 時間) にわたって連続照射した。試験に用いた Suntest 装置における 8 日間の照射は、春期 (4~6 月) 太陽光 (東京、北緯 35 度) の 30.2 日間に相当する。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

・ 非照射区

試験容器：琥珀色容器、

試験水量：20mL

保 管：暗環境チャンバ内で最長8日間にわたって保管した。

試料採取：次に示す間隔で、光照射区及び非照射区からそれぞれ2連の試験水（滅菌蒸留水及び滅菌自然水）を採取した。

採取時点 (照射開始後 の経過時間)	試験系			
	滅菌蒸留水		滅菌自然水	
	照射試料	暗対照試料	照射試料	暗対照試料
0 hr (開始直後)	○	○	○	○
1 hr	○	/	○	/
2 hr	○		○	
4 hr	○		○	
6 hr	○		○	
24 hr	○		○	
144 hr	○		○	
192 hr	○	○	○	○

○：採取

採取試料の分析：採取試料中の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。また試料を UV 検出器 (254nm) 及び放射能検出器による高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分析した。

放射性成分の同定/特徴付け：採取試料中の放射成分の同定/特徴付けは、認証済み標準物質との HPLC コクロマトグラフィー及び又は液体クロマトグラフィー・質量分析により行った。

滅菌性の確認：照射開始直後 (第0時間)、照射開始後24時間及び8日の採取試料の一部を好氣的計測プレートに処理し、微生物増殖の有無で滅菌性の確認を行った。微生物増殖は認められず、試験期間を通じて滅菌が維持されていた。

試験結果：

物質収支：表1に各試験系における物質収支を示す。何れの試験系においても、物質収支は100%前後であり、良好であった。

表1：各試験系における物質収支

(処理放射能に対する%, n=2の平均値)

	滅菌蒸留水		滅菌自然水	
	照射試料	暗対照試料	照射試料	暗対照試料
物質収支	105.0 (93.0~110.5)	97.0 (95.1~98.9)	104.9 (92.4~110.5)	100.3 (95.4~105.2)

表中の数値は試験期間を通じた平均値であり、括弧 ( ) 内の数値は各採取時点の物質収支の範囲を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

放射性成分の同定/特徴付け及び定量：放射性成分として、親化合物ベンゾフェナップ【A】の他、【B】及び【G】が同定された。

滅菌蒸留水及び滅菌自然水中の放射性成分の経時的推移をそれぞれ表2及び表3に示す。

滅菌蒸留水（表2）：

照射試料において、親化合物ベンゾフェナップ【A】は処理放射能に対して照射開始後第0時間の93.0%から第6時間の12.9%へと減少し、照射終了時（第192時間）には0%となった。主要光分解物として【B】及び【G】が認められた。処理放射能に対して【B】は照射開始後第24時間に最大値100.7%となり、2【G】は照射開始後第144時間に最大値11.3%となった。2種類の微量分解物が認められたが、何れも処理放射能に対して1.8%以下であった。

暗対照試料においてベンゾフェナップの分解は認められなかった。

表2：滅菌蒸留水中における放射能分布（処理放射能に対する%、n=2の平均値）

放射性成分		試料採取時点（照射開始後経過時間）(hr)							
		0	1	2	4	6	24	144	192
ベンゾフェナップ【A】	照射試料	93.0	69.0	52.4	28.4	12.9	0.0	0.0	0.0
	暗対照試料	98.9	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	95.1
【B】	照射試料	n.d.	28.8	48.2	71.7	88.7	100.7	99.0	98.0
	暗対照試料	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
【G】	照射試料	n.d.	1.0	3.1	4.7	6.0	7.8	11.3	10.7
	暗対照試料	0.0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n.d.
未知物質1	照射試料	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.1	1.3	n.d.	n.d.
	暗対照試料	0.0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n.d.
未知物質2	照射試料	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.8
	暗対照試料	0.0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n.d.
合計	照射試料	93.0	98.8	103.8	104.9	108.7	109.7	110.4	110.5
	暗対照試料	98.9	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	95.1

n.d.：検出限界以下、n/a：分析を行わず。

滅菌自然水（表3）：

照射試料において、親化合物ベンゾフェナップ【A】は処理放射能に対して照射開始後第0時間の92.4%から第6時間の14.0%へと減少し、照射終了時（第192時間）には0%となった。

主要光分解物として【B】が認められ、照射開始後第24時間に処理放射能に対して最大値103.9%となった。また

【G】も認められ、照射終了時に処理放射能に対して最大値9.5%となった。



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

1種類の微量分解物が認められたが、処理放射能に対して最大で1.4%が生成したのみであった。

暗対照試料では極微量の親化合物の分解が認められ、第192時間に【B】が処理放射能に対して3.2%生成した。

表3：滅菌自然水中における放射能分布（処理放射能に対する%、n=2の平均値）

放射性成分		試料採取時点（照射開始後経過時間）(hr)							
		0	1	2	4	6	24	144	192
ベンゾフェナップ 【A】	照射試料	92.4	73.8	48.0	24.9	14.0	0.0	0.0	0.0
	暗対照試料	105.2	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	92.2
【B】	照射試料	n.d.	30.0	51.1	77.6	87.6	103.9	100.4	98.3
	暗対照試料	0.0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	3.2
【G】	照射試料	n.d.	n.d.	2.8	3.4	4.0	5.3	9.2	9.5
	暗対照試料	0.0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0.0
未知物質1	照射試料	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1.4	1.3	n.d.	n.d.
	暗対照試料	0.0	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	0.0
合計	照射試料	92.4	103.8	102.0	105.9	106.9	110.5	109.6	107.8
	暗対照試料	105.2	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	95.4

n.d. : 検出限界以下、n/a : 分析を行わず。

分解速度：表4に、一次速度式に基づくベンゾフェナップの水中光分解キネティクス及び北緯35度（4～6月の春期太陽光下）における半減期を示す。

表4 水中光分解キネティクス

試験系	北緯35度、春期太陽光下の半減期 (days)	一次速度式				
		半減期 (hrs)	回帰式 $c(t) = c_0 * e^{-kt}$	R <sup>2</sup>	DT <sub>50</sub> (hrs)	DT <sub>90</sub> (hrs)
自然水	0.3	2.0	$c(t) = 100 \times e^{-0.3427t}$	0.9916	2.0	6.7
蒸留水	0.3	2.0	$c(t) = 100 \times e^{-0.3305t}$	0.9949	2.1	7.0

光分解経路：ベンゾフェナップの推定水中光分解経路を次頁に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

推定水中光分解経路

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## 5. 土壌吸着試験

(資料 No.12)

試験機関：化学品検査協会

報告書作成年：1989年

供試化合物：ベンゾフェナップ

化学名：2-[4-(2,4-ジクロロ-m-トルオイル)-1,3-ジメチルピラゾール-5-イルオキシ]-4'-メチルアセトフェノン

検出限界を算出し、土壌吸着平衡定数の測定が可能か検討した。

検出限界の算出；

$$\text{検出限界} = \frac{\text{最小検出量(ng)}}{\text{注入量}(\mu)} \times \frac{\text{最終定容(mL)}}{\text{試料の採取料(mL)}} = 0.5/50 \times 1/10 = 0.001\text{ppm}$$

\* 最小検出量は 0.5ng とした。

検討結果；

本試験は、土壌吸着による水溶液の濃度低下等を考慮すると対水溶解度の 1/500 まで分析を行えることが必要であると考えられた。

しかし、ベンゾフェナップの水溶解度は 0.13mg/l であり、算出したベンゾフェナップの検出限界は対水溶解度の 1/130 となることから、土壌吸着係数の測定は不可能であると思われる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## 6. 生物濃縮性に関する試験

### 魚類濃縮性試験

(資料 No. 41)

試験機関：Korea Institute of Toxicology

[GLP 対応]

報告書作成年：2008年

被験物質：ベンゾフェナップ原体 (純度 %)

供試生物：ヒメダカ (*Oryzias Latipes*)

一群各 80 匹 (対照群および高濃度群については脂質含量測定用として別に 10 匹/群)  
体長 (平均±標準偏差) 低濃度群：3.020±0.220cm、高濃度群：3.042±0.144cm  
体重 (平均±標準偏差) 低濃度群：0.226±0.044g、高濃度群：0.224±0.033g

方法：暴露条件；流水式 (流量 200ml/分)

試験期間；取込期間 28 日間

設定濃度；高濃度 10.6 μg/L、低濃度 5.3 μg/L および溶媒対照

試験液の調製；検体を DMSO に溶解し所定濃度のストック溶液 (高濃度区 106mg/L、低濃度区 53mg/L、溶媒対照区溶媒のみ) を調製した。各ストック溶液を 20 μl/分、希釈水を 200ml/分の流量 (混合比 1:10000) で混合水槽に注入、混合後、各試験水槽に注入した。各区の DMSO の最終濃度は 0.1ml/L であった。

環境条件；

	対照区	低濃度区	高濃度区
水温 (°C)	22.8±0.5	22.7±0.4	22.7±0.5
溶存酸素濃度 (mg/l)	7.5±0.4	7.5±0.4	7.4±0.5
pH	7.4±0.5	7.4±0.4	7.4±0.3
総硬度 (mg/l) *	47.2、48.3	—	47.5、48.1

表の数値は平均±SD

\*：試験開始日と試験最終日の試料から分析した。

水中濃度測定；取込期間中 1、3、5、7、10、12、14、21、24 および 28 日目に水槽の中層から 100ml ずつ 3 反復の水試料を採取し、被験物質濃度を測定した。

魚体中濃度測定；取込期間中 1、3、5、7、10、12、14、21、24 および 28 日目に各水槽から 8 匹ずつ採取し、2 匹ずつまとめて魚体中の検体濃度を測定した。

脂質含量；溶媒対照群については試験 0 および 27 日目、高濃度水槽については 15 および 27 日目にそれぞれ 5 匹ずつ魚を採取し、脂質含量を測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

結 果：

(1) 魚体中の総残留量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

試験区 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	取込期間 (日)									
	1	3	5	7	10	12	14	21	24	28
5.3	22.01 $\pm 13.35$	33.15 $\pm 29.99$	NA	19.45 $\pm 5.27$	15.32 $\pm 3.48$	14.62 $\pm 1.22$	16.61 $\pm 0.89$	20.83 $\pm 9.38$	23.87 $\pm 11.67$	22.92 $\pm 6.85$
10.6	12.40	25.35 $\pm 15.24$	27.17 $\pm 21.40$	40.92 $\pm 49.19$	52.38 $\pm 35.79$	37.92 $\pm 13.57$	40.81 $\pm 10.90$	33.61 $\pm 17.99$	89.85 $\pm 42.69$	37.75 $\pm 8.53$

NA: 定量限界以下

低濃度区においては5日目を除く1日目以降、高濃度区については24日目を除く7日目以降、定常状態に達したと考えられた。定常状態における平均魚体中濃度は低濃度区では  $20.57 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、高濃度区では  $40.56 \mu\text{g}/\text{kg}$  であった。

(2) 水中の総残留量 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )

試験区 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	取込期間 (日)									
	1	3	5	7	10	12	14	21	24	28
5.3	4.54 $\pm 0.20$	4.89 $\pm 0.19$	5.17 $\pm 0.23$	4.92 $\pm 0.19$	4.72 $\pm 0.10$	4.87 $\pm 0.11$	5.07 $\pm 0.10$	5.24 $\pm 0.21$	5.55 $\pm 0.28$	5.09 $\pm 0.03$
10.6	10.15 $\pm 0.51$	10.04 $\pm 0.06$	10.82 $\pm 0.18$	10.94 $\pm 0.31$	10.40 $\pm 0.13$	10.51 $\pm 0.45$	10.75 $\pm 0.37$	10.84 $\pm 0.24$	11.59 $\pm 0.14$	10.48 $\pm 0.04$

水中の平均被験物質濃度は低濃度では  $5.01 \pm 0.29$ 、高濃度では  $10.65 \pm 0.49 \mu\text{g}/\text{L}$  であり一定に推移した。定常状態における平均水中濃度は低濃度では  $4.99 \mu\text{g}/\text{L}$ 、高濃度では  $10.65 \mu\text{g}/\text{L}$  であった。

(3) 濃縮係数

①各サンプリング時点における濃縮係数\*

試験区 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	各サンプリング時点における濃縮係数									
	1日	3日	5日	7日	10日	12日	14日	21日	24日	28日
5.3	4.85	6.78	-	3.95	3.25	3.00	3.28	3.98	4.30	4.50
10.6	1.22	2.53	2.51	3.74	5.04	3.61	3.80	3.10	7.75	3.60

\*: 各サンプリング時点の魚体中濃度および水中濃度より算出 (申請者実施)

-: 定量限界未満

②定常状態における濃縮係数

試験区 ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	$C_f$ ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	$C_w$ ( $\mu\text{g}/\text{L}$ )	$BCF_{ss}$
5.3	20.57	4.99	4.1
10.6	40.56	10.65	3.8

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

定常状態（低濃度区 5 日目を除く全試験期間、高濃度区 24 日目を除く 7～28 日の試験期間）における平均魚体中濃度および平均水中濃度より算出。

(4) 観察

試験期間を通じて何れの濃度区とも魚の死亡および異常は認められなかった。

(5) 脂質含量

対照群（0、27 日目）および高濃度区(15、27 日目)から採取した魚体中の平均脂質含量は 7.8～8.4%であった。

## 代謝分解のまとめ

### 動物代謝

ラットに経口投与されたベンゾフェナップ【A】は比較的速やかに吸収され、投与後6~8時間で最高血中濃度に達した後、約11時間の半減期で概ね一相性の一次速度式に従って血中より消失した。吸収されたベンゾフェナップのラット組織内の分布は血中濃度に依存し、最高血中濃度付近で最高濃度を示した。主要分布臓器は肝、腎、肺等であったが、いずれの濃度も血中濃度の低下とともに速やかに減少した。投与後168時間ではいずれの分布率も投与量の0.5%以下へ低下し、特異な貯留性は認められなかった。また、生殖器官についても特異的分布および貯留傾向は認められなかった。

吸収された【A】は代謝の初発反応として

【B】を生成し、さらに

【C】および【D】

となって尿中へ排泄された。また、未変化の【A】は主として胆汁を経由して糞中に排泄された。体外への排泄は尿・糞を経路として投与後2日間でほぼ定量的に排泄された。尿中の主要代謝物は【C】および【D】であり、【C】が代謝物の65%を、【D】が8%を占め、その他は微量であった。糞中からは未変化の親化合物【A】の他、代謝物として【B】、【C】および【E】が同定された。【A】が大部分(80%)を占め、【B】は3%でその他の代謝物は微量であった。胆汁中の代謝物も主として【A】および【B】であった。

妊娠18日目ラットを用いて検討した結果、母体の分布は雄性ラットと近似し、胎児移行性は低かった。胎児の組織内分布も母体と本質的な差は認められなかった。

授乳中ラットに投与した際、血中及び乳塊中濃度は8時間に極大に達し、それぞれ12、15時間の半減期で消失した。血中濃度と比較して、乳汁中濃度は最大濃度が1/4と著しく低く、移行性が低いことが判明した。

以上の結果から、ラットに経口投与されたベンゾフェナップは、その大部分が吸収され、一部は未吸収のまま尿・糞中へ排泄され、組織中への特異的な貯留性は無く、また胎盤通過性、乳汁への移行性は低いと結論することができる。

(資料 No. 35-1, 35-2)

### 植物代謝

植物代謝試験は稲幼植物体を用い、<sup>14</sup>C 標識ベンゾフェナップを水耕液処理した「水耕液試験」及び土壌処理した「土壌混和試験」が行われた。

水耕液試験では8日間浸漬により処理放射能の8.4%が植物体に吸収された。各採取時点とも吸収放射能の大部分は根部において認められ、吸収放射能の茎葉部への分布率は約7~14%であった。一方、土壌混和試験での植物体吸収放射能は1%以下と極めて少なかったものの、水耕液試験と同じく、植物体内の吸収放射能の分布は主として根部に認められた。

水耕液試験では、根部において有機相画分、水相画分及び非抽出性残渣として回収される

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

放射能比率は浸漬期間を通じてそれぞれ約 42%、26%及び 32%であり、変動は認められなかった。一方、茎葉部においては有機相画分として回収された放射能が 28.9% (浸漬開始後第 1 日) から 12.4% (同第 8 日) へと減少し、これに対して水相画分として回収された放射能が 61.3% (浸漬開始後第 1 日) から 76.3% (同第 8 日) へと増加し、根部と比較して、茎葉部では活発な代謝反応が起こっていることが示唆された。土壌混和試験では、水耕液試験と比較して、水相画分として回収された放射能が少なく、非抽出性残渣として回収された放射能が多かった。

有機相画分の放射能からは、親化合物ベンゾフェナップ【A】、代謝物として

【E】、

【F】及び極性物質が認められた。極性物質の

量は、根部及び茎葉部から回収された放射能に対して 10%以上であった。この極性物質は根部で 5 種類、茎葉部では 3 種類の成分として分離され、根部ではその 1 成分として、

【B】が同定された。一方、水相画分中の放射能は、その 20%が塩又は complex として存在し、8%が抱合体として存在しているものと推定された。

水耕液試験、処理 8 日後の茎葉部から同定された放射能の定量値は吸収放射能 (100%) に対する割合で親化合物ベンゾフェナップ【A】 0.1%、【E】 0.2%、【F】 0.2%であった。一方、処理 8 日後の根部から同定された放射能の定量値は吸収放射能 (100%) に対する割合で親化合物ベンゾフェナップ【A】 15.0%、【B】 5.7%、【E】 2.8%、【F】 1.7%であった。

稲幼植物体に吸収されたベンゾフェナップ【A】は、

【B】となり、更に代謝を受けた高極性

水溶性代謝物を経て、最終的に非抽出性残渣に至るものと推定された。また

【E】が生成、

【F】が生成される代謝経路が推定された。

以上の結果から、処理されたベンゾフェナップの稲への吸収は速やかではなく、吸収されても処理部位である根にその多くがとどまり、主代謝物としては

【B】と

【E】が生成したが、求頂的な移行は極めて少ないことが

示唆された。

(資料 No. 36)

### 土壌中動態

ベンゾフェナップの土壌中動態試験は、好氣的湛水条件及び好氣的条件下 (畑地条件) で実施された。なお、いずれも暗黒条件下での試験である。

好氣的湛水条件下の土壌中動態試験において、土壌中に存在するベンゾフェナップ【A】は速やかに分解された。好氣的湛水土壌におけるベンゾフェナップの半減期は供試 2 土壌のそれぞれで約 7 日及び約 12 日と推定された。土壌におけるベンゾフェナップの主分解物として

【E】が認められ、2 試験土壌のそれぞれで処理放射能の 31.8% (90 日後) 及び 69.8% (20 日後) が検出された。また微量分解物として、

【F】、

【B】、

【C】及び



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

【D】が存在していると推定されたが、その生成量はそれらの合計でも最大で約3%であった。一方、好氣的条件下の土壤中動態試験でのベンゾフェナップの半減期は供試2土壤のそれぞれで約20日及び約150日であった。好氣的湛水条件と同様に、主分解物として【E】が認められた。

以上のようにベンゾフェナップ【A】の土壤中における分解は、畑地条件下よりも湛水条件下で速やかに進行し、ベンゾフェナップ【A】の土壤中での分解は、

【E】が生成される経路と、

【B】が生成される経路が主であった。

【B】は、

最終的には二酸化炭素まで分解されると考えられた。

(資料 No. 38)

### 水中動態

加水分解性試験の結果、ベンゾフェナップの加水分解性はpH9緩衝液中においてのみ認められ、推定半減期は15.7日であった。単一生成物として【B】が検出された。

(資料 No. 39)

蒸留水及び自然水を用いた水中光分解動態試験においてベンゾフェナップ【A】は光分解を受け、両試験水において主分解物として【B】が、さらに【G】が検出された。ベンゾフェナップ【A】の北緯35度(東京)及び春期(4~6月)太陽光条件下の半減期は、両試験水ともに0.3日(7.2時間)と算出された。

(資料 No. 40)

### 土壤吸着性

ベンゾフェナップの土壤吸着試験実施に先立ち、土壤吸着平衡定数の測定が可能か否かを検討した。その結果、土壤吸着による水溶液の濃度低下等を考慮すると、対水溶解度の1/500まで分析を行うことが必要であると考えられた。しかし、ベンゾフェナップの水溶解度は0.13mg/lであり、算出したベンゾフェナップの検出限界(<0.001ppm)は対水溶解度の1/130となることから、土壤吸着係数の測定は不可能であると結論された。

(資料 No. 12)

### 生物濃縮性

試験濃度5.3μg/Lおよび10.6μg/L、流水式で28日間ヒメダカに暴露した。ベンゾフェナップの魚体中濃度は速やかに定常状態に達し、BCFssは低濃度区で4.1、高濃度区で3.8と算出され、処理濃度による差が無く、またその値は極めて低いことから魚体における濃縮性は低いと結論された。

(資料 No. 41)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## ベンゾフェナップの動植物等における代謝分解経路図

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

## 代謝分解の概要

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任はOATアグリオ株式会社にある。

〔附〕 ベンゾフェナップの開発年表