

6) 動物代謝補足試験

(資料 No.M-18)

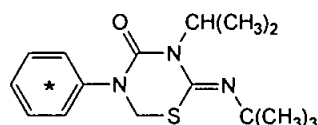
試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

2008 年

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロポフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

(Z)-2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロポフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

方法

実験 I: *in vitro* 代謝

ラット肝臓ミクロソーム;

本試験には、下記の Sprague-Dawley ラット肝臓ミクロソーム(日本チャールス・リバー株)を使用した。

供給元動物		ロット番号	P450 含量 (nmol/mg 蛋白)	蛋白含量 (mg/mL)
動物	性			
Sprague-	雄	CMO	0.479	23
Dawley ラット	雌	TAA	0.282	22

in vitro 代謝反応

0.2 nmol P450 相当のラット肝臓ミクロソームを含むリン酸緩衝液(0.1M、pH 7.4)0.89 mL と ¹⁴C-プロポフェジンのアセトニトリル(0.2 mmol/mL)溶液 10 μL を混合した。37°C で 5 分間プレインキュベーション後、β-NADPH 溶液(10 mM)0.1 mL を添加して反応を開始した。反応開始 10、20 および 30 分後、反応混合液に氷冷アセトンおよびメタノール混合液(1/1、v/v)1 mL を添加し、反応を終了した。緩衝液対照(ミクロソームを含まない)および β-NADPH 対照(β-NADPH を含まない)実験も実施した。すべてのプロットは 2 連で実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

反応後の抽出

抽出物の代謝物分析

実験 II : *in vivo* 代謝

供試動物;

Sprague-Dawley 系ラット雄(7 週齢)、開始時体重 212.5~237.7 g

投与;

1 群 4 匹のラットにオリーブ油に懸濁した ^{14}C -プロフェジン を 100 mg (2 MBq)/kg の用量で単回強制経口投与した。

【動物の選択、投与経路および用量の設定根拠】

サンプリング

投与後 3、6 および 72 時間に動物を屠殺し、心臓、肝臓、腎臓、消化管および血液を採取した。遠心分離により血漿を得るとともに、消化管内容物を得るため採取した消化管(胃および腸)を切開し、蒸留水ですすいだ。また、投与後 72 時間屠殺動物については、投与後 24 時間毎に尿および糞を採取した。

代謝物分析: 糞および組織/臓器

結果

実験 I: *in vitro* 代謝:

分析結果を下表に示す。プロフェジンは雌雄ラット肝臓マイクロソームにより、主要代謝物の (B) に急速に代謝され、10 分間のインキュベーションで適用放射能の 28.22% を超えた。 (B) の次に多いのは (P) で、雄および雌のマイクロソームとの 10 分間のインキュベーションで、それぞれ適用放射能の 10.99 および 1.89% を占めた。 (P) に加えて、少ないが定量可能な量の (O) (F) および (F) も雄および雌のマイクロソームの代謝物として同定された。インキュベーション時間 (20 および 30 分) でも、上述の代謝物 (B)、 (P)、 (J)、 (F) および (O) の量がほぼ一定の比率を示し、一方、プロフェジンが時間依存的に減少し、TLC の原点に保持されているより高極性の代謝物を含むいくつかの他の未同定代謝物が時間依存的に増加した。

代謝物	記号	代謝物(投与放射能に対する百分率(%)) ^a							
		雄ラット肝マイクロソーム				雌ラット肝マイクロソーム			
		対照 ^b	10分	20分	30分	対照 ^b	10分	20分	30分
プロフェジン	A	97.77	39.22	23.97	8.29	95.02	53.86	32.84	18.97
	B	N.D.	28.22	32.32	25.31	N.D.	31.64	41.68	40.58
	P	N.D.	10.99	12.56	12.89	N.D.	1.89	2.05	2.55
	J	N.D.	0.04	0.16	0.16	N.D.	0.07	0.05	0.10
	F	N.D.	0.04	0.11	0.11	N.D.	0.11	0.06	0.08
	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	O	N.D.	0.17	0.17	0.08	N.D.	0.04	0.03	0.03
	Q	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
その他 ^c	D	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		2.01	8.05	7.93	14.89	3.46	3.26	3.03	3.12
原点		0.11	10.59	17.08	27.50	1.33	8.02	18.25	30.61
抽出後残渣		0.10	2.69	5.69	10.76	0.20	1.10	2.01	3.96

a ; 2 連の平均

b ; 対照試験系は β -NADPH を含まない反応系で構成された (30 分インキュベーション)

c ; 原点を除くその他の微量代謝物の合計

N.D.: 検出せず (LOD 未満)

これらの結果は、 (B)、 (P) (J)、 (F) および (O) 等の一次代謝産物が容易にさらなる代謝物に変換し得ることを示唆し、 (P) が分子内転位により不安定な中間体に自然に変化したことを示唆した (想定代謝経路参照)。

また、肝臓マイクロソームを用いた *in vitro* 代謝系は、P450 を介した水酸化活性を主に示すので、 (O) の前駆物質は、チアジアジンの 6 位メチレン基が水酸化された代謝物であることを示した。

実験 I: *in vivo* 代謝:

放射能の排泄および臓器/組織分布

[Phenyl-(U)-¹⁴C] buprofezin を単回経口投与後の臓器内における放射能分布および放射能の排泄プロファイルを下表に示す。

投与 3 および 6 時間後に肝臓および腎臓で非常に高濃度の放射能が検出されたが、投与 72 時間後には約 1/10 に急速に減少した。投与後の時間に関わらず、血漿では、肝臓および他の臓器と比較して非常に低濃度の放射能を示した。

時間	放射能濃度 (μg eq./g)				
	血漿	肝臓	腎臓	心臓	消化管内容物
3	4.55 ± 2.13	52.12 ± 20.22	12.96 ± 6.18	6.08 ± 3.08	694.38 ± 66.35
	(—)	(1.55 ± 0.52)	(0.09 ± 0.04)	(0.02 ± 0.01)	(62.34 ± 8.50)
6	6.91 ± 3.98	53.36 ± 32.94	16.28 ± 11.86	8.68 ± 9.41	601.78 ± 201.66
	(—)	(1.65 ± 0.88)	(0.10 ± 0.07)	(0.03 ± 0.04)	(66.09 ± 17.78)
72	1.13 ± 0.41	6.17 ± 0.94	1.17 ± 0.51	0.43 ± 0.27	0.51 ± 0.14
	(—)	(0.28 ± 0.06)	(0.01 ± <0.01)	(<0.01 ± <0.01)	(0.06 ± 0.02)

投与放射能の大部分は投与後 24 時間以内に主に糞中に排泄された。

時間	累積排泄率 (投与放射量に対する割合%)		
	尿	糞	合計
0-24	9.84 ± 3.04	56.01 ± 4.24	65.85 ± 6.40
-48	10.92 ± 3.33	76.29 ± 5.36	87.21 ± 3.50
-72	11.18 ± 3.39	80.65 ± 2.83	91.83 ± 1.66

組織/臓器および消化管内容物の代謝物

肝臓、腎臓、心臓および消化管内容物の代謝物プロファイルを次頁に示す。投与 72 時間後に採取した肝臓、腎臓および消化管内容物試料およびいずれの採取時間の血漿試料も、放射能濃度が低値のためそれ以上分析しなかった。

尿および糞中に以前同定された代謝物に加え (P)、 (J)、

(F) および (O) が肝臓中に同定され、肝臓中放射能のそれ

ぞれ 7.97、0.11、0.27 および 0.09% を占めた。これら代謝物の内、肝臓中総放射能の

7.97% を占めた (P) は主要代謝物の一つと考えられた。21.76% の放射

能が TLC の原点に保持され、これはブプロフェジンの大部分が投与後のごく初期、すな

わち 3 時間後においてすでに高極性化合物に代謝されたことを示唆した。高極性の原点

放射能が更に高くなった (31.53%) 事を除き、投与 6 時間後の肝臓でほぼ同等の代謝物プ

ロファイルが観察された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

消化管内容物では、未吸収画分から未変化プロフェジンの大部分が得られたことを除き、同様の代謝物プロファイルが得られた。他の臓器、腎臓および心臓では、同様の代謝物プロファイルを示したが、肝臓で検出されたいくつかの代謝物は絶対放射能が低値であったため検出されなかった。

代謝物	記号	代謝物(総残留放射能に対する割合、%TRR) ^a							
		肝臓		腎臓		心臓		消化管内容物	
		3時間 ^b	6時間 ^b	3時間 ^c	6時間 ^b	3時間 ^b	6時間 ^b	3時間 ^b	6時間 ^b
プロフェジン	A	12.20	8.78	17.03	12.97	30.25	19.88	47.34	34.25
		(0.204)	(0.198)	(0.015)	(0.015)	(0.007)	(0.009)	(29.091)	(22.550)
	B	8.02	3.32	8.25	6.42	14.60	8.01	0.09	0.32
		(0.128)	(0.074)	(0.007)	(0.008)	(0.004)	(0.004)	(0.057)	(0.189)
	P	7.97	0.88	1.42	0.96	2.06	N.D.	0.68	1.02
		(0.118)	(0.018)	(0.001)	(0.001)	(0.001)	(-)	(0.426)	(0.619)
	J	0.11	0.08	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		(0.002)	(0.001)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
	F	0.27	0.05	0.14	0.23	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
		(0.004)	(0.001)	(<0.001)	(<0.001)	(-)	(-)	(-)	(-)
G	0.56	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.03	0.08	
	(0.007)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(0.015)	(0.048)	
O	0.09	0.05	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	(0.002)	(0.002)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
Q	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
D	2.60	3.68	10.69	8.17	25.82	13.48	1.42	3.40	
	(0.043)	(0.063)	(0.010)	(0.008)	(0.005)	(0.004)	(0.898)	(1.974)	
TLC 原点		21.76	31.53	22.21	27.59	5.01	5.69	6.48	18.15
		(0.335)	(0.511)	(0.019)	(0.027)	(0.001)	(0.002)	(4.018)	(11.352)
その他 ^c		8.82	15.33	13.76	15.68	14.20	38.14	2.34	3.16
		(0.140)	(0.227)	(0.012)	(0.016)	(0.004)	(0.010)	(1.478)	(1.892)
抽出後残渣		37.62	36.30	26.51	27.98	8.05	14.80	41.63	39.60
		(0.566)	(0.559)	(0.021)	(0.026)	(0.002)	(0.005)	(26.356)	(27.471)
合計		100	100	100	100	100	100	100	100
		(1.548)	(1.653)	(0.085)	(0.103)	(0.024)	(0.034)	(62.338)	(66.095)

a : 4 連の平均。カッコ内の値は投与放射能に対する割合(%)を示す。

b : サンプルング時間(投与後時間)

c : その他の微量代謝物の合計

N.D.: 検出せず(LOD 未満)

排泄物中の代謝物

放射能の大部分は投与後糞中に排泄され、投与後 24 時間以内に排泄された糞について代謝物分析を実施した。下表に示したように未変化プロフェジンおよび TLC プレーートの原点に保持された高極性代謝物がメインであった。これらに続いて、投与放射能の 6.727%を占める (D) が同定された。この代謝物に加え、投与放射能の 1%未満を占める (B)、 (P) および (G) が同定された。安定性およびさらなる代謝を考慮すると、 (B) および

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(P)などの一次代謝産物は、更にそれぞれ (D)および (G) に代謝されると推測された。

代謝物	記号	糞中代謝物(投与放射量に対する割合%) ^a
ブプロフェジン	A	14.725
	B	0.324
	P	0.211
	J	N.D.
	F	N.D.
	G	0.130
	O	N.D.
	Q	N.D.
	D	6.727
TLC 原点		18.496
その他 ^b		5.278
抽出後残渣		10.120
合計		56.010

a: 4 連の平均

b: その他の微量代謝物の合計

N.D.: 検出せず (LOD 未満)

代謝経路

本試験で同定されたラット代謝物および以前の試験結果を含むすべての利用可能な所見について、ブプロフェジンの想定代謝経路を次々頁に示す。

肝臓では、総放射能濃度は投与 6 時間後でもまだ増加していたが、逆に投与 6 時間後の (P) 濃度は著しく減少し、 (P) が極めて不安定で容易にさらなる代謝物に変換されることを強く示唆している。最新の化学知識を考慮すると、 (P) は分子内転移およびその後の加水分解により自然に

(Q) を経由して (J) および (G) に変換されると想定される。

水酸化された tertiary-ブチル基の同様の分子内転移は、すでに別の化学物質で正確に報告されている。分子内転移の想定機序およびその後の反応を補遺-VIII に示す。

ブプロフェジンの tertiary-ブチル基の水酸化により (P) が生成し、それは化合物およびフェニル基の水酸化の重要で主要な代謝経路であることを示唆している。代謝機序を考慮すると、これら代謝物の生成の要因は、チアジアジン環のメチレン基の水酸化およびその後の開環により (O) が生成することを示唆している。

結論

投与後初期に特定の標準物質を用いたブプロフェジンの *in vitro* および *in vivo* 両代謝実験で下記の結果が得られた:

- (P) が生じたブプロフェジンの tertiary-ブチル基の水酸化は、化合物の重要かつ主要代謝経路であり、フェニル基の水酸化も同様である。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 2) (P)は不安定で容易に (J)および (G)などのさらなる代謝物に変換されると思われた。この変換過程では、 (Q)が最も可能性のある中間体であった。
- 3) (O)および (F)のわずかだが明らかな生成が確認された。代謝機序すなわちチアジアジン環開裂を考慮すると、これら代謝物の生成はチアジアジン環のメチレン基の水酸化およびその後の脱アルキル化により生じ、 (O)が生成すると仮定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

動物体内における代謝・分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) プロフェジンのラットにおける反復経口投与代謝試験

試験省略

[参考 1] ラットにおける 24 週間蓄積性試験

(資料 No. M-5)

試験実施機関:

報告書作成年: 1980 年(1990 年改訂)

検体の純度 :

供試動物 : Sprague-Dawley(CRL:CD(SD))系ラット、6 週齢雄、1 群各 27 匹

試験期間 : 24 週間

方法 :

投与 : プロフェジンを粉末飼料に 200 ppm および 1000 ppm 混入し、摂食させた。

試料の分析 : 投与開始後 2、4 日および 1、2、4、8、12、16、24 週目に各群 3 匹のラットを屠殺して、血液、肝臓、腎臓、脳、筋肉および脂肪組織中のプロフェジン濃度をガスクロマトグラフ法で測定した。

結果 :

組織中残留量 : 組織中のプロフェジン濃度について、各群 3 匹の最大値を下表に示した。

組織	組織中残留量(個体毎の最大値、ppm)								
	2日	4日	1週	2週	4週	8週	12週	16週	24週
200 ppm投与群									
血液	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
肝臓	< 0.1	0.24	< 0.1	0.12	0.19	0.18	< 0.1	0.20	0.16
腎臓	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
脳	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
筋肉	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
脂肪	0.13	0.60	0.63	0.83	1.35	0.44	0.75	0.71	0.86
1000 ppm投与群									
血液	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
肝臓	0.50	0.62	0.98	0.36	1.2	1.01	0.45	0.83	0.34
腎臓	0.14	0.18	0.16	< 0.1	< 0.1	0.38	< 0.1	< 0.1	< 0.1
脳	< 0.1	0.12	0.19	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
筋肉	< 0.1	0.24	0.14	0.27	—	< 0.1	< 0.1	< 0.1	< 0.1
脂肪	6.0	12.8	7.1	6.0	6.0	5.1	5.3	4.8	3.4

200 ppm 群では脂肪組織に最大で 1.35 ppm(投与 4 週後)、肝臓に最大で 0.24 ppm(投与 4 日後)検出され、1000 ppm 群では脂肪組織に最大で 12.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ppm(投与4日後)、肝臓に最高1.2 ppm(投与4週後)検出されたが、他の組織では両群ともおおむね0.1ppm以下であった。
また両濃度群において経時的に組織中濃度が高まる傾向はみられなかった。

結論 : 以上の結果から、ブプロフェジンの動物の組織における蓄積性はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 植物体内運命に関する試験

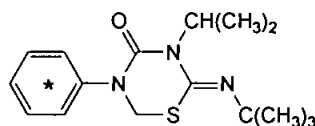
1) プロプロフェジンのイネにおける代謝試験

(資料 No. M-6)

試験実施機関:

報告書作成年: 1982年(1986年改訂)

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試植物 : 水稻 (*Oryza sativa* L.、品種 金南風)、処理時 6~8 葉期

方法 :

栽培 : 水耕栽培

水耕液は、NH₄NO₃ 100 mg、KH₂PO₄ 50 mg および KCl 50 mg を蒸留水に溶解し、1N KOH で pH7.0 に調整して 1000 ml にフィルアップしたものを使用した。500 ml の水耕液に 6~8 葉期のイネ 5 個体を室温下で栽培した。

土耕栽培

ワグネルポット (1/4000 a) に 6~8 葉期のイネ 5 個体を移植し、水深 4 cm となるように湛水状態とした。[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン処理後 0~45 日は 25~30°C、湿度 40%、9 時間照明条件で、処理後 46~128 日は 19~25°C、湿度 40%、6 時間照明条件で栽培した。

処理 : 水耕栽培

水耕液 500 ml 中に [フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンのメタノール溶液を 0.3 ml (68.5 kBq (1.85 μCi)、564 μg) 添加した (初期理論濃度: 1.128 μg eq./ml)。

土耕栽培

田面水中に [フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンのメタノール溶液を 0.5 ml (118.4 kBq (3.2 μCi)、976 μg) 添加した。処理量は、プロプロフェジンを 40 g/10a 施用した場

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

合に相当する。

吸収・分布 : 放射能分析

生育初期のイネを葉鞘上部、葉鞘下部および葉身の3部分に分けて経時的に採取した。イネの放射能測定は、水耕栽培の場合には、処理後2/3、2、4、8および15日目に、土耕栽培の場合には、処理後2/3、2、4および11日目に、植物体の部位別を実施した。また、水中放射能の測定は、両栽培条件において18日後まで適宜実施した。

オートラジオグラフィ(ARG)

水耕栽培の場合には、処理後2/3、4、7、11、28(出穂期)、40、78および92日目に、土耕栽培の場合には、処理後2/3、4、7、11、21、43(出穂期)、57、95および128日(収穫期)目にサンプリングした。植物体は、乾燥後、X線フィルムに密着させて感光し、ARGを作成した。

代謝物分析 :

結果 :

水中放射能 : 水耕栽培および土耕栽培における水中放射能濃度の測定結果を下表に示す。

処理後日数	放射能濃度(ブプロフェジン当量 ppm)	
	水耕栽培	土耕栽培
0	0.763	0.774
1	0.238	0.393
2	0.209	0.186
4	0.160	0.123
8	0.085	—
11	—	0.074
18	0.036	0.073

—:実施せず

水耕栽培においても土耕栽培においても水中の放射能濃度は速やかに減少した。このことから、ブプロフェジンは速やかにイネに吸収移行するものと推察される。また、水中放射能濃度の減少の原因としては、この他に、水面からの

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

揮散や、土耕栽培の場合には土壌への吸着も考えられた。

ARG ; 水耕栽培では 16 時間目の茎葉部にはほとんど放射能を認めなかったが、7 日目には茎葉部全体に放射能の分布が認められ、特に葉身先端部で高い放射能がみられた。さらに、28 日目および 92 日目でも茎葉部全体への放射能の分布がみられた。そして出穂後はわずかながら穂部にも放射能が移行していた。

土耕栽培の 16 時間目に葉鞘基部(田水浸漬部位)には放射能が多く存在したが、他の部位には、わずかな放射能の移行しか認められなかった。7 日目以降は茎葉部全体への放射能分布が認められた。また、出穂期以降では、水耕法の場合と同様に、弱いながらも穂部への放射能分布が認められた。

部位別放射能推移； イネ植物体の各部位における放射能の分布を下表に示した。

処理後日数 (日)	放射能の分布割合(%)					
	水耕栽培			土耕栽培		
	葉身	葉鞘		葉身	葉鞘	
		上部	下部		上部	下部
2/3	17.4	22.0	60.6	13.3	20.2	66.5
2	26.8	33.7	39.5	20.2	13.1	67.7
4	27.6	37.2	35.1	33.4	39.7	26.9
8	48.6	32.8	18.6	—	—	—
11	—	—	—	44.9	28.7	26.4
15	54.5	26.4	19.1	—	—	—

—:実施せず

根あるいは葉鞘基部から吸収された放射能が次第に上方に移行して葉身に至り、ARG でみられた放射能の分布とよく一致した。

放射能の抽出・分画； 水耕栽培のイネ葉鞘および葉身における溶媒抽出により分画された放射能の割合を下表に示した。

処理後日数 (日)	総放射能に対する割合(%)			
	抽出性			非抽出性
	酢酸エチル画分	メタノール画分	合計	
4	42.5	10.7	53.2	46.8
8	28.5	10.2	38.7	61.3
28	14.4	13.5	27.9	72.1
42	9.7	9.0	18.7	81.3
92	10.2	14.3	24.5	75.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

水耕栽培のイネにおいては、酢酸エチル画分に回収される非極性代謝物が経時的に減少し、非抽出画分が増加した。極性代謝物が主体と考えられるメタノール画分の放射能は試験期間を通じてほぼ一定割合を示した。

土耕栽培のイネ体各部位毎の溶媒抽出により分画された放射能の割合を下表に示す。

処理後日数 (日)	総放射能に対する割合(%)			
	抽出性			非抽出性
	酢酸エチル画分	メタノール画分	合計	
4	36.8	19.0	55.8	44.2
7	36.2	9.0	45.2	54.7
葉身	27.3	3.7	31.0	20.5
葉鞘(上部)	5.6	2.9	8.5	16.9
葉鞘(下部)	3.3	2.4	5.7	17.3
14	33.3	15.8	49.1	50.9
23	20.8	24.5	45.3	54.7
43	12.2	13.9	26.1	73.8
葉身	7.5	10.0	17.5	33.3
葉鞘	4.7	3.9	8.6	40.5
56	9.1	12.1	21.2	78.8
119	5.0	15.9	20.9	79.0
葉身	2.2	11.7	13.9	38.3
葉鞘	2.8	3.8	6.6	37.7
穂 玄米	—	—	0.13(0.02)	1.52(0.18)
籾殻	—	—	0.14(0.25)	0.65(0.47)
花軸	—	—	0.09(0.07)	0.83(0.62)

—:実施せず

()内は放射能濃度(ppm eq./fresh wt.)を申請者が算出

土耕栽培のイネにおいても、水耕栽培のイネと同様に、酢酸エチル画分に回収される非極性代謝物が経時的に減少し、非抽出画分が増加した。極性代謝物が主体と考えられるメタノール画分の放射能は試験期間を通じてほぼ一定割合を示した。また、収穫期(処理後119日)の穂においては、放射能の大部分が非抽出性画分に存在したことから、ブプロフェジンおよび非極性の代謝物の存在は極めて少ないものと考えられた。

代謝物分析 : 土耕栽培のイネの処理後119日目の玄米中放射エネルギーは少なかったため代謝物分析は実施できなかった。しかしながら、玄米中の抽出性画分は植物体中

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

の総放射能の0.13%(玄米中の残留放射能の7.9%)とわずかであったことから、ブプロフェジンおよび非極性代謝物もわずかであると考えられた。

土耕栽培のイネの処理後7日、43日および119日目の葉身および葉鞘中の代謝物分析結果を下表に示す。

処理後日数 (日)	総放射能に対する割合(%)							
	代謝物							
	A	B	E	F	G	U-1 ^a	U-2 ^a	U-5 ^a
7	16.4	4.38	0.75	0.64	0.45	0.42	0.54	0.16
葉身	5.39	0.94	0.31	0.18	0.17	0.42	0.12	ND ^b
葉鞘(上部)	4.52	2.14	0.27	0.29	0.16	ND	0.23	ND
葉鞘(下部)	6.47	1.30	0.17	0.17	0.12	ND	0.20	ND
43	3.63	1.77	0.22	0.34	0.57	ND	0.34	0.51
葉身	1.88	0.86	0.17	0.24	0.39	ND	0.23	0.37
葉鞘	1.75	0.91	0.05	0.10	0.18	ND	0.11	0.14
119	0.75	0.64	ND	0.19	0.43	ND	0.22	0.10
葉身	0.34	0.23	ND	0.07	0.12	ND	0.10	0.10
葉鞘	0.41	0.41	ND	0.12	0.31	ND	0.12	ND

a : U-1、U-2 および U-5 は未同定代謝物

b : 検出されず

ブプロフェジンは処理後7日に総残留放射能の16.4%であったが、処理後119日には0.75%に減衰した。代謝物として、(B)、(E)、(F)および(G)が同定されたが、その生成量は少なく、処理後7日および43日に(B)が4.38%および1.77%を示した以外はいずれも1%以下であった。

結論 : 水耕栽培あるいは土耕栽培されたイネの水面に処理した[フェニル-¹⁴C]ブプロフェジンは、根部および葉鞘下部から取り込まれて、経時的に植物体上方に移行した。土耕栽培のイネにおける収穫期の可食部に存在した放射能量は極わずかであった。
イネ植物体中においては、未変化体のブプロフェジンに加えて、微量ではあるものの、(B)、(E)、(F)および(G)が同定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) プロフェジンの出穂期処理による水稻代謝試験

(資料 No. M-19)

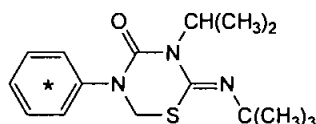
試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

試験の目的:

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試植物 :

水稻 (*Oryza sativa* L.、品種 日本晴)、出穂期および収穫 7 日前処理

方法 :

処理薬量 :

稲作の標準的栽培密度は約 20 株/m²であることから、散布施用での最大投下薬量 (833g/ha) を 1 m² 当りの株数で除し、1 株当りの処理薬量を 4.2mg/株、処理放射エネルギーを 1 株当り 2.1mg/1.5MBq とした。

これを水和剤に製剤化し、半量を出穂期に、残りを黄熟期試料採取が終了した後の収穫 7 日前に散布した。

試料採取 :

被験物質を処理したイネは、黄熟期および登熟期の 2 時点で試料採取した。黄熟期試料は穂と稲わらに分け、籾を穂軸から外した。成熟後に収穫したイネは刈取後温室内で約 7 日間乾燥させた。成熟試料は稲わらと穂に分けた後、籾を穂軸から外して籾摺り器により籾殻、玄米にわけ、それぞれの重量を測定した。穂軸は稲わらと混合し、同一試料として分析に供した。

抽出、燃焼 :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

定量、分析 ;

結果

回収放射能 ; 成熟期玄米には 0.17mg/kg 当量の残留放射能が認められ、TRR に対し 56.9%は非抽出性であり、43.1%は抽出残渣に存在した。粃殻、稲わらにもそれぞれ 2.05 および 4.72mg/kg 当量の放射能が残留し、TRR に対して抽出性画分に 69.1%および 66.0%が存在し、残りは抽出残渣に存在した。黄熟期では、玄米を含む粃および稲わらに 0.57 mg/kg および 2.15 mg/kg 等量の放射能が残留し、表面洗浄画分を含む抽出性画分(メタノール、メタノール/蒸留水)にそれぞれ 69.3%および 70.7%が回収された。結果を次表に示す。

成熟期採取試料中放射能の総残留放射能に対する割合(% TRR)および濃度(mg/kg 当量)

画分	玄米		粃殻		稲わら	
	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量
抽出画分合計	56.9	0.09	69.1	1.42	66.0	3.18
表面洗浄液	N.A.	N.A.	17.1	0.35	22.4	1.07
メタノール	48.5	0.08	40.8	0.84	33.6	1.63
メタノール/蒸留水(1/1)	8.4	0.01	11.2	0.23	9.9	0.48
抽出残渣	43.1	0.07	30.9	0.63	34.0	1.54
合計	100.0	0.17	100.0	2.05	100.0	4.72

N.A.: 適合結果なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
 黄熟期採取試料中放射能の総残留放射能に対する割合(% TRR)および濃度(mg/kg 当量)

画分	粃		稲わら	
	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量
抽出画分合計	69.3	0.40	70.7	1.52
表面洗浄液	26.0	0.15	20.5	0.44
メタノール	36.4	0.21	40.8	0.88
メタノール/蒸留水(1/1)	7.2	0.04	9.5	0.20
抽出残渣	30.4	0.17	29.3	0.63
合計	100.0	0.57	100.0	2.15

代謝物分析：成熟期玄米中放射能の主な代謝物として、未変化体が TRR に対し 38.6%(0.06 mg/kg 等量)が検出された。その他に (B)および原点放射能が検出されたが、何れも TRR に対し 10%未満であり、未変化体に換算して 0.05 mg/kg を超えて生成する放射能は未変化体以外に存在しなかった。稲わらおよび粃殻においても、主な残留放射能は未変化体であり、それぞれ TRR に対し 37.7% (1.80 mg/kg 等量)および 56.8%(1.17 mg/kg 等量)が検出された。その他に (B)、 (F)および原点放射能等が検出されたが、TRR に対し 10%を超えて生成する代謝物は存在しなかった。黄熟期の粃中放射能の主な代謝物として、未変化体が TRR に対し 45.8%(0.26 mg/kg 当量)検出された。その他に (B)、 (F)および原点放射能が僅かに検出されたが、何れも未変化体に換算して 0.05 mg/kg を超えて生成する放射能は存在しなかった。また、稲わらにおいても、主な残留放射能は未変化体であり、0.62 mg/kg 等量(28.6%TRR)が検出された。その他に (B)、 F)および複数の画分から構成される原点放射能等が検出されたが、TRR に対し 10%を超えて生成する代謝物は存在しなかった。結果を次表に示す。

成熟期採取試料中放射能の代謝物分析まとめ

代謝物	玄米		粃殻		稲わら	
	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量
プロフェジン	38.6	0.06	56.8	1.17	37.7	1.80
(B)	2.6	<0.01	1.6	0.03	4.4	0.21
(F)	N.D.	N.D.	0.1	<0.01	0.6	0.03
原点	6.5	0.01	4.5	0.09	14.9	0.73
その他	8.4	0.01	4.6	0.10	6.3	0.30
水性残渣	0.8	0.02	1.5	0.03	2.1	0.10
抽出残渣	43.1	0.07	30.9	0.63	34.0	1.54
合計	100.0	0.18	100.0	2.05	100.0	4.72

N.D.: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

黄熟期採取試料中放射能の代謝物分析まとめ

代謝物	粳		稲わら	
	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量
ブプロフェジン	45.8	0.26	28.6	0.62
(B)	2.0	<0.01	9.1	0.19
(F)	0.1	<0.01	0.1	<0.01
その他	9.7	0.05	7.6	0.16
原点	8.2	0.05	25.3	0.54
水性残渣	3.8	0.02	N.D.	N.D.
抽出残渣	30.4	0.17	29.3	0.63
合計	100.0	0.57	100.0	2.15

N.D.: 検出せず

抽出残渣 ; 成熟期の玄米中非抽出性放射能は 6N HCl による酸加水分解で TRR に対し 8.3% に相当する放射能が遊離した他、セルラーゼ処理で 3.1%、ソックスレー抽出で 2.4% が遊離したが、遊離放射能が TRR に対し 10% を超えることはなく、濃度は 0.01 mg/kg 当量以下であった。また、粳殻、稲わらや黄熟期試料についても、同様の処理により一部の放射能が遊離したものの、特定の画分から著量の放射能が検出されることはなかった。いずれの画分においても更なる同定が可能な量の放射能は生成せず、これ以上の検討は不可能であった。結果を次表に示す。

成熟期採取試料中非抽出性放射能の化学的性格付け

画分	玄米		粳殻		稲わら	
	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg 当量
ソックスレー抽出	2.4	<0.01	6.4	0.13	2.4	0.11
アセト/1NHCl 抽出	N.D.	N.D.	1.8	0.04	3.9	0.18
蒸留水洗浄	N.D.	N.D.	0.3	<0.01	N.D.	N.D.
セルラーゼ処理	3.1	<0.01	0.5	<0.01	1.4	0.06
加水分解処理	8.3	0.01	2.7	0.06	3.4	0.15
メタノール抽出	N.D.	N.D.	0.8	0.02	0.9	0.04
燃焼	29.3	0.05	18.4	0.38	22.0	1.00
合計	43.1	0.07	30.9	0.63	34.0	1.54

N.D.: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
 黄熟期採取試料中非抽出性放射能の化学的特長付け

画分	粳		稲わら	
	%TRR	mg/kg 当量	%TRR	mg/kg
ソックスレー抽出	2.9	0.02	1.9	0.04
アセトニトリル/1NHCl 抽出	1.3	0.01	2.0	0.04
蒸留水洗浄	N.D.	N.D.	1.2	0.03
セルラーゼ処理	0.7	<0.01	1.5	0.03
加水分解処理	3.0	0.02	3.7	0.08
メタノール抽出	0.8	<0.01	0.9	0.02
燃焼	21.7	0.12	18.1	0.39
合計	30.4	0.17	29.3	0.63

N.D. : 検出せず

原点放射能 : TLC 原点に残存する極性代謝物を分取し、極性溶媒系での展開およびβ-グルコシダーゼによる酵素的な加水分解を試みた。分取した原点放射能は塩基性溶媒系による展開でも原点に留まり、代謝物 Q と異なる挙動を示した。β-グルコシダーゼによる酵素処理では部分的な加水分解を受け、稲わらでは B が最高で 0.9% TRR (< 0.05 mg / kg) 検出された。一方、玄米からは B は検出せず、複数の未同定の代謝物を検出したが、その濃度は 0.01 mg / kg に満たなかった。その他に、顕著な分解物は検出されなかった。以上の結果から、原点放射能の一部は B のグルコース抱合体であることが示唆され、その他に複数の抱合体が存在するものと考えられた。

成熟期わら原点放射能のβ-グルコシダーゼ処理

代謝物	洗浄液		メタノール抽出		メタノール/蒸留水抽出	
	%TRR	mg /kg 当量	%TRR	mg /kg 当量	%TRR	mg /kg 当量
B)	0.2	<0.01	0.1	<0.01	0.4	0.02
未知代謝物*	0.3	0.02	3.7	0.20	0.7	0.03
原点	2.3	0.11	3.6	0.16	3.6	0.18
合計	2.9	0.14	7.4	0.36	4.7	0.23

* : 複数の代謝物の合計

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
 黄熟期から原点放射能の β -グルコシダーゼ処理

代謝物	洗浄液		メタノール抽出		メタノール/蒸留水抽出	
	%TRR	mg /kg 当量	%TRR	mg /kg 当量	%TRR	mg /kg 当量
(B)	0.1	<0.01	0.9	0.02	0.7	0.02
未知代謝物*	0.4	0.01	6.0	0.13	1.9	0.04
原点	1.4	0.03	8.4	0.18	5.4	0.11
合計	2.0	0.04	15.3	0.33	8.1	0.17

* : 複数代謝物の合計

結論 ; 出穂期の水稻に処理した[フェニル- 14 C]プロフェジンの一部が玄米中に移行した。成熟期玄米には放射能として、0.17 mg/kg 等量の残留放射能が検出されたが、抽出画分中の主要放射能は未変化体であり、38.6%TRR(0.06 mg/kg 等量)を占めた。また、(B)が僅かに検出され、その他に顕著な代謝物は認めなかった。一方、玄米中放射能の内、43.1%TRR(0.07 mg/kg 等量)は非抽出性であった。玄米中の非抽出性放射能は酸性加水分解や、酸性抽出、ソックスレー抽出、セルラーゼ処理等により、最大で 0.01 mg/kg が遊離したが、その他(29.3% TRR)は残渣中に残存したことから、放射能は多糖類など生体高分子と非可逆的結合を形成しているものと考えられた。また、稲わらおよび籾殻中の放射能も主な残留放射能は未変化体であり、それぞれ 56.8%TRR(1.17 mg/kg 等量)および 37.7%TRR(1.80 mg/kg 等量)が検出され、その他に微量の (B)および (F)の生成が認められた。一方、黄熟期試料中の主要な残留放射能も同様に未変化体であり、稲わらでは 28.6%TRR(0.62 mg/kg 等量)、籾では 45.8%TRR(0.26 mg/kg)が検出され、その他に微量の B および F が検出された。

以上の結果から、出穂期の水稻に処理した[フェニル- 14 C]プロフェジンの成熟期試料中代謝物は既報の水面施用における代謝(資料 No.M-6)質的な差異はないものと考えられた。また、出穂期処理によるプロフェジンの代謝は、既報と同質であり出穂期処理により特異な代謝物の生成は認めなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

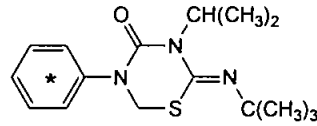
3) ププロフェジンの 5 植物種における代謝比較試験

(資料 No. M-6)

試験実施機関:

報告書作成年: 1982 年(1986 年改訂)

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試植物 :

イネ (*Oryza sativa* L., 品種: 金南風)、4~5 葉期
タイヌビエ (*Echinochloa crus-galli* Beauv.), 3 葉期
トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill., 品種: ポンテローザ)、4 葉期
大豆 (*Glycine max* Merr., 品種: グリーンホーム)、2 葉期
はくさい (*Brassica pekinensis* Rudr., 品種: 愛知)、2~3 葉期

方法 :

栽培 :

水耕液は、NH₄NO₃ 100 mg、KH₂PO₄ 50 mg および KCl 50 mg を蒸留水に溶解し、1N KOH で pH7.0 に調整して 1000 ml にフィルアップしたものを使用した。50 ml の水耕液にて 5 種の植物を 25°C、湿度 60%、12 時間照明の条件下で栽培した。

処理 :

水耕液 1000 ml 中に [フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンのメタノール溶液を 0.22 ml (3.7 MBq (100 μCi)、300 μg) 添加した (理論初期濃度: 0.3 mg eq./L)。

サンプリング :

処理後、0.5、1、2、4 および 8 日にサンプリングし、オートラジオグラフィー (ARG) を作成すると共に、茎葉部および根部に分けて放射能分析を実施した。

吸収・分布 :

放射能分析

処理後、0.5、1、2、4 および 8 日に、茎葉部および根部に分けてサンプリングし、抽出画分と非抽出画分に分けた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

オートラジオグラフィ(ARG)

処理後、0.5、1、2、4 および 8 日にサンプリングした植物体を、乾燥後、X 線フィルムに密着させて感光し、ARG を作成した。

代謝物分析 ;

結果 :

ARG ; はくさいでは、他の植物種よりも放射能の吸収は早く、処理後 1 日目には植物体全体への放射能の分布が確認された。その他の植物においても処理後 2 日目に体内全体への分布が認められた。

茎葉部および根部内放射能濃度； 処理後 4 日目の各植物種における、茎葉部および根部の放射能分布を下表に示した。

植物種	放射能濃度 (μg eq./g fresh wt.) ^A					
	茎葉部			根部		
	抽出性	非抽出性	合計	抽出性	非抽出性	合計
イネ	0.278 (44.6)	0.345 (55.4)	0.623	0.885 (14.4)	5.246 (85.6)	6.131
タイヌビエ	0.359 (56.7)	0.274 (43.3)	0.633	1.683 (32.0)	3.582 (68.0)	5.265
トマト	0.104 (41.1)	0.149 (58.9)	0.253	1.294 (23.5)	4.220 (76.5)	5.514
大豆	0.256 (80.3)	0.063 (19.7)	0.319	1.494 (73.4)	0.541 (26.6)	2.035
はくさい	0.934 (78.0)	0.264 (22.0)	1.198	12.46 (74.6)	4.235 (25.4)	16.70

A: 括弧内は放射能の分布割合 (%)。

イネ、タイヌビエおよびトマトにおいては、処理後 4 日目の茎葉部の抽出性/非抽出性の放射能比率はおおよそ 1/1 であったが、大豆およびはくさいにおいては、約 4/1 であり、はくさいにおいては特に他の植物種よりも放射能濃度が高かった。

いずれの植物種においても、根部は茎葉部に比べて放射能濃度が高く、その濃度は 2~17 ppm であった。

代謝物分析 ; 5 種植物の処理後 4 日目の茎葉部および根部における代謝物分析結果を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

茎葉部における代謝物分析結果

代謝物	放射能濃度 ppm ププロフェジン当量/湿重量 (%TRR) ^a				
	イネ	タイヌビエ	トマト	大豆	はくさい
ププロフェジン(A)	0.081 (13.0)	0.144 (22.7)	0.010 (3.9)	0.120 (37.6)	0.491 (41.3)
(B)	0.053 (8.47)	0.003 (0.57)	0.002 (0.78)	0.004 (1.2)	0.013 (1.1)
(E)	0.012 (1.9)	0.024 (3.8)	0.005 (2.0)	0.009 (3.0)	0.045 (3.7)
(F)	0.005 (0.89)	0.018 (2.9)	0.004 (1.6)	0.004 (1.2)	0.011 (0.94)
(G)	0.003 (0.49)	ND ^c	ND	ND	0.003 (0.23)
未同定合計 ^b	0.124 (19.8)	0.170 (26.8)	0.083 (32.8)	0.119 (37.3)	0.368 (30.7)
総合計	0.278 (44.6)	0.359 (56.7)	0.104 (41.1)	0.256 (80.3)	0.934 (78.0)

a:カッコ内の数値は総残留放射能に対する割合%(申請者が算出)

b:未同定化合物とその他の合計(申請者が算出)

c:検出されず

根部における代謝物分析結果

代謝物	放射能濃度 ppm ププロフェジン当量/湿重量 (%TRR) ^a				
	イネ	タイヌビエ	トマト	大豆	はくさい
ププロフェジン(A)	0.420 (6.84)	1.255 (23.8)	0.855 (15.5)	1.132 (55.4)	11.10 (66.5)
(B)	0.089 (1.44)	0.001 (0.03)	ND ^c	0.001 (0.07)	0.012 (0.07)
(E)	0.012 (0.20)	0.021 (0.38)	0.010 (0.19)	0.010 (0.51)	0.112 (0.67)
未同定合計 ^b	0.364 (5.92)	0.406 (7.74)	0.429 (7.78)	0.351 (17.2)	1.233 (7.39)
総合計	0.885 (14.4)	1.683 (32.0)	1.294 (23.5)	1.494 (73.4)	12.46 (74.6)

a:カッコ内の数値は総残留放射能に対する割合%(申請者が算出)

b:未同定化合物とその他の合計(申請者が算出)

c:検出されず

5 種植物において、主代謝物として、(B)、(E) および (F) が認められた。(B)はイネで、(E)はタイヌビエ、トマト、大豆およびはくさいで多い傾向がみられた。これらに加えて、イネおよびはくさいにおいて (G)も微量検出された。

高極性代謝物の分析: β -グルコシダーゼ処理により、減少・消失、あるいは、新たに生成する放射能スポットが TLC-ARG 分析により確認されたことから、ププロフェジンの高極性代謝物にはグルコース抱合体が存在することが示唆された。

結論 : イネ、タイヌビエ、トマト、大豆およびはくさいにおいてププロフェジンの代謝を比較した。いずれの植物種においても代謝は質的に同等であり、主たる代謝部位はフェニル環 4 位の水酸化とチアジアジナン環イオウの酸化であった。主代謝物として (B)、(E)および (F) が認められた。(B)はイネで (E)はタイヌビエ、トマト、大豆およびはくさいで多い傾向がみられた。これらに加えて、イネおよびはくさいにおいて (G)も微量検出された。また、高極性代謝物にはグルコース抱合体の存在も示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

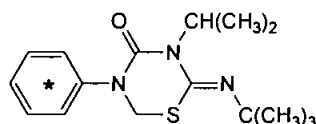
4) ププロフェジンのトマトにおける代謝試験

(資料 No. M-7)

試験実施機関:

報告書作成年: 1988年 [GLP 対応]

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : 2-*tert*-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2*H*-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試植物 : トマト (*Lycopersicon esculentum* Mill、品種 Marathon)

方法 :

栽培 : Pinetree Vandenburg Limited, UK より入手したトマトの種子から得た幼苗を、人工培養土を入れた 11 cm 径のポットに移植し、ガラス温室内において栽培した。

処理 : 様々な熟成段階のトマト 8 個の表面にシリンジを用いて個別に[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンを塗布した。施用量は予備試験(トマト 20 本使用)の残留濃度結果から、トマト 1 個当たり 42.5 μg に設定した。試験液はエタノール溶液、施用液量は 50 μℓ/トマトとした。

吸収・分布 : トマトの全果実を処理後 1 時間、1 日、3 日および 7 日目に採取した。

また、植物体のオートラジオグラフィー(ARG)による、放射能分布の視覚化によるプロプロフェジンおよび代謝物の存在の確認も実施した。

代謝物分析 :

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果

総残留放射能： 下表に総残留放射能測定結果を示す。

採取時点	総残留放射能(プロフェジン当量)							
	洗浄液		果実		残留放射能の合計			
	(μg)	($\mu\text{g/g}$)	(μg)	($\mu\text{g/g}$)	(μg)	C.V.(%)	($\mu\text{g/g}$)	C.V.(%)
処理 1 時間後	35.282	0.426	0.945	0.012	36.227	7.2	0.438	12.8
処理 1 日後	21.003	0.275	10.764	0.152	31.767	7.0	0.427	16.0
処理 3 日後	12.846	0.272	16.599	0.444	29.406	15.4	0.715	57.5
処理 7 日後	19.112	0.191	9.148	0.092	28.260	14.8	0.283	16.8

洗浄液および果実中の放射能の定量結果から、処理 1 時間後にはほとんどの放射能が洗浄液中に存在したが、処理 1 日以降にはその一部が果実に取り込まれていた。

ARG： 処理 1 時間後には、処理放射能のほとんどが果実表面に存在した。処理 7 日後でも大半が外側に存在したが、一部は果実内部へ浸透した。しかしながら、種子内部への浸透はみられなかった。これらの結果は、放射能定量の結果を支持するものであった。

部位別放射能推移： 処理 7 日後に追加採取した果実を、洗浄液、果皮および果肉に分画して放射能を測定した。洗浄液(15.346 μg 、0.160 $\mu\text{g/g}$)および果皮(14.038 μg 、0.146 $\mu\text{g/g}$)に放射能の大半が検出され、処理 7 日後でもごく一部(4.541 μg 、0.047 $\mu\text{g/g}$)が果肉に浸透したにすぎなかった。

代謝物の分析： 処理 7 日後の全果実の TLC による代謝物分析結果を下表に示す。

項目	放射能量(%総残留放射能 ($\mu\text{g eq./g}$))		
	洗浄液	果実	合計
抽出画分	75.69 (0.202)	17.02 (0.045)	92.71 (0.248)
プロフェジン(A)	75.31 (0.201)	14.79 (0.039)	90.10 (0.241)
原点	0.38 (0.001)	2.22 (0.006)	2.61 (0.007)
非抽出画分			7.29 (0.019)
総合計			100.00 (0.267)

ほとんど全ての放射能が、プロフェジンの未変化体 (A) であった。

結論： [フェニル- ^{14}C]プロフェジン処理 1 時間後から 1 日後にかけて、放射能は果実表面の洗浄液から果実へ顕著に移行することが判明した。放射能のほとんどは未変化体のプロフェジンで、そのほとんどは果皮にとどまり、果肉内部への移行は極わずかであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

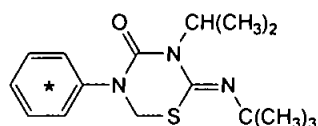
5) ププロフェジンのレタスにおける代謝試験

(資料 No. M-8)

試験実施機関:

報告書作成年: 1996年 [GLP 対応]

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試植物 :

レタス (*Lactuca sativa*, 品種 Black-seeded Simpson)

方法 :

製剤の調製 :

フロアブル製剤の白試料に[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンを添加し、必要な粒径になるように微粉碎し、プロプロフェジンを放射性ラベルした 40% 懸濁製剤を調製した。

処理 :

葉レタスに、上記の[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン製剤希釈液を施用した。施用量は最大慣行量 1.55 ポンド a.i./エーカー (173.8 g a.i./10a) 相当量とし、12 日間の処理間隔で 2 回に分けて下表に示すように処理した。

処理	最終比活性 (kBq/mg)	濃度 (mg/ml)	処理液量 (ml)	施用量 (g a.i./10a)
1 回目	550.9	1.85	67.0	88.6
2 回目	561.3	1.62	73.1	85.2

揮発性試験については、土壌(ローム土壌)および葉レタスを最大慣行量で処理した場合のプロプロフェジンの相当量(0.7 mg a.i.)で処理した。

栽培 :

栽培は、屋外において実施し、5×3 フィート(1.52×0.91m)の有効面積の容器に、ローム土壌を約 19 インチ(約 48cm)の深度となるように充填した。この栽培容器を野生動物等の侵入防止のためのフェンスで囲い、雨の影響を排除する為のシートで上部をカバーした。試験植物を正常に生育させる為に必要な

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

に応じて灌水した。

葉レタスは、成熟するまで(移植後 65 日目)栽培した。試料採取は、2 回目の薬剤処理の 14 日後に実施した。

吸収・分布 ;

代謝物分析 ;

結果 ;

放射能分画 ; 下表に残留放射能の分画結果を示す。

レタス 試料	総残留放射能 %TRR (ppm プロフェジン当量)				合計
	エタノール 洗浄液	水性 アセトニトリル 画分	水溶性画分 加水分解前	非抽出画分 加水分解前	
平均	88.6 (37.75)	7.8 (3.31)	2.5 (1.06)	1.1 (0.47)	(42.58)

葉レタスでは、処理放射能は葉表面に主に残留し、葉表面から内部への浸透はごくわずかな量であった。葉レタス全体における放射能濃度はプロフェジン当量として 42.58 ppm であったが、総残留放射能の大部分は葉表面に存在していた。

揮発性代謝物 ; 葉レタスおよび土壌における揮発性代謝物について、処理後 1 日、3 日、5 日、8 日および 13 日に揮発性成分を捕集し放射能を分析した結果を下表に示す。

試料		回収した残留放射能量(%)					
		1 日後	3 日後	5 日後	8 日後	13 日後	14 日後
葉レタス 植物体	捕集した揮発性 成分の総量	0.02	0	<0.01	0	0.11	0.14 ^b
	対照区 ^c						0.72 (0.057ppm)
土壌	捕集した揮発性 成分の総量	0.07	<0.01	0.01	0	0.30	0.39 ^b
	対照区 ^c						1.77 (0.078ppm)

a: 処理量に対する割合(%)

b: 実験期間中に捕集した総量

c: 対照区は処理 14 日後に採取および分析

揮発性成分の放射能量は極微量(0.4%TRR 以下)であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

代謝物の分析 : 代謝物分析の結果を下表に示す。

代謝物	放射能濃度%TRR(ppm ププロフェジン当量)				合計
	エタノール 洗浄液	アセトニトリル 可溶性	水溶性画分 加水分解後	非抽出画分 加水分解後	
ブプロフェジン(A)	83.03 (43.003)	6.23 (3.227)	0.04 (0.019)	0.01 (0.008)	89.31 (46.26)
(G)	ND ^a	0.20 (0.104)	0.10 (0.052)	0.15 (0.080)	0.45 (0.24)
(J)	ND	ND	0.17 (0.090)	0.02 (0.011)	0.19 (0.10)
(Q)	ND	ND	0.49 (0.255)	0.12 (0.063)	0.61 (0.32)
最大濃度の未知物質	ND	0.61 (0.318)	0.69 (0.357)	0.07 (0.037)	

a: 検出されず

表面洗浄液および有機溶媒可溶性残留液の大部分がブプロフェジンの未変化体であり(89.2%TRR)、葉表面に存在したと考えられる。代謝物としては、(G)、(J)および(Q)が同定され、高極性未同定代謝物も検出されたが、いずれも総残留放射能の1%以下と微量であった。

結論

: レタスにおける総残留放射能のほとんどはブプロフェジンであり、葉の表面に存在した。代謝物としては、(G)、(J)および(Q)が同定された。高極性未同定代謝物も検出されたが、いずれも総残留放射能の1%以下と微量であった。また、揮散性代謝物も、総残留放射能の0.4%以下と微量であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

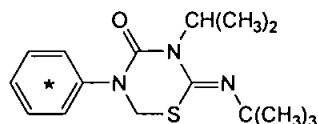
6) ププロフェジンのワタにおける代謝試験

(資料 No. M-9)

試験実施機関:

報告書作成年: 1997年 [GLP 対応]

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試土壌 :

ワタ (*Gossypium hirsutum* L., 品種 Delta Pine 50)

方法 :

製剤の調製 :

フロアブル製剤の白試料に[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンを添加し、必要な粒径になるように粉碎し、プロプロフェジンを放射性ラベルした 40% 懸濁製剤を調製した。

処理 :

ワタに、上記のプロプロフェジン 40% 製剤の希釈液を施用した。施用量は最大慣行量 1.52 ポンド a.i./100 ガロン/エーカー (170.5 g ai/93.5 ℓ/10a)、処理回数は 2 回とし、1 回目および 2 回目の処理間隔は 42 日間とした。

栽培 :

栽培は、屋外において実施し処理面積は 1.28 m² (0.838 m × 1.524 m) とした。ワタは、2 回目の薬剤処理の 27 日後まで栽培した。

吸収・分布 :

成熟期に採取したワタ植物体について、残渣 (Gin trash) と棉実に分離してサンプリングした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

代謝物分析 ;

結果 ;

放射能分画 ; 成熟期に採取したワタ試料の残留放射能の分画結果を下表に示す。

試料	総残留放射能(%TRR)						
	表面 洗浄液	酢酸エチル 抽出物	水性アセト ニトリル	水性抽出物	繊維 加水分解前	繊維 加水分解後	合計 (ppm)
残渣 (Gin trash)	44.8		41.8	2.3	12.8	8.2 ^a	15.64
棉実	68.4	7.8	6.6	3.0	14.2	9.6 ^b	0.37

a : 有機溶媒可溶性の残留放射能として 2.6%放出(単一検体)

b : 有機溶媒可溶性の残留放射能として 5.2%放出(単一検体)

成熟期に採取した残渣(Gin trash)および棉実のいずれにおいても、残留した放射能の大部分が表面にとどまっていた。

代謝物分析 ; 代謝物分析の結果を下表および次頁表に示す。

残渣(Gin trash)

代謝物	放射能濃度 %TRR (ppm ププロフェジン当量)			
	表面 洗浄液	アセトニトリル 可溶性および酸 加水分解画分	非抽出画分 加水分解後	合計
ブプロフェジン(A)	46.0	12.3	0.5	58.8 (8.24)
(G)	0.1	4.8	0.8	5.7 (0.80)
(J)	0.3	5.5	ND ^a	5.8 (0.81)
(Q)	ND	5.8	0.3	6.1 (0.85)
最大濃度の未知物質	0.5	7.5	0.3	ND

a : 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

棉実

代謝物	放射能濃度 %TRR (ppm ププロフェジン当量)				合計
	酢酸エチル抽出	アセトニトリル可溶性および酸加水分解画分	非抽出画分加水分解後	エタノールソックスレー抽出	
ププロフェジン(A)	5.1	4.0	1.7	48.3	59.1 (0.177)
(G)	0.1	0.7	0.7	ND ^a	1.5 (0.005)
(J)	0.5	ND	ND	0.9	1.4 (0.004)
(Q)	0.2	ND	ND	0.2	0.4 (0.001)
最大濃度の未知物質	0.4	0.7	0.4	5.7	ND

a : 検出されず

残渣(Gin trash)および棉実のいずれにおいても、ほとんどの放射能がププロフェジンの未変化体であり、大部分が植物体表面に存在した。微量の代謝物として、(G)、(J)および(Q)が検出された。また、極性の高い *N-tert*-ブチル基の生物学的水酸化に由来する不安定な抱合体も検出され、加水分解処理後 (G)、(J)および(Q)として検出された。これらは抱合体の加水分解による生成物と考えられる。

結論 : 残渣(Gin trash)および棉実ともに残留放射能の大部分はププロフェジンの未変化体であり、ほとんどが表面に存在した。代謝物として、(G)、(J)および(Q)が検出されたが、いずれも微量であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

7) ププロフェジンのレモンにおける代謝試験

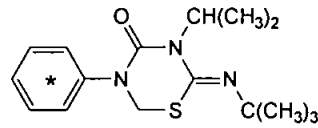
(資料 No. M-20)

試験実施機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : (Z)-2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試植物 : 柑橘類レモン(C. V. Lisbon.)、樹齢 2~3 年

方法

栽培 : 処理したレモンの木を、最終サンプリング時まで全領域の太陽光が照射できるように石英ガラス製の天井を有する温室で栽培した。平均温度および相対湿度は、18.2°C および 34.5%RH であった。

処理薬液 : 一定量のアセトニトリルに溶解した被験物質をブランク薬液に添加し、蒸発させた。調製した処理薬液には 4.62 MBq の被験物質 2.5 mg およびブランク製剤 37.5 mg で構成された。得られた乾燥製剤を 40 mL の蒸留水で希釈し、超音波処理によりホモジナイズした。調製した被験物質の放射化学的純度は、 であった。

試料採取および放射能の抽出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

抽出物の分画

極性代謝物および PES の特徴付け

酵素加水分解

結果

レモンにおける放射能の分布

処理果実の総残留放射能を下表に示す。すべての試験期間を通じて、残留放射能の大部分(99.7~98.8%)が、洗浄または抽出性放射能として果皮に分布した。処理 1 週間後、大部分の TRR 相当量が表面洗浄およびメタノール抽出物両方で回収された(それぞれ 43.1 および 48.7%)。その後、表面洗浄の放射能は明らかに減衰したが、洗浄した果皮からの抽出放射能は増加傾向であった。最終試料採取時点(処理 10 週間後)では、表面から TRR の 6.1%が回収されたのみであったが、メタノールおよびメタノール/蒸留水(1:1)の抽出画分は TRR の 71.6%であった。果汁および搾りかすでは、顕著な放射能は検出されなかった(<0.01 mg/kg)ので分析しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

サンプル	総残留放射能濃度					
	1 週間		5 週間		10 週間	
	%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g
果皮	99.7	0.22	98.8	0.25	98.8	0.13
表面洗浄	43.1	0.10	15.6	0.04	6.1	<0.01
メタノール抽出	48.7	0.11	70.2	0.18	65.5	0.09
メタノール/DW 抽出	1.5	<0.01	5.5	0.01	6.1	<0.01
残渣	6.5	0.01	7.5	0.02	21.0	0.03
果汁	0.0	<0.01	0.1	<0.01	0.1	<0.01
搾りかす	0.3	<0.01	1.1	<0.01	1.2	<0.01
合計	100.0	0.22	100.0	0.25	100.0	0.13

残留放射能の同定

果皮における代謝物分析結果を下表に示す。すべての試料採取時間を通じて、洗浄放射能の主要成分はプロフェジン(A) 5.5~42.6% と同定された。処理 1 週間後、プロフェジン(A)の TRR の 42.6%が表面洗浄液に検出されたが、10 週間後には TRR の 5.5%に明らかに減少した。プロフェジン(A)以外の顕著な放射能は表面洗浄液には認められなかった。プロフェジン(A)のわずかな量(0.8~3.0%)のみが、酢酸エチル層および水層両方の抽出物中に検出された。抽出放射能中のプロフェジン(A)以外の放射能は、主に展開溶媒で展開後の TLC 原点に残存する極性代謝物であり、酢酸エチル層および水層でそれぞれ 29.1%および 40.4%であった。

代謝物	記号	総残留放射能濃度					
		1 週間		5 週間		10 週間	
		%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g
洗浄液							
プロフェジン	A	42.6	0.10	15.1	0.04	5.5	<0.01
	F	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.1	<0.01
その他合計		0.5	<0.01	0.2	<0.01	0.5	<0.01
合計		43.1	0.10	15.3	<0.01	6.1	<0.01
果皮抽出(酢酸エチル層)							
プロフェジン	A	2.5	<0.01	3.0	<0.01	2.7	<0.01
	F	0.1	<0.01	0.4	<0.01	0.3	<0.01
	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.2	<0.01
	Q	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	<0.01
その他合計		2.8	<0.01	2.1	<0.01	1.5	<0.01
極性代謝物(原点)		25.0	0.05	29.1	0.07	21.7	0.03
合計		30.3	0.07	34.6	0.09	27.1	0.04
果皮抽出(水層)							
プロフェジン	A	2.0	<0.01	0.9	<0.01	0.8	<0.01
その他		1.7	<0.01	0.5	<0.01	3.3	<0.01
原点物質		16.2	0.04	39.8	0.10	40.4	0.06
合計		19.9	0.04	41.1	0.10	44.5	0.06

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

極性代謝物の特徴付け

抽出物中の極性代謝物を特徴付けるため、TLC 原点にある放射能を、部分的に精製後ジオキサン/12N 塩酸(5/2)で加水分解した。次頁の表に示したように、加水分解された放射能の主要成分は (J)が 20.2~28.4%TRR (G)が 4.7~7.7%TRR および (Q)が 1.2~2.8%TRR と同定された。遊離放射能を除き、酸加水分解後も放射能の TRR の 4.8~12.5%および 10.4~17.6%が TLC 原点または水性残留物として残留した。

代謝物	記号	総残留放射能濃度					
		1 週間		5 週間		10 週間	
		%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g
	J	20.2	0.04	28.4	0.07	24.1	0.03
	G	4.7	0.01	7.7	0.02	6.2	<0.01
	O	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.2	<0.01
	Q	1.3	<0.01	2.6	<0.01	2.8	<0.01
その他合計		0.0	<0.01	0.3	<0.01	4.8	<0.01
極性代謝物(原点)		4.8	0.01	12.5	0.03	9.0	0.01
水性残留物		10.4	0.02	17.6	0.04	15.5	0.02
合計		41.3	0.09	69.1	0.18	62.6	0.09

極性代謝物をさらに特徴付けるため、酵素を用いた選択的加水分解(ペクチナーゼ、セルラーゼおよびグルコシダーゼ)を用いて検討した。反応後、ごくわずかな (Q) (TRR の<1.8%)が 3種の酵素処理後に認められた以外、意味のある放射能は認められなかった。極性展開溶媒(ブタノール/酢酸/蒸留水、8/1/1)を用いた展開では、TLC 原点がペクチナーゼおよびセルラーゼにより部分的に消化された少量の極性成分で構成されることを示した。

抽出後固形物の特徴付け

果皮の抽出後固形物の放射能を、ジオキサン/12N 塩酸(5/2)で加水分解して特徴付けた。遊離放射能の主要成分は (G)が 0.5~4.6% TRR、 (J)が 0.1~2.8% TRR および (Q)が 0.1~1.7%TRR と同定された。遊離放射能を除き、TRR の 4.7~5.4%(<0.01 mg/kg)および TRR の 0.9~5.3%(<0.01 mg/kg)が非抽出物としておよび TLC 原点に残留した。

代謝物	記号	総残留放射能濃度					
		1 週間		5 週間		10 週間	
		%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g	%TRR	μg eq./g
抽出放射能		1.8	<0.01	2.8	<0.01	15.6	0.02
	J	0.1	<0.01	0.2	<0.01	2.8	<0.01
	G	0.5	<0.01	1.3	<0.01	4.6	<0.01
	Q	0.1	<0.01	0.3	<0.01	1.7	<0.01
その他合計		0.1	<0.01	0.0	<0.01	1.3	<0.01
極性代謝物(原点)		0.9	<0.01	1.0	<0.01	5.3	<0.01
非抽出性放射能		4.7	0.01	4.7	0.01	5.4	<0.01

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

実験期間を通じて、プロフェジン処理したレモン果実由来の残留放射能は、主に果皮に分布し(99.7~98.8%)、果汁および搾りかすには有意な残留放射能(<0.01 mg/kg)は認められなかった。下表に果皮における残留放射能の代謝物分析結果をまとめた。処理1週間後 TRR の 47.0%を占めたプロフェジンは、10週間後には TRR の 9.0%に時間依存的に減少した。プロフェジンに続き、TRR の 20.3~28.6 および 5.2~10.8%を占めた

(J)および (G)は極性代謝物(TLC 原点)の酸加水分解物と同定され、極性抱合体 (P)が加水分解され、さらに主にこれら代謝物に分解されたことを示唆した。一方、 (Q)はいずれのサンプリング時点でも TRR の 4.5%未満であった。

代謝物	記号	総残留放射能濃度					
		1 週間		5 週間		10 週間	
		%TRR	$\mu\text{g eq./g}$	%TRR	$\mu\text{g eq./g}$	%TRR	$\mu\text{g eq./g}$
プロフェジン	A	47.0	0.10	18.9	0.05	9.0	0.01
	F	0.1	<0.01	0.4	<0.01	0.3	<0.01
	G	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.2	<0.01
	Q	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.7	<0.01
その他		4.8	<0.01	2.8	<0.01	4.9	<0.01
TLC 原点+残渣から遊離した放射能		43.1	0.09	71.9	0.18	78.2	0.11
	J	20.3	0.05	28.6	0.07	26.9	0.04
	G	5.2	0.01	9.0	0.02	10.8	0.01
	O	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	0.2	<0.01
	Q	1.4	<0.01	3.0	<0.01	4.5	<0.01
その他		0.1	<0.01	0.3	<0.01	6.0	<0.01
極性代謝物		5.6	0.01	13.5	0.03	14.3	0.02
水性残渣		10.4	0.02	17.6	0.04	15.5	0.02
非抽出性放射能		4.7	0.01	4.7	0.01	5.4	<0.01
合計		99.7	0.22	98.8	0.25	98.8	0.13

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

植物における想定代謝分解経路*

* 全ての植物代謝試験結果より申請者が作成

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 土壌中運命に関する試験

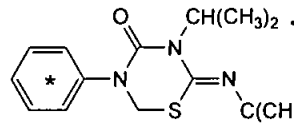
1) ププロフェジンの好氣的土壌中運命試験

(資料 No. M-10)

試験実施機関:

報告書作成年: 1982年(1986年改訂)

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試土壌 :

大阪土壌(洪積土)及び愛媛土壌(洪積土)を用いた。供試した土壌の特性を下表に示す。

項目 \ 土壌	大阪 シルト質埴壤土	愛媛 砂壤土
由来	洪積土(水田)	洪積土(畑地)
砂(%)	20.6	— ^a
シルト(%)	63.1	—
粘土(%)	16.3	20.5
有機物含量(%) ^b	2.7	2.4
陽イオン交換容量 (meq./100g) ^c	7.0	11.0
pH ^d	(H ₂ O)	6.8
	(KCl)	5.0
水分含量(%)	16.0	16.2
最大容水量(%)	38.0	43.0

a: 測定せず

b: Tyurin 法

c: AOAC 法

d: 電位差分析法(ガラス電極法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

方法

処理 ; 12メッシュのふるいを通した土壌、乾土 50 g 相当を広口ガラスビンに入れ、好氣的条件(最大容水量の 60%の水分含量)となるように蒸留水を添加した。
25°Cで2週間プレインキュベーションした後に、[フェニル-¹⁴C]プロロフェジンのアセトン溶液 30.34 kBq(0.820 µCi、125 µg/62.5 µℓ アセトン、最終濃度 2.5 ppm)を添加した。
容器は揮発性放射能を捕捉するためにウレタンフォームで蓋をした。

試料の採取 ; [フェニル-¹⁴C]プロロフェジン処理した土壌は、25°Cでインキュベートし、処理直後、10、30、90 及び 150 日後に土壌を取り出し、分析に供した。

放射能の抽出および測定;

代謝分解物の分析;

結果

放射能の推移 ; [フェニル-¹⁴C]プロロフェジンを添加した好氣的条件における土壌中放射能の推移を下表に示した。

画分	添加放射能に対する割合(%)							
	大阪土壌				愛媛土壌			
	10日	30日	90日	150日	10日	30日	90日	150日
アセトン/メタノール	95.5	88.1	75.6	67.5	87.2	73.7	48.7	39.7
メタノール/2N NaOH	1.6	3.6	5.9	6.7	2.1	2.6	8.6	12.0
非抽出性	1.9	4.1	6.1	12.2	4.1	9.0	14.5	16.3
揮発性有機物	0.1	0.3	0.3	0.7	0.2	0.7	1.6	3.1
合計	99.0	96.2	88.0	87.1	93.8	86.0	73.6	71.1

大阪土壌及び愛媛土壌共に、アセトン/メタノール抽出画分の放射能量が最も多かった。この放射能は経時的に減少し、大阪土壌及び愛媛土壌においてそれぞれ、処理 150 日後には 67.5%及び 39.7%となった。メタノール/2N NaOH

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

抽出画分並びに非抽出性画分は経時的に増加し、大阪土壌及び愛媛土壌において処理 150 日後には、それぞれ 6.7%及び 12.2% 並びに 12.0% 及び 16.3% となった。

揮発性有機物は、大阪土壌及び愛媛土壌において処理 150 日後には、それぞれ 0.7%及び 3.1%となった。

放射能回収率は経時的に減少し、大阪土壌及び愛媛土壌において処理 150 日後には 87.1%及び 71.1%となった。分析操作中の放射能の損失は認められなかったため、放射能回収率の低下はポリウレタンフォームにトラップされない揮発性物質、恐らくは CO₂に起因するものと考えられた。

代謝分解物の分析： 土壌抽出液中の代謝分解物を同定し、定量した結果を下表に示した。

代謝分解物	添加放射能に対する割合(%)							
	大阪土壌				愛媛土壌			
	10日	30日	90日	150日	10日	30日	90日	150日
ブプロフェジン(A)	92.4	84.6	73.2	64.1	82.6	67.1	42.6	30.5
(B)	0.1	0.3	<0.1	<0.1	0.3	0.4	0.6	0.1
(E)	0.3	1.1	0.7	0.4	0.5	1.5	0.2	0.2
(F)	ND ^a	0.7	<0.1	0.4	0.4	0.7	0.8	0.6
(G)	0.6	0.4	1.1	0.8	0.4	0.9	1.8	1.0
その他 ^b	1.0	3.1	1.5	1.7	1.5	3.6	1.8	1.8

a: 検出されず

b: 未同定代謝分解物の総和

土壌中の代謝分解物としては、未変化体であるブプロフェジン(A)に加えて、(B)、(E)、(F)及び(G)が同定された。

放射能の大部分はブプロフェジンであり、多種の代謝分解物は検出されたものの、その多くは添加放射エネルギーの 1%以下であり、主要な代謝分解物においても、添加放射エネルギーの 5%以下と僅かであった。

ブプロフェジンの添加放射エネルギーに対する割合は、大阪土壌及び愛媛土壌において処理 150 日後で、それぞれ、64.1%及び 30.5%であった。

代謝分解半減期： ブプロフェジンの代謝分解半減期は、大阪土壌では 220 日、愛媛土壌では 80 日であった。

結論： 大阪土壌及び愛媛土壌を用いた好氣的条件下での土壌代謝試験において、[フェニル-¹⁴C]ブプロフェジンは半減期(T_{1/2})80~220 日で代謝分解された。主な代謝分解物は、(B)、(E)、(F)及び(G)であり、さらに多種の未同定代謝分解物も検出された。添加放射エネルギーの 5%を超える代謝分解物はなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

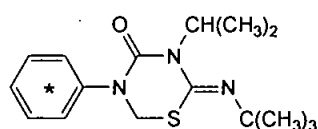
2) ププロフェジンの好氣的湛水土壤中運命試験

(資料 No. M-10)

試験実施機関:

報告書作成年: 1982年(1986年改訂)

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試土壌 : 大阪土壌(洪積土)、愛媛土壌(沖積土)、及び栃木土壌(火山灰土)を用いた。
供試した土壌の特性を下表に示した。

土壌 項目	大阪 シルト質埴壤土	愛媛 シルト質埴壤土	栃木 シルト質壤土
由来	洪積土(水田)	沖積土(水田)	火山灰土(水田)
砂(%)	20.6	23.0	27.4
シルト(%)	63.1	58.1	59.6
粘土(%)	16.3	13.9	13.0
有機物含量(%) ^a	2.7	3.8	14.9
陽イオン交換容量 (meq./100g) ^b	7.0	11.6	35.2
pH ^c (H ₂ O)	6.8	6.4	5.9
(KCl)	5.0	4.7	5.0
水分含量(%)	16.0	22.0	42.2
最大容水量(%)	38.0	72.4	127.0

a: Tyurin 法

b: AOAC 法

c: 電位差分析法(ガラス電極法)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

方法 :

a) [フェニル-¹⁴C]プロフェジンの土壌中代謝分解

処理 ; 12メッシュのふるいを通した土壌 50 g(乾土相当)を広口ガラスビンに入れ、好氣的湛水条件(水深 1.5 cm)となるように蒸留水を添加した。25°Cで2週間ブレインキュベートした後に、[フェニル-¹⁴C]プロフェジンのアセトン溶液 19.4 kBq(0.525 µCi、80 µg/40 µl アセトン)を添加した(最終濃度 1.6 ppm)。容器は揮発性放射能を捕捉するためにウレタンフォームで蓋をした。

試料の採取 ; [フェニル-¹⁴C]プロフェジンを処理した土壌は、25°Cでインキュベーションし、処理直後、10、30、90 及び 150 日後に土壌を取り出し、分析に供した。

放射能の抽出および測定;

代謝分解物の分析;

b) [フェニル-¹⁴C]プロフェジンの土壌における CO₂ への代謝分解

処理 ; 大阪土壌 250 g(乾土相当)を 1 L 容の三角フラスコに入れて、好氣的湛水状態(水深 1.5 cm)となるように蒸留水を添加した。25°Cで2週間ブレインキュベーションした後に、[フェニル-¹⁴C]プロフェジンのアセトン溶液を、97.1 kBq (2.625 µCi、200 ppm のアセトン溶液 2 ml)を添加した(最終濃度 1.6 ppm)。容器は揮発性放射能及び CO₂を捕捉するためにウレタンフォームと 2N水酸化ナトリウム水溶液 50 mlのトラップを連結し、1ヶ月毎に交換した。

試料の採取 ; [フェニル-¹⁴C]プロフェジンを処理した土壌は、25°Cでインキュベートし、10、30、60、90、120、及び 150 日後にトラップに捕捉された放射能を分析した。

放射能の抽出および測定; ポリウレタンフォームに捕集された放射能はメタノールで抽出し、LSCで放射能を測定した。2N水酸化ナトリウム水溶液に捕集された放射能は直接 LSCで放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果

a) [フェニル-¹⁴C]プロフェジンの土壌中代謝分解

放射能の推移 ; [フェニル-¹⁴C]プロフェジンを添加した好氣的湛水条件における土壌中放射能の推移を下表に示した。

画分	添加放射能に対する割合(%)											
	大阪土壌				愛媛土壌				栃木土壌			
	10日	30日	90日	150日	10日	30日	90日	150日	10日	30日	90日	150日
田水	5.5	3.2	0.6	0.2	5.0	2.9	1.4	0.2	4.8	2.4	0.3	0.2
アセトン/メタノール	89.7	81.8	64.4	35.6	85.2	84.4	68.3	38.5	83.7	78.8	68.2	59.4
メタノール/2N NaOH	2.0	2.2	6.4	11.7	2.3	4.4	3.7	8.5	1.2	4.1	11.2	5.3
非抽出性	1.5	2.4	5.4	9.5	1.3	2.3	3.0	9.4	1.2	4.7	7.9	17.4
揮発性有機物	1.5	3.8	3.3	2.6	1.6	4.2	8.2	7.7	1.9	2.4	3.7	3.3
合計	100.2	93.4	80.0	59.8	95.5	98.1	84.6	64.6	92.8	92.4	91.4	85.6

好氣的湛水条件における田水中の放射能は、処理 10 日後に約 5%となり、以降は経時的に減少した。

3 種土壌において、アセトン/メタノール抽出画分の放射エネルギーが最も多かった。この放射能は経時的に減少し、処理 150 日後には 35.6%~59.4%となった。メタノール/2N NaOH 抽出画分及び非抽出性画分は経時的に増加し、処理 150 日後には、各々 5.3%~11.7%及び 9.4%~17.4%となった。

揮発性有機物は、処理 150 日後には、2.6%~7.7%となった。放射能回収率は経時的に減少し、処理 150 日後には 59.8%~85.6%となった。分析操作中の放射能の損失は認められ無かったので、放射能回収率の低下はポリウレタンフォームにトラップされない揮発性物質、恐らくは CO₂に起因するものと考えられた。

代謝分解物の分析 ; 田水及び土壌抽出液中の代謝分解物の同定・定量結果を下表に示した。

代謝分解物	添加放射能に対する割合(%)											
	大阪土壌				愛媛土壌				栃木土壌			
	10日	30日	90日	150日	10日	30日	90日	150日	10日	30日	90日	150日
プロフェジン(A)	92.2	83.1	60.5	36.1	87.5	83.8	46.1	36.5	83.3	75.1	66.3	53.0
(B)	<0.1	0.4	0.6	0.1	0.3	0.6	0.8	0.3	0.2	0.4	1.0	0.3
(F)	0.3	0.4	0.4	<0.1	0.4	0.1	ND ^b	0.1	0.4	0.9	0.7	0.7
(G)	0.2	0.5	0.7	0.2	0.2	0.2	0.5	0.4	0.3	1.4	1.9	2.7
(J)	<0.1	<0.1	0.5	0.3	<0.1	0.8	ND	0.1	0.6	2.5	3.0	3.2
その他 ^a	1.5	1.0	1.4	0.8	1.2	1.3	0.6	0.7	2.0	2.4	2.0	3.2

a: 未同定代謝分解物の総和

b: 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

土壌中の代謝分解物としては、未変化体であるプロフェジン(A)に加えて、(B)、(F)、(G)及び(J)が同定された。

放射能の大部分はプロフェジンであり、多種の代謝分解物は検出されたものの、その多くは添加放射エネルギーの1%以下であり、主要な代謝分解物においても、添加放射エネルギーの5%以下と僅かであった。

プロフェジンの添加放射エネルギーに対する割合は、処理150日後において、36.1%(大阪土壌)、36.5%(愛媛土壌)、及び53.0%(栃木土壌)であった。

代謝分解半減期：プロフェジンの代謝分解半減期($T_{1/2}$)は、大阪土壌では110日、愛媛土壌では95日、栃木土壌では150日であった。

b) [フェニル- 14 C]プロフェジンの土壌における CO_2 への代謝分解

放射能の定量：大阪土壌における、好氣的湛水条件下での[フェニル- 14 C]プロフェジンの CO_2 への分解生成量を下表に示した。

大阪土壌(好氣的湛水条件)

	添加放射能に対する割合(%)					
	0-10日	0-30日	0-60日	0-90日	0-120日	0-150日
CO_2 生成量	0.3	0.7	1.4	2.8	5.6	17.4

プロフェジンは、好氣的湛水条件下で CO_2 へと代謝分解された。その生成量は経時的に増加し、処理150日目では添加放射エネルギーの17.4%に達した。

結論

：大阪、愛媛、及び栃木土壌を用いた好氣的湛水条件下での土壌代謝試験において、[フェニル- 14 C]プロフェジンは半減期($T_{1/2}$)95~150日で代謝分解された。主な代謝分解物は、(B)、(F)、(G)及び(J)であり、さらに多種の未同定代謝分解物も検出された。添加放射エネルギーの5%を超える代謝分解物はなかった。一方、 $^{14}CO_2$ の生成は顕著であり、大阪土壌を用いた好氣的湛水条件下において、経時的に増加し、処理150日目では添加放射エネルギーの17.4%に達した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ブプロフェジンの嫌氣的土壤中運命試験

(資料 No. M-11)

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

土壌中における代謝・分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4. 水中運命に関する試験

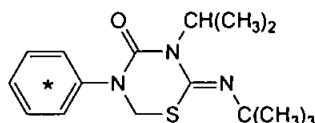
4.1 加水分解運命試験

(資料 No. M-12)

試験実施機関:

報告書作成年: 1995年 [GLP 対応]

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロポフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ
-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロポフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試水溶液 : 0.025M 酢酸ナトリウム(pH 5)、0.025M リン酸カリウム(pH 7)、及び 0.0125M ホウ酸ナトリウム(pH 9)緩衝液。各緩衝液は 0.22 µm のフィルターを通し濾過滅菌を行なった。

方法 :

試験溶液 : [フェニル-¹⁴C]プロポフェジンのジメチルホルムアミド (DMF) 溶液(32.2 µg/ml) 1 mlを上記の緩衝液 100 mlに添加し、プロポフェジン最終濃度 0.32 µg/ml の試験溶液を調製した(DMF の最終濃度は 1%)。

分解期間 : 30 日間(オートクレーブ滅菌した容器中、遮光下)

試験温度 : 25±1°C

分析方法 :

半減期の算出 : 添加放射エネルギーに対する母化合物の残存率の対数変換値を反応時間に対して最小二乗法により回帰し、得られた反応速度定数から半減期を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果

分解生成物及び回収率：全ての試料において処理放射能の 95.3%~100.9%が回収された。また、この良好なマスバランス結果から、揮発性分解物の生成がないことが示された。HPLC 分析結果を下表に示す。

pH 5	添加放射能に対する割合(%)							
	0日	1日	3日	7日	10日	14日	21日	30日
ブプロフェジン(A)	96.7	95.6	93.4	87.6	84.9	80.2	73.8	63.9
(F)	0.0	0.0	0.0	0.3	0.0	0.4	0.6	0.8
(G)	0.2	0.6	0.4	1.1	1.8	3.4	5.9	9.9
(O)	0.2	1.4	3.6	7.4	9.9	12.3	15.5	19.0
未同定分解物4	0.0	0.0	0.0	0.7	0.5	1.2	1.8	2.8
合計	97.1	97.6	97.4	97.1	97.1	97.5	97.6	96.4

pH 7	添加放射能に対する割合(%)		
	0日	15日	30日
ブプロフェジン(A)	97.1	95.6	91.9
(F)	0.0	0.6	1.6
(O)	0.0	0.6	1.0
未同定分解物4	0.0	0.5	1.1
合計	97.1	97.3	95.6

pH 9	添加放射能に対する割合(%)		
	0日	15日	30日
ブプロフェジン(A)	97.7	95.4	92.7
(F)	0.0	1.5	2.5
未同定分解物4	0.0	0.5	0.9
合計	97.7	97.4	96.1

ブプロフェジンは pH 5 の酸性条件下で比較的加水分解されやすく、チアジアジナン環が開裂した (O) が主分解物として生成した。その他の分解生成物としては、チオビウレット体がさらに分解を受けたと考えられる (F) 及び (G) が同定された。

中性(pH 7) 及びアルカリ性(pH 9) 条件下では、ブプロフェジンは安定であり 30 日後でも 90%以上が未変化体として存在していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

半減期 ; 各緩衝液中でのプロフェジンの分解速度定数及び半減期を下表に示した。

pH	分解速度定数(日 ⁻¹)	相関係数(r^2)	半減期(日)
pH 5	0.01362	0.9978	51
pH 7	0.00183	0.9409	378
pH 9	0.00175	0.9971	396

以上の結果から推定される、プロフェジンの水中加水分解経路を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

加水分解における推定分解経路

4.2 水中光分解運命試験

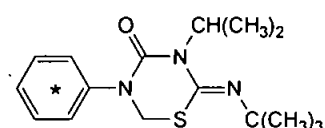
1) 水中光分解運命試験

(資料 No. M-13)

試験実施機関:

報告書作成年: 2006 年 [GLP 対応]

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試水 : 試験には、OECD Draft Test Guideline (Phototransformation of Chemicals in Water – Direct and Indirect Photolysis, 2000) 及び OPPTS 835.5270: Indirect Photolysis Screening Test (EPA) を参考に調製したフミン酸溶液を自然水として供試した。フミン酸ナトリウムは 10 mM リン酸緩衝液 pH7 (KH₂PO₄/NaOH) に溶解した。溶液に 3 日間光照射した後、メンブレンフィルターを用いて濾過滅菌し、370 nm の吸光度を指標にして、最終フミン酸濃度が 5 ppm (±10%) となるように、滅菌したリン酸緩衝液で希釈した。

光源 : キセノン/アークランプ (波長 290 nm 以下の短波長紫外線吸収フィルター使用)。

光強度 : 528 W/m² (波長範囲 300-800 nm)

方法 :

試験溶液 : [フェニル-¹⁴C]プロプロフェジンの DMF 溶液 10 μL を供試水 8 mL に添加し、最終プロプロフェジン濃度を 0.193 mg/L 試験液となるように調製した (DMF 濃度 0.125%、v/v)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 光照射 : 試験溶液を石英ガラス板で密封した円筒形ガラス製容器内に封入し、
25±2°Cの恒温槽内で、石英ガラス面を通して光照射した。遮光区(6日間のみ設定)は試験溶液が封入されたガラス容器全体をアルミホイルで覆った。
- 照射時間 : 0、1、2、3、4、5 及び 6 日間の光照射を行なった。
- 分析 :

半減期の算出 : 添加放射能に対する母化合物の残存率の対数変換値を光照射時間に対して最小二乗法により回帰し、得られた反応速度定数から半減期を算出した。また、光源として用いたキセノンアークランプの分光照射照度及び、太陽光の分光照射照度の比を実験的に求めた半減期に乘じ、自然太陽光下(北緯35° [東京]、春 [4月~6月])における推定半減期を求めた。但し、太陽光の分光照射照度は、東京における4月~6月の全天日射量の累年平均値をJISに規定された基準太陽光の分光放射照度分布により補正して算出した。

結果 :

放射能の回収 : 試験水から回収された放射能の添加量に対する割合を次頁表に示す。水中の放射能は酢酸エチルにより定量的に抽出され、添加放射能の87.0~98.5%が酢酸エチル抽出画分より回収された一方、抽出後の水中には最大で7.2%が残存するのみであった。酢酸エチルおよび水面分中放射能を合せた総放射能回収率は93.4~98.8%であり、反応過程における放射能の明らかな損失は認めなかった。また、遮光区試料中の放射能は95.3%が酢酸エチル抽出画分に回収され、水層を合せた総回収率は96.0%であった。

放射能の分析 : 酢酸エチル抽出画分中放射能のTLC/RLGによる定量結果を次頁表に示した。照射開始時において添加放射能の98.5%を占めたブプロフェジンは、光照射下で減衰し、6日後(太陽光換算で32.0日)では、添加放射能の74.7%となった。主な分解物として (N)が生成したが、その量は照射6日後においても、4.9%に過ぎなかった。その他、微量の分解生成物として、 (M)、 (F)、 (E)、 (J)及び5種類の未同定分解物が生成した。遮光区においては何れの分解物も検出されないことからブプロフェジンの水中における分解の主な要因は光によるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

項目	添加放射能に対する割合(%)							
	0	1	2	3	4	5	6	6(遮光)
酢酸エチル層	98.5	95.1	89.9	83.5	80.7	73.4	74.7	95.3
(A)	98.5	93.2	89.9	83.5	80.7	73.4	74.7	95.3
(E)	ND ^a	ND	0.4	0.4	0.5	0.6	0.5	ND
(F)	ND	ND	0.5	0.7	0.5	0.6	0.6	ND
(J)	ND	ND	ND	ND	0.2	0.3	0.4	ND
(M)	ND	0.8	1.2	1.5	1.4	2.3	2.8	ND
(N)	ND	0.7	1.3	2.6	2.7	4.2	4.9	ND
未同定分解物*	ND	0.2	1.9	2.4	3.1	4.8	4.6	ND
原点	ND	0.2	0.4	0.6	0.8	0.8	0.8	ND
水層	0.3	1.6	2.6	4.1	4.7	6.4	7.2	0.7
合計	98.8	96.7	98.2	95.8	94.6	93.4	96.5	96.0

a: 5種未同定放射能の合計

b: 検出されず

半減期 ; 被験物質の初期濃度に対する百分率の対数値は照射日数と良好な直線関係を有し、相関係数(R^2)は0.97となった。この結果から水中光分解反応は擬一次反応と判断された。光照射下における被験物質の消失速度定数(K)は0.051/dayであり、ここから算出された半減期は13.7日であった。これは東京における4~6月の平均全天日射量に換算すると、73日(300-800 nmの積算放射照度を基に算出)に相当した。

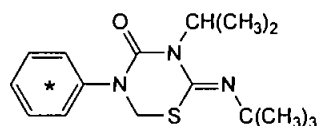
2) 蒸留水中での光分解試験

(資料 No. M-14)

試験実施機関:

報告書作成年: 1985年(1986年改訂)

供試標識化合物 :



[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン (以下[フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン)

比放射能 :

放射化学的純度 :

供試水 : 脱イオン蒸留水

光源 : 自然太陽光

方法 :

試験溶液 : [フェニル-¹⁴C]プロプロフェジン (59.6 kBq (1.61 μCi)/21.69 μg) を供試水 216 ml に超音波処理しながら溶解し、0.1 ppm の試験溶液を調製した。試験溶液は細孔径 0.45 μm のミリポアフィルターで濾過滅菌した。

光照射 : 試験溶液 10 ml を石英ガラス試験管にとり、栓をし、30 日間自然太陽光下に静置した。照射期間は 1984 年 5 月 31 日～6 月 30 日であった。対照として試験管をアルミホイルで覆った遮光区を設けた。

分析 :

半減期の算出 : 添加放射能に対する残存率の対数変換値及び照射時間を用いて最小二乗法により、算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

結果 : 分析結果を下表に示す。総回収率は 94.9~107.1%と良好であった。

分解生成物	添加放射能に対する割合 (%)				
	照射時間(日)			遮光区(日)	
	0	10	30	10	30
ブプロフェジン(A)	93.1	77.9	55.0	91.2	92.6
(B)	0.1	0.5	0.7	0.3	0.4
(E)	0.5	<0.1	0.8	0.8	0.7
(F)	2.2	1.2	1.3	2.5	2.4
(G)	<0.1	0.5	0.9	0.5	1.0
(I)	<0.1	0.4	0.5	<0.1	<0.1
(J)	<0.1	1.1	0.9	<0.1	<0.1
(M)	<0.1	0.5	0.7	<0.1	<0.1
(N)	3.5	5.9	9.7	3.8	4.2
(O)	<0.1	0.5	0.8	<0.1	<0.1
その他 ^a	<0.1	10.2	15.5	3.9	5.5
回収率	100.1	103.9	94.9	103.5	107.1

a: 未同定および非抽出分解物の合計

以上の結果からブプロフェジンの自然太陽光下、蒸留水中での半減期は 33 日と算出された。主な分解生成物は (N)であった。

(N)は太陽光、遮光両条件下で検出されたが、太陽光下での割合が 0 日及び遮光下のほぼ 2 倍であったので太陽光によって生成が促進されたものと判断された。

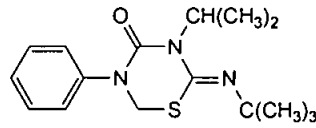
3) 自然水中での光分解試験

(資料 No. M-15)

試験実施機関:

報告書作成年: 2000 年 [GLP 対応]

供試化合物



ブプロフェジン

化学名

: 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ
-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン

放射化学的純度

:

供試水

: 自然水(池水)

採取場所

: まさんだ池/河内長野市小山田町

採水日

:

水質

: pH 7.3(25°C)
電気伝導度 179 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ (22°C)

調製

: 使用前にメンブランフィルター(細孔径 0.45 μm)で濾過滅菌し、窒素ガスを 5
分間通気した。

光源

: キセノン/アークランプ、フィルター(280nm 以下カット)を使用。

光量

: 15.9~22.1 W/m^2 (280~500 nm)

方法

:

試験溶液

: ブプロフェジンのアセトニトリル溶液(100.8 mg/ℓ)、0.5 mL を供試水に添加し
て 250 mL に定容し、0.2016 mg/ℓ の試験溶液を調製した(アセトニトリル濃度
は 0.2%)。

光照射

: 試験溶液を石英ガラス試験管にとり、密栓をし、 $25\pm 3^\circ\text{C}$ の恒温槽内に静置
し、光照射した。対照として試験管をアルミホイルで覆った遮光区を設けた。

照射時間

: 7 日間照射した。

分析

:

半減期の算出

: 添加量に対する残存率および照射時間を用いて最小二乗法により光分解速
度定数を求め、算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結果 : 分析結果を下表に示す。

試験区	残存率(%)					
	照射時間(日)					
	0	1	4	5	6	7
照射区	100.0	92.3	80.6	77.0	74.5	70.4
遮光区	100.0	100.0	98.9	97.3	97.3	100.5

光分解速度定数と半減期を下表に示す。

光分解速度定数(日 ⁻¹)	半減期(日)
0.04796	14

以上の結果からブプロフェジンの 25℃における自然水中での半減期は 14 日 (15.9~22.1 W/m²、280~500nm)と算出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

水中における光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

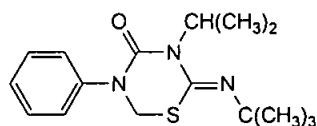
5. 土壌吸着性試験

(資料 No. M-16)

試験実施機関:

報告書作成年: 1991 年

供試化合物



ブプロフェジン

化学名

: 2-tert-ブチルイミノ-3-イソプロピル-5-フェニル-3,4,5,6-テトラヒドロ
-2H-1,3,5-チアジアジン-4-オン

純度

:

供試土壌

: 土壌の特性を下表に示す。

項目		北海道土壌	新潟土壌	茨城土壌	鹿児島土壌
採取場所		上川農試植調	植調新潟試験地	植調牛久圃場	植調鹿児島
土壌群名		暗色表層 褐色低地土	沖積固結 強グライ土	洪積埴壤土	シラス混入 灰褐色土
土性		軽埴土	軽埴土	軽埴土	砂壤土
組成	砂%	44.0	24.4	39.8	71.7
	シルト%	30.4	44.5	24.0	13.6
	粘土%	25.6	31.5	36.2	14.7
有機炭素含有率 (%)		4.67	1.23	2.83	1.75
pH	(H ₂ O)	5.8	6.6	6.4	6.2
	(KCl)	5.4	5.4	5.7	5.5
陽イオン交換容量		22.0	21.5	22.9	8.9
リン酸吸収係数		1140	790	920	430
粘土鉱物の種類		カオリン鉱物 クロライト モンモリロナイト	カオリン鉱物 モンモリロナイト	ハロイサイト	ハロイサイト

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 方法 :
- 試験溶液 : 0.440、0.332、及び 0.220 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調製したブプロフェジンの 0.01M CaCl_2 溶液
- 吸着操作 : 遠沈管に試験土壌(風乾細土)5 g を秤り取り、純水 5 ml を加え、一夜放置した。試験溶液 20 ml をそれぞれ遠沈管内に加えて密栓後、25°C、遮光下で 6 時間振とうした。振とう終了後、3000 rpm で 15 分間遠心分離を行い、上澄液より適当量を分取し、ヘキサン抽出後、ガスクロマトグラフィーで定量した。
- 結果 : フロイドリッヒの吸着等温式から土壌吸着定数を求めた。但し、鹿児島土壌を除く 3 土壌については、吸着平衡試験を試みたところ、土壌吸着性が強く、水層に残存する濃度が検出限界値と同レベルのため、高次試験の実施は不可能であった。鹿児島土壌における計算結果を下表に示した。

供試土壌	1/n	K_F	r	OC(%)	K_{FOC}
鹿児島土壌	0.831	39.1	0.974	1.75	2230

1/n, K_F , r : フロイドリッヒの吸着等温式における定数項と相関係数

OC(%) : 有機炭素含有率

K_{FOC} : K_F 値を有機物炭素含有率で除し求めた土壌吸着定数

以上の結果、ブプロフェジンの 25°C での鹿児島土壌における土壌吸着定数は 2230 であった。

6 生物濃縮性

1) ブルーギルサンフィッシュを用いた魚類濃縮性試験

(資料 No.1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1996年

被験物質: プロフェジン標識化合物

供試生物: ブルーギルサンフィッシュ (学名 *Lepomis macrochirus*)
体長: 3.1 ± 0.3 cm、体重: 0.845 ± 0.306 g (平均値±標準偏差)
一群各 6 匹(3 匹; 魚体全体、3 匹; 可食部および非可食部の分析用)、

方 法:

暴露条件: 流水式(試験水の置換サイクルは 10.1 回/24 時間)

試験期間: 取込 14 日間

排泄 7 日間

試験水濃度: 設定値: 0.04 mg/ℓ、実測値 $0.037 \sim 0.062$ mg/ℓ(平均 0.047 ± 0.009 mg/ℓ)

試験水の調製: ジメチルホルムアミド(DMF)に溶解した ^{14}C -被験物質を 0.04 mg/ℓになるように井戸水に注入した(DMF の最終濃度 0.1 mg/ℓ)。溶媒対照区は同様に DMF を 0.1 mg/ℓになるように井戸水に注入した。

試験装置: ガラス製の 112ℓ 容の水槽(サイズ: $75\text{cm} \times 29\text{cm} \times$ 深さ 45.7cm)に、試験水が 7ℓ 入るように調整し、ガラス板で蓋をした。

環境条件: 試験水温度は $22 \pm 2^\circ\text{C}$ に保ち、昼白色蛍光灯(照度: 150 ± 25 フートキャントル)を 16 時間明/8 時間暗で点灯した。

観察および測定: 魚の生死、外観および行動の異常を毎日観察した。試験液の溶存酸素、pH、伝導度を 2~3 日間隔で計 10 回測定した。井戸水のアルカリ度、硬度、伝導度、pH、溶存酸素および温度は計 4 回測定した。

分析試料の調製: 魚は取込期間の 0、1、2、4、7、10、11、14 日、および排泄期間の 0、1、3、7 日に各 6 匹をサンプリングした。3 匹は魚体全体を、3 匹は非可食部(ヒレ、頭部、内臓)および可食部(身、肉、皮膚および骨)に分けた。各試料は 3 匹まとめてドライアイスで凍結し、粉碎した。取込 11 および 14 日に、各 45 匹を代謝物の分析用にサンプリングし、可食部および非可食部に分けた。

魚体中被験物質の分析:

結 果:

(1) 魚体中の総放射能濃度:

試験区 (mg/l)	魚体 部位	魚体中の総放射能濃度 (mg eq./kg)									
		取込期間 (日)							排泄期間 (日)		
		1	2	4	7	10	11	14	1	3	7
0.04	全体	15.3	16.1	20.3	24.7	32.3	24.0	23.9	3.43	0.84	0.44
	可食部	3.42	1.93	3.27	3.26	4.43	N.S	3.19	0.74	0.49	0.25
	非可食部	23.3	18.5	23.4	38.9	44.5	N.S	30.7	5.64	1.33	0.36

N.S: サンプルなし

魚体中の総放射能濃度は、取込7日で定常状態に達した。その時の総放射能濃度は魚全体、可食部および非可食部で各々24.7、3.26および38.9mg eq./kgであった。

(2) 試験水中の総放射能濃度:

試験区 (mg/l)	試験水中の総放射能濃度 (mg eq./l)										
	取込期間 (日)								排泄期間 (日)		
	0	1	2	4	7	10	11	14	1	3	7
0.04	0.037	0.040	0.039	0.041	0.046	0.046	0.046	0.047	0.00	0.00	0.00

試験水中の総放射能濃度は、7日で定常状態に達した。その時の総放射能濃度は、0.046mg eq./Lであり、取込期間中の平均水中濃度は0.047mg eq./lであった。取込7日の試験水をGC-NPDで分析した結果、被験物質濃度(プロフェジン)は、総放射能濃度の約2/3を占め、残りの1/3は魚が排泄する代謝物に由来するものと考えられた。

(3) 濃縮係数:

1) BCF_{ss}

取込日数 (日)	濃縮係数		
	魚全体	可食部	非可食部
0	ND	ND	ND
1	382	86	582
2	413	49	474
4	495	80	571
7	537	71	846
10	ND	ND	ND
11	522	ND	ND
14	509	68	653
平均値*	476	71	625

ND:測定せず *:申請者が算出

取込14日間の濃縮係数(BCF_{ss})の最大値は、魚全体、可食部および非可食部で各々537、86および846であった。

<申請者註>

取込14日間の濃縮係数(BCF_{ss})の平均値は、魚全体、可食部および非可食部で各々476、71および625であった。

2) BCF_k

試験区 (mg/l)	取込速度定数 (k ₁)	排泄速度定数 (k ₂)	排泄半減期 (t _{1/2})	90%定常状態に 達する時間	濃縮係数 (BCF _k)
0.04	633.1 l/kg/日	1.4日	0.5日	1.7日	464±58

総放射能濃度を用い、モデルプログラム(BIOFAC)で計算した結果、魚体全体の濃縮係数(BCF_k)は464であった。

(4) 観察: 取込および排泄期間に、魚の生死、外観および行動に異常はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(5) 魚体中代謝物の分析

代謝物	魚体中総放射能に対する割合 (%)			
	取込 11 日		取込 14 日	
	可食部	非可食部	可食部	非可食部
プロフェジン BF1	37.2	15.5	26.6	14.8
BF12	7.0	2.0	6.0	1.5
BF4-1	33.9	63.9	41.3	66.5
BF4-2	10.0	13.1	9.8	12.2
未同定代謝物	0.0	2.1	1.4	1.6
抽出残渣	11.9	3.4	15.0	3.4
合計	100(4.26)	100(33.8)	100(5.08)	100(33.7)

()内は総放射能濃度(mg eq./kg)

魚体中の放射能は可食部で83%および非可食部で95%以上が同定され、未変化体プロフェジン(A)は可食部で26.6~37.2%および非可食部で14.8~15.5%を占めた。

主代謝物はAのメチル基の1個が水酸化されたBF4のグルクロナイド抱合体BF4-1であり、BF4-2もBF12をアグリコンとする抱合体と推察された。Aのチアジアジン環が開裂した加水分解物であるBF12は、可食部で6~7%検出された。

以上より、プロフェジンは魚体組織中に容易に蓄積し、魚体全体の生物濃縮係数(BCF_k)は464であった。蓄積は主として非可食部への蓄積であり、魚体組織中から急速に排泄されるものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農業株式会社にある。

代謝分解試験のまとめ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農業株式会社にある。

動・植物体内、土壌中、水中、および光によるブプロフェジンの代謝・分解

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任日本農薬株式会社にある。

代謝分解の概要 その1:動物代謝関連-1

代謝分解の概要 その2:植物代謝関連-1

C-118-1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農業株式会社にある。

代謝分解の概要 その3: 植物代謝関連-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任日本農薬株式会社にある。

代謝分解の概要 その4: 土壌代謝・水中分解関連-1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

付表：プロフェジンの開発年表