

(6) フラメトピル 50%水和剤 (商品名: リンバー顆粒水和剤)

①フラメトピル 50%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製6-1)

試験機関: 株式会社 DIMS 医科学研究所

報告書作成年: 2005年 (GLP 対応)

検 体: フラメトピル 50%水和剤 (商品名: リンバー顆粒水和剤)

組 成:

供試動物: Crj:CD (SD) IGS 系雌ラット、8~9 週齢、体重; 1 回目投与群 185~200 g、

2 回目投与群 194~208 g、3 回目投与群 196~207 g、1 群雌 3 匹

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁させ、約 16 時間絶食させたラットに単回強制経口投与した。

投与液量は 20 mL/kg とした。1 回目投与として、雌 3 匹に 2000 mg/kg を投与したところ、3 例全例が死亡したため、2 回目投与として雌 3 匹に 300 mg/kg を投与した。2 回目投与においては死亡例を認めなかったことから、3 回目投与として、雌 3 匹に 300 mg/kg を投与した。

観察・検査項目: 一般状態および生死を 14 日間観察した。

体重は被験物質投与直前、投与後 1、3、5、7 および 14 日に測定した。

途中死亡動物、観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的病理検査を実施した。肉眼的異常病変部位については、病理組織学的検査を行った。

結 果:

投与方法	経口
性別	雌
投与量 (mg/kg)	300、2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	300 < LD ₅₀ ≤ 2000
死亡開始時間及び終了時間	投与翌日から開始、 投与後 2 日に終了
症状発現時間及び消失時間	投与後 5 分から発現、 生存例では投与翌日に消失
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	300

2000 mg/kg 群では投与後 2 日までに全例が死亡し、一般状態では、全例で歩行異常、腹臥、低体温が認められ、2 例に瀕死状態が認められた。また、剖検において 2 例に胃の暗赤色点を多数認め、病理組織学的所見では腺胃の糜爛が認められた。300 mg/kg 群では、死亡は認められず、歩行異常ないしは不活発が認められた。体重および剖検では、検体投与の影響は認められなかった。

②フラメトピル 50%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製6-2)

試験機関：株式会社 DIMS 医科学研究所

報告書作成年：2005年 (GLP 対応)

検 体：フラメトピル 50%水和剤 (商品名：リンバー顆粒水和剤)

組 成：

供試動物：Crj:CD (SD) IGS 系雌雄ラット、雄 7 週齢、雌 8~9 週齢、

体重；雄 262~283 g、雌 227~256 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：粉碎し少量の蒸留水で湿らせた検体を、ラットの剪毛した背部皮膚 (約 20 cm²) に 2000 mg/kg の用量で塗布し、ガーゼで覆った後、非刺激性テープで 24 時間閉塞した。24 時間後、蒸留水を含ませた脱脂綿で皮膚に付着している検体を拭き取った。

観察・検査項目：一般状態および生死を 14 日間観察した。

体重は投与直前、投与後 3、7 および 14 日に測定した。

観察期間終了時に生存していた全ての動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共；2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄共；> 2000
死亡開始時間及び終了時間	雌雄共；死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	雌雄共；発現例なし
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共；2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共；2000

死亡は認められず、一般状態、体重および剖検においても検体投与の影響は認められなかった。

③ フラメトピル 50%水和剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料 製6-3)

試験機関：住友化学株式会社

報告書作成年：2005年 (GLP 対応)

検 体：フラメトピル 50%水和剤 (商品名：リンパー顆粒水和剤)

組 成：

供試動物：ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、16週令、体重 2844.4~2946.9 g、
1群3匹

観察期間：検体除去後1週間観察

投与方法：検体 0.5 g を 0.3 mL の注射用水で湿らせたリント布 (2.5 cm × 2.5 cm) 上に展延し、それを剪毛した3匹のウサギの無傷背部皮膚に貼布して、4時間閉塞した。
適用4時間後、リント布を取り除き、水道水を含ませた脱脂綿で皮膚表面に付着した検体を拭き取った。

観察項目：検体除去の1、24、48、72時間及び1週間後に観察を行い、Draizeの判定基準に従い紅斑及び浮腫等の局所反応を点数化して記録した。

結 果：観察した局所反応の強さを以下に示す。

動物番号	項目	最高 評点*	暴露後時間				
			1時間	24時間	48時間	72時間	1週間
1	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
	浮腫	4	1	1	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
	浮腫	4	1	1	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
	浮腫	4	1	1	0	0	0
合 計	紅斑・痂皮	12	3	3	3	3	0
	浮腫	12	3	3	0	0	0
平 均	紅斑・痂皮	4	1	1	1	1	0
	浮腫	4	1	1	0	0	0
一次刺激率=1.5							

※ 判定基準の最高評点

検体除去後、3例全例で紅斑 (強さ1) 及び浮腫 (強さ1) が認められた。これらの局所反応は適用1週間後には全て消失した。

これらの結果をもとに算出した一次刺激率は1.5となった。

以上の結果より、本検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性ありと判定された。

④ フラメトピル 50%水和剤のウサギにおける眼一次刺激性試験

(資料 製6-4)

試験機関：住友化学株式会社

報告書作成年：2005年 (GLP 対応)

検 体：フラメトピル 50%水和剤 (商品名：リンバー顆粒水和剤)

組 成：

供試動物：ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ

非洗浄群：17週令、体重 3006.9~3139.3 g、1群 3匹

洗浄群：17週令、体重 2800.0~3102.4 g、1群 3匹

観察期間：適用後 1週間観察

投与方法：検体 0.066 g (0.1 mL 容量) を、非洗浄群及び洗浄群の計 6匹について片側の眼に適用した。洗浄群については適用した 30秒後に水道水にて 30秒間洗眼した。

観察項目：非洗浄群は検体適用の 1、24、48、72、96時間及び 1週間後に、洗浄群は適用の 1、24、48、72 及び 96時間後に局所反応を観察し、Draize の判定基準に従い局所反応を点数化して記録した。刺激性の評価は Kay and Calandra の方法に従った。

結 果：局所反応の評点は以下のとおりであった。

項目			最高 評点*	適用後時間						
				1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	1週間	
非 洗 浄 群	動物 番号 1	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0	0	0
			面積	4	0	1	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
		結 膜	潮紅	3	1	2	1	1	1	0
			浮腫	4	2	1	1	1	0	0
			眼脂分泌	3	1	2	1	1	0	0
	動物 番号 2	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0	0	0
			面積	4	0	1	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0	0
		結 膜	潮紅	3	1	2	1	1	1	0
			浮腫	4	1	1	1	1	0	0
			眼脂分泌	3	1	1	1	0	0	0
動物 番号 3	角膜混濁	程度	4	0	1	0	0	0	0	
		面積	4	0	1	0	0	0	0	
	虹 彩		2	1	0	0	0	0	0	
	結 膜	潮紅	3	1	2	2	1	1	0	
		浮腫	4	1	1	1	1	0	0	
		眼脂分泌	3	1	2	1	1	0	0	
合 計*			330	25	43	20	16	6	0	
平 均			110	8.3	14.3	6.7	5.3	2	0	

※判定基準の最高評点 * Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

項目		最高 評点*	適用後時間					
			1時間	24時間	48時間	72時間	96時間	
洗 浄 群	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0	0
		面積	4	0	0	0	0	0
	虹彩	2	0.3	0	0	0	0	
	結膜	潮紅	3	1	1	1	1	0
		浮腫	4	1	1	1	0	0
		眼脂分泌	3	0.7	0.7	0.7	0	0
	合計*		330	7.0	5.3	5.3	2	0

※判定基準の最高評点 *Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

非洗浄群では、検体適用後、3例全例で角膜混濁（強さ 1、広さ 1）、結膜潮紅（強さ 2）、結膜浮腫（強さ 1~2）及び眼脂分泌（強さ 1~2）が認められ、うち 1例には虹彩に充血（強さ 1）が認められた。これらの局所反応は適用 1 週間後には全て消失した。各組織の局所反応の平均合計点 (MTS) の適用 96 時間後までの最大値 (MMTS) は 14.3 であった。

洗浄群では、検体適用後、3例全例で結膜潮紅（強さ 1）、結膜浮腫（強さ 1）及び眼脂分泌（強さ 1）が認められ、うち 1例には虹彩充血（強さ 1）が認められた。これらの局所反応は適用 96 時間後には全て消失した。適用 96 時間後までの MMTS は 7.0 であった。

以上の結果から、本検体はウサギの眼に対し軽度の刺激性ありと判定された。また、洗浄により刺激性反応の持続時間が短縮され、MMTS も低下したため、洗浄効果はあると考えられた。

⑤ フラメトピル 50%水和剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

(資料 製6-5)

試験機関：住友化学株式会社

報告書作成年：2005年 (GLP 対応)

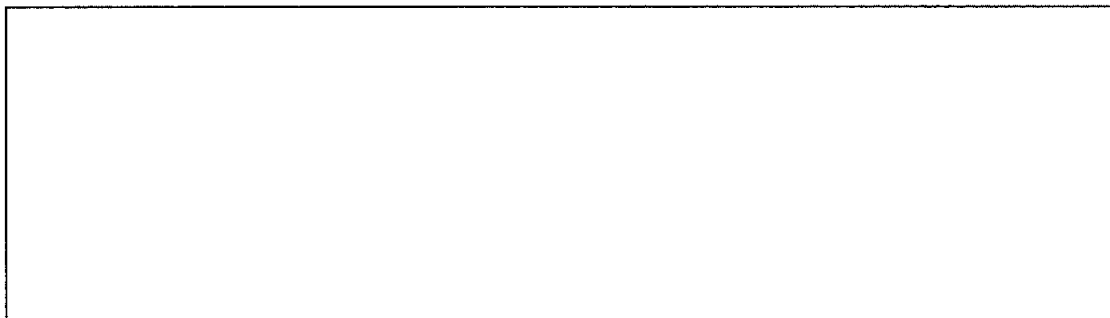
検 体：フラメトピル 50%水和剤 (商品名：リンパー顆粒水和剤)

組 成：

供試動物：ハートレー系雌性モルモット、5週齢、体重 358.2~446.9 g、1群 10~20匹

観察期間：感作開始後 30 日間観察

試験操作：Buehler Test 法



感 作；右腹側部を刈毛し、検体感作群には検体 50%水懸濁液 0.5 mL を含ませた 2.5 cm × 2.5 cm のリント布を、陽性対照感作群には DNCB の 1%アセトン溶液 0.5 mL を含ませた 2.5 cm × 2.5 cm のリント布を 6 時間閉塞適用した。検体非感作群には注射用水、陽性対照非感作群にはアセトンを用いて同様の処置を行った。感作処置は週 1 回の割合で 3 週間実施した。

誘 発；最終感作の 2 週間後、左腹側部を刈毛し、検体感作群及び検体非感作群には検体の 10%水懸濁液 0.5 mL を含ませた 2.5 cm × 2.5 cm のリント布を、陽性対照感作群及び陽性対照非感作群には DNCB の 0.2%アセトン溶液 0.5 mL を含ませた 2.5 cm × 2.5 cm のリント布を 6 時間閉塞適用した。

観察項目：感作及び誘発適用の貼付除去 24 及び 48 時間後に適用部位の紅斑、浮腫の程度を以下の観察基準に従って観察した。

0；変化なし、1；境界不明瞭 (軽度) な反応、2；境界明瞭 (中等度) な反応、3；強度な反応

誘発後の観察において、非感作群に認められない皮膚反応が感作群で認められた場合に陽性とした。

結 果：誘発後の各観察時間において、皮膚反応が認められた動物数及びその評点を次頁の表に示す。

検体感作群では、誘発後の観察において、20 例全例に何ら局所反応は認められな

かった。また、検体非感作群でも、何ら局所反応は認められなかった。一方、陽性対照（DNCB）感作群では、誘発後の観察において、5例全例に軽度の紅斑、内3例に軽度の浮腫が認められた。陽性対照非感作群では何ら反応は認められなかった。

群		供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)					
感作	惹起		皮膚反応の種類	24時間後				計	48時間後				24時間	48時間		
				皮膚反応評点					皮膚反応評点							
				0	1	2	3		0	1	2	3				
検体	50% 検体	10% 検体	20	紅斑	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
				浮腫	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20		
	媒体	10% 検体	10	紅斑	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
				浮腫	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10		
陽性対照	1% DNCB	0.2% DNCB	5	紅斑	0	5	0	0	5/5	0	5	0	0	5/5	100	100
				浮腫	2	3	0	0	3/5	4	1	0	0	1/5		
	媒体	0.2% DNCB	5	紅斑	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0
				浮腫	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5		

以上の結果より、検体は皮膚感作性陰性と判定された。

IX. 動植物および土壌等における代謝・分解
 <代謝・分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類 (動物) [吸入・排泄]	供試動植物等 ラット	投与方法 経口投与	投与量 7エム標識体: 1回投与; 低用量 1mg/kg 高用量 300mg/kg(雄) 200mg/kg(雌) ピラリリム標識体: 1回投与; 1mg/kg	結果概要	試験機関 (報告年) 住友化学 (1994)	頁
I-1	代謝・分解 (動物) [吸入・排泄]	ラット	経口投与	7エム標識体: 1回投与; 低用量 1mg/kg 高用量 300mg/kg(雄) 200mg/kg(雌) ピラリリム標識体: 1回投与; 1mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> ・ラットは速やかに糞、尿中に排泄され7日後¹⁴C排泄97.4~100.1%、性別による差なし。高用量では排泄遅延。 ・組織残留値は全般に低く、比較的高濃度で検出された血液、腎臓および肝臓で各々0.4~0.5、0.5および1.1μg/gおよび1.1μg/g相当/湿組織(高用量群)。性差なし。 ・糞・尿中の代謝物として37種類以上生成。 ・主要代謝反応はN-脱アセチル化、アセチル基の酸化、4-アセチルアミノフェノール3位及び7位の水酸化。7-メチル結合の開裂は起こりにくい。低用量群の1,3-ジメチルアミノフェノールアミン環1位アセチル基の酸化および3位の水酸化は、それぞれ雄におよび雌において代謝反応の程度が低い。 ・吸収率98%以上 	住友化学 (1994)	310
I-2	代謝・分解 (動物) [胆汁排泄]	ラット	経口投与	7エム標識体: 1回投与; 1mg/kg	<ul style="list-style-type: none"> ・¹⁴C排泄は雌雄とも速やか。2日後に95~96%が糞・尿、胆汁中に排泄された。胆汁中¹⁴C: 52.5~54.2% ・尿、胆汁中の代謝物は24種類以上生成。 ・胆汁中主要代謝物は7-メチルアセチルアミン酸抱合体。性差なし。 	住友化学 (1994)	320
I-3	代謝・分解 (動物) [分布]	ラット	経口投与	7エム標識体: 1回投与; 低用量 1mg/kg 高用量 300mg/kg(雄) 200mg/kg(雌)	<ul style="list-style-type: none"> ・組織中¹⁴C濃度 各組織の最高濃度到達時間(Tmax)、消失半減期(T1/2)、最高濃度(Cmax)は以下のとおり。 <低用量> 消化管: Tmax=0.5~8時間、T1/2=14~17時間 消化管以外の組織: Tmax=0.5時間、T1/2=3~10時間 肝臓; 最も高濃度 Cmax=3.8~4.23ppm ¹⁴C分布比率; 15.9~17.5% 腎臓; Cmax=1.20~1.21ppm 血液; Cmax=0.38~0.46ppm <高用量> 消化管: Tmax=24時間、T1/2=14時間 消化管以外の組織: Tmax=8~24時間、T1/2=3~9時間 肝臓; 最も高濃度 Cmax=207~559ppm ¹⁴C分布比率; 4.40~8.12% 腎臓; Cmax=91~106ppm 血液; Cmax=38~44ppm ・主要組織内代謝物 肝臓、腎臓、血液: DE-ME-658, DE-ME-658-OH, DE-ME-658-CH₂OH 	住友化学 (1994)	324

アンダーライン: 残留農薬安全性評価委員会での評価済み

資料 No.	試験の種類	供試 動植物等	投与方法	投与量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
I-4	代謝・分解 (動物) [吸収・排泄]	マウス	経口投与	7エム標識体: 1 回投与; 低用量 1mg/kg 高用量 450mg/kg	・ワット比 ¹⁴ Cは速やかに糞、尿中に排泄された(7日後 ¹⁴ C排泄: 96.9~103.7%)。尿排泄: 雄>雌、高用量>低用量 ・組織残留量は全般に低く、比較的高濃度で検出された腎臓、肝臓、脾臓で各々0.38~0.41、1.80~1.98μg/ワット比 ¹⁴ C相当量/g 癌組織(高用量群)。性差なし。 ・糞・尿中の代謝物として25種類以上生成。 ・主要代謝反応はラットと類似。	住友化学 (1994)	335
II-1	代謝・分解 (植物)	水稻	葉面処理	7エム標識体 :20μg/葉 ビラジリ標識体:20μg/葉	・葉表面からの揮散、植物体内からの蒸散、処理葉以外への移行はほとんどなかった。 ・水稻中のワット比 ¹⁴ Cは2週間後に処理 ¹⁴ Cの25.4~30%に減少。 ・主要代謝物は658-HK、658-ALであった。	住友化学 (1994)	341
II-2	代謝・分解 (植物)	水稻	田面水処理 葉面処理 穂処理	7エム標識体: 田面水処理: 1.2mg/体、外 葉面処理: 25μg/葉 穂処理: 25μg/葉	・田面水処理 ¹⁴ Cの4.2%が植物体内に取り込まれた(処理38日後)。 ・葉表面処理 ¹⁴ Cの3.0%(1.63ppm)、玄米:<0.1%(0.03ppm) ・葉表面処理 ¹⁴ Cの46.3%が処理葉中に残存しており、非処理葉部および玄米への移行は0.1%未満であった(処理31日後)。 ・穂処理 ¹⁴ Cの64.5%が籾殻、6.9%が玄米に分布(処理31日後)。 ・主要代謝物は658-HK、658-ALであった。	第一化学 住友化学 (1994)	346
II-3	代謝・分解 (植物)	てんさい	散布処理	7エム標識体:333g/ha ビラジリ標識体:333g/ha 3 回処理 散布間隔 7 日 最終散布後 14 日	・散布した ¹⁴ Cは、主として茎葉部(7.918~10.114ppm)に留まり、根部への移行はわずか(0.042~0.073ppm)であった。 ・てんさい根部において ¹⁴ Cは主として糖に変換された。 ・てんさいの葉部における主要代謝物は658-HKであった。	Ricerca (2004)	352
II-4	代謝・分解 (植物)	小麦	散布処理	7エム標識体 :200g/ha ビラジリ標識体:200g/ha 2 回処理 1 回目処理は播種後 64 日目 散布間隔 14 日 最終処理後 7 ヶ月目に収穫	・小麦の穀粒での ¹⁴ C濃度は0.015~0.018ppmとわずかであり、散布した ¹⁴ Cは、主として糞(0.697~0.707ppm)、もみ殻(0.635~0.667ppm)に留まった。 ・小麦穀粒、糞での主要代謝物は658-HK、DE-ME-658であった。	Ricerca (2005)	357
III-1	代謝・分解 (土壌)	水田土壌 (熊本/徳島)	土壌混和	7エム標識体 :0.583ppm ビラジリ標識体:0.582ppm (各々乾土重量当り)	・ワット比 ¹⁴ Cは熊本および徳島土壌において、各々消失半減期120~121ヵ月および52~53ヵ月で減少した。 ・土壌中における主要分解・代謝物は658-HKであり、12ヵ月後には4.6~10.6%に達した。揮散性 ¹⁴ Cは<0.1~0.2%であった。	住友化学 (1994)	364
III-2	代謝・分解 (土壌)	畑地土壌 (牛久)	土壌混和	7エム標識体:1.684 ~1.698ppm ビラジリ標識体:1.635 ~1.688ppm (各々乾土重量当り)	・ワット比 ¹⁴ Cは畑地土壌において、消失半減期120日で減少した。 ・土壌中における主要分解・代謝物は658-HKおよび658-ALであり、365日後には各々36.4~42.1%および16.0~16.8%に達した。 ・揮散性 ¹⁴ Cは0.1%未満であった。	住友化学 (1994)	373

アンダーライン: 残留農薬安全性評価委員会での評価済み

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
Ⅲ-3	代謝・分解(土壌)	嫌気湛水(栃木)	土壌混和	777トビ M: 7E=H 標識体:0.45ppm ビラリ M 標識体:0.45ppm (各々乾土重量当り)	・777トビ M は嫌気湛水土壌において、消失半減期 19~27 年で減少した。 ・嫌気湛水土壌中における主要分解・代謝物は 658-HK および 658-AL であり、最大で各々 2.0% および 2.5% に達した。 揮散性 ¹⁴ C は 0.1% 未満であった。	Ricerca (2004)	379
Ⅲ-4	代謝・分解(土壌)	嫌気湛水(栃木)	土壌混和	658-AL: ビラリ M 標識体:0.467ppm (各々乾土重量当り)	・658-AL は嫌気湛水土壌において、消失半減期 3.2 年で減少した。 ・嫌気湛水土壌中において 180 日後に少量の揮散性代謝物が生成した。 揮散性 ¹⁴ C は 0.1% 未満であった。	Ricerca (2004)	384
Ⅲ-5	代謝・分解(土壌)	嫌気湛水(栃木)	土壌混和	658-HK: ビラリ M 標識体:0.460ppm (各々乾土重量当り)	・658-HK は嫌気湛水土壌において、消失半減期 4.7 年で減少した。 ・嫌気湛水土壌中における主要分解・代謝物は 658-AL であり、180 日後には 3.5% に達した。揮散性 ¹⁴ C は 0.1% 未満であった。	Ricerca (2004)	388
Ⅳ-1	水中運命(加水分解)	各種緩衝液: pH 5.0, 7.0, 9.0	各種緩衝液に添加	7E=H 標識体: 1.0ppm	・777トビ M の顕著な分解は認められず、加水分解に対して安定であった。 ・半減期は算出不可。	住友化学 (1992)	392
Ⅳ-2	水中運命(水中光分解)	蒸留水 河川水 (兵庫県 武庫川)	水に添加	ビラリ M 標識体: 1.0ppm	・777トビ M は光により分解が促進され、蒸留水および河川水中における消失半減期は各々 74.7 日および 19.6 日であり、東京、春の太陽光換算でそれぞれ、289 日および 75.9 日であった。 ・777トビ M は暗条件下では極めて安定であり、1 週間後もほとんど分解しなかった。 ・主要分解物は 658-HK で、照射 7 日後に 1.1~4.8% に達した。	住友化学 (1994)	394
V-1	土壌吸着性(土壌吸着係数)	畑地土壌(牛久/高知) 水田土壌(牛久/高知)	土壌混和	平衡化試験: 6.15ppm 高次試験: 0.213~5.33ppm	・777トビ M は 24 時間以内に平衡に達した。 ・K 値=1.76~4.69, Koc 値=96.4~180 ・添加量の 92% 以上が 777トビ M として土壌層および水層から回収された。	化学分析 コンサント (1993)	400
V-2	土壌吸着性(土壌/水系分配)	水田土壌(栃木, 徳島, 福井, 熊本)	散布 または 土壌混和	・777トビ M 1.5% 粒剤: 4kg/10a, 2 回散布, 散布間隔 7~9 日 (土壌残留/圃場試験より) ・777トビ M 0.08~0.36 mg/kg	・土壌残留(圃場)試験から採取した土壌(処理約 13 カ月後): 土壌から水への 777トビ M の分配は、土壌残留量の 2.5~8.4% ・777トビ M を処理(0.08~0.36mg/kg)して 1 日後の土壌: 土壌から水への 777トビ M の分配は、処理量の 17.1~53.1%	住友化学 (1994)	404

アンダーライン: 残留農薬安全性評価委員会にて評価済み

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
VI-1	分解要因 (土壌表面光分解)	福井土壌	土壌表面 添加	75E ₁ 標識体:0.6 ppm (乾土重量当り)	<ul style="list-style-type: none"> 77A₁比₁は土壌表面において光により分解が促進され、消失半減期は 47.2 日であり、東京、春の太陽光換算で 87.4 日であった。 光照射区における主要分解物は 658-HK 及び 658-AL で、照射 30 日後にそれぞれ 12.9~17.4% 及び 6.0~8.3% に達し、¹⁴C₂ が 1.4% 認められた。 77A₁比₁は暗条件下では若干の微生物分解を受け、消失半減期は 138 日であった。 暗所対照区における主要分解物は 658-HK 及び 658-AL で、30 日後にそれぞれ 7.5~9.3% 及び 0.9~2.2% 認められたが、揮散性 ¹⁴C は認められなかった。 	住友化学 (1994)	406
VI-2	分解要因 (土壌微生物分解)	水田土壌 (福井、熊本)	培地添加	77A ₁ 比 ₁ 75E ₁ 標識体:10 ppm (培地あたり)	<ul style="list-style-type: none"> いずれの土壌培養液においても 77A₁比₁ は経時的に分解し、培養 4 週間後には 7~89% まで減少した。 	住友化学 (1994)	410
VI-3	分解要因 (土壌微生物分解)	水田土壌 (福井、熊本)	培地添加	658-HK 75E ₁ 標識体:10 ppm (培地あたり)	<ul style="list-style-type: none"> いずれの土壌培養液においても 658-HK は経時的に分解し、培養 4 週間後には 27~87% まで減少した。 	住友化学 (1994)	412
VI-4	分解要因 (土壌微生物分解)	水田土壌 (福井、熊本)	培地添加	77A ₁ 比 ₁ 75E ₁ 標識体:10 ppm 658-HK 75E ₁ 標識体:10 ppm (培地あたり)	<ul style="list-style-type: none"> 77A₁比₁ および 658-HK に対して分解活性を有する菌を同定したところペニシリウム属およびフザリウム属と同定され、77A₁比₁ および 658-HK の分解菌は土壌中の一般的な糸状菌であることが認められた。 	住友化学 (1994)	414
VII-1	土壌移行性 (土壌薄層 TLC での移動度)	水田土壌 (栃木、徳島、福井、熊本)	土壌表面 添加	77A ₁ 比 ₁ 75E ₁ 標識体:0.2μCi	<ul style="list-style-type: none"> 土壌薄層プレート上での 77A₁比₁ の Rf 値は 0.30~0.37、クラス 2 (Low) ~ クラス 3 (Intermediate)。 	住友化学 (1994)	416
VII-2	土壌移行性 (土壌薄層 TLC での移動度)	水田土壌 (栃木、徳島、福井、熊本)	土壌表面 添加	658-HK 75E ₁ 標識体:0.2μCi	<ul style="list-style-type: none"> 土壌薄層プレート上での 658-HK の Rf 値は 0.21~0.33、クラス 2 (Low)。 	住友化学 (1994)	418

アンダーライン: 残留農薬安全性評価委員会 で評価済み

資料 No.	試験の種類	供試 動植物等	投与方法	処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
Ⅶ-3	土壌移行性 (土壌7A リーチング)	水田土壌 (栃木, 徳 島, 福井, 熊本)	土壌湿和	7Aトピル: 7xニル標識体・0.6 ppm (乾土重量当り)	<ul style="list-style-type: none"> ・溶出液中の¹⁴Cは、いずれの土壌においても<0.1%であった。 ・放射能の大部分は¹⁴C処理部分から最大15 cmの土壌層にとどまった。 ・各土壌とも土壌面分の抽出物の大部分は未変化の7Aトピルであったが、 植木土壌を除く3土壌では658-HKが添加放射能量の4.8%以下認め られた。 	住友化学 (1994)	420
Ⅶ-4	土壌移行性 (畑地7インスター)	畑地土壌 灰色低地 土(大分・日 田市) 多湿黒ボク 土(大分・九 重町)	散布	7Aトピル15%水和剤: 1000倍希釈 散布液量800mL/区 (2m×2m×深さ1mコンクリート製容器) 2回散布(7日間隔)	<ul style="list-style-type: none"> ・散布後1年間にわたって浸透水を採取し、分析した結果、7Aトピル、658-HK、 658-ALとも定量限界(0.001 mg/L)未満であった。 	(財)化学物 質評価研 究機構 (2004)	424

代謝分解試験に使用した検体の標識位置選定理由:

動物代謝分解試験: フラメトピルのアミド結合は非常に開裂しにくいことが明らかとなったため、安定な芳香環に標識部位を持つフェニル標識体を用いた。
アミド結合の開裂が非常に起こりにくいことを確認するために、ピラゾリル標識体を用いた試験も実施した。

植物代謝試験、土壌代謝試験、加水分解試験、水中光分解試験; 農薬の代謝分解に関する既存の知見に基づき試験毎に使用する標識体を適宜選定した。
フェニル標識体: 代謝研究では、一般的に各種の代謝分解に対して安定な位置に標識された検体が供試されており、フラメトピルについては、芳香族環が比較的
安定と考える為に、フェニル標識体を用いた。

ピラゾリル標識体: フラメトピルはアミド結合によりフェニル環とピラゾリル環が結合しており、この結合が開裂した場合を考えてピラゾリル標識体も用いた。

アンダーライン: 残留農薬安全性評価委員会で評価済み

〈代謝物一覧表〉

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
親化合物	フラメトピル	5-chloro-N-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide	
動物 植物 土壌	DE-ME-658		
動物 植物 土壌 光分解	658-HK		
動物	3-CH ₂ OH-DE -ME-658-OH		
動物	658-COOH		
動物	DE-ME-658 -COOH		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
動物	3-CH ₂ OH·DE -ME-658-CH ₂ OH		
動物	DE-ME-658-HK		
動物	DE-ME-658 -CH ₂ OH		
動物	DE-ME-658-HK -OH		
動物	658-OH		
動物	DE-ME-658-HK -CH ₂ OH		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
動物	3-CH ₂ OH·DE -ME-658-COOH		
動物	DE-ME-658 -CH ₂ OH·OH		
動物	DE-ME-658-OH		
植物 土壌 光分解	658·AL		
植物	DE-ME-658-AL		
植物	5-OH-658		

I. 動物体内運命に関する試験

(1) フラメトピルのラットにおける代謝 [低用量・高用量] (吸収、排泄)

(資料 I - 1)

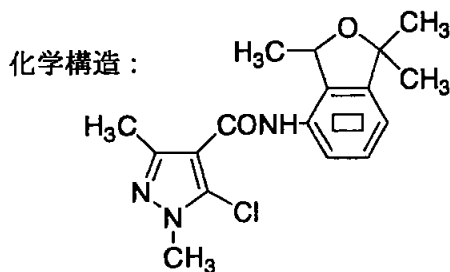
試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1994 年

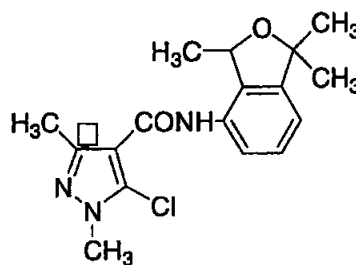
標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド



フェニル ¹⁴C 標識体



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試動物：SD系ラット、7週齢 (体重：雄 229~267g、雌 176~201g)、1群雌雄各5匹

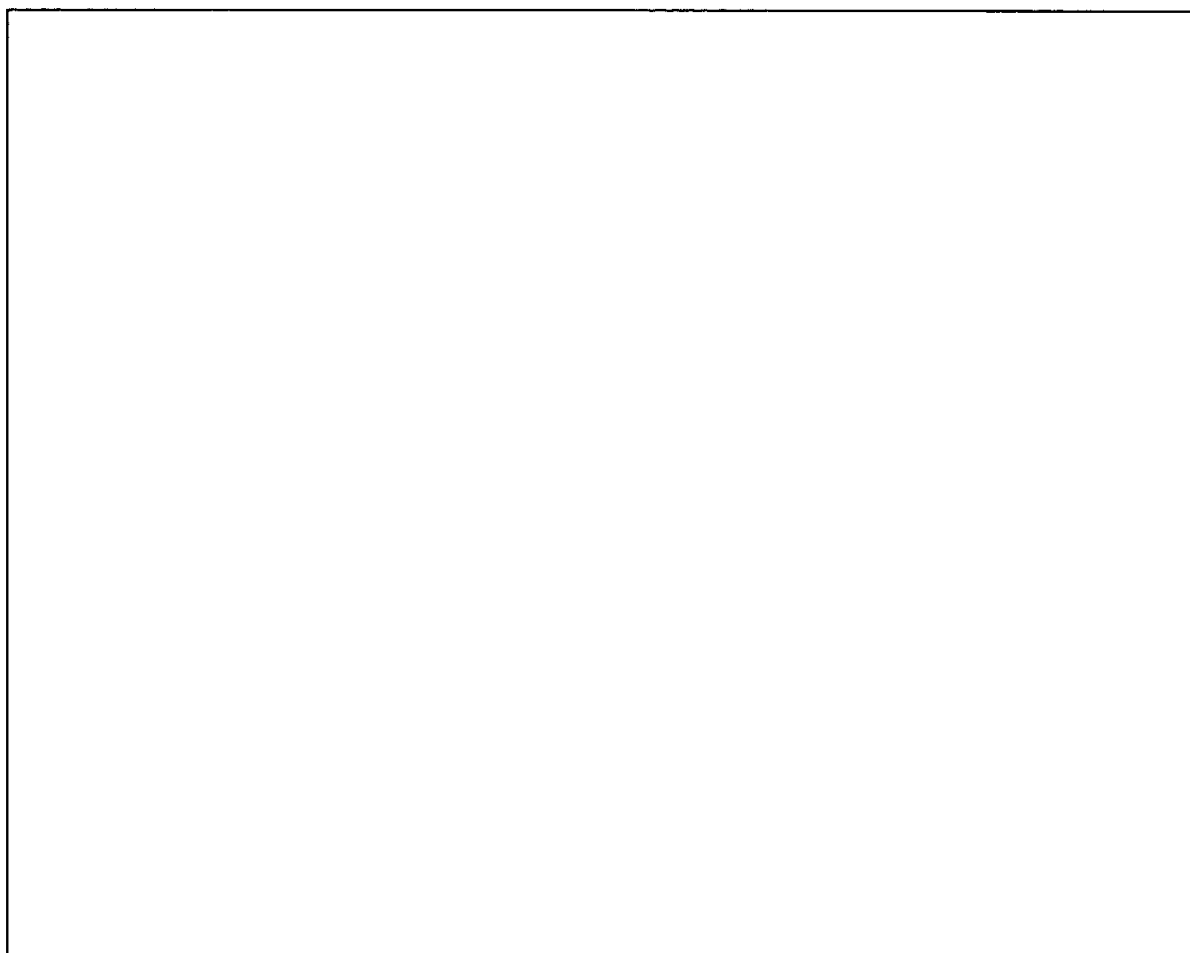
試験方法：フェニル基を ¹⁴C 標識したフラメトピルを雌雄ラットに 1mg/kg (低用量群)、300mg/kg

(高用量群、雄) および 200mg/kg (高用量群、雌) の割合で1回経口投与し、投与後

7日までの糞・尿・呼気中 ¹⁴C 排泄量および7日目の組織残留 ¹⁴C 量の定量並びに糞・

尿中代謝物の同定・定量を行った。

また、代謝物の比較を行うための糞尿採取を目的として、ピラゾリル基 ^{14}C 標識体を低用量で雌雄ラットに 1 回経口投与を行い、投与後 2 日目まで糞尿採取を行った。



試験結果：

[症状] 高用量群において、投与後 6 時間以内にすべての雄ラットおよび雌ラット 1 例で自発運動の減少、投与後 2 日以内に別の雌ラット 1 例で自発運動の減少、伏臥および排便不良等の症状が認められたが、その後回復した。低用量群では症状は認められなかった。

[^{14}C 排泄]

^{14}C の排泄はいずれの群においても速やかで、投与後 3 日間に投与量の 92.4~99.8%、7 日間に投与量の 97.4~100.1% の ^{14}C が糞、尿および呼気中に排泄された (表 1)。

投与後7日間の糞中排泄率は45.5~53.3%、尿中排泄率は44.1~53.8%、呼気中排泄率は0.01%以下であった。高用量群では低用量群と比べて¹⁴C排泄の遅延が認められた。性の相違による影響はほとんど見い出されなかった。

[¹⁴C 組織残留]

投与後7日目の各組織中の残留¹⁴C量の総和は投与した¹⁴C量の0.3%以下であった。比較的濃度の高かった血液、血球、腎臓および肝臓中における残留¹⁴C濃度は、それぞれ低用量群で2~3、5、2および4ng フラメトピル相当量/g 湿組織、高用量群で0.4~0.5、0.8~1.2、0.5および1.1 μ g フラメトピル相当量/g 湿組織であった。その他の組織では、低用量群では10.3ng フラメトピル相当量/g 湿組織以下、高用量群では4.52 μ g フラメトピル相当量/g 湿組織以下であった(表2)。いずれの投与群においても¹⁴C組織残留値は低く、顕著な性差は認められなかった。

[糞・尿中代謝物]

投与後3日目の糞および尿中の代謝物を37種類以上見出し、そのうち糞中では12種類、尿中では16種類の代謝物を同定し、代謝経路を推定した(表3、図1)。

同定された代謝物の割合を各代謝反応ごとにまとめて反応の割合を算出した。

N-脱メチル化の反応割合が最も高く投与量の33.3~44.1%であった。ピラゾール環3位メチル基の酸化、1、3-ジハイドロイソベンゾフラン環1位メチル基の酸化、1、3-ジハイドロイソベンゾフラン環3位の水酸化、1、3-ジハイドロイソベンゾフラン環7位の水酸化およびグルクロン酸抱合の反応割合はそれぞれ5.0~15.4%、28.5~37.5%、5.5~17.0%、10.3~17.0%および3.5~6.4%であった(表4)。

これらの代謝反応について投与量および性による顕著な差は認められなかった。

また、フェニル¹⁴C標識体を投与した場合とピラゾリル¹⁴C標識体を投与した場合とを比較すると、糞尿中に検出される代謝物はほぼ同じであったことから、アミド結合の開裂は非常に起こりにくいと考えられる。

[吸収率]

胆汁排泄実験（資料 I - 2）において糞中に排泄された ^{14}C を未吸収のものと仮定すると、低用量 1 回経口投与時の胆汁排泄実験における糞中排泄率は雄 1.2%、雌 1.5%であったため（資料 I - 2、表 1 参照）、吸収率は投与量の約 98%（雄：100% - 1.2% = 98.8%、雌：100% - 1.5% = 98.5%）と考えられる。

また、胆汁中の未変化のフラメトピルが検出されなかったことから、糞中未変化体量を未吸収分と仮定して吸収率を算出すると、低用量 1 回経口投与時の吸収排泄実験における糞中未変化体量は雄 0.12%、雌 0.10%であったため（表 3 参照）、吸収率は約 99%（雄：100% - 0.12% = 99.88%、雌：100% - 0.1% = 99.90%）となる。

以上より、フラメトピルのラットにおける吸収率は 98%以上であると考えられる。

[申請者注] 吸収率について；

胆汁排泄実験（資料 I - 2）において、1mg/kg 経口投与での尿中排泄率と胆汁排泄率の和は約 94%であるため（雄：40.2% + 54.2% = 94.4%、雌：41.2% + 52.5% = 93.7%）、吸収率は少なくとも投与量の 94%以上と考えられる。この場合、吸収率の算出式（吸収率 = 尿中排泄率 + 胆汁排泄率 + 体内残存率）からみると、体内残存率を考慮していないため、実際より吸収率を低く見積もっていると考えられる。

従って、吸収率の算出としては、次の式に基づき求めた。

$$\text{吸収率} = 100\% - (\text{糞中排泄率} + \text{消化管内容物中残存率})$$

すなわち、胆汁排泄実験の糞中排泄率は 1.2~1.5%、消化管内容物中残存率 0%であったため、吸収率は約 98%と考えた。

表1 フラメトピルの標識体をラットに1回経口投与後の糞・尿および呼気中への累積¹⁴C排泄量

性別	投与後の時間	投与した ¹⁴ Cに対する割合 (%)							
		低用量 (1mg/kg)				高用量 (雄 300mg/kg)、雌 200mg/kg)			
		糞	尿	呼気	計	糞	尿	呼気	計
雄	6時間	N.E.	33.1	N.E.	33.1	N.E.	3.3	N.E.	3.3
	1日	43.3	51.0	0.01	94.3	11.4	25.8	0.01	37.2
	2日	47.1	52.3	0.01	99.3	43.5	42.7	0.01	86.3
	3日	47.4	52.4	0.01 ^{a)}	99.8	52.5	43.9	0.01 ^{a)}	96.4
	5日	47.5	52.4	0.01 ^{a)}	100.0	53.2	44.1	0.01 ^{a)}	97.3
	7日	47.6	52.5	0.01 ^{a)}	100.1	53.3	44.1	0.01 ^{a)}	97.4
雌	6時間	N.E.	27.0	N.E.	27.0	N.E.	1.3	N.E. ^{b)}	1.3
	1日	35.5	50.2	0.00	85.7	4.1	15.0	N.E. ^{b)}	19.1
	2日	44.4	53.3	0.01	97.7	18.2	46.2	N.E. ^{b)}	64.4
	3日	45.1	53.6	0.01 ^{a)}	98.7	41.3	51.0	N.E. ^{b)}	92.4
	5日	45.4	53.8	0.01 ^{a)}	99.2	45.9	51.9	N.E. ^{b)}	97.9
	7日	45.5	53.8	0.01 ^{a)}	99.4	46.0	52.0	N.E. ^{b)}	98.1

数字は5匹の平均値を示す。

N.E. : 測定せず。

a) : 測定は投与後2日間のみ実施した。

b) : 200mg/kg 投与の雌ラットについては、呼気中¹⁴C排泄量の測定は行わなかった。

しかし、300mg/kg 投与の雌ラットにおける呼気中¹⁴C排泄量は投与量の0.01%以下であった。

表2 フラメトピルの標識体をラットに1回経口投与後7日目の¹⁴C組織残留量

組織	ng フラメトピル相当量/g 湿組織		μg フラメトピル相当量/g 湿組織	
	1mg/kg		300mg/kg	200mg/kg
	雄	雌	雄	雌
副腎	4.52	10.28	0.86	1.03
血液	2.19	2.77	0.42	0.51
血球	4.66	5.34	0.76	1.19
血漿	0.49	0.98	0.12	0.50
骨	0.36	0.39	0.15	0.43
骨髄	<0.60	<0.84	0.15	0.73
脳	<0.40	<0.37	0.20	<0.09
盲腸	<0.39	0.41	0.27	0.25
屍体	1.46	1.80	0.74	0.68
脂肪	1.03	<1.03	0.27	0.31
心臓	0.90	<0.63	0.32	0.26
腎臓	1.78	2.18	0.46	0.52
大腸	<0.40	<0.39	0.15	0.19
肝臓	4.19	3.69	1.12	1.13
肺	0.99	1.05	0.32	0.31
筋肉	1.52	0.99	0.36	0.29
卵巣	-	0.76	-	0.25
皮膚	2.32	1.51	4.52	0.65
小腸	0.68	0.64	0.46	0.18
脾臓	1.17	1.03	0.37	0.26
胃	0.42	0.45	0.19	0.15
精巣	0.48	-	0.21	-
胸腺	<0.43	<0.43	0.11	<0.13
甲状腺	<4.90	<5.74	3.81	<0.80
子宮	-	0.45	-	0.14

数字は5匹の平均値を示す。

表3 フラメトピルの標識体をラットに1回経口投与後3日間の糞および尿中代謝物

代謝物	投与した ¹⁴ Cに対する割合 (%)							
	1mg/kg				300mg/kg		200mg/kg	
	雄		雌		雄		雌	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿
DE-ME-658-UK	0.46	2.27	0.30	2.46	N.D.	0.91	0.00	1.32
DE-ME-658	0.87	0.08	1.54	0.23	0.60	0.14	0.96	1.24
フラメトピル(S-82658)	0.12		0.10		0.47		0.30	
DE-ME-658-OH	2.80	0.55	2.08	0.58	3.65	0.61	2.05	0.71
DE-ME-658-HK-OH	1.41	2.01	0.34	0.98	1.99	4.36	1.16	2.78
658-OH	0.79		0.46		1.48		0.45	
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-OH	1.29	0.69	2.64	1.67	2.23	1.10	1.70	0.81
DE-ME-658-COOH	4.33	5.58	1.52	2.25	3.27	3.51	1.48	2.24
DE-ME-658-HK-CH ₂ OH	0.98	7.79	0.88	3.31	2.53	8.14	1.13	7.63
DE-ME-658-CH ₂ OH	4.22	1.73	3.53	4.98	1.50	0.65	1.34	2.46
DE-ME-658-CH ₂ OH-OH	0.92	0.95	0.72	0.85	0.88	0.81	0.52	1.13
658-COOH	1.62	4.15	2.80	4.73	3.87	2.91	3.40	4.49
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-CH ₂ OH	2.82	2.06	3.30	7.57	0.44	1.18	0.43	2.25
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-COOH		0.30		0.21		N.D.		N.D.
Glucuronide-1		1.03		0.84		0.11		1.29
Glucuronide-2		1.29		0.82		1.25		2.07
Glucuronide-3		1.10		0.97		1.67		1.19
Glucuronide-4		1.74		0.86		2.02		1.83
未同定代謝物	16.69	19.07	19.90	20.33	22.27	14.55	20.96	17.59
未抽出 ¹⁴ C	8.09		4.99		7.69		5.45	
計	47.41	52.39	45.09	53.63	52.88	43.93	41.33	51.02

分析は同一群5匹のサンプルをまとめて行った。

未同定代謝物は少なくとも糞で29種、尿で21種検出された。

フラメトピル(S-82685)

DE-ME-658-UK

DE-ME-658

DE-ME-658-OH

DE-ME-658-HK-OH

658-OH

3-CH₂OH-DE-ME-658-OH

DE-ME-658-COOH

DE-ME-658-HK-CH₂OH

DE-ME-658-CH₂OH

DE-ME-658-CH₂OH-OH

658-COOH

3-CH₂OH-DE-ME-658-CH₂OH

3-CH₂OH-DE-ME-658-COOH

Glucuronide-1

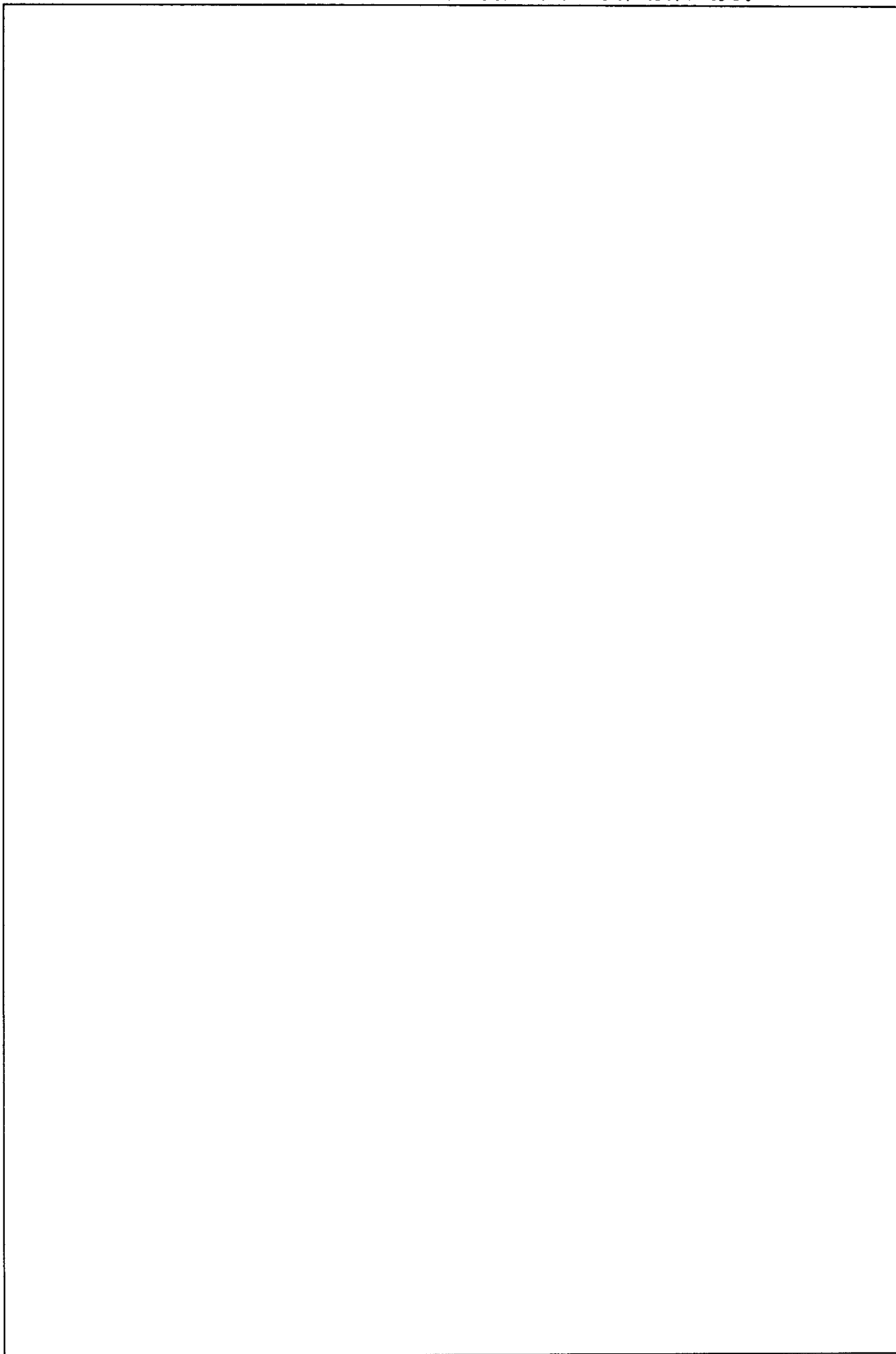
Glucuronide-2

Glucuronide-3

Glucuronide-4

表4 フラメトピルの代謝反応の程度

代 謝 反 応	投与した ^{14}C に対する割合 (%)			
	1mg/kg		300mg/kg	200mg/kg
	雄	雌	雄	雌
N-脱メチル化	44.1	41.9	38.5	33.3
ピラゾール環 3 位メチル基の酸化	7.2	15.4	5.0	5.2
1, 3-ジハイドロイソベンゾフラン環 1 位メチル基の酸化	37.5	36.6	29.7	28.5
1, 3-ジハイドロイソベンゾフラン環 3 位の水酸化	12.2	5.5	17.0	12.7
1, 3-ジハイドロイソベンゾフラン環 7 位の水酸化	11.4	10.3	17.1	11.3
グルクロン酸抱合	5.2	3.5	5.1	6.4



(2) フラメトピルのラットにおける代謝 (胆汁排泄)

(資料 I - 2)

試験機関：住友化学工業株式会社

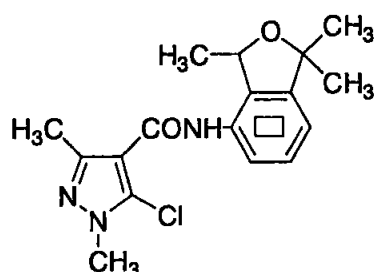
報告書作成年：1994 年

標識化合物

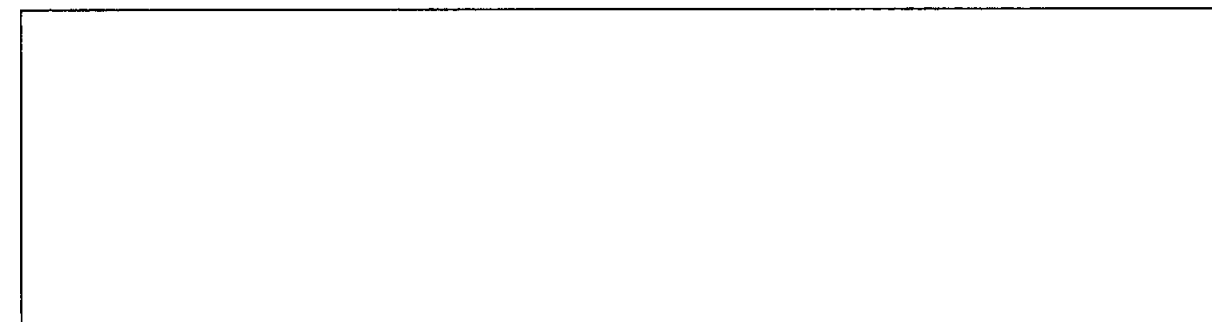
化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：

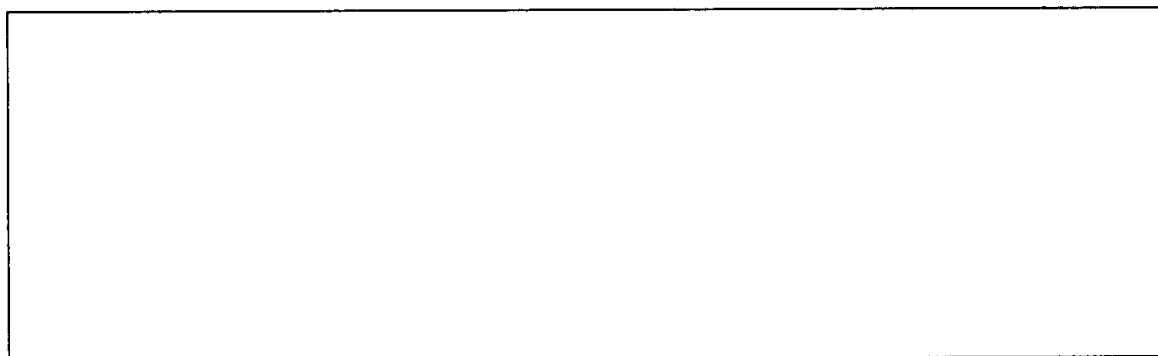


フェニル ¹⁴C 標識体



供試動物：SD系ラット、7週齢 (体重：雄 223~247g、雌 188~193g)、雌雄各 3 匹

試験方法：フェニル基を ¹⁴C 標識したフラメトピルを雌雄ラットに 1mg/kg の割合で 1 回経口投与し、投与後 2 日までの糞・尿・消化管内容物および胆汁中 ¹⁴C 排泄量の定量並びに胆汁および尿中代謝物の同定・定量を行った。



試験結果：

[^{14}C 排泄]

^{14}C の排泄は雌雄ともに速やかで、投与後 2 日間に投与した ^{14}C の 95~96% が糞、尿および胆汁中に排泄された (表 1)。尿中、糞中および胆汁中排泄率はそれぞれ 40.2~41.2%、1.2~1.5% および 52.5~54.2% であった。消化管内容物中の ^{14}C は投与量の 0% であった。

[尿および胆汁中代謝物]

投与後 2 日目の尿中および胆汁中代謝物を 24 種類以上見出し、そのうち各 10 種類の代謝物を同定し、定量した (表 2)。胆汁中の主要代謝物は各種グルクロン酸抱合体であり、合計で投与量の 34.8~37.2% であった。その他の同定された代謝物の割合は 0.29~1.96% であった。尿中において同定された個々の代謝物の割合は投与量の 0.47~3.74% であった。尿および胆汁のいずれにおいても未変化のフラメトピルは検出されなかった。また、代謝に顕著な性差は認められなかった。

表1 フラメトピルの標識体を 1mg/kg で1回経口投与したラットの糞・尿および胆汁中への排泄 ^{14}C 量

投与後の 時間	投与した ^{14}C に対する割合 (%)									
	雄					雌				
	糞	尿	消化管 内容物	胆汁	計	糞	尿	消化管 内容物	胆汁	計
1日	0.3	34.0	N.E.	45.0	79.2	0.9	39.2	N.E.	51.6	91.7
2日	0.9	6.3	0.0	9.2	16.3	0.7	2.0	0.0	0.9	3.6
計	1.2	40.2	0.0	54.2	95.7	1.5	41.2	0.0	52.5	95.3

数字は3匹の平均値を示す。

N.E. : 測定せず。

表2 フラメトピルの標識体をラットに 1mg/kg で1回経口投与後2日間の胆汁および尿中代謝物

代謝物	投与した ¹⁴ Cに対する割合 (%)			
	胆汁		尿	
	雄	雌	雄	雌
DE-ME-658	N. D.	0.40	-	-
DE-ME-658-UK	0.34	0.75	2.27	3.78
DE-ME-658-HK-OH	0.67	0.23	-	-
DE-ME-658-HK-CH ₂ OH	0.29	N. D.	3.74	0.48
DE-ME-658-COOH	1.57	1.33	3.05	1.88
658-COOH	1.78	1.96	2.76	3.60
DE-ME-658-CH ₂ OH	-	-	0.95	1.16
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-CH ₂ OH	-	-	0.73	3.12
Glucuronide-1	7.32	7.51	0.81	0.47
Glucuronide-2	11.33	6.60	2.56	1.25
Glucuronide-3	12.49	16.67	2.64	1.56
Glucuronide-4	3.65	6.38	2.35	2.90
未同定代謝物	14.76	10.71	18.36	21.00
計	54.21	52.55	40.22	41.19

分析は同一群3匹のサンプルをまとめて行った。

未同定代謝物は少なくとも胆汁で16種、尿で14種検出された。

DE-ME-658

DE-ME-658-UK

DE-ME-658-HK-OH

DE-ME-658-HK-CH₂OH

DE-ME-658-COOH

658-COOH

DE-ME-658-CH₂OH

3-CH₂OH-DE-ME-658-CH₂OH

Glucuronide-1

Glucuronide-2

Glucuronide-3

Glucuronide-4

(3) フラメトピルのラットにおける代謝 [低用量・高用量] (組織中 ^{14}C 濃度測定)

(資料 I - 3)

試験機関：住友化学工業株式会社

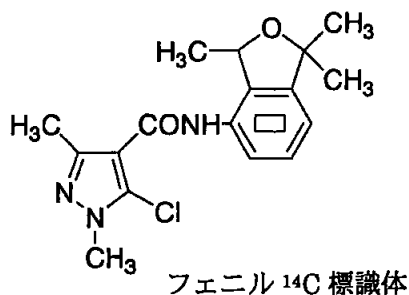
報告書作成年：1994 年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



供試動物：SD系ラット、7週齢（体重：雄 229～259g、雌 165～203g）、1群雌雄各 3 匹

試験方法：フェニル基を ^{14}C 標識したフラメトピルを雌雄ラットに 1mg/kg (低用量群)、300mg/kg (高用量群、雄) および 200mg/kg (高用量群、雌) の割合で 1 回経口投与し、低用量群では投与後 0.5、4、8 および 24 時間目に、高用量群では投与後 8、24、48 および 72 時間目に屠殺し、18～19 種類の組織および消化管内容物について ^{14}C 濃度測定を行った。

高用量（雄）：ラット経口急性毒性試験（資料1-1）において雌雄とも300mg/kg以上で自発運動減少・失調性歩行および呼吸不規則等が認められたことより1回経口投与で何らかの影響が現れる量として300mg/kgを高用量とした。

高用量（雌）：300mg/kgの投与量で雌ラットに1回経口投与を行ったところ（資料1-1）、5匹中2匹に自発運動の低下・流涙および尿失禁等の症状が認められ、そのうち1匹は投与後2日目に死亡したことから、300mg/kgは雌に対する高用量としては不適切であると考えた。2週間摂食亜急性毒性試験において2000ppm（約200mg/kg/day）以上の投与量で雌雄ラットに小葉中心性の肝細胞の肥大等の病理学的な影響が認められていることから、200mg/kgを雌ラットに対する高用量とした。

試験結果：

[血中¹⁴C濃度推移]

血中¹⁴C濃度推移に関する薬物速度論的パラメーターは下表に示す。

血中¹⁴C濃度は、¹⁴C標識したフラメトピルを投与後、雌雄とも低用量群では0.5時間目、高用量群では24時間目に最高値に達した。最高血中¹⁴C濃度は、低用量群では雄0.38、雌0.46μgフラメトピル相当量/g血液、高用量群では雄38、雌44μgフラメトピル相当量/g血液であった（表1、3）。その後、¹⁴C濃度は半減期5（低用量群）、6（高用量群）時間で速やかに減少した。尚、血中¹⁴C濃度が最高値を示した時点での¹⁴C分布比率は、低用量群で1.81~2.06%、高用量群で0.57~1.09%であった（表2、4）。投与後0~168時間のAUCを算出すると、低用量では雄2.7、雌4.2μgフラメトピル相当量/g血液・時間であり、高用量群では雌雄とも1400μgフラメトピル相当量/g血液・時間となった。

投与量 (mg/g)	性	Tmax (hr)	Cmax (μg eq./g)	T1/2 (hr)	AUC _{0-168hr} (μg eq./g*hr)
1	♂	0.5	0.38	5	2.7
1	♀	0.5	0.46	5	4.2
300	♂	24	38	6	1400
200	♀	24	44	6	1400

*：低用量：0.5~24hr 高用量：24~48hr

[組織中 ^{14}C 濃度]

フェニル基を ^{14}C 標識したフラメトピルを投与すると、低用量群では組織中 ^{14}C 濃度は、消化管およびその内容物以外の組織では投与後 0.5 時間目に最高値を示した後、半減期 3~10 時間で減少し、投与後 24 時間目には $0.17\mu\text{g}$ フラメトピル相当量/g 湿組織重量 (ppm) 以下となった (表 1)。腎臓、肝臓における ^{14}C 濃度の最高値はそれぞれ、雄で 1.20、3.80ppm、雌で 1.21、4.23ppm であった。消化管では投与後 0.5~8 時間目に最高値を示した後、投与後 168 時間目まで半減期 14~17 時間で減少した。消化管内容物では投与後 0.5~8 時間目に最高値を示した後、投与後 24 時間目まで半減期 3~7 時間で減少した。投与後 0.5 時間での腎臓、肝臓における ^{14}C 分布比率はそれぞれ 0.90~0.91、15.85~17.49% であった (表 2)。

その他の組織 (甲状腺、消化管およびその内容物を除く) における ^{14}C 分布比率は 16.19% 以下であった。

高用量群では組織中 ^{14}C 濃度は、消化管およびその内容物以外の組織では投与後 8~24 時間目に最高値を示した後、半減期 3~9 時間で減少し、投与後 72 時間目には 21ppm 以下となった (表 3)。腎臓、肝臓における ^{14}C 濃度の最高値はそれぞれ、雄で 91、559ppm、雌で 106、207ppm であった。消化管では投与後 24 時間目に最高値を示した後、投与後 168 時間目まで半減期 14 時間で減少した。消化管内容物では投与後 24 時間目に最高値を示した。組織中 ^{14}C 濃度が最高になった時点での腎臓、肝臓における ^{14}C 分布比率はそれぞれ 0.22~0.43%、4.40~8.12% であった (表 4)。その他の組織 (消化管およびその内容物を除く) における ^{14}C 分布比率は 10.09% 以下であった。

[血液、腎臓および肝臓中代謝物]

低用量群の血液、腎臓および肝臓中の代謝物分析を行った。これらの組織における未変化のフラメトピル濃度は投与後 0.5 時間目にそれぞれ最高値の 6.60~7.92、29.17~42.11 および 247.02~326.56ng フラメトピル相当量/g 湿組織重量 (ppb) を示し、その後速やかに減少した (表 5~7)。組織中の主要代謝物は、



[Redacted]

[Redacted] であり、投与後 0.5 または 4 時間目に最高濃度を示した。これらの 3 種の代謝物の組織中最高濃度はそれぞれ、血液中では 77.78~172.77、12.04~28.92 および 13.17~36.33ppb、腎臓中では 238.04~494.20、71.09~75.92 および 43.11~158.22ppb、肝臓中では 1326.29~2229.63、273.07~315.00 および 158.89~462.52ppb であった。

同定された代謝物から推定した主要代謝反応は、1) N-脱メチル化、2) ピラゾール環 3 位メチル基の酸化、3) 1, 3-ジハイドロイソベンゾフラン環 1 位メチル基の酸化、4) 1, 3-ジハイドロイソベンゾフラン環 3 位の水酸化、5) 1, 3-ジハイドロイソベンゾフラン環 7 位の水酸化、6) 以上で生じたアルコールあるいはフェノール性水酸基のグルクロン酸抱合であった。投与後 0.5 時間目において分布 ^{14}C 総量に対する N-脱メチル化を受けた代謝物の割合は血液、腎臓および肝臓でそれぞれ 33~57%、42~63%、58~74% であり、N-脱メチル化反応が最も主要な代謝反応であった。

表1 フラメトピル標識体を1mg/kgで1回経口投与したラットの主要臓器における組織中¹⁴C濃度推移

組織	μg フラメトピル相当量/g 湿組織									
	0.5 時間		4 時間		8 時間		24 時間		168 時間 ^{a)}	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血液	0.38	0.46	0.13	0.21	0.05	0.07	0.01	0.02	0.002	0.003
骨	0.13	0.17	0.04	0.07	0.01	0.02	0.00	0.01	0.000	0.001
骨髄	0.28	0.05	0.26	0.05	0.08	0.01	0.12	0.01	<0.000	<0.001
脳	0.24	0.47	0.04	0.10	0.01	0.02	0.00	0.00	<0.000	<0.000
盲腸	0.41	0.78	1.78	1.85	4.66	2.99	0.32	0.61	<0.000	0.000
盲腸内容物	0.19	0.25	10.63	11.18	19.70	13.41	1.45	2.81	N.E.	N.E.
脂肪	0.38	0.67	0.11	0.20	0.02	0.03	0.00	0.01	0.001	<0.000
心臓	0.47	0.69	0.12	0.23	0.04	0.08	0.01	0.01	0.001	0.001
腎臓	1.20	1.21	0.53	0.67	0.22	0.24	0.02	0.09	0.002	0.002
大腸	0.51	0.92	0.64	0.58	1.82	1.96	0.16	0.46	<0.000	<0.000
大腸内容物	0.28	0.26	1.84	2.67	9.51	13.57	1.43	2.52	N.E.	N.E.
肝臓	3.80	4.23	1.21	2.19	0.62	0.94	0.09	0.17	0.004	0.004
肺	0.47	0.74	0.13	0.23	0.04	0.07	0.01	0.01	0.001	0.001
筋肉	0.26	0.40	0.07	0.15	0.02	0.05	0.00	0.01	0.002	0.001
皮膚	0.28	0.39	0.10	0.15	0.07	0.06	0.02	0.04	0.002	0.002
小腸	1.88	1.99	1.52	3.59	1.64	1.01	0.12	0.19	0.001	0.001
小腸内容物	4.79	2.79	18.88	16.05	6.04	4.84	0.56	0.96	N.E.	N.E.
脾臓	0.37	0.51	0.11	0.19	0.04	0.06	0.01	0.01	0.001	0.001
胃	7.29	12.16	1.53	0.59	1.30	0.44	0.02	0.07	0.000	0.000
胃内容物	46.03	63.42	9.63	5.37	2.15	0.58	0.17	0.34	N.E.	N.E.
甲状腺	0.54	4.69	0.41	0.24	0.05	0.07	0.01	0.02	<0.005	<0.006
精巣	0.28	-	0.12	-	0.03	-	0.00	-	0.000	-
卵巣	-	0.64	-	0.22	-	0.06	-	0.01	-	0.001
子宮	-	0.37	-	0.16	-	0.04	-	0.01	-	0.000

数字は3匹の平均値を示す。

N.E. : 測定せず

a) : 数字は5匹の平均値を示す (吸収、排泄試験/資料 I-1 で得たデータ)。

表2 フラメトピル標識体を 1mg/kg で 1 回経口投与したラットの主要臓器における組織中 ¹⁴C 分布率推移

組織	投与した ¹⁴ C に対する割合 (%)									
	0.5 時間		4 時間		8 時間		24 時間		168 時間 ^{a)}	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血液	1.81	2.06	0.63	0.93	0.23	0.33	0.05	0.09	0.012	0.015
骨	0.97	1.21	0.28	0.45	0.10	0.15	0.02	0.04	0.038	0.003
脳	0.17	0.46	0.03	0.09	0.01	0.02	0.00	0.00	<0.000	<0.000
盲腸	0.13	0.25	0.42	0.62	0.95	0.96	0.10	0.14	<0.000	<0.000
盲腸内容物	0.69	0.39	30.13	16.33	46.15	22.20	5.80	5.34	N.E.	N.E.
脂肪	2.62	4.29	0.77	1.30	0.14	0.20	0.02	0.04	0.008	<0.008
心臓	0.15	0.22	0.04	0.08	0.01	0.03	0.00	0.00	0.000	0.000
腎臓	0.90	0.91	0.41	0.48	0.16	0.17	0.02	0.07	0.001	0.001
大腸	0.23	0.47	0.29	0.27	0.70	1.01	0.09	0.25	<0.000	<0.001
大腸内容物	0.16	0.09	1.48	2.03	13.02	12.81	0.94	2.38	N.E.	N.E.
肝臓	17.49	15.85	4.81	7.76	2.28	3.59	0.47	0.79	0.020	0.014
肺	0.19	0.31	0.06	0.11	0.02	0.03	0.00	0.01	0.000	0.001
筋肉	11.55	16.19	3.23	5.97	1.05	1.99	0.17	0.29	0.086	0.048
皮膚	4.85	6.36	1.79	2.49	1.09	0.97	0.38	0.62	0.048	0.029
小腸	3.25	4.18	2.46	6.31	1.92	1.49	0.18	0.24	0.001	0.001
小腸内容物	9.83	3.70	26.55	20.98	8.74	9.37	1.55	2.28	N.E.	N.E.
脾臓	0.09	0.11	0.02	0.05	0.01	0.02	0.00	0.00	0.000	0.000
胃	3.16	7.94	0.65	0.29	0.54	0.22	0.01	0.03	0.000	0.000
胃内容物	41.97	23.25	6.76	2.86	0.55	0.25	0.11	0.22	N.E.	N.E.
甲状腺	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<0.000	<0.000
精巣	0.24	-	0.11	-	0.03	-	0.00	-	0.001	-
卵巣	-	0.03	-	0.01	-	0.00	-	0.00	-	0.000
子宮	-	0.07	-	0.03	-	0.01	-	0.00	-	0.000
合計	100.44	88.33	80.92	69.44	77.68	55.78	9.92	12.83	0.170	0.190

数字は 3 匹の平均値を示す。

N.E. : 測定せず

a) : 数字は 5 匹の平均値を示す (吸収、排泄試験/資料 I-1 で得たデータ)。

表3 フラメトピル標識体を 300mg/kg(雄)または 200mg/kg(雌)で1回経口投与したラットの主要臓器における組織中¹⁴C濃度推移

組織	μg フラメトピル相当量/g 湿組織									
	8 時間		24 時間		48 時間		72 時間		168 時間 ^{a)}	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
血液	34	26	38	44	3	3	3	2	0.4	0.5
骨	10	9	14	16	1	1	1	1	0.2	0.4
骨髄	36	29	33	46	1	2	1	1	0.2	0.7
脳	42	38	27	48	0	1	0	0	0.2	<0.1
盲腸	205	113	547	299	79	97	100	159	0.3	0.2
盲腸内容物	624	335	1616	924	478	558	1207	897	N.E.	N.E.
脂肪	110	94	88	120	1	1	1	6	0.3	0.3
心臓	58	46	53	74	1	2	2	1	0.3	0.3
腎臓	78	56	91	106	5	7	8	5	0.5	0.5
大腸	115	96	373	193	57	52	52	94	0.2	0.2
大腸内容物	522	294	1410	636	619	601	1231	1175	N.E.	N.E.
肝臓	142	130	559	207	18	21	21	18	1.1	1.1
肺	58	48	55	76	2	2	2	2	0.3	0.3
筋肉	34	27	33	45	1	1	1	1	0.4	0.3
皮膚	35	30	34	48	2	6	5	3	4.5	0.6
小腸	170	78	360	243	19	29	38	56	0.5	0.2
小腸内容物	436	240	1127	534	196	266	255	284	N.E.	N.E.
脾臓	42	33	40	181	1	2	1	2	0.4	0.3
胃	276	177	260	433	4	10	10	6	0.2	0.1
胃内容物	5116	5009	4320	5297	49	125	91	18	N.E.	N.E.
甲状腺	55	38	55	333	2	8	2	3	3.8	<0.8
精巣	37	-	40	-	1	-	1	-	0.2	-
卵巣	-	51	-	76	-	2	-	1	-	0.3
子宮	-	27	-	49	-	2	-	1	-	0.1

数字は 3 匹の平均値を示す。

N.E. : 測定せず

a) : 数字は 5 匹の平均値を示す (吸収、排泄試験/資料 I - 1 で得たデータ)。

表5 フラメトピル標識体を 1mg/kg で1回経口投与したラットの血液における代謝物の濃度推移

代謝物	ng フラメトピル相当量/g 組織							
	0.5 時間		4 時間		8 時間		24 時間	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
DE-ME-658-HK	3.65	4.18	0.14	0.73	0.00	N. D.	N. D.	N. D.
フラメトピル(S-82658)	6.60	7.92	0.36	0.04	0.35	N. D.	N. D.	N. D.
DE-ME-658	77.78	172.77	7.90	26.62	1.96	2.28	N. D.	0.30
658-HK	8.57	8.74	1.08	0.20	0.09	N. D.	N. D.	N. D.
DE-ME-658-UK	1.36	2.37	0.00	1.56	0.66	0.84	N. D.	0.28
DE-ME-658-OH	12.04	28.92	3.67	18.46	1.61	4.05	N. D.	N. D.
DE-ME-658-HK-OH	4.87	2.84	1.97	4.58	0.86	1.12	N. D.	N. D.
DE-ME-658-COOH	1.46	2.52	N. D.	0.71	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
DE-ME-658-HK-CH ₂ OH	7.20	3.04	5.68	4.50	0.72	0.73	0.10	0.19
658-COOH	19.94	8.71	5.70	2.44	1.96	1.47	N. D.	0.31
DE-ME-658-CH ₂ OH	13.17	36.33	10.84	38.32	2.59	7.16	0.07	1.00
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-CH ₂ OH	2.18	5.67	1.90	7.20	0.44	1.43	N. D.	0.11
Glucuronide-1	3.02	1.34	3.61	4.92	1.14	1.38	N. D.	0.34
Glucuronide-2	7.91	3.55	4.21	2.06	1.64	0.05	N. D.	0.00
Glucuronide-3	7.01	6.82	6.40	3.01	1.40	1.98	N. D.	0.41
未同定代謝物	186.82	156.00	64.46	76.68	22.68	37.78	3.64	9.08
未抽出 ¹⁴ C	13.14	5.87	13.90	14.07	10.49	11.84	5.42	6.81
計	376.72	457.59	131.82	206.11	48.58	72.12	9.23	18.84

分析は3匹のサンプルをまとめて行った。

N. D. : TLC で検出されず

未同定代謝物は少なくとも25種検出された。

Glucuronide-1 : 未同定代謝物2種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-2 : DE-ME-658-OH、DE-ME-658-HK-CH₂OH、658-OH、DE-ME-658-CH₂OH および
未同定代謝物3種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-3 : 未同定代謝物1種のグルクロン酸抱合体

表6 フラメトビル標識体を1mg/kgで1回経口投与したラットの腎臓における代謝物の濃度推移

代謝物	ng フラメトビル相当量/g 組織							
	0.5 時間		4 時間		8 時間		24 時間	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
DE-ME-658-HK	57.98	11.80	N.D.	N.D.	N.D.	0.00	N.D.	N.D.
DE-ME-658	238.04	494.20	23.62	61.67	11.84	N.D.	N.D.	N.D.
DE-ME-658-UK	2.35	N.D.	9.10	8.26	N.D.	4.70	N.D.	N.D.
フラメトビル(S-82658)	29.17	42.11	0.48	5.88	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
658-HK	11.87	1.07	0.74	1.59	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DE-ME-658-OH	75.92	71.09	36.15	60.40	0.00	5.57	N.D.	N.D.
DE-ME-658-HK-OH	2.93	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-OH	2.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DE-ME-658-COOH	68.02	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DE-ME-658-CH ₂ OH	43.11	158.22	17.71	85.47	2.64	17.09	N.D.	N.D.
658-COOH	71.91	38.30	22.87	21.92	0.00	6.92	N.D.	N.D.
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-CH ₂ OH	14.80	24.35	0.00	37.95	14.49	3.34	N.D.	N.D.
Glucuronide-1	12.91	4.50	22.85	23.67	3.26	7.92	N.D.	N.D.
Glucuronide-2	20.41	N.D.	18.19	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
Glucuronide-3	24.45	8.22	19.66	17.95	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
未同定代謝物	496.01	348.16	350.40	334.72	176.99	119.38	13.70	78.22
未抽出 ¹⁴ C	24.64	4.16	11.35	6.66	11.26	4.20	5.40	6.95
計	1196.54	1206.19	533.13	666.14	220.47	169.13	19.10	85.17

分析は3匹のサンプルをまとめて行った。

N.D. : TLCで検出されず

未同定代謝物は少なくとも23種検出された。

Glucuronide-1 : 未同定代謝物2種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-2 : DE-ME-658-OH、DE-ME-658-HK-CH₂OH、658-OH、DE-ME-658-CH₂OH および
未同定代謝物3種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-3 : 未同定代謝物1種のグルクロン酸抱合体

表7 フラメトピル標識体を 1mg/kg で経口投与したラットの肝臓における代謝物の濃度推移

代謝物	ng フラメトピル相当量/g 組織							
	0.5 時間		4 時間		8 時間		24 時間	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
DE-ME-658-HK	235.90	56.79	26.08	15.16	7.95	2.37	N.D.	N.D.
DE-ME-658	1326.29	2229.63	165.85	299.13	64.07	94.97	1.56	N.D.
DE-ME-658-UK	44.76	59.10	28.92	65.93	11.15	16.61	N.D.	2.10
フラメトピル(S-82658)	326.56	247.02	17.98	1.03	5.28	1.39	N.D.	N.D.
658-HK	6.61	7.21	1.83	2.42	0.00	0.25	N.D.	N.D.
DE-ME-658-OH	315.00	273.07	113.46	195.11	37.39	91.36	0.77	6.22
DE-ME-658-HK-OH	10.92	N.D.	14.33	13.33	5.28	N.D.	N.D.	N.D.
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-OH	25.56	9.79	N.D.	6.16	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
DE-ME-658-HK-CH ₂ OH	18.35	N.D.	45.09	55.53	5.90	5.63	N.D.	N.D.
DE-ME-658-COOH	45.75	N.D.	12.85	N.D.	6.86	N.D.	N.D.	N.D.
DE-ME-658-CH ₂ OH	158.88	462.52	121.94	564.83	45.83	183.91	3.59	17.03
658-COOH	29.89	33.81	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-CH ₂ OH	17.30	30.83	8.51	1.24	6.78	15.58	N.D.	2.16
Glucuronide-1	12.71	19.82	18.35	67.31	8.15	18.28	N.D.	2.05
Glucuronide-2	46.42	13.83	10.70	20.59	N.D.	2.61	N.D.	N.D.
Glucuronide-3	77.70	46.83	30.10	40.59	9.73	10.48	N.D.	N.D.
未同定代謝物	881.29	582.53	461.81	647.56	291.71	368.31	50.35	103.77
未抽出 ¹⁴ C	220.11	152.55	134.86	199.05	111.83	125.47	34.66	35.29
計	3800.00	4225.34	1212.66	2194.96	617.93	937.22	90.92	168.62

分析は 3 匹のサンプルをまとめて行った。

N.D. : TLC で検出されず

未同定代謝物は少なくとも 35 種検出された。

Glucuronide-1 : 未同定代謝物 2 種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-2 : DE-ME-658-OH、DE-ME-658-HK-CH₂OH、658-OH、DE-ME-658-CH₂OH および

未同定代謝物 3 種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-3 : 未同定代謝物 1 種のグルクロン酸抱合体

(4) フラメトピルのマウスにおける代謝〔低用量・高用量〕(吸収、排泄)

(資料 I - 4)

試験機関：住友化学工業株式会社

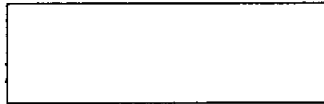
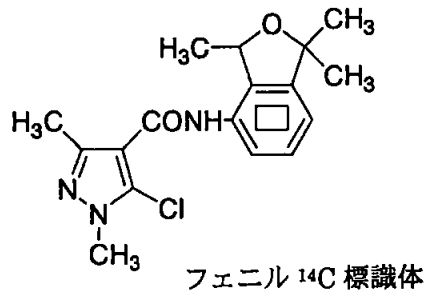
報告書作成年：1994 年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：

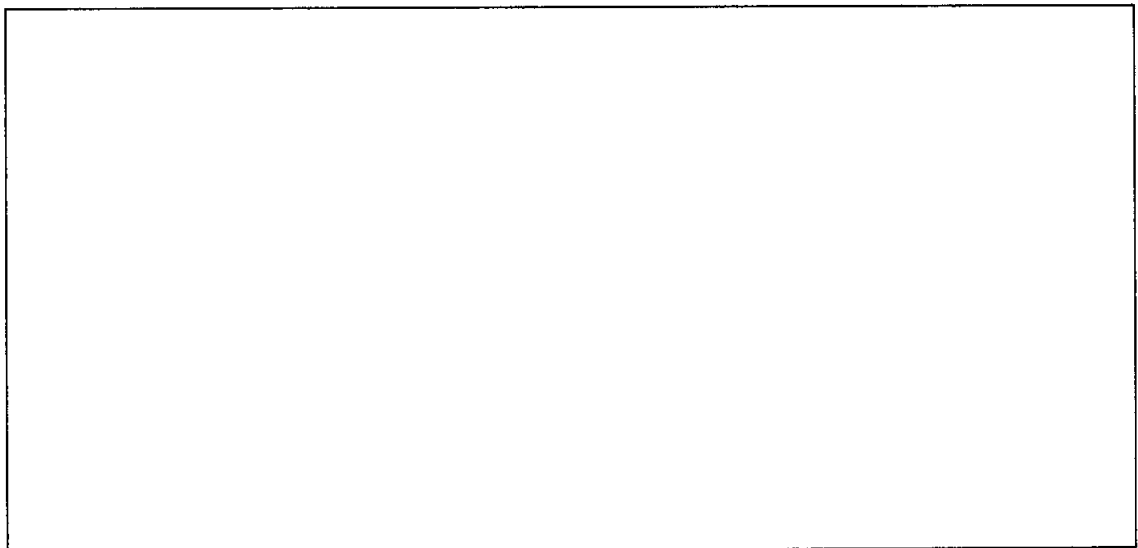


供試動物：ICR系マウス、7週齢（体重：雄 34~37g、雌 23~28g）、1群雌雄各 5 匹

試験方法：フェニル基を ¹⁴C 標識したフラメトピルを雌雄マウスに 1mg/kg（低用量群）、450mg/kg

（高用量群）の割合で 1 回経口投与し、投与後 7 日までの糞および尿中 ¹⁴C 排泄量お

よび 7 日目の組織残留 ¹⁴C 量の定量ならびに糞・尿中代謝物の同定・定量を行った。



試験結果：

[症状] 高用量群において、投与後6時間以内にすべてのマウスに自発運動の減少が認められた。雄1匹雌3匹に投与後1日目においても自発運動の減少が認められたが、その後回復した。低用量群では症状は認められなかった。

 [^{14}C 排泄]

^{14}C の排泄はいずれの群においても速やかで、投与後3日間に投与量の96.2~103.1%、7日間に投与量の96.9~103.7%の ^{14}C が糞および尿中に排泄された(表1)。

投与後7日間の糞中排泄率は50.1~78.9%、尿中排泄率は19.2~47.2%であった。

低用量群における尿中排泄率は、雄で19.2%であるのに対して雌では35.4%であり、雌が雄の約2倍の高値を示した。また、高用量群において、低用量群と比較して尿中排泄率が増加し、糞中排泄率が減少する傾向が認められ、その傾向は特に雄で顕著であった。

 [^{14}C 組織残留]

投与後7日目に比較的濃度の高かった腎臓および肝臓における残留 ^{14}C 濃度は、それぞれ低用量群で0.50~0.93および2.77~5.01ngフラメトピル相当量/g湿組織、高用量群で0.38~0.41および1.80~1.93 μg フラメトピル相当量/g湿組織であった(表2)。その他の組織では、低用量群では検出限界以下あるいは0.8ngフラメトピル相当量/g湿組織以下、高用量群では検出限界以下あるいは0.5 μg フラメトピル相当量/g湿組織以下であった。いずれの投与群においても ^{14}C 組織残留値は低く、顕著な性差は認められなかった。

[糞・尿中代謝物]

投与後3日間の糞および尿中の代謝物を25種類以上見出し、そのうち糞・尿ともに11種類の代謝物を同定した(表3)。主要な代謝反応は、1) N-脱メチル化、2) ピラゾール環3位メチル基の酸化、3) 1,3-ジハイドロイソベンゾフラン環1位メチル基の酸化、4) 1,3-ジハイドロイソベンゾフラン環3位の水酸化、5) 1,3-ジハ

イドロイソベンゾフラン環7位の水酸化、および6)以上の反応で生じたアルコールあるいはフェノール性水酸基のグルクロン酸抱合反応であった。

最も主要な代謝反応は、N-脱メチル化であった。グルクロン酸抱合反応に若干の性および投与量に起因する差が認められた。即ち、低用量群においてグルクロン酸抱合の反応割合は投与量に対して雄で2.68%であるのに対して雌では11.09%であり、雌が雄に対して約4倍高い値を示した。しかし、高用量群においては性差はなく、雄で14.97%、雌で14.34%であった。また、雌雄ともに高用量群において低用量群と比べてグルクロン酸抱合の反応割合は高い傾向が認められ、その傾向は特に雄において顕著であった。

表1 フラメトピルの標識体をマウスに1回経口投与後の糞および尿中への累積¹⁴C排泄量

性別	投与後 経過日数	投与した ¹⁴ Cに対する割合 (%)					
		低用量 (1mg/kg)			高用量 (450mg/kg)		
		糞	尿	計	糞	尿	計
雄	1日	72.7	16.2	89.0	15.5	31.5	47.1
	2日	77.9	18.7	96.6	54.3	42.8	97.1
	3日	78.4	19.0	97.3	58.5	44.6	103.1
	5日	78.8	19.1	97.9	58.8	44.8	103.6
	7日	78.9	19.2	98.0	58.8	44.9	103.7
雌	1日	57.3	34.3	91.6	16.3	8.2	24.4
	2日	60.7	35.3	95.9	42.7	42.7	85.4
	3日	60.9	35.3	96.2	50.0	46.5	96.4
	5日	61.5	35.4	96.9	50.1	47.0	97.1
	7日	61.5	35.4	96.9	50.1	47.2	97.3

分析は5匹のサンプルをまとめて行った。

表2 フラメトピルの標識体をマウスに1回経口投与後7日目の¹⁴C組織残留量

組織	ng フラメトピル相当量/g 湿組織		μg フラメトピル相当量/g 湿組織	
	1mg/kg		450mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
血液	<0.50	<0.48	0.48	0.46
骨	<0.61	<0.75	<0.25	<0.29
骨髓	<1.88	<2.17	<0.90	<0.83
脂肪	<1.01	<1.02	<0.37	<0.47
心臓	<0.64	<0.76	0.55	0.58
腎臓	0.50	0.93	0.38	0.41
肝臓	2.77	5.01	1.80	1.93
肺	<0.45	<0.56	0.49	0.37
筋肉	<0.44	<0.47	0.35	<0.20
皮膚	0.49	0.78	3.38	0.50
精巣	<0.81	-	0.45	-
子宮	-	<1.20	-	<0.47
卵巣	-	<5.49	-	<2.24

数字は5匹の平均値を示す。

表3 フラメトピルの標識体をマウスに1回経口投与後3日間の糞および尿中代謝物

代謝物	投与した ¹⁴ Cに対する割合 (%)							
	1mg/kg				450mg/kg			
	雄		雌		雄		雌	
	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿
DE-ME-658-UK	6.45	3.36	2.79	1.51	0.63	3.98	0.80	2.56
DE-ME-658	0.11		0.36		1.01	0.20	0.49	
DE-ME-658-OH	1.52		1.66	0.13	0.45	0.07	0.83	0.15
DE-ME-658-HK-OH	0.59	0.62	0.69	2.42	0.46	1.27	0.19	2.57
658-OH			0.44					
DE-ME-658-COOH	11.58	2.03	4.71	1.65	4.85	2.22	2.15	3.20
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-OH	1.02		0.74		0.67		0.70	
DE-ME-658-HK-CH ₂ OH	1.41	0.64	0.33	2.31	0.80	2.28	1.36	3.23
DE-ME-658-CH ₂ OH	0.36	0.40		0.48		2.30		1.89
658-COOH	1.64	1.64			0.15			
3-CH ₂ OH-DE-ME-658-CH ₂ OH	1.16	0.00	0.58	0.33	0.34	0.25		0.44
Glucuronide-1				4.93		4.69		5.90
Glucuronide-2		0.72		3.35		1.40		4.12
Glucuronide-3		1.16		1.80		5.23		2.83
Glucuronide-4		0.80		1.02		3.66		1.50
未同定代謝物	47.25	9.25	41.53	15.40	44.66	17.05	40.36	18.08
未抽出 ¹⁴ C	5.29		7.05		4.46		3.09	
計	78.38	18.96	60.89	35.33	58.48	44.58	49.95	46.47

分析は同一群5匹のサンプルをまとめて行った。

未同定代謝物は少なくとも糞で31種、尿で13種検出された。

Glucuronide-1 : 未同定代謝物1種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-2 : DE-ME-658-OH および未同定代謝物1種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-3 : 658-OH および未同定代謝物3種のグルクロン酸抱合体

Glucuronide-4 : DE-ME-658-CH₂OH および未同定代謝物1種のグルクロン酸抱合体

II. 植物体内運命に関する試験

(1) フラメトピルの水稻（葉面処理）における植物代謝試験

(資料II-1)

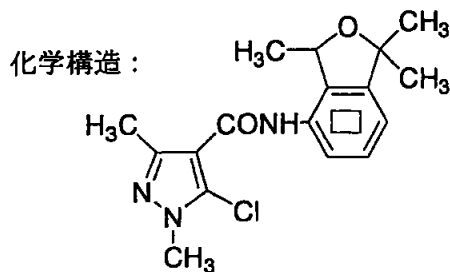
試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1994年

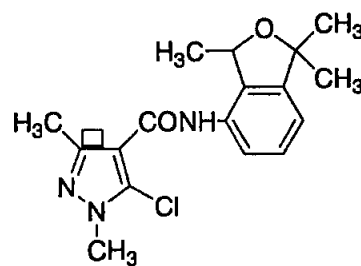
標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

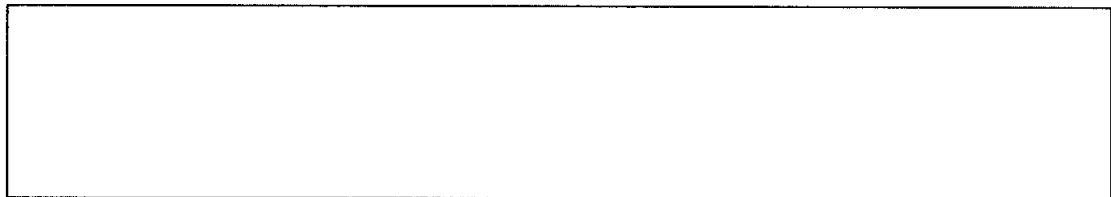
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド



フェニル ¹⁴C 標識体



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試植物：2～3葉期の水稻（品種：日本晴れ）

試験方法：フェニル ¹⁴C 標識またはピラゾリル ¹⁴C 標識フラメトピルのメタノール溶液を1ポットあたり5枚の水稻本葉表面に1葉あたり20 μL（各々20 μg）ずつ塗布した（10 g a. i./10 a 相当）。処理した水稻は温室内（昼：28℃、夜：23℃）で栽培し、処理後1週および2週目に処理葉をサンプリングした。

植物試料はメタノール/水（4/1）で抽出し、減圧濃縮後薄層クロマトグラフィー（TLC）分析に供し、代謝物の定性・定量を行った。試料中の放射能は直接または燃焼後液体シンチレーションカウンター（LSC）で測定した。

試験結果：処理葉中におけるフェニル¹⁴C標識またはピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルとその代謝物の割合を表1に示す。

試験期間中、処理¹⁴C量の85.0~101.2% (44.70~65.73 ppm)が回収されたことから、葉表面からの揮散、植物体内からの蒸散、処理葉以外への移行性はほとんどないと考えられた。

水稻中のフラメトピルは処理2週間後には処理¹⁴C量の25.4~30.0% (13.46~16.91 ppm)にまで減少した。主要な代謝物はいずれの標識体の場合も658-HKおよび658-ALであり、処理2週間後には処理¹⁴C量のそれぞれ11.8~20.1% (7.81~9.04 ppm)および19.9~23.8% (8.95~15.81 ppm)に達した。

他にDE-ME-658が微量(2.1~2.9%, 1.29~1.40 ppm)ながら認められた。また、その他に両標識体とも多くの未同定代謝物(13~15個)が認められたが、それらの生成量はいずれも処理¹⁴C量の6% (3.75 ppm)未満であった(表2)。

同定された代謝物より、フラメトピルの水稻における予想代謝経路を図1に示す。

フラメトピルはイソベンゾフランの3位の水酸化により658-HKを生成し、ついで酸化的脱メチル化を受けて658-ALを生成する。また、ピラゾリル環の1位の脱メチル化によりDE-ME-658も生成する。

処理量に対して87~90%が両標識体に共通した代謝物であり(未同定代謝物も含め)、アミド結合の開裂した代謝物が検出されなかったことから、水稻においてフラメトピルのアミド結合の開裂を伴う代謝はほとんど起こらないと考えられる。

表1 水稲処理葉中におけるフェニル¹⁴C標識またはピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルとその代謝物の割合

	フェニル ¹⁴ C				ピラゾリル ¹⁴ C			
	処理後の週数				処理後の週数			
	1		2		1		2	
	ppm ²⁾	% ³⁾	ppm	%	ppm	%	ppm	%
抽出層	42.60	81.0	41.99	93.5	56.18	95.7	62.11	93.4
フラメトピル	27.17	51.7	13.46	30.0	34.61	59.0	16.91	25.4
DE-ME-658	0.64	1.2	1.29	2.9	0.95	1.6	1.40	2.1
658-HK	5.88	11.2	9.04	20.1	7.47	12.7	7.81	11.8
658-AL	4.82	9.2	8.95	19.9	8.43	14.4	15.81	23.8
その他	4.09	7.7	9.25	20.6	4.72	8.0	20.18	30.3
(N) ¹⁾		(15)		(13)		(13)		(13)
残渣	2.10	4.0	3.46	7.7	2.34	4.0	3.62	5.4
合計	44.70	85.0	45.45	101.2	58.52	99.7	65.73	98.8

1) Nは未同定代謝物の数

2) フラメトピル換算値

3) 処理量に対する割合(%)

表2 処理後2週目の処理葉抽出物中のフラメトピルおよび代謝物の量

	フェニル ¹⁴ C		ピラゾリル ¹⁴ C	
	ppm ³⁾	% ⁵⁾	ppm	%
フラメトピル	13.46	30.0	16.91	25.4
658-HK	9.04	20.1	7.81	11.8
685-AL	8.95	19.9	15.81	23.8
DE-ME-658	1.29	2.9	1.40	2.1
A ¹⁾	0.95	2.1	1.46	2.2
B	1.23	2.7	3.75	5.6
C	0.25	0.6	0.41	0.6
D	0.99	2.2	1.84	2.8
E	0.66	1.5	0.95	1.4
F	0.47	1.1	0.99	1.4
G	1.17	2.6	2.24	3.4
H	0.21	0.4	0.79	1.2
a ²⁾	0.18	0.4	N.D	N.D
b	0.40	0.9	N.D	N.D
c	0.55	1.2	N.D	N.D
d	0.42	0.9	N.D	N.D
e	N.D ⁴⁾	N.D	2.01	3.0
f	N.D	N.D	0.52	0.8
g	N.D	N.D	1.33	2.0
h	N.D	N.D	0.38	0.6
原点	1.77	4.0	3.51	5.3
	41.99	93.5	62.11	93.4

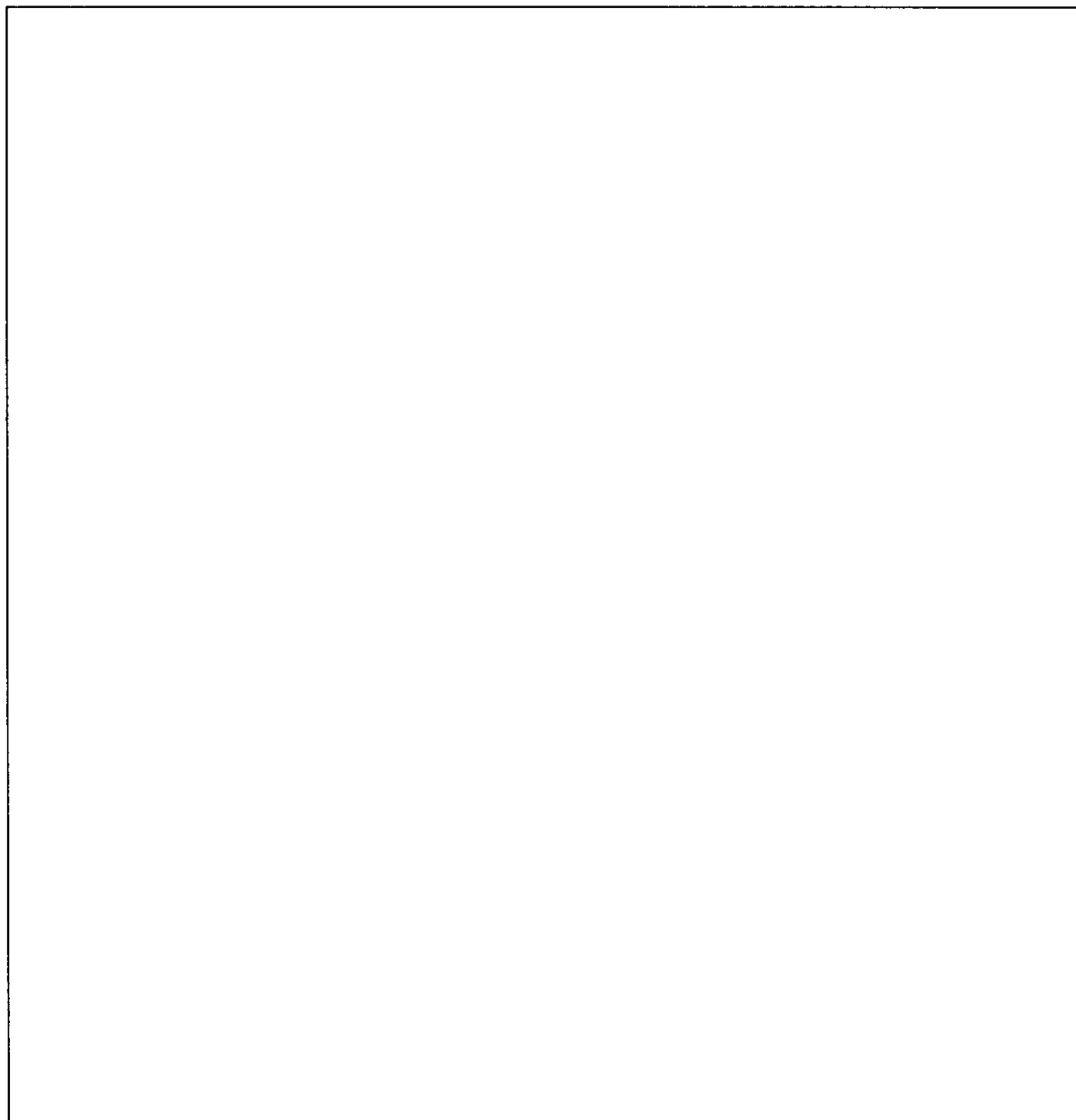
1) A-H: 両標識体に共通の代謝物

2) a-h: フェニル ¹⁴C またはピラゾリル ¹⁴C 標識体にそれぞれ特有の代謝物

3) フラメトピル換算値

4) N.D: 検出されず

5) 処理量に対する割合(%)



(2) フラメトピルの水稻における植物代謝試験

(資料Ⅱ-2)

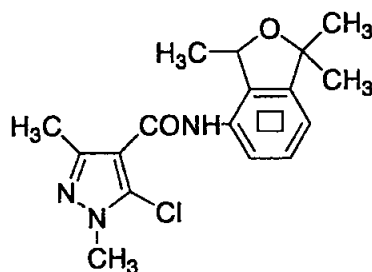
試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：1994年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



供試植物：水稻（品種：コシヒカリ）

試験方法：

[田面水処理]：出穂期初期（播種後約3.5ヶ月）の1/5000 aのワグネルポット中の田面水にフェニル¹⁴C標識フラメトピルのメタノール溶液を1ポットあたり6 mL (1.2 mg) ずつ添加した（60 g a. i./10 a 相当）。これを温室内（昼：25～35℃、夜：20～25℃）で収穫期まで栽培した。処理38日後に水稻を茎葉基部から切断し、温室で1週間乾燥した後、根、茎葉、籾殻および玄米に分け分析を行った。

[葉表面処理]：登熟期初期（播種後約4ヶ月）の止葉表面にフェニル¹⁴C標識フラメトピルのメタノール溶液を1葉あたり25 μL (25 μg) ずつ塗布し（10 g a. i./10 a 相当）、温室内（昼：25～35℃、夜：20～25℃）で収穫期まで栽培した。処理31日後に水稻を茎葉基部から切断し、温室で1週間乾燥した後、処理葉、非処理茎葉、籾殻および玄米

に分け分析を行った。

[穂処理]: 登熟期初期 (播種後約4ヶ月) の穂にフェニル¹⁴C 標識フラメトピルのメタノール溶液を1穂あたり25 μL (25 μg) ずつ塗布し (10 g a. i./10 a 相当)、温室内 (昼: 25~35℃、夜: 20~25℃) で収穫期まで栽培した。処理31日後に水稻を茎葉基部から切断し、温室で1週間乾燥した後、籾殻および玄米に分け分析を行った。

分画した植物試料はメタノール/水 (4/1) で抽出し、さらに0.1M HCl/アセトン (2/3) または0.2M HCl/酢酸エチル (2/3) で抽出した。土壌試料は、0.1M HCl/アセトン (2/3) で抽出した。各々の抽出液は減圧濃縮後 HPLC 分析に供し、代謝物の定性・定量を行った。試料中の放射能は直接または燃焼後液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。

試験結果: 水稻および土壌中の¹⁴C の分布を表1に、植物および土壌試料中のフラメトピルおよびその代謝・分解物の量を表2に示す。

[田面水処理]: 処理¹⁴C 量の4.2%が植物体内に取り込まれた。茎葉部に処理量の3.0% (1.63 ppm)、玄米に<0.1% (0.03 ppm) が分布していた。茎葉部にはフラメトピル (茎葉部中の¹⁴C の56.9%、0.94 ppm) の他に代謝物として658-HK (20.5%、0.34 ppm)、658-AL (6.1%、0.10 ppm) およびDE-ME-658 (2.5%、0.04 ppm) が検出された。玄米にはフラメトピル (玄米中の¹⁴C の63.8%、0.02 ppm) の他に代謝物として658-HK、658-AL、DE-ME-658 および5-OH-658 が検出されたが、いずれも0.01 ppm 未満であった。土壌中には処理¹⁴C 量の81.5% (0.81 ppm) が残存しており、フラメトピル (土壌中¹⁴C の89.4%、0.72 ppm) の他に分解物として658-AL が微量 (3.3%、0.03 ppm) ながら検出された。

[葉表面処理]: 処理¹⁴C 量の46.3%が処理葉中に残存しており、非処理茎葉部および玄米に移行した¹⁴C は共に0.1% 未満であった。処理葉にはフラメトピル (処理葉中の¹⁴C の22.3%、35.06 ppm) の他に658-HK (23.6%、37.04 ppm)、658-AL (28.1%、44.07 ppm)、DE-ME-658 (2.2%、3.45 ppm) およびDE-ME-658-AL (4.1%、6.43 ppm) が検出された。

玄米にはフラメトピル(玄米中の¹⁴Cの57.3%、0.01 ppm)の他に658-HKおよび658-ALが検出されたが、いずれも0.01 ppm未満であった。

[穂処理]:処理¹⁴C量の64.5%が籾殻に、6.9%が玄米に分布していた。玄米にはフラメトピル(玄米中の¹⁴Cの63.3%、0.98 ppm)の他に658-HK(19.7%、0.31 ppm)、658-AL(4.3%、0.06 ppm)およびDE-ME-658(4.0%、0.06 ppm)が検出された。

同定された代謝物より、フラメトピルの水稻における予想代謝経路を図1に示す。フラメトピルはイソベンゾフランの3位の水酸化により658-HKを生成し、ついで酸化的脱メチル化を受け658-ALを生成する。また、ピラゾリル環の1位の脱メチル化によりDE-ME-658やDE-ME-658-ALをも生成する。5位が酸化的に脱クロルした5-OH-658も生成する。

このようにアミド結合の開裂を伴う代謝はほとんど起こらないと考えられる。

表1 水稻および土壤中の¹⁴Cの分布

	ppm ¹⁾	% ²⁾
田面水		
茎葉 ³⁾	1.63	3.0
玄米 ³⁾	0.03	<0.1
籾殻 ⁴⁾	0.89	0.4
根 ⁴⁾	0.36	0.8
土壌 ³⁾	0.81	81.5
葉表面処理		
処理葉 ³⁾	156.94	46.3
非処理茎葉 ⁴⁾	0.01	<0.1
玄米 ³⁾	0.02	<0.1
籾殻 ⁴⁾	0.33	0.4
穂処理		
玄米 ³⁾	1.55	6.9
籾殻 ⁴⁾	53.99	64.5

1) ppm: フラメトピル換算値

2) %: 処理¹⁴Cに対する%

3) 抽出¹⁴Cと未抽出¹⁴Cの和より算出

4) オキシダイザーによる燃焼分析から算出

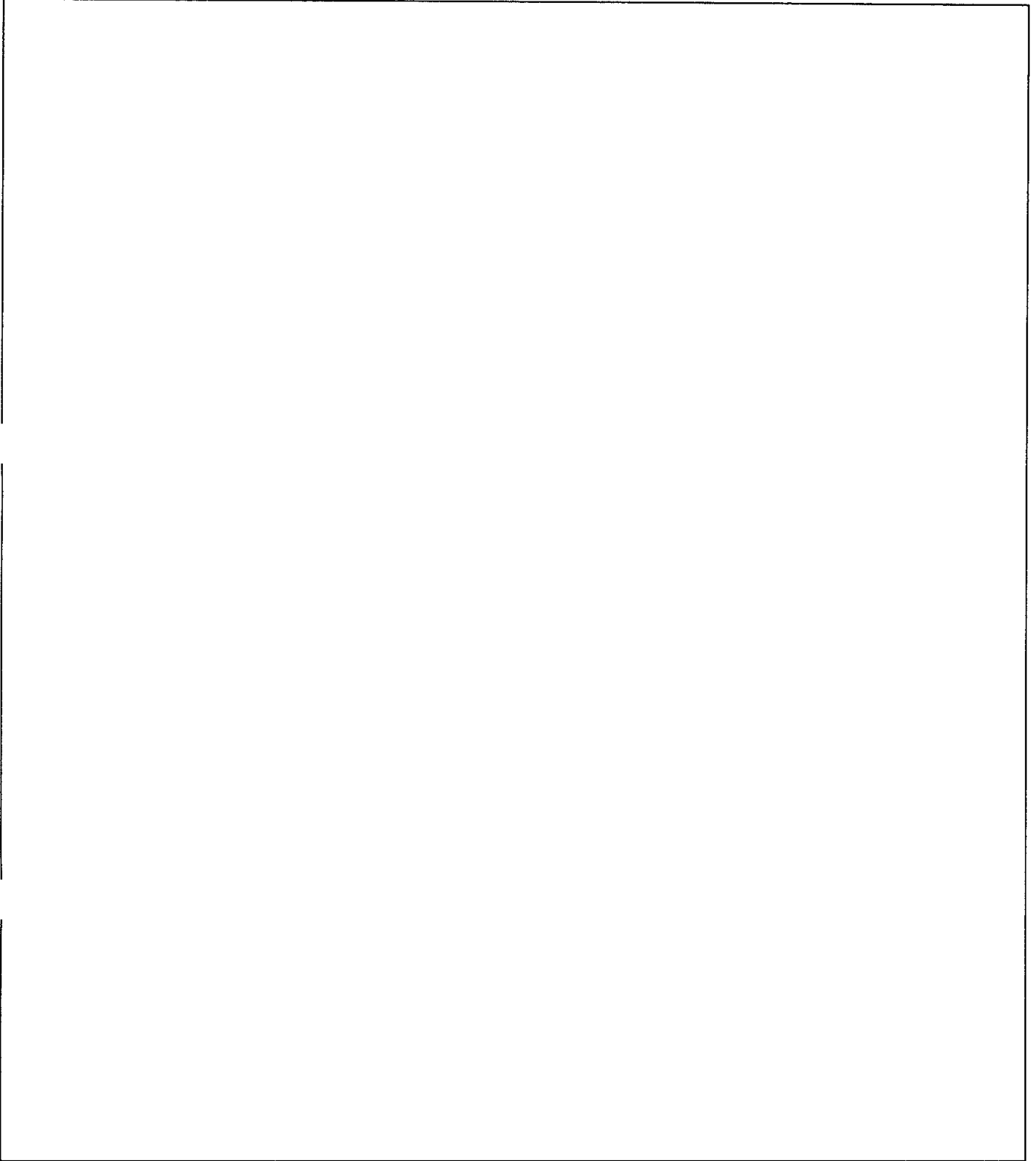
表2 植物および土壌試料中のフラメトピルおよびその代謝物の量

	田面水処理						葉表面処理				穂処理	
	茎葉		玄米		土壌		処理葉		玄米		玄米	
	ppm ¹⁾	% ²⁾	ppm ¹⁾	% ²⁾	ppm ¹⁾	% ²⁾	ppm ¹⁾	% ²⁾	ppm ¹⁾	% ²⁾	ppm ¹⁾	% ²⁾
抽出 ¹⁴ C	1.62	99.0	0.03	91.4	0.81	99.8	156.00	99.4	0.01	57.3	1.54	99.6
フラメトピル	0.94	56.9	0.02	63.8	0.72	89.4	35.06	22.3	<0.01	19.1	0.98	63.3
658-HK	0.34	20.5	<0.01	3.6	- ⁵⁾	-	37.04	23.6	<0.01	8.5	0.31	19.7
685-AL	0.10	6.1	<0.01	2.2	0.03	3.3	44.07	28.1	<0.01	4.0	0.06	4.3
DE-ME-658	0.04	2.5	<0.01	2.0	-	-	3.45	2.2	-	-	0.06	4.0
DE-ME-658-AL	-	-	-	-	-	-	6.43	4.1	-	-	-	-
5-OH-658	-	-	<0.01	1.6	-	-	-	-	-	-	-	-
UK ³⁾ -1	0.03	1.6	-	-	-	-	3.28	2.1	-	-	-	-
UK-2	0.03	2.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
UK-3	<0.01	<0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
UK-4	<0.01	<0.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
UK-5	<0.01	0.5	-	-	-	-	2.43	1.5	-	-	-	-
UK-6	<0.01	0.5	-	-	-	-	3.28	2.1	-	-	-	-
UK-7	-	-	<0.01	1.5	-	-	-	-	-	-	-	-
UK-8	-	-	-	-	-	-	0.18	0.1	-	-	-	-
UK-9	-	-	-	-	-	-	-	-	<0.01	3.4	-	-
UK-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	1.4
UK-11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.02	1.3
その他	0.14	8.4	<0.01	16.7	0.06	7.1	20.78	13.3	<0.01	22.3	0.09	5.6
(N) ⁴⁾	(25)		(7)		(5)		(21)		(11)		(13)	
未抽出 ¹⁴ C	0.01	1.0	<0.01	8.6	<0.01	0.2	0.94	0.6	0.01	42.7	<0.01	0.4
合計 ¹⁴ C	1.63	100.0	0.03	100.0	0.81	100.0	156.94	100.0	0.02	100.0	1.55	100.0

表中の数値は、田面水処理；処理38日目、葉表面処理；処理後31日目、穂処理；処理後31日目のデータを記載した。

- 1) フラメトピル換算値
- 2) 抽出 ¹⁴C と未抽出 ¹⁴C の合計から求めた総回収 ¹⁴C に対する割合 (%)
- 3) 未同定代謝物
- 4) N は代謝物の数
- 5) 検出限界以下

注) この表の数値は2連の実験の平均値である。



(3) フラメトピルのてんさいにおける植物代謝試験

(資料Ⅱ-3)

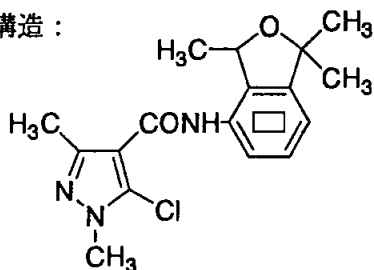
試験機関： Ricerca Biosciences

報告書作成年： 2004年 [GLP 対応]

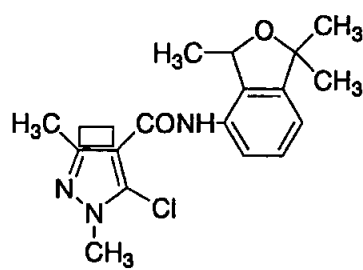
標識化合物

化学名：(R*S*)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

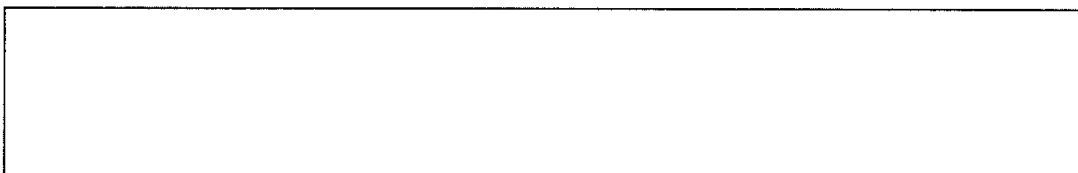
化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識体



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試植物： てんさい (品種：Beta 4430R 種) (圃場栽培)

試験方法：

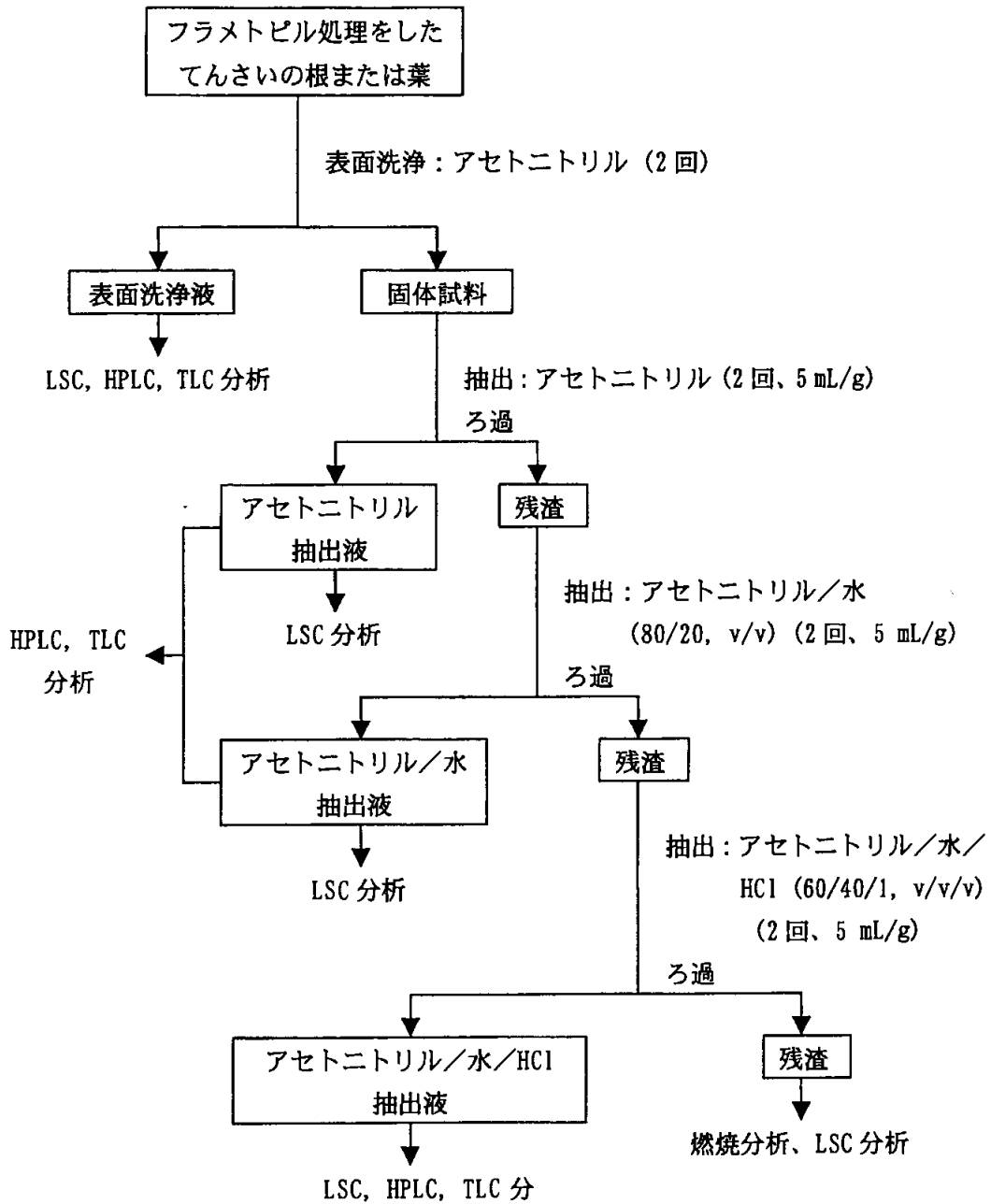
処理液の調製： フェニル ¹⁴C 標識またはピラゾリル ¹⁴C 標識フラメトピルのアセトニトリル溶液に非標識フラメトピルのアセトニトリル溶液を加えて同位体希釈を行った (同位体希釈後の比放射能計算値：フェニル ¹⁴C 標識体：198,807 dpm/μg、ピラゾリル ¹⁴C 標識体：199,104 dpm/μg)。得られた薬液を窒素気流下で濃縮乾固後、50%顆粒水和剤の空製剤と水を添加して混合し、散布溶液を調製した。

処理方法： 処理は、3回 (収穫の28日前、21日前および14日前) 実施した。1回につき、333 g a.i./ha の処理量で茎葉部に散布した。

採取時期： 被験物質の最終処理後14日目に、成熟したてんさいの葉および根を収穫した。

分析方法： 根は水洗して付着した土を除去した。根および葉の抽出および分析方法のスキームを図1に示す。

図1 てんさいの根および葉の抽出および分析スキーム



代謝物の定量は HPLC による直接分析により行った。主要な ^{14}C 残留物は HPLC により単離精製し、定性のために、HPLC および TLC 分析による標品とのクロマトグラフィーに供した。未同定代謝物は、質量分析により化学的特徴付けを行った。抽出液から得られた極性代謝物は、1.0 N HCl による酸加水分解およびイオン交換クロマトグラフィーによって化学的特徴付けを行うとともに、糖

を dimedone 付加体に転換させて、¹⁴C の糖への取り込みを検討した。抽出残渣は、1.0 N HCl, 6.0 N HCl および 1.0 N NaOH による段階的な加水分解を行って分析した。

試験結果：

移行： てんさいの根における総放射能残留量 (TRR) は低レベル (0.042~0.073 ppm) であったことから、てんさいに散布した ¹⁴C は、主として葉の表面に留まり、根への放射能の移行はわずかであることが示された。

¹⁴C 分布：

てんさいの根画分における放射能残留量の分布

処理	洗浄液		抽出液		抽出残渣		TRR ^a
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
フェニル ¹⁴ C フラメトピル	0.003	4.4	0.062	84.6	0.008	11.0	0.073
ピラリル ¹⁴ C フラメトピル	0.005	11.3	0.032	77.2	0.005	11.5	0.042

^a 表面洗浄液、抽出液および未抽出画分における ppm 値の合計

てんさいの葉画分における放射能残留量の分布

処理	洗浄液		抽出液		抽出残渣		TRR ^a
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
フェニル ¹⁴ C フラメトピル	4.989	63.0	2.405	30.4	0.523	6.6	7.918
ピラリル ¹⁴ C フラメトピル	5.716	56.5	3.728	36.9	0.669	6.6	10.114

^a 表面洗浄液、抽出液および未抽出画分における ppm 値の合計

代謝： てんさいの根画分中に、少量のフラメトピルおよび微量残留物として 658-HK および 658-AL が検出された。根画分に存在した主要成分は、極性代謝物であり、これは、糖などの水溶性の天然成分への ¹⁴C の再取り込みとして同定された。葉画分中の主要残留物は、フラメトピル、658-AL および 658-HK であった。他に、微量代謝物として、DE-ME-658、DE-ME-658-AL および、2 個の未同定代謝物 (658-AL および 658-HK の代謝によって生じた化合物であると考えられる) が検出された。葉抽出液中の極性代謝物は、糖を含む水溶性の天然成分への ¹⁴C の再取り込みとして同定された。

てんさいの根および葉における代謝物の分布を次頁に示す。

[¹⁴C]フラメトピルを処理した成熟てんさいの根試料中における¹⁴C残留物の分布

	フェニル ¹⁴ C標識体		ピラゾリル ¹⁴ C標識体	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出液+洗浄液	0.065	89.0	0.037	88.5
フラメトピル	0.007	9.2	0.005	13.0
658-HK	0.001	0.8	0.003	6.3
DE-ME-658-AL	<0.001	0.1	<0.001	0.3
658-AL	0.001	1.1	0.002	5.5
未同定代謝物 1 (46.7分)	<0.001	0.1	<0.001	0.2
未同定代謝物 2 (61.5分)	<0.001	0.1	<0.001	0.4
微量未同定代謝物	<0.001	0.2	<0.001	0.1
極性代謝物	0.056	77.3	0.026	62.7
抽出残渣	0.008	11.0	0.005	11.5
合計	0.073	100.0	0.042	100.0

括弧内の値は、HPLC分析における保持時間

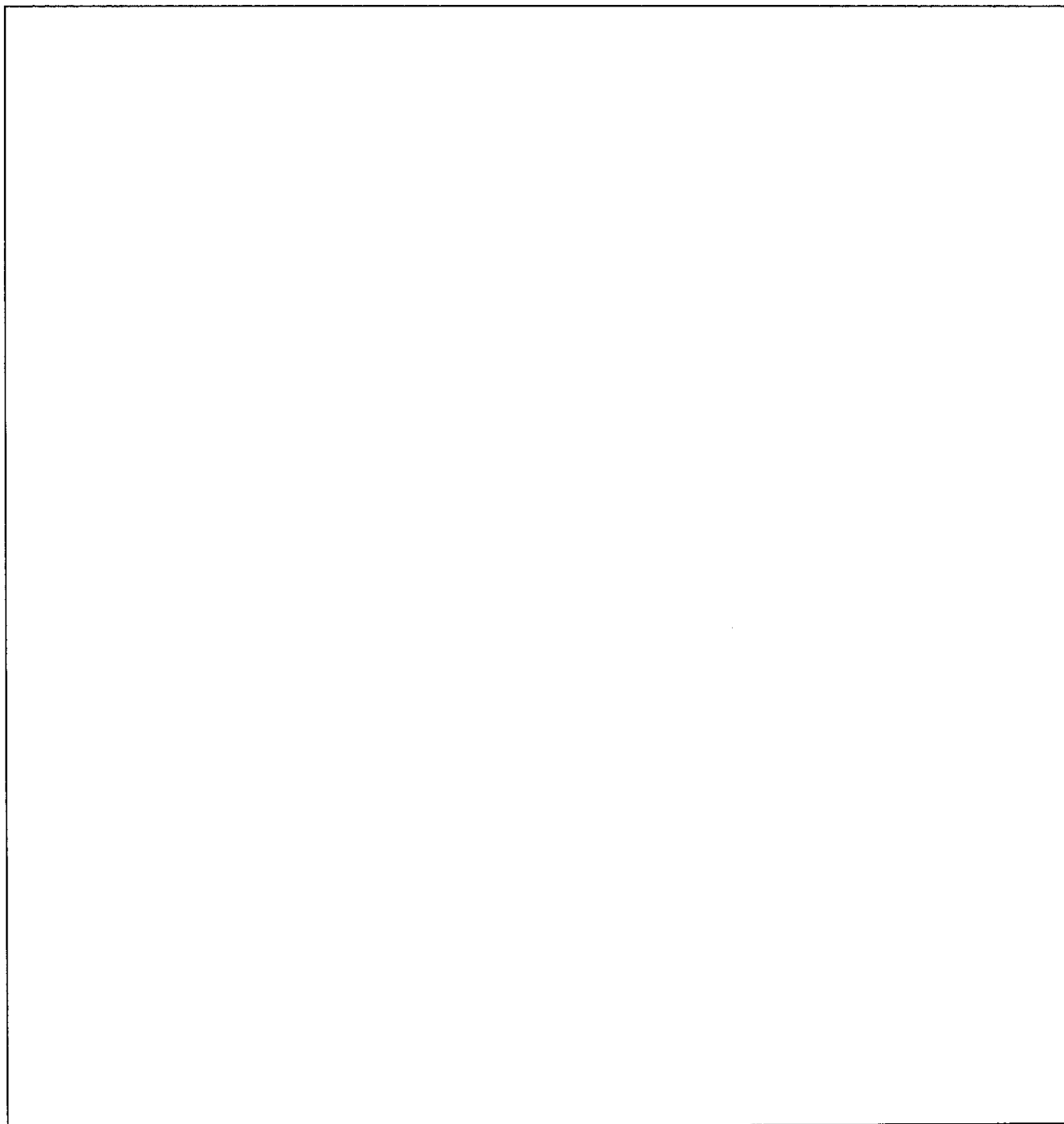
[¹⁴C]フラメトピルを処理したてんさいの葉における¹⁴C残留物の分布

	フェニル ¹⁴ C標識体		ピラゾリル ¹⁴ C標識体	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出液+洗浄液	7.394	93.4	9.445	93.4
フラメトピル	1.995	25.2	1.060	10.5
658-HK	0.707	8.9	1.106	10.9
DE-ME-658	0.169	2.1	0.171	1.7
DE-ME-658-AL	0.158	2.0	0.256	2.5
658-AL	2.321	29.3	3.388	33.5
未同定代謝物 1 (46.7分)	0.215	2.7	0.348	3.4
未同定代謝物 2 (61.5分)	0.301	3.8	0.317	3.1
微量未同定代謝物 ^a	0.977	12.4	0.998	9.9
極性代謝物	0.550	6.9	1.799	17.8
抽出残渣	0.523	6.6	0.669	6.6
合計	7.917	100.0	10.112	100.0

括弧内の値は、HPLC分析における保持時間

^a 微量未同定代謝物は10~14の成分を含むが、個々の成分はいずれもTRRの2.5%以下である。

予想代謝経路：てんさいにおけるフラメトピルの主要代謝経路は、イソベンゾフラン環の3位の水酸化であった。658-HKはさらに、酸化的脱メチル化を受けて、658-ALに代謝された。また、ピラゾール環1位の脱メチル化により、微量のDE-ME-658、およびDE-ME-658-ALが生成した。主要代謝物はさらに代謝されて、低分子または $^{14}\text{CO}_2$ となり、糖を含む植物の天然成分に取り込まれた。



(4) フラメトピルの小麦における植物代謝試験

(資料Ⅱ-4)

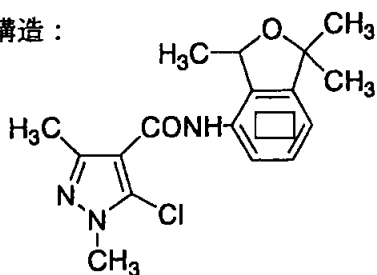
試験機関： Ricerca Biosciences

報告書作成年： 2005年 [GLP 対応]

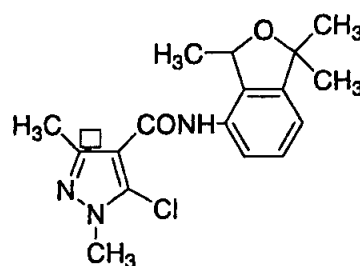
標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

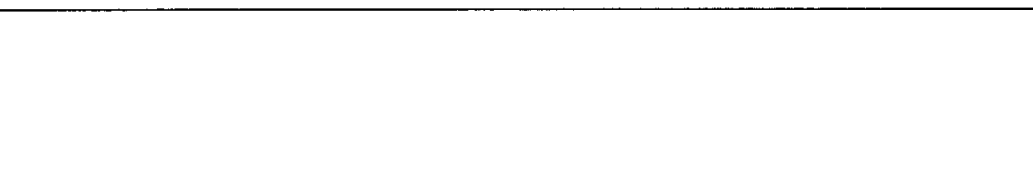
化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識体



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試植物： 小麦（品種：Clark）（圃場栽培）

試験方法：

処理液の調製： フェニル ¹⁴C またはピラゾリル ¹⁴C 標識フラメトピルのアセトニトリル溶液に非標識フラメトピルのアセトニトリル溶液を加えて同位体希釈を行った（同位体希釈後の比放射能：200,000 dpm/μg）。得られた薬液を窒素気流下で濃縮乾固後、50%顆粒水和剤の空製剤と水を添加して混合し、散布溶液を調製した。

処理方法： 処理は、2回（播種後64日目および1回目処理後14日目）実施した。1回につき、200 g a. i./ha の処理量で茎葉部に散布した。

採取時期： 被験物質の最終処理後32日目に、未成熟小麦を収穫し、最終処理後7ヵ月目に成熟小麦を収穫した。

分析方法： 採取した成熟小麦は、穂と藁に分け、穂は表面をアセトニトリル（ACN）で洗浄後、穀粒、もみ殻および茎（茎は藁に加えた）に分けた。未成熟小麦、成熟小麦の藁、穀粒およびもみ殻の抽出および分析方法のスキームを図1および図2に示す。

図1 未成熟小麦組織の抽出および分析スキーム

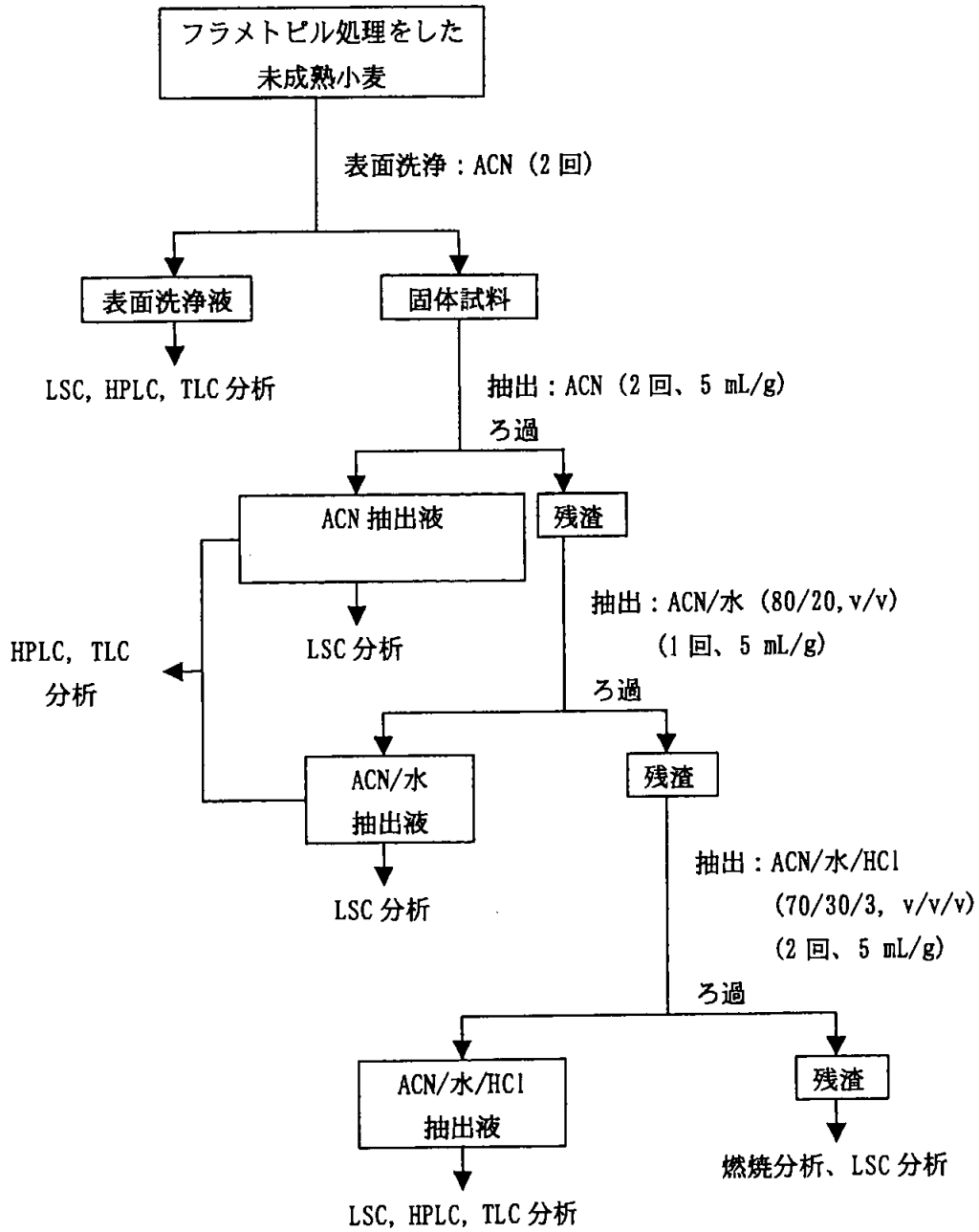
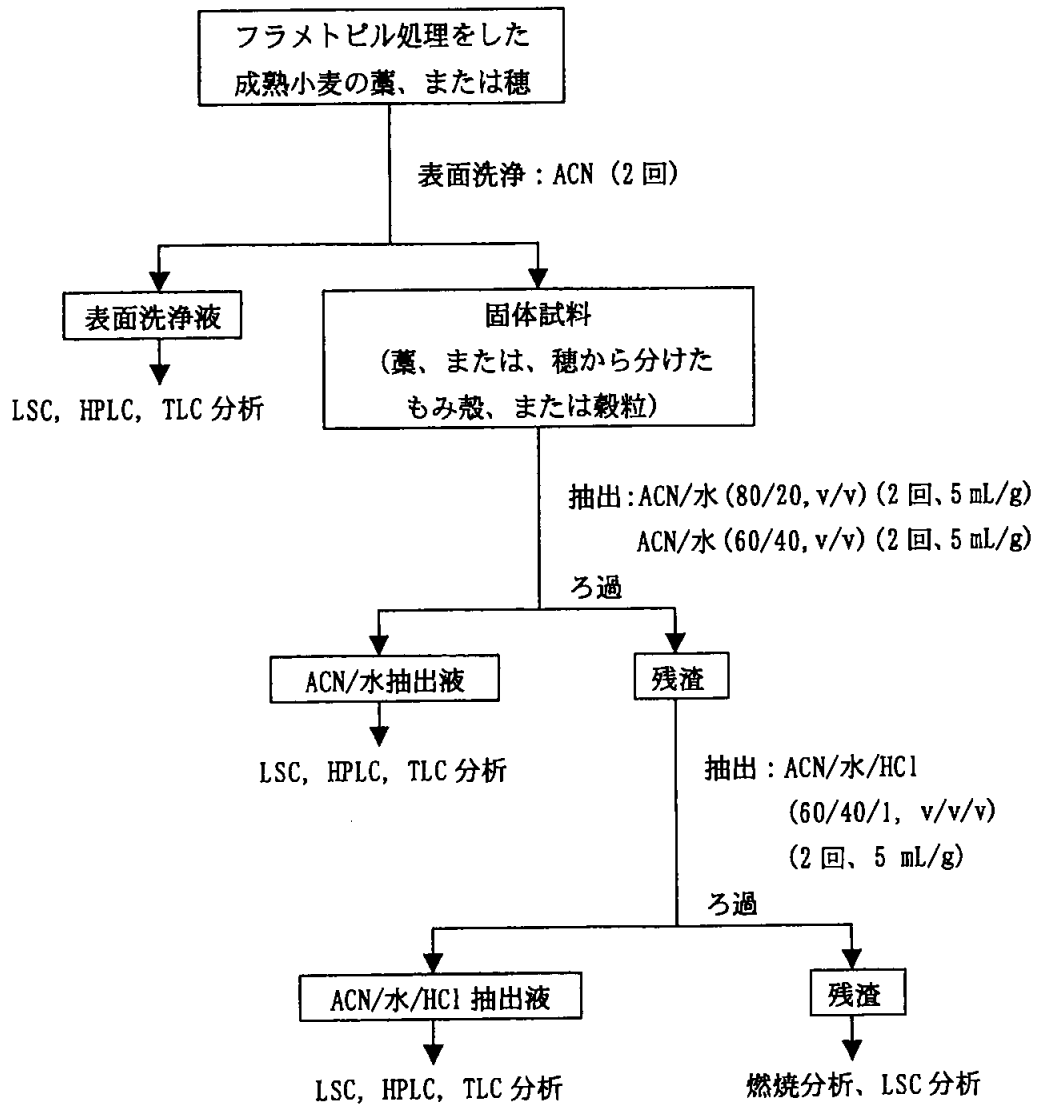


図2 成熟小麦収穫物の抽出および分析スキーム



代謝物の定量は HPLC による直接分析により行った。主要な ^{14}C 残留物は HPLC により単離精製し、定性のために、HPLC および TLC 分析による標品とのクロマトグラフィーに供した。未同定代謝物は、マススペクトル分析により化学的特徴付けを行った。抽出液から得られた極性代謝物は、1.0 N HCl による酸加水分解および、 β -グルコシダーゼを用いた酵素加水分解によって化学的特徴付けを行った。抽出残渣は、1.0 N HCl, 6.0 N HCl および 1.0 N NaOH による段階的な加水分解を行って分析した。

試験結果：

移行： 小麦の穀粒における総放射能残留量 (TRR) は非常に低濃度 (0.015~0.018 ppm) であったことから、小麦に散布した ¹⁴C は、主として藁およびもみ殻に留まり、穀粒への放射能の移行はわずかであることが示された。

¹⁴C 分布：

未成熟小麦における放射能残留量の分布

処理	表面洗浄液		抽出液		抽出残渣		TRR ^a
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
フェニル ¹⁴ C フラメトピル	11.569	79.9	2.537	17.5	0.377	2.6	14.483
ピラゾリル ¹⁴ C フラメトピル	15.716	80.3	3.437	17.6	0.415	2.1	19.569

^a 表面洗浄液、抽出液および抽出残渣における ppm 値の合計

成熟小麦画分における放射能残留量の分布

画分/処理	表面洗浄液		抽出液		抽出残渣		TRR ^a
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
穀粒							
フェニル ¹⁴ C フラメトピル	ND	NA	0.013	82.7	0.003	17.3	0.015
ピラゾリル ¹⁴ C フラメトピル	ND	NA	0.015	80.7	0.004	19.3	0.018
もみ殻							
フェニル ¹⁴ C フラメトピル	ND	NA	0.573	85.9	0.094	14.1	0.667
ピラゾリル ¹⁴ C フラメトピル	ND	NA	0.532	83.7	0.103	16.3	0.635
藁							
フェニル ¹⁴ C フラメトピル	0.004	0.6	0.511	73.3	0.182	26.1	0.697
ピラゾリル ¹⁴ C フラメトピル	0.004	0.6	0.491	69.4	0.212	30.1	0.707

^a 表面洗浄液、抽出液および抽出残渣における ppm 値の合計

ND = 検出されず

NA = 該当せず

代謝： 未成熟小麦における主要 ¹⁴C 成分は、未変化のフラメトピルであり、代謝物として、658-HK および 658-AL が認められた。

成熟小麦の穀粒における主要成分はフラメトピルであった。代謝物として、0.007 ppm 以下と非常に微量の 658-HK、DE-ME-658 および未同定代謝物 1 が認められた。

もみ殻画分中の主要成分はフラメトピルであり、代謝物として、658-HK および未同定代謝物 1 が認められた。極性代謝物は複数の成分から構成されていた。藁画分中の主要成分はフラメトピルであり、代謝物として、658-HK、DE-ME-658 および未同定代謝物 1 が認められた。極性代謝物には 8 個の成分を含んでいた。

藁における抽出残渣は、酸/アルカリ加水分解により遊離した。特に遊離放射エネルギーの多かったアルカリ抽出液を分析したところ、フラメトピルの既知代謝物と一致するものはなかった。

未成熟小麦、成熟小麦の穀粒、もみ殻および藁における代謝物の分布を以下に示す。

[¹⁴C]フラメトピルを処理した後の未成熟小麦収穫物中の¹⁴C残留物の分布

	フェニル ¹⁴ C標識体		ピラゾリル ¹⁴ C標識体	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出液+洗浄液	14.106	97.4	19.153	97.9
フラメトピル	10.823	74.7	14.765	75.4
658-HK	1.190	8.2	1.876	9.6
658-AL	0.976	6.7	1.411	7.2
DE-ME-658	0.319	2.2	0.096	0.5
DE-ME-658-AL	0.213	1.5	0.237	1.2
未同定代謝物1(45.20分ピーク)	0.017	0.1	---	---
他の未同定代謝物	0.569	3.9	0.707	3.6
極性成分	---	---	0.064	0.3
抽出残渣	0.377	2.6	0.415	2.1
合計	14.482	100.0	19.570	100.0

---検出されず

括弧内の値は、HPLC分析における保持時間

[¹⁴C]フラメトピルを処理した穀粒における¹⁴C残留物の分布

	フェニル ¹⁴ C標識体		ピラゾリル ¹⁴ C標識体	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出液	0.013	82.7	0.015	80.7
フラメトピル	0.006	37.8	0.007	35.9
658-HK	0.001	5.8	0.002	10.2
DE-ME-658	0.001	9.1	0.002	9.5
未同定代謝物1(45.20分ピーク)	0.001	9.8	0.001	4.2
他の未同定代謝物	0.001	5.6	0.001	5.6
極性成分	0.002	14.6	0.003	15.3
抽出残渣	0.003	17.3	0.004	19.3
合計	0.015	100.0	0.018	100.0

括弧内の値は、HPLC分析における保持時間

[¹⁴C]フラメトピルを処理したもみ殻における¹⁴C残留物の分布

	フェニル ¹⁴ C 標識体		ピラゾリル ¹⁴ C 標識体	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出液+洗浄液	0.573	85.9	0.532	83.7
フラメトピル	0.228	34.2	0.205	32.2
658-HK	0.142	21.3	0.120	19.0
658-AL	0.011	1.6	0.012	2.0
DE-ME-658	0.023	3.4	0.018	2.8
DE-ME-658-AL	0.012	1.8	0.009	1.4
未同定代謝物 1 (45.20 分ピーク)	0.090	13.5	0.078	12.3
未同定代謝物 2 (33.33 分ピーク)	0.008	1.3	0.010	1.6
微量未同定代謝物	0.034	5.1	0.018	2.8
極性成分	0.024	3.7	0.061	9.5
抽出残渣	0.094	14.1	0.103	16.3
合計	0.667	100.0	0.635	100.0

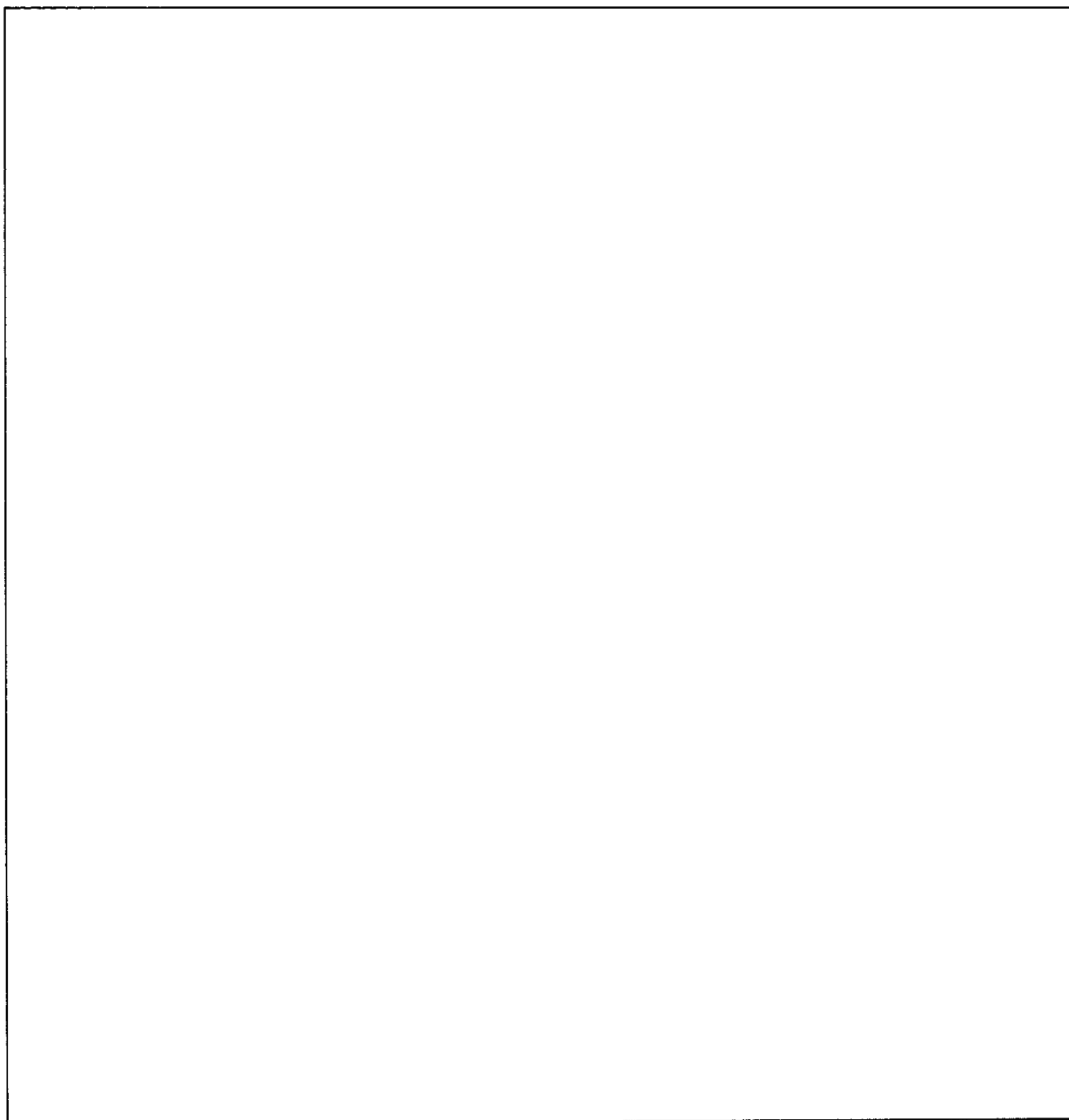
括弧内の値は、HPLC 分析における保持時間

[¹⁴C]フラメトピルを処理した後の藁における¹⁴C残留物の分布

	フェニル ¹⁴ C 標識体		ピラゾリル ¹⁴ C 標識体	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出液+洗浄液	0.515	73.9	0.495	69.9
フラメトピル	0.174	25.0	0.147	20.8
658-HK	0.115	16.4	0.071	10.1
658-AL	0.012	1.7	0.013	1.9
DE-ME-658	0.054	7.7	0.035	5.0
DE-ME-658-AL	0.011	1.6	0.012	1.7
未同定代謝物 1 (45.20 分ピーク)	0.052	7.4	0.052	7.4
未同定代謝物 2 (33.33 分ピーク)	0.030	4.4	0.021	3.0
微量未同定代謝物	0.025	3.6	0.033	4.7
極性成分	0.042	6.1	0.110	15.5
抽出残渣	0.182	26.1	0.212	30.1
合計	0.697	100.0	0.707	100.0

括弧内の値は、HPLC 分析における保持時間

予想代謝経路：小麦におけるフラメトピルの主要代謝経路は、イソベンゾフラン環の 3 位の水酸化による 658-HK の生成であった。658-HK はさらに、酸化的脱メチル化を受けて、658-AL に代謝された。さらに、ピラゾール環 1 位の脱メチル化により、微量の DE-ME-658 が生成した。主要代謝物はさらに代謝されて、他の微量代謝物および極性代謝物を生成した。



Ⅲ. 土壌中運命に関する試験

(1) フラメトピルの好氣的湛水土壌中運命試験

—水田土壌における代謝・分解—

(資料Ⅲ-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

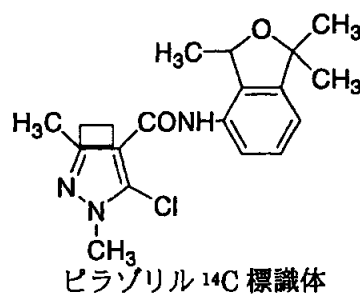
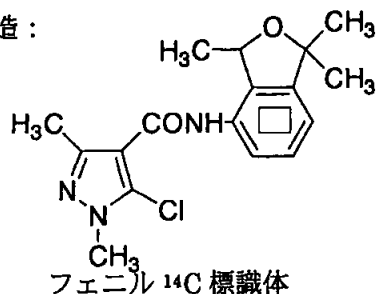
報告書作成年：1994年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



供試土壌：熊本土壌（埴壤土）および徳島土壌（埴壤土）を用いた。土壌の物理化学的性質を表1に示す。

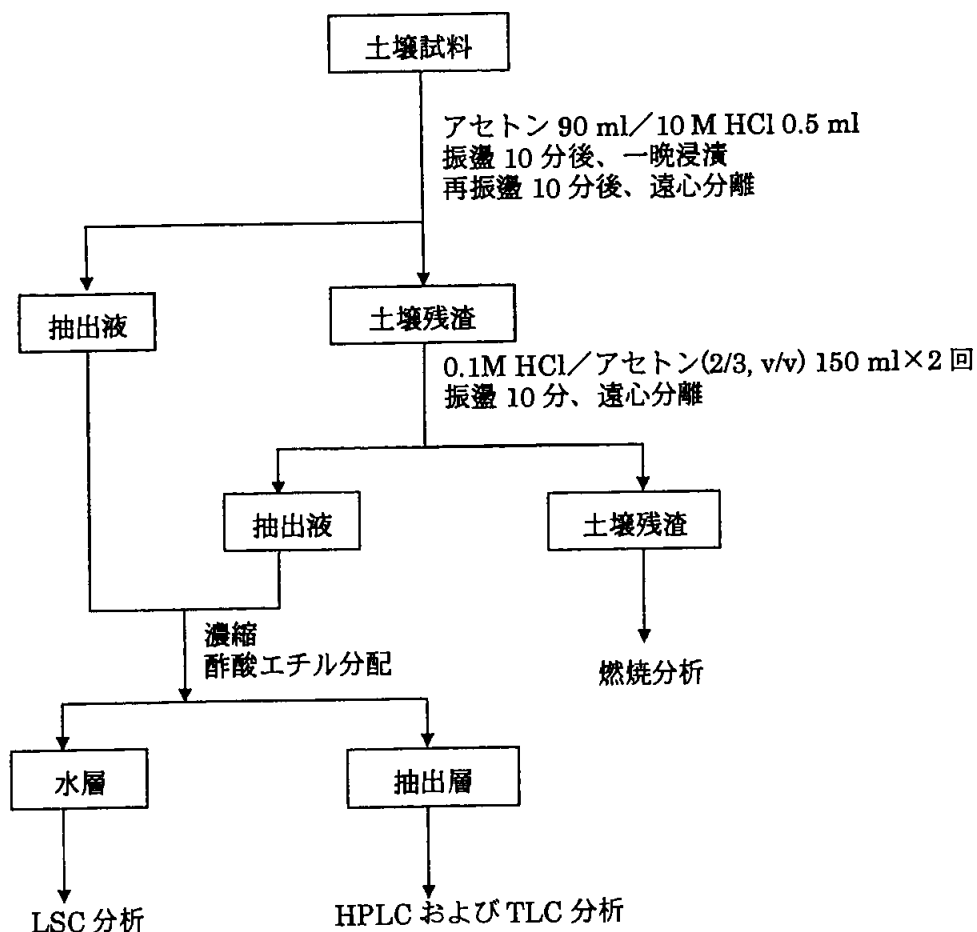
試験方法：2 mm のふるいを通した土壌 30 g（乾土）を 100 mL 容のトールピーカーに秤り取り、水深 3 cm（熊本土壌）あるいは 4 cm（徳島土壌）になるように蒸留水を加え攪拌後、25±2℃の暗所で2週間ブレインキュベーションした。デカンテーションにより、上部の水を除去した後、アセトニトリルに溶解したフェニル¹⁴C 標識またはピラゾリル¹⁴C 標識フラメトピルをそれぞれ乾土あたり 0.583 ppm または 0.582 ppm の割合で添加し攪拌後、除去した水を元の土壌表面に戻した。

申請者注：土壌への処理量について

土壌への処理量 0.582~0.583 ppm は薬剤投下量 582~583 g ai/ha に相当し、水田への慣行施用量 450 g ai/ha から算出される 0.45 ppm の約 1.3 倍量に相当する。

これらの土壌はガラス容器内に静置し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の暗所で1年間インキュベーションした。試験期間中、二酸化炭素を除去した空気を約 50 mL/min の割合で絶えず通気し、揮散した化合物および CO_2 を含む ^{14}C はそれぞれエチレングリコールおよび 0.5M NaOH 水溶液で捕集し、それらの経時変化を調べた。エチレングリコールおよび 0.5M NaOH 水溶液は 0.5 ヶ月毎に交換し、また、水田土壌の水深は絶えず 3~4 cm 以上になるように適宜水分を補給した。

土壌試料はアセトンに 10M HCl を加えて一晩浸漬抽出した。その後 0.1M HCl/アセトン(2/3)で抽出を繰り返した後濃縮し、濃縮液を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層は減圧濃縮後 HPLC 分析に供し、代謝物の定性・定量を行った。試料中の放射能は直接または燃焼後液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。試験系の抽出フロースキームを以下に示す。



試験結果：フェニル¹⁴C標識およびピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルは水田土壤中において徐々に分解され、その消失半減期は熊本および徳島土壤で120～121ヶ月および52～53ヶ月であった。

水田土壤中におけるフェニル¹⁴C標識およびピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルとその代謝・分解物の割合を表2～5に示す。土壤中における主要な代謝・分解物はいずれの標識体の場合も658-HKであり、処理後4ヶ月ごろから認められ、処理12ヶ月後には添加¹⁴C量の4.6～10.6%に達した。その他にDE-ME-658、658-AL等の代謝・分解物が認められたが、試験期間中経時的に増加する傾向は認められず、その生成量はいずれも添加¹⁴C量の3.3%以下であった。一方、揮散性¹⁴Cの割合は処理12ヶ月後に添加¹⁴C量の<0.1～0.2%であり、土壤残渣の割合は徐々に増加し3.6～8.5%であった。

同定された代謝・分解物より、フラメトピルの水田土壤中における予想代謝分解経路を図1に示す。フラメトピルはイソベンゾフランの3位の水酸化により658-HKを生成し、ついで酸化的脱メチル化を受け658-ALを生成する。また、ピラゾリル環の1位の脱メチル化によりDE-ME-658も生成する。

表1 土壌の物理化学的性質

	熊本土壌	徳島土壌
土性	埴壤土	埴壤土
砂 (%)	46.1	54.1
シルト (%)	33.6	26.6
粘土 (%)	20.3	19.3
粘土鉱物	アロフェン	アルミニウム-ミクサイト イライト
有機物含量 (%)	9.9	2.5
陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	36.8	9.0
pH (H ₂ O)	6.5	6.6
磷酸吸収係数 (meq/100g 乾土)	2130	50
水分含量 (%)	34.6	14.5

表2 フェニル¹⁴C 標識フラメトピルの熊本水田土壌における代謝・分解

	添加量に対する割合 (%)							
	処理後の月数							
	0	0.5	1	2	4	6	9	12
揮散	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
アルカリ	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
エチレングリコール	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
土壌	102.8	101.5	103.4	104.9	103.0	105.6	105.2	105.3
抽出層	101.4	97.7	98.7	98.6	96.7	98.3	97.1	96.8
フラメトピル	101.4	95.1	96.6	98.6	94.0	94.5	92.9	92.2
DE-ME-658	ND	<0.4	<0.4	<0.4	ND	<0.4	<0.4	<0.4
658-HK	<0.4	2.6	2.1	<0.4	2.7	3.8	4.2	4.6
658-AL	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4
その他	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4
水層	0.5	<0.1	<0.1	0.5	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
残渣	0.9	3.8	4.7	5.8	6.3	7.3	8.1	8.5
合計	102.8	101.5	103.4	104.9	103.0	105.6	105.2	105.3

ND:検出されず

表3 フェニル¹⁴C 標識フラメトピルの徳島水田土壌における代謝・分解

	添加量に対する割合 (%)							
	処理後の月数							
	0	0.5	1	2	4	6	9	12
揮散	<0.1	<0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
アルカリ	<0.1	<0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
エチレンアルコール	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
土壌	104.0	101.3	102.4	102.0	103.2	103.4	102.9	103.6
抽出層	103.6	99.6	98.8	98.7	97.7	99.6	98.0	98.5
フラメトピル	103.6	99.6	98.8	98.7	93.6	94.7	89.6	86.8
DE-ME-658	ND	ND	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4
658-HK	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	4.1	4.9	6.9	9.0
658-AL	ND	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	1.5	2.7
その他	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4
水層	<0.1	0.7	0.6	0.4	0.7	0.4	0.6	0.8
残渣	0.4	1.0	3.0	2.9	4.8	3.4	4.3	4.3
合計	104.0	101.3	102.5	102.2	103.4	103.6	103.1	103.8

ND: 検出されず

表4 ピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルの熊本水田土壌における代謝・分解

	添加量に対する割合 (%)							
	処理後の月数							
	0	0.5	1	2	4	6	9	12
揮散	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
アルカリ	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
エチレンジコ-ル	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
土壌	100.0	98.9	100.9	102.6	103.4	102.9	102.3	104.3
抽出層	98.7	96.0	96.4	95.1	97.4	96.5	95.3	96.1
フラメトピル	98.7	96.0	96.4	95.1	95.8	93.7	93.1	90.2
DE-ME-658	ND	<0.5	ND	ND	<0.5	<0.5	<0.5	ND
658-HK	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.6	2.8	2.2	5.9
658-AL	ND	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
UK-24*	ND	<0.5	ND	ND	ND	ND	ND	ND
その他	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
水層	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
残渣	1.3	2.9	4.5	7.5	6.0	6.4	7.0	8.2
合計	100.0	98.9	100.9	102.6	103.4	102.9	102.3	104.3

ND:検出されず

*: 未同定代謝分解物

表5 ピラゾリル¹⁴C 標識フラメトピルの徳島水田土壌における代謝・分解

	添加量に対する割合 (%)							
	処理後の月数							
	0	0.5	1	2	4	6	9	12
揮散	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
アルカリ	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
エチレングリコール	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
土壌	104.1	100.3	102.1	102.5	103.6	101.3	101.9	104.5
抽出層	103.7	99.7	100.0	99.9	100.3	99.0	98.8	100.9
フラメトピル	103.7	99.7	100.0	99.9	98.0	92.7	91.1	87.0
DE-ME-658	ND	<0.5	<0.5	<0.5	ND	<0.5	<0.5	<0.5
658-HK	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	2.3	6.3	5.8	10.6
658-AL	ND	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	3.3
UK-24*	ND	ND	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	1.9	ND
その他	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
水層	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
残渣	0.4	0.6	2.1	2.6	3.3	2.3	3.1	3.6
合計	104.1	100.3	102.1	102.5	103.6	101.3	101.9	104.5

ND:検出されず

*:未同定代謝分解物



(2) フラメトピルの好氣的土壤中運命試験

—畑地土壌における代謝・分解—

(資料Ⅲ-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

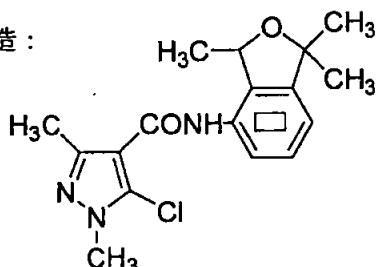
報告書作成年：1994年

標識化合物

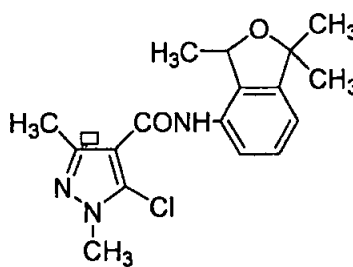
化学名：(RS)-5-クロロ-N(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-

1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識体



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試土壌：牛久土壌（埴壤土）を用いた。土壌の物理化学的性質を下表に示す。

土性	埴壤土	陽イオン交換容量	28.4
砂 (%)	63.0	(meq/100g 乾土)	
シルト (%)	21.0	pH (H ₂ O)	5.9
粘土 (%)	16.0	磷酸吸収係数	2350
粘土鉱物	アロフェン	(meq/100g 乾土)	
有機物含量 (%)	7.4	水分含量 (%)	15.5

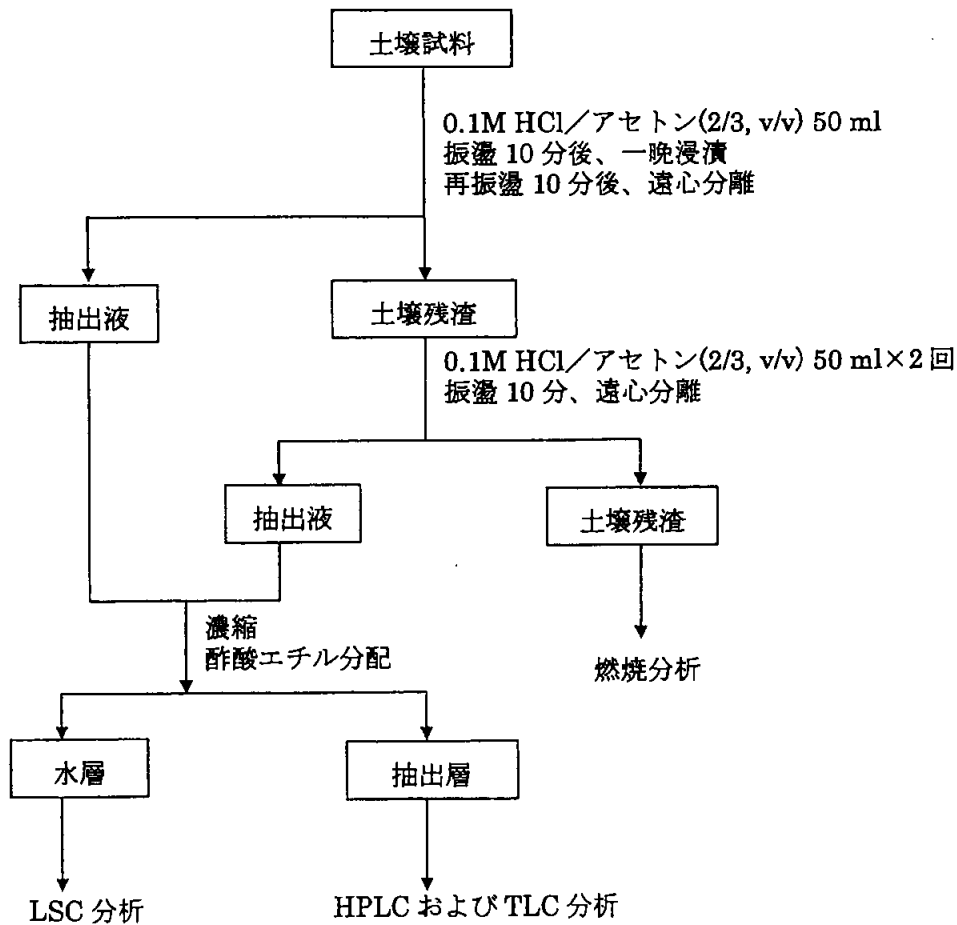
試験方法：2 mm のふるいを通した土壌 10 g（乾土）を 30 mL 容のビーカーに秤り取り、水分含量が最大飽和水量の 50% になるように蒸留水を加え攪拌後、25 ± 2°C の暗所で 2 週間ブレインキュベーションした。その後、アセトニトリルに溶解したフェニル ¹⁴C 標識またはピラゾリル ¹⁴C 標識フラメトピルを乾土あたり 1.684~1.698 ppm または 1.635~1.688 ppm の割合で添加し攪拌した。

申請者注：土壌への処理量について

土壌への処理量 1.684~1.698 ppm または 1.635~1.688 ppm は薬剤投下量 1684~1698 g ai/ha または 1635~1688 g ai/ha に相当し、畑地への最大慣行施用量 333 g ai/ha から算出される 0.33 ppm の約 5.1 倍量に相当する。

これらの土壌はガラス容器内に静置し、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の暗所で1年間インキュベーションした。試験期間中、二酸化炭素を除去した空気を約 50 mL/min の割合で絶えず通気し、揮散した化合物および CO_2 を含む ^{14}C はそれぞれエチレングリコールおよび 0.5M NaOH 水溶液で捕集し、それらの経時変化を調べた。エチレングリコールおよび 0.5M NaOH 水溶液は 0.5 ヶ月毎に交換し、また、土壌の水分含量は最大飽和含水量の 50% を保つよう 1 ヶ月に一回水分を補給した。

土壌試料は 0.1M HCl/アセトン(2/3)で一晩浸漬抽出した。この後、さらに 0.1M HCl/アセトン(2/3)で抽出を繰り返した後濃縮し、濃縮液を酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層は減圧濃縮後 HPLC 分析に供し、代謝物の定性・定量を行った。試料中の放射能は直接または燃焼後液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。試験系の抽出フロースキームを以下に示す。



試験結果：各土壌において実験は2連で実施したが、結果はそれらの平均値で記した。フェニル

^{14}C 標識およびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルは畑地土壌中において速やかに分解され、その消失半減期は120日であった。

畑地土壌中におけるフェニル ^{14}C 標識およびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルとその代謝・分解物の割合を表1および2に示す。土壌中における主要な代謝・分解物はいずれの標識体の場合も658-HKおよび658-ALであり、これらは経時的に増加し、処理365日後には添加 ^{14}C 量の36.4~42.1%および16.0~16.8%に達した。その他にDE-ME-658等の代謝・分解物が認められたが、試験期間中経時的に増加する傾向は認められず、その生成量はいずれも添加 ^{14}C 量の9.2%以下であった。一方、揮散性 ^{14}C の割合は処理365日後に添加 ^{14}C 量の0.1%未満であった。また、土壌残渣の割合は経時的に増加し、処理365日後には添加 ^{14}C 量の27.7~28.9%であった。

同定された代謝・分解物より、フラメトピルの畑地土壌における予想代謝分解経路を図1に示す。フラメトピルはイソベンゾフランの3位の水酸化により658-HKを生成し、ついで酸化的脱メチル化を受け658-ALを生成する。また、ピラゾリル環の1位の脱メチル化によりDE-ME-658も生成する。

表1 フェニル¹⁴C 標識フラメトピルの牛久畑地土壌における代謝・分解
添加量に対する割合 (%)

	処理後の月数												
	0	1	3	7	14	30	59	91	121	178	269	365	
揮散	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
アロカリ	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
エチレンジアミン	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
土壌	94.9	96.5	95.8	96.7	95.3	95.5	97.8	96.2	91.4	95.6	96.7	97.4	97.4
抽出層	94.4	95.5	94.0	94.7	93.0	90.9	89.2	83.9	76.9	75.7	70.3	68.2	68.2
フラメトピル	94.4	94.0	90.1	90.4	85.1	72.6	63.3	42.0	29.7	31.1	17.7	12.7	12.7
DE-ME-658	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	(1.6)	3.4	4.2	2.7	(3.2)	2.9	2.0	2.0
658-HK	<0.5	(3.0)	3.9	4.3	7.9	12.6	15.9	27.1	35.1	19.9	36.3	36.4	36.4
658-AL	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	2.5	4.0	10.6	9.4	13.9	13.4	16.0	16.0
UK-52 ^{a)}	ND	ND	ND	ND	<0.5	ND	ND	<0.5	<0.5	ND	<0.5	(2.1)	(2.1)
UK-98 ^{b)}	ND	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	2.4	(5.1)	<0.5	<0.5	9.2	<0.5	<0.5	<0.5
その他	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
水層	<0.1	<0.1	0.1	(0.1)	(0.1)	(0.1)	0.1	0.1	0.2	0.2	0.2	0.3	0.3
残渣	0.5	1.0	1.7	2.0	2.2	4.6	8.5	12.2	14.3	19.7	26.2	28.9	28.9
合計	94.9	96.5	95.8	96.7	95.3	95.5	97.8	96.2	91.4	95.6	96.7	97.4	97.4

a)、b) : 未同定代謝物

ND: 検出されず

() 内の数値は、二連のうちいずれかがNDまたは検出限界未満であった時のもう一連の分析値を示す。

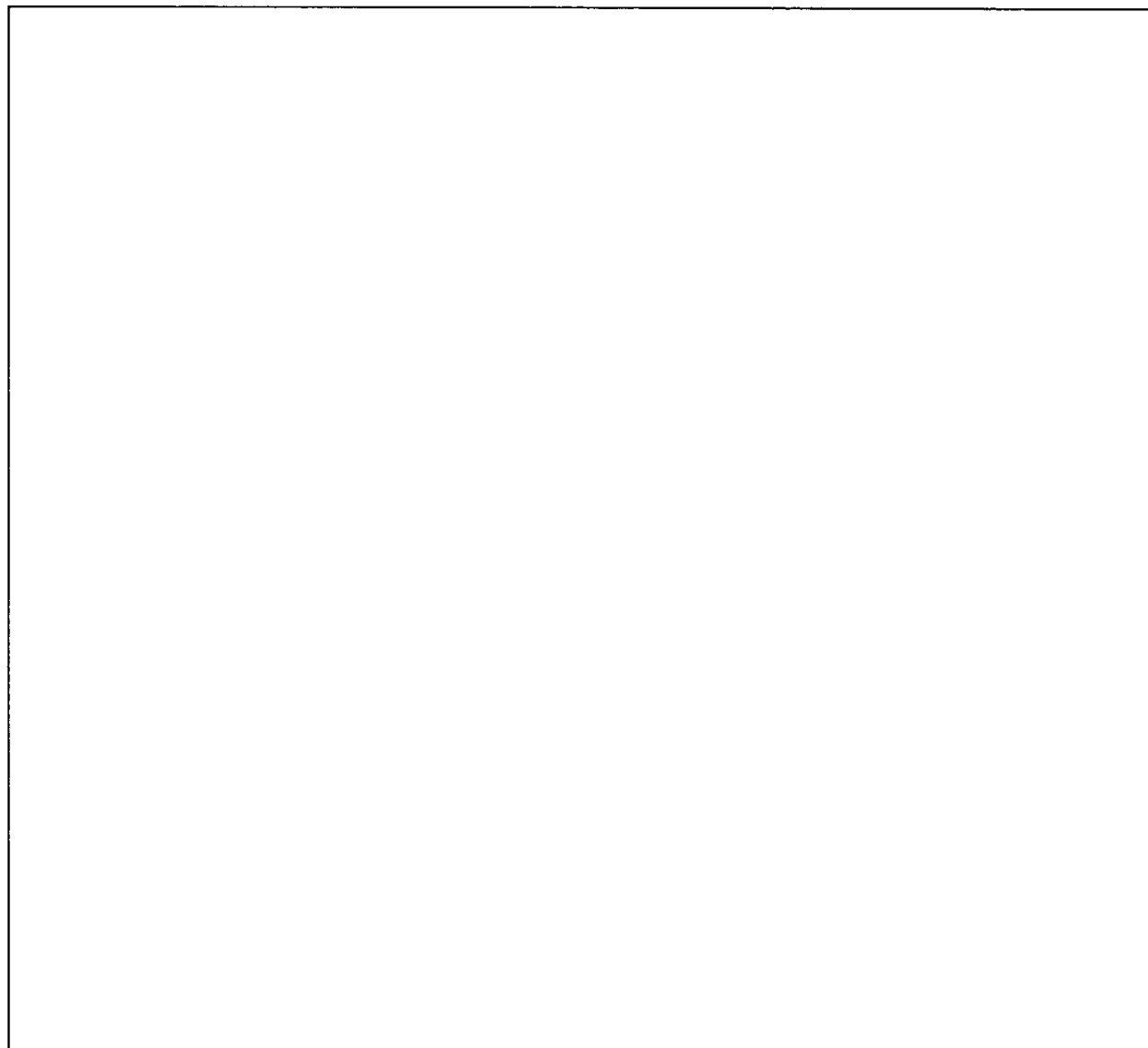
表2 ピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルの牛久畑地土壌における代謝・分解

	添加量に対する割合 (%)													
	0	1	3	7	14	30	58	91	120	177	268	365		
揮散	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		
アカリ	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		
エチレンジアミン	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1		
土壌	98.5	98.4	98.5	97.8	96.4	96.6	93.4	97.9	93.3	96.7	95.1	100.0		
抽出層	97.9	97.3	96.9	95.7	93.7	90.0	85.2	84.1	80.5	77.3	70.3	72.0		
フラメトピル	97.9	97.3	94.3	85.8	76.9	61.8	48.4	42.0	35.2	22.3	20.0	11.9		
DE-ME-658	ND	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	(2.5)	3.9	4.5	4.8	2.9	5.3	<0.5		
658-HK	<0.5	<0.5	(5.2)	9.9	12.3	22.0	28.1	29.3	31.4	41.7	29.1	42.1		
658-AL	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	(2.0)	4.0	4.8	5.8	9.1	10.4	15.9	16.8		
UK-52 ^{a)}	ND	<0.5	ND	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	ND	ND	ND	ND	(2.3)		
UK-98 ^{b)}	ND	<0.5	<0.5	<0.5	3.5	(1.8)	<0.5	2.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5		
その他	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5		
水層	<0.1	<0.1	(0.1)	(0.1)	<0.1	(0.1)	(0.1)	<0.1	0.2	0.2	0.2	0.3		
残渣	0.6	1.1	1.6	2.1	2.7	6.6	8.2	13.8	12.6	19.2	24.6	27.7		
合計	98.5	98.4	98.5	97.8	96.4	96.6	93.4	97.9	93.3	96.7	95.1	100.0		

a)、b) : 未定代謝物

ND: 検出されず

() 内の数値は、二連のうちいずれかがNDまたは検出限界未満であった時のもう一連の分析値を示す。



(3) フラメトピルの嫌氣的土壤中運命試験

(資料 III-3)

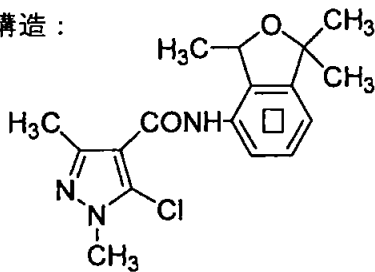
試験機関： Ricerca Biosciences, LLC.

報告作成年：2004年 [GLP 対応]

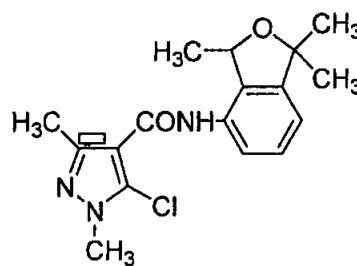
標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

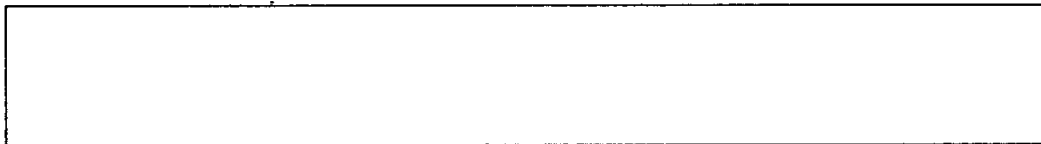
化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識体



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試水： 湛水用に Optima grade の水

供試土壌： 水田土壌 (栃木県農業試験場)

項目	分析値	項目	分析値
砂	76	pH (H ₂ O)	6.5
シルト	14	陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	19.0
粘土	10		
有機物含量 (%)	12.3	圃場含水量 (%)*	62.8
土性	砂壤土	粘土鉱物	カオリナイト

*1/3 bar の土壌含水量

試験方法：

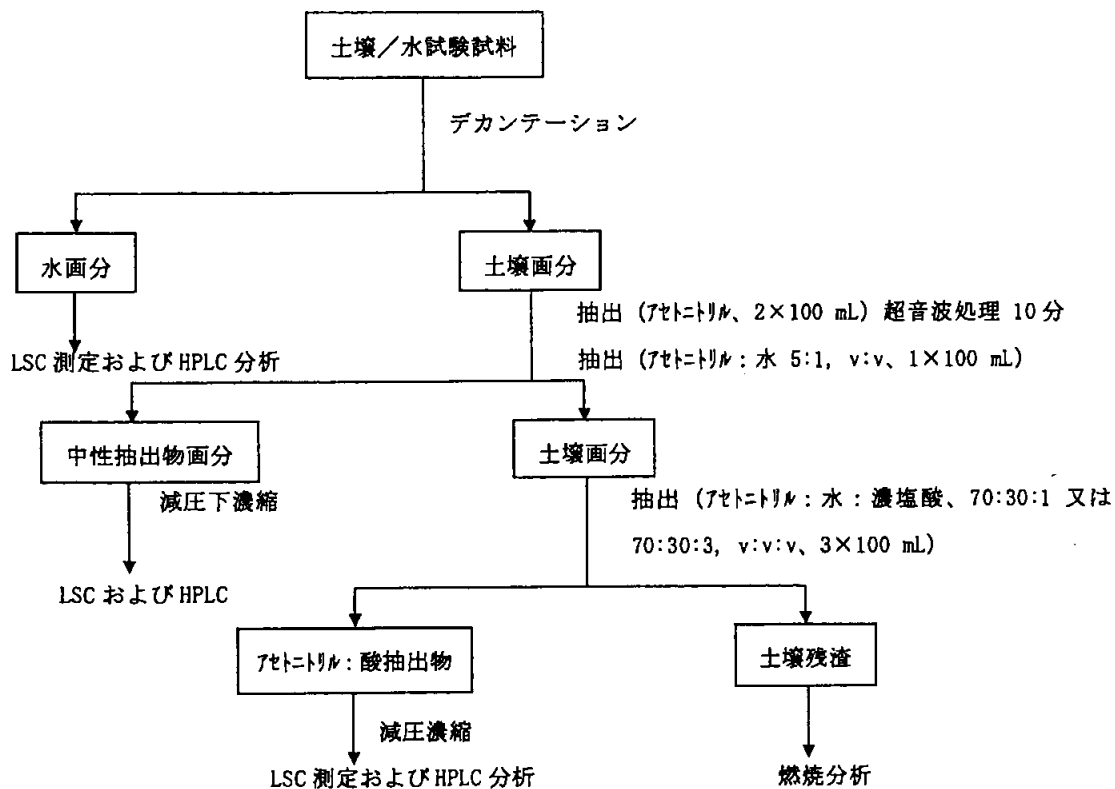
試験溶液の調製： フェニル ¹⁴C 標識およびピラゾリル ¹⁴C 標識フラメトピルを水：アセトニトリル (40 : 3, v : v) に溶解し、それぞれ 13.38 および 12.35 μg/mL の処理溶液を調製した。

処理方法： 30 g の土壌試料 (乾土あたり 30g の土壌と水 100 mL) にそれぞれ乾土あたり 0.45 ppm (慣行施用量である 450 g a. i. /ha で施用し、深さ 10cm の土壌層に均一に分布すると仮定した場合の濃度に相当) となるように、フェニル ¹⁴C 標識およびピラゾリル ¹⁴C 標識フ

ラメトピルを各試験系に処理し、窒素を通気させた嫌気的条件下、 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ のインキュベーター内の暗所で180日間インキュベーションした。

採取時期： 処理後0、7、30、60、90、120および180日目

分析方法： 土壌/水試験系の抽出フロースキームを次頁に示す。



揮散性 ^{14}C は、エチレングリコールおよび 1M NaOH 水溶液の入ったトラップで捕集し、LSC 分析に供した。

フラメトピルおよびその代謝物は、各非標識標品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定し、更にフラメトピルについては、その非標識標品との TLC コクロマトグラフィーに基づき同定した。また、一次指数減衰関数に当てはめることで、分解速度を推算した。

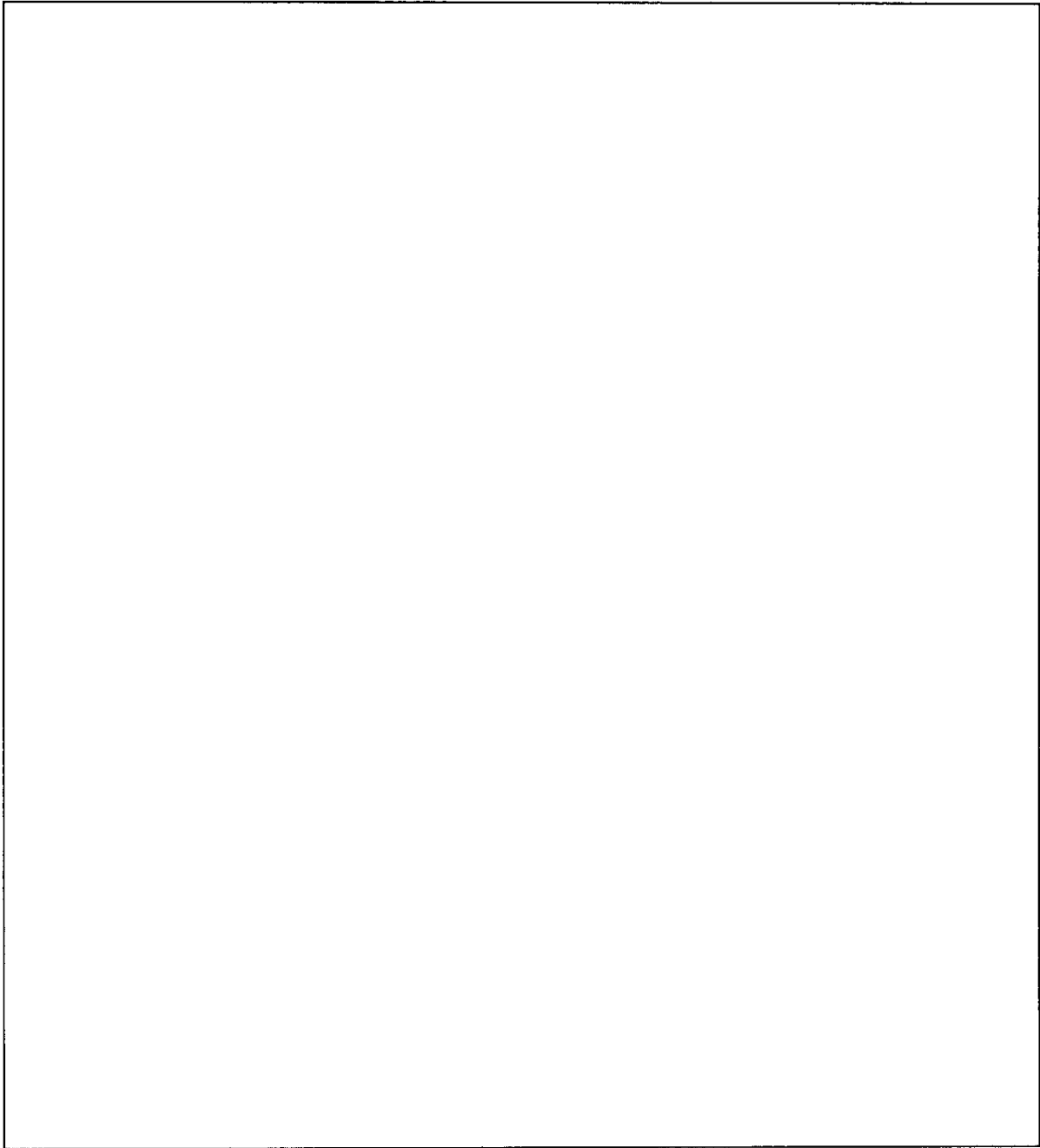
試験結果：
分布および代謝：

	フラメトピルの水/土壌系における代謝・分解 処理量に対する割合 (%)																				
	フェニル ¹⁴ C 標識体									ピラゾリル ¹⁴ C 標識体											
	0	7	30	60	90	120	180	0	7	30	60	90	120	180	0	7	30	60	90	120	180
揮散	Na	Na	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	Na	Na	0.07	0.08	0.08	0.09	0.10	Na	Na	0.07	0.08	0.08	0.09	0.10
エチルシロキサン	Na	Na	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq	Na	Na	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq	Na	Na	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq
CO ₂	na	na	0.03	0.04	0.04	0.04	0.04	na	na	0.07	0.08	0.08	0.09	0.10	na	na	0.07	0.08	0.08	0.09	0.10
水相 ¹⁾	100.20	21.23	4.36	2.19	1.62	1.13	1.09	99.24	21.64	4.59	2.11	1.63	1.19	1.04	97.79	21.48	4.59	2.11	1.63	1.19	1.05
フラメトピル	98.48	20.87	4.33	2.19	1.62	1.14	1.09	1.13	Blq	Na	Nd	Nd	Nd	Nd	1.13	Blq	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
658-HK	1.43	0.29	Blq	Nd	Nd	Nd	Nd	2.19	52.28	51.50	51.03	43.08	37.57	37.05	2.19	52.28	51.50	51.03	43.08	37.57	37.05
土壌中性抽出物相	2.16	54.09	50.51	49.41	40.10	36.39	37.17	na	50.67	50.21	49.40	42.01	36.43	36.05	na	50.67	50.21	49.40	42.01	36.43	36.05
フラメトピル	Na	50.56	47.89	47.58	37.72	34.47	34.60	na	0.70	0.60	0.87	0.41	0.51	0.49	na	0.70	0.60	0.87	0.41	0.51	0.49
658-HK	Na	1.15	1.04	0.67	0.78	0.81	0.77	na	0.91	0.69	0.76	0.67	0.64	0.52	na	0.91	0.69	0.76	0.67	0.64	0.52
658-AL	Na	1.81	1.32	1.10	1.05	0.95	1.03	na	na	na	(0.01)	Nd	Nd	Nd	na	na	na	(0.01)	Nd	Nd	Nd
その他	Na	0.22	(0.17)	(0.15)	0.30	(0.11)	0.41	na	na	nd	nd	nd	nd	nd	na	na	nd	nd	nd	nd	nd
土壌抽出物相	Na	21.36	36.01	45.89	51.41	56.95	60.02	Na	21.50	36.54	45.34	50.85	56.00	59.61	Na	21.50	36.54	45.34	50.85	56.00	59.61
フラメトピル	Na	19.77	33.89	43.46	49.36	55.38	55.63	Na	20.76	35.11	45.34	50.14	55.29	56.36	Na	20.76	35.11	45.34	50.14	55.29	56.36
658-HK	Na	0.54	0.91	(1.00)	1.20	1.19	1.09	Na	0.39	0.73	Nd	0.71	blq	1.18	Na	0.39	0.73	Nd	0.71	blq	1.18
658-AL	Na	0.62	1.07	1.38	(1.06)	(0.77)	1.42	Na	0.16	0.71	Nd	Nd	Nd	(0.90)	Na	0.16	0.71	Nd	Nd	Nd	(0.90)
その他	Na	0.25	(0.32)	(1.11)	(0.63)	Nd	1.38	Na	0.20	Nd	Nd	Nd	0.72	1.64	Na	0.20	Nd	Nd	Nd	0.72	1.64
系全体																					
フラメトピル	98.48	91.19	86.10	93.22	88.70	90.99	91.32	97.79	92.91	89.90	96.84	93.77	92.91	93.45	97.79	92.91	89.90	96.84	93.77	92.91	93.45
658-HK	1.43	1.98	1.96	1.17	1.98	2.00	1.86	1.13	1.09	1.32	0.87	1.12	0.51	1.67	1.13	1.09	1.32	0.87	1.12	0.51	1.67
658-AL	(0.49)	2.43	2.39	2.47	1.58	1.34	2.44	(0.38)	1.07	1.40	0.76	0.67	0.64	0.96	(0.38)	1.07	1.40	0.76	0.67	0.64	0.96
その他	2.20	0.60	0.19	0.63	0.29	(0.11)	1.78	2.32	0.31	Nd	(0.01)	Nd	0.72	1.64	2.32	0.31	Nd	(0.01)	Nd	0.72	1.64
土壌抽出残渣	0.86	2.83	6.78	1.51	4.53	3.17	4.02	0.87	2.87	6.50	1.34	2.78	2.64	2.56	0.87	2.87	6.50	1.34	2.78	2.64	2.56
合計	103.21	99.50	97.67	99.03	97.68	97.68	102.23	102.29	98.28	99.19	99.89	98.41	97.49	100.36	102.29	98.28	99.19	99.89	98.41	97.49	100.36

Nd：検出されず、Na：分析せず、Blq：定量レベル以下
 ()内の数値は、二連のうちいずれかがNdまたはBlqであった時のもう一連の分析値を示す。

代謝・分解物として、水層および土壌層ともに、添加放射エネルギーの10%を超す代謝・分解物は認められず、658-HK および 658-AL が系全体で添加放射エネルギーの最大2.0%および2.5%が検出された。その他、極く微量の De-C1-658 および DE-ME-658 が検出された。

消失半減期は、フェニル標識体およびピラゾリル標識体でそれぞれ、水層において7.3日 ($r^2=0.9141$) および7.4日 ($r^2=0.9157$)、水/土壌系全体において19年 ($r^2=0.0517$) および27年 ($r^2=0.0192$) と計算された。土壌層における消失半減期は、土壌でのフラメトピルの割合の変動が大きかったため、計算できなかった。



(4) フラメトピル代謝物 658-AL の嫌氣的土壤中運命試験

(資料Ⅲ-4)

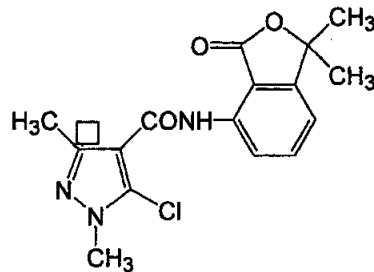
試験機関: Ricerca Biosciences, LLC.

報告作成年: 2004年 [GLP 対応]

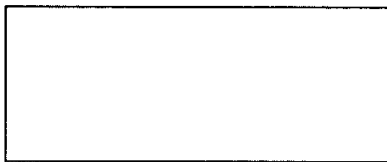
標識化合物

化学名: 5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1-ジメチル-3-オキソイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造:



ピラゾリル ¹⁴C 標識 658-AL



供試水: 灌水用に Optima grade の水

供試土壌: 水田土壌 (栃木県農業試験場)

項目	分析値	項目	分析値
砂	76	pH (H ₂ O)	6.5
シルト	14	陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	19.0
粘土	10		
有機物含量 (%)	12.3	圃場容水量 (%)*	62.8
土性	砂壤土	粘土鉱物	カオリナイト

*1/3 bar の土壌容水量

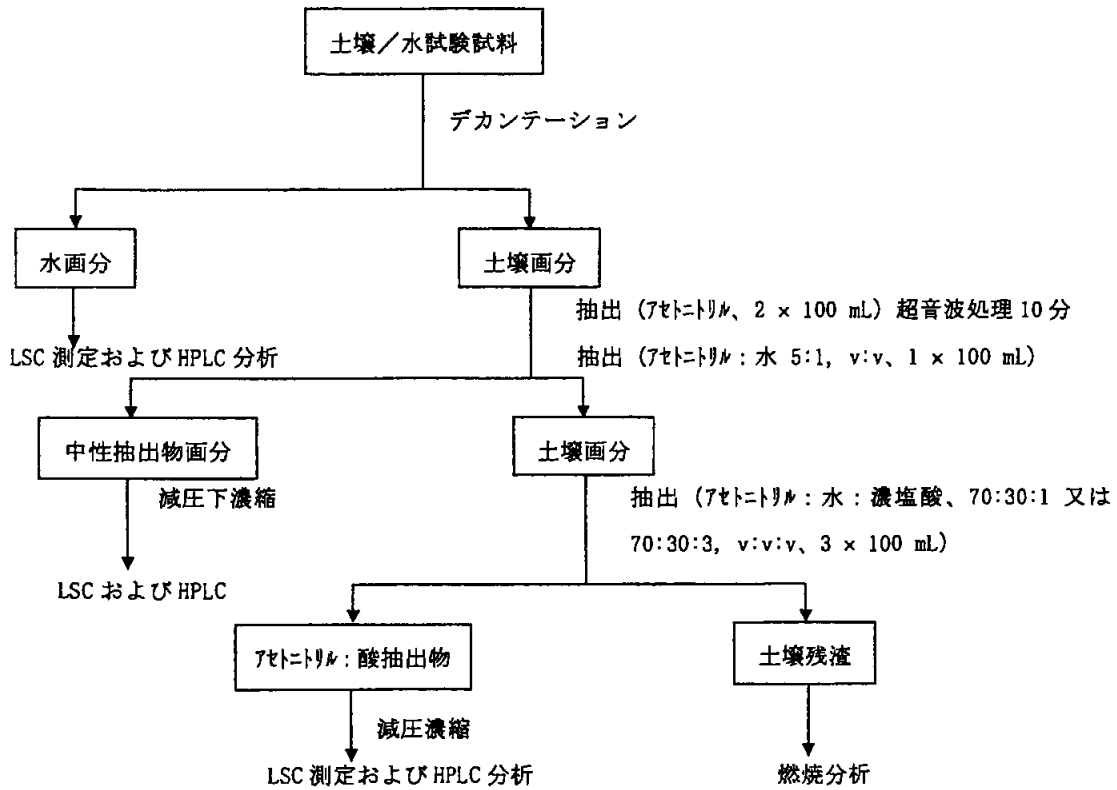
試験方法:

試験溶液の調製: ピラゾリル ¹⁴C 標識 658-AL を水:ジメチルフォルムアミド (37:3、
v : v) に溶解し、15.56 μg/mL の処理溶液を調製した。

処理方法: 30 g の土壌試料 (乾土あたり 30 g の土壌と水 100 mL) に乾土あ
たり 0.467 ppm となるように、ピラゾリル ¹⁴C 標識 658-AL を各試
験系に処理し、窒素を通気させた嫌氣的条件下、25 ± 2°C のイン
キュベーター内の暗所で 180 日間インキュベーションした。

採取時期： 処理後 0、7、30、60、90、120 および 180 日目

分析方法： 土壌／水試験系の抽出フロースキームを次頁に示す。



揮散性 ^{14}C は、エチレングリコールおよび 1 M NaOH 水溶液の入ったトラップで捕集し、LSC 分析に供した。

658-AL およびその代謝物は、各非標識標品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定し、更に 658-AL については、その非標識標品との TLC コクロマトグラフィーに基づき同定した。また、一次指数減衰関数に当てはめることで、分解速度を推算した。

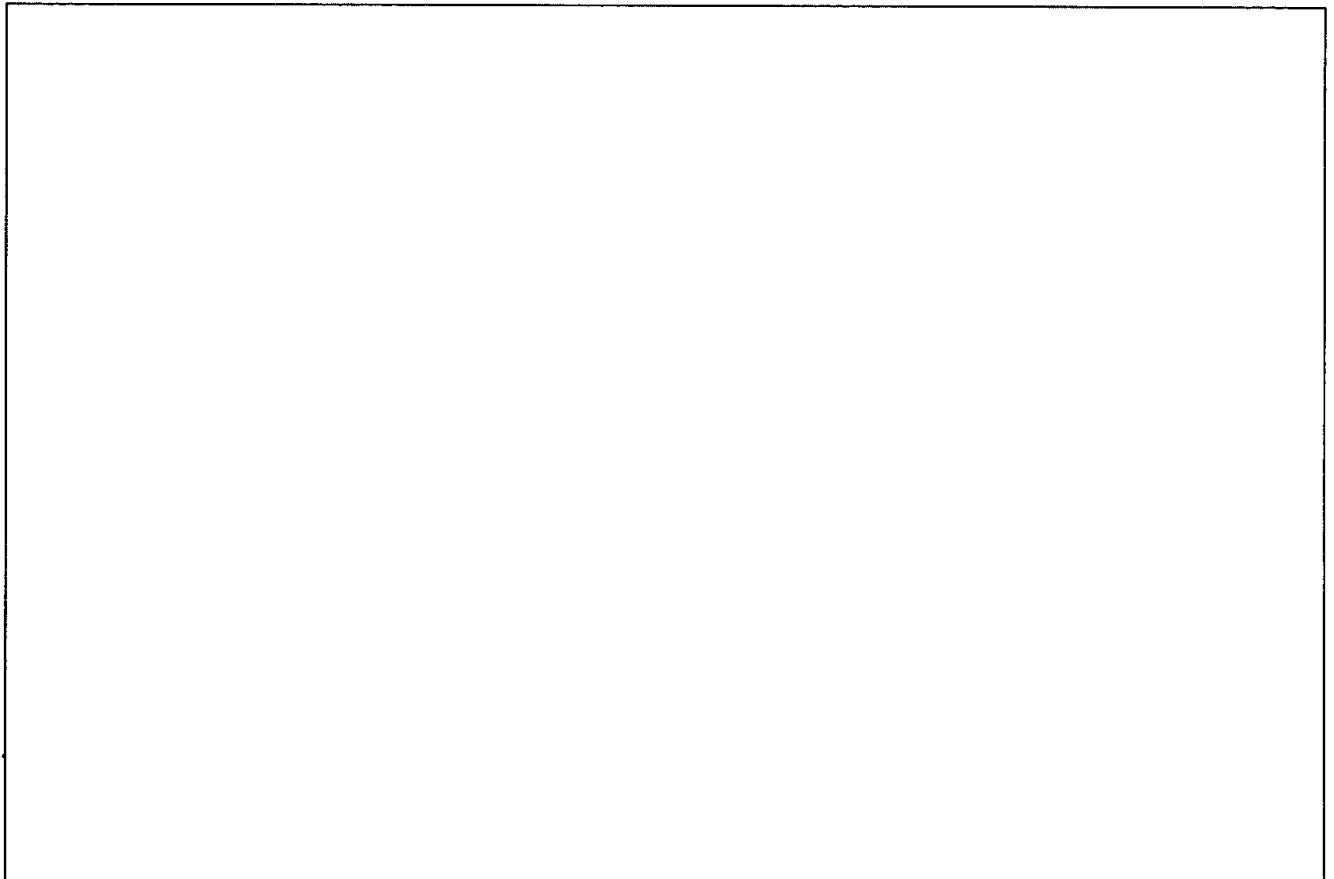
試験結果：
分布および代謝：

	658-ALの水/土壌系における代謝・分解									
	処理量に対する割合 (%)									
	ピラゾリル ¹⁴ C標識 658-AL									
	0	7	30	60	90	120	180			
揮散										
エチルグリコール	Na	Na	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq
CO ₂	Na	Na	Nd	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02
水相	102.11	6.35	0.70	0.46	0.38	0.30	0.25	0.30	0.30	0.25
658-AL	102.11	6.35	0.70	0.46	0.38	Na	Na	Na	Na	Na
極性物質	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Na	Na	Na	Na	Na
その他	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Na	Na	Na	Na	Na
土壌中性抽出物層	0.85	54.76	45.18	32.31	28.52	29.65	24.58	29.65	29.65	24.58
658-AL	Na	54.68	45.18	32.31	28.52	29.36	24.48	29.36	29.36	24.48
極性物質	Na	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
その他	Na	(0.15)	Nd	Nd	Nd	0.29	(0.22)	0.29	0.29	(0.22)
土壌酸抽出物層	Na	32.51	46.26	59.36	60.00	63.48	67.45	63.48	63.48	67.45
658-AL	Na	32.20	44.17	56.55	60.00	63.48	61.82	63.48	63.48	61.82
極性物質	Na	(0.22)	2.09	(3.64)	Nd	Nd	5.64	Nd	Nd	5.64
その他	Na	(0.41)	Nd	(1.98)	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd	Nd
系全体										
658-AL	102.11	93.22	90.04	89.32	88.90	92.85	86.29	92.85	92.85	86.29
極性物質	Nd	(0.22)	2.09	(3.64)	Nd	Nd	5.64	Nd	Nd	5.64
その他	0.85	(0.56)	Nd	(1.98)	Nd	0.59	0.36	0.59	0.59	0.36
土壌抽出残渣	0.41	7.36	7.30	5.47	9.73	6.09	9.07	6.09	6.09	9.07
合計	103.36	100.97	99.43	97.61	98.63	99.54	101.38	99.54	99.54	101.38

Nd：検出されず、Na：分析せず、Blq：定量レベル以下
()内の数値は、二連のうちいずれかがNdまたはBlqであった時のもう一連の分析値を示す。

本試験により、水／土壌系において 658-AL は、嫌氣的条件下で非常に緩やかに代謝された。本試験条件下で 180 日目に少量の極性物質が検出された。湛水土壌系において、揮散性有機化合物は認められなかった。

消失半減期は、水層において 4.7 日 ($r^2 = 0.873$)、水／土壌系全体において 3.2 年 ($r^2 = 0.4224$) と計算された。土壌層における消失半減期は、土壌での 658-AL の割合の変動が大きかったため、計算できなかった。



(5) フラメトピル代謝物 658-HK の嫌氣的土壤中運命試験

(資料Ⅲ-5)

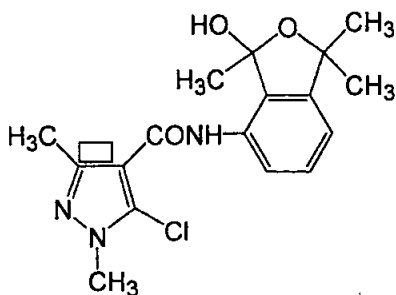
試験機関: Ricerca Biosciences, LLC.

報告作成年: 2004年 [GLP 対応]

標識化合物

化学名: 5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造:



ピラゾリル ¹⁴C 標識 658-HK



供試水: 湛水用に Optima grade の水

供試土壌: 水田土壌 (栃木県農業試験場)

項目	分析値	項目	分析値
砂	76	pH (H ₂ O)	6.5
シルト	14	陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	19.0
粘土	10		
有機物含量 (%)	12.3	圃場含水量 (%)*	62.8
土性	砂壤土	粘土鉱物	カオリナイト

*1/3 bar の土壌含水量

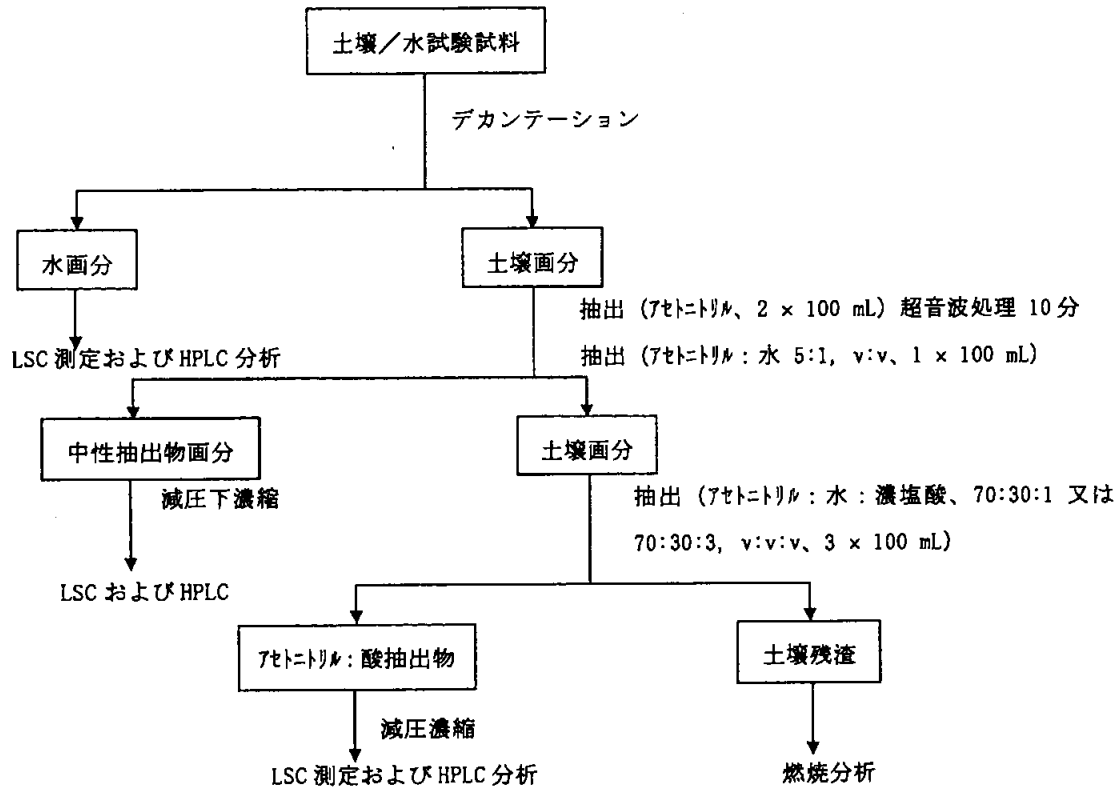
試験方法:

試験溶液の調製: ピラゾリル ¹⁴C 標識 658-HK を水:アセトニトリル (37:3、v:v) に溶解し、13.79 μg/mL の処理溶液を調製した。

処理方法: 30 g の土壌試料 (乾土あたり 30 g の土壌と水 100 mL) に乾土あたり 0.460 ppm となるように、ピラゾリル ¹⁴C 標識 658-HK を各試験系に処理し、窒素を通气させた嫌氣的条件下、25 ± 2°C のインキュベーター内の暗所で 180 日間インキュベーションした。

採取時期: 処理後 0、7、30、60、90、120 および 180 日目

分析方法: 土壌/水試験系の抽出フロースキームを次頁に示す。



揮散性 ^{14}C は、エチレングリコールおよび 1 M NaOH 水溶液の入ったトラップで捕集し、LSC 分析に供した。

658-HK およびその代謝物は、各非標識標品との HPLC コクロマトグラフィーにより同定し、更に 658-HK については、その非標識標品との TLC コクロマトグラフィーに基づき同定した。また、一次指数減衰関数に当てはめることで、分解速度を推算した。

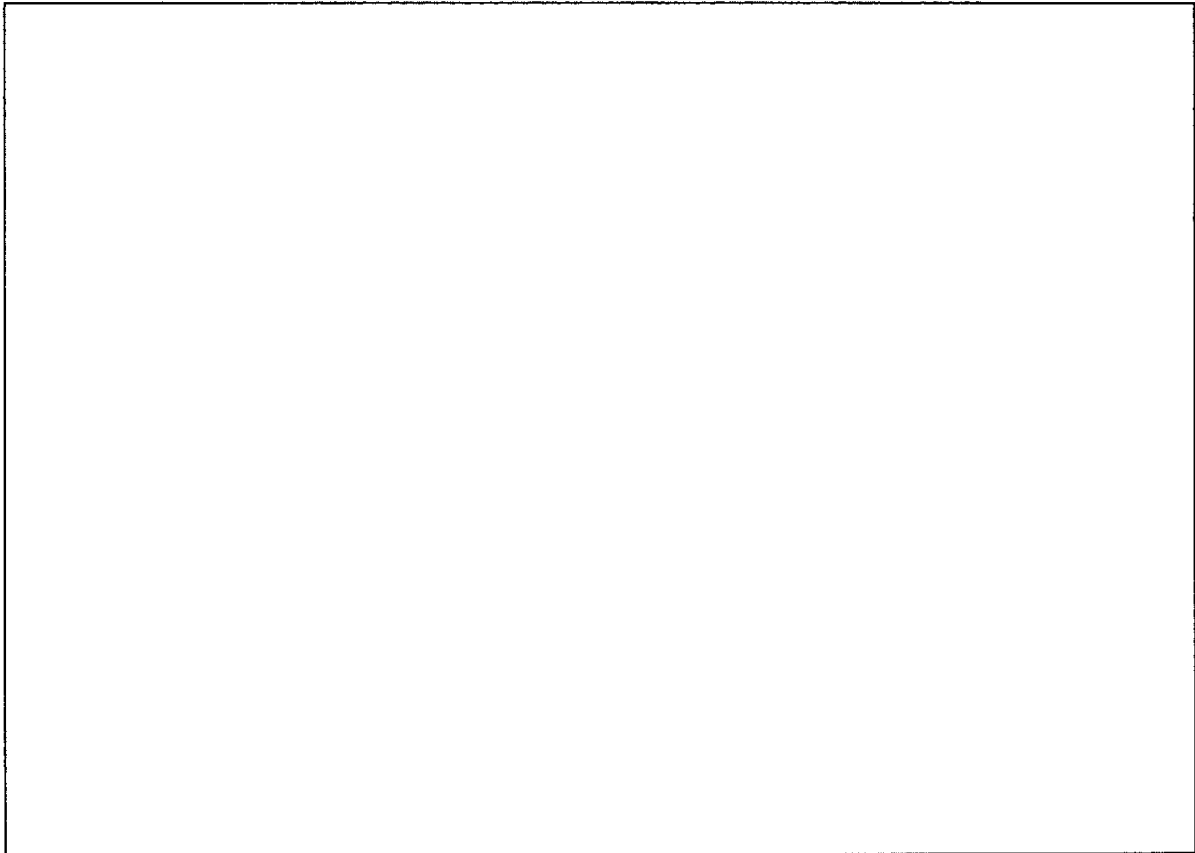
結果：
分布および代謝：

		658-HKの水／土壌系における代謝・分解 処理量に対する割合 (%)						
		ピラゾリル ¹⁴ C 標識 658-HK						
		0	7	30	60	90	120	180
揮散								
エチレン・アセトン	na	na	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq	Blq
CO ₂	na	na	0.02	0.03	0.03	0.03	0.04	0.05
水相	99.68	12.55	2.67	1.75	1.34	1.34	1.12	0.97
658-HK	98.31	12.45	2.67	1.75	1.34	1.34	1.13	0.97
その他	nd	0.10	nd	nd	nd	nd	nd	nd
土壌中性抽出物層	1.67	53.00	45.95	37.01	33.86	33.86	34.29	30.23
658-HK	na	51.21	44.38	34.20	31.18	31.18	32.82	29.29
658-AL	na	0.92	0.74	0.86	1.71	1.71	0.67	0.50
極性物質	na	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
その他	na	nd	nd	1.23	0.77	0.77	nd	nd
土壌酸抽出物層	na	28.90	44.48	56.23	56.18	56.18	58.88	62.65
658-HK	na	27.54	41.18	54.37	55.74	55.74	58.89	56.07
658-AL	na	1.00	1.41	(Blq)	(0.88)	(0.88)	nd	2.95
極性物質	na	(0.37)	1.57	(2.49)	nd	nd	nd	nd
その他	na	0.18	0.21	(1.24)	nd	nd	nd	nd
系全体								
658-HK	98.31	91.20	88.23	90.31	88.25	88.25	92.82	86.33
658-AL	nd	1.91	2.15	0.86	2.15	2.15	0.67	3.45
極性物質	nd	(0.37)	1.57	(2.49)	nd	nd	nd	nd
その他	1.67	0.28	0.21	1.85	0.77	0.77	nd	nd
土壌抽出残渣	0.69	4.84	5.24	3.77	5.53	5.53	2.95	6.38
合計	102.04	99.29	98.36	98.79	96.94	96.94	97.28	100.27

Nd：検出されず、Na：分析せず、Blq：定量レベル以下
()内の数値は、二連のうちいずれかがNdまたはBlqであった時のもう一連の分析値を示す。

本試験により、水／土壌系において 658-HK は、嫌氣的条件下で非常に緩やかに代謝された。水層及び土壌抽出物中には、代謝生成物の 658-AL が検出された。本試験条件下で 180 日目に微量の極性物質が検出された。湛水土壌系において、揮散性有機化合物は認められなかった。

消失半減期は、水層において 6.5 日 ($r^2 = 0.8602$)、水／土壌系全体において 4.7 年 ($r^2 = 0.2881$) と計算された。土壌層における消失半減期は、土壌での 658-HK の割合の変動が大きかったため、計算できなかった。



IV. 水中運命に関する試験

(1) フラメトピルの加水分解運命試験

(資料IV-1)

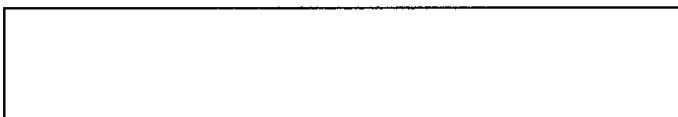
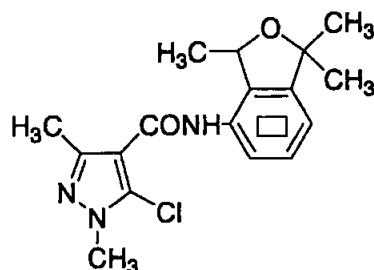
試験機関：住友化学工業株式会社

報告作成年：1992年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



供試水溶液：(pH 5.0) 酢酸緩衝液

0.01M 酢酸/0.01M 酢酸ナトリウム水溶液 (1:2、体積比)

(pH 7.0) リン酸緩衝液

0.01M リン酸二水素カリウム水溶液/0.01M リン酸水素二ナトリウム
(1:2、体積比)

(pH 9.0) ホウ酸緩衝液

0.01M ホウ酸+0.01M 塩化カリウム/0.01M 水酸化ナトリウム
(5:2、体積比)

試験方法：フェニル¹⁴C標識フラメトピルのアセトニトリル溶液 1.0 mL (0.1 mg) を 100 mL 三角フラスコ中の pH 5.0、7.0、9.0 の各緩衝液 (100 mL) に加え、1.0 ppm に調製した。これらのフラスコを 25±1℃、暗条件下のインキュベーター内で攪拌しながら保存した。処理後 0、2、4、7、14、21、31 日に水中¹⁴C濃度測定用に 0.5 mL を採取し LSC 分析に供した。さらにフラメトピル定量用に 1.0 mL を採取して HPLC 分析に供した。

試験結果：各緩衝液中のフラメトピルの量を表1に示す。フラメトピルは本試験条件下で顕著な分解は認められず、加水分解に対して安定であった。なお、フラメトピルがほとんど分解しない上にデータのばらつきが加わったため、最小2乗法計算による分解半減期は求められなかった。

表1 各緩衝液中のフラメトピルの量

経過日数	処理 ^{14}C 量に対する割合 (%)		
	pH 5	pH 7	pH 9
0	97.6	98.0	96.1
2	97.1	97.0	97.1
4	97.7	97.8	97.4
7	97.7	97.9	100.0
14	96.0	97.9	98.9
21	97.1	99.0	100.0
31	99.0	100.0	100.0

(2) フラメトピルの水中光分解運命試験

(資料IV-2)

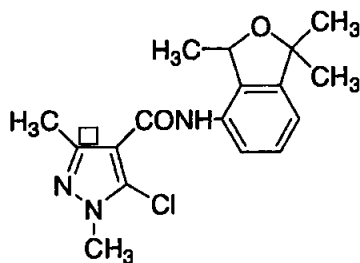
試験機関：住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



供試水：蒸留水、河川水（兵庫県武庫川、pH 7.6）

試験方法：蒸留水は純水製造装置（G-10 フィルター接続）より供給された純水をオートクレーブ処理（121℃、1時間）した。2%アセトン水は前述の滅菌水にアセトンを加えて調製した。河川水は採取後1日静置した後の上澄を用いた。ピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルのアセトニトリル溶液 0.2 mL (20 μg) を円筒形の光分解試験容器内の試験水 (20 mL) に加え、1.0 ppm に調製した後、容器上部にパイレックス製のガラスフィルターで蓋をした。試験水は各々2連で調製し、一方を照射区、もう一方を暗対照区とした。照射区は試験容器を 30℃ の水槽内で攪拌しながら 2 kW キセノンランプ照射装置を用いて 7 日間連続照射した（光スペクトルおよび強度は北緯 40 度、東経 135 度、1992 年 8 月 24 日、正午の太陽光に近似）。対照区は試験容器をアルミホイルで遮光し、30±1℃ のインキュベーター内に攪拌

しながら保存した。処理後0、1、3、5、7日に各容器から4 mLを採取し、水中¹⁴C濃度測定用に0.1 mLをLSC分析に供した。さらにフラメトピルおよび分解物定量用に0.25 mLをHPLC分析に供した。

試験結果：水中¹⁴C濃度は蒸留水および河川水のいずれにおいても一定であり（表1）、試験期間中、放射能の揮散による消失や吸着は無視できることがわかった。

ピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルは光により分解が促進され、蒸留水および河川水中における光分解半減期はそれぞれ74.7日および19.6日であり、東京、春の太陽光換算でそれぞれ、289日および75.9日であった（表2）。2%アセトン水中においてフラメトピルの分解が顕著であったことにより、河川水において光増感作用を受けることが示唆された。一方、暗条件におけるフラメトピルは極めて安定であり、1週間後においてもほとんど分解は認められなかった。

蒸留水および河川水中におけるフラメトピルとその分解物の割合を表3および4に示す。主光分解物は658-HKであり、光照射7日目に添加¹⁴C量の1.1~4.8%に達した。その他に未同定の極性分解物が認められたが、いずれも3%未満であった。

同定された代謝物より、フラメトピルの水中での予想光分解経路を図1に示す。フラメトピルはイソベンゾフランの3位の水酸化により658-HKを生成し、さらに極性分解物にまで分解されると考えられる。

表1 試験水中の¹⁴C濃度

試験条件	経過日数				
	0	1	3	5	7
蒸留水・光照射区	0.99 (99)	1.01 (101)	0.99 (99)	1.01 (101)	1.02 (102)
蒸留水・暗対照区	0.97 (97)	1.05 (105)	0.98 (98)	0.97 (97)	0.99 (99)
河川水・光照射区	1.01 (101)	1.01 (101)	1.02 (102)	0.99 (99)	1.00 (100)
河川水・暗対照区	1.03 (103)	1.00 (100)	1.01 (101)	1.03 (103)	1.03 (103)

()内は処理¹⁴Cに対する割合 (%)

表2 フラメトピルの水中光分解半減期

供試水	光照射区		暗対照区
	人工光照射 ¹⁾	太陽光換算 ²⁾	
蒸留水	74.7日	289日	*
河川水	19.6日	75.9日	*

1) 2 kWキセノンランプ (>290 nm) 3011 μW/cm² (=30.1 W/m²) (測定波長: 300~400 nm)

2) 東京(北緯35°)、春(4月~6月)の太陽光換算値

* 分解が遅く、算出不能

表3 ピラゾリル¹⁴C 標識フラメトピルの蒸留水中での光分解

光照射区	試験水中 ¹⁴ C に対する割合 (%)				
	経過日数				
	0	1	3	5	7
フラメトピル	99.6	99.1	97.2	95.2	93.5
658-HK	0.1	0.6	0.5	1.1	1.1
Unknown-1 ¹⁾	— ³⁾	—	0.4	1.1	1.6
Unknown-2 ¹⁾	—	—	0.5	0.7	0.8
その他 ²⁾	0.3	0.3	1.4	1.9	3.0

暗対照区	試験水中 ¹⁴ C に対する割合 (%)				
	経過日数				
	0	1	3	5	7
フラメトピル	99.8	99.3	98.9	97.5	99.2
658-HK	0.1	— ³⁾	0.4	1.7	—
その他 ²⁾	0.1	0.7	0.7	0.8	0.8

1) 未同定分解物

2) その他の分解物の合計 (各分解物は1.8%未満)

3) 検出せず

表4 ピラゾリル¹⁴C 標識フラメトピルの河川水中での光分解

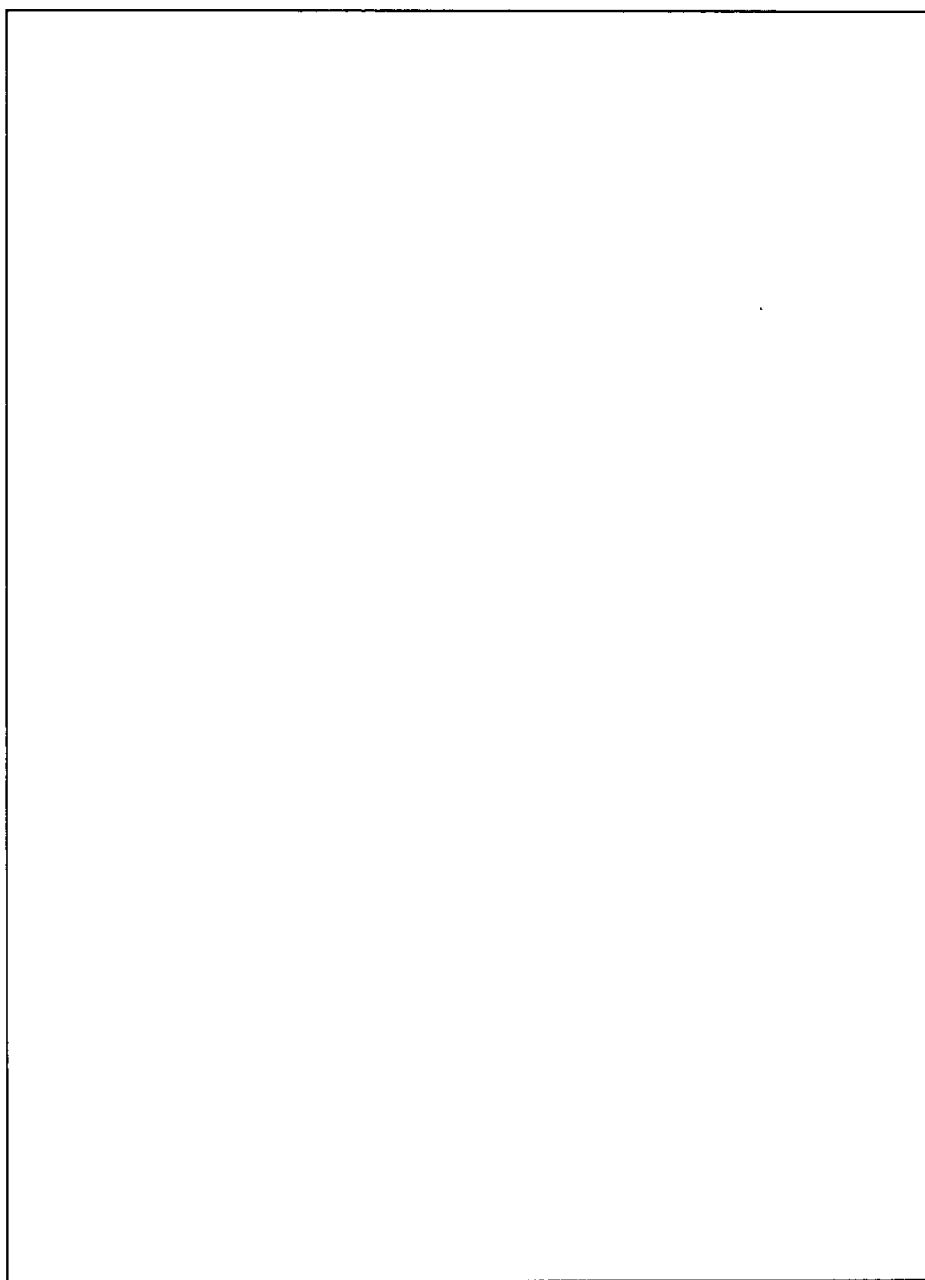
光照射区	試験水中 ¹⁴ C に対する割合 (%)				
	経過日数				
	0	1	3	5	7
フラメトピル	99.8	98.2	91.2	85.0	78.2
658-HK	— ³⁾	0.7	2.3	3.6	4.8
Unknown-3 ¹⁾	—	—	0.6	1.4	1.1
Unknown-4 ¹⁾	—	—	0.7	1.3	2.4
Unknown-5 ¹⁾	—	—	1.0	1.6	2.3
Unknown-6 ¹⁾	—	—	0.8	1.2	2.4
Unknown-7 ¹⁾	—	—	0.5	1.1	1.6
Unknown-8 ¹⁾	—	—	2.1	2.4	2.6
その他 ²⁾	0.2	1.1	0.9	2.4	4.6

暗対照区	試験水中 ¹⁴ C に対する割合 (%)				
	経過日数				
	0	1	3	5	7
フラメトピル	99.8	99.7	99.2	99.3	98.8
658-HK	0.1	0.3	— ³⁾	0.3	—
その他 ²⁾	0.1	<0.1	0.8	0.4	1.2

1) 未同定分解物

2) その他の分解物の合計 (各分解物は1.0%未満)

3) 検出せず



V. 土壌吸着性

(1) 水/土壌混濁系におけるフラメトピルの吸着性

(資料 V-1)

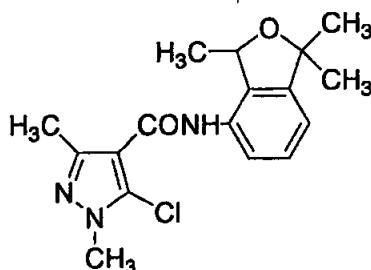
試験機関: (株)化学分析コンサルタント

報告書作成年: 1993年

標識化合物

化学名: (RS)-5-クロロ-N(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造:



供試土壌: 牛久水田土壌 (植調研)、牛久畑地土壌 (日植防研)、高知水田土壌 (日植防研) およ
び高知畑地土壌 (日植防研) を用いた。土壌の物理化学的性質を表 1 に示す。

試験方法:

[平衡化試験]: 試験土壌5g(風乾細土)を20 mLの遠沈管に秤り取り、純水5 mLを加え一夜放置する。フラメトピルの6.15 ppmの0.01M CaCl₂水溶液20mLを遠沈管内に加え、25±1℃(恒温槽内)の暗条件下で4、6、8、16、24時間振盪した後、3000 rpmで15分間遠心する。上澄液を分取し、塩酸酸性下ジクロロメタンで抽出し、ガスクロマトグラフィーによりフラメトピルを定量した。

[高次試験]: 試験土壌5 g(風乾細土)を20 mLの遠沈管に秤り取り、純水5 mLを加え一夜放置する。フラメトピルの0.213、0.533、1.07および5.33 ppmの0.01M CaCl₂水溶液20 mLをそれぞれ遠沈管内に加え、25±1℃(恒温槽内)の暗条件下で16時間振盪して平衡に達した後、3000 rpmで15分間遠心する。上澄液を分取し、塩酸酸性下ジクロロメタンで抽出し、ガスクロマトグラフィーによりフラメトピルを定量した。

[吸着平衡状態でのフラメトピルの安定性] : 上記高次試験での1.07 ppm試験溶液添加の遠心分離後の土壌層を0.1M HCl/アセトン(2/3)混合液で抽出した後、ジクロロメタンで抽出した。フロリジルカラムクロマトグラフィーにより精製した後、ガスクロマトグラフィーに供しフラメトピルを定量した。

試験結果:

[平衡化試験] : 土壌へのフラメトピルの吸着はいずれの土壌においても16時間以内に平衡に達した。

[高次試験] : フラメトピルの土壌への吸着量は0.213~5.33 ppmの濃度範囲でCaCl₂水溶液中の化合物濃度に関係にほぼ一定であり、吸着パターンはフロイントリッヒ吸着等温式とよく一致した(表2)。K値は1.76~4.69であり、これより算出したK_{oc}値は96.4~180であった(表3)。

[吸着平衡状態でのフラメトピルの安定性] : いずれの土壌の場合も添加量の92%以上がフラメトピルとして土壌層および水層から回収された(表4)。

表1 土壌の物理化学的性質

	牛久 水田	高知 水田	牛久 畑地	高知 畑地
土性	沖積	沖積	褐色	沖積
	埴壤土	鈳質壤土	火山灰土壌	鈳質壤土
砂 (%)	28.0	42.2	26.2	47.6
シルト (%)	35.4	31.9	50.9	27.2
粘土 (%)	36.6	25.9	22.9	25.2
粘土鈳物	カオリン鈳物 モンモリロナイト	クロライト イライト	アロフェン パ-ミキュライト	クロライト イライト
有機炭素含量 (%)	2.60	1.21	3.61	1.15
陽イオン交換容量 (meq/100g乾土)	21.5	11.3	21.4	10.2
pH (H ₂ O)	6.7	7.5	7.7	7.2
磷酸吸収係数 (meq/100g乾土)	820	390	2000	370

表2 フラメトピルのフロイントリッヒ吸着等温式

土 壤	フロイントリッヒ吸着等温式	K	1/n	r ^{a)}
牛久水田	$\log(X/M) = \log 4.69 + 0.864 \cdot \log (Ce)$	4.69	0.864	0.999
高知水田	$\log(X/M) = \log 1.76 + 0.843 \cdot \log (Ce)$	1.76	0.843	0.998
牛久畑地	$\log(X/M) = \log 3.48 + 0.871 \cdot \log (Ce)$	3.48	0.871	0.998
高知畑地	$\log(X/M) = \log 1.78 + 0.802 \cdot \log (Ce)$	1.78	0.802	0.999

a) 相関係数

表3 土壌の有機炭素含量に基づいた吸着計数 (Koc)

土 壌	有機炭素含量 (%)	K	Koc
牛久水田	2.60	4.69	180
高知水田	1.21	1.76	145
牛久畑地	3.61	3.48	96.4
高知畑地	1.15	1.78	155

表4 吸着平衡後の土壌層および水層中のフラメトピル量 (1.07ppm添加した試験系)

	添加量に対する割合 (%)			
	牛久水田	高知水田	牛久畑地	高知畑地
土壌層	39.6	20.2	33.4	19.5
水層	52.5	72.6	61.9	73.3
合計	92.1	92.8	95.3	92.8

(2) フラメトピルの土壌/水系における分配試験

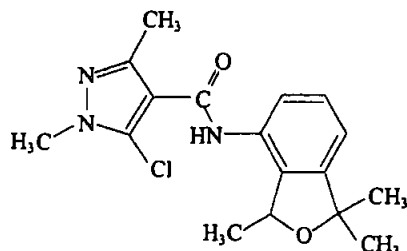
(資料 V-2)

試験機関： 住友化学株式会社

報告作成年：1994年 [非 GLP 対応]

供試化合物： フラメトピル

構造式：



化学名： (R,S)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

供試土壌：フラメトピルの土壌残留試験(水田圃場；フラメトピル1.5%粒剤、4 kg/10 a、2回散布)を実施した栃木、福井、徳島、熊本の各圃場より採取。
各土壌の特性は表1に示す。

表1 供試土壌の特性

	栃木	福井	徳島	熊本
土性	埴壤土	軽埴土	埴壤土	埴壤土
粘土鉱物	アロフェン	アロフェン	アルミニウムハ-ミキユライト イライトハ-ミキユライト	アロフェン
粗砂 (%)	14.4	17.8	13.0	4.6
細砂 (%)	37.0	24.1	41.1	41.5
シルト (%)	32.5	26.3	26.6	33.6
粘土 (%)	16.1	31.8	19.3	20.3
有機炭素 (%)	8.8	1.6	1.5	6.6
有機物含有量 (%)	13.4	2.7	2.5	9.9
水素イオン濃度 (H ₂ O)	5.6	5.5	6.6	6.5
陽イオン交換容量 (meq/100g dry soil)	37.2	16.4	9.0	36.8
リン酸吸収係数 (mg/100g)	2360	590	50	2130

方法：各圃場の土壌（土壌残留試験で薬剤処理した後、約 13 ヶ月経過した土壌）に残留しているフラメトピルを測定し、それと同量のフラメトピルを各圃場の無処理土壌に添加処理した。各圃場のフラメトピルの土壌残留量を表 2 に示す。乾土 50 g 相当の土壌試料（添加処理した土壌及び残留量を測定した土壌）に蒸留水 500 mL を加えて 24 時間振盪後、水中のフラメトピル量を測定した。

水中のフラメトピル分析法の操作概要；

振盪終了後の土壌/水系試料を遠心分離後、吸引ろ過した。ろ液をジクロロメタンで抽出、脱水ろ過後に減圧濃縮し、残留物をアセトンに溶解してガスクロマトグラフ（FTD）を用いて定量した。

表 2 土壌残留試験圃場から採取した土壌¹⁾中のフラメトピル残留量

圃場	フラメトピルの濃度 (ppm)
栃木	0.36
福井	0.15
徳島	0.08
熊本	0.22

1) フラメトピル 1.5% 粒剤、4 kg/10 a、2 回散布後、約 13 ヶ月経過後の土壌

結果：添加処理した土壌では、処理 1 日後で添加したフラメトピルの 17.1~53.1% が水層部に検出されたが、フラメトピル散布後 13 ヶ月を経過した土壌では、土壌に残留するフラメトピルの 2.5~8.4% が水層部で検出された。

	土壌/水系における水中のフラメトピル量					
	水中のフラメトピル量 ^{a)} (%)					
	土壌接触時間 1 日 ^{b)}			土壌接触時間 13 ヶ月 ^{c)}		
	測定値	平均値	測定値	平均値	測定値	平均値
栃木土壌	17.5	17.2	17.4	2.5	2.5	2.5
福井土壌	54.7	51.4	53.1	3.7	2.7	3.2
徳島土壌	51.6	51.3	51.5	8.4	8.4	8.4
熊本土壌	17.3	16.9	17.1	3.1	3.0	3.1

a)：土壌/水系全体のフラメトピル量に対する水中のフラメトピルの割合 (%)

b)：無処理土壌に添加処理し、1 日後に採取した土壌

c)：土壌残留試験において、薬剤散布後約 13 ヶ月が経過した土壌

以上のことから、フラメトピルは散布後経過時間と共に速やかに土壌に吸着して再び水中に溶け出しにくくなることが明らかとなった。

VI. 分解要因

(1) フラメトピルの土壌表面光分解試験

(資料VI-1)

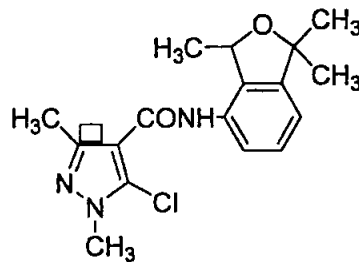
試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



ピラゾリル¹⁴C標識体

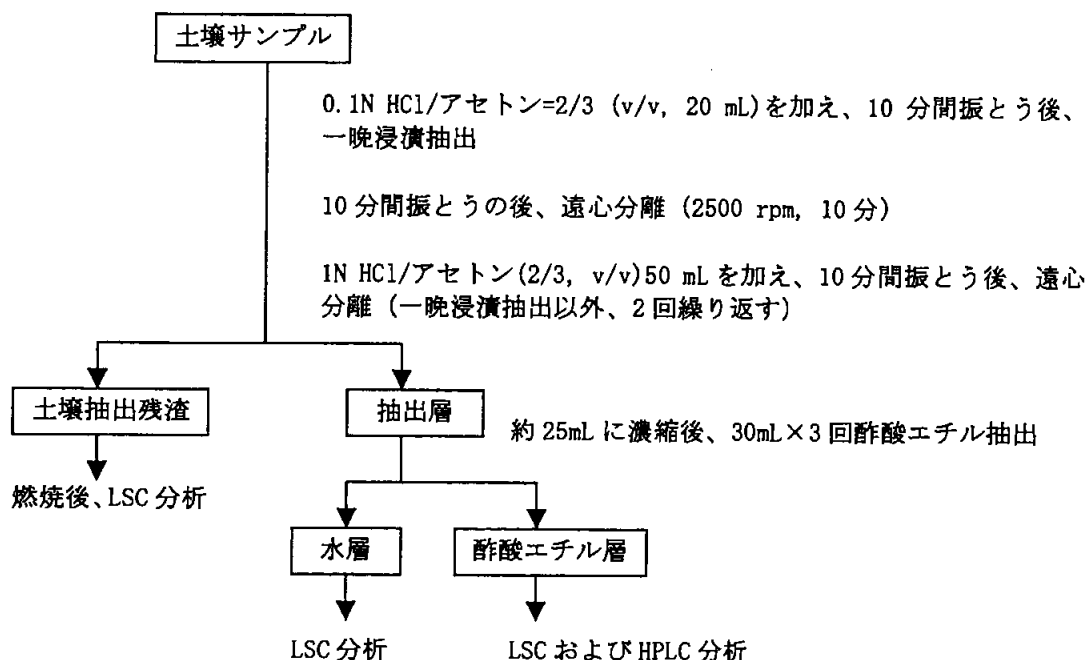
供試土壌： 福井鈹質土壌(軽埴土)

光源： 500W キセノンランプ光照射装置 (ウシオ電機)

光強度： 14.5 W/m² (300 - 400 nm, 1.25 MJ/m²/day)

試験方法： 2mm のふるいを通した土壌を乾土あたり 2g となるようにガラスシャーレ(内径 2.7cm、高さ 1.3cm) に量りとり、水分含量が最大飽和容水量の 85% になるように純水を加え調製した土壌薄層表面に[ピラゾリル-3-¹⁴C]フラメトピルのアセトニトリル溶液 55μl を添加し、乾土あたりの処理濃度が 0.6 ppm となるように処理した (土壌薄層あたり 1.2μg、442224dpm、600 g ai/ha 相当)。各処理土壌薄層はガラス容器中に静置し、恒温循環装置で温度を一定に保つことにより土壌表層の温度を 30°C とした。ガラス容器の上部からパイレックスガラスプレートを通すことにより、290 nm 以下の波長の光をカットしたキセノンランプ光を 30 日間連続照射した。試験期間中、二酸化炭素を予め除去した空気を通気することによりエチレングリコールおよび 0.5 M NaOH 水溶液トラップにて揮散性 ¹⁴C を捕集した。同様の試験を遮光下にて実施し、暗対照区とした。

分析方法: 処理後、0, 3, 7, 14, 21 および 30 日にサンプリングし、分析を行った。エチレングリコールおよび 0.5M NaOH 水溶液トラップで捕集した揮散性 ^{14}C は LSC 分析にて放射エネルギーを分析した。代表的な抽出および分析方法の概略図を以下に示す。



試験結果: 使用土壤の土性を表 1 に、各試験土壤中のフラメトピルおよびその主要分解物の分布の経時変化を表 2 に示す。

光照射区において、フラメトピルは徐々に分解し、照射 30 日後に 65.4%まで減少した。主要分解物として 658-HK 及び 658-AL の割合が徐々に増加し、照射 30 日後にはそれぞれ添加 ^{14}C 量の 15.6 及び 6.9%まで達した。その他に認められた微量分解物は、いずれも添加 ^{14}C 量の 1.0%以下であった。暗対照区においてもフラメトピルは徐々に分解し、処理 30 日後に 85.6%まで減少した。主要分解物である 658-HK 及び 658-AL の割合は、30 日後にはそれぞれ添加量の 8.1%及び 1.5%まで達した。最小二乗法により求めた光照射区でのフラメトピルの消失半減期は、47.2 日であり、東京、春の太陽光換算で 87.4 日であった。一方、暗対照区での消失半減期は 138 日であった。フラメトピルは土壤表面における光照射により分解が促進され、主としてイソベンゾフランの 3 位が水酸化されて 658-HK となり、さらに酸化的に脱メチルして 658-AL に分解され、最終的に微量ではあるが CO_2 にまで無機化されると考えられた。フラメトピルの土壤表面における予想光分解経路を図に示した。

表 1 使用土壌の成分表

福井鈹質土壌	
土 性	軽埴土
粒径分布 (%)	
砂	41.9
シルト	26.3
粘土	31.8
粘土鈹物	アロフェン
有機炭素含量 (%)	1.6
陽イオン交換容量 (meq/100g 乾土)	16.4
pH (H ₂ O)	5.5

表 2 放射能分布

	処理量に対する割合 (%) ¹⁾											
	試験期間 (日)						試験期間 (日)					
	光照射区						暗対照区					
	0	3	7	14	21	30	0	3	7	14	21	30
土壌 ¹⁴ C	102.4	98.9	99.8	97.0	97.2	96.9	98.6	100.1	96.9	98.1	96.8	98.0
酢酸エチル抽出層	102.2	98.1	98.7	94.9	94.0	90.4	98.5	98.8	96.3	97.0	95.0	95.8
フラマトビル	102.2	97.3	94.8	90.3	80.7	65.4	98.5	98.8	95.6	91.5	89.7	85.6
658-HK	ND	ND	1.6	2.2	7.7	15.6	ND	ND	0.8	4.7	3.6	8.1
658-AL	ND	0.8	2.2	2.4	3.5	6.9	ND	ND	ND	0.8	1.7	1.5
その他	ND	ND	ND	ND	2.3 ²⁾	2.6 ³⁾	ND	ND	ND	ND	ND	0.7 ⁴⁾
水層	ND	ND	ND	ND	ND	0.7	ND	0.3	ND	ND	ND	ND
土壌残渣 ¹⁴ C	0.1	0.8	1.2	2.1	3.2	5.9	0.2	1.0	0.5	1.1	1.8	2.3
揮散 ¹⁴ C	NA	0.1	0.3	0.5	0.9	1.4	NA	ND	ND	ND	ND	ND
¹⁴ CO ₂	NA	0.1	0.3	0.5	0.9	1.4	NA	ND	ND	ND	ND	ND
エチレングリコール	NA	ND	ND	ND	ND	ND	NA	ND	ND	ND	ND	ND
物質収支	102.4	99.0	100.1	97.5	98.1	98.3	98.6	100.1	96.9	98.1	96.8	98.0

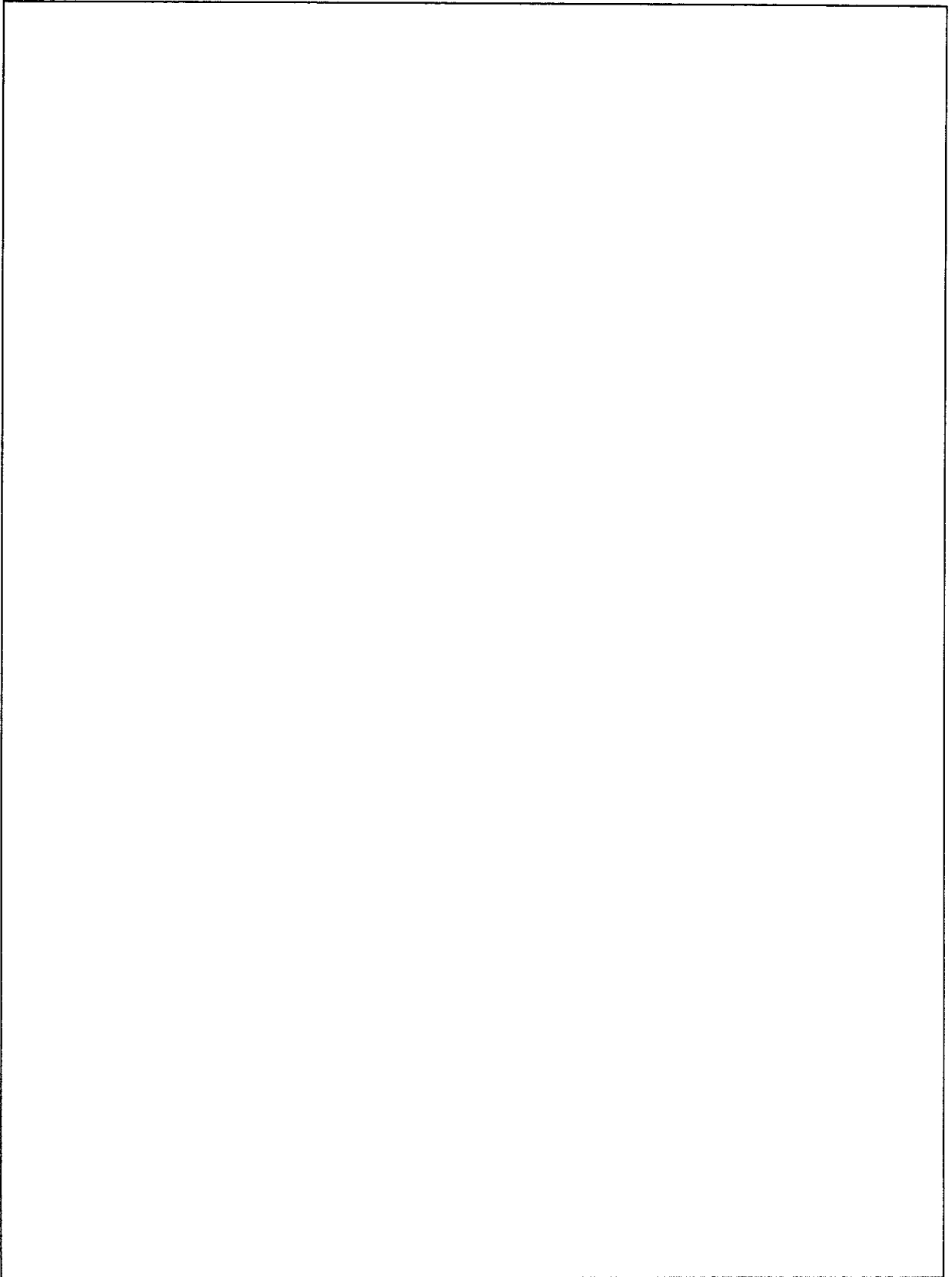
1) 0, 3, 7, 14, 21 日目は 2 連の平均値、30 日目のみ 4 連の平均値

2) 4 種の未同定分解物 (最大 0.8%)

3) 5 種の未同定分解物 (最大 1.0%)

4) 2 種の未同定分解物

ND: 検出されず、NA: 分析せず



(2) フラメトピルの土壌微生物による分解

(資料 VI-2)

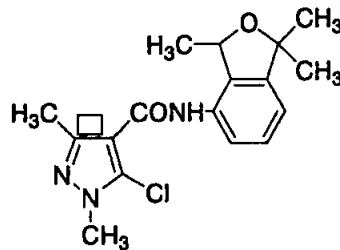
試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年

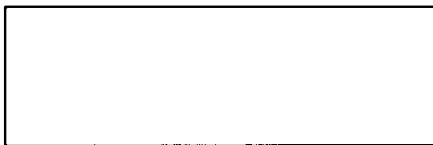
標識化合物：

化学名；(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



ピラゾリル ¹⁴C 標識体



供試土壌：以下に示す3種の水田土壌を使用した。

	熊本	福井-1	福井-2
土性	埴壤土 (CL)	軽埴土 (Lic)	埴壤土 (CL)
砂%	44.8	41.9	55.9
シルト%	34.2	26.3	20.3
粘土%	21.0	31.8	23.8
有機炭素含有率 (%)	6.21	1.57	5.28
pH H ₂ O	6.6	5.5	6.3
陽イオン交換容量 (me/100 g)	34.0	16.4	13.7
粘土鉱物の種類	アロフェン	アロフェン	アロフェン

試験方法：

培養液； ポテトデキストロース培地

処理方法； 培養液 3 ml にピラゾリル ¹⁴C 標識フラメトピルを 10 ppm となるように添加した後、土壌から調製した希釈土壌懸濁液 [土壌 10 g に滅菌水 90 ml 加え調製した土壌懸濁液 (10分振盪) を 100 倍に希釈して調製] を 0.1 ml 添加し、30℃で振盪培養した。

分析方法； 培養液の 0.1 ml を HPLC 分析。

試験結果： ピラゾリル¹⁴C 標識フラメトピルの土壌微生物培養液中での分解

	培養液中のピラゾリル ¹⁴ C 標識 フラメトピルの割合 (%)			
	培養週数			
	0	1	2	4
無添加区	100	100	100	99
熊本	100	83	11	7
福井-1	100	48	44	33
福井-2	100	97	90	89

いずれの土壌培養液においてもフラメトピルは経時的に分解し、培養 4 週間後には熊本、福井-1 および福井-2 土壌でそれぞれ 7、33 および 89%まで減少したことから、フラメトピルは土壌微生物中のおそらく糸状菌類により分解されることが示唆された。

(3) フラメトピル代謝物 658-HK の土壌微生物による分解

(資料VI-3)

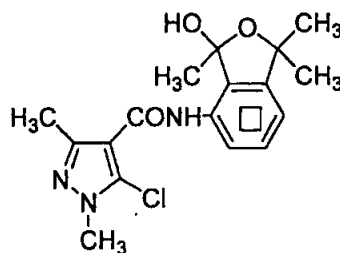
試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年 [GLP 非対応]

標識化合物

化学名：5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識 658-HK



供試土壌： 以下に示す3種の水田土壌を使用した。

	熊本	福井-1	福井-2
土性	埴埴土 (CL)	軽埴土 (LiC)	埴埴土 (CL)
砂%	44.8	41.9	55.9
シルト%	34.2	26.3	20.3
粘土%	21.0	31.8	23.8
有機炭素含有率 (%)	6.21	1.57	5.28
pH H ₂ O	6.6	5.5	6.3
陽イオン交換容量 (me/100 g)	34.0	16.4	13.7
粘土鉱物の種類	アロフェン	アロフェン	アロフェン

試験方法：

培養液： ポテトデキストロース培地

処理方法： 培養液 3 ml にフェニル ¹⁴C 標識 658-HK を 10 ppm となるように添加した後、土壌から調製した希釈土壌懸濁液 [土壌 10 g に滅菌水 90 ml 加え調製した土壌懸濁液 (10 分振盪) を 100 倍に希釈して調製] を 0.1 ml 添加し、30°C で振盪培養した。

分析方法： 培養液の 0.1 ml を HPLC 分析。

試験結果： フェニル ^{14}C 標識 658-HK の土壌微生物培養液中での分解

	培養液中のフェニル ^{14}C 標識 658-HK の割合 (%)			
	培養週数			
	0	1	2	4
無添加区	100	99	99	99
熊本	100	99	92	87
福井-1	100	100	93	86
福井-2	100	95	78	27

いずれの土壌培養液においても 658-HK は経時的に分解し、培養 4 週間後には熊本、福井-1 および福井-2 土壌でそれぞれ 87、86 および 27% まで減少したことから、658-HK は土壌微生物中のおそらく糸状菌類により分解されることが示唆された。

(4) フラメトピルおよび 658-HK の土壌分解菌の単離と同定

(資料 VI-4)

試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年 [GLP 非対応]

標識化合物：

化学名	(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド
化学構造 (* 標識位置)	
	フェニル ¹⁴ C 標識 フラメトピル

供試土壌：以下に示す2種の水田土壌を使用した。

	福井-1	福井-2
土性	軽埴土 (LiC)	埴壤土 (CL)
砂%	41.9	55.9
シルト%	26.3	20.3
粘土%	31.8	23.8
有機炭素含有率 (%)	1.57	5.28
pH H ₂ O	5.5	6.3
陽イオン交換容量 (me/100 g)	16.4	13.7
粘土鉱物の種類	アロゲン	アロゲン

試験方法：

培養液：

ポテトデキストロース培地 (液体または寒天)

処理方法：

培養液 3 ml にフェニル ¹⁴C 標識フラメトピルまたはフェニル ¹⁴C 標識 658-HK のアセトニトリル溶液 (30 μl) を 10 ppm となるように添加した後、土壌から調製した希釈土壌懸濁液 [土壌 10 g に滅菌水 90 ml 加え調製した土壌懸濁液 (10分振盪) を 100 倍に希釈して調製] を 0.1 ml 添加し、30℃で振盪培養した。

分解菌の単離方法：フラメトピルまたは 658-HK の分解活性が認められた培養液の一部を寒天培地上に移植・培養し生育したコロニーを数回植え継ぐことにより分解菌（糸状菌）を単離した。

単離菌による分解： 培養液 3ml にフェニル¹⁴C 標識フラメトピルまたはフェニル¹⁴C 標識 658-HK を 10ppm となるように添加した後、単離した分解菌（糸状菌）を摂取し 30℃で振盪培養した。

分析方法： 培養液の 0.1ml を HPLC 分析。

試験結果：フェニル¹⁴C 標識フラメトピルまたはフェニル¹⁴C 標識 658-HK の土壤単離糸状菌による分解

単離菌	培養 4 週間目における残存割合 (%)	
	培養週数	
	フラメトピル	658-HK
無添加区	99	99
Penicillium sp.-1	41	99
Penicillium sp.-2	87	57
Fusarium sp.	3	52

単離した糸状菌についてフラメトピルおよび 658-HK の分解活性を確認したところ 3 種類の菌に分解活性が認められた。これらの菌を同定したところペニシリウム属およびフザリウム属と同定され、フラメトピルおよび 658-HK の分解菌は土壤中の一般的な糸状菌であることが示唆された。

Ⅶ. 土壌移行性

(1) フラメトピルの土壌薄層プレートにおける移動度測定試験

(資料 VII-1)

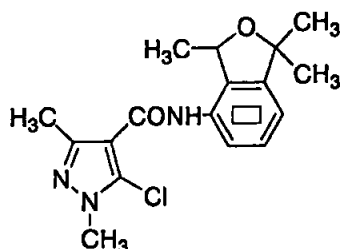
試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年

標識化合物

化学名：(R,S)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識体



供試土壌： 以下に示す4種の水田土壌を使用した。

	栃木	徳島	福井	熊本
土性	埴壤土 (CL)	埴壤土 (CL)	軽埴土 (LiC)	埴壤土 (CL)
砂%	51.4	54.1	41.9	46.1
シルト%	32.5	26.6	26.3	33.6
粘土%	16.1	19.3	31.8	20.3
有機炭素含有率 (%)	7.77	1.45	1.57	5.74
pH H ₂ O	5.6	6.6	5.5	6.5
陽イオン交換容量 (me/100 g)	37.2	9.0	16.4	36.8
粘土鉱物の種類	アロフェン	アルミニウム- ハ ⁺ -ミクタイト イライト ハ ⁺ -ミクタイト	アロフェン	アロフェン

試験方法：

土壌プレート； 20 cm×20 cm、層厚 0.5 mm

処理方法； 土壌薄層プレートの下端から 2.5 cm の位置に約 7.4 kBq のフェニル ¹⁴C 標識フラメトピルを添加し、蒸留水で展開。

分析方法； 土壌薄層上の放射能の先端位置を測定し Rf 値を計算。

試験結果： フェニル¹⁴C 標識フラメトピルの土壌薄層上での移動度

	Rf 値*	移動度
栃木	0.32	クラス 2 (Low)
徳島	0.36	クラス 3 (Intermediate)
福井	0.30	クラス 2 (Low)
熊本	0.37	クラス 3 (Intermediate)

*: 2 連の平均値

土壌薄層プレート上でのフラメトピルの Rf 値は 0.30~0.37 であり、移動度は栃木及び福井土壌でクラス 2 (Low)、徳島および熊本土壌ではクラス 3 (Intermediate) と分類された。

参考文献

US EPA, Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N, Chemistry:
Environmental Fate EPA-540-982-021 (1982)

(2) フラメトピル代謝物 658-HK の土壌薄層プレートにおける移動度測定試験

(資料 VII-2)

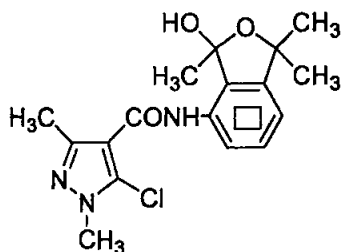
試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1994年 [GLP 非対応]

標識化合物

化学名：5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-3-ヒドロキシ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識 658-HK



供試土壌：以下に示す4種の水田土壌を使用した。

	栃木	徳島	福井	熊本
土性	埴壤土 (CL)	埴壤土 (CL)	軽埴土 (LiC)	埴壤土 (CL)
砂%	51.4	54.1	41.9	46.1
シルト%	32.5	26.6	26.3	33.6
粘土%	16.1	19.3	31.8	20.3
有機炭素含有率 (%)	7.77	1.45	1.57	5.74
pH H ₂ O	5.6	6.6	5.5	6.5
陽イオン交換容量 (me/100 g)	37.2	9.0	16.4	36.8
粘土鉱物の種類	アロフェン	アルミニウム-パーミキュライト イライト パーミキュライト	アロフェン	アロフェン

試験方法：

土壌プレート： 20 cm×20 cm、層厚 0.5 mm

処理方法： 土壌薄層プレートの下端から 2.5 cm の位置に約 7.4 kBq のフェニル ¹⁴C 標識 658-HK を添加し、蒸留水で展開。

分析方法： 土壌薄層上の放射能の先端位置を測定し Rf 値を計算。

試験結果： フェニル ¹⁴C 標識 658-HK の土壌薄層上での移動度

	Rf 値*	移動度
栃木	0.25	クラス 2 (Low)
徳島	0.33	クラス 2 (Low)
福井	0.21	クラス 2 (Low)
熊本	0.29	クラス 2 (Low)

土壌薄層プレート上での 658-HK の Rf 値は 0.21~0.33 であり、移動度はすべての土壌においてクラス 2 (Low) と分類された。

参考文献

US EPA, Pesticide Assessment Guidelines, Subdivision N, Chemistry:
Environmental Fate EPA-540-982-021 (1982)

(3) フラメトピルの土壌カラムリーチング試験

(資料 VII-3)

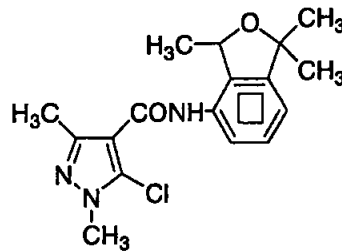
試験施設： 住友化学工業株式会社

報告作成年：1993年

標識化合物

化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-
1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

化学構造：



フェニル ¹⁴C 標識体



供試土壌：以下に示す4種の水田土壌を使用した。

	栃木	徳島	福井	熊本
土性	埴壤土 (CL)	埴壤土 (CL)	軽埴土 (LiC)	埴壤土 (CL)
砂%	51.4	54.1	41.9	46.1
シルト%	32.5	26.6	26.3	33.6
粘土%	16.1	19.3	31.8	20.3
有機炭素含有率 (%)	7.77	1.45	1.57	5.74
pH H ₂ O	5.6	6.6	5.5	6.5
陽イオン交換容量 (me/100 g)	37.2	9.0	16.4	36.8
粘土鉱物の種類	アロフェン	アルミニウム- β-ミキユライト イライト β-ミキユライト	アロフェン	アロフェン

試験方法：

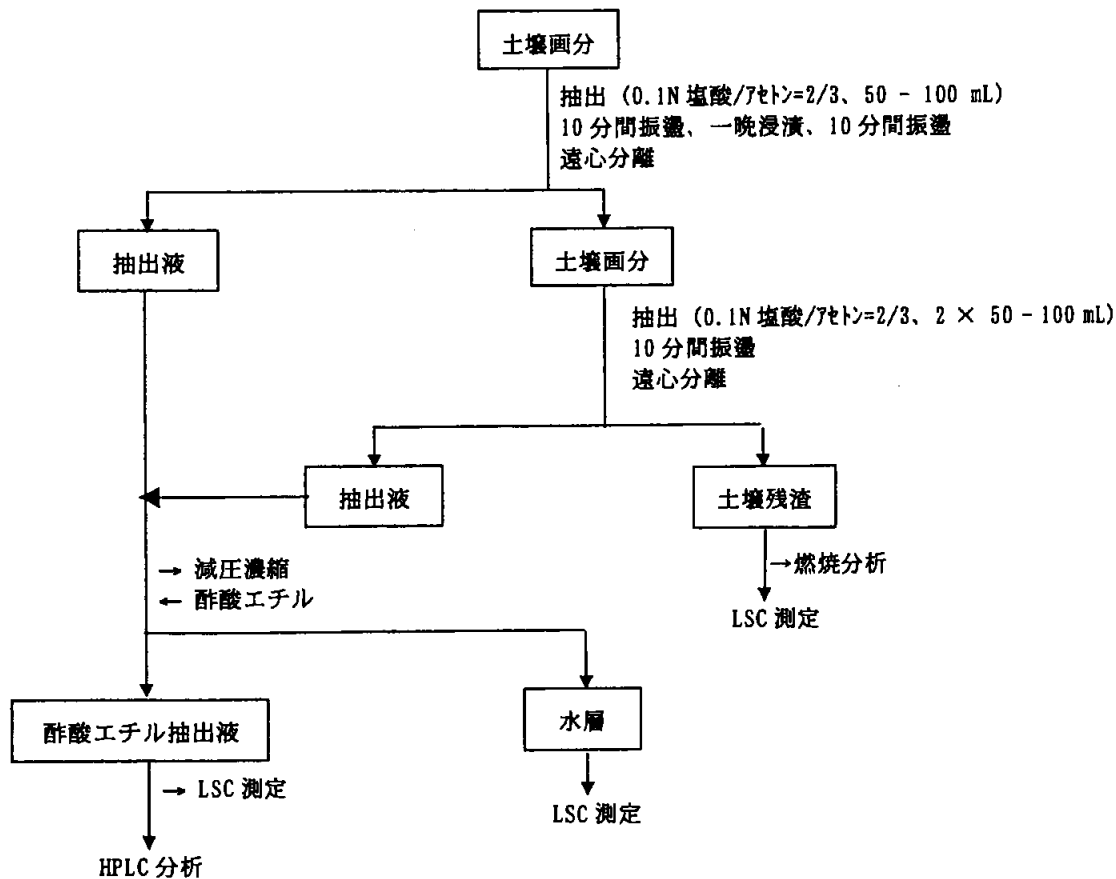
土壌カラム； 内径 25 mm×長さ 300 mm

処理方法； カラム長 50 mm 相当分の土壌にフェニル ¹⁴C 標識フラメトピルを乾土あたり 0.6 ppm (60 g a. i./10a) の割合で処理し、土壌カラム上に積層。

滴下液、流速および流量：0.01M CaCl₂水溶液を2.0 ml/hrの流速で毎日5時間
5週間にわたって滴下。

分析項目； 溶出液、土壌画分（5cm毎）、アルカリトラップ

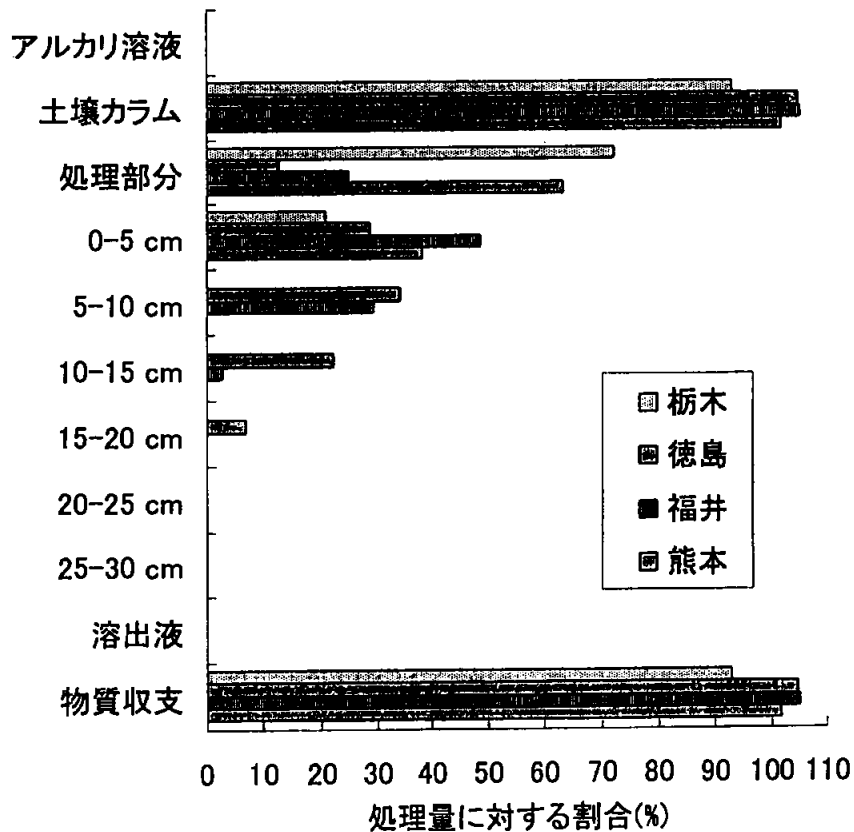
分析方法； 土壌画分の抽出および分析方法のスキームを下記に示す。



揮散性 ¹⁴C は、0.5 M NaOH 水溶液の入ったトラップで捕集し、LSC 分析に供した。
被験物質および代謝物の定量は HPLC により、主要な ¹⁴C 残留物の同定は標品を用いた
HPLC コクロマトグラフィーにより実施した。

試験結果： フェニル¹⁴C 標識フラメトピルの土壌カラムリーチング

	処理量に対する割合 (%)			
	栃木	徳島	福井	熊本
アルカリ溶液	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
土壌カラム	93.1	104.9	105.2	101.7
処理部分	72.2	12.5	24.7	63.3
0-5 cm	20.7	28.7	48.6	38.1
5-10 cm	0.2	34.1	29.3	0.3
10-15 cm	<0.1	22.0	2.6	<0.1
15-20 cm	<0.1	6.8	<0.1	<0.1
20-25 cm	<0.1	0.5	<0.1	<0.1
25-30 cm	<0.1	0.3	<0.1	<0.1
溶出液	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
物質収支	93.1	104.9	105.2	101.7



溶出液中にはいずれの土壌においても ^{14}C はほとんど検出されず（添加放射エネルギーの $<0.1\%$ ）、処理した ^{14}C の大部分は栃木土壌および熊本土壌では処理部分から 5 cm の土壌層に、徳島土壌では処理部分から 15 cm の土壌層に、そして福井土壌では処理部分から 10 cm の土壌層に認められた。土壌画分を抽出・分析した結果、各土壌ともに放射能の大部分は未変化のフラメトピルであり、栃木土壌を除く 3 土壌で 658-HK がわずかに認められた（添加放射エネルギーの 4.8%以下）。なお、土壌カラムからの ^{14}C の揮散はいずれの土壌においても 0.1%以下であった。

(4) フラメトピルの畑地ライシメーター試験

(資料 VII-4)

試験機関：(財) 化学物質評価研究機構

報告作成年：2004 年

供試化合物：フラメトピル水和剤



化学名：(RS)-5-クロロ-N-(1,3-ジヒドロ-1,1,3-トリメチルイソベンゾフラン-4-イル)-1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボキサミド

ライシメーター：試験土壌 55cm、砂 20cm、砂利 20cm の土層構造を有したコンクリート製容器 (縦 2m x 横 2m x 深さ 1m)、屋外に設置

試験区：2 区、試験土壌 灰色低地土 (大分県日田市) 及び多湿黒ボク土 (大分県九重町) 2 基ライシメーター/試験区。土壌の特性を表 1 に示す。

表 1 土壌の特性

	試験区 1	試験区 2
土壌分類	灰色低地土	多湿黒ボク土
土性	細砂壤土	壤土
粘土鉱物	ハロサイト	アロフェン
有機炭素含量 (%)	1.10	8.34
水素イオン濃度 (H ₂ O)	6.2	7.0
水素イオン濃度 (KCl)	4.6	6.0
陽イオン交換容量	16.1 meq/100g	44.3 meq/100g
リン酸吸収係数	880 mg/100g	1950 mg/100g

供試水：浸透水 (対象薬剤の含まれていないことを確認済み)

栽培作物：第 1 作物 小麦 2001 年 10 月 24 日移植・播種、収穫 2002 年 5 月 28 日

第 2 作物 てんさい 2002 年 6 月 10 日播種、収穫 2002 年 11 月 18 日

処理方法：小麦を移植・播種した約 2 ヶ月後にフラメトピル水和剤の 1000 倍希釈液を試験区当り 800ml 土壌表面に均一に散布し、7 日後に同様に 2 回目の散布を行った。

水管理方法：平年降水量から算出した 1 週間の雨量に相当する量の水を週 2 回に分けて土壌表面全体に灌水。降雨が認められた場合は、次回灌水時に週別平均降水量の 1/2 を上限として降雨相当量を差し引いた。

試料採取：水管理方法に従って灌水し、コンクリート容器の最下部の排水口に 1L 溶ガラスビーカーを設置し、遮光下で採水した。採取は浸透水量を測定し、浸透水をよく混合後、1 試験区 1 回につき 500ml ガラス瓶 2 本に行った。

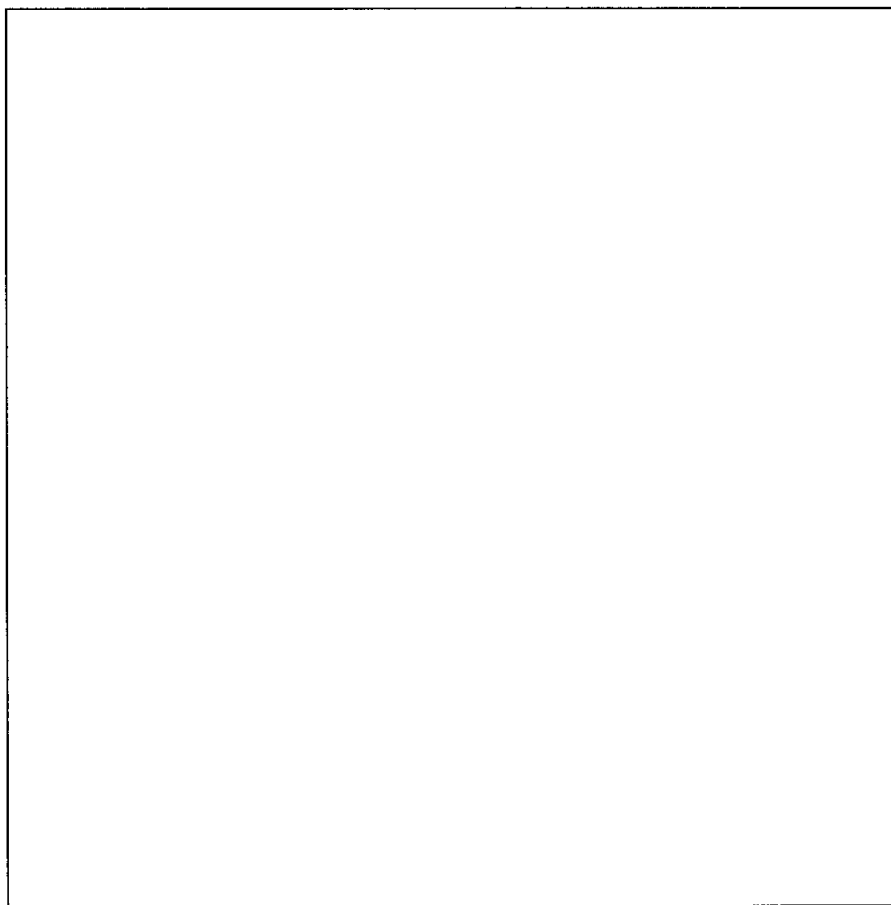
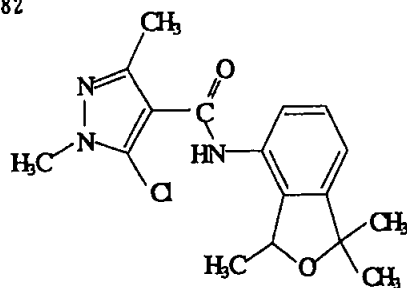
採取時期：処理前、処理後1週間に1回の割合で1年間
(2001年12月18日～2002年12月24日)

分析対象：フラメトピル、658-HK 及び 658-AL

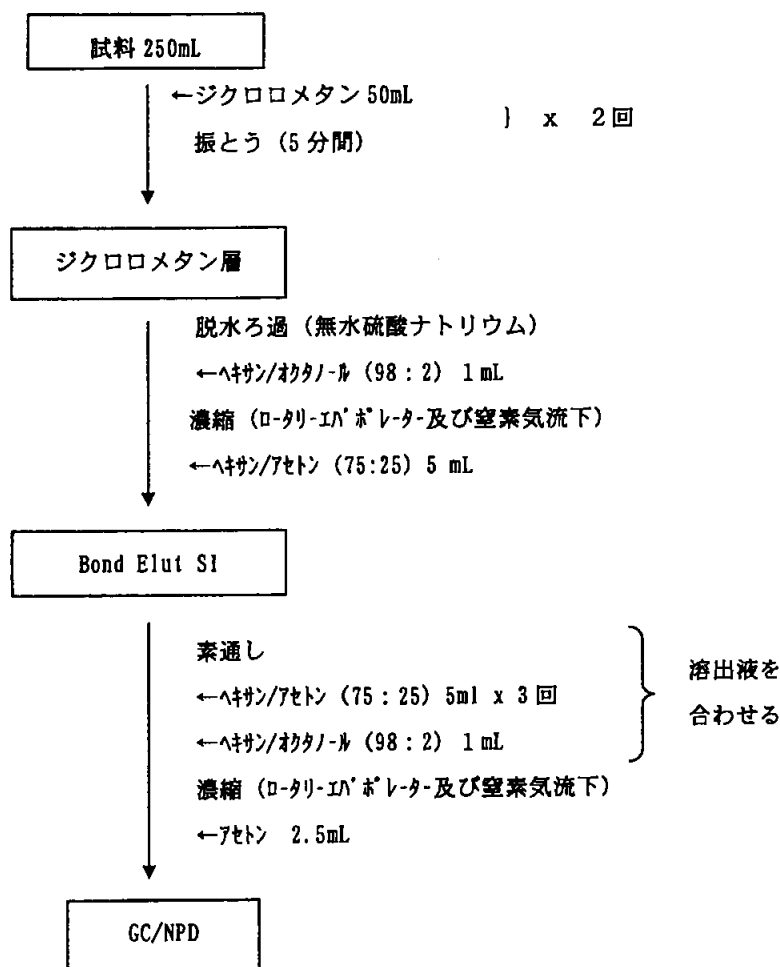
構造式：

フラメトピル

分子量：333.82



分析方法： 試験水の分析フロースキームを以下に示す。



分析法の操作概要

試料をジクロロメタンで抽出し、減圧濃縮後、シリカゲルカートリッジで精製し、再度減圧濃縮後、残留物をアセトンに溶解してガスクロマトグラフ (NPD) を用いて定量する。用いた分析法は定量限界 0.001 mg/L、回収率は添加濃度 0.001 および 0.01 mg/L で、フラメトピル 101~102%、658-HK 79~95%、658-AL 83~88%であった。

結果：

1年間全ての試料の分析において、フラメトピル、658-HK 及び 658-AL とも定量限界である 0.001 mg/L 未満であった。代表例として散布前、散布後 1、4、8、13、26、39 及び 53 週目の試料の分析結果を表 2 に示す。

表2 浸透水におけるフラメトピル、658-HK 及び 658-AL の分析値

試料採取日	分析値 (mg/L)		
	フラメトピル	658-HK	658-AL
散布前 (H13.12.18)	<0.001	<0.001	<0.001
第1週 (H13.12.25)	<0.001	<0.001	<0.001
第4週 (H14.1.15)	<0.001	<0.001	<0.001
第8週 (H14.2.12)	<0.001	<0.001	<0.001
第13週 (H14.3.19)	<0.001	<0.001	<0.001
第26週 (H14.6.18)	<0.001	<0.001	<0.001
第39週 (H14.9.17)	<0.001	<0.001	<0.001
第53週 (H14.12.24)	<0.001	<0.001	<0.001

フラメトピルの代謝分解のまとめ

フラメトピルの動物、植物および土壌等における代謝・分解の要約は下記のとおりであり、予想代謝分解経路を図1に、結果の概要を表に示した。

動物：

フェニル¹⁴C標識フラメトピルを用いて、ラットにおける体内動態を調べた。

低用量として1mg/kg、高用量として300mg/kg（雄）または200mg/kg（雌）の割合でラットに¹⁴C標識フラメトピルを1回経口投与すると、¹⁴Cは投与量・性を問わず速やかに排泄され、投与後7日間に主として尿中および胆汁経路で糞中にはほぼ完全に排泄され、投与後7日目の体内に残留する¹⁴C量は投与量の0.3%以下であった。

低用量群では、投与後0.5時間目に肝臓、腎臓および血液中の¹⁴C濃度は最高となり、以後それぞれ半減期5時間、4~7時間および5時間で減少し、投与後24時間目にはそれぞれ0.09~0.17μgフラメトピル相当量/g湿組織重量(ppm)、0.02~0.09ppmおよび0.01~0.02ppmとなった。肝臓、腎臓および血液における¹⁴C濃度の最高値はそれぞれ3.80~4.23ppm、1.20~1.21ppmおよび0.38~0.46ppmであった。

高用量群では、肝臓、腎臓および血液中の¹⁴C濃度は投与後24時間目に最高となり、以後それぞれ半減期5~7時間、6時間および6時間で減少して、72時間目にはそれぞれ18~21ppm、5~8ppmおよび2~3ppmとなった。肝臓、腎臓および血液における¹⁴C濃度の最高値はそれぞれ207~559ppm、91~106ppmおよび38~44ppmであった。

主要な代謝反応は、1) N-脱メチル化、2) ピラゾール環3位メチル基の酸化、3) 1,3-ジハイドロイソベンゾフラン環1位メチル基の酸化、4) 1,3-ジハイドロイソベンゾフラン環3位の水酸化、5) 1,3-ジハイドロイソベンゾフラン環7位の水酸化、6) 以上の反応で生じたアルコールまたはフェノール性水酸基のグルクロン酸抱合であった。

これらの代謝反応には投与量による差や性差は認められなかった。

マウスに低用量として1mg/kg、高用量として450mg/kgの割合でフェニル¹⁴C標識フラメトピルを1回経口投与すると、¹⁴Cは雌雄ともに速やかかつほぼ完全に糞および尿中に排泄され、投与後7日目の各種臓器組織に残留する¹⁴C濃度は低く、最も高い肝臓でも低用量群で0.003~0.005ppm、高用量群で1.80~1.93ppmであった。主要な代謝反応はラットと同様であった。

以上のように、ラット、マウスに経口投与したフラメトピルは速やかに代謝された後、尿および糞中に排泄され、特定の臓器・組織への残留性・蓄積性はなかった。

植物：

水稲代謝

フェニル¹⁴C標識フラメトピルおよびピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルをそれぞれ水稲の葉表面に処理し、生成する代謝物について調べた。主要な代謝物は、いずれの標識体でもイソベンゾフラン骨格の3位の炭素が酸化を受けた658-HKおよび658-ALであり、他にピラゾリル骨格のN-CH₃部分よりメチル基が脱離したDE-ME-658が微量検出された。処理した¹⁴C量に対して87～90%が両標識体に共通した代謝物であり、各標識体に特有の代謝物は、それぞれ処理量に対して0.4～3.0%であった。また、アミド結合が開裂した標品と一致する代謝物は全く検出されなかった。従って、以降の水稲の代謝試験はフェニル¹⁴C標識フラメトピルのみを用いて実施した。

田面水に60 g a. i. /10aでフェニル¹⁴C標識フラメトピルを処理すると、田面水に処理した¹⁴C量に対する水稲の各部における¹⁴C量は、茎葉部で3.0%、可食部の玄米で0.1%未満となった。その時のフラメトピルの玄米中での残留量は0.02 ppmで、代謝物である658-HK、658-ALおよびDE-ME-658の残留量は全て0.01 ppm未満であった。

同様に、葉表面に10 g a. i. /10aでフェニル¹⁴C標識フラメトピルを処理すると、葉表面に処理した¹⁴C量に対する水稲の各部における¹⁴C量は、非処理茎葉部で0.1%未満、可食部の玄米で0.1%未満となり、処理葉から他の部位への移行は少なかった。その時の玄米中のフラメトピル、658-HK、658-ALおよびDE-ME-658の残留量は、全て0.01 ppm未満であった。

また、穂に10 g a. i. /10aでフェニル¹⁴C標識フラメトピルを処理すると、穂に処理した¹⁴C量に対する水稲の各部における¹⁴C量は、籾殻で64.5%、可食部の玄米で6.9%となった。その時のフラメトピル、658-HK、658-ALおよびDE-ME-658の玄米中での残留量は、それぞれ0.98 ppm、0.31 ppm、0.06 ppmおよび0.06 ppmであった。

てんさい代謝

フェニル¹⁴C標識フラメトピルおよびピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルをそれぞれてんさいに散布処理〔処理量：333 g a. i. /ha、計3回（散布間隔7日、最終散布後14日）〕し、生成する代謝物とその残留量について調べた。散布した¹⁴Cは、主として茎葉部（7.918～10.114 ppm）に留まり、根部への移行はわずか（0.042～0.073 ppm）であった。可食部である根部での主要代謝物は糖であり、その濃度は0.026～0.056 ppmであった。その他根部においてフラメトピル（0.005～0.007 ppm）並びに代謝物としてイソベンゾフラン骨格の3位の炭素が酸化を受けた658-HK（0.001～0.003 ppm）及び658-AL（0.001～0.002 ppm）がわずかに検出された。

小麦代謝

フェニル¹⁴C標識フラメトピルおよびピラゾリル¹⁴C標識フラメトピルをそれぞれ小麦に散布処理〔処理量：200 g a. i. /ha、計2回（播種後64日目および1回目処理後14日目）〕し、生成する代謝物とその残留量について調べた。散布した¹⁴Cは、主として藁（0.697～0.707 ppm）

およびもみ殻 (0.635~0.667 ppm) に留まっており、穀粒での ^{14}C 濃度は 0.015~0.018 ppm とわずかであった。可食部である穀粒での残留物は少量のフラメトピル、658-HK およびピラゾリル骨格の N-CH_3 部が脱メチル化された DE-ME-658 であり、それぞれ 0.006~0.007 ppm、0.001~0.002 ppm および 0.001~0.002 ppm 検出された。また、飼料となる藁での主要残留物はフラメトピルおよび 658-HK であり、それぞれ 0.147~0.174 ppm および 0.071~0.115 ppm 認められた。

以上 3 作物での代謝物分析の結果、フラメトピルの植物での代謝経路に大きな相違はなく、代謝物として、イソベンゾフラン骨格の 3 位の炭素が酸化を受けた 658-HK および 658-AL、並びにピラゾリル骨格の N-CH_3 部分よりメチル基が脱離した DE-ME-658 が検出された。

土壌：

フェニル ^{14}C 標識フラメトピルおよびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルを熊本および徳島の水田土壌に添加して 1 年間にわたって容器内水田土壌代謝試験を実施した結果、フラメトピルは土壌中で徐々に分解し、658-HK、658-AL および DE-ME-658 が分解物として検出された。土壌に処理したフラメトピルの分解半減期は、両土壌とも 1 年以上であった。12 ヶ月経過土壌では、添加された ^{14}C 標識フラメトピルの残存量は 86.8~92.2% であり、658-HK および 658-AL の生成量はそれぞれ 4.6~10.6% および <0.4~3.3% で、DE-ME-658 の生成量は 0.5% 未満であった。また、残渣中の ^{14}C 量は 3.6~8.5% であった。なお、この試験においてフェニル ^{14}C 標識フラメトピルおよびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルの標識位置による代謝様式の差は無いと考えられる。

フェニル ^{14}C 標識フラメトピルおよびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルを茨城 (牛久) 土壌に添加し、1 年間にわたって容器内畑地土壌代謝試験を実施した結果、土壌に処理したフラメトピルの分解半減期は約 4 ヶ月で、水田土壌を用いた容器内試験より速く分解した。12 ヶ月経過土壌では、添加された ^{14}C 標識フラメトピルの残存量は 11.9~12.7% であり、658-HK が 36.4~42.1%、658-AL が 16.0~16.8% 生成した。その他 DE-ME-658 が最高 5.3% 検出された。また、残渣中の ^{14}C 量は 27.7~28.9% であった。なお、この試験においてフェニル ^{14}C 標識フラメトピルおよびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルの標識位置による代謝様式の差は無いと考えられる。

フェニル ^{14}C 標識フラメトピルおよびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルを栃木の水田土壌に添加して 180 日間にわたって嫌気土壌中運命試験を実施した結果、フラメトピルは徐々に分解し、土壌に処理したフラメトピルの分解半減期は水層において 7.3~7.4 日 (両標識体)、水/土壌系全体において 19~27 年 (両標識体) であった。180 日経過土壌では、添加された ^{14}C 標識フラメトピルの残存量は系全体で 91.3~93.5% であり、658-HK および 658-AL の生成量はそれぞれ 1.7~1.9% および 1.0~2.4%、残渣中の ^{14}C 量は 2.6~4.0% であった。なお、この試験においてフェニル ^{14}C 標識フラメトピルおよびピラゾリル ^{14}C 標識フラメトピルの標識位置による代謝様式の差は無いと考えられる。

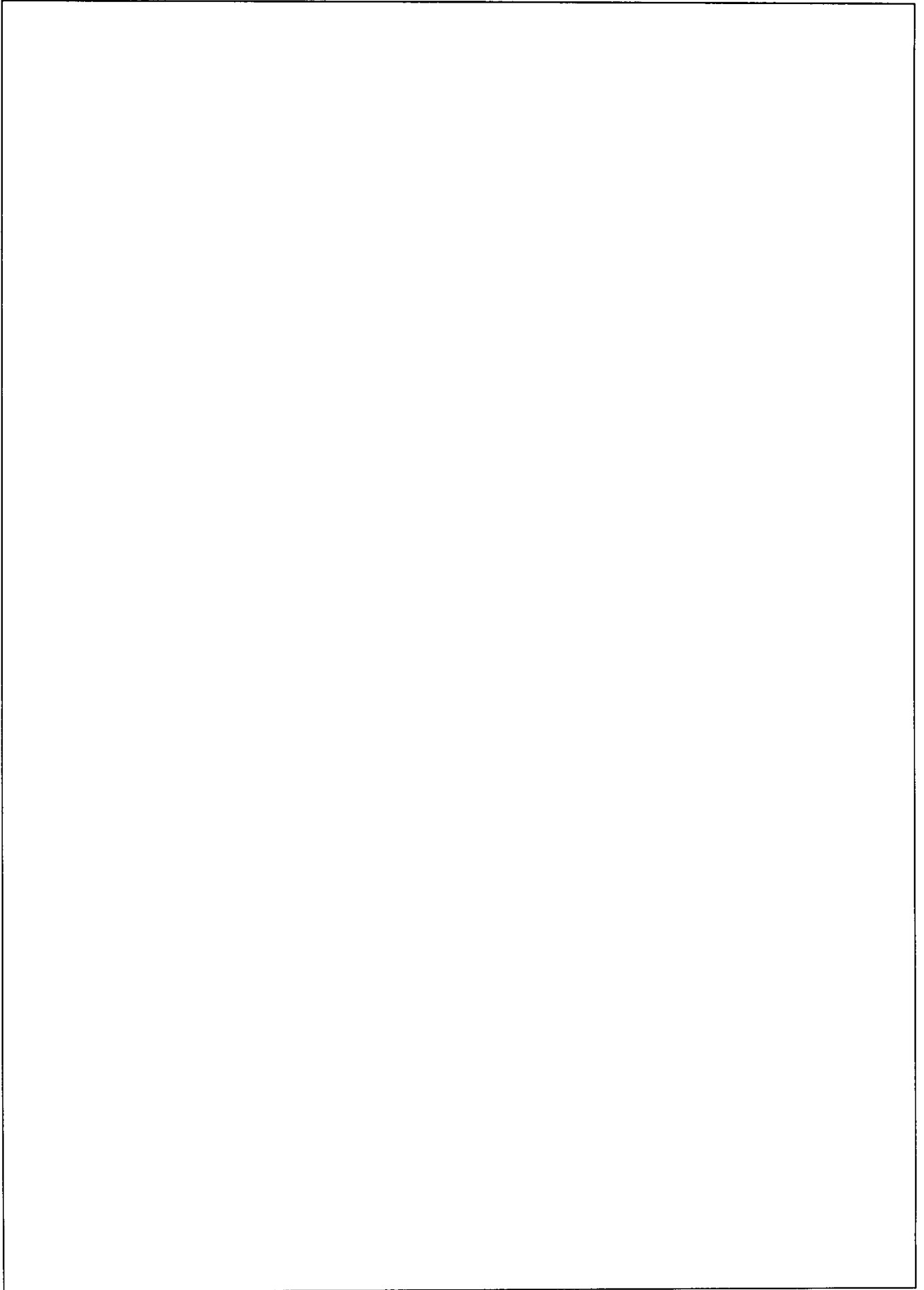
ピラゾリル¹⁴C標識 658-AL を栃木の水田土壌に添加して 180 日間にわたって嫌気土壌中運命試験を実施した結果、658-AL は非常に緩やかに分解された。土壌に処理した 658-AL の分解半減期は水層において 4.7 日、水/土壌系全体において 3.2 年であった。180 日経過土壌では、添加された¹⁴C標識 658-AL の残存量は系全体で 86.3%であり、極性物質が 5.6%、揮散性物質はほとんど認められなかった。なお、残渣中の¹⁴C量は 9.1%であった。

ピラゾリル¹⁴C標識 658-HK を栃木の水田土壌に添加して 180 日間にわたって嫌気土壌中運命試験を実施した結果、658-HK は徐々に分解し、土壌に処理した 658-HK の分解半減期は水層で 6.5 日、水/土壌系全体において 4.7 年であった。180 日経過土壌では、添加された¹⁴C標識 658-HK の残存量は系全体で 86.3%、分解物である 658-AL の生成量は 3.5%、揮散性物質はほとんど認められなかった。なお、残渣中の¹⁴C量は 6.4%であった。

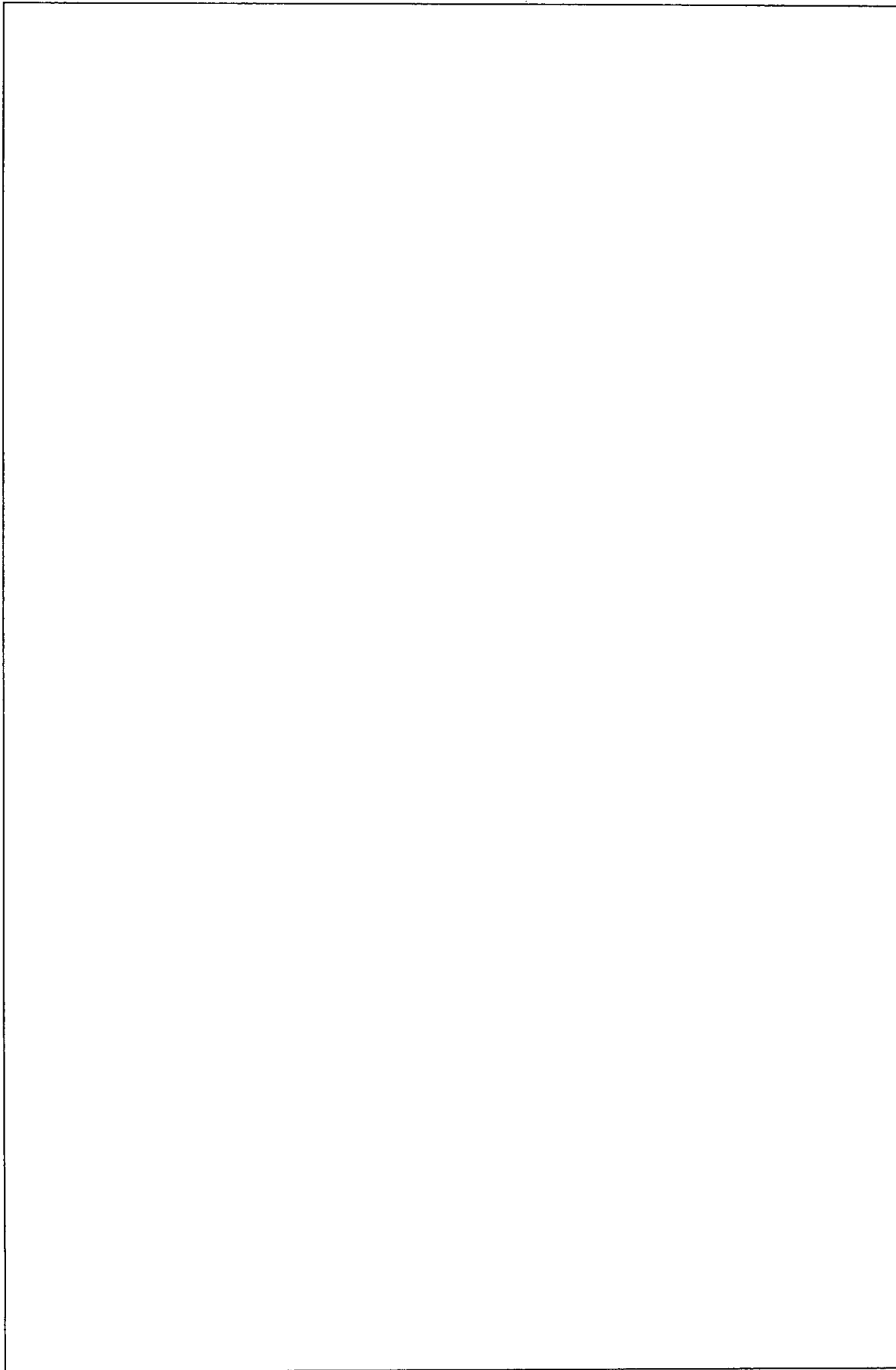
フラメトピルの 4 種類の土壌における吸着係数は $K_d=1.75\sim 4.69$ 、有機炭素吸着係数は $K_{oc}=96\sim 180$ であった。また、土壌薄層クロマトグラフィーを用いた試験結果より、フラメトピルおよび 658-HK の土壌移動度は Helling の R_f 値による定義から各々 Class 2 (Low) ~ 3 (Intermediate) および Class 2 (Low) に分類された。また、4 種類の水田土壌を用いたカラムリーチング試験 (5 週間) で溶出液中に¹⁴C成分は検出されなかった。土壌カラムの各深さの層中¹⁴C量を分析した結果、処理した¹⁴C量の約 93%以上が処理部から 15 cm の深さに留まり、15 cm 以深の土壌層では土壌深に比例して¹⁴C濃度が減少する傾向を示した。また畑地ライシメーター試験を実施し、フラメトピル散布後の浸透水を 1 年間に渡って採取し分析した結果、フラメトピル、658-HK および 658-AL とも定量限界 (0.001 mg/L) 未満であった。

水中運命：

フラメトピルは pH5、7 及び 9 の緩衝液において加水分解に対し安定 [半減期 > 1 年 (25°C)] であった。一方、光照射によりフラメトピルの分解が促進され、蒸留水及び河川水中における半減期はそれぞれ 74.7 日 (太陽光換算：289 日) 及び 19.6 日 (同：75.9 日)、主要分解物として 658-HK が 1.1~4.8%、その他未同定の極性分解物はいずれも 3%未満であった。以上の結果、フラメトピルは光照射によりイソベンゾフラン環の 3 位が水酸化を受け 658-HK を生成し、さらに極性分解物にまで分解されると考えられる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学 ㈱ 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は住友化学 ㈱ 会社にある。

