

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3)ラットの胆汁中代謝物の同定

(資料 2-3-1-1-3)

試験機関: Pacific Biolabs (in-life 段階) (米国)

PTRL West, Inc. (分析段階) (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2009 年

供試化合物:

構造式;

ペンチオピラド

化学名;

放射化学的純度(%);

比放射能;

供試動物: ウィスターHan GALAS™ラット、投与時約 7~9 週齢、投与時体重 174 および 202 g、
1 群雄 2 匹 (胆管カニューレ挿入)

試験方法:

投与方法; MTF-753 を 10%Tween® 80 に懸濁し、100 mg/kg 体重/日の投与量 (既実施の胆汁排泄実験と同一用量) で、容量 10 mL/kg 体重を単回強制経口投与した (実投与量 97.7mg/kg/体重)。

試料採取;

尿: 投与後 0~6、6~12、12~24、24~48 時間

糞: 投与後 0~24、24~48 時間

胆汁: 投与前 (前日の夜~投与直前)、投与後 0~6、6~12、12~24、24~48 時間

ケージ洗液: 投与後 0~48 時間。水、次いでメタノールで洗浄し、洗液はプール。

組織: 投与 48 時間後に屠殺し、消化管 (内容物を含む胃、小腸および大腸) およびカーカスを採取 (放射能の測定はしなかった)。

放射能の測定; 尿、胆汁およびケージ洗液はシンチレーションカクテルを添加した後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能を計測した。糞は燃焼した後、¹⁴C₂O₂ を捕集し、液体試料と同様にして放射能を計測した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

HPLC 分析;逆相 HPLC をリニアー溶媒グラジエントで行い、放射性成分は溶離液を 0.5 分間隔で分取した。LSC カクテルを添加して、LSC で放射能を計測した。試料中の放射性成分の保持時間は試料と一緒に注入した標品の UV トレースと比較した。

胆汁試料の分析に用いた HPLC 法は以下のとおりである。

カラム: Inertsil YMC-Pack ODS-AM、300 x 10 mm、粒子径:5 µm

流速: 3 mL/分

カラム温度: 25°C

UV 検出器: 240 nm (0~30 分)、254 nm (30~60 分)

移動相: 溶媒 A=0.1%トリフルオロ酢酸水溶液

溶媒 B=0.1%トリフルオロ酢酸メタノール溶液

グラジエント:

時間(分)	0	45	55	57	65
溶媒 A	90	0	0	90	90
溶媒 B	10	100	100	10	10

胆汁試料の HPLC/MS 分析は 0~6 時間胆汁試料を水で 10 倍に希釈後、また 0~6 時間と 6~12 時間の胆汁試料の各 5%を混合して調製した 0~12 時間試料を 50 倍に希釈して HPLC/MS/MS で分析した。用いた HPLC 条件は上記の両移動相を 0.1%蟻酸に変更した。最初の 18 分間および 45~50 分の溶離液には検出できる放射能が含まれていなかったため、18~45 分までの溶離液を MS で分析した。代謝物に関するスペクトルは正イオン化条件下で得た。また、大部分の代謝物の想定分子イオンは負イオン化条件下で確認した。

結 果:

胆汁採取量;個体別胆汁の採取量を表 1 に示す。

表 1 個体別胆汁の採取量(g)

採取時期(時間)	動物 1	動物 2	平均
0~6	6.740	0.619	3.679
6~12	7.630	0.866	4.248
12~24	13.866	1.122	7.494
24~48	27.312	8.618	17.965

胆管カニューレの閉塞のためか動物 2 の胆汁採取量が少量であった。動物 1 は正常な胆汁量であり、投与 48 時間後まで健康であったため、全ての分析は動物 1 の胆汁を用いて行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

物質収支および排泄;尿、胆汁および糞への放射能分布を表 2 に示す。

投与 48 時間後までに尿、胆汁および糞から投与量の 91.31%が回収された。

投与 48 時間後までの尿中排泄は 4.55%(ケージ洗液を含め) と少なく、糞中排泄は 8.02%で、胆汁中排泄は 78.74%であった。胆汁は主要な排泄経路で、投与後 6 時間以内に 58.52%、12 時間までに 75.76%が排泄された。これらの結果は既実施の胆汁排泄試験結果(資料 No.2-3-1-1-2)とよく一致している。

表 2 物質収支および排泄;放射能の分布(投与量に対する%)

	試料	本試験	既実施胆汁排泄試験結果 ¹
尿	0~6	2.36	
	6~12	1.36	
	12~24	0.56	
	24~48	0.17	
	ケージ洗液	0.10	
	合計	4.55	4.88
胆汁	0~6	58.52	63.93
	6~12	17.24	
	12~24	2.44	
	24~48	0.54	
	合計	78.74	81.02
糞	0~24	5.21	
	24~48	2.81	
	合計	8.02	7.47
物質収支(総回収率)		91.31	93.37

胆汁中放射能の特徴付け:0~6 時間および 0~12 時間の胆汁中代謝物の定量結果を表 3 および 4 に示す。0~6 時間胆汁中の構造群別代謝物のまとめを表 5 に示す。

58.52%を占める0~6 時間胆汁から少なくとも が検出された。

75.76%を占める0~12 時間のプール胆汁中から が検出された。0~12 時間胆汁中の代謝物は量的差があるものの、プロファイルは 0~6 時間胆汁と同じであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 0～6 時間胆汁試料中の代謝物の定量結果

表 3 0～6 時間胆汁試料中の代謝物の定量結果(つづき)

代謝物コード	保持時間(分)	帰属	分子量	%
M43.30	43.66	MTF-753	359	0.1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 4 0～12 時間プール胆汁試料中の代謝物の定量結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 5 0～6 時間胆汁試料中の構造群別代謝物のまとめ

構造群別代謝物の帰属	投与量に対する%	
	異性体合計	群合計
MTF-753	0.1	0.1

代謝経路:

まとめとして、胆管カニューレ挿入ラットに MTF-753 を 100 mg/kg 体重/日の投与量で単回経口投与し、投与後 48 時間にわたり、尿、糞および胆汁を採取し、胆汁中の代謝物について精査した。

投与放射能の排泄は 91.31% で、その大部分は胆汁中に排泄 (78.74%) された。尿および糞中排泄はそれぞれ 4.55 および 8.02% であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

少なくとも、
が同定され、主要な代謝物は
を占めていた。他に
存在していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(4)ラットを用いた複数回投与代謝試験

(資料 2-3-1-1-4)

試験機関:Ricerca Biosciences LLC (米国)

[GLP 対応]

報告書作成年:2009 年

供試化合物

構造式;

ペンチオピラド

化学名:

放射化学的純度(%);

比放射能;

供試動物:ウイスターHan GALAS™ラット雌雄、投与時約7~9週齢、1群雌雄各3匹

試験方法:

投与方法: ペンチオピラドを10%Tween® 80に懸濁し、10 mg/kg体重/日の投与量で、容量約4 mL/kg体重(約75 µCi/kg体重)を4ないし7日間反復強制経口投与した。

実験群の構成;

群	1	2	3	4
試験目的	排泄、物質収支、尿/糞中代謝物の検索	組織内分布、血漿中代謝物の検索		
投与期間	7日間	4日間	7日間	7日間
屠殺時期	最終投与96時間後	最終投与24時間後		最終投与72時間後
試料採取	尿、糞、ケージ洗液:投与後24時間毎 組織:消化管(内容物を含む)、カーカス、血液	血漿、血球、肝臓、甲状腺、脂肪、腎臓、肺、卵巣、リンパ節、副腎、膵臓		
代謝物分析試料	試験2、5、8および10日に採取した尿、糞、血漿	血漿		

投与量設定根拠:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

採取試料:

尿、糞:尿(20%)および糞(10%)は雌雄別にプールし、代謝物の定量に用いた(群1)。

ケージ洗液:各尿および糞を採取後、投与期間中はケージを水で洗浄し、屠殺後はメタノールで洗浄した(群1)。

血液:同量の血液を性別および屠殺時期別にプールし、血漿と血球に分離し、血漿を代謝物の定量に用いた(群2~4)。

組織:各消化管(内容物を含む)は水を用いて均質化後、一部を可溶化処理した。カーカスは全体を可溶化処理した。

群2~4の各組織は性別および屠殺時期別にプールした。肝臓は一部を細断後、可溶化処理した。

放射能の測定:液体試料はシンチレーションカクテルを添加した後、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を計測した。固形組織、消化管、骨および血液は燃焼した後、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集後、液体試料と同様にして放射能を測定した。

尿/ケージ洗液:直接LSC分析に供した。

糞:水を添加し、2時間以上放置後、混合、振盪、超音波処理してスラリー状とした。この一部を採り、溶解剤を用いて可溶化した後、30%(v/v)過酸化水素水を添加して脱色し、LSCに供した。抽出後固形残渣(PES)は可溶化処理した後、LSC分析に供した。

血液:群1の個体別全血および群2~4のプール全血は燃焼分析に供した。残りの群2~4の血液は血漿と血球に分離し、前者はLSC分析、後者は燃焼分析に供した。

組織:消化管(内容物を含む)および肝臓は可溶化処理後、LSC分析に供した。

HPLC分析:2つの異なる方法(HPLC/RADおよびHPLC/LSC)を用いて、放射能を計測した。

尿:プール尿試料は濾過後、HPLC/RADで分析した。尿(試験2および5日試料)の酵素加水分解は凍結乾燥後、 β -グルクロニダーゼ含有リン酸緩衝液(pH7)を添加した後、一晚培養後、0.1%TFA水溶液、ついでメタノールを用いて固相抽出(BondElut C18)した。メタノール画分は乾燥後、メタノールに再溶解した後、HPLC分析に供した。

糞:均質化試料に0.5N HCl/アセトニトリル(2/8)を添加して懸濁し、超音波処理、渦流混合、次いで、遠心分離した。再度抽出を繰り返した後、上清はプールした。濃縮後、HPLC水およびクエン酸を添加して、20 mMクエン酸混合液を調製した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

糞は ABS ELUT-NEXUS を用いた固相抽出を行い、流出液、20 mM クエン酸およびメタノール流出液を採取し、一部を LSC 分析に供した。メタノール溶離液は移動相(1:1)で希釈して HPLC 分析に供した。

血液: 血漿にメタノールを添加(1:1)し、遠心分離後、血漿タンパクを遠沈除去した後、HPLC 分析に供した。しかし、放射能の量が少なかった(放射能検出器の検出限界以下)ので、HPLC カラム溶離液を1分ごとに分取して LSC で放射能を計測してラジオクロマトグラムを得た。

結 果:

物質収支および排泄: 回収放射能の分布を表 1 に示す。

表 1 回収放射能の分布(%)

試料	単回投与 ^a		反復投与(群 1)	
	雄	雌	雄	雌
尿	13.24	21.79	17.15	22.77
ケージ洗液	1.24	1.81	2.28	3.11
糞	77.06	69.61	71.84	64.98
排泄合計	91.54	93.21	91.27	90.86
消化管(内容物を含む)	0.06	0.05	0.03	0.03
全血	-	-	0.04	0.03
カーカス	0.26	0.24	0.23	0.19
総回収率	91.86	93.50	91.58	91.11

^a: 投与量に対する回収率は Ricerca 報告書 #015188-1(資料 2-3-1-1-2)の 36 頁中の表から引用。

全群とも投与放射能の>91%が回収された。

投与放射能の大部分は糞(雄 71.84%、雌 64.98%)から排泄され、尿(雄 17.15%、雌 22.77%)からの排泄は少なかった。ケージ洗液中の放射能(雄 2.29%、雌 3.12%)は少なかった。内容物を含む消化管の残留は雌雄とも 0.03%、カーカスおよび全血の残留は雄で 0.27%、雌で 0.22%と微量であった。

反復投与による放射能の排泄に性差は認められず、単回投与による排泄と同等で、糞排泄が多かった。

反復投与期間中および投与後の放射能の排泄率を累積投与量あるいは投与総放射能に対する割合として表 2 に示す。

投与放射能の>90%が7日間の反復投与終了後、2日間で尿および糞から排泄された。したがって、排泄は速やかで最終投与 2 日以内にほとんどが排泄された。

表2 反復投与期間中および投与後の放射能の排泄率(%)

性別	採取時期 (投与後時間;試験日)	累積投与量に対する排泄率 ^a				投与総放射能に対する排泄率 ^b			
		尿	ケージ 洗液 ^c	糞	合計 累積	尿	ケージ 洗液	糞	合計 累積
雄	24時間(試験2日)	11.13	1.95	55.21	68.29	1.55	0.27	7.68	9.50
	48時間(試験3日)	13.02	1.84	67.31	82.17	3.62	0.51	18.73	22.87
	72時間(試験4日)	14.07	2.08	67.84	83.98	6.09	0.90	29.38	36.37
	96時間(試験5日)	14.68	2.16	67.10	83.95	8.52	1.26	38.94	48.71
	120時間(試験6日)	14.31	2.19	69.09	85.59	10.33	1.58	49.87	61.77
	144時間(試験7日)	16.68	2.16	69.37	88.20	14.36	1.86	59.72	75.94
	168時間(試験8日)	16.73	2.17	69.39	88.29	16.73	2.17	69.39	88.29
	192時間(試験9日)	17.05	2.24	71.51	90.80	17.05	2.24	71.51	90.80
	216時間(試験10日)	17.12	2.27	71.76	91.15	17.12	2.27	71.76	91.15
	240時間(試験11日)	17.15	2.29	71.84	91.28	17.15	2.29	71.84	91.28
雌	24時間(試験2日)	19.43	2.27	29.84	51.55	2.69	0.32	4.14	7.14
	48時間(試験3日)	22.50	2.40	54.02	78.91	6.23	0.67	14.96	21.86
	72時間(試験4日)	22.47	2.87	61.58	86.92	9.73	1.24	26.65	37.63
	96時間(試験5日)	21.68	3.48	56.12	81.28	12.60	2.02	32.63	47.25
	120時間(試験6日)	22.01	3.27	60.26	85.54	15.93	2.36	43.60	61.89
	144時間(試験7日)	22.39	3.12	62.16	87.67	19.29	2.69	53.56	75.54
	168時間(試験8日)	22.41	3.01	63.92	89.33	22.41	3.01	63.92	89.33
	192時間(試験9日)	22.68	3.05	64.72	90.45	22.68	3.05	64.72	90.45
	216時間(試験10日)	22.75	3.06	64.92	90.73	22.75	3.06	64.92	90.73
	240時間(試験11日)	22.77	3.12	64.98	90.87	22.77	3.12	64.98	90.87

^a: (累積試料中の放射能/累積投与放射能)×100

^b: (累積試料中の放射能/投与総放射能)×100

^c:メタノール洗液も含む

組織内残留の分布:4、7および7回投与後、それぞれ24(試験5日)、24(試験8日)および72時間(試験10日)後に屠殺した組織内分布を表3に示す。

分析した全ての組織に放射能は分布しており、反復投与によりほとんどの組織で残留放射能濃度のわずかな増加が認められた。組織内濃度は、肝臓および腎臓では雄は試験8日に、雌は試験5日に最大濃度となり、その他の組織では試験5日から試験8日に増加し、投与終了後減少した。血漿では投与期間中にプラトーに達し、投与終了後72時間後(試験10日)には消失した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 組織内残留量の分布

組織	雄				雌			
	単回投与	反復投与 ^b			単回投与	反復投与 ^b		
	24時間 ^a	試験5日	試験8日	試験10日	24時間 ^a	試験5日	試験8日	試験10日
投与量に対する残留率(%)								
副腎	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
全血 ^c	0.17	0.12	0.11	0.07	0.17	0.11	0.09	0.06
脂肪 ^d	0.06	0.03	<0.01	0.01	0.10	0.04	0.01	<0.01
腎臓	0.01	0.02	0.01	<0.01	0.01	0.02	0.01	<0.01
肝臓	0.23	0.20	0.19	0.08	0.24	0.31	0.15	0.06
肺	<0.01	0.01	0.01	<0.01	0.01	0.01	0.01	<0.01
腸間膜リンパ節	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
卵巣	-	-	-	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
脾臓	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
投与量に対する残留濃度(ppm ヘンチオピラト Eq)								
副腎	0.100	0.328	0.331	0.129	0.171	0.354	0.344	0.145
全血 ^c	0.256	0.810	1.215	0.812	0.268	0.736	1.042	0.675
脂肪	0.084	0.182	0.233	0.079	0.134	0.225	0.221	0.047
腎臓	0.119	0.862	1.094	0.373	0.135	0.837	0.575	0.364
肝臓	0.440	1.684	2.913	1.126	0.448	2.998	2.255	0.939
肺	0.066	0.420	0.517	0.237	0.079	0.463	0.548	0.246
腸間膜リンパ節	0.099	0.159	0.232	0.093	0.125	0.098	0.214	0.081
卵巣	-	-	-	-	0.170	0.209	0.315	0.103
血漿	0.163	0.514	0.565	<LOD	0.195	0.536	0.545	<LOD
脾臓	0.098	0.237	0.261	0.104	0.108	0.241	0.264	0.133
血球	0.312	1.035	1.482	1.120	0.338	0.786	1.272	1.099
甲状腺	0.104	0.304	0.372	0.158	0.116	0.351	0.382	0.165

^a: 投与量に対する残留率はRicerca 報告書#015188-1(資料 2-3-1-1-2)の28頁、濃度は 212-213頁から引用。

^b: 試験5および8日は投与24時間後、試験10日は投与72時間後に組織を採取。

^c: 血液は最終体重の6.41%として算出。

^d: 脂肪は最終体重の7.1%として算出。

単回投与と反復投与における組織対血漿中の濃度比を表4に示す。

組織対血漿中の濃度比が最も高い組織は肝臓で、雄では試験8日に5.2、雌では試験5日に5.6であった。ついで、腎臓で雄では1.9、雌では1.6であった。その他、全血および血球を除いて、全ての組織で濃度比は1.0以下であった。血漿中の残留は投与終了後72時間後には消失し、これに伴い、全ての組織で残留は容易に減少した。全体的にみて、反復投与24時間後の雌雄における組織内分布は単回投与の場合と同様であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 4 投与 24 時間後の組織対血漿濃度比

組織	雄			雌		
	単回投与 ^a	反復投与 ^b		単回投与 ^a	反復投与 ^b	
	24 時間	試験 5 日	試験 8 日	24 時間	試験 5 日	試験 8 日
副腎	0.613	0.638	0.586	0.877	0.662	0.630
全血	1.571	1.576	2.151	1.374	1.374	1.911
脂肪	0.515	0.354	0.412	0.687	0.420	0.405
腎臓	0.730	1.676	1.936	0.692	1.563	1.056
肝臓	2.699	3.275	5.156	2.297	5.597	4.138
肺	0.405	0.817	0.914	0.405	0.864	1.005
腸間膜リンパ節	0.607	0.310	0.411	0.641	0.184	0.932
卵巣	-	-	-	0.872	0.391	0.578
血漿	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
脾臓	0.601	0.461	0.461	0.554	0.450	0.484
血球	1.914	2.013	2.624	1.733	1.468	2.334
甲状腺	0.638	0.591	0.658	0.595	0.655	0.701

^a:Ricerca 報告書 #015188-1(資料 2-3-1-1-2)の 222 頁の表 98-99 から引用。

^b:試験 5 および 8 日は投与 24 時間後、試験 10 日は投与 72 時間後に組織を採取。試験 10 日は血漿が検出限界以下であったので計算できなかった。

代謝物の定量および分布:試験 10 日にも尿および糞を採取したが、放射能が低く、信頼できる HPLC データが得られなかったので示さなかった。

尿および糞中における代謝物の分布率を表 5 および 6 に示す。ペンチオピラドは広範に代謝され、試験 2、5 および 8 日(投与後 24 時間まで)の尿および糞中における代謝物のプロファイルは単回投与と質的に同等であった。親化合物は尿中からは検出されず、糞から雄で 2.23~9.12%、雌で 0.85~4.76%が検出された。標品の HPLC 保持時間の比較から と親化合物が同定された。

血漿中の代謝物は

であった。血漿中放射能のラジオクロマトグラムの比較では、血漿中の代謝物は
であった。

代謝経路:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表5 所定日までの投与量に対するプール尿中の代謝物の分布率(%)

代謝物/保持時間、分	雄				雌				
	単回 投与 ^a	反復投与			単回 投与 ^a	反復投与			
		24時間	試験2日	試験5日		試験8日	24時間	試験2日	試験5日
主要代謝物合計									
ペンチオピラド 53.37	0.01	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
極性物質合計									
その他合計									
プール尿合計									

^a:Ricerca 報告書 #015188-1(資料 2-3-1-1-2)の146-147 頁から引用。
 ND:検出限界以下。合計値は0として計算した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 6 所定日までの投与量に対するプール糞中の代謝物の分布率(%)

代謝物/保持時間、分	雄				雌			
	単回 投与 ^a	反復投与			単回 投与 ^a	反復投与		
	24 時間	試験 2 日	試験 5 日	試験 8 日	24 時間	試験 2 日	試験 5 日	試験 8 日
抽出性								
非抽出性								
主要代謝物合計								
ベンチオピラド 53.37	7.54	2.23	9.12	5.15	3.11	0.85	4.76	1.54
極性物質合計								
その他合計								
プール糞合計								
同定代謝物合計								

^a:Ricerca 報告書 #015188-1(資料 2-3-1-1-2)の 162-163 頁から引用。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 7 プール血漿中の放射能の分布

代謝物/保持時間	雄				雌			
	試験 5 日		試験 8 日		試験 5 日		試験 8 日	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出性								
非抽出性								
主要代謝物合計								
ペンチオピラド	0.01	2.22	0.02	3.58	0.02	3.98	0.03	5.90
極性物質合計								
その他合計								
プール血漿合計								

まとめとして、ペンチオピラドを 10 mg/kg 体重/日の投与量で 7 日間反復経口投与し、投与終了後 96 時間後に屠殺し、吸収、排泄および代謝について検討した。さらに、4 および 7 日間反復投与後 24 時間後、ならびに 7 日間反復投与終了後 72 時間後に屠殺し、組織内分布および血漿中代謝物について検討した。これらの結果を、既実施の単回投与試験の結果と比較した。

吸収・排泄実験の総回収率は>91%で、大部分の放射能は糞から排泄された(雄 71.84%、雌 64.98%)。投与放射能の>90%が最終投与 48 時間以内に排泄された。したがって、排泄は速やかであった。最終投与後 4 日までに、内容物を含む消化管の残留は雌雄とも 0.03%であった。血液を含むカーカス中の残留は<0.3%と微量であった。これらの放射能の分布は単回投与と類似していた。

1, 4 および 7 回反復投与後 24 時間の尿および糞中における代謝物のプロファイルは単回投与後のプロファイルと質的に類似しており、広範に代謝されていることが確認された。親化合物は尿からは検出されなかったが、糞からは検出された(雄で 2.23~9.12%、雌で 0.85~4.76%)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

反復投与による組織内分布実験で、放射能はすべての組織に分布しており、ほとんどの組織で残留放射能のわずかな増加が認められた。血漿では投与期間中にプラトーに達し、投与終了後 72 時間後には消失し、これに伴い、全ての組織で残留は容易に減少した。全体的にみて、反復投与 24 時間後の雌雄における組織内分布は単回投与の場合と同様であった。血漿の HPLC プロファイルは単回投与と反復投与で類似していた。

想定代謝経路を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2. 植物における代謝試験

(1) ぶどう及びトマトにおける代謝予備試験

(資料 2-4-1-1-1)

(資料 2-4-1-1-2)

試験機関：三井化学株式会社

報告書作成年：2003 年

供試標識化合物：ペンチオピラド

化学構造：

化学名：

放射化学的純度：

比放射活性：

供試標識化合物：ペンチオピラド

化学構造：

化学名：

放射化学的純度：

比放射活性：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

標識位置の選定理由：

予備試験の目的：

植物代謝本試験の試験設計を適切に行う為、2種の標識化合物を別々に処理した代謝試験を実施し、放射能の分布と代謝物のプロファイルを確認する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

1) ぶどう代謝予備試験

供試植物: ぶどう(品種: マスカット)

処理液の調製:

標識水和剤(ペンチオピラド 666 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤と または ペンチオピラドアセトン溶液を の比率で混合して調製した。 標識水和剤の比放射活性は ペンチオピラドで 、 ペンチオピラドで に相当した。

試験方法: 1/5000a ワグネルポットにぶどうの幼苗を植え温室内で高さ 1 m ほどに育成した苗から結実した苗を選別し、処理の 1 週間前に RI 施設に搬入して馴化させた。蒸留水で希釈した ペンチオピラドまたは ペンチオピラドの水和剤(666 ppm)を果実あたり 150 μ L(原体換算 100 μ g、実圃場で散布した場合の想定付着量)を果実の表面に塗布し、人工気象室内[60000 lux、0.20 W/m²(315~400 nm)、気温 25~30°C(夜~昼)]で 27 日間栽培した。収穫した果実は蒸留水(洗浄液 1)、続いてメタノール/水(7/3)(洗浄液 2)で洗浄した後にメタノール/水(7/3)で抽出し、放射能分布の解析及び代謝物の構造解析と定量を行った(図 3)。代謝物の構造解析と同定は LC/MS と TLC により、定量は HPLC により行った(図 1・図 2)。

試験結果: 果実の放射能分布を表 1 に、代謝物組成を表 2 に示した。

①放射能分布

処理 27 日後の放射能回収率は の順に、処理量に対する割合またはペンチオピラド換算濃度で、78.9%(1.103 ppm)または 83.8%(1.400 ppm)であった。蒸留水の洗浄液 1 での残存放射エネルギーは同様に、9.2%(0.129 ppm)または 13.3%(0.222 ppm)、メタノール/水(7/3)の洗浄液 2 では 20.1%(0.281 ppm)または 21.9%(0.366 ppm)、抽出液では 47.8%(0.668 ppm)または 46.4%(0.775 ppm)存在した。抽出残渣では 1.8%(0.025 ppm)または 2.2%(0.037 ppm)存在した。処理後収穫までの 27 日間で放射能回収率が低下したことから、 が生成していたと考えられた。

②代謝物

同定された代謝物:

推定された代謝物:

果実の残存放射エネルギーの 88.3% または 82.3% について、同定または構造が推定された。

未変化のペンチオピラドが において 65.8%(0.725 ppm)、 において

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

63.1%(0.884 ppm)であり、

検出された。

果実における残存放射エネルギーの10%を越えた成分を以下に示した。

[果実]: ペンチオピラド、

表1 放射能分布

[処理量に対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

分析対象		
洗浄液	29.3 (0.410)	35.2 (0.588)
洗浄液 1	9.2 (0.129)	13.3 (0.222)
洗浄液 2	20.1 (0.281)	21.9 (0.366)
抽出液	47.8 (0.668)	46.4 (0.775)
抽出残渣	1.8 (0.025)	2.2 (0.037)
果実全体	78.9 (1.103)	83.8 (1.400)

洗浄液 1: 蒸留水

洗浄液 2: メタノール/水(7/3)

表2 果実の代謝物組成

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

代謝物		
ペンチオピラド		
抽出残渣		
合計	100.0	100.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) トマト代謝予備試験

供試植物: トマト(品種: 世界一)

処理液の調製:

標識水和剤(ペンチオピラド 500 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤と []ペンチオピラドアセトン溶液を の比率で混合して調製した。 標識水和剤の比放射活性は ペンチオピラドで 、 ペンチオピラドで に相当した。

試験方法: 1/5000a ワグネルポットにトマトの幼苗を植え温室内で結実期まで生育させて、処理の1週間ほど前に RI 施設に搬入して馴化させた。 ペンチオピラドまたはペンチオピラドの水和剤(500 ppm)を果実あたり 50 μ L(原体換算 25 μ g、実圃場で散布した場合の想定付着量)を果実の表面に塗布し、人工気象室内[35000 lux、8.10 W/m²(315~400 nm)、気温 25~30°C(夜~昼)]で29日間栽培した。収穫した果実は蒸留水(洗浄液 1)、続いてメタノール/水(7/3)(洗浄液 2)で洗浄した後にメタノール/水(7/3)で抽出し、放射能分布の解析及び代謝物の構造解析と定量を行った(図 4)。代謝物の構造解析と同定は LC/MS と TLC により、定量は HPLC により行った。

試験結果: 果実の放射能の分布を表 3 に、代謝物組成を表 4 に示した。

①放射能分布

処理 29 日後の放射能回収率は、 の順に、処理量に対する割合またはペンチオピラド換算濃度で、71.3%(0.319 ppm)または 69.8%(0.351 ppm)であった。蒸留水の洗浄液 1 での残存放射エネルギーは同様に、17.9%(0.080 ppm)または 14.1%(0.071 ppm)、メタノール/水(7/3)洗浄液 2 に 37.5%(0.168 ppm)または 35.3%(0.178 ppm)、抽出液に 14.3%(0.064 ppm)または 17.9%(0.090 ppm)存在した。抽出残渣には 1.6%(0.007 ppm)または 2.5%(0.013 ppm)存在した。処理後収穫までの 29 日間で放射能回収率が低下したことから、 が生成していたと考えられた。

②代謝物

同定された代謝物:

推定された代謝物:

果実の残存放射エネルギーの 92.0% または 88.8% について、同定または構造が推定された。

未変化のペンチオピラドが において 86.7%(0.277 ppm)、 において 84.1%(0.296 ppm)であり、

検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

果実における残存放射エネルギーの10%を越えた成分を以下に示した。

[果実]: ペンチオピラド

表3 放射能分布

[処理量に対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

分析対象		
洗浄液	55.4 (0.248)	49.4 (0.249)
洗浄液 1	17.9 (0.080)	14.1 (0.071)
洗浄液 2	37.5 (0.168)	35.3 (0.178)
抽出液	14.3 (0.064)	17.9 (0.090)
抽出残渣	1.6 (0.007)	2.5 (0.013)
果実全体	71.3 (0.319)	69.8 (0.351)

洗浄液 1: 蒸留水

洗浄液 2: メタノール/水(7/3)

表4 果実の代謝物組成

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

代謝物		
ペンチオピラド	86.7 (0.277)	84.1 (0.296)
抽出残渣		
合計	100.0	100.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3) 代謝経路

結 論

ぶどう及びトマトに対して ペンチオピラド各々を処理して代謝物の生成を確認した。

いずれの植物においても、生成量の多い全ての代謝物について同定または構造の推定が可能であり、 構造が確認できない

抽出残渣中の放射エネルギーの割合は、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4) 代表的なクロマトグラム

図1 ぶどう果実部(ペンチオピラド処理)のラジオクロマトグラム

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

図 2 ぶどう果実部(MTF-753 処理)のラジオクロマトグラム

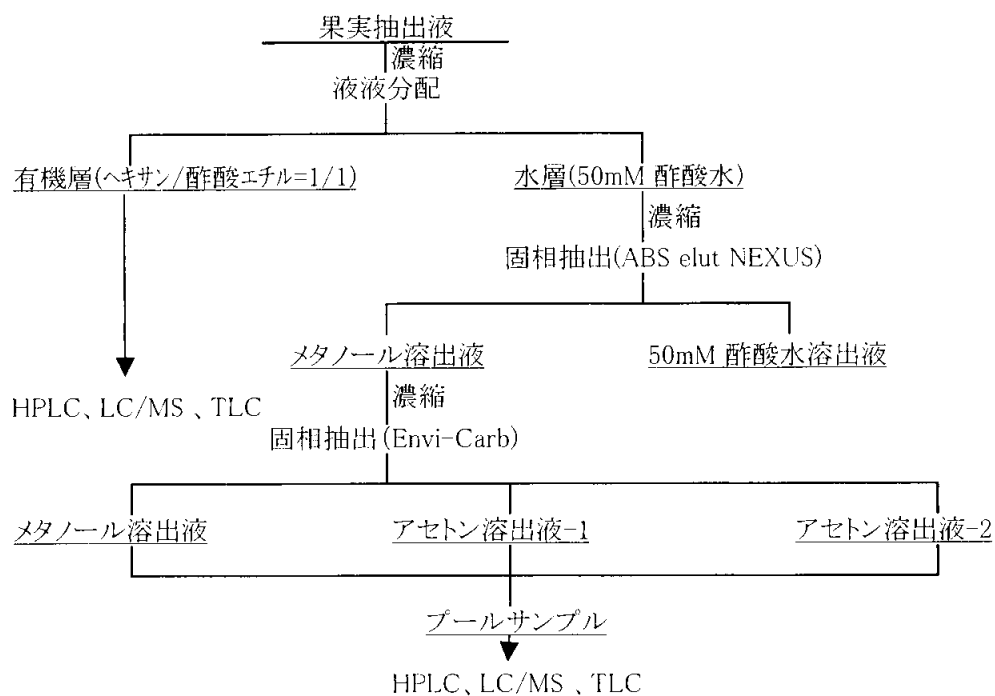


図3 ぶどうの果実抽出試料の精製・分析方法

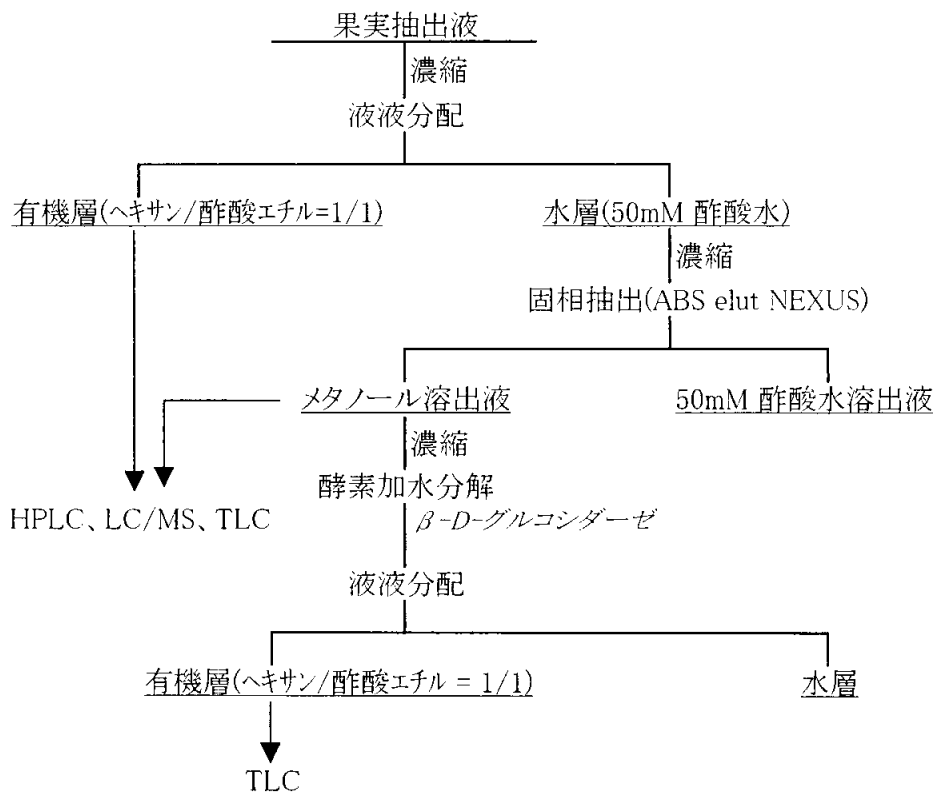


図4 トマトの果実抽出試料の精製・分析方法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2) ぶどうにおける代謝試験

(資料 2-4-1-1-5)

試験機関: PTRL-West, Inc.(米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

供試標識化合物: ペンチオピラド

化学構造:

化学名:

放射化学的純度:

比放射活性:

供試標識化合物: ペンチオピラド

化学構造:

化学名:

放射化学的純度:

比放射活性:

標識位置の選定理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

供試植物：ぶどう(品種：Thompson Seedless)

処理液の調製：(処理用量:400 g a.i./ha、処理濃度：666 ppm、処理液容量：600 L/ha)

標識水和剤(ペンチオピラド 666 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤とペンチオピラドアセトン溶液をの比率で混合して調製した。標識水和剤の比放射活性はに相当した。

試験方法：米国カリフォルニア州ポータービル市の契約圃場で、ぶどうの木1本を栽培する15 ft²(約1.39 m²)に相当の試験区を3区画確保した。1区画はコントロール区とし、残りの2区画において、収穫30日前または60日前に水で希釈したペンチオピラドとペンチオピラドの混合物の水和剤400 g a.i./ha相当量を、手動ポンプ噴霧器を用いて植物体全体に散布し、2区画とも同じ収穫日(それぞれ散布30日後または60日後)に、成熟した果実、葉、茎、及び根に分けてサンプリングした。収穫した果実を2つのグループに分けた。グループIは代謝プロファイルを得るために、メタノール/水(7/3)による表面洗浄後に抽出を行った。グループIIはワインやジュース製造などのプロセッシング過程における代謝物についての基礎データを得るために、表面洗浄せずに果実を搾ることで果汁と搾り滓に分け、その後に搾り滓の抽出を行なった。葉、茎及び根はメタノール/水(7/3)による表面洗浄後に抽出を行なった。代謝物の同定等は酵素的または化学的な加水分解などや標品とのTLCのクロマトグラフィーで、代謝物の定量分析はHPLCでそれぞれ実施した。抽出残渣中の放射能は、酸性溶媒による抽出、加熱抽出、酵素処理などを適宜行った。また、抽出残渣の一部を燃焼して二酸化炭素を回収することで定量した(図1)。

試験結果：グループIの果実、葉、茎及び根における放射能分布を表1に、代謝物組成を表2に示した。グループIIの果汁及びその搾り滓への放射能分布を表3に、代謝物組成を表4に示した。

1) グループI

①各植物部位の放射能分布

果実における総残存放射エネルギー(TRR)は、ペンチオピラド換算濃度で、散布30日後、散布60日後の順に(以下、同様)、0.204 ppmまたは0.083 ppm、葉においては5.107 ppmまたは3.349 ppmが存在した。茎には0.173 ppmまたは0.132 ppm、根には0.006 ppmまたは0.015 ppmが存在した。果実での残留量は葉と比較して低かった。また、果実、葉および茎では、散布30日後に比較して60日後での総残留放射エネルギーが低く、経時的に減衰した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

②各試料中の放射能分布

[果実]: 表面の洗浄液の残存放射エネルギーは、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、散布 30 日後、散布 60 日後の順に(以下、同様)、23.5%(0.048 ppm)または 12.0%(0.010 ppm)が存在した。洗浄後の果実には 76.5%(0.156 ppm)または 88.0%(0.073 ppm)が残存したが、その多くがメタノールによって抽出され[65.7%(0.134 ppm)または 77.1%(0.064 ppm)]、抽出残渣には 6.4%(0.013 ppm)または 10.8%(0.009 ppm)が存在した。

[葉]: 表面の洗浄液の残存放射エネルギーは、60.8%(3.107 ppm)または 40.9%(1.369 ppm)が存在した。洗浄後の葉に 39.2%(2.000 ppm)または 59.1%(1.980 ppm)が残存したが、その多くがメタノール/水(7/3)で抽出され[19.7%(1.004 ppm)または 34.4%(1.151 ppm)]、抽出残渣には 2.7%(0.140 ppm)または 6.0%(0.200 ppm)が存在した。

[茎と根]:

茎表面の洗浄液には、31.2%(0.054 ppm)または 24.2%(0.032 ppm)、洗浄後の茎には 68.8%(0.119 ppm)または 75.8%(0.100 ppm)が存在した。洗浄後の茎のうち、メタノール/水(7/3)抽出液には 36.4%(0.063 ppm)または 30.3%(0.040 ppm)、抽出残渣には 25.4%(0.044 ppm)または 32.6%(0.043 ppm)が存在した。根表面の洗浄液に含まれた放射能はわずかであり、多くが洗浄されずに根に残存していた。

③各試料中のペンチオピラドの残存量

果実におけるペンチオピラドの残存量は、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、散布 30 日後、散布 60 日後の順に 20.6%(0.042 ppm)または 4.8%(0.004 ppm)(以下、同様)、葉で 16.8%(0.858 ppm)または 5.0%(0.169 ppm)であり、散布後から収穫までの日数が長くなると残留レベルが速やかに減衰した。茎では 13.9%(0.024 ppm)または 6.1%(0.008 ppm)とわずかに検出され、根では検出されなかった。

④代謝物

同定された代謝物:

推定された代謝物:

果実の残存放射エネルギーの 57.8~57.9%について、同定または構造が推定された。未変化のペンチオピラドのほかに、主要代謝物として

代謝物は

検出された。未同定

葉の高極性成分を加水分解後に分析を行った結果、

検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

各部位において、残存放射能の10%を越えた成分を以下に示した。

[果実]: ペンチオピラド、

[葉]: ペンチオピラド、

2) グループII

①プロセッシング過程の果実の放射能分布

果汁に果実の残存放射能(TRR)の55.2~56.7%が存在し、搾り滓には43.3~44.8%が存在した。搾り滓中の放射能の多くがメタノールで抽出され(30.5~38.2%)、抽出残渣に9.1~11.9%が存在した。

②果汁及び搾り滓中の放射能分布とペンチオピラドの残存量

TRRの10%及び0.05 ppmを超える未同定代謝物は無く、果実の残存放射能の42.9~58.0%について、同定または構造が推定された。また、ペンチオピラドは果実全体では検出されたが、果汁中では検出されなかった。

ぶどうの主な加工食品としてワインとジュースが考えられる。原料である果実及び果汁における主要成分を以下に示した。

[果実]: ペンチオピラド、

[果汁]:

代謝経路

結 論

ぶどう果実における総残存放射能(TRR)は、ペンチオピラド換算で、散布30日後、散布60日後の順に、0.20 ppmまたは0.08 ppmであった。また、葉においては、同様に5.11 ppmまたは3.35 ppmであった。

果実におけるペンチオピラドの残存量は、散布30日後でTRRの20.6%(0.042 ppm)、60日後で4.8%(0.004 ppm)であり、散布後の時間経過とともに減少した。果汁にペンチオピラドが含まれなかったことから、ペンチオピラドはぶどう果皮を透過しないか、または蓄積するより早く代謝されると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 放射能分布(グループ I)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

分析対象	散布 30 日後	散布 60 日後
果実		
洗淨液	23.5 (0.048)	12.0 (0.010)
洗淨後の果実	76.5 (0.156)	88.0 (0.073)
メタノール抽出	65.7 (0.134)	77.1 (0.064)
メタノール/水(7/3)抽出	1.0 (0.002)	1.2 (0.001)
0.1N 塩酸メタノール抽出	NE	2.4 (0.002)
抽出残渣	6.4 (0.013)	10.8 (0.009)
果実全体	100.0 (0.204)	100.0 (0.083)
葉		
洗淨液	60.8 (3.107)	40.9 (1.369)
洗淨後の葉	39.2 (2.000)	59.1 (1.980)
メタノール/水(7/3)抽出	19.7 (1.004)	34.4 (1.151)
0.1N 塩酸メタノール抽出	4.5 (0.230)	7.6 (0.254)
メタノール/水(1/1)還流	3.6 (0.182)	6.0 (0.200)
メタノール/塩酸 還流	1.4 (0.070)	2.3 (0.077)
セルラーゼ加水分解	0.0 (0.002)	0.1 (0.004)
プロテアーゼ加水分解	0.0 (0.002)	0.1 (0.002)
抽出残渣	2.7 (0.140)	6.0 (0.200)
葉全体	100.0 (5.107)	100.0 (3.349)
茎		
洗淨液	31.2 (0.054)	24.2 (0.032)
洗淨後の茎	68.8 (0.119)	75.8 (0.100)
メタノール/水(7/3)抽出	36.4 (0.063)	30.3 (0.040)
0.1N 塩酸メタノール抽出	8.7 (0.015)	9.1 (0.012)
抽出残渣	25.4 (0.044)	32.6 (0.043)
茎全体	100.0 (0.173)	100.0 (0.132)
根		
洗淨液	16.7 (0.001)	0.0 (0.000)
洗淨後の根	83.3 (0.005)	100.0 (0.015)
メタノール/水(7/3)抽出	NE	33.7 (0.005)
抽出残渣	NE	60.0 (0.009)
根全体	100.0 (0.006)	100.0 (0.015)

NE: 実施せず

注: 実験誤差のために、各抽出液と抽出残渣に含まれる放射能の合計と洗淨後の試料に含まれる放射能の合計は必ずしも一致しない。

洗淨液: メタノール/水(7/3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 2 代謝物組成(グループ I)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

散布 30 日後	果実	葉	茎	根
ペンチオピラド	20.6 (0.042)	16.8 (0.858)	13.9 (0.024)	NE
抽出残渣				
残存放射エネルギー	100.0	100.0	100.0	100.0

散布 60 日後	果実	葉	茎	根
ペンチオピラド	4.8 (0.004)	5.0 (0.169)	6.1 (0.008)	ND
抽出残渣				
残存放射エネルギー	100.0	100.0	100.0	100.0

NE: 実施せず

ND: 0.0005 ppm 未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 放射能分布(グループ II)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

分析対象	散布 30 日後		散布 60 日後	
	割合(%)	濃度(ppm)	割合(%)	濃度(ppm)
果実				
果汁	55.2	(0.133)	56.7	(0.119)
搾り滓	44.8	(0.108)	43.3	(0.091)
メタノール抽出	38.2	(0.092)	30.5	(0.064)
メタノール/水 (7/3)抽出	1.2	(0.003)	1.4	(0.003)
0.1N 塩酸メタノール抽出残渣	NE		1.9	(0.004)
果実全体	100.0	(0.241)	100.0	(0.210)

NE: 実施せず

注: 実験誤差のために、各抽出液と抽出残渣に含まれる放射能の合計と洗浄後の試料に含まれる放射能の合計は必ずしも一致しない。

表 4 代謝物組成(グループ II)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

	散布 30 日後		散布 60 日後	
	果実	果汁	果実	果汁
ペンチオピラド	17.4 (0.042)	ND	4.3 (0.009)	ND
抽出残渣				
残存放射エネルギー	100.0		100.0	

NA 該当せず

ND 0.0005 ppm 未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

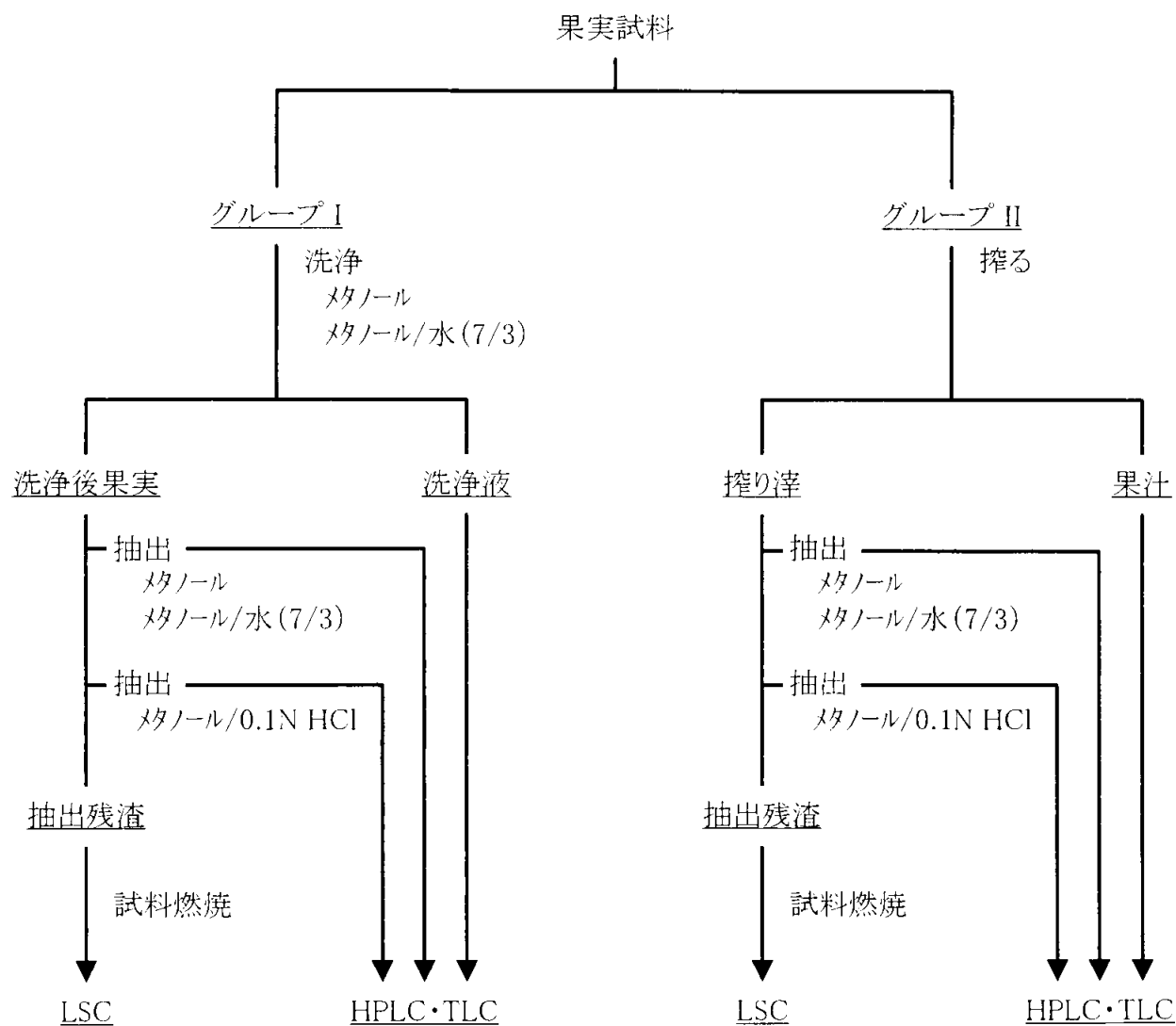


図1 果実試料の抽出および精製方法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3) トマトにおける代謝試験

(資料 2-4-1-1-4)

試験機関: PTRL-West, Inc.(米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2005 年

供試標識化合物: ペンチオピラド

化学構造:

化学名:

放射化学的純度:

比放射活性:

供試標識化合物: ペンチオピラド

化学構造:

化学名:

放射化学的純度:

比放射活性:

標識位置の選定理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

供試植物：トマト(品種：ACE 55VF)

処理液の調製：

①通常散布(処理用量：300 g a.i./ha、処理濃度：300 ppm、処理液容量：1000 L/ha)

標識水和剤(ペンチオピラド 300 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤とペンチオピラドアセトン溶液をの比率で混合して調製した。に相当した。

②5倍散布(処理用量：1500 g a.i./ha、処理濃度：1000 ppm、処理液容量：1500 L/ha)

標識水和剤(ペンチオピラド 1000 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤とペンチオピラドアセトン溶液をの比率で混合して調製した。に相当した。

試験方法：米国カリフォルニア州マデラ郡の契約圃場でトマト4本を栽培する9 ft²(約0.81 m²に相当)の試験区を3区画確保した。1区画はコントロール区とし、残りの2区画において水で希釈したペンチオピラドとペンチオピラドの混合物の水和剤を300 g a.i./ha相当(通常散布量)または1500 g a.i./ha相当量(5倍散布量)で手動ポンプ噴霧器を用いて、植物全体に散布した。トマト代謝予備試験の結果から代謝の程度が小さくなることが想定されたので、代謝物の構造解析を容易にする目的で5倍量散布区を設けた。散布14日後に成熟した果実を、21日後には成熟した果実、葉、茎、及び根に分けてサンプリングした。

収穫した果実を2つのグループに分けた。グループIは代謝プロファイルを得るために、メタノール/水(7/3)による表面洗浄後にメタノールによる抽出を行った。グループIIは加工食品製造過程における代謝物についての基礎データを得るために、水洗浄後に果実を搾ることで果汁と搾り滓に分け、その後に搾り滓のメタノールによる抽出を行った。葉、茎及び根はメタノール/水(7/3)による表面洗浄後にメタノール/水(7/3)で抽出を行った。代謝物の同定等は、酵素的または化学的な加水分解等や標品とのTLCのクロマトグラフィー等で、代謝物の定量分析はHPLCで実施した。抽出残渣中の放射能は、酸性溶媒による抽出、加熱抽出、酵素処理等を適宜行った後、抽出残渣の一部を燃焼して二酸化炭素を回収することで定量した(図1)。

試験結果：グループIの果実、葉、茎及び根における放射能分布を表1に、代謝物組成を表2に示した。また、グループIIの洗浄液、果汁及びその搾り滓への放射能分布を表3に、代謝物組成を表4に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

1) グループ I

①各植物部位の放射能分布

通常量散布における総残存放射エネルギー(TRR)は、ペンチオピラド換算濃度で果実に 0.014 ppm(14 日後)または 0.022 ppm(21 日後)、21 日後の葉、茎及び根に、それぞれ 0.648 ppm、0.251 ppm 及び 0.009 ppm が存在した。5 倍量散布では、果実に 0.456 ppm(14 日後)または 0.281 ppm(21 日後)、21 日後の葉、茎及び根にそれぞれ 4.837 ppm、1.170 ppm 及び 0.049 ppm が存在した。果実における放射能の残留レベルは葉と比較して低かった。

②各試料中の放射能分布

[果実]:通常量散布での残存放射エネルギーは、TRR%及びペンチオピラド換算濃度で、散布 14 日後、21 日後の順に、表面洗浄液に 35.7%(0.005 ppm)または 50.0%(0.011 ppm)が存在し、散布 21 日後の抽出液に 36.3%(0.008 ppm)、抽出残渣に 9.1%(0.002 ppm)が存在した。5 倍量散布では、散布 14 日後、21 日後の順に、表面洗浄液に 75.9%(0.346 ppm)または 67.6%(0.190 ppm)、抽出液に 22.1%(0.101 ppm)または 27.8%(0.078 ppm)、抽出残渣に 2.0%(0.009 ppm)または 5.0%(0.014 ppm)が存在した。

[葉]: 散布 21 日後、通常量散布の残存放射エネルギーは、TRR%及びペンチオピラド換算濃度で、表面洗浄液に 59.1%(0.383 ppm)、抽出液に 28.1%(0.182 ppm)、抽出残渣に 7.1%(0.046 ppm)が存在した。5 倍量散布では、表面洗浄液に 77.3%(3.739 ppm)、抽出液に 14.9%(0.721 ppm)、抽出残渣に 3.8%(0.184 ppm)が存在した。

[茎と根]:

散布 21 日後、通常量散布の残存放射エネルギーは、TRR%及びペンチオピラド換算濃度で、茎表面の洗浄液に 64.9%(0.163 ppm)、茎の抽出液に 21.1%(0.053 ppm)、抽出残渣に 12.0%(0.030 ppm)が存在した。5 倍量散布の茎表面の洗浄液に 69.9%(0.818 ppm)、茎の抽出液に 21.4%(0.251 ppm)、抽出残渣に 8.7%(0.102 ppm)が存在した。

散布 21 日後、通常量散布での根表面の洗浄液には、33.3%(0.003 ppm)、洗浄後の根に 66.7%(0.006 ppm)が存在した。また、5 倍量散布での根表面の洗浄液に 36.7%(0.018 ppm)、根の抽出液に 42.8%(0.021 ppm)、抽出残渣に 22.4%(0.011 ppm)が存在した。

③各試料中のペンチオピラドの残存量

果実における散布 21 日後のペンチオピラドの残存量は、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、通常量散布、5 倍量散布の順に 22.7%(0.005 ppm)または 38.4%(0.108 ppm)(以下、同様)、葉では 37.2%(0.241 ppm)または 55.3%(2.675 ppm)、茎では 53.8%(0.135 ppm)または 59.1%(0.692 ppm)であった。また、5 倍量散布での根では 20.4%(0.010 ppm)存在した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

④代謝物

同定された代謝物:

推定された代謝物:

5 倍量散布の場合、果実の残存放射エネルギーの 58.0～62.7%について、同定または構造が推定された。

各部位で残存放射エネルギーの 10%以上の成分を以下に示した。

[果実]: ペンチオピラド

[葉]: ペンチオピラド

[茎と根]: ペンチオピラド

2) グループ II

①プロセッシング過程の果実での放射能分布

通常量散布において、果実の蒸留水による洗浄液に残存放射エネルギー(TRR)の 23.5～37.5%、果汁に 33.3～41.2%、搾り滓に 29.2～35.3%が存在した。また、5 倍量散布においては、洗浄液に 30.6～32.7%、果汁に 16.7～27.6%、搾り滓に 41.8～50.7%が存在した。搾り滓中の放射能の多くがメタノールで抽出され、抽出残渣には 4.1～6.1%存在した。

②果汁及び搾り滓中の放射能分布とペンチオピラドの残存量

残存放射エネルギーの 10%及び 0.05 ppm を超える未同定代謝物は無く、果汁中にペンチオピラドは検出されなかった。また、搾り滓の主成分はペンチオピラドであったが、0.003 ppm 以下(通常量散布)の低い濃度であった。代表的なトマト加工食品として、ジュースとケチャップが考えられる。原料となる果汁及び搾り滓における主成分を以下に示した。

[果汁]:

[搾り滓]: ペンチオピラド

代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 論

通常量散布の場合のトマト果実における総残存放射能(TRR)は、ペンチオピラド換算で 0.014 ppm(散布 14 日後)~0.022 ppm(21 日後)であって、また、葉においては、0.648 ppm であった。通常量散布の場合の散布 21 日後の果実のペンチオピラドの残存量は 22.7%(0.005 ppm)、葉では 37.2%(0.241 ppm)、茎では 53.8%(0.135 ppm)であった。果汁にペンチオピラドが含まれなかったことから、ペンチオピラドはトマト果皮を透過しないか、または蓄積するより早く代謝され则认为された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 放射能分布(グループ I)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

散布 14 日後

分析対象	通常量散布	5 倍量散布
果実		
洗浄液	35.7 (0.005)	75.9 (0.346)
洗浄後の果実	64.3 (0.009)	24.1 (0.110)
メタノール抽出	NE	22.1 (0.101)
抽出残渣	NE	2.0 (0.009)
果実全体	100.0 (0.014)	100.0 (0.456)

散布 21 日後

分析対象	通常量散布	5 倍量散布
果実		
洗浄液	50.0 (0.011)	67.6 (0.190)
洗浄後の果実	50.0 (0.011)	32.4 (0.091)
メタノール抽出	36.3 (0.008)	27.8 (0.078)
抽出残渣	9.1 (0.002)	5.0 (0.014)
果実全体	100.0 (0.022)	100.0 (0.281)
葉		
洗浄液	59.1 (0.383)	77.3 (3.739)
洗浄後の葉	40.9 (0.265)	22.7 (1.098)
メタノール/水(7/3)抽出	28.1 (0.182)	14.9 (0.721)
メタノール/水(1/1)還流	3.2 (0.021)	2.1 (0.100)
セルラーゼ加水分解	NE	0.2 (0.011)
プロテアーゼ加水分解	NE	0.2 (0.010)
抽出残渣	7.1 (0.046)	3.8 (0.184)
葉全体	100.0 (0.648)	100.0 (4.837)
茎		
洗浄液	64.9 (0.163)	69.9 (0.818)
洗浄後の茎	35.1 (0.088)	30.1 (0.352)
メタノール/水(7/3)抽出	21.1 (0.053)	21.4 (0.251)
抽出残渣	12.0 (0.030)	8.7 (0.102)
茎全体	100.0 (0.251)	100.0 (1.170)
根		
洗浄液	33.3 (0.003)	36.7 (0.018)
洗浄後の根	66.7 (0.006)	63.3 (0.031)
メタノール/水(7/3)抽出	NE	42.8 (0.021)
抽出残渣	NE	22.4 (0.011)
根全体	100.0 (0.009)	100.0 (0.049)

NE: 実施せず

注: 実験誤差のために、各抽出液と抽出残渣に含まれる放射能の合計と洗浄後の試料に含まれる放射能の合計は必ずしも一致しない。

洗浄液: メタノール/水(7/3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 2 代謝物組成(グループ I)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

散布 14 日後

果実	通常量散布	5 倍量散布
ペンチオピラド	NE	45.2 (0.206)
抽出残渣		
残存放射エネルギー	100.0	100.0

散布 21 日後

通常量散布	果実	葉	茎	根
ペンチオピラド	22.7 (0.005)	37.2 (0.241)	53.8 (0.135)	NE
抽出残渣				
残存放射エネルギー	100.0	100.0	100.0	100.0

5 倍量散布	果実	葉	茎	根
ペンチオピラド	38.4 (0.108)	55.3 (2.675)	59.1 (0.692)	20.4(0.010)
抽出残渣				
残存放射エネルギー	100.0	100.0	100.0	100.0

NE: 実施せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 放射能分布(グループ II)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

収穫 14 日前	通常量散布		5 倍量散布	
果実				
洗浄液	37.5	(0.009)	32.7	(0.096)
果汁	33.3	(0.008)	16.7	(0.049)
搾り滓	29.2	(0.007)	50.7	(0.149)
メタノール抽出	NE		44.9	(0.132)
抽出残渣	NE		6.1	(0.018)
果実全体	100.0	(0.024)	100.0	(0.294)

収穫 21 日前	通常量散布		5 倍量散布	
果実				
洗浄液	23.5	(0.004)	30.6	(0.030)
果汁	41.2	(0.007)	27.6	(0.027)
搾り滓	35.3	(0.006)	41.8	(0.041)
メタノール抽出	29.4	(0.005)	35.7	(0.035)
抽出残渣	5.9	(0.001)	4.1	(0.004)
果実全体	100.0	(0.017)	100.0	(0.098)

NE: 実施せず

注: 実験誤差のために、各抽出液と抽出残渣に含まれる放射能の合計と洗浄後の試料に含まれる放射能の合計は必ずしも一致しない。

洗浄液: 蒸留水

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 4 代謝物組成(グループ II)

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

散布 14 日後	通常量散布		5 倍量散布	
	果汁	搾り滓	果汁	搾り滓
ペンチオピラド	NE	NE	ND	28.9 (0.085)
抽出残渣				
残存放射エネルギー				

散布 21 日後	通常量散布		5 倍量散布	
	果汁	搾り滓	果汁	搾り滓
ペンチオピラド				
抽出残渣				
残存放射エネルギー				

NE: 実施せず

ND: <0.0005 ppm

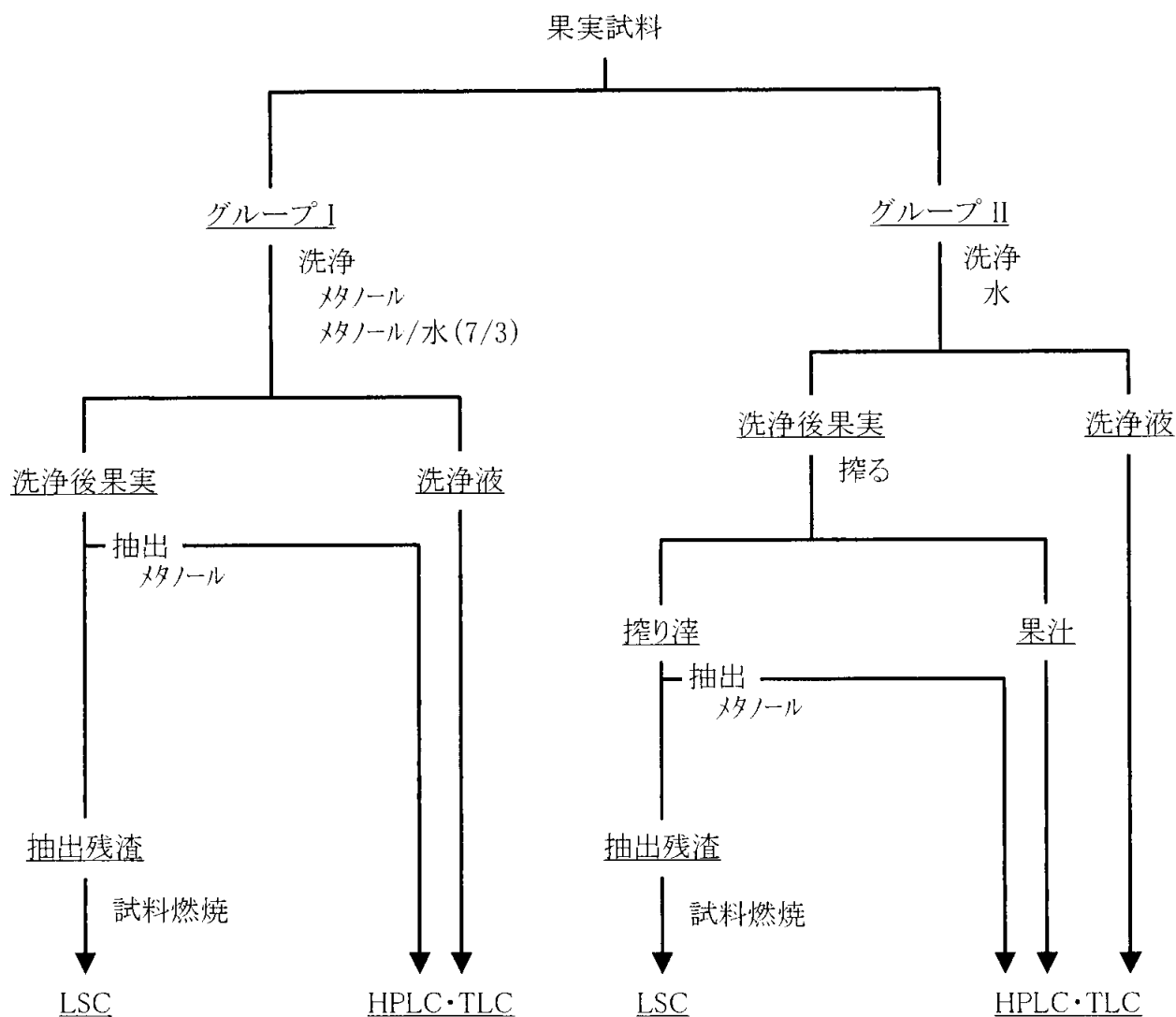


図1 果実試料の抽出および精製方法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(4) キャベツにおける代謝試験

(資料 2-4-1-1-3)

試験機関: PTRL-West, Inc.(米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

供試標識化合物: ペンチオピラド

化学構造:

化学名:

放射化学的純度:

比放射活性:

供試標識化合物: ペンチオピラド

化学構造:

化学名:

放射化学的純度:

比放射活性:

標識位置の選定理由:

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

供試植物：キャベツ(品種：Dutch Round cabbage)

処理液の調製：

①通常散布(処理用量：200 g a.i./ha、処理濃度：200 ppm、処理液容量：1000 L/ha)

標識水和剤(ペンチオピラド 200 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤とペンチオピラドアセトン溶液をの比率で混合して調製した。標識水和剤の比放射活性はに相当した。

②5倍散布(処理用量：1000 g a.i./ha、処理濃度：1000 ppm、処理液容量：1000 L/ha)

標識水和剤(ペンチオピラド 1000 ppm)は、蒸留水で希釈した非標識ペンチオピラド水和剤とペンチオピラドアセトン溶液をの比率で混合して調製した。標識水和剤の比放射活性はに相当した。

試験方法：米国カリフォルニア州マデラ郡の契約圃場でキャベツ 8 または 9 本を栽培する 9 ft² (約 0.81 m² に相当)の試験区を 3 区画確保した。1 区画はコントロール区とし、残りの 2 区画において、水で希釈したペンチオピラドとペンチオピラドの混合物の水和剤 200 g a.i./ha 相当量(通常散布量)または 1000 g a.i./ha 相当量(5倍散布量)を、手動ポンプ噴霧器を用いて散布し、21 日後に地上部と根を収穫した。代謝物の構造解析を容易にするために、5 倍量散布区を設けるとともに、放射能の多くが残留する外葉を結球部から分離して分析した。

外葉、結球及び根は蒸留水及びメタノール/水(7/3)による表面洗浄後に、メタノール/水(7/3)による抽出を行なった。代謝物の同定や構造解析は標品との TLC コクロマトグラフィー及び LC/MS 等で、代謝物の定量分析は HPLC で実施した。抽出残渣中の放射能は必要に応じて酸性溶媒による抽出を行なった後、抽出残渣の一部を燃焼して二酸化炭素を回収することで定量した(図 1)。

試験結果：放射能分布を表 1 に、代謝物組成を表 2 にそれぞれ示した。

①各植物部位の放射能分布

通常量散布での総残存放射エネルギー(TRR)は、ペンチオピラド換算濃度で外葉に 1.406 ppm、結球に 0.045 ppm、地上部(外葉+結球)に 0.475 ppm が存在した。5 倍量散布では、外葉に 7.928 ppm、結球に 0.155 ppm、地上部に 2.580 ppm が存在した。放射能の多くが外葉に存在した。根には、通常量散布で 0.019 ppm、5 倍量散布で 0.120 ppm が存在した。

②各試料中の放射能分布

[外葉]：通常量散布での残存放射エネルギーは、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、表面洗浄液に 33.6%(0.473 ppm)、抽出液に 49.9%(0.701 ppm)、抽出残渣に 9.7%(0.136 ppm)が存在した。5 倍量散布では表面洗浄液に 44.3%(3.515 ppm)、抽出液に 46.9%(3.720 ppm)、抽出残渣に 9.9%(0.786 ppm)が存在した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

[結球]: 通常量散布での残存放射エネルギーは、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、表面洗浄液に 11.1%(0.005 ppm)、抽出液に 75.6%(0.034 ppm)、抽出残渣に 8.9%(0.004 ppm)が存在した。5 倍量散布では表面洗浄液に 7.7%(0.012 ppm)、抽出液に 75.5%(0.117 ppm)、抽出残渣に 8.4%(0.013 ppm)が存在した。

[根]: 表面洗浄液に土壌が混入したために、表面洗浄液の放射エネルギーを測定しなかった。通常散布での残存放射エネルギーは、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、抽出液に 79.0%(0.015 ppm)、抽出残渣に 31.6%(0.006 ppm)が存在した。5 倍量散布では抽出液に 73.3%(0.088 ppm)、抽出残渣に 24.2%(0.029 ppm)が存在した。

③各試料中のペンチオピラドの残存量

地上部における 21 日後でのペンチオピラドの残存量は、TRR%およびペンチオピラド換算濃度で、通常量散布、5 倍量散布の順に 20.4%(0.097 ppm)または 34.0%(0.876 ppm)、根で 5.3%(0.001 ppm)または 2.5%(0.003 ppm)であった。

④代謝物

同定された代謝物:

推定された代謝物:

地上部の残存放射エネルギーの 61.2~67.8%について、同定または構造が推定された。未変化のペンチオピラドのほかに、主要代謝物として

地上部の残存放射エネルギーの 10%以上存在した成分を以下に示した。

[地上部]: ペンチオピラド、

代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

結 論

通常量散布の場合のキャベツ地上部における総残存放射能(TRR)は、ペンチオピラド換算で 0.475 ppm であった。

通常量散布の散布 21 日の場合、地上部でのペンチオピラドの残存量は TRR の 20.4%(0.097 ppm)、根では 5.3%(0.001 ppm)であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 放射能分布

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

分析対象	通常量散布		5 倍量散布	
地上部				
外葉	93.5	(0.444) ¹⁾	95.9	(2.474) ¹⁾
結球	6.5	(0.031) ¹⁾	4.1	(0.107) ¹⁾
地上部全体	100.0	(0.475) ¹⁾	100.0	(2.580) ¹⁾
外葉				
洗浄液	33.6	(0.473) ²⁾	44.3	(3.515) ²⁾
洗浄液 1	18.3	(0.257) ²⁾	15.9	(1.258) ²⁾
洗浄液 2	15.4	(0.216) ²⁾	28.5	(2.257) ²⁾
洗浄後の葉	66.4	(0.933) ²⁾	55.7	(4.413) ²⁾
メタノール/水(7/3)抽出	49.9	(0.701) ²⁾	46.9	(3.720) ²⁾
メタノール/0.1N HCl 抽出	4.8	(0.067) ²⁾	4.1	(0.322) ²⁾
抽出残渣	9.7	(0.136) ²⁾	9.9	(0.786) ²⁾
外葉全体	100.0	(1.406) ²⁾	100.0	(7.928) ²⁾
結球				
洗浄液	11.1	(0.005) ³⁾	7.7	(0.012) ³⁾
洗浄液 1	6.7	(0.003) ³⁾	2.6	(0.004) ³⁾
洗浄液 2	4.4	(0.002) ³⁾	5.2	(0.008) ³⁾
洗浄後の結球	88.9	(0.040) ³⁾	92.3	(0.143) ³⁾
メタノール/水(7/3)抽出	75.6	(0.034) ³⁾	75.5	(0.117) ³⁾
抽出残渣	8.9	(0.004) ³⁾	8.4	(0.013) ³⁾
結球全体	100.0	(0.045) ³⁾	100.0	(0.155) ³⁾
根				
洗浄液 1	NE		NE	
洗浄後の根	100.0	(0.019)	100.0	(0.120)
メタノール/水(7/3)抽出	79.0	(0.015)	73.3	(0.088)
抽出残渣	31.6	(0.006)	24.2	(0.029)
根部全体	100.0	(0.019)	100.0	(0.120)

1): 外葉+結球重量に対するペンチオピラド換算濃度(ppm)

2): 外葉重量に対するペンチオピラド換算濃度(ppm)

3): 結球重量に対するペンチオピラド換算濃度(ppm)

NE: 土壌混入のため分析せず

注): 実験誤差のために、各抽出液と抽出残渣に含まれる放射能の合計と洗浄後の試料に含まれる放射能の合計は必ずしも一致しない。

洗浄液 1: 蒸留水

洗浄液 2: メタノール/水(7/3)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 2 代謝物組成

[残存放射エネルギーに対する割合(%), ()内はペンチオピラド換算濃度(ppm)]

散布 21 日後	通常量散布		5 倍量散布	
	地上部	根	地上部	根
ペンチオピラド	20.4 (0.097)	5.3 (0.001)	34.0 (0.876)	2.5 (0.003)
抽出残渣				
残存放射エネルギー	100.0	100.0	100.0	100.0

- 1): 753-A-OH 抱合体を主成分として、少なくとも 4 成分が含まれる。
- 2): ペンチオピラド及び同定または構造が推定された代謝物
- 3): 残存放射エネルギーから同定代謝物等の合計及び抽出残渣を減じて求めた。未同定代謝物には、極性代謝物群が含まれる。

ND: 0.0005 ppm 未満

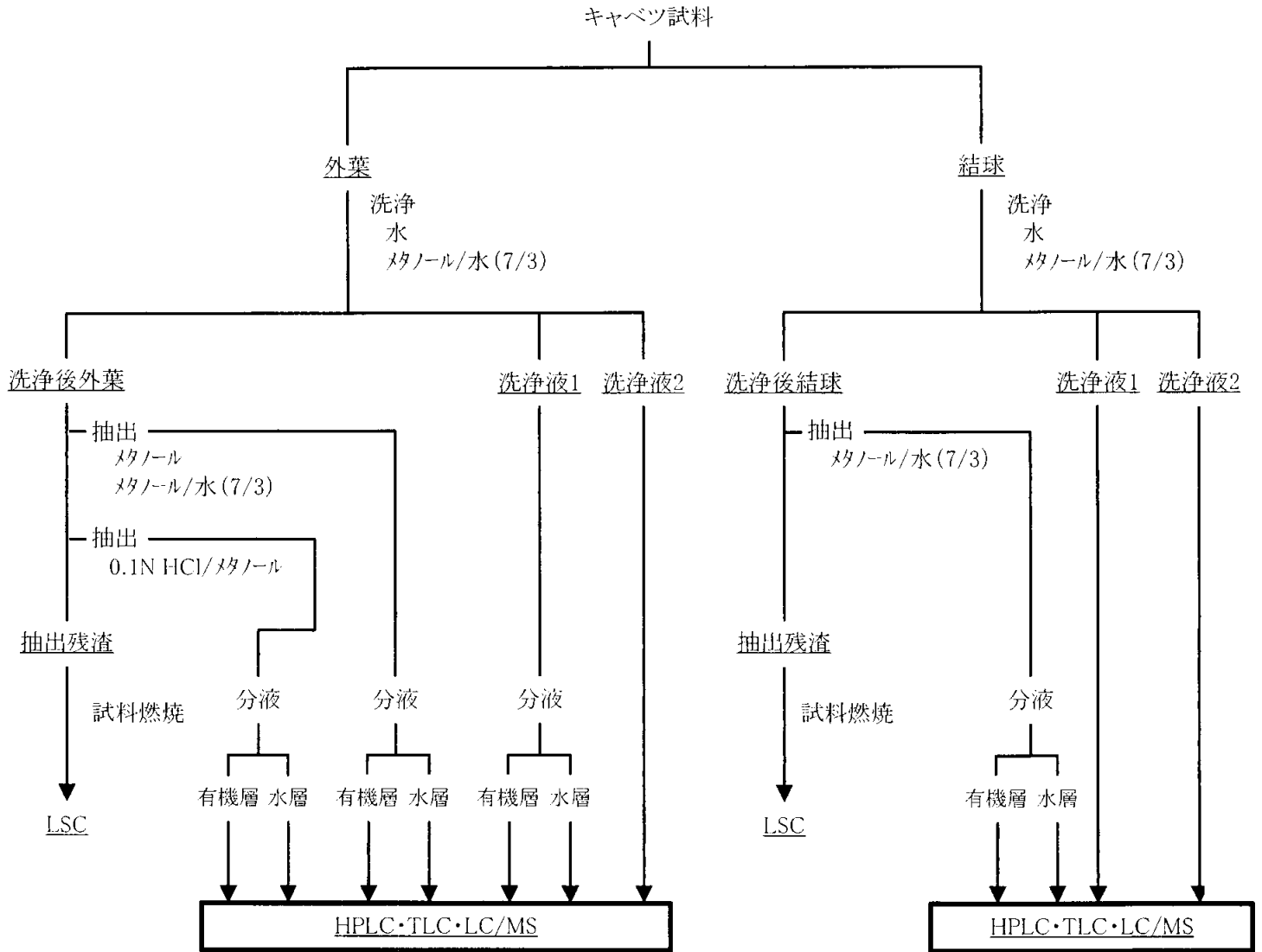


図1 地上部試料の抽出および精製方法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

3. 土壌における代謝試験

(1) 好氣的土壌代謝試験

(資料 2-5-2-1-1)

試験機関： 残留農薬研究所

[GLP 対応]

報告書作成年： 2005 年

供試標識化合物： ペンチオピラド

化学構造：

化学名：

放射化学的純度：

比放射活性：

供試標識化合物： ペンチオピラド

化学構造：

化学名：

放射化学的純度：

比放射活性：

標識位置の選定理由：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

供試土壌：長野土壌

供試土壌	採取地	土性 (国際法)	pH (H ₂ O)	有機炭 素含量 (10g/kg)	陽イオン 交換容量 (cmol _c /kg)	粒径組成(%)			
						粗砂	細砂	シルト	粘土
長野 土壌	長野野菜花き 試験場畑土壌	埴壤土	6.2	1.33	19.6	1.4	49.5	29.1	20.0

処理液の調製：

ペンチオピラドまたは ペンチオピラドのアセトン溶液と非標識ペンチオピラドの 1000 ppm アセトン溶液を混合し、濃縮後に液量を定容して ペンチオピラド処理液(742.8 ppm、)及び ペンチオピラド処理液(744.3 ppm、)を調製した。

試験方法：

①インキュベーション

土壌 62.2 g(乾土 50 g 相当量)を、内径 5.5 cm、深さ 6 cm のペトリ皿に土壌厚さが 5 cm 以下になるように入れ、水分を最大容水量の 45%に調整した後、25°Cの恒温器内で 14 日間ブレインキュベーションした。その後、最大有効成分投下量(1500 g a.i./ha)相当量の ペンチオピラドまたは ペンチオピラドの処理液(1.49 mg/kg 乾土)を土壌に添加して十分に攪拌した後、ステンレス製容器に入れ、恒温器内(暗所)でインキュベーションした。ステンレス製容器に二酸化炭素捕集用トラップ(1N 水酸化ナトリウム水溶液)及び揮発性有機成分捕集用トラップ(エチレングリコール)を接続し、揮発性成分の捕集を行った。インキュベーション中、水を添加して土壌中の水分量を保持した。

また、オートクレーブ滅菌した土壌による試験を別に行った。

②試料の採取

処理 0、7、14、28、56、84、112、140、168 及び 196 日後に土壌試料及びトラップ溶液(0 日後を除く)を採取した。

③分析方法

各土壌試料はアセトニトリル/水(8/2)の混合溶媒で抽出後に、放射エネルギーの測定と成分解析と定量を行った(図 1)。代謝物の同定は HPLC 及び TLC コクロマトグラフィーにより、定量は HPLC で行った。抽出残渣中の放射エネルギーは、燃焼して回収した二酸化炭素を LSC で定量した。また、処理 140 日及び 196 日後の抽出残渣について、ソックスレー抽出後に残渣成分を塩基・酸で分画し、放射エネルギーを測定した(図 2)。さらに、ソックスレー抽出画分については、HPLC により代謝物の解析と同定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

試験結果：放射能分布の経時変化を表 1 に、抽出部のペンチオピラド及び代謝物の経時変化を表 2 に示した。また、抽出残渣中での放射能の特徴づけを表 3 に、ソックスレー抽出液のペンチオピラド及び代謝物の経時変化を表 4 に示した。さらに、滅菌条件下における放射能分布と各成分の経時変化を表 5 と表 6 に示した。

① 放射能分布

処理 196 日後の放射能回収率は ペンチオピラドで 101.86%、 ペンチオピラドで 95.83%であった。抽出部の放射エネルギーは経時的に減少し、試験終了時には、ペンチオピラドで 62.94%、 ペンチオピラドで 49.89%であった。抽出残渣中の放射エネルギーは経時的に増加し、試験終了時には、ペンチオピラドで 23.20%、ペンチオピラドで 26.78%であり、ソックスレー抽出を行った結果、抽出液にそれぞれ、7.98%または 6.19%存在した。

② 揮発性成分

処理 196 日後の二酸化炭素の検出量は ペンチオピラドで 15.72%、 ペンチオピラドで 19.16%であり、その他の揮発性成分は 0.01%以下であった。

③ ペンチオピラドの半減期

ペンチオピラドは経時的に減衰し、ペンチオピラドの DT_{50} は 139 日、 DT_{90} は 463 日、ペンチオピラドの DT_{50} は 130 日、 DT_{90} は 431 日であった。

④ 代謝物

同定された代謝物：

⑤ 抽出残渣中放射能

ペンチオピラドまたは ペンチオピラド処理の 140 日後及び 196 日後の抽出残渣をソックスレー抽出液、フルボ酸、フミン酸及びフミンに分画化した(図 2)。ソックスレー抽出液の HPLC 分析を行った結果、

⑥ 条件下での代謝

ペンチオピラドは、滅菌条件においてほとんど減衰しなかった。従って、ペンチオピラドの好氣的条件での土壌代謝には土壌微生物が関与すると考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 放射能分布の経時変化

[処理量に対する割合(%、表中()内はペンチオピラド換算濃度 mg/kg 乾土)]

供試 化合物	分画	処理後時間(日)									
		0	7	14	28	56	84	112	140	168	196
ペンチオピラド ¹⁾	抽出液	102.48 (1.5224)	100.47 (1.4925)	98.74 (1.4668)	95.11 (1.4129)	87.00 (1.2924)	77.23 (1.1473)	76.00 (1.1290)	71.12 (1.0565)	66.89 (0.9936)	62.94 (0.9349)
	SPE ¹⁾	0.94	1.66	1.63	1.76	2.29	2.31	3.06	1.24	1.15	2.87
	水系溶出	(0.0139)	(0.0246)	(0.0242)	(0.0261)	(0.0341)	(0.0343)	(0.0455)	(0.0184)	(0.0171)	(0.0427)
	SPE ¹⁾	100.27	97.42	92.48	90.04	82.44	75.61	70.90	69.55	64.33	55.24
	有機系溶出	(1.4897)	(1.4473)	(1.3739)	(1.3376)	(1.2248)	(1.1232)	(1.0533)	(1.0333)	(0.9556)	(0.8207)
	抽出残渣	0.21 (0.0031)	4.04 (0.0600)	6.00 (0.0891)	8.42 (0.1250)	12.60 (0.1872)	16.14 (0.2398)	18.33 (0.2723)	19.92 (0.2959)	21.20 (0.3149)	23.20 (0.3447)
	二酸化炭素	NE	0.09	0.34	1.21	3.50	6.00	8.55	11.02	13.46	15.72
	放射能回収率 ²⁾	102.69	104.60	105.08	104.74	103.10	99.38	102.88	102.06	101.54	101.86
ペンチオピラド ¹⁾	抽出液	95.82 (1.4264)	90.14 (1.3418)	87.73 (1.3060)	83.23 (1.2389)	76.22 (1.1346)	66.02 (0.9828)	60.07 (0.8942)	56.22 (0.8369)	50.62 (0.7535)	49.89 (0.7426)
	SPE ¹⁾	1.23	1.27	0.24	0.32	0.28	0.41	0.46	0.60	0.57	0.41
	水系溶出	(0.0183)	(0.0189)	(0.0036)	(0.0047)	(0.0041)	(0.0061)	(0.0068)	(0.0089)	(0.0085)	(0.0061)
	SPE ¹⁾	93.22	88.57	88.40	83.24	77.68	64.73	59.77	52.14	47.13	48.40
	有機系溶出	(1.3878)	(1.3186)	(1.3160)	(1.2392)	(1.1564)	(0.9637)	(0.8898)	(0.7762)	(0.7016)	(0.7206)
	抽出残渣	0.53 (0.0079)	5.74 (0.0854)	8.01 (0.1192)	11.44 (0.1702)	15.82 (0.2354)	20.16 (0.3000)	21.82 (0.3249)	23.69 (0.3526)	25.73 (0.3830)	26.78 (0.3986)
	二酸化炭素	NE	1.70	2.49	4.00	7.21	10.40	13.20	15.69	17.66	19.16
	放射能回収率 ²⁾	96.36	97.58	98.23	98.67	99.26	96.59	95.11	95.60	94.02	95.83

1) SPE: 固相抽出カラム精製(Absolut NEXUSTM)

2) 放射能回収率: 抽出液、抽出残渣、二酸化炭素及び揮発性有機化合物の合計。揮発性有機化合物は0.01%以下であった。

NE: 実施せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表2 抽出部のペンチオピラド及び代謝物の経時変化

[処理量に対する割合(%), 表中()内はペンチオピラド換算濃度 mg/kg 乾土]

供試 化合物	代謝物	処理後時間(日)									
		0	7	14	28	56	84	112	140	168	196
ペンチオピラド	ペンチオピラド	97.47 (1.4481)	94.61 (1.4055)	87.57 (1.3010)	79.31 (1.1782)	67.92 (1.0091)	58.18 (0.8643)	51.03 (0.7582)	46.77 (0.6949)	43.17 (0.6413)	35.56 (0.5283)
ペンチオピラド	ペンチオピラド	90.48 (1.3469)	83.26 (1.2395)	81.43 (1.2123)	73.28 (1.0909)	66.21 (0.9856)	51.27 (0.7632)	44.85 (0.6676)	38.56 (0.5740)	33.54 (0.4993)	34.41 (0.5122)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 3 抽出残渣中の放射能の特徴づけ

[処理量に対する割合(%), ()内は抽出残渣中放射エネルギーに対する割合(%)]

分画	ペンチオピラド ¹⁾		ペンチオピラド ²⁾	
	140 日	196 日	140 日	196 日
抽出残渣	19.76 (100.00)	22.60 (100.00)	22.64 (100.00)	26.57 (100.00)
ソックスレー抽出液	6.51 (32.97)	7.98 (35.32)	6.21 (27.44)	6.19 (23.31)
NaOH 抽出液 ¹⁾	7.92 (40.08)	8.67 (38.37)	8.77 (38.74)	9.31 (35.06)
フルボ酸	5.99 (30.30)	5.85 (25.89)	5.03 (22.22)	5.23 (19.68)
フミン酸	1.93 (9.78)	2.82 (12.48)	3.74 (16.52)	4.09 (15.39)
フミン	5.01 (25.36)	5.97 (26.42)	7.99 (35.28)	9.09 (34.23)
放射能回収率 ²⁾	19.44 (98.41)	22.63 (100.11)	22.97 (101.45)	24.60 (92.61)

1) NaOH 抽出率 = フルボ酸 + フミン酸

2) 放射能回収率 = ソックスレー抽出液 + NaOH 抽出液 + フミン

表 4 ソックスレー抽出液のペンチオピラド及び代謝物の経時変化

[処理量に対する割合(%), 表中()内はペンチオピラド換算濃度 mg/kg 乾土]

代謝物	ペンチオピラド ¹⁾		ペンチオピラド ²⁾	
	140 日	196 日	140 日	196 日
ペンチオピラド ¹⁾	3.36 (0.0500)	3.99 (0.0592)	3.52 (0.0525)	3.41 (0.0508)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表5 滅菌土壌における放射能分布の経時変化

[処理量に対する割合(%)、表中()内はペンチピラド換算濃度 mg/kg 乾土]

供試化合物	分画	処理後時間(日)		
		0	28	47
ペンチピラド ¹⁾	抽出液	106.38 (1.5803)	103.45 (1.5368)	104.17 (1.5475)
	SPE ¹⁾	0.61	0.65	0.88
	水系溶出	(0.0091)	(0.0097)	(0.0131)
	SPE ¹⁾	101.87	100.78	101.18
	有機系溶出	(1.5134)	(1.4972)	(1.5031)
	抽出残渣	0.50 (0.0074)	4.16 (0.0618)	4.67 (0.0694)
	放射能回収率	106.88	107.61	108.84

1) SPE: 固相抽出カラム精製 (Absolut NEXUSTM)

表6 滅菌土壌の抽出液におけるペンチピラド及び代謝物(DM-PCA)の経時変化

[処理量に対する割合(%)、表中()内はペンチピラド換算濃度 mg/kg 乾土]

供試化合物	代謝物	処理後時間(日)		
		0	28	47
ペンチピラド ¹⁾	ペンチピラド ¹⁾	100.15 (1.4878)	98.43 (1.4624)	99.56 (1.4791)

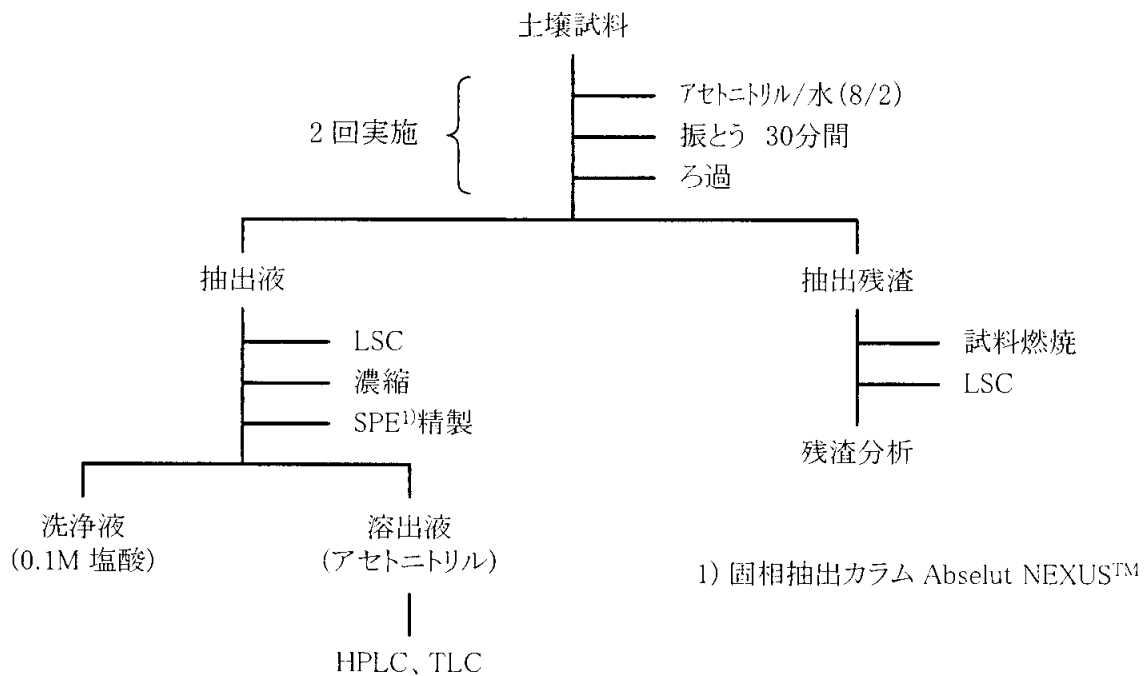


図1 土壌試料の抽出及び精製方法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

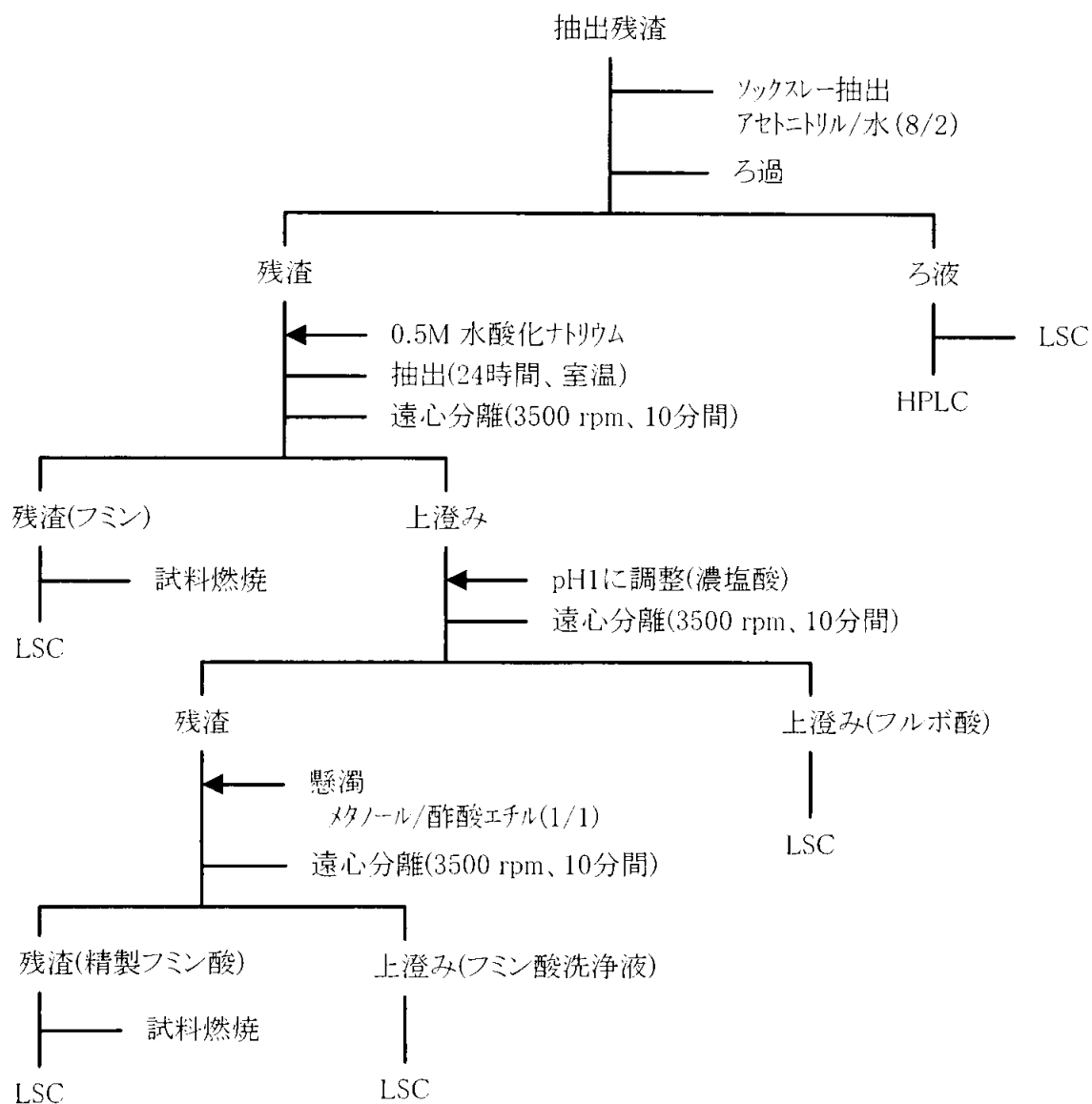


図2 土壌抽出残渣の抽出と分画化

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

4. 土壌吸着性試験

(1) 土壌吸着性試験

(資料 2-9-10-1-1)

試験機関：(財)化学物質評価研究機構

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

供試化合物：

一般名：ペンチオピラド

化学名： N -[2-(1,3-dimethylbutyl)-3-thienyl]-1-methyl-3-(trifluoromethyl)-
1*H*-pyrazole-4-carboxamide

* 試験報告書中で以下の IUPAC 名で記載された化合物は上記化合物
と同一物質である。

N -[2-(1,3-dimethylbutyl)thiophen-3-yl]-1-methyl-3-trifluoromethyl
-1*H*-pyrazole-4-carboxamide

純度：

供試土壌：(社)日本植物防疫協会から分譲された 4 種類の土壌を使用した。各土壌の特性を表 1
に示した。また、各土壌の採取場所を以下に示す。

土壌試料番号及び採取場所

No.1: 日本植物防疫協会研究所宮崎試験場(宮崎県宮崎郡佐土原町)

No.2: 埼玉県大里郡岡部町普通畑地(埼玉県大里郡岡部町)

No.3: 栃木県農試栃木分場(栃木県栃木市大塚町)

No.4: 日本植物防疫協会研究所(茨城県牛久市結束町)

試験方法：

吸着速度試験(試験濃度 0.8 mg/L)

試験温度は 25±1℃で実施した。ペンチオピラド 30 mg に 0.01 mol/L 塩化カルシウム
溶液 300 mL を加えて攪拌し、メンブレンフィルターで濾過し、8.0 mg/L 試験添加原液
とした。

No.1、No.2 及び No.3 の土壌試料各約 2 g、No.4 の土壌約 1 g に 0.01 mol/L 塩化カ
ルシウム水溶液を、土壌 No.1 には 9 mL、それ以外の土壌には 45 mL を加えて 25℃に
て 16 時間振とうした。試験添加原液を No.1 土壌には 1 mL、それ以外の土壌にはそれ
ぞれ 5 mL を添加した。回転振とう機を用いて No.1 と No.3 土壌試料は 2、4 及び 6 時
間、No.2 と No.4 土壌試料は 2、4、6 及び 8 時間振とうし、各試験液の水相中のペンチ
オピラド濃度を HPLC で分析することにより平衡化時間を決定した。

吸着等温試験(試験濃度 0.08、0.2、0.4、0.6 及び 0.8 mg/L)

試験温度は 25±1℃で実施した。吸着速度試験の時と同様に 8 mg/L のペンチオピラ
ドの 0.01 mol/L の塩化カルシウム溶液を調製し、これを更に希釈して 6、4、2 及び 0.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

mg/L の溶液を調製して試験原液とした。

No.1、No.2、No.3 の土壌試料各 2 g、No.4 の土壌試料 1 g に 0.01 mol/L 塩化カルシウム水溶液を土壌 No.1 には 9 mL、それ以外の土壌にはそれぞれ 45 mL を加えて 25℃にて 16 時間振とうした。更に各濃度の試験原液を土壌 No.1 にはそれぞれ 1 mL、それ以外の土壌にはそれぞれ 5 mL を添加した。回転振とう機を用いて No.1 と No.3 土壌試料は 6 時間、No.2 と No.4 土壌試料は 8 時間振とうし、各試験液の水相中のペンチオピラド濃度を HPLC で分析した。

物質収支

水相中の被験物質質量は被験物質濃度及び体積から求めた。土壌から抽出される被験物質質量は、土壌試料をアセトニトリルで 2 回抽出の後に遠心分離し、上澄液を併せて HPLC で分析することにより求めた。

土壌吸着率及び吸着係数の算出は水相の被験物質濃度から算出する間接法(インダイレクト法)により実施した。

分析方法

以下の条件で分析を行った。

機器:	高速液体クロマトグラフ島津製作所製 LC-2010AHT
カラム:	L-Column ODS(化学物質評価研究機構製) 4.6 mm ϕ \times 150 mm
カラム温度:	40℃
移動相:	アセトニトリル/水(80/20 v/v)
流量	1.0 mL/min
測定波長:	226 nm
注入量:	80 μ L

試験結果: 各土壌における試験結果及び物質収支を表 2 に示した。フロインドリッヒ式による吸着係数 K_p^{ads} は 2.56~20.5、有機炭素含有量で補正した吸着係数 $K_{p_{oc}}^{ads}$ は 371~522 であった。物質収支は 91.7~101%であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

表 1 供試土壌の特性

土壌試料 No. ¹⁾		1	2	3	4
土性	砂含量(%)	91.1	43.9	37.8	33.5
	シルト(%)	5.4	40.4	41.7	47.0
	粘度含量(%)	3.5	15.7	20.5	19.5
粘土鉱物の種類		アロフェン	アロフェン 緑泥石 パーミキュライト中間体	カオリン鉱物	緑泥石(クロライト) アロフェン
pH(0.01M CaCl ₂)		5.3	5.2	5.5	5.5
陽イオン交換容量 (me/100g)		4.9	23.8	15.4	28.5
リン酸吸収係数		370	1840	830	2040
有機炭素含有率(%)		0.69	3.02	1.44	5.17
成因		砂丘未熟土	黒ボク土	灰色低地土	黒ボク土
該当する OECD 土壌タイプ		5 に類似	4	3 に類似	2 に類似

1) 申請者注: 土壌試料 No.2 と 4(黒ボク土)は火山灰土壌である。

表 2 試験結果

土壌試料 No.	1	2	3	4
平衡化時間(時間)	6	8	6	8
分配係数 K _d	3.14	14.5	7.83	25.7
土壌中の有機炭素含有量 OC%	0.69	3.02	1.44	5.17
有機炭素含量率で補正した 吸着係数 K _{oc}	455	479	544	498
フロインドリッヒ吸着係数 K _F ^{ads}	2.56	14.9	7.52	20.5
フロインドリッヒ指数 1/n	0.656	0.738	0.629	0.658
有機炭素含量率で補正した フロインドリッヒ吸着係数 K _{F oc} ^{ads}	371	493	522	397
物質収支 ¹⁾ (%)	95.8	91.7	95.7	101

1) 吸着等温試験の試験濃度約 0.8 mg/L における物質収支。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

5. 水中における分解試験

(1) 水中光分解性試験(緩衝液中)

(資料 2-9-16-1-1)

試験機関: RCC Ltd.(スイス)

[GLP 対応]

報告書作成年:1999 年

供試化合物:

一般名: ペンチオピラド

化学名: *N*-[2-(1,3-dimethylbutyl)-3-thienyl]-1-methyl-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazole-4-carboxamide

* 試験報告書中で以下の IUPAC 名で記載された化合物は上記化合物と同一物質である。

N-[2-(1,3-dimethylbutyl)thiophen-3-yl]-1-methyl-3-trifluoromethyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide

純度:

試験方法:

緩衝液: 0.1 mol/L リン酸二水素カリウム水溶液 500 mL と 0.1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液 296.4 mL を混合し、精製水で 1000 mL に希釈した。pH を確認し、0.1 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液で pH7.0 に調整し、オートクレーブで滅菌した。

試験容器:

試験に使用した全ての容器は使用前にエタノール/水(70/30 v/v)で洗浄し滅菌した。

試験溶液の濃度及び調製方法:

ペンチオピラド 2.02 mg/L の試験溶液を以下の方法で調製した。

ペンチオピラド 25.28 mg をアセトニトリル/水(70/30 v/v)で 10 mL に定容し、その 160 μ L を緩衝液 200 mL 中に添加して良く攪拌した。試験溶液中のアセトニトリル濃度は 0.08%であった。

光照射機器:

水中光分解性試験装置: Suntest CPS、Original Hanau 装置(Heraeus、Germany)

光源: キセノンランプ(特別 UV フィルター、カットオフ波長 290 nm)

光強度: 19.3 W/m² (300~400 nm)

1) 緩衝水中光分解性試験

ペンチオピラドの 2.02 mg/L 緩衝水溶液を 25°Cにおいて 300~400 nm の連続光(19.3 W/m²)を 15 日間照射した。対照試料は遮光し、光以外は同じ条件で試験を行なった。それぞれの試験溶液は 0、1、2、4、6 及び 15 日後に採取し、試験溶液中のペンチオピラド濃度を HPLC で分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) 分析方法

供試化合物の定量に用いた HPLC の分析条件は以下のとおりである。

機器： 高速液体クロマトグラフ Merck-Hitachi L-6200、AS-2000、L-4000
 カラム： L-Column ODS(化学物質評価研究機構) 4.6 mm φ × 250 mm
 カラム温度： 室温
 移動相： アセトニトリル/水(70/30 v/v)
 流量： 1.0 mL/min
 測定波長： 220 nm
 注入量： 100～200 μL

試験結果：

試験溶液の温度及び pH は照射期間を通して一定であった(表 1)。ペンチオピラドの濃度分析結果を表 2-1 及び 2-2 に示した。初期濃度からの減衰は認められなかった。ペンチオピラドは光照射緩衝液中で安定であり、光分解性は認められなかった。

表 1 試験溶液の pH

	試験容器	試験期間(日)					
		0	1	2	4	6	15
照射した 試料	A	7.00	7.01	7.00	7.01	7.02	7.01
	B	7.00	7.01	7.02	7.01	7.01	7.00
対照試料	C	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00	7.00

表 2-1 試験溶液中のペンチオピラド濃度(μg/mL)

	試験容器	試験期間(日)					
		0	1	2	4	6	15
照射した 試料	A	2.01	1.99	2.03	1.74	2.01	1.71
	B	1.89	2.09	1.41 ¹⁾	1.87	2.04	1.94
	平均	1.95	2.04	2.03	1.80	2.02	1.82
対照 試料	C	2.03	1.95	1.91	1.75	2.02	1.71

1) 異常値、平均の計算に使用しなかった。

表 2-2 試験溶液中のペンチオピラド相対濃度(%)

	試験容器	試験期間(日)					
		0	1	2	4	6	15
照射した 試料	A	103.1	102.0	104.3	89.3	103.2	87.5
	B	96.9	107.0	72.5 ¹⁾	96.0	104.5	99.7
	平均	100.0	104.5	104.3	92.6	103.8	93.6
対照 試料	C	104.4	100.0	98.2	89.9	103.8	87.6

1) 異常値、平均の計算に使用しなかった。

上表の数値は 0 日試料の平均値(初期濃度)を 100%として標準化した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2) 水中光分解性試験(自然水中)

(資料 2-9-16-1-2)

試験機関: (財)化学物質評価研究機構

[GLP 対応]

報告書作成年: 2006 年

供試化合物:

一般名: ペンチオピラド

化学名: *N*-[2-(1,3-dimethylbutyl)-3-thienyl]-1-methyl-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazole-4-carboxamide

* 試験報告書中で以下の IUPAC 名で記載された化合物は上記化合物と同一物質である。

N-[2-(1,3-dimethylbutyl)thiophen-3-yl]-1-methyl-3-trifluoromethyl-1*H*-pyrazole-4-carboxamide

純度:

試験方法:

自然水由来:

筑後川河川水(採取場所: 福岡県久留米市)

採取した自然水を使用前にメンブレンフィルターでろ過滅菌し、試験に用いた。

試験容器:

試験容器は石英ガラス製共栓付試験管とし、試験前にエタノールで洗浄して滅菌した。

試験溶液の濃度及び調製方法:

ペンチオピラド 5 mg/L の試験溶液を以下の方法で調製した。

ペンチオピラド 100 mg をエタノールで 100 mL に定容し、その 2.5 mL を自然水 500 mL 中に添加して試験溶液とした。試験溶液中のエタノール濃度は 0.5% であった。

光照射機器:

水中光分解性試験装置: 島津製作所 XF-15S

光源: キセノンランプ(紫外線及び赤外線フィルター付、カットオフ波長 300 nm)

光強度: 38.4 W/m²(300~400 nm)

1) 自然水中光分解性試験(キセノンランプ)

ペンチオピラド試験溶液を 25°C において 300~400 nm の連続光(38.4 W/m²)に 14 日間曝露した。対照試料は遮光し、その他は同じ条件で試験を行なった。それぞれの試験溶液は 2、5、7、9、12 及び 14 日後に採取し、試験溶液中のペンチオピラド濃度を HPLC で分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) 分析方法

供試化合物の定量に用いた HPLC 分析条件は以下のとおりである。

機器： 高速液体クロマトグラフ；島津製作所 LC-2010A
 カラム： L-Column ODS(化学物質評価研究機構) 4.6 mm φ × 150 mm
 カラム温度： 40℃
 移動相： アセトニトリル/精製水(8/2 v/v)
 流量： 1.0 mL/min
 測定波長： 226 nm
 注入量： 20 μL

試験結果： 試験期間中のペンチオピラド濃度分析結果を表 1 及び表 2 に示した。初期濃度からの減少は認められなかった。ペンチオピラドは光照射自然水中で安定であり、光分解性は認められなかった。

表 1 試験溶液中のペンチオピラド濃度(mg/L)

	試験容器	試験期間(日)						
		0	2	5	7	9	12	14
照射した 試料	1	5.01	4.99	4.99	5.01	5.00	5.01	5.00
	2	5.00	5.01	5.01	5.00	5.00	5.01	5.00
	平均	5.00	5.00	5.00	5.00	5.00	5.01	5.00
対照 試料	3	-	5.02	4.98	5.00	5.01	5.02	5.00
	4	-	5.00	4.99	5.00	5.00	4.98	5.01
	平均	-	5.01	4.99	5.00	5.00	5.00	5.01

- 測定せず

表 2 試験溶液中のペンチオピラド相対濃度(mg/L)

	試験容器	試験期間(日)						
		0	2	5	7	9	12	14
照射した 試料	1	100	99.6	99.6	100.0	99.8	100.0	99.8
	2	99.8	100.0	100.0	99.8	99.8	100.0	99.8
	平均	100	99.8	99.8	99.9	99.8	100.0	99.8
対照 試料	3	-	100.2	99.4	99.8	100.0	100.2	99.8
	4	-	99.8	99.6	99.8	99.8	99.4	100.0
	平均	-	100.0	99.5	99.8	99.9	99.8	99.9

- 測定せず

上表の数値は 0 日試料の平均値(初期濃度)を 100%として標準化した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3) 加水分解性試験(緩衝液中)

(資料 2-9-13-1-1)

試験機関: RCC Ltd.(スイス)

[GLP 対応]

報告書作成年: 1999 年

供試化合物:

一般名: ペンチオピラド

化学名: *N*-[2-(1,3-dimethylbutyl)-3-thienyl]-1-methyl-3-(trifluoromethyl)-
1*H*-pyrazole-4-carboxamide

* 試験報告書中で以下の IUPAC 名で記載された化合物は上記化合物
と同一物質である。

N-[2-(1,3-dimethylbutyl)thiophen-3-yl]-1-methyl-3-trifluoromethyl
-1*H*-pyrazole-4-carboxamide

純度:

供試水溶液:

以下の 3 種の緩衝液のうち、pH4.0 のものは精製水を用いて緩衝液を調製し、残りの 2
種は市販品を購入した。オートクレーブ滅菌後、5 分間窒素ガスを通気して使用した。

pH4.0: 0.1 mol の酢酸 834 mL と 0.1 mol の酢酸ナトリウム溶液 166 mL で pH4.0 に
調整した

pH7.0: リン酸塩(Baker 社 製品番号 5656)

pH9.0: ホウ酸塩/塩化カリウム/水酸化ナトリウム(Baker 社 製品番号 7145)

試験容器: 試験に使用した全てのガラス器具類は滅菌した緩衝液で洗浄した。

試験方法:

試験溶液の濃度及び調製方法:

ペンチオピラドの水溶解度の 1/2 以下の試験溶液を以下の方法で調製した。

ペンチオピラド約 10 mg を 2 mL のアセトニトリルで溶解し、各 pH 緩衝液で 100 mL に
定容した。この混合液を 15 分間超音波処理し、フィルター(0.45 μm)で不溶分をろ別し
た。さらに各緩衝液で 1:1 に希釈した後、この溶液を再びろ過し、試験溶液とした。本
試験は緩衝液毎に二連で実施した。

1) 予備試験

各 pH の滅菌緩衝液で調製したペンチオピラド緩衝溶液を遮光下で 50 ± 0.5°C の恒温
器内に静置した。0 時間、2.4 時間後及び 120 時間後に直ちに HPLC を用いて試験溶
液中のペンチオピラドの濃度測定を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

2) 分析方法

供試化合物の定量に用いた HPLC の分析条件は以下のとおりである。

機器: Varian Workstation LC 9020 STAR
 Varian Pump 9001
 Varian Autosampler 9095
 Varian Detector 9050

カラム: L-Column ODS(化学物質評価研究機構) 4.6 mm ϕ \times 250 mm

カラム温度: 室温

移動相: アセトニトリル/水(70/30 v/v)

流量: 1.0 mL/min

測定波長: 254 nm

注入量: 100 μ L

試験結果:

予備試験の結果を表 1 に示した。

pH 4.0、7.0 及び 9.0 の緩衝液中、50°C においてペンチオピラドの加水分解は認められなかった。5 日後の加水分解は 10% 未満であり、EEC Directive 92/69 Section C.7 に従った場合、代表的な環境条件(25°C)ではペンチオピラドの半減期は 1 年以上になると推定された。従ってペンチオピラドは本条件下で安定と考えられ、本試験は実施しなかった。

表 1 加水分解予備試験におけるペンチオピラドの測定濃度

pH		0 時間の測定濃度 (μ g/mL)	2.4 時間後の測定濃度 (μ g/mL)	120 時間後の測定濃度 (μ g/mL)
4.0	No.1	8.17	8.16	8.51
	No.2	8.44	8.51	8.75
7.0	No.1	20.59	20.56	20.63
	No.2	20.06	20.12	20.28
9.0	No.1	4.71	4.86	4.93
	No.2	4.96	4.90	5.02

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

代謝分解のまとめ

ペンチオピラドの動植物、土壌中及び光照射下における代謝・分解の要約は以下の通りであり、想定された代謝分解経路を 579 頁に、結果の概要を 580 頁以降に示した。

【代謝分解の要約】

ペンチオピラドは、動物体内、植物体あるいは土壌中において、

速やかに代謝分解され、一部の代謝物は
と考えられた。これらペンチオピラドの代謝分解物は、
と考えられた。また、ペンチオピラドは、滅菌条件下の
緩衝液中の加水分解条件、滅菌条件下の緩衝液中及び自然水中での光照射において分解が
認められず、安定であった。

各代謝試験においては、

を、それぞれ別にあるいは したものを、適切な溶媒、
非標識ペンチオピラド、ペンチオピラド製剤等で希釈して、試験に使用した。

【動物における代謝試験】

ラット代謝予備試験の結果を資料 2-3-1-1-1 に、ラット代謝本試験の結果を資料 2-3-1-1-2 に示した。またラット胆汁代謝物同定試験の結果を資料 2-3-1-1-3 に、ラット複数回投与代謝試験の結果を資料 2-3-1-1-4 に示した。

[予備試験]

ラット代謝予備試験として、 または ペンチオピラドを 10 mg/kg 及び 100 mg/kg の投与量で、単回経口投与による排泄バランス予備試験及び血中濃度予備試験を実施した。投与量の 10 mg/kg は、ラットの 90 日間反復経口毒性試験で無毒性量であり、100 mg/kg は毒性影響が発現する用量として設定した。96 時間以内に投与した放射能の 92%以上が糞経路で排泄され、呼気への排泄は非常に微量であることが判明した。また、血漿中濃度は 0.5～1 時間以内に最高濃度に達し、その半減期は 10.2～19.1 時間と速やかであった。投与量または標識位置による排泄速度及び排泄経路に顕著な差は認められなかった。

[血中濃度試験]

血中濃度試験では、雌雄ラットに または を 10 mg/kg 及び 100 mg/kg の投与量で、単回経口投与した。10 mg/kg で単回経口投与した場合、血漿中の放射能濃度は、投与 0.4～0.5 時間後に最大値[1.5～3.4 µg(ペンチオピラド換算)/g、[以後、µg·eq/g]、(雄)～(雌)]に達した後、雄で 15.0～20.0 時間、雌で 13.6～14.1 時間の半減期で速やかに減衰した。また、AUC_{0-∞} は 21.4～27.8 ppm・時間であった。100 mg/kg で同様に投与した場合、投与 1.0～1.3 時間後に

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

最大値[14.3~31.9 $\mu\text{g}\cdot\text{eq/g}$ 、(雄)~(雌)]に達した後、雄で 16.1~21.4 時間、雌で 16.8~17.7 時間の半減期で速やかに減衰した。また、 $\text{AUC}_{0-\infty}$ は 224.8~324.4 $\text{ppm}\cdot\text{時間}$ であった。10 mg/kg と 100 mg/kg 投与の間での AUC の比は雄で 10.4~10.5、雌で 11.6~11.9 であって、両者間の用量比(10.0)にほぼ一致した。血中濃度は雌でやや高い傾向が見られたものの、投与量及び標識位置の違いによる顕著な差は認められなかった。

複数回投与試験(を 10 mg/kg/日で 7 日間投与)に於いては血漿で投与期間中にプラトーに達し、投与終了後 72 時間後(試験 10 日)には消失した。

[排泄バランス試験]

排泄バランス試験では、雌雄ラットに を 10 mg/kg 及び 100 mg/kg の投与量で、単回経口投与し、投与 96 時間後まで尿及び糞を回収した。予備試験の結果から、呼気の回収は実施しなかった。10 mg/kg または 100 mg/kg で単回経口投与した場合、24 時間以内に 74.84~84.95%、試験終了時までには 91.07~94.71%が体外に排泄され、このうちの 69.61~84.31%が糞経路であった。ペンチオピラドの体外への排泄は 10 mg/kg 及び 100 mg/kg 投与ともに速やかであると考えられた。排泄経路及び排泄速度において、雌雄、投与量または標識位置の違いによる顕著な差は認められなかった。

複数回投与試験に於いても投与放射能の大部分は糞(雄 71.84%、雌 64.98%)から排泄され、尿(雄 17.15%、雌 22.77%)からの排泄は少なかった。ケージ洗液中の放射能(雄 2.29%、雌 3.12%)は少なかった。内容物を含む消化管の残留は雌雄とも 0.03%、カーカスおよび全血の残留は雄で 0.27%、雌で 0.22%と微量であった。

[胆汁排泄試験]

胆汁排泄試験では、胆管カニューレを施した雌雄ラットに を 10 mg/kg 及び 100 mg/kg で単回経口投与を行い、胆汁、尿及び糞を投与 72 時間後まで採取した。投与 72 時間後までに、投与量の 94.13~101.28%が体外に排泄され、このうち 62.81~81.07%が胆汁中に排泄された。また尿、胆汁及び遺体中の放射能を元に計算された吸収率は、83.87~91.91%であった。これらの結果から、ペンチオピラドの主な排泄経路は、胆汁を経由して糞中に排泄される経路であることが判明した。排泄経路及び排泄速度において、雌雄、投与量または標識位置の違いによる顕著な差は認められなかった。

胆汁代謝物同定試験に於いても投与 48 時間後までに尿、胆汁および糞から投与量の 91.31%が回収された。投与 48 時間後までの尿中排泄は 4.55%(ケージ洗液を含め)と少なく、糞中排泄は 8.02%で、胆汁中排泄は 78.74%であった。胆汁は主要な排泄経路で、投与後 6 時間以内に 58.52%、12 時間までに 75.76%が排泄された。これらの結果は上記の胆汁排泄試験結果とよく一致していた。同定された代謝物は

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

[体内分布試験]

体内分布試験では、
を 10 mg/kg 及び 100 mg/kg で単回経口投与し、1、24、48 及び 72 時間後に主要臓器、血液等を採取してその放射エネルギーを測定した。10 mg/kg 投与の場合、全血(半減期: 21.8~32.1 時間)と血球(半減期: 33.5~101.7 時間)を除く臓器または組織においては、投与 1 時間後に最高濃度となった後、速やかに減少して、半減期は 24.7 時間以下であった。また、投与 72 時間後には肝臓[0.140~0.323 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]、血球[0.239~0.296 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]及び全血[0.132~0.168 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]以外の組織濃度は、血漿中濃度 [0.042~0.057 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]と同等またはそれ以下に減衰した。100 mg/kg 投与においても同様に、投与 72 時間後の血漿中濃度[0.627~0.789 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]に対して、肝臓で[1.133~3.622 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]、血球で[2.673~3.575 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]、全血で[1.415~1.833 $\mu\text{g}\cdot\text{eq}/\text{g}$]に減衰した。体内分布及び半減期について、雌雄、投与量または標識位置の違いによる顕著な差は認められなかった。複数回投与試験に於いても全ての組織に放射能は分布しており、反復投与によりほとんどの組織で残留放射能濃度のわずかな増加が認められた。組織内濃度は、肝臓および腎臓では雄は試験 8 日に、雌は試験 5 日に最大濃度となり、その他の組織では試験 5 から試験 8 日に増加し、投与終了後減少した。

[代謝物の同定・定量]

各試料中の代謝物の同定・定量の結果、胆汁中の未変化ペンチオピラドは投与量の 0.2%以下であり、

認められた。排泄バランス試験での糞試料中の未変化ペンチオピラドは、10 mg/kg 投与では 3.11~8.06%、100 mg/kg 投与では 12.26~30.38%と多く残存していた。さらに糞試料は胆汁試料に比較して、

であった。従って、胆汁中に認められた抱合体は、

と考えられた。尿中のペンチオピラドは 0.01%以下であり、

複数回投与試験に於いて尿および糞中における代謝物のプロフィールは単回投与と質的に同等であった。親化合物は尿中からは検出されず、糞から雄で 2.23~9.12%、雌で 0.85~4.76%が検出された。標品の HPLC 保持時間の比較から
と親化合物が同定された。尿および糞中に排泄された親化合物と同定代謝物の合計は
を占めていた。未同定代謝物は
血漿中の代謝物は

であった。血漿中放射能のラジオクロマトグラムの比較では、血漿中の代謝物は単回投与と反復投与共に同じ代

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

謝物であった。

胆汁代謝物同定試験で同定された代謝物は

であった。

以上の結果から、ラットに投与されたペンチオピラドは消化管から多く吸収され、胆汁経路で主として糞中に速やかに排泄された。血漿中の半減期は 14～21 時間で、臓器あるいは組織からの消失も速やかであった。ペンチオピラドの主要代謝経路として、

ラット動物代謝試験において、

が確認された。

【植物における代謝試験】

植物代謝予備試験の結果を資料 2-4-1-1-1 及び 2-4-1-1-2 に、植物代謝本試験の結果を資料 2-4-1-1-3～2-4-1-1-5 に示した。

[予備試験]

予備試験では、ペンチオピラドを用いて別々に調製した水和剤を、ぶどう及びトマトの果実に塗布処理した。27 日または 29 日後に果実を収穫して分析に供した。

[ぶどう]

ぶどうに の等量混合物を用いて調製した 666 ppm の水和剤を散布し、30 日及び 60 日後に成熟果実、葉部、莖部及び根部に分けて分析に供した。散布 30 日及び 60 日後の残存放射エネルギーは、果実で 0.083～0.204 ppm(ペンチオピラド換算濃度)、葉部で 3.349～5.107 ppm、莖部で 0.132～0.173 ppm、根部で 0.006～0.015 ppm であり、葉部での残留が多かった。果実での主要な代謝物は であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

[トマト]

トマトに の等量混合物を用いて調製した 300 ppm の水和剤を散布処理し、散布 14 日後に成熟果実、散布 21 日後に成熟果実、葉部、茎部及び根部に分けて分析に供した。散布 21 日後の残存放射エネルギーは、果実で 0.022 ppm、葉部で 0.648 ppm、茎部で 0.251 ppm、根部で 0.009 ppm であり、葉部での残留が多かった。

[キャベツ]

キャベツに の等量混合物を用いて調製した 200 ppm の水和剤を散布処理し、散布 21 日後に地上部(外葉、結球部)及び根部に分けて分析に供した。散布 21 日後の残存放射エネルギーは、地上部で 0.475 ppm(外葉: 0.444 ppm、結球: 0.031 ppm)、根部で 0.019 ppm であり、地上部では外葉の残留が多く、結球の残留は少なかった。

以上の結果から、散布されたペンチオピラドは植物体において、主要な代謝経路として

が想定された。

【土壌における代謝試験】

[好氣的土壌中運命]

好氣的土壌代謝試験の結果を、資料 2-5-2-1-1 に示した。 ペンチオピラドを 74.5 µg/乾土 50 g の濃度で、長野土壌(埴壤土)に添加、混和し、25°C で暗所に静置した。処理 0、7、14、28、56、84、112、140、168 及び 196 日後に試料を採取して分析に供した。土壌に処理したペンチオピラドは比較的緩やかに代謝分解を受け、半減期は 130~139 日であった。

また、同じ土壌を滅菌して用いた代謝試験では、代謝分解が認められなかったため、ペンチオピラドの好氣的土壌での代謝分解には土壌微生物が関与しているものと考えられた。

ペンチオピラドは、好氣的土壌において微生物による代謝分解を受け、主要な代謝経路として、

が想定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

[土壌吸着性試験]

土壌吸着試験の結果を 2-9-10-1-1 に示した。(社)日本植物防疫協会から分譲された 4 土壌を用いて、ペンチオピラド濃度を 0.8 mg/L とし、試験温度 25°C で土壌吸着係数を測定した。有機炭素含有量で補正した Koc は 455~544 であり、有機炭素含有率で補正したフロイドリッヒの土壌吸着係数は 371~522 であった。

【水中における分解試験】

[水中光分解]

水中光分解試験の結果を資料 2-9-16-1-1 及び 2-9-16-1-2 に示した。ペンチオピラドの pH7 緩衝液を 2 ppm の濃度で調製し、25°C で 19.3 W/m²(300~400 nm)の光を 15 日間照射した。また、自然水中に 5 ppm 溶解し、25°C で 38.4 W/m²(300~400 nm)の光を 14 日間照射した。これらの照射強度 19.3~38.4 W/m² は日本の夏季における垂直投射の自然光強度におおよそ相当する。その結果、いずれの試験においてもペンチオピラドの分解が認められなかった。

[加水分解]

加水分解試験の結果を資料 2-9-13-1-1 に示した。予備試験としてペンチオピラド濃度を 4.71~20.59 µg/mL に設定した pH4、7、9 の緩衝液を調製し、50°C、5 日間、暗所で静置した。その結果、ペンチオピラドの分解率は 10%以下であり、25°C に換算した推定半減期が 1 年以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

ペンチオピラドの動物、植物、土壌における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

〈代謝分解の概要〉

(1) 動物、植物、土壌代謝分解物比較

試験名	ラット						植物			好氣的土壌		
	排泄バランス試験			胆汁排泄試験			ぶどう	トマト	キャベツ			
単位	投与放射エネルギーに対する割合(%)						残存放射エネルギーに対する割合(%) (ベンチピラト換算濃度(ppm))			投与放射エネルギーに対する割合(%) (ベンチピラト換算濃度(mg/kg・乾土))		
試験群	10 mg/kg						400 g a.i./ha	1500g a.i./ha	200g a.i./ha	1500 g a.i./ha		
標識化合物												
分析試料	尿♂	糞♂	尿♀	糞♀	胆汁♂	胆汁♀	果実	果実	地上部	土壌		
経過時間	0-24h	0-48h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	60d	21d	21d	140d	196d	
代謝物記号およびコード												
A-1	ベンチピラト	0.01	8.06	ND	3.11	0.17	0.10	4.8 (0.004)	38.4 (0.108)	20.4 (0.097)	46.77 (0.6949)	35.56 (0.5283)
	抽出残渣											
	合計											

ND: 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2)-1 動物

試験名		動物 (ラット、排泄バランス)																			
		投与放射能に対する割合(%)																			
単位		10 mg/kg									100 mg/kg										
雌雄		♂				♀					♂				♀						
標識化合物		尿		糞		尿		糞			尿		糞		尿		糞				
分析試料		0-24h		0-48h		0-24h		0-48h			0-24h		0-48h		0-24h		0-48h				
経過時間		3)		3)		3)		3)			3)		3)		3)		3)				
代謝物記号およびコード																					
A-1	ベンチオピラド	0.01	ND	8.06	5.15	ND	7.55	ND	ND	3.11	1.54	ND	4.07	ND	20.67	ND	30.38	ND	12.26	ND	15.80
抽出残渣																					
合計																					

ND: 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2)-2 動物

試験名		動物(ラット、胆汁排泄)																												
		投与放射エネルギーに対する割合(%)																												
単位		10 mg/kg													100 mg/kg															
		♂						♀						♂						♀										
標識化合物		♂			♀			♂			♀			♂			♀			♂			♀							
分析試料		胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞		
経過時間		0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	3)	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	0-24h	0-24h	0-48h	
代謝物記号およびコード																														
A-1	ベンチオピラト	0.17	ND	0.80	0.02	ND	0.40	0.10	ND	1.06	0.16	ND	0.53	0.16	ND	1.18	0.05	0.1	ND	0.64	0.19	ND	0.90	0.13	ND	0.71				
抽出残渣																														
合計																														

ND: 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(2)-3 動物

試験名		動物(ラット、体内分布)																													
単位		ベンチオピラド換算濃度 (µg・eq/g)																													
用量		10 mg/kg				100 mg/kg				10 mg/kg				100 mg/kg				10 mg/kg				100 mg/kg									
雌雄		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀		♂		♀			
標識化合物																															
分析試料		血漿								血球								肝臓													
経過時間		24h																													
代謝物記号およびコード		3)		3)																											
A-1	ベンチオピラド	0.002	0.02	0.012	0.03	0.008	0.005	0.018	0.025	0.067	0.083	0.008	0.006	0.003	NS	0.070	0.093	0.041	0.033	0.002	0.000	0.001	0.001	0.008	0.003	0.010	0.008				
抽出残渣																															
合計																															

ND: 検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(3)植物

作物	ぶどう				トマト				キャベツ			
単位	残存放射エネルギーに対する割合(%)、()内はベンチオピラド換算濃度 ppm											
処理量	400 g a.i./ha				300 g a.i./ha		1500 g a.i./ha			200 g a.i./ha	1000 g a.i./ha	
試料	果実	果実	葉	葉	果実	葉	果実	果実	葉	地上部	地上部	
標識化合物	混合物											
経過日数	30d	60d	30d	60d	21d	21d	14d	21d	21d	21d	21d	
代謝物記号 およびコード												
A-1	ベンチオピラド	20.6 (0.042)	4.8 (0.004)	16.8 (0.858)	5.0 (0.169)	22.7 (0.005)	37.2 (0.241)	45.2 (0.206)	38.4 (0.108)	55.3 (2.675)	20.4 (0.097)	34.0 (0.876)
	未同定代謝物 ³⁾											
	抽出残渣											
	合計											

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

(4) 土壌

試験名		土壌(好氣的土壌代謝試験)																				
		処理量に対する割合(%)、()内はベンチオピラド換算濃度 mg/kg・乾土																				
単位		1500 g a.i./ha																				
標識化合物																						
経過日数		0d	7d	14d	28d	56d	84d	112d	140d	168d	196d	0d	7d	14d	28d	56d	84d	112d	140d	168d	196d	
代謝物記号およびコード																						
A-1	ベンチオピラド	97.47 (1.4481)	94.61 (1.4055)	87.57 (1.3010)	79.31 (1.1782)	67.92 (1.0091)	58.18 (0.8543)	51.03 (0.7582)	46.77 (0.6949)	43.17 (0.6413)	35.56 (0.5283)	90.48 (1.3469)	83.26 (1.2395)	81.43 (1.2123)	73.28 (1.0909)	66.21 (0.9856)	51.27 (0.7632)	44.85 (0.6676)	38.56 (0.5740)	33.54 (0.4993)	34.41 (0.5122)	
	抽出残渣																					
	放射能回収率																					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は三井化学アグロ株式会社にある。

【附】

ペンチオピラドの開発年表