

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

2. 植物中運命に関する試験

3) Probenazole のキャベツにおける代謝運命

(資料 運-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ Probenazole

試験方法：

試験植物：キャベツ

栽培環境：温室内に設置したポットで栽培を行った。昼間の温度 28°C、夜間の温度 21°C に設定し、それぞれ 14 時間と 10 時間サイクルとした。

ポット：アメリカ合衆国オハイオ州 Geauga 地方から採取した土壌を充填した直径 11 インチのワグネルポット。

栽培時期：2005 年 2 月～2005 年 7 月

製剤の調製および施用：

製剤：非放射性の Probenazole で希釈した計算量の $[^{14}\text{C}]$ Probenazole の溶液に製剤白試料を添加し、溶媒を留去して調製した。

施用量：44.35 mg/ポット (Probenazole の最大慣行施用量) とした。

施用時期：4～5 葉期のキャベツ幼苗 (播種約 5 週間後) の定植日に 1 回処理した。

施用部位：土壌中約 2 センチの深さに土壌処理した。

試験区の配置と試料採取：

表 1 に示すように、処理区と非処理対照区の 2 試験区を設けた。処理区と非処理対照区

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

のポットは同一室内の温室に設置した。試料は、表面を水で軽く洗浄して付着した土を取り除き、プールした。各試料をドライアイスと一緒に磨碎し、分析時まで凍結保存した。

表 1 試験区の配置と試料採取部位

採取時期（施用後日数）	試験区	ポット数	採取試料
中間採取期（82 日後）	処理区	2	結球部、外葉部
	非処理対照区	1	結球部、外葉部
最終収穫期（112 日後）	処理区	2	結球部、外葉部
	非処理対照区	2	結球部、外葉部

分析方法：図 1 に示すように試料にアセトニトリルまたはアセトニトリル／水／トリフルオロ酢酸(TFA)混液を加え、ホモジナイズおよび遠心分離により抽出し、抽出液と残渣に分離した。両画分の  $^{14}\text{C}$  を測定し、それらを合計して TRR を求めた。

図 1 抽出操作フローシート

代謝物の定量：抽出液中の代謝物はフロースルー型放射能検出器付きの逆相 HPLC で分析して定量した。

主代謝物の同定：抽出液中の主放射性ピーク M2(PBZ-C)、M3(PBZ-D)、M4(PBZ-E)を単離し、参照標品との保持時間の比較および二次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。また、参照標品がない主放射性ピークを分取し、LC-MS/MS による特徴づけと構造の推定を行った。

放射能測定：すべての液体試料は液体シンチレーション計測（LSC）して定量した。固体中の放射エネルギーは酸化燃焼処理したのち、LSC 測定して定量した。

試験結果：

(1) TRR の分布（本文中の濃度はすべて植物体重量ベースでのプロベンazole換算濃度）

表 1 に示すように、処理区のキャベツ結球部中の放射性総残留物レベルは、中間収穫期で 4.676 mg/kg、最終収穫期で 3.859 mg/kg であった。キャベツ中の放射性残留物のほとんどは抽出性の残留物であった。未処理区からは有意な放射能は検出されなかった。

表 1：<sup>14</sup>C]probenazole 土壌処理区のキャベツ中の放射性総残留物レベル

	結球部				外葉部			
	中間収穫		最終収穫		中間収穫		最終収穫	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
抽出液	4.588	98.12	3.756	97.33	13.340	97.87	8.918	97.61
抽出残渣	0.088	1.88	0.103	2.67	0.290	2.13	0.218	2.39
計	4.676	100	3.859	100	13.630	100	9.136	100

(2) 放射性残留物の分析

中間採取のキャベツ結球部抽出液からは主要放射性成分として M4(PBZ-E) (2.1ppm、TRR の 45.4%) および M2(PBZ-C) (0.87ppm、TRR の 18.6%) が検出された。最終収穫期のキャベツ結球部抽出液からは、主な放射性成分として M4(PBZ-E) (1.8ppm、TRR の 47.8%)、23 min 代謝物 (0.57ppm、TRR の 14.8%) および 24 min 代謝物 (0.48ppm、TRR の 12.5%) が検出された。

また、上記の代謝物以外に、中間採取のキャベツ外葉部からは主要代謝物として、22.5 min 代謝物 (2.7ppm、TRR の 19.8%) が、最終収穫のキャベツ外葉部からは 29 min 代謝物 (2.1ppm、TRR の 22.6%) が検出された。これらの結果を表 2 に示す。なお、未変化の Probenazole は全く検出されなかった。

M4(PBZ-E)、M2(PBZ-C)および M3 (PBZ-D) は、抽出液から単離した後、参照標品との保持時間の比較および二次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。

23 min 代謝物、24 min 代謝物、22.5 min 代謝物および 29 min 代謝物は、抽出液から単離した後、LC-MS/MS により、特徴づけと構造の推定を行った。LC-MS/MS から推定された構造を図 2 に示す。



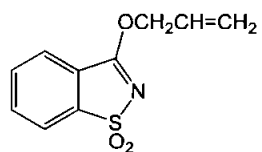
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

(3) 保存安定性

最終収穫期のキャベツを約3ヶ月間凍結保存した後、抽出してHPLCで分析したところ、ほぼ同じ結果が得られ、 $[^{14}\text{C}]$ Probenazole由来の代謝物は凍結保存した試料中で安定であることが分かった。

(4) 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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。



Probenazole

図 3 : キャベツにおける Probenazole の推定代謝経路

(24-min 化合物は申請者による推定)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

2. 植物中運命に関する試験

4) Probenazole のキュウリにおける代謝運命

(資料 運・8)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ Probenazole

試験方法：

試験植物：キュウリ

栽培環境：温室内に設置したポットで栽培を行った。昼間の温度 28°C、夜間の温度 21°C に設定し、それぞれ 14 時間と 10 時間サイクルとした。

ポット：アメリカ合衆国オハイオ州 Geauga 地方から採取した土壌を充填した直径 11 インチのワグネルポット。

栽培時期：2005 年 2 月～2005 年 7 月

製剤の調製および施用：

製剤：非放射性の Probenazole で希釈した計算量の $[^{14}\text{C}]$ Probenazole の溶液に製剤白試料を添加し、溶媒を留去して調製した。

施用量：36.96 mg/ポット (Probenazole の最大慣行施用量) とした。

施用時期：4～5 葉期のキュウリ幼苗 (播種約 5 週間後) の定植日に 1 回処理した。

施用部位：土壌中に混和処理した。

試験区の配置と試料採取：

表 1 に示すように、処理区と非処理対照区の 2 試験区を設けた。処理区と非処理対照区のポットは同一室内の温室に設置した。中間収穫においては、果実のみを収穫し、最終

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

収穫においては果実と茎葉部を採取した。試料は、表面を水で軽く洗浄して付着した土を取り除き、プールした。各試料をドライアイスと一緒に磨砕し、分析時まで凍結保存した。

表 1 試験区の配置と試料採取部位

採取時期（施用後日数）	試験区	採取した果実の数	採取試料
中間採取期（82日後）	処理区	3	果実
	非処理対照区	2	果実
最終収穫期（112日後）	処理区	4	果実、茎葉
	非処理対照区	3	果実、茎葉

分析方法：図 1 に示すように試料にアセトニトリルまたはアセトニトリル／水／トリフルオロ酢酸(TFA)混液を加え、ホモジナイズおよび遠心分離により抽出し、抽出液と残渣に分離した。両画分の  $^{14}\text{C}$  を測定し、それらを合計して TRR を求めた。

図 1 抽出操作フローシート

代謝物の定量：抽出液中の代謝物はフロースルー型放射能検出器付きの逆相 HPLC で分析して定量した。

主代謝物の同定：抽出液中の主放射性ピーク M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)を単離し、参照標品との保持時間の比較および二次元 TLC コクロマトグラフィーにより同定した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

放射能測定：すべての液体試料は液体シンチレーション計測（LSC）して定量した。固体中の放射能量は酸化燃焼処理したのち、LSC 測定して定量した。

試験結果：

(1) TRR の分布（本文中の濃度はすべて植物体重量ベースでの Probenazole 換算濃度）

表 2 に示すように、果実中の放射性総残留物レベルは、中間収穫期で 1.081 mg/kg、最終収穫期で 0.548 mg/kg であり、最終収穫期の方が少なかった。最終収穫期茎葉部の放射性総残留物レベルは果実よりも高く、11.059 mg/kg であった。キュウリ果実中および茎葉部中の放射性残留物のほとんどは抽出性の残留物であった。なお、非処理対照区からは有意な放射能は検出されなかった。

表 2：<sup>14</sup>C]Probenazole 土壌処理区のキュウリ中の放射性総残留物レベル

	中間収穫果実		最終収穫果実		最終収穫葉	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
抽出液	1.067	98.68	0.537	97.92	10.423	94.25
抽出残渣	0.014	1.32	0.011	2.08	0.636	5.75
計	1.081	100.0	0.548	100.0	11.059	100.0

(2) 放射性残留物の分析

表 3 に示すように、中間採取の果実抽出液からは主要放射性成分として M4(PBZ-E) (0.62ppm、TRR の 57.6%) および M2(PBZ-C) (0.15ppm、TRR の 13.4%) が検出された。最終収穫期の果実抽出液中の主要放射性成分も、中間採取時と同様であり、主な放射性成分として M4(PBZ-E) (0.24ppm、TRR の 43.5%) と M2(PBZ-C) (0.13ppm、TRR の 23.5%) が検出された。また、最終収穫期の茎葉も基本的には同じであり、M4(PBZ-E) (2.93ppm、TRR の 26.5%) および M2(PBZ-C) (2.62ppm、TRR の 23.7%) が認められた。未変化の Probenazole は検出されなかった。

表 3  $[^{14}\text{C}]$ Probenazole 土壌処理区におけるキュウリ抽出液中の放射性成分の HPLC 分析

識別	中間収穫果実		最終収穫果実		最終収穫葉	
	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR	mg eq./kg	% TRR
M4(PBZ-E)	0.623	57.62	0.239	43.53	2.928	26.48
M2(PBZ-C)	0.145	13.42	0.129	23.48	2.617	23.66
M1(PBZ-B)	0.037	3.44	0.008	1.52	ND	ND
22.5 min	0.039	3.65	0.021	3.91	0.333	3.01
23 min	0.052	4.81	0.048	8.71	0.615	5.56
その他	0.171	15.74	0.092	16.77	3.930	35.54
計	1.067	98.68	0.537	97.92	10.423	94.25

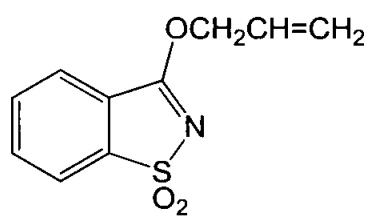
(3) 保存安定性

最終収穫期のキュウリ果実を約3ヶ月間凍結保存した後、抽出して HPLC で分析したところ、ほぼ同じ結果が得られ、 $[^{14}\text{C}]$ Probenazole 由来の代謝物は凍結保存した試料中で安定であることが分かった。

(4) 代謝経路

Probenazole のキュウリにおける主代謝経路は、プロペニル側鎖の脱離と閉環により M2(PBZ-C)を生成し、続いて M2(PBZ-C)が加水分解して M4(PBZ-E)を生成するものと推定された。更に高極性生成物や微量代謝物を生成し、結合残渣を生成すると考えられた。図2に Probenazole のキュウリにおける推定代謝経路を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。



Probenazole

|

図2 キュウリにおける Probenazole の推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

3. 土壌中運命に関する試験

1) Probenazole の好氣的湛水土壌代謝運命

(資料 運-9)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ Probenazole

試験方法：

被験物質 $[^{14}\text{C}]$ Probenazole 溶液の調製：

$[^{14}\text{C}]$ Probenazole をアセトニトリルに溶解して被験物質溶液とした。

供試土壌：表 1 に示す特性の 2 mm の篩に通した日本の農耕地土壌(熊谷土壌)を使用した。

試験濃度：圃場での最大慣行施用量 4000 g a.i./ha に相当する 4 mg/kg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 1：供試土壌の採取地および特性

採取地		埼玉県熊谷市
pH	H <sub>2</sub> O	5.8
	KCl	4.5
	CaCl <sub>2</sub>	5.2
有機炭素（有機物）（%）		0.85(1.46)
陽イオン交換能（cmolc/kg）		11.9
粒径分布	粗砂（%）	9.1
	細砂（%）	33.6
	シルト（%）	31.6
	粘土（%）	25.7
土性分類（ISSA）		軽埴土
主粘土鉱物		クロライト，イライト，モンモリ ロナイト

インキュベーション条件：乾土 14.1 g 相当の試験土壌（2 mm 篩別後）を試験容器（広口ガラス瓶）に充填し（深さ 5 cm）、脱イオン水を加えて土壌表面から水深約 1cm 以上としたのち、加湿空気を連続通気して下記温度条件の恒温槽で約 2 週間プレインキュベートした。試験期間中は適宜脱イオン水を加えて水深を設定範囲内に維持した。

温 度	25 ± 2℃
照 明	暗 所

還元層形成の確認：プレインキュベーション終了時（被験物質添加時）に酸化還元電位(Eh)が 200 mV 未満であることを確認した。

土壌の滅菌：熊谷土壌の一部について、オートクレーブ滅菌を 3 日間行って滅菌土壌を調製した。

被験物質処理：プレインキュベーション後の試験容器内の湛水土壌の水相に、4.0 mg/kg の濃度で被験物質溶液を添加したのち、攪拌して[<sup>14</sup>C]Probenazole を試験系全体に均一に分布させた。処理後の各試験容器を揮発性物質の連続通気捕集装置と連結し、二酸化炭素フリーの加湿空気を通気して上記条件でインキュベートした。

揮発性物質捕集剤：試験容器から排出された空気は 2 本の 1N 水酸化ナトリウムトラップと 1 本のエチレングリコール (EG) トラップに通じて二酸化炭素および揮発性有機物を連続

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

捕集した。各トラップは試料採取時点ごとに交換した。

試料採取：各土壌とも処理直後のほか、次の各時点で、2 連の試験容器と揮発性物質トラップを採取した。

非滅菌	1、3、10、30、60、90、120 日
滅菌	1、3、10 日

分 析：

試験系：酸化還元電位(Eh)を測定後、傾斜法により水層と土壌を分離した。

水層試料：直接 LSC で分析して、放射エネルギーを測定した。また、HPLC および TLC で分析した。

土壌：10 mL のアセトニトリルで 2 回抽出し、更に 10 mL のアセトニトリル／水／トリフルオロ酢酸(TFA) (70／30／1) で 2 回抽出した。抽出液は直接 LSC で分析して放射エネルギーを測定した。また、HPLC および TLC で分析した (図 1)。

水層試料、土壌抽出液、NaOH トラップなど、液体試料中の放射能は試料の一部 2～3 点を液体シンチレーション計測 (LSC) して定量した。

抽出残渣など固体試料中の放射能は試料の一部を酸化燃焼処理したのち LSC 測定して定量した。

HPLC プロファイル測定では、HPLC に注入し、フロースルー型放射能検出器で定量した。放射性ピークまたは標準品と同じ保持時間に溶出する放射能をそれらの定量値とした。

Probenazole と分解物の同定は、HPLC と二次元シリカゲル TLC における標準品とのコクロマトグラフィー、または LC/MS によって確認した。TLC 上の放射性物質はラジオイメージングアナライザーで検出した。放射性二酸化炭素の生成は、水酸化ナトリウムトラップに塩化バリウムを加え、水酸化ナトリウム溶液中の放射能が Ba<sup>14</sup>CO<sub>3</sub> 沈殿となって定量的に失われることから確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

図 1 : 土壌中残留物の分析フローシート

Probenazole の半減期等の算定 :

Probenazole の消失を一次反応と見なして式 1、式 2 および式 3 から 50%消失期 (DT<sub>50</sub>) と 90%消失期(DT<sub>90</sub>)を算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (\text{式 1}), \quad DT_{50} = 0.693/k \quad (\text{式 2}), \quad DT_{90} = 2.303/k \quad (\text{式 3})$$

k : 分解速度定数, C : 時間 t における濃度, C<sub>0</sub> : 初濃度

また、主要分解物である M1(PBZ-B)および M2(PBZ-C)の DT<sub>50</sub>および DT<sub>90</sub>を、式 1、式 2 および式 3 を用いて算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

## 結 果

### 物質収支と土壤中残留物：

表 2 に水層、土壤中および揮発性物質トラップから回収された放射能の処理放射能比(物質収支)を、表 3 に残留物濃度の各推移を示した。

設定処理濃度 4.0 mg/kg に対して、3.974 mg/kg の濃度で処理された。これら土壤から試験期間中の平均で、非滅菌・滅菌土壤それぞれ処理量の 101.8%および 101.0%が土壤と揮発性物質トラップから回収された (表 2)。

表 2：放射能分布および物質収支 (処理量%)

	インキュベーション 期間 (日)	水層	土 壤		揮 発 性 物 質		総回収率
			抽出液	抽出残渣	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	エチレン グリコール	
非 滅 菌	0	96.4	4.2	1.2	NA	NA	101.8
	1	41.1	57.3	2.8	NA	NA	101.2
	3	44.4	52.7	2.0	<0.1	ND	99.1
	10	50.9	43.3	5.4	0.1	ND	99.7
	30	34.1	57.2	6.7	4.4	ND	102.5
	60	32.1	58.5	7.4	5.0	<0.1	103.0
	90	32.8	62.0	7.2	6.1	<0.1	108.1
	120	16.2	60.6	9.8	12.2	<0.1	98.9
滅 菌	0	95.4	5.6	1.0	NA	NA	102.0
	1	84.9	13.8	1.6	NA	NA	100.3
	3	70.5	30.9	0.7	NA	NA	102.1
	10	45.9	51.1	2.7	NA	NA	99.7

NA)：試料無し

ND)：検出限界未満



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 3：放射能分布および物質収支（放射能濃度、mg eq./kg）

インキュベーション 期間（日）	水層	土壌		揮発性物質		総回収量	
		抽出液	抽出残渣	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	エチレン グリコール		
非 滅 菌	0	3.832	0.166	0.046	NA	NA	4.045
	1	1.635	2.278	0.110	NA	NA	4.023
	3	1.764	2.092	0.081	<0.004	ND	3.937
	10	2.022	1.721	0.213	0.004	ND	3.960
	30	1.356	2.275	0.267	0.176	ND	4.074
	60	1.274	2.325	0.296	0.199	<0.004	4.095
	90	1.304	2.462	0.287	0.242	<0.004	4.296
	120	0.645	2.410	0.390	0.486	<0.004	3.931
滅 菌	0	3.790	0.221	0.041	NA	NA	4.052
	1	3.374	0.547	0.064	NA	NA	3.985
	3	2.802	1.227	0.029	NA	NA	4.058
	10	1.825	2.029	0.109	NA	NA	3.963

添加濃度：3.974 mg/kg

NA)：試料無し、ND)：検出限界未満

水層と土壌中の残留物：

表 4、5 に水層と土壌中の主要放射性成分の推移（処理放射能比と成分濃度）を示した。非滅菌土壌では、Probenazole は極めて急速に分解され、Probenazole の残存率は処理 3 日後で 6.1%、10 日後で 1.2% にまで低下した。主要な分解物は M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)、M4(PBZ-E) および <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> と抽出残渣であった。M1(PBZ-B) は、処理 1 日後に処理量の 40.9% の最高値に到達したが、その後は急速に分解した。M2(PBZ-C) は処理 10 日後に処理量の 82.5% の最高値に、M4(PBZ-E) は処理 60 日後に処理量の 13.7% の最高値に到達したが、その後は比較的緩やかに分解した。<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> および抽出残渣の生成量は経時的に増大し、処理 120 日後までにそれぞれ処理量の 12.2% および 9.8% に達した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 4 : 水層および土壌中の<sup>14</sup>C]Probenazole 及び分解物の分布 (処理量%)

インキュベーション 期間(日)	画分	放射性成分							
		Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	M4 (PBZ-E)	M7 (PBZ-J)	M8 (PBZ-K)	その他	
非 滅 菌	0	水層	94.4	ND	ND	ND	ND	ND	2.1
		土壌抽出液	3.6	ND	ND	ND	ND	ND	0.6
		合計	98.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.7
	1	水層	9.8	18.8	11.7	ND	ND	0.2	0.6
		土壌抽出液	21.8	22.1	10.4	ND	ND	2.2	0.9
		合計	31.6	40.9	22.1	ND	ND	2.4	1.5
	3	水層	0.6	5.8	37.4	ND	ND	0.4	0.3
		土壌抽出液	5.5	22.5	20.7	ND	ND	3.0	0.9
		合計	6.1	28.3	58.1	ND	ND	3.3	1.2
	10	水層	0.2	0.3	48.9	ND	ND	0.1	1.4
		土壌抽出液	1.0	5.9	33.6	ND	ND	2.2	0.7
		合計	1.2	6.2	82.5	ND	ND	2.3	2.1
	30	水層	ND	ND	28.8	4.1	0.6	ND	0.7
		土壌抽出液	0.8	2.2	40.5	7.6	0.8	3.9	1.5
		合計	0.8	2.2	69.3	11.7	1.4	3.9	2.2
	60	水層	ND	ND	25.8	5.1	0.9	ND	0.3
		土壌抽出液	0.4	1.2	41.5	8.6	1.4	3.8	1.4
		合計	0.4	1.2	67.3	13.7	2.3	3.8	1.7
	90	水層	ND	ND	26.9	5.0	0.9	ND	0.1
		土壌抽出液	0.3	0.8	48.8	7.6	1.4	2.2	0.9
		合計	0.3	0.8	75.7	12.6	2.3	2.2	1.0
	120	水層	ND	ND	13.0	2.5	0.5	ND	0.2
		土壌抽出液	0.1	0.5	47.9	7.6	1.7	1.6	1.1
		合計	0.1	0.5	60.9	10.1	2.2	1.6	1.3
滅 菌	0	水層	93.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.4
		土壌抽出液	5.0	ND	ND	ND	ND	ND	0.5
		合計	98.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.9
	1	水層	23.2	55.3	5.1	ND	ND	0.2	1.2
		土壌抽出液	6.1	7.2	0.3	ND	ND	<0.1	0.2
		合計	29.3	62.5	5.4	ND	ND	0.2	1.4
	3	水層	3.8	59.3	6.6	ND	ND	0.2	0.7
		土壌抽出液	5.9	22.9	1.8	ND	ND	0.1	0.2
		合計	9.7	82.2	8.4	ND	ND	0.3	0.9
	10	水層	0.4	32.2	12.7	ND	ND	0.2	0.5
		土壌抽出液	7.1	35.9	7.2	ND	ND	0.2	0.6
		合計	7.5	68.1	19.9	ND	ND	0.4	1.1

ND) : 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 5 : 水層および土壌中の<sup>14</sup>C]Probenazole 及び分解物の分布 (放射能濃度、mg eq./kg)

インキュベーション 期間(日)	画分	放射性成分							
		Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	M4 (PBZ-E)	M7 (PBZ-J)	M8 (PBZ-K)	その他	
非 滅 菌	0	水層	3.751	ND	ND	ND	ND	ND	0.082
		土壌抽出液	0.143	ND	ND	ND	ND	ND	0.024
		合計	3.894	ND	ND	ND	ND	ND	0.106
	1	水層	0.390	0.745	0.467	ND	ND	0.009	0.024
		土壌抽出液	0.868	0.879	0.412	ND	ND	0.085	0.035
		合計	1.258	1.624	0.879	ND	ND	0.094	0.059
	3	水層	0.022	0.231	1.484	ND	ND	0.014	0.012
		土壌抽出液	0.220	0.896	0.822	ND	ND	0.118	0.036
		合計	0.242	1.127	2.306	ND	ND	0.132	0.048
	10	水層	0.007	0.012	1.945	ND	ND	0.004	0.055
		土壌抽出液	0.041	0.233	1.335	ND	ND	0.086	0.027
		合計	0.048	0.245	3.280	ND	ND	0.090	0.082
	30	水層	ND	ND	1.145	0.161	0.023	ND	0.026
		土壌抽出液	0.033	0.088	1.609	0.302	0.031	0.154	0.058
		合計	0.033	0.088	2.754	0.463	0.054	0.154	0.084
	60	水層	ND	ND	1.026	0.202	0.034	ND	0.012
		土壌抽出液	0.016	0.049	1.650	0.343	0.057	0.153	0.057
		合計	0.016	0.049	2.676	0.545	0.091	0.153	0.069
	90	水層	ND	ND	1.067	0.198	0.034	ND	0.005
		土壌抽出液	0.010	0.031	1.940	0.302	0.057	0.087	0.035
		合計	0.010	0.031	3.007	0.500	0.091	0.087	0.040
	120	水層	ND	ND	0.516	0.101	0.021	ND	0.006
		土壌抽出液	0.005	0.020	1.903	0.303	0.070	0.064	0.045
		合計	0.005	0.020	2.419	0.404	0.091	0.064	0.051
滅 菌	0	水層	3.696	ND	ND	ND	ND	ND	0.095
		土壌抽出液	0.200	ND	ND	ND	ND	ND	0.021
		合計	3.896	ND	ND	ND	ND	ND	0.116
	1	水層	0.921	2.197	0.203	ND	ND	0.006	0.047
		土壌抽出液	0.241	0.284	0.012	ND	ND	<0.002	0.008
		合計	1.162	2.481	0.215	ND	ND	0.007	0.055
	3	水層	0.149	2.355	0.262	ND	ND	0.009	0.027
		土壌抽出液	0.236	0.909	0.071	ND	ND	0.003	0.009
		合計	0.385	3.264	0.333	ND	ND	0.012	0.036
	10	水層	0.016	1.278	0.505	ND	ND	0.007	0.019
		土壌抽出液	0.283	1.427	0.287	ND	ND	0.009	0.025
		合計	0.299	2.705	0.792	ND	ND	0.016	0.044

添加濃度 : 3.974 mg/kg

ND) : 検出限界未満

分解速度 : Probenazole 濃度の推移を一次反応式で解析し、DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>を算出した (図 2)。

その結果、Probenazole の好気湛水条件の非滅菌土壌における DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>はそれぞれ、0.75 日と 2.5 日であった。また、主分解物である M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)の濃度推移を一次反応式で解析した結果、好気条件の非滅菌土壌における DT<sub>50</sub>はそれぞれ 3.2 日、385 日、138.6 日であった (表 6)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

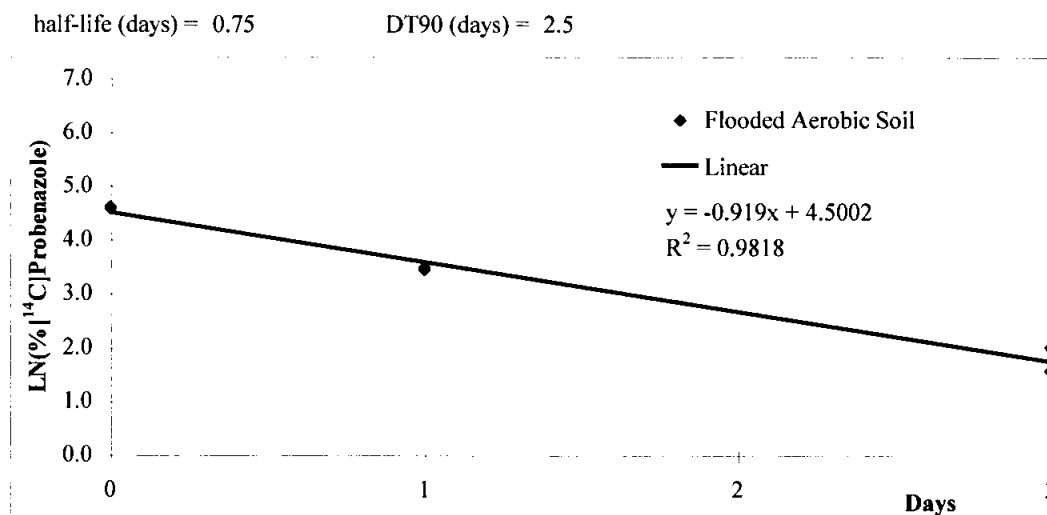


図 2：好氣的湛水の非滅菌熊谷土壌における Probenazole の一次減衰速度

表 6：Probenazole、M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)の土壌中分解速度 (DT<sub>50</sub> および DT<sub>90</sub>)

		DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	相関係数 (r <sup>2</sup> )
Probenazole	非滅菌	0.75	2.5	0.982
	滅菌	0.94	3.1	0.953
M1(PBZ-B)	非滅菌	3.2	10.6	0.969
M2(PBZ-C)	非滅菌	385	1279	0.439
M4(PBZ-E)	非滅菌	138.6	460.6	0.923

分解経路：Probenazole は急速に分解され、M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)を経由して、最終的に <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> に無機化される他、結合残留物を生成するものと推定された。図 3 の推定経路が提示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

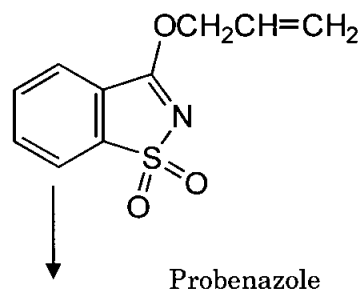


図 3 : Probenazole の好氣的湛水条件土壤における推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

3. 土壌中運命に関する試験

2) Probenazole の好氣的土壌代謝運命

(資料 運-10)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ Probenazole

試験方法：

被験物質 $[^{14}\text{C}]$ Probenazole 溶液の調製：

$[^{14}\text{C}]$ Probenazole をアセトニトリルに溶解して被験物質溶液とした。

供試土壌：表 1 に示す特性の 2 mm の篩に通した日本の農耕地土壌(久喜土壌)を使用した。

試験濃度：圃場での最大慣行施用量 7200 g a.i./ha に相当する 7.2 mg/kg

表 1：供試土壌の採取地および特性

採取地		埼玉県久喜市
pH	H <sub>2</sub> O	6.9
	KCl	5.7
	CaCl <sub>2</sub>	6.4
有機炭素（有機物）（%）		0.83 (1.43)
陽イオン交換能（cmolc/kg）		12.8
粒径分布	粗砂（%）	4.8
	細砂（%）	61.1
	シルト（%）	21.4
	粘土（%）	12.7
土性分類（ISSA）		砂質壤土
主粘土鉱物		クロライト，アロフェン，緑泥石 ーバーミキュライト中間体
最大容水量		63.2

インキュベーション条件：乾土 10 g 相当の試験土壌（2 mm 篩別後）を試験容器（60 mL 容のプラスチック広口瓶）に充填し（深さ 1.25 cm）、脱イオン水を加えて下記的水分条件に調整したのち、加湿空気を連続通気して下記温度条件の恒温槽で約 2 週間プレインキュベートした。試験期間中は適宜脱イオン水を加えて土壌水分を設定範囲内に維持した。

水分	最大容水量の約 50%
温度	25 ± 2°C
照明	暗所

土壌の滅菌：久喜土壌の一部について、オートクレーブ滅菌を 3 日間行って滅菌土壌を調製した。

被験物質処理：プレインキュベーション後の試験容器内土壌に、7.2 mg/kg の濃度で被験物質溶液を添加したのち、振とうして [<sup>14</sup>C]Probenazole を均一に分布させた。処理後の各試験容器を揮発性物質の連続通気捕集装置と連結し、二酸化炭素フリーの加湿空気を通気して上記条件でインキュベートした。

揮発性物質捕集剤：試験容器から排出された空気は 2 本の 1N 水酸化ナトリウムトラップと 1 本のエチレングリコール（EG）トラップに通して二酸化炭素および揮発性有機物を連続

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

捕集した。各トラップは試料採取時点ごとに交換した。

試料採取：各土壌とも処理直後のほか、次の各時点で、2 連の試験容器と揮発性物質トラップを採取した。

非滅菌	1、7、30、60、90 日
滅菌	7、30 日

分析：土壌は、25 mL のアセトニトリルで 2 回振とう抽出した後、アセトニトリル／水／トリフルオロ酢酸 (TFA) (70 : 30 : 1) で再度抽出した。それぞれの抽出液中の放射能を LSC で測定した後、両者の抽出液を合わせて濃縮し、HPLC または TLC で分析した (図 1)。抽出残渣は一部の試料に関して腐植成分の分画を行って分析した (図 2)。

抽出液、水酸化ナトリウムトラップなど、液体試料中の放射能は試料の一部 2~3 点を液体シンチレーション計測 (LSC) して定量した。

抽出残渣など固体試料中の放射能は試料の一部を酸化燃焼処理したのち LSC 測定して定量した。

HPLC プロファイル測定では抽出液をそのままもしくは濃縮して HPLC に注入し、フロースルー型放射能検出器で定量した。放射性ピークまたは標準品と同じ保持時間に溶出する放射能をそれらの定量値とした。

Probenazole と分解物の同定は、HPLC と二次元シリカゲル TLC における標準品とのクロマトグラフィーによっても確認した。TLC 上の放射性物質はラジオイメージングアナライザーで検出した。放射性二酸化炭素の生成は、水酸化ナトリウムトラップに塩化バリウムを加え、水酸化ナトリウム溶液中の放射能が  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  沈殿となって定量的に失われることから確認した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

図 1 : 土壤中残留物の分析フローシート

図 2 : 腐植画分への分画化フローシート

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

Probenazole の半減期等の算定：

Probenazole の消失を一次反応と見なして式 1、式 2 および式 3 から 50%消失期 (DT<sub>50</sub>) と 90%消失期(DT<sub>90</sub>)を算出した。

$$\ln C = -kt + \ln C_0 \quad (\text{式 1}), \quad DT_{50} = 0.693/k \quad (\text{式 2}), \quad DT_{90} = 2.303/k \quad (\text{式 3})$$

k : 分解速度定数, C : 時間 t における濃度, C<sub>0</sub> : 初濃度

また、主要分解物である M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4 (PBZ-E) の DT<sub>50</sub>および DT<sub>90</sub> を、式 1、式 2 および式 3 を用いて算出した。

## 結 果

物質収支と土壤中残留物：

表 3 に土壤中および揮発性物質トラップから回収された放射能または放射性成分の処理放射能比 (物質収支) を、表 4 に土壤中の残留物濃度の各推移を示した。

設定処理濃度 7.2 mg/kg に対して、非滅菌土壌、滅菌土壌共に 7.225 mg/kg の濃度で処理された。これら土壌から試験期間中の平均で、それぞれ処理量の 102.9%および 103.7%が土壌と揮発性物質トラップから回収された (表 3)。

非滅菌土壌では、Probenazole は極めて急速に分解され、処理 7 日後では処理量の 21.8%、処理 30 日後では 2.5%にまで低下した。主要な分解物は M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)、M4(PBZ-E)および <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> と抽出残渣であった。M1(PBZ-B)は、処理 7 日後に処理量の 23.1%の最高値に到達したが、その後は分解し、90 日後には 2.6%となった。M2(PBZ-C)は処理 7 日後に処理量の 48.2%の最高値に到達したが、その後は急速に分解し、90 日後には 0.4%となった。<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> の生成量は経時的に増大し、処理 90 日後までに処理量の 75.4%に達した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 3 : 土壤中放射能残留量回収率、<sup>14</sup>C]Probenazole および分解物の分布 (処理量%)

インキュベーション期間 (日)	抽出液						抽出残渣	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	エチレングリコール	総回収率	
	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	M4 (PBZ-E)	その他					
非滅菌	0	101.8	97.6	2.8	ND	ND	1.4	2.9	NA	NA	104.7
	1	102.0	75.2	20.0	5.5	ND	1.3	2.7	ND	ND	104.8
	7	100.6	21.8	23.1	48.2	2.1	5.4	4.6	0.4	<0.1	105.7
	30	21.2	2.5	9.0	1.0	2.4	6.3	21.4	56.8	0.2	99.6
	60	11.2	1.0	3.6	0.4	0.1	6.0	17.3	71.3	0.2	99.9
	90	11.2	3.6	2.6	0.4	0.3	4.3	16.2	75.4	0.2	103.0
滅菌	0	99.9	97.7	1.0	ND	ND	1.2	2.8	NA	NA	102.7
	7	104.4	37.8	47.7	16.9	ND	2.0	1.9	NA	NA	106.2
	30	97.3	3.7	36.5	54.7	ND	2.5	4.8	NA	NA	102.1

NA) : 試料なし ND) : 検出限界未満

表 4 : 土壤中放射能残留量回収率、<sup>14</sup>C]Probenazole 及び分解物の分布 (放射能濃度、mg eq./kg)

インキュベーション期間 (日)	抽出液						抽出残渣	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>	エチレングリコール	総回収量	
	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	M4 (PBZ-E)	その他					
非滅菌	0	7.354	7.050	0.204	ND	ND	0.100	0.208	NA	NA	7.561
	1	7.371	5.430	1.448	0.396	ND	0.096	0.195	ND	ND	7.569
	7	7.270	1.577	1.669	3.482	0.154	0.388	0.334	0.029	<0.005	7.636
	30	1.531	0.184	0.652	0.069	0.171	0.456	1.547	4.106	0.011	7.195
	60	0.808	0.073	0.262	0.026	0.011	0.436	1.247	5.151	0.012	7.217
	90	0.809	0.263	0.184	0.029	0.020	0.312	1.172	5.451	0.012	7.444
滅菌	0	7.220	7.060	0.073	ND	ND	0.087	0.201	NA	NA	7.421
	7	7.538	2.728	3.446	1.221	ND	0.143	0.138	NA	NA	7.676
	30	7.032	0.269	2.636	3.949	ND	0.178	0.343	NA	NA	7.375

添加濃度 : 7.225 mg/kg

NA) : 試料なし ND) : 検出限界未満

結合残留物（抽出残渣）：処理 30 日後の非滅菌土壌の抽出残渣における放射性成分を腐植成分に分離した。その結果を表 5 に示す。抽出残渣中の放射能は主にフルボ酸およびヒューミン画分から回収され、腐植酸画分の放射能が最も少なかった。

表 5：腐植成分画分中の放射能分布（処理量%）

抽出残渣 合計	ソックスレ 一画分	フルボ酸 画分	腐植酸画分	ヒューミン 画分	その他
21.4	1.1	9.1	1.0	7.3	3.0

分解速度：Probenazole 濃度の推移を一次反応式で解析し、DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>を算出した（図 3）。その結果、Probenazole の好気条件の非滅菌土壌における DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>はそれぞれ、5.9 日と 19.7 日であった。また、主分解物である M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)の濃度推移を一次反応式で解析した結果、好気条件の非滅菌土壌における DT<sub>50</sub> はそれぞれ 26.3 日、4.1 日、7.5 日であった（表 6）。

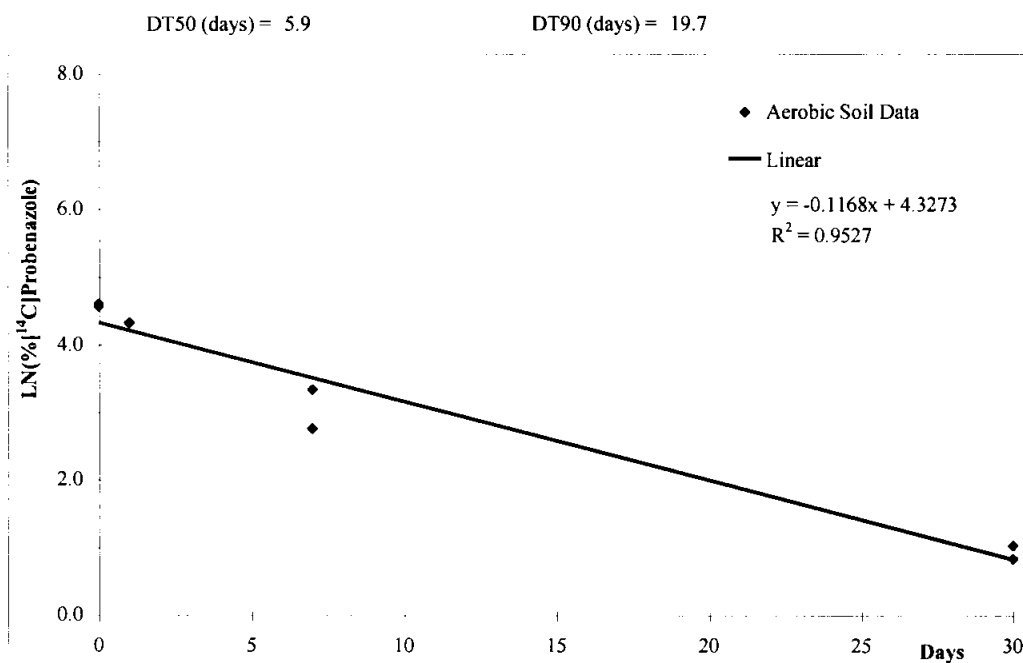


図 3：好气的条件の非滅菌土壌における Probenazole の一次減衰速度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 6 : Probenazole、M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)の土壌中分解速度 (DT<sub>50</sub>および DT<sub>90</sub>)

		DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	相関係数 (r <sup>2</sup> )
Probenazole	非滅菌	5.9	19.7	0.953
	滅菌	6.5	21.6	0.989
M1(PBZ-B)	非滅菌	26.3	87.2	0.915
M2(PBZ-C)	非滅菌	4.1	13.5	1.000
M4(PBZ-E)	非滅菌	7.5	24.9	0.999

分解経路: Probenazole は、M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M4(PBZ-E)を経由して分解され、最終的に <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> に無機化される他、結合残留物を生成するものと推定された。図 4 の推定経路が提示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

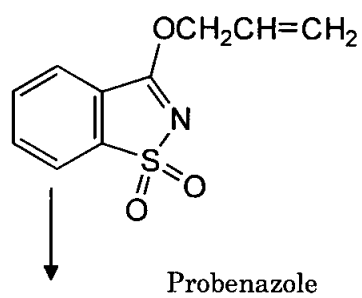


図 4 : Probenazole の好気条件土壌における推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

5. 水中運命に関する試験

1) Probenazole の加水分解運命試験

(資料 運-11)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ Probenazole

試験方法：

pH 4、7、9 において 25°C で試験した。

被験物質 $[^{14}\text{C}]$ Probenazole 溶液の調製：

$[^{14}\text{C}]$ Probenazole をアセトニトリルに溶解して被験物質溶液とした。

試験系および被験物質の添加：

pH 4、7、9 の 3 種類の緩衝液に窒素ガスを 5 分間通気発泡して緩衝液中の酸素を除去した後、ポアサイズ 0.2  $\mu\text{m}$  の滅菌フィルターで滅菌した。次いで pH を調整した。これに $[^{14}\text{C}]$ Probenazole のアセトニトリル溶液を加えて 3 mg/L の試験溶液を調製した。この試験濃度は Probenazole の水溶解度 (0.15 g/L) を十分に下回るものである。滅菌した 4 mL の褐色ガラスバイアルに試験溶液 4 mL を分注して試験系とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

pH 4 : 0.05 M 酢酸緩衝液

0.05 M 酢酸溶液 410 mL に 0.05 M 酢酸ナトリウム溶液 90 mL を加えて調製した。  
必要に応じて酢酸または水酸化ナトリウムを用いて、 $4 \pm 0.1$  の pH にした。

pH 7 : 0.05 M リン酸緩衝液

0.1M リン酸二水素カリウム 500 mL および 0.1 M 水酸化ナトリウム 296 mL を  
1000 mL 容メスフラスコに取って調製した。この液を水で希釈し、0.05 M リン酸緩  
衝液を調製した。必要に応じて 1.0 N HCl または NaOH を用いて  $7.0 \pm 0.1$  の pH  
にした。

pH 9 : 0.05 M ホウ酸緩衝液

ホウ酸 30.9 g を 1000 mL 容メスフラスコに取って、水を加えた。この液 100 mL  
を 1000 mL 容メスフラスコに取り、水で希釈した。必要に応じて 1.0 N HCl または  
NaOH を用いて  $9.0 \pm 0.1$  の pH にした。

インキュベーション条件：

$25 \pm 1^\circ\text{C}$  の恒温室内、暗条件で最長 31 日間インキュベートした。

試料採取：

次の 7 時点で各 pH につき 2 点の試験容器を採取した。

pH 4 : 0、0.25、0.5、1、2、7、31 日

pH 7 : 0、0.25、0.5、1、2、7、31 日

pH 9 : 0、0.01、0.04、0.25、1、7、31 日

分析：

試験溶液の一部を採取し、pH、放射能濃度、および HPLC によるプロファイルを測定  
した。HPLC プロファイルでは試験溶液をそのままもしくは水で希釈して HPLC に注  
入し、フロースルー型放射能検出器で定量した。Probenazole と分解物の同定は、HPLC  
と二次元シリカゲル TLC における標準品とのコクロマトグラフィーによって確認した。  
TLC 上の放射性物質はラジオイメージングアナライザーで検出した。

滅菌状態の確認：

0 時点および 31 日後の全試料の一部を培養し、微生物数を計測して滅菌状態を検証した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

結 果：

滅菌状態の維持：

試験期間中滅菌状態が維持されていたことが確認された。

pH の維持：

試験期間中、試験溶液の pH は概ね設定 pH に維持されていた。

放射能回収率および分解物プロファイル：

各採取時点における試験溶液の処理放射能に対する割合 (%) と放射能濃度 (mg eq./L) を HPLC 分析結果と共に表 1～表 3 に示す。

pH 4、7、9 のいずれの pH においても、インキュベーション期間 0 日では処理した放射活性は定量的に回収されており、被験物質が試料調製操作中安定であること、ならびに試験容器壁面への吸着のないことが確認された。

全ての pH および採取時点で処理放射能は定量的に回収された (全試料の平均回収率、pH 4 : 100.9%、pH 7 : 101.5%、pH 9 : 100.8%)。いずれの pH においても Probenazole は速やかに分解し、M1(PBZ-B)および M2(PBZ-C)を生成した。

表 1 : pH 4 における放射能回収率および HPLC プロファイル

インキュベーション期間 (日)	処理量 (%)					放射能濃度 (mg eq./L)				
	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	その他	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	その他
0	100.0	97.9	0.5	ND	1.6	3.110	3.045	0.015	ND	0.049
0.25	101.1	78.9	20.7	0.5	1.0	3.143	2.453	0.643	0.015	0.031
0.5	100.0	60.8	36.9	1.2	1.2	3.111	1.890	1.147	0.037	0.037
1	103.2	39.9	61.9	1.1	0.2	3.208	1.241	1.923	0.036	0.008
2	98.4	13.5	82.2	1.0	1.6	3.060	0.419	2.557	0.033	0.051
7	101.7	ND	97.0	3.5	1.2	3.161	ND	3.016	0.109	0.036
31	102.0	ND	87.7	12.5	1.8	3.171	ND	2.728	0.388	0.055

添加濃度 : 3.110  $\mu$ g/mL

ND) : 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 2 : pH 7 における放射能回収率および HPLC プロファイル

インキュ ベーション 期間 (日)	処理量 (%)					放射能濃度 (mg eq./L)				
	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	その他	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	その他
0	100.0	97.4	1.0	ND	1.6	3.123	3.042	0.032	ND	0.049
0.25	103.1	65.9	30.5	5.6	1.1	3.221	2.056	0.953	0.176	0.035
0.5	99.6	42.5	40.5	15.9	0.7	3.109	1.329	1.263	0.495	0.022
1	103.3	19.3	42.0	41.2	0.9	3.226	0.601	1.312	1.286	0.027
2	97.7	3.3	22.7	71.0	0.7	3.050	0.102	0.708	2.218	0.023
7	102.7	ND	ND	101.8	1.0	3.208	ND	ND	3.177	0.030
31	104.3	ND	ND	104.3	ND	3.258	ND	ND	3.258	ND

添加濃度 : 3.123  $\mu$ g/mL

ND) : 検出限界未満

表 3 : pH 9 における放射能回収率および HPLC プロファイル

インキュ ベーション 期間 (日)	処理量 (%)					放射能濃度 (mg eq./L)				
	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	その他	合計	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	その他
0	100.0	98.7	ND	ND	1.3	3.140	3.098	ND	ND	0.042
0.01	98.2	23.7	1.6	72.2	0.7	3.085	0.744	0.051	2.268	0.022
0.04	101.2	1.1	ND	100.1	ND	3.178	0.034	ND	3.144	ND
0.25	102.2	ND	ND	102.2	ND	3.209	ND	ND	3.209	ND
1	101.3	ND	ND	101.3	ND	3.180	ND	ND	3.180	ND
7	100.7	ND	ND	100.7	ND	3.163	ND	ND	3.163	ND
31	102.1	ND	ND	102.1	ND	3.207	ND	ND	3.207	ND

添加濃度 : 3.140  $\mu$ g/mL

ND) : 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

分解速度：

各 pH における Probenazole 濃度の推移を一次反応式で解析し、DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>を算出した (図 1~3、表 4)。また、pH 4 と pH 7 において、主分解物である M1(PBZ-B)の濃度推移を一次反応式で解析して DT<sub>50</sub>、DT<sub>90</sub>を算出した (表 5)。

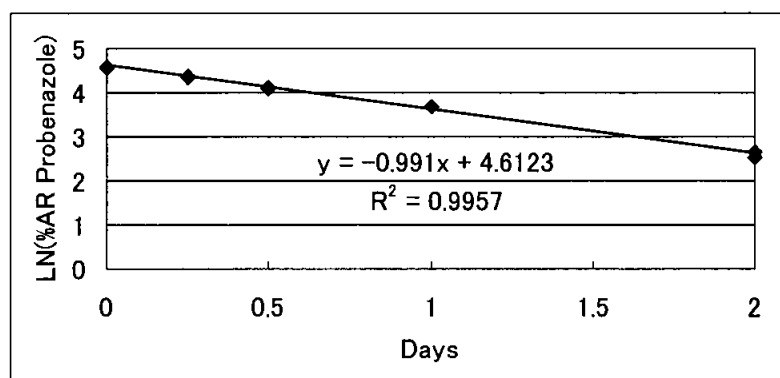


図 1 pH 4 における Probenazole の一次減衰加水分解速度

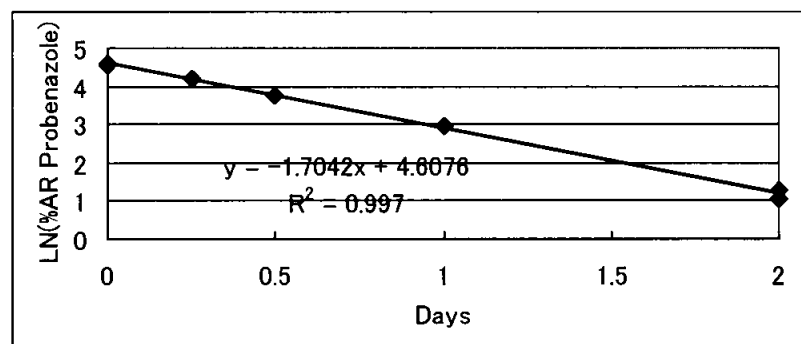


図 2 pH 7 における Probenazole の一次減衰加水分解速度

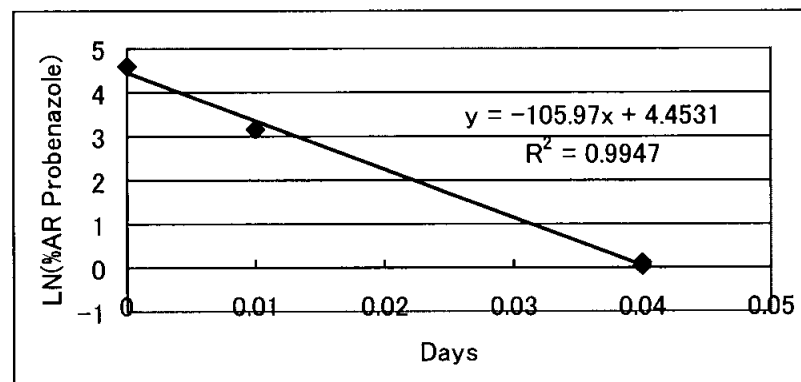


図 3 pH 9 における Probenazole の一次減衰加水分解速度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 4 各 pH における Probenazole の加水分解速度

	pH	DT <sub>50</sub> (時間)	DT <sub>90</sub> (時間)	相関係数 (r <sup>2</sup> )
Probenazole	pH 4	16.8	55.8	0.996
	pH 7	9.8	32.4	0.997
	pH 9	0.2	0.5	0.995

表 5 pH4 および pH7 における M1(PBZ-B)の加水分解速度

	pH	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)	相関係数 (r <sup>2</sup> )
M1(PBZ-B)	pH 4	165	548	0.933
	pH 7	1.1	3.7	0.974

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

分解経路：

Probenazole は速やかに分解され、M1(PBZ-B)を経由して M2(PBZ-C)を生成するものと推定された。図4の推定経路が提示された。

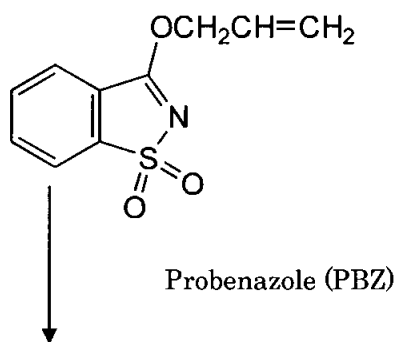


図4 Probenazole の加水分解における推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

5. 水中運命に関する試験

2) Probenazole の水中光分解運命試験

(資料 運-12)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

放射性標識化合物： $[^{14}\text{C}]$ Probenazole

試験方法：

被験物質 $[^{14}\text{C}]$ Probenazole 溶液の調製：

$[^{14}\text{C}]$ Probenazole をアセトニトリルに溶解して被験物質溶液とした。

試験系：

緩衝液(pH 4)：加水分解運命試験において最も安定な pH であった pH 4 の緩衝液  
(0.05 M 酢酸緩衝液) を用いた。

410 mL の 0.05 M 酢酸溶液と 90 mL の 0.05M 酢酸ナトリウム溶液を混合  
して、0.05 M の pH 4 緩衝液を調製した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

自然水 : 2004年5月25日に採取した米国オハイオ州のclear湖の湖水を用いた。  
以下に特性を示す。

pH	7.2
溶存酸素	6.4
ナトリウム(ppm)	208
カルシウム(ppm)	23
マグネシウム(ppm)	5.9
硬度(mg eq CaCO <sub>3</sub> /L)	82
電気伝導率(mmhos/cm)	1.16
ナトリウム吸着比	10.02
全溶解性蒸発残留物(ppm)	906
全懸濁物質(ppm)	4
濁度	3.43

試験溶液は0.2 μmのフィルターで滅菌して使用した。

試験容器 :

光照射区用には石英試験管を、暗所対照区用には褐色ガラス試験管を使用した。いずれも滅菌して使用した。

被験物質の添加 :

[<sup>14</sup>C]Probenazoleのアセトニトリル溶液を緩衝液および自然水に加えて、設定濃度3 mg/Lの試験溶液を調製した。この試験濃度はProbenazoleの水溶解度(0.15 g/L)を十分に下回るものである。光照射区は10 mLを、暗所対照区は4 mLを試験容器に分注し、試験を開始した。

揮発性物質の捕集 :

試験容器から排出された空気は2本の1N水酸化ナトリウムトラップと1本のエチレングリコール(EG)トラップに通して二酸化炭素および揮発性有機物を連続捕集した。各トラップは試料採取時点ごとに交換した。

照射・インキュベーション条件 :

290 nm以下の光をカットするUVフィルターを通したキセノンショートアーク光を光源としたサンテストXLS+装置で試験を実施した(照射区)。試料設置面での平均光強度は300~400 nmで33.22 W/m<sup>2</sup>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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

試験容器は  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  に維持したインキュベーター内に設置し、最長 10 日間連続照射するか（照射区）、同温度に維持したインキュベーター内の暗所に設置した（暗所対照区）。

試料採取：光照射区、暗所対照区ともに次の各時点で試料を採取した。

緩衝液(pH 4)：0、0.13、0.33、1、3、7、10 日後

自然水：0、0.02、0.33、1、3、7、10 日後

分析：

放射能、分解物：

試験溶液の一部を採取し、放射能濃度測定および HPLC 分析を行った。また、揮発性物質捕集液を採取して放射能濃度を測定した。放射能はすべて液体シンチレーション計測法 (LSC) で定量した。HPLC プロファイル測定では、HPLC に注入し、フロースルー型放射能検出器で定量した。放射性ピークまたは標準品と同じ保持時間に溶出する放射能をそれらの定量値とした。

Probenazole と分解物の同定は、HPLC と二次元シリカゲル TLC における標準品とのコクロマトグラフィーによって確認した。TLC 上の放射性物質はラジオイメージングアナライザーで検出した。放射性二酸化炭素の生成は、水酸化ナトリウムトラップに塩化バリウムを加え、水酸化ナトリウム溶液中の放射能が  $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$  沈殿となって定量的に失われることから確認した。

滅菌状態の確認：

0 時点および最終採取時点の試料の一部を培養し、微生物数を計測して滅菌状態を検証した。

分解速度および半減期の算定：

光分解を一次反応とみなし、Probenazole および主分解物の減衰半減期を算出した。

自然太陽光下での半減期は、春（4～6 月）の東京（ $\text{N}35^\circ$ ）における自然太陽光の 1 日積算照度（300～400 nm）が  $0.672 \text{ MJ/m}^2$ （ $=7.78 \text{ W/m}^2$ ）であり、試験条件のキセノン光の約 5.6 時間に相当することから（ $7.78 \div 33.22 \times 24$ ）、東京の春の太陽光に対する半減期も算定した。

結 果：

滅菌状態の維持：試験期間中滅菌が維持されていたことが確認された。

pH の確認：被験物質添加前と最終時点における pH を表 1 に示す。試験期間中の pH の変動は認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 1：試験溶液の pH 測定結果

試験水	添加前	最終時点
湖水	7.4	7.2
pH 4	4.0	4.0

分解速度および分解物：各採取時点における試験溶液および捕集液中に回収された放射能の処理放射エネルギーに対する割合（％）と濃度（mg eq./L）を表 2、表 3 に示す。

全ての試験水および採取時点で処理放射能は定量的に回収された（全試料の平均回収率、緩衝液：101.9%、自然水：101.6%、）。

光照射区では緩衝液、自然水ともに Probenazole は速やかに分解し、自然水中では 1 日目以降の残存率は 1% 以下となった。主分解物は自然水、緩衝液ともに M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C) および M8(PBZ-K) であった。また、 $^{14}\text{CO}_2$  の生成も認めた。

暗所対照区においても、緩衝液、自然水ともに Probenazole の分解が認められたが、その速度は光照射区よりも遅かった。主分解物は M1(PBZ-B) および M2(PBZ-C) 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、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 2：緩衝液(pH 4)における物質収支および HPLC プロファイル

照射時間 (H)	溶液							揮発性物質		総回収率	
	Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	M4 (PBZ-E)	M8 (PBZ-K)	極性 分解物	その他	エチレン グリコール	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>		
処理量%											
照射 区	0	99.0	1.0	ND	ND	ND	ND	1.5	NA	NA	101.5
	0.13	66.9	13.3	1.3	ND	14.2	ND	6.0	NA	NA	101.7
	0.33	33.8	27.7	2.3	0.1	29.3	ND	6.8	NA	NA	100.0
	1	1.2	17.9	15.5	7.0	25.9	1.5	29.9	<0.1	0.4	99.3
	3	0.5	12.1	21.7	8.7	14.5	10.0	32.9	0.1	3.2	103.6
	7	1.3	ND	30.7	4.5	5.5	17.2	38.5	0.2	7.3	105.2
	10	ND	ND	26.7	4.8	3.7	18.1	38.5	0.3	9.8	101.9
暗所 対照 区	0	99.0	ND	ND	ND	ND	ND	2.5	NA	NA	101.5
	0.13	88.2	10.0	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	98.2
	0.33	74.4	25.4	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	99.8
	1	39.3	59.1	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	98.4
	3	6.2	94.4	1.8	ND	ND	ND	1.7	NA	NA	104.1
	7	0.5	96.0	3.7	ND	ND	ND	2.2	NA	NA	102.4
	10	ND	97.3	4.9	ND	ND	ND	2.1	NA	NA	104.3
mg eq./kg											
照射 区	0	3.016	0.030	ND	ND	ND	ND	0.045	NA	NA	3.091
	0.13	2.037	0.406	0.039	ND	0.434	ND	0.181	NA	NA	3.097
	0.33	1.030	0.845	0.069	0.003	0.891	ND	0.209	NA	NA	3.047
	1	0.037	0.546	0.473	0.213	0.790	0.046	0.908	<0.002	0.011	3.026
	3	0.014	0.370	0.661	0.264	0.443	0.305	1.302	0.002	0.096	3.157
	7	0.041	ND	0.936	0.137	0.169	0.523	1.171	0.005	0.223	3.205
	10	ND	ND	0.814	0.147	0.114	0.551	1.172	0.009	0.297	3.104
暗所 対照 区	0	3.016	ND	ND	ND	ND	ND	0.075	NA	NA	3.091
	0.13	2.686	0.305	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	2.991
	0.33	2.267	0.772	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	3.039
	1	1.197	1.801	ND	ND	ND	ND	ND	NA	NA	2.998
	3	0.189	2.875	0.055	ND	ND	ND	0.053	NA	NA	3.172
	7	0.015	2.924	0.114	ND	ND	ND	0.066	NA	NA	3.119
	10	ND	2.964	0.149	ND	ND	ND	0.063	NA	NA	3.176

添加濃度：3.046 μg/mL

NA)：試料なし、ND)：検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 3 : 自然水における物質収支および HPLC プロファイル

	照射時間 (日)	溶液					揮発性物質		総回収率	
		Probe nazole	M1 (PBZ-B)	M2 (PBZ-C)	M8 (PBZ-K)	極性 分解物	その他	エチレン グリコール		<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>
処理量%										
照射区	0	99.7	0.5	ND	0.5	ND	2.0	NA	NA	102.7
	0.02	78.2	9.9	2.7	3.9	ND	2.6	NA	NA	97.3
	0.33	5.4	8.2	58.6	15.9	ND	10.0	NA	NA	98.1
	1	ND	0.5	79.3	9.7	ND	12.0	ND	0.3	101.8
	3	0.4	ND	72.5	0.9	9.8	15.1	<0.1	1.6	100.3
	7	0.7	ND	80.3	0.1	8.2	12.3	0.1	5.0	106.7
	10	ND	ND	69.9	ND	16.0	12.2	0.1	6.0	104.2
暗所対照区	0	99.7	ND	ND	ND	ND	3.0	NA	NA	102.7
	0.02	90.2	4.8	0.6	ND	ND	2.2	NA	NA	97.8
	0.33	37.3	26.6	32.7	ND	ND	5.0	NA	NA	101.6
	1	10.1	21.5	65.2	ND	ND	1.7	NA	NA	98.5
	3	ND	0.4	102.0	ND	ND	0.4	NA	NA	102.8
	7	ND	ND	101.2	ND	ND	0.8	NA	NA	102.0
	10	ND	ND	101.5	ND	ND	0.5	NA	NA	102.0
mg eq./kg										
照射区	0	3.038	0.016	ND	0.016	ND	0.059	NA	NA	3.129
	0.02	2.383	0.300	0.082	0.118	ND	0.080	NA	NA	2.963
	0.33	0.164	0.250	1.786	0.485	ND	0.303	NA	NA	2.988
	1	ND	0.014	2.415	0.294	ND	0.369	ND	0.009	3.101
	3	0.011	ND	2.209	0.026	0.298	0.462	<0.002	0.049	3.055
	7	0.020	ND	2.445	0.004	0.249	0.379	0.002	0.151	3.250
	10	ND	ND	2.129	ND	0.487	0.370	0.004	0.183	3.173
暗所対照区	0	3.038	ND	ND	ND	ND	0.091	NA	NA	3.129
	0.02	2.747	0.146	0.018	ND	ND	0.067	NA	NA	2.978
	0.33	1.136	0.811	0.996	ND	ND	0.153	NA	NA	3.096
	1	0.308	0.656	1.986	ND	ND	0.050	NA	NA	3.000
	3	ND	0.013	3.107	ND	ND	0.012	NA	NA	3.132
	7	ND	ND	3.083	ND	ND	0.023	NA	NA	3.106
	10	ND	ND	3.091	ND	ND	0.016	NA	NA	3.107

添加濃度 : 3.046  $\mu$ g/mL

NA) : 試料なし、ND) : 検出限界未満

緩衝液(pH 4)および自然水における Probenazole の減衰を一次反応式で解析し(図 1、2)、試験条件下および春の東京における自然太陽光下での光分解による Probenazole の 50%消失期および 90%消失期をまとめた(表 4)。

また、主要分解物である M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M8(PBZ-K)の試験条件下における 50%消失期および 90%消失期を一次反応式で解析した結果をまとめた (表 5)。

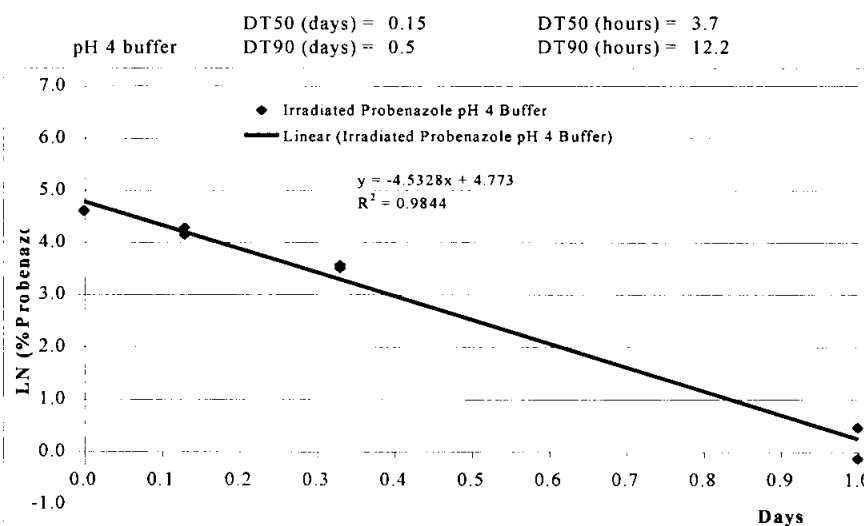


図 1 緩衝液(pH 4)における Probenazole の一次減衰速度

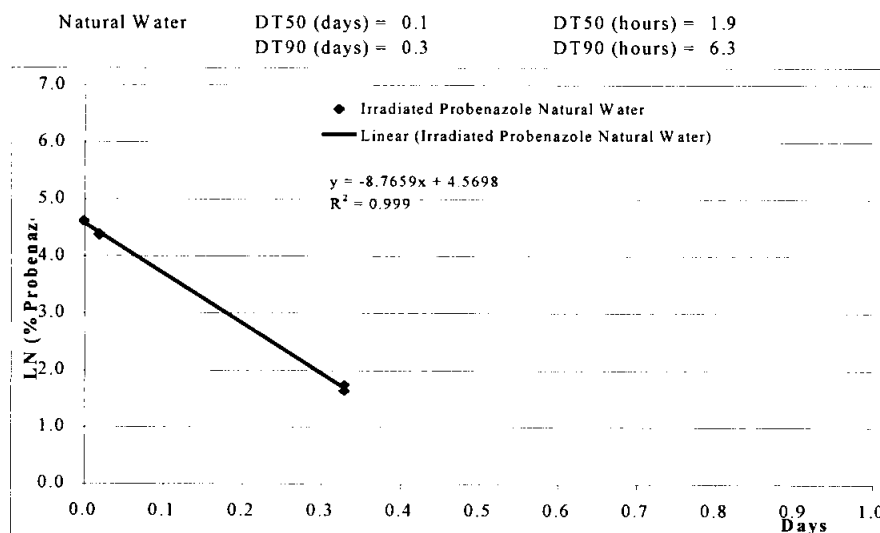


図 2 自然水における Probenazole の一次減衰速度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表 4：試験条件下および春（4～6 月）の東京（北緯 35 度）における Probenazole の DT<sub>50</sub> および DT<sub>90</sub>

	試験条件			太陽光（東京、春）	
	DT <sub>50</sub> （日）	DT <sub>90</sub> （日）	r <sup>2</sup>	DT <sub>50</sub> （日）	DT <sub>90</sub> （日）
緩衝液	0.15	0.5	0.984	0.6	2.1
自然水	0.1	0.3	0.999	0.4	1.3

表 5：試験条件下における M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C)および M8(PBZ-K)の DT<sub>50</sub> および DT<sub>90</sub>

		DT <sub>50</sub> （日）	DT <sub>90</sub> （日）	r <sup>2</sup>
緩衝液	M1(PBZ-B)	2.4	7.9	0.741
	M2(PBZ-C)	14.9	49.6	0.847
	M8(PBZ-K)	3.1	10.4	0.975
自然水	M1(PBZ-B)	0.2	0.7	0.931
	M2(PBZ-C)	90.0	299.1	0.147
	M8(PBZ-K)	1.0	3.5	0.860

光分解経路：Probenazole は M1(PBZ-B)または M8(PBZ-K)を経由して M2(PBZ-C)を生成し、更に M5(PBZ-E)を経て <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> と極性分解物に分解されるものと推測された。図 3 の推定経路が提示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

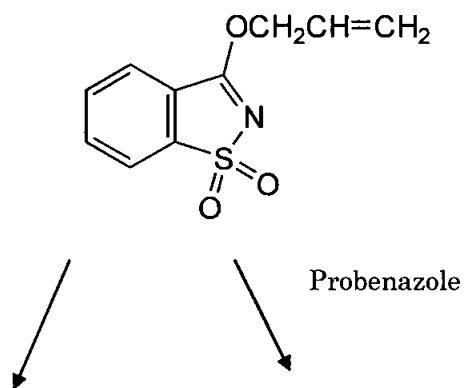


図 3 : Probenazole の水中光分解推定経路 (緩衝液および自然水中)

4. 土壌吸脱着試験

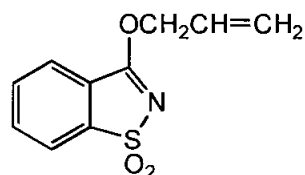
(資料 連-13)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

供試化合物：プロベナゾール



化学名：3-allyloxy-1,2-benzisotiazole-1,1-dioxide

分子式：C<sub>10</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>3</sub>S

分子量：223.25

純度：

供試土壌：供試した土壌の特性を表-1に示す。

表-1 供試土壌の詳細

土壌	I	II	III	IV
土壌群名	灰色 低地土	淡色 黒ボク土	沖積 埴壌土	細粒 グライ土
採取場所	日植防宮崎 試験農場内 水田	北海道立 十勝農試内 畑地	植調研究所 圃場 水田	石川県 農試内 畑地
土性	SL	CL	LiC	LiC
有機炭素含有量, %	1.56	2.21	2.60	1.02
pH H <sub>2</sub> O 中	5.2	5.7	6.7	7.1
1N KCl 中	5.5	5.8	6.0	5.8
陽イオン交換容量, me/100g	8.3	11.7	21.5	20.3
リン酸吸収係数	490	1330	820	720
粒子分布, %				
砂	73.2	57.1	28.0	53.1
シルト	13.5	21.5	35.4	19.6
粘土	13.3	21.4	36.6	27.3

申請者注：完全には一致しないが、土壌 I=OECD No. 5, 土壌 II=OECD No. 3,  
土壌 III=OECD No. 4, 土壌 IV=OECD No. 2 に相当する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

試験方法：農薬の物理的・化学的性状に関する試験方法（9 農産第 5089 号 農産園芸局長通達，1997）に準拠して実施した。

プロベナゾールの定量は、内部標準を用いた HPLC 法で行った。  
予備試験で、加水分解による溶液中プロベナゾールの減衰を考慮するためあらかじめ本試験条件における水溶液中での加水分解速度を求めた。その結果から、本試験における測定値は、土壌添加条件での加水分解率を補正して算出し、土壌に吸着された状態のプロベナゾールについては分解しないものと仮定した。

#### 試験溶液及び試験系の調製

プロベナゾール約 50mg を 5mL のメスボトルに採取し、アセトニトリルで定容して試験原液とした。試験原液 0.5mL を採取し、これに 0.01M 塩化カルシウム溶液 1L を加えて希釈し、5ppm の試験溶液 A とした。これを 0.01M 塩化カルシウム溶液で段階的に希釈して 2, 1.0 及び 0.5ppm の試験溶液 B, C 及び D を調製した。

土/水比は 1/5 とした。乾土換算で 5g の試験土壌を 50mL の共栓付試験管に量り取り、各試験溶液 25mL を添加して暗条件下、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$  で振とうした。

#### 吸着平衡試験

試験溶液 B を用いた群で 4, 8, 24, 48 時間後の水相中被験物質濃度を測定し、経過時間に対する水相中濃度をプロットして吸着平衡化が判断できる時間を設定した。

#### 吸着等温試験

##### 1) 水相中濃度および土壌相中濃度の算出

各土壌毎に A~D 群について設定した時間の平衡化操作を行ったのち遠心分離して、上澄液と土壌粒子を分離した。水相の容量を計り、得られた各水相を酢酸エチル抽出、濃縮し、HPLC 分析後水相中の被験物質濃度を算出した。算出した値および次式から土壌相中被験物質濃度を算出した。

##### 2) 土壌吸着定数の算出

平衡化後の各土壌について、水中被験物質濃度の対数値を横軸に、土壌中被験物質残留濃度の対数値を縦軸にとり、Freundlich の吸着等温式から定数項 (K) および非線型の程度 ( $1/n$ ) を算出した。また、各試験土壌の有機炭素含有量を基にした吸着定数 ( $K_{oc}$ ) を算出した。

##### 3) 物質収支

試験溶液 B を用いた群について土壌相をアセトニトリルで振とう抽出し物質収支を算出した。



結 果：

吸着平衡試験

吸着平衡試験の結果を表-2に、横軸に経過時間、縦軸に測定濃度をプロットして作成した減衰曲線を図-1に示す。

この結果全ての土壌において、試験開始8時間後には吸着による減衰( $\alpha$ 相)は認められず、吸着が平衡時間に達していると考えられた。この結果から、高次試験における平衡化時間を16時間に設定した。 $\beta$ 相の一次式から16時間の加水分解による減衰率は土壌Iで36.0%、土壌IIで40.3%、土壌IIIで32.8%、土壌IVで36.0%であった。

表-2 プロベナゾールの吸着平衡試験結果

土壌	土性	振とう時間 (時間)	水相濃度 (mg/L)		
			実測値	平均値	
I 日植防 宮崎 (水田)	SL	0*	1.956	1.951	1.954
		4	1.215	1.219	1.217
		8	1.027	1.027	1.027
		24	0.600	0.598	0.599
		48	0.329	0.336	0.333
II 北海道 農試 (畑地)	CL	0*	1.956	1.951	1.954
		4	1.237	1.246	1.242
		8	1.006	1.006	1.006
		24	0.577	0.586	0.582
		48	0.275	0.276	0.276
III 植調研 圃場 (水田)	LiC	0*	1.849	1.845	1.847
		4	0.684	0.679	0.682
		8	0.628	0.627	0.628
		24	0.379	0.379	0.379
		48	0.228	0.232	0.230
IV 石川県 農試 (畑地)	LiC	0*	1.849	1.845	1.847
		4	0.928	0.931	0.930
		8	0.810	0.809	0.810
		24	0.501	0.503	0.502
		48	0.264	0.264	0.264

\* 試験溶液初期濃度 (土壌無添加)

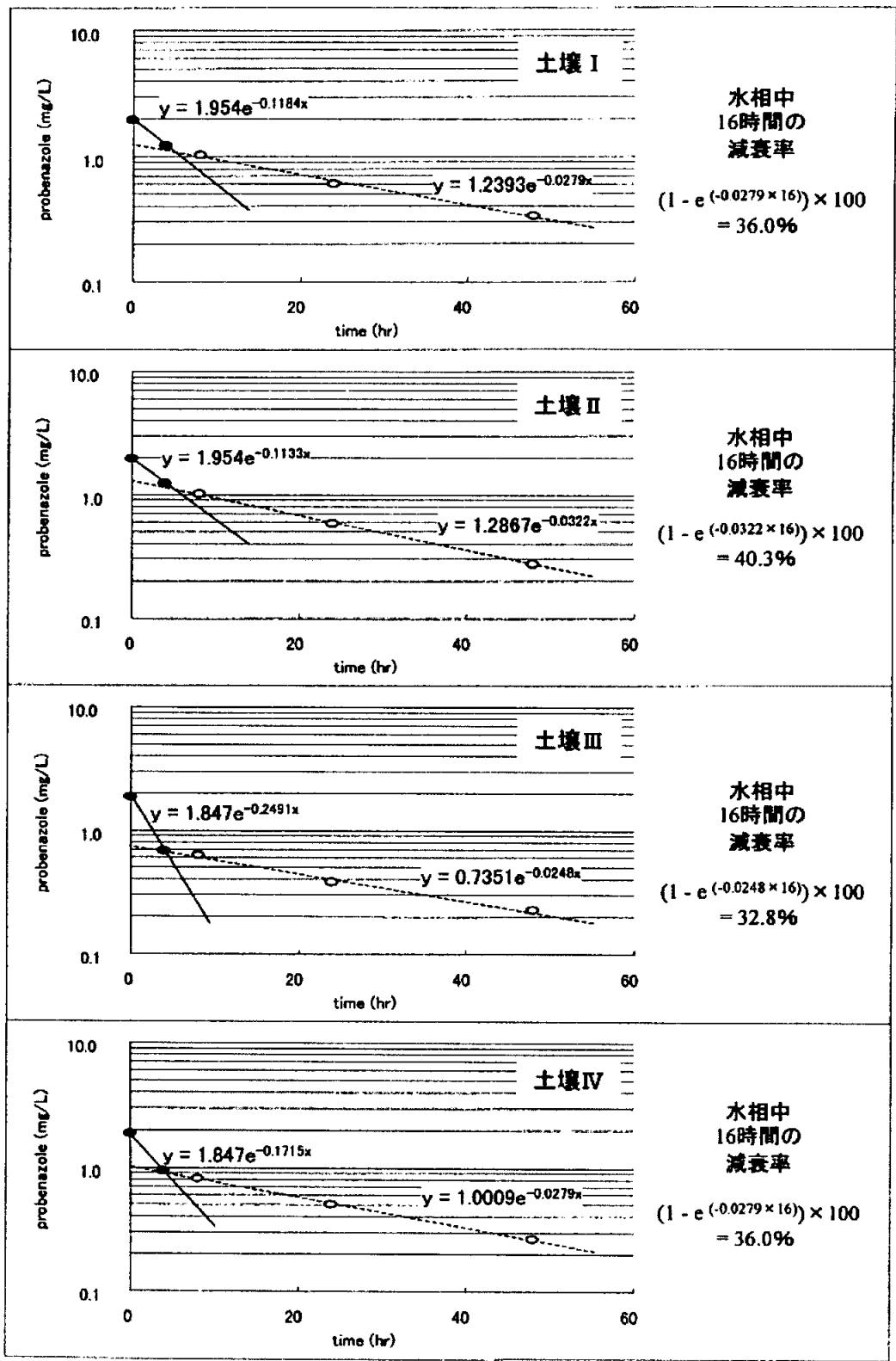


図-1 吸着平衡試験における土壌添加群の減衰曲線

吸着等温試験

各土壌の A~D 群について、16 時間平衡化後における水相中被験物質濃度および土壌中残留濃度から作成した Freundlich の吸着等温式の図を図-2 に、 Freundlich の吸着等温式から求めた非線形の程度 ( $1/n$ )、吸着定数 ( $K$ )、相関係数 ( $R^2$ ) および各土壌の有機炭素をもとにした吸着係数 ( $K_{F^{abs_{oc}}}$ ) を表-3 に示す。

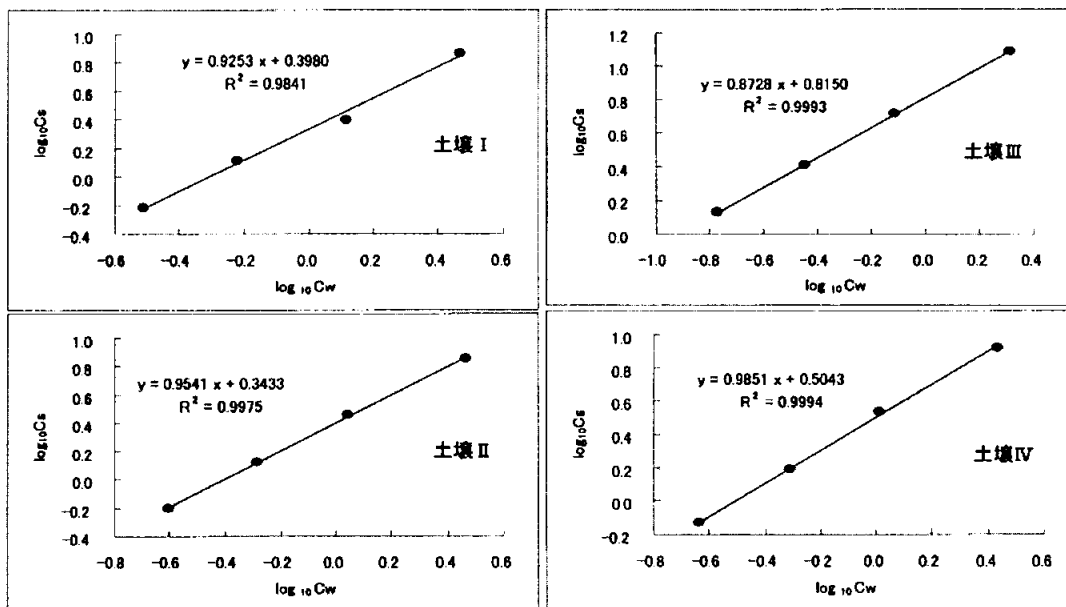


図-2 Freundlich の吸着等温式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

表-3 吸着等温試験結果

土壌	I	II	III	IV
採取場所	日植防官崎 試験農場内 (水田)	北海道立 十勝農試内 (畑地)	植調研究所 圃場 (水田)	石川県 農試内 (畑地)
土性	SL	CL	LiC	LiC
有機炭素含有率, %	1.56	2.21	2.60	1.02
非線形の程度, 1/n	0.9253	0.9541	0.8728	0.9851
吸着定数, K	2.50	2.20	6.53	3.19
相関係数, R <sup>2</sup>	0.9841	0.9975	0.9993	0.9994
有機炭素吸着係数, K <sub>oc</sub>	160	100	251	313

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

物質収支

各土壌の B 群における物質収支の結果を 表-4 に示す。各土壌における不足率は、土壌 I で 94.2%、土壌 II で 91.4%、土壌 III で 87.3%、土壌 IV で 95.6%であった。

表-4 物質収支

土壌		I	II	III	IV
	採取場所	日植防宮崎 試験農場内 (水田)	北海道立 十勝農試内 (畑地)	植調研究所 圃場 (水田)	石川県 農試内 (畑地)
	土性	SL	CL	LiC	LiC
試験群		B	B	B	B
初期添加量 (μg)		50.00	50.00	48.50	45.75
土壌相への 吸着量 (μg)	測定 1	12.44	7.48	17.97	12.85
	測定 2	9.38	7.17	17.72	13.22
水相中の 被験物質量* (μg)	測定 1	38.38	35.73	22.24	28.75
	測定 2	34.04	35.81	22.22	28.58
被験物質 不足量 (μg)	測定 1	-0.82	4.18	6.13	2.13
	測定 2	6.58	4.44	6.28	1.93
不足率 (%)	測定 1	101.6	91.6	87.4	95.3
	測定 2	86.8	91.1	87.1	95.8
	平均値	94.2	91.4	87.3	95.6

\* 加水分解率 (振とう操作: 16 時間, 25°C) 補正後の値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

#### 代謝分解のまとめ

[<sup>14</sup>C] Probenazole および [<sup>3</sup>H] Probenazole を用いて実施した動物、植物、土壌および水中における代謝、分解、残留の概要は以下の通りであり、想定代謝経路および結果の概要を以降の項に示した。

#### 動物（資料番号：運-1、運-2、運-3、運-4）

動物における [<sup>3</sup>H]プロベナゾールの吸収は、血液中濃度のピークが投与2時間後に発現し、また、大部分が尿中に排出され、糞中排泄が極めて少ないことから、消化管により速やかに行われる。168時間までに投与量の約95%が尿、糞中に排泄され、体内に残留している量は極めて少ない。排泄物のほとんどは代謝物であり、プロベナゾール未変化体は4.7%以下でありほとんど認められなかった。臓器内蓄積は認められなかった。

また、[<sup>14</sup>C]プロベナゾールをラットに経口投与した場合は、168時間までの投与放射能の68~81%が尿中に、10~15%が糞中に排泄され、7~10%が体内に残存した。呼気中への排泄は見られなかった。組織内分布はいずれの組織も投与後1~8時間に最高濃度を示したがその後減少した。尿中にはプロベナゾール未変化体は認められずほとんど代謝物であった。

#### 植物（資料番号：運-5~8）

水稻、キャベツおよびキュウリを用いて実用濃度で処理を行って試験した。その結果、水稻では最終収穫時に、玄米において 0.6ppm、稲わらにおいて 33.2ppm、籾殻において 1.9ppm および根部において 2.4ppm の TRR レベルが認められた。玄米においては 66%の放射能が結合残渣に存在し、TRR の 10%を超える代謝物は検出されなかった。一方、稲わらにおいては、M4(PBZ-E)が 9.8ppm (TRR の 30%)、M2(PBZ-C)が 4.2ppm (TRR の 13%)検出され、24 min 代謝物が 9ppm (TRR の 27%) 検出された。キャベツにおいては最終収穫時の結球部に 3.9ppm の TRR レベルが認められた。主要代謝物としては、M4(PBZ-E)が 1.8ppm (TRR の 48%)、23 min 代謝物が 0.6ppm (TRR の 15%) および 24 min 代謝物が 0.48ppm (TRR の 13%) 検出された。キュウリにおいては最終収穫時の実に 0.57ppm の TRR レベルが認められた。主要代謝物としては水稻、キャベツとほぼ同様に、実に M4(PBZ-E)が 0.24ppm (TRR の 44%) および M2(PBZ-C)が 0.13ppm (TRR の 23%) が検出された。未変化の Probenazole は全ての作物で検出されなかった。以上、全ての作物に共通して代謝物としては主に M4(PBZ-E)および M2(PBZ-C)が確認され、ほぼ同一の代謝経路であった。

#### 土壌（資料番号：運-9、運-10、運-13）

好氣的条件下において 7.2 mg/kg の濃度で処理をして試験を実施した。その結果、Probenazole の DT<sub>50</sub>は 5.9 日、DT<sub>90</sub>は 19.7 日であり、速やかに分解した。CO<sub>2</sub>無機化率は 90 日後で 75%であ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

った。主要分解物としては M1(PBZ-B) (最大 23.1%) および M2(PBZ-C) (最大 48.2%) が検出されたが、いずれの分解物も 90 日後には 2.6% 以下まで減少した。

また、好氣的湛水条件下において 4 mg/kg の濃度で処理をして試験を実施した。その結果、Probenazole の  $DT_{50}$  は 0.75 日、 $DT_{90}$  は 2.5 日であり、極めて速やかに分解した。CO<sub>2</sub> 無機化率は 120 日後で 12% であった。主要分解物としては M1(PBZ-B) (最大 40.9%)、M2(PBZ-C) (最大 82.5%) および M4(PBZ-E) (最大 13.7%) が検出されたがいずれも 120 日後までには減少した。

また、土壌吸着試験では、日本の 4 種類の土壌 (砂壤土 (宮崎), 埴壤土 (北海道), 軽埴土 (茨城), 軽埴土 (石川)) を用いて試験を行った結果、 $K_{F^{abs_{\infty}}}$  は 100~313 であった。

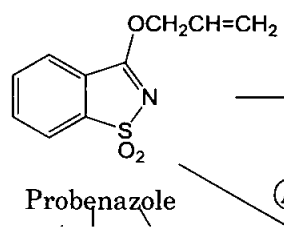
水中 (資料番号: 運-11、運-12)

加水分解試験を pH 4、7 および 9 の緩衝液を用いて、濃度 3  $\mu$ g/mL、25°C の条件で 31 日間実施した。その結果、Probenazole の  $DT_{50}$  は pH4、7、9 それぞれ 16.8 時間、9.8 時間、0.2 時間であり、 $DT_{90}$  はそれぞれ 55.8 時間、32.4 時間、0.5 時間であった。主要分解物は M1(PBZ-B) および M2(PBZ-C) であった。

また、水中光分解試験を pH 4 の緩衝液および自然水を用いて、濃度 3  $\mu$ g/mL、25°C の条件で光を 10 日間照射して実施した。その結果、Probenazole の  $DT_{50}$  は緩衝液、自然水それぞれ 0.15 時間および 0.1 時間であり、東京の春の太陽光に換算するとそれぞれ 0.6 時間および 0.4 時間であった。主要分解物は M1(PBZ-B)、M2(PBZ-C) および M8(PBZ-K) であった。

想定される代謝経路は次に示す通りである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。



( ) : 推定代謝中間体 (不検出)

22.5 min



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

代謝分解の概要

代謝分解物			炭化合物	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	その他	同定代謝	特徴づけを行った	未同定代謝	非抽	CO <sub>2</sub>	合計		
動物	ラット	尿	0~24時間後(雄)	20mg/kg																
			0~24時間後(雌)	200mg/kg																
			0~24時間後(雄)	20mg/kg																
			0~24時間後(雌)	200mg/kg																
植物	イネ	茎葉部	1回目施用21日後(中国収穫)																	
			2回目施用79日後(最終収穫)																	
		玄米	2回目施用79日後(最終収穫)																	
			2回目施用79日後(最終収穫)																	
		籾殻	2回目施用79日後(最終収穫)																	
			2回目施用79日後(最終収穫)																	
	キヌ	土壌	結球部	施用82日後(中国収穫)																
			結球部	施用112日後(最終収穫)																
		実	施用82日後(中国収穫)																	
	ウリ	土壌	実	施用112日後(最終収穫)																
			実	施用112日後(最終収穫)																
		葉	施用112日後(最終収穫)																	
土壌	赤城産区	90日後																		
		30日後																		
	減産区	120日後																		
		10日後																		
加水分解		pH 4	31日後																	
		pH 7	31日後																	
		pH 9	31日後																	
分水中	光	pH 4	10日後																	
		自然水	10日後																	

一) : 分析せず、ND) : 検出限界未満

注 1) : 植物代謝の下段の数値は濃度 (mg.eq/kg)

注 2) : 同定代謝物の合計 = Probenazole + M1 + M2 + M3 + M4 + M5 + M6 + M7 + M8 + CO<sub>2</sub>

注 3) : 特徴づけを行った代謝物の合計 = 22.5min + 23min + 24min + 29min

注 4) : 未同定代謝物の合計 = その他

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は、Meiji Seika ファルマ株式会社にある。

プロベナゾールの開発年表

西 暦

化合物選抜

特 許

物理化学的  
性 質

魚介類等に  
及ぼす影響

農薬残留性

適用農作物  
及び適用病  
害 虫

毒 性

代 謝

運 命

製 造