

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-8) ピラクロストロピン水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 14)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体の純度: 20.0%水和剤 [組成] 有効成分:
界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: Hartley 系 (Hsd Poc:DH(SPF)) 雌モルモット, 約 7 週齢, 体重 313~386g, 対照群 10 匹, 試験群 20 匹

試験期間: 48 時間観察

試験方法: [Buehler Test 改変法; 9 回感作]
用量設定;

陽性対照: 試験結果の信頼性を検討するため, BASF 毒性研究所では感作性既知の陽性対照物質 alpha-hexylcinnamaldehyde 85%原体を用いた試験を 1 年に 2 回定期的に実施していることから, 本試験と平行した陽性対照試験は実施されていない。

経皮感作: 検体の 60%蒸留水懸濁液 0.5mL を脇腹の皮膚に 6 時間閉鎖貼付して経皮感作を実施した。1 週間 3 回; 同じ部位に 0~2 日, 7~9 日, 14~16 日, 合計 9 回の感作を行った。担体に使用した蒸留水は試験の結果に影響しないと考えたことから, 対照群の動物には処理しなかった。

誘発: 9 回目の感作後 13 日に検体の 25%蒸留水懸濁液 0.5mL を試験群及び対照群の動物の刈毛した右脇腹の皮膚に 6 時間閉鎖貼付した。

観察:

誘発のためのパッチ除去後 24 及び 48 時間に, 適用部位の皮膚反応を肉眼的に観察し, Magnusson 及び Kligman の基準*に従って以下のように判定した。(* The Identification of Contact Allergens by Animal Assay. The Guinea Pig Maximization Test. J. Invest. Dermatol. 52, 268-276(1969))

- 0; 反応を認めず
- 1; 不連続性あるいはムラのある紅斑
- 2; 中等度で連続性の紅斑
- 3; 重度の紅斑及び腫張

この基準に合わない「腫張」及び「貼付部位の褐色化」についても確認した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結 果：

9回の経皮感作で試験群の動物に観察された皮膚反応は以下のとおりであった。

感 作	20例中に観察された皮膚反応
1回目	6例に不連続性あるいはムラのある紅斑
2回目	12例に不連続性あるいはムラのある紅斑
3回目	9例に不連続性あるいはムラのある紅斑
4回目	皮膚刺激の症状認めず
5回目	3例に不連続性あるいはムラのある紅斑
6回目	2例に不連続性あるいはムラのある紅斑
7, 8回目	5例に不連続性あるいはムラのある紅斑
9回目	7例に不連続性あるいはムラのある紅斑, 及び 2例に中程度で連続性の紅斑, 内1例に腫張

誘発においては対照群及び試験群の動物にいかなる皮膚反応も認められなかった。

試験動物の体重増加量は、試験期間を通じて予測された範囲内であった。

試験結果を次頁の表に示した。

従って、検体は9回感作による Buehler Test 改変法において皮膚感作性は陰性と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

皮膚感作性試験 [Buehler Test 改変法 ; 9 回感作] 結果

表 1. 検体の試験結果

試験群	感 作	誘 発	供 試 動物数	感作反応動物数								陽 性 動物数		
				24 時間				計	48 時間					
				皮膚反応評点					皮膚反応評点					
				0	1	2	3	0	1	2	3			
試験群	検 体		20	20				0/20	20				0/20	0/20
対照群	—	検 体	10	10				0/10	10				0/10	0/10

注. 検 体 : 検体の 60% 蒸留水懸濁液 (蒸留水を溶媒として使用したため, 対照群動物の感作では処理していない)

表 2. 陽性対照の試験結果*1

誘発後	陽性対照	20	13	6	1*2	7/20	15	5*3		5/20	7/20
	溶媒対照	10	10			0/10	10			0/10	0/10
再誘発後	陽性対照	20	9	9	2*3	11/20	11	7	2*3	9/20	11/20
	溶媒対照	10	10			0/10	10			0/10	0/10

*1. この結果は本試験の実施時点の近くで実施された試験の結果である。

*2. 腫張も認める。

*3. 内 1 例に腫張も認める。

注. 陽性対照 : alpha-hexylcinnamaldehyde 85% 原体の 10% Lutrol E400 DAB 溶液

溶媒対照 : Lutrol E400 DAB

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

2-1) ピラクロストロビン フロアブルのラットにおける液体エアゾールによる (資料 8-3)
急性吸入毒性試験

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体純度: 6.8%フロアブル剤

[組成] 有効成分:

水、界面活性剤等;

試験動物: Wistar 系ラット (CrI GlxHan:WI), 1 群当り雌雄各 5 匹,

試験開始時雄約 8~12 週齢, 雌約 14~18 週齢;

雄体重 230.4~251.3g, 雌体重 208.8~225.0g

試験期間: 14 日間観察

試験方法: 試験は OECD ガイドライン 方法 403, EU 委員会指令 92/69 EEC 及び EPA ガイドライン OPPTS 870.1300 に基づいて実施した。検体を 2 成分アトマイザーを用いて液体エアゾールを暴露装置内へ発生させ、4 時間鼻部暴露させた。

名目濃度: 36.7 mg/L

実測濃度: 5.7 mg/L

エアゾールの濃度 (mg/L) は、捕集剤を入れた石英綿栓付インピンジャーに捕集して、HPLC で測定した。

暴露条件:

名目濃度 (mg/L)	36.7	
実測濃度 (mg/L)	5.7	
粒子径分布 (%) ; 29.5 (μm)*	5.2	2.3
18.2	2.1	1.6
8.5	4.1	4.7
5.5	6.5	7.8
2.8	24.7	28.9
1.2	46.0	45.7
<1.2	11.3	9.0
空気力学的質量粒子径 (μm)	2.9	3.0
呼吸可能な粒子 (<3 μm) の割合 (%)	51.1	50.4
チャンパー容積 (L)	55	
チャンパー内通気量 (L/分)	約 22.5	
暴露条件	液体エアゾール 4 時間鼻部暴露	

*空気力学的有効切断等価径 (EACD, μm)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

試験項目：暴露中及び暴露後 14 日間、臨床症状及び生死について観察し、体重測定を行った。
死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：試験の結果を下表にまとめた。

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.7
LC ₅₀ (mg/L)	雌雄合計の LC ₅₀ : >5.7
死亡開始及び終了時間	暴露後暴露当日
症状発現及び消失時間	症状発現：暴露直後 症状消失：暴露後 5 日
死亡の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌：5.7 雄：<5.7

中毒症状として、雌雄に関係なく呼吸亢進、呼吸音、立毛及びうずくまり姿勢、逃避行動が認められた。

雄 1 例が、暴露後暴露当日に死亡したのみであった。

肉眼的病理検査では、死亡及び生存動物ともに特記すべき肉眼的変化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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

3-1) ピラクロストロピンドライフフロアブルのラットにおける

ミストによる急性吸入毒性試験 (資料 8-4)

試験実施機関 :

[GLP 対応]

報告書作成年 :

供試検体 : 6.8%ドライフロアブル

[組成] 有効成分 :

界面活性剤、鋳物微粉等 ;

供試動物 : Crj:WI (Glx/BRL/Han)系 SPF ラット、8 週齢、雄 237~246g、雌 167~183g
1 群雌雄各 5 匹

観察期間 : 14 日間

暴露方法 : 検体を精製水に 50w/v%の濃度で懸濁し、二流体ネブライザーでミスト化して吸入チャンパーに供給し、保定管に収容したラットに 1 回、4 時間鼻部暴露させた。

対照群は圧縮空気を精製水に通して加湿し、同様に暴露させた。

本剤は低毒性が予想されたので、5.0mg/L の 1 用量を投与群に選択した。

暴露空気を暴露開始後 0.5、2.0 及び 3.5 時間にガラス繊維フィルターに捕集し、重量測定法により実際測定濃度を求めた。

暴露条件 :

設定濃度 (mg/L)	5.0
実際濃度 (mg/L) ¹⁾	5.2
粒子径分布 (%) ²⁾	
> 8.23	14.83
8.23 ~ 5.21	30.99
5.21 ~ 3.42	20.34
3.42 ~ 2.11	12.17
2.11 ~ 1.55	5.89
1.55 ~ 1.05	4.56
1.05 ~ 0.48	1.90
0.48 >	9.32
空気力学的質量中位径 MMAD (μm)	4.14
幾何標準偏差値 (GSD)	3.47
呼吸可能な粒子 (<4 μm) の割合 (%)	48.9
チャンパー容積 (L)	0.325
チャンパー内通気量 (L/分)	15
暴露条件	ミスト、4 時間、鼻部暴露

¹⁾ 3 回の平均値

²⁾ 暴露開始 10 分後に捕集流量 0.5L/分で 2 分間捕集し、各段の捕集重量比より求めた

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

観察・検査項目：暴露当日は、暴露中(暴露開始後1、2及び3時間)及び暴露終了後(終了直後、1及び2時間)の6回、第2日以降は1日1回、第15日まで生死及び一般状態の変化を観察した。

体重は第1日の投与前、第2、4、8及び15日に測定した。

観察期間終了時の全動物について肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投 与 方 法	吸 入
暴 露 濃 度 (mg/L)	0, 5.0
LC ₅₀ (mg/L) (%信頼限界)	雌雄： > 5.0 [5.2]
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
症状発現及び消失時間	暴露開始1時間後から発現 第2日目に消失
毒性兆候の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄： 5.0 [5.2]
死亡例の認められなかった 最高暴露濃度 (mg/L)	雌雄： 5.0 [5.2]

[]内の数値は実測濃度

投与群に被毛、鼻周囲及び口周囲の汚れが観察されたのみであり、明らかな毒性兆候は観察されなかった。体重は対照群と比して有意な差は認められなかった。

肉眼的病理所見では対照群及び投与群ともに異常所見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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

4-1) ナリアWDGのラットにおける急性経口毒性試験

(資料 F-9)

試験機関: [GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ピラクロストロビン 6.8%、ボスカリド 13.6%水和剤

[組成] 有効成分: ピラクロストロビン

ボスカリド

界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: Wistar 系ラット (CrI:WI (GLX/BRL/HAN) IGS BR), 雌 14~18 週齢,

開始時体重: 190~204g, 1 群雌 3 または 6 匹

試験期間: 14 日間観察

方法: 検体を再蒸留水に懸濁し、始めに 3 匹の雌に 2000mg/kg の用量 1 回強制経口投与した。次に雌 3 匹に 500mg/kg を 1 回強制経口投与した。さらに雌 3 匹に 500mg/kg を 1 回強制経口投与した。投与容量は 10mL/kg 体重とし、動物は投与前に 16 時間絶食させた。

試験項目: 中毒症状及び生死を各投与群について 14 日間観察した。体重は投与直前(0 日)、その後は 7 及び 14 日後に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	500, 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	2000 > > 500
死亡開始時間及び終了時間	投与直後から 2 時間後
症状発現及び消失時間	投与直後から 5 時間後まで
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	なし

2000mg/kg 投与群は投与 1 時間後までに全 3 例が死亡した。500mg/kg 群は 6 例中 1 例が投与 2 時間後に死亡した。中毒症状として、呼吸困難、腹臥位、側臥位、よろめき歩行、被毛の汚れ下痢などが観察された。全生存の動物の体重は試験期間中増加した。

死亡動物の肉眼的病理所見として、胃および小腸の瀰漫性赤色変色、および全肺葉の瀰漫性浮腫および赤色変色が認められた。生存動物には異常は観察されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

4-2) ナリアWDGのラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 F-10)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ピラクロストロビン 6.8%、ボスカリド 13.6%水和剤

[組成] 有効成分: ピラクロストロビン

ボスカリド

界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: Wistar 系ラット (CrI:WI (GLX/BRL/HAN) IGS BR), 雄 8~12 週齢、雌 14~18 週齢、

開始時体重: 雄 223~233g, 雌 196~206g, 1 群雌雄各 5 匹

試験期間: 14 日間観察

方法: 検体を再蒸留水に懸濁し、刈毛した胴体の背部/背側部の皮膚(約 40cm²; 体表の 10% 相当)に適用し、半閉鎖性の包帯で覆った。適用 24 時間後に適用部位を温水で洗浄した。

試験項目: 中毒症状、適用部位の異常及び生死を 14 日間観察した。体重は試験開始時、投与 7 及び 14 日後に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
L D ₅₀ (mg/kg)	>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び消失時間	症状を認めず
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	2000

死亡及び中毒症状は観察されず、体重及び剖検所見における異常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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

4-3) ナリアWDGのウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 F-11)

試験機関: [GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ピラクロストロビン 6.8%、ボスカリド 13.6%水和剤

[組成] 有効成分: ピラクロストロビン

ボスカリド

界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ, 7-8 カ月齢,

適用時体重: 雄 3.61~3.96、雌 4.14 kg, 雄 2 匹, 雌 1 匹

試験期間: 7 日間観察

方法: 蒸留水で湿らせた検体 0.5g を刈毛した動物の脇腹上部 3 分の 1 の皮膚 (約 2.5cm 四方) に 4 時間、半閉鎖貼付した。貼付終了後、皮膚に残った検体はポリエチレングリコール (Lutrol) 及び ポリエチレングリコール (Lutrol) / 水 (1:1) で洗浄した。

試験項目: 試験パッチ除去 1、24、48、72 時間及び 7 日後に貼付部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮形成及び浮腫) の有無等を観察し、OECD ガイドライン 404 及び EEC directive 92/69, L 383A, B. 4 に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点の平均値は以下のとおりであった。なお、3 匹の平均値の計算は 1993 年 4 月 27 日の EEC の基準 93/21 に従い、総平均値は 24、48、72 時間の採点に基づき算出した。

変 化	最高 評点	貼付開始後時間						採点の最高値
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	7 日	総平均	
紅 斑	4	2.0	1.7	1.3	1.0	0.0	1.3	2 (1, 24, 48 時 間)
浮 腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
合 計	8	2.0	1.7	1.3	1.0	0.0	1.3	

投与終了直後から 1 時間後まで全例に認められた中等度の紅斑はその後 72 時間観察時には軽度になり、7 日後には消失した。浮腫は認められなかった。以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対し軽度の刺激性があると結論する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

4-4) ナリアWDGのウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 F-12)

試験機関: [GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ピラクロストロビン 6.8%、ポスカリド 13.6%水和剤

[組成] 有効成分: ピラクロストロビン

ポスカリド

界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ, 4~5 カ月齢,

適用時体重; 雄 3.43kg, 雌 3.62~3.85kg, 雄 1 匹, 雌 2 匹

試験期間: 7 日間観察

方法: 先に実施した HET-CAM in vitro 試験より重度の眼刺激性が示唆されたため、洗眼試験を実施した。

検体 0.1mL バルク容量(約 51mg)を右眼瞼の結膜のうに 1 回適用し、左眼を無処理対照とした。適用した検体は 1 時間後に微温水で 1-2 分洗い流した。

試験項目: 適用 1、24、48、72 時間、7 及び 14 日後に角膜、結膜及び虹彩の刺激性変化を観察し、OECD ガイドライン 405 及び EEC L 383A, B.5 に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は以下のとおりであった。なお、3 匹の平均値の計算是 1993 年 4 月 27 日の EEC の基準 93/21 に従い、総平均値は 24、48、72 時間の採点に基づき算出した。

項目	最高 評点	適用後経過時間					採点の最高値	
		1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	総平均		
角膜 混濁	程度	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	面積	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
虹彩	2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
結膜	発赤	3	2.0	2.0	1.0	0.0	1.3	2.0(1, 24 時間後)
	浮腫	4	2.0	1.0	0.0	0.0	0.3	2.0(1 時間後)
	分泌物	3	1.3	0.3	0.0	0.0	0.1	2.0(1 時間後)
合計*	110	10.7	6.7	2.0	0.0	2.9		
症状		—	強膜血管	—	—			

* : 申請者が算出した Draiz 法に従う個体別動物の合計評点の平均値。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

検体の眼瞼結膜のうへの 1 回適用により、角膜、虹彩、結膜に反応が観察され
幾つかの症状も認められた。これらの症状は全例 72 時間後には消失した。

以上の結果から、洗眼を行った本試験条件下において検体はウサギの眼粘膜に対して刺激
性はないと判断された。

(申請者注：Draiz 法の評点より軽度刺激物に相当すると考えられる。)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

4-5) ナリアWDGのモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 F-13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:

検体純度: ピラクロストロビン 6.8%、ボスカリド 13.6%水和剤

[組成] 有効成分: ピラクロストロビン

ボスカリド

界面活性剤、鋳物質微粉等;

試験動物: Hartley系(Hsd Poc:DH(SPF))雌モルモット, 約7週齢, 体重297~398g,
対照群10匹, 試験群20匹

試験期間: 48時間観察

試験方法: [Buehler Test 改変法; 9回感作]

用量設定:

陽性対照: 試験結果の信頼性を検討するため, BASF 毒性研究所では感作性既知の陽性対照物質 alpha-hexylcinnamaldehyde 85%原体を用いた試験を1年に2回定期的に実施していることから, 本試験と平行した陽性対照試験は実施されていない。

経皮感作: 検体 60%再蒸留水調製液 0.5g を腹側部の皮膚に6時間閉鎖貼付した後, 蒸留水で洗い流した。この経皮感作を、1週間3回; 同じ部位に0~2日、7~9日、14~16日、合計9回行った。担体に使用した蒸留水は試験の結果に影響しないと考えたことから、対照群の動物には処理しなかった。

惹起: 9回目の感作から13日後に検体の60%再蒸留水調製液 0.5mg を試験群及び対照群の動物の刈毛した右腹側部の皮膚に6時間閉鎖貼付し、蒸留水で検体を除去した。

観察:

惹起のためのパッチ除去後24及び48時間に、適用部位の皮膚反応を肉眼的に観察し、Magnusson及びKligmanの基準*に従って以下のように判定した。(*The Identification of Contact Allergens by Animal Assay. The Guinea Pig Maximization Test. J. Invest. Dermatol. 52, 268-276(1969))

0: 反応を認めず

1: 不連続性あるいはムラのある紅斑

2: 中等度で連続性の紅斑

3: 重度の紅斑及び腫脹

結果：試験の結果を以下の表に示す。

9 回の経皮感作で適用 24 時間後には皮膚反応は認められなかった。

皮膚感作性試験 [Buehler Test 改変法 ; 9 回感作] 結果

表 1. 検体の試験結果

	感 作	惹 起	供 試 動物数	感作反応動物数		陽性動物数 (24 時間と 48 時間の合計)
				24 時間	48 時間	
試験群	60%	60%	20	0/20	0/20	0/20
対照群	—		10	0/10	0/10	0/10

表 2. 陽性対照の試験結果*1

		供試 動物数	感作反応動物数		陽性動物数 (24 時間と 48 時間の合計)
			24 時間	48 時間	
惹 起 後	10% 陽性対照	20	9/20	5/20	9/20
	溶媒対照	10	0/10	0/10	0/10

*1. 2003 年 5 月 2 日～2003 年 8 月 21 日実施
 感作濃度：20%
 陽性対照：Alpha-Hexylcinnamaldehyde 85%原体
 溶媒対照：ポリエチレングリコール [Lutrol E400 DAB]

惹起において対照群及び試験群の動物には皮膚反応は認められなかった。
 試験動物の体重増加量は、試験期間を通じて予測された範囲内であった。

従って、検体は 9 回感作による Buehler Test 改変法において最大調製可能濃度で実施した本試験条件下において皮膚感作性は陰性と判断された。

5-1) シグナムWDG () のラットにおける急性経口毒性 (資料 F-14)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

検体の純度: [組成] 有効成分 ピラクロストロビン
ボスカリド

供試動物: SD Rj:SD(10PS Han)系ラット 1群雌 6匹
試験開始時週齢 約 8 週齢、体重 197-233g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を 0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁して、一晚(約 18 時間)絶食させた動物 3 匹に 2000mg/kg の用量を強制単回経口投与した。第 1 回目の投与で死亡がなかったため、追加 3 匹に同様に強制単回経口投与した。投与容量は 10mL/kg とした。

試験項目: 死亡及び中毒徴候を毎日観察した。観察期間終了時の全生存動物の肉眼的病理検査を実施した。体重は試験第 1、8 及び 15 日目に測定した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌 > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
症状発現時間及び消失時間	発現: 投与 15 分後 消失: 投与第 2 日目
死亡の認められなかった 最高用量 (mg/kg)	雌 2000mg/kg

毒性徴候として全例に立毛がみられ、また 3/6 例に自発運動の低下がみられたが、いずれも投与第 1 日のみで第 2 日目には回復した。

体重は 2 例において投与第 1 日から第 8 日目までの増加量が研究所の背景蓄積データをやや下回ったが、以降は順調であった。

肉眼的病理検査では異常は認められなかった。

5-2) シグナムWDG () のラットにおける急性経皮毒性 (資料 F-15)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

検体の純度: [組成] 有効成分 ピラクロストロビン
ボスカリド

供試動物: Wistar 系ラット 1 群雌雄各 5 匹
試験開始時週齢 雄 8-12 週齢、雌 14-18 週齢、
体重 雄 229-260g、雌 216-230g

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁して、刈毛した動物の腹側部に適用し、パッチで覆って 24 時間半閉塞投与した。投与終了後、パッチを除去し、適用した部位を微温湯ですすいだ。

試験項目: 死亡及び中毒徴候を毎日観察した。検体適用部位の皮膚反応を投与終了 0.5 ~ 1 時間後、以降は毎週及び試験終了時に観察した。
体重は試験開始前、以降は毎週及び試験終了時に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄 > 2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡なし
症状発現時間及び消失時間	全身症状なし
死亡の認められなかった最高用量 (mg/kg)	雌雄 2000mg/kg
症状の認められなかった最高用量 (mg/kg)	雌雄 2000mg/kg

肉眼的病理検査では異常は認められなかった。投与部位における局所の皮膚所見も認められなかった。体重は順調な伸びを示した。

5-3) シグナムWDG () のウサギにおける皮膚刺激/腐蝕性試験
(資料 F-16)

試験機関：
報告書作成年： (GLP 対応)

検体の純度：〔組成〕有効成分 ピラクロストロビン
ボスカリド

供試動物： ニュージーランド白色ウサギ、雄 2 頭、雌 1 頭
試験開始時 6-7 ヶ月齢、試験開始時体重 3.83-4.00 Kg

観察期間： 7 日間

投与方法： 検体 0.5g を少量の蒸留水で湿らせて刈毛した動物の腹側部に適用し、パッチで覆って 4 時間半閉塞貼付した。適用終了後パッチを除去し、適用した部位の皮膚に残余の検体をポリエチレングリコール (PEG) 及び PEG/水 (1:1) でぬぐった。

観察・検査項目： パッチ除去直後、1、24、48、72 時間後及び 7 日目に適用部位の皮膚反応以下に示す Annex VI of Commission Directive 67/548/EEC に基づいて評点し、刺激性について評価した。

紅斑及び痂皮の形成

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑 (beet redness) から紅斑の評価を妨げない痂皮形成まで	4

浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫(かろうじて識別できる)	1
軽度浮腫(はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫(約 1mm の膨隆)	3
高度浮腫(約 1mm の膨隆と暴露範囲を超えた広がり)	4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結果： 各時点での皮膚反応評点を以下に示す。

動物 番号	皮膚 所見	最高 評点	パッチ除去後の時間					24-72 時間 の平均	
			0 時間	1 時間	24 時間	48 時間	72 時間		7 日
01	紅 斑	4	2	2	1	1	0	-	0.7
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	-	0.0
02	紅 斑	4	2	2	2	1	1	0	1.3
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0.0
03	紅 斑	4	2	2	2	1	1	0	1.3
	浮 腫	4	0	0	0	0	0	0	0.0
各観察時点での合計平均評点		8	2.0	2.0	1.7	1.0	0.7	0.0	

以上の結果より、本製剤は弱い皮膚刺激性を有すると結論する。

5-4) シグナムWDG () のウサギにおける眼刺激性試験 (資料 F-17)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

検体の純度: [組成] 有効成分 ピラクロストロビン
ボスカリド

供試動物: ニュージーランド白色ウサギ、雄 2 頭、雌 1 頭
試験開始時約 4 ヶ月齢、試験開始時体重 3.08-3.38 Kg

観察期間: 72 時間

投与方法: 検体 0.1mL (約 47mg) をウサギの右眼に適用した。24 時間後適用眼を 3-6mL
の水で 1-2 分間洗浄した。未処置の左眼を対照とした。

観察項目: 適用 1、24、48、72 時間後に処置眼の刺激性所見を以下に示す基準に基づいて
評点し、刺激性について評価 (Commission Directive 67/548/EEC, Annex
VI) した。

角膜混濁 (op):

混濁の程度 (最も濃い部分で評価する)

- 0 = 潰瘍または混濁なし
- 1 = 散在性またはび漫性の混濁 (通常の光沢の軽度のくもりとは異なる)、虹彩の細部は明瞭に識別可能
- 2 = 半透明部は用意に見分けられるが、虹彩の細部はやや不明瞭
- 3 = 真珠様光沢部位、虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかろうじて見分けられる
- 4 = 混濁角膜、混濁部を通して虹彩は見分けられない

角膜の範囲 (ar)*

- 1 = 4 分の 1 (以下) を超えない
- 2 = 4 分の 1 から 2 分の 1 まで
- 3 = 2 分の 1 から 4 分の 3 まで
- 4 = 4 分の 3 から表面全体まで

虹彩:

- 0 = 正常
- 1 = 著明な深い褶、充血、腫脹、中等度の角膜周擁部の充血、これらのいずれか、または組み合わせ、虹彩はまだ光に反応する (ゆるやかな反応は陽性)
- 2 = 対光反応消失、出欠、著しい組織の崩壊 (これらのいずれか、またはすべて)

*: この項目は引用したガイドラインとは別に実施した。

結膜発赤 (red):

(眼瞼及び眼球結膜で判定する 角膜及び虹彩では判定しない)

- 0 = 血管正常
- 1 = 一部の血管が明らかに充血
- 2 = び漫性の深紅色、ここの血管は容易に見分けられない
- 3 = び漫性の牛肉様赤色

結膜浮腫 (sw) :

(眼瞼結膜及び瞬膜、またはその一方)

- 0 = 腫脹なし
- 1 = 正常よりわずかな腫脹(瞬膜を含む)
- 2 = 眼瞼の外反を伴ったわずかな腫脹
- 3 = 眼瞼の 1/2 の閉鎖を伴った腫脹
- 4 = 眼瞼の 1/2 以上の閉鎖を伴った腫脹

目やに (dl) : *

- 0 = 目やになし
- 1 = 量にかかわらず正常とは違っている (正常動物の眼瞼内にある少量は含まない)
- 2 = 眼瞼とちょうど眼瞼に隣接した睫毛の濡れを伴った目やに
- 3 = 眼瞼と睫毛と眼のかなりの部分にわたる濡れを伴った目やに

*: この項目は引用したガイドラインとは別に実施した。

結果: 結果を以下の表に示す。

動物番号	刺激性所見		最高評点	観察時期				24-72hr の平均
				1 hr	24hr	48hr	72hr	
01	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0.0
		範囲	4	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	1	1	0	0.7
		浮腫	4	1	0	0	0	0.0
		分泌物	3	2	0	0	0	-
	合計点*		110	10	2	2	0	
他所見			A	A	A			
02	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0.0
		範囲	4	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	2	1	0	1.0
		浮腫	4	2	1	0	0	0.3
		分泌物	3	1	0	0	0	-
	合計点*		110	10	6	2	0	
他所見			A	A	A			
03	角膜	混濁	4	0	0	0	0	0.0
		範囲	4	0	0	0	0	-
	虹彩		2	0	0	0	0	0.0
	結膜	発赤	3	2	2	1	0	1.0
		浮腫	4	1	1	0	0	0.3
		分泌物	3	2	0	0	0	-
	合計点*		110	10	6	2	0	
他所見			A	A	A			
3頭の平均	角膜	混濁	4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
		範囲	4	0.0	0.0	0.0	0.0	-
	虹彩		2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	発赤	3	2.0	1.7	1.0	0.0	0.9
		浮腫	4	1.3	0.7	0.0	0.0	0.2
		分泌物	3	1.7	0.0	0.0	0.0	-
Draizeによる合計点		110	10.0	4.8	2.0	0.0		

*: Draize 法における合計評点: 結膜評点: (発赤評点+浮腫評点+分泌物評点) x 2 (最大 (3+4+3) x 2=20)

虹彩評点: 虹彩評点 x 5 (最大 2x5=10)、角膜評点: 混濁評点 x 範囲評点 x 5 (最大 4x4x5=80)

A: 強膜血管充血、外接している領域

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

以上の結果より、EU の基準では本製剤は本試験条件下でウサギの眼に刺激性を有しないと結論する。

5-5) シグナムWDG () のモルモットにおける皮膚感作性 (資料 F-18)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

検体の純度: [組成] 有効成分 ピラクロストロピン
ボスカリド

試験動物: Dunkin Hartley (Cr1:HA) 系モルモット 陰性対照群: 雌 10 匹
試験群: 雌 20 匹、試験開始時 5-8 週齢 体重 376-429 g

観察期間: 48 時間

試験方法: Buehler 変法

投与方法: 検体の溶媒には再蒸留水を用いた。

経皮感作: 検体 50% 水溶液 0.5g を塗布した 2 x 2cm² の 6 層のガーゼパッチを刈毛した動物の腹側部に 6 時間閉塞貼付した。この感作を週 3 回、計 9 回実施した。

溶媒として用いた再蒸留水が皮膚へ影響を与えることがないことから、対照群は無処置とした。

惹起: 最終感作の 13 日後に検体 25% 水溶液 0.5mL を塗布した 2 x 2cm² の 6 層のガーゼパッチを刈毛した動物の腹側部に 6 時間閉塞貼付した。
対照群も同様に処置を行った。

濃度設定根拠:

観察・検査項目: 感作では貼付開始 24 時間後に皮膚反応を観察した。惹起では貼付除去 24 及び 48 時間後に皮膚反応を観察した。皮膚反応は次頁に記載する基準を用いた。
体重を試験開始時及び終了時に測定した。

皮膚反応

- | | | |
|---|---|---------------|
| 0 | = | 目視の変化なし |
| 1 | = | 散在性 または 斑状の紅斑 |
| 2 | = | 中等度及び融合した紅斑 |
| 3 | = | 重度の紅斑及び浮腫 |
| * | = | 適用部位 ベージュ変色 |

結果： 結果を以下の表に示す。

感作結果

感 作	試 験 群
第1回感作	皮膚反応動物なし。
第2回感作	1例にスコア1。
第3回感作	皮膚反応動物なし。
第4回感作	1例にスコア1。
第5回感作	1例にスコア1。
第6回感作	皮膚反応動物なし
第7回感作	1例にスコア1。
第8回感作	1例にスコア1。
第9回感作	皮膚反応動物なし。

惹起結果

群	感 作	惹 起	供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)			
				24 時間後					48 時間後					24 時間	48 時間
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計		
0	1	2	3	計	0	1	2		3	計					
試験群	検 体 50%	検体 25%	20	20	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
対照群	無処置		10	10	0	0	0	0/10	5	0	0	0	0/10	0	0

対照群を含め、すべての動物に皮膚反応は認められなかった。
体重は順調に推移した。

陽性対照は本試験と同時に実施しなかった。以下に直近のデータを示した。

- 皮内感作濃度： AH 5%パラフィンオイル
AH 5%FCA+0.9%生食(1:1)溶液
経皮感作濃度： AH 10%Lutrol®E400 溶液
惹起濃度： AH 5%Lutrol®E400 溶液

[実施期間：2007年5月]

	惹起反応 (陽性反応動物数)					
	25% AH Lutrol®E400			溶媒対照 (Lutrol®E400)		
	24 時間	48 時間	計	24 時間	48 時間	計
対照群	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
試験群	13/20	9/20	13/20	1/20	0/20	1/20

AH: Alpha-Hexylcinnamaldehyde tech. 85%

Lutrol®E400: ポリエチレングリコール 400

以上の結果より、本製剤は本試験条件下で皮膚感作性はないと判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

6-1) カブリオ乳剤のラットにおける急性経口毒性

(資料 F-19)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

製剤組成: カブリオ乳剤 (バッチ番号:)

[組成] 有効成分;
ピラクロストロビン
その他成分

供試動物: Wistar 系ラット 1 群雌 3 または 6 匹

試験開始時週齢: 8-12 週齢

試験開始時体重: 176-195 g

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法に準ずる方法 (各投与段階の投与量のみガイドラインと異なる)

投与方法: 一晩絶食 (約 16 時間) したラットに、検体原液または水で希釈した検体を投与量 2000、500 および 300 mg/kg で強制経口投与した。

検査項目: 試験期間中、一般状態や生死を観察した。投与日は、数回の観察を行っている。また体重を投与直前および投与後 7・14 日に測定した。観察期間終了時には、二酸化炭素過麻酔により屠殺し、剖検を行った。

結果: 本試験の結果概要を下表に示す。

投与経路	経口
投与量 (mg/kg)	300・500・2000
LD ₅₀ (mg/kg)	500 < LD ₅₀ ≤ 2000
死亡開始および終了時間	投与後 2 時間から投与後 1 日
症状発現および消失時間	投与後 1 から 5 時間
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	< 300
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	300

初回投与 2000 mg/kg において、全 3 例で投与翌日に死亡が認められた。そこで 2 回目の投与量を 500 mg/kg としたところ、全 3 例で死亡が認められなかったため、同じ投与量で 3 回目投与を実施し、投与後 2 時間で 2/3 例の死亡が認められた。4 回目および 5 回目投与では投与量を 300 mg/kg としたところ、全 6 例とも死亡は認められなかった。一般状態観察では、すべての投与量において投与当日に、状態不良、呼吸困難および立毛などが投与日に認められた。体重の推移に影響は認められず、試験終了時の全生存動物に剖検で異常は認められなかったが、死亡動物では肺浮腫や小腸内容物の変色 (暗赤色) が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

6-2) カブリオ乳剤のラットにおける急性経皮毒性

(資料 F-20)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

製剤組成: カブリオ乳剤 (バッチ番号:)

〔組成〕有効成分:

ピラクロストロビン

その他成分

供試動物: Wistar 系ラット 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢: 雄 約 8 週齢 雌 約 12 週齢

試験開始時体重: 雄 228-247 g 雌 194-207 g

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体原液 5000 mg/kg を、刈毛した動物の背部および背側部 (40 cm²) に半閉塞帯を用いて 24 時間適用した。適用後に、皮膚に付着している検体を温水で洗浄除去した。

検査項目: 試験期間中、一般状態や生死を 1 日 1 回観察した。ただし投与日は、数回の観察を行った。また体重を投与直前および投与後 7・14 日に測定した。観察期間終了時には、二酸化炭素過麻酔により屠殺し、剖検を行った。

結果: 本試験の結果概要を下表に示す。

投与経路	経皮
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	> 5000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および消失時間	投与当日-12 日後
毒性兆候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	< 5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

雌雄とも死亡は認められず、適用部位の皮膚で、雌雄ともに紅斑 (グレード 1-3)、浮腫 (グレード 1 または 2) および痂皮形成が適用後から試験 12 日目まで認められた。

一般状態、体重および剖検では雌雄ともに異常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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

6-3) カブリオ乳剤のラットにおけるミストによる急性吸入毒性試験 (資料 F-21)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

製剤組成: カブリオ乳剤 (バッチ番号:)

[組成] 有効成分:

ピラクロストロビン

その他成分

供試動物: Wistar 系ラット 1 群雌雄各 5 匹

試験開始時週齢: 雄 約 8-10 週齢 雌 約 10-12 週齢

試験開始時体重: 雄 227.7-264.8 g 雌 184.3-247.0 g

観察期間: 14 日間

方法: 2 コンポーネント式噴霧器およびインフュージョン・ポンプを用いて液体エアロゾルを発生させ、動物の鼻部に 4 時間暴露した。暴露濃度および粒子径分布の解析には、1 時間毎に採取した試料 (暴露空気) を HPLC 法で解析し、算出した。

試験条件: 試験条件 (暴露条件を含む) の概要を以下に示す。

設定濃度 (mg/L)	8.8	20.9	100.9
実測濃度 (mg/L) *	1.04	2.02	4.68
粒子径分布 (%): 粒子径 (μm)			
< 1.2	6.0	5.4	6.7
1.2 - 2.8	42.1	39.2	33.9
2.8 - 5.5	45.9	24.0	49.2
5.5 - 8.5	2.0	6.6	7.5
8.5 - 18.2	1.6	0.8	0.4
18.2 - 29.5	0.5	0.4	0.5
> 29.5	1.5	2.4	1.9
空気力学的質量中位径 (μm)	2.9	3.1	2.4
呼吸可能な粒子径 (< 5.5 μm) の割合 (%)	93.9	89.9	89.8
チャンバー容積 (L)	55		
チャンバー内通気量 (L/min)	3		
暴露条件	エアロゾル・鼻部・4 時間		

* : 2 回算出値の平均値

検査項目: 試験期間中、生死および一般状態異常を 1 日 1 度観察した。ただし投与日は、数回にわたり観察した。また投与開始前および投与開始後 1・3・7・14 日に体重を測定した。試験終了日、動物を二酸化炭素による過麻酔で屠殺し、剖検を実施した。

結果： 本試験の結果概要を次表に示す。

本試験では、4.68 mg/L 投与により、投与当日または投与翌日に雌雄各 3 例 (3/5) の死亡が認められた (瀕死状態での切迫屠殺を含む)。2.02 mg/L では雌雄ともに死亡例は認められなかったが、1.04 mg/L では投与日に雄 1/5 例の死亡が認められた。雌では死亡は認められなかった。

一般状態観察では、呼吸異常 (呼吸音や呼吸速度など)、眼や鼻周囲の赤色素物沈着、姿勢異常および立毛などが全ての曝露濃度で認められた。

体重測定では、全ての曝露濃度で投与後最初の週 (1 週目) に体重減少が認められたが、その後の後半週 (2 週目) では増加が認められた。

試験終了時の剖検 (生存例剖検) では、1.04 mg/L 投与群の雄 1/4 例および 4.68 mg/L 投与群の雌 1/2 例で肺における赤色病巣が認められた。本試験では、1.04 mg/L 投与により雄 1 例が、4.68 mg/L 投与により雌雄各 3 例が死亡 (または切迫屠殺) しており、肺の瀰漫性変色 (暗赤色) が 1.04 mg/L 投与群雄 1 例に、4.68 mg/L 投与群では肺の局所性変色 (暗赤色)・瀰漫性変色 (暗赤色)・多発性赤色病巣、腺胃の黒色潰瘍巣および空腸の中等度拡張が認められた。

投与経路	吸入
曝露濃度：実測値 (mg/L)	1.04・2.02・4.68
LC ₅₀ (mg/L)	雄：4.78 雌：4.55 雌+雄：4.48
死亡開始および終了時間	雌雄：投与日から投与翌日
症状発現および消失時間	雌雄：投与後 1 時間から 14 日
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/L)	雄：2.02 (ただし 1.04 mg/L で 1 例死亡) 雌：2.02

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

6-4) カブリオ乳剤のウサギにおける皮膚刺激性試験

(資料 F-22)

試験機関:

報告書作成年: (GLP 対応)

製剤組成: カブリオ乳剤 (バッチ番号:)

〔組成〕有効成分:

ピラクロストロビン

その他成分

供試動物: ニュージーランド・ホワイト系ウサギ 雄 2 匹 雌 1 匹

試験開始時週齢: 6-7 ヶ月齢

試験開始時体重: 雄 3.72-4.04 kg 雌 3.96 kg

観察期間: 14 日間 (皮膚反応評価は 72 時間)

投与方法: 検体原液をテストパッチ (2.5 x 2.5 cm) を用い、検体 0.5 mL を非擦過皮膚に 4 時間適用、半閉塞帯で適用部位を固定した。適用処理後、皮膚に付着している検体は、LUTROL[®] および LUTROL[®] 水混合液 (1:1) で洗浄除去した。また本試験では、同じ動物の未処理部位を陰性対照とした。

* LUTROL[®] E 400: ポリエチレングリコール

検査項目: ガーゼ除去後 1・24・48・72 時間および適用後 1 週間毎に (適用後 7 および 14 日) で、皮膚刺激を下表に示す基準に従い評価した。また本試験期間中、動物の生死および一般状態を毎日観察した。

表 皮膚刺激性・腐食性の評価基準

紅斑および痂皮形成	評点
紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑から軽度の痂皮形成	4
浮腫の形成	
浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫	1
軽度の浮腫 (はっきりした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度の浮腫 (約 1 mm の膨隆)	3
高度の浮腫 (1 mm 以上の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結果： 本試験の結果概要を下表に示す。
 本試験では、適用後 1 時間で全例に紅斑・痂皮形成（評点 2）および浮腫形成（評点 2）が認められた。浮腫形成は、適用 24 時間後以降は回復傾向にあり、適用後 14 日に消失した。紅斑・痂皮形成はむしろ悪化し（評点 3）、適用後 14 日でも消失しなかった。

以上の結果より、本剤はウサギ皮膚に対し弱い刺激性を有すると考えられる。

表 結果概要

動物番号	項目	最高 評点	検体除去後時間						24-72 時 間 平均
			時間				日		
			1	24	48	72	7	14	
検体処置部									
動物番号 01 ♂	紅斑・痂皮	4	2	3	2	2	2	1	2.3
	浮腫	4	2	2	1	1	1	0	1.3
動物番号 02 ♀	紅斑・痂皮	4	2	3	3	3	2	2	3.0
	浮腫	4	2	1	1	0	0	0	0.7
動物番号 03 ♂	紅斑・痂皮	4	2	3	3	3	3	1	3.0
	浮腫	4	2	1	1	1	1	0	1.0
合計	紅斑・痂皮	12	6	9	8	8	7	4	8.3
	浮腫	12	6	4	3	2	2	0	3.0
平均	紅斑・痂皮	4.0	2.0	3.0	2.7	2.7	2.3	1.3	2.9
	浮腫	4.0	2.0	1.3	1.0	0.7	0.7	0.0	1.0

対照領域（無処置部）に異常な所見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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

6-5) カブリオ乳剤のウサギにおける眼刺激性試験

(資料 F-23)

試験機関：

報告書作成年： (GLP 対応)

製剤組成：カブリオ乳剤 (バッチ番号：)

〔組成〕有効成分：
ピラクロストロビン
その他成分

供試動物： ニュージールランド・ホワイト系ウサギ 雄 2 匹 雌 1 匹

試験開始時週齢：約 4 ヶ月齢 (雄 1 匹のみ 6-7 ヶ月齢)

試験開始時体重：雄 2.86-3.82 kg 雌 3.16 kg

観察期間： 14 日間 (眼反応評価は 72 時間)

投与方法： 検体原液 0.1 mL を右眼瞼の結膜嚢に点眼投与した。適用 24 時間後、適用部位を温水で洗浄した。また本試験では、無処置の左眼を対照とした。

検査項目： 適用後 1・24・48・72 時間および適用後 7・14 日で、眼刺激を表 1 に示す基準に従い評価した。

本試験期間中、一般状態および生死を毎日観察した。また適用直前および観察期間終了時に体重を測定した。

結果： 本試験の結果概要を表 2 に示す。

本試験では、適用後 1 時間で角膜および虹彩に刺激反応は認められなかったが、結膜に中等度の陽性反応が認められた。適用後 24 時間では、角膜や虹彩にも軽度から重度の反応が認められ、適用 7 日後に消失した。結膜の刺激性反応は 2/3 例で適用 7 日後に消失したが、1/3 例の結膜の発赤は 14 日後に完全に消失するまで継続した。

以上の結果より、本剤は眼に対する刺激性を有すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

表 1. 眼刺激性・腐食性の評価基準

角膜	
(A) 混濁の程度	
潰瘍または混濁を認めない	0
散在性または瀰漫性の混濁（通常の光沢を持った軽度の曇りとは異なる） 虹彩の細部は明瞭に透視可能	1
透明な部分は残っている 虹彩の全体がやや不明瞭	2
乳白色領域あり 虹彩の細部は不明で瞳孔の大きさがかろうじて見分けられる	3
白濁しており虹彩は見分けられない	4
(B) 角膜損傷域	
正常	0
$0 < X \leq 1/4$	1
$1/4 < X \leq 1/2$	2
$1/2 < X \leq 3/4$	3
$3/4 < X$	4
評点：A x B x 5（最大値：80）	
虹彩 (A)	
正常	0
深いひだ・充血・腫脹・角膜周囲の充血（いずれかまたは組合せ） 虹彩はまだ光に反応する（遅く鈍い反応は陽性）	1
対光反応消失・出血・著しい組織崩壊（いずれかまたは全て）	2
評点：A x 5（最大値：10）	
結膜	
発赤 (A)	
血管正常	0
一部の血管が明らかに充血	1
瀰漫性の深紅色 個々の血管は容易には見分けられない	2
瀰漫性の牛肉様赤色	3
結膜浮腫 (B)	
浮腫なし	0
正常を越える腫脹（瞬膜を含む）	1
眼瞼の外反を伴った明らかな腫脹	2
眼瞼の1/2未満の閉鎖を伴った腫脹	3
眼瞼の1/2以上の閉鎖を伴った腫脹	4
分泌物 (C)	
分泌物なし	0
正常とは異なる分泌量（正常動物の内眼角に観察される少量は含まない）	1
眼瞼および眼瞼に隣接する被毛の湿潤を伴う分泌物	2
眼瞼および被毛並びに眼周囲の相当範囲の湿潤を伴う分泌物	3
評点：(A + B + C) x 2（最大値：20）	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

表 2. 結果概要

動物番号	項目	最高 評点	適用後時間						24-72 時間 平均	
			時間				日			
			1	24	48	72	7	14		
非洗眼群										
動物番号 01♂	角膜	混濁程度	4	0	1	2	2	0	0	1.7
		混濁領域	4	0	4	2	2	0	0	2.7
	虹彩		2	0	1	1	1	0	0	1.0
	結膜	発赤	3	2	2	3	3	1	0	2.7
		浮腫	4	2	3	2	2	0	0	2.3
分泌物		3	3	3	3	1	0	0	2.3	
動物番号 02♂	角膜	混濁程度	4	0	1	1	1	0		1.0
		混濁領域	4	0	4	4	3	0		3.7
	虹彩		2	0	1	1	0	0		0.7
	結膜	発赤	3	2	3	2	2	0		2.3
		浮腫	4	2	2	2	1	0		1.7
分泌物		3	3	3	3	1	0		2.3	
動物番号 03♀	角膜	混濁程度	4	0	1	1	1	0		1.0
		混濁領域	4	0	4	2	2	0		2.7
	虹彩		2	0	0	0	1	0		0.3
	結膜	発赤	3	2	2	2	2	0		2.0
		浮腫	4	2	2	1	1	0		1.3
分泌物		3	3	3	1	0	0		1.3	
評点	合計	330	42	116	98	81	2	0	101.4	
	平均	110.0	14.0	38.7	32.7	27.0	0.7	0.0	33.8	

動物番号 02 および 03 は、適用後 7 日で完全に回復していたので観察期間終了とした

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin
(資料F-24)

6-6) カブリオ乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

試験機関：
報告書作成年： (GLP 対応)

製剤組成：カブリオ乳剤 (バッチ番号：)

〔組成〕有効成分：
ピラクロストロビン
その他成分

供試動物： Hartley系モルモット 1群雌 20匹 (陰性対照群は10匹)

試験開始時週齢：5-8週齢

試験開始時体重：417-510 g

観察期間： 48時間

方法： Maximization法

用量設定根拠：

表. 用量設定

処置		適用液
感作	皮内感作	5%溶液 (生理的食塩水または生理的食塩水・Freund's complete adjuvant 1:1混合溶液)
	経皮感作	50%溶液 (脱イオン水)
惹起	経皮惹起 (1回目)	25%溶液 (脱イオン水)
	経皮惹起 (2回目)	10%溶液 (脱イオン水)

皮内感作処置：頸部皮内に投与し、24時間後に反応を観察した。

経皮感作処置：皮内感作処置の1週間後、毛刈りした頸部 (皮内感作処置と同じ部位) に、検体 1 mL をガーゼ・パッチ (2 x 4 cm) を用いて 48時間適用した。適用後、処置部位 (皮膚) の反応を評価した。

惹起処置：経皮感作処置の2週間後、第1回の惹起処置を実施、さらに1週間後に第2回を実施した。毛刈りした体側部に検体 0.5 mL をガーゼ・パッチ (2 x 2 cm) で 24時間適用した。

皮膚反応評価：適用 24 および 48時間後、表1に示す基準に従い、皮膚反応を評価した。

陽性対照： α -ヘキシルシンナムアルデヒド (HCA) を用いた陽性対照試験を、別途実施している。10月から11月にかけて実施された試験成績を結果の項に示す。

表1. 皮膚反応評価基準

肉眼的変化なし	0
散在性または斑状の紅斑	1
中等度の瀰漫性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

検査項目：本試験期間中、動物の生死を毎日観察した。また、試験開始時および試験終了時に動物の体重を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

結果： 本試験の結果概要を表2に示す。
 本試験期間中、死亡例は認められず、また体重の推移に異常は認められなかった。
 感作処置による皮膚反応としては、皮内感作処置後の検体適用部位に重度の紅斑形成および腫脹が認められた。同様に、経皮感作処置後には痂皮形成が認められた。
 惹起処置後、中等度の紅斑形成が第1回・第2回に共通して認められ、また腫脹が第2回目の惹起処置後に認められた。

以上の結果から、本剤はモルモットに対し感作性を有すると考えられる。

表2. 結果概要

群	動物数	感作		惹起	観察 (時間)	皮膚反応動物数				陽性率 (%)	
		皮内	経皮	経皮		皮膚反応評点					
						0	1	2	3		
第1回目惹起 (検体 25%)											
対照群	10	0.9% NaCl	無処置	検体 25%	/	24	7	2	1	0	30
						48	9	1	0	0	
試験群	20	検体 5%	検体 50%	検体 25%	/	24	6	11	3	0	70
						48	12	5	3	0	
第2回目惹起 (検体 10%)											
対照群	10	0.9% NaCl	無処置	検体 25%	検体 10%	24	10	0	0	0	0
						48	10	0	0	0	
試験群	20	検体 5%	検体 50%	検体 25%	検体 10%	24	15	0	5	0	35
						48	13	1	6	0	
陽性対照 (数値は陽性動物数/全動物数)											
対照群	5	溶媒*	溶媒**	溶媒**	24	0/5				0	
					48	0/5					
対照群	5	溶媒*	溶媒**	検体 5%**	24	0/5				0	
					48	0/5					
試験群	10	検体 5%*	検体 10%**	溶媒**	24	0/10				0	
					48	0/10					
試験群	10	検体 5%*	検体 10%**	検体 5%**	24	10/10				100	
					48	10/10					

*:パラフィンオイル

** : Lutrol® E 400 : ポリエチレングリコール

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動物・植物・土壌等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝・分解 1 (GLP)	動物体内における動態試験	ラット 雌雄	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物の低用量 (5mg/kg) 及び高用量 (50mg/kg) の単回経口投与、非標識化合物 50mg/kg/日 x 14日投与後標識化合物 5mg/kg を1回投与での反復経口投与により ^{14}C の尿、糞、呼吸への排泄、胆汁排泄、各臓器での分布、血漿中濃度の経時的な推移を調査した。	被験物質は経口投与後急速に吸収され(吸収率: 低及び高用量共にほぼ50%)、全臓器に分布する(C_{max} 値: 低及び高用量共に投与0.5時間後/♀~8時間後/♂)が、臓器中の放射能は急速に消失し投与120時間後の全臓器における放射能は1 $\mu\text{gEq/g}$ (1ppm)より低かった。経口投与では主として糞中に排泄され最初の48時間で低及び高用量共に74~91% TAR, 尿中排泄は同10~13% TARであった。呼吸中に放射能は検出されなかった。投与120時間後における糞・尿中排泄量は90~105% TARであった。反復投与における動物体内での蓄積は認められなかった。胆汁中排泄は低用量と高用量投与間に差はなく投与48時間後で35~38% TARであった。	()	代 16
代謝・分解 2 (GLP)	動物体内における代謝試験	ラット 雌雄	動態試験と同様に、「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物の低用量 (5mg/kg) 及び高用量 (50mg/kg) の単回経口投与、非標識化合物 50mg/kg/日 x 14日投与後標識化合物 5mg/kg を1回投与での反復経口投与し、尿及び糞中、胆汁中、血漿中、肝臓中及び腎臓中の放射性成分について同定・定量した。	抱合体も含めて全部で33個の代謝物が同定され、経口投与での主要排泄経路である糞中の主要代謝物は %TARであった。少量の未変化親化合物が糞中に検出されたが、尿中及び胆汁中には検出されなかった。また、血漿中最高濃度到達時間の近くにおける血漿中の未変化親化合物は<0.01% TARか、検出されなかった。同時点においては肝臓中には微量検出された。腎臓中に微量検出された放射能の大部分は未変化親化合物であった。雄動物と雌動物の間には代謝に関する明らかな差は認められず、単回投与と反復投与の間にも生成代謝物に質的あるいは量的な変化は認められなかった。	()	代 27
代謝・分解 3 (GLP)	ぶどうにおける代謝試験	ぶどう (樹齢 約5年)	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物を16~19日間隔で6回散布し(処理量合計 1.5kg A. l./ha) 最終処理40日後に果実及び葉を採取し、果実中の放射性成分について同定・定量した。	果実中の主要放射性成分は未変化の親化合物及び であった。他に検出された代謝物は 4% TRRを超えるものではなかった。標識位置が異なっても代謝パターンは同じで、単環化合物への開裂は認められなかった。非抽出性放射性成分は微量で、リグニン及びセルロース等の高分子作物成分と結合していた。	()	代 37
代謝・分解 4 (GLP)	馬鈴薯における代謝試験	馬鈴薯	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物を6~10日間隔で6回(300g A. l./ha x 6回) 散布した。3回散布後に未成熟試料を、6回目の最終散布7日後に成熟試料を採取して茎葉、塊茎及び根部の各部位に分けた。それぞれの試料中の放射性成分について同定・定量した。	未成熟試料及び成熟試料いずれにおいても茎葉部の放射能が最も高く、塊茎部では茎葉部の0.1%以下であった。「 α 」処理試料と「 β 」処理試料では抽出効率は「 α 」処理試料の方が高く、検出された代謝物も「 α 」試料の方が数が多かった。食用部位である塊茎中の主要放射性成分は、「 α 」及び「 β 」処理試料いずれにおいても未変化の親化合物で、主要代謝物は であった。他に最大 % TRR検出された代謝物は であることが確認された。その他の代謝物はいずれも10% TRRを超えるものではなく、大部分は<5% TRRであった。	()	代 43
代謝・分解 5-1 (GLP)	小麦における移行試験	小麦	^{14}C -「 α 」標識化合物を異なる生育段階で各1回作物の第3葉、第2葉及び/あるいは第1葉に処理(250g A. l./ha)した。収穫後、処理部位及び処理後に生育した未処理部位について放射能を測定し、移行性を検討した。	第3葉、第2葉に処理した場合、第1葉の放射能は処理部位の0.4~1.0%、第2葉、第1葉に処理した場合の穂における放射能は同1.4~1.5%で、新たに展開した部位への移行が極めて小さいことが確認された。	()	代 51

資料 No.	試験の種類	供試動物・植物・土壌等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝・分解 5-2 (GLP)	小麦における代謝試験	小麦	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物を24~25日間隔で2回(300gA. l./ha x 2回)散布し、最終散布31日後(青刈り試料)及び同41日後(成熟試料)を採取した。成熟試料は子実、籾殻、麦わらに分けた。それぞれの試料中の放射性成分について同定・定量した。	小麦における代謝パターンは麦わらと青刈り試料では同様であったが、食用部位である子実とは異なっていた。麦わらと青刈り試料中の主要放射性能は未変化の親化合物とであった。食用部位である子実試料でも同様にこれらが検出されたが量的には微量であった。子実中においては、 β を生成することが確認された。他に検出された代謝物は α %TRRで、大部分は β %TRRとマイナーなものであった。	()	代 53
代謝・分解 6 (GLP)	ハウサイにおける代謝試験	はくさい	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物の13gA. l./10a相当を1週間間隔で3回散布し、最終散布3日後に試料を採取した。外葉部と結球部に分け、それぞれ試料中の放射性成分について同定・定量した。	「 α 」、「 β 」いずれの標識化合物においても、外葉部の放射性能は結球部の約3倍で標識位置の違いによる差は認められなかった。外葉部及び結球部に検出された放射性能の大部分は未変化の親化合物で、標識位置の違いによる差は認められなかった。検出された主要代謝物は β で、他は最大でも α %TRRでマイナーなものであった。	()	代 64
代謝・分解 7-1 (GLP)	土壌における代謝試験 「 α 」標識	畑地土壌 (壤質砂土)	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物を約0.3ppm乾土で土壌水分を最大容水量の40%に調整した土壌に混和し、好気条件、暗条件下で0~360日間インキュベートし、経時的に土壌中における分解・代謝について検討した。	好気条件土壌中では「 α 」及び「 β 」いずれの標識化合物処理においても非抽出性残留成分(結合型残留物)の生成が速く、処理後31~33日で47~53%となった。無機化は低く、試験終了時でも8~11%であった。揮発性成分はいずれの標識化合物処理においても検出されなかった。親化合物の好気条件下における土壌中の推定DT ₅₀ は12日(「 α 」)~14日(「 β 」)、DT ₅₀ は143日(「 α 」)~152日(「 β 」)となった。検出された主要分解物は β であった。	()	代 71
代謝・分解 7-2 (GLP)	同上 「 β 」標識			「 β 」標識化合物処理においても非抽出性残留成分(結合型残留物)の生成が速く、処理後31~33日で47~53%となった。無機化は低く、試験終了時でも8~11%であった。揮発性成分はいずれの標識化合物処理においても検出されなかった。親化合物の好気条件下における土壌中の推定DT ₅₀ は12日(「 α 」)~14日(「 β 」)、DT ₅₀ は143日(「 α 」)~152日(「 β 」)となった。検出された主要分解物は β であった。		
代謝・分解 17 (GLP)	土壌における分解挙動	壤質砂土 3種 壤土1種	「 α 」標識化合物を圃場での処理量250gA. l./ha相当量を乾土に混合し、土壌水分を最大容水量の20又は40%に調整し、温度5、20、30℃の暗所でインキュベートした。又、水分40%の滅菌土壌を温度20℃で同様にインキュベートした。経時的に120日後まで土壌中における分解挙動について検討した。	滅菌土壌及び低温(5℃)条件下ではほとんど分解が認められなかった。これは土壌微生物の不在及び不活性によるものと考えられた。高温(30℃)条件下では分解がやや促進されたが、代謝物の量は20℃条件より少なかった。土壌水分含量が少ない条件下における分解はやや遅く、これは土壌微生物にとって生息環境が適当でないためと考えられた。	()	代 79
代謝・分解 8 (GLP)	土壌における光分解	壤質砂土 砂壤土-1 砂壤土-2	「 α 」及び「 β 」を ^{14}C でそれぞれ標識した化合物を圃場での処理量250gA. l./ha相当量を土壌水分を最大容水量の40%(40%MWC)及び80%(80%MWC)に調整した各土壌の表層に処理し、キノン灯(約3mW/cm ² , <290 nmをカット)を0~15日間照射して、経時的に土壌表層における光分解について検討した。非照射試料についても試験した。	40%MWC土壌の光照射条件下での挙動は、「 α 」及び「 β 」いずれの標識化合物で処理した土壌においても同様であった。検出された揮発性成分はCO ₂ のみで、無機化率は照射土壌の方がわずかに高かったが、結合型残留物は照射・非照射共に同程度であった。80%MWC土壌では結合型残留物が40%MWC土壌の照射試料で約3倍、非照射試料では約2倍となった。分解物として検出された親化合物の β はいずれの試料においても α %TARであった。 β 及び α の生成は、照射試料では最大でも約 α %TARであったが、非照射試料では最大約 β %TARで、また α の生成は土壌水分の多い方が大きかった。土壌表層光分解での被験物質の推定DT ₅₀ は40%MWCで約32日(非照射)~約37日(照射)、80%MWCでは約9日(照射)~約10日(非照射)であった。標識位置の違いによる差は認められなかった。	()	代 85

資料 No.	試験の種類	供試動物・植物・土壌等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝・分解 9 (GLP)	土壌吸着試験	軽 埴 土 軽 埴 土 重 埴 土 埴質砂土	4濃度の被験物質溶液 (0.12~1.2mg/L) と水を土壌にを加え (土壌:水=1:11), 2, 4, 8, 16 時間振盪後, 分析して吸着平衡時間を求めた。この結果に基づき16時間振盪後, 上澄み相と沈殿土壌それぞれについて分析し吸着係数を算出した。	試験した4種類の土壌いずれも振盪16時間で平衡濃度に達した。16時間振盪により得られた結果から各試験土壌について有機炭素含量に基づく吸着係数(Koc)を算出し, それぞれの土壌における値は以下のとおりであった。 軽埴土(茨城): 15600 軽埴土(高知): 22800 重埴土(茨城): 6440 埴質砂土(宮崎): 3400	()	代 91
代謝・分解 15-1 (GLP)	土壌吸着試験 (分解物)	砂土/ 埴質砂土 砂埴土 埴質砂土 (2種) 埴土 砂質埴埴土	1µg/Lの被験物質濃度で土壌:水相=1:10として, 24時間まで振盪とうし, 吸着平衡時間を求めた。この結果に基づき, 4時間振盪後, 上澄みと土壌中の放射能をLSCで計数して, 吸着係数を求めた。	試験した6種類の土壌いずれも吸着平衡時間は4時間であった。土壌別吸着係数(Koc)は以下のとおりであった。 砂土/埴質砂土(独): 3360 砂 埴 土(独): 16550 埴質砂土(独): 31830 埴質砂土(米国): 91650 埴 土(米国): 126800 砂質埴埴土(カナダ): 18500	()	代 94
代謝・分解 15-2 (GLP)	土壌吸着試験 (分解物)	砂土/ 埴質砂土 砂埴土 埴質砂土 (2種) 埴土 砂質埴埴土	2.5µg/Lの被験物質濃度で土壌:水相=1:10として, 24時間まで振盪とうし, 吸着平衡時間を求めた。この結果に基づき, 16時間振盪後, 上澄みと土壌中の放射能をLSCで計数して, 吸着係数を求めた。	試験した6種類の土壌いずれも吸着平衡時間は16時間であった。土壌別吸着係数(Koc)は以下のとおりであった。 砂土/埴質砂土(独): 4020 砂 埴 土(独): 29950 埴質砂土(独): 37950 埴質砂土(米国): 135900 埴 土(米国): 149900 砂質埴埴土(カナダ): 15950	()	代 97
代謝・分解 10-1 (GLP)	土壌における浸透移行性試験 (カラムリーチング)	砂 土 埴質砂土 -1 砂 埴 土 埴質砂土 -2	¹⁴ C-「 」標識化合物を乾土換算0.5ppm添加した各試験土壌をCaCl ₂ 溶液飽和無処理土壌充填カラム(充填層約27cm, 60mm間隔で5つの分画)の上部に充填後, 降水量200mm相当を暗条件で2日間かけて灌水し, 各分画における放射能を測定した。	試験した4種類の土壌いずれも, 最上位の分画1に>90%TAR, 分画2で< %TARの放射能が検出され, 分画3以降には放射能は検出されなかった。分画1及び2の抽出可能放射性成分と非抽出性放射性成分の比率はほぼ同程度で, 前者の大部分が未変化の親化合物と推定された。カラムからの浸出液中にも放射能は検出されなかった。	()	代 100
代謝・分解 10-2 (GLP)	土壌における浸透移行性試験 (30日間熟成後のカラムリーチング)	砂 土 (注: 上記の「10-1」の砂土と同じ)	¹⁴ C-「 」標識化合物を乾土換算0.5ppm添加した各試験土壌をCaCl ₂ 溶液飽和無処理土壌充填カラム(充填層約27cm, 60mm間隔で5つの分画)の上部に充填後, 降水量200mm相当を暗条件で2日間かけて灌水し, 各分画における放射能を測定した。	放射能は最上位の分画1に>90%TAR, 分画2で< %TARの検出され, 分画3以降には放射能は検出されなかった。カラムからの浸出液中にも放射能は検出されなかった。分画1及び2の抽出可能放射性成分と非抽出性放射性成分の比率はほぼ同程度で, 前者の大部分が未変化の親化合物で, 分解物が微量検出された。	()	代 103
代謝・分解 11 (GLP)	水中光照射における代謝試験	pH5緩衝液	約0.5mg/L濃度でpH5緩衝液に溶解し, キセノン灯(約3.0mW/cm ² , <290nmをカット)を0~25日間照射して, 経時的に溶液中の光分解について検討した。非照射試料についても試験した。試験は滅菌状態で行った。	「 », 「 」標識化合物溶液いずれにおいても揮発性成分はCO ₂ のみであった。溶液中における被験物質の減衰は速く, 照射1日以内にほとんどが分解した。光分解に起因する分解物が検出されたが, 一時的に %TARを超える主要な分解物は5個であった。非照射試験溶液中での分解は認められなかった。被験物質の水溶液中での光照射による半減期は約1.4時間と推定された。標識位置の違いによる差は認められなかった。	()	代 106
代謝・分解 16 (GLP)	水中光分解試験	自然水 (池の水)	ろ過滅菌したpH約8の自然水に溶解して約0.5mg/Lの溶液を調製し, キセノン灯(約3.0mW/cm ² , <290nmをカット)を15時間照射し, 経時的に光分解物について検討した。温度は22±1°Cに維持した。	「 », 「 」標識化合物とも自然水中で速やかに分解し, 5個の分解物が同定され, さらにCO ₂ へ無機化された。DT ₅₀ は0.15日, DT ₉₀ は0.49日であった。	()	代 112

資料 No.	試験の種類	供試動物・植物・土壌等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝・分解12 (GLP)	水/底質系における光照射代謝試験	自然の水/底質系	天然の池より採取した水/底質系試料に「 」及び「 」を ¹⁴ Cでそれぞれ標識した化合物を実使用量の2倍相当添加し、ヨーロッパ中央部の5~7月における温度・日照条件に設定したファイトロンで62日間試験した。	被験物質が水中に入った場合、光反応により極めて急速に極性物質を含む多くの分解物を生成する(主要分解物は3種)と同時に、底質相中でも分解し(主要分解物は1種)急速に底質相に吸着された。底質相中では最終的に結合型残留物となり、被験物質の自然環境系での挙動が2つの主要な分解及び消失経路に従うことが明らかとなった。被験物質の推定半減期は水相で5日、底質相では4日であった。	()	代118
代謝・分解13 (GLP)	水中光分解試験	精製水 自然水 (河川水)	被験物質の0.5mg/L溶液にキノン灯(約600W/m ² , 290~800nm)を0~96時間照射して、経時的に溶液中の光分解について検討した。非照射試料についても試験した。	被験物質は精製水及び自然水(河川水)いずれにおいても光照射により分解し、半減期は56時間(河川水)~59時間(精製水)と推定された。非照射では、精製水中での分解は認められず、河川水では分解は緩やかで半減期は859時間と推定された。	()	代128
代謝・分解14-1 (GLP)	加水分解試験	pH9, 7, 5, 4 緩衝液	「 」及び「 」を ¹⁴ Cでそれぞれ標識した化合物で調製した試験溶液について下記の加水分解試験を行った。 暗条件、滅菌条件試験： ・約1mg/L：pH4, 5, 7, 9溶液/50°C ・約0.5mg/L：pH5, 7, 9溶液/25°C ・約3mg/L：pH9溶液/50°C	50°C試験では、「 」, 「 」標識化合物溶液いずれにおいてもpHが高いほど加水分解物が検出された(pH9で最大約13% TAR)が、pH4, 5, 7では分解物は全て<2% TARであった。また、pH9で検出された分解物は全て既知の代謝物あるいは分解物であった。25°C試験においては、pH5, 7では加水分解は認められず、pH9で3種の分解物が検出されたが、いずれも散発的で5% TARを超えるものではなかった。滅菌、加熱及び殺菌条件で行った加水分解試験においても被験物質が加水分解的に安定であることが認められた。	()	代130
代謝・分解14-2 (GLP)	加水分解試験 (高温条件)	pH6, 5, 4 緩衝液	暗条件の高温試験： ・約0.5mg/L：pH4溶液/90°C (20分間還流) ・約0.5mg/L：pH5溶液/100°C (60分間沸騰) ・約0.5mg/L：pH5溶液/120°C (20分間殺菌)		()	
物化性12	生物濃縮性	ブルギル ¹⁴ C-標識化合物 /	「 」及び「 」を ¹⁴ Cでそれぞれ標識した化合物で調製した試験溶液について下記の生物濃縮性試験を行った。 ・試験水温：20.2~23.5°C ・被験物質平均濃度： /305ng/L、 /300ng/L ・流量：約300L/日 ・密度：約2.5g/L(約150尾x1g体重/60L水量) ・飽和溶存酸素濃度：>80% ・取込期間：35日 ・排泄期間： 21日、 14日	取込試験の結果、試験開始28日後に最大の放射能取込が認められた。two-compartmentモデルによる体内動態解析の結果、試験開始2.3~3.2日後に取込平衡状態の90%に達し、及び で非可食部の取込速度定数k1はそれぞれ994及び833で、排泄速度定数k2はそれぞれ0.711及び0.797であった。試験開始28日後に代謝物、及び が認められた。濃縮係数は試験開始28日後の全魚体 において最大であり、507であった。	()	代136

「
」標識： 標識化合物
「
」標識： 標識化合物

%TRR： 総放射活性残留量に対する比率
%TAR： 総投与放射活性に対する比率

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

1. 「 」標識化合物の合成経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

2. 「 」標識化合物の合成経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

<代謝物一覧表>

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式
A	親化合物	M00 ()	methyl N-{2-[1-(4-chlorophenyl)-1H-pyrazol-3- yloxymethyl] phenyl} (N-methoxy)carbamate	
				又は

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由 来	名称(略称)	化 学 名	構 造 式

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由来	名称(略称)	化学名	構造式

(つづく)

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

(つづき)

記号	由 来	名称(略称)	化 学 名	構 造 式

注：結合「基」の位置が特定できなかった代謝物については、その位置を化学名の中に「-?-」で示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1. 動物体内運命に関する試験

1-1. ¹⁴C-標識ピラクロストロビンのラットにおける生体内動態試験

(代謝・分解 1)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試化合物：

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置設定理由：

試験方法：

試験した実験群の構成、供試動物、投与量、投与方法、試験内容等については、別紙「表 1. 実験群の構成及び内容」にまとめた。

投与量設定根拠：

放射能の測定：

尿、糞及び呼気を採取するため、投与後直ちに動物をガラス製代謝ケージに收容した。液体試料(血漿、尿、胆汁、ケージ洗浄液)については、シンチレーションカクテルと混合後、そのまま放射能を測定した。骨試料(大腿骨)については、4N HCl で溶解後、シンチレーションカクテルを加え放射能を測定した。糞、腸管及び胃の内容物については、蒸留水に懸濁した。残部屍体については蒸留水を加えてミキサーで均一にした。これらの懸濁液の部分試料を凍結乾燥器で乾燥した。凍結乾燥粉末及びその他の臓器試料のホモジネートの部分試料は、SOLUENE で溶解した。脱色後、24 時間室温に放置した。シンチレーションカクテルを加え、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

試験結果(注：以下の数値は、特記する場合を除いて全て「 」標識化合物の値である)：

吸収・排泄：

血漿中・血液中の濃度の推移

濃度の推移を「表 2. 単回経口投与後の各時点における血漿中及び血液中濃度の推移」にまとめた。

この結果から得られる血漿中最高濃度到達時間、Cmax 値及び最高濃度到達後の半減期(最終相)は以下のとおりであった。

	最高濃度到達時間		Cmax 値 (μg/g)		半減期	
	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物
高用量 (50mg/kg)	8.0 時間	0.5 時間	2.04	2.62	20.7 時間	19.7 時間
低用量 (5mg/kg)	8.0 時間	0.5 時間	0.458	0.537	37.4 時間	31.6 時間

血漿中濃度・時間曲線下面積 (AUC) 平均値は、下記のとおりであった。

	AUC 平均値 (μgEq × h/g)	
	雄動物	雌動物
高用量 (50mg/kg)	93.97	66.41
低用量 (5mg/kg)	9.46	8.74

並行して実施した血液中の濃度測定の結果(表 2)、何れの投与量においても、血液中の時間的な濃度変化は血漿中の変化と同等であった。投与後最初の 24 時間において血液中により低い濃度の放射能が検出されたことは放射能の大部分が血漿中に存在し、血液細胞には結合していないことを示している。

吸収・排泄

投与量、投与方法及び標識位置による排泄量についての試験結果を「表 3. 異なる投与方法及び標識位置による排泄量の比較」にまとめた。

「 」標識化合物の 5 あるいは 50mg/kg·bw の経口投与後最初の 48 時間で尿中に 10~13% TAR、糞中に 74~91% TAR が排泄され、48 時間までの尿中排泄量と糞中排泄量の合計は 120 時間における総排泄量の 91~99% と排泄が早いことが確認された。投与 120 時間後における臓器及び組織中の残留放射能は、50mg/kg·bw 投与で <1 μgEq/g、5mg/kg·bw 投与では <0.1 μgEq/g で、投与 120 時間後における尿中・糞中排泄量の合計は 90~105% であった。この排泄パターンは、「 」標識化合物 50mg/kg·bw を単回経口投与した実験群においても

認められた。また、非標識化合物 50mg/kg·bw を 14 回反復投与後「 」標識化合物 5mg/kg·bw を単回経口投与した実験群でも同様な排泄パターンで、これは、反復投与による動物体内への蓄積はないことを示している。それぞれの標識化合物を 50mg/kg·bw 単回経口投与した動物の呼気中には放射能は検出されなかった。臓器中残留量も含めた放射能の総回収率は 91.4~105.0%TAR であった。

胆汁排泄及び吸収率

胆汁中排泄の推移を「表 4. 単回経口投与後の各時点における胆汁排泄量の推移」にまとめた。

投与 48 時間後で約 35~38%TAR が胆汁中に排泄され、高用量 (50mg/kg) と低用量 (5mg/kg) の間に差は認められなかった。同時間における糞中への排泄量 (約 74~91%TAR) と比較すると、0~48 時間における胆汁中排泄量 (約 35~38%TAR) はかなり低いもので、これは投与した被験物質の全量が必ずしも吸収されていないことを示唆していると考えられる。

胆汁及び尿中に排泄された放射能が標識化合物の生物学的利用量であるとするならば、被験物質の生物学的利用能は下表の結果となる。

性 別	雄動物		雌動物		
	投与量 (mg/kg)	50	5	50	5
尿中総排泄量 (%)		14.52	12.61	10.78	11.32
胆汁中総排泄量		36.81	37.72	34.51	35.82
合 計 (%) (=生物学的利用量 =吸収率)		51.33	50.33	45.29	47.14

この結果並びに前述の血漿中濃度から算出される血漿中濃度・時間曲線下面積 (AUC) から、50mg/kg·bw の高用量投与では吸収が飽和点に達していないことを示している。

分 布：

「表 3-2」に示したように投与 120 時間後、「 」標識化合物の高用量 (50mg/kg) 投与で極めて微量の放射能が血球 (0.02%TAR)、肝臓 (0.06~0.07%TAR)、皮膚 (0.02%TAR) 及び残部屍体 (0.07~0.08%TAR) に検出されたが、放射能濃度は全ての各臓器において 1 μ gEq/g (1ppm) より低かった。「 」標識化合物の高用量 (50mg/kg) 投与では、極めて微量の放射能が血球 (0.10~0.14%TAR)、肝臓 (0.06~0.08%TAR)、皮膚 (0.03~0.04%TAR) 及び残部屍体 (0.11~0.22%TAR) に検出された。血球、肝臓及び脾臓を除いた各臓器における放射能量は 1 μ gEq/g (1ppm) より低かった。排泄パターンは、同じ投与量において「 」標識化合物投与と「 」標識化合物投与でほぼ同様であるが、「 」標識化合物投与における残留放射能が「 」標識化合物投与群よりわずかに高かった。

「 」標識化合物の低用量 (5mg/kg) 投与では、投与 120 時間後、極めて微量の放射能が血球 (0.02~0.03%TAR)、肝臓 (0.06~0.08%TAR)、皮膚 (0.02~0.05%TAR) 及び残部屍体 (0.06%TAR) に検出されたが、放射能濃度は全ての各臓器において 0.1 μ gEq/g (0.1ppm) より低かった。

「 」標識化合物の反復経口投与 120 時間後においては、極めて微量の放射能が血球 (<0.005~0.01%TAR)、肝臓 (0.05~0.06%TAR)、皮膚 (0.02%TAR) 及び残部屍体 (0.07%TAR) に検出された。放射能濃度は甲状腺を除く全ての各臓器において 0.1 μ gEq/g (0.1ppm) かその値より低く、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

前述の排泄における結果と同様に反復投与においても臓器内への蓄積はないことを示している。

以上、被験物質の生体内における動態について試験した結果、標識化合物の経口投与により胃腸管から急速に吸収されるが、完全には吸収されず、生物学的利用能は 45~50% TAR であった。放射能は全ての臓器に分布するが、投与 120 時間後の放射能は何れの臓器においても $1\mu\text{gEq/g}$ (1ppm) となった。放射能の排泄は早く、主として糞中に排泄され、胆汁中の排泄は 35~38% TAR であった。

表 1. 実験群の構成及び内容

実験群	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
実験目的	マスバランス及び排泄				血中及び血漿中濃度		臓器内分布		胆汁排泄		
標識位置											
動物	ウィスター系ラット：投与時少なくとも7週齢										
動物数/群	雌雄各4匹				雌雄各12匹		雌雄各4匹				
平均体重 (g)	雄	237.1	207.4	260.2	317.5	261.2	273.8	236.3	237.5	270.4	281.4
	雌	170.1	161.0	173.8	203.2	186.3	201.9	187.1	186.0	211.1	205.4
投与量及び 投与方法	50mg/kg	5mg/kg	50mg/kg	非標識化合物 (50mg/kg/日)を14日間 経口投与後、標識化合物 (5mg/kg)を単回経口 投与	50mg/kg	5mg/kg	50mg/kg	5mg/kg	50mg/kg	5mg/kg	
	単回経口投与				単回経口投与						
試料採取、 測定時間等	標識化合物投与後 6, 12, 24 時間、その後 24 時間間隔で 120 時間まで (>90% TAR 排泄) 排泄物を採取し放射能を測定。 試料採取後屠殺し、下記の臓器・試料について放射能を測定。 心臓、残部屍体、脂肪、肝臓、筋肉、胃及び内容物、脾臓、腎臓、甲状腺、骨、精巣、副腎、皮膚、脳、血球/血漿、肺、膵臓、腸管及び内容物、卵巣、子宮、骨髓、ケージ洗浄液 「実験 1」及び「実験 3」では呼気を採取し放射能を測定。				投与後 0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120 時間に血液試料を (100 ~ 200 µL) を眼窩静脈叢より採取し、全血及び血漿について放射能を測定。		MPC*, 1/2MPC, 1/8MPC : 高用量 : 0.5, 24, 36, 72 時間後 低用量 : 0.5, 8, 20, 42 時間後に各3匹を屠殺し、下記の臓器を可溶化して残留放射能を測定。 心臓、残部屍体、脂肪、肝臓、筋肉、胃及び内容物、脾臓、腎臓、甲状腺、骨、精巣、副腎、皮膚、脳、血球/血漿、肺、膵臓、腸管及び内容物、卵巣、子宮、骨髓		胆管にカニューレを挿入し、3 時間ごとに 48 時間まで胆汁を採取して放射能を測定。但し、動物の健康状態及び胆汁の量に基づき決定。		

*MPC : 血漿中最高濃度到達時点

表 2. 単回経口投与後の各時点における血漿中及び血液中濃度の推移

投与後 経過時間 (時間)	血漿中濃度の推移 ($\mu\text{g Eq/g}$ 血漿)				血液中濃度の推移 ($\mu\text{g Eq/g}$ 血液)			
	雄動物		雌動物		雄動物		雌動物	
	50mg/kg 投与群 実験群 5	5mg/kg 投与群 実験群 6	50mg/kg 投与群 実験群 5	5mg/kg 投与群 実験群 6	50mg/kg 投与群 実験群 5	5mg/kg 投与群 実験群 6	50mg/kg 投与群 実験群 5	5mg/kg 投与群 実験群 6
0.5	1.96 (0.26)	0.415 (0.179)	<u>2.62</u> (0.59)	<u>0.537</u> (0.319)	1.14 (0.15)	0.264 (0.108)	1.33 (0.26)	<u>0.328</u> (0.174)
1.0	1.72 (0.22)	0.432 (0.227)	2.00 (0.49)	0.520 (0.328)	0.93 (0.12)	0.212 (0.095)	0.96 (0.21)	0.304 (0.185)
2.0	1.33 (0.14)	0.301 (0.088)	1.83 (0.89)	0.375 (0.146)	0.75 (0.12)	0.172 (0.036)	1.06 (0.60)	0.225 (0.089)
4.0	1.49 (0.72)	0.217 (0.083)	1.17 (0.36)	0.262 (0.032)	0.70 (0.14)	0.152 (0.061)	0.93 (0.59)	0.179 (0.025)
8.0	<u>2.04</u> (0.60)	<u>0.458</u> (0.262)	1.10 (0.27)	0.353 (0.209)	1.30 (0.24)	<u>0.325</u> (0.199)	1.08 (0.30)	0.280 (0.163)
24.0	1.93 (0.60)	0.135 (0.038)	1.77 (0.47)	0.120 (0.011)	<u>1.82</u> (0.22)	0.126 (0.035)	<u>1.54</u> (0.43)	0.090 (0.064)
48.0	0.68 (0.20)	0.021 (0.005)	0.33 (0.02)	0.025 (0.002)	0.91 (0.38)	0.035 (0.011)	0.40 (0.03)	0.036 (0.005)
72.0	0.29 (0.07)	0.016 (0.003)	0.16 (0.01)	0.014 (0.002)	0.43 (0.09)	0.031 (0.004)	0.26 (0.01)	0.026 (0.003)
96.0	0.13 (0.02)	0.008 (0.004)	0.09 (0.02)	0.009 (0.001)	0.26 (0.04)	0.020 (0.001)	0.17 (0.03)	0.024 (0.008)
120.0	0.08 (0.02)	0.006 (0.002)	0.05 (0.01)	0.005 (0.001)	0.22 (0.07)	0.016 (0.002)	0.12 (0.01)	0.012 (0.001)

注：下線太字は最大値
カッコ内は SD

血漿中濃度の推移

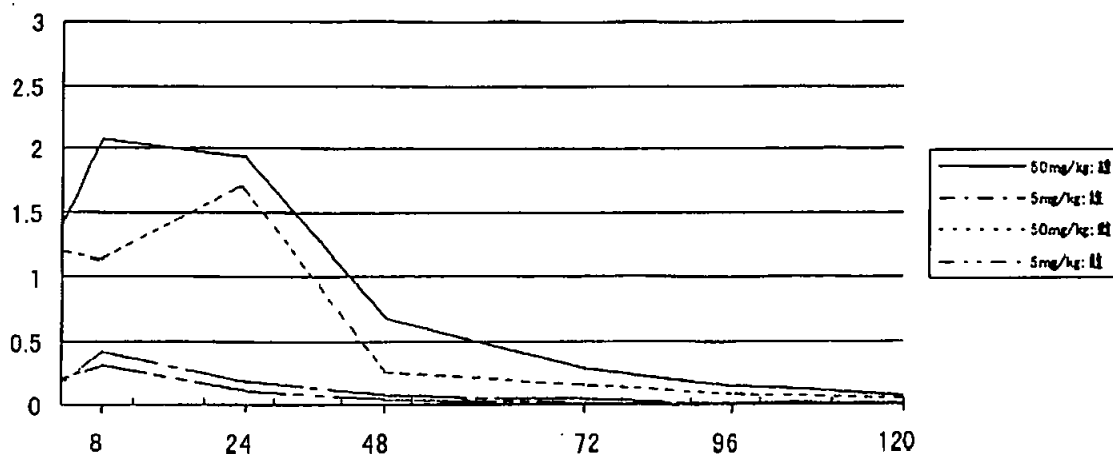


表 3-1. 異なる投与方法及び標識位置による排泄量の比較；尿中及び糞中排泄

[数値は投与放射能に対する比率(%)]

投与経路		単回経口投与						反復経口投与 (非標識化合物 + 標識化合物)	
		雄動物			雌動物			雄動物	雌動物
性別									
標識位置									
投与量, 実験群		50mg/kg 投与群 実験群 3	50mg/kg 投与群 実験群 1	5mg/kg 投与群 実験群 2	50mg/kg 投与群 実験群 3	50mg/kg 投与群 実験群 1	5mg/kg 投与群 実験群 2	非標識化合物 50mg/kg/日 x14 日 + 標識化合物 5mg/kg/日 x1 日 実験群 4	
尿 中 排 泄	0～ 6 時間	1.09	1.14	1.94	1.88	1.29	3.22	3.59	3.96
	6～ 12 時間	1.89	1.81	4.89	2.13	2.17	3.98	3.89	3.48
	12～ 24 時間	6.50	4.94	3.97	4.23	3.88	2.87	4.35	3.24
	24～ 48 時間	5.39	5.34	1.49	2.50	2.67	0.86	1.55	1.18
	48～ 72 時間	0.77	0.94	0.19	0.43	0.47	0.23	0.26	0.22
	72～ 96 時間	0.23	0.23	0.07	0.20	0.20	0.10	0.13	0.13
	96～120 時間	0.14	0.12	0.04	0.18	0.11	0.08	0.07	0.08
	小 計	16.01	14.52	12.61	11.54	10.78	11.32	13.83	12.29
糞 中 排 泄	0～ 6 時間	0.01	0.18	0.00	3.97	0.03	0.01	0.01	0.01
	6～ 12 時間	1.71	0.73	10.63	0.86	2.36	20.74	6.95	22.42
	12～ 24 時間	35.28	32.11	68.31	47.34	49.77	54.57	52.95	39.69
	24～ 48 時間	30.67	40.70	12.26	32.90	30.20	7.47	16.43	14.93
	48～ 72 時間	5.08	6.52	0.70	1.75	5.21	0.61	1.83	0.80
	72～ 96 時間	1.43	0.59	0.09	1.76	0.40	0.18	0.65	0.21
	96～120 時間	0.15	0.44	0.05	1.37	1.97	0.13	0.24	3.36
	小 計	74.32	81.27	92.04	88.95	89.92	83.71	79.04	81.40
合 計	90.33	95.79	104.65	100.49	100.70	95.03	92.87	93.69	

48 時間までの排泄量の総合計に対する比率(%)

尿+糞排泄量	82.54	86.95	103.49	95.81	92.37	93.72	89.72	88.91
対総合計比(%)	91.38	90.77	98.89	95.34	91.73	98.62	96.61	94.90

表 3-2. 異なる投与方法及び標識位置による組織内分布の比較：臓器中残留量(120 時間後)

投与経路	単回経口投与						反復経口投与 (非標識化合物+標識化合物)	
	雄動物			雌動物			雄動物	雌動物
性別	雄動物			雌動物				
標識位置								
投与量, 実験群	50mg/kg 投与群 実験群 3	50mg/kg 投与群 実験群 1	5mg/kg 投与群 実験群 2	50mg/kg 投与群 実験群 3	50mg/kg 投与群 実験群 1	5mg/kg 投与群 実験群 2	非標識化合物 50mg/kg/日 x14 日 + 標識化合物 5mg/kg/日 x1 日 実験群 4	
ケージ洗浄液	0.63	0.67	0.13	1.99	0.71	0.60	1.30	0.48
血 球	0.14 (3.07)	0.02 (0.47)	0.03 (0.04)	0.10 (1.73)	0.02 (0.31)	0.02 (0.04)	0.01 (0.00)	0.00 (0.00)
血 漿	0.00 (0.11)	0.00 (0.11)	0.00 (0.01)	0.00 (0.09)	0.00 (0.08)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
肺	0.01 (0.69)	0.00 (0.15)	0.00 (0.01)	0.01 (0.44)	0.00 (0.14)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
心 臓	0.00 (0.50)	0.00 (0.10)	0.00 (0.01)	0.00 (0.24)	0.00 (0.09)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
脾 臓	0.00 (1.13)	0.00 (0.15)	0.00 (0.01)	0.00 (0.76)	0.00 (0.12)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
腎 臓	0.01 (0.88)	0.01 (0.39)	0.01 (0.03)	0.01 (0.66)	0.01 (0.35)	0.01 (0.03)	0.01 (0.00)	0.01 (0.03)
副 腎	0.00 (0.31)	0.00 (0.14)	0.00 (0.01)	0.00 (0.20)	0.00 (0.13)	0.00 (0.02)	0.00 (0.08)	0.00 (0.08)
精巣/卵巣	0.00 (0.06)	0.00 (0.03)	0.00 (0.00)	0.00 (0.16)	0.00 (0.06)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
子 宮	---	---	---	0.00 (0.12)	0.00 (0.05)	0.00 (0.01)	---	0.00 (0.00)
筋 肉	0.00 (0.06)	0.00 (0.05)	0.00 (0.00)	0.00 (0.04)	0.00 (0.04)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
脳	0.00 (0.07)	0.00 (0.03)	0.00 (0.00)	0.00 (0.05)	0.00 (0.02)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
脂 肪	0.00 (0.21)	0.00 (0.10)	0.00 (0.01)	0.00 (0.20)	0.00 (0.12)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
骨	0.00 (0.11)	0.00 (0.02)	0.00 (0.00)	0.00 (0.05)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
骨 髄	0.00 (0.26)	0.00 (0.16)	0.00 (0.03)	0.00 (0.17)	0.00 (0.23)	0.00 (0.02)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
甲 状 腺	0.00 (0.20)	0.00 (0.42)	0.00 (0.05)	0.00 (0.29)	0.00 (0.11)	0.00 (0.03)	0.00 (0.35)	0.00 (0.18)
膵 臓	0.00 (0.15)	0.00 (0.07)	0.00 (0.01)	0.00 (0.11)	0.00 (0.08)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
胃内容物	0.00 (0.74)	0.00 (0.05)	0.00 (0.00)	0.00 (0.14)	0.00 (0.03)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
胃	0.00 (0.10)	0.00 (0.07)	0.00 (0.01)	0.00 (0.10)	0.00 (0.07)	0.00 (0.01)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)
腸管内容物	0.03 (0.65)	0.03 (0.33)	0.01 (0.01)	0.02 (0.24)	0.02 (0.18)	0.06 (0.05)	0.02 (0.00)	0.02 (0.00)
腸 管	0.01 (0.22)	0.01 (0.11)	0.00 (0.01)	0.01 (0.16)	0.01 (0.08)	0.00 (0.01)	0.01 (0.00)	0.00 (0.00)
肝 臓	0.08 (1.12)	0.07 (0.71)	0.06 (0.06)	0.06 (0.74)	0.06 (0.68)	0.08 (0.08)	0.05 (0.10)	0.06 (0.10)
皮 膚	0.04 (0.12)	0.02 (0.07)	0.02 (0.01)	0.03 (0.10)	0.02 (0.06)	0.05 (0.02)	0.02 (0.00)	0.02 (0.00)
残部屍体	0.11 (0.12)	0.07 (0.07)	0.06 (0.01)	0.22 (0.20)	0.08 (0.08)	0.06 (0.01)	0.07 (0.00)	0.07 (0.00)
総 合 計	91.38	96.68	104.96	102.92	101.60	95.91	94.35	94.33

注：数値は投与放射能に対する比率(%)

カッコ内は $\mu\text{g Eq/g}$ 臓器

表 4. 単回経口投与後の各時点における胆汁排泄量の推移

(数値は投与放射能に対する比率(%))

投与後 経過時間 (時間)	雄動物		雌動物	
	50mg/kg 投与群 実験群 9	5mg/kg 投与群 実験群 10	50mg/kg 投与群 実験群 9	5mg/kg 投与群 実験群 10
0~3	6.00	6.36	9.73	6.32
3~6	5.02	4.63	4.60	1.95
6~9	2.80	3.07	3.22	2.59
9~12	2.90	4.65	2.06	4.45
12~15	3.31	4.39	2.15	6.13
15~18	3.79	3.16	2.23	4.96
18~21	3.96	2.79	2.25	3.22
21~24	2.41	1.55	1.70	1.57
24~27	2.11	1.30	1.46	1.15
27~30	1.57	0.85	1.04	1.59
30~33	1.24	0.97	1.20	2.63
33~36	1.14	1.32	0.45	1.42
36~39	0.98	0.98	1.29	1.29
39~42	0.74	0.55	1.03	0.78
42~45	0.57	0.63	0.97	0.54
45~48	0.50	0.53	0.64	0.22
合 計	36.81	37.72	34.51	35.82

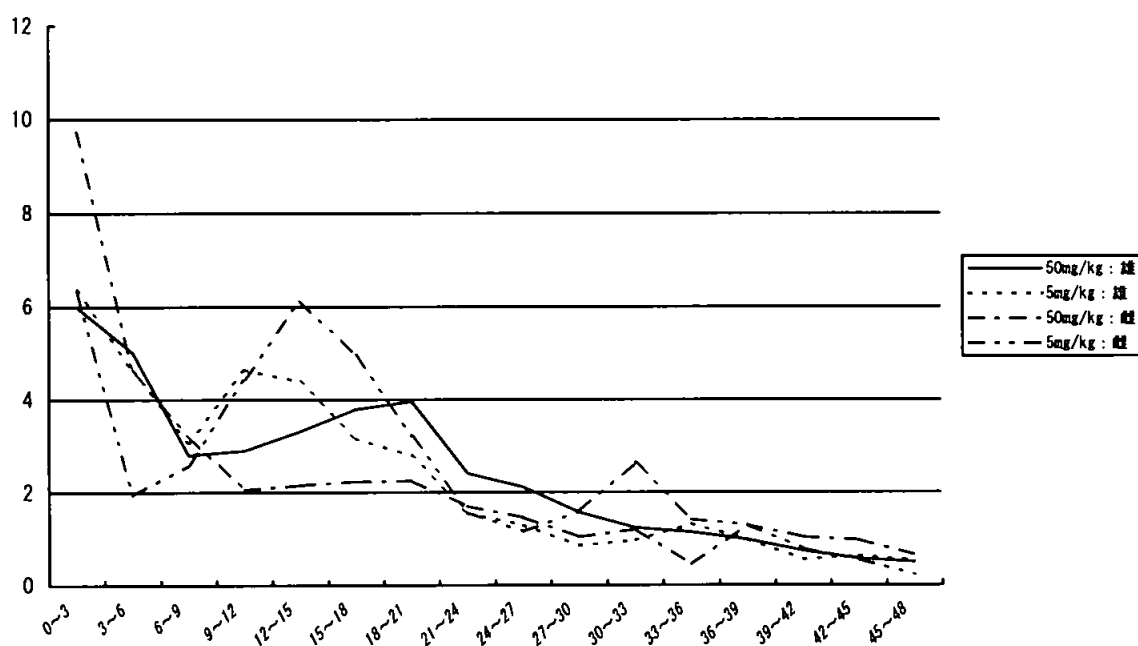


表 5-1. 高用量単回経口投与 (50mg/kg) での臓器中の放射能 ; 実験群 7

注 : 数値は $\mu\text{gEq/g}$ 臓器、() 内の値は投与量に対する%

	投与 0.5 時間後 (MPC*1 時点)		投与 24 時間後 (MPC*2 時点)		投与 36 時間後 (1/2 MPC 時点)		投与 72 時間後 (1/8 MPC 時点)		投与 120 時間後*3	
	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物
血 球	0.61 (0.01)	1.41 (0.02)	0.40 (0.01)	0.45 (0.01)	0.43 (0.01)	0.13 (0.01)	0.35 (0.01)	0.54 (0.01)	0.47 (0.02)	0.31 (0.02)
血 漿	2.44 (0.03)	5.95 (0.09)	1.21 (0.03)	2.10 (0.03)	1.11 (0.03)	0.08 (0.01)	0.17 (0.00)	0.14 (0.00)	0.11 (0.00)	0.08 (0.00)
肺	9.79 (0.13)	8.87 (1.42)	1.44 (0.02)	1.16 (0.02)	0.58 (0.01)	0.07 (0.00)	0.15 (0.00)	0.16 (0.00)	0.15 (0.00)	0.14 (0.00)
心 臓	3.11 (0.02)	5.66 (0.05)	0.89 (0.01)	1.26 (0.01)	0.63 (0.01)	0.05 (0.00)	0.09 (0.00)	0.55 (0.00)	0.10 (0.00)	0.09 (0.00)
脾 臓	1.03 (0.01)	2.61 (0.01)	0.33 (0.00)	1.27 (0.00)	0.34 (0.00)	0.05 (0.00)	0.09 (0.00)	0.10 (0.00)	0.15 (0.00)	0.12 (0.00)
腎 臓	4.47 (0.08)	6.88 (0.14)	1.80 (0.04)	3.33 (0.06)	1.68 (0.04)	0.17 (0.01)	0.39 (0.01)	0.39 (0.01)	0.39 (0.01)	0.35 (0.01)
副 腎	5.90 (0.00)	11.37 (0.01)	1.42 (0.00)	2.16 (0.00)	1.13 (0.00)	0.15 (0.00)	0.18 (0.00)	0.20 (0.00)	0.14 (0.00)	0.13 (0.00)
精巣/卵巣	0.55 (0.01)	4.01 (0.01)	0.05 (0.00)	2.52 (0.00)	0.25 (0.01)	0.39 (0.01)	0.24 (0.00)	0.28 (0.00)	0.03 (0.00)	0.06 (0.00)
子 宮	---(---)	4.51 (0.01)	---(---)	1.96 (0.00)	---(---)	0.49 (0.01)	---(---)	0.19 (0.00)	---(---)	0.05 (0.00)
筋 肉	1.11 (0.01)	2.28 (0.03)	0.41 (0.01)	0.81 (0.01)	0.72 (0.01)	0.12 (0.01)	0.14 (0.00)	0.12 (0.00)	0.05 (0.00)	0.04 (0.00)
脳	1.03 (0.02)	2.30 (0.04)	0.26 (0.00)	0.42 (0.01)	0.17 (0.00)	0.02 (0.00)	0.02 (0.00)	0.02 (0.00)	0.03 (0.00)	0.02 (0.00)
脂 肪	1.20 (0.00)	1.74 (0.01)	1.51 (0.01)	2.59 (0.02)	1.76 (0.01)	0.33 (0.01)	0.34 (0.00)	0.34 (0.00)	0.10 (0.00)	0.12 (0.00)
骨	0.12 (0.00)	0.31 (0.00)	0.07 (0.00)	0.08 (0.00)	0.04 (0.00)	0.01 (0.00)	0.01 (0.00)	0.01 (0.00)	0.02 (0.00)	0.01 (0.00)
骨 髄	0.36 (0.00)	0.21 (0.00)	0.36 (0.00)	0.92 (0.00)	0.38 (0.00)	0.11 (0.00)	0.24 (0.00)	0.40 (0.00)	0.16 (0.00)	0.23 (0.00)
甲 状 腺	4.79 (0.00)	10.63 (0.00)	4.71 (0.00)	1.91 (0.00)	0.89 (0.00)	0.32 (0.00)	0.43 (0.00)	0.36 (0.00)	0.42 (0.00)	0.11 (0.00)
脾 臓	2.59 (0.01)	7.18 (0.03)	0.98 (0.01)	1.56 (0.01)	0.73 (0.00)	0.19 (0.01)	0.18 (0.00)	0.17 (0.00)	0.07 (0.00)	0.08 (0.00)
胃内容物	1273.16 (62.97)	1696.28 (62.98)	644.04 (31.19)	386.32 (11.44)	146.30 (4.60)	2.63 (0.23)	1.39 (0.06)	0.35 (0.01)	0.05 (0.00)	0.03 (0.00)
胃	612.74 (7.15)	325.14 (3.40)	207.23 (2.39)	337.44 (4.55)	34.82 (0.52)	0.73 (0.04)	0.62 (0.01)	0.29 (0.00)	0.07 (0.00)	0.07 (0.00)
腸管内容物	62.91 (8.45)	91.87 (11.84)	137.13 (17.51)	260.03 (34.89)	113.63 (19.21)	6.65 (1.93)	2.60 (0.34)	1.15 (0.14)	0.33 (0.03)	0.18 (0.02)
腸 管	27.82 (1.67)	39.29 (2.11)	19.70 (1.37)	41.56 (2.50)	10.18 (0.96)	1.21 (0.27)	0.58 (0.04)	0.40 (0.03)	0.11 (0.01)	0.08 (0.01)
肝 臓	13.19 (1.23)	25.18 (2.51)	5.22 (0.56)	9.50 (0.93)	4.19 (0.55)	0.51 (0.19)	0.83 (0.10)	0.53 (0.07)	0.71 (0.07)	0.68 (0.06)
皮 膚	1.03 (0.31)	1.41 (0.39)	0.54 (0.19)	0.77 (0.25)	0.46 (0.20)	0.10 (0.23)	0.14 (0.06)	0.12 (0.04)	0.07 (0.02)	0.06 (0.02)
残部屍体	5.41 (6.33)	3.82 (4.25)	1.27 (1.33)	2.07 (2.29)	1.68 (2.26)	0.30 (2.65)	0.25 (0.28)	0.29 (0.32)	0.07 (0.07)	0.08 (0.08)

*1. 血漿中最高濃度 ; 1 回目の投与時点

*2. 血漿中最高濃度 ; 2 回目の投与時点 (雌)

*3. 「実験群 1」の排泄試験結果

表 5-2. 低用量単回経口投与 (5mg/kg) での臓器中の放射能 : 実験群 8

注 : 数値は $\mu\text{gEq/g}$ 臓器、() 内の値は投与量に対する%

	投与 0.5 時間後 (MPC* ¹ 時点)		投与 8 時間後 (MPC* ² 時点)		投与 20 時間後 (1/2 MPC 時点)		投与 42 時間後 (1/8 MPC 時点)		投与 120 時間後* ³	
	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物	雄動物	雌動物
血 球	0.15(0.01)	0.09(0.01)	0.20(0.03)	0.09(0.00)	0.06(0.01)	0.03(0.00)	0.03(0.00)	0.02(0.00)	0.04(0.03)	0.04(0.02)
血 漿	0.71(0.06)	0.26(0.04)	0.84(0.15)	0.50(0.07)	0.12(0.02)	0.07(0.01)	0.02(0.00)	0.02(0.01)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
肺	0.40(0.05)	1.83(0.29)	0.35(0.04)	0.21(0.03)	0.05(0.01)	0.05(0.01)	0.02(0.00)	0.02(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
心 臓	1.20(0.04)	0.65(0.05)	0.41(0.03)	0.30(0.02)	0.05(0.00)	0.04(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
脾 臓	0.24(0.01)	0.30(0.01)	0.16(0.01)	0.13(0.01)	0.04(0.00)	0.03(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
腎 臓	0.83(0.15)	0.83(0.14)	1.07(0.19)	0.73(0.12)	0.19(0.03)	0.15(0.03)	0.06(0.01)	0.05(0.01)	0.03(0.01)	0.03(0.01)
副 腎	0.49(0.00)	1.80(0.01)	0.38(0.00)	0.39(0.00)	0.08(0.00)	0.06(0.00)	0.03(0.00)	0.03(0.00)	0.01(0.00)	0.02(0.00)
精巣/卵巣	0.06(0.01)	0.34(0.01)	0.16(0.03)	0.27(0.01)	0.02(0.00)	0.14(0.00)	0.01(0.00)	0.04(0.00)	0.00(0.00)	0.01(0.00)
子 宮	---(---)	0.40(0.01)	---(---)	0.26(0.00)	---(---)	0.14(0.00)	---(---)	0.04(0.00)	---(---)	0.01(0.00)
筋 肉	0.19(0.02)	0.15(0.02)	0.23(0.03)	0.15(0.02)	0.05(0.01)	0.05(0.01)	0.02(0.00)	0.02(0.00)	0.00(0.00)	0.00(0.00)
脳	0.12(0.01)	0.22(0.04)	0.12(0.02)	0.06(0.01)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.00(0.00)	0.00(0.00)	0.00(0.00)	0.00(0.00)
脂 肪	0.16(0.00)	0.19(0.01)	0.29(0.01)	0.23(0.01)	0.16(0.00)	0.22(0.02)	0.19(0.01)	0.04(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
骨	0.02(0.00)	0.04(0.00)	0.03(0.00)	0.02(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)	0.00(0.00)	0.00(0.00)	0.00(0.00)
骨 髄	0.13(0.00)	0.09(0.00)	0.23(0.00)	0.09(0.00)	0.05(0.00)	0.08(0.00)	0.06(0.00)	0.03(0.00)	0.03(0.00)	0.02(0.00)
甲 状 腺	0.88(0.00)	1.53(0.00)	1.09(0.00)	0.21(0.00)	0.14(0.00)	0.08(0.00)	0.06(0.00)	0.06(0.00)	0.05(0.00)	0.03(0.00)
脾 臓	0.54(0.03)	0.80(0.04)	0.31(0.02)	0.25(0.01)	0.11(0.01)	0.12(0.01)	0.04(0.00)	0.03(0.00)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
胃内容物	160.42(52.64)	205.23(53.27)	21.79(2.75)	37.99(4.27)	0.90(0.26)	0.67(0.14)	0.12(0.05)	0.56(0.21)	0.00(0.00)	0.01(0.00)
胃	48.56(35.28)	89.11(8.15)	10.29(1.22)	4.76(0.55)	0.08(0.01)	0.16(0.02)	0.05(0.01)	0.22(0.04)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
腸管内容物	8.93(9.83)	7.40(8.69)	65.20(59.57)	64.98(61.62)	6.49(7.45)	10.41(10.44)	0.72(0.81)	0.70(1.27)	0.01(0.01)	0.05(0.06)
腸 管	5.04(2.49)	4.85(2.25)	7.65(5.24)	7.35(4.15)	1.13(0.69)	1.35(0.66)	0.10(0.07)	0.11(0.09)	0.01(0.00)	0.01(0.00)
肝 臓	2.60(2.47)	2.70(2.52)	2.58(2.44)	2.02(1.74)	0.39(0.45)	0.36(0.34)	0.12(0.14)	0.10(0.17)	0.06(0.06)	0.08(0.08)
皮 膚	0.19(0.61)	0.26(0.72)	0.20(0.69)	0.14(0.45)	0.06(0.22)	0.07(0.23)	0.02(0.06)	0.01(0.07)	0.01(0.02)	0.02(0.05)
残部屍体	0.23(2.41)	0.44(4.52)	0.47(4.87)	0.41(4.12)	0.11(1.14)	0.11(1.10)	0.03(0.28)	0.02(0.30)	0.01(0.06)	0.01(0.06)

*1. 血漿中最高濃度 : 1 回目のビーク時点

*2. 血漿中最高濃度 : 2 回目のビーク時点

*3. 「実験群 2」の排泄試験結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

1-2. ¹⁴C-標識ピラクロストロビンのラットにおける生体内代謝試験

(代謝・分解 2)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試化合物：

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置設定理由：

「 」及び「 」標識化合物それぞれの合成経路は本抄録 251～253 頁に記載した。

試験方法：

試験した実験群の構成、供試動物、投与量、投与方法、試験内容等については、別紙「表 1. 実験群の構成及び内容」にまとめた。

投与量設定根拠：

放射能の測定及び代謝物の定量：

液体試料はシンチレーターと混合して液体シンチレーターで放射能を測定した。固形試料ではカウンティングの前に燃焼あるいは可溶化後、液体シンチレーターで放射能を測定した。放射能測定値 (dpm) に基づき、それぞれの試料中の量を投与放射能に対する比率 (%TAR) として算出した。代謝物については、単離した特定代謝物のピーク面積に基づき定量した。

代謝物同定法の概要：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

試験結果：

本実験においては、糞、肝臓及び腎臓中放射能のそれぞれ 63～81%、58～80%及び 67～84%が抽出され、血漿中放射能は で 74～87%が抽出された。

それぞれの実験群から得られた試料について代謝物を同定・定量した結果を「表 2. 各試料中で同定された代謝物」にまとめた。

定した。

全部で 33 個の代謝物について同

既に述べたように、経口投与では放射能は主として糞中に排泄され(投与 120 時間後で投与放射能の 74~92%)、
が糞中の主要代謝物であった(%TAR)。未変化の被験物質が糞中には少量検出されたが、尿中には検出されなかった。投与 0~48 時間における胆汁排泄は 35~38% TAR で、胆汁中には未変化の被験物質は検出されなかった。雄動物と雌動物の間には代謝に関する明らかな差は認められなかった。

尿中あるいは胆汁中に未変化の親化合物が検出されなかったことは、動態試験(代謝・分解 1)の吸収・排泄でも述べたように、被験物質が腸管からは完全に吸収されず、また、生体内に取り込まれた被験物質は急速且つ完全に代謝されることを示している。血漿中最高濃度到達時間の近く(投与後 8 時間)で採取した血漿試料中の親化合物は<0.01%TAR(実験群 V)か、あるいは検出されなかった(実験群 W)。

単回経口投与(実験群 B)と反復経口投与(実験群 C)の結果を比較すると、両者の間には生成した代謝物に顕著な質的あるいは量的な変化は認められなかったことから、体内蓄積のないことを示すと共に代謝酵素系の誘導がないことも示している。

以上のことから、経口投与後、全身循環系に取り込まれた被験物質は急速に且つほぼ完全に代謝され、未変化の被験物質は血漿中にごく微量、肝臓中には微量検出された。腎臓中の放射能の大部分は未変化の親化合物であったが 0.04%TAR を超えるものではなかった。

本試験の結果に基づく被験物質の生体内における想定代謝経路を「図 1」に示した。

表 1. 実験群の構成及び内容

実験群	B	C	D				DX	R	S	V	W		
実験目的	尿及び糞中排泄						胆汁中排泄		臓器内分布				
標識位置											「T-環」	「C-環」	
動物	ウイスター系ラット：投与時少なくとも7週齢												
動物数/群	雌雄各4匹				雌雄各10匹		雄7匹, 雌5匹	雄4匹, 雌8匹	雌雄各4匹				
平均体重 (g)	雄	207.4	317.5	237.1	260.2	278.1	277.8	280.9	270.4	290.6	288.5	278.3	255.4
	雌	161.0	203.2	189.1	173.8	237.4	231.6	210.1	212.9	262.8	252.9	258.4	252.7
投与量及び 投与方法	5mg/kg	非標識化合物 (50mg/kg/日) を14日間経口 投与後、標識化 合物(5mg/kg) を単回経口投 与		50mg/kg				5mg/kg	50mg/kg	5mg/kg		50mg/kg	
	単回 経口投与	単回経口投与											
試料採取、 測定時間等	投与後、所定の時間に採取した尿及び糞試料について、尿試料は別々に、糞試料はプールし、原則として放射能が > %TAR の試料について代謝物を検討した。			投与後、所定の時間に採取した尿及び糞試料について、尿試料は別々に、糞試料はプールし、原則として放射能が > %TAR の試料について代謝物を検討した。				胆汁試料を3時間毎に最大48時間まで採取し、全試料をプールし代謝物を検討した。		雄の血漿中最高濃度到達時間(投与後8時間)に屠殺し、血漿、肝臓及び腎臓を摘出して各臓器中の代謝物を検討した。			
	尿試料:	実験群B: 0~24時間 実験群C: 6~48時間 実験群D: 12~72時間			尿試料: 0~48時間() 0~24時間()								
糞試料:	実験群B: 12~72時間 実験群C: 6~48時間 実験群D: 12~72時間			糞試料: 0~72時間() 0~96時間()									

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

2. 植物体内運命に関する試験

2-1. ピラクロストロビンのぶどうにおける代謝試験

(代謝・分解 3)

試験機関:

[GLP対応]

報告年:

供試化合物:

1. ¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

「 」標識化合物

放射化学的純度:

比放射能:

標識位置設定理由:

2. 代謝物同定用対照化合物: 本試験に使用した対照化合物を末尾に記載した。

申請者注: 本抄録中において

「 」標識化合物で処理した試料を「 」処理試料,

「 」標識化合物を処理した試料を「 」処理試料として表記した。

試験方法:

試料の調製:

本試験における供試作物, 栽培方法, 処理方法, 散布方法並びに試料採取は下表のとおりである。

供試作物	ぶどう(品種:Mueller-Thurgau). 樹齢約 5 年. 各標識化合物当り 4 樹で計 8 樹.
栽培方法	BASF 農業研究所の試験圃場で屋外栽培
散布方法	上述の各標識化合物を白試料に溶解して散布所定濃度とし, 環境への影響を避けるため, 果実周辺のみハンドスプレーヤーで均一に散布.
散布濃度及び時期	実用場面での出来るだけ高い濃度とし, 各標識化合物で調製した散布液を生育期間中の 5~8 月に 16~19 日間隔でそれぞれ 6 回散布.
	6 回散布の合計:各標識化合物について 1500gA. I. /ha
最終散布から試料採取までの日数	最終処理 40 日後に果実及び葉を採取し, 直ちに $\leq -18^{\circ}\text{C}$ に冷凍保存.

放射性成分の抽出及び同定:

凍結試料を室温で解凍後, ホモジナイズし, で 3 回抽出した. 抽出物について, 代謝物の分離を行い, 単離した代謝物を質量分析並びに対照物質との HPLC-コクロマトグラフィーで比較して構造解析を行った. また, 抽出物の有機溶媒あるいは水可溶性検討のため, 及び で液液分配を行い, それぞれの有機溶媒相及び水相について分析及び放射活性を測定した. 更に, マイナーな代謝物については, 放射能残留量の多かった葉の試料について代謝物を分離・同定し, この成分とのコクロマトグラフィーにより検討した.

放射能は, 液体試料についてはシンチレーターと混合後, 固形試料については燃焼し発生する ^{14}C をシンチレーションカクテルに吸収後, それぞれ液体シンチレーションカウンティングにより測定した. ぶどう果実試料の水分が多いことから, 総放射能残留量 (TRR) は, 抽出可能放射能残留量 (ERR) と非抽出性放射能残留量 (RRR) の合計とした. 非抽出性放射能残留物については, で抽出し, 更に非抽出成分については で処理して成分を検討した.

また, 冷凍保存(約 6 ヶ月)した処理試料中の被験物質の安定性検討のため, 保存開始時及び保存終了時にそれぞれ 抽出し, 抽出液について 代謝パターンを比較した.

試験結果:

果実試料からの放射性成分の抽出効率を「表 1」にまとめた.

表 1. 果実試料からの抽出(数値は mg/kg, カッコ内は%TRR)

	「 」処理試料		「 」処理試料	
	果実	葉	果実	葉
総放射能残留量 (TRR)	1. 559 (100)	40. 266 (100)	0. 951 (100)	49. 673 (100)
抽出放射能 (ERR)	1. 314 (84. 3)	28. 866 (71. 7)	0. 835 (87. 8)	28. 327 (57. 0)
非抽出放射能 (RRR)	0. 245 (15. 7)	12. 377 (30. 7)	0. 116 (12. 2)	11. 702 (23. 6)
回収率%	(100)	(102. 4)	(100)	(80. 6)

結果にみられるように抽出効率は果実で 84%TRR~88%TRR, 葉で 57~72%TRR であった.

抽出物の液液分配では, 「表 2」にみられるように果実では全ての試料において有機溶媒可溶分が大部分で, 73%TRR (「 」処理試料)~78%TRR (「 」処理試料)であった. 一方, 葉では

約 54%TRR が有機溶媒可溶性、約 14%TRR が水溶性であった。

表 2. 抽出物の液液分配 (数値は mg/kg, カッコ内は%TRR)

	「 」処理試料		「 」処理試料			
	果実		果実		葉	
	有機溶媒相	水相	有機溶媒相	水相	有機溶媒相	水相
分配	1.011 (65.5)	- (-)	0.663 (69.7)	- (-)	12.326 (30.8)	- (-)
分配	0.119 (7.7)	0.096 (6.2)	0.077 (8.1)	0.075 (7.8)	9.086 (22.8)	5.615 (14.1)
合計	1.130 (73.2)	0.096 (6.2)	0.740 (77.8)	0.075 (7.8)	21.412 (53.6)	5.615 (14.1)

葉(「 」処理試料)の抽出物を液液分配して、分画し、以下の代謝物を同定した。これらの成分を用いて果実の代謝物を同定した。「 」処理試料の場合、及び以外の個々の代謝物は極めて少量であったので、これ以上の分析は行わなかった。

及び

水相:

最終散布 40 日後のブドウ果実中の HPLC 分析及び LC/MS 分析による結果は「表 3」のとおりで、「 」処理試料では 56%TRR が親化合物、%TRR が代謝物、 「 」処理試料では、親化合物は 62%TRR、代謝物は %TRR であった。

表 3. 抽出可能放射性成分

HPLC ピーク	「 」処理試料		「 」処理試料		同定結果
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	

抽出後の試料中の残留量(非抽出可能放射能)並びにそれらの抽出、更にでの非抽出分についての処理の結果は以下のとおりで、非抽出放射性成分のほぼ半分がセルロース及びリグニンと結合していることが確認された。

表 4. 非抽出可能放射性成分 (数値は mg/kg, カッコ内は%TRR)

	「 」処理試料	「 」処理試料
非抽出放射能 (RRR)	0.245 (15.7)	0.116 (12.2)
抽出放射能	0.023 (1.5)	0.006 (0.6)
粗リグニン	0.071 (4.6)	0.039 (4.1)
上澄み液中の放射能	0.111 (7.1)	0.027 (2.8)
; 粗セルロース	0.044 (2.8)	0.017 (1.8)

冷凍保存開始時及び約 6 ヶ月間-20°Cで冷凍保存後の処理試料中の代謝パターンには顕著な変化は認められず、被験物質は試料中において安定であることが確認された。

この試験から得られた「 ^{14}C 」及び「 ^3H 」標識化合物でそれぞれ処理したぶどう果実中の残留成分の同定及び解析の結果並びに同定効率を次頁の「表 5」にまとめた。

結果にみられるように、いずれの標識化合物処理においても、ブドウ果実中の主要残留成分は、親化合物（ ^{14}C ）と代謝物（ ^3H ）であり、標識位置が異なっても代謝パターンは同じであった。また、単環化合物への開裂は認められなかった。マイナーな代謝物として代謝物（ ^{14}C ）及び（ ^3H ）が確認され、これらは代謝物（ ^{14}C ）の誘導体か（ ^3H ）の（ ^{14}C ）であった。非抽出放射能残留物の約半分がセルロース及びリグニンと結合していた。ぶどう果実中の繊維素は約 2%と低いことから、非抽出性放射性成分はブドウ果実そのものよりも、果実の茎に残留していると考えられ、分析用に果実試料を調製する際に果実と茎を一緒にホモジナイズしたことが非抽出性放射能残留量が検出されたことの原因と思われる。

表 5. 同定効率

		「 ^{14}C 」 標識化合物		「 ^3H 」 標識化合物		確認方法
		濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	
同定代謝物	未変化の親化合物	0.860	55.7	0.588	61.79	
BOUND 残留物	粗リグニン	0.071	4.6	0.039	4.1	
	上澄み液	0.111	7.1	0.027	2.8	
	粗セルロース	0.044	2.8	0.017	1.8	
	小計	0.226	14.5	0.083	8.7	
	損失	0.054	2.7	0.027	2.9	
	総回収率	1.505	97.3	0.925	97.1	

* 非抽出物の水溶性成分

以上に述べたように、本試験では BOUND 残留成分も含め 80~92%TRR について残留成分が解析され、主要残留成分は未変化親化合物 (56~62%TRR) とその代謝物（ ^3H %TRR）であった。標識位置による代謝経路の違いは認められなかった。被験物質のぶどうにおける想定代謝経路を「図 1」に示した。

非抽出性放射能残留量は微量で、リグニン及びセルロース等の高分子作物成分と結合すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

図1. ピラクロストロビンのぶどうにおける想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

同定に使用した対照化合物：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

2-2. ピラクロストロピンの馬鈴薯における代謝試験

(代謝・分解 4)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試化合物：

1. ¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置設定理由：

2. 代謝物同定用対照化合物：本試験に使用した対照化合物を末尾に記載した。

申請者注：本抄録中において

「 」標識化合物で処理した試料を「 」処理試料、

「 」標識化合物を処理した試料を「 」処理試料として表記した。

試験方法：

試料の調製：

本試験における供試作物、栽培方法、処理方法、散布方法並びに試料採取は下表のとおりである。

供試作物	馬鈴薯(品種: quarta)。各標識化合物当り 12 個体で計 36 個体。
栽培方法	苗を砂土を入れたプラスチックポットに移植し、温室内で栽培。
散布方法	上述の各標識化合物に白試料を添加後、水を加えて散布液を調製し、この散布液を馬鈴薯個体全体に散布した。
散布濃度及び時期	300gA. I./ha の処理量で、第 1 回目散布は主茎伸長期、その後 6~10 日間隔で 5 回、計 6 回散布した。
試料採取までの日数	茎葉、塊茎及び根部の各試料を 2 回採取；1 回目(未成熟)は 3 回目の散布 7 日後、2 回目(成熟)は最終散布 7 日後に行った。採取後の試料は直ちに ≤-18℃ で冷凍保存した。

放射性成分の抽出及び同定：

放射能は、固形試料についてはサンプルオキシダイザーで燃焼して、液体試料は液体シンチレーションカウンティングにより測定した。

燃焼分析により TRR を測定するため、凍結後試料をホモジナイズし、この試料について抽出した。試料を秤り取り、適当な抽出溶媒で抽出した。

抽出後、試料を遠心分離し、上澄み液を定容フラスコに濾過し、それぞれの抽出溶媒で定容とした。この試料を LSC で分析した。最後に抽出物を合わせ、乾固し、定容とした。抽出物については、合わせた抽出物を乾固後、残留物を で処理し、懸濁液を遠心分離した。残渣を で再度溶解した。上澄み液は水で定容とした。代謝物の特徴付け及び抽出物のクリーンアップのため液/液分配を行った。抽出物中の有機溶媒を除去後、最初に で抽出し、各相を分離分取後、更に で抽出した。それぞれの有機溶媒相(及び/又は混合溶媒相)及び残りの水相の各試料について LSC 及び HPLC で分析した。多くの 抽出物分析のため、適切な HPLC 分析条件を設定した。

抽出物中の同定及び特徴づけは条件の異なる HPLC で対照物質とのクロマトグラフィーで行い、質量分析による確認も行った。BOUND 残留物についての検討は、「 」標識化合物で について 抽出及びその抽出液の HPLC 分析を行った。

又、保存安定性を検討するため、「 」処理茎葉試料(未成熟試料)及び「 」処理塊茎試料(成熟試料)を実験開始時と終了時に分析した。茎葉試料については実験開始時と終了時のいずれにおいても で抽出した。その後の操作は両時点で異なっており、実験開始時点では濃縮後の抽出物と残渣について検討し、その HPLC 分析結果を追加した。試験終了時点では 抽出物について分析した。塊茎試料については用いた抽出溶媒が異なり、実験開始時点では で抽出した。残留分析法での抽出効率を検討するため、3 回目の操作では 溶媒を使用した。

試験結果：

均一化した少量の試料を燃焼して総放射能残留量を測定した結果を「表 1」にまとめた。

表 1. 各試料部位における総放射能残留量(数値は mg/kg でカッコ内は茎葉に対する比率)

	「 」処理試料		「 」処理試料	
	1 回目採取試料	2 回目採取試料	1 回目採取試料	2 回目採取試料
茎 葉	12.686 (100)	58.293 (100)	24.047 (100)	68.761 (100)
塊 茎	0.014 (0.1)	0.049 (0.1)	0.010 (0.0)	0.039 (0.1)
根 部	0.208 (1.6)	0.678 (1.2)	0.450 (1.9)	0.986 (1.4)

結果にみられるように、「 」及び「 」いずれの処理試料においても茎葉部の TRR が最も高かった。塊茎部の TRR が最も低く茎葉部の残留量の 0.1% 以下で、根部の残留量は最大でも茎葉部の 2% 未満であった。しかしながら、試料が十分均一でなかったため繰り返し分析において結果にかなりな差が認められたことから、抽出効率等の計算における総放射能残留量(TRR)は抽出可

能放射能 (ERR) と非抽出性放射能 (RRR) の合計とした (表 2 参照)。

それぞれの試料について得られた抽出効率を「表 2」にまとめた。

表 2. 放射性成分の抽出効率 (数値は mg/kg でカッコ内は %TRR)

	「 」処理試料				「 」処理試料			
	1 回目採取試料		2 回目採取試料		1 回目採取試料		2 回目採取試料	
	茎 葉	塊 茎	茎 葉	塊 茎	茎 葉	塊 茎	茎 葉	塊 茎
総放射能 残留量 (TRR)	9.860 (100.0)	0.014 (100.0)	47.785 (100.0)	0.048 (100.0)	19.636 (100.0)	0.009 (100.0)	69.846 (100.0)	0.036 (100.0)
抽出 放射能 (ERR)	9.337 (94.7)	0.006 (39.1)	45.198 (94.6)	0.020 (41.6)	18.531 (94.4)	0.005 (48.7)	63.413 (90.8)	0.022 (61.9)
液/液分配								
有機溶媒相	9.108 (92.4)	—	43.767 (91.6)	0.004 (8.9)	17.304 (88.2)	—	35.941 (51.7)	0.016 (42.0)
水 相	0.235 (2.4)	—	0.889 (1.9)	0.014 (28.9)	0.143 (0.7)	—	1.292 (1.9)	0.004 (9.6)
非抽出 放射能 (RRR)	0.523 (5.3)	0.009 (61.0)	2.588 (5.4)	0.025 (51.8)	1.105 (5.6)	0.005 (51.3)	6.443 (9.2)	0.012 (32.6)

結果にみられるように、39.1~94.7%TRR が抽出され、茎葉試料からの抽出効率が 90.8 及び 94.7%TRR と最も高かった。塊茎試料では被験物質の標識位置の違いにより抽出効率にわずかな差が認められ、「 」処理試料では 39.1~41.6%TRR が で抽出されたが、「 」処理試料では 48.7~67.5%TRR が抽出された。また、代謝物を有機溶媒可溶成分と水溶性成分とに分類するための液/液分配では、「 」処理試料の放射能の大部分は有機溶媒相に検出されたが、「 」処理試料では塊茎部と茎葉部では挙動が異なっており、塊茎試料では放射能の大部分が水相に検出されたのに対して茎葉試料では有機溶媒可溶の代謝物が主であった。

「 」処理茎葉試料：

1 回採取試料 (未成熟試料) の 抽出物の HPLC クロマトグラムでは 20 のピークが認められたが、2 回目採取試料 (成熟試料) の HPLC クロマトグラムではピークは 3 つのみであった。1 回目採取試料中では、6.427mg/kg (65.2%TRR 相当) が親化合物であった。

が検出された。これらの合計は総放射能の %であった。合計 %TRR であった多くのマイナーなピーク成分 (何れもく %TRR) について HPLC で特徴付けした。

2 回目採取試料の 抽出物での主要ピーク成分も親化合物 (30.888mg/kg ; 64.6%TRR) 及び で、合計 %TRR であった。

「C-環」処理茎葉試料：

1 回目採取試料の 抽出物の HPLC クロマトグラムには 29 のピークが認められ、その内 5 つのピークについて同定できた。親化合物は 11.098mg/kg (56.5%TRR) であった。主代謝物は であった。HPLC で両者の比率が「 」処理試料と同等であることを確認した。 検出されたピークは

「 」及び/又は 「 」と同定された。マイナー成分として
及び

が検出された。これら全ての同定ピークを合計すると %TRR となった。 %TRR(マイナーピーク；それぞれ %TRR)が HPLC で特徴付けされた(表 13, 14)。

2 回目採取試料では、抽出物及び溶解試料について HPLC で分離検討した。抽出物には 5 つのピークのみが明瞭に認められた。これらは溶解試料にも認められたが、他にかなりな未知成分も認められた。抽出物と溶解試料を合わせた試料では、1 回目採取試料の結果と極めて類似しており、親化合物が 55.1%TRR (38.515mg/kg)、「 」が %TRR (mg/kg)、「 」及び/又は「 」が %TRR (mg/kg)、「 」が %TRR (mg/kg)、及び「 」が %TRR (mg/kg)であった。同定した抽出可能放射性成分の合計は %TRR で、更に %TRR (mg/kg)が HPLC 保持時間及び抽出挙動から同定できた。

「 」処理塊茎試料：

1 回目採取試料の抽出物の HPLC により、17 の明瞭なピークから 3 成分が同定され、質量分析により 「 」は、 %TRR (mg/kg)であった。親化合物は 2.5%TRR、「 」は %TRR のみであった。合計するとこれらの抽出可能放射性残留量は %TRR で、非抽出放射性残留量は 61.0%TRR (0.009mg/kg)であった。

2 回目採取試料では、抽出物及び抽出残渣について HPLC 分析を行った。何れのクロマトグラムも多くのピークを示しており、その内 1 成分についてのみ同定できた。「 ()」は mg/kg (%TRR)であった。1 回目採取試料と同様に、同定は HPLC での保持時間の比較で行った。別の %TRR について HPLC で特徴付けし、51.8%TRR (0.025mg/kg)が非抽出性残留物であった。更に、抽出残渣について 処理し、抽出物を HPLC で分析した。この試料においても多くのピークの内 1 成分についてのみ同定され、これはやはり代謝物「 ()」で %TRR であった。その他 %TRR についてマイナーな代謝物の合計として特徴付けされた。38.5%TRR (0.019mg/kg)が非抽出残留物であった。

「 」処理塊茎試料：

1 回目採取の「 」処理試料の HPLC 分析によりそれぞれ 13 及び 22 の明瞭なピークが認められ、その内の 5 成分について同定できた。抽出物及び抽出残渣を合わせると、親化合物は 21%TRR (0.002mg/kg)、「 」は 5.8%TRR、「 」は 6.2%TRR であった。「 」及び 「 」は %TRR であった。%TRR 検出されたマイナーな成分は 「 」と同定した。合計 %TRR について同定され、14.8%TRR について HPLC で特徴付けした。0.005mg/kg (51.3%TRR)が非抽出性残留物であった。

2 回目採取試料から得られた結果も極めて類似したもので、6 つのピークの内 5 成分について同定され、それらは 1 回目採取試料と同一であることが確認された。しかし、量的にわずかに異なっており、0.012mg/kg (29.4%TRR)が親化合物、「 」は mg/kg (%TRR)であった。%TRR 及び %TRR は「 」及び「 」であった。「 」及び「 」は %TRR であった。HPLC で更に %TRR が特徴付けされた。残りの 38.9%TRR (0.016mg/kg)は非抽出性残留物であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

各標識化合物処理後、異なる採取時期における茎葉試料及び塊茎試料の分析結果に基づく同定効率を「表 3」にまとめた。結果にみられるように、茎葉中の主要残留成分は未変化の親化合物であった。塊茎中の主要残留成分も未変化の親化合物であったが、その量は親化合物残留量に比して極めて低かった。同定された代謝物は7種で、その内「 」が茎葉試料中で %TRR を超える主要代謝物であった。その他の代謝物はいずれも < %TRR であった。

尚、採取試料を2年間保存後、抽出効率及び HPLC での代謝パターンの比較を行った保存安定性試験の結果は、放射能残留物の質に明らかな差のないことが確認された。

本試験の結果、被験物質の馬鈴薯における主要な代謝経路は下記のとおりであった。

馬鈴薯の茎葉及び塊茎中に検出された被験物質関連の主要残留成分は親化合物と「 」であった。

本試験の結果に基づく想定代謝経路を「図 1」に示した。

表 3：同定効率（数値は mg/kg で、カッコ内は %TRR）

		「 」処理試料				「 」処理試料			
		1 回目採取試料		2 回目採取試料		1 回目採取試料		2 回目採取試料	
		茎 葉	塊 茎	茎 葉	塊 茎 ^{*1}	茎 葉	塊 茎 ^{*1}	茎 葉	塊 茎
同定 代謝物	未変化親化合物	6.427 (65.2)	0.000 (2.5)	30.888 (64.6)		11.098 (56.5)	0.002 (21.0)	38.515 (55.1)	0.012 (29.4)
確認 成分									
抽出性同定・確認成分 合計									
非抽出成分		0.523 (5.3)	0.009 (61.0)	2.588 (5.4)	0.025 (51.8)	1.105 (5.6)	0.005 (51.3)	6.433 (9.2)	0.016 (38.9)
総 計 (総放射能)		9.997 (101.4)	0.014 (100.7)	46.049 (96.4)	0.048 (99.0)	19.555 (99.6)	0.010 (101.0)	68.823 (98.5)	0.037 (91.1)

注：「マイナー抽出成分合計」欄の〈 〉内の数値は検出されたマイナー成分のピーク数

*1. 抽出物と抽出残渣の合計

*2. < %TRR

*3. 報告書中の代謝物 と の合計値を 2 等分した

*4. < %TRR

参考：非抽出成分の 抽出(「 」処理 2 回目採取試料；塊茎)

非抽出成分	0.026 (52.3)
同定成分	
確認成分	
抽出性同定・確認成分合計	0.012 (23.4)
非抽出成分	0.019 (38.5)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

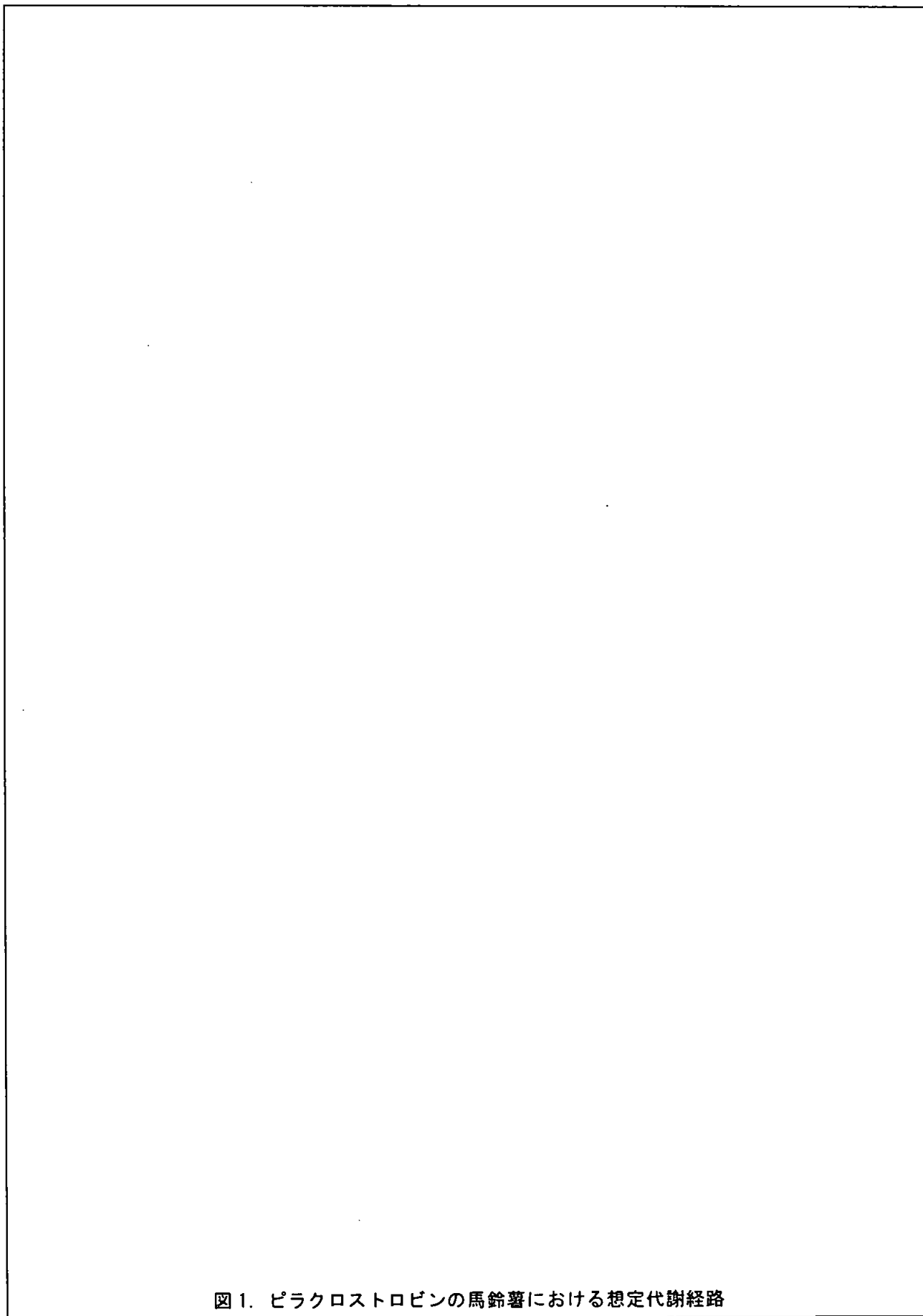


図 1. ピラクロストロビンの馬鈴薯における想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

同定に使用した対照化合物：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

2-3a. ピラクロストロビンの小麦における移行性試験

(代謝・分解 5-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試化合物：

¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置：本試験は 標識化合物 (=「 」標識化合物) で実施し、

試験方法：

試料の調製：

本試験における供試作物、栽培方法、処理方法、散布方法並びに試料採取は下表のとおりである。

供試作物	春小麦(品種:Eta)。
栽培方法	BASF 農業研究所の試験圃場で栽培。土質:壤質砂土
散布方法	1 処理区当り 16x16cm のプラスチックポット 2 個使用； 0.05m ² /処理区。所定量の標識化合物、空試料及び水を混合して調製した処方異なる 2 製剤(A, B)*1 の散布液を手動散布器で処理。
散布濃度及び時期	処理量:250gA. l./ha 第 1 回目処理:BBCH スケールによるステージ 32/33*2 第 2 回目処理:BBCH スケールによるステージ 43/47*3
試料採取までの日数	第 1 回目処理区試料:処理 11 日後に 8 個体採取。 第 2 回目処理区試料:処理 15 日後に 20~21 個体採取。

*1. 活性剤の比率が異なる下記の 2 乳剤(製剤組成 g/L)を使用した。

製剤	有効成分	湿展剤	乳化剤	溶媒
B	250	250	100	400
A	250	0	100	650

*2. 第 2 葉が完全に展開し、止め葉は第 2 葉の葉鞘部に不完全に巻いた状態

*3. 未だ閉じている止め葉の葉鞘部に穂があることが感じられる状態。

葉鞘が開き、穂が視認出来る作物個体は散布前に除去した。

試料の処理：

燃焼分析は、第 1 回目処理試料では第 1 葉(止め葉)、第 2 葉及び第 3 葉それぞれについて、第 2 回目処理試料では穂、第 1 葉(止め葉)、第 2 葉についてそれぞれ行った。燃焼分析用の試料を秤り取る前に、各作物部位からの試料を混合し、試料にドライアイスを追加して実験室用粉碎機で粉碎した。

オートラジオグラム用に少なくとも 2 個体を各処理区から採取した。濾紙の間に試料を挟んで

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

室温で約 1 週間乾燥した後、厚紙に留め、X-線フィルムの上に 21 日間放置した。X-線フィルムを現像後、¹⁴C-標識化合物の作物中での移行をオートラジオグラムにより確認した。

試験結果：

燃焼分析による各作物部位の放射能及びその結果に基づく移行率を「表 1」及び「表 2」にまとめた。

表 1. 第 1 回目処理試料の各作物部位の放射能及び移行率

(放射能数値は μg 親化合物相当量)

	処 理 部		無処理部	合 計	移行率 (%)
	第 3 葉	第 2 葉	第 1 葉 (止め葉)		
製剤 A	6.145	5.456	0.043	11.644	0.370
製剤 B	2.833	3.322	0.057	6.214	0.953

表 2. 第 2 回目処理試料の各作物部位の放射能及び移行率

(放射能数値は μg 親化合物相当量)

	処 理 部		無処理部	合 計	移行率 (%)
	第 2 葉	第 1 葉 (止め葉)	穂		
製剤 A	2.18	8.246	0.144	10.57	1.36
製剤 B	2.902	9.704	0.189	13.118	1.48

結果に見られるように、処理部から無処理部への移行は、第 1 回目処理試料では平均 0.370~0.953%、第 2 回目処理試料では 1.36~1.48%で、処理した葉から新たに展開した葉への放射能の移行は極めて小さいことが確認された。また、活性剤の比率が異なっても移行率への顕著な影響は認められなかった。

この移行性については各処理区から採取した個体のオートラジオグラムでも確認された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

2-3b. ピラクロストロビンの小麦における代謝試験

(代謝・分解 5-2)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：

供試化合物：

1. ¹⁴C-標識

Methyl-N-[[[1-(4-chlorophenyl)pyrazol-3-yl]oxy]-o-tolyl]-N-methoxycarbamate

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

「 」標識化合物

放射化学的純度：

比放射能：

標識位置設定理由：

2. 代謝物同定用対照化合物；本試験に使用した対照化合物を末尾に記載した。

申請者注：本抄録中において
「 」標識化合物で処理した試料を「 」処理試料、
「 」標識化合物を処理した試料を「 」処理試料として表記した。

試験方法：

試料の調製：

本試験における供試作物、栽培方法、処理方法、散布方法並びに試料採取を下記とおりである。

供試作物	春小麦
栽培方法	屋外圃場で栽培した個体をプラスチックポットに植え替え、BASF 農業研究所のガラス屋根付き栽培研究室で自然状態で栽培した。
散布方法	1 処理区当り 16x16cm のプラスチックポット 60 個使用；1.54m ² /処理区。所定量の標識化合物、空試料及び水を混合して調製した製剤の散布液を小型散布機で処理。
散布濃度及び時期	処理量：300gA. I. /ha で 2 回処理。 - 第 1 回目処理：BBCH スケールによるステージ 32 - 第 2 回目処理：BBCH スケールによるステージ 61 ² ；1 回目の処理後 24~25 日
試料採取日採取部位	・第 2 回目の処理後、0 日（散布液が乾いた直後；以下「0DALT 試料」とする）、31 日（育刈り試料；以下「31DALT 試料」とする）及び 41 日（成熟個体で子実、籾殻、麦わらに分割；以下「41DALT 試料」とする） ・採取後の試料は直ちに -18℃ で冷凍保存した。

*1. 節間伸張期（第 2 節間が認識できる） *2. 開花始期

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

放射性成分の抽出及び同定；

放射性成分の抽出は、均一化した試料を で抽出した。試料に溶媒を加えて、Ultra Turrax で数分間攪拌した。次いで、遠心分離し、濾過後上澄み液を集めた。抽出の各段階における上澄み液を合わせて定容とし、LSC で測定した。抽出残留物の放射能は燃焼し、LSC で測定した。

抽出物中の可溶性放射性成分及び水抽出物の同成分については、液/液分配により更に分析した。

抽出物では、 を留去後、残った水相を定容とした後、この溶液を 分配した。 , LSC で測定した。

非抽出性放射能残留成分の同定は、 抽出残留物に 溶液を加えて Ultra Turrax で混合した。抽出残渣を同様に処理した。次いで抽出物を遠心分離 した。同じ操作を繰り返し、抽出液を合わせ、LSC で放射能を測定した。

Cellulose 及び lignin は、

残留物からそれぞれ分離した。 固形残留物については、還流抽出し、 濾液及び洗浄液を別々に集めた。残渣 乾燥した。乾燥 cellulose 及び上澄み液について放射能を測定した。濾液及び洗浄液から粗 (crude) lignin を 沈殿させた。沈殿物及び上澄み液について燃焼及び LSC で放射能を測定した。

残渣を 緩衝液と混合した。この溶液に、 酵素混合物)を加えた。次いで、 インキュベートした。遠心分離後、上澄み液と沈殿物について放射能を測定した。

青刈り試料(31DALT)からの代謝物の分離

代謝物の分離は「 」処理試料についてのみ実施した

麦わら試料(41DALT)からの代謝物の分離

抽出後、 分配し、有機溶媒相を更に精製した。

子実試料 (41DALT) からの代謝物の分離

代謝物の分離は「 」処理試料についてのみ実施した。

試験結果：

1. 総放射能残留量 (TRR)

「表 1」にみられるように、全試料において実測値と計算値が同程度であった。しかし、幾つかの試料では繰り返し燃焼で得られた結果にバラツキがみられ、あるいは総放射能残留 (TRR) が抽出可能放射能 (ERR) と非抽出性放射能 (RRR) の合計値と異なることがあった。これは、試料の均一性が十分でなかったか、試料の水分含量によるものと考えられることから、TRR は ERR と RRR の合計値とし、この値 (表 1 の「計算値」) で抽出物及びクロマトグラムの放射能の算出基礎とした。

表 1. 各試料部位における総放射能残留量 (数値は mg/kg でカッコ内は麦わらに対する比率)

	「 」処理試料		「 」処理試料	
	実測値 ¹⁾	計算値 ²⁾	実測値 ¹⁾	計算値 ²⁾
青刈り	7.424 (14.5)	6.527 (17.3)	8.393 (17.7)	6.793 (16.8)
麦わら	50.511 (100)	37.768 (100)	47.539 (100)	40.461 (100)
子実	0.078 (0.2)	0.098 (0.3)	0.447 (0.9)	0.441 (1.1)
籾殻	26.297 (52.1)	24.251 (64.2)	34.456 (72.5)	30.617 (75.7)

1. 試料を直接燃焼して得られた値。

2. 抽出可能放射能 (ERR) と非抽出性放射能 (RRR) の合計値 (TRR)

非食用部位における TRR は、青刈りで 6.5mg/kg、麦わらで 40.5mg/kg で、籾殻では 24~31mg/kg であった。青刈りから麦わらへのかなりな TRR の増加は、成熟期間中における水分損失のため乾燥作物中で残留物が濃縮されたためであると説明できる。食用部位である子実中の TRR は <0.45mg/kg と低かった。籾殻及び麦わら中の TRR レベルの点から、被験物質は「莖、葉あるいは包穎 (glumes)」から「実」へ殆ど移行しないことを意味している。更に、籾殻の主たる構成要素である包穎 (glumes) が散布液が直接「実」に付着することを効果的に妨げている。子実において「 」処理試料と「 」処理試料の間には 4.5 倍もの TRR 値の差が認められ、これは被験物質の開裂並びにその後のフラグメントの移行に起因していると考えられる。

2. 抽出効率

それぞれの試料について得られた抽出効率を「表 2」にまとめた (注：文中の成分については「表 5-1」参照)。

結果にみられるように、青刈り及び麦わら試料に対する抽出及びその後での抽出は極めて有効で、約 85%TRR が抽出された。TRR が主として非極性成分である未変化の親化合物「 」及び「代謝物」で構成されていたことから、放射能の大部分は

で抽出された。子実試料からの抽出効率は劣り、「 」処理試料で 51%TRR、「 」処理試料で 71%TRR であった。標識位置による総抽出効率、抽出効率 (25.6% TRR/55.8%TRR)、抽出効率 (25.6%TRR/15.2%TRR) に差が認められるが、これは「 」処理試料と「 」処理試料それぞれの抽出物の放射能の組成が異なることによるものである。青刈り及び

麦わらと同様に、「 」処理子実試料からの代謝パターンは、「 」と「代謝物」が主要な残

留成分で、これらのいずれも で容易に抽出された。他方、「 」処理試料における主たる残留成分は で
及び で同量の放射活性が抽出された。

表 2. 放射性成分の抽出効率(数値は mg/kg でカッコ内は%TRR)

処 理 区	「 」処理区				「 」処理区			
	青刈り	麦わら	子 実	籾 殻	青刈り	麦わら	子 実	籾 殻
試 料	31DALT				41DALT			
試料採取時期 ¹⁾	31DALT	41DALT			31DALT	41DALT		
総放射能 (TRR)	6.793 (100)	40.461 (100)	0.441 (100)	30.617 (100)	6.527 (100)	37.768 (100)	0.098 (100)	24.251 (100)
抽出放射能	5.436 (80.0)	31.777 (78.5)	0.113 (25.6)	18.183 (59.4)	5.282 (80.9)	28.191 (74.6)	0.055 (55.8)	13.257 (54.7)
有機溶媒相	4.785 (70.1)	32.011 (79.1)	0.064 (14.5)	17.424 (56.9)	4.495 (68.9)	29.214 (77.4)	0.054 (54.7)	12.998 (53.6)
水 相	0.545 (8.0)	1.303 (3.2)	0.045 (10.3)	1.63 (5.3)	0.781 (12.0)	0.918 (2.4)	0.007 (6.7)	1.166 (4.8)
抽出放射能	0.281 (4.1)	2.915 (7.2)	0.113 (25.6)	3.639 (11.9)	0.274 (4.2)	3.775 (9.9)	0.015 (15.2)	3.421 (14.1)
抽出可能放射能小計 (ERR)	5.717 (84.1)	34.692 (85.7)	0.226 (51.2)	21.822 (71.3)	5.556 (85.1)	31.946 (84.5)	0.070 (71.0)	16.678 (68.8)
非抽出性放射能 (RRR)	1.076 (15.8)	5.769 (14.3)	0.216 (48.8)	8.795 (28.7)	0.970 (14.9)	5.882 (15.4)	0.028 (29.0)	7.573 (31.2)

1) 31DALT : 第 2 回目処理 31 日後 41DALT : 第 2 回目処理 41 日後

青刈り及び麦わら試料の 抽出物を有機溶媒と水で分配すると、放射能の大部分は有機溶媒可溶分として検出された。これは、抽出放射性成分が主として何れも非極性物質である未変化の親化合物と「代謝物 」で構成されていることによるものである。これは「 」処理子実試料においても同様である。しかし、「 」処理の子実試料では主体は水溶性成分で、これは が主代謝物であるためである。

「表 2」にみられるように、同程度の非抽出性残留量が各標識化合物で処理した青刈り及び麦わら試料に検出され、約 15%TRR であった。この比較的低い率にかかわらず、絶対量は青刈り試料で 1mg/kg、麦わら試料では 5.8mg/kg であったので、詳細な特徴付けを行った。結果を次頁の「表 3」にまとめた。

最初の 処理では約 3%TRR が抽出され、これは非抽出性放射能残留量 (RRR) の最大限 20%に相当する。抽出物は主として 並びに 2 種の代謝物で構成されていると推定された。抽出後の残留物について、生体高分子物質 (biopolymer) である cellulose 及び ligin に結合した放射能を更に分析したが、実施したどの方法も全 cellulose あるいは全 ligin を純粋に取り出すことができなかつた。しかしながら、充分選択的ではないものの厳しい抽出条件であったので、多少なりとも粗 cellulose あるいは粗 ligin を得た。また、それぞれの方法が有する問題点から、ligin 及び cellulose を分離するため 2 乃至 3 種の異なる方法を実施し、得られた結果を平均してこれらの画分に結合した放射能の量を算出した。全体として、異なる分離方法で得られた結果は同程度であった。

表 3. 青刈り及び麦わら試料の非抽出性放射性 (RRR) 成分の検討 (数値は mg/kg でカッコ内は %TRR)

処理区	「 」処理区		「 」処理区	
	青刈り	麦わら	青刈り	麦わら
試料採取時期 ¹⁾	31DALT	41DALT	31DALT ¹⁾	41DALT
総放射能 (TRR)	6.221 (100)	44.482 (100)	5.738 (100)	47.018 (100)
抽出可能放射能 (ERR)	5.110 (82.1)	35.705 (80.3)	4.853 (84.6)	38.569 (82.0)
非抽出性放射能 (RRR)	1.111 (17.9)	8.777 (19.7)	0.885 (15.4)	8.449 (18.0)
抽出	0.159 (2.6) 14.3%RRR	1.261 (2.8) 14.4%RRR	0.173 (3.0) 19.5%RRR	1.582 (3.4) 18.7%RRR
非抽出	0.952 (15.3)	7.516 (16.9)	0.712 (12.4)	6.867 (14.6)
Cellulose ²⁾	0.068 (1.1)	0.663 (1.5)	0.039 (0.7)	0.300 (0.6)
Cellulose/ hemicelluloses ³⁾	0.148 (2.4)	1.086 (2.4)	0.168 (2.9)	0.766 (1.6)
Cellulose ⁴⁾	n. d.	1.818 (4.1)	n. d.	0.360 (0.8)
Cellulose 平均	0.112 (1.8) 10.1%RRR	1.157 (2.6) 13.2%RRR	0.103 (1.8) 11.6%RRR	0.470 (1.0) 5.6%RRR
Lignin ²⁾	0.317 (5.1)	2.546 (5.7)	0.289 (5.0)	2.172 (4.6)
Lignin() ⁵⁾	0.528 (8.5)	4.460 (10.0)	0.221 (3.8)	4.183 (8.9)
Lignin 平均	0.423 (6.8) 38.1%RRR	3.514 (7.9) 40.0%RRR	0.252 (4.4) 28.5%RRR	3.197 (6.8) 37.8%RRR
HCl で沈殿しない アルカリ可溶分	0.373 (6.0) 33.6%RRR	2.372 (5.4) 26.5%RRR	0.306 (5.3) 34.5%RRR	3.137 (6.7) 37.1%RRR

1) 31DALT : 第 2 回目処理 31 日後 41DALT : 第 2 回目処理 41 日後

2)

3)

4)

5)

青刈り及び麦わら試料の cellulose に結合した放射能の平均値は 1.0~2.6%TRR で、両試料の間には明確な差は認められなかった。

Lignin に結合した放射能はより高かった ; 4.4~7.9%TRR.

Cellulose 及び lignin に結合した放射能を合計すると、非抽出性放射能残留量 (RRR) の約 40~50%がこれらの生体高分子物質 (biopolymer) に該当した。約 14~20%RRR が抽出された (表 3)。残りの約 30~40%RRR は、HCl では沈殿しないアルカリ可溶性放射性成分として特徴付けられた。この画分は、hemicelluloses あるいは lignin-多糖類複合体を含むと考えられることから、本試験で用いた方法では分類できなかった。

「表 2」にみられるように、子実での抽出効率「 」処理試料で 71.0%TRR, 「 」処理試料では 51.2%TRR で、非抽出性放射能残留量 (RRR) はそれぞれ 29.0%TRR (0.028mg/kg) 及び 48.8%TRR (0.216mg/kg) となる。各標識化合物処理試料間に明らかな差があることから、非抽出性放射能残留成分の特徴付けはそれぞれの標識化合物処理試料について別々に行った。結果を「表 4」に示した。

表 4. 子実試料の非抽出性放射能 (RRR) 成分の検討 (数値は mg/kg でカッコ内は %TRR)

処理区	「 」処理区	「 」処理区
試料	子実	子実
試料採取時期 ¹⁾	41DALT	41DALT ¹⁾
総放射能 (TRR)	0.441 (100)	0.082 (100)
抽出可能放射能 (ERR)	0.226 (51.2)	0.054 (66.4)
非抽出性放射能 (RRR)	0.216 (48.8)	0.027 (33.7)
抽出	0.113 (25.5)	0.009 (11.3)
上澄み液 ²⁾	0.089 (20.2)	n. d.
アミノ酸画分 ³⁾	0.047 (10.7)	n. d.
非抽出	0.098 (22.1)	0.018 (22.4)
抽出後の澱粉沈殿物 ⁴⁾	0.022 (5.0)	0.009 (10.5)
抽出後の上澄み液 ⁵⁾	0.012 (2.7)	0.004 (5.2)
非抽出	0.065 (14.9)	0.008 (9.9)
非抽出成分の熱湯抽出	0.015 (3.4)	n. d.
非抽出成分の NaOH 抽出	0.043 (9.8)	n. d.
非抽出成分 (cellulose)	0.007 (1.7)	n. d.

1) 41DALT : 第 2 回目処理 41 日後

2)

3)

4)

5)

「 」処理試料では 処理後の可溶性放射性成分は 11.3%TRR (0.009mg/kg) であった。抽出前の水抽出物 (15.2% TRR) では殆ど分離しない極めて多くのピークが認められ、これらは定量不能であった (図 1)。このため、抽出物についての分析は行わなかった。抽出後の 処理により、10.5% TRR (0.009mg/kg) が澱粉に結合しており、別に 5.2%TRR が混合溶媒で可溶化された。しかし、添加による澱粉の沈殿は認められなかった。9.9%TRR (0.008mg/kg) 検出された 抽出後の固形相については更なる特徴付けは行わず、これを最終残留物とした。

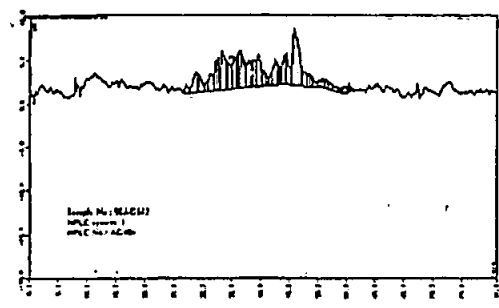


図 1. 水抽出物のクロマトグラム

「 」処理試料においては、での処理により 25.5%TRR (0.113mg/kg) が抽出され、RRR の半分以上であった。抽出物からの蛋白を沈殿させ、沈殿物を分解した結果、蛋白分解後の液相に 10.7%TRR (0.047mg/kg) が検出された。液相について HPLC クロマトグラフィー分析を行ったところ、クロマトグラムには 1 つの放射能ピークが認められ、が植物蛋白に取り込まれたことを示している。抽出後の残留物量は 22.1%TRR (0.098mg/kg) であった。「 」処理試料と同様に、次の解析は抽出による澱粉の分離で、抽出後で沈殿させた結果、5.0% TRR (0.022mg/kg) が澱粉に結合しており、別に 2.7%TRR が上澄み液に検出された。澱粉抽出後、14.9%TRR (0.065mg/kg) 含有していた残留物を熱水で処理し、DMSO/水抽出により全ての澱粉

が除去されたか否かを検討した結果、中に検出された放射能は 3.4%TRR と微量であり、また I₂/KI 試薬での澱粉反応も認められなかったことから、澱粉が除去されたことが確認された。処理後の残留物から主として「ふすま」に含まれるアルカリ可溶物質(例えば hemicelluloses)を取り出すため、残留物を還流下で希釈 NaOH で抽出した。NaOH 可溶画分に 9.8%TRR (0.043mg/kg) が検出された。残りのアルカリ不溶性放射能 (1.7%TRR, 0.007mg/kg) についてはこれ以上の分析は行わず、最終残留物とした。

3. 同定効率

質量分析を伴う種々の異なる条件での HPLC 分析により同定及び特徴付けしたそれぞれの試料部位についての結果を「表 5-1, -2, -3」にまとめた。

麦わら試料では %TRR 及び %TRR と極めて高率で同定でき、青刈り試料ではやや低く %TRR 及び %TRR であった(表 5-1)。クロマトグラフ的に特徴付けしたか、あるいは生物高分子物質に結合していることを確認した放射性成分の量を加えると、4 種の試料それぞれについての同定程度は %TRR となる(表 5-1, -2)。

子実試料の抽出可能放射性成分に基づく同定程度は、「」処理試料で %TRR, 「」処理試料では %TRR であった(表 5-1)。このように低い同定程度は、子実中の非抽出性放射能残留量がより高かったためである。しかしながら、「」処理試料の非抽出性放射能残留量から更に %TRR が「代謝物」, tryptophan 並びに tryptophan 含有蛋白であると(表 5-3)ことを考慮すると、同定程度は %TRR となる。クロマトグラフ的に特徴付けしたか、あるいは非抽出性放射能残留量から取り出した放射活性成分の量を加えると、同定程度並びに特徴付けの程度は %TRR となる。

4. 保存安定性

20 ヶ月の試験期間中の保存安定性について試験した結果、保存した抽出物及び保存試料の抽出物いずれにおいても、保存開始時の試料の抽出物について得られた代謝パターンと明らかな差は認められなかった。

以上被験物質の小麦における代謝について試験した結果、代謝機構は小麦の部位により異なっており、青刈り及び麦わらでは同様な代謝パターンを示し、未変化の親化合物及びその「代謝物」のみが明らかな残留成分であった。別に、親化合物及び「代謝物」の水酸化物が少量検出され、それらの幾らかはメチル化されあるいは glucose と結合していた。子実でも、未変化の親化合物と「代謝物」が検出されたが、量的にははるかに少量であった。子実中における主要な代謝過程は、

被験物質の小麦中における想

定代謝経路を「図 2」にまとめた。従って、

未変化の親化合物 (8~58%TRR) が最も主要な残留成分で、次いで「代謝物」であった (%TRR)。抽出物について同定された他の全ての代謝物は、明らかに %TRR で、大部分は %TRR であった。

表 5-1. 同定効率(数値は mg/kg でカッコ内は%TRR)

		「 」処理区			「 」処理区			
		青刈り試料	麦わら試料	子実試料	青刈り試料	麦わら試料	子実試料	
抽出可能成分	同定成分	未変化親化合物()	3.598 (52.9)	23.616 (58.3)	0.035 (8.1)	3.724 (57.0)	21.603 (57.2)	0.036 (36.1)
		代謝物						
		同定成分合計						
	特徴づけ成分							
		水抽出(注:◇内は検出された成分又はt ⁻¹ 数)						
	特徴づけ抽出成分合計							
	同定・特徴づけ抽出成分合計							
非抽出成分(RRR)		1.076 (15.8)	5.769 (14.3)	0.216 (48.8)	0.970 (14.9)	5.822 (15.4)	0.028 (29.0)	
総計(TRR)		6.793 (99.8)	40.464 (100.0)	0.442 (100.1)	6.523 (100.0)	37.632 (99.6)	0.098 (100.1)	

* マイナー成分 , 未変化親化合物, 代謝物

表 5-2. 同定効率；非抽出成分の検討 (数値は mg/kg でカッコ内は%TRR)

		「 」処理区			「 」処理区		
		青刈り試料	麦わら試料	子実試料	青刈り試料	麦わら試料	子実試料
非抽出成分	抽出成分 (注：<>内は検出されたピーク数)	0.159 (2.6) <8>	1.261 (2.8) <5>	0.113 (25.5)	0.173 (3.0) <10>	1.582 (3.4) <5>	0.009 (11.3)
	粗セルロース	0.112 (1.8)	1.157 (2.6)	抽出及び非抽出成分についての検討結果を「表 5-3」に示した	0.103 (1.8)	0.470 (1.0)	
	粗リグニン	0.423 (6.8)	3.514 (7.9)		0.252 (4.4)	3.197 (6.8)	
	澱粉						0.009 (10.5)
	上澄み液						0.004 (5.2)
	HCl で沈殿しない70%可溶成分	0.373 (6.0)	2.372 (5.4)		0.306 (5.3)	3.137 (6.7)	
小計	1.067 (17.2) 96%RRR	8.304 (18.7) 94~95%RRR		0.834 (14.5) 94%RRR	8.386 (17.9) 99%RRR	0.022 (27.0) 80~81%RRR	

表 5-3. 「 」処理区の子実試料の非抽出性放射性成分 (RRR) の特徴づけ

	「 」処理 子実試料	
	mg/kg	(%TRR)
抽出成分	0.113	(25.5)
澱粉 ^{*2}	0.022	(5.0)
抽出後の上澄み液 ^{*3}	0.012	(2.7)
非抽出成分の熱湯抽出	0.015	(3.4)
非抽出成分の NaOH 抽出	0.043	(9.8)
粗 cellulose (NaOH 非抽出成分)	0.022	(5.0)
合計	0.227	(51.4)

注：表 5-1, -2, -3 の結果は同一試料について、異なる分析方法で操作して得られたものである。

- *1.
- *2.
- *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 BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

セルローズ、リグニン、澱粉、蛋白との BOUND 残留物

図 2. ピラクロストロビンの小麦における想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は BASF ジャパン株式会社にある。

Pyraclostrobin

同定に使用した対照化合物：