

1. 動物体内運命に関する試験

1) ラット体内における代謝試験

(資料 No. 運命-1)

試験機関:

[GLP 非対応]

報告書作成年: 1984 年

供試標識化合物: トリフルミゾール

(E)-4-クロロ- α , α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試動物: CD (SD)系ラット雄雌 7 週齢

投与時平均体重: 雄: 209 g 雌: 157 g

方法:

投与方法: ^{14}C -トリフルミゾールおよび非標識トリフルミゾールのを混合し、濃縮後、に溶解させて投与液を調製した。投与量は約 12 mg (54.7 μCi) / 1.37 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いてラット (雌雄各 5 匹) に強制経口投与した。また、代謝物同定のための尿試料を得るため、非標識トリフルミゾールで同位体希釈を行った ^{14}C -トリフルミゾール投与液を、ラット (雄 20 匹) に 500 mg (0.8 μCi) / 匹/日の用量で 30 日間経口投与した。

試料の採取: ^{14}C -トリフルミゾールを投与したラットを代謝ケージに収容し、投与後 0.25、0.5、1、2、3、4、6、12、24 および 48 時間目に血液を採取し、血漿を得た。尿および糞は、投与後 24 および 48 時間目に採取した。代謝ケージは:

で洗浄し、洗浄液は尿と合わせた。投与後 48 時間目にラットを、頸動脈放血により致死させ、血液、脂肪、精巢、卵巣、子宮、脾臓、腎臓、肝臓、心臓、肺、脳、膵臓、副腎、大腿筋、大腿骨、消化管 (胃、小腸、大腸、盲腸) およびその内容物、および残屍体を採取した。

屠殺時期は、 ^{14}C -トリフルミゾールを 10 mg/kg の割合で雄ラットに経口投与した予備試験において、2 日目の放射能体内残存率が投与量の 5% 以下であったことから、投与後 48 時間目とした。また、上記予備試験において、呼気への放射能の排泄は 4 日間で 0.07% であったことから、本試験では呼気を捕集しなかった。

分析方法: 尿はセライトをのせたろ紙でろ過後、LSC により放射能を測定し、セライトとろ紙は燃焼後、LSC で放射能を測定した。糞は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、LSC で放射能を測定した。血液および組織は、一部または全量を燃焼、または水を加えてホモジナイズした後、一部を燃焼させ、放射能を測定した。大腿骨は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、放射能を測定した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

尿 (0~1 日目) および糞 (0~1 日目) の分析スキームを図 1 および 2 に示す。
について、標品との TLC コクロマトグラフィーを行い、代謝物を分析した。肝臓および腎臓における放射能の組織結合率を測定するため、図 3 に示す方法で分析した。

また、代謝物同定用試料を得るために 500 mg (0.8 μ Ci) /匹/日で反復投与したラットの尿を用い、
、カラムクロマトグラフィー、TLC および / または HPLC により代謝物を精製し、NMR および MS 分析を行って代謝物を同定した。

図 1 尿の分析スキーム

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

図2 糞の分析スキーム

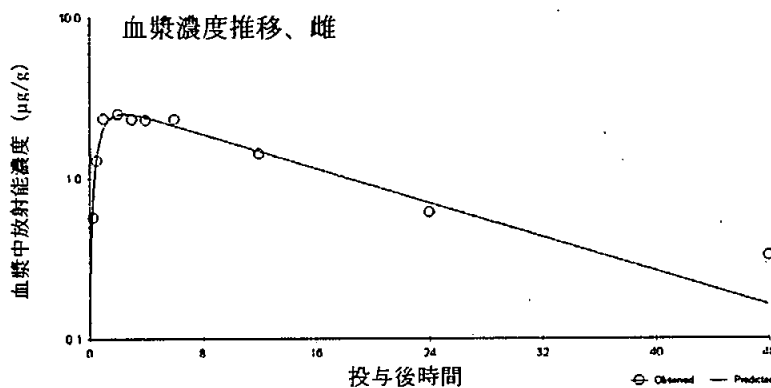
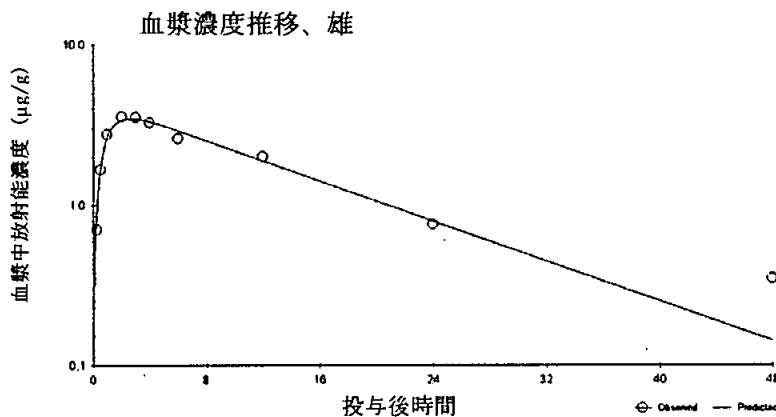
図3 肝臓および腎臓の分析スキーム

結果：

血中濃度推移：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 12 mg/kg の用量で経口投与後の血漿中放射能濃度を表 1 に示す。血漿中放射能濃度は、雌雄ともに、投与後 2 時間目に最高値となり、その後速やかに減少して、投与後 48 時間目には 0.35 µg/g 以下となった。

表 1 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 12 mg/kg の用量で経口投与後の血漿中放射能濃度

投与後時間	血漿中放射能濃度 (µg トリフルミゾール換算/g 血漿)	
	雄	雌
0.25	0.71	0.57
0.5	1.67	1.29
1	2.76	2.37
2	3.58	2.52
3	3.54	2.33
4	3.28	2.32
6	2.61	2.33
12	2.01	1.42
24	0.76	0.62
48	0.35	0.33



		雄	雌
Tmax	hr	2.65	2.45
Cmax	µg/g	3.47	2.53
半減期	hr	9.63	11.31
AUC _∞	hr·µg/g	58.30	47.94

得られたデータを元に血漿パラメータを1-コンパートメントモデルで算出した結果、Cmaxは雄3.47 µg/g、雌2.53 µg/g、Tmaxは雄で2.7時間、雌で2.5時間、T1/2は雄9.63時間、雌11.3時間であった(申請者算出)。

排泄： ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに12 mg/kgの用量で経口投与後2日目までの、尿および糞への放射能の排泄および体内残存量を表2に示す。投与した放射能の回収率は95~96%であった。回収された放射能のうち、雌雄ともに78%が尿中に、20%が糞中に認められ、体内残存量は2%以下であった。主要な排泄経路は尿であった。

表2 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに12 mg/kgの用量で経口投与後2日目までの尿および糞への放射能の排泄および体内残存量

	放射能の排泄および残留量 (%) ^a	
	雄	雌
尿中排泄		
0~1日目	74.5	73.2
1~2日目	3.2	4.7
尿小計	77.7	77.9
糞中排泄		
0~1日目	18.8	19.0
1~2日目	1.5	1.3
糞小計	20.3	20.3
組織および残屍体中残存量	2.0	1.8
吸収率 ^b	>79.7	>79.7
回収率	95.3	96.0

a 放射能の尿中および糞中排泄量および、組織および残屍体中残存量の数値は、各ラットから回収された放射能量に対する割合(%)から算出した数値で示し、回収率は投与量に対する割合(%)で示す。

b 投与2日目までの尿中排泄率および組織・残屍体中残存量から推定した(申請者計算)。

組織分布：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 12 mg/kg の用量で経口投与後 2 日目の組織中放射能濃度を表 3 に示す。肝臓における放射能濃度は 0.92~1.22 ppm (0.40~0.52% IAR: 申請者計算)であったが、他の組織では 0.5 ppm 以下であった。脳、肝臓、腎臓、脂肪、脾臓、心臓、肺および、消化管およびその内容物において、雄の方が雌より高かった。

表 3 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 12 mg/kg の用量で経口投与後 2 日目の組織中放射能濃度および放射能分布

組織	組織中放射能濃度 (ppm ^a)		組織中放射能分布 (%IAR ^b)	
	雄	雌	雄	雌
血漿	0.26	0.20	-	-
脳	0.42	0.30	0.03	0.03
肝臓	1.22	0.92	0.52	0.40
腎臓	0.50	0.26	0.05	0.02
大腿筋	0.10	0.10	-	-
大腿骨	0.10	0.10	-	-
脂肪	0.10	0.02	-	-
脾臓	0.30	0.22	0.01	0.01
心臓	0.30	0.20	0.01	0.01
肺	0.40	0.30	0.02	0.02
膵臓	0.22	0.18	0.01	0.01
副腎	0.36	0.30	0.00	0.00
残屍体	0.12	0.14	-	-
精巣	0.16	-	0.02	-
卵巣	-	0.16	-	0.00
子宮	-	0.10	-	0.00
消化管および内容物	0.37	0.21	0.33	0.21

a トリフルミゾール換算値で示す。

b %IAR: 投与量%、申請者計算。

代謝： 本実験の代謝物分析に先立ち 500 mg (0.8 μCi) /匹/日で反復投与したラットの尿を用いて行った同定実験において以下の 10 化合物の MS データが、別途合成された標準品の機器スペクトルと一致した

¹⁴C-トリフルミゾールを投与した雌雄ラットの尿の放射能分布、および糞のメタノール抽出および抽出液の放射能分布を表 4 に示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布、および糞のメタノール抽出および抽出液の放射能分布をそれぞれ示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。

に認められた。これらの画分を TLC 分析して得られた代謝物の割合を表 5 に示す。尿および糞中に親化合物および 16 種の代謝物が認められた。尿中主要代謝物はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。抽出液中の放射能の大部分はカラムにおける放射能分布をそれぞれ示す。

肝臓および腎臓における残留放射能の組織への結合率を検討した結果を表 6 に示す。結合放射能量は、肝臓で 70~80%、腎臓で 50%程度であったが、濃度は、肝臓では 0.66~0.99 ppm、腎臓では 0.14~0.26 ppm に過ぎなかった。

表4 ¹⁴C-トリフルミゾールを投与した雌雄ラットの尿および糞中代謝物分析における各画分への放射能の分布

画分	放射能の分布 (%) ^a			
	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
抽出				
抽出液	-	75.23	-	76.64
抽出残渣	-	24.77	-	23.36
カラムクロマトグラフィー				
水画分	1.56	1.06	1.94	1.17
画分	89.35	35.05	86.36	33.25
画分	8.44	37.01	10.88	40.86
画分	0.65	2.11	0.82	1.36

a 各試料に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

表5 ¹⁴C-トリフルミゾールを 12 mg/kg の用量で経口投与した雌雄ラットの尿および糞中の代謝物の割合

代謝物	代謝物の割合 (%)					
	雄			雌		
	尿 ^a	糞 ^a	合計	尿 ^a	糞 ^a	合計
トリフルミゾール	0.69 (0.5) ^b	1.51 (0.3) ^b	(0.9) ^b	0.55 (0.4) ^b	1.50 (0.3) ^b	(0.7) ^b
合計						

a 尿または糞中の代謝物の割合は、尿または糞に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

b. (括弧) 書きの数値は、投与量に対する割合 (%) を示す。尿、糞の値は申請者計算。

c その他は、TLC 上で代謝物標品に相当しない部分、原点部分、1~2 日目の試料、未分析のカラムクロマトグラフィー画分および抽出残渣中の放射能を含む。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

表 6 ^{14}C -トリフルミゾールを雌雄ラットに 12 mg/kg の用量で経口投与後
2 日目の肝臓および腎臓における各画分への放射能の分布

画分	放射能の分布			
	雄		雌	
	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓
抽出画分				
	0.11 ^a (9.37 ^b)	0.09 (17.66)	0.13 (14.31)	0.05 (18.23)
	0.12 (9.79)	0.15 (30.44)	0.13 (13.52)	0.08 (29.61)
抽出画分合計	0.23 (19.16)	0.24 (48.10)	0.26 (27.83)	0.12 (47.84)
結合画分				
沈殿	0.26 (21.20)	0.16 (32.05)	0.21 (23.09)	0.09 (35.55)
抽出残渣	0.73 (59.64)	0.10 (19.85)	0.45 (49.08)	0.05 (16.61)
結合画分合計	0.99 (80.84)	0.26 (51.90)	0.66 (72.17)	0.14 (52.16)

a 数値は放射能濃度 (ppm トリフルミゾール換算) を示す。

b () 内の数値は組織に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

2) 高用量群ラットにおける代謝試験

(資料 No. 運命 - 2)

試験機関:

[GLP 非対応]

報告書作成年: 1984 年

供試標識化合物: トリフルミゾール

(E)-4-クロロ- α, α, α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-
プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試動物: CD (SD)系ラット雄雌 7 週齢

投与時平均体重: 雄: 197.4 g 雌: 154.4 g

方法:

投与方法: ^{14}C -トリフルミゾールおよび非標識トリフルミゾールの溶液を混合し、濃縮後、に溶解させて投与液を調製した。投与量は約 300 mg (54 μCi) / 2.8 mL/kg 体重とし、胃ゾンデを用いてラット (雌雄各 5 匹) に強制経口投与した。

試料の採取: ^{14}C -トリフルミゾールを投与したラットを代謝ケージに収容し、投与後 0.25、0.5、1、2、3、4、6、12、24、48、72 および 96 時間目に血液を採取し、血漿を得た。尿および糞は、投与後 24 時間毎に採取した。代謝ケージは、で洗浄し、洗浄液は尿と合わせた。投与後 96 時間目にラットを、頸動脈からの放血により致死させ、血液、脂肪、精巣、卵巣、子宮、脾臓、腎臓、肝臓、心臓、肺、脳、膵臓、副腎、大腿筋、大腿骨、消化管 (胃、小腸、大腸、盲腸) およびその内容物、および屍体を採取した。

屠殺時期は、 ^{14}C -トリフルミゾールを 400 mg/kg の割合で投与した予備試験において、4 日目の放射能体内残存率が投与量の 5% 以下であったことから、投与後 96 時間目とした。また、10 mg/kg で行った予備試験において、呼気への放射能の排泄は 4 日間で 0.07% であったことから、本試験では呼気を捕集しなかった。

分析方法: 尿はセライトをのせたろ紙でろ過後、LSC により放射能を測定し、セライトとろ紙は燃焼後、LSC で放射能を測定した。糞は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、LSC で放射能を測定した。血液および組織は、一部または全量を燃焼、または水を加えてホモジナイズした後、一部を燃焼させ、放射能を測定した。大腿骨は凍結乾燥後、燃焼させ、放射能を測定した。

尿 (0~1 および 1~2 日目) および糞 (0~1 および 1~2 日目) の分析スキームを図 1 および 2 に示す (2~3 日および 3~4 日の試料は放射能が少ないため、代謝物分析は実施しなかった)。水溶液および画分について、標品との TLC コクロマトグラフィーを行い、代謝物を分析した。肝臓および腎臓における放射能の組織結合率を測定するため、図 3 に示す方法で分析した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

図1 尿の分析スキーム

図2 糞の分析スキーム

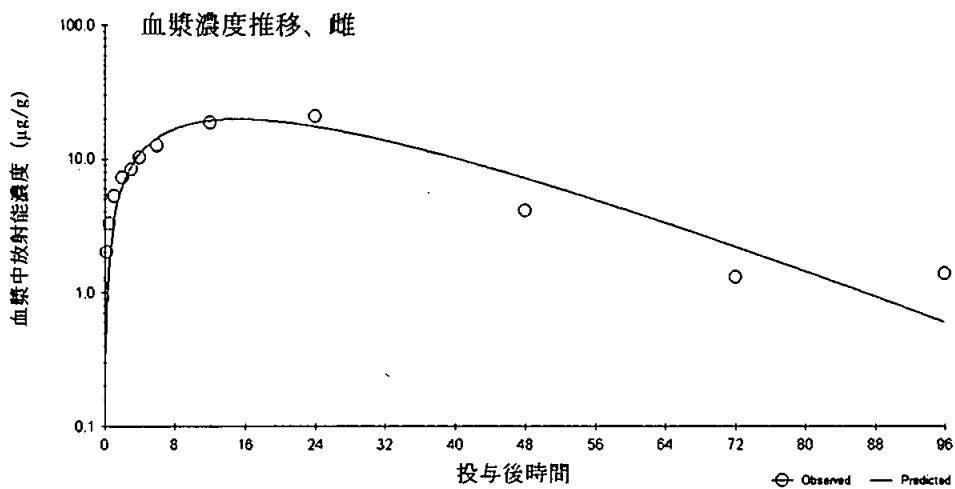
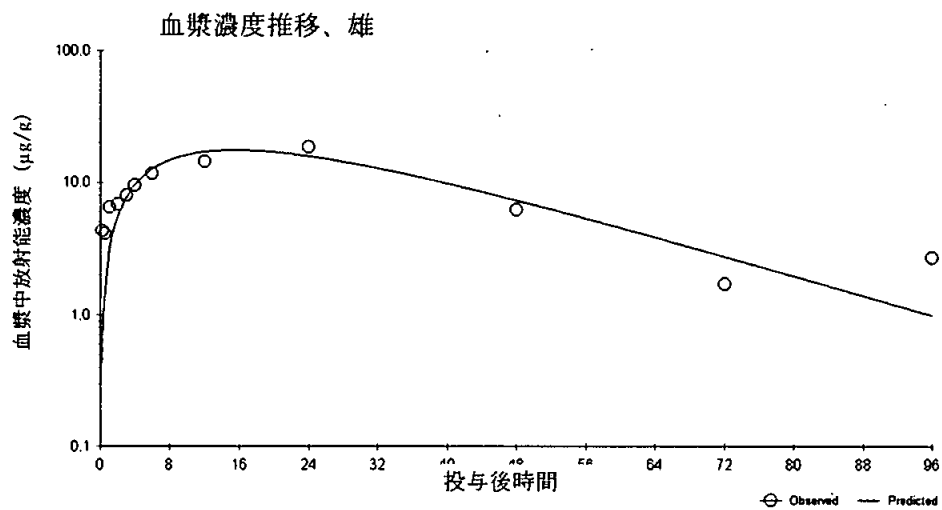
図3 肝臓および腎臓の分析スキーム

結果：

血中濃度推移：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに300 mg/kgの用量で経口投与後の血漿中放射能濃度を表1に示す。血漿中放射能濃度は、雌雄ともに、投与後24時間目に最高値となり、その後減少して、投与後72時間目には1.7 µg/g以下となった。血漿中濃度が最高値に達する時間は、低用量群（12 mg/kg 投与後2～3時間）より遅かった。薬動力学的解析によると、血漿における¹⁴C消失半減期は、低用量群では約14時間、高用量群では約20時間となり、後者の方が消失は緩やかであった。

表1 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに300 mg/kgの用量で経口投与後の血漿中放射能濃度

投与後時間	血漿中放射能濃度 (µg トリフルミゾール換算/g 血漿)	
	雄	雌
0.25	4.3	2.0
0.5	4.1	3.3
1	6.5	5.3
2	6.8	7.3
3	8.0	8.3
4	9.5	10.3
6	11.7	12.6
12	14.4	18.7
24	18.5	21.0
48	6.2	4.1
72	1.7	1.3
96	2.7	1.4



	雄	雌
Tmax hr	15.45	15.12
Cmax µg/g	17.55	19.95
半減期 hr	15.91	10.57
AUC _∞ hr·µg/g	790.14	819.84

得られたデータを元に血漿パラメーターを1-コンパートメントモデルで算出した結果、Cmaxは雄17.6 µg/g、雌20.0 µg/g、Tmaxは雄雌ともに15時間、T1/2は雄15.9時間、雌10.6時間であった。

排泄：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 300 mg/kg の用量で経口投与後 4 日目までの、尿および糞への放射能の排泄および体内残存量を表 2 に示す。投与した放射能の回収率は 93.8～100.6%であった。回収された放射能のうち、78.4～82.6%が尿中に、15.6～20.4%が糞中に認められ、体内残存量は 2%以下であった。主要な排泄経路は尿であった。この傾向は、低用量群と同様であった。

表 2 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 300 mg/kg の用量で経口投与後 4 日目までの尿および糞への放射能の排泄および体内残存量

	放射能の排泄および残留量 (%) ^{a)}	
	雄	雌
尿中排泄		
0～1 日目	35.9	31.0
1～2 日目	40.2	46.1
2～3 日目	1.8	4.1
3～4 日目	0.5	1.4
尿小計	78.4	82.6
糞中排泄		
0～1 日目	9.2	6.0
1～2 日目	10.1	7.9
2～3 日目	1.0	1.4
3～4 日目	0.2	0.3
糞小計	20.4	15.6
組織および残屍体中残存量	1.2	1.7
吸収率 ^{b)}	>79.6	>84.3
回収率	100.6	93.8

a 放射能の尿中および糞中排泄量および、組織および残屍体中残存量の数値は、各ラットから回収された放射能量に対する割合 (%) から算出した数値で示し、回収率は投与量に対する割合 (%) で示す。

b 投与 2 日目までの尿中排泄率および組織・残屍体中残存量から推定した(申請者計算)。

組織分布：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 300 mg/kg の用量で経口投与後 4 日目の組織中放射能濃度を表 3 に示す。肝臓における放射能濃度は 8.48～14.52 ppm (0.17～0.27% IAR: 申請者計算)であったが、他の組織では 6 ppm 以下であった。肝臓および血漿において、雄の方が雌より高かった。組織中放射能濃度が比較的高かったのは、低用量群および高用量群ともに、肝臓、腎臓および脳であり、これらの臓器における高用量群の低用量群に対する濃度比は、11～16 であった。

表3 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 300 mg/kg の用量で
経口投与後 4 日目の組織中放射能濃度および放射能分布

組織	組織中放射能濃度 (ppm ^a)		組織中放射能分布 (%IAR ^b)	
	雄	雌	雄	雌
血漿	2.04	0.90	-	-
脳	5.18	4.40	0.02	0.02
肝臓	14.52	8.48	0.27	0.17
腎臓	5.58	4.18	0.02	0.02
大腿筋	1.20	1.04	-	-
大腿骨	0.78	0.56	-	-
脂肪	1.36	1.08	-	-
脾臓	2.74	2.36	0.00	0.00
心臓	3.82	2.76	0.01	0.00
肺	3.52	2.44	0.01	0.01
膵臓	2.46	1.92	0.00	0.00
副腎	2.90	2.76	0.00	0.00
残屍体	2.28	4.14	-	-
精巣	1.46	-	0.01	-
卵巣	-	1.24	-	0.00
子宮	-	1.36	-	0.00
消化管および内容物	1.82	3.02	0.08	0.12

a トリフルミゾール換算値で示す。

b %IAR: 投与量%, 申請者計算。

代謝: ¹⁴C-トリフルミゾールを投与した雌雄ラットの尿の
射能分布、および糞の
カラムにおける放
射能分布、および糞の
および抽出液の
カラムにおけ
る放射能分布を表 4 に示す。抽出液中の放射能の大部分は
画分
および
に認められた。これらの画分を TLC 分析して得られた代謝物の
割合を表 5 に示す。尿および糞中に親化合物および 16 種の代謝物が認められた。尿中
主要代謝物は

糞中主要代謝物は
であった。代謝物の量について性差は認めら
れなかった。トリフルミゾールは微量しか検出されず、ラットに投与したトリフルミ
ゾールは容易に代謝されることが明らかとなった。低用量群と高用量群で、代謝物の
種類は同じであったが、代謝物の割合はやや異なり、概して低用量群の方が代謝が進
んでいた。

肝臓および腎臓における残留放射能の組織への結合率を検討した結果を表 6 に示す。
結合放射能量は、肝臓で 60~70%TRR、腎臓で 30~40%TRR 程度であったが、濃度は、
肝臓では 5.37~9.90 ppm、腎臓では 1.38~2.35 ppm に過ぎなかった。

表4 ¹⁴C-トリフルミゾールを投与した雌雄ラットの尿および糞中代謝物分析における各画分への放射能の分布

画分	放射能の分布 (%) ^a							
	雄				雌			
	尿		糞		尿		糞	
	0-1日	1-2日	0-1日	1-2日	0-1日	1-2日	0-1日	1-2日
抽出								
抽出液	-	-	75.98	70.92	-	-	80.14	76.44
抽出残渣	-	-	24.02	29.08	-	-	19.86	23.56
カラム								
画分	3.60	3.94	15.13	2.24	2.73	2.35	10.35	10.49
画分	85.44	90.84	41.52	46.25	87.01	84.27	47.30	46.79
メタノール画分	10.96	5.22	43.35	51.51	10.26	13.38	42.35	42.72

a 各分析操作において、各試料に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

表5 ¹⁴C-トリフルミゾールを 300 mg/kg の用量で経口投与した雌雄ラットの尿および糞中の代謝物の割合

代謝物	代謝物の割合 (%)									
	雄					雌				
	尿 ^a		糞 ^a		合計	尿 ^a		糞 ^a		合計
トリフルミゾール	0.83	(0.7) ^b	0.93	(0.2) ^b	(0.8) ^b	1.44	(1.2) ^b	0.77	(0.1) ^b	(1.3) ^b
合計										

a 尿または糞中の代謝物の割合は、尿または糞に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

b (括弧) 書きの数値は、投与量に対する割合 (%) を示す。尿、糞の値は申請者計算。

c その他は、TLC 上で代謝物標品に相当しない部分、原点部分、2~4 日目の試料、未分析のカラムクロマトグラフィー画分および抽出残渣中の放射能を含む。

表 6 ¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 300 mg/kg の用量で経口投与後 4 日目の
肝臓および腎臓における各画分への放射能の分布

画分	放射能の分布			
	雄		雌	
	肝臓	腎臓	肝臓	腎臓
抽出画分				
層	1.77 ^a (12.16 ^b)	1.79 (32.04)	1.56 (18.43)	1.80 (43.11)
層	2.85 (19.66)	1.44 (25.84)	1.54 (18.18)	1.00 (23.91)
抽出画分合計	4.62 (31.82)	3.23 (57.88)	3.10 (36.61)	2.80 (67.02)
結合画分				
沈殿	1.47 (10.15)	0.47 (8.34)	0.78 (9.29)	0.49 (11.82)
抽出残渣	8.43 (58.03)	1.88 (33.78)	4.59 (54.10)	0.89 (21.16)
結合画分合計	9.90 (68.18)	2.35 (42.12)	5.37 (63.39)	1.38 (32.98)

a 数値は放射能濃度 (ppm トリフルミゾール換算) を示す。

b () 内の数値は組織に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

3) 低用量連続投与(非標識体 14 回+標識体 1 回)におけるラット代謝試験

(資料 No. 運命-3)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 1988 年

供試標識化合物: トリフルミゾール

(E)-4-クロロ- α , α , α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試動物: CD (SD)系ラット雄雌 7 週齢 (標識体投与時)

投与時平均体重: 雄: 201 g 雌: 139 g

方法:

投与方法: 非標識体トリフルミゾールのジメチルスルホキシド(DMSO)溶液(10 mg/kg の投与量で 0.14-0.31 mL/動物)を調製し、標識体投与前 2 週間毎日胃ゾンデ用いてラットに強制経口投与した。
続いて、非標識体および ^{14}C -トリフルミゾールを最終投与量が 10 mg/kg になるように で溶解し、濃縮後 DMSO で希釈して投与薬液を調製した。投与は約 10.3 $\mu\text{Ci}/243\mu\text{L}/\text{rat}$ の濃度で行い、胃ゾンデ用いてラット (雌雄各 5 匹) に強制経口投与した。標識体投与前 18 時間および投与後 4 時間ラットは絶食した。投与量は非標識体の連続投与時に 10 mg/kg、標識体投与時には雄 9.98 mg/kg、雌 9.99 mg/kg であった。

試料の採取: ^{14}C -トリフルミゾールを投与したラットを代謝ケージに収容し、投与後 0.25、0.5、1、2、3、4、6、12、24 および 48 時間目に血液を採取し、血漿を得た。尿および糞は、投与後 24 および 48 時間目に採取した。代謝ケージは水で洗浄し、洗浄液は尿と合わせた。投与後 48 時間目にラットに麻酔し、頸動脈放血により致死させ、血液、脂肪、精巣、卵巣、子宮、脾臓、腎臓、肝臓、心臓、肺、脳、膵臓、副腎、大腿筋、大腿骨、消化管 (胃、小腸、大腸、盲腸) およびその内容物、および残屍体を採取した。

屠殺時期は、 ^{14}C -トリフルミゾールを低用量(10 mg/kg)で 1 回経口投与したときに少なくとも投与量の 90%が排泄される時期とした。この割合で経口投与した予備試験において、2 日目の放射能体内残存率が投与量の 5%以下であったことから、投与後 48 時間目とした。また、上記予備試験において、呼気への放射能の排泄は 4 日間で 0.07%であったことから、本試験では呼気を捕集しなかった。

分析方法: 尿は洗浄液を合わせ、ろ紙でろ過後、LSC により放射能を測定し、ろ紙および残渣は燃焼後、LSC で放射能を測定した。糞は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、LSC で放射能を測定した。血液および組織は、一部または全量を燃焼、また

<動物体内運命>

は水を加えてホモジナイズした後、一部を燃焼させ、放射能を測定した。大腿骨は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、放射能を測定した。

尿 (0~1 日目) の一部を カラムで処理した。カラムを水で洗浄した後に吸着した ¹⁴C 化合物を で溶出した。その後、 を合わせ濃縮した。濃縮液に標品を混合し、逆相 HPLC または順相 TLC を用いてクロマトグラフィーで分析した。トリフルミゾール、 は、HPLC 条件 1 で分析し、 は、HPLC 条件 2 で分析した。各標品で分画された放射能を LSC で定量した。一方、 溶出液の一部を TLC 板上で標品と混合し、展開溶媒 C で、続いて展開溶媒 D で二重展開した。その後オートラジオグラムを作製し、標品に対応する放射活性範囲をかき取り、放射能を LSC で測定した。TLC 分析によって を定量した。

糞 (0~1 日目) 0-1 day 粉末試料を合わせ、その一部採取し、メタノール(30mL、5回)で抽出した。抽出物を遠沈、濃縮し残留物を水で溶解した。水溶液を カラムで処理した。水でカラムを洗浄した後に吸着した ¹⁴C 化合物を で段階的に溶出した。

および を合わせ、濃縮した。各試料溶液を尿と同様に、HPLC または TLC で分析した。

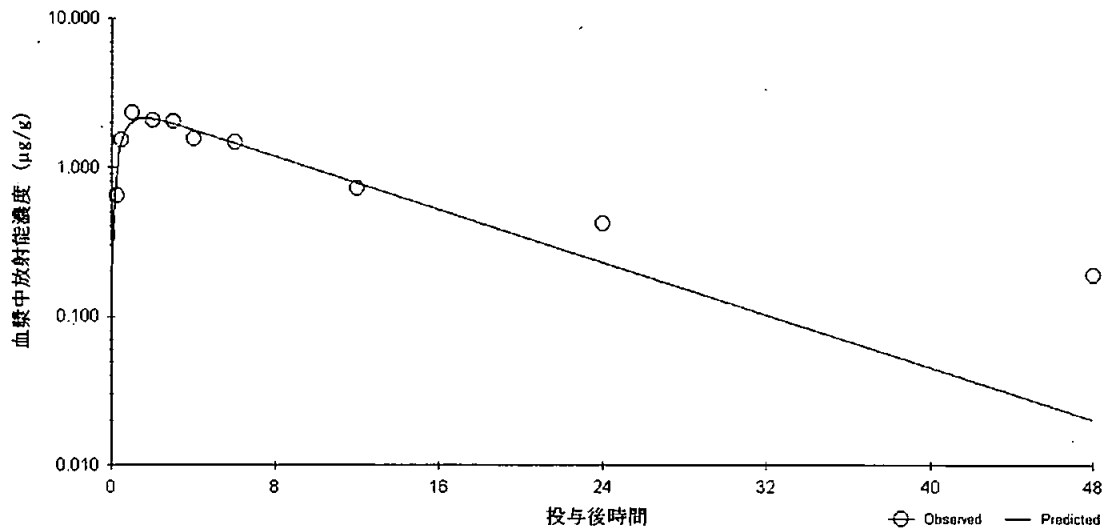
結果：

血中濃度推移：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 10 mg/kg の用量で、非標識体を 14 回に続いて標識体を単回経口投与した時の血漿中放射能濃度を表 1 および図に示す。血漿中放射能濃度は、雌雄ともに、投与後 1 時間目に最高値(雄 2.31、雌 2.19 μg/g)となり、その後速やかに減少して、投与後 48 時間目には 0.2 μg/g 以下となった。

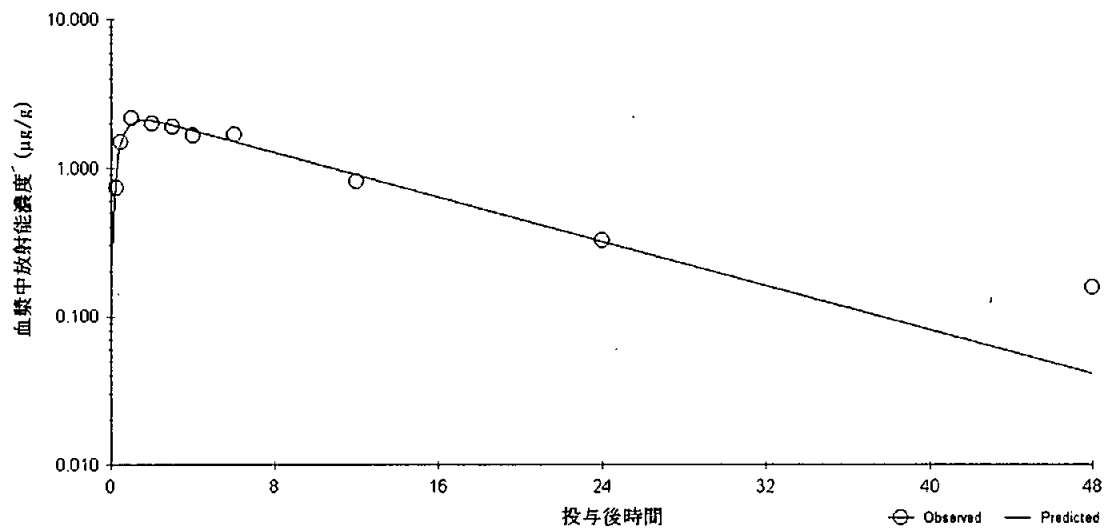
表 1 トリフルミゾールを雌雄ラットに 10 mg/kg の用量で連続経口投与後 (非標識体 14 回+標識体 1 回)の血漿中放射能濃度

投与後時間	血漿中放射能濃度 (μg トリフルミゾール換算/g 血漿)	
	雄	雌
0.25	0.65	0.74
0.5	1.52	1.50
1	2.31	2.19
2	2.06	2.00
3	2.02	1.91
4	1.56	1.67
6	1.47	1.70
12	0.73	0.82
24	0.42	0.33
48	0.19	0.16

血漿濃度推移、雄



血漿濃度推移、雌



血漿パラメーター	雄	雌
Tmax (hr)	1.63	1.66
Cmax (μg/g)	2.14	2.10
半減期 (hr)	6.81	8.08
AUC _∞ (hr·μg/g)	24.81	28.25

得られたデータを元に血漿パラメータを算出した結果、Cmaxは雄2.14 μg/g、雌2.10 μg/g、Tmaxは雄雌ともに2時間、T1/2は雄6.8時間、雌8.1時間であった(申請者算出)。

排泄： ^{14}C -トリフルミゾールを雌雄ラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後 2 日目までの、尿および糞への放射能の排泄および体内残存量を表 2 に示す。投与した放射能の回収率は 93~98%であった。回収された放射能のうち、雌で 76%、雄に 74%が尿中に、雌で 22%、雄に 23%が糞中に認められ、体内残存量は 3%以下であった。主要な排泄経路は尿であった。

表2 トリフルミゾールを雌雄ラットに 10 mg/kg の用量で連続経口投与後(非標識体 14 回+標識体 1 回)の 2 日目までの尿および糞への放射能の排泄および体内残存量

	放射能の排泄および残留量 (%) ^a	
	雄	雌
尿中排泄		
0~1 日目	73.4	70.8
1~2 日目	2.5	3.3
尿小計	75.9	74.1
糞中排泄		
0~1 日目	20.9	22.0
1~2 日目	1.2	1.4
糞小計	22.1	23.4
組織および残屍体中残存量	2.0	2.5
吸収率 ^b	>77.9	>76.6
回収率	98.0	93.8

a 放射能の尿中および糞中排泄量および、組織および残屍体中残存量の数値は、各ラットから回収された放射能量に対する割合 (%) から算出した数値で示し、回収率は投与量に対する割合 (%) で示す。

b 投与 2 日目までの尿中排泄率および組織・残屍体中残存量から推定した(申請者計算)。

<動物体内運命>

組織分布：¹⁴C-トリフルミゾールを雌雄ラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後 2 日目の組織中放射能濃度を表 3 に示す。肝臓における放射能濃度は 1.01～1.14 ppm (0.54～0.58% IAR: 申請者計算)であったが、他の組織では 0.5 ppm 以下であった。血漿を除くほぼ全ての臓器および組織において、雌の方が雄より高かった。

表 3 トリフルミゾールを雌雄ラットに 10 mg/kg の用量で連続経口投与後 (非標識体 14 回+標識体 1 回)の 2 日目の組織中放射能濃度および放射能分布

組織	組織中放射能濃度 (ppm ^a)		組織中放射能分布 (%IAR ^b)	
	雄	雌	雄	雌
血漿	0.18	0.13	-	-
脳	0.42	0.43	0.02	0.05
肝臓	1.01	1.14	0.54	0.58
腎臓	0.39	0.45	0.04	0.05
大腿筋	0.08	0.10	-	-
大腿骨	0.06	0.07	-	-
脂肪	0.07	0.11	-	-
脾臓	0.20	0.24	0.01	0.01
心臓	0.24	0.25	0.01	0.01
肺	0.31	0.32	0.01	0.02
膵臓	0.18	0.19	0.01	0.01
副腎	0.27	0.28	0.00	0.00
残屍体	0.11	0.16	-	-
精巣	0.12	-	0.01	-
卵巣	-	0.14	-	0.00
子宮	-	0.11	-	0.00
消化管および内容物	0.28	0.33	0.31	0.33

a トリフルミゾール換算値で示す。

b %IAR: 投与量%、申請者計算。

代謝： トリフルミゾール連続経口投与後(非標識体 14 回+標識体 1 回)の雌雄ラットの尿のカラムにおける放射能分布、および糞のカラムにおける放射能分布を表 4 に示す。中の放射能の大部分が 中の画分を合わせたものに認められた。これらの画分を HPLC および TLC 分析して得られた代謝物の割合を表 5 に示す。尿および糞中に親化合物および 16 種の代謝物が認められた。尿中主要代謝物は

であった。代謝物の量について性差は認められなかった。トリフルミゾールは微量しか検出されず、ラットに投与したトリフルミゾールは容易に代謝されることが明らかとなった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

表4 トリフルミゾールを雌雄ラットに10 mg/kgの用量で連続経口投与後
(非標識体14回+標識体1回)の尿および糞中代謝物分析における各画分への放射能の分布

画分	放射能の分布 (%) ^a			
	雄		雌	
	尿	糞	尿	糞
抽出				
抽出液	-	75.22	-	80.85
抽出残渣	-	24.78	-	19.15
画分	カラムクロマトグラフィー			
画分+	1.74	2.10	2.94	1.89
画分	98.26	73.12	97.06	78.96

a 各試料に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

表5 トリフルミゾールを雌雄ラットに10 mg/kgの用量で連続経口投与後
(非標識体14回+標識体1回)の尿および糞中の代謝物の割合

代謝物	代謝物の割合 (%)					
	雄			雌		
	尿 ^a	糞 ^a	合計	尿 ^a	糞 ^a	合計
トリフルミゾール	0.05 (0.0) ^b	0.32 (0.1) ^b	(0.1) ^b	0.11 (0.1) ^b	0.43 (0.1) ^b	(0.2) ^b
合計						

a 尿または糞中の代謝物の割合は、尿または糞に含まれる放射能に対する割合 (%) を示す。

b (括弧) 書きの数値は、投与量に対する割合 (%) を示す。尿、糞の値は申請者計算。

c その他は、TLC上で代謝物標品に相当しない部分、原点部分、1~2日目の試料、未分析のカラムクロマトグラフィー画分および抽出残渣中の放射能を含む。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

4) ラットにおける臓器中放射能半減期の測定ならびに代謝物の分析

(資料 No. 運命-4)

試験機関：日本曹達株式会社 安全性研究所
〔GLP 非対応〕
報告書作成年：1987年

供試標識化合物： トリフルミゾール

(E)-4-クロロ- α, α, α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-
プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

構造式：

供試動物： SD系ラット雌 7週齢

投与時平均体重： 155g

系統および性別：ラットは「トリフルミゾールの慢性毒性試験」に使用されているSD系を使用した。また、前報「トリフルミゾールのラットにおける代謝」において性差が認められなかったため、雌のみを使用した。

方法：

投与方法： ^{14}C -トリフルミゾールおよび非標識トリフルミゾール（化学純度：99.8%）の塩化メチレン溶液を混合し、濃縮後、ジメチルスルホキシドに溶解させて投与液を調製した。投与溶媒は、溶媒中での安定性、均一性および投与の難易の理由で、ジメチルスルホキシドを選定した。投与量は約10 mg/1.4 mL/kg体重（約10 μCi /匹）とし、胃ゾンデを用いてラットに強制経口投与を行い、個別の代謝ケージに収容した。

試料の採取：血中濃度測定群（3匹）については、 ^{14}C -トリフルミゾールを経口投与後0.25、0.5、1、2、3、4、6、12、24および48時間目に血液を採取し、血漿を得た。

組織内濃度測定群（3匹/群）については、 ^{14}C -トリフルミゾールを経口投与後2、12、24および48時間目に、ペントバルビタールによる麻酔下で頸動脈放血により致死させ、肝臓、腎臓、副腎、心臓、肺、脾臓、膵臓、卵巣、脳、子宮、脂肪、血漿、大腿骨、大腿筋、消化管およびその内容物、および屍体を採取した。尿および糞は、投与後24時間間隔で採取し、2および12時間目屠殺群については屠殺時に採取した。代謝ケージは
で洗浄し、
洗浄液は尿と合わせた。

<動物体内運命>

屠殺時期は、前報「トリフルミゾールのラットにおける代謝」において、12 mg/kg の投与量で最高血漿中濃度を示す時期が投与後2時間目であったことから、本試験では各組織および臓器の採取時期を2、12、24 および48 時間目とした。また、上記報告書において、¹⁴C-トリフルミゾールを10 mg/kg の割合で雄ラットに投与した場合、呼気への放射能の排泄は2日間で0.1%以下であったことから、本試験では呼気を捕集しなかった。

分析方法：尿はセライトをのせたろ紙でろ過後、LSCにより放射能を測定し、残渣とろ紙は燃焼後、LSCで放射能を測定した。糞は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、LSCで放射能を測定した。血漿および組織は、一部または全量を燃焼、または水を加えてホモジナイズした後、一部を燃焼させ、放射能を測定した。大腿骨は凍結乾燥後、粉碎して一部を燃焼させ、放射能を測定した。

代謝物を分析する臓器および組織として、薬物代謝における主要臓器である肝臓、腎臓および血漿を、また最も残留濃度の高かった脂肪の4臓器を選択した。肝臓および腎臓、血漿、および脂肪の分析スキームを図1、2および3に示す。

各臓器から得られた抽出液に を加えて濃縮し、HPLCに供して各代謝物を分析した。また標品とのTLCクロマトグラフィーによる分析も行った。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

図1 肝臓および腎臓の分析スキーム

図2 血漿の分析スキーム

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

図3 脂肪の分析スキーム

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

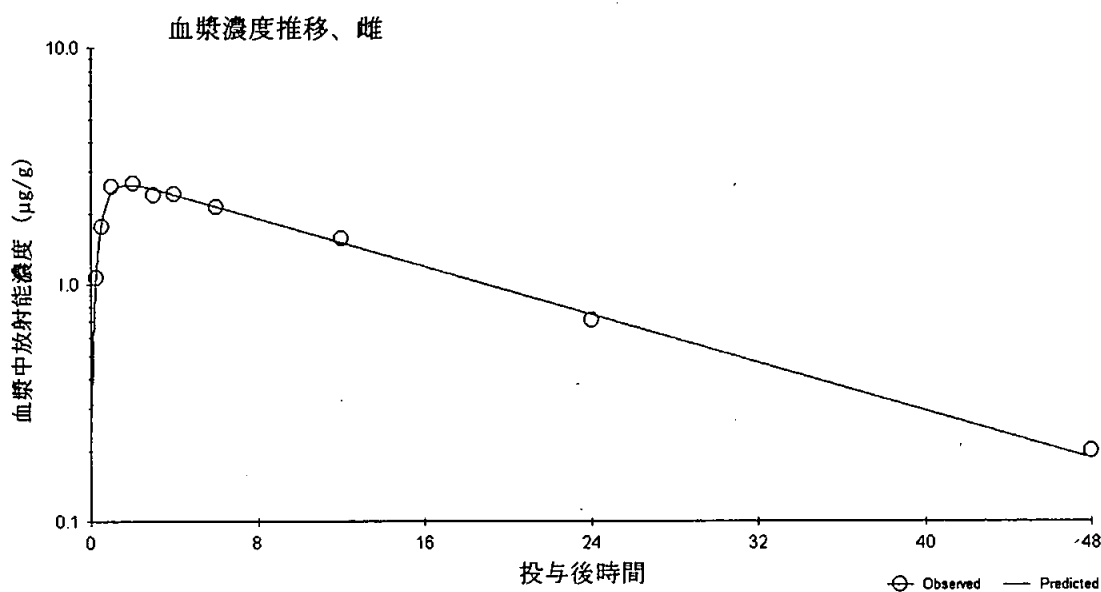
図4 肝臓の抽出残渣の分析スキーム

結果：

血中濃度推移：¹⁴C-トリフルミゾールをラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後の血漿中放射能濃度を表 1 に示す。血漿中放射能濃度は、投与後 2 時間目に最高値の 2.67 ppm を示し、その後速やかに減少して、投与後 48 時間目には 0.2 ppm となった。

表 1 ¹⁴C-トリフルミゾールをラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後の血漿中放射能濃度

投与後時間	血漿中放射能濃度 (ppm トリフルミゾール換算)
0.25	1.07
0.5	1.76
1	2.61
2	2.67
3	2.38
4	2.40
6	2.12
12	1.57
24	0.71
48	0.20



血漿パラメーター	雌
Tmax (hr)	1.82
Cmax (μg/g)	2.64
半減期 (hr)	11.92
AUC _∞ (hr·μg/g)	50.42

得られたデータを元に血漿パラメーターを算出した結果、Cmax は 2.64 ppm、Tmax は 1.82 時間、T_{1/2} は 11.9 時間であった。

排泄：¹⁴C-トリフルミゾールをラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後の、尿および糞への放射能の排泄および体内残存量を表 2 に示す。投与した放射能の回収率は 94～105%であった。回収された放射能のうち、24 時間で 94.4%、48 時間で 97.5%が体外へ排泄された。そのうち、約 75%が尿中に、23%が糞中に排泄された。48 時間後の体内残存量は 2.5%であった。主要な排泄経路は尿であった。

表 2 ¹⁴C-トリフルミゾールをラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後の尿および糞への放射能の排泄および体内残存量*

	投与群 (実験期間)			
	0～2 時間	0～12 時間	0～24 時間	0～48 時間
尿中排泄				
0～1 日目	4.09	62.49	70.81	72.38
1～2 日目				2.35
尿小計 (0～2 日目)	4.09	62.49	70.81	74.73
糞中排泄				
0～1 日目		12.27	23.57	21.28
1～2 日目				1.51
糞小計 (0～2 日目)		12.27	23.57	22.79
組織および残屍体中残存量	95.91	25.24	5.62	2.48
回収率	96.31	94.03	103.68	99.09

* 放射能の尿中および糞中排泄量および、組織および残屍体中残存量の数値は、各ラットから回収された放射能に対する割合 (%) から算出した数値で示し、回収率は投与量に対する割合 (%) で示す。

組織分布：¹⁴C-トリフルミゾールをラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後の組織中放射能濃度を表 3 に示す。最高血漿中濃度に達した 2 時間目において、組織中濃度が最も高かったのは消化管および内容物 (68.02 ppm、48.70% IAR) であった。この放射能は体内に吸収されるかまたは排泄されることにより、速やかに減少し、48 時間後には 0.18 ppm (0.26% IAR) となった。その他、比較的残留濃度の高かった組織は、脂肪 (27.99～0.14 ppm)、副腎 (21.15～0.38 ppm、0.07～0.00% IAR)、肝臓 (17.35～1.33 ppm、6.18～0.74% IAR) および卵巣 (11.38～0.21 ppm、0.07～0.00% IAR) であった。組織中濃度の半減期を種々の方法で求め、表 4 に示す。2～48 時間のデータを用いるより、2～24 時間のデータを用いて計算した値の方が相関係数が高かったことから、このデータを採用することとした結果、肝臓、腎臓、血漿、脳などの主要組織における半減期は 10 時間以内であり、放射能は比較的速やかに減少することが明らかとなった。

表3 ¹⁴C-トリフルミゾールをラットに 10 mg/kg の用量で経口投与後の
組織中放射能濃度 (ppm トリフルミゾール換算)

組織	投与群 (屠殺時期)			
	2 時間目	12 時間目	24 時間目	48 時間目
肝臓	17.35	4.59	2.00	1.33
腎臓	7.48	2.31	0.81	0.46
脂肪	27.99	4.09	0.70	0.14
血漿	2.47	0.80	0.28	0.15
副腎	21.15	3.58	1.15	0.38
心臓	4.52	0.85	0.50	0.32
肺	6.75	1.44	0.72	0.43
大腿骨	1.86	0.39	0.24	0.09
大腿筋	2.83	0.34	0.21	0.14
脾臓	3.81	0.82	0.61	0.35
膵臓	7.67	0.83	0.57	0.33
卵巣	11.38	1.21	0.75	0.21
子宮	3.03	0.65	0.28	0.13
脳	3.28	0.67	0.63	0.54
消化管および内容物	68.02	10.10	1.08	0.18
残屍体	4.30	0.91	0.33	0.17

組織中放射能分布 (%IAR・投与量%、申請者計算)

組織	投与群 (屠殺時期)			
	2 時間目	12 時間目	24 時間目	48 時間目
肝臓	6.18	1.91	1.15	0.74
腎臓	0.74	0.22	0.09	0.05
副腎	0.07	0.01	0.00	0.00
心臓	0.16	0.03	0.02	0.01
肺	0.38	0.07	0.04	0.03
脾臓	0.10	0.02	0.02	0.01
膵臓	0.27	0.03	0.03	0.02
卵巣	0.07	0.01	0.00	0.00
子宮	0.07	0.01	0.00	0.00
脳	0.37	0.08	0.08	0.06
消化管および内容物	48.70	14.18	1.58	0.26

表4 ^{14}C -トリフルミゾールを 10 mg/kg の用量で経口投与したラットにおける
 ^{14}C 量 (トリフルミゾール換算値) の半減期の
種々の実験期間のデータからの計算値の比較

組織	実験期間		
	2~48 時間*	2~24 時間*	グラフより
肝臓	13.4	7.1	5.7
腎臓	12.0	6.9	8.0
血漿	11.8	7.0	7.7
脂肪	8.2	4.2	5.4
副腎	8.4	5.3	5.6
心臓	13.7	7.1	5.4
肺	12.8	6.9	5.4
大腿骨	11.6	7.6	5.3
大腿筋	12.4	6.0	4.7
脾臓	15.3	8.5	4.0
膵臓	11.9	6.0	2.6
卵巣	9.0	5.7	3.7
子宮	10.9	6.5	5.1
脳	22.2	9.5	3.4
消化管および内容物	5.5	3.7	5.0
残屍体	10.6	6.0	6.3

* これらのデータは 1-コンパートメントモデルを用いて計算した。

代謝: ^{14}C -トリフルミゾールを投与したラットの肝臓、腎臓および血漿中、また脂肪中の代謝物分析における各画分への放射能の分布を表 5 および 6 に示す。肝臓、腎臓および脂肪における抽出率は経時的に低下し、抽出残渣中 ^{14}C が増加した。この傾向は肝臓において顕著であった。肝臓および腎臓の水抽出液および血漿をカラムに供したところ、経時的に画分が減少し、水画分が増加した。脂肪においても経時的に抽出残渣が増加し、抽出画分が減少した。表 7 および表 8 に各組織における代謝物濃度の経時的变化を示す。各組織中に親化合物および 16 種の代謝物が認められた。

肝臓において、投与後 2 時間目には、

検出されたが、トリフルミゾールは 0.05 ppm に過ぎなかった。全代謝物とも急速に減少し、48 時間目には 検出された以外は、いずれも 0.02 ppm 以下であった。肝臓の抽出残渣中 ^{14}C が経時的に増加していたことから、図 4 に示す方法で、加水分解により させて分析したところ、表 7 のその他 4 の画分が認められた。この画分は経時的に減少した。

腎臓においては、投与後 2 時間目には 画分が比較的多く、血漿においては 画分が多かった。

脂肪においては、投与後 2 時間目にトリフルミゾール、画分が多く認められたが、経時的に総残留量は減少した。

トリフルミゾールの体内動態は、経口投与されたトリフルミゾールは大部分腸管から吸収され、代謝を受け、一部が脂肪中に遊離型として存在し、速やかに血中に放出され、画分を含む多くの代謝物として尿中へ排泄され、組織内濃度も時間経過とともに急激に減少し、48 時間で投与量の 97.5% が体外へ排泄されることが明らかとなった。

表5 ¹⁴C-トリフルミゾールを投与したラットの肝臓、腎臓および血漿中の代謝物分析における各画分への放射能の分布 (%)

組織	採取時間 (時間)	組織における分布		水抽出液の 溶出における分布		
		残渣	水抽出液	画分 (溶出)	画分	画分
肝臓	2	45.76	54.24	1.36	51.80*	1.08
	12	48.56	51.44	6.01	45.25*	0.18
	24	68.81	31.19	7.29	22.77*	1.13
	48	78.31	21.69	8.17	12.68*	0.84
腎臓	2	37.19	62.81	2.96	57.48*	2.37
	12	39.00	61.00	7.89	50.62*	2.49
	24	60.39	39.61	7.83	28.97	2.81
血漿	2	-	-	22.06	70.98*	6.96
	12	-	-	44.17	48.78*	7.05
	24	-	-	75.71	22.60	1.69
	48	-	-	87.86	11.29	0.85

* HPLC 分析に供した。

表6 ¹⁴C-トリフルミゾールを投与したラットの脂肪中の代謝物分析における各画分への放射能の分布

組織	採取時間	組織における分布		抽出液		抽出液		抽出液	
		残渣	抽出液	層	層	層	層	溶出液	その他
脂肪	2	2.59	97.41	96.15	1.26	87.29*	8.86	-	-
	12	3.66	96.34	93.81	2.53	66.14	27.67	60.28*	5.86
	24	6.88	93.12	86.66	6.46	-	-	-	-
	48	17.23	82.77	51.47	31.30	-	-	-	-

* HPLC 分析に供した。

表7 ¹⁴C-トリフルミゾールを 10 mg/kg の用量で経口投与したラットの
肝臓および腎臓中の代謝物濃度 (ppm トリフルミゾール換算)

代謝物	肝臓				腎臓	
	2 時間	12 時間	24 時間	48 時間	2 時間	12 時間
トリフルミゾール	0.05	0.01	0.00	0.00	0.14	0.02
合計						

* その他 1~5 は、それぞれ以下に示す画分を含む。

- 1 HPLC および TLC 分析におけるその他
- 2 溶出画分
- 3 画分
- 4 部分を含む代謝物
- 5 結合残渣

表8 ¹⁴C-トリフルミゾールを 10 mg/kg の用量で経口投与したラットの
血漿および脂肪中の代謝物濃度 (ppm トリフルミゾール換算)

代謝物	血漿		脂肪	
	2 時間	12 時間	2 時間	12 時間
トリフルミゾール	0.01	0.00	3.28	0.60
合計				

* その他 1~5 は、それぞれ以下に示す画分を含む。

血漿

- 1 HPLC および TLC 分析におけるその他
- 2 溶出画分
- 3 画分
- 4 部分を含む代謝物
- 5 結合残渣

脂肪

- 1 HPLC 分析におけるその他
- 2 層
- 3 フロリジル PR 溶出液におけるその他
- 4 層
- 5 結合残渣

** -: 分析せず。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<動物体内運命>

体内動態：ラットに経口投与されたトリフルミゾールの大部分は腸管から吸収されて代謝を受け、一部は脂肪中にとして存在するが、速やかに血中に放出され、を含む多くの代謝物として尿中へ排泄された。組織内濃度も時間経過とともに急激に減少し、48時間で投与量の97.5%が体外へ排泄され、また体内残留放射能の大部分はであったことから、安全性の高い化合物であると考えられる。

2. 植物体内運命に関する試験

1) きゅうりにおける代謝試験

(資料 No. 運命-5)

試験機関：日本曹達株式会社 (株) 生物科学研究所
[GLP 非対応]

報告書作成年：1984 年

供試標識化合物： [^{14}C]トリフルミゾール
構造式：

化学名：(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試植物： きゅうり (*Cucumis sativus*, 品種：相模半白) (温室ポット栽培)

方法：

処理液の調製： ^{14}C -トリフルミゾール (4.0 mg)、非標識トリフルミゾール (4.25 mg)、界面活性剤 (1.75 mg) およびキャリアー (15.0 mg) を水 (50 mL) に懸濁して処理液を調製した。これは、実使用場面で用いられる 30%水和剤の 2000 倍液に相当する。

処理方法：

葉面処理実験 A：2~3 葉期の植物の第 2 本葉 (約 80 cm²) 上面に、処理液 (800 μL) をマイクロピペットでできるだけ均一に点滴処理し、45 日間生育させた。処理量は 0.132 mg/葉であった。

葉面処理実験 B：葉柄の基部に小果実 (長さ 3~4 cm) をつけた本葉の表面 (約 100 cm²) に、処理液 (1.0 mL) をできるだけ均一に点滴処理した。処理量は 0.165 mg/葉であった。

果実処理実験：約 10 cm の長さになった果実の表面に、処理液 (250 μL) をマイクロピペットで点滴処理した。処理量は 0.041 mg/果実であった。

採取時期：

葉面処理実験 A：処理後 1、3、7、14 および 21 日目に 2 本ずつ、45 日目に 1 本の植物を採取した。根を水洗後、植物を処理葉、根、処理葉の下部にある非処理葉、上部にある非処理葉および果実がある場合は果実に分け、生重量を測定した。

葉面処理実験 B：処理後 3、7 および 14 日目に果実を 2 個ずつ採取し、重量を測定した。

果実処理実験：処理後 1、3、7 および 14 日目に果実を 2 個ずつ採取し、重量を測定

した。

分析方法：採取した処理葉（葉面処理実験 A）、および処理果実（果実処理実験）の抽出および分析方法のスキームを図 1 および 2 に示す。葉面処理実験 A の処理葉以外の部分、および葉面処理実験 B の果実はそれぞれ、ドライアイス存在下で粉碎し、燃焼処理に供して LSC で放射能を測定した。

図 1 きゅうりの処理葉の抽出および分析スキーム（葉面処理実験 A）

図2 きゅうりの処理果実の抽出および分析スキーム (果実処理実験)

洗淨液および抽出液中の代謝物の分析は、1次元または2次元 TLC を用い、標品とのコクロマトグラフィーによって行った。

また、代謝物を同定用に多量分取するため、非標識トリフルミゾール (30%水和剤を 700 倍に希釈) を 2 回処理後採取した葉と、トレーサーとして $[^{14}\text{C}]$ トリフルミゾールを処理後採取した葉を、
に浸漬した後、

で抽出した。抽出液をシリカゲルカラムクロマトグラフィーおよび HPLC に供して代謝物を精製し、質量分析に供した。水溶性代謝物については、

浸漬後の葉を、
を用いてホモジネート抽出し、
で分配抽出して得られた水層を
カラムおよび TLC により
精製した。得られた画分を酵素
または

に分析し、
を同定した。

結果：

^{14}C 分布・移行： ^{14}C トリフルミゾールを葉面に処理したきゅうり植物における ^{14}C の回収率および分布（葉面処理実験 A）を表 1 に示す。全 ^{14}C 回収率は 1 日目には 87.0% であったが、45 日目には 13.8% まで減少し、半減期は約 10 日であった。残留 ^{14}C の大部分は処理葉に留まり、果実を含めた他の部位への移行はわずか（1.2% 未満）であった。処理葉において放射能の一部は初期に葉肉に浸透した（1 日後に処理量の約 11%）が、この割合は 45 日後までほぼ一定であった。葉表面に残存する化合物は、太陽光による分解および揮散による消失などで減少するものと考えられる。

^{14}C トリフルミゾールを葉柄の基部に小果実をつけた葉に処理した場合の、葉から果実への移行（葉面処理実験 B）を表 2 に示す。放射能の果実への移行はほとんどなく、14 日後においても処理量の 0.1% 以下であった。

^{14}C トリフルミゾールを果実に処理した場合の果皮および果肉における ^{14}C の回収率および分布（果実処理実験）を表 3 に示す。 ^{14}C 回収率は、全ての採取時点において葉面処理の場合より高かった。このことは、果実処理において、果実内部への浸透性が大きいためと考えられ、果皮および果肉中の ^{14}C 量はそれぞれ、14 日目には 47.4% および 18.6% となった。

表 1 ^{14}C トリフルミゾールを葉面に処理したきゅうり植物における ^{14}C の回収率および分布

植物の部位 および画分	試料中 ^{14}C 量 (^{14}C 処理量に対する%)					
	1 日目	3 日目	7 日目	14 日目	21 日目	45 日目
処理葉						
表面洗浄液	76.0	68.7	51.0	32.6	15.6	4.1
抽出液						
抽出画分	6.3	7.2	5.8	5.8	4.8	1.9
層	4.6	5.3	5.3	4.3	5.6	4.6
抽出残渣	0.1	0.3	0.2	1.2	2.0	2.0
小計	87.0	81.5	62.3	43.9	28.0	12.6
上部の非処理葉	0.01	0.01	0.05	0.23	0.21	0.63
上部の非処理葉	0.01	0.06	0.07	0.07	0.14	0.06
根	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	0.08	0.23
果実	-*	-	-	-	-	0.26
合計	87.0	81.6	62.4	44.2	28.4	13.8

* 果実は結実せず。

表2 ^{14}C トリフルミゾールを葉面に処理したきゅうり植物における
葉から果実への放射能の移行

項目	3日目	7日目	14日目
果実重量 (g)	5.2	74.5	234
放射能の割合 (^{14}C 処理量に対する%)	0.02	0.05	0.07
放射能濃度 (ppm、トリフルミゾール換算)	<0.01	<0.01	<0.01

表3 ^{14}C トリフルミゾールを果実に処理したきゅうり植物の果皮
および果肉における ^{14}C の回収率および分布

画分		^{14}C 処理量に対する%			
		1日目	3日目	7日目	14日目
果実表面洗浄液		71.3	51.9	39.4	17.4
果皮	抽出液				
	抽出画分	22.0	22.1	21.7	15.6
	層	1.8	3.0	8.3	18.1
	抽出残渣	3.2	5.4	8.6	13.7
	小計	27.0	30.5	38.6	47.4
果肉	抽出液				
	抽出画分	1.7	9.8	11.7	12.1
	層	0.0	1.9	2.9	4.4
	抽出残渣	0.4	1.9	1.6	2.1
	小計	2.1	13.6	16.2	18.6
合計 (表面洗浄液、果皮および果肉)		100.4	96.0	94.2	83.4

代謝: ^{14}C トリフルミゾールを処理したきゅうり葉の表面洗浄液および抽出液 抽出画分中の代謝物の割合を表4に示す。処理葉におけるトリフルミゾールは速やかに減少し、半減期は約4日であった。主要代謝物は、
であった。や、さらに分解の進んだ も検出された。微量の も認められた。水溶性代謝物は全期間を通じ処理量の5%前後であった。試料を多量分取して分析した実験において、水溶性代謝物中に、 が存在することが明らかとなった。また、この実験において、単離された代謝物の質量分析スペクトルが標品のものと一致したことから、これらは同定された。

^{14}C トリフルミゾールを処理したきゅうり果実の表面洗浄液および果実(果皮および果肉)の抽出液 抽出画分中の代謝物の割合を表5に示す。表面洗浄液および果実の抽出液中には、葉面処理の場合と同様に、未変化体と5種の代謝物が認められた。表面洗浄液における代謝物の割合は、両処理法ともほぼ同じであったが、 は葉面処理の場合より果実処理の方が少なかった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

表4 ^{14}C トリフルミゾールを処理したきゅうり葉の表面洗浄液
および抽出液抽出画分中の代謝物の割合

画分	代謝物	^{14}C 処理量に対する割合 (%)					
		1日目	3日目	7日目	14日目	21日目	45日目
表面洗浄液	トリフルミゾール	65.4	55.7	29.7	11.1	3.2	0.3
	小計						
抽出液 抽出画分	トリフルミゾール	1.5	2.9	0.8	0.8	0.3	0.1
	小計						
合計 (表面洗浄液 および抽出液 抽出画分)	トリフルミゾール	66.9	58.6	30.5	11.9	3.5	0.4
	小計						

* 少量代謝物および原点の合計。1成分で処理量の1%を超えるものはなかった。

表5 ^{14}C トリフルミゾールを処理したきゅうり果実の表面洗浄液および
果実（果皮および果肉）の抽出液 抽出画分中の
代謝物の割合

画分	代謝物	^{14}C 処理量に対する割合 (%)			
		1日目	3日目	7日目	14日目
表面洗浄液	トリフルミゾール	65.6	47.9	33.5	11.0
果実の 抽出液 抽出画分 (果皮、果肉)	トリフルミゾール	15.1** (14.6, 0.5)	14.9 (11.7, 3.2)	11.5 (10.1, 1.4)	7.9 (7.1, 0.8)
合計 (表面洗浄液 および 果実の 抽出液 抽出画分)	トリフルミゾール	80.7	62.8	45.0	18.9

* 少量代謝物および原点の合計。1成分で処理量の1%を超えるものはなかった。

** () 内の数値は、(果皮、果肉) 中の存在量を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

2) なしにおける代謝試験

(資料 No. 運命-5)

試験機関：日本曹達株式会社 (株) 生物科学研究所

[GLP 非対応]

報告書作成年：1984 年

供試標識化合物： [^{14}C]トリフルミゾール

構造式：

化学名：(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試植物： なし幼木 (接木後 3 年生)
(*Pyrus serotina* Rehder var. *culta*, 品種：長十郎)
(温室ポット栽培)

方法：

処理液の調製： ^{14}C -トリフルミゾール、非標識トリフルミゾール、界面活性剤およびキャリアーを水に懸濁して処理液を調製した。これは、実使用場面で用いられる 30%水和剤の 2000 倍液に相当する。

処理方法：

葉面処理実験：小果実 1 個と果叢葉 8~12 枚を付けた短果枝の 4 枚の葉 (それぞれ約 50 cm²) 上面に、処理液 (1.6 mL、 5.60×10^6 dpm) をできるだけ均一にマイクロピペットで点滴処理した。処理量は 0.100 mg であった。

果実処理実験：果実 (約 142 g) の表面に、処理液 (1 mL、 1.90×10^6 dpm) をマイクロピペットで点滴処理した。処理量は 0.034 mg であった。

採取時期：

葉面処理実験：処理後 0 (直後)、1、3、7、14、21、31、60 および 90 日目に 2 枝ずつ採取し、処理葉、非処理葉および果実に分けた。

果実処理実験：処理後 0、1、3、7 および 14 日目に果実を 2 個ずつ採取した。

分析方法：採取した処理葉 (葉面処理実験)、および処理果実 (果実処理実験) の抽出および分析方法のスキームを図 1 および 2 に示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

図1 なしの処理葉の抽出および分析スキーム (葉面処理実験)

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

図2 なしの処理果実の抽出および分析スキーム (果実処理実験)

洗浄液および抽出液中の代謝物の分析は、1次元または2次元 TLC を用い、標品とのクロマトグラフィーによって行った。

また、処理葉に含まれる水溶性代謝物を分析するため、7～90日目に得られた抽出液を合わせ、カラム、シリカゲルカラムおよび TLC により精製した。単離した あるいは を酵素 に分析し、 を同定した。

結果：

^{14}C 分布・移行： ^{14}C トリフルミゾールを葉面に処理したなし植物における ^{14}C の回収率および分布（葉面処理実験）を表 1 に示す。 ^{14}C 回収率は 90 日目で 16.7% となり、半減期は約 7 日であった。残留 ^{14}C の大部分は処理葉に留まり、未処理葉および果実への移行はほとんどなかった。処理葉において、初期には放射能の大部分が表面洗浄液中に見られ、経時的に減少して 90 日目には 2.3% となった。抽出画分中の放射能は 7 日目に処理量の 7.6% となり、90 日目までほぼ同レベルで推移した。果実の重量は、処理時には 3.6 g であったが 90 日目には 258.6 g となり、果実中の放射能のトリフルミゾール換算濃度は、全期間を通じ、0.01 ppm 以下であった。

^{14}C トリフルミゾールを果実に処理した場合の果皮、果肉および芯における ^{14}C の回収率および分布（果実処理実験）を表 2 に示す。 ^{14}C 回収率は約 9 日の半減期で減少し、14 日目には 41.7% となり、半減期は約 9 日であった。残留 ^{14}C の大部分は表面洗浄液および果皮に認められ、果肉および芯への移行量は処理量の 2% 以下であった。洗浄液中の ^{14}C は経時的に減少して 14 日目には 9.7% となり、果皮中の ^{14}C は 1 日目から 14 日目まで約 25～30% であった。果皮中の放射能を

により抽出したところ、葉面処理の場合より多くの放射能が残存したので、さらに で抽出した結果、大部分の放射能が抽出された。果実の重量は、処理時には 142 g であったが、14 日目には 262 g となり、果皮中の放射能のトリフルミゾール換算濃度は、14 日目には 2.1 ppm、果肉中の濃度は 0.013 ppm となった。

表1 ^{14}C トリフルミゾールを葉面に処理したなし植物における ^{14}C の回収率および分布 (^{14}C 処理量に対する%で示す)

投与後 日数	処理葉					非処理 葉	果実	合計
	表面 洗浄液	抽出液		抽出 残渣	小計			
		抽出画分	層					
0	103.04	-	-	-	103.04	-	-	103.04
1	91.89	3.43	0.86	0.50	96.68	0.06	<0.01	96.74
3	71.49	3.27	1.39	0.73	76.88	0.12	<0.01	77.00
7	41.23	4.88	2.75	1.22	50.08	0.10	0.02	50.20
14	7.28	3.13	2.05	1.63	14.09	0.98	0.02	15.09
21	13.94	4.32	4.06	2.35	24.67	0.79	0.04	25.50
31	9.61	3.91	5.05	2.69	21.26	0.65	0.06	21.97
60	4.58	3.50	6.67	3.85	18.60	0.43	0.07	19.10
90	2.28	2.63	6.82	4.28	16.01	0.54	0.18	16.73

表2 ^{14}C トリフルミゾールを果実に処理したなし植物の果皮、果肉および芯における ^{14}C の回収率および分布 (^{14}C 処理量に対する%で示す)

画分	処理後日数				
	0	1	3	7	14
果実表面洗浄液	100.35	43.41	27.46	21.47	9.67
果皮					
抽出液					
抽出画分		15.13	16.57	14.92	11.59
層		1.04	1.45	2.66	3.18
抽出液		3.10	4.03	4.13	5.17
抽出液					
(pH7) および					
(pH2) 抽出画分		4.30	5.52	7.77	7.98
層		0.25	0.28	0.57	0.57
抽出残渣		0.93	1.20	1.57	1.80
果肉		0.29	1.08	1.72	1.58
芯		0.14	0.09	0.16	0.15
合計	100.35	68.59	57.68	54.97	41.69

代謝: ^{14}C トリフルミゾールを処理したなし葉の表面洗浄液および抽出液、抽出画分中の代謝物の割合を表3に示す。処理葉におけるトリフルミゾールは速やかに減少し、半減期は約1日であった。主要代謝物は_____であり、3日目には処理量の_____に達した。他の代謝物として、_____が検出された。

^{14}C トリフルミゾールを処理したなし葉の_____層の_____抽出液中の代謝物の割合を表4に、単離した_____の酵素加水分解結果を表5に示す。抽出液中の_____代謝物は主として11成分からなり、そのうち2成分は_____として存在した_____であった。また、_____の結果、_____が遊離した。_____処理により、_____が生成し、また全ての未同定成分から_____処理により_____が検出された。これらの結果から、_____が存在することが示唆された。

[¹⁴C]トリフルミゾールを処理したなし果実の表面洗浄液および果皮の抽出液中の代謝物の割合を表 6 に示す。表面洗浄液および果実の抽出液中には、未変化体および葉面処理の場合と同様の代謝物が認められた。未変化体の減少は、葉面処理の場合より約 2 倍速く、これは処理時期の違い（葉面処理：5 月、果実処理：8 月）によるものと思われた。

表 3 [¹⁴C]トリフルミゾールを処理したなし葉の表面洗浄液および抽出液 抽出画分中の代謝物の割合
(¹⁴C 処理量に対する%で示す)

代謝物	処理後日数								
	0	1	3	7	14	21	31	60	90
表面洗浄液									
トリフルミゾール	95.13	49.80	18.56	6.38	1.08	1.07	0.82	0.18	0
小計									
抽出液 抽出画分									
トリフルミゾール	-	1.11	0.64	0.39	0.08	0	0	0	0
小計									
合計（表面洗浄液および抽出液 抽出画分）									
トリフルミゾール	95.13	50.91	19.20	6.77	1.16	1.07	0.82	0.18	0
合計									

* 1 成分で処理量の 3%を超えるものはなかった。

表4 ^{14}C トリフルミゾールを処理したなし葉の抽出液中の代謝物の割合 (^{14}C 処理量に対する%で示す)

代謝物	処理後日数					
	7	14	21	31	60	90
合計						

表5 ^{14}C トリフルミゾールを処理したなし葉から単離した極性代謝物の酵素処理による割合および

極性代謝物	酵素処理による割合				生成物
	酵素無添加				
M-1					
M-2					
M-3					
M-4					
M-5					
M-6					
M-7					
M-8					
M-9					

* M-2 および M-3 の混合物を に供した。
 ** M-5 および M-6 の混合物を に供した。
 *** および M-7 の混合物を に供した。

表6 $[^{14}\text{C}]$ トリフルミゾールを処理したなし果実の表面洗浄液および果皮抽出液中の代謝物の割合 (^{14}C 処理量に対する%で示す)

代謝物	処理後日数					
	0	0 (2 時間)	1	3	7	14
表面洗浄液						
トリフルミゾール	93.89	86.31	15.80	6.73	3.81	0.41
抽出液 抽出画分						
トリフルミゾール			1.30	0.86	0.51	0.34
抽出液						
トリフルミゾール						
抽出液 抽出および抽出画分						
合計 (表面洗浄液、抽出液)						
トリフルミゾール						
合計						

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

3) りんごにおける代謝試験

(資料 No. 運命-5)

試験機関：日本曹達株式会社 (株) 生物科学研究所

[GLP 非対応]

報告書作成年：1984 年

供試標識化合物： [^{14}C]トリフルミゾール

構造式：

化学名：(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試植物： りんご幼木 (接木後3年生)

(*Malus pumila* Miller var. domestica,

品種：スターキングデリシャス)

(温室ポット栽培)

方法：

処理液の調製： ^{14}C -トリフルミゾール、非標識トリフルミゾール、界面活性剤およびキャリアーを水に懸濁して処理液を調製した。これは、実使用場面で用いられる30%水和剤の2000倍液に相当する。

処理方法：発育枝中央部の4枚の葉(それぞれ約40 cm²)上面に、処理液(800 μL , 2.80 $\times 10^6$ dpm)をできるだけ均一にマイクロピペットで点滴処理し、90日間生育させた。処理量は0.050 mgであった。

採取時期：処理後0(直後)、1、3、7、14、21、31、60および90日目に2枝ずつ採取し、処理葉、処理葉の上部にある非処理葉、下部にある非処理葉に分けた。

分析方法：採取した処理葉の抽出および分析方法のスキームを図1に示す。

図1 りんごの処理葉の抽出および分析スキーム

洗浄液および抽出液中の代謝物の分析は、1次元または2次元 TLC を用い、標品とのクロマトグラフィーによって行った。また、水溶性代謝物については、なしの代謝実験で得られた M-1~M-9 の 9 化合物を用いて比較検討を行った。

結果：

^{14}C 分布・移行： [^{14}C]トリフルミゾールを葉面に処理したりんご植物における ^{14}C の回収率および分布を表 1 に示す。 ^{14}C 回収率は約 4 日の半減期で減少し、90 日目には約 9% となり、半減期は約 4 日であった。残留 ^{14}C の大部分は処理葉に留まり、未処理葉への移行はほとんどなかった。処理葉において、初期には放射能の大部分が

表面洗浄液中に見られ、経時的に減少して 90 日目には約 1%となった。抽出液中の放射能は 7 日目に処理量の約 9%となり、90 日目までほぼ同レベルで推移した。

表 1 ^{14}C トリフルミゾールを葉面に処理したりんご植物における ^{14}C の回収率および分布 (^{14}C 処理量に対する%で示す)

処理後 日数	処理葉				非処理葉		合計	
	表面 洗浄液	抽出液		抽出 残渣	小計	上部		下部
		抽出画分	層					
0	98.57	-	-	-	98.57	-	-	98.57
1	76.10	3.31	0.70	0.33	80.44	0.09	0.05	80.58
3	53.53	5.22	1.19	0.59	60.53	0.16	0.07	60.76
7	23.71	6.76	2.20	1.01	33.68	0.27	0.22	34.17
14	7.83	4.49	2.57	1.63	16.52	0.54	0.21	17.27
21	7.02	4.38	3.50	1.67	16.57	0.77	0.80	18.14
31	7.46	4.22	4.64	1.98	18.30	0.66	0.25	19.21
60	3.90	3.08	4.45	2.32	13.75	1.19	0.59	15.53
90	0.95	1.59	3.54	1.78	7.86	0.69	0.40	8.95

代謝： ^{14}C トリフルミゾールを処理したりんご葉の表面洗浄液および抽出液、抽出画分中の代謝物の割合を表 2 に示す。処理葉におけるトリフルミゾールは速やかに減少し、半減期は 1 日以内であった。主要代謝物は ^{14}C であり、1~3 日目には処理量の 70% を占めた。他の代謝物として、 ^{14}C が検出された。

^{14}C トリフルミゾールを処理したりんご葉の抽出液、抽出液層の抽出液中の代謝物の割合を表 3 に示す。抽出液中の水溶性代謝物は主として 11 成分からなり、そのうち 2 成分は ^{14}C として存在した。M-1~M-9 の ^{14}C はなしにおいて認められた代謝物 (M-1~M-9) と一致し、水溶性代謝物中に、 ^{14}C が存在することが示唆された。これらの ^{14}C の量は処理量の 1%以内に過ぎなかった。

表2 ^{14}C トリフルミゾールを処理したりんご葉の表面洗浄液および抽出液 抽出画分中の代謝物の割合
(^{14}C 処理量に対する%で示す)

代謝物	処理後日数								
	0	1	3	7	14	21	31	60	90
表面洗浄液									
トリフルミゾール	91.44	32.94	12.93	3.19	0.64	0.49	0.28	0	0
小計									
抽出液					抽出画分				
トリフルミゾール	-	1.04	1.22	0.31	0	0	0	0	0
小計									
合計 (表面洗浄液および抽出液 抽出画分)									
トリフルミゾール	91.44	33.98	14.15	3.50	0.64	0.49	0.28	0	0
合計									

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

表3 ^{14}C トリフルミゾールを処理したりんご葉の 層の
抽出液中の代謝物の割合 (^{14}C 処理量に対する%で示す)

代謝物	処理後日数					
	7	14	21	31	60	90
合計						

* ()内の化合物は、 を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

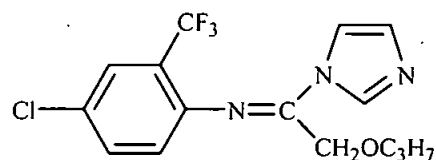
<植物体内運命>

- 4) トリフルミゾールおよび関連化合物の残留分析 (資料 No. 運命-6)
試験機関：日本曹達株式会社 (株) ファイナカル研究所
〔GLP 非対応〕
報告書作成年：1984 年

分析対象の化合物：

トリフルミゾール (親化合物)

構造式：

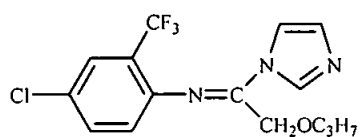


化学名：(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

分析法の原理と操作概要

分析法 1： トリフルミゾールおよび に変換して分析する方法

分析対象化合物：トリフルミゾールおよび



トリフルミゾール



本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

分析法 2： トリフルミゾール関連化合物を に統一して分析する方法

分析対象化合物：トリフルミゾール関連化合物

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

分析法の概略：

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<植物体内運命>

作物および茶浸出液の分析スキーム

結果：

表 1 残留試験結果

作物名 (栽培形態) (分 析部位) 年度	剤型 (有効成分量) 希釈倍数又は使用 量使用方法	試料調製場 所	散 布 回 数	経 過 日 数	分析結果			
					分析法 1		分析法 2	
					実測値	平均	実測値	平均
すいか (ハニーシャル マン) 昭和 57 年度	水和剤 (30%) 3000 倍 200L/10a 散布	石川県砂 丘地農業 試験場	6	1	<0.02 <0.02	<0.02	<0.02 <0.02	<0.02
りんご (スターキング デリシャス) 昭和 57 年度	水和剤 (30%) 2000 倍 600L/10a 散布	青森県りん ご試験場	8	1	0.19 0.18	0.18	0.20 0.19	0.20
きゅうり (北進) 昭和 58 年度	水和剤 (30%) 3000 倍 200L/10a 散布	大阪府農 林技術セ ンター	5	1	0.29 0.27	0.28	0.24 0.26	0.25
茶 (おくみどり) 昭和 57 年度	水和剤 (30%) 2000 倍 200L/10a 散布	京都府立 茶業試験 場	3	7	61.2 62.2	61.7	63.3 58.7	61.0
茶浸出液 (おくみどり) 昭和 57 年度	水和剤 (30%) 2000 倍 200L/10a 散布	京都府立 茶業試験 場	3	7	7.20 6.22	6.71	7.6 8.8	8.2
ぶどう (デラウェア) 昭和 58 年度	水和剤 (30%) 2000 倍 200L/10a 散布	京都府山 城園芸試 験場	3	1	0.79 0.80	0.80	0.93 0.76	0.85
とまと (豊竜) 昭和 58 年度	水和剤 (30%) 3000 倍 300L/10a 散布	日本植物防 疫協会研 究 所 茨木	5	1	0.20 0.21	0.20	0.18 0.19	0.18
いちご (麗紅) 昭和 58 年度	水和剤 (30%) 3000 倍 150L/10a 散布	栃木県農 業試験場 栃木分場	5	1	0.23 0.26	0.24	0.22 0.25	0.24

国内各地試験場において調製されたトリフルミゾールを処理した作物について、分析法 1 および 2 により分析を行い、残留値の比較を行ったところ、トリフルミゾールを 3~8 回散布後、最終散布から 1~7 日経過した試料において、両分析法による分析値に大きな差は見られず、その比率は通常 1~1.3 倍程度であった。

いずれの作物も第 1 回の散布から 1~3 ヶ月経過しており、他の代謝物も生成しているものと考えられるが、その量は最終散布によって残留したトリフルミゾールおよび の量と比較するとほとんど無視しうる量となっているため、両分析法の分析値に差がでないものと考えられた。

このことから、残留分析は、トリフルミゾールと を分析対象とし、に変換して分析する方法、または両化合物を個別に分析する方法で十分評価できるものと考えられる。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命>

3. 土壌中運命に関する試験

1) 好氣的湛水土壌中運命試験

本農薬のイネにおける種子処理方法は、当該農薬の有効成分等が、その使用に係る水田に混入するおそれがないことより、12生産第8147号 別紙 第4 試験成績の提出についての別表 2 土壌中運命に関する試験成績 (1)好氣的湛水土壌中運命試験成績、に記載される「水田において使用されない」に該当するため、試験成績の提出を行わない。

2) トリフルミゾールの好氣的土壌代謝試験 (1)

(資料 No. 運命-7)

試験機関：日本曹達株式会社

報告書作成年：1984年

供試標識化合物：トリフルミゾール

試験方法：

土壌 50g(乾土換算)を揮散化合物トラップ付三角フラスコにとり、水分を最大用水量の60%に調整し、標識トリフルミゾール 溶液(37.5 μ g)を加えよく混和し、15°C および 25°C の恒温槽で 14 日間静置培養した(本処理濃度は実用濃度である 0.75ppm 相当である)。

揮散性物質は に、CO₂は に捕集した。

土壌は 0、7、14、21、28、42、56、70、84、98 日後に採取し、放射能測定および化合物同定、分析を実施した。

土壌を で 3 回振盪抽出し、抽出液に水を加え で 3 回抽出した。

抽出液に の揮散性を抑制するため： を添加し、濃縮した。

濃縮物をシリカゲルカラムクロマトにより 分画とその他の分画に分離した。

捕集液、各抽出分画、残渣(燃焼法処理)の放射能を測定した。

代謝物は TLC、HPLC およびマススペクトルで同定した。代謝物は TLC により定量した。

使用畑土壌の性質：

採取地	神奈川県 小田原市	神奈川県 大磯町
土性	Clay Loam	Light Clay
砂(%)	58	45
シルト(%)	24	22
粘土(%)	18	33
pH (H ₂ O)	7.4	5.6
有機質含量(%)	1.7	4.2
CEC(meq/100g)	35.6	36.4

分類・分析は USDA (アメリカ農務省) 法等に準拠

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命>

試験結果：

15°Cにおける放射能の分布：

15°Cにおける ¹⁴ Cトリフルミゾール処理量に対する%(小田原/大磯土壌)					
処理後 日数	区	残渣	揮散性物質	¹⁴ CO ₂	合計
0日	94.7/91.2	5.3/8.8	-/-	-/-	100.0/100.0
7日	88.9/87.3	11.2/13.0	2.3/1.2	-/-	102.4/101.5
14日	82.0/81.6	14.5/18.2	4.1/2.0	-/0.1	100.6/101.9
21日	73.1/75.3	18.1/22.1	8.5/3.5	0.1/0.2	99.8/101.1
28日	67.0/69.1	22.3/25.3	12.0/7.1	0.2/0.4	101.5/101.9
42日	54.1/58.3	24.4/30.7	19.2/10.3	0.3/0.7	98.0/100.0
56日	43.2/48.1	28.1/35.5	27.4/12.1	0.5/1.3	99.2/97.0
70日	35.5/40.7	30.3/37.6	31.3/13.3	0.8/1.8	97.9/93.4
84日	27.5/34.4	32.8/37.8	35.2/14.4	0.9/2.3	96.4/88.9
98日	23.3/26.9	33.0/39.0	37.6/17.5	1.0/2.5	94.9/85.9

25°Cにおける放射能の分布：

25°Cにおける ¹⁴ Cトリフルミゾール処理量に対する%(小田原/大磯土壌)					
処理後 日数	区	残渣	揮散性物質	¹⁴ CO ₂	合計
0日	94.7/91.2	5.3/8.8	-/-	-/-	100.0/100.0
7日	76.4/77.6	16.2/20.1	9.2/2.1	0.1/0.2	101.9/100.0
14日	60.7/69.9	27.0/26.3	14.3/4.0	0.4/0.7	102.4/100.9
21日	46.3/57.5	31.5/30.0	21.3/9.2	0.8/1.2	99.9/97.9
28日	34.0/48.5	34.3/34.6	26.4/11.9	1.2/2.3	95.9/97.3
42日	23.4/34.0	38.4/45.7	32.1/14.2	1.6/3.6	95.5/97.5
56日	13.1/24.6	40.1/46.5	39.0/20.3	2.3/5.1	94.5/96.5
70日	8.8/16.3	42.2/48.6	40.6/28.0	2.7/5.7	94.3/98.6

代謝物の同定：

トリフルミゾール、代謝物は
同定された。

がマススペクトルで

代謝物の定量：

15°C および 25°C における DCM 抽出区の定量結果は次頁の表に示す。

処理後 日数	0	7	14	21	28	42	56	70	84	98
トリフルミゾール	88.0/80.1	70.8/58.9	60.8/41.6	52.3/38.5	45.3/34.8	35.8/28.0	27.0/22.3	22.5/18.9	14.9/14.2	9.9/9.8
合計										

処理後の 経過日数	0	7	14	21	28	42	56
トリフルミゾール	88.0/80.1	60.7/43.2	38.2/29.2	28.6/22.1	19.0/18.1	12.7/8.3	6.3/8.0
合計							

トリフルミゾールを土壌に処理した場合、比較的分解され易く、半減期は 15°C で 10~25 日、25°C で 6~10 日であった。トリフルミゾールは比較的揮散しにくい、分解物は一部土壌から揮散した。主たる分解物は _____ であり、トリフルミゾールの分解経路は、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命>

3) トリフルミゾールの好氣的土壌代謝試験 (2)
(揮散性試験)

(資料 No. 運命-7)

試験機関：日本曹達株式会社
報告書作成年：1984年

供試標識化合物：トリフルミゾール

供試土壌：

小田原土壌

土性	pH(H ₂ O)	砂(%)	シルト(%)	粘土(%)	有機物含量(%)	陽イオン交換容量
Clay loam	7.4	58	24	18	1.7	35.6

試験法：

最大用水量の60%に調整した土壌250g(乾土換算)に標識トリフルミゾール250 µg/0.5 mLを加えよく混和し、14日間静置培養した。揮散性物質はシリカゲルに、CO₂は で7日、14日目に捕集した。14日後の土壌は で2回振盪抽出し、さらに で残渣を洗浄した。抽出液に水を加えて抽出した。捕集液、抽出分画、残渣(燃焼法処理)の放射能を測定した。抽出区を濃縮し、TLCで分析した。

試験結果：放射能の分布を下表に示す。

実験期間	揮散性物質	¹⁴ CO ₂	DCM区	残渣	合計
0~7日	2.5	N.D.	—	—	—
7~14日	3.9	0.1	55.8	32.3	—
合計	6.4	0.1	55.8	32.3	94.6

DCM抽出区の定量

トリフルミゾール					
50.2					

トリフルミゾールは比較的揮散しにくい

が、一部土壌から揮散した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壤中運命>

4) 嫌氣的土壤中運命試験

本農薬は、12生産第8147号 別紙 第4 試験成績の提出についての別表2 土壤中運命に関する試験成績 (3)嫌氣的土壤中運命試験成績の②好氣的土壤中運命試験の結果から、好氣的土壤中における当該農薬の成分物質等の消失が速やかであることに該当することから、試験成績の提出を行わない。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<土壌中運命>

5) トリフルミゾール土壌吸着試験 (I)

(資料 No. 運命-7)

試験機関：日本曹達株式会社

報告書作成年：1984年

供試標識化合物：トリフルミゾール

供試土壌：小田原土壌および大磯土壌の土性を下記に示す。

場所	土性	pH(H ₂ O)	砂(%)	シルト(%)	粘土(%)	有機物含量(%)	陽体交換容量
小田原	Clay loam	7.4	58	24	18	1.7	35.6
大磯	Light Clay	5.6	45	22	33	4.2	36.4

試験法：

土壌 5g(乾土換算)を 50mL の遠沈管にとり、標識トリフルミゾール水溶液(0.1、1、5、10ppm)を各 20mL 加え、25°C で 180 分間振盪した。遠心分離後、上澄み液の放射能を測定し、Freundlich 吸着係数を求めた。

試験結果：

採取場所	土性	1/n	K _F	OC%	K _{FOC}
小田原土壌	Clay loam	1/1.14	32.0	1.0	3204
大磯土壌	Light Clay	1/1.20	50.6	2.5	2050

6) トリフルミゾール土壌吸着試験 (2)

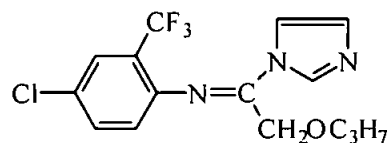
(資料 No. 運命-8)

試験機関：日本曹達株式会社

報告書作成年：1989年

供試化合物： トリフルミゾール

(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン



化学的純度： 99.7%

試験土壌の性質：

Clay loam(福島)、Silty clay loam(茨木)、Sandy clay loam(愛知)、Sand(宮崎)、4土壌。国際土壌学会法による土性を以下に示す。

項目	I	II	III	IV
土壌群名	細粒黄色土	褐色火山灰土壌	灰色台地土	
採取場所	福島農試内	牛久圃場内	愛知農総試内	宮崎試験農場内
土性	埴壤土	シルト質 埴壤土	砂質 埴壤土	砂土
砂 %	53.4	26.2	68.0	87.1
シルト %	22.8	50.9	14.5	5.7
粘土 %	23.8	22.9	17.5	7.2
有機炭素 含有率(%)	1.08	3.61	0.76	1.50
pH H ₂ O	7.6	7.7	7.1	7.2
KCl	6.7	6.9	6.0	6.3
陽イオン 交換容量 (meq/100g)	13.5	21.4	7.9	7.0
リン酸 吸収係数	540	2000	290	660
粘土鉱物 の種類	カオリン鉱物 パーミキュライト	アロフェン パーミキュライト	カオリン鉱物 イライト	アロフェン ハロサイト

試験方法：

OECD ガイドライン(106「吸着／脱着」)による方法に準拠して実施した。

被験物質を 0.01M 塩化カリウム水溶液に溶解し、予備試験として遠心管への吸着および吸着平衡時間の測定を実施した。その結果、ポリアロマ製遠心管で良好な回収率が得られた。また、3、6、24 および 48 時間振とうし、上澄みを測定した結果、6 時間の振とうでほぼ平衡に達することがわかった。その結果、本試験では、0.4、0.8、3.0 および 6.0ppm の被験物質溶液を各 20mL 土壌 5g に添加して 25±1°C で 6 時間振とうした。(実測濃度は、0.30、0.61、2.2、4.9 mg/L)

懸濁液を遠心分離して上澄みから一定量を取り、HPLC 分析してトリフルミゾール濃度を測定した。3.0ppm 添加の試料は、上澄み液を除いた後、遠心管に 25mL を加えて抽出トリフルミゾール濃度を測定した。得られた測定データを基に、Freundlich 吸着係数 K_F および K_{FOC} を求めた。

試験結果：

Freundlich 吸着係数

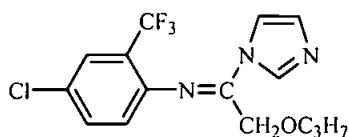
土壌採取場所	土 性	1/n	K_F	r	OC%	K_{FOC}
福島	Clay loam	1.024	24.66	0.9722	1.08	2283
牛久	Silty clay loam	0.935	27.45	0.9388	3.61	760
愛知	Sandy clay loam	1.025	21.82	0.9795	0.76	2871
宮崎	Sand	0.740	11.08	0.9160	1.50	739

4. 水中運命に関する試験

1) トリフルミゾールの加水分解性試験(1)

(資料 No. 運命-7)

試験機関：日本曹達株式会社



報告書作成年：1984年

供試化合物： トリフルミゾール
 (E)-4-クロロ-α,α,α-トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

試験液： McIlvaine の緩衝液(pH 3、6)、Atkins-Pantin の緩衝液(pH 9)

試験方法： トリフルミゾール 0.5 および 5ppm 緩衝液(pH 3、6、9)を調整し、25°C および 50°C で恒温にして、経時的に採取し放射能を測定した。

各試験水を で 2 回振盪抽出し、抽出液を濃縮し、代謝物を HPLC と TLC で分析した。

試験結果： 各分画の放射能分布および代謝物の定量値を下記にしめす。

各 pH での加水分解 0.5ppm 25°C																	
pH	3					6						9					
時間	0	4	9	23	31	0	72	168	288	408	504	0	24	48	72	96	120
トリフルミゾール	0.49	0.40	0.30	0.13	0.09	0.54	0.44	0.35	0.28	0.22	0.19	0.49	0.39	0.32	0.25	0.19	0.17
合計																	

数値は親換算の濃度(ppm)で*印は作成者訂正

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

各 pH での加水分解 5ppm 25°C																
pH	3					6					9					
時間	0	4	9	23	30	0	63	116	212	284	524	0	40.5	65.3	100.0	134.8
トリフルミゾール	4.86	4.16	3.57	1.57	1.18	4.82	4.23	3.70	3.04	2.60	1.53	4.96	3.23	2.52	1.62	0.96
合計																

各 pH での加水分解 5ppm 50°C																		
pH	3						6						9					
時間	0	0.5	1	1.5	2	2.5	0	7	23	30	47	54	119	0	1	3	5	7
トリフルミゾール	4.73	3.72	2.83	2.12	1.65	1.25	4.70	4.30	3.48	3.18	2.49	2.21	0.93	4.82	3.80	2.40	1.59	0.89
合計																		

各 pH での加水分解 0.5ppm 50°C																		
pH	3						6						9					
時間	0	0.5	1	1.5	2	2.5	0	24	48	72	96	120	0	1	2	3	5	7
トリフルミゾール	0.49	0.39	0.31	0.23	0.17	0.13	0.48	0.38	0.27	0.20	0.16	0.12	0.49	0.37	0.27	0.19	0.11	0.06
合計																		

加水分解生成物は のみが検出された。トリフルミゾールの半減期を下表に示す。pH 6 で最も安定であった。

加水分解における半減期(hrs)						
濃度(ppm)	25°C			50°C		
	pH 3	pH 6	pH 9	pH 3	pH 6	pH 9
0.5 ppm	12.7	353	75.5	1.31	59.4	2.27
5 ppm	14.5	317	57.2	1.29	50.1	2.88

2) トリフルミゾールの加水分解性試験 (2)

(資料 No. 運命-9)

試験機関：日本曹達株式会社

報告書作成年：1987年

供試標識化合物：

試験液： Clarl-Lubs の緩衝液(pH 5、7)、Sörensen の緩衝液(pH 9)

設定 pH	緩衝液名	組成*
5	Clarl-Lub	0.10 M フタル酸カリウム 250 mL 0.10 N 水酸化ナトリウム 113 mL 蒸留水で 500 mL に定容
7	Clarl-Lub	0.10 M フタル酸カリウム 250 mL 0.10 N 水酸化ナトリウム 145 mL 蒸留水で 500 mL に定容
9	Sörensen	0.025 M ホウ砂 250 mL 0.10 N 水酸化ナトリウム 23 mL 蒸留水で 500 mL に定容

*: 各々の緩衝液は、蒸留水を用いて x5、x10、x50 に希釈した。(原液 x1)

試験方法：EPA ガイドライン 161-1 に従って実施した。標識体を非標識体で希釈したトリフルミゾール 溶液を一定量 10mL の共栓付き試験管に分取し、溶媒を留去後、各々の緩衝液を 10mL 加え、超音波処理し、5ppm 溶液を調製した。各試料を 25±1°C で暗所・恒温にして、処理後 0、1、3、7、15 および 30 日後に採取し放射能を測定した。各試験溶液の pH を試験開始前、7 および 30 日後に測定した。

また、各緩衝液の触媒効果を調べる為、蒸留水で 5 倍、10 倍および 50 倍希釈した緩衝液を用いて同様に実験を行った。

各試験水の一部を取り、放射能を測定し、TLC で分析し、黒化部分を書き取り、放射能を測定した。また、試験溶液の一部を HPLC で分析した。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

試験結果： 各分画の放射能分布および代謝物の定量値を下記に示す。

試験期間中の各緩衝液における pH

緩衝液	採取時期 (日)	緩衝液の希釈倍率			
		原液	5倍	10倍	50倍
5	0	5.01	4.89	4.8	4.55
	7	5.01	4.91	4.82	4.6
	30	5.02	4.93	4.84	4.77
7	0	6.95	6.86	6.77	6.55
	7	6.92	6.87	6.78	6.49
	30	6.91	6.84	6.73	6.38
9	0	9.03	8.85	8.62	8.3
	7	9.04	8.79	8.65	8.31
	30	9.07	8.62	8.58	8.15

緩衝液(pH 5)におけるトリフルミゾールの加水分解

採取時期 (日)	化合物	緩衝液の希釈倍率			
		原液	5倍	10倍	50倍
0	トリフルミゾール	98.3	98.3	98.3	98.3
	合計				
1	トリフルミゾール	79.9	89.0	84.9	80.6
	合計				
3	トリフルミゾール	59.3	72.0	75.5	81.8
	合計				
7	トリフルミゾール	28.4	56.7	53.1	66.0
	合計				
15	トリフルミゾール	8.9	27.9	31.1	40.8
	合計				
30	トリフルミゾール	2.0	9.5	12.6	17.7
	合計				

緩衝液(pH 7)におけるトリフルミゾールの加水分解

採取時期 (日)	化合物	緩衝液の希釈倍率			
		原液	5倍	10倍	50倍
0	トリフルミゾール	98.3	98.3	98.3	98.3
	合計				
1	トリフルミゾール	92.9	90.5	95.6	95.2
	合計				
3	トリフルミゾール	84	93.9	94.1	98.7
	合計				
7	トリフルミゾール	66.4	85.6	86.9	94.4
	合計				
15	トリフルミゾール	44	75.3	79.0	87.3
	合計				
30	トリフルミゾール	22.8	63.4	73.5	82.5
	合計				

緩衝液(pH 9)におけるトリフルミゾールの加水分解

採取時期 (日)	化合物	緩衝液の希釈倍率			
		原液	5倍	10倍	50倍
0	トリフルミゾール	98.3	98.3	98.3	98.3
	合計				
1	トリフルミゾール	77.8	78.4	77.8	80.5
	合計				
3	トリフルミゾール	50.2	56	57.8	69
	合計				
7	トリフルミゾール	23.1	28	26.9	58.7
	合計				
15	トリフルミゾール	5.9	6.8	10.4	51.2
	合計				
30	トリフルミゾール	NA	NA	NA	NA
	合計				

NA:分析せず

各 pH におけるトリフルミゾールの加水分解半減期(日)

緩衝液 pH	緩衝液の希釈倍率			
	原液	5倍	10倍	50倍
5	3.91	8.24	8.88	11.35
7	13.27	45.68	64.64	118.87
9	3.25	3.66	3.93	13.86

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

試験期間中の pH の変動は、緩衝液の希釈倍率 10 倍までの濃度において、0.05 以内であった。また、緩衝液の触媒効果は、希釈倍率 10 倍および 50 倍の濃度で、小さくなった。希釈倍率 50 倍では、試験期間中の pH の変動が 0.05 を超えた為、10 倍希釈液の結果を採用した。

その結果、トリフルミゾールの加水分解半減期は、それぞれ 8.9 日(pH 5)、64.6 日(pH 7)、3.9 日(pH 9)であった。

加水分解生成物として のみが TLC で検出され、HPLC 分析においても同様の結果が得られた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

3) トリフルミゾールの水中光分解試験 (1)
<太陽光による水中光分解>

(資料 No. 運命-10)

試験機関：日本曹達株式会社
ファインケミカル研究所
報告書作成年：1982年

供試化合物： トリフルミゾール
(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-
プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試水： 蒸留水

試験法： 標識トリフルミゾールを水に溶解し 5ppm 溶液を調製し、暗対照試料以外の溶液を密栓して、太陽光に照射させる。太陽光が照射しないときは冷暗所に保管し、経時的に照射 96 時間(43 日間)まで採取し、放射能測定および化合物同定、分析を実施した。
水をクロロホルムで 2 回振盪抽出し、抽出液を濃縮した。各分画の放射能を測定し、代謝物は 2 次元 TLC で分析した。

試験結果： 各分画の放射能分布および代謝物の定量値を下記にしめす。(数値は処理量%)

分画	0hr	2hr	4hr	8hr	12hr	16hr	24hr	32hr	48hr	64hr	96hr	暗対照
トリフルミゾール	94.4	91.2	86.4	82.6	76.3	70.0	61.2	47.6	36.9	20.3	9.7	86.6
抽出物												
合計												
水区	1.3	2.1	2.6	2.8	3.8	5.6	5.9	7.4	9.5	12.2	15.6	1.8
回収率												

太陽光分解物による親の半減期 DT_{50} は約 29 時間で、主たる分解物は であった。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

4) トリフルミゾールの水中光分解試験 (2)
<人工光による水中光分解>

(資料 No. 運命-10)

試験機関：日本曹達株式会社

ファインケミカル研究所

報告書作成年：1982年

供試化合物： トリフルミゾール
(E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-(1-イミダゾール-1-イル-2-プロポキシエチリデン)-o-トルイジン

供試水： 蒸留水

試験方法： 標識体を非標識体で希釈したトリフルミゾールを水に溶解し 5ppm 溶液を調製し、暗対照試料以外の溶液を密栓して、水道水で冷却して人工光を照射させ、空気を 5 mL/min で反応液に通気し、揮散性物質を捕集した。経時的に照射 300 分まで採取し、放射能測定および化合物の分析を実施した。

水を： で2回振盪抽出し、抽出液を濃縮した。各分画の放射能を測定し、代謝物は2次元 TLC で分析した。

試験結果： 各分画の放射能分布および代謝物の定量値を下記に示す。

分画		0分	15分	30分	60分	90分	120分	150分	180分	暗対照
クロロホルム抽出物	トリフルミゾール	97.1	89.9	77.9	58.6	37.7	24.5	15.4	8.0	93.5
	合計									
水区		0.5	2.6	4.9	11.9	18.7	26.6	33.6	40.0	1.6
回収率										

数値は処理量%

人工光分解による親の半減期 DT_{50} は約 51 分で、主たる分解物であった。揮散性物質は非常に少なかったが主に であった。

5) ^{14}C -標識トリフルミゾールを用いた水中光分解運命試験 (3)

(資料 No. 運命-11)

試験実施機関：ハントントンライフサイエンス(英国)

[GLP 対応]

報告書作成年：2002年

供試標識化合物： [^{14}C]トリフルミゾール

供試水： 蒸留水 (比抵抗 $> 18.0 \text{ M}\Omega\text{cm}$ の蒸留水、pH 6.4、滅菌)

河川水 (英国ケンブリッジ、ハントントン、オース川より 2002年3月8日採取、pH 7.8、滅菌)

光源： キセノン光源 (サテスタ加速暴露装置、フィルター使用 290 nm 以下を遮断)

光強度： $40.7 \sim 44.3 \text{ W/m}^2$ (波長範囲 300~400 nm)

試験方法：

標識トリフルミゾールの 保存溶液 (0.2 mg/mL) を蒸留水および河川水を用いて 9 mL に対して 1 L の割合で希釈した。この試験溶液 (1.8 mg/L) 20 mL を滅菌したシリンダー型のホウケイ酸ガラス管 (内径 2.5 cm、高さ 8 cm) に入れ、揮散性物質捕集のため、2つの側管を装着した。試験容器は、キセノンランプ光源から 23 cm の位置に置き、周囲に冷却水を循環させることにより試験液を $25 \pm 2^\circ\text{C}$ に維持した。光照射区において揮散性物質を捕集するため、試験容器を

および 水溶液の入った捕集管に連結し、ポンプで湿潤空気を連続的に通気した。暗所対照区は同様に作製した試験溶液 (1.8 mg/L) を試験容器に加え、 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ の恒温槽内 (暗所) に設置した。光照射区、暗所対照区ともに 0、6、24、36、48、72 および 120 時間後に試験溶液および揮散性物質捕集液を採取し、放射能を液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定した。試験溶液は逆相 TLC で分析し、トリフルミゾールおよび分解物を定量した。トリフル

ミゾールの減衰からその半減期を計算した。トリフルミゾールおよび主要分解物の同定は HPLC 及び TLC による合成標準品とのクロマトグラフィーで行った。また、試験溶液の滅菌状態の維持を調べる為に各サンプリング時の試料を培養し、コロニー観察を行った。

試験結果：

(1) 分布

蒸留水の光照射区における全放射能の回収率は、120 時間を通じて 93.7-103.6% であった。また、120 時間後で 0.3% の揮散性物質が検出された。暗所対照区における回収率は、120 時間を通じて 93.2-109.1% であった。

河川水の光照射区における全放射能の回収率は、120 時間を通じて 93.1-102.1% であった。また、120 時間後で 0.3% の揮散性物質が検出された。暗所対照区における回収率は、120 時間を通じて 91.0-101.9% であった。

光照射区及び暗所対象区の各採取時における試験溶液の一定量 (1 ml) を用いて、培地プレート (Tryptone Soya Agar, Oxoid CM131) を 2 連で調製し、30~35°C で 5 日間以上培養した結果、コロニーの発生は確認されず、試験期間中の滅菌状態が確認された。

物質収支
蒸留水

	滅菌蒸留水	¹⁴ C-トリフルミゾールの処理量に対する回収率* (%、上段) 及び濃度**(mg/L、下段括弧内)						
		0 時間	6 時間	24 時間	36 時間	48 時間	72 時間	120 時間
光照射区	水溶液	100 (1.8)	97.8 (1.76)	99.2 (1.79)	96.4 (1.74)	89.4 (1.61)	88.4 (1.59)	89.7 (1.61)
	容器洗浄液	—	4.8 (0.09)	4.4 (0.08)	2.7 (0.05)	7.1 (0.13)	6.2 (0.11)	3.7 (0.07)
	捕集トラップ	—	nd	nd	nm	0.1 (0.00)	0.3 (0.01)	0.3 (0.01)
	合計	100 (1.8)	102.6 (1.85)	103.6 (1.86)	99.1 (1.78)	96.6 (1.74)	94.9 (1.71)	93.7 (1.69)
暗所対照区	水溶液	100 (1.8)	104.9 (1.89)	99.5 (1.79)	96.5 (1.74)	95.4 (1.72)	94.4 (1.70)	90.3 (1.63)
	容器洗浄液	—	4.2 (0.08)	2.4 (0.04)	3.8 (0.07)	2.1 (0.04)	2.7 (0.05)	2.9 (0.05)
	合計	100 (1.8)	109.1 (1.96)	101.9 (1.83)	100.3 (1.81)	97.5 (1.76)	97.1 (1.75)	93.2 (1.68)

nd : 検出限界未満 nm : 採取ミスにより未定量

* : 値はすべて 2 連の平均値 (申請者計算)

** : 濃度は初期値及び平均回収率より申請者が計算

河川水

滅菌河川水		¹⁴ C-トリフルミゾールの処理量に対する回収率* (% , 上段) 及び濃度**(mg/L, 下段括弧内)						
		0 時間	6 時間	24 時間	36 時間	48 時間	72 時間	120 時間
照射区	水溶液	100 (1.8)	96.7 (1.74)	97.7 (1.76)	93.7 (1.69)	89.4 (1.61)	89.0 (1.60)	89.2 (1.61)
	容器洗浄液	—	3.4 (0.06)	4.4 (0.08)	2.4 (0.04)	5.2 (0.09)	5.5 (0.10)	3.6 (0.06)
	捕集トラップ	—	nd	nd	nm	0.1 (0.00)	0.1 (0.00)	0.3 (0.01)
	合計	100 (1.8)	100.1 (1.80)	102.1 (1.84)	96.1 (1.73)	94.7 (1.70)	94.6 (1.70)	93.1 (1.68)
暗所対照区	水溶液	100 (1.8)	97.5 (1.76)	93.3 (1.68)	95.0 (1.71)	87.6 (1.58)	88.4 (1.59)	90.1 (1.62)
	容器洗浄液	—	4.4 (0.08)	4.7 (0.08)	5.4 (0.10)	3.4 (0.06)	3.3 (0.06)	4.0 (0.07)
	合計	100 (1.8)	101.9 (1.83)	98.0 (1.76)	100.4 (1.81)	91.0 (1.64)	91.7 (1.65)	94.1 (1.69)

nd : 検出限界未満 nm : 採取ミスにより未定量

* : 値はすべて 2 連の平均値 (申請者計算)

** : 濃度は初期値及び平均回収率より申請者が計算

(2) 代謝

蒸留水の照射区においてトリフルミゾールは、0 時間の 99.4% から 120 時間後の 32.2% まで速やかに分解した。HPLC 分析で多数の光分解物が確認され、10% を超える光分解物が 1 化合物確認された。推定分解物の合成標準品との HPLC 及び TLC のクロマトグラフィーにより定性分析を行い、

を同定

した。主分解物の は 120 時間後で最大値の を検出した。その他、同様に同定した分解物の の最大値はそれぞれ、

であった。120 時間後の TLC

分析のみで C1 から C5 の未知代謝物が分離定量された。本実験において未知の光分解物は試験期間中すべて 10% 未満であり、個々の分解物の最大値は、8.1% 以下であった。揮散性物質の最大値は 0.3% (120 時間後) と微量であったため、定性分析は実施しなかった。

蒸留水の暗所対照区では顕著な分解は認められなかった。試験期間を通して、トリフルミゾールは対処理放射能の 99.9~95.5% であった。

河川水の照射区においてトリフルミゾールは、0 時間の 98.6% から 120 時間後の 7.8% まで速やかに分解した。HPLC 分析で多数の光分解物が確認され、10% を超える光分解物が 2 化合物確認された。HPLC 及び TLC を用いた合成標準品とのクロマトグラフィーにより定性分析を行い、

を同定した。それぞれの生成量は、最大で

であった。その他の分解物として、

を同定し、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

それぞれの最大値は であって。120 時間後の TLC 分析のみで C1 から C5 の未知代謝物が分離定量された。未知の光分解物は試験期間中すべて 10%未満であり、個々の分解物の最大値は、6.2%以下であった。揮散性物質の最大値は 0.3% (120 時間後) と微量であったため、定性分析は実施しなかった。

河川水の暗所対照区では顕著な分解が認められ、トリフルミゾールは 120 時間後で 57.7%まで減衰した。主要分解物は であり、最大値は であった。

蒸留水におけるトリフルミゾールおよび分解物の定量値

化合物	経時時間(時間)及び放射能 (対処理量%)							
	0 時間	6 時間	24 時間	36 時間	48 時間	72 時間	120 時間	
光 照射区	原点ライン	nd	0.9	1.3	0.8	0.7	0.1	1.5
	トリフルミゾール	99.4	95.4	87.0	82.7	57.4	51.5	32.2
捕集トラップ 合計		nd	nd	nd	nd	0.1	0.3	0.3
暗 所 対 照 区	原点ライン	nd	0.4	1.1	nd	nd	nd	nd
	トリフルミゾール	99.4	98.7	98.0	99.9	98.8	97.4	95.5
捕集トラップ 合計		na	nd	nd	nd	nd	nd	nd

*1: 72 時間後まで分離分析は出来なかった。但し、72 時間後試料の個々の最大量は 8.1%以下であった。

*2: 光照射区 120 時間において分離定量された未知代謝物

河川水におけるトリフルミゾールおよび分解物の定量値

化合物	経時時間(時間)及び放射能 (対処理量%)						
	0時間	6時間	24時間	36時間	48時間	72時間	120時間
原点ライン	0.7	1.4	1.6	1.2	1.1	0.4	1.6
トリフルミゾール	98.6	88.1	56.2	52.5	30.6	8.3	7.8

光
照
射
区

捕集トラップ	na	nd	nd	nd	0.1	0.1	0.3
原点ライン	0.7	1.1	0.9	nd	5.9	1.4	1.2
トリフルミゾール	98.6	95.9	90.2	86.0	73.0	66.1	57.7

暗
所
対
照
区

捕集トラップ	na	nd	nd	nd	nd	nd	nd
原点ライン	0.7	1.1	0.9	nd	5.9	1.4	1.2
トリフルミゾール	98.6	95.9	90.2	86.0	73.0	66.1	57.7

*1: 72時間後まで分離分析は出来なかった。但し、72時間後試料の個々の最大量は6.2%以下であった。

*2: 120時間において分離定量された未知代謝物

3) 推定半減期

2) の結果を用いて、トリフルミゾールの水中、人工光照射下での半減期(DT_{50 lab})及び90%消失時間(DT_{90 lab})を求めた。その結果、蒸留水の場合は、DT_{50 lab}は3.0日、DT_{90 lab}は10.0日であった。これらを太陽光換算した場合、半減期(DT_{50 sun})及び90%消失時間(DT_{90 sun})は、それぞれ17.0日及び56.4日となった。暗所対照区では顕著な分解は見られなかった。また、河川水の場合は、DT_{50 lab}は1.2日、DT_{90 lab}は4.0日であった。これらを太陽光換算した場合、半減期(DT_{50 sun})及び90%消失時間(DT_{90 sun})は、それぞれ6.4日及び21.3日となった。暗所対照区の半減期は6.0日と計算された。更に、河川水について暗所対照区での分解を差し引いた補正半減期を求めたところ、太陽光換算した半減期は8.0日であった。これらの結果より、トリフルミゾールは特に河川水中で容易に光分解することが認められた。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

光照射区及び暗所対照区における試験溶液中のトリフルミゾールの半減期(DT_{50 lab})及び太陽光換算値(DT_{50 sun})

供試水	光照射区				暗所対照区
	DT _{50 lab}	DT _{50 sun}	補正 DT _{50 lab} *	補正 DT _{50 sun} *	DT _{50 lab}
蒸留水	3.0 日	17.0 日	—	—	—
河川水	1.2 日	6.4 日	1.5 日	8.0 日	6.0 日

*1：暗所対照区の分解を差し引いた補正值

光照射区における試験溶液中のトリフルミゾールの90%消失時間(DT_{90 lab})及び太陽光換算値(DT_{90 sun})

供試水	光照射区			
	DT _{90 lab}	DT _{90 sun}	補正 DT _{90 lab} *	補正 DT _{90 sun} *
蒸留水	10.0 日	56.4 日	—	—
河川水	4.0 日	21.3 日	5.0 日	26.7 日

*1：暗所対照区の分解を差し引いた補正值

次頁に本試験より推定されたトリフルミゾールの水中光分解における分解経路を示す。

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<水中運命>

5. 生物濃縮性に関する試験

魚類濃縮性試験

(資料 No. 運命-12)

試験機関：NOTOX B.V. (オランダ)

[GLP 対応]

報告書作成年：2006 年

供試標識化合物： [^{14}C]トリフルミゾール

構造式：

化学名： (E)-4-クロロ- α,α,α -トリフルオロ-N-[1-(1H-イミダゾール-1-イル)-2-プロポキシエチリデン]-6-トルイジン

標識位置：

供試生物： コイ (学名 *Cyprinus carpio*)
一群各 44 尾 (処理区)、22 尾 (対照区)
体長： 3.2 ± 0.1 cm、体重： 1.00 ± 0.10 g (いずれも開始時)

方法： 魚は以下に示すとおり、連続流水式にて ^{14}C 標識トリフルミゾールを含む試験水に 60 日間 (取込期間) 暴露後、清水に移し、43 日間の排泄期間を設定した。経時的に魚および試験水を採取し各試料中の被験物質 (放射能) 濃度を測定し、濃縮係数、取込速度定数、排泄速度定数、排泄半減期を求めた。

暴露条件： 連続流水式

試験期間： 取込期間；60 日間
排泄期間；43 日間

試験濃度区：トリフルミゾール処理区 (2 濃度) と溶媒対照区 (水溶液) の 3 試験区を設けた。試験濃度は $0.60 \mu\text{g/L}$ (低濃度区) および $6.0 \mu\text{g/L}$ (高濃度区) とした。

試験水の調製：低濃度区は標識被験物質のみ、高濃度区は標識体と非標識体を 1:9 の比で混合し、それぞれ DMF に溶解してトリフルミゾール原液 (低濃度区は 6.0 mg/L 、高濃度区は 60 mg/L) を調製した。原液および希釈水 (水道水) を 1:10,000 の容量比で、遮光した混合器内に入れ、連続的に攪拌して混合した。希釈水の流速は取込 34 日までは 20 L/時 であり、以降は 10 L/時 とした。試験水槽は排泄 36 日目までは 100 L ($50 \times 50 \times 40 \text{ cm}$) のステンレス製、それ以降は 33 L ($50 \times 30 \times 22 \text{ cm}$) のガラス製のものを使用した。

<生物濃縮性>

環境条件： 希釈水として水道水を用いた。水温 20~25°C ± 2°C以内、明/暗条件は 16 時間/8 時間にて試験を実施した。濃縮性試験中の 1 日あたりの給餌量は体重の 1.5~3.0%とし、余剰の餌および排泄物はサイフォンにより取り除き、水質を清潔な状態に保った。なお、試験水槽は供試生物を導入するまでに 2 日間試験濃度を安定化させた。

観察および測定： 処理区および溶媒対照区の水温を連続測定した。溶存酸素濃度は週 1~4 回、pH は週 1 回測定した。魚の生死、異常行動についても毎日観察し、その結果を記録した。

試料採取時期： 取込期間；3、6、10、20、32、60 日目
排泄期間；2、8、15、29、43 日目

採取試料： 魚試料； 4 尾 (2 尾×2 連) / 試料採取日
試験水試料；5 mL×3 連/0 日目および取込期間中の試料採取日
300 mL/0 日目および取込期間中に週 1 回

分析方法： 重量測定後、全魚体 (2 尾) を約 60°Cで一晩、Solune 350 (魚体 1 g につき約 10 mL) に溶解した後、一部を LSC バイアルに移し、30% H₂O₂ を用いて漂白した。さらに最低 2 時間、約 60°Cでインキュベーションした後、液体シンチレーターを添加して、最低 4 時間安定化させた。これを LSC による放射能測定に供して、「魚体中の被験物質濃度 (C_f)」を求めた。

また、試験水試料 5 mL を LSC により測定して「試験水中の被験物質濃度 (C_w)」を求めた。定性分析用の 300 mL については、ジクロロメタンで抽出し、抽出液を薄層クロマトグラフィー (TLC) 分析に供した。

計算： ガイドライン規定の最長取込期間である取込 60 日目に定常状態に達しなかったため、BCF_{ss} は算出できなかった。

BCF_k は一次反応速度定数である取込速度定数 k₁ と排泄速度定数 k₂ の比 (k₁/k₂) として算出した。k₂ は排泄曲線の傾きであるが、低濃度区は二相性の排泄を示したので、2-コンパートメントモデルを用いて以下のように計算した。

$$C_f = Ae^{-at} + Be^{-bt}$$

ここで、 C_f = 排泄期間中の魚体中濃度
A = 高速相の減少の切片
a = 高速相の減少の傾き
B = 低速相の減少の切片
b = 低速相の減少の傾き
t = 時間

従って、高速相では a、低速相では b が k₂ に相当し、それぞれについて BCF_k を算出した。BCF_k は試料採取日毎に算出し、平均値を求めた。

結果：

(1) 魚体 (全体) 中の被験物質濃度 (μg/g)

濃度区 (μg/L)	取込期間 (日)						排泄期間 (日)				
	3	6	10	20	32	60	2	8	15	29	43
6.0	2.0	2.6	2.9	3.4	4.3	4.4	3.1	2.2	1.5	0.16	0.11
0.60	0.22	0.27	0.31	0.38	0.48	0.59	0.35	0.30	0.27	0.16	0.18

2 尾を一群にて 2 連で分析した平均値

魚体中の被験物質濃度は最長期間である取込 60 日目にも平衡状態に達しなかった。取込

期間中の被験物質濃度は、低濃度区では 0.22~0.59 µg/g であり、高濃度区では 2.0~4.4 µg/g であった。トリフルミゾールは魚体中に遅い速度で蓄積すると思われる。排泄曲線は、高濃度区では一次反応速度式によく適合した（相関係数 $r^2 = 0.95$ ）が、低濃度区では適合せず（ $r^2 = 0.75$ ）、二相性（すなわち、初めは高速で後に低速となる）を示したので、排泄速度定数 k_2 の計算には 2-コンパートメントモデルを用いた。排泄期間終了後、一定量の被験物質が魚体組織中に残存する傾向が認められた。

(2) 試験水中の被験物質濃度 (µg/L)

濃度区 (µg/L)	水中 濃度	取込期間 (日)						
		0	3	6	10	20	32	60
6.0	実測値	6.2	6.5	6.5	6.3	5.8	6.1	6.2
	TWA	6.2	6.4	6.5	6.4	6.2	6.1	6.1
0.60	実測値	0.58	0.68	0.68	0.59	0.63	0.58	0.65
	TWA	0.58	0.63	0.65	0.65	0.63	0.62	0.62

TWA¹ : 時間加重平均

排泄期間の試験水中の被験物質濃度は測定しなかった。
試験水中の被験物質濃度は取込期間中安定しており、低濃度区および高濃度区における実測値は、それぞれ 0.58~0.68 µg/L および 5.8~6.5 µg/L の範囲であり、平均測定値の ±20%以内に維持されていた。また低濃度区および高濃度区の試験水中のトリフルミゾールの純度はそれぞれ 99±1.2%および 98±1.6%であった。

(3) 濃縮係数

①BCF_{ss}

取込期間中魚体中濃度が平衡状態に達しなかったため BCF_{ss} は算出できなかった。取込 60 日目（暴露最終日）の魚体中濃度実測値および水中濃度（TWA）から求めた BCF を以下に示す。

濃度区 (mg/L)	C _r (µg/g)	C _w (mg/mL)	濃縮係数 BCF
0.0060	4.4	0.0061	725
0.00060	0.59	0.00062	955

$BCF = C_r / C_w$

②BCF_k

濃度区 (µg/L)	推定取込速度定 数 (k ₁)	排泄速度定 数 (k ₂)	平均濃縮係数 (BCF _k)	排泄半減期 (DT ₅₀)(日)
6.0	51~78	0.0922	699	7.5
0.60 (高速)	70~120	0.1191	765	5.8
0.60 (低速)	22~33	0.0183	1417	38

$BCF_k = k_1 / k_2$, $DT_{50} = 0.693 / k_2$

トリフルミゾールの BCF_k は高濃度区で 699、低濃度区で 765~1417 と算出された。また、排泄半減期は、高濃度区で 7.5 日、低濃度区では 5.8~38 日であった（後述の*申請者注参照）。

(4) 観察および測定

試験期間中、全試験区の平均水温は 21.7~21.9°C、pH は 7.4~8.1 の範囲であった。溶存酸素濃度は 5.5~9.6 mg/L で、飽和溶存酸素量の 60%以上であった。また、全試験期間中、

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<生物濃縮性>

魚の死亡および毒性症状は認められなかった。なお魚体中の脂質含量は測定しなかった。

6. 運命試験のまとめ

トリフルミゾールの土壌、水中における代謝、分解の要約は下記の通りであり、代謝経路および結果の概要は次頁以降に示した。

1. 動物

動物における吸収・排泄は速く、低投与量 (B) 群での血中濃度は2~3時間で最高に達し、その後速やかに減少し、低投与量の連投 (C) 群では約2時間で最高に達し、その後緩やかに減少した。高投与量 (D) 群でも約24時間で最高に達し、その後緩やかに減少した。糞尿中への雌雄平均排泄量は、B群 98.1% (2日間)、C群 97.8% (2日間)、D群 98.5% (4日間) であった。糞尿中の主要代謝分は、いずれの群においても であつた。親化合物はわずかしか検出されなかつた。また、臓器内分布の経時変化を測定したところ、最高血中濃度 (約2時間) で比較的残留濃度の高かつた臓器は脂肪、副腎、肝臓、卵巣等であり、これら臓器や主要臓器である腎臓、血漿、脳等の半減期は約10時間以下と速やかな減衰を示した。代謝物分析の結果からトリフルミゾールは吸収され、 を含む多くの代謝物として尿中に排泄されることが判明した。

2. 植物

植物においてトリフルミゾールの分解は速く、その半減期は、夏場で1日以内、冬場で約4~6日であつた。主要代謝物は で、動物における代謝物中に含まれていた。微量代謝物として 等が同定された。残留分析用作物試料を念のため、微量代謝物を含めた残留分析法と、親化合物と を対象とした分析方法で比較したが、分析値に大きな差は認められなかつた。実残留分析では、親化合物と を対象とした分析方法で充分評価できると判断される。

3. 土壌

好気性土壌中運命試験において、トリフルミゾールの土壌半減期は、25°Cの実験において小田原土壌 (LiC) で10日、大磯土壌 (CL) で6日であつた。¹⁴CO₂は、25°C、小田原土壌で2.7%大磯土壌で5.7%であつた。主要代謝物は、 であり、好气的条件下では効率よくCO₂まで分解することを確認した。トリフルミゾールの土壌からの揮散性試験において、揮散性物質6.4%、CO₂が0.1%検出された。

トリフルミゾールの土壌吸着係数を日本の4土壌を用いて測定した。その結果、Freundlich吸着係数K_F値は11.08~27.45、K_{FOC}値は739から2871であり、トリフルミゾールの土壌吸着性は高く、土壌中での移動性は小さかつた。

4. 加水分解および水中光分解

加水分解性に関する試験の結果、pH5、pH7、pH9の25°Cにおけるトリフルミゾールの加水分解半減期はそれぞれ、8.9日、64.6日、3.9日であつた。また、別に実施したpH3、pH6、pH9の

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

<運命試験まとめ>

トリフルミゾールの動植物等における推定代謝分解経路図

哺乳動物に係る代謝の概要 (¹⁴C 処理量に対する割合 (%))¹⁾

動物	代謝分解物		トリフルメソール		合計	
	排泄物	時間	雄	雌		
ラット	低用量 12 mg/kg	糞	2 日後	雄 0.3 雌 0.3	5.0 5.0	
		尿	2 日後	雄 0.5 雌 0.4	- -	25.5 26.5
	糞		4 日後	雄 0.2 雌 0.1	5.0 4.8	5.4 3.4
		尿	4 日後	雄 0.7 雌 1.2	35.4 34.6	- -
	低用量 10 mg/kg +前投与 14 回		糞	2 日後	雄 0.1 雌 0.1	4.8 5.2
		尿	2 日後	雄 0.0 雌 0.1	17.2 17.3	- -
	組織	低用量 10 mg/kg	血漿 ²⁾	2 時間後	雌 0.01	1.15 ⁴⁾
				12 時間後	雌 0.00	0.53 ⁴⁾
			肝臓 ²⁾	2 時間後	雌 0.05	7.58 ⁴⁾
				12 時間後	雌 0.01	2.06 ⁴⁾
			腎臓 ²⁾	2 時間後	雌 0.14	1.54 ⁴⁾
				12 時間後	雌 0.02	0.54 ⁴⁾
脂肪 ²⁾			2 時間後	雌 3.28	7.13 ⁴⁾	
			12 時間後	雌 0.60	2.32 ⁴⁾	

- 1) ¹⁴C 処理量に対する割合 (%) は、各排泄物の定量値に最終採取時期における排泄率を乗じて算出した(申請者計算)。
- 2) 組織に関する表中化合物欄の数値はトリフルメソールの濃度 ppm。
- 3) 分析せず
- 4) 未同定抽出面の濃度は肝臓で最大値は 2 時間後で 4.96 ppm、12 時間後で 1.39 ppm (いずれも肝臓) であった。

作物および環境に係る代謝分解の概要 (¹⁴C 処理量に対する割合(%))

代謝分解物					トリフル ゾール	未 同 定	非 抽 出	CO ₂	揮 散
植 物	きゅうり	1回 処理	葉	3日後	58.6	10.3	0.3		
				14日後	11.9	18.9	1.2		
				45日後	0.4	8.8	2.0		
			果 実	3日後	62.8	11.9	7.3		
				14日後	18.9	31.8	15.8		
						23.4	0.7		
	なし	1回 処理	葉	3日後	19.2	6.8	1.6		
				14日後	1.2	12.3	2.7		
				31日後	0.8	19.3	1.2		
			果 実	3日後	8.0	18.8	1.8		
				14日後	0.8	18.8	0.59		
						9.0	1.63		
りんご	1回 処理	葉	3日後	14.2	11.5	1.98			
			14日後	0.6					
			31日後	0.3					
土 壌	好気	小田原土壌	56日後	6.3	3.2 ^{*2}	40.1	2.3	39.0	
		大磯土壌	56日後	8.0	4.2 ^{*2}	46.5	5.1	20.3	
水 中	加水 分解	PH5	30日後	12.6	3.7				
		PH7	30日後	73.5	4.1				
		PH9	15日後	10.4	3.1				
	光分解	蒸留水	120時間後	32.2	6.1			0.3	
		自然水	120時間後	7.8	8.9			0.3	

*1: C1~C5 光分解で分離検出された未同定代謝物

*2: DCM 抽出区の分析におけるその他の画分および水抽出区の合計

本資料に掲載された情報に係る権利及び内容の責任は日本曹達株式会社にある。

トリフルミゾール (NF-114) 開発年表