

1. 動物体内運命に関する試験

1-1. <sup>14</sup>C-標識検体のラットにおける動態試験

(代謝・分解 1)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：2000年

供試化合物

2-chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide の  
 標識した 標識検体 (「 標識体」と、  
 識した 標識検体 (「 標識体」) の 2 種類。

を <sup>14</sup>C で  
 を <sup>14</sup>C で標

略 称	標識体	標識体
標識部位		
放射化学的純度		
化学的純度		

標識部位選定理由：

供試動物

種、系統： ウィスター系 (Chbb-THOM) ラット (SPF)

性： 雌雄

週 齢： ≥7 週齢 (投与時)

体重 (投与時)： 雄 204~304 g, 雌 164~206g

飼育環境： 入手後屠殺時まで上水道水と飼料を自由に摂取させ、温度 20~24°C, 湿度 30~70%, 自然の昼夜リズムの動物室で飼育した。

ケージ： 馴化期間中はⅢ型マクロロンケージ、標識体投与後は、表 1 に示すケージに個別に収容。

投与経路、投与量、投与液の組成

投与経路： 強制経口投与

投与量： 50mg/kg (低用量) 及び 500mg/kg (高用量)。

投与量設定根拠：

投与液量： 1 mL/100 g 体重

投与液の組成(懸濁液)：供試化合物を  
に懸濁し、投与液とした。

### 試験群の配置

2種の標識体、2用量、単回経口投与と反復経口投与(非標識体1日1回、連続14日間投与後15日目に標識体を1回投与)、雌雄から成る下表に示す合計11の試験群を設けた。

表1. 試験群

試験群No.	標識体	投与回数	投与量 mg/kg	動物数	屠殺時点	調査項目	ケージ
予備検討	非標識体	1	500	雌雄各2匹	48時間	毒性兆候	
1	標識	1	500	雌雄各4匹	168時間	排泄, 屠殺時体内分布	総ガラス製代謝ケージ
2	標識	1	50	雌雄各4匹	168時間	排泄, 屠殺時体内分布	
3	標識	1	500	雌雄各4匹	168時間	排泄, 屠殺時体内分布	
4	標識	15*	500	雌雄各4匹	120時間	排泄, 屠殺時体内分布	金網ケージ
5	標識	1	500	雌雄各4匹	120時間	血漿, 血中濃度推移	
6	標識	1	50	雌雄各4匹	120時間	血漿, 血中濃度推移	
7	標識	1	500	雌雄各12匹	8, 18, 24, 35時間	屠殺時体内分布**	
8	標識	1	50	雌雄各12匹	8, 17, 21, 24時間	屠殺時体内分布**	
9	標識	1	500	雌雄各4匹	48時間	胆汁排泄	拘束ケージ
10	標識	1	50	雌雄各4匹	48時間	胆汁排泄	拘束ケージ

\*：非標識体1日1回14日間+15日目に標識体1回、 \*\*各時点で雌雄各3匹を屠殺

### 試料採取

尿、糞：投与後6, 12, 24時間及び以降は屠殺時(単回投与群：168時間後、反復投与群：120時間後)まで24時間間隔で採取。

呼吸：試験群1と3の各2匹で48時間後まで採取。

ケージ洗液：最終屠殺時点で採取。

臓器・組織：結果の項で示す23または24臓器・組織を採取した。

胆汁：総胆管にカニューレを挿入したラットを用い、投与48時間後まで3時間ごとに採取。

血液・血漿：試験群5と6の血液及び血漿は次の各時点で眼窩後部から1回当たり100~200 $\mu$ Lを採血して得た。

0.5, 1, 2, 4, 8, 24, 48, 72, 96, 120時間

### 分析方法

放射能測定：液体試料(血漿, 尿, 胆汁, ケージ洗液)はその一部をそのまま、その他の試料は直接または均質化したのち一部を可溶化処理し、いずれも液体シンチレーションカウンターで放射能を計測して定量した。

## 結 果

### 1. 排泄バランス (図 1, 表 2)

#### 1.1. 単回経口投与

標識体投与群と 標識体投与群のいずれの雌雄においても、単回経口投与後 48 時間までに呼気中への有意な放射能の排泄は認められなかった。

全ての試験群とも屠殺時点 (168 時間後) で投与放射能の約 95~102% が排泄物 (ケージ洗液を含む) と屍体から回収された。標識部位、性、用量に関わりなく、 $^{14}\text{C}$  の排泄は急速であり、0~48 時間で投与量の 90~99%、168 時間で 94~102% が排泄され、0.02~0.04% が体組織から回収された。低用量では高用量に比べて糞への排泄が低下して尿への排泄が増加したが、排泄パターンはすべての試験群で類似していた。主排泄経路は糞であり、糞と尿への排泄は 168 時間でそれぞれ、高用量群では投与量の 90~97% と 3~5%、低用量群では 79~85% と 16% を占めた。

#### 1.2. 反復経口投与

雌雄とも投与量の 98 (雄)~103% (雌) が排泄物と 120 時間後の屍体から回収された。排泄パターンは雌雄とも単回経口投与の場合と類似しており、糞への排泄が投与量の 95~98%、尿への排泄は 3~4% であった。

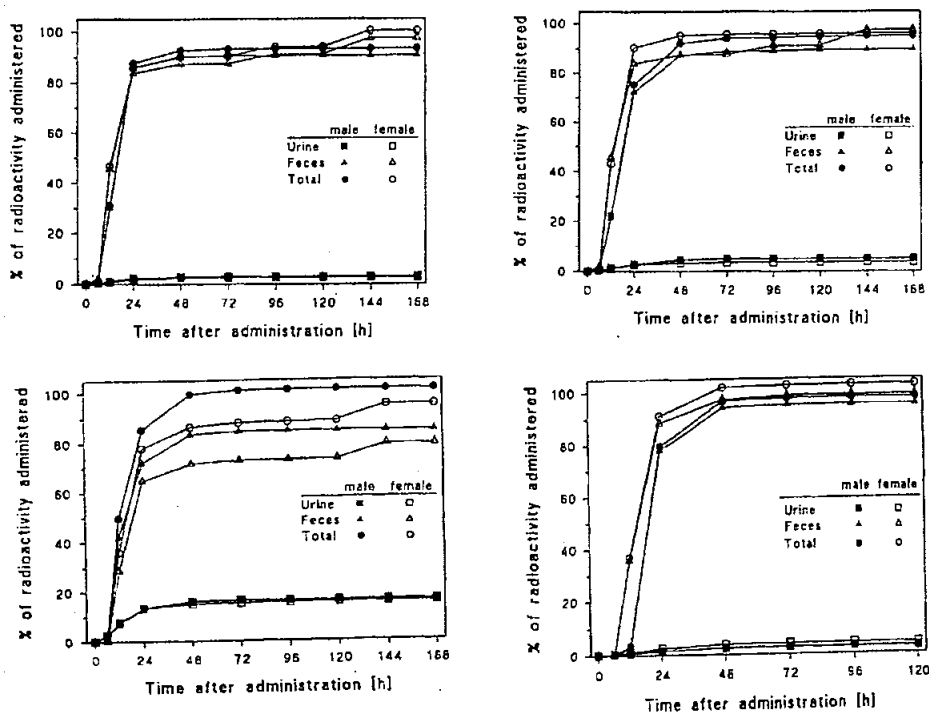


図 1. 経口投与後の尿、糞への  $^{14}\text{C}$ -排泄パターン

左上: 標識体高用量単回経口投与, 右上: 標識体高用量単回経口投与,  
 左下: 標識体低用量単回経口投与, 右下: 標識体高用量反復経口投与

表 2. <sup>14</sup>C-検体経口投与後最終屠殺時点における <sup>14</sup>C-排泄バランス(投与量%)

		単回経口投与						反復経口投与**	
		標識体		標識体				標識体	
		高用量		高用量		低用量		高用量	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	0~24時間	2.89	2.59	1.81	2.35	13.43	13.32	1.60	2.56
	0~48時間	4.72	3.44	2.59	2.80	15.88	14.95	2.46	3.77
	0~最終屠殺時*	5.21	3.80	2.73	2.88	16.38	15.72	2.64	3.99
糞	0~24時間	72.34	87.66	85.96	83.78	71.92	64.61	77.96	88.49
	0~48時間	87.34	91.63	90.12	87.45	83.43	71.52	94.05	98.01
	0~最終屠殺時*	89.61	92.15	90.69	97.35	84.86	79.27	94.88	98.47
ケージ洗液		0.10	0.30	0.41	0.04	0.26	1.03	0.11	0.18
屍体*		0.04	0.02	0.04	0.02	0.04	0.04	0.11	0.11
合計*		94.96	96.27	93.87	100.29	101.54	96.06	97.74	102.75

\*: 単回経口投与では168時間後, 反復経口投与では120時間後, \*\*: 非標識体 × 14回 + 標識体1回

## 2. 胆汁排泄

48 時間で 標識体投与量の, 高用量群では 11~12%, 低用量群では 39~40%が胆汁に排泄された。

尿排泄量及び屍体と胆汁排泄量の合計を吸収率と推定したとき, 高用量では投与放射能の約 14~15%, 低用量では約 56%が吸収されたと推定された。

表 3. 胆汁排泄(投与量%)

0~48時間	標識体			
	高用量単回		低用量単回	
	雄	雌	雄	雌
尿	2.73	2.88	16.38	15.72
胆汁	10.69	11.93	39.29	39.92
屍体	0.04	0.02	0.04	0.04
推定吸収率	13.46	14.83	55.71	55.68

## 3. 血漿, 血中濃度キネティックス(図 2, 表 4, 5)

血漿中濃度推移は高用量群と低用量群のいずれの雌雄においても 2 峰性を示し, 最初のピークは高用量群では投与後 0.5~1 時間, 低用量群では 0.5 時間に, 第 2 のピークは両用量群とも 8 時間に出現した。最初のピークは投与懸濁液に溶解していた検体の吸収によるもの, 第 2 のピークは溶解していなかった検体が腸管通過中に溶解して吸収されたことによるか, 及び/または腸肝循環によるものと推測された。

この第 2 のピークののち, 血漿中濃度は 2 相性の消失を示した。

群平均値に基づく血漿中 <sup>14</sup>C-濃度の Cmax, Tmax, 半減期, AUC は雌雄の間, Tmax 及び半減期は両用量群ならびに雌雄の間で類似していた。高用量群の AUC は低用量群のその約 3 倍(雄 3.1 倍, 雌 3.2 倍)であり, 前述(表 3)の吸収率推定値に対応していた。

血中濃度は血漿中濃度と同様な推移を示し、投与後24時間までは血漿中濃度の方が高く、放射能が主に血漿に分布し、血球成分と結合していないことを示していた。

表 4. 標識  $^{14}\text{C}$ -検体単回経口投与後血漿及び血中  $^{14}\text{C}$ -濃度の推移

投与後時間 (hr)	血漿中濃度 ( $\mu\text{g Eq/g}$ )				血中濃度 ( $\mu\text{g Eq/g}$ )			
	高用量		低用量		高用量		低用量	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.5	2.56	3.52	0.99	1.40	1.29	1.75	0.54	0.69
1.0	2.61	2.24	0.90	0.94	1.58	1.18	0.52	0.54
2.0	2.48	1.68	0.85	0.75	1.24	0.94	0.42	0.39
4.0	2.51	1.76	0.85	0.65	1.32	0.98	0.42	0.36
8.0	4.46	3.77	1.54	1.58	2.23	2.06	0.69	0.53
24	0.70	1.20	0.15	0.27	0.52	0.82	0.12	0.13
48	0.13	0.18	0.03	0.05	0.27	0.24	0.06	0.06
72	0.07	0.12	0.02	0.02	0.15	0.27	0.04	0.04
96	0.04	0.06	0.01	0.01	0.10	0.15	0.03	0.03
120	0.01	0.03	0.01	0.01	0.09	0.09	0.03	0.02

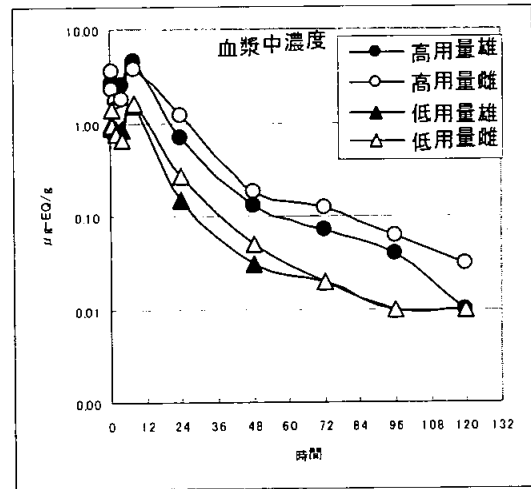
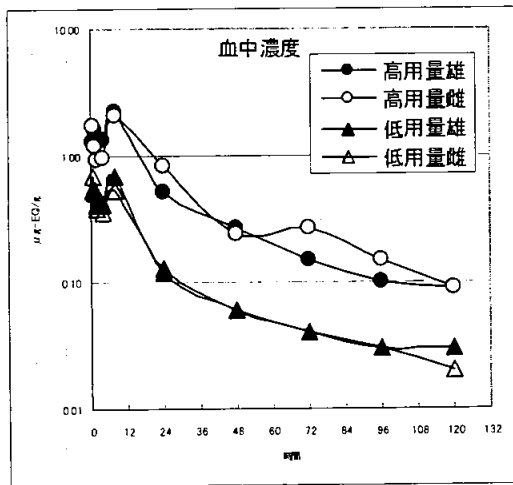


図 2. 標識  $^{14}\text{C}$ -検体単回経口投与後血漿及び血中  $^{14}\text{C}$ -濃度の推移  
左：血漿中濃度 右：血中濃度

表 5. 標識体単回経口投与後血漿中  $^{14}\text{C}$ -濃度キネティックパラメーター

	高用量		低用量	
	雄	雌	雄	雌
$C_{\text{max}}$ ( $\mu\text{g EQ/g}$ )	4.46	3.77	1.54	1.58
$T_{\text{max}}$ (hr)	8	8	8	8
半減期-1 (hr)	8.0	9.1	7.2	8.2
半減期-2 (hr)	20.2	27.4	41.7	30.1
AUC ( $\mu\text{g} \cdot \text{EQ} \cdot \text{hr/g}$ )	68.4	75.5	21.2	24.4

#### 4. 体内分布

##### 4.1. 単回経口投与(表 6-1~6-4)

低用量と高用量の雌雄で 標識体の体内分布を最高血漿中濃度(Cmax), その 1/2, 1/4, 1/8 に対応する時点と 168 時間後で調査したほか, 標識体についても 168 時間後の体内分布を調査した。

概して, 同一用量, 時間の雌雄, ならびに2種標識体投与群の組織中放射能レベルは同一の幅に入っていた。種々の臓器・組織中の分布とその消失のパターンも雌雄で類似していた。組織中濃度は経時的に, かつ血漿中濃度と似た速度で低下した。雌雄とも投与後初期の時点においては, 消化管とその内容物ならびに残部屍体を除けば, 高用量群では肝臓, 脂肪組織, 甲状腺, 腎臓, 卵巢中濃度が高く, 168時間後では甲状腺, 骨髄, 肝臓中濃度が高かった。低用量群も概ね同様であった。

##### 4.2. 反復経口投与(表 7)

168 時間後の体内分布パターンは雌雄とも単回経口投与後の分布と同一であり, 濃度も類似していた。

#### ま と め

懸濁液として経口投与した  $^{14}\text{C}$ -BAS 510 F は消化管から急速に吸収された。吸収率は用量増加に伴って低下し, 低用量では約 56%, 高用量では約 14~15%と推定された。吸収後放射能は全臓器・組織に分布し, 組織中濃度は投与後 8 時間で最大に達したのち急速に低下した。排泄は速やかで, 吸収分は胆汁への排泄(低用量 11~12%, 高用量約 40%)を介して糞(低用量 80~85%, 高用量 90~97%)に排泄されたほか尿(低用量約 16%, 高用量 4~5%)にも排泄された。 $^{14}\text{C}$ -検体の動態は低用量, 高用量とも雌雄の間で類似しており, 標識部位の違いによる差も認められなかった。高用量の反復経口投与による代謝動態の顕著な変動は単回経口投与に比し認められなかった。

表 6-1 高用量 <sup>14</sup>C-検体単回経口投与後の体内分布(投与量%)

	標識体										標識体	
	雄					雌					雄	雌
	8時間	18時間	24時間	35時間	168時間	8時間	18時間	24時間	35時間	168時間	168時間	168時間
血 球	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
血 漿	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
肺	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
心 臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾 臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腎 臓	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
副 腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
精巢/卵巣	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子 宮	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
筋 肉	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脳	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脂肪組織	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨 髄	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲 状 腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾 臓	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
胃内容物	0.44	0.03	0.12	0.01	0.00	0.25	0.06	0.05	0.00	0.00	0.00	0.00
胃	0.13	0.01	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
腸管内容物	69.29	2.66	0.72	0.36	0.00	68.77	2.53	1.42	0.08	0.00	0.00	0.00
腸 管	1.30	0.27	0.11	0.01	0.00	1.62	0.24	0.16	0.01	0.00	0.00	0.00
肝 臓	0.35	0.06	0.03	0.01	0.00	0.20	0.04	0.03	0.01	0.00	0.01	0.00
皮 膚	0.27	0.05	0.04	0.02	0.01	0.26	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00
残部屍体	10.07	0.26	0.20	0.03	0.04	4.01	0.25	0.27	0.03	0.02	0.02	0.02

表 6-2 高用量 <sup>14</sup>C-検体単回経口投与後の体内分布(<sup>14</sup>C-濃度 μg EQ/g)

	標識体										標識体	
	雄					雌					雄	雌
	8時間	18時間	24時間	35時間	168時間	8時間	18時間	24時間	35時間	168時間	168時間	168時間
血 球	1.74	0.37	0.31	0.22	0.14	1.35	0.48	0.43	0.17	0.13	0.21	0.19
血 漿	3.52	0.45	0.40	0.09	0.02	2.84	0.58	0.51	0.09	0.01	0.05	0.03
肺	4.31	0.72	0.68	0.34	0.18	3.76	0.80	0.88	0.29	0.13	0.23	0.15
心 臓	3.14	0.54	2.50	0.12	0.07	2.74	1.14	0.38	0.12	0.08	0.15	0.11
脾 臓	2.01	0.46	0.29	0.10	0.10	1.86	0.40	0.44	0.09	0.13	0.18	0.14
腎 臓	11.96	1.88	1.53	0.51	0.27	16.11	2.22	2.07	0.40	0.36	0.50	0.41
副 腎	8.47	2.50	2.31	0.53	0.37	8.79	1.57	3.18	0.42	0.20	0.28	0.28
精巢/卵巣	0.31	4.22	0.18	0.09	0.04	10.94	1.79	2.25	1.74	0.08	0.07	0.15
子 宮	-	-	-	-	-	5.64	1.18	3.03	1.01	0.07	-	0.10
筋 肉	2.46	0.28	0.74	0.57	0.04	2.82	0.40	0.85	0.35	0.03	0.11	0.09
脳	1.16	0.86	0.18	0.11	0.08	0.48	1.87	0.26	0.07	0.04	0.28	0.06
脂肪組織	32.80	31.38	3.05	0.76	0.10	6.01	4.57	3.88	0.63	0.14	0.15	0.15
骨	1.26	0.36	0.32	0.22	0.08	1.91	0.33	0.49	0.70	0.08	0.14	0.14
骨 髄	15.78	0.97	1.21	0.22	2.09	5.06	1.24	3.49	0.71	0.92	0.66	0.83
甲 状 腺	15.02	26.80	1.70	1.53	3.03	17.11	1.87	1.32	1.08	1.21	1.65	1.48
脾 臓	7.24	1.30	1.71	0.74	0.07	5.47	2.35	1.15	0.30	0.07	0.18	0.17
胃内容物	411.40	9.49	19.90	3.26	0.25	433.92	13.81	28.54	1.05	0.24	0.54	0.34
胃	103.82	4.21	3.06	0.95	0.07	77.11	5.36	6.60	0.54	0.08	0.21	0.14
腸管内容物	6373.27	221.09	64.95	53.67	0.36	9216.82	244.34	138.38	7.23	0.21	0.55	0.21
腸 管	202.97	39.18	18.39	2.07	0.07	256.61	42.13	25.56	1.41	0.09	0.23	0.17
肝 臓	38.12	4.96	2.86	1.11	0.45	22.65	4.14	3.17	0.70	0.30	0.90	0.47
皮 膚	8.06	1.59	1.08	0.56	0.16	8.51	0.95	0.88	0.27	0.09	0.20	0.16
残部屍体	101.82	2.59	1.96	0.32	0.35	39.18	2.43	2.70	0.32	0.15	0.18	0.16

表 6-3 低用量 標識 <sup>14</sup>C-検体単回経口投与後の体内分布(投与量%)

	雄					雌				
	8時間	17時間	21時間	24時間	168時間	8時間	17時間	21時間	24時間	168時間
血 球	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
血 漿	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
肺	0.03	0.01	0.00	0.00	0.00	0.03	0.01	0.01	0.00	0.00
心 臓	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
脾 臓	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
腎 臓	0.11	0.02	0.01	0.01	0.00	0.15	0.02	0.02	0.00	0.00
副 腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
精巢/卵巣	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
子 宮	-	-	-	-	-	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
筋 肉	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
脳	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
脂肪組織	0.09	0.02	0.01	0.01	0.00	0.07	0.01	0.01	0.01	0.00
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
骨 髄	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲 状 腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脾 臓	0.03	0.01	0.00	0.01	0.00	0.03	0.01	0.01	0.01	0.00
胃内容物	2.09	0.17	0.37	0.19	0.00	1.91	0.11	0.10	0.01	0.00
胃	0.93	0.02	0.01	0.01	0.00	0.69	0.02	0.01	0.01	0.00
腸管内容物	85.02	7.06	5.56	2.62	0.00	82.60	4.52	5.33	3.74	0.00
腸 管	5.13	0.99	0.44	0.42	0.00	5.81	0.67	0.76	0.53	0.00
肝 臓	1.61	0.21	0.19	0.14	0.01	1.38	0.18	0.15	0.13	0.01
皮 膚	1.13	0.09	0.09	0.07	0.01	0.89	0.06	0.09	0.11	0.01
残部屍体	14.53	1.00	0.36	0.67	0.02	4.33	0.82	0.52	0.91	0.02

表 6-4. 低用量 標識 <sup>14</sup>C-検体単回経口投与後の体内分布(<sup>14</sup>C-濃度  $\mu\text{g EQ/g}$ )

	雄					雌				
	8時間	17時間	21時間	24時間	168時間	8時間	17時間	21時間	24時間	168時間
血 球	0.78	0.13	0.13	0.12	0.03	0.78	0.14	0.15	0.13	0.02
血 漿	1.14	0.27	0.20	0.14	0.01	1.52	0.29	0.20	0.17	0.00
肺	2.15	0.36	0.40	0.30	0.04	1.82	0.35	0.36	0.31	0.05
心 臓	1.35	0.16	0.10	0.08	0.01	1.25	0.14	0.12	0.09	0.01
脾 臓	1.13	0.25	0.11	0.19	0.02	1.04	0.47	0.19	0.31	0.02
腎 臓	5.96	1.05	0.87	0.58	0.07	7.87	1.06	0.80	0.67	0.06
副 腎	3.10	0.35	0.55	0.45	0.03	3.05	0.44	0.33	0.28	0.03
精巢/卵巣	0.89	0.10	0.08	0.05	0.01	4.38	1.40	0.98	1.75	0.02
子 宮	-	-	-	-	-	3.28	1.60	0.86	1.41	0.01
筋 肉	1.15	0.10	0.09	0.06	0.01	0.85	0.09	0.08	0.06	0.01
脳	0.79	0.08	0.03	0.03	0.01	0.75	0.04	0.04	0.04	0.00
脂肪組織	16.91	3.30	1.39	1.05	0.01	15.67	2.16	2.11	1.46	0.02
骨	0.37	0.11	0.07	0.05	0.02	0.35	0.07	0.06	0.08	0.01
骨 髄	1.57	0.54	0.33	0.20	0.06	1.66	0.29	0.45	0.66	0.06
甲 状 腺	3.82	1.36	0.96	0.78	0.20	2.80	1.09	0.88	1.01	0.23
脾 臓	5.32	1.74	0.22	0.99	0.02	4.62	1.61	1.34	1.63	0.02
胃内容物	194.79	9.64	5.34	4.21	0.08	176.31	2.75	2.10	0.54	0.11
胃	78.89	1.75	1.12	0.94	0.02	40.56	1.91	0.70	0.79	0.02
腸管内容物	852.09	56.08	46.68	21.09	0.05	717.02	35.09	40.03	30.90	0.07
腸 管	74.87	18.46	7.31	8.68	0.03	87.13	12.65	13.82	10.10	0.04
肝 臓	16.41	1.76	1.71	1.16	0.13	13.62	1.45	1.40	1.13	0.10
皮 膚	3.10	0.28	0.25	0.22	0.03	2.97	0.20	0.30	0.36	0.04
残部屍体	14.13	0.91	0.35	0.63	0.02	4.17	0.78	0.49	0.82	0.02



表 7. 高用量 <sup>14</sup>C-検体反復経口投与 120 時間後の体内分布  
(高用量非標識体 14 回 + 高用量 標識体 1 回)

	投与量%		濃度: $\mu\text{g Eq/g}$	
	雄	雌	雄	雌
血 球	0.00	0.00	0.68	0.41
血 漿	0.00	0.00	0.04	0.06
肺	0.00	0.00	0.25	0.24
心 臓	0.00	0.00	0.10	0.13
脾 臓	0.00	0.00	0.15	0.17
腎 臓	0.00	0.00	0.38	0.36
副 腎	0.00	0.00	0.38	0.41
精巢/卵巣	0.00	0.00	0.05	0.23
子 宮	-	0.00	-	0.14
筋 肉	0.00	0.00	0.11	0.11
脳	0.00	0.00	0.06	0.06
脂肪組織	0.00	0.00	0.22	0.24
骨	0.00	0.00	0.63	0.69
骨 髄	0.00	0.00	4.86	4.96
甲 状 腺	0.00	0.00	1.46	2.61
脾 臓	0.00	0.00	0.20	0.22
胃内容物	0.00	0.00	2.19	0.49
胃	0.00	0.00	0.23	0.19
腸管内容物	0.01	0.00	1.49	0.55
腸 管	0.00	0.00	0.41	0.34
肝 臓	0.01	0.01	1.00	0.67
皮 膚	0.01	0.01	0.27	0.23
残部屍体	0.08	0.09	0.75	0.77

1-2. <sup>14</sup>C-標識検体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：2001年

試験目的：

ラットにおける動態試験(代謝・分解1)で得た尿，糞，胆汁中の代謝物，ならびに当試験で調製する血漿，肝臓，腎臓中の代謝物を同定，定量する。

供試化合物：

2-chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide の 標識した 標識検体(「」)と、<sup>14</sup>Cで 標識した 標識検体(「」)の2種類。  
 を<sup>14</sup>Cで 標識した 標識検体(「」)の2種類。

略 称	標識体	標識体
標識部位		
放射化学的純度		
化学的純度		

標識部位選定理由：

供試動物(当試験で新規飼育した動物)：

種，系統： ウィスター系(Chbb-THOM)ラット(SPF)

性： 雌雄

週 齢： ≥7週齢(投与時)

体重(投与時)： 雄 204~304g， 雌 164~206g

飼育環境： 入手後屠殺時まで上水道水と飼料を自由に摂取させ，温度20~24℃，湿度30~70%，自然の昼夜リズムの動物室で飼育した。

ケージ： 馴化期間中はⅢ型マクロロンケージ，標識体投与後は代謝ケージに個体別に収容。

投与経路，投与量，投与液の組成(当試験で新規飼育した動物)

投与経路： 強制経口投与

投与量： 50mg/kg(低用量)及び500mg/kg(高用量)。

投与液量： 1.15mL/匹

投与液の組成： 13%アセトン含有オリーブ油

試験群の配置

表 1 の試験群を設けた。投与群 DX(尿糞中代謝物の単離及び同定用)と、投与群 V, W(血漿, 肝臓, 腎臓中代謝物分析用)はこの試験で追加した試験群であり, 試験群 B, C, D, R, S は動態試験(代謝・分解 1)の試験群 1, 2, 4, 8, 9, 10 である。

表 1. 試験群及び代謝物分析用試料

投与群*	標識体	性	動物数	投与量	投与回数	代謝物分析試料と目的
B (2)		雌雄	各 4	50mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	尿, 糞: 代謝物パターン分析
C (4)		雌雄	各 4	500mg/kg	<sup>12</sup> Cx14+ <sup>14</sup> Cx 1	
D (1)		雌雄	各 4	500mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	
D (2)		雌雄	各 4	500mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	
DX		雌雄	各 10	500mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	尿, 糞: 代謝物の単離・同定
		雌雄	各 10	500mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	
R (10)		雌雄	各 4	50mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	胆汁: 代謝物パターン分析
S (9)		雌雄	各 4	500mg/kg	<sup>14</sup> Cx 1	
V		雌雄	各 4	50mg/kg**	<sup>14</sup> Cx 1	血漿, 肝臓, 腎臓: 代謝物パターン分析
W		雌雄	各 4	500mg/kg**	<sup>14</sup> Cx 1	

\*: 括弧内の番号は動態試験における試験群番号

\*\* : 実際に投与された量は表示値の約70%, その他の投与群では表示値±5%の範囲内

試料採取及び代謝物分析用試料:

表 2 に示す試料を代謝物分析用試料とした。

尿及び糞: 投与群 B, C, D の尿と糞は投与後 6, 12, 24, 72, 96, 120, 144, 168 時間に, 投与群 DX では 24, 48, 72, 96 時間で採取した。すべての試験群とも糞は 24 時間単位の混成試料にまとめた。尿, 糞とも 48 時間までの試料を代謝物分析用試料とした。

胆汁: 3 時間ごとに 48 時間まで採取した。雄ラット試料を 0-48 時間の混成試料にまとめ, 代謝物分析用試料とした。

血液及び臓器: 投与後 8 時間(血漿中濃度及び肝臓, 腎臓中濃度最高時点)に採取し, 雌雄別にまとめ, 分析用試料とした。

表 2. 代謝物分析用試料 (特記以外の数値はすべて投与量%)

試料	採取間隔 (時間)	B(低用量単回)		C(高用量反復)		D(高用量単回)				DX(高用量単回)				
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
尿	0~6*	2.7	5.4	0.3	0.4	0.3	0.4	0.4	0.4	2.4	3.7	3.9	3.5	
	6~12*	5.0	6.1	0.4	0.8	0.6	0.8	0.7	0.9					
	12~24*	5.7	10.3	0.9	1.4	0.9	1.9	1.8	1.3	1.0	1.3	0.7	0.9	
	24~48*	2.5	3.3	0.9	1.2	0.8	2.2	1.8	0.9					
	48~72	0.5	0.7	0.2	0.2	0.1	0.2	0.4	0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	
	72~96					0.1	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.0	0.1	
	96~120			NS	NS									
	120~168													
小計	16.4	25.7	2.6	4.0	2.7	5.7	5.2	3.8	3.6	5.3	4.8	4.6		
糞	0~24*	71.9	68.2	78.0	88.5	86.0	70.3	72.3	87.7	82.9	72.9	94.5	73.2	
	24~48*	11.5	11.3	16.1	9.5	4.2	13.9	15.0	4.0	16.2	22.5	5.9	12.3	
	48~72	1.4	1.1	0.9	0.5	0.4	2.7	1.5	0.3	1.3	1.3	0.3	0.6	
	72~96					0.3	0.3	0.8	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	
	96~120			NS	NS									
	120~168													
	小計	84.9	80.5	94.9	98.5	90.7	87.3	89.6	92.2	101.5	96.8	100.8	86.2	
排泄量合計**	101.5	106.3	97.6	102.6	93.8	93.1	94.9	96.3	105.6	102.5	105.8	91.1		

NS: 採取せず, \* : 代謝物分析対象試料, \*\* : ケージ洗液を含む。

分析 法 :

放射能測定 : 液体試料は直接, 固形試料は燃焼処理または可溶解化剤で処理した後に  
いずれも液体シンチレーションカウンターで放射能を計測して定量した。

代謝物分析法 :

結 果：

投与後 48 時間までの尿、糞、胆汁ならびに投与後 8 時間の肝臓、腎臓、血漿を分析し、投与量の 0.01% 以上の代謝物をすべて同定した。同定した尿及び糞中代謝物(含む未変化体)の合計は投与量の 82~102% に相当した。

1. 排泄物中代謝物

糞中代謝物(表 3)：

投与群 B, C, D の試料中の各 1 点を除く全ての試料で、糞中放射能の 90% 以上が MeOH で抽出された。投与群 B(24-48 時間、雄)での抽出率が最も低く約 78% であった。

雌雄、標識体、用量に係りなく、すべての試料で親化合物 BAS 510 F が糞中の主成分であった。親化合物の投与後 0~48 時間の排泄量は、高用量群である投与群 DX, C, D で投与量のそれぞれ、57~80%, 76~85%, 68~80% を、低用量群である投与群 B では 30~41% を占めた。

全ての投与群で糞中の主要代謝物は と であった。その他、微量代謝物として が検出・同定された。雌雄ラットにおける糞中代謝物のパターンに有意な差は認められなかった。

尿中代謝物(表 3)：

雌雄及び両標識体を比較した結果、雌雄及び標識体間で代謝物のパターンに顕著な差は認められなかった。

雌雄及び標識体を問わず、ほぼ全ての投与群で 2 種の代謝物 と が主要な代謝物であった。 は投与群 DX 及び D(雌)以外では尿中の主代謝物であり、投与群 DX と D では が主代謝物であった。 は 0-48 時間で投与量の % (高用量投与群 DX, C, D) 及び % (低用量投与群 B) を占めた。 は同期間で投与量の % (投与群 DX, C, D) 及び % (投与群 B) であった。その他微量代謝物として が検出・同定された。 標識群では痕跡量の ( ) が同定されたが、 標識群では は検出されなかった。



表 3-2. 投与後 0-48 時間尿糞中の代謝物の組成 (投与群 B, C, D; 投与量%)

同定代謝物	投与群B (低用量単回)				投与群C (高用量反復)				投与群D (高用量単回)				
	ジフェニル		雌		ジフェニル		雌		ジフェニル		雌		
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	
<sup>14</sup> C													
同定代謝物等													
尿 + 糞													
その他糞抽出残渣等													

- \* : 不検出

2. 胆汁中代謝物(表4) :

胆汁中の主要代謝物は と であった。 は平均で投与量の % (高用量投与群S) ~ % (低用量投与群R), は同様に % (投与群S) ~ % (投与群R) を占めた。 その他微量代謝物として が同定された。

表4. 投与後0~48時間胆汁中の代謝物の組成(投与群 R, S : 標識体)

同定代謝物	R	S
	低用量	高用量

- : 不検出

3. 組織中代謝物

肝臓中代謝物(表5) :

肝臓中放射能の80~85% (高用量投与群V) 及び78~102% (低用量投与群W) が抽出され, 更に 肝臓中放射能の9~12% が追加抽出された。 抽出残渣の 処理で更に約5% が遊離し, 最終残渣に残った放射能は肝臓中の放射能の < 4% (2.0~3.6%) であった。 抽出液と 抽出液を代

謝物分析した。

抽出液からは親化合物, が, 抽出液からは がそれぞれ検出され, 同定された。 肝臓中の代謝物パターンに各投与群の間及び雌雄の間で有意な差は認められず, 主要な代謝物は であった。

腎臓中代謝物(表5) :

で腎臓中放射能の96~100% が抽出された。 用量及び性に係りなく, 親化合物, が検出された。 主代謝物は雄ラットでは, 雌ラットでは であった。





## まとめ

50mg/kg と 500mg/kg で経口投与された検体のラット消化管からの吸収は高用量で約 15%、低用量で約 60%程度で、用量が高くなると吸収率は低下した。吸収後検体はラット体内で

①

②

の 2 つの主要な代謝経路で徹底的に代謝され、尿のほか胆汁を介して糞にも排泄された。

排泄物中の代謝物パターンに雌雄の間で有意差は認められなかった。また、単回経口投与群と反復経口投与群の間でも類似しており、反復投与による代謝亢進は認められなかった。

ラットで認められた代謝経路は植物、土壌、水中から同定された代謝物・分解物を包含していた。

1-3.  $^{14}\text{C}$ -標識検体のラットにおける動態試験

(代謝・分解 14)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：2003年

供試化合物

2-chloro-*N*-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide の  $^{14}\text{C}$  で 標識した 標識検体(「 標識体」)を用いた。

構造式：

比放射能：

放射化学的純度：

化学的純度：

標識部位選定理由：

供試動物

種, 系統： ウィスター系 (CriGlxBrIHan:Wi) ラット

性： 雌雄

週齢： 7 週齢 (投与時)

体重 (投与時)： 雄 176.4~198.3 g, 雌 132.6~150.0g

飼育環境： ラットに非標識化合物 (純度 95.7%) を 1 日 1 回 14 又は 28 日間投与後、標識化合物の実験が可能な施設に搬送し、標識化合物を単回経口投与後、代謝ケージに個体別に収容した。

### 投与方法

投与経路： 強制経口投与

投与量： 500mg/kg/日

投与量設定根拠：

投与液量： 1 mL/100 g 体重

投与液の組成： 供試化合物を 懸濁し、投与液とした。

### 試験群の構成

試験群	投与回数		投与量 mg/kg	動物数	屠殺時点
	非標識体	標識体			
0	0*	1	500	雌雄各4匹	最終投与48時間後
1	14	1			
2	28	1			

\*：賦形剤のみ 14 回投与した。

### 試料採取

尿： 投与後 0~48 時間ドライアイス冷却下で採取

糞： 投与後 0~48 時間室温下で採取

尿及び糞を採取後、性別及び群別に試料を合わせた。糞は乾燥後均質化した。

### 分析方法

放射能の測定：尿はその一部を 3 反復で、糞はその 1 部を燃焼して発生した  $^{14}\text{CO}_2$  を捕集し、捕集液の一部を 5 反復で、液体シンチレーションカウンターを用い放射能を計測した。

代謝物のパターン分析法：条件の異なる HPLC 2 系を用い分析した。

尿： 、 HPLC で代謝物パターンを分析した。

糞：  
抽出液の一部を HPLC で代謝物パターンを分析した。

代謝物の同定: LC-MS 及び LC-MS/MS を用いて代謝物を同定し、ラットの代謝試験(資料 代謝・分解 2 参照)で得られた代謝物のプロフィールと保持時間を比較して同定した。

## 結 果

### 1. 排泄量

非標識体を 14 回あるいは 28 回投与後、標識体を単回投与し、投与 48 時間内に排泄された放射能の割合を標識体のみ単回投与した場合と比較して表 1 に示す。

投与後 48 時間以内に、約 80~90%が尿及び糞から排泄され、その大部分は糞から排泄(68~76%)された。尿及び糞中の放射能の排泄割合に非標識体前投与の影響はみられず、いずれの群ともにほぼ同様の排泄であった。

表 1. 標識体投与 0~48 時間後までの排泄量の比較(投与放射能に対する回収率%)

群	0 (賦形剤 14 回投与+ 標識体 1 回投与)		1 (非標識体 14 回+ 標識体 1 回投与)		2 (非標識体 28 回+ 標識体 1 回投与)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	10.21	17.68	8.61	13.97	10.53	14.76
糞	75.54	71.55	75.65	69.19	67.67	69.84
ケージ洗液	0.53	0.97	0.55	0.42	0.51	0.91
合計	86.28	90.20	84.81	83.53	78.71	85.81

### 2. 排泄物中の代謝物の同定

尿：主要ピークは 及び と同定された。この他に、 及び が同定された。

糞：主要ピークは親化合物であった。この他に、 及び が同定された。

### 3. 排泄物中の代謝物の比較

非標識体を 14 回あるいは 28 回投与後、標識体を単回投与(それぞれ群 1 及び 2)し、投与 48 時間内に排泄された尿及び糞における代謝物の割合を標識体のみ単回投与した場合(群 0)と比較して表 2 及び図 1~2(尿)、3~4(糞)に示す。

及び は、尿中において、雄ラットでは群0と比較して、群1及び2で僅かに増加していたのに対して、雌では顕著な差は認められなかった。しかし、糞中ではこれらの代謝物は検出されなかった。

糞中では主要成分は親化合物で、代謝物として が多かったが、群間に顕著な差はみられなかった。

表 2. 尿・糞中代謝物の比較(投与放射能に対する割合%)

試料	群	0 (標識体 1 回投与)		1 (非標識体 14 回+ 標識体 1 回投与)		2 (非標識体 28 回+ 標識体 1 回投与)	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	*	-	-	-	-	-	-
糞	*						
同定代謝物の合計							

\*: 親化合物                    -: 検出されず

以上の結果から、非標識体を 28 回投与後、標識体を単回投与したときの代謝物のパターンは、非標識体を 14 回投与後、標識体を単回投与しとき、あるいは標識体のみ単回投与したときの代謝物のパターンと類似していた。

( 及び )は、尿中においてのみ検出され、雄ラットでは単回投与と比較して、反復投与で僅かに増加していたのに対して、雌では顕著な差は認められなかった。

従って、顕著な性差はなく、又代謝物のパターンに検体の前投与の影響は認められなかった。

Figure 17: Comparison of metabolite patterns (HPLC system LC09) in urine (0-48 h) of male rats of test group 0 (above), test group 1 (middle) and test group 2 (below)

図 1: 雄の尿(投与後 0~48 時間)中における代謝物のパターンの比較(代表例)  
上図: 試験群 0(賦形剤 14 回投与+標識体 1 回投与)  
中図: 試験群 1(非標識体 14 回投与+標識体 1 回投与)  
下図: 試験群 2(非標識体 28 回投与+標識体 1 回投与)

Figure 19: Comparison of metabolite patterns (HPLC system LCD1) in urine (0-48 h) of female rats of test group 0 (above), test group 1 (middle) and test group 2 (below)

図 2: 雌の尿(投与後 0~48 時間)中における代謝物のパターンの比較(代表例)

上図: 試験群 0(賦形剤 14 回投与+標識体 1 回投与)

中図: 試験群 1(非標識体 14 回投与+標識体 1 回投与)

下図: 試験群 2(非標識体 28 回投与+標識体 1 回投与)



Figure 22: Comparison of metabolic patterns (HPLC system LC02) in feces extracts (0-48 h) of male rats of test group 0 (above), test group 1 (middle) and test group 2 (below)

図 3: 雄の糞(投与後 0~48 時間)抽出物中における代謝物のパターンの比較(代表例)

上図: 試験群 0(賦形剤 14 回投与+標識体 1 回投与)

中図: 試験群 1(非標識体 14 回投与+標識体 1 回投与)

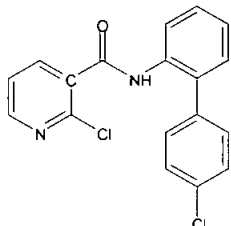
Figure 24: Comparison of metabolite patterns (HPLC system LC02) in feces extracts (0-48 h) of female rats of test group 0 (above), test group 1 (middle) and test group 2 (below)

図 4: 雌の糞(投与後 0~48 時間)抽出物中における代謝物のパターンの比較(代表例)

上図: 試験群 0(賦形剤 14 回投与+標識体 1 回投与)

中図: 試験群 1(非標識体 14 回投与+標識体 1 回投与)

検出された代謝物の構造式

代謝物記号	構造式	尿	糞
親化合物			

- : 検出されず

+ : 検出

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。

Boscalid

図1 検体のラットにおける推定代謝経路

2. 植物体内運命に関する試験

2-1. <sup>14</sup>C-標識検体のレタスにおける代謝試験

(代謝・分解 3)

試験機関:

[GLP対応]

報告年: 1999年

供試標識化合物: 検体の 及び を <sup>14</sup>C で標識した。

下表に検体について要約する。

略 称	標識体	標識体
構造式・標識部位		
化学名	2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide	
分子式	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
分子量	343.22 g/mol	343.22 g/mol
比放射能 (MBq/mg)		
比放射能 (dpm/μg)		
放射化学的純度		

標識部位の設定理由:

供試植物: レタス(品種名: Nadine)

栽培環境: 温室または植物育成室内に設置したプラスチック製ポット(表面積 18 x 18cm)で栽培した。

ポット: 壤質砂土を 15 個のポットに充填した。

移植: 各標識体につき 2 葉期の苗を 15 本移植

方 法:

1) 処理量

処理剤の調製: 検体を に溶解し, 水で希釈して散布液を調製した。

使用量: 700 g a. i. /ha (想定慣行圃場使用量)

散布量: 600L/ha(第1回目散布), 1000L/ha(第2, 3回目散布)

## 2) 処 理

処理部位・方法：茎葉に手動式噴霧器で散布

処理回数：3回

処理時期：移植後8日(3葉期)で第1回目散布，その後14日間隔で2回散布

処理面積：約0.5m<sup>2</sup>

## 3) 試料採取

採取時期：最終散布(3回目散布)18日後(1997年10月13日)

採取部位：茎葉部

採取後直ちに液体窒素で凍結し，-18℃以下の冷凍庫で保存した。一部試料は均質化後保存した。

### 分析方法：

#### (1) 総残留放射能(TRR)の測定

均質化試料の一部を採取し，

抽出後，遠心分離した。抽出液はLSCで放射能を計測し，残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。TRRは抽出液と残渣の合量として算出した。

#### (2) 残留放射能の特徴付け及び同定

単離画分をLSCで放射能を計測して定量

した。またコクロマトグラフィー及びLC/MS/MS分析で残留放射能の特徴付け及び同定を実施した。

分析法のスキームを図1に示す。

図1. レタス抽出操作スキーム

結 果

(1) 総残留放射能 (TRR) の分布

レタス試料中の TRR の分布を表 1 に示した。

表 1. レタス茎葉部中の残留放射能 (mg/kg)

標 識 体	抽出液	抽出残渣	TRR
標識体	17.412 (99.3%)	0.129 (0.7%)	17.541 (100%)
標識体	17.507 (99.3%)	0.115 (0.7%)	17.622 (100%)

( ) は TRR に対する %.

抽出操作で両 <sup>14</sup>C-標識体 ( 標識体及び 標識体) とも TRR の約 99% が抽出され、抽出効率は良好であった。抽出残渣は 0.7% であった。

(2) 抽出物の同定、特徴付け及び定量

HPLC で特徴付け及び定量した結果を表 2 に示す。

表 2. 抽出物の HPLC 分析結果

標識体	同定抽出残留放射能		未同定残留	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
標識体	17.412	99.3	0.129	0.7
標識体	17.507	99.3	0.115	0.7

両標識体の 抽出液中には親化合物のみが検出され、LC/MS/MS で同定した。抽出残渣中の放射能は低濃度であったため、特徴付けは行わなかった。

結 論

- ・レタスへの処理量が 3 x 700g 有効成分/ha と高かったこと、最終散布後 18 日の短期間で採取した試料であったことから、総残留放射能 (TRRs) は比較的高かった (17.5~17.6mg/kg)。
- ・ の抽出効率 (>99%) が良好であったことから、検体は結合型残留物へ緩やかに代謝されることが示唆された。
- ・レタス茎葉部における主要な残留放射能は親化合物のみであった。

2-2. <sup>14</sup>C-標識検体の果実における代謝試験

(代謝・分解 4)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：2001年

供試標識化合物：検体の \_\_\_\_\_ 及び \_\_\_\_\_ を <sup>14</sup>C で標識した(申請者注：以下それぞれ「 \_\_\_\_\_ 標識体」及び「 \_\_\_\_\_ 標識体」とする)。

下表に検体について要約する。

略 称	標識体	標識体
構造式・標識部位		
化学名	2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide	
分子式	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
分子量	343.22 g/mol	343.22 g/mol
比放射能 (MBq/mg)		
比放射能 (dpm/μg)		
放射化学的純度		

標識部位の設定理由：

供試植物：ぶどう樹(品種名：Mueller-Thurgau)

栽培環境：BASF 農業研究所(ドイツ)で4区画(1区画：長さ 1.1m)を用いて栽培し、2区画を処理区に使用した。栽培管理は慣行栽培方法に従った。

方 法：

1) 処理量

処理剤の調製：検体を \_\_\_\_\_ 溶解して \_\_\_\_\_ ，水で希釈して散布液を調製した。

使用量：800 g a. i. /ha (想定慣行圃場使用量)

散布量：600L/ha



## 2) 処 理

処理部位・方法：茎葉に手動式噴霧器で散布

処理回数：3回

処理時期：1997年6月25日，1997年7月8日，1997年8月18日

処理面積：約1.2m<sup>2</sup>(長さ1.1mから計算)

## 3) 試料採取

採取部位：茎葉部，果房

採取時期：葉 部；最終散布後15日（1997年9月2日）

最終散布後45日（1997年10月2日）

果 房；最終散布後45日（1997年10月2日）

採取後直ちに果房は果実と果柄に分けた。各試料及び茎葉部を液体窒素で凍結し，均質化後約-18℃の冷凍庫で保存した。

## 分析方法：

分析には最終散布後45日で収穫した茎葉部と果房を使用した。

### (1) 総残留放射能 (TRR) の測定

果実及び果柄：

均質化試料の一部を採取し，次いで抽出後遠心分離した。各抽出液はLSCで放射能を計測し，残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。

TRRは抽出液と残渣の含量として算出した。

葉 部：

均質化試料の一部を採取し，で抽出後遠心分離した。抽出液はLSCで放射能を計測し，残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。

TRRは抽出液と残渣の含量として算出した。

### (2) 残留放射能の特徴付け

各試料の抽出液を濃縮し

で液々分配した。各有機溶媒層及び水層をLSCで放射能を計測し，さらに有機溶媒層はHPLCで分析した。

### (3) 代謝物パターンの調査

抽出液，果柄の抽出液及び分配後の有機溶媒層の代謝物パターンをHPLCで分析・同定した。

(4) 保存安定性の調査

果実試料を用い、試験開始時と終了時(初回調査から 419 日後)に分析して、分析値の比較検討をした。終了時での分析は抽出のみとし、抽出液と残渣をそれぞれ LSC 及び HPLC 分析した。

分析法のスキームを図 1, 2 及び 3 に示す。

図 1. 果実の抽出操作スキーム

図 2. 果柄の抽出操作スキーム

図 3. 茎葉部の抽出操作スキーム

結 果：

(1) 総残留放射能 (TRR) の分布

ぶどう樹試料中の TRR の分布を表 1 に示した。

表 1. 処理後のぶどう樹試料中の残留放射能 (mg/kg)

試 料	TRR	抽出液	抽出液	抽出可能 残留放射能	抽出残渣
標識体					
果 実	1.181 (100%)	1.095 (92.7%)	0.005 (0.4%)	1.100 (93.2%)	0.081 (6.8%)
果 柄	12.356 (100%)	11.810 (95.6%)	0.104 (0.8%)	11.914 (96.4%)	0.442 (3.6%)
葉 部	43.672 (100%)	42.801 (98.0%)	n. e.	42.801 (98.0%)	0.871 (2.0%)
標識体					
果 実	2.066 (100%)	1.905 (92.2%)	0.009 (0.5%)	1.916 (92.7%)	0.150 (7.3%)
果 柄	19.637 (100%)	19.054 (97.0%)	0.108 (0.5%)	19.162 (97.6%)	0.475 (2.4%)
葉 部	63.359 (100%)	62.031 (97.9%)	n. e.	62.031 (97.9%)	1.328 (2.1%)

( ) は TRR に対する%。n. e. = 操作せず。

総残留放射能は 標識体及び 標識体で、それぞれ果実では 1.18mg/kg 及び 2.07mg/kg、果柄では 12.4mg/kg 及び 19.6mg/kg であり、茎葉部では 43.7mg/kg 及び 63.4mg/kg であった。

抽出率は高く、果実では約 93%、果柄では 96~97%、茎葉部では 98% であった。を用いた抽出でさらに 0.4~0.8% 抽出できた。抽出残渣中の残存放射能は低かった (TRR の 2~7%)。

(2) 抽出液の特徴付け

抽出液を  
を表 3 に示す。

で分配した後、有機溶媒層を合わせた結果

表 2. 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

試料	標識体		標識体	
	有機溶媒層	水層	有機溶媒層	水層
果実	1.156 (97.9%)	0.008 (0.7%)	2.215 (107.2%)	0.022 (1.1%)
果柄	11.575 (93.6%)	0.20 (0.2%)	18.783 (95.6%)	0.102 (0.5%)
葉部	44.435 (101.8%)	0.079 (0.2%)	63.129 (99.7%)	0.141 (0.2%)

( ) = %TRR.

抽出された残留放射能は両標識体及び各試料で有機溶媒層に約 94~107% 検出され、有機溶媒可溶性であった。

(3) 抽出可能残留放射能の同定、特徴付け及び定量

HPLC で特徴付け及び定量し、LC/MS/MS で同定した結果を表 3 及び 4 に示す。

表 3. 抽出液の HPLC 分析結果 — 標識体

果実	分析結果				計	
	抽出液		抽出液			
化合物	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
親化合物	1.095	92.7	—	—	1.095	92.7
抽出液中の放射能	1.095	92.7	0.005	0.4	1.100	93.2
総同定抽出放射能					1.095	92.7
果柄						
親化合物	11.810	95.6	0.104	0.8	11.914	96.4
抽出液中の放射能	11.810	95.6	0.104	0.8	11.914	96.4
総同定抽出放射能					11.914	96.4
葉部						
親化合物	41.752	95.6	—	—	41.752	95.6
未同定物質	1.049	2.4	—	—	1.049	2.4
抽出液中の放射能	42.801	98.0	—	—	42.801	98.0
総同定抽出放射能					41.752	95.6

表 4. 抽出液の HPLC 分析結果 — 標識体

果実	分析結果				計	
	抽出液		抽出液			
化合物	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
親化合物	1.905	92.2	—	—	1.905	92.2
抽出液中の放射能	1.905	92.2	0.009	0.5	1.916	92.7
総同定抽出放射能					1.905	92.2
果柄						
親化合物	19.054	97.0	0.098	0.5	19.152	97.5
未同定物質	—	—	0.010	0.1	19.162	97.6
抽出液中の放射能	19.054	97.0	0.108	0.5	19.162	97.6
総同定抽出放射能					19.152	97.6
葉部						
親化合物	60.859	96.1	—	—	60.859	96.1
未同定物質	1.172	1.8	—	—	1.172	1.8
抽出液中の放射能	62.031	97.9	—	—	62.031	97.9
総同定抽出放射能					60.859	96.1

抽出可能残留放射能中の主要ピークは未変化の親化合物であった。抽出液中で約 92~97%TRR であり、抽出液中では約 0.4-0.8%TRR であった。

(4) 保存安定性試験

残留放射能の凍結保存中の安定性を果実試料で調査した。その結果を表 5 に示す。

表 5. 凍結保存後の果実中の残留放射能の分布 (mg/kg)

標識体	保存期間 (月)	抽出液	抽出液	抽出残渣	TRR
標識体	2	1.095 (92.7%)	0.005 (0.4%)	0.081 (6.8%)	1.181 (100%)
	16	0.963 (89.2%)	—	0.116 (10.8%)	1.079 (100%)
標識体	2	1.905 (92.2%)	0.009 (0.5%)	0.150 (7.3%)	2.066 (100%)
	16	1.791 (91.9%)	—	0.157 (8.1%)	1.948 (100%)

( ) = %TRR

両者の分析結果は通常の変動の範囲内であり、凍結保存後における抽出率に差は認められなかった。何れの場合でも HPLC 分析により主要ピークは親化合物であると同一した。両者のクロマトグラムから、残留放射能は約 16 ヶ月にわたる保存期間中安定であった。

結 論 :

- ・ または 標識検体を用いてぶどう樹における代謝を調査した結果、3 回散布し、最終散布後 45 日で採取した試料(果実、果柄及び茎葉部)中の残留放射能はほとんど親化合物のみであった。
- ・ 検体の果実における代謝は極めて緩やかであった。

2-3. <sup>14</sup>C-標識検体のまめにおける代謝試験

(代謝・分解 5)

試験機関：

[GLP対応]

報告年：2001年

供試標識化合物：検体の 「 及び を <sup>14</sup>C で標識した(申請者注：以下それぞれ標識体)とする) 」 標識体]及び「 標識体」とする)。

下表に検体について要約する。

略 称	標識体	標識体
構造式・標識部位		
化学名	2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide	
分子式	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O	C <sub>18</sub> H <sub>12</sub> Cl <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O
分子量	343.22 g/mol	343.22 g/mol
比放射能 [MBq/mg]		
比放射能 [dpm/μg]		
放射化学的純度		

標識部位の設定理由：

供試植物：まめ (Bush bean [申請者注：いんげんと同一属] 品種名：Hild's Maxi)

栽培環境：

温室または栽培室内に設置したプラスチック製ポット(表面積 16 x 16cm)で栽培した。

ポット： 壤質砂土を 60 個のポットに充填した。

栽培管理： 標識体の試験を開始約 1 年後に、 標識体の試験を開始した。

方 法：

1) 処理量

処理剤の調製：検体を 溶解して ， 水で希釈して散布液を調製した。

使用量：500 g a. i. /ha (想定慣行圃場使用量)

2) 処 理

処理部位・方法：茎葉に自動散布装置で散布

処理回数：3回

処理時期：開花開始時，第1回目散布8～10日後，第2回目散布8～10日後

処理面積：各標識体を30ポットに散布した。

3) 試料採取

各試験区の採取時期及び採取部位を下表に示す。

標識体		
採取時点(日)	採取部位	識 別 名
最終散布後	0日	まめ植物体 まめ植物 0
	14日	茎葉部 青まめ：ホール 莢 子実 まめ茎葉部 14DALT 青まめ 14DALT 莢 14DALT 子実 14DALT
	53日	まめ乾燥茎葉部 まめ乾燥莢 まめ乾燥子実 まめ乾燥茎葉部 53DALT まめ乾燥莢 53DALT まめ乾燥子実 53DALT

標識体		
採取時点(日)	採取部位	識 別 名
最終散布後	0日	まめ植物体 まめ植物 0DALT
	15日	茎葉部 青まめ：ホール 莢 子実 まめ茎葉部 15DALT 青まめ 15DALT 莢 15DALT 子実 15DALT
	51日	まめ乾燥茎葉部 まめ乾燥莢 まめ乾燥子実 まめ乾燥茎葉部 51DALT まめ乾燥莢 51DALT まめ乾燥子実 51DALT

各試料は採取後直ちに約-18℃の冷凍庫で保存した。

分析方法：

(1) 総残留放射能 (TRR) の測定

均質化試料の一部を，抽出または，さらに一部を抽出，次いで抽出し，遠心分離した後，各抽出液を合わせ，LSCで放射能を計測し，残渣は燃焼処理後LSCで放射能を計測した。  
TRRは全抽出液と残渣の含量として算出した。

(2) 残留放射能の特徴付け

各試料の抽出液を濃縮し，希釈後で液々分配した。  
各有機溶媒層及び水層の放射能をLSCで計測し，さらにHPLCで分析した。



(3) 代謝物パターンの調査

(4) 代謝物の単離

標識体処理まめ乾燥莢の代謝物：

(5) 抽出残渣中の放射能の調査

(6) 保存安定性の調査

分析法のスキームを図 1 及び 2 に示す。各試料は図 1 及び 2 の抽出、分配、あるいは酵素及び沈殿処理を適宜組み合わせて分画し、その後 HPLC、LSC 及び LC/MS 等を適切に使用して分析した。

図 1. 標識体処理試料の抽出操作スキーム

図 2. 標識体処理試料の抽出操作スキーム

結 果 :

(1) 総残留放射能 (TRR) の分布

まめ試料中の TRR の分布を表 1 及び 2 に示した。

表 1. 標識体処理後のまめ試料中の残留放射能 (mg/kg)

試 料	TRR	抽出液	抽出液	抽出可能 残留放射能	抽出残渣
まめ植物 0	49.091	48.714 (99.2%)	0.137 (0.3%)	48.851 (99.5%)	0.239 (0.5%)
まめ茎葉部 14	66.236	65.117 (98.3%)	0.525 (0.8%)	65.642 (99.1%)	0.595 (0.9%)
青まめ 14	1.027	1.003 (97.6%)	0.007 (0.7%)	1.010 (98.3%)	0.017 (1.7%)
青まめ莢 14	0.903	0.878 (97.3%)	0.008 (0.9%)	0.886 (98.2%)	0.017 (1.9%)
青まめ子実 14	0.198	0.176 (89.0%)	0.005 (2.4%)	0.181 (91.4%)	0.017 (8.6%)
まめ乾燥茎葉部 53	127.285	122.037 (95.9%)	1.101 (0.9%)	123.138 (96.8%)	4.147 (3.3%)
まめ乾燥莢 53	6.118	5.772 (94.3%)	0.068 (1.1%)	5.840 (95.4%)	0.279 (4.6%)
まめ乾燥子実 53	0.205	0.154 (75.0%)	0.011 (5.5%)	0.165 (80.5%)	0.040 (19.5%)

TRR は計算値。( ) は TRR に対する%。抽出可能残留放射能 = 抽出液 + 抽出液

表 2. 標識体処理後のまめ試料中の残留放射能 (mg/kg)

試 料	TRR	抽出液	抽出液	抽出可能 残留放射能	抽出残渣
まめ植物 0	21.249	20.704 (97.4%)	0.158 (0.7%)	20.862 (98.1%)	0.387 (1.8%)
まめ茎葉部 15	16.967	16.579 (97.7%)	0.133 (0.8%)	16.712 (98.5%)	0.255 (1.5%)
青まめ 15	0.090	0.088 (97.4%)	<0.001 (0.5%)	0.088 (97.9%)	0.002 (2.1%)
青まめ莢 15	0.108	0.106 (97.6%)	<0.001 (0.4%)	0.106 (98.0%)	0.002 (2.0%)
青まめ子実 15	0.067	0.063 (94.7%)	0.001 (1.2%)	0.064 (95.9%)	0.003 (4.1%)
まめ乾燥茎葉部 51	93.775	79.801 (85.1%)	8.708 (9.3%)	88.509 (94.4%)	5.265 (5.6%)
まめ乾燥莢 51	1.369	1.037 (75.8%)	0.199 (14.6%)	1.236 (90.4%)	0.132 (9.7%)
まめ乾燥子実 51	0.126	0.060 (47.6%)	0.027 (21.3%)	0.087 (68.9%)	0.039 (31.1%)

TRR は計算値。( ) は TRR に対する%。抽出可能残留放射能 = 抽出液 + 抽出液

まめ可食部における総残留放射能は他の部位よりも非常に低かった(青まめ :

標識体 ; 1.027mg/kg / 標識体 ; 0.090mg/kg, 乾燥子実 : 標識体 ; 0.205mg/kg / 標識体 ; 0.126mg/kg). まめの茎葉部試料で残留放射能が最も多かった( 標識体 ; 127.285mg/kg / 標識体 ; 93.775mg/kg).

抽出可能な残留放射能は乾燥子実( 標識体 ; 80.5mg/kg / 標識体 ; 68.9%TRR)を除き多くの場合 90.4%TRR 以上であった. 全ての試料で抽出可能な放射能の大部分は 抽出液に認められたが, 標識体処理乾燥子実試料では による抽出も効果的であった. 抽出残渣中の残存残留放射能は低かった. %TRR での最高値は乾燥子実で検出された( 標識体 ; 0.040mg/kg / 19.5%TRR, 標識体 ; 0.039mg/kg / 31.1%TRR). 最低値は青まめ, 莢, 子実で検出された( 標識体 ; 0.017mg/kg / 1.7~8.6%TRR, 標識体 ; 0.002~0.003mg/kg / 2.0~4.1%TRR).

(2) 抽出液の特徴付け

抽出液及び 抽出液( 標識体)を 分配した結果を表 3~5 に示す.

表 3. 標識体 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

試 料	抽出液	%Rec	有機溶媒可溶物		水溶性物
			層	層	
まめ植物 0	48.714	102.6	49.254 (100.3%)	0.565 (1.2%)	0.172 (0.4%)
まめ茎葉部 14	65.117	99.3	63.415 (95.7%)	0.885 (1.3%)	0.39 (0.6%)
青まめ 14	1.003	105.0	1.027 (99.9%)	0.014 (1.4%)	0.012 (1.1%)
青まめ莢 14	0.878	98.6	0.832 (92.2%)	0.02 (2.2%)	0.014 (1.6%)
青まめ子実 14	0.176	113.6	0.191 (96.4%)	0.005 (2.6%)	0.004 (2.1%)
まめ乾燥茎葉部 53	122.037	100.6	119.867 (94.2%)	2.296 (1.8%)	0.646 (0.5%)
まめ乾燥莢 53	5.772	100.4	5.562 (90.9%)	0.162 (2.7%)	0.070 (1.1%)
まめ乾燥子実 53	0.154	103.2	0.143 (70.0%)	0.012 (5.7%)	0.004 (2.2%)

%Rec=(有機溶媒可溶物+水溶性物) × 100/

抽出液. ( )は TRR に対する%.

表 4. 標識体 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

試 料	抽出液	%Rec	有機溶媒可溶物		水溶性物
			層	層	
まめ植物 0	0.137	100.7	0.097 (0.2%)	0.009 (0.0%)	0.032 (0.1%)
まめ茎葉部 14	0.525	98.5	0.410 (0.6%)	0.036 (0.1%)	0.071 (0.1%)
まめ乾燥茎葉部 53	1.101	78.4	0.560 (0.5%)	0.055 (0.0%)	0.248 (0.2%)
まめ乾燥莢 53	0.068	94.1	0.019 (0.3%)	0.003 (0.1%)	0.042 (0.7%)

%Rec=(有機溶媒可溶物+ 溶性物) × 100/ 抽出液. ( )は TRR に対する%.

表 5. 標識体 抽出液の液々分配後の放射能分布 (mg/kg)

試料	抽出液	%Rec	有機溶媒可溶物	水溶性物
まめ植物 0	20.704	108.2	22.258 (104.7%)	0.146 (0.7%)
まめ茎葉部 15	16.579	111.4	18.322 (108.0%)	0.14 (0.8%)
青まめ 15	0.088	105.7	0.078 (86.4%)	0.015 (17.1%)
青まめ莢 15	0.106	103.8	0.093 (86.0%)	0.017 (15.7%)
青まめ子実 15	0.063	84.1	0.019 (27.7%)	0.034 (51.4%)
まめ乾燥茎葉部 51	79.801	106.3	84.284 (89.9%)	0.553 (0.6%)
まめ乾燥莢 51	1.037	103.8	0.925 (67.6%)	0.151 (11.0%)
まめ乾燥子実 51	0.060	91.7	0.033 (25.8%)	0.022 (17.4%)

%Rec=(有機溶媒可溶物+水溶性物) × 100/抽出液. ( )は TRR に対する%.

標識体処理試料では抽出液中の放射能の大部分は層に分配された(乾燥子実: 70.0%TRR, その他は 90.9%TRR 以上). 層(1.2~5.7% TRR)及び層(0.4~2.2%TRR)には少量であった. 標識体処理各試料では抽出液の放射能の大部分は有機溶媒可溶性であり, 青まめ子実のみで層よりも層で高い放射能レベルであった.

(3). 抽出残渣中放射能のによる抽出  
または抽出後の残渣をで抽出した時の放射能の分布を表 6 に示す.

表 6 抽出残渣中放射能のによる抽出後の放射能分布 (mg/kg)

標識体:

試料	RRR (%)	抽出液	抽出後残渣	回収率 (%)
まめ植物 0	0.239 (0.5%)	0.077 (0.2%)	0.143 (0.7%)	92.1
まめ茎葉部 14	0.595 (0.9%)	0.175 (0.3%)	0.370 (0.6%)	91.6
まめ乾燥茎葉部 53	4.147 (3.3%)	0.641 (0.5%)	3.060 (2.4%)	89.2
まめ乾燥莢 53	0.279 (4.6%)	0.075 (1.2%)	0.201 (3.3%)	98.9
まめ乾燥子実 53	0.040 (19.5%)	0.021 (10.4%)	0.018 (8.9%)	97.5

標識体:

試料	RRR (%)	抽出液	抽出後残渣	回収率 (%)
まめ植物 0	0.387 (1.8%)	0.109 (0.5%)	0.145 (0.7%)	65.6
まめ茎葉部 15	0.255 (1.5%)	0.079 (0.5%)	0.108 (0.6%)	73.3
まめ乾燥茎葉部 51	5.265 (5.6%)	0.622 (0.7%)	3.794 (4.0%)	83.9
まめ乾燥莢 51	0.132 (9.7%)	0.046 (3.4%)	0.081 (5.9%)	96.2
まめ乾燥子実 51	0.039 (31.1%)	0.011 (8.5%)	0.017 (13.5%)	71.8

RRR=残存性残留放射能. ( )は TRR に対する%.

回収率=(抽出液+抽出後残渣)/RRR 単位: mg/kg

による抽出で抽出残渣中の残留性放射能の一部を抽出できた(0.2~10.4%TRR).

(4) 抽出可能残留放射能の同定, 特徴付け及び定量

HPLC で特徴付け及び定量し, LC/MS/MS で同定した結果を表 7 に示す。

表 7-1. 抽出液の HPLC 分析結果

まめ植物 0 DALT	標識体		標識体	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	49.091	-	21.249	-
親化合物(同定)	48.724	99.28	20.860	98.09
総同定抽出放射能	48.724	99.28	20.860	98.09
総特徴付けした抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能	0.077	0.20	0.109	0.50
総同定/特徴付けした放射能	48.923	99.81	20.971	98.60
最終残渣中の放射能	0.143	0.30	0.145	0.70
総計	49.066	100.11	21.116	99.30

まめ茎葉部 14/15 DALT	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	66.236	-	16.967	-
親化合物(同定)	65.269	98.57	16.695	98.39
総同定抽出放射能	65.269	98.57	16.695	98.39
総特徴付けし検体(同定)した抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能	0.175	0.30	0.079	0.50
総同定/特徴付けした放射能	65.817	99.50	16.79	98.99
最終残渣中の放射能	0.37	0.60	0.108	0.60
総計	66.187	100.10	16.898	99.59

青まめ 14/15 DALT	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	1.027	-	0.090	-
親化合物(同定)	0.999	97.20	0.071	78.09
総同定抽出放射能				
総特徴付けした抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能				
総同定/特徴付けした放射能				
最終残渣中の放射能	0.017	1.70	0.002	2.10
総計	1.027	100.00	0.091	100.01

TRR は表 1, 2, 3 参照。

HPLC 分析しない 抽出液は特徴付け放射能に入れた。

抽出放射能には 抽出液を含まず。

\*強極性物質

表 7-2. 抽出液の HPLC 分析結果

青まめ莢 14/15 DALT	標識体		標識体	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	0.903	-	0.108	-
親化合物(同定)	0.872	96.70	0.095	87.02
総同定抽出放射能				
総特徴付け抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能				
総同定/特徴付けした放射能				
最終残渣中の放射能	0.017	1.90	0.002	2.00
総計	0.903	100.10	0.107	100.01

青まめ子実 14/15 DALT	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	0.198	-	0.067	-
親化合物(同定)	0.173	87.50	0.043	64.88
総同定抽出放射能				
総特徴付け抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能				
総同定/特徴付けした放射能				
最終残渣中の放射能	0.017	8.60	0.003	4.10
総計	0.198	100.00	0.068	100.00

まめ乾燥莖葉部 53/51 DALT	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	127.285	-	93.775	-
親化合物(同定)	120.968	95.10	87.780	93.62
総同定抽出放射能				
総特徴付けした抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能				
総同定/特徴付けした放射能				
最終残渣中の放射能	3.060	2.40	3.794	4.00
総計	126.839	98.58	92.933	99.11

TRR は表 1, 2, 6 参照.

HPLC 分析しない 抽出液は特徴付け放射能に入れた.

抽出放射能には 抽出液を含まず.

\*強極性物質



表 7-3. 抽出液の HPLC 分析結果

まめ乾燥莢 53/51 DALT	標識体		標識体	
	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	6.118	-	1.369	-
親化合物(同定)	5.788	94.52	1.090	79.68
総同定抽出放射能				
総特徴付けした抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能				
総同定/特徴付けした放射能				
最終残渣中の放射能	0.201	3.30	0.081	5.90
総計	6.116	99.90	1.362	99.70

まめ乾燥子実 53/51 DALT	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR
TRR	0.205	-	0.126	-
親化合物(同定)	0.148	72.00	0.047	36.94
総同定抽出放射能				
総特徴付け抽出放射能				
抽出残渣中の特徴付けした放射能				
総同定/特徴付けした放射能				
最終残渣中の放射能	0.018	8.90	0.028#	22.60#
総計	0.202	99.81	0.116	90.89

TRR は表 1, 2, 6 参照.

HPLC 分析しない 抽出液は特徴付け放射能に入れた.

抽出放射能には 抽出液を含まず.

\*強極性物質

#申請者が、報告書の図 84 を基に算出した.

全まめ試料で未変化の親化合物が顕著なピークとして検出された.

標識体処理試料では青まめ、莢、子実並びに乾燥莢及び乾燥子実の抽出液中に ( ) が mg/kg の濃度範囲で検出された. 液々分配後、この代謝物は水層のみに認められた. さらに、他の 代謝物が 抽出液中に検出された. 抽出液中の放射能で同定及び/または特徴付けできた放射能は乾燥子実 51DALT では約 %であったが、他の試料では約 %であった.

標識体処理試料では 抽出液中では代謝物は検出できなかった(表 6, まめ乾燥茎葉部を除く)が、液々分配後の各層で検出できた(報告書: 図 21~45).

層には親化合物のみが検出され、 層には多くの ピークと 幾つかの ピークが検出された. まめ乾燥茎葉部の 層には親化合物の他

に 10 個の ピークが %TRR の濃度で認められた(報告書: 図 46)。対応する水層には 6 個の ピークが 5%TRR の濃度で認められた(報告書: 図 46)。極性物質の幾つかは 同定され、

さらに、検体の が同定された。  
( ) が極めて低い濃度 ( TRR) でまめ植物、茎葉部、青まめ、青まめ子実、乾燥茎葉部に検出された(報告書: 図 21~45)。抽出液中の放射能で同定及び/または特徴付けできた放射能は約 であつた。

HPLC 分析により 抽出液中の主要構成成分は親化合物であり、さらに幾つかの ピークがみられた(報告書: 図 24, 31, 49, 55, 62, 66, 78, 83)。

(4) 保存安定性試験

残留放射能の凍結保存中の安定性をまめ試料で調査した。その結果を表 8 に示す。

表 8. 凍結保存後のまめ中の残留放射能の分布 (mg/kg)

試料	保存期間 (日)	TRR (計算値)	抽出液	抽出液	抽出残渣
青まめ 14 DALT ( 標識体)	12	1.027	1.003 (97.6%)	0.007 (0.7%)	0.017 (1.7%)
	147	0.947	0.927 (97.8%)	0.006 (0.7%)	0.014 (1.5%)
青まめ 15 DALT ( 標識体)	43	0.090	0.088 (97.4%)	<0.001 (0.5%)	0.002 (2.1%)
	873	0.062	0.057 (91.9%)	0.001 (1.6%)	0.004 (6.5%)
まめ乾燥茎葉部 51DALT ( 標識体)	25	93.775	79.801 (85.1%)	8.708 (9.3%)	5.265 (5.6%)
	837	73.183	67.424 (92.1%)	0.359 (0.5%)	5.400 (7.4%)

( ) = %TRR.

試験期間(採取から安定性試験の実験まで 標識体では約 5 ヶ月、 標識体では約 29 ヶ月)中の試料の約-18℃での保存安定性は非常に良好であつた。青まめ 14/15DALT( 標識体/ 標識体)及びまめ乾燥茎葉部 51DALT( 標識体)では、保存抽出液の再分析後及び元の試料を再抽出・分析後において放射能の量及び特徴に変化は認められなかつた。

(5) 代 謝

各試料中で同定された代謝物を表 9 にまとめ、またその想定代謝経路を図 3 に示す。

表 9. <sup>14</sup>C-検体を処理したため試料中の同定代謝物

試 料	化合物名
まめ植物	親化合物, ( )
まめ茎葉部	親化合物, ( )
青まめ	親化合物, ( ), ( )
青まめ莢	親化合物, ( )
青まめ子実	親化合物, ( ), ( )
まめ乾燥茎葉部	親化合物, ( ), ( )
まめ乾燥莢	親化合物, ( )
まめ乾燥子実	親化合物, ( )

まめ乾燥茎葉部で同定された親化合物の 結合部置は特定できず、  
または への結合であると推測された。

結 論

<sup>14</sup>C-検体を 3 × 500g ai/ha の処理量で、初回散布は開花時に行い、2 回目の散布はその後 8 ~10 日後に、3 回目は 2 回目散布 8~10 日後に実施した。まめの可食部における総残留放射能は極めて低かった(青まめ: 標識体; 1.027mg/kg / 標識体; 0.090mg/kg, 乾燥子実: 標識体; 0.205mg/kg / 標識体; 0.126mg/kg)。青まめの莢と子実の放射能レベルは子実よりも莢で高いことが示された。それは乾燥莢と乾燥子実でも同じであった。放射能の多くは植物/茎葉部試料中及び乾燥茎葉部試料中で検出された( 標識体 / 標識体; 127.285mg/kg)。検体の茎葉部から莢へ及び莢から子実への移行は極めて少ないと思われた。

抽出効率は非常に良好で抽出残渣中の残存残留放射能は低かった。多くの場合、89.0%TRR 以上が 抽出できた。まめ乾燥茎葉部( 標識体)、乾燥莢( 標識体)及び乾燥子実( 標識体/ 標識体)では の抽出効率は低く、追加の 抽出で総抽出可能放射能を増やすことができた。抽出可能残留放射能(ERR)は両標識体の乾燥子実を除き 90.4%TRR 以上であった。検体は炭水化物、たんぱく質あるいは他の自然物質との結合型残留放射能へ殆んど代謝されないことが示された。

全ての試料において未変化の親化合物が HPLC により主要残留放射能として検出された。微量代謝物 が 標識体処理試料の青まめ、莢、子実並びに乾燥莢及び乾燥子実で検出された。 標識体では代謝物の多くが元の 抽出液を液々分配後に検出できた。 層は大部分親化合物であった。

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。

Boscalid

には極微量のピークとピークが検出された。極性物質の一部は親化  
合物のと同定され、  
さらに検体のが同定された。が極めて低濃度（  
TRR）でまめ植物、茎葉部、青まめ、子実及び乾燥茎葉部に検出された。

図 3. まめにおける想定代謝経路



### 3. 土壌中運命に関する試験

#### 3-1. <sup>14</sup>C-標識検体の好氣的土壌運命試験

(代謝・分解 6)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1999年

供試化合物:

<sup>14</sup>C-標識検体:

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

標識体

放射化学的純度:

比放射能:

標識体

放射化学的純度:

比放射能:

標識部位選定理由:

供試土壌: 壤質砂土 (ドイツ分類) [砂質壤土 (USDA 分類)]

採取場所: Limburgerhof、ドイツ

有機炭素: 1.3%

微生物量: 35.1mgC/100g 乾土

pH: 7.4 (CaCl<sub>2</sub>)

陽イオン交換容量: 12.7meq/100g

最大含水量: 43g 水/100g 乾土

圃場含水量: 16.1g 水/100g 乾土

試験方法: 処理溶液の調製:

各標識体を 溶解し、非標識体溶液で希釈して以下の処理溶液を調製した。

標識体: 2.027mg/ml (157900dpm/μg)

標識体: 1.455mg/ml (171200dpm/μg)

処理方法: 上記の各処理溶液を乾土換算で 1mg/kg 濃度となるように土壌に添加し、十分に混合後、

乾土 100g の添加土壌をガラス皿に採取した。土壌中濃度は 標識体添加土壌

(以下 添加土壌という) では 0.993mg/kg 乾土、 標識体添加土壌

(以下 添加土壌という) では 1.022mg/kg 乾土であった。  
処理土壌を入れたガラス皿を、暗条件、温度  $20\pm 1^{\circ}\text{C}$  でインキュベートした。インキュベーション期間中、土壌水分、蒸発分を補充した。揮発性成分は以下の捕集液で捕集した。

- ① 0.5M NaOH
- ② 0.5M  $\text{H}_2\text{SO}_4$
- ③ エチレングリコール

さらに、NaOH 捕集液中の放射能が  $\text{CO}_2$  由来であることの確認のために  $\text{BaCl}_2$  を添加した。  
その結果、 $\text{CO}_2$  以外の揮発性成分は検出されなかった。

試料採取：添加後、0、7、14、29、57、93、119、182、266、364 日に採取した。

抽出方法：以下に抽出操作概要を示す。

抽出は、室温で懸濁液をろ過、遠心分離して行ない、抽出液は、LSC で放射能を計測し TLC、HPLC で分析した。

生成する分解物の同定のために添加量を多くした土壌試料を調製して、前記と同様に操作を行ない、想定代謝物を単離した。

試験結果：

土壌試料の総放射能の分布、物質収支を表 1、表 2 に示した。

表 1、 添加土壌の分布、物質収支 (%) 添加時濃度：0.933mg/kg

経過日数	抽出性残留放射能			非抽出性 残留放射能	CO <sub>2</sub>	その他の 揮発性成分	物質収支
			合計				
0	98.5	1.2	99.7	0.3	ND	0.0	100.0
7	93.0	2.5	95.5	6.1	0.1	0.0	101.7
14	90.1	3.0	93.1	10.8	0.6	0.0	104.6
29	78.2	3.4	81.7	19.7	1.5	0.0	102.9
57	58.8	3.0	61.8	31.4	3.9	0.0	97.1
93	49.1	3.1	52.2	43.1	6.5	0.0	101.8
119	41.9	2.9	44.8	48.6	8.3	0.0	101.6
182	30.7	2.8	33.4	50.8	11.5	0.0	95.7
266	25.1	2.6	27.7	62.7	13.6	0.0	104.0
364	15.5	2.3	17.8	60.0	15.5	0.0	93.3

表 2、 添加土壌の分布、物質収支 (%) 添加時濃度：1.022mg/kg

経過日数	抽出性残留放射能			非抽出性 残留放射能	CO <sub>2</sub>	その他の 揮発性成分	物質収支
			合計				
0	98.3	1.3	99.6	0.4	ND	0.0	100.0
7	92.8	2.8	95.6	5.6	0.6	0.0	101.8
14	83.0	2.7	85.7	8.6	1.8	0.0	96.1
29	74.8	3.3	78.1	14.6	3.9	0.0	96.6
57	60.4	2.8	63.2	22.5	7.7	0.0	93.4
93	46.3	2.8	49.1	28.3	12.5	0.0	89.9
119	40.3	2.8	43.2	32.7	15.0	0.0	90.8
182	27.5	2.3	29.8	35.2	19.1	0.0	84.1
266	19.6	2.0	21.5	38.6	23.2	0.0	83.4
364	16.2	2.2	18.4	50.1	25.4	0.0	93.9

1 年間のインキュベーションにおける物質収支は、 添加土壌で、100.3%、  
添加土壌で 93.0%であった。また、CO<sub>2</sub>への無機化率はそれぞれ約 16%、約 26%  
であった。

非抽出性残留放射能は、 添加土壌、 添加土壌は 1 年間の終了時点で  
処理放射能に対して、それぞれ 60.0%、50.1%であった。これを解析したところ、  
添加土壌、 添加土壌で、終了時点でそれぞれ 34.4%、31.7%が  
ヒューミン画分であり、その他大部分は フルボ酸画分であった。

抽出性放射性成分の分解物の特徴付けおよび同定の結果を表 3、表 4 に示した。  
なお、親化合物についての HPLC と TLC による比較では、双方の分析結果は総体的に良  
く一致していた。



表 3、 添加土壌の HPLC 分析結果 (処理放射能に対する%)

経過日数				親化合物		合計
0				99.7		99.7
7				95.5		95.5
14				93.0		93.1
29				81.6		81.7
57				61.4		52.2
93				51.7		61.8
119				44.2		44.8
182				32.7		33.4
266				26.3		27.7
364				16.7		17.8

表 4、 添加土壌の HPLC 分析結果 (処理放射能に対する%)

経過日数				親化合物		合計
0				99.6		99.6
7				95.5		95.6
14				85.6		85.7
29				77.9		78.1
57				62.7		63.2
93				48.0		49.1
119				42.0		43.2
182				28.8		29.8
266				20.5		21.5
364				17.3		18.4

上表より、2種の異なる標識体の分解率は良く一致していたことより、分解率はそれぞれの結果の平均値として算出した結果、DT<sub>50</sub>は108日、DT<sub>90</sub>は360日となった。

以上より、ボスカリドは好氣的条件下の壤質砂土中において分解され、そのDT<sub>50</sub>は108日であった。また、2種の分解物が検出されたが、いずれも処理放射能に対して1%以下であった。非抽出性成分では、1年間のインキュベーションにおいて、  
 添加土壌、  
 添加土壌では、34.4%、31.7%がヒューミン画分であり、その他大部分はフルボ酸画分であった。CO<sub>2</sub>への無機化率は、それぞれ約16%、25%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。

Boscalid

図 1. 好氣的土壤条件下における想定代謝経路

3-2-1. <sup>14</sup>C-標識検体の嫌氣的土壤運命試験

(代謝・分解 7-1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2000年

供試化合物：

<sup>14</sup>C-

標識検体：

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度：

比放射能：

標識部位選定理由：

供試土壤：シルト質砂土 (DIN4220) [砂質壤土 (USDA 分類)]

採取場所： Limburgerhof、ドイツ

有機炭素： 1.63%

総窒素： 0.14%

pH： 7.2 (CaCl<sub>2</sub>)

陽イオン交換容量： 12.7meq/100g

最大含水量： 40.7g 水/100g 乾土

試験方法：土壤のプレインキュベーション；100g 乾土相当の土壤をガラス容器に採取し蒸留水を添加して土壤表面に1~2mmの水相を形成した。代謝装置内で通気しながら29日間インキュベートし、嫌気状態となったことを確認した。

処理溶液の調製：各標識体を に溶解して3.416mg/ml (放射化学的純度： ) の処理溶液を調製した。

処理方法：上記の処理溶液を乾土換算で1mg/kg及び30mg/kgとなるように土壤に添加し、直ちに代謝装置内に戻した。

処理土壤を入れたガラス皿を、暗条件、温度 20±1°Cでインキュベートした。インキュベーション期間中、湿った窒素を通気した。揮発性成分は以下の捕集液で捕集した。

- ① 0.5M NaOH
- ② 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- ③ エチレングリコール

試料の採取：添加後、0、3、7、14、30、58、90、120 日に採取した。採取時に酸化・還元電位を測定した。処理量を多くした土壌試料の 127 日後の試料を MS 分析に使用した。

抽出方法：以下に抽出操作概要を示す。

抽出液は、室温で懸濁液をろ過、遠心分離して行ない、抽出液は、LSC で放射能を計測した。40°C 蒸発乾固後、  
で溶解し、HPLC で分析した。

試験結果：

土壌試料の総放射能の分布、物質収支を表 1 に示した。

表 1、放射性成分の分布、物質収支 (%)

添加時濃度 : 1 mg/kg

経過 日数	抽出性残留放射能			非抽出性 残留放射能	CO <sub>2</sub>	その他の揮 発性成分	物質収支
			合計				
0	98.2	2.6	100.9	0.5	0.0	0.0	101.4
3	94.3	3.1	97.4	2.2	0.0	0.0	99.6
7	91.7	3.0	94.7	2.5	0.0	0.0	97.2
14	88.7	4.1	92.8	5.4	0.0	0.0	98.2
30	81.7	4.2	85.9	8.9	0.1	0.0	94.9
58	77.0	4.4	81.4	8.7	0.1	0.0	90.2
90	72.4	3.9	76.4	12.7	0.1	0.0	89.2
120	68.3	5.6	73.9	15.8	0.1	0.0	98.9

物質収支は、平均 95.1%であった。また、無機化率はわずか 0.1%でその他の揮発性成分は検出されなかった。

非抽出性残留放射能は 90 日後、120 日後で処理放射能に対して、それぞれ 12.7%、15.8%であった。これを解析したところ、約 9%がヒューミン画分にあり、微量がフミン酸画分にあった。さらに、約 4%がフルボ酸画分にみられたが、これらの大部分は未変化の親化合物であった。

抽出性放射性成分の分解物の特徴付けおよび同定の結果を表 2 に示した。

表 2、HPLC 分析結果 (処理放射能に対する%)

経過日数	親化合物			合計
0	100.9			100.6
3	97.4			97.4
7	94.7			94.7
14	92.8			92.8
30	85.9			85.9
58	81.1			81.4
90	75.8			76.4
120	73.6			73.9

添加量を多くした土壌試料を HPLC 分析した結果、数種の分解物が同定された (など: 添付分解経路図参照)。

分解は緩やかで DT<sub>50</sub> は 261 日と算出された。DT<sub>90</sub> は算出しなかった。

以上より、ボスカリドは嫌氣的条件下のシルト質砂土において分解され、その DT<sub>50</sub> は 261 日であった。また分解物の量は処理放射能に対して %以下と少なかったが、数種の分解物を同定した。

無機化率は極めて少なく、結合性残留物の生成も 15.8%と少なかった。

3-2-2. <sup>14</sup>C-標識検体の嫌氣的土壤運命試験

(代謝・分解 7-2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2000年

供試化合物:

<sup>14</sup>C-

標識検体:

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度:

比放射能:

標識部位選定理由:

供試土壤: 壤質砂土 (DIN4220) [砂質壤土 (USDA 分類)]

採取場所: Limburgerhof、ドイツ

有機炭素: 1.7%

総窒素: 0.20%

pH: 7.5 (CaCl<sub>2</sub>)

陽イオン交換容量: 16mval/100g

圃場含水量: 20.4g 水/100g 乾土

試験方法:

土壤のプレインキュベーション; 100g 乾土相当の土壤をガラス容器に採取し、蒸留水を添加して土壤表面に1~2mmの水相を形成した。代謝装置内で通気しながら32日間インキュベートし、嫌気状態となったことを確認した。

処理溶液の調製: 各標識体を 溶解して1.18mg/ml (放射化学的純度: ) の処理溶液を調製した。

処理方法: 上記の処理溶液を乾土換算で1mg/kgとなるように土壤に添加し、直ちに代謝装置内に戻した。

処理土壤を入れたガラス皿を、暗条件、温度 20±1°Cでインキュベートした。インキュベーション期間中、湿った窒素を通気した。揮発性成分は以下の捕集液で捕集した。

- ① 0.5M NaOH
- ② 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- ③ エチレングリコール

試料の採取：添加後、0、3、7、14、30、58、90、120 日に採取した。採取時に酸化・還元電位を測定した。処理量を多くした土壌試料の 127 日後の試料を MS 分析に使用した。

抽出方法：以下に抽出操作概要を示す。

抽出液は、室温で懸濁液をろ過、遠心分離して行ない、抽出液は、LSC で放射能を計測した。40°C 蒸発乾固後、溶解し、HPLC で分析した。

試験結果：

土壌試料の総放射能の分布、物質収支を表 1 に示した。

表 1、放射性成分の分布、物質収支 (%)

添加時濃度 : 1 mg/kg

経過日数	抽出性残留放射能			非抽出性 残留放射能	CO <sub>2</sub>	その他の 揮発性成分	物質収支
			合計				
0	90.1	7.2	97.3	1.5	0.0	0.0	98.8
3	94.1	5.5	99.6	3.2	0.0	0.0	102.8
7	91.1	5.8	96.9	4.6	0.0	0.0	101.5
14	87.5	5.6	93.1	5.8	0.0	0.0	98.9
30	83.9	6.7	90.6	9.5	0.1	0.0	100.2
62	81.3	6.6	88.0	12.2	0.1	0.0	100.2
90	78.0	6.1	84.0	12.5	0.2	0.0	96.7
120	77.1	7.1	84.2	14.4	0.4	0.0	99.0

物質収支は、平均 99.8%であった。また、無機化率はわずか 0.4%でその他の揮発性成分は検出されなかった。

非抽出性残留放射能は、120 日後で処理放射能に対して、14.4%であった。これを解析したところ、約半分がヒューミン画分にあり、さらにその約半分がフミン酸画分にあった。残りの約半分がフルボ酸画分にみられたが、これらの大部分は未変化の親化合物であった。

抽出性放射性成分の分解物の特徴付けおよび同定の結果を表 2 に示した。

表 2、HPLC 分析結果 (処理放射能に対する%)

経過日数	親化合物			合計
0	96.4			97.3
3	96.2			99.6
7	95.1			96.9
14	88.6			93.1
30	86.2			90.6
62	81.3			88.0
90	78.0			84.0
120	77.0			84.2

保持時間 9 分にピークが検出され、120 日後で最大 %となった。  
本分解物は ( ) と同定された。

分解は緩やかで DT<sub>50</sub> は 345 日と算出された。DT<sub>90</sub> は算出しなかった。

以上より、本検体は嫌氣的条件下の壤質砂土中において緩やかに分解され、その DT<sub>50</sub> は 345 日であった。唯一の明らかな分解物が最大で %検出され、 と同定された。  
無機化率は極めて少なく、結合性残留物の生成も 14.4%と少なかった。



図 1. 嫌氣的土壤条件下における想定代謝経路

3-3  $^{14}\text{C}$ -標識検体の土壌表層光分解試験

(代謝・分解 8)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2000年

供試化合物:

$^{14}\text{C}$ -

標識検体:

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度:

比放射能:

標識部位選定理由:

供試土壌: 壤質砂土 [砂質壤土 (USDA)]

採取場所: Limburgerhof、ドイツ

有機炭素: 1.9%

pH: 7.3 (CaCl<sub>2</sub>)

陽イオン交換容量: 9.8mval/100g 乾土

最大含水量: 35.9g 水/100g 乾土

試験方法:

土壌試料の調製: 土壌水分を最大含水量の 40% に調製した土壌 34.3g (30g 乾土) を試験容器 (86mm x 40mm x 10mm) に入れた。

検体処理: 標識体として 140.747  $\mu\text{g}$  (280  $\mu\text{L}$  メタノール溶液) を Hamilton シリンジで土壌に処理した。

光照射: 試験容器を長方形の容器に入れて並べ、容器の上部は石英ガラスで密封した。温度を 22  $\pm$  1 $^{\circ}\text{C}$  に管理した。この試験装置には、通気孔を設け、CO<sub>2</sub> 除去湿潤空気を通気した。

CO<sub>2</sub> を含む土壌からの揮発性成分を以下の捕集液で捕集した。

- ① 0.5M NaOH
- ② 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
- ③ エチレングリコール

以下の照射条件で、15日間連続照射した。対照区として非照射区（暗条件）を設けた。

光源；キセノン灯

照度；約 3mW/cm<sup>2</sup> で夏期晴天日に相当、UV フィルターで 290nm 以下をカット

試料の採取；添加後、0、2、6、9、12、15日に照射区及び非照射区より試料を採取した。

抽出方法；土壌試料を抽出した。遠心

分離後、抽出液を合わせ、LSC で放射能を計測した。35℃蒸発乾固後、

再溶解し、HPLC 分析した。抽出残渣は風乾し、燃焼して発生する <sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を LSC で測定した。

試験結果：

土壌試料の総放射能の物質収支を表 1 に示した。

表 1、放射性成分の物質収支 (%)

経過 日数	総投与放射能に対する比率 (%)							
	照射区				非照射区			
	抽出性放射能	非抽出放射能	CO <sub>2</sub>	回収率	抽出性放射能	非抽出放射能	CO <sub>2</sub>	回収率
0	100.0	0.1	0.0	100.1	100.0	0.1	0.0	100.1
2	100.1	2.1	0.0	102.1	99.0	1.4	0.0	100.4
6	98.7	3.9	0.1	102.6	99.4	2.3	0.0	101.7
9	99.2	4.5	0.1	103.7	100.6	2.3	0.0	102.9
12	98.5	4.5	0.1	103.0	100.3	3.2	0.1	103.6
15	92.6	5.5	0.2	98.2	99.8	2.9	0.1	102.9
			平均	101.6			平均	102.3

捕集された揮発性成分は微量の <sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub> のみであった。

照射区の 12 日目から 15 日目にかけての抽出率の減少は、その前の採取時点での減少がみられていないことより、回収率のわずかな減少によると考えられる。しかし、わずかな非抽出放射能の増加がみられ、それは非照射区より大きかった。

抽出性残留放射能の溶媒抽出による収支を表 2 に示した。

表 2、抽出性残留放射能の溶媒抽出による収支

経過 日数	総投与放射能に対する比率 (%)					
	照射区			非照射区		
			抽出性放射能			抽出性放射能
0	99.3	0.7	100.0	99.3	0.7	100.0
2	97.5	2.5	100.1	97.6	1.4	99.0
6	94.8	3.9	98.7	97.8	1.6	99.4
9	90.9	8.3	99.2	99.0	1.7	100.6
12	95.5	3.0	98.5	98.4	1.9	100.3
15	79.3	13.3	92.6	97.5	2.3	99.8

抽出物の HPLC 分析結果を表 3 に示す。

表 3、抽出物の HPLC 分析結果

経過 日数	総投与放射能に対する比率 (%)							
	照射区				非照射区			
			親化 合物	合 計			親化 合物	合 計
0			99.4	100.0			99.4	100.0
2			98.7	100.1			98.1	99.0
6			96.7	98.7			98.6	99.4
9			97.1	99.2			100.1	100.6
12			95.2	98.5			99.4	100.3
15			90.6	92.6			99.2	99.8

15 日間の連続照射により、抽出性残留放射能のほぼ 100%が未変化の親化合物で、15 日後において 90.6%が残留していた。幾つかの分解物は %と極めて微量であった。分解物が約 %検出されたが、減衰傾向を示していた。なお、分解物は非照射区で検出されなかった。は検出されたが、照射区より少なかった。光分解は緩やかで  $DT_{50}$  は 135 日と算出された。暗条件では分解は認められなかった。

以上より、検体の土壌表層における光分解は緩やかであるが、光によって分解が促進された。

3-4. 土壌吸着試験

(代謝・分解 9)

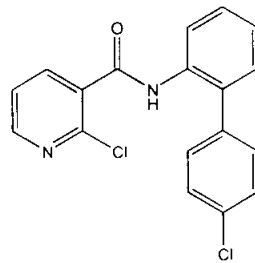
試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2002年

供試化合物：

2-Chloro-N-(4'-chlorobiphenyl-2-yl)nicotinamide



供試土壌：下記の OECD 106 (2000 年版) に準拠した土壌タイプ 2、3、4 および 5 として完全には一致しないが、粘土含有率等の値で分類した以下の 4 種類の土壌 (日本植物防疫協会より入手) を試験に使用した。

土壌試料採取場所	十勝農試	和歌山農試	日植防高知	日植防宮崎
OECD タイプ	3	2	4	5
土壌の種類	畑地土壌 淡色黒ボク土 (火山灰土壌)	畑地土壌 灰色低地土	水田土壌 灰色低地土	畑地土壌 砂丘未熟土
土性	Loam	Light clay	Light clay	Sand
構成比：				
粗砂 (%)	17.5	12.3	5.6	7.3
細砂 (%)	43.0	23.8	36.1	82.8
シルト (%)	24.9	28.8	31.9	5.2
粘土 (%)	14.6	35.1	26.4	4.7
有機炭素 (%)	2.45	2.17	1.24	0.96
pH (H <sub>2</sub> O)	5.6	6.1	6.4	6.2
(CaCl <sub>2</sub> )	4.7	4.7	5.2	4.6
(KCl)*	4.7	5.1	4.9	5.2
CEC (meq/100g)	12.0	14.3	9.8	6.4
リン酸吸収係数	1470	610	500	510
粘土鉱物の種類	アロフェン パーミキュライト	カリン鉱物 パーミキュライト	クォライト イライト	アロフェン ハロイイト
水分量 (% 乾土)*	6.38	2.72	1.70	1.84

\*. での測定値で、その他はより入手。

試験方法：

準拠試験方法；12 農産第 8147 号一部改正 13 生産 1739 号、OECD 106 (2000 年版)

試験溶媒及び濃度の設定；検体の 0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液に対する溶解度を確認したところ、0.7990mg/L と低かったために、添加溶媒の検討を行った。その結果、アセトニトリル 1.0% 含有 0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液に対する溶解度が 2.7745mg/L であった。またメタノール添加溶媒ではガラス吸着が示唆された。したがって、アセトニトリル 1.0% 含有 0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液を試験溶液とした。

また、実験手順上、最高濃度は溶解度の 1/10 以下である必要があること及び分析上の定量下限値 (0.002mg/L) のために 0.2mg/L を最高濃度として以下 0.1、0.05、0.02 及び 0.005mg/L の 5 濃度とした。

分析法確認；水層については、最高濃度 (0.2mg/L) 及び最低濃度の 1/5 である 0.001mg/L により添加回収試験を GC-MS 法により分析して実施した (ガイドラインでは最低濃度の 1/100 で確認試験を実施することになっているが、0.002mg/L が定量限界であり、試験結果の正確性を上げるために実際の試験濃度に近い濃度で実施した)。土壌では 0.2mg/kg 及び 0.005mg/kg で実施した。また日差再現性を求めるために別の日に水層及び土壌のそれぞれの最高濃度で添加回収試験を実施した。

その結果、すべての試験において平均回収率が 90~110%、相対標準偏差 10% 以内及び真度が理論値の 10% 以内であった。また、4 土壌のブランク試験の GC-MS クロマトグラムに検体の定量分析を妨害するようなピークは観察されなかった。さらに回収率の再現性も良好であり、本分析法が妥当であることが確認された。

土壌/0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液比率の設定；実験濃度 0.2mg/L で十勝及び高知土壌を用いて土壌/0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液比率を 1/1、1/5、1/25 での土壌吸着比率を検討した結果、いずれの土壌も土壌吸着割合は 20% 以上であり、1/1、1/5 では吸着した割合は 80% 以上であった。したがって、低濃度における水層中の検体分析の困難性を予想して 1/25 に比率を設定した。

吸着平衡時間の決定；4 土壌 1.00g をアセトニトリル 0.10% 含有 0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液 22.5mL を加え (土壌/溶液比率：1/25)、25°C、12 時間振とう後、検体実験濃度が 0.2mg/L となるように添加した。暗所、25°C、2、4、8、16 及び 24 時間振とう後に遠心分離して水層中の検体濃度を求め、土壌吸着割合 A (%) 及び 1 時点前の値に対する変化率を算出した (表 1 参照)。その結果、すべての土壌において振とう時間 16 時間以上で変化率が 10% 以内であり検体が平衡に達していることが確認された。

また、24 時間後の水層及び土壌中の検体濃度を測定した結果、物質収率は 93.2~101.9% であり良好な回収率であることが確認された。その時求めた吸着係数は表 2 のとおりであった。

表 1. 振とう時間と吸着割合

振とう時間 (時間)	十勝土壤		和歌山土壤		高知土壤		宮崎土壤	
	土壤吸着割合 A (%)	変化率 (%)	土壤吸着割合 A (%)	変化率 (%)	土壤吸着割合 A (%)	変化率 (%)	土壤吸着割合 A (%)	変化率 (%)
2	27.7	—	50.9	—	34.8	—	15.2	—
4	20.1	27.4	57.6	13.2	39.0	11.9	15.1	0.6
8	19.1	5.1	54.9	4.6	40.6	4.1	19.5	29.0
16	35.7	86.6	61.1	11.1	45.5	12.1	28.1	43.9
24	38.8	8.7	59.2	3.1	48.3	6.4	27.4	2.5

表 2. 吸着平衡時間における吸着係数

	Freundlich 吸着係数 ( $K_d$ , mL/g)	有機炭素含量 (%)	有機炭素含量に基づく吸着係数 ( $K'_{oc}$ , mL/g)
十勝土壤	14.0	2.45	$5.72 \times 10^2$
和歌山土壤	33.8	2.17	$1.56 \times 10^3$
高知土壤	25.7	1.24	$2.08 \times 10^3$
宮崎土壤	7.50	0.96	$7.81 \times 10^2$

吸着実験：4 土壤 1.00g を秤取し、アセトニトリル 0.10% 含有 0.01M  $\text{CaCl}_2$  溶液 22.5mL を加え（土壤/溶液比率：1/25）、25°C、12 時間振とうした。その後、検体実験濃度が 0.005、0.02、0.05、0.1、0.2mg/L となるように添加した。暗所、25°C、24 時間振とう後に、遠心分離して水層及び土壤中の検体濃度を求めた。

さらに水層中濃度から吸着等温線の回帰式を作成し、Freundlich 吸着係数 ( $K_d$ ) 及び有機炭素含量に基づく吸着係数 ( $K'_{oc}$ ) を算出した。

試験結果：

表 3 に、吸着係数を示す。

表 3. 吸着平衡時間における吸着係数

	Freundlich 吸着係数 ( $K_d$ , mL/g)	有機炭素含量 (%)	有機炭素含量に基づく吸着係数 ( $K'_{oc}$ , mL/g)
十勝土壤	16.5	2.45	$6.72 \times 10^2$
和歌山土壤	37.2	2.17	$1.71 \times 10^3$
高知土壤	21.8	1.24	$1.76 \times 10^3$
宮崎土壤	15.5	0.96	$1.62 \times 10^3$

#### 4. 水中運命に関する試験

##### 4-1. <sup>14</sup>C-標識検体の緩衝液中光分解運命試験

(代謝・分解 10-1)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 1999年

供試化合物:

<sup>14</sup>C- 標識検体:

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度:

比放射能:

[申請者注: 標識部位選定理由:

]

供試水: pH5の酢酸緩衝液

光源: キセノン灯、照度約 3mW/cm<sup>2</sup> (申請者注: 測定波長 315~400nm)  
(夏期日中に相当)、UV フィルターで <290nm の波長をカット

試験方法:

使用するガラス容器はすべてオートクレーブで滅菌処理した。

試験溶液の調製: 非標識体メタノール溶液に標識体メタノール溶液を添加し、滅菌した酢酸緩衝液に溶解した (約 3 μg/ml)。

処理方法:

石英ガラス製蓋付き容器 (約 20ml 容) 10 個を長方形の温度調節器付のブロックに納め、うち 8 個の容器を試験溶液で満たした。滅菌フィルターを通し 0.5M NaOH で CO<sub>2</sub> を除去した湿潤空気を通気した。検体から発生する CO<sub>2</sub> 及びその他の揮発性成分は捕集液 (エチレングリコール、0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.5M NaOH) を入れた 3 本の捕集瓶で捕集した。

量子収率測定のため、残りの 2 個の容器に化学アクチノメーター溶液を入れた。量子収率は Dulin 及び Mill にしたがって算出した。

光照射区は 15 日間連続照射し温度を 22±1°C に保持した。暗条件 (非照射区) も設定して同様に行った。

試験溶液試料及びアクチノメーター溶液を照射開始 0、1、4、8、15 日後に採取し、前



処理なしで直接分析した。液体シンチレーションカウンターで放射能を測定し、HPLC で分解パターンについて分析した。

結 果：

試験溶液の光照射区及び非照射区の投与放射能に対する物質収支は表 1 のとおりであった。

表 1、投与放射能に対する物質収支（投与放射能に対する%）

経過日数	光照射区			非照射区
	溶液中	CO <sub>2</sub>	合計	溶液中
0	100.0	0.0	100.0	100.0
1	98.3	0.0	98.3	97.7
4	95.2	0.1	95.3	95.0
8	98.9	0.1	99.0	100.2
15	94.4	0.1	94.5	101.0
		平均	97.4	98.8

物質収支の平均値は照射区で 97.4%、非照射区で 98.8%であった。

また、HPLC 分析の結果、試験溶液中の放射能は、すべて親化合物であり、検体は直接光照射により分解しないことが確認された。

量子収率は  $< 2.45 \times 10^{-4}$  であった。

以上より、検体は直接的光分解に対して安定で、光分解は認められなかった。

緩衝液中における半減期は、照射時間の 2 倍以上となり算出不能であった。

4-2.  $^{14}\text{C}$ -標識検体の自然水中光分解運命試験

(代謝・分解 10-2)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2002年

供試化合物:

$^{14}\text{C}$ -

標識検体:

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度:

比放射能:

[申請者注: 標識部位選定理由:

]

供試水: 1999年1月21日、ドイツ Shifferstadt 西の池「Kleiner Waldsee」より採取、  
pH8.1、総有機炭素含有量 13.0mg/L、硝酸態窒素 0.57mg/L、

光源: キセノン灯、照度約 3mW/cm<sup>2</sup> (申請者注: 測定波長 315~400nm)  
(夏期日中に相当)、UV フィルターで <290nm の波長をカット

試験方法:

試験溶液の調製: 非標識体メタノール溶液に標識体メタノール溶液を添加し、自然水  
で希釈した (2.33 μg/ml)。

処理方法:

温度調節した石英ガラス製蓋付き容器を試験溶液で満たした。0.5M NaOH で CO<sub>2</sub> を除去し  
た湿潤空気を通気した。検体から発生する CO<sub>2</sub> 及びその他の揮発性成分は捕集液 (エチ  
レングリコール、0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.5M NaOH) を入れた 3 本の捕集瓶で捕集した。

光照射区は 8 日間連続照射し温度を 22±1°C に保持した。

暗条件 (非照射区) も設定して同様に行った。

試験溶液試料を照射開始 0、1、3、6、8 日後に採取し、液体シンチレーションカウン  
ターで放射能を測定し、HPLC で分解パターンについて分析した。

結 果：

試験溶液の光照射区及び非照射区の投与放射能に対する回収率及びHPLC分析結果は表1のとおりであった。なお揮発性成分は、検出されなかった。

表1、投与放射能に対する回収率（%）及びHPLC分析結果

経過日数	光照射区			非照射区	
	親化合物		回収率	親化合物	回収率
0	99.7		100.0	99.7	100.0
1	97.5		98.0	未分析	94.5
3	95.8		96.5	未分析	101.9
6	95.1		96.6	未分析	94.6
8	94.4		95.7	93.2	93.7

回収率は照射区で95.7~100%、非照射区で平均93.7%であった。

以上より、検体は、人工光の8日間連続照射において、光分解は認められず、未分解の検体は投与放射能の94%を超えていた。

また、自然水中の半減期は照射時間の2倍以上となり算出不能であった。

4-3. 蒸留水及び自然水中光分解試験

(代謝・分解 11)

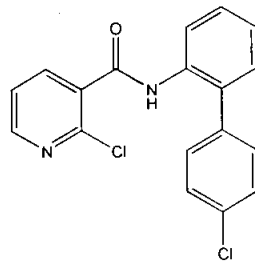
試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2001年

供試化合物: 純品(純度: )

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide



供試水:

滅菌蒸留水: 滅菌イオン交換水 (pH5.75、電気伝導率:  $22.7 \mu\text{S}/\text{cm}$ 、溶存酸素:  $6.23\text{mg}/\text{L}$ )

滅菌河川水: 2001年10月15日、川より採取 (pH6.62、電気伝導率:  $117.0 \mu\text{S}/\text{cm}$ 、溶存酸素:  $6.72\text{mg}/\text{L}$ )

光源: キセノン灯、フィルター付き

光強度 (波長範囲 290~800nm): 滅菌蒸留水— $609\text{W}/\text{m}^2$ 、滅菌河川水— $612\text{W}/\text{m}^2$

試験方法:

試験溶液の調製: 検体のアセトニトリル溶液 (約  $100\text{mg}/\text{L}$ ) を調製し、供試水で希釈した (試験濃度分析値: 滅菌蒸留水:  $1.0018\text{mg}/\text{L}$ 、滅菌河川水:  $1.0248\text{mg}/\text{L}$ )。

処理方法:

光照射区: 共栓付き石英ガラス製試験管に試験溶液  $10\text{ml}$  を入れ密封し、120時間連続照射した。試験溶液の温度は、滅菌蒸留水で  $24.6\sim 24.8^\circ\text{C}$ 、滅菌河川水で  $26.6\sim 24.9^\circ\text{C}$  であった。

非照射区: 完全に遮光した試験溶液を照射区と同様に処置した。

試験溶液試料を照射開始 0、1、24、48、72、96、120時間後に採取し、HPLCにより検体濃度を定量分析した。

結果：

試験溶液の光照射区及び非照射区の滅菌蒸留水、滅菌河川水中の検体濃度は下表のとおりであった。

表. 光照射区及び非照射区の滅菌蒸留水、滅菌蒸留水中の検体濃度 (mg/L)

経過時間	滅菌蒸留水		滅菌河川水	
	光照射区	非照射区	光照射区	非照射区
0	1.0018	1.0018	1.0248	1.0248
1	1.0115	1.0141	1.0196	1.0320
24	0.9815	1.0126	1.0083	1.0363
48	0.9912	1.0023	1.0037	1.0170
72	0.9542	1.0108	0.9929	1.0256
96	0.9914	0.9885	0.9285	1.0111
120	0.9962	1.0070	0.9435	1.0190

120 時間の連続光照射により、検体は安定であった。非照射区も同様安定であった。

本試験条件の連続 120 時間照射は、自然太陽光 [北緯 35 度、春 (4 月~6 月)] に換算して約 30 日に相当するが、安定であったため水中半減期 DT50<sub>SUN</sub> は算出しなかった。

4-4. <sup>14</sup>C-標識検体の水/底質系における自然条件下での光分解運命試験 (代謝・分解 12)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年: 2001年

供試化合物:

<sup>14</sup>C- 標識検体:  
2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度:

比放射能:

[申請者注: 標識部位選定理由:

]

供試水/底質試料: 2000年6月19日にドイツ国内の Schifferstadt の西、Kastenberghede の森の中の天然の池より採取した。水相試料は0.2mm篩でろ過し、底質試料は2mm篩で篩過した。物性等は以下のとおりである。

	水相	底質相
pH:	8.8	—
酸素 (%)	96	—
酸素 (mg/L)	16.8	—
酸化還元電位 (mV)	235	-130
バクテリア	$8.14 \times 10^2$ /ml	$4.77 \times 10^6$ /g
菌類	2 /ml	$4.39 \times 10^4$ /g
放線菌	0 /ml	$2.52 \times 10^4$ /g
土性	壤質砂土 (USDA) 粘土質砂土 (ドイツ DIN)	

試験方法:

試験系の調製: 試験区として、湿潤底質試料 400g に水試料 1950ml を加え、野外で降雨を避け、遮光して 8 日間放置して熟成した。水が 10% 以上蒸発した場合は自然水を補充した。対照区とし、水試料のみで試験区と同様に処置した。

処理方法: BBA ガイドラインに従うと最大使用量 (700 g ai/ha) と水深 30cm までの分布から添加量は 466  $\mu$ g ai/試験系 (2000ml) となるが、460  $\mu$ g ai/試験系として検体の 460  $\mu$ g/1000  $\mu$ L アセトニトリル溶液を 7 月 5 日に試験系に添加した。

試験系を野外で降雨に曝されないようにして自然光に曝露してインキュベートした（平均水温：18.1℃）。開始 0、1、2、7、14、30、58、103、120 日後に試験系を取り外し、水相と底質相を分離した。

抽出及び分析：

水相試料は、放射能を液体シンチレーションカウンターで測定し、HPLC-MS で分析した。底質試料は、アセトニトリル/水の 1：1 混液で抽出し、抽出液の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定した。次いで、底質試料をアセトニトリルで抽出し、放射能を測定した。さらに抽出後の底質試料を風乾後、燃焼により非抽出性残留量を測定した。

抽出試料は、HPLC、HPLC-MS、HPLC コクロマトグラフィーにより同定及び定量を行った。

結果：水相、底質相における放射能の減衰及び分布は表 1 のとおりであった。

表 1. 水/底質系における放射能の減衰及び分布

添加後 日数	水 相	底質相			物質収支	物質収支損 失 (CO <sub>2</sub> )
		抽出性	非抽出性	合 計		
投与放射能に対する比率 (%)						
0	96.15	0.04	<LOQ	0.04	96.19	3.81
1	88.50	8.38	0.55	8.93	97.43	2.57
2	84.33	12.06	1.05	13.11	97.44	2.56
7	70.59	19.97	2.23	22.20	92.79	7.21
14	60.90	25.43	6.26	31.69	92.59	7.41
30	41.10	23.95	12.37	36.32	77.42	22.58
58	28.33	27.09	27.9	54.99	83.32	16.68
103	19.84	32.07	48.27	80.34	100.18	---
120	22.01	30.69	20.46	51.15	73.16	26.84

水相中の放射能は投与放射能に対して初期値 96.2% から 120 日後には 22.0% まで減少した。一方、底質相においては、抽出性放射能は初期値 <0.1% から 30.7% となり、非抽出性放射能は初期値 <LOQ から 103 日後に 48.3% まで増加したが、120 日後には 20.5% に減少した。また、物質収支が 96.2% から 73.3% まで低下したが、これは CO<sub>2</sub> の生成によると考えられる。

水相中の HPLC 及び HPLC-MS による分析結果を表 2 に示す。

表 2. 水/底質系における水相中の同定・定量分析結果

添加後 日数	水相合計 対添加量 %	親化合物			
		対添加量 %	μg/100g		
0	96.15	96.15	227.60		
1	88.50	88.50	213.97		
2	84.33	84.33	206.32		
7	70.59	63.32	149.98		
14	60.90	51.86	123.26		
30	41.10	31.68	82.48		
58	28.33	25.70	60.80		
103	19.84	19.84	50.76		
120	22.01	19.17	47.87		

検体（親化合物）は急速に減少し、添加 30 日後には添加量の約 40%となった。また、分解物のひとつが（構造式は以下のとおり）と同定され、また添加 日後に 分解物が微量（ $\quad$  %）検出された。

底質相中の HPLC コクロマトグラフィーによる分析結果を表 3 に示す。

表 3. 水/底質系における底質相中の同定・定量分析結果

添加後 日数	抽出合計 対添加量%	親化合物	
		対添加量%	$\mu\text{g}/100\text{g}$
0	0.04	0.02	0.07
1	8.38	8.38	14.53
2	12.06	11.82	20.64
7	19.97	18.79	32.46
14	25.43	24.04	42.92
30	23.95	22.06	41.13
58	27.09	23.56	41.83
103	32.07	28.21	51.49
120	30.69	26.53	48.21

検体（親化合物）は、添加 103 日後には添加量の 28.3%となり試験終了時点では 26.5%に減少した。分解物合計は 時点で %であった。7種の分解物が検出されたが、すべての時点でそれぞれ %を越えることはなかった。

以上より、検体は水/底質系において分解され が分解物として同定された。また、 $\text{CO}_2$ への分解が示唆され、その生成量は 時点で %となった。したがって、主たる分解経路は及び 分解物への分解、無機化並びに底質相での非抽出性残留物となることと推論される。



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。

Boscalid

図 1. 水/底質系における推定光分解経路

4-5.  $^{14}\text{C}$  - 標識検体の加水分解運命試験

(代謝・分解 13)

試験機関 :

[GLP対応]

報告書作成年 : 1999年

供試化合物 :

$^{14}\text{C}$ - 標識検体 :

2-Chloro-N-(4'-chloro-biphenyl-2-yl)nicotinamide

放射化学的純度 :

比放射能 :

[申請者注 : 標識部位選定理由 ;

]

供試水 : pH4、7、9 の緩衝液 (50°C試験)

pH5、7、9 の緩衝液 (25°C試験)

(pH4:クエン酸/塩酸緩衝液、pH5:クエン酸/水酸化ナトリウム緩衝液、pH7:リン酸緩衝液、

pH9:硼酸/塩化カリウム/水酸化ナトリウム緩衝液)

試験方法 :

試験溶液の調製 : 標識体アセトニトリル溶液 (50°C試験時 : 418  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、25°C試験時 : 414  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 360  $\mu\text{L}$  をそれぞれの pH 緩衝液 (10 倍に希釈した Titrisol) 50ml に添加し 3mg/L の試験溶液を調製した。

処理方法 : 試験溶液 1.5ml を autosampler バイアルに充填し、50°C試験では 5 日間、25 度試験では 30 日間、暗所でインキュベートした。

試料の採取/分析 : 50°C試験では、処理後 0、1、2、3、4、5 日後に、25°C試験では処理後 0、6、11、15、20、30 日後に、それぞれ採取し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定し、HPLC と HPTLC で代謝パターンを分析した。また、全ての分析試料の無菌性を確認した。

結果：

表 1 に 50℃における試験結果、表 2 に 25℃における試験結果を示した。

表 1. 50℃試験における物質収支

処理後日数	pH 4	pH 7	pH 9
0	100.0	100.0	100.0
1	100.5	100.4	100.5
2	102.0	99.8	101.4
3	101.0	100.4	100.5
4	101.6	100.6	100.6
5	101.6	100.8	101.3
平均	101.1	100.3	100.7

表 2. 25℃試験における物質収支

処理後日数	pH 5	pH 7	pH 9
0	100.0	100.0	100.0
6	99.6	99.0	99.5
11	98.9	99.3	99.0
15	98.9	99.3	99.3
20	99.5	99.2	99.3
30	99.5	100.1	99.8
平均	99.4	99.5	99.5

物質収支の平均値は、99.4~101.1%の範囲であった。

また、無菌性試験の結果、すべての試料が無菌状態にあったことが確認された。

さらに、50℃試験、25℃試験のすべての試料を HPLC 及び HPTLC にて分析したが、いずれも分解は認められなかった。

以上より、検体は pH 4、5、7、9 (25℃、50℃) の暗条件で安定であり、分解物は認められなかった。DT<sub>50</sub> 値は、試験期間の 2 倍以上となり算出不能であった。

## 代謝分解のまとめ

本検体の有する  ないしは  を標識した検体を用いて実施した動物、植物、土壌及び水中における代謝、分解、残留の概要は以下のとおりであり、想定代謝経路及び結果の概要を以降の頁に示した。

### 動物

50mg/kg、500mg/kg の経口投与による動物体内における動態試験より、排泄においては、性、用量に係わりなく減衰は速やかで、48 時間後に 90%以上が、168 時間後に 94%以上が排泄された。主要排泄経路は糞であり、体組織からは 0.02~0.04%が回収された。血漿中では高・低用量で雌雄ともに 2 峰性を示し、最初のピークは 0.5~1 時間後、第 2 のピークが T<sub>max</sub> として 8 時間後に現れ、その後 2 相性で消失した。血中においても同様な傾向を示したが、24 時間までは血漿中濃度の方が高く血球成分と結合していないことを示していた。また、組織内濃度においても 8 時間後にピークを示し、その後急速に減少した。消化管内容物・屍体以外で高濃度残留を示した組織は、脂肪、甲状腺、腎、肝、卵巣であった。反復投与による動態の変化はみられなかった。胆汁排泄では、高用量で 11~12%が、低用量で 39~40%が胆汁中に排泄され吸収率はそれぞれ約 15%、約 55%と推定された。

代謝試験より、糞中での主要代謝物は

であり、それぞれ最大で約  %、約  %みられた。尿中では  および  が主たる代謝物であり、それぞれ最大約  %、約  %みられた。胆汁中では、

および  が主要代謝物であり、それぞれ最大約  %、約  %であった。

肝臓中では  及び  が主要代謝物であり、それぞれ約

%であった。腎臓中では、雄は  雌は  が主要代謝物であるが、いずれも  %未満であった。また、血漿中では数種の代謝物がみられたがいずれも  %未満であった。

以上より、本検体の動物体内における主要代謝経路は

胆汁を介しての糞中排泄であ

った。

### 植物

レタス、ぶどう及びいんげんと同属のまめ (Bush bean) を用いて、実用散布濃度で実施した。

その結果、レタスでは散布 18 日後の収穫で、約 17.5mg/kg の残留放射能がみられたが、親化合物のみが確認された。ぶどうにおいては散布 45 日後の収穫で、果実に約 1.2mg/kg または 2.1mg/kg、果柄に 12.4mg/kg または 19.6mg/kg、葉部に 43.7mg/kg または 63.4mg/kg の残留放射能がみられたが、親化合物のみが確認された。したがって、両作物ともに代謝分解は極めて緩やかであるといえる。

まめの代謝試験においては、散布直後に植物体、散布約 2 週間後に青まめ及び茎葉部、約 52 日後にまめ乾燥茎葉部、乾燥莢及び乾燥子実を採取した結果、可食部の青まめでは 1.03mg/kg または

0.09mg/kg、乾燥子実で 0.21mg/kg または 0.13mg/kg が検出された。残留の多くは植物体、茎葉部、乾燥茎葉部中で検出され、それぞれ最大 49.09mg/kg、66.24mg/kg、127.29mg/kg であった。したがって本検体は散布された茎葉部、莢から可食部である種子への移行性は極めて少ないと考えられた。また、主要残留物は親化合物であったが、微量代謝物として  
等が検出された。

#### 土 壤

暗所の好氣的及び嫌氣的条件下、約 1mg/kg 乾土の処理をして試験を実施した。その結果、好氣的条件下では  $DT_{50}$  は 108 日であった。 $CO_2$  無機化率は 16% または 26% であり、主要分解物としては  
等が検出された。一方、嫌氣的条件下では  $DT_{50}$  は 261 日または 345 日であった。 $CO_2$  無機化率は極僅かであり、主要分解物として、

検出され、その他

等がそれぞれ %以下で検出された。

土壤表層における光分解試験では、 $DT_{50}$  は 135 日であった。 $CO_2$  無機化率は極僅かであり、%前後の  
分解物 2 種がみられた。

#### 水 中

pH 4、5、7、9 (50°C5 日間、25°C30 日間) による濃度 3mg/L での加水分解試験では、極めて安定で加水分解性はみられなかった。pH 5 緩衝液中 15 日間、蒸留水中 120 時間または自然水中 8 日間または 120 時間試験で濃度 1~3mg/L での光分解性試験を実施したが、いずれも安定で  $DT_{50}$  は算出できず、分解物は確認されなかった。

一方、野外の自然光による自然水を用いた実用使用量に基づく濃度で 120 日間暴露した水/底質系試験では、水相中において 120 日後に投与量の 22% まで減少し、底質中では 103 日後に最大 48.3% を示しその後減少した。物質収支は 73.3% まで低下したが、これは  $CO_2$  に無機化したためと考えられる (推定  $CO_2$  無機化率: 26.84%)。また、主分解物として  
が

検出され、

以上より、主たる分解経路は、  
及び  
分解物への分解、無機化並びに非抽出性残留物になることであると推論される。





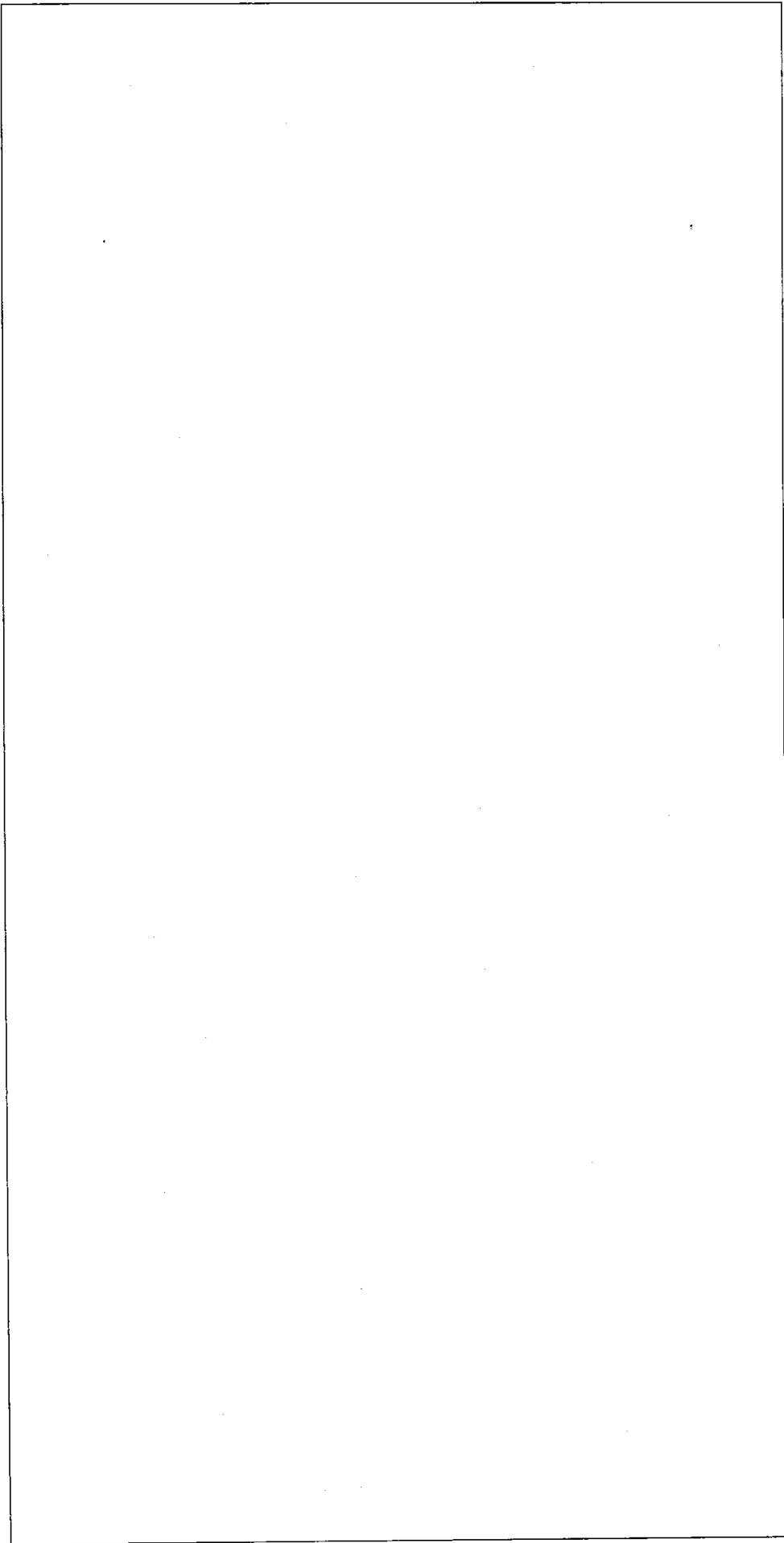




本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はBASF ジャパン株式会社にある。

Boscalid

ボスカリドの動植物等における代謝分解経路図



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

Boscalid

ボスカリドの開発年表

