

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 動物における動態と代謝試験

(2) [^{14}C]BSN 2060 : 雌雄ラットにおける定量的全身オートラジオグラフィー(QWBA)

(資料番号 : 動物代謝 2)

試験機関 :

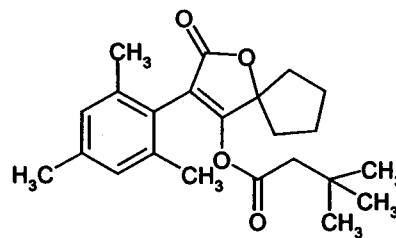
代謝/環境動態研究所(ドイツ)

報告書作成年月日 : 2003 年 12 月 17 日 [GLP 対応]

供試標識化合物

化学名 : 3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造 :



* : 標識部位

標識 : [^{14}C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能 :

放射化学的純度 :

標識位置の設定理由 :

【方法】

1. 動物

平均体重約 200 g、7-12 週齢のウィスター系雌雄ラット(Hsd/Cpb: WU)を、約 7 日間馴化後、実験に供した。ケージカード及び尾への着色により識別し、供試した。

2. 投与量及び試験群

投与量設定に際しては、被験物質の比放射能等を考慮し、先に実施した代謝試験(動物代謝 1)における低投与量に類似した 3 mg/kg 体重に投与量を設定した。

3. 投与及び試料採取(表 2)

適切な量の[I]を 0.5%トラガカント水溶液に懸濁し、投与溶液を調製した後、それぞれの動物に投与溶液 2 mL を経口投与した。実際の投与量は雄ラット及び雌ラットでそれぞれ 1.84 及び 1.41 mg/kg bw と算出された。

放射能標識[I]を投与後、ラットを個別に代謝ケージに収容し、投与 1、4、8、24、48 及び 72 時間後に、雌雄それぞれ 1 匹のラットを屠殺した非放射能動物は投与後 4 時間に屠殺した。

4. 全身オートラジオグラフィー

屠殺後、金属保定器で身体を伸ばした状態で固定し、直ちに約-70°Cで凍結した。その後、動物を保定器からはずして、カルボキシメチルセルロース(7~8%)中に包埋後、50 µm 厚の切片を作成した。切片を 24 時間凍結乾燥後、イメージングプレートに露光した後、イメージングプレートを Fuji BAS 5000® Image Analyser でスキャンした。

5. 定量的全身オートラジオグラフィー

各臓器あるいは臓器の一部について、一定の面積を積分し、バックグラウンドを減算した後、ある特定の組織中の放射能濃度に比例する mm² 当りの Photostimulated luminescence (PSL) 値を求めた。20 µm 切片厚の脳灰白質の自己吸収特性用に校正されている既知濃度の放射能標準線源をラット切片と同時に露光し、同じ手法で積分した。積分後、PSL/mm² と dpm/g 組織間の一次回帰分析により得られた関係を用いて凍結乾燥したラット切片中の放射能濃度を求めた。凍結乾燥時の水分損失及び各臓器の自己吸収率に基づいて、湿重量当りの総放射能濃度(TRR)を算出した。

TRR は各組織について、ラジオルミノグラフィーにより 1 回から 6 回測定し、それぞれの値の算術平均を求めた。

【結果】

1. 臓器及び組織における分布の定性的評価

投与 4 時間後までに多量の放射能が胃及び小腸に認められたことから、この期間においても投与された BSN 2060 懸濁液の一部が溶解していなかったことが示唆された。一方、既に吸収された量は動物体全体に速やかに分布した。全ての切片において、肝臓、腎臓及び褐色脂肪において血液に検出されたよりも多量の放射能が検出された。そのほか全ての臓器及び組織(例えば、肺、脾臓、心筋、精巣、子宮、骨、筋肉)で認められた放射能は血中と同程度あるいはより少ない量であった。

全臓器及び組織における相対分布パターンは 24 時間後までに顕著に減少した。筋肉よりも濃い灰色の領域が両性の肝臓、腎臓、血液、肺及び特に雌の褐色脂肪で認められた。

投与 72 時間後までに動物中の放射能は更に減少した。両性の肝臓、腎臓及び大腸内容物(糞)並びに雌の脂肪組織(小腸及び腎脂肪)にわずかに程度の強い黒化が認められた。肝臓、腎臓及び糞において比較的多くの放射能が認められたことから、化合物に関連する放射能が未だに分解や排泄されていることが示唆された。より初期

の時間に比べ、放射エネルギーが少ないことは明らかであった。

2. 臓器及び組織分布の定量的評価

大部分の臓器及び組織における換算濃度は投与濃度(雄:1.84 mg/kg、雌:1.41 mg/kg)に比べ相対的に低く(表1及び表2)、投与1時間後の雄ラットの肝臓を除くいずれの臓器及び組織においても投与濃度より低かった。

雄ラットでは最高濃度が投与1時間後の肝臓で検出された。いずれの時間に屠殺した雄ラットでも肝臓における濃度が最も高く、次いで、腎臓及び褐色脂肪で血液に比べ高い濃度が検出された。雌ラットでも雄ラットと同様、投与1時間後の肝臓で最高濃度が検出された。いずれの時間に屠殺した雌ラットでも肝臓、腎臓及び褐色脂肪で血液に比べ高い濃度が検出された。雌雄いずれのラットにおいても、肝臓、腎臓及び褐色脂肪における放射能濃度は血液中放射能濃度より高かったが、これら臓器以外の臓器及び組織における放射能濃度は血液中の放射能濃度より低かった。ほとんど全ての臓器及び組織において、最大濃度($C=0.02-2.75 \mu\text{g/g}$)が投与1時間後に検出され、その後着実に濃度が減少した。投与72時間後においては雄ラットの肝臓及び腎臓並びに雌ラットの肝臓及び脂肪組織にのみ少量の放射能($C=0.003-0.017 \mu\text{g/g}$)が検出され、それら以外のいずれの臓器及び組織にも放射能は検出されなかった。

全ての臓器及び組織中における放射能濃度は投与1時間後から72時間後にかけて数桁の単位で減少した。

【結論】

放射能標識[I]を単回経口投与後の臓器及び組織における放射能の分布は以下のような特徴を有していた。

- ・放射能は尿及び糞を経由してほとんど完全に排泄された。
- ・大部分の臓器及び組織で投与1時間後に最大濃度が検出され、全ての臓器及び組織中における放射能濃度は投与1時間後から72時間後にかけて数桁の単位で顕著に減少した。
- ・内分泌系の臓器及び組織に強い黒化は認められなかった

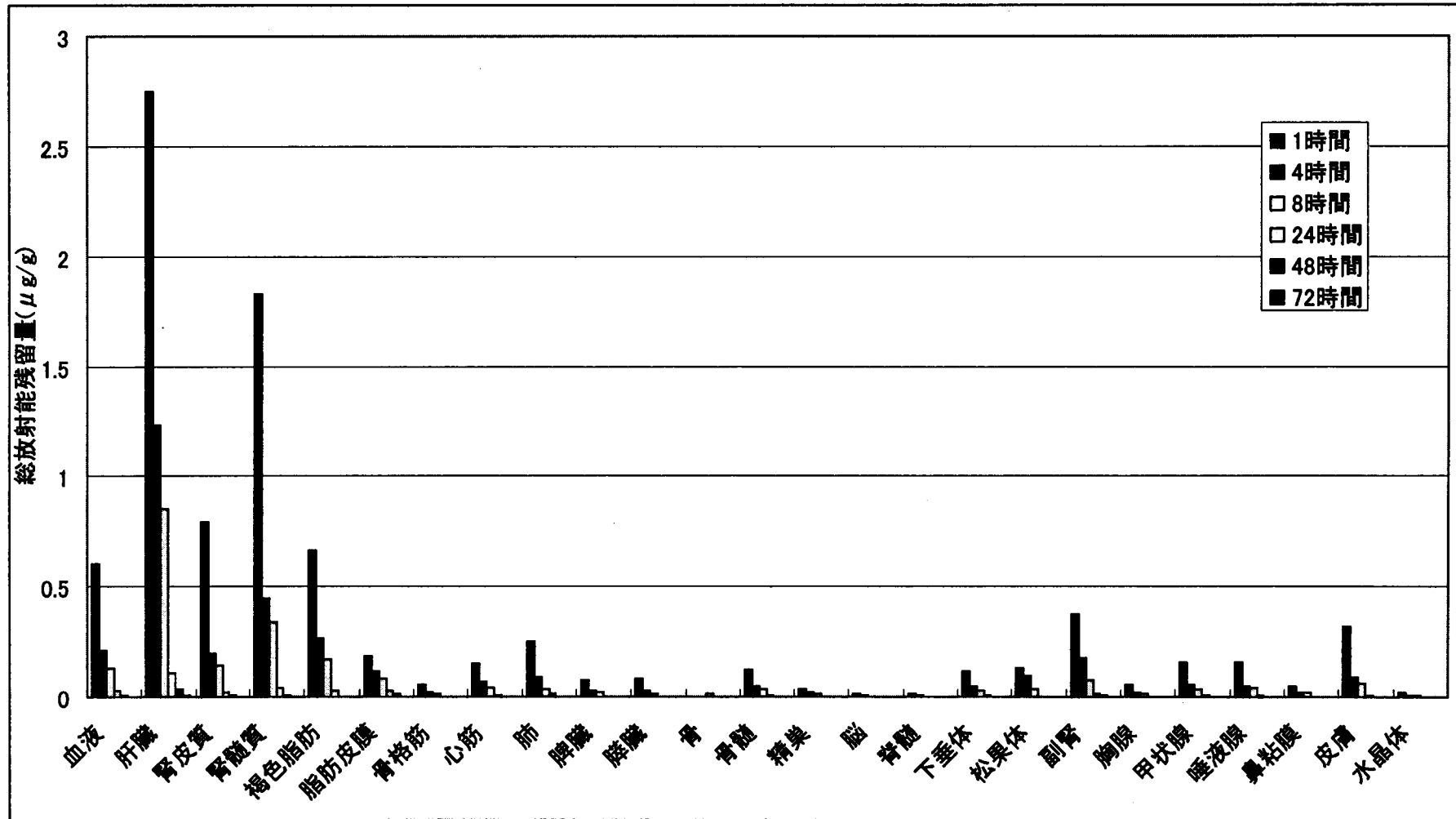
以上の結果から、ラットの臓器及び組織にスピロメシフェン及びその代謝物は蓄積しないと推定された。

表1 雄ラットの組織及び臓器における放射能の分布

臓器/組織	換算濃度 [µg/g]					
	採取時間(投与後屠殺時間)					
	1時間	4時間	8時間	24時間	48時間	72時間
血液	<i>0.605</i>	0.211	0.129	0.024	0.006	<LOD
肝臓	<i>2.748</i>	1.235	0.851	0.106	0.031	0.006
腎皮質	<i>0.793</i>	0.195	0.144	0.023	0.008	0.003
腎髄質	<i>1.831</i>	0.449	0.340	0.040	0.010	0.003
褐色脂肪	<i>0.665</i>	0.267	0.166	0.025	—*)	—*)
脂肪皮膜	<i>0.182</i>	0.113	0.078	0.026	0.012	<LOD
骨格筋	<i>0.054</i>	0.018	0.015	<LOQ	<LOD	<LOD
心筋	<i>0.149</i>	0.066	0.043	0.006	<LOQ	<LOD
肺	<i>0.253</i>	0.087	0.034	0.012	0.003	<LOD
脾臓	<i>0.077</i>	0.027	0.018	0.003	<LOD	<LOD
膵臓	<i>0.084</i>	0.025	0.013	0.003	<LOD	<LOD
骨	—*)	—*)	<i>0.016</i>	<LOD	—*)	—*)
骨髄	<i>0.122</i>	0.047	0.034	0.005	—*)	—*)
精巣	<i>0.036</i>	0.020	0.015	0.002	<LOD	<LOD
脳	<i>0.015</i>	0.005	0.003	<LOD	<LOD	<LOD
脊髄	<i>0.015</i>	0.006	0.003	<LOD	<LOD	—*)
下垂体	<i>0.118</i>	0.047	0.027	0.005	—*)	—*)
松果体	<i>0.131</i>	0.092	0.031	—*)	—*)	—*)
副腎	<i>0.371</i>	0.173	0.074	0.011	0.005	<LOD
胸腺	<i>0.051</i>	0.017	0.011	<LOQ	<LOD	<LOD
甲状腺	<i>0.159</i>	0.052	0.031	0.006	<LOD	—*)
唾液腺	<i>0.159</i>	0.049	0.040	0.005	<LOD	<LOD
鼻粘膜	<i>0.048</i>	0.019	0.018	<LOQ	<LOD	—*)
皮膚	<i>0.318</i>	0.088	0.060	0.010	<LOQ	—*)
硝子体	<i>0.022</i>	0.010	0.005	<LOD	<LOD	—*)

- *): ラット切片で認められないか、分析しなかった。
- 各臓器/組織における最大値を斜体で示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



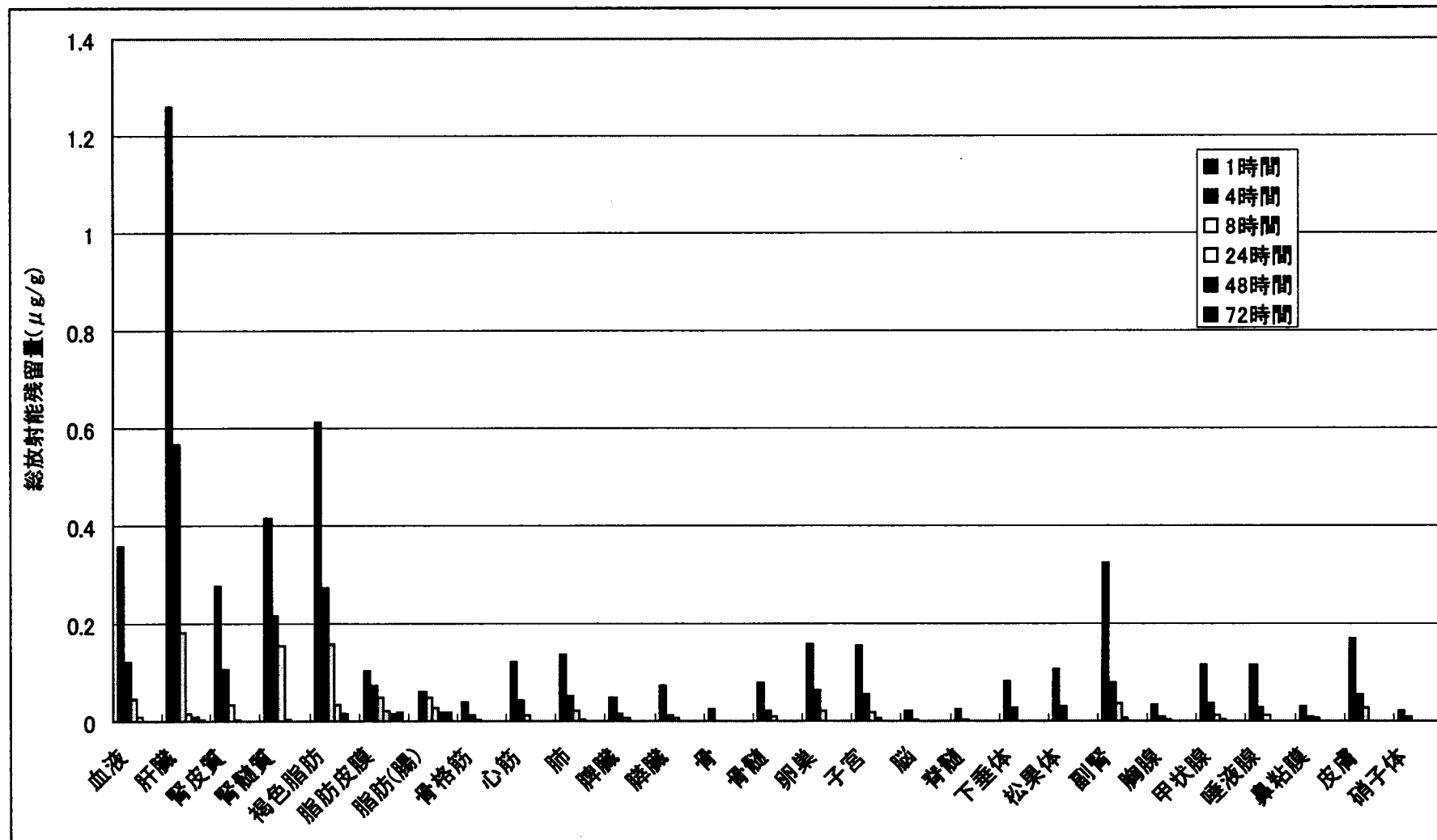
[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]を雄ラットへ1回経口投与した後の臓器及び組織における放射能の消長

表2 雌ラットの組織及び臓器における放射能の分布

臓器/組織	換算濃度 [µg/g]					
	採取時間(投与後屠殺時間)					
	1時間	4時間	8時間	24時間	48時間	72時間
血液	0.359	0.121	0.046	0.008	<LOD	<LOD
肝臓	1.262	0.566	0.182	0.015	0.008	0.004
腎皮質	0.276	0.106	0.034	0.003	<LOQ	<LOD
腎髄質	0.416	0.215	0.156	0.003	<LOD	<LOD
褐色脂肪	0.611	0.274	0.158	0.034	0.014	<LOQ
脂肪皮膜	0.103	0.073	0.047	0.022	0.016	0.017
脂肪(腸)	--*)	0.061	0.048	0.028	0.018	0.017
骨格筋	0.039	0.012	0.004	<LOD	<LOD	<LOD
心筋	0.121	0.041	0.013	<LOD	<LOD	<LOD
肺	0.136	0.053	0.021	0.003	<LOD	<LOD
脾臓	0.049	0.016	0.007	<LOQ	<LOD	<LOD
膵臓	0.072	0.013	0.006	<LOD	<LOD	<LOD
骨	0.025	<LOQ	--*)	--*)	--*)	--*)
骨髄	0.079	0.022	0.008	--*)	--*)	--*)
卵巣	0.157	0.063	0.022	--*)	--*)	--*)
子宮	0.155	0.055	0.017	0.005	<LOD	<LOD
脳	0.020	0.003	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
脊髄	0.025	0.004	<LOQ	--*)	--*)	--*)
下垂体	0.082	0.026	--*)	--*)	--*)	--*)
松果体	0.106	0.029	--*)	--*)	--*)	--*)
副腎	0.323	0.078	0.037	0.006	<LOD	<LOD
胸腺	0.033	0.009	0.003	<LOD	<LOD	--*)
甲状腺	0.116	0.036	0.012	0.003	<LOD	--*)
唾液腺	0.115	0.027	0.011	<LOD	<LOD	<LOD
鼻粘膜	0.031	0.009	0.005	<LOD	<LOD	--*)
皮膚	0.170	0.054	0.026	--*)	--*)	--*)
硝子体	0.020	0.008	<LOQ	<LOQ	--*)	--*)

- *)：ラット切片で認められないか、分析しなかった。
- 各臓器/組織における最大値を斜体で示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]を雌ラットへ1回経口投与した後の臓器及び組織における放射能の消長

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 動物における動態と代謝試験

(3) [^{14}C]スピロメシフェン：ラットの血漿、尿、腎臓及び肝臓における残留及び代謝物の消長

(資料番号：動物代謝3)

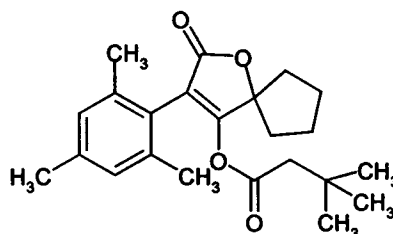
試験機関：

報告書作成年月日：2003年10月1日[GLP対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[^{14}C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 動物

平均体重約 200 g、7-12 週齢のウィスター系雌雄ラット(Hsd/Cpb: WU)を、約 7 日間馴化後、実験に供した。ケージカード及び尾への着色により識別し、供試した。

2. 投与量及び試験群

先に実施した代謝試験(動物代謝 1)における低投与量と同じ 2 mg/kg 体重に投与量を設定した。

各試験群 4 匹のラットを用いた。試験群 1、2 及び 3 では雄ラットを、試験群 4、5 及び 6 では雌ラットを用いた。試験群 1 及び 4 は投与 1.5 時間後に、試験群 2 及び

5は投与8時間後に、試験群3及び6は投与24時間後に屠殺した。

先に実施した代謝試験(資料番号:動物代謝1)で得られた薬物動態データに基づき、屠殺時間を設定した(C_{max} =1.5時間(雄ラットで1時間、雌ラットで2時間)、 $1/2C_{max}$ =8時間、血漿における残留が検出限界付近になる24時間)。

各屠殺時間にそれぞれの試験群の動物から尿、血液、肝臓、腎臓、皮膚、胃腸管(糞を含む)及び残体を採取した。

3. 投与及び試料採取

調製した投与懸濁液、投与液量及び動物の平均体重を表2に記載する。適切な量の [I] を0.5%トラガカント水溶液に懸濁し、投与溶液を調製した後、それぞれの動物に投与溶液2 mLを経口投与した。実際の投与量は雄ラット及び雌ラットでそれぞれ1.75~1.77 mg/kg bw 及び1.99~2.08 mg/kg bw と算出された。

放射能標識 [I] を投与後、ラットを個別に代謝ケージに収容し、試験群1及び4、試験群2及び5、試験群3及び6は、それぞれ投与1.5時間後、8時間後、24時間後に屠殺した。試験期間全ての尿及び糞を採取した。採取した糞はそれぞれ対応する試験群の胃腸管に混合した。試験期間終了時に二酸化炭素を用いて動物を麻酔した後、頸部の血管を切って屠殺し、採血した。採取した血液は遠心分離して血漿と赤血球とに分離した。皮膚、肝臓及び腎臓から採取した一部、糞を含む胃腸管(GIT)及び動物残体は解剖後直ちに秤量し、凍結乾燥後に再び秤量し、最後に均一化した。

4. 試料調製及び分析

(1) 放射エネルギーの測定

赤血球、凍結乾燥後に均一化した皮膚、肝臓及び腎臓から採取した一部、糞を含む胃腸管(GIT)及び動物残体をオキシダイザーで燃焼分析した。尿、血漿、肝臓の抽出液及び腎臓の抽出液等の液体試料はLSCで直接、放射エネルギーを測定した。肝臓及び腎臓は、各試験群毎に混合後、抽出した。

(2) 尿、血漿、肝臓及び腎臓中代謝物の分析

尿については、試験群全動物の尿を混合し(混合試料)、酢酸でpH4に調整後、HPLCで直接分析した。血漿については、試験群全動物の血漿を混合・均一化し、酢酸でpH4に調整後、アセトニトリルを加えて血漿蛋白を沈殿させ、遠心分離して上清を得た後、HPLCで分析した。肝臓及び腎臓はアセトニトリル/水(80/20)を用いて3回磨砕抽出後、HPLCで分析した。

対照物質混合品のクロマトグラムと保持時間を比較し、代謝物を同定した。更に、同定を確実にするため、尿及び血漿それぞれについて代表試料をLC-MS及びLC-MS/MSで分析し、質量スペクトルを測定した。

【結果】

1. 総回収率(表 1)

[I]を経口投与後の各試験群における放射能の総回収率は投与放射能の約 90%~100%であった(表 1)。

2. 臓器及び組織における残留(表 1 及び 2)

投与 1.5 時間後に屠殺した雄ラットでは、投与量の 32%が臓器及び組織に検出され、40%が胃腸管及び糞中に、28%が尿中に検出された。胃腸管を除く体内における残留量の投与量に対する割合は投与 24 時間後に 6.3%まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は 58%まで増加した(表 1)。

投与 1.5 時間後に屠殺した雌ラットでは、投与量の 14%が臓器及び組織に検出され、61%が胃腸管及び糞中に、14%が尿中に検出された。胃腸管を除く体内における残留量の投与量に対する割合は投与 24 時間後に 1.5%まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は 48%まで増加した。これらの値から、試験期間中における雌ラットの吸収率は雄ラットより低い、その一方でラット体における分布は速やかであることが示唆された。

表 1 排泄物、臓器及び組織における残留 (投与量に対する割合%)

採取(屠殺)時間 性	試験群1 1.5 時間 雄	試験群2 8 時間 雄	試験群3 24 時間 雄	試験群4 1.5 時間 雌	試験群5 8 時間 雌	試験群6 24 時間 雌
試料						
尿	28.29	50.71	57.89	13.74	40.82	48.16
赤血球	0.62	0.32	0.11	0.27	0.09	0.02
血漿	1.30	0.47	0.22	0.58	0.11	0.01
肝臓	16.37	7.83	3.03	5.13	1.46	0.13
腎臓	0.97	0.36	0.11	0.48	0.09	0.00
残体	8.60	5.10	2.26	5.14	1.35	1.20
臓器計	27.87	14.07	5.72	11.60	3.10	1.36
皮膚	4.41	1.78	0.62	2.79	0.71	0.13
胃腸管を除く動物体	32.28	15.86	6.34	14.40	3.81	1.48
胃腸管+糞	40.24	31.21	34.49	60.95	46.06	43.64
回収率	100.80	97.78	98.72	89.09	90.70	93.29

糞を含む胃腸管を除き、最高の TRR 値が投与 1.5 時間後の肝臓で検出された。周辺組織(皮膚及び残体)に測定された TRR 値より高い TRR 値が血漿で測定された(雄ラットで約 6 倍、雌ラットで 4-5 倍)。臓器及び組織と同様に血漿でも残留濃度は試験終了時まで顕著に減少し、24 時間の試験期間を通じて、雄ラットで約 1/5 に、雌ラットで約 1/42 に TRR が減少した(表 2)。

表 2 臓器及び組織における残留 (換算濃度、 $\mu\text{g/g}$)

採取(屠殺)時間 性	試験群1 1.5 時間 雄	試験群2 8 時間 雄	試験群3 24 時間 雄	試験群4 1.5 時間 雌	試験群5 8 時間 雌	試験群6 24 時間 雌
試料	平均	平均	平均	平均	平均	平均
赤血球	0.645	0.353	0.120	0.427	0.145	0.029
血漿	1.755	0.825	0.308	1.046	0.232	0.012
肝臓	8.620	4.384	1.708	3.099	0.893	0.073
腎臓	2.430	0.897	0.272	1.559	0.305	0.016
残体	0.256	0.157	0.071	0.169	0.044	0.040
胃腸管を除く動物体	0.622	0.318	0.132	0.324	0.085	0.035
皮膚	0.329	0.135	0.050	0.266	0.064	0.013
胃腸管+糞	9.389	7.403	5.914	13.870	12.220	7.231

3. 代謝

(1) 尿中代謝物(表 3)

雌雄いずれのラットにおいても、スピロメシフェン[I]は検出されなかった。投与 24 時間後に雌雄それぞれで投与量の 58%及び 48%の放射能が尿中に排泄された。雄ラットの尿においては、エノール体[M1]は 24 時間後において投与量の 1.6%のみと少なく、

4-ヒドロキシメチル体[M2](16.5%)及び

がエノール体[M1]よりも高い値で認められた。

雌ラットの尿においては、エノール体[M1]が最も多く、投与 24 時間後に投与量の 12.8%に相当した。4-ヒドロキシメチル体[M2](7.1%)、

も多く認められた。

エノール体[M1]とエノール体[M1]以外の代謝物の割合は時間経過に伴い増加した。エノール体[M1]に対するエノール体[M1]以外の代謝物の割合は雌ラットで雄ラットに比べて大きく、先に実施した代謝試験(動物代謝 1)で得られた同様の再現性の良い結果が得られた。

表3 雌雄ラットの尿中代謝物の分布 (投与量に対する%)

試験番号	1	2	3	4	5	6
性	雄	雄	雄	雌	雌	雌
屠殺[投与後時間]	1.5 時間	8 時間	24 時間	1.5 時間	8 時間	24 時間
尿試料における残留	28.29	50.71	57.89	13.74	40.82	48.16
エノール体[M1]	0.24	1.06	1.61	1.79	8.69	12.83
4-ヒドロキシメチル体[M2]	5.66	13.71	16.45	2.44	6.05	7.11
同定及び特性化	26.66	48.30	55.32	13.25	39.82	47.51
未同定	1.63	2.41	2.57	0.48	1.00	0.65
合計	28.29	50.71	57.89	13.74	40.82	48.16
エノール体[M1]	0.01	0.02	0.03	0.15	0.27	0.36
エノール体[M1]以外						

(2) 雄ラットの血漿、肝臓及び腎臓中代謝物(表 4)

雄ラットの血漿、肝臓及び腎臓からスピロメシフェン[I]は検出されなかった。

血漿中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後の試料で最も高い割合で検出された(投与量の 0.8%)。他の代謝物の量は少なかった(投与量の 0.2%未満)。いずれの代謝物でも、投与 1.5 時間後に最高濃度が認められた。エノール体[M1]以外では、4-ヒドロキシメチル体[M2]、

が比較的多く認められた。試料中 TRR に対するエノール体[M1]の割合は経時的に増加し、一方、エノール体[M1]以外の代謝物の割合は減少した。

肝臓中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後の試料で最も高い割合で検出された(投与量の 9.44%)。エノール体[M1]に次いで、4-ヒドロキシメチル体[M2]が多く、この代謝物も投与 1.5 時間後に最も多かった(投与量の 4.1%)。その他全ての代謝物は投与量の 1%以下であった。いずれの代謝物でも、投与 1.5 時間後に最高濃度が検出された。

腎臓抽出物において測定された代謝物分布は尿、血漿及び肝臓試料で認められた代謝物と同様であった。腎臓抽出物に認められた代謝物は全て投与量の 0.5%以下であった。主要代謝物は全試験群でエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後の試料で最も高い割合で検出された(投与量の 0.29%)。エノール体[M1]に次いで、4-ヒドロキシメチル体[M2]が多く、この代謝物も投与 1.5 時間後に最も多かった(投与量の 0.29%)。その他全ての代謝物は投与量の 0.1%以下であり、いずれの代謝物でも、投与 1.5 時間後に最高濃度が認められた。

表 4 雄ラットの血漿、肝臓及び腎臓における代謝物の分布

雄ラット 試験番号 採取時間	血漿			肝臓			腎臓		
	1 15 時間	2 8 時間	3 24 時間	1 15 時間	2 8 時間	3 24 時間	1 15 時間	2 8 時間	3 24 時間
投与量に対する割合(%)	1.30	0.47	0.22	16.37	7.83	3.03	0.97	0.36	0.11
(試料中 TRR[μg/g])	(1.755)	(0.825)	(0.308)	(8.620)	(4.384)	(1.708)	(2.430)	(0.897)	(0.272)
エノール体[M1]	0.80 (1.073)	0.43 (0.755)	0.20 (0.287)	9.44 (4.970)	7.08 (3.964)	2.80 (1.579)	0.29 (0.716)	0.27 (0.667)	0.08 (0.209)
4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.14 (0.194)	0.01 (0.021)	0.00 (0.007)	4.10 (2.159)	0.43 (0.239)	0.10 (0.059)	0.29 (0.737)	0.04 (0.108)	0.01 (0.025)
同定及び特性化	1.30 (1.755)	0.47 (0.825)	0.21 (0.307)	15.97 (8.408)	7.66 (4.290)	2.96 (1.672)	0.95 (2.386)	0.35 (0.879)	0.10 (0.261)
未同定	---	---	0.00 (0.001)	0.28 (0.148)	0.11 (0.062)	0.03 (0.017)	0.01 (0.036)	0.00 (0.006)	---
小計	1.30 (1.755)	0.47 (0.825)	0.22 (0.308)	16.25 (8.556)	7.77 (4.352)	2.99 (1.689)	0.97 (2.423)	0.36 (0.885)	0.10 (0.261)
未抽出	---	---	---	0.12 (0.064)	0.06 (0.032)	0.03 (0.019)	0.00 (0.007)	0.00 (0.012)	0.00 (0.011)
合計	1.30 (1.755)	0.47 (0.825)	0.22 (0.308)	16.37 (8.620)	7.83 (4.384)	3.03 (1.708)	0.97 (2.430)	0.36 (0.897)	0.11 (0.272)

- a cis-, trans-の含量
- b 異性体 3 種の合計
- c 異性体 2 種の合計

(3) 雌ラットの血漿、肝臓及び腎臓中代謝物(表 5)

雌ラットの血漿からスピロメシフェン[I]は検出されなかったが、肝臓及び腎臓からはわずかな量のスピロメシフェン[I]が検出された。

血漿中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後の試料で最も高い割合で検出された(投与量の 0.2%)。エノール体[M1]に次いで、が多く、この代謝物も投与 1.5 時間後に最も多かった(投与量の 0.17%)。他の代謝物の量は少なく(投与量の 0.1%未満)、エノール体[M1]を除くいずれの代謝物も投与 8 時間後以降はほとんど検出されなかった。

肝臓中の主要代謝物はエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後の試料で最も高い割

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

合で検出された(投与量の 2.75%)。エノール体[M1]に次いで、4-ヒドロキシメチル体[M2]、
 比較的多く認められ、これらの代謝物も投与 1.5 時間後に最も多かった。その他全ての代謝物は少なく、これらのいずれもその最高値が投与 1.5 時間後に検出された。
 腎臓中の主要代謝物は全試験群でエノール体[M1]であり、投与 1.5 時間後に最高の割合で検出された(投与量の 0.1%)。エノール体[M1]以外では、
 が多かった(1.5 時間後に投与量の 0.12%)。その他全ての代謝物は投与量の 0.1%以下であり、いずれも最高値が投与 1.5 時間後に検出された。

表 5 雌ラットの血漿、肝臓及び腎臓における代謝物の分布

雌ラット 試験番号 屠殺[投与後時間]	血漿			肝臓			腎臓		
	4 15 時間	5 8 時間	6 24 時間	4 15 時間	5 8 時間	6 24 時間	4 15 時間	5 8 時間	6 24 時間
投与量に対する割合(%) (試料中 TRR[μg/g])	0.58 (1.046)	0.11 (0.232)	0.01 (0.012)	5.13 (3.099)	1.46 (0.893)	0.13 (0.073)	0.48 (1.559)	0.09 (0.305)	0.00 (0.016)
スピロメシフェン[I]	---	---	---	0.09 (0.054)	0.01 (0.007)	---	0 (0.01)	0 (0.002)	---
エノール体[M1]	0.2 (0.362)	0.07 (0.15)	0 (0.006)	2.75 (1.661)	1.19 (0.732)	0.1 (0.057)	0.1 (0.324)	0.06 (0.201)	0 (0.007)
4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.02 (0.036)	0 (0.003)	---	0.37 (0.226)	0.03 (0.018)	---	0.06 (0.193)	0 (0.016)	---
同定及び特性化	0.58 (1.046)	0.11 (0.228)	0.00 (0.006)	4.76 (2.875)	1.38 (0.845)	0.10 (0.057)	0.47 (1.511)	0.09 (0.302)	0.00 (0.007)
未同定	---	0.00 (0.004)	0.00 (0.006)	0.25 (0.150)	0.06 (0.035)	0.02 (0.010)	0.01 (0.045)	---	0.00 (0.005)
小計	0.58 (1.046)	0.11 (0.232)	0.01 (0.012)	5.01 (3.025)	1.43 (0.880)	0.12 (0.067)	0.48 (1.556)	0.09 (0.302)	0.00 (0.012)
未抽出	---	---	---	0.12 (0.074)	0.02 (0.013)	0.01 (0.006)	0.00 (0.003)	0.00 (0.004)	0.00 (0.004)
合計	0.58 (1.046)	0.11 (0.232)	0.01 (0.012)	5.13 (3.099)	1.46 (0.893)	0.13 (0.073)	0.48 (1.559)	0.09 (0.305)	0.00 (0.016)

- a cis-, trans-の含量
- b 異性体 3 種の合計
- c 異性体 2 種の合計

【結論】

両性の血漿試料中における代謝物の量は少なく(<2%)、時間経過に伴い減少した。全試料でエノール体[M1]が最も多かった。エノール体[M1]の酸化により生成した代謝物は主として1.5時間後の試料で検出された。代謝物の量に性特異的な差は認められなかったが、雌ラットに比べ、雄ラットでTRR値が顕著に高かった。

肝臓及び腎臓における代謝物の量も時間経過に伴い減少した。エノール体[M1]の酸化により生成した代謝物は主として1.5時間後試料で検出された。血漿、肝臓及び腎臓におけるTRR値は雄ラットにおいて雌ラットに比べ顕著に高かった。

以上の結果から、先の試験(資料番号：動物代謝 1)の雌雄ラットで認められた排泄物中の代謝物の量的な違いは以下の事柄で説明することができる。

- 投与された化合物の胃腸管からの吸収率は雌ラットで雄ラットより低く、その後の血漿、肝臓及び腎臓におけるTRRレベルは雌ラットで雄ラットより低かった。
- エノール体[M1]及びエノールの更なる酸化により生成した代謝物の体内からの尿排泄は、いずれの性でも速やかであった。

ラットにおける推定代謝経路を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 スピロメシフェン[I]のラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 植物における動態と代謝試験

(1) [¹⁴C]スピロメシフェンのトマトにおける代謝

(資料番号：植物代謝 1)

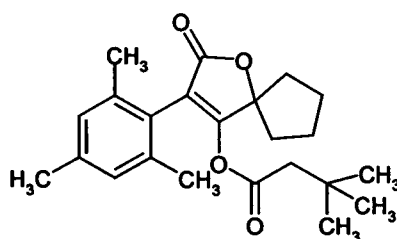
試験機関：

報告書作成年月日：2001年6月21日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキシノ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 作物

トマト(品種 Moneymaker)を施設(トンネル)内で栽培した。点滴灌水システムを用いて毎朝と夕方に 15 分間トマトを灌水するとともに、必要に応じて手作業で散水した。窒素ベースの肥料及びマグネシウム塩を施用した。

2. 薬剤処理及び試料採取

有効成分濃度が 23.1%となるように[¹⁴C][I]のフロアブル製剤 240SC を調製し、有効成分投下量が平均 409 g ai/ha となるように希釈液を 500 L/ha (= 50 L/10a)の割合で 2 回散布処理した(1 回目 439 g ai/ha、2 回目 378 g ai/ha)。収穫 31 日前及び 7 日前の 2 回、3 本のトマトに希釈液を散布処理した。

また、果実をポリエチレン袋で覆い、希釈液が直接散布されないように防護したトマトにも散布処理し、処理部位から果実への被験物質の移行性を調べた。

最終散布 7 日後にトマト果実(成熟及び未成熟それぞれ約 1800 g)及び葉を採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

また、移行性を調べるために散布時に果実をポリエチレン袋で覆い散布液が直接かからないように防護したトマト(3房、計 640~930 g)も採取した。

3. 分析方法

(1) 表面洗浄

果実及び葉の表面をアセトニトリル(約 450 mL)で 3 回、1 回当たり 20~30 秒間アセトニトリルに浸漬し洗浄した。表面洗浄液を合わせた後、体積を記録後、放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

表面洗浄液中の残留成分は HPLC 及び TLC で分析した。

(2) 抽出

収穫時に採取した果実(成熟及び未成熟)全量を均一化後、アセトニトリルで 2 回、更にアセトニトリル：水混合液(1：1、v/v)で 2 回、それぞれ 10 分間超音波抽出した。各回の抽出後、抽出液と固形残留物を遠心分離し、得られた抽出液の体積を記録した。抽出液中の放射エネルギーは LSC で測定した。

各回の抽出液 5%を混合し、濃縮後、残留成分を調べるため、HPLC 及び TLC のクロマトグラフィー分析に供した。

抽出後の未抽出残留物は約 55°Cのオープンに入れて 1 週間かけて乾燥した後、放射エネルギーを燃焼分析した。

【結果】

1. 総放射能残留量及び果実の抽出

[^{14}C]標識スピロメシフェン[I]をフロアブルに製剤後、想定施用量で 2 回処理し(24 日間隔)、7 日後に収穫した表面洗浄液中、抽出物中及び残留物中の放射エネルギーを合計し、収穫時の成熟果実中の総放射能残留量(TRR)を算出した。収穫時の成熟果実中の TRR は 0.844 ppm であり、表面洗浄液と抽出液がそれぞれ TRR の 79.3%(0.669 ppm)及び 16.9%(0.143 ppm)に相当した。未抽出残留物は TRR の 3.8% (0.032 ppm)のみであった。

収穫時に採取した未成熟果実中の総放射能残留量は 0.496 ppm であり、表面洗浄液と抽出物がそれぞれ TRR の 73.5%(0.365 ppm)及び 24.7%(0.123 ppm)に相当した。未抽出残留物は TRR の 1.8% (0.032 ppm)に相当した。

2. 総放射能残留量の処理部位から果実への移行

処理部位から果実への移行を調べるため、散布液がかからないように防護した果実の総放射能残留量は 0.021 ppm に相当し、移行がごく僅かであることが示唆された。防護した果実の表面洗浄液に少量の放射エネルギーが検出されたことから、処理時の防護が完全ではなかったことが示唆された。

3. 残留成分の分布

成熟果実の表面洗浄液中に認められた主要成分は TRR の 77.3%(0.652 ppm)に相当

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

し、未変化のスピロメシフェン[I]と同定された。成熟果実の抽出液中にはそれぞれ TRR の 5.4%(0.046 ppm)及び9.0%(0.076 ppm)に相当する主要成分が2種検出された。TRR の 9.0%に相当する成分を未変化のスピロメシフェン[I]、TRR の 5.4%に相当する成分を と同定した。その他2種類の代謝物をエノール体[M1]及び4-ヒドロキシメチル体[M2]と同定した。エノール体[M1]及び4-ヒドロキシメチル体[M2]はいずれも TRR の 0.5%(0.004 ppm)に相当した。はコクロマトグラフィー、質量分析及び酵素処理後の試料の分析により同定された。

表面洗浄液中と抽出液中の量から、トマト成熟果実中での主要成分は未変化の親化合物スピロメシフェン[I]であり、TRR の 86.3%(0.728 ppm)に相当した。親化合物スピロメシフェン[I]以外に、3種類の代謝物が同定され、主要代謝物4-ヒドロキシメチル-グルコシド[M9]が TRR の 5.4%(0.046 ppm)、また、少量代謝物4-ヒドロキシメチル体[M2]がそれぞれ TRR の 0.7%及び0.5%検出された。その他の代謝物は全て TRR の 1.0%以下(0.008 ppm 以下)であった。

成熟果実と同時期に採取した未成熟果実も成熟果実と同様の分布を示し、表面洗浄液中に TRR の 73.5%(0.365 ppm)が分布し、更に TRR の 24.7%(0.123 ppm)が抽出された。未成熟果実中の主要成分は未変化のスピロメシフェン[I]であり、表面洗浄液と抽出液を合わせて TRR の 87.0%(0.432 ppm)に相当した。親化合物スピロメシフェン[I]以外に、2種類の代謝物が同定された。主要代謝物であり、TRR の 7.0%(0.035 ppm)検出された。少量代謝物としてエノール体[M1]が TRR の 0.4%(0.002 ppm)検出された。

表1 トマト果実(成熟及び未成熟)における親化合物及び代謝物の分布

	成熟果実		未成熟果実	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR
総放射能残留量(TRR)	0.844	100	0.496	100
表面洗浄液	0.669	79.3	0.365	73.5
抽出物	0.143	16.9	0.123	24.7
表面洗浄液+抽出物中の代謝物				
スピロメシフェン[I]	0.728	86.3	0.432	87.0
エノール体[M1]	0.006	0.7	0.003	0.7
4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.004	0.5	<0.001	<0.2
未同定代謝物	0.030	3.4	0.017	3.5
未抽出残留物	0.032	3.8	0.009	1.8

4. 代謝経路

成熟果実の表面洗浄液は TRR の 79.3%(0.669 ppm)に相当し、ほとんど全てが未変化の親化合物であった(TRR の 77.3%)。このことから、有効成分の大部分は果実中

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

に浸透せず、洗浄で除去されることが示された。成熟果実の表面洗浄液と抽出物のいずれも主成分はスピロメシフェン[I]と同定された(TRR の 86.3%、0.728 ppm)。成熟果実抽出物中の主要代謝物は TRR の 5.4%(0.046 ppm)に相当し、

と同定された。少量のエノール体[M1]が表面洗浄液及び果実抽出液から検出された。

薬液が飛散しないよう処理から防護した果実(移行実験)の TRR は0.021 ppm であり、葉から果実への移行が少なく、更に放射能の一部が表面洗浄で除去されたことから、処理中の防護が完全ではなく、移行量は更に少ないことが示唆された。

未成熟果実における親化合物及び代謝物の分布に違いは認められず、トマトの TRR の主要成分は未変化の親化合物スピロメシフェン[I]であり、TRR の 10%を超える代謝物は認められなかった。

スピロメシフェン[I]のトマトにおける代謝分解は以下の経路で進行した。エステルの開裂でエノール体[M1]が生成し、エノール体[M1]のベンゼン環のパラ位のメチル基が水酸化された 4-ヒドロキシメチル体[M2]が主要成分として生成した。4-ヒドロキシメチル体[M2]は が生成した。スピロメシフェン[I]のトマトにおける推定代謝経路を以下に示す。

図 スピロメシフェン[I]のトマトにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 植物における動態と代謝試験

(2) [^{14}C]スピロメシフェンのりんごにおける代謝

(資料番号：植物代謝 2)

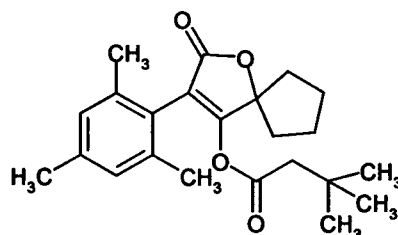
試験機関：

報告書作成年月日：2004年4月20日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[^{14}C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 作物

ポットで栽培したりんごを用いた。りんごは自然の気温及び光条件で栽培したが、人工的に灌水した。

2. 薬剤処理及び試料採取

処理条件は日本の実際の条件を模擬し、[^{14}C] [I] の 240SC(240 mg/L フロアブル製剤)の 1600 倍希釈液(有効成分濃度 0.015%)を 7000 L/ha (= 700 L/10a)の割合で 1 回散布処理した(有効成分量として 1050 g a.i./ha)。りんご果実の成熟始期に相当する 2003 年 8 月 6 日に処理した。処理前にプラスチックホイルでりんご樹を覆い、りんご樹の周りの 5 箇所から、それぞれの位置でスプレー銃を上下に一往復させて 29 mL を散布した。プラスチックホイル及び散布装置から回収された放射エネルギーを差し引き、実際の処理量を求めたところ、処理量は約 1000 g a.i./ha に相当する 46 mg a.i./樹であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

りんご果実の成熟期に相当する処理 7 日後の 2003 年 8 月 13 日にりんご果実を収穫した。同時にりんごの葉も採取した。

3. 分析方法

(1) りんご果実

5 個のりんご(674.9 g)をジクロロメタン及びアセトンに浸漬し、表面を洗浄した。ジクロロメタン及びアセトン洗浄液を合わせた後、ロータリーエバポレーターを用いて 100 mL まで濃縮した。

洗浄後のりんごは細切し、液体窒素中で均質化後、アセトニトリル/水(4:1、500 mL)で磨砕抽出した。抽出液と残留物を濾別後、更に、アセトニトリル/水(4:1、500 mL)で 2 回及び最後にアセトニトリル(500 mL)で 1 回磨砕抽出した。全抽出液を合わせた後、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射エネルギーを測定した。合わせた抽出液を濃縮後、水層をジクロロメタン(100 mL)で 3 回分配し、ジクロロメタン溶液を合わせ、7.5 mL まで濃縮した。ジクロロメタン層及び残りの水層の放射エネルギーを LSC で測定した。

未抽出残留物は室温で風乾後、一部を燃焼分析し、放射エネルギーを測定した。

表面洗浄液、抽出液を分配後のジクロロメタン層及び水層中の成分は HPLC 及び TLC で分析し、コクロマトグラフィーあるいは LC-MS/MS により同定した。

(2) りんご葉

液体窒素中で均質化した葉試料の一部(58.11 g)をアセトニトリル/水(4:1、200 mL)で抽出した。抽出液と残留物を濾別後、更に、アセトニトリル/水(4:1、500 mL)で 2 回及び最後にアセトニトリル(500 mL)で 1 回磨砕抽出した。全抽出液を合わせた後、LSC で放射エネルギーを測定した。

りんご葉抽出液中成分は HPLC 及び TLC で分析し、コクロマトグラフィーあるいは LC-MS/MS により同定した。

【結果】

1. りんご果実における総放射能残留量(TRR)、放射能及び成分の分布

表面洗浄液中、アセトニトリル/水抽出液混合液中及び抽出後の固形残留物中に存在する放射エネルギーからりんごにおける総放射能残留量(TRR)を算出した。TRR は親化合物換算で 0.723 mg/kg に相当した。大部分の放射エネルギーが表面洗浄液に認められた(TRR の 96.8%、0.700 mg/kg)。残りの放射エネルギーが均質化したりんごからほぼ定量的に抽出された(0.022 mg/kg、TRR の 3.0%)。抽出液を濃縮後、合計 2.3%(0.017 mg/kg)がジクロロメタン層に分配され、0.7%(0.005 mg/kg)が水層に留まった。未抽出残留物は TRR のわずか 0.2%(0.001 mg/kg)のみであった。

表面洗浄液中には 1 成分のみが含まれ、その成分は未変化の親化合物[I]と同定された。りんご果実のジクロロメタン層を HPLC 分析で分析すると、ピークが 3 本認められ、主要代謝物を 4-ヒドロキシメチル体[M2](TRR の 1.6%、0.012 mg/kg)、その他 2 種の少量成分を未変化の[I](TRR の 0.5%、0.004 mg/kg)及びエノール体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[M1](TRR の 0.1%、0.001 mg/kg)と同定した。りんご果実の水層に認められた化合物は全て 0.001 mg/kg 以下であったが、HPLC コクロマトグラフィーで 4 種の化合物が同定された。未変化の [I] も認められたが、その量は少なく、TRR の 0.1%(<0.001 mg/kg)であった。水層中の主要代謝物は

と同定された。4-ヒドロキシメチル体[M2](TRR の 0.1%、<0.001 mg/kg)及びエノール体[M1](TRR の<0.1%、<0.001 mg/kg)も同定された。

りんご果実中における TRR の 97.4%(0.704 mg/kg)は未変化の親化合物 [I] であった。主代謝物は TRR の 1.7%(0.012 ppm)に相当する 4-ヒドロキシメチル体[M2]であった。更に、量的に少ない代謝物を

及びエノール体[M1] (TRR の 0.1%、0.001 mg/kg)と同定した。TRR の 99.4%が同定され、0.4%が特性化された。0.001 mg/kg あるいは TRR の 0.1%以上の未知化合物は認められなかった。

表 1 りんご果実における放射能及び残留成分の分布

成分	表面洗浄液		ジクロロメタン層		水層		りんご果実合計	
	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
スピロメシフェン [I]	96.8	0.700	0.5	0.004	0.1	<0.001	97.4	0.704
エノール体[M1]	n.d.	n.d.	0.1	0.001	<0.1	<0.001	0.1	0.001
4-ヒドロキシメチル体[M2]	n.d.	n.d.	1.6	0.012	0.1	<0.001	1.7	0.012
同定小計			2.3		0.3	0.002	99.4	0.719
未同定代謝物	n.d.	n.d.	<0.1	0.000	0.4	0.003	0.4	0.003
未抽出残留物	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	0.2	0.001
合計	96.8	0.700	2.3	0.017	0.7	0.005	100.0	0.723

n.d. 検出限界未満、n.a. 該当せず。

2. りんご葉における総放射能残留量(TRR)、放射能及び成分の分布

りんごの葉における総放射能残留量(TRR)は親化合物換算で 26.613 mg/kg に相当した。TRR の 98.8%(26.287 mg/kg)がアセトニトリル/水(4 : 1)で抽出された。抽出後の固形残留物中に検出された放射能量は TRR の 1.2%(0.326 mg/kg)と少なかった。

未変化のスピロメシフェン [I] がりんご葉の主要残留成分であった(TRR の 91.4%、24.313 mg/kg)。代謝物エノール体[M1](TRR の 2.7%、0.709 mg/kg)及び

が同定され、4-ヒドロキシメチル体[M2]も少量認められた(TRR の 0.7%、0.188 mg/kg)。

表 2 りんご葉における放射能及び残留成分の分布

報告書名	%TRR	mg/kg
抽出液合計	98.8	26.287
スピロメシフェン [I]	91.4	24.313
エノール体[M1]	2.7	0.709
4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.7	0.188
未抽出残留物	1.2	0.326
合計	100	26.613

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 代謝経路

スピロメシフェン[I]のりんごの代謝経路は果実及び葉のいずれでも類似しており、共通の代謝物が認められた。[I]のりんごにおける代謝経路は他の植物代謝試験で認められた結果と類似し、トマトで認められた代謝物と同じ代謝物がりんごにおいても見出された。りんごの TRR の主要成分は未変化の親化合物[I]であり、TRR の 10%を超える代謝物は認められなかった。

スピロメシフェン[I]のりんごにおける代謝分解は以下の経路で進行した。エステルの開裂でエノール体[M1]が生成し、エノール体[M1]のベンゼン環の 4-メチルが水酸化された 4-ヒドロキシメチル体[M2]と

が生成した。スピロメシフェン[I]のりんごにおける推定代謝経路を以下に示す。

図 スピロメシフェン[I]のりんごにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 植物における動態と代謝試験

(3) [^{14}C]スピロメシフェンのレタスにおける代謝

(資料番号：植物代謝 3)

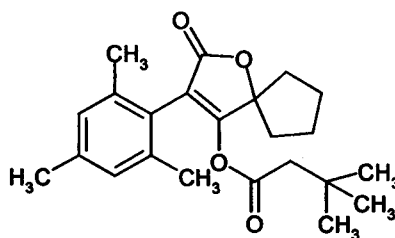
試験機関：

報告書作成年月日：2001年8月17日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[^{14}C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 作物

レタス種子(品種ヴェガス)を野菜用特殊コンポストに播種し、4~6 葉の生育段階になるまで環境を制御した栽培室で育苗した。4~6 葉の生育段階に達したら、大きなポットにレタスを移植し(ポット 1 個につき植物 4 本)、通常的气象条件を防ぐプラスチックで覆ったポリトンネル内で栽培した。レタスには毎日水をやった(必要であれば朝と夕方)。レタスには、必要に応じて窒素肥料を与えた。

2. 薬剤処理及び試料採取

有効成分濃度が 23.1%となるように[^{14}C][I]のフロアブル製剤 240SC を調製し、希釈液を $20 \text{ mL/m}^2 (= 20 \text{ L/10a})$ の割合で播種 26 日後及び収穫 7 日前に 12 個のレタスに 2 回散布処理した。処理量は慣行施用量とその 0.75 倍及び 1.25 倍とし、それぞれ 12 個のレタスに処理した。

最終散布 7 日後、分析用に全 3 処理区からレタス試料(各処理区 4 個)を収穫し、そ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

それぞれの重量を記録した。

3. 分析方法

レタスを十分には解凍せず、細切後、アセトニトリル(×2)及びアセトニトリル：水混合液(1：1、v/v、×2)でそれぞれ2回超音波抽出後(20分間)、20分間振とう抽出した。抽出後、遠心分離により抽出液と固形残留物を分離した。各抽出液の体積を記録し、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射エネルギーを測定した。

各回の抽出液5%を混合し、濃縮後、残留成分を調べるため、HPLC及びTLCのクロマトグラフィー分析に供した。

抽出後の残留物は1週間風乾した。この部分を燃焼/放射能分析のために採取した。

【結果】

1. 慣行施用量で処理したレタスにおける総放射能残留量(TRR)

慣行処理量で施用後のレタス中の総放射能残留量(TRR)は0.411 ppmであり、その内98.6% (0.405 ppm)が抽出され、未抽出残留物はTRRのわずか1.4%(0.006 ppm)であった。

2. 慣行施用量で処理したレタスにおける残留成分の分布

慣行処理量で施用後のレタス抽出物の混合液を逆相HPLC及び順相TLCで分析した所、主要成分は未変化の親化合物スピロメシフェン[I]と一致し、TRRの57.6% (0.237 ppm)であった。TRRの1.5%(0.006 ppm)に相当する少量代謝物L6がエノール体[M1]と同定された。HPLC分析で認められた代謝物画分L3、L4及びL5はそれぞれTRRの9.3%(0.038 ppm)、22.8%(0.094 ppm)及び7.1%(0.029 ppm)に相当したが、これらはTLCで更に複数の成分へと分離された。

代謝物画分L3は、TRRの0.7~6.2%に相当する3成分(L3A~L3C)に分離され、いずれも対照標準物質と一致しなかった。TRRの6.2%(0.025 ppm)に相当した代謝物L3Cはと推定された。代謝物L3A及びL3BはそれぞれTRRの0.7%(0.003 ppm)及び2.5%(0.010 ppm)に相当したが、これらを同定することは出来なかった。

代謝物画分L4は、TRRの1.1~11.9%(0.005~0.049 ppm)に相当する6成分(L4A~L4F)に分離された。代謝物L4Dは、TRRの11.9%(0.049 ppm)に相当する主要成分であり、と推定された。代謝物L4Fは、TRRの1.1%(0.005 ppm)に相当し、4-ヒドロキシメチル体[M2]と同定されたが、この成分は最初の分析の際には認められなかったことから、

が加水分解して生成したと推定される。従って、

の総量はL4D(11.9%TRR)及びL4F(1.1%TRR)の和であり、合計でTRRの13.0%(0.053 ppm)に相当した。TRRの1.3~4.0%(0.005~0.016 ppm)に相当する代謝物L4A、L4B、L4C及びL4Eは同定されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物画分 L5 は、TRR の 0.2~2.8%(0.001~0.012 ppm)に相当する 5 成分(L5A~L5E)に分離された。代謝物 L5E は、TRR の 2.8%(0.012 ppm)に相当する主要成分で、4-ヒドロキシメチル体[M2]と同定された。代謝物 L5D は TRR の 2.1%(0.009 ppm)に相当し、
と同定された。

3. 各施用量での残留成分の分布

慣行施用量の 0.75 倍及び 1.25 倍で施用したレタスにおける残留成分の分布は慣行施用量での残留成分の分布と類似し、主要成分は未変化の親化合物スピロメシフェン[I]であった。総放射能残留量(TRR)の 10%を超える代謝物は
のみであり、他の代謝物は TRR の 10%を超えなかった。

表1 レタスにおける総放射能残留量(TRR)及び代謝物の分布

	慣行施用量		0.75 倍施用量		1.25 倍施用量	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
総放射能残留量(TRR)	0.411	100	0.940	100	1.24	100
抽出物	0.405	98.6	0.932	99.2	1.23	99.5
同定された代謝物合計	0.342	83.2	0.805	85.6	1.09	87.5
スピロメシフェン[I]	0.237	57.6	0.619	65.8	0.857	69.1
エノール体[M1]	0.006	1.5	0.018	1.9	0.021	1.7
4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.012	2.8	0.022	2.3	0.027	2.2
特性化代謝物(極性により 6 種を特性化)	0.05	12.5	0.093	9.9	0.111	9.0
最大の未同定代謝物(L4F)	0.016	4.0	0.031	3.9	0.036	2.9
未同定代謝物	0.01	2.3	0.024	2.4	0.021	1.8
未抽出残留物	0.006	1.4	0.008	0.8	0.006	0.5

3. 代謝経路

スピロメシフェン[I]のレタスにおける代謝分解は以下の経路で進行した。エステルの開裂でエノール体[M1]が生成し、エノール体[M1]のベンゼン環の 4-メチルが水酸化された 4-ヒドロキシメチル体[M2]と

が主要成分として生成した。少量代謝物として
及び
が生成した。

スピロメシフェン[I]のレタスにおける推定代謝経路を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図 スピロメシフェン[I]のレタスにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 植物における動態と代謝試験

(4) [¹⁴C]スピロメシフェンの棉における代謝

(資料番号：植物代謝 4)

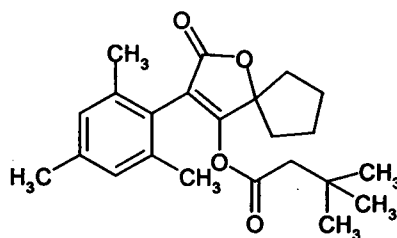
試験機関：

報告書作成年月日：2001年8月17日[GLP対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 作物

本作物の商業的生産に典型的な代表条件であるカリフォルニアの試験施設で棉(品種 *Acala Maxxa*)を種子から栽培した。十分に特性が分かっている砂壤土を入れた容器で栽培した。

2. 薬剤処理及び試料採取

表面積を 0.656 m² と仮定し、9つの植物体に必要な処理量を算出した。有効成分濃度が 23.1%となるように調製した[¹⁴C] [I] のフロアブル製剤 240SC を調製し、水で希釈後、植物当り 20 mL の割合で 7 日間隔で 3 回散布処理した。設定処理量は 300 g 有効成分(ai)/ha(1.5 倍量)とし、9つの植物体に処理した。そのうち 1 植物体は散布液がかからないよう防護した。実際の処理量は 303 g ai/ha であった。

最終散布 21 日後の成熟期にあたる 1998 年 11 月 23 日に「開花した綿花」、「開花していない綿花」ならびに「茎葉及びがく」を収穫後、「開花した綿花」ならびに「茎葉

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

及びがく」の試料をドライアイスと同封し、分析機関の Huntingdon Life Sciences に発送した。

3. 分析前処理

(1) 種子

以下に示すように、「開花した綿花」を棉繰りし、種子から綿毛を除去後、「種子」(短繊維のついた種子、Fuzzy seed)を得た。更に、種子の一部をドライアイスとともに磨砕均一化し、「繊維除去種子」と「短繊維」に分け、それぞれを更に磨砕均一化した。「繊維除去種子」と「短繊維」それぞれを抽出・分析し、それらを含量し、種子中における総放射能残留量及び各成分の割合を求めた。綿毛については、食品あるいは飼料とされないため、分析しなかった。

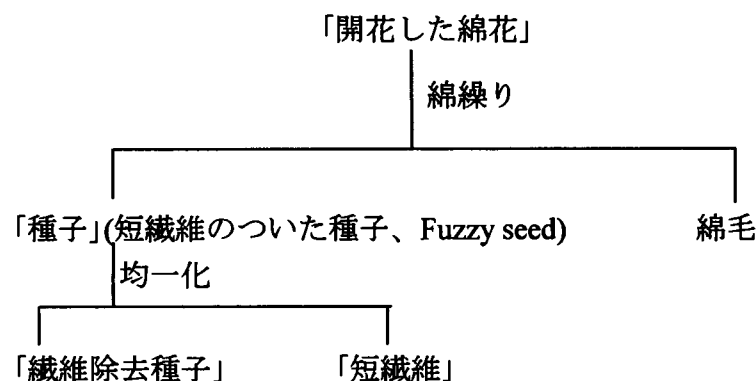


図 1. 種子試料の前処理

(2) 茎葉及びがく

「茎葉及びがく」をドライアイスとともに磨砕均一化した。試料を室温になるまで放置後、均一化した試料の総量を記録した。

4. 抽出

(1) 種子

繊維除去種子

予め秤量した容器に均一化後の「繊維除去種子」を秤量し、アセトニトリル(3回)次いでアセトニトリル：水(1：1、v/v)(2回)を用いて磨砕抽出した。各抽出後、試料を室温、4000 rpm で10分間遠心分離した。抽出液中の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。抽出後の残留物は、サンプルオキシダイザーで燃焼後、LSCを用いて放射エネルギーを測定した。

短繊維

予め秤量した容器に均一化後の「短繊維」を秤量し、アセトニトリル(3回)次いでアセトニトリル：水(1：1、v/v)(2回)を用いて超音波(室温で5分)及び振とう(室温、10分間)により抽出した。各抽出後、試料を室温、4000 rpm で10分間遠心分離した。LSCを用いて抽出液中の放射エネルギーを測定した。抽出後の残留物は、サンプル

オキシダイザーで燃焼後、LSC を用いて放射エネルギーを測定した。

(2) 茎葉及びがく

予め秤量した容器に均一化後の「茎葉及びがく」を秤量し、アセトニトリル(2回)次いでアセトニトリル:水(1:1, v/v)(2回)で磨砕抽出した。各抽出後、試料を室温、4000 rpm で10分間遠心分離した。抽出液中の放射エネルギーをLSCを用いて測定した。抽出後の残留物は、サンプルオキシダイザーで燃焼後、LSCを用いて放射エネルギーを測定した。

溶媒抽出後の残留物について更に酵素処理(セルラーゼ、ペクチナーゼ及びβ-グルコシダーゼ混合液)、あるいは酸及びアルカリ条件(室温及び熱還流)で抽出し、溶媒抽出後の残留物からの抽出性を検討した。

5. 分析

各部位の抽出液それぞれを濃縮後、アセトニトリル:水(1:1, v/v)に溶解し、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)及び薄層クロマトグラフィー(TLC)で分析した。対照物質とのコクロマトグラフィーにより代謝物を同定し、更に、同定を確実にするため、LC-MS分析で同定を確認した。

【結果】

1. 総放射能残留量(TRR)及び抽出された放射エネルギー

(1) 種子

1.5倍量で処理した棉から採取した「種子」における総放射能残留量(TRR)は0.051 ppmであった(表1)。

散布液がかからないように防護した綿花(移行性実験)の「種子」のTRRは0.0046 ppmであった(表1)。散布処理した「種子」のTRRの9%に相当し、移行が少ないことが示唆された。

繊維除去種子及び短繊維それぞれから、合計にしてTRRの94.2%(0.048 ppm)が抽出され、TRRの5.9%(0.003 ppm)が未抽出として留まった(表1)。

表1 棉の種子における総放射能残留量(TRR)及び抽出放射エネルギー

	ppm	(%TRR)
総放射能残留量(TRR)	0.051	(100)
抽出物	0.048	94.2
未抽出残留物	0.003	5.9

(2) 茎葉及びがく

1.5倍量で処理した棉から採取した「茎葉及びがく」における総放射能残留量は6.33 ppmであった(表2)。

アセトニトリル(2回)及びアセトニトリル:水(1:1, 2回)を用いた通常の溶媒抽出により、TRRの92.2%(5.84 ppm)が「茎葉及びがく」から抽出され、TRRの7.8%(0.49

ppm)が通常溶媒での抽出後に未抽出であった。

通常溶媒で抽出されなかった放射エネルギーが 0.05 ppm 以上であったため、通常溶媒で抽出後の未抽出残留物を、a) pH 5 緩衝液で酵素(セルラーゼ、ペクチナーゼ及びβ-グルコシダーゼ)処理後に抽出、b) 0.1M 塩酸及び 0.1M 水酸化ナトリウムでの常温または加熱還流での抽出及び c) 6M 塩酸及び 2M 水酸化ナトリウムでの加熱還流抽出により抽出した。

これら抽出法のうち、遊離された放射エネルギーが最も多かったのは、アルカリ条件での還流抽出で最も多くの放射エネルギー(0.1M 水酸化ナトリウムで TRR の 7.2%(0.46 ppm)、2M 水酸化ナトリウムで TRR の 7.3%(0.46 ppm)が未抽出残留物から抽出された。酸処理で抽出された放射エネルギーが最も少なかった(TRR の 3.6~4.3%、0.23~0.27 ppm)。酵素処理後に抽出された放射エネルギーは TRR の 6.1%(0.39 ppm)、酵素の存在しない条件で抽出された放射エネルギー(5.8%(0.37 ppm))と同程度であり、酵素の影響が無いことが示された。これらの苛酷抽出後に未抽出として留まる放射エネルギーはアルカリ処理後で TRR の 0.5~1.8%(0.03~0.11 ppm)、酸処理後で TRR の 3.5~4.2%(0.22~0.27 ppm)であった(表 2)。

2M 水酸化ナトリウムを用いた還流抽出で最も多くの放射エネルギーが溶媒抽出後の未抽出残留物から抽出された(TRR の 7.3%、0.46 ppm)。総量にして TRR の 99.5%(6.30 ppm)が「茎葉及びがく」から抽出され、TRR の 0.5%(0.03 ppm)が残留物に留まった(未抽出)(表 2)。

表 2 棉の「茎葉及びがく」における総放射能残留量(TRR)及び抽出放射エネルギー

	ppm	(%TRR)
総放射能残留量(TRR)	6.33	(100)
通常溶媒抽出物	5.84	92.2
通常溶媒抽出後の未抽出残留物	0.49	7.8
酵素処理	0.39	6.1
酵素処理(対照、酵素無し)	0.37	5.8
0.1M 塩酸での常温抽出	0.27	4.2
0.1M 水酸化ナトリウムでの常温抽出	0.38	6.0
0.1M 塩酸での加熱還流抽出	0.27	4.3
0.1M 水酸化ナトリウムでの加熱還流抽出	0.46	7.2
6M 塩酸での加熱還流抽出	0.23	3.6
2M 水酸化ナトリウムでの加熱還流抽出	0.46	7.3
溶媒抽出後、2M 水酸化ナトリウムでの加熱還流抽出した後の未抽出残留物	0.03	0.5

2. 棉の「種子」ならびに「茎葉及びがく」における残留成分の分布

(1) 種子

CS11(TRR の 56.2%、0.029 ppm)及び CS7(TRR の 38.0%、0.019 ppm)の主要成分 2 種が「種子」の抽出液に検出された(表 2)。逆相 HPLC 及び順相 TLC を用いたクロマトグラフィーにより CS11 及び CS7 をそれぞれ未変化のスピロメシフェン[I]

及びエノール体[M1]と同定された。抽出された全放射能が同定され、その他全ての成分は検出限界未満(<0.002 ppm、TRR の<3.3%)であった(表 3)。

表 1 棉の種子における残留成分の分布

	ppm	(%TRR)
総放射能残留量(TRR)	0.051	100
抽出物	0.048	94.2
同定された代謝物：	0.048	94.2
スピロメシフェン[I]	0.029	56.2
エノール体[M1]	0.019	38.0
未抽出残留物	0.003	5.9

(2) 茎葉及びがく

通常溶媒抽出(TRR の 92.2%、5.84 ppm)及び 2M 水酸化ナトリウムでの加熱還流抽出(TRR の 7.3%、0.46 ppm)を合計し、「茎葉及びがく」抽出液の放射能成分の総量を求めた。

9種類の成分が「茎葉及びがく」抽出液中に 0.05 ppm(TRR の $\geq 0.8\%$)以上で存在した。その他に 0.05 ppm(TRR の<0.8%)未満の代謝物が 10 種類検出された。「茎葉及びがく」における主要残留成分はスピロメシフェン[I]及びエノール体[M1]であり、それぞれ 1.66 ppm(TRR の 26.3%)及び 3.13 ppm(TRR の 49.4%)認められた。スピロメシフェン[I]はアルカリ性条件で分解され、エノール体[M1]へと変換されることが示されている。従って、2M 水酸化ナトリウム水溶液での抽出液中に存在するエノール体[M1]は BSN2060 の分解による可能性がある。

上記 2 種以外に、4-ヒドロキシメチル体[M2](0.44 ppm、TRR の 6.9%)、

が同定された。

全体で TRR の 87.6%が同定された。

その他 12 種の代謝物が検出されたが、最大でも TRR の 2%(0.13 ppm)と少量であった。これら 12 種のうち 6 種を分配挙動で特性化したところ、これら代謝物の全てが pH 1 及び 3 では有機溶媒可溶性であった。

表 4 棉の「茎葉及びがく」の抽出液における残留成分の分布

	通常溶媒抽出		7Mリ還流抽出		抽出物合計	
	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR
抽出物	5.84	92.2	0.46	7.3	6.30	99.5
同定された代謝物：					5.55	87.6
スピロメシフェン[I]	1.66	26.3	<0.02	<0.3	1.66	26.3
エノール体[M1]	2.89	45.6	0.24	3.8	3.13	49.4
4-ヒドロキシメチル体[M2]	0.44	6.9	nc	nc	0.44	6.9

nc 放射エネルギーが少なく、算出できず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 代謝経路

スピロメシフェン[I]の棉における代謝分解は以下の経路で進行した。エステルの開裂でエノール体[M1]が生成し、エノール体[M1]のベンゼン環の4-メチルが水酸化された4-ヒドロキシメチル体[M2]が生成後、

生成した。棉における代謝経路も他の植物と同様、エステルの開裂、ベンゼン環の4-メチルの水酸化及びであり、これらが組み合わさった反応によりスピロメシフェン[I]は代謝された。

スピロメシフェン[I]の棉における推定代謝経路を以下に示す。

図 スピロメシフェン[I]の棉における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 土壌における運命

(1) [

¹⁴C]スピロメシフェンの好気土壌中の分解・代謝

(資料番号：土壌運命 1)

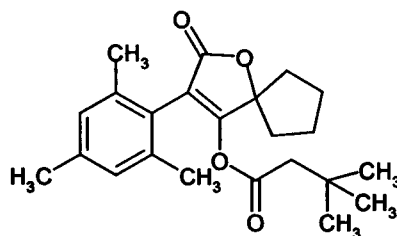
試験機関：

報告書作成年月日：2001年8月28日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[

¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 土壌

Claude、Fresno、Hoefchen 及び Laacherhof から採取した計 4 土壌を用いた。

表 1 供試土壌

名称	採取地	土性 (USDA)	pH		OC%
			H ₂ O	CaCl ₂	
Claude	米国、テキサス	シルト質埴壌土	7.1	6.2	2.17
Fresno	米国、カリフォルニア	砂壌土	6.9	6.1	1.2
Hoefchen	ドイツ、Burscheid	シルト	7.1	6.8	2.14
Laacherhof	ドイツ、モンハイム	砂壌土	7.2	6.6	2.02

2. 処理量及び処理

処理量は、EPA ガイドラインに準拠して算出した。すなわち、スピロメシフェンの推奨最大使用量が 180 g a.i./ha での 4 回処理であることから、土壌深 15 cm、土

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

壤の仮比重 1.5 g/cm^3 とすると、処理量は BSN 2060 として $32 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ 土壤(乾土重)と算出された。また、日本のガイドラインの土壤深 10 cm 、土壤の仮比重 1.0 g/cm^3 で算出した場合、本処理量は 320 g a.i./ha に相当した。そこで、本試験における処理量は 0.32 mg/kg に設定した。

土壤の一部(約 20 g 乾土相当量)をシャーレに採り、所定量の処理溶液を添加した後、薬さじを用いて溶媒が揮発するまで十分に混合し、残りの土壤に戻した後、土壤全量をミキサーで 1 時間混合した。混合後、 300 mL 容三角フラスコに乾土 100 g 相当の土壤を分配し、水分含量が $1/3$ バールでの含水量の約 75% (Claude 土壤及び Fresno 土壤)または最大容水量の約 40% (Hoefchen 土壤及び Laacherhof 土壤)となるように蒸留水を添加した。

3. 培養条件及び試料採取

[I]を処理した土壤を入れた三角フラスコに CO_2 吸収用のソーダライムと揮発性有機物吸収用のポリウレタン(PU)栓を入れた捕集装置を取り付けた後、暗黒下、約 20°C で培養した。薬剤処理 $0, 1, 3, 7, 14, 30, 62, 90$ 及び 120 日後に試料を採取した。Claude 及び Fresno 土壤では、更に $181, 272$ 及び 360 日後に試料を採取した。

4. 分析

1) 揮発性有機化合物及び $^{14}\text{CO}_2$

揮発性有機化合物を PU 栓から酢酸エチルで抽出後、抽出液中の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。ソーダライムに 18% 塩酸を滴下し、 $^{14}\text{CO}_2$ を遊離させ、生じた $^{14}\text{CO}_2$ を吸収剤に吸収させた後、LSC で測定した。

2) 土壤

水 100 mL (1 回目の抽出溶媒)を用いて土壤試料全量を遠沈管に移した。土壤を水 100 mL で抽出した後、アセトニトリル 80 mL で 3 回抽出した。それぞれの抽出段階毎に 30 分間振とう抽出後、遠心分離した($5000 \times \text{g}$, 15 分)。澄明な上清をろ紙に通し、混合した抽出液の体積及び放射エネルギーを測定した。土壤抽出液は異なる 2 種の方法の薄層クロマトグラフィー(TLC)で分析し、[I]及び分解物を検出/定量した。親化合物および分解物は、標準物質とのコクロマトグラフィー及び、LC-MS、LC-MS/MS 及び NMR を用いて同定した。更に、多量の分解物を得るための、分解物産生実験から得られた画分を LC-MS、LC-MS/MS 及び NMR で分析し、少量分解物を同定した。

抽出後の土壤中に残存する放射能及びろ紙中に検出された放射能を結合性残留物とし、その量は燃焼分析により求めた。

【結果】

1. 物質収支及び各画分における放射能の分布(表 2)

水及びアセトニトリルで抽出された放射能はいずれの土壤でも経時的に減少し、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

それに伴い、結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物量は経時的に増加したが、いずれの土壌でも培養 30~120 日後には最大に達し、その後、試験終了時まで全土壌で経時的に減少した。結合性出残留物は全ての土壌で処理放射エネルギーの 25%を超えなかった。試験終了時(Claude 及び Fresno 土壌で 365 日後、Hoefchen 及び Laacherhof 土壌で 120 日後)には未抽出残留物の量が減少したことから、未抽出残留物も無機化を受けると推定された。

揮発性物質は経時的に増加し、試験終了時(Claude 及び Fresno 土壌で 365 日後、Hoefchen 及び Laacherhof 土壌で 120 日後)には、約 70%まで達した。揮発性放射エネルギーのほとんどが CO₂ であり、揮発性有機化合物は Fresno 土壌の 181 日後及び 365 日後のみそれぞれ 0.1%及び 0.2%検出されたのみであった。Fresno 土壌以外では揮発性有機化合物は検出されなかった。

物質収支は全ての試料で 90.6~104.4%と良好であった。

2. 被験物質の消長及び分解物の生成/消長(表 2)

無機化及び結合性残留物の増加により、土壌から抽出される放射エネルギーは試験経過に伴って顕著に減少した。

スピロメシフェン[I]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射エネルギーの 10%を超える主要分解物が 2 種()及び少量分解物が 2 種()生成した。

は 4 種全ての土壌で主要分解物として認められた。Claude 及び Fresno 土壌では、 は 14 日後にそれぞれ 32%及び 28%の最大に達し、Hoefchen 及び Laacherhof 土壌では、7 日後にそれぞれ 49%及び 58%の最大に達した。実験終了時 (Claude 及び Fresno 土壌で 365 日、Hoefchen 及び Laacherhof 土壌で 120 日)までに は処理放射エネルギーの 2%以下に減少した。

は、Claude 土壌では 30 日後に最大 7.5%に達した後減少した。Fresno 土壌では は比較的少なく、14 日後の 2.8%が最大であった。Hoefchen 及び Laacherhof 土壌では は処理量の 10%を超える量で認められ、それぞれ 30 日後の 7-11%に達した。Fresno 及び Hoefchen 土壌では 14 日後にそれぞれ 14 日後及び 30 日後に 10.6%及び 11.4%の最大に達した後減少した。実験終了時までには の量は処理放射エネルギーの 2%以下に減少した。

処理放射エネルギーの 10%未満の量で認められた は全土壌で 7 日後に始めて検出された。Claude 及び Fresno 土壌では、その量は 30 日までにそれぞれ処理放射エネルギーの 7%及び 4%に増加し、実験終了時には処理放射エネルギーの 2%未満まで減少した。Hoefchen 及び Laacherhof 土壌では、 は試験期間全てを通じて処理放射エネルギーの 2%未満であった。

分解物を大量に生産するために、50 倍過剰量で処理した Claude 土壌から、

が同定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 被験物質及び分解物の消長 処理放射能に対する割合(%)

画分/成分	経過日数(日)												
	0	1	3	7	14	30	62	90	120	181	272	365	
Claude	抽出液	95.9	93.1	93.6	89.1	80.6	63.2	35.7	23.3	15.1	7.9	5.8	4.7
	スビ [®] ロメシフエン[I]	86.6	78.7	66.1	49.7	37.0	17.5	5.8	3.1	1.8	0.9	0.6	0.4
	エノール体[MI]	5.1	11.5	22.3	29.7	31.8	26.8	13.1	7.2	3.7	1.3	0.8	0.8
	結合性	4.1	5.2	5.6	7.2	8.8	13.4	16.8	17.7	17.4	15.8	14.6	13.9
	揮発(CO ₂)	n.m.	0.3	0.8	2.8	7.6	21.5	41.5	50.5	58.4	66.9	72.3	72.1
	収支	100.0	98.5	100.1	99.1	97.0	98.0	94.0	91.4	91.0	90.6	92.8	90.7
Fresno	抽出液	96.2	95.1	98.9	93.1	84.1	64.0	34.0	19.7	12.4	5.8	4.5	3.7
	スビ [®] ロメシフエン[I]	88.4	82.5	75.8	59.0	48.0	27.4	11.0	6.6	4.0	1.6	1.0	0.7
	エノール体[MI]	3.9	9.3	17.5	25.8	28.4	25.8	12.9	7.1	3.6	1.5	1.0	0.7
	結合性	3.8	4.7	4.9	5.9	8.1	12.5	15.8	16.2	16.4	14.6	13.3	13.3
	揮発(CO ₂)	n.m.	0.2	0.6	2.4	7.8	24.3	46.8	62.7	64.8	78.8	77.9	78.8
	揮発(有機物)	n.m.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0.1	n.d.	0.2
	収支	100.0	100.0	104.4	101.3	100.0	100.7	96.6	98.6	93.6	99.4	95.7	96.0
Hoefchen	抽出液	95.2	94.7	90.2	81.6	62.7	32.5	6.0	2.6	2.2			
	スビ [®] ロメシフエン[I]	80.8	64.7	40.1	19.8	11.0	3.1	1.4	1.0	1.0			
	エノール体[MI]	10.4	26.7	43.5	48.5	37.6	16.2	2.1	0.7	0.4			
	結合性	4.8	6.5	7.1	11.5	17.6	22.9	21.5	18.9	18.7			
	揮発(CO ₂)	n.m.	0.5	2.1	7.6	19.7	47.3	67.6	71.0	70.4			
	収支	100.0	101.7	99.4	100.6	100.0	102.7	95.1	92.5	91.3			
Laacherhof	抽出液	95.7	96.1	94.4	86.4	72.1	44.8	17.7	8.9	4.6			
	スビ [®] ロメシフエン[I]	81.6	62.0	37.2	15.6	7.7	2.1	1.0	0.8	0.7			
	エノール体[MI]	10.8	30.6	51.0	57.5	49.3	25.3	7.7	3.6	1.8			
	結合性	4.3	4.9	6.3	9.9	14.8	21.9	24.1	22.9	21.4			
	揮発(CO ₂)	n.m.	0.3	1.3	5.0	12.8	32.3	54.2	65.8	67.8			
	収支	100.0	101.4	102.0	101.3	99.7	99.1	96.0	97.6	93.8			

2 反復の平均

n.m. : 測定せず、n.d. : 検出されず。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 被験物質の分解速度(表 3)

スピロメシフェン[I]は、半減期 2.9 日～17.9 日で速やかに分解した。、DT₉₀ も 9.6 ～59.6 日と短く、培養終了時(Claude 及び Fresno 土壌で 365 日、Hoefchen 及び Laacherhof 土壌で 120 日)にはいずれの土壌においても、スピロメシフェン[I]は処理量の 1%以下に減少した。

表 3 スピロメシフェン[I]の分解速度

	Claude	Fresno	Hoefchen	Laacherhof
速度定数、k (1/d)	0.059	0.039	0.199	0.240
DT ₅₀ (d)	11.7	17.9	3.5	2.9
DT ₉₀ (d)	39.0	59.6	11.5	9.6

4. スピロメシフェン[I]の推定分解経路

主要分解物は、エステル結合の加水分解により生成するエノール体[M1]であった。

エノール体[M1]は、

続く酸化により、

に変換された。更に、

に、

の 2 種が分解物産生の過程で同定され、以下の経路が推定された。最終的にスピロメシフェン[I]は CO₂ まで完全に無機化された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図1 [^{14}C スピロメシフェン[I]の好気的条件土壌中
における推定分解経路
〔 〕は本試験で検出されていない想定中間分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 土壌における運命

(2) [¹⁴C]スピロメシフェンの好気土壌中の分解・代謝

(資料番号：土壌運命 2)

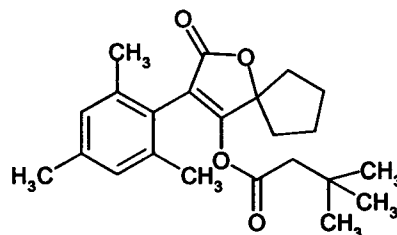
試験機関：

報告書作成年月日：2001年8月27日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 土壌

¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]の土壌中運命試験(資料番号：土壌運命 1)で用いた 4 土壌から Fresno 土壌を用いた。

表 1 供試土壌

名称	採取地	土性 (USDA)	pH	OC%
			H ₂ O	
Fresno	米国、カリフォルニア	砂壤土	8.5	0.49

2. 処理量及び処理

米国における最大施用量(1 作季当たり 900 g a.i./ha)に基づき、処理濃度を 0.400 ppm に設定した (土壌深 15 cm、土壌の仮比重 1.5 g/cm³ で算出)。

土壌の一部(約 25 g 乾土相当量)をシャーレに採り、所定量の処理溶液を添加した後、葉さじを用いて溶媒が揮発するまで十分に混合し、残りの土壌に戻した後、土壌全量をミキサーで 1 時間混合した。混合後、乾土 100g 相当の土壌を 300 mL の三角フラスコに分配し、水分含量が 1/3 パールでの含水量の約 75%となるように蒸留水を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
追加した。

3. 培養条件及び試料採取

[I]を処理した土壌を入れた三角フラスコに CO₂ 吸収用のソーダライムと揮発性有機物吸収用のポリウレタン(PU)栓を入れた捕集装置を取り付けた後、暗黒下、約 20℃ で培養した。薬剤処理 0、1、3、7、14、35、62、90 及び 120 日後に試料を採取した。

4. 抽出、放射能量測定、分析

1) 揮発性有機化合物及び ¹⁴CO₂

揮発性有機化合物を酢酸エチルで PU 栓から抽出後、抽出液中の放射能量を液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。ソーダライムに 18%塩酸を滴下し、¹⁴CO₂を遊離させ、生じた ¹⁴CO₂を吸収剤に吸収させた後、LSC で測定した。

2) 土壌

水 100 mL(1 回目の抽出溶媒)を用いて土壌試料全量を遠沈管に移した。土壌を水 100 mL で抽出した後、アセトニトリル 80 mL で 3 回抽出した。それぞれの抽出段階毎に 30 分間振とう抽出後、遠心分離した(5000×g、15 分)。澄明な上清をろ紙に通し、混合した抽出液の体積及び放射能量を測定した。土壌抽出液は薄層クロマトグラフィー(TLC)で分析し、分解物を検出/定量した。親化合物および分解物は、標準物質とのコクロマトグラフィー及び、LC-MS、LC-MS/MS 及び NMR を用いて同定した。ろ紙中の放射能量及び土壌に残留する放射能量は、燃焼分析により求めた。抽出後の土壌中に残存する放射能及びろ紙中に検出された放射能を結合性残留物とした。

【結果】

1. 物質収支及び各画分における放射能の分布(表 2)

水及びアセトニトリルで抽出された放射能量は経時的に減少し、それに伴い、結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物量は経時的に増加し、0 日に処理放射能の 5.8%であった結合性残留物は 120 日後に 20.5%に増加した。

揮発性物質は経時的に増加し、試験終了時の処理 120 日後には処理放射能の約 30%に達した。揮発性有機化合物は検出されず、揮発性放射能の全てが CO₂であった。抽出放射能、未抽出残留物及び揮発性放射能量に基づき総回収量を算出した。放射能の収支は 96.0%~102.9%と良好であった。

2. 被験物質の消長及び分解物の生成/消長(表 2)

無機化及び結合性残留物の増加により、土壌から抽出される放射能量は試験経過に伴って顕著に減少した。

スピロメシフェン[I]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射能の 10%を超える主要分解物が 2 種()及び少量分解物が 1 種()生成した。

エノール体[M1]は主要分解物として認められ、処理 7 日後に処理放射能の 77.1%まで増加した後、120 日の試験終了時には処理放射能の 22%まで減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

の量は3日後に増加し始め、90日後に11.3%に達した後、試験終了時には11.1%までわずかに減少した。も3日後に初めて認められた。その量も62日後の5.1%まで増加した後、試験終了時に向けて4.6%まで減少した。

表2 被験物質及び分解物の消長 処理放射能に対する割合(%)

画分/成分	経過日数(日)									
	0	1	3	7	14	35	62	90	120	
Fresno	抽出液	94.2	96.4	96.4	96.8	90.5	79.5	68.5	55.9	45.5
	スピロメシフェン[I]	84.1	59.9	36.1	14.6	4.3	1.5	0.9	0.5	0.3
	結合性	5.8	6.5	3.5	3.3	5.5	9.7	14.8	18.6	20.5
	揮発(CO ₂)	n.m.	<0.1	0.1	0.5	1.7	6.8	14.8	21.9	30.1
	収支	100.0	102.9	100.1	100.6	97.7	96.0	98.1	96.3	96.1

2 反復の平均

n.m. : 測定せず、n.d. : 検出されず。

3. 被験物質の分解速度(表 3)

スピロメシフェン[I]は、半減期 2.6 日で速やかに減衰し、処理 120 日後の試験終了時には処理放射エネルギーの 1%未満まで減少した。

表 3 スピロメシフェン[I]の分解速度論

	Fresno
速度定数、k (1/d)	0.268
DT ₅₀ (d)	2.6
DT ₉₀ (d)	8.6

4. スピロメシフェン[I]の推定分解経路

スピロメシフェン[I]の推定分解経路を図 1 に示す。主要分解物は、エステル結合の加水分解により生成する であった。 は、

に変換された。最終的にスピロメシフェン[I] は CO₂ まで完全に無機化された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

図1 [^{14}C]スピロメシフェン[I]の好気的條件土壤中
における推定分解経路
[] は本試験で検出されていない想定中間分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3. 土壌における運命

(3) [¹⁴C]スピロメシフェンの好気土壌中の分解・代謝

(資料番号：土壌運命 3)

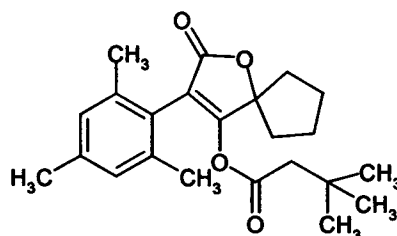
試験機関：

報告書作成年月日：2001年10月2日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 土壌

[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]の土壌中運命試験で用いた 4 土壌から Fresno 土壌を用いた。本土壌は、[¹⁴C]標識スピロメシフェン [I]の試験にも用いた。

表 1 供試土壌

名称	採取地	土性 (USDA)	pH	OC%
			H ₂ O	
Fresno	米国、カリフォルニア	砂壤土	8.5	0.49

2. 処理量及び処理

米国における最大施用量(1 作季当たり 900 g a.i./ha)から算出される値に近似した 0.401 ppm の濃度を設定濃度とした(土壌深 15 cm、土壌の仮比重 1.5 g/cm³で算出)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

乾土 100g 相当の土壌を 250 mL の三角フラスコに秤量した後、[I]の処理溶液(アセトニトリル溶液)193 μ L を加え、水分含量が 1/3 バールでの含水量の約 75%となるように蒸留水を添加した。

3. インキュベーション及び試料採取

[I]を処理した土壌を入れた三角フラスコに CO₂ 及び揮発性有機物を吸収するための捕集溶液を入れたフロースルー式捕集装置を取り付け、暗黒下、約 20°C で培養した。薬剤処理 0、1、2、3、6、8、14、30、45、62 及び 90 日後に試料を採取した。

4. 抽出、放射能量測定、分析

1) 揮発性有機化合物及び ¹⁴CO₂

CO₂ 及び揮発性有機物の捕集溶液の体積を記録した後、放射能量を液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

2) 土壌

高速溶媒抽出装置(ASE)を用いて土壌試料全量を抽出した。抽出溶媒にはアセトニトリル : 0.1% 蟻酸水溶液(8 : 2、v/v)の混液を用いて、60°C で抽出した。抽出液の体積を記録後、液体シンチレーションカウンター(LSC)で抽出液中の放射能量を測定した。また、抽出液を濃縮後、HPLC で分析し、抽出液中の成分を検出/定量した。抽出後の土壌に残留する放射能量は、風乾後、燃焼分析により求めた。

【結果】

1. 物質収支及び各画分における放射能の分布(表 2)

水及びアセトニトリルで抽出された放射能量は経時的に減少し、それに伴い、結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物量は経時的に増加し、培養 90 日後には 13.9%に達した。

揮発性物質は経時的に増加し、試験終了時には 14.3%に達した。揮発性放射能の全てが CO₂ であり、揮発性有機化合物は検出されなかった。

物質収支は 95.1%~102.1%と良好であった。

2. 分解物の消長(表 2)

無機化及び結合性残留物の増加により、土壌から抽出される放射能量は試験経過に伴って顕著に減少した。

スピロメシフェン[I]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射能量の 10%を超える主要分解物が 2 種及び少量分解物が 4 種生成した。主要分解物は

と同定され、4 種の少量分解物の内 3 種を

と同定したが、1 種は

同定されなかった。

エノール体[M1]は主要分解物として認められ、30 日後に処理放射能の 82.2%まで増加した後、90 日後の試験終了時には処理放射能の 45.3%まで減少した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

の量は経時的に増加し、90日後に最大14.1%に達した。
を含むその他の分解物の量は少なく、5%未満であった。

表2 被験物質及び分解物の消長 処理放射能に対する割合(%)

画分/成分	経過日数(日)											
	0	1	2	3	6	8	14	30	45	62	90	
Fresno 抽出液	99.1	98.9	100.1	92.2	98.6	95.9	95.5	91.8	88.6	82.0	67.2	
スピロメシフェン[I]	92.3	78.7	68.9	53.7	35.2	23.6	7.5	2.0	1.0	0.8	0.7	
結合性	0.5	0.9	1.1	1.4	1.6	2.0	1.7	3.2	5.6	7.8	13.9	
揮発(CO ₂)	n.m.	0.4	0.9	1.5	1.8	1.8	2.7	3.7	5.5	8.3	14.3	
収支	99.6	100.2	102.1	95.1	102.0	99.6	100.0	98.7	99.8	98.0	95.4	

2 反復の平均

* : 1成分で1.0%を超える代謝物はいずれの採取時間においても認められなかった。

n.m. : 測定せず、n.d. : 検出されず。

3. 被験物質の分解速度(表3)

スピロメシフェン[I]は、半減期3.8日で速やかに減衰し、処理90日後の試験終了時には処理放射エネルギーの1%未満まで減少した。

表3 スピロメシフェン[I]の分解速度論

	Fresno
DT ₅₀ (d)	3.8
DT ₉₀ (d)	12.7

4. BSN 2060 の推定分解経路

スピロメシフェン[I]の推定分解経路を図1に示す。主要分解物は、

最終的にスピロメシフェン[I]

はCO₂まで完全に無機化された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4. 水中運命試験

(1) [¹⁴C]スピロメシフェンの滅菌緩衝液中における加水分解

(資料番号：水中運命 1)

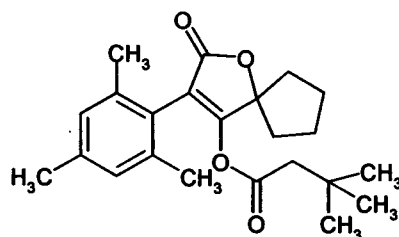
試験機関：

報告書作成年月日：2001年7月24日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 試験系

試験溶液：pH 4 酢酸緩衝液(0.005M)

pH 7 トリス緩衝液(0.05M)

pH 9 ホウ酸緩衝液(0.01M)

試験濃度：0.065 Mg/L (水溶解度の 1/2)

溶解助剤の種類及び濃度：アセトニトリル、0.4%

試験温度：50℃及び25℃

2. 試験容器及びの[I]の処理

クリンキャップ付きの 35 ML 容のガラス製容器を試験容器に用いた。それぞれの pH の緩衝液 20 ML を試験容器に入れ、蓋をした後、1 時間オートクレーブして滅菌した。滅菌後、アセトニトリルに溶解した処理溶液 0.080 ML を注射筒を用いて無菌的に処理した。試験溶液中のアセトニトリル濃度は 0.4% であった。処理溶液を添加

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はパイエルクロップサイエンス株式会社にある。

後、0時間試料は速やかに分析し、残りの試料は暗黒条件下、一定温度(試験1:25℃、試験2:50℃)に設定した恒温槽中でインキュベートした。

3. 試料採取(表1)及び分析

50℃で実施した試験1及び25℃で実施した試験2に関して、下表に示す時点でpH4、7及び9の緩衝液を採取した。滅菌性の確認及びpH測定にそれぞれ1ML及び3MLを抜き取った後、残りの16MLにトリフルオロ酢酸(40µL)を添加し、酸性化した後、アセトニトリル(6.8ML)を添加して高速液体クロマトグラフィー分析における移動相溶媒組成と合わせた。その後、放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、緩衝液中の成分を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分離、定量した。

[I]及び分解物はHPLCコクロマトグラフィー及びLC-MS/MSによる同定、あるいはLC-MS/MS及びNMRにより同定した。

表1 各試料の採取時点

	温度	pH	採取日(処理後経過時間または日数)
試験1	50℃	pH4	0、5、8、24、32時間、2、3、6日
		pH7	0、1、5、9、25、32時間、2、3日
		pH9	0、1、2、3、4、5、21、3日
試験2	25℃	pH4	0、5、9、25、32時間、2、3、7、8、13、14、16、22、24、28、30日
		pH7	0、1、5、8、24、32時間、2、3、7、8、13、14、16、22、28、30日
		pH9	0、1、2、3、4、5、16時間、1、2、3、7、8、13、14、16、22、24、28、30日

【結果】

1. 試験温度、試験溶液の滅菌性及び試験溶液のpH

試験1において試験開始4時間の温度が設定温度(50±1℃)から逸脱したが、それ以外は設定温度に維持された。

大部分の試料で緩衝液の滅菌性が維持されたが、試験2のpH7の1時間後及びpH9の16時間後のいずれも一反復で汚染が認められた。しかし、汚染が二反復の一方であり、更に認められたのが1cfuのみであったことから、汚染は接種時の汚染のためであり、緩衝液の滅菌性は保たれていたと推定された。

各緩衝液のpHは設定したpHに維持された。

2. 試験1(50℃)における加水分解(表2~4、図1)

pH4の緩衝液中、[I]は処理6日後に処理放射能の15.1%まで減少した。は5時間後に処理放射能の5.1%生成し、その後、6日後には78.4%に増加した。pH4緩衝液における物質収支は96.2%~102.4%(全平均99.8%)であった。

pH7の緩衝液中、[I]は処理3日後に処理放射能の30.5%まで減少した。は1時間後に処理放射能の1.6%生成し、その後、3日後には68.3%まで増加した。pH7緩衝液における物質収支は98.5%~104.0%(全平均100.2%)であった。

pH9の緩衝液中、[I]は21時間後に処理放射能の5.0%まで減少し、72時間後には検出されなかった。は1時間後における処理放射能の24.6%から72時間後の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

96.8%まで増加した。pH 9 緩衝液における物質収支は 96.8%~101.9%(全平均 99.2%)であった。

処理放射エネルギーの 10%を超える分解物は 以外に生成しなかった。

表 2 試験 1(50°C)における [I] の加水分解 (処理放射能に対する%)

pH 4	処理後経過時間(h)または日数(d)							
	0 (h)	5 (h)	8 (h)	24 (h)	32 (h)	2 (d)	3 (d)	6 (d)
[I]	100	95.1	90.6	73.6	69.9	54.9	42.3	15.1
その他	<LOQ	2.2	<LOQ	0.6	<LOQ	1.1	1.4	2.6
物質収支	100	102.4	98.6	100.6	101.5	100.2	98.6	96.2
pH 7	処理後経過時間(h)または日数(d)							
	0 (h)	1 (h)	5 (h)	9 (h)	25 (h)	32 (h)	2 (d)	3 (d)
[I]	99.0	98.9	95.7	84.8	63.4	56.9	43.7	30.5
その他	1.0	0.5	<LOQ	1.3	<LOQ	<LOQ	0.8	<LOQ
物質収支	100.0	100.9	104.0	99.8	98.9	98.5	100.1	98.8
pH 9	処理後経過時間(h)または日数(d)							
	0 (h)	1 (h)	2 (h)	3 (h)	4 (h)	5 (h)	21 (h)	3 (d)
[I]	100.0	77.4	57.7	44.4	34.8	27.8	5.0	<LOQ
その他	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.4	2.3	<LOQ
物質収支	100.0	101.9	99.1	98.2	99.5	98.6	98.4	96.8

<LOQ : 定量限界未満

3. 試験 2(25°C)における加水分解(表 3)

pH 4 の緩衝液中、[I] は試験終了時(30 日)に処理放射能の 71.0%に減少した。が唯一の主要分解物であり、9 時間後の 1.3%から 30 日後の 27.5%まで増加した。pH 4 緩衝液における物質収支は 94.6%~101.2% (全平均 97.9%)であった。

pH 7 の緩衝液中、[I] は試験終了時(30 日)に処理放射能の 42.9%に減少した。が唯一の主要分解物であり、1 時間後の 0.8%から 30 日後の 54.3%まで増加した。pH 7 緩衝液における物質収支は 96.3%~101.8% (全平均 98.8%)であった。

pH 9 の緩衝液中、[I] は処理 28 日後に処理放射能の 1.5%に減少し、30 日後には検出されなかった。は、1 時間後に処理放射能の 2.0%であったのが、30 日後に 95.7%まで増加した。pH 9 緩衝液における物質収支は 94.1%~100.0% (全平均 96.8%)であった。

処理放射エネルギーの 10%を超える分解物は 以外に生成しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表3 試験2(50℃)における[I]の加水分解 (処理放射能に対する%)

pH 4	処理後経過時間(h)または日数(d)																		
	0 (h)	5 (h)	9 (h)	25 (h)	32 (h)	2 (d)	3 (d)	7 (d)	8 (d)	13 (d)	14 (d)	16 (d)	22 (d)	24 (d)	28 (d)	30 (d)			
[I]	100.0	101.2	98.6	96.1	93.8	94.5	94.9	88.0	88.0	80.1	81.2	76.8	73.0	65.8	65.5	71.0			
その他	<LOQ	<LOQ	0.4	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.7	<LOQ	<LOQ	0.5	1.0	<LOQ	2.0	1.2	<LOQ			
物質収支	100.0	101.2	100.3	98.1	95.4	97.2	99.1	98	98.1	94.6	98.3	96.8	98.1	96.9	96.4	98.6			
pH 7	処理後経過時間(h)または日数(d)																		
	0 (h)	1 (h)	5 (h)	8 (h)	24 (h)	32 (h)	2 (d)	3 (d)	7 (d)	8 (d)	13 (d)	14 (d)	16 (d)	22 (d)	28 (d)	30 (d)			
[I]	100.0	95.5	100.7	100.8	95.4	95	91.7	90.3	75.6	76	64.4	65.1	62.6	55.3	46.3	42.9			
その他	<LOQ	<LOQ	0.6	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.1	<LOQ	<LOQ	0.6	1.0	<LOQ	1.6	<LOQ	0.6	<LOQ			
物質収支	100.0	96.3	101.8	101.8	98.5	98.4	99.6	98.8	97.9	98.7	98.5	97.3	98.2	99.1	98.5	97.1			
pH 9	処理後経過時間(h)または日数(d)																		
	0	1	2	3	4	5	16	1	2	3	7	8	13	14	16	22	24	28	30
[I]	100.0	97.1	95.9	91.7	90	90	78.8	71.5	57	47.6	25.7	21.5	11.9	8.8	4.5	2.9	2.2	1.5	<LOQ
その他	<LOQ	<LOQ	0.3	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.4	2.0	0.4	0.6	1.1	0.9	1.7	0.5	3.2	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
物質収支	100.0	99.1	99.5	96.6	97.1	98.1	98.5	97.9	95.4	96.9	96.3	94.1	95.6	96	95.2	95.8	96.1	96.1	95.7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4. 加水分解半減期及び DT₉₀ (表 4)

スピロメシフェン[I]の pH 4、7 及び 9 の 50℃ 及び 25℃ における半減期及び DT₉₀ ならびにアーレニウス式に外挿し算出した 20℃ における半減期及び DT₉₀ を表 4 に示す。

表 4 スピロメシフェン[I]の加水分解半減期及び DT₉₀

pH	50℃		25℃		20℃
	半減期	DT ₉₀	半減期	DT ₉₀	半減期
pH 4	2.2 日	7.4 日	53.3 日	177.1 日	107.3 日
pH 7	1.7 日	5.6 日	24.8 日	82.2 日	44.7 日
pH 9	2.6 時間	8.9 時間	4.3 日	14.4 日	4.8 日

5. 加水分解経路

スピロメシフェン[I]の推定加水分解経路を以下に示す。全ての pH(pH 4、7 または 9)で が唯一の主要分解物であり、 以外の分解物はほとんど認められなかった(最大で処理放射能の 3.2%)。

スピロメシフェン[I]の推定加水分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4. 水中運命試験

(2) [

¹⁴C]スピロメシフェンの水中光分解(自然水)

(資料番号：水中運命 2)

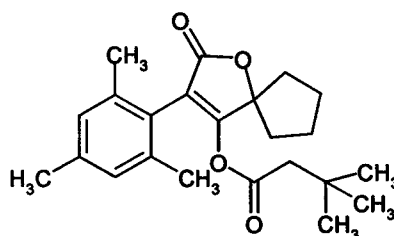
試験機関：

報告書作成年月日：2004年1月28日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 試験系

供試水：ドイツモンハイムで2002年11月28日に採取したライン川の水をろ過せずに、浮遊物が沈降後に使用した。河川水のpHは7.61であった。ライン川水はオートクレーブで滅菌後、被験物質を処理した。

試験濃度：設定濃度 0.06 mg/L (水溶解度 = 0.13 mg/L の約 1/2)

溶解助剤の種類及び濃度：アセトニトリル、0.0054% (10.8 µL/200 mL)

試験温度：25±1°C

光照射装置：サンテスト

光源：キセノンランプ(フィルターにより ≤290 nm の波長の光を除去)

試験容器：25 mL 容石英製容器

光強度：913.5 W/m² (300~800 nm での測定値)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 試料採取及び分析(表 1)

下表に示す日程で照射試験及び暗対照試験の試験容器を採取した。滅菌性を確認するため、試験溶液 100 μ L を採取後、試験溶液の pH を測定した。その後、試験溶液をスクリーキャップ付き容器に移した。試験容器をアセトニトリルで洗浄し、洗浄液を先のスクリーキャップ付き容器に移し、試験溶液と洗浄液を合わせた。合わせた溶液中の放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、成分を薄層クロマトグラフィー(TLC)で分析した。

表 1 各試料の試料採取時点

試料	採取日(処理後経過時間または日数)
照射	0、1、2、3、6、7、8日
暗対照	8日

【結果】

1. 試験温度、試験溶液の滅菌性及び試験溶液の pH

照射試料では試験期間中、設定温度の 25 $^{\circ}$ C に維持された。暗対照の設定温度よりやや低く、平均温度は 22.2 $^{\circ}$ C (21.4 \sim 25.3 $^{\circ}$ C) であったが、別の標識位置の試験と同様の結果であり、温度の逸脱は試験結果に影響を及ぼさなかったと推定される。

全ての試料で滅菌性が維持された。

試験溶液の pH は試験期間中、7.9 \sim 8.5 の範囲であった。pH に明確な傾向は認められなかった。

2. [I]の分解及び分解物の生成(表 2)

照射試料における物質収支は処理放射能の 93.7% \sim 100% の範囲であった。暗対照試料 8 日後の回収率は 101.8% であった。

照射試料において、スピロメシフェン[I]は 0 時間で既に 95.5% であり、

が 0 日に 4.1% 生成していた。処理 6 日後には[I]は約 5% 未満となり、以降 8 日後までこの量はほとんど変わらなかった。

は 1 日後に最大 26.9% に達した後、8 日後には 11.4% に減少した。

以外に処理量の 10% を超える分解物は認められなかった。

は緩やかに増加し、照射 8 日後に最大 5.6% となった。

は照射 3 日後に最大 4.6% に達した後、処理 8 日後には 3.4% に減少した。

は試験終了時まで増加し、その分解が明確には認められなかったが、pH 4 の緩衝液中で分解の認められなかった

の分解が認められた。pH 4 の緩衝液中光分解では認められなかった

も生成し、照射 4 日後に最大 8.8% に達した後、照射 8 日後には 7.2% まで減少した。その他、5 種の未知物質が認められたが、これらは処理放射能の 10% を超えなかった。CO₂ 及び揮発性有機物が照射期間の経過に伴い増加し、8 日後にはそれぞれ 0.3% 及び 2.6% に達した。

暗対照の 8 日後の試料におけるスピロメシフェン[I]の残存量は処理放射能の 27.3% であった。一方、は処理放射能の約 70% に達し、暗対照における主要

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

残留成分は であつた。暗対照の8日後の試料における物質収支は処理放射エネルギーの101.8%であり、良好な回収率が得られた。

表2 [I]の水中光分解 (処理放射能に対する%)

成分	経過日数(日)							
	0	1	2	3	6	7	8	暗対照8
溶液	100.0	95.3	95.3	95.3	93.2	95.8	90.8	99.8
[I]	95.5	39.4	21.6	11.3	3.7	3.2	4.9	27.3
CO ₂	n.m.	<0.1	<0.1	0.1	0.1	0.4	0.3	<0.1
揮発性有機物	n.m.	0.7	0.9	0.5	1.1	2.3	2.6	1.9
物質収支	100.0	96.0	96.2	95.9	94.4	98.6	93.7	101.8

<LOD: 検出限界未満、n.m.: 測定せず。

a 6成分の含量、それぞれは処理放射能の4.2%を超えなかった。

b 6領域以上に拡散、単一成分の最高は処理放射能の6.2%。

3. [I]の水中光分解速度

実験条件下における[I]の水中光分解半減期は1.8日、4~6月の東京の自然太陽光下における[I]の水中光分解半減期は約17日と算出された。

4. 水中光分解経路

水中光分解試験条件下、[I]は2種の光分解物(

)に直接光分解した。また、[I]の

が生成した。緩衝液中で殆ど光分解を受けなかった

は自然水中では

光分解し、

が生成した。少量のCO₂が生成した。推定分解

経路を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[I]の自然水中における推定光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4. 水中運命試験

(3) [^{14}C]及び[^{14}C]スピロメシフェンの
水中光分解(自然水)

(資料番号：水中運命 3)

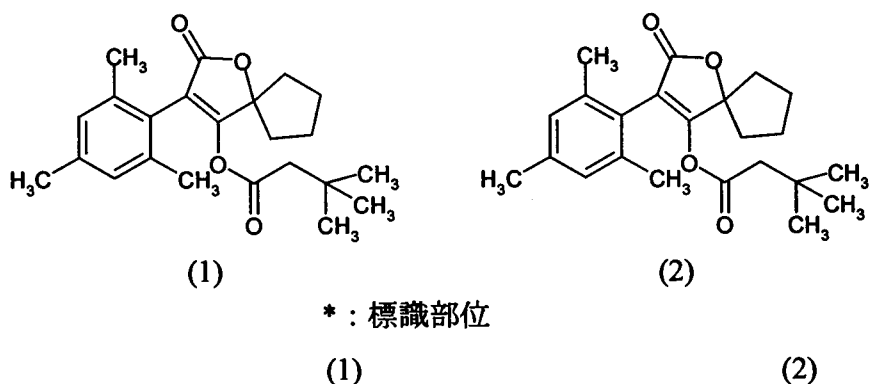
試験機関：

報告書作成年月日：2004年1月28日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



標識：

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 試験系

供試水：ドイツモンハイムで2003年11月6日に採取したライン川の水をろ過せずに、浮遊物が沈降後に使用した。河川水のpHは7.9であった。ライン川水はオートクレーブで滅菌後、被験物質を処理した。

試験濃度：設定濃度 0.06 mg/L (水溶解度 = 0.13 mg/L の約 1/2)

溶解助剤の種類及び濃度：アセトニトリル

溶解助剤の濃度：[^{14}C] : 0.032%、[^{14}C] : 0.052%

試験温度：25±1℃

光照射装置：サンテスト

光源：キセノンランプ(フィルターにより ≤290 nm の波長の光を除去)

試験容器：25 mL 容石英製容器

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

光強度：949 W/m² (300～800 nm での測定値)

2. 試料採取及び分析(表 1)

下表に示す日程で照射試験及び暗対照試験の試験容器を採取した。それぞれの標識体の試験溶液を1反復ずつ採取した。

0時間試料及び96時間試料を用いて溶液の滅菌性を確認した。0時間試料及び96時間試料については、滅菌性確認用に溶液100 µLを採取後、それ以外の採取時間の試料はそのまま試験溶液のpHを測定した後、試験溶液をスクリーキャップ付き容器に移した。試験容器をアセトニトリルで洗浄し、洗浄液を先のスクリーキャップ付き容器に移し、試験溶液と洗浄液を合わせた。合わせた溶液中の放射量を液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、成分を薄層クロマトグラフィー(TLC)で分析した。

表 1 各試料の試料採取時点

試料	採取時間(処理後経過時間)
照射	0、6、24、30、48、72、96
暗対照	96時間

【結果】

1. 試験温度、試験溶液の滅菌性及び試験溶液の pH

照射試料の温度は試験期間中を通じて25±1℃の範囲に維持された。

採取時間ごとに試験溶液のpHを確認した。試験期間中を通じて照射試料のpHは7.4～8.6の範囲であり、その値に傾向は認められなかった。

2. [I]の分解及び分解物の生成(表 2)

総回収率(2反復の平均)はいずれの放射能標識体でも処理量の97.8%～105.6%の範囲であったが、[¹⁴C]スピロメシフェン[I]の暗対照試料のみで処理放射能の89.8%であった。この回収率は90%未満であったが、[¹⁴C]スピロメシフェン[I]の暗対照試料の回収率は処理放射能の98.9%であり、照射期間中あるいは分析前処理中に放射能が消失していないことが示された。

本試験では、[¹⁴C]スピロメシフェン[I]と[¹⁴C]スピロメシフェン[I]の異なる標識位置の被験物質を用いて1反復ずつ、実施したが同定された分解物のいずれも両標識部位を維持していたため、結果を両標識体の試験の平均で示す。

スピロメシフェン[I]は光により着実に分解し、照射4日後(東京の環境条件における約38日に相当する)の溶液中に認められた未変化のスピロメシフェン[I]は8.0%であった。96時間後の暗対照試料では、未変化のスピロメシフェン[I]は処理放射能の37.1%に相当した。

は2日後に処理放射能の31.8%まで増加し、試験終了時までこのレベルが維持された。96時間後の暗対照試料では、は処理放射能の54.1%に相当した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

が照射試料に見出され、それぞれ3日後に処理放射エネルギーの8.3%及び9.3%に相当した。更に、

が少量分解物として認められ、24時間後に処理放射エネルギーの1.9%に相当した後、終了時には処理放射エネルギーの9.0%まで増加した。更に、未同定の少量分解物が多数認められたが、いずれの時点でも処理放射エネルギーの7.9%以下であった。

表2 [I]の水中光分解 (処理放射エネルギーに対する%)

成分	経過時間(時)							
	0	6	24	30	48	72	96	暗対照96
溶液	100.0	102.2	102.6	101.1	104.6	102.0	97.6	93.2
[II]	96.8	87.6	58.7	51.3	32.2	18.6	8.0	37.1
モノ-#体[M1]	<LOD	12.2	27.9	26.5	31.8	31.0	31.8	54.1
CO ₂	n.m.	<0.1	<0.1	<0.1	0.1 <0.1	0.1 <0.1	0.1	<0.1
揮発性有機物	n.m.	0.4	0.2	0.6	0.3	0.5	0.6	1.2
物質収支	100.0	102.6	102.8	101.7	104.9	102.6	98.2	94.4

<LOD: 検出限界未満、n.m.: 測定せず。

a 2成分の含量、それぞれは処理放射エネルギーの4.2%を超えなかった。

b 8領域以上に拡散、単一成分の最高は処理放射エネルギーの4.1%。

3. [I]の水中光分解速度

実験条件下における[I]の水中光分解半減期は1.7日、4~6月の東京の自然太陽光下における[I]の水中光分解半減期は約12日と算出された。

4. 水中光分解経路

水中光分解試験条件下、[I]は2種の光分解物()に直接光分解した。また、[I]の加水分解により生成した。緩衝液中で殆ど光分解を受けなかった は自然水中では光分解し、 が生成した。少量のCO₂が生成した。推定分解経路を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[I]の自然水中における推定光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4. 水中運命試験

(4) [

¹⁴C]スピロメシフェンの水中光分解(緩衝液)

(資料番号：水中運命 4)

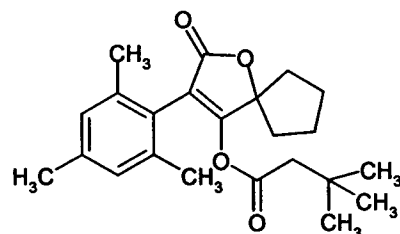
試験機関：

報告書作成年月日：2001年12月31日[GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[

¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 試験系

試験溶液：pH 4 酢酸緩衝液(0.01M)

試験濃度：0.065 mg/L (水溶解度= 0.13 mg/L の 1/2)

溶解助剤の種類及び濃度：アセトニトリル、0.85%

試験温度：25±1℃

光照射装置：サンテスト CPS

光源：キセノンランプ(フィルターにより ≤290 nm の波長の光を除去)

試験容器：25 mL 容石英製容器

光強度：680 W/m² (300~800 nm での測定値)

2. 試料採取及び分析(表 1)

下表に示す日程で照射試験及び暗対照試験の試験容器を採取した。滅菌性の確認及び pH 測定にそれぞれ 1 mL 及び 3 mL を採取後、残りの 16 mL にトリフルオロ酢酸 (40 µL) を加えて酸性化後、アセトニトリル(6.8 mL) を添加して高速液体クロマトグ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ラフィー分析における移動相溶媒組成と合わせた後、放射エネルギーを液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定し、緩衝液中の成分を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分離、定量した。

[I]及び分解物はHPLCクロマトグラフィー及びLC-MS/MSによる同定、あるいはLC-MS/MS及びNMRにより同定した。

表1 各試料の試料採取時点

試料	採取日(処理後経過時間または日数)
照射	0、0.13、0.23、1、1.23、2、3.71、5日
暗対照	0、2、3、6、9日

【結果】

1. 試験温度、試験溶液の滅菌性及び試験溶液のpH

照射試料では処理2.5日後に設定温度から逸脱したため、再度試験を実施した。従って、試験した溶液の温度は設定温度から逸脱しなかった。

暗対照の5日後試料を除き試験溶液の滅菌性が維持された。汚染が認められた試料も二反復の一方であり、[I]及び の量が両反復で類似していたことから、接種時の汚染であり、試験結果には影響を及ぼさないと推定された。

各緩衝液のpHは試験期間中を通じて4.1に維持された。

2. [I]の分解及び分解物の生成(表2、図1)

照射試料における物質収支は処理放射能の91.9%~100%の範囲であり、全平均で95.9%であった。

照射試料において、[I]は0時間における処理放射能の100%から処理5日後の11.1%まで減少した。

は照射0.1日(3時間)後に処理放射能の1.2%生成し、5日後に35.8%まで増加した。

は照射1日後に処理放射能の12.3%存在し、実験終了時には36.6%まで増加した。は5日後に12.3%まで増加した。未同定の量的に少ない未知分解物が処理0.1~3.7日後まで検出され、1日後に処理放射能の8.4%に達した後、試験終了時にはHPLCの検出限界まで減少した。3.7及び5日後に1.2%の未知分解物がもう一種検出された。

暗対照試料における物質収支は処理放射能の90.1%~101.2%の範囲であり、全平均で95.4%であった。

暗対照試料において、[I]は処理9日後に処理放射能の79.7%まで減少した。

が検出された唯一の分解物であり、処理9日後に処理放射能13.9%まで増加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 [I]の水中光分解

(処理放射能に対する%)

		経過日数(日)							
照射条件	成分	0	0.13	0.23	1	1.23	2	3.71	5
照射	[I]	100	91.2	87.9	59.0	58.8	53.7	24.9	11.1
物質収支		100	95.3	96	92.9	91.9	94.3	99.8	97.0
		経過日数(日)							
暗対照	成分	0	2	3	6	9			
	[I]	100	95.5	86.7	81.8	79.7			
物質収支		100	101.2	92.1	90.1	93.5			

<LOD : 検出限界未満

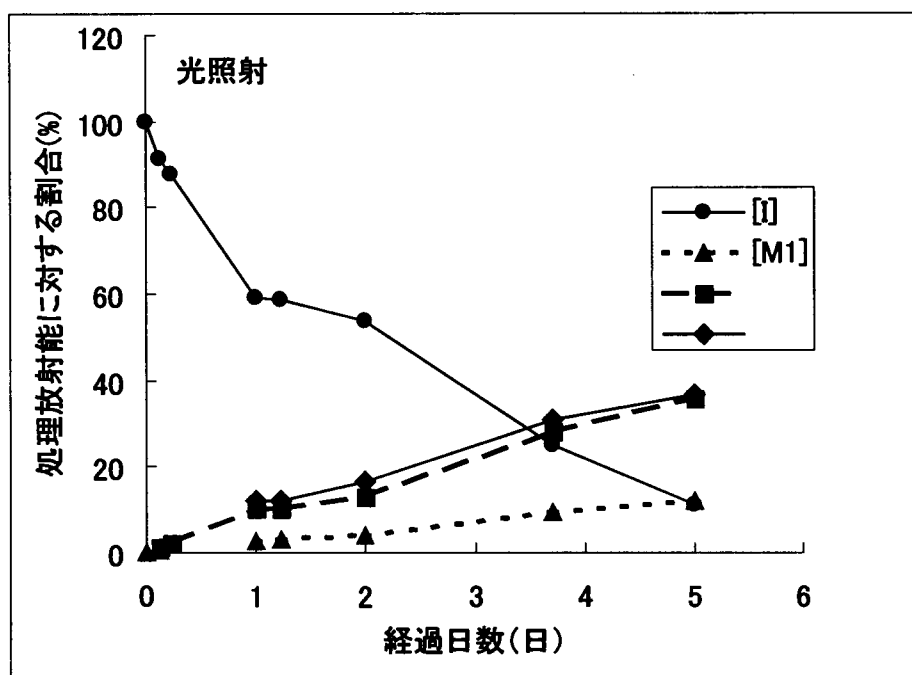


図1 pH4緩衝液中における[I]の水中光分解

3. [I]の水中光分解速度

実験条件下における[I]の水中光分解半減期は1.7日(分解速度定数 $k=0.4 \text{ 日}^{-1}$)と算出された。暗対照条件下における[I]の半減期は23.1日(分解速度定数 $k=0.03 \text{ 日}^{-1}$)と算出された。照射試料における分解速度定数から暗対照試験系における分解速度定数を減算して求めた光分解速度定数は照射試験系における分解速度定数とほとんど等しく、本試験条件では、加水分解は主要な要素ではなかった。[I]の水中光分解によ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

る DT_{90} は 5.8 日であった。また、東京の自然太陽光下における [I] の水中光分解半減期は下式により約 12 日と算出された。

$$\text{自然環境中半減期(東京)} = \frac{IL-H \times DT50lab \times 24 \times 3600 \times 10^{-6}}{I_s} = \frac{680 \times 1.7 \times 24 \times 3600 \times 10^{-6}}{14.6 \times 0.58} = 12$$

I_s : 太陽光の 300-800 nm における放射照度 = $14.6 \text{ (MJ/m}^2\text{/d)} \times 0.58$

$IL-H$: 本試験に用いた光源の光強度 = $680 \text{ (W/m}^2\text{)}$

$DT50lab$: 実験条件での [I] の水中光分解半減期

4. 水中光分解経路

水中光分解試験条件下、[I] は 2 種の光分解物(

)に光分解した。

は照射及び暗対照のいずれか

らも同様の量で生成したことから、

は光分解ではなく、加水分解により生

成し、本試験条件下でほとんど光分解を受けないと推定された。従って、

のいずれの光分解物も

からではなく、[I] から直接生成すると

推定された。推定水中光分解経路を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

5. 土壌表面光分解

[¹⁴C]スピロメシフェンの土壌表面光分解

(資料番号：土壌光1)

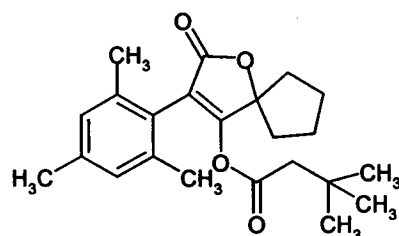
試験機関：

報告書作成年月日：2001年6月13日[GLP対応]

供試標識化合物

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C]標識スピロメシフェン[I]

比放射能：

放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

【方法】

1. 試験系

土壌：Fresno 土壌(砂壤土)

土壌の厚さ：2 mm

処理濃度：2 µg/g 乾土 (推奨単回最大処理量 300 g/ha 及び土壌深 1 cm に基づく)

試験温度：20±1°C

光照射装置：サンテスト CPS

光源：キセノンランプ(フィルターにより ≤290 nm の波長の光を除去)

試験容器：石英製容器

光強度：680 W/m² (300~800 nm での測定値)

2. 処理、試料採取及び分析

乾土重 3 g の土壌を石英製容器に入れ、厚さ 2 mm の薄層とした。土壌の水分含量を最大容水量の 75%に調整した後、所定量の[I]のアセトニトリル溶液を土壌に添加した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

下表に示す日程で照射試験及び暗対照試験の試験容器を採取した。土壌試料を採取後、高速溶媒抽出装置のセルに試料を移し、抽出した。得られた抽出液を 50 mL のメスシリンダーに移し、アセトニトリルでバイアルを 3 回洗浄し、その洗液もメスシリンダーに加えた。体積を記録後、100 mL のナス型フラスコに試料を移した。試料の一部 1 mL を 20 mL のシンチレーションバイアルに移した。この一部をアセトニトリル：0.1%蟻酸 (15：85) で最終容量 5 mL に定容した。液体シンチレーションカウンター(LSC)での放射エネルギー測定用に 100 μ L ずつ 3 反復を採取し、そして 2.5 mL(最初の試料の 0.5 mL に相当)を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。[I]及び分解物は HPLC コクロマトグラフィー及び LC-MS/MS により同定した。

表 1 各試料の試料採取時点

試料	採取日(処理後経過日数)
照射	0、1、3、6、8、10日
暗対照	0、3、10日

【結果】

1. [I]の分解及び分解物の生成

照射試料における採取間隔ごとの物質収支は 92.0~100.4%であり、全平均で 97.0%であった。照射試料でスピロメシフェン[I]は 0 日後の 98.9%から照射 10 日後には 72.9%まで減少した。照射 10 日後には 11.6%まで増加した。本試験では他の主分解物は認められなかった。結合性残留物は照射 10 日後に最大で 7.4%に達した。

暗対照試料における採取間隔ごとの物質収支は 99.9~101.4%であり、全平均で 100.7%であった。暗対照試料でスピロメシフェン[I]は 10 日後には 73.9%まで減少した。検出された唯一の分解物であり、10 日後には 24.1%まで増加した。

表 2 [I]の土壌表面光分解

(処理放射能に対する%)

照射条件	成分	経過日数(日)					
		0	1	3	6	8	10
照射	抽出液	98.9	95.5	97.4	92.6	88.5	84.5
	スピロメシフェン[I]	98.9	93.1	92.7	83.7	77.6	72.9
	結合性残留物	1.1	2.2	3.0	4.8	6.2	7.5
	物質収支	100.0	97.7	100.4	97.4	94.7	92.0
暗対照		経過日数(日)					
		0	3	10			
	抽出液	100.0	99.7	98.0			
	スピロメシフェン[I]	100.0	90.7	73.9			
	結合性残留物	0.7	1.7	1.9			
	物質収支	100.7	101.4	99.9			

<LOD : 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. [I]の土壤表面光分解速度

照射試料におけるスピロメシフェン[I]の分解は一次反応速度に従い、実験条件下の半減期は23.1日と算出された。実験条件でのDT₉₀は76.8日と算出された。暗対照試料における分解も一次反応速度に従い、照射試料と同じ半減期23.1日で分解した。照射試料及び暗対照試料の半減期が等しかったことから、スピロメシフェン[I]の土壤での分解に光は寄与しないことが示唆された。

3. 土壤表面光分解経路

本試験結果から明らかとなった分解経路はスピロメシフェン[I]から
への変換であり、その他の分解物は認められなかった。推定土壤表面光分解経路を以下に示す。

スピロメシフェン[I]の推定土壤光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

6. 土壌吸着試験

(1) [¹⁴C]スピロメシフェンの土壌吸着試験

(資料番号：土壌吸着 1)

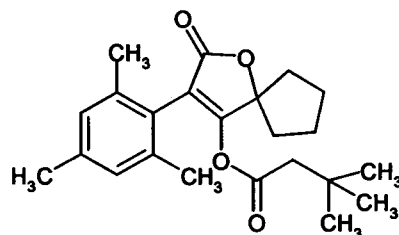
試験機関：

報告書作成年月日：2004年2月20日[GLP 対応]

供試化合物：

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-4-イル 3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

【方法】

1. 供試土壌

下表に示す4種の土壌を用いてスピロメシフェン[I]の土壌吸着係数を測定した。それぞれの OECD 分類における土壌型を示す。

表 1. 供試土壌

土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl ₂)	リン酸吸収係数	主粘土鉱物	OECD 分類
1 青森	18.4	砂壤土	4.03	5.91	1390	アロフェン	2に類似
2 埼玉	12.4	砂壤土	3.43	5.53	1840	アロフェン、クロライト、パーミキュライト	3に類似
3 茨城牛久	10.4	砂壤土	4.60	6.13	1680	アロフェン	4に類似
4 Lufa Speyer (ドイツ)	4.4	シルト質砂土	2.76	5.91	N.A.	N.A.	5に類似

NA 分析せず

2. 適切な土壌：溶液比の決定—予備試験 I

30 mL 容のシラン化処理済ホウケイ酸ガラス製遠沈管に試験溶液 26 mL と土壌 0.6、1 あるいは 2 g を加えて試験系とした。なお、ドイツ土壌(Lufa Speyer)では、土壌の最小重量を 0.66 g とした。試験系を最低 12 時間予備平衡化後、処理溶液 17 μL を直接添加し、0.065 μg/mL の濃度を得た。処理溶液を添加後、温度 25°C に設定した恒温室に設置した卓上型振とう器を用いて暗所で 24 時間振とうした。

3. 適切な平衡化時間の決定及び安定性—予備試験 II

予備試験 I と同様の試験系を用いて実施した。土壌：溶液比は埼玉、牛久及び青森で 0.6：26、ドイツ土壌で 0.66：26 とした。試験濃度が 0.064 μg/mL となるように、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

処理溶液 16 μ L を添加後、25°C、暗所で 0、6、24、30 及び 48 時間後振とうし、試料を採取した。採取試料を遠心分離後、上清中の放射エネルギーを測定した。24 及び 48 時間後の試料は、溶媒：土壌の比率が 10：0.6 になるようにアセトニトリルを加えて 2 回、20 分間振とう抽出し、抽出液中の放射エネルギーを測定した。上清及び土壌抽出液は HPLC で分析し、被験物質の分解を調べた。

3. 本試験

土壌：溶液比を 0.6：26 に設定し、実濃度 0.065、0.04、0.02 及び 0.0064 μ g/mL について各 2 反復で吸着試験を実施した。試料を 12 時間予備平衡化後、有効成分を処理した。処理試験系を 24 時間振とう後、20 分間遠心分離した。上清を傾斜法により得た後、体積を測定し、放射エネルギーを測定した。土壌は 5 mL の ACN で抽出した。上清液全てと代表的土壌抽出液を HPLC で分析し、被験物質を定量した。

【結果】

1. 適切な土壌：溶液比の決定—予備試験 I

上清中の放射エネルギーの処理量に対する割合は、青森で 19.5～29.9%、埼玉で 16.2～22.8%、牛久で 25.1～29.4%、そしてドイツの Lufa Speyer で 15.0～19.7%であった。ドイツ土壌では 1 及び 2 g の土壌を含む場合に 80%以上が吸着した。そのため全試験系で土壌：溶液比を 0.6：26 とした。

2. 適切な平衡化時間の決定及び安定性—予備試験 II

上清におけるスピロメシフェン量の変化の割合は 6～24 時間の範囲で 0.4～2.5%と小さく、既に吸着平衡に達していたと推定された。

表 2. 吸着平衡時間の決定-上清中の放射エネルギー及び [I] の経時変化(処理量に対する割合)

土壌	採取時間							
	6		24		30		48	
	放射能 [I]		放射能 [I]		放射能 [I]		放射能 [I]	
1 青森	22.4	NA	20.9	9.7	27.3	NA	26.7	7.3
2 埼玉	20.1	NA	19.7	11.1	22.7	NA	26	5.6
4 Lufa Speyer (ドイツ)	16.3	NA	15.9	4.4	19.7	NA	26.8	5.0
3 茨城牛久	20.1	NA	22.6	6.9	27.6	NA	32.8	4.7

NA 分析せず

48 時間後試料でのスピロメシフェンの分解量は牛久土壌で 28%及び青森土壌で 25%以下であった。24 時間後の試験系全体での分解量は牛久土壌でのみ 20%を超えた。従って、牛久土壌では本試験を実施しなかった。24 時間後での分解量は埼玉、青森及びドイツ土壌で 20%未満であったため、これら 3 土壌で本試験を実施した。吸着平衡到達時間及び分解率から平衡化時間は 24 時間に決定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3. 吸着平衡時間の決定-土壌抽出液及び系全体での[I]の安定性(処理量に対する割合)

土壌	採取時間					
	24			48		
	上清	土壌抽出液	系全体	上清	土壌抽出液	系全体
1 青森	9.7	70.3	80.1	7.3	68.2	75.5
2 埼玉	11.1	76.2	87.4	5.6	76.1	81.7
4 Lufa Speyer (ドイツ)	4.4	80.4	84.7	5.0	77.3	82.3
3 茨城牛久	6.9	72.1	79.0	4.7	67.1	71.8

3. 本試験

被験物質の水溶解度が低く、また、分析上の感度の制約から試験濃度の幅を2桁設定することは出来なかった。以下に、スピロメシフェン[I]の3種土壌における吸着係数及び有機炭素吸着係数を示す。スピロメシフェン[I]の土壌への吸着係数は175~7223と大きかった。

表 4. スピロメシフェン[I]の吸着係数

土壌	Kf-ads	Koc-ads
青森	7223	5053
埼玉	175	179226
Lufa Speyer (ドイツ)	989	35848

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

6. 土壌吸着試験

(2) スピロメシフェン代謝物エノール体の土壌吸着試験

(資料番号：土壌吸着 2)

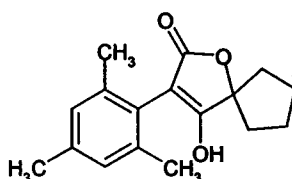
試験機関：

報告書作成年月日：2004年5月24日[GLP 対応]

供試化合物：

化学名：4-ヒドロキシ-3-メシチル-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-エン-2-オン

化学構造：



【方法】

1. 供試土壌

下表に示す4種の土壌を用いてエノール体[M1]の土壌吸着係数を測定した。それぞれの OECD 分類における土壌型を示す。

表 1. 供試土壌

土壌	粘土含量 (%)	土性	OC%	pH (CaCl ₂)	リン酸吸収係数	主粘土鉱物	OECD 分類
00-06 岡山	14.5	砂壤土	1.68	4.71	500	イライト、クロライト	3 に類似
00-08 宮崎	5.6	砂土	1.07	5.10	510	アロフェン、ハロイサイト	5 に類似
00-10 茨城牛久	22.9	壤土	4.32	5.82	1680	アロフェン	2 に類似
03-01 埼玉	15.7	シルト	3.17	5.22	1840	アロフェン、緑泥石・バーミキュライト中間体	4 に合致

2. 適切な土壌：溶液比の決定—予備試験 I

試験には宮崎土壌及び茨城牛久土壌を用いた。両土壌は、それぞれ有機物含量の最も少ない土壌と多い土壌として選択した。46 mL 容のネジ蓋付きテフロン製遠沈管に土壌 10 g(乾土相当)及び 0.01M CaCl₂ 水溶液約 18 mL(土壌の水分含量と合わせ 18 mL)を加えた後、24 時間振とうした(予備平衡化)。予備平衡化後、[M1]の 5 mg/L 溶液 2 mL を加えて、更に 16 時間平衡化した(試験濃度 0.5 mg/L)。平衡化後、遠心分離により土壌層及び水層を分離し、それぞれに含まれる[M1]を定量した。

予備平衡化及び平衡化は、暗所・25°C で転倒混和期を用いて振とうし、達成した。

3. 適切な平衡化時間の決定及び安定性—予備試験 II

予備試験 I と同様の試験系を用いて実施した。土壌 10 g(乾土相当)を用い、土壌：溶液比は 1：2 とした。予備試験 I と同様の条件で予備平衡化後、試験溶液濃度が 0.5 mg/L となるように[M1]の 5 mg/L 溶液 2 mL を加えた後、25°C、暗所で 0、6、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

24、30及び48時間後振とうし、試料を採取した。採取試料を遠心分離後、土壌層及び水層を分離し、それぞれに含まれる[M1]を定量した。

3. 本試験

土壌 10 g(乾土相当)を用い、土壌：溶液比は 1：2 とした。予備試験 I と同様の条件で予備平衡化後、試験溶液中の[M1]濃度が 1.5 mg/L、0.2 mg/L、0.1 mg/L 及び 0.05 mg/L とばうように、15 mg/L、2 mg/L、1 mg/L 及び 0.5 mg/L の[M1]溶液を 2 mL 加えた後、25°C、暗所で 48 時間後振とうし、試料を採取した。採取試料を遠心分離後、土壌層及び水層を分離し、それぞれに含まれる[M1]を定量した。

【結果】

1. 適切な土壌：溶液比の決定—予備試験 I

土壌：溶液比が 1：2 においても、宮崎及び茨城牛久の両土壌における[M1]の吸着率はそれぞれ 7%及び 11%と 20%未満であったが、実施可能な最大土壌比率であることから土壌：溶液比を 1：2 とした。

2. 適切な平衡化時間の決定及び安定性—予備試験 II

いずれの土壌でも吸着率が低かったために上清中濃度の経時変化は殆ど観察されなかった。そのため、本試験では、吸着が経時的に上昇する可能性を考慮し、設定できる最長時間である 24 時間に平衡化時間を設定した。

表 2. 吸着平衡時間の決定-上清中濃度変化率の経時変化(処理量に対する割合)

土壌		採取時間			
		6	24	30	48
00-06	岡山	23.7	0.7	6.9	-1.1
00-08	宮崎	0.3	-2.1	2.8	1.0
00-10	茨城牛久	-1.8	-0.1	3.2	4.3
03-01	埼玉	1.3	1.2	4.7	0.9

3. 本試験

エノール体[M1]の 4 種土壌における吸着係数及び有機炭素吸着係数を示す。エノール体[M1]の土壌への吸着係数は 0.0228~0.535、有機炭素吸着係数は 0.527~31.8 と小さかった。

表 3. エノール体[M1]の吸着係数

土壌		Kf-ads	Koc-ads
00-06	岡山	0.535	31.8
00-08	宮崎	0.0325	3.03
00-10	茨城牛久	0.0228	0.527
03-01	埼玉	0.101	3.19

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

5. 生物濃縮性に関する試験

[¹⁴C] -スピロメシフェンのニジマスにおける生物濃縮性試験

(生物濃縮性 No. 1)

試験機関：

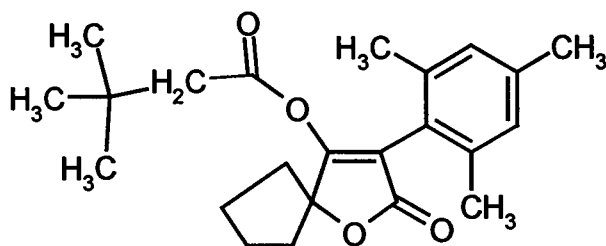
[GLP 対応]

報告書作成年月日：2001年5月15日

被験物質物質

化学名：3-メシチル-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.4]ノナ-3-
エン-4-イル=3,3-ジメチルブチラート

化学構造：



*：標識部位

標識：[¹⁴C] 標識スピロメシフェン [I]
比放射能：
放射化学的純度：
供試生物：ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)

1群各98匹、体長：4~6cm、体重：1.5~2.5g

試験方法：検体濃度 0.1µg/L 及び 1.0µg/L の流水式条件下で 28 日間暴露し、その後 14 日間の排泄期間を設けた。

120L の試験水槽に 90L 容量が維持されるように、希釈水(1000mL/分)が供給されている混合用容器に、検体の試料液(0.05mL/分)を送り込んだ。ここから処理した水が 1 日に 1440 ポンド/日の割合で各水槽に流れるようにした。溶媒対照区を設け、検体溶液のかわりに、アセトン(0.05mL/分)を供給した。

試験期間中、1日1回、pH、溶存酸素及び水温を測定した。魚体中の検体は、取込期間中は0、1、3、7、14、21及び28日後、排泄期間中は29(排泄1日)、31(排泄3日)、35(排泄7日)、39(排泄10日)及び43(排泄14日)日後に、各群4匹採取し、可食部および非可食部(頭、ひれ、内臓)に分別した後、個体毎に残留放射エネルギーを測定した。試験水も同日に採取して測定した。脂質含量は0、28及び43日に各群異なる3匹を用いて測定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

した。また余剰動物については、暴露後 14 日には親化合物の分析の検討に、28 日には親化合物及び代謝物の分析の検討に用いた。

試験日に採取した魚体数(各群)は以下のとおりである。

採取日	暴露期間							排泄期間				
	0	1	3	7	14	21	28	1	3	7	10	14
魚体数	10	4	4	4	20	4	36	4	4	4	4	10

結果：

(1) 環境条件

試験期間中の試験水は、水温 15~16°C、pH 6.7~8.0、溶存酸素 7.6~9.5mg/L であった。

(2) 魚体内の平均総残留量 (µg/g)

試験区 (µg/L)	部位	取込期間						
		1日	3日	7日	10日	14日	21日	28日
0.1	可食部	0.030	0.050	0.040	0.045	0.043	0.043	0.045
	非可食部	0.080	0.123	0.100	0.128	0.115	0.115	0.145
	全体	0.057	0.086	0.076	0.093	0.086	0.087	0.098
1.0	可食部	0.298	0.460	0.445	0.353	0.398	0.390	0.553
	非可食部	0.638	1.16	1.18	1.14	1.25	1.17	1.29
	全体	0.504	0.832	0.902	0.806	0.883	0.839	0.989

試験区 (µg/L)	部位	排泄期間				
		1日	3日	7日	10日	14日
0.1	可食部	0.020	0.010	0.003	0.001	0.001
	非可食部	0.070	0.033	0.011	0.005	0.002
	全体	0.051	0.023	0.008	0.003	0.001
1.0	可食部	0.238	0.123	0.027	0.018	0.005
	非可食部	0.710	0.375	0.131	0.064	0.023
	全体	0.510	0.281	0.092	0.045	0.016

(2-1) 設定濃度 0.1 μ g/L

魚全体の平均放射能濃度は、暴露開始 3 日後に 0.076~0.098ppm となり平衡状態に達した。可食部中の平均濃度は暴露開始 1 日後に 0.030ppm となり、28 日の 0.045ppm まで増加した。非可食部の平均放射能濃度は暴露開始 1 日後には 0.080ppm であり、暴露開始 3 日後から 28 日には 0.110~0.145ppm の範囲で増加した。

排泄期間初日に魚全体の平均濃度は 0.098ppm から 0.051ppm まで 52%減少した。魚全体の放射能濃度は排泄期間中に減少し続け、排泄 14 日目に 0.001ppm であった(暴露開始 28 日後の値の 1.0%)。非可食部の平均放射能濃度は 0.145ppm(暴露開始 28 日後)から 0.070(排泄期間初日)まで減少し、排泄期間 14 日目の 0.002ppm まで減少し続けた(暴露開始 28 日後の暴露濃度の 1.4%)。可食部の平均放射能濃度は 0.045ppm(暴露開始 28 日後)から 0.020ppm(排泄期間初日)まで減少し、排泄期間 14 日目の 0.001ppm まで減少し続けた(暴露開始 28 日後の暴露濃度の 2.2%)。

(2-2) 設定濃度 1.0 μ g/L

魚全体の平均放射能濃度は暴露開始 1 日後に 0.504ppm となり、28 日には 0.989ppm まで増加した。可食部の平均放射能濃度は暴露開始 1 日後には 0.298ppm であり、暴露開始 3 日後から 28 日後には 0.353~0.553ppm の範囲で増加した。非食用部分の平均濃度は暴露開始 1 日後では 0.638ppm であり、暴露開始 3 から 28 日後では 1.14~1.29ppm の範囲で増加した。

排泄期間初日に魚全体の平均濃度は 0.989ppm から 0.510ppm まで 52%減少し、排泄 14 日目に 0.016ppm であった(暴露開始 28 日後の値の 1.6%)。非可食部では暴露開始 28 日後には 1.29ppm であった平均放射能濃度は排泄期間初日には 0.710ppm まで減少し、その後さらに減少し続け、排泄期間 14 日目に 0.023ppm となった(暴露開始 28 日後の暴露濃度の 1.8%)。可食部の平均放射能濃度は暴露開始 28 日後 0.553ppm であったが、排泄期間初日には 0.238ppm まで減少し、排泄期間 14 日目は 0.005ppm まで減少した(暴露開始 28 日後の暴露濃度の 0.90%)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) 試験水中の総残留量 (µg/L)

試験区 (µg/L)	取込期間							
	0日	1日	3日	7日	10日	14日	21日	28日
0.1	0.101	0.106	0.108	0.112	0.113	0.114	0.113	0.112
1.0	1.06	1.04	1.08	1.13	1.13	1.12	1.08	1.08

試験区 (µg/L)	排泄期間		
	1日	3日	7日
0.1	nd	nd	nd
1.0	nd	nd	nd

nd: 検出限界以下

(3-1) 設定濃度 0.1µg/L

試験水中の平均放射濃度は、0.101ppb から 0.114ppb の範囲で維持された。排泄期間のいずれの測定時期にも検体は検出限界以下であることが確認された。

(3-2) 設定濃度 1.0µg/L

試験水中の平均放射濃度は、1.04ppb から 1.13ppb の範囲で維持された。排泄期間のいずれの測定時期にも検体は検出限界以下であることが確認された。

(4) 生物濃縮係数(BCF)

①BCF_{ss} (総残留量に基づく)

試験区 (µg/L)	部位	取込期間							
		1日	3日	7日	10日	14日	21日	28日	平均*
0.1	可食部	283	463	357	398	377	381	402	396
	非可食部	755	1139	893	1133	1009	1018	1295	1081
	全体	538	796	679	823	754	770	875	783
1.0	可食部	287	426	394	312	355	361	512	393
	非可食部	613	1074	1044	1009	1116	1083	1194	1087
	全体	485	770	798	713	788	777	916	794

*: 定常状態 (3~28日) の平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(4-①-1) 設定濃度 0.1 μ g/L

魚全体の BCF_{ss} は 538(暴露開始 1 日後)から 796(暴露開始 3 日後)まで増加し、暴露開始 7 から 28 日後には 679~875 の範囲を示した。暴露開始 3 から 28 日後の平均 BCF は 783 であった。可食部の BCF_{ss} は 283(暴露開始 1 日後)であり、暴露開始 3 から 28 日後には 357~463 の範囲で平衡状態となった。暴露開始 3 から 28 日後の可食部の平均 BCF_{ss} は 396 であった。非可食部の BCF_{ss} は可食部より高く、暴露開始 1 日後は 755 を示し、暴露開始後 3 から 28 日に 893~1295 の範囲で平衡状態になった。暴露 3 から 28 日後の非可食部の平均 BCF_{ss} は 1081 であった。

(4-①-2) 設定濃度 1.0 μ g/L

魚全体の BCF_{ss} は暴露開始 1 日後には 485 であり、暴露開始 3 から 28 日後には 713~916 の範囲であった。可食部の BCF_{ss} は暴露開始 1 日後は 287 であり、暴露開始 3 から 28 日後に 312~512 の範囲で平衡状態となった。暴露開始 3 から 28 日後の可食部の平均 BCF_{ss} は 393 であった。非可食部の BCF_{ss} は可食部より高く、暴露開始 1 日後は 613 を示し、暴露開始後 3 から 28 日に 1009~1194 の範囲で平衡状態になった。暴露 3 から 28 日後の非可食部の平均 BCF_{ss} は 1087 であった。

②BCF_k (総残留量に基づく)

試験区 (μ g/L)	取り込み速度定数 (K1)			排泄速度定数 (K2)			濃縮係数 (BCF _k)		
	可食部	非可食部	魚全体	可食部	非可食部	全体	可食部	非可食部	魚全体
0.1	364	1186	894	0.96	1.42	1.66	439	1229	878
1.0	554	1015	854	1.94	1.30	1.59	461	1237	908

(4-②-1) 設定濃度 0.1 μ g/L

BCF_k は 878(魚全体)、439(可食部)及び 1229(非可食部)であった。対応する取込み速度定数(/日)は 894(魚全体)、364(食用)及び 1186(非食用)であった。

(4-②-2) 設定濃度 1.0 μ g/L

BCF_k は 908(魚全体)、461(可食部)及び 1237(非可食部)であった。対応する取込み速度定数(/日)は 854(魚全体)、554(食用)及び 1015(非食用)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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) 脂質含量

暴露期間 0 日、28 日及び排泄期間 14 日に対照及び各暴露濃度について測定した。平均脂質濃度は暴露期間 0 日に 3.42% (可食部)、7.50% (非可食部) 及び 6.03% (魚全体)、試験 28 日に 3.52~4.23% (可食部)、8.52~8.94% (非可食部) 及び 6.61~6.74% (魚全体)、排泄期間 14 日に 3.55~4.35% (可食部)、9.26~9.84% (非食部) 及び 7.23~7.32% (全体) であった。

(6) 魚体中及び試験水中の親化合物及び代謝物の分析

主要代謝物は可食部及び非可食部中の総放射能残留量 (TRR) の 10~22% を占めた。順相 TLC 及び逆相 HPLC でのクロマトグラフィー分析によりこの成分がエノール体 [M1] であることを確認した。また 4-ヒドロキシメチル体 [M2] が存在することも (TRR の 3~15%) 確認された。β-グルクロニダーゼの加水分解では他の極性代謝物の減少を伴って BSN2060-4-ヒドロキシメチルの量が有意に増加し、TRR の 2~33% を占めた。したがって、この極性代謝物は 4-ヒドロキシメチルのグルクロニド抱合体であるヒドロキシメチル-グルクロニド [M9] であることが示された。

尚、暴露開始後 14 日及び 18 日における魚全体、非可食部、可食部の親化合物の濃度および暴露期間中の親化合物の濃度は以下の表のとおりであった。

親化合物の濃度 (µg/g)

部位	試験区 (µg/L)	取込期間			試験区 (µg/L)	取込期間		
		14 日	28 日	平均		14 日	28 日	平均
可食部	0.1	0.022	0.040	0.031	1.0	0.172	0.370	0.271
非可食部		0.074	0.079	0.077		0.690	0.769	0.730
全体		0.059	0.060	0.060		0.530	0.567	0.549

試験水中の親化合物の濃度 (µg/g)

試験区 (µg/L)	取込期間								
	0 日	1 日	3 日	7 日	10 日	14 日	21 日	28 日	平均
0.1	0.099	0.107	0.113	0.115	0.115	0.118	0.092	0.124	0.110
	—	(0.103)	(0.106)	(0.109)	(0.110)	(0.111)	(0.108)	(0.110)	—
1.0	1.05	1.01	1.13	1.12	1.03	1.07	0.87	1.17	1.06
	—	(1.03)	(1.06)	(1.08)	(1.07)	(1.07)	(1.04)	(1.06)	—

()内の数値は累積平均濃度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(7) 親化合物の BCF_{ss}

部位	試験区 ($\mu\text{g/L}$)	取込期間			試験区 ($\mu\text{g/L}$)	取込期間		
		14 日	28 日	平均		14 日	28 日	平均
可食部	0.1	198	364	281	1.0	161	349	255
非可食部		667	718	693		645	725	685
全体		532	545	539		495	535	515

魚のいずれの部分においても生物濃縮係数は両濃度で同様であった。可食部、非可食部及び魚全体の平均値(試験 14 日及び 28 日)はそれぞれ 281、693 及び 539(0.1 $\mu\text{g/L}$ 区)、255、685 及び 515(1.0 $\mu\text{g/L}$ 区)であった。

申請者注)

本報告書では総放射能又は親化合物のみの BCF を求めているが、食品の規制対象である親化合物及びエノール体含量の BCF は、試験濃度 1.0 $\mu\text{g/L}$ の成績から申請者が以下のように計算した。

3-28 日の魚体中の平均放射能残留濃度：可食部 0.432ppm、非食部 1.19ppm

親化合物及びエノール体合計の全残留放射能に対する割合：

可食部 84.8%、非食部 72.7%

3-28 日の平均水中スピロメシフェン濃度：1.065 $\mu\text{g/L}$

魚体重量：可食部 1.30g、非食部 1.77g

可食部と非食部の魚体重量比：可食部：非食部 0.423：0.576

上記から魚体中のスピロメシフェン+エノール体の濃度は、0.653ppm となった。

従ってスピロメシフェンとエノール体の BCF_{ss} は、616 となった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

7. スピロメシフェンの代謝分解の要約

スピロメシフェン[I]の動物、植物、土壌における代謝分解、加水分解及び光分解に関する研究結果を以下に要約し、結果の概要を表1に、推定代謝経路を図1に示す。

動物体内運命

動物における吸収、分布、代謝及び代謝(動物代謝1)

[¹⁴C]スピロメシフェン[I]をラットに経口投与後、放射能の呼気への排泄はほとんど認められなかった。投与用量、投与回数あるいは雌雄によらず、いずれの試験群からも投与放射能が定量的に回収された。排泄は速やかであり、排泄量の大部分が投与72時間後までに尿及び糞に排泄された。高用量試験群では投与放射能の大部分(93%)が糞中に排泄され、低用量試験群に比べ糞中への排泄量が明らかに多く、尿中排泄量は投与量の6.5~8.9%と少なかった。低用量試験群の尿及び糞中への排泄割合は投与回数あるいは雌雄によらず類似し、尿中への排泄率は34~39.6%、糞中への排泄率は雄で53.3~56.5%であった。胆管カニューレを施したラットに低用量で単回投与後の尿及び胆汁中への排泄量はそれぞれ36.1%及び6.77%であり、尿中排泄量は胆管カニューレを施していないラットの尿中排泄量と同程度であった。胆管カニューレを施したラットの屠殺時における残体中及び肝臓中の残留量は3.19%及び1.85%であった。胆汁排泄量、尿中排泄量及び残体中ならびに肝臓中残留量を合計し、吸収率を算出したところ、吸収率は約48%であった。

投与72時間後の屠殺時における動物体中の残留量はいずれの試験群でも少なく、全組織中残留量は約0.2%以下、残体中残留量は約0.3%以下であった。組織及び臓器中残留量は少なく、低用量反復投与試験群の雌ラットを除く全試験群で最高濃度が肝臓で検出された。低用量反復投与試験群の雌ラットでは最高濃度が(腎周囲の)脂肪で検出された。(腎周囲の)脂肪中の放射能濃度は雌ラットにおいて、雄ラットより高い傾向が認められた。単回投与と反復投与を比較すると、大部分の臓器・組織で単回投与に比べ反復投与で高い濃度の放射能が検出された(反復投与/単回投与の濃度比:0.7~2.5)。骨、脳、心臓、筋肉、脾臓、甲状腺及び子宮における放射能濃度は検出限界未満であった。高投与量試験群(雄のみ実施)臓器及び組織中における放射能濃度は低用量群の雄ラットに比べ、用量に依存し、高値であった。

低投与量で単回経口投与後、血漿中放射能濃度は投与 1~2 時間後に C_{max}(それぞれ 0.834 ppm 及び 0.556 ppm)に達した。低投与量で反復投与後、血漿中放射能濃度は 4 時間後に C_{max}(それぞれ 0.837 ppm 及び 0.723 ppm)に達した。雌雄いずれでも反復投与後の T_{max} は単回投与後に比べて遅く、反復投与後の吸収は単回投与後の吸収に比べ遅延することが示唆された。高用量レベルは雄ラットのみについて調べた。高投与用量で単回経口投与後、血漿中の放射能濃度は投与 6 時間後に C_{max}(40.1 ppm)に達した。低投与量に比べ、高投与量では T_{max} が遅く、吸収が緩やかであることが示唆された。全血中放射能濃度は血漿中の濃度より低かったが、血漿中放射能濃度と同様の挙動を示した。全血中 AUC_t に対する血漿中 AUC_t の比は 1.4~1.7 であり、放射能が主に血漿

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

中に分布し赤血球中への取り込みは少なかったことが示唆された。放射能の血漿及び全血からの消失は投与用量、投与回数あるいは雌雄によらず速やかであり、血漿及び全血中の半減期はいずれの試験群でも24時間以内であった。

いずれの試験群の尿からも親化合物スピロメシフェン[I]は検出されなかった。低用量で単回投与後、検出された放射性成分の濃度は投与量の<0.1%~10.8%の範囲であった。これらの内、投与量の5%以上の濃度で検出された代謝物は3種類(エノール体[M1]、4-ヒドロキシメチル体[M2]及び)であった。投与量の2~5%の濃度で5種類が検出された。残りの10種類の代謝物は投与量の2%未満であった。雄ラットでは[M2]が最も多く、一方、雌ラットでは[M1]が最も多かった。反復投与したラットの尿中代謝物の分布は、単回投与後の代謝物分布と質的にも量的にも類似していた。高用量では、尿中への放射能排泄割合が少ないため、個々の代謝物の濃度は投与量の<0.1%~3.0%と低い割合であったが、尿中代謝物組成は低用量投与と質的に類似し、低投与量と同じ代謝物のみが同定された。尿中代謝物の分布割合は投与量あるいは雌雄間で多少異なり、雄ラットで[M2]及び の割合が高く、雌ラットで[M1]の割合が高かった。

胆汁中代謝物は尿中代謝物と共通し、尿中に認められず、胆汁中にのみ認められた代謝物は1種(投与量の1.3%)のみであった。

投与量、性別及び投与回数にかかわらず、スピロメシフェン[I]及びエノール体[M1]の2種のみが糞中から同定された。糞から抽出可能な放射能のほぼ全てがスピロメシフェン[I]であった。低用量での単回投与と反復投与の試験群において、スピロメシフェン[I]及びエノール体[M1]の割合に違いは認められなかった。

臓器及び組織における分布(動物代謝2)

定量的全身オートラジオグラフィの技法を用いて、臓器及び組織における分布を調べた。大部分の臓器及び組織における濃度は投与濃度(雄:1.84 mg/kg、雌:1.41 mg/kg)に比べ相対的に低く、投与1時間後の雄ラットの肝臓を除くいずれの臓器及び組織においても投与濃度より低かった。

雄ラットでは最高濃度が投与1時間後の肝臓で検出された。雄ラットではいずれの時間でも肝臓における濃度が最も高く、次いで、腎臓及び褐色脂肪で血液に比べ高い濃度が検出された。雌ラットでも雄ラットと同様、投与1時間後の肝臓で最高濃度が検出された。いずれの時間でも肝臓、腎臓及び褐色脂肪で血液に比べ高い濃度が検出された。雌雄いずれのラットにおいても、肝臓、腎臓及び褐色脂肪における放射能濃度は血液中放射能濃度より高かったが、これら臓器以外の臓器及び組織における放射能濃度は血液中の放射能濃度より低かった。また、内分泌系の臓器及び組織の大部分(例えば、副腎、精巣、子宮あるいは甲状腺)で高い濃度の分布は認められなかった。

ほとんど全ての臓器及び組織において、最大濃度(C=0.02-2.75 µg/g)が投与1時間後に検出され、その後着実に濃度が減少した。投与72時間後においては雄ラットの肝臓及び腎臓並びに雌ラットの肝臓及び脂肪組織にのみ少量の放射能(C=0.003-0.017 µg/g)が検

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

出され、それら以外のいずれの臓器及び組織にも放射能は検出されなかった。

全ての臓器及び組織中における放射能濃度は投与1時間後から72時間後にかけて数桁の単位で減少した。

血漿、尿、腎臓及び肝臓における残留及び代謝物の消長(動物代謝3)

雄ラットでは、投与1.5時間後に投与量の32%が臓器及び組織に検出され、40%が胃腸管及び糞中に、28%が尿中に検出された。胃腸管を除く体内における残留量の投与量に対する割合は投与24時間後に6.3%まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は58%まで増加した。雌ラットでは、投与1.5時間後に投与量の14%が臓器及び組織に検出され、61%が胃腸管及び糞中に、14%が尿中に検出された。胃腸管を除く体内における残留量の投与量に対する割合は投与24時間後に1.5%まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は48%まで増加した。糞を含む胃腸管を除き、最高のTRR値が投与1.5時間後の肝臓で検出された。周辺組織(皮膚及び残体)に測定されたTRR値より高いTRR値が血漿で測定された(雄ラットで約6倍、雌ラットで4-5倍)。

雌雄いずれのラットにおいても、尿にはスピロメシフェン[I]が検出されなかった。

24時間採取した雄ラットの尿における[M1]の量は投与量の1.6%のみと少なく、

[M2](16.5%)及び [M1]よりも高い値で認められた。雌ラットの

尿では、[M1]が最も多く、投与量の12.8%に相当した。

[M2](7.1%)、 も多く認められた。

雄ラットの血漿、肝臓及び腎臓からスピロメシフェン[I]は検出されなかった。血漿、肝臓及び腎臓のいずれにおいても[M1]が主要代謝物であった。血漿では[M1]以外の代謝物は少なかった(いずれも投与量の0.2%未満)。肝臓では、[M1]に次いで[M2]が多く、その他全ての代謝物は投与量の1%以下であった。腎臓抽出物に認められた代謝物は全て投与量の0.5%以下であった。腎臓でも、[M1]に次いで[M2]が多く、その他全ての代謝物は少なかった。血漿、肝臓及び腎臓のいずれでも、全ての代謝物が投与1.5時間後に最も多く検出された。

雌ラットの血漿からスピロメシフェン[I]は検出されなかったが、肝臓及び腎臓からはわずかな量のスピロメシフェン[I]が検出された。血漿、肝臓及び腎臓のいずれにおいても[M1]が主要代謝物であった。血漿では[M1]に次いで [M2]が多く、この代謝物も投与1.5時間後に最も多かった。他の代謝物の量は少なく(投与量の0.1%未満)、[M1]を除くいずれの代謝物も投与8時間後以降はほとんど検出されなかった。肝臓では、[M1]に次いで[M2]、 [M1]が比較的多く認められたが、その他全ての代謝物は少なかった。腎臓抽出物に認められた代謝物は全て投与量の0.5%以下であった。腎臓では、[M1]に次いで [M2]が多く、その他全ての代謝物は少なかった。血漿、肝臓及び腎臓のいずれでも、全ての代謝物が投与1.5時間後に最も多く検出された。

以上から、スピロメシフェン[I]の動物体内における運命は以下の特徴を有することが分かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

- 低投与量で単回投与後の吸収・排泄は速やかであり、血中放射能濃度は投与1～2時間後にピークに達し、半減期10～16時間でラット体内から消失した。反復投与後の吸収及び消失はわずかに遅くなった。高投与量試験群では、吸収は更に遅くなった。いずれの試験群でも雌ラットの放射能への全身曝露の速度及び程度は雄ラットより小さかった。
- 投与した放射量のほぼ全量が尿及び糞中に排泄された。
- 投与72時間後の屠殺時の組織中濃度は非常に低く、いずれの臓器及び組織にも蓄積は認められなかった。大部分の臓器及び組織で投与1時間後に最大濃度が検出され、全ての臓器及び組織中における放射能濃度は投与1時間後から72時間後にかけて数桁の単位で顕著に減少した。ホルモン制御を司る腺臓器及び組織の大部分(例えば、副腎、精巣、子宮あるいは甲状腺)で高い濃度の分布は認められなかった。
- 親化合物スピロメシフェン[I]は、最初にジメチル酪酸部分が消失し、エノール体[M1]に代謝された。その後、ベンゼン環のメチル基及びシクロペンチル環の両方が水酸化され、ベンゼン環のメチル基はさらに酸化され、カルボン酸が生じた。これらの代謝物は尿及び胆汁中に排泄された。

植物体内運命

トマト(資料No. 植物代謝1)

[¹⁴C]スピロメシフェン[I]を23.1%フロアブルに製剤し、トマトに2回散布処理(24日間隔)し、最終散布7日後に収穫したトマト果実(成熟及び未成熟)における総放射能残留量及びその分布ならびに代謝物の分布を調べた。収穫時の成熟果実中のTRRは0.844 ppmであり、表面洗浄液と抽出液がそれぞれTRRの79.3%(0.669 ppm)及び16.9%(0.143 ppm)に相当した。未抽出残留物はTRRの3.8%(0.032 ppm)のみであった。トマト成熟果実中での主要成分は未変化のスピロメシフェン[I]であり、TRRの86.3%(0.728 ppm)に相当した。[I]以外に、3種類の代謝物が同定された。主要代謝物は[M9]であり、TRRの5.4%(0.046 ppm)であった。少量代謝物[M1]及び がそれぞれTRRの0.7%及び0.5%検出された。その他の代謝物は全てTRRの1.0%以下(0.008 ppm以下)であった。

りんご(資料No. 植物代謝2)

[ジヒドロフラノン-3-¹⁴C]スピロメシフェン[I]を23.1%フロアブルに製剤し、トマトに1回散布処理7日後に収穫したりんごにおける総放射能残留量及びその分布ならびに代謝物の分布を調べた。りんご果実中のTRRは0.723 mg/kgに相当した。大部分の放射能が表面洗浄液に認められた(TRRの96.8%、0.700 mg/kg)。残りの放射能が均質化したりんごからほぼ定量的に抽出された(0.022 mg/kg、TRRの3.0%)。未抽出残留物はTRRのわずか0.2%(0.001 mg/kg)のみであった。りんご果実中におけるTRRの97.4%(0.704 mg/kg)は未変化の親化合物[I]であった。主代謝物はTRRの1.7%(0.012 ppm)に相当するであった。更に、量的に少ない代謝物を[M9](TRRの0.2%、0.001 mg/kg)及び[M1](TRRの0.1%、0.001 mg/kg)と同定した。りんごの葉も分析したが、葉においても主要残留成分は未変化の親化合物[I]であった(TRR(=26.613 mg/kg)の91.4%)。葉において

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。
認められた代謝物は果実で認められた代謝物と共通していた。

レタス(資料No. 植物代謝3)

[¹⁴C]スピロメシフェン[I]を23.1%フロアブルに製剤し、レタスに播種26日後及び収穫7日前に2回散布処理し、その後、収穫したレタスにおける総放射能残留量及びその分布ならびに代謝物の分布を調べた。レタス中の総放射能残留量(TRR)は0.411 ppmであり、その内98.6% (0.405 ppm)が抽出され、未抽出残留物はTRRのわずか1.4%(0.006 ppm)であった。主要成分は未変化の親化合物スピロメシフェン[I]であり、TRRの57.6% (0.237 ppm)であった。主要代謝物はTRRの10%を超える量で認められた であり、それ以外には10%を超える代謝物は認められなかった。少量代謝物として、[M1]、[M2]、 が検出された。

棉(資料No. 植物代謝4)

[¹⁴C]スピロメシフェン[I]を23.1%フロアブルに製剤し、棉に7日間隔で3回処理し、最終散布21日後に収穫し、総放射能残留量及びその分布ならびに代謝物の分布を調べた。「種子」における総放射能残留量(TRR)は0.051 ppmであった。「種子」のTRRの94.2%が抽出された。抽出液に主要成分が2種検出され、それぞれを[I](TRRの56.2%)及び[M1](TRRの34.0%)と同定した。抽出された全放射能が同定された。

「茎葉及びがく」における総放射能残留量は6.33 ppmであった。通常溶媒抽出(TRRの92.2%、5.84 ppm)及び2M水酸化ナトリウムでの加熱還流抽出(TRRの7.3%、0.46 ppm)により合計99.5%が抽出された。「茎葉及びがく」における主要残留成分は[I]及び[M1]であり、それぞれ1.66 ppm(TRRの26.3%)及び3.13 ppm(TRRの49.4%)認められた。それら以外に、

が同

定された。

まとめ

以上、4種の植物における代謝様式は共通していた。いずれの植物においても、親化合物スピロメシフェン[I]が主要残留成分であった。代謝物の量的分布は植物種により多少異なっていたが、代謝物分布は質的に類似していた。

スピロメシフェン[I]の植物における代謝は以下の反応で進行すると推察された。

1. エステルの開裂によるエノール体[M1]の生成。
2. エノール体[M1]のベンゼン環の 4-メチルの水酸化による 4-ヒドロキシメチル体[M2]の生成、及びそのグルコースとの抱合化による 4-ヒドロキシメチル-グルコシド[M9]の生成。
3. エノール体[M1]のシクロペンチル環の水酸化による 3-ペンタノール[M4]の生成。
4. 2 及び 3 の反応の組み合わせによる 4-ヒドロキシメチル-3-ペンタノール[M6]及びジヒドロキシ-エノール[M8]の生成

土壌中運命

好氣的畑地条件の土壌4種に[ジヒドロフラノン-3-¹⁴C]スピロメシフェン[I]を0.32 ppmの濃度で添加し、暗所で培養後、経時的に試料を採取した。親化合物スピロメシフェン[I]は、半減期2.9日～17.9日で速やかに分解した。抽出可能な放射エネルギーはいずれの土壌でも経時的に減少し、それに伴い、結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物量は経時的に増加したが、いずれの土壌でも培養30～120日後には最大に達し、その後、試験終了時まで全土壌で経時的に減少した。結合性出残留物は全ての土壌で処理放射エネルギーの25%を超えなかった。揮発性物質は経時的に増加し、試験終了時(365日後または120日後)には、約70%に達した。揮発性放射エネルギーのほとんどがCO₂であった。揮発性有機化合物は一部の土壌でわずかに検出されたのみであった(0.2%以下)。スピロメシフェン[I]の分解過程で処理放射エネルギーの10%を超える主要分解物が2種(エノール体[M1]及び4-カルボン酸体[M3])及び少量分解物が2種(ペンタノン[M5]及びUK1)生成した。エノール体[M1]は4種全ての土壌で主要分解物として認められ、その生成量は土壌によりわずかに異なるが、7～14日後に最大量の28%～58%に達した後、実験終了時には処理放射エネルギーの2%以下に減少した。4-カルボン酸体[M3]も土壌によりその生成量が異なるものの、3種の土壌で10%を超える量で認められた。4-カルボン酸体[M3]は14～30日後に処理量の2.8%～11.4%の最大に達した後、減少した。実験終了時に4-カルボン酸体[M3]の量は処理放射エネルギーの2%以下に減少した。少量分解物ペンタノン[M5]も最大となった後減少した。

好氣的畑地条件土壌に[フェニル-UL-¹⁴C]スピロメシフェン[I]を0.400 ppmの濃度で添加し、暗所で培養後、経時的に試料を採取した。親化合物スピロメシフェン[I]は、半減期2.6日で速やかに分解した。抽出可能な放射エネルギーはいずれの土壌でも経時的に減少し、それに伴い、結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物量は経時的に増加し、培養120日後には20.5%に達した。揮発性物質は経時的に増加し、120日後には約30%に達した。揮発性放射エネルギーの全てがCO₂であった。スピロメシフェン[I]の分解過程で処理放射エネルギーの10%を超える主要分解物が2種(エノール体[M1]及び4-カルボン酸体[M3])及び少量分解物が1種(ペンタノン[M5])生成した。エノール体[M1]は主要分解物として認められ、7日後に77.1%まで増加した後、120日後には22%まで減少した。4-カルボン酸体[M3]は90日後に11.3%に達した後、試験終了時には11.1%までわずかに減少した。少量分解物ペンタノン[M5]は62日後に最大となった後減少した。

好氣的畑地条件土壌に[シクロペンチル-1-¹⁴C]スピロメシフェン[I]を0.401 ppmの濃度で添加し、暗所で培養後、経時的に試料を採取した。親化合物スピロメシフェン[I]は、半減期3.8日で速やかに分解した。抽出可能な放射エネルギーはいずれの土壌でも経時的に減少し、それに伴い、結合性残留物及び揮発性物質が増加した。結合性残留物量は経時的に増加し、培養90日後には13.9%に達した。揮発性物質は経時的に増加し、90日後には14.3%に達した。揮発性放射エネルギーの全てがCO₂であった。スピロメシフェン[I]は速やかに分解され、その分解過程で処理放射エネルギーの10%を超える主要分解物が2種及び少量分解物が4種生成した。主要分解物はエノール体[M1]及び4-カルボン酸体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[M3]と同定され、4種の少量分解物の内3種をペンタノン[M5]、2-ヒドロキシメチル体[M12]及びペンタノール[M4]と同定した。エノール体[M1]は30日後に処理放射能の91.8%まで増加した後、90日後の試験終了時には処理放射能の45.3%まで減少した。4-カルボン酸体[M3]の量は経時的に増加し、90日後に最大14.1%に達した。ペンタノン[M5]、2-ヒドロキシメチル体[M12]を含むその他の分解物の量は少なく、5%未満であった。

まとめ

3種の標識体を用いて調べたスピロメシフェンの土壌運命試験結果から、以下のことが明らかとなった。

- ・スピロメシフェンの分解は速やかであった。
- ・処理量の10%を超える主要分解物は[M1]及び[M3]であった。
- ・いずれの分解物も生成後、分解した。
- ・二酸化炭素が経時的に増加し、無機化が着実に進行した。

水中運命

加水分解(水中運命1)

スピロメシフェン[I]はpH 4、7及び9の全ての緩衝液中で加水分解した。加水分解速度はpHに依存し、pH 4~9の範囲でpHの上昇と共に不安定であった。25°CでのpH 4、7及び9における加水分解半減期はそれぞれ53.3日、24.8日及び4.3日であった。いずれのpH、温度でも認められた分解物はエノール体[M1]の1種のみであった。

自然水中光分解(水中運命2、3)

[ジヒドロフラン-3-¹⁴C]スピロメシフェン[I]をライン川の水に0.06 mg/Lの濃度で添加後、その溶液をキセノンランプ付きサンテスト照射装置で光照射した。スピロメシフェン[I]は照射条件下の自然水中、半減期1.8日(東京の太陽光換算で約17日)で速やかに分解し、処理6日後には[I]は約5%未満となり、以降8日後までこの量はほとんど変わらなかった。暗試料の8日後における[I]の残存量は27.3%であり、分解物として唯一エノール体[M1]が認められた。エノール体[M1]は1日後に最大26.9%に達した後、8日後には11.4%に減少した。エノール体[M1]以外に処理量の10%を超える分解物は認められなかった。2-ヒドロキシメチル体[M12]、シクロブチル光異性体[M13]及びエノール光異性体[M14]が10%未満の少量分解物として同定された。シクロブチル光異性体[M13]は試験終了時まで増加し、その分解が明確には認められなかったが、pH 4の緩衝液中で分解の認められなかったエノール体[M1]及びエノール光異性体[M14]の分解が認められた。pH 4の緩衝液中光分解では認められなかった2-ヒドロキシメチル体[M12]も生成し、照射4日後に最大8.8%に達した後、照射8日後には7.2%まで減少した。その他、5種の未知物質が認められたが、これらは処理放射能の10%を超えなかった。

[フェニル-UL-¹⁴C]スピロメシフェン[I]または[シクロペンチル-1-¹⁴C]スピロメシフェン[I]をライン川の水に0.06 mg/Lの濃度で添加後、その溶液をキセノンランプ付きサ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

ンテスト照射装置で光照射した。スピロメシフェン[I]は照射条件下の自然水中、半減期 1.1 日(東京の太陽光換算で約 11 日)で速やかに分解し、照射 4 日後(東京の環境条件における約 38 日に相当する)の溶液中に認められた未変化のスピロメシフェン[I]は 8.0%であった。96 時間後の暗対照試料では、[I]の残存量は 37.1%であり、分解物として唯一エノール体[M1]が認められた。エノール体[M1]は 2 日後に処理放射エネルギーの 31.8%まで増加し、試験終了時までこのレベルが維持された。96 時間後の暗対照試料では、エノール体[M1]は処理放射エネルギーの 54.1%に相当した。シクロブチル光異性体[M13]及びエノール光異性体[M14]が照射試料に見出され、それぞれ 3 日後に処理放射エネルギーの 8.3%及び 9.3%に相当した。更に、2-ヒドロキシメチル体[M12]が量的に少ない分解物として認められ、24 時間後に処理放射エネルギーの 1.9%に相当した後、終了時には処理放射エネルギーの 9.0%まで増加した。更に、量的に少ない未同定分解物が多数認められたが、いずれの時点でも処理放射エネルギーの 7.9%以下であった。

緩衝液中光分解(水中運命4)

[ジヒドロフラン-3-¹⁴C]スピロメシフェン[I]を pH 4 の緩衝液に 0.065 mg/L の濃度で添加後、その溶液をキセノンランプ付きサンテスト照射装置で光照射した。スピロメシフェン[I]は照射条件下の緩衝液中、半減期 1.7 日(東京の太陽光換算で約 12 日)で速やかに分解し、処理 5 日後には約 11%未満となった。エノール体[M1]、シクロブチル光異性体[M13]及びエノール光異性体[M14]の 3 種が 10%を超える量で認められ、いずれも実験終了時まで増加した。

まとめ

以上の加水分解及び光分解試験結果から、スピロメシフェン[I]は自然環境条件下で速やかに加水分解し、エノール体[M1]を生成することが分かった。エノール体[M1]は緩衝液中では光分解を受けないが、自然水中では光分解を受け、
等を経て高極性の未同定分解物に分解されると推定された。

はエノールを経ないでスピロメシフェン[I]から直接生成し、これらも緩衝液中では光分解を受けないが、自然水中では光分解により高極性の未同定分解物に分解されると推定された。従って、スピロメシフェン及びその分解物は水環境中で光分解を受け、高極性物質、揮発性有機物質あるいは CO₂ 等に変換されると推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

A : 動物
P : 植物
S : 土壌
L : 水中光分解
SL : 土壌表面光分解
W : 加水分解

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験	処理	性別	代謝産物の割合 (%)													対する割合 (%)		
			I (酸化産物)	M1	M2													
動物代謝	経口単回投与 2 mg/kg	♂	尿		4.2	8.9											35.7 ^a (39.0) ^b	
			糞	40.7	2.3												45.5 ^a (56.5) ^b	
		♀	尿		9.1	6.5											37.6 ^a (39.1) ^b	
			糞	34.3	2.1												41.9 ^a (54.8) ^b	
		経口反復(15日)投与 2 mg/kg	♂	尿		2.5	10.8											38.4 ^a (39.8) ^b
				糞	33.5	1.8												41.6 ^a (53.3) ^b
			♀	尿		8.1	5.5											32.9 ^a (34.0) ^b
				糞	37.8	2.8												44.2 ^a (55.4) ^b
		経口単回投与 500 mg/kg	♂	尿		1.3	2.6											8.56
				糞	80.8	3.8												85.5 ^a (93.1) ^b
			♀	尿		2.5	1.0											6.36
				糞	73.4	5.7												85.3 ^a (92.7) ^b
	♂		尿		1.3	3.0											8.45	
			糞	83.7	1.1												84.8 ^a (89.8) ^b	
	経口単回投与 2 mg/kg(胆汁採取)	♂胆汁	胆汁		0.2	0.7											6.77	
			糞															
		♀	♂血漿		0.80	0.14												1.30
			♂血漿 1.5時間		0.20	0												0.22
			♂血漿 24時間		9.44	4.10												16.37
			♂肝臓		2.80	0.10												3.03
			♂肝臓 1.5時間		0.29	0.29												0.97
			♂肝臓 24時間		0.08	0.01												0.11
			♀血漿		0.2	0.02												0.58
			♀血漿 1.5時間		0	<LOD												0.01
♀血漿 24時間				0.09	2.75	0.37											5.13	
♀肝臓				<LOD	0.1	<LOD											0.13	
♀肝臓 1.5時間				0	0.1	0.06											0.5	
♀肝臓 24時間				<LOD	0	<LOD											0	

a 分析試料中の放射能測定値に対する割合
b 試料含量中

植物	部位	処理	代謝産物の割合 (%)		処理量に対する割合 (%)		
			I (揮発性)	II			
植物代謝	トマト	D 23.1%フロアブル 2箇処理(24日間隔) 最終処理7日後	成熟果実	86.3 (0.728 ppm)	0.7 (0.006 ppm)		
			未成熟果実	87.0 (0.432 ppm)	0.7 (0.003 ppm)		
	りんご	D 240 mg/Lフロアブル 1箇処理 最終処理7日後	果実	87.4 (0.704 ppm)	0.1 (0.001 ppm)		
			葉	81.4 (24.313 ppm)	2.7 (0.709 ppm)		
	レタス	D 23.1%フロアブル 2箇処理 最終処理7日後	茎葉	87.8 (0.237 ppm)	1.5 (0.006 ppm)		
			茎葉 0.75倍量	85.8 (0.619 ppm)	1.9 (0.018 ppm)		
			茎葉 1.25倍量	89.1 (0.887 ppm)	1.7 (0.021 ppm)		
	梅	D 23.1%フロアブル 3箇処理(7日間隔) 最終処理21日後	種子	86.2 (0.029 ppm)	36.0 (0.019 ppm)		
			茎葉及び がく	26.3 (1.66 ppm)	49.4 (3.13 ppm)		
	土壌	D 好気的土壌	Claude土壌(米圃) 0.32 ppm	0日後	86.6		100
				7日後	49.7		99.1
				14日後	37.0		97.0
30日後				17.5		98.0	
90日後				3.1		91.4	
120日後				1.8		91.0	
Fresno土壌(米圃) 0.32 ppm			0日後	88.4		100	
			7日後	59.0		101.3	
			14日後	48.0		100	
			30日後	27.4		100.7	
			90日後	6.6		98.6	
			120日後	4.0		93.6	
Hoefohen土壌 (ドイツ) 0.32 ppm			0日後	90.8		100	
			7日後	19.8		100.8	
			14日後	11.0		100	
			30日後	3.1		102.7	
			90日後	1.0		92.5	
			120日後	1.0		91.3	
Laeherhof土壌 (ドイツ) 0.32 ppm			0日後	81.6		100	
			7日後	15.6		101.3	
			14日後	7.7		99.7	
			30日後	2.1		99.1	
			90日後	0.8		97.6	
			120日後	0.7		93.8	
Ph Fresno土壌(米圃) 0.400 ppm	0日後	84.1		100			
	7日後	14.6		100.6			
	35日後	1.5		96.0			
	62日後	0.9		98.1			
	120日後	0.3		96.1			
Oy Fresno土壌(米圃) 0.401 ppm	0日後	82.3		99.6			
	8日後	23.6		99.6			
	14日後	7.5		100			
	45日後	1.0		99.8			
	90日後	0.7		95.4			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験	試験条件	測定日	代謝分解物の割合 (%)														処理済に対する割合		
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
水中 運命	加水分解	pH 4緩衝液 25℃	0日後	100														100	
			14日後	81.2															98.3
			30日後	71.0															96.6
		pH 7緩衝液 25℃	0日後	100															100
			14日後	65.1															97.3
			30日後	42.9															97.1
		pH 9緩衝液 25℃	0日後	100															100
			14日後	8.8															96
			30日後	<LOD															95.7
	水中 運命	D 自然水(ライン川)	0日後	95.5														100	
			1日後	39.4														96	
			3日後	11.3														95.9	
			8日後	4.9														93.7	
		Ph & Cy	自然水(ライン川)	0日後	96.8														100
				1日後	58.7														102.8
水中 運命	D pH 4緩衝液	2日後	32.2														104.9		
		4日後	8.0														98.2		
		0日後	100														100		
		1日後	59.0														92.9		
		2日後	53.7														94.3		
水中 運命	D pH 4緩衝液	5日後	11.1														97.0		
		0日後	98.9														100		
		10日後	72.9														92.0		

スピロメシフェン開発年表

年	開発内容
2000	スピロメシフェン(1S,2S)
2001	スピロメシフェン(1R,2S)
2002	スピロメシフェン(1S,2R)
2003	スピロメシフェン(1R,2R)
2004	スピロメシフェン(1S,2S)
2005	スピロメシフェン(1R,2S)
2006	スピロメシフェン(1S,2R)
2007	スピロメシフェン(1R,2R)
2008	スピロメシフェン(1S,2S)
2009	スピロメシフェン(1R,2S)
2010	スピロメシフェン(1S,2R)
2011	スピロメシフェン(1R,2R)
2012	スピロメシフェン(1S,2S)
2013	スピロメシフェン(1R,2S)
2014	スピロメシフェン(1S,2R)
2015	スピロメシフェン(1R,2R)
2016	スピロメシフェン(1S,2S)
2017	スピロメシフェン(1R,2S)
2018	スピロメシフェン(1S,2R)
2019	スピロメシフェン(1R,2R)
2020	スピロメシフェン(1S,2S)
2021	スピロメシフェン(1R,2S)
2022	スピロメシフェン(1S,2R)
2023	スピロメシフェン(1R,2R)
2024	スピロメシフェン(1S,2S)
2025	スピロメシフェン(1R,2S)
2026	スピロメシフェン(1S,2R)
2027	スピロメシフェン(1R,2R)
2028	スピロメシフェン(1S,2S)
2029	スピロメシフェン(1R,2S)
2030	スピロメシフェン(1S,2R)
2031	スピロメシフェン(1R,2R)
2032	スピロメシフェン(1S,2S)
2033	スピロメシフェン(1R,2S)
2034	スピロメシフェン(1S,2R)
2035	スピロメシフェン(1R,2R)
2036	スピロメシフェン(1S,2S)
2037	スピロメシフェン(1R,2S)
2038	スピロメシフェン(1S,2R)
2039	スピロメシフェン(1R,2R)
2040	スピロメシフェン(1S,2S)
2041	スピロメシフェン(1R,2S)
2042	スピロメシフェン(1S,2R)
2043	スピロメシフェン(1R,2R)
2044	スピロメシフェン(1S,2S)
2045	スピロメシフェン(1R,2S)
2046	スピロメシフェン(1S,2R)
2047	スピロメシフェン(1R,2R)
2048	スピロメシフェン(1S,2S)
2049	スピロメシフェン(1R,2S)
2050	スピロメシフェン(1S,2R)
2051	スピロメシフェン(1R,2R)
2052	スピロメシフェン(1S,2S)
2053	スピロメシフェン(1R,2S)
2054	スピロメシフェン(1S,2R)
2055	スピロメシフェン(1R,2R)
2056	スピロメシフェン(1S,2S)
2057	スピロメシフェン(1R,2S)
2058	スピロメシフェン(1S,2R)
2059	スピロメシフェン(1R,2R)
2060	スピロメシフェン(1S,2S)
2061	スピロメシフェン(1R,2S)
2062	スピロメシフェン(1S,2R)
2063	スピロメシフェン(1R,2R)
2064	スピロメシフェン(1S,2S)
2065	スピロメシフェン(1R,2S)
2066	スピロメシフェン(1S,2R)
2067	スピロメシフェン(1R,2R)
2068	スピロメシフェン(1S,2S)
2069	スピロメシフェン(1R,2S)
2070	スピロメシフェン(1S,2R)
2071	スピロメシフェン(1R,2R)
2072	スピロメシフェン(1S,2S)
2073	スピロメシフェン(1R,2S)
2074	スピロメシフェン(1S,2R)
2075	スピロメシフェン(1R,2R)
2076	スピロメシフェン(1S,2S)
2077	スピロメシフェン(1R,2S)
2078	スピロメシフェン(1S,2R)
2079	スピロメシフェン(1R,2R)
2080	スピロメシフェン(1S,2S)
2081	スピロメシフェン(1R,2S)
2082	スピロメシフェン(1S,2R)
2083	スピロメシフェン(1R,2R)
2084	スピロメシフェン(1S,2S)
2085	スピロメシフェン(1R,2S)
2086	スピロメシフェン(1S,2R)
2087	スピロメシフェン(1R,2R)
2088	スピロメシフェン(1S,2S)
2089	スピロメシフェン(1R,2S)
2090	スピロメシフェン(1S,2R)
2091	スピロメシフェン(1R,2R)
2092	スピロメシフェン(1S,2S)
2093	スピロメシフェン(1R,2S)
2094	スピロメシフェン(1S,2R)
2095	スピロメシフェン(1R,2R)
2096	スピロメシフェン(1S,2S)
2097	スピロメシフェン(1R,2S)
2098	スピロメシフェン(1S,2R)
2099	スピロメシフェン(1R,2R)
2100	スピロメシフェン(1S,2S)