

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁																																																																																																																																												
M-1	in vitro 代謝	ラット肝臓 S-9	非標識体 1 mg または 30 mg/S-9 4 mL (肝臓 1.6 g 相当)	親化合物の半減期: 約 2 時間 代謝物数: 17 種、内 14 種解明 主代謝物(4 時間後) A: 35.0%、 B: 19.6% D: 5.8%、 F: 3.5% I: 16.0%、 R: 2.6%	(1988)	301																																																																																																																																												
M-2	動物体内運命	ラット雄 ①非標識体 ②標識体 [ピラゾール 環-3- ¹⁴ C] 標識体	①非標識体 (a)100mg/kg 単回経口投与 ②標識体 (a)10 mg/kg、 (b)100 mg/kg 単回経口投与	①代謝物 15 種解明 (尿・糞とも各 10 種) ②糞中: (a)60.3%、(b)60.6% 尿中: (a)39.7%、(b)39.4% 代謝物数: 20 種、内 15 種同定 (尿中 13 種、糞中 11 種) 主代謝物(10 mg/kg、48 時間) 糞: A、I、N、K、L 尿: N	(1990)	303																																																																																																																																												
M-3 GLP	動物体内運命	ラット雌雄 [ピラゾール 環-3- ¹⁴ C] 標識体	単回経口投与 低用量: 10 mg/kg 高用量: 50 mg/kg 胆管カニキュレーション	<p>血漿中濃度推移</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">50 mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>T_{1/2} (hr)</td> <td>30.8</td> <td>32.8</td> <td>32.5</td> <td>34.6</td> </tr> <tr> <td>T_{max} (hr)</td> <td>8</td> <td>8</td> <td>24</td> <td>24</td> </tr> <tr> <td>C_{max} (μgeq/mL/hr)</td> <td>7.9</td> <td>5.1</td> <td>23.3</td> <td>14.8</td> </tr> <tr> <td>AUC (μgeq/mL/hr)</td> <td>403</td> <td>276</td> <td>1955</td> <td>1114</td> </tr> </tbody> </table> <p>組織内分布(168 時間、μg eq./g 又は mL)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">50 mg/kg</th> <th colspan="2">反復投与</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>血液</td> <td>0.34</td> <td>0.12</td> <td>2.46</td> <td>1.65</td> <td>1.52</td> <td>0.21</td> </tr> <tr> <td>肝臓</td> <td>0.35</td> <td>0.16</td> <td>2.89</td> <td>2.68</td> <td>1.46</td> <td>0.24</td> </tr> <tr> <td>子宮</td> <td></td> <td>0.32</td> <td></td> <td>2.73</td> <td></td> <td>0.34</td> </tr> <tr> <td>リンパ節</td> <td>0.93</td> <td>0.58</td> <td>8.49</td> <td>5.19</td> <td>4.54</td> <td>0.82</td> </tr> <tr> <td>卵巣</td> <td></td> <td>0.29</td> <td></td> <td>2.94</td> <td></td> <td>0.30</td> </tr> </tbody> </table> <p>胆汁排泄(24 時間、投与量%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">50 mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>胆汁</td> <td>64.9</td> <td>59.4</td> <td>43.0</td> <td>36.9</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>5.2</td> <td>4.6</td> <td>6.4</td> <td>7.7</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td>5.2</td> <td>6.4</td> <td>5.2</td> <td>4.3</td> </tr> <tr> <td>ケージ洗浄物</td> <td>3.8</td> <td>7.2</td> <td>2.6</td> <td>2.3</td> </tr> </tbody> </table> <p>排泄(168 時間、投与量%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">50 mg/kg</th> <th colspan="2">反復投与</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>糞</td> <td>60.6</td> <td>62.6</td> <td>54.4</td> <td>63.0</td> <td>47.7</td> <td>73.6</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td>22.7</td> <td>16.6</td> <td>23.6</td> <td>19.0</td> <td>30.4</td> <td>15.9</td> </tr> <tr> <td>ケージ 洗浄物</td> <td>8.6</td> <td>8.1</td> <td>8.4</td> <td>6.2</td> <td>14.1</td> <td>8.0</td> </tr> </tbody> </table>		10 mg/kg		50 mg/kg		雄	雌	雄	雌	T _{1/2} (hr)	30.8	32.8	32.5	34.6	T _{max} (hr)	8	8	24	24	C _{max} (μgeq/mL/hr)	7.9	5.1	23.3	14.8	AUC (μgeq/mL/hr)	403	276	1955	1114		10 mg/kg		50 mg/kg		反復投与		雄	雌	雄	雌	雄	雌	血液	0.34	0.12	2.46	1.65	1.52	0.21	肝臓	0.35	0.16	2.89	2.68	1.46	0.24	子宮		0.32		2.73		0.34	リンパ節	0.93	0.58	8.49	5.19	4.54	0.82	卵巣		0.29		2.94		0.30		10 mg/kg		50 mg/kg		雄	雌	雄	雌	胆汁	64.9	59.4	43.0	36.9	糞	5.2	4.6	6.4	7.7	尿	5.2	6.4	5.2	4.3	ケージ洗浄物	3.8	7.2	2.6	2.3		10 mg/kg		50 mg/kg		反復投与		雄	雌	雄	雌	雄	雌	糞	60.6	62.6	54.4	63.0	47.7	73.6	尿	22.7	16.6	23.6	19.0	30.4	15.9	ケージ 洗浄物	8.6	8.1	8.4	6.2	14.1	8.0	(1992)	307
	10 mg/kg		50 mg/kg																																																																																																																																															
	雄	雌	雄	雌																																																																																																																																														
T _{1/2} (hr)	30.8	32.8	32.5	34.6																																																																																																																																														
T _{max} (hr)	8	8	24	24																																																																																																																																														
C _{max} (μgeq/mL/hr)	7.9	5.1	23.3	14.8																																																																																																																																														
AUC (μgeq/mL/hr)	403	276	1955	1114																																																																																																																																														
	10 mg/kg		50 mg/kg		反復投与																																																																																																																																													
	雄	雌	雄	雌	雄	雌																																																																																																																																												
血液	0.34	0.12	2.46	1.65	1.52	0.21																																																																																																																																												
肝臓	0.35	0.16	2.89	2.68	1.46	0.24																																																																																																																																												
子宮		0.32		2.73		0.34																																																																																																																																												
リンパ節	0.93	0.58	8.49	5.19	4.54	0.82																																																																																																																																												
卵巣		0.29		2.94		0.30																																																																																																																																												
	10 mg/kg		50 mg/kg																																																																																																																																															
	雄	雌	雄	雌																																																																																																																																														
胆汁	64.9	59.4	43.0	36.9																																																																																																																																														
糞	5.2	4.6	6.4	7.7																																																																																																																																														
尿	5.2	6.4	5.2	4.3																																																																																																																																														
ケージ洗浄物	3.8	7.2	2.6	2.3																																																																																																																																														
	10 mg/kg		50 mg/kg		反復投与																																																																																																																																													
	雄	雌	雄	雌	雄	雌																																																																																																																																												
糞	60.6	62.6	54.4	63.0	47.7	73.6																																																																																																																																												
尿	22.7	16.6	23.6	19.0	30.4	15.9																																																																																																																																												
ケージ 洗浄物	8.6	8.1	8.4	6.2	14.1	8.0																																																																																																																																												

¹⁾ LSR:Life Science Research

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁																																																																																										
M-4 GLP	動物体内運命	ラット雌雄 [ピラゾール環-3- ¹⁴ C] 標識体	単回経口投与 低用量: 10 mg/kg 高用量: 50 mg/kg 胆管カニキュレーション 反復経口投与 10 mg/kg (14日間 非標識体)	<u>主代謝物(投与量%)</u> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2"></th> <th colspan="2">10 mg/kg</th> <th colspan="2">50 mg/kg</th> </tr> <tr> <th colspan="2"></th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td rowspan="5">尿 (72hr)</td> <td>G</td> <td>0.31</td> <td>4.28</td> <td>0.35</td> <td>5.75</td> </tr> <tr> <td>I</td> <td>1.14</td> <td>1.37</td> <td>0.36</td> <td>1.38</td> </tr> <tr> <td>K</td> <td>0.69</td> <td>1.54</td> <td>0.33</td> <td>1.81</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>21.27</td> <td>10.95</td> <td>20.13</td> <td>9.03</td> </tr> <tr> <td>T</td> <td></td> <td></td> <td>0.06</td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="5">糞 (72hr)</td> <td>G</td> <td>4.54</td> <td>2.99</td> <td>1.88</td> <td>7.37</td> </tr> <tr> <td>I</td> <td>9.34</td> <td>10.47</td> <td>2.88</td> <td>2.03</td> </tr> <tr> <td>K</td> <td>18.14</td> <td>12.76</td> <td>10.80</td> <td>28.74</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>3.71</td> <td>10.13</td> <td>6.76</td> <td>8.07</td> </tr> <tr> <td>T</td> <td>3.35</td> <td>0.95</td> <td>2.19</td> <td></td> </tr> <tr> <td rowspan="5">胆汁 (24hr)</td> <td>G</td> <td>7.46</td> <td>10.07</td> <td>4.82</td> <td>5.97</td> </tr> <tr> <td>I</td> <td>10.52</td> <td>6.97</td> <td>5.61</td> <td>2.72</td> </tr> <tr> <td>K</td> <td>10.76</td> <td>18.26</td> <td>6.53</td> <td>13.70</td> </tr> <tr> <td>N</td> <td>3.40</td> <td>6.99</td> <td>2.13</td> <td>3.84</td> </tr> <tr> <td>T</td> <td>2.25</td> <td></td> <td>1.27</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>			10 mg/kg		50 mg/kg				雄	雌	雄	雌	尿 (72hr)	G	0.31	4.28	0.35	5.75	I	1.14	1.37	0.36	1.38	K	0.69	1.54	0.33	1.81	N	21.27	10.95	20.13	9.03	T			0.06		糞 (72hr)	G	4.54	2.99	1.88	7.37	I	9.34	10.47	2.88	2.03	K	18.14	12.76	10.80	28.74	N	3.71	10.13	6.76	8.07	T	3.35	0.95	2.19		胆汁 (24hr)	G	7.46	10.07	4.82	5.97	I	10.52	6.97	5.61	2.72	K	10.76	18.26	6.53	13.70	N	3.40	6.99	2.13	3.84	T	2.25		1.27		(1992)	320
		10 mg/kg		50 mg/kg																																																																																												
		雄	雌	雄	雌																																																																																											
尿 (72hr)	G	0.31	4.28	0.35	5.75																																																																																											
	I	1.14	1.37	0.36	1.38																																																																																											
	K	0.69	1.54	0.33	1.81																																																																																											
	N	21.27	10.95	20.13	9.03																																																																																											
	T			0.06																																																																																												
糞 (72hr)	G	4.54	2.99	1.88	7.37																																																																																											
	I	9.34	10.47	2.88	2.03																																																																																											
	K	18.14	12.76	10.80	28.74																																																																																											
	N	3.71	10.13	6.76	8.07																																																																																											
	T	3.35	0.95	2.19																																																																																												
胆汁 (24hr)	G	7.46	10.07	4.82	5.97																																																																																											
	I	10.52	6.97	5.61	2.72																																																																																											
	K	10.76	18.26	6.53	13.70																																																																																											
	N	3.40	6.99	2.13	3.84																																																																																											
	T	2.25		1.27																																																																																												
M-5	植物体内運命	なす [ピラゾール環-3- ¹⁴ C] 標識体	a)根部施用 (水耕法) 0.12µg/mL b)葉面施用 (塗布) 約0.65µg/cm ² c)果実施用 (塗布) 11.8µg/果実	a) 根部施用 根部:2.76~3.41 µg eq./g 茎部:0.24~0.38 µg eq./g 葉部:0.02~0.14 µg eq./g b) 葉面施用 <u>葉中代謝物濃度(28日後)</u> A:1.59 µg eq./g B:0.06 µg eq./g D:0.03 µg eq./g F:0.21 µg eq./g H:0.44 µg eq./g J:0.16 µg eq./g M:0.28 µg eq./g W:0.07 µg eq./g c) 果実施用 <u>果実中代謝物濃度(28日後)</u> A:0.078 µg eq./g B:0.001 µg eq./g D:<0.001 µg eq./g F:0.007 µg eq./g H:0.013 µg eq./g J:0.002 µg eq./g M: - W:<0.001 µg eq./g	(1991)	327																																																																																										

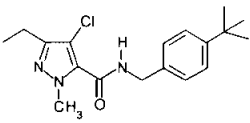
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁
M-6	植物体内運命	ひめ りんご [ピラゾール環-3- ¹⁴ C]標識体	a)葉面施用 0.61µg/葉 b)果実施用 6.1µg/果実	b) 果実施用 果実中代謝物濃度(56日後) A; 1.32 µg eq./g B; 0.063 µg eq./g C; 0.042 µg eq./g F; 0.015 µg eq./g H; 0.044 µg eq./g J; 0.024 µg eq./g M; 0.020 µg eq./g W; - AB; 0.027 µg eq./g a) 葉面施用 葉中代謝物濃度(56日後) A; 1.55 µg eq./g B; 0.17 µg eq./g C; 0.46 µg eq./g D; 0.19 µg eq./g H; 0.97 µg eq./g J; 0.38 µg eq./g M; 0.18 µg eq./g W; 0.13 µg eq./g AB; 0.06 µg eq./g	(1991)	337
M-7 GLP	植物体内運命	りんご [ピラゾール環-3- ¹⁴ C]標識体 [フェニル環-U- ¹⁴ C]標識体	圃場 散布 200 ppm (20gai/hL) × 3 回	果実中代謝物濃度(3回目散布14日後) A; 0.17、0.18 ppm B、D、F、H、J、W; <0.01 ppm	(1992)	346
M-8 GLP	植物体内運命	ぶどう レーズン [ピラゾール環-3- ¹⁴ C]標識体 [フェニル環-U- ¹⁴ C]標識体	圃場 散布 464 ppm × 2 回 200 gal/A	果実中代謝物濃度(2回目散布14日後) ぶどう A; 0.21、0.23 ppm B; 0.01、0.01 ppm D; <0.01、<0.01 ppm F; 0.02、0.04 ppm H; 0.01、0.03 ppm J; 0.01、0.05 ppm W; <0.01、<0.01 ppm AB; 0.01 ppm レーズン A; 1.05、0.99 ppm B; 0.04、0.03 ppm D; 0.03、0.02 ppm F; 0.09、0.14 ppm H; 0.07、0.09 ppm J; 0.06、0.12 ppm W; 0.01、0.01 ppm AB; 0.05 ppm	(1992)	356

²⁾ ACC: American Cyanamid Company

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験場所 報告年	記載頁
M-9	土壌中 運命	土壌 ①茨城 ②高知 [ピラゾール 環-3- ¹⁴ C] 標識体 a) [フェニル環 -U- ¹⁴ C] 標識体 b)	好氣的条件 0.46 µg/g 嫌氣的条件 0.47 µg/g	a) 好氣的条件 土壌中濃度推移(半減期) A: 茨城 a) 17日、b) 27日 高知 a) 24日、b) 32日 土壌中主要代謝物(56日後) 茨城 高知 A: a) 18.7%、b) 28.2% a) 40.2%、b) 38.3% I: a) 10.9%、b) 17.6% a) 18.2%、b) 24.3% AD: a) 2.1%、b) - a) 10.1%、b) - 非抽出性放射能(56日後) 茨城 a) 42.6%、b) 27.2% 高知 a) 13.6%、b) 10.2% 二酸化炭素(56日後) 茨城 a) 7.9%、b) 16.9% 高知 a) 2.8%、b) 15.5% b) 嫌氣的条件 土壌中主要代謝物(28日後) 茨城 高知 A: a) 90.1% a) 86.5% I: a) 0.5% a) 1.4%	(1992)	370
省略	加水分解 運命					380
M-10 GLP	水中光 分解運命	緩衝液 [ピラゾール 環-3- ¹⁴ C] 標識体	1.35 ppm	半減期: 緩衝液: 187日(自然太陽光換算: 453日) 主要分解物 10%を超える分解物は存在せず。	(1992)	381
M-11 GLP	水中光 分解運命	自然水 [フェニル環 -U- ¹⁴ C] 標識体	1.3 ppm	半減期: 自然水: 133日(自然太陽光換算: 734日) 主要分解物(6日後) AG(1.0%)	(2005)	383
M-12	土壌吸着	土壌 非標識原体	0.30, 0.50, 1.00 mg/L	Koc は、1018 L/kgであった。 (相関係数=0.364) 回収率は71%以上であった。	(1989)	385
M-13	生物 濃縮性	コイ [ピラゾール 環-3- ¹⁴ C] 標識体	1.2 ng/mL 流水式 取込み28日間 排泄14日間	BCF(倍): 総放射能: 864 テブフェンピラド: 28.5	(1992)	387

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	略名	構造式	化学名
A	親化合物	テブフェンピラド (MK-239)		N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル- 1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド
B	動物 植物 土壌			
C	植物			
D	動物 植物 土壌			
E	動物			
F	動物 植物			
G	動物			
H	植物			
I	動物 土壌			
J	動物 植物			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

K	動物			
L	動物			
M	植物			
N	動物 土壌			
O	動物			
P	動物			
Q	動物			
R	動物 土壌			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

S	動物			
T	動物			
U	土壌			
V	土壌			
W	動物 植物			
X	動物			
Y	動物			
Z	動物			
AA	動物 土壌			
AB	動物 植物			
AC	動物 植物			
AD	土壌			
AE	動物 土壌			
AF	動物			
AG	水中光			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

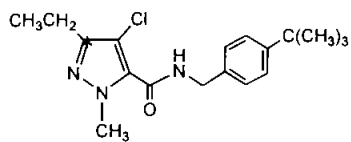
--	--	--	--	--

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

<代謝・分解試験に用いた標識化合物>

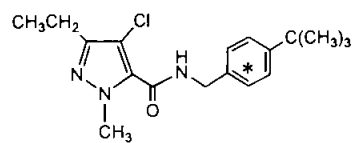
テブフェンピラド(ピラニカ®)の動物、植物および土壌における代謝・分解試験は、下記の方法で合成した標識化合物を用いて行った。

- (1) [ピラゾール環-3-¹⁴C]標識化合物:ピラゾール環上3位の炭素を¹⁴Cで標識



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) [フェニル環-U- ^{14}C]標識化合物:フェニル環上の炭素を均一に ^{14}C で標識



1. 動物体内運命

(1)ラット肝臓 S-9 における *in vitro* 代謝

(資料 M-1)

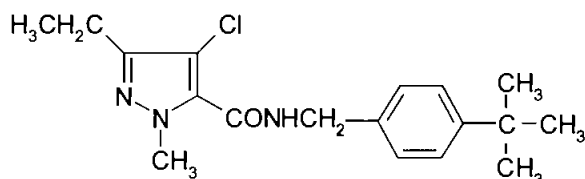
試験機関:

報告書作成年: 1988 年

供試化合物 : テブフェンピラド

化学名 : N-(4-*t*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

化学構造 :



純度 :

供試動物 : SD 系雄ラット、7 週齢

方法 : 動物における代謝物を明らかにするためにラット肝臓 S-9 を用いた *in vitro* 代謝試験を行った。

- 1) *in vitro* 代謝系[ラット肝臓 S-9 4 mL(肝臓 1.6 g 相当)を含む NADPH 発生系]に非標識体を代謝物検索用に 30 mg または定量用に 1 mg を加え、37°C で 1~4 時間インキュベーションして代謝させた。
- 2) 代謝物は溶媒抽出し、メチル化後、GC-MS 法で検索・解析し、さらに主要な代謝物は HPLC 法で分取・精製したのち、NMR 法で確認した。

結果 :

1) 代謝物の解析

GC-MS 法で 17 種の代謝物を検出し、それらのうち、B、D、F、I、P の 5 種は NMR および MS マスペクトル解析により構造が確認でき、W、Y、AF、AA、AC、AB の 6 種は GC-MS 法による保持時間と MS マスペクトルが標品のそれらと一致し同定された。その他に J、N、R の 3 種は GC-MS 法で構造が推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 代謝物の定量

各経過時間における各代謝物の生成割合を次表に示す。

テブフェンピラド および代謝物	記号	添加テブフェンピラドに対する割合*, %		
		1 時間	2 時間	4 時間
テブフェンピラド	A	62.0	51.4	35.0
	B	15.1	14.4	19.6
	D	4.2	5.1	5.8
	F	3.4	2.7	3.5
	I	7.3	13.6	16.0
	J	0.5	0.8	1.6
	N	0.4	0.3	1.2
	P	0.7	1.3	1.0
	R	0.8	2.5	2.6
	W	<0.3	<0.3	<0.3
	Y	0.5	0.7	0.3
	AA	<0.3	<0.3	<0.3
	AB+AC	<0.3	0.4	0.8
	AF	<0.3	0.4	0.8
合計		94.9	93.2	88.0

* テブフェンピラドは絶対検量線法で、その他の代謝物は GC-MS 法のトータルイオンクロマトの補正ピーク面積比法

テブフェンピラドは経時的に減少し、4 時間後における代謝物の総量は 53%に達し、主要な代謝物である B は 19.6%、I は 16.0%に達した。

結論: テブフェンピラドは、ラット肝臓 S-9 を用いた *in vitro* 代謝系において経時的に減少し、17 種の代謝物に変換された。主代謝反応はフェニル環上の *tert*-ブチル基およびピラゾール環上のエチル基の一方あるいは両方の段階的酸化反応、すなわち、水酸化体およびケト体またはカルボキシ体の生成反応であった。なお、アミド結合の開裂はなかったが、カルボキサミド窒素とベンジルメチレン炭素の C-N 結合の開裂(AA、AC、AB、AF の生成)がわずかにみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) ラットにおける代謝物の解析

(資料 M-2)

試験機関:

報告書作成年: 1990 年

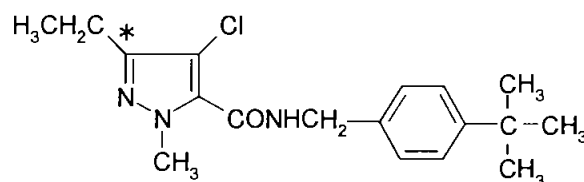
供試標識化合物: ピラゾール環標識テブフェンピラド

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $C_{18}H_{24}ClN_3O$

分子量: 333.9

化学構造:



*: ^{14}C 標識位置

平均放射性純度:

比放射能:

標識位置の選択理由:

供試動物: F-344 系雄ラット、6 週齢、体重約 130 g

方法: この試験はラットにおける代謝試験の本試験(資料 M-3)を実施するための予備試験として実施した。

1) 非標識化合物投与後の糞および尿中代謝物の解析試験

投与前 20 時間絶食したラットに、非標識化合物のオリーブ油溶液を 100 mg/kg の用量(10 匹)で一回強制経口投与したのち、代謝ケージに入れ、96 時間までに排泄される糞および尿を採取した。0~48 時間までに採取した糞および尿について代謝物を溶媒抽出したのち、HPLC 法で分取・精製した。そののち、NMR 測定、Negative-SIMS およびミリマス測定をし、さらに、一部をメチル化後 GC-MS 測定したのち、構造解析を行った。

2) ^{14}C -標識化合物の吸収・排泄試験

投与前 20 時間絶食したラットに、標識化合物のオリーブ油懸濁液を 10 mg/kg (低用量区)および 100 mg/kg(高用量区)の用量(各 2 匹)で一回強制経口投与したのち、代謝ケージに入れ、経時的に排泄される糞および尿を採取し、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

^{14}C 量を測定した。

3) ^{14}C 代謝物の同定・定量試験

標識化合物投与により得られた糞および尿の ^{14}C 代謝物は溶媒抽出し、ラジオアイソトープ検出器および UV 検出器付 HPLC によるクロマトグラフ法で同定・定量した。

結果: 1) 非標識化合物投与後の糞および尿中代謝物の解析

糞・尿中代謝物として 15 種(糞・尿中に各 10 種)の代謝物を単離し、各種スペクトルの解析により G、I、J、K、L、N、O、Q、R、S、T、X、Z、AE、AB が確認できた。

2) 標識化合物投与後の吸収・排泄

経過 時間	96 時間までに排泄された ^{14}C 量に対する割合、%					
	10 mg/kg			100 mg/kg		
	糞	尿	合計	糞	尿	合計
0~8	—	24.0	24.0	—	2.4	2.4
8~24	41.5	8.5	50.0	5.5	5.0	10.5
24~48	9.1	3.4	12.5	17.5	21.4	38.9
48~72	5.7	2.2	7.9	28.5	7.8	36.5
72~96	4.0	1.6	5.6	9.1	2.8	11.9
0~96	60.3	39.7	100.0	60.6	39.4	100.0

糞・尿への排泄が低用量区では 24 時間以内に約 75%に達するのに対して、高用量区では 48 時間後においても約 50%と遅い傾向を示したが、糞および尿への 96 時間までの排泄割合は両用量区で差がなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ^{14}C 代謝物の同定・定量

非標識化合物投与糞・尿中で検出・同定された代謝物の全てが3種のHPLC条件を用いて標識化合物投与糞・尿中に確認できた。

低用量投与後48時間までに排泄された糞および尿中の ^{14}C 代謝物の定量結果を下表に示す。

テブフェンピラドおよび ^{14}C 代謝物	記号	48時間までに排泄された ^{14}C 量に 対する割合、%		
		糞	尿	合計
テブフェンピラド	A	3.2	<0.2	3.2
	I	6.1	0.8	6.9
	J	1.2	0.4	1.6
	N	7.6	26.5	34.1
	R	0.3	0.9	1.2
	S	0.3	1.0	1.3
	T	<0.2	0.5	0.5
	X	<0.2	0.4	0.4
	Z	<0.2	0.5	0.5
	AB	<0.2	0.7	0.7
	AE	0.5	0.5	1.0
	G	1.4	0.4	1.8
	K	5.6	0.7	6.3
	L	7.7	<0.2	7.7
	O	2.4	0.2	2.6
	Q	0.7	<0.2	0.7
その他*		1.8	1.8	3.6
非抽出物		11.8	0.6	12.4
合計		50.6	35.9	86.5

*: 5成分以上の合計値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

確認できた代謝物の総量は抽出された¹⁴C量の95%に達し、主要な代謝物は、糞中では I、N、K および L、尿中では N であった。特に、N は¹⁴C排泄物中の約 1/3 を占めていた。主代謝反応はアルキル側鎖の水酸化、ケト化、カルボキシ化およびアルキル硫酸抱合体化であった。なお、抱合体はアルキル硫酸抱合体のみが検出された。

結論：¹⁴C-テブフェンピラドをラットに投与した結果、糞・尿中¹⁴C代謝物として20種検出し、非標識テブフェンピラドを投与したラットの糞・尿を用いて代謝物を検索した結果、15種の構造がスペクトル解析および標品から確認された。主代謝物は N で、全¹⁴C排泄物中の39%を占めた。次いで多い代謝物は L、I、K であったが、いずれも全¹⁴C排泄物中の9%以下であった。解明できた代謝物の量は抽出された¹⁴Cの95%、また、48時間までに排泄された全¹⁴C排泄物中の82%であった。また、検出された¹⁴C代謝物を分離・定量できるHPLC条件が設定でき、英国LSR社における試験用として最適な分析条件を確立した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) ラットにおける吸収・分布・排泄

(資料 M-3)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年 (GLP 対応)

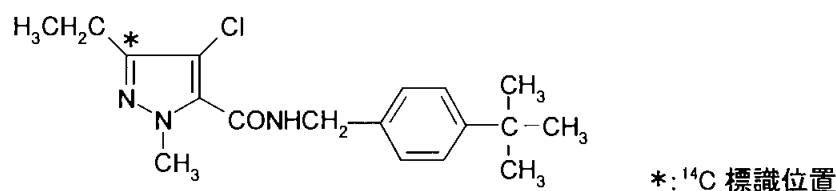
供試標識化合物: ピラゾール環標識テブフェンピラド (ロット番号 2332-260)

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $C_{18}H_{24}ClN_3O$

分子量: 333.9

化学構造:



平均放射性純度:

比放射能:

標識位置の選択理由:

供試動物: Fischer 344 系雌雄ラット、7-8 週令 (平均重量: 雄 135g、雌 105g)、各試験以下の例数が確保できるよう動物を供試した。

血中濃度試験: 単回低・高用量、雌雄各 5 例

排泄試験: 単回低・高用量および反復低用量、雌雄各 5 例

胆汁排泄試験: 単回低・高用量、雌雄各 4 例

組織内分布試験: 単回低・高用量、雌雄各 5 例

方法: 単回投与試験 低用量区: 標識化合物を 10 mg/kg の用量で 1 回投与した。

高用量区: 標識化合物を 50 mg/kg の用量で 1 回投与した。

反復投与試験 非標識化合物を 10 mg/kg の用量で 14 日間投与後、標識化合物を同用量で 1 回投与した。

なお、いずれの投与においても、検体を 0.5% CMC 水溶液に懸濁し、ラットに強制経口投与した。ラットは標識化合物の投与前に一夜絶食させ、投与後給餌を再開した。

1) 血中濃度試験は尾静脈から経時的に採血し、全血中の ^{14}C 量を求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

- 2) 排泄試験は糞・尿・ケージ洗浄物を168時間まで経時的に採取して¹⁴C排泄率を求めた。
- 3) 組織内分布試験は投与後、低用量区は3、8、24、72時間後、高用量区は3、24、72時間後およびそれぞれの区の排泄試験終了時(168時間後)に各組織を摘出し、屍体とともに¹⁴C濃度を求めた。
- 4) 胆汁排泄試験は胆管にカニューレを施したのち投与し、24時間まで経時的に胆汁・糞・尿・ケージ洗浄物を採取し、また試験終了時(24時間後)には消化管と屍体についても¹⁴C量を測定し、¹⁴C排泄率を求めた。

用量設定根拠:

結果:1)吸収・排泄

a)血中濃度

	血中濃度、テブフェンピラド換算 $\mu\text{g}/\text{mL}$			
	単回・低用量区		単回・高用量区	
	雄	雌	雄	雌
性				
投与量	9.0 mg/kg	9.7 mg/kg	48.4 mg/kg	45.5 mg/kg
15分	1.3	1.7	1.1	0.8
30分	2.7	2.7	4.4	3.3
1時間	4.6	3.6	8.3	4.6
2時間	5.2	3.7	12.8	7.7
3時間	5.7	3.7	13.1	8.5
4時間	6.2	3.9	12.9	8.1
6時間	6.2	3.9	11.6	7.9
8時間	7.9	5.1	14.0	10.8
12時間	7.5	5.0	16.2	12.3
24時間	5.6	3.8	23.3	14.8
48時間	3.0	1.9	22.5	9.6
96時間	1.0	0.9	7.1	4.4
120時間	0.6	0.4	4.0	2.7
168時間	0.2	0.2	1.6	0.9

以上の血中濃度から薬物動力学の解析を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

性	単回・低用量区		単回・高用量区	
	雄	雌	雄	雌
投与量、mg/kg	9.0	9.7	48.4	45.5
生物学的半減期($T_{1/2}$)、hr	30.8	32.8	32.5	34.6
最高濃度到達時間(T_{max})、hr	8	8	24	24
最高血中濃度(C_{max})、 $\mu\text{g eq/mL}$	7.9	5.1	23.3	14.8
$AUC_{(0-\infty)}$ 、 $\mu\text{g eq/mL}\cdot\text{hr}$	403	276	1995	1114

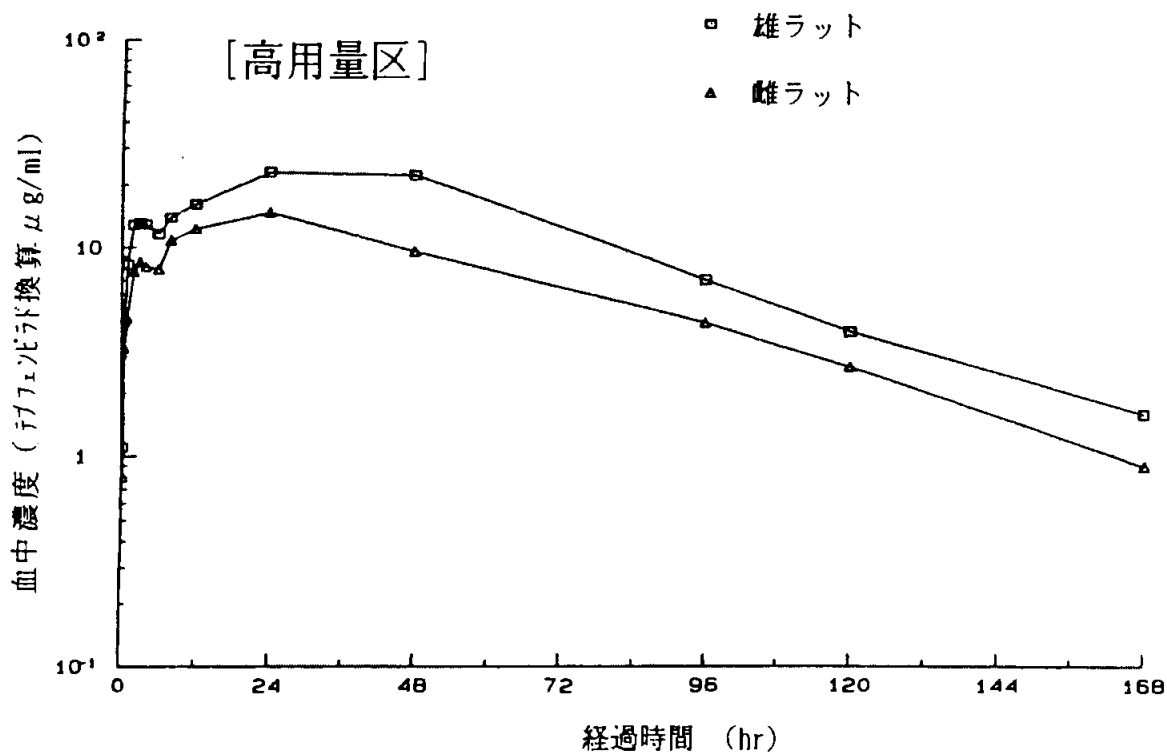
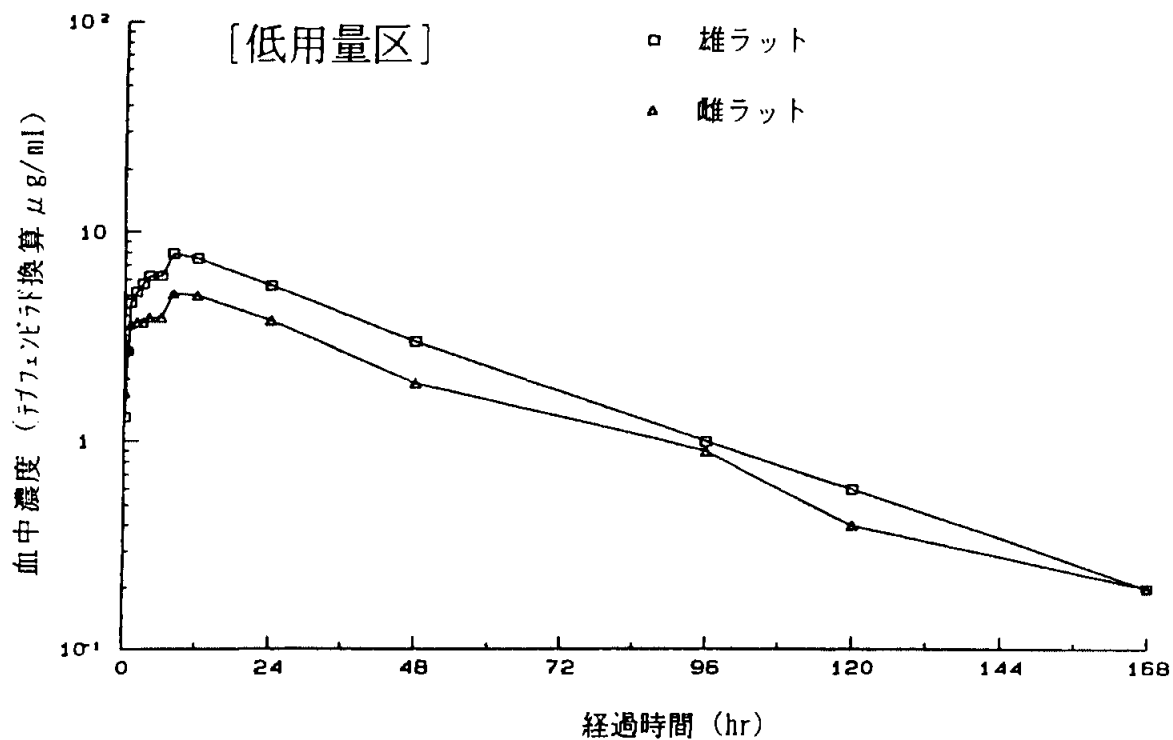
血中濃度は投与後、経時的に上昇し、雌雄とも低用量区で8時間後、高用量区で24時間後に最高血中濃度(C_{max})に達した。その後、各用量区とも31~35時間の生物学的半減期($T_{1/2}$)で減少し、投与168時間後には低用量区の雌雄で0.2 $\mu\text{g eq/mL}$ 、高用量区の雄で1.6 $\mu\text{g eq/mL}$ 、雌で0.9 $\mu\text{g eq/mL}$ に低下した。

雌の最高血中濃度(C_{max})および $AUC_{(0-\infty)}$ はいずれも雄の55~69%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日本農薬株式会社にある。

^{14}C -テブフェンピラド単回経口投与後の血中濃度曲線

以下に血中濃度曲線を示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

b) 糞・尿中排泄

投与量 mg/kg	性	排泄物 ¹⁾	¹⁴ C 投与量に対する%						排泄物 合計	体内残 留	総合計*	
			経過時間、hr									
			0~24	24~ 48	48~ 72	72~ 120	120~ 168	0~ 168				
単回・低用量区	9.2	雄	糞	30.5	12.8	6.5	7.5	3.4	60.6	91.9	3.0	94.9
			尿	16.8	2.1	1.6	1.6	0.8	22.7			
			ケージ洗浄物	6.7	1.3	0.2	0.3	0.2	8.6			
			尿+ケージ洗浄物	23.5	3.4	1.8	1.9	1.0	31.3			
	9.7	雌	糞	42.8	8.9	4.0	4.7	2.1	62.6	87.3	1.4	88.7
			尿	10.8	1.9	1.8	1.6	0.6	16.6			
			ケージ洗浄物	5.8	1.5	0.3	0.3	0.2	8.1			
			尿+ケージ洗浄物	16.6	3.4	2.1	1.9	0.8	24.7			
	48.5	雄	糞	12.4	19.3	10.0	8.8	4.0	54.4	86.4	4.9	91.4
			尿	12.8	5.1	2.7	2.2	0.9	23.6			
			ケージ洗浄物	4.9	2.1	0.6	0.4	0.2	8.4			
			尿+ケージ洗浄物	17.7	7.2	3.3	2.6	1.1	32.0			
50.4	雌	糞	21.4	25.6	8.4	5.2	2.4	63.0	88.2	2.8	91.0	
		尿	9.5	3.9	2.2	2.5	1.0	19.0				
		ケージ洗浄物	3.5	1.7	0.3	0.4	0.3	6.2				
		尿+ケージ洗浄物	13.0	5.6	2.5	2.9	1.3	25.2				
反復・低用量区	9.4	雄	糞	13.8	14.3	8.9	7.2	3.5	47.7	92.2	6.6	98.6
			尿	17.8	5.6	2.6	2.8	1.5	30.4			
			ケージ洗浄物	7.6	3.0	1.0	1.6	0.9	14.1			
			尿+ケージ洗浄物	25.4	8.6	3.6	4.4	2.4	44.5			
	8.7	雌	糞	42.7	17.9	6.0	5.3	1.7	73.6	97.5	1.7	99.0
			尿	10.3	2.1	1.2	1.6	0.7	15.9			
			ケージ洗浄物	6.1	1.1	0.3	0.3	0.2	8.0			
			尿+ケージ洗浄物	16.4	3.2	1.5	1.9	0.9	23.9			

*各個体毎の合計値から求めた平均値

注) 呼気への排泄は予備試験(48時間)において検出されなかったことから省略した。

申請者注: 1) ケージ洗浄物は主に尿に起因していることから、[尿+ケージ洗浄物]を算出し、評価した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

単回投与では、用量間を比較すると経時的な糞・〔尿＋ケージ洗浄物〕排泄は低用量区より高用量区で遅れたが、累積糞・〔尿＋ケージ洗浄物〕排泄率は両用量間に殆ど差が無く、糞：〔尿＋ケージ洗浄物〕比は雄で 61%：31%、雌で 63%：25%となり、〔尿＋ケージ洗浄物〕中排泄率は雌が少なかった。また、体内残留は雄が 3.0～4.9%に対して、雌では 1.4～2.8%と約 1/2 であった。一方、反復投与では単回投与に比べて、雌においては〔尿＋ケージ洗浄物〕中排泄率および体内残留とも類似していたが、雄においては〔尿＋ケージ洗浄物〕中排泄率が約 1.5 倍になり、逆に糞中排泄率が約 8 割減少して 48%となり体内残留は約 2 倍になった。また、経時的な糞・〔尿＋ケージ洗浄物〕排泄パターンが雌では単回・低用量区のパターンに類似していたのに対して、雄は単回・高用量区のパターンに類似し、反復投与により排泄パターンに変化がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

c) 胆汁排泄

投与量、 mg/kg	性	排泄物 ²⁾	¹⁴ C 投与量に対する%						排泄物 合計	体内残留	総合計*		
			経過時間、hr										
			0~2	2~4	4~6	6~ 12	12~ 24	0~ 24					
単回・低用量区	9.5	雄	胆汁	7.6	14.0	11.6	18.8	12.9	64.9	79.1	胃	8.0	91.4
			糞		0.4		1.5	3.3	5.2		小腸	0.3	
			尿		3.1		1.2	1.0	5.2		盲腸	2.3	
			ケージ洗浄物		1.5		1.5	0.8	3.8		大腸	1.3	
			尿+ケージ洗浄物		4.6		2.7	1.8	9.0		肝臓	0.5	
									計	12.3			
	9.6	雌	胆汁	5.5	12.6	11.6	19.5	10.2	59.4	77.6	胃	7.4	88.3
			糞		0.2		0.6	3.8	4.6		小腸	0.4	
			尿		2.5		1.3	2.5	6.4		盲腸	1.4	
			ケージ洗浄物		1.9		3.0	2.4	7.2		大腸	0.9	
尿+ケージ洗浄物				4.4		4.3	4.9	13.6	肝臓		0.8		
								計	10.8				
単回・高用量区	44.4	雄	胆汁	1.4	4.0	5.4	12.2	20.1	43.0	57.2	胃	26.2	94.1
			糞		0.2		1.3	5.0	6.4		小腸	2.0	
			尿		1.5		1.3	2.5	5.2		盲腸	5.2	
			ケージ洗浄物		0.8		0.8	1.0	2.6		大腸	2.0	
			尿+ケージ洗浄物		2.3		2.1	3.5	7.8		肝臓	1.7	
									計	36.9			
	50.2	雌	胆汁	0.8	4.6	6.2	11.7	13.7	36.9	51.2	胃	15.8	79.1
			糞		0.1		1.7	5.9	7.7		小腸	1.2	
			尿		1.8		1.2	1.3	4.3		盲腸	6.3	
			ケージ洗浄物		0.9		0.7	0.7	2.3		大腸	2.6	
尿+ケージ洗浄物				2.7		1.9	2.0	6.6	肝臓		2.1		
								計	28.0				

* 各個体毎の合計値の平均値

24 時間までの胆汁排泄は雌雄間に殆ど差がなく、低用量区で約 60%、高用量区で約 40%であった。一方、糞中へは 5~8%、[尿+ケージ洗浄物]中へは 7~14%排泄された。

体内吸収率³⁾が低用量区で 73.8~74.4%、高用量区で 45.6~52.5%と高いことから、糞・尿中排泄試験における糞中¹⁴Cの大部分は胆汁経由であることが明らかとなった。また、糞・尿中排泄試験に比べて胆汁試験では[尿+ケージ洗浄物]中排泄が少ないことから胆汁排泄物の一部は腸肝循環を受け尿中へ排泄されることが判った。

申請者注: 2) ケージ洗浄物は主に尿に起因していることから、[尿+ケージ洗浄物]を算出し、評価した。

3) 吸収率=(胆汁、尿+ケージ洗浄物)への排泄量+肝臓における残留量、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日本農薬株式会社にある。

2)組織内分布

組織内 ^{14}C 分布率の結果の概要を表に示す。

		組織内 ^{14}C 分布率、%									
		単回投与・低用量区									
性		雄					雌				
経過時間(hr)		3	8	24	72	168	3	8	24	72	168
投与量(mg/kg)		9.91	7.86	7.57	7.10	9.27	10.38	8.09	7.73	7.88	9.68
組織	全血	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	血漿	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	肝臓	5.72	6.49	4.62	1.68	0.23	7.65	6.22	3.52	1.30	0.10
	腎臓	0.49	0.85	0.40	0.16	0.02	0.38	0.73	0.29	0.11	0.01
	肺臓	0.47	0.66	0.57	0.19	0.02	0.32	0.38	0.33	0.22	0.01
	膵臓	0.29	0.45	0.25	0.09	0.01	0.43	0.36	0.23	0.05	0.01
	脾臓	0.12	0.15	0.08	0.03	0.00	0.13	0.16	0.06	0.02	0.00
	心臓	0.16	0.27	0.15	0.07	0.01	0.15	0.18	0.11	0.07	0.00
	脳	0.09	0.14	0.07	0.03	0.00	0.07	0.11	0.06	0.03	0.00
	精巣	0.14	0.20	0.15	0.06	0.01	--	--	--	--	--
	子宮	--	--	--	--	--	0.25	0.42	0.10	0.05	0.01
	筋肉	0.18	0.29	0.16	0.08	0.01	0.10	0.68	0.11	0.06	0.00
	脂肪	0.22	0.27	0.14	0.06	0.01	0.09	0.10	0.05	0.03	0.00
	皮膚	4.90	5.04	4.62	1.90	0.46	2.95	3.66	2.98	1.67	0.17
	骨	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
	副腎	0.02	0.03	0.02	0.01	0.00	0.02	0.03	0.01	0.01	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
	眼	0.02	0.03	0.02	0.01	0.00	0.01	0.02	0.02	0.01	0.00
	ハーダー腺	0.10	0.08	0.05	0.01	0.00	0.09	0.06	0.04	0.01	0.00
	リンパ節	0.08	0.28	0.06	0.02	0.00	0.37	0.42	0.07	0.02	0.00
	唾液腺	0.01	0.03	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00
	顎下腺	0.04	0.07	0.05	0.02	0.00	0.03	0.04	0.03	0.02	0.00
	胸腺	0.04	0.08	0.05	0.02	0.00	0.03	0.05	0.04	0.01	0.00
	卵巣	--	--	--	--	--	0.16	0.25	0.04	0.01	0.00
	胃	17.24	18.15	0.58	0.22	0.06	18.11	16.55	1.02	0.29	0.03
	小腸	16.84	13.51	9.57	5.41	0.63	14.29	13.91	7.41	3.27	0.32
盲腸	5.30	14.37	4.42	2.88	0.32	11.88	17.65	4.22	1.08	0.20	
大腸	0.80	3.11	1.24	0.88	0.23	1.21	2.82	1.25	0.52	0.10	
屍体	19.68	25.16	13.74	6.37	0.89	15.54	24.21	9.63	5.06	0.39	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

		組織内 ¹⁴ C 分布率、%									
		単回・高用量区								反復・低用量区	
性		雄				雌				雄	雌
経過時間(hr)		3	24	72	168	3	24	72	168	168	168
投与量(mg/kg)		48.56	42.80	44.13	48.45	46.38	48.08	48.06	50.36	9.38	8.71
組織	全血	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	血漿	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	肝臓	2.07	3.55	1.96	0.41	3.40	2.81	1.28	0.35	0.66	0.14
	腎臓	0.24	0.33	0.10	0.03	0.27	0.19	0.06	0.02	0.06	0.01
	肺臓	0.24	0.47	0.15	0.04	0.19	0.22	0.10	0.02	0.10	0.02
	脾臓	0.21	0.29	0.08	0.04	0.24	0.19	0.05	0.02	0.03	0.01
	脾臓	0.06	0.07	0.02	0.01	0.12	0.05	0.01	0.00	0.01	0.00
	心臓	0.08	0.13	0.05	0.01	0.07	0.06	0.03	0.01	0.02	0.01
	脳	0.07	0.07	0.02	0.00	0.08	0.04	0.02	0.00	0.01	0.00
	精巣	0.22	0.16	0.04	0.01	--	--	--	--	0.04	--
	子宮	--	--	--	--	0.08	0.10	0.03	0.01	--	0.00
	筋肉	0.06	0.09	0.03	0.01	0.04	0.06	0.02	0.01	0.01	0.01
	脂肪	0.07	0.10	0.04	0.01	0.05	0.05	0.01	0.00	0.02	0.00
	皮膚	1.60	3.15	1.37	0.45	1.19	1.66	1.00	0.22	0.90	0.17
	骨	0.01	0.01	0.00	0.05	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
	副腎	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	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
	眼	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	ハーダー腺	0.03	0.04	0.01	0.00	0.03	0.03	0.01	0.00	0.01	0.00
	リンパ節	0.06	0.06	0.01	0.01	0.11	0.06	0.01	0.00	0.01	0.00
	唾液腺	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	顎下腺	0.02	0.03	0.01	0.00	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00
	胸腺	0.02	0.03	0.01	0.00	0.02	0.02	0.01	0.00	0.01	0.00
	卵巣	--	--	--	--	0.03	0.03	0.01	0.00	--	0.00
	胃	44.21	7.19	0.25	0.05	34.94	1.48	0.18	0.05	0.05	0.02
小腸	7.11	9.97	5.47	1.18	7.53	7.39	2.34	0.64	1.24	0.33	
盲腸	10.24	10.58	3.47	0.88	19.00	7.45	1.17	0.43	0.94	0.30	
大腸	1.75	2.91	0.75	0.26	2.85	3.46	0.39	0.14	0.21	0.12	
屍体	6.24	12.39	4.61	1.38	6.73	7.43	2.61	0.85	2.33	0.55	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

組織内濃度の結果の概要を表に示す。

組織内濃度、 $\mu\text{g}^{14}\text{C}$ -テブフェンピラド換算/g または mL											
単回投与・低用量区											
性	雄					雌					
経過時間(hr)	3	8	24	72	168	3	8	24	72	168	
投与量(mg/kg)	9.91	7.86	7.57	7.10	9.24	10.38	8.09	7.73	7.88	9.68	
組織	全血	5.45	7.94	6.30	2.08	0.34	3.68	5.47	4.37	1.94	0.12
	血漿	9.91	14.03	11.33	3.60	0.61	7.07	10.04	8.08	3.40	0.20
	肝臓	11.47	11.16	5.22	1.90	0.35	17.29	12.16	4.65	1.67	0.16
	腎臓	5.50	7.99	3.35	1.25	0.22	4.13	6.80	2.38	0.93	0.10
	肺臓	4.78	5.80	4.50	1.46	0.26	3.23	3.80	2.93	1.61	0.09
	脾臓	7.60	18.12	5.25	2.29	0.39	9.55	12.86	4.98	1.37	0.21
	脾臓	4.06	4.83	2.24	0.78	0.13	5.14	5.21	1.69	0.50	0.06
	心臓	3.26	4.99	2.73	1.09	0.17	2.94	3.31	2.01	1.11	0.08
	脳	0.86	1.00	0.50	0.17	0.03	0.59	0.65	0.34	0.18	0.01
	精巣	1.48	2.03	1.29	0.51	0.07	—	—	—	—	—
	子宮	—	—	—	—	—	18.18	28.39	7.07	2.49	0.32
	筋肉	2.54	4.14	1.73	0.88	0.12	1.51	10.06	0.91	0.69	0.05
	脂肪	9.83	8.17	5.20	1.55	0.26	6.47	6.24	3.58	1.26	0.21
	皮膚	2.26	2.21	1.78	0.62	0.17	1.49	1.65	1.20	0.62	0.07
	骨	0.63	0.56	0.47	0.13	0.03	0.47	0.60	0.28	0.13	0.02
	副腎	6.12	7.56	4.66	1.78	0.28	5.45	6.88	3.62	1.45	0.13
	甲状腺	3.94	4.51	3.35	0.92	0.14	2.32	2.98	2.63	0.64	0.04
	眼	1.43	2.30	1.34	0.52	0.09	0.95	1.58	1.01	0.51	0.04
	ハーダー腺	7.05	5.43	3.15	0.93	0.14	5.69	4.01	2.63	0.82	0.06
	リンパ節	20.10	39.96	12.32	4.97	0.93	43.43	79.59	16.69	3.89	0.58
	唾液腺	2.49	3.33	2.58	0.81	0.14	1.55	2.16	1.92	0.67	0.05
	顎下腺	2.68	3.01	2.15	0.73	0.11	1.69	1.95	1.43	0.63	0.04
	胸腺	1.96	2.33	1.86	0.59	0.10	1.29	1.59	1.40	0.58	0.04
	卵巣	—	—	—	—	—	25.50	42.47	6.16	2.50	0.29
	胃	214	32.39	1.11	0.39	0.13	229	41.17	2.14	0.52	0.08
	小腸	60.71	33.62	17.85	8.44	1.25	51.85	32.87	13.91	5.16	0.60
盲腸	34.77	71.10	14.91	6.59	1.24	73.19	91.19	15.01	3.30	0.70	
大腸	13.25	36.75	10.90	5.56	1.24	18.83	36.68	11.18	3.28	0.65	
屍体	3.51	3.85	1.91	0.75	0.13	2.80	3.82	1.35	0.65	0.06	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

組織内濃度、 $\mu\text{g}^{14}\text{C}$ -テブフェンピラド換算/g または mL											
	単回・高用量区								反復・低用量区		
性	雄				雌				雄	雌	
経過時間(hr)	3	24	72	168	3	24	72	168	168	168	
投与量(mg/kg)	48.56	42.80	44.13	48.45	46.35	48.08	48.06	50.36	9.38	8.71	
組織	全血	9.81	23.51	9.16	2.46	8.38	14.38	6.89	1.65	1.52	0.21
	血漿	16.79	39.65	15.46	(4.28) ⁴⁾	14.47	24.55	11.71	(2.87) ⁴⁾	2.08	0.41
	肝臓	22.13	21.28	11.24	2.89	36.49	18.61	8.41	2.68	1.46	0.24
	腎臓	13.45	14.60	4.72	1.56	12.87	8.52	2.94	0.90	0.76	0.13
	肺臓	11.34	20.13	6.59	1.94	8.12	10.28	4.46	1.23	1.02	0.16
	膵臓	21.77	32.54	8.69	3.32	25.10	18.30	4.16	1.75	1.31	0.20
	脾臓	11.81	11.69	3.36	1.18	19.72	8.12	2.26	0.62	0.58	0.08
	心臓	7.67	11.72	4.23	1.11	6.12	6.08	3.06	0.74	0.57	0.12
	脳	2.90	2.54	0.72	0.22	3.00	1.27	0.58	0.12	0.12	0.02
	精巣	10.27	6.26	1.96	0.50	—	—	—	—	0.30	—
	子宮	—	—	—	—	19.99	35.90	10.30	2.73	—	0.34
	筋肉	3.63	5.21	1.82	0.77	2.90	3.87	1.41	0.52	0.23	0.09
	脂肪	13.23	20.65	6.81	2.93	13.39	13.07	2.60	0.97	1.00	0.14
	皮膚	3.77	6.47	2.52	0.92	2.81	3.77	2.06	0.52	0.44	0.08
	骨	1.82	2.05	0.77	12.11	1.35	1.27	0.57	2.56	0.09	0.01
	副腎	13.49	16.10	5.58	1.67	14.46	9.23	4.08	1.15	0.74	0.17
	甲状腺	7.54	9.69	3.14	1.18	7.53	4.99	1.85	0.75	0.31	0.07
	眼	2.82	4.77	1.80	0.58	2.44	2.27	1.29	0.37	0.37	0.06
	ハーダー腺	10.29	14.51	4.04	0.94	9.00	10.43	2.86	0.64	0.62	0.10
	リンパ節	36.81	65.68	17.47	8.49	49.85	50.66	10.26	5.19	4.54	0.82
	唾液腺	4.66	8.43	3.09	0.97	4.35	4.35	2.16	0.61	0.64	0.07
	顎下腺	4.92	7.58	2.72	0.81	4.42	4.04	1.99	0.54	0.45	0.07
	胸腺	3.70	7.45	2.74	0.76	3.43	3.74	1.98	0.45	0.59	0.06
卵巣	—	—	—	—	27.38	27.47	8.57	2.94	—	0.30	
胃	2420	134	3.03	0.72	1520	24.87	2.80	0.83	0.38	0.13	
小腸	127	106	49.94	12.80	125	78.95	22.32	7.63	4.75	0.86	
盲腸	303	147	49.96	15.25	486	129	19.39	8.08	5.34	1.22	
大腸	116	109	28.22	10.33	184	107	13.94	5.63	3.27	0.80	
屍体	5.45	9.06	3.20	0.98	5.49	5.73	1.98	0.65	0.44	0.08	

申請者注:4) 血漿は採取できなかったが、本試験結果の血漿/全血濃度比はほぼ一定であることから、その平均値(1.74±0.13)を用いて算出した値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

消化管および屍体以外の組織への ^{14}C 分布率の合計は単回・低用量区雌雄で 8 時間後の 13.9~15.9%から 168 時間後には 0.3~0.9%に、単回・高用量区雄で 8 時間後の 9.0%、雌で 3 時間後の 6.0%から 168 時間後には雄で 1.9%、雌で 0.3%に減少した。

168 時間後の各組織への ^{14}C 分布率は、単回・低および高用量区の雌雄および反復・低用量区の雌では肝臓、皮膚、消化管以外、また、反復・低用量区の雄では肝臓、腎臓、肺臓、皮膚、消化管以外はいずれも 0.05%以下であった。

組織内 ^{14}C 濃度は、単回・低用量区において雌雄いずれも大部分の組織が 8 時間後に最大値を示し、消化管、リンパ節、卵巣、子宮、脾臓、肝臓、血漿が $10 \mu\text{g eq/g}$ を超えたが、168 時間後には消化管以外の全組織が $1 \mu\text{g eq/g}$ 以下となった。

単回・高用量区において、組織内 ^{14}C 濃度は雄では大部分が 24 時間後、雌は 3 または 24 時間後に最大値を示し、組織の 40%以上が $10 \mu\text{g eq/g}$ を超えたが、168 時間後には組織の 40~50%が $1 \mu\text{g eq/g}$ 以下となった。

反復・低用量区において、組織内 ^{14}C 濃度は雌では全組織とも単回・低用量区(168 時間)と殆ど同じ濃度を示したが、雄ではいずれの組織とも単回投与の 3~5 倍高くなり、約 40%が $1 \mu\text{g eq/g}$ を超えた。この結果は糞・尿中排泄試験でみられた排泄パターンの変化に対応するものであった。

また、偶発的に高い値を示したと推定される高用量区 168 時間後の骨[雄で $12.11 \mu\text{e q/g}$: 血漿濃度の約 280%、雌で $2.56 \mu\text{g eq/g}$: 血漿濃度の約 90%]⁵⁾ 以外の組織内 ^{14}C 濃度は血中濃度の減衰に比例して消失し、蓄積傾向を示す組織は無かった。その他に 168 時間後に血漿濃度を超える組織は雄でリンパ節、雌で前記の組織の他に卵巣、子宮であった。

各組織における濃度推移は血中濃度の減衰にほぼ比例した。

申請者注: 5) 高用量区 168 時間後の骨の組織内 ^{14}C 濃度は、他の時点の ^{14}C 濃度や他の投与区では血中濃度の減衰に比例して減少していることから、偶発的に高値を示したと推定される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結論: ^{14}C -テブフェンピラドをラットに経口投与した結果、 ^{14}C 化合物は消化管から容易に吸収され、主に胆汁中に排泄されたが、その後、腸肝循環を受けて一部が尿中に、大部分は糞中に排泄された。168 時間後の〔尿+ケージ洗浄物〕および糞中排泄率はそれぞれ 24~45%および 48~74%に達した。また、吸収された ^{14}C は体内の全組織に分布したが、血中濃度の減衰に比例して消失し、168 時間後にはその濃度が $1\ \mu\text{g eq/g}$ 以下となり、蓄積する組織はみられなかった。以上の結果、 ^{14}C -テブフェンピラド投与に由来する ^{14}C 化合物は速やかに排泄され、投与 168 時間後における残留レベルは極めて低かった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) ラットにおける代謝的変換

(資料 M-4)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年 (GLP 対応)

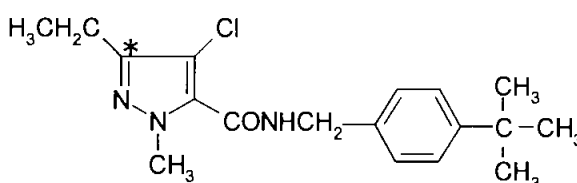
供試標識化合物: [ピラゾール環-3-¹⁴C] テブフェンピラド標識体 (ロット番号 2332-260)

化学名: N-(4-t-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能:

試験方法: 1) 代謝物分析用試料は前記のラットにおける吸収・分布・排泄試験(資料 M-3)で採取した試料中、0-72 時間の糞・尿・ケージ洗浄物および 0-24 時間の胆汁を用いた。試料採取は次のとおり行った。

標識化合物投与前一夜絶食したラットに、標識化合物の 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)懸濁液を 10 mg/kg(低用量区)および 50 mg/kg(高用量区)の用量で 1 回強制経口投与、または 10 mg/kg/日の用量で非標識化合物の 0.5%CMC 懸濁液を 14 日間強制経口投与した後、標識化合物の 0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)懸濁液を 10 mg/kg(低用量区)で 1 回強制経口投与した。その後、代謝ケージに入れ、4 時間後から給餌し、経時的に糞・尿・ケージ洗浄物を採取した。

胆汁排泄試験は胆管にカニューレを施したのち投与し、経時的に胆汁を採取した。

2) 試料中の ¹⁴C 代謝物は凍結乾燥後、で抽出した。その後、標品(20 種)を加え、HPLC コクロマトグラフ(co-HPLC)法で同定・定量した。

結果: 1) 代謝物の同定

¹⁴C 代謝物は糞中に 20 種(内 9 種同定)、尿・ケージ洗浄物中に 25 種(内 11 種同定)、胆汁中に 28 種(内 9 種同定)、総数 33 種検出され、それらのうち、17 種は糞、尿・ケージ洗浄物および胆汁中に共通に検出された。¹⁴C 代謝物のうち 13 種が co-HPLC 法で AB、AC、AE、J、S、N、T、G、P、R、I、E、W の標品と一致し、同定された。

未知代謝物の Unknown 7、10 および 12 はそれぞれ本試験と同一の HPLC 条件で分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

したラットにおける代謝物の解析試験(資料 M-2)で構造が確認された K、L および O と推定された。

2) 代謝物の定量

結果の概要を表に示す。

単回・低用量区(10 mg/kg)

テブフェンピラド および 代謝物	記号	投与量に対する%							
		雄			雌			雄	雌
		糞	尿	合計	糞	尿	合計	胆汁	胆汁
テブフェンピラド	A								
	W						4.28	3.39	
	E						0.37	0.24	
	I	9.34	1.14	10.48	10.47	1.37	11.84	10.52	6.97
	R		0.43	0.43				1.45	0.87
	P		0.35	0.35		0.47	0.47	0.60	0.40
	G	4.54	0.31	4.85	2.99	4.28	7.27	7.46	10.07
	T	3.35		3.35	0.95		0.95	2.25	
	N	3.71	21.27	24.98	10.13	10.95	21.08	3.40	6.99
	S		0.44	0.44	0.31	0.31	0.62	0.16	
	J		0.13	0.13	0.96		0.96	1.89	0.41
	AE	0.78	0.13	0.91	0.69	0.11	0.80	0.54	0.49
	AC	0.67	0.11	0.78	0.51		0.51	0.40	0.49
	AB		0.34	0.34	0.18	0.19	0.37	0.21	0.12
		1.68		1.68	1.69	0.05	1.74	2.20	3.57
	K	18.14	0.69	18.83	12.76	1.54	14.30	10.76	18.26
	L	1.00		1.00	6.42		6.42	5.00	1.04
	O	0.47	0.18	0.65	1.97		1.97	0.94	0.21
		0.12	0.48	0.60	0.18	0.36	0.54	2.22	1.19
		0.31		0.31				2.33	0.89
								4.94	1.27
その他		2.07	1.84	3.91	3.04	1.26	4.30	2.69	2.45
非抽出物		3.66	0.62	4.28	2.58	1.25	3.82	0.33	0.12
合計		49.84	28.46	78.30	55.83	22.14	77.97	64.94	59.44

注1) ケージ洗浄物は主に尿に起因していることから、尿中排泄率に合計

注2) 空欄: 検出せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

単回・高用量区 (50 mg/kg)

テブフェンピラド および 代謝物	記号	投与量に対する%							
		雄			雌			雄	雌
		糞	尿	合計	糞	尿	合計	胆汁	胆汁
テブフェンピラド	A		0.02*	0.02		0.02*	0.02		
	W						2.38	1.54	
	E						0.19	0.14	
	I	2.88	0.36	3.24	2.03	1.38	3.41	5.61	2.72
	R		0.30	0.30		0.21	0.21	0.95	0.55
	P		0.49	0.49		0.32	0.32	0.45	
	G	1.88	0.35	2.23	7.37	5.75	13.12	4.82	5.97
	T	2.19	0.06	2.25				1.27	
	N	6.76	20.13	26.89	8.07	9.03	17.10	2.13	3.84
	S	0.24	0.68	0.92		0.33	0.33		0.25
	J	0.76	0.14	0.90	0.17	0.02	0.19	2.04	0.18
	AE	0.69	0.54	1.23	0.79	0.38	1.17	0.32	0.36
	AC	0.31	0.20	0.51	0.86		0.86		
	AB	0.15	0.56	0.71		0.31	0.31	0.25	
		1.40		1.40	2.00	0.11	2.11	2.06	3.08
	K	10.80	0.33	11.13	28.74	1.81	30.55	6.53	13.70
	L	5.46	0.17	5.63	0.79	0.02	0.81	4.91	0.46
	O	1.75	0.30	2.05	0.36	0.03	0.39	0.61	
			0.37	0.37		0.16	0.16	1.61	0.51
			0.03	0.03				2.34	1.45
								1.89	
その他		2.08	2.30	4.38	1.58	1.15	2.73	2.09	1.42
非抽出物		4.47	0.93	5.40	2.93	0.17	3.10	0.17	0.07
合計		41.82	28.26	70.08	55.69	21.19	76.88	42.62	36.24

注1) ケージ洗浄物は主に尿に起因していることから、尿中排泄率に合計

注2) 空欄: 検出せず

*ケージ洗浄物中にもみ検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

反復・低用量区(10 mg/kg)

テブフェンピラド および 代謝物	記号	投与量に対する%					
		雄			雌		
		糞	尿	合計	糞	尿	合計
テブフェンピラド	A					0.03*	0.03
	I	4.98	0.45	5.43	3.94	1.11	5.05
	R		0.83	0.83		0.39	0.39
	P		0.61	0.61		0.44	0.44
	G	0.86	0.42	1.28	5.90	2.09	7.99
	T	1.13		1.13	7.56	0.49	8.05
	N	11.00	28.04	39.04	3.64	12.78	16.42
	S		0.79	0.79			
	J	1.40	0.06	1.46	0.29	0.03	0.32
	AE	0.63	0.69	1.32	1.18	0.24	1.42
	AC		0.37	0.37	1.18	0.02	1.20
	AB	0.11	0.68	0.79		0.52	0.52
		1.03	0.03	1.06	2.53	0.16	2.69
	K	4.96	0.19	5.15	33.32	1.40	34.72
	L	4.52	0.21	4.73	0.72	0.04	0.76
	O	2.02	0.16	2.18	0.37	0.05	0.42
			0.59	0.59		0.07	0.07
		0.06		0.06			
その他		2.10	3.13	5.23	2.72	1.20	3.92
非抽出物		2.31	0.14	2.45	3.29	0.10	3.39
合計		37.11	37.39	74.50	66.64	21.16	87.80

注1) ケージ洗浄物は主に尿に起因していることから、尿中排泄率に合計

注2) 空欄: 検出せず

*ケージ洗浄物中にのみ検出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

代謝物生成量のまとめを下表に示す。

主要代謝物	記号	投与量に対する%					
		糞		尿		胆汁	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌
	N	3.7~11.0	3.6~10.1	20.1~28.0	9.0~12.8	2.1~3.4	3.8~7.0
	I	2.9~9.3	2.0~10.5	0.4~1.1	1.1~1.4	5.6~10.5	2.7~7.0
	G	0.9~4.5	3.0~7.4	0.3~0.4	2.1~5.7	4.8~7.5	6.0~10.1
	T	1.1~3.4	0.0~7.6	0.0~0.1	0.0~0.5	1.3~2.3	0.0
	K	5.0~18.2	12.8~33.3	0.2~0.7	1.4~1.8	6.5~10.8	13.7~18.3
	L	1.0~5.5	0.7~6.4	0.0~0.2	0.0	4.9~5.0	0.5~1.0
	O	0.5~2.0	0.4~2.0	0.2~0.3	0.0~0.1	0.6~0.9	0.0~0.2
		0.7~1.5	1.4~2.4	0.6~1.8	0.3~0.7	0.6~1.1	0.4~1.1
その他の同定された代謝物		0.0~1.4	0.2~1.3	1.3~2.2	0.5~0.8	6.1~8.9	2.7~5.3
未同定代謝物		3.2~4.0	3.5~5.2	2.4~3.8	1.6~1.9	9.9~14.2	6.3~9.3
* 同定された AE		、AB	、AC	の合計			

テブフェンピラドは糞・尿排泄物中に未変化体として 0.1%以下とわずかししか検出されなかった。

尿中代謝物は主に N であり、雌では次いで G であった。糞・胆汁中代謝物は主に K で、特に雄に比べて雌が多かった。次いで N 、I 、G 、T 、L であった。その他に、胆汁中のみに W 、E が検出された。

用量間、単回・反復間および性差による糞・尿中代謝物生成量への影響は以下のとおりであった。

低用量区に比べて高用量区では、雌雄とも糞中の I の低下が目立った。さらに、雄で糞中の L の増加、G 、K の低下、雌で糞中の G 、K の増加、L の低下が見られ、硫酸抱合体生成に影響が現れた。

単回投与区に比べて反復投与区では、雌雄ともに I の低下が見られたが、雄で糞中の N 、L の増加と K の低下、雌で糞中の K の増加と N 、L の低下が目立ち、雌雄で逆の変化を示した。他に雌で糞中の T の増加が見られた。

雌雄を比べると、低用量区では雄は雌より糞中 T 、K 、尿中 N

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

が多く、雌は雄より糞中 N、L、O、尿中 G
が多い傾向を示したが、糞・尿合計代謝物量には両者間に大きな差は見られなかった。高
用量区では雄は雌より糞中 T、L、O、尿中 N
が多く、雌は雄より糞・尿中 G、K が多く生成した。反復投与区
では雄は雌より糞・尿中 N、糞中 L、O が多く、雌は雄より
糞・尿中 G、K、糞中 T が多く生成した。

胆汁中代謝物は用量間に大きな差が見られなかった。雄は雌に比べて W、I、O
、 および が多かったが、N、K が少なかっ
た。また、糞・尿中で検出されない代謝物 3 種(W、E、)存在した。

結論:ラットにおける推定代謝経路を次ページに示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ラットにおけるテブフェンピラド推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 植物体内運命

(1) なすにおける試験

(資料 No. M-5)

試験機関:

報告書作成年: 1991 年

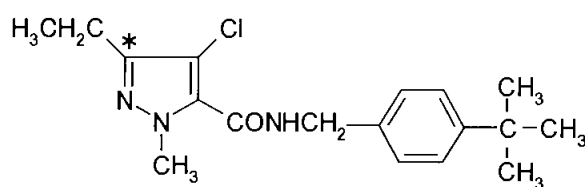
供試標識化合物: [ピラゾール環-3-¹⁴C] テブフェンピラド標識体

化学名: N-(4-*t*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能:

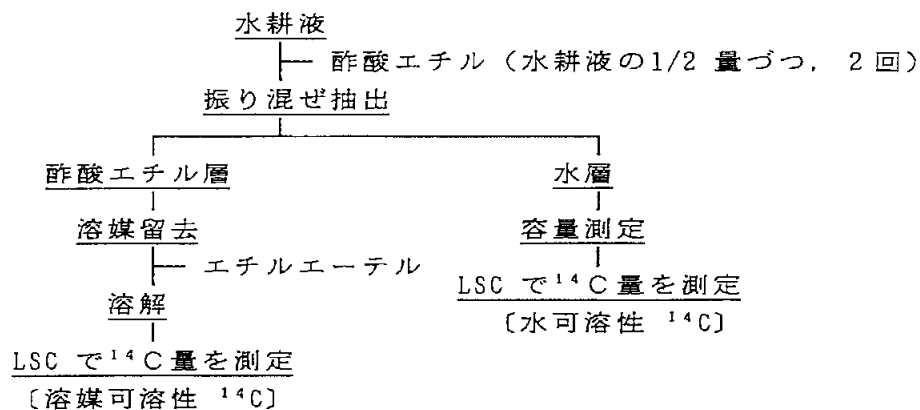
供試植物: なす (学名: *Solanum melogana*、品種: 千両 2 号)

試験方法: 本試験はグロースチャンバー〔25~27°C、6000L × (12hr/day) 光照射、湿度 75 %〕内で行った。

1) 吸収・移行・分布試験

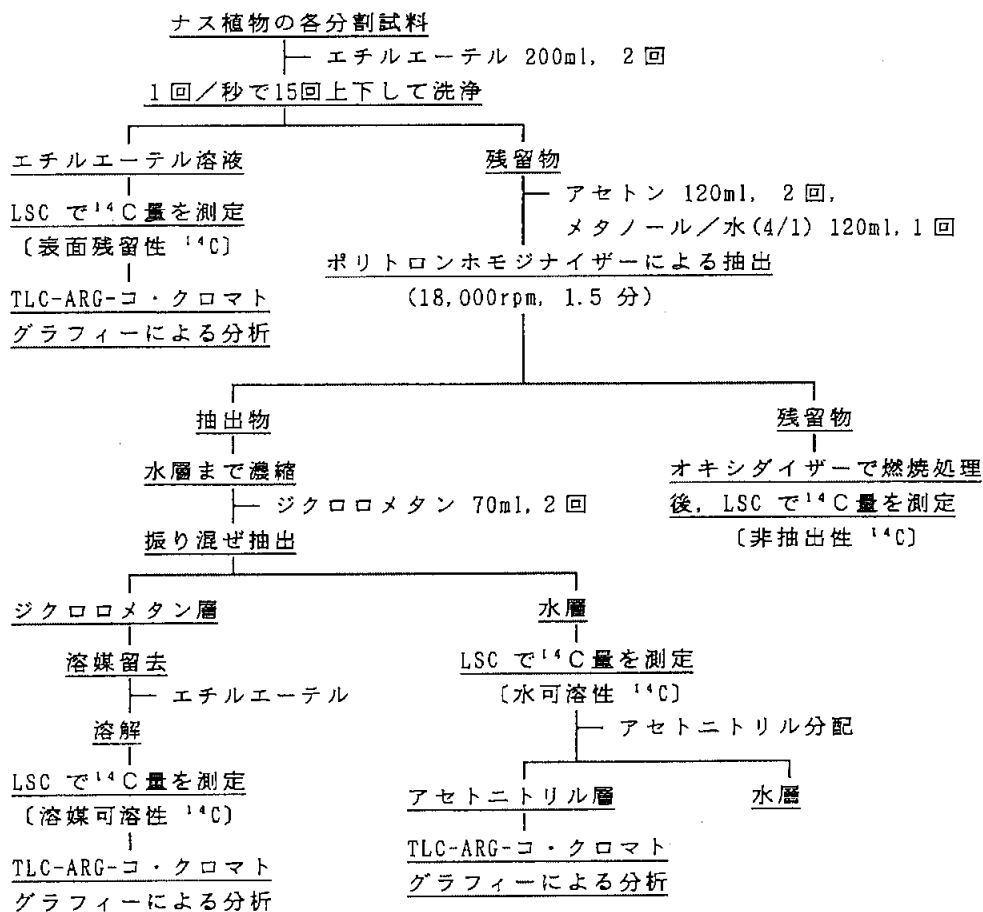
- ① 根部施用 (水耕法): 標識化合物をアセトン 100μL に溶解後、10% テブフェンピラド水和剤用白試料 45 mg を加える。窒素気流下で溶媒を留去後、残留物に水 25 mL を加え、40 分間振り混ぜ、標識水和剤混合を調製した。この混合液は、10% テブフェンピラド水和剤の圃場における散布濃度に相当する。調製した標識水和剤溶液の濃度は、182μg (8.4μCi)/mL であった。水耕液濃度として 0.12 ppm に相当する標識テブフェンピラド水和剤溶液 0.55 mL (100.1μg) を加えた 830 mL の水耕液中になす苗の根部のみ浸し、グロースチャンバー中で生育させる。1 日及び 3 日後に植物を取り出し、根部表面の水分を拭き取った後、根、第 1~3 葉、第 4~5 葉、第 3 節以下の茎、第 3~第 5 節間の茎及び第 5 節以上の部分に、6 分割した。水耕液の分析手順フロー図を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。



② 葉面及び果実施用: 標識水和剤混合液を、着果部位直下の葉表及び葉裏の全面に約 $0.65\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (葉表面積) に相当する $130\mu\text{L}$ ($23.6\mu\text{g}$) を、また、果実1個当たり $65\mu\text{L}$ ($11.8\mu\text{g}$) を均一に塗布した。施用後の植物はグロースチャンパー中で生育させ、3日、7日(葉面施用のみ)、14日及び28日後に葉面施用した植物では施用した葉、上部の葉、下部の葉、茎及び施用部位の上の果実に分割し、また果実施用した植物では施用した果実のみ採取した。

①および②の植物体の分析手順フロー図を以下に示す。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 代謝物の同定・定量試験

結 果 :

1) 吸収・移行・分布試験

① 水耕法

根部から吸収した ^{14}C の分布結果の概要を表に示す。

経過日数	施用した ^{14}C 量に対する割合 (%)					合計
	本葉	第5節以上	茎	根	水耕液	
1	1.0	1.5	1.4	69.1	25.1	98.1
3	1.1	1.4	1.3	59.5	29.0	92.3

施用した ^{14}C 標識量の 59.5~69.1%及び 25.1~29.0%がそれぞれ根部及び水耕液中に分布した。根部から上の部位への ^{14}C 移行量は 3.8~3.9%であった。

根部、茎部及び葉部(第5節以上を含む)における湿重量当たりの残留濃度はそれぞれ 2.76~3.41、0.24~0.38 及び 0.02~0.14 $\mu\text{g/g}$ であった。

② 葉面施用及び果実施用法

各部位における濃度及び ^{14}C 施用量に対する割合を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

経過 日数	¹⁴ C 施用量に対する%						テブフェンピラド換算濃度, µg/g					
	果実 施用		葉面施用				果実 施用		葉面施用			
	施用 果実	施用 葉	上の 葉	下の 葉	施用葉 の上の 果実	茎	施用 果実	施用葉	上の葉	下の葉	施用葉 の上の 果実	茎
直後	100.0	100.0	-	-	-	-	1.06	9.44	-	-	-	-
3	103.7	96.9	<0.1	<0.1	-	<0.1	0.80	6.02	<0.01	<0.01	-	<0.01
7	-	80.4	<0.1	<0.1	0.1	<0.1	-	8.26	<0.02	<0.02	<0.01	<0.01
14	85.2	72.0	0.1	0.1	0.1	<0.1	0.19	5.66	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
28	94.8	62.7	0.1	0.1	0.1	<0.1	0.17	6.16	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

¹⁴C 標識テブフェンピラドを塗布した部位における ¹⁴C 施用量に対する% (濃度) は、果実施用では直後が 100.0% (1.06µg/g) であったが、28 日後は 94.8% (0.17µg/g) であった。葉面施用の施用葉では直後が 100.0% (9.44µg/g) で、28 日後には 62.7% (6.16µg/g) となったが、非施用部位への移行はいずれの部位とも 0.1% (0.02µg/g) 以下であった。

施用部位の溶媒抽出分画結果を表に示す。

部位	経過 日数	¹⁴ C 施用量に対する%				合計
		¹⁴ C 画分				
		表面残留性	溶媒可溶性	水可溶性	非抽出性	
施用 葉	直後	96.6	3.4	-	-	100.0
	3	77.5	17.3	1.4	0.7	96.9
	7	37.5	31.8	9.7	1.4	80.4
	14	29.5	21.3	17.7	3.5	72.0
	28	10.9	19.6	30.6	1.6	62.7
施用 果実	直後	94.2	5.8	-	-	100.0
	3	95.5	6.9	1.1	0.2	103.7
	7	-	-	-	-	-
	14	42.9	21.3	19.6	1.4	85.2
	28	17.6	39.7	30.9	6.6	94.8

葉面施用では、施用葉の ¹⁴C 合計量は 28 日後に 62.7% に減少した。溶媒可溶性 ¹⁴C 量は 7 日後に 31.8% まで増加し、その後減少し 28 日後に 19.6% となった。水可溶性 ¹⁴C 量は経時的に増加し、28 日後には 30.6% に達したが、殆どはアセトニトリル層に分配された。テブフェンピラド換算残留濃度は施用葉で直後が 9.44µg/g、28 日後でも 6.16µg/g と減少が遅かった。移行した ¹⁴C 総量は 0.4% 未満であり、また、非施用部分の果実への移行量は 28 日後でも 0.1% と僅かで、テブフェンピ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ラド換算残留濃度としても、 $0.01\mu\text{g/g}$ 未満であった。

果実施用では、 ^{14}C 合計量は 28 日後で 94.8%と減少が僅かであったが、溶媒可溶性、水可溶性及び非抽出性 ^{14}C 量はいずれも経時的に増加し、28 日後にはそれぞれ 39.7%、30.9%及び 6.6%に達した。テブフェンピラド換算残留濃度は直後の $1.06\mu\text{g/g}$ が、28 日後には $0.17\mu\text{g/g}$ と約 1/6 まで減少した。水可溶性 ^{14}C 画分中の ^{14}C は葉面施用と同様に殆どがアセトニトリル層に分配された。

なすの施用部位における ^{14}C 量及び残留濃度の半減期を表に示す。

	^{14}C 量の半減期, 日		残留濃度の半減期, 日	
	果実施用	葉面施用	果実施用	葉面施用
総 ^{14}C 画分	>60	40	7	25
表面残留性 ^{14}C 画分	12	7	-	-
テブフェンピラド	21	11	7	16

2) 代謝物の同定・定量試験

① 代謝物の同定・確認

② 代謝物の定量

溶媒可溶性代謝物(表面残留性 ^{14}C 及び溶媒可溶性 ^{14}C 画分)について定量した結果の概要を表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

葉面施用後のなすの葉中のテブフェンピラド及び代謝物量

経過 日数	テブフェン ピラド及び 代謝物	記 号	施用した ¹⁴ C に対する割合											合 計		
			表面 残留性	溶媒可溶性					水可溶性							
				遊離形	抱合形				遊離形	抱合形						
					I	II	III	IV		V	I	II	III		IV	V
3	テブフェンピラド	A	74.6	15.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	89.8
		D	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	その他		0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1
			0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3
		W	0.8	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0
		F	0.3	0.7	0.3	—	—	0.3	—	—	0.2	—	—	0.4	—	2.2
		B	0.7	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.9
			0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4
		J	0.1	0.2	—	—	0.1	—	—	—	—	—	0.6	—	0.1	1.1
合計	77.5	16.5	0.3	—	0.1	0.3	0.1	—	0.2	—	0.6	0.4	0.3	96.3		
7	テブフェンピラド	A	34.7	24.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	59.3	
		D	—	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	
	その他		0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	
			0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	
		W	0.5	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	
		F	0.9	2.9	1.3	—	—	0.5	—	4.6	—	—	0.3	—	10.5	
		B	0.3	0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	
			0.2	0.1	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5	
		J	0.4	0.8	—	0.2	0.4	—	—	2.9	—	—	0.4	—	0.2	5.3
合計	37.5	29.3	1.5	0.2	0.4	0.5	—	8.5	—	—	0.4	0.3	0.5	79.1		
14	テブフェンピラド	A	26.1	14.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	40.3	
		D	—	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	
	その他		0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4	
			0.8	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1.0	
		F	0.9	2.2	1.1	—	—	1.5	—	—	2.4	—	7.5	—	15.6	
		B	0.5	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.8	
			0.4	0.1	0.1	—	—	—	—	0.3	—	—	0.7	—	1.6	
		J	0.2	0.7	—	0.2	0.4	—	—	—	1.6	2.5	—	0.5	6.1	
		合計	29.5	18.0	1.2	0.2	0.4	1.5	—	0.7	2.7	1.9	2.7	8.2	1.5	68.5
28	テブフェンピラド	A	8.3	7.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16.2	
		D	—	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	
	その他		0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3	
			0.3	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4	
		W	0.5	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7	
		F	0.2	1.8	2.3	—	—	4.1	—	—	2.2	—	13.2	—	23.8	
		B	0.3	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6	
			0.4	0.2	0.3	—	—	0.4	—	0.3	—	—	1.3	—	2.9	
		J	0.1	0.6	—	0.3	0.6	—	—	0.8	—	2.6	4.4	—	10.7	
合計	10.9	11.4	2.6	0.3	0.6	4.5	0.2	2.0	2.5	3.1	4.8	14.5	3.7	61.1		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

果実施用後のなすの果実中のテブフェンピラド及び代謝物量

経過 日数	テブフェン ピラド及び 代謝物	記 号	施用した ¹⁴ C に対する割合										合計
			表面 残留性	遊離形	溶媒可溶性				水可溶性				
					抱合形				抱合形				
					I	III	IV	V	I	III	IV	V	
3	テブフェンピラド	A	93.0	6.0	—	—	—	—	—	—	—	—	99.0
		D	0.7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.7
	その他		0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4
		W	0.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.6
		F	0.2	0.6	0.1	—	—	—	0.3	—	0.5	—	1.7
		B	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.3
		J	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1	—	0.1
	合計		95.5	6.7	0.1	0.1	—	—	0.3	0.1	0.6	0.1	103.5
	14	テブフェンピラド	A	41.6	14.5	—	—	—	—	—	—	—	—
D			0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.2
その他			0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4
		W	0.2	0.9	—	—	—	—	—	—	—	—	1.1
		F	0.2	1.4	0.3	—	2.9	—	7.3	—	6.9	—	19.0
		B	0.2	0.2	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4
		J	—	—	0.1	—	0.3	—	1.1	—	0.6	—	2.1
合計			42.9	17.5	0.4	0.1	3.2	0.1	8.4	2.7	7.5	1.0	83.8
28		テブフェンピラド	A	16.8	26.1	—	—	—	—	—	—	—	—
	D		0.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.4
	その他		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		W	0.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.1
		F	0.2	3.3	1.1	—	6.5	—	6.2	—	16.5	—	33.8
		B	—	0.5	—	—	—	—	—	—	—	—	0.5
		J	—	—	0.2	—	0.6	—	0.9	—	1.6	—	3.3
	合計		17.6	30.8	1.3	0.4	7.1	—	7.1	3.2	18.1	2.5	88.1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

葉面及び果実施用後のなすの葉及び果実中のテブフェンピラド及び代謝物残留濃度

経過 日数	テブフェン ピラド及び 代謝物	記 号	葉					果実				
			湿重量 g	遊離形		抱合形		湿重量 g	遊離形		抱合形	
				% of ^{a)} TRR	濃度 µg/g	% of ^{a)} TRR	濃度 µg/g		% of ^{a)} TRR	濃度 µg/g	% of ^{a)} TRR	濃度 µg/g
0	テブフェンピラド	A	2.5	100.0	9.44	—	—	11.1	100.0	1.07	—	—
3	テブフェンピラド	A	3.8	92.7	5.58	—	—	15.2	95.5	0.77	—	—
				—	—	—	—		—	—	—	—
		D		0.1	0.01	—	—		0.7	0.005	—	—
				0.3	0.02 *	—	—		0.4	0.003 *	—	—
		W		1.0	0.06	—	—		0.6	0.004	—	—
		F		1.0	0.07	1.2 ^{b)}	0.08		0.8	0.006	0.9 ^{b)}	0.007
		B		0.9	0.06	—	—		0.3	0.002	—	—
0.4	0.02 *		—	—	—	—	0.1	0.001 *				
J	0.3	0.02	0.8 ^{c)}	0.05	0.1	0.001	0.2	0.002				
その他	0.2	0.01 *	0.3	0.02 *	0.3	0.003 *	0.1	0.001 *				
7	テブフェンピラド	A	2.3	73.8	6.08	—	—	—	—	—	—	—
				0.4	0.03 *	—	—		—	—	—	—
		D		0.1	0.01	—	—		—	—	—	—
				0.4	0.03 *	—	—		—	—	—	—
		W		0.9	0.07	—	—		—	—	—	—
		F		10.4	0.90	2.6 ^{b)}	0.23		—	—	—	—
		B		0.9	0.08	—	—		—	—	—	—
0.4	0.03 *		0.2	0.02 *	—	—	—	—				
J	5.1	0.46	1.5 ^{c)}	0.13	—	—	—	—				
その他	1.4	0.11 *	0.4	0.03 *	—	—	—	—				
14	テブフェンピラド	A	3.0	56.0	3.17	—	—	53.2	65.8	0.12	—	—
				0.4	0.02 *	—	—		—	—	—	—
		D		—	—	—	—		0.2	<0.001	—	—
				0.6	0.03 *	—	—		0.5	0.001 *	—	—
		W		1.4	0.08	—	—		1.3	0.002	—	—
		F		4.1	0.26	17.4 ^{b)}	1.03		1.9	0.004	20.4 ^{b)}	0.040
		B		1.1	0.07	—	—		0.5	0.001	—	—
0.7	0.04 *		1.5	0.08 *	—	—	2.5	0.005 *				
J	1.2	0.08	7.2 ^{c)}	0.45	0.6	0.001	3.2	0.007				
その他	1.2	0.07 *	2.1	0.12 *	0.1	<0.001*	1.4	0.003 *				
28	テブフェンピラド	A	2.4	25.8	1.59	—	—	64.9	45.3	0.078	—	—
				0.5	0.03 *	—	—		—	—	—	—
		D		0.5	0.03	—	—		0.4	<0.001	—	—
				0.6	0.04 *	—	—		—	—	—	—
		W		1.1	0.07	—	—		0.1	<0.001	—	—
		F		3.2	0.21	34.8 ^{b)}	2.25		3.7	0.007	32.0 ^{b)}	0.058
		B		1.0	0.06	—	—		0.5	0.001	—	—
1.0	0.06 *		3.7	0.23 *	—	—	3.5	0.006 *				
J	2.4	0.16	14.7 ^{c)}	0.99	0.9	0.002	4.2	0.008				
その他	2.7	0.17 *	5.6	0.34 *	0.1	<0.001*	2.3	0.004 *				

a) % of TRR: 申請者が報告成績より算出、

* テブフェンピラド換算濃度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

残留するテブフェンピラドは表面残留性及び溶媒可溶性 ^{14}C 画分中のそれぞれ 76～97%及び 40～88%を占めていた。そして 7 日以降、テブフェンピラド総残留量の 26～61%は溶媒可溶 ^{14}C 画分に分布した。28 日後の施用した葉及び果実中の代謝物合計量は施用量の 46.5%及び 51.9%を占めていた。

F 及び J の遊離形代謝物量は葉面施用 7 日後に 8.4%及び 4.1%、果実施用 28 日後に 3.5%及び 0.9%に達した。しかし、他の代謝物量は約 1%かそれ以下であった。F 及び J の抱合形代謝物量は 28 日後に葉面施用で 21.8%及び 9.2%、果実施用で 30.3%及び 4.0%に達した。未同定代謝物の代謝物IVの量は経時的に顕著に増加し、葉面及び果実施用でそれぞれ 19.0%及び 25.2%に達した。

結 論 : なすにおける [ピラゾール環-3- ^{14}C] テブフェンピラドは容易に吸収・代謝された。親化合物及び代謝物ともにほとんど移行性はみられなかった。

主要代謝反応は *tert*-ブチル部分の水酸化で、生成した遊離形代謝物は容易に β -グルコースと抱合された。

ピラゾール環と芳香環の間の $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 結合部分の $-\text{CO}-\text{NH}-$ または $\text{NH}-\text{CH}_2-$ 結合の開裂は検出されなかった。

なすにおける推定代謝経路を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

なすにおけるテブフェンピラドの推定代謝経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) ひめりんごにおける代謝

(資料 No. M-6)

試験機関:

報告書作成年: 1991 年

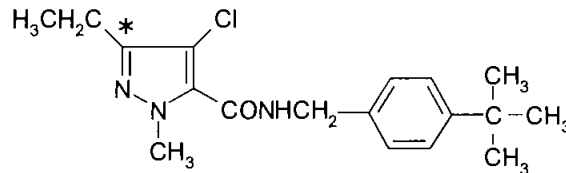
供試標識化合物: [ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド

化学名: N-(4-*tert*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能:

供試植物: ひめりんご (学名: *Malus prunifolia* Borkhausen)

試験方法: 本試験はグロースチャンバー[25~27°C、湿度 75%、6000L × (12hr/day) 照射]内で行った。

なすにおけるテブフェンピラドの吸収・移行・代謝試験結果から、テブフェンピラドは施用部位以外への移行はほとんど無いことが判明しているため、本試験においては、施用部位における挙動のみ調べた。

1) [ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド水和剤溶液の調製

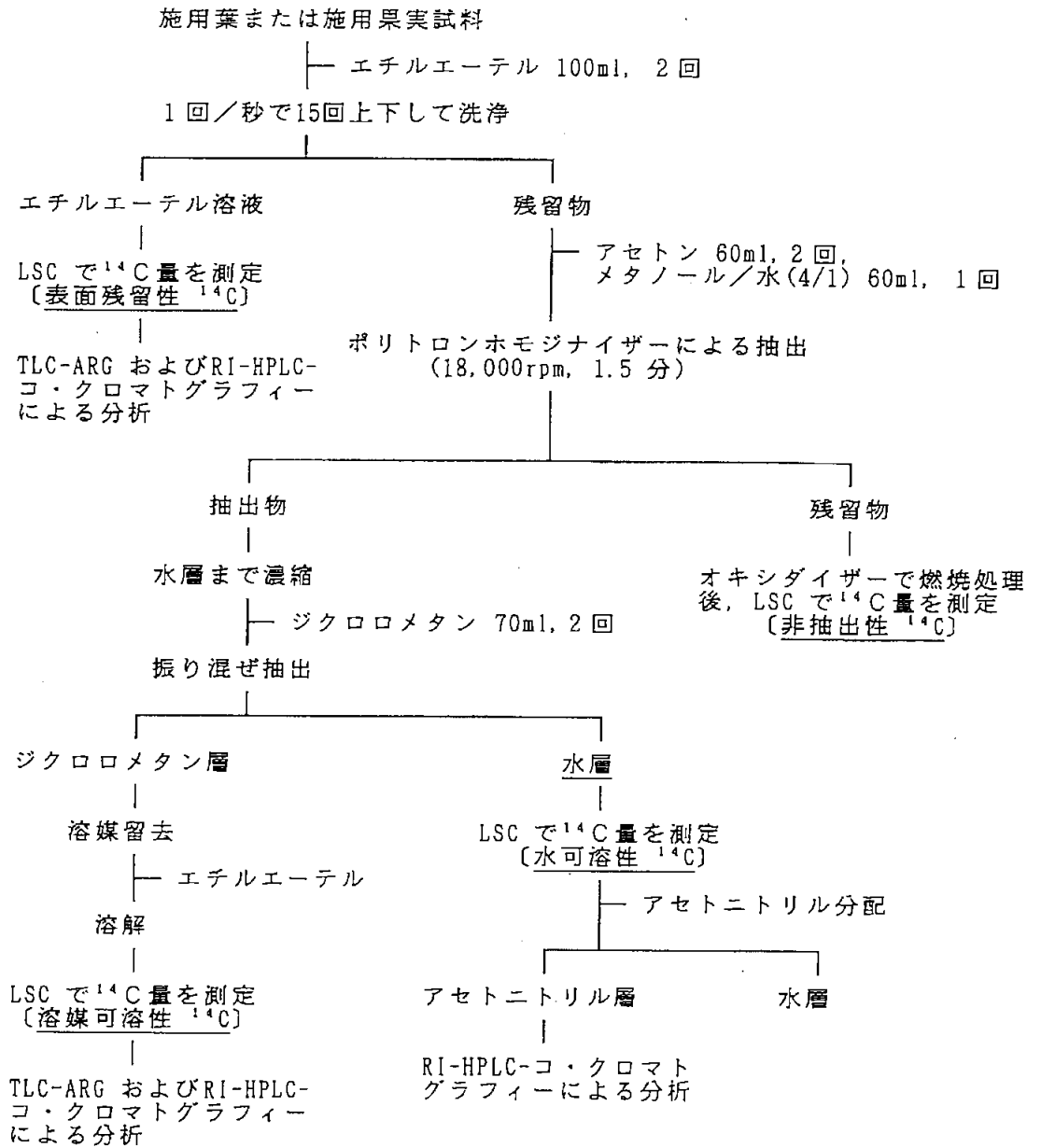
[ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド 5mg(8.55MBq, 231 μCi)をアセトン溶解後、10%テブフェンピラド水和剤用白試料を加え、溶媒留去後に水を混和する。この混合液は、10%テブフェンピラド水和剤の圃場における散布濃度に相当する 200μg/mL の濃度に相当し、調製した[ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド水和剤溶液の濃度は 174μg(8.0μCi)/mL であった。

2) 植物への施用及び採取測定

- ① 葉面施用: 葉表面及び葉裏別々に(各 2 枚)施用し、吸収性を比較することし、その全面に一葉当たり [ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド水和剤溶液 35μL (6.1μg、約 0.61μg/cm²)をマイクロシリンジでスポット状に塗布した。
- ② 果実施用: 果実 2 個の全面に一個当たり[ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド水和剤溶液 35μL (6.1μg)をマイクロシリンジで均一に塗布した。
- ③ 測定: 施用後の植物はグロースチャンバー中で生育させ、7 日、14 日、28 日及び 56 日後に施用葉及び施用果実を採取した。各試料を溶媒分画し、¹⁴C 量を直接または燃焼処理後 LSC で測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

葉及び果実の分析手順フロー図を以下に示す。



3) 代謝物の同定・定量試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結 果:

1) 葉及び果実における吸収・代謝

① 葉面施用後の ^{14}C の分布

画分	施用 ^{14}C に対する割合(%)					
	0日後	7日後	14日後	28日後	56日後	
^{14}C 合計	99.7	71.5	65.8	56.0	49.1	
施用葉 (葉表)	表面残留性 ^{14}C	98.2	51.5	37.9	22.0	8.5
	溶媒可溶性 ^{14}C	1.5	14.1	18.8	18.2	18.5
	水可溶性 ^{14}C	-	5.4	8.5	14.5	20.4
	[アセトニトリル分配(%)*]	-	98.8	97.3	98.0	98.4]
	非抽出性 ^{14}C	-	0.5	0.5	1.3	1.7
^{14}C 合計	100.3	75.6	56.5	56.9	57.3	
施用葉 (葉裏)	表面残留性 ^{14}C	96.2	45.0	23.8	9.0	5.3
	溶媒可溶性 ^{14}C	4.1	24.1	26.8	23.6	23.6
	水可溶性 ^{14}C	-	6.1	5.3	23.6	27.0
	[アセトニトリル分配(%)*]	-	99.0	99.0	98.3	98.7]
	非抽出性 ^{14}C	-	0.4	0.7	0.7	1.4
^{14}C 合計	100.0	73.6	61.2	56.5	53.2	
施用葉 (平均)	表面残留性 ^{14}C	97.2	48.2	30.9	15.5	6.9
	溶媒可溶性 ^{14}C	2.8	19.1	22.8	20.9	21.1
	水可溶性 ^{14}C	-	5.8	6.9	19.1	23.7
	[アセトニトリル分配(%)*]	-	98.9	98.2	98.2	98.6]
	非抽出性 ^{14}C	-	0.5	0.6	1.0	1.5

*: アセトニトリル層への分配率(10倍量のアセトニトリルで2回抽出)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

施用葉において、 ^{14}C 合計量は 56 日後に葉表施用で 49.1%、葉裏施用で 57.3%に減少した。表面残留性 ^{14}C 画分中の ^{14}C 量の減衰は速く、56 日後には葉表施用 8.5%、葉裏施用 5.3%まで減少した。溶媒可溶性 ^{14}C 画分中の ^{14}C 量は 14 日後に葉表施用で 18.8%、葉裏施用で 26.8%に増加し、その後ほぼ一定値を保った。水可溶性 ^{14}C 画分中の ^{14}C 量は経時的に増加し、56 日後には葉表施用で 20.4%、葉裏施用で 27.0%に達した。非抽出性 ^{14}C 画分中の ^{14}C 量は蓄積傾向が見られず、最高値でも 1.7%であった。テブフェンピラド換算残留濃度は直後が葉表施用で 15.4 $\mu\text{g/g}$ 、葉裏施用で 14.2 $\mu\text{g/g}$ で、56 日後でも葉表施用で 11.5 $\mu\text{g/g}$ 、葉裏施用で 14.4 $\mu\text{g/g}$ と減少が遅かった。 ^{14}C 標識テブフェンピラドは葉表に比べ葉裏からの吸収が良いことが明らかとなった。

② 施用果実中の ^{14}C の分布

画分	施用 ^{14}C に対する割合 (%)				
	0 日後	7 日後	14 日後	28 日後	56 日後
^{14}C 合計	100	99.6	97.7	92.2	102.4
表面残留性 ^{14}C	99.6	91.7	89.7	77.2	68.2
溶媒可溶性 ^{14}C	0.4	6.0	6.0	10.6	19.4
水可溶性 ^{14}C	-	1.6	1.3	2.6	9.8
[アセトニトリル分配(%)*]	-	97.5	98.8	95.1	97.1
非抽出性 ^{14}C	-	0.3	0.7	1.8	5.0

*: アセトニトリル層への分配率(10 倍量のアセトニトリルで 2 回抽出)

果実施用において、 ^{14}C 合計量及び表面残留性 ^{14}C 画分中の ^{14}C 量は経時的な減少は遅かった。溶媒可溶性、水可溶性及び非抽出性 ^{14}C 画分中の ^{14}C 量はいずれも経時的に増加し、56 日後にそれぞれ 19.4%、9.8%及び 5.0%に達した。テブフェンピラド換算残留濃度は直後が 2.74 $\mu\text{g/g}$ で、56 日後に 1.87 $\mu\text{g/g}$ まで減少した。

③ 葉面及び果実施用後の ^{14}C 画分及びテブフェンピラドの推定半減期

画分	推定半減期	
	葉面施用	果実施用
総 ^{14}C 画分	約 70 日	約 250 日
表面残留性 ^{14}C 画分	7 日	約 70 日
^{14}C 標識テブフェンピラド	8 日	約 90 日
テブフェンピラド残留濃度	13 日	56 日

総 ^{14}C 画分の半減期は葉面施用より果実施用が 3 倍強長かったが、この差は果実では剥離等による表面からの離脱が少ないためと推察された。また、総 ^{14}C 画分の半減期に比べて ^{14}C 標識テブフェンピラドの半減期が葉面施用で約 9 倍短くなっているのに対して果実施用では約 3 倍程度しか短くならなかったが、この結果は葉における代謝が速いことを示唆していた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 代謝物の同定・定量

葉面施用後のひめりんごの葉中のテブフェンピラド及び代謝物量のまとめ

経過 日数	テブフェンピラド 及び代謝物	施用した ¹⁴ C に対する% (% of TRR)				合計
		記号	遊離形	記号	抱合形*	
7	テブフェンピラド	A	55.6 (75.5)		-	55.6 (75.5)
		D	2.6 (3.5)		-	2.6 (3.5)
		W	0.8 (1.1)		-	0.8 (1.1)
		B	0.8 (1.1)	C	0.7 (1.0)	1.5 (2.0)
		F	-	H	3.7 (5.0)	3.7 (5.0)
		J	0.2 (0.3)	M	0.5 (0.7)	0.7 (1.0)
		AB	0.2 (0.3)		-	0.2 (0.3)
		経路 [I] 関連代謝物 (ピーク 6 種)				2.6 (3.5)
		経路 [II] 関連代謝物 (ピーク 1 種)				0.4 (0.5)
		高極性代謝物 (ピーク 1 種)				2.5 (3.4)
		その他				2.3 (3.1)
		合計				73.1 (99.3)
	14	テブフェンピラド	A	30.0 (49.0)		-
D			2.3 (3.8)		-	2.3 (3.8)
W			1.1 (1.8)		-	1.1 (1.8)
B			0.8 (1.3)	C	1.8 (2.9)	2.6 (4.2)
F			-	H	8.0 (13.1)	8.0 (13.1)
J			0.8 (1.3)	M	0.5 (0.8)	1.3 (2.1)
AB			0.2 (0.3)		-	0.2 (0.3)
		経路 [I] 関連代謝物 (ピーク 6 種)				4.8 (7.8)
		経路 [II] 関連代謝物 (ピーク 1 種)				3.4 (5.6)
		高極性代謝物 (ピーク 1 種)				2.3 (3.8)
		その他				2.6 (4.3)
		合計				60.6 (99.0)
28		テブフェンピラド	A	14.0 (24.8)		-
	D		1.6 (2.8)		-	1.6 (2.8)
	W		1.3 (2.3)		-	1.3 (2.3)
	B		0.7 (1.2)	C	1.7 (3.0)	2.4 (4.3)
	F		0.1 (0.2)	H	5.2 (9.2)	5.3 (9.4)
	J		1.5 (2.7)	M	0.9 (1.6)	2.4 (4.3)
	AB		0.9 (1.6)		-	0.9 (1.6)
		経路 [I] 関連代謝物 (ピーク 6 種)				8.0 (14.2)
		経路 [II] 関連代謝物 (ピーク 1 種)				5.4 (9.6)
		高極性代謝物 (ピーク 1 種)				6.8 (12.0)
		その他				7.4 (13.1)
		合計				55.5 (98.3)
	56	テブフェンピラド	A	6.7 (12.6)		-
D			0.8 (1.5)		-	0.8 (1.5)
W			0.6 (1.1)		-	0.6 (1.1)
B			0.7 (1.3)	C	1.9 (3.6)	2.6 (4.9)
F			-	H	4.0 (7.5)	4.0 (7.5)
J			1.5 (2.8)	M	0.7 (1.3)	2.2 (4.1)
AB			0.4 (0.8)		-	0.4 (0.8)
		経路 [I] 関連代謝物 (ピーク 6 種)				8.9 (16.7)
		経路 [II] 関連代謝物 (ピーク 1 種)				7.1 (13.3)
		高極性代謝物 (ピーク 1 種)				9.2 (17.3)
		その他				9.2 (17.3)
		合計				51.7 (97.2)

* β-グルコシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

果実施用後のひめりんごの果実におけるテブフェンピラド及び代謝物量のまとめ

経過 日数	テブフェンピラド及び 代謝物	記号	施用した ¹⁴ C に対する%(% of TRR)			合計
			遊離形	記号	抱合形*	
7	テブフェンピラド	A	93.1 (93.5)		-	93.1 (93.5)
		D	0.4 (0.4)		-	0.4 (0.4)
		W	0.2 (0.2)		-	0.2 (0.2)
		B	2.0 (2.0)	C	0.7 (0.7)	2.7 (2.7)
		F	-	H	-	-
		J	-	M	0.1 (0.1)	0.1 (0.1)
		AB	0.6 (0.6)		-	0.6 (0.6)
		経路[I]関連代謝物(ピーク6種)				
	高極性代謝物(ピーク1種)					1.1 (1.1)
	その他					0.6 (0.6)
合計					99.3 (99.7)	
14	テブフェンピラド	A	91.3 (93.5)		-	91.3 (93.5)
		D	-		-	-
		W	-		-	-
		B	1.8 (1.8)	C	0.4 (0.4)	2.2 (2.3)
		F	0.6 (0.6)	H	-	0.6 (0.6)
		J	0.2 (0.2)	M	-	0.2 (0.2)
		AB	0.4 (0.4)		-	0.4 (0.4)
		経路[I]関連代謝物(ピーク6種)				
	高極性代謝物(ピーク1種)					0.9 (0.9)
	その他					0.6 (0.6)
合計					97.0 (99.3)	
28	テブフェンピラド	A	80.0 (86.7)		-	80.0 (86.7)
		D	-		-	-
		W	-		-	-
		B	2.4 (2.6)	C	1.4 (1.5)	3.8 (4.1)
		F	0.7 (0.8)	H	0.8(0.9)	1.5 (1.6)
		J	0.8 (0.9)	M	0.2(0.2)	1.0 (1.1)
		AB	-		-	-
		経路[I]関連代謝物(ピーク6種)				
	高極性代謝物(ピーク1種)					1.2 (1.3)
	その他					1.5 (1.6)
合計					90.4 (98.0)	
56	テブフェンピラド	A	72.7 (71.0)		-	72.7 (74.6)
		D	-		-	-
		W	-		-	-
		B	3.3 (3.2)	C	2.2 (2.1)	5.5 (5.4)
		F	0.8 (0.8)	H	2.3 (2.2)	3.1 (3.0)
		J	1.2 (1.2)	M	1.0 (1.0)	2.2 (2.1)
		AB	2.4 (2.3)		-	2.4 (2.3)
		経路[I]関連代謝物(ピーク6種)				
	高極性代謝物(ピーク1種)					4.2 (4.1)
	その他					2.3 (2.2)
合計					97.4 (95.1)	

* β-グルコシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

葉面及び果実施用後のひめりんごの葉及び果実中のテブフェンピラド及び代謝物残留濃度

経過 日数	テブフェンピラド及 び代謝物		葉				果実				
			湿重 量	テブフェンピラド換算濃度 $\mu\text{g/g}$			湿重量 g	テブフェンピラド換算濃度 $\mu\text{g/g}$			
				遊離形	抱合形*	合計		遊離形	抱合形*	合計	
0	テブフェンピラド	A	1.65	14.8	—	14.8	4.45	2.74	—	2.74	
	テブフェンピラド	A		12.7	—	12.7		2.61	—	2.61	
		D		0.62	—	0.62		0.012	—	0.012	
		W		0.17	—	0.17		0.005	—	0.005	
		B		0.19	C	0.17	0.36		0.059	0.021	0.080
		F		—	H	0.88	0.88		—	—	—
		J		1.07	M	0.12	0.17	4.34	—	0.003	0.003
		AB			0.03	—	0.03		0.010	—	0.010
		ピーク[6種]					0.59				0.014
		ピーク[1種]					0.09				—
	その他					1.09				0.047	
	非抽出物					0.11				0.008	
7	テブフェンピラド	A		6.65	—	6.65		2.38	—	2.38	
		D		0.53	—	0.53		—	—	—	
		W		0.23	—	0.23		—	—	—	
		B		0.19	C	0.42	0.61		0.049	0.011	0.060
		F		—	H	1.86	1.86	4.67	0.016	—	0.016
		J		1.10	M	0.12	0.31		0.005	—	0.005
		AB			0.03	—	0.03		0.006	—	0.006
		ピーク[6種]					1.06				0.020
		ピーク[1種]					0.75				—
		その他					1.08				0.039
	非抽出物					0.13				0.018	
14	テブフェンピラド	A		3.55	—	3.55		1.72	—	1.72	
		D		0.42	—	0.42		—	—	—	
		W		0.34	—	0.34		—	—	—	
		B		0.19	C	0.45	0.64		0.054	0.032	0.086
		F		0.03	H	1.39	1.42	5.67	0.016	0.018	0.034
		J		0.96	M	0.25	0.67		0.019	0.005	0.024
		AB			0.14	—	0.14		—	—	—
		ピーク[6種]					2.03				0.030
		ピーク[1種]					1.37				—
		その他					3.60				0.058
	非抽出物					0.25				0.039	
28	テブフェンピラド	A		1.55	—	1.55		1.32	—	1.32	
		D		0.19	—	0.19		—	—	—	
		W		0.13	—	0.13		—	—	—	
		B		0.17	C	0.46	0.63		0.063	0.042	0.105
		F		—	H	0.97	0.97	6.69	0.015	0.044	0.059
		J		1.05	M	0.18	0.56		0.024	0.020	0.044
		AB			0.06	—	0.06		0.027	—	0.027
		ピーク[6種]					2.06				0.091
		ピーク[1種]					1.64				—
		その他					4.27				0.118
	非抽出物					0.35				0.091	
56	テブフェンピラド	A		1.55	—	1.55		1.32	—	1.32	
		D		0.19	—	0.19		—	—	—	
		W		0.13	—	0.13		—	—	—	
		B		0.17	C	0.46	0.63		0.063	0.042	0.105
		F		—	H	0.97	0.97	6.69	0.015	0.044	0.059
		J		1.05	M	0.18	0.56		0.024	0.020	0.044
		AB			0.06	—	0.06		0.027	—	0.027
		ピーク[6種]					2.06				0.091
		ピーク[1種]					1.64				—
		その他					4.27				0.118
	非抽出物					0.35				0.091	

テブフェンピラド施用量: 葉(表裏施用合計) 24.4 μg 、果実 12.2 μg

* β -グルコシド

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表面残留性及び溶媒可溶性 ^{14}C 画分について二次元 co-TLC 法により ^{14}C 代謝物を同定した結果、それぞれの画分の中に親化合物以外に 8 種及び 7 種の ^{14}C スポットが検出された。5 種の代謝物は D、W、B、F 及び J の標品と一致した。

表面残留性、溶媒可溶性及び水可溶性 ^{14}C 画分を RI-HPLC 法で分析した結果、親化合物以外に、葉面施用では 11 種、21 種及び 22 種で総数 29 種、果実施用では 4 種、13 種及び 10 種で総数 19 種の ^{14}C ピークが検出された。

ひめりんごにおいてテブフェンピラドは植物体中への吸収が葉では良く、代謝されやすいが、果実では吸収が遅く、代謝物の生成も少なかった。主代謝物は、なす植物では葉及び果実とも F であったが、ひめりんごの葉ではなす同様 F であるのに対し、果実では B であった。従って、テブフェンピラドの主代謝反応及びその活性について植物体の部位間、植物種間で差があることが明らかとなった。

結 論:

- 1) ひめりんごにおける[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識テブフェンピラドは、葉においては容易に吸収・代謝され、多数の代謝物が生成したが、果実においては吸収が遅く、代謝物の種類も少なかった。
- 2) 主代謝反応は、葉においては *ter*-ブチル部分の水酸化[II]で、そののちの抱合反応活性が高く、ほとんどが β -グルコシドに変換された。一方、果実においてはピラゾール環エチル基の (ω -1) 位の水酸化[I]が主代謝反応であり、生成した代謝物に対する抱合反応活性は弱く、遊離形代謝物が多く検出された。その他の代謝活性やパターンにも葉と果実で若干の相違が見られた。
- 3) ピラゾール環と芳香環の間の $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 結合部分が開裂した代謝物 AB (OH-PAM) が検出された。その中間体の $-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}(\text{OH})-$ 骨格を有すると推定される代謝物が多く検出されたが標品合成が難しく、同定までは至らなかった。
- 4) なす植物とひめりんごにおける代謝を比較すると、前者では *ter*-ブチル部分のメチル基の水酸化とそののちの抱合活性が非常に高いのに対して、後者ではメチレン基の水酸化活性が高く、両者の代謝活性の相違が明らかとなった。

推定代謝経路:

ひめりんごにおけるテブフェンピラド推定代謝経路を次頁に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ひめりんごにおけるテブフェンピラド推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(3) 圃場におけるりんご中の ^{14}C 標識テブフェンピラドの代謝試験

(資料 No. M-7)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年 (GLP 対応)

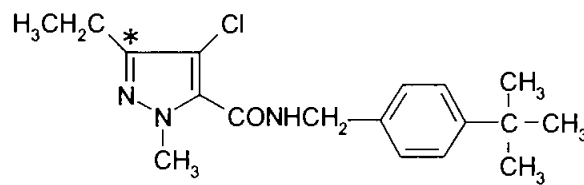
供試標識化合物: ピラゾール環標識テブフェンピラド (ロット番号 2332-260)

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$

分子量: 333.9

化学構造:



平均放射性純度:

比放射能:

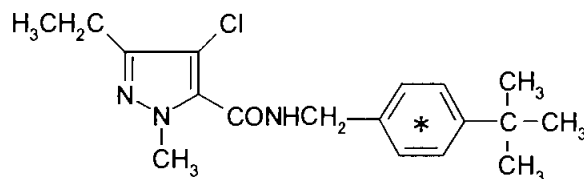
供試標識化合物: フェニル環標識テブフェンピラド (ロット番号 2332-299)

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$

分子量: 333.9

化学構造:



平均放射性純度:

比放射能:

供試植物: 半矮性りんご (品種: Granny Smith)、4 年木

方法:

区画の設定:

各区画 (10 × 10 フィート) に 1 本のりんごを植樹した。

処理区 A [フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラド処理

処理区 B [ピラゾール環- ^{14}C] 標識テブフェンピラド処理

対照区 C 対照処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

被験物質の調製:

りんごの木に対するテブフェンピラドの施用率は 0.66 lb ai/A (有効成分ポンド/エーカー)とし、噴霧溶液量は 400 gal/A (ガロン/エーカー)、噴霧濃度は 20 g ai/hL (有効成分グラム/ヘクトリットル)即ち 200 ppm (parts per million) とした。各りんごの木に散布されたテブフェンピラド量は 194.4 mg であった。有効成分の混合物を約 973 mL の噴霧溶液中に含めた。いずれの区画についてもほぼ1ヶ月間隔で3回繰り返した。

¹⁴C-標識テブフェンピラドの比放射能と放射性純度

処理番号	処理日	¹⁴ C-標識部位	比放射能 (μ Ci/mg)	放射性純度(%)
I	06-19-90	フェニル環	3.89	98.0
II	07-19-90		3.76	98.0
III	08-21-90		3.65	97.5
平均			3.76	97.8
I	06-19-90	ピラゾール環	4.23	99.7
II	07-19-90		4.08	99.6
III	08-21-90		4.03	99.7
平均			4.11	99.7

被験物質の施用:

被験液の散布には D5 中空円錐ノズル及び CO₂ で 40 psi に圧縮した#45 コアを使用した。散布が均一になるよう、較正時間は各りんごの木について4つの散布部位に分けた。

植物及び土壌のサンプリング:

3 回実施した各処理について、処理直後及び 14 日後にりんごの葉を採取した。最後のサンプリング時を除き、各採取時に無作為に 5 本の枝から葉を各 3 枚ずつ取った。果実の最終収穫時(3 回目の処理から 14 日後)には、5 本の枝から全部の葉を集め、各木からりんごを全部摘み取った。

土壌サンプルは最初の処理の前日と果実の収穫時に採取した。木の根元から始めて、1~2 フィートずつ外側の無作為に選定した 4 箇所から、深さ 18 インチまでの土壌をサンプリングした。

サンプルの調製:

各時期に採取した葉は、メタノール抽出するか、粉砕機中でドライアイスと共に直接粉砕した。抽出物及び乾燥残留物(マルク)は、燃焼法で放射能測定した。

土壌コアを解凍し、ピンエンド糸鋸で 0~3, 3~6, 6~9, 9~12 及び 12~18 インチの部分に切断した。ドライアイスと共に粉砕後、0.5 g の土壌中に含まれる ¹⁴C を燃焼法で測定した。

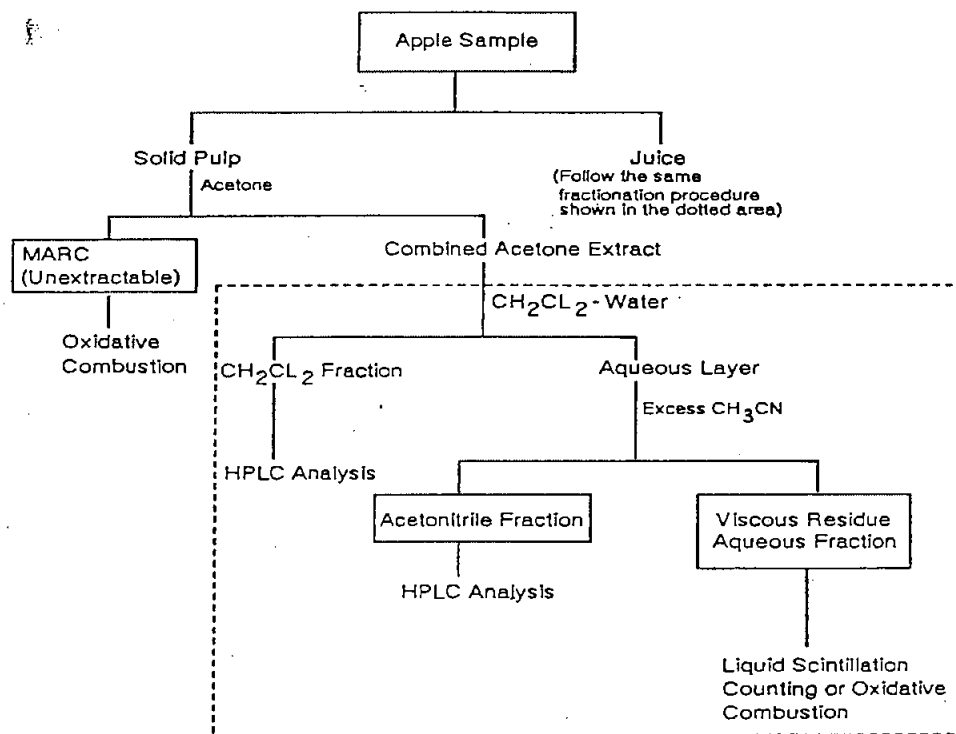
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

未洗淨りんごの抽出及びクリーンアップ;

未洗淨りんご全体(皮付き)のサンプルをドライアイスと共にフードカッターで粉碎し、水と攪拌後遠心分離し、上澄み液と残留物に分けその後、溶媒抽出処理を実施した。

生りんご全体からの抽出物に含まれる主要な放射性生成物の確認には、更にクリーンアップを実施した。

りんごの分析手順フロー図を以下に示す。



結 果:

1) 噴霧溶液中の ^{14}C 標識テブフェンピラド

3 回の処理での平均放射性純度は、[フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラドについては 97.8%、[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識テブフェンピラドについては 99.7%であった。

2) りんご全体における残留物

① 果実

部位	未洗淨りんご中の総放射性残留物 (TRR) ^a	
	[フェニル環- ^{14}C] 標識 テブフェンピラド(ppm) ^b	[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識 テブフェンピラド(ppm) ^b
りんご	0.28	0.28

^a: 第 3 回処理後 14 日 (初回処理から 77 日)

^b: 未洗淨の新鮮果実重量当たり

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

りんご全体における TRR は、[フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラド及び[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識テブフェンピラドのいずれで処理した場合でも、0.28ppm であった。

② 葉

次頁に葉で見出された放射性残留物の一覧表を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

りんごの葉中の放射性残留物（処理量 0.66 lb ai/A^a）

¹⁴ C 標識体	処理番号	処理経過日	テブフェンピラド 換算濃度 (ppm ^b)	
フェニル環	I	0	1.98 ^c	
		14	2.99 ^c	
	II	0	41.99	
		14	6.61 ^c	
	III	0	35.62	
		14	26.32	
ピラゾール環	I	0	1.51 ^c	
		14	3.89 ^c	
	II	0	38.69	
		14	24.78	
	III	0	58.40	
		14	35.62	
	対照	I	0	0.02 ^c
			14	0.02 ^c
		II	0	< 0.01 ^c
14			< 0.01 ^c	
III		0	0.07	
		14	0.03	

^a いずれの区画についてもほぼ1ヶ月間隔で、3回繰り返した。

^b 燃焼法で測定した、テブフェンピラド換算濃度

^c メタノール抽出とマルクの残留物中の合計量

葉中の総放射性残留物 (TRR) は、施用後ゼロ時点サンプルにおいて 1.5~58 ppm、各施用から14日後に採取したサンプルにおいて 3.0~36 ppm と変動が大きかった。対照サンプルの幾つかでは、おそらく汚染によると思われる痕跡量の残留物が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

② 土壌中の残留物

土壌中の放射性残留物(燃焼法^a)

¹⁴ C 標識体	採取日	土壌中部位(インチ)の TRR (ppm) ^b			
		0-3	3-6	6-12	12-18
コントロール	処理前日	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
コントロール	果実採取日	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
フェニル環	処理前日	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
フェニル環	果実採取日	0.04	<0.01	<0.01	<0.01
ピラゾール環	処理前日	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
ピラゾール環	果実採取日	0.05	<0.01	<0.01	<0.01

^a 3回の繰り返し試験における各2回測定の前平均

^b 乾燥土壌中当たりのテブフェンピラド換算濃度

土壌中の総放射能残留量は、0~3 インチの土壌層において <0.01~0.05 ppm の間であった。

3~18 インチ層での残留レベルは、放射性トレーサー法の感度である 0.01 ppm を下回った。

③ りんご全体抽出物中の放射性残留物の特性

次頁に残留物の分布表を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

りんごにおける[フェニル環-¹⁴C] 標識テブフェンピラドの分布^a

抽出区画	残存物質	記号	% HPLC		放射性残存物 ^b	
			¹⁴ C 回収率	%TRR	PPM	
1. 果肉						
ジクロロメタン	70%	テブフェンピラド	A	87.1	61.0	0.17
			W	1.4	1.0	<0.01
			D	1.7	1.2	<0.01
			B	1.2	0.8	<0.01
			F	2.0	1.4	<0.01
			J	0.3	0.2	<0.01
				0.4	0.3	<0.01
アセトニトリル	3.7%	テブフェンピラド	A	13.2	0.5	<0.01
			J	11.6	0.4	<0.01
				46.0	1.7	<0.01
水溶液	<0.1% ^d		—	<0.1	<0.01	
2. 果汁						
ジクロロメタン	3.2%	テブフェンピラド	A	30.5	1.0	<0.01
			W	1.9	0.1	<0.01
			D	3.3	0.1	<0.01
			B	7.7	0.3	<0.01
			F	12.9	0.4	<0.01
			J	9.5	0.3	<0.01
				8.8	0.3	<0.01
アセトニトリル	5.8%		J	9.7	0.3	<0.01
				73.0	4.2	0.01
水溶液	<0.01% ^d		—	<0.1	<0.01	
3. マルク	4.8%			4.8	0.01	

^a 未洗浄りんご果実: TRR = 0.28 ppm、放射活性は燃焼法で測定した。

^b %TRR = (% of HPLC ¹⁴C) × (% 各区画). PPM = %TRR × りんご中の TRR(ppm).

^c 0.01 ppm 以下の微量検出物を含めた、未同定物質の数

^d アセトニトリル画分から抽出されなかった残存物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

りんごにおける[ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラドの分布^a

抽出区画	残存物質	記号	% HPLC		放射性残存物 ^b	
			¹⁴ C 回収率	%TRR	PPM	
1. 果肉						
ジクロロメタン	68.3%	テブフェンピラド	A	91.7	62.6	0.18
			W	0.5	0.3	<0.01
			D	0.3	0.2	<0.01
			B	0.6	0.4	<0.01
			F	0.3	0.2	<0.01
				1.3	0.9	<0.01
アセトニトリル	4.3%	J		2.2	0.1	<0.01
				68.7	3.0	<0.01
水溶液	0.1% ^e		—	0.1	<0.01	
2. 果汁						
ジクロロメタン	2.6%	テブフェンピラド	A	25.8	0.7	<0.01
			D	1.0	<0.01	<0.01
			B	7.8	0.2	<0.01
			F	12.2	0.3	<0.01
			J	4.8	0.1	<0.01
				30.6	0.8	<0.01
アセトニトリル	8.9%	J		1.5	0.1	<0.01
				76.4	6.7	0.02
水溶液	0.5% ^d		—	0.5	<0.01	
3. マルク	5.9%			5.9	0.02	

^a 未洗浄りんご果実: TRR = 0.28 ppm、放射活性は燃焼法で測定した。

^b %TRR = (% of HPLC ¹⁴C) × (% 各区画). PPM = %TRR × りんご中の TRR (ppm).

^c 0.01 ppm 以下の微量の検出物を含めた、未同定物質の数

^d アセトニトリル画分から抽出されなかった残存物

抽出による果実中総放射性残留物 (TRR) に基づく放射性炭素の全回収率は、[フェニル環-¹⁴C] 標識テブフェンピラド処理において 88%、[ピラゾール環-3-¹⁴C] 標識テブフェンピラド処理において 91%であった。総放射性炭素の約 83~84%が幾つかの分画に分布していた。

非抽出性水層及びマルク分画を合わせたものの中に検出された ¹⁴C-残留物は、両放射性標識化合物とも 4.8~6.5%の間であった。

未洗浄りんごで抽出された残留物の最も多くの部分が、果肉+果汁のジクロロメタン分画中で検出され、いずれの放射性標識化合物処理においてもりんご中 TRR の約 71~73%を占めていた。アセトニトリル層中において、りんご中 TRR の約 9.5~13.2%を占めていた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

果肉分画からのマルクは、りんご全体 TRR の 4.8~5.9%の間であった。

④ りんごにおけるテブフェンピラドの代謝経路

抽出された種々の分画中の放射能濃度が低すぎるため、個々の微量放射性成分を明確に同定することは不可能であったが、放射能ピークの幾つかは標品との比較で、仮に同定された。痕跡量の W がジクロロメタン分画中で、また、4 種類の酸化的ヒドロキシル化物 B、D、F および J が少量ずつ有機分画及びアセトニトリル(有極性)分画中で検出された。

結 論 :

- 1) [フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラド及び[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識テブフェンピラドで処理したりんごにおいて、有意な量で検出される放射性成分は親化合物のみであった。
- 2) りんご抽出物中には多数の代謝物が少量ずつ存在する。これらの幾つかは酸化、特にテブフェンピラドのヒドロキシル化誘導体と考えられ、また、主にアセトニトリル分画中で検出された未知残留物質成分の幾つかは、これらの更なる酸化あるいは抱合から生じた高い極性を有する物質と考えられた。結果は、テブフェンピラドの代謝がピラゾール環上のエチル置換基及びフェニル環上の第3ブチル置換基で起こることが示唆された。
- 3) 2 種類の放射性標識テブフェンピラドでは、アセトニトリル分画における極性代謝物の分布に幾分の違いが認められるが、テブフェンピラドのピラゾール環とフェニル環の間のアミド結合が影響を受けないことは明らかである。

りんごにおけるテブフェンピラドの推定代謝経路を次に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

りんごにおけるテブフェンピラドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) 圃場におけるぶどうおよびレーズン中の ^{14}C 標識テブフェンピラドの代謝試験

(資料 No. M-8)

試験機関:

報告書作成年: 1992 年 (GLP 対応)

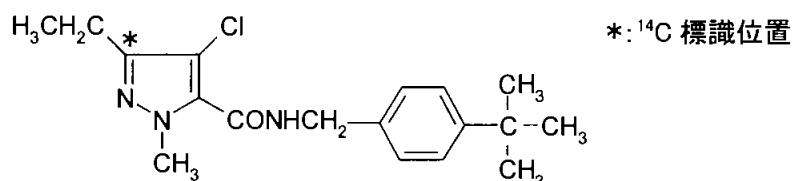
供試標識化合物: ピラゾール環標識テブフェンピラド

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能:

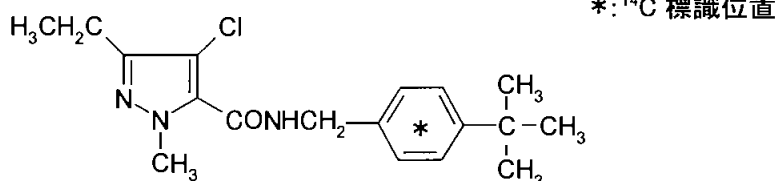
供試標識化合物: フェニル環標識テブフェンピラド (ロット番号 2332-299)

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}$

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能:

供試植物: ぶどう (品種: 種なし、Red Flame)、4 年 齢

方 法:

区画の設定:

各区画 (14 × 3.5 フィート) に 2 本のぶどうを植樹した。

処理区 A [フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラド処理

処理区 B [ピラゾール環- ^{14}C] 標識テブフェンピラド処理

対照区 C 対照処理

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

被験物質の調製:

ぶどうの木に対するテブフェンピラドの施用率は 0.69 lb ai/A (有効成分ポンド/エーカー)とし、噴霧溶液量は 200 gal/A (ガロン/エーカー)、噴霧濃度は 46.4 g ai/hL (有効成分グラム/ヘクトリットル)とした。施用率 0.69 lb ai/A は 49 平方フィートの小区画当たり、散布液量 852 mL の水に含まれる 351.8 mg のテブフェンピラドで処理したことに相当する。いずれの区画についてもほぼ 1 ヶ月間隔で 2 回散布処理した。

¹⁴C-標識テブフェンピラドの比放射能と放射性純度

処理番号	処理日	¹⁴ C-標識部位	比放射能 (μCi/mg)	放射性純度 (%)
I	07-19-90		3.755	97.75
II	08-21-90	フェニル環	3.645	97.60
平均			3.70	97.8
I	07-19-90		4.075	99.55
II	08-21-90	ピラゾール環	4.025	99.65
平均			4.05	99.6

被験物質の施用:

被験液の散布には D5 中空円錐ノズル及び CO₂ で 40 psi に圧縮した#45 コアを使用した。散布が均一になるよう、較正時間は各ぶどうの木について 4 つの散布部位に分けた。

サンプリング:

葉

2 回実施した各処理について、処理直後及び 14 日後にぶどうの葉を採取した。最後のサンプリング時を除き、各採取時に無作為に 5 本の枝から葉を各 3 枚ずつ取った。果実の最終収穫時(2 回目の処理から 14 日後)には、5 本の枝から全部の葉を集めた。

ぶどう

2 回目の処理後 14 日目にぶどうを収穫した。収穫時に、すべての果実をぶどう樹から採集した。

レーズン

ぶどう収穫後、ぶどうの約半分をレーズンに加工した。果実を 21 日間温室にてレーズンになるまで乾燥させた。

サンプルの調製:

ぶどうの葉、ぶどうおよびレーズンは、Hobart 粉砕装置、電動フード・グラインダー、電動コーヒー・グラインダーのいずれかを用いて、ドライアイスとともに磨砕した。二酸化炭素を消散させた後、一定分量(約 500 mg)の植物組織について重量を測定

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

し、燃焼分析による総放射能の測定に供した。

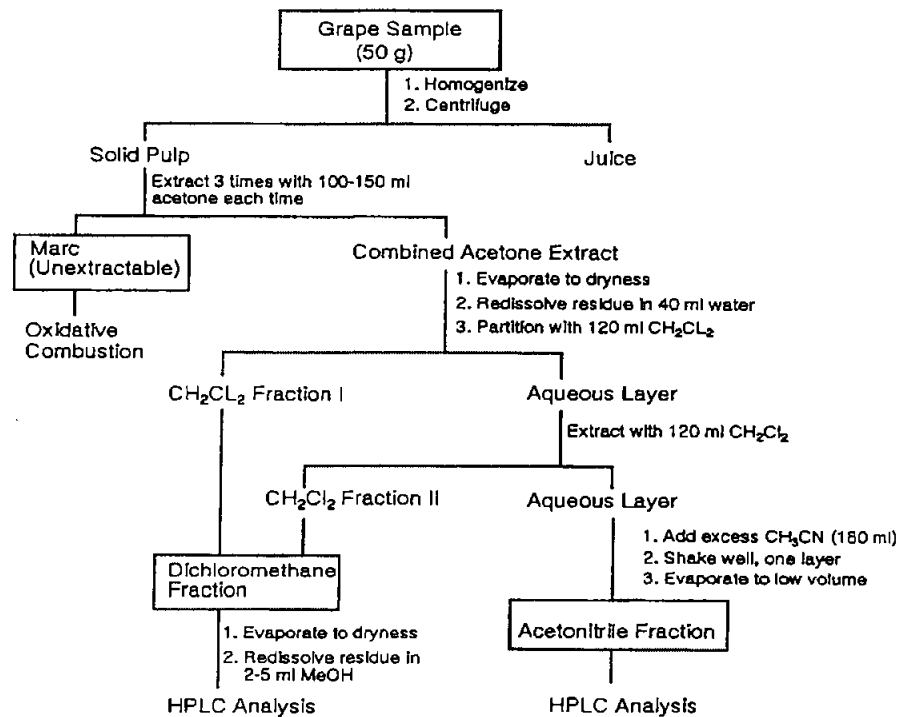
¹⁴C 放射能の抽出

ぶどう

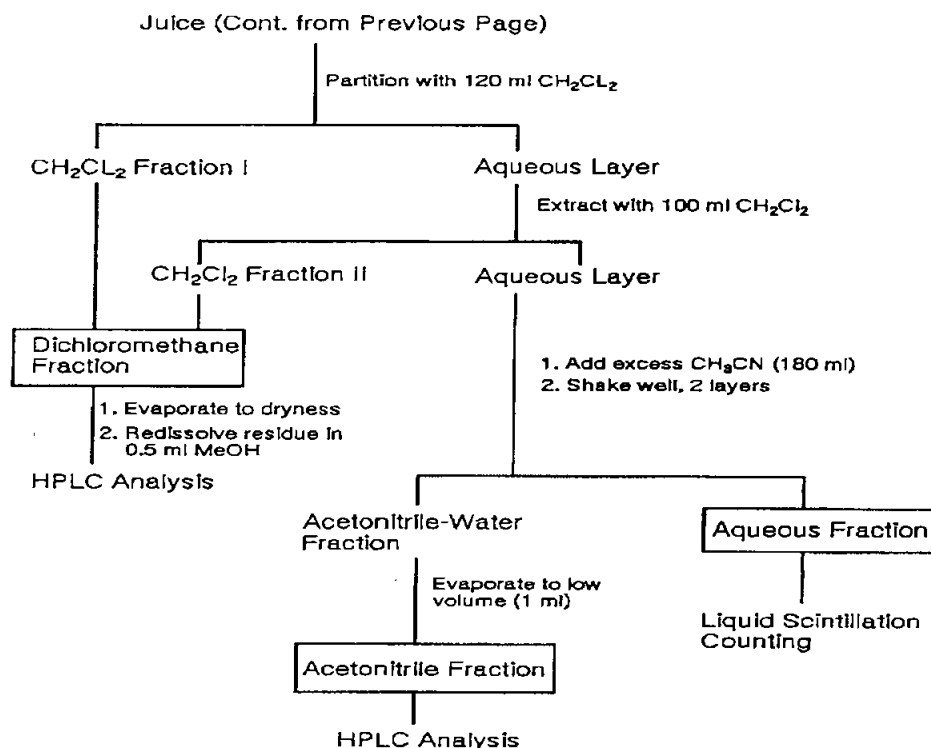
解凍した磨碎ぶどう試料(50 g)を遠心分離し、果汁と果肉(pulp)に分離した。それぞれ溶媒抽出処理を実施し、果肉-ジクロロメタン、果肉-アセトニトリル、果汁-ジクロロメタン、果汁-アセトニトリルおよび果汁-水相に分画した。果汁-水相分画を除き、当該分画を HPLC で分析し、代謝物のプロファイルを測定した。抽出後固体成分(マルク)中の ¹⁴C 残留放射能は、酸化的燃焼によって測定した。

果肉及び果汁の分析手順フロー図を以下に示す。

果肉の分析手順フロー図



果汁の分析手順フロー図

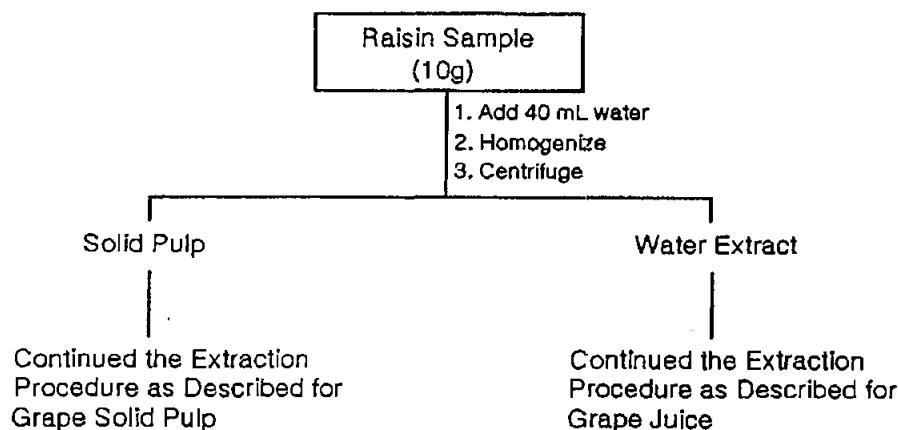


レーズン

細かく磨砕したレーズン試料(10 g)を室温で45分、40 gの水に浸した。サンプルをホモジナイズし、遠心分離して水を除去した(レーズン水抽出物)。ぶどうの抽出・分画化の手順と同様の手順で、レーズンの固体果肉及びレーズンの水抽出物の分画化を実施した。各分画は、レーズン果肉-ジクロロメタン、果肉-アセトニトリル、水抽出-ジクロロメタン、水抽出-アセトニトリルおよび水抽出-水相とした。分離した分画それぞれについて、HPLC分析により代謝プロファイルを検討した。

一定分量の水抽出-水相分画を用いて、酸性加水分解を行った。水抽出-水相分画を5Nの塩酸と混合し、沸騰槽(90~95°C)に入れて4時間加熱した。溶液を冷却し、1Nの水酸化ナトリウム溶液でpH 5に調整し、遠心分離した後、回転エバポレーターで濃縮した。この分画を水抽出水性塩酸分画とし、HPLCで分析して代謝プロファイルを検討した。

レーズンの分析手順フロー図を以下に示す。



上記手順で抽出できなかったレーズンマルク中に残った ^{14}C 残留放射能は、次の手順によって更に抽出を行った。すなわち、5N の水性塩酸溶液の存在下で、マルクを4時間逆抽出した。反応混合液を室温に冷却し、1Nの水酸化ナトリウムで中和し、遠心分離を行って固形残渣と上清に分離した。上清は蒸発乾固し、 ^{14}C 残留放射能をメタノールに転溶し、沈殿物は遠心分離で除去した。満足できる程度の浄化に達するまで、沈殿分離手順を繰り返した。メタノールを蒸発させ、HPLC 分析に用いる最終溶液を作製した(マルク-水性塩酸分画)。沈殿固形物中に存在する放射能は、酸化的燃焼によって測定した(マルク-非抽出性分画)。

HPLC による放射能の解析

処理溶液に加えて、ぶどう及びレーズンの抽出物中の放射能分布について、 4.5×250 mm の Jones APEX I 逆相 C-18 カラム及び可変波長 UV 検出器(254 nm)を搭載した、IBM LC/9533 液体クロマトグラフにより、約 25°C の室温で測定した。カラム溶離システムは、2 つのメタノール・グラジエント溶媒系の 1 つであった。最初の溶媒系は、50~100%のメタノール・グラジエントを持つ 0.1%TFA で、溶出時間を 70 分とした。一方、2 番目の溶媒系は 0.01~0.1%TFA を含む 1~100%メタノールで、溶出時間を 120 分とした。流速は 1 mL/分であった。1分間ずつカラム溶出液を分画し、7 mL シンチレーション・バイアルに収集し、Pharmacia Frac-100 フラクシオンコレクター(Pharmacia Incorporated, Piscataway, New Jersey)にまとめた。

グルコシド代謝物の解析

質量分光分析

精製したぶどう及びレーズンの放射性残留分離物について、Gas

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

Chromatography-Chemical Ionization Mass Spectrometry (GC-CIMS)および Thermospray Liquid Chromatography/Mass Spectrometry (TSP LC/MS)によって分析を行った。

結 果:

1) 噴霧溶液中の ^{14}C 標識テブフェンピラド

2 回の処理での平均放射性純度は、[フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラドについては 97.8%、[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識テブフェンピラドについては 99.6%であった。

2) ぶどうおよびレーズンにおける残留濃度

① 果実

[フェニル環- ^{14}C] 標識テブフェンピラドおよび[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識テブフェンピラドで処理した場合のぶどうならびにレーズンにおける TRR は、それぞれ 0.56 および 0.39 ppm ならびに 1.95 および 1.90 ppm であった。

ぶどうおよびレーズン中の総放射性残留濃度 (TRR)^a

	[フェニル環- ^{14}C] 標識 テブフェンピラド(ppm)	[ピラゾール環-3- ^{14}C] 標識 テブフェンピラド(ppm)
ぶどう	0.56	0.39
レーズン	1.95	1.90

^a 新鮮果実重量当たり

② 葉

葉中の総放射性残留物 (TRR) は、初回および 2 回目の施用直後に最高残留濃度を示したが、施用 14 日後には減少した。葉サンプルを分析する目的は ^{14}C -テブフェンピラドがぶどう樹に沈着することを確認するためであり、更なる解析は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ぶどう葉中の総放射性残留濃度 (TRR)^a

¹⁴ C 標識体	処理番号	処理経過日	テブフェンピラド
			換算濃度 (ppm)
フェニル環	I	0	N.A. ^b
		14	8.49
	II	0	30.76
		14	22.32
ピラゾール環	I	0	69.07
		14	35.89
	II	0	55.53
		14	25.90
対照	I	0	<0.01
		14	<0.01
	II	0	<0.01
		14	0.01

a 新鮮果実重量当たり

b Not analyzed

3) ぶどうおよびレーズン中残留放射能の抽出および解析

①抽出結果

ぶどう試料中の残留放射能は 91.3～99.5%が抽出され、ジクロロメタン分画およびアセトニトリル分画に分配された。非抽出性放射能として、水相分画および抽出後固体成分(マルク)にそれぞれ 1.2～3.2%(0.01 ppm)および 4.9～10.3%(0.03～0.04 ppm)が検出された。

レーズン試料中の残留放射能は 96.2～99.6%が抽出され、ジクロロメタン分画、アセトニトリル分画および水性塩酸分画に分配された。マルクに残留した非抽出性放射能は TRR の 5.5～7.7%であったが、更なる抽出操作により 1.4～3.0%(マルク-水溶液(塩酸))が抽出され、4.1～4.7%が残留した。

②抽出性残留放射能の解析

ぶどうでは、親化合物に加えて、多くの放射性ピークが様々な分画で検出された。但し、F および J を除き、各代謝物(B、D、W、AC、H および)はいずれも TRR の 25%(または 0.01～0.01 ppm)未満に過ぎないことが示された。

レーズンから得られた抽出性残留放射能の主要放射性成分も親化合物であった (TRR の 0.97～1.02 ppm)。主要な代謝物は F であり、これにぶどうと同様の多くのマイナー代謝物が続くことが示された。各マイナー代謝物は TRR の 25%(または 0.01 ppm～0.05 ppm)を占めた。AB および AC は、ピラゾール ¹⁴C 標識で処理した抽出物でのみ検出された。 および は、フェニール ¹⁴C 標識で処理し抽出物でのみ検出された

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ぶどうにおける[フェニル環-¹⁴C] 標識テブフェンピラドの分布^a

抽出区画	残存物質	記号	% HPLC		放射性残存物 ^b	
			¹⁴ C 回収率 (%)	%TRR (%)	PPM (ppm)	
1. 果肉						
ジクロロメタン 71.0%	テブフェンピラド	A	57.4	40.8	0.23	
		W	1.0	0.7	<0.01	
		D	1.1	0.8	<0.01	
		B	2.1	1.5	0.01	
		F	7.9	5.6	0.03	
		J	2.0	1.4	0.01	
		H	2.9	2.0	0.01	
			17.6	12.5	0.07	
アセトニトリル 14.8%	テブフェンピラド	A	0.2	<0.1	<0.01	
		D	0.2	<0.01	<0.01	
		B	0.2	<0.01	<0.01	
		F	1.1	0.2	<0.01	
		J	30.7	4.5	0.03	
		H	16.8	2.5	0.01	
			12.8	1.9	0.01	
			13.9	2.1	0.01	
			15.0	2.2	0.01	
2. 果汁						
ジクロロメタン 5.0%	テブフェンピラド	A	15.6	0.8	<0.01	
		W	0.4	<0.1	<0.01	
		D	0.8	<0.1	<0.01	
		B	3.0	0.2	<0.01	
		F	16.2	0.8	<0.01	
		J	13.5	0.7	<0.01	
		H	12.3	0.6	<0.01	
			26.6	1.3	0.01	
アセトニトリル 8.7%	M-OH	F	0.5	<0.1	<0.01	
		J	21.9	1.9	0.01	
		H	10.7	0.9	<0.01	
			13.6	1.2	<0.01	
			18.8	1.6	0.01	
			22.9	2.0	0.01	
水溶液	1.2% ^d			1.2	0.01	
3. マルク	4.9%			4.9	0.03	

^a 未洗浄ぶどう果実: TRR = 0.56 ppm、放射活性は燃焼法で測定した。

^b %TRR = (% of HPLC ¹⁴C) × (% 各区画). PPM = %TRR × りんご中の TRR(ppm).

^c 0.01 ppm 以下の微量検出物を含めた、未同定物質の数

^d アセトニトリル画分から抽出されなかった残存物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

ぶどうにおける[ピラゾール環-¹⁴C] 標識テブフェンピラドの分布^a

抽出区画	残存物質	記号	放射性残存物 ^b			
			% HPLC ¹⁴ C 回収率 (%)	%TRR (%)	PPM (ppm)	
1. 果肉	ジクロロメタン	テブフェンピラド	A	71.6	52.8	0.21
			W	1.0	0.7	<0.01
			D	1.5	1.1	<0.01
			B	2.7	2.0	0.01
			F	5.3	3.9	0.02
			J	1.2	0.9	<0.01
			H	1.6	1.2	<0.01
				6.1	4.5	0.02
	アセトニトリル	テブフェンピラド	A	3.5	0.2	<0.01
			D	0.8	<0.1	<0.01
			B	0.4	<0.1	<0.01
			F	1.1	0.1	<0.01
			J	10.7	0.6	<0.01
			AB	11.2	0.6	<0.01
AC			2.0	0.1	<0.01	
H			9.4	0.5	<0.01	
	36.6	2.0	0.01			
2. 果汁	ジクロロメタン	テブフェンピラド	A	13.2	0.7	<0.01
			W	0.6	<0.1	<0.01
			D	0.7	<0.1	<0.01
			B	1.7	0.1	<0.01
			F	10.0	0.5	<0.01
			J	6.4	0.3	<0.01
			H	7.3	0.4	<0.01
				55.4	3.0	0.01
	アセトニトリル		J	6.1	0.4	<0.01
			AB	14.4	0.9	<0.01
			AC	1.0	<0.1	<0.01
			H	3.1	0.2	<0.01
		46.3	3.0	<0.01		
	水溶液	3.2% ^d		3.2	0.01	
3. マルク	10.3%		10.3	0.04		

^a 未洗浄ぶどう果実: TRR = 0.39 ppm、放射活性は燃焼法で測定した。

^b %TRR = (% of HPLC ¹⁴C) × (% 各区画), PPM = %TRR × りんご中の TRR(ppm).

^c 0.01 ppm 以下の微量検出物を含めた、未同定物質の数

^d アセトニトリル画分から抽出されなかった残存物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

レーズンにおける[フェニル環-¹⁴C] 標識テブフェンピラドの分布^a

抽出区画	残存物質	記号	% HPLC		放射性残存物 ^b	
			¹⁴ C 回収率 (%)	% TRR (%)	PPM (ppm)	
1. 果肉						
ジクロロメタン 75.0%	テブフェンピラド	A	65.8	49.5	0.97	
		W	0.8	0.6	0.01	
		D	1.5	1.1	0.02	
		B	2.1	1.5	0.03	
		F	8.4	6.3	0.12	
		J	2.4	1.8	0.04	
		H	3.0	2.3	0.05	
			4.4	3.3	0.06	
アセトニトリル 8.1%	テブフェンピラド	A	11.4	0.9	0.02	
		W	1.0	0.1	<0.01	
		D	0.5	<0.1	<0.01	
		B	0.5	<0.1	<0.01	
		F	1.5	0.1	<0.01	
		J	19.7	1.6	0.03	
		H	13.7	1.1	0.02	
			10.0	0.8	0.02	
			7.6	0.6	0.01	
			17.7	1.4	0.03	
2. 水抽出						
ジクロロメタン 5.0%	テブフェンピラド	A	10.7	0.5	0.01	
		W	0.6	<0.1	<0.01	
		D	0.8	<0.1	<0.01	
		B	2.1	0.1	<0.01	
		F	12.2	0.6	0.01	
		J	13.3	0.7	0.01	
		H	8.8	0.4	0.01	
			42.6	2.1	0.04	
アセトニトリル 8.2%		B	0.2	<0.1	<0.01	
		J	25.2	2.1	0.04	
		H	7.3	0.6	0.01	
			20.1	1.6	0.03	
			19.1	1.6	0.03	
	11.1	0.9	0.02			
水溶液(塩酸) 1.9% ^d		W	0.3	<0.1	<0.01	
		D	0.6	<0.1	<0.01	
		B	0.8	<0.1	<0.01	
		F	1.7	<0.1	<0.01	
		J	4.7	0.1	<0.01	
	79.6	1.5	0.03			
3. マルク						
水溶液(塩酸)	1.4%			1.4	0.03	
非抽出	4.1%			4.1	0.08	

^a 未洗浄レーズン: TRR = 1.95 ppm、放射活性は燃焼法で測定した。

^b %TRR = (% of HPLC ¹⁴C) × (% 各区画). PPM = %TRR × りんご中の TRR(ppm).

^c 0.01 ppm 以下の微量検出物を含めた、未同定物質の数

^d アセトニトリル画分から抽出されなかった残存物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

レーズンにおける[ピラゾール環-¹⁴C] 標識テブフェンピラドの分布^a

抽出区画	残存物質	記号	% HPLC		放射性残存物 ^b	
			¹⁴ C 回収率 (%)	%TRR (%)	PPM (ppm)	
1. 果肉						
ジクロロメタン	70.5%	テブフェンピラド	A	76.0	53.6	1.02
			W	0.5	0.4	0.01
			D	1.9	1.4	0.03
			B	2.7	1.9	0.04
			F	6.1	4.3	0.08
			J	1.4	1.0	0.02
			H	2.7	1.9	0.04
				1.8	1.3	0.02
アセトニトリル	6.3%	テブフェンピラド	A	8.9	0.6	0.01
			D	0.7	<0.1	<0.01
			B	0.5	<0.1	<0.01
			F	0.8	<0.1	<0.01
			J	12.5	0.8	0.02
			AB	13.4	0.8	0.02
			AC	7.1	0.4	0.01
			H	13.3	0.8	0.02
				33.1	2.1	0.04
2. 水抽出						
ジクロロメタン	4.9%	テブフェンピラド	A	18.2	0.9	0.02
			B	2.2	0.1	<0.01
			F	9.1	0.5	0.01
			J	7.3	0.4	0.01
			H	9.3	0.5	0.01
				47.6	2.3	0.04
アセトニトリル	9.2%	テブフェンピラド	A	1.2	0.1	<0.01
			W	0.5	<0.1	<0.01
			F	0.3	<0.1	<0.01
			J	8.4	0.8	0.02
			AB	16.9	1.6	0.03
			AC	8.2	0.8	0.02
			H	5.6	0.5	0.01
				42.0	3.9	0.07
水溶液(塩酸)	2.3% ^d		B	1.3	<0.1	<0.01
			F	1.3	<0.1	<0.01
			J	2.6	<0.1	<0.01
			AB	12.2	0.3	<0.01
			AC	2.0	<0.1	<0.01
				68.1	1.6	0.03
3. マルク						
水溶液(塩酸)	3.0%				3.0	0.06
非抽出	4.7%				4.7	0.09

^a 未洗浄レーズン: TRR = 1.90 ppm、放射活性は燃焼法で測定した。

^b %TRR = (% of HPLC ¹⁴C) × (% 各区画), PPM = %TRR × りんご中の TRR(ppm).

^c 0.01 ppm 以下の微量検出物を含めた、未同定物質の数

^d アセトニトリル画分から抽出されなかった残存物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ぶどうおよびレーズン中代謝物のまとめ

様々な分画で検出された親化合物および代謝物の合計値を下表にまとめた。ぶどうおよびレーズン中の残留放射能の主要成分は親化合物であった。テブフェンピラドは、ぶどう中で 41.6~53.7% TRR、レーズン中で 50.9~55.2% TRR 検出された。F およびそのグルコシド抱合体 H()は、それぞれぶどう中で 4.5~6.6% TRR および 2.3~6.0% TRR、レーズン中で 4.8~7.0% TRR および 3.7~4.4% TRR 検出された。一方、J は、ぶどう中で 2.2~8.5% TRR、レーズン中で 3.0~6.3% TRR 検出された。他の代謝物 W 、D 、B 、AB および AC の検出量は、ぶどう中で 0.1~2.1% TRR、レーズン中で 0.4~2.7% TRR 程度であった。

ぶどう中代謝物分析(まとめ)

テブフェンピラドおよび代謝物	記号	フェニル環標識体		ピラゾール環標識体	
		% TRR (%)	PPM (ppm)	% TRR (%)	PPM (ppm)
テブフェンピラド	A	41.6	0.23	53.7	0.21
	W	0.7	<0.01	0.7	<0.01
	D	0.8	<0.01	1.1	<0.01
	B	1.7	0.01	2.1	0.01
	F	6.6	0.04	4.5	0.02
	J	8.5	0.05	2.2	0.01
	AB	N.D.	N.D.	1.5	0.01
	AC	N.D.	N.D.	0.1	<0.01
	H	6.0	0.03	2.3	0.01
		3.1	0.02	N.D.	N.D.
		3.7	0.02	N.D.	N.D.

レーズン中代謝物分析(まとめ)

テブフェンピラドおよび代謝物	記号	フェニル環標識体		ピラゾール環標識体	
		% TRR (%)	PPM (ppm)	% TRR (%)	PPM (ppm)
テブフェンピラド	A	50.9	0.99	55.2	1.05
	W	0.7	0.01	0.4	0.01
	D	1.1	0.02	1.4	0.03
	B	1.6	0.03	2.0	0.04
	F	7.0	0.14	4.8	0.09
	J	6.3	0.12	3.0	0.06
	AB	N.D.	N.D.	2.7	0.05
	AC	N.D.	N.D.	1.2	0.02
	H	4.4	0.09	3.7	0.07
		2.4	0.05	N.D.	N.D.
		2.2	0.04	N.D.	N.D.

5) 質量分光分析

ぶどう及びレーズン中の代謝物の同定は、一般的に HPLC コクロマトグラフィーによって実施し、続いて質量分光分析を行った。テブフェンピラドおよび 4 種類の代謝物 (B 、D 、F 、J)の決定的同定は、質量分光分析によって確認した。MS 分析を行うために、十分量の W 、AB 、AC および H を分離しようと試みたが、失敗に終わった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

結 論 :

本試験の結果、0.69 lb ai/A の施用率でテブフェンピラドを 2 回施用した場合、成熟ぶどうからごく低濃度の残留放射能(0.39~0.56 ppm)が検出され、レーズン中にはぶどうより高濃度(1.90~1.95 ppm)の残留放射能が検出された。ぶどうおよびレーズンから得られた抽出性残留放射能の HPLC プロファイルに基づくと、ぶどうおよびレーズンにおける唯一の重要な残留成分は、未変化親化合物である。テブフェンピラドは、浸透性は良好であるがほとんど移行しないことが既知である。親化合物は、浸透部位で活発に代謝されないとみられる。さらに、ピラゾール環のエチル基の α 炭素およびフェニール環の t -ブチル基が、植物に浸透する親化合物の代謝的変換部位であると推察される。微量の脱メチル化した親化合物も検出された。これらのマイナー代謝物は、ぶどうおよびレーズン中でさらに酸化され、極性の高い残留成分に変化する。親化合物分子のアミド結合の開裂も生じるが、ぶどうでは明らかにマイナーな分解経路である。代謝経路は、 ^{14}C フェニールおよび ^{14}C ピラゾール標識体とも、ぶどうおよびレーズンで同様であった。

ぶどうおよびレーズンにおけるテブフェンピラドの推定代謝経路を次に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ぶどうおよびレーズンにおけるテブフェンピラドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 土壌運命

テブフェンピラドの土壌における代謝

(資料 No. M-9)

試験機関:

報告書作成年: 1992年

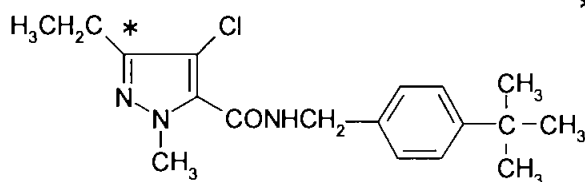
供試標識化合物: [ピラゾール環-3-¹⁴C] テブフェンピラド標識体

化学名: N-(4-*t*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能

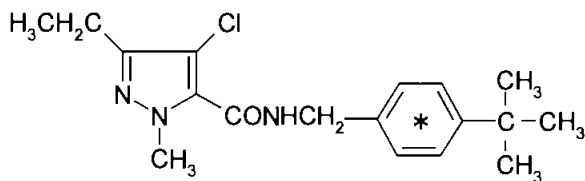
供試標識化合物: [フェニル環-¹⁴C] テブフェンピラド標識体

化学名: N-(4-*t*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度:

比放射能

供試土壌: テブフェンピラドは果樹と蔬菜等の畑地で使用されることから、日本植物防疫協会より畑地土壌として以下に示す土壌を入手し、試験に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

	茨城土壤	高知土壤
採取場所	日本植物防疫協会研究所 茨城県牛久市結束町 535	日本植物防疫協会高知試験農場 高知県香美郡野市町深淵下 スミヤシキ 473
成因地	火山灰 軽埴土	沖積土 埴壤土
粘土含量	24.4%	24.1%
最大容水量	92.4%	40.5%
全炭素含量	3.91%	1.49%
pH (H ₂ O)	6.08	6.35
陽イオン置換容量	29.6me/100g	10.4me/100g
水分	34.6%	14.7%

試験方法：

好気的条件：

洗気した空気を 1 時間当たり 20 分間エアープンプで断続的に土壤分解装置に通気した。分解装置は 28°C に設定したインキュベーター中に静置し、発生する揮発性化合物はウレタンフォームで、¹⁴C₂ は 1N NaOH 10mL でトラップした。

嫌気的条件：

好気的条件における空気に換えて窒素を流速 4mL/分で連続的に流した。揮発性化合物のトラップは省略した。

テブフェンピラド ¹⁴C 標識化合物液の調製：

ピラゾール標識体は 120KBq(3.24μCi)/mL(70.2 μg eq./mL 溶液)を、フェニル標識体は 348KBq(9.40μCi)/mL(93.2 μg eq./mL 溶液)を調製した。

土壤への施用：

100mL 三角フラスコ土壤を乾土当たり 20g 相当採取し、水分を最大容水量の 60% に調製し、28°C で 2 週間プレインキュベーションした。土壤にピラゾール標識体とフェニル標識体をそれぞれ乾土当たり約 0.5ppm に相当する量を均一に混和した。実際の施用量はそれぞれ 0.46μg/g 乾土および 0.47μg/g 乾土であった。

試料の採取および ¹⁴C 分画法：

施用後の土壤を土壤分解装置にセットし、好気的条件(ピラゾール標識体とフェニル標識体)は 3、7、14、28、56 日、嫌気的条件(フェニル標識体)は 14、28 日後に採取した。土壤は図 1 の操作で溶媒分画し、ウレタンフォームはメタノール 100 mL に浸漬して抽出した。それらの中の ¹⁴C を直接または燃焼処理後、LSC 法により測定した。

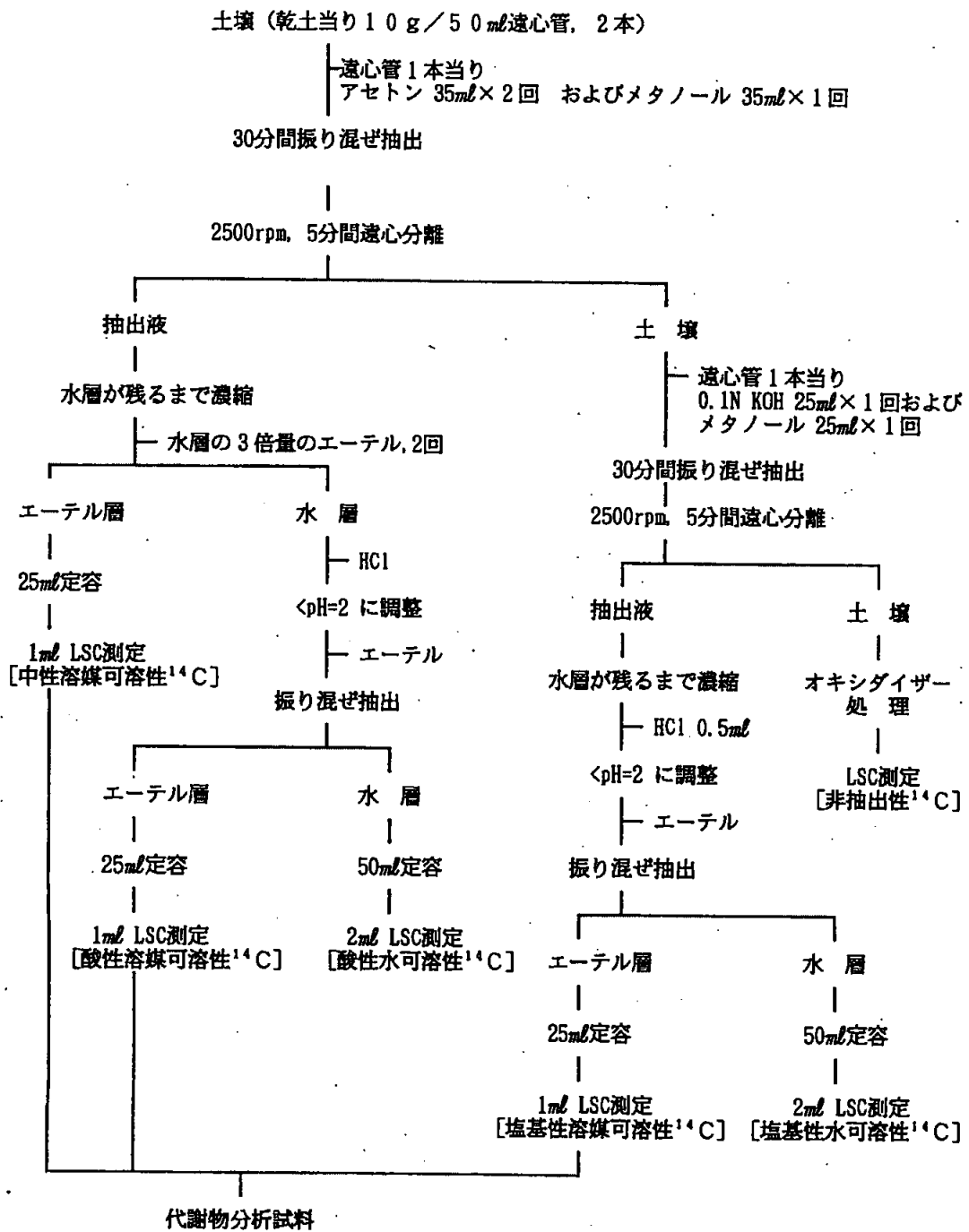


図1 ¹⁴C-テブフェンピラド処理土壌の分画操作

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

代謝物の同定・定量法:

図1の操作で得られた中性、酸性及び塩基性溶媒可溶性 ^{14}C 画分に標品を加えた後、溶媒留去のメタノール上清を RI-HPLC で測定した。

試験結果:

1) 好氣的条件

ピラゾール環標識体施用後好氣的条件下の土壤に残留する ^{14}C の分布

土壤	画分	施用量に対する割合 (%)					
		0日	3日	7日	14日	28日	56日
茨城土壤 (火山灰 軽埴土)	溶媒可溶性 ^{14}C	100.3	93.4	88.1	80.9	68.6	42.5
	中性溶媒可溶性 ^{14}C	87.8	80.9	71.3	63.3	44.6	23.3
	酸性溶媒可溶性 ^{14}C	2.1	5.1	4.8	0.8	3.8	4.7
	塩基性溶媒可溶性 ^{14}C	0.4	7.4	12.0	16.8	20.2	14.5
	水可溶性 ^{14}C	0.1	0.5	0.4	0.2	0.6	0.7
	非抽出物	<0.1	5.2	10.0	17.9	24.5	42.6
	$^{14}\text{CO}_2$ トラップ	-	0.1	0.1	0.3	2.0	7.9
	揮発性化合物トラップ	-	<0.1	0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	^{14}C 合計	100.4	99.2	98.6	99.3	95.7	93.7
	高知土壤 (沖積鈣質 埴壤土)	溶媒可溶性 ^{14}C	97.6	93.0	91.9	82.9	84.7
中性溶媒可溶性 ^{14}C		97.1	86.4	78.8	61.3	58.0	62.3
酸性溶媒可溶性 ^{14}C		0.2	1.4	4.4	6.2	11.7	1.5
塩基性溶媒可溶性 ^{14}C		0.3	5.2	8.7	15.4	15.0	12.5
水可溶性 ^{14}C		0.1	0.6	0.4	1.8	1.6	1.1
非抽出物		<0.1	2.3	5.6	9.5	11.6	13.6
$^{14}\text{CO}_2$ トラップ		-	0.4	0.4	0.6	1.0	2.8
揮発性化合物トラップ		-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
^{14}C 合計		97.7	96.3	98.5	94.8	98.9	93.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

フェニル環標識体施用後好氣的条件下の土壤に残留する ^{14}C の分布

土壤	画分	施用量に対する割合 (%)					
		0日	3日	7日	14日	28日	56日
茨城土壤 (火山灰 軽埴土)	溶媒可溶性 ^{14}C	93.6	90.6	86.2	79.8	70.5	52.1
	中性溶媒可溶性 ^{14}C	84.7	83.6	77.2	69.5	48.3	39.8
	酸性溶媒可溶性 ^{14}C	6.8	2.5	2.1	0.8	11.0	0.8
	塩基性溶媒可溶性 ^{14}C	2.1	4.5	6.9	9.5	11.2	11.5
	水可溶性 ^{14}C	<0.1	0.1	<0.1	0.6	0.1	0.2
	非抽出物	0.6	5.0	6.6	10.7	17.5	27.2
	$^{14}\text{CO}_2$ トラップ	-	0.9	2.1	5.5	11.5	16.9
	揮発性化合物トラップ	-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
	^{14}C 合計	94.2	96.6	94.9	96.6	99.6	96.4
	高知土壤 (沖積鈳質 埴壤土)	溶媒可溶性 ^{14}C	96.7	87.6	88.0	81.3	72.1
中性溶媒可溶性 ^{14}C		96.1	85.9	85.2	78.3	66.0	60.3
酸性溶媒可溶性 ^{14}C		<0.1	0.3	0.1	0.2	0.3	1.2
塩基性溶媒可溶性 ^{14}C		0.6	1.4	2.7	2.8	5.8	5.1
水可溶性 ^{14}C		<0.1	0.2	0.4	0.4	0.8	0.7
非抽出物		0.3	2.3	4.4	6.4	10.8	10.2
$^{14}\text{CO}_2$ トラップ		-	1.9	3.8	7.5	13.0	15.5
揮発性化合物トラップ		-	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
^{14}C 合計		97.0	92.0	96.6	95.6	96.7	93.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ピラゾール環標識体施用後好氣的条件下の土壤におけるテブフェンピラド及び代謝物量

土壤	代謝物	記号	施用量に対する割合、%					
			0*	3*	7*	14*	28*	56*
茨城土壤 (火山灰 軽埴土)	テブフェンピラド	A	97.3	83.2	71.2	52.8	35.3	18.7
		D	1.3	1.0	0.9	1.0	1.2	0.9
		U	0.6	---	---	t	0.6	0.5
		B	---	t	t	0.6	0.7	t
		I	0.5	4.7	9.1	14.8	17.6	10.9
			---	t	t	t	0.4	0.5
		V	t	t	t	0.4	0.8	0.7
		R	t	t	t	0.4	3.5	5.5
			---	---	---	---	0.4	t
			---	---	---	---	---	---
		N	---	---	t	t	0.5	0.7
			---	---	---	---	---	---
		AD	t	3.1	4.9	8.3	5.2	2.1
		AA	0.6	0.6	0.5	0.7	0.7	t
			---	---	---	---	0.4	t
AE	---	---	---	---	---	t		
	---	---	---	---	---	t		
	Others		0.6	0.8	1.5	1.9	1.3	2.0
	¹⁴ CO ₂		---	0.1	0.1	0.3	2.0	7.9
	水可溶性物		0.1	0.5	0.4	0.2	0.6	0.7
	非抽出物		<0.1	5.2	10.0	17.9	24.5	42.6
	¹⁴ C 合計		100.4	99.2	98.6	99.3	95.7	93.7
高知土壤 (沖積鈹質 埴壤土)	テブフェンピラド	A	94.7	80.6	74.4	58.0	52.4	40.2
		D	1.2	1.1	1.0	1.0	0.9	0.9
		U	0.6	t	---	0.5	0.6	0.9
		B	---	t	t	t	t	---
		I	0.5	6.1	9.1	12.1	17.2	18.2
		V	---	t	t	t	t	t
		R	t	t	t	0.5	0.6	1.0
			---	---	---	---	---	---
			---	---	---	---	t	0.4
			---	---	---	---	---	---
		N	---	---	---	---	---	---
			---	---	---	---	t	1.6
		AD	t	3.7	6.1	9.3	10.7	10.1
		AA	0.6	0.5	---	0.5	0.5	t
			---	t	---	---	t	---
AE	---	---	---	---	---	0.7		
	---	---	---	---	t	0.7		
	Others		0.6	1.0	1.3	1.0	1.8	1.6
	¹⁴ CO ₂		---	0.4	0.6	0.6	1.0	2.8
	水可溶性物		0.1	0.6	0.4	1.8	1.6	1.1
	非抽出物		<0.1	2.3	5.6	9.5	11.6	13.6
	¹⁴ C 合計		97.7	96.3	98.5	94.8	98.9	93.8

* 経過日数

---:検出せず、t: <0.4%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日本農薬株式会社にある。

フェニル環標識体施用後好氣的条件下の土壤におけるテブフェンピラド及び代謝物量

土壤	代謝物	記号	施用量に対する割合、%						
			0*	3*	7*	14*	28*	56*	
茨城土壤 (火山灰) 軽埴土	テブフェンピラド	A	90.7	84.7	77.0	66.2	49.2	28.2	
		D	0.4	0.4	0.4	0.5	0.9	0.7	
		U	---	t	---	t	0.6	1.0	
		B	t	t	t	0.7	0.7	t	
		I	---	4.4	7.9	11.0	16.2	17.6	
		V	---	t	t	t	1.0	1.0	
		R	---	---	---	t	0.7	1.7	
		N	---	---	t	---	0.5	0.5	
		Others		2.5	1.1	0.9	1.4	0.7	1.4
		¹⁴ CO ₂		---	0.9	2.1	5.5	11.5	16.9
	水可溶性物		<0.1	0.1	<0.1	0.6	0.1	0.2	
	非抽出物		0.6	5.0	6.6	10.7	17.5	27.2	
	¹⁴ C 合計		94.2	96.6	94.9	96.6	99.6	96.4	
高知土壤 (沖積鈣質) 埴壤土	テブフェンピラド	A	94.3	82.7	75.0	65.9	42.7	38.3	
		D	t	t	0.4	0.4	0.4	t	
		U	---	t	t	0.4	1.2	1.1	
		B	t	t	t	t	---	---	
		I	---	4.2	11.4	13.7	25.4	24.3	
		V	---	---	t	t	0.5	0.4	
		R	---	t	0.4	t	0.6	0.8	
		N	---	t	---	t	t	t	
		Others		2.4	0.5	0.8	0.9	1.3	1.7
		¹⁴ CO ₂		---	1.9	3.8	7.5	13.0	15.5
	水可溶性物		<0.1	0.2	0.4	0.4	0.8	0.7	
	非抽出物		0.3	2.3	4.4	6.4	10.8	10.2	
	¹⁴ C 合計		97.0	92.0	96.6	95.6	96.7	93.0	

* 経過日数

---: 検出せず、t: <0.4%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日本農薬株式会社にある。

2) 嫌気的条件

フェニル環標識体施用後嫌気的条件下の土壤に残留する ^{14}C の分布

土壤	画分	施用量に対する割合 (%)		
		0日	14日	28日
茨城土壤 (火山灰 軽埴土)	溶媒可溶性 ^{14}C	93.6	88.1	92.1
	中性溶媒可溶性 ^{14}C	84.7	78.2	89.8
	酸性溶媒可溶性 ^{14}C	6.8	8.6	<0.1
	塩基性溶媒可溶性 ^{14}C	2.1	1.3	2.3
	水可溶性 ^{14}C	<0.1	0.4	<0.1
	非抽出物	0.6	4.0	4.4
	$^{14}\text{CO}_2$ トラップ	-	0.3	0.9
^{14}C 合計		94.2	92.8	97.4
高知土壤 (沖積鈳質 埴壤土)	溶媒可溶性 ^{14}C	96.7	94.7	89.0
	中性溶媒可溶性 ^{14}C	96.1	92.8	87.0
	酸性溶媒可溶性 ^{14}C	<0.1	<0.1	0.1
	塩基性溶媒可溶性 ^{14}C	0.6	1.9	1.9
	水可溶性 ^{14}C	<0.1	0.2	0.1
	非抽出物	0.3	3.1	3.7
	$^{14}\text{CO}_2$ トラップ	-	0.9	1.9
^{14}C 合計		97.0	98.9	94.7

フェニル環標識体施用後嫌気的条件下の土壤におけるテブフェンピラド及び代謝物量

土壤	代謝物	記号	施用量に対する割合、%		
			0*	14*	28*
茨城土壤 (火山灰 軽埴土)	テブフェンピラド	A	90.7	86.8	90.1
		D	0.4	t	t
		I	---	t	0.5
	Others		2.5	1.3	1.5
	$^{14}\text{CO}_2$		---	0.3	0.9
	水可溶性物		<0.1	0.4	<0.1
	非抽出物		0.6	4.0	4.4
^{14}C 合計		94.2	92.8	97.4	
高知土壤 (沖積鈳質 埴壤土)	テブフェンピラド	A	94.3	92.5	86.5
		D	---	t	0.4
		I	---	0.6	1.4
	Others		2.4	1.6	0.7
	$^{14}\text{CO}_2$		---	0.9	1.9
	水可溶性物		<0.1	0.2	0.1
	非抽出物		0.3	3.1	3.7
^{14}C 合計		97.0	98.9	94.7	

* 経過日数

---: 検出せず、t: <0.4%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日本農薬株式会社にある。

本試験の結果は以下のように要約される。

- 1) ^{14}C 標識テブフェンピラドを 2 種土壌で好氣的条件及び嫌氣的条件で土壌に約 0.5ppm に相当する量を 28°C で施用した。試料採取は、好氣的条件で 3、7、14、28、56 日、嫌氣的条件で 14、28 日後に実施した。
- 2) ^{14}C 標識テブフェンピラドは好氣的条件下で時間とともに減少し、56 日後にはピラゾール環標識化合物施用では 40~19%、フェニル環標識化合物施用では 28~38% 検出された。嫌氣的条件では親化合物の分解がほとんど起こらないことから、テブフェンピラドは土壌中の好氣性微生物によって分解されることが示された。
- 3) テブフェンピラドの半減期は、茨城土壌ではピラゾール環標識体施用で 17 日、フェニル環標識体施用で 27 日であり、高知土壌では前者で 32 日、後方で 24 日となった。
- 4) 主代謝反応は ter-ブチル基の酸化であり、主代謝物として $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_2$ を生成し、これは経時的に増加したが、56 日後以降で減少傾向が見られた。次いでアミド結合の加水分解で、ピラゾール環側代謝物として $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_3$ が生成したが、蓄積傾向は見られなかった。フェニル環側代謝物は蓄積するものは見られず、速やかに CO_2 まで分解することが分かった。

土壌中における推定代謝経路図を次頁に示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

土壌におけるテブフェンピラドの推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4. 水中運命

4. 1. 加水分解運命試験

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4.2. 水中光分解運命試験

(1) 水中光分解運命試験(緩衝液)

(資料 No. M-10)

試験機関:

報告書作成年:1991年(GLP 対応)

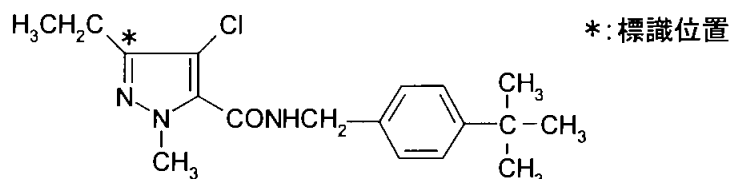
供試標識化合物 : ピラゾール環標識テブフェンピラド (ロット番号 2332-260)

化学名 ; N-(4-*t*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式 ; C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量 ; 333.9

化学構造 ;



平均放射性純度 ;

比放射能 ;

供試水 : ナイロンフィルター装置 (Corning Inc, Corning, N.Y., 0.22 μm) で濾過滅菌した 0.05 M リン酸緩衝液 (pH 7.0) を用いた。

光源 : キセノン・アーク灯 (Atlas Electric Devices Co.) 290 nm 未満の波長を除去するためほう珪酸ガラスを使用した。

光強度 : 0.25 w/m² (300~800 nm)

方法

光照射 : 被験液は緩衝液にメタノールに溶解した被験物質溶液を添加し作製した。被験液の濃度は 1.35 ppm であった。照射サンプルとして被験液の一部 (10 mL) を水晶製試験管に、暗所対照サンプルとしては 16 mL をほう珪酸ガラス製試験管にとり、対照サンプルはホイルで包み光を遮断した。照射サンプルは光分解チャンバー、対照サンプルは恒温槽内にそれぞれ設置し、温度は 25±1°C を維持した。

照射時間 ; 0、1、3、7、9、14、21 および 28 日の光照射を行った。

分析 ;

半減期の算出 ; 添加放射エネルギーに対する母化合物の残存率の対数変換値を光照射時間に対して最小二乗法により回帰し、得られた反応速度定数から半減期を算出した。また、光源として用いたキセノンアークランプの分光照射照度及び、太陽光の分光照射照度の比を実験的に求めた半減期に乘じ、自然太陽光下 (北緯 35° [東京]、春 [4 月~6 月]) における推定半減期を求めた。但し、太陽光の分光照射照度は、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

東京における4月～6月の全天日射量の累年平均値をJISに規定された基準太陽光の分光放射照度分布により補正して算出した(太陽光半減期は申請者が推定)。

結果:

放射能の回収: 照射サンプルでは、時間とともに水から抽出される放射能が少しずつ増加し、28日後に水中に残留した放射量は、添加放射能の3.5～5.6%であった。遮光対照区では、28日後でも98.2～99.4%の放射能が酢酸エチル層から抽出された。28日後の照射サンプルの1検体を除き、照射および遮光対照サンプルともに、試験期間中における放射能のロスを確認されなかった。

放射能の分析: 酢酸エチル抽出物のTLC分析により、照射区では親化合物の減少が確認され、照射開始時において添加放射能の96.9～99.3%を占めた水中のテブフェンピラドは光照射下で緩やかに減衰し、28日後では、添加放射能の71.4～87.4%にまで低下した。半減期は連続照射187日と外挿された。遮光対照区では検出可能な分解は認められなかった。また、放射能検出器を用いたキャピラリーカラムGCおよびGC/MSを用いた機器分析の結果、有意なピークは1個だけでいずれもテブフェンピラド標品と一致した。緩衝液中の分析結果を下表に示す。

半減期 : 光照射下におけるテブフェンピラドの消失速度定数(k)は0.00371/dayであり、これに算出されたDT50は187日であった。これは東京における4～6月の平均全天日射量に換算すると、453日(300-800 nmの積算放射照度を基に算出)に相当した。

項目	添加放射能に対する割合(%)*							
	酢酸エチル層	平均	テブフェンピラド		水層	平均	合計	平均
0日-1	98.1	99.3	96.9	98.1	0.9	0.7	99.0	100.0
-2	100.5		99.3		0.5		101.0	
1日-1	100.1	97.8	98.6	96.3	0.7	0.9	100.8	98.7
-2	95.4		94.0		1.1		96.5	
3日-1	98.5	98.0	96.9	96.3	1.4	1.3	99.9	99.3
-2	97.5		95.8		1.2		98.7	
7日-1	94.2	95.8	92.4	93.8	1.2	1.2	95.5	97.0
-2	97.4		95.2		1.2		98.6	
9日-1	96.3	96.9	93.8	94.4	1.5	1.5	97.8	98.3
-2	97.4		95.0		1.5		98.9	
14日-1	98.6	97.5	95.3	94.4	2.1	2.5	100.7	100.0
-2	96.4		93.5		2.9		99.3	
21日-1	92.4	93.8	88.9	89.7	2.3	2.8	94.7	96.7
-2	95.3		90.5		3.4		98.7	
28日-1	77.9	85.0	71.4	79.4	5.6	4.6	83.5	89.6
-2	92.2		87.4		3.5		95.7	
28日(遮光)-1	99.4	98.8	98.3	97.7	0.9	1.0	100.3	99.8
-2	98.2		97.1		1.1		99.3	

* 試験成績より申請者が算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) 水中光分解運命試験(自然水)

(資料 No. M-11)

試験機関:

報告書作成年:2005年(GLP 対応)

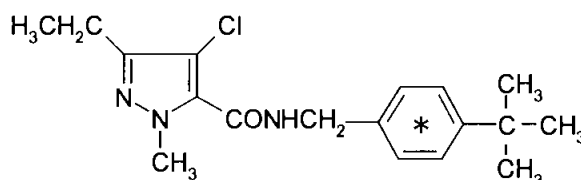
供試標識化合物: フェニル環標識テブフェンピラド (ロット番号 JAC/MUB142/3)

化学名: N-(4-tert-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $C_{18}H_{24}ClN_3O$

分子量: 333.9

化学構造:



平均放射性純度:

比放射能:

供試水: 自然水(大阪河内長野市、日本農薬(株)、総合研究所敷地内の井戸より)に採取された地下水)をメンブレンフィルター(Cellulose Acetate/Pore size 0.22 μ m, Corning Japan K.K., Tokyo, Japan)にて濾過滅菌後に使用。

光源: キセノンアークランプ(波長 290nm 以下の短波長紫外線吸収フィルター使用)

光強度: 544 w/m^2 (300~800 nm)

方法

試験溶液: 試験容器に供試水 8 mL を分注した後、アセトニトリルに溶解した被験物質溶液(0.207 KBq/0.26 μ g/ μ L 相当)を 40 μ L 添加し、最終濃度を 1.3 mg/L(アセトニトリル最終濃度 0.5%)となるよう調製した。

光照射: 試験溶液を円筒形ガラス製容器に入れ、石英ガラス板で上部を密封したものを 25°C の恒温槽中に静置し、石英ガラス面を垂直に光照射した。遮光区(6 日のみ設定)は同様に調製したものをアルミフイルで全体を遮光した。

照射時間: 0、1、2、3、4、5 および 6 日の光照射を行った。

分析:

半減期の算出: 添加放射能に対する母化合物の残存率の対数変換値を光照射時間に対して最小二乗法により回帰し、得られた反応速度定数から半減期を算出した。また、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

光源として用いたキセノンアークランプの分光照射照度及び、太陽光の分光照射照度の比を実験的に求めた半減期に乘じ、自然太陽光下(北緯 35° [東京]、春 [4 月～6 月])における推定半減期を求めた。但し、太陽光の分光照射照度は、東京における 4 月～6 月の全天日射量の累年平均値を JIS に規定された基準太陽光の分光放射照度分布により補正して算出した。

結果:

放射能の回収: 水中の放射能は酢酸エチルにより定量的に抽出され、添加放射能の 94.4～101.2%が酢酸エチル抽出画分より回収された一方、抽出後の水中には最大で 1.2%が残存するのみであった。酢酸エチルおよび水面分中放射能を合せた総放射能回収率は 95.6～101.7%であり、反応過程における放射能の損失は認めなかった。また、遮光区試料中の放射能は 95.6%が酢酸エチル抽出画分に回収され、水層を合せた総回収率は 95.9%であった。試験水から回収された放射能の添加量に対する割合を表3に示す。

放射能の分析: 照射開始時において添加放射能の 97.4%を占めた自然水中のテブフェンピラドは光照射下で緩やかに減衰し、6 日後(太陽光換算で 33.0 日)では、添加放射能の 93.4%となった。分解物として照射 5 日および 6 日において 0.7～1.0%の AG (BAD、4-tert-ブチルベンズアルデヒド)が検出された。遮光区において BAD は検出されないことから、BAD の生成には光が関与するものと考えられた。これ以外に、光照射により生成する顕著な分解物は認めなかった。自然水中放射能の分析結果を表3に示す。

半減期 : 光照射下におけるテブフェンピラドの消失速度定数(k)は 0.005/day であり、これに算出された DT50 は 133 日であった。これは東京における 4～6 月の平均全天日射量に換算すると、734 日(300-800 nm の積算放射照度を基に算出)に相当した。

項目 照射日数	添加放射能に対する割合(%)							
	0	1	2	3	4	5	6	6(遮光)
酢酸エチル層	97.4	97.0	97.6	101.2	98.1	96.5	94.4	95.6
テブフェンピラド	97.4	97.0	97.6	101.2	98.1	95.8	93.4	95.6
	-	-	-	-	-	0.7	1.0	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-	-	-	-
水層	0.2	0.4	0.4	0.5	0.7	1.0	1.2	0.3
合計	97.6	97.4	98.0	101.7	98.8	97.5	95.6	95.9

数値は 2 連の平均。-: N.D.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5. 土壌吸着性

テブフェンピラドの土壌吸着性試験

(資料 No. M-12)

試験機関:

報告書作成年: 1989 年

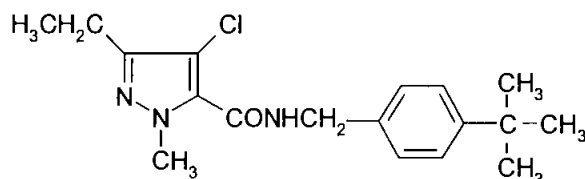
供試化合物: テブフェンピラド()

化学名: N-(4-t-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: $C_{18}H_{24}ClN_3O$

分子量: 333.9

化学構造:



供試土壌: 以下の4種の土壌を供試した。

土 壤	土壌構成成分(%)			有機炭素 含有率(%)	陽イオン 交換容量 (me/100g)	pH	土壌含水 比(%)
	砂	シルト	粘土				
高 知	47.4	29.0	23.6	1.49	10.4	6.4	2.6
牛 久	33.7	29.6	26.4	4.39	37.8	6.7	2.4
長 野	44.5	30.2	25.3	7.89	25.8	6.9	2.5
石 川	25.0	31.5	43.5	3.02	18.0	5.9	3.0

試験方法: 「OECD 試験指針 106 吸着/脱着」に準拠して実施した。

被験物質の 0.30、0.50 及び 1.00mg/L の塩化カルシウム溶液を調製し、これらを 25°C で 24 時間、土壌と平衡化した。

試験結果: 以下のように要約される。

土 壤	l/n	K_F^{ads}	r	K_{Foc}^{ads}	平均物質 収支 (%)
高 知	1.12	56.8	0.995	3810	89.5
牛 久	1.42	216.4	0.986	4930	91.5
長 野	0.84	1087	0.977	1380	88.9
石 川	1.18	52.1	0.993	1730	88.4

1) 水相中のテブフェンピラド濃度に対する変動係数が 24 時間後と 48 時間後とでは、高知土壌において 4.9%、長野土壌において 4.8% であり 5% 以下であったので、平衡化時間を 24 時間に決定した。

2) K_F^{ads} 値と有機炭素含有率から求めた K_{Foc}^{ads} は、1018 L/kg であった。(相関係数

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

=0.364)

- 3) 各試験系に添加したテブフェンピラド量と回収したテブフェンピラドを比較してマスバランスを計算した結果、回収率は71%以上であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6. 生物濃縮性

コイにおける濃縮性試験(吸入、分布、代謝及び排泄)

(資料 No. M-13)

試験機関:

報告書作成年:1992年

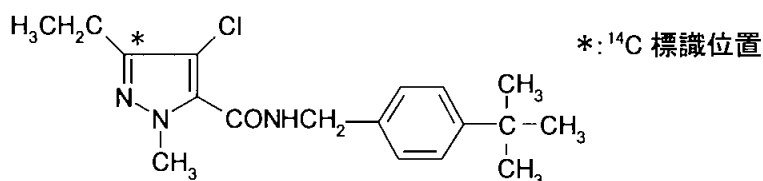
供試化合物: [ピラゾール環-3-¹⁴C]テブフェンピラド

化学名: N-(4-*t*-ブチルベンジル)-4-クロロ-3-エチル-1-メチル-5-ピラゾールカルボキサミド

分子式: C₁₈H₂₄ClN₃O

分子量: 333.9

化学構造:



放射化学的純度

比放射能:

供試生物: コイ (*Cyprinus carpio*)

暴露試験区 47 匹、対照区 18 匹

体長: 8.1~9.7 cm、体重: 13~24 g)

試験方法:

暴露条件: 流水式(1000 L/日の速度で供給)

試験期間: 取込期間 28 日間、排泄期間 14 日間

設定濃度: 1.2 µg/L、コイの急性毒性値(LC50=0.073 mg/L)の約 1/60。

試験液の調製: 被験物質をアセトンに溶解し 2.5 mg/mL の試験原液を調製。試験原液に更に 5000 倍量の蒸留水を加え薬剤供給溶液(0.5 µg/mL)を調製。薬剤供給溶液および希釈水を 2.4:1000 の比で供給し、混合することにより所定の濃度の試験液を得た。

温度: 25.0~25.9°C

pH: 7.3~7.8

溶存酸素濃度: 5.7~7.8 mg/L

観察及び測定: 供試生物の生死および症状を試験期間中毎日観察した。また、試験期間中、飼育水の水温、pH および溶存酸素を週 2 回測定した。

供試生物中の被験物質総放射能濃度:

各サンプリング時に採取したコイ 2 尾をホモジナイズしたものをサンプルオキシダイザーにより燃焼・酸化処理後、液体シンチレーションカウンター(LSC)にて放射エネルギーを測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験液中の被験物質濃度；

組織中の被験物質総放射能濃度；

代謝物の同定・定量

結 果：

(1) ①供試生物中の被験物質総放射能濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

日	取込期間						排泄期間			
	0.17	1	3	7	14	28	1	3	7	14
濃度	69	317	524	1030	786	691	31	91	3	4
	85	459	992	859	725	650	223	17	11	3

②総放射能中の親化合物の割合(%)

日	取込期間						排泄期間			
	0.17	1	3	7	14	28	1	3	7	14
%	3.7	1.9	3.0	3.3	1.1	1.8				
	NC	0.9	1.0	1.4	2.7	1.2				

取込み3日目まで魚体中放射能濃度は急激に増加したが、7日目以降は増加せず平衡に達した。排泄試験においては、魚体中総放射能濃度は速やかに減少し、取込み28日目の魚体中濃度に比較して、排泄1日目で50%以上が、3日目で85%以上が、7日目で98%以上が排泄された。排泄試験における魚体中放射能の半減期は約0.5日であった。

各サンプリング時点の魚体中放射能に対する親化合物の割合は0.9~3.7%と低かった。

(2) 試験水中の被験物質濃度 ($\mu\text{g}/\text{L}$)

日	取込期間							排泄期間			
	0	0.17	1	3	7	14	28	1	3	7	14
濃度	1.17	1.06	1.06	1.16	1.19	1.18	1.18	<0.04	<0.04	0.05	<0.04

試験水中平均被験物質濃度は、 $1.18 \mu\text{g}/\text{L}$ で変動係数が12.7%であり、設定濃度を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

1.2 µg/L を満足していた。

排泄試験期間中は、平均で定量限界(0.04 µg/L)以下であり、排泄条件としては良好であった。

(3) 濃縮係数

BCF_{ss}(総放射能)

日	取込期間(日)						排泄期間(日)			
	0.17	1	3	7	14	28	1	3	7	14
BCF	65	299	452	864	666	586	—	—	—	—
	80	433	855	722	614	551	—	—	—	—

BCF_{ss}(親化合物)

日	取込期間(日)						排泄期間(日)			
	0.17	1	3	7	14	28	1	3	7	14
BCF	2.4	5.7	13.6	28.5	7.3	10.5	—	—	—	—
	—	3.9	8.6	10.1	16.6	6.6	—	—	—	—

総放射能の最高濃縮倍率(BCF)は864倍(7日目)で、7日目以降は平衡に達した。親化合物の濃縮倍率は最高でも28.5(7日目)と低かった。また、定常状態における生体濃縮係数(BCF_{ss})は、13.3(7、14、28日目の平均値)*であった。

*: 申請者が算出

(4) 体内分布

28日目における各組織の¹⁴C基準の濃縮倍率は血液が最小で10~15倍、胆嚢が最大で58600~102000倍、主な可食部である筋肉は22~103倍と低かった。魚体内の¹⁴C分布割合は、胆嚢に53~79%、胃腸管(内容物を含む)に約12%、肝脾臓に1.8~3.0%と、多くは代謝・排泄器官に偏在した。また、胆汁中にはテブフェンピラドは検出されず、約84%はβ-グルクロン酸抱合体であった。

(5) 魚体中代謝物の同定定量

28日目の魚体中全¹⁴C量の多くは胆嚢に分布し(53~79%)、放射能濃度がたかかったので、最初に胆汁中の代謝物の分析を詳細に実施した。その後、肝脾臓、胃腸管及び魚体の各抽出物について分析した。

胆汁中全¹⁴C量に対する代謝産物の割合(%)

28日目		遊離型代謝物	硫酸抱合体	β-グルクロン酸抱合体
¹⁴ C標識	LC条件A	0.83	6.5	84.1
テブフェンピラド	LC条件B	1.62	8.0	83.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

コイにおける主代謝経路としては *ter*-ブチル基の水酸化 (M-OH)、その後のカルボキシル化 (M-CA)、及びそれらの β -グルクロン酸抱合体化、硫酸抱合体化、M-CA の水酸化及びその β -グルクロン酸抱合体化であった。これら抱合体化を受ける前の代謝物は全てラットにおける代謝経路において認められており、安全性の有用な知見となった。

その他、基本骨格の開裂、即ち、アミド部分やベンジルアミン部分の開裂は、5 種のピラゾール部分の代謝物標品と一致するものはなく、可能性は少ないと考えられた。

結 論 : テブフェンピラドに対する濃縮試験を ^{14}C -標識化合物を用いて行い、吸収・分布・代謝及び排泄性を検討し、テブフェンピラドは魚体内で容易に代謝を受け、主に胆汁を経て速やかに体内に排泄されるため、魚類への濃縮性は問題ないものと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

〈代謝・分解のまとめ〉

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

テブフェンピラドの動植物および土壌における代謝分解経路

代謝物一覧表

テブフェンピラド および 代謝分解物	記号	動物(ラット)																					
		添加量に対する割合(%)			排泄量に対する割合(%)		投与量に対する割合(%)																
		非標識体			[ピラゾール- ¹⁴ C] テブフェンピラド																		
		肝臓 S-9			単回 10 mg/kg			単回経口投与 10 mg/kg						単回経口投与 50 mg/kg						反復経口投与 10 mg/kg			
					雄		雄		雌		雄		雌		雄		雌		雄		雌		
			糞	尿		糞	尿	胆汁	糞	尿	胆汁	糞	尿	胆汁	糞	尿	胆汁	糞	尿	糞	尿		
			1 hr	2 hr	4 hr	48 hr		72 hr	48 hr	72 hr	48 hr	72 hr		48 hr	72 hr		48 hr	72 hr					
テブフェンピラド	A	62.0	51.4	35.0	3.2	<0.2								<0.1			<0.1					<0.1	
<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> 代謝物 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: 80%;"> <p>その他</p> <p>非抽出物</p> <p style="text-align: center;">合計</p> </div> </div>																							

空欄: 検出されないかまたは測定しなかったもの

代謝物一覧表

テブフェンピラド および 代謝分解物	記号	植物																				
		残留濃度(μg eq./g) [残留総放射能に対する割合(%)]																				
		[ピラゾール- ¹⁴ C] テブフェンピラド								[ピラゾール- ¹⁴ C] テブフェンピラド												
		なす				なす				ひめりんご				ひめりんご								
		葉		果実		葉		果実		葉		果実		葉		果実						
経過日数				経過日数				経過日数				経過日数										
3日		7日		14日		28日		3日		14日		28日		7日		14日		28日		56日		
テブフェンピラド	A	5.58 [92.7]	6.08 [73.8]	3.17 [56.0]	1.59 [25.8]	0.77 [95.5]	0.125 [65.8]	0.078 [45.3]	12.7 [75.5]	6.65 [49.0]	3.55 [24.8]	1.55 [12.6]	2.61 [93.5]	2.38 [93.5]	1.72 [86.7]	1.32 [71.0]						
	B																					
	C																					
	D																					
	E																					
	F																					
	G																					
	H																					
	I																					
	J																					
	K																					
	L																					
	M																					
	N																					
	O																					
	P																					
	Q																					
	R																					
	S																					
	T																					
	U																					
	V																					
	W																					
	X																					
	Y																					
	Z																					
	AA																					
	AB																					
	AC																					
	AD																					
	AE																					
	AF																					
	AG																					
その他																						
非抽出物																						
合計																						

空欄:検出されないかまたは測定しなかったもの

代謝物一覧表

テブフェンピラド および 代謝分解物	記号	植物						土壌											
		残留濃度 (µg eq./g) [残留総放射能に対する割合(%)]						添加放射能に対する割合 (%)											
		ピラゾール環	フェニル環	ピラゾール環	フェニル環	ピラゾール環	フェニル環	[ピラゾール- ¹⁴ C] テブフェンピラド											
		りんご		ぶどう		レーズン		好気的条件											
		果実		果実		果実		火山灰軽埴土					沖積埴壤土						
		14日	14日	14日	14日	14日	14日	0日	3日	7日	14日	28日	56日	0日	3日	7日	14日	28日	56日
		ピラゾール環	フェニル環	ピラゾール環	フェニル環	ピラゾール環	フェニル環												
テブフェンピラド	A	0.18 [63.3]	0.17 [62.5]	0.21 [53.7]	0.23 [41.6]	1.05 [55.2]	0.99 [50.9]	97.3	83.2	71.2	52.8	35.3	18.7	94.7	80.6	74.4	58.0	52.4	40.2
	B																		
	C																		
	D																		
	E																		
	F																		
	G																		
	H																		
	I																		
	J																		
	K																		
	L																		
	M																		
	N																		
	O																		
	P																		
	Q																		
	R																		
	S																		
	T																		
	U																		
	V																		
	W																		
	X																		
	Y																		
	Z																		
	AA																		
	AB																		
	AC																		
	AD																		
	AE																		
	AF																		
	AG																		
その他																			
非抽出物																			
全量																			

空欄:検出されないかまたは測定しなかったもの

代謝物一覧表

テブフェンピラド および 代謝分解物	記号	土壌												水中光分解								
		添加放射エネルギーに対する割合(%)												添加放射エネルギーに対する割合(%)								
		[フェニル- ¹⁴ C] テブフェンピラド												[フェニル- ¹⁴ C] テブフェンピラド								
		好氣的条件						嫌氣的条件						自然水								
火山灰軽埴土						沖積埴壤土						火山灰軽埴土			沖積埴壤土			自然水				
		0日	3日	7日	14日	28日	56日	0日	3日	7日	14日	28日	56日	0日	14日	28日	0日	14日	28日	6日	遮光	
テブフェンピラド	A	90.7	84.7	77.0	66.2	49.2	28.2	94.3	82.7	75.0	65.9	42.7	38.3	90.7	86.8	90.1	94.3	92.5	86.5	93.4	95.6	
	B																					
	C																					
	D																					
	E																					
	F																					
	G																					
	H																					
	I																					
	J																					
	K																					
	L																					
	M																					
	N																					
	O																					
	P																					
	Q																					
	R																					
	S																					
	T																					
	U																					
	V																					
	W																					
	X																					
	Y																					
	Z																					
	AA																					
	AB																					
	AC																					
	AD																					
	AE																					
	AF																					
	AG																					
	その他																					
	非抽出物																					
	合計																					

空欄:検出されないかまたは測定しなかったもの

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

〔附〕

テブエンピラドの開発年表