

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. 原体混在物及び代謝物

原体中の混在物、動物及び植物中における主要代謝物の毒性を検索するため、表1に示した代謝物の (F)、 (D) 及び (G) についてラットの急性経口毒性試験及び復帰変異試験、代謝物 (K) 及び (O) についてラットの急性経口毒性試験を実施した。また、主要な毒性試験に用いた原体に含有される混在物の申請者による分析結果を表2に示した。

表1. 検体一覧表

記号・略号	化学名	構造式	由来
代謝物 (F)			原体混在物 動物・ 植物・ 土壌代謝物
代謝物 (D)			原体混在物 動物・ 植物・ 土壌・ 魚代謝物
代謝物 (G)			土壌代謝物
代謝物 (K)			動物・ 植物・ 土壌代謝物
代謝物 (O)			水中光分解物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 2. 毒性試験用原体の分析結果 (申請者実施)

: ロット番号 のクロルフェナピル原体を用いた主要な毒性試験は以下の通りである。

イヌの12カ月間慢性経口毒性試験 (T-23)
ラットの24カ月間慢性発癌性経口毒性試験 (T-24)
マウスの発癌性経口試験 (T-25)
ラットの12カ月間神経毒性試験 (T-26)
ラットの2世代繁殖試験 (T-28)
ラットの繁殖検討試験 (T-29)
ラットの催奇形性試験 (T-30)
ウサギの催奇形性試験 (T-31)

申請者注 : 個別抄録中の「検体の純度」について
個々の抄録の「検体の純度」の項には、それら個々の試験で実施された検体の安定性分析の初期値を掲載した。従って、試験により若干異なった数値が記載されている。

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。

(1) 急性経口毒性

1) 代謝物 (F) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-40)

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時7～9週齢(体重 雄151～186g、雌137～180g)

試験期間： 14日間観察

試験方法： 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前日に一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	7.8、15.6、23.4、31.25 62.5、125、250	
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	27.0 (算出不能)	29.4 (算出不能)
死亡開始時間 死亡終了時間	投与後0～2時間 投与後8～24時間	
症状発現時間 症状消失時間	投与後1～2時間 *	投与後1～2時間 投与後8～24時間
最大無作用量 (mg/kg)	23.4	
死亡例の見られなかった 最高投与量(mg/kg)	23.4	

*申請者注：症状が発現したすべての動物が死亡した為、正確な雄の消失時間は不明である。

中毒症状として、雌雄に関係なく虚脱状態(多数例で後肢の伸展を伴う)が見られた。更に、雄で精巣突出、雌で活動性増加及び苦悶状態が見られた。

体重変化について、生存例には、検体投与による影響はなかった。剖検所見では、死亡例に肝臓の暗調化ないし斑状化、筋肉の線紋化、強直及び流涎が見られた。生存例には検体投与に起因する変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 代謝物 (D) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-41)

検体の純度:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時7~9週齢(体重 雄166~177g、雌146~165g)

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前日に一晚絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。
死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	>5000 —	
死亡開始時間	投与後 4日	投与後 6日
死亡終了時間	投与後 5日	投与後 7日
症状発現時間	投与後 4~8時間	(中毒症状なし)
症状消失時間	投与後 24時間	

中毒症状としては、雄で活動性低下が見られた。
体重変化について、生存例には、検体投与による影響はなかった。
剖検所見では、死亡例及び生存例ともに肉眼病変は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) 代謝物 (G) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-42)

検体の純度:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時7~9週齢(体重 雄210~232g、雌156~216g)

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前日に一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。

死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	5000	1250、2500、 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	>5000	2500
95%信頼限界	—	1581~3954
死亡開始時間	投与後 3日	投与後 8~24時間
死亡終了時間	投与後 4日	投与後 6日
症状発現時間	投与後 1~2時間	投与後 1~2時間
症状消失時間	投与後 1日	投与後 2日
最大無作用量 (mg/kg)	—	1250
死亡例の見られなかった 最高投与量(mg/kg)	—	1250

中毒症状として5000mg/kg群の雌雄で下痢が見られた。更に、雌で活動性低下、頻尿及び眼瞼下垂が見られた。

2500、1250mg/kg群では、中毒症状は見られなかった。体重変化について、生存例には、検体投与による影響はなかった。剖検所見では、死亡例に脾臓の暗調化、胃の拡張、胃の検体貯留及びガス充満が見られた。生存例には検体投与に起因する変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) 代謝物 (K) のラットにおける急性経口毒性試験 (資料T-43)

検体の純度:

試験動物: SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時7~9週齢(体重 雄191~254g、雌150~210g)

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前日に一晚絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目: 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7、14日及び死亡発見時に測定した。

試験結果:

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	312.5、625、1250、 2500、5000	625、1250、2500、 5000
LD ₅₀ (mg/kg)	776	1367
95%信頼限界	448~1329	755~2364
死亡開始時間	投与後1~2時間	投与後1~2時間
死亡終了時間	投与後8日	投与後6日
症状発現時間	投与後0~1時間	投与後0~1時間
症状消失時間	投与後10日	投与後8日
最大無作用量 (mg/kg)	312.5	625
死亡例の見られなかった 最高投与量(mg/kg)	312.5	625

中毒症状として、雌雄に関係なく流涎、呼吸困難、活動性低下及び高体温が見られた。更に、雄で血様流涎、鼻周囲の褐色物、脱水状態及び尿中赤色物、雌で眼瞼下垂、頻尿及び虚脱状態が少数例で見られた。

体重変化について、生存例には検体投与による影響はなかった。剖検所見では、死亡例に検体投与に起因する変化として肝臓及び脾臓の退色巣、脾臓の変色が見られた。肝臓及び脾臓の退色巣は、病理組織学的には肝細胞壊死、梗塞であった。また、脾臓の変色部は慢性出血であった。生存例には検体投与に起因する変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5)

(0) のラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-49)

検体の純度：

試験動物： SD系ラット、1群雌雄各5匹、投与時8~11週齢

試験期間： 14日間観察

試験方法： 検体を0.5%CMC水溶液に懸濁し、投与前日に一晚絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目： 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7、14日及び死亡発見時に測定した。

試験結果：

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	78.125、156.25、 312.5	78.125、156.25、 312.5、625
LD ₅₀ (mg/kg) 95%信頼限界	110 (算定不能)	101 82~126
死亡開始時間 死亡終了時間	投与後2~4時間 投与後3日	
症状発現時間 症状消失時間	投与後2~4時間 投与後3日	
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/kg)	78.125	—

中毒症状として、活動性低下、虚脱及び流涎が見られた。

体重変化について、生存例には検体投与による影響はなかった。

剖検所見では、死亡例では検体投与に起因する変化として短縮した腹筋が見られたが、生存例には検体投与に起因する変化は見られなかった。投与後24時間以降に死亡し、短縮した腹筋を呈した個体を対象に病理組織学的検査を行ったが、腹筋は組織学的には正常であった。

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。

(2) 遺伝子突然変異原性

1) 代謝物 (F) の細菌を用いた復帰変異試験

(資料T-44)

検体の純度：

試験方法： ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537及びTA1538株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*⁻株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下及び非存在下でAmesらの方法を用いて変異原性を検定した。
検体はDMSOに溶解した。

従って、本試験の濃度をサルモネラ菌株では0.05～5 μ g/プレート、大腸菌株では10～250 μ g/プレートの範囲で5用量とした。試験は3プレート/用量とし、2回(1回目及び2回目試験)行った。

試験結果： 結果を次表に示した。

2回の試験において検体はS-9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いたN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン、9-アミノアクリジン塩酸塩、2-ニトロフルオリン及び2-アミノアントラセンでは各々の検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

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。

1回目試験 (表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98
対照 (DMSO)	—	—					
検体	0.05	—					
	0.10	—					
	0.25	—					
	0.50	—					
	1.0	—					
	5.0	—					
対照 (DMSO)	—	+					
検体	0.05	+					
	0.10	+					
	0.25	+					
	0.50	+					
	1.0	+					
	5.0	+					
陽性 対照	MNNG	10	—				
	9AA	50	—				
	2NF	20	—				
	2AA	2.5	+				

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

: 軽度の抗菌性

: 高度の抗菌性

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回目試験 (表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)	—	—						
検体	0.05	—						
	0.10	—						
	0.25	—						
	0.50	—						
	1.0	—						
	5.0	—						
対照 (DMSO)	—	+						
検体	0.05	+						
	0.10	+						
	0.25	+						
	0.50	+						
	1.0	+						
	5.0	+						
陽性 対照	MNNG	10	—					
	9AA	50	—					
	2NF	20	—					
	2AA	2.5	+					

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

: 軽度の抗菌性

: 高度の抗菌性

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。

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート	
			塩基対置換型：大腸菌 WP2 <i>uvrA</i> ⁻ 株	
			1回目試験	2回目試験
対照(DMSO)	—	—		
検体	10	—		
	25	—		
	50	—		
	100	—		
	250	—		
対照(DMSO)	—	+		
検体	10	+		
	25	+		
	50	+		
	100	+		
	250	+		
陽性 対照	MNNG	10	—	
	2AA	10	+	

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン
 2AA : 2-アミノアントラセン
 P : プレート上に結晶析出

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) 代謝物 (F) の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 T-47)

試験目的 : 先に実施された試験 (資料 T-44) の TA100 株において、dose-response を伴った変異コロニー数の増加が認められていることから、0.5~5 μ g/plate の範囲で用量を細かく設定して復帰変異誘発性の有無を確認するよう食品安全委員会から指示された。この指示に従い本試験が実施された。

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* TA100 株を用い、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法 (プレート法)、ならびに Yahagi らの方法及び Matsushima らの方法 (プレインキュベーション法) を用いて変異原性を検定した。検体は DMSO に溶解した。試験は 3 反復とした。各試験の用量範囲を以下に示す。
プレート法 ; (S-9 mix 非存在下及び存在下とも) 0、0.3125、0.625、1.25、2.5、5.0、10.0 μ g/プレート
プレインキュベーション法 ;
S-9 mix 非存在下 ; 0、0.15625、0.3125、0.625、1.25、2.5、5.0 μ g/プレート
S-9 mix 存在下 ; 0、0.625、1.25、2.5、5.0、10.0、20.0 μ g/プレート

試験結果 : 結果を次表に示した。
プレート法及びプレインキュベーション法ともに、検体は S-9 mix の有無にかかわらず、TA100 株の復帰変異コロニー数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いた 2AA 及び MNNG では、明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化系の存在下、非存在下にかかわらず本試験条件下で復帰変異誘発性を有しないと判断された。

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。

プレート法

薬 剤	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	TA100 株 (復帰変異コロニー数/プレート)			
		S-9 mix 非存在下		S-9 mix 存在下	
		実測値	平均値	実測値	平均値
対照 (DMSO)	—				
検 体	0.3125				
	0.625				
	1.25				
	2.5				
	5.0				
	10.0				
MMNG	5.0				
2-AA	2.5				

* ; Background lawn の減少
 MNNG ; N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
 2-AA ; 2-aminoanthracene

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。

プレインキュベーション法

薬 剤	濃度 (μg /プレート)	TA100 株 (復帰変異コロニー数/プレート)			
		S-9 mix 非存在下		S-9 mix 存在下	
		実測値	平均値	実測値	平均値
対照 (DMSO)	—				
検 体	0.15625				
	0.3125				
	0.625				
	1.25				
	2.5				
	5.0				
	10.0				
	20.0				
MMNG	5.0				
2-AA	2.5				

* ; Background lawn の減少
 MNNG ; N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
 2-AA ; 2-aminoanthracene

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) 代謝物 (D) の細菌を用いた復帰変異試験 (資料T-45)

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537及びTA1538株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。
検体はDMSOに溶解した。

従って、本試験のサルモネラ菌株及び大腸菌株の用量を S-9 Mix の存在下では25~1000 μ g /プレート の範囲で6用量とし、S-9 Mix の非存在下では5~250 μ g /プレート の範囲で6用量とした。試験は3プレート /用量とし、2回 (1回目及び2回目試験) 行った。

試験結果 : 結果を次表に示した。
2回の試験において検体はS-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いたN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトログアニジン、9-アミノアクリジン塩酸塩、2-ニトロフルビン及び2-アミノアントラセン では各々の検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

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。

1回目試験（表中の数値は3プレートの平均値）

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	
対照(DMSO)	—	—						
検体	5	—						
	10	—						
	25	—						
	50	—						
	100	—						
	250	—						
対照(DMSO)	—	+						
検体	25	+						
	50	+						
	100	+						
	250	+						
	500	+						
	1000	+						
陽性 対照	MNNG	10	—					
	9AA	50	—					
	2NF	20	—					
	2AA	2.5	+					

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

P : プレート上に結晶析出

NE : プレート上に結晶析出の為、復帰変異コロニー数を検査せず

d : プレート上に少量の微小な結晶析出

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回目試験 (表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)	—	—						
検体	5	—						
	10	—						
	25	—						
	50	—						
	100	—						
	250	—						
対照 (DMSO)	—	+						
検体	25	+						
	50	+						
	100	+						
	250	+						
	500	+						
	1000	+						
陽性 対照	MNNG	10	—					
	9AA	50	—					
	2NF	20	—					
	2AA	2.5	+					

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

P : プレート上に結晶析出

NE : プレート上に結晶析出の為、復帰変異コロニー数を検査せず

d : プレート上に少量の微小な結晶析出

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。

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート	
			塩基対置換型：大腸菌 WP2 <i>uvrA</i> ⁻ 株	
			1回目試験	2回目試験
対照 (DMSO)	—	—		
検体	5	—		
	10	—		
	25	—		
	50	—		
	100	—		
	250	—		
対照 (DMSO)	—	+		
検体	25	+		
	50	+		
	100	+		
	250	+		
	500	+		
	1000	+		
陽性 対照	MNNG	10	—	
	2AA	10	+	

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2AA : 2-アミノアントラセン

P : プレート上に結晶析出

NE : プレート上に結晶析出の為、復帰変異コロニー数を検査せず

d : プレート上に少量の微小な結晶析出

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。

4) 代謝物 (G) の細菌を用いた復帰変異試験 (資料 T-46)

検体の純度 :

試験方法 : ヒスチジン要求性サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*(TA98、TA100、TA1535、TA1537及びTA1538株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA*⁻株を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix)の存在下及び非存在下でAmesらの方法を用いて変異原性を検定した。
検体はDMSOに溶解した。

従って、本試験のサルモネラ菌株の用量をS-9 Mixの存在下では100~2500 μ g/プレート⁵の範囲で5用量とし、S-9 Mixの非存在下では50~1000 μ g/プレート⁵の範囲で5用量とした。大腸菌では250~5000 μ g/プレート⁵の範囲で5用量とした。試験は3プレート/用量とし、2回(1回目及び2回目試験)行った。

試験結果 : 結果を次表(次頁以降)に示した。
2回の試験において検体はS-9 Mixの有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。
一方、陽性対照として用いたN-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、9-アシアクリジン塩酸塩、2-ニトロフルオリ及び2-アミノアントラセンでは各々の検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

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。

1回目試験 (表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基対置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)	—	—						
検体	50	—						
	100	—						
	250	—						
	500	—						
	1000	—						
対照 (DMSO)	—	+						
検体	100	+						
	250	+						
	500	+						
	1000	+						
	2500	+						
陽性 対照	MNNG	10	—					
	9AA	50	—					
	2NF	20	—					
	2AA	2.5	+					

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

: 軽度の抗菌性

: 高度の抗菌性

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回目試験 (表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート					
			塩基置換型		フレームシフト型			
			TA100	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	
対照 (DMSO)	—	—						
検体	50	—						
	100	—						
	250	—						
	500	—						
	1000	—						
対照 (DMSO)	—	+						
検体	100	+						
	250	+						
	500	+						
	1000	+						
	2500	+						
陽性 対照	MNNG	10	—					
	9AA	50	—					
	2NF	20	—					
	2AA	2.5	+					

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

9AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩

2NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

: 軽度の抗菌性

: 高度の抗菌性

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。

(表中の数値は3プレートの平均値)

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/$ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート	
			塩基対置換型：大腸菌 WP2 <i>uvrA</i> ⁻ 株	
			1回目試験	2回目試験
対照 (DMSO)	—	—		
検体	250	—		
	500	—		
	1000	—		
	2500	—		
	5000	—		
対照 (DMSO)	—	+		
検体	250	+		
	500	+		
	1000	+		
	2500	+		
	5000	+		
陽性 対照	MNNG	10	—	
	2AA	10	+	

MNNG : N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン

2AA : 2-アミノアントラセン

: 高度の抗菌性

P : プレート上に結晶析出

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。

3. 製剤

1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料T-5)

検体の純度 : 10%フロアブル

試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時7~8週齢(体重 雄171~204g、雌128~185g)

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 検体をそのまま一晩絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。

試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	625, 1250, 2500, 5000	
LD ₅₀ (mg/kg)	2293	2333
95%信頼限界	1226~4289	1505~3616
死亡開始時間	投与後2~4時間	投与後2~4時間
死亡終了時間	投与後 2日	投与後 1日
症状発現時間	投与後2~4時間	
症状消失時間	投与後 1日	
死亡例の見られなかった 最高投与量(mg/kg)	625	

一般状態の変化として、雌雄に関係なく活動性低下、流涎、体温上昇及び虚脱状態が見られた。

体重変化について、生存例では、雌雄とも検体投与による影響は見られなかった。

肉眼所見では、死亡例に肝臓の暗調化、肺の暗調化及び斑状化、胃及び腸管内の検体の貯留、腹壁の著しい線紋化、血管の拡張及びうっ血、ならびに流涎、テタニーが見られた。生存例には検体投与に起因する変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) マウスにおける急性経口毒性試験

(資料T-6)

検体の純度 : 10%フロアブル

試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時5~6週齢(体重 雄26.3~32.3g、雌21.9~25.2g)

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : 検体を蒸留水にて懸濁し、投与前4時間絶食させた動物に強制経口投与した。

試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。

試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	250, 563, 1000	
LD ₅₀ (mg/kg)	288	492
95%信頼限界	(算出不能)	(算出不能)
死亡開始時間	投与後0~2時間	投与後0~2時間
死亡終了時間	投与後8~24時間	投与後2~8時間
症状発現時間	(症状発現なし)	投与後0~2時間
症状消失時間		*
死亡例の見られなかった 最高投与量(mg/kg)	_____	250

* 症状がみられた1例は死亡した。

一般状態の変化としては、563mg/kg群の雌1例に活動性低下、呼吸困難及び筋緊張が見られ、投与後2時間迄に死亡した。生存例では、一般状態の変化は見られなかった。

体重変化について、雄の生存例の体重増加量は全体的に減少したが、雌では検体投与による影響は見られなかった。

肉眼所見では、死亡例に脾臓の退色、胃の検体の貯留、精巢の血管の拡張及びうっ血、腹部及び胸部における著しい筋肉の線紋化が見られた。更に死亡例では、筋緊張も見られた。生存例では、検体投与に起因すると考えられる変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料T-7)

検体の純度 : 10%フロアブル

- 試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時7~8週齢 (体重 雄282~299g、雌224~254g)
- 試験期間 : 14日間観察
- 試験方法 : 刈毛した背部皮膚に検体を24時間閉鎖貼布した。貼布除去後、皮膚に付着した被験物質を清拭し除去した。
- 試験項目 : 中毒症状及び生死を14日間観察した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。また、体重を投与当日(0日)、投与後7及び14日に測定した。
- 試験結果 :

	雄	雌
投与量 (mg/kg)	2000	
LD ₅₀ (mg/kg)	>2000	
死亡開始時間 死亡終了時間	(死亡例なし)	
症状発現時間 症状消失時間	投与後 4日* (投与後14日まで発現)	投与後 1時間 (投与後14日まで発現)
最大無作用量 (mg/kg)	2000	

* : 血様流涙が見られた日。

一般状態の変化として、雌雄に関係なく投与部位の青色着色が見られた。更に、雄で血様流涙、雌で鼻周囲の褐色物が見られ、これらの変化は投与後14日迄観察された。
体重変化について、生存例の体重増加量は、わずかに減少した。
肉眼所見についても、雌雄とも主要な組織器官に特記すべき変化は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ラットにおける急性吸入毒性試験

(資料T-9)

検体の純度 : 10%フロアブル

試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
投与時8~9週齢(体重 雄263~300g、雌218~238g)

試験期間 : 14日間観察

試験方法 : スプレーアトマイザーを使用して検体のエアロゾル(ミスト)を発生させ、4時間全身暴露させた。
2.0mg/Lは発生可能な最高のエアロゾル濃度であった。
尚、対照群には空気のみを通気した。

設定濃度(名目濃度) ; 0、91mg/L

実際濃度 ; 0、2.0mg/L

暴露空気をガラスファイバーフィルターで捕集し、重量測定法及びHPLC分析法(HPLCにより有効成分を定量後、検体中の有効成分分析値に基づき検体の実際濃度を算定する方法)により実際濃度を求めた。

暴露条件 ;

設定濃度 (mg/L)	91	
実際濃度 (mg/L)	2.0	
粒子径分布 ¹⁾ (%, 累積)	≤ 1.0 μm	0.73
	≤ 4.0 μm	45
	≤ 10 μm	92
空気力学的質量中位径 (μm)	43	
呼吸可能な粒子 (≤10 μm) の割合 (%) ²⁾	92	
チャンバー容積 (L)	100	
チャンバー内通気量 (L/分)	20	
暴露条件	ミスト 4時間 全身暴露	

¹⁾ : カスケードインパクターにより4回測定。

²⁾ : 米国環境保護庁の標準評価手順書によれば10 μm以下の粒子は気道部(気管・気管支)及び肺胞部へ沈着可能と考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

試験項目： 中毒症状及び生死を暴露中（暴露日を0日とする）及び暴露後14日間観察した。体重を暴露前日、暴露開始直前、暴露後7日及び14日に測定した。試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

試験結果：

	雄	雌
実際濃度 (mg/L)	0、 2.0	
LC ₅₀ (mg/L)	> 2.0	
95%信頼限界	(-)	
死亡開始時間 死亡終了時間	(死亡例なし)	
症状発現時間 症状消失時間	暴露開始 4時間 暴露終了後2時間	
死亡例の見られなかった 最高投与量 (mg/L)	2.0	

中毒症状として、暴露中及び暴露直後に、雌雄に関係なく努力呼吸及び鼻汁が見られた。暴露中及び暴露後14日間の観察期間を通じて死亡動物はなかった。

体重変化について、体重増加量は全群でほぼ同等であった。

解剖所見として、検体投与群の雌1例に脱毛が見られたが、検体の暴露に関連した変化とは考えられなかった。他に異常は見られなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5) ウサギにおける皮膚一次刺激性試験

(資料T-15)

検体の純度 : 10%フロアブル

- 試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、雄6匹、10~13週齢
試験期間 : 3日間観察
試験方法 : 検体0.5mLを1インチ四方(約6.5cm²)のガーゼパッチに塗布し、刈毛した動物の背部皮膚に閉鎖貼布した。
塗布時間は4時間とし、皮膚に残った被験物質はガーゼ及び水道水で除去した。
観察項目 : 塗布終了後1、24、48及び72時間に塗布部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無を観察し、Draize法に従って採点した。
試験結果 : 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

項目		最高 評点	投与後時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
検体群 (6匹平均)	紅斑及び痂皮	4	0.3	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
	合計点	8	0.3	0	0	0

観察期間中に明らかな毒性症状は見られなかった。
投与後1時間に軽度の紅斑が観察されたが、投与後24時間には消失した。

以上の結果から、クロルフェナピル10%フロアブルのウサギの皮膚に対する刺激性はないと判断される。

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。

6) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料 T-12)

検体の純度 : 10%フロアブル

試験動物 : ニュージーランドホワイト種ウサギ、雄6匹、10~13週齢
試験期間 : 3日間観察
試験方法 : 0.1mLの検体を左眼の下部眼瞼結膜の内へ投与した。
観察項目 : 投与後1、24、48及び72時間に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。また、紫外線及びフルオレセインを用いて角膜損傷の有無を精査した。
試験結果 : 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

投与群	部位	判定項目	最高 評点	投 与 後 時 間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (6匹平均)	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	1.0	0.3	0	0
		浮腫	4	0.2	0	0	0
		分泌物	3	0.3	0	0	0
	合計点*			110	3.0	0.7	0

*: 申請者が算出

角膜及び虹彩の刺激性変化は見られなかった。
軽度の結膜発赤、浮腫及び分泌物が投与後1時間より見られたが、浮腫及び分泌物は投与後24時間、発赤は投与後48時間に消失した。

以上の結果から、クロルフェナピル10%フロアブルはウサギの眼粘膜に対して軽度の刺激性(米国EPAの基準)を示すと判断される。

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。

7) ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

(資料T-13)

検体の純度 : 10%フロアブルの2000倍水希釈液

試験動物 : 日本白色種ウサギ、雄6匹、11週齢(体重 2.1~2.5 kg)

試験期間 : 3日間観察

試験方法 : 検体を精製水で2000倍に希釈した液0.1mLを片目の下部眼
瞼結膜の内へ投与した。

観察項目 : 投与後1、24、48及び72時間に角膜、虹彩及び結膜の刺
激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。また、フルオ
レセイン及び紫外線を用いて角膜損傷の有無を精査した。

試験結果 : 観察された刺激性変化の採点を次表に示す。

投与群	部位	判定項目	最高 評点	投 与 後 時 間			
				1時間	24時間	48時間	72時間
非洗眼群 (6匹平均)	角膜	混濁の程度	4	0	0	0	0
		混濁部の面積	4	0	0	0	0
	虹彩		2	0	0	0	0
	結膜	発赤	3	0	0	0	0
		浮腫	4	0	0	0	0
		分泌物	3	0	0	0	0

角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化はいずれの観察時間においても見られなかった。

以上の結果から、クロルフェナピル10%フロアブルの2000倍水希釈液のウサギの眼粘膜に対する刺激性はないと判断される。

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。

8)モルモットにおける皮膚感作性試験

(資料T-18)

検体の純度 : 10%フロアブル

試験動物 : ハートレー系モルモット、1群雄10匹又は5匹
6週齢 (体重 330~435g)

試験期間 : 誘発暴露終了後48時間

試験方法 : Buehler 法

投与液濃度及びその設定根拠 ;

従って、次の投与液濃度が設定さ

れた。

感作-塗布 : 原液

誘発-塗布 : 原液

また、DNCBの投与液は、背景データにより感作時には0.1%液
(溶媒:エタノール)、誘発時には0.05%液(溶媒:アセトン)
とした。

感作 ; 検体群及び陽性対照物質群では刈毛した左腹側部に、検体液又は
DNCB液を6時間閉鎖貼付した(第1回感作暴露)。第1回感作暴
露終了後7及び14日に第2回及び第3回の感作暴露を同様に行
った。

誘発 ; 第3回感作暴露終了後14日に刈毛した右腹側部に、検体群及び
その対照群では検体液を6時間閉鎖貼付した。同様に陽性対照物
質群及びその対照群ではDNCB液を閉鎖貼付した。

観察項目 : 誘発暴露終了後24及び48時間に適用部位の紅斑及び浮腫の有
無を観察した。

誘発後の反応の評価;検体群における誘発後の平均評点が検体に対する対照群の
平均評点を上回り、しかも検体群の動物の半数以上が評点1以上
の反応を示した場合、陽性と判定した。

試験結果 : 観察された適用部位の変化を次表(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。

(10%フロアブルのBuehler法による皮膚感作性の結果表)

群	供試動物数	試験物質		誘発終了後の観察時間	感作反応動物数					平均評点	判定
					皮膚反応評点*						
		感作時	誘発時		0	0.5	1	2	3		
検体群	10	検体原液	検体原液	24時間	9	1	0	0	0	0.05	陰性
				48時間	10	0	0	0	0	0	
検体対照群	10	—	検体原液	24時間	8	2	0	0	0	0.1	
				48時間	10	0	0	0	0	0	
陽性対照物質群	10	DNCB 0.1%	DNCB 0.05%	24時間	0	0	1	8	1	2.0	陽性
				48時間	0	0	1	9	0	1.9	
陽性対照物質対照群	5	—	DNCB 0.05 %	24時間	4	1	0	0	0	0.1	
				48時間	5	0	0	0	0	0	

*皮膚反応評点 (Buehler 法の基準を一部修正した基準)

0 : 紅斑なし、0.5 : ごく軽度の紅斑 (通常、非融合性)

1 : 軽度の紅斑、2 : 中程度の紅斑

3 : 高度の紅斑 (浮腫を伴うか、伴わない)

試験期間を通じて、検体群及びその対照群ともに、いずれの動物にも明らかな一般状態の変化は見られなかった。

検体に対する皮膚反応 : 感作暴露では、いずれの試験動物にも皮膚反応は見られなかった。誘発暴露では、誘発後24時間に皮膚反応 (評点0.5) が見られたが、48時間にはいずれの試験動物にも皮膚反応は見られなかった。また、対照群では、誘発後24時間に皮膚反応 (評点0.5) が見られたが、48時間後にはいずれの試験動物にも皮膚反応は見られなかった。

陽性対照 (DNCB) に対する皮膚反応 : 第1回目感作後の観察では、一部の動物に軽度 (評点1) の皮膚反応が見られた。第2及び第3回目感作後の観察では、全ての動物に皮膚反応 (評点2又は3) が見られた。誘発暴露では、誘発後24時間に軽度から高度の皮膚反応が見られた。48時間後には軽度から中程度の皮膚反応が見られた。また、対照群では、誘発後24時間にごく軽度の皮膚反応が見られたが、48時間にはいずれの動物にも皮膚反応は見られなかった。

以上の結果から、クロルフェナピル10%フロアブルのBuehler法によるモルモットにおける皮膚感作性は陰性と判断される。

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。

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・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-1	動物体内における代謝	ラット肝 S-9 非標識体、 代謝物 F [t'-ポル環-2- ¹⁴ C] 標識体	<i>in vitro</i> 代謝	代謝 (3 時間) A 64.8% F K M N 主な代謝反応:		c-11
M-2		ラット雌雄 [t'-ポル環-2- ¹⁴ C] 標識体	単回経口 2 mg/kg	<u>血液中濃度推移</u> T _{max} ; ♂8 時間、♀8 時間 T _{1/2} ; ♂55.3 時間、♀57.3 時間 C _{max} ; ♂0.943 μg eq./mL ♀1.08 μg eq./mL AUC; ♂68.2 μg eq.·hr/mL ♀78.5 μg eq.·hr/mL <u>体内分布 (168 時間、単位: μg eq.·hr/g)</u> 血液; ♂0.123、♀0.136 肝; ♂0.194、♀0.199 腎; ♂0.083、♀0.076 副腎; ♂0.040、♀0.044 脂肪; ♂0.372、♀0.638 <u>排泄 (168 時間)</u> 尿; ♂15.5%、♀9.6% 糞; ♂74.8%、♀81.5% 体内残留; ♂4.2%、♀4.7% 呼吸: <0.1% (2 日) [呼吸は予備試験の結果] <u>胆汁排泄試験</u> <u>排泄 (24 時間)</u> 胆汁; ♂30.1%、♀24.1% 尿; ♂4.0%、♀4.8% 糞; ♂9.7%、♀2.3%		c-14
			単回経口 20 mg/kg	<u>血液中濃度推移</u> T _{max} ; ♂8 時間、♀12 時間 T _{1/2} ; ♂43.1 時間、♀54.4 時間 C _{max} ; ♂13.5 μg eq./mL ♀10.4 μg eq./mL AUC; ♂679 μg eq.·hr/mL ♀755 μg eq.·hr/mL <u>体内分布 (168 時間、単位: μg eq.·hr/g)</u> 血液; ♂0.71、♀0.72 肝; ♂1.06、♀1.03 腎; ♂0.45、♀0.45 副腎; ♂0.18、♀0.21 脂肪; ♂0.64、♀2.02 <u>排泄 (168 時間)</u> 尿; ♂11.2%、♀8.1% 糞; ♂83.3%、♀84.8% 体内残留; ♂2.2%、♀2.5% <u>胆汁排泄試験</u> <u>排泄 (24 時間)</u> 胆汁; ♂17.4%、♀19.9% 尿; ♂5.5%、♀4.4% 糞; ♂18.8%、♀10.8%		

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。

資料 No.	試験 の 種類	供試 動植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-3	動物体内における代謝	ラット雌雄 [t- ¹⁴ C- <u>環</u> -2- ¹⁴ C] 標識体	単回経口 2 mg/kg	<u>代謝 (72 時間)</u> 尿 ; I J K L 糞 ; A (♂17.0%、♀23.1%) B D F K L <u>吸収率 (72 時間)</u> ♂ 83.0%、♀ 76.9% (投与量(100%)－糞中未変化体排泄率) <u>胆汁排泄試験</u> <u>代謝 (24 時間)</u> 胆汁 ; B K L J 糞 ; A (♂8.9%、♀2.1%) D F K 主な代謝反応 :		c-24
			単回経口 20 mg/kg 胆管 カニューレ 単回経口 20 mg/kg	<u>代謝 (72 時間)</u> 尿 ; I J K L 糞 ; A (♂35.2%、♀33.0%) B D F K L <u>吸収率 (72 時間)</u> ♂ 64.8%、♀ 67.0% (投与量(100%)－糞中未変化体排泄率) <u>胆汁排泄試験</u> <u>代謝 (24 時間)</u> 胆汁 ; B K L J 糞 ; A (♂17.5%、♀10.1%) D F K 主な代謝反応 :		

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・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
M-4		ラット雌雄 [t- ¹⁴ C]環標識体	胆管 カニユーレ 単回経口 2 mg/kg	排泄(48時間) 胆汁; ♂44.0%、♀37.4% 尿; ♂7.5%、♀7.1% 糞; ♂32.6%、♀15.1%		c-30
			胆管 カニユーレ 単回経口 20 mg/kg	排泄(48時間) 胆汁; ♂18.8%、♀25.8% 尿; ♂7.2%、♀5.5% 糞; ♂58.6%、♀31.7%		
M-9	動物体内における代謝	ラット雄 [t- ¹⁴ C]環標識体	7日間 反復経口 2 mg/kg/日	体内分布(最終投与後168時間) 血液; 0.415 μg eq.·hr/g 肝; 1.16 μg eq.·hr/g 腎; 0.427 μg eq.·hr/g 副腎; 0.206 μg eq.·hr/g 脂肪; 2.05 μg eq.·hr/g 排泄(最終投与後168時間) 尿; 14.5% 糞; 78.9% 体内残留; 3.2% 代謝(最終投与後72時間) 尿; I J K L 糞; A 1.1% B D F K L 主な代謝反応:		c-32
M-10		マウス雌雄 [t- ¹⁴ C]環標識体	単回経口 2 mg/kg	血液中濃度推移 T _{max} ; ♂4時間、♀4時間 T _{1/2} ; ♂106時間、♀52.1時間 C _{max} ; ♂2.63 μg eq./mL ♀3.21 μg eq./mL AUC; ♂146 μg eq.·hr/mL ♀187 μg eq.·hr/mL		c-39
			単回経口 20 mg/kg	血液中濃度推移 T _{max} ; ♂8時間、♀12時間 T _{1/2} ; ♂76.6時間、♀73.7時間 C _{max} ; ♂13.5 μg eq./mL ♀18.8 μg eq./mL AUC; ♂732 μg eq.·hr/mL ♀1212 μg eq.·hr/mL		

注) 資料 M-9 は、残留農薬安全性評価委員会のコメント対応試験成績

資料 M-10 は、使用時安全性委員会のコメント対応試験成績

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・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
M-5	植物体内における代謝	ひめりんご [t - p - H 環- 2 - ^{14}C] 標識体	(a)果実塗布 0.48 μ g/実1個 (b)葉面塗布 0.37 μ g/cm ³	半減期 放射能量; (a)>100日、(b)3日 親化合物量; (a)>100日、(b)3日 親化合物濃度; (a) 20日、(b)3日 <u>(a) 果実中代謝物 (56日後)</u> A 1.48 μ g eq./g F <u>(b) 葉中代謝物 (56日後)</u> A 5.20 μ g eq./g F K 主代謝反応:		c-43
			揮散性	揮散率 葉面; 42%/4日、薄膜 0%/4日、 濾紙(水共存); 46%/7日、(乾燥); 22%/7日、 水溶液; 48%/2日		
M-6	植物体内における代謝	なす [t - p - H 環- 2 - ^{14}C] 標識体	(a)水耕法 0.21 μ g/mL (b)果実塗布法 6.3 μ g/実1個 (c)葉面塗布法 0.21 μ g/cm ²	吸収移行 (a) 根 70.2%、茎 0.3% 葉 <0.1% (c) 非処理部位 放射能量 0.2% (親化合物 <0.1%) 半減期 放射能量; (b)14日、(c)10日 親化合物量; (b)14日、(c)9日 親化合物濃度; (b)7日、(c)6日 <u>(b) 果実中代謝物 (28日後)</u> A 0.051 μ g eq./g F <u>(c) 葉中代謝物 (28日後)</u> A 0.781 μ g eq./g F 主代謝反応:		c-50
M-7			キャベツ [t - p - H 環- 2 - ^{14}C] 標識体	(a)土壌処理法 0.2ppm、 (b)結球塗布法 0.3 μ g/cm ²		

植物体内における代謝(M-5~7)において、フェニル環とピロール環の結合部分の開裂: なし

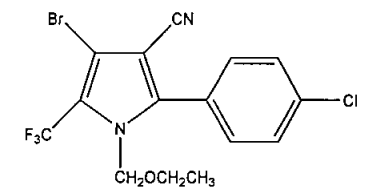
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
M・8	土壌における運命	畑地土壌 (茨城土壌、高知土壌) ①[ピロール環-2- ¹⁴ C] 標識体 ②[フェニル環-U- ¹⁴ C] 標識体	好氣的条件 0.5 mg/kg	クロルフェナピル濃度 半減期； ①250～260日、②230～260日 土壌中代謝物(①365日後、②240日後) A ①32.9～42.9%、②49.0～51.9% C D E F G H K 非抽出性放射能(①365日後、②240日後) ① 16.2～19.7%、②13.9～15.0% 二酸化炭素(①365日後、②240日後) ① 2.1～3.6%、②1.3～2.5%		c・64
		畑地土壌 (茨城土壌、高知土壌) [ピロール環-2- ¹⁴ C] 標識体	a)嫌氣的条件 b)滅菌条件 0.5 mg/kg	クロルフェナピル残存率(30日後) a) 87.8～90.3%、b) 93.8～94.8% 土壌中代謝物(30日後) A a) 87.8～90.3%、b) 93.8～94.8% D F K		
M・13	土壌表面における光分解	砂質ローム土 ①[ピロール環-2- ¹⁴ C] 標識体 ②[フェニル環-U- ¹⁴ C] 標識体	土壌表面 光分解	クロルフェナピルの28日後の残存率(%) ① 75.1、② 74.7 半減期 ① 82日、② 68日 土壌表面分解物(28日後) A ①75.1%、②74.7% F K 遮光区におけるクロルフェナピルの28日後の残存率(%) ① 95.4、② 98.8 分解物(28日後) F		c・75

土壌中における代謝(M-5～7)において、フェニル環とピロール環の結合部分の開裂：なし

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
PC-11	加水分解	緩衝液 (pH4, 7,9) 非標識体	50°C 0.05 mg/L	クロルフェナピル残存率 (7日後) pH4 83%、pH7 94%、pH9 82% 半減期 pH4 25日、pH7 >1年、pH9 29日		c-77
PC-10		緩衝液 (pH4, 9) 非標識体	25°C 0.05 mg/L	クロルフェナピル残存率 (28日後) pH4 104、pH9 101 半減期 pH4 >28日、pH9 >28日		c-78
PC-12	加水分解運命	緩衝液 (pH4, 7,9) ① [t ¹⁴ C-β-環-2- ¹⁴ C] 標識体 ② [フェニル環-U- ¹⁴ C] 標識体	25°C 0.07mg/L	クロルフェナピル残存率 (30日後) ① pH5 98.5%、pH7 98.8%、pH9 99.0% ② pH5 98.9%、pH7 99.2%、pH9 99.2% 半減期 : 30日以上		c-79
PC-13	水中光分解運命	純水、自然水 非標識体	0.05 mg/L	クロルフェナピル残存率 (16時間後) 純水 18%、河川水 45% 半減期 純水 7.0時間、河川水 14.6時間		c-80
M-11		緩衝液 (pH5, 7,9) [t ¹⁴ C-β-環-2- ¹⁴ C] 標識体 [フェニル環-U- ¹⁴ C] 標識体	0.065mg/L	半減期 ① pH5 5.4日、pH7 6.9日、pH9 4.8日 ② pH5 5.1日、pH7 8.1日、pH9 4.9日 太陽光換算 [DT50 _{sun} (日)] : pH5 12.6日、pH7 18.1日、pH9 11.6日 分解物 (30日後) A 1.3~2.3% O		c-81
M-12		自然水 [t ¹⁴ C-β-環-2- ¹⁴ C] 標識体	0.065mg/L	半減期 (DT50) および 90%減衰期 (DT90) DT50 2.3日、DT90 7.5日 太陽光換算 DT50 _{sun} 12.3日、DT90 _{sun} 40.9日 分解物 (8日後) A 7.8% B O		c-86
PC-9	土壌吸着	日本土壌 (高知土壌、茨城土壌、 長野土壌、石川土壌) 非標識体	25°C 0.0125、 0.025、 0.05mg/L	$K_{Foc}^{ads} = 2345 \sim 13087$ $K_F^{ads} = 101 \sim 224$		c-89
PC-14	生物濃縮性試験	ブルキマシフィッシュ (<i>Lepomis macrochirus</i>) [t ¹⁴ C-β-環-2- ¹⁴ C] 標識体 [フェニル環-U- ¹⁴ C] 標識体	21°C	BCF (クロルフェナピル濃度に基づく) : 66~74 クロルフェナピルは魚体中で代謝され、(D) が生成 排出期間の半減期 : 3~4日 排泄 21日目 : 総放射能の 90%以上が魚体から排泄		c-90

1. 抄録中で用いる代謝物の略名

記号	由来	名称 (略号)	化学名	構造式
A	親化合物	クロルフェナピル	4-ブromo-2-(4-クロロフェニル)- 1-(エトキシメチル)-5- トリフルオロメチルピロール- 3-カルボニトリル	
B	動物 水中 光分解			
C	土 壤			
D	動 物 植 物 土 壤			
E	土 壤			
F	動 物 植 物 土 壤 土壌表面光			
G	土 壤			
H	土 壤			

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。

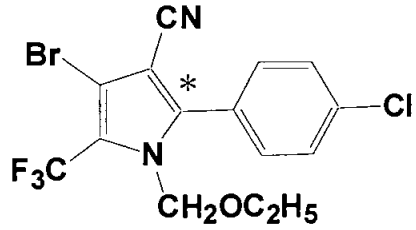
記号	由来	名称 (略号)	化学名	構造式
I	動物			
J	動物			
K	動物 植物 土壌 土壌 表面光			
L	動物			
M	動物			
N	動物			
O	水中 光分解			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2. 代謝・分解試験等に用いた標識化合物及びそれらの合成法

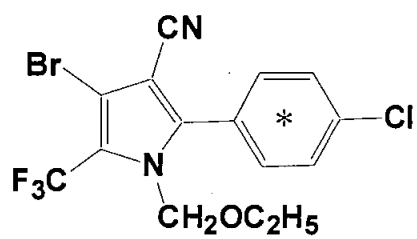
クロルフェナピル (コテツ®) の動物、植物及び土壌等における代謝・分解試験は、下記の方法で合成した標識化合物を用いて行った。

2.1 [ピロール環-2-¹⁴C] 標識化合物：ピロール環 2 位の炭素を ¹⁴C で標識した。



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。

2.2 [フェニル環- $2\text{-}^{14}\text{C}$] 標識化合物：フェニル環上の炭素を均一に ^{14}C 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。

3. 動物体内運命

1) ラット肝臓 S-9における *in vitro* 代謝試験

(資料 M-1)

供試標識化合物； [ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル、非標識クロルフェナピルおよび代謝物 (F)

供試動物：SD系雄ラット、7週令

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 (肝臓ホモジネートの 10500 x g 上清液) を用いた *in vitro* 代謝系による試験を行った。

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 産生系] に、非標識体添加系は非標識クロルフェナピルまたは代謝物 PY (F) を 0.5 mg、標識体添加系は非標識クロルフェナピル 0.5 mg と標識化合物 0.01 mg を加え、37°C で 1 および 3 時間インキュベーションして代謝させた。

2) 代謝物は抽出し、直接またはメチル化後、GC-MS 法による検索、HPLC 法により分取・精製を行い、GC-MS スペクトル測定して構造解析した。さらに、標識体添加系について HPLC によるコクロマトグラフ法 (co-HPLC 法) で代謝物を同定し、定量した。

結果：1) 代謝物の解析

クロルフェナピル添加系では GC-MS および HPLC 法で 5 種の代謝物を検出し、それらのうち、GC-MS 法および co-HPLC 法で (F) および (K) の 2 種が標品と一致し同定された。その他に (N) および (M) の 2 種は GC-MS 法で構造が推定された。代謝物 添加系では (K)、(N) および (M) の 3 種の代謝物の生成が確認できた。

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

クロルフェナピル および代謝物	記 号	代謝物量 (投与放射能に対する割合%)	
		1 時間	3 時間
抽出物		87.4	86.6
クロルフェナピル	A	71.4	64.8
	F		
	K		
	M		
	N		
その他			
抽出残留物		11.7	14.6
合 計		99.1	101.2

クロルフェナピルは経時的に減少し、3 時間後において 64.8% となった。代謝物の総量 (抽出残留物を含む) は 36.4% になり、主代謝物は (F) で % 生成した。その他の代謝物はいずれも % 以下であった。

結 論: クロルフェナピルは、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、4 種の代謝物に変換された。主代謝反応は による (F) の生成で、そのうち、 による (M) や (N) の生成反応、および による (K) の生成反応であった。なお、フェニル環とピロール環の結合部分の開裂はなかった。以上の結果から、ラット肝臓 S-9 における推定代謝経路は以下の通りとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) ラットにおける吸収・分布・排泄

(資料 M-2)

供試標識化合物： [ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

供 試 動 物：SD系ラット (6週令)、1群雌雄各4匹 (体重：雄 180 g, 雌 140 g)
方 法： 標識化合物を1% CMC-Na + 1% Tween80水溶液に懸濁して低用量区：2 mg/kg (何らの毒性兆候が認められない用量) 高用量区：20 mg/kg (急性毒性症状は認められるが死亡例の認められない用量) の用量で単回強制経口投与した。ラットは投与前夜 (投与前約16時間) から絶食し、投与8時間後から給餌を開始した。水は自由に摂取させた。

1) 吸収・排泄

- ①血中濃度：尾静脈から経時的に採血し、血液中の放射能濃度推移を測定した。
- ②尿・糞中排泄：自然排泄尿 (ケージ洗浄液を含む) および糞を投与 168時間後まで経時的に採取し、放射能排泄率を測定した。予備試験において、呼気中への排泄が投与48時間後まで全く認められなかったことから、呼気についての測定は実施しなかった。
- ③胆汁中排泄：胆管カニユーレを施したのち投与し、24時間後まで胆汁、尿および糞を採取して各々への放射能排泄率を測定した。

2) 組織内分布

投与後 1、8 (予備試験において最高血中濃度を示した時点)、および24時間目に各組織を摘出し、各々への放射能濃度分布、分布率を測定した。また、排泄試験終了時 (投与後 168時間) のラットについても同様の測定を行い、さらに組織摘出後の屍骸についても放射能残存率を測定した。

結 果：1) 吸収・排泄

①血液中濃度推移

血液中放射濃度推移の測定結果を下表に示す。

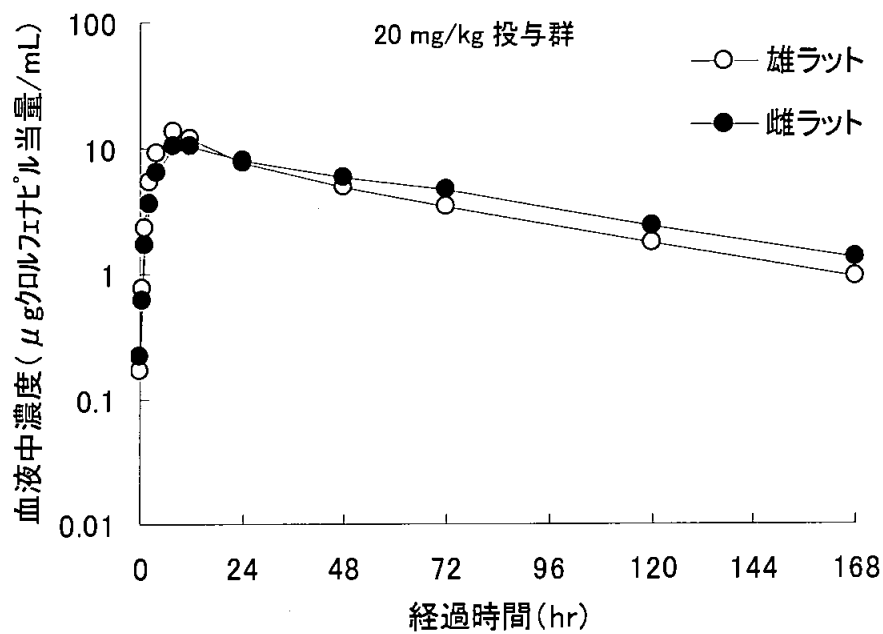
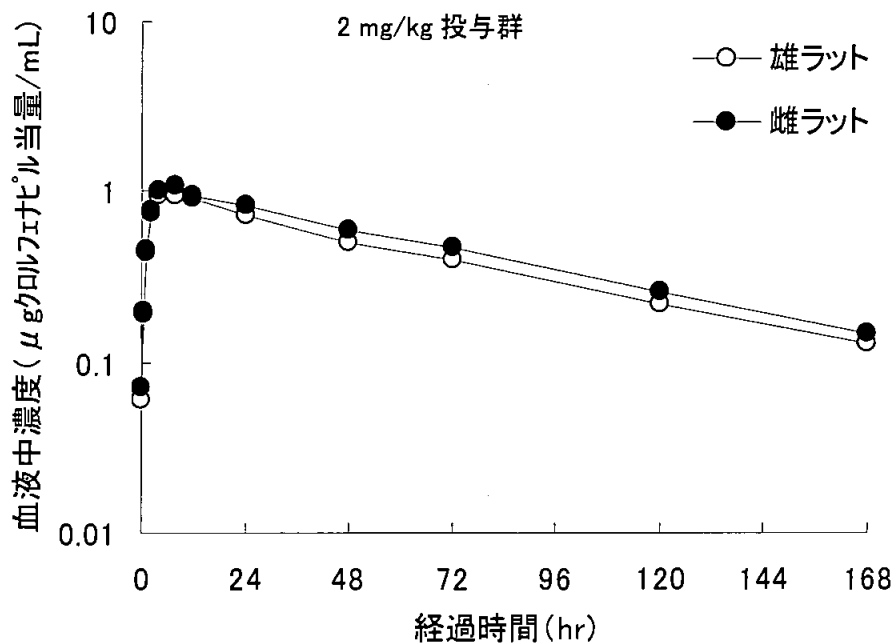
		血液中放射能濃度, μg クロルフェナピル当量/mL			
		雄		雌	
		2mg/kg	20mg/kg	2mg/kg	20mg/kg
経過時間	15 分	0.061	0.17	0.071	0.22
	30 分	0.196	0.76	0.193	0.62
	1 時間	0.434	2.37	0.458	1.72
	2 時間	0.752	5.27	0.765	3.63
	4 時間	0.940	9.18	0.997	6.31
	8 時間	0.943	13.5	1.08	10.3
	12 時間	0.908	12.1	0.945	10.4
	24 時間	0.728	7.75	0.815	8.18
	48 時間	0.498	4.86	0.593	5.86
	72 時間	0.395	3.48	0.473	4.62
	120 時間	0.218	1.79	0.262	2.45
168 時間	0.127	0.97	0.147	1.36	

血液中濃度は投与後、経時的に上昇し、雌雄とも8~12時間後に最高血中濃度(C_{max})に達した。その後、明確な二相性を示すことなく減少し、168時間後には C_{max} の7~14%まで低下した。消失半減期($T_{1/2}$)は43~58時間であった。投与168時間後までの血液中濃度下面積(AUC_{0-168})はほぼ投与量に比例して増加し、高用量群では低用量群での結果の9.6~10倍であった。

		雄		雌	
		2 mg/kg	20 mg/kg	2 mg/kg	20 mg/kg
T_{max}	(hr)	8	8	8	12
C_{max}	($\mu\text{g eq.}/\text{mL}$)	0.943	13.5	1.08	10.4
$T_{1/2}$	(hr)	55.3	43.1	57.3	54.4
AUC_{0-168}	($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	68.2	679	78.5	755

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。

以下に血液中放射能濃度推移曲線を示す。



^{14}C -クロルフェニル単回経口投与後の血中濃度推移曲線

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尿・糞中排泄

尿および糞中への放射能の累積排泄率の測定結果を下表に示す。

投与後 時間 (hr)	累積排泄率 (投与放射エネルギーに対する割合%)							
	雄				雌			
	2 mg/kg		20 mg/kg		2 mg/kg		20 mg/kg	
	尿*	糞	尿*	糞	尿*	糞	尿*	糞
0-6	2.3	35.3	1.3	58.4	2.3	52.3	1.2	53.4
-12	4.5		3.7		4.4		3.3	
-24	7.7		5.9		6.1		5.4	
0-48	11.3	59.4	8.6	75.8	7.6	63.5	6.8	71.7
0-72	13.0	67.7	9.6	79.2	8.4	70.4	7.4	77.2
0-120	14.7	72.4	10.7	82.1	9.3	77.9	7.9	82.5
0-168	15.5	74.8	11.2	83.3	9.6	81.5	8.1	84.8
体内残留	4.2		2.2		4.7		2.5	
総合計	94.5		96.6		95.9		95.4	

* ケージ洗浄液中の放射能を含む

(各データとも各群4匹の個体別データを平均しているため、尿+糞の数値が±0.1%の範囲内で尿および糞の数値と乖離する場合がある。)

糞中への排泄率は尿中排泄の約5倍以上であり、糞中への排泄が主要な経路であった。糞中への排泄率は高用量投与群において僅かに高まる傾向が認められた。尿中排泄率には僅かな雌雄間差が認められ、雄において雌の約1.5倍の排泄率であった。体内残留は高用量群においては2.2~2.5%であったが、低用量群では約2倍の4.2~4.7%であった。総回収率は94.5~96.7%であり、投与放射能はほぼ定量的に回収された。

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。

③胆汁中排泄

胆管カニューレラットにおける胆汁、尿および糞中放射能累積排泄率の測定結果を下表に示す。

投与後 時間 (hr)	累積排泄率 (投与放射能量に対する割合%)											
	雄						雌					
	2 mg/kg			20 mg/kg			2 mg/kg			20 mg/kg		
	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞
0-3	4.1			1.8			4.7			1.4		
0-6	9.5	0.9		4.8	0.6		11.5	0.8		4.7	0.8	
0-12	18.3	1.5		10.7	1.1		19.6	2.0		9.8	1.8	
0-24	30.1	4.0	9.7	17.4	5.5	18.8	24.1	4.8	2.3	19.9	4.4	10.8
総合計	43.8			41.7			31.2			35.1		

投与24時間後までに胆汁中に排泄された放射能量は、同時に尿中に排泄された放射能量の3.0～7.5倍に達し、消化管より吸収された放射能の主要排泄経路が胆汁中であることが示された。胆汁、尿中への排泄率の和は尿・糞中排泄試験における尿中排泄率を大きく上回っていることから、尿・糞中排泄試験における糞中放射能の一部は胆汁を介して消化管内に排泄された放射能に由来するものと考えられる。胆汁、尿および糞を合わせた総排泄率は各投与群とも31～44%と低い。これは試験を投与後24時間で打ち切っていること、およびラットを固定した試験条件によるものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

2) 組織内分布

組織内放射能濃度測定結果の概要を下表に示す。

		組織内放射能濃度, μg クロルフェニル当量/gまたはmL							
性		雄							
投与量, mg/kg		2				20			
経過時間, hr		1	8	24	168	1	8	24	168
組 織	血液	0.511	1.06	0.704	0.123	2.39	5.34	5.20	0.71
	血漿	0.834	1.88	1.21	0.208	3.96	9.47	8.90	1.13
	大脳	0.226	0.064	0.025	0.003	1.83	0.53	0.13	0.01
	小脳	0.232	0.067	0.025	0.002	1.88	0.57	0.14	0.02
	下垂体	0.33	0.33	0.21	0.04	2.6	2.0	1.6	0.3
	頸部脊髄	0.231	0.083	0.032	0.005	1.83	0.69	0.21	0.02
	胸部脊髄	0.216	0.092	0.037	0.007	1.69	0.77	0.22	0.04
	腰部脊髄	0.223	0.104	0.053	0.016	1.77	0.74	0.33	0.08
	眼球	0.061	0.064	0.046	0.010	0.48	0.34	0.31	0.05
	顎下腺	0.348	0.234	0.146	0.029	2.70	1.54	1.06	0.15
	甲状腺	0.56	0.57	0.30	0.05	3.3	3.8	1.8	0.3
	胸腺	0.152	0.132	0.080	0.013	1.18	0.86	0.47	0.06
	心臓	0.502	0.375	0.209	0.031	3.57	2.59	1.43	0.17
	肺	0.440	0.503	0.275	0.047	2.88	2.90	2.00	0.25
	肝臓	3.18	1.86	0.848	0.194	21.3	11.6	4.83	1.06
	副腎	1.70	0.621	0.289	0.040	14.4	4.75	1.56	0.18
	腎臓	0.792	0.803	0.516	0.083	5.10	3.70	2.71	0.45
	脾臓	0.177	0.157	0.091	0.020	1.38	0.99	0.63	0.10
	膵臓	0.444	0.393	0.170	0.024	3.74	3.34	1.41	0.12
	リンパ節	0.584	1.00	0.367	0.035	3.96	7.66	2.06	0.19
	脂肪	1.77	5.81	4.13	0.372	14.0	55.0	30.2	0.64
	褐色脂肪	1.78	4.54	1.22	0.097	11.9	43.7	5.63	0.27
	筋肉	0.189	0.128	0.072	0.013	1.50	0.91	0.55	0.07
皮膚	0.283	0.598	0.280	0.045	2.27	5.46	2.16	0.22	
骨	0.131	0.184	0.130	0.020	0.85	1.09	0.78	0.11	
前立腺	0.287	0.345	0.414	0.027	2.01	3.51	1.38	0.12	
精巣	0.151	0.256	0.172	0.027	1.10	1.57	1.32	0.15	

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。

		組織内放射能濃度, μg クロルフェニル当量/gまたはmL							
性		雌							
投与量, mg/kg		2				20			
経過時間, hr		1	8	24	168	1	8	24	168
組 織	血液	0.591	0.929	0.781	0.136	2.24	8.51	7.67	0.72
	血漿	0.951	1.63	1.34	0.227	3.62	15.0	14.0	1.14
	大腦	0.318	0.091	0.044	0.004	1.76	1.08	0.38	0.02
	小脳	0.338	0.096	0.046	0.004	1.88	1.17	0.39	0.02
	下垂体	0.44	0.35	0.27	0.05	2.3	3.5	2.8	0.3
	頸部脊髄	0.328	0.109	0.052	0.006	1.83	1.41	0.52	0.03
	胸部脊髄	0.311	0.121	0.064	0.007	1.66	1.47	0.56	0.04
	腰部脊髄	0.312	0.119	0.068	0.012	1.76	1.51	0.64	0.06
	眼球	0.085	0.064	0.053	0.010	0.45	0.59	0.50	0.05
	顎下腺	0.490	0.245	0.193	0.031	2.60	2.48	1.71	0.16
	甲状腺	0.73	0.98	0.34	0.06	3.7	8.2	3.9	0.3
	胸腺	0.241	0.159	0.100	0.015	1.34	1.87	0.95	0.07
	心臓	0.700	0.403	0.284	0.037	3.46	4.58	2.91	0.18
	肺	0.548	0.482	0.325	0.052	2.84	4.31	3.23	0.28
	肝臓	4.10	1.82	0.934	0.199	22.0	19.9	9.03	1.03
	副腎	2.74	0.859	0.476	0.044	15.0	10.9	4.55	0.21
	腎臓	1.01	0.815	0.614	0.076	4.82	8.20	5.35	0.45
	脾臓	0.242	0.169	0.124	0.020	1.29	1.45	1.15	0.10
	膵臓	0.750	0.579	0.294	0.033	3.97	7.44	3.30	0.15
	リンパ節	0.956	1.20	0.561	0.055	4.77	11.4	4.74	0.20
脂肪	1.81	4.96	6.79	0.638	9.25	50.2	54.8	2.02	
褐色脂肪	2.35	6.27	2.74	0.114	12.5	66.5	32.5	0.41	
筋肉	0.295	0.164	0.106	0.013	1.58	1.78	1.21	0.07	
皮膚	0.392	0.755	0.506	0.064	2.28	9.94	6.94	0.29	
骨	0.178	0.211	0.144	0.022	1.13	1.83	1.39	0.10	
卵巣	1.21	0.843	0.556	0.075	6.37	8.65	5.54	0.35	
子宮	0.245	0.305	0.346	0.065	1.16	2.80	3.57	0.38	

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。
組織内放射能分布率測定結果の概要を下表に示す。

		組織内放射能分布率, %							
性		雄							
投与量, mg/kg		2				20			
経過時間, hr		1	8	24	168	1	8	24	168
組 織	血液	2.03	4.18	2.79	0.49	0.95	2.12	2.06	0.33
	血漿	1.89	4.25	2.74	0.47	0.90	2.14	2.01	0.30
	大脳	0.09	0.03	0.01	<0.01	0.07	0.02	0.01*	<0.01
	小脳	0.03	0.01*	<0.01	<0.01	0.02	0.01*	<0.01	<0.01
	下垂体	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	頸部脊髄	0.01	<0.01	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	胸部脊髄	0.01	0.01*	<0.01	<0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	腰部脊髄	0.02*	<0.01	<0.01	<0.01	0.01*	<0.01	<0.01	<0.01
	眼球	0.01*	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	顎下腺	0.04	0.03	0.02	0.01*	0.03	0.02	0.01	<0.01
	甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	胸腺	0.03	0.02	0.01	<0.01	0.02	0.02	0.01	<0.01
	心臓	0.11	0.08	0.04	0.01	0.08	0.05	0.03	0.01*
	肺	0.12	0.13	0.07	0.01	0.08	0.07	0.05	0.01
	肝臓	5.66	3.19	2.07	0.58	3.98	2.00	1.65	0.39
	副腎	0.02	0.01	<0.01	<0.01	0.02	0.01*	<0.01	<0.01
	腎臓	0.40	0.39	0.25	0.05	0.27	0.17	0.13	0.03
	脾臓	0.03	0.02	0.01	<0.01	0.02	0.02	0.01	<0.01
	膵臓	0.08	0.06	0.03	0.01*	0.07	0.06	0.03	<0.01
	リンパ節	0.02	0.02	0.01	<0.01	0.02*	0.02	0.01*	<0.01
	脂肪	5.01	16.4	11.7	1.05	3.97	15.6	8.54	0.21
	褐色脂肪	0.07	0.15	0.05	0.01*	0.05	0.20	0.03	<0.01
	筋肉	4.29	2.90	1.62	0.28	3.39	2.04	1.24	0.17
	皮膚	3.53	7.44	3.48	0.56	2.83	6.79	2.68	0.31
前立腺	0.02	0.02	0.02	<0.01	0.01	0.03*	0.02*	<0.01	
精巣	0.09	0.16	0.11	0.02	0.06	0.09	0.08	0.01	
胃**	36.1	0.26	0.07	0.02	30.7	0.27	0.38*	0.02*	
小腸**	40.5	8.77	2.22	0.14	62.3	5.01	1.07	0.08	
盲腸**	0.10	27.7	6.98	0.16	0.06	43.2	1.77	0.10	
大腸**	0.11	17.5	4.25	0.13	0.06	13.6	2.66	0.08	

* 実測値に検出限界以下のデータを含むものは、最大値を示した。

** 内容物を含む。

血液、血漿、脂肪、筋肉および皮膚の全重量は、各々体重の 7、4、5、40および22%を占めるものと仮定して算出した。

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。

		組織内放射能分布率, %							
性		雌							
投与量, mg/kg		2				20			
経過時間, hr		1	8	24	168	1	8	24	168
組 織	血液	2.34	3.68	3.10	0.54	0.89	3.37	3.02	0.33
	血漿	2.15	3.68	3.04	0.51	0.82	3.39	3.15	0.30
	大脳	0.15	0.04	0.02	<0.01	0.08	0.05	0.02	<0.01
	小脳	0.04	0.02	0.01*	<0.01	0.02	0.02	0.01*	<0.01
	下垂体	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	頸部脊髄	0.02	0.01*	<0.01	<0.01	0.01	0.01*	<0.01	<0.01
	胸部脊髄	0.02	0.01*	0.01*	<0.01	0.01	0.01	<0.01	<0.01
	腰部脊髄	0.01	0.01*	<0.01	<0.01	0.01	0.01*	<0.01	<0.01
	眼球	0.01*	0.01*	0.01*	<0.01	<0.01	0.01*	<0.01	<0.01
	顎下腺	0.06	0.03	0.02	<0.01	0.03	0.03	0.02	<0.01
	甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	胸腺	0.04	0.03	0.02	<0.01	0.02	0.03	0.02	<0.01
	心臓	0.16	0.09	0.06	0.01	0.08	0.10	0.06	0.01*
	肺	0.16	0.14	0.10	0.02	0.08	0.13	0.10	0.01
	肝臓	7.13	3.29	2.35	0.54	4.02	3.61	1.92	0.37
	副腎	0.04	0.01	0.01*	<0.01	0.02	0.02	0.01*	<0.01
	腎臓	0.47	0.40	0.29	0.04	0.23	0.40	0.25	0.03
	脾臓	0.04	0.03	0.02	<0.01	0.02	0.02	0.02	<0.01
	膵臓	0.15	0.12	0.06	0.02*	0.09	0.16	0.07	<0.01
	リンパ節	0.04	0.04	0.02	<0.01	0.02	0.04	0.02	<0.01
	脂肪	5.12	14.1	19.3	1.81	2.62	14.2	15.4	0.67
	褐色脂肪	0.11	0.26	0.11	0.01*	0.06	0.33	0.14	<0.01
	筋肉	6.67	3.71	2.40	0.30	3.57	4.03	2.73	0.19
	皮膚	4.89	9.42	6.30	0.80	2.84	12.4	8.59	0.42
卵巣	0.03	0.03	0.01	<0.01	0.02	0.03	0.02	<0.01	
子宮	0.03	0.04	0.04	0.01	0.02	0.03	0.04	0.01*	
胃**	22.5	0.52	0.13	0.02	41.4	2.03	0.10	0.01*	
小腸**	37.8	7.63	2.36	0.20	55.2	9.36	2.89	0.12	
盲腸**	2.57	40.7	7.30	0.27	0.05	35.1	10.2	0.16	
大腸**	0.24	8.84	3.89	0.28	0.07	14.1	3.53	0.17	

* 実測値に検出限界以下のデータを含むものは、最大値を示した。

** 内容物を含む。

血液、血漿、脂肪、筋肉および皮膚の全重量は、各々体重の 7、4、5、40 および 22% を占めるものと仮定して算出した。

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。

吸収された放射能は、種々の組織に分布し、脂肪組織中に最も高濃度に分布した。肝臓、腎臓、副腎等においても投与後初期の段階において血漿中濃度よりも高濃度に分布する傾向が認められた。消化管を除く組織へ放射能分布率の合計は投与8時間後において最も高く、低用量区では投与量の35~36%、高用量区で29~39%であった。

最高濃度に達した後の減衰は血中濃度の減衰にほぼ比例して速やかであり、投与24時間後には脂肪組織を除き血漿中濃度を上回る組織は認められなかった。脂肪組織においても168時間後までには最高濃度の1/10以下にまで低下した。

168時間後における消化管以外の組織への放射能分布率の合計は低用量区で3.1~4.1%、高用量区で1.5~2.0%まで低下しており、残留傾向は認められなかった。投与後168時間目の時点において体内に残存する放射能の多くは脂肪組織の他、皮膚、筋肉等の全身にわたる組織に分布しており、特定の組織に高濃度に残存している傾向は認められなかった。

これら全身にわたる組織の他に、肝臓にも他の組織よりは僅かに高い放射能が検出されたが、この時点で消化管(内容物)にも放射能が検出されることから、腸肝循環の存在が推察される。

結 論 : ^{14}C -クロロフェナピルをラットに経口投与した場合、消化管より吸収された放射能は主に胆汁中に排泄された。その後、腸肝循環を受けて一部は尿中に、大部分は糞中に排泄された。

投与168時間後までの尿、糞中排泄率の総和は各投与群とも90%以上であり、排泄は速やかであった。

消化管より吸収された放射能は体内の全組織に移行し、肝臓、腎臓、副腎、脂肪組織等では血漿中濃度よりも高濃度に分布する傾向が認められた。しかし、その後の減衰は速やかであり、最も高濃度に分布した脂肪組織においても168時間後までには最高濃度の1/10以下にまで低下した。168時間後の体内残存は低レベルであり残留傾向は認められなかった。

尿中排泄率が雄において僅かに高いことを除き、上記の体内動態に顕著な性差は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) ラットにおける代謝

(資料 M-3)

供試標識化合物：[ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

供 試 動 物：SD系ラット (6週令)、1群雌雄各4匹 (体重：雄 180 g, 雌 140 g)

方 法：1) 代謝物分析用試料は前記ラットにおける吸収、分布、排泄試験 (資料M-2) に
おいて採取した尿・糞中排泄試験実施時の尿、糞、および胆汁中排泄試験実施
時の胆汁、糞を各群毎にまとめ、各々以下のような採取時間毎に区分して測定
した。

排泄試験	尿	0 ~ 12, 12 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72 hr
排泄試験	糞	0 ~ 24, 24 ~ 48, 48 ~ 72 hr
胆汁中排泄試験	胆汁	0 ~ 3, 3 ~ 6, 6 ~ 12, 12 ~ 24 hr
胆汁中排泄試験	糞	0 ~ 24 hr

代謝物を機器分析的手法により同定するため、資料M-2に示した方法に準
拠して非標識クロルフェナピルを反復投与し、尿および胆汁を採取して分析
に用いた。

- 2) 尿、胆汁中 ¹⁴C 代謝物は ODS カートリッジカラムによる精製の後、HPLC コク
ロマトグラフィー (co-HPLC) により同定・定量した。糞中代謝物は
により抽出したのち、抽出液について尿、胆汁と同
様の方法により精製、測定を行い同定・定量した。
- 3) 非標識クロルフェナピルを投与して得られた非標識代謝物は、¹⁴C 代謝物で
の挙動を参考として HPLC 分取法等により単離、精製し、そののち各種機器分
析を行って構造を推定した。

結 果：1) 代謝物の同定

代謝物は尿中に 11 種、糞中に 25 種 (内 1 種はクロルフェナピル未変化体)、
胆汁中に 17 種が検出された。これらのうちクロルフェナピル未変化体 (A)、
(B)、(D)、(F) および (K) の 5 種が co-HPLC
により標品と一致し、同定された。クロルフェナピル未変化体 (A)、(D)
および (F) は糞中にのみ見出された。(B) は糞および胆汁中に、
(K) は尿、糞および胆汁中に検出された。これらの他に、機器分
析により尿中で (I) が同定され、尿および胆汁中で (J)、

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。
 ならびに尿、糞および胆汁中で (L) の構造が推定された。

2) 代謝物の定量

排泄試験における尿、糞中代謝物についての結果の概要を下表に示す。定量は
 試料採取時間毎に個別に行ったが、以下には全時間帯を一括した結果を示す。

代謝物	記号	代謝物量 (投与放射エネルギーに対する割合%)							
		2 mg/kg				20 mg/kg			
		雄		雌		雄		雌	
		尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
クロルフェナピル	A	—	17.0	—	23.1	—	35.2	—	33.0
	B								
	D								
	F								
	I								
	J								
	K								
	L								
未同定U-2, 3, 4 ^{a)}									
未同定U-8									
未同定F-2, 3, 4, 5, 6 ^{a)}									
未同定F-7									
未同定F-8									
未同定F-15									
その他尿中未同定 (3成分)									
その他糞中未同定 (11成分)									
セップパック未回収分									
非抽出分			19.0		16.5		16.9		17.0
合計		13.0	67.7	8.4	70.4	9.6	79.2	7.4	77.2

a) 抱合型代謝物； およびさらに代謝を受けた代謝物の抱合体

尿、糞中に共通に検出された (K) が主要な代謝物であったが、非常に多数の代謝物が生成したため各々の含有率は低く、最大でも投与量の10%を超える代謝物は認められなかった。代謝物の多くは生成率が投与量の %以下である微量代謝物であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

U-2～U-4、F-2～F-6等の極性代謝物は、β-グルクロニダーゼおよびサルファターゼ処理によっては全く変化を受けなかった。塩酸処理により後述する胆汁中極性代謝物と同様に分解したが、生成物は胆汁中代謝物の場合とは異なった。しかし、これらの尿、糞中極性代謝物は、胆汁中代謝物の腸肝循環を経た変化が成因と考えられることから、(K)の他の抱合型あるいは

(K)がさらに変化を受けた代謝物の抱合体であることが推定される。

クロルフェナピル未変化体は糞中にのみ17～35%が排泄され、尿中には全く検出されなかった。

胆汁中排泄試験における胆汁、糞中代謝物についての結果の概要を下表に示す。

代謝物	記号	代謝物量 (投与放射能に対する割合%)							
		2 mg/kg				20 mg/kg			
		雄		雌		雄		雌	
		胆汁	糞	胆汁	糞	胆汁	糞	胆汁	糞
クロルフェナピル	A	—	8.9	—	2.1	—	17.5	—	10.1
	B								
	D								
	F								
	J								
	K								
	L								
未同定B-2, 3, 4, 5, 6 ^{a)}									
その他胆汁中未同定 (8成分)									
ODS カラム未回収									
非抽出分		—	<0.1	—	<0.1	—	<0.1	—	<0.1
合計		30.1	9.7	24.1	2.3	17.4	18.8	19.9	10.8

a) 抱合型代謝物；PY-4-CO-5-OHおよびさらに代謝を受けた代謝物の抱合体

胆汁中の主要代謝物は極性化合物 (B-2～B-6) であった。これらの代謝物は塩酸処理により主に (K) を生成するにも関わらず、β-グルクロニダーゼあるいはサルファターゼによる処理により変化しないことを考慮すると、ピロール環1位のNH基のグルクロナイドあるいはサルフェートが想定される。一般に、N-グルクロナイドはグルクロニダーゼ処理に抵抗することが知られており、とくにNH基近傍に電子吸引基が存在しNH基の塩基性が低下しているものは比較的安定性であることが知られており、これも (K) の場合によく附合する。糞中にはこれらに相当する代謝物が見出されないことから、これらの極性化合物は消化管

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。

内で変化を受けるか、あるいは腸肝循環によりさらに代謝されることが示唆された。

胆汁中排泄試験において得られた糞試料中放射能の大部分 (91~94%) は未変化のクロルフェナピルであり、尿・糞中排泄試験時の糞試料中に認められた代謝物、非抽出分はほとんど検出されなかった。このことから、尿・糞中排泄試験における糞中代謝物 (非抽出分を含む) は胆汁中代謝物に由来するものであり、消化管を直接通過したのは未変化のクロルフェナピルのみであるといえる。

したがって、投与量から尿・糞中排泄試験における糞中クロルフェナピル未変化体排泄率を差し引くことにより、消化管吸収率を算出することが出来る。

[投与量(100%) - 糞中クロルフェナピル未変化体排泄率 = 消化管吸収率(%)]

この方法により求めたクロルフェナピルの消化管吸収率は以下のものであり、投与量を増すことにより消化管吸収率が低下する傾向が認められた。

83.0%

クロルフェナピル
消化管吸収率

雄ラット (2 mg/kg投与) :

雌ラット (2 mg/kg投与) : 76.9%

雄ラット (20 mg/kg投与) : 64.8%

雌ラット (20 mg/kg投与) : 67.0%

「消化管吸収率に関する申請者の見解」

資料 M-2の胆汁中排泄試験の24時間、資料 M-3の尿・糞中排泄試験、および資料 M-4の胆汁中排泄試験の48時間より求めた本剤の消化管吸収率は下記の通りである。

消化管吸収率(%)

	投与量(mg/kg)	胆汁排泄 (24時間) (資料 M-2)	胆汁排泄 (48時間) (資料 M-4)	尿・糞中排泄 (資料 M-3)
雄	2	90.3	67.4	83.0
	20	81.2	41.4	64.8
雌	2	97.7	84.9	76.9
	20	89.2	68.3	67.0

胆汁中排泄試験の吸収率は、[投与量(100%) - 糞中の ¹⁴C 排泄率 = 消化管吸収率(%)]にて算出。胆汁中排泄試験の 24 時間より求めた吸収率は、24 時間以降に糞中に排泄される薬剤が消化管に残留しているため、尿・糞中排泄試験より求めた吸収率に比較し高い値を示した。また、胆汁中排泄試験の 48 時間より求めた吸収率は、雄では胆汁を体外へ導出していることによる吸収率の低下が認められた。一方、雌では衰弱に伴う飼料摂取量の低下により糞の排泄量が低下したことより高い吸収率を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

以上のことから、胆汁中排泄試験より求めた吸収率は、ラットをボールマンケージに固定していることおよび胆汁を体外へ導出していることなど、ラットの正常な吸収および排泄を表していないことから、本剤の消化管吸収率は、尿・糞中排泄試験より求めた値〔低用量約 80%、高用量約 65%〕が適切であるものとする。

結論：尿、糞、胆汁中代謝物についての同定、定量結果を総合することにより、以下のようなクロルフェナピルのラット体内動態が示唆された。

- ① クロルフェナピルを経口投与した場合、投与量を増すことにより吸収率が低下する傾向が認められた。消化管内でのクロルフェナピルの分解は認められず、吸収時の形態は未変化のクロルフェナピルであった。
- ② 吸収されたクロルフェナピルの主要代謝経路は (K) を生成する経路であり、中間代謝物として (F) を經由し、
変換を受けるものと推定された。
- ③ その他の代謝経路として、
等も見出された。
- ④ 代謝物はいずれもピロール環、フェニル環の双方を保持しており、代謝過程において両環間の結合が開裂する可能性の無いことが示され、本試験において使用した [ピロール-2-¹⁴C] 標識化合物によりラットにおける体内動態は明らかとなったものと考えられる。
- ⑤ 上記のクロルフェナピル体内動態に顕著な性差は認められなかった。

以上の結果に基づいて推定したクロルフェナピルのラットにおける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。

クロルフェニルのラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4) ラットにおける胆汁中排泄 (追加試験)

(資料 M-4)

供試標識化合物：[ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

供試動物：SD系ラット (6週令)、1群雌雄各4匹 (体重：雄 180g、雌 140g)

投与前に ペントバルビタール麻酔下胆管カニューレを施した。

方法：標識化合物を1% CMC-Na + 1% Tween80水溶液に懸濁して 低用量区：2 mg/kg、高用量区：20 mg/kgの用量で単回強制経口投与した。ラットは投与前夜 (投与前約16時間) から絶食し、投与8時間後から給餌を開始した。水は自由に摂取させた。

1) 胆汁、尿および糞中排泄率測定

投与後48時間まで経時的に胆汁、尿および糞を採取し、各々への放射能排泄率を測定した。

2) 胆汁中代謝物分析

結果

1) 胆汁、尿および糞中排泄率測定

胆管カニューレラットにおける胆汁、尿および糞中放射能排泄率の測定結果を下表に示す。

投与後 時間 (hr)	累積排泄率 (投与放射能量に対する割合%)											
	雄						雌					
	2 mg/kg			20 mg/kg			2 mg/kg			20 mg/kg		
	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁	尿	糞
0-3	6.9			1.9			1.7			2.7		
0-6	13.9	1.4		4.2	0.6			0.9		5.6	1.0	
0-12	27.1	2.7		9.6	1.5		16.7	2.7		9.4	1.8	
0-24	37.2	5.7	24.5	16.0	5.8	50.1	25.3	5.5	12.0	16.1	3.6	23.3
0-48	44.0	7.5	32.6	18.8	7.2	58.6	37.4	7.1	15.1	25.8	5.5	31.7
総合計	84.1			84.6			59.6			84.6		

〔 雌性ラット、2 mg/kg投与群は4匹中の1匹が投与後36時間以降死亡したため当該 〕

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。
ラットを除外した3匹の平均値を示した。その他の群は4匹の平均値を示した。

投与48時間後までに胆汁中に排泄された放射エネルギーは、同時に尿中に排泄された放射エネルギーの2.6～5.9 倍に達し、投与後24時間までの試験（資料 M-2）と同様に消化管より吸収された放射エネルギーの主要排泄経路が胆汁中であることが示された。

2) 胆汁中代謝物分析

投与後 24～48 時間に排泄された胆汁試料についての RI-HPLC 溶出パターンは、投与後 12～24 時間に排泄された胆汁試料と類似しており、24 時間以降も代謝物組成に顕著な経時的变化が認められないことが示された。

胆汁中代謝物は資料 M-3 とほぼ同様なパターンを示し、主要代謝物は極性化合物（(K)の抱合体）であり、その他に (L)、(K)、(J)、(B)が検出され、親化合物(クロルフェナピル)は検出されなかった。

結論： 胆管カニューレを施したラットに¹⁴C-クロルフェナピルを経口投与し、投与後48時間まで排泄率を測定した場合、24時間まで測定した場合と同様に、吸収された放射エネルギーの主要排泄経路は胆汁中であった。胆汁中代謝物の組成は投与24時間以降も顕著に変化する傾向は認められなかった。投与量から糞中排泄率を減ずることにより求めた吸収率は、代謝物分析結果に基づいて算出した値を下回り、胆汁を体外に導出していることなどによる吸収率の低下が窺われた。

5) ラット反復投与における分布・代謝・排泄

(資料 M-9)

供試標識化合物 : [ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

[単回投与試験(資料 M-2) と同一の標識化合物を用いた。]

供試動物 : SD系ラット(6週令)、1群雄各4匹(体重 185~205 g)

[単回投与試験(資料 M-2) において性差が認められなかったことから、雄のみについて実施した。]

方法 : 標識化合物を1% CMC-Na + 1% Tween80水溶液に懸濁して、2 mg/kg/day の用量[単回投与試験(資料 M-2) の低用量区と同一用量] で7日間反復強制経口投与した。

ラットには試験期間を通じて、飼料および水を自由に摂取させた。

[単回投与試験(資料 M-2) において吸収率以外の用量差が認められなかったことから、吸収率の低い高用量区(20 mg/kg/day) については実施しなかった。]

1) 排泄

自然排泄尿(ケージ洗浄液を含む) および糞を、投与期間中は24時間毎に、最終投与後は24、48、72、120 および 168時間目に採取し、経時的放射能排泄率を測定した。呼気中への排泄は、単回投与試験(資料 M-2) の予備試験において全く認められなかったことから、測定しなかった。

2) 組織内分布

最終投与後8時間(単回投与試験において最高血中濃度を示した時点)、および24時間後に各組織を摘出し、各々の放射能濃度、分布率を測定した。また、排泄試験終了時(最終投与後 168時間) のラットについても同様の測定を行い、この場合は組織摘出後の屍骸についても放射能残存率を測定した。

3) 代謝物分析

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。

結 果：1) 排泄

尿・糞中放射能排泄率の測定結果を下表に示す。

投与回数	最終投与後 経過時間 (hr)	累積投与量 (%)	累積排泄率 (総投与量に対する%)		
			尿*	糞	尿+糞
1		11.9	1.0	5.1	6.1
2		22.0	2.3	15.5	17.8
3		36.4	3.9	24.6	28.4
4		51.1	5.5	34.3	39.8
5		66.6	7.4	45.6	53.1
6		82.9	9.5	56.8	66.3
7	24	100.0	11.9	68.8	80.7
	48		12.8	72.9	85.7
	72		13.4	75.1	88.5
	120		14.2	77.6	91.7
	168		14.5	78.9	93.4
体内残留					3.2
総合計					96.6

* ケージ洗浄液中の放射能を含む

糞中への排泄率は尿中排泄率の約5倍以上であり、糞中への排泄が主要な経路であった。投与期間中の累積排泄率は累積投与量にほぼ比例して上昇しており、反復投与によって排泄が顕著に遅延する傾向は認められなかった。投与終了後の排泄パターンは単回投与時とほぼ同様であり、最終投与後 168時間目までには尿、糞の合計で93.4%が排泄された。

最終投与後 168時間後における体内残留は 3.2%であった。尿および糞中排泄を合わせた総回収率は96.6%に達し、投与放射能は、ほぼ定量的に回収された。

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) 組織内分布

組織内濃度測定結果を下表に示す。

		組織内濃度, μ g クロルフェニル当量/gまたはmL		
		8	24	168
	経過時間, hr			
組 織	血液	4.71	3.00	0.415
	血漿	7.09	4.98	0.987
	大脳	0.188	0.077	0.016
	小脳	0.176	0.092	0.018
	下垂体	1.39	0.94	0.20
	頸部脊髄	0.279	0.155	0.027
	胸部脊髄	0.430	0.148	0.025
	腰部脊髄	0.330	0.440	0.051
	眼球	0.266	0.214	0.044
	顎下腺	0.904	0.618	0.133
	甲状腺	1.63	0.98	0.23
	胸腺	0.665	0.344	0.073
	心臓	1.19	0.792	0.151
	肺	1.64	1.09	0.216
	肝臓	5.54	3.39	1.16
	副腎	1.86	0.844	0.206
	腎臓	2.33	1.59	0.427
	脾臓	0.577	0.341	0.105
	膵臓	1.43	1.05	0.145
	リンパ節	1.52	1.02	0.223
	脂肪	13.0	9.17	2.05
	褐色脂肪	7.03	3.96	0.564
	筋肉	0.435	0.304	0.053
	皮膚	3.11	1.72	0.328
	骨	0.551	0.297	0.097
	前立腺	0.743	0.650	0.082
精巣	0.911	0.658	0.183	

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。

組織内放射能分布率測定結果を下表に示す。

		組織内放射能分布率 (%)		
		8	24	168
組 織	経過時間, hr			
	血液	2.46	1.60	0.23
	血漿	2.12	1.52	0.31
	大脳	0.01	<0.01	<0.01
	小脳	<0.01	<0.01	<0.01
	下垂体	<0.01	<0.01	<0.01
	頸部脊髄	<0.01	<0.01	<0.01
	胸部脊髄	<0.01	<0.01	<0.01
	腰部脊髄	<0.01	<0.01	<0.01
	眼球	<0.01	<0.01	<0.01
	顎下腺	0.01	0.01	<0.01
	甲状腺	<0.01	<0.01	<0.01
	胸腺	0.01	<0.01	<0.01
	心臓	0.03	0.02	0.01
	肺	0.05	0.03	0.01
	肝臓	1.78	1.22	0.29
	副腎	<0.01	<0.01	<0.01
	腎臓	0.14	0.09	0.02
	脾臓	0.40	0.01	<0.01
	膵臓	0.03	0.03	<0.01
	リンパ節	<0.01	<0.01	<0.01
	脂肪	4.87	3.51	0.81
	褐色脂肪	0.07	0.03	0.01
	筋肉	1.32	0.93	0.17
	皮膚	5.12	2.88	0.56
	前立腺	0.01	0.01	<0.01
	精巣	0.06	0.05	0.02
	胃*	0.41	0.06	0.01
小腸*	2.27	0.87	0.09	
盲腸*	4.60	1.21	0.17	
大腸*	2.92	0.94	0.14	

* 内容物を含む。

血液、血漿、脂肪、筋肉および皮膚の全重量は、各々体重の 7、4、5、40および22%を占めるものと仮定して算出した。

吸収された放射能は種々の組織に分布し、各組織とも最終投与後8時間目に最高濃度を示した。血漿中濃度よりも高濃度に分布する組織は、最終投与8、24および168時間後の脂肪および168時間後の肝臓であった。脂肪組織中には最も高濃度の分布が認められたが、168時間後には最高濃度の約15%まで低下した。

消化管を除く組織への放射能分布率の合計は、投与8時間後が最も高い18.5%であったが、168時間後には 2.4%まで低下しており、残留傾向は認められなかった。投与 168時間後において体内に残存する放射能の多くは脂肪等の全身にわたる組織に分布しており、特定の組織に高濃度に残存している傾向は認められなかった。神経系組織（大脳、小脳、脊髄）

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。

における分布濃度は低く、血漿中濃度の1/10～1/50程度であった。

3) 代謝物分析

最終投与後 0～72 時間に排泄された尿、糞試料についての代謝物分析結果を、総投与放射エネルギーに対する割合として下表に示す。

	記号	投与放射エネルギーに対する割合 (%)	
		2 mg/kg	
		尿	糞
クロルフェナピル	A		1.1
	B		
	D		
	F		
	I		
	J		
	K		
	L		
未同定U-2, 3, 4*			
未同定U-1			
未同定U-5			
未同定U-6			
未同定U-8			
未同定F-2, 3, 4, 5, 6*			
未同定F-7			
未同定F-8			
未同定F-15			
その他糞中未同定 (7成分)			
セップパック未回収分			
非抽出分			8.1
合計		3.9	18.4

* およびさらに変化を受けた代謝物の抱合体

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

単回投与（資料 M-3）と同様に非常に多数の代謝物が生成したため各々の含有率は低く、最大でも投与量の5%を超える代謝物は認められず、多くは生成率が %以下の微量なものであった。単回投与と比較し、反復投与においては最終投与以前の投与に由来する代謝物が多く排泄されているため、糞中の未変化クロルフェナピルの排泄率は低い結果となった。

主要な代謝物は、尿、糞中に共通に検出された (K) であった。その他の代謝物組成も単回投与時（資料 M-3）の結果とほぼ同様であり、反復投与により代謝物組成が顕著に変化する傾向は認められなかった。したがって、反復投与においても、単回投与時と同様の代謝経路を経るものと推定された。

結論： ^{14}C -クロルフェナピルをラットに7日間反復投与した場合、一部は尿中に、大部分は糞中に排泄され、排泄は定量的且つ速やかであった。消化管より吸収された放射能は体内の各組織に分布し、肝臓および脂肪では血漿中濃度よりも高濃度に分布する傾向が認められた。しかし、その後の減衰は速やかであり、最も高濃度に分布した脂肪においても最高濃度の約15%にまで低下した。168時間後の体内残存は低レベルであり、残留傾向は認められなかった。神経系組織（大脳、小脳、脊髄）における分布濃度は低く、血漿中濃度の1/10～1/50程度であった。以上の体内動態は単回投与時と同様であり、反復投与によって体内動態が変化することはないことが示された。代謝物の分析結果も単回投与時と同様であったことから、代謝経路も次頁に示すように単回投与時と同様であると推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

クロルフェナピルのラットにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6) マウスにおける血液中濃度推移

(資料 M-10)

経緯・目的：本試験は、使用時安全委員会からの要望事項に対する回答のために実施された。ラットの単回経口投与による吸収分布排泄試験（資料M-2）と同じ用量でクロルフェナピルをマウスに経口投与し、血液中濃度の推移を調べた。

供試標識化合物：[ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

供試動物：ICR系マウス（9週令）、1群雌雄各4匹（体重：雄30.2～39.5g, 雌22.3～28.3g）

方法：標識化合物を0.5% CMC-Na + 0.5% Tween80水溶液に懸濁して

低用量区：2 mg/kg

高用量区：20 mg/kg

の用量で単回強制経口投与した。マウスは投与前約16時間絶食し、投与8時間後から給餌を開始した。水は自由に摂取させた。投与後、経時的にエーテル麻酔下で心臓より採血し、血液中の放射能濃度推移を測定した。

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。

結 果：

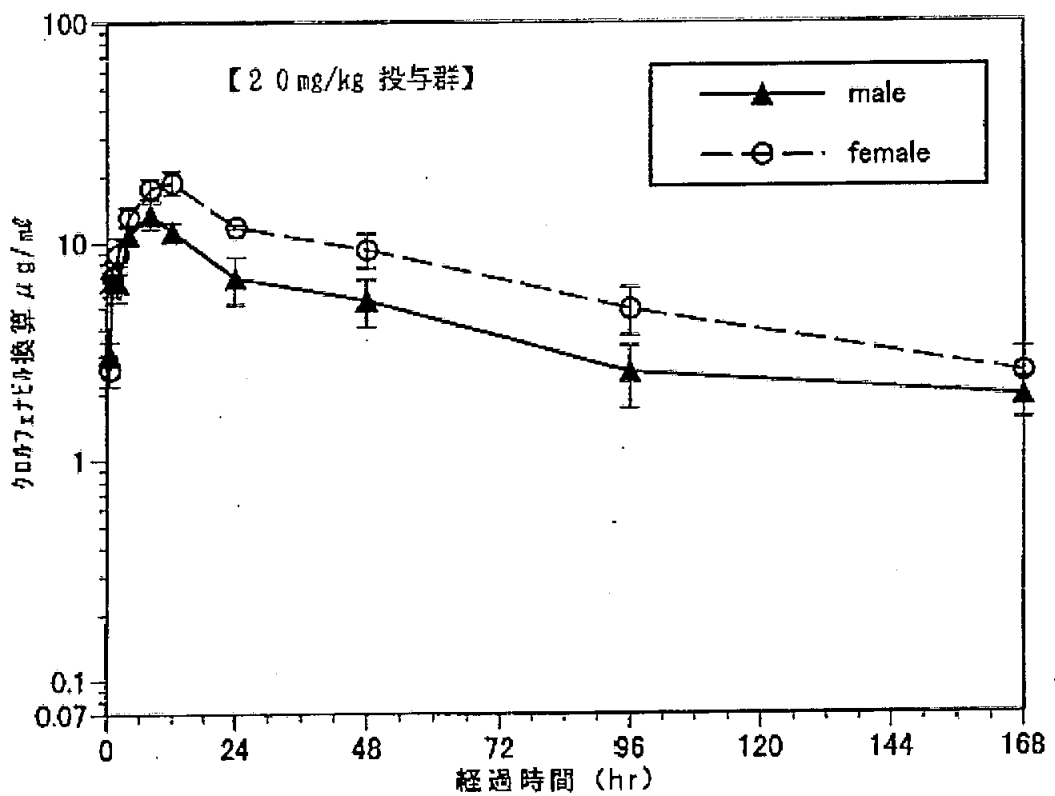
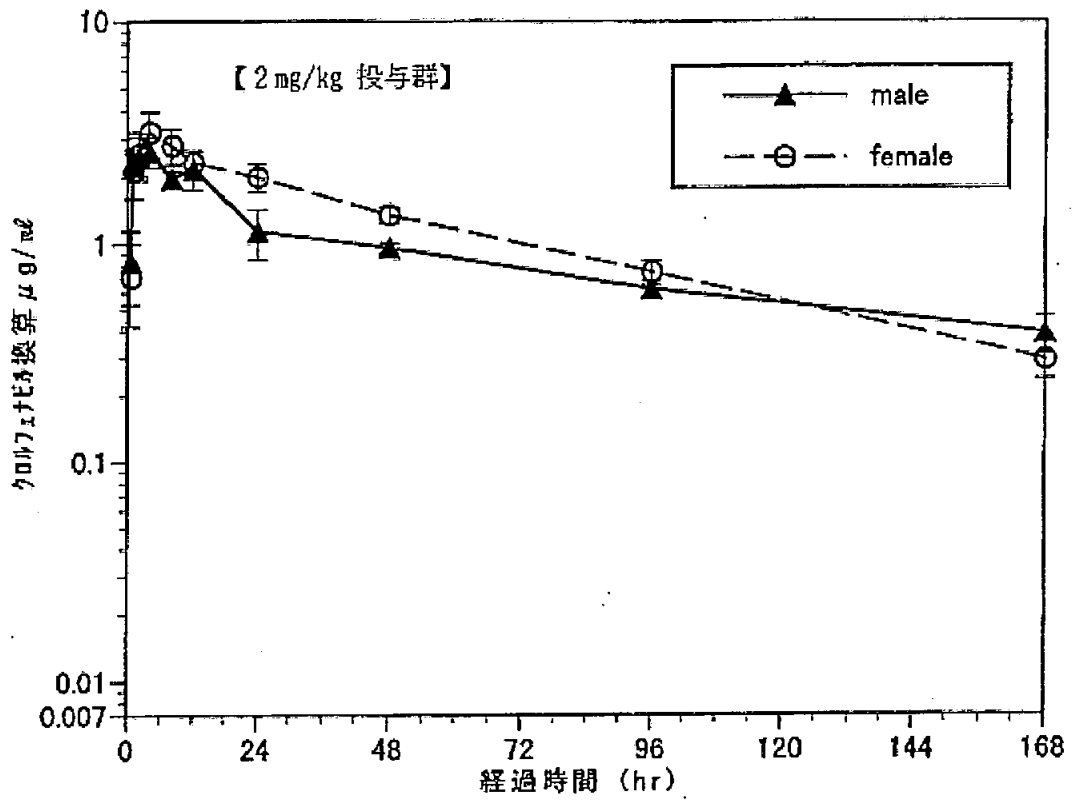
血液中放射能濃度推移の測定結果を下表に示す。

		血液中放射能濃度, μg クロルフェナピル当量/mL			
		雄		雌	
投与量		2 mg/kg	20mg/kg	2 mg/kg	20mg/kg
経過時間	0.5 時間	0.838	3.09	0.707	2.61
	1 時間	2.33	6.83	2.15	6.99
	2 時間	2.53	6.58	2.57	8.93
	4 時間	2.63	10.9	3.21	13.2
	8 時間	2.00	13.5	2.81	17.7
	12 時間	2.21	11.3	2.35	18.8
	24 時間	1.15	6.86	2.03	11.8
	48 時間	0.965	5.39	1.36	9.26
	96 時間	0.624	2.52	0.749	4.92
	168 時間	0.389	1.94	0.294	2.50
T_{\max} , hr		4	8	4	12
C_{\max} , $\mu\text{g eq.}/\text{mL}$		2.63	13.5	3.21	18.8
$T_{1/2}$, hr		106	76.6	52.1	73.7
AUC_{0-168} , $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$		146	732	187	1212

血液中濃度は投与後、経時的に上昇し、雄は4~8時間後に、雌は4~12時間後に最高血中濃度(C_{\max})に達した。その後、二相性の減衰を示し、168時間後には C_{\max} の9~15%まで低下した。消失半減期($T_{1/2}$)は、雄が77~106時間、雌が52~74時間であった。投与168時間後までの高用量群の血中濃度下面積(AUC_{0-168})は、雄が低用量群の5倍、雌が6.5倍であった。

以下に血液中放射能濃度推移曲線を示す。

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。



^{14}C -クロルフェニル単回経口投与後の血液中放射濃度推移曲線

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：クロルフェナピルを経口投与後、血液中濃度は経時的に上昇し、雄は4～8時間後に、雌は4～12時間後に最高血中濃度に達し、その後、二相性の減衰を示し、168時間後には最高血中濃度の9～15%まで低下した。半減期は52～106時間であり、高用量群での投与168時間後までの血中濃度下面積 (AUC_{0-168}) は、低用量群の5～6.5倍であった。

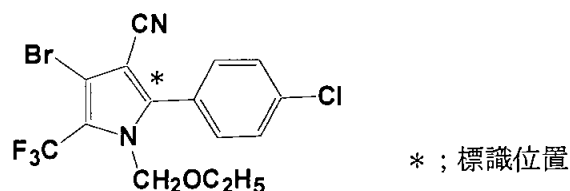
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

4. 植物体内運命

1) ひめりんごにおける代謝

(資料 M-5)

供試標識化合物； [ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル (¹⁴C(PY)-クロルフェナピル)



化学名 ; ¹⁴C(PY)-4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluoromethylpyrrole-3-carbonitrile

供試植物：ひめりんご (学名: *Malus prunifolia*)

方 法：本試験はグロースキャビネット [25~27°C、10000 Lx (12 hr/day) 光照射] 内で行った。

1) 揮散試験

- ① ひめりんご葉面：標識化合物の 10%乳剤¹⁾の1000倍希釈液を、葉5枚に 4 μg/枚 (0.30 μg/cm²) の割合で塗布したのち、通気形ガラス製チャンバー内に入れ、4日間 500 L/minで通気し、揮散物を捕集した。捕集された放射エネルギーおよび植物体に残留する放射エネルギーを測定し、揮散性を調べた。
- ② 薄膜：ガラス容器の内面(16.4 cm²)に 0.30 μg/cm²の割合でコーティングしたのち、200 L/minで3日間通気し、そののち残留量を測定する。
- ③ 水溶液：0.22 μg/mLの水溶液 20 mLに 200 L/minで2日間通気し、そののち残留量を測定する。
- ④ 濾紙製模擬葉：模擬葉に 0.48 μg/cm²の割合で塗布し、茎部を水に浸した場合 (水蒸散状態) と浸さない場合 (乾燥状態) で7日間静置し、そののち残留量を測定する。

2) 吸収・移行・分布試験

- ① 標識化合物の 10%乳剤¹⁾の1000倍希釈液 (100 μg/mL) を、葉の中央 (主葉脈に直角) に帯状に塗布した。そののち、グロースキャビネット内で生育させ、

注1) 試験用簡易乳剤

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。

8日後に処理葉を採取し、ARG法で吸収・移行性を調べた。

② 標識化合物の10%乳剤¹⁾の1000倍希釈液を、葉面処理は葉表および葉裏の全面にクロルフェナピルを一葉当り $9.70 \mu\text{g}$ ($0.37 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) の割合で、果実処理は果実表面の全面に一個当り $4.85 \mu\text{g}$ を塗布し、グロースキャビネット内で生育させた。直後および処理 7, 14, 28 および 56日後にそれぞれ処理葉3枚および処理果実3個を採取した。残留放射能は による表面洗浄後、によるホモジナイズ抽出・

分配を行い、表面残留性、溶媒可溶性、水可溶性および非抽出性画分に分画した。そのうち、放射エネルギーおよびクロルフェナピル量を測定し、吸収・分布性を調べた。

3) 代謝物の同定・定量試験

吸収・移行性試験の②, ③項の各処理により得られた試料の各画分のうち、表面残留性、溶媒可溶性放射能画分および水可溶性放射能画分を

分配して得た 画分中の代謝物を直接又は酵素分解 (β -グルコシダーゼ、 37°C 、6 hr) および酸分解 (1N HCl、 100°C 、3 hr) 後、2種の逆相系HPLCによるコ・クロマトグラフ法 (co-HPLC 法) により分離・同定し、そのうち定量した。

結 果 : 1) 揮散試験

	試験期間 (日)	揮散率 (処理放射エネルギーに対する%)
ひめりんごの葉面 (通気)	4	42
薄膜 (通気)	4	0
水溶液 (通気)	2	48
濾紙模擬葉 [水蒸散状態] (静置)	7	46
濾紙模擬葉 [乾燥状態] (静置)	7	22

クロルフェナピルは薄膜状態や乾燥状態では揮散が少ないが、水の共存下では容易に蒸散した。

2) 吸収・移行・分布試験

① ARG 法

葉の中央に塗布8日後において、非処理部位への放射エネルギーの移行は葉脈に沿って僅かに観察される程度であり、移行性の低い薬剤であった。

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。

② 葉面処理および果実処理法

処理部位における処理放射エネルギーに対する割合（溶媒抽出分画）および濃度を表に示す。

部位	経過 日数	処理放射エネルギーに対する割合 (%)					クロルフェナピル 換算濃度 μg/g
		放射能画分				合計	
		表面残留性	溶媒可溶性	水可溶性	非抽出性		
処理 果実	直後	93.1	0.9	<0.1	<0.1	94.0	5.48
	7	60.6	13.0	0.1	0.1	73.8	4.34
	14	50.7	16.9	<0.1	0.1	67.7	3.04
	28	34.9	23.8	0.1	0.2	59.0	2.49
	56	34.8	19.6	0.2	0.3	54.9	1.49
処理 葉	直後	93.6	2.2	<0.1	<0.1	95.8	36.6
	7	10.1	10.2	0.1	0.1	20.5	9.19
	14	4.7	9.3	0.7	0.2	14.9	6.75
	28	3.0	8.9	1.0	0.4	13.3	6.97
	56	4.7	7.5	2.9	0.8	15.9	6.89

¹⁴C標識クロルフェナピルを塗布した部位における処理放射エネルギーに対する割合は、果実においては、処理直後が 94.0% であり、その後、経時的に減少し、56日後には 54.9% となった。それらを溶媒分画した結果、表面残留性放射エネルギーは経時的に減少した。

逆に溶媒可溶性放射エネルギーが28日後には 23.8% となり、果実内への吸収量増加が認められた。しかし、水可溶性および非抽出性放射エネルギーは増加せず 0.3% 以下であった。一方、葉においては、処理直後が 95.8% で、その後、速やかに減少し、14日後には 14.9% となり、以後変化は少なかった。それらを溶媒分画した結果、表面残留性放射エネルギーは果実より速く減少したが、吸収量は果実より少なく3日以降処理放射量の 7~10% の範囲内であった。また、水可溶性および非抽出性放射エネルギーは経時的に増加し56日後でそれぞれ 2.9% および 0.8% となった。

処理部位のクロルフェナピル換算濃度は、処理果実では直後が 5.48 μg/g であり、56日後には 1.49 μg/g となった。処理葉では直後が 36.6 μg/g であり、14日後には 6.75 μg/g となった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
 ひめりんごの処理部位における処理量および残留濃度の半減期を表に示す。

	放射エネルギーの半減期 (日)		残留濃度の半減期 (日)	
	果実処理	葉面処理	果実処理	葉面処理
総放射能画分	>100	3	20*	3*
表面残留性放射能画分	17	2	--	--
クロルフェナピル	>100	3	20	3

* クロルフェナピル換算濃度から算出

果実および葉面処理における放射エネルギーおよび残留濃度の半減期はいずれも処理果実より処理葉で短く、1/10以下であった。また、処理部位の経時的な重量増加のため、残留濃度の半減期は放射エネルギーの半減期より短くなった。

3) 代謝物の同定・定量試験

① 代謝物の同定・確認

2種のHPLC法を用い、表面残留性および溶媒可溶性放射能画分中の代謝物を検索した。その結果、果実および葉面処理でそれぞれ1種および4種の代謝物が検出され、それらはco-HPLC法により果実処理で (F)、葉面処理で (F) および (K) と同定された。水可溶性放射能画分中の代謝物は直接またはβ-グルコシダーゼ分解処理後、HPLC法で代謝物を検索したが、直接測定では溶媒先端付近に10種以上の高極性代謝物が検出され、酵素分解により (K) が確認できた。それ以外は標品とは一致しなかった。

② 代謝物の定量

溶媒可溶性代謝物 (表面残留性および溶媒可溶性放射能画分、および水可溶性放射能画分の分解処理後の抽出性代謝物) 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。

部 位	クロルフェナピル および代謝物	記 号	処理放射エネルギーに対する割合 (%) (TRRに対する%) ¹⁾				クロルフェナピル換算濃度, $\mu\text{g/g}$			
			処理後日数				処理後日数			
			7日	14日	28日	56日	7日	14日	28日	56日
処 理 果 実	溶媒可溶性		73.6 (94.0)	67.6 (99.8)	58.7 (99.5)	54.6 (99.5)	4.33	3.03	2.48	1.48
	クロルフェナピル	A	73.5 (93.8)	67.2 (99.3)	58.4 (99.0)	54.4 (99.1)	4.32	3.01	2.46	1.48
	その他	F								
	水可溶性		0.1 (0.1)	<0.1 (<0.1)	0.1 (0.2)	<0.1 (<0.2)	0.006	<0.005	0.004	<0.003
	非抽出性		0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.2 (0.3)	0.3 (0.5)	0.006	0.005	0.008	0.008
	合計		73.8	67.7	59.0	54.9	4.34	3.04	2.49	1.49
処 理 葉	溶媒可溶性		20.3 (99.0)	14.1 (94.6)	12.0 (90.2)	12.5 (78.6)	9.10	6.39	6.29	5.42
	クロルフェナピル	A	20.1 (98.0)	14.0 (94.0)	11.9 (89.5)	12.0 (75.5)	9.01	6.34	6.24	5.20
	その他	F								
	水可溶性		0.1 (0.5)	0.6 (4.0)	0.9 (6.8)	2.6 (16.3)	0.044	0.272	0.468	1.125
	その他 ³⁾	K								
	非抽出性		0.1 (0.5)	0.2 (1.3)	0.4 (3.0)	0.8 (5.0)	0.044	0.090	0.208	0.346
	合計		20.5	14.9	13.3	15.9	9.19	6.75	6.97	6.89

処理直後の処理放射エネルギーに対する割合およびクロルフェナピル換算濃度:

処理果実: 94.0%、5.48 $\mu\text{g/g}$ 、処理葉: 95.8%、36.6 $\mu\text{g/g}$

注 1) 放射能残留量に対する割合*

2) β -グルコシダーゼ分解処理後検出された代謝物

3) 処理放射エネルギーの0.2%未満の多数の高極性未同定代謝物の合計

*申請者注: 原報を基に申請者が算出した。

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。

本処理条件下の果実および葉におけるクロルフェナピルの半減期は処理放射エネルギー対比ではそれぞれ 100日以上と3日、残留濃度対比では20日と3日であり、部位間で大きな差があった。これは水の蒸散に伴う揮散が関与しているものと推察された。

処理果実において、56日後の代謝物総量は 0.5% (全放射能残留量 [TRR] の 0.9%、残留濃度として $0.013 \mu\text{g/g}$) であった。溶媒可溶性代謝物としては (F) が28日後に % (TRRの %, 残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 検出されたが、その他はいずれも % (TRRの %, 残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 以下であり、水可溶性および非抽出性代謝物の合計もそれぞれ0.1% 以下および0.3% 以下であった。

一方、処理葉において、56日後の総代謝物量は 3.9% (TRR の 24.5%、残留濃度として $1.67 \mu\text{g/g}$) であり、その大部分は水可溶性代謝物であった。溶媒可溶性代謝物は (F) が56日後に % (TRRの %, 残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 検出されたが、その他はいずれも処理した放射エネルギーの % 以下で、残留濃度として $\mu\text{g/g}$ 以下であった。また、水可溶性代謝物は非常に極性の高い代謝物が2種 (いずれも %, TRRの %) の他は、いずれも % 以下の多数の極性未同定代謝物であり、それらは、 β -グルコシダーゼ分解により非極性側へ移動したが、同定された代謝物は (K) の % のみであり、その他の未同定代謝物は % 以下であった。非抽出性代謝物は 0.8% 生成した。

結論： ひめりんごの果実および葉において、クロルフェナピルは吸収されるが、移行および代謝変換は少なかった。代謝物として (F) の生成が確認できたが、その生成量は処理した果実において処理放射エネルギーの % (TRRの %, 残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 以下であった。

ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は認められず、本試験に使用した [ピロール環- $2-^{14}\text{C}$] 標識化合物によりひめりんごにおける代謝の解明はできたものと考えられる。また、本試験は光照射条件下による試験であることから、植物体上での光分解を含めて解明できたものと考えられる。

以上の結果から、ひめりんごにおける推定代謝経路は以下の通りとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

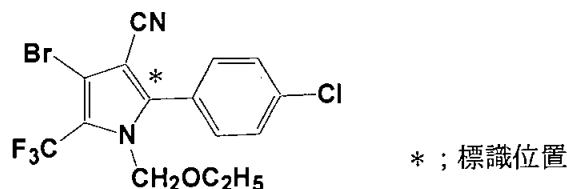
クロフェナピルのひめりんごにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) なすにおける代謝

(資料 M-6)

供試標識化合物； [ピロール環-2- ^{14}C] 標識クロルフェナピル (^{14}C (PY)-クロルフェナピル)



化学名 ; ^{14}C (PY)-4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluoromethylpyrrole-3-carbonitrile

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

方法：本試験はグロースキャビネット [25~27°C、6000 Lx (12 hr/day) 光照射] 内で行った。

1) 吸収・移行・分布試験

① 水耕法：標識化合物の 10%乳剤¹⁾の希釈液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を春日井水耕液に加え、クロルフェナピル 0.21 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を含む水耕液を調製した。その溶液になす幼苗 (第二本葉未展開期) の根部を浸した。6、24、48 および96時間後に植物を採取し、4部位 (根、茎、子葉および本葉) および水耕液に分けて放射エネルギーを測定し、吸収・移行・分布性を調べた。

② 葉面処理法：標識化合物の 10%乳剤¹⁾の希釈液 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) を着果部位直下の葉表および葉裏の全面にクロルフェナピル 0.22 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ の割合で塗布した。直後、3、7、14、28日後に処理葉、直上の葉、直下の葉および処理部位の上の果実およびそれらの葉や果実が付いていた茎に分割・採取した。残留放射能は

による表面洗浄後、
によるホモジナイズ抽出・ 分配を行い、表面残留性、溶媒可溶性、水可溶性および非抽出性放射能画分に分画した。その後、放射エネルギーおよびクロルフェナピル量を測定し、吸収・移行・分布性を調べた。

注1) 試験用簡易乳剤

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 果実処理法：標識化合物の 10%乳剤¹⁾の希釈液 (100 μg/mL) を果実の表面にクロルフェナピル 6.3 μg/個の割合で塗布した。直後、3、7、14、28日後に処理果実を採取した。残留放射能は②項と同様に抽出・分画し、放射エネルギーおよびクロルフェナピル量を測定し、吸収性を調べた。

2) 代謝物の同定・定量試験

吸収・移行性試験の②、③項の各施用により得られた試料の各画分のうち、表面残留性、溶媒可溶性および水可溶性放射エネルギー画分を 分配して得た 画分中の代謝物を、直接又は酵素 (β-グルコシダーゼ) 分解後、2種の逆相系HPLCによるコクロマトグラフ法 (co-HPLC 法) により分離・同定し、そののち定量した。

結果：1) 吸収・移行・分布試験

① 水耕法

結果の概要を表に示す。

経過時間 hr	処理放射エネルギーに対する割合 (%)					
	本葉	子葉	茎	根	水耕液	合計
6	<0.1	<0.1	<0.1	24.4	70.2	94.4
24	<0.1	<0.1	<0.1	39.6	51.9	91.5
48	<0.1	<0.1	0.4	65.4	30.0	95.8
96	<0.1	<0.1	0.3	70.2	13.1	83.6

¹⁴C標識クロルフェナピルを添加した水耕液中の放射エネルギーは、根部への吸収あるいは吸着が96時間後に70.2% となった。根より上部への移行は48時間後に0.4%であったが、葉への移行はなかった。

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。

② 葉面処理および果実処理法

各部位における残留濃度および処理放射エネルギーに対する割合を表に示す。

経過 日数	処理放射エネルギーに対する割合 (%)						クロルフェナピル換算濃度, $\mu\text{g/g}$					
	果実 処理	葉面処理					果実 処理	葉面処理				
	処理 果実	処理 葉	上の 葉	下の 葉	近くの 果実	茎	処理 果実	処理葉	上の葉	下の葉	近くの 果実	茎
直後	94.9	94.0	—	—	—	—	0.346	7.450	—	—	—	—
3	81.1	71.0	0.1	0.1	<0.1	<0.1	0.234	4.106	0.015	0.005	0.001	0.001
7	70.4	66.7	0.1	0.2	<0.1	<0.1	0.171	3.375	0.010	0.005	0.004	0.001
14	30.8	22.5	0.1	0.1	<0.1	<0.1	0.030	0.900	0.007	0.007	<0.001	0.001
28	29.6	20.4	0.1	0.1	<0.1	<0.1	0.054	0.875	0.007	0.006	<0.001	0.001

^{14}C 標識クロルフェナピルを塗布した部位における処理放射エネルギーに対する割合（濃度）は、果実処理では直後が 94.9% ($0.346\mu\text{g/g}$) であったが、28日後には 29.6% ($0.054\mu\text{g/g}$) となった。葉面処理の処理葉では直後が 94.0% ($7.450\mu\text{g/g}$) で、28日後には 20.4% ($0.875\mu\text{g/g}$) となったが、非処理部位への移行はいずれの部位とも 0.2% ($0.02\mu\text{g/g}$) 以下であった。

処理部位の溶媒抽出分画結果を表に示す。

		処理放射エネルギーに対する割合 (%)				
部位	経過 日数	画分				合計
		表面残留性	溶媒可溶性	水可溶性	非抽出性	
処理 果実	直後	94.7	0.2	<0.1	<0.1	94.9
	3	77.6	3.4	<0.1	0.1	81.1
	7	65.8	4.4	0.1	0.1	70.4
	14	29.0	1.7	<0.1	0.1	30.8
	28	17.4	12.1	<0.1	0.1	29.6
処理 葉	直後	87.3	6.7	<0.1	<0.1	94.0
	3	61.7	9.1	0.1	0.1	71.0
	7	56.3	9.9	0.3	0.2	66.7
	14	16.0	5.6	0.3	0.6	22.5
	28	10.7	7.5	0.8	1.4	20.4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

果実に処理すると表面残留性放射エネルギーは経時的に減少し、逆に溶媒可溶性放射エネルギーが増加して、果実内への吸収量増加が認められた。しかし、水可溶性および非抽出性放射エネルギーは増加せず 0.1% 以下であった。一方、葉面に処理すると表面残留性放射エネルギーは果実より速く減少したが、吸収量は処理放射エネルギーの 6~10% の範囲内であった。また、水可溶性および非抽出性放射エネルギーは経時的に徐々に増加したが、28日後で1.5% 未満であった。

なすの処理部位における放射エネルギーおよび残留濃度の半減期を表に示す。

	放射エネルギーの半減期 (日)		残留濃度の半減期 (日)	
	果実処理	葉面処理	果実処理	葉面処理
総放射能画分	14	10	7*	6*
表面残留性放射能画分	10	8	---	--
クロルフェナピル	14	9	7	6

* クロルフェナピル換算濃度から算出

果実および葉面処理における放射エネルギーおよび残留濃度の半減期はいずれも果実より葉において短かった。また、処理部位の経時的な重量増加のため、残留濃度の半減期は放射エネルギーの半減期の1/2~2/3となった。

2) 代謝物の同定・定量試験

① 代謝物の同定・確認

2種のHPLC法で表面残留性および溶媒可溶性放射能画分中の代謝物を検索した結果、果実および葉面処理とも1種のみ検出され、co-HPLC法により (F) と同定された。水可溶性放射能画分中の代謝物は直接またはβ-グルコシダーゼ分解処理後、代謝物を検索したが、標品と一致する代謝物は無かった。

② 代謝物の定量

溶媒可溶性代謝物（表面残留性および溶媒可溶性放射能画分）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。

部位	クロルフェナピル および 代謝物	記号	処理放射エネルギーに対する割合 (%) (TRR に対する%) ¹⁾				クロルフェナピル 換算濃度, $\mu\text{g/g}$			
			処理後日数				処理後日数			
			3日	7日	14日	28日	3日	7日	14日	28日
処理果実	溶媒可溶性		81.0 (99.9)	70.2 (99.7)	30.7 (99.7)	29.5 (99.7)	0.234	0.171	0.030	0.051
	クロルフェナピル	A	81.0 (99.9)	70.2 (99.7)	30.7 (99.7)	29.5 (99.7)	0.234	0.171	0.030	0.051
	その他	F								
	水可溶性		<0.1 (<0.1)	0.1 (0.1)	<0.1 (<0.3)	<0.1 (<0.3)	<0.0003	0.0002	<0.0001	<0.0002
	非抽出性		0.1 (0.1)	0.1 (0.1)	0.1 (0.3)	0.1 (0.3)	0.0003	0.0002	0.0001	<0.0002
	合計		81.1	70.4	30.8	29.6	0.234	0.171	0.030	0.051
処理葉	溶媒可溶性		70.8 (99.7)	66.1 (99.1)	21.6 (96.0)	18.2 (89.2)	4.10	3.35	0.860	0.781
	クロルフェナピル	A	70.7 (99.6)	66.1 (99.1)	21.6 (96.0)	18.2 (89.2)	4.09	3.35	0.860	0.781
	その他	F								
	水可溶性 ²⁾		0.1 (0.1)	0.3 (0.4)	0.3 (1.3)	0.8 (3.9)	0.006	0.015	0.012	0.034
	非抽出性		0.1 (0.1)	0.2 (0.3)	0.6 (2.7)	1.4 (6.9)	0.006	0.010	0.024	0.060
	合計		71.0	66.7	22.5	20.4	4.11	3.38	0.90	0.88

処理直後の処理放射エネルギーに対する割合およびクロルフェナピル換算濃度：
 処理果実：94.9%、0.346 $\mu\text{g/g}$ 、処理葉：94.0%、7.44 $\mu\text{g/g}$

注 1) 放射能残留量に対する割合*

2) 処理放射エネルギーの 0.1% 以下の10種以上の代謝物の合計

本条件下の処理果実および処理葉におけるクロルフェナピルの半減期は処理放射エネルギーではそれぞれ14日と9日、残留濃度ではそれぞれ7日と6日であり、総放射能画分の半減期とほぼ同じであった。

*申請者注：原報を基に申請者が算出した。

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。

処理果実では、表面残留性、溶媒可溶性および水可溶性放射能画分中の各代謝物毎の合計がいずれも処理した放射エネルギーの 0.1% (全放射能残留量 [TRR] の 0.3%) 以下で、残留濃度として $0.0003 \mu\text{g/g}$ 以下であった。一方、処理葉では、表面残留性および溶媒可溶性放射能画分中の各代謝物毎の合計がいずれも処理した放射エネルギーの 0.1% (TRR の 0.5%) 以下で、残留濃度として $0.006 \mu\text{g/g}$ 以下であった。また、水可溶性放射能画分中に多数の代謝物が検出されたがいずれの代謝物も処理放射エネルギーの % (TRR の %) 以下であった。

結論： なすの果実および葉において、クロルフェナピルは吸収・移行および代謝変換が少なかった。代謝物として (F) の生成が確認できたが、その生成量は処理した果実においても処理量の % (TRR の %, $\mu\text{g/g}$) 以下であった。ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は認められず、本試験に使用した [ピロール環- $2\text{-}^{14}\text{C}$] 標識化合物により、なすにおける代謝の解明はできたものと考えられる。また、本試験は光照射条件下による試験であることから、植物体上での光分解を含めて解明できたものと考えられる。

以上の結果から、なすにおける推定代謝経路は以下の通りとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

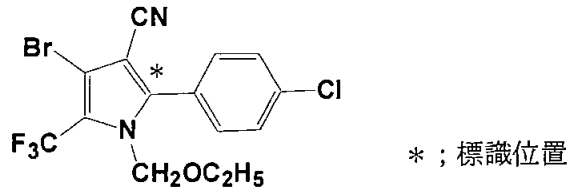
クロフェナピルのなすにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3) キャベツにおける代謝

(資料 M-7)

供試標識化合物； [ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル (¹⁴C(PY)-クロルフェナピル)



化学名 ; ¹⁴C(PY)-4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluoromethylpyrrole-3-carbonitrile

供試植物：キャベツ (学名: *Brassica oleracea*、品種：秋得)

方 法：本試験はグロースキャビネット [20~22°C、50000 Lx (12 hr/day) 光照射] 内で行った。

1) 土壌処理による根からの吸収・移行試験

標識化合物の 10%乳剤¹⁾ の 1000 倍希釈液 (100 μg/mL) を、土壌 (沖積土) 中濃度として 0.2 ppm 相当量を加え、均一に混合し、明条件 (条件 I: 室内光、25°C) および暗条件 (条件 II: 28°C) の 2 条件で 30 日間インキュベーションした。そののち、第一本葉期 (播種 2 週間後) のキャベツ幼苗を移植し、28 日間グロースキャビネット内 (20~22°C) で生育させた。経時的に試料を採取し、本葉、子葉、茎、根および土壌に分画した。本葉および根は抽出し、抽出成分と非抽出成分に分画したのち、放射エネルギーを測定した。子葉および茎は直接オキシダイザーで燃焼処理後、放射エネルギーを測定した。土壌は抽出し、抽出性および非抽出性放射能画分に分画したのち、放射エネルギーを測定した。

2) 結球処理による吸収・移行・分布試験

標識化合物の 10%乳剤¹⁾ の 1000 倍希釈液 1 mL を、結球部分を中心に半径 10 cm の範囲 (繁茂した外葉を含め 8~10 枚) に塗布 (約 0.30 μg/cm²) した。そののち、グロースキャビネット内 (20~22°C) で生育させた。7、14 および 28 日後に施用部位 (結球よりはずれ外葉となった部分を含め 11~14 枚)、その他の葉 (施用時に結球部分を中心に半径 10 cm の範囲に入らなかった外葉 8~12 枚)、および結球部分に分けて採取した。それらについて、によるホモジナイズ抽出・分配を行い、表面残留性、溶媒可溶性、水可溶性および非抽出性放射能画分に分画した。そののち、放射エネルギーおよびクロ

注1) 試験用簡易乳剤

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。
 ルフェナピル量を測定し、吸収・分布性を調べた。

3) 代謝物の同定・定量試験

吸収・移行・分布試験で得られた試料の各画分のうち、溶媒可溶性放射能画分および水可溶性放射能画分を 分配して得た 画分中の代謝物を、直接又は酵素分解（β-グルコシダーゼ、37℃、6 hr）、および酸分解（1N HCl、100℃、3 hr）後、2種の逆相系 HPLC によるコ・クロマトグラフ法 (co-HPLC 法) により分離・同定し、そののち定量した。

結 果：1) 土壌処理による根からの吸収・移行試験

試料	クロルフェナピル および代謝物	記号	処理放射能に対する百分率 (TRRに対する百分率 *)			
			条件 I (明明条件)		条件 II (暗暗条件)	
			移植直前 (薬剤添加 30日後)	移植28日後 (薬剤添加 58日後)	移植直前 (薬剤添加 30日後)	移植28日後 (薬剤添加 58日後)
植物	本葉		— (—)	0.2 (0.2)	— (—)	0.2 (0.2)
	クロルフェナピル その他	A	— (—)	<0.1 (<0.1)	— (—)	<0.1 (<0.1)
	子葉		— (—)	<0.1 (<0.1)	— (—)	<0.1 (<0.1)
	茎		— (—)	<0.1 (<0.1)	— (—)	<0.1 (<0.1)
	根		— (—)	1.1 (1.1)	— (—)	1.0 (1.2)
	クロルフェナピル その他	A D	— (—)	0.8 (0.8)	— (—)	0.6 (0.7)
	小計		— (—)	1.3 (1.4)	— (—)	1.2 (1.5)
土壌	抽出成分		75.6 (81.5)	66.9 (69.5)	82.4 (85.1)	64.4 (78.3)
	クロルフェナピル その他	A D	71.1 (76.6)	60.7 (63.1)	75.5 (78.0)	58.9 (71.7)
	非抽出成分		17.2 (18.5)	28.0 (29.1)	14.4 (14.9)	16.6 (20.2)
	小計		92.8 (100)	94.9 (98.6)	96.8 (100)	81.0 (98.5)
合計			92.8	96.2	96.8	82.2

注 1) 明確なピークは認められなかった。
 2) 10種類以上

* 申請者注：原報を基に申請者が算出した。

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。

条件 I および II における薬剤添加30日後の土壌の抽出可能な分解物は、それぞれ4.5% および 6.9%生成した。両条件下での分解物生成量に有意な差が見られず、主分解物は

(D) であった。この土壌にキャベツ幼苗を移植し28日間生育させた結果、植物体中に放射能が 1.2~1.3% 吸収された。その大部分は根に分布し、クロルフェナピル (A) および

(D) が検出された。しかし、茎葉部へ移行は0.2% であり、クロルフェナピル (A) および (D) 検出されなかった。

2) 結球処理による吸収・移行・分布試験

処理部位における処理放射エネルギーに対する割合(溶媒抽出分画)および濃度を表に示す。

部位	経過 日数	処理放射エネルギーに対する割合 (%)			合計	クロルフェナピル 換算濃度 μg/g
		画分				
		溶媒可溶性	水可溶性	非抽出性		
処理 部位	直後	89.2	<0.1	0.4	89.6	0.51
	7	67.5	0.4	0.5	68.4	0.33
	14	68.2	0.6	1.2	70.0	0.34
	28	65.3	2.2	2.3	69.8	0.25
その 他の 葉	直後	0.7	<0.1	<0.1	0.7	0.0056
	7	0.8	<0.1	<0.1	0.8	0.0035
	14	0.4	<0.1	<0.1	0.4	0.0020
	28	1.0	0.1	0.1	1.2	0.0080
結球	直後	—	—	—	—	—
	7	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.0009
	14	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.0004
	28	0.1	0.1	<0.1	0.2	0.0004

処理部位の溶媒可溶性放射エネルギーは7日後で約 70% まで減少し、その後の変化は少なかった。水可溶性および非抽出性放射エネルギーは 28 日後でそれぞれ 2.2% および 2.3%まで増加した。しかし、可食部となる結球部分への移行は28日後において 0.2% で、溶媒可溶性および水可溶性放射エネルギー画分にそれぞれ 0.1% 分布したが、残留クロルフェナピル換算濃度は0.0004 μg/g 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。

キャベツの処理部位における放射エネルギーおよ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)
総放射能画分	90	26*
クロルフェナピル	60	23

* クロルフェナピル換算濃度から算出

残留濃度の半減期は放射エネルギーの半減期の 1/3 以下と短くなった。これは処理部位の経時的な重量増加によるものと考えられた。

3) 代謝物の同定・定量試験

① 代謝物の同定・確認

2種のHPLC法で処理部位、およびその他の葉の溶媒可溶性放射能画分中の代謝物を検索した結果、前者で5種検出されたが、後者ではクロルフェナピル以外検出されなかった。co-HPLC法により処理部位で (K)、(D) および (F) が同定された。水可溶性放射能画分中の代謝物は直接または β -グルコシダーゼ分解処理後、HPLC法で代謝物を検索した。直接測定では溶媒先端付近に9種以上の高極性代謝物が検出され、それらは酵素分解により若干非極性化した。標品と一致する代謝物は無かった。

② 代謝物の定量

溶媒可溶性代謝物（溶媒可溶性放射能画分、および水可溶性放射能画分の分解処理後の抽出性代謝物）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。

部位	クロルフェナナピル および代謝物	記 号	処理放射エネルギーに対する割合、% (TRRに対する%) ¹⁾			クロルフェナナピル換算濃度, $\mu\text{g/g}$		
			処理後日数			処理後日数		
			7 日	14 日	28 日	7 日	14 日	28 日
処理 部位	溶媒可溶性		67.5 (97.5)	68.2 (96.9)	65.3 (91.7)	0.32	0.34	0.24
	クロルフェナナピル	A	67.4 (97.4)	66.7 (94.7)	64.4 (90.4)	0.32	0.33	0.23
		D						
		F						
		K						
	その他							
	水可溶性 ²⁾		0.4 (0.6)	0.6 (0.9)	2.2 (3.1)	0.0019	0.0030	0.0079
	非抽出性		0.5 (0.7)	1.2 (1.7)	2.3 (3.2)	0.0024	0.0059	0.0083
	合計		68.4 (98.8)	70.0 (99.4)	69.8 (98.0)	0.32	0.35	0.25
その 他の 葉	溶媒可溶性		0.8 (1.2)	0.4 (0.6)	1.0 (1.4)	0.0031	0.0017	0.0067
	クロルフェナナピル	A	0.8 (1.2)	0.4 (0.6)	1.0 (1.4)	0.0031	0.0017	0.0067
	その他							
	水可溶性		<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	0.1 (0.1)	<0.0004	<0.0004	<0.0007
	非抽出性		<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	0.1 (0.1)	<0.0004	<0.0004	<0.0007
	合計		0.8 (1.2)	0.4 (0.6)	1.2 (1.7)	0.0031	0.0017	0.0067
結球	溶媒可溶性		<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	0.1 (0.1)	<0.0008	<0.0004	0.0002
	水可溶性		<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	0.1 (0.1)	<0.0008	<0.0004	0.0002
	非抽出性		<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	<0.0008	<0.0004	<0.0002
	合計		<0.1 (<0.1)	<0.1 (<0.1)	0.2 (0.3)	<0.0008	<0.0004	0.0004
合計			69.2	70.4	71.2	<0.0008	<0.0004	0.0004

処理直後の処理放射エネルギーに対する割合およびクロルフェナナピル換算濃度:90.3%、0.51 $\mu\text{g/g}$

注 1) 全残留放射エネルギー (TRR) に対する割合 (申請者注: 原報を基に申請者が算出)

2) 処理放射エネルギーの 0.2% 未満の多数の高極性未同定代謝物の合計

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。

本条件下の処理部位におけるクロルフェナピルの半減期は処理放射エネルギーでは 60 日、残留濃度では 23 日であった。処理部位において、溶媒可溶性代謝物は 14 日後に最高値を示し、その後減少した。最高値を示した 14 日後で、(D) および

(K) が % (全残留放射エネルギー [TRR] の %、残留濃度として $\mu\text{g/g}$)、(F) が % (TRR の %、残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 検出されたが、その他はいずれも % (TRR の %、残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 以下であった。水溶性代謝物の合計は 28 日後に 2.2% となった。最大の代謝物は極性が一番大きい代謝物で % (TRR の %) を示したが、その他の代謝物はいずれも % (TRR の %) 以下の 9 種以上の極性未同定代謝物であり、それらは、 β -グルコシダーゼ分解により非極性側に移動したが、標品と一致するものはなく、代謝物のうち最大のピークは % であり、それ以外は % 以下であった。その他に非抽出性代謝物が 2.3% 生成した。

結論： クロルフェナピルおよび土壌中の主分解物の (D) のキャベツ幼苗の根からの吸収・移行は極く僅かであった。また、結球処理後の施用部位は日数経過とともに外葉となり、その後生長して可食部となる結球部分には 0.1% を越える放射能画分は無く、移行・残留性は無いものと考えられる。処理部位における主要な代謝反応は

(D)、(K)

および (F) の生成反応であった。それらの生成量はいずれも処理放射エネルギーの % (TRR の %、残留濃度として $\mu\text{g/g}$) 以下であった。

ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は認められず、本試験に使用した [ピロール環-2- ^{14}C] 標識化合物によりキャベツにおける代謝の解明はできたものと考えられる。また、本試験は光照射条件下による試験であることから、植物体上での光分解を含めて解明できたものと考えられる。

以上の結果から、キャベツにおける推定代謝経路は以下の通りとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

クロルフェナピルのキャベツにおける推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5. 土壌中運命

1) 土壌における代謝

(資料 M-8)

供試標識化合物：[ピロール環-2- ^{14}C] 標識化合物および[フェニル環-U- ^{14}C] 標識化合物

供試土壌：茨城土壌（火山灰軽埴土、畑地土壌）および高知土壌（沖積埴壤土、畑地土壌）

方 法：1) 代謝試験

好氣的条件では空気、嫌氣的条件では窒素を通気してプレインキュベーションした土壌、およびオートクレーブで滅菌した土壌に標識化合物を乾土当たり約 $0.5 \mu\text{g/g}$ 処理し、最大容水量の約 60% に調節したのち、遮光下、 28°C で、好氣的条件では空気、嫌氣的条件では窒素を通気し、滅菌条件は密封して試験をした。

発生する $^{14}\text{CO}_2$ 、揮散放射性代謝物（滅菌条件は捕集せず）および土壌は経時的に採取した。土壌中の放射性物質は および で順次抽出し、抽出物と非抽出性放射能画分に分画した。抽出物は濃縮し、に分配して最終的に溶媒可溶性および水可溶性放射能画分に分画した。そののち、放射エネルギーを測定し、代謝を調べた。

2) 代謝物の同定・定量試験

(1) 代謝物の同定・定量

溶媒可溶性放射能画分中の代謝物および揮散放射性代謝物をHPLC-クロマトグラフ (co-HPLC) 法により分離・同定後、定量した。

(2) 非標識化合物を用いた代謝物の同定・確認

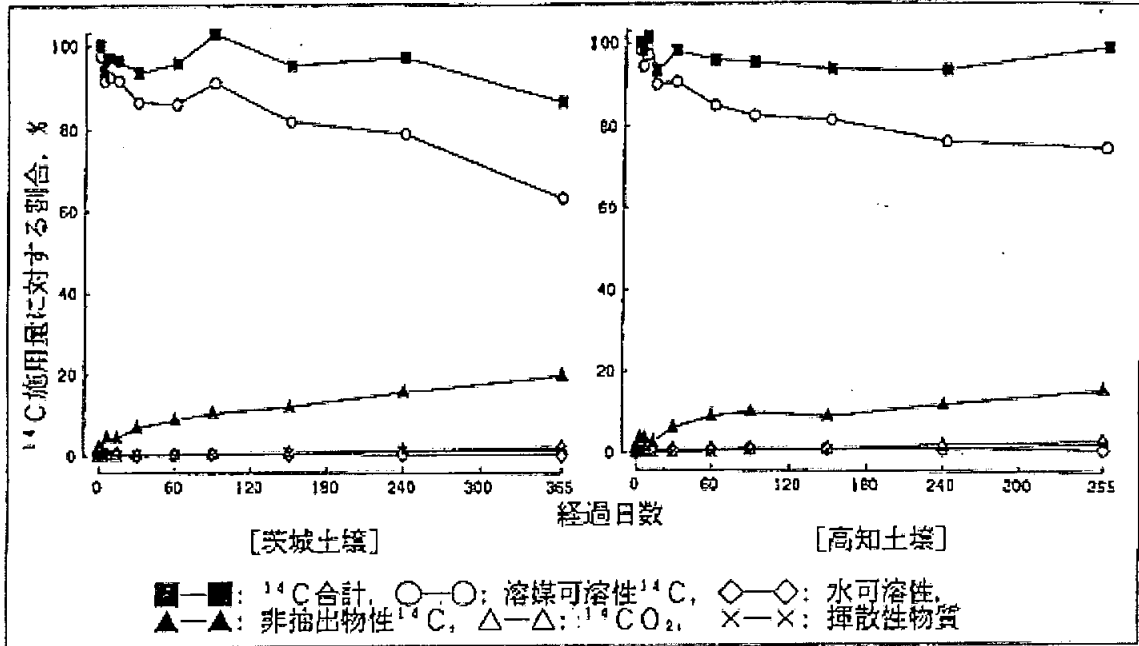
非標識化合物を高知土壌に $1 \mu\text{g/g}$ の割合で処理し、30日間、代謝させたのち、同様に抽出・分画して得た溶媒可溶性画分についてメチル化後、GC-MS 法で分析し、主要な代謝物を確認した。

結 果：1) 代謝

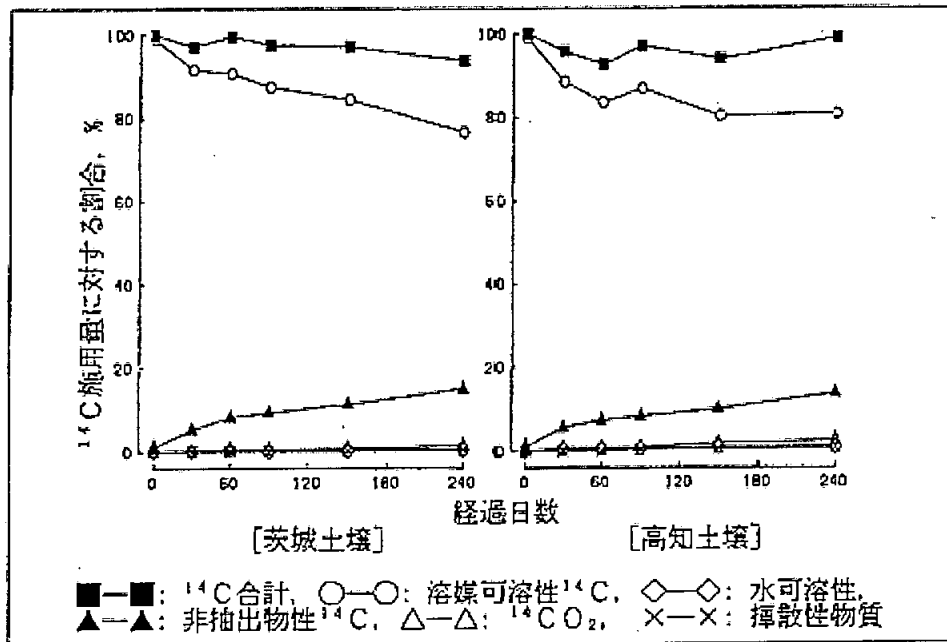
① 好氣的条件

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。

好氣的条件下における [ピロール環-2- ^{14}C] 標識化合物処理後の放射能画分の経時変化曲線



好氣的条件下における [フェニル環-U- ^{14}C] 標識化合物処理後の放射能画分の経時変化曲線



好氣的条件下において、フェニル環およびピラゾール環標識体間および土壌間の差は殆ど無く、土壌中の溶媒可溶性放射能画分は経時的に減少し、240日後で 77~81%、365日後には茨城土壌で 63%、高知土壌で 76% となった。水可溶性放射能画分は両土壌とも 1% 前後と僅かであった。一方、非抽出性放射能画分は経時的

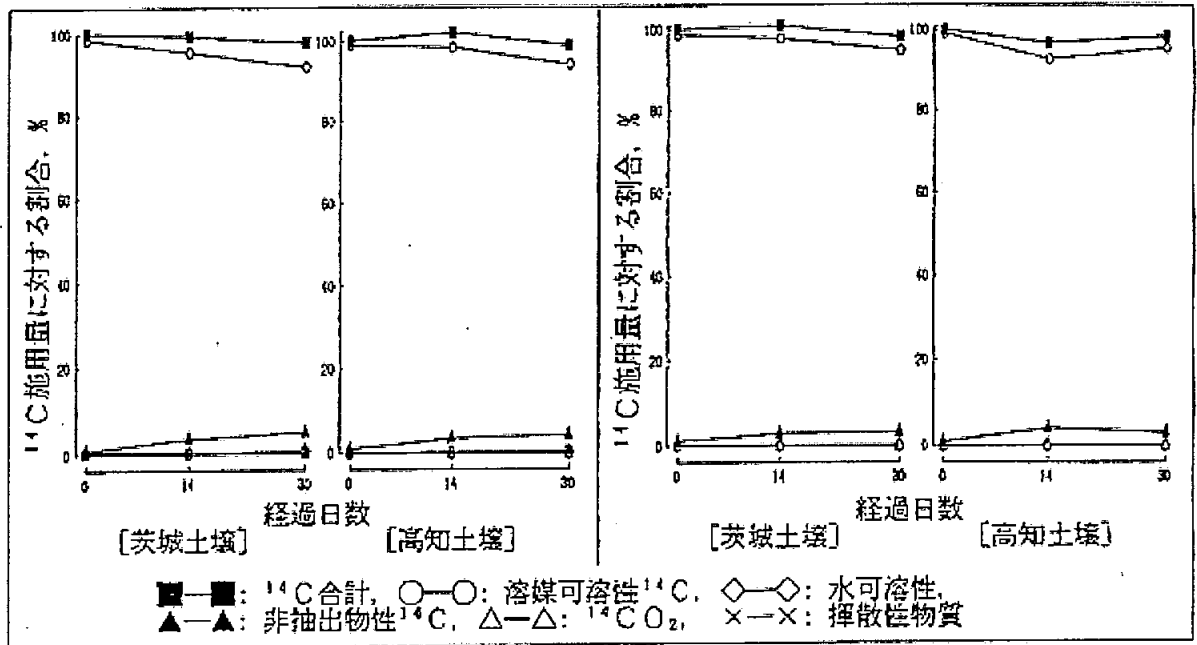
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

に増加し、365日後には茨城土壌で20%、高知土壌で16%となった。また、 $^{14}\text{CO}_2$ の発生および揮散性化合物は少なく、365日後にはそれぞれ茨城土壌で 2.1% および 1.4%、高知土壌で 3.6% および 2.7% であった。

② 嫌氣的条件および滅菌条件

嫌氣的条件における [ピロール環-2- ^{14}C] 標識化合物処理後の放射能画分の経時変化曲線

滅菌条件における [ピロール環-2- ^{14}C] 標識化合物処理後の放射能画分の経時変化曲線



嫌氣的条件および滅菌条件では、好氣的条件に比べて溶媒可溶性放射能画分の減少および非抽出性放射能画分の生成が少なく、また $^{14}\text{CO}_2$ の発生が見られず、分解が少なかった。

2) 代謝物の同定

好氣的条件下の土壌における代謝物はピロール環標識体処理で10種、フェニル環標識体処理で8種、嫌氣的条件下の土壌で2種、滅菌土壌で2種検出された。これらのうち、

(C)、 (D)、 (E)、 (F)、 (G)、

(H) および (K) の7種が2種の co-HPLC法により、標品と一致し、同定

された。揮発物トラップからはクロルフェナピル (A) と (D) が検出された。ま

た、GC-MS法により非標識体施用土壌抽出物中の主要な代謝物として (D) が確認

できた。

3) 代謝物の定量

好氣的条件における [ピロール環-2- ^{14}C] 標識化合物処理後の代謝物の処理放射能量に対する割合を次表に示す。

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。

	クロルフェナピル および代謝物	記号	処理放射エネルギーに対する割合 (%)										
			処理後日数										
			直後	3日	7日	14日	30日	60日	90日	150日	240日	365日	
ピロール環標識体	溶媒可溶性		97.5	91.7	92.5	91.8	86.6	86.3	91.4	81.8	78.9	63.4	
	クロルフェナピル	A	96.9	89.7	88.9	85.4	79.2	74.2	74.6	59.7	52.4	32.5	
		C											
		D											
		E											
		F											
		G											
		H											
		K											
		その他											
茨城土壌・火山灰軽埴土	揮散性化合物		*	-	-	-	0.2	0.2	0.4	0.6	1.1	1.4	
	クロルフェナピル	A	*	*	*	*	0.1	0.1	0.2	0.3	0.5	0.4	
		D											
	¹⁴ C ₂		*	-	-	-	0.1	0.3	0.4	0.8	1.4	2.1	
	水可溶性		0.5	0.4	0.4	0.5	-	0.4	0.3	0.3	0.3	0.3	
	非抽出性		2.0	2.0	4.2	4.2	6.7	8.7	10.3	11.9	15.6	19.7	
	合計		100.0	94.1	97.1	96.5	93.6	95.9	102.8	95.4	97.3	86.9	
	高知土壌・沖積埴土	溶媒可溶性		98.3	94.6	97.3	90.3	90.9	85.2	82.8	82.1	77.0	76.0
		クロルフェナピル	A	97.5	90.1	95.2	84.5	82.0	67.8	65.0	62.5	52.5	42.0
			C										
		D											
		E											
		F											
		G											
		H											
		K											
		その他											
高知土壌・沖積埴土	揮散性化合物		*	-	-	0.1	0.2	0.4	0.8	1.0	1.4	2.7	
	クロルフェナピル	A	*	*	*	*	0.2	0.3	0.6	0.5	0.5	0.9	
		D											
	¹⁴ C ₂		*	-	-	0.1	0.2	0.5	0.9	1.2	2.3	3.6	
	水可溶性		-	0.3	0.6	0.6	0.8	1.0	1.2	1.1	1.3	1.4	
	非抽出性		1.7	3.4	3.4	2.6	6.0	9.1	10.0	9.0	12.2	16.2	
	合計		100.0	98.3	101.3	93.7	98.1	96.2	95.7	94.4	94.2	99.9	

- : 0.1% 以下、* : 測定せず

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。

好気的条件下における〔フェニル環-U-¹⁴C〕標識化合物処理後の代謝物の¹⁴C処理量に対する割合を次表に示す。

	クロルフェナピル および代謝物	記号	処理放射エネルギーに対する割合 (%)							
			処理後日数							
			直後	30日	60日	90日	150日	240日		
フェニル環標識体	茨城土壌・火山灰軽埴土		溶媒可溶性	98.8	91.5	90.6	87.3	84.4	76.5	
		クロルフェナピル	A C D E F G H K	98.4	83.9	78.2	70.7	61.1	48.7	
		その他								
		揮散性化合物		*	0.1	0.1	0.2	0.3	0.5	
		クロルフェナピル	A D	*	0.1	0.1	0.2	0.2	0.3	
		¹⁴ CO ₂		*	0.1	0.2	0.5	0.8	1.3	
		水可溶性		0.1	0.1	0.5	0.1	0.2	0.4	
		非抽出性		1.1	5.2	8.1	9.3	11.4	15.0	
		合計		100.0	97.0	99.5	97.4	97.1	93.7	
		高知土壌・沖積埴土		溶媒可溶性	98.9	88.5	83.6	86.8	80.3	80.9
		クロルフェナピル	A C D E F G H K	98.5	81.6	70.0	69.8	59.2	51.6	
		その他								
	揮散性化合物		*	0.2	0.2	0.3	0.7	0.9		
	クロルフェナピル	A D	*	0.2	0.2	0.2	0.4	0.3		
	¹⁴ CO ₂		*	0.8	0.8	1.0	1.9	2.5		
	水可溶性		-	0.7	0.7	0.7	0.9	0.9		
	非抽出性		1.1	5.6	7.4	8.3	10.2	13.9		
	合計		100.0	95.8	92.7	97.1	94.0	99.1		

- : 0.1% 以下、* : 測定せず

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。
 嫌気的条件および滅菌条件における [ピロール環-2-¹⁴C] 標識化合物処理後の代謝物の処理放射
 エネルギーに対する割合を次表に示す。

	クロルフェナピル および代謝物	記 号	処理放射エネルギーに対する割合 (%)							
			嫌気条件			滅菌条件				
			直後	14日	30日	直後	14日	30日		
ピ ロ ー ル 環 標 識 体	茨城土壌・火山灰軽埴土		溶媒可溶性	98.5	95.2	91.6	98.5	97.5	95.0	
		クロルフェナピル	A D F K	98.2	92.7	87.8	97.2	95.8	93.8	
		その他								
	揮散性化合物			*	0.1	0.2	*	*	*	
	¹⁴ CO ₂			*	-	-	*	-	-	
	水可溶性			0.7	0.2	0.6	0.3	0.2	0.1	
	非抽出性			0.8	3.6	5.1	1.2	3.0	3.3	
	合計			100.0	99.1	97.6	100.0	100.7	98.4	
	高知土壌・沖積鉾質埴土			溶媒可溶性	99.1	98.6	94.3	99.1	92.5	95.3
		クロルフェナピル	A D F K	98.9	96.8	90.3	97.5	91.9	94.8	
	その他									
揮散性化合物			*	0.2	0.3	*	*	*		
¹⁴ CO ₂			*	-	-	*	-	-		
水可溶性			-	-	0.1	-	-	-		
非抽出性			0.9	3.6	4.4	0.9	4.1	3.1		
合計			100.0	102.4	99.1	100.0	96.6	98.4		

- : 0.1% 以下、* : 測定せず

以上の結果から、好気的条件下におけるクロルフェナピルの半減期は以下のように推定された。

処理した標識体	クロルフェナピルの半減期 (日)	
	茨城土壌	高知土壌
[ピロール環-2- ¹⁴ C] 標識化合物	250	260
[フェニル環-U- ¹⁴ C] 標識化合物	230	260

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。

好氣的条件におけるクロルフェナピルの半減期は 230~260 日であった。

主代謝物は (D) で 365 日後に % に達した。次いで、茨城土壌では (E) が %、高知土壌では (F)、 (H) および (C) がそれぞれ約 % 生成した。 の脱離した代謝物は合計でも % 以下であった。ピロール環とフェニル環の結合部分は、両標識体施用とも $^{14}\text{CO}_2$ 発生量に差がないことと、同定された代謝物はいずれも両環を有していることから、結合部分の開裂はないものと考えられた。また、未同定代謝物と水可溶性代謝物の全てが結合部分の開裂した代謝物と仮定しても 2% 以下であった。揮散性化合物としてクロルフェナピルと (D) が 365 日後で約 % 捕集されたが、前者より後者が約 2 倍多く捕集され、 (D) の生成量を考慮すると (D) はクロルフェナピルよりも揮散性が数倍大きかった。

嫌氣的条件の 30 日後において、クロルフェナピルの減少は約 10% と少なく、主代謝物の (D) も好氣的条件の約 1/2 と少なかった。また、滅菌条件では直後と 30 日後では代謝物の量は殆ど差がなかった。

以上のことから、クロルフェナピルは主に酸化的代謝反応を受けて消失することが明らかとなった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
好气的条件における [ピロール環-2-¹⁴C] 標識化合物処理後の代謝物の残留濃度を次表に示す。

	クロルフェナピル および代謝物	記号	残留濃度 (μg クロルフェナピル当量/g)									
			処理後日数									
			直後	3日	7日	14日	30日	60日	90日	150日	240日	365日
ピ ロ ー ル 環 標 識 体	溶媒可溶性											
	クロルフェナピル	A	0.49	0.46	0.45	0.44	0.40	0.38	0.38	0.30	0.27	0.17
		C										
		D										
		E										
		F										
		G										
		H										
		K										
		その他*										
	水可溶性*		0.003	0.002	0.002	0.003	-	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002
	非抽出性*		0.010	0.010	0.021	0.021	0.034	0.044	0.061	0.061	0.080	0.100
	合計*		0.51	0.48	0.50	0.49	0.48	0.49	0.52	0.49	0.50	0.44
	溶媒可溶性											
	クロルフェナピル	A	0.50	0.46	0.49	0.43	0.42	0.35	0.33	0.32	0.27	0.21
		C										
		D										
		E										
		F										
		G										
		H										
		K										
	その他*											
	水可溶性*		-	0.002	0.003	0.003	0.004	0.005	0.006	0.006	0.007	0.007
	非抽出性*		0.009	0.017	0.017	0.013	0.031	0.046	0.051	0.046	0.062	0.083
	合計*		0.51	0.50	0.52	0.48	0.50	0.49	0.49	0.48	0.48	0.51

* クロルフェナピル換算濃度 μg/g

- : 0.001 μg/g 以下

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。
好氣的条件における [フェニル環- $U-^{14}C$] 標識化合物処理後の代謝物の残留濃度を次表に示す。

	クロルフェナピル および代謝物	記 号	残留濃度 (μg クロルフェナピル当量/g)						
			処理後日数						
			直後	30日	60日	90日	150日	240日	
フェニル環 標識体	溶媒可溶性								
	クロルフェナピル	A	0.51	0.44	0.41	0.37	0.32	0.25	
		C							
		D							
		E							
		F							
		G							
茨城土壌・火山灰軽 埴土	その他*	H							
		K							
	水可溶性*			0.001	0.001	0.003	0.001	0.001	0.002
	非抽出性*			0.006	0.027	0.042	0.048	0.059	0.078
	合計*			0.52	0.50	0.52	0.51	0.50	0.49
	溶媒可溶性								
	クロルフェナピル	A	0.51	0.42	0.36	0.36	0.31	0.27	
	C								
	D								
	E								
	F								
	G								
高知土壌・沖積埴壤土	その他*	H							
		K							
	水可溶性*			-	0.004	0.004	0.004	0.005	0.005
	非抽出性*			0.006	0.029	0.038	0.043	0.053	0.072
	合計*			0.52	0.50	0.48	0.50	0.49	0.52

* クロルフェナピル換算濃度 $\mu g/g$

- : $0.001 \mu g/g$ 以下

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。
 嫌気的および滅菌条件における [ピロール環-2-¹⁴C] 標識化合物処理後の代謝物の残留濃度を次表に示す。

	クロルフェナピル および代謝物	記 号	残留濃度 (μg クロルフェナピル当量/g)					
			嫌气的条件			滅菌条件		
			処理後日数			処理後日数		
			直後	14日	30日	直後	14日	30日
ピ ロ ー ル 環 標 識 体	溶媒可溶性							
	クロルフェナピル	A	0.49	0.46	0.44	0.48	0.47	0.46
		D						
		F						
		K						
	その他*							
	水可溶性*		0.004	0.001	0.003	0.001	0.001	-
	非抽出性*		0.004	0.018	0.026	0.006	0.015	0.016
	合計*		0.50	0.50	0.49	0.49	0.49	0.48
	高知土壌・ 沖積埴壌土	溶媒可溶性						
クロルフェナピル	A	0.49	0.48	0.45	0.48	0.45	0.46	
	D							
	F							
	K							
その他*								
水可溶性*		-	-	-	-	-	-	
非抽出性*		0.005	0.018	0.022	0.004	0.020	0.015	
合計*		0.50	0.51	0.50	0.49	0.47	0.48	

* クロルフェナピル換算濃度 μg/g
 - : 0.001 μg/g 以下

好气的条件において、クロルフェナピル (A) の残留濃度は直後が 0.49~0.51 μg/g で、240日後に 0.25~0.27 μg/g、365日後には 0.17~0.21 μg/g まで減少した。主要な代謝物の最高残留濃度は (D) が 365日後に μg/g となった。その他の代謝物は (E) が 365日後に茨城土壌で μg/g を僅かに超えた以外はいずれも μg/g 以下であった。嫌气的条件下における代謝物は (D) が30日後に μg/g を示した以外はいずれも μg/g 以下であった。また、滅菌条件においてはいずれの代謝物とも μg/g を超えるものは無かった。

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。

結論：土壌におけるクロルフェナピルは半減期が 230～260日であった。主代謝物は

(D) で、経時的に生成量が増加し、365日後には約 % となった。次いで、(E) の生成であった。ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は見られなかった。

土壌における代謝は、本試験に使用した [ピロール環-2-¹⁴C] 標識化合物と [フェニル環-U-¹⁴ 標識化合物により解明できたものと考えられる。

以上の結果から、土壌における推定代謝経路は以下の通りとなった。

2) 土壌表面における光分解試験

(資料 M-13)

供試化合物： [ピロール環- ^{14}C] 標識クロルフェナピル (^{14}C (PY)-クロルフェナピル)

[フェニル環- ^{14}C] 標識クロルフェナピル (^{14}C (PH)-クロルフェナピル)

土壌 : Agricultural Research Center (Princeton, NJ) から入手した Sassafras sandyloam を供試した。土壌は使用前に 2 mm の篩でふるい、曝露面を均一にした。

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

光強度 ; 0.35 w/m² (波長 ; 340 nm)

方法

処理方法 ; 直径 5 cm のガラスシャーレに約 5 g の土を入れ、土の深さを約 1~2 mm とした。 ^{14}C (PY)-クロルフェナピルおよび ^{14}C (PH)-クロルフェナピルをそれぞれアセトニトリルに溶解 (放射能濃度 80 ppm) したものの 1 mL を土壌に処理した。処理量は表面積ベースで 0.44 kg/ha とした。対照サンプルはアルミホイルで遮光し、25±1℃に維持した恒温室に、照射試験サンプルは 25±1℃に維持した光分解チャンバー内に置いた。

照射時間 ; 30 日間の光照射を行った。

分析 ;

結果

放射能分析 ; 各標識体もちいた土壌表面における ^{14}C -標識体の分解を次頁の表に示す。試験系からの総放射能回収率は、フェニル環標識体で 95.3~103.8%およびピロール環標識体で 95.0~100.2%と良好で、揮散等による損失を認めなかった。照射区においてクロルフェナピルは擬一次反応速度論的に減衰し、試験期間の 30 日間 (表には 30 日のサンプリングになっています、要確認) で約 25%が分解した。当該試験条件下での半

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。

減期は、フェニル環標識体で 68 日およびピロール環標識体で 82 日と推定された。対照サンプル（遮光区）は試験期間を通して安定であった。いずれの標識体においても、処理量の 10%以上を占める分解物は認められなかった。2 種類の分解物（F）および（K）が生成され、30 日後にはそれぞれ添加放射エネルギーの約 %を占めた。同定できない放射能成分が複数認められたものの、フェニルおよびピロール標識体のいずれについても、抽出された放射能の %以上を占めるものはなかった（申請者が報告書を基に計算し表を作成、結果についても記載した）。

土壌表面における光分解

分解物	記号	分解物量（添加放射エネルギーに対する割合%）						
		照射日数（日）					遮光 ¹⁾	
		直後	7	14	21	30		
フェニル環標識体	溶媒抽出画分		103.6	99.6	97.2	90.1	91.4	100.7
	クロルフェナピル	A	101.8	91.4	86.3	78.8	74.7	98.8
	その他未同定分解物 ²⁾	F K						
	非抽出性		0.2	3.6	4.7	5.3	6.3	0.9
	合計（回収率）		103.8	101.9	101.9	95.3	97.6	101.6
ピロール環標識体	溶媒抽出画分		100.1	94.8	94.1	89.7	89.7	98.4
	クロルフェナピル	A	97.4	85.0	81.2	75.7	75.1	95.4
	その他未同定分解物 ²⁾	F K						
	非抽出性		0.2	3.3	4.0	5.3	5.7	1.0
	合計（回収率）		100.2	98.1	95.0	95.0	95.3	99.4

—：検出限界以下

1) 30 日間

2) 複数の分解物の合計、個々の分解物は %を越えない。

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. 水中運命

1) 加水分解試験（非標識体を用いた評価その1）

（資料 PC-11）

供試化合物： 非標識クロルフェナピル

供 試 水： pH 4、7および9の緩衝液

方 法： OECDテストガイドライン111 “pHの関数としての加水分解” に準拠し、25℃における加水分解性を評価した。

pH : 4、7および9

濃 度 : 0.05 mg/L（仕込み濃度）

温 度 : 50±0.2℃

試験期間 : 7日間

分 析 :

分析間隔 : 試験0、1、3、7日間目に分析

結 果： 被験物質の加水分解における残存率（7日間後）および半減期

試 験 系	7日間後の クロルフェナピル残存率	半 減 期
pH 4	83%	25日
pH 7	94%	>1年
pH 9	82%	29日

結 論： pH 4 および 9 については被験物質は 50℃における加水分解に対して不安定と考えられる。したがって、OECDの化学品テストガイドラインの規定により、pH 4 および 9 について 25℃ における加水分解試験が必要である。（資料 ES-4 参照）

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) 加水分解（非標識体を用いた評価その2）

（資料 PC-10）

供試化合物： 非標識クロルフェナピル

供 試 水： pH 4、9の緩衝液

方 法： OECDテストガイドライン111 “pH の関数としての加水分解” に準拠し、25℃における加水分解性を評価した。

pH : 4および9

濃 度 : 0.05 mg/L（仕込み濃度）

温 度 : 室温

試験期間 : 28日間

分 析 :

分析間隔 : 試験0、3、7、14、21、28日目に分析

結 果： 被験物質の加水分解における残存率（28日間後）と半減期

試 験 系	28日間後の クロルフェナピル残存率	半 減 期
pH 4	104%	>28日
pH 9	101%	>28日

25℃の被験物質の加水分解における半減期はpH 4 および 9 とともに半減期は28日以上であった。50℃の試験（資料 ES-5 参照）においてpH 7 の半減期は1年以上であることから、被験物質は加水分解に対して安定であると判断された。

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。

3) 加水分解 (標識体を用いた評価)

(資料 PC-12)

供試化合物： [ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

[フェニル環-U-¹⁴C] 標識クロルフェナピル

方 法： U.S.EPA Guidelines for Registration of Pesticides に準拠した。

pH : 5、7および9

濃 度 : 0.07 mg/L 緩衝液 (仕込み濃度)

温 度 : 25±1℃

試験期間 : 30日間

分 析 :

分析間隔 : 試験開始後0、7、15、21および30日目に分析

結 果：被験物質の30日後の残存率および半減期

試 験 系		30日後の クロルフェナピル残存率	半 減 期
[ピロール環-2- ¹⁴ C]標識体	pH 5	98.5%	>30日
	pH 7	98.8%	>30日
	pH 9	99.0%	>30日
[フェニル環-U- ¹⁴ C]標識体	pH 5	98.9%	>30日
	pH 7	99.2%	>30日
	pH 9	99.2%	>30日

結 論： クロルフェナピルは25℃において、pH 5、7 および 9 のいずれにおいても30日間安定であった。

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。

4) 水中光分解試験（非標識体を用いた評価）

（資料 PC-13）

供試化合物： 非標識クロルフェナピル

供 試 水： 純水（横浜市上水をMilli-Q Sp超純水製造装置で精製、ろ過滅菌した）
河川水（鴨志田川の水を0.22 μ mミリポアフィルターでろ過滅菌した（pH 7.5））
方 法： 農林水産省の“農薬の成分物質等の中での光分解性試験”の暫定実施指針に準拠した。

濃 度： 0.05 mg/L（仕込み濃度）
試験液量： 100 mL
試験容器： 100 mL容共栓付三角フラスコ（パイレックスガラス製）
照射装置： 特殊石英硝子キセノンランプ、1.8 kW
光学特殊（UV）フィルターで290 nm以下の光を遮光した。
照射照度： 830 W/m² 波長範囲：290-830 nm
温 度： 室温
試験期間： 16時間
分 析：

分析間隔： 0、1、2、4、8、16時間

結 果：① 被験物質の水中での光分解における残存率（16時間後）と半減期

試 験 系	16時間後の クロルフェナピル残存率	半 減 期
純水（ミリポア水）	18%	7.0時間
河川水（鴨志田川の水）	45%	14.6時間

対照区（遮光）では分解は認められなかった。（8時間後の残存率は純水、河川水ともに104%であった。）

② 水中光分解物の同定

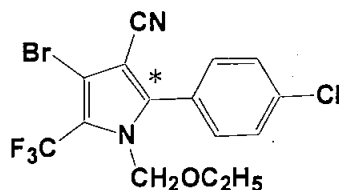
水中光分解物については量的に極めて少なく同定できなかった。

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。

5) 水中光分解試験／緩衝液（標識体を用いた評価）

（資料 M-11）

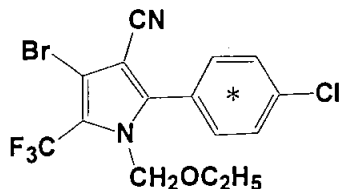
供試標識化合物：[ピロール環-2-¹⁴C] 標識クロルフェナピル (¹⁴C(PY)-クロルフェナピル)



* ; 標識位置

化学名 ; ¹⁴C(PY)-4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluoromethylpyrrole-3-carbonitrile

供試標識化合物：[フェニル環-U-¹⁴C] 標識クロルフェナピル (¹⁴C(PH)-クロルフェナピル)



* ; 標識位置

化学名 ; ¹⁴C(PH)-4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluoromethylpyrrole-3-carbonitrile

供試緩衝液 : 酢酸緩衝液 (pH 5)、0.067 M リン酸緩衝液 (pH 7) および 0.01 M ホウ酸緩衝液 (pH 9) を濾過滅菌し、試験に供した。

光源 : キセノンアークランプ (290 nm 以下の波長を除去)

光強度 ; 239.3 W/m² (波長範囲 ; 300-800 nm)*

方法

試験溶液 ; 供試緩衝液に ¹⁴C(PY)-クロルフェナピルあるいは (¹⁴C(PH)-クロルフェナピル) のアセトニトリル溶液を添加し、最終クロルフェナピル濃度を 0.065 mg/L とした (アセトニトリル濃度 0.5%)。試験は 2 連で実施した。

*申請者注：原報には記載が無いが、試験機関から提供された情報により記載した。

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。

光照射 ; 試験溶液 200 mL を 250 mL 三角フラスコに入れ、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ に保った光分解チャンバー内に静置した。対照サンプルはアルミニウム箔で遮光し、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の恒温暗所に置いた。

照射時間 ; 30 日間の光照射を行った。

分析 ;

半減期の算出; 被験物質濃度の添加濃度に対する割合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、得られた消失速度定数から半減期を算出した。また、求めた半減期の間に照射されたキセノンアークランプの積算放射照度を、自然太陽光下（北緯 35° [東京]、春 [4月~6月]）の 1 日あたりの平均放射照度で除して、自然太陽光下における推定半減期を算出した。但し、太陽光の分光照射照度は、東京における 4 月~6 月の平均全天日射量と J I S に規定された基準太陽光の分光放射照度分布 (JIS C8911-1998) における各波長範囲の照度分布割合との積により算出した（自然太陽光下における推定半減期は申請者が算出した）。

結果 ;

放射能分析 ; 各緩衝液中における ^{14}C -標識体の分解を次頁以降の表に示す。試験系からの総放射能回収率は、pH 5 で 83.5~104.8%、pH 7 で 88.7~101.9% および pH 9 で 93.0~100.1% であり、放射能の回収はほぼ完全であった。 ^{14}C -クロルフェナピルは光照射により速やかに分解した。主たる分解生成物として

(0) を認め、その生成量は 30 日後の最終時点において pH 5 で %、pH 7 で % および pH 9 で % であった。その他に複数の未同定分解物および TLC 分析により原点に分離される極性分解物が検出されたがいずれも少量であり、10% を超えて生成する分解物はなかった（申請者が報告書を基に計算し表を作成、結果についても記載した）。

半減期 ; 各緩衝液中においてクロルフェナピルは擬一次反応的に減衰した。算出された pH 5、7 および 9 の緩衝液におけるクロルフェナピルの半減期 (DT50) は、それぞれ 5.2 日、7.5 日 および 4.8 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、pH 5、7 および 9 においてそれぞれ 12.6 日、18.1 日 および 11.6 日 (300~800nm の積算放射照度を元に算出) に相当した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

緩衝液 (pH 5) における水中光分解

分解物	記号	分解物量 (添加放射エネルギーに対する割合%)									
		照射日数 (日)								遮光 ¹⁾	
		0	1	2	3	7	14	21	30		
フェニル環標識体	抽出画分	99.6	92.0	97.4	102.0	95.6	86.8	87.0	73.3	98.7	
	クロルフェナピル	A	98.4	67.6	62.7	46.8	30.8	8.5	3.8	2.3	96.9
	極性分解物 (原点) その他未同定 ²⁾	0									
	水画分		0.1	0.2	0.5	1.4	3.3	6.8	8.8	9.0	0.3
	抽出画分		NA	NA	NA	NA	1.6	3.0	3.4	3.6	NA
	抽出残渣		NA	NA	NA	NA	1.7	3.8	5.4	5.4	NA
	容器洗浄		0.4	1.1	1.0	1.4	2.2	1.5	1.4	1.2	1.1
合計 (回収率)		100.1	93.3	98.9	104.8	101.0	95.0	97.1	83.5	100.0	
ピロール環標識体	抽出画分		99.1	96.4	92.4	97.6	85.3	84.6	83.2	78.7	97.0
	クロルフェナピル	A	97.0	75.9	57.7	54.2	18.8	11.4	4.2	1.3	95.2
	極性分解物 (原点) その他未同定 ²⁾	0									
	水画分		0.5	0.4	0.6	1.2	7.3	6.6	8.7	11.4	0.2
	抽出画分		NA	NA	NA	NA	3.5	2.9	3.8	4.8	NA
	抽出残渣		NA	NA	NA	NA	3.8	3.8	5.0	6.6	NA
	容器洗浄		0.5	0.8	1.7	4.8	0.7	1.9	1.1	1.4	2.9
合計 (回収率)		100.1	97.6	94.7	103.6	93.2	93.1	93.0	91.5	100.0	

— : 検出限界以下。

NA : 測定せず。

1) : 30 日間

2) : 複数の分解物の合計、個々の分解物は 10% を越えない。

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。
緩衝液 (pH 7) における水中光分解

分解物	記号	分解物量 (添加放射エネルギーに対する割合%)									
		照射日数 (日)								遮光	
		0	1	2	3	7	14	22	30		
フェニル 環標識体	抽出画分	99.2	95.3	97.0	97.7	83.7	83.5	76.8	77.1	97.8	
	クロルフェナピル	A	98.3	87.7	85.2	77.9	47.2	28.7	11.7	4.5	96.8
	極性分解物 (原点) その他未同定 ²⁾	0									
	水分		0.5	0.9	1.1	2.3	4.9	8.4	11.5	13.6	0.8
	抽出画分		NA	NA	NA	NA	3.5	5.4	6.0	6.6	NA
	抽出残渣		NA	NA	NA	NA	1.4	3.0	5.5	7.0	NA
	容器洗浄		0.4	0.5	0.8	0.6	0.9	0.5	0.5	0.8	1.5
合計 (回収率)		100.1	96.7	98.9	100.5	101.0	92.3	88.7	91.5	100.1	
ピロール 環標識体	抽出画分		99.7	98.6	98.5	97.8	93.8	92.8	87.4	85.1	97.1
	クロルフェナピル	A	98.5	85.8	83.9	77.9	41.2	36.0	11.8	8.8	96.0
	極性分解物 (原点) その他未同定 ²⁾	0									
	水分		0.4	1.5	1.6	2.3	6.7	7.3	12.3	14.6	1.5
	抽出画分		NA	NA	NA	NA	4.6	4.7	6.9	7.7	NA
	抽出残渣		NA	NA	NA	NA	2.1	2.6	5.4	6.9	NA
	容器洗浄		1.2	1.5	1.9	1.8	0.6	0.7	1.4	0.9	1.5
合計 (回収率)		101.2	101.5	101.9	101.8	101.1	100.8	101.0	100.5	100.0	

— : 検出限界以下。

NA : 測定せず。

1) : 30 日間

2) : 複数の分解物の合計、個々の分解物は 10% を越えない。

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。
緩衝液 (pH 9) における水中光分解

分解物	記号	分解物量 (添加放射エネルギーに対する割合%)									
		照射日数 (日)								遮光	
		0	1	2	3	7	14	21	30		
フェニル環標識体	抽出画分	99.3	97.6	95.8	95.5	90.7	86.5	84.2	80.3	98.0	
	クロルフェナピル	A	96.7	91.0	77.8	70.7	43.2	15.0	6.2	1.2	97.2
	極性分解物 (原点) その他未同定 ²⁾	0									
	水画分		0.3	1.7	3.2	3.8	8.3	12.2	13.6	16.7	0.9
	抽出画分		NA	NA	NA	NA	NA	4.8	5.5	6.4	NA
	抽出残渣		NA	NA	NA	NA	NA	7.4	8.1	10.3	NA
	容器洗浄		0.5	0.8	1.0	0.8	1.1	1.0	1.0	0.6	1.2
合計 (回収率)		100.1	100.0	100.0	100.0	100.0	99.6	97.5	97.5	100.0	
ピロール環標識体	抽出画分		98.5	95.4	93.5	93.1	87.8	83.2	76.9	72.8	97.6
	クロルフェナピル	A	96.4	88.0	72.8	65.6	38.9	12.6	5.5	0.9	96.8
	極性分解物 (原点) その他未同定 ²⁾	0									
	水画分		0.4	1.6	3.7	4.9	8.4	12.5	14.7	19.4	0.9
	抽出画分		NA	NA	NA	NA	NA	4.5	5.4	7.5	NA
	抽出残渣		NA	NA	NA	NA	NA	8.1	9.3	11.9	NA
	容器洗浄		1.1	0.9	1.0	1.3	1.3	2.9	1.7	0.9	1.5
合計 (回収率)		100.0	97.8	98.2	99.3	97.4	98.6	93.2	93.0	100.0	

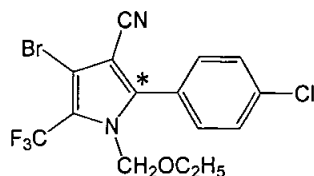
クロルフェナピルは水中で急速に光分解を受け、pH 5、7 および9の緩衝液中における平均半減期は、それぞれ5.2日、7.5日および4.8日であった。添加量の10%を超えて生成する光分解生成物は1種類のみで、これは親化合物の位置異性体である。対照サンプル (遮光区) は安定であり、試験期間を通じた分解率は2%未満であった。

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) 水中光分解試験／自然水（標識体を用いた評価）

(資料 M-12)

供試標識化合物 : [ピロール環-2- ^{14}C] 標識クロルフェナピル (^{14}C (PY)-クロルフェナピル)



化学名 ; ^{14}C (PY)-4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-1-ethoxymethyl-5-trifluoromethylpyrrole-3-carbonitrile

供試水 : 自然水（大阪府河内長野市、日本農薬株、総合研究所敷地内の井戸より採取した地下水）を、濾過滅菌の後に使用した。滅菌した供試水の pH、溶存酸素量、全蒸発残留物量及び電気伝導度は、それぞれ、7.2、8.02 mg/L、162 mg/L 及び 0.21 mS/cm であった。

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

光強度 ; 537.1 W/m²（波長範囲 ; 300-800 nm）

方法

試験溶液 ; 供試水に ^{14}C (PY)-クロルフェナピルのアセトニトリル溶液を添加し、最終クロルフェナピル濃度を 0.06 $\mu\text{g/L}$ （アセトニトリル濃度 0.2%）とした。試験は 2 連で実施した。

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 \pm 2 $^{\circ}\text{C}$ の恒温槽中に静置し、石英ガラス面に垂直に光照射した。同様に調製したものを遮光し、8 日間恒温槽中に静置したものを遮光区とした。

照射時間 ; 0、0.25、1、2、4、6 および 8 日間の光照射を行った。

分析 ;

半減期の算出 ; 被験物質濃度の添加濃度に対する割合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、得られた消失速度定数から半減期を算出した。また、求めた半減期の中に照射されたキセノンアークランプの積算放射照度を、自然太陽光下（北緯 35° [東京]、春 [4月～6月]）の1日あたりの平均放射照度で除して、自然太陽光下における推定半減期を算出した。但し、太陽光の分光照射照度は、東京における4月～6月の平均全天日射量とJISに規定された基準太陽光の分光放射照度分布（JIS C8911-1998）における各波長範囲の照度分布割合との積により算出した。

結果

放射能分析 ; 供試水中における¹⁴C(PY)-クロルフェナピルの分解を次頁表に示す。試験系からの総放射能回収率は100.4から90.4%であった。¹⁴C(PY)-クロルフェナピルは光照射により速やかに分解した。主たる分解生成物として、
(0) を認め、その生成量は8日後の最終時点で %に達した。また、 (B) と一致する放射能が 抽出画分および水画分から合計で最大 % (申請者が報告書から再計算)検出された。その他に複数の未同定分解物が検出されたが、何れも少量であり、10%を超えて生成する放射能は (0) 以外に検出されなかった。一方、遮光試料中の放射能は、添加放射能の87.6%が未変化体として回収され、 (0) は検出されていないことから、本分解物が光の照射により生成することが示された。以上の結果は緩衝液中における光分解運命（資料M-11）と高い整合性を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

分解物	記号	分解物量 (添加放射エネルギーに対する割合、%)							遮光 ¹⁾
		照射日数 (日)							
		0	0.25	1	2	4	6	8	
酢酸エチル抽出画分		100.4	96.0	94.5	91.9	87.9	85.0	76.1	100.6
クロルフェナピル	A	99.3	89.6	69.1	54.3	28.5	17.8	7.8	87.6
未同定分解物-a	B								
未同定分解物-b	0								
未同定分解物-c									
極性分解物 (原点) ²⁾									
その他未同定分解物 ²⁾									
水面分		0.0	1.0	2.8	5.0	9.8	11.1	13.2	0.3
抽出画分									
その他未同定分解物 ²⁾	B								
容器洗浄		NA	NA	NA	NA	NA	0.3	1.0	NA
合計 (回収率)		100.4	97.0	97.4	97.0	97.7	96.4	90.4	100.9

-: 検出限界以下。

NA: 測定せず。

¹⁾: 8日間。

²⁾: 複数の分解物の合計、個々の分解物は10%を超えない。

半減期

; 自然水中においてクロルフェナピルは擬一次反応的に減衰し、消失速度定数は0.305/dayであった。ここから算出された半減期 (DT50) 及び90%減衰期 (DT90) は各々、2.3日或いは7.5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、12.3日 (300~800nmの積算放射照度を元に算出) および40.9日に相当した。

自然水中での光照射によりクロルフェナピルは擬一次反応的に減衰し、ここから算出されたDT50およびDT90は各々、2.3日或いは7.5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、12.3日 (300~800nmの積算放射照度を元に算出) および40.9日に相当し、自然水中においてクロルフェナピルは速やかに分解するものと考えられた。主な光分解物は

(0) であった。また、

(B) が最大 %

検出した。

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。

7. 土壌吸着性

1) 土壌吸着試験

(資料 PC-9)

供試化合物： 非標識クロルフェナピル

供試土壌： 供試した土壌の特性を以下に示す。

		高知土壌	茨城土壌	長野土壌	石川土壌
pH	H2O中	6.4	6.7	6.9	5.9
	1N KCl中	6.2	6.2	5.3	4.2
有機炭素含有率(%)		1.49	4.39	7.89	3.02
陽イオン交換容量 (meq/100g)		10.4	37.8	25.8	18.0
土性	砂(%)	47.4	33.7	44.5	25.0
	シルト(%)	29.0	29.6	30.2	31.5
	粘土(%)	23.6	26.4	25.3	43.5

試験方法： 塩化カルシウム水溶液100mLに土壌1gを加え、被験物質を0.0125、0.025および0.05 mg/Lの濃度で添加した。25℃において24時間の平衡化時間*の間振とう（100rpm）後、遠心分離し水相と土壌相を分離した。水相中の被験物質は で抽出され、窒素リン検出器付ガスクロマトグラフ（NPD-GC）で定量した。一方、土壌相は

で被験物質を抽出後、SEP-PAK C18でクリーンアップ後にNPD-GCで定量した。土壌吸着定数は、測定された水相と土壌相の被験物質濃度からフロイドリッヒの吸着等温式を用いて算定した。なお、各試験系に添加した被験物質質量と回収した被験物質質量を比較して物質収支を計算したところ、回収率は79～113%であった。

*平衡化時間の決定：有機炭素含有率の一番低い高知土壌と一番高い長野土壌を用いて25℃で16、24および48時間振とうし、水相中の被験物質濃度を測定したところ被験物質残存濃度は時間に依存しないと判断された。従って、平衡化時間は24時間に決定された。

結果： フロイドリッヒの吸着等温式から求めた土壌吸着定数 (K_f^{ads})、その有機炭素含有率補正值 ($K_f^{ads_{oc}}$) を次表に示す。 K_f^{ads} は101～224（平均値：176）、 $K_f^{ads_{oc}}$ は2345～13087（平均値：5970）であった。

供試土壌	1/n ¹⁾	K_f^{ads} ¹⁾	r ¹⁾	oc% ²⁾	$K_f^{ads_{oc}}$ ³⁾
高知土壌	1.06	195	0.992	1.49	13087
茨城土壌	1.00	224	0.964	4.39	5103
長野土壌	0.837	185	1.00	7.89	2345
石川土壌	1.03	101	1.00	3.02	3344

1) フロイドリッヒの吸着等温式における定数項と相関係数

2) 土壌の有機炭素含有率

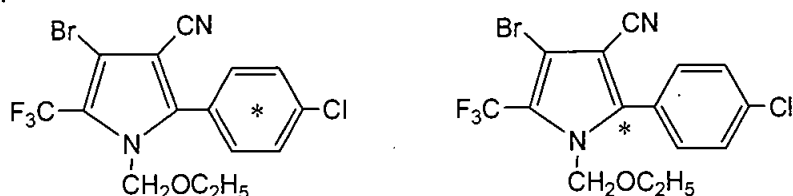
3) K_f^{ads} 値を土壌の有機炭素含有率で割り求めた有機炭素吸着係数

8. 生物濃縮性

魚類濃縮性試験

(資料 PC-19)

供試標識化合物



[14C-フェニル環] クロルフェナピル [14C-ピロール環] クロルフェナピル

* : 14C 標識位置

化学名

; 4-ブロモ-2-(4-クロロ-14C-フェニル)-1-エトキシメチル-5-トリフルオロメチルピロール-3-カルボニトリル
(以下 [14C-PH] クロルフェナピル)

4-ブロモ-2-(4-クロロフェニル)-1-エトキシメチル-5-トリフルオロメチル-14C-ピロール-3-カルボニトリル
(以下 [14C-PY] クロルフェナピル)

供試生物： ブルーギルサンフィッシュ (学名 *Lepomis macrochirus*)

体重 5.96 ± 2.21 g

体長 57 ± 5.9 mm

方 法：

暴露条件 ; 流水式 (6.4~6.9 回換水/日)

試験期間 ; 取込 33 日間、排泄 21 日間

試験濃度区 ; 1.0 μg/L (設定濃度)

試験水の調製 ; 所定量の被験物質を助剤 (アセトン) に溶解しストック溶液を調製した。ストック溶液及び希釈水 (井戸水) をミキシングセルで連続的に混合し所定濃度の試験水を調製して 100L 容試験水槽へ供給した (約 70L 容)。助剤の試験水中濃度は 0.1mL/L 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。

環境条件

試験水温 ; 21℃
 pH ; 7.7~8.2
 溶存酸素濃度 ; 6.1~8.6mg/L
 照明 ; 16時間明期、8時間暗期

観察及び測定 ; 魚体の生死・症状を毎日2回観察した。試験水温、pH、溶存酸素はサンプリング時に測定した。

魚体中の総放射能濃度 ; 取込開始後1、3、7、14、21、28、33日及び排泄開始後1、3、7、10、14、21日の各時点において、各3匹を採取し、可食部（魚体、筋肉、皮膚、骨）及び非可食部（ひれ、頭部、内臓）に分割後、燃焼法による液体シンチレーション計測（LSC）で放射能を測定した。また、同時点において各3匹の全魚体放射能を測定した。

試験水中の総放射能濃度 ; 取込開始時（0日）、1、3、7、14、21、28、33日及び排泄開始後1、3、7、10、14、21日において各試験区から採水し、LSCで放射能を測定した。

魚体及び試験水中代謝物の同定 ; 魚体は、抽出及びC18カラムによるクリーンアップ後、HPLCコクロマトグラフィーにより分析し、二次元TLCコクロマトグラフィー及びLC/MSにより構造確認した。水試料については、C18固相抽出し、TLC、HPLC及びGC/MSにて分析した。

結果 :

(1) 魚体中の放射能濃度 ;

魚体中各部位の放射能濃度の推移を下表に示す。

[¹⁴C-PH] クロルフェナピル (µg eq./kg)

部位	取込期間 (日)						
	1	3	7	14	21	28	33
可食部	120	250	430	580	620	630	980
非可食部	470	890	1900	2500	2600	2900	2600
全魚体	340	690	1200	1300	1600	2000	1700

部位	排泄期間 (日)					
	1	3	7	14	10	21
可食部	720	390	260	91	50	8.5
非可食部	2800	1600	1200	350	280	45
全魚体	1600	980	550	200	170	85

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。

[¹⁴C-PY] クロルフェナピル (μg eq./kg)

部位	取込期間 (日)						
	1	3	7	14	21	28	33
可食部	130	320	470	690	670	720	880
非可食部	520	990	2200	2900	3000	2700	3700
全魚体	370	750	1600	1900	2100	2100	2200

部位	排泄期間 (日)					
	1	3	7	14	10	21
可食部	680	640	130	160	100	31
非可食部	2800	2400	600	530	470	190
全魚体	1800	860	430	380	190	76

全魚体中の放射能濃度は取込期間の21日までに平衡に達し、定常状態で1600～2200 μg eq./kgとなった(取込21～33日)。排泄期間における放射能濃度は速やかに減衰し、排泄期間21日後には96～97%排泄された。クロルフェナピルは魚体中で代謝され、取込21及び33日において未変化体は2～3%TRRみられたのみでが %TRR認められた。

(2) 試験水中の放射能濃度 ;

試験水中の放射能濃度 (μg eq./L) の推移を下表に示す。

区	取込期間 (日)								
	0	1	3	7	14	21	28	33	平均
[¹⁴ C-PH]	0.93	0.59	0.72	0.82	0.91	0.88	0.86	1.0	0.84
[¹⁴ C-PY]	1.1	0.64	0.77	0.98	0.91	1.0	1.1	1.2	0.96

取込期間中の放射能濃度は、[¹⁴C-PH] 及び [¹⁴C-PY]、それぞれ0.59～1.0 (平均0.84) 及び0.64～1.2 (平均0.96) μg eq./Lであった。試験水中での未変化体及び (D)は、取込0日はそれぞれ97.8～99.2及び %TRRであったが、取込33日では44.4～49.1及び %TRR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。

(3) 濃縮係数；

全魚体の取込期間中の総放射能ベースでのBCF_{ss}の推移を下表に示す。

BCF_{ss}

	取込期間 (日)						
	1	3	7	14	21	28	33
[¹⁴ C-PH]	450	920	1600	1600	2000	2400	2000
[¹⁴ C-PY]	430	890	1800	2200	2300	2300	2300

各時点での魚体濃度を各時点までの平均水中濃度で除した値

取込21日以降BCFは定常になり、全魚体のTRRベースでのBCF_{ss}は2000～2300であった。
定常状態（取込33日）における全魚体及び試験水中での実測濃度で補正したクロ
ルフェナピルのBCFは66～74であった。

BCF_k

	取込速度定数 (k1) (1/日)	排泄速度定数 (k2) (1/日)	BCF	50%減衰時間 (日)
[¹⁴ C-PH]	356	0.17	2080	4.1
[¹⁴ C-PY]	412	0.19	2140	3.6

取込速度定数 (k1) 及び排泄速度定数 (k2) より求めた全魚体のBCF_kは2080～2140
であった。50%減衰時間は3.6～4.1日であった。

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。

9. 代謝・分解のまとめ

クロルフェナピルの動物、植物、土壌、水中における代謝、分解、残留の要約は下記の通りであり、代謝経路をc-99頁に、結果の概要をc-100～c-101頁に示した。

(1) 動物：

ラットに単回経口投与されたクロルフェナピル（親化合物）は、尿・糞排泄試験において、未変化体（親化合物）は尿中では検出されず、糞中では低用量区(2 mg/kg)で 17～23%、高用量区(20 mg/kg)で 33～35% 検出された。また、胆汁排泄試験においては、未変化体（親化合物）は胆汁中では検出されず、糞中では 90%以上を占めることから、消化管内で代謝・分解されないことが判った。それゆえ、体内吸収率は尿・糞排泄試験による糞中の未変化体（親化合物）を除いた量に相当し、低用量区で約 80%、高用量区で約 65%となった。また、吸収された未変化体（親化合物）は全て代謝を受けることが判った。胆汁中排泄試験において投与量から糞中排泄率を差し引くことによる吸収率算出も試みたが上記吸収率とは差が認められ、胆汁を体外に導出することにより吸収率が低下する可能性が示唆された。

投与後の血液中放射能濃度は8～12時間後に最高値を示し、その後、43～57時間の生物学的半減期で減少した。血液中放射能濃度対時間曲線下面積 $[AUC_{0-168}]$ は高用量区が低用量区のほぼ10倍を示し、投与量に依存した。

吸収された薬剤は大部分が胆汁中に排泄され、腸肝循環を受け一部は尿中に、大部分は糞中に排泄された。投与 168時間後までの尿・糞排泄率は 90%以上であり、排泄は速やかであった。雌雄間で尿・糞中排泄に若干の差（尿中排泄が雌より雄で約 1.5倍多い）が見られたほかは、体内動態に雌雄間の差が殆どなかった。消化管以外の組織への放射能分布率の合計は、投与8時間後の低用量区では 35～36%、高用量区では 29～39% となり 168時間後には低用量区で 3.1～4.1%、高用量区で 1.5～2.0% と低下しており、残留傾向は見られなかった。

組織内濃度推移は最高血中濃度到達時間 (T_{max}) 以降いずれの組織とも血中濃度の減衰にほぼ比例し、蓄積傾向を示す組織は見られなかった。168時間後の残留レベルは血液、肝臓、脂肪以外はいずれも低く、血漿中濃度を超える組織は脂肪のみで、脂肪においても最高濃度の1/10以下に低下した。

主要な代謝物の種類および生成割合は、雌雄間および低・高用量間の差が殆どなかった。遊離

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。

形および抱合形代謝物は糞中に24種、尿中に11種、胆汁中に17種検出され、そのうち、遊離形として7種が同定された。主代謝物は (K) であり、遊離形が %、種々の抱合形が % 生成し、主に胆汁経由で糞中に排泄された。これらの抱合形は酵素 (β -グルクロニダーゼ、サルファターゼ) で分解されず、酸分解処理により (K) が遊離された。なお、ラット肝臓 S-9 *in vitro* 試験においては主代謝物として (F) が容易に生成することから、*in vivo* ではそれが更に (K) まで代謝されたものと考えられる。ラットにおける主要な代謝経路は、

であった。また、ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は見られず、ピロール環標識化合物のみの試験結果により、動物代謝の全体を評価できたものと考えられる。反復投与 (資料 M-9) において、投与量が増したために組織内の分布濃度は単回投与時の数倍に高まるが、投与終了後の減衰、排泄、代謝等に変化は見られず、単回投与時と同様に速やかに代謝、排泄された。

(2) 植 物 :

適用作物であるりんご (近縁種のひめりんごを使用)、なす、およびキャベツを用い、果実および葉面塗布法 (ひめりんご、なす)、小結球塗布法 (キャベツ)、水耕法 (なすの幼苗) および土壌処理法 (キャベツの幼苗) の4種の方法により¹⁴C-クロルフェナピルを処理した後、吸収・移行・代謝性を調べた。

処理後の未変化体 (親化合物) の半減期は代謝試験条件下において処理果実で14~100日、処理葉で3~60日であった。クロルフェナピルは水の蒸散に伴って消失する割合が大きいことから、果実より葉で半減期が短くなったものと推察される。

根への吸収量は、水耕法 (なす) では3日後に 70%を示したが、根から上部への移行性は0.3%であり、葉への移行は認められなかった。土壌処理法 (キャベツ) では28日後において根に 1.3%の吸収があり、茎葉部への移行は 0.2%であった。一方、塗布法における放射能の吸着/吸収 (表面残留性放射エネルギーを除いた残りの放射エネルギー) は処理果実で、ひめりんごが 13~24%、なすが 2~12%、ひめりんごおよびなすの処理葉で約 10% となった。

しかし、非処理部位への移行はいずれの処理法とも 0.3%以下と僅かであった。植物体中に吸収されたクロルフェナピルは代謝を受け難く、総代謝物量は、可食部に相当するひめりんごの果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

実が56日後で 0.5% (全放射能残留量[TRR]の 0.8%、残留濃度として $0.013 \mu\text{g/g}$)、なすの果実が28日後で 0.1% (TRRの 0.3%、残留濃度として $0.0002 \mu\text{g/g}$)、キャベツの結球が28日後で 0.2% (TRRの 0.3%、残留濃度として $0.0004 \mu\text{g/g}$)であった。ひめりんごおよびなすの果実における主遊離形代謝物は であつたが、その量は % 以下 (TRRの % 以下、残留濃度として $\mu\text{g/g}$ 以下) と僅かであつた。

一方、処理した葉面では、主遊離形代謝物は、ひめりんごでは (F) および (K)、なすでは (F)、キャベツでは (F)、 (K) および (D) であつた。しかし、いずれの代謝物とも処理量の % 以下 (TRRの % 以下、残留濃度として $\mu\text{g/g}$ 以下) であつた。水可溶性代謝物としては、ひめりんごおよびキャベツで非常に極性の高い抱合体が % 以下ではあるが1~2種検出され、その他にいずれも % 以下の多数の抱合体 (10種以上) が生成したが、それらは分解処理により、非極性側に移動したが、標品と一致するものはなく、非極性側に移動した代謝物のうち最大のものは % であり、それ以外は % 以下であつた。

以上の主要な遊離形代謝物のうち、 (K) はラットにおける主代謝物 (資料 M-3) であり、(F) はラット肝臓 S-9 *in vitro* 試験 (資料 M-1) で主代謝物として検出され、ラットにおける主代謝経路の中間体として検出されている。(D) は土壌における主代謝物 (資料 M-8) であり、ラットにおいても検出されている。ラットにおける主代謝物である (K) の経口急性毒性は、クロルフェナピル (親化合物) の $[\text{LD}_{50} \text{ } \sigma 461, \text{ } \text{ } \text{ } 304 \text{ mg/kg}]$ と比べて、 $[\text{LD}_{50} \text{ } \sigma 776, \text{ } \text{ } \text{ } 1367 \text{ mg/kg}]$ と弱かつた。また、本代謝試験は十分な光照射下で実施されており、ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は見られず、ピロール環標識化合物のみの試験結果により、植物代謝の全体を評価出来たものと考えられる。代謝物はいずれも動物および植物における共通の代謝物であつた。

植物代謝試験において主な残留物はクロルフェナピル (親化合物) であり、いずれの代謝物も可食部位において TRRの % 以下であつたが、参考までに、りんご、なす、キャベツ、だいこん、きゅうり、茶およびはくさいについて (F) を、キャベツおよびだいこんの根部について (D) の作物残留試験を実施した。その結果、(参考 1) に示す通り、(F) については、りんご (散布後 3日~42日まで)、なす (散布後1日~7日まで)、キャベツ (散布後7日~21日まで)、きゅうり (散布後 1日~7日まで)、はくさい (散布後 7日~21日まで)、だいこんの根部 (散布後 7日~21日まで) および茶の浸出液 (散布後 7日~21日まで) 中の残留濃度はいずれの時期においても ppm 以下 (親化合物換算 ppm 以下) であつた。だいこんの葉部

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。

(散布後 7日～21日まで) に最高値 ppm (親化合物換算) および茶の荒茶 (散布後 7日～21日まで) に最高値 ppm (親化合物換算) が検出された。(D) については、キャベツ (散布後 7日～21日まで) およびだいこんの根部 (散布後 7日～21日まで) 中の残留濃度はいずれの時期においても ppm 以下 (親化合物換算 ppm 以下) であり、クロルフェナピル (親化合物) の経口急性毒性と比べて、 $[LD_{50} \text{♂♀} > 5000 \text{ mg/kg}]$ と弱く、変異原性も陰性であり、動・植物の共通の代謝物であり、毒性試験使用した原体に原体混在物として %含有しているので、分析対象化合物より除外した。

(F) については、クロルフェナピル (親化合物) に比べて急性経口毒性が強かったが、動・植物の共通の代謝物であり、変異原性も陰性であり、毒性試験に使用した原体に原体混在物として %含有しており、りんご、なす、キャベツ、きゅうり、はくさい、だいこんの根部および茶の浸出液では検出されなかった [検出限界以下 (ppm)]。だいこんの葉部および茶の荒茶では検出されたが、親化合物の残留量の 以下と微量であるので、分析対象化合物はクロルフェナピル (親化合物) のみとした。

(3) 土 壤 :

^{14}C -クロルフェナピルを用いた好氣的条件下の畑地土壤 (茨城火山灰軽埴土および高知沖積埴土) における代謝試験で未変化体 (親化合物) は 230～260日の半減期で消失した。嫌氣的および滅菌条件下では分解が極端に遅いことから、好氣的な微生物により分解されることが判明した。主代謝物は (D) であり、365日後に約 %となった。

次いで、

(E) であった。なお、ピロール環およびフェニル環の CO_2 までの分解は遅かった。ピロール環標識化合物とフェニル環標識化合物間に代謝性に関する差は殆どなく、ピロール環とフェニル環の結合部分の開裂は見られなかった。

一方、土壤残留試験の容器内試験では未変化体 (親化合物) の半減期が 23～92日であり、(D) は2種土壤 (茨城土壤, 熊本火山灰埴土) では試験期間 (150日) を通じて ppm以下と検出されず、福岡沖積重埴土で 62日後に ppm 生成したが、241日後には ppm まで減少した。また、圃場試験 (茨城土壤, 高知土壤) では未変化体 (親化合物) の半減期が 35～48日であり、(D) は検出されなかった。容器内試験では未変化体 (親化合物) の半減期は 23～92日であった。

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。

以上のように、容器内試験および圃場試験における半減期は代謝試験の結果より短かった。クロルフェナピルは有機炭素含有率で補正した土壌吸着係数は、2,345～13,087と大きく、また、土壌中下方移動性が小さい薬剤であり、地下水汚染等による人畜・環境生物に対する影響は少ないものと考えられる。

(4) 水 中：

水中光分解運命試験において滅菌した緩衝液および自然水にピロール環あるいはフェニル環標識クロルフェナピルを添加し、キセノンランプで光照射するとクロルフェナピルは速やかに分解された。クロルフェナピルの半減期（太陽光換算）は緩衝液pH 5、7および9でそれぞれ12.6日、18.1日および11.6日、ならびに自然水で12.3日と算出された。いずれの条件においても主たる分解物は親化合物の位置異性体であった。加水分解運命試験においては顕著な分解は認められなかった。

動物および植物中のクロルフェナピルの主代謝経路はほぼ一致した。したがって、代謝物の安全性も、親化合物を用いた一連の安全性試験において確認されたものと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

クロルフェナピルの動植物等における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

代謝物一覧表（その1. 動物および植物代謝関連）

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。

代謝物一覧表（その2. 土壌中および水中運命関連）

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〕

クロルフェナピルの開発年表