

## ウサギの眼に対する一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：2001年

検体 : フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤  
組成 : フルフェナセット ; 33.6%(w/w)  
ジフルフェニカン ; 16.8%(w/w)  
界面活性剤、水等  
供試動物 : ヒマラヤン系雄ウサギ, 1群3匹  
試験開始時 ; 2.5~2.8kg 月齢 ; 約4.5ヶ月  
観察期間 : 72時間

試験方法 :

3匹の動物の一侧の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体0.1mLをその結膜囊内に投与した。検体の損失を防ぐため、約1秒間、眼瞼を緩やかに合わせ保持した。もう一侧の眼は未処理の対照眼とした。

観察項目 :

検体投与後1時間、24時間、48時間、72時間に、角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察し、Draizeの判定基準に従って採点した。なお、角膜の上皮損傷の有無を確認するために投与24時間後にフルオレセイン液を用いて検査した。

眼にみられた以外の変化についても観察し、また体重測定は、検体投与直前に行った。

結果 :

投与後1時間において、全動物で発赤がみられたが、その後の観察において何ら異常はみられなかった。

角膜、虹彩には何ら影響は認められなかった。

中毒症状も認められなかった。

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

項目			最高 評点 <sup>1)</sup>	適用後時間			
				1時間	24時間*	48時間	72時間
動物 番号 1	角膜混濁	程度	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
	合 計		110	2	0	0	0
動物 番号 2	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
	合 計		110	2	0	0	0
動物 番号 3	角膜混濁	程 度	4	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0
	結 膜	発 赤	3	1	0	0	0
		浮 腫	4	0	0	0	0
	合 計**		110	2	0	0	0
合 計**			330	6	0	0	0
平 均**			110	2	0	0	0

\*: フルオレセイン染色により検査

\*\* : 合計/平均は Draize の基準に従って申請者が計算した。

#### (4) 皮膚感作性

マウスを用いた局所リンパ節試験 (LLNA/OECD ガイドライン no. 429)

(毒性資料 No. 製剤-No. 6)

試験実施機関：

[GLP]

報告書作成年：2012年

検体 組成：  
フルフェナセット・ジフルフェニカン水和剤  
フルフェナセット； 33.6%(w/w)  
ジフルフェニカン； 8.4%(w/w)  
界面活性剤、水等

供試動物：CBA/J Rj系マウス 1群雌4匹 5群  
投与開始時9週齢(20.0~22.6g),

投与期間：3日間

試験方法：[LLNA法]

検体を25、50および100%の濃度で1% Pluronic® PE9200水溶液に希釈し、各群4匹の雌マウスの両耳介外表面に左右各25μLずつ3日間(試験1~3日目)毎日1回処理した。溶媒のみ、および25%α-ヘキシル桂皮アルデヒド(HCA)をそれぞれ別の群に処理し、陰性対照および陽性対照群とした。処理部位皮膚の局所刺激反応の有無、動物の生死、一般状態について毎日観察し、体重を測定した。

試験6日目に、20μCiの[メチル-<sup>3</sup>H]-チミジンを含有するリン酸緩衝液250μLを各動物の尾部より静注し、5時間後にマウスをと殺し、両耳介リンパ節を採取した。各動物に耳介リンパ節のDPMを測定し、以下の式より各試験群の刺激指数(SI)を求めた。

$$SI = \frac{\text{各試験群の DPN}}{\text{陰性対照群 DPN}}$$

各群の DPN 値の算出

$$DPN = \frac{\text{DPM} - \text{5\%トリクロロ酢酸溶液の DPM}}{\text{リンパ節数}}$$

投与群で処理部位に刺激反応が認められず、SIが3以上かつ用量相関性が認められた場合に感作性ありとした。

結果：

死亡および臨床症状：いずれの群においても試験期間中動物の死亡および一般状態の変化は認められなかった。皮膚反応もいずれの群においても認められなかった。

リンパ節の外観に検体投与群と陰性対照群で差はみられなかったが、陽性対照群のリンパ節は他群に比べ大きかった。

体重：陰性対照群にくらべ投与の影響は認められなかった。また陽性対照群の動物にも体重に差は認められなかった。

増殖評価：各群の増殖活性（DPM/リンパ節）および刺激指数は下表の通りであった。

群名	測定値 DPM/群	群 DPM	リンパ節の 数	DPN	刺激指数
背景 (5%(w/v)TCA)	33.5		-		
陰性対照	1041	1007.5	8	125.9	1.0
検体 100 %	1081	1047.5	8	130.9	1.0
検体 50%(w/v)	809	777.5	8	96.9	0.8
検体 25%(w/v)	935	901.5	8	112.7	0.9
陽性対照 HCA	3968	3934.5	8	491.8	3.9

TCA; トリクロロ酢酸

検体の刺激指数は投与濃度 100% (非希釈)、50 (w/v) %および 25 (w/v) %でそれぞれ 1.0、0.8 および 0.9 であり、いずれも 3 未満であった。

一方、陽性対照の HCA では SI>3 であり、感作性を示した。

以上の結果、本試験において検体は非感作性物質と判断された。

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

## 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
代1 [GLP]	動物代謝 (吸収、排泄、分布、代謝)	ラット 雌雄  単回投与 各5匹 反復投与 各10匹	[ ] 単回経口投与 低用量: 1mg/kg 高用量: 150mg/kg 反復経口投与 低用量: 1mg/kg  [ ] 単回経口投与 低用量: 1mg/kg 高用量: 170mg/kg  [ ] 単回経口投与 低用量: 1mg/kg 高用量: 170mg/kg	ラットにおける主排泄経路は尿中であつた。糞中排泄率は総じて低く、特に 投与群における糞中排泄率が 投与群に比較して明らかに低かつた。 なお、[ ] 標識体投与群のみ投与放射能の約30%が呼気中に <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> として排泄された。雌雄による排泄パターン之差は明確には認められなかつたが、糞中排泄の割合が雄で総じて若干高かつた。  低用量群においては、経口投与された放射能は速やかに吸収された。血中濃度の T <sub>max</sub> は1~2時間であつた。減衰も速やかであり、T <sub>1/2</sub> は4~8時間であつた(但し、 投与群のうち、雄の反復投与群のみ24時間)。 高用量群では 投与群と 投与群で明らかな差が認められ、前者では T <sub>max</sub> は24~32時間、T <sub>1/2</sub> は72時間、後者では T <sub>max</sub> が4時間、T <sub>1/2</sub> が24時間であつた。これは分解物の吸収の差が原因しているものと考えられた。  最終屠殺時には投与放射能の大部分が排泄されており、動物体中の残留放射能は少なく、投与放射能の1~6%程度であつた。臓器・組織中にあつては肝臓に最も高い放射能を認めた。  ラットに吸収された <sup>14</sup> Cは、主に を受けると考えられた。 は速やかに を受け、 に代謝された。 を受け、主代謝物の1つである が生成された。 は を経て様々な代謝物に分解された。 また、 の際同時に生成された は を受けた。 一方、加水分解による を生成する経路も認められた。	(1995年)	代-9

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

代2 [GLP]	植物代謝	小麦	[ 0.42kg/ha 全面散布 ]	<p>播種 46 日後に全面散布された放射能は、処理後約 60 日の収穫時、植物全体に分布した。植物体中の分布率は、麦わらに約 77%、穀粒に約 23%であった。</p> <p>植物体中の放射能の多くは抽出性放射能であった。 植物体に吸収されたフルフェネットは、その後、  に代謝されるか、もしくは は を受けると考えられた。 は速やかに を受け、 となると考えられた。</p> <p>を経て種々の代謝物に分解された。 麦わら中には広範な代謝物が認められたが、穀粒中には が大部分を占めた。</p>	(1997 年)	代-24
代3 [GLP]	植物代謝	だいず	[ 0.858kg/ha ] [ 0.796kg/ha 各培土処理 ]	<p>播種前に培土に処理された放射能は植物体内に取り込まれ、植物体全体に分布した。標識位置により植物体中の放射能濃度に明らかな差があった。は分解が早く、にまで分解されることに起因していると考えられた。</p> <p>植物体中の放射能の多くは抽出性放射能であった。 植物体に吸収されたフルフェネットは、その後  に代謝されるか、もしくは は を受けると考えられた。 は速やかに  へと代謝されると考えられた。 は を経て種々の代謝物に分解された。 また の際同時に生成した は  を受けた。</p>	(1995 年)	代-31
代4 [GLP]	植物代謝	とうもろこし	[ 1kg/ha 培土処理 ]	<p>播種前に培土に処理された放射能は植物体内に取り込まれ、植物体全体に分布したが、茎葉部に比較し種子中の放射能濃度は極めて低かった。</p> <p>植物体中の放射能の多くは抽出性放射能であった。 植物体に吸収されたフルフェネットは、 を受け、その後速やかに  に代謝されると考えられた。その後 を経て種々の代謝物に分解された。</p>	(1994 年)	代-43

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

代5 [GLP]	植物代謝	ほひしよ	[ 2.58kg/ha 培土処理 3.02kg/ha 茎葉処理	植付け前に培土に処理された放射能、茎葉処理された放射能いずれも可食部である塊茎への移行が認められた。  植物体中の放射能の多くは抽出性放射能であった。 植物体に吸収されたフルフェネットは を受けると考えられた。 は速やかに を受け、 に代謝された。その後 を 経て種々の代謝物に分解された。	(2000年)	代-49
代6 [GLP]	土壌中動態	好気条件 砂壤土	[ 0.8ポント/エーカ相当量を処理  試験温度：21℃	好氣的土壌中におけるフルフェネットの初期分解は比較的速やかであり、α相(0-28日後)におけるDT50は約34日であった。その後のβ相(44-365日後)では分解は遅くなり、DT50は約600日となった。  好氣的土壌中におけるフルフェネットの最も重要な分解過程は、 による であった。 は により主代謝物である に分解された。 から派生するその他の分解物や、 による分解物も少量認められた。	(1994年)	代-54
代7 [GLP]	土壌中動態	好気条件 砂壤土	[ 0.8ポント/エーカ相当量の約3倍を処理  試験温度：21℃	好氣的土壌中におけるフルフェネットの初期分解は比較的速やかであり、α相(0-32日後)におけるDT50は約64日であった。その後のβ相(32-368日後)では分解は遅くなり、DT50は468日となった。  好氣的土壌中におけるフルフェネットの最も重要な分解過程は、 による にとまう の生成であった。 は 、最終的に にまで分解された。	(1994年)	代-60
代8 [GLP]	土壌中動態	嫌気条件 (好気ブレイクペーション期間:30日) 砂壤土	[ 0.8ポント/エーカ相当量を処理  試験温度：21℃	嫌氣的土壌中におけるフルフェネットの分解は遅く、DT50は240日(嫌気条件開始0~180日後より算出)であった。  好気ブレイクペーション期間におけるフルフェネットの分解は、代6の好気土壌中動態試験結果とほぼ同様であった。嫌気状態となった後に有意に増加した分解物は認められず、またフルフェネットの減少量と結合性残留の増加量がほぼ同じであったことから、嫌気条件下におけるフルフェネットの減衰は結合性残留となることに起因しているものと考えられた。	(1995年)	代-65

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

環 1 [GLP]	加水分解動態	pH5, 7 及び 9 の緩衝液	設定濃度 : 10ppm 試験温度 : 25℃	フルフェナットは酸性～中性条件下で安定であり、明確な分解は認められなかった。7M酸性条件化では若干分解が認められたが DT50 は 654 日であった。  同定に至った分解物は無かった。	(1992 年)	代-72
環 2 [GLP] (但し、緩衝液以外は非 GLP)	水中光分解動態	pH5 の緩衝液 自然水 7シ酸溶液 硝酸カリウム溶液	設定濃度 : 1ppm 試験温度 : 25℃	フルフェナットは照射区において、いずれの供試水においても明確な分解は認められなかった。 緩衝液中では全く分解は認められず、自然水中では北緯 35° における春期太陽光換算での DT50 は 2978～9532 日と算出された。 7シ酸溶液ではほとんど分解されなかった。硝酸カリウム溶液では分解が認められたが、同定に至った分解物は無かった。	(1995 年)	代-74
環 3 [GLP]	土壌吸脱着	非火山灰 5 土壌	試験温度 : 22℃	本試験供試土壌において、フルフェナットの土壌吸着性は、Koc が 213～742 と中程度であった。	(1992 年)	代-80
環 4 [GLP]	土壌吸着	火山灰 1 土壌 非火山灰 1 土壌	試験温度 : 25℃	本試験供試土壌において、フルフェナットの土壌吸着性は、Koc が 160.8 および 426.5 と中程度であった。	(2010 年)	代-83



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

代謝物一覧

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	フルフェナセツト FOE 5043	4'-フルオロ-N-イソプロピル -2-[5-(トリフルオロメチル) -1,3,4-チアジゾール-2-イルオ キシ]アセチアミド	



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

記号	由来	名称	化学名	構造式

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

記号	由来	名称	化学名	構造式

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

## 1. 動物代謝試験

(1) ラットにおける代謝

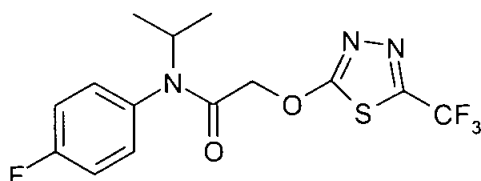
(資料 代1)

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名； 4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアミド  
(以下、 )

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定根拠；

供試動物：

SD系ラット、一群雌雄各5匹、ただし反復投与群では雌雄各10匹、予備試験では雄3匹  
(体重160~180g)

試験方法：

投与；

① [ ]フルフェナセット

低用量群； [ ]フルフェナセット及び非標識フルフェナセットのメタノール溶液（各々フルフェナセットとして2.5mgを含む）を100ml容メスフラスコに量り取る。窒素気流で溶媒を留去した後、2%クロモホル水溶液で定容し、これを投与液とする（0.05mg/ml）。この溶液4mlを、ゾンテ針を装着したシリンジを用いて単回強制経口投与した。ただし反復投与群については非標識フルフェナセット溶液を14日間連続投与したのちに、雄で4.6ml、雌で4.0ml投与した。

高用量群； [ ]フルフェナセット、<sup>13</sup>C標識フルフェナセット及び非標識フルフェナセットのメタノール溶液（非標識体はフルフェナセットとして33.8mg、標識体は各々7.5mgを含む）をナス型フラスコに量り取る。ロータリーエバポレーターで溶媒を留去した後、2%クロモホル

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

水溶液5mlを加え、超音波に負した。これを投与液とし(9.76mg/ml)、供試動物の数だけ調製した。  
この溶液を20ml/kg体重となるよう、ゾンデ針付のシリンジを用いて単回強制経口投与した。

②[ ]フルフェナセット

低用量群；[ ]フルフェナセットのメタノール溶液(フルフェナセットとして5.0mgを含む)を100ml容メスフラスコに量り取る。窒素気流で溶媒を留去した後、2%クレモール水溶液で定容し、これを投与液とする(0.05mg/ml)。  
この溶液4mlを、ゾンデ針を装着したシリンジを用いて単回強制経口投与した。

高用量群；[ ]フルフェナセット及び非標識フルフェナセットのメタノール溶液(非標識体はフルフェナセットとして30.15mg、標識体は14.85mgを含む)をナス型フラスコに量り取る。ロータリーエバポレーターで溶媒を留去した後、2%クレモール水溶液5mlを加え、超音波に負した。これを投与液とし(9.00mg/ml)、供試動物の数だけ調製した。  
この溶液を20ml/kg体重となるよう、ゾンデ針付のシリンジを用いて単回強制経口投与した。

③[ ]フルフェナセット

低用量群；[ ]フルフェナセットのメタノール溶液(フルフェナセットとして1.6mgを含む)を45ml容遠沈管に量り取る。窒素気流で溶媒を留去した後、2%クレモール水溶液32.0mlで溶解し、これを投与液とする(0.05mg/ml)。  
この溶液4.0mlを、ゾンデ針を装着したシリンジを用いて単回強制経口投与した。

高用量群；[ ]フルフェナセット及び非標識フルフェナセットのメタノール溶液(非標識体はフルフェナセットとして34.0mg、標識体は0.200mgを含む)をナス型フラスコに量り取る。ロータリーエバポレーターで溶媒を留去した後、2%クレモール水溶液4mlを加え、超音波に負した。これを投与液とし(8.55mg/ml)、供試動物の数だけ調製した。  
この溶液を16ml/kg体重となるよう、ゾンデ針付のシリンジを用いて単回強制経口投与した。

投与量の設定根拠；

明らかに毒性学的影響が発現すると考えられる150mg/kg(チアジアゾール標識体投与群は170mg/kg)を高用量とした。また投与による毒性的影響が認められないと推定される1mg/kgを低用量とした。

試験群及び試料採取；

各標識化合物毎に、予備、低用量及び高用量単回経口投与の3試験群を設けた。  
なお[ ]フルフェナセット投与群については、別途低用量の反復投与群を設けた。これは非標識体を低用量で14日間経口投与した後、標識体を単回経口投与したものである。  
また予備試験は、呼気への放射能の排泄を確認するために設けた。  
各試験群の詳細と試験群毎の試料採取法について表1に示した。

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

表 1 試験群及び試料採取法

試験群	投与量 (mg/kg)	投与回数	動物数	試料採取
[フルフェナセット]				
予備	1	単回経口	雄3匹	尿、糞、呼気： 投与後8（尿のみ）、24時間、以降24時間毎に96時間まで採取。
低用量	1	単回経口	雌雄各5匹	尿、糞： 投与後24時間毎に72時間まで採取 （低用量と高用量の雌のみ96時間まで採取） 臓器・組織： 投与72時間後の屠殺時に採取。 （低用量及び高用量の雌のみ96時間後の屠殺時） 血漿：10, 20, 40分ならびに1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 24, 32, 48, 72時間後に採取。 （低用量及び高用量の雌のみ96時間後の屠殺時にも採取）
高用量	150	単回経口	雌雄各5匹	
低用量	1	反復経口 非標識体14日間連続投与の後、標識体単回投与	雌雄各10匹	
[フルフェナセット]				
予備	1	単回経口	雄3匹	尿、糞、呼気： 投与後8（尿のみ）、24及び48時間に採取。
低用量	1	単回経口	雌雄各5匹	尿、糞、呼気：投与後24及び48時間に採取。 臓器・組織：投与48時間後の屠殺時に採取。 血漿：10, 20, 40分ならびに1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 24, 32, 48時間後に採取。
高用量	170	単回経口	雄5匹	
[フルフェナセット]				
予備	1	単回経口	雄3匹	尿、糞、呼気： 投与後8（尿のみ）、24, 48及び72時間に採取。
低用量	1	単回経口	雌雄各5匹	尿、糞： 投与後8（尿のみ）、24, 48及び72時間に採取。 臓器・組織：投与72時間後の屠殺時に採取。
高用量	170	単回経口	雄5匹	

試料中の放射能測定；

尿、ケージ洗浄液、揮発性放射能捕集溶液及び血漿等の液体試料は、シンチレーションカテルを加えた後、液体シンチレーションカウンターにより直接放射能を測定した。

臓器・組織及び糞等の固体試料は、サブ・メタリック・イヤーで燃焼し、発生した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を捕集した捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

代謝物の単離及び同定；

尿は直接、糞はメタノールで抽出し、抽出液をHPLCに供し、標準品とのクロマトグラフまたはマススペクトロメリーにより代謝物の定性及び定量を行った。また、<sup>19</sup>F-NMRにより化学構造の確認を行った。

さらに揮発性放射能はGCに供するか、化学反応させた後、反応物をTLCに供した。

結果：

— [フルフェナセット—

予備試験；

試験終了時（投与96時間後）の投与放射能の平均回収率はほぼ100%と良好であった。主な排泄経路は尿中排泄であり、平均73.0%であった。糞中排泄は20.3%と低かった。また、試験期間を通じて呼気中には放射能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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

本試験；

①排泄

予備試験結果より、呼気中への放射能の排泄が認められなかったことから、本試験においては呼気中放射能の測定は行わなかった。

投与された放射能の主排泄経路は、投与量、性別に関係なく尿中排泄であった。

投与放射能の尿中及び糞中排泄率は、次のとおりであった。

投与群	尿中排泄		糞中排泄	
	雄	雌	雄	雌
低用量単回経口	72%	79%	20%	11%
高用量単回経口	59%	76%	30%	14%
低用量反復経口	76%	79%	17%	8%

低用量群においては、雌雄ともに投与放射能は速やかに吸収され、排泄も速やかであった。投与24時間後には投与放射能の約60%が尿中に排泄され、最終屠殺時（雄：72時間後、雌：96（反復群は72）時間後）には70～80%となった。

高用量群では低用量群に比較して排泄速度がやや遅れ、雄では投与24時間後までに尿中に排泄された放射能は投与放射能の27%に留まった。最終屠殺時においても59%であった。同時に糞中排泄が増加した。

雌も雄と同様24時間後までは35%と低用量群に比べ遅れたが、最終屠殺時では同等となった。

糞中への排泄はいずれの投与群においても投与48時間後にはほぼ終了した。

投与放射能の経時的排泄パターンを表1に示した。

表1. 投与放射能の経時的排泄割合（投与放射能%）

	時間	尿		糞		ケージ洗液		動物体		合計	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
低用量 単回 経口	0～24	57	60	16	9	-	-	-	-	73	69
	0～48	68	70	19	10	-	-	-	-	87	80
	0～72	72	75	20	11	3	-	3	-	98	86
	0～96	-	79	-	11	-	5	-	1	-	96
高用量 単回 経口	0～24	27	35	20	4	-	-	-	-	47	39
	0～48	53	63	28	12	-	-	-	-	81	75
	0～72	59	72	30	13	3	-	3	-	95	85
	0～96	-	76	-	14	-	4	-	2	-	96
低用量 反復 経口	0～24	59	68	15	6	-	-	-	-	74	74
	0～48	72	76	16	8	-	-	-	-	88	84
	0～72	76	79	17	8	4	7	3	2	100	96

-：試料採取せず

②吸収

いずれの投与群においても尿中への排泄率が高かったこと、また糞中に未変化のフルフェナセットがほとんど認められなかったことから、胆汁排泄も考えられ、投与放射能の多くが吸収されたものと考えられる（少なくとも投与放射能の80%以上）。ただし、高用量群の雄については、他と比較して若干吸収率が低かった。

③血中放射能濃度推移

低用量群においては、雌雄ともに投与放射能の吸収は速やかであり、血中放射能はいずれの群においても投与1時間後に最高濃度を示した。その後の減衰も比較的速やか



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

であった。

一方、高用量群においては雌雄共に吸収に時間を要し、血中放射能は投与24時間(雄)～32時間(雌)後まで上昇した。

また低用量単回投与群と高用量単回投与群のAUCを比較した場合投与量の比を超えていたため、吸収に時間はかかったものの飽和には達していないことが示唆された。経時的な血中放射能の推移を表2-1に、代表的な血中濃度パラメーターを表2-2に示した。

表2-1 血中放射能濃度 (mg当量/L)

投与後時間	雄			雌		
	低用量 単回経口	高用量 単回経口	低用量 反復経口	低用量 単回経口	高用量 単回経口	低用量 反復経口
0.17	0.055	2.124	0.026	0.035	2.050	0.041
0.33	0.201	5.295	0.154	0.141	4.727	0.166
0.67	0.302	7.722	0.300	0.290	6.447	0.354
1	0.312	7.709	0.368	0.361	6.554	0.390
1.5	0.236	6.100	0.314	0.259	5.804	0.286
2	0.212	8.280	0.243	0.188	5.015	0.224
4	0.154	7.797	0.198	0.121	8.701	0.136
6	0.240	14.306	0.251	0.163	19.756	0.138
8	0.239	22.085	0.283	0.193	27.874	0.164
24	0.132	36.833	0.155	0.131	37.000	0.096
32	0.093	32.549	0.127	0.100	39.272	0.078
48	0.042	20.206	0.070	0.054	24.396	0.054
72	0.018	14.328	0.025	0.026	8.311	0.015
96	-	-	-	0.016	4.503	-

表2-2 血中濃度パラメーター

		Tmax (h)	Cmax (mg/L)	T1/2 (h)	AUC (mg/L*h)
雄	低用量単回経口	1	0.312	4	7.38
	高用量単回経口	24	36.8	72	1672.46
	低用量反復経口	1	0.368	24	9.27
雌	低用量単回経口	1	0.361	4	7.63
	高用量単回経口	32	39.3	72	1980.04
	低用量反復経口	1	0.390	4	6.14

#### ④臓器・組織内分布

試験終了時(投与72時間後、ただし単回投与の雌のみ96時間後)に全ての供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

全ての処理群で、試験終了時まで投与放射能の大部分が排泄されており、動物体内に残存した放射能は極めて少なかった。最大でも投与放射能の約3%(平均値)程度であった。

臓器・組織中の放射能としては、肝臓及びカーカスに血中濃度より高い放射能が認められた以外は、概して血中濃度を下回った。なお、雄の消化管ではいずれの試験群においても、最も高い放射能濃度が認められたが、これは消化管内容物の影響を受けたものと考えられる。

臓器及び組織内の放射能分布を表3-1～3-2にまとめた。

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

表3-1 雄における臓器・組織内分布

	低用量単回		高用量単回		低用量反復	
	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %
血液	0.025	0.07	4.52	0.10	0.023	0.03
骨	0.007	0.01	1.34	0.01	0.005	0.00
脳	0.011	0.00	2.36	0.00	0.008	0.00
脂肪	0.008	0.00	1.34	0.00	0.006	0.00
生殖腺	0.007	0.01	1.96	0.02	0.007	0.01
心臓	0.017	0.01	3.11	0.01	0.014	0.01
腎臓	0.017	0.02	3.84	0.02	0.016	0.02
肝臓	0.031	0.16	7.94	0.23	0.032	0.15
肺	0.016	0.01	3.45	0.02	0.013	0.01
筋肉	0.010	0.02	2.07	0.02	0.009	0.01
脾臓	0.013	0.00	3.02	0.00	0.012	0.00
皮膚	0.018	0.02	3.89	0.03	0.017	0.01
甲状腺	0.023	0.00	4.05	0.00	0.012	0.00
消化管	0.116	1.74	9.90	0.87	0.126	1.60
カーカス	0.015	1.29	3.73	1.83	0.014	1.21
合計	-	3.35	-	3.16	-	3.07

表3-2 雌における臓器・組織内分布

	低用量単回		高用量単回		低用量反復	
	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %
血液	0.012	0.01	3.42	0.04	0.020	0.02
骨	0.003	0.00	0.97	0.01	0.005	0.01
脳	0.005	0.00	2.01	0.00	0.009	0.00
脂肪	0.005	0.00	1.29	0.00	0.006	0.00
心臓	0.007	0.00	2.58	0.01	0.011	0.00
腎臓	0.009	0.01	3.23	0.02	0.012	0.01
肝臓	0.015	0.06	5.17	0.15	0.020	0.08
肺	0.009	0.01	2.72	0.01	0.012	0.01
筋肉	0.005	0.01	1.80	0.03	0.008	0.02
脾臓	0.006	0.00	2.19	0.00	0.011	0.00
皮膚	0.016	0.01	3.58	0.02	0.016	0.02
甲状腺	0.006	0.00	2.73	0.00	0.012	0.00
卵巣	0.007	0.00	2.54	0.00	0.011	0.00
子宮	0.005	0.00	1.83	0.00	0.008	0.00
消化管	0.018	0.23	3.37	0.29	0.026	0.31
カーカス	0.012	0.92	3.33	1.64	0.014	1.10
合計	-	1.29	-	2.24	-	1.58

濃度：フルフェネット換算値、放射能%：投与放射能に対する割合

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

⑤代謝物のプロフィール；

各投与群の雌雄の尿、糞及びケージ洗浄液中の代謝物のプロフィールについて検討した。

尿については全試料の混合試料を用いた。糞については、高用量単回投与群のみ全試料、低用量単回および反復投与群は0～48時間後の混合試料を用いた。

雄における主要代謝物は、  
 および

であった。また、他には

より生成された  
 も比較的多く認められた。

雌においても上記の代謝物は全て認められたが、高用量群で  
 が比較的  
 多く認められた以外は  
 が同定放射能の大部分を占めた。

その他の代謝物としては、

、また

及び

が同定された。

各投与群の雌雄排泄物中の代謝物プロフィールを表4-1～4-3に示した。

表4-1 低用量単回経口投与群の排泄物中の放射能

	雄				雌			
	尿	糞	ケージ 洗浄液	合計	尿	糞	ケージ 洗浄液	合計
フルフェナセット[A]	ND	ND	<1	<1	ND	<1	<1	<1
合計	63	5	1	69	73	2	4	79

\*：

数値は投与放射能割合%

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

表4-2 高用量単回経口投与群の排泄物中の放射能

	雄				雌			
	尿	糞	ケージ 洗浄液	合計	尿	糞	ケージ 洗浄液	合計
フルフェナセット[A]	ND	2	<1	2	ND	<1	<1	<1
合計	50	9	2	61	67	3	3	73

\* :

数値は投与放射能割合%

表4-3 低用量反復経口投与群の排泄物中の放射能

	雄				雌			
	尿	糞	ケージ 洗浄液	合計	尿	糞	ケージ 洗浄液	合計
フルフェナセット[A]	2	<1	<1	2	ND	<1	ND	<1
合計	68	5	1	74	71	2	6	79

\* :

数値は投与放射能割合%

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

— [ ]7MF7エネセット—

予備試験；

試験終了時（投与48時間後）の投与放射能の平均回収率は75.7%であった。主な排泄経路は尿中排泄であり、投与放射能の63.3%が尿を介して排泄された。糞中排泄は2.9%と極めて低かった。

また、試験期間を通じて呼気中に放射能が認められ、投与放射能の8.1%が揮発性放射能として排泄された。

本試験；

①排泄

予備試験結果より、呼気中への放射能の排泄が認められたため、本試験においても呼気中放射能の測定を実施した。

投与された放射能の主排泄経路は、投与量、性別に関係なく尿中排泄であったが、呼気中排泄も相当量認められた。

投与放射能の尿中、糞中及び呼気中排泄率は、次のとおりであった。

投与群	尿中排泄		糞中排泄		呼気中排泄	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
低用量単回経口	51%	41%	6%	2%	27%	32%
高用量単回経口	59%	-	4%	-	22%	-

低用量群においては雌雄とも投与放射能は速やかに吸収され、排泄された。投与24時間後には尿中への排泄がほぼ終了し、雄で約50%、雌で約40%の投与放射能が尿中に排泄された。また呼気中への排泄も多く、雌雄とも投与24時間後までに投与放射能の約30%が呼気中として排泄された。

高用量群の雄では低用量群に比較して排泄速度がやや遅れ、投与24時間後までに尿中に排泄された放射能は投与放射能の40%であった。しかしながら最終的には低用量群とほぼ同等の放射能が尿中排泄された。

糞中への排泄はいずれの投与群においても投与24時間後にはほぼ終了した。

投与放射能の経時的排泄パターンを表1に示した。

排泄割合についても投与量、性別による差は少なかった。呼気中の放射能として推定されたほか、呼気中放射能が推定されたが分析が困難であり定量には至らなかった。ただし放射能の損失分が呼気中放射能であると推測されるため、推定値としては雄の低用量群で15%、高用量群で12%及び雌の低用量群で22%となった。

投与放射能の経時的排泄パターンを表5に示した。

表5. 投与放射能の経時的排泄割合（投与放射能%）

	時間	尿		糞		呼気中		ケージ洗液		合計	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
低用量 単回経口	0～24	50	38	5	2	-	-	-	-	82	70
	0～48	51	41	6	2	<1	<1	<1	<1	84	75
高用量 単回経口	0～24	40	/	3	/	/	/	-	/	59	/
	0～48	59	/	4	/	/	/	2	/	87	/

-：試料採取せず

②吸収

いずれの投与群においても糞中への排泄率が極めて低かったことから、投与放射能の大部分が吸収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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

### ③血中放射能濃度推移

低用量群においては、雌雄とも投与放射能の吸収は速やかであり、血中放射能は投与1時間（雄）～2時間（雌）後に最高濃度を示した。その後の減衰も比較的速やかであった。

一方、雄の高用量群においても吸収は比較的速やかであり、血中放射能は投与4時間後に最高濃度を示した。

また低用量単回投与群と高用量単回投与群のAUCを比較した場合、投与量の比より小さかったため吸収の飽和が起こっていたものと考えられた。

経時的な血中放射能の推移を表6-1に、代表的な血中濃度パラメーターを表6-2に示した。

表6-1 血中放射能濃度 (mg当量/L)

投与後時間	雄		雌
	低用量 単回経口	高用量 単回経口	低用量 単回経口
0.083	-	-	0.083
0.17	1.103	34.018	0.264
0.33	2.385	111.593	0.659
0.67	3.104	160.034	1.438
1	3.359	165.230	1.786
1.5	3.341	173.790	2.630
2	3.332	180.878	2.731
4	2.430	185.704	2.272
6	1.654	154.379	1.793
8	1.174	116.928	1.313
24	0.135	44.293	0.246
32	0.070	34.363	0.159
48	0.026	4.829	0.041
72	0.022	-	-

表6-2 血中濃度パラメーター

		Tmax (h)	Cmax (mg/L)	T1/2 (h)	AUC (mg/L*h)
雄	低用量単回経口	1	3.359	6	31.03
	高用量単回経口	4	185.7	24	3183.70
雌	低用量単回経口	2	2.731	8	31.28

### ④臓器・組織内分布

試験終了時（投与48時間後）に全ての供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

全ての処理群で、試験終了時まで投与放射能の大部分が排泄されており、動物体内に残存した放射能は極めて低く、いずれの投与群においても投与放射能の僅か1%程度であった。

臓器・組織中の放射能としては、肝臓で血中濃度より有意に高い放射能が認められた以外は、概して血中濃度と同程度かあるいは下回った。

臓器及び組織内の放射能分布を表7に示した。

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

表7 各投与群における臓器・組織内分布

	雄				雌	
	低用量単回		高用量単回		低用量単回	
	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %
血液	0.006	0.01	2.53	0.04	0.010	0.02
骨	0.012	0.00	1.50	0.00	0.009	0.00
脳	0.003	0.00	0.38	0.00	0.002	0.00
脂肪	0.004	0.00	0.70	0.00	0.004	0.00
雄性生殖腺	0.003	0.00	0.68	0.01	-	-
心臓	0.005	0.00	0.96	0.00	0.006	0.00
腎臓	0.012	0.01	2.62	0.02	0.015	0.02
肝臓	0.041	0.19	4.76	0.15	0.040	0.22
肺	0.006	0.00	1.41	0.01	0.008	0.01
筋肉	0.003	0.01	0.53	0.01	0.003	0.01
脾臓	0.008	0.00	0.98	0.00	0.008	0.00
皮膚	0.018	0.03	2.73	0.02	0.014	0.02
甲状腺	0.007	0.00	1.05	0.00	0.012	0.00
卵巣	-	-	-	-	0.011	0.00
子宮	-	-	-	-	0.009	0.00
消化管	0.008	0.11	1.89	0.15	0.011	0.15
カーカス	0.007	0.56	1.84	0.88	0.008	0.77
合計	-	0.92	-	1.29	-	1.22

濃度：フルフェナセット換算値、放射能%：投与放射能に対する割合

-：該当せず

⑤代謝物のプロフィール；

各投与群の雌雄の尿中の代謝物のプロフィールについて検討した。供試試料は各群とも全試料の混合試料を用いた。糞及びケージ洗浄液については放射能濃度が極めて低かったため分析は省略した。

雌雄ともに主要代謝物は、

及び

であった。

も少量

認められた。その他同定に至った代謝物はなかった。

また雌雄共に未変化のフルフェナセット[A]はほとんど認められなかった。

各投与群の尿中の代謝物プロフィールを表8に示した。

表8 各投与群の尿中の代謝物プロフィール

	雄		雌
	低用量	高用量	低用量
フルフェナセット[A]	<1	<1	ND
合計	47	59	39

数値は投与放射能割合%

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

— [フルフェネト]フルフェネト—

予備試験；

試験終了時（投与72時間後）の投与放射能の平均回収率は97%であった。主な排泄経路は尿中排泄であり、投与放射能の78%が尿を介して排泄された。糞中排泄は13%と低かった。また、試験期間を通じて呼気中には放射能が認められなかった。[フルフェネト]フルフェネトを供試した群では $^{14}\text{CO}_2$ が生成されたことから、 $^{14}\text{C}$ も $^{14}\text{H}$ は代謝されないことが明らかとなった。

本試験；

①排泄

予備試験結果より、呼気中への放射能の排泄が認められなかったことから、本試験においては呼気中放射能の測定は行わなかった。投与された放射能の主排泄経路は、投与量、性別に関係なく尿中排泄であり、糞中への排泄率は極めて低かった。投与放射能の尿中、糞中及び呼気中排泄率は、次のとおりであった。

投与群	尿中排泄		糞中排泄	
	雄	雌	雄	雌
低用量単回経口	89%	87%	6%	4%
高用量単回経口	82%	-	7%	-

低用量群の雄では投与放射能は速やかに吸収され、排泄された。投与8時間後には、投与放射能の約50%が尿中に排泄され、24時間後には80%に至った。雌では雄に比較し排泄速度がやや遅れ、投与8時間後までに尿中に排泄された放射能は投与放射能の約30%に留まった。しかしながら最終的には雄と同等の放射能が尿中排泄された。高用量群の雄では低用量群に比較して排泄速度がやや遅れ、投与8時間後までに尿中に排泄された放射能は投与放射能の26%に留まった。しかし最終的には雄とほぼ同等の放射能が尿中排泄された。糞中への排泄はいずれの投与群においても投与24時間後にはほぼ終了した。投与放射能の経時的排泄パターンを表9に示した。

表9. 投与放射能の経時的排泄割合（投与放射能%）

	時間	尿		糞		ケージ洗液		動物体		合計	
		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
低用量 単回 経口	0~8	48	28	-	-	-	-	-	-	48	28
	0~24	80	72	5	3	-	-	-	-	85	75
	0~48	87	82	6	4	-	-	-	-	93	86
	0~72	89	87	6	4	2	2	1	6	98	99
高用量 単回 経口	0~8	26	/	-	/	-	/	-	/	26	/
	0~24	65	/	6	/	-	/	-	/	71	/
	0~48	80	/	7	/	-	/	-	/	87	/
	0~72	82	/	7	/	4	/	4	/	97	/

-：試料採取せず

②吸収

いずれの投与群においても糞中への排泄率が極めて低かったことから、投与放射能の大部分が吸収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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

### ③臓器・組織内分布

試験終了時（投与72時間後）に全ての供試動物を屠殺し、各臓器、組織中の残存放射能を測定した。

全ての処理群で、試験終了時まで投与放射能の多くが排泄されており、動物体内に残存した放射能は低く2%~7%であった。

全ての臓器・組織中の放射能は血中濃度より低かった。

臓器及び組織内の放射能分布を表10に示した。

表10 各投与群における臓器・組織内分布

	雄				雌	
	低用量単回		高用量単回*		低用量単回	
	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %	濃度 (ppm)	放射能 %
血液	0.253	0.27	25.28	0.58	0.344	1.05
骨	0.027	0.00	3.57	0.00	0.035	0.01
脳	0.030	0.01	3.80	0.02	0.042	0.04
脂肪	0.023	0.00	2.33	0.00	0.027	0.01
雄性生殖腺	0.030	0.01	3.68	0.04	-	-
心臓	0.078	0.03	9.70	0.03	0.116	0.06
腎臓	0.066	0.02	8.38	0.06	0.110	0.10
肝臓	0.082	0.14	7.80	0.26	0.107	0.47
肺	0.078	0.02	9.20	0.07	0.118	0.11
筋肉	0.033	0.02	4.01	0.05	0.045	0.08
膵臓	0.062	0.01	7.04	0.02	0.103	0.03
皮膚	0.058	0.01	6.24	0.02	0.077	0.05
甲状腺	0.045	0.00	4.65	0.00	0.058	0.00
卵巣	-	-	-	-	0.060	0.01
子宮	-	-	-	-	0.069	0.02*
消化管	0.041	0.24	6.24	0.64	0.064	0.85
カーカス	0.010	1.08	1.75	3.92	0.012	4.08
合計	-	1.86	-	5.71	-	6.97

濃度：フルフェナセット換算値、放射能%：投与放射能に対する割合

\*：異常値を示したラットを除く4匹の結果より算出した（申請者の計算による）

### ④代謝物のプロフィール；

各投与群の雌雄の尿及び糞中の代謝物のプロフィールについて検討した。尿については全試料の混合試料を用いた。糞については、0~24時間後の混合試料を用いた。ケージ洗浄液については放射能濃度が極めて低かったため分析には供試しなかった。雌雄ともに尿中の主要代謝物は

であった。

も少量認められた。

その他同定に至った代謝物はなかった。

また雌雄共に未変化のフルフェナセット[A]は認められなかった。

糞中においては雄で

がごく僅

かに認められた以外は同定に至った代謝物はなかった。未変化のフルフェナセット[A]は認められなかった。

各投与群の尿中の代謝物プロフィールを表11に示した。

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

表11 各投与群の排泄物中の代謝物プロフィール

	尿			糞		
	雄		雌	雄		雌
	低用量	高用量	低用量	低用量	高用量	低用量
フルフェナセット[A]	ND	ND	ND	ND	1	ND
合計	58	68	53	2	4	-

尿は投与放射能割合%、糞は総放射能割合%

まとめ：

ラットに経口投与されたフルフェナセットは速やかに吸収され、主に尿を介して排泄された。  
 [ ]標識体投与群と[ ]標識体投与群における糞中排泄割合の差から、[ ]標識体の代謝分解物の胆汁を介した消化管への排泄が示唆された。  
 [ ]標識体投与群においては 放射能の排泄が認められた。  
 処理放射能の大部分が を介して体外に排泄されており、臓器・組織中への残留はきわめて低かった。

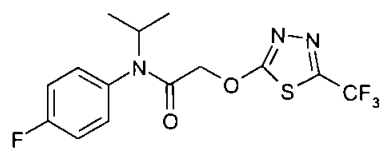
ラット体内における重要な最初の代謝は であると  
 考えられた。 は、速やかに  
 を受けたのち に代謝された。  
 は、さらに高次代謝を受け様々な代謝物が生成された。そのうち重要な経路は、  
 の生成及び の生成であった。  
 は、さらに へと分解された。  
 一方、 は、 となっ  
 たのち、 または となるか、もしくは  
 最終的に ( )等にまで分解された。

雌雄とも代謝経路は定性的に同等であったが、[ ]標識体投与群では定量的に  
 差が認められた。  
 [ ]標識体投与群の雄における主要代謝物は、 及び  
 であり、特に低用量群では、これらを合わせると排泄物中放射能の を占  
 めた。高用量群では排泄物中放射能の に留まった。  
 雌においても上記の代謝物は全て認められたが、低用量群では が排泄物中放射能  
 の を占めた。高用量群では の割合が減少し、代わって  
 と増加した。  
 [ ]標識体投与群においては、雌雄間での大きな差は認められなかったが、雌  
 で の生成量が雄に比べやや少ない傾向が見られた。

ラットにおける推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 ラットにおける推定代謝経路



フルフェナセット [A]

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

## 2. 植物代謝試験

(資料代2)

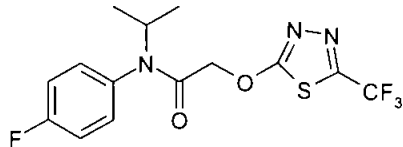
### (1) 小麦における代謝

試験機関：

報告書作成年：1997年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセチアミド  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：小麦（種名：*Triticum vulgare*）

栽培条件：屋外に設置した木製コンテナで栽培

試験方法：

処理溶液の調製；

<sup>14</sup>C標識フルフェナセット103mgを水和剤の白試料69mgに加え混合し、蒸留水20ml及びメタノール10mlを加え、<sup>14</sup>C標識フルフェナセット溶液を調製した。  
散布用には、この溶液にさらに蒸留水70mlを加えて希釈した処理溶液を調製した。

処理方法及び処理量設定根拠；

播種46日後の4葉期に散布機を用いて茎葉及び土壌表面に上記処理溶液を散布した。  
処理量の設定は登録上の最大投下葉量の1.5倍（0.42kg/ha）とした。

試料採取時期；

播種64日後（6葉期）、79日後、105日後（穂のみ）及び112日後（穂以外の地上部）に収穫した。

分析方法；

播種64日後試料；

試料（25.0g）にメタノール50mlを加えたのちブレンダーで抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール50mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定に供した。抽出液10mlを減圧濃縮した。濃縮残渣をメタノール50μlで溶解し、0.1%酢酸を0.5ml加えた後、LSC及びHPLCに供した。

また、上記残渣は75mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し減圧濃縮した。濃縮残渣を0.1%酢酸で溶解した後、LSC及びHPLCに供した。  
最終残渣は乾燥させた後、放射能測定に供した。

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

播種79日後試料：

磨砕試料 (10.0g) にメタノール/水 (3:1, v/v) 150mlを加えたのち、ブレンダーで抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール150mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した後、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣を125mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液をLSC及びHPLCに供した。

残渣は乾燥させた後、一部を放射能測定に供し、残りの残渣に1N塩酸を150ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム150mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。

残渣を乾燥させた後、2N水酸化ナトリウムを125ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N塩酸を加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム150mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。

さらに乾燥させた残渣にメタノール/水 (3:1, v/v) 100mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部を放射能測定に供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。残渣は乾燥させた後、一部を放射能測定に供した。

乾燥残渣に6N塩酸を100ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、放射能測定に供した。残渣は風乾した。

乾燥残渣に6N水酸化ナトリウムを50ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を36N硫酸でpH7に調整し、放射能測定に供した。

最終残渣を放射能測定に供した。

表わら：

磨砕試料 (10.0g) にメタノール/水 (4:1, v/v) 150mlを加え30分間膨潤させたのち、さらにメタノール50mlを加え、ブレンダーで抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール150mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供したのち、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣を125mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液を減圧濃縮後、濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣は乾燥させたのち、一部を放射能測定に供し、残りの残渣に1N塩酸を120ml加え室温で2.5時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム80mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。水層については、さらにTLCにも供した。

残渣を風乾させた後、2N水酸化ナトリウムを100ml加え室温で2.5時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N塩酸を加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。水層については、さらにTLCにも供した。

さらに乾燥させた残渣にメタノール/水 (3:1, v/v) 120mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部を放射能測定に供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。残渣は風乾させた後一部を放射能測定に供した。乾燥残渣に6N塩酸を100ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、クロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。残渣は風乾した。

乾燥残渣に6N水酸化ナトリウムを70ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N塩酸でpH7に調整し、クロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。

最終残渣を放射能測定に供した。

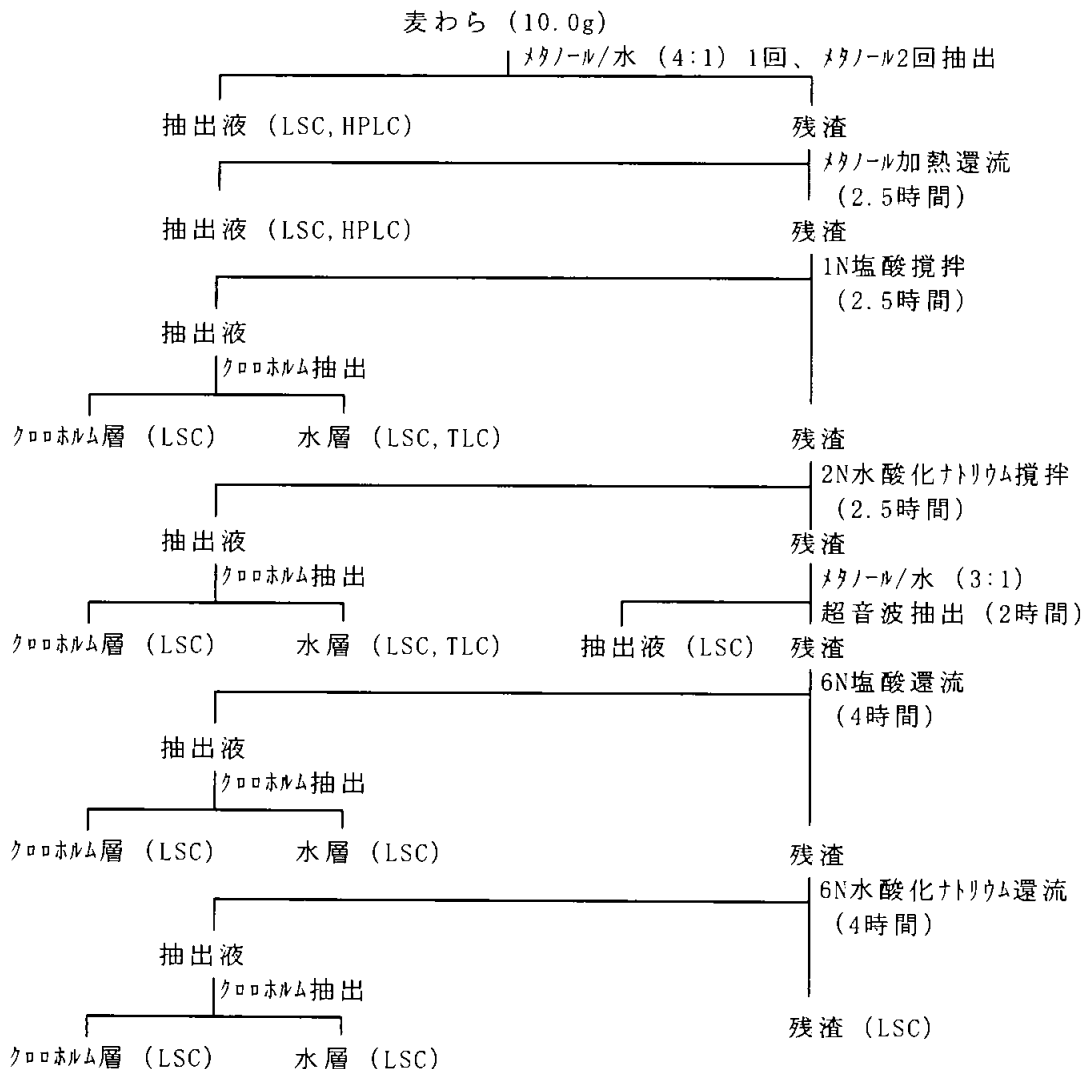
種子：

磨砕試料 (50.0g) にメタノール/水 (4:1, v/v) 150mlを加え30分間膨潤させた後、ブレンダーで抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール150ml

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

で2回抽出した。ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供したのち、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。  
 残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣を100mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液を減圧濃縮後、濃縮液をLSC及びHPLCに供した。  
 残渣は乾燥させた後、一部を放射能測定に供し、残りの残渣に1N塩酸を130ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム80mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。  
 残渣を風乾させた後、2N水酸化ナトリウムを150ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N塩酸を加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム150mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。  
 さらに乾燥させた残渣にメタノール/水 (3:1, v/v) 300mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部を放射能測定に供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。残渣は風乾させた後一部を放射能測定に供した。  
 乾燥残渣に6N塩酸を200ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、クロホルム300mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。残渣は風乾した。  
 乾燥残渣に6N水酸化ナトリウムを75ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N塩酸でpH7に調整し放射能測定に供した  
 最終残渣を放射能測定に供した。

参考として麦わらの分析フローチャートを以下に示した。



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

#### 機器分析：

##### 総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンター（Model LS9000、Beckman）で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイター（Model 306, 307、Packard）で燃焼し、生成した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を捕集し、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定した。

##### HPLC分析

放射性代謝物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器及び質量分析計を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

##### TLC分析

放射性代謝物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器を用いて代謝物の定性及び定量を行った。

#### 結果：

##### 1) 放射能分布

播種46日後に散布された放射能は慣行収穫時（播種105～112日後）には植物全体に分布した。しかしながら可食部における分布率はやや低く、麦わらの約1/4であった。

慣行収穫時における各部位の総残留濃度および放射能分布率を表1に示した。

表1 各部における放射能分布

麦わら		種子	
濃度 (ppm)	分布率* (%)	濃度 (ppm)	分布率* (%)
2.04	76.7	0.62	23.3

\*:申請者の計算による

##### 2) 代謝

###### ① 残留放射能の特徴付け

各試料の残留放射能の大部分が最初のメタノール抽出により抽出された。次に実施したメタノールによる加熱還流と併せると80%以上の放射能が抽出された。その後の酸及びアルカリ還流でほとんどの残留放射能が溶出し、最終残渣中の放射能は、いずれの試料においても4%以下であった。各試料における抽出画分毎の放射能濃度を表2に示した。

###### ② 代謝物の同定

メタノール抽出液はLSC分析とは別に、代謝物の同定のためHPLCによる標準物質とのクロマトグラフを行った。さらにHPLC分析においては質量分析計による構造決定も同時に行った。

全ての試料に共通して未変化のフルフェナセット[A]は全く検出されなかった。抽出放射能のうち主な代謝物は、

及び

であった。また を受けた も認められた。

その他にも

及び

も

少量生成された。

いずれの分析部位においてもおよそ70%以上のメタノール抽出放射能が同定された。

各試料のメタノール抽出液中の代謝物の濃度を表3に示した。

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

表 2 各試料中の放射能特性

	播種64日後		播種79日後		麦わら		種子	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出	1.78	92	3.01	88	1.51	76	0.36	64
メタノール加熱還流	0.08	4	0.21	6	0.20	10	0.09	16
1N塩酸攪拌								
クロホルム層			<0.01	<1	<0.01	<1	<0.01	<1
水層			0.02	2	0.06	3	0.02	3
2N水酸化ナトリウム攪拌								
クロホルム層			<0.01	<1	0.02	1	<0.01	1
水層			<0.01	<1	0.08	4	0.02	3
メタノール/水超音波抽出			0.01	<1	0.04	2	0.04	8
6N塩酸還流			<0.01	<1				
クロホルム層			-	-	<0.01	<1	<0.01	2
水層			-	-	<0.01	<1	<0.01	1
6N水酸化ナトリウム還流			<0.01	<1			<0.01	<1
クロホルム層					<0.01	<1		
水層					<0.01	<1		
最終残渣	0.08	4	<0.01	<1	0.06	3	0.01	2
合計	1.94	100	3.37	96	1.97	100	0.54	100

空欄は分析せず

表 3 各試料のメタノール抽出液中の代謝物濃度

	播種64日後		播種79日後		麦わら		種子	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
合計	1.64	84	3.05	87	1.53	74	0.40	66

- は検出されず

③まとめ

播種64日後試料

メタノール抽出により試料中総放射能の約96%が抽出された。

抽出液中の主要な放射能は

及び であり、この4つの代謝物で試料中総放射能の を 占めた。

その他の代謝物としては、 が認められたが生成量は僅かであった。

親化合物のフルフェナセット[A]は全く認められなかった。

播種79日後試料

メタノール抽出により試料中総放射能の約94%が抽出された。その後の1N塩酸攪拌でさらに2%の放射能が抽出された。

抽出液中の主要な放射能は 及び



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

であり、この3つの代謝物で試料中総放射能の を占めた。  
その他の代謝物としては、 及び が認められたが生成量は少なかった。  
親化合物のフルフェナセット[A]は全く認められなかった。

#### 麦わら

メタノール抽出により試料中総放射能の約86%が抽出された。  
抽出液中の主要な放射能は 、 及び であり、この3つの代謝物で試料中総放射能の を占めた。  
その他の代謝物としては、 、 及び が認められたが生成量は僅かであった。  
親化合物のフルフェナセット[A]は全く認められなかった。

#### 種子

メタノール抽出により試料中総放射能の約80%が抽出された。  
抽出液中の主要な放射能は であり、試料中総放射能の を占めた。  
その他の代謝物としては、 がトレス量認められた以外は、有意な量としては認められなかった。  
親化合物のフルフェナセット[A]は全く認められなかった。

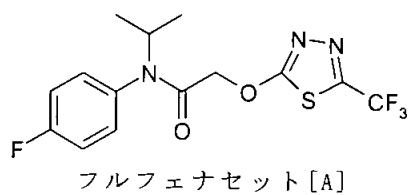
播種46日後に散布処理された放射能は、慣行収穫時、植物全体に分布した。  
植物体内に吸収されたフルフェナセットは速やかに代謝された。  
フルフェナセットの小麦における重要な第一段階の代謝は、  
 であると考えられた。  
 へと代謝された。一方、  
 となったのち、

へと代謝されるか、もしくは  
 へと代謝された。  
可食部である種子中の残留放射能は、 であった。

小麦におけるフルフェナセットの推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 小麦における推定代謝経路



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

(資料 代 3)

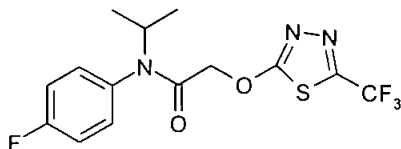
(2) だいずにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1995年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式：



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド  
( )

比放射能； [ ]フルフェナセト  
[ ]フルフェナセト

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：だいず (品種：McCall)

栽培条件：温室内に設置したプラスチックポットで栽培 (但し、[チアジゾール-2-14C]標識化合物処理試料は途中約2ヶ月間温室外に移した)

試験方法：

処理溶液の調製；

[ ]フルフェナセト (非標識体との混合物) 及び [ ]フルフェナセト各々130mg及び131.2mg相当を水和剤の白試料87mgに加え混合し製剤化した。この製剤各々217mg及び218mgを250mlの蒸留水で懸濁させ、これを処理溶液とした。

処理方法及び処理量設定根拠；

処理溶液全量 (分析用試料採取後) を52kgの培土に均一に処理した。この処理培土をポットに移し、だいずを播種した。

処理量の設定は、 [ ]標識体処理区では登録上の最大投下薬量の1.65倍 (0.858kg/ha)、 [ ]標識体処理区では1.53倍 (0.796kg/ha) とした。

試料採取時期；

[ ]フルフェナセト処理区においては、播種20日後、42日後、66日後及び80日後に収穫した。42、66及び80日後の試料については種実と茎葉部に分けて採取した。

[ ]フルフェナセト処理区においては、播種21日後、48日後、90日後に収穫した。なお、90日後試料は一部飼葉使用を想定し風乾試料とした (97日後試料)。48及び90日後の試料については種実 (48日後は莢) と茎葉部に分けて採取した。

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

分析方法；

— [ ]フルフェネソット処理区—

播種20及び42日後試料：

試料20.0g（42日後の未成熟種子のみ5.50g）にメタノール50mlを加えたのちブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール50mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定に供した。抽出液20ml（42日後の茎葉のみ10ml）を減圧濃縮した。濃縮残渣を0.1%酢酸/メタノール（7:3）1mlで溶解し、LSC及びHPLCに供した。

播種66日後茎葉試料：

磨砕試料（20.0g）にメタノール100mlを加えたのち、ブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール50mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部をLSCによる放射能測定に供したのち、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣を20mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液をLSC及びHPLCに供した。

残渣は風乾させた後、1N塩酸を50ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム60mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。水層についてはHPLCにも供試した。

残渣を風乾させた後、2N水酸化ナトリウムを50ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N塩酸を加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム60mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

さらに乾燥させた残渣にメタノール/水（3:1, v/v）40mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部をLSCに供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

乾燥残渣に6N塩酸を50ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、クロホルム50mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

残渣は風乾した。

乾燥残渣に6N水酸化ナトリウムを50ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を36N硫酸でpH7に調整し、クロホルム50mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

最終残渣を放射能測定に供した。

播種80日後茎葉試料：

磨砕試料（10.0g）にメタノール/水（4:1, v/v）50mlを加え30分間膨潤させたのち、ブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール50mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部をLSCによる放射能測定に供したのち、減圧乾固した。残渣をメタノールで溶解しLSC及びHPLCに供した。

残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣を25mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液の放射能をLSCを用いて測定した後、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣は風乾させたのち、1N塩酸を50ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム60mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。水層については、50%水酸化ナトリウム溶液でpH10に調整しクロホルム50mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供し、両層を減圧濃縮した。各濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣を風乾させた後、2N水酸化ナトリウムを50ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N塩酸を加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム60mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

さらに風乾させた残渣にメタノール/水（3:1, v/v）40mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部を放射能測定に供し、残りを減圧濃縮した。残渣をメタノールに溶解しLSC及びHPLCに供した。

風乾残渣に6N塩酸を50ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、クロホルム50mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

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

さらに風乾残渣に6N水酸化ナトリウムを50ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を36N硫酸でpH7に調整し、クロホルム50mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した  
最終残渣を放射能測定に供した。

#### 未成熟種子：

磨砕試料（20.0g）にメタノール50mlを加え、ブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール50mlで更に2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部をLSCによる放射能測定に供したのち、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣を60mlのメタノールと共に2時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液を減圧濃縮後、濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣は風乾させたのち、1N酢酸を125ml加え1.5時間加熱還流した。冷後12時間攪拌抽出した。懸濁液をろ過し、ろ液をLSCに供した。

残渣は風乾させた後、2N水酸化ナトリウムを80ml加え、室温で3時間攪拌した。懸濁液に6N塩酸を加えpH7に調整した後ろ過した。ろ液をメチル-tert-ブチルエーテル80mlで3回抽出した。メチル-tert-ブチルエーテル層及び水層をLSCに供した。

残渣を風乾させた後、6N塩酸を50ml加え4時間加熱攪拌した。懸濁液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した後ろ過した。ろ液をメチル-tert-ブチルエーテル50mlで3回抽出した。メチル-tert-ブチルエーテル層及び水層をLSCに供した。

更に風乾残渣に6N水酸化ナトリウムを20ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N塩酸でpH7に調整しLSCに供した

最終残渣を放射能測定に供した。

#### 成熟種子：

磨砕試料（40.0g）にメタノール/水（4:1, v/v）100mlを加え30分間膨潤させたのち、ブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣を更にメタノール/水（4:1, v/v）100mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部をLSCによる放射能測定に供したのち、減圧乾固した。残渣をメタノールで溶解しLSC及びHPLCに供した。

残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣に200mlのヘキサンを加え、攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をアセトニトリル150mlで2回抽出した。ヘキサン抽出液はLSCに供した。アセトニトリル抽出液はLSC及びHPLCに供した。

残渣は風乾させた後、メタノール200mlと共に4時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液の放射能を測定した後、減圧乾固した。残渣をメタノールで溶解し、LSC及びHPLCに供した。

残渣を風乾させたのち1N塩酸を250ml加え室温で3時間攪拌抽出した。懸濁液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した後ろ過し、ろ液の一部をLSCに供した。ろ液をクロホルム250mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSC及びHPLCに供した。

残渣を風乾させたのち2N水酸化ナトリウムを250ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液に6N塩酸を加えpH7に調整した後ろ過し、ろ液の一部をLSCに供した。ろ液をクロホルム250mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

さらに風乾させた残渣にメタノール/水（3:1, v/v）400mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部を放射能測定に供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSCに供した。

乾燥残渣に6N塩酸を100ml加え、4時間加熱還流した。懸濁液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整した後ろ過し、ろ液をクロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。残渣は風乾した。

乾燥残渣に6N水酸化ナトリウムを40ml加え、4時間加熱還流した。懸濁液を36N硫酸でpH7に調整した後ろ過し、ろ液をクロホルム40mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した

最終残渣を放射能測定に供した。



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

酸を加え、90℃で12時間加熱反応した。反応液は2N水酸化ナトリウムで中和し、HPLCに供した。

播種97日後茎葉試料：

磨砕試料（10.0g）にメタノール/水（4:1, v/v）50mlを加え30分間膨潤させたのち、ブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣をメタノール75mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部をLSCによる放射能測定に供したのち、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣を50mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液の放射能を測定した後、減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

残渣は風乾させたのち1N塩酸を100ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N水酸化ナトリウムを加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。水層については、HPLCにも供した。残渣を風乾させたのち2N水酸化ナトリウムを100ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、ろ液に6N塩酸を加えpH7に調整した。ろ液をクロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。水層についてはHPLCにも供試した。

さらに風乾させた残渣にメタノール/水（3:1, v/v）60mlを加え2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部をLSCに供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSC及びHPLCに供した。

乾燥残渣に6N塩酸を60ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、クロホルム60mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した。残渣は風乾した。

乾燥残渣に6N水酸化ナトリウムを50ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を36N硫酸でpH7に調整し、クロホルム50mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層を放射能測定に供した

最終残渣を放射能測定に供した。

成熟種子：

磨砕試料（20.0g）にメタノール/水（4:1, v/v）50mlを加え30分間膨潤させたのち、ブレンダーで攪拌抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。残渣を更にメタノール50mlで2回抽出した。各ろ液を合わせ、一部をLSCによる放射能測定に供したのち、減圧乾固した。残渣をメタノールで溶解しLSC及びHPLCに供した。

残渣の一部を放射能測定に供し、残りの残渣に50mlのメタノールと共に2.5時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液の放射能を測定したのち、減圧乾固した。残渣をメタノールで溶解し、LSC及びHPLCに供した。

残渣を風乾させた後、1N塩酸100mlを加え室温で3時間攪拌抽出した。懸濁液をろ過し、一部をLSCに供した。ろ液をクロホルム150mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。

残渣を風乾させたのち2N水酸化ナトリウムを100ml加え室温で3時間攪拌した。懸濁液をろ過し、一部をLSCに供した。ろ液をクロホルム100mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。水層はHPLCにも供した。抽出残渣についても、一部を放射能測定に供した。

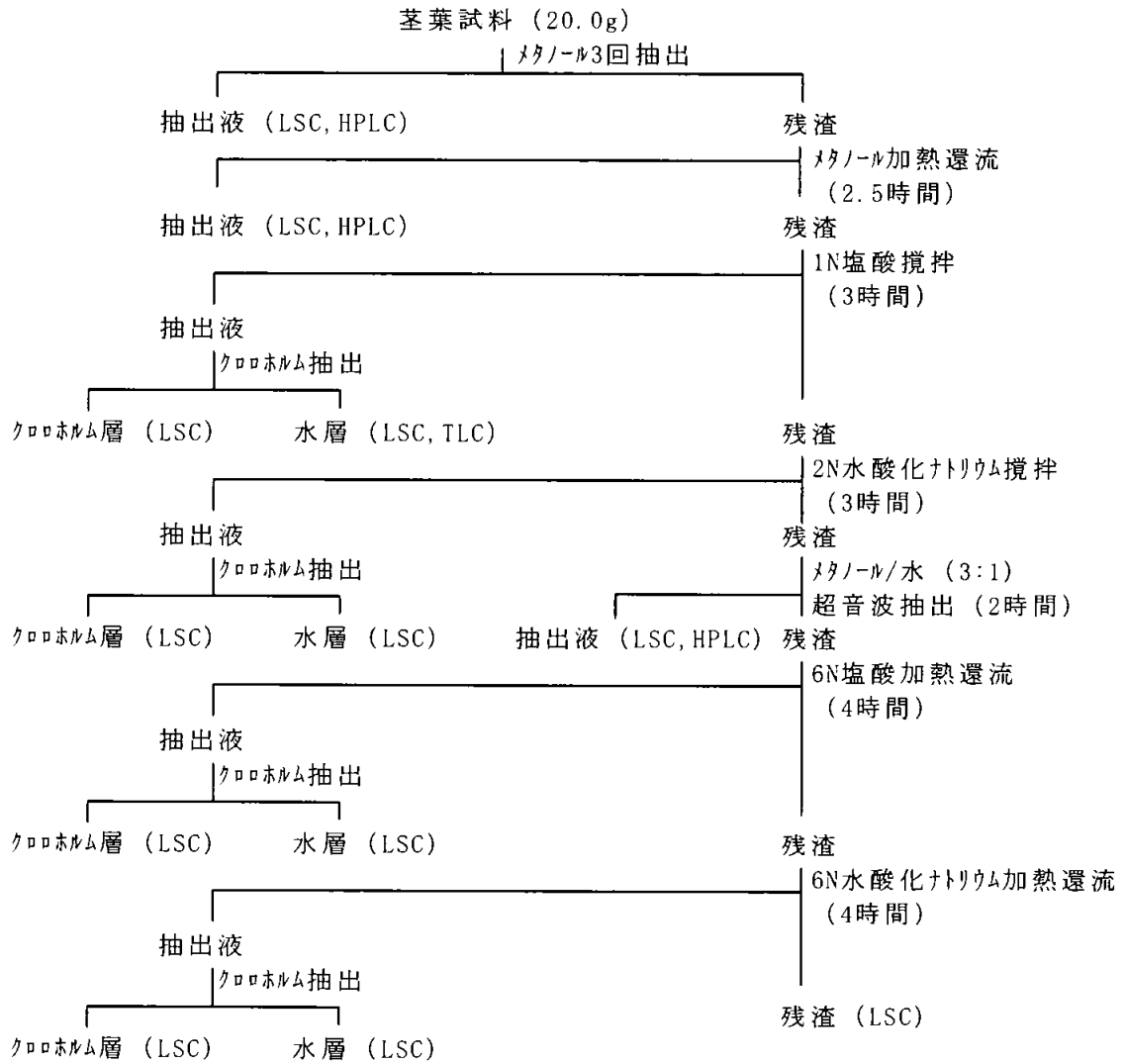
風乾させた残渣にメタノール/水（3:1, v/v）60mlを加え、2時間超音波抽出を行った。抽出液をろ過し、ろ液の一部を放射能測定に供し、残りを減圧濃縮した。濃縮液をLSCに供した。

風乾残渣に6N塩酸を60ml加え、4時間加熱還流した。ろ過後、ろ液を6N水酸化ナトリウムでpH7に調整し、クロホルム60mlで3回抽出した。クロホルム層及び水層をLSCに供した。更に風乾残渣に6N水酸化ナトリウムを50ml加え、4時間加熱還流した。懸濁液を36N硫酸でpH7に調整した後ろ過し、ろ液をLSCに供した

最終残渣を放射能測定に供した。

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

参考として [ ]フルフェナセット処理区66日後茎葉試料の分析フローチャートを以下に示した。



#### 機器分析：

##### 総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはそのまま液体シンチレーションカウンター（Model LS9000、Beckman）で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイザー（Model 306、Packard）で燃焼し、生成した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集し、液体シンチレーションカウンターで捕集液の放射能を測定した。

##### HPLC分析

放射性代謝物と標準品とのコクロマトグラフを行い、放射能検出器及び質量分析計を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

##### TLC分析

放射性代謝物と標準品とのコクロマトグラフを行い、放射能スキャナーを用いて代謝物の定性及び定量を行った。また、質量分析のための放射能の精製にも用いた。

##### NMR分析

単離放射能の構造決定のため、 $^1\text{H}$  (300.00MHz) 及び  $^{19}\text{F}$  (282.20MHz) で測定した。



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

結果：

1) 放射能分布

— [フルフェナセット処理区 —

培土処理された放射能は根より吸収され植物全体に分布した。しかしながら茎葉部に比べ、可食部における放射能濃度は低く、茎葉部の1/20程度であった。各試料の放射能濃度を表1に示した。

表1 各部における放射能濃度

	濃度 (ppm)
20日後試料 茎葉部	2.20
42日後試料 茎葉部 未成熟種子	6.82 0.17
66日後試料 茎葉部 未成熟種子	8.49 0.48
80日後試料 茎葉部 成熟種子	21.7 1.02

— [フルフェナセット処理区 —

培土処理された放射能は根より吸収され植物全体に分布した。 [

フルフェナセット処理区と比較して茎葉部の放射能濃度が、21日後試料を除いて明らかに低かった。これはアゾアゾール環を有する代謝物の分解が早く、CO<sub>2</sub>にまで分解され、<sup>14</sup>Cが植物体外へと排泄されることに起因しているものと考えられた。各試料の放射能濃度を表2に示した。

表2 各部における放射能濃度

	濃度 (ppm)
21日後試料 茎葉部	2.60
48日後試料 茎葉部 未成熟種子	1.23 0.21
90日後試料 茎葉部 成熟種子	1.22 0.68
97日後試料 茎葉部	5.78

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

— [フルフェナセット処理区 —

茎葉試料の残留放射能の大部分が最初のメタノール抽出により抽出された。次に実施したメタノールによる加熱還流と併せると90%以上の放射能が抽出された。その後の酸及びアルカリ還流によりほとんどの残留放射能が溶出し、最終残渣中の放射能は、いずれの試料においても1%以下であった。種子については溶媒による抽出率は茎葉に比較してやや低く、特に成熟種子では60%程度であった。しかしながら酸及びアルカリ還流で、茎葉試料同様ほとんどの残留放射能が溶出し、最終残渣中の放射能は、いずれの試料においても1%以下であった。各試料における抽出画分毎の放射能濃度を表3-1～3-2に示した。

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

表3-1 各試料中の放射能特性

	播種20日後 茎葉		播種42日後			
	濃度 (ppm)	%TRR	茎葉		未成熟種子	
			濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出	2.01	90	6.46	95	0.16	85
抽出残渣	0.21	10	0.36	5	0.03	15
合計	2.23	100	6.82	100	0.19	100

表3-2 各試料中の放射能特性

	播種66日後				播種80日後			
	茎葉		未成熟種子		茎葉		成熟種子	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出	7.95	93	0.34	77	19.9	88	0.63	49
メタノール加熱還流	0.29	3	0.02	4	0.61	3	0.08	13*
1N塩酸攪拌								
クロホルム層	<0.01	<1	-	-	0.11	<1	0.04	4
水層	0.21	2	0.03	6	0.80	4	0.16	16
2N水酸化ナトリウム攪拌								
クロホルム層	0.01	<1	0.02	5	0.18	<1	0.03	3
水層	0.03	<1	0.02	5	0.24	1	0.06	6
メタノール/水超音波抽出	0.02	<1	-	-	0.25	1	0.03	2
6N塩酸還流								
クロホルム層	<0.01	<1	<0.01	<1	0.10	<1	<0.01	<1
水層	<0.01	<1	<0.01	1	0.04	<1	0.05	5
6N水酸化ナトリウム還流								
クロホルム層	<0.01	<1	-	-	0.01	<1	<0.01	<1
水層	<0.01	<1	<0.01	<1	0.03	<1	<0.01	<1
最終残渣	0.03	<1	<0.01	<1	0.01	<1	0.01	<1
合計	>8.54	>98	>0.43	>98	22.3	>97	>1.09	>98

\*：加熱還流の前に実施したヘキサン及びアセトニトリルによる抽出放射能を含む

－ [ フルフェナセト処理区 ] －

茎葉試料の残留放射能の大部分が最初のメタノール抽出により抽出された。次に実施したメタノールによる加熱還流と併せると75%以上の放射能が抽出された。その後の酸及びアルカリ還流により、多くの残留放射能が溶出し、最終残渣中の放射能は、いずれの試料においても5%以下であった。種子については溶媒による抽出率は茎葉に比較してやや低く、成熟種子では70%程度であった（48日後未熟種子は放射能が低いため分析を省略した）。しかしながら酸及びアルカリ還流で、茎葉試料同様ほとんどの残留放射能が溶出し、最終残渣中の放射能は1%以下であった。各試料における抽出画分毎の放射能濃度を表4-1～4-2に示した。

表4-1 各試料中の放射能特性

	播種21日後茎葉		播種48日後茎葉	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出	2.25	90	0.77	79
メタノール加熱還流	0.02	1	0.01	1
抽出残渣	0.23	9	0.19	19
合計	2.50	100	0.97	99

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

表4-2 各試料中の放射能特性

	播種90日後				播種97日後	
	茎葉		成熟種子		乾燥茎葉	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出	0.93	81	0.46	67	3.45	71
メタノール加熱還流	0.02	2	0.04	5	0.19	4
1N塩酸攪拌						
クロロホルム層	<0.01	<1	<0.01	<1	<0.06	<1
水層	0.11	10	0.03	4	0.88	18
2N水酸化ナトリウム攪拌						
クロロホルム層	0.01	1	0.01	2	<0.06	<1
水層	0.03	2	0.13	19	0.12	2
メタノール/水超音波抽出	<0.01	<1	0.01	2	0.06	1
6N塩酸還流						
クロロホルム層	<0.01	<1	<0.01	<1	<0.06	<1
水層	<0.01	<1	<0.01	<1	<0.06	<1
6N水酸化ナトリウム還流						
クロロホルム層	<0.01	<1	-	-	<0.06	<1
水層	<0.01	<1	<0.01	<1	<0.06	<1
最終残渣	0.04	3	<0.01	<1	0.24	5
合計	>1.14	>99	>0.69	>99	>5.07	>101

②代謝物の同定

— [フルフェナセット処理区—

全ての試料に共通して未変化のフルフェナセット[A]は全く検出されなかった。  
可食部である種子における主要代謝物は、

であった。

茎葉部における主要代謝物は、

であった。また、

についても比較的多く生成された。

その他にもシ

及び

も少量生成され、種子及び茎

葉のどちらにも認められた。

いずれの分析部位においても同定代謝物は共通して認められた。

各試料の抽出液中の代謝物を表5-1～5-2に示した。

表5-1 各試料の抽出液中の代謝物濃度

	播種20日後		播種42日後			
	茎葉		茎葉		未成熟種子	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
合計	1.43	65	6.26	92	>0.11	72

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

表5-2 各試料の抽出液中の代謝物濃度

	播種66日後*				播種80日後+			
	茎葉		未成熟種子		乾燥茎葉		成熟種子	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
合計	>7.81	>92	>0.29	>63	17.58	81	>0.48	>47

\*: メタノール加熱還流による抽出物も含む

+: 乾燥茎葉はメタノール加熱還流抽出物及び酸加水分解物も含む。また、成熟種子は7セットリム及びメタノール加熱還流による抽出物も含む

- [ ]フルフェナセット処理区-

全ての試料に共通して未変化のフルフェナセット[A]は全く検出されなかった。主要代謝物は、

茎葉部では、

が認められ、これらが各々の部位における唯一の同定代謝物であつた。

種子中には

各試料の抽出液中の代謝物を表6に示した。

表6 各試料の抽出液中の代謝物濃度

	播種21日後 茎葉		播種48日後 茎葉		播種90日後 茎葉*		播種90日後 成熟種子		播種97日後 乾燥茎葉*	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
合計	1.77	68	0.75	61	0.71	58	0.44	66	3.81	66

\*: メタノール加熱還流抽出物、酸及びアルカリ加水分解物も含む。

③まとめ

播種前に土壤に処理された放射能は、根から吸収され収穫時には植物全体に分布した。

だいに吸収されたフルフェナセットは速やかに代謝され、植物全体に分布した。いずれの試料においても未変化のフルフェナセットは認められなかった。フルフェナセットのだいににおける重要な第一段階の代謝は、

であると考えられた。

は、により

となつたのち、に代謝されるか、あるいはを受けて種子中の主代謝物であるへと代謝された。

、さらにへの代謝も認められた。

また、については、

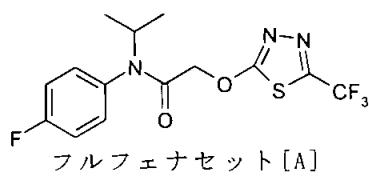
へと代謝された。

一方、については、となつたのち、を受け茎葉中の主代謝物であるへと代謝されるか、もしくはを受け、種子中の主代謝物であるへと代謝された。

だいににおけるフルフェナセットの推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 だいずにおける推定代謝経路



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

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

(資料 代 4)

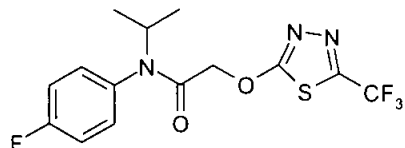
(3)とうもろこしにおける代謝

試験機関：

報告書作成年：1994年 [GLP]

供試標識化合物：

構造式；



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド  
(以下<sup>14</sup>C 標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：とうもろこし (品種：Great Lakes 584)

栽培条件：プラスチックポットで初霜が降りるまで野外で栽培、それ以降は温室内で栽培した。

試験方法：

処理溶液の調製；

[ ]フルフェナセットを44mg及び非標識体を45mg混合し、これを480mlのメタノール/水 (23:25, v/v) に溶解し、これを処理溶液とした。

処理方法及び処理量設定根拠；

処理溶液全量を48.1kgの培土に均一に処理した。この処理培土をポットに移し、とうもろこしを播種した。

処理量の設定は登録上の推奨薬量の1.9倍 (1000g a. i./ha) とした。

試料採取時期；

播種96日後及び110日後に地上部を収穫し、茎葉部と種子に分けた。110日後の試料については96日以降灌水せず、植物体を乾燥させた。

分析方法；

96日後茎葉試料；

試料400.0gにメタノール/水 (9:1, v/v) 800mlを加え磨砕抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。同様の操作を2回繰り返した。各ろ液を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター (LSC) による放射能測定に供した。抽出残渣は乾燥後、放射能測定に供した。抽出液をロータリーエバポレーターにより減圧濃縮した。濃縮液を2000rpmで30分間遠心分離した。上清の一部を放射能測定に供した。沈降物を水に再懸濁し、懸濁液を2000rpmで2時間遠心分離した。上清の一部を放射能測定に供した。沈降物をメタノールに再懸濁し、懸濁液を放射能測定に供したのち廃棄した。各上清を合わせ、ロータリーエバポレーターにより減圧濃縮した。濃縮液を60ml容のMega Bond Elut C18に負荷し、溶出液が無色になるまで水で洗

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

浄した。洗浄後、メタノール/水 (1:1, v/v) 120mlで溶出、さらにメタノール120mlで溶出した。洗浄水及びメタノール溶出液は放射能測定に供試したのち廃棄した。

メタノール/水 (1:1, v/v) 溶出液はロータリーエバポレーターにより減圧濃縮した。濃縮液を合成吸着剤アソパライトXAD-2を充填したオープンカラムに負荷した。溶出液が無色になるまで水で洗浄した。洗浄後、メタノール約700~800mlで溶出した。洗浄液は放射能測定後廃棄した。メタノール溶出液はロータリーエバポレーターにより減圧乾固し、ジブチルメタンで誘導化したのちHPLCもしくはGC/MSに供した。

110日後乾燥茎葉試料：

試料200.0gにメタノール/水 (4:1, v/v) 600mlを加え磨砕抽出した。抽出液をろ過し、ろ液と残渣に分けた。同様の操作を3回繰り返した。以降、96日後茎葉試料と同様の操作を行った。

96日後種子試料：

試料150.0gにメタノール400mlを加え18時間還流抽出した。抽出残渣を55mlの抽出溶媒で洗浄した。抽出液と洗浄液を合わせ、一部を放射能測定に供し、ロータリーエバポレーターにより減圧濃縮した。抽出残渣は乾燥させ、一部を放射能測定に供したのち加水分解に供した。

濃縮液をヘキサン100ml及びアセトニトリル100mlで抽出し、抽出残渣をメタノールで溶解した。各々の抽出液の一部を放射能測定に供した。

上記乾燥残渣に2N塩酸300mlを加え4時間加熱還流し加水分解した。溶液を50%水酸化ナトリウム水溶液で中和したのちろ過した。ろ過残渣は乾燥させ、一部を放射能測定に供した。ろ液は酢酸エチル200mlで2回抽出した。水層の一部を放射能測定に供した。抽出液は混合し、無水硫酸ナトリウムを通して脱水した後、一部を放射能測定に供した。

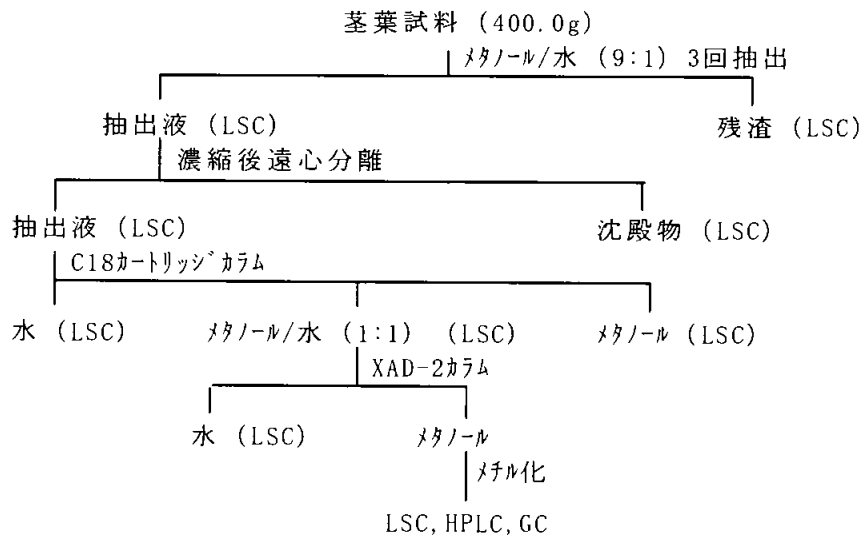
110日後種子試料：

試料150.0gにメタノール/水 (4:1, v/v) 400mlを加え18時間還流抽出した。抽出残渣を55mlの抽出溶媒で洗浄した。抽出液と洗浄液を合わせ、一部を放射能測定に供し、ロータリーエバポレーターにより減圧濃縮した。抽出残渣は乾燥させ、一部を放射能測定に供したのち加水分解に供した。

濃縮液をヘキサン100mlで3回抽出した。抽出液を合わせアセトニトリル250mlで2回液-液分配した。水層、ヘキサン層及びアセトニトリル層の一部を放射能測定に供した。

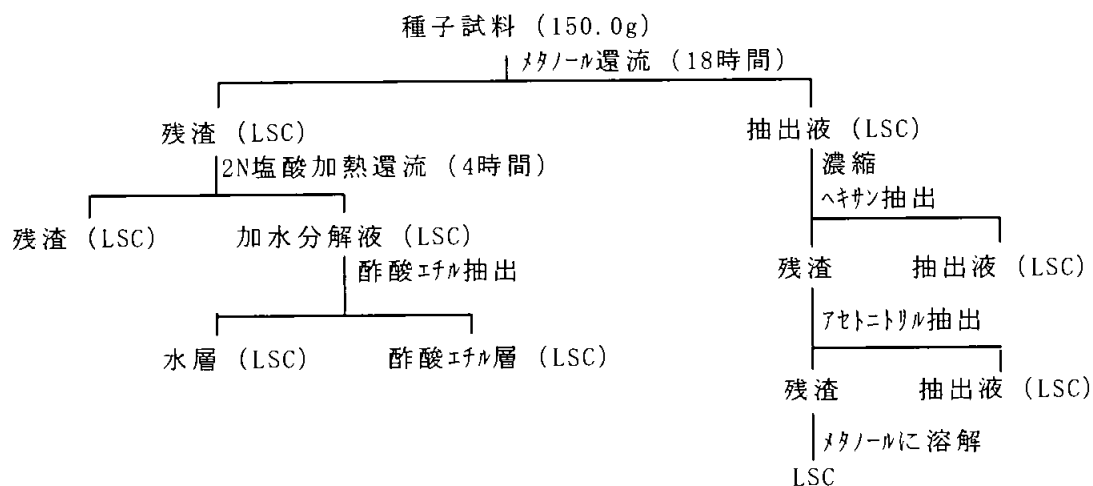
以下96日後試料と同様の酸加水分解操作を行った。

参考として96日後試料の分析フローチャートを以下に示した。





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



機器分析：

総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料についてはシンチレーションカテルを直接添加し、液体シンチレーションカウンター（Model LS6000及びLS9000、Beckman）で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイター（Tri-Carb 306、Packard）で燃焼し、生成した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、捕集液を液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

T L C 分析

放射性代謝物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器を用いて分解生成物の定性を行った。

H P L C 分析

放射性代謝物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器及び質量分析計を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

G C / M S 分析

放射性代謝物と標準品とのクロマトグラフを行い、代謝物の定性を行った。

結果：

1) 放射能分布

培土処理された放射能は根より吸収され植物全体に分布した。しかしながら茎葉部に比べ、可食部における放射能濃度は非常に低く、茎葉部の1/30から1/50程度であった。

各試料の放射能濃度を表1に示した。

表1 各部における放射能濃度

	濃度* (ppm)
96日後試料	
茎葉部	0.261
種子	0.009
110日後試料	
乾燥茎葉部	0.498
乾燥種子	0.012

\*：フルフェネット換算値

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

## 2) 代謝

### ① 残留放射能の特徴付け

茎葉試料の残留放射能の約90%がメタノール/水抽出により抽出された。引き続き実施したC18カートリッジカラムによる精製において93%以上の放射能がメタノール/水(1:1)で溶離した。

種子については溶媒による抽出率は茎葉に比較して非常に低く、30%弱であった。残渣中の放射能は、試料中放射能の70%を超えた。残渣の酸加熱還流による加水分解で40%強の残留放射能が溶出した。

最終残渣中の放射能は、試料中放射能の30%弱であった。

各試料における抽出画分毎の放射能を表3-1～3-2に示した。

表3-1 茎葉試料中の放射能特性

	茎葉試料			
	96日後		110日後	
	濃度* (ppm)	%TRR	濃度* (ppm)	%TRR
メタノール/水抽出	0.232	89	0.448	90
C18カートリッジカラム				
洗浄水	0.010	4	0.025	5
メタノール/水(1:1)	0.222	85	0.418	84
XAD-2カラム				
洗浄水	<0.002	<1	0.005	1
メタノール	0.222	85	0.413	83
メタノール	<0.002	<1	0.005	1
残渣	0.029	11	0.050	10
合計	0.261	100	0.498	100

\*: 申請者の計算による

表3-2 種子試料中の放射能特性

	種子試料			
	96日後		110日後	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール還流	0.002	24	-	-
ヘキサン抽出液	<0.001	3	-	-
アセトニトリル抽出液	0.001	7	-	-
抽出残渣メタノール溶液	0.001	14	-	-
メタノール/水還流	-	-	0.003	28
ヘキサン抽出液	-	-		
ヘキサン/アセトニトリル分配				
ヘキサン層			<0.001	<1
アセトニトリル層			<0.001	1
水層	-	-	0.003	27
残渣	0.007	76	0.009	72
2N塩酸加熱還流	0.004	47	0.005	44
酢酸エチル抽出				
酢酸エチル層	<0.001	5	0.001	5
水層	0.004	42	0.004	39
最終残渣	0.003	29	0.004	28
合計	0.009	100	0.012	100

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

### ②代謝物の同定

種子中の放射能が極めて少なかったことから、茎葉試料のみ代謝物の同定を試みた。

茎葉試料において未変化のフルフェナセット[A]は全く検出されなかった。茎葉部における主代謝物は、

であった（試料中放射能の ）。

また、 及びさらに

についても試料中放射能の 程度認められた。

なお、その他の代謝物としては、

及び ならびに も認められたが、その生成量

は極めて少なかった。

茎葉試料の抽出液中の代謝物を表4に示した。

表4 茎葉試料の抽出液中の代謝物

	96日後試料		110日後試料	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
合計	>0.193	>75	0.351	70

### ③まとめ

播種前に土壌処理された放射能は、根から吸収され収穫時には植物全体に分布した。

とうもろこしに吸収されたフルフェナセットは速やかに代謝された。茎葉試料において未変化のフルフェナセットは認められなかった。

フルフェナセットのとうもろこしにおける重要な第一段階の代謝は、

であると考えられた。 は、

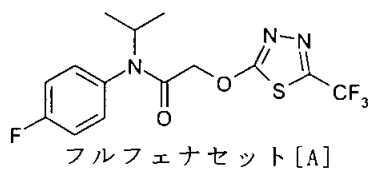
となったのち、

され主代謝物である へと代謝された。

とうもろこしにおけるフルフェナセットの推定代謝経路を図1に示した。

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

図1 どうもろこしにおける推定代謝経路

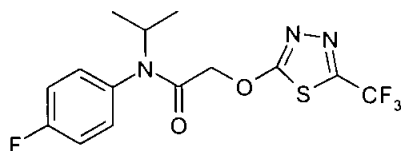


(資料 代5)

(4)ばれいしょにおける代謝

試験機関：  
報告書作成年：2000年 [GLP]

供試標識化合物：  
構造式；



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-(2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアミド)  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試植物：ばれいしょ（品種：Kennebec）

栽培条件：温室内に設置したプラスチックポットで栽培した。植付け後42日目に屋外に移して栽培を続けた。

試験方法；

処理溶液の調製；

[フルフェナセット溶液及び<sup>13</sup>C標識体溶液（いずれもフルフェナセット55.0mg相当を含む）を混合し、これに水和剤の白試料73.6mg（茎葉散布用は73.3mg）を加え、混合乾燥する。この製剤を水45ml（茎葉散布用は50ml）で懸濁し、これを処理溶液とした。

処理方法及び処理量設定根拠；

土壌処理区

処理溶液全量を、5ポットの深さ1インチ分の培土に均一に処理した。種芋を植付けたポットに未処理培土を3インチ覆土し、さらに処理培土でその上に1インチ覆土した。

処理量の設定は登録上の推奨薬量の約2.6倍（2.58kg a.i./ha）とした。

茎葉処理区

上記処理溶液にさらに水50mlを加え、植付け42日後に散布機で葉面上に均一に散布した。

処理量の設定は登録上の推奨薬量の約3倍（3.02kg a.i./ha）とした。

試料採取時期；

植付け40日後に土壌処理区より未熟塊茎を採取した。またその後両処理区より同じ日に成熟塊茎を採取した（土壌処理区は植付け後109日、茎葉散布区は散布67日後）。

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

#### 分析方法；

##### 未熟塊茎試料：

磨砕試料約4gを遠沈管に量り取り、メタノール(30-60ml)を加え攪拌抽出したのち、2900rpmで10分間遠心分離した。上清を傾斜法で移し、沈殿物に新たにメタノールを添加し、同様の操作を行った。この操作を再度繰り返した。得られた3つの上清を合わせ、一部を液体シンチレーションカウンター(LSC)による放射能測定もしくはHPLCに供した。最終沈殿物は風乾後、放射能測定に供した。

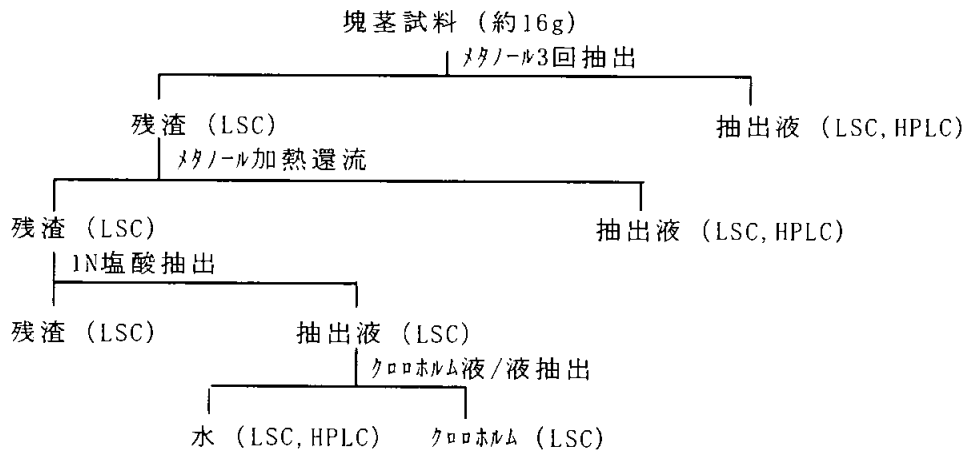
##### 成熟塊茎試料：

磨砕試料約16gを遠沈管に量り取り、メタノール(30-60ml)を加え攪拌抽出したのち、2900rpmで10分間遠心分離した。上清を傾斜法で移し、沈殿物に新たにメタノールを添加し、同様の操作を行った。この操作を再度繰り返した。得られた3つの上清を合わせ、一部をLSCによる放射能測定もしくはHPLCに供した。

最終沈殿物は風乾後、一部を放射能測定に供したのちメタノールに懸濁させ、4時間加熱還流した。抽出液をろ過し、ろ液の一部をLSCによる放射能測定もしくはHPLCに供した。

残渣に1N塩酸を加え、攪拌抽出した。抽出液を遠沈管に移し、10分間遠心分離した後、上清を移した。上清は、一部をLSCによる放射能測定に供した(茎葉散布処理区試料についてはHPLCにも供試した)のち、アルカリでpH6に調整し、クロホルムを加え液/液抽出した。水層及びクロホルム層の一部をLSCによる放射能測定に供した。また水層は濃縮後ろ過し、ろ液をHPLCに供した(土壌処理区試料のみ)。残渣は風乾後放射能測定に供した。

参考として土壌処理区の成熟塊茎試料の分析フローチャートを以下に示した。



#### 機器分析：

##### 総放射能測定

各抽出液および固体試料(抽出残渣を含む)について総放射能を測定した。液体試料についてはシンチレーションカクテルを直接添加し、液体シンチレーションカウンター(Model LS6000LL、Beckmanまたは1600TR、Packard)で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイター(Model 1307、Packard)で燃焼し、生成した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、捕集液にシンチレーションカクテルを添加し、液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した。

##### HPLC分析

放射性代謝物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器及び質量分析計を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

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

結果：

1) 放射能分布

培土処理された放射能は根より吸収され可食部である塊茎に分布した。また茎葉処理された放射能も移行し、塊茎に分布した。

各試料の放射能濃度を表1に示した。

表1 各試料における放射能濃度

	濃度* (ppm)
未熟塊茎	1.77
成熟塊茎	
土壌処理区	0.35
茎葉散布区	0.32

\*：フルフェナセット換算値

2) 代謝

① 残留放射能の特徴付け

未成熟塊茎についてはメタノールにより総放射能の93%が抽出されたため、さらなる抽出は行わなかった。

成熟塊茎については、メタノール抽出により80%弱の放射能が抽出され、引き続き行ったメタノール加熱還流により合わせて約85%の放射能が抽出された。1N塩酸による抽出でさらに約10%の放射能が抽出された。抽出液をクロホルムで液/液抽出した結果、大部分の放射能は水層中に認められた。

最終残渣中の放射能は、総試料中放射能の僅か4%であった。

各試料における抽出画分毎の放射能を表2に示した。

表2 塊茎試料中の放射能特性

	未熟塊茎		成熟塊茎			
			土壌処理区		茎葉散布区	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出	1.65	93	0.28	79	0.24	76
メタノール加熱還流	-	-	0.02	7	0.03	8
1N塩酸抽出	-	-	0.04	10	0.04	12
クロホルム層	-	-	<0.01	<1	0.01	3
水層	-	-	0.04	10	0.03	9
残渣	0.12	7	0.01	4	0.01	4
合計	1.77	100	0.35	100	0.32	100

② 代謝物の同定

未成熟試料において未変化のフルフェナセット[A]は全く検出されなかった。主代謝物は、  
 されたのち、  
 より生成した  
 であった。が

も認められた。他の代謝物は認められなかった。

また、土壌処理区の成熟試料においても未成熟試料同様未変化体は認められず、主代謝物は  
 及び  
 であった。

一方、茎葉散布区試料中には、

ならびに

が少量認

められた。その他の少量の代謝物が多数認められたが、同定にいたったものは無かった。

各試料の抽出液中の代謝物を表3に示した。

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

表 3 塊茎試料の抽出液中の代謝物

	未成熟塊茎		成熟塊茎			
			土壌処理区		茎葉散布区	
	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR	濃度 (ppm)	%TRR
メタノール抽出液						
1N塩酸抽出液	-	-				
合 計	1.31	74	>0.23	> 63	>0.25	80

nd : 検出せず、- : 該当せず

③まとめ

茎葉処理あるいは土壌処理された放射能は、最終収穫時食用部位である塊茎中に分布した。

ばれいしょに吸収されたフルフェナセットは速やかに代謝された。塊茎中に未変化のフルフェナセットは認められなかった。

フルフェナセットのばれいしょにおける重要な第一段階の代謝は、

と考えられた。

は、

により主代謝物である

へと代謝された。

は されたのち

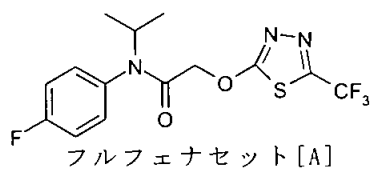
へと代謝された。

ばれいしょにおけるフルフェナセットの推定代謝経路を図 1 に示した。



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

図1 ばれいしょにおける推定代謝経路



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

### 3. 土壌中動態試験

#### (1) 好氣的土壌中動態試験

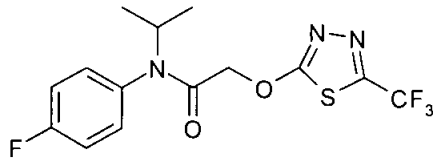
(資料 代6)

試験機関:

報告書作成年: 1994年[GLP]

供試標化合物:

構造式:



化学名: 4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセチアミド  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能:

放射化学的純度:

標識位置の設定理由:

供試土壌:

採取した土壌は、礫および粗大有機物を取り除くため2mmの篩にかけたのち供試した。  
供試土壌の特性を下表に示した。

採取地	Indiana州 Howe
土性	砂壤土
砂	73.5%
シルト	19.1%
粘土	7.5%
有機物含有量	0.6%
pH	6.2
かさ密度	1.37 g/cc
容水量(1/3bar)	13.1%
陽イオン交換容量	6.5 meq/100g
微生物バイオマス	処理33日後: 157mg/kg 処理369日後: 27mg/kg

試験方法:

処理溶液の調製:

<sup>14</sup>C標識フルフェナセット原液(13.02mg/ml)を正確に量り取り(296μl)、窒素気流下で溶媒を留去する。これをアセトニトリル2mlで再溶解し、さらに蒸留水8mlを加える。攪拌後、アセトニトリル:水(1:4, v/v)60mlを加えて処理溶液とした。

土壌の調製:

揮発性放射能トラップを接続した三角フラスコに100g(乾土相当)の土壌を入れ、被験

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

物質を添加後、最大容水量の75%となるよう水を添加した。

被検物質の処理；

試料土壌に処理溶液2mlを添加し（乾土当たり1.101ppm相当）、放射能が土壌中に均一となるよう混和した。

処理量は、最高投下薬量（0.8ポンド<sup>®</sup> a.i./エーカー）に合わせて設定した。

土壌試料のインキュベーション；

被検物質を処理し、含水量を調整したのちトラップ管を取り付け、暗黒下恒温槽内（21±1℃）でインキュベートした。好気状態を保つため、インキュベーション中は常に新鮮な空気を送風した。

また、週に一度容器重量を測定し、蒸発した水分を必要に応じて添加した。

なお、トラップ管は処理6ヵ月後に新しいものと交換した。トラップ管中の上部にある大気中のCO<sub>2</sub>を捕集するための石灰ソーダのみさらに処理11ヵ月後にも新しいものと交換した。

土壌試料採取；

処理0, 7, 14, 21, 28, 44, 65, 76, 91, 180, 271及び365日後に試料採取を行った。

分析方法；

土壌試料抽出方法；

試料にアセトニトリルを150ml加え、1時間攪拌抽出する。ろ過後、残渣にアセトニトリル：水（7:3, v/v）を150ml加え、同様の操作を行う。ろ過後、各ろ液を合わせ、液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定及び分解物の定性ならびに定量のためTLC及びHPLCに供した。

上記残渣に0.1N塩酸性アセトニトリル：水（1:1, v/v）150mlを加え1時間攪拌抽出後ろ過し、試料ごとに以下の操作を行った。

1) 0, 7, 14日後試料

ろ液を約50mlになるまで濃縮したのち酢酸エチルで液-液抽出した。酢酸エチル層を無水硫酸ナトリウムに通し脱水し、半量を窒素気流により乾固させ、C18カートリッジカラムに負した。アセトニトリル及びアセトニトリル：水（7:3, v/v）で放射能を溶出した。溶出液を濃縮乾固し、アセトニトリル：水（7:3, v/v）で溶解しHPLCに供した。

2) 21, 28, 44, 65日後試料

必要に応じてアセトニトリルを加え、水を供沸させながらろ液を約5mlになるまで濃縮した。濃縮液を5µmのPTFEディスクフィルターでろ過したのちHPLCに供した。

3) 76, 91, 180, 271, 365日後試料

ろ液を約60mlになるまで濃縮したのち、ジクロロメタン約100mlで液-液抽出した。さらにアセトニトリル：ジクロロメタン（1:2, v/v）約80mlで2回抽出した。有機溶媒層及び水層の一部をLSCに供した後、各々約5mlまで濃縮した。

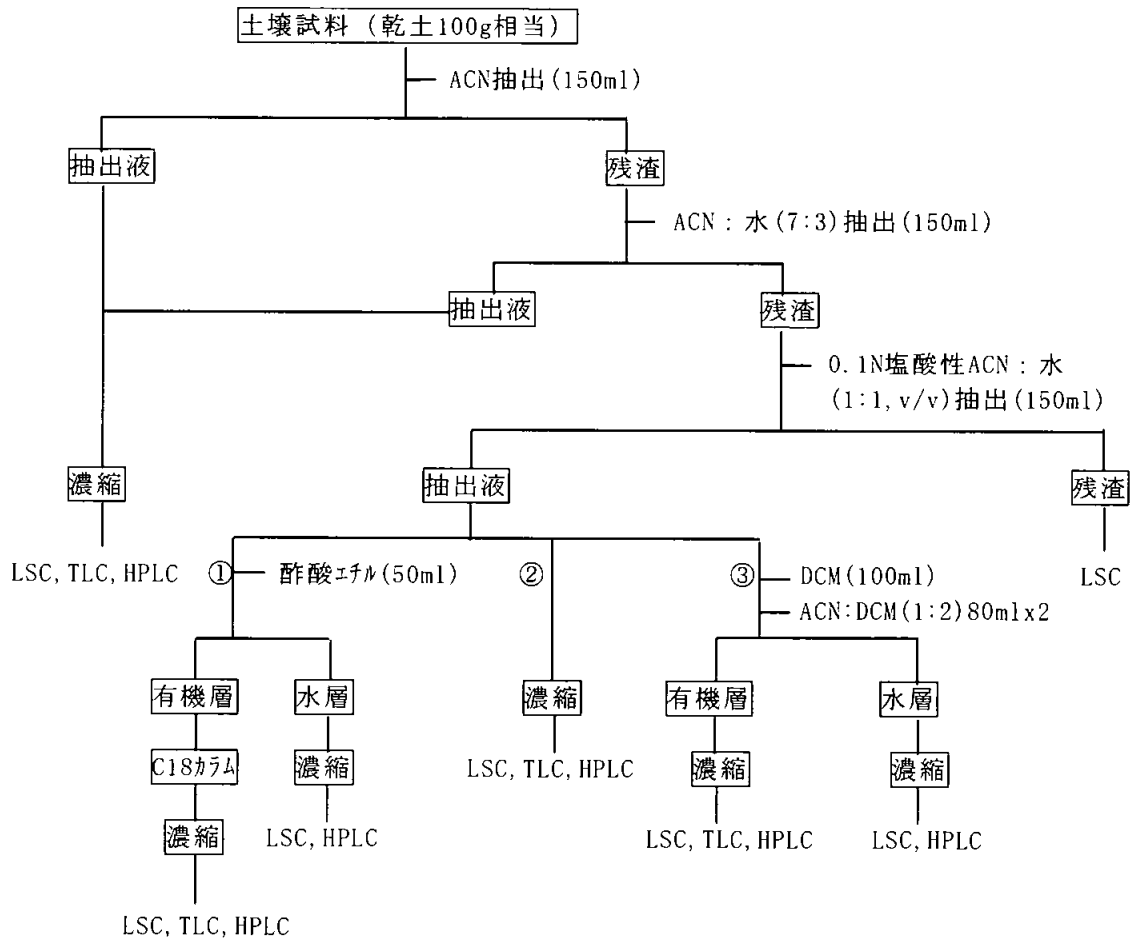
上記抽出操作後であっても、残渣中の放射能が抽出液中の放射能より多い試料については、アセトニトリル：水（7:3, v/v）もしくはメタノールでさらに抽出した。

全ての抽出液はTLC及びHPLCに供した。また最終抽出残渣についてはLSCに供した。

分析フローチャートを図1に示した。

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

図1 分析フローチャート



ACN : アセトニトリル、DCM : ジクロロメタン

① : 0, 7, 14日後試料、② : 21, 28, 44, 65日後試料、③ 76, 91, 180, 271, 365日後試料

トラップ管中放射能の測定 ;

揮発性有機物質を捕集するための鉱物油をしめさせたガラス丸及び<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集するための石灰ソーダは、処理0日後を除く全ての試料採取時に採取し、放射能測定に供した。ガラス丸は50mlの酢酸エチルで30分間超音波に負して放射能を抽出した。石灰ソーダについては、12N塩酸を滴下し遊離した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集液に集め放射能を測定した。

機器分析 ;

総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣を含む）について放射能を測定した。

液体試料については直接シンチレーションカテルを添加し、そのまま液体シンチレーションカウンター（Model 4640、Packard）で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイター（Model 306、Packard）で燃焼し、生成した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集し、液体シンチレーションカウンターで捕集液中の放射能を測定した。

HPLC分析

放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器もしくは質量分析計を用いて分解物の定性及び定量を行った。

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

### TLC分析

放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能スキャナーを用いて分解物の定性及び定量を行った。

結果：

#### 1) 放射能分布

抽出性放射能は経時的に減少したが、試験終了時の処理365日後にあっても70%を超えていた。抽出性放射能の中では経時的に塩酸性アセトリル抽出液中の放射能が増加しているが、液-液分配後の水層中の放射能は低く、水溶性分解物の生成は少なかった。非抽出性放射能については、処理後76日までは経時的に増加したが、以降は明確な増加は認められなかった。

また、揮発性放射能については、  
が生成され経時的に増加したが、処理365日後にあっても約6%に留まった。

各試料中の放射能分布を表1に示した。

表1 試料中の放射能分布 (処理放射能割合%)

	処理後日数											
	0	7	14	21	28	44	65	76	91	180	271	365
揮発性放射能	-	0.4	0.6	1.2	1.3	2.0	2.2	2.3	2.7	4.0	4.6	5.9
有機分解物	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
抽出性放射能	94.8	85.0	84.6	77.3	79.5	82.4	78.5	78.1	74.8	75.6	71.9	73.0
アセトリル抽出	93.9	76.5	75.0	67.4	68.5	70.2	64.6	60.0	62.9	57.1	53.2	52.7
塩酸性アセトリル抽出	0.9	8.5	9.6	9.9	11.0	12.2	13.9	18.1	11.9	18.5	18.7	20.3
有機層	0.8	7.9	8.7	-	-	-	-	16.2	10.3	16.2	17.9	18.4
水層	0.1	0.6	0.9	-	-	-	-	1.9	1.6	2.3	0.8	1.9
非抽出性放射能	0.3	6.7	11.8	13.0	15.0	15.2	16.1	17.0	16.3	15.8	17.7	16.5
合計	95.1	92.0	97.0	91.5	95.8	99.6	96.8	97.4	93.8	95.4	94.2	95.4

-: 分析せず

#### 2) 分解

好気土壌中において、処理されたフルフェナセット[A]の重要な第一段階の分解過程は、  
もしくは

である。

は

となり、さらに

へ分解さ

れたほか、

、また主としては

へと分解された。

はさらに

へと分解された。

また、

によりフルフェナセット[A]及び

が  
に分解された。

表2-1~2-3に抽出液中の各分解物の生成割合を示した。

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

表2-1 全抽出液中の放射能特性（処理放射能割合％）

	処理後日数											
	0	7	14	21	28	44	65	76	91	180	271	365
フルフェナセット[A]	93.3	76.1	67.3	59.7	51.4	51.2	48.0	51.3	47.5	44.6	38.6	35.2

ND：検出せず

表2-2 アセトリル抽出液中の放射能特性（処理放射能割合％）

	処理後日数											
	0	7	14	21	28	44	65	76	91	180	271	365
フルフェナセット[A]	92.6	69.1	60.8	53.6	49.9	50.2	44.4	43.4	41.8	35.3	28.4	25.1

ND：検出せず

表2-3 塩酸性アセトリル/水抽出液中の放射能特性（処理放射能割合％）

	処理後日数											
	0	7	14	21	28	44	65	76	91	180	271	365
フルフェナセット[A]	0.7	7.0	6.5	6.1	1.6	1.0	3.6	7.9	5.6	9.3	10.1	10.1

ND：検出せず

### 3) 土壌中動態のまとめ

フルフェナセットの好気土壌中における減衰は二相性を示した。α相（0～28日後）において分解は比較的速やかであり、推定半減期は33.8日であった。β相（44～365日後）では分解は遅く、推定半減期は599日であった。

好気土壌中におけるフルフェナセットの重要な第一段階の分解過程は もし  
くは であった。

を受け、主分解物である

へと代謝された。

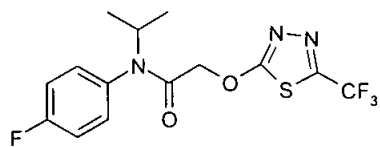
また の生成を介して主  
分解物である は、主として の生成を介して主  
処理放射能の へと代謝された。他の分解物としては、 が最大で  
生成されたが、その他の分解物の生成量は少なかった。

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

なお、  
の生成は、処理後365日までに処理放射能の約6%であり、  
あまり起こらなかった。 は

フルフェナセツの好気土壌中における推定分解経路を図2に示した。

図2 好気土壌中におけるフルフェナセツの推定分解経路



フルフェナセツ [A]

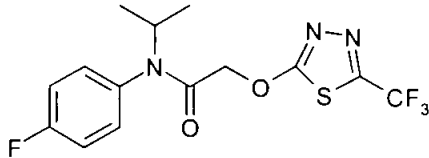
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) 好氣的土壤中動態試験

(資料 代7)

試験機関： )  
報告書作成年：1994年[GLP]

供試標化合物：  
構造式；



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセチルアニリン  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能；

放射化学的純度；

標識位置の設定理由；

供試土壌；

採取した土壌は、礫および粗大有機物を取り除くため2mmの篩にかけたのち供試した。  
供試土壌の特性を下表に示した。

採取地	Indiana州 Howe
土性	砂壤土
砂	73.5%
シルト	19.1%
粘土	7.5%
有機物含有量	0.6%
pH	6.2
かさ密度	1.37 g/cc (申請者の計算による)
容水量(1/3bar)	13.1%
陽イオン交換容量	6.5 meq/100g
微生物バイオマス	処理直後：129mg/kg 処理8ヵ月後：48mg/kg 処理12ヵ月後：29mg/kg

試験方法；

処理溶液の調製；

<sup>14</sup>C標識フルフェナセット原液(20.48mg/ml)を正確に量り取り(366μl)、窒素気流下で溶媒を留去する。これをアセトニトリル5mlで再溶解し、さらに蒸留水20mlを加えたのち攪拌し処理溶液とした(0.291mg/ml)。

土壌の調製；

揮発性放射能トラップを接続した三角フラスコに100g(乾土相当)の土壌を入れ、被験物質を添加後、最大容水量の75%となるよう水を添加した。



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

被検物質の処理；

試料土壌に処理溶液1mlを添加し（乾土当たり2.9ppm相当）、放射能が土壌中に均一となるよう混和した。  
処理量は、被検物質の比放射能が低いため最高投下薬量（0.8ポンド a. i./エーカー）の約3倍として設定した。

土壌試料のインキュベーション；

被検物質を処理し、含水量を調整したのちトラップ管を取り付け暗黒下恒温槽内（21±1℃）でインキュベートした。  
週に一度容器重量を測定し、蒸発した水分を必要に応じて添加した。  
なお、トラップ管は処理4ヵ月後に新しいものと交換した。

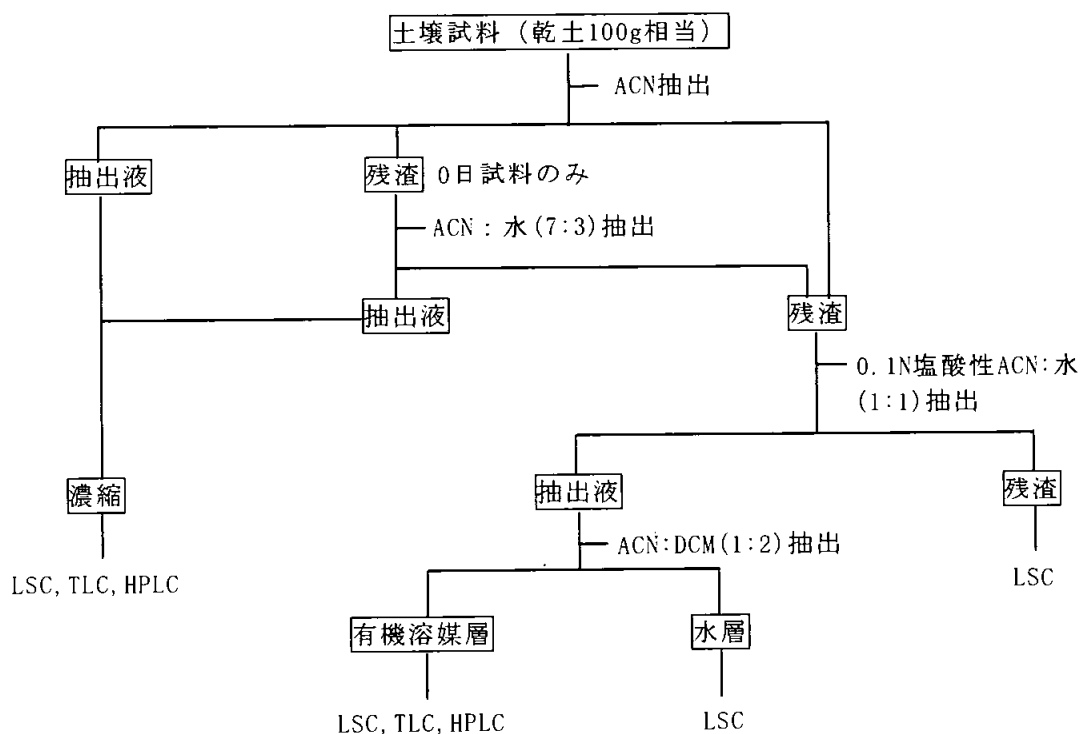
土壌試料採取；

処理0, 7, 14, 32, 90, 181, 270及び368日後に試料採取を行った。

分析方法；

土壌試料抽出方法；

試料にアセトニトリルを150ml加え、1時間攪拌抽出した。ろ過後、残渣に0.1N塩酸性アセトニトリル：水（1:1, v/v）150mlを加え2時間攪拌抽出し、ろ過した（0日後試料についてはアセトニトリル抽出後、残渣にアセトニトリル：水（7:3, v/v）を150ml加え、同様の操作を行った後ろ液をアセトニトリル抽出液と合わせ、残渣を0.1N塩酸性アセトニトリル：水（1:1, v/v）により抽出した）。ろ過後、ろ液をアセトニトリル：ジクロロメタン（1:2, v/v）で3回液-液抽出した。各ろ液及び残渣の一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定に供した。アセトニトリル抽出液及びアセトニトリル：ジクロロメタン抽出層については分解物の定性、定量のためTLC及びHPLCにも供した。  
分析フローチャートを以下に示した。



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

トラップ管中放射能の測定；

揮発性有機物質を捕集するための鉱物油をしめらせたガラス丸及び<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集するための石灰ソーダは、処理0日後を除く全ての試料採取時に採取し放射能測定に供した。ガラス丸は50mlの酢酸エチルで30分間超音波に負して放射能を抽出した。石灰ソーダについては、水10mlを加えた後、窒素気流を通じながら12N塩酸を滴下し、遊離した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集液に集め放射能を測定した。

機器分析；

総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣を含む）について総放射能を測定した。液体試料については直接シンチレーションカクテルを添加し、そのまま液体シンチレーションカウンター（Model 4640、Packard）で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイター（Model 306、Packard）で燃焼し、生成した<sup>14</sup>C<sub>2</sub>を捕集し、液体シンチレーションカウンターで捕集液の放射能を測定した。

HPLC分析

放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器もしくは質量分析計を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

TLC分析

放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能スキャナーを用いて分解物の定性及び定量を行った。

結果：

1) 放射能分布

抽出性放射能は経時的に減少し、試験終了時の処理368日後には45.5%となった。抽出性放射能の中では経時的に塩酸性アセトリル/水抽出液中の放射能が増加しているが、液-液分配後の水層中の放射能は低く、水溶性分解物の生成は少なかった。非抽出性放射能については、処理後32日までは経時的に増加したが、以降は明確な増加は認められなかった。また、揮発性放射能については、<sup>14</sup>C<sub>2</sub>が生成が認められ、処理368日後にあっては処理放射能の約半分（50.9%）を占めた。他の揮発性放射能は1.7%に留まった。各試料中の放射能分布を表1に示した。

表1 試料中の放射能分布（処理放射能割合%）

	処理後日数							
	0	7	14	32	90	181	270	368
揮発性放射能	<0.1	4.5	10.1	18.0	31.9	38.0	42.8	52.6
有機分解物	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	0.1	0.1	1.7
抽出性放射能	102.4	92.9	85.8	72.4	68.4	56.6	50.5	45.5
アセトリル抽出	95.9	80.3	72.3	59.6	52.9	41.5	35.2	29.1
塩酸性アセトリル抽出	6.5	12.6	13.5	12.8	15.5	15.1	15.3	16.4
有機層	6.5	12.2	12.7	12.4	15.3	14.8	15.1	15.9
水層	<0.1	0.4	0.8	0.4	0.2	0.3	0.2	0.5
非抽出性放射能	0.3	2.7	4.8	5.9	6.2	6.0	6.9	6.5
合計	102.7	100.1	100.7	96.3	106.5	100.6	100.2	104.6

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

## 2) 分解

好気土壌中においてフルフェナセットは緩やかに分解され、処理368日後にあっても処理放射能の43.7%が未変化のまま残存した。

フルフェナセットの好気土壌中における重要な第一段階の分解過程は、  
もしくは

の生成である。

は容易に分解を受け、  
にまで分解された。したがって  
土壌中での濃度は試験期間を通して低く、処理放射能の  
を超えることはなかった。  
他の分解物についても処理放射能の1%を超えて生成されたものはなく、  
を除き  
以外に同定に至った分解物は無かった。  
表2-1～2-3に抽出液中の各分解物の生成割合を示した。

表2-1 全抽出液中の放射能特性 (処理放射能割合%)

	処理後日数							
	0	7	14	32	90	181	270	368
フルフェナセット[A]	100.6	87.7	81.6	69.7	66.7	54.5	48.0	43.7

表2-2 アセトニトリル抽出液中の放射能特性 (処理放射能割合%)

	処理後日数							
	0	7	14	32	90	181	270	368
フルフェナセット[A]	94.1	76.5	69.3	57.7	51.8	40.1	33.7	28.2

表2-3 塩酸性アセトニトリル/水抽出液中の放射能特性 (処理放射能割合%)

	処理後日数							
	0	7	14	32	90	181	270	368
フルフェナセット[A]	6.5	11.2	12.3	12.0	14.8	14.4	14.3	15.5

ND：検出せず

## 3) 土壌中動態のまとめ

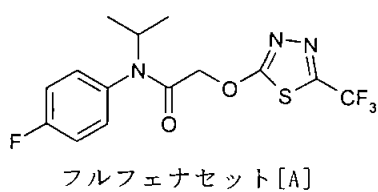
フルフェナセットの好気土壌中における減衰は二相性を示した。α相(0～32日後)において推定半減期は63.6日であった。β相(32～368日後)では分解は非常に遅く、推定半減期は468日であった。

好気土壌中におけるフルフェナセットの重要な第一段階の分解過程は、  
もしくは土壌微生物による直接的な  
の生成であった。はその後  
にまで分解された。

フルフェナセットの好気土壌中における推定分解経路を図1に示した。

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

図1 好気土壌中におけるフルフェナセットの推定分解経路



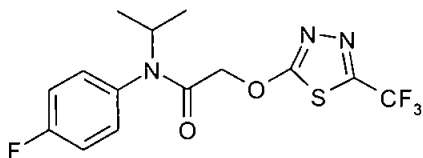
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) 嫌氣的土壤中動態試験

(資料 代8)

試験機関：  
報告書作成年：1995年[GLP]

供試標化合物：  
構造式；



化学名；4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアジアゾール-2-イルオキシ]アセトアニリン  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能； 放射化学的純度；

標識位置の設定理由：  
より多くの分解物の構造を特定するため、構造中最も安定していることが確認されているフェニル基を標識位置とした。

供試土壌：  
採取した土壌は、礫および粗大有機物を取り除くため2mmの篩にかけた後供試した。  
供試土壌の特性を下表に示した。

採取地	Indiana州 Howe
土性	砂壤土
砂	73.5%
シルト	19.1%
粘土	7.5%
有機物含有量	0.6%
pH	6.2
かさ密度	1.37 g/cc
容水量(1/3bar)	13.1%
陽イオン交換容量	6.5 meq/100g
微生物活性 (Cells/g土壌)	被験物質処理時(好気インキュベーション) : 2.9x10 <sup>8</sup> 嫌気インキュベーション7日後 : 8.4x10 <sup>8</sup> 試験終了時 : 3.5x10 <sup>8</sup>

供試水：  
供試試料を嫌気状態にするために土壌に添加した水には、試験施設において採取した雨水を用い、添加直前に250μmでろ過した。供試水の特性を下表に示した。

採取地	Kansas州 Stilwell		
伝導率(mS/cm)	0.06	硬度(mg CaCO <sub>3</sub> /L)	28
アルカリ度(mg CaCO <sub>3</sub> /L)	28	COD(mg/L)	16
総懸濁物質(mg/mL)	3	pH	7.7

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

#### 試験方法：

##### 処理溶液の調製；

$^{14}\text{C}$  標識フルフェナセット原液を正確に量り取り（4.6ml）、窒素気流下で溶媒を留去する。これをアセトニトリル7.6mlで再溶解し、さらに水30.4mlを加えて処理溶液（ $103\mu\text{g/ml}$ ）とした。

また代謝物同定用試料の処理溶液は別途作成した。 $^{14}\text{C}$  標識フルフェナセット原液を正確に量り取り（2.2ml）、窒素気流下で溶媒を留去する。これに $^{13}\text{C}$  標識フルフェナセット原液を $24\mu\text{l}$ 加え、さらにアセトニトリル1.6mlで溶解し、水6.4mlを加え処理溶液（ $303\mu\text{g/ml}$ ）とした。

##### 土壌試料の調製；

250ml容三角フラスコに100g（乾土相当）の土壌を入れ、 $103\mu\text{g}$ 有効成分/フラスコとなるよう処理溶液1mlを添加した。代謝物同定用試料についても同様に処理溶液1mlを処理した（ $303\mu\text{g}$ 有効成分/フラスコ）。

処理量は、最高投下葉量（0.8ポンド a. i./エーカー）に合わせ設定した。代謝物同定用試料については、代謝物を多く生成させるため処理濃度を約3倍とした。

##### 土壌試料のインキュベーション；

被検物質を処理した後、揮発性放射能を捕集するためのトラップ管（鉱油で湿したガラスウール及び石灰ソーダを含む）を接続し、暗黒下恒温槽内（ $21\pm 1^\circ\text{C}$ ）で30日間好気条件下でブレインキュベーションを行った。

30日後、トラップ管を外し各フラスコに100mlのグルコースを添加（ $5\text{mg/ml}$ ）した雨水を加え嫌気条件を開始した。酸化還元電位及び溶存酸素量の測定により開始7日後には既に嫌気状態になっていることが確認された。またその後の測定により試験終了時まで嫌気状態が保たれていることを確認した。

嫌気試験期間中フラスコ内のヘッドスペースは窒素でパージされ、系に接続された4つの捕集管（2M水酸化カリウム、1M水酸化カリウム、1M硫酸、エチレングリコール）で揮発性代謝物を捕集した。

##### 試料採取；

処理0, 7, 15, 30（嫌気0日と同一）、嫌気状態15, 30, 67, 123及び180日後に試料採取を行った。ただしトラップ管については、処理0日後は省略した。

#### 分析方法：

##### 水層；

全試料をろ過し、水層と土壌を分離した。水層の一部を液体シンチレーションカウンター（LSC）による放射能測定及びHPLCに供した。水層の体積を正確に測り、そこから50ml分取し、倍量のアセトニトリル：ジクロロメタン（1:2, v/v）で3回液-液抽出した。抽出後、水層に12N塩酸を加えpHを1に調整した後、固相抽出カラム（Mega Bond Elut）に負荷し、メタノール50~60mlで溶出した。溶出液を先の有機溶媒層に合わせLSC及びTLCに供した。負荷時の溶出液はLSCのみに供した。

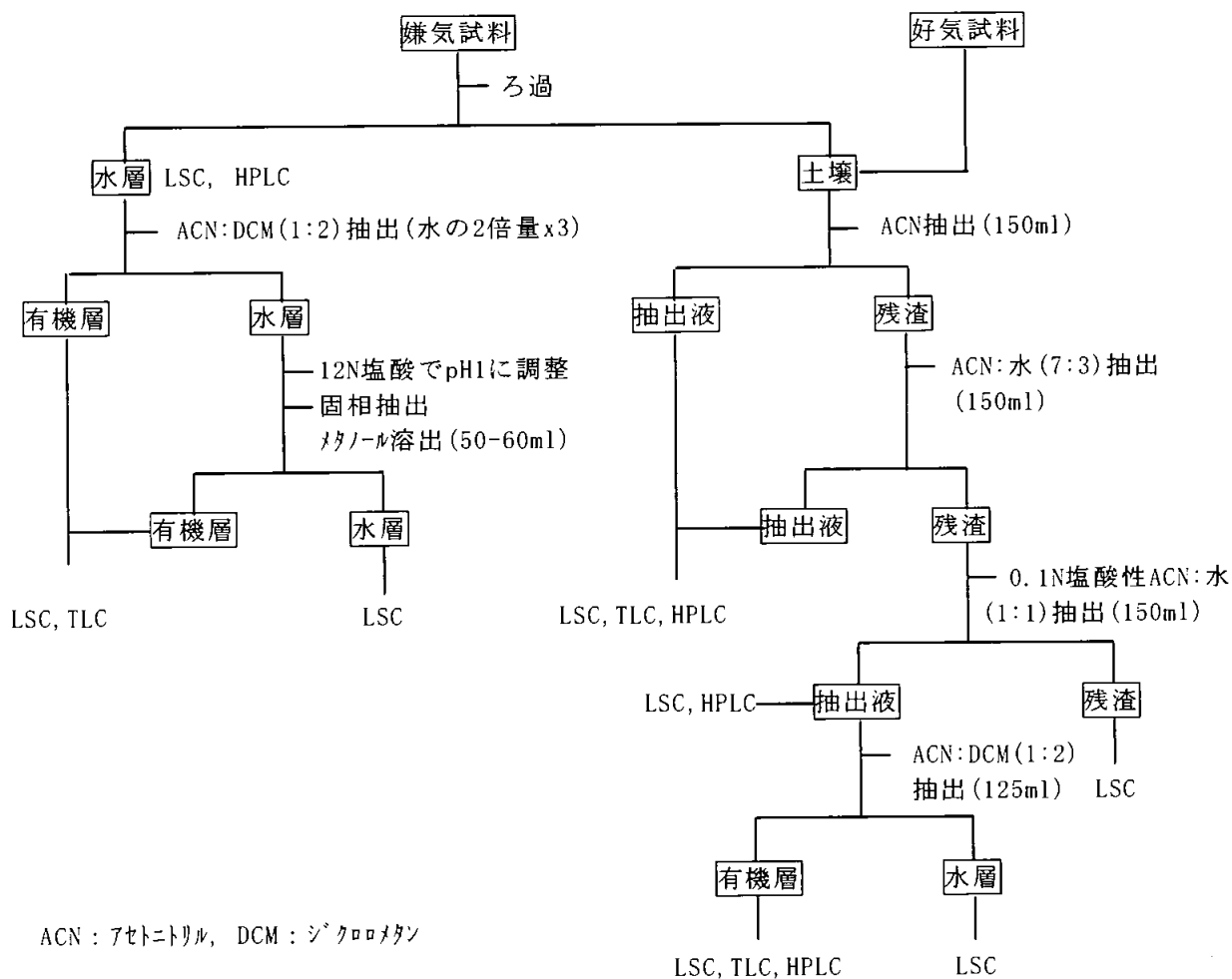
##### 土壌；

土壌（嫌気試料についてはろ過により水相と分けたもの）をアセトニトリル150ml、アセトニトリル：水（7:3, v/v）150ml、0.1N塩酸性アセトニトリル：水（1:1, v/v）150mlの順で各々1時間攪拌抽出を行なった。アセトニトリル及びアセトニトリル：水（7:3, v/v）抽出液を合わせ、LSC、TLC及びHPLCに供した。0.1N塩酸性アセトニトリル：水（1:1, v/v）抽出液は一部をLSC及びHPLCに供した後、アセトニトリル：ジクロロメタン（1:2, v/v）で液-液抽出した。有機溶媒層をLSC、TLC及びHPLCに供し、水層はLSCのみに供した。また0.1N塩酸性アセトニトリル：水（1:1, v/v）抽出後の最終残差をLSCに供した。

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

分析フローチャートを図1に示した。

図1 分析フローチャート



トラップ管中放射能の測定；

① 好気インキュベーション

鉍油を湿したガラス丸は酢酸エチルにより抽出した。抽出液をLSCに供した。石灰ソーダは12N塩酸を滴下し、発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集液に捕集しLSCに供した。

② 嫌気インキュベーション

各々の捕集液を直接LSCに供した。

機器分析；

総放射能測定

各抽出液および固体試料（抽出残渣）について総放射能を測定した。

液体試料については直接シンチレーションカテルを添加し、そのまま液体シンチレーションカウンター（Model 4640, Packard）で放射能を測定した。固体試料はサンプルオキシゲイター（Model 306, Packard）で燃焼し、生成した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を捕集し、液体シンチレーションカウンターで捕集液の放射能を測定した。

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

#### HPLC分析

放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器もしくは質量分析計を用いて分解物の定性及び定量を行った。

#### TLC分析

放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能スキャナーを用いて分解物の定性及び定量を行った。

#### GC/MS分析

単離された放射能（フルフェネット及び代謝物）の定性を補強するためGC/MSによる分析を行った。

#### 結果：

##### 1) 放射能分布

被験物質処理後、経時的に結合性残留が増加し好気ブレインキュベーション終了時（処理30日後）には処理放射能の8.4%が結合性残留となった。その後嫌気条件下でも結合性残留は増え続け試験終了時（嫌気180日後）には処理放射能の32.6%を占めた。

また、揮発性放射能については試験期間を通じて生成は少なく、僅かに検出されたのみであった。

なお嫌気ブレインキュベーション15日後試料においては、添加した水層に処理放射能の30%以上が土壌から移っており、好気ブレインキュベーション期間中の水溶性代謝物の生成が推定された。好気ブレインキュベーション試料中の放射能分布を表1に、嫌気ブレインキュベーション試料中の放射能分布を表2に示した。

表1 好気ブレインキュベーション試料中の放射能分布（処理放射能割合％）

	処理後日数			
	0	7	15	30
揮発性放射能	NA	0.3	0.9	1.4
土壌（抽出性）	99.9	90.6	96.1	89.7
アセトニトリル抽出混液	99.0	83.9	87.9	81.2
酸抽出	0.9	6.7	8.2	8.5
（有機層）	(0.9)	(6.2)	(6.8)	(6.7)
（水層）	(<0.1)	(0.5)	(1.4)	(1.8)
結合性残留	0.1	5.0	8.0	8.4
物質収支	100.0	95.9	105.0	99.5

NA：分析せず、ND：検出されず



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

表 2 嫌気インキュベーション試料中の放射能分布 (処理放射能割合%)

	嫌気開始後日数					
	0*	15	30	67	123	180
揮発性放射能	1.4	1.3	1.3	1.4	1.5	1.8
水	NA	33.6	33.4	28.5	24.8	21.1
土壌	89.7	47.1	43.6	41.5	39.2	35.7
アセトトリル抽出混液	81.2	38.2	31.0	29.8	25.7	22.0
酸抽出	8.5	8.9	12.6	11.7	13.5	13.7
(有機層)	(6.7)	(8.1)				
(水層)	(1.8)	(0.8)				
結合性残留	8.4	10.2	15.8	22.9	27.2	32.6
物質収支	99.5	92.2	94.1	94.3	92.7	91.3

NA: 分析せず、ND: 検出されず、\*: 好気30日後試料と同一

## 2) 分解

好気プレインキュベーション期間におけるフルフェナセットの重要な第一段階の分解過程は、  
もしくは  
である。

は を受け となった。  
また は となり、さらに  
へ分解されたほか、  
、また主としては へと分解され  
た。 はさらに を受け、主分解物である へと分解された。

嫌気インキュベーション期間においてはフルフェナセットは比較的安定であり、嫌気開始時  
から有意に増加した分解物は のみであったが、この分解物は嫌気条件  
下でフルフェナセットが分解され生成されたものではなく、好気プレインキュベーション中に  
生成された されて生成したものであった。

なお、嫌気期間中のフルフェナセットの減衰量と結合性残留の増加量がほぼ一致し  
ているため (嫌気15日後と180日後の比較)、嫌気期間中の減衰の主な要因は土壌へ  
の結合にあると考えられた。

表 3 に各試料の抽出液中の各代謝物の処理放射能に対する割合を示した。

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

表3 抽出液中の放射能特性（処理放射能割合％）

	処理後日数（カッコ内は嫌気条件開始後日数）								
	0	7	15	30(0)	45(15)	60(30)	97(67)	153(123)	210(180)
フルフェナセット[A]	99.4	82.2	78.7	69.0	60.3	55.6	52.0	44.2	39.0
土壌	99.4	82.2	78.7	69.0	43.6	40.1	41.5	37.6	35.1
水	-	-	-	-	16.7	15.5	10.5	6.6	3.9
合計	99.8	90.6	96.0	89.6	80.7	77.1	69.9	64.0	56.8

ND：検出されず、-：該当せず

### 3) まとめ

フルフェナセットは嫌気土壌中において安定であった。推定半減期は240日（嫌気条件開始0～180日後より算出）であった。

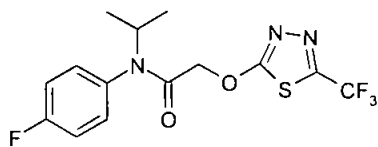
好気プレインキュベーション期間と嫌気インキュベーション期間の比較において、明確に増加した分解物は認められなかった。

嫌気土壌中におけるフルフェナセットの減少は、主に土壌への吸着等による結合性放射能となることに起因するものと考えられた。

本試験における推定分解経路を図2に示した。

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

図2 本試験におけるフルフェナセットの推定分解経路



フルフェナセット [A]

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

#### 4. 水中動態試験

##### (1) 加水分解動態試験

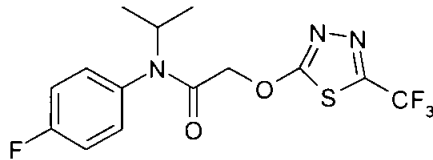
(資料 環1)

試験機関:

報告書作成年: 1992年[GLP]

供試標化合物:

構造式:



化学名: 4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアニリド  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能:

放射化学的純度:

標識位置の設定理由:

供試水:

以下の緩衝液を用い試験を実施した。

pH5: 0.01M酢酸緩衝液 (実測値; 5.06)

pH7: 0.01Mリン酸緩衝液 (実測値; 7.07)

pH9: 0.01Mホウ酸緩衝液 (実測値; 8.86)

試験方法:

試験実施に際して、予め試験容器・器具等をオートクレーブで滅菌処理した。また供試緩衝液は0.45 μmのナイロンフィルターを通じて滅菌した。

被検物質の処理:

<sup>14</sup>C標識フルフェナセット原液(7.77mg/ml)を正確に量り取り(150 μl)、各緩衝液100mlに加え試験溶液(約10ppm)とした

試料のインキュベーション:

試験溶液を褐色ガラスバイアルに入れ密封し、暗黒下恒温槽内(25±1°C)でインキュベートした。

試料採取:

処理0, 7, 14, 21, 28及び30日後に試料採取を行った。

分析方法:

総放射能測定:

各試料の一部を分取し、直接シンチレーションカクテルを添加し、そのまま液体シンチレーションカウンター(Model 4640、Packard)で放射能を測定した。

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

HPLC分析；

各試料を直接注入し、放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、UV検出器もしくは放射能検出器を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

GC/MS分析；

試料より分離された放射性化合物の構造決定のために、分離した物質をGC/MS分析に供した。

結果：

1) 放射能収支

いずれの緩衝液においても試験期間を通じて放射能の回数率はほぼ97%を超えており、容器への吸着等による損失も認められず、良好な放射能収支を示した。

各試料中の放射能収支を表1に示した。

表1 試料中の放射能（処理0日後放射能割合%）

	処理後日数					
	0	7	14	21	28	30
pH5緩衝液	100.0	98.3	99.8	96.9	100.3	99.0
pH7緩衝液	100.0	96.9	98.2	92.5	99.1	97.5
pH9緩衝液	100.0	100.6	102.5	98.8	100.3	99.8

2) 分解

いずれの緩衝液中においてもフルフェナセットは安定であり、試料中放射能の大部分を未変化のフルフェナセットが占めた。分解物は極微量であり、同定には至らなかった。

表2に各緩衝液中の総放射能に対するフルフェナセットの放射能割合を示した。

表2 試料中のフルフェナセット（試料中総放射能割合%）

	処理後日数					
	0	7	14	21	28	30
pH5緩衝液	95.4	94.8	94.9	95.5	95.3	94.8
pH7緩衝液	95.4	95.1	95.4	94.7	94.6	93.8
pH9緩衝液	94.4	93.3	93.4	92.6	91.5	91.2

3) 推定半減期

フルフェナセットの加水分解反応が擬一次反応に従うものとし、下記の計算式を用いて半減期を求めた。

なお、pH5及びpH7の緩衝液に関しては、分解がほとんど認められなかったため、相関係数が非常に小さく信頼性のある半減期は算出できなかった。

$$\text{半減期 (T1/2)} = \ln 2 / \text{速度定数}$$

[但し、速度定数は回帰直線より得られる傾きの絶対値]

試験温度	pH	推定半減期	速度定数	相関係数
25±1℃	5	14835日	4×10 <sup>-5</sup>	0.005
	7	1547日	4.4×10 <sup>-4</sup>	0.559
	9	654日	1.1×10 <sup>-3</sup>	0.878

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

4) まとめ

フルフェナセットはいずれの緩衝液中においても、ほとんど加水分解を受けず安定であった。アルカリ性で若干の分解が認められたが、それでも推定半減期は654日と2年に近く、非常に安定であった。

分解物はほとんど認められず、同定に至ったものはなかった。

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

(2) 水中光分解動態試験 (緩衝液及び自然水)

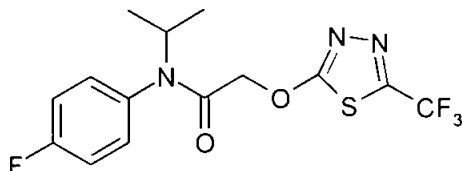
(資料 環2)

試験機関:

報告書作成年: 1995年 [GLP]

供試標化合物:

構造式:



化学名: 4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアミド  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能:

放射化学的純度:

標識位置の設定理由:

供試水:

加水分解試験において分解が認められなかった0.01M酢酸緩衝液 (pH5) を用いた。  
また、補足試験として非GLP下で自然水 (インディアナ州Howe及びカンザス州Stilwellの池水)、フ  
シ酸溶液 (15ppm) 及び硝酸カリウム溶液 (50ppm) についても同様に実施した。  
自然水の物理化学的特性を表1に示した。

表1 自然水の物理化学的特性

	インディアナ州Howe	カンザス州Stilwell
アルカリ度 (mg/CaCO <sub>3</sub> /L)	65	159
全懸濁物質 (mg/L)	160	9
pH	6.5	7.8
硬度 (mg/CaCO <sub>3</sub> /L)	66	186
電気伝導度 (μS/cm)	220	400
硝酸態窒素 (mg/L)	<0.24	0.8
亜硝酸態窒素 (mg/L)	0.015	0.54
アンモニア態窒素 (mg/L)	<0.10	<0.10
全有機炭素 (mg/L)	20.7	1.55

試験方法:

試験実施に際して、予め試験容器・器具等をオートクレーブで滅菌処理した。また供試水  
は0.22 μmのナイロンフィルターを通じて滅菌した。

被検物質の処理:

0.01M酢酸緩衝液

<sup>14</sup>C標識フルフェナセット原液 (4.55mg/ml) を正確に遠沈管に量り取り (0.440ml)、  
窒素気流で濃縮乾固後、20mlのアセトニトリルで再溶解し、滅菌した緩衝液を加え2Lとし、こ  
れを試験溶液 (約1ppm) とした。

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

#### 自然水

$^{14}\text{C}$  標識フルフェナセット原液 (4.55mg/ml) を正確に遠沈管に量り取り (0.234ml)、窒素気流で濃縮乾固後、10.8mlのアセトリルで再溶解する。0.6mlを分取して滅菌した自然水60mlに加え、これを試験溶液 (0.95ppm) とした。

#### フミン酸溶液 (15ppm)

$^{14}\text{C}$  標識フルフェナセット原液 (4.55mg/ml) を正確に遠沈管に量り取り (0.173ml)、窒素気流で濃縮乾固後、8.0mlのアセトリルで再溶解する。0.6mlを分取し、これに4500ppmのフミン酸水溶液を0.20ml、蒸留水60mlに加え、これを試験溶液 (0.99ppm) とした。

#### 硝酸カリウム溶液 (50ppm)

$^{14}\text{C}$  標識フルフェナセット原液 (4.55mg/ml) を正確に遠沈管に量り取り (0.206ml)、窒素気流で濃縮乾固後、9.5mlのアセトリルで再溶解する。0.6mlを分取し、これに3%硝酸カリウム水溶液を0.10ml、蒸留水60mlに加え、これを試験溶液 (0.99ppm) とした。

#### 試料のインキュベーション;

##### 光照射区

試験温度:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$

試験容器: 石英製光反応容器 (揮発性放射能捕集管付)

照射時間: 240~260時間

光照射器: Suntest CPS、キノンランプ付き (290nm以下は光学フィルターにより除去)  
光強度:  $680\text{W}/\text{m}^2$  (測定波長範囲: 300~800nm)

##### 暗対照区

試験温度:  $25 \pm 1^\circ\text{C}$

試験容器: 石英製光反応容器 (水浴中に設置)

#### 試料採取;

試料採取は、以下の通りに行った。

供試水	採取時間 (*は照射区のみ)
0.01M酢酸緩衝液	0、41、86、123、164、206、246
自然水 (Howe)	0、4、9、20、93、165*、260
(Stilwell)	0、66、114、162、246
フミン酸水溶液	0、24*、48*、120*、192、240
硝酸カリウム水溶液	0、24*、96*、192、240

#### 分析方法:

##### 総放射能測定;

各試料の一部を分取し、直接シンチレーションカクテルを添加し、液体シンチレーションカウンター (Model 4640、Packard) で放射能を測定した。

##### HPLC分析;

各試料を直接注入し、放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器もしくはUV検出器を用いて分解生成物の定性及び定量を行った。

##### TLC分析;

各試料を逆相プレート (Whatman KC18F) に負し、アセトリル:メタノール:0.5M塩化ナトリウム (2:2:1) で展開した。放射性分解物と標準品とのクロマトグラフを行い、放射能検出器を用いて放射性スポットを測定した。



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

結果：

1) 放射能収支 (0.01M酢酸緩衝液)

試験期間を通じて放射能の回数率はほぼ98%を超えており、容器への吸着等による損失も認められず、良好な放射能収支を示した。揮発性放射能捕集管中には放射能は認められなかった。

各試料中の放射能収支を表1に示した。

表1 試料中の放射能 (処理放射能割合%)

照射時間	溶液中放射能	捕集管中放射能	合計
0	95.0	-	95.0
41 照射区	100.7	<0.1	100.7
暗対照区	100.7	<0.1	100.7
86 照射区	100.6	<0.1	100.6
暗対照区	100.5	<0.1	100.5
123 照射区	100.0	<0.1	100.0
暗対照区	100.4	<0.1	100.4
164 照射区	100.4	<0.1	100.4
暗対照区	100.1	<0.1	100.1
206 照射区	101.2	<0.1	101.2
暗対照区	100.2	<0.1	100.2
246 照射区	98.7	<0.1	98.7
暗対照区	99.6	<0.1	99.6

-：試料採取せず

2) 分解

硝酸カリウム水溶液を除くいずれの供試水中においてもフルフェナセットは安定であり、試料中放射能の大部分を未変化のフルフェナセットが占めた。

緩衝液における分解物の生成は極めて少なく、の未同定分解物が認められたが、いずれも試験期間を通じて処理放射能の1%以下であった。HPLCクロマトグラム上の保持時間は、未同定分解物標準品と、未同定分解物標準品と類似した。

しかし、これらの未同定分解物は0時間試料中でも認められており、その後も明確な増加傾向が認められず、さらに暗対照試料中にも試験期間を通して同程度認められていることから、光照射によって生成された分解物であるとは考えられなかった。自然水においても分解物の生成は少なく、の分解物が認められたものの、個々の分解物は最大でも処理放射能のであり、いずれも同定には至らなかった。

表2-1～2-3に処理放射能に対するフルフェナセットの放射能割合を示した。

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

表2-1 0.01M酢酸緩衝液中の放射能（総放射能割合％）

照射時間	フルフェナセット[A]
0	99.1
41 照射区	98.4
暗対照区	99.0
86 照射区	98.8
暗対照区	99.1
123 照射区	98.7
暗対照区	99.0
164 照射区	98.6
暗対照区	98.8
206 照射区	98.5
暗対照区	98.9
246 照射区	98.7
暗対照区	99.0

表2-2 自然水中の放射能（総放射能割合％）

Howe		Stilwell	
照射時間	フルフェナセット[A]	照射時間	フルフェナセット[A]
0	99.5	0	98.9
4 照射区	98.5	66 照射区	97.7
暗対照区	98.8	暗対照区	98.2
9 照射区	98.5	114 照射区	97.8
暗対照区	99.4	暗対照区	95.7
20 照射区	98.2	162 照射区	96.2
暗対照区	98.8	暗対照区	96.2
93 照射区	97.0	246 照射区	96.6
暗対照区	98.7	暗対照区	98.5
165 照射区	92.2		
260 照射区	92.9		
暗対照区	96.5		

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

表2-3 他供試水中の放射能（総放射能割合%）

フミン酸水溶液		硝酸カルシウム水溶液	
照射時間	フルフェナセット[A]	照射時間	フルフェナセット[A]
0	98.6	0	99.4
24 照射区	98.0	24 照射区	97.7
48 照射区	97.5	96 照射区	96.0
120 照射区	94.2	192 照射区	81.3
192 照射区	93.9	暗対照区	95.8
暗対照区	97.8	240 照射区	77.5
240 照射区	93.0	暗対照区	95.2
暗対照区	96.1		

### 3) 推定半減期

フルフェナセットの光分解反応が擬一次反応に従うものとし、下記の計算式を用いて半減期を求めた。

なお、0.01M酢酸緩衝液の光照射区及び暗対照区、Stilwell池水の暗対照区に関しては、分解がほとんど認められなかったため、相関係数が小さく、算出された半減期の信頼性は高いものではない。

$$\text{半減期 (T1/2)} = \ln 2 / \text{速度定数}$$

[但し、速度定数は回帰直線より得られる傾きの絶対値]

各供試水における推定半減期を表3に示した。

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

表3 各供試水における推定半減期

供試水	推定半減期*	速度定数	相関係数
0.01M酢酸緩衝液			
照射区	3203日 (22028日)	$2.16 \times 10^{-4}$	0.62
暗対照区	3237日 (22262日)	$2.14 \times 10^{-4}$	0.47
光分解	346500日 ( $2.383 \times 10^5$ 日)	$0.2 \times 10^{-3}$	-
自然水 (Howe池水)			
照射区	289日 (1988日)	$2.4 \times 10^{-3}$	0.93
暗対照区	866日 (5956日)	$0.8 \times 10^{-3}$	0.92
光分解	433日 (2978日)	$1.6 \times 10^{-3}$	-
自然水 (Stilwell池水)			
照射区	990日 (6808日)	$0.7 \times 10^{-3}$	0.93
暗対照区	3465日 (23830日)	$0.2 \times 10^{-3}$	0.15
光分解	1386日 (9532日)	$0.5 \times 10^{-3}$	-
7ミノ酸水溶液 (15ppm)			
照射区	315日 (2166日)	$2.2 \times 10^{-3}$	0.98
暗対照区	1155日 (7943日)	$0.6 \times 10^{-3}$	0.95
光分解	433日 (2978日)	$1.6 \times 10^{-3}$	-
硝酸カリウム水溶液 (50ppm)			
照射区	79日 (543日)	$8.8 \times 10^{-3}$	0.97
暗対照区	462日 (3177日)	$1.5 \times 10^{-3}$	0.98
光分解	95日 (653日)	$7.3 \times 10^{-3}$	-

\*: 米国アリゾナ州フェニックスにおける夏期太陽光換算値、但しカッコ内は北緯35° (東京) 春期太陽光換算値 (申請者の計算による)

#### 4) まとめ

フルフェナセットは緩衝液、自然水及び7ミノ酸水溶液中では光分解をほとんど受けず安定であった。硝酸カリウム水溶液中では若干の分解が認められたものの、北緯35° (東京) 春期太陽光換算値では約2年であった。

緩衝液及び自然水においては光照射による分解物の生成は少なく、同定に至ったものはなかった。

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

## 5. 土壌吸着試験

### (1) 土壌吸脱着試験

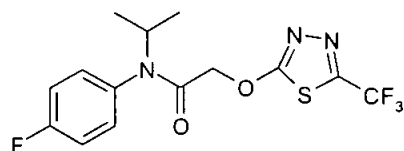
(資料 環3)

試験機関:

報告書作成年: 1992年 [GLP]

供試標化合物:

構造式:



化学名: 4'-フルオロ-N-イソプロピル-N-(2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトイル)アニリン  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能:

放射化学的純度:

供試土壌: 本試験においては米国土壌4種、ドイツ国土壌1種を供試した。土壌は全て非火山灰土壌であった。

各供試土壌の性質を下表に示した。

土壌番号	307	318	395	396	3252
OECD土壌Type	Type3	Type2	Type5	該当なし	該当なし
土壌採取地	Stanly (米国カンザス州)	Hagerstown (米国ミズーリ州)	Howe (米国インディアナ州)	Vero Beach (米国フロリダ州)	Monheim (ドイツ国)
土性 (USDA)	Silt Loam	Clay Loam	Loamy Sand	Sand	Sandy Loam
砂	17%	21%	78%	94%	72%
シルト	66%	50%	17%	3%	23%
粘土	17%	29%	5%	3%	5%
有機物含有率	2.9%	2.2%	0.4%	0.3%	1.4%*
pH	5.9	6.4	6.4	5.0	6.4
陽イオン交換容量 (meq/100g)	26.0	21.0	7.4	3.8	8.0

\*: 有機炭素含有率 (有機物含有量/1.9)

試験方法:

#### 1) 土壌/水比の設定

供試土壌には最も有機物含有率の高いStanly土壌を用い、最も吸着率が高くなる土壌/水の比率を求めた。

フルフェナセットの0.01M塩化カルシウム溶液 (25ppm) を、1gの供試土壌に対し土壌/水比が1:5、1:10および1:20となるよう、各々5、10および20ml加えた。また1:50の試験区については、試験溶液は20mlで土壌を0.4gとした。

混合物を24±1°C暗黒下で21時間振とう後、遠心分離し上清を直接液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した (LSC)。また別に、上清を酢酸エチルにより抽出し、HPLCおよびTLC分析に供した。

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

## 2) 吸着平衡時間の設定

各供試土壌について吸着平衡時間を調査した。

各土壌に滅菌した0.01M塩化カルシウム水溶液を十分量加えて、2時間振とうし予備平衡した。遠心分離後の土壌（上清は捨てる）1gに、フルフェナセットの0.01M塩化カルシウム溶液（25ppm）を5ml添加し22±1°Cで振とうした。被験物質添加後2、4、8、16、24および48時間目に試料を採取し、遠心分離後上清を1)同様、LSCおよびTLCに供した。土壌は乾燥後、サブメキシダインで燃焼し、LSCに供した。

## 3) 本試験

各土壌に滅菌した0.01M塩化カルシウム水溶液を十分量加えて予備平衡した。遠心分離後の各供試土壌について5濃度のフルフェナセット溶液（0.04、2.1、10.5、15.8および21ppm）を、土壌/水比1:5となるよう添加し、22°C暗黒下で上記2)で設定した平衡時間にしたがってインキュベートした（吸着相）。

試料は平衡時間後遠心分離に供した。上清を分取しLSCにより放射能を測定した。また別に、上清を酢酸エチルにより抽出し、TLC分析に供した。

遠心分離後の土壌に、分取した上清と同量の滅菌0.01M塩化カルシウム水溶液を添加し、均一のスラリーとなるまで振とうした。

試料を吸着相と同時間インキュベートした（脱着相）。インキュベーション後、試料を遠心分離に供し、上清をLSCによる放射能分析に供した。

土壌は乾燥後、サブメキシダインで燃焼し、LSCに供した。

## 結果

### 1) 土壌/水比

最も有機物含有率の高いStanly土壌を用い、土壌/水比が1:5、1:10、1:20および1:50で試験した結果、1:5で最も高い吸着率が得られた。

したがって以降の試験については全てこの比率により実施した。

### 2) 吸着平衡時間

24時間前の上清中濃度との差が5%未満となった場合に吸着が平衡に達したと見なした。なお平衡時間は最大でも48時間とした。

各土壌における平衡時間は、Stanley、HoweおよびMonheim土壌では24時間、HagerstownおよびVero Beach土壌では48時間とした。

### 3) 吸脱着パラメーター

各土壌において得られたFreundlichの吸着等温式の相関係数( $r$ )は、概ね0.99以上であり高い直線性が認められ、フルフェナセットの土壌に対する吸着性はFreundlichの吸着等温式に従うと判断された。

脱着については非常に相関性が高く、相関係数( $r$ )はいずれも0.999以上であった。

また有機炭素量とFreundlichの吸着係数との相関は低く、有機炭素への吸着はそれほど強くないものと考えられた。

各吸脱着パラメーターを表1に示した。

なお、

### 4) 物質収支

各土壌における物質収支は96~100%と極めて良好であった。

各土壌の平均物質収支を表1に示した。

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

表 1 吸脱着パラメーターおよび物質収支

	Stanley (Silt Loam)	Hagerstown (Clay Loam)	Howe (Loamy Sand)	Vero Beach (Sand)	Monheim (Sandy Loam)
$K_F$					
吸着 ( $K_F^{ads}$ )	3.2	2.7	1.6	1.0	4.8
脱着 ( $K_F^{des}$ )	3.9	3.1	2.1	0.9	5.3
$K_{Foc}^*$					
吸着 ( $K_{Foc}^{ads}$ )	213	233	742	613	354
脱着 ( $K_{Foc}^{des}$ )	254	264	1016	554	395
1/N					
吸着 標準偏差	0.837 (±0.036)	0.899 (±0.028)	0.869 (±0.057)	0.980 (±0.043)	0.892 (±0.019)
脱着 標準偏差	0.840 (±0.008)	0.884 (±0.014)	0.866 (±0.010)	0.930 (±0.013)	0.907 (±0.017)
相関係数 (r)					
吸着	0.9945	0.9971	0.9871	0.9942	0.9986
脱着	0.9998	0.9993	0.9996	0.9995	0.9990
物質収支	99.93	96.94	100.15	96.45	98.04

\*:  $K_{Foc}^{ads}$  の算出においては、Monheim 土壌以外は有機物含有率を 1.9 で除して有機炭素含有率に換算した値を用いた。

以上、フルフェナセットの土壌への吸着性は、 $K_{Foc}^{ads}$  が 213~742 と中程度であった。

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

(2) 土壌吸着試験

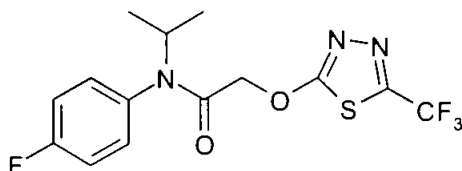
(資料 環4)

試験機関:

報告書作成年: 2010年[GLP]

供試標化合物:

構造式:



化学名: 4'-フルオロ-N-イソプロピル-2-[5-(トリフルオロメチル)-1,3,4-チアゾール-2-イルオキシ]アセトアミド  
(以下<sup>14</sup>C標識フルフェナセット)

比放射能:

放射化学的純度:

供試土壌: 本試験においては日本国土壌2種を供試した。牛久土壌は火山灰土壌、上川土壌は沖積土壌であった。  
各供試土壌の性質を下表に示した。

土壌	牛久土壌	上川土壌
OECD土壌Type	Type2	Type4
土壌採取地	茨城県牛久市	北海道上川郡上川町
成因	火山灰土壌	沖積土壌
土性 (USDA)	Sandy Loam	Loam
砂	63%	49%
シルト	26%	32%
粘土	11%	19%
有機物含有率 (有機炭素含有率)	7.4% (4.3%)	3.6% (2.1%)
pH(CaCl <sub>2</sub> )	5.6	4.9
陽イオン交換容量 (meq/100g)	15.9	12.2

試験方法:

1) 土壌/水比の設定

各土壌について、最適な土壌/水比を調査した。

各土壌を1、3および5g(乾土相当)テフロン製容器に量り取り、供試土壌に対し各々土壌/水比が1:20、1:7および1:4となるよう、0.01M塩化カルシウム水溶液を18ml加え、24時間予備平衡させた後、フルフェナセット0.01M塩化カルシウム溶液(10mg/L)を2ml加えた。混合物を25±2℃暗黒下で24時間振とう後、遠心分離し上清を直接液体シンチレーションカウンターに供し放射能を測定した(LSC)。

2) 吸着平衡時間の設定

各供試土壌について吸着平衡時間を調査した。

各土壌3gに0.01M塩化カルシウム水溶液を18ml加えて、24時間振とうし予備平衡した。予備平衡後フルフェナセット0.01M塩化カルシウム溶液(10mg/L)を2ml添加し、25±2℃で振と



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

うした。被験物質添加後0、6、24および48時間目に試料を採取し、遠心分離後上清をLSCに供した。

### 3) 被験物質の収支

各供試土壌について被験物質の収支を調査した。

各土壌3gに0.01M塩化カルシウム水溶液を18ml加えて、24時間振とうし予備平衡した。予備平衡後フルフェナセット0.01M塩化カルシウム溶液(10mg/L)を2ml添加し、25±2℃で振とうした。被験物質添加後48時間目に試料を採取し、遠心分離後上清をLSCおよびHPLCに供した。土壌はアセトリル：水(80:20、v:v)で抽出し、抽出液をLSCおよびHPLCに供した。

### 4) 本試験

各土壌3gに0.01M塩化カルシウム水溶液を18ml加えて24時間振とうし予備平衡した。5濃度のフルフェナセット0.01M塩化カルシウム溶液(0.1、0.3、1、3および10mg/L)を2ml添加し(最終的に水相中濃度として、0.01、0.03、0.1、0.3および1mg/L)、25±2℃暗黒下で24時間インキュベートした。

試料はインキュベーション後遠心分離に供した。上清を分取しLSCにより放射能を測定した。

## 結果

### 1) 土壌/水比

各土壌を用い、土壌/水比を1:20、1:7および1:4となるよう調製し試験した。両土壌ともに1:7の試料において吸着率約50%が得られたため、以降の試験については全てこの比率により実施した。

### 2) 吸着平衡時間

被験物質処理後24時間で、両土壌ともに吸着が平衡に達したと見なされた。

なお48時間後の試料のHPLC分析により、回収放射能のほぼ全てが未変化のフルフェナセットであり(処理放射能割合：牛久土壌；103.8%、上川土壌；104.8%)、試験系において安定であったため、本試験においてはLSCによる放射能測定のみ行った。

### 3) 吸脱着パラメーター

各土壌において得られたFreundlichの吸着等温式の相関係数( $r^2$ )は、いずれも0.99以上であり高い直線性が認められたため、フルフェナセットの土壌に対する吸着性は、Freundlichの吸着等温式に従うと判断された。

また有機炭素量とFreundlichの吸着係数との相関は低く、有機炭素への吸着はそれほど強くないものと考えられた。

各吸脱着パラメーターを表1に示した。

### 4) 物質収支

各土壌における物質収支は94~99%と良好であった。

各土壌の平均物質収支を表1に示した。

表1 吸脱着パラメーターおよび物質収支

	$K_F^{ads}$ (mL/g)	1/n	相関係数 ( $r^2$ )	$K_F^{ads}oc$ (mL/g)	物質収支
牛久土壌	6.916	0.8479	0.9996	160.8	98.0%
上川土壌	8.956	0.9583	0.9973	426.5	96.9%

以上、フルフェナセットの土壌への吸着性は、 $K_F^{ads}oc$ が160.8~426.5と中程度であった。



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

は を受け、種々の代謝物に分解された。一方、  
を受け、あるいは にまで  
分解された。

#### [植物代謝試験]

$^{14}\text{C}$  標識フルフェナセットを用いて、植物における代謝試験を実施した。供試植物は小麦、  
だいず、とうもろこし及びばれいしょであった。

#### 小麦

播種 46 日後に処理されたフルフェナセット（フェル環標識体）は、収穫時植物体全体に分布した。

植物体内に吸収されたフルフェナセットは、  
種子中の主代謝物である となるか、もしくは  
となった。  
はその後、 を受け、各々茎葉部における主代謝物である  
及び となった。また茎葉部においても種子同様  
が多く認められた。

#### だいず

播種前に土壌に処理されたフルフェナセット（ 標識体）は、根  
から吸収され収穫時植物全体に分布した。

植物体内に吸収されたフルフェナセットは、  
となった。また、  
となった。 を受け、各々茎葉  
部における主代謝物である 及び種子中の主代謝物である とな  
った。  
一方、 となった後、主に  
を受けた。 は茎葉部のみに、  
は種子にのみ認められた。

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

### とうもろこし

播種前に土壌に処理されたフルフェナセット（ ）は、根から吸収され収穫時植物全体に分布したが、最終収穫時の種子中の放射能濃度はきわめて低かった。

植物体内に吸収されたフルフェナセットは、

になると考えられた。

へと代謝されるか、あるいは

を受け、種々の代謝物へと分解された。

種子中の放射能については、濃度が極めて低く代謝物の同定は行わなかった。

### ばれいしょ

茎葉処理及び土壌処理されたフルフェナセット（ ）は、最終収穫時の塊茎中に分布した。

植物体内に吸収されたフルフェナセットは、

となった。

を受けた。

### [土壌中動態試験]

$^{14}\text{C}$  標識フルフェナセットを用いて、土壌における動態試験を実施した。試験条件は、好気及び嫌気の2条件であった。

### 好気条件

フルフェナセット（ ）は好気条件下で二相的に減衰した。 $\alpha$  相（処理 0~28 日後）における推定半減期は 34~64 日であった。 $\beta$  相（処理 44~365 日後）においては減衰が遅く 468~599 日であった。

土壌に処理されたフルフェナセットは、

。に分解された。

また、

となった後、

に代謝され、さら



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

Freundlich の吸着等温式による吸着係数 ( $K_{F^{ads}}$ ) は 1.0~9.0 であり、有機炭素含有率による補正值 ( $K_{F^{ads_{oc}}}$ ) は 161~742 であった。

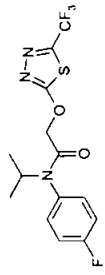






本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にあり、正にある。

フルフェナセットの推定代謝経路



フルフェナセット [A]

## 附則 フルフェナセットの開発年表

