

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

1) 急性経口毒性

(1) 代謝物 H のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-47)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2013 年

検体純度:

供試動物: Fischer (F344/DuCrIOrIj) 系ラット、投与時 8 週齢、体重: 雌 113.5~118.3 g、
各段階雌 3 匹(各投与量雌 6 匹)

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を 0.2% Tween 80 含有 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。投与前約 18 時間から投与 4 時間後まで絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前ならびに投与 1、7 および 14 日後に測定した。観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

表 T-40-1. 結果概要

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌 >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例はみられなかった。
症状発現時間および消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 2000

いずれの投与量においても死亡および中毒症状は認められなかった。体重および剖検所見について検体投与に関連する変化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。

(2) 代謝物 L のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-48)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2013 年

検体純度:

供試動物: Fischer (F344/DuCrIcrij) 系ラット、投与時 8 週齢、体重: 雌 114.4~117.2 g、
各段階雌 3 匹 (各投与量雌 6 匹)

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を 0.2% Tween 80 含有 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。投与前約 18 時間から投与 4 時間後まで絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前ならびに投与 1、7 および 14 日後に測定した。観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

表 T-42-1. 結果概要

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌 >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例はみられなかった。
症状発現時間および消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 2000

いずれの投与量においても死亡および中毒症状は認められなかった。体重および剖検所見について検体投与に関連する変化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。

2) 復帰突然変異

(1) 代謝物 H の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-49)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2013 年

検体純度:

試験方法: ヒステジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法によって変異原性を検定した。

試験は 3 連制とし、2 回行った。検体は DMSO に溶解し、試験 I および試験 II とともに 313 ~ 5000 µg/プレート の範囲の 5 濃度で実施した。

用量設定根拠:

結果: 結果を表 T-41-1 および T-41-2 に示した。

試験 I および II のいずれにおいても、検体は S9 Mix の有無にかかわらず、全ての菌株で溶媒対照群と比較して復帰変異コロニー数を 2 倍以上に増加させなかった。また、生育阻害は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、ICR-191 および 2-アミノアントラセン (2-AA) は、各々が処理された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、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断した。

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。

表 T-41-1. 試験 I の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 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		
			WP2 _{LvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)		-	35	103	10	29	9	
検体	313	-	46	96	10	33	11	
	625	-	36	93	10	30	10	
	1250	-	33	101	10	32	10	
	2500	-	39	109	8	36	12	
	5000	-	41	107	12	27	11	
対照 (DMSO)		+	33	96	11	34	17	
検体	313	+	36	101	11	32	15	
	625	+	39	97	10	39	16	
	1250	+	31	91	14	40	12	
	2500	+	33	95	13	43	16	
	5000	+	34	89	13	32	15	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	182	543	-	-	-
		0.1	-	-	-	-	764	-
	NaN ₃	0.5	-	-	-	299	-	-
	ICR-191	0.5	-	-	-	-	-	1658
	2-AA	0.5	+	-	-	-	413	-
		1	+	-	991	-	-	-
		2	+	-	-	350	-	192
10		+	864	-	-	-	-	

表中の数値は3連の平均値、-: 試験を実施せず

注) DMSO: ジメチルスルホキシド

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: アジ化ナトリウム

2-AA: 2-アミノアントラセン

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 T-41-2. 試験Ⅱの結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 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		
			WP2 _{LuvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)		-	39	100	13	20	14	
検体	313	-	29	111	9	28	10	
	625	-	34	101	11	29	10	
	1250	-	36	112	13	28	13	
	2500	-	31	117	10	25	10	
	5000	-	36	88	11	19	14	
対照 (DMSO)		+	31	93	10	30	16	
検体	313	+	33	98	10	31	15	
	625	+	31	89	12	29	17	
	1250	+	35	106	13	34	14	
	2500	+	25	98	13	33	13	
	5000	+	28	94	10	32	14	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	173	465	-	-	-
		0.1	-	-	-	-	736	-
	NaN ₃	0.5	-	-	-	283	-	-
	ICR-191	0.5	-	-	-	-	-	1581
	2-AA	0.5	+	-	-	-	370	-
		1	+	-	844	-	-	-
		2	+	-	-	328	-	186
10		+	732	-	-	-	-	

表中の数値は3連の平均値、-: 試験を実施せず

注) DMSO: ジメチルスルホキシド

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: アジ化ナトリウム

2-AA: 2-アミノアントラセン

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 L の細菌を用いた復帰突然変異試験

(資料 T-50)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2013 年

検体純度:

試験方法: ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で、プレインキュベーション法によって変異原性を検定した。

試験は 3 連制とし、2 回行った。検体は DMSO に溶解し、試験 I および試験 II とともに 313 ~5000 µg/プレート の範囲の 5 濃度で実施した。

用量設定根拠:

結果: 結果を表 T-43-1 および T-43-2 に示した。

試験 I および II のいずれにおいても、検体は S9 Mix の有無にかかわらず、全ての菌株で溶媒対照群と比較して復帰変異コロニー数を 2 倍以上に増加させなかった。また、生育阻害は認められなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (AF-2)、アジ化ナトリウム (NaN₃)、ICR-191 および 2-アミノアントラセン (2-AA) は、各々が処理された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、検体は代謝活性化系を含む本試験条件下で突然変異誘発性を有しないものと判断した。

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。

表 T-43-1. 試験 I の結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mi x 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		
			WP2 _{uvrA}	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)		-	35	103	10	29	9	
検体	313	-	40	111	5	30	9	
	625	-	36	98	7	31	8	
	1250 [*]	-	26	92	8	25	10	
	2500 [*]	-	26	99	8	29	7	
	5000 [*]	-	26	90	7	24	4	
対照 (DMSO)		+	33	96	11	34	17	
検体	313	+	32	115	9	41	12	
	625	+	29	127	10	43	13	
	1250 [*]	+	29	115	9	40	11	
	2500 [*]	+	27	101	6	34	10	
	5000 [*]	+	28	109	9	31	11	
陽 性 対 照	AF-2	0.01	-	182	543	-	-	-
		0.1	-	-	-	-	764	-
	NaN ₃	0.5	-	-	-	299	-	-
	ICR-191	0.5	-	-	-	-	-	1658
	2-AA	0.5	+	-	-	-	413	-
		1	+	-	991	-	-	-
		2	+	-	-	350	-	192
10		+	864	-	-	-	-	

表中の数値は3連の平均値、-: 試験を実施せず、*: 結晶析出

注) DMSO: ジメチルスルホキシド

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: アジ化ナトリウム

2-AA: 2-アミノアントラセン

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 T-43-2. 試験Ⅱの結果

薬物	濃度 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 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		
			WP2uvrA	TA100	TA1535	TA98	TA1537	
対照 (DMSO)		-	39	100	13	20	14	
検体	313	-	30	108	11	26	7	
	625	-	31	109	8	22	6	
	1250 #	-	24	107	7	22	8	
	2500 #	-	29	91	7	17	12	
	5000 #	-	25	90	10	20	8	
対照 (DMSO)		+	31	93	10	30	16	
検体	313	+	38	116	14	41	11	
	625	+	33	107	13	43	12	
	1250 #	+	29	99	13	34	14	
	2500 #	+	29	103	9	31	14	
	5000 #	+	23	103	12	31	8	
陽性 対照	AF-2	0.01	-	173	465	-	-	-
		0.1	-	-	-	-	736	-
	NaN ₃	0.5	-	-	-	283	-	-
	ICR-191	0.5	-	-	-	-	-	1581
	2-AA	0.5	+	-	-	-	370	-
		1	+	-	844	-	-	-
		2	+	-	-	328	-	186
10		+	732	-	-	-	-	

表中の数値は3連の平均値、-: 試験を実施せず、#: 結晶析出

注) DMSO: ジメチルスルホキシド

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃: アジ化ナトリウム

2-AA: 2-アミノアントラセン

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) 20%フロアブル(ピフルブミド水和剤)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-34)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 20%フロアブル

組成 ピフルブミド; 20.0%

界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: Fischer (F344/DuCrIOrlj) 系ラット、投与時 8 週齢、体重: 雌 117~120 g、
各段階雌 3 匹 (計 6 匹)

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁し、2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。投与約 16 時間前から投与 4 時間後まで絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前ならびに投与 1、3、7 および 14 日後に測定した。観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

表 T-34-1. 結果概要

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌 >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例はみられなかった。
症状発現時間および消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 2000

死亡および中毒症状は認められなかった。体重および剖検所見について検体投与に関連する変化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。

(2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 T-35)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 20%フロアブル

組成 ピフルブミド; 20.0%
 界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: Sprague Dawley (Slc:SD) 系ラット、投与時雌雄 8 週齢、
 体重: 雄 277~283 g、雌 200~205 g、1 群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体をリント布 (4 cm×5 cm) に均一に塗布して、刈毛した背部皮膚に適用し、24 時間半閉塞貼付した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は、投与直前ならびに投与 3、7 および 14 日後に測定した。観察終了時の全生存動物について適用部位を含む臓器・組織の肉眼的病理検査を行った。

結果:

表 T-35-1. 結果概要

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例はみられなかった。
症状発現時間および消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄 2000 雌 2000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/kg)	雄 2000 雌 2000

死亡および中毒症状は認められなかった。体重および剖検所見について検体投与に関連する変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に、刺激性変化およびその他の異常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) 急性吸入毒性試験

(資料 T-36)

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 T-37)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

- 検体純度: 20%フロアブル
組成 ピフルブミド; 20.0%
界面活性剤、水等; 80.0%
- 供試動物: 日本白色種 (Jla:JW) ウサギ、適用時 18 週齢、体重: 雌 3.04~3.17 kg、1 群雌 3 匹
- 観察期間: 72 時間
- 投与方法: 検体 0.5 mL をリント布 (2.5cm × 2.5cm、6.25 cm²) に均一に塗布して、刈毛した動物の背部皮膚に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は注射用水を含ませた脱脂綿を用いて拭き取った。
- 観察項目: 暴露終了 1、24、48 および 72 時間後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、Draize の基準に従って採点した。
- 結果: 観察した刺激性変化の採点は表 T-37-1 のとおりである。

表 T-37-1. 刺激性変化の評点

動物番号	項目	最高評点	暴露後時間 (時間)			
			1	24	48	72
1101	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	1	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	1	0	0	0
	浮腫	12	1	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.33	0	0	0
	浮腫	4	0.33	0	0	0

暴露終了 1 時間後、1 例に紅斑および浮腫が認められたが、24 時間後に消失した。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を示すと判断された。

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。

(5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-38)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

- 検体純度: 20%フロアブル
組成 ピフルブミド; 20.0%
 界面活性剤、水等; 80.0%
- 供試動物: 日本白色種 (Jla:JW) ウサギ、適用時 15 週齢、体重: 雌 2.48~2.85 kg、
非洗眼群・洗眼群各雌 3 匹
- 観察期間: 5 日間
- 投与方法: 検体 0.1 mL を左眼結膜嚢に適用した。洗眼群の 3 匹は 30 秒後に注射用水を用いて
洗眼した。
- 観察項目: 適用 1、24、48 および 72 時間後、さらに 4 および 5 日後に角膜、虹彩、結膜の刺激性
変化を観察して Draize 法に従って採点し、Kay and Calandra^{a)}の分類基準で刺激性を判
定した。
- 結果: 観察した刺激性変化の評点は表 T-38-1 のとおりである。
角膜の混濁が非洗眼群では適用 1~72 時間後に、洗眼群では適用 24 および 48 時間
後に認められた。虹彩の異常は非洗眼群にのみ適用 1 および 24 時間後にみられた。
結膜の変化では、非洗眼群で発赤が適用 4 日後まで、浮腫および分泌物が適用 48 時
間後まで認められた。一方、洗眼群では発赤が適用 48 時間後まで、浮腫が適用 24 時
間後まで、分泌物が適用 1 時間後にのみそれぞれ認められた。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して中等度の刺激性を示すと判断された。また、その刺激性は洗
眼により軽減すると考えられた。

^{a)} J. H. Kay and J. C. Calandra: Interpretation of eye irritation tests (1962) *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 13, 281-289

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T-38-1. 刺激性変化の評点

項目			最高 評点	適用後時間							
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日		
非洗眼群	動物番号 1101	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	0	0	0	
			面積	4	2	2	1	0	0	0	
		虹彩			2	1	1	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	0	0	0
			浮腫	4	2	2	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	0	0	0	0
		動物番号 1102	角膜 混濁	程度	4	1	1	1	0	0	0
				面積	4	2	2	1	0	0	0
			虹彩			2	0	0	0	0	0
	結膜		発赤	3	1	2	1	1	0	0	0
			浮腫	4	2	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	0	0	0	0
	動物番号 1103		角膜 混濁	程度	4	1	1	1	1	0	0
				面積	4	2	3	2	1	0	0
			虹彩			2	1	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	0	0
			浮腫	4	2	1	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	0	0	0	0
		合計*			330	70	69	40	11	2	0
		平均			110	23.3	23.0	13.3	3.7	0.7	0
洗眼群 (3匹平均)		角膜 混濁	程度	4	0	0.3	0.3	0	0	0	
	面積		4	0	0.3	0.3	0	0	0		
	虹彩			2	0	0	0	0	0	0	
	結膜	発赤	3	1	1.3	0.3	0	0	0	0	
		浮腫	4	1.3	0.3	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	1.7	0	0	0	0	0	0	
	合計*			330	24	15	7	0	0	0	
	平均			110	8.0	5.0	2.3	0	0	0	

* Draize 法による評価点 (3匹合計の最高330点)

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) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-39)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 20%フロアブル

組成 ピフルブミド; 20.0%

界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: Hartley 系 (Kwl:Hartley) モルモット、開始時 6 週齢、体重: 雌 328~408 g、

検体処理群 20 匹、検体非処理群 10 匹

観察期間: 惹起後 48 時間

試験方法: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作: 0.2 mL の検体原液または注射用水をリント布 (直径 2.5 cm) に均一に塗布し、刈毛、剃毛した動物の左側胴部に 6 時間閉塞貼付した。7 および 14 日後にも同様の処置を行った。

惹起: 最終感作の 2 週間後に、0.2 mL の検体原液をリント布 (直径 2.5 cm) に均一に塗布し、刈毛、剃毛した動物の右側胴部に 6 時間閉塞貼付した。

観察項目: 惹起 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従い採点した。

肉眼的変化なし..... 0

散在性または斑状の紅斑..... 1

中等度びまん性紅斑..... 2

強い紅斑と浮腫..... 3

結果: 検体惹起後の観察結果ならびに本試験に先立ち実施した陽性対照物質の背景データを表 T-39-1 に示す。

いずれの観察時間においても、検体処理群および検体非処理群のすべての動物に皮膚反応は観察されなかった。陽性対照物質では明瞭な陽性反応 (陽性率: 100%) が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
 確認されており、試験機関の試験系は妥当と考えられた。

以上の試験結果から、検体の本試験条件における皮膚感作性は陰性であると判断した。

表 T-39-1. 皮膚反応の観察結果および背景データ

群		感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率 (%)		
					24 時間後					48 時間後					24 時間後	48 時間後	
					皮膚反応評点				計 ^a	皮膚反応評点				計 ^a			
					0	1	2	3		0	1	2	3				
検体	処理	検体原液	検体原液	20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0/20	0	0
	非処理	注射用水	検体原液	10	10	0	0	0	0	/	10	0	0	0	/	/	/
陽性対照 ^c	処理	1% DNCB ^b	0.25% DNCB	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100	
			アセトン	10	10	0	0	0	/	10	0	0	0	/	/	/	
	非処理	エタノール	0.25% DNCB	5	5	0	0	0	/	5	0	0	0	/	/	/	
			アセトン	5	5	0	0	0	/	5	0	0	0	/	/	/	

^a: 感作反応動物数/供試動物数

^b: 2,4-ジニトロクロロベンゼン

^c: ㈱ボゾリサーチセンターで2011年9月16日から2011年11月30日に実施した試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

2) 15%フロアブル(ピフルブミド・フェンピロキシメート水和剤)

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 T-40)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 15+5%フロアブル

組成 ピフルブミド; 15.0%
 フェンピロキシメート; 5.0%
 界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: Fischer (F344/DuCrI CrIj) 系ラット、投与時 9~10 週齢、体重; 118.43~142.93 g、
各段階雌 3 匹 (各投与量 6 匹、計 12 匹)

観察期間: 14 日間

試験方法: 毒性等級法

投与方法: 検体を蒸留水に懸濁し、300 または 2000 mg/kg の投与量で単回強制経口投与した。投与容量は 10 mL/kg とした。投与約 16 時間前から投与約 3 時間後まで絶食した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与直前ならびに投与 1、7 および 14 日後に測定した。死亡動物および観察期間終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	300、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	300 < LD ₅₀ < 2000
死亡開始時間および終了時間	投与後 6 時間から開始 投与後 1 日に終了
症状発現時間および消失時間	投与後 15 分から発現 投与後 8 日に消失
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雌 300

300 mg/kg 群において死亡例は認められなかった。2000 mg/kg 群では 4/6 例が死亡した。中毒症状として、300 mg/kg 群では下痢および被毛汚染が認められた。2000

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。

mg/kg 群では体温低下、伏臥、自発運動の低下または消失、立毛、軟便、下痢、被毛汚染、削瘦が認められた。300 mg/kg 群の体重変化に検体投与の影響は認められなかった。一方、2000 mg/kg 群では体重減少または増加抑制が認められた。剖検において、2000 mg/kg 群の死亡動物では胃内黒色点、胃および十二指腸内への被験物質様残留物、膀胱内尿うっ滞がみられた。300 mg/kg 群および2000 mg/kg 群の生存動物では検体投与の影響と思われる異常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。

(2) ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 T-41)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 15+5%フロアブル

組成 ピフルブミド; 15.0%
 フェンピロキシメート; 5.0%
 界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: Sprague-Dawley (Slc:SD) 系ラット、投与時 雄 8 週齢、雌 12 週齢
 体重; 雄 258.41~296.18 g、雌 223.76~248.32 g、1群雌雄各 5 匹

観察期間: 14 日間

投与方法: 検体をリント布(4 cm×5 cm)に均一に塗布して刈毛した背部皮膚に適用し、24 時間半
 閉塞貼付した。

観察・検査項目: 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は、投与直前ならびに投与 1、7 および
 14 日後に測定した。試験終了時の全生存動物について適用部位を含む臓器・組織の
 肉眼的病理検査を行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雄 0、2000 雌 0、2000
LD ₅₀ (mg/kg)	雄 >2000 雌 >2000
死亡開始時間および終了時間	死亡例はみられなかった。
症状発現時間および消失時間	症状は認められなかった。
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雄 2000 雌 2000
死亡例の認められなかった最 高投与量(mg/kg)	雄 2000 雌 2000

死亡および中毒症状は認められなかった。体重および剖検所見について検体投与に
関連する変化は認められなかった。また、投与部位の皮膚に刺激性変化およびその
他の異常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) 急性吸入毒性試験

(資料 T-42)

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 T-43)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 15+5%フロアブル

組成 ピフルブミド; 15.0%
 フェンピロキシメート; 5.0%
 界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: 日本白色種(kbl: JW)ウサギ、適用時 9 週齢、体重; 1.98~2.16 kg、1 群雄 3 匹

観察期間: 6 日間

投与方法: 検体 0.5 mL をリント布 (2.5cm × 2.5cm) に均一に塗布して刈毛した動物の背部皮膚に適用し、半閉塞貼付した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は温水を含ませた脱脂綿を用いて拭き取った。

観察項目: 暴露終了 1、24、48、72 時間後、さらに 4、5、6 日後に適用部位の刺激性変化 (紅斑、痂皮、浮腫) の有無等を観察し、農林水産省の指針に従って採点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は下表のとおりである。

動物 番号	項目	最高評点	暴露後時間						
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	4 日	5 日	6 日
027	紅斑・痂皮	4	0	2	2	1	1	1	0
	浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0
028	紅斑・痂皮	4	0	2	2	1	1	1	0
	浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0
029	紅斑・痂皮	4	0	2	2	1	1	1	0
	浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	6	6	3	3	3	0
	浮腫	12	0	3	3	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	2	2	1	1	1	0
	浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0

暴露終了 24 および 48 時間後において、全 3 例に紅斑(評点 2)および浮腫(評点 1)が認められた。これらの変化はその後回復傾向を示し、6 日後に消失した。

以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して軽度の刺激性を示すと判断された。

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。

(5) ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 T-44)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

- 検体純度: 15+5%フロアブル
- | | | |
|----|-------------|-------|
| 組成 | ピフルブミド; | 15.0% |
| | フェンピロキシメート; | 5.0% |
| | 界面活性剤、水等; | 80.0% |
- 供試動物: 日本白色種(kbl: JW)ウサギ、適用時 9 週齢、体重: 雄 1.88~2.05 kg、
非洗眼群・洗眼群各雄 3 匹
- 観察期間: 非洗眼群: 7 日間、洗眼群: 4 日間
- 投与方法: 検体 0.1 mL を左眼結膜嚢に適用した。洗眼群の 3 匹は約 30 秒後に微温蒸留水を用いて洗眼した。
- 観察項目: 適用 1、24、48、72 時間後および 4 日後、さらに非洗眼群のみ 5、6、7 日後まで角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。Draize 法に従って採点し、AFNOR^{a)}の分類基準で刺激性を判定した。
- 結果: 観察した刺激性変化の評点は次頁表のとおりである。
角膜の混濁が非洗眼群にのみ適用 24 および 48 時間後に認められた。結膜の変化では、非洗眼群で発赤が適用 6 日後まで、浮腫が適用 24 時間後まで、分泌物が適用 5 日後まで認められた。一方、洗眼群では発赤が適用 72 時間後まで、浮腫が適用 24 時間後まで、分泌物が適用 48 時間後まで認められた。虹彩の異常は非洗眼群および洗眼群ともに認められなかった。

以上の結果から、検体はウサギの眼に対して「刺激物」に分類される刺激性を示すと判断された。また、その刺激性は洗眼により軽減すると考えられた。

^{a)} Chemical Products. Assessment of ocular irritation and/or pitting in rabbits. Determination of ocular irritation indices. Issued by L' Association Francaise de Normalisation (AFNOR), NF T03-264 (1982)

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。

項目			最高 評点	適用後時間								
				1時間	24時間	48時間	72時間	4日	5日	6日	7日	
非洗眼群	動物番号 030	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0	0
			面積	4	0	1	1	0	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	0	1	0	0	0	0	0
	動物番号 031	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0	0
			面積	4	0	1	1	0	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	2	2	1	0
			浮腫	4	2	2	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	1	0	1	0	0
	動物番号 032	角膜 混濁	程度	4	0	1	1	0	0	0	0	0
			面積	4	0	1	1	0	0	0	0	0
		虹彩		2	0	0	0	0	0	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	1	0	0
			浮腫	4	1	1	0	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	1	1	0	0	0	0
合計*			330	26	39	31	12	8	10	2	0	
平均			110	8.7	13.0	10.3	4.0	2.7	3.3	0.7	0.0	
洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	0				
		面積	4	0	0	0	0	0				
	虹彩		2	0	0	0	0	0				
	結膜	発赤	3	1	1.3	0.3	0.3	0				
		浮腫	4	2	0.3	0	0	0				
		分泌物	3	1.7	0.3	0.7	0	0				
	合計*			330	28	12	6	2	0			
平均			110	9.3	4.0	2.0	0.7	0.0				

* Draize 法による評価点 (3匹合計の最高330点)

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) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-45)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

検体純度: 15+5%フロアブル

組成 ピフルブミド; 15.0%
 フェンピロキシメート; 5.0%
 界面活性剤、水等; 80.0%

供試動物: Hartley 系 (Kwi:Hartley) モルモット、開始時 6 週齢、体重: 雌 321~414 g、
検体処理群 20 匹、検体非処理群 10 匹

観察期間: 惹起後 48 時間

試験方法: [Buehler 法]

投与量設定根拠:

感作: 0.2 mL の検体原液または注射用水をリント布 (直径 2.5cm) に均一に塗布し、刈毛、剃毛した動物の左側胴部に 6 時間閉塞貼付した。7 および 14 日後にも同様の処置を行った。

惹起: 最終感作の 2 週間後に、0.2 mL の検体原液をリント布 (直径 2.5cm) に均一に塗布し、刈毛、剃毛した動物の右側胴部に 6 時間閉塞貼付した。

観察項目: 惹起 24 および 48 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下の基準に従い採点した。

肉眼的変化なし..... 0
散在性または斑状の紅斑..... 1
中等度びまん性紅斑..... 2
強い紅斑と浮腫..... 3

結果: 検体惹起後の観察結果ならびに本試験に先立ち実施した陽性対照物質の背景データを次頁表に示す。

いずれの観察時間においても、検体処理群および検体非処理群のすべての動物に皮膚反応は観察されなかった。陽性対照物質では明瞭な陽性反応 (陽性率:100%) が確認されており、試験機関の試験系は妥当と考えられた。

以上の試験結果から、検体の本試験条件における皮膚感作性は陰性であると判断した。

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。

群				供試動物数	感作反応動物数								陽性率 (%)					
					24 時間後				48 時間後									
					感作		惹起		皮膚反応評点				計 ^a	皮膚反応評点				計 ^a
0	1	2	3	0	1	2	3											
検体	処理	検体原液	検体原液	20	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0
	非処理	注射用水	検体原液	10	10	0	0	0	0	/	10	0	0	0	0	/	/	/
陽性対照 ^c	処理	1% DNCB ^b	0.25% DNCB	10	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100		
			アセトン	10	10	0	0	0	/	10	0	0	0	/	/	/	/	
	非処理	エタノール	0.25% DNCB	5	5	0	0	0	/	5	0	0	0	/	/	/		
			アセトン	5	5	0	0	0	/	5	0	0	0	/	/	/		

^a: 感作反応動物数/供試動物数

^b: 2,4-ジニトロクロロベンゼン

^c: (株)ボゾリサーチセンターで2011年2月21日から2011年5月30日に実施した試験

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

IX 動植物およ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	供試動物植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-1 GLP	動物代謝	ラット雌雄 [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	単回経口 1 mg/kg	<p><u>血液中濃度推移:</u> T_{max}: ♂ 6、 ♀ 6 時間 $T_{1/2}$: ♂ 1.07、 ♀ 1.06 日 C_{max}: ♂ 0.197、 ♀ 0.209 $\mu\text{g eq./g}$ AUC: ♂ 4.242、 ♀ 4.682 $\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/g}$</p> <p><u>血漿中濃度推移:</u> T_{max}: ♂ 6、 ♀ 3 時間 $T_{1/2}$: ♂ 0.61、 ♀ 0.59 日 C_{max}: ♂ 0.238、 ♀ 0.264 $\mu\text{g eq./g}$ AUC: ♂ 4.555、 ♀ 4.932 $\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/g}$</p> <p><u>体内分布 (168 時間):</u> 血液: ♂ -、 ♀ - $\mu\text{g eq./g}$ 肝: ♂ 0.015、 ♀ 0.022 $\mu\text{g eq./g}$ 腎: ♂ 0.004、 ♀ 0.005 $\mu\text{g eq./g}$ 副腎: ♂ 0.004、 ♀ - $\mu\text{g eq./g}$ 脂肪: ♂ 0.004、 ♀ 0.004 $\mu\text{g eq./g}$</p> <p><u>代謝 (48 時間):</u> 尿: A (♂ 0.02、 ♀ - %) F (♂ 0.05、 ♀ 1.66%) H (♂ 0.04、 ♀ 0.05%) I (♂ 0.06、 ♀ 0.05%) O (♂ 0.09、 ♀ 0.10%) P (♂ 0.05、 ♀ 0.03%) Q (♂ 0.30、 ♀ 0.20%) R (♂ 0.11、 ♀ 0.33%) S (♂ 0.13、 ♀ 0.07%) 糞: A (♂ 11.16、 ♀ 11.24%) B (♂ 11.23、 ♀ 10.86%) F (♂ 4.28、 ♀ 13.49%) G (♂ 1.95、 ♀ 4.31%) O (♂ 5.56、 ♀ 5.25%) P (♂ 4.04、 ♀ 2.61%) Q (♂ 8.21、 ♀ 2.48%) R (♂ 5.13、 ♀ 6.60%) S (♂ 1.41、 ♀ 0.65%)</p>	(2010)	c-13

-: 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-1 GLP	動物代謝	ラット雌雄 [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	単回経口 1 mg/kg	血漿; B (♂ 0.002、 ♀ 0.002 µg eq./g) C (♂ 0.005、 ♀ 0.006 µg eq./g) D (♂ 0.014、 ♀ 0.010 µg eq./g) F (♂ 0.060、 ♀ 0.099 µg eq./g) G (♂ 0.004、 ♀ 0.006 µg eq./g) O (♂ 0.022、 ♀ 0.014 µg eq./g) P (♂ 0.004、 ♀ 0.002 µg eq./g) R (♂ 0.018、 ♀ 0.011 µg eq./g) U (♂ 0.022、 ♀ 0.020 µg eq./g) <u>排泄 (168 時間):</u> 尿; ♂ 3.29、 ♀ 4.35% 糞; ♂ 92.47、 ♀ 94.98% 呼気; ♂ -、 ♀ - %	(2010)	c-13
			単回経口 100 mg/kg	<u>血液中濃度推移:</u> T _{max} ; ♂ 12、 ♀ 12 時間 T _{1/2} ; ♂ 1.30、 ♀ 1.31 日 C _{max} ; ♂ 9.1、 ♀ 8.8 µg eq./g AUC; ♂ 321.4、 ♀ 337.1 µg eq.·hr/g <u>血漿中濃度推移:</u> T _{max} ; ♂ 12、 ♀ 12 時間 T _{1/2} ; ♂ 0.71、 ♀ 0.81 日 C _{max} ; ♂ 10.6、 ♀ 10.0 µg eq./g AUC; ♂ 312.5、 ♀ 320.7 µg eq.·hr /g <u>体内分布 (168 時間):</u> 血液; ♂ 0.2、 ♀ - µg eq./g 肝; ♂ 1.1、 ♀ 1.8 µg eq./g 腎; ♂ 0.3、 ♀ 0.3 µg eq./g 副腎; ♂ -、 ♀ - µg eq./g 脂肪; ♂ 0.8、 ♀ 0.7 µg eq./g <u>代謝 (尿:48 時間、糞:72 時間):</u> 尿; F (♂ 0.03、 ♀ 0.37%) H (♂ 0.04、 ♀ 0.04%) I (♂ 0.04、 ♀ 0.04%) J (♂ -、 ♀ 0.02%) O (♂ 0.08、 ♀ 0.27%) P (♂ 0.03、 ♀ 0.03%) Q (♂ 0.09、 ♀ 0.11%) R (♂ 0.03、 ♀ 0.15%) S (♂ 0.06、 ♀ 0.05%)		

-: 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動物植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-1 GLP	動物代謝	ラット雌雄 [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	単回経口 100 mg/kg	糞: A (♂ 42.63、 ♀ 38.35%) B (♂ 17.35、 ♀ 18.90%) F (♂ 1.04、 ♀ 2.09%) G (♂ 0.37、 ♀ 0.35%) O (♂ 5.65、 ♀ 7.84%) P (♂ 2.50、 ♀ 2.41%) Q (♂ 2.74、 ♀ 1.50%) R (♂ 0.93、 ♀ 1.09%) S (♂ 0.76、 ♀ 0.41%) 血漿; B (♂ 0.9、 ♀ 1.1 µg eq./g) C (♂ 0.5、 ♀ 0.6 µg eq./g) D (♂ 1.4、 ♀ 1.3 µg eq./g) F (♂ 1.5、 ♀ 2.6 µg eq./g) G (♂ 0.1、 ♀ - µg eq./g) O (♂ 0.8、 ♀ 0.7 µg eq./g) P (♂ 0.1、 ♀ - µg eq./g) R (♂ 0.6、 ♀ 0.4 µg eq./g) U (♂ 1.3、 ♀ 0.8 µg eq./g) <u>排泄 (168 時間):</u> 尿; ♂ 2.21、 ♀ 2.77% 糞; ♂ 92.84、 ♀ 89.68% 呼吸; ♂ -, ♀ - %	(2010)	c-13
M-2 GLP	動物代謝	ラット雌雄 [フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	単回経口 1 mg/kg	<u>血液中濃度推移:</u> T _{max} : ♂ 6、 ♀ 6 時間 T _{1/2} : ♂ 0.61、 ♀ 0.59 日 C _{max} : ♂ 0.193、 ♀ 0.219 µg eq./g AUC: ♂ 3.850、 ♀ 4.099 µg eq.·hr/g <u>血漿中濃度推移:</u> T _{max} : ♂ 6、 ♀ 6 時間 T _{1/2} : ♂ 0.55、 ♀ 0.54 日 C _{max} : ♂ 0.254、 ♀ 0.297 µg eq./g AUC: ♂ 4.699、 ♀ 5.123 µg eq.·hr/g <u>体内分布 (168 時間):</u> 血液: ♂ 0.002 µg eq./g 肝: ♂ 0.021 µg eq./g 腎: ♂ 0.006 µg eq./g 副腎: ♂ 0.003 µg eq./g 脂肪: ♂ 0.007 µg eq./g	(2010)	c-25

-: 検出限界未滿

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	供試動物植物等	試験項目試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-2 GLP	動物代謝	ラット雌雄 [フェニル環-(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	単回経口 1 mg/kg	<u>代謝 (尿; 48 時間、糞; 72 時間):</u> 尿: F (♂ 0.04%) O (♂ 0.11%) P (♂ 0.05%) Q (♂ 0.63%) R (♂ 0.23%) S (♂ 0.20%) 糞: A (♂ 1.81%) B (♂ 3.15%) F (♂ 7.02%) G (♂ 2.37%) N (♂ 1.11%) O (♂ 8.98%) P (♂ 5.23%) Q (♂ 10.35%) R (♂ 9.44%) S (♂ 1.38%) 血漿: B (♂ 0.003 µg eq./g) C (♂ 0.007 µg eq./g) D (♂ 0.022 µg eq./g) F (♂ 0.090 µg eq./g) G (♂ 0.005 µg eq./g) O (♂ 0.024 µg eq./g) P (♂ 0.003 µg eq./g) R (♂ 0.032 µg eq./g) U (♂ 0.012 µg eq./g)	(2010)	c-25
			単回経口 100 mg/kg	<u>排泄 (168 時間):</u> 尿: ♂ 3.31% 糞: ♂ 91.95% 呼気: ♂ - % <u>血液中濃度推移:</u> T _{max} : ♂ 9、 ♀ 12 時間 T _{1/2} : ♂ 0.74、 ♀ 0.69 日 C _{max} : ♂ 9.5、 ♀ 12.3 µg eq./g AUC: ♂ 270.7、 ♀ 334.9 µg eq.·hr/g <u>血漿中濃度推移:</u> T _{max} : ♂ 12、 ♀ 12 時間 T _{1/2} : ♂ 0.65、 ♀ 0.60 日 C _{max} : ♂ 11.1、 ♀ 14.5 µg eq./g AUC: ♂ 305.9、 ♀ 372.3 µg eq.·hr/g		

-: 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記 載 頁
M-3 省略						c-36
M-4 GLP	動物代謝	ラット雄 [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	胆管カニ ュレーション 単回経口 1 mg/kg	<p><u>体内分布 (72 時間):</u> 屠体; 2.84%</p> <p><u>代謝 (72 時間):</u> 胆汁; F (0.57%) O (0.46%) P (0.26%) Q (7.74%) R (0.44%) S (1.55%) F のグルクロン酸抱合体 (0.51%) G のグルクロン酸抱合体 (1.19%) O のグルクロン酸抱合体 (0.50%) P のグルクロン酸抱合体 (0.31%) R のグルクロン酸抱合体 (1.23%) S のグルクロン酸抱合体 (0.69%)</p> <p><u>排泄 (72 時間):</u> 胆汁; 43.22% 尿; 5.89% 糞; 40.11%</p> <p><u>吸収率 (72 時間):</u> 51.95% (尿、胆汁中排泄および 屠体中残存放射能の合計)</p>	(株) (2010)	c-37

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。

資料 No.	試験の 種類	供試動 植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																													
M-5	動物代謝	ラット雌 (授乳中) [ピラソール 環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	単回経口 1 mg/kg	<p><u>乳汁中濃度推移:</u> T_{max}: 9 時間 $T_{1/2}$: 0.48 日 C_{max}: 2.00 $\mu\text{g eq./g}$ AUC: 40.51 $\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/g}$</p> <p><u>代謝 (乳汁;6 時間):</u> A (0.049 $\mu\text{g eq./g}$) B (0.247 $\mu\text{g eq./g}$) C (0.109 $\mu\text{g eq./g}$) D (0.139 $\mu\text{g eq./g}$) F (0.541 $\mu\text{g eq./g}$) G (0.157 $\mu\text{g eq./g}$) R (0.240 $\mu\text{g eq./g}$)</p>	(2012)	c-42																													
			単回経口 100 mg/kg	<p><u>乳汁中濃度推移:</u> T_{max}: 9 時間 $T_{1/2}$: 0.57 日 C_{max}: 132.2 $\mu\text{g eq./g}$ AUC: 3054.4 $\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/g}$</p> <p><u>乳汁中代謝物:</u></p> <table border="0"> <tr> <td><u>3 時間</u></td> <td><u>6 時間</u></td> </tr> <tr> <td>A (17.3 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>A (13.5 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>B (73.2 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>B (62.2 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>C (11.4 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>C (14.2 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>D (6.2 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>D (4.7 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>F (2.8 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>F (5.7 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>R (1.1 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td><u>9 時間</u></td> <td><u>24 時間</u></td> </tr> <tr> <td>A (9.4 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>A (2.6 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>B (77.2 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>B (12.2 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>C (17.8 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>C (1.1 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>D (8.8 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>D (8.7 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>F (11.8 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>F (6.8 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td>R (1.7 $\mu\text{g eq./g}$)</td> <td>G (0.9 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>O (2.3 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>P (0.7 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> <tr> <td></td> <td>R (2.1 $\mu\text{g eq./g}$)</td> </tr> </table>			<u>3 時間</u>	<u>6 時間</u>	A (17.3 $\mu\text{g eq./g}$)	A (13.5 $\mu\text{g eq./g}$)	B (73.2 $\mu\text{g eq./g}$)	B (62.2 $\mu\text{g eq./g}$)	C (11.4 $\mu\text{g eq./g}$)	C (14.2 $\mu\text{g eq./g}$)	D (6.2 $\mu\text{g eq./g}$)	D (4.7 $\mu\text{g eq./g}$)	F (2.8 $\mu\text{g eq./g}$)	F (5.7 $\mu\text{g eq./g}$)		R (1.1 $\mu\text{g eq./g}$)	<u>9 時間</u>	<u>24 時間</u>	A (9.4 $\mu\text{g eq./g}$)	A (2.6 $\mu\text{g eq./g}$)	B (77.2 $\mu\text{g eq./g}$)	B (12.2 $\mu\text{g eq./g}$)	C (17.8 $\mu\text{g eq./g}$)	C (1.1 $\mu\text{g eq./g}$)	D (8.8 $\mu\text{g eq./g}$)	D (8.7 $\mu\text{g eq./g}$)	F (11.8 $\mu\text{g eq./g}$)	F (6.8 $\mu\text{g eq./g}$)	R (1.7 $\mu\text{g eq./g}$)	G (0.9 $\mu\text{g eq./g}$)	
<u>3 時間</u>	<u>6 時間</u>																																		
A (17.3 $\mu\text{g eq./g}$)	A (13.5 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
B (73.2 $\mu\text{g eq./g}$)	B (62.2 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
C (11.4 $\mu\text{g eq./g}$)	C (14.2 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
D (6.2 $\mu\text{g eq./g}$)	D (4.7 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
F (2.8 $\mu\text{g eq./g}$)	F (5.7 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
	R (1.1 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
<u>9 時間</u>	<u>24 時間</u>																																		
A (9.4 $\mu\text{g eq./g}$)	A (2.6 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
B (77.2 $\mu\text{g eq./g}$)	B (12.2 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
C (17.8 $\mu\text{g eq./g}$)	C (1.1 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
D (8.8 $\mu\text{g eq./g}$)	D (8.7 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
F (11.8 $\mu\text{g eq./g}$)	F (6.8 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
R (1.7 $\mu\text{g eq./g}$)	G (0.9 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
	O (2.3 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
	P (0.7 $\mu\text{g eq./g}$)																																		
	R (2.1 $\mu\text{g eq./g}$)																																		

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。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
M-6 GLP	植物代謝	ナス [ピラゾール環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環-(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	200ppm 300 L/10 a 相当 1 回処理	可食部 (果実) 中主要代謝物 (14 日後): A: 0.90~0.98 mg eq./kg (89.6~96.0% of TRR) B: <0.01~0.01 mg eq./kg (0.5~1.2% of TRR)	(2011)	c-47
M-7 GLP	植物代謝	ホウレンソウ [ピラゾール環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環-(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	200 ppm 300 L/10 a 相当 1 回処理	可食部 (葉) 中主要代謝物 (21 日後): A: 5.01~6.43 mg eq./kg (83.5~90.5% of TRR) B: 0.16~0.19 mg eq./kg (2.2~3.2% of TRR)	(2011)	c-54
M-8 GLP	植物代謝	リンゴ [ピラゾール環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環-(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	100 ppm 400 L/10 a 相当 1 回処理	可食部 (果実) 中主要代謝物 (51 日後): A: 0.01~0.02 mg eq./kg (19.1~27.6% of TRR) B: <0.01~0.01 mg eq./kg (14.7~15.5% of TRR) 非可食部 (葉) 中主要代謝物 (51 日後): A: 0.89~1.19 mg eq./kg (17.4~22.1% of TRR) B: 0.63~0.66 mg eq./kg (12.3% of TRR)	(2010)	c-59
E-1 省略						c-67
E-2 GLP	土壌中動態	好氣的 高知土壌 [ピラゾール環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環-(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	1 mg/kg 100 g ai/10 a 相当	土壌中濃度推移 (ピラゾール環標識体): A; DT ₅₀ ; 37.2 日、 DT ₉₀ ; 123.7 日 土壌中主要代謝物 (ピラゾール環標識体): A; 105% (0 日後) B; 82% (112 日後) 非抽出性放射能: 2.2~2.6% (180 日後) 二酸化炭素: 1.0% (180 日後)	(2011)	c-68

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																				
E-3 省略						c-74																				
E-4 GLP	加水分解 動態	3種緩衝液 [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	0.10 mg/L	半減期 (25°C): pH 4: 27.6~37.3 日 pH 7: 25.6~30.1 日 pH 9: 5.7~ 7.5 日 主要分解物 (30 日後): 添加放射能に対する割合 (%): <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>pH 4</th> <th>pH 7</th> <th>pH 9</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A:</td> <td>49.1~59.1</td> <td>45.4~51.2</td> <td>3.5~7.8</td> </tr> <tr> <td>B:</td> <td>24.9~25.4</td> <td>32.6~32.9</td> <td>78.6~80.7</td> </tr> <tr> <td>H:</td> <td>14.8</td> <td>13.3</td> <td>11.7</td> </tr> <tr> <td>L:</td> <td>25.1</td> <td>23.2</td> <td>17.2</td> </tr> </tbody> </table>		pH 4	pH 7	pH 9	A:	49.1~59.1	45.4~51.2	3.5~7.8	B:	24.9~25.4	32.6~32.9	78.6~80.7	H:	14.8	13.3	11.7	L:	25.1	23.2	17.2	(2012)	c-76
	pH 4	pH 7	pH 9																							
A:	49.1~59.1	45.4~51.2	3.5~7.8																							
B:	24.9~25.4	32.6~32.9	78.6~80.7																							
H:	14.8	13.3	11.7																							
L:	25.1	23.2	17.2																							
E-5 GLP	水中光分解 動態	緩衝液(pH 4) [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	0.10 mg/L	半減期 (25°C): 1.0~1.3 日 5.2~7.0 日(東京春換算) 主要分解物 (30 日後): 添加放射能に対する割合 (%): A: 0.1~0.4 B: 1.1~1.9 H: 49.3 K: 11.5 L: 20.4	(2012)	c-80																				
E-6 GLP	水中光分解 動態	自然水 [ピラゾール 環-3(5)- ¹⁴ C] および [フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	0.10 mg/L	半減期 (25°C): 0.9 日 4.7~5.2 日(東京春換算) 主要分解物 (30 日後): 添加放射能に対する割合 (%): A: 0.2~0.3 B: 3.4~8.6 H: 45.4 K: 11.4 L: 12.5	(2011)	c-84																				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目 試験方法	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
P-6 GLP	土壌吸脱着	[ピラゾール環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	0.005~0.1 mg/L	土壌吸着定数: K_F^{ads} : 45.2~191.4 K_{Foc}^{ads} : 5654~8843 土壌脱着定数: K_F^{des} : 42.8~211.9 K_{Foc}^{des} : 3886~9507	(2011)	c-89
P-9 GLP	生物濃縮性	ブルーギル [ピラゾール環-3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	0.5、5.0 μg/L	BCF _{ss} (ピフルブミド): 37 (試験濃度: 0.5 μg/L) 38 (試験濃度: 5.0 μg/L)	(2012)	c-92
P-13 GLP	生物濃縮性	コイ (B)	1.0、10 μg/L	BCF _{ss} (): 186 (試験濃度: 1.0 μg/L) 274 (試験濃度: 10 μg/L)	(2011)	c-98

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 [略号]	化学名 (IUPAC)	構造
A	親化合物	ピフルブミド [NNI-0711]	3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド	
B				
C				
D				
E				
F				
G				
H				

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 (IUPAC)	構造
I				
J				
K				
L				
M				
N				
O				
P				

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 (IUPAC)	構造
Q				
R				
S				
T				
U				

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. 動物代謝に関する試験

(1) [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルブミドのラットにおける単回経口投与代謝試験(吸収・分布・代謝・排泄) (資料 M-1)

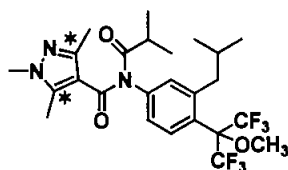
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルブミド

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド (以下ピラゾール環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

合成法 :

供試動物 : Fischer 系ラット 雌雄各 4 匹 (7~8 週齢)、体重: 雄 148.31~171.07 g、雌 96.85~117.20 g

方法

投与 : 非標識ピフルブミドを加え、所定の比放射能に希釈した ピラゾール環標識体を 0.1% Tween 80 含有 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸

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。

濁し、1 および 100 mg/kg の用量で、15～16 時間絶食させた供試動物に強制経口投与した。

【用量設定根拠】

用量 (mg/kg)	動物数	検討 項目	採取 試料	試料採取時間（投与後時間）
1	雌雄各 4 匹	吸収	血液	1、3、6、9、12、24、48、72、96、120、144、168
100	雌雄各 4 匹	吸収	血液	1、3、6、9、12、24、48、72、96、120、144、168
1	雌雄各 4 匹	分布	臓器・組織	6 (T _{max} 相当時間)
100	雌雄各 4 匹	分布	臓器・組織	9 (T _{max} 相当時間)
1	雌雄各 4 匹	分布	臓器・組織	24
100	雌雄各 4 匹	分布	臓器・組織	24
1	雌雄各 4 匹	分布 代謝 排泄	呼気 尿 糞 臓器・組織	24 24、48、72、96、120、144、168 24、48、72、96、120、144、168 168
100	雌雄各 4 匹	分布 代謝 排泄	呼気 尿 糞 臓器・組織	24 24、48、72、96、120、144、168 24、48、72、96、120、144、168 168

吸収 : 1 群雌雄各 4 匹のラットにピラゾール環標識体を 1 および 100 mg/kg の用量で投与した。投与後 1、3、6、9、12、24 時間、さらにその後 24 時間毎に 168 時間まで、眼窩静脈叢より血液を採取した。得られた血液の一部は遠心分離し、血漿を得た。血液は組織溶解剤および脱色剤で処理した後に、血漿はそのままシンチラントと混合し、液体シンチレーションカウンターによる放射能測定に供した。

分布 : 1 群雌雄各 4 匹のラットにピラゾール環標識体を 1 および 100 mg/kg の用量で投与した。上記の吸収試験にて得られた T_{max}（最高血中濃度到達時間）相当時間、

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。

減衰中の1時点および排泄試験終了時点、すなわち投与後6、24および168時間(1 mg/kg)、ならびに9、24および168時間(100 mg/kg)に供試動物を屠殺し、下記の臓器・組織を採取した。得られた臓器・組織は細切、均一化の後、一部を分取するか、全量を血液と同様の方法による放射能の測定に供した。なお、投与後168時間屠殺群には、下記の排泄試験終了後の動物を用いた。当該試験では、血液、血漿、脳、眼球、下垂体、唾液腺、甲状腺、胸腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾、膵、膀胱、胃、小腸、大腸、精巢(雄のみ)、前立腺(雄のみ)、卵巣(雌のみ)、子宮(雌のみ)、骨髄、白色脂肪、筋肉(大腿筋)および骨(大腿骨)を測定対象とした。

排泄 : 1群雌雄各4匹のラットにピラゾール環標識体を1および100 mg/kgの用量で投与し、尿および糞を24時間毎に投与後168時間まで採取した。糞試料は蒸留水を加えて均一化した後に、一部をアセトン/蒸留水(1/1, v/v)で希釈した。また、投与後24時間までの呼気は20%エタノールアミン水溶液(v/v)にてトラップした。得られた各試料の一部を液体シンチレーションカウンターによる放射能測定に供した。

代謝 : 上記の排泄試験の1 mg/kg投与群から投与後48時間までに得られた尿および糞、ならびに分布試験における投与後6時間(T_{max} 相当時間)の血漿を代謝物分析に供した。また、100 mg/kg投与群では、投与後48および72時間までに得られた尿および糞、ならびに投与後9時間(T_{max} 相当時間)の血漿を代謝物分析に供した。尿、糞および血漿はいずれも順次抽出、得られた抽出液を2次元薄層クロマトグラフィー - ラジオルミノグラフィーに供し、各代謝物由来の放射能を分離・定量した。代謝物の同定は合成標品とのコクロマトグラフィーにより行い、主要代謝物については、さらに高速液体クロマトグラフィー分析による確認を行った。

結果

吸収 : ピラゾール環標識体経口投与後の血液中および血漿中放射能濃度推移、およびこれらの結果より算出した薬物動学的パラメーターを表M-1-1および図M-1-1に示す。

低用量群の雌雄いずれにおいても、経口投与されたピラゾール環標識体の吸収は速やかであり、血液中および血漿中放射能は投与後3~6時間に最高濃度(C_{max})に達した後、半減期0.59~1.07日で速やかに減衰した。高用量群においては、最高濃度到達時間(T_{max})が僅かに遅延し投与後12時間となったものの、その後の減衰は低用量群同様速やかであり、半減期0.71~1.31日となった。高用量群と低用量群の C_{max} およびAUC(濃度曲線下面積)の比較から、ピフル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ブミドの吸収率は、高用量群では低用量群と比較し僅かに低下しているものと推定された。

表 M-1-1 ピラゾール環標識体単回経口投与後の血中放射能濃度推移

投与後時間 (時間)	血液および血漿中放射能濃度 (μg eq./g)							
	雄				雌			
	1 mg/kg		100 mg/kg		1 mg/kg		100 mg/kg	
	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
1	0.114	0.149	2.4	3.3	0.126	0.161	2.6	3.4
3	0.175	0.230	5.0	6.1	0.206	0.264	5.6	6.9
6	0.197	0.238	7.2	8.3	0.209	0.252	7.7	8.4
9	0.154	0.187	8.6	9.5	0.177	0.212	8.5	9.0
12	0.127	0.147	9.1	10.6	0.143	0.175	8.8	10.0
24	0.045	0.050	5.2	6.0	0.041	0.049	4.5	4.9
48	0.015	0.012	1.8	1.4	0.012	0.011	2.6	2.4
72	0.008	0.005	0.8	0.6	0.006	0.005	1.0	0.8
96	0.005	0.004	0.5	0.4	0.006	0.005	0.7	0.5
120	0.004	-	0.4	-	0.004	0.002	0.5	-
144	0.003	-	0.3	-	0.003	-	0.3	-
168	0.003	-	0.3	-	0.004	-	0.3	-
T _{max} (時間)	6	6	12	12	6	3	12	12
C _{max} (μg eq./g)	0.197	0.238	9.1	10.6	0.209	0.264	8.8	10.0
T _{1/2} (日)	1.07	0.61	1.30	0.71	1.06	0.59	1.31	0.81
AUC (μg eq.·hr/g)	4.242	4.555	321.4	312.5	4.682	4.932	337.1	320.7

-: 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

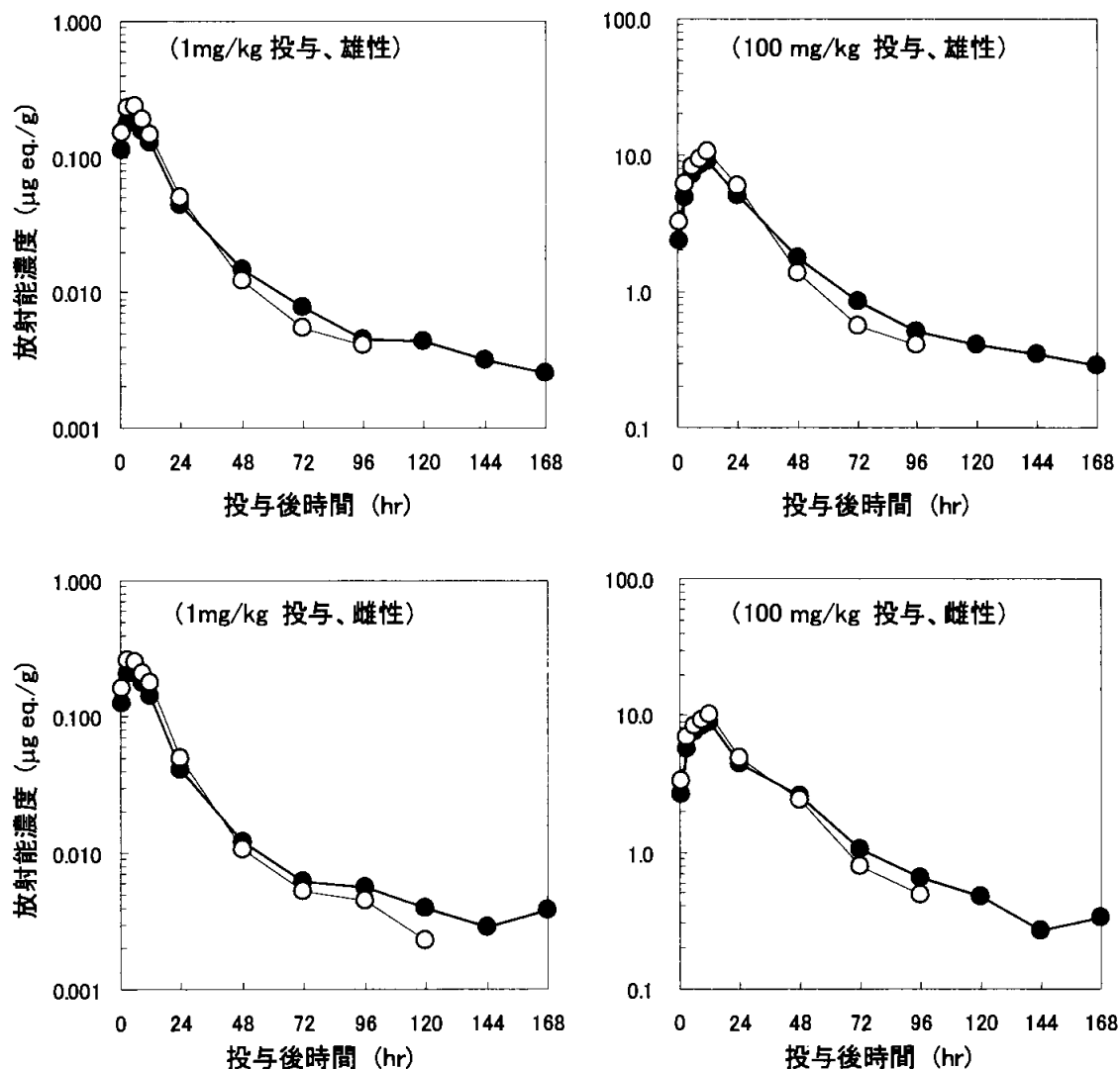


図 M-1-1: ピラゾール環標識体単回経口投与後の血中放射能濃度推移

—●—: 血液中放射能濃度、—○—: 血漿中放射能濃度

分布 :ピラゾール環標識体経口投与後、低用量群では 6、24 および 168 時間、高用量群では 9、24 および 168 時間における主要臓器・組織中放射能を表 M-1-2 および表 M-1-3 に示す。いずれの性および投与量においても、投与後初期には消化管、肝、腎、脂肪および副腎に高い放射能の分布が認められた。しかし、投与後 168 時間までに、これらの臓器を含めすべての臓器・組織中放射能は大きく減衰した。特異的に放射能の貯留する臓器・組織が認められなかったことから、本化合物の臓器・組織中への蓄積性は低いものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 M-1-2 ピラゾール環標識体単回経口投与後の雄性ラット臓器・組織中放射能濃度

臓器・組織	臓器および組織中放射能濃度 (μg eq./g)					
	雄					
	1 mg/kg			100 mg/kg		
	6 時間	24 時間	168 時間	9 時間	24 時間	168 時間
血液	0.152	0.028	-	8.6	4.0	0.2
血漿	0.197	0.032	-	10.4	4.3	-
脳	0.099 [0.10]	0.017 [0.02]	0.001 [<0.01]	11.4 [0.12]	2.5 [0.02]	0.1 [<0.01]
下垂体	0.440 [<0.01]	0.055 [<0.01]	-	19.7 [<0.01]	9.9 [<0.01]	-
眼球	0.067 [<0.01]	0.014 [<0.01]	0.001 [<0.01]	4.5 [<0.01]	1.9 [<0.01]	0.1 [<0.01]
甲状腺	0.443 [<0.01]	0.056 [<0.01]	-	25.3 [<0.01]	7.9 [<0.01]	-
唾液腺	0.507 [0.09]	0.101 [0.02]	0.001 [<0.01]	30.4 [0.06]	14.1 [0.03]	0.1 [<0.01]
心	0.523 [0.16]	0.096 [0.03]	0.001 [<0.01]	31.1 [0.11]	13.5 [0.05]	0.1 [<0.01]
肺	0.717 [0.30]	0.120 [0.05]	0.001 [<0.01]	41.5 [0.19]	17.9 [0.08]	0.1 [<0.01]
胸腺	0.268 [0.05]	0.053 [<0.01]	-	17.3 [0.03]	7.3 [0.01]	-
肝	2.571 [7.99]	0.552 [2.55]	0.015 [0.07]	115.3 [3.96]	54.8 [2.32]	1.1 [0.05]
腎	0.931 [0.67]	0.206 [0.14]	0.004 [<0.01]	50.2 [0.37]	24.1 [0.17]	0.3 [<0.01]
副腎	1.225 [0.02]	0.158 [<0.01]	0.004 [<0.01]	73.3 [0.02]	23.2 [<0.01]	-
脾	0.299 [0.08]	0.056 [0.01]	0.001 [<0.01]	18.8 [0.05]	8.1 [0.02]	0.1 [<0.01]
膵	0.645 [0.15]	0.143 [0.04]	0.001 [<0.01]	44.3 [0.09]	20.2 [0.04]	0.2 [<0.01]
胃	0.678 [0.38]	0.105 [0.07]	0.001 [<0.01]	46.9 [0.32]	11.4 [0.08]	0.1 [<0.01]
小腸	1.197 [3.31]	0.171 [0.44]	0.001 [<0.01]	69.3 [1.65]	25.6 [0.62]	0.2 [<0.01]
大腸	1.142 [1.29]	0.225 [0.31]	0.001 [<0.01]	66.9 [0.85]	35.6 [0.42]	0.1 [<0.01]
膀胱	0.286 [<0.01]	0.043 [<0.01]	-	12.7 [<0.01]	6.9 [<0.01]	-
精巣	0.163 [0.21]	0.037 [0.05]	-	13.0 [0.18]	4.9 [0.07]	-
前立腺	0.304 [0.02]	0.061 [<0.01]	-	20.0 [<0.01]	9.6 [<0.01]	-
白色脂肪	1.165	0.141	0.004	119.0	36.0	0.8
筋肉	0.234	0.052	0.001	14.9	6.3	-
骨髓	0.511	0.066	0.003	47.7	11.6	0.3
骨	0.199	0.012	0.002	9.5	3.7	-
消化管内容物	3.650 [43.27]	0.400 [5.55]	0.002 [0.02]	340.2 [52.50]	61.0 [8.72]	0.2 [0.02]

[]内は投与量に対する割合(%)

-: 検出限界未滿

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 M-1-3 ピラゾール環標識体単回経口投与後の雌性ラット臓器・組織中放射能濃度

臓器・組織	臓器および組織中放射能濃度 (μg eq./g)					
	雌					
	1 mg/kg			100 mg/kg		
	6 時間	24 時間	168 時間	9 時間	24 時間	168 時間
血液	0.166	0.033	-	8.1	3.0	-
血漿	0.209	0.038	-	9.5	3.4	-
脳	0.138 [0.16]	0.029 [0.04]	0.001 [<0.01]	13.4 [0.19]	2.4 [0.04]	0.1 [<0.01]
下垂体	0.491 [<0.01]	0.062 [<0.01]	-	17.7 [<0.01]	6.7 [<0.01]	-
眼球	0.084 [0.01]	0.018 [<0.01]	0.001 [<0.01]	5.0 [<0.01]	1.5 [<0.01]	-
甲状腺	0.375 [<0.01]	0.058 [<0.01]	-	27.5 [<0.01]	4.5 [<0.01]	-
唾液腺	0.645 [0.14]	0.104 [0.03]	-	35.3 [0.10]	9.5 [0.03]	0.1 [<0.01]
心	0.515 [0.17]	0.110 [0.04]	0.002 [<0.01]	32.1 [0.12]	8.8 [0.03]	0.1 [<0.01]
肺	0.790 [0.37]	0.137 [0.06]	0.001 [<0.01]	40.3 [0.21]	11.7 [0.07]	0.1 [<0.01]
胸腺	0.497 [0.12]	0.058 [0.01]	-	17.3 [0.05]	4.9 [0.01]	0.1 [<0.01]
肝	3.027 [9.41]	0.734 [3.12]	0.022 [0.09]	112.6 [3.66]	44.8 [1.90]	1.8 [0.07]
腎	1.031 [0.74]	0.203 [0.15]	0.005 [<0.01]	48.4 [0.37]	16.8 [0.13]	0.3 [<0.01]
副腎	1.353 [0.04]	0.163 [<0.01]	-	88.2 [0.03]	14.4 [<0.01]	-
脾	0.346 [0.09]	0.067 [0.02]	0.002 [<0.01]	20.3 [0.06]	5.4 [0.02]	0.2 [<0.01]
膵	0.700 [0.17]	0.149 [0.05]	0.002 [<0.01]	48.2 [0.17]	13.1 [0.04]	0.2 [<0.01]
胃	0.849 [0.56]	0.107 [0.07]	0.001 [<0.01]	59.1 [0.42]	9.4 [0.07]	0.1 [<0.01]
小腸	1.260 [3.76]	0.194 [0.51]	0.001 [<0.01]	74.9 [1.77]	19.3 [0.50]	0.2 [<0.01]
大腸	1.079 [1.38]	0.191 [0.24]	0.002 [<0.01]	61.5 [0.75]	21.8 [0.25]	0.1 [<0.01]
膀胱	0.265 [0.01]	0.051 [<0.01]	-	19.9 [<0.01]	5.5 [<0.01]	-
卵巣	0.566 [0.03]	0.085 [<0.01]	0.003 [<0.01]	37.7 [0.02]	7.8 [<0.01]	0.3 [<0.01]
子宮	0.329 [0.07]	0.053 [<0.01]	0.001 [<0.01]	31.6 [0.04]	11.5 [0.02]	0.1 [<0.01]
白色脂肪	1.441	0.170	0.004	145.8	26.2	0.7
筋肉	0.310	0.058	0.001	17.7	5.4	0.1
骨髄	0.688	0.089	0.003	74.6	9.9	-
骨	0.285	0.021	-	12.5	2.8	-
消化管内容物	2.156 [31.46]	0.448 [7.06]	0.001 [0.02]	273.2 [46.00]	48.7 [8.68]	0.1 [0.02]

[]内は投与量に対する割合(%)。

-:検出限界未滿。

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。

排泄 : 表 M-1-4 にピラゾール環標識体経口投与後の尿、糞および呼気中への放射能の累積排泄率を示す。本化合物の排泄には供試動物の性および投与量による顕著な差は認められず、主たる排泄経路は糞中への排泄であり、投与後 168 時間までに投与量の 89.68~94.98% が排泄された。一方、尿中への排泄は 2.21~4.35% に過ぎず、呼気中への放射能の排泄は認められなかった。

表 M-1-4 ピラゾール環標識体単回経口投与後の放射能排泄

投与後時間 (時間)	累積排泄率(投与放射能に対する割合: %)											
	雄						雌					
	1 mg/kg			100 mg/kg			1 mg/kg			100 mg/kg		
	尿	糞	呼気	尿	糞	呼気	尿	糞	呼気	尿	糞	呼気
0-24	2.79	74.62	-	1.58	65.45	-	3.74	75.35	-	2.13	64.20	-
0-48	3.15	88.26	/	1.98	86.74	/	4.23	91.20	/	2.63	85.12	/
0-72	3.22	90.80	/	2.13	91.00	/	4.30	93.72	/	2.73	88.71	/
0-96	3.25	91.46	/	2.17	92.33	/	4.32	94.24	/	2.75	89.39	/
0-120	3.27	92.24	/	2.19	92.64	/	4.33	94.79	/	2.76	89.56	/
0-144	3.29	92.40	/	2.21	92.77	/	4.35	94.91	/	2.77	89.64	/
0-168	3.29	92.47	/	2.21	92.84	/	4.35	94.98	/	2.77	89.68	/
ケージ洗浄 ^{a)}	0.03			0.08			0.07			0.07		
総回収率	95.78			95.13			99.39			92.51		

^{a)} 投与後 168 時間実施。

-: 検出限界未満。

斜線は試料採取せず。

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。

代謝

表 M-1-5 にピラゾール環標識体経口投与後の尿および糞中代謝物の分析結果を示す。供試動物の性および用量間で尿中代謝物に顕著な差異は認められず、何れの投与群においても、代謝物としてそれぞれ投与量の 1.66%以下と少量ではあるが

(F)、
(O)、 (P)、
(Q)、 (R)
および (S) が検出された。これらに加えて、フェニル環を欠いた代謝物である (H)、
(I) および (J) が微量代謝物として尿中に検出され、これらの合計は投与量の 0.08~0.10%となった。

糞中には、未変化のピフルブミド (A) および (B) に加え、尿中にも検出された (F)、
(O)、 (P)、
(Q)、 (R) およ
び (S) が検出された。さらに、糞中にのみ (G) が検出されたが、尿中に認められた (H)、 (I) および
(J) は糞中には検出されなかった。

低用量群では雌雄の何れにおいても、未変化のピフルブミド (A) として糞中に排泄される割合は 11.16~11.24%であったが、高用量群では 38.35~42.63%に増加した。この結果から、前述の高用量群における吸収率の低下が支持された。

表 M-1-6 にピラゾール環標識体経口投与後 6 および 9 時間 (T_{max} 相当時間) における血漿中代謝物の分析結果を示す。血漿中主代謝物として、何れの投与群においても (B)、 (C)、
(D)、 (F)、 (G)、
(O)、
(P)、 (R) および
(U) が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 M-1-5 ピラゾール環標識体の単回経口投与後の尿および糞中代謝物

代謝物	記号	代謝物量 (投与放射能量に対する割合: %)							
		雄				雌			
		1 mg/kg		100 mg/kg		1 mg/kg		100 mg/kg	
		尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
ピフルブミド	A	0.02	11.16	-	42.63	-	11.24	-	38.35
	B	-	11.23	-	17.35	-	10.86	-	18.90
	C	-	-	-	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-	-	-
	F	0.05	4.28	0.03	1.04	1.66	13.49	0.37	2.09
	G	-	1.95	-	0.37	-	4.31	-	0.35
	H	0.04	-	0.04	-	0.05	-	0.04	-
	I	0.06	-	0.04	-	0.05	-	0.04	-
	J	-	-	-	-	-	-	0.02	-
	O	0.09	5.56	0.08	5.65	0.10	5.25	0.27	7.84
	P	0.05	4.04	0.03	2.50	0.03	2.61	0.03	2.41
	Q	0.30	8.21	0.09	2.74	0.20	2.48	0.11	1.50
	R	0.11	5.13	0.03	0.93	0.33	6.60	0.15	1.09
	S	0.13	1.41	0.06	0.76	0.07	0.65	0.05	0.41
	U	-	-	-	-	-	-	-	-
TLC 原点		0.39	2.99	0.32	1.36	0.43	3.23	0.46	1.57
極性代謝物		-	5.21	-	1.94	-	4.90	-	1.40
その他合計 ^{a)}		1.17	20.26	0.67	9.52	0.81	17.93	0.75	8.70
非抽出画分		0.76	6.83	0.59	4.20	0.49	7.66	0.34	4.10
合計		3.15	88.26	1.98	91.00	4.23	91.20	2.63	88.71

^{a)}未同定代謝物の総和。個々の代謝物は 3.04% 以下。

-: 検出限界未満。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 M-1-6 ピラゾール環標識体の単回経口投与後最高血中濃度到達時間(T_{max})における血漿中代謝物

代謝物	記号	放射能濃度 (μg eq./g)			
		雄		雌	
		1 mg/kg ^{a)}	100 mg/kg ^{b)}	1 mg/kg ^{a)}	100 mg/kg ^{b)}
ピフルブミド	A	-	-	-	-
	B	0.002 [1.21]	0.9 [8.94]	0.002 [1.07]	1.1 [11.62]
	C	0.005 [2.39]	0.5 [4.87]	0.006 [2.80]	0.6 [6.77]
	D	0.014 [7.17]	1.4 [13.07]	0.010 [4.83]	1.3 [13.64]
	F	0.060 [30.17]	1.5 [14.31]	0.099 [47.19]	2.6 [27.55]
	G	0.004 [1.97]	0.1 [1.15]	0.006 [2.72]	-
	H	-	-	-	-
	I	-	-	-	-
	J	-	-	-	-
	O	0.022 [11.08]	0.8 [7.35]	0.014 [6.54]	0.7 [7.70]
	P	0.004 [1.77]	0.1 [0.49]	0.002 [1.15]	-
	Q	-	-	-	-
	R	0.018 [8.90]	0.6 [5.57]	0.011 [5.38]	0.4 [3.78]
	S	-	-	-	-
	U	0.022 [11.09]	1.3 [12.84]	0.020 [9.80]	0.8 [8.30]
TLC 原点		-	-	-	-
極性代謝物		-	-	-	-
その他合計 ^{c)}		0.038 [19.21]	2.7 [26.02]	0.029 [14.03]	1.7 [17.36]
非抽出画分		0.010 [5.03]	0.6 [5.37]	0.009 [4.48]	0.3 [3.28]
合計		0.197 [100]	10.4 [100]	0.209 [100]	9.5 [100]

[]内は血漿中総放射能に対する割合(%)。

^{a)} 投与後 6 時間試料。

^{b)} 投与後 9 時間試料。

^{c)} 未同定代謝物の総和。

-: 検出限界未滿。

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。

以上の結果から、ラットに経口投与されたピラゾール環標識体は速やかに体内に吸収され、各臓器、組織に分布した後、主として、イソブチリル基の脱離（脱アシル化）およびピラゾール環 1 位メチル基あるいはメキシ基の脱メチル化、イソブチル基 2 位の水酸化、イソブチル基 3 位の水酸化および更なる酸化、ピラゾール環 5 位メチル基の水酸化、さらにはこれらの組み合わせによる広範かつ多様な代謝を受けた後、速やかに糞および尿中に排泄されることが明らかとなった。フェニル環を欠きピラゾール環部分より成る代謝物が尿中に僅かながら検出されたものの、これらの代謝物は投与量の 0.08～ 0.10% と微量であり、両環を繋ぐアニリド結合は動物体内では比較的安定であることが示唆された。一旦体内に吸収された放射能も投与後 72 時間までに大半が排泄され、臓器・組織への蓄積性は認められなかった。各投与群におけるピラゾール環標識体の吸収、分布、代謝および排泄は概ね同様であり、雌雄間ならびに用量間で顕著な質的、量的な差異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。

(2) [フェニル環-(U)-¹⁴C]ピフルブミドのラットにおける単回経口投与代謝試験(吸収・分布・代謝・排泄)

(資料 M-2)

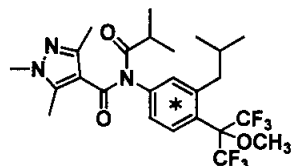
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年:2010 年

供試標識化合物

構造式



[フェニル環-(U)-¹⁴C] ピフルブミド

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : [フェニル環-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド (以下フェニル環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

合成法 :

供試動物 : Fischer 系ラット (7~8 週齢)、体重; 雄 140.36~159.56 g、雌 104.19~110.51g

方法

投与 : 非標識ピフルブミドを加え、所定の比放射能に調製した フェニル環標識体を 0.1% Tween 80 含有 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁し、

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。

1 および 100 mg/kg の用量で供試動物に強制経口投与した。また、投与前約 15～16 時間の絶食を行った。

【用量設定根拠】

用量 (mg/kg)	動物数	検討項目	採取 試料	試料採取時間（投与後時間）
1	雌雄各 4 匹	吸収	血液	1、3、6、9、12、24、48、72、96、120、144、168
100	雌雄各 4 匹	吸収	血液	1、3、6、9、12、24、48、72、96、120、144、168
1	雄 4 匹	分布	臓器	6 (T _{max} 相当時間)
1	雄 4 匹	分布	臓器	24
1	雄 4 匹	分布 代謝 排泄	呼気 尿 糞 臓器	24 24、48、72、96、120、144、168 24、48、72、96、120、144、168 168

- 吸収 : 1 群雌雄各 4 匹のラットに フェニル環標識体を 1 および 100 mg/kg の用量で投与した。投与後 1、3、6、9、12、24 時間、さらにその後 24 時間毎に 168 時間まで、眼窩静脈叢より血液を採取した。得られた血液の一部は遠心分離し、血漿を得た。血液は組織溶解剤および脱色剤で処理した後に、血漿はそのままシンチラントと混合し、液体シンチレーションカウンターによる放射能測定に供した。
- 分布 : 1 群 4 匹の雄性ラットに フェニル環標識体を 1 mg/kg の用量で投与した。上記の吸収試験にて得られた T_{max}（最高血中濃度到達時間）相当時間、減衰中の 1 時点および排泄試験終了時点、すなわち投与後 6、24 および 168 時間に供

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。

試験動物を屠殺し、下記の臓器・組織を採取した。得られた臓器・組織は全量または一部を細切後に分取し、血液と同様の方法による放射能濃度の測定に供した。なお、投与後 168 時間屠殺群には、下記の排泄試験終了後の動物を用いた。当該試験においては、血液、血漿、脳、眼球、下垂体、唾液腺、甲状腺、胸腺、心、肺、肝、腎、副腎、脾、膵、膀胱、胃、小腸、大腸、精巣、前立腺、骨髄、白色脂肪、筋肉（大腿筋）および骨（大腿骨）を分析対象とした。

排泄 :1 群 4 匹の雄性ラットに フェニル環標識体を 1 mg/kg の用量で投与し、尿および糞を投与後 168 時間まで採取した。糞試料は蒸留水を加えて均一化した後に、一部をアセトン/蒸留水 (1/1, v/v) で希釈した。また、投与後 24 時間までの呼気は 20% エタノールアミン水溶液 (v/v) にてトラップした。得られた各試料はシンチラントと混合し、液体シンチレーションカウンターによる放射能測定に供した。

代謝 :上記の排泄試験において投与後 48 および 72 時間までに得られた尿および糞ならびに分布試験における投与後 6 時間 (T_{max} 相当時間) の血漿および消化管内容物を代謝物分析に供した。尿、糞および血漿はいずれも

順次抽出し、消化管内容物は

抽出した。得られた抽出液を 2 次元薄層クロマトグラフィー - ラジオリミノグラフィーに供し、各代謝物由来の放射能を分離・定量した。代謝物の同定は合成標品とのコクロマトグラフィーにより行い、主要代謝物については、さらに高速液体クロマトグラフィー分析により確認した。

結果

吸収 :フェニル環標識体経口投与後の、血液中および血漿中放射能濃度推移およびこれらの結果より算出した薬物動学的パラメーターを表 M-2-1 および 図 M-2-1 に示す。何れの投与群においても、経口投与されたフェニル環標識体の吸収は速やかであり、血液中および血漿中放射能は投与後 6~12 時間に最高放射能濃度 (C_{max}) に達し、その後は半減期 0.54~0.74 日で速やかに減衰した。血液中および血漿中放射能濃度推移における、顕著な雌雄および用量間差は認められなかったものの、最高放射能濃度到達時間 (T_{max}) の僅かな遅延、高用量投与群と低用量群の AUC (濃度曲線下面積) の比較から、ピフルブミドの吸収率は、高用量群では僅かに低下しているものと推定された。

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。

表 M-2-1 フェニル環標識体単回経口投与後の血中放射能濃度推移

投与後時間 (時間)	血液および血漿中放射能濃度($\mu\text{g eq./g}$)							
	雄				雌			
	1 mg/kg		100 mg/kg		1 mg/kg		100 mg/kg	
	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
1	0.077	0.106	2.1	3.0	0.090	0.121	1.9	2.6
3	0.157	0.218	4.7	6.0	0.178	0.236	5.6	7.0
6	0.193	0.254	7.7	9.5	0.219	0.297	9.2	11.1
9	0.161	0.210	9.5	11.1	0.184	0.240	11.0	13.1
12	0.135	0.172	9.3	11.1	0.146	0.184	12.3	14.5
24	0.041	0.048	4.1	4.7	0.044	0.050	5.8	6.5
48	0.014	0.012	1.7	1.7	0.011	0.012	1.7	1.5
72	0.007	0.005	0.6	0.6	0.006	0.005	0.7	0.6
96	0.003	0.003	0.4	0.3	0.003	0.003	0.4	0.3
120	0.002	-	0.2	-	0.002	-	0.2	-
144	0.001	-	0.2	-	0.002	-	0.2	-
168	0.002	-	-	-	-	-	0.1	-
T_{max} (時間)	6	6	9	12	6	6	12	12
C_{max} ($\mu\text{g eq./g}$)	0.193	0.254	9.5	11.1	0.219	0.297	12.3	14.5
$T_{1/2}$ (日)	0.61	0.55	0.74	0.65	0.59	0.54	0.69	0.60
AUC ($\mu\text{g eq.}\cdot\text{hr/g}$)	3.850	4.699	270.7	305.9	4.099	5.123	334.9	372.3

-: 検出限界未満

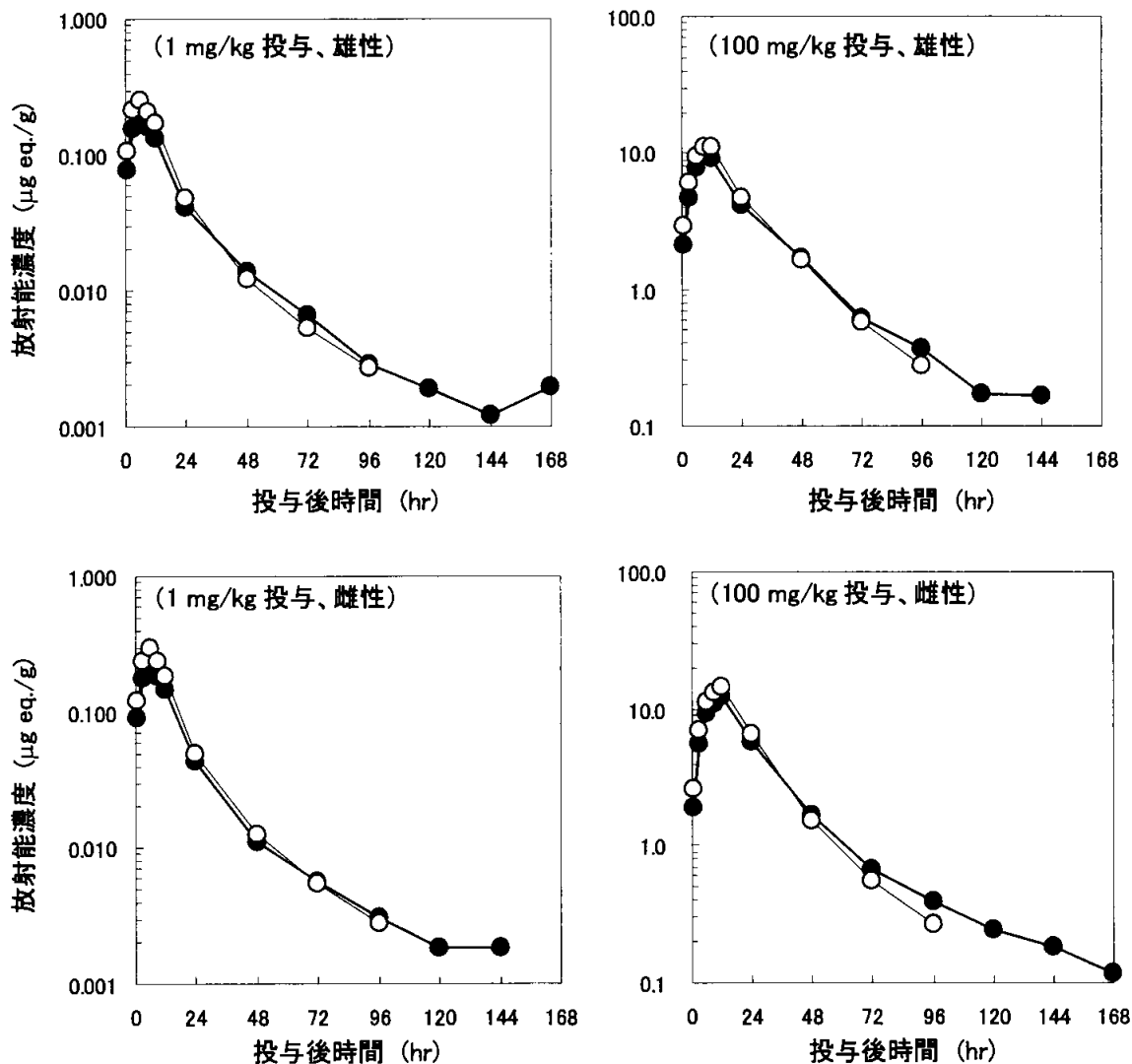


図 M-2-1: フェニル環標識体単回経口投与後の血中放射能濃度推移

●: 血液中放射能濃度、○: 血漿中放射能濃度

分布

: フェニル環標識体経口投与後 6、24 および 168 時間における主要な臓器・組織中放射能濃度を表 M-2-2 に示す。投与後初期には消化管、肝、腎、脂肪および副腎に高い放射能の分布が認められた。しかし、投与後 168 時間までに、これらの臓器を含めすべての臓器・組織中放射能濃度は大きく減衰し、特異的に放射能の貯留する臓器・組織は認められず、本化合物の臓器・組織中への蓄積性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。

表 M-2-2 フェニル環標識体の単回経口投与後の雄性ラット臓器・組織中放射能濃度

臓器・組織	臓器および組織中放射能濃度(μg eq./g)		
	雄		
	1 mg/kg		
	6 時間	24 時間	168 時間
血液	0.213	0.044	0.002
血漿	0.258	0.049	-
脳	0.165 [0.16]	0.028 [0.03]	0.001 [<0.01]
下垂体	0.476 [<0.01]	0.127 [<0.01]	-
眼球	0.098 [0.01]	0.025 [<0.01]	0.001 [<0.01]
甲状腺	0.458 [<0.01]	0.126 [<0.01]	-
唾液腺	0.787 [0.16]	0.166 [0.03]	0.002 [<0.01]
心	0.736 [0.23]	0.153 [0.05]	0.001 [<0.01]
肺	1.121 [0.47]	0.224 [0.09]	0.003 [<0.01]
胸腺	0.405 [0.07]	0.105 [0.02]	0.001 [<0.01]
肝	3.573 [9.88]	0.843 [3.21]	0.021 [0.09]
腎	1.285 [0.84]	0.328 [0.21]	0.006 [<0.01]
副腎	1.589 [0.04]	0.309 [<0.01]	0.003 [<0.01]
脾	0.440 [0.12]	0.093 [0.02]	0.002 [<0.01]
膵	1.085 [0.22]	0.233 [0.04]	0.002 [<0.01]
胃	1.204 [0.74]	0.172 [0.10]	0.002 [<0.01]
小腸	1.734 [3.08]	0.280 [0.58]	0.002 [<0.01]
大腸	1.843 [1.81]	0.309 [0.31]	0.001 [<0.01]
膀胱	0.307 [0.01]	0.076 [<0.01]	0.002 [<0.01]
精巣	0.288 [0.35]	0.067 [0.08]	0.001 [<0.01]
前立腺	0.608 [0.03]	0.149 [<0.01]	-
白色脂肪	1.886	0.245	0.007
筋肉	0.394	0.081	0.001
骨髄	0.732	0.110	0.002
骨	0.107	0.028	0.001
消化管内容物	1.999 [30.94]	0.353 [6.58]	0.001 [0.03]

[]内は投与量に対する割合(%)。

-: 検出限界未満。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

排泄 : 表 M-2-3 に フェニル環標識体経口投与後の尿、糞および呼気中への放射能の累積排泄率を示す。主たる排泄経路は糞中への排泄であり、投与量の 91.95% が排泄された。一方、尿中への排泄は投与量 3.31% に過ぎず、呼気中への放射能の排泄は認められなかった。

表 M-2-3 フェニル環標識体単回経口投与後の放射能の排泄

投与後時間 (時間)	累積排泄率(投与放射能に対する割合:%)		
	雄		
	1 mg/kg		
	尿	糞	呼気
0-24	2.32	63.74	-
0-48	2.97	81.40	
0-72	3.21	89.77	
0-96	3.27	91.28	
0-120	3.29	91.63	
0-144	3.30	91.82	
0-168	3.31	91.95	
ケージ洗浄 ^{o)}		0.04	
総回収率		95.29	

-: 検出限界未満

^{o)} 投与後 168 時間に実施

代謝 : 表 M-2-4 に フェニル環標識体経口投与後の尿および糞中代謝物の定量結果を示す。尿中代謝物として、投与量の 0.63% 以下と微量ではあるものの(F)、(O)、(P)、(Q)、(R) および(S) が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

糞中には上記の尿中代謝物と同様の(F)、(O)、(P)、(Q)、(R) および(S) が、投与量の 10.35~1.38% 検出され、さらに、未変化のピフルブミド (A)、その脱アシル体 (B)、および (G) が検出された。また、これらの代謝物に加え、ピラゾール環を欠いた代謝物、NNI-0711-aniline-RfOH (N) が 1.11% 検出された。

表 M-2-5 に フェニル環標識体経口投与後 6 時間 (T_{max} 相当時間) の血漿中および消化管内容物中代謝物の分析結果を示す。血漿中代謝物として、(B)、(C)、(D)、(F)、(G)、(O)、(P)、(R) および (U) が検出された。また、消化管内容物中には、(L) が検出された以外は、糞中代謝物と同一の代謝物が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 M-2-4 フェニル環標識体の単回経口投与後の尿および糞中代謝物

代謝物	記号	代謝物量 (投与放射能に対する割合: %)	
		雄	
		1 mg/kg	
		尿	糞
ピフルブミド	A	-	1.81
	B	-	3.15
	C	-	-
	D	-	-
	F	0.04	7.02
	G	-	2.37
	L	-	-
	N	-	1.11
	O	0.11	8.98
	P	0.05	5.23
	Q	0.63	10.35
	R	0.23	9.44
	S	0.20	1.38
	U	-	-
TLC 原点		0.53	3.03
極性代謝物群		-	5.05
その他合計 ^{a)}		1.13	22.47
非抽出画分		0.06	8.38
合計		2.97	89.77

-: 検出限界未満。

^{a)} 未同定代謝物の総和。個々の代謝物は 2.82% 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。

表 M-2-5 フェニル環標識体の単回経口投与後6時間 (T_{max}) の血漿および消化管内容物中代謝物

代謝物	記号	放射能濃度(μg eq./g)	
		雄	
		1 mg/kg	
		血漿	消化管内容物
ピフルブミド	A	-	0.371 [15.66]
	B	0.003 [1.29]	0.333 [14.74]
	C	0.007 [2.83]	-
	D	0.022 [8.38]	-
	F	0.090 [34.93]	0.105 [5.87]
	G	0.005 [1.73]	0.029 [1.57]
	L	-	0.005 [0.21]
	N	-	0.017 [0.89]
	O	0.024 [9.37]	0.041 [2.25]
	P	0.003 [1.07]	0.014 [0.77]
	Q	-	0.169 [9.24]
	R	0.032 [12.63]	0.134 [7.31]
	S	-	0.025 [1.38]
	U	0.012 [4.50]	-
TLC 原点		-	0.133 [7.13]
極性代謝物群		-	0.106 [5.56]
その他合計 ^{a)}		0.035 [13.63]	0.376 [20.04]
非抽出画分		0.025 [9.65]	0.142 [7.37]
合計		0.258 [100]	1.999 [100]

[]内は血漿あるいは消化管内容物中総放射能に対する割合(%)。

- : 検出限界未満。

^{a)} 未同定代謝物の総和。

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。

以上の結果から、ラットに経口投与された フェニル環標識体は速やかに体内に吸収され、各臓器、組織に分布した後、主として、イソブチリル基の脱離（脱アシル化）およびピラゾール環 1 位メチル基あるいはメキシ基の脱メチル化、イソブチル基 2 位の水酸化、イソブチル基 3 位の水酸化および更なる酸化、ピラゾール環 5 位メチル基の水酸化、さらにはこれらの組み合わせによる広範かつ多様な代謝を受けた後、速やかに糞および尿中に排泄されることが明らかとなった。さらに、ピラゾール環を欠きフェニル環部分のみより成る代謝物が糞中に検出されものの、この代謝物は投与量の 1.11% と微量であり、両環を繋ぐアニリド結合は動物体内では比較的安定であることが示された。一旦体内に吸収された放射能も投与後 72 時間までに大半が排泄され、臓器・組織への蓄積性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) ラットにおける反復経口投与代謝試験

(資料M-3)

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(4) [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルブミドのラットにおける胆汁排泄試験

(資料 M-4)

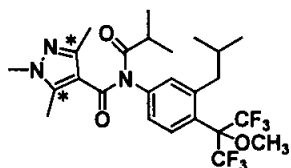
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミド

*:¹⁴C 標識位置

化学名 : [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-
[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-
カルボキサニリド (以下ピラゾール環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試動物 : 胆管カニュレーション手術済み Fischer 系ラット(10 週齢)、体重: 雄 210.16 ~
221.42 g

資料 M-1 および M-2 に示す単回投与試験において、ピフルブミドのラット生体内
運命に顕著な性差が認められなかったため、雄性ラットのみを使用した。

方法

投与および採取 : 非標識ピフルブミドを加え、所定の比放射能に調製したピラゾール環標識体を
0.1% Tween 80 含有 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸濁さ
せ、1 mg/kg の用量で供試動物に強制経口投与した。絶食は実施しなかった。ラ
ットは投与後、直ちにガラス製代謝ケージに収容し、非拘束下で維持した。胆汁
はフリームービングシステムを介して、ケージ外に導出した胆管カニュレを通じて
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日本農薬株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

【用量設定根拠】

試料の採取 : 投与後 72 時間まで、胆汁、尿および糞を採取した。最終サンプリング後に、ラットを屠殺し、消化管、肝、消化管内容物および屠体を得た。

放射能の測定 : 糞および消化管内容物は蒸留水を加えて均一化後、一部をアセトン/蒸留水 (1/1, v/v) で希釈した後に、消化管および肝は組織溶解剤および脱色剤で処理した後に、胆汁および尿はそのままシンチラントと混合し、液体シンチレーションカウンターによる放射能測定に供した。屠体はトルエン共存下、水酸化ナトリウム水溶液中で加温・溶解し、同様の方法による放射能測定に供した。

放射能の同定 : 投与後 72 時間までに得られた胆汁、尿および糞試料を代謝物分析に供した。いずれの試料も、順次抽出し、得られた抽出液を 2 次元薄層クロマトグラフィー - ラジオルミノグラフィーに供し、各代謝物由来の放射能を分離・定量した。代謝物の同定は合成標品とのコクロマトグラフィーにより行い、主要代謝物については、さらに高速液体クロマトグラフィー分析により確認した。

結果

放射能排泄 : ピラゾール環標識体経口投与後の胆汁、尿および糞への放射能の排泄率、ならびに消化管内容物および屠体中残存放射能を表 M-4-1 に示す。

経口投与されたピフルブミドの胆汁中への排泄は、投与後 72 時間までに投与放射能の 43.22% に達した。投与後 72 時間までの尿および糞中への累積排泄率は、それぞれ投与量の 5.89 および 40.11% であった。また、投与後 72 時間における消化管内容物および屠体中残存放射能は、それぞれ投与量の 0.66 および 2.84% と微量であった。

吸収率の推定 : 胆汁および尿中への排泄、屠殺時 (投与後 72 時間) における屠体への残存放射能の総和として算出した吸収率は 51.95% 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。

表 M-4-1 ピラゾール環標識体単回経口投与後の放射能の排泄(1 mg/kg、雄)

投与後時間 (時間)	累積排泄率(投与量に対する割合:%)			
	胆汁	尿	糞	合計
0-24	31.86	3.93	21.01	56.79
0-48	41.12	5.43	37.82	84.37
0-72	43.22	5.89	40.11	89.22
消化管内容物 ^{a)}				0.66
屠体 ^{b)}				2.84
ケージ洗浄 ^{a)}				0.31
吸収率 ^{c)}				51.95
総回収率				93.03

^{a)} 投与後 72 時間に採取。

^{b)} 投与後 72 時間に採取。肝臓および消化管を含む。

^{c)} 胆汁、尿および屠体中放射能の和として算出。

代謝物の分析 :ピラゾール環標識体経口投与後 72 時間までのラット胆汁中代謝物の定量結果を、尿および糞中代謝物の定量結果とともに表 M-4-2 に示す。胆汁中主代謝物は(Q)であった。その他、(F)、(O)、(P)、NNI-0711-NH-1-H-3'-(3-OH)-RfOH (R)、(S)およびそれら代謝物のグルクロン酸抱合体、さらに(G)のグルクロン酸抱合体も検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 M-4-2 ピラゾール環標識体単回経口投与後の胆汁、尿および糞中代謝物 (1 mg/kg、雄)

代謝物	記号	累積排泄率(投与量に対する割合:%)		
		胆汁	尿	糞
ピフルブミド	A	-	-	7.73
		-	-	12.13
		-	-	-
		-	-	-
		0.57	0.17	1.77
		-	-	0.73
		-	0.12	-
		-	0.13	-
		0.46	0.09	1.25
		0.26	0.12	1.37
		7.74	0.63	-
		0.44	0.23	2.80
		1.55	0.18	-
		0.51		
		1.19		
		0.50		
		0.31		
		1.23		
		0.69		
TLC 原点		0.89	0.37	0.47
その他合計 ^{a)}		24.76	3.48	8.60
非抽出画分		2.11	0.37	3.27
合計		43.22	5.89	40.11

-: 検出限界未満。

^{a)}未同定代謝物の総和。個々の代謝物は 2.48%以下。

斜線部は酵素処理を実施しなかったことを表す。

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。

以上の結果から、消化管から吸収されたピラゾール環標識体は、主にイソブチリル基の脱離（脱アシル化）後、ピラゾール環 1 位メチル基およびメキシ基の脱メチル化、イソブチル基 2 位の水酸化、イソブチル基 3 位の水酸化および更なる酸化、ピラゾール環 5 位メチル基の水酸化、さらにこれらの組み合わせ、グルクロン酸抱合等の広範かつ多様な代謝を受けた後、主に胆汁中に排泄されることが明らかとなった。投与後 72 時間までに胆汁および尿中に排泄された放射能および体内に残存した放射能の合計より消化管からの吸収率は 51.95%と推察された。

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。

5) [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミドのラット乳汁移行性試験

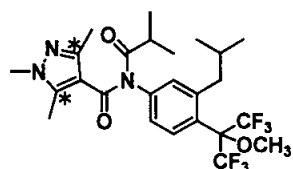
(資料 M-5)

試験機関: 日本農薬株

報告書作成年: 2012 年

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミド

* : ¹⁴C 標識位置

化学名 : [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-
[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-
カルボキサニリド (以下ピラゾール環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試動物 : Sprague-Dawley 系、雌性ラット (12 週齢で交配、出産 10 日目)

方法

投与 : 非標識ピフルブミドを加え、所定の比放射能に調製した ピラゾール環標識体を
0.1% Tween 80 含有 0.5% カルボキシメチルセルロースナトリウム水溶液に懸
濁し、1 および 100 mg/kg の用量で授乳中の供試動物に強制経口投与した。

【用量設定根拠】

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。

- 試料採取** : 投与後 1、3、6、9、12、24 時間、さらにその後 24 時間毎に 96 時間まで、乳汁を採取し、同時に眼窩静脈叢より血液を採取し、得られた血液を遠心分離し、血漿を得た。乳汁および血漿はそのままシンチラントと混合し、液体シンチレーションカウンターにより放射能を測定した。
- 放射能の分析** : 採取した乳汁の内、1 mg/kg 投与群では投与後 6 時間、100 mg/kg 投与群では投与後 3、6、9、24 時間後試料について代謝物分析に供した。乳汁および血漿は抽出し、得られた抽出液を濃縮後、2 次元薄層クロマトグラフィー - ラジオルミノグラフィーに供し試料中放射能を分離・定量した。代謝物の同定は合成標品とのクロマトグラフィーにより行った。
- 結果** :
- 乳汁移行性** : ピラゾール環標識体経口投与後の乳汁および血漿中放射能濃度推移およびこれらの結果より算出した薬物動力学的パラメーターを表 M-5-1 および図 M-5-1 に示す。試料採取時間に関わらず、いずれの用量群から得られた乳汁中にも放射能が検出された。乳汁中放射能濃度は、投与後 9 時間に最高濃度 (C_{max}) に達し、その後、半減期 0.48~0.57 日で速やかに減衰した。また、乳汁中放射能濃度および AUC (濃度曲線下面積) は血漿中のそれと比較し、6.9~7.5 倍高く、ピフルブミドあるいはその代謝物の乳汁移行性は明らかであった。

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。

表 M-5-1 ピラゾール環標識体単回経口投与後の乳汁および血漿中放射能濃度推移

投与後時間 (時間)	放射能濃度 (μg eq./g)			
	1 mg/kg		100 mg/kg	
	血漿	乳汁	血漿	乳汁
1	0.209	1.290	6.1	52.6
3	0.220	1.778	7.9	116.3
6	0.237	1.864	8.2	106.6
9	0.207	1.998	9.7	132.2
12	0.179	1.528	9.9	102.2
24	0.085	0.463	9.1	47.2
48	0.023	0.080	2.2	10.1
72	0.010	0.028	1.0	3.6
96	0.006	0.012	0.7	2.1
T _{max} (時間)	6	9	12	9
C _{max} (μg eq./g)	0.237	1.998	9.9	132.2
T _{1/2} (日)	0.66	0.48	0.78	0.57
AUC (μg eq.·hr/g)	5.913	40.509	404.9	3054.4
AUC 比 (乳汁/血漿)	6.9		7.5	

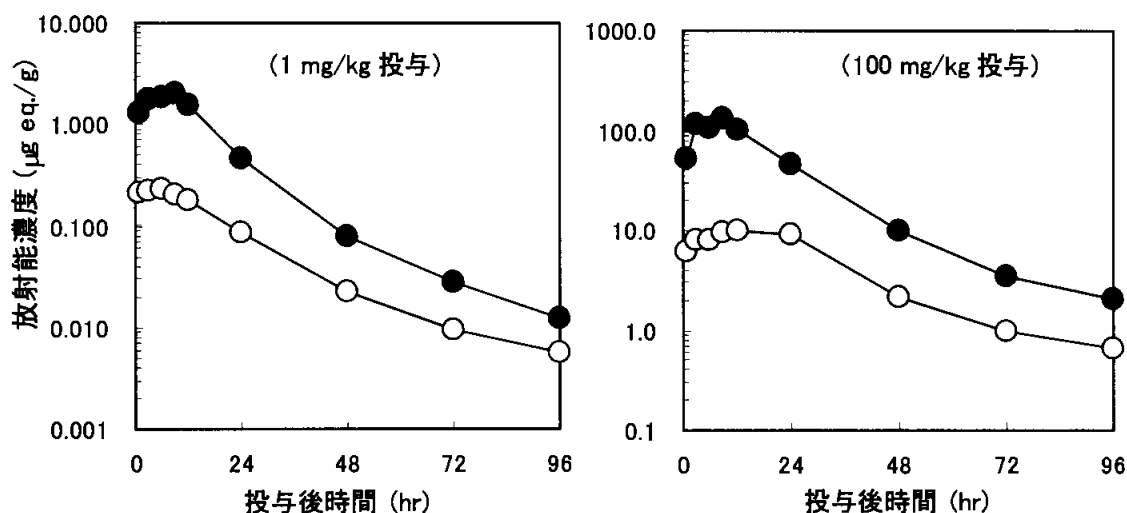


図 M-5-1: ピラゾール環標識体単回経口投与後の乳汁および血中放射能濃度推移

-●-: 乳汁中放射能濃度、-○-: 血漿中放射能濃度

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

代謝 ; 表 M-5-2 にピラゾール環標識体経口投与後の乳汁中代謝物を示す。乳汁中には、未変化のピフルブミド (A)、(B)、(C)、(D)、(F)、(G)、(O)、(P) および(R) 等の代謝物が検出された。これら代謝物のうち、ピフルブミド (A) 以外は何れも、ピラゾール環標識体を投与した雌ラットの血漿中 (資料 M-1) にも認められていることから、乳汁中に移行した放射能は血漿中の放射能と同質であるものと考えられた。

表 M-5-2 ピラゾール環標識体の単回経口投与後の乳汁中代謝物

代謝物	記号	放射能濃度 (μg eq./g)				
		1 mg/kg	100 mg/kg			
		6 時間	3 時間	6 時間	9 時間	24 時間
ピフルブミド	A	0.049 [2.66]	17.3 [14.85]	13.5 [12.72]	9.4 [6.89]	2.6 [4.49]
	B	0.247 [13.36]	73.2 [63.02]	62.2 [58.39]	77.2 [58.03]	12.2 [25.62]
	C	0.109 [5.83]	11.4 [9.81]	14.2 [13.30]	17.8 [13.36]	1.1 [2.52]
	D	0.139 [7.62]	6.2 [5.35]	4.7 [4.45]	8.8 [6.96]	8.7 [19.55]
	F	0.541 [29.03]	2.8 [2.44]	5.7 [5.38]	11.8 [9.23]	6.8 [13.74]
	G	0.157 [8.30]	-	-	-	0.9 [2.15]
	O	-	-	-	-	2.3 [5.42]
	P	-	-	-	-	0.7 [1.91]
	R	0.240 [12.75]	-	1.1 [1.08]	1.7 [1.31]	2.1 [4.69]
	U	-	-	-	-	-
その他合計		0.314 [16.74]	1.9 [1.66]	-	2.7 [2.09]	7.1 [13.40]
非抽出画分		0.069 [3.70]	3.4 [2.85]	5.0 [4.68]	2.9 [2.13]	2.5 [6.52]
合計		1.864 [100]	116.3 [100]	106.6 [100]	132.2 [100]	47.2 [100]

[]内は乳汁中総放射能に対する割合(%)。

-: 検出限界未満。

以上の結果、ラットに投与したピフルブミドあるいは代謝物の乳汁への移行性は明らかであり、投与ラットから採取した乳汁中には未変化のピフルブミドおよび血漿中に認められる殆どの代謝物が確認された。

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。

動物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. 植物代謝に関する試験

(1) ナスにおける代謝試験

(資料 M-6)

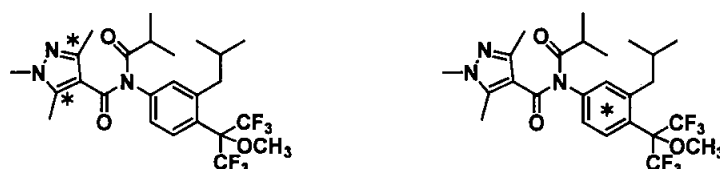
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルブミド [フェニル環-(U)-¹⁴C] ピフルブミド
*: ¹⁴C 標識位置

化学名 :

[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-
[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-
カルボキサニリド (以下ピラゾール環標識体)

[フェニル環-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-
トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサ
ニリド (以下フェニル環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

【標識位置の選択理由】

供試作物 :

ナス (品種: 千両 2 号)

栽培 :

試験に用いたナスには直径 40 cm のポットに 1 株ずつ定植され、温室内にて慣行の栽培管理・生育させたものから、被験物質処理時に最初の果実が収穫期における標準的な大きさまで肥大し、かつ複数の未成熟果実を实らせたものを選択し試験に供した。被験物質の散布およびその後の栽培は、放射線施設内の温室にて実施した。ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を用いた各試験期間中の温室内平均気温は、それぞれ 26.4°C (最低/最高、18.7/48.8°C) および 23.2°C (最低/最高、14.8/44.5°C) 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業株式会社にある。

方法

被験物質処理 :ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を非標識ピフルブミドにより各々 1.33 MBq/mg および 1.24 MBq/mg となるよう希釈した後、フロアブル白試料および蒸留水を加え 200 ppm 相当の散布液を調製した。散布液はガラス製アトマイザーを用いて、1 ポットあたりピフルブミドとして 7.5 mg 相当 (散布量 37.5 mL) を植物体全体に散布した。

【処理化合物量の算定根拠】

試料採取 :処理 0、7、14 日後に果実および葉を採取した。また、処理 14 日後にはこれらに加え、根部を採取した。

放射能の抽出、測定 :

放射能の分析 :

図 M-6-1 ナス試料（果実および葉）抽出・分画スキーム

結果

放射能の分布

：ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理した果実中放射能の分布およびその経時推移を表 M-6-1 に示す。何れの標識体処理区にも、果実の総残留放射能濃度（TRR）に明らかな減衰は認められず、試験期間を通じ 0.66～1.41 mg eq./kg が残存した。また、標識体間に、果実中放射能の分布に顕著な差異は認められず、TRR の 93.3% 以上が表面洗浄画分に回収され、その割合は日数の増加と共に、僅かに減少する傾向が認められた。一方、アセトンおよびアセトン/蒸留水抽出画分の放射能は僅かであり、TRR の 1.9%、0.02 mg eq./kg、以下に留まり、ピフルブミドおよびその代謝物の大部分は植物表面上に分布することが示された。また、抽出残渣画分には最大で TRR の 5.0% (0.04 mg eq./kg) の放射能が残存した。

ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理した葉中放射能の分布およびその経時推移を表 M-6-2 に示す。葉への残留濃度は処理直後には 55.35～74.47 mg.eq./kg であったが、処理 14 日後には 19.82～43.69 mg eq./kg となった。果実と同様に TRR の大部分（85.6% 以上）が表面洗浄画分に回収された。

最終採取時点において採取された根部からは最大でも 0.03 mg eq./kg の放射能が検出されたのみであり、放射能の植物体表面からの浸透性および下方移行性は極めて限定的であるものと推察された。

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。

放射能の分析 : ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理した果実中放射能の分析結果を表 M-6-3 に示す。何れの採取時点においても、果実中の主な残留物は未変化のピフルブミド (A) であり、TRR の 89.6~98.4% (0.63~1.38 mg eq./kg) を占めた。その他、代謝物として、(B)、(D)、(H) および (L) が検出されたが、全ての試料採取時点を通じて TRR の 1.2% (0.01 mg eq./kg) 以下の微量成分であった。ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理した葉中放射能の分析結果を表 M-6-4 に示す。葉から回収された放射能は、果実の場合と同様に TRR の 89.9% 以上を未変化体 (A) が占めた。これ以外に、複数の微量代謝物が検出されたが、TRR の 10% を超過する代謝物は認められず、果実中放射能との質的な差異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業株式会社にある。

表 M-6-1 ピフルブミドのナス果実における放射能分布

画分	放射能濃度 (mg eq./kg)					
	ピラゾール環標識体			フェニル環標識体		
	処理後日数			処理後日数		
	0日	7日	14日	0日	7日	14日
表面洗浄画分	0.72 [99.0]	0.85 [97.5]	0.96 [95.0]	1.37 [97.7]	0.64 [96.9]	0.94 [93.3]
アセトン抽出画分	<0.01 ^{a)} [0.8]	0.01 ^{a)} [1.4]	0.02 [1.8]	0.02 [1.6]	0.01 [1.9]	0.02 [1.6]
アセトン/蒸留水抽出画分	<0.01 ^{a)} [0.1]	<0.01 ^{a)} [0.1]	<0.01 [0.7]	<0.01 ^{a)} [0.5]	<0.01 ^{a)} [0.4]	<0.01 ^{a)} [<0.1]
抽出残渣画分	-	<0.01 [1.0]	0.03 [2.5]	<0.01 [0.2]	<0.01 [0.8]	0.04 [5.0]
総残留放射能 (TRR)	0.73 [100.0]	0.88 [100.0]	1.02 [100.0]	1.41 [100.0]	0.66 [100.0]	1.00 [100.0]

-: 検出限界未満。

[] 内の数値は総残留放射能に対する割合(%)。

^{a)} 酢酸エチル分配および放射能の分析に供試せず。

表 M-6-2 ピフルブミドのナス葉における放射能分布

画分	放射能濃度 (mg eq./kg)					
	ピラゾール環標識体			フェニル環標識体		
	処理後日数			処理後日数		
	0日	7日	14日	0日	7日	14日
表面洗浄画分	52.89 [95.6]	28.62 [94.1]	18.34 [92.5]	69.23 [93.1]	40.80 [85.7]	37.44 [85.6]
アセトン抽出画分	2.33 [4.2]	1.71 [5.2]	0.97 [4.9]	5.00 [6.6]	5.27 [10.8]	3.75 [8.6]
アセトン/蒸留水抽出画分	0.11 [0.2]	0.16 [0.5]	0.11 [0.6]	0.22 [0.3]	0.47 [1.0]	0.28 [0.6]
抽出残渣画分	0.02 [<0.1]	0.07 [0.2]	0.40 [2.0]	0.02 [<0.1]	1.18 [2.5]	2.23 [5.2]
総残留放射能 (TRR)	55.35 [100.0]	30.55 [100.0]	19.82 [100.0]	74.47 [100.0]	47.72 [100.0]	43.69 [100.0]

[] 内の数値は総残留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日本農薬株式会社にある。

表 M-6-3 ピフルブミドのナス果実中放射能の分析結果

代謝物	記号	放射能濃度 (mg eq./kg)					
		ピラゾール環標識体			フェニル環標識体		
		処理後日数			処理後日数		
		0日	7日	14日	0日	7日	14日
ピフルブミド	A	0.72 [98.4]	0.83 [95.4]	0.98 [96.0]	1.38 [98.2]	0.63 [95.9]	0.90 [89.6]
	B	<0.01 [0.4]	<0.01 [0.5]	<0.01 [0.5]	<0.01 [0.4]	<0.01 [0.8]	0.01 [1.2]
	D	-	-	-	-	-	<0.01 [<0.1]
	E	-	-	-	-	-	-
	H	<0.01 [0.3]	<0.01 [0.1]	<0.01 [<0.1]	/	/	/
	L	/	/	/	<0.01 [0.6]	<0.01 [0.9]	0.01 [1.0]
未同定代謝物合計		-	0.02 [1.5]	<0.01 [0.6]	<0.01 [<0.1]	<0.01 [1.2]	0.03 [3.1]
TLC 原点		-	-	<0.01 [0.2]	-	-	<0.01 [<0.1]
その他 ^{a)}		<0.01 [1.0]	0.01 [1.6]	<0.01 [0.3]	<0.01 [0.5]	<0.01 [0.4]	<0.01 [<0.1]
抽出残渣		-	<0.01 [1.0]	0.03 [2.5]	<0.01 [0.2]	<0.01 [0.8]	0.04 [5.0]
合計		0.73 [100.0]	0.88 [100.0]	1.02 [100.0]	1.41 [100.0]	0.66 [100.0]	1.00 [100.0]

-: 検出限界未満

[] 内の数値は総残留放射能 (TRR) に対する割合 (%)

^{a)} 酢酸エチル分配後の水相、および酢酸エチル分配に供さなかった抽出画分の合算値。

斜線は標識部位を含まない代謝物であることを示す。

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。

表 M-6-4 ピフルブミドのナス葉中放射能の分析結果

代謝物	記号	放射能濃度 (mg eq./kg)					
		ピラゾール環標識体			フェニル環標識体		
		処理後日数			処理後日数		
		0日	7日	14日	0日	7日	14日
ピフルブミド	A	54.95 [99.3]	27.50 [91.3]	18.98 [95.8]	73.69 [99.0]	44.22 [92.6]	39.28 [89.9]
	B	0.21 [0.4]	0.24 [0.8]	0.15 [0.7]	0.34 [0.5]	0.49 [1.0]	0.59 [1.3]
	D	-	-	<0.01 [<0.1]	-	0.03 [<0.1]	0.06 [0.1]
	E	-	-	<0.01 [<0.1]	-	-	-
	H	0.06 [0.1]	0.06 [0.3]	0.02 [<0.1]	/	/	/
	L	/	/	/	0.42 [0.6]	0.39 [0.8]	0.20 [0.4]
未同定代謝物合計		0.09 [0.2]	2.66 [7.3]	0.21 [1.1]	-	1.41 [2.7]	1.17 [2.7]
TLC 原点		-	0.03 [0.1]	0.04 [0.2]	-	0.15 [0.3]	0.17 [0.4]
その他 ^{a)}		0.01 [<0.1]	0.01 [<0.1]	0.02 [0.1]	-	-	-
抽出残渣		0.02 [<0.1]	0.07 [0.2]	0.40 [2.0]	0.02 [<0.1]	1.18 [2.5]	2.23 [5.2]
合計		55.35 [100.0]	30.55 [100.0]	19.82 [100.0]	74.47 [100.0]	47.72 [100.0]	43.69 [100.0]

-: 検出限界未満。

[] 内の数値は総残留放射能 (TRR) に対する割合 (%)。

^{a)} 酢酸エチル分配後の水相、酢酸エチル分配に供さなかった抽出液の合算値。

斜線は標識部位を含まない代謝物であることを示す。

以上の結果から、ナスに処理されたピフルブミドは一部が脱アシル (イソブチリル基の脱離) およびアニリド結合の加水分解、メトキシ基の脱メチル、ピラゾール環 5 位メチル基の水酸化等の代謝を受けるものの、大部分が未変化体として植物体上に残存するものと考えられた。また、植物体への浸透、移行性も僅かであり、大半の化合物は植物体表面に分布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。

(2) ホウレンソウにおける代謝試験

(資料 M-7)

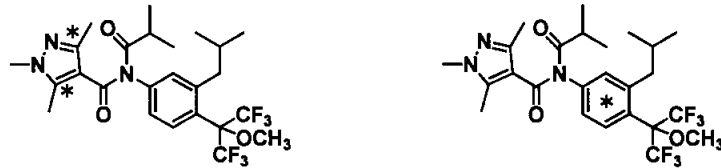
試験機関：日本農薬㈱

[GLP 対応]

報告書作成年：2011 年

供試標識化合物

構造式



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルプロミド [フェニル環-(U)-¹⁴C] ピフルプロミド

*:¹⁴C 標識位置

化学名

： [ピラゾール-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下ピラゾール環標識体)

： [フェニル-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下フェニル環標識体)

比放射能

放射化学的純度

【標識位置の選択理由】

供試作物

栽培

：ホウレンソウ (品種：サンライト)

：試験に用いたホウレンソウは、直径 30 cm のポットに 2 株ずつ栽培され、被験物質処理時に株の大きさが標準的な収穫時の大きさの約 50% に達し、良好な成育状態にある個体を使用した。被験物質の散布およびその後の栽培は、放射線施設内の温室にて実施した。試験期間中の温室内平均気温は、19.9°C (最低/最高、11.2/30.5°C) 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業株式会社にある。

方法

:

被験物質処理

;ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体、非標識ピフルブミド、ピフルブミドフロアブル剤 (12.5%, w/w) および蒸留水を混合し、ピフルブミド濃度 100 ppm 相当の散布液を調製した。最終的な標識体の比活性は各々0.998 および 0.933 MBq/mg ピフルブミドとした。得られた散布液はガラス製アトマイザーを用いて、1 ポットあたりピフルブミドとして 1.88 mg 相当 (散布量 18.8 mL) を、植物体全体に散布した。

【処理化合物量の算定根拠】

試料採取

; 両標識体の処理区とも処理 0、14、21 日後、さらにピラゾール環標識体については、これに加え処理 1 および 7 日後に、赤色根部を含む可食部を採取した。また、処理 21 日後には根部および処理後新たに展開した葉を別途採取した。

放射能の抽出、測定;

放射能の分析

:

図 M-7-1 ホウレンソウ試料抽出・分画スキーム

結果

放射能の分布

：ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理したホウレンソウ中放射能の分布およびその経時推移を表 M-7-1 に示す。放射能分布に両標識体間で大きな差異は認められず、処理直後の TRR は 12.41~12.67 mg eq./kg となった。TRR はその後、経時的に減衰し、処理後 21 日には 5.95~7.11 mg eq./kg となった。何れの採取時点においても、TRR の 80.1% を越える大部分の放射能は表面洗浄画分に回収され、その割合は日数の増加と共に、僅かに減少する傾向が認められた。一方、アセトンおよびアセトン/蒸留水により抽出された放射能は、それぞれ TRR の 17.9% および 1.5%、放射能濃度として 2.07 mg および 0.09 mg eq./kg 以下に留まった。また、抽出残渣画分の放射能は TRR の 0.4% (0.02 mg eq./kg) 以下に過ぎなかった。

一方、最終採取時点において採取された根部および新展開葉からは、最大でもそれぞれ 0.01 mg eq./kg および 0.03 mg eq./kg の放射能が検出されたのみであり、ピフルブミドおよびその代謝物の植物体内における移行性は極めて限定的であるものと推察された。

放射能の分析

：ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理したホウレンソウ中放射能の分析結果を表 M-7-2 に示す。何れの採取時点においても、主な残留物は未変化体のピフルブミド (A) であり、TRR の 83.4~100.0% (4.39~13.73 mg eq./kg) を占めた。その他、微量代謝物として (B) および (H) が各々最大で TRR の 3.2%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。
 (0.19 mg eq./kg) および TRR の 0.8% (0.05 mg eq./kg) 検出された他、(H) のグルコース抱合体と想定される極性代謝物(TLC 原点) が最大で TRR の 6.3% (0.36 mg eq./kg) 認められた。全ての採取時点を通じて未変化体以外に TRR の 10%を超える顕著な代謝物は認められなかった。

表 M-7-1 ピフルブミドのハウレンソウにおける放射能分布

画分	放射能濃度 (mg eq./kg)							
	ピラゾール環標識体					フェニル環標識体		
	処理後日数					処理後日数		
	0日	1日	7日	14日	21日	0日	14日	21日
表面洗浄	10.71 [87.1]	11.59 [83.8]	7.02 [85.3]	4.69 [80.1]	4.97 [83.1]	11.67 [91.9]	4.05 [86.1]	6.25 [87.1]
アセトン抽出	1.63 [12.3]	2.07 [15.6]	1.14 [13.8]	1.04 [17.9]	0.87 [15.2]	0.97 [7.8]	0.59 [12.7]	0.78 [11.6]
アセトン/蒸留水抽出	0.06 [0.5]	0.08 [0.6]	0.06 [0.8]	0.09 [1.5]	0.08 [1.4]	0.03 [0.3]	0.05 [1.0]	0.07 [1.0]
抽出残渣	<0.01 [<0.1]	<0.01 [<0.1]	0.02 [0.2]	0.02 [0.4]	0.02 [0.4]	<0.01 [<0.1]	0.01 [0.3]	0.02 [0.2]
総残留放射能 (TRR)	12.41 [100.0]	13.75 [100.0]	8.24 [100.0]	5.83 [100.0]	5.95 [100.0]	12.67 [100.0]	4.70 [100.0]	7.11 [100.0]

[] 内の数値は総残留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日本農薬株式会社にある。

表 M-7-2 ピフルブミドのホウレンソウ中放射能の分析結果

代謝物	記号	放射能濃度 (mg eq./kg)								
		ピラゾール環標識体					フェニル環標識体			
		処理後日数					処理後日数			
		0日	1日	7日	14日	21日	0日	14日	21日	
ピフルブミド	A	12.32 [99.3]	13.73 [99.8]	7.82 [94.9]	4.86 [83.4]	5.01 [83.5]	12.67 [100.0]	4.39 [93.4]	6.43 [90.5]	
	B	0.03 [0.2]	-	-	0.12 [2.1]	0.19 [3.2]	-	0.03 [0.7]	0.16 [2.2]	
	H	-	-	-	-	0.05 [0.8]	/	/	/	
TLC 原点		-	-	0.13 [1.6]	0.25 [4.4]	0.36 [6.3]	-	0.11 [2.5]	0.19 [2.9]	
未同定代謝物 1		-	-	0.25 [3.0]	0.24 [4.1]	0.28 [5.0]	-	0.15 [3.2]	0.31 [4.1]	
その他未同定代謝物の合計		0.05 [0.4]	-	-	0.25 [4.1]	<0.01 [0.1]	-	-	-	
水層		<0.01 [<0.1]	0.01 [0.1]	0.02 [0.3]	0.09 [1.6]	0.04 [0.7]	<0.01 [<0.1]	<0.01 [<0.1]	<0.01 [<0.1]	
抽出残渣		<0.01 [<0.1]	<0.01 [<0.1]	0.02 [0.2]	0.02 [0.4]	0.02 [0.4]	<0.01 [<0.1]	0.01 [0.3]	0.02 [0.2]	
合計		12.41 [100.0]	13.75 [100.0]	8.24 [100.0]	5.83 [100.0]	5.95 [100.0]	12.67 [100.0]	4.70 [100.0]	7.11 [100.0]	

-: 検出限界未満。

[] 内の数値は総残留放射能に対する割合(%)。

斜線は生成しえない代謝物であることを示す。

以上の結果から、ホウレンソウに処理されたピフルブミドは一部が脱アシル(イソブチリル基の脱離)およびアニリド結合の加水分解等の代謝を受けるものの、大部分が未変化体として植物体上に残存するものと考えられた。また、植物体への浸透、移行性も僅かであり、大半の化合物は処理部位の植物体表面に分布するものと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

(3) リンゴにおける代謝試験

(資料 M-8)

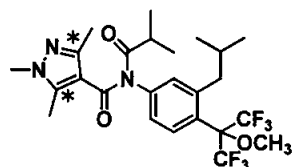
試験実施機関名: PTRL West, Inc.(米国)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2010 年

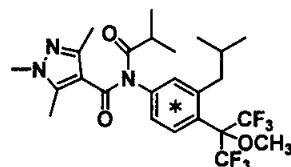
供試標識化合物

構造式



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]

ピフルブミド



[フェニル環-(U)-¹⁴C]

ピフルブミド

*:¹⁴C 標識位置

化学名

: [ピラゾール-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド (以下ピラゾール環標識体)

: [フェニル-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド (以下フェニル環標識体)

比放射能

放射化学的純度

【標識位置の選択理由】

供試植物

: リンゴ(品種: ふじ)

栽培

: 米国、カリフォルニア州マデラに位置する果樹園にて良好な生育状態にある約9年生の成木を標識体毎に1個体を供試した。また、被験物質処理を行わない対照区に1個体を用いた。試験期間中の最低気温は9℃、最高気温は36℃であった。総降雨量は44mmであり適宜灌水を実施した。

方法

被験物質処理

: ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を非標識ピフルブミドにより1.68 MBq/mg となるよう希釈した後、フロアブル白試料と混合し、さらに最終ピフルブ

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。

ミド濃度が 100ppm となるように、蒸留水中に均一に懸濁し、散布液とした。得られた散布液は、600 mL/区 (400 L/10 a、400 g/ha 相当) を目標に手動散布機を用いて、供試植物全体に散布した。なお、散布機のタンク内残存放射能を差し引いた実際の処理化合物量は、ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体処理で各々 357 および 349 g/ha 相当となった。

【処理量の選択理由】

試料採取 : 処理 0、7、14、28 および 51 日後に果実および葉を採取した。

放射能の抽出 :

放射能の測定 : 表面洗浄画分および抽出画分の放射能は直接試料をシンチラントと混和し、液体シンチレーションカウンターにて定量した。非抽出画分中の放射能はサンプルオキシダイザーを用いた燃焼法により定量した。

放射能の性格づけ : 一部の葉試料につき上記の抽出後に得られた非抽出画分について性格づけを行なった。抽出残渣試料 (約 4 g) に以下操作を連続的に行い (①1 M 塩酸、②6 M 塩酸、③1 M 水酸化カリウム (①~③いずれも 50°C、4 時間)、④24% (w/v) 水酸化カリウム (25°C、16.5 時間)、各処理により得られた抽出液中の放射能量を測定した。

放射能の分析 :

図 M-8-1 リンゴ試料(果実および葉)抽出・分画スキーム

結果

放射能の分布

ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理した果実における残留総放射能 (TRR) およびその分布の経時的推移を表 M-8-1 に示す。いずれの標識体処理区においても、放射能分布に大きな差異は認められず、処理直後の果実における TRR は 0.16~0.19 mg eq./kg であった。何れの標識体の場合も、TRR は速やかに減衰し処理 28 日後には 0.03 mg/kg となった。何れの標識体の場合も、処理直後においては表面洗浄画分には TRR の 93.6% 以上の放射能が回収された。表面洗浄による回収割合は、経時的に減少し処理 28 日後には TRR の 50.0 ~ 57.1% となった。一方で、抽出画分および非抽出画分中放射能の TRR に対する割合は経時的に増加し、抽出画分への回収割合は最大で 36.8% (処理 28 日後) となった。果実の非抽出画分放射能は何れの時点、何れの標識体の場合も TRR の 13.8% (0.01 mg eq./kg) 以下と少量に留まった。葉における TRR および放射能分布の経時的推移を表 M-8-2 に示す。いずれの標識体処理区でも、濃度は異なるものの果実の場合と類似した推移となったが、葉の非抽出画分には 0.01 mg eq./kg を超過する放射能が認められたことから、両標識体の 28 日および 51 日後試料について、さらなる放射能の性格付けを試みた。表 M-8-3 に示すように、塩酸次いで 1 M 水酸化カリウム処理による顕著な放射能遊離は認められず、各操作段階による抽出量は TRR の 0.9% 以下と僅かであった。さらに強塩基性条件 (24% KOH, 25°C, 16.5 時間) 処理では TRR の 1.5~5.0% に相当する放射能が遊離したが、2.6~6.1% がなおも抽出残渣に残存した。

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。

表 M-8-1 ピフルブミドのリンゴ果実における放射能分布

画分	放射能濃度 (mg eq./kg)									
	ピラゾール環標識体					フェニル環標識体				
	処理後日数					処理後日数				
	0	7	14	28	51	0	7	14	28	51
表面洗浄画分	0.16 [97.5]	0.08 [80.2]	0.07 [75.6]	0.03 [57.1]	0.04 [64.7]	0.18 [93.6]	0.07 [76.7]	0.07 [67.6]	0.03 [50.0]	0.03 [58.6]
抽出画分	— ^{a)}	0.02 [16.7]	0.02 [20.9]	0.02 [34.7]	0.02 [26.5]	0.01 [6.4]	0.02 [18.9]	0.03 [25.9]	0.03 [36.8]	0.02 [27.6]
抽出残渣画分	/	<0.01 [3.1]	<0.01 [3.5]	<0.01 [8.2]	<0.01 [8.8]	<0.01 [<0.1]	<0.01 [4.4]	<0.01 [6.5]	<0.01 [13.2]	<0.01 [13.8]
総残留放射能 (TRR)	0.16 [100.0]	0.10 [100.0]	0.09 [100.0]	0.05 [100.0]	0.07 [100.0]	0.19 [100.0]	0.09 [100.0]	0.11 [100.0]	0.07 [100.0]	0.06 [100.0]

[] 内の数値は総残留放射能に対する割合(%)。

^{a)} 洗浄後試料の放射能濃度が 0.004 mg eq./kg (TRR の 2.5%) であったので、抽出操作を行わなかった。

斜線は分析せず。

表 M-8-2 ピフルブミドのリンゴ葉における放射能分布

画分	放射能濃度 (mg eq./kg)									
	ピラゾール環標識体					フェニル環標識体				
	処理後日数					処理後日数				
	0	7	14	28	51	0	7	14	28	51
表面洗浄画分	16.90 [97.5]	11.32 [92.3]	8.23 [83.3]	4.89 [72.0]	2.88 [56.6]	16.00 [93.7]	9.88 [86.0]	6.84 [80.5]	4.04 [61.4]	2.87 [53.6]
抽出画分	0.40 [2.3]	0.77 [6.4]	1.42 [14.4]	1.51 [22.0]	1.76 [34.5]	1.05 [6.1]	1.23 [10.7]	1.20 [14.1]	1.81 [27.6]	1.80 [33.5]
抽出残渣画分	0.02 [0.1]	0.17 [1.2]	0.23 [2.3]	0.39 [5.8]	0.45 [8.9]	0.04 [0.2]	0.38 [3.3]	0.46 [5.4]	0.72 [11.0]	0.69 [12.9]
総残留放射能 (TRR)	17.33 [100.0]	12.26 [100.0]	9.88 [100.0]	6.79 [100.0]	5.10 [100.0]	17.08 [100.0]	11.49 [100.0]	8.50 [100.0]	6.58 [100.0]	5.36 [100.0]

[] 括弧内の数値は総残留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日本農業株式会社にある。

表 M-8-3 リンゴ葉中抽出残渣画分の性格づけ（各操作による抽出放射能量）

抽出操作	放射能濃度 (mg eq./kg)			
	ピラゾール環標識体		フェニル環標識体	
	採取日(処理後日数)		採取日(処理後日数)	
	28	51	28	51
1 M 塩酸 50°C、4 hr	0.04 [0.6]	0.04 [0.7]	0.03 [0.5]	0.02 [0.4]
6 M 塩酸 50°C、4 hr	0.03 [0.5]	0.04 [0.8]	0.03 [0.5]	0.03 [0.6]
1 M 水酸化カリウム 50°C、4 hr	0.04 [0.6]	0.04 [0.8]	0.06 [0.9]	0.05 [0.9]
24%水酸化カリウム 25°C、16.5 hr	0.10 [1.5]	0.12 [2.4]	0.26 [3.9]	0.27 [5.0]
処理後残渣	0.18 [2.6]	0.21 [4.2]	0.34 [5.2]	0.33 [6.1]
合計	0.39 [5.8]	0.45 [8.9]	0.72 [11.0]	0.69 [12.9]

[] 括弧内の数値は総残留放射能に対する割合(%)。

代謝物の分析

ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体処理区の果実中放射能の分析結果を表M-8-4に、葉中放射能の分析結果を表M-8-5に示す。処理直後の果実中にはTRRの87.6~92.0% (0.14~0.17 mg eq/kg) のピフルブミド(A)が検出された。ピフルブミド(A)はその後速やかに減衰し、処理28~51日後にはTRRの14.7~30.6% (0.01~0.02 mg eq./kg) にまで減衰した。主要代謝物として、(B)が最大でTRRの16.3~17.6% (0.01~0.02 mg eq./kg) 検出された。その他、果実中には高極性の未同定代謝物A-1が認められたが、その果実中濃度は0.01 mg eq./kg 未満と微量であった。

処理直後の葉には、TRRの94.6~95.7% (16.35~16.39 mg eq./kg) に相当するピフルブミド(A)が検出された。ピフルブミド濃度は果実の場合と同様、速やかに減衰し、処理後51日には、それぞれ17.4~22.1% (0.89~1.19 mg eq./kg) となった。主要代謝物として(B)がTRRの14.4~14.7% (1.42~1.60 mg eq./kg) が検出された。その他、代謝物として果実にも検出された高極性代謝物A-1、さらにA-2が検出された。これら代謝物は処理51日後に最大濃度となったが、検出量はいずれもTRRの7.4%以下(0.38 mg eq./kg)と微量であった。

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業株式会社にある。

表 M-8-4 ピフルブミドのリンゴ果実中放射能の分析結果

代謝物	記号	放射能濃度 (mg eq./kg)									
		ピラゾール環標識体					フェニル環標識体				
		採取日(処理後日数)					採取日(処理後日数)				
		0	7	14	28	51	0	7	14	28	51
ピフルブミド	A	0.14 [87.6]	0.05 [50.0]	0.03 [36.0]	0.02 [30.6]	0.01 [19.1]	0.17 [92.0]	0.05 [54.4]	0.05 [41.7]	0.02 [26.5]	0.02 [27.6]
a)	B	<0.01 [1.2]	0.01 [14.6]	0.01 [15.1]	<0.01 [16.3]	0.01 [14.7]	<0.01 [2.7]	0.01 [15.6]	0.02 [16.7]	0.01 [17.6]	<0.01 [15.5]
未同定代謝物 A-1		-	<0.01 [1.0]	<0.01 [2.3]	<0.01 [2.0]	<0.01 [4.4]	-	-	-	-	-
その他未同定代謝物類 ^{b)}		0.01 [8.7]	0.03 [32.3]	0.04 [43.0]	0.02 [42.9]	0.04 [52.9]	0.01 [5.3]	0.02 [25.6]	0.04 [35.2]	0.03 [42.6]	0.03 [43.1]
抽出残渣		/	<0.01 [3.1]	<0.01 [3.5]	<0.01 [8.2]	<0.01 [8.8]	<0.01 [<0.1]	<0.01 [4.4]	<0.01 [6.5]	<0.01 [13.2]	<0.01 [13.8]
合計		0.16 [100]	0.10 [100]	0.09 [100]	0.05 [100]	0.07 [100]	0.19 [100]	0.09 [100]	0.11 [100]	0.07 [100]	0.06 [100]

[]内の数値は総残留放射能に対する割合(%)、-: 検出限界未満。

a) および複数のその他未同定代謝物で構成。未同定代謝物の最大検出濃度は<0.01 mg eq./kg [1.9%]。

b) 複数の未同定代謝物で構成。個別の検出濃度は 0.01 mg eq./kg に満たなかった。

斜線は分析せず。

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業株式会社にある。

表 M-8-5 ピフルブミドのリンゴ葉中放射能の分析結果

代謝物	記号	放射能濃度 (mg eq./kg)									
		ピラゾール環標識体					フェニル環標識体				
		採取日(処理後日数)					採取日(処理後日数)				
		0	7	14	28	51	0	7	14	28	51
ピフルブミド	A	16.39 [94.6]	6.87 [56.1]	4.03 [40.8]	1.73 [25.5]	0.89 [17.4]	16.35 [95.7]	6.45 [56.1]	3.22 [37.9]	1.99 [30.2]	1.19 [22.1]
a)	B	0.46 [2.7]	1.32 [10.8]	1.42 [14.4]	0.89 [13.1]	0.63 [12.3]	0.33 [1.9]	1.60 [13.9]	1.25 [14.7]	0.88 [13.4]	0.66 [12.3]
未同定代謝物 A-1		-	0.02 [0.2]	0.30 [3.0]	0.31 [4.6]	0.38 [7.4]	-	-	0.02 [0.2]	0.03 [0.4]	0.03 [0.6]
未同定代謝物 A-2		-	0.04 [0.4]	0.08 [0.8]	0.08 [1.1]	0.14 [2.7]	-	-	-	-	0.01 [0.2]
その他未同定代謝物類 ^{b)}		0.45 [2.6]	3.83 [31.2]	3.82 [38.7]	3.38 [49.8]	2.61 [51.2]	0.36 [2.1]	3.06 [26.7]	3.56 [41.9]	2.96 [45.0]	2.78 [51.9]
抽出残渣		0.02 [0.1]	0.17 [1.2]	0.23 [2.3]	0.39 [5.8]	0.45 [8.9]	0.04 [0.2]	0.38 [3.3]	0.46 [5.4]	0.72 [11.0]	0.69 [12.9]
合計		17.33 [100]	12.26 [100]	9.88 [100]	6.79 [100]	5.10 [100]	17.08 [100]	11.49 [100]	8.50 [100]	6.58 [100]	5.36 [100]

[]内の数値は総残留放射能に対する割合(%)、-: 検出限界未満。

- a) および複数のその他未同定代謝物で構成。未同定代謝物の最大検出濃度は 0.21 mg eq./kg [1.8%]。
 b) 複数の未同定代謝物で構成。個別の最大検出濃度は 0.65 mg eq./kg [6.5%]であった。

以上の結果から、リンゴに処理されたピフルブミドは速やかに減衰し、脱アシル（イソブチリル基の脱離）等の代謝を受ける他、多種の未同定代謝物類へ代謝された。収穫時の可食部において TRR の 10% 以上を占める代謝物は未変化のピフルブミド (A) および(B) のみであ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。

植物における推定代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

3. 土壌中動態に関する試験

(1) 好氣的湛水土壌中動態試験

(資料 E-1)

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) 好氣的土壤中動態試験

(資料 E-2)

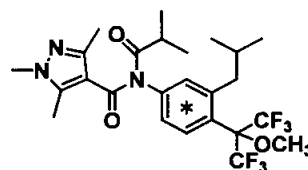
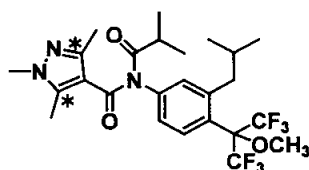
試験機関: 日本農薬(株)

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

供試標識化合物

構造式



[ピラゾール環-3(5)- ^{14}C]ピフルブミド [フェニル環-(U)- ^{14}C]ピフルブミド
*: ^{14}C 標識位置

化学名

: [ピラゾール環-3(5)- ^{14}C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下ピラゾール環標識体)
: [フェニル環-(U)- ^{14}C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下フェニル環標識体)

比放射能

放射化学的純度

【標識位置の選択理由】

供試土壌

: 社団法人日本植物防疫協会、高知試験場にて 採取された新鮮土壌を用いた。また、対照としてオートクレーブ滅菌土壌を用いた区 (処理 180 日後のみ) を設定した。供試土壌の特性を以下に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

分析項目		測定値
pH	H ₂ O	6.6
	KCl	5.5
有機物炭素含有率 (腐食) ^{a)}		14.3 (24.7) g/kg
陽イオン交換容量		13.3 cmol/kg
リン酸吸着係数		3.90 g/kg
最大容水量		594 g/kg
粒径組成	粗砂 2.0-0.2 mm	9.6%
	細砂 0.2-0.02 mm	47.2%
	シルト 0.02-0.002 mm	24.5%
	粘土 0.002 mm 以下	18.7%
土性 ^{b)}		埴壤土
粘土鉱物の種類		クロライト、イライト
バイオマス炭素量	試験開始前	156 mg/kg
	試験終了後	86 mg/kg

^{a)}腐植 = 有機炭素 × 1.724

^{b)} ISSS (国際土壌科学会)の指標に基づく分類。

方法

被験物質処理 : 乾燥重量として 30 g に相当の土壌を試験容器に充填し、2 週間の予備培養を実施した。非標識ピフルブミドにより適宜希釈した ピラゾール環標識体および フェニル環標識体のアセトン溶液を、ピフルブミド土壌中濃度 1 mg/kg 乾燥土壌となるよう土壌表面に滴下、混合した後、再び、予備培養と同条件下で培養した。予備培養およびその後の培養を通じ、土壌の水分含量は最大容水量に対し 40~60%となるように保ち、暗所条件下、25 ± 2 °C で維持した。また、試験容器には、揮発性放射能を捕集するため、ソーダ石灰およびウレタンを充填したトラップを接続し、自然通気とした。

【処理濃度設定根拠】 :

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。

試料採取 : 各被験物質を処理した後、処理直後（ピラゾール環標識体処理区のみ）および処理 180 日後まで経時的に土壤全量ならびにトラップ内のソーダ石灰およびウレタン各 1 試料を採取した。

放射能の抽出 ;

放射能の分析 ;

結果 :

放射能の抽出性 : [ピラゾール環-3(5)- ^{14}C] およびフェニル環標識体の土壤中放射能の抽出結果を表 E-2-1 および E-2-2 に示す。土壤に処理した放射能はアセトンにより定量的に抽出され、標識体に関わらず、本画分への放射能回収率は処理量の 90.4~105.3%となった。一方、アセトン/蒸留水およびアセトン/0.1 M HCl を用いた抽出による放射能の回収率は各々 3.5% および 3.3% 以下であり、さらに残渣中の非抽出性放射能は最高でも 2.6% に留まった。また、ソーダ石灰に捕集される揮発性放射能が、何れの標識体の処理区からも認められ、ピラゾール環標識体では 180 日後までに 1.0% となった。これら放射能は二酸化炭素に由来することが確認された。一方、両標識体ともにウレタントラップ中に放射能は認められなかった。以上の結果から、処理放射能の大部分 (90.4%以上) が回収されたアセトン抽出画分を更なる代謝物分析に供した。なお、アセトン/蒸留水およびアセトン/0.1 M 塩酸抽出画分中の放射能は処理放射能の 5%に満たないことから、さらなる代謝物の分析に供さなかった。

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。

表 E-2-1 ピラゾール環標識体の土壤中放射能の抽出

画分	処理放射能に対する割合(%)								
	経過日数(日)								
	0	1	3	14	28	56	112	180	180 ^{a)}
アセトン抽出	105.3	97.2	96.3	95.8	97.8	95.4	94.4	90.4	97.6
アセトン/蒸留水抽出	/	0.7	1.0	1.6	1.7	2.1	2.3	3.5	1.9
アセトン/0.1 M 塩酸抽出	/	0.4	0.7	1.3	1.5	2.0	2.3	2.9	1.5
二酸化炭素	/	-	-	-	0.1	0.4	0.5	1.0	/
抽出残渣	0.3	0.4	0.4	0.6	0.7	1.0	1.2	2.2	1.3
合計	105.6	98.7	98.4	99.4	101.8	100.8	100.7	100.1	102.3

斜線は試料採取せず。

-: 検出限界未満。

^{a)} 滅菌処理試料。

表 E-2-2 フェニル環標識体の土壤中放射能の抽出

画分	処理放射能に対する割合(%)			
	経過日数(日)			
	28	56	180	180 ^{a)}
アセトン抽出	97.0	96.1	92.3	98.9
アセトン/蒸留水抽出	1.5	2.0	3.4	1.6
アセトン/0.1M 塩酸抽出	1.3	2.1	3.3	1.1
二酸化炭素	-	-	0.1	/
抽出残渣	0.7	0.9	2.6	0.7
合計	100.5	101.5	101.7	102.3

斜線は試料採取せず。

-: 検出限界未満。

^{a)} 滅菌処理試料。

土壤中代謝物 : ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体を処理後、アセトンにより抽出された放射能の分析結果を表 E-2-3 および E-2-4 に示す。処理直後の土壤において、ピフルブミド (A) は処理量に対し 104.9% を占めたが、その後速やかに減衰し、180 日後には 4.0~5.0% となった。ピラゾール環標識体処理区の結果から算出されたピフルブミド (A) の DT₅₀ および DT₉₀ は各々、37.2 日および 123.7 日となっ

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。

た。両標識体から生成する代謝物はほぼ同様であり、いずれにおいても主代謝物としてイソブチリル基が脱離した(B) が生成し、最高で82.0% (ピラゾール環標識体処理区、112 日後) に達した。その他、さらなる代謝物として(E) が 6.6% (ピラゾール環標識体処理区、180 日後) 検出された他、(D)、(H)、(L)、(T) 等が検出されたが、これらの生成量は最高でも 1.5% に過ぎなかった。滅菌土壤に処理したピフルブミドにも明らかな分解が認められ、処理 180 日後には主分解物として(B) が 60.1~60.4% 生成したが、その生成量は非滅菌土壤に比較し少なく、(B) への分解には、化学的加水分解に加え、微生物による分解の双方が関与するものと考えられた。滅菌土壤には、その他に2.6%(H) および5.4%(L) が検出された。

表 E-2-3 ピラゾール環標識体の土壤中代謝物

代謝物/画分	記号	処理放射能量に対する割合(%)								
		処理後日数(日)								
		0	1	3	14	28	56	112	180	180 ^{a)}
ピフルブミド	A	104.9	94.6	88.1	51.6	40.1	20.1	6.6	4.0	34.6
	B	0.4	2.6	8.1	43.2	55.3	70.6	82.0	75.2	60.4
	D	-	-	-	0.1	0.3	0.7	0.9	1.5	-
	E	-	-	-	0.5	1.1	2.3	2.9	6.6	-
	H	-	0.1	0.1	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	2.6
	T	-	-	-	0.1	0.2	0.4	0.4	0.7	-
その他合計		-	-	-	-	0.4	1.1	1.4	2.2	-
アセトン/蒸留水抽出画分			0.7	1.0	1.6	1.7	2.1	2.3	3.5	1.9
アセトン/0.1 M 塩酸抽出画分			0.4	0.7	1.3	1.5	2.0	2.3	2.9	1.5
二酸化炭素			-	-	-	0.1	0.4	0.5	1.0	
抽出残渣		0.3	0.4	0.4	0.6	0.7	1.0	1.2	2.2	1.3
合計		105.6	98.7	98.4	99.4	101.8	100.8	100.7	100.1	102.3

斜線は試料採取せず。

-: 検出限界未満

^{a)} 滅菌処理試料

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 E-2-4 [フェニル環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミドの土壌中代謝物

代謝物/画分	記号	処理放射エネルギーに対する割合 (%)			
		処理後日数 (日)			
		28	56	180	180 ^{a)}
ピフルブミド	A	37.3	18.6	5.0	33.4
	B	57.3	72.1	76.6	60.1
	D	0.2	0.5	1.1	-
	E	0.7	2.3	6.0	-
	L	1.3	1.5	0.8	5.4
	T	-	0.2	0.9	-
その他合計		-	0.7	2.0	-
アセトン/蒸留水抽出画分		1.5	2.0	3.4	1.6
アセトン/0.1 M 塩酸抽出画分		1.3	2.1	3.3	1.1
二酸化炭素		-	-	0.1	
抽出残渣		0.7	0.9	2.6	0.7
合計		100.5	101.5	101.7	102.3

斜線は試料採取せず。

-: 検出限界未満

^{a)} 滅菌処理試料

揮発性放射能の同定 : ソーダ石灰に回収された放射能は、水酸化カリウム溶液で再捕集した後、塩化バリウム飽和溶液を添加した結果、放射能を含む不溶性白色沈殿物が確認されたことから、トラップ中の放射能は二酸化炭素に由来するものと考えられた。

以上の結果から、容器内土壌中に処理したピフルブミドは速やかに分解し、主代謝物としてイソブチリル基の脱離した(B)を生成し、最高で処理放射能の82.0%に達した(ピラゾール環標識体、112日後)。加えて、一部の(B)はメトキシ基の脱メチル、ピラゾール環3位および5位メチル基の水酸化やアニリド結合の加水分解を受け、さらに二酸化炭素への無機化も確認された他、僅かな非抽出性放射能が検出された。未変化体(A)および(B)のみが処理放射エネルギーの10%を超過し、その他の代謝物の生成量は最大でも6.6%に留まった

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) 嫌氣的土壤中動態試験

(資料 E-3)

試験省略

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

土壌における推定代謝・分解経路

4. 水中動態に関する試験

(1) 加水分解動態試験

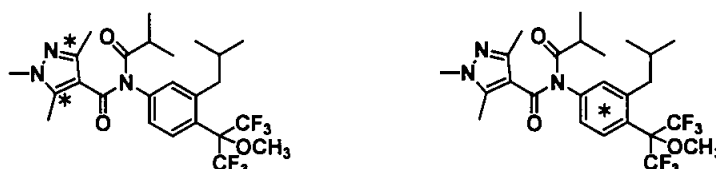
(資料 E-4)

試験機関:

報告書作成年: 2012 年[GLP 対応]

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルブミド [フェニル環-(U)-¹⁴C]ピフルブミド

* : ¹⁴C 標識位置

化学名 :

:[ピラゾール-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下ピラゾール環標識体)

:[フェニル-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下フェニル環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

供試緩衝液 :

0.05 M クエン酸ナトリウム (pH 4)、0.05 M リン酸二水素ナトリウム (pH 7)、0.05 M ホウ酸緩衝液 (pH 9)を調製し、細孔径 0.22 μm のメンブランフィルターにてろ過滅菌後、窒素ガスを通気することにより溶存酸素を除去した後、試験に供試した。

方法 :

試験液 :

0.02 g/L の [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] およびフェニル環標識体のアセトニトリル溶液 0.04 mL を各緩衝液 8 mL に処理し、最終ピフルブミド濃度が 0.10 mg/L (アセトニトリル終濃度: 0.5% (v/v)) となる試験液を調製した。ピフルブミドの水溶解度は 0.27 mg/L (20°C) と報告されていることからこの 1/2 以下となる 0.1 mg/L を試験濃度として選択した。

反応条件 :

試験液を褐色ガラス製試験管に充填し、25°C に設定した恒温槽中、遮光下で維持した。25°C での最長反応時間は 30 日間とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

分析：

半減期の算出：試験液中の残存未変化体濃度の対数を反応時間に対して最小二乗法により回帰し、その傾きから各反応条件下における加水分解反応速度定数を算出し、半減期に換算した。

結果：各 pH の緩衝液中における放射能の分析結果をそれぞれ、表 E-4-1、E-4-2 および E-4-3 に示す。また、各 pH における加水分解半減期を表 E-4-4 にまとめた。ピフルブミドは何れの pH においても分解し、特に塩基性条件 (pH 9) では、分解半減期が 5.7~7.5 日と速やかな減衰を示した。一方、中性から酸性条件下での半減期は 25.6~37.3 日であり、比較的安定であった。生成した分解物はいずれの pH においても同様であり、イソブチリル基が脱離した (B) が、塩基性条件下において最大で 80.7% 生成した他、(H) および (L) が、酸性条件下において最大で 14.8% および 25.1% 生成した。また、抽出後の水相中 (水性残渣) に残存する放射能は全ての pH を通じ、最大でも 3.5% に過ぎなかった。

ピフルブミドは pH 4~9 のいずれの条件下においても加水分解を受け、特に塩基性条件下で速やかな減衰を示した。処理放射能の 10% を超える主な加水分解物として (B) (H) および (L) が生成した。

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。

表 E-4-1 ピフルブミドの pH 4、25°Cにおける加水分解物

標識体	分解物/画分	記号	処理放射能量に対する割合(%)						
			経過日数(日)						
			0	1	3	7	14	21	30
[ピラゾール環 -3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	99.7	98.2	96.5	89.4	82.3	70.3	59.1
		B	0.9	1.4	3.9	7.7	12.0	18.0	25.4
		H	0.2	0.3	1.1	3.0	5.4	10.7	14.8
	水性残渣		0.9	0.9	1.3	1.3	1.8	3.1	3.5
	合計		101.6	100.9	102.7	101.3	101.4	102.1	102.8
[フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	99.3	98.0	94.5	87.9	72.0	62.6	49.1
		B	0.8	1.6	4.5	8.6	14.8	21.3	24.9
		L	0.4	0.8	2.7	4.7	13.2	17.2	25.1
	水性残渣		2.5	1.1	1.5	0.3	0.8	0.3	0.6
	合計		102.9	101.6	103.2	101.5	100.7	101.5	99.7

表 E-4-2 ピフルブミドの pH 7、25°Cにおける加水分解物

標識体	分解物/画分	記号	処理放射能量に対する割合(%)						
			経過日数(日)						
			0	1	3	7	14	21	30
[ピラゾール環 -3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	100.0	97.5	92.1	85.9	68.0	59.9	51.2
		B	1.1	2.1	6.5	10.8	21.6	24.9	32.9
		H	0.2	0.6	1.2	3.0	8.3	13.0	13.3
	水性残渣		0.9	0.9	1.6	1.0	2.6	3.3	3.1
	合計		102.2	101.2	101.4	100.6	100.6	101.1	100.6
[フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	99.2	96.2	91.3	81.0	67.3	52.9	45.4
		B	0.9	2.5	6.3	13.2	22.0	28.1	32.6
		L	0.3	1.1	2.1	6.2	11.1	20.0	23.2
	水性残渣		1.8	0.6	0.8	0.4	0.6	0.5	0.5
	合計		102.2	100.4	100.5	100.9	101.0	101.5	101.6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

表 E-4-3 ピフルブミドの pH 9、25°Cにおける加水分解物

標識体	分解物/画分	記号	処理放射エネルギーに対する割合(%)							
			経過日数(日)							
			0	0.125	0.25	0.5	1	3	10	30
[ピラゾール環 -3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	99.7	95.6	90.3	85.0	73.9	54.2	25.9	7.8
		B	1.0	5.8	9.6	13.3	24.0	42.9	66.5	78.6
		H	0.2	0.6	0.7	1.2	1.6	2.5	6.6	11.7
	水性残渣		0.7	1.4	1.0	1.9	1.4	1.5	1.9	2.7
	合計		101.5	103.4	101.6	101.4	100.9	101.1	101.0	100.8
[フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	99.2	95.3	89.6	82.0	71.6	58.4	35.0	3.5
		B	0.8	5.5	10.0	15.0	26.6	36.5	54.3	80.7
		L	0.5	0.9	1.2	1.9	2.6	4.6	10.3	17.2
	水性残渣		1.4	1.8	0.9	1.7	0.7	0.4	0.1	0.6
	合計		102.0	103.4	101.7	100.6	101.4	99.9	99.7	102.0

表 E-4-4 ピフルブミドの 25°Cにおける加水分解半減期

標識体	加水分解半減期(日)		
	pH 4	pH 7	pH 9
ピラゾール環標識体	37.3	30.1	7.5
フェニル環標識体	27.6	25.6	5.7

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2) 緩衝液中光分解動態試験

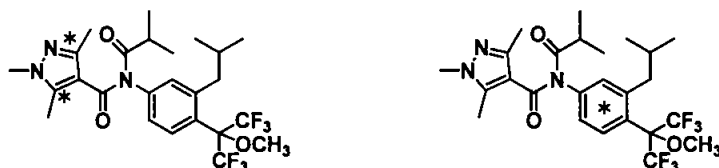
(資料 E-5)

試験機関: 日本農薬(株)

報告書作成年: 2012年[GLP 対応]

供試標識化合物

構造式



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミド [フェニル環-(U)-¹⁴C]ピフルブミド

*: ¹⁴C 標識位置

化学名

:[ピラゾール-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-
[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-
カルボキサニド (以下ピラゾール環標識体)

:[フェニル環-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-
トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-
カルボキサニド (以下フェニル環標識体)

比放射能

放射化学的純度

供試緩衝液

:ピフルブミドは酸性条件下において最も安定であることから、供試水として 5 mM
リン酸緩衝液 (pH 4) を用いた。緩衝液は使用に先立ち、細孔径 0.45 μm のメ
ンブレンフィルターにて濾過滅菌した。

人工光源

:キセノンアークランプ (波長 290 nm 以下除去のため紫外線吸収フィルター使用)

光放射照度

: 3.54 MJ/m²/d (波長範囲: 300 - 400 nm)

方法

試験溶液

:ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体のアセトニトリル溶液 0.02 g/L を緩
衝液 8 mL に添加し、最終ピフルブミド濃度が 0.10 mg/L (アセトニトリル終濃度:
0.5% (v/v)) となる試験液を調製した。ピフルブミドの水溶解度は 0.27 mg/L
(20°C) と報告されていることからこの 1/2 以下となる 0.1 mg/L を試験濃度と
して選択した。

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 ; 試験溶液は石英ガラス製円筒型容器に入れ（水深;約 4.8 mm）、25°Cに設定した恒温槽中に静置し光を照射した。気相中の放射能はウレタンおよび 20% エタノールアミン水溶液トラップによって捕集した。遮光区では同様に調製した容器をアルミホイルにて覆い遮光した。
- 照射時間 ; 光照射は最長で 30 日間実施した。これは、自然太陽光（北緯 35°（東京）、春（4 月～6 月まで）による 147 日間の照射量に相当した。
- 分析 ;

- 半減期の算出 ; 処理放射エネルギーに対するピフルブミドの残存率の対数変換値を光照射時間に対して最小二乗法により回帰し、得られた反応速度定数から半減期を算出した。

結果 ;

- 緩衝液中光分解物 ; 各試料から回収された放射能の分析結果を表 E-5-1 に示す。光照射によるピフルブミドの減衰は速やかであり、半減期はピラゾール環標識体で 1.3 日、フェニル環標識体で 1.0 日であった。光照射下での主な分解物は (B)、(H)、および (L) であり、それぞれ最高で処理放射能に対して 39.5%、58.7% および 47.3% が検出された。光照射 2～6 日に最高濃度に達した (B) はさらなる分解を受け減衰し、照射 30 日後には 1.1～1.9% となった。この時点で反応液中には (K) が 11.5%、気相中にはフェニル環の分解により生成した二酸化炭素が 18.2% 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、いずれも処理放射エネルギーに対して 10% 未満の微量成分であった。
- 遮光区における [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] およびフェニル環標識体の減衰は光照射区と比べて緩徐であり、30 日後においても 67.8% あるいは 42.6% のピフルブミドが残存した。遮光区で生成した主な分解物は (B) および (L) (フェニル

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

環標識体)であり、それぞれ最高で処理放射能に対して 38.3%および 17.9%が検出された。また、全ての抽出操作後、水相中に残存する放射能(水性残渣)が最高で 3.4%検出された。

表 E-5-1 ピフルブミドの緩衝液中光分解物 (照射区)

標識体	分解物/ 画分	記 号	処理放射能に対する割合(%)								
			経過日数(日)								
			0	1	2	4	6	10	14	30	遮光 30
[ピラゾール環 -3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	97.4	50.2	24.1	12.2	3.3	2.3	6.5	0.4	67.8
		B	1.0	24.2	32.7	32.1	39.5	25.3	15.1	1.1	28.7
		C	-	-	2.7	2.9	2.7	3.7	2.7	0.9	-
		H	-	21.0	34.8	44.2	47.8	50.0	58.7	49.3	3.5
		I	-	-	0.2	0.6	0.8	1.8	0.7	2.7	-
		K	-	-	1.0	1.9	2.0	6.8	4.5	11.5	-
	TLC原点 ^{a)}		-	-	-	1.3	1.0	4.4	4.5	10.4 ^{a)}	-
	未同定分解物 ^{b)}		-	-	-	-	-	2.5	5.1	14.4	-
	二酸化炭素		/	0.1	0.5	0.5	0.5	1.1	1.7	2.4	-
	揮発性有機物 ^{c)}		/	0.3	0.2	-	-	0.1	0.1	-	0.3
	水性残渣		0.9	0.8	2.0	1.2	0.6	1.2	0.0	1.2	1.6
合計		99.2	96.6	98.2	97.0	98.1	99.1	99.7	94.4	101.9	
[フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	99.4	48.3	22.5	5.7	1.4	0.3	0.1	0.1	42.6
		B	0.6	21.5	31.4	29.1	24.6	9.0	6.6	1.9	38.3
		C	-	0.2	0.9	1.6	1.5	1.9	1.5	1.4	-
		L	0.3	29.1	36.8	42.5	47.3	42.4	36.9	20.4	17.9
		M	-	0.3	0.6	1.0	1.7	1.8	1.6	1.3	-
	TLC原点 ^{a)}		-	-	-	-	-	2.0	1.8	3.7	-
	未同定分解物 ^{b)}		-	2.2	7.3	10.1	14.2	32.7	34.1	44.4	-
	二酸化炭素		/	-	1.2	2.1	1.2	6.2	13.0	18.2	0.2
	揮発性有機物 ^{c)}		/	0.3	0.4	0.5	0.3	1.1	1.2	1.8	0.4
	水性残渣		0.1	1.3	2.2	2.1	3.4	0.2	0.3	0.8	0.9
	合計		100.5	103.3	103.3	94.8	95.5	97.6	97.2	93.9	100.2

-: 検出限界未満、斜線は試料採取せず。

a): 複数の極性分解物から構成され、個々の分解物は処理放射能の 5.3%を超過しない。

b): 未同定分解物(個々の分解物は処理放射能の 6.7%を超過しない)の合計値を申請者が算出。

c): ウレタントラップに捕集された放射能。

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。

水中光分解半減期 ; 本試験条件下におけるピフルブミドの緩衝液中光分解半減期は 1.0~1.3 日、生成する(B) の緩衝液中光分解半減期は 4.6 ~ 6.6 日*となった。ピフルブミドの緩衝液中光分解半減期を自然太陽光下 ((北緯 35° (東京)、春(4月~6月まで)) の水中光分解半減期(DT50_{sun}) に換算した結果、5.2~7.0 日となった。また、分解半減期を自然太陽光下 ((北緯 35° (東京)、春(4月~6月まで)) の水中光分解半減期 (DT50_{sun}) に換算した結果、24~36 日*となった。

以上の結果から、緩衝液中においてピフルブミドは光照射により、速やかに分解し、主な分解物として (B)、(H)、(K) および(L) を生成した。これらの分解物はさらに分解を受け、一部は最終的に二酸化炭素に無機化されることが明らかになった。

* 申請者が算出。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

(3) 自然水中光分解動態試験

(資料 E-6)

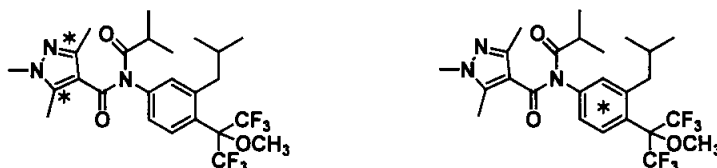
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] ピフルブミド [フェニル環-(U)-¹⁴C] ピフルブミド

* : ¹⁴C 標識位置

化学名 :

[ピラゾール-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下ピラゾール環標識体)

[フェニル-(U)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (以下フェニル環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

供試水 :

河川 (採取地点:大阪府河内長野市滝畑 1392 付近) から採取した自然水を用いた。自然水は使用に先立ち、細孔径 0.45 μm のメンブレンフィルターにて濾過滅菌した。

人工光源 :

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)。

光放射照度 :

3.54 MJ/m²/d (波長範囲: 300 - 400 nm)

方法 :

試験液の調製 :

ピラゾール環標識体およびフェニル環標識体のアセトニトリル溶液 0.02 g/L を自然水 8 mL に添加し、最終ピフルブミド濃度が 0.10 mg/L (アセトニトリル終濃度: 0.5% (v/v)) となる試験液を調製した。

光照射 :

試験液は石英ガラス製円筒型容器に入れ(水深は約 4.8 mm)、25°C に設定した恒温槽中に静置し光を照射した。気相中の放射能はウレタンおよび 20% エタ

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。

ノールアミン水溶液トラップによって捕集した。遮光区では同様に調製した容器をアルミホイルにて覆い遮光した。

照射時間 ; 光照射は最長で 30 日間実施した。これは、自然太陽光 ((北緯 35° (東京)、春 (4 月~6 月まで)) による 147 日間の照射量に相当した。

分析 ;

半減期の算出 ; 処理放射能に対するピフルブミドの残存率の対数変換値を光照射時間に対して最小二乗法により回帰し、得られた反応速度定数から半減期を算出した。

結果 ;

自然水中光分解物 ; 各試料から回収された放射能の分析結果を表 E-6-1 に示す。光照射によるピラゾール環標識体およびフェニル環標識体の分解は速やかであり、半減期はいずれも 0.9 日であった。光照射下の主な分解物は(B)、(L) および(H) であり、それぞれ最高で処理放射能に対して 35.1%、47.8% および 54.0% が検出された。さらに、照射 2~4 日に最高濃度に達した(B) はその後減衰し、さらなる代謝物を生成し、光照射 30 日後には反応液中に(K) が 11.4%、気相中にはフェニル環の分解により生成した二酸化炭素が 12.3% 検出された。その他に多数の未同定分解物が検出されたが、何れも処理放射能に対して 10% 未満であった。

一方、遮光区におけるピラゾール環標識体およびフェニル環標識体の減衰は光照射区と比べて緩徐であり、30 日後においても 22.8% のピフルブミドが残存した。遮光区で生成した主な分解物は (B)、(L) および(H) であり、それぞれ 30 日後で処理放射能に対して 57.5%、54.1% および 15.7% が検出された。その他には全ての抽出操作後、水層中に残存する放射能(水性残渣)が検出されたが、最高で処理放射能に対して 6.1% 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。

表 E-6-1 ピフルブミドの自然水中光分解物(照射区)

標識体	化合物/画分	記号	処理放射エネルギーに対する割合(%)								
			経過日数(日)								
			0	1	2	4	6	10	14	30	暗所 30
[ピラゾール環 -3(5)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	98.2	38.3	16.2	5.6	1.1	1.4	0.2	0.2	22.8
		B	0.8	27.4	29.5	31.1	24.9	18.1	22.9	3.4	57.5
		C	-	0.3	0.5	1.1	1.9	2.4	4.2	1.4	-
		H	-	23.5	37.6	47.7	54.0	46.6	42.2	45.4	15.7
		I	-	0.5	0.2	0.5	0.6	1.2	2.7	1.5	-
		K	-	0.1	0.4	1.5	2.5	4.5	4.3	11.4	-
	TLC原点 ^{a)}		-	0.4	0.5	1.2	3.2	7.3	6.2	11.1 ^{a)}	-
	未同定分解物 ^{b)}		-	6.6	8.2	6.7	5.3	11.2	8.0	14.1	-
	二酸化炭素		/	-	-	-	-	-	2.2	1.5	-
	ウレタントラップ		/	-	0.1	0.1	-	-	-	-	-
	水性残渣			0.5	1.2	1.8	4.0	4.3	2.8	3.0	2.6
	合計			99.5	98.4	95.0	99.4	97.8	95.5	95.2	92.6
[フェニル環 -(U)- ¹⁴ C] ピフルブミド	ピフルブミド	A	100.2	32.5	10.9	4.9	0.9	0.4	0.2	0.3	5.0
		B	0.8	31.2	35.1	29.6	24.8	24.8	22.1	8.6	37.8
		C	-	0.4	0.8	1.1	3.0	1.4	1.7	2.9	-
		L	0.7	23.4	41.0	47.8	39.9	38.4	37.9	12.5	54.1
		M	-	0.4	0.6	0.3	1.0	0.7	0.4	0.6	-
	TLC原点 ^{a)}		-	-	-	1.1	0.9	1.8	1.4	3.8	-
	未同定分解物 ^{b)}		-	6.5	7.9	11.9	21.3	21.2	21.7	36.6	-
	二酸化炭素		/	0.1	-	0.1	0.1	1.3	1.3	12.3	-
	ウレタントラップ ^{c)}		/	-	0.1	-	0.1	0.5	0.3	0.1	-
	水性残渣			0.7	1.9	0.0	1.2	1.4	4.5	5.0	6.1
	合計			102.4	96.3	96.4	98.1	93.3	94.9	92.2	83.6

-: 検出限界未満、斜線は試料採取せず。

^{a)} 複数の極性分解物から構成され、個々の分解物は処理放射エネルギーの3.9%を超過しない。

^{b)} 未同定分解物(個々の分解物は処理放射エネルギーの8.6%を超過しない)の合算値を申請者が算出。

^{c)} ウレタントラップに捕集された放射能。

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。

水中光分解半減期：本試験条件下におけるピフルブミドの自然水中光分解半減期は 0.9 日、生成する(B) の自然水中光分解半減期は 8.4 - 14.7 日*となった。ピフルブミドの自然水中光分解半減期を自然太陽光下（(北緯 35° (東京)、春(4 月～6 月まで)）の水中光分解半減期 (DT50_{sun}) に換算した結果、4.7～5.2 日となった。また、(B) の自然水中光分解半減期を自然太陽光下（(北緯 35° (東京)、春(4 月～6 月まで)）の水中光分解半減期 (DT50_{sun}) に換算した結果、44～76 日*となった。

以上の結果から、自然水中におけるピフルブミドは光照射により、速やかに分解し、主な分解物として(H)、(L)、(B)、(K) が生成した。これらの分解物はさらに分解を受け、一部は最終的に二酸化炭素に無機化されることが明らかになった。

* 申請者が算出

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

水中における推定分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

5. 土壌吸脱着性

(1) 土壌吸脱着性試験

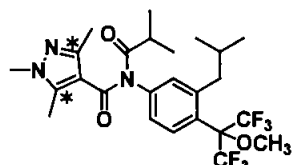
(資料 P-6)

試験機関: 日本農薬株式会社

報告書作成年: 2011年 [GLP 対応]

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミド

*: ¹⁴C 標識位置

化学名 : [ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(以下ピラゾール環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

供試土壌 : 供試した土壌の特性を以下に示す。LUFA Speyer (Landwirtschaftliche Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer, ドイツ) より購入した 5 種 (F2.1、F2.2、F2.3、F5M および F6S)、社団法人日本植物防疫協会より購入した 1 種 (埼玉) の計 6 種の土壌を使用した。

項目	F2.1	F2.2	F2.3	F5M	F6S	埼玉 ^{a)}	
採取場所	Rheinland-Pfalz/ Dudenhofen	Rheinland-Pfalz/ Hanhofen	Rheinland-Pfalz/ Offenbach	Rheinland-Pfalz/ Mechtersheim	Rheinland-Pfalz/ Siebeldingen	埼玉県 岡部	
土性 ^{b)}	砂土	壤砂土	砂壤土	砂壤土	埴土	壤土	
組成	砂 (%)	88.0±1.0	82.0±0.7	61.9±4.2	61.7±3.1	41.7±1.3	42.8
	シルト (%)	9.1±1.4	11.6±0.7	29.3±3.6	27.7±2.5	36.1±2.2	39.3
	粘土 (%)	2.9±0.8	6.4±0.9	8.8±1.4	10.6±0.9	22.2±1.5	17.9
有機物炭素含有率 (%)	0.74±0.14	2.09±0.40	0.97±0.07	1.23±0.30	1.69±0.17	2.96	
pH (CaCl ₂)	5.1±0.5	5.5±0.1	6.6±0.5	7.2±0.1	7.2±0.1	5.1 [22°C]	
陽イオン交換容量	4.0±1.0	10.0±0.5	9.0±3.0	15.0±3.0	22.0±6.0	22.4	
水分含量 (%)	4.12	9.48	9.93	6.85	6.67	25.95	

^{a)}: 火山灰土

^{b)}: USDA 法の指標に基づく分類

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。

- 方法 :
- 試験溶液 : ピラゾール環標識体をアセトニトリルに溶解し、100、50、30、10、および 5 mg/L 溶液を調製した。
- 吸着操作 : 乾土 1.5 g 相当の土壌を秤取し、0.01 M 塩化カルシウム水溶液 30 mL を加え、25°C で一晚静置し得られた上清に試験溶液 30 μ L を添加し、初期ピフルブミド水中濃度を 0.1、0.05、0.03、0.01 および 0.005 mg/L (アセトニトリル最終濃度: 0.1%、v/v) とした。25°C で下記の平衡化時間振とうした後、遠心分離し水相と土壌相に分離した。
- 脱着操作 : 吸着操作終了後、水相を除去し、除去した水相と同量の 0.01 M 塩化カルシウム水溶液を加え、25°C で所定の平衡化時間 (下記) 振とうした後、遠心分離し水相と土壌相に分離した。
- 平衡化時間 : 吸着および脱着ともに、予備実験の結果に基づき、6 時間とした。
- 土壌/水相比 : 分析精度および吸着率を考慮し、1/20 の土壌/水相比とした。
- 容器への吸着性 : 土壌を含む試験系では被験物質のガラス容器への吸着はほとんど認められなかった。
- 分析 :

- 吸・脱着定数 : 算出されたピフルブミドの水相および土壌相濃度からフロイドリッヒの吸着および脱着等温式を用い吸着および脱着定数を算出した。

- 結果 :
- 物質収支 : 何れの土壌においても放射能の回収率は 90.2~100.3% の範囲であり、揮散等による損失は認められなかった。ピフルブミドとしての回収率は 85.4~97.9% で、ピフルブミドのわずかな分解が認められたことから、薄層クロマトグラフィー - ラジオルミノグラフィー分析結果に基づきピフルブミド濃度を算出することとした。
- 吸着平衡 : 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_{Foc}^{ads})、フロイドリッヒの吸着等温式の定数項およびその相関係数を表 E-7-1 に示す。 K_{Foc}^{ads} は 5654~8843 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。

表 P-6-1: フロインドリッヒの吸着等温式における定数項と相関係数

供試土壌	F2.1	F2.2	F2.3	F5M	F6S	埼玉
1/n	0.880	0.928	0.916	0.900	0.935	0.922
K_F^{ads}	45.2	149.3	85.8	69.5	115.3	191.4
r^2	0.996	0.995	0.997	0.998	0.998	0.998
OC(%)	0.74	2.09	0.97	1.23	1.69	2.96
K_{Foc}^{ads}	6104	7146	8843	5654	6822	6468

1/n、 K_F^{ads} 、 r^2 : フロインドリッヒの吸着等温式における定数項と相関係数

OC(%): 土壌の有機物炭素含有率

K_{Foc}^{ads} : K_F^{ads} 値を有機物炭素含有率で除し求めた土壌吸着定数

脱着平衡 : フロインドリッヒの脱着等温式から求めた土壌脱着定数(K_F^{des})、その有機炭素含有率補正值(K_{Foc}^{des})、フロインドリッヒの脱着等温式の定数項およびその相関係数を表 E-7-2 に示す。 K_{Foc}^{des} は 3886~9507 であった。

表 P-6-2: フロインドリッヒの脱着等温式における定数項と相関係数

供試土壌	F2.1	F2.2	F2.3	F5M	F6S	埼玉
1/n	0.862	0.930	0.910	0.832	0.950	0.929
K_F^{ads}	42.8	170.5	92.2	47.8	138.3	211.9
r^2	0.996	0.998	0.997	0.997	0.999	0.998
OC(%)	0.74	2.09	0.97	1.23	1.69	2.96
K_{Foc}^{ads}	5781	8159	9507	3886	8184	7160

1/n、 K_F^{des} 、 r^2 : フロインドリッヒの脱着等温式における定数項と相関係数

OC(%): 土壌の有機物炭素含有率

K_{Foc}^{des} : K_F^{des} 値を有機物炭素含有率で除し求めた土壌脱着定数

以上の結果を引用文献^{a)}に照らした結果、ピフルブミドは土壌において移行性なし(Non-Mobile)と分類された。

a): Measurements of Sorption Coefficients of Organic Chemicals and Their Use in Environmental Fate Analysis, in "Test Protocols for Environmental Fate and Movement Toxicants", A.O.A.C. Symposium proceedings, 94th annual meeting, October 21-22, 1980, Washington, DC., pp. 89-109.

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

6. 生物濃縮性

(1) 魚体濃縮性試験

(資料 P-9)

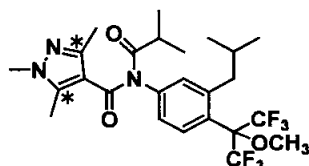
試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2012 年

供試標識化合物 :

構造式 :



[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C]ピフルブミド

*:¹⁴C 標識位置

化学名 :

[ピラゾール環-3(5)-¹⁴C] 3'-イソブチル-N-イソブチリル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(以下ピラゾール環標識体)

比放射能 :

放射化学的純度 :

供試生物:

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

試験開始時平均体長; 6.1cm、試験開始時平均体重; 3.17 g (約 7 ヶ月齢)

1 群 90 匹、3 群計 270 匹

方法:

暴露方法 :

; 流水式暴露 (流速; 20 L/時、置換回数; 5.5 回/日、魚体負荷; 3.17 g/L)

試験期間 :

; 取り込み期間; 11 日間、排泄期間; 21 日間

飼育条件 :

; 温度; 21.9 - 23.3°C

pH; 7.29 - 8.11

硬度; 77 - 112 mg/L CaCO₃

溶存酸素; 70 - 102% 飽和

水中全有機物炭素 (暴露期間); 15.2 - 29.4 mg/L

水中全有機物炭素 (排泄期間); 4.98 - 8.92 mg/L

試験水中設定濃度 :

; 低濃度区および高濃度区として、それぞれ 0.5 μg/L および 5.0 μg/L を設定した。また、希釈水に溶媒のみを供給した対照区も設けた。当該濃度は、ピフルブミド原体のブルーギルサンフィッシュにおける急性毒性試験を実施し、得られた急性毒性値 (LC₅₀: 0.29 mg/L) および分析精度を勘案し決定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

試験水の調製方法 ; 適宜非放射性ピフルブミドにて希釈した ピラゾール環標識体を 25 および 250 mg/L となるよう ジメチルホルムアミド (DMF) に溶解しストック液とした。試験容器 (ガラス製 90 L 容水槽) に 20 L/時 の速度で希釈水を供給し、これに薬剤ストック液および補助溶媒 (DMF/クレモフォール RH40¹ = 5/1 混液) をそれぞれ 0.4 mL/時 の速度 (合計 0.8 mL/時) で供給した。流速比から算出される混合比は 25000:1 であり、最終の水中有機溶媒濃度は 0.04% となる。

試料の採取 ; 取り込み期間開始の前々日、前日、直後、0.17 日 (4 時間後)、以後毎日試験終了まで試験水を採取し放射能濃度を測定した。

供試魚は、取り込み期間の開始の 0.17、1、4、7、9 および 11 日後、排泄期間開始直後、1、4、10、14 および 21 日後に採取し分析に供した。

放射能分析 ;

代謝物分析 ;

魚体脂質含量 ; 魚体試料から脂質をクロロホルム/メタノール混液 (1 回目: 1/1、2 回目: 2/1、(v/v)) を用い 2 回抽出した。得られた抽出液を合わせ、水洗の後、乾固した。さらに減圧下で恒量となるまで乾燥した後に重量を測定し脂質含量を算出した。

濃縮係数の算出 ; 魚体中放射能濃度が定常状態となった後の魚体中総放射能およびピフルブミド濃度をそれぞれ試験水中総放射能およびピフルブミド濃度で除し BCF_{ss} を算出した。また、総放射能濃度については、取り込み速度定数 (k_1) を排泄速度定数 (k_2) で除し速度論的濃縮係数 (BCF_k) も算出した。

結果:

水中濃度 ; 表 P-9-1 に取り込み期間中の水中放射能濃度およびピフルブミド濃度を示す。水中放射能濃度には若干の変動が認められ、特に供試魚の導入直後から 2 日後にかけ一過的に水中放射能濃度の低下が認められたが、その後設定濃度近くまで回復し、暴露開始 7 日以後では安定した。低濃度区および高濃度区において暴露期間の平均水中放射能濃度は設定値の 78.8 および 93.8% となった。また、供試魚導入後の水中ピフルブミド濃度は総放射能濃度に比べ低く、特

¹ クレモフォール RH40: ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油

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。
 に暴露期間の後半で顕著な差異が認められたが、暴露開始後 7 から 11 日に
 ついては安定しており、定常状態に達していることが示唆された。

表 P-9-1. 水中放射能濃度およびピフルブミド濃度推移

試料採取日 (日)	低濃度区 (設定濃度 0.5 µg/L 区)		高濃度区 (設定濃度 5.0 µg/L 区)	
	放射能濃度 (µg eq./L)	ピフルブミド濃度 (µg/L)	放射能濃度 (µg eq./L)	ピフルブミド濃度 (µg/L)
-2	0.479 (95.8) ^a	- ^b	4.73 (94.5)	4.50
-1	0.475 (95.1)	-	4.75 (95.0)	4.54
0	0.491 (98.2)	0.452	4.92 (98.4)	4.83
0.17	0.428 (85.7)	-	4.26 (85.1)	-
1	0.309 (61.9)	0.305	3.06 (61.2)	1.87
2	0.241 (48.2)	-	3.25 (65.1)	-
3	0.356 (71.3)	-	4.20 (84.1)	-
4	0.359 (71.9)	0.354	4.99 (99.8)	2.76
5	0.361 (72.2)	-	4.06 (81.1)	-
6	0.345 (69.1)	-	3.46 (69.1)	-
7	0.412 (82.4)	0.258	5.58 (111.6)	3.72
8	0.422 (84.5)	-	4.63 (92.6)	-
9	0.455 (90.9)	0.250	5.87 (117.4)	3.96
10	0.460 (92.0)	-	5.26 (105.2)	-
11	0.483 (96.5)	0.269	6.16 (123.2)	3.69
平均	0.405 (81.0)	0.315	4.61 (92.2)	3.73
最大	0.491 (98.2)	0.452	6.16 (123.2)	4.83
最小	0.241 (48.2)	0.250	3.06 (61.2)	1.87
標準偏差	0.074	0.077	0.92	0.99

^a: () 内は設定濃度に対する割合 (%)。

^b -: 分析に供試しなかった。

魚体中濃度 : 取り込み期間中の魚体中放射能濃度および魚体中ピフルブミド濃度を表 P-9-2
 に示す。魚体中放射能は可食部、非可食部の何れにおいても暴露開始後、経時
 的に増加し、7 日目から安定した。一方、暴露開始 7 日以降の可食部、非可食
 部でのピフルブミドの濃度は低濃度区では、それぞれ 安定して 3~4、および
 17~21 µg/kg であり、濃度平衡に達していた。魚体中総放射能 (TRR) に占め
 る未変化のピフルブミド (A) の割合は小さく、本化合物の魚体内での代謝が速
 やかであることが示唆された。可食部中で TRR の 10% を超過する主代謝物と
 して(B)、(C)、(D)、および (O)、が、これらの他に、微量代謝物として (E)、(F)、(J)
 および (P) が検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

表 P-9-2. 魚体中放射能濃度およびピフルブミド濃度推移

試料採取日 (日)	低濃度区 (0.5 µg/L 区)						高濃度区(5.0 µg/L 区)					
	放射能濃度 (µg eq./kg)			ピフルブミド濃度 (µg eq./kg)			放射能濃度 (µg eq./kg)			ピフルブミド濃度 (µg eq./kg)		
	非可 食部	可食 部	全体	非可 食部	可食 部	全体	非可 食部	可食 部	全体	非可 食部	可食 部	全体
取込期間												
0.17	33	11	21	6	2	4	330	120	220	59	17	37
1	124	39	79	N.A. ^{a)}	2	N.A.	1410	470	920	111	18	61
4	263	99	176	20	3	11	3440	1340	2380	270	57	162
7	347	142	241	12	3	11	4600	1640	3140	315	56	185
9	356	151	250	21	4	12	4670	1730	3120	257	58	152
11	346	146	240	17	4	10	3880	1630	2770	175	33	100
排泄期間												
1	286	122	197	6	1	3	3140	1230	2130	76	9	41
4	100	61	79	2	N.D. ^{b)}	1	1110	660	870	48	4	25
10	36	22	28	N.D.	N.D.	N.D.	327	196	260	9	N.D.	4
14	20	21	21	- ^{c)}	-	-	209	136	170	-	-	-
21	8	5	6	-	-	-	89	44	60	-	-	-

^{a)} N.A.: 測定に失敗したためデータ欠損。

^{b)} N.D.: 定量限界未満、魚体全体濃度を算出する際にはゼロとして取り扱った。

^{c)} - : 分析に供しなかった。

速度論的濃縮係数 (BCFk): 総放射能濃度に基づく取り込み速度定数 (k_1)、排泄速度定数 (k_2)、消失半減期 (DT_{50})、95% 消失期間 (DT_{95})、および速度論的濃縮係数 (BCFk) を下表に示す。

表 P-9-3. 放射能の取り込みおよび排泄に関する速度論的パラメーターおよび速度論的濃縮係数 (BCFk)

項目	低濃度区 (0.5 µg/L 区)			高濃度区(5.0 µg/L 区)		
	非可食部	可食部	全体	非可食部	可食部	全体
k_1 (1/日) ^{a)}	211	71	138	275	93	180
k_2 (1/日) ^{b)}	0.27	0.20	0.25	0.30	0.24	0.28
DT_{50} (日) ^{c)}	2.57	3.47	2.77	2.31	2.89	2.48
DT_{95} (日) ^{c)}	11.10	14.98	11.98	9.99	12.48	10.70
BCFk	781	355	552	917	388	643

^{a)} k_1 : 取り込み速度定数

^{b)} k_2 : 排泄速度定数

^{c)} DT_{50} および DT_{95} : 50 および 95% 減衰期

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。
 濃縮係数 (BCFss) ; 各々の魚試料採取時点における総放射能濃度およびピフルブミド濃度に基づく生物濃縮係数 (BCF) を下表に示す。総放射能濃度に基づく BCF およびピフルブミド濃度に基づく BCF とも、暴露開始 7 日以後一定のとなり、定常状態となった。水中および魚体中総放射能濃度の 7、9 および 11 日における結果に基づく BCFss は、表 P-9-3 に示した BCFk と良い一致を示し、濃度平衡に達していることが示唆された。総放射能に基づく BCFss に比べ、ピフルブミド濃度に基づく BCFss は 1/10 以下となり、これはピフルブミドの魚体内代謝分解が著しいことに起因するものと推察された。

表 P-9-4. 総放射能濃度およびピフルブミド濃度に基づく生物濃縮係数 (BCFss)

時間 (日)	生物濃縮係数 (BCF)											
	低濃度区 (0.5 µg/L 区)						高濃度区 (5.0 µg/L 区)					
	総放射能基準			ピフルブミド基準			総放射能基準			ピフルブミド基準		
	非可食部	可食部	全体	非可食部	可食部	全体	非可食部	可食部	全体	非可食部	可食部	全体
1	401	127	256	-	7	-	461	154	301	59	10	33
4	733	276	490	56	8	31	689	269	477	98	21	59
7	842	345	585	47	12	27	824	294	563	85	15	50
9	782	333	549	84	16	48	796	295	532	65	15	38
11	716	302	497	63	15	37	630	265	450	47	9	27
平均 ^a	780	327	544	65	14	37	750	285	515	66	13	38
SD ^a	63	22	44	19	2	11	105	17	58	19	3	12

a: 取り込み期間 7 - 11 日の平均および標準偏差

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。
 魚体脂肪含量 ; 下表に魚体中脂質含量を示す。試験期間の平均の供試魚の脂質含量は低濃度区では 8.4%、高濃度区では 9.6%であった。

表 P-9-5. 魚体中脂肪含量

時間 (日)	脂質含量 (%)								
	溶媒対照区			低濃度区			高濃度区		
	非可食部	可食部	全体	非可食部	可食部	全体	非可食部	可食部	全体
取り込み 0 日	13.6	3.4	7.9	15.3	4.8	9.6	13.2	5.2	8.9
4 日	11.2	5.2	8.0	14.3	6.6	9.8	13.2	11.7	12.4
7 日	9.9	4.3	7.0	12.6	4.6	8.5	13.3	4.7	9.0
11 日	13.4	4.1	8.4	10.8	4.0	7.2	10.8	3.9	7.2
排泄 1 日	12.7	3.8	7.9	12.6	3.5	7.6	10.5	3.7	6.9
4 日	12.7	4.7	8.4	12.1	4.9	8.4	10.0	4.3	7.0
10 日	15.8	9.1	12.0	13.0	4.3	7.6	18.3	7.0	12.4
21 日	11.2	5.4	8.0	12.9	4.4	8.2	21.0	5.5	12.6
平均	12.5	5.0	8.5	12.9	4.6	8.4	13.8	5.7	9.6
標準偏差	1.8	1.8	1.5	1.4	0.9	0.9	3.9	2.6	2.5

以上の結果から、ピフルブミドの生物濃縮係数 (BCF_{ss}) は 0.5 µg/L および 5.0 µg/L の暴露濃度において、それぞれ 37 および 38 と結論された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

(2)代謝分解物 B の魚体濃縮性試験

(資料 P-13)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年: 2011 年

被験物質 ; 標品

構造式 ;

化学名 ;

純度 ;

供試生物 ; コイ(学名 *Cyprinus carpio*)

1 群各 60 尾、体長: 5.421 ± 0.279 cm、体重: 1.915 ± 0.300 g

方 法:

暴露条件 ; 流水式(約 500L/日/水槽の速度で供給)

試験期間 ; 取込期間: 9 日間、排泄期間: 6 日間

設定濃度 ; NNI-0711-NH のコイに対する 96 時間 LC50 > 5.0 mg/L の 1/100 以下、かつ水溶解度
12.32 μ g/L 以下となる 10 μ g/L を高濃度とし、その 1/10 の 1.0 μ g/L を低濃度とした。

試験液の調製 ; 被験物質を *N,N*-ジメチルホルムアミド(DMF)/硬化ヒマシ油(HCO-40) (20/1, v/w) に
溶解することにより 10 および 100 mg/L の試験原液を調製、これを活性炭濾過した水
道水で希釈することにより所定の濃度の試験液を得た。

水量 ; 100 L/水槽

照明 ; 16 時間明期、8 時間暗期

試験水温 ; 20.8~21.8°C(平均 21.2°C)

pH ; 6.9~7.1

溶存酸素濃度 ; 8.4~10.7 mg/L

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。

観察及び測定：供試生物の生死および症状を試験期間中毎日観察した。試験液の温度は連続記録した。少なくとも週1回各試験区の溶存酸素、pHを測定した。

供試生物中の被験物質濃度：取込期間においては0、1、2、3、5、7および9日後、排泄期間においては0.25、1、2、5および6日後に供試生物を採取し被験物質濃度を測定した。暴露開始時(取込期間0日後)は群分け前に4尾採取、暴露開始後は各試験区から4尾採取した。

供試生物の脂質含量：暴露開始時および試験終了時(排泄6日後)に供試生物を採取しその脂質含量を測定した。暴露開始時は群分け前に4尾採取、排泄終了時は各試験区から4尾採取した。採取した試料をクロロホルム/メタノール(2/1, v/v)中で均質化、攪拌した後、遠心分離を行い有機相を回収した。さらに再度抽出残渣にクロロホルム/メタノール(2/1, v/v)を加え同様の抽出を行った。2回の有機相を合わせて溶媒を除去した後に重量測定を行い、供試生物体重に対する重量百分率を算出した。

試験液中の被験物質濃度：取込期間においては0、1、2、3、5、7および9日後に、排泄期間においては0、0.25、1、2、5および6日後に各試験区から試験液の一部(2検体)を採取し被験物質濃度を測定した。

結果：

(1) 供試生物中の被験物質濃度(μg/kg)：

試験区(μg/L)	取込期間(日)						
	0	1	2	3	5	7	9
1.0	< 20	276	262	313	227	255	229
10	< 20	2373	3195	2917	3305	3248	3277

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。

試験区(μg/L)	排泄期間(日)				
	0.25	1	2	5	6
1.0	123	49	< 20	< 20	< 20
10	2136	893	257	< 20	< 20

低濃度区の供試生物中の被験物質濃度は、取込期間の1日後から終了まで227～313 μg/kgの範囲で推移し、排泄期間においては2日後以降定量限界(20 μg/kg)未滿となった。高濃度区の供試生物中の被験物質濃度は、取込期間の1日後から終了まで2373～3305 μg/kgの範囲で推移し、排泄期間においては5日後以降定量限界未滿となった。

(2) 試験液中の被験物質濃度(μg/L)：

試験区(μg/L)	取込期間(日)						
	0	1	2	3	5	7	9
1.0	1.24	1.27	1.19	1.13	1.25	1.36	1.20
10	14.1	11.1	12.9	13.8	12.7	11.2	12.0

試験区(μg/L)	排泄期間(日)					
	0	0.25	1	2	5	6
1.0	< 0.80	< 0.80	< 0.80	< 0.80	< 0.80	< 0.80
10	< 0.80	< 0.80	< 0.80	< 0.80	< 0.80	< 0.80

取込期間における低濃度区の試験液中の被験物質濃度は1.13～1.36 μg/Lであり、その変動は取込期間中の平均濃度に対し91.1～109.8%であった。取込期間における高濃度区の試験液中の被験物質濃度は11.1～14.1 μg/Lであり、その変動は取込期間中の平均濃度に対し88.0～109.1%であった。排泄期間においてはいずれの試験区でも定量限界(0.80 μg/L)未滿であった。

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:

① BCF_{ss}

試験区(μg/L)	供試生物中濃度 (μg/kg)	水中濃度(C _w) (μg/L)	濃縮係数(BCF _{ss})
1.0	237	1.27	186
10	3277	12.0	274

② BCF_k

試験区(μg/L)	取込速度定数(k ₁) (日 ⁻¹)	排泄速度定数(k ₂) (日 ⁻¹)	濃縮係数(BCF _k)
1.0	623	2.94	212
10	354	1.38	256

低濃度区、高濃度区ともに取込期間の5、7および9日後の濃縮倍率の変動が20%未満となったことから、暴露3日後までに定常状態に達したと判断された。

(4) 観察: いずれの試験区においても、試験期間中に供試魚の死亡及び異常は認められなかった。

(5) 脂質含量: 暴露開始時における供試生物の脂質含量は2.5%であった。試験終了時における低濃度区および高濃度区の供試生物の脂質含量はそれぞれ3.5 および4.1%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業株式会社にある。

<代謝分解のまとめ>

フルブミドの動物、植物、土壌および光による代謝分解について以下に要約する。また、想定代謝経路および代謝分解物の分布について、それぞれ次図および次表に示す。

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業株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農業株式会社にある。

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。

動植物、土壌および水中における推定代謝分解経路

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その1:動物代謝関連-1

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その2:動物代謝関連-2

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その3:植物代謝関連-1

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その4:植物代謝関連-2

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その5:植物代謝関連-3

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その6:植物代謝関連-4

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その7:土壤中運命関連-1

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

<代謝分解の概要> その8:加水分解運命関連-1

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

<代謝分解の概要> その9:加水分解運命関連-2

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その 10:加水分解運命関連-3

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その 11:水中光分解運命関連-1

本資料に された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬 会社にある。

<代謝分解の概要> その 12:水中光分解運命関連-2

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本農薬株式会社にある。

ピフルブミドの開発年表