

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②好氣的土壤代謝

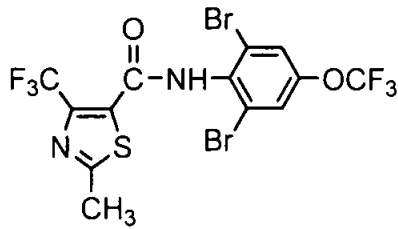
(資料 No. 37)

試験機関：モンサント社（米国）

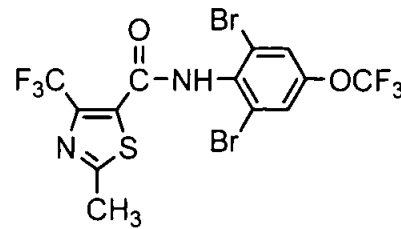
[GLP対応]

報告書作成年：1991年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

本試験では、

を被

験物質として使用した。

供試土壤：米国のシルト質壤土（Dupo土壤）及び砂壤土（Sarpy土壤）及び日本の牛久火山灰畑土壤を本試験で使用した。以下に土壤の物理化学的性質を示した。

項目	砂 壤 土	シルト質壤土	壤 土
	Sarpy	Dupo	牛久火山灰
採取地	New Bloomfield, MO	Monmouth, IL	牛久
砂土 (%)	46	14	64
シルト (%)	40	70	26
粘土 (%)	14	16	10
pH (土壤/水=1/1)	7.9	7.5	6.6
陽イオン交換容量 (meq/100g)	10.2	8	9.5
1/3気圧における水分 (圃場容量)	13.2	21.68	55.41
比重 (g/cm ³)	1.27	1.13	0.82
有機物含量 (%)	1	1.2	3.1
抽出可能な陽イオン (%) :			
カルシウム	82.5	78.8	60.9
マグネシウム	13.9	18.3	26.1
カリウム	3.6	2.9	7
水素	0	0	6

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

試験方法:

土壌の調製；試験開始前に土壌を風乾し、2 mm目の篩を通した後、各土壌の乾土重量 50 g相当量を150 mL容遠沈管に入れ、土壌の水分含量を各土壌の圃場容水量の75%に調整した。非滅菌土壌フラスコは被験物質の処理に先立ち35日間の予備培養（25±1℃、80% RH、暗所下）を行った。対照としての滅菌土壌は、24時間の間隔で2回、270℃で30分間のオートクレーブ滅菌を行った。

処理方法；予備培養あるいは滅菌処理後、被験物質のアセトニトリル溶液を69 µL添加し、乾土換算で1.4 ppm処理とした（実測値は1.43 ppm）。処理後、予備培養と同じチャンバー内でインキュベートした。

処理量の設定根拠；

CO₂と揮発性分解物の捕集；試験系から揮発性物質として放出された物質は試料フラスコの口に詰めたポリウレタンフォームプラグと、エタノールアミントラップで、¹⁴CO₂は、エチレングリコール/エタノールアミンの混合液（2:1）からなるトラップで捕集した。

試料採取；非滅菌土壌については処理直後及び処理1、3、7、14、31、62、90、120、189、281及び365日後に、滅菌土壌については処理直後及び処理31、189、281及び365日後に2連の土壌試料を採取した。

放射能の測定；各試料について行った分析フローを以下に示した。

土壌の抽出；土壌試料はアセトニトリル及び含水アセトニトリル（または酸性含水アセトニトリル）で抽出した。抽出回数と抽出溶媒は土壌から抽出される代謝物の量を最大とするため、試料採取時期により変えた。抽出液中の放射能量はLSCで定量した。抽出液を減圧下で濃縮後、アセトニトリルを加えてHPLC分析に供した。

HPLC測定条件；

抽出残渣；抽出残渣中の放射能量は試料を試料燃焼装置を用いて燃焼させ、発生した¹⁴CO₂は吸収剤で捕集しシンチレーションカクテルと混合してLSCで測定した。牛久土壌の処理365日後の抽出残渣について特徴付けを行った。アセトニトリル/水（80:20）で48時間ソックスレー抽出し（緩やかな結合）、更にその抽出残渣を0.5Nの水酸化ナトリウムで18時間振とう抽出し（土壌有機物との結合）、抽出液中の放射能をLSCで測定した。最終抽出残渣（強固な結合、フミン画分）は燃焼法により放射能量を測定した。

揮発性物質と¹⁴CO₂；試験系から揮散またはCO₂に分解した放射性被験物質は、捕集溶液にシンチ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

レーシヨンカクテルを加えLSCで測定し、またウレタンフォームプラグ中に捕集された放射能はプラグをシンチレーシヨンカクテルに入れて直接LSCで測定した。

放射性残留化合物の同定；HPLC分取によって各成分の画分を集め、合成標品とのHPLCクロマトグラフィーあるいはGCクロマトグラフィーを行った。また、LC/MS分析により最終的な構造確認を行った。

半減期の算出；縦軸にチフルザミドの処理放射能に対する比率の自然対数、横軸に処理後の日数をプロットし、一次減衰モデルによって半減期を算出した。

試験結果：

放射能の収支；3種の土壤における処理放射能の経時的な回収率を表1、2及び3にまとめた。

表1. Sarpy 土壤 (原報告書Table 2)

採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)									
	非滅菌区					滅菌区				
	抽出液	揮発性物質	CO ₂	抽出残渣	全回収放射能	抽出液	揮発性物質	CO ₂	抽出残渣	全回収放射能
0	98.32	—	—	1.01	99.33	99.48	0.00	0.00	1.00	100.5
1	95.66	0.00	0.01	2.84	98.51	—	—	—	—	—
3	96.92	0.01	0.02	1.22	98.17	—	—	—	—	—
7	97.10	0.01	0.03	1.98	99.12	—	—	—	—	—
14	96.16	0.06	0.07	2.92	99.21	—	—	—	—	—
31	95.47	0.11	0.11	2.98	98.67	96.50	0.05	0.00	2.57	99.12
62	91.63	0.31	0.21	4.47	96.62	—	—	—	—	—
90	92.52	0.37	0.33	4.36	97.57	—	—	—	—	—
120	90.21	0.49	0.56	5.72	96.97	—	—	—	—	—
189	89.18	0.48	0.89	6.90	97.44	89.15	0.99	0.03	10.12	100.29
281	86.95	0.34	1.14	6.67	95.10	87.51	1.44	0.12	8.58	97.65
365	86.53	0.66	1.45	7.67	96.30	87.18	1.08	0.43	10.05	98.74

—：試料なし

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. Dupo 土壌 (原報告書Table 3)

採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)									
	非滅菌区					滅菌区				
	抽出液	揮発性物質	CO ₂	抽出残渣	全回収放射能	抽出液	揮発性物質	CO ₂	抽出残渣	全回収放射能
0	99.28	—	—	0.95	100.22	99.07	—	—	1.32	100.39
1	96.33	0.01	0.00	1.84	98.18	—	—	—	—	—
3	97.15	0.02	0.04	1.72	98.93	—	—	—	—	—
7	95.30	0.11	0.14	3.34	98.88	—	—	—	—	—
14	93.73	0.36	0.41	4.01	98.50	—	—	—	—	—
31	93.31	0.51	1.12	3.43	98.37	96.12	0.02	0.01	3.28	99.43
62	90.69	0.78	1.43	3.87	96.76	—	—	—	—	—
90	92.87	0.56	1.58	2.69	97.70	—	—	—	—	—
120	84.70	0.92	1.64	4.25	91.51	—	—	—	—	—
189	86.46	1.20	1.80	8.30	97.75	92.19	0.68	0.07	8.11	101.05
281	89.54	1.19	1.94	4.49	97.15	91.22	1.03	0.44	9.27	101.96
365	86.62	1.49	2.03	4.43	94.56	87.94	0.60	0.79	8.57	97.90

— : 試料なし

表3. 牛久土壌 (原報告書Table 4)

採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)									
	非滅菌区					滅菌区				
	抽出液	揮発性物質	CO ₂	抽出残渣	全回収放射能	抽出液	揮発性物質	CO ₂	抽出残渣	全回収放射能
0	98.67	—	—	1.89	100.55	94.86	0.00	0.00	1.98	96.84
1	93.28	0.01	0.00	1.76	95.04	—	—	—	—	—
3	94.93	0.01	0.00	2.23	97.17	—	—	—	—	—
7	92.80	0.03	0.02	4.04	96.89	—	—	—	—	—
14	93.89	0.06	0.05	4.69	98.68	—	—	—	—	—
31	91.03	0.15	0.13	6.77	98.07	95.73	0.02	0.00	2.73	98.48
62	90.32	0.21	0.30	6.29	97.12	—	—	—	—	—
90	89.12	0.27	0.52	7.12	97.02	—	—	—	—	—
120	86.91	0.28	0.67	8.87	96.72	—	—	—	—	—
189	85.75	0.31	1.13	10.12	97.30	87.80	0.16	0.01	12.77	100.74
281	83.61	0.40	1.71	9.71	95.42	88.84	0.21	0.03	9.71	98.79
365	80.90	0.41	2.02	11.90	95.23	87.00	0.14	0.06	11.52	98.72

— : 試料なし

全ての土壌において物質収支は良好であり、Sarpy土壌で95~101%、Dupo土壌で95~102%、牛久土壌で95~101%であった。非滅菌区の揮発性物質は、微量であり、最大でもDupo土壌の365日後の1.5%であった。また、土壌から¹⁴CO₂として放出された量も微量で、最大でも365日後の2.0%であった。滅菌区の土壌から発生した¹⁴CO₂は0.8%以下であり、非滅菌区ではチフルザミドがCO₂まで分解されることが確認された。非滅菌区の抽出残渣は、処理直後で1.0~1.9%であったが、経時的に増加し、処理365日後にはSarpy土壌で7.7%、Dupo土壌で4.4% (最大は189日後の8.3%)、牛久土壌で12%を示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

分解物の生成及び同定；抽出液のHPLC/RADによる分析の結果から、画分(A)、(B)、(C)及び(D)が認められた。コクロマトグラフィー及びLC/MS分析によって、画分(A)、(B)及び(C)はそれぞれチフルザミド(1)として同定された。これら代謝物の処理放射能に対する比率(%)を表4に示す。

表4. 非滅菌区における各土壌の代謝物比率(原報告書Table 5、6及び7)

土壌	試料採取日	処理放射能に対する比率(平均, %)			
				画分(C) チフルザミド(1)	画分(D) 非極性中性代謝物
Sarpy土壌	0			97.01	-
	1			94.34	0.31
	3			94.96	0.23
	7			94.52	-
	14			91.80	-
	31			90.34	1.09
	62			85.37	1.14
	90			86.63	2.16
	120			81.58	1.57
	189			81.30	0.99
	281			77.72	2.37
365			73.85	3.36	
Dupo土壌	0			97.86	-
	1			95.30	-
	3			94.65	-
	7			92.52	-
	14			88.84	1.06
	31			89.09	0.80
	62			85.81	0.00
	90			86.15	1.18
	120			73.96	1.78
	189			78.52	1.69
	281			81.60	1.71
365			79.10	1.24	
牛久土壌	0			97.94	-
	1			89.23	1.11
	3			92.72	1.16
	7			90.57	0.78
	14			88.73	0.83
	31			81.35	2.51
	62			86.18	0.27
	90			83.19	-
	120			76.08	1.75
	189			78.12	0.62
	281			75.02	0.94
365			71.32	2.38	

-: 検出せず

全土壌において、主要残留成分はチフルザミド(1)であり、処理放射能の10%以上となる主要代謝物は、検出されなかった。Sarpy土壌で最大 %、Dupo土壌で最大 %、牛久土壌で最大 %検出され、は %以下であった。非

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

極性中性代謝物が最大3.4% (Sarpy土壤、365日後) 検出された。

非滅菌区におけるチフルザミドの半減期は一次減衰モデルを用いた計算により (図1)、Sarpy土壤で1001日、Dupo土壤で1298日及び日本畑土壤で992日と計算された。

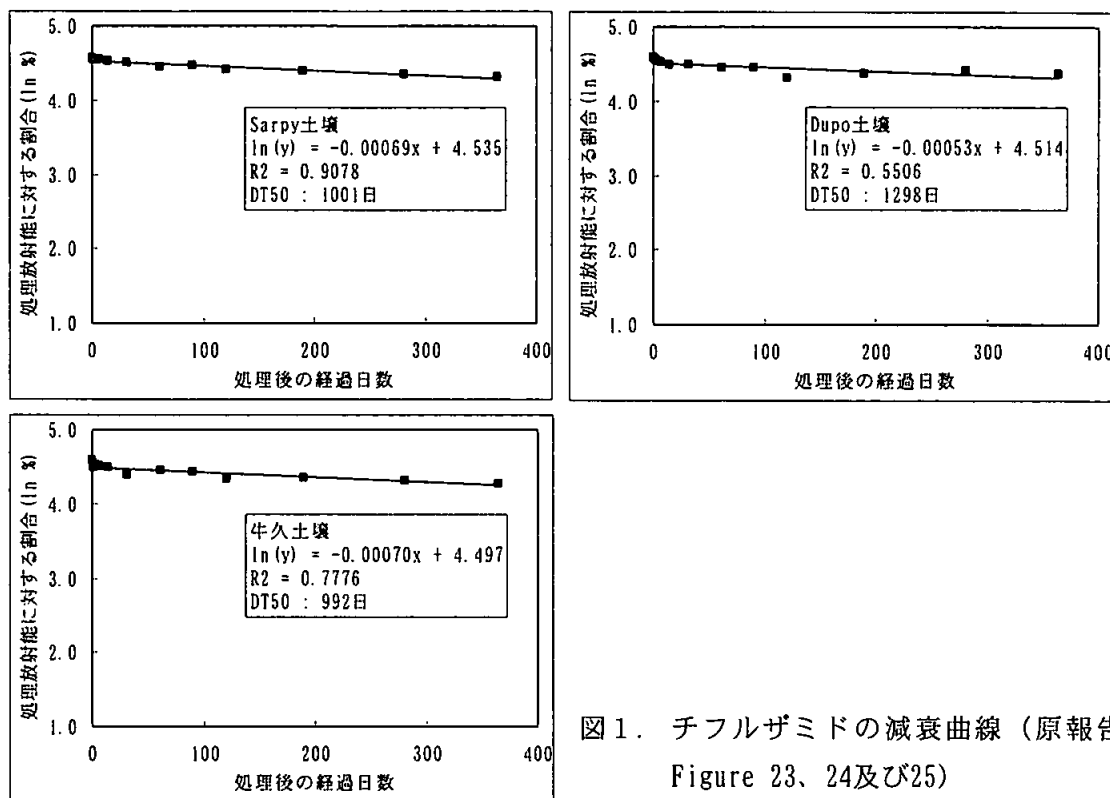


図1. チフルザミドの減衰曲線 (原報告書 Figure 23、24及び25)

抽出残渣の特徴付け；処理365日後の牛久土壤の抽出残渣 (処理放射能の12%) について、含水アセトニトリルによるソックスレー抽出で緩やかな結合物として3.7%遊離し、次いで、アルカリ振とう抽出で土壤有機物との結合物として3.0%遊離した。最終抽出残渣 (強固な結合、フミン画分) は5.0%であった。

推定代謝経路；本試験で検出された代謝物に基づいてチフルザミドの好気条件下における土壤中の推定代謝経路を図2に示した。

図2. チフルザミドの好氣的土壤中の推定代謝経路 (原報告書Figure 27)

申請者注) 二酸化炭素及び抽出残渣は申請者が追記した。

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産化学工業株式会社にある。

③土壌表面光分解（参考）

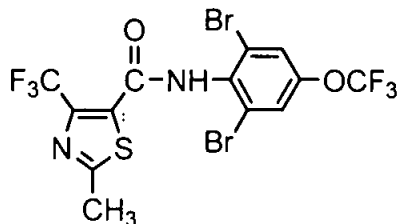
（資料 No. 69）

試験機関：パテル社（米国）

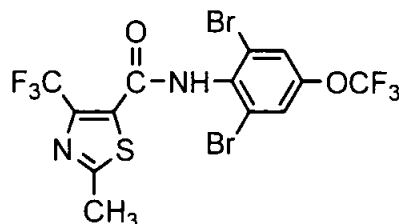
[GLP対応]

報告書作成年：1992年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mM)	放射化学的純度 (%)

供試土壌：米国Dupoシルト質壤土を使用した。土壌を風乾して0.77%の水分量とし、2 mm目の篩に通した。土壌特性を以下の表にまとめた。

pH	容積密度 (g/cc)	有機物含量 (%)	0.33ハール圃場 容水量 (%)	粒径組成 (%)			陽イオン交換能 (meq/100g)
				砂	シルト	粘土	
7.8	1.2	1.0	26.3	22	68	10	9.7

試験方法：

試験溶液の調製；両標識体ともにアセトニトリルに溶解し、試験溶液とした。

光源；キセノンランプ (>290nm) を設置した人工光照射装置Heraeus Suntest CPSを使用した。

光強度； 試料で601 W/m²、 試料で591 W/m² (290~800 nm)

処理の方法；内径50 mm、高さ2 mmのステンレス製プレート（表面積：19.6 cm²）に5gの土壌を入れ、370 μgとなるように試験溶液340~390 μLを処理した（1888 g ai/ha相当）。

処理量の設定根拠；

試験系；土壌は0.33ハール圃場容水量の約75%の水分に調整し、25±1℃で30日間照射した。1日の照射時間は12時間とし、その後の12時間は暗条件とした。暗所区試料容器は、25±

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

1℃の暗条件環境チャンバー中に置いた。試験期間中は二酸化炭素を含まない加湿滅菌空気を供給し、揮発物質を捕集するために2連のエチレングリコールおよび2連の1N水酸化ナトリウム水溶液に接続した。

採取時期；処理0日および照射（または暗所区）7、14、21、30日後に2点の土壌試料を採取した。揮発性物質捕集液は、各採取時点ごとに交換した。

分析法；揮発性物質捕集液は2連で放射能を測定した。土壌試料は以下の分析フローに従って抽出し、HPLC分析に供した。照射30日試料についてはTLC分析も実施した。また、照射30日試料から未分解の親化合物をTLC単離し、質量分析に供した。

分析機器；

液体シンチレーションカウンター (LSC)：液体試料はシンチレーター (Atomlight) と混合して放射能を測定した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：カラムは逆相系、移動相はアセトニトリルと1%酢酸水溶液のグラジエントシステムを用いた。UV検出器とラジオ検出器を用い、定性・定量した。

試料燃焼装置：抽出残渣中の放射能は試料燃焼装置にて燃焼後、トラップした $^{14}\text{CO}_2$ をLSCで測定した。

薄層クロマトグラフィー (TLC)：TLCにはシリカゲルプレートを用い、トルエン:酢酸エチル:酢酸系で展開した。参照物質はUV吸収により確認した。

HPLC-質量分析 (LC/MS)：カラムは逆相系、移動相は0.05M酢酸アンモニウムを含むアセトニトリルを用い、正イオンモードで使用した。

分解速度計算法；チフルザミドの半減期は、チフルザミドの残留量 (%) の自然対数を時間の関数とし、直線回帰式で分析することにより計算した。

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産化学工業株式会社にある。

試験結果： 標識体および 標識体処理における試料中の分析結果を表1及び表2にそれぞれ示した。また、照射区の子フルザミドの減衰曲線を図1及び図2に示した。

表1. 標識体処理試料の分析結果 (原報告書Table VおよびXI)

試験区	代謝物 (記号)	採取時期 (処理後の日数)				
		0	7	14	21	30
照射区	揮発物質トラップ*	ND	0.5	0.9	1.3	1.8
	抽出液	99.7	102.5	97.4	96.0	95.0
	チルザミド (I)	99.7	99.5	93.1	90.7	88.4
	抽出残渣	0.3	1.3	2.2	2.0	2.0
	合計	100.0	104.3	100.5	99.3	98.8
暗所区	揮発物質トラップ*	—	0.1	0.2	0.2	0.3
	抽出液	—	103.1	97.6	98.5	99.0
	チルザミド (I)	—	101.2	96.3	97.0	98.1
	抽出残渣	—	1.0	1.3	1.3	1.1
	合計	—	104.2	99.1	100.0	100.4

数値は処理放射能に対する比率 (2連の平均値) を示す。ND: 検出せず。

—: 設定なし、合計 = 抽出液 + 残渣 + 揮発物質トラップ*

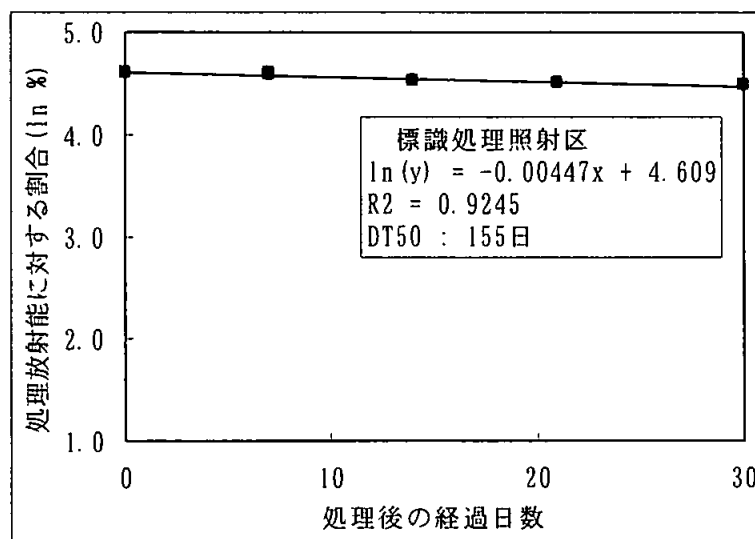


図1. 標識体照射区の子フルザミドの減衰曲線 (原報告書Figure 18)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表 2. 標識体処理試料の分析結果 (原報告書Table IIIおよびX)

試験区	代謝物 (記号)	採取時期 (処理後の日数)				
		0	7	14	21	30
照射区	揮発物質トラップ*	ND	1.2	2.7	4.3	6.6
	抽出液	99.9	101.9	92.4	87.3	84.6
	チルザミド (I)	99.8	100.4	89.9	84.0	81.1
	抽出残渣	0.2	2.1	3.3	4.2	4.6
合計	100.1	105.2	98.4	95.8	95.8	
暗所区	揮発物質トラップ*	—	ND	ND	ND	ND
	抽出液	—	95.1	99.3	97.8	97.0
	チルザミド (I)	—	94.7	98.6	97.0	95.7
	抽出残渣	—	0.7	0.9	1.2	1.3
合計	—	95.8	100.2	99.0	98.3	

数値は処理放射能に対する比率 (2連の平均値) を示す。ND: 検出せず。

—: 設定なし、合計 = 抽出液 + 残渣 + 揮発物質トラップ*

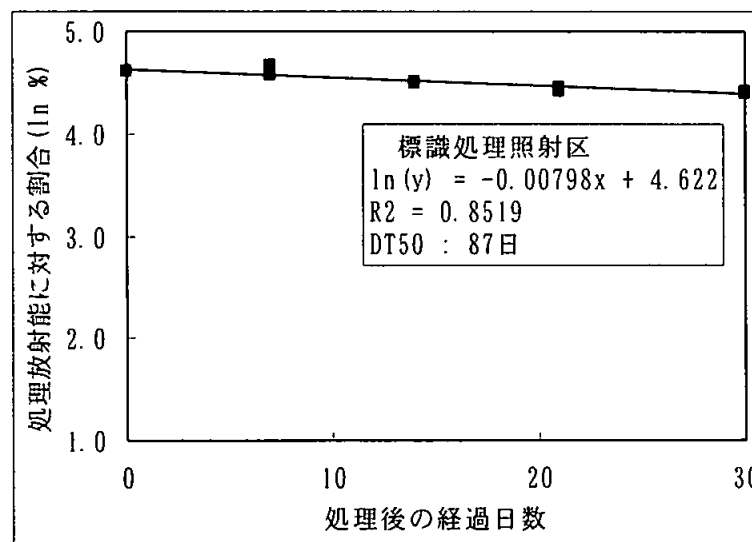


図 2. 標識体照射区のチルザミドの減衰曲線 (原報告書Figure 17)

暗所対照区では、チルザミド (I) の分解は無視しうる程度であった。

照射条件下でのチルザミドの半減期は87日~155日であった。検出された分解物はすべて処理量の10%以下であった。分解物として

が同定された。標識体より [] が検出されたが、処理量の

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

%以下であった。抽出残渣は経時的に増加し、最大で 〇〇〇に達した。また、揮発物質トラップの放射能はNaOHトラップのみから検出され、その量は最大で 〇〇〇であった。

図3. チフルザミドの推定土壌光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

4. 水中運命試験

①加水分解試験

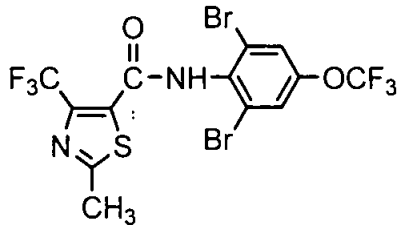
(資料 No. 41)

試験機関：モンサント社 (米国)

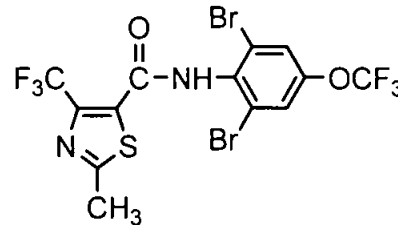
[GLP対応]

報告書作成年：1991年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

本試験では、

を被

験物質として使用した。

供試水：下記の供試水を0.22 μmの滅菌フィルターで濾過滅菌して用いた。

- (1) pH 5緩衝液；0.2M酢酸水溶液と0.2M酢酸ナトリウムを混合し、脱イオン水で希釈して0.01M緩衝液とした。
- (2) pH 7緩衝液；市販品の0.05Mリン酸二カリウム/水酸化ナトリウムを脱イオン水で希釈して0.01M緩衝液とした。
- (3) pH 9緩衝液；市販品の0.1Mホウ酸/塩化カリウム/水酸化ナトリウムを脱イオン水で希釈して0.01M緩衝液とした。
- (4) 田面水；米国アーカンソー州シュタットガルトのUSDA研究所より入手した。

試験方法：

処理方法；滅菌した250 mL容三角フラスコに供試水230 gを入れ、供試標識化合物の濃度が1 mg/Lになるようにアセトニトリル溶液を190 μL添加（供試水に対して0.1%以下）して試験溶液を調製した（チフルザミドの20℃における水溶解度は、pH 5で1.57 mg/L、pH 7で1.59 mg/L、pH 9で7.59 mg/L）。試験溶液を滅菌した20 mL容ガラスバイアル容器に約12 mLずつ分注し、滅菌蓋で密栓後、25℃暗所下でインキュベートした。

申請者注) チフルザミドの処理濃度はpH 5及びpH 7の溶解度の1/2以上となっているが、分注した各バイアルから処理放射能に対して97%以上が回収されており、問題ないと判断した。

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産化学工業株式会社にある。

試料採取；試験開始0、2、7、14、21及び30日後に2連で試験溶液中の放射能を液体シンチレーションカウンターで測定し、HPLC分析に供した。

分析機器；

液体シンチレーションカウンター (LSC)：試料はシンチレーターと混合して放射能を測定した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：カラムは逆相系、移動相はアセトニトリルとリン酸緩衝液のグラジエントシステムを用いた。UV検出器とラジオ検出器を用い、定性・定量した。

HPLC-質量分析 (LC/MS)：カラムは逆相系、移動相は1%酢酸水溶液を含むアセトニトリルを用い、正イオンモードで使用した。

試験結果：HPLC分析結果を表1にまとめた。

表1. HPLC分析結果 (原報告書Table III、IV、V及びVI)

供試水	経過日数 (日)					
	0	2	7	14	21	30
pH 5	98.7 (0.92)	97.5 (0.93)	98.0 (0.95)	98.3 (0.93)	98.6 (0.94)	98.5 (0.94)
pH 7	97.2 (0.91)	97.6 (0.93)	98.1 (0.90)	98.4 (0.92)	98.6 (0.92)	98.9 (0.92)
pH 9	99.3 (0.98)	97.6 (0.98)	98.3 (0.97)	98.4 (0.98)	98.2 (0.98)	98.4 (0.97)
田面水	99.2 (0.96)	97.6 (0.98)	98.4 (0.96)	98.5 (0.96)	98.4 (0.97)	98.7 (0.96)

数値は処理放射能に対する比率(%)、()内は濃度 (mg/L)。

LC/MSによって、処理30日後の各試料中の化合物は、チフルザミドとして同定され、チフルザミドは滅菌した各緩衝液及び田面水中で30日間安定であることが確認された。

②水中光分解試験

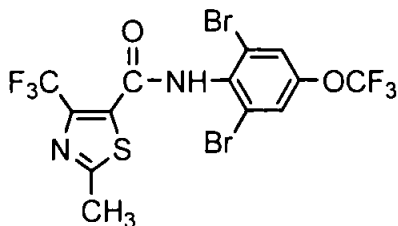
(資料No. 40)

試験機関：モンサント社（米国）

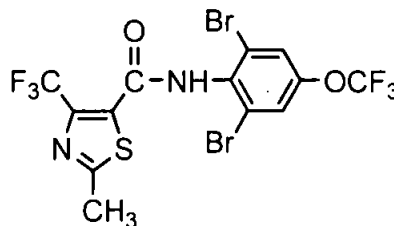
[GLP対応]

報告書作成年：1992年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

供試水：pH 7緩衝液は市販品の0.05Mリン酸二カリウム/水酸化ナトリウムを脱イオン水で希釈して0.01M緩衝液とした。田面水（以下自然水）は米国アーカンソー州シュタットガルトのUSDA研究所より入手した。各供試水を0.2 μmの滅菌フィルターで濾過滅菌して用いた。各供試水のpHは、緩衝液がpH 7、自然水がpH 8であった。

光源：キセノンアークランプ（波長範囲300～1100 nm、F8778型フィルター付）を設置した人工照射装置を使用した。

光強度；平均401 W/m² (346～441 W/m²、測定波長範囲 300～750 nm)

試験方法：

処理方法；各滅菌供試水にアセトニトリル溶液の供試標識化合物を名目濃度として1 mg/L（実測濃度0.76～1.2 mg/L）添加し（アセトニトリル濃度は1%未満）、30分間攪拌して均一性を確認後、冷却コイル付光分解セルに一部を移し、残りを暗所区試料とした。

申請者注）チフルザミドのpH 7緩衝液の溶解度は1.57 mg/Lであり、名目処理濃度は溶解度の1/2以上となっているが、試験の中で均一性が確認され、また、分解セルへの吸着性が見られないことから濃度設定に問題ないと判断した。

捕集装置；CO₂と揮発性物質をトラップするために外径32 mm×長さ20 cmのガラス管に捕集剤（フォームプラグ及びAscalite II）を充填した捕集塔を光分解セル及び暗所区試料用容器に設置した。

温度及びインキュベーション；光分解セルは冷却コイル部位に冷却水循環装置を接続し、冷却

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

しながら25±1℃に保ち、15日間連続照射した。暗所区試料用容器は25±1℃に設定された暗所のチャンパー内に15日間静置した。

試料採取と分析；試験期間中、経時的に7点以上の供試溶液を採水し、水中の放射能を液体シンチレーションカウンター (LSC) で測定後、HPLCによって分解生成物の同定と定量分析を行った。

HPLC測定条件；C₁₈セミア分取カラムを用い、移動相はアセトニトリルと0.002Mリン酸アンモニウム緩衝液、1%酢酸水あるいは1%ギ酸のグラジエントプログラムにより各成分を分離した。カラムからの溶出液は254 nmのUV検出器及び放射能フロー検出器でモニターした。本システムは各成分の分取用にも使用した。

揮発性有機物とCO₂分析；捕集塔から揮発性有機物用にフォームプラグを、CO₂用にAscalite IIをそれぞれバイアルに取り出し、シンチレーターを加えて、LSCで放射能を測定した。

分解物の同定及び特徴付け；HPLCクロマトグラフィー、TLCクロマトグラフィー、GC/MS及び化学的誘導体化によって分解物を同定し、各pHによる分画及び高圧電気泳動を用いて分解物の特徴付けを行った。

試験結果：

物質収支；15日間連続照射あるいはインキュベーション後の物質収支の結果を表1にまとめた。

表1. 物質収支のまとめ (原報告書Table 7、8、9、10、11、12、13及び14)

供試水	標識体	試験区	処理放射能に対する比率 (%)		
			揮発性有機物	CO ₂	回収
緩衝液		照射区	0.50	8.86	93.38
		暗所区	0.01	0.00	98.42
		照射区	0.51	6.01	96.68
		暗所区	0.01	0.02	101.19
自然水		照射区	0.27	0.97	94.75
		暗所区	0.00	0.00	103.13
		照射区	0.59	6.40	92.75
		暗所区	0.01	0.01	103.28

照射区及び暗所区の物質収支はそれぞれ93~97%及び98~103%であった。揮発性有機物は照射区で0.3~0.6%、暗所区で0.01%以下であった。CO₂は照射区で有意に検出され、緩衝液で6.0~8.9%、自然水で1.0~6.4%であった。暗所区では0.02%以下であった。

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産化学工業株式会社にある。

分析結果；HPLCによる分析結果を表2及び表3にまとめた。

表2. 照射した滅菌緩衝液の分析結果（原報告書Table 19及び20を改訂）

標識体	照射 日数	処理放射能に対する比率%、()内はチフルザミド換算濃度mg/L				
		チフルザミド (1)				
	0	98.54 (0.75)				
	1	95.58 (0.73)				
	3	86.68 (0.66)				
	5	72.99 (0.55)				
	7	62.48 (0.47)				
	11	46.00 (0.35)				
	15.4	30.24 (0.23)				
	0	99.52 (0.85)				
	1	89.43 (0.76)				
	3	85.97 (0.73)				
	5	77.80 (0.66)				
	7	62.56 (0.53)				
	9	61.92 (0.53)				
	11	54.44 (0.46)				
	13	49.20 (0.42)				
	15	46.07 (0.39)				

ND：検出せず。

申請者注) 原報告書ではミズーリ州真夏の太陽光換算照射日数に基づいた表となっているが、実際の人工照射日数に基づいた表に変更した。分解物親化合物換算濃度は初期濃度を基に申請者が算出した。

チフルザミド(1)はpH 7緩衝液中で9~13日の半減期で光分解され、照射直前の99~100%から照射終了時には30~46%まで減少した。主要分解物は、

であり、照射3日後から 検出され、照射終了に最大 まで生成した。その他に 検出され、それぞれ最大 検出された。これらはコクロマトグラフィー及び質量分析によって同定された。また、 処理区ではフラクションDが10%を超えたが、

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産化学工業株式会社にある。

10%未満の数種類の成分であることが確認された。暗所区では全く分解が認められなかった。

表3. 照射した滅菌自然水の分析結果（原報告書Table 21及び22を改訂）

標識体	照射 日数	処理放射能に対する比率%、()内はチフルザミド換算濃度mg/L							
		チフルザミド (1)							
	0	98.05 (1.18)							
	1	82.46 (0.99)							
	2	67.44 (0.81)							
	4	29.77 (0.36)							
	7	8.74 (0.10)							
	10	2.15 (0.03)							
	15	ND							
	0	98.96 (0.94)							
	1	83.38 (0.79)							
	2	64.35 (0.61)							
	4	30.33 (0.29)							
	7	8.23 (0.08)							
	11	ND							
	15	ND							

ND：検出せず。

申請者注) 原報告書ではミズーリ州真夏の太陽光換算照射日数に基づいた表となっているが、実際の人工照射日数に基づいた表に変更した。分解物親化合物換算濃度は初期濃度を基に申請者が算出した。

チフルザミド(1)は自然水中で緩衝液よりも速く光分解され(半減期:2日)、照射直前の98~99%から照射終了時には検出されなかった。主要分解物は、

であり、そ

れぞれ最大 検出された。その他に

が最大で 検出された。これらはクロマトグラフィー及び質量分析によって同定された。また、 処理区では 10%未満の数種類の成分であることが確認された。暗所区では全く分解が認められなかった。

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産化学工業株式会社にある。

チフルザミドの消失曲線を図1に、光分解速度のまとめを表4に示した。

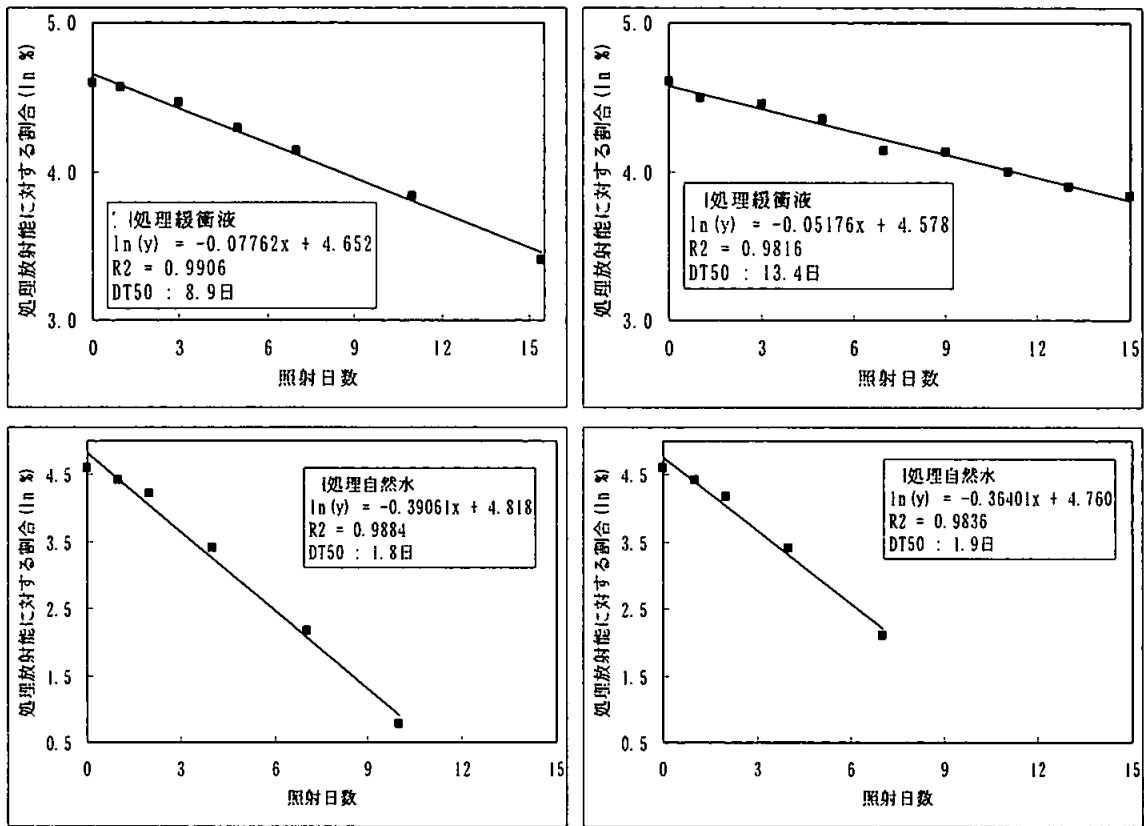


図1. チフルザミドの消失曲線（原報告書Figure 58、59、60及び61を改訂）

申請者注) 原報告書では濃度の自然対数に対する太陽光換算日数で半減期を算出しているが、実測値である処理放射能比率に対する人工光照射日数に基づいて申請者が再計算した。

表4. 光分解速度のまとめ

試 験 区	DT ₅₀ (日)	
	実験値	北緯35° 春の太陽光換算値
pH 7緩衝液	8.9	37.1
pH 7緩衝液	13.4	51.4
自然水	1.8	8.8
自然水	1.9	9.2

申請者注) 北緯35° 春の太陽光換算値は実験値を基に申請者が算出した。実験値半減期に3.833~4.878を乗じて求めた。

太陽光換算したチフルザミドの半減期は緩衝液で37~51日、自然水で8.8~9.2日であり、緩衝液よりも自然水中での光分解が速やかで、光増感作用が原因であると考えられた。検出された分解物及び文献を基に推定水中光分解経路を図2に示した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

図2. チフルザミドの推定水中光分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

5. 土壌吸着性試験

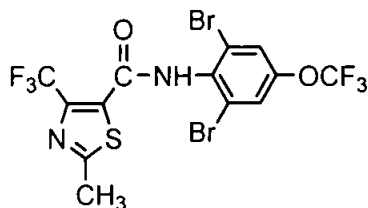
①土壌吸着試験

(資料 No. 38)

試験機関：日本モンサント社

報告書作成年：1992年

供試化合物：下記の非標識化合物を用いた。



化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-
1,3-thiazole-5-carboxanilide

純度； %

供試土壌：下記の4種類の土壌を用いた。

項目	上川水田土壌	岡山水田土壌	和歌山畑土壌	岡山畑土壌
供試土壌の種類	水田土壌	水田土壌	畑地土壌	畑地土壌
採取場所	北海道上川農試	植調岡山試験地	和歌山県農試	岡山県農試
OECD土壌タイプ	4	3	3	5
土性	軽埴土	軽埴土	軽埴土	砂質埴壤土
砂 (%)	44.0	60.3	41.7	60.5
シルト (%)	30.4	21.3	29.4	17.5
粘土 (%)	25.6	18.4	28.9	22.0
有機炭素含有率 (%)	4.67	2.29	1.75	0.69
pH (H ₂ O)	5.8	6.4	6.0	6.7
pH (KCl)	5.4	5.6	5.2	5.5
陽イオン交換容量 (meq/100g)	22.0	13.9	11.0	8.7
リン酸吸収係数	1140	530	410	350
粘土鉱物の種類	モンモリロナイト カオリン鉱物 クローライト	モンモリロナイト カオリン鉱物	カオリン鉱物 ハ-ミキュライト	ハロイサイト
土壌水分含量 (%)	7.7	5.2	2.9	2.5

申請者注) OECD土壌タイプは有機炭素含有率、粘土含有率及びpHを参考に申請者が付与した。

試験方法：

吸着平衡試験；各土壌3 g (乾土換算) を別々の共栓付き遠沈管に秤量し、純水5 mLを加えて密栓し、25±1℃下で24時間放置後、0.6 ppmの0.01M塩化カルシウム水溶液30 mL加えて25±1℃下で振盪した (土壌/水=1/12)。4、8、16、24及び48時間後にそれぞれ遠心分離した水層10 mLを分析に供し、水層中濃度を求め、変化率が10%以内となった振盪時間を平衡化時間とした。変化率は次式より算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

$$\text{変化率} = [(n\text{回時の濃度}) - (n-1\text{回時の濃度})] \times 100 / (n-1\text{回時の濃度})$$

また、土壌なしの試料も同様に行い、容器への吸着性を評価した。

吸着等温試験；上記と同様に純水で24時間放置した各土壌に0.06、0.15、0.6及び1.2 ppmの0.01M塩化カルシウム水溶液を30 mL加えて25±1℃下で24時間振盪した。遠心分離し、水層10 mLを分析に供し、水層中濃度を求めた。土壌中濃度は計算によって求めた。

物質収支；0.6 ppm試験溶液の試料について、吸着平衡後の水層中及び土壌中のチフルザミド量を測定し、添加量で除して回収率を求めた。水層は、酢酸エチル/ヘキサン混液で2回抽出し、脱水、濃縮後、アルミナ/フロリジルカラム精製してGC-ECD分析した。土壌を含む遠沈管内残渣は、塩酸酸性下で含水アセトニトリル抽出を3回行い、抽出液を濃縮後、水層と同様に酢酸エチル/ヘキサン混液抽出、アルミナ/フロリジルカラム精製してGC-ECD分析した。

試験結果：

吸着平衡試験；結果を表1に示した。

表1. 吸着平衡試験結果（原報告書表1）

供試土壌 (OECDタイプ)	振盪時間 (h)	振盪後の水相中濃度 (µg/mL)		変化率 (%)	
		実測値	平均値		
上川水田土壌 (4)	4	0.245	0.244	0.244	-
	8	0.164	0.181	0.172	-30
	16	0.183	0.183	0.183	6
	24	0.155	0.161	0.158	-14
	48	0.157	0.157	0.157	-1
岡山水田土壌 (3)	4	0.276	0.262	0.269	-
	8	0.196	0.217	0.206	-23
	16	0.176	0.201	0.188	-9
	24	0.155	0.178	0.166	-12
	48	0.170	0.168	0.169	2
和歌山畑土壌 (3)	4	0.311	0.345	0.328	-
	8	0.279	0.279	0.279	-15
	16	0.223	0.241	0.232	-17
	24	0.211	0.189	0.200	-14
	48	0.189	0.209	0.199	-1
岡山畑土壌 (5)	4	0.430	0.428	0.429	-
	8	0.413	0.416	0.414	-3
	16	0.351	0.364	0.358	-14
	24	0.332	0.337	0.334	-7
	48	-	-	-	-
土壌なし	4	0.551	0.557	0.554	-
	8	0.621	0.587	0.604	9
	16	0.492	0.534	0.513	-15
	24	0.510	0.507	0.508	-1
	48	0.504	0.525	0.514	2

各土壌とも変化率を基に振盪24時間を吸着平衡化時間とした。

吸着等温試験；結果を表2に示した。

物質収支；0.6 ppm試験溶液の吸着平衡後の各試料からの平均回収率は、70～77%であった（原報告書表5）。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. 吸着等温試験結果 (原報告書表2-1, 2-2, 及び3)

土壌名 (OECD)	初期添加量 (μg)	水相濃度 (μg/mL)	土壌中濃度 (μg/g)	吸着係数 (K^{ads})	吸着指数 (1/n)	相関係数 (r)	有機炭素含有率 (%)	有機炭素吸着係数 (K_F^{adsoc})
上川水田 (4)	34.4	0.321	7.69	26.1	0.951	0.995	4.67	559
		0.284	8.13					
	20.4	0.175	4.74					
		0.145	5.10					
	5.1	0.039	1.24					
		0.041	1.22					
岡山水田 (3)	34.4	0.368	7.15	20.0	0.904	0.991	2.29	873
		0.353	7.33					
	20.4	0.189	4.58					
		0.153	5.01					
	5.1	0.044	1.18					
		0.050	1.11					
和歌山畑 (3)	34.4	0.391	6.89	16.4	0.932	0.993	1.75	937
		0.415	6.61					
	20.4	0.230	4.11					
		0.204	4.41					
	5.1	0.060	1.00					
		0.050	1.12					
岡山畑 (5)	34.4	0.626	4.15	5.4	0.880	0.979	0.69	783
		0.710	3.16					
	20.4	0.403	2.09					
		0.320	3.06					
	5.1	0.097	0.57					
		0.092	0.62					
2.3	0.037	0.33						
	0.039	0.31						

以上の結果、チフルザミドは4種類の土壌において低移動性と判断された。

申請者注) 移動性の評価はMcCallらの以下の分類基準に基づいて申請者が行った。

K_F^{adsoc} 移動性分類

0-50 : very high (非常に高い移動性)

50-150 : high (高移動性)

150-500 : medium (中移動性)

500-2000 : low (低移動性)

2000-5000 : slight (微移動性)

>5000 : immobile (非移動性)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

②土壌吸脱着試験

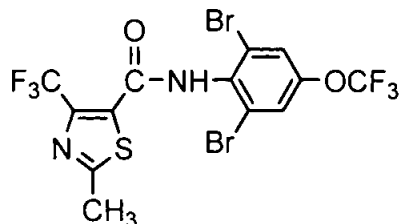
(資料 No. 39)

試験機関：スプリングボーン社(米国)

[GLP対応]

報告書作成年：1992年

供試標識化合物：下記の標識化合物を用いた。



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度；下記の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)

非標識体の純度は %であった。

供試土壌：下記の物理化学的特性を有する6種類の土壌と1種類の底質土を用いた。

供試土壌	OECD土壌 タイプ	砂 (%)	シルト (%)	粘土 (%)	有機炭素 含有率 (%)	陽イオン交換容量 (meq/100g)	pH
Sarpy砂壤土	5	59.3	30.0	10.7	0.29	11.7	8.2
Dupoシルト質壤土	5	22.0	68.0	10.0	0.59	9.7	7.8
滋賀埴壤土	3	30.0	33.3	36.7	2.24	16.1	6.5
牛久砂壤土	4	52.0	33.3	14.7	7.88	17.0	6.0
Indiana壤土	3	36.0	38.0	26.0	1.53	17.2	5.2
Rochester壤質砂土	5	78.0	15.3	6.7	1.82	7.5	5.9
Kansas底質土 ロット1	6	13.3	37.2	49.5	0.65	39.9	7.8
Kansas底質土 ロット2	6	14.0	38.0	48.0	0.94	46.3	7.7

申請者注) OECD土壌タイプは有機炭素含有率、粘土含有率及びpHを参考に申請者が付与した。有機炭素含有率は有機物含有率を1.7で除して求めた。

試験方法：

スクリーニング試験（吸着率及び脱着率）；非標識体と標識体のアセトニトリル混合液に0.01M塩化カルシウム水溶液を加え、名目濃度を1.31 mg/Lとし、各土壌8 g（乾土換算）に40 mLを加え、土壌/水溶液比を1/5とした（土壌+被験物質含まない0.01M塩化カルシウム水溶液のブランク試料及び土壌なし+試験水溶液の対照試料も追加）。①20℃下で16時間振盪後、遠心分離によって水層の一部を液体シンチレーションカウンターに供し、放射能濃度を測定した。②残りの水層は傾斜法によって取り出し、新しい0.01M

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

塩化カルシウム水溶液40 mLを加えた（脱着Ⅰ）。①及び②の操作を繰り返した（脱着Ⅱ）。

吸着平衡試験；非標識体と標識体のアセトニトリル混合液に0.01M塩化カルシウム水溶液を加え、名目濃度を1.31 mg/Lとし、各土壌2 g（乾土換算）に40 mLを加え、土壌/水溶液比を1/20とした。20℃下で振盪し、2、4、16、24、48及び72時間後の水層濃度から平衡化時間を決定した。

吸着等温試験；非標識体と標識体のアセトニトリル混合液に0.01M塩化カルシウム水溶液を加え、名目濃度を1.32、0.815、0.129及び0.0100 mg/Lとした。各土壌2 g（乾土換算）に40 mLを加え、土壌/水溶液比を1/20とし、24℃下で各土壌の平衡化時間まで振盪し、遠心分離後、水層濃度を測定した。マスバランスを確認するために、最高濃度の試料を用いて水層中放射能及び土壌層中放射能を測定した。

安定性試験；非標識体と標識体のアセトニトリル混合液に0.01M塩化カルシウム水溶液を加え、濃度を0.642 mg/Lとし、各土壌8 g（乾土換算）に40 mLを加え、土壌/水溶液比を1/5とした。20℃下で64あるいは96時間振盪し、遠心分離によって水層と土壌層に分け、水層及び土壌抽出液をそれぞれHPLC分析に供し、チフルザミドの安定性を評価した。また、土壌抽出残渣中の放射能を測定し、マスバランスを確認した。

試験結果：

スクリーニング試験；結果のまとめを表1に示した。

表1. スクリーニング試験結果（原報告書Table II）

土壌名 (OECDタイプ)	吸着性			脱着性		
	吸着率 (%)	吸着係数Kd	有機炭素吸着係数Koc	脱着率 (%)	脱着係数Kdes I	脱着係数Kdes II
Sarpy土壌 (5)	31.0	2.25	765	75.7	3.90	5.43
Dupo土壌 (5)	33.4	2.52	428	78.1	4.48	3.89
滋賀土壌 (3)	81.4	21.9	981	22.1	37.5	35.7
牛久土壌 (4)	92.0	57.8	734	9.72	87.2	97.8
Indiana土壌 (3)	54.6	6.18	404	53.2	9.79	11.1
Rochester土壌 (5)	63.0	8.74	479	35.7	18.8	19.8
Kansas底質土 (6)	45.2	4.15	641	64.7	5.64	9.67

吸着平衡試験；結果を表2に示した。

表2. 吸着平衡試験結果（原報告書Table III）

土壌名 (OECDタイプ)	振盪時間 (h)					
	2	4	16	24	48	72
Sarpy土壌 (5)	0.779	0.701	0.707*	0.618	0.581	0.614
Dupo土壌 (5)	0.712	0.653	0.639	0.600*	0.602	0.569
滋賀土壌 (3)	0.432	0.449	0.399	0.348*	0.322	0.314
牛久土壌 (4)	0.215	0.168	0.216	0.147*	0.170	0.124
Indiana土壌 (3)	0.547	0.598	0.572*	0.535	0.494	0.494
Rochester土壌 (5)	0.529	0.538	0.486*	0.376	0.437	0.439
Kansas底質土 (6)	0.601	0.655	0.651*	0.571	0.566	0.532

数値は水層中濃度 (mg/L)。*：平衡化時間として設定。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

吸着等温試験；結果を表3に示した。

表3. 吸着等温試験結果（原報告書Table IV～X）

土壌名 (OECD)	初期濃度 (mg/L)	水相濃度 (mg/L)	土壌中濃度 (mg/kg)	吸着係数 (K_{ads})	吸着指数 ($1/n$)	相関係数 (r^2)	有機炭素 含有率 (%)	有機炭素 吸着係数 ($K_F^{ads,OC}$)
Sarpy 土壌 (5)	1.32	1.17	2.53	2.43	0.869	0.998	0.29	827
	0.815	0.741	2.07					
	0.129	0.113	0.373					
	0.0100	0.00884	0.0391					
Dupo土壌 (5)	1.32	1.11	3.80	3.40	0.923	1.00	0.59	578
	0.815	0.723	2.42					
	0.129	0.109	0.460					
	0.0100	0.00871	0.0419					
滋賀土壌 (3)	1.32	0.594	14.1	22.3	0.935	1.00	2.24	996
	0.815	0.394	8.99					
	0.129	0.0562	1.52					
	0.0100	0.00416	0.133					
牛久土壌 (4)	1.32	0.294	20.1	55.7	0.936	0.994	7.88	707
	0.815	0.242	12.0					
	0.129	0.0264	2.11					
	0.0100	0.00221	0.172					
Indiana土 壌 (3)	1.32	0.981	6.38	7.22	0.960	0.998	1.53	472
	0.815	0.608	4.72					
	0.129	0.0914	0.811					
	0.0100	0.00764	0.0632					
Rochester 土壌 (5)	1.32	0.849	9.03	11.4	0.909	0.990	1.82	626
	0.815	0.540	6.09					
	0.129	0.0665	1.31					
	0.0100	0.0605	0.0949					
Kansas 底質土 (6)	1.32*	1.03	5.40	5.88	0.973	0.995	0.65	909
	0.815	0.650	3.89					
	0.129	0.0950	0.739					
	0.0100	0.00830	0.0500					

*：底質土(B)を用いたが、大部分は底質土(A)であったため、有機炭素含有率は底質土(A)の値を用いた。本試験における放射能のマスバランスは87～98%であった（原報告書Table XI）。

以上の結果、チフルザミドはIndiana土壌（中移動性）以外の6種類の土壌において低移動性と判断された。

申請者注) 原報告書では全て低移動性として評価されているが、McCallらの分類基準に基づいて申請者が行った。

チフルザミドの安定性試験の結果、水層中及び土壌抽出液中のチフルザミドの顕著な分解は認められなかった。放射能のマスバランスは抽出残渣に起因していると考えられた滋賀土壌の55%以外は、78～100%の回収が得られた。（原報告書Table XII）。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

6. 生物濃縮性試験

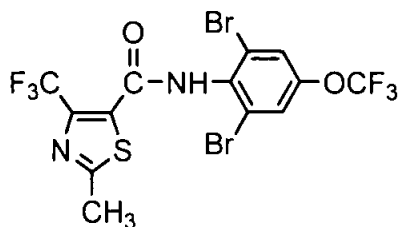
(資料No. 70)

試験機関：ABC研究所(米国)

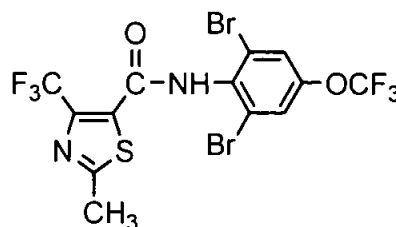
[GLP対応]

報告書作成年：1992年

供試標識化合物：下記の標識位置の異なる2種の化合物を用いた。



標識化合物



標識化合物

化学名； 2',6'-dibromo-2-methyl-4'-trifluoromethoxy-4-trifluoromethyl-1,3-thiazole-5-carboxanilide

比放射能及び放射化学的純度； 混合し、非標識体で希釈した被験物質は以下の通りであった。

供試化合物	比放射能 (mCi/mmol)	放射化学的純度 (%)	処理区
			高用量区
			低用量区

魚種：コイ (Cyprinus carpio)、平均体長；8.68 cm、平均体重；21.5 g

成育条件；324匹の供試魚は16時間照明下の飼育水槽に入れ、14日間以上馴化した。馴化及び試験期間中、市販の標準魚用飼料を与えた。

試験方法：

試験溶液の調製；各被験物質をアセトンに溶解し、高用量用に533 mg/L、低用量用に64.6 mg/Lのストック溶液を調製した。それぞれをシリンジ分注器にセットし、希釈水と混合セル内で混合し、高用量暴露濃度として0.038 mg/L、低用量暴露濃度として0.0038 mg/Lを70 Lの試験水槽に流水した。対照区はアセトンを上記同様に希釈水と混合し、試験水槽に流水した。試験区ごとに3水槽使用した。各水槽中の水は溶存酸素濃度を飽和の40%以上に維持するために曝気した（実測の結果は飽和の81%以上）。

暴露濃度の設定根拠；

暴露期間と排泄期間；56日間暴露後、水槽の水を清浄水に置換し、14日間の排泄期間を設けた試験期間中水槽中の水温は25℃に設定した（実測値は22～25℃）。

試料採取時期；試料採取時期を以下の表にまとめた。水試料は各採取時点で放射能測定用に10 mL×3、水質調査用（溶存酸素及びpH測定）に500 mLを採取した。また適宜、代謝物分析を行った。魚試料は試験区毎に6匹（各水槽から2匹）採取し、4匹は可食部と非可食部に分けて放射能測定と代謝物分析に、2匹は魚体全体としての放射能測定に用いた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

採取試料	暴露期間 (日)													排泄期間 (日)				
	0	0.17	1	3	7	14	21	28	35	36	42	49	56	1	3	7	10	14
水試料	-	○	○	○	○	○	○	○	○	△	○	○	○	○	○	○	○	○
魚試料	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

○：採取、△：魚体全体分析用にのみ採取、-：採取せず。

分析機器；

液体シンチレーションカウンター (LSC)：液体試料はシンチレーションカクテルと混合して放射能を測定した。

試料燃焼装置：固体試料中の放射能は自動燃焼装置にて燃焼後、トラップした¹⁴C₂をLSCで測定した。

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)：カラムは逆相系、移動相はアセトニトリルと水とのグラジエントシステム下、UV検出器でモニターし、フラクションコレクターで画分を採取し、LSC測定した。

試験結果：

生物学的観察；試験期間中の死亡は高用量区の2例（この試験区の108匹に対して2%未満）であり、暴露及び排泄期間中の被験物質の影響はみられなかった。

水中及び魚中総放射能濃度；試験期間中の高用量区及び低用量区における水中及び魚中総放射能濃度及び各時点でのBCFを表1及び表2にまとめた。経時的な魚中総放射能濃度推移を図1に示した。

表1. 高用量区における水中及び魚中総放射能濃度のまとめ（原報告書Table IV）

	試験期間 (日)	測定値はチフルザミド換算総放射能濃度 (mg/Lあるいはmg/kg) として記載							
		水試料		魚体全体		可食部		非可食部	
		実測濃度	平均濃度	実測濃度	BCF	実測濃度	BCF	実測濃度	BCF
暴露期間	0	0.041	0.041	-	-	-	-	-	-
	0.17	0.030	0.036	1.2	33	1.0	28	1.5	42
	1	0.041	0.037	4.9	132	4.2	114	6.1	165
	3	0.061	0.043	11	256	7.8	181	12	279
	7	0.039	0.042	8.9	212	6.1	145	13	310
	14	0.040	0.042	7.3	174	7.3	174	11	262
	21	0.041	0.042	8.1	193	6.0	143	11	262
	28	0.041	0.042	8.0	190	6.0	143	10	238
	35	0.016	0.039	5.1	131	4.1	105	8.1	208
	42	0.043	0.039	7.2	185	4.8	123	9.1	233
	49	0.045	0.040	7.9	198	5.0	125	10	250
	56	0.043	0.040	7.3	183	6.2	155	10	250
		平均値	0.040		7.5*	183*	5.7*	139*	10*
排泄期間	1	0.0039	-	3.1	-	2.1	-	4.6	-
	3	<0.0001	-	0.48	-	0.41	-	0.66	-
	7	<0.0001	-	<0.062	-	<0.061	-	0.093	-
	10	<0.0001	-	0.074	-	<0.061	-	<0.063	-
	14	<0.0001	-	<0.062	-	<0.061	-	<0.063	-

-：測定あるいは計算せず、*：暴露7～56日の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

表2. 低用量区における水中及び魚中総放射能濃度のまとめ (原報告書Table V)

試験期間 (日)	測定値はチフルザミド換算総放射能濃度 (mg/Lあるいはmg/kg) として記載							
	水試料		魚体全体		可食部		非可食部	
	実測濃度	平均濃度	実測濃度	BCF	実測濃度	BCF	実測濃度	BCF
0	0.0036	0.0036	-	-	-	-	-	-
0.17	0.0030	0.0033	0.10	30	0.098	30	0.12	36
1	0.0036	0.0034	0.53	156	0.49	144	0.62	182
3	0.0039	0.0035	0.78	223	0.59	169	1.1	314
7	0.0039	0.0036	0.95	264	0.66	183	1.2	333
14	0.0039	0.0037	1.0	270	0.74	200	1.1	297
21	0.0033	0.0036	0.92	256	0.49	136	0.88	244
28	0.0030	0.0035	0.65	186	0.47	134	0.79	226
35	0.00025	0.0032	0.39	122	0.21	66	0.48	150
42	0.0042	0.0033	0.80	242	0.45	136	0.91	276
49	0.0042	0.0034	0.85	250	0.56	165	1.0	294
56	0.0033	0.0033	0.77	233	0.52	158	0.95	288
平均値	0.0033		0.79*	228*	0.51*	147*	0.91*	264*
1	0.0022	-	0.34	-	0.25	-	0.42	-
3	<0.0001	-	0.059	-	0.043	-	0.080	-
7	<0.0001	-	<0.0059	-	<0.0059	-	0.0092	-
10	<0.0001	-	<0.0059	-	<0.0059	-	<0.0060	-
14	<0.0001	-	<0.0059	-	<0.0059	-	<0.0060	-

-: 測定あるいは計算せず、*: 暴露7~56日の平均値

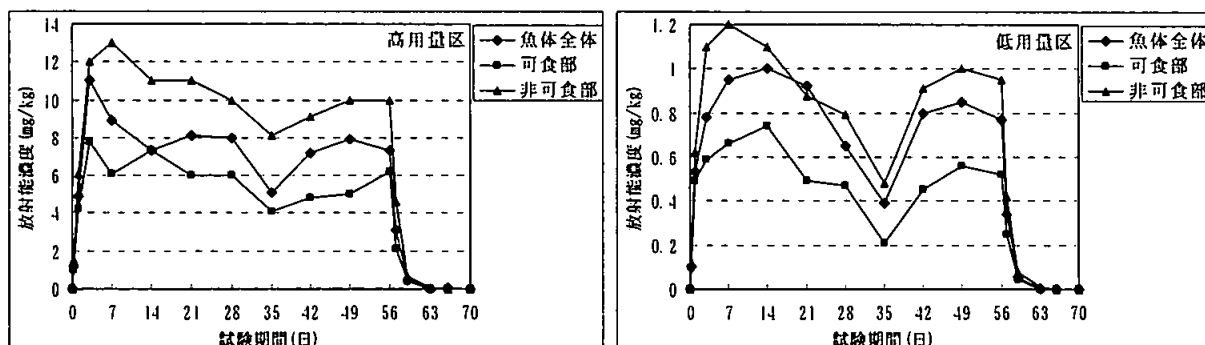


図1. 経時的な魚中総放射能濃度推移 (原報告書Figure 3及び4)

暴露期間中の平均総放射能濃度は高用量区で0.040 mg/L、低用量区で0.0033 mg/Lであった。暴露35日目にシリンジ分注器の故障によって流水濃度が低下したが、36日目には正常値になった。魚体全体の総放射能濃度推移より、暴露7日目までに定常状態に達したと考えられ、暴露7~56日の各時点での生物濃縮係数 (BCF) の平均値をBCFssとした (高用量区: 183、低用量区: 228)。また、総放射能の取込速度と排泄速度に基づいた動的パラメータを算出し、表3にまとめた。

表3. 動的パラメータのまとめ

パラメータ	高用量区	低用量区
BCFk	198	237
取込速度定数 (日 ⁻¹)	196	198
排泄速度定数 (日 ⁻¹)	0.99	0.83
DT50 (日)	0.70	0.83
DT90 (日)	2.3	2.8

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

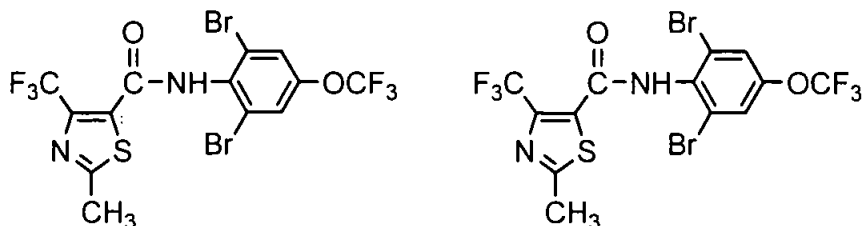
定常状態のBCF_{ss}値と計算値によるBCF_k値はほぼ一致し、また、高用量区と低用量区で同等であった。可食部及び非可食部のBCF_{ss}は、非可食部のほうが高いことが確認された。水中及び魚中の総放射能の99%以上は親化合物であり、上記の値はチフルザミドの値としてみることもできた。排泄期間中の魚中からの排泄速度は速やかであり、全試料中の暴露56日時点の放射能濃度に対する排泄率は99%以上であった。

代謝分解のまとめ

チフルザミドの動物、植物、土壌等における代謝、分解、残留の要約は以下のとおりである。

推定代謝経路及び代謝分解物の概要をそれぞれIX-100及びIX-101に示した。

チフルザミドの代謝分解試験は、標識体を用いて実施した。



動物体内運命：資料No. 31、32、33、34、34-2及び34-3

ラットに標識したチフルザミドを（1）2.5 mg/kg(低用量)の単回経口投与、（2）750 mg/kg(高用量)の単回経口投与、（3）2.5 mg/kgの15日間にわたる反復経口投与及び（4）2.5 mg/kgの単回静脈内投与の4種類の投与方法で投与し、チフルザミドの投与後の吸収、分布、代謝及び排泄試験を実施した。試験結果の概要について以下にまとめた。

吸収（血漿中薬物動態）

チフルザミドをラットに単回経口投与したとき、血漿中放射能濃度は、低用量群では投与後4～12時間に最高値を示し、その後急速に減少し、投与後48時間には僅少となった。α相の半減期は、6.4～8.5時間、β相の半減期は48～108日を示す2相性の1次式キネティックスが最も良く適合した。AUC₀₋₁₆₈は16～21 ppm・hであった。一方、高用量群では投与後48～72時間に最高値に達し、その後濃度は急速に減少し、投与後168時間には僅少になった。半減期は12～18時間の1相性の1次式キネティックスが最も良く適合した。AUC₀₋₁₆₈は3777～7388 ppm・hであった。

経口と静脈内投与の尿中排泄率に基づく吸収率は、低用量で90～100%、高用量で50～80%であり、胆汁排泄率を基にした吸収率は、低用量で92～94%、高用量で31～59%であった。低用量における性差は認められなかった。

分布

チフルザミドをラットに単回経口投与したとき、組織中放射能濃度は肝臓及び脂肪で比較的高かった。低用量群の組織中の放射能濃度は投与11時間後に最も高かったが、投与後7日以内に急速に消失した。高用量群では投与62時間後にも高濃度の放射能が検出されたが、7日以内に消失した。

代謝

チフルザミドをラットに投与したとき、チフルザミドは糞（高用量）、消化管内容物（高用量）、血漿、脂肪及び筋肉中で主要残留物であった。尿、糞及び胆汁中の代謝物から、

の反応が確認された。雄では

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

が主な代謝物として検出され、雌では
が主な代謝物として検出
されたことから、雄では
が活発であり、雌では
が活発であるこ
とが示唆された。代謝パターンに本質的な性差は認められなかった。

排泄

チフルザミドをラットに投与したとき、体外排泄は比較的速やかであり、いずれの投与方法の場合も96時間以内に大部分の放射能が排泄された。主要な排泄経路は糞であり、投与量の67～90%を占め、残余は尿から排泄された。排泄について低用量群では性差はみられなかったが、高用量群では雄の糞中排泄量が雌より有意に高かった。チフルザミドの胆汁中への排泄率は低用量で48～76%、高用量で10～18%であった。

植物体内運命：資料No. 35、35-2及び35-3

標識したチフルザミドを用いて、水稻（土壌処理及び茎葉処理）、小麦（茎葉処理）及び落花生（茎葉処理）の3作物での植物体内運命試験を実施した。処理方法が異なっても、作物が異なっても主要残留成分はチフルザミド (I) であり、土壌処理による水稻の玄米で75～82% TRR、稲藁で77～80% TRR、茎葉処理による水稻の玄米で80～87% TRR、稲藁で93～97% TRR、小麦の玄麦で83% TRR、麦藁で93% TRR、落花生の子実で93～96% TRR、茎葉部で97～98% TRRであった。各植物間での代謝様式は
で、全植物体から共通の代謝物
が10% TRR未満で検出された。これら3作物における代謝様式は同様であった。

好氣的湛水土壌中運命：資料No. 36

2種類の土壌（米国の埴土、日本の壤土）を用いて湛水条件下におけるチフルザミドの代謝試験を実施した。湛水土壌に標識したチフルザミドを1.5 mg/kgの濃度となるように添加し、1年間にわたって25℃暗所下で培養した。

両土壌とも、抽出残渣は経時的に増加し、1年後には最大値で処理放射能の15%（日本土壌）を占めた。試験期間中に揮発性物質として放出された放射能は微量であった。また、 $^{14}\text{CO}_2$ として放出された放射能は1年後に処理放射能の約3%を占めた。チフルザミドの半減期は日本土壌で620日、米国土壌で976日と計算された。

土壌から抽出された放射能の大部分は両土壌とも未変化の親化合物であり、1年後で日本土壌では処理放射能の64%、米国土壌では73%が残留していた。10%を超える主要代謝物は日本土壌で検出された
のみであり
、その他マイナー代謝物として、

が検出された。

好氣的土壌中運命：資料No. 37

3種類の土壌（米国の Dupo 微砂質壤土、Sarpy 砂壤土及び日本の火山灰土壌）を用いて好氣的条件下におけるチフルザミドの代謝試験を実施した。圃場容水量の75%に水分を調整した各土壌に標識したチフルザミドを1.4 mg/kgの濃度となるように添加し、1年間にわたって25℃暗所下で培養した。

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産化学工業株式会社にある。

各土壌とも、経時的に抽出残渣が増加し、1年後には日本土壌で12%を示した。試験期間中に揮発性物質として放出された放射能は微量であり、最大でも1年後で1.5%であった。また、 $^{14}\text{C}_2$ として放出された放射能は1年後で2.0%に達した。本試験条件下におけるチフルザミドの半減期は3種の土壌で992~1298日と計算された。

抽出放射能の大部分は未変化の親化合物であり、1年後でも処理放射能の70%以上を占めた。10%を超える主要代謝物は検出されず、以下であった。

土壌表面光分解：資料No. 69

米国シルト質壤土を用いて土壌表面光分解試験を実施した。土壌に1888 g ai/ha相当量の標識したチフルザミドを処理し、キセノンランプで25℃下30日間連続照射した。

抽出残渣は経時的に増加し、最大で4.6%に達した。また、 $^{14}\text{C}_2$ として放出された放射能は最大6.6%であった。照射条件下での半減期は87日~155日であった。

検出された分解物はすべて処理量の10%以下であった。分解物として

が同定された。

加水分解運命：資料No. 41

滅菌緩衝液 (pH 5, 7, 9) 及び滅菌田面水に標識したチフルザミドを1 mg/L添加して25℃暗所下でインキュベートした。チフルザミドは滅菌した各緩衝液及び田面水中で30日間安定であった。

水中光分解運命：資料No. 40

滅菌pH 7緩衝液及び滅菌自然水に標識したチフルザミドを1 mg/L添加し、キセノンランプで25℃下15日間連続照射した。分析の結果を以下の表にまとめた。

供試水	半減期 (日)		主要分解物 (光照射区)
	光照射区	暗所区	
滅菌蒸留水	8.9 13.4	分解せず	
滅菌自然水	1.8 1.9	分解せず	

()内の数値は処理放射能に対する最大生成比率と処理後の経過時間

チフルザミドの半減期は緩衝液中で8.9~13.4日、自然水中で1.8~1.9日であり、環境中でのチフルザミドの分解には光分解が大きく寄与していることが示唆された。分解物として

が確認された。

土壌吸着：資料No. 38及び39

チフルザミドの非標識体あるいは標識体を用いた土壌吸着試験を実施した。

火山灰土壌を含む日本の6土壌 (3軽埴土、砂質埴壤土、埴壤土、砂壤土) における有機炭素吸着係数 K_f^{ads} は、559~996であり、全て低移動性であった。一方、米国の5土壌 (砂壤土、シ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

ルト質壤土、壤土、壤質砂土、底質土)における有機炭素吸着係数 K_f^{adsoc} は、472~909であり、
埴土の中移動性を除き、その他は低移動性であった。

生物濃縮性：資料No. 70

チフルザミドの標識体を用いて、コイにおける生物濃縮性試験を実施した。定常状態における生物濃縮係数BCF_{ss}は平均183~228であり (BCF_k: 198~237)、生物濃縮性は低いことが示唆された。また、排泄速度が速やかであることから蓄積性も低いことが示唆された。

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産化学工業株式会社にある。

チフルザミドの動植物等における代謝分解経路図

代謝分解の概要 (1) 動物、植物、土壌等代謝分解物比較 1

代謝分解物		親化合物 I																			
動物	ラット 2.5 mg/kg 単回経口	雄尿 0-72h	ND																		
		雌尿 0-72h	ND																		
		雄糞 0-72h	ND																		
		雌糞 0-72h	ND																		
		雄胆汁 0-24h	ND																		
		雌胆汁 0-72h	ND																		
		植物	水稻土壌処理後 62 日	玄米 79 (0.08)																	
		稲藁 79 (15.1)																			
	水稻茎葉処理後 41 日	玄米 84 (0.03)																			
		稲藁 95 (18.0)																			
	小麦茎葉処理後 98 日	玄麦 83 (0.00)																			
		麦藁 93 (10.2)																			
	落花生茎葉処理後 107 日	子実 94 (0.09)																			
		茎葉 98 (12.5)																			
土壌	好気湛水 日本土壌	1.5 ppm 363 日後	63.6																		
	好気畑 日本土壌	1.4 ppm 365 日後	71.3																		
	米国土壌表面光分解	照射区 30 日後	84.8																		
		暗所区 30 日後	96.9																		
水中光分解	滅菌緩衝液 照射区	15-15.4 日後	30.2- 46.1																		
	滅菌自然水 照射区	15 日後	ND																		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日産化学工業株式会社にある。

注 1) 動物 (尿及び糞)、土壌、水中光分解の数値は処理放射能に対する%、動物 (胆汁) は試料中放射能に対する%、植物の上段は% TRR、下段の () 内の数値は実用濃度 (mg/kg) を表す。
 2) 数値の幅は両標識体の値、それ以外は両標識体の平均値を示す。 3) ND : 検出されず。 5) 0.00 : 0.005 未満。

代謝分解の概要 (1) 動物、植物、土壌等代謝分解物比較 2

代謝分解物																			合計		
動物	ラット 2.5 mg/kg 単回経口 (資料 34)	雄尿 0-72h																	17.9		
		雌尿 0-72h																		17.9	
		雄糞 0-72h																		67.4	
		雌糞 0-72h																		68.1	
		雄胆汁 0-24h																		100.0	
		雌胆汁 0-72h																			100.0
植物	水稻土壌処 理後 62 日 (資料 35)	玄米																	100.0 (0.10)		
		稲藁																		100.0 (19.5)	
	水稻茎葉処 理後 41 日 (資料 35)	玄米																		100.0 (0.04)	
		稲藁																			100.0 (19.0)
	小麦茎葉処 理後 98 日 (資料 35-2)	玄麦																		100.0 (0.01)	
		麦藁																			100.0 (11.0)
	落花生茎葉 処理後 107 日 (資料 35-3)	子実																			102.8 (0.09)
		茎葉																			100.2 (12.8)
土壌	好気湛水	1 ppm 189 日後																		100.2	
	好気畑																			95.2	
土壌 表面 光分解	米国土壌	照射区 30 日後																		95.8-98.8	
		暗所区 30 日後																			98.3-100.4
水中 光分解	滅菌緩衝液 照射区	15-15.4 日後																		93.4-96.7	
	滅菌自然水 照射区	15 日後																		92.8-94.8	

注 1) 動物 (尿及び糞)、土壌、水中光分解の数値は処理放射能に対する%、動物 (胆汁) は胆汁中放射能に対する%、植物の上段は% TRR、下段の () 内の数値は濃度 (mg/kg) を表す。

2) 数値の幅は両標識体の値、それ以外は両標識体の平均値を示す。 3) ND: 検出されず。

5) 0.00 : 0.005 未満。

代謝分解の概要(2) 動物代謝

代謝分解物				1																	合計				
動物	ラット	2.5 mg/kg 単回 経口	尿 0-72h	♂	ND																17.9				
				♀	ND																		17.9		
			糞 0-72h	♂	ND																			67.4	
				♀	ND																			68.1	
			胆汁 0-24h	♂	ND																			100	
				♀	ND																			100	
		750 mg/kg 単回 経口	尿 0-24h	♂	0.1																		5.2		
				♀	0.1																			15.7	
			糞 0-48h	♂	53.3																			86.1	
				♀	51.4																			75.2	
			胆汁 0-48h	♂	ND																			100	
				♀	ND																				100
		2.5 mg/kg 単回静 脈内	尿 0-48h	♂	ND																			10.3	
				♀	ND																			20.7	
			糞	♂	0.3																			78.5	
				♀	0.3																				67.2
		2.5 mg/kg 反復 経口	尿 0-48h	♂	0.2																			15.0	
				♀	0.2																			21.5	
			糞	♂	0.6																				77.0
				♀	0.7																				67.0

1) 尿及び糞の数値は投与放射能に対する%、胆汁の数値は胆汁中放射能に対する%を示す。 2) ND: 検出されず。

代謝分解の概要 (3) 土壌代謝

代謝分解物		1										合計
土壌	好気湛水	処理直後	97.7									100.3
	日本壤土	30日後	91.4									101.3
		150日後	82.8									100.5
	1.5 mg/kg 非滅菌	363日後	63.6									100.2
		好気畑	処理直後	97.9								100.6
	日本壤土	31日後	81.4									98.1
		1.4 mg/kg	189日後	78.1								97.3
	非滅菌	365日後	71.3									95.2
		土壌表面 光分解 米国シルト質 壤土	処理直後	99.7-99.8								
	30日後		81.1-88.4									95.8-98.8
	暗所30日		95.7-98.1									98.3-100.4

1) 数値は処理放射能に対する%を示す。 2) ND: 検出せず。

代謝分解の概要（４） 水中光分解

代謝分解物			1							合計	
水中 光分 解	滅菌 緩衝 液	人工 照射	処理直後	98.5/99.5 (0.75/0.85)						-	
			3日後	86.7/86.0 (0.66/0.73)						-	
			7日後	62.5/62.6 (0.47/0.53)						-	
			11日後	46.0/54.4 (0.35/0.46)						-	
			15-15.4日後	30.2/46.1 (0.23/0.39)						93.4/96.7 (0.71/0.82)	
	滅菌 自然 水	人工 照射	処理直後	98.1/99.0 (1.18/0.94)							-
			2日後	67.4/64.4 (0.81/0.61)							-
			4日後	29.8/30.3 (0.36/0.29)							-
			7日後	8.7/8.2 (0.10/0.08)							-
			15日後	ND							94.8/92.8 (1.14/0.88)

1) 数値は処理放射能に対する%、()内の数値は濃度(mg/L)を示す。
 4) *: 10%未満の複数成分よりなる。

3) ND: 検出せず。 4) -: 該当せず。

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産化学工業株式会社にある。

チフルザミドの開発年表