

5. 水中光分解試験

(資料 PC-8-1)

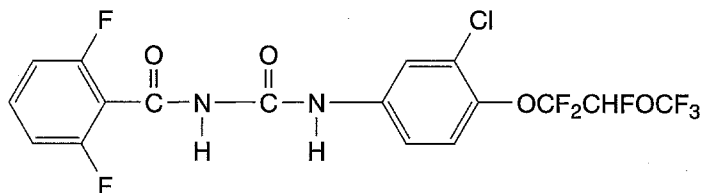
(1) ノバルロンの水中光分解性

試験機関：日本エコテック(株)

報告書作成年：2001 年

供試化合物：

化学構造：



化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

純度： %

供試水：蒸留水(高速液体クロマトグラフ用)

自然水(池水)

採取場所	まさんだ池/大阪府河内長野市小山田町
採取日	2001 年 5 月 7 日
水質 濁度	2
色度	36
pH	採取時：7.7(21℃)
電気伝導度	166 μ S/cm ²
保存	冷蔵庫(5℃)

光源：キセノンアークランプ 1.5Kw

放射スペクトルは 280~800nm の範囲で自然光と近似

UV フィルター：#275 ガラスフィルター使用。

光量：キセノンランプ光のスペクトル測定波長範囲と光強度

測定波長	280~500nm	280~800nm
試験開始直前の光強度 W/m ²	18.9	62.2
試験終了後の光強度 W/m ²	17.6	56.7

試験方法：

1) 試験溶液の調製

供試水をオートクレーブ(蒸留水)または除菌ろ過(自然水)により滅菌し、アセトニトリルを用いてノバルロンが $1.99 \mu\text{g/L}$ の濃度になるように処理した。試験溶液中のアセトニトリル濃度は 0.2%であった。

2) 試験設計

試験温度：25.0～25.5℃

試験期間：7 日間

試験容器：円筒ガラスセル(内径 30mm 高さ 70mm)に石英板(厚さ 1.2mm)で蓋をしたもの。

試料採取：光照射直前、1, 2, 3, 4 および 7 日後の各時期に試験溶液(円筒ガラスセル)を 1 個ずつ採取した。

遮光試料：照射試験と同等の試験設計をした試験容器をアルミホイルで覆い遮光区とした。

3) 分析方法

採取した試験溶液全量 40mL をヘキサン/酢酸エチル(7/3)で 2 回抽出し、濃縮後、アセトニトリル/蒸留水(1/1) 2mL に溶解し HPLC でノバルロンを定量した。検出限界は $0.4 \mu\text{g/L}$ であった。

5) 半減期の計算

一般に光分解反応は擬一次反応であり、ノバルロン濃度と時間の関係は次式で示される。

$$k = \frac{1}{t} \times \ln \frac{C_0}{C_t}$$

ここで、

C_t = t 時間におけるノバルロン濃度

C_0 = 0 時間におけるノバルロン濃度

k = 分解速度定数

t = 反応時間

ノバルロンの定量結果から残存率の自然対数を時間に対してプロットし、回帰直線を求めた。 k 値を直線の傾きから求め、次式により半減期($t_{1/2}$)を算出した。

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$$

結果

1) 試験溶液の pH

		蒸留水	自然水
2001 年 5 月 7 日	試験溶液調製時	8.8 (20℃)	8.2 (20℃)
2001 年 5 月 21 日	実験終了時	8.7 (21℃)	8.1 (21℃)
		8.6 (21℃)	8.1 (21℃)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

2) 回収試験

試験結果を表 1 に示す。

供試水からのノバルロンの回収試験結果は以下のとおり良好であった。

表 1 試験水からのノバルロンの回収試験結果

供試水	添加濃度 ($\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	相対標準偏差 (%)
蒸留水	1.988	74.8	3.8
	0.5964	76.6	4.3
自然水	1.988	76.8	5.8
	0.5964	81.7	2.7

3) ノバルロンの水中光分解性

結果を表 2 および図 1~2 に示す。

ノバルロンの残存率は 7 日後で蒸留水 56.4%、自然水 76.5%であり、半減期はそれぞれ 7.5 日および 15.1 日と推定された。

遮光区のノバルロン残存率は 7 日後で蒸留水は 102.4%、自然水は 93.2%と残存していたことから、ノバルロンの主な分解経路は光分解によると考えられた。

また、ノバルロンの分解にともない生ずる分解物の確認は本条件ではできなかった。

表 2 ノバルロンの水中光分解性

照射時間 (days)			0	1	2	3	4	7
分析値 ($\mu\text{g/L}$)	蒸留水	照射区	1.65	1.70	1.41	1.58	1.05	0.93
		遮光区	1.65	1.56	1.51	1.59	1.65	1.69
	自然水	照射区	1.62	1.69	1.46	1.40	1.27	1.24
		遮光区	1.62	1.54	1.36	1.60	1.61	1.51
残存率 (%)	蒸留水	照射区	100.0	103.0	85.5	95.8	63.6	56.4
		遮光区	100.0	94.5	91.5	96.4	100.0	102.4
	自然水	照射区	100.0	104.3	90.1	86.4	78.4	76.5
		遮光区	100.0	95.1	84.0	98.8	99.4	93.2
槽内温度 (℃)			25.0	25.0	25.0	25.5	25.0	25.0

申請者注：ノバルロンの東京・春の自然太陽光における半減期は蒸留水では 4.4 日、自然水では 8.8 日であった。

まとめ

ノバルロンは蒸留水および自然水中において、光分解特性を有する化合物であることが明らかとなった。

図 1 蒸留水中でのノバルロンの水中光分解性

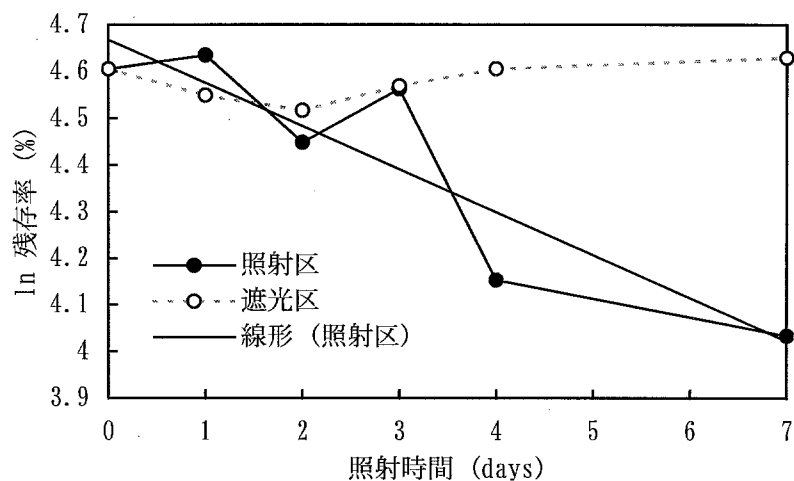
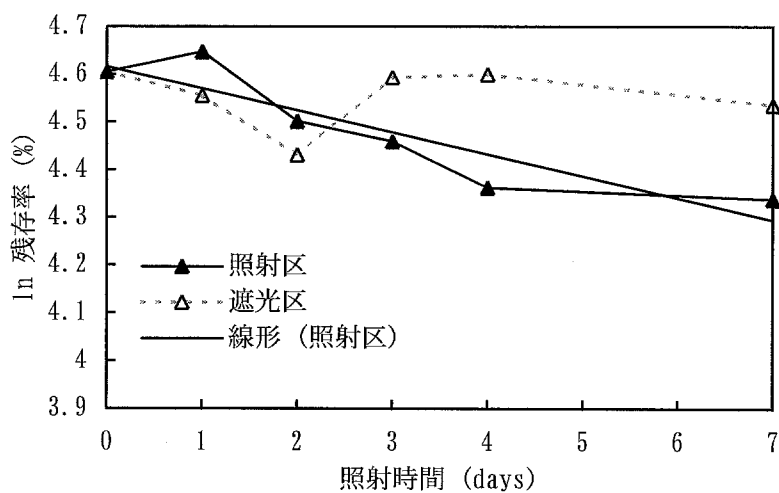


図 2 自然水中でのノバルロンの水中光分解性



(資料 PC-8-2)

(2) ^{14}C -ノバルロン水中光分解

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス
社(英国)

報告書作成年：1998 年

供試標識化合物：

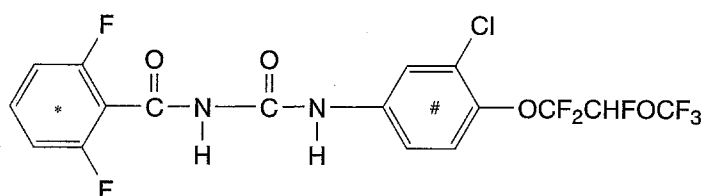
化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

供試化合物名：

クロロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位：



#：クロロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

*：ジフルオロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

	クロロフェニル- ^{14}C (U) 標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニル- ^{14}C (U) 標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

被験物質の同一性の確認：MS および MS/MS で確認

供試水：滅菌緩衝水溶液 (pH5)

光源：キセノンアーク灯人工光源

スペクトルエネルギー分布は 250～800nm の波長範囲で自然太陽光と同等の発光スペクトル

を示す。

鏡およびフィルターにより 290nm 以下の紫外線及び赤外線照射を防止した。

光量：照射装置内の各点の光強度は 290～400nm の範囲で 42.76～49.16 W/m²であった。人工光の 15 日間照射の光量は北緯 40° の夏期の太陽光(昼間の時間を 12 時間として)換算で 67 日に相当した。

試験方法：

1) 試験溶液の調製

酢酸緩衝液(pH5)に 2 種類の¹⁴C-ノバルロンをそれぞれ別々にアセトニトリルを用いて 1.5 μg/L の濃度になるように処理した。これは被験物質の水溶解度 3.0 μg/L の約 1/2 の濃度である。試験溶液中のアセトニトリル濃度は 1%であった。試験溶液は各採取時期毎に 2 反復ずつ調製し、一方は A ラベルを、一方は B ラベルを処理した。

2) 試験設計

試験温度：25℃

試験期間：15 日間

試験容器：円筒形(内径 2.5cm 高さ 8.0cm)の珪ホウ酸ガラス製容器をエアーフローシステムに組み込み、エチル digol および 1M 水酸化ナトリウムのトラップを接続した。

試料採取：被験物質添加直後、1, 2, 3, 5, 10 および 15 日目の各時期に試験溶液と各トラップの溶液を採取した。

暗所対照：照射試験と同等の試験設計をした試験溶液を暗黒条件下におき暗所対照試料とした。

3) 分析方法

① 放射性残留物の測定

試験溶液は一部の試料(処理 5 日後)を除き、酢酸エチルで 2 回抽出した。処理 5 日後の試験溶液のみジエチルエーテルで 2 回と酢酸エチルで 1 回抽出した。抽出した有機相を合わせて有機画分とし、抽出後の水相は水相画分とした。各画分を定容後、一部を採り、放射能を測定した。

② 揮発性放射能の測定

各トラップ溶液の容量を測定し、一部を採り、放射能を測定した。

③ 放射能測定

各試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

④ 有機画分の放射性成分の分析

各試料の有機画分の放射性成分は順相および逆相 TLC で分析し、標準化合物とのクロマトグラフィーにより成分の同定をした。各成分の割合は自動 TLC リニアアナライザーまたはバイオイメージアナライザーを用いて定量した。

4) 細菌検査および pH 測定

各試験溶液は分析に先立ち、一部を採り、トリプトン大豆寒天プレートで培養し細菌および

カビの発生を検査した。また有機溶媒抽出の前に pH を測定した。

5) 消失半減期の計算

溶液中のノバルロンの消失速度は擬似 1 次カイネティックスであると想定すると、その濃度と照射時間の関係は次式で示される。

$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

ここで、

C = t 時間における化合物の割合

C_0 = 0 時間における化合物の割合

k = 1 次速度定数

t = 時間

ノバルロンの処理量に対する割合 (%) の対数を縦軸に、照射期間を横軸に取り、最尤直線を求めた。その勾配は速度定数 k であり次式により半減期 (DT_{50}) を算出した。

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k}$$

結果

1) 試験溶液の pH および無菌性

試料採取時の試験溶液の pH は処理後 5 日目の暗所対照試料で異常値 (5.32) であった以外は 4.89~5.18 の範囲にあった。すべての試験溶液は試験中、無菌であった。

2) 放射能の回収とノバルロンの分解速度

ノバルロンの照射溶液中での半減期 (DT_{50}) は、北緯 40° の夏期の太陽光の日数 (昼間の時間を 12 時間と仮定した) に換算して 139 日であった。この期間は照射期間の約 2 倍であった。放射能の回収率は全ての照射及び暗所対照溶液で、最初の処理量の 86.6~125.6% の範囲にあった。この回収率の範囲は、被験物質の初濃度が極めて低かった点を考慮し、許容され则认为られた。照射溶液では極めて少量の揮発性放射能が生成した (処理量の 2.6%、自然太陽光換算で 67 日間暴露後)。

結果を表 1 および 2 に示す。

申請者注：ノバルロンの実測値における半減期は 31 日で、東京・春の自然太陽光における半減期は 182 日であった。

表 1 ^{14}C -ノバルロンを $1.5\mu\text{g/L}$ 処理した照射試験溶液からの放射能の回収

処理後日数	ラベルタイプ	回収放射能 %			処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	揮発性成分 ^d	
0	A ラベル	97.1	2.9	-	93.6
0	B ラベル	89.7	10.3	-	95.1
1	A ラベル	97.8	2.2	b	105.1
1	B ラベル	98.5	1.5 ^a	b	92.3
2	A ラベル	96.5	3.5	b	101.7
2	B ラベル	96.2	3.8	b	95.6
3	A ラベル	96.0	4.0	b	95.4
3	B ラベル	96.8	3.2	b	90.3
5	A ラベル	100	0 ^c	b	106.5
5	B ラベル	86.1	13.9 ^c	b	98.0
10	A ラベル	93.5	4.5	2.1	125.6
10	B ラベル	97.0	3.0 ^a	b	96.6
15	A ラベル	86.1	10.9	3.0	86.6
15	B ラベル	92.7	7.3	b	117.7

a 水相中の放射能濃度は検出限界以下(2×バックグラウンド)であった。

b 対応する試験容器に接続した各トラップ溶液中の放射能濃度は検出限界以下(2×バックグラウンド)であった。この値はフローシステムに接続された試験容器の数に応じて 0.7~5.5%の間で変化した。

c 5 日後の試験溶液は 3 回抽出された。3 回抽出後の水相画分の放射能は実測値ではなく、2 回抽出後の測定値から抽出 2 回後の有機画分の放射能と抽出 3 回後の有機画分の放射能の差を減じて計算された。5 日後 A ラベルの値は 0 以下であったので 0 とした。

d 積算値 放射能は 10 日後の KOH 水溶液にのみ検出された。これは処理量の 2.6%に当る。これは 10 日後と 15 日後の総放射能回収率の差に相当する。

被験物質は極めて水溶解度が低いため、試験溶液の放射能初期濃度が低かった(約 500 dpm/mL)。このため、得られた抽出液中の放射能濃度はもとの試験溶液の放射能濃度よりさらに低く(水相画分では特に低かった)、従ってこれらの溶液についての放射能の測定の精度は低かった。全体的に放射能の回収率は、最初に試験容器に添加した量の 86.6%~125.6%の範囲にあった(細菌検査用に採取したサブ試料については補正を行い、揮発性放射能を含めた)。6 個の値を除いて、回収率は全て 90~110%の範囲にあった。上記の試験溶液中の放射能の測定に伴う誤差を考慮すると、全ての試験溶液からの放射能の回収率は定量的であると考えられた。試験用液中のノバルロン及びその光分解生成物の割合を表示するため、放射能の回収率を全体的に 100%に補正した。(以下、同様)

表 2 ^{14}C -ノバルロンを $1.5\mu\text{g/L}$ 処理した暗所対照試験溶液からの放射能の回収

処理後日数	ラベルタイプ	回収放射能 %			処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	揮発性成分 ^d	
1	A ラベル	98.6	1.4 ^a	b	90.8
1	B ラベル	98.8	1.2 ^a	b	96.5
2	A ラベル	99.0	1.0 ^a	b	104.4
2	B ラベル	98.5	1.5 ^a	b	92.1
3	A ラベル	98.4	1.6	b	103.9
3	B ラベル	98.2	1.8 ^a	b	99.9
5	A ラベル	96.8	3.2 ^c	b	117.1
5	B ラベル	100	0 ^c	b	118.6
10	A ラベル	90.1	9.9	b	121.7
10	B ラベル	94.5	5.5	b	109.1
15	A ラベル	91.7	8.3	b	105.4
15	B ラベル	92.2	7.8	b	103.3

a 水相中の放射能濃度は検出限界以下 ($2\times$ バックグラウンド) であった。

b 対応する試験容器に接続した各トラップ溶液中の放射能濃度は検出限界以下 ($2\times$ バックグラウンド) であった。この値はフローシステムに接続された試験容器の数に応じて 0.7~5.5% の間で変化した。

c 5 日後の試験溶液は 3 回抽出された。3 回抽出後の水相画分の放射能は実測値ではなく、2 回抽出後の測定値から抽出 2 回後の有機画分の放射能と抽出 3 回後の有機画分の放射能の差を減じて計算された。5 日後 B ラベルの値は 0 以下であったので 0 とした。

3) ノバルロンの光分解生成物

多数のノバルロンの光分解生成物が順相薄層クロマトグラフィーにより分離され、両方のフェニル環を含有する生成物及びクロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれかのみを含有する開裂による生成物が検出された。一般に、照射溶液中のこれらの生成物の量は少なかった (処理放射能量の 10% 以下)。しかし、単離において高い値も認められた。1 種類の生成物は最高で処理放射能量の 23.6% を占めており、クロマトグラフィーにより代謝物 B () と同定された。

ノバルロンは暗所対照溶液中でわずかに分解し、15 日間のインキュベーション後には、処理放射能の約 85% を占めていた。

結果を表 3~5 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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5 暗所対照試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数	1		2		3		5		10		15	
ラベルタイプ	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B

結果は処理放射能に対する%で示す。

- a 使用された TLC システム(システム B)で移動しない放射能
- b クロマトグラム上で特定された成分以外の領域に分布する放射能で明確な放射性成分を含まない。
- + ‘その他’に含めた。

4) ノバルロンの水溶液中での想定光分解経路

ノバルロンの水溶液中での想定光分解経路を図 1 に示す。

図 1 ノバルロンの水溶液中での想定光分解経路

まとめ

ノバルロンは pH5 の滅菌水溶液中 (25℃) において光分解性が認められ、北緯 40° の夏期の太陽光の日数に換算した半減期 (DT_{50}) は、139 日であった。多数の光分解生成物が生成した。これらは量的に少量であった。これらの一部はクロロフェニル及びジフルオロフェニル環の両方を含有した。その他は、クロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれかのみを含有する開裂した生成物であった。これらの生成物の大部分は、処理放射エネルギーの 10% 以下を占めていた。1 種類の生成物が最高で処理放射エネルギーの 23.6% を占めており、代謝物 B () と同定された。

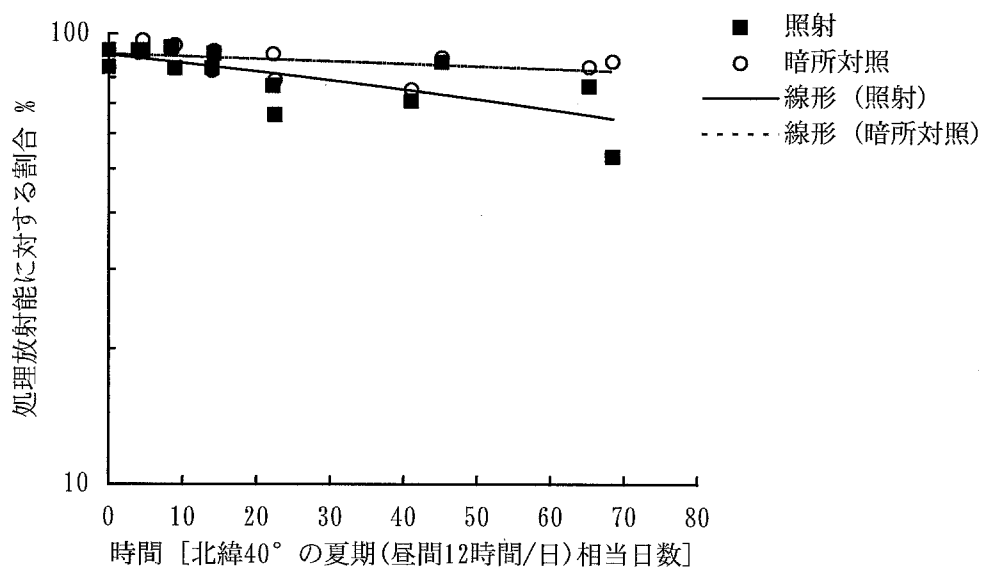


図 2 照射試料と暗所対照試料のノバルロンの減衰

(資料 PC-8-3)

(3) ^{14}C -ノバルロン水中光分解－自然水

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス社(英国)
報告書作成年：2002 年

供試標識化合物：

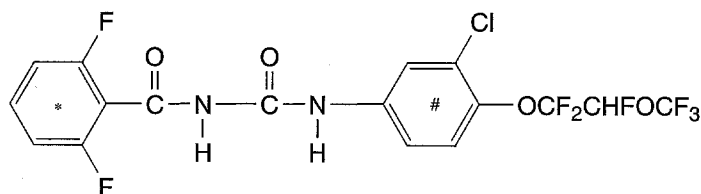
化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシエトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

供試化合物名；

クロロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロン(これ以降 A ラベルと記載する)

ジフルオロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロン(これ以降 B ラベルと記載する)

化学構造および標識部位；



#：クロロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロンの標識部位 (A ラベル；クロロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

*：ジフルオロフェニル- ^{14}C (U) 標識ノバルロンの標識部位 (B ラベル；ジフルオロフェニル環を ^{14}C でユニフォーム標識)

	クロロフェニル- ^{14}C (U) 標識 (A ラベル)	ジフルオロフェニル- ^{14}C (U) 標識 (B ラベル)
比放射活性		
放射化学的純度		

標識位置選定理由：

供試水：滅菌自然水(2002 年 2 月 25 日に、Bury Pond, Cambridgeshire, 英国から採取)
自然水の特性検討結果を表 1 に示す。

光源：キセノンアーク灯人工光源

スペクトルエネルギー分布は 250～800nm の波長範囲で自然太陽光と同等の発光スペクトルを示す。鏡およびフィルターにより 290nm 以下の紫外線及び赤外線照射を防止した。

光量：照射期間中の平均放射照度は 39.1W/m^2 (300-400nm) であった。北緯 35° の自然太陽光(東京の 4～6 月の平均)に換算した各試料が受けた照射期間を表 2 に示す。最長照射期間(7 日間)は

35.39 日(太陽光換算)と算出された。

試験方法：

1) 試験溶液の調製

滅菌自然水に 2 種類の¹⁴C-ノバルロンをそれぞれ別々にアセトニトリルを用いて約 1.5 μg/L の濃度になるように処理した。これは被験物質の水溶解度 3.0 μg/L の約 1/2 の濃度である。試験溶液中のアセトニトリル濃度は<0.2%であった。試験溶液は各採取時期毎に 2 反復ずつ調製し、一方は A ラベルを、一方は B ラベルを処理した。

2) 試験設計

試験温度：25℃

試験期間：7 日間

試験容器：円筒形(内径 2.5cm 高さ 8.0cm)の珪ホウ酸ガラス製容器

試料採取：被験物質添加直後、1, 2, 3, 4, 5, および 7 日目の各時期に試験溶液を 2 点(A ラベルおよび B ラベル各 1 点ずつ)採取した。

暗所対照：照射試験と同等の試験設計をした試験溶液を暗黒条件下におき暗所対照試料とした。

3) 分析方法

① 放射性残留物の測定

試験溶液は酢酸エチルで 2 回抽出した。抽出した有機相を合わせて有機画分とし、抽出後の水相は水相画分とした。各画分を定容後、一部を採り、放射能を測定した。

② 放射能測定

各液体試料中の放射能は液体シンチレーションカウンター(LSC)で測定した。

③ 有機画分の放射性成分の分析

各試料の有機画分の放射性成分は順相 TLC および逆相 TLC で分析した。放射性成分は標準化合物とのクロマトグラフィーにより同定した。展開したプレートの各成分の割合はバイオイメージアナライザーを用いて 2 次元クロマトグラムを作成し、TINA ソフトウェアを用いて直線スケールラジオクロマトグラムを作成し定量した。試験溶液の放射性成分の定量には、逆相 TLC の分析結果を用いた。

4) 細菌検査および pH 測定

細菌検査および pH 測定のために特別に調製した試験溶液を 7 日後に採取し、トリプトン大豆寒天プレートで培養し細菌およびカビの発生を検査した。また pH メータを用いて pH を測定した。

5) DT₅₀ および DT₉₀ 値の算出

溶液中のノバルロンの消失速度は擬似 1 次カイネティックスであると想定すると、その濃度と照射時間の関係は次式で示される。

$$\ln C = \ln C_0 - kt$$

ここで、

C = t 時間における化合物の割合

C_0 = 0 時間における化合物の割合

k = 1 次速度定数

t = 時間

ノバルロンの処理量に対する割合(%)の対数を縦軸に、照射期間を横軸に取り、最尤直線を求めた。その勾配は速度定数 k であり次式により DT_{50} および DT_{90} を算出した。

$$DT_{50} = \frac{\ln 2}{k}$$
$$DT_{90} = \frac{\ln 10}{k}$$

結果

1) 試験系の温度

照射及び非照射試料の温度はそれぞれ $24.3 \pm 0.3^{\circ}\text{C}$ 及び $24.3 \pm 1.3^{\circ}\text{C}$ (平均 $\pm$ 標準偏差)であった。

2) 試験溶液の無菌性

試験期間中、試験溶液は無菌であった。

3) 放射能の回収

被験物質の水溶解度が極めて低いため、試験溶液の最初の放射能濃度は極めて低かった(約 500dpm/mL)。従って、クロマトグラフィー分析のために酢酸エチルを用いて試験溶液を抽出した。一般に試験溶液中の放射能の有機溶媒への抽出は良好であった(表 3 及び 4)。暗所対照試料では、抽出後に水溶液中に残留している放射能の割合は、一般に、回収された総放射能の 5% 以下であった。照射試料では、抽出後に水溶液中に残留している放射能の割合は、時間の経過に伴い増加した。これは、酢酸エチルに分配されない分解物が生成するためと考えられた。放射能の全体的な回収率は、処理量の 70.5~110.8% の範囲にあった。上記の試験溶液中の放射能の測定に伴う誤差を考慮した場合、全ての試験溶液について放射能の回収率は定量的であったと考えられた。試験溶液中のノバルロン及び光分解生成物の割合を表示する場合は、放射能の全体的な回収率を 100% に補正した。

4) ノバルロンの分解速度

TLC 定量により測定した各試験溶液中のノバルロンの割合を表 5 及び 6 に示す。照射開始後 7 日目(東京(北緯 35°) の春期太陽光の 35.39 日に相当)には、ノバルロンは最初の量の 41.9% (2 種類の放射能標識型の平均)に減少した。暗所対照試料でもノバルロンの多少の分解が認められ、インキュベーション開始後 7 日目では、ノバルロンは最初の量の 72.7% (平均)に減少していた。試験溶液中のノバルロンの割合及び最尤線を図 1 に示す。“一次反応カインेटックスを想定した場合、ノバルロンの光分解半減期は東京(北緯 35°) の春期太陽光の 31.3 日に相当した。ノバルロンの分解速度を表 7 に示す。

5) ノバルロンの光分解生成物

順相及び逆相 TLC システムで、多数の光分解生成物が分離された。これらの放射性成分のうち 1 種類の少量分解物(DF1/CP3)は、クロロフェニル環及びジフルオロフェニル環の両方を含有していた(7 日目: 回収放射能の最大 3.3% を占めていた)。ジフルオロフェニル環のみを含有する分解物は回収された放射能の最大 19.4% を占めており、代謝物 B(

)と同定された。クロロフェニル環のみを含有する 2 種類の分解物が生成したが、これらはいずれの時期においても個々には回収放射能の 5.0% 以下を占めていたに過ぎなかった。クロマトグラムでは放射能が拡散して分布し、分離した放射性成分が検出されない領域が認められた。これらはゾーン 1~5 とした。結果を表 8 及び 9 に示す。

6) ノバルロンの滅菌自然水中での想定光分解経路

ノバルロンの滅菌自然水中での想定光分解経路を図 2 に示す。

まとめ

ノバルロンは、pH8.25 の滅菌自然水中で光分解し、25℃における半減期(DT₅₀)は東京(北緯 35°)の春期太陽光の 31.3 日に相当した。多数の少量光分解物が生成し、これらのうちの 1 種類はクロロフェニル環及びジフルオロフェニル環の両方を含有していた。その他の少量分解物は、クロロフェニル環又はジフルオロフェニル環のいずれか一方のみを含有していた。照射試料において、これらの分解物の濃度は一般に低かった(回収された放射能の 10%以下)。回収された放射能の最大 19.4% を占めていたジフルオロフェニル環のみを含有する分解物は代謝物 B(

)と同定された。ノバルロンは暗所対照容器中でも(加水分解的に)分解し、インキュベーション開始後 7 日目では、回収された放射能の 73%を占めていた。

表 1 自然水の特徴

パラメーター	測定値
pH ^a	8.25
酸素飽和度(%) ^a	84.5
酸素飽和度(%) ^b	67.7
懸濁物質(g l ⁻¹) ^b	0.26
電気伝導率(μS cm ⁻¹) ^b	1159
全蒸発残留物(g l ⁻¹) ^b	0.40
総溶存炭素含量(mg/l) ^c	67.9

^a 採取時

^b 滅菌後

^c National Soil Resources により測定

表 2 各照射試料が受けた照射期間

名目照射期間(日)	実質照射時間(時間)	東京(北緯 35°)春期の自然太陽光換算照射期間(日)
1	23.85	5.00
2	48.06	10.07
3	71.92	15.06
4	95.94	20.10
5	120.14	25.17
7	168.97	35.39

表 3 ^{14}C -ノバルロンを $1.5\mu\text{g/L}$ 処理した照射試験溶液からの放射能の回収

名目照射期間 (日)	ラベルタイプ	回収放射能 % (補正值)		処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	
0	B ラベル	98.3	1.7	99.5
	A ラベル	98.4	1.6	106.2
1	B ラベル	87.8	12.2	103.6
	A ラベル	92.7	7.3	80.6
2	B ラベル	97.9	2.1	94.1
	A ラベル	97.9	2.1	80.2
3	B ラベル	88.0	12.0	98.1
	A ラベル	85.5	14.5	81.8
4	B ラベル	84.1	15.9	70.5
	A ラベル	87.2	12.8	79.7
5	B ラベル	88.7	11.3	83.7
	A ラベル	82.6	17.4	77.3
7	B ラベル	71.0	29.0	88.3
	A ラベル	79.4	20.6	79.2

表 4 ^{14}C -ノバルロンを $1.5\mu\text{g/L}$ 処理した暗所対照試験溶液からの放射能の回収

処理後日数	ラベルタイプ	回収放射能 % (補正值)		処理量に対する 実総回収率 %
		有機画分	水相画分	
0	B ラベル	98.3	1.7	99.5
	A ラベル	98.4	1.6	106.2
1	B ラベル	97.6	2.4	94.4
	A ラベル	98.8	1.2	100.5
2	B ラベル	100	0 ^a	97.3
	A ラベル	89.3	10.7	79.3
3	B ラベル	96.1	3.9	110.8
	A ラベル	98.7	1.3	93.0
4	B ラベル	96.0	4.0	94.6
	A ラベル	98.9	1.1	82.6
5	B ラベル	95.1	4.9	87.8
	A ラベル	98.5	1.5	91.7
7	B ラベル	93.9	6.1	85.2
	A ラベル	97.5	2.5	95.6

^a 水相画分中の放射能濃度は検出限界以下

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 5 照射試験溶液中に残留するノバルロンの割合

名目照射期間 (日)	東京(北緯 35°)春 期の自然太陽光換 算照射期間(日)	ラベルタイプ	ノバルロン (% 回収放射能に 対する割合)	平均
0	0	B ラベル	93.5	93.0
		A ラベル	92.4	
1	5.00	B ラベル	77.8	78.7
		A ラベル	79.6	
2	10.07	B ラベル	72.6	71.3
		A ラベル	70.0	
3	15.06	B ラベル	55.6	58.6
		A ラベル	61.6	
4	20.10	B ラベル	50.4	51.3
		A ラベル	52.1	
5	25.17	B ラベル	54.0	52.8
		A ラベル	51.6	
7	35.39	B ラベル	43.6	41.9
		A ラベル	40.1	

表 6 暗所対照試験溶液中に残留するノバルロンの割合

処理後日数(日)	ラベルタイプ	ノバルロン (% 回収放射能に対する 割合)	平均
0	B ラベル	93.5	93.0
	A ラベル	92.4	
1	B ラベル	95.7	93.3
	A ラベル	90.9	
2	B ラベル	83.4	81.9
	A ラベル	80.3	
3	B ラベル	83.4	85.4
	A ラベル	87.3	
4	B ラベル	78.5	81.1
	A ラベル	83.6	
5	B ラベル	80.0	77.3
	A ラベル	74.5	
7	B ラベル	70.8	72.7
	A ラベル	74.6	

表 7 ノバルロンの自然水中の分解速度 DT_{50} および DT_{90}

	DT_{50} (日)	DT_{90} (日)	r^2
照射	6.2 (31.3 ^a)	20.6 (103.8 ^a)	0.953469
暗所対照	19.3	64.0	0.898567

^a 東京(北緯 35°)の春期太陽光換算

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

表 8 照射試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数(日)	0	1	2	3	4	5	7
東京(北緯 35°)春期の自然太陽 光換算照射期間(日)	0.00	5.00	10.07	15.06	20.10	25.17	35.39

nd 不検出

ゾーン クロマトグラム上で放射能が拡散して分布し、分離した放射性成分が検出されない領域

表 9 暗所対照試験溶液中の放射性成分の割合

処理後日数(日)	0	1	2	3	4	5	7

nd 不検出

ゾーン クロマトグラム上で放射能が拡散して分布し、分離した放射性成分が検出されない領域

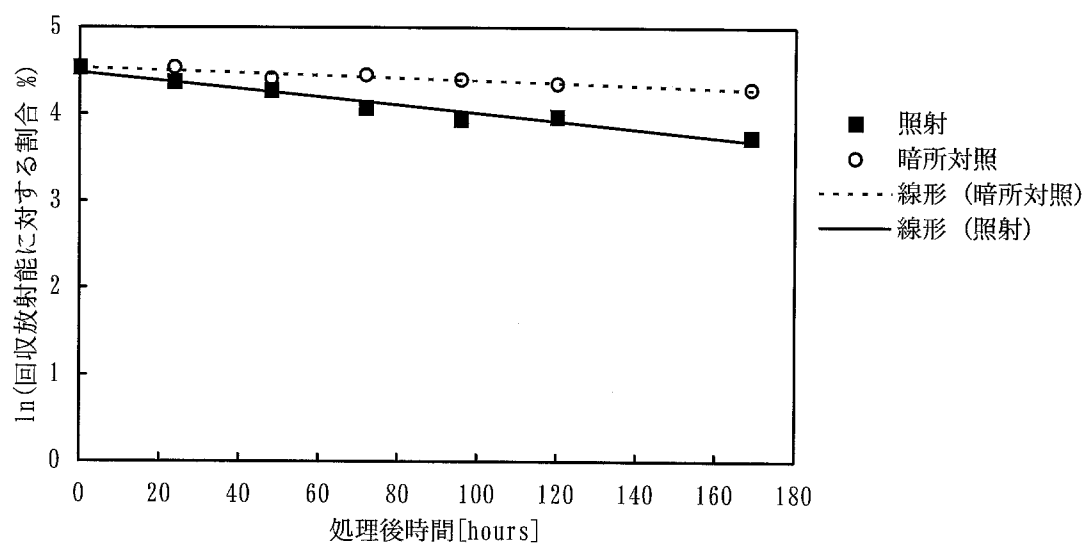


図 1 照射試料と暗所対照試料のノバルロンの減衰

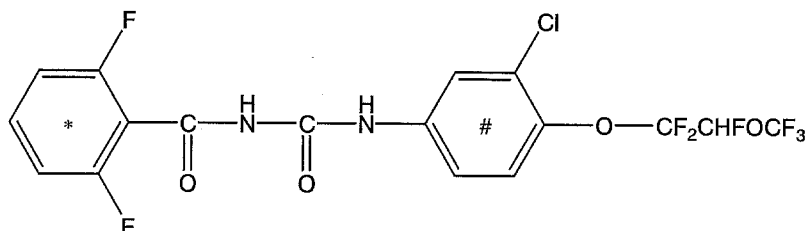
図 2 ノバルロンの滅菌自然水中での想定光分解経路

(資料 PC-7)

6. 加水分解試験

試験機関：ハンティンドン ライフ サイエンス社(英国)
報告書作成年：1998 年

供試化合物： 化学構造



化学名：1-[3-クロロ-4-(1,1,2-トリフルオロ-2-トリフルオロメトキシ
エトキシ)フェニル]-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)ウレア

標識検体① [クロロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロン

標識部位 # [クロロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロン
放射化学的純度 %
比放射活性 mCi/mmol

標識検体② [ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロン

標識部位 * [ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロン
放射化学的純度 %
比放射活性 mCi/mmol

非標識検体 純度 %

供試水溶液： pH 5.0 酢酸-水酸化ナトリウム緩衝液
pH 7.0 正リン酸二水素ナトリウム-水酸化ナトリウム緩衝液
pH 9.0 ホウ酸-水酸化ナトリウム緩衝液

試験方法

予備試験はあらかじめアセトニトリルに溶解した[クロロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロンのみを用い、初期濃度を $3.0\mu\text{ g/L}$ とし 50°C において 2 および 5 日間で実施した。本試験では、別々にアセトニトリルに溶解した 2 標識検体を各緩衝液に添加し、試験濃度を $1.5\mu\text{ g/L}$ として、 25°C 、 50°C 、 70°C において 0~30 日間で実施した。ジエチルエーテルあるいは酢酸エチルで抽出した試験溶液を分取して液体シンチレーションカウンターによる放射能の計測を行った。暗所でインキュベートした溶液は薄層クロマトグラフィーで分析し、ノバルロンとその放射性加水分解物の相対的割合を決定した。
溶液中におけるノバルロンの消失率は擬一次反応に従うと仮定して、それぞれの半減期を算出した。ただし、pH 9.0、 20°C における半減期の推定は Arrhenius の式を用い 25°C 、 50°C 、 70°C のデータを外挿することによって求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

結果：

推定半減期

設定試験温度(℃)	pH	推定半減期(日間)
25	5.0	—
	7.0	—
	9.0	101
50	9.0	1.2
70	9.0	0.09
20	9.0	(217)

—：変化が認められなかった

()：外挿値

ノバルロンの分解物

25℃ (pH 9.0) の試験液を薄層クロマトグラフィーで分析した結果、8 個の加水分解物が認められた。このうち、代謝物 A()、代謝物 B()、代謝物 C()、代謝物 D[] (50、70℃試験区で存在) 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株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの分解物の濃度の経時的変化（初期放射能の％）：25℃の例、

[クロロフェニル- ^{14}C (U)] ノバルロン (順層 TLC)

	インキュベーション時間(日)							
	0	3	6	10	15	20	25	30

[ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)] ノバルロン (順層 TLC)

	インキュベーション時間(日)							
	0	3	6	10	15	20	25	30

ー：「その他」に含まれる

*：サンプルのコンタミネーションによる

分解物の化学名

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの分解物の濃度の経時的変化（初期放射能の％）：50℃の例、

[クロロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロン(順層 TLC)

	インキュベーション時間							
	0	3 時間	6 時間	12 時間	1 日	2 日	3 日	5 日

[ジフルオロフェニル- ^{14}C (U)]ノバルロン(順層 TLC)

	インキュベーション時間							
	0	3 時間	6 時間	12 時間	1 日	2 日	3 日	5 日

ー：「その他」に含まれる

分解物の化学名

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの分解経路

代謝分解のまとめ

ノバルロンの動物、植物、土壌、環境における代謝、分解、残留の概要、代謝分解経路図および概要表を以下に示す。

動物：

排泄バランス試験では、Aラベルの低用量群と反復投与群で、尿への排泄(ケージ洗液を含む)は0-168時間で投与量の5.1-9.4%、糞への排泄は0-168時間で投与量の85.9-95.3%、体内残留率(168時間、消化管および内容物を除く)は1.0-4.3%であった。Aラベルの高用量群では尿への排泄は0-168時間で投与量の0.6%(雌雄)、糞への排泄は0-168時間で投与量の93.8-95.4%、体内残留率(168時間)は0.1%(雌雄)であった。高用量では尿への排泄および体内残留率が低用量の約10%であった。Bラベルの低用量群では、尿への排泄は0-168時間で投与量の19.9%、17.5%、糞への排泄は0-168時間で投与量の76.0%、79.3%、体内残留率(168時間)は0.7%、0.9%であった。尿への排泄量はAラベル低用量に比べ、3倍以上多かった。以上、主要排泄経路は糞であった。高用量では尿に排泄される割合が低下した。BラベルではAラベルと比較して尿への排泄量が多く、排泄速度も速かった。これは親化合物開裂後のdifluorophenyl部位とchlorophenyl部位との代謝運命の差によるものと推察された。

胆汁排泄試験では、Aラベル低用量群で48時間までの排泄が、尿中(ケージ洗液を含む)に投与量の1.3、1.4%、胆汁中に<1%、糞中に75.9、68.6%、カーカス中に14.3、27.4%であった。Aラベル高用量群では48時間までの排泄が、尿中に0.1、0.0%、胆汁中に0.1%、糞中に72.3、95.4%、カーカス中に25.3、2.51%であった。Bラベル低用量群では48時間までの排泄が、尿中に4.7%、胆汁中に<1%、糞中に75.1、89.6%、カーカス中に13.0、6.7%であった。カーカス中での高濃度の放射能は消化管に残留した糞様物質による(追加ラットにて確認)。尿中、胆汁中の放射能は非カニキュレーションラットでの尿中放射能(0-48時間)の約1/2に低下した。

血中キネティクス試験では、血液中の濃度推移から、Aラベル低用量単回投与でT_{max} 5-8時間(雄雌)、C_{max} 0.03 μg eq/g(雄雌)、AUC₁₆₈ 1.08(雄)、1.98(雌) μg eq h/g、高用量単回投与でT_{max} 2(雄)、5(雌)時間、C_{max} 1.96(雄)、1.58(雌) μg eq/g、AUC₁₆₈ 26.8(雄)、8.31(雌) μg eq h/g、反復投与でT_{max} 5-8(雄)、2-8(雌)時間、C_{max} 0.08(雄)、0.10(雌) μg eq/g、AUC₁₆₈ 9.52(雄)、11.26(雌) μg eq h/g、また、Bラベル低用量単回投与ではT_{max} 8時間(雄雌)、C_{max} 0.04(雄)、0.05(雌) μg eq/g、AUC₁₆₈ 0.85(雄)、0.88(雌) μg eq h/gであった。高用量の血漿中AUC₁₆₈値は低用量の値の90倍(用量比は500倍)の増加を示した。また、低用量単回投与と反復投与の血液および血漿のAUC₁₆₈値の比較により血液細胞への蓄積が示された。

組織分布試験では、組織濃度は脂肪で最も高く、次いで肝臓、腎臓、脾臓およびリンパ節で高濃度であった。高用量は用量比が低用量の500倍となるが、組織濃度は約50-90倍の増加であった。反復投与の組織濃度は低用量単回投与の3から5倍高かった。反復投与での脂肪中放射能減衰の半減期は雄で52時間、雌で56時間であった。Bラベル投与での肝臓および腎臓中の濃度はAラベル低用量単回投与での1/3-1/4(168時間)であった。なお、全身オートラジオグラフィーの結果は、組織濃度の定量結果と一致していた。

代謝・分解について、尿中の未変化の親化合物は痕跡程度で、Aラベル投与では尿に数個の代謝物が含まれているが、低用量では投与量の1%かあるいはそれ以下、高用量では0.1%かあるいはそれ以下であった。反復投与では1個の未同定の代謝物が投与量の2.5%で検出され、投与量の約1%が本化合物のchlorophenyl aniline誘導体である代謝物D(275-309 I)と同定された。Bラベル投与では尿の主要代謝物は代謝物A[(275-158 I)]であった。糞には

顕著な代謝物は検出されず、大部分が未変化の親化合物であった。胆汁中では未変化の親化合物および chlorophenyl aniline 誘導体 代謝物 D(275-309 I) がそれぞれ投与量の %、 % であった。脂肪、肝臓および腎臓では、主要成分は未変化の親化合物であった。肝臓ではさらに代謝物の 1 つが代謝物 D(275-309 I) と特徴付けされた。

ラットへのノバルロンの経口投与では主要排泄経路は糞であり、投与量の 76-95 % が糞に排泄された。投与量の 20 % が吸収された。吸収された投与量比は高用量を投与した時はかなり減少した。吸収された放射能は消化管(+内容物)を除けば、脂肪に最も高濃度に分布した。尿および胆汁中では広く代謝され、代謝物が主要成分であった。代謝は chlorophenyl と difluorophenyl 部位の開裂を含んでいた。

植物：

キャベツを用いた散布試験での放射性残留物のレベルは、2 回目の処理後で 0.535-1.085 ppm、収穫時には 0.234-0.448 ppm であった。

アセトニトリルによる表面洗浄液の放射能比は 1 回目処理後で放射性総残留物 (TRR) の 94.8-97.7 % であったが、収穫時には 81.9-90.0 % と減少した。外葉および内葉から抽出された放射性物質の比率は 1 回目処理後で TRR の 2.2-5.1 % であったが、収穫時には 8.0-15.3 % と増加した。このことから本化合物は葉に吸収されたと考えられた。外葉および内葉の抽出物中での放射性物質の大部分はその後の有機溶媒で抽出された。残りの水溶性残留物は TRR の 1.0 % (≤ 0.005 ppm) 以下であった。またキャベツ中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 2.8 % (≤ 0.009 ppm) 以下であった。

表面洗浄液および抽出物の放射性物質は 95.6-99.9 % が未変化の親化合物であり、そのレベルは 1 回目処理時の 0.484-0.834 ppm から収穫時 0.225-0.447 ppm に減少した。

ジャガイモを用いた散布試験での放射性残留物のレベルは、葉中では、第 2 回処理後で 4.81-6.96 ppm、収穫前 10 日で 0.79-2.17 ppm、収穫時には葉が枯れており 5.89-9.87 ppm であった。塊茎では、収穫前 10 日および収穫時に極めて低い放射性残留物レベル (< 0.01 ppm) であった。

アセトニトリル葉表面洗浄液の放射能比は、第 1 回目処理後で放射性総残留物 (TRR) の 93.8-95.9 % であったが、収穫時には TRR の 80.5-83.3 % に減少した。葉から抽出された放射性物質の比率は第 1 回目処理後で TRR の 3.9-6.0 % であったが、収穫時には TRR の 15.5-18.7 % に増加した。従って本化合物は葉に吸収されたと考えられた。葉の抽出物中の放射性物質の大部分は有機溶媒可溶抽出物であった。残存水性残留物は TRR の 0.6 % (≤ 0.049 ppm) 以下であった。葉中の抽出不能放射性残留物のレベルは TRR の 1.2 % (≤ 0.119 ppm) 以下であった。

葉表面洗浄液および有機溶媒可溶抽出物中の未変化の親化合物の比率は 96.4-99.6 % であり、そのレベルは第 1 回目処理後 1.522-2.152 ppm から、収穫前 10 日 0.772-2.093 ppm と減少したが、収穫時には葉が枯れたことにより 5.707-9.573 ppm と増加した。

りんごを用いた散布試験では、処理直後の果実中の残留量が 0.1-0.2 ppm であったが、収穫時には 3 回処理(最終処理後 60 日で収穫)で 0.03-0.04 ppm に減少した。同様に処理直後の葉中の残留量は 2-9 ppm であったが、最終収穫時には 3 回処理で 0.9-2.9 ppm に減少した。

果実表面洗浄液中の放射能比は最終処理直後で放射性総残留物 (TRR) の 70-95 % であったが収穫時には 47-57 % に減少した。抽出物は最終処理直後で 5-29 % 検出されたが収穫時には 41-50 % に増加した。抽出可能放射能の大部分は皮で回収されたことから本化合物は果肉には極く低レベルが認められ、皮に徐々に移行すると考えられた。抽出不能放射能は収穫時で 3-5 % であった。葉表面洗浄

液中の放射能比は、最終処理直後で 85-98 %、収穫時で 72-82 %であった。抽出物は逆に最終処理直後で 2-15 %、収穫時で 18-26 %であった。抽出不能放射能は放射性総残留物の 3 %以下であった。

防護措置(袋かけ)を施した試料の果実では顕著な放射能は検出されなかった。また葉では僅かに 0.04-0.05 ppm が検出された。

表面洗浄液および抽出物での主要成分は未変化の親化合物であり、果実で TRR の 88.9 %以上および葉で 92.6 %以上であった。

以上 3 作物の代謝試験成績において代謝に大きな差がないと認められ、これらの作物以外の申請作物についても、これらの作物と同様の成績が得られるものと考えられる。

土壌：

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの Arrow 土壌(砂壤土)、Evesham 3 土壌(粘土)、Wick 土壌(砂壤土)、Malham 土壌(シル質埴土)への施用では、20℃での DT₅₀ 値は 5-12 日であった。分解はその後減速して続き、59 日で約 80 %以上分解したが、DT₉₀ 値は 120 日より大きかった。なお、Evesham 3 土壌の 10℃での DT₅₀ 値は 20 日であり、20℃で認められた期間の約 2 倍であった。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン施用 Arrow 土壌では、結合残留物が 14 日以降 10%AR を超えたがいずれの時期にもフミンがその 65%以上を占めていた。

さらに、[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン施用 Arrow 土壌では、有機性揮発性物質および二酸化炭素が回収された。

[Chlorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロン施用時の主要代謝物はいずれの土壌においても代謝物 C (275-352 I)と同定された。この代謝物は 20℃では 7 日後に 18-27 %AR のピークに達し、120 日後に 4-10%AR となった。本代謝物の DT₅₀ 値は 20℃で 23-64 日であり、10℃(Evesham 3 土壌)では 110 日であった。他にマイナーな分解物が検出されたが、10 %AR を超える分解物は検出されなかった。このうちの 1 つは代謝物 D (275-309 I)と同定され、Arrow 土壌では約 5%AR あった。これらの代謝物はさらに二酸化炭素へと無機化されと考えられた。

[Difluorophenyl-¹⁴C(U)]ノバルロンの Arrow 土壌(砂壤土)への施用では、施用後 14 日で 62.9%AR に減少した。結合残留物は 10%AR を超えなかった。主要代謝物は二酸化炭素で、最大で 26.5%AR を示した。他に代謝物 A[(275-158 I)]が同定された。

環境：

土壌吸着係数についての試験を砂丘未熟土(砂土)、灰色低地土(軽埴土)、淡色黒ボク土(埴土)、灰色低地土(軽埴土)を用いて実施しようとしたが、ノバルロンの水溶解度が小さいため、予備試験において、すべての土壌試験系水層からノバルロンを検出・測定することができず、土壌吸着係数は求める事ができなかった。

加水分解試験では pH9 においてのみ十分な分解が見られ、25、50、70℃における推定半減期はそれぞれ 101、1.2、0.09 日であり、20℃における外挿推定半減期は 217 日であった。

薄層クロマトグラフィー分析の結果 8 個の加水分解物が認められた。このうち、代謝物 A[(275-158 I)]、代謝物 B[(275-157 I)]、代謝物 C (275-352 I)、代謝物 D[(275-309 I)]の 4 つがコ

クロマトグラフィーで確認された。

水中光分解試験では、ノバルロンの残存率は7日後で蒸留水 56.4%、自然水 76.5 %であり、半減期はそれぞれ 7.55 日および 15.1 日と推定された。遮光区のノバルロン残存率は7日後で蒸留水 102.4 %、自然水 93.2 %であったことから、水中でのノバルロンの主な分解は光によると考えられた。

標識体を用いた試験では、緩衝液及び自然水ともに分解生成物の一部はクロロフェニル及びジフルオロフェニル環の両方を含有したが、その他はクロロフェニル環またはジフルオロフェニル環のいずれか一方のみを含有する開裂した生成物で、これら生成物の多くは、処理放射エネルギーの 10 %以下であったが、1 つは最高で 23.6 % (緩衝液) 及び 19.4 % (自然水) を示し、代謝物 B (

) と同定された。また、緩衝液において、極めて少量の揮発性放射能が生成した (処理量の 2.6 %、太陽光換算日数で 67 日間暴露後)。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

代謝分解の概要

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

ノバルロンの動植物等における代謝分解経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は株式会社エス・ディー・エス バイオテックにある。

附 ノバルロンの開発年表