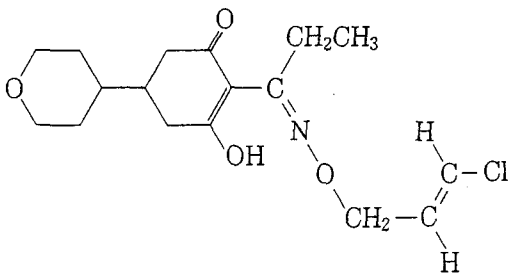


## テプラロキシジム

1. 品目名：テプラロキシジム (tepraloxydim)

2. 用途：除草剤

3. 構造式及び物性



分子式：C<sub>17</sub>H<sub>24</sub>ClNO<sub>4</sub>

分子量：341.8

水溶解度：433 mg/L (pH 6.5, 20°C)

分配係数：log Pow = 5.9 (20°C)

蒸気圧：1.1 × 10<sup>-5</sup> Pa (20°C)

(メーカー提出資料より)

4. 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 動物

Wistar ラットを用いた経口 (30 mg/kg) 投与による試験において、血中濃度の T<sub>max</sub> は 0.5~1 時間、C<sub>max</sub> は 67.1~78.6 μg eq./g、T<sub>1/2</sub> は 4 時間程度と考えられる。投与 0.75 時間の組織内濃度は腎及び肝で高く、それぞれ 29.6~36.3 及び 39.0~53.0 μg eq./g である。投与 120 時間後の組織内濃度は、血球、腎及び肝で高く、それぞれ 0.3~0.7、0.6~0.7 及び 0.4 μg eq./g であり、その他の組織では、同程度又はそれ以下である。排泄は速やかで投与 24 時間以内に糞中に 13~14%、尿中に 68~74% 排泄される。主要な代謝反応はピラン環の酸化及びエーテル側鎖の切断、それに続くオキサゾール体の生成と考えられる。

## (2) 植物

大豆を用いた代謝試験において、散布処理(100~300 g a.i./ha)60日後の豆及びさや部の残留放射能はそれぞれ0.44~1.62及び0.54~1.57 ppmである。主要な代謝反応は、ピラン環の水酸化及びピラン環の開環と考えられる。

なたねを用いた代謝試験において、散布処理(100~300 g a.i./ha)61日後の種子の残留放射能は0.29~1.02 ppmである。主要な代謝経路は、ピラン環の水酸化と考えられる。

てんさいを用いた代謝試験において、散布処理(50~200 g a.i./ha)123~124日後の根部の残留放射能は、0.05~0.06 ppmである。主要な代謝反応は加水分解及びピラン環の開環と考えられる。

## (3) その他

上記を含め、別添1(省略)に示した試験成績が提出されている。

## 5. 安全性

### (1) 単回投与試験

急性経口LD<sub>50</sub>は、マウス及びラットで>5,000 mg/kgと考えられる。

### (2) 反復投与/発がん性試験

C57BL/6NCr1BR系マウスを用いた混餌(200, 1,800, 5,000 ppm)投与による18ヵ月間の発がん性試験において、5,000 ppm投与群の雌雄で体重増加抑制、好酸性変異巢の増加、雌で肝比重量の増加、肝細胞肥大、1,800 ppm以上投与群の雄で肝比重量の増加が認められる。発がん性は認められない。本試験における無毒性量は、200 ppm(37mg/kg/day)と考えられる。

Wistarラットを用いた混餌(100, 600, 3,000(雄)/4,000(雌)ppm)投与による24ヵ月間の反復投与試験において、3,000/4,000 ppm投与群の雌雄で体重増加抑制及び摂餌量の減少、雄で血清γ-GTPの増加、雌で肝細胞の多形性(巨核または多核化)、600 ppm以上投与群の雌雄で好酸性変異巢、雌で血中総蛋白、アルブミン及びT.Cholの増加並びにトリグリセリドの減少等が認められる。本試験の無毒性量は100 ppm(5 mg/kg/day)と考えられる。

Wistarラットを用いた混餌(100, 600及び3,000(雄)/4,000(雌)ppm)投与による24ヵ月間の発がん性試験において、3,000/4,000 ppm投与群の雌雄で体重増加抑制、肝の好酸性変異細胞巢、肝細胞の多形性(巨核または多核化)、肝細胞腺腫及び肝細胞がんが、雌で好塩基細胞変異巢が、600 ppm以上投与群の雌雄で肝の好酸性変異細胞巢が、雄で肝細胞がんが認められる。本試験の無毒性量は100 ppm(5 mg/kg/day)と考えられる。

本試験で認められる肝細胞がんについて、ラットを用いたイニシエーション試験ではイニシエーション作用は認められず、中期イニシエーション/プロモーション肝発がん試験においては、本薬は高用量投与条件でプロモーション作用を示す。またS期におけるBrd-U染色細胞は、本薬の高用量投与により増加したものの可逆性の変化である。遺伝毒性試験の結果も勘案すると、本薬の発がんメカニズムは、プロモーション作用を有する非遺伝毒性メカニズムと考えられる。

ビーグル犬を用いた混餌(100, 400, 2,000 ppm)投与による12ヵ月間の反復投与試験において、2,000 ppm投与群の雌雄で肝及び甲状腺重量の増加が、雄で血中トリグリセリド及びT.Cholの増加、精

巢上体重量の減少並びに膀胱上皮細胞の過形成が、雌で血中グルコースの減少が認められる。本試験の無毒性量は400 ppm(11.5 mg/kg/day)と考えられる。

なお、ビーグル犬を用いた混餌(8,000 ppm)投与による12カ月の反復投与試験において、Ht及びHbの減少、血中AST、ALP、総蛋白、グロブリン、トリグリセリド及びT.Cholの増加、肝、腎及び甲状腺重量の増加、精巣及び精巣上体重量の減少、肝細胞肥大、胆汁鬱滞、大腿骨骨髓及び胸骨骨髓での赤芽球増生、脾でのヘモジデリン沈着並びに精細管上皮変性・萎縮、膀胱粘膜上皮の過形成が認められる。

### (3) 繁殖試験

Wistar ラットを用いた混餌(100, 500, 2,500 ppm)投与による2世代繁殖試験において、親動物では2,500 ppm投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下、血中アルブミン及びT.Cholの増加、トリグリセリドの減少が、500 ppm以上投与群の雌で白血球数の増加が認められる。児動物では2,500 ppm投与群で体重増加抑制及び開眼の遅延が認められる。繁殖に対する影響は認められない。本試験の無毒性量は100 ppm(10 mg/kg/day)と考えられる。

### (4) 催奇形性試験

Wistar ラットを用いた強制経口(40, 120, 360 mg/kg)投与による催奇形性試験において、母動物では360 mg/kg投与群で体重増加抑制、摂餌量の減少及び子宮重量の減少が認められる。胎児動物では360 mg/kg投与群で吸収胚と着床後の胚死亡率の増加、胎児生存率の低下、胎盤及び胎児重量の低下、120 mg/kg以上投与群で体重の低下と化骨遅延が認められる。催奇形性は認められない。本試験の無毒性量は母動物で120 mg/kg/day、胎児で40 mg/kgと考えられる。

Wistar ラットを用いた強制経口(10, 20, 40 mg/kg)投与による催奇形性試験において、母動物及び胎児動物とも本薬投与による影響は認められない。

ヒマラヤンウサギの強制経口(20, 60, 180 mg/kg)投与による催奇形性試験において、母動物では180 mg/kg投与群で体重増加抑制及び摂餌量の低下が認められる。胎児動物では本薬投与に関連した影響は認められない。催奇形性は認められない。本試験の無毒性量は母動物で60 mg/kg/day、胎児で180 mg/kg/dayと考えられる。

### (5) 遺伝毒性試験

Rec-assay, 細菌を用いた復帰突然変異試験, チャイニーズハムスター培養細胞(CHL)を用いたコマットアッセイ試験, ラット肝初代培養細胞を用いた不定期DNA合成試験, チャイニーズハムスター培養細胞(CHO)を用いた遺伝子突然変異試験, チャイニーズハムスター培養細胞(CHO)を用いた染色体異常試験及びマウスを用いた小核試験が行われている。Rec-assay試験の結果は陽性であったが、他の遺伝毒性試験の結果はいずれも陰性であった。以上を総合的に判断すると特段問題となるような遺伝毒性はないものと考えられる。

### (6) その他

上記を含め、別添1(省略)に示した試験成績が提出されている。

6. ADIの設定

以上の結果を踏まえ、次のように評価する。

無毒性量 5mg/kg/day  
 動物種 ラット  
 投与量/投与経路 100ppm/混餌  
 試験期間 24ヵ月間  
 試験の種類 反復投与試験, 発がん性試験

安全係数 100  
 ADI 0.05 mg/kg/day

7. 基準値案

別添2の基準値案のとおりである。各農産物について基準値案の上限まで本農薬が残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する農薬の量(理論最大摂取量)のADIに対する比率は26.3%以下である。

(別添2)

農作物名	基準値案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値			作物残留 試験成績 ppm	備考
				登録保留 基準値 ppm	国際 基準 ppm	外国基準値 ppm		
大豆	6		○	2		6:アメリカ		
小豆類(いんげん, ささげを含む)	0.2		○	0.2				
やまいも(長いものをいう)	0.2		○	0.2				
てんさい	0.2		○	0.2				
たまねぎ	0.5		○	0.5				
にんじん	0.2		○	0.2				
えだまめ	1		○	1				
綿実	0.2					0.2:アメリカ		
なたね	0.5					0.5:アメリカ		

#### 4. テブラロキシジム試験法

##### 1. 分析対象化合物

テブラロキシジム, 2[1-(3-クロロプロプ-2-(E)-エン-1-イル)オキシイミノプロピル]-3, 5-ジヒドロキシ-5-(テトラヒドロピラン-4-イル)シクロヘキス-2-エン-1-オン(以下「5-OH-DP」という。)及びその関連の変化生成物のうち, 酸化及びメチルエステル化の操作によりジメチル3-(3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)グルタレート(以下「DMP」という。)及びジメチル3-ヒドロキシ-3-(3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)グルタレート(以下「OH-DMP」という。)となるもの。

##### 2. 装置

ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)

還流冷却器

ホットプレート付スターラー

##### 3. 試薬, 試液

次に示すもの以外は, 第1 食品の部D 各条項の○ 穀類, 豆類, 果実, 野菜, 種実類, 茶及びホップの2 穀類, 豆類, 果実, 野菜, 種実類, 茶及びホップの成分規格の試験法の目の(2)試薬・試液に示すものを用いる。

過酸化水素水 過酸化水素水(30%, 特級)

水酸化カルシウム 水酸化カルシウム(特級)

活性炭 化学分析用活性炭

DMP標準品 本品は, DMP96%以上を含む。

OH-DMP標準品 本品は, OH-DMP96%以上を含む。

##### 4. 試験溶液調製法

###### 1)抽出

豆類及び種実類の場合は, 試料10.0gに水20mLを加え, 2時間放置する。野菜の場合は, 試料20.0gを量り採る。

これに水・メタノール混液(1:4)150mLを加え, ホモジナイズした後, 吸引ろ過する。ろ紙上の残留物に水・メタノール混液(1:4)150mLを加えてホモジナイズし, 上記と同様にろ過を行う。得られたろ液を合わせて, 40℃以下で約30mLまで濃縮する。これに水70mLを加えた後, イソプロパノールを加えて300mLとする。この150mLに水酸化カルシウム5gを加えて緩やかに振り混ぜた後, 吸引ろ過する。ろ紙上の残留物をイソプロパノール・水混液(4:1)20mLで洗い, 洗液をろ液に合わせる。

## 2) 酸化

ろ液に水酸化カリウム1gを加え、還流冷却管を装着し、ホットプレート付スターラー上で攪拌しつつ、加熱還流する。沸騰後、還流冷却管の上部から過酸化水素水3mLを加え、10分間隔で過酸化水素水3mLを加える操作をさらに3回繰り返した後、さらに30分間加熱還流する。

## 3) 活性炭への吸着

反応液を放冷後、塩化ナトリウム25gを加え10分間攪拌する。飽和塩化ナトリウム溶液20mLを加え、水層を分取する。イソプロパノール層に飽和塩化ナトリウム溶液50mLを加え、5分間激しく振り混ぜた後、静置し、水層を分取する。水層を合わせ、塩酸5mLを加えて50~60℃で減圧濃縮し、イソプロパノールを除去する。

析出した塩化ナトリウムが溶解するまで水を加えた後、活性炭2.5gを加え、10分間激しく振り混ぜた後、吸引ろ過する。水200mLでろ紙上の活性炭を洗った後、5分間吸引する。次いでn-ヘキサン100mLでろ紙上の活性炭を洗った後、5分間吸引する。

## 4) メチルエステル化

ろ紙及びろ紙上の活性炭を5mm角に切断した後に、メタノール100mL、硫酸20mL、オルトギ酸トリメチル25mL、ペルオキシ二硫酸カリウム2gを加え、還流冷却管を装着し、ホットプレート付スターラー上で攪拌しつつ、加熱還流する。1時間沸騰後、速やかに吸引ろ過する。

次いで、メタノール50mLを用いてろ紙上の残留物を洗う。さらに、ギ酸・メタノール混液(1:9)50mLずつを用いてろ紙上の残留物を2回洗う。これらのろ液、洗液を合わせ、水300mLを加え、ジクロロメタン150mLずつで2回振とう抽出する。この抽出液に飽和炭酸水素ナトリウム溶液50mLを加え振とうし、水層は捨てる。抽出液に無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、無水硫酸ナトリウムをろ別した後、ろ液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトン1mLに溶かし、ヘキサン19mLを加える。

## 5) 精製

### ① 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

クロマトグラフ管(内径15mm)にカラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム10gをn-ヘキサンに懸濁させて充てんし、上に無水硫酸ナトリウム約5gを積層する。このカラムに4)で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、アセトン・n-ヘキサン混液(1:19)40mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、アセトン・n-ヘキサン混液(1:4)100mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物を酢酸エチル1mLに溶かし、n-ヘキサン19mLを加える。

### ② シリカゲルカラムクロマトグラフィー

シリカゲルミニカラム(1,000mg)にn-ヘキサン5mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに①で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル・n-ヘキサン混液(3:17)10mLを注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル・n-ヘキサン混液(3:7)25mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をエーテル1mLに溶かし、n-ヘキサン19mLを加える。

### ③ アミノプロピルシリル化シリカゲルカラムクロマトグラフィー

アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラム(1,000mg)にn-ヘキサン5mLを注入し、流出液は捨

てる。このカラムに②で得られた溶液を注入し、流出液は捨てる。次いで、酢酸エチル・n-ヘキサン混液(3:7)10 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。この残留物をアセトンに溶解し、豆類及び種実類の場合は正確に3 mL、野菜の場合は正確に6 mLとしたものを試験溶液とする。

#### 5. 検量線の作成

DMP及びOH-DMP標準品のアセトン溶液を別々に調製し、1:1の割合で混合した後、0.1~2 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ2 µLをGC/MSに注入し、ピーク高法又はピーク面積法で検量線を作成する。

#### 6. 定量

試験溶液2 µLをGC/MSに注入し、5の検量線でDMP及びOH-DMPの含量を求め、次式により、5-OH-DP及びその他の関連化合物を含むテブラロキシジムの含量を求める。

$$\begin{aligned} & \text{テブラロキシジム (5-OH-DP 及びその他の関連化合物を含む) の含量} \\ & = \text{DMP の含量} \times 1.40 + \text{OH-DMP の含量} \times 1.31 \end{aligned}$$

#### 7. 測定条件

GC/MS

カラム：35%フェニル-メチルシリコン内径 0.25mm, 長さ30m, 膜厚0.25 µm

カラム温度：100℃(2分) - 3℃/分 - 200℃ - 30℃/分 - 280℃

注入口温度：250℃

検出器温度：280℃

キャリアーガス：ヘリウム

イオン化電圧：70 eV

主なイオン：DMP  $m/z$  213, 182, 168 OH-DMP  $m/z$  175, 155, 143

保持時間の目安：DMP 29分 OH-DMP 32分

#### 8. 定量限界

0.05 mg/kg

#### 9. 留意事項

##### 1) 試験法の概要

テブラロキシジム、5-OH-DP及びその関連の変化生成物のうち、酸化及びメチルエステル化の操作によりDMP及びOH-DMPとなるものを分析対象とした方法である。水・メタノール混液でテブラロキシジム、5-OH-DP及び変化生成物を同時に抽出、水酸化カルシウムで凝固処理後、酸化反応でこれらを3-(3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)グルタル酸(GP)及び3-ヒドロキシ-3-(3, 4, 5, 6-テトラヒドロ-2H-ピラン-4-イル)グルタル酸(OH-GP)に変換する。さらにメチルエステル化によりGPをDMPに、OH-GPをOH-DMPに変換、液々分配、合成ケイ酸マグネシウムカラム、シリカゲルミニカラム及びアミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムにより精製し、GC/MSでDMP及びOH-DMPを同時に測定する方法である。

## 2) 注意点

## ① 酸化反応について

環境省告示試験法に従い、水酸化カリウム1gを加えた後、酸化剤として30%過酸化水素水を用いて加熱還流する方法で酸化を行う。

小林らは、水酸化カリウム1gを加え、30%過酸化水素水3mLを10分間隔で4回加えた場合、最も酸化効率が高く、さらに30分間加熱還流を続けることで過剰の過酸化水素を分解できたと報告している。ただし、酸化反応後の溶液のpHが11~13であれば反応は順調に進行するが、pHがそれより低い場合は酸化反応が進行していない可能性が高いので、酸化反応後の溶液を少量取り、pH試験紙でpHを確認する。pHが低い場合は水酸化カリウム及び30%過酸化水素水を加えて酸化反応を再度行う。

## ② 塩析後のイソプロパノールの留去について

イソプロパノールが残存すると、活性炭への吸着率が低下するため、完全に留去させる。イソプロパノールが完全に留去されたことの判断は、減圧濃縮器の冷却管に水滴が付着すること、フラスコ内に塩化ナトリウムが析出すること及びイソプロパノール臭がしなくなるなどから行う。

## ③ 活性炭への吸着について

環境省告示試験法に従い、酸化反応後の溶液を塩析させた後の水層に活性炭を加えて振とうすることで、GP及びOH-GPを活性炭に吸着させ、これを吸引ろ過及び洗浄する。

小林らは、GP及びOH-GPは水溶性が高く、一般の有機溶媒に転溶することが困難であったため、酸化反応後の溶液を塩析及び濃縮操作で有機溶媒を完全に留去させ、活性炭を加えることで、GP及びOH-GPを吸着することができたと報告している。

なお、水分が残存するとメチルエステル化反応率が低下するため、ろ過後の活性炭は完全に乾燥させる必要がある。

## ④ メチルエステル化について

環境省告示試験法に従い、活性炭にメタノール100mLを加えた後、ペルオキソ二硫酸カリウム2g、オルトギ酸トリメチル25mL及び濃硫酸20mLを加え、1時間加熱還流してメチルエステル化を行う。

小林らは、活性炭に吸着させたGP及びOH-GPのうち、GPについては定量的にDMPに変換されるが、OH-GPについては変換率が低かったため、ペルオキソ二硫酸カリウム及びオルトギ酸トリメチルを加えることでGP及びOH-GPを定量的にDMP及びOH-DMPに変換できたと報告している。

メチルエステル化後、活性炭を除去するために沸騰させた反応液を速やかに吸引ろ過しているが、冷却してしまうとDMP及びOH-DMPの回収率が低下するため、温度が高いうちに手早くろ過を行う。

⑤ 試験溶液調製の途中で操作を中断する場合は、活性炭に吸着させ、乾燥させた状態で1晩、メタノールに浸漬させた状態で2日間置くことができる。又は飽和炭酸水素ナトリウムで洗浄後に置くことができる。

## 10. 参考文献

1) 環境省告示第32号「テブラロキシジム試験法」(平成12年4月28日)

2) 小林ら、第23回農薬残留分析研究会講演資料集, p.40-47, 2000年8月



11. 類型

C