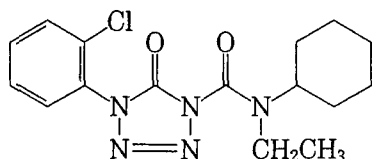


1. 品目名：フェントラザミド (fentrazamide)

2. 用途：除草剤

3. 構造式及び物性



分子式：C₁₆H₂₀ClN₅O₂

分子量：349.8

水溶解度：2.5 mg/L (20℃)

分配係数：logPow = 3.6

蒸気圧：1 × 10⁻⁷ Pa (25℃)

(メーカー提出資料より)

4. 吸収・分布・代謝・排泄

(1) 動物

ラットを用いた経口 (1.5 mg/kg) 投与による試験において、血中濃度の T_{max} は 0.49～1.67 時間、C_{max} は 0.66～1.71 μg eq./g、T_{1/2} は約 2 時間程度と考えられる。投与 48 時間後の組織内濃度は肝及び腎で高く、それぞれ 0.006～1.163 及び 0.003～0.332 μg eq./g である。排泄は速やかで投与 24 時間以内に糞中に 11～17%、尿中に 63～93% 排泄される。主要な代謝経路は、テトラゾリノン環の開裂及びシクロヘキセノン環の水酸化と考えられる。

(2) 植物

稲を用いた代謝試験において、水面処理 (0.266 kg a.i./ha) 132 日後の玄米部の残留放射能は 0.04～0.05 ppm である。主要な代謝反応は、テトラゾリノン環窒素とカルボニル基間の CN 結合の開裂、それに続く抱合化及び天然成分への取り込みと考えられる。

(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 LD₅₀ 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

B6C3F₁ マウスを用いた混餌 (20, 100, 500, 2,000 ppm) 投与による 24 カ月間の発がん性試験において、2,000 ppm 投与群の雌雄で肝細胞の好酸性化及び細胞質肥大が、雄で体重増加抑制、胆嚢の上皮過形成が、雌で赤血球 ChE 活性の低下が、500 ppm 群以上投与群の雌雄で血中 T.Chol の増加、胆汁の濃縮や好酸性不定型物、雄で血中トリグリセリドの低下、雌で肝比重量の増加、胆嚢上皮過形成が認められる。発がん性は認められない。本試験の無毒性量は 100 ppm (28.0 mg/kg/day) と考えられる。

Wistar ラットを用いた混餌(50, 200, 1,000, 3,000(雄) / 4,000(雌)ppm)投与による24カ月間の反復投与 / 発がん性併合試験において、3,000/4,000 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制、肝重量の増加及び坐骨神経の変性性髄鞘疾患が、雌で脳ChE活性の低下、膀胱の移行上皮がん(1/50例)及び移行上皮乳頭腫(2/50例)、膀胱移行上皮過形成、当該部位のPCNA染色率の増加、骨格筋の萎縮並びに肝細胞肥大が、雄でHb及びHtの低下、好酸性肝細胞小増殖巣、限局性肝細胞変性、小葉中心性肝細胞質変化、尿道の移行上皮がん(2/50例)、副腎束状帯の空胞化並びに甲状腺ろ胞過形成が、1,000 ppm以上投与群の雌雄で血球ChE活性の低下が、雌で小葉中心性肝細胞質変化が認められる。本試験における無毒性量は200 ppm(10.3 mg/kg/day)と考えられる。

本試験で低頻度ながら認められた膀胱がん等の発生機序を、中期イニシエーション / プロモーション膀胱発がん性試験、膀胱上皮細胞増殖活性試験にて確認した結果、本薬がプロモーション作用を有すること、細胞増殖活性の亢進が確認されたこと、また下記の遺伝毒性試験結果が陰性であり、³²Pポストラベル法でDNA付加体も検出されなかったことから、総合的に判断すると本薬の発がん機序は非遺伝毒性メカニズムと考えられる。

また本試験において坐骨神経の変性が認められた。これは本薬が神経細胞のエネルギー代謝、特にグルコースの利用を阻害することが解明されておりこの原因により末梢神経の老化が早まったものと考えられる。また、急性遅発性神経毒性試験(5,000 mg/kg, 投与期間6週間)、亜急性遅発性神経毒性試験(50, 200, 750/500 mg/kg, 投与期間4週間、回復期間2週間)により神経毒性の有無を確認した結果、全ての投与群でNTE活性の阻害がみられるものの、歩行異常及び病理組織学的異常が認められず、他のげっ歯類やイヌを用いた短期毒性においてもこのような病変はみられなかったことから、ヒトに影響を及ぼすような神経毒性はないと考えられる。

ビーグル犬を用いた混餌(20, 40, 200, 750 ppm)投与による1年間の反復投与試験において、750 ppm投与群の雌雄で体重増加抑制、血小板の増加、及び肝肥大が、雄で血中アルブミン及び総蛋白の低下、T3, T4及びTSHの増加及び甲状腺重量の増加が、雌でALTの増加及び胆嚢過形成が、200 ppm以上投与群の雌雄で肝細胞肥大が、雄で血中ALT及びALPの増加、肝重量の増加、肝細胞肥大、胆嚢過形成並びに肝P-450の増加が、雌で血中アルブミン及び総蛋白の低下並びに甲状腺重量の増加が、40 ppm以上投与群の雌でALPの増加、肝重量の増加及び肝P-450の増加が認められる。本試験における無毒性量は20 ppm(0.52 mg/kg/day)と考えられる。

(3) 繁殖試験

Wistar ラットを用いた混餌(20, 300, 1800 ppm)投与による2世代繁殖試験において、親動物では1,800 ppm投与群のF₀及びF₁の雌雄で体重増加抑制(F₀の雄は除く。)、脳ChE活性の低下、肝重量の増加が、F₁の雌雄で膀胱上皮過形成が、F₀の雌で肝細胞肥大が、300 ppm以上投与群のF₁の雄で肝細胞の細胞質変化が、F₁の雌で肝細胞肥大及び副腎皮質の空胞化が認められる。児動物では1,800 ppm投与群のF₁及びF₂で体重増加抑制、28日齢児の肝重量の増加、F₁の生後4日生存率の低下及びF₂の哺育率の低下が認められる。本試験における無毒性量は、親動物で20 ppm(1.4 mg/kg/day)、児動物で300 ppm(21.4 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(100, 300, 1,000 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。本試験における無毒性量は1,000 mg/kg/dayと考えられる。

ヒマラヤンウサギを用いた強制経口(10(後に追加), 40, 160, 640 mg/kg)投与による催奇形性試験において、母動物では640 mg/kg投与群で摂餌量低下、体重増加抑制、糞量の減少及び糞の褪色化が、160 mg/kg以上投与群で全胚吸収及び軟便が、40 mg/kg以上投与群で流産が認められる。胎児動物では本薬投与による影響は認められない。

ヒマラヤンウサギを用いた強制経口(2.5(後に追加), 10, 40, 160, 640 mg/kg)投与による母動物への毒性を確認するための反復投与試験において、640 mg/kg投与群で肝重量の増加が、160 mg/kg以上投与群で血中 γ -GTP, ALP及びトリグリセリドの増加が、40 mg/kg以上投与群で小葉中心性又は小葉中間帯肝細胞肥大及び肝細胞質変化(スリガラス様)が、10 mg/kg以上投与群で赤血球ChE活性の低下が認められる。催奇形性は認められない。以上2試験の無毒性量は母動物で2.5 mg/kg/day, 胎児動物で640 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, 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を(V79)用いた前進突然変異試験, チャイニーズハムスター培養細胞(V79)を用いた染色体異常試験, マウスを用いた小核試験が行われており, 結果はいずれも陰性であった。

(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	0.52 mg/kg/day
動物種	イヌ
投与量/投与経路	20 ppm/混餌
試験期間	1年間
試験の種類	反復投与試験
安全係数	100
ADI	0.0052 mg/kg/day

7. 基準値案

別添2の基準値案のとおりである。基準値案の上限まで本農薬が残留したすべての農作物を摂食すると仮定した場合, 国民栄養調査結果に基づき試算すると, 摂取される農薬の量(理論最大摂取量)のADIに対する比は, 12.1%以下である。

(別添 2)

農作物名	基準値 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		
米(玄米をいう)	0.1	○	0.1				

【フェントラザミド試験法】

1. 分析対象化合物

フェントラザミド

1-(2-クロロフェニル)-4,5-ジヒドロ-1H-テトラゾール-5-オン(以下「CPT」という。)

2. 装置

アルカリ熱イオン化検出器付きガスクロマトグラフ(GC(FTD))又は高感度窒素・リン検出器付きガスクロマトグラフ(GC(NPD))

ガスクロマトグラフ・質量分析計(GC/MS)

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。

水素化ナトリウム ヘキサンで洗浄し, 同溶媒中に保存したもの

ヨウ化メチル 特級試薬

CPT標準品 本品はCPT97%以上を含み, 融点は120℃である。

4. 試験溶液調製法

1)抽出

試料10.0gを量り採り, 水20mLを加え, 2時間放置する。

これにアセトン100mLを加え, ホモジナイズした後, 吸引ろ過する。ろ紙上の残留物にアセトン50mLを加え, ホモジナイズした後, 上記と同様にろ過して, 得られたろ液を合わせ, 40℃以下で約30mLに濃縮する。これに10%塩化ナトリウム溶液100mLを加え, 酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:1)100mL及び50mLで2回振とう抽出する。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。

この残留物にn-ヘキサン30mLを加え, n-ヘキサン飽和アセトニトリル30mLずつで3回振とう抽出する。抽出液を40℃以下で濃縮し, 溶媒を除去する。この残留物に酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:9)5mLを加えて溶かす。

2)精製(I)

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シリカゲル(粒径150~425 μ m)5g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(1:9)50mL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(1:4)80 mLを注入し、溶出液を40℃以下で濃縮し、溶媒を除去する。

3)加水分解

2)で得られた残留物にエタノール4 mLを加えて溶かし、12 mol/L塩酸16 mLを加える。これに還流冷却器を取り付けて、90℃以上の水浴中で1時間加熱した後、放冷する。加水分解した溶液に10%塩化ナトリウム溶液40 mLを加え、酢酸エチル30 mLずつで2回振とう抽出する。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。

4)メチル化

3)で得られた残留物にn-ヘキサン0.5 mLを加えて溶かす。これにジメチルスルホキシド0.5 mL、水素化ナトリウム約20 mg及びヨウ化メチル0.5 mLを加え、栓をして時々振り混ぜながら室温で15分間放置する。次いで、蒸留水10 mLを徐々に滴下して加え、水素ガスの発生が止まった後、反応液に蒸留水10 mLを加え、酢酸エチル20 mLずつで2回振とう抽出する。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。

5)精製(Ⅱ)

4)で得られた残留物に酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:9)5 mLを加えて溶かす。

シリカゲルミニカラム(690 mg)に酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:9)5 mLを注入し、流出液は捨てる。このカラムに上記の溶液を注入し、流出液は捨てる。さらに、酢酸エチル・n-ヘキサン混液(1:9)10 mL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(1:4)20 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、正確に2 mLとしたものを試験溶液とする。

5. 検量線の作成

CPT標準品の500 mg/Lアセトン溶液を調製し、この1 mLを100 mLのナス型フラスコに取り、室温で窒素ガスを通じて溶媒を除去する。以下、この残留物について4の4)メチル化と同様の操作を行い、その残留物にアセトンを加えて溶かし、50 mLとする。この溶液をアセトンで希釈し、0.025～1 mg/Lアセトン溶液を数点調製し、それぞれ2 μLをGC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に注入し、5の検量線でCPTの含量を求め、次式によりフェントラザミドの含量を求める。

$$\text{フェントラザミドの含量 (mg/kg)} = \text{CPTの含量 (mg/kg)} \times 1.78$$

7. 測定条件

GC

検出器：FTD又はNPD

カラム：5%フェニル-メチルシリコン 内径0.25 mm, 長さ30 m, 膜厚0.25 μm

カラム温度：50℃(1分) - 25℃/分 - 280℃(1分)

注入口温度：250℃

検出器温度：280℃

キャリアーガス：ヘリウム

保持時間の目安：10分

8. 定量限界

0.01 mg/kg

9. 留意事項

試験法の概要

フェントラザミドを試料からアセトンで抽出し、酢酸エチル・n-ヘキサン混液に転溶する。

アセトニトリル／ヘキサン分配で脱脂した後、シリカゲルカラムで精製する。加水分解してフェントラザミドをCPTとした後、ヨウ化メチルでメチル化する。シリカゲルミニカラムで再度精製した後、GC(FTD)又はGC(NPD)で測定し、GC/MSで確認する方法である。

10. 参考文献

環境省告示第80号「フェントラザミド試験法」(平成12年12月21日)

11. 類型

C