

農薬評価書

スピロテトラマト

2009年5月

食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯	4
○ 食品安全委員会委員名簿	4
○ 食品安全委員会農業専門調査会専門委員名簿	4
○ 要約	4
I. 評価対象農薬の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 開発の経緯	6
II. 安全性に係る試験の概要	7
1. 動物体内運命試験	7
(1) ラット	7
(2) 畜産動物 (ヤギ)	13
(3) 畜産動物 (ニワトリ)	15
(4) 固定化肝細胞を用いた <i>in vitro</i> 代謝に関する種間差の検討	16
(5) 生理学的薬物動態の解析 (薬物動態 PK-Slim を用いたシミュレーション: 参考データ)	16
2. 植物体内運命試験	17
(1) りんご	17
(2) レタス	18
(3) ばれいしょ	18
(4) わた	19
(5) りんご培養細胞を用いた植物体内運命試験 (<i>in vitro</i>)	20
3. 土壌中運命試験	20
(1) 好氣的土壌中運命試験	20
(2) 好氣的土壌中運命試験 (屋外試験)	21
(3) 好氣的-嫌氣的土壌中運命試験	21
(4) 土壌表面光分解試験	22
(5) M1 を用いた好氣的土壌中運命試験	23
(6) M28 を用いた好氣的土壌中運命試験	23
(7) 土壌吸脱着試験	24

(8) M1 を用いた土壌吸着試験	24
(9) M5 を用いた土壌吸脱着試験	24
4. 水中運命試験	24
(1) 加水分解試験	24
(2) 水中光分解試験 (緩衝液)	25
(3) 水中光分解試験 (自然水)	25
(4) M1 を用いた加水分解試験	25
(5) M1 を用いた水中光分解試験 (緩衝液)	25
5. 土壌残留試験	26
6. 作物残留試験	26
7. 乳汁移行試験	26
8. 一般薬理試験	27
9. 急性毒性試験	27
(1) 急性毒性試験	27
(2) 急性神経毒性試験 (ラット)	28
10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	29
11. 亜急性毒性試験	29
(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)	29
(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)	30
(3) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)	30
(4) 21日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)	31
12. 慢性毒性試験及び発がん性試験	31
(1) 1年間慢性毒性試験 (ラット)	31
(2) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)	31
(3) 2年間発がん性試験 (ラット)	32
(4) 18カ月間発がん性試験 (マウス)	33
13. 生殖発生毒性試験	33
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	33
(2) 発生毒性試験 (ラット) ①	34
(3) 発生毒性試験 (ラット) ②	35
(4) 発生毒性試験 (ウサギ)	35
14. 遺伝毒性試験	36
15. その他の試験	37
(1) 雄ラットを用いた連続経口投与による繁殖毒性の評価	37
(2) 雄ラットを用いた代謝物 M1 の連続経口投与による繁殖毒性の評価	37
III. 食品健康影響評価	38

・別紙 1：代謝物/分解物略称	41
・別紙 2：検査値等略称	43
・別紙 3：作物残留試験	44
・参照	134

<審議の経緯>

2008年	7月	11日	インポートトレランス申請（ばれいしょ、はくさい、トマト等）
2008年	8月	18日	厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安第0818002号）、関係書類の接受（参照1~67）
2008年	8月	21日	第251回食品安全委員会（要請事項説明）（参照68）
2008年	10月	22日	第20回農薬専門調査会確認評価第一部会（参照69）
2008年	11月	12日	インポートトレランス申請（たまねぎ、わた、マンゴー及びかんきつ類）
2008年	11月	18日	追加資料受理（参照70）
2009年	2月	24日	第48回農薬専門調査会幹事会（参照71）
2009年	3月	19日	第278回食品安全委員会（報告）
2009年	3月	19日	より4月17日 国民からの御意見・情報の募集
2009年	5月	12日	農薬専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
2009年	5月	14日	第285回食品安全委員会（報告） （同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

見上 彪（委員長）	畑江敬子
小泉直子（委員長代理）	廣瀬雅雄
長尾 拓	本間清一
野村一正	

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

鈴木勝士（座長）	代田真理子	細川正清
林 真（座長代理）	高木篤也	堀本政夫
相磯成敏	玉井郁巳	松本清司
赤池昭紀	田村廣人	本間正充
石井康雄	津田修治	柳井徳磨
泉 啓介	津田洋幸	山崎浩史
今井田克己	長尾哲二	山手丈至
上路雅子	中澤憲一*	與語靖洋
臼井健二	永田 清	義澤克彦**
太田敏博	納屋聖人	吉田 緑
大谷 浩	西川秋佳	若栗 忍
小澤正吾	布柴達男	
川合是彰	根岸友恵	
小林裕子	根本信雄	
三枝順三***	平塚 明	
佐々木有	藤本成明	

*：2009年1月19日まで

**：2009年4月10日から

***：2009年4月28日から

要 約

環状ケトエノール系殺虫剤である「スピロテトラマト」(CAS No. 203313-25-1) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、動物体内運命(ラット、ヤギ及びニワトリ)、植物体内運命(りんご、レタス、ばれいしょ及びわた)、土壌中運命、水中運命、作物残留、急性毒性(ラット)、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(ラット及びイヌ)、発がん性(ラット及びマウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性試験等である。

試験結果から、スピロテトラマト投与による影響は主に肝臓、腎臓、肺及び精巣に認められた。神経毒性、発がん性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

各試験で得られた無毒性量の最小値は、ラットを用いた2年間発がん性試験の無毒性量が12.5 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として安全係数100で除した0.12 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺虫剤

2. 有効成分の一般名

和名：スピロテトラマト

英名：spirotetramat (ISO名)

3. 化学名

IUPAC

和名：シス-4-(エトキシカルボニルオキシ)-8-メトキシ-3-(2,5-キシリル)-1-アザスピロ[4.5]デカ-3-エン-2-オン

英名：*cis*-4-(ethoxycarbonyloxy)-8-methoxy-3-(2,5-xylyl)-1-azaspiro[4.5]dec-3-en-2-one

CAS (No. 203313-25-1)

和名：シス-3-(2,5-ジメチルフェニル)-8-メトキシ-2-オキシ-1-アザスピロ[4.5]デカ-3-エン-4-イル エチルカルボナート

英名：*cis*-3-(2,5-dimethylphenyl)-8-methoxy-2-oxo-1-azaspiro[4.5]dec-3-en-4-yl ethyl carbonate

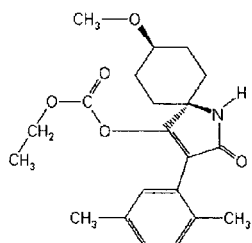
4. 分子式

$C_{21}H_{27}NO_5$

5. 分子量

373.45

6. 構造式



7. 開発の経緯

スピロテトラマトはバイエル クロップサイエンス社によって開発された環状ケトエノール構造を有する殺虫剤であり、作用機作は昆虫のアセチル CoA カルボキシラーゼ阻害と考えられている。海外では、北米自由貿易協定国 (NAFTA: 米国及びカナダ) 及びヨーロッパ連合 (評価担当国: オーストリア) において 2006 年 10 月及び 2007 年 1 月に農薬登録申請がなされている。

今回、バイエル クロップサイエンス株式会社からインポートトレランス申請 (ばれいしょ、はくさい、トマト等) がなされている。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験[II. 1~4]は、スピロテトラマトのアザスピロデセニル環の3位の炭素を ^{14}C で標識したもの([aza-3- ^{14}C]スピロテトラマト)及びアザスピロデセニル環の5位の炭素を ^{14}C で標識したもの([aza-5- ^{14}C]スピロテトラマト)を用いて実施された。また、各種運命試験において、M5及びM1グルコシドのアザスピロデセニル環の3位の炭素を ^{14}C で標識したもの([aza-3- ^{14}C]M5及び[aza-3- ^{14}C]M1グルコシド)、M1のアザスピロデセニル環の3位または5位の炭素を ^{14}C で標識したもの([aza-3- ^{14}C]M1及び[aza-5- ^{14}C]M1)及びM28のメトキシ基の炭素を ^{14}C で標識したもの([met- ^{14}C]M28)を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合はスピロテトラマトに換算した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙1及び2に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) ラット

①スピロテトラマト

a. 吸収

(a) 血中濃度推移

Wistar ラット (一群雌雄各 4 匹) に [aza-3- ^{14}C]スピロテトラマトを 2 mg/kg 体重 (以下、[1.]において「低用量」という。) または 100 mg/kg 体重 (以下、[1.]において「高用量」という。) で単回経口投与、あるいは低用量で反復経口 (非標識スピロテトラマトを 14 日間投与後、15 日目に標識体を単回投与) 投与して、血中濃度推移について検討された。

血漿中放射能濃度推移は表 1 に示されている。

投与量や投与方法 (回数) に関係なく雌の方が速やかに T_{\max} に達した。また、低用量群では $T_{1/2}$ の α 相が雄で速やかであったが、 β 相では性差はみられなかった。また、高用量群及び反復投与群では、高用量群の β 相を除いて雌の方が速やかに消失する傾向がみられた。

(参照 2)

(b) 吸収率

排泄試験[1. (1)①d.]より得られた投与後 48 時間の尿中排泄率が総投与放射能(TAR)の 87.9%以上であったことから、吸収率は 87.9%以上であると考えられた。(参照 2)

表 1 血漿中放射能濃度推移

投与方法	単回投与				反復投与	
投与群	2 mg/kg 体重		100 mg/kg 体重		2 mg/kg 体重	
性別	雄	雌	雄	雌	雄	雌
T _{max} (時間)	0.89	0.09	2.03	0.77	0.45	0.35
C _{max} (μg/g)	4.41	4.15	210	117	5.21	2.98
T _{1/2} (時間)	α相	0.31	4.79	1.70	0.06	3.62
	β相	20.1	29.7	17.5	27.2	92.7

b. 分布

Wistar ラット（一群雌雄各 8 匹）に[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 3 mg/kg 体重で単回経口投与して、体内分布試験が実施された。

投与 1 及び 4 時間後の主要組織における残留放射能濃度は表 2 に示されている。

雌雄とも腎臓及び肝臓で高い残留放射能が認められた。いずれの臓器及び組織内においても投与 1 時間後以降には残留放射能濃度が減少した。（参照 3）

表 2 投与 1 及び 4 時間後の主要組織における残留放射能濃度 (μg/g)

投与量		雄	雌
3 mg/kg 体重	1 時間後	腎髄質 (12.7)、腎皮質 (10.6)、肝臓 (7.44)、血液 (2.71)	腎髄質 (7.31)、腎皮質 (5.15)、肝臓 (4.50)、血液 (1.20)
	4 時間後	腎髄質 (7.61)、肝臓 (5.44)、腎皮質 (4.81)、血液 (1.29)	腎髄質 (2.62)、腎皮質 (1.49)、肝臓 (1.32)、血液 (0.37)

また、Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを低用量または高用量で単回経口投与、あるいは低用量で反復経口（非標識スピロテトラマトを 14 日間投与後、15 日目に標識体を単回投与）投与して、体内分布試験が実施された。

投与 48 時間後の主要組織における残留放射能濃度は表 3 に示されている。

肝臓及び腎臓に分布する傾向が認められたが、いずれの投与群においても組織内残留は低かった。（参照 2）

表 3 投与 48 時間後の主要組織における残留放射能濃度 (ng/g)

投与条件	性別	組織中残留放射能濃度
2 mg/kg 体重 (単回)	雄	肝臓 (7.6)、血漿 (1.1)、赤血球 (1.0)
	雌	腎臓 (4.0)、肝臓 (3.5)、血漿 (1.5)、赤血球 (1.3)
100 mg/kg 体重 (単回)	雄	肝臓 (179.2)、腎臓 (106.5)、血漿 (70.3)、赤血球 (38.5)
	雌	腎臓 (60.9)、肝臓 (50.2)、血漿 (26.7)、赤血球 (25.0)
2 mg/kg 体重 (反復)	雄	肝臓 (9.4)、腎臓 (2.4)、血漿 (0.9)、赤血球 (0.7)
	雌	腎臓 (2.7)、肝臓 (1.9)、血漿 (1.0)、赤血球 (0.7)

c. 代謝物同定・定量

排泄試験 [1. (1) ①d.] における尿及び糞を用いて代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中における代謝物は表 4 に示されている。

親化合物はいずれの投与群からも認められず、主要代謝物として M1 及び M2 が認められた。尿中においては M1 が全投与群において最も多く認められ、糞中では低用量群の雌を除いて M2 が最も多く認められた。M1 の生成量は雄と比較して雌の方が高く、M2 の生成量は雌と比較して雄の方が高い傾向であった。他には微量代謝物として M3、M4、M5 及び M6 が認められたが、生成量はいずれの投与群においても 1.6% TAR 未満であった。

ラット体内におけるスピロテトラマトの主要代謝経路は、アザスピロデセニル環側鎖の炭酸エステル結合の開裂を受けて M1 に変換され、さらに O-脱メチル化により M2 へと変換されると推察された。その他、エノール体のグルクロン酸抱合化による M3 の生成、エノール体のピラミジン環の水酸化による M5 の生成、エノール体のメチル基の酸化による M4 の生成が認められた。(参照 2)

表 4 尿及び糞中における代謝物 (%TAR)

投与条件	性別	試料	代謝物
2 mg/kg 体重 (単回)	雄	尿	M1 (62.5)、M2 (24.4)、M5 (0.81)、M4 (0.80)、M3 (0.44)、M6 (0.15)
		糞	M2 (2.6)、M1 (0.55)、M4 (0.46)、M6 (0.15)、M3 (0.07)、M5 (0.06)
	雌	尿	M1 (79.7)、M2 (4.4)、M5 (0.77)、M4 (0.30)、M3 (0.16)、M6 (0.05)
		糞	M1 (0.83)、M2 (0.58)、M5 (0.33)、M6 (0.16)、M4 (0.11)
100 mg/kg 体重 (単回)	雄	尿	M1 (51.4)、M2 (32.4)、M4 (0.90)、M3 (0.69)、M5 (0.28)、M6 (0.18)
		糞	M2 (4.7)、M1 (1.6)、M4 (0.68)、M6 (0.47)、M3 (0.11)、M5 (0.21)
	雌	尿	M1 (82.7)、M2 (9.1)、M5 (0.41)、M4 (0.27)、M3 (0.18)

		糞	M2 (0.96)、M1 (0.67)、M4 (0.15)、M5 (0.09)、M6 (0.06)
2 mg/kg 体重 (反復)	雄	尿	M1 (65.6)、M2 (21.5)、M4 (0.72)、M5 (0.53)、M3 (0.36)、 M6 (0.13)
		糞	M2 (3.2)、M4 (0.48)、M1 (0.44)、M6 (0.23)、M3 (0.07)、 M5 (0.06)
	雌	尿	M1 (86.5)、M2 (4.7)、M5 (0.75)、M4 (0.55)、M3 (0.15)、 M6 (0.05)
		糞	M2 (0.65)、M4 (0.26)、M1 (0.19)、M6 (0.06)、M5 (0.04)

注) いずれの投与群においても投与後 48 時間までの試料を用いて分析した。

d. 排泄

Wistar ラット (一群雌雄各 4 匹) に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを低用量または高用量で単回経口投与、あるいは低用量で反復経口 (非標識スピロテトラマトを 14 日間投与後、15 日目に標識体を単回投与) 投与して、排泄試験が実施された。

投与後 24 及び 48 時間までの尿及び糞中排泄率は表 5 に示されている。

いずれの投与量及び投与方法においても、投与後 24 時間での 88%TAR 以上が糞尿中に排泄された。主要排泄経路は、性別及び投与量にかかわらず尿中への排泄率が糞中より高かった。(参照 2)

表 5 投与後 24 及び 48 時間までの尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与条件	2 mg/kg 体重 (単回)				100 mg/kg 体重 (単回)				2 mg/kg 体重 (反復)			
	雄		雌		雄		雌		雄		雌	
試料	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
投与後 24 時間	93.0	4.9	85.7	2.3	88.3	10.0	93.0	2.8	90.9	5.9	93.2	1.4
投与後 48 時間	93.3	5.1	87.9	3.3	89.1	10.5	93.8	3.0	91.5	6.6	94.8	1.8

②M5

a. 吸収

Wistar ラット (雄 4 匹) に [aza-3-¹⁴C]M5 を低用量で単回経口投与して、血中濃度推移について検討された。

血漿中放射能濃度推移は表 6 に示されている。スピロテトラマトの血中濃度推移検討試験 [1. (1) ①a. (b)] で得られた値と比較すると、 T_{max} に関しては同様な傾向が認められたが、消失に関しては M5 の方が速やかであった。(参照 6)

表 6 血漿中放射能濃度推移

投与群	2 mg/kg 体重	
性別	雄	
T _{max} (時間)	0.81	
C _{max} (μg/g)	1.26	
T _{1/2} (時間)	α相	0.30
	β相	4.23

b. 体内分布

Wistar ラット (雄 4 匹) に [aza-3-¹⁴C]M5 を低用量で単回経口投与して、体内分布試験が実施された。

投与 48 時間後の主要組織中における残留放射能濃度は表 7 に示されている。雄における組織内残留は低く、肝臓等で比較的高い残留放射能が認められた。(参照 6)

表 7 投与 48 時間後の主要組織中における残留放射能濃度 (ng/g)

投与群	性別	組織中残留放射能濃度
2 mg/kg 体重	雄	肝臓 (18)、消化管 (10)、甲状腺 (7)、腎臓 (4)、精巣 (4)、副腎 (3)、骨格筋 (2)、赤血球 (2)、皮膚 (2)、脾臓 (1)、心臓 (1)、肺 (1)、大腿骨 (1)、血漿 (1)

c. 代謝物同定・定量

Wistar ラット (雄 4 匹) に [aza-3-¹⁴C]M5 を低用量で単回経口投与して、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中において未変化の M5 は認められなかった。主要代謝物はいずれも M6 であり、他に M6 の代謝物が認められた。

ラット体内における M5 の主要代謝経路は、O-脱メチル化による M6 の生成、M6 は酸化反応を受けて水酸体へと変換され、更に脱水素によりケト体へと変換する経路が推察された。また、M6 のアザスピロデカン環の開裂により脱メチルグリオキシル酸アミド体及び脱メチルアミド体へと変換する経路も認められた。(参照 6)

d. 排泄

Wistar ラット (雄 4 匹) に [aza-3-¹⁴C]M5 を低用量で単回経口投与して、排泄試験が実施された。

投与後 24 及び 48 時間尿及び糞中排泄率は表 8 に示されている。98.6% TAR が排泄物試料から回収された。投与放射能の体外への排泄は投与後 24 時間以内にほぼ終了した。(参照 6)

表 8 投与後 24 及び 48 時間までの尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与群	2 mg/kg 体重	
性別	雄	
試料	尿	糞
投与後 24 時間	53.7	41.5
投与後 48 時間	54.5	44.1

③M1 グルコシド

a. 吸収

Wistar ラット (雄 1 匹) に [aza-3-¹⁴C]M1 グルコシドを 0.1 mg/kg 体重で単回経口投与して、血中濃度推移について検討された。

血漿中放射能濃度推移は表 9 に示されている。スピロテトラマト及び M5 の血中濃度推移検討試験 [1. (1)①a. (b) 及び 1. (1)②a.] で得られた値と比較すると、M1 グルコシドの方が緩やかに T_{max} に達することが認められた。消失に関してはスピロテトラマト及び M5 は二相性の減衰を示したが、M1 グルコシドは一相性の減衰を示した。(参照 7)

表 9 血漿中放射能濃度推移

投与群	0.1 mg/kg 体重
性別	雄
T _{max} (時間)	4.32
C _{max} (µg/g)	0.02
T _{1/2} (時間)	2.94

b. 代謝物同定・定量

Wistar ラット (雄 1 匹) に [aza-3-¹⁴C]M1 グルコシドを 0.1 mg/kg 体重で単回経口投与して、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中における主要代謝物として、M1 が 63.5%TAR 認められた。微量代謝物として M2 及び M5 がそれぞれ 5.2 及び 3.1%TAR 認められた。未変化の M1 グルコシドは 21.2%TAR 認められ、その大部分 (20.7%TAR) が糞中から回収された。

ラット体内における M1 グルコシドの主要代謝経路は、加水分解による M1 の生成、M1 はさらに O-脱メチル化及びピラミジン環の水酸化を受けてそれぞれ M2 及び M5 へと代謝される経路が推察された。(参照 7)

c. 排泄

Wistar ラット (雄 1 匹) に [aza-3-¹⁴C]M1 グルコシドを 0.1 mg/kg 体重で単回経口投与して、排泄試験が実施された。

投与後 24 及び 48 時間の尿及び糞中排泄率は表 10 に示されている。97%TAR が排泄物試料から回収された。投与放射能の体外への排泄は投与後 24 時間以内に終了した。(参照 7)

表 10 投与後 24 及び 48 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

性別 試料	雄	
	尿	糞
投与後 24 時間	52.5	42.7
投与後 48 時間	53.3	43.7

(2) 畜産動物 (ヤギ)

① 吸収

泌乳ヤギ (雌 1 頭) に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 2.22 mg/kg 体重/日で反復経口 (朝の採乳後の第一胃にかん流シリンジを用いて 4 日間反復) 投与して、血中濃度推移について検討された。

血漿中放射能濃度推移は表 11 に示されている。ラットにおける血中濃度推移検討試験 [1. (1) ① a. (b)] で得られた値と比較すると、 T_{max} に関してはラットと同様な傾向が認められたが、消失に関しては泌乳ヤギの方が速やかであった。(参照 8)

表 11 血漿中放射能濃度推移

投与条件	2.22 mg/kg 体重/日 (反復)	
性別	雌	
T_{max} (時間)	0.82	
C_{max} (μ g/g)	0.38	
$T_{1/2}$ (時間)	α 相	0.28
	β 相	6.75

② 分布

泌乳ヤギ (雌 1 頭) に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 2.22 mg/kg 体重/日で反復経口 (朝の採乳後、泌乳ヤギの第一胃にかん流シリンジを用いて 4 日間反復) 投与して、体内分布試験が実施された。

投与 96 時間後の主要組織及び乳汁中における残留放射能濃度は表 12 に示されている。腎臓、肝臓等で比較的高い残留放射能が認められたが、泌乳ヤギにおける組織内残留性は低いと考えられた。(参照 8)

表 12 投与 96 時間後の主要組織及び乳汁中における残留放射能濃度 (µg/g)

投与条件	性別	組織中残留放射能濃度
2.22 mg/kg 体重/日 (反復)	雌	腎臓 (0.184)、肝臓 (0.050)、筋肉 (0.011)、 乳汁 (0.008)、脂肪 (0.003)

③代謝物同定・定量

泌乳ヤギ (雌 1 頭) に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 2.22 mg/kg 体重/日で反復経口 (朝の採乳後、泌乳ヤギの第一胃にかん流シリンジを用いて 4 日間反復) 投与して、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中における代謝物は表 13、乳汁及び主要組織中における代謝物は表 14 に示されている。尿、糞、乳汁及び組織中に親化合物は認められなかった。乳汁及び組織中における主要代謝物はいずれも M1 及び M3 であり、尿及び糞中における主要代謝物は M1 であった。

泌乳ヤギ体内におけるスピロテトラマトの主要代謝経路は、アザスピロデセニル環側鎖の炭酸エステル結合の開裂を受けて M1 に変換され、さらにグルクロン酸抱合による M3 の生成であると推察された。また、M1 の O-脱メチル化による M2 の生成、M1 のピラミジン環の水酸化による M5 の生成、M1 のテトラミン酸部分の二重結合の還元による M7 の生成が認められた。(参照 8)

表 13 尿及び糞中における代謝物 (%TAR)

投与条件	性別	試料	代謝物
2.22 mg/kg 体重/日 (反復)	雌	尿	M1 (68.7)、M3 (5.0)、M2 (2.6)、M5 (0.2)、未同定代謝物 1~4 (1.9)
		糞	M1 (7.9)、M5 (1.8)、M2 (0.5)、M3 (0.1)、未同定代謝物 4~5 (0.5)

表 14 乳汁及び主要組織中における代謝物 (%TRR : 総残留放射能)

投与条件	性別	試料	代謝物
2.22 mg/kg 体重/日 (反復)	雌	乳汁	M1 (48.8)、M3 (23.9)、M2 (7.9)、M5 (2.3)、M7 (0.9)、未同定代謝物 1~5 (14)
		筋肉	M1 (72.4)、M5 (9.7)、M2 (7.4)
		脂肪	M1 (59.9)、M3 (19.4)
		肝臓	M3 (37.4)、M1 (33.7)、M2 (6.6)、M7 (4.1)、M5 (2.7)、未同定代謝物 1~6 (0.008*)
		腎臓	M1 (78.4)、M3 (14.2)、M2 (4.4)、M5 (2.1)、未同定代謝物 2 (0.9)

*未同定代謝物 4 及び 6 が <0.001

④排泄

泌乳ヤギ（雌 1 頭）に[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 2.22 mg/kg 体重/日で反復経口（朝の採乳後、泌乳ヤギの第一胃にかん流シリンジを用いて 4 日間反復）投与して、排泄試験が実施された。

投与後 96 時間の尿及び糞中排泄率は表 15 に示されている。尿中への排泄率が糞中より高く、ラットで認められた結果と同様な傾向が認められた。（参照 8）

表 15 投与後 96 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与条件	2.22 mg/kg 体重/日（反復）	
性別	雌	
試料	尿	糞
投与後 96 時間	78.4	10.8

(3) 畜産動物（ニワトリ）

①分布

ホワイトレグホーンニワトリ（雌 6 羽）に[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 1.01 mg/kg 体重/日で 14 日間反復経口投与して、体内分布試験が実施された。

14 日間反復経口投与後の主要組織における残留放射能濃度は表 16 に示されている。腎臓、卵巣及び卵管内の卵、肝臓等で比較的高い残留放射能が認められたが、ニワトリにおける組織内残留性は低いと考えられた。（参照 9）

表 16 14 日間反復経口投与後の主要組織における残留放射能濃度(μg/g)

投与条件	性別	組織中残留放射能濃度
2.22 mg/kg 体重/日 (反復)	雌	腎臓 (0.039)、卵巣及び卵管内の卵 (0.019)、肝臓 (0.017)、皮膚 (0.009)、脂肪 (0.004)、筋肉 (0.003)

②代謝物同定・定量

ホワイトレグホーンニワトリ（雌 6 羽）に[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 1.01 mg/kg 体重/日で 14 日間反復経口投与して、代謝物同定・定量試験が実施された。

排泄物及び主要組織中における代謝物は表 17 に示されている。排泄物及び組織中に親化合物は認められなかった。組織中における主要代謝物はいずれも M1 であり、筋肉及び肝臓では M3 も認められた。排泄物中における主要代謝物は M1 であった。

ニワトリ体内におけるスピロテトラマトの主要代謝経路は、炭酸エステ

ル結合開裂による M1 の生成及び M1 のグルクロン酸抱合による M3 の生成であると推察された。また、M1 の O-脱メチル化による M2 の生成、M1 のピラミジン環の水酸化による M5 の生成が認められた。(参照 9)

表 17 排泄物及び主要組織中における代謝物 (%TRR)

投与条件	性別	試料	代謝物
2.22 mg/kg 体重/日 (反復)	雌	排泄物	M1 (72.4)、M3 (4.6)、M5 (4.2)、M2 (3.7)、 未同定代謝物 1~4 (13.5)
		卵	M1 (83.9)、M3 (6.9)、未同定代謝物 2 (4.7)
		筋肉	M1 (64.4)、M3 (4.2)、未同定代謝物 2 (6.9)
		脂肪	M1 (18.4)、未同定代謝物 1 (56.5)
		肝臓	M1 (50.0)、M3 (15.1)、未同定代謝物 2 (3.6)

(4) 固定化肝細胞を用いた *in vitro* 代謝に関する種間差の検討

Wistar ラット (雄)、ICR マウス (雄) 及びヒト (男性) から採取された固定化肝細胞 (アルギン酸基質に封入されたもの) を、グルコース (25 mM) を添加した Hank's 平衡塩類溶液を用いて培養し、[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 50 または 520 μM 処理して、*in vitro* 代謝に関する種間差について検討された。

いずれの処理群においても親化合物は認められなかった。50 μM 処理群ラット固定化肝細胞における主要代謝物は M1 (87%TRR) で、次いで M2 (7%TRR) であった。他に M4 (4%TRR) 及び M5 (3%TRR) が認められた。ラットでは、M1 の O-脱メチル化を含む酸化代謝反応が主要解毒経路と考えられ、M1 の酸化代謝物 (M12、M4 及び M5) の生成が認められた。同群のマウス固定化肝細胞における主要代謝物は M1 (66%TRR) で、次いで M3 (30%TRR) であった。M2、M4 及び M5 はそれぞれ 1~2%TRR 認められたのみであった。同群のヒト固定化肝細胞における主要代謝物は M1 (92%TRR) で、次いで M3 (6%TRR) であった。他には M2 が 1%TRR 認められたのみであった。

520 μM 処理群では、50 μM 処理群と比較してラット、マウス及びヒトとも検出代謝物数の減少及び主要代謝物生成量の変動が認められ、M1 代謝能の飽和が推察された。すなわち、いずれの固定化肝細胞でも 50 μM 処理群で認められた結果と比較すると M1 が高い比率で検出され、ラット固定化肝細胞では他の代謝物が検出されず、マウス及びヒト固定化肝細胞においても、他の代謝物の生成量が著しく少量であった。(参照 4)

(5) 生理学的薬物動態の解析 (薬物動態 PK-Slim を用いたシミュレーション: 参考データ)

雄ラットに高用量のスピロテトラマトを投与した場合を仮定し、スピ

ロテトラマト及び代謝物 M1 の全身暴露に対する薬物動態の飽和の影響を明らかにするため、生理学的薬物動態（physiology based pharmacokinetic：PBPK）モデルに基づく市販ソフト PK-Slim を用いてシミュレーションを行った。

その結果、腎能動輸送（取り込み及び排泄）プロセスの飽和により、高用量における血漿中濃度曲線の形状が大きく変化することが示唆された。

反復投与時の全身中濃度上昇を示す血漿中薬物濃度の $C_{\max}/C_{(24h)}$ ¹ は、投与量の増加に伴って顕著に変化した。投与量 2 mg/kg 体重の $C_{\max}/C_{(24h)}$ は、1,820（腎取り込みの飽和）～1,873（腎排泄の飽和）であった。一方、高用量での $C_{\max}/C_{(24h)}$ は約 5 に低下し、同投与量の反復投与により全身薬物濃度が連続的に増加し得ることが示唆された。

28 日間反復経口投与時の血漿中濃度の用量依存性に関するシミュレーションでは、500 mg/kg 体重以上の投与量で血漿中濃度が上昇した。高用量では、約 15 日後の定常状態まで 1 日の平均濃度が約 2 倍ずつ高くなった。この現象が、薬物濃度曲線下面積（AUC）の高い非線形性を引き起こし、投与量を 2 mg/kg 体重から 1,000 mg/kg 体重に増やすことにより、 AUC_{norm} ² が単回投与時の 5 から 7 倍に増加した。（参照 5）

2. 植物体内運命試験

(1) りんご

温室内で生育させたりんご樹（品種：Elstar）に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 576 g ai/ha で 2 回散布（20 日間隔、最終散布日：収穫 63 日前）し、植物体内運命試験が実施された。

果実の総残留放射能濃度は 0.61 mg/kg であった。また、ジクロロメタンにより果実表面の残留放射能（48.5%TRR）を洗浄して回収した結果、全量が親化合物であった。洗浄後の果実から 49.5%TRR が抽出され、抽出残渣が 2.1%TRR であった。果実抽出液中の親化合物は 2.8%TRR のみであった。果実における主要代謝物として、M7 が 15.6%TRR（0.10 mg/kg）、M5 が 7.7%TRR（0.05 mg/kg）認められた。また M1 及び M1 グルコシドもそれぞれ 2.1%TRR（0.01 mg/kg）及び 5.1%TRR（0.03 mg/kg）認められた。また、微量代謝物として M6 及び M8 ならびに M6 及び M9 の配糖体が認められたが、個々の生成量は 3.8%TRR（0.02 mg/kg）以下であった。

葉の総残留放射能濃度は 36.6 mg/kg であり、94.6%TRR が抽出され、

¹ $C_{(24h)}$ ：投与 24 時間後における血漿中放射能濃度

² AUC_{norm} ：投与量で相対化した薬物濃度曲線下面積

5.4%TRR が抽出されなかった。抽出成分として親化合物及び M1 がそれぞれ 72.0%TRR (26.4 mg/kg) 及び 11.6%TRR (4.26 mg/kg) 認められた。微量代謝物として、果実でも認められた M6 及び M9 の各配糖体が認められ、その生成量は合計で 8.0%TRR (2.92 mg/kg) であった。また、M5 も 3.0%TRR (1.09 mg/kg) が認められた。

りんごにおけるスピロテトラマトの主要代謝経路は、炭酸エステル結合の加水分解による M1 の生成であると推察された。主要代謝物である M1 は、果実においてテトラミン酸部分の二重結合が還元された M7 へと代謝され、また、グルコシド抱合も認められた。果実及び葉に共通して、M1 のテトラミン酸部分の水酸化により M5 が生成した。なお、M5 のメトキシ基の酸化により、M9 が生成した。また、M1 の *O*-脱メチル化により、M2 の生成が想定され、さらに M2 が水酸化を受けた M6 の生成が認められた。(参照 10)

(2) レタス

温室内で生育させたレタス (品種 : Alexandrina) に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 72 g ai/ha の施用量で 2 回散布 (収穫 21 及び 7 日前) し、植物体内運命試験が実施された。

レタスにおける総残留放射能濃度は 3.13 mg/kg であった。96%TRR が抽出され、そのうち親化合物が 55.9%TRR (1.75 mg/kg) と最も多く認められた。代謝物として M1、M1 グルコシド及び M5 が認められ、生成量は M1 が 17.8%TRR (0.56 mg/kg)、M1 グルコシドが 11.4%TRR (0.36 mg/kg) 及び M5 が 6.2%TRR (0.20 mg/kg) であった。

レタスにおけるスピロテトラマトの主要代謝経路は、炭酸エステル結合の加水分解による M1 の生成であると推察された。M1 はレタス体内において糖抱合反応を受けて M1 グルコシドとなる他、テトラミン酸部分の水酸化により M5 の生成が認められた。(参照 11)

(3) ばれいしょ

温室内で生育させたばれいしょ (品種 : Grata) に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 96 g ai/ha の施用量で 3 回散布 (14 日間隔) し、最終散布 14 日後の収穫期に塊茎及び茎葉を採取して、植物体内運命試験が実施された。

塊茎における総残留放射能濃度は 0.24~0.26 mg/kg であり、茎葉では 11.1 mg/kg であった。塊茎において、親化合物は検出されなかった。塊茎の主要代謝物として、M1 が 65.8%TRR (0.17 mg/kg) 認められた。また、M1 グルコシドも 2.5%TRR (0.006 mg/kg) 認められた。塊茎での微量代謝物として、M2、M4、M5、M8 及び M10 が認められ、その生成量はい

ずれも 6.8%TRR (0.018 mg/kg) 以下であった。また、M2 配糖体及び M10 配糖体が、それぞれ 1.5%TRR (0.004 mg/kg) 及び 0.5%TRR (0.001 mg/kg) 認められた。

茎葉での主要代謝物は、親化合物及び M5 であり、それぞれ 49.4%TRR (5.46 mg/kg) 及び 24.8%TRR (2.75 mg/kg) を占めた。また、M1 及び M1 グルコシドもそれぞれ 7.8%TRR (0.87 mg/kg) 及び 3.6%TRR (0.40 mg/kg) 認められた。茎葉での微量代謝物として、M2 及びその配糖体、M4 及びその配糖体が認められ、いずれも 1.1%TRR (0.12 mg/kg) 以下であった。

ばれいしよにおけるスピロテトラマトの主要代謝反応は、エステル結合の加水分解による M1 の生成、M1 のテトラミン酸部分の水酸化による M5 の生成、もしくは糖抱合化及び O-脱メチル化による M2 の生成であると推察された。微量代謝物として、メチル基が水酸化された M4 及び M10、M8、M1 グルコシド、M2 及び M10 の各配糖体がそれぞれ認められた。(参照 12)

(4) わた

温室内で生育させたわた (品種 : Cocker 315) の第 5 葉展開期に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 96 g ai/ha の施用量で散布 (第 1 回散布) し、次いで綿花の 50%開花時に 216 g ai/ha の施用量で散布 (第 2 回散布) し、最終散布 39 日後の成熟期にわた試料 (リント、綿毛除去種子及びわた残体) を採取して、植物体内運命試験が実施された。

成熟前植物体の総残留放射能濃度は 2.38 mg/kg であり、成熟期のわた試料ではそれぞれ 1.08 mg/kg (リント)、1.61 mg/kg (わた残体) 及び 0.12 mg/kg (綿毛除去種子) であった。成熟前植物体における主要成分は親化合物であり、46.9%TRR (1.11 mg/kg) を占めた。その他に認められた代謝物の生成量はいずれも 10%TRR 未満であった。成熟期の綿毛除去種子において、親化合物は 0.4%TRR (<0.001 mg/kg) と微量であった。主要代謝物は M1 で、39.8%TRR (0.047 mg/kg) 認められ、M1 グルコシドは 3.5%TRR (0.004 mg/kg) 認められた。M1 に次ぐ代謝物として、M5 が 9.0%TRR (0.011 mg/kg) 認められた。家畜の飼料となりうるわた残体では、10%TRR 以上認められた成分として親化合物が 19.8%TRR (0.32 mg/kg)、M1 が 12.1%TRR (0.20 mg/kg) 及び M5 が 29.7%TRR (0.48 mg/kg) であり、M1 グルコシドも 4.0%TRR (0.064 mg/kg) 認められた。他には M2 グルコシド、M6 及び M6 異性体のグルコシド体ならびに M11、M12、M14 及び M15 (2 種類の異性体) が認められたが、生成量はいずれも 10%TRR 未満であった。リントにおいて 10%TRR 以上認

められた成分は、親化合物が 32.3%TRR、(0.35 mg/kg)、M5 が 10.5%TRR (0.11 mg/kg)、M12 が 11.9%TRR (0.13 mg/kg) であった。また、M1 及び M1 グルコシドもそれぞれ 9.5%TRR (0.10 mg/kg) 及び 0.2%TRR (0.002 mg/kg) 認められた。微量代謝物として、4.4%TRR (0.05 mg/kg) 以下の M11 及び M15 (2 種類の異性体) がそれぞれ認められ、これら微量代謝物は M12 の前駆体であると推察された。

わたにおけるスピロテトラマトの主要代謝経路は、炭酸エステル結合の加水分解による M1 の生成、M1 はピロリジン環の水酸化による M5 の生成、さらに環開裂による M11 の生成であると推察された。また、M1 の O-脱メチル化により、想定代謝物である M2 を介した M6 の生成が推察された。なお、M5 の O-脱メチルによる M6 の生成も推察された。M11 は、加水分解により M15 を介した M12 及び M13 へと代謝された他、開環したピロリジン環のモルホリン環への閉環により M14 が生成した。また、水酸基を有する代謝物 (M1、M2 及び M6) は、その一部が糖抱合された。(参照 13)

(5) りんご培養細胞を用いた植物体内運命試験 (*in vitro*)

りんご果実(品種:Boskop)由来細胞を、改良 MS (Murashige & Skoog) 培地を用いて従属栄養的に培養し、その細胞懸濁液 40 mL に [aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを 747 µg 処理して、植物体内運命試験が実施された。処理 7 日後に植物細胞及び培養液を採取して、分析試料として使用した。

培養液抽出物の酢酸エチル相からは、代謝物として M1、M5、M5 グルコシド及び M16 が認められ、水相からは M1 配糖体、M5 グルコシド、M16 配糖体 (3 種類) 及び M2 配糖体が認められた。植物細胞抽出物の酢酸エチル相からは、代謝物として M16 が認められた。いずれの試料からも親化合物は認められず、また、新たな代謝物は認められなかった。(参照 14)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験

[aza-3-¹⁴C]スピロテトラマトを米国土壌 (砂壤土) に 0.13 mg ai/kg、ドイツ土壌 (砂壤土、シルト質壤土及びシルト土) に 0.74 mg ai/kg となるように添加し、20±1°C で米国土壌は 360 日間、ドイツ土壌は 50 日間インキュベートする好氣的土壌中運命試験が実施された。

好氣的条件下でスピロテトラマトの分解は速やかであり、推定半減期は 2.0~7.8 時間であった。各供試土壌において、経時的な揮発性放射能の増加が認められた。培養期間が 360 日間の米国土壌では、揮発性放射能は培養開始後 86 日に総処理放射能 (TAR) の 15.7% (最高値) を示し、その