

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

## 2. 製 剤

- ① 23.5%水和剤のラットにおける急性経口、経皮及び皮下毒性試験 (資料 T-1)

試 験 機 関:(財)日本環境衛生センター

報告書作成年:1977年

検体の純度:23.5%水和剤

供 試 動 物:Wistar系ラット、体重100~165g、1群雌雄各10匹

試 験 期 間:経口投与;7日間観察、経皮投与;10日間観察、皮下投与;7日間観察

試 験 方 法:試験液を調製し、用量ごとに体重に基づいて投与容量を調整し、1群雌雄各10匹に投与した。

投 与 方 法:検体を水に懸濁し、以下の容量で投与した。

経口投与は0.07~0.2mL/10g(体重)を強制経口投与。

経皮投与は0.053~0.15mL/10g(体重)を約4×7cmの面積に塗布。

皮下投与は0.035~0.1mL/10g(体重)を皮下注射。

観 察・検 査 項 目:中毒症状及び生死を経口投与では7日間、経皮投与では10日間、皮下投与では7日間(症状の激しかった個体の一部は約1ヵ月)観察した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 果:

投与方法	経口	経皮	皮下
投与量 (mg/kg)	雌雄: 4700,6100, 8000,10400,13500	雌雄: 3500,4600, 6000,7700,10100	雌雄: 2400,3100, 4000,5200,6700
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄: >13500 雌: >13500	雄: >10100 雌: >10100	雄: >6700 雌: >6700
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄: 死亡例なし	雌雄: 死亡例なし	雌雄: 死亡例なし
症状発現及び 消失時間	雌雄: 症状発現なし	雌雄: 症状発現なし	5日 約1ヵ月
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	—	10100	—
死亡例の認められなかった最 高投与量(mg/kg)	雄: 13500 雌: 13500	雄: 10100 雌: 10100	雄: 6700 雌: 6700

皮下投与においては、注射部位に5日目頃からコブがみられ、高用量群では変色、壊死、表皮剥離がみられた。症状の激しかった個体の一部はをその後飼育し観察を続けたところ、注射部位の変化は徐々に回復し、約1ヵ月後にはほぼ完治した。雌は雄に比しこの変化は軽度であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

② 23.5%水和剤のマウスにおける急性経口、経皮及び皮下毒性試験 (資料 T-1)

試験機関:(財)日本環境衛生センター

報告書作成年:1977年

検体の純度:23.5%水和剤

供試動物:ddY系マウス、5週齢、体重18~23g、1群雌雄各10匹

試験期間:経口投与;7日間観察、経皮投与;10日間観察、皮下投与;7日間観察

試験方法:試験液を調製し、用量ごとに体重に基づいて投与容量を調整し、1群雌雄各10匹に投与した。

投与方法:検体を水に懸濁し、以下の容量で投与した。

経口投与は0.07~0.2mL/10g(体重)を強制経口投与。

経皮投与は0.054~0.154mL/10g(体重)を約2×3cmの面積に塗布。

皮下投与は0.035~0.1mL/10g(体重)を皮下注射。

観察・検査項目:中毒症状及び生死を経口投与では7日間、経皮投与では10日間、皮下投与では7日間(症状の激しかった個体の一部は更に約2週間)観察した。

結果:

投与方法	経口	経皮	皮下
投与量(mg/kg)	雌雄:4700,6100, 8000,10400,13500	雌雄:3600,4700, 6100,8000,10400	雌雄:2400,3100, 4000,5200,6700
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雄:>13500 雌:>13500	雄:>10400 雌:>10400	雄:>6700 雌:>6700
死亡開始時間 及び終了時間	雌雄:死亡例なし	雌雄:死亡例なし	雌雄:死亡例なし
症状発現及び 消失時間	雌雄:症状発現なし	雌雄:症状発現なし	4日 約3週間
毒性徴候の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	4700	10100	—
死亡例の認められなかった最 高投与量(mg/kg)	雄:13500 雌:13500	雄:10400 雌:10400	雄:6700 雌:6700

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

経口投与群においては、6100mg/kg 投与群に 1 例、8000mg/kg 投与群に 1 例、10400mg/kg で 1 例、13500mg/kg で 2 例の計 5 例の雌に体重の減少がみられた。

皮下投与において、注射部位に 4 日目頃からかさぶた状、コブ状の隆起がみられ、高用量投与群では壊死、表皮の剥離がみられた。症状の激しかった個体の一部をその後約 2 週間にわたって飼育し観察を続けたところ、表皮の剥離は周辺から次第に小さくなり完治する傾向がみられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

③ 50%水和剤のラットにおける急性吸入毒性試験

(資料 T-30)

試験機関:Huntingdon Research Centre(英国)

報告書作成年:1972年

検体の純度:50%水和剤

供試動物:CFHB系ラット、体重;雄154~180g、雌150~178g、1群雌雄各5匹

試験期間:7日間観察

暴露方法:被験物質を粉末化し、同粉末の吸入試験を実施した。

Wright及びTimbrellのダスト発生器にてダストを発生させ、容積80Lの暴露チャンバー内で動物を全身暴露した。動物は気中濃度で、検体5000mg/m<sup>3</sup>、50000mg/m<sup>3</sup>と対照物質China clay 50000 mg/m<sup>3</sup>に6時間暴露した。通気量10 L/分。対照群として空気のみを通気した。

気中濃度の測定は重量測定法により、粒子径分布はスライドガラス上のダストを接眼計測器により測定した。暴露量の99%が15μm以下の吸入可能な粒子であった。

暴露条件:

項目		被験物質		対照 China clay
設定濃度 (mg/m <sup>3</sup> )		5000	50000	50000
実測濃度 (mg/m <sup>3</sup> )		210	2710	5830
粒子径分布(%)	1~5μm	95	87	95
	5~15μm	4	13	4
	15μm以上	1	0	1
吸入可能な粒子割合(%)	15μm以下	99	100	
チャンバー内容積 (L)		80 L		
チャンバー内通気量 (L/分)		10 L/分		
暴露条件		ダスト、6時間、全身暴露		

観察・検査項目:

- 1) 一般症状;暴露中及び暴露後7日間観察
- 2) 死亡率
- 3) 体重;暴露当日、1日後、3または4日後、7日後の4回測定
- 4) 肉眼的病理検査;試験終了時に全例を肉眼的病理検査

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 果:

投 与 方 法	吸 入
暴露設定濃度 (mg/L)	5000、50000
暴露分析濃度 (mg/L)	210、2710
LC <sub>50</sub> (mg/L)	設定濃度: > 50000 分析濃度: > 2710
死亡開始時間 及び終了時間	死亡例なし
症状発現及び 消 失 時 間	暴露中のみ発現
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/L)	50000
死亡例の認められなかった最高投与量(mg/L)	50000

一般症状としては性別に関係なく、くしゃみと軽度の呼吸困難及びまばたきが暴露中にのみ観察された。5000mg/m<sup>3</sup>暴露群では対照の Chinese clay と同等、50000mg/m<sup>3</sup>暴露群は、より厳しかった。

体重増加は全群ともに差はなく、被験物質投与の影響はみられなかった。

肉眼的病理検査では被験物質投与によると考えられる変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

④ 23.5%水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料 T-31)

試験機関: Coromandel Intag Research Centre  
(インド)

報告書作成年: 1981 年

検体の純度: 23.5%水和剤

供試動物: Himalayan 系白色ウサギ、12カ月齢、体重 1.7~2.3kg、6 匹(雌雄各 3 匹)

試験期間: 72 時間観察

投与方法: 検体を水で湿らせ、ウサギの背部 2カ所を 5cm<sup>2</sup>に刈毛した。1 区画は無傷、他の 1 区画は擦過傷を作り、それぞれに検体 500mg を塗布した。各区画は非吸収性のガーゼで覆って固定し、接着用テープで止め、検体を皮膚に十分接触させるために動物の躯幹全体をプラスチック・バインダーで覆い、塗布時間は 24 時間とした。塗布終了後、皮膚に残った検体は拭き取った。

観察項目: 塗布終了直後及び 72 時間後に塗布部分の刺激性変化を(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察した。

結果: 観察した刺激性変化の採点(Draize の評価)は、次表のとおりである。

変 化	擦過傷部		無傷部	
	24 時間	72 時間	24 時間	72 時間
紅斑、痂皮	0.8	0.3	0.3	0.2
浮 腫	0	0	0	0
合 計	0.8	0.3	0.3	0.2

※表中の数値は 6 匹の平均値である。

塗布 24 時間後及び 72 時間後では無傷部、擦過傷部ともに皮膚に対して非刺激性であることが観察された。

以上の結果から、ジフルベンズロン 23.5%水和剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

⑤ 23.5%水和剤のウサギを用いた眼粘膜刺激性試験

(資料 T-32)

試験機関: Coromandel Intag Research Centre  
(インド)

報告書作成年: 1981 年

検体の純度: 23.5%水和剤

供試動物: Himalayan 系白色ウサギ、11ヵ月齢、体重 1.65~1.9kg、6 匹(雌雄各 3 匹)

試験期間: 14 日間観察

投与方法: 検体 100mg を左眼に投与し、右眼は対照とした。

観察項目: 投与後 1、4、24、48、72 時間、4、5、10 日及び 14 日に角膜の混濁、虹彩の変化、結膜の発赤、浮腫、排出物等の刺激性変化を観察し、Draize 法により評点した。

結果: 観察した刺激性変化の採点は次表のとおりである。

項目	投与後時間(日)						
	1	2	3	4	5	10	14
角膜	11.7	1.7	0	0	0	0	0
虹彩	4.2	3.3	0	0	0	0	0
結膜	7.3	1.7	0.7	0	0	0	0
合計	23.3	6.7	0.7	0	0	0	0

以上の結果からジフルベンズロン 23.5%水和剤はウサギの眼粘膜に対しわずかな刺激性があると思われる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

⑥ 23.5%水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 T-33)

試験機関: Huntingdon Research Centre

(英国)

報告書作成年: 1978 年

検体の純度: 23.5%水和剤

供試動物: Hartley/Dunkin 系モルモット、雌 10 匹

観察期間: 72 時間観察

試験操作: [Maximization Test]

感作: 背部を刈毛し、次の 3 試料を同時に左右 2 か所にそれぞれ 0.5mL ずつ皮内注射した。

- 1) フロイントのコンプリートアジュバントと注射用水を等量混合した試料
- 2) 注射用水中に検体を 1%w/v の濃度にした試料
- 3) 注射用水とフロイントのコンプリートアジュバントの等量混合液中に検体を 1%w/v の濃度にした試料

次に注射 1 週間後に蒸留水中検体 50%w/v の試料 0.4mL を濾紙製パッチに塗布し、それを 48 時間貼付した。

誘発: 感作終了 2 週間後に蒸留水中検体 10%w/v 液の試料 0.1mL を濾紙製パッチに塗布し、左側腹部に 24 時間貼付した。

観察項目: 誘発貼付後 24、48 及び 72 時間後に適用部位の紅斑、浮腫の有無等を肉眼的に観察した。また、以下の基準に従って採点した。

紅斑と痂皮の形成:

紅斑なし	0
軽度の紅斑(かろうじて認知)	1
明瞭な紅斑	2
中等度の紅斑	3
重度の紅斑(ビート様赤色)~軽度の痂皮形成(深部障害)	4

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

浮腫形成:

浮腫なし	0
軽度の浮腫(かろうじて認知)	1
明瞭な浮腫(明らかな隆起によってはっきりした近縁部のあるもの)	2
中等度の浮腫(約 1mm 隆起)	3
重度の浮腫(1mm 以上の隆起と貼付部位以上に拡張したもの)	4

結果:各観察時間において皮膚反応の認められた動物数及び評点並びに感作陽性率を下表に示す。

群	動物数			皮膚反応動物数								陽性率				
	感作	再感作	惹起	24時間後				48時間後				24時間	48時間			
				皮膚反応評点				皮膚反応評点								
				0	1	2	3	平均評点	0	1	2			3	平均評点	
被験物質	1%w/v 被験物質	50%w/v 被験物質	10%w/v 被験物質	10	9	1	0	0	0.1	10	0	0	0	0	0	0

感作時;フロイントのコンプリートアジュバントのみと、これと 1%w/v の混合した試料の皮内注射では軽度の皮膚刺激性がみられたが、1%w/v 液のみでは皮膚刺激性はみられなかった。また、50%w/v 液貼付後には皮膚刺激性はみられなかった。

誘発時;10%w/v による誘発で、24 時間後に 1 匹にのみ軽度の紅斑がみられたが、他の 9 匹には反応はみられなかった。

以上の結果から、ジフルベンズロン 23.5%水和剤のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

### 3. 参考（その他の毒性）

---

---

---

---

---

---

---

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

---

---

---

---

---

---

---

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

---

---

---

---

---

---

---

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

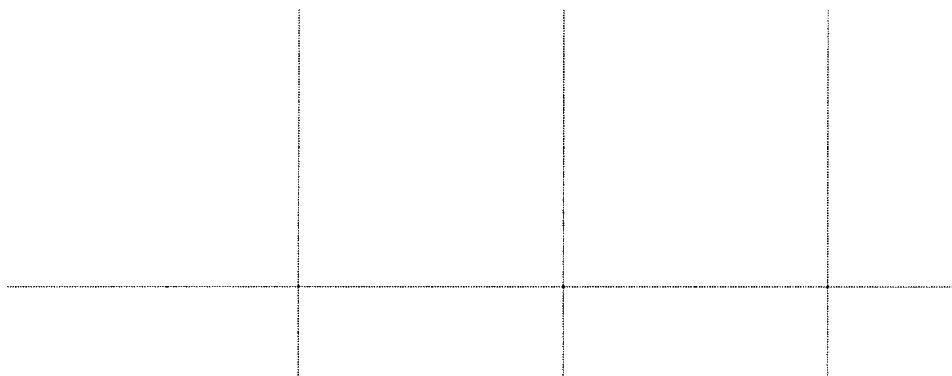
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。



Ⅸ. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載項
M-1	動物代謝	ラット	強制経口 1mg/ラット 0.95mg/ラット	<sup>14</sup> C-、及び <sup>3</sup> H-標識ジフルベンズロンの混合物の排泄率を調べた結果、尿、胆汁及び糞中に大部分が排泄され、加カスにはわずかな量のみ見られたにすぎなかった。尿、胆汁中に排泄された量から、投与量の約50%は腸管から吸収されたものと考えられる。また、代謝物として同定できたものは、  であり、尿中では、 の代謝物が大部分を占めており、胆汁中では約30%であった。	Philips-Duphar (1975年)	253
M-2	動物代謝	乳牛 ラット	強制経口 10mg/kg 代謝物 15mg/kg	【乳牛】 検体投与後の7日間の排泄率を調べた結果、尿と糞中に大部分が排泄され、乳中には僅かな量しか排泄されなかった。また、血液、肝臓、皮膚に僅かな量が認められたが、他組織では全く認められなかった。主要代謝物は、 であった。 【ラット】 乳牛の主要代謝物である を投与し、投与後3日間の排泄率を調べた結果、尿と糞中に大部分が排泄された。数種の未同定代謝物が認められたが、大部分は未変化の であった。	Veterinary Toxicology and Entomology Research Laboratories U.S.D.A.	256
M-3 ◎	動物代謝	ラット	強制経口(単回) 5、100mg/kg 強制経口(反復) 5mg/kg 15日間	検体投与後の吸収、体内分布及び排泄について調べた結果、約33%が消化管から吸収され、大部分が糞及び尿中に排泄され、呼気中にはほとんど排泄されなかった。血中濃度は、4時間で最高値に達し、生物学的半減期は約14時間であった。	Inveresk Research International (1990年)	260

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載項
M-4 (GLP)	動物代謝	ラット	強制経口(単回)112 mg/kg (約 500 $\mu$ Ci/kg 体重)	ラットにおけるジフルベンズロンの 主要な代謝物は、 : 及び であった。 は、TRR の約 3%を占めていた。	Uniroyal Chemical Company (2000 年)	274
M-5	植物代謝	大豆	0.9mg/成葉3枚 (300g/ha 相当)	葉中の検体は極めて安定で、有意な分解は認められなかった。	Philips-Duphar (1975 年)	284
		りんご	散布、23.5% 水和剤 2000 倍 500、600L/10a	親化合物であるジフルベンズロンのみが認められ、その他の主要な代謝物は認められなかった。	アグロカネショウ 株式会社 (1986 年)	286
M-6 ◎	植物代謝 (土 壤)	稲 小 麦	土壌処理 0.5mg/鉢	葉及び土壌中の代謝物は の他、 が2種類認められ、葉中には土壌中の約10倍の が認められた。	Philips-Duphar (1976 年)	287
M-7 (GLP)	植物代謝	稲	茎葉散布 0.25 ポンド/acre 1.50 ポンド/acre	穀粒における主要な代謝物は、 であった。 た。 茎部における主要成分は、親化合物及び であった。また、マイナー代謝物として が確認された。	Ricerca (1997 年)	292
M-8 ◎	植物代謝 (土 壤)	大豆 とうもろこし ばれいしょ	土壌処理 1.8mg/鉢	・砂質土壌中の検体は8週間後には検出限界以下となった。 ・検体を処理した土壌中で栽培した大豆、とうもろこし、ばれいしょの葉中の放射能は、5週間後に最高となったが、約3ヶ月ごには検出限界以下となった。 ・可食部位の放射能は大豆の抽出残渣で認められたが、とうもろこし、ばれいしょでは認められなかった。	Philips-Duphar (1976)	303

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載項
M-9 ◎	植物代謝 (土壌、光)	棉	塗布 1000ppm 100 μL/葉 散布 70g/ha 塗布 500ppm 溶液 100 μL/葉	<ul style="list-style-type: none"> <li>・検体を綿葉に処理した結果、内部組織への浸透は遅く、14 日後においても4.8%であった。また、葉の抽出物を分析したが、代謝物は認められなかった。</li> <li>・綿葉上における太陽光による分解は少なく、28 日後でも約 50% が葉面に残留しており、その98%以上が親化合物であった。葉の組織中への移行は 28 日後も7%以下であった。</li> </ul>	文献: J. Agric. Food Chem. (1978 年)	307
M-10 ◎	植物代謝	たまねぎ 小麦 キャベツ	土壌処理 6.6g/ha	本剤を処理した土壌で栽培したたまねぎ、キャベツ及び小麦中に吸収・移行することはなく、代謝物を含めたジフルベンスロンの残留量は0.01ppm 未満であった。	Analytical Development Co. (1976)	313
M-11 ◎	植物代謝	トマト そらまめ	浸漬 代謝物 0.7mg/L 浸漬 代謝物 1mg/L	処理 1、2、3、6 日の木質部汁液中濃度は、それぞれ栄養液中濃度の2、24、47、72%であった。	Philips-Duphar (1978)	315
M-12 ◎	植物代謝	トマト	浸漬 代謝物 1.8mg/L	は、植物由来の酵素により された。	Philips-Duphar (1978)	318
M-13	土壌及び水中における分解	畑土壌 7種 湛水土壌 3種 天然水	1 μL/土壌 1g (300g/ha 相当) 0.1ppm(天然水)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ジフルベンスロンの好氣的及び嫌氣的土壌中での半減期は 3~6 日であり、淡水土壌中でも同様であった。</li> <li>・土壌中での分解は、主として微生物によるものであった。</li> <li>・天然水中での半減期は、約 4 週間で、その分解速度は粒子径に影響されることが分かった。</li> <li>・土壌及び水中の主要代謝物は、  であった。</li> </ul>	Philips-Duphar (1975)	320

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載項
M-14 (GLP)	好気的土壌中における代謝運命	滅菌および非滅菌畑地壤土	[ <sup>14</sup> C]シフルヘンズロン: 0.912 μg/g [ <sup>14</sup> C]シフルヘンズロン: 0.913 μg/g 試験温度: 25 ± 2°C 培養期間: 120 日間(非滅菌)、30 日間(滅菌)	・投与量に対する放射能回収率は、[ <sup>14</sup> C]で平均 97%以上、[ <sup>14</sup> C]で平均 99%以上であった。 ・[ <sup>14</sup> C]及び[ <sup>14</sup> C]シフルヘンズロンを処理した非滅菌土壌における半減期は、各々 9.95 及び 8.83 日で、滅菌土壌における半減期は、各々 385 及び 866 日であった。 ・シフルヘンズロンは好気的土壌条件下で急速に代謝され、主に $\text{CO}_2$ を形成し、それらはさらに分解し、二酸化炭素にまで無機化され、また、土壌結合残留物として固定化された。	Ricerca Biosciences (2008 年)	325
M-15 (GLP)	加水分解運命	滅菌緩衝液	pH: 5、7、9 試験濃度: 184 μg/L 試験温度: 25 ± 1°C 光条件: 遮光 試験期間: 4 週間	・pH5 及び pH7 では、4 週間後における分解率は 10%未滿で、安定であった。 ・pH9 では、推定半減期は 32.5 日であった。	Duphar B.V. (1988 年)	340
M-16 (GLP)	加水分解運命	滅菌緩衝液	pH: 4 試験濃度: 0.04 μg/mL 試験温度: 25 ± 1°C 試験期間: 30 日間	pH4 条件下では、30 日後においても分解はみられず、安定であった。	Ricerca Biosciences (2008 年)	344
M-17 (GLP)	水中光分解運命	pH5 緩衝液及び滅菌自然水	光源: キセノンアークランプ (750 W/m <sup>2</sup> に設定) 光強度: 49.50 W/m <sup>2</sup> (波長範囲 300~400 nm) 試験濃度: 0.04 μg/mL 試験温度: 25 ± 2°C 試験期間: 9 日間	・滅菌自然水中の DT <sub>50</sub> は、2.0~2.5 日で、滅菌 pH5 緩衝液の DT <sub>50</sub> は、4.3~5.5 日であった。 ・想定代謝経路は、尿素の $\text{NH}_2$ が開裂して $\text{NH}_3$ が形成され、次に加水分解により $\text{CO}_2$ が形成された。その後さらに分解され、多数の極性分解性生物が形成され、酸化的分解により <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> が生成された。	Ricerca Biosciences (2008 年)	349

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法・処理量	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載項
M-18	土壌吸着性	畑地土壌 4種類	平成9年8月29日付9農産第5089号に準拠	$K'_{oc}=2473\sim7500$	日本食品分析センター (2001年)	364
M-19 (GLP)	生物濃縮性	ブルーギル	試験期間: 取込段階 28日間 排泄段階 14日間 試験濃度: 0.01mg/L 試験温度: 20~21°C	・取込速度定数 370mg/kg 魚/L 水/日 ・排泄速度定数 1.2/日 ・生物濃縮係数 320(BCF <sub>k</sub> ) 336(定常状態(3~28日)のBCFの平均)	ABC Lab. (1989年)	368

◎ コメント対応 M-3 平成2年12月5日提出  
M-6 8~12 平成元年11月10日提出

その他の参考試験

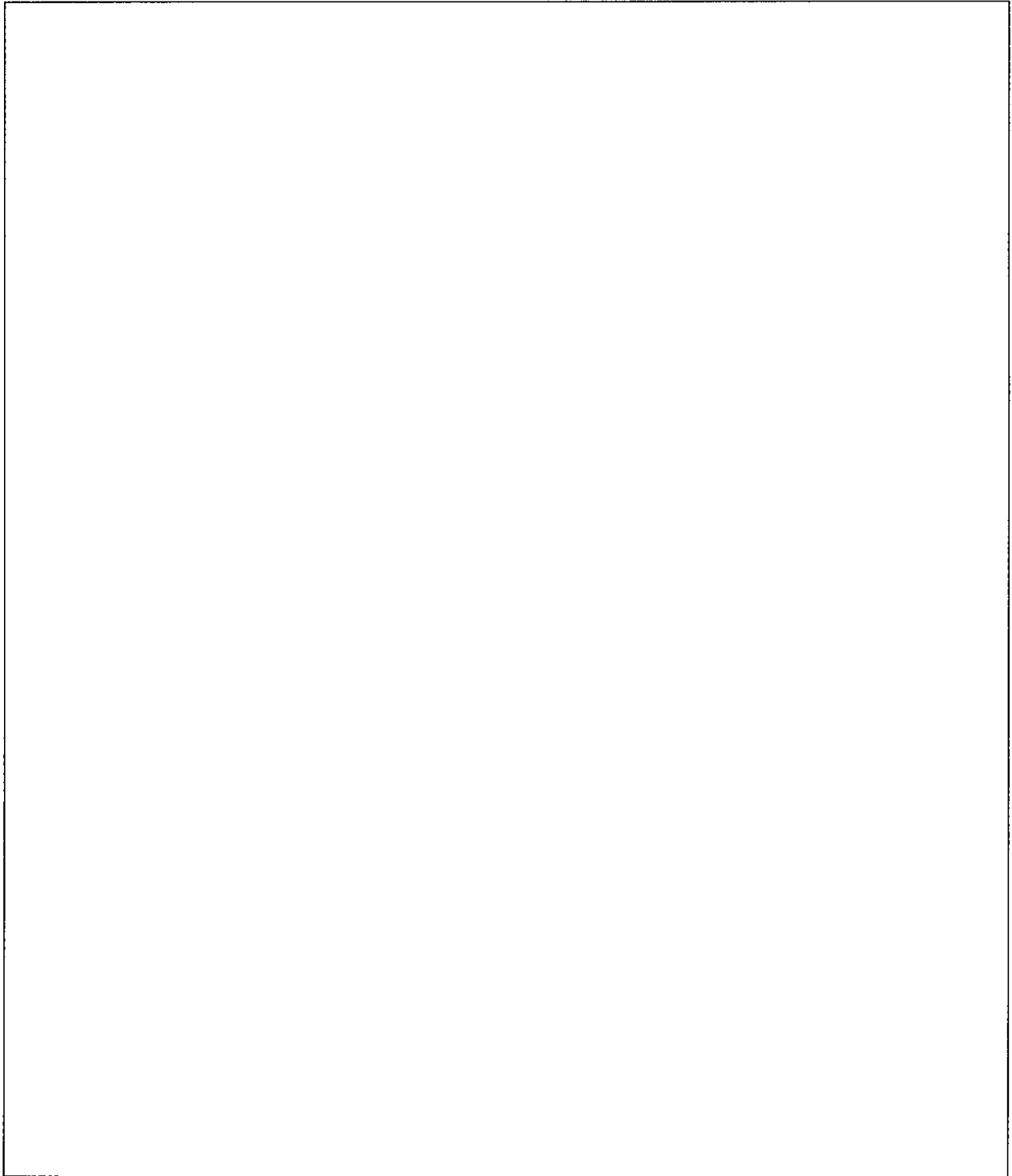
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

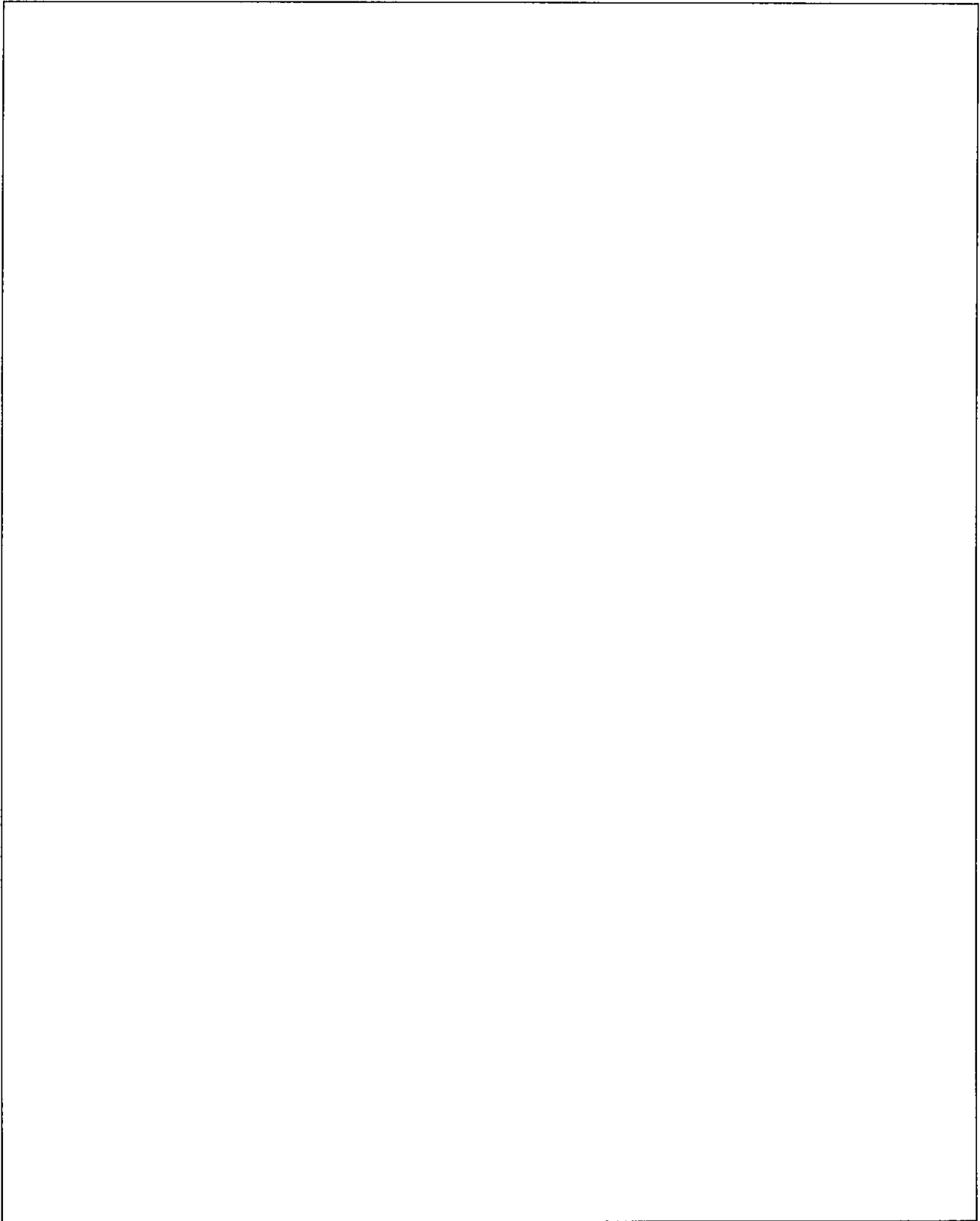
記号	由来	化学名	構造式



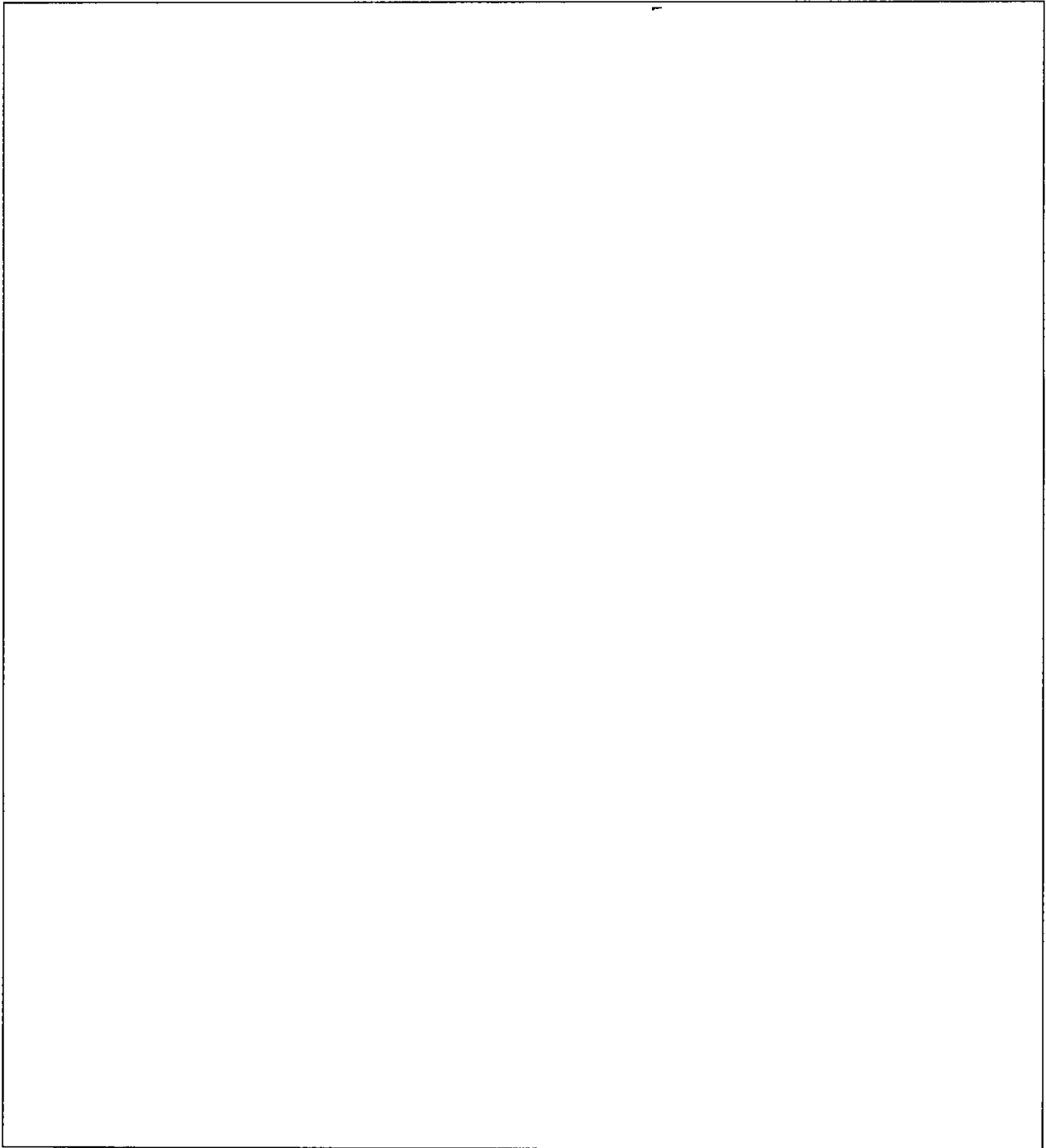
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。



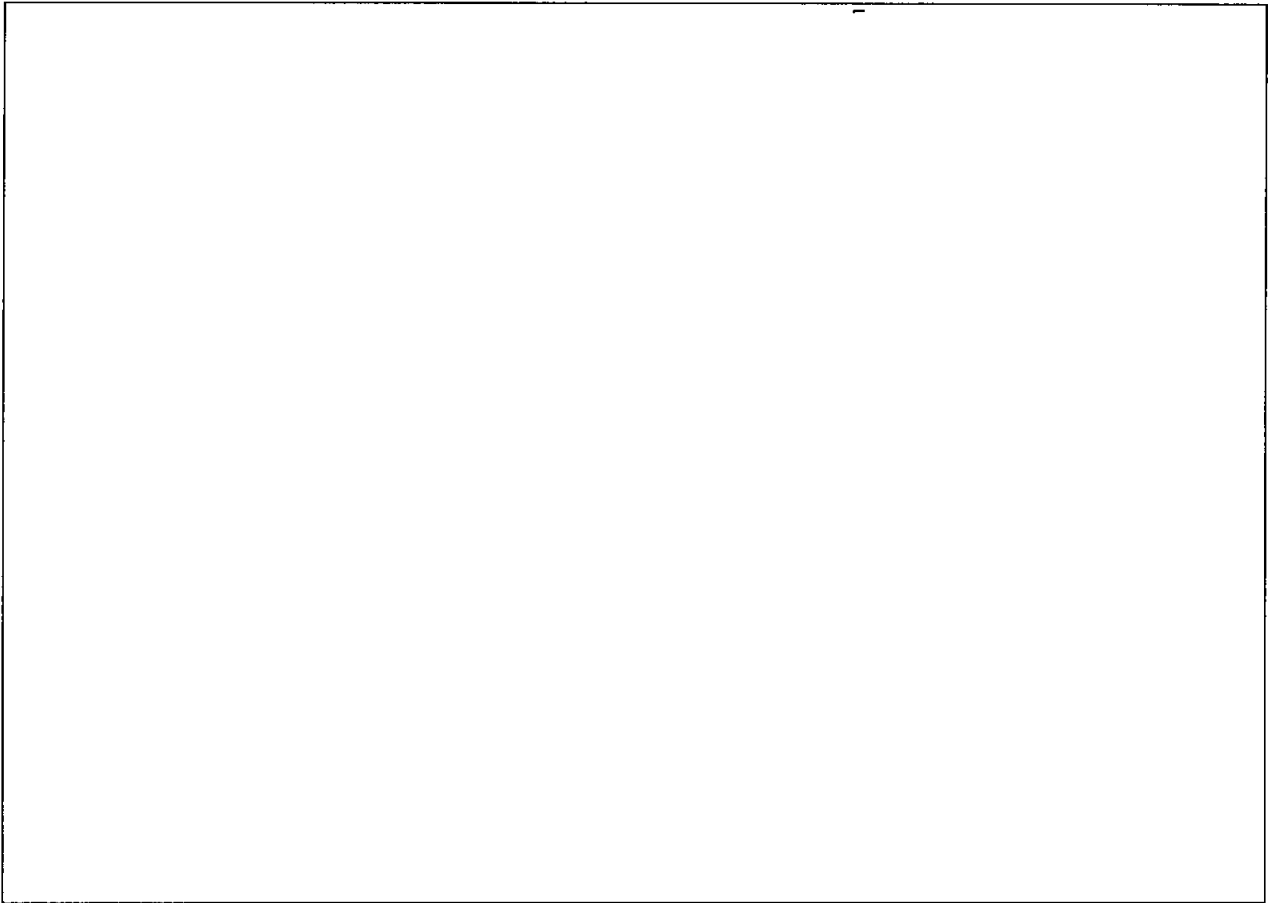
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

## 1. 動物体内運命に関する試験

### ① $^{14}\text{C}$ 及び $^3\text{H}$ 標識ジフルベンズロンを用いたラット体内における代謝試験 (資料 M-1)

試験機関: Philips Duphar(オランダ)

報告書作成年: 1975 年

供試標識化合物:

化合物番号	化学構造、標識位置	化学名	放射化学的純度	比放射能 (mCi/g)
I		1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea		
II	a	1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea		
	b	1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea		

標識位置選定理由:

供試生物: Wistar 系ラット

方法:

1) 吸収・排泄、体内分布;

実験1. 標識化合物 II を懸濁液として胃チューブを用い、8 匹の雌ラットに各々 1mL(有効成分 1mg)経口投与した。そのうち 6 匹については投与後 24、48、72 及び 144 時間目に尿、糞を採取し、液体シンチレーションカウンターと燃焼法により放射能を測定し、残りの 2 匹については投与後 72 時間目に屠殺し、カルカスの放射能を燃焼法により測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

実験2. 標識化合物Ⅱを懸濁液として胃チューブを用い、雌2匹、雄1匹に各々1mL(有効成分0.95mg)経口投与した。投与後4、24、48及び72時間目に尿、糞及び胆汁を採取し、液体シンチレーションカウンターと燃焼法により放射能を測定した。

2) 代謝物の同定:

(1) 標識化合物Ⅰを1匹の雌ラットに経口投与し、採取した尿及び胆汁をそのままかあるいは加水分解酵素とともにインキュベートし、抱合代謝物を遊離させた後、TLCで主要代謝物を単離し、質量分析法で同定した。

(2) 実験2で雌雄各1匹のラットから採取した尿及び胆汁中の標識化合物Ⅱの主要代謝物を上記(1)と同じ方法で同定した。

結 果:

1) 吸収・排泄、体内分布

結果の概要を以下の表に示した。

(投与量に対する回収率%)

実験	投 与 量	検査組織	標識化合物	時間
1	標識ジフルベンズロン 1回投与 1mg/匹	尿	<sup>14</sup> C(Ⅱa) <sup>3</sup> H(Ⅱb)	144時間
				21.8 24.4
		糞	<sup>14</sup> C(Ⅱa) <sup>3</sup> H(Ⅱb)	50.3 68.4
				72時間
		カーカス	<sup>14</sup> C(Ⅱa) <sup>3</sup> H(Ⅱb)	1.3 3.5
				72時間
2	標識ジフルベンズロン 1回投与 0.95mg/匹	胆汁	<sup>14</sup> C(Ⅱa) <sup>3</sup> H(Ⅱb)	27.1 22.5
				72時間
		尿	<sup>14</sup> C(Ⅱa) <sup>3</sup> H(Ⅱb)	23.6 20.2
糞	<sup>14</sup> C(Ⅱa) <sup>3</sup> H(Ⅱb)			35.6 47.2

※ 実験2では雌2匹、雄1匹を供試したが、雌1匹は糞の停留がみられ、また、雄は投与後2日目に排尿しなかったため、排泄率は雌1匹のみの数値を記した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

実験 1、2 で  $^{14}\text{C}$ -標識と  $^3\text{H}$ -標識ジフルベンズロンの混合物の排泄率を調べた結果、尿、胆汁及び糞中に大部分が排泄され、カルカスにはわずかな量がみられたにすぎなかった。

尿中及び胆汁中排泄量を加算することにより、投与量の約 50%は腸管から吸収されたものと考えられる。

## 2) 代謝物の同定

代謝物の割合(%)の概要を以下の表に示した。

代謝物 ( )は Rf 値	検査対象	尿						胆汁							
	核種	$^{14}\text{C}$ -標識化合物 (I)		$^{14}\text{C}$ -標識化合物 (IIa)		$^3\text{H}$ -標識化合物 (IIb)		$^{14}\text{C}$ -標識化合物 (IIa)				$^3\text{H}$ -標識化合物 (IIb)			
	性別	雌		雌		雌		雄		雌		雄		雌	
	酵素処理	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有	無	有
(0.03)の未同定物		7	7	12	7	11	3	57	46	56	43	55	46	56	44
(0.10)の未同定物		—	—	18	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
(0.17)の未同定物		18	8	—	—	26	6	18	18	19	8	19	17	23	10
(0.24)の未同定物		5	1	24	15	9	1	—	—	4	18	—	—	9	10
(0.31)の未同定物		4	4	28	9	4	3	—	—	—	—	—	—	—	—
(0.45)の未同定物		—	—	2	5	—	—	3	—	2	1	4	—	4	1
(0.50)の		41	41	—	—	42	43	—	—	5	2	2	2	4	2
(0.56)の未同定物		9	—	6	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
(0.70)の未同定物		—	5	1	7	—	44	—	3	—	2	—	—	—	—
(0.80)の		18	34	7	47	7	39	12	27	—	25	13	28	1	30

— : 検出されなかった

ジフルベンズロンの代謝物として同定できたのは 種類のものであり、尿中では 種の代謝物が大部分であり、胆汁中では約 30%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アグロカネショウ株式会社にある。

② <sup>14</sup>C 標識ジフルベンズロンを用いた乳牛体内における代謝試験

(資料 M-2)

試験機関: Veterinary Toxicology and Entomology  
Research Laboratory, U.S.D.A.(米国)

報告書作成年: 報告書に記載なし

供試標識化合物: ジフルベンズロン 25%水和剤

化学構造、標識位置	化学名	放射化学的純度	比放射能
	1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea		
	1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urea	放射性ジフルベンズロンを投与した乳牛の尿および糞より単離	

供試動物: Jersey 種の乳牛 雌 1 頭 (体重 360kg)  
SD 系ラット 雌 2 匹 (体重 275g)

方法:

乳牛: 代謝試験用の小屋に収容し、尿と糞を別々に採取するためにカテーテルを装着した。水と乾草は常時与え、更に 1 日 2 回穀物飼料を補充的に与えた。検体は水でスリラー状にし、有効成分 3.6g、放射能総量 0.65mCi の量を胃チューブを用いて 1 回投与した。尿及び糞は投与後 7 日目まで 24 時間毎に全量採取し、また、牛乳は 12 時間毎に機械搾乳により採取し、液体シンチレーションカウンターと燃焼法により放射能を測定した。また、投与後定期的に頸静脈より採血し、血液試料はヘパリン処理後、燃焼法により放射能を測定した。投与 7 日目に屠殺し、21 組織(皮膚、舌、筋肉、乳房、脂肪、心臓、肝臓、腎臓、膵臓、脾臓、肺、副腎、卵巣、脳、下垂体、第一胃、第三胃、第四胃、大腸、小腸、胆嚢)の放射能を燃焼法により測定した。尿、糞及び牛乳中の代謝物は TLC、GC-MS、NMR、IR で同定した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

ラット：乳牛中でのジフルベンズロンの主要代謝物である

の標識化合物を TLC に

より尿及び糞から単離し、ジメチルスルホキシドに溶かし、ラット 1 匹当たり 4.1mg の量を胃チューブを用いて投与した。尿及び糞は、投与後 3 日目まで 1 日 1 回全量を採取し、液体シンチレーションカウンターと燃焼法により放射能を測定した。代謝物は TLC により同定した。投与 3 日目に屠殺し、脳、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の放射能を燃焼法により測定した。

結 果：

1. 吸収・排泄、体内分布

動物	投与量	検査組織	単 位	時 間
乳牛	標識ジフルベンズロン 1 回投与 10mg/kg	尿 糞 牛 乳	排 泄 率 (投与量%)	7 日間
				16.5
				87.7 0.2
		血 液	濃 度 ( $\mu\text{g}$ 親化合物換算/mL)	12 時間、24 時間、72 時間
				0.4    0.4    <0.1
		肝 臓 皮 膚	濃 度 ( $\mu\text{g}$ 親化合物換算/mL)	7 日
2.9 0.8				
ラット	標識水酸化ジフルベンズロン 1 回投与 15mg/kg	尿 糞	排 泄 率 (投与量%)	3 日間
				23
				71

乳 牛：<sup>14</sup>C-標識ジフルベンズロンを投与し投与後 7 日間の排泄率を調べた結果、尿と糞中に大部分が排泄され、牛乳中にはわずかな量しか排泄されなかった。また、血液、肝臓、皮膚にわずかの量が認められたが、他組織では全く認められなかった。

ラット：乳牛での主要代謝物である を投与し、投与後 3 日間の排泄率を調べた結果、尿と糞中に大部分が排泄された。

これらの結果から、ジフルベンズロンの体内蓄積はないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

## 2. 代謝物の同定

動物	検査組織	代謝物	投与後日数 [投与量に対する%]			
			1	2	3	
乳牛	尿		55.6	37.5	23.4	
		未同定物	4.6	2.5	1.7	
			6.9	2.1	2.3	
			0.8	0.4	0	
		未同定物	8.6	9.5	10.8	
			7.5	8.0	9.4	
	糞		未同定物	16.0	40.0	52.4
			ジフルベンズロン [A]	58.6	60.3	44.4
			未同定物	0.8	0.9	1.3
				25.2	24.8	36.1
			未同定物	1.1	1.0	2.2
				1.2	1.5	3.5
			未同定物	3.2	3.1	3.4
			未同定物	0	1.1	0
			未同定物	3.1	2.5	2.6
			未同定物	4.0	3.0	3.9
	牛乳		未同定物	2.8	1.8	2.6
			未同定物	3.0		
			ジフルベンズロン [A]	52.0		
				14.2		
			1.9	—	—	
			16.2			
ラット	尿		0.5			
		未同定物	12.2			
			76.3			
		未同定物	7.2			
		未同定物	5.7			
		未同定物	5.5	—	—	
	糞		未同定物	3.9		
			未同定物	1.4		
				93.8		
		未同定物	2.8			
	未同定物	1.6				
	未同定物	1.1				
	未同定物	0.7				

— : 確認を行っていない

0 : 検出されなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

乳 牛：尿、糞及び血液中の主要代謝物は であり、その他の  
共通する代謝物として が同定された。また、尿、牛乳  
中に が、尿中に 、牛乳中  
に が同定された。

ラット：尿、糞ともに数種の未同定物が認められたが、大部分は未変化の  
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アグロカネショウ株式会社にある。

③ <sup>14</sup>C 標識ジフルベンズロンを用いたラット体内における代謝試験

(資料 M-3)

試験機関: Inveresk Research International (英国)

報告書作成年: 1990 年

供試標識化合物:

化学構造及び標識位置:

化学名: 1-(4-クロロ-U-<sup>14</sup>C フェニル)-3-(2,6-ジフルオロ-U-<sup>14</sup>C ベンゾイル) 尿素

比放射能:

放射化学的純度:

供試動物: CD(SD)系ラット、1 群雌雄各 5 匹または 3 匹

試験方法:

1) 単回投与後の血中濃度推移:

雌雄各 3 匹のラットに 5mg/kg の標識化合物を経口投与した後、0.25、0.5、1、2、4、8、16、24 及び 32 時間に尾静脈より採血し、ヘパリンで抗凝固処理した血液を用いて、放射能濃度を測定した。

2) 単回投与後の排泄:

1 群雌雄各 5 匹のラットに 5mg/kg または 100mg/kg の標識化合物を経口投与し、代謝ケージを用いて糞尿及び呼気を収集し、排泄された放射能濃度を測定した。試料収集時間を以下に示した。

a) 糞尿; 標識化合物投与後 0~8 時間、8~24 時間及び 168 時間または 24 時間  
間隔で 6 回呼気; 標識化合物投与後 0~8 時間及び 8~24 時間(雌雄各 1 匹)

b) 標識化合物投与後 168 時間に全動物を屠殺し、以下の臓器・組織の放射能  
度を測定した。

血漿、赤血球、骨、脳、脂肪、精巣または卵巣、消化管、心臓、腎臓、肺、骨格

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

#### 筋、脾臓、肝臓及び屠体

##### 3) 単回投与後の組織分布の推移:

雌雄各 12 匹のラットに 5mg/kg の標識化合物を経口投与した後、4、14、48 及び 72 時間に雌雄各 3 匹を屠殺、以下の臓器・組織中の放射能濃度を測定した。血漿、赤血球、骨、脳、脂肪、精巣または卵巣、消化管、心臓、腎臓、肺、骨格筋、脾臓、肝臓及び屠体

##### 4) 反復投与後の排泄:

雌雄各 5 匹のラットに非標識 diflubenzuron 5mg/kg を 14 日間にわたって 1 日 1 回経口投与し、15 日目に 5mg/kg の<sup>14</sup>C-diflubenzuron を経口投与した。その後、方法 2)と同様に試料を採取し、各試料中の放射能度を測定した。

##### 5) 単回投与後の胆汁中排泄:

雌雄各 3 匹のラットの胆管にカテーテルを挿入し、5mg/kg の標識化合物を経口投与した。胆汁を 1 時間間隔で 24 時間まで収集し、この 24 時間に排泄された糞尿も収集した。標識化合物投与後 24 時間に動物を屠殺し、消化管を摘出した。胆汁、糞尿、消化管及び屠体の放射能濃度を測定した。

##### 6) 単回投与後の全身オートラジオグラフィー:

雌雄各 3 匹のラットに 5mg/kg の標識化合物を経口投与し、投与後 4(TC max.)、14(TC max.1/2)及び 48 時間に雌雄各 1 匹を屠殺、全身凍結切片を作成し X 線フィルムに露光させた

#### 放射能の測定:

尿などの液体試料は液体シンチレーターと混合し、液体シンチレーションカウンター(Phillips NV、Holland)を用い、自動クエンチング補正は外部標準線源法によって放射エネルギーの計測を行った。糞、臓器等の個体試料については自動燃焼装置を用いて燃焼し、発生した<sup>14</sup>CO<sub>2</sub>を Carbosorb に吸着させ、液体シンチレーターを加えた後同様に放射エネルギーを計測した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

代謝物の同定:

2)、4)及び5)の方法で得られた糞、尿及び胆汁を用いて HPLC 及び液体シンチレーションカウンターによる代謝物の同定及び定量を行った。代謝物を同定するために以下の標品を用いた。なお、 $\beta$ -glucuronidase 及び sulphatase を用いて加水分解した試料についても同様に代謝物の分析を行い、  
 の確認を行った。また、特に尿及び胆汁の想定代謝物  
 に相当する分画  
 中に  
 が含まれる可能性について、  
 を特異的に抽出できる方法を用いて検討した。

代謝物分画	想定代謝物
J	Diflubenzuron [A]

試験結果:

1) 単回投与後の血中濃度推移:

5mg/kg の標識化合物を経口投与した後の血中放射能濃度推移を下表に示した。標識化合物を経口投与した後の血中放射能濃度は、4 時間で最高値に達し、その時の濃度は雄 920ng equiv/mL、雌 768ng equiv/mL であった。その後徐々に減少し、投与後 32 時間の血中濃度は雄 163ng equiv/mL、雌 221ng equiv/mL であった。また、このときの生物学的半減期は約 14 時間であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

経口投与後の血中放射能濃度推移

経過時間	血 中 濃 度 (ng equiv/mL)	
	雄	雌
0.25 h	43	46*
0.5	106	97
1	275	240
2	593	498
4	920	768
8	722	650
16	291	406
24	202	286
32	163	221

※数値は 3 匹の平均

\*報告書中には 66 と記載されているが各 3 匹の値から 46 の誤りと思われる。

2a) 単回投与後の排泄;

5mg/kg または 100mg/kg の標識化合物を経口投与した後、糞尿から回収された放射能は下表の通りであった。いずれの投与量においても 24 時間以内に投与の 90%以上が糞尿中に排泄され、その大部分は糞中に排泄され、呼気中には、放射能は認められなかった。また、いずれの投与群においても排泄パターンに性差はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

経口投与後の放射能排泄累積値(%)

経過時間帯(hr)			0~8	0~24	0~48	0~96	0~168
5mg/kg	雄	尿	7.71	19.86	20.74	20.94	21.10
		糞	15.39	73.08	75.17	75.69	75.99
		合計	23.10	92.94	95.91	96.63	97.09
	雌	尿	8.94	19.86	20.77	20.98	21.09
		糞	11.17	74.74	77.05	77.43	77.64
		合計	20.11	94.60	97.82	98.41	98.73
100mg/kg	雄	尿	1.22	2.90	3.05	3.07	3.10
		糞	65.90	94.97	95.41	95.48	95.50
		合計	67.12	97.87	98.46	98.55	98.60
	雌	尿	1.00	2.17	2.41	2.48	2.50
		糞	35.26	93.16	95.76	95.93	95.96
		合計	36.26	95.33	98.17	98.41	98.46

※数値は5匹の平均

2b)、3) 単回投与後の組織分布の推移・・・試験方法 2)の結果を含む

5mg/kg または 100mg/kg の標識化合物を経口投与した後の経時的放射能組織分布を次表に示した。5mg/kg の化合物を投与後 4 時間には、検査した全ての組織に放射能が検出され、その放射能濃度は脂肪、卵巣、肝臓、心臓、腎臓、脳の高かったが、投与した放射能の 1%以上が検出されたのは肝臓のみであった。投与 14 時間後には多くの組織で放射能濃度の顕著な減少がみられたが、肝臓、腎臓、脂肪及び卵巣の放射能濃度は比較的高かった。その後も組織中放射能濃度は減少し続けたが、赤血球、肝臓、肺、心臓、腎臓、脾臓では投与後 168 時間にもバックグラウンド以上の放射能が検出された。この時期には、血漿中より赤血球の放射能濃度は高く、赤血球中に比較的高い放射能が認められていることから、みかけ上、血液循環量の多い臓器が高い値を示したものと考えられた。放射能の組織分布パターンに性差はみられなかった。また、100mg/kg の標識化合物を経口投与した 168 時間後の放射能の組織分布パターンには、投与量の増加による変化も認められなかった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

経口投与後の組織内放射能濃度の経時的变化

性別	組織内放射能濃度 (ng equiv/g or mL)											
	雄						雌					
	5 (3)の方法				5 (2)の方法	100 (2)の方法	5 (3)の方法				5 (2)の方法	100 (2)の方法
投与量 (mg/kg)	4h	14h	48h	72h	168h	168h	4h	14h	48h	72h	168h	168h
脳	870	151	6	4	1	30	1097	200	6	5	3	30
心臓	1344	163	19	16	19	90	1346	208	31	25	24	60
腎臓	1077	344	45	30	14	50	1323	518	65	34	23	60
肺	967	248	77	59	68	150	932	295	75	56	61	130
脾臓	792	130	35	20	14	80	566	159	48	28	32	100
肝臓	2090	693	336	270	187	330	2440	1170	526	266	151	370
精巣	565	103	4	9	1	20	—	—	—	—	—	—
卵巣	—	—	—	—	—	—	3737	371	17	25	12	40
筋肉	433	99	7	3	2	30	395	120	6	4	3	20
脂肪	4960	734	13	8	2	20	4384	763	9	7	3	30
骨	334	72	6	11	3	60	297	77	8	10	5	20
血漿	695	187	13	8	3	0	752	260	20	11	3	10
赤血球	548	566	360	163	169	590	449	318	398	362	251	780
全血	604	354	188	139	101	400	578	295	137	182	176	470

※数値は3匹の平均、ただし168時間は5匹の平均、h:時間

—:分析していない

168時間後の各組織の投与量に対する放射能(%)

試験群	性別	投与量に対する放射能(%)									
		脳	心臓	腎臓	肺	脾臓	肝臓	精巣	卵巣	消化管	屠体
5mg/kg (2)の方法	雄	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.25	0.00	—	0.02	0.09
	雌	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.17	—	0.00	0.01	0.16
100mg/kg (2)の方法	雄	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.00	—	0.01	0.21
	雌	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	—	0.00	0.00	0.03

※数値は5匹の平均

—:分析していない

0.00 : 検出されなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

#### 4a) 反復投与後の排泄

5mg/kg の非標識化合物を 14 日間にわたって 1 日 1 回経口投与し、15 日目に同用量の標識化合物を経口投与した後、糞尿から回収された放射能は下表の通りであった。糞尿中への放射能の排泄パターンには、単回投与後の排泄パターンと比べて差が認められず、呼気中排泄もほとんどみられなかった。ただし、僅かに排泄速度が遅くなる傾向がみられた。

反復投与後の排泄累積値(%)

経過時間帯(hr)		0~8	0~24	0~48	0~96	0~168
雄	尿	3.83	14.24	20.74	22.13	22.28
	糞	0.18	63.87	70.37	74.80	75.04
	合計	4.01	78.11	91.11	96.93	97.32
雌	尿	4.02	12.45	14.55	14.77	14.86
	糞	10.44	71.99	83.06	83.64	83.80
	合計	14.46	84.44	97.61	98.41	98.66

※数値は 5 匹の平均

#### 4b) 反復投与後の組織分布:

5mg/kg の非標識化合物を 14 日間にわたって 1 日 1 回経口投与し、15 日目に同用量の標識化合物を経口投与した後 168 時間の放射能の組織内濃度を下表に示した。

反復投与後の組織内放射能濃度

組織	組織内放射能濃度 (ng equiv/g or mL)				
	雄	雌	組織	雄	雌
脳	3	2	卵巣	—	9
心臓	12	12	筋肉	3	2
腎臓	19	20	脂肪	3	2
肺	54	53	骨	4	4
脾臓	21	22	血漿	4	5
肝臓	153	152	赤血球	157	152
精巣	3	—	全血	108	96

※数値は 5 匹の平均

—: 分析していない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

反復投与後 168 時間の放射能の組織分布パターンには、単回投与後 168 時間の組織内分布パターンと差がみられなかった。

5) 単回投与後の胆汁中排泄；

胆管にカテーテルを挿入したラットに 5mg/kg の標識化合物を経口投与した後の胆汁中放射能排泄量の経時変化及び糞尿中への放射能排泄率を下表に示した。

投与後の胆汁中、糞尿中放射能排泄率及び体内残留率

経過 時間帯 (時間)	胆汁		尿		糞		消化管		屠体		
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	
0~1	0.0	0.0									
0~2	0.2	0.5									
0~3	0.4	1.0									
0~4	0.7	1.4									
0~6	1.9	2.3									
0~8	3.5	3.2									
0~12	8.1	5.3									
0~24	19.0	14.9	7.9	6.4	55.3	21.0*	6.1	39.4*	4.8	12.6	

※ 数値は 3 匹の平均、空欄は測定なし、0.0 は検出されなかった

\*: 2 匹の腸管運動に変化がみられ、糞量が少なかった

標識化合物の経口投与後 24 時間の胆汁中放射能排泄率は雄 19.0%、雌 14.9% であった。この時の屠体に残留した放射能濃度及び尿中放射能排泄率から、約 33% の標識化合物が吸収されたものと推定された。

6) 単回投与後の全身オートグラフィー；

5mg/kg の標識化合物を経口投与した後の全身オートラジオグラフィーでは、吸収された放射能が全身に分布していることが示唆され、投与後 4 時間に認められた骨中の放射能は経時的に減少した。いずれの時点においても、消化管に最も高い放射能が認められ、組織内濃度を測定した組織以外に、放射能濃度の高かった組織はみられなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

代謝物の同定:

a) 尿中代謝物

尿中代謝物分析結果の概要を次表に示した。

5mg/kg の検体を単回または 15 日間連続経口投与後 24 時間のラットの尿中には、主に代謝物分画 [ ] が認められ、その他の代謝物分画は尿中総放射エネルギーの 5% 以下であった。100mg/kg の検体を経口投与した場合も本質的な差は認められなかったが代謝物 [ ] の相対比率がやや高く、その他の代謝物分画の比率がやや低下していた。これらの尿を  $\beta$ -glucuronidase/sulfatase で加水分解したところ、代謝物 [ ] の放射エネルギーが低下し、代謝物 [ ] がみられた。この結果から、代謝物 [ ] は加水分解される [ ] であることが推察され、特に代謝物 [ ] については確認試験の結果、他の代謝物分画の [ ] を含むことが確認された。また、いずれの試験群においても代謝物分画の種類及び構成比率に性差は認められなかった。 [ ] は未同定代謝物分画を表す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

尿中代謝物の構成比率(%)と加水分解による変化

試験群	加水分解処理の有無	性別	代謝物構成比(%)		** 合計
				J	
5mg/kg 1回投与 (2)の方法	-	雄		1.5	96.8
		雌		0.4	105.5
	+	雄		3.8	90.7
		雌		4.0	101.5
5mg/kg/day 14日間連続 投与 (4)の方法	-	雄		0.3	98.6
		雌		0.6	103.7
	+	雄		4.0	ND
		雌		4.4	99.5
5mg/kg 1回投与 胆汁採取動物 (5)の方法	-	雄		2.1	87.5
		雌		6.8	88.0
	+	雄		3.4	88.7
		雌		3.4	84.2
100mg/kg 1回投与 (2)の方法	-	雄		0.0	98.3
		雌		0.0	96.0
	+	雄		4.3	84.6
		雌		4.5	92.2

\*:加水分解前は 以外の代謝物の抱合体を含む。ND:未測定

\*\* : HPLCより回収された放射能(%)

※代謝物 は、想定代謝物 を表す。代謝物 は、想定代謝物 を表す。

0.0 : 検出されなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

a) 糞中代謝物

投与後 24 時間の糞中代謝物分析結果の概要を次表に示した。

糞中代謝物の構成比率(%)と加水分解による変化

試験群	加水分解処理の有無	性別	代謝物構成比 (%)		** 合計
				J	
5mg/kg 1 回投与 (2)の方法)	-	雄		100.0	ND
		雌		100.0	ND
	+	雄		89.0	63.7
		雌		88.6	72.9
5mg/kg/day 14 日間連続 投与 (4)の方法)	-	雄		95.9	101.9
		雌		93.7	88.6
	+	雄		97.6	85.1
		雌		95.4	73.8
	+*	雄		71.6	ND
		雌		69.4	ND
100mg/kg 1 回投与 (2)の方法)	-***	雄		77.7	69.5
	-	雌		94.0	134.6
	+	雄		93.3	58.7
		雌		99.3	42.4
	+*	雄		65.8	ND
		雌		74.9	ND
5mg/kg 1 回投与 胆汁採取動物 (5)の方法)	-	雄		100.0	ND
		雌		100.0	ND
	+	雄		98.7	63.6
		雌		97.8	87.0

\*: 雌雄各群の投与量に対する放射能含有率が一定となるように、試料を対照群の尿中で磨砕し、可溶性成分をすべて溶解した上で HPLC に直接注入、その他は試料を Lichroprep と混合して磨砕後プレカラムを通して HPLC に注入

\*\* : HPLC より回収された放射能(%)      ND : 未測定

\*\*\* : 試料を対照群の尿中で磨砕し、可溶性成分をすべて溶解した上で HPLC に直接注入し分析した

※代謝物                    は、想定代謝物                    を表す。代謝物                    は、想定代謝物                    を表す。

0.0 : 検出されなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネシヨウ株式会社にある。

いずれの試験群においても、糞中に検出された放射化合物のほとんどは未変化体であり、糞を加水分解することによって、その他の代謝物も極僅かに認められたが、本質的には加水分解による代謝物構成比率の変化がみられなかった。また、尿と同様に、いずれの試験においても代謝物の種類及び構成比率に性差が認められなかった。

c) 胆汁中代謝物

胆汁中代謝物分析結果の概要を下表に示した。

胆汁中代謝物の構成比率(%)と加水分解による変化

試験群	加水分解 処理の 有無	性 別	代 謝 物 構 成 比 (%)		** 合計
				J	
5mg/kg 1回投与 胆汁採取動物 (5)の方法)	—	雄		6.8	98.0
		雌		0.0	91.2
	—*	雄		3.1	80.7
		雌		4.1	64.2
	+	雄		6.4	93.2
		雌		8.3	104.4
十*	雄		6.4	85.8	

\*: 雌雄各群の投与量に対する放射能含有率が一定となるように試料を対照群の尿で希釈して分析

\*\* : HPLC より回収された放射能(%)

※ 代謝物                    は、想定代謝物                    を表す。

0.0 : 検出されなかった

胆汁中の代謝物の大部分は、代謝物                    に相当する1つのピークとして認められ、その他の代謝物はいずれも総放射能量の8%以下であった。胆汁を加水分解した場合、代謝物                    の増加が認められたが、本質的な代謝物構成比率の変化は認められなかった。また、代謝物の種類及び構成比率に性差が認められなかった。

d)                    の同定

尿及び胆汁中の代謝物                    に相当するピークに、                    は含まれていないことが確認された。

以上の結果から、以下の結論が得られた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

[吸収、体内分布及び排泄について]

- Diflubenzuron を経口投与した場合、約 33%が消化管から吸収され、投与量が多くなると吸収率は低下した。
- Diflubenzuron を経口投与した後の血中濃度は 4 時間で最高値に達し、生物学的半減期は約 14 時間であった。
- 吸収された diflubenzuron は、糞及び尿中に排泄され、呼気中にはほとんど排泄されなかった。
- 吸収された diflubenzuron は、投与後 4 時間には全身の臓器・組織に分布していたが、徐々に減少し、168 時間後には血液の他に、循環血液量の多い肝臓、肺などに比較的高い放射能が検出された。投与量を多くしても、組織分布パターンに変化はみられなかった。
- Diflubenzuron を連続投与した場合の排泄パターン及び組織分布パターンは、単回投与した場合と比べて差がみられなかった。
- 投与後 24 時間で吸収された放射能の約 50%が胆汁中に排泄された。
- 全身オートラジオグラフィーでは、組織中放射能濃度を測定した組織以外に高い放射能濃度のみられた組織がみられなかった。
- 吸収、体内分布及び排泄パターンに性差はみられなかった。

[代謝物]

- 尿中代謝物の多くは、

であると推察され、未同定代謝物を除き、その他の代謝物はいずれも 5%以下であった。但し、に相当するピークが加水分解処理によって低下したので、同分画中にはその他の代謝物の抱合体も含まれていると考えられた。

- 糞中代謝物のほとんどは親化合物の未変化体である difluorobenzuron であった。
- 胆汁中の代謝物の多くは、及び未同定のの代謝物が含まれる 1つのピークとして検出され、その他の代謝物はいずれも 8%以下であった。加水分解処理によってこのピークが幾分低下し、に相当するピークの増加がみられたことから、このピークにはも含まれていると推測された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

- ・ 〃に相当する尿及び胆汁代謝物の分画中に 〃は存在しないことが確認された。
  - ・糞尿及び胆汁中に含まれる代謝物の種類及び構成比率に性差は認められなかった。
  - ・投与量及び投与回数の変化に伴う代謝物の種類及び構成比率の変化は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

④ ラットにおける代謝（尿及び糞中の代謝物の確認及び単離同定）（資料 M-4）

試験機関 : Uniroyal Chemical Company  
(米国)[GLP 対応]

報告書作成年: 2000 年

供試標識化合物: [  $^{14}\text{C}$  ] ジフルベンズロン

構造式:

\* 放射能標識位置

化学名: 1-(4-クロロフェニル)-3-(2,6-ジフルオロベンゾイル)尿素

比放射能:

放射化学的純度:

標識位置の選定理由:

供試動物: Fisher GDF (F-344)/CrI BR 系雄ラット(8~10 週齢)

試験開始時の体重: 約 215 g

試験方法:

投与: 先に実施した試験と同様に、放射能標識化合物を非放射能標識化合物と合わせて 1%トラガントゴム溶液中に懸濁して、112 mg/kg 体重の用量で、一夜絶食させたラットに単回強制経口投与した(約 500  $\mu\text{Ci/kg}$  体重、投与容量: 約 4 mL/kg)。

動物の飼育: ラットを代謝ケージに収容し、投与後 4 時間から水及び飼料を自由摂取させた。全試験期間を通じて動物の一般状態を観察し、試験終了時点には主要臓器について肉眼的に検査した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

各種試料の採取及び分析までの操作；

各種試料を、以下の通り採取した。

試料	採取時期及びその後の操作
尿	投与後 6、12、24、48、72 及び 96 時間に採取。総重量の測定
糞	投与後 24、48、72 及び 96 時間に採取。総重量の測定。 水と混合して均質化。
カーカス	暴露期間終了後に、二酸化炭素を用いて屠殺して剖検。均質化。
ケージ洗浄液	メタノールを用いて洗浄し、洗浄液の秤量。

総放射能の測定；尿、糞及びカーカス並びにケージ洗浄液中の放射能は、直接または燃焼後にシンチレーション液と混合して、LSC(液体シンチレーション計数)により測定した。

代謝物の分離、同定及び定量；

尿からの抽出及び分画；上記の尿試料(投与後 6～48 時間)をプールし、メタノールと混合して遠心した。上澄液を窒素気流下で少量に濃縮した(上澄液 1)。沈殿物は水に懸濁して遠心し、上澄液を採取した。沈殿物を再び水に懸濁して遠心し、上澄液を採取した。両上澄液を合わせて(上澄液 2)凍結乾燥した後、水に溶解した。沈殿物は水に懸濁し、シンチレーション液を加えた後に LSC により測定した。

糞の抽出；上記の糞試料(投与後 24～96 時間)をプールして均質化した後、一部を秤取し、アセトニトリルと共にプロセッサ中で磨砕して抽出した。遠心して固形物を分離し、アセトニトリルによる抽出をさらに 2 回繰り返した。上澄液を合わせて液量を測定し、LSC により測定した。次いで、ヘキサン、アセトン及び水を順次用いて上記操作を繰返し、同じ溶媒による抽出液を合わせて濃縮し、放射能を LSC により測定した。抽出後の残渣は乾燥し、放射能レベルを燃焼/LSC により測定した。

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)；数種の溶媒系を用いる逆相 HPLC により、尿の分析並びに尿からの代謝物の単離及び精製を行った。

液体クロマトグラフィー/マスペクトロメトリー(LC/MS)；HPLC を用いて、最終の精製及び四重極タンデムマスペクトロメーター(MS)への試料導入を行った。HPLC からの溶出液を分取して、放射能検出器(RAM)及び MS(エレクトロスプレーイオン化)に導いて放射性代謝物を分析した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 果:

動物の一般状態：全実験期間を通じて全ての動物の健康状態は良好であり、剖検時にも異常はみられなかった。

放射能の排泄：各試料中の放射能を測定して、排泄状況を調べた結果を下表に示した。

放射能の排泄(各試料中の放射能量)

試 料	期 間 (時間)	投与放射能に対する%	親化合物相当の ppm
尿	0 ~ 6	0.31 ± 0.16	81.3 ± 8.69
	6 ~ 12	0.92 ± 0.31	79.8 ± 19.1
	12 ~ 24	0.71 ± 0.17	33.0 ± 3.86
	24 ~ 48	0.30 ± 0.08	7.54 ± 2.36
	48 ~ 72	0.05 ± 0.02	1.12 ± 0.572
	72 ~ 96	0.02 ± 0.00	0.568 ± 0.169
	合 計	2.13 ± 0.34	—
糞	0 ~ 24	63.5 ± 19.4	1756 ± 497
	24 ~ 48	2.94 ± 0.47	73.0 ± 15.8
	48 ~ 72	0.47 ± 0.16	3.70 ± 2.35
	72 ~ 96	0.11 ± 0.02	0.427 ± 0.209
	合 計	66.6 ± 19.0	—
ケージ洗浄液	0 ~ 96	0.02 ± 0.01	0.300 ± 0.122
カーカス	0 ~ 96	0.09 ± 0.02	0.088 ± 0.019
合 計	0 ~ 96	68.9 ± 18.7	—

表に示したように、投与放射能の大部分(66.6±19.0%)は、糞中に排泄された。投与量の95%を上回る割合が、最初の24時間中に糞中に排泄され、4.4%がその後に排泄された。0~24時間の平均最高濃度は、1756(±497)ppmであった。24~48時間までに放射能の平均レベルは73.0(±15.8)ppmに低下し、その後は0.5ppmを下回った。

投与放射能の僅かに2.13(±0.34)%が、尿中に排泄されたに過ぎなかった。投与量の約91%は最初の24時間中に排泄された。

カーカス中の放射能レベルは、0.088ppmを上回らなかった。

放射能の総回収率が68.9(±18.7)%と低かった理由としては、投与期間中における投

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

与用懸濁液中での被験物質の経時的な沈殿によるものと考えられた。

尿中代謝物の HPLC によるプロファイル；

投与後 0～6、6～12、12～24、24～48 及び 48～72 時間に採取してろ過した尿について、グラジエント条件下の HPLC により分析した。得られたクロマトグラムを精査して代謝物ピークの溶出状況を把握した。得られた情報(2 本の主要ピーク及び 7 本のマイナーピークの存在)を用いて、前記のプールして濃縮した尿の上澄液 1 及び 2 を用いて、HPLC へ多数回注入して代謝物を単離した。

尿中代謝物の同定；

上記で単離した代謝物の 16 画分を精製し、参照用物質と比較して同定した代謝物 20 種の定量結果を、尿中の総放射能残留 (TRR) に対するパーセントとして次表に示した。

尿中で同定された代謝物の定量結果

代謝物	構造式	尿中の TRR に対する割合 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

尿中で同定された代謝物の定量結果（つづき）

代謝物	構造式	尿中の TRR に対する 割合(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

尿中で同定された代謝物の定量結果 (つづき)

代謝物	構造式	尿中の TRR に対する 割合(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

尿中で同定された代謝物の定量結果 (つづき)

代謝物	構造式	尿中の TRR に対する割合 (%)

これらの表から、前記の 2 本の主要なピークは 及び  
であることが判明した。この試験の主要目的で  
ある代謝物 及び の存在を確認し  
た結果、共に尿中における検出限界の約 0.4 ppb 未満であった。

糞の分析： 糞中の総放射能残留の約 99%が、投与後 48 時間までに排泄されたことから、0~24 及び 24~48 時間に採取した 5 匹の糞を均質化してプールした。一部について、前記のように各種溶媒を用いて抽出して測定した。その結果を、糞中の総放射能残留 (TRR) に対するパーセントとして次表に示した。

プールした投与後 0~24 及び 24~48 時間の糞から、放射能のそれぞれ約 92.1% (TRR の 87.8%) に及び約 95.6% (TRR の 4.22%) がアセトニトリルにより抽出された。その他の溶媒では、TRR の約 2%未満が抽出されたに過ぎなかった。総回収率は、それぞれ 0~24 及び 24~48 時間の糞中において 92.9% (TRR の 88.6%) 及び 100% (TRR の 4.43%) であった。アセトニトリル抽出液の HPLC によるプロファイルから、単離、精製するピークを選定して同定した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

糞の抽出結果

抽出溶媒	0～24 時間		24～48 時間	
	TRR に対する 各溶媒による抽出 放射能の%	TRR に対する 抽出放射能の%	TRR に対する 各溶媒による抽出 放射能の%	TRR に対する 抽出放射能の%
アセトニトリル	92.1	87.8	95.6	4.22
ヘキサン	0.0714	0.0681	1.28	0.0565
アセトン	0.508	0.484	0.899	0.0397
水	0.176	0.168	1.63	0.0719
抽出後の残渣	0.0908	0.0865	1.17	0.0516
総回収率	92.9	88.6	100	4.43

投与後 0～24 時間の糞のアセトニトリル抽出液の HPLC ラジオクロマトグラム中には、僅かに 1 個のみの放射能成分が認められ糞中放射能の 92.1% を占めていた。この成分は、親化合物として同定された。代謝物 及び の存在を確認した結果、共に親化合物相当 0.1% では存在しないことが明らかになった(もし存在すれば、バックグラウンド値の 2 倍を上回る)。

代謝経路の推定：尿中で同定された代謝物に基づいたラットにおける供試化合物の想定代謝経路を図 1 に示した。

主要な経路は、  
 または  
 を生成する水酸化であった。これらの代謝物は、その後  
 を受ける。続いて、  
 を含む分子の  
 、別の  
 など  
 を受けてさらに代謝されている。代謝経路の中心を占めている代謝物は であり、大部分の代謝物はこの化合物を起点にして生成される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はアグロカネショウ株式会社にある。

結 論： ラットにおけるジフルベンズロンの主要な代謝物は、  
及び  
であった  
は、TRR の約 3%を占めていた。

ジフルベンズロンの代謝経路中で中心となっている代謝物は、  
に水酸化を受けた代謝物の であり、その後この  
の部位への他の反応が続いた。従って、 は同じく に水酸化を受けた代謝物  
と共に、尿中の TRR のそれぞれ 3.24 及び 0.9%を占めていた。以上 の主要代  
謝物 の他に、 のマイナー代謝物が同定されたが、それぞ  
れは尿中の TRR の 0.1~2%を占めていたに過ぎなかった。

この試験の結果から、代謝物 及び はラット中における代謝物ではないことが  
明らかになり、共に約 0.4 ppb 未満であった。さらにこれらの も検出さ  
れなかった。従って、過去の幾つかの試験において、ジフルベンズロンを投与したラット  
中にこの両代謝物が総放射能残留の約 2%で存在するとの結論は、明確に否定され  
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アグロカネショウ株式会社にある。