

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 製剤毒性

(1) ラットにおける急性経口毒性試験

(毒性資料No. 製剤-1)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体の純度：3.7%ジフルフェニカン・37.0%トリフルラリン乳剤

供試動物：Slc:Wistar系ラット (試験開始時6週齢)

体重 雄109~132g 雌 85~106g 1群 雌雄各10匹

観察期間：14日間観察

試験方法：投与前16時間絶食させたラットに蒸留水で懸濁した検体を、1000~2074mg/kgの用量で金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与容量は体重100gあたり1mLとした。

観察・検査項目：中毒症状及び生死の観察を投与後8時間までは1時間間隔、以後1日2回行った。体重測定は投与直前、投与後7及び14日に実施した。剖検は死亡例はそのつど、生存動物については観察期間終了時に行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雌雄とも1000、1200、1440、1728、2074
LD50値(mg/kg) (95%信頼限界)	雄：1577(1476~1686) 雌：1677(1512~1859)
死亡開始時間及び終了時間	雌雄とも、投与後6時間開始、2日後終了
症状発現時間及び消失時間	雄：投与1時間後~4日 雌：投与1時間後~5日
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	1200

中毒症状として全ての投与群の雌雄に自発運動低下、流涎、流涙、下痢、軟便及び被毛の汚れが認められた。さらに、1440mg/kg以上の雌雄で眼瞼下垂、1728 mg/kg以上で褐色眼分泌物及び腹臥位が認められた。

死亡動物雌雄の剖検では皮下及び腹腔内脂肪の黄色化が認められたが、観察終了時の生存動物では観察されなかったことから、これらは検体の呈色成分が一過性にこれら組織に吸着されものと考えられた。生存動物の体重増加に影響は認められず、剖検で異常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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(2) マウスにおける急性経口毒性試験

(毒性資料No. 製剤-2)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体の純度：3.7%ジフルフェニカン・37.0%トリフルラリン乳剤3%

供試動物： S1c:ICR系マウス (試験開始時6週齢)

体重 雄30.4~36.2g 雌25.2~25.0g 1群 雌雄各10匹

観察期間： 14日間観察

投与方法： 投与前3時間絶食させたマウスに蒸留水で懸濁した検体を2400~4977mg/kgの用量で、金属製胃ゾンデを用いて単回強制経口投与した。投与容量は体重10gあたり0.1mlとした。

観察・検査項目： 中毒症状及び生死の観察を投与後8時間までは1時間間隔、以後1日2回行った。体重測定は投与直前、投与後7及び14日に実施した。剖検は死亡例はそのつど、生存動物については観察期間終了時に行った。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	雄雌とも2400、2880、3456、4147、4977
LD50値 (mg/kg) (95%信頼限界)	雄 3415 (3017~3865) 雌 4138 (3175~5424)
死亡開始時間及び終了時間	雄：投与後8時間から2日まで 雌：投与後4時間から2日まで
症状発現及び消失時間	雄：投与後1時間~3日 雌：投与後1時間~4日
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	—
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	2400

中毒症状として全投与群の雌雄に自発運動低下、眼瞼下垂がみられた。また2880mg/kg以上の雌雄に腹臥位、振せんが認められた。流涎は4147mg/kg群の雌及び4977mg/kg群雌雄に認められた。4977mg/kg群雌雄では、さらに、側臥位及び下痢が認められた。

死亡動物雌雄の剖検では皮下及び腹腔内脂肪黄色化が認められたが、観察終了時の生存動物では観察されなかったことから、検体の呈色成分が一過性にこれら組織に吸着されものと考えられた。生存動物の体重増加に影響は認められず、剖検でも異常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パイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(3) ラットにおける急性経皮毒性試験

(毒性資料No. 製剤-3)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体の純度：3.7%ジフルフェニカン・37.0%トリフルラリン乳剤

供試動物：Slc:Wistar系ラット (試験開始時8週齢)

体重 雄188~198g 雌141~158g 1群 雌雄各10匹

観察期間：14日間観察

投与方法：投与前日刈毛した動物の背部皮膚に、均一に検体を塗布したガーゼパッチ (4×5cm) を24時間閉塞貼付した後、塗布部分の検体を蒸留水で拭き取った。

観察・検査項目：中毒症状及び生死の観察を投与後8時間までは1時間間隔、以後1日2回行った。体重測定は投与直前、投与後7及び14日に実施した。剖検は死亡例についてはそのつど、生存動物については観察期間終了時に行った。

結 果：

投与方法	経 皮
投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000
LD50値 (mg/kg)	雄：>2000 雌：>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡例は認められなかった
症状発現及び消失時間	中毒症状は認められなかった
毒性徴候の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄：2000 雌：2000

中毒症状は観察されなかったが、雌雄8例の検体適用部皮膚に投与後2日に軽度の瀰漫性紅斑が認められ、その後投与5日後には回復した。雄1例、雌2例では痂皮形成に移行したが、投与後9日までに回復した。剖検では雌雄とも特記すべき変化は認められなかった。体重は投与後1週間の測定で雄3例、雌6例で僅かな減少が認められたが投与後2週間の測定では、全例に増加が認められた。

剖検では異常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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(4) ジフルフェニカン・トリフルラリン乳剤のラットを用いた
急性吸入毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験成績の提出除外

本薬についての吸入毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用について」の「第4 試験成績の提出の除外について」(2)③のイの規定により提出除外にあてはまる。

[除外根拠]

本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬である。

このようなことから、急性吸入毒性試験の提出は不要であると判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5) ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料No. 製剤-5)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体の純度：3.7%ジフルフェニカン・37.0%トリフルラリン乳剤

供試動物：日本白色種ウサギ (体重 2.41～2.74kg)

1群雌 6匹 試験開始時3.5ヶ月齢

観察期間：14日間観察

試験方法：投与24時間前に刈毛した試験動物の背部の右側を試験部位とし、左側を対照とした。0.5mlの検体をフランネルパッチ(2.45×2.45cm)に塗布し、右側試験部位に4時間閉塞貼付した。適用後に被覆物を除去し、試験部位に付着した検体を蒸留水で清拭し除去した。

観察項目：検体除去後1、24、48、72時間及び14日に皮膚の刺激性変化の観察を観察した。刺激性変化の採点はDraize法を用いた。また一般状態の観察も実施した。

結 果：

動物番号	項 目	最高評点	暴露後時間						
			1時間	24時間	48時間	72時間	4日	7日	14日
1	紅斑・痂皮	4	0	2	3	3	4	1	0
	浮腫	4	0	1	1	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	2	3	3	4	3	0
	浮腫	4	0	1	1	1	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	2	3	3	4	1	0
	浮腫	4	1	2	1	1	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	2	2	3	4	4	0	0
	浮腫	4	1	1	1	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	2	2	3	4	4	2	0
	浮腫	4	1	1	1	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	1	2	3	4	4	2	0
	浮腫	4	1	1	1	1	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	7	12	18	21	24	9	0
	浮腫	12	4	7	6	3	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1.2	2.0	3.0	3.5	4.0	1.5	0.0
	浮腫	4	0.67	1.2	1.0	0.5	0.0	0.0	0.0

除去後1時間に極めて軽度もしくは明瞭な紅斑が5例に、軽度な浮腫は4例に認められた。24時間後では明瞭な紅斑と軽度の浮腫が全例にみられた。72時間後には紅斑部分に痂皮が形成され、3例の浮腫は消失した。残る3例の浮腫も4日には消失した。7日後には1例で紅斑は消失した、14日後には全例の反応が消失した。

以上の結果から、本検体は中等度の皮膚一次刺激性を有すると考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(6) ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

(毒性資料No. 製剤-6)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体の純度：3.7%ジフルフェニカン・37.0%トリフルラリン乳剤

供試動物：日本白色種雌ウサギ（体重 2.47～2.80kg）

洗眼群 3匹 非洗眼群 6匹 試験開始時 3.5ヶ月齢

観察期間：21日間観察

試験方法：試験動物の右眼の下側眼瞼結膜嚢内に検体を0.1mL点眼し、約1秒間閉じた。左眼は対照とした。また洗眼群では適用2～3分後に200mLの生理食塩水で洗眼した。

観察項目：検体適用前ならびに適用後1、24、48、72時間7、14及び21日目に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。眼の刺激反応はDraize(1959)に従い評価した。一般症状もあわせて観察した。

結果：結果を次頁の表に示す。

非洗眼群、洗眼群ともに、適用1時間後より結膜の発赤、浮腫、分泌物が観察され、洗眼群で虹彩の充血が1例で認められた。

適用後24時間に全試験動物で角膜の混濁が観察された。

適用後72時間では結膜の発赤、浮腫及び分泌物が減少し、適用後7日で非洗眼群で1例、洗眼群の全例が回復した。

非洗眼群で、適用後14日で4例が回復したが、残り2例では適用後21日の観察で角膜周辺の一部で血管増殖が認められた。

以上の結果より、本検体は中程度の眼一次刺激性を有することが認められた。洗眼群における症状の消失は非洗眼群より速やかであった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果の概要

項目			最高 評点	適用後時間								
				1時間	24時間	48時間	72時間	7日目	14日目	21日目		
洗 眼 群	動物 番号 1	角膜	混濁	4	0	1	1	1	1	1	1	
			面積	4	0	4	4	4	2	1	1	
		虹彩			2	0	0	0	1	0	0	0
		結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	0	0	
			浮腫	4	3	2	2	2	0	0	0	
	分泌物			3	3	2	1	1	0	0	0	
	動物 番号 2	角膜	混濁	4	0	1	1	1	0	0	0	
			面積	4	0	1	1	1	0	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	2	2	0	0	0	
			浮腫	4	3	2	2	2	0	0	0	
	分泌物			3	3	2	1	1	0	0	0	
	動物 番号 3	角膜	混濁	4	0	1	1	1	1	0	0	
			面積	4	0	4	4	4	1	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	2	1	1	0	0	0	
			浮腫	4	2	2	1	1	0	0	0	
	分泌物			3	3	2	2	1	0	0	0	
	動物 番号 4	角膜	混濁	4	0	1	1	1	1	0	0	
			面積	4	0	4	4	4	1	0	0	
		虹彩			2	0	0	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	2	2	1	1	0	0	0	
			浮腫	4	3	2	1	1	0	0	0	
	分泌物			3	3	2	1	1	0	0	0	
動物 番号 5	角膜	混濁	0	0	1	1	1	1	2	1		
		面積	0	0	4	4	4	3	2	1		
	虹彩			2	0	0	0	1	0	0		
	結膜	発赤	3	1	2	1	1	1	0	0		
		浮腫	4	3	2	1	1	0	0	0		
分泌物			3	3	2	2	2	0	0	0		
動物 番号 6	角膜	混濁	0	0	1	1	1	0	0	0		
		面積	0	0	4	4	4	0	0	0		
	虹彩			2	0	0	0	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1	2	2	1	1	0	0		
		浮腫	4	3	2	2	2	0	0	0		
分泌物			3	3	2	2	1	0	0	0		
合計			660	84	192	174	176	41	25	10		
平均			110	14	32	29	29.3	6.8	4.2	1.7		
洗 眼 群 (3匹平均)	角膜	混濁	4	0	1	1	1	0	0	0		
		面積	4	0	4	4	2.67	0	0	0		
	虹彩			2	0.33	0.33	0.33	0	0	0		
	結膜	発赤	3	1.33	2	1	1	0	0	0		
		浮腫	4	2	2	1.33	1	0	0	0		
	分泌物			3	2.33	2	0	0	0	0		
合計			330	39	101	79	52	0	0	0		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(7) モルモットを用いた皮膚感作性試験

(毒性資料No. 製剤-7)

試験機関：

報告書作成年：1990年 [GLP対応]

検体の純度： 3.7%ジフルフェニカン・ 37.0%トリフルラリン乳剤

供試動物： Hartley系モルモット

(5週齢、体重 雄：378～438g、雌：338～410g)

検体投与群雄雌10匹、陽性対照群雄雌5匹

観察期間： 約5週間観察

方 法： [Buehler法]

予備試験； 検体を蒸留水に懸濁した50、25及び10%(w/v)液と検体原液を0.5ml、フランネルパッチに湿し経皮投与した。適用前日に5匹の試験動物は刈毛した。その結果、24及び48時間後に検体原液及び50%懸濁液を投与した動物で軽度の浮腫が認められた。この結果から、本試験の感作に50%懸濁液、惹起に25%懸濁液を用いることとした。

陽性対照； 陽性対照物質DNCBは感作時は0.3 (w/v)%、惹起時は0.1 (w/v)%エタノール溶液に調製して適用した。

適用方法；

感作 適用前日に刈毛、剃毛した動物の左背部に、50%検体懸濁液を0.5ml塗布したフランネルパッチ(2.54×2.54cm)を6時間閉塞貼付した。また陽性対照群ではDNCB 0.3%エタノール溶液を、6時間閉塞貼付した。さらに初回投与後7及び、14日後に同様の方法で感作適用を実施した。

惹起 初回投与後4週間に適用前日に刈毛、剃毛した動物に右背部に、25%検体懸濁液を、また陽性対照群ではDNCB 0.1%エタノール溶液を、塗布したフランネルパッチ(2.54×2.54cm)を6時間閉塞貼付した。

観察項目： 各惹起投与のパッチを除去した24及び48時間後に適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、以下に示した評価方法に準じて採点した。

0-反応なし

1-散在性、軽度の紅斑

2-中等度の紅斑

3-強度の紅斑及び腫脹

また期間中、毎日一般状態を観察した。体重測定は投与開始時及び惹起暴露時に実施した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結 果 :

群			供試 動物 数	除去後24時間					除去後48時間					陽性率 (%)		
				評 点					評 点							
感作	惹起	性別		0	1	2	3	計	0	1	2	3	計	24h	48h	
検体	50%	25%	雄	10	9	1	0	0	1/10	9	1	0	0	1/10	10	10
		25%	雌	10	10	0	0	0	0/10	9	1	0	0	1/10	0	10
	溶媒	25%	雄	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
		25%	雌	10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0
陽性 対照 DNCB	0.3%	0.1%	雄	5	0	0	4	1	5/5	0	1	4	0	5/5	100	100
		0.1%	雌	5	0	0	4	1	5/5	0	2	3	0	5/5	100	100
	溶媒	0.1%	雄	5	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0
		0.1%	雌	5	5	0	0	0	0/5	3	2*	0	0	2/5	0	40

*一時刺激反応

検体感作群では、パッチ除去後24時間観察で雄1例に軽度の紅斑が認められた。48時間後には同一個体の雄1例及び雌1例に軽度の紅斑が見られた。無感作群では全例に皮膚反応は認められなかった。

一方、DNCB感作群ではパッチ除去24時間観察で雌雄とも4例に中等度の紅斑、1例に強度の紅斑がみられた。48時間後において、雄で4例に中等度の紅斑、1例に軽度の紅斑がみられ、雌では3例に中等度の紅斑、2例に軽度の紅斑がみられた。

一般状態及び体重推移に変化はみられなかった。

以上の結果より、本検体は軽度の感作性を有すると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4. 参考

ラットを用いた肝薬物代謝酵素誘導試験

(毒性資料No. 参考1)

試験機関：

報告書作成年：1986年 [GLP対応]

目 的：

検体純度：

試験動物：SD(CD)系雌雄ラット、体重(搬入時) 180～200g 1群雌雄各5匹

以下に示す実験計画に従って動物を屠殺した。

投与期間

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

14日間検体投与

試験日	対照群 雌雄各5匹	検体投与群 雌雄各5匹	陽性対照群① 雌雄各5匹	陽性対照群③ 雌雄各5匹
1～14日	無処置飼料	ジフルフェニカン 5000ppm 添加飼料	無処置飼料 12～14日 75mg/kg i. p. 投与	無処置飼料 12～14日 20mg/kg i. p. 投与
15日	体重測定、屠殺、肝臓摘出、肝臓重量。			

21日間検体投与

試験日	対照群 雌雄各5匹	21日間検体投与群 雌雄各5匹
1～21日	無処置飼料	ジフルフェニカン5000ppm 添加飼料
22日	体重測定、屠殺、肝臓摘出、肝臓重量、	

21日間検体投与後回復群

試験日	対照群 雌雄各5匹	21日間検体投与後回復群 雌雄各5匹	陽性対照群② 雌雄各5匹
1～21日	無処置飼料	ジフルフェニカン添加飼料	無処置飼料 26～28日 75mg/kg i. p. 投与
22～28日		無処置飼料	
29日	体重測定、屠殺、肝臓摘出、肝臓重量測定。陽性対照群②；		

試験項目及び結果：

検体摂取量；摂餌量から算出した平均検体摂取量を以下に示す。

投与群 (ppm)		5000	
		14日間投与後屠殺動物	21日間投与後屠殺動物
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	2022±3	1819±107
	雌	1945±176	1815±80

平均±SD

臓器重量；全生存動物から肝臓を摘出し重量を測定し、対体重比を算出した。

その結果、検体投与した雄ではごく僅かの対体重比の上昇がみられた。雌では雄に比べ、対体重比の上昇が明白であった。これに対し、陽性対照群ではいずれも対体重比の上昇が認められた。

肝臓重量対体重比

検査時期 試験群	雄			雌		
	14日間 投与	21日間 投与	21日間投与 後7日間回復	14日間 投与	21日間 投与	21日間投与 後7日間回復
検体投与群	100	105	108	111	111	120
陽性対照①	128	—	—	120	—	—
陽性対照②	—	—	124	—	—	114
陽性対照③	113	—	—	126	—	—

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

--

総蛋白量は検体投与群で検体14日間投与後に雌雄とも統計学的有意差を伴って上昇がみられた。しかし、21日後には反対に対照群に比べ低下がみられ、雄では統計学的有意差を伴っていた。

以上の結果、ジフルフェニカンを5000ppmの混餌濃度で14日間あるいは21日間投与した結果、肝臓重量対体重比は雌で増加したが、雄ではごく軽度の増加がみられたにすぎなかった。

従って、本検体は肝臓薬物代謝酵素誘導作用を有するが、軽度であると考えられた。

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	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																											
代1	動物体内運命 (吸収、分布、排泄)	ラット 1群雌雄各5匹	単回経口投与 高用量群：250mg/kg 低用量群：5mg/kg 糞、尿、血液を経時的に採取。7日後に屠殺して各組織の放射能を測定。	<p><排泄> 投与されたジフルフェニカンは、7日後には体内よりほぼ完全に排泄された。主要な排泄経路は雌雄とも糞であった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">放射能割合(%投与量)</th> </tr> <tr> <th>250mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>1.95</td> <td>1.91</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>86.68</td> <td>93.80</td> </tr> <tr> <td>組織</td> <td>0.18</td> <td>0.02</td> </tr> <tr> <th>5mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> <tr> <td>尿</td> <td>5.88</td> <td>7.20</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>91.18</td> <td>96.69</td> </tr> <tr> <td>組織</td> <td>0.10</td> <td>0.11</td> </tr> </tbody> </table> <p><血中総放射能> 5mg/kg群 検出限界未満 250mg/kg群 ・Tmax：19時間(雄)、18時間(雌) ・Cmax：1～2 ジフルフェニカン当量mg/kg ・半減期：61時間(雄)、50時間(雌)</p> <p><分布> 投与放射能は臓器及び組織中に広範に分布し、脂肪、生殖腺、副腎及び皮膚などの脂肪含量の多い組織で、他と比べてやや高い放射能が認められた。</p>	放射能割合(%投与量)			250mg/kg	雄	雌	尿	1.95	1.91	糞	86.68	93.80	組織	0.18	0.02	5mg/kg	雄	雌	尿	5.88	7.20	糞	91.18	96.69	組織	0.10	0.11		代 -13
放射能割合(%投与量)																																	
250mg/kg	雄	雌																															
尿	1.95	1.91																															
糞	86.68	93.80																															
組織	0.18	0.02																															
5mg/kg	雄	雌																															
尿	5.88	7.20																															
糞	91.18	96.69																															
組織	0.10	0.11																															
代2	動物体内運命 (代謝)	ラット 1群雌雄各5匹	単回経口投与 高用量群：250mg/kg 低用量群：5mg/kg (試料No.代1の尿及び糞を使用)	<p><尿中代謝物> 投与後3又は4日間の生成量 (%投与量)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>250mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ジフルフェニカン[A]</td> <td>0.50</td> <td>0.01</td> </tr> <tr> <th>5mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> <tr> <td>ジフルフェニカン[A]</td> <td>0.65</td> <td>0.58</td> </tr> </tbody> </table> <p><糞中代謝物> 投与後4日間の生成量 (%投与量)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>250mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ジフルフェニカン[A]</td> <td>67.89</td> <td>75.09</td> </tr> </tbody> </table> <p>投与されたジフルフェニカンの大部分は未変化のまま糞から排泄された。</p>	250mg/kg	雄	雌	ジフルフェニカン[A]	0.50	0.01	5mg/kg	雄	雌	ジフルフェニカン[A]	0.65	0.58	250mg/kg	雄	雌	ジフルフェニカン[A]	67.89	75.09		代 -17									
250mg/kg	雄	雌																															
ジフルフェニカン[A]	0.50	0.01																															
5mg/kg	雄	雌																															
ジフルフェニカン[A]	0.65	0.58																															
250mg/kg	雄	雌																															
ジフルフェニカン[A]	67.89	75.09																															

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																		
代3	動物体内運命 (胆汁排泄、代謝)	ラット 1群雌雄各5匹	単回経口投与 高用量群：250mg/kg 低用量群：5mg/kg 胆管カニューレを挿入し、胆汁を採取。	<p><胆汁中排泄率> (%投与量)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">投与後時間 (h)</th> <th colspan="2">250mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0- 4</td><td>0.96</td><td>0.76</td></tr> <tr><td>0- 8</td><td>2.48</td><td>2.36</td></tr> <tr><td>0-12</td><td>3.60</td><td>4.17</td></tr> <tr><td>0-16</td><td>5.90</td><td>5.91</td></tr> <tr><td>0-24</td><td>8.62</td><td>8.75</td></tr> <tr><td>0-32</td><td>10.73</td><td>10.89</td></tr> <tr><td>0-48</td><td>12.82</td><td>14.10</td></tr> <tr><td>0-68</td><td>13.71</td><td>15.30</td></tr> <tr><td>0-92</td><td>13.10</td><td>17.17</td></tr> <tr><td>0-116</td><td>12.26</td><td>21.38</td></tr> <tr><td>0-140</td><td>12.32</td><td>21.45</td></tr> <tr><td>0-168</td><td>—</td><td>21.46</td></tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">投与後時間 (h)</th> <th colspan="2">5mg/kg</th> </tr> <tr> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0- 4</td><td>3.79</td><td>4.62</td></tr> <tr><td>0- 8</td><td>12.73</td><td>10.68</td></tr> <tr><td>0-12</td><td>19.66</td><td>16.16</td></tr> <tr><td>0-16</td><td>25.79</td><td>22.37</td></tr> <tr><td>0-24</td><td>34.74</td><td>30.23</td></tr> <tr><td>0-32</td><td>41.46</td><td>35.62</td></tr> <tr><td>0-48</td><td>49.15</td><td>34.04</td></tr> <tr><td>0-68</td><td>51.72</td><td>37.38</td></tr> <tr><td>0-92</td><td>47.08</td><td>39.89</td></tr> <tr><td>0-116</td><td>47.60</td><td>41.26</td></tr> <tr><td>0-140</td><td>47.92</td><td>42.02</td></tr> <tr><td>0-168</td><td>48.11</td><td>42.48</td></tr> </tbody> </table> <p>投与放射能は、投与後7日間に高投与群で約10～20%が、低投与群で約20～78%が胃腸管から吸収され、広範に代謝された。胆汁中にジフルフェニカン[A]は認められず、 が認められた。</p>	投与後時間 (h)	250mg/kg		雄	雌	0- 4	0.96	0.76	0- 8	2.48	2.36	0-12	3.60	4.17	0-16	5.90	5.91	0-24	8.62	8.75	0-32	10.73	10.89	0-48	12.82	14.10	0-68	13.71	15.30	0-92	13.10	17.17	0-116	12.26	21.38	0-140	12.32	21.45	0-168	—	21.46	投与後時間 (h)	5mg/kg		雄	雌	0- 4	3.79	4.62	0- 8	12.73	10.68	0-12	19.66	16.16	0-16	25.79	22.37	0-24	34.74	30.23	0-32	41.46	35.62	0-48	49.15	34.04	0-68	51.72	37.38	0-92	47.08	39.89	0-116	47.60	41.26	0-140	47.92	42.02	0-168	48.11	42.48		代 -20
投与後時間 (h)	250mg/kg																																																																																							
	雄	雌																																																																																						
0- 4	0.96	0.76																																																																																						
0- 8	2.48	2.36																																																																																						
0-12	3.60	4.17																																																																																						
0-16	5.90	5.91																																																																																						
0-24	8.62	8.75																																																																																						
0-32	10.73	10.89																																																																																						
0-48	12.82	14.10																																																																																						
0-68	13.71	15.30																																																																																						
0-92	13.10	17.17																																																																																						
0-116	12.26	21.38																																																																																						
0-140	12.32	21.45																																																																																						
0-168	—	21.46																																																																																						
投与後時間 (h)	5mg/kg																																																																																							
	雄	雌																																																																																						
0- 4	3.79	4.62																																																																																						
0- 8	12.73	10.68																																																																																						
0-12	19.66	16.16																																																																																						
0-16	25.79	22.37																																																																																						
0-24	34.74	30.23																																																																																						
0-32	41.46	35.62																																																																																						
0-48	49.15	34.04																																																																																						
0-68	51.72	37.38																																																																																						
0-92	47.08	39.89																																																																																						
0-116	47.60	41.26																																																																																						
0-140	47.92	42.02																																																																																						
0-168	48.11	42.48																																																																																						
代4	動物体内運命 (吸収、分布)	ラット 1群雌雄各3～4匹	単回経口投与 高用量群：250mg/kg 低用量群：5mg/kg 血液を経時的に採取。2.5～32時間後に屠殺して各組織の放射能を測定。	<p><血中総放射能></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>250mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Tmax (h)</td><td>6</td><td>12</td></tr> <tr><td>Cmax (mg/kg)</td><td>1.482</td><td>1.532</td></tr> <tr><td>1/2Cmax (h) (吸収)</td><td>3</td><td>3.5</td></tr> <tr><td>1/2Cmax (h) (消失)</td><td>32</td><td>22.5</td></tr> </tbody> </table> <table border="1"> <thead> <tr> <th>5mg/kg</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>Tmax (h)</td><td>6</td><td>6</td></tr> <tr><td>Cmax (mg/kg)</td><td>0.174</td><td>0.123</td></tr> <tr><td>1/2Cmax (h) (吸収)</td><td>2.5</td><td>2.75</td></tr> <tr><td>1/2Cmax (h) (消失)</td><td>14</td><td>14</td></tr> </tbody> </table> <p><組織内分布> 投与放射能は組織中に広範に分布した。放射能濃度は、脂肪、子宮及び卵巣では減衰が認められなかったが、その他の組織では急速に減少した。</p>	250mg/kg	雄	雌	Tmax (h)	6	12	Cmax (mg/kg)	1.482	1.532	1/2Cmax (h) (吸収)	3	3.5	1/2Cmax (h) (消失)	32	22.5	5mg/kg	雄	雌	Tmax (h)	6	6	Cmax (mg/kg)	0.174	0.123	1/2Cmax (h) (吸収)	2.5	2.75	1/2Cmax (h) (消失)	14	14		代 -27																																																				
250mg/kg	雄	雌																																																																																						
Tmax (h)	6	12																																																																																						
Cmax (mg/kg)	1.482	1.532																																																																																						
1/2Cmax (h) (吸収)	3	3.5																																																																																						
1/2Cmax (h) (消失)	32	22.5																																																																																						
5mg/kg	雄	雌																																																																																						
Tmax (h)	6	6																																																																																						
Cmax (mg/kg)	0.174	0.123																																																																																						
1/2Cmax (h) (吸収)	2.5	2.75																																																																																						
1/2Cmax (h) (消失)	14	14																																																																																						

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																																																				
代5	動物体内運命 (ADME)	ラット 1群雌雄 各4~5匹	単回経口投与 投与量: 5mg/kg ・ ADME試験 () ・ 血中濃度測定試験 () ・ 胆汁排泄試験 () 糞、尿、血液を経時的に採取。7日後に屠殺して各組織の放射能を測定。	<p><排泄> ADME試験 投与されたジフルフェニカンは、7日後には体内よりほぼ完全に排泄された。主要な排泄経路は、いずれの標識位置、性とも糞(80.45~87.97%)であり、体内に残存した放射能は0.57~1.62%であった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="5">放射能割合 (%投与量)</th> </tr> <tr> <th>標識</th> <th colspan="4"></th> </tr> <tr> <th>試料</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>6.20</td> <td>5.62</td> <td>7.44</td> <td>6.05</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>87.97</td> <td>82.09</td> <td>84.55</td> <td>80.45</td> </tr> <tr> <td>呼気</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> <td>ND</td> </tr> <tr> <td>組織</td> <td>0.57</td> <td>1.62</td> <td>1.36</td> <td>1.06</td> </tr> </tbody> </table> <p>胆汁排泄試験 投与されたジフルフェニカンの吸収率は雄55.04%、雌64.32%と計算された。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="3">放射能割合 (%投与量)</th> </tr> <tr> <th>標識</th> <th colspan="2"></th> </tr> <tr> <th>試料</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>3.85</td> <td>4.38</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>42.81</td> <td>3.60</td> </tr> <tr> <td>胆汁</td> <td>38.81</td> <td>30.21</td> </tr> <tr> <td>組織</td> <td>13.20</td> <td>53.53</td> </tr> </tbody> </table> <p><血中総放射能></p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>標識</th> <th colspan="4"></th> </tr> <tr> <th>性</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>パラメータ</td> <td colspan="4">全血</td> </tr> <tr> <td>Cmax (µg/g)</td> <td>0.1427</td> <td>0.1089</td> <td>0.1800</td> <td>0.1301</td> </tr> <tr> <td>Tmax(h)</td> <td>5.131</td> <td>6.131</td> <td>11.16</td> <td>3.18</td> </tr> <tr> <td>半減期(h)</td> <td>53.51</td> <td>61.68</td> <td>23.11</td> <td>30.39</td> </tr> <tr> <td>AUC (µg·h/g)</td> <td>3.298</td> <td>3.464</td> <td>3.572</td> <td>2.837</td> </tr> <tr> <td>パラメータ</td> <td colspan="4">血漿</td> </tr> <tr> <td>Cmax (µg/g)</td> <td>0.1407</td> <td>0.0790</td> <td>0.1855</td> <td>0.1058</td> </tr> <tr> <td>Tmax(h)</td> <td>8.105</td> <td>6.220</td> <td>11.43</td> <td>5.18</td> </tr> <tr> <td>半減期(h)</td> <td>22.27</td> <td>18.29</td> <td>15.55</td> <td>14.08</td> </tr> <tr> <td>AUC (µg·h/g)</td> <td>2.749</td> <td>2.143</td> <td>3.524</td> <td>2.374</td> </tr> </tbody> </table> <p><組織内分布> いずれの標識位置、性においても放射能濃度が高かった組織は脂肪及び腸 (内容物を含む)であった。</p>	放射能割合 (%投与量)					標識					試料	雄	雌	雄	雌	尿	6.20	5.62	7.44	6.05	糞	87.97	82.09	84.55	80.45	呼気	ND	ND	ND	ND	組織	0.57	1.62	1.36	1.06	放射能割合 (%投与量)			標識			試料	雄	雌	尿	3.85	4.38	糞	42.81	3.60	胆汁	38.81	30.21	組織	13.20	53.53	標識					性	雄	雌	雄	雌	パラメータ	全血				Cmax (µg/g)	0.1427	0.1089	0.1800	0.1301	Tmax(h)	5.131	6.131	11.16	3.18	半減期(h)	53.51	61.68	23.11	30.39	AUC (µg·h/g)	3.298	3.464	3.572	2.837	パラメータ	血漿				Cmax (µg/g)	0.1407	0.0790	0.1855	0.1058	Tmax(h)	8.105	6.220	11.43	5.18	半減期(h)	22.27	18.29	15.55	14.08	AUC (µg·h/g)	2.749	2.143	3.524	2.374		代-31
放射能割合 (%投与量)																																																																																																																										
標識																																																																																																																										
試料	雄	雌	雄	雌																																																																																																																						
尿	6.20	5.62	7.44	6.05																																																																																																																						
糞	87.97	82.09	84.55	80.45																																																																																																																						
呼気	ND	ND	ND	ND																																																																																																																						
組織	0.57	1.62	1.36	1.06																																																																																																																						
放射能割合 (%投与量)																																																																																																																										
標識																																																																																																																										
試料	雄	雌																																																																																																																								
尿	3.85	4.38																																																																																																																								
糞	42.81	3.60																																																																																																																								
胆汁	38.81	30.21																																																																																																																								
組織	13.20	53.53																																																																																																																								
標識																																																																																																																										
性	雄	雌	雄	雌																																																																																																																						
パラメータ	全血																																																																																																																									
Cmax (µg/g)	0.1427	0.1089	0.1800	0.1301																																																																																																																						
Tmax(h)	5.131	6.131	11.16	3.18																																																																																																																						
半減期(h)	53.51	61.68	23.11	30.39																																																																																																																						
AUC (µg·h/g)	3.298	3.464	3.572	2.837																																																																																																																						
パラメータ	血漿																																																																																																																									
Cmax (µg/g)	0.1407	0.0790	0.1855	0.1058																																																																																																																						
Tmax(h)	8.105	6.220	11.43	5.18																																																																																																																						
半減期(h)	22.27	18.29	15.55	14.08																																																																																																																						
AUC (µg·h/g)	2.749	2.143	3.524	2.374																																																																																																																						

資料 No.	試験の 種類	供試 動植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載 頁																																																																				
代5 (続)	動物体内運命 (ADME)	ラット 1群雌雄 各4~5匹	単回経口投与 投与量：5mg/kg ・ ADME試験 () ・ 血中濃度測定試験 () ・ 胆汁排泄試験 () 糞、尿、血液を経時的 的に採取。7日後に屠 殺して各組織の放射 能を測定。	<p><糞中代謝物> (%投与量)</p> <table border="1" data-bbox="742 301 1197 573"> <thead> <tr> <th>標識</th> <th colspan="4"></th> </tr> <tr> <th>代謝物</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ジフルフェニカン[A]</td> <td>28.0</td> <td>19.3</td> <td>32.4</td> <td>25.2</td> </tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <p><尿中代謝物> (%投与量)</p> <table border="1" data-bbox="742 619 1197 721"> <thead> <tr> <th>標識</th> <th colspan="4"></th> </tr> <tr> <th>代謝物</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ジフルフェニカン[A]</td> <td>0.04</td> <td>0.37</td> <td>0.24</td> <td>0.37</td> </tr> </tbody> </table> <p><胆汁中代謝物> (%投与量)</p> <table border="1" data-bbox="742 777 1134 966"> <thead> <tr> <th>標識</th> <th colspan="2"></th> </tr> <tr> <th>代謝物</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> <tr><td> </td><td> </td><td> </td></tr> </tbody> </table> <p>以上の代謝物のうち、ジフルフェニカン [A]及び 以外は推定構造</p>	標識					代謝物	雄	雌	雄	雌	ジフルフェニカン[A]	28.0	19.3	32.4	25.2																					標識					代謝物	雄	雌	雄	雌	ジフルフェニカン[A]	0.04	0.37	0.24	0.37	標識			代謝物	雄	雌														代 -31
標識																																																																										
代謝物	雄	雌	雄	雌																																																																						
ジフルフェニカン[A]	28.0	19.3	32.4	25.2																																																																						
標識																																																																										
代謝物	雄	雌	雄	雌																																																																						
ジフルフェニカン[A]	0.04	0.37	0.24	0.37																																																																						
標識																																																																										
代謝物	雄	雌																																																																								
代6	動物体内運命 (分布、 代謝、 排泄)	ラット 1群雌雄 各5匹	14日間反復経口投与 投与量：5mg/kg/日 糞、尿を経時的に採 取。最終投与7日後に 屠殺して各組織の放 射能を測定。	<p><排泄> 投与されたジフルフェニカンは、7日後には 体内からほぼ完全に排泄された。主要な排泄 経路は雌雄とも糞(約91%)であり、体内に残 存した放射能は総投与放射能の0.255~ 0.304%であった。</p> <table border="1" data-bbox="742 1295 1184 1456"> <thead> <tr> <th></th> <th colspan="2">放射能割合 (%総投与量)</th> </tr> <tr> <th>試料</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>3.103</td> <td>2.810</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>91.058</td> <td>91.123</td> </tr> <tr> <td>組織</td> <td>0.255</td> <td>0.304</td> </tr> </tbody> </table> <p><組織内分布> 最も放射能濃度が高かった組織は脂肪であ り、腸 (内容物を含む)、ハーダー腺、精巢 、卵巣でも比較的濃度が高かった。</p> <p><代謝> 糞における主要な代謝物はジフルフェニカ ン[A]及び で総投与放射能 の10%以上生成された。 は 尿でも検出された(総投与放射能の1%未満) 。その他に と推定される代謝 物が尿もしくは糞で検出されたが、いずれも 総投与放射能の5%未満であった。</p>		放射能割合 (%総投与量)		試料	雄	雌	尿	3.103	2.810	糞	91.058	91.123	組織	0.255	0.304		代 -39																																																					
	放射能割合 (%総投与量)																																																																									
試料	雄	雌																																																																								
尿	3.103	2.810																																																																								
糞	91.058	91.123																																																																								
組織	0.255	0.304																																																																								

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																							
代7	植物体内運命	小麦	500g/haを小麦発芽前に土壌処理	<p>収穫期の種子には、処理放射能の0.075% (0.10ジフルフェニカン相当mg/kg)が残留した。この放射能はアセトンでは抽出されず、メタノール/Na₂CO₃水溶液により45%が抽出された。 未変化のジフルフェニカンは0.02mg/kgであった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処理後 日数</th> <th colspan="4">残留放射能 (%処理量)</th> </tr> <tr> <th>土壌</th> <th>茎葉</th> <th>地下部</th> <th>種子</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><1</td> <td>99.9</td> <td>—</td> <td><0.01</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>22</td> <td>97.8</td> <td>0.065</td> <td>0.025</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>29</td> <td>92.0</td> <td>0.13</td> <td>0.04</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>41</td> <td>94.5</td> <td>0.285</td> <td>0.17</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>48</td> <td>91.6</td> <td>0.335</td> <td>0.295</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>98</td> <td>83.5</td> <td>1.24</td> <td>0.25</td> <td>0.075</td> </tr> </tbody> </table>	処理後 日数	残留放射能 (%処理量)				土壌	茎葉	地下部	種子	<1	99.9	—	<0.01	—	22	97.8	0.065	0.025	—	29	92.0	0.13	0.04	—	41	94.5	0.285	0.17	—	48	91.6	0.335	0.295	—	98	83.5	1.24	0.25	0.075		代-46
処理後 日数	残留放射能 (%処理量)																																												
	土壌	茎葉	地下部	種子																																									
<1	99.9	—	<0.01	—																																									
22	97.8	0.065	0.025	—																																									
29	92.0	0.13	0.04	—																																									
41	94.5	0.285	0.17	—																																									
48	91.6	0.335	0.295	—																																									
98	83.5	1.24	0.25	0.075																																									
代8	植物体内運命	小麦	500g/haを小麦発芽前に土壌処理	<p>収穫期の種子 (は種129日後) には、ジフルフェニカン相当量として0.07mg/kg残留した。この放射能の溶媒による抽出率は以下のとおりであった。 未変化のジフルフェニカンは0.008mg/kgであった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>抽出溶媒</th> <th>放射能回収率 (%TRR)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ヘキサン</td> <td>2.46</td> </tr> <tr> <td>クロロホルム</td> <td>1.51</td> </tr> <tr> <td>アセトン</td> <td>6.22</td> </tr> <tr> <td>メタノール</td> <td>2.04</td> </tr> <tr> <td>メタノール/水</td> <td>37.75</td> </tr> <tr> <td>水</td> <td>7.94</td> </tr> </tbody> </table>	抽出溶媒	放射能回収率 (%TRR)	ヘキサン	2.46	クロロホルム	1.51	アセトン	6.22	メタノール	2.04	メタノール/水	37.75	水	7.94		代-52																									
抽出溶媒	放射能回収率 (%TRR)																																												
ヘキサン	2.46																																												
クロロホルム	1.51																																												
アセトン	6.22																																												
メタノール	2.04																																												
メタノール/水	37.75																																												
水	7.94																																												
代9	植物体内運命	小麦	416g/ha相当量を3葉期の小麦の葉に塗布処理	<p>ジフルフェニカンを小麦の葉に処理した場合、放射能の80%以上は収穫期まで処理した葉に残留した。処理放射能の76%以上は処理葉の表面洗浄により回収され、植物体への移行は少なかった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">処理後 日数</th> <th colspan="4">残留放射能 (%処理量)</th> </tr> <tr> <th>土壌</th> <th>処理葉</th> <th>地下部</th> <th>種子</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><1</td> <td><0.1</td> <td>93.6</td> <td><0.05</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>13</td> <td>0.45</td> <td>81.7</td> <td><0.05</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>27</td> <td>0.40</td> <td>83.3</td> <td><0.05</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>34</td> <td>0.90</td> <td>84.1</td> <td><0.05</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>88</td> <td>4.7</td> <td>85.8</td> <td><0.05</td> <td>0.25</td> </tr> </tbody> </table>	処理後 日数	残留放射能 (%処理量)				土壌	処理葉	地下部	種子	<1	<0.1	93.6	<0.05	—	13	0.45	81.7	<0.05	—	27	0.40	83.3	<0.05	—	34	0.90	84.1	<0.05	—	88	4.7	85.8	<0.05	0.25		代-57					
処理後 日数	残留放射能 (%処理量)																																												
	土壌	処理葉	地下部	種子																																									
<1	<0.1	93.6	<0.05	—																																									
13	0.45	81.7	<0.05	—																																									
27	0.40	83.3	<0.05	—																																									
34	0.90	84.1	<0.05	—																																									
88	4.7	85.8	<0.05	0.25																																									

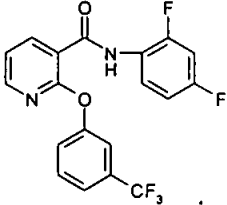
資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																		
代10	植物体内運命	キャベツ てんさい 小麦	364g/ha相当量又は728g/ha相当量を土壌処理し、12週後に作付け は364g/haのみ 実施	<p><キャベツ> 最終収穫試料（移植83日後）総放射能残留は下表のとおりであった。 このうち71～81%が溶媒抽出された。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="5">総放射能残留 (mg/kg)</th> </tr> <tr> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>364g/ha</td> <td>728g/ha</td> <td>364g/ha</td> <td>728g/ha</td> <td>364g/ha</td> </tr> <tr> <td>0.003</td> <td>0.004</td> <td>0.012</td> <td>0.025</td> <td>0.010</td> </tr> </tbody> </table> <p>ジフルフェニカン[A]、 がTRRの10%以上認められたが、いずれも0.01mg/kg未満であった。</p> <p><てんさい> 最終収穫試料（移植196日後）総放射能残留は下表のとおりであった。 このうち葉部では64～84%が、根部では67～92%が溶媒抽出された。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">部位</th> <th colspan="5">総放射能残留 (mg/kg)</th> </tr> <tr> <th>364g/ha</th> <th>728g/ha</th> <th>364g/ha</th> <th>728g/ha</th> <th>364g/ha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>葉部</td> <td>0.016</td> <td>0.020</td> <td>0.050</td> <td>0.084</td> <td>0.040</td> </tr> <tr> <td>根部</td> <td>0.014</td> <td>0.016</td> <td>0.055</td> <td>0.085</td> <td>0.049</td> </tr> </tbody> </table> <p>葉部ではジフルフェニカン[A] (<0.01mg/kg) 、 がTRRの10%以上認められた。 根部では がTRRの10%以上認められた。</p> <p><小麦> 最終収穫試料（移植125日後）総放射能残留は下表のとおりであった。 このうち穀粒では53～89%が、わらでは43～76%が溶媒抽出された。溶媒抽出後に酵素加水分解、塩酸加水分解による追加抽出を行った結果、穀粒の で20%が、わらの では6%が、更に抽出された。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">部位</th> <th colspan="5">総放射能残留 (mg/kg)</th> </tr> <tr> <th>364g/ha</th> <th>728g/ha</th> <th>364g/ha</th> <th>728g/ha</th> <th>364g/ha</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>穀粒</td> <td>0.012</td> <td>0.018</td> <td>0.037</td> <td>0.084</td> <td>0.035</td> </tr> <tr> <td>わら</td> <td>0.152</td> <td>0.156</td> <td>0.081</td> <td>0.313</td> <td>0.174</td> </tr> </tbody> </table> <p>穀粒、わら共に、極性成分のみがTRRの10%以上認められ、その量は穀粒で最大0.03mg/kg、わらで最大0.08mg/kgであった。</p>	総放射能残留 (mg/kg)										364g/ha	728g/ha	364g/ha	728g/ha	364g/ha	0.003	0.004	0.012	0.025	0.010	部位	総放射能残留 (mg/kg)					364g/ha	728g/ha	364g/ha	728g/ha	364g/ha	葉部	0.016	0.020	0.050	0.084	0.040	根部	0.014	0.016	0.055	0.085	0.049	部位	総放射能残留 (mg/kg)					364g/ha	728g/ha	364g/ha	728g/ha	364g/ha	穀粒	0.012	0.018	0.037	0.084	0.035	わら	0.152	0.156	0.081	0.313	0.174		代 -61
総放射能残留 (mg/kg)																																																																								
364g/ha	728g/ha	364g/ha	728g/ha	364g/ha																																																																				
0.003	0.004	0.012	0.025	0.010																																																																				
部位	総放射能残留 (mg/kg)																																																																							
	364g/ha	728g/ha	364g/ha	728g/ha	364g/ha																																																																			
葉部	0.016	0.020	0.050	0.084	0.040																																																																			
根部	0.014	0.016	0.055	0.085	0.049																																																																			
部位	総放射能残留 (mg/kg)																																																																							
	364g/ha	728g/ha	364g/ha	728g/ha	364g/ha																																																																			
穀粒	0.012	0.018	0.037	0.084	0.035																																																																			
わら	0.152	0.156	0.081	0.313	0.174																																																																			

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁																													
代11	植物体内運命	小麦	187.5g/ha又は937.5g/haを小麦播種後発芽前に土壌全面処理	<p>187.5g/ha処理した小麦（最終収穫試料：処理272日後）中の総放射能残留は低く、以下のとおりであった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">部位</th> <th colspan="3">総放射能残留 (mg/kg)</th> </tr> <tr> <th></th> <th></th> <th></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>穀粒</td> <td>0.002</td> <td><0.001</td> <td>0.002</td> </tr> <tr> <td>籾殻</td> <td>0.004</td> <td>0.003</td> <td>0.008</td> </tr> <tr> <td>わら(上部)</td> <td>0.010</td> <td>0.006</td> <td>0.009</td> </tr> <tr> <td>わら(下部)</td> <td>0.024</td> <td>0.012</td> <td>0.015</td> </tr> </tbody> </table> <p>溶媒による抽出率は、穀粒で総放射能残留の54.80%、籾殻で67.28～74.98%、わら(上部)で62.70～94.74%、わら(下部)で71.82～89.81%であった。</p> <p>穀粒及び籾殻において抽出された放射能の大部分は であり、代謝物は同定されなかった。</p> <p>187.5g/ha処理区のわら(上部)及びわら(下部)においてジフルフェニカン[A]が総放射能残留の2.0～30.0%検出されたが、いずれも0.01 mg/kg未満であった。その他に がいくつか認められた。</p>	部位	総放射能残留 (mg/kg)						穀粒	0.002	<0.001	0.002	籾殻	0.004	0.003	0.008	わら(上部)	0.010	0.006	0.009	わら(下部)	0.024	0.012	0.015		代-74						
部位	総放射能残留 (mg/kg)																																		
穀粒	0.002	<0.001	0.002																																
籾殻	0.004	0.003	0.008																																
わら(上部)	0.010	0.006	0.009																																
わら(下部)	0.024	0.012	0.015																																
代12	植物体内運命	小麦	187.5g/ha又は400.0g/haを小麦3葉期土壌全面処理	<p>最終収穫試料（処理201日後）中の総放射能残留は以下のとおりであった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">部位</th> <th colspan="4">総放射能残留 (mg/kg)</th> </tr> <tr> <th colspan="2">187.5g/ha処理</th> <th colspan="2">400.0g/ha処理</th> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>穀粒</td> <td><0.001</td> <td>0.003</td> <td>0.002</td> <td>0.011</td> </tr> <tr> <td>籾殻</td> <td>0.003</td> <td>0.011</td> <td>0.017</td> <td>0.055</td> </tr> <tr> <td>わら</td> <td>0.007</td> <td>0.010</td> <td>0.035</td> <td>0.047</td> </tr> </tbody> </table> <p>溶媒による抽出率は、穀粒で総放射能残留の72.8%、わらで53.2～83.9%であった。</p> <p>穀粒において抽出された放射能は主に であり、 も検出された。</p> <p>187.5g/ha処理区のわらにおいてジフルフェニカン[A]が総放射能残留の12.2～16.3%検出されたが、いずれも0.002 mg/kg以下であった。その他に が認められた。</p>	部位	総放射能残留 (mg/kg)				187.5g/ha処理		400.0g/ha処理							穀粒	<0.001	0.003	0.002	0.011	籾殻	0.003	0.011	0.017	0.055	わら	0.007	0.010	0.035	0.047		代-79
部位	総放射能残留 (mg/kg)																																		
	187.5g/ha処理		400.0g/ha処理																																
穀粒	<0.001	0.003	0.002	0.011																															
籾殻	0.003	0.011	0.017	0.055																															
わら	0.007	0.010	0.035	0.047																															

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁								
代13	土壌中運命 好気条件	砂壤土及び 埴壤土	処理濃度：2.5mg/kg 試験温度：22℃ 試験期間：52週間	本条件下でジフルフェニカンは比較的緩やかに分解し、DT ₅₀ は砂壤土で8ヶ月、埴壤土で6ヶ月であった。 処理放射能の10%を超える代謝物はのみであり、52週後には砂壤土で42.8%、埴壤土で51.2%に達した。マイナーな代謝物として、と 推定される化合物が認められた。		代-83								
代14	加水分解	pH 5, 7及び9の緩衝液	設定濃度：0.01 mg/L 試験温度：22℃ 試験期間：30日間	試験期間中、いずれのpHにおいてもジフルフェニカンは安定であった。		代-90								
代15	水中光分解	pH 9緩衝液	設定濃度：0.01 mg/L 試験温度：22℃ 光源：Blacklight Blue 蛍光灯a 量子量： 1×10 ¹⁷ quanta/min (300~450nm) 試験期間：30日間	光照射区においてジフルフェニカンは半減期97日で減衰した。30日後において、分解物としてが総放射能の11%認められ、その他に認められた。		代-92								
代16	水中光分解	pH 7緩衝液	設定濃度：0.025 mg/L 試験温度：25℃ 光源：キセノンランプ 光強度：37.8W/m ² (300~400nm) 試験期間：17日間	光照射区においてジフルフェニカンは半減期133日 (北緯35°春期太陽光換算で1.8年)で減衰した。非照射区においては有意な分解は認められなかった。 処理放射能の10%を超える分解物は認められず、 がわずかに認められた。		代-95								
代17	水中光分解	自然水	設定濃度：0.0275mg/L 試験温度：25℃ 光源：キセノンランプ 光強度：37.8W/m ² (300~400nm) 試験期間：17日間	光照射区においてジフルフェニカンは半減期80日 (北緯35°春期太陽光換算で1.1年)で減衰した。非照射区においては有意な分解は認められなかった。 その他 に2%を越える分解物は認められなかった。		代-99								
代18	土壌吸着	非火山灰土壌:3種 火山灰土壌:1種	試験温度：25℃	平衡化後の水相中ジフルフェニカン濃度は低く、K _{roc} は求められなかった。 参考として、1試験濃度におけるK _d (土壌濃度/水相濃度)を計算した。 <table border="1" data-bbox="726 1700 1204 1848"> <thead> <tr> <th>細粒黄色土 (CL)</th> <th>細粒グライ土 (LiC)</th> <th>褐色火山灰土 (SiCL)</th> <th>中粗粒黄色土 (SCL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>82</td> <td>算出不可</td> <td>146</td> <td>53</td> </tr> </tbody> </table>	細粒黄色土 (CL)	細粒グライ土 (LiC)	褐色火山灰土 (SiCL)	中粗粒黄色土 (SCL)	82	算出不可	146	53		代-105
細粒黄色土 (CL)	細粒グライ土 (LiC)	褐色火山灰土 (SiCL)	中粗粒黄色土 (SCL)											
82	算出不可	146	53											
代19	生物濃縮性	ニジマス	0.3, 3.0µg/L 流水式 28日間取り込み 14日間排泄	濃縮係数 BCF _k 1276(0.3µg/L), 1596(3.0µg/L) BCF _{ss} 910-1969(0.3µg/L), 1159-2072(3.0µg/L)		代-107								

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

<代謝分解物一覧>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
A	親化合物	ジフルフェニカン	2',4'-ジフルオロ-2-(α,α,α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド*	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

1. 動物体内運命試験

1) ^{14}C -ジフルフェニカンのラット体内における吸収、分布及び排泄

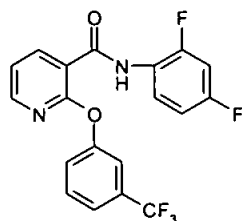
(資料No. 代1)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式；



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリフルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ^{14}C -ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試動物： Charles River CD 系 (Sprague-Dawley 由来) ラット
体重約 178g(雄)及び 159g(雌)、各群 5 匹

標識位置の設定理由：

試験方法：

^{14}C -ジフルフェニカンに非標識ジフルフェニカンを加え、比放射能を 2mCi/mM とした。これをコーンオイルに懸濁して、5mg/kg 及び 250mg/kg の用量でラットに 1 回経口投与した。尿、糞及び呼気中の CO_2 を定量的に収集できるケージにラットを入れ、7 日間飼料及び水を自由に摂取させた。尿及び糞は投与後 24 時間毎に採取し、この際呼気の捕捉液も交換した。また、投与後 0.25、0.34、0.5、1、2、4、5.5、24 時間後とそれ以降は 24 時間間隔で各ラットの尾静脈から血液試料 (25 μL) を採取した。投与 7 日後、各ラットを頸椎脱臼により屠殺し、血液を採取した後、以下の組織を摘出した。肝臓、腎臓、心臓、肺、脳、脾臓、筋肉、脂肪、生殖腺、胃腸管 (内容物を含む)、眼、骨 (骨髄を含む)、副腎、皮膚 (被毛を含む)、残部体組織。その後、各試料をそのままあるいは燃焼後、液体シンチレーションカウンターを用いて放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：

投与7日後までの放射能の総回収率及び各経路についての排泄率を表1に示す。

最も主要な排泄経路は投与量、性別にかかわらず糞であり（群別平均値87～97%）、尿経由の排泄はそれよりはるかに少なかった（群別平均値2～7%）。

呼気からは放射能は検出されなかった。従って主要な排泄経路は糞であった。

表1 投与7日後の放射能の分布

試料	5 mg/kg		250 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
尿	5.88	7.20	1.95	1.91
糞	91.18	96.69	86.68	93.80
組織	0.10	0.11	0.18	0.02
胃腸管 (内容物を含む)	0.07	0.18	0.28	0.02
残部体組織	0.14	0.19	2.05	0.01
ケージ洗浄	0.13	0.39	0.14	0.20
合計	97.50	104.76	91.28	95.96

数値は投与放射能に対する割合 (%)

投与7日後までに糞中に排泄された放射能のうち、大部分は雌雄とも投与量に関係なく投与後4日以内に排泄された（表2）。尿中への排泄に関しては、同一投与群で雌雄間に差は認められなかったが、雌雄とも投与量による差が認められ、低投与群で尿中排泄率が高かった。

表2 糞尿への排泄率の推移

投与量	投与後時間 (時間)	雄			雌		
		尿	糞	合計	尿	糞	合計
5 mg/kg	0～ 24	3.34	33.32	36.66	3.81	33.38	37.19
	0～ 48	5.10	75.06	80.16	5.99	73.97	79.96
	0～ 72	5.59	86.07	91.66	6.65	90.72	97.37
	0～ 96	5.77	88.70	94.47	6.92	93.28	100.20
	0～120	5.83	90.16	95.99	7.06	95.57	102.63
	0～144	5.86	90.91	96.77	7.14	96.32	103.46
	0～168	5.88	91.18	97.06	7.20	96.69	103.89
250 mg/kg	0～ 24	0.64	26.11	26.75	0.77	34.81	35.58
	0～ 48	1.41	74.03	75.44	1.50	81.47	82.97
	0～ 72	1.64	82.33	83.97	1.77	91.44	93.21
	0～ 96	1.77	84.81	86.58	1.84	93.07	94.91
	0～120	1.86	85.59	87.45	1.88	93.57	95.45
	0～144	1.91	86.25	88.16	1.90	93.71	95.61
	0～168	1.95	86.68	88.63	1.91	93.80	95.71

数値は投与放射能に対する割合 (%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血液中の濃度について、低投与群では雌雄とも血中総放射能は検出限界未満であった。高投与群では雄で投与後19時間、雌で投与後18時間で最高値に達し、その濃度 (Cmax)はジフルフェニカン当量として雄で約2 μ g/mL、雌で約1 μ g/mLと推定された。半減期は雄で61時間、雌で50時間であった (表3)。

表3 高投与群ラットの血中放射能濃度の推移

投与後時間 (時間)	雄	雌
0.25	—	0.05
0.34	0.28	—
0.5	—	0.10
1	0.27	0.11
2	0.51	0.23
4	1.01	0.33
5.5	0.45	0.38
24	1.35	0.77
48	0.37	0.26
72	0.49	0.23
96	0.17	0.55
120	0.25	0.08
144	0.12	0.06
168	0.10	0.05
Tmax	19時間	18時間
T _{1/2}	61時間	50時間

数値はジフルフェニカン当量/体積 (μ g/mL) — : 採取せず
 Tmax : 最高血中濃度到達時間 T_{1/2} : 半減期

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与7日後に屠殺したラットの各組織中の放射能を表4に示した(但し、異常に高い組織中放射能値を示した高投与群の雄1例については平均から除外した)。いずれの投与群においても、脂肪、生殖腺、副腎及び皮膚など脂肪含量の多い組織で放射能が高かった。

表4 投与7日後のラット組織における放射能分布

組織	5 mg/kg		250 mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
肝臓	0.06	0.05	0.07	0.66
腎臓	0.01	0.01	0.18	0.20
心臓	0.01	ND	0.08	0.08
肺	0.01	0.01	0.14	0.14
脳	ND	ND	0.05	0.03
脾臓	<0.01	ND	0.63	0.06
筋肉	<0.01	ND	0.02	0.03
脂肪	0.08	0.16	3.19	2.04
生殖腺	0.01	0.07	0.12	0.43
胃腸管(内容物を含む)	0.03	0.07	0.66	0.56
眼	ND	ND	0.07	0.03
骨(骨髄を含む)	ND	ND	0.08	0.04
副腎	0.04	0.06	1.11	0.56
皮膚(被毛を含む)	0.01	0.03	0.36	0.25
残部体組織	0.01	0.04	0.30	0.12
全血	ND	0.05	0.05	0.05
血漿	ND	ND	0.02	0.02

数値は、ジフルフェニカン当量/組織重量 (µg/g)

ND：検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2) ^{14}C -ジフルフェニカンのラット体内における代謝

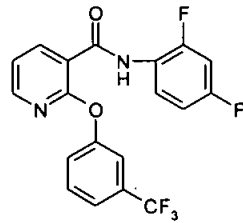
(資料No. 代2)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ^{14}C -ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試動物： Charles River CD 系 (Sprague-Dawley 由来) ラット
体重約 178g (雄) 及び 159g (雌)、各群 5 匹

標識位置の設定理由：

試験方法：

資料 No. 代 1 の試験で採取された尿及び糞試料を用いた。

投与後 24 時間間隔で尿及び糞を採取し、尿については投与 3 日後 (低投与群)又は投与 4 日後 (高投与群)、糞については投与 4 日後までの試料について分析した。糞をアセトニトリルで抽出し、糞抽出液及び尿試料について薄層及び高速液体クロマトグラフィーを実施して各成分を分離した。分離後、各代謝物について質量分析、GC/MS 及び ^1H 、 ^{19}F 及び ^{13}C による核磁気共鳴分析を行った。

結果：

尿中代謝物

尿の分析結果を表1に示す。いずれの群においても ^{14}C が最も高かったが、その割合は投与放射能の4%未満であった。その他に、未変化のジフルフェニカン[A]、 ^{14}C が同定され、 ^{14}C が認められた。このうち ^{14}C は雌でのみ検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表1 尿中代謝物の割合

投与群	投与後時間 (時間)	ジフルフェニカン [A]					
5mg/kg 雄	0~24	0.53					
	24~48	0.12					
	48~72	ND					
	0~72	0.65					
250mg/kg 雄	0~24	0.13					
	24~48	0.26					
	48~72	0.08					
	72~96	0.03					
	0~96	0.50					
5mg/kg 雌	0~24	0.44					
	24~48	0.11					
	48~72	0.03					
	0~72	0.58					
250mg/kg 雌	0~24	0.01					
	24~48	ND					
	48~72	ND					
	72~96	ND					
	0~96	0.01					

数値は投与放射能に対する割合 (%)

ND : 検出限界未満

糞中代謝物

高投与群の結果を表2に示す。低投与群では試料中の放射能量が少なく、代謝物の分析はできなかった。高投与群の糞中放射能の大部分は未変化のジフルフェニカン[A]であり、投与放射能に対して雄で68%、雌で75%を占めた。代謝物は

が同定され、
が認められた。代謝物プロファイルに雌雄間で大きな違いは認められなかった。

表2 糞中代謝物の割合

投与群	投与後時間 (時間)	ジフルフェニカン [A]					
250mg/kg 雄	0~24	23.24					
	24~48	38.74					
	48~72	4.79					
	72~96	1.12					
	0~96	67.89					
250mg/kg 雌	0~24	30.89					
	24~48	37.56					
	48~72	5.95					
	72~96	0.69					
	0~96	75.09					

数値は投与放射能に対する割合 (%)

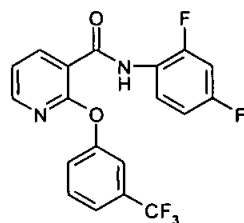
ND : 検出限界未満

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

コーンオイルに¹⁴C-ジフルフェニカン¹を懸濁して1回経口投与した場合、投与4日後までに大部分の放射能が糞中に排泄され、尿中排泄量はそれよりはるかに少なかった(資料No. 代1)。排泄された放射能物質の特性を検討したところ、少なくとも ¹⁴C-ジフルフェニカン¹ の化合物の存在が認められた。

これらのデータに基づき推定したジフルフェニカンのラットにおける代謝経路を図1に示す。

以上の結果から、ラットに経口投与されたジフルフェニカンの大部分は糞から未変化のまま排泄され、ラット体内で主として ¹⁴C-ジフルフェニカン¹ により代謝されると考えられた。



ジフルフェニカン[A]

図1 ジフルフェニカンのラット体内における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

3) ¹⁴C-ジフルフェニカンのラットにおける胆汁排泄

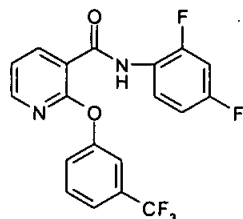
(資料No. 代3)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α, α, α-トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチン酸
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試動物： Charles River CD 系 (Sprague-Dawley 由来) ラット
体重約 250g(雄)及び 220g(雌)、各群 5 匹

標識位置の設定理由：

試験方法：

¹⁴C-ジフルフェニカンに非標識ジフルフェニカンを加え、比放射能を 2mCi/mM (250mg/kg 投与群) 及び 4mCi/mM (5mg/kg 投与群)とした。これをコーンオイルに懸濁して、ラットに 1 回経口投与した。動物は予め胆管にカニューレを挿入し、胆汁を収集できるようにしておいた。

胆汁は投与 48 時間までは約 4 時間毎に、それ以降 168 時間までは 12 時間毎に収集した。投与 24 及び 72 時間後に各ラットの尾静脈から血液試料(50 あるいは 100μL)を採取した。投与 7 日後、各ラットの背部大動脈から血液を採取後、下記の組織を摘出した。肝臓、腎臓、心臓、肺、脳、脾臓、脂肪(腹腔内)、骨格筋(背面及び大腿部)、胃及びその内容物、下部腸管(盲腸及び直腸)及びその内容物、上部腸管、上部腸管内容物。

放射能分布の測定

液体シンチレーションカウンターを用いて各試料中の放射能を測定した。

胆汁中放射能のクロマトグラフィー分析

各群雌雄各 2 匹の胆汁試料について塩基性溶媒系、及び酸性溶媒系を用いて薄層クロマトグラフィー(TLC)分析を行った。更に、胆汁試料の一部をアシルスルファターゼ、β-グルクロニターゼを用いて酵素加水分解し、塩基性移動相を用いて TLC 分析を行った。胆汁、酵素処理した胆汁及び単離した抽出物の試料について、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)分析も行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

胆汁中代謝物の構造推定

以下の2つの方法により、代謝物の単離、同定のための実験を行った。

<方法①>

雌動物1例から、投与後4~8時間目と8~12時間目に胆汁を採取し、 β -グルクロニダーゼで加水分解後、塩基性移動相を用いたTLCで分離した。3主成分について、TLC、HPLC及び ^{19}F 核磁気共鳴(NMR)により分析した。非移動性成分については塩酸加水分解後に分析した。

<方法②>

雄動物1例から、投与後0~39時間にかけて胆汁を採取し、方法①と同様に酵素処理した。この試料をNaClで飽和後、HClでpH2に調整し、イソプロパノール/クロロホルム中へ抽出した。この抽出液を濃縮し、窒素気流下で乾燥させ、メタノールに溶解させた。塩基性移動相を用いたTLCにより画分1~7に分離し、TLC、HPLC及び ^{19}F -NMRで分析し、画分2及び6については ^1H -NMR分析も実施した。

結果：

胆汁排泄放射能

胆汁に排泄された放射能の投与放射能に対する割合を表1に示す。低投与群の胆汁への放射能排泄率は高投与群よりも高く、個体間のばらつきが大きかった。

なお、低投与群及び高投与群の雄において、積算排泄量にもかかわらず投与後80時間から92時間にかけて減少しているのは、途中死亡個体の影響によるものである。

表1 胆汁に排泄された放射能

投与後時間 (時間)	5mg/kg		250mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
0 ~ 4	3.79	4.62	0.96	0.76
0 ~ 8	12.73	10.68	2.48	2.36
0 ~ 12	19.66	16.16	3.60	4.17
0 ~ 16	25.79	22.37	5.90	5.91
0 ~ 20	30.42	26.76	7.38	7.39
0 ~ 24	34.74	30.23	8.62	8.75
0 ~ 28	38.00	32.81	10.02	10.02
0 ~ 32	41.46	35.62	10.73	10.89
0 ~ 39	45.03	37.58	11.74	12.47
0 ~ 44	47.55	38.71	12.32	13.52
0 ~ 48	49.15	34.04	12.82	14.10
0 ~ 56	50.55	35.31	13.39	14.62
0 ~ 68	51.72	37.38	13.71	15.30
0 ~ 80	52.33	38.72	13.87	15.77
0 ~ 92	47.08	39.89	13.10	17.17
0 ~ 104	47.40	40.72	12.24	17.23
0 ~ 116	47.60	41.26	12.26	21.38
0 ~ 128	47.77	41.73	12.31	21.42
0 ~ 140	47.92	42.02	12.32	21.45
0 ~ 152	48.03	42.32	—	21.46
0 ~ 168	48.11	42.48	—	21.46

数値は投与放射能に対する割合 (%)

— : 胆汁を回収できなかった

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

血中放射能

血中放射能濃度(μg ジフルフェニカン当量/mL 血液)を表 2 に示す。

胆管にカニューレを挿入した後に 250mg/kg で 1 回経口投与した場合の血中放射能濃度は、カニューレを挿入しないで投与した場合(資料 No. 代 1)とほとんど差がなかった。

表2 血中放射能濃度の推移

投与後時間 (時間)	5mg/kg		250mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
24	0.10	0.11	1.32	1.41
72	0.05	0.07	0.20	0.15
168	ND	0.02	0.07	0.11

数値はジフルフェニカン当量/血液体積 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

ND : 検出限界未満

組織中放射能

投与 7 日後に屠殺した動物の各組織中の放射能を、組織 1g 当たりのジフルフェニカン当量(μg)に換算し、表 3 に示した。これらの値は、先に行ったカニューレを挿入しない試験(資料 No. 代 1)で得られた測定値にほぼ一致していた。胃腸管中の放射残留量も、資料 No. 代 1 の報告値とほぼ一致していた。

表3 投与7日後のラット組織における放射能濃度 (ジフルフェニカン当量/組織重量 ($\mu\text{g}/\text{g}$))

組織	5mg/kg		250mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
肝臓	0.04	0.04	0.46	0.66
腎臓	<0.01	0.02	0.21	0.59
心臓	ND	ND	0.02	0.13
肺	ND	ND	0.23	0.43
脳	ND	ND	0.01	0.05
脾臓	ND	ND	0.02	0.10
骨格筋	ND	0.02	0.01	0.01
脂肪	0.01	0.07	0.18	6.04
全血	ND	0.01	0.07	0.11
消化管 (内容物を含む) *	0.021	0.056	0.009	0.024

* : 数値は投与放射能割合%

ND : 検出限界未満

胆汁のTLC分析

塩基性溶媒を用いて胆汁のTLC分析を行ったところ、250mg/kg群の雌雄ラットから投与後68時間目までに採取した試料中の放射能は、ほぼすべて(95~99%)が原点にとどまった。5mg/kg群でも高投与群とほぼ同じで、原点にとどまった成分は試料中放射能の83~99%を占めていた。

この後、酸性溶媒でTLC分析を行ったところ、塩基性溶媒で原点にとどまった物質は比較的極性の高いいくつかの成分からなることがわかった。これら成分中に資料No. 代2の試験で同定された代謝物と同一と思われるものはなかった。

また、親化合物ジフルフェニカンの存在を示す証拠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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

酵素分解処理後の胆汁のTLC分析

胆汁の酵素処理前後のTLC分析の結果を表4に示す。

酵素処理により、いずれの試料でも極性代謝物の加水分解が進行しており、加水分解の結果、

が認められた。

表4 胆汁の酵素処理前後のTLC結果

投与量 性別 収集時間	R _F 7.7 ± 0.03	インキュベート なし		緩衝液 pH 5.0		AS ^a		HBG ^b pH 5.0		緩衝液 pH 6.8		EBG ^c pH 6.8	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
5mg/kg 雄 A : 0-4hr B : 20-24hr	0	98.5	97.6	60.4	67.7	60.7	67.3	57.4	65.4	64.7	76.1	54.9	63.5
	0.20-0.28	0	0	1.4	2.3	0	0	0	1.0	0	1.8	0	1.7
	0.40-0.52	0	0	1.9	2.8	2.6	3.4	1.6	2.9	1.5	0	2.2	3.1
	0.53-0.57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.0	0	0
	0.70-0.77	0	2.8	23.1	10.8	19.7	10.9	22.7	13.6	17.3	7.2	22.0	12.8
	0.84-0.90	0	1.3	12.2	12.4	16.3	12.4	17.1	16.6	13.4	9.1	16.1	15.6
	0.94-1.00	1.5	0	0	1.5	0	1.4	0	0	1.1	0	0	0
5mg/kg 雌 A : 0-4hr B : 28-32hr	0	91.9	83.2	66.5	57.2	54.9	55.2	56.4	49.8	71.4	52.3	52.4	50.2
	0.20-0.28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0.40-0.52	0	0	2.2	2.0	3.5	2.6	2.8	2.8	0	0	3.6	3.8
	0.53-0.57	1.1	3.0	0	0	0	0	0	0	3.0	3.5	0	0
	0.70-0.77	2.5	6.3	13.7	14.1	16.2	13.3	17.2	13.4	11.2	16.8	19.0	15.6
	0.84-0.90	1.8	4.8	17.5	25.3	20.7	24.1	22.4	21.8	12.2	22.7	20.0	22.2
	0.94-1.00	1.2	1.2	0	1.0	0	4.2	0	11.3	0	0	1.6	4.1
250mg/kg 雄 A : 0-4hr B : 20-24hr	0	95.9	98.2	60.4	58.1	54.8	55.9	57.7	53.8	73.0	62.0	56.8	59.5
	0.20-0.28	0	0	1.4	5.7	3.0	5.9	2.0	6.2	0	3.8	1.6	4.9
	0.40-0.52	0	0	1.9	5.6	2.7	6.5	2.4	6.2	0	0	2.0	6.7
	0.53-0.57	0	0	0	1.0	0	0	1.6	0	0	6.0	0	0
	0.70-0.77	0	0	23.1	13.8	23.3	12.4	22.0	15.6	18.4	13.1	25.9	14.0
	0.84-0.90	0	0	12.2	16.8	11.9	15.8	11.5	18.2	8.1	14.7	11.8	14.4
	0.94-1.00	3.4	0	0	0	1.8	1.0	2.1	0	0	0	0	0
250mg/kg 雌 A : 0-4hr B : 28-32hr	0	98.9	95.1	68.3	57.4	69.2	60.4	47.1	58.4	85.1	75.8	47.2	54.8
	0.20-0.28	0	0	0	2.5	0	2.6	2.4	2.9	0	3.4	1.2	3.5
	0.40-0.52	0	0	1.6	3.2	1.7	3.3	3.6	3.3	0	0	1.1	0
	0.53-0.57	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.0	1.9	3.8
	0.70-0.77	0	2.8	18.6	22.4	17.3	20.7	29.7	22.8	10.9	12.6	29.6	25.1
	0.84-0.90	0	0	10.8	14.5	11.2	12.9	15.9	12.5	3.2	4.9	17.9	12.9
	0.94-1.00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

数値は試料中総放射能に対する割合(%)

a : アリルスルファターゼ

b : あわびβ-グルクロニダーゼ

c : 大腸菌β-グルクロニダーゼ

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝物の同定

方法①もしくは方法②の方法により酵素分解した後の胆汁をTLCで分画し、代謝物の構造推定を行った結果を表5に示す。

表5 TLC画分の分析結果

分析 方法	R _f 7.67±0.07	同定もしくは 推定構造	分析 方法	R _f 7.67±0.07	同定もしくは 推定構造
方法 ①			方法 ②		
方法 ②					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

まとめ

ラットにジフルフェニカンを経口投与すると、投与後48時間に、5mg/kg群では雄で投与量の49.15%、雌で34.04%が、250mg/kg群では雄で12.82%、雌で14.10%が、それぞれ胆汁中に排泄された。胆汁試料のクロマトグラフィー分析の結果、吸収されたジフルフェニカンは、

に代謝されたことがわかった。この

。これらの成分はジフルフェニカンの

であり、これらの

検出された代謝物と同一であると考えられた。

このように、ラットにジフルフェニカンを経口投与すると、投与後7日間で5mg/kg群では投与量の約20～78%が、250mg/kg群では約10～20%が胃腸管から吸収され^{申請者注}、広範に代謝された後、再度消化管へ排泄される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

[申請者注]

ラットにおけるジフルフェニカンの吸収率の推定

ラットの胆汁排泄試験の胆汁試料のTLC及びHPLC分析から、試料中の放射能はほとんどがに由来したものであった。の割合は、高投与量では(95~99%)、低投与量では(83~99%)であった。またそれらの代謝物の同定ではジフルフェニカンは確認されず、胆汁中の放射活性はのものであった(資料No. 代3)。放射能分布割合(資料No.代1)、糞中のジフルフェニカンの割合(資料No. 代2)、及び胆汁排泄割合(資料No. 代3)を下表に示す。

	投与後時間 (時間)	5mg/kg		250mg/kg	
		雄	雌	雄	雌
尿	0~96	5.77	6.92	1.77	1.84
糞	0~96	88.70	93.28	84.81	93.07
組織	168	0.24	0.30	2.23	0.03
糞中のジフルフェニカン	0~96	測定不能	測定不能	67.89	75.09
胆汁排泄	0~80	52.33	38.72	13.87	15.77

数値は投与放射能に対する割合 (%)

この表より、高投与量では糞中のジフルフェニカンそのもの由来の放射能と胆汁排泄の放射能の和が糞中の放射能に近いことがわかる。そのため、ジフルフェニカンは腸肝循環をしないと考えられる。

以上より、吸収率は以下のように近似で推定できる。

$$\text{推定吸収率A} = \text{尿中の放射能} + (\text{糞中の放射能} - \text{糞中ジフルフェニカン})$$

または

$$\text{推定吸収率B} = \text{尿中の放射能} + \text{胆汁中の放射能}$$

そこで吸収率を下のように推定する。

	5mg/kg		250mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
推定吸収率A (%)	—	—	18.69	19.82
推定吸収率B (%)	58.10	45.64	15.64	17.61

なお報告書では、胃腸管からの吸収が5mg/kg群で約20~78%、250mg/kg群で投与量の約10~20%の記載があるのは、個体別の胆汁排泄割合の数字に由来する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

4) ^{14}C -ジフルフェニカンのラットにおける組織内分布

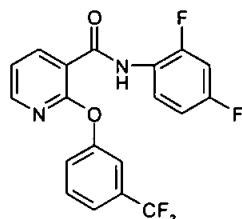
(資料No. 代4)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式；



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α, α, α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ^{14}C -ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試動物： Crl : CD (SD) BR 系ラット

週齢：生後 7~11 週間、体重：167~224g (雄)及び 174~208g (雌)

血中濃度測定試験では各群 3 匹、組織内濃度分布試験では各群 4 匹を供試

標識位置の設定理由：

試験方法：

^{14}C -ジフルフェニカンをコーンオイルに懸濁して、ラットに 5mg/kg 及び 250mg/kg の割合で 1 回経口投与した。

血中濃度測定試験では、投与 0、1、2、4、6、12、24、48、72、96、120 及び 144 時間後に各ラットの尾部静脈から血液試料(約 1mL)を採取し、LSC により放射能を測定した。

組織内濃度分布試験では、下記の投与後時間にラットを屠殺した。血液、肝臓、骨、肺、脳、筋(四頭筋)、脂肪(腹部)、血漿、生殖腺、脾臓、心臓、子宮、腎臓を採取し、LSC により放射能を測定した。

5 mg/kg 雄	投与後 2.5、6 及び 14 時間目
5 mg/kg 雌	投与後 2.75、6 及び 14 時間目
250mg/kg 雄	投与後 3、6 及び 32 時間目
250mg/kg 雌	投与後 3.5、12 及び 22.5 時間目

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：

血中濃度測定試験

血液中の放射能濃度推移を表1に示す。

5mg/kg単回経口投与では、最高血中濃度到達時間 (Tmax)に雌雄とも投与6時間後に達し、最高血中放射能濃度 (Cmax)は雄で0.174ジフルフェニカン当量 $\mu\text{g/g}$ 、雌で0.123 $\mu\text{g/g}$ であった。また投与48時間後には雌雄とも検出限界未満となった。吸収相における1/2Cmaxは、雄で投与2.5時間後、雌で2.75時間後に見られ、消失相で1/2Cmaxが見られたのは雌雄とも投与14時間後であった。

250mg/kg単回経口投与では、Tmaxに雄で投与6時間後、雌で12時間後に達し、Cmaxは雄で1.482 $\mu\text{g/g}$ 、雌で1.532 $\mu\text{g/g}$ であった。吸収相における1/2Cmaxは、雄で投与3時間後、雌で3.5時間後に見られ、消失相で1/2Cmaxが見られたのは雄で投与32時間後、雌で22.5時間後であった。

表1 ラットの血中放射能濃度の推移

投与後時間 (時間)	5mg/kg		250mg/kg	
	雄	雌	雄	雌
1	ND	ND	0.621	0.434
2	0.060	0.035	0.604	0.600
4	0.155	0.104	0.956	0.801
6	0.174	0.123	1.482	1.413
12	0.097	0.066	1.206	1.532
24	0.027	0.012	0.930	0.520
48	ND	ND	0.212	0.262
72	ND	ND	0.102	0.117
96	ND	ND	0.293	0.198
120	ND	ND	0.149	0.073
144	ND	ND	0.047	0.144
Tmax	6時間	6時間	6時間	12時間
Cmax	0.174	0.123	1.482	1.532
1/2Cmax到達時間 (吸収)	2.5時間	2.75時間	3時間	3.5時間
1/2Cmax到達時間 (消失)	14時間	14時間	32時間	22.5時間

数値はジフルフェニカン相当濃度 ($\mu\text{g/g}$)

ND：検出限界未満

組織内分布

組織中の放射能分布を表2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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 ラットの組織内放射能分布

投与量 性別	組織	放射能濃度及び割合					
		濃度		濃度		濃度	
5mg/kg 雄	屠殺時間	2.5時間		6時間		14時間	
	血漿*	0.264		0.135		0.057	
	血液*	0.199		0.132		0.050	
	骨*	0.084		0.098		0.037	
	脳	0.655	0.134	0.693	0.125	0.216	0.039
	腹部脂肪	6.088	0.088	19.02	0.261	25.11	0.312
	心臓	0.794	0.065	0.728	0.062	0.244	0.021
	肺	1.471	0.217	1.498	0.214	0.633	0.078
	脾臓	0.533	0.029	0.481	0.027	0.229	0.012
	肝臓	3.424	2.488	3.509	2.486	0.923	0.870
	腎臓	1.216	0.211	1.541	0.264	0.663	0.131
	生殖器	0.336	0.077	0.441	0.106	0.182	0.043
四頭筋	0.510	0.014	0.753	0.021	0.666	0.018	
5mg/kg 雌	屠殺時間	2.75時間		6時間		14時間	
	血漿*	0.107		0.104		0.040	
	血液*	0.098		0.105		0.021	
	骨*	0.050		0.096		0.028	
	脳	0.473	0.085	0.529	0.102	0.159	0.030
	腹部脂肪	3.286	0.052	7.760	0.118	13.54	0.200
	心臓	0.477	0.041	0.576	0.045	0.207	0.017
	肺	0.953	0.104	0.745	0.081	0.292	0.035
	脾臓	0.292	0.015	0.396	0.082	0.151	0.009
	肝臓	3.208	1.969	2.691	1.920	0.710	0.694
	腎臓	0.804	0.136	0.915	0.166	0.454	0.080
	生殖器	1.601	0.024	2.230	0.034	2.799	0.049
子宮	0.677	0.034	1.097	0.063	3.147	0.191	
四頭筋	0.363	0.009	0.372	0.008	0.247	0.006	
250mg/kg 雄	屠殺時間	3時間		6時間		32時間	
	血漿*	1.432		0.990		ND	
	血液*	0.419		ND		ND	
	骨*	0.533		ND		ND	
	脳	5.072	0.020	4.632	0.013	0.637	0.003
	腹部脂肪	47.64	0.014	81.31	0.028	107.1	0.035
	心臓	4.433	0.009	4.765	0.008	1.075	0.002
	肺	75.36	0.203	11.22	0.063	2.694	0.008
	脾臓	3.280	0.004	3.094	0.023	1.596	0.002
	肝臓	22.19	0.270	18.54	0.255	4.508	0.098
	腎臓	8.420	0.030	8.665	0.030	2.621	0.009
	生殖器	2.187	0.010	2.392	0.011	0.196	0.005
四頭筋	3.460	0.003	4.376	0.002	1.288	0.001	
250mg/kg 雌	屠殺時間	3.5時間		12時間		22.5時間	
	血漿*	0.896		ND		ND	
	血液*	ND		ND		ND	
	骨*	ND		ND		ND	
	脳	6.419	0.024	3.218	0.012	0.274	0.004
	腹部脂肪	31.59	0.017	91.18	0.047	83.56	0.042
	心臓	4.326	0.007	3.983	0.007	0.900	0.002
	肺	89.88	0.209	5.832	0.014	3.146	0.008
	脾臓	2.658	0.003	2.82	0.008	0.238	0.001
	肝臓	22.07	0.283	15.00	0.254	4.373	0.093
	腎臓	7.171	0.024	7.122	0.020	2.599	0.009
	生殖器	11.95	0.004	21.04	0.007	17.18	0.006
子宮	5.924	0.007	12.72	0.017	13.67	0.016	
四頭筋	2.568	0.002	3.425	0.002	1.997	0.001	

濃度はジフルフェニカン当量µg/g %は投与放射能に対する割合 ND: 検出限界未満

*: 血漿、血液及び骨は、部分的な採取試料のため、投与放射能に対する割合を記載しない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(5mg/kg投与群)

雄において放射能濃度が高かったのは、脂肪、肝臓、肺及び腎臓であった。投与6時間後では、放射能濃度は脂肪で増加した以外、2.5時間後と同等もしくは低下した。脂肪以外で濃度が高かったのは、肺及び代謝分泌に関する肝臓、腎臓であった。投与14時間後には、放射能濃度は脂肪で増加した以外、低下した。

雌の投与2.75時間後の放射能分布は、生殖器(卵巣)でのみ雄の精巣に比較して高かったが、それ以外の組織では2.5時間後の雄とほとんど差がなく、脂肪、肝臓、肺及び腎臓で放射能濃度が高かった。投与6時間後での放射能濃度は2.75時間と比較して、脂肪、卵巣、子宮で増加したが、それ以外の組織では同等もしくは低下した。投与14時間後にかけても脂肪、卵巣、子宮の放射能濃度は増加したが、それ以外は低下した。

(250mg/kg投与群)

雄では、投与3時間後には全組織試料中に放射能の分布が認められた。肺、脂肪、肝臓、腎臓及び脳で比較的高い放射能濃度が認められた。低投与群と同様に、投与6時間後では、放射能濃度は脂肪で増加した以外、3時間後と同等もしくは低下した。脂肪以外で濃度が高かったのは肝臓、肺及び腎臓であった。投与32時間後では、脂肪以外の放射能濃度は低下した。脂肪以外で放射能濃度が高かったのは、肺、肝臓及び腎臓であった。

雌の投与3.5時間後の放射能分布は、低投与群と同様に、卵巣でのみ雄の精巣に比較して高かったが、それ以外の組織ではほとんど性差がなく、肺、脂肪、肝臓及び腎臓で放射能濃度が高かった。12時間までに、放射能濃度は、脂肪、卵巣、子宮で増加し、肺、肝臓では低下した。22.5時間後では、脂肪、卵巣、子宮の濃度は12時間後と同等であったが、その他の組織では低下した。

ジフルフェニカンのラット250mg/kg単回経口投与では、ジフルフェニカン及び(又は)放射代謝物の広範な組織分布が認められた。ほとんどの組織中放射能濃度は、雄雌とも投与12時間後又はその前に最高値に達した。ただし、雌雄の脂肪及び雌の生殖器、子宮では、試験終了まで高濃度の維持もしくは経時的な増加が認められた。放射能は脂肪、肝臓、腎臓、子宮及び卵巣で比較的高濃度が認められた。また、肺の放射能濃度が初期屠殺時点で高かったが、これは個体別値のばらつきによるものであり、試験終了までに急速に消失した。

5mg/kg投与でも高投与群と同様の体内放射能分布を示し、雌雄の脂肪及び雌の生殖器、子宮では蓄積が認められ、また、高い放射能濃度を示した組織も高投与群と同様であった。高投与群と同様に肺の放射能濃度は個体別に高いばらつきが認められた。

ジフルフェニカンを単回経口投与した場合、放射能は短時間で広範に各種組織に分布した。放射能濃度は脂肪、子宮及び卵巣において維持もしくは増加したものの、その他の臓器では急速な低下が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

5) ¹⁴C-ジフルフェニカンのラット体内における吸収、分布、代謝及び排泄

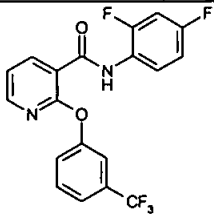
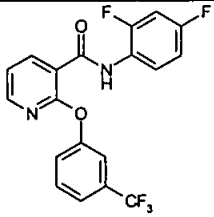
(資料No. 代5)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：

化学名	2',4'-ジフルオロ-2-(α,α,α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアニリド	
標識体		
化学構造及び 標識位置		
放射化学的純度		
比放射能		

標識位置の設定理由：

試験方法：

試験群及び投与量

ウイスター系ラットで試験した。試験群及び試験条件を表1に示す。

表1 試験群及び試験条件

試験群番号	投与化合物	試験種類	投与用量 (mg/kg bw)	性/匹数	平均体重 (g)	試験期間	採取試料/採取時点
A		ADME	5	雌雄 /各4匹	雄193 雌198	168 h	尿、糞、ケージ洗浄液：経時 (表2) 呼気、血液、組織、残体：屠殺時
B		血中濃度		雌雄 /各4匹	雄215 雌203	168 h	血液：経時 (表2)
C		胆汁排泄 ^{a)}		雌雄 /各5匹	雄342 雌314	48 h	尿、糞、胆汁、ケージ洗浄液：経時 (表2) 血液、組織、残体：屠殺時
D		ADME		雌雄 /各4匹	雄239 雌218	168 h	尿、糞、ケージ洗浄液：経時 (表2) 呼気、血液、組織、残体：屠殺時
E		血中濃度		雌雄 /各4匹	雄194 雌197	168 h	血液：経時 (表2)

a) 投与24時間前に胆管カニューレを挿管した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

投与方法

表1に示した所定量が投与可能となるように、適切な量の標識及び非標識ジフルフェニカン (純度99.8%)のアセトン溶液をポリエチレングリコールに攪拌しながら窒素気流下で滴下し、投与液を調製した。投与液は1g/200g体重の割合で強制経口投与した。

試料採取

ラットは被験物質を投与後、尿、糞及び呼吸を採取できる代謝ケージで飼育した。表2に示す間隔で血液、尿、糞及び胆汁を採取し、ケージを洗浄して洗浄液も採取した。

表2 試料採取間隔

試料	試験群	採取時点 (投与後時間)
血液	B, E	0h, 0.5h, 1h, 2h, 3h, 4h, 6h, 8h, 24h, 48h, 72h, 96h, 120h, 144h, 168h
尿	A, D	0-6h, 6-12h, 12-24h, 24-48h, 48-72h, 72-96h, 96-120h, 120-144h, 144-168h
	C	0-6h, 6-12h, 12-24h, 24-36h, 36-48h
糞	A, D	0-24h, 24-48h, 48-72h, 72-96h, 96-120h, 120-144h, 144-168h
	C	0-24h, 24-48h
胆汁	C	0-6h, 6-12h, 12-24h, 24-36h, 36-48h
ケージ 洗浄液	A, D	24h, 48h, 72h, 96h, 120h, 144h (以上水洗浄), 168h (アセトニトリル洗浄)
	C	24h (水洗浄), 48h (アセトニトリル洗浄)

分析

(1) 総放射能の測定

尿、胆汁及び血漿等の液体試料は、液体シンチレーションカウンター(LSC)で直接放射能を分析した。

糞は適量の水と混合して均質化し、オキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を測定した。

脂肪、精巢、骨及び骨髄はミンチにして一部を、甲状腺、ハーダー腺、卵巣及び副腎は全体をオキシダイザーで直接燃焼して、LSCで放射能を測定した。

他の臓器は、必要に応じて少量の水を加えて磨砕均質化し、オキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を測定した。

血液は乾燥後オキシダイザーで燃焼し、LSCで放射能を測定した。

(2) 糞の抽出

糞は溶媒抽出後、抽出液に無視できる量の放射能しか認められなくなるまで高速溶媒抽出装置(ASE)で数回抽出した。抽出液を合わせ、窒素気流で濃縮後HPLC分析に供した。

(3) 尿及び胆汁の酵素分解

尿及び胆汁に β -グルクロニダーゼ又はスルファターゼ Type-Iを加え、スルファターゼ Type-I添加試料には β -グルクロニダーゼ阻害剤を加えた。6時間以上37°Cでインキュベート後クロマトグラフィーに供した。

(4) 代謝物の分析

尿、糞抽出液、胆汁及びケージ洗浄液中の代謝物は、HPLC及びLC-MSで同定、特徴付け及び定量した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

結果：

放射能収支

試験終了時点での放射能の分布を表3に示す。

いずれの試験においても放射能回収率は98.64%~103.13%の範囲であり良好であった。

表3 試験終了時点の放射能の分布

試験群 試料	A : a)		D : a)		C : (胆汁排泄) b)	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿	6.20	5.62	7.44	6.05	3.85	4.38
糞	87.97	82.09	84.55	80.45	42.81	3.60
胆汁	NA	NA	NA	NA	38.81	30.21
ケージ洗浄	8.21	13.80	6.76	11.72	2.69	6.91
CO ₂ トラップ	ND	ND	ND	ND	NA	NA
組織	0.57	1.62	1.36	1.06	13.20	53.53
合計	102.95	103.13	100.11	99.28	101.36	98.64

数値は投与放射能に対する割合 (%)

a) 投与168時間後

b) 投与48時間後

ND : 検出限界未満

NA : 採取せず

排泄

放射能の排泄率の推移を表4及び表5に示す。

試験A及びDいずれにおいても放射能の主要な排泄経路は糞であった。投与放射能の80.45%~87.97%が投与後168時間までに糞から排泄され、尿からは5.62~7.44%のみであった。2つの標識体間で有意な差は認められなかった。両標識体ともCO₂トラップに放射能は認められなかった。

胆汁排泄試験Cにおいて、投与放射能は投与後48時間までに雄で38.81%、雌で30.21%が胆汁から排泄された。胆汁排泄試験で糞に認められた放射能は、雄で投与放射能の42.81%、雌で3.60%であり雌雄で大きな差が認められた。試験した雌5匹のうち3匹で試験終了時の胃内容物に高濃度の放射能が認められた(投与放射能の約29%)ことから、被験物質の胃での通過時間が緩やかであったことが糞からの排泄率の雌雄差の原因と考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表4 尿及び糞からの排泄率の推移

試験群 投与後時間 (時間)	A :				D :			
	雄		雌		雄		雌	
	尿	糞	尿	糞	尿	糞	尿	糞
0～ 6	0.22	NA	0.22	NA	0.17	NA	0.29	NA
0～ 12	0.80	NA	1.27	NA	0.99	NA	0.75	NA
0～ 24	2.81	34.72	2.72	17.92	2.61	30.10	2.61	29.20
0～ 48	5.39	70.91	4.64	57.02	5.43	59.59	4.44	50.58
0～ 72	5.93	83.25	5.16	72.07	6.75	75.77	5.41	70.13
0～ 96	6.05	85.80	5.38	76.24	7.10	80.97	5.74	76.19
0～120	6.12	86.99	5.51	79.52	7.26	83.02	5.88	78.25
0～144	6.17	87.59	5.58	81.08	7.38	83.96	5.99	79.74
0～168	6.20	87.97	5.62	82.09	7.44	84.54	6.05	80.45

数値は投与放射能に対する割合 (%)

NA : 採取せず

表5 胆汁排泄試験における尿、糞及び胆汁からの排泄率の推移

試験群 投与後時間 (時間)	C :					
	雄			雌		
	尿	糞	胆汁	尿	糞	胆汁
0～ 6	0.70	NA	5.66	0.29	NA	3.92
0～12	1.56	NA	15.65	0.53	NA	11.49
0～24	2.48	28.25	29.38	2.70	0.96	19.72
0～36	3.30	NA	35.15	3.17	NA	26.51
0～48	3.85	42.81	38.81	4.38	3.60	30.21

数値は投与放射能に対する割合 (%)

NA : 採取せず

吸収

(吸収率)

吸収率は、胆汁排泄試験の結果を基に下記の式により算出したところ、雄で55.04%、雌で64.32%であった(申請者の計算による)。

$$\text{吸収率(\%)} = \text{「胆汁中放射能割合」}^{\text{a)}} + \text{「尿中放射能割合」}^{\text{a)}} + \text{「組織内放射能割合」}^{\text{b)}}$$

a) 胆汁中放射能割合及び尿中放射能割合は表5における48時間後の値を用いた。

b) 組織内放射能割合は表9における全血、腸、残体、胃中の放射能割合を合計して求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(血中濃度推移)

血中濃度試験における血中放射能濃度の推移を表6に、血中薬物動態パラメータを表7にそれぞれ示す。

全血、血漿中の放射能は、いずれも投与直後(0.5時間後)に高い濃度が認められた後に一旦減少したが、投与6~8時間後に再度ピークが認められ、その後急速に減少した。血中放射能の半減期は14~62時間であった。

表6 血中放射能濃度の推移

試験群	B :				E :			
	全血		血漿		全血		血漿	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与後時間 (h)								
0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
0.5	0.1189	0.0884	0.1087	0.0623	0.0800	0.1113	0.0632	0.0804
1	0.0847	0.0659	0.0732	0.0506	0.0591	0.0759	0.0522	0.0715
2	0.0610	0.0523	0.0544	0.0372	0.0406	0.0407	0.0434	0.0532
3	0.0668	0.0625	0.0550	0.0445	0.0484	0.0826	0.0482	0.0671
4	0.0849	0.0814	0.0769	0.0608	0.0834	0.0943	0.0824	0.0828
6	0.1245	0.1085	0.1042	0.0787	0.1388	0.1045	0.1415	0.0905
8	0.1184	0.0886	0.1138	0.0658	0.1544	0.1011	0.1610	0.0984
24	0.0383	0.0394	0.0367	0.0322	0.0430	0.0283	0.0483	0.0293
48	0.0160	0.0207	0.0136	0.0143	0.0179	0.0151	0.0197	0.0129
72	0.0092	0.0137	0.0028	0.0068	0.0086	0.0080	0.0028	ND
96	0.0062	0.0081	0.0023	ND	0.0045	0.0076	ND	ND
120	0.0036	0.0069	ND	ND	ND	0.0015	ND	ND
144	ND	0.0041	ND	ND	ND	ND	ND	0.0030
168	ND	0.0038	ND	ND	ND	ND	ND	ND

数値はジフルフェニカン相当濃度 (µg/g)

ND : 検出限界未満

表7 血中薬物動態パラメータ

試験群	B :				E :			
	全血		血漿		全血		血漿	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
パラメータ								
C _{max} (µg/g)	0.1427	0.1089	0.1407	0.0790	0.1800	0.1301	0.1855	0.1058
T _{max} (h)	5.131	6.131	8.105	6.220	11.16	3.18	11.43	5.18
t _{1/2} (h)	53.51	61.68	22.27	18.29	23.11	30.39	15.55	14.08
AUC ₍₀₋₁₆₈₎ (µg·h/g)	3.298	3.464	2.749	2.143	3.572	2.837	3.524	2.374
AUC _(0-∞) (µg·h/g)	3.298	3.901	2.749	2.143	3.572	2.837	3.524	2.374

C_{max} : 最高血中濃度

T_{max} : 最高血中濃度到達時間

t_{1/2} : 半減期

AUC : 曲線下面積

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

分布

試験終了時のラットの各組織における放射能の分布を表8及び表9に示す。

試験A及びDにおいて、投与7日後のラット体内に残存する放射能量は非常に少なく、投与放射能の0.57～1.62%であった。

試験Aで最大の放射能濃度が認められた部位は脂肪であり、雄で0.108 $\mu\text{g/g}$ 、雌で1.229 $\mu\text{g/g}$ であった。次に放射能濃度が高かったのは腸(内容物を含む)で、雄0.107 $\mu\text{g/g}$ 、雌0.253 $\mu\text{g/g}$ であった。両性とも脾臓、血漿、眼及び脳における放射能濃度は低かった(検出限界未満 \sim 0.004 $\mu\text{g/g}$)。

試験Dで最大の放射能濃度が認められた部位は脂肪(雄0.441 $\mu\text{g/g}$ 、雌0.488 $\mu\text{g/g}$)及び腸(内容物を含む、雄0.471 $\mu\text{g/g}$ 、雌0.164 $\mu\text{g/g}$)であった。両性とも全血、血漿、眼、甲状腺及び脳における放射能濃度は低かった(検出限界未満 \sim 0.003 $\mu\text{g/g}$)。

表8 投与7日後のラット組織における放射能分布

試験群	A :		D :		A :		D :	
	ジフルフェニカン相当濃度 ($\mu\text{g/g}$)				投与放射能に対する割合 (%)			
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
全血	0.005	0.006	0.003	ND	0.0023	0.0028	0.0012	ND
腸 (内容物を含む)	0.107	0.253	0.471	0.164	0.1786	0.4619	0.4873	0.3443
ハーダー腺	0.013	0.042	0.026	0.026	0.0003	0.0010	0.0008	0.0007
残体	0.009	0.044	0.022	0.020	0.0918	0.4551	0.3039	0.2666
皮膚 (被毛を含む)	0.069	0.177	0.107	0.106	0.2248	0.5415	0.4381	0.3592
血漿	0.001	0.001	0.001	ND	0.0001	0.0002	0.0001	ND
眼	0.001	0.003	ND	ND	ND	0.0001	ND	ND
脳	0.001	0.004	0.002	0.003	0.0001	0.0006	0.0004	0.0005
脂肪	0.108	1.229	0.441	0.488	0.0032	0.0903	0.0559	0.0251
心臓	0.004	0.014	0.005	0.004	0.0003	0.0009	0.0004	0.0003
肺	0.007	0.013	0.010	0.007	0.0007	0.0013	0.0009	0.0010
脾臓	ND	0.004	0.005	0.004	ND	0.0002	0.0002	0.0002
肝臓	0.061	0.051	0.069	0.037	0.0447	0.0382	0.0578	0.0350
腎臓	0.014	0.023	0.016	0.015	0.0021	0.0033	0.0028	0.0025
胃 (内容物を含む)	0.012	0.027	0.009	0.008	0.0023	0.0045	0.0023	0.0048
甲状腺	0.035	0.090	ND	ND	0.0001	0.0001	ND	ND
精巣	0.042	NA	0.057	NA	0.0138	NA	0.0187	NA
卵巣	NA	0.146	NA	0.104	NA	0.0015	NA	0.0012
副腎	0.070	0.084	0.049	0.058	0.0003	0.0006	0.0003	0.0005
子宮	NA	0.124	NA	0.125	NA	0.0046	NA	0.0065
筋肉	0.006	0.047	0.012	0.021	0.0025	0.0113	0.0043	0.0067
骨及び骨髄	0.002	0.005	0.004	0.003	0.0003	0.0006	0.0006	0.0009
合計	—	—	—	—	0.5683	1.6204	1.3621	1.0561

ND : 検出限界未満

NA : 採取せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表9 胆汁排泄試験における投与2日後のラット組織における放射能分布

試験群	C :			
	ジフルフェニカン 相当濃度 (µg/g)		投与放射能に 対する割合 (%)	
	雄	雌	雄	雌
腸内容物	0.303	3.428	0.8081	6.4388
全血	0.019	0.052	0.0087	0.0113
胃内容物	0.017	24.279	0.0078	17.359
腸	0.563	4.029	0.5268	3.3692
残体	0.571	1.457	11.772	25.389
血漿	0.018	0.051	0.0025	0.0034
胃	0.447	7.961	0.0738	0.9645
合計	—	—	13.200	53.534

代謝

尿、糞、胆汁及びケージ洗浄液中で同定もしくは推定された代謝物の投与放射能に対する割合を表10に、ジフルフェニカンのラット体内における推定代謝経路を図1に示す。

標準品との比較によりジフルフェニカン[A]及び が同定された。その他の代謝物はLC-MS、酵素分解試験等の結果から構造を推定した。

試験A及びDの糞では最大で の放射能画分が得られたが、そのうちの は両標識試験に共通であり、共通でない画分は最大でも投与放射能の0.08%のみであった。そのため、投与された放射能の大部分は、ラット内で変換されている間 していると考えられた。

両標識試験とも糞中の放射能の大部分はジフルフェニカン[A]及び であった。ジフルフェニカン[A]は雌よりも雄で多く、 は逆に雌が多かった。その他に

と推定される代謝物が認められた。尿においては、少量のジフルフェニカン[A]が認められ、代謝物は同定もしくは推定されなかった。ケージ洗浄液中の主要な放射能はジフルフェニカン[A]であった。胆汁排泄試験において、胆汁中の主要な放射能は であった。

試験A及びDの雌雄いずれにおいても、投与放射能の70%以上について構造が同定もしくは推定された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

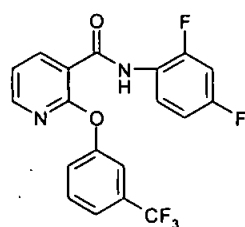
表10 尿、糞、ケージ洗浄液及び胆汁で同定もしくは推定された代謝物の割合

試験群 同定もしくは 推定化合物	A :						D :						C : 胆汁排泄	
	尿		糞		ケージ洗浄		尿		糞		ケージ洗浄		胆汁	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
ジフルフェニカン[A]	0.04	0.37	27.97	19.34	6.67	12.82	0.24	0.37	32.36	25.17	5.91	10.65		

数値は投与放射能に対する割合 (%)

空欄は検出されなかったことを示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



ジフルフェニカン[A]

図1 ジフルフェニカンのラット体内における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

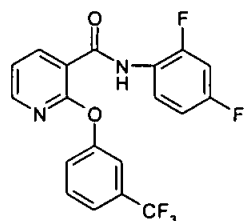
6) 14日間反復経口投与した¹⁴C-ジフルフェニカンのラット体内における分布、代謝及び排泄 (資料No. 代6)

試験機関:

報告書作成年:

供試標識化合物:

構造式:



化学名: 2',4'-ジフルオロ-2-(α , α , α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度:

比放射能:

供試動物:

ウイスター系ラット

試験開始時の平均体重304g(雄)及び231g(雌)、雌雄各5匹

標識位置の設定理由:

試験方法:

¹⁴C-ジフルフェニカン を非標識ジフルフェニカン (純度99.8%)で希釈し、ポリエチレングリコールを加えて投与液を調製した。5mg/kgの用量となるように、投与液を1g/200g体重の割合で、14日間連続強制経口投与した。最終投与168時間後に屠殺して解剖し、各組織を採取した。試験期間中、尿及び糞を経時的に採取した。ケージは経時的に水で洗浄し、試験終了時にはアセトニトリルで洗浄し、各洗浄液を採取した。呼気は採取しなかった。

分析

(1) 総放射能の測定

糞は適量の水と混合して均質化し、オキシダイザーで燃焼後、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能を測定した。

尿、血漿、ケージ洗浄液及び糞抽出液は、LSCで直接放射能を分析した。

脂肪、脾臓、子宮、骨及び骨髄はミンチにして一部を、副腎、ハーダー腺、卵巣等の小さな組織はオキシダイザーで直接燃焼して、LSCで放射能を測定した。

他の臓器は、必要に応じて少量の水を加えて磨砕均質化し、オキシダイザーで燃焼後、LSCで放

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

射能を測定した。

血液は乾燥後オキシダイザーで燃焼し、LSCで放射能を測定した。

(2) 糞の抽出

水を加えて均質化した糞は超音波後遠心し、上清を採取した。沈殿物は80%アセトニトリルを加え、3回超音波抽出した。抽出液を合わせ、HPLC分析に供した。

(3) 代謝物の分析

尿及び糞抽出液中の代謝物は、HPLC及びLC-MSで同定、特徴付け及び定量した。

結果：

放射能収支

最終投与24時間後及び試験終了時点での放射能回収率を表1に示す。

試験終了時点での放射能回収率は雄で94.800%、雌で94.665%でありいずれも良好であった。

表1 放射能回収率

性	雄		雌	
	最終投与 24時間後	最終投与 7日後	最終投与 24時間後	最終投与 7日後
尿	2.929	3.103	2.607	2.810
糞	87.428	91.058	86.868	91.123
ケージ洗浄液	0.344	0.384	0.390	0.428
残体	NA	0.255	NA	0.304
合計	90.700	94.800	89.865	94.665

数値は総投与放射能に対する割合 (%)

NA：採取せず

排泄

尿及び糞への放射能の排泄率の推移を表2及び図1に示す。

ラットに14日間連続投与された放射能の排泄は速く、試験終了時までには雄で94.5%、雌で94.4%が体外に排泄された (尿、糞及びケージ洗浄液からの回収放射能の合計)。

経口投与されたジフルフェニカンの主要な排泄経路は糞であり、試験終了時までには糞から排泄された放射能の割合は雌雄いずれも総投与放射能の91.1%であった。このうち、最終投与24時間後までに約87%の放射能が糞から排泄された。実験終了時までには尿から排泄された放射能の割合は、雄で総投与放射能の3.10%、雌で2.81%であった。糞、尿いずれの排泄パターンも雌雄で類似していた。

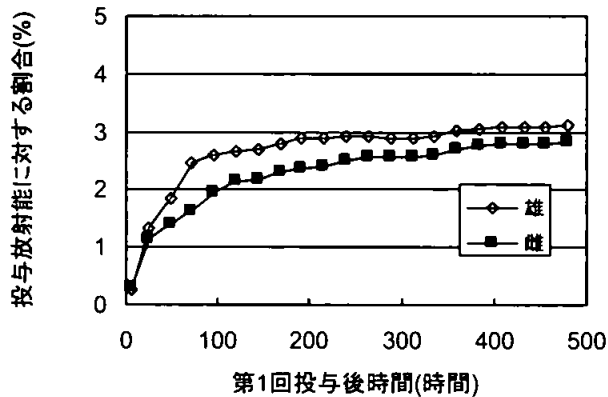
本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表2 尿及び糞からの排泄率の推移

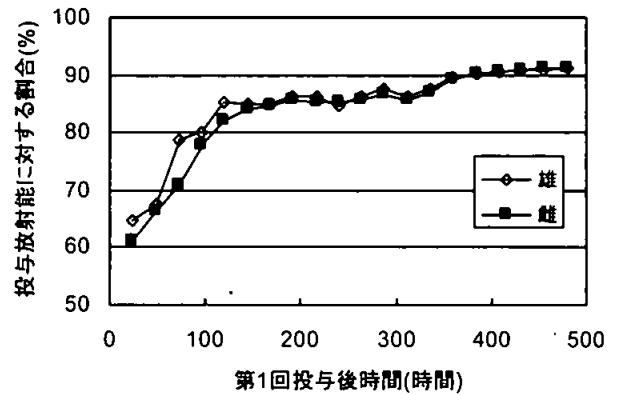
第1回投与後の時間 (時間)	雄		雌		
	尿	糞	尿	糞	
投薬期間	0～ 6	0.274	NA	0.305	NA
	0～ 24	1.328	64.713	1.123	61.179
	0～ 48	1.857	67.628	1.399	66.492
	0～ 72	2.455	78.816	1.615	70.814
	0～ 96	2.600	80.129	1.961	77.815
	0～120	2.670	85.451	2.159	81.898
	0～144	2.708	84.852	2.172	83.993
	0～168	2.806	84.914	2.305	84.526
	0～192	2.877	86.282	2.365	85.605
	0～216	2.893	86.239	2.400	85.265
	0～240	2.936	84.597	2.492	85.413
	0～264	2.933	86.432	2.552	85.578
	0～288	2.903	87.613	2.556	86.657
	0～312	2.891	86.426	2.551	85.594
休薬期間	0～336	2.929	87.428	2.607	86.868
	0～360	3.014	89.594	2.711	89.267
	0～384	3.058	90.355	2.755	90.161
	0～408	3.077	90.658	2.777	90.587
	0～432	3.089	90.842	2.794	90.815
	0～456	3.097	90.973	2.803	91.016
	0～480	3.103	91.058	2.810	91.123

数値は採取時点までに投与した総放射能に対する割合 (%)

NA : 採取せず



1-1 尿



2-1 糞

図1 尿及び糞からの排泄率の推移

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

分布

試験終了時のラットの各組織における放射能の分布を表3に示す。

試験終了時に動物体内に残存している放射能は雄で総投与放射能の0.255%、雌で0.304%であり、両性とも非常に低いレベルであった(表1)。

最も高い放射能濃度が認められた組織は雌雄いずれにおいても脂肪であり、雄1.191 $\mu\text{g/g}$ 、雌1.843 $\mu\text{g/g}$ であった。雄の腸(内容物を含む)0.574 $\mu\text{g/g}$ 、ハーダー腺0.367 $\mu\text{g/g}$ 、精巢0.204 $\mu\text{g/g}$ 、雌の卵巣0.466 $\mu\text{g/g}$ 、腸(内容物を含む)0.402 $\mu\text{g/g}$ でも高い濃度が認められた。

表3 最終投与7日後のラット組織における放射能分布

試料	ジフルフェニカン 相当濃度 ($\mu\text{g/g}$)		血漿濃度に対する比	
	雄	雌	雄	雌
全血	0.035	0.031	17.50	7.75
腸 (内容物を含む)	0.574	0.402	287.00	100.50
ハーダー腺	0.367	0.107	183.50	26.75
残体	0.102	0.140	51.00	35.00
皮膚 (被毛を含む)	0.171	0.245	85.50	61.25
血漿	0.002	0.004	1.00	1.00
眼	0.004	0.006	2.00	1.50
脳	0.010	0.013	5.00	3.25
脂肪	1.191	1.843	595.50	460.75
心臓	0.017	0.025	8.50	6.25
肺	0.033	0.037	16.50	9.25
脾臓	0.026	0.035	13.00	8.75
肝臓	0.165	0.157	82.50	39.25
腎臓	0.050	0.081	25.00	20.25
甲状腺	ND	ND	ND	ND
精巢	0.204	NA	102.00	NA
卵巣	NA	0.466	NA	116.50
膵臓	0.027	0.164	13.50	41.00
副腎	0.123	0.130	61.50	32.50
子宮	NA	0.296	NA	74.00
筋肉	0.059	0.086	29.50	21.50
胃 (内容物を含む)	0.057	0.059	28.50	14.75
骨及び骨髄	0.019	0.026	9.50	6.50

ND : 検出限界未満

NA : 採取せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

代謝

尿及び糞で同定もしくは推定された代謝物を表4に、ジフルフェニカンのラット体内における推定代謝経路を図2に示す。

標準品との比較によりジフルフェニカン[A]及び [] が同定された。その他の代謝物はLC-MSの結果から構造を推定した。

ジフルフェニカンはラット体内で広範に代謝され、尿で []、糞で [] の放射能画分が得られた。尿においてジフルフェニカン[A]は検出されなかった。糞における放射能の大部分はジフルフェニカン[A]で、 [] も投与放射能の10%を超えて検出された。 [] は尿からも検出された。その他の推定代謝物は、 []

されたものであった。

尿中放射能の29%(雌雄とも)、また、糞中放射能の95%(雄)及び91%(雌)の構造が同定もしくは推定された。

表4 尿及び糞で同定もしくは推定された代謝物

同定もしくは推定化合物	尿		糞 ^{b)}			
	雄	雌	雄		雌	
	合計 ^{a)}	合計 ^{a)}	範囲 ^{b)}	平均 ^{c)}	範囲 ^{b)}	平均 ^{c)}
ジフルフェニカン[A]			47.99-64.74	55.53	44.26-62.31	51.89

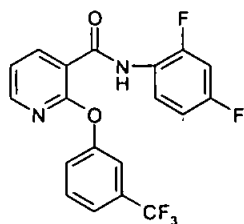
空欄は検出されなかったことを示す

- a) 第1回の投与後0-480時間に尿中に検出された放射能の総投与放射能に対する割合 (%)
- b) 第1回の投与後0-336時間(最終投与後24時間)に24時間毎に採取された糞中に検出された放射能の、1回あたりの投与放射能に対する割合(%)の最小値及び最大値
- c) 第1回の投与後0-480時間に糞中に検出された放射能の総投与放射能に対する割合 (%) (申請者の計算による)
- d) 推定代謝物
- e) 第1回の投与後0-336時間には検出されなかった
- f) 第1回の投与後264時間のみ検出

結論 :

¹⁴C-ジフルフェニカンをラットに14日間連続経口投与した本試験の結果は、単回経口投与の結果(資料No.代5)と類似していた。そのため、¹⁴C-ジフルフェニカンの反復経口投与は、単回経口投与に比べ排泄の経路及び代謝物プロファイルに大きな変化を与えないと考えられた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。



ジフルフェニカン[A]

図2 反復経口投与されたジフルフェニカンのラット体内における推定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2. 植物体内運命試験

1) ¹⁴C-ジフルフェニカンの小麦における代謝試験 (発芽前土壌処理)

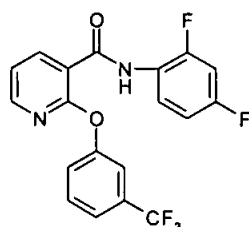
(資料 No.代 7)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

構造式：



化学名； 2',4'-ジフルオロ-2-(α, α, α -トリフルオロ-m-トリルオキシ)ニコチンアミド
(以下 ¹⁴C-ジフルフェニカン)

放射化学的純度；

比放射能；

供試植物：小麦 (品種 Timmo)

試験土壌：エセックス (英国)の農場より採取した埴壤土を用いた。土壌の性質を以下に示す。

粘土	34%
シルト	28%
砂	47%
有機質	2.9%
pH	6.6
水分含量 (風乾土壌)	1.74%
大気圧での容水量	26.7%
0.33bar での容水量	25%
陽イオン交換容量(meq/100g)	22.1

試験方法：

処理及び試料の採取；

乾燥し、ふるいにかけて土壌を直径 5 インチのポットにつめ、小麦を播種した。¹⁴C-ジフルフェニカンをアセトンに溶解させ、約 500g ai/ha の割合で発芽前土壌処理し、温室内で栽培した。処理当日、小麦 3 葉期 (処理 14 日及び 22 日後)、5 葉期 (処理 28 日及び 29 日後)、伸長期 (処理 36 日及び 41 日後)、穂孕期 (処理 43 日及び 48 日後)及び収穫期 (処理 92 日及び 98 日後)に植物及び土壌試料を採取した。3 葉期～伸長期の植物試料は地上部 (茎葉)と地下部に分け、穂孕期の植物試料は穂、茎葉及び地下部に、収穫期の植物試料は種子、初殻 (穂軸を含む)、茎葉及び地下部に分けた。地下部は付着した土壌を落とし、水洗した。洗浄水中の土壌は遠心分離して集め、風乾した。ポットからの排水は、トレイに集めた後、採取した。また、小麦の発芽後間引きを行い、除草を行った。間引いた植物体および雑草についても放射能の分析を行った。

¹⁴C-ジフルフェニカン処理直後から 28 日後までの間、植物をポットごと代謝装置におき、

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

2N 硫酸、エタノールアミン/2-エトキシエタノール及び2,2,4-トリエチルペンタントラップを用い揮発性物質を捕集した。

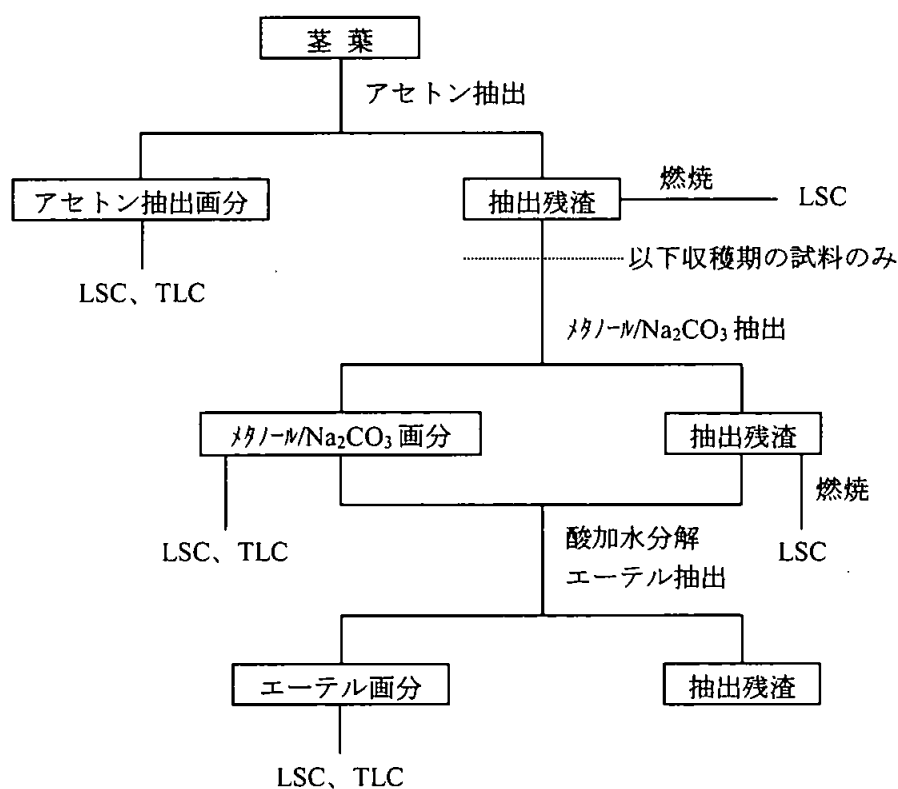
代謝物の分離及び分析；

植物体の各部位及び土壌試料を以下に示したスキームに従って抽出、画分した。抽出物中の代謝物は薄層クロマトグラフィー (TLC)により分析した。

放射能の測定；

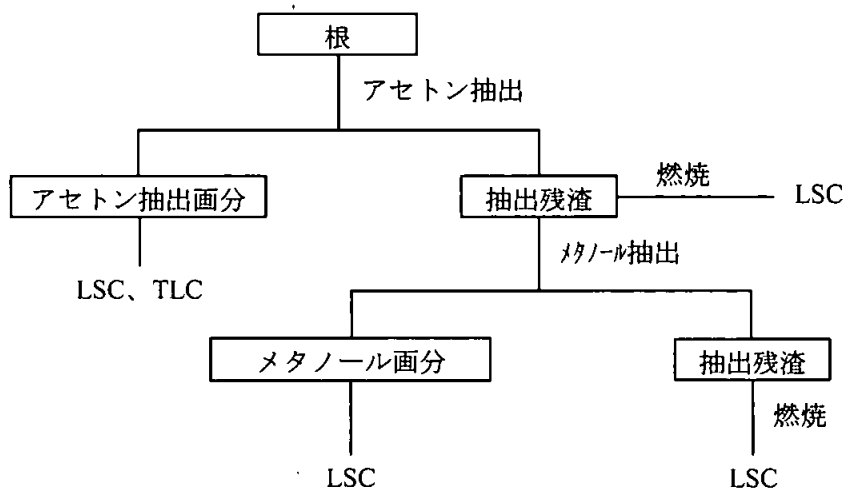
放射能の測定は液体シンチレーションカウンター (LSC)を用い、直接または燃焼法により行なった。

(1) 茎と葉



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

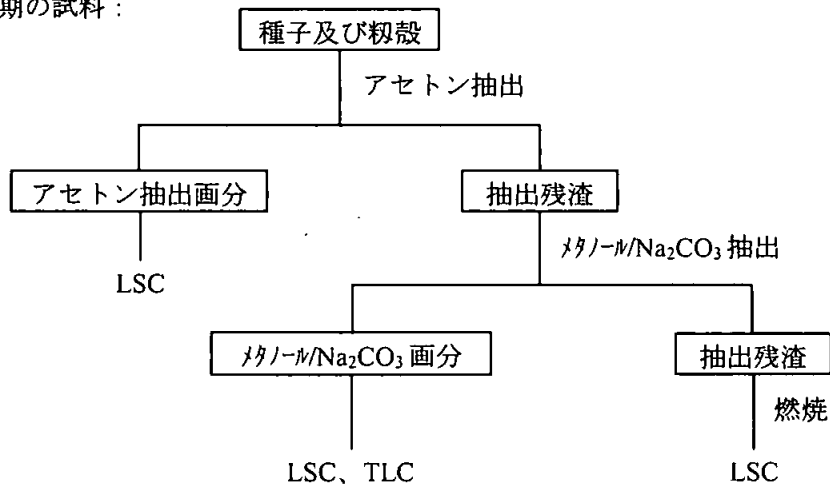
(2) 根



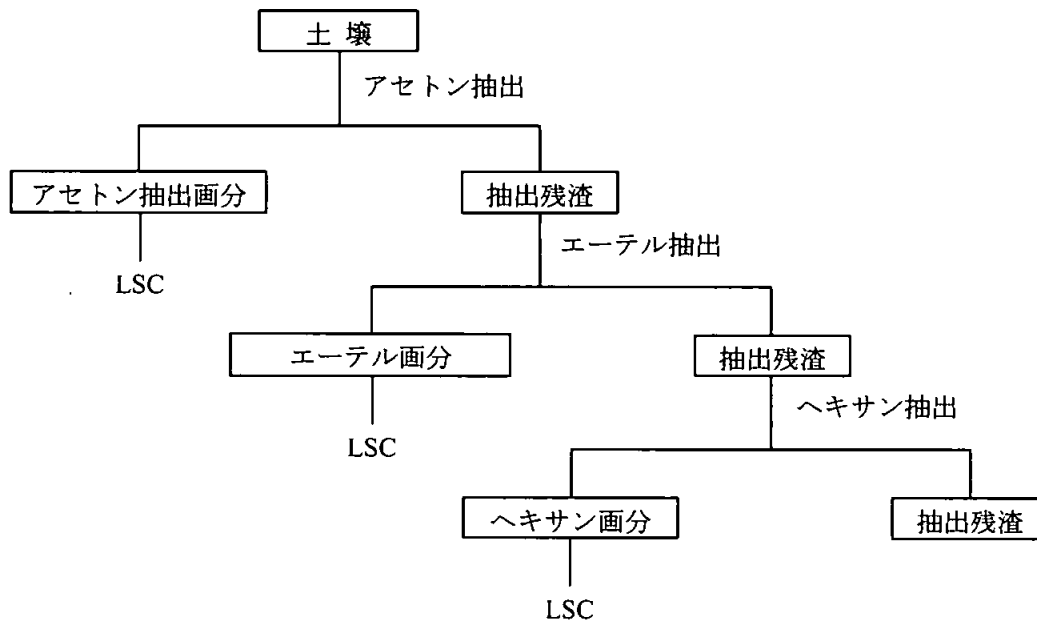
(3) 穂

穂孕期の試料：全試料の放射能含量を燃焼法によって測定した。

収穫期の試料：



(4) 土壌



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

試験結果：

土壌及び植物体中の放射能の分布；

結果の概要を表 1 に示す。

処理した放射能の回収率は、3 葉期の 98.0%から収穫時の 85.3%までの範囲内にあり、その大部分が土壌中に存在していた。植物体には、処理した放射能の 0.1~1.7%が存在していた。植物体中の放射能の分布 (親化合物相当量、mg/kg)は根に最も多く、この放射能の大部分は放射性化合物を含む土壌が付着したことによるものと思われた。茎葉での放射能が収穫期に増大したが、この上昇は老化による組織重量の減少によるものであった。穂 (種子、籾殻)における放射能はごくわずかであった。揮発性物質中の放射能は、処理した放射能の 0.01%以下であった。

表 1 土壌及び植物体中の放射能の分布

試料採取時期		処理量に対する残留放射能 (%)								
小麦生育時期	処理後日数	土壌	小麦					排水、雑草、間引き植物	総回収率	
			茎葉	地下部	出穂前の穂	種子	籾殻			合計
処理当日	<1	99.9	—	<0.01 (0.02)	—	—	—	<0.01	—	99.9
3葉期	22	97.8	0.065 (0.21)	0.025 (0.77)	—	—	—	0.1	0.1	98.0
5葉期	29	92.0	0.13 (0.12)	0.04 (0.32)	—	—	—	0.2	0.1	92.3
伸長期	41	94.4	0.285 (0.08)	0.17 (0.70)	—	—	—	0.5	0.2	95.2
穂孕期	48	91.6	0.335 (0.10)	0.295 (0.45)	<0.01 (0.01)	—	—	0.7	0.2	92.4
収穫期	98	83.4	1.24 (0.78)	0.25 (0.65)	—	0.075 (0.10)	0.08 (0.25)	1.7	0.1	85.2

()内の数値は、生重量あたりのジフルフェニカン相当量 (mg/kg)

—：試料を採取せず

土壌及び植物体中の放射能の性質；

植物体中の放射能の性質を検討した結果を表 2 に示す。

3 葉期から穂孕期までの植物では、茎葉及び根に残留している放射能の大部分がアセトン画分中で検出されたが、収穫期の植物では、茎葉及び根の残留放射能の約 50%がアセトン画分中で検出されたにすぎなかった。一方、種子では残留放射能のごくわずかがアセトン画分中で検出された。茎葉及び種子とも残留放射能の多くがメタノール/ Na_2CO_3 画分中で検出された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 2 抽出放射能

生育時期		総放射能割合 ^{a)} (%)					
		処理当日	3 葉期	5 葉期	伸長期	穂孕期	収穫期
処理後日数		<1	22	29	41	48	98
茎葉	アセトン画分	—	66.7 (0.15)	55.8 (0.09)	48.9 (0.06)	37.3 (0.07)	31.3 (0.325)
	メタノール/ Na ₂ CO ₃ 画分	—	—	—	—	—	34.6 (0.355)
	残渣	—	11.1 (0.055)	17.6 (0.025)	13.0 (0.02)	15.9 (0.03)	9.4 (0.095)
	合計 ^{a)}		77.8 (0.205)	73.4 (0.115)	61.9 (0.08)	53.2 (0.10)	75.3 (0.775)
地下部	アセトン画分	na ^{b)} (0.02)	27.8 (0.68)	17.6 (0.225)	26.1 (0.495)	25.4 (0.245)	9.4 (0.395)
	残渣	na ^{b)} (<0.01)	<11.1 (0.085)	5.9 (0.095)	10.9 (0.205)	21.4 (0.205)	5.8 (0.255)
	合計 ^{a)}	na ^{b)} (<0.03)	<38.9 (0.765)	23.5 (0.320)	37.0 (0.700)	46.8 (0.450)	12.2 (0.650)
種子	アセトン画分	—	—	—	—	—	na ^{b)} (<0.01)
	メタノール/ Na ₂ CO ₃ 画分	—	—	—	—	—	2.1 (0.045)
	残渣	—	—	—	—	—	2.5 (0.055)
	合計 ^{a)}						4.6 (0.10)
籾殻	アセトン画分	—	—	—	—	—	0.2 (0.01)
	メタノール/ Na ₂ CO ₃ 画分	—	—	—	—	—	3.5 (0.18)
	残渣	—	—	—	—	—	1.2 (0.06)
	合計 ^{a)}						4.9 (0.25)

()内の数値は、生重量あたりのジフルフェニカン相当量 (mg/kg)

— : 試料を採取せず

a) : 申請者の計算による b) : 計算できない

代謝物の検討 ;

茎葉、種子及び籾殻のアセトン画分及びメタノール/Na₂CO₃画分中の代謝物を TLC で分析した。結果を表 3 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 3 抽出放射能

生育 時期	処理 後 日 数	試料	画分	総放射能割合 ^{a)} (%)										
				ジフル フェニカン [A]										
3葉期	22	茎葉	アセトン画分	83.3 (0.20)										
収穫期	98	茎葉	アセトン画分	27.7 (0.215)										
			メタノール/ Na ₂ CO ₃ 画分	5.2 (0.04)										
		種子	メタノール/ Na ₂ CO ₃ 画分	20.0 (0.02)										
			籾殻	メタノール/ Na ₂ CO ₃ 画分	12.0 (0.03)									

nd : 検出されず na : 計算できず

()内の数値は、生重量あたりのジフルフェニカン相当量 (mg/kg)

a) : 申請者の計算による

若い3葉期の植物では、茎葉のアセトン画分中の放射能の大部分を未変化のジフルフェニカン[A]が占めていたが、収穫期の茎葉のアセトン画分では、その他に
 が検出され、メタノール/Na₂CO₃画分からは親化合物のジフルフェニカン[A]と
 が認められた。また、種子のメタノール/Na₂CO₃画分からは、ジフルフェニ
 カン[A]及び
 がそれぞれ 0.02~0.03mg/kg 検出された。
 土壌及び植物の地下部のアセトン画分について、TLCによる代謝物の検討を行なったが、
 放射能の大部分は未変化のジフルフェニカン[A]であり、その他
 と同じ
 移動度を示す代謝物が検出された。

以上のように、温室内で小麦発芽前に土壌処理した ¹⁴C-ジフルフェニカンの大部分は土壌中
 に残留し、小麦に吸収された放射能はごくわずかであった。また、小麦に吸収された放射能
 の大部分は地下部及び茎葉中に存在した。収穫時の種子に分布する放射能は、ジフルフェニ
 カン相当量で 0.10 mg/kg であり、そのうち未変化のジフルフェニカン[A]は 0.02mg/kg であつ
 た。なお代謝物の同定を試みたが、少量のため不可能であった。