

(資料No. 製剤-20)

(4)-1 75%乳剤のラットにおける急性経口毒性試験

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: 75%乳剤

試験動物: ウィスター系ラット (雄8週齢、雌9週齢)、1群雌雄各5匹
体重: 雄 204g(197-208g)、雌 179g(172-185g)

試験期間: 15日間観察

方法: 検体を脱イオン水の50%懸濁となるよう調製し、検体5000 mg/kgを強制経口投与した。絶食期間は投与の約16時間前から投与後 3-4時間とした。

試験項目: 生死及び中毒症状を15日間観察した。投与時及び投与後1週間毎に体重を測定した。死亡例及び試験終了時の全生存例について剖検し、肉眼的な変化を観察した。

結果:

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共に >5000
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	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)	5000
死亡例の認められ なかった最高投与量 (mg/kg)	5000

臨床的な中毒症状は認められなかった。また、体重の増加に影響はみられなかった。

剖検所見において異常は観察されなかった。

(資料No. 製剤-21)

(4)-2 38%乳剤のマウスにおける急性経口毒性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：38%乳剤

試験動物：ICR系マウス（6週齢）、1群雌雄各5匹

体重：雄 31.7g(29.2-34.6g)、雌 26.1g(24.6-27.9g)

試験期間：14日間観察

方法：検体を希釈せずに強制経口投与した。投与前約2時間より投与終了後3時間まで絶食させた。

試験項目：中毒症状及び生死を14日間観察した。投与時、投与後7及び14日目に体重を測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共に >5000
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	症状発現なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	5000

中毒症状は観察されなかった。投与終了時の体重に減少はみられなかった。剖検所見において肉眼的に異常は認められなかった。

(資料No. 製剤-22)

(4)-3 75%乳剤のラットにおける急性経皮毒性試験

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: 75%乳剤

試験動物: ウィスター系ラット (雄8週齢、雌10週齢)、1群雌雄各5匹
体重: 雄250 g(247-253g)、雌 211g(199-226g)

試験期間: 15日間観察

方法: 検体は希釈せずに、剃毛した動物の背部皮膚に、4000 mg/kgを塗布した。
塗布部位をアルミホイルで覆い、包帯で体躯に固定した。24時間暴露後、
微温湯を用いて残った検体を洗い流した。

試験項目: 生死及び中毒症状を15日間観察した。投与時及び投与後1週間毎に体重を測定した。死亡例及び試験終了時の全生存例について剖検し、肉眼的な変化を観察した。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	4000
LD ₅₀ (mg/kg)	雌雄共に >4000
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	雄 2日から発現、10日に消失 雌 2日から発現、4日に消失
死亡例の認められ なかった最高投与量 (mg/kg)	4000

臨床症状として、雌雄に不規則呼吸あるいは呼吸数の増加が認められ、雄では6日目まで、雌では3日目まで継続した。また、局所所見として、皮膚に微細な鱗屑、乾燥した皮膚あるいはざらざらした皮膚が、雄は9日目まで、雌は3日目まで観察された。体重の増加に影響はみられなかった。剖検所見において異常は観察されなかった。

(4) - 4 38%乳剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(資料No. 製剤-23)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: 38%乳剤

〔組成〕 シラフルオフェン原体; 38.0%
水、界面活性剤等; 62.0%

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ雌 (11週齢)

1群6匹、平均体重2408g

試験期間: 72時間観察

方法: 微粉末にした検体0.5mlを同量の脱イオン水で湿らせ、刈毛した動物の背中の皮膚 (2.54cm四方) に塗布した。塗布時間は4時間とし、皮膚に残った検体は水で洗い流した。

観察項目及: 塗布終了後30分、1、24、48及び72時間に塗布部分の刺激性変化を観察し
び評価方法: 刺激性変化は、農林水産省の指針及びDraize法に従って、紅斑、痂皮形成及び浮腫の程度を採点した。

試験結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表のとおりである。

動物 番号	項目	塗布除去後の時間				
		30分	1時間	24時間	48時間	72時間
1	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	0	0	0	0	0
	浮腫	0	0	0	0	0

塗布後の観察に於いて紅斑、痂皮及び浮腫形成は認められなかった。
観察期間終了時に体重が減少した動物は認められなかった。

以上の結果、シラフルオフェン38%乳剤はウサギの皮膚に対して刺激性を有さないものと思われる。

(資料No. 製剤-24)

(4)-5 38%乳剤のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年:

検体の純度: 38%乳剤

[組成] シラフルオフェン原体; 38.0%、
水、界面活性剤等; 62.0%

試験動物: ニュージーランドホワイト種ウサギ雌 (11週齢)

1群6匹 (非洗眼群)、3匹 (投与2分または24時間後に洗眼する群)

平均体重 2411 g (非洗眼群)、2319 g (投与2分間後洗眼群)

2506 g (投与24時間後洗眼群)

試験期間: 72時間観察

方法: 検体0.1 mlを左眼に投与し3匹は2分後に洗眼、3匹は24時間後に洗眼した。6匹については洗眼しなかった。

観察項目: 投与1、3、24、48及び72時間後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を及び評価方法 観察した。

投与72時間後に刺激性変化が認められなかったため、この時点で観察を終了した。

農林水産省の指針及びDraize法に従って採点した。最高点は、角膜80、虹彩10、結膜20、合計110である。最高評点は、角膜混濁の程度及び面積がそれぞれ4、虹彩は2、結膜の発赤は3、浮腫は4、分泌物は3である。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目	最高 評点	投与後時間							
		1時間	3時間	24時間	48時間	72時間			
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
			面 積	4	0	0	0	0	0
			虹 彩	2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	1	1	0	0
			浮 腫	4	1	1	0	0	0
	分泌物		3	2	1	0	0	0	
		合 計	110	8	6	2	0	0	
	動物 番号 2	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
			面 積	4	0	0	0	0	0
			虹 彩	2	0	0	0	0	0
結膜		発 赤	3	1	1	0	0	0	
		浮 腫	4	1	2	1	0	0	
	分泌物	3	2	2	0	0	0		
	合 計	110	8	10	2	0	0		
動物 番号 3	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	1	0	0	0	
		浮 腫	4	1	2	1	0	0	
分泌物		3	2	2	0	0	0		
	合 計	110	8	10	2	0	0		
動物 番号 4	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	1	0	0	0	
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	
分泌物		3	2	2	0	0	0		
	合 計	110	8	8	0	0	0		
動物 番号 5	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	1	1	0	0	
		浮 腫	4	1	2	1	0	0	
分泌物		3	2	2	0	0	0		
	合 計	110	8	10	4	0	0		
動物 番号 6	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	1	1	1	0	0	
		浮 腫	4	1	1	0	0	0	
分泌物		3	1	2	0	0	0		
	合 計	110	6	8	2	0	0		
	総 計	660	46	52	12	0	0		
	平 均	110	7.7	8.7	2	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。

項 目			最高 評点	投 与 後 時 間				
				1時間	3時間	24時間	48時間	72時間
2分間後 洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	1.0	1.0	0.7	0	0
		浮 腫	4	1.0	2.0	0.7	0	0
		分泌物	3	1.0	1.3	0	0	0
	合 計			6.0	8.7	2.7	0	0
24時間後 洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
		面 積	4	0	0	0	0	0
	虹 彩		2	0	0	0	0	0
	結膜	発 赤	3	1.0	1.0	1.0	0	0
		浮 腫	4	1.0	2.0	0.7	0	0
		分泌物	3	1.7	1.7	0	0	0
	合 計			7.3	9.3	3.3	0	0

角膜及び虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。結膜の刺激性変化は、非洗眼群、洗眼群とも軽度の発赤が投与後1時間から認められたが、これらの変化は投与2日後には消失した。

以上の結果から、シラフルオフェンの38%乳剤はウサギの眼粘膜に対して、わずかな刺激性があるものと思われる。

(資料No. 製剤-25)

(4)-6 38%乳剤希釈液のウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年：

検体の純度：38%乳剤の2000倍希釈液

〔組成〕 シラフルオフェン原体；38.0%、
水、界面活性剤等；62.0%

試験動物：ニュージーランドホワイト種ウサギ雌（11週齢）

1群6匹（非洗眼群）、体重 2339-2851g

試験期間：72時間観察

方法：38%水和剤を蒸留水で2000倍に希釈し、動物の左眼にこの希釈液0.1mlを投与した。

観察項目及び評価方法：投与1、3、24、48及び72時間後に角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察した。

投与72時間後に刺激性変化が認められなかったため、この時点で観察を終了した。

農林水産省の指針及びDraize法に従って採点した。最高評点は、角膜混濁の程度及び面積がそれぞれ4、虹彩は2、結膜の発赤は3、浮腫は4、分泌物は3である。

結果：観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目			最高 評点	投与後時間					
				1時間	3時間	24時間	48時間	72時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜 程度	4	0	0	0	0	0	
		混濁 面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	0	0	0	0	0
	分 泌 物	3	0	0	0	0	0		
	合 計			110	0	0	0	0	0
	動物 番号 2	角膜 程度	4	0	0	0	0	0	
		混濁 面積	4	0	0	0	0	0	
		虹 彩	2	0	0	0	0	0	
結 膜		発 赤	3	0	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	
分 泌 物	3	0	0	0	0	0			
合 計			110	0	0	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。

項 目			最高 評点	投 与 後 時 間					
				1時間	3時間	24時間	48時間	72時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 3	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
			面 積	4	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	0	0	0	0	0
			分泌物	3	0	0	0	0	0
	合 計			110	0	0	0	0	0
	動物 番号 4	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
			面 積	4	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
			浮 腫	4	0	0	0	0	0
			分泌物	3	0	0	0	0	0
	合 計			110	0	0	0	0	0
	動物 番号 5	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0
			面 積	4	0	0	0	0	0
		虹 彩		2	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	0	0	0	0	0
浮 腫			4	0	0	0	0	0	
分泌物			3	0	0	0	0	0	
合 計			110	0	0	0	0	0	
動物 番号 6	角膜 混濁	程 度	4	0	0	0	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	0	
	結膜	発 赤	3	0	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	0	
合 計			110	0	0	0	0	0	
総 計			660	0	0	0	0	0	
平 均			110	0	0	0	0	0	

全例に角膜及び虹彩の刺激性変化は認められなかった。また、これらの動物の結膜に発赤、結膜浮腫あるいは分泌物も認められなかった。

以上の結果、シラフルオフェン38%乳剤の2000倍希釈液はウサギの眼粘膜に対して、刺激性がないものと思われる。

(資料No. 製剤-26)

(4)-7 75%乳剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (BUEHLER法)

試験機関：ヘキスト AG

[GLP対応]

報告書作成年：1991年

検体の純度：75%乳剤

試験動物：ピルブライト白色種雌モルモット、約10週齢

体重：265 g(249-285 g)、対照群10匹、投与群20匹

陽性対照は対照群10匹、投与群20匹

試験期間：48時間観察

方法：BUEHLER法に基づいて実施した。

予備試験：2匹を用いて予備試験を行った。

希釈しない検体 0.5mlをセルロースパッチに塗布し、各動物の剃毛した左脇腹に閉塞固定し6時間暴露した。この処理を週3回行い処理部位は24時間後に紅斑及び浮腫を評価した。この結果、皮膚が乾燥した状態及び鱗屑に覆われた状態が認められたが、紅斑あるいは浮腫は認められなかったことから、本試験には感作および惹起ともに希釈しない検体を用いることとした。

陽性対照の試験は本試験と同時にには行っていないが、本研究所では定期的実施している既知感作剤の 2,4-ジニトロクロロベンゼン(DNCB)を用いた試験を使用した(1991年1月実施)。

感作試験：剃毛した左脇腹に希釈しない検体 0.5mlをセルロースパッチ(2cm×2cm)に塗布し、貼付した。6時間後に包帯を除去し、24、48時間後に皮膚反応を評価した。同様処理を1週間に3回、合計9回行った。

対照群には 0.5mlの脱イオン水を同様に処理した。

惹起試験：最終感作後17日目に各試験動物の右腹側部を剃毛し、希釈しない検体 0.5mlをセルロースパッチに塗布し、6時間暴露し閉塞包帯した。

観察項目：6時間後に包帯を除去し、24及び48時間後にDraize法により皮膚反応を評価した。

結 果：感作時に投与群に微弱、あるいは明らかな紅斑が認められ、皮膚の粗造化がみられたが、惹起試験ではいずれの動物においても刺激性の反応は認められなかった。

一方、別途実施した陽性対照の試験では軽度ないし中等度の紅斑がみられた。

(最高評点は紅斑・痂皮4、浮腫4)

		動物数	平均評点		陽性動物数		
			24時間	48時間			
検 体	投与群	シラフルオフェン 75%粒剤	20	紅 斑 ・ 浮 腫	0	0	0/20
	対照群	脱イオン水	10	紅 斑 ・ 浮 腫	0	0	0/10
陽性対照	投与群	DNCB	20	紅 斑	1.4	1.1	20/20
				浮 腫	0.1	0.05	2/20
	対照群	エタノール	10	紅 斑 ・ 浮 腫	0	0	0/10

以上の結果、シラフルオフェン75%乳剤の皮膚感作性は陰性であると判断された。

(資料No. 製剤-27)

(5)-1 エチプロール・シラフルオフエン水和剤のラットを用いた急性経口毒性試験

試験機関：

報告書作成年：

検体純度：エチプロール・シラフルオフエン水和剤

組成	エチプロール原体	%
	シラフルオフエン原体	%
	界面活性剤及び鉱物質微粉他	%

試験動物：Sprague-Dawley (Cr1:CD(SD))、SPF ラット、8週齢、1群雌3匹

体重：184.1～201.5 g

試験期間：14日間観察

試験方法：秤量した検体を調製瓶に入れ注射用水を徐々に加えてボルテックスミキサーで攪拌し、注射用水を加えて規定濃度の懸濁液を調製した。投与前日から絶食させた動物に体重1kg当たり、10mlの容量で単回経口投与した。

試験項目：中毒症状および生死を14日間観察した。体重は投与前、投与後1、3、7および14日に測定した。試験終了時の全生存動物について剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	初回 2000 二回目 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg) (95%信頼限界)	> 2000
死亡開始および 終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現および 消失時間	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)	2000
死亡例の認められなかった最 高投与量(mg/kg)	2000

死亡および一般状態の異常は認められなかった。

体重については、全動物に投与に関連のある変化は認められなかった。

剖検所見では、いずれの動物に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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

(資料No. 製剤-28)

(5)-2 エチプロール・シラフルオフェン水和剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体純度: エチプロール・シラフルオフェン水和剤

組成	エチプロール原体	%
	シラフルオフェン原体	%
	界面活性剤及び鉱物質微粉他	%

試験動物: Sprague-Dawley (CrI:CD(SD)), SPF ラット、1群雄雌各5匹

体重: 雄 274.7~295.1g、8週齢、雌 230.9~251.3g、9週齢

試験期間: 14日間観察

試験方法: 検体を注射用水で適度に湿潤させ、刈毛した背部皮膚に24時間塗布した。24時間後に被覆物を取り除き、微温湯を用いて検体の残留物を除去した。

試験項目: 中毒症状および生死を14日間観察した。体重は、投与前、投与後3、7および14日に測定した。試験終了時に全生存動物について剖検を行った。

試験結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雌雄 > 2000
死亡開始および終了時間	死亡例は認められなかった。
症状発現および消失時間	中毒症状は認められなかった。
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	雄 2000 雌 2000

死亡および中毒症状は認められなかった。

体重については、雌雄いずれも対照群と比較し有意差は認められなかった。

剖検では、いずれの動物にも異常は認められなかった。

雌1例の投与部位の皮膚に、投与後1日から3日まで痂皮形成が観察されたが、その後は速やかに回復した。

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。

(資料No. 製剤-29)

(5)-3 エチプロール・シラフルオフェン水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

試験機関:

報告書作成年: [GLP対応]

検体純度: エチプロール・シラフルオフェン水和剤

組成	エチプロール原体	%
	シラフルオフェン原体	%
	界面活性剤及び鉱物質微粉他	%

試験動物: NZW(Yac:NZW(KBL)), SPF, ウサギ、16週齢、1群雄3匹
体重; 2.57~ 2.75kg

観察期間: 3日間観察

投与方法: 動物の体幹背部の左右1ヶ所ずつ(1ヶ所は約2.5×2.5cm)を剪毛し、そのうち1ヶ所に注射用水で湿潤した検体0.5gを4時間閉塞貼布した。皮膚に残った検体は微温湯で除去した。他の1ヶ所は無処置対照部位とした。

観察項目: パッチ除去後1、24、48および72時間後に、投与部位の刺激性変化(紅斑・痂皮および浮腫)の有無等を観察して、Draize法に従って採点、評価した。

試験結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

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
1101	紅斑・痂皮	4	1	1	1	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1102	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
1103	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	3	3	1	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1	1	0.3	0
	浮腫	4	0	0	0	0

全例に投与1時間以降、紅斑が認められたが、暴露後72時間にはすべて消失した。以上の結果から、被験物質はウサギの皮膚に対して「軽度刺激物」と分類された。

(資料No. 製剤-30)

(5)-4 エチプロール・シラフルオフェン水和剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

試験機関:

報告書作成年:

検体純度: エチプロール・シラフルオフェン水和剤

組成	エチプロール原体	%
	シラフルオフェン原体	%
	界面活性剤及び鉱物質微粉他	%

試験動物: NZW(Yac:NZW(KBL)), SPF, ウサギ, 16週齢, 1群雄3匹 体重 2.58~2.80kg

観察期間: 72時間

試験方法: 検体 0.1g を非洗眼群および洗眼群各3匹の右眼の結膜嚢内に適用した。洗眼群は投与約30秒後に30mLの注射用水を用いて30秒間洗眼した。左眼は非洗眼群では無処置対照とし、洗眼群では洗眼のみを行い洗眼対照とした。

観察項目: 投与後1、24、48および72時間後まで、角膜、虹彩および結膜に対する刺激性変化をDraize法に従って採点した。投与後24時間にはフローレス試験紙を用いて角膜異常の有無を観察した。Kay and Calandraの方法を参考にして評価した。

試験結果: 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

項目			最高 評点	適用後時間				
				1時間	24時間	48時間	72時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 1101	角膜混濁	程 度(A)	4	0	0	0	0
			面 積(B)	4	0	0	0	0
			合計 AxBx5	80	0	0	0	0
		虹 彩	虹 彩(A)	2	0	0	0	0
			合計 Ax5	10	0	0	0	0
		結 膜	発 赤(A)	3	1	1	0	0
			浮 腫(B)	4	1	0	0	0
	分泌物(C)		3	0	0	0	0	
	合計 (A+B+C) x2		20	4	2	0	0	
	合 計			110	4	2	0	0
	動物 番号 1102	角膜混濁	程 度(A)	4	0	0	0	0
			面 積(B)	4	0	0	0	0
			合計 AxBx5	80	0	0	0	0
		虹 彩	虹 彩(A)	2	0	0	0	0
合計 Ax5			10	0	0	0	0	
結 膜		発 赤(A)	3	1	1	0	0	
		浮 腫(B)	4	1	0	0	0	
	分泌物(C)	3	0	0	0	0		
	合計 (A+B+C) x2	20	4	2	0	0		
合 計			110	4	2	0	0	

項 目			最高 評点	適用後時間					
				1時間	24時間	48時間	72時間		
非 洗 眼 群	動物 番号 1103	角膜混濁	程 度(A)	4	0	0	0	0	
			面 積(B)	4	0	0	0	0	
			合計 AxBx5	80	0	0	0	0	
		虹 彩	虹 彩(A)	2	0	0	0	0	
			合計 Ax5	10	0	0	0	0	
		結 膜	発 赤(A)	3	1	1	0	0	
			浮 腫(B)	4	1	0	0	0	
			分泌物(C)	3	0	0	0	0	
			合計 (A+B+C) x2	20	4	2	0	0	
		合 計			110	4	2	0	0
		合 計			330	12	6	0	0
平 均			110	4.0	2.0	0.0	0.0		
洗 眼 群 (3匹平均)	角膜混濁	程 度(A)	4	0	0	0	0		
		面 積(B)	4	0	0	0	0		
		合計 AxBx5	80	0	0	0	0		
	虹 彩	虹 彩(A)	2	0	0	0	0		
		合計 Ax5	10	0	0	0	0		
	結 膜	発 赤(A)	3	1	1	0	0		
		浮 腫(B)	4	0	0	0	0		
		分泌物(C)	3	0	0	0	0		
		合計 (A+B+C) x2	20	2	2	0	0		
	合 計			110	2	2	0	0	

非洗眼群では全例に、投与1時間後結膜発赤、結膜浮腫が認められたが、投与後48時間には刺激反応が全例ですべて消失した。また全例で角膜はフルオレセインに染色されなかった。

洗眼群でも全例に、投与1時間後結膜発赤が認められたが、投与後48時間にはすべて消失した。また全例で角膜はフルオレセインに染色されなかった。

以上の結果から、被験物質はウサギの眼粘膜に対して「極く軽度の刺激性あり」と考えられた。また、眼刺激性に対する洗眼効果が認められた。

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。

(資料No. 製剤-31)

(5)-5 エチプロール・シラフルオフエン水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

試験機関:

報告書作成年: [GLP対応]

検体純度: エチプロール・シラフルオフエン水和剤

組成	エチプロール原体	%
	シラフルオフエン原体	%
	界面活性剤及び鉱物質微粉他	%

試験動物: モルモット、Slc:Hartley5週齢、
検体感作群 雄20匹、検体非感作群 雄10匹
体重 345~393g

試験期間: 48時間観察

試験操作: [Buehler法]

感 作; 肩部位を除毛し、100%検体0.2gを注射用水0.2mlで湿潤して6時間閉塞貼付した。この操作を1週間間隔で3回行った。

検体非感作群は注射用水0.2mlを同様に閉塞貼付した。

惹 起; 最終感作の14日後に剪毛した左右腹側部の左側に25%被験液0.2mlを、右側には注射用水0.2mlを6時間閉塞貼付した。

観 察 項 目: 惹起24時間および48時間後に適用部位の皮膚を観察し、Magnusson & Kligmanの基準に従って採点した。

平均評価点; 各観察時ごとに以下の式により求めた。

$$\text{平均評価点} = \frac{\text{皮膚反応の評価点の合計}}{\text{動物数}}$$

陽性率; 評価点1以上を陽性とし、以下の式により求めた。

$$\text{陽性率} = \frac{\text{陽性動物数}}{\text{動物数}} \times 100$$

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：各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す。

	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率	
				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	0	1	2	3	平均		
検体	100%検体	100%検体	20匹	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0
		注射用水	20匹	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	注射用水	100%検体	10匹	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
		注射用水	10匹	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

検体投与群および陰性対照群いずれも惹起後に皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から被験物質の皮膚感作性は陰性であると考えられた。

なお、陽性対照物質であるCDNBについて、別に実施したBuehler法による当該試験機関における試験結果を以下に示す。

試験番号：D09001，試験期間：2009年1月30日～2009年3月1日

	感作	惹起	供試動物数	感作反応動物数										陽性率	
				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	0	1	2	3	平均		
検体	CDNB 1.0%	CDNB 0.1%	10匹	0	0	3	7	2.7	0	0	3	7	2.7	100	100
		オリーブオイル	10匹	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
	オリーブオイル	CDNB 0.1%	10匹	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0
		オリーブオイル	10匹	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

上記の示すように、既知の皮膚感作性陽性物質CDNBには明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性が確認された。

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	供試動物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要	試験期間(報告年)	記載頁
代-1 (GLP)	動物体内運命 標識化合物の体内 安定性	ラット ♂♀	経口 約10mg/kg 単回投与	試験期間中、揮発性放射能は検出されず、標識位置()は安定であると推定された。		代-5
代-2 (GLP)	動物体内運命 吸収及び排泄 (高用量)	ラット ♂♀	経口 約500 mg/kg 単回投与	血液中最高濃度 ♂4.7、♀2.7時間後 血液中半減期 ♂7.8、♀5.4時間 尿中排泄 ♂2.023%、♀1.742% 糞中排泄 ♂93.71%、♀89.09%		代-6
代-3 (GLP)	動物体内運命 吸収及び排泄 (低用量)	ラット ♂♀	経口 約100 mg/kg 単回投与	血液中最高濃度 ♂2.0、♀1.7時間後 血液中半減期 第一相 ♂3.9、♀3.9時間 第二相 ♂17.6、♀19.5時間 尿中排泄 ♂3.219%、♀1.170% 糞中排泄 ♂88.85%、♀73.78%		代-12
代-4 (GLP)	動物体内運命 吸収及び胆汁排泄	ラット ♀	経口 約 12 ~ 19 mg/kg 単回投与	吸収率 1.784~3.482% 尿中排泄 0.8~2.2% 胆汁経由の排泄 0.177~2.083%		代-18
代-5 (GLP)	動物体内運命 分布(単回) (高及び 低投与量)	ラット ♂♀	経口 約10、 約500 mg/kg 単回投与	投与後全供試臓器組織の濃度は減少した。各臓器組織中の放射能(投与7日後)の投与放射能に対する割合 高投与量 ♂0~0.44%、♀0~0.92% 低投与量 ♂0~1.11%、♀0~1.44%		代-20
代-6 (GLP)	動物体内運命 分布 (反復投与) (高及び 低投与量)	ラット ♂♀	経口 約10、 約500 mg/kg 10日間 連続投与	最終投与後、全供試臓器組織の濃度は減少した。 臓器組織中の全放射能(投与28日後)の投与放射能に対する割合 高投与量 ♂0.77%、♀2.38% 低投与量 ♂2.58%、♀4.90%		代-25
代-7 (GLP)	動物体内運命 代謝 (高投与量)	ラット ♂♀	経口 約500 mg/kg 単回投与	尿中の主な代謝物は、 が認められた。 親化合物[I]は尿中に検出されなかった。 糞に排泄された放射能の79.9%(♂)、 79.0%(♀)は親化合物で、 が少量検出された。		代-32
代-8 (GLP)	動物体内運命 代謝 (低投与量)	ラット ♂♀	経口 約10 mg/kg 単回投与	尿中の主な代謝物は、 が 認められた。親化合物[I]は尿中に排泄されなかった。 糞に排泄された放射能の80.4%(♂)、 54.6%(♀)は親化合物で、 が少量検出された。		代-41

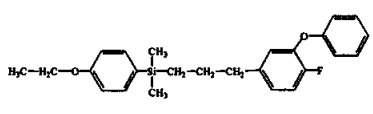
<代謝分解試験一覧表> (続き)

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	試験期間 (報告年)	記載 頁
代-9 (GLP)	植物体内運命	水稻	300g/haを 20日間隔で 3回散布	最終残留濃度は玄米で0.52mg/kg、藁で 17.89mg/kgであり、薬剤の体内移行は 少ないと考えられた。また、残留物の 大部分は、親化合物[I]であった。代 謝物は が検出された。		代- 49
代-10 (GLP)	植物体内運命 (稲体取り込 み試験)	水稻	900g/ha 土壌処理	処理土壌から植物体内への移行は、極 めて少なかった。植物体上部では、親 化合物[I]は検出されず が 低濃度で検出された。		代- 58
代-11 (GLP)	植物体内運命	りんご	140mg/木 1回噴霧	処理後32日後において残留放射能の 90%が葉から、9%が果皮表面から、1%が 果実中から検出された。従って、薬剤 の果皮から果肉への移行は少ないと考 えられる。また、各部位における残留 量の約90%は親化合物[I]であった。		代- 61
代-12 (GLP)	植物体内運命	キャベツ	300g/haを 2回茎葉 散布	親化合物[I]は処理後21日間ほとんど 分解せず安定であり、代謝分解物は認 められなかった。また、処理された化 合物は葉の表層に留まり、代謝をほと んど受けずに残存した。		代- 67
代-13 (GLP)	土壌中運命 (好気条件)	砂壤土 砂土 壤質砂土 シルト質壤土	300g/ha相当 量を処理	本条件化でのシプロネフェンの分解は緩やかで あり、DT50は71~145日、DT90は237~490 日であった。 抽出された主な放射能は未変化のシプロネフェ ン[I]であった。 なお未変化のシプロネフェン以外の放射能は、 その多くが であった。		代- 71
代-14 (GLP)	土壌中運命 (好氣的湛水 条件)	シルト質壤土 砂土	124g/ha相当 量を水面 処理	本条件化でのシプロネフェンの分解は緩やかで あり、DT50は84~110日、DT90は280~368 日であった。 抽出された放射能のうち主要な放射能は 未変化のシプロネフェン[I]であった。 なお、経時的に に 達した。		代- 76

<代謝分解試験一覧表> (続き)

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	試験期間 (報告年)	記載頁
代-15 (GLP)	土壌中運命 (嫌氣的湛水条件)	壤土	300g/ha相当量を処理後湛水	<p>試料中放射能の大部分が抽出され、その全てが未変化のシフメフェン[I]であり、他に分解物は認められなかった。最終採取時まで</p> <p>で生成されたものであった。したがって、嫌気条件化ではシフメフェンはほとんど分解しないものと考えられる。</p>		代-81
環-1 (GLP)	加水分解	pH5, 7及び9の緩衝液	設定濃度: 0.01mol/L 試験温度: 25℃	<p>pH5においては明確な分解が認められず、半減期は計算上-933日となった。pH7及び9では、各々136及び275日であったが、これはガラスへの吸着による緩衝液中濃度の減少に起因すると考えられ、実質の半減期はいずれも365日以上と推定された。</p> <p>分解物としては</p> <p>のみであった。</p>		代-84
環-2 (GLP)	水中光分解	蒸留水 自然水	蒸留水: 2.538mg/L 自然水: 2.316mg/L	<p>蒸留水: 光照射区においても、シフメフェンの分解は緩やかであり、半減期は北緯35° 春期太陽光換算で51~112日であった。 主な分解物は</p> <p>であった。</p> <p>また、暗対照区での分解は認められなかった。</p> <p>自然水: 光照射区においても、シフメフェンの分解は緩やかであり、半減期は北緯35° 春期太陽光換算で44~76日であった。 主な分解物は</p> <p>であった。</p> <p>また、暗対照区での半減期は137日であった。</p>		代-87
環-3 (GLP)	土壌吸着	軽埴土3種 シル質壤土	試験温度: 25℃	<p>振とう後の水相に被験物質は検出限界以下であり、Kocは求められなかった。</p>		代-89
環-4 (GLP)	生物濃縮性	ブルーギル	0.001mg/L、流水式	<p>濃縮係数: BCF_{ss}=855 (魚全体) [14, 21及び28日のBCF_{ss}の平均値: 816]</p>		代-91

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
I	親化合物	シラフノフェン Hoe 084498	4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン 4-ethoxyphenyl[3-(4-fluoro-3-phenoxyphenyl)-propyl]dimethylsilane	

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

(資料No. 代-1)

(1) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたラット体内における安定性

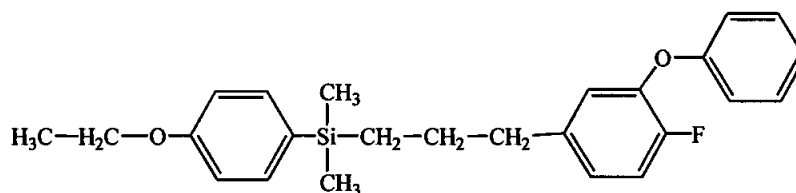
試験機関：

報告書作成年：

検体の標識位置が、ラット体内において代謝攻撃に対して安定であることを確認するため、供試動物の排泄物及び呼気について、揮発性放射能を測定した。

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能：

放射化学的純度：

供試動物：ウイスター系ラット、雌雄各1匹、体重；雄 210g、雌 200g

試験方法：

飼育管理：空気収集装置付き代謝ケージに動物を収容し、飼料は自由に摂取させた。

投与方法：標識検体をゴマ油中に溶解させ(4.0615mg/g)、10mg/kgを単回経口投与した。

試料採取及び放射能の測定：比例計数管を通して代謝ケージの空気を24時間連続的に吸引することによって、尿、糞及び呼気中の揮発性放射能を測定した。

結果：雌雄いずれのラットにおいても、試験期間中に揮発性放射能は検出されなかった。従って、選定した標識位置は安定であると推定された。

(資料No. 代-2)

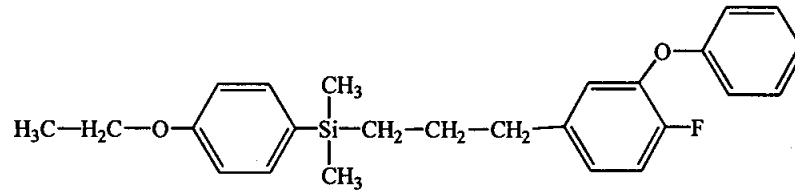
(2) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたラット体内における吸収、排泄及び分布試験
(高投与量)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシペンチル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能：比放射能 または の標識化合物を純度 非標識
化合物で40倍から75倍の範囲で希釈し、以下の検体を調製した。

MBq/g (血液中濃度の測定用、雌雄)

MBq/g (尿、糞及び組織中濃度の測定用、雄)

MBq/g (尿、糞及び組織中濃度の測定用、雌)

放射化学的純度：(血液中濃度測定用の標識化合物)、

(尿、糞及び組織中濃度測定用の標識化合物)

標識位置の設定理由：

供試動物：ウイスター系ラット

平均体重；雄 197g、雌 189g

1群雌雄各3匹 (血液中濃度測定用)

1群雌雄各5匹 (尿、糞及び組織中濃度測定用)

試験方法：

飼育管理；試験期間中、動物は尿と糞を個別に採取出来る代謝ケージに収容し、飼料及び飲料水は自由に摂取させた。

投与方法；検体をゴマ油に溶解し、単回強制経口投与した。平均投与量は、以下のとおりであった。

	血液中濃度測定	尿、糞及び組織中濃度測定
雄	450.7 mg/kg	489.3 mg/kg
雌	449.8 mg/kg	507.8 mg/kg

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。

試料採取；血液は投与後15、30分、1、2、4、6、8、24、48、72、96、120、144及び168時間目に尾の先端より採取した。尿は、投与後0-2、2-4、4-8、8-24時間、それ以降は24時間毎に7日後まで採取した。

糞は投与後0-8、8-24時間、それ以降は24時間毎に7日後まで採取した。ケージ洗浄液は、0-24、24-48及び48-168時間の試料を採取した。臓器及び組織（脾臓、腎臓、生殖腺、肝臓、心臓、肺、骨格筋、皮下脂肪、腹膜後脂肪、脳、骨、血液、血漿及び横隔膜）は投与7日後に動物を屠殺して採取した。

試料の調製及び放射能の測定；血液は秤量後室温で乾燥し、サンプルオキシダイザーで燃烧させ、発生した¹⁴C0₂を吸収剤に捕集した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。尿は、水/エタノール混液（1：1 v/v）を加えて定容とし、これにシンチレーションカクテルを加えて測定した。

糞は、乾燥後粉碎し秤量後サンプルオキシダイザーで燃烧させ、発生した¹⁴C0₂を吸収剤に捕集して、シンチレーションカクテルを加えて測定した。臓器及び組織の試料は、必要に応じて水を加え、消化剤を用いて溶解し、パーヒドロールでカラークエンチングを防止した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。放射能は、β-スペクトロメーターで液体シンチレーション計数法により測定した。計数効率、外部標準チャンネル比法により測定した。

結果：

血液中濃度推移；

経過時間	血液中濃度 (µg ¹ /g)	
	雄 (450.7mg/kg)	雌 (449.8mg/kg)
15分	— ²⁾	—
30分	—	—
1時間	7.717	—
2時間	15.43	25.01
4時間	22.51	23.31
6時間	19.78	17.80
8時間	16.70	15.00
24時間	4.014	—
48時間	—	—
72時間	—	—
96時間	—	—
120時間	—	—
144時間	—	—
168時間	—	—

1)：親化合物換算

2)：検出限界（0.4420µg/g）以下を示す。

()：平均検体投与量

数値は動物3匹の平均値

血液中濃度は雄において投与1時間後から検出され、投与 4.7時間後に最高値23.67 μg (親化合物換算、以下同様)/gに達し、その後、半減期 7.8時間で漸次減少し、48時間後には検出限界以下となった。雌では投与2時間後から検出され、2.7時間後に最高値30.15 $\mu\text{g}/\text{g}$ を示した。

最高値に達した以降、半減期5.4時間で減衰し、24時間後には検出限界以下となった(下表)。

	雄	雌
C max ($\mu\text{g}/\text{g}$) ¹⁾	23.67 \pm 5.41	30.15 \pm 2.03
T max (時間) ²⁾	4.7 \pm 1.2	2.7 \pm 1.2
T 1/2 (時間) ³⁾	7.8 \pm 2.6	5.4 \pm 1.1
時間範囲 (時間)	4~24	2~8
AUC 8 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{g}$) ⁴⁾	128.2 \pm 33.90	137.1 \pm 17.25
AUC ∞ ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{g}$) ⁵⁾	343.7 \pm 84.15	255.6 \pm 59.19

注) 1) : 血液中最高濃度 (親化合物換算)

2) : 血液中最高濃度到達時間

3) : 血液中最高濃度の生物学的半減期

4) : 血液中最高濃度曲線下面積 (0~8時間)

5) : 血液中最高濃度曲線下面積 (~無限大)

・数値は動物3匹の平均値 \pm 標準偏差。各個体ごとにC max、T max、T 1/2、AUC 8、AUC ∞ をそれぞれ求めた後に、平均値及び標準偏差を求めた。

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。

排 泄；

	経過時間	投与量に対する割合 (%)	
		雄 (489.3mg/kg)	雌 (507.8mg/kg)
尿 中 排 泄	0-2時間	0.0014	0.0094
	2-4時間	0.0510	0.0138
	4-8時間	0.1956	0.0353
	8-24時間	1.174	0.3381
	1-2日	0.4256	1.031
	2-3日	0.0769	0.2136
	3-4日	0.0381	0.0403
	4-5日	0.0197	0.0247
	5-6日	0.0156	0.0202
	6-7日	0.0243	0.0158
	合 計 ¹⁾	2.023	1.742
ケ 洗 ジ 浄 液	0-24時間	0.1467	0.0732
	1-2日	0.0394	0.0721
	2-7日	0.0209	0.0140
	合 計 ¹⁾	0.2070	0.1593
糞 中 排 泄	0-8時間	4.726	2.901
	8-24時間	67.87	46.88
	1-2日	19.85	34.24
	2-3日	0.6553	3.393
	3-4日	0.2949	0.8474
	4-5日	0.1347	0.3481
	5-6日	0.0974	0.2815
	6-7日	0.0858	1.393
	合 計 ¹⁾	93.71	89.09
総 排 泄 量		95.95	90.99

1) : 合計の数値は個体別の生データを集計した後、丸めたため、
上記表中の各数値を合計した値と多少異なる場合がある。

() : 平均検体投与量

検出限界：尿 雄；0.0118 μ g(親化合物換算)/mL、雌；0.0071 μ g/mL

糞 雄；0.1605 μ g/mL、雌；0.1189 μ g/mL

・数値は動物5匹の平均値

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。

投与放射能の排泄は、投与7日後には尿（ケージ洗浄液中を含める）中への排泄率が雄で2.23%、雌で1.90%、糞中へは雄で93.71%、雌で89.09%でありほとんどは糞中へ排泄された。放射能の総回収率は雄で95.95%、雌で90.99%であった。排泄はいずれも二相性が示された。

また、尿中ならびに糞中におけるシラフルオフェンの半減期は、下表の通りである。

	尿中排泄		糞中排泄	
	雄	雌	雄	雌
第一相	7.0±0.3	8.4±1.4	5.1±0.5	8.1±2.2
時間範囲	8~72	8~96	8~72	8~96
第二相	38.5±6.5	68.8±7.3	43.1±9.3	47.1±13.9 ¹⁾
時間範囲	72~144	72~168	72~168	72~168

・ 数値は動物5匹の平均値

1) : 4匹の動物の平均値

臓器及び組織中濃度；

試料	雄 (489.3 mg/kg)		雌 (507.8 mg/kg)	
	濃度 µg ¹⁾ /g	投与量に 対する割合 %	濃度 µg ¹⁾ /g	投与量に 対する割合 %
脾臓	0.6625	0.0004	1.976	0.0010
腎臓	4.147	0.0076	9.130	0.0134
生殖腺	2.693	0.0077	109.1	0.0164
肝臓	1.957	0.0204	4.465	0.0389
心臓	1.157	0.0011	7.135	0.0054
肺	5.875	0.0083	6.831	0.0093
骨格筋	2.173	0.1800	6.121	0.4798
皮下脂肪	65.44	0.6727	154.5	1.514
腹膜後脂肪	73.82	0.6073	190.1	1.489
脳	0.1670	0.0003	1.057	0.0019
骨	0.5843	0.0060	5.504	0.0538
血液	— ²⁾	—	—	—
血漿	—	—	0.2282	0.0083
横隔膜	5.168	0.0019	22.07	0.0083
合計		1.514		3.631

() : 平均検体投与量

測定時期：投与後7日目

1) : 親化合物換算

2) : 検出限界以下を示す。

・ 数値は動物5匹の平均値

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日後には、血液を除いた全検査臓器及び組織に、放射能が存在した。数値は概して雌のほうが雄よりも幾分高かった。最高濃度は皮下脂肪（雄 65.4 μ g/g、雌 154.5 μ g/g）及び腹膜後脂肪（雄73.8 μ g/g、雌190.1 μ g/g）であった。雌の生殖腺にも高い濃度が観察されたが（109.1 μ g/g）、これは試料から脂肪組織が完全に除去できなかったことによるものと考えられた。横隔膜（雄5.2 μ g/g、雌22.1 μ g/g）を除く他の臓器組織中の濃度はいずれも10 μ g/g以下であった。

これら全検査臓器及び組織の残留濃度は、合計して投与放射能に対して雄で1.5%及び雌で3.6%であった。投与7日後までに排泄物ならびに臓器組織中に検出された総放射能の投与量に対する割合（平均回収率）は、雄で97.46%、雌で94.62%であった（下表）。

	投与量に対する割合(%)	
	雄	雌
尿中	2.023	1.742
ケージ洗浄液	0.2070	0.1593
糞中	93.71	89.09
計	95.95	90.99
動物体内	1.514	3.631
回収率	97.46	94.62

- ・投与後7日目までの合計値
- ・数値は動物5匹の平均値

以上の結果、ラットに経口投与されたシラフルオフェンは主に糞中に排泄された。

(資料No. 代-3)

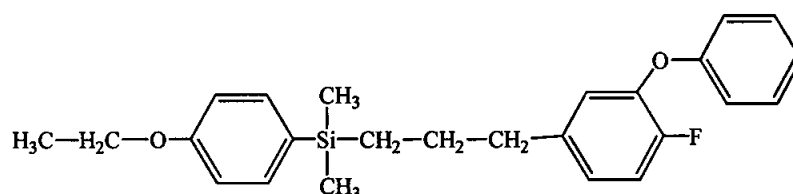
(3) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたラット体内における吸収、排泄及び分布試験
(低投与量)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能：比放射能 または MBq/gの標識化合物を純度の非標識化合物で約10倍(7~16倍)に希釈し、以下の検体を調製した。

MBq/g (血液中濃度の測定用、雌雄)

MBq/g (尿、糞及び組織中濃度の測定用、雄5匹)

MBq/g (尿、糞及び組織中濃度の測定用、雄3匹)

MBq/g (尿、糞及び組織中濃度の測定用、雌5匹)

MBq/g (尿、糞及び組織中濃度の測定用、雌3匹)

放射化学的純度： % (血液中濃度測定用、尿、糞及び組織中濃度測定用の標識化合物、雌雄各5匹)

% (尿、糞及び組織中濃度測定用の標識化合物、雌雄各3匹)

標識位置の設定理由：

供試動物：ウイスター系ラット

平均体重；雄 194g、雌 182g

1群雌雄各3匹(血液中濃度測定用)

1群雌雄各8匹(尿、糞及び組織中濃度測定用)

試験方法：

飼育管理：試験期間中、動物は尿と糞を個別に採取出来る代謝ケージに収容し、飼料及び飲料水は自由に摂取させた。

投与方法：検体をゴマ油に溶解し、単回強制経口投与した。平均投与量は、以下のとおりであった。

投与7日後に雌ラット2匹の肺に極めて高い放射能が検出された。

これは、胃管による経口投与の間に、試料の一部が吸引されたためと考えられた。このため、さらに雌雄各3匹に約100mg/kgを投与した試験を実施した。

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。

	血液中濃度測定	尿、糞及び組織中濃度測定		
		5 匹	3 匹	3 匹
雄	96.10 mg/kg	104.0 mg/kg	96.93 mg/kg	
雌	96.04 mg/kg	101.7 mg/kg	104.3 mg/kg	

試料採取；血液は投与後15、30分、1、2、4、6、8、24、48、72、96、120、144及び168時間目に尾の先端より採取した。尿は、投与後0-2、2-4、4-8、8-24時間、それ以降は24時間毎に7日後まで採取した。

糞は投与後0-8、8-24時間、それ以降は24時間毎に7日後まで採取した。

ケージ洗浄液は、0-24、24-48及び48-168時間の試料を採取した。臓器及び組織（脾臓、腎臓、生殖腺、肝臓、心臓、肺、骨格筋、皮下脂肪、腹膜後脂肪、脳、骨、血液、血漿及び横隔膜）は投与7日後に動物を屠殺して採取した。

試料の調製及び放射能の測定；血液は秤量後室温で乾燥させ、サンプルオキシダイザーで燃焼させ、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を吸収剤に捕集した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。尿は水/エタノール混液(1:1 v/v)を加えて定容とし、これにシンチレーションカクテルを加えて測定した。

糞は、乾燥後粉碎し、秤量後サンプルオキシダイザーで燃焼させ、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を吸収剤に捕集して、シンチレーションカクテルを加えて測定した。臓器及び組織の試料は、必要に応じて水を加え、消化剤を用いて溶解し、パーヒドロールでカラークエンチングを防止した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。放射能は、 β -スペクトロメーターで液体シンチレーション計数法により測定した。計数効率、外部標準チャンネル比法により測定した。

結 果：

血液中濃度推移；

経過時間	血液中濃度 ($\mu\text{g}^{1)}/\text{g}$)	
	雄 (96.10 mg/kg)	雌 (96.04 mg/kg)
15分	0.6401	0.6283
30分	0.7986	1.027
1時間	5.662	11.48
2時間	10.46	16.01
4時間	6.270	9.897
6時間	5.148	7.254
8時間	4.109	5.549
24時間	0.7282	0.6934
48時間	0.1622	0.1335
72時間	0.0737	0.0634
96時間	— ²⁾	—
120時間	—	—
144時間	—	—
168時間	—	—

1) : 親化合物換算

2) : 検出限界 (0.0336 $\mu\text{g}/\text{g}$) 以下を示す。

() : 平均検体投与量

数値は動物3匹の平均値

血液中濃度は雄において投与15分後から検出され、投与2.0時間後に最高値10.46 μg (親化合物換算、以下同様) /gに達し、その後二相性の半減期(3.9及び17.6時間)で漸次減少し、96時間後には検出限界以下となった。雌では投与15分後から検出され、1.7時間後に最高値16.18 $\mu\text{g}/\text{g}$ を示した。最高値に達した以降、二相性の半減期(3.9及び19.5時間)で減衰し、96時間後には検出限界以下となった。

	雄	雌
C max ($\mu\text{g}/\text{g}$) ¹⁾	10.46 \pm 2.08	16.18 \pm 4.13
T max (時間) ²⁾	2.0	1.7 \pm 0.6
T 1/2 (時間) ³⁾	第一相	3.9 \pm 1.8
	第二相	17.6 \pm 6.4
時間範囲 (時間)	第一相	1~24
	第二相	24~72
AUC 24 ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{g}$) ⁴⁾	85.95 \pm 19.08	122.9 \pm 30.62
AUC ∞ ($\mu\text{g} \cdot \text{h}/\text{g}$) ⁵⁾	100.9 \pm 21.03	136.5 \pm 32.90

1) : 血液中最高濃度(親化合物換算)

2) : 血液中最高濃度到達時間

3) : 血液中最高濃度の生物学的半減期

4) : 血液中最高濃度曲線下面積 (0~24時間)

5) : 血液中最高濃度曲線下面積 (~無限大)

・数値は動物3匹の平均値 \pm 標準偏差。各個体ごとにC max、T max、T 1/2、AUC 24、AUC ∞ をそれぞれ求めた後に、平均値及び標準偏差を求めた。

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。

排 泄 ;		投与量に対する割合 (%、各8匹)	
	経過時間	雄 (101.3mg/kg)	雌 (104.8mg/kg)
		尿 中 排 泄	0-2時間
2-4時間	0.1136		0.0429
4-8時間	0.6927		0.1834
8-24時間	1.778		0.4570
1-2日	0.3915		0.2359
2-3日	0.0768		0.0416
3-4日	0.0406		0.0278
4-5日	0.0248		0.0841
5-6日	0.0181		0.0162
6-7日	0.0549		0.0145
合 計	3.219	1.170	
ケ 洗 ジ 淨 液	0-24時間	0.0251	0.0169
	1-2日	0.0087	0.0602
	2-7日	0.0342	0.0034
	合 計	0.0679	0.0805
糞 中 排 泄	0-8時間	1.359	0.5470
	8-24時間	80.93	58.04
	1-2日	5.053	8.135
	2-3日	0.6979	2.117
	3-4日	0.3239	1.438
	4-5日	0.1791	1.258
	5-6日	0.1317	1.180
	6-7日	0.1737	1.063
	合 計	88.85	73.78
総 排 泄 量		92.13	75.04

() : 平均検体投与量

検出限界 : 尿 雄 ; 0.0024 μ g(親化合物換算)/mL、雌 ; 0.0016 μ g/mL

糞 雄 ; 0.0375 μ g/mL、雌 ; 0.0176 μ g/mL

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。

投与放射能の排泄は、投与7日後には尿（ケージ洗浄液中を含める）中への排泄率が雄で3.29%、雌で1.25%、糞中へは雄で88.85%、雌で73.78%でありほとんどは糞中へ排泄された。放射能の総回収率は雄で92.13%、雌で75.04%であった。排泄はいずれも二相性が示された。

また、尿中ならびに糞中におけるシラフルオフェンの半減期は、下表の通りである。

	尿中排泄		糞中排泄	
	雄	雌	雄	雌
第一相	7.0	6.3	5.0	7.4 ¹⁾
時間範囲	4~72	4~72	8~72	8~72
第二相	46.7	45.2 ¹⁾	48.1	54.7 ²⁾
時間範囲	48~168	24~168	48~168	48~168

・数値は動物8匹の平均値 単位：日

1)：7匹の平均値 2)：5匹の平均値

臓器及び組織中濃度；

試料	雄 (101.3 mg/kg) ¹⁾		雌 (102.6 mg/kg) ¹⁾	
	濃度 µg/g	投与量に 対する割合 %	濃度 µg/g	投与量に 対する割合 %
脾臓	0.1835	0.0005	3.175	0.0072
腎臓	0.7009	0.0066	2.200	0.0151
生殖腺 ³⁾	0.6408	0.0095	13.29	0.0087
肝臓 ³⁾	0.5419	0.0316	0.8416	0.0363
心臓 ³⁾	0.2813	0.0014	3.029	0.0134
肺 ^{3) 4)}	0.6372	0.0047	2.664	0.0158
骨格筋	0.6157	0.2437	1.304	0.5100
皮下脂肪	19.62	0.9658	33.29	1.631
腹膜後脂肪	21.46	0.8453	45.14	1.769
脳	0.0389	0.0003	0.2367	0.0020
骨	0.1360	0.0059	0.6464	0.0314
血液	— ²⁾	—	—	0.0047
血漿	—	—	0.2885	—
横隔膜	0.8256	0.0018	3.575	0.0073
合計		2.117		4.052

測定時期：投与後7日目

1)：()内は、平均検体投与量

2)：検出限界以下を示す。(雄 0.0179 ~ 0.0772 µg/g またはmL、
雌 0.0120 ~ 0.0772 µg/g またはmL)

3)：雌2匹の生殖腺及び肝臓、別の雌2匹の心臓及びそれら4匹の肺については平均値の計算に含めなかった。

4)：雄2匹の肺については平均値の計算に含めなかった。

・数値は動物8匹の平均値

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日後には、血液を除いた全検査臓器及び組織に放射能が存在した。数値は概して雌のほうが雄よりも幾分か高かった。最高濃度は、腹膜後脂肪（雄 21.46 $\mu\text{g/g}$ 、雌 45.14 $\mu\text{g/g}$ ）及び皮下脂肪（雄 19.62 $\mu\text{g/g}$ 、雌33.29 $\mu\text{g/g}$ ）であった。以下、雌の生殖腺（13.29 $\mu\text{g/g}$ ）、横隔膜（3.58 $\mu\text{g/g}$ ）、脾臓（3.18 $\mu\text{g/g}$ ）、心臓（3.03 $\mu\text{g/g}$ ）の順であり、概して雄は雌より低い値を示した。

これら全検査臓器及び組織の残留濃度は、合計して投与放射能に対して雄で 2.12%及び雌で4.05%であった（雄2匹の肺、雌2匹の生殖腺及び肝臓、他の雌2匹の心臓及び雌4匹の肺を除く）。投与7日後までに排泄物ならびに臓器組織中に検出された総放射能の投与量に対する割合（平均回収率）は雄で 94.25%、雌で 79.09%であった。

雌ラットの平均回収率が低い値を示した理由は、試験方法の項で述べた通り2匹において試料が吸引されたことに起因すると推定され、糞への排泄が少なかった（投与放射能に対してそれぞれ41.99%、58.00%）ためと考えられた。

以上の結果、ラットに経口投与されたシラフルオフェンは主に糞中に排泄された。

(資料No. 代-4)

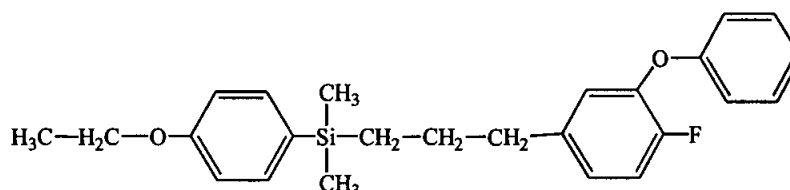
(4) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いた雌ラットにおける吸収及び胆汁排泄試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能：比放射能 MBq/g の標識化合物を純度の非標識化合物と混合し、以下の検体を調製した。

MBq/g (1匹)

MBq/g (2匹)

標識化合物の放射化学的純度：

標識位置の設定理由：

供試動物：ウイスター系ラット 雌3匹、体重；290-300g

試験方法：

飼育管理；動物をペントバルビタールで麻酔し、試験期間中、麻酔下に保った。

投与方法；検体をゴマ油中に溶解させ、麻酔下で単回強制経口投与した。

投与量は、各々12.61、19.21及び18.52 mg/kgであった。

試料採取；胆汁については、肝門付近にカテーテルを挿入し、0℃で投与後0-8時間の純粋な胆汁を採取した。また、第2のカテーテルを十二指腸に挿入し、胆汁の代わりに非標識タウロコール酸を注入した。

尿及び糞は、投与後0-8時間室温で採取した。

以下の臓器を、投与8時間後に動物を屠殺して採取した。

肝臓、腎臓、脾臓、生殖腺、心臓、脳、骨格筋、

皮下脂肪及び腹膜後脂肪

放射能の測定；固定試料はホモジナイズし、その一部を採取し、重量を測定した後、風乾し、サンプルオキシダイザーを用いて燃焼した。生成した $^{14}\text{CO}_2$ を吸収剤に捕集した後、シンチレーションカクテルを加えた。液体試料は、その一部を採取し、固形試料と同様に処理するか、あるいはシンチレーションカクテルを添加した後、直接測定した。

糞中の残留放射能の特性；糞中の残留放射能の特性検討；残留放射能は糞中で最も高かったことから、糞を用いて残留放射能の特性を検討した。糞試料は酢酸エチルを用いて抽出し、抽出物をまとめて濃縮後 HPLC を用いて分析した。

結 果：

動 物	1	2	3
投 与 量	12.61 mg/kg	19.21 mg/kg	18.52 mg/kg
尿 ¹⁾	—	—	0.008
糞 ¹⁾	4.901	18.838	19.595
胆 汁	0.177	2.083	1.267
脾 臓	0.013	0.026	0.082
腎 臓	0.017	0.022	0.058
生 殖 腺	0.002	0.010	0.002
肝 臓	1.558	0.626	1.881
心 臓	0.005	0.035	0.086
肺	1.033	0.155	8.138
骨 格 筋	0.004	0.020	0.070
脳	0.000	0.001	0.012
皮下脂肪	0.003	0.030	0.007
腹膜後脂肪	0.006	0.061	0.009
合 計	6.685	21.733	23.080
糞を除く合計	1.784	2.895	3.482

測定時期：投与後8時間目

・数値は投与放射能に対する割合（％）

1)：投与後0—8時間後の合計値

投与後8時間内に採取した全試料中に回収された放射能の総量は、投与放射能に対して各動物それぞれ6.7、21.7及び23.1%であり、残りの放射能は消化管内に残存しているものと考えられた。

肺に認められた放射能は、固体別の変動が極めて大きく、胃管挿入中に検体が吸入されたものと推察され、本試験においては重要ではないと考えられた。

糞以外の試料から回収された放射能は、投与放射能に対して各動物でそれぞれ1.8、2.9及び3.5%となり、吸収率は極めて低い値が示された。

胆汁中の放射能は、投与放射能に対してそれぞれ0.2、2.1及び1.3%であった。糞及び胆汁中の放射能を総回収放射能から差引いた残りの放射能が、通常は尿を經由して排泄される放射能と考えられ、この値は、投与放射能に対してそれぞれ1.6、0.8及び2.2%であり、本化合物について実施した他の試験と同程度であった。

糞中の残留放射能は、それぞれ95、95及び99%が抽出され、HPLCにより、すべて未変化の親化合物であることが確認された。

以上の結果、本品の吸収率は約2—4%の範囲内にあり、吸収された放射能の半量（投与放射能の約1—2%）は尿を經由して排泄され、残りの半量は胆汁と共に糞中に排泄された。投与した放射能のほとんどは吸収されずに消化管を通過し、未変化のまま体外へ排泄されるものと考えられた。

(資料No. 代-5)

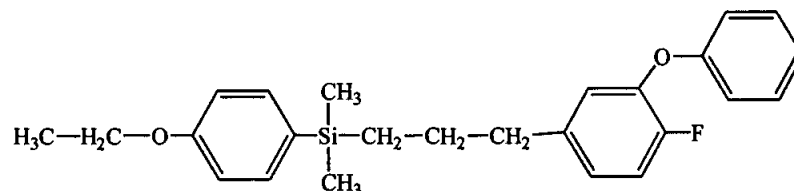
(5) ^{14}C -標識シラフルオフェンの単回投与によるラット体内の分布試験
(高投与量及び低投与量、複数時点の分布)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシプロピル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能：比放射能 MBq/g及び MBq/gの標識化合物を、純度 ある
いはそれ以上の非標識化合物で2倍あるいは14-18倍に希釈した。

放射化学的純度： 以上

標識位置の設定理由：

供試動物： ウィスター系ラット

平均体重；雄 209 g、雌 191 g

各投与量、屠殺時点毎に雌雄各5匹 計雌雄各40匹

試験方法：

飼育管理；試験期間中、動物は尿と糞を別個に採取出来る代謝ケージに単独で収容し、飼料及び飲料水は自由に摂取させた。

投与方法；検体をゴマ油に溶解し、単回強制経口投与した。投与量は高投与量群では500 mg/kg、低投与量群では10 mg/kgとした。

試料採取；検体投与後 8、24、72及び168 時間後に各群の雌雄5匹ずつを屠殺した。

尿及び糞は、投与8時間後に屠殺した群については0-8時間の試料、他の群についてはそれぞれの動物が屠殺されるまで24時間間隔で採取した。

臓器組織については、各時点の屠殺直後に解剖し、肝臓、腎臓、脾臓、肺、心臓、脳、生殖器、骨格筋、骨、皮下脂肪、腹膜後脂肪及び血液を採取した。

試料の調製及び放射能の測定；尿は、水/エタノール混液(1:1 v/v)を加えて定容とし、これにシンチレーションカクテルを加えて測定した。糞は、乾燥後粉碎し秤量後サンプルオキシダイザーで燃焼させ、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を吸収剤に捕集し、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

臓器及び組織の試料は、必要に応じて水を加え、パーヒドロロールでカラークエンチングを防止した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

放射能は、 β -スペクトロメーターで液体シンチレーション計数法により測定した。計数効率、外部標準チャンネル比法により測定された。

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。

結 果：

排 泄；投与放射能に対する割合（％）

投 与 量		低投与量 10mg/kg							
性 別		雄				雌			
屠殺時期*		8	24	72	168	8	24	72	168
尿 中 排 泄	0 - 8	0.73	—	—	—	0.04	—	—	—
	0 - 24	—	2.59	1.93	2.49	—	0.83	0.71	0.83
	24 - 48	—	—	0.30	0.39	—	—	0.15	0.11
	48 - 72	—	—	0.07	0.11	—	—	0.05	0.02
	72 -168	—	—	—	0.09	—	—	—	0.01
ケ ー ジ 洗 液	0 - 8	0.00	—	—	—	0.00	—	—	—
	0 - 24	—	0.03	0.02	0.04	—	0.02	0.01	0.02
	24 - 48	—	—	0.00	0.00	—	—	0.00	0.00
	48 - 72	—	—	0.00	0.00	—	—	0.00	0.00
	72 -168	—	—	—	0.00	—	—	—	0.01
糞 中 排 泄	0 - 8	0.37	—	—	—	0.08	—	—	—
	0 - 24	—	90.51	90.31	86.94	—	86.38	69.76	80.79
	24 - 48	—	—	4.02	5.07	—	—	11.64	6.77
	48 - 72	—	—	0.69	0.96	—	—	2.26	1.42
	72 -168	—	—	—	0.85	—	—	—	1.80
総 排 泄		1.10	93.13	97.36	96.97	0.52	87.23	84.58	91.78

投 与 量		高投与量 500mg/kg							
性 別		雄				雌			
屠殺時期*		8	24	72	168	8	24	72	168
尿 中 排 泄	0 - 8	0.41	—	—	—	0.32	—	—	—
	0 - 24	—	1.91	1.54	1.30	—	0.92	1.09	0.80
	24 - 48	—	—	0.32	0.21	—	—	0.34	0.13
	48 - 72	—	—	0.07	0.03	—	—	0.04	0.02
	72 -168	—	—	—	0.04	—	—	—	0.02
ケ ー ジ 洗 液	0 - 8	0.01	—	—	—	0.06	—	—	—
	0 - 24	—	0.03	0.05	0.05	—	0.03	0.02	0.02
	24 - 48	—	—	0.01	0.01	—	—	0.01	0.01
	48 - 72	—	—	0.00	0.00	—	—	0.00	0.01
	72 -168	—	—	—	0.01	—	—	—	0.01
糞 中 排 泄	0 - 8	6.50	—	—	—	0.00	—	—	—
	0 - 24	—	95.01	83.86	96.82	—	71.19	87.00	85.41
	24 - 48	—	—	8.88	3.84	—	—	7.39	7.52
	48 - 72	—	—	0.77	0.51	—	—	1.11	4.14
	72 -168	—	—	—	0.45	—	—	—	0.98
総 排 泄		6.92	96.96	95.51	103.2	0.38	72.13	84.58	99.07

*：投与後の経過時間
数値は動物5匹の平均値

投与された放射能は、投与量あるいは性別に関係なく、主に糞中に排泄された。低投与群(10 mg/kg)においてはそれぞれ投与放射能の93.83%(雄)、90.78%(雌)が糞中に、3.13%(雄)、1.00%(雌)が尿中に回収され、高投与群(500 mg/kg)では101.6%(雄)、98.05%(雌)が糞中に、1.64%(雄)、1.02%(雌)が尿中に回収された。投与1日後には投与放射能の70-97%が排泄された。いずれの投与量においても、また、雌雄いずれも二相性の排泄が示され、半減期は類似していた(第一相は尿で7.7時間、糞で6.4時間、第二相は尿で51時間、糞で53時間)。

臓器及び組織中濃度；低投与量群の各屠殺時点における臓器及び組織中の濃度及び投与放射能に対する割合を表1に、高投与量群については表2に示した。

血液中濃度は単調に減少し、平均半減期は低投与量群の雄で6時間、雌で4時間、高投与量群の雄で8時間、雌で7時間であった。

投与7日後における臓器及び組織中の放射能は、消化管を除き、投与放射能に対して1.1-3.5%であった。高濃度の放射能は、初期において肝臓に、以後は脂肪組織及び卵巣に認められた。ほとんどの臓器組織においては、投与8時間後の濃度が最も高く、以後、時間の経過と共に減少した。脂肪組織、生殖腺では、これ以降も高い放射濃度で推移した。

ほとんどの臓器及び組織における消失速度は二相性であった。第一相での推定半減期は低投与量群で1-20時間、高投与量群で2.4-19時間であった。第二相ではいずれの投与群でも1-8日であった(ただし、低投与量群雌の骨格筋では10日、同群雄の腎臓では11日、骨格筋では個体別の変動が大きく4.5-23日であった)。また、いずれの投与群でも、脂肪組織中の放射能は単調に消失し、半減期は雌雄でそれぞれ7.4及び4.7日であった。

尿、糞及び臓器組織からの平均総回収率は100.15%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。

1. 臓器及び組織中の分布 低投与量 10mg/kg

濃 度 μg (親化合物換算)/g									
性 別		雄				雌			
屠殺時期*		8	24	72	168	8	24	72	168
臓 器 及 び 組 織	脾 臓	1.337	0.1947	0.0551	—	2.860	0.4676	0.1157	—
	腎 臓	1.767	0.6024	0.1443	0.1126	4.076	0.9518	0.4311	0.2559
	生殖腺	0.3143	0.2007	0.1731	0.1062	8.061	4.847	2.585	2.065
	肝 臓	6.906	1.114	0.2601	0.0849	23.28	1.676	0.3857	0.0987
	心 臓	2.446	0.5360	0.1101	0.0626	6.182	1.202	0.6977	0.4239
	肺	1.797	0.4525	0.0967	0.0777	4.685	0.4939	**	0.2080
	骨格筋	0.5756	0.4219	0.1140	**	1.373	0.6210	0.2058	0.1426
	皮下脂肪	2.552	5.079	2.795	2.201	4.374	3.975	4.340	2.995
	腹膜後脂肪	3.203	6.233	3.753	2.690	6.719	5.388	5.473	3.854
	脳	0.1650	0.1358	0.0406	—	0.3413	0.2283	0.0842	—
骨	0.5204	0.1372	0.0739	—	1.162	0.2375	0.1271	0.1421	
血液	0.7340	0.1049	—	—	1.224	0.1019	—	—	

投与放射能に対する割合 (%)									
性 別		雄				雌			
屠殺時期*		8	24	72	168	8	24	72	168
臓 器 及 び 組 織	脾 臓	0.02	0.00	0.00	0.00	0.06	0.01	0.00	—
	腎 臓	0.11	0.04	0.01	0.01	0.28	0.06	0.04	0.02
	生殖腺	0.04	0.02	0.02	0.02	0.07	0.03	0.02	0.01
	肝 臓	2.24	0.45	0.11	0.04	9.01	0.69	0.20	0.04
	心 臓	0.08	0.02	0.00	0.00	0.23	0.05	0.03	0.01
	肺	0.11	0.03	0.01	**	0.30	0.04	**	0.02
	骨格筋	2.06	1.50	0.44	0.41	5.19	2.19	0.92	0.53
	皮下脂肪	1.17	2.26	1.34	1.11	2.07	1.76	2.42	1.40
	腹膜後脂肪	1.17	2.22	1.44	1.09	2.54	1.90	2.45	1.44
	脳	0.01	0.01	0.00	—	0.03	0.02	0.01	—
骨	0.23	0.06	0.03	—	0.54	0.11	—	0.07	
血液	0.33	0.05	—	—	0.58	0.04	—	—	

*: 投与後の経過時間

** : 試料が汚染されたため正確な値が得られなかった

・ 数値は動物5匹の平均値

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. 臓器及び組織中の分布 高投与量 500mg/kg

濃 度 μg (親化合物換算)/g										
性 別		雄				雌				
屠殺時期*		8	24	72	168	8	24	72	168	
臓器 及 び 組 織	脾 臓	33.92	6.914	1.139	1.206	106.6	15.04	3.873	1.451	
	腎 臓	57.37	25.47	4.894	2.278	86.53	60.33	11.90	5.718	
	生殖腺	8.302	9.633	5.810	1.653	142.2	355.0	123.0	72.82	
	肝 臓	261.1	37.40	5.002	1.425	504.1	137.1	9.278	2.736	
	心 臓	68.76	20.41	6.481	1.539	113.6	62.99	16.28	6.214	
	肺	56.12	18.52	3.327	**	93.38	26.42	11.49	5.916	
	骨格筋	17.71	14.93	3.659	1.756	22.64	27.24	7.972	4.714	
	皮下脂肪	55.52	103.9	90.67	47.19	63.35	119.1	148.7	102.8	
	腹膜後脂肪	67.49	135.5	99.09	52.39	76.10	127.9	196.3	128.9	
	脳	4.665	4.765	1.377	—	5.889	9.663	4.255	1.145	
骨	15.06	4.161	1.348	0.918	23.11	16.68	9.730	1.217		
血液	23.83	5.664	—	—	37.23	7.669	0.834	—		

投与放射能に対する割合 (%)										
性 別		雄				雌				
屠殺時期*		8	24	72	168	8	24	72	168	
臓器 及 び 組 織	脾 臓	0.01	0.00	0.00	0.00	0.04	0.01	0.00	0.00	
	腎 臓	0.09	0.04	0.01	0.00	0.12	0.08	0.02	0.01	
	生殖腺	0.02	0.02	0.02	0.00	0.02	0.04	0.02	0.01	
	肝 臓	2.01	0.32	0.05	0.01	3.25	0.99	0.07	0.02	
	心 臓	0.05	0.02	0.01	0.00	0.07	0.04	0.01	0.00	
	肺	0.10	0.03	0.01	0.13	0.12	0.08	0.95	0.01	
	骨格筋	1.27	1.06	0.28	0.13	1.59	1.98	0.58	0.33	
	皮下脂肪	0.50	0.92	0.87	0.44	0.55	1.08	1.36	0.91	
	腹膜後脂肪	0.48	0.96	0.76	0.39	0.53	0.93	1.44	0.92	
	脳	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	
骨	0.13	0.04	0.01	0.01	0.20	0.15	0.09	0.01		
血液	0.21	0.05	—	0.01	0.33	0.07	0.00	—		

* : 投与後の経過時間

** : 試料が汚染されたため正確な値が得られなかった

・ 数値は動物5匹の平均値

(資料No. 代-6)

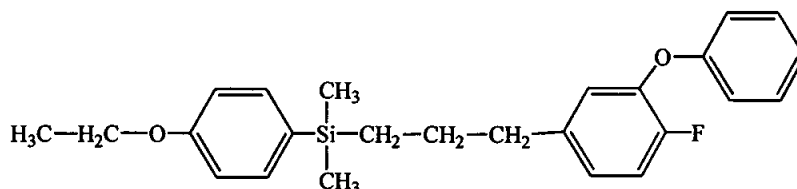
(6) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたラット体内における吸収、排泄及び分布試験
(低投与量及び高投与量、複数回投与)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： MBq/gの標識化合物を、純度 %の非標識化合物と低投与群は1:3~1.4の比、また高投与群は1:160~1:168の比で混合し、以下の検体を調製した。

10mg/kg投与群 計36匹 MBq/g

500mg/kg投与群 計36匹 MBq/g

放射化学的純度： % (TLC) % (HPLC)

標識位置の設定理由：

供試動物： ウィスター系ラット

平均体重；雄 210±13 g、雌 187±8 g

1群雌雄各3匹

試験方法：

飼育管理： 試験期間中、動物は尿と糞を別個に採取出来る代謝ケージに収容し、飼料及び飲料水は自由に摂取させた。

投与方法： 検体をゴマ油に溶解し、10及び500mg/kgを1日1回10日間投与した。

試料採取：

排泄物： 投与開始から試験終了時まで、尿及び糞を1日1回採取した。

臓器及び組織；脾臓、腎臓、生殖腺、肝臓、心臓、肺、骨格筋、皮下脂肪、腹膜後脂肪、脳、骨及び血液について、10回目の最終投与後4時間、1、3、7、14及び28日後に動物を屠殺して採取した。

試料の調製及び放射能の測定；尿は、水/エタノール混液(1:1 v/v)を加えて定容とし、これにシンチレーションカクテルを加えて測定した。糞は乾燥後粉碎し、秤量後サンプルオキシダイザーで燃焼させ、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を吸収剤に捕集し、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

臓器及び組織の試料は、必要に応じて水を加え、消化剤を用いて溶解し、パーヒドロールでカラークエンチングを防止した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。放射能は、 β -スペクトロメーターで液体シンチレーション計数法により測定した。計数効率、外部標準チャンネル比法により測定した。

結 果：

排 泄； 投与量及び性別に関わらず投与した放射能は主として糞中に排泄され、38日間に、10mg/kg 投与群では雄で92%、雌で91%、500mg/kg投与群では雄で93%、雌で97%排泄された。尿中へは、10mg/kg 投与群で雌雄それぞれ0.87及び3.54、500mg/kg投与群で1.61及び1.76%であった。

また1日あたりで見ると、投与期間中投与量の90%以上が糞及び尿中へ排泄された。さらに最終投与後4時間で、すでに総投与量の79~93%が、また投与終了後28日目には92~99%が排泄された。

表1-1. 排泄（投与放射能に対する割合%） 低投与量 10mg/kg体重

性 別	雄						
	屠殺時期 ¹⁾	4	24	72	168	336	672
尿		3.91	4.51	4.29	4.27	4.29	3.54
糞		84.98	86.14	86.58	91.54	88.42	91.86
計		88.89	90.64	90.87	95.81	92.71	95.40
組 織		8.50	5.93	4.63	4.55	3.81	2.58
収 支		97.39	96.57	95.50	100.36	96.52	97.98

性 別	雌						
	屠殺時期 ¹⁾	4	24	72	168	336	672
尿		0.64	0.61	0.52	0.77	0.83	0.87
糞		78.58	84.24	91.70	87.51	92.26	90.97
計		79.22	84.84	92.23	88.28	93.09	91.85
組 織		12.53	7.61	5.66	5.84	5.77	4.90
収 支		91.75	92.45	97.89	94.12	98.86	96.75

1)：10回目の投与後の経過時間

数値は動物3匹の平均値

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1-2. 排泄（投与放射能に対する割合％） 高投与量 500mg/kg体重

性 別	雄					
	4	24	72	168	336	672
屠殺時期 ¹⁾	4	24	72	168	336	672
尿	1.66	1.89	1.64	1.60	1.70	1.76
糞	91.08	98.51	96.66	97.72	99.00	93.28
計	92.73	100.40	98.30	99.32	100.70	95.03
組 織	2.08	1.87	1.38	1.36	1.07	0.77
収 支	94.81	102.27	99.68	100.68	101.77	95.80

性 別	雌					
	4	24	72	168	336	672
屠殺時期 ¹⁾	4	24	72	168	336	672
尿	0.63	0.92	0.77	0.87	1.18	1.61
糞	87.03	98.44	98.81	90.52	94.47	97.23
計	87.66	99.36	99.59	91.38	95.65	98.84
組 織	3.21	2.73	2.39	3.48	3.79	2.38
収 支	90.87	102.09	101.98	94.86	99.44	101.22

1) : 10回目の投与後の経過時間

・数値は動物3匹の平均値

表2. 尿及び糞における最終投与後の半減期 (T_{1/2})

	投 与 量 (mg/kg × 10日)	第一相		第二相	
		雄	雌	雄	雌
糞	10	7.8	9.9	169.2	199.3
	500	6.1	9.0	213.6	215.4
尿	10	11.9	14.0	221.3	112.4
	500	9.1	14.8	*	176.1

単位：時間

* : 第二相の雄の尿中の半減期は、初めの値がすでに検出限界以下であったため、計算することができなかった。

・数値は動物3匹の平均値

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。

臓器及び組織中濃度；

10mg/kg 投与群； 全ての臓器及び組織について放射能濃度は、最終投与後4時間で最も高く、雌雄で0.85/0.64 μ g 当量/g (脳) ~72.8/50.6 μ g 当量/g (腹膜後脂肪) の範囲であった。生殖腺では性差があり精巣では 2.1に対し卵巣では24.9 μ g 当量/gであった。雌の肺の値が異常に高かったのは、投与中に試験物資を吸入したための汚染によるものと思われた。この時の脂肪中の濃度は血中濃度と比較して、雄では15倍、雌では22~30倍高かった。

最終投与後28日目では、骨格筋、精巣、皮下及び腹膜後脂肪を除き、4時間目の値の 0.4~15%にまで低下した (表3)。

減衰は大部分の組織では二相性であり、第一相の半減期は数時間~約1日、第二相の半減期は 4.8~38.5日であった。これに対し脂肪及び骨格筋における減衰は単相的であった (下表)。

	雄		雌	
	第一相	第二相	第一相	第二相
脾 臓	3.4	n. d.	3.8	28.7
腎 臓	6.4	13.2	6.6	28.6
生 殖 腺	- ¹⁾	9.9	18.3	38.5
肝 臓	5.1	8.4	4.8	12.6
心 臓	7.5	8.1	8.5	20.6
肺	6.2	4.8	n. d.	n. d.
骨 格 筋	- ¹⁾	13.5	- ¹⁾	39.7
皮下脂肪	- ¹⁾	29.5	- ¹⁾	56.0
腹膜後脂肪	- ¹⁾	20.2	- ¹⁾	34.5
脳	27.4	n. d.	29.2	33.9
骨	- ¹⁾	5.0	- ¹⁾	21.9
血 液	4.6	- ¹⁾	4.5	- ¹⁾

1) 第一相の減衰は単相的であった。
n. d. 汚染のため測定不能

単位：日

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. 10mg/kg投与群 (µg当量/g)

性 別	雄					
	4	24	72	168	336	672
屠殺時間 ¹⁾	4	24	72	168	336	672
脾 臓	22.07	0.708	0.287	0.337	0.335	0.314
腎 臓	4.816	2.054	1.280	1.697	0.650	0.382
生殖腺	2.149	1.923	1.689	1.109	0.934	1.406
肝 臓	33.79	2.939	1.965	0.499	0.227	0.133
心 臓	7.312	1.901	0.735	0.605	0.280	0.070
肺	11.62	4.792	3.022	1.675	0.453	0.588
骨格筋	2.476	2.023	1.582	1.253	1.141	0.705
皮下脂肪	49.64	43.29	36.19	37.37	31.95	24.44
腹膜後脂肪	50.59	49.99	39.16	40.39	31.77	18.52
脳	0.642	0.412	0.139	0.033	<DL	<DL
骨 ³⁾	2.252	1.330	0.823	1.129	0.214	0.126
血液	3.326	0.162	<DL	<DL	<DL	<DL

性 別	雌					
	4	24	72	168	336	672
屠殺時間 ¹⁾	4	24	72	168	336	672
脾 臓	18.56	0.848	0.339	0.330	0.297	0.177
腎 臓	5.450	1.698	1.260	0.824	0.925	0.631
生殖腺	24.89	14.37	7.988	4.610	5.092	3.657
肝 臓	41.85	3.397	1.043	0.826	0.522	0.298
心 臓	8.579	2.563	0.982	0.784	1.128	0.194
肺	95.20 ²⁾	6.725	2.507	3.886	46.85 ²⁾	9.490
骨格筋	3.793	2.934	1.568	2.010	2.107	2.054
皮下脂肪	53.04	50.30	40.16	42.24	37.01	37.22
腹膜後脂肪	72.76	60.35	44.88	51.18	42.12	39.77
脳	0.854	0.577	0.195	0.045	0.039	<DL
骨 ³⁾	1.807	0.559	1.690	0.418	1.543	0.278
血液	2.452	0.112	<DL	<DL	<DL	<DL

1) 10回投与後の経過時間

2) 試料が汚染されたため、正確な値が得られなかった。

3) 骨髄を含む

・数値は動物3匹の平均値

・<DLは検出限界未満

500mg/kg投与群；放射能濃度は、両性の脂肪と雄における精巣及び骨を除き最終投与後4時間で最も高かった。低投与群と同様に、最低値は脳（雌雄で各々17.2及び8.7 μ g当量/g）であり、最高値は腹膜後脂肪（975.8/764.4 μ g当量/g）であった。また、この時の精巣における値は18.7 μ g当量/gであるのに対し、卵巣では503.3 μ g当量/gであった。これら以外の臓器での濃度は、肝臓>脾臓>肺>心臓>腎臓>骨>骨格筋ならびに血液の順であった。

脂肪中の放射能濃度は4時間後よりもその後上昇し、腹膜後脂肪では24時間後、皮下脂肪では72時間後に最高値に達した。その他の臓器及び組織では、時間とともに濃度が低下した（表4）。

減衰速度は組織により異なっていたが、最終投与終了後28日目には、雌では脂肪、骨格筋、骨、肺及び卵巣を除き、最高濃度の1~13%にまで減少していた。同様に、雄では28日目に心臓、脳、肝臓、脾臓及び肺で16%以下にまで減少していた。精巣中の濃度は、28日後までわずかに増加し続けた。減衰は主として二相性であり、半減期は第一相では1.5時間（脾臓）~45時間（脳）の範囲であり、第二相では数日間~数週間の範囲内にあり、最も短いものは雌雄とも肝臓の7~8日であった。しかし、雌の腹膜後脂肪は181.5日、皮下脂肪においては濃度のごくわずかしき変化しなかったため、半減期が求められなかった。それに対し、雄では皮下脂肪及び腹膜後脂肪が、それぞれ22.6及び12.5日で性差が認められた。骨格筋の半減期も、雌では72.5日、雄では48.6日であった（下表）。

	雄		雌	
	第一相	第二相	第一相	第二相
脾臓	1.6	48.6	1.5	17.1
腎臓	3.3	26.5	15.5	32.2
生殖腺	n. d.	n. d.	35.7	112.3
肝臓	4.8	7.2	3.1	8.3
心臓	8.3	10.1	14.2	23.15
肺	n. d.	n. d.	26.5	65.9
骨格筋	23.1	48.6	15.6	72.5
皮下脂肪	— ¹⁾	22.6	— ¹⁾	n. d.
腹膜後脂肪	n. d.	12.5	n. d.	181.5
脳	46.0	— ¹⁾	44.2	23.1
骨	n. d.	n. d.	1.5	22.4
血液	5.4	— ¹⁾	5.7	— ¹⁾

1) 第一相の減衰は単相的であった。

単位：日

n. d. 汚染のため測定不能

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. 500mg/kg投与群 (µg当量/g)

性 別	雄					
屠殺時間 ³⁾	4	24	72	168	336	672
脾 臓	253.0	4.48	4.69	10.68	3.41	3.81 ¹⁾
腎 臓	45.68	16.33	10.03	20.47	11.02	6.14
生殖腺	18.66	19.48	12.58 ¹⁾	22.00	20.98	27.05
肝 臓	278.7	26.84	10.59	5.78	3.13	2.10
心 臓	71.95	18.20	5.14	4.135	2.10	<DL
肺	65.33	137.6	15.06	176.3 ²⁾	70.12 ²⁾	10.47
骨格筋	29.65	25.62	14.31	16.47	23.98	10.41
皮下脂肪	601.6	683.3	633.5	497.1	410.1	294.7
腹膜後脂肪	764.4	879.7	584.3	541.1	318.8	244.5
脳	8.74	6.59	3.10	<DL	<DL	<DL
骨 ⁴⁾	28.36	36.71	11.75	3.27	5.98	12.07 ²⁾
血液	34.62	2.69	<DL	<DL	<DL	37.42 ²⁾

性 別	雌					
屠殺時間 ³⁾	4	24	72	168	336	672
脾 臓	333.6	11.04	15.39	6.40	7.01	5.28
腎 臓	81.46	44.48	21.05	17.20	13.71	10.87
生殖腺	503.3	371.4	197.1	103.4	82.41	153.9 ²⁾
肝 臓	565.3	41.15	31.95	17.12	13.63	5.14
心 臓	109.2	57.66	18.78	22.56	21.27	5.96
肺	171.6	123.0	71.80	5647 ²⁾	7278 ²⁾	39.84
骨格筋	62.49	51.58	33.60	27.29	32.76	34.39
皮下脂肪	866.0	877.7	902.5	783.9	826.1	893.8
腹膜後脂肪	975.8	1318	1134	819.9	1131	992.7
脳	17.21	14.03	8.32	2.75	2.23	<DL
骨 ⁴⁾	71.40	19.38	25.85	20.83	13.81	25.01 ²⁾
血液	37.58	3.37	<DL	<DL	<DL	32.88 ²⁾

1) n=1

2) 試料が汚染されたため、正確な値が得られなかった。

3) 10回投与後の経過時間

4) 骨髄を含む。

・数値は動物3匹の平均値

・<DLは検出限界未満

以上の結果、シラフルオフェンを10及び500mg/kg体重で10日間投与した結果、排泄は主として糞中に認められ、また毎回投与後24時間以内に投与量の90%以上が排泄された。組織中の残留はわずかであり、その後、多くの組織で二相性で減衰した。脂肪組織における濃度は、比較的高く、減衰は緩やかであった。

(資料No. 代-7)

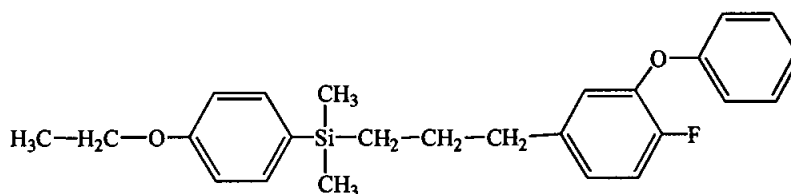
(7) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたラット体内における排泄及び分布試験
(高投与量)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能：比放射能 MBq/g の標識化合物を、純度 % の非標識化合物で希釈し、MBq/g (雄ラットに投与) 及び MBq/g (雌ラットに投与) の検体を調製した。

標識化合物の放射化学的純度： %

標識位置の設定理由：

供試動物：ウイスター系ラット、対照群 雌雄各1匹、投与群 雌雄各10匹
体重 雄 185 - 190 g、雌 185 - 200 g

試験方法：

飼育管理：試験期間中、動物は尿及び糞を分離して採取できる代謝ケージに収容し、飼料及び水は自由に摂取させた。

投与方法：検体をゴマ油に溶解し、胃管を用いて約500mg/kgの用量を強制経口投与した。平均投与量は、雄527.81mg/kg、雌535.94mg/kgであった。

検討項目：尿、糞及び組織試料中における放射能濃度。

投与後 0~24時間及び24~48時間に採取した尿試料、投与後 0~24時間、24~48時間及び48~72時間に採取した糞試料についての代謝物パターン。尿、糞及び脂肪組織中の主要代謝物の同定及び特性。

試料採取：尿及び糞は投与直後から24時間毎に7日間採取した。また、投与後7日目に全動物を屠殺して、以下の臓器及び組織を採取した。

肝臓、腎臓、肺、脾臓、生殖腺、心臓、脳、
骨格筋、血液、皮下脂肪及び腹膜後脂肪

試料の調製：尿試料については放射能を測定した後、酸加水分解後 HPLC で分析した。糞試料については水で希釈し、ホモジナイズした後酢酸エチルで抽出し、HPLCで分析した。糞抽出物の一部については、酸加水分解をした後分析した。臓器及び組織については、最も高い放射能が認められた脂肪組織の抽出物を HPLCで分析し、代謝物を検討した。

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。

放射能の測定 ; 固体試料はホモジナイズし、風乾した後、サンプルオキシダイザーで燃焼した。生成した¹⁴C₂O₂を吸収剤に捕集した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

液体試料は固形試料と同様に処理、またはシンチレーションカクテルを添加した後、直接測定した。

結 果 :

放射能の排泄 ; 投与放射能に対する割合 (%)

投与後の 経過時間	尿		糞		合 計	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0 - 24	1.90	0.57	77.95	68.31	79.85	68.88
24 - 48	0.72	0.57	8.73	23.62	9.45	24.19
48 - 72	0.17	0.13	1.33	2.25	1.50	2.38
72 - 96	0.06	0.04	0.32	0.85	0.97	0.89
96 -120	0.03	0.03	0.91	0.34	0.35	0.37
120 -144	0.03	0.03	0.13	0.23	0.16	0.25
144 -168	0.02	0.02	0.12	0.57	0.14	0.59
投与後168時間 の回収率	2.93	1.38	89.49	96.16	92.41	97.55

・ 数値は動物10匹の平均値

投与後72時間以内に投与量の90%以上が排泄物中に回収され、投与後7日目には雄で全投与放射能の92.4%、雌で97.6%が排泄された。

雄で全投与放射能の89.5%、雌で96.2%が糞と共に排出され、僅かに雄で2.9%、雌で1.4%が尿を経由して排泄された。

臓器及び組織中の放射能濃度；

臓器組織	雄		雌	
	濃度 mg ¹⁾ /kg	投与放射能に 対する割合 %	濃度 mg ¹⁾ /kg	投与放射能に 対する割合 %
血液	0.163	0.00	0.298	0.00
腎臓	4.396	0.01	12.455	0.02
肝臓	2.516	0.03	3.976	0.03
肺	34.534	0.06	9.946	0.01
脾臓	2.058	0.00	2.228	0.00
生殖腺	3.291	0.01	103.739	0.02
心臓	2.499	0.00	3.915	0.00
脳	0.463	0.00	4.251	0.01
骨格筋	3.576	0.03	5.877	0.04
皮下脂肪	71.441	0.12	123.489	0.16
腹膜後脂肪	71.898	0.04	150.616	0.11
合計	—	0.30	—	0.40

測定時期：投与後7日目

1)：親化合物換算

- ・検出限界 0.022 ~ 0.070 mg/kg
- ・皮下及び腹膜下脂肪の濃度は、抽出可能な放射能及び抽出不能な放射能の合計
- ・数値は動物10匹の平均値

脂肪組織は雄ラットで約72mg/kg、雌ラットで151mg/kgの最も高い残留放射能濃度を示した。これらの試料は抽出し、放射性残留物質の同定を行った。雌ラットの肺の濃度は 9.946mg/kgあったが、雄ラットの肺の濃度は 34.534mg/kgであり、これは胃管による検体投与中に吸入があったためと考えられた。雌の生殖腺の放射能濃度は比較的高い値 103.7mg (親化合物換算、以下同様)/kgが示されたが、これは生殖腺が脂肪組織にとり囲まれているため、試料に脂肪組織が付着したことによるものと考えられた。

代謝物の同定； シラフルオフェンの想定代謝経路を図1に示した。

尿； 投与後 0~24時間の雄の尿試料中に 個の放射標識代謝物が認められた。投与後24~48時間に採取した試料中には、この内 個の代謝物のみが認められた(表1)。

雌ラットの尿中には、0~24時間の試料中に 個、24~48時間の試料中に 個の代謝物が分離され、これはいずれも雄ラットの尿に認められた代謝物と同じであった。雄ラットが、雌よりも尿を経由して多く放射能を排泄したことについては、雌雄間の排泄百分率の絶対的差異は小さく、性特異的なものとは考えられない。

分析試料中では全投与放射能の1.0%以上に達する分離代謝物は無く、また、HPLCの相対保持時間を検討した結果、シラフルオフェン自体は尿を経由して排泄されないことが明らかにされた。代謝物を特徴付けるために、雄ラットの投与後0~24時間に採取した試料及び雌ラットの24~48時間に採取した試料の一部について、 β -グルクロニダーゼ及び β -グルクロニダーゼ/アリルサルファターゼ混合物を用いた酵素分解を行った。

グルクロン酸抱合体は尿を経由して排泄されていなかったが、相対保持時間0.32-0.36及び0.40の代謝物は酵素分解中に消失し、0.47に新しいピークが現れたことから、硫酸抱合体の存在が示された。この挙動から0.32-0.36及び0.40の代謝物のエキソコン部位は同じで、硫酸との結合には少なくとも2つの化学基を持つと考えられた。

さらに投与後0~24時間に採取した試料の一部を酸加水分解して分析したところ、雄ラットでは2個の放射性化合物（相対保持時間0.47及び0.56-0.58）が認められたが、雌ラットでは単独のピーク（相対保持時間0.56）のみが見られた。これらの加水分解反応の結果の相対保持時間を表2に示した。

相対保持時間0.47及び0.56-0.58のピークをMSで調べ、さらにメチル化した後にGC-MSで調べたところ、相対保持時間0.56-0.58の代謝物は
と同一であると判断された。

未処理試料は、相対保持時間0.56-0.57の代謝物を含んでいるので、
は遊離体及び抱合体として尿を経由して排泄されるものと考えられた。相対保持時間0.47の化合物については、メチル化した後にGC-MSによって分画を検討したところ
であろうと考えられた。
酵素開裂では、相対保持時間0.32-0.36及び0.40の未処理尿代謝物が、相対保持時間0.47の単一エキソコンの硫酸塩であることを示していたことから、このエキソコンは
の構造を持ち、遊離体（相対保持時間0.48）及び図1に示された抱合体で排泄される可能性が高いと考えられた。以上の結果、雄ラットから腎を介して排泄された放射能の
は
あるいはそれに該当する硫酸抱合体、
%は
であると同定された。雌ラットについてはそれぞれ
%及び
%であった。

糞 ; 投与後 0~24時間、24~48時間及び48~72時間に採取した糞試料の抽出率は76.5から109.3%であった（表3）。

HPLCによる分離代謝物
個については、表4に示した。処理後の初期72時間に糞を経由して排泄された放射能の約94%（雄）あるいは93%（雌）を構成するシラフルオフェン[I]及び
は、対照化合物との相対保持時間の比較により明らかに同定された。また、糞抽出物から分離された他の化合物は GC-MS及び HPLC-MSによって
と同定された。

さらに、糞代謝物を検討するために、24~48時間試料の抽出物の一部を酸加水分解し、相対保持時間について対照化合物と比較して検討した結果、回収された主要生成物は、
、
及び未変化のシラフルオフェン[I]であると判明した（表5）。
及び

はシラフルオフェンの加水分解生成物であり、その構造は HPLC-MSにより同定された。

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。

これらの結果、糞中の主要化合物は、未変化のシラフルオフェン[I]が投与後0～72時間内に排泄された放射能の90.7%（雄）及び83.9%（雌）を占め、次に同定された代謝物の割合は、雄で %、雌で %であった。従って、糞を経由して、投与後0～72時間に排泄された全放射能の約91～94%が同定された。

脂 肪；器官及び組織の中で脂肪組織に最も高い放射能が認められたため、雄ラットの皮下脂肪試料について抽出した。HPLC分析した抽出物中の放射能の94～98%は未変化のシラフルオフェンで、その保持挙動から明らかに同定された。他に未同定の化合物が 2.5～5.7 %認められた（表6）。

表 1.

① HPLCにより分離した尿中代謝物の割合及び相対保持時間

性別	HPLC ピーク 番号	相対保持時間	投与放射能に対する割合(%)		同 定
			0-24時間 ¹⁾	24-48時間	
雄	1	0.03 - 0.04			
	2	0.06			
	3	0.32 - 0.36			
	4	0.40			
	5	0.42			
	6	0.44 - 0.45			
	7	0.48			
	8	0.56 - 0.57			
雌	1	0.03 - 0.04			
	2	0.06			
	3	0.32 - 0.36			
	4	0.40			
	5	0.42			
	6	0.44 - 0.45			
	7	0.48			
	8	0.56 - 0.57			

1)：投与後 0～24時間までの尿試料

2)：HPLC試料中の割合 (%)

・ 数値は動物10匹の平均値

② 相対保持時間

化 合 物	標準物質	代謝物
シラフルオフェン[I]	1.00 ¹⁾	1.00 - 1.01

1)：保持時間56.99分（16回の平均値）

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. 酸加水分解した尿試料中放射能分布 (投与放射能に対する割合)

投与後24時間内の試料

性別	放射能分布 ¹⁾		ヘキサン相の抽出物質について同定した結果
	ヘキサン相 %	水相 %	
雄	0.32 (16.7)	1.23 (64.6)	
雌	0.11 (19.3)	0.38 (67.1)	

1) : 尿試料中の総放射能に対する割合

2) : 親化合物シラフルオフエン (保持時間 56.99分) を1.00とした時のHPLCにおける保持時間

・ 数値は動物10匹の平均値

表 3. 糞試料の抽出率

投与放射能に対する抽出物及び非抽出物中の放射能の割合 (%)

性別	試料採取時期	抽出物	非抽出物
雄	0 - 24	94.7	1.8
	24 - 48	92.3	6.3
	48 - 72	90.6	8.7
雌	0 - 24	95.2	0.7
	24 - 48	76.5	4.8
	48 - 72	109.3	8.5

・ 数値は動物10匹の平均値

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. HPLCにより分離した糞中代謝物の割合及び相対保持時間

性別	HPLC ピーク 番号	相対保持時間	投与放射能に対する割合 (%)			同 定
			0-24時間	24-48時間	48-72時間	
雄	1	0.70				
	2	0.72				
	3	0.75				
	4	0.80				
	5	0.84 - 0.85				
	6	0.86 - 0.87				
	7	0.89 - 0.90				
	8	1.00 - 1.01	73.31(94.05)	5.63(64.52)	0.92(68.92)	シラフルオフェン[I]
雌	1	0.70				
	2	0.72				
	3	0.75				
	4	0.80				
	5	0.84 - 0.85				
	6	0.86 - 0.87				
	7	0.89 - 0.90				
	8	1.00 - 1.01	65.47(95.84)	12.61(53.38)	0.91(40.50)	シラフルオフェン[I]

・ ()内は各ピークの代謝物総量に対する割合。

・ 数値は動物10匹の平均値

表5. 酸加水分解した糞試料の放射能分布 (投与放射能に対する割合)

投与24~48時間後に採取した試料

HPLC ピーク 番号	相対保持時間	放射能分布 (%) *		同 定
		雄	雌	
1	0.62			
2	0.64			
3	0.73			
4	1.00 - 1.01			
5	1.03	0.42(4.84)	1.50(6.34)	シラフルオフェン[I]
6	1.05			
7	1.07 - 1.09			
8	1.11			
9	1.12			

* : HPLCで検出された化合物の総放射能に対する割合 (%)

・ 数値は動物10匹の平均値

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 6. 脂肪組織試料中の放射能分布

性別	試料	抽出不能な放射能活性 (%)	抽出された放射能活性 (%)	HPLCによる同定及び割合
雄	皮下脂肪	3.1	80.4	シラフルオフエン [I] (95.9% 相対保持時間 = 1.00)
	腹膜後脂肪	0.5	103.3	シラフルオフエン [I] (94.3% 相対保持時間 = 1.00)
雌	皮下脂肪	2.2	85.9	シラフルオフエン [I] (96.8% 相対保持時間 = 1.01)
	腹膜後脂肪	4.8	100.6	シラフルオフエン [I] (97.5% 相対保持時間 = 1.00)

・ 数値は動物10匹の平均値

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。

図1. 尿及び糞中の想定分解経路

(資料No. 代-8)

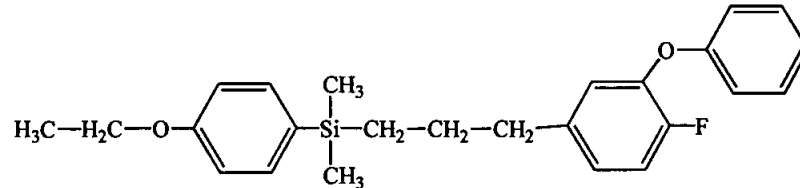
(8) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたラット体内における排泄及び代謝試験
(低投与量)

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： MBq/g

放射化学的純度： %

標識位置の設定理由：

供試動物： ウィスター系ラット、対照群 雌雄各1匹、投与群 雌雄各10匹
体重 雄 200-210 g、雌 200 g

試験方法：

飼育管理；試験期間中、動物は尿及び糞を分離して採取できる代謝ケージに収容し、飼料及び水は自由に摂取させた。

投与方法；検体をゴマ油に溶解し、胃管を用いて約10 mg/kgの用量を強制経口投与した。平均投与量は、雄9.71、雌10.11 mg/kgであった。

検討項目；尿、糞及び組織試料中における放射能濃度。

投与後 0~24時間及び24~48時間に採取した尿試料及び投与後 0~24時間、24~48時間及び48~72時間に採取した糞試料についての代謝物パターン。

尿、糞及び脂肪組織中の主要代謝物の同定及び特性。

試料採取；尿及び糞は投与直後から24時間毎に7日間採取した。また、投与後168時間目に全動物を屠殺して、以下の臓器及び組織を採取した。

肝臓、腎臓、肺、脾臓、生殖腺、心臓、脳、
骨格筋、血液、皮下脂肪及び腹膜後脂肪

試料の調製；尿試料については放射能を測定した後、酸加水分解後 HPLCで分析した。糞試料については水で希釈し、ホモジナイズした後抽出し、HPLCで分析した。非抽出性残渣及び糞抽出物の一部については酸加水分解を行い、濾過後、濾液を分析した。臓器及び組織については、最も高い放射能が認められた脂肪組織の抽出物を HPLCで分析し、代謝物を検討した。

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。

放射能の測定 ; 固体試料はホモジナイズし、風乾した後、サンプルオキシダイザーで燃焼した。生成した¹⁴C0₂を吸収剤に捕集した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

液体試料は固形試料と同様に処理、またはシンチレーションカクテルを添加した後、直接測定した。

結 果 :

放射能の排泄 ; 投与放射能に対する割合 (%)

投与後の 経過時間	尿		糞		合 計	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0 - 24	2.45	0.52	92.32	91.75	94.77	92.27
24 - 48	0.51	0.15	3.71	9.34	4.22	9.49
48 - 72	0.16	0.05	0.80	1.25	0.96	1.30
72 - 96	0.07	0.02	0.28	0.63	0.35	0.65
96 -120	0.04	0.01	0.20	0.84	0.24	0.85
120 -144	0.03	0.01	0.15	0.26	0.18	0.27
144 -168	0.02	0.01	0.13	0.23	0.15	0.24
投与後168時間 の回収率	3.28	0.77	97.59	104.30	100.87	105.07

・ 数値は動物10匹の平均値

投与放射能は急速に排泄された。投与後48時間以内に、投与放射能の95%以上が排泄物中で回収され、投与後7日目には、雄で総投与量の100.9%、雌で105.1%が排泄された。これらの内、糞中には雄で投与量の97.6%、雌で104.3%が排泄され、尿中には雄で3.3%、雌で0.8%が排泄された。

臓器及び組織中の放射能濃度；

性 別	雄		雌	
	濃 度 mg ¹⁾ /kg	投与放射能に 対する割合 %	濃 度 mg ¹⁾ /kg	投与放射能に 対する割合 %
臓器組織				
血 液	0.005	0.00	0.00	0.00
腎 臓	0.127	0.01	0.268	0.02
肝 臓	0.105	0.05	0.097	0.04
肺	0.150	0.01	0.353	0.02
脾 臓	0.031	0.00	0.090	0.00
生 殖 腺	0.103	0.02	2.277	0.02
心 臓	0.046	0.00	0.156	0.01
脳	0.008	0.00	0.009	0.00
骨 格 筋	0.126	0.06	0.167	0.07
皮下脂肪	2.606	0.24	3.429	0.23
腹膜後脂肪	2.646	0.09	5.133	0.28
合 計	—	0.48	—	0.69

1)：親化合物換算

- ・検出限界 0.002 ~ 0.005 mg/kg
- ・皮下及び腹膜後脂肪の濃度は、抽出可能な放射能及び抽出不能な放射能の合計
- ・数値は動物10匹の平均値

肝臓、腎臓、肺、脾臓、心臓、脳、骨格筋及び血液での総残留放射能は、投与放射能に対して雄で0.13%、雌で0.16%であった。

雌の生殖腺では比較的高い放射能（投与放射能に対して0.02%）が認められたが、通常雌の生殖腺は多くの脂肪組織に包まれていることから、この値は試料に脂肪組織が動物の解剖中付着したことによるものと考えられた。

脂肪組織に認められた放射能は、臓器及び組織試料中で最も高い値を示し、臓器及び組織中で回収された総放射能の69%または74%に相当した。

代謝物の同定及び特性の検討；尿及び糞の想定分解経路を図1に示した。

尿；HPLCにより、分離した3種類の標識された代謝物の割合（%）を表1に示した。

雄では投与後 0~24時間に採取した試料で最高 種類の標識された代謝物が認められたが、24~48時間に採取した試料では 種類の代謝物が認められた。雌では採取時間に関係なくこの 種類の代謝物のみが認められた。

雌では、雄と比較して尿中に排泄された放射能が著しく低かったことから、腎臓を経由した排泄に認められた雌雄の差は、量的なものに過ぎないと判断された。

単離された代謝物は、いずれも総投与放射能の %以下であり、それらのHPLCにおける保持時間から、未変化のシラフルオフェン[I]は尿中に排泄されないことが明らかであった。これらの代謝物は 及びその硫酸抱合体、ならびに 種類の未知の化合物と同定された。この未知化合物の特性を検討するため雄から投与後 0~24時間の試料を一部採り、酸加水分解を行った結果、 種類の放射性化合物が生成した(表2)。この加水分解反応の結果は、 の硫酸抱合体が加水分解されてエキソコンになったことが示唆された。さらに、採取尿試料中の未知化合物の一部が加水分解して遊離したと思われる が検出された。

糞 ; HPLCにより分離した13種類の標識された代謝物の割合(%)を表3に示した。投与後72時間に、合計で糞中に排泄された放射能の雄で約87%、雌で約68%は同定され、シラフルオフェン[I]及び であった。その他の代謝物はいずれも少量で、各化合物とも前記の時間内に排泄された総放射能の約 ~ %であった。糞抽出物試料(投与後 0~24時間に採取)の酸加水分解を行って、これらの代謝物の特性を検討し引続き行ったHPLC分析の結果、 一つのピークが分離され、相対保持時間を比較した結果、これらは 、 及び によるものと考えられた。シラフルオフェン[I]は、酸加水分解されると、それ自体は不安定で、 に変化する を生成する。従って、分離した代謝物は、排泄された代謝物または親化合物のいずれが解裂して生成したか特定することはできなかった。別の糞抽出物の一部をとり、 β -グルコシダーゼ、ならびに β -グルコシダーゼ及びアシルスルファターゼの混液を用い、酵素による分解処理を行った結果、多量の硫酸またはグルクロン酸抱合体は糞中に排泄されないことが示唆された。糞の非抽出残渣を加水分解し、結果を表4に示した。激しい加水分解によっても、非抽出残渣中のわずかに2~5%が可溶化したに過ぎず、夾雑物が多量に抽出されるため、それ以上、特性の検討を行うことができなかった。

脂 肪 ; 脂肪組織には、臓器及び組織中での最も高い残留放射能が認められ、これらの試料について約81~104%の高い抽出性が得られた。放射能の分布及びHPLCによる結果を表5に示した。HPLCで分析した抽出物の放射能の92~100%は、未変化のシラフルオフェンであった。

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。

表 1. HPLCにより分離した尿中代謝物の割合及び相対保持時間

性別	HPLC ピーク 番号	相対保持時間	投与放射能に対する割合 (%) ²⁾		同 定
			0-24時間 ¹⁾	24-48時間	
雄	1	0.03			
	2	0.29 - 0.30			
	3	0.48			
	計	—	2.45 (100)	0.51 (100)	
雌	1	0.03			
	2	0.29 - 0.30			
	3	0.48			
	計	—	0.52 (100)	0.15 (100)	

1) : 投与後24時間までの尿試料

2) : HPLC試料中の割合 (%)

・ 数値は動物10匹の平均値

表 2. 酸加水分解した雄ラットの尿試料の放射能分布 (投与放射能に対する割合)

投与後24時間内の試料

HPLC ピーク 番号	相対保持時間 ²⁾	放射能分布 (%) ¹⁾			ヘキサン+酢酸エチル相 の抽出物質につい て同定した結果
		ヘキサン相 %	酢酸エチル相 %	水 相 %	
1	0.01				
2	0.43 - 0.45				
3	0.55				
計	—	0.22 (9.2)	1.62 (77.3)	0.32 (12.9)	

1) : 尿試料中の総放射能に対する割合

2) : 親化合物シラフルオフエン (保持時間 56.99分) を1.00とした時の
HPLCにおける保持時間

・ 数値は動物10匹の平均値

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. HPLCにより分離した糞中代謝物の割合及び相対保持時間

性別	HPLC ピーク 番号	相対保持時間	投与放射能に対する割合 (%) ²⁾			同 定
			0-24時間 ¹⁾	24-48時間	48-72時間	
雄	1	0.70 - 0.71				
	2	0.72				
	3	0.74 - 0.76				
	4	0.79				
	5	0.82 - 0.84				
	6	0.85 - 0.86				
	7	0.88 - 0.89				
	8	0.99 - 1.00	79.18(80.46)	0.99(20.23)	0.18(25.59)	シラフルオフェン[I]
	9	1.11				
	10	1.15				
	11	1.20				
	12	1.22				
	13	1.28 - 1.30				
	計	—	98.42(100.0)	4.90(100.0)	0.70(100.0)	
雌	1	0.70 - 0.71				
	2	0.72				
	3	0.74 - 0.76				
	4	0.79				
	5	0.82 - 0.84				
	6	0.85 - 0.86				
	7	0.88 - 0.89				
	8	0.99 - 1.00	52.62(68.60)	1.95(19.21)	— (—)	シラフルオフェン[I]
	9	1.11				
	10	1.15				
	11	1.20				
	12	1.22				
	13	1.28 - 1.30				
	計	—	76.70(100.0)	10.16(100.0)	1.12(100.0)	

1) : 投与後24時間までの糞試料

2) : HPLC試料中の割合 (%)

・ 数値は動物10匹の平均値

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. 酸加水分解した糞の非抽出残渣の放射能分布（加水分解する前の非抽出残渣に対する割合）投与24時間内の糞試料

画 分	雄	雌
水 相	3.8	2.2
アセトニトリル相	0.8	0.1
固 体 残 渣	47.6	56.2

・数値は動物10匹の平均値

表 5. 脂肪組織試料中の放射能分布

性 別	試 料	抽出不能な放射能活性 (%)	抽出された放射能活性 (%)	HPLCによる同定及び割合
雄	皮下脂肪	4.2	80.6	シラフルオフェン[I] (94.4% 相対保持時間=0.99)
	腹膜後脂肪	0.5	104.2	シラフルオフェン[I] (100% 相対保持時間=1.00)
雌	皮下脂肪	1.6	97.7	シラフルオフェン[I] (92.2% 相対保持時間=0.99)
	腹膜後脂肪	1.8	104.3	シラフルオフェン[I] (96.2% 相対保持時間=1.00)

・数値は動物10匹の平均値

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。

図 1. 尿及び糞中の想定分解経路

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

(資料No. 代-9)

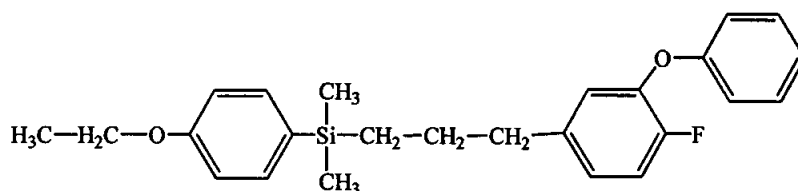
(1) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いた水稻における代謝及び分解速度

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： MBq/g 純度 %の非標識化合物で約4倍に希釈し、製剤の補助成分を加えて、有効成分含有量19.1-19.6%、比放射能 MBq/gの乳剤を調製した。

標識化合物の放射化学的純度： %

標識位置の設定理由：

供試植物：水稻 (Tebonnet種)、第1回処理時の生育段階：移植後約50日

試験方法：

土壌の性状：

土性；シルト質壤土
粘土；18.1% (< 0.002mm)
シルト；71.9% (0.002 - 0.063 mm)
砂；10.0% (0.063 - 2mm)
pH；5.6
有機質；1.23%

栽培：アメリカ合衆国ミシシッピ州所在の試験圃場において、通常の条件下で栽培した。第1回処理の25日前に施肥した。

処理：乳剤として有効成分 300g/ha、水量 400L/haを約20日間隔で3回散布した。

試料採取：植物及び土壌試料を、以下のとおり(次表)に採取した。
第1回処理日、20(第2回処理前)、41(第3回処理前)及び60日目(収穫時)に所定数の無処理の植物試料を採取した。無処理の土壌試料は、第1回処理後0日目に採取した。

移植（5月18日） 後の経過日数	第1回処理後 の経過日数	試料の採取	
		植 物	土壌 ²⁾
55（第1回処理）	0	葉 ¹⁾	採取
57	2	葉	
63	8	葉	
75（第2回処理前）	20	葉	採取
75（第2回処理後）	20	葉	採取
77	22	葉	
87	32	穂及び藁	
96（第3回処理前）	41	穂及び藁	採取
96（第3回処理後）	41	穂及び藁	採取
98	43	穂及び藁	
108	53	穂及び藁	
115（収穫）	60	玄米、籾殻及び藁	採取

1)：葉は、地上部の植物全体を意味する。

2)：土壌試料は毎回3点ずつ採取した。

これらの試料は、採取直後に生重量を測定し、凍結保存してドイツヘキスト社において分析した。

試料の調製、抽出及び分離：植物試料は、解凍後ホモジナイズし各試料の一部を放射能の測定に供した。残りの試料は、ホモジナイズ後、アセトニトリル/水（9:1 v/v）で抽出し、抽出液及び抽出残渣の一部を放射能の測定に供した。収穫時の藁及び玄米を除く試料については、残りの抽出液を濃縮後HPLCで分析した。抽出残渣については、塩酸を加えて加熱還流した後、濾過し、固形残渣は燃焼して放射能を測定し、濾液は酢酸エチルで抽出し、水相及び有機相の放射能を測定するとともに、有機相を濃縮してHPLCで分析した。収穫時に採取した藁については、アセトニトリル/水混合液による抽出液を濃縮し、残った水相を酢酸エチルで抽出して水相及び有機相の放射能を測定し、有機相はHPLCで分析した。玄米については、放射能濃度が低かったため、アセトニトリル/水混合液による抽出残渣の酸加水分解は行わなかった。抽出液については、さらにn-ヘキサンを用いて抽出し、ヘキサン相及びアセトニトリル相をHPLCで分析した。

放射能の測定：固形試料はホモジナイズし、サンプルオキシダイザーを用いて燃焼し、生成した¹⁴CO₂を吸収剤に捕集した後、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

液体試料は固形試料と同様に処理するか、もしくはシンチレーションカクテルを添加した後、直接測定した。

土壌試料は、採取時期及び土壌層別にホモジナイズし、上記固形試料と同様に処理して測定した。

結 果：

残留放射能； 各時点で採取した植物試料中の放射能測定結果を、表1に示した。

第1回処理後2日目には、植物体全体で濃度約21mg(親化合物換算、以下同様)/kgの残留放射能が検出された。第2回の処理直前には約5.5mg/kgまで減少したが、処理直後には約22mg/kgの残留放射能が検出された。

第2回目処理後から第3回目の処理までの間に、残留放射能は再び、顕著に減少し、処理の直前には藁に約 3.7mg/kgが検出された。第3回処理の直後には藁に約22mg/kgが検出され、収穫時には約17.9mg/kgであった。

玄米における放射能はわずか0.52mg/kgであった。植物体内での移行は、3回目の散布時にはすでに出穂していたので、この残留は、穂に直接散布したことによるものと考えられた。

計40.6%が回収された。各時点で採取した、土壌試料中の放射能測定を表2に示した。

表層0-5cmの土壌では、3回の散布いずれにおいても散布前後に測定した結果、親化合物として約 0.1-0.3mg/kgが検出された。この値は、収穫までの19日間で約0.16mg/kgまで減少した。表層5-10cmの土壌では、残留放射能濃度は0.01mg/kg程度であり、10cm以下の土壌中の濃度は極めて低く、第3回処理以後0.01mg/kg以下であった。従って、調査した水稻の栽培期間中にシラフルオフェン[I]またはその代謝物のリーチングは認められなかった。

代謝物の検討； 植物について、放射能のある残留化合物の同定及び試料中の総放射能に対する各代謝物の割合を表3に、想定代謝経路を図1に示した。

試験期間中に採取した全試料で、平均77%が抽出された。収穫時には、玄米で、試料中の総残留放射能の68.5%が抽出され、この内64.1%(回収率に基づいた補正後60.3%)が親化合物、 % (補正後 %) は代謝物と同定された。

籾殻及び藁については、それぞれ試料中の総放射能の87.9%及び73.0%が抽出され、これらの内各々83.9%(補正後77.5%)、50.6%(補正後54.7%)が親化合物、また各々 %(補正後 %)、 %(補正後 %)が代謝物と同定された。これらの試料については、HPLCにおいて、上記2化合物以外にもいくつかの小さなピークが認められたが、これらは、いずれも植物体の総放射能に対して3%以下であり、同定されなかった。収穫時以前(第1回処理後53日まで)の試料における抽出可能な残留化合物は、53日目の藁を除き、全て親化合物及び で、他に代謝物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。

抽出不能な残渣は、収穫時の試料中の総残留放射能に対して、玄米で37.8%、籾殻で20.4%、藁で19.5%を占めていた。これらについて酸加水分解し、HPLCで分析した結果を表4に示した。同定された化合物は、親化合物シラフルオフェン及び代謝物のみであり、これらは合計で3.5-5%に過ぎなかった。シラフルオフェンを酸加水分解すると生成されることから、抽出残渣から得られたは、抽出残渣を化学的に処理する過程で生成したものであると考えられた。加水分解後も可溶化ができなかった残留放射能については、さらに強い酸性条件下においても残留放射能の遊離は認められず、これらの化合物は生物学的には不活性な物質と考えられた。

以上の結果、玄米における残留化合物は、ほとんどが親化合物であり、代謝物は%以下で、他の代謝物はそれよりさらに微量であった。

表 1. 水稻試料中の残留放射能濃度

第 1 回処理後 の経過日数	試料	試料の総重量 (g)	残留放射能濃度 (mg/kg)
0	葉*	23.4	6.105 ¹⁾
2	葉*	25.6	21.237
8	葉*	23.0	9.162
20(第2回処理前)	葉*	390.8	5.544
20(第2回処理後)	葉*	198.1	21.795
22	葉*	132.7	8.603
32	穂	12.0	0.175
	藁	141.5	11.344
41(第3回処理前)	穂	67.3	0.156
	藁	273.0	3.739
41(第3回処理後)	穂	60.0	12.560
	藁	179.0	21.819
43	穂	67.0	9.780
	藁	161.9	19.206
53	穂	86.5	8.062
	藁	196.6	17.121
60	玄米	50.1	0.519
	籾殻	12.7	10.964
	藁	1300.0	17.894

*: 地上部の植物全体

1): 試料中の放射能分布が不均一であったため。総回収率は処理した放射能の28.5%にすぎなかったことから、この値は異常である。

検出限界

葉 : 0.003 mg/kg 穂 : 0.004 mg/kg
 玄米 : 0.006 mg/kg 籾殻 : 0.017 mg/kg
 藁 : 0.004 mg/kg

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. 土壌試料中の残留放射能濃度

第 1 回処理後 の経過日数	試料 土壌層	試料の総重量 (g)	放射能濃度 (mg/kg)
0	0 - 5 cm	53.2	0.1055
	5 - 10 cm	86.4	< LOQ
	10 - 15 cm	86.3	0.0078
	15 - 20 cm	—	—
20(第2回処理前)	0 - 5 cm	31.8	0.2948
	5 - 10 cm	87.0	0.0054
	10 - 15 cm	97.2	< LOQ
	15 - 20 cm	115.8	0.0025
20(第2回処理後)	0 - 5 cm	51.5	0.1811
	5 - 10 cm	91.1	0.0056
	10 - 15 cm	104.1	0.0033
	15 - 20 cm	95.6	0.0027
41(第3回処理前)	0 - 5 cm	28.3	0.3221
	5 - 10 cm	72.3	0.0146
	10 - 15 cm	92.8	0.0128
	15 - 20 cm	—	—
41(第3回処理後)	0 - 5 cm	44.6	0.2067
	5 - 10 cm	88.5	0.0112
	10 - 15 cm	107.4	0.0059
	15 - 20 cm	—	—
60	0 - 5 cm	58.0	0.1597
	5 - 10 cm	78.3	0.0139
	10 - 15 cm	92.7	0.0081
	15 - 20 cm	54.8	0.0026

定量限界 0.0020 - 0.0064 mg/kg

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. 水稻における放射性残留化合物の同定及び試料中の総放射能に対する各代謝物の割合

第1回処理後の経過日数	試料	抽出物			非抽出物			結合性残留物	計 (%)	実測値の合計 (%)	同定された化合物の総量 (補正後) (%)	
		シラフオフェン [I]		未同定代謝物	計 (%)	酸加水分解による可溶化物						計 (%)
		実測値 (%)	補正值 (%)			シラフオフェン [I]	未同定					
0	葉	106.4	98.9	-	106.4	-	-	-	107.6	98.9		
2	葉	85.6	98.3	-	85.6	-	-	-	87.1	98.3		
8	葉	77.4	89.1	-	81.5	-	-	-	86.9	93.8		
20(第2回処理前)	葉	58.0	65.8	-	67.5	2.6	0.5	5.0	20.5	79.2		
20(第2回処理後)	葉	90.5	96.6	-	92.7	-	-	-	98.7	98.9		
22	葉	85.9	87.3	-	90.5	-	-	-	98.4	92.0		
32	穂	1)	1)	-	99.7	-	-	-	134.2	-		
	藁	51.3	75.4	-	54.5	-	-	-	68.0	80.1		
43	穂	85.3	96.9	-	85.3	-	-	-	88.0	96.9		
	藁	55.5	70.0	-	61.2	-	-	-	79.3	77.2		
53	穂	72.8	87.0	-	77.1	-	-	-	83.7	92.1		
	藁	55.0	64.0	2.0	63.1	-	-	-	86.0	71.1		
60	玄米	64.1	60.3	1.5	68.5	-	-	-	106.3	63.0		
	粃殻	83.9	77.5	-	87.9	-	-	-	108.3	81.2		
	藁 ²⁾	50.6	54.7	10.4 ³⁾	73.0	0	0.4	4.7	26.3 ⁴⁾	19.5		
									92.5	68.4		

補正值は、実測値の合計を100 (%)としたときの換算値。

- 1) : 残留放射能の量が少ないため同定不能であった。
- 2) : 有機相についてHPLCで分析した。表中の化合物以外に、水相にも1%の放射能が検出されたため、抽出物中の放射能活性の合計にはこれを加えた結果、73.0%となり、実測値の合計は92.5%となった。
- 3) : 少なくとも一種の化合物が存在し、各々の残留放射能活性は3%以下であった。
- 4) : 分析操作中の汚染による異常値と考えられる。

表 4. 抽出不能な残渣の酸加水分解による同定

第 1 回 処 理 後 の 経 過 日 数	試 料	抽出不能な 残渣 (%)	固形残渣 (%)	可溶残渣 ¹⁾ (%)	同 定 ²⁾
20(第2回処理前)	葉	20.5	14.5	5.0	シラフルフェン[I] 2.6%
41(第3回処理前)	藁	34.4	29.2	3.5	残留放射能が少ないため HPLC による分析ができなかった。
60	藁	19.5	26.3 ³⁾	4.7	

数値は、もとの試料中に認められた総放射能に対する割合を示す。

1) : 水相及び有機溶媒相

2) : 有機溶媒相についてはHPLCで分析した。

3) : 分離処理中に試料への混入があったと考えられる異常な値

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。

図 1 . 水稲における想定代謝経路

(資料No. 代-10)

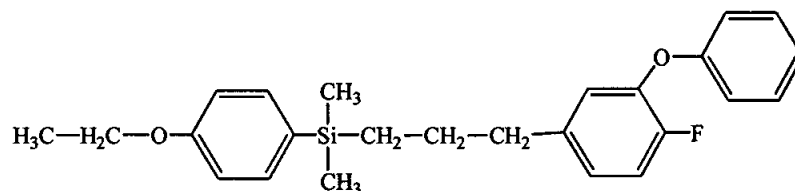
(2) ^{14}C -標識シラフルオフエンを用いた稲体取り込み試験

試験機関:

報告書作成年:

供試標識化合物:

化学構造:



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名: 4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能: MBq/g。Hoe 084498- ^{14}C 10.84mgに製剤の補助成分を加えて、有効成分含有量19.9%、比放射能 MBq/g の乳剤を調製した。

標識化合物の放射化学的純度: %

標識位置の設定理由:

供試植物: 水稻(日本晴れ)、3.5~4.1葉期

試験方法:

土壌の性状:

土性: 埴壤土

粘土: 17.5% (< 0.002mm)

シルト: 41.4% (0.002 - 0.063 mm)

砂: 41.1% (0.063 - 2mm)

pH: 5.9

有機質: 2.70%

栽培: 播種1週間後の稲幼苗を用い、処理土壌の入ったポット(1/5000a)に移植し、温室(昼28℃、夜23℃)に置き、栽培を行った。

処理: 上記乳剤 54.48mgに精製水21.8mLを加えた処理液(20%乳剤 400倍希釈液に相当) 3.6mLを土壌 3900g(乾土 3190g)に加え十分に均質化後、水を加え水田状態(湛水状態3cm)に保った。1週間後に稲の幼苗を移植した。

試料採取: 移植後 106日目(収穫時)に植物及び土壌を採取した。稲体は、稲体上部と根部分け、稲体上部は約2週間乾燥し、稲藁、玄米及び籾殻に分け重量測定後、分析までの間-20℃で保存した。根部は、乾燥後土壌を出来る限り取り除き、更に水洗することにより土壌を除去した。

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

根部及び土壌は、乾燥後重量を測定し、稲体上部同様に保存した。

試料の調製、抽出及び精製；抽出及び精製；

植物体試料は、切断あるいは粉碎後、アセトニトリル／水混合液（4：1 v/v）中ポリトロンで均質化後、グラスフィルター濾過し、アセトニトリル／水抽出液を得た。次に残渣をアセトン中ポリトロン抽出を行い、アセトン抽出液と残渣を得た。抽出残渣に1.25N HCl を加え、90℃以上で4時間抽出操作を行った。終了後グラスフィルター濾過により、抽出液と残渣に分けた。抽出液は、酢酸エチルによる分配操作を行い、酢酸エチル層及び水層を得た。

放射能の測定；各抽出液は、減圧下濃縮後もしくは凍結乾燥後、その一部をLSCで放射能を測定した。また、残渣は試料燃焼装置で燃焼後、LSCで放射能を測定した。

結 果：

放射能分布；

部 位	放射能濃度 ($\mu\text{g}/\text{kg}$, ppb)	処理量に対する 割合 (%)
稲 藁	45.3	0.034
籾 殻	24.8	0.004
玄 米	28.7	0.020
根 部	538.2	0.227
土 壌	488.8	83.003

(試験は5連制。ppb値はサンプル重量に対する

Hoe 084498[I]換算重量； $\mu\text{g}/\text{kg}$)

稲藁に検出された放射能は、放射能濃度で 45.3ppb、処理量に対する割合は 0.034%であった。籾殻に検出された放射能は、放射能濃度で24.8ppb、処理量に対する割合は 0.004%であった。また、玄米に検出された放射能は、放射能濃度で 28.7ppb、処理量に対する割合は 0.020%であった。以上の結果から、処理土壌から稲藁、籾殻及び玄米への放射能の移行は極めて少なかった。

根部に検出された放射能は、乾燥重量における放射能濃度で538.2ppbであり、処理量に対する割合は 0.227%であった。根部中の放射能濃度は、稲藁、玄米及び籾殻と比較して10倍以上であった。

また、土壌における残留放射能は、放射能濃度で488.8ppbであり、処理量に対する割合は83.0%であった。稲体に移行した放射能が 0.3%にも満たないため、残りの約20%は土壌微生物による分解あるいは若干の光分解等を受け、炭酸ガス等の揮散性物質となり消失していったものと考えられる。

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。

稲体放射能の検討：

[放射能濃度 $\mu\text{g}/\text{kg}$, ppb]

化合物/サンプル	稲 藁	玄 米	粃 殻	根 部
アセトリル/水及び アセトン抽出液	8.0	2.9	< 6.2	220.5
Hoe 084498 [I]	N. D.	N. D.	N. D.	90.1
HCl 水溶液抽出液	6.7	20.1	6.2	40.3
酢酸エチル層	2.7	2.9	< 6.2	11.9
水層	4.0	17.2	6.2	28.4
残 渣	30.6	5.7	18.6	277.4
総放射能	45.3	28.7	24.8	538.2

(数値はサンプル重量に対するHoe 084998[I]換算重量)

[処理量に対する割合 %]

化合物/サンプル	稲 藁	玄 米	粃 殻	根 部
アセトリル/水及び アセトン抽出液	0.006	0.002	< 0.001	0.093
Hoe 084498 [I]	N. D.	N. D.	N. D.	0.038
HCl 水溶液抽出液	0.005	0.014	0.001	0.017
酢酸エチル層	0.002	0.002	< 0.001	0.005
水層	0.003	0.012	0.001	0.012
残 渣	0.023	0.004	0.003	0.117
総放射能	0.034	0.020	0.004	0.227

稲藁、玄米及び粃殻において移行した放射能は極性の高い代謝物と非抽出画分であった。根部においては、親化合物シラフルオフエン[I]、代謝物
その他2種の未知代謝物が検出されたが、これらは稲藁、玄米及び粃殻においては全く検出されなかった。

以上の結果、稲体による土壌からのシラフルオフエンの取り込みは、極めて少ないものと考えられる。

(資料No 代-11)

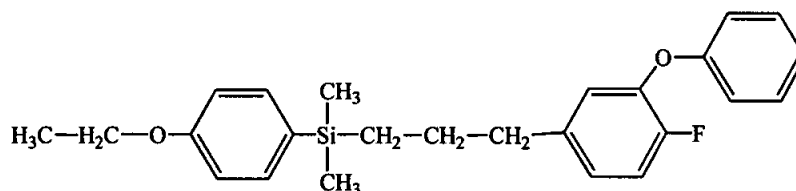
(3) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いたりんごにおける吸収及び代謝試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： MBq/g。純度 %の非標識化合物で約7倍に希釈し、製剤の補助成分を加えて、有効成分含有量 20.35%、比放射能 MBq/g の水和剤を調製した。

標識化合物の放射化学的純度： %

標識位置の設定理由：

供試植物：りんご (Elstar種)、樹齢約4年 1本、
果実の完熟前約30日に、検体を処理した。

試験方法：

栽培：ポットに植えたりんご樹を圃場条件下で栽培した。処理後、りんご樹を屋根付きの金網ケージ内に置き、雨及び動物から保護した。
毎週2回灌水した。施肥は、検体処理前に3回行った。

処理：水和剤を調製し、有効成分140mg/木、水 250mL/木を1回噴霧した。

試料採取：検体処理当日、処理後1日、11日及び32日に果実及び葉を採取した。
処理後11日までの果実試料については丸ごと分析し、処理後32日に採取した果実については、果皮、果肉及び芯に分け、生重量を測定後直ちに分析した。

抽出及び試料の処理：果実はアセトンで洗浄した後、果実全体または果皮、果肉及び芯をホモジナイズした。アセトン洗浄後の果実における残留放射能の割合が低かったため、処理後32日に採取した果実のみを、アセトニトリル/水 (4 : 1 v/v) で抽出した。抽出物ならびに抽出残渣の一部について、それぞれ放射能を測定した。また、抽出物を濾過後濃縮し、抽出物 (アセトン洗浄液、果皮及び果肉) をHPLC及びTLCによって分析した。

処理後 0、1、11及び32日に採取した葉の試料は、ホモジナイズした後、アセトニトリル/水を用いて抽出した。抽出物ならびに抽出残渣の一部について、それぞれ放射能を測定した。また、抽出物を濾過し、濃縮後、HPLCで分析した。

さらに、試料の一部に1N塩酸を加え、エタノールを共沸溶媒として加えた

後、混合物を加熱還流した。また、 β -グルコシダーゼを用いた酵素処理も行った。

放射能の測定；固形試料はホモジナイズした後、風乾して生物試料用オキシダイザーを用いて完全に燃焼させた。生成した $^{14}\text{C}\text{O}_2$ を吸収剤に捕集した。

液体試料は、燃焼パッドに吸収させて固形試料の場合と同様に処理、または、シンチレーションカクテルを加えた後、直接測定した。

結 果： りんご植物体中の放射能推移を表1に示した。

標識検体をりんご樹に処理したところ、処理放射能の約40%が植物体から回収された。その内、90%が葉から、9%が果実の表面から、また1%が果実内から回収された。従って、直接薬剤が付着した果皮から果肉及び芯への残留化合物の移行は、わずかであると考えられた。

放射能の大部分がアセトン洗浄液から回収されたことから、果実内に浸透した供試化合物の濃度は低いものと考えられた。処理直後には果実における総残留放射能の99.7%が洗浄液中に検出されたが、成熟りんごの収穫時（処理後32日）には89.3%まで減少した。従って、果実内に浸透したため洗浄によって除去することができなかった残留放射能は、この試料における総残留放射能の0.3%から10.7%（4.7%が果皮中に、5.3%が果実中に、0.7%が芯中に存在していた）に増加し、果実全体における有効成分濃度は、それぞれ投与当日に採取した試料で1.6mg/kg、投与後1日に2.2mg/kg、投与後11日に1.4mg/kg及び投与後32日に3.2mg/kgであった。

また、投与後32日の残留放射能濃度はそれぞれ果皮で1.4mg/kg、果肉で0.2mg/kg、芯で0.1mg/kgであった。残留放射能濃度の経時的な減少が認められなかった理由は、処理液の散布が均一ではなかったことにより、個々の果実に残留濃度の変動が大きかったためと考えられた。葉における放射能濃度を測定した結果、大部分の残留放射能が葉に含まれていることが示され、濃度は125.6～224.5mg/kgの範囲内であった。

以上の結果、総回収放射能の90%が葉から、9%がアセトン洗浄によって果実表面から回収され、また1%が果実内から検出された。

TLC及びHPLCによる放射性化合物の分析結果を表2に、想定代謝経路を図1に示した。

果実試料から回収し同定された化合物は、親化合物シラフルオフェンのみであった。果皮、果肉及び芯に分けた試料のうち、芯については、放射能濃度がりんごにおける総放射能の0.7%と低かったため分析しなかった。果皮及び果肉中からは共通の単一ピークが認められた。 β -グルコシダーゼを用いた酵素分解処理を行った結果、新しい化合物が生成されなかったことから、この代謝物はグルコース抱合体ではないことが確認された。しかし、酸加水分解によって完全に分解され、分解物は と推

定された。更に、
は
の
によって生じることから、この代謝物は、
もしくは
の糖、硫酸あるいはリン酸配合体のいずれかであると考えられた。この代謝物は遊離体あるいは抱合体となって果実内へ移行すると考えられるが、量的には果実の総放射能に対して果皮で %、果肉で %、葉を含めた総回収放射能に対しては果皮及び果肉でいずれも %と極めて少なかった。

果皮及び果肉中の非抽出放射能は、果実の総残留放射能に対して、それぞれ 1.3%及び 0.2%であったため、以後の分析は行わなかった。
葉から抽出された放射能について、処理後11日までの試料から抽出された放射能は、すべて未変化のシラフルオフエン[I]と同定された。

処理後32日の試料では、総放射能の98.8%が抽出され、この内91.8%は未変化のシラフルオフエンであったが、他に少なくとも 種の未同定代謝物（合計7%、それぞれ3%以下）が認められた。これらの未同定代謝物及び総残留放射能に対して 1.2%を占める非抽出物については、量的にわずかであったため、以後の分析を行わなかった。

以上の結果、りんご果実及び葉における主要な残留化合物は親化合物シラフルオフエンであると考えられた。他の化合物は、最終残留放射能の8%以下であった。

表1. りんご植物体中の放射能推移

処理後の 経過日数	試料	試料の 総重量	32日間に回収された 総放射能に対する 割合 (%) ³⁾	残留放射能濃度 (mg/L またはmg/kg)
0	洗浄液 ¹⁾	50 mL	0.6	7.270
	果実	221 g	< 0.1	0.004
	果実計	221 g	0.6	1.649
	葉	12 g	3.6	171.809
1	洗浄液	50 mL	0.8	9.363
	果実	217 g	< 0.1	0.008
	果実計	217 g	0.8	2.165
	葉	13 g	2.9	125.620
11	洗浄液	50 mL	0.6	7.139
	果実	281.3 g	< 0.1	0.157
	果実計	281.3 g	0.7	1.425
	葉	10.2 g	4.1	224.508
32	洗浄液	50 mL	7.0	79.015
	果皮	153 g	0.4	1.357
	果肉	967 g	0.4	0.242
	芯	270 g	< 0.1	0.116
	果実計	1390 g	7.8	3.182
	葉	290 g ²⁾	79.4	154.701
0-32	洗浄液		9.0	
	果実		1.1	
	葉		90.0	

1) : 果実を丸ごとアセトンで洗浄した後に回収されたアセトンを50mLに濃縮したもの。

2) : りんご樹の葉をすべて採取した。

3) : 総処理放射能の約40%が回収された。

定量限界 : 0.0007 - 0.0105 mg/kg

表 2. 残留放射性化合物の同定及び回収

試料中の総放射能に対する割合及び濃度

日数 ¹⁾	試料		洗浄または抽出された放射能活性						抽出不能な放射能活性 ⁴⁾	
			親化合物		未同定代謝物		計			
			%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg	%	mg/kg
0	果 実	洗浄液	99.7	1.644	—	—	99.7	1.644	—	—
		果実	n. i.	n. i.	n. i.	n. i.	0.3	0.005	n. i.	n. i.
		計	99.7	1.644	—	—	100.0	1.649	—	—
	葉	100.0	171.809	—	—	100.0	171.809	—	—	
1	果 実	洗浄液	99.6	2.156	—	—	99.6	2.156	—	—
		果実	n. i.	n. i.	n. i.	n. i.	0.4	0.009	n. i.	n. i.
		計	99.6	2.156	—	—	100.0	2.165	—	—
	葉	100.0	125.620	—	—	100.0	125.620	—	—	
11	果 実	洗浄液	89.0	1.268	—	—	89.0	1.268	—	—
		果実	n. i.	n. i.	n. i.	n. i.	11.0	0.157	n. i.	n. i.
		計	89.0	1.268	—	—	100.0	1.425	—	—
	葉	100.0	224.508	—	—	100.0	224.508	—	—	
32	果 実	洗浄液	89.3	2.842	—	—	89.3	2.842	—	—
		果皮	0.0	0.000	3.1 ²⁾	0.099	4.7	0.150	1.3	0.041
		果肉	0.0	0.000	4.2 ²⁾	0.133	5.3	0.169	0.2	0.006
		芯	n. i.	n. i.	n. i.	n. i.	0.7	0.022	n. i.	n. i.
		計	89.3	2.842	7.3	0.232	100.0	3.183	1.5	0.047
	葉	91.8	140.379	7.0 ³⁾	12.539	98.8	152.918	1.2	1.856	

n. i. : 分析せず

1) : 処理後の経過日数

2) : 単一の代謝物 (HPLCの保持時間 = 21.60 - 21.63 分)、酸加水分解後と同定された。

3) : 少なくとも4種の化合物で、元の試料に対する放射能活性は各々3%以下である。

4) : 抽出不能な放射能活性については、それ以上の解析は行っていない。

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

図1. りんごにおける想定代謝経路

(資料No. 代-12)

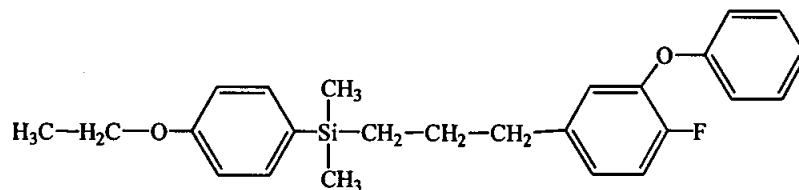
(4) キャベツにおける代謝試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシペンチル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： mCi/g 放射化学的純度： %

供試非標識化合物：

純度： % (以下非標識シラフルオフェン)

標識位置の設定理由：

供試植物：キャベツ

栽培条件：米国ミシシッピ実験圃場において2品種 (*Georgia Blue Stems*及び*Vetes*) のキャベツを栽培し、1988年5月3日(収穫21日前)および11日(収穫13日前)に散布、5月24日に収穫した。

試験方法：

処理溶液の調製：

1回目処理液： ^{14}C 標識シラフルオフェンを10.7mg、非標識シラフルオフェンを44.1mg秤り取り白試料223.5mgに溶解した。溶液の比放射能は dpm/ μg であった。

2回目処理液： ^{14}C 標識シラフルオフェンを12.7mg、非標識シラフルオフェンを44.1mg秤り取り白試料241.5mgに溶解した。溶液の比放射能は dpm/ μg であった。

処理方法及び処理量設定根拠：

第1回目；上記1回目処理溶液を水72mlで希釈し、収穫21日前に散布した。

第2回目；上記2回目処理溶液を水72mlで希釈し、収穫13日前に散布した。

処理量は予想最大投下薬量 (300g有効成分量/ha) とした。

試料採取時期：

- ①第1回目の散布後速やかに処理区から茎葉を採取した。
- ②散布3日後に処理区および対照区から、6日後に処理区から茎葉を採取した。
- ③第2回目の散布前後(第1回目の散布8日後)に処理区および対照区から茎葉を採取した。
- ④散布10、13及び17日後に処理区から、21日後の最終収穫時に、全区から茎葉を採取した。採取試料は葉と茎に分けた。

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。

各試料は凍結保存状態で分析場所へ送付された。

分析方法：

前処理法；各試料は解凍後、調理用ミキサーで摩砕均質化した。

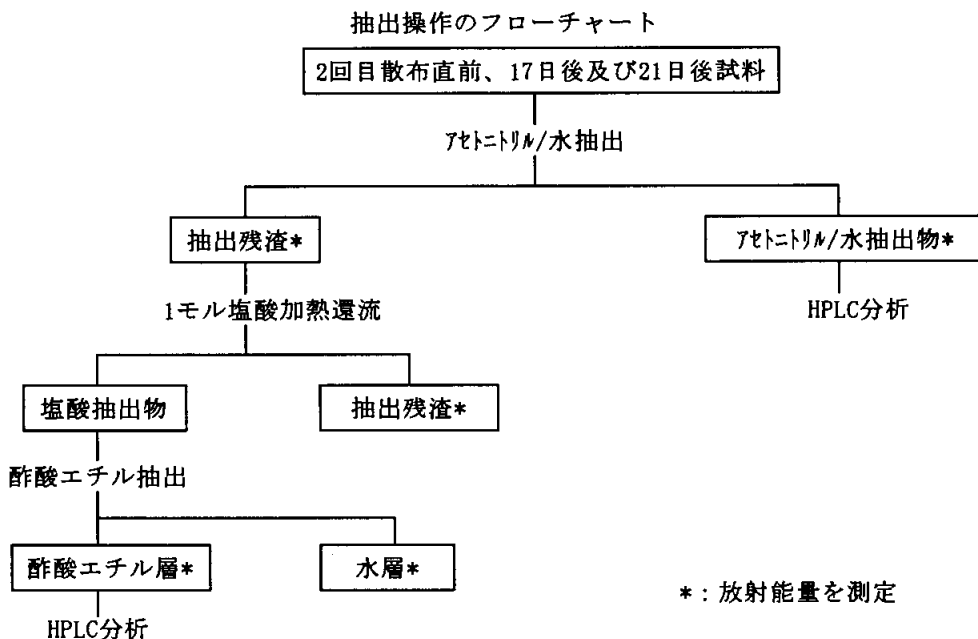
分析操作；

総放射能測定

全ての採取試料について、その一部を燃焼後LSCにより総放射能を測定した。

抽出操作

- ① 2回目散布直前（8日後）、17日後及び21日後（最終収穫）の試料をアセトニトリル/水（8:2、v/v）で抽出し、抽出液と残渣に分けた。抽出液及び抽出残渣の一部を燃焼後、LSCにより放射能を測定した。抽出液は、濃縮後HPLC分析を行った。
- ② 抽出残渣を1モル塩酸で5時間加熱還流を行った。冷却後、懸濁液を濾過し抽出液と残渣に分け、残渣はLSCによる放射能測定に供した。
- ③ 抽出液を酢酸エチルで抽出し、水層及び酢酸エチル層をLSCによる放射能測定に供した。さらに酢酸エチル層は、濃縮後HPLC分析を行った。



機器分析：

総放射能測定

試料をサンプルオキシダイザー（Packard 306 Tricarb-Sample Oxidizer）で燃焼し、生成した¹⁴CO₂を捕集し、捕集液にシンチレーションカクテルを加え液体シンチレーションカウンター（Pharmacia 1219 Rack Beta及びPackard TRI-CARB 4530）で放射能を測定する。抽出液についてはそのままシンチレーションカクテルを加え、液体シンチレーションカウンターで放射能を測定する。

HPLC分析

放射性化合物を同定するため標準品とのクロマトグラフを行った。また、親化合物およびその分解生成物の定量を行った。

結果：

1) 放射能分布

両品種とも全ての試料採取時点において放射能の大部分が葉部に認められた。

無処理区には有意な放射能は検出されなかった。

各組織における残留濃度と分布率を表1に示した。

表1 各組織における残留濃度と分布率

	Georgia Blue Stems				Vates			
	葉		茎		葉		茎	
	濃度 (ppm)	分布率* (%)	濃度 (ppm)	分布率* (%)	濃度 (ppm)	分布率* (%)	濃度 (ppm)	分布率* (%)
1回目散布直後	31.25	89.0	3.88	11.0	19.92	91.4	1.88	8.6
3日後	4.93	73.6	1.77	26.4	29.51	94.3	1.78	5.7
6日後	3.77	90.6	0.39	9.4	1.26	82.4	0.27	17.6
8日後 (2回目散布前)	3.18	91.6	0.29	8.4	0.26	72.2	0.10	27.8
8日後 (2回目散布後)	48.67	91.9	4.29	8.1	20.46	88.9	2.56	11.1
10日後	28.98	95.4	1.41	4.6	21.29	92.6	1.70	7.4
13日後	16.26	94.5	0.95	5.5	6.66	90.6	0.69	9.4
17日後	9.19	92.4	0.75	7.6	7.83	92.9	0.60	7.1
21日後(収穫時)	4.92	92.8	0.38	7.2	4.87	86.6	0.75	13.4

*:申請者の計算による

2) 代謝

①残留放射能の特徴付け

全ての葉部試料においてアセトリル/水抽出で概ね80%以上の回収を得た。最終収穫試料(21日後)については、抽出残渣について引き続き酸加水分解を行った(Georgia Blue Stemsについては土壌非付着葉のみ)。その結果、残渣からの放射能の回収は1~5%程度であり両品種とも最終残渣中の結合性放射能は1%程度であった。両品種における回収放射能について表2に示した。

②代謝物の同定

アセトリル/水抽出液中の放射能は全て未変化体のシラフルオフエン[I]であった。酸加水分解における抽出液中には、
が若干検出されたが、これは加水分解の過程で残留シラフルオフエン[I]が加水分解されたものであると考えられる。

表2-1 葉部中の放射能 (Georgia Blue Stems種)

	8日後 (2回目散布前)		17日後		21日後			
	濃度 (ppm)	%TRR*	濃度 (ppm)	%TRR*	土付着葉		土非付着葉	
					濃度 (ppm)	%TRR*	濃度 (ppm)	%TRR*
アセトリル/水抽出	2.79	87.8	8.61	93.7	7.61	94.9	0.56	75.3
抽出残渣	0.33	10.5	0.44	4.8	0.30	3.8	0.04	5.9
酸加水分解								
酢酸エチル層							0.02	2.8
水層							0.01	1.8
抽出残渣							0.01	1.5
合計	3.12	98.3	9.05	98.5	7.91	98.7	0.60	81.2

*:LSAにおける総放射能を100%とした。

空欄は分析せず。

表2-2 葉部中の放射能 (Vates種)

	8日後 (2回目散布前)		17日後		21日後	
	濃度 (ppm)	%TRR*	濃度 (ppm)	%TRR*	濃度 (ppm)	%TRR*
アセトリル/水抽出	0.21	82.1	4.37	69.5	3.80	78.0
抽出残渣	0.03	11.7	0.33	5.3	0.14	2.9
酸加水分解						
酢酸エチル層					0.06	1.3
水層					0.01	0.3
抽出残渣					0.05	1.0
合計	0.24	93.8	4.70	74.8	3.94	80.9

*:LSAにおける総放射能を100%とした。

空欄は分析せず。

③まとめ

シラフルオフエン[I]は、キャベツの葉部において処理後21日間の間ほとんど分解されず安定であった。抽出液中の放射能は未変化のシラフルオフエン[I]由来であり、代謝分解物は認められなかった。

シラフルオフエン[I]は浸透移行性が無いため、処理された化合物は葉の表層に留まり代謝をほとんど受けず残存したものと考える。

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。

3. 土壌中運命試験

(資料No. 代-13)

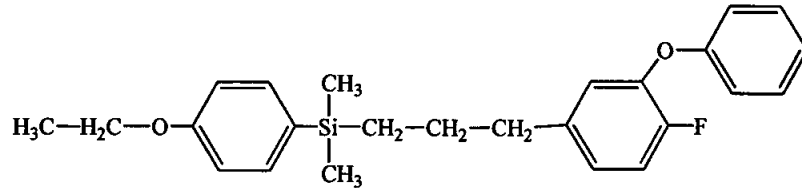
(1) ¹⁴C-標識シラフルオフェンを用いた好氣的条件下の土壌における代謝試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ¹⁴C-標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： MBq/g

放射化学的純度： %

非標識化合物の純度： %

標識位置の設定理由：

供試土壌：

供試土壌	土性	有機物含量	シルト含量 ¹⁾	粘土含量 ²⁾	pH
土壌Ⅰ (ドイツ フランクフルト)	砂壤土	1.8%	37.5%	11.6%	6.1
土壌Ⅱ (ドイツ シュハイヤー)	砂土	1.4	8.9	4.7	5.3
土壌Ⅲ (ドイツ シュハイヤー)	壤質砂土	5.0	9.7	5.7	5.0
土壌Ⅳ (米国 ミシシッピ)	シルト質壤土	1.2	71.9	18.1	5.6

1) : 0.002 - 0.063 mm

2) : 0.002 mm以下

試験方法：

土壌の調製：試験開始前に、土壌を2mmの篩に通した後、蒸留水を添加して最大容水量の40%に調整し、暗所に2週間(20±2℃)静置して再活性化を行った。また、活性化期間終了後、各土壌試料を採取し、さらに各土壌から採取した別の試料に、アセトンに溶解した非標識化合物を処理し、これらの試料について、バイオマスを測定した。

処理方法：活性化期間終了後、検体の実用処理量0.3kg/haに基づき、設定処理量を0.4mg/kgとし、標識化合物として0.595mgに相当する量のアセトン溶液を、ガラス容器に入れた乾土1.5kgに相当する湿った各土壌試料に滴下した。試料の均一性を確認した後、乾土で50gに相当する土壌試料をフラスコに秤取した。アルミホイルで遮光し、暗黒下、20±2℃でインキュベートした。

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。

CO₂及び揮発性分解物の捕集；閉鎖エアレーションシステムにおいて、¹⁴C₂O₂は2-アミノエタノール/2-メトキシエタノール（3：7 v/v）の混合物を含む吸収ユニットに吸収させ、その他の揮発性分解物は、2-メトキシエタノールを含む吸収容器に捕集した。

試料採取；原則として、開放システムでは処理後0、4、8、16、32、48、64、80、96及び128日に採取した。閉鎖システムでは処理後128日に採取した。

放射能の測定；吸収ユニットについては、フラスコに捕集溶液を移した後、メタノールで定容し、¹⁴C₂O₂及び揮発性分解物を測定した。この溶液にシンチレーションカクテルを加えた後、放射能を測定した。

土壌試料は、各試料採取日に、アセトニトリル/水混合液（4：1 v/v）を用いて抽出し、シンチレーションカクテルを添加して抽出物中の放射能を測定した。溶媒抽出後の土壌中に残存している放射能は、乾燥させた土壌試料の一部を、サンプルオキシダイザーで燃焼し、測定した。この装置から放出された¹⁴C₂O₂を吸収剤を用いて捕集し、シンチレーションカクテルと混合して測定した。また、溶媒抽出後の土壌の一部を採り、塩酸を加えて加熱還流し、加水分解した。

上清と土壌残渣を分離し、各試料中の放射能を測定した。さらにヒューミン、腐植酸及びフルボ酸画分中の放射能を測定した。このため、溶媒抽出後の土壌の一部を採り、室温で水酸化ナトリウム溶液に懸濁した。遠心分離後、土壌残渣（ヒューミン画分）及び上清（腐植酸及びフルボ酸画分）中の放射能を測定した。ついで、塩酸を用いて上清液のpH値を1に調整し、この酸性溶液を遠心分離して、上清（フルボ酸画分）及び固形物中（腐植酸画分）の放射能を計算した。

土壌抽出物の分析；分解物のパターンを検討するため、土壌抽出物をHPLCで分析した。

結 果：

放射能の収支；表1に各試料における回収率を処理放射能に対する割合で示した。

これらの平均値から全試料採取時における総回収率は、82.2～113.4%であった。

128日間のインキュベーション期間中、土壌IVからは最も多量の¹⁴C₂O₂が放出され（処理放射能の13.7%）、ついで土壌I（処理放射能の10.4%）及び土壌III（処理放射能の9.4%）からも¹⁴C₂O₂が放出された。

土壌IIにおいては、処理後128日間に3.3%の¹⁴C₂O₂が生成された。

その他の揮発性物質はいずれも処理放射能の0.2%以下であった。

抽出率は試験期間中徐々に減少し、土壌I、II、III及びIVではそれぞれ最終的には処理放射能の29.3%、37.0%、56.0%及び31.3%であった。

一方、非抽出性残留放射能はそれぞれ処理放射能の43.1%、41.7%、22.4%及び40.1%まで増加した。

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。

分解物の生成及び同定；HPLCの分析の結果得られた抽出物における親化合物及び代謝物の濃度を表2に示した。HPLCで分離した場合のピークの保持時間と標準化合物の保持時間を比較し、分解物の同定を試みたが、インキュベーション期間中に生成した代謝物については、いずれも試料中の濃度が0.067mg/kg以下であったため、同定を行うことができなかった。

いずれの抽出物でも、主な残留放射能は親化合物のシラフルオフェン[I]であり、代謝物の濃度が低かったため、CO₂以外の分解物の同定はできず、このため想定代謝経路を描くことはできなかった。各代謝物の検出限界は、0.001mg/kg相当量と推定された。

結合型の残留放射能の生成；4種の土壌について溶媒抽出後の土壌の一部を加水分解した。また別途、非抽出性残留化合物の一部をフルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分に分離した。これらの結果、遊離した放射能について下表に示した。

土壌の種類	非抽出性 残留化合物 合計	酸加水分解後の 放射能分布		水酸化ナトリウム処理後の 画分中における放射能分布		
		上 清	残 渣	フルボ酸画分	腐植酸画分	ヒューミン画分
I	43.1	8.8	33.1	9.1	2.4	28.2
II	41.7	7.1	35.4	13.1	3.3	19.8
III	22.4	5.6	16.9	7.4	1.0	13.6
IV	40.1	5.8	33.9	3.7	1.0	34.0

数値は、各土壌各経過時点における1試料についての測定値である。

加水分解を行った結果、さらに放射能の一部が抽出画分中に遊離し、土壌I、II、III及びIVではそれぞれ8.8%、7.1%、5.6%及び5.8%であった。また、処理放射能のそれぞれ33.1%、35.4%、16.9%及び33.9%が結合残留画分中に残留していた。

非抽出残留放射能をフルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分に分離したところ、非抽出残留放射能の大部分は、高分子のヒューミン画分中で検出され、土壌I、II、III及びIVではそれぞれ処理放射能の28.2%、19.8%、13.6%及び34.0%で、酸性またはアルカリ性のいずれの条件でも溶解しなかった。検出された放射能は、腐植酸の画分中で最小であった。この傾向は、4種の供試土壌で共通して認められた。

反応速度データから、親化合物のDT₅₀及びDT₉₀値を求めた結果を以下に示した。DT₅₀及びDT₉₀値は、土壌の種類による大きな差が認められなかった。

土壌の種類	DT ₅₀ [日]	DT ₉₀ [日]
I	71.5	237.4
II	91.2	303.0
III	147.5	489.9
IV	84.5	280.8

以上の結果、圃場における実用処理量を処理した場合の土壌中における主な残留化合物は、親化合物のシラフルオフェン[I]であると考えられた。また、ゆるやかな分解過程の間に、少量の代謝物が一時的に生成され、最終的にCO₂ならびに非抽出性残留放射能が生成するものと考えられた。

表 1. 各画分における放射能活性の分布 (処理放射能に対する割合 %)

経過 日数	土壌の 種 類	抽出された 放射能活性 (%)	抽出不能な 放射能活性 (%)	CO ₂ (%)	揮発性 画分 (%)	回収率 (%)
1	I	99.4	0.6	N. D.	N. D.	100.0
	II	99.4	0.6	N. D.	N. D.	100.0
	III	99.7	0.3	N. D.	N. D.	100.0
	IV	91.5	8.5	N. D.	N. D.	100.0
4	I	91.4	3.5	0.2	<0.1	95.1
	II	95.6	2.0	<0.1	<0.1	97.5
	III	100.4	2.1	0.3	<0.1	102.7
	IV	87.1	5.3	0.3	<0.1	92.6
8	I	84.4	9.2	0.8	<0.1	94.3
	II	97.1	2.5	0.1	<0.1	99.8
	III	92.4	2.8	0.5	<0.1	95.7
	IV	88.6	10.3	0.9	<0.1	99.7
16	I	74.5	18.0	2.2	<0.1	94.7
	II	90.3	9.1	0.3	<0.1	99.7
	III	91.1	5.3	1.2	<0.1	97.6
	IV	85.2	14.8	2.3	<0.1	102.2
32	I	54.2	25.1	4.1	<0.1	83.3
	II	79.5	15.4	0.7	<0.1	95.6
	III	83.5	10.6	2.3	<0.1	96.3
	IV	72.3	24.6	4.1	<0.1	101.0
49	I	55.1	29.6	6.2	<0.1	90.9
	II	68.9	25.0	1.2	<0.1	95.0
	III	78.4	13.7	3.0	0.2	95.4
	IV	52.8	28.9	5.9	<0.1	87.6
64	I	51.1	32.3	7.4	<0.1	90.8
	II	59.9	30.4	1.7	N. D.	92.1
	III	70.0	16.9	4.6	0.2	91.8
	IV	44.1	31.0	8.2	<0.1	83.3
80	I	35.9	38.8	8.9	<0.1	83.6
	II	49.7	38.9	2.3	0.1	91.0
	III	65.4	19.1	6.0	0.2	90.7
	IV	38.7	37.7	10.1	<0.1	86.5
98	I	34.7	41.2	9.4	<0.1	85.2
	II	43.5	39.5	3.0	0.1	86.1
	III	62.7	21.4	7.1	0.2	91.4
	IV	50.8	38.3	10.9	<0.1	99.9
128	I	29.3	43.1	10.4	<0.1	82.7
	II	37.0	41.7	3.3	0.1	82.2
	III	56.0	22.4	9.4	0.2	87.9
	IV	31.3	40.1	13.7	<0.1	85.1
128*	I	39.1	36.0	10.4	<0.1	85.5
	II	73.8	17.4	3.3	0.1	94.6
	III	73.0	14.7	9.4	0.2	97.2
	IV	58.8	40.9	13.7	<0.1	113.4

N. D. : 測定せず。

* : 閉鎖系

数値は、各土壌各経過時点における2以上の試料について測定した平均値である。

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

表 2. 土壌試料抽出物から分離した親化合物（シラフルオフエン〔I〕）
及び各代謝物の濃度（mg/土壌kg）

経過 日数	土壌の 種 類	シラフルオフエン (約57分) ¹⁾ (mg/kg)	代謝物-1 (約42分) ¹⁾ (mg/kg)	代謝物-2 (約49分) ¹⁾ (mg/kg)	代謝物-3 (約52分) ¹⁾ (mg/kg)
1	I	0.389			
	II	0.391			
	III	0.408			
	IV	0.289			
4	I	0.363			
	II	0.376			
	III	0.411			
	IV	0.296			
8	I	0.315			
	II	0.360			
	III	0.378			
	IV	0.301			
16	I	0.283			
	II	0.288			
	III	0.372			
	IV	0.290			
32	I	0.207			
	II	0.261			
	III	0.341			
	IV	0.246			
49	I	0.220			
	II	0.253			
	III	0.321			
	IV	0.180			
64	I	0.190			
	II	0.225			
	III	0.286			
	IV	0.150			
80	I	0.143			
	II	0.195			
	III	0.267			
	IV	0.132			
98	I	0.135			
	II	0.171			
	III	0.256			
	IV	0.173			
128	I	0.109			
	II	0.146			
	III	0.229			
	IV	0.107			
128 ²⁾	I	0.138			
	II	0.286			
	III	0.298			
	IV	0.200			

1) : HPLCにおける保持時間、 2) : 閉鎖系

数値は、各土壌各経過時点における2以上の試料について測定した平均値である。

(資料No. 代-14)

(2) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いた好氣的湛水条件下における土壌代謝試験

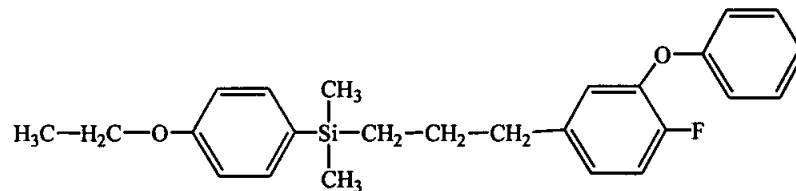
試験機関：

報告書作成年：

検体を湛水環境中全体に分散させた場合の状況下について、シミュレーションし、水及び沈泥中で好氣的条件下に保った場合の影響を検討するため、検体の代謝分解速度及びその主要分解物を測定した。

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

比放射能： MBq/g

放射化学的純度： %

標識位置の設定理由：

供試水及び土壌：

水/沈泥系	I (ドイツ フランクフルト)	II (ドイツ フランクフルト)
採取地	水溜まり	道路の側溝
馴化期間	4 日	5 日
水のpH (処理後 0日)	7.44	7.88
土性	シルト質壤土	砂土
砂 (50-2000 μm)	17.2 %	91.7 %
シルト (2-50 μm)	62.8 %	6.1 %
粘土 (2 μm 以下)	20.0 %	2.2 %
有機物	1.86%	2.29%
pH	6.8	7.3

試験方法： 水面1ha当たり検体124gに相当する量として、水/沈泥系1kg当たり0.5mgを水面に処理し、 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ でインキュベートした。処理直後、ならびに処理後 3、7、14、30、60、92、120、182及び241日目に試料を採取し、各試料は分析前に、水と沈泥に分離した。これらの試料について、放射能の測定、放射性残留化合物の同定及び半減期の推定を行った。

処理方法： 検体をアセトンに溶解し、アセトン/水混合液 (4 : 1 v/v) で希釈して標識検体を 99.37 μg 含む溶液を調製した水/沈泥試料に滴下した。

放射能の測定；沈泥試料中の水を分離し、沈泥についてはアセトニトリル／水（4：1 v/v）からなる混合溶媒を用いて抽出した。抽出液及び水にシンチレーションカクテルを加えて、抽出物中の放射能を測定した。溶媒抽出後の土壌中に残存している放射能は、乾燥させた土壌試料の一部をサンプルオキシダイザーで燃焼させて発生した $^{14}\text{C}\text{O}_2$ を吸収剤で捕集し、シンチレーションカクテルを加えて測定した。

また、溶媒抽出後の土壌の一部を採り、塩酸を添加して加熱還流し、加水分解した。上清と残渣を分離し、各試料中の放射能を測定した後、上清はさらにジエチルエーテルで抽出し、両相の放射能について測定した。

さらに、ヒューミン、腐植酸及びフルボ酸画分中の放射能を測定した。このため、溶媒抽出後の土壌の一部を採り、水酸化ナトリウム溶液に懸濁し、遠心分離後、固形物（ヒューミン画分）及び上清（腐植酸及びフルボ酸画分）中の放射能を測定した。ついで、上清液に塩酸を添加しpHを調整後、この酸性溶液を遠心分離し、上清（フルボ酸画分）の放射能を測定した。固形物（腐植酸画分）は水酸化ナトリウム溶液に溶解した後、放射能を測定した。

閉鎖エアレーションシステムにおける揮発性分解物の測定については、アルミホイルで遮光したフラスコを閉鎖エアレーションシステムに取り付け、フラスコ中の水を静かに攪拌し、装置全体に空気を通して $^{14}\text{C}\text{O}_2$ を追い出し、エタノールアミン／メトキシエタノール（3：7 v/v）の混合液を含む吸収ユニットに吸収させた。その他の揮発性分解物は、メトキシエタノールを含む吸収器に捕集した。

放射能残留化合物の同定；抽出物についてHPLCを用いて分析し、非抽出性残留化合物の加水分解後に得られた抽出物については、TLCを用いて分析した。

結 果：

放射能の収支；表1に2種の水／沈泥系について、各試料採取時の各画分における総放射能を、処理放射能に対する割合で示した。各試料採取時の総回収率は、73.9～107.9%（平均90.9%）の範囲内であった。241日間のインキュベーション期間中、水／沈泥系（I水溜まり）からは多量の $^{14}\text{C}\text{O}_2$ が放出された（2回の試験で、それぞれ処理放射能の23.8%及び26.2%）。他の水／沈泥系（II道路の側溝）においても、この期間中ほぼ同量の $^{14}\text{C}\text{O}_2$ が生成した（それぞれ処理放射能の21.4%及び23.9%）。その他の揮発性物質は、いずれも処理放射能の0.04%以下であった。抽出率は、試験期間中徐々に減少した。その結果、沈泥の非抽出性残留放射能は、閉鎖システムにおいて処理放射能の最大53.8%まで増加した。

分解物の生成及び同定；水相及び沈泥抽出物について、HPLCで分析した親化合物及び各代謝の放射能分布を表2に示した。インキュベーション期間中に、水／沈泥系で生成した代謝物については、いずれも濃度が0.0353mg/kg（処理放射能の7.1%）以下であったため同定を行うことができなかった。インキュベーション期間中に分解物の蓄積は認められず、親化合物と比較して急速に分解した。

いずれの抽出物についても、主な残留放射能は親化合物のシラフルオフェンであり、代謝物の濃度が低かったため CO_2 以外の分解物の同定はできず、このため分解経路図を描くことはできなかった。

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。

結合型の残留放射能の生成；溶媒抽出後の土壌の一部を加水分解し、さらにこの一部をフルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分に分離した。この結果遊離した放射能について下表に示す。

試料	経過 日数	反復	酸加水分解による分画			フルボ酸 分画	腐植酸 分画	ヒューミン
			有機相	水相	残渣			
I	60	1	3.1	2.4	17.2	3.4	2.8	14.8
		2	3.6	2.5	20.5	3.8	3.3	16.5
	182	1	4.7	3.7	28.5	6.4	4.3	24.5
		2	4.8	3.9	27.5	6.0	4.5	23.4
II	92	1	5.5	4.4	18.9	7.6		26.2
		2	4.3	3.3	15.9	6.4		20.6
	241	1	6.3	5.3	25.7	8.5		32.2
		2	6.1	4.3	23.7	8.3		28.1

処理後60及び182日目（I）ならびに92及び241日目（II）の非抽出性残留化合物の加水分解を行った結果、さらに放射能の一部が抽出画分中に遊離した。これらの放射能の約半量は、ジエチルエーテルにより抽出された。

抽出後の土壌中には、処理放射能の15.9～28.5%が残留していた。

ジエチルエーテル相をHPLC及びTLCで分析したが、特定の化合物は検出できなかった。

非抽出残留放射能をフルボ酸、腐植酸及びヒューミン画分に分離したところ、非抽出残留放射能の大部分（21.9～36.0%）は、高分子のヒューミン画分中で検出された（処理放射能の14.8～32.2%）が、酸性またはアルカリ性のいずれの条件でも溶離しなかった。検出された放射能は、腐植酸画分中で最も少なかった。この傾向は、供試した水／沈泥系で共通して認められた。

半減期の推定；反応速度のデータから、水／沈泥系ならびに水及び沈泥中の供試化合物のDT50（半減期）及びDT90値を求めた結果を表4に示した。

水／沈泥系	水		沈泥		水／沈泥	
	DT50	DT90	DT50	DT90	DT50	DT90
採取地 I	14.4	47.7	120.7	401.0	110.7	367.8
採取地 II	1.4	4.5	100.1	332.6	84.4	280.4

以上の結果、供試した水／沈泥系中における主な残留化合物は、親化合物のシラフルオフェン [I]であることが明らかとなった。シラフルオフェン [I]は、急速に沈泥に吸収された。水面処理後7日目の水相中の残留放射能は、処理放射能の4%以下であった。分解過程で、ごく少量の代謝物が一時的に生成し、最終的にCO₂ならびに非抽出性残留放射能が生成されるものと考えられた。

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 1. 水/沈泥系の各画分における放射能の分布 (処理放射能に対する割合%)

試料	経過 日数	水相		アセトリル相		抽出物合計		非抽出沈泥		揮発性物質		¹⁴ C0 ₂	
		1**	2**	1**	2**	1**	2**	1**	2**	1**	2**	1**	2**
I	0	16.6	11.3	74.0	81.1	90.6	92.4	0.2	0.2	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
	3	17.1	17.2	56.3	59.8	73.4	77.0	0.5	0.6	0.0	0.0	0.0	0.1
	7	1.0	0.7	99.0	99.1	100.0	99.8	0.8	0.9	0.0	0.0	0.0	0.1
	14	1.3	1.0	73.5	85.1	74.8	86.1	2.6	2.9	0.0	0.0	0.3	0.6
	30	2.6	1.4	76.4	74.1	79.0	75.6	12.6	15.5	0.0	0.0	1.4	3.3
	60	1.0	0.8	60.4	54.5	61.3	55.2	20.2	21.4	0.0	0.0	5.2	8.1
	92	0.8	0.6	49.3	47.1	50.1	47.7	19.3	27.4	0.0	0.0	8.9	13.0
	120	0.7	0.4	42.6	39.7	43.2	40.1	27.0	30.0	0.0	0.0	11.4	16.2
	182	0.3	0.2	28.4	29.1	28.7	29.3	39.0	35.8	0.0	0.0	17.9	21.4
	241	0.3	0.3	25.0	21.6	25.3	21.9	35.8	36.0	0.0	0.0	23.8	26.2
241*	0.3	0.4	24.2	19.2	24.5	19.5	36.0	35.9	0.0	0.0	23.8	26.2	
II	0	48.1	53.5	38.4	33.0	86.6	86.5	0.1	0.1	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
	3	15.7	18.1	80.0	75.8	95.7	93.9	1.0	1.1	0.0	0.0	0.0	0.0
	7	0.9	1.4	03.4	98.1	104.3	99.6	3.6	3.2	0.0	0.0	0.0	0.0
	14	1.7	1.7	81.8	84.9	83.5	86.6	8.4	8.4	0.0	0.0	0.6	0.7
	30	2.5	2.8	75.6	75.1	78.1	77.8	21.7	18.7	0.0	0.0	2.8	2.8
	60	3.2	2.7	56.0	55.3	59.2	58.0	34.9	34.5	0.0	0.0	8.5	9.5
	92	2.6	2.6	36.7	43.3	39.3	45.9	46.0	38.6	0.0	0.0	11.5	14.2
	120	2.3	2.5	27.8	29.5	30.2	32.1	49.2	43.3	0.0	0.0	12.8	17.4
	182	2.0	2.3	27.0	30.7	29.0	33.0	43.6	41.1	0.0	0.0	18.3	21.0
	241	2.3	2.2	15.1	17.8	17.4	19.9	52.2	48.0	0.0	0.0	21.4	23.9
241*	3.3	2.9	7.8	16.0	11.0	19.0	53.8	47.2	0.0	0.0	21.4	23.9	

N. D. : 測定せず

* : 閉鎖系

** : 第1回試験あるいは第2回試験

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

表 2. 水/沈泥系における親化合物及び代謝物の放射能分布 (処理放射能に対する割合%)

試料	経過 日数	代 謝 物																		親化合物	
		1		2		3		4		5		6		7		8		9		1*	2*
		1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*	1*	2*				
I	0																			90.6	92.4
	3																			73.4	77.0
	7																			100.0	99.7
	14																			73.3	85.1
	30																			75.7	70.1
	60																			57.6	50.7
	92																			43.9	40.8
	120																			37.5	37.4
	182																			25.7	24.0
	241																			25.0	20.2
II	0																			86.5	86.5
	3																			95.7	93.9
	7																			102.7	98.8
	14																			77.0	82.1
	30																			68.5	68.2
	60																			47.6	49.9
	92																			32.1	38.3
	120																			27.8	26.0
	182																			27.0	24.9
	241																			11.6	12.8

* : 第 1 回試験あるいは第 2 回試験

空欄 : 検出せず

(資料No. 代-15)

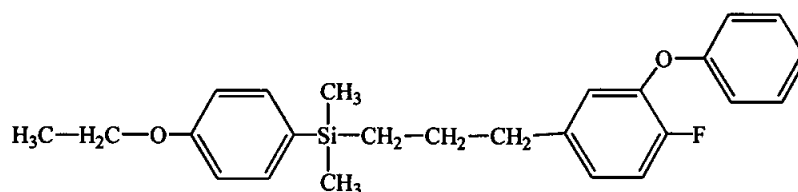
(3) ^{14}C -標識シラフルオフェンを用いた嫌氣的条件下の土壌代謝試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシリレン

比放射能： MBq/g

放射化学的純度： %

標識位置の設定理由：

供試土壌：壤土（ドイツ フランクフルト）

砂 (0.050 - 2 mm)	56.8%
シルト (0.002 - 0.063 mm)	37.5%
粘土 (0.002 mm以下)	11.6%
pH	6.1
有機物	1.8%

試験方法：300 g/haに相当する量の検体 0.4 mg/kg (土壌) を供試土壌に処理した。最初の30日間は好氣的条件下でインキュベーションし、次に湛水、窒素処理して嫌氣的条件に変更し、嫌氣的条件が整った時点 (湛水後18日) 以後95日間この状態を継続した。試験期間中の試験温度は $20 \pm 2^\circ\text{C}$ とした。

土壌調製：供試土壌に蒸留水を加えて最大容水量の40%に調整し、暗所に2週間静置後、フラスコ内で検体を処理した。

インキュベーションシステム；好氣的条件下の期間中は、アルミホイルで遮光したフラスコを閉鎖エアレーションシステムに取り付け、装置全体に空気を通して $^{14}\text{CO}_2$ をおいだし、2-アミノエタノール/2-メトキシエタノール (3:7 v/v) の混合物を含む吸収ユニットに吸収させ、その他の揮発性分解物は、2-メトキシエタノールを含む吸収容器に捕集した。

30日間好氣的条件下でインキュベーションした後、土壌試料にペプトンを含む蒸留水を添加して湛水状態とし、好氣的条件から嫌氣的条件に変更した。ついで、窒素ガスで空気を追い出し、容器を密封し、再びフラスコを取り付けた。24時間毎に酸化還元電位ならびに酸素濃度を測定し、それらが十分に低くなった時点で、嫌氣的条件が整ったと推定した (処理後48日目 = 嫌氣的条件設定0日目)。

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。

試料の採取及び分析；以下の時期に土壌試料を採取し、CO₂捕集溶液、捕集容器、土壌抽出物、抽出残渣及び水層について放射能を測定し、またHPLCを用いて土壌抽出物中における放射性残留化合物の同定を行った。

処理後	0日目	30日目	48日目	78日目	108日目	143日目
好氣的条件	0日目	30日目				
嫌氣的条件			0日目	30日目	60日目	95日目

放射能の測定；¹⁴C₂及び揮発性分解物については、捕集溶液をフラスコに移した後、メタノールで定容とし、この溶液にシンチレーションカクテルを加えて放射能を測定した。

土壌試料は、各試料採取日に、アセトニトリル/水（4：1，v/v）からなる混合溶媒を用いて抽出した後、シンチレーションカクテルを加えて抽出物中の放射能を測定した。

溶媒抽出後の土壌中に残存している放射能は、サンプルオキシダイザーを用いて乾燥させた土壌試料を燃焼し、発生した¹⁴C₂を吸収剤を用いて捕集し、シンチレーションカクテルを加え測定した。

結 果：

放射能の分布；

経過日数		水層	抽出物	揮発性物質	CO ₂	非抽出残渣	回収率
処理後	条件	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]
0日	好氣的条件 0日	—	95.8	—	—	0.4	96.2
30日	好氣的条件30日	—	83.0	0.0	1.7	10.3	95.0
48日	嫌氣的条件 0日	3.2	76.5	0.0	1.9	7.5	89.2
78日	嫌氣的条件30日	2.3	81.0	0.0	2.3	13.3	98.8
108日	嫌氣的条件60日	3.5	77.1	0.0	2.7	9.1	92.3
143日	嫌氣的条件95日	0.5	81.3	0.0	3.1	9.0	93.8

全143日間のインキュベーション期間中、土壌から処理放射能の 3.1%が¹⁴C₂として放出された。嫌氣的条件下の期間中も、少量の¹⁴C₂が生成された。その他の揮発性物質は、いずれも処理放射能の 0.1%以下であった。好氣的条件下の期間中、抽出率は減少し、嫌氣的条件に設定後は、76.4~83.0%となった。非抽出性残留放射能は、好氣的条件下の期間中増加し、嫌氣的条件下の試験期間中には、処理放射能の 7.5~13.3%となった。

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。

分解物の生成及び同定；

経過日数		親化合物シラフルオフエン[I]の量		
処理後	条件	分離された総化合物中の割合 [%]	処理放射能に対する割合 [%]	土壌中の濃度 [mg/kg]
0日	好氣的条件 0日	100	95.8	0.386
30日	好氣的条件30日	100	83.0	0.334
48日	嫌氣的条件 0日	100	76.4	0.308
78日	嫌氣的条件30日	100	81.0	0.326
108日	嫌氣的条件60日	100	77.1	0.310
143日	嫌氣的条件95日	100	81.3	0.327

インキュベーション期間中、特定の分解物は認められなかった。

HPLCで分離した場合のピークの保持時間と標準化合物の保持時間を比較し、分解物の同定を行ったところ、分解物が全く認められなかった。

非抽出性残留放射能は、0.030～0.053mg/kg（処理放射能の7.5～13.3%）であった。これらの値が小さかったため、それ以上の分析は行わなかった。

これらの結果、嫌氣的条件下でインキュベートした場合の土壌中における主要な残留化合物は供試化合物の Hoe 084498 [I] であり、最終的にCO₂ならびに非抽出性残留放射能が生成される分解過程の間に、代謝物の一時的な生成は認められなかった。

4. 水中運命試験

(資料No. 環-1)

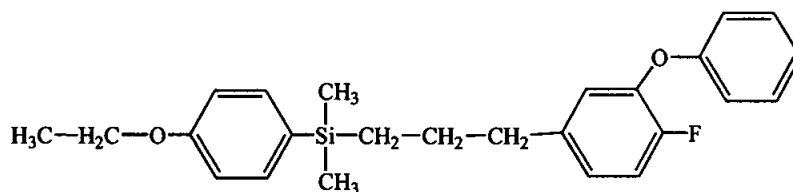
(1) シラフルオフエンの加水分解試験

試験機関：ヘキストAG (ドイツ連邦共和国)

報告書作成年：1993年 [GLP対応]

供試標識化合物：

化学構造：



化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシペンチル)ジメチルシリル]エーテル

試験溶液：pH5 緩衝液 (クエン酸ナトリウム/水酸化ナトリウム)

pH7 緩衝液 (リン酸カリウム/水酸化ナトリウム)

pH9 緩衝液 (ホウ酸/塩化カリウム/水酸化ナトリウム)

試験方法：各緩衝液を滅菌し、シラフルオフエンのアセトニトリル溶液を添加し、暗条件下で $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の水槽で試料採取時までインキュベーションした。

HPLCにより、親化合物及び推定分解物を測定した。

結果：

放射能収支；いずれの緩衝液中においても、経時的に物質収支にバラツキが認められた。

シラフルオフエンは非常に脂溶性が高く、またガラスへの吸着も強いことから、放射能のロスはそのほとんどがガラス容器等への吸着が原因していると考えられる。

各緩衝液における物質収支を表1に示した。

分解； いずれの緩衝液中においてもシラフルオフエン[I]は安定であり、同定された放射能の大部分を占めた。分解物の生成は極わずかであり、試験期間中散発的に認められたのみであった。

分解物としては

及びその

が同定された。

各分解物濃度の経時変化を表1に示した。

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。

表 1 各緩衝液における分解物濃度及び物質収支

pH	処理後 時間 (h)	濃度 (mg/L)			合計 (物質収支%)
		シラフルオフェン [I]			
5	0	0.110			100.0
	93	0.089			103.2
	165	0.095			86.4
	261	0.095			98.2
	333	0.094			85.5
	429	0.100			91.1
	525	0.097			91.0
	597	0.102			92.5
	717	0.101			91.8
7	0	0.110			100.0
	93	0.095			86.1
	165	0.098			88.6
	261	0.093			85.8
	333	0.086			78.2
	429	0.091			87.0
	525	0.101			92.0
	597	0.097			92.6
	717	0.081			73.9
9	0	0.110			100.0
	93	0.095			86.4
	165	0.094			89.5
	261	0.088			84.3
	333	0.091			82.7
	429	0.083			76.7
	525	0.089			80.7
	597	0.094			85.7
	717	0.100			91.9

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。

半減期； いずれの緩衝液においても明確な減衰が認められず、回帰直線の相関係数が極めて低いため、信頼性のある半減期は求められなかった。
水溶解度が極めて低いことから、推定半減期はいずれのpHにおいても365日を越えるものと考えられる。

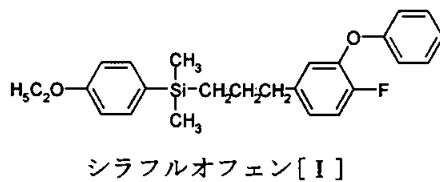
pH	温度 [°C]	推定半減期 [日]	r ²
5	25	>365	0.01520
7	25	>365	0.33014
9	25	>365	0.09641

以上の結果から、pH5～9(25℃)において、シラフルオフェン[I]の加水分解は極わずかであり、緩衝液中で非常に安定であった。

分解物としては 及びその が極
微量、散発的に認められたのみであった。

シラフルオフェンの水中における分解経路を図1に示した。

図1 シラフルオフェンの水中における分解経路



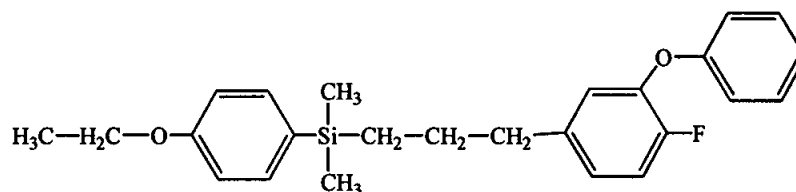
(2) ^{14}C -標識シラフルオフェンの水中における光分解試験

試験機関：

報告書作成年：

供試標識化合物：

化学構造：



(* : ^{14}C -標識位置)

化学名：4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシペンチル)ジメチルシレン]

試験方法： ^{14}C -標識シラフルオフェンを天然地表水 (pH8.7) に2.538mg/L、及び蒸留水 (pH6.7) に2.316mg/Lの濃度で溶解し、光分解容器に入れ、自然太陽光に近い特性を有するキセノンランプ (290-800 nm、310W/m²) で照射した。試験は滅菌下で行い、試験温度は25±1℃であった。

試験期間中、親化合物の減衰ならびに $^{14}\text{CO}_2$ 及び揮発性物質の生成量を測定した。並行して暗所対照を設け、同様に親化合物の減衰ならびに $^{14}\text{CO}_2$ 及び揮発性物質の生成量を測定した。

結果：結果の概要を下表に示す。

		167時間後の処理放射能に対する割合 (%)		
		総回収率	$^{14}\text{CO}_2$	その他の揮発性物質
光照射*	地表水	94.5-100	2.2	3.7
	蒸留水	96.5-108.5	1.35	1.9
暗所対照	地表水	91-100	0.04	1.2
	蒸留水	98-109	0.01	0.3

* 2系列の平均

いずれの系でも総回収率はきわめて高く、処理放射能の91%以上であった。

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。

光照射試料では $^{14}\text{CO}_2$ 及びその他の揮発性物質の生成量が、暗所対照に比較してやや高い傾向が認められたが、いずれもわずかであった。

本試験から求めたシラフルオフエンの半減期及び人工光と自然太陽光の相対照度から算出した太陽光下の推定半減期を次表に示す。

	推 定 半 減 期		
	暗所対照 (日)	照 射 区	
		人工光 (時間)	太陽光換算 (日) ¹⁾
地表水	137	341-583	44.5-76.2
蒸留水	- ²⁾	391-857	51.1- 112

1) 北緯35°、春期太陽光換算。申請者の計算による。

2) 測定期間中に、放射能活性の低下は認められなかったが、個々の測定値がばらついていたため、計算上は -230日となった。

以上の結果から、シラフルオフエンの光分解は顕著ではなく、自然環境下では本化合物の消失は主として沈澱物への吸着ならびに土壌中での緩慢な分解によるものと考えられる。

5. 土壌吸着性試験

(資料No. 環-3)

(1) シラフルオフエンの土壌吸着性試験 (スクリーニング試験)

試験機関:

報告書作成年:

供試化合物: シラフルオフエン

化学名: 4-エトキシフェニル[3-(4-フルオロ-3-フェノキシフェニル)プロピル]ジメチルシラン

供試土壌: 水田土壌・・・軽埴土

畑地土壌・・・シルト質埴壤土、軽埴土

土壌番号	水田土壌		畑地土壌	
	I	II	III	IV
土性	軽埴土	軽埴土	シルト質 埴壤土	軽埴土
砂 (%)	39.8	42.2	26.2	47.6
シルト (%)	24.0	31.9	50.9	27.2
粘土 (%)	36.2	25.9	22.9	25.2
有機物	2.83	1.21	3.61	1.15
pH (H ₂ O)	6.4	7.5	7.7	7.2

試験方法: 共栓付遠心管に各試験土壌40gをはかりとり、蒸留水40mLを加えて密栓し、室温で24時間放置した。

これに3ppmに調製した試験物質の調製溶液 160mLを加えて密栓し、25±1℃の恒温振とう水槽で16時間振とうした。終了後、遠心管を2000rpmで20分間遠心分離した後、水相 160mLを分取し試験物質の分析に供し、水相中の試験物質濃度を求めた。試験は、各試験土壌につき2回繰り返し行った。

分取した水相中の試験物質濃度と遠心管に残存した水分量から、全水相中に存在する試験物質量を算出し、初期添加量からこれを減じて土壌への吸着量を算出した。

同時に、空試験として各土壌に0.01M塩化カルシウム溶液 160mLを加えたものと及び土壌なしで調製溶液 160mLを加えたものを同様に操作した。

分析方法:

水相: 振とう後の上澄液 160mLを分取し、ヘキサンに転溶した。無水硫酸ナトリウムにて脱水し、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1mLまで濃縮し、窒素ガス気流中で乾固した。

残留物をトルエンに溶解し1mL定容とし、この2μLをガスクロマトグラフィー質量分析計にてシラフルオフエン重量を算出した。

固相；振とう後の固相をアセトンで抽出し、約20mLまで濃縮した。濃縮液をヘキサンに転溶し、無水硫酸ナトリウムにて脱水後、減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1mLまで濃縮し、窒素ガス気流中で乾固した。

残留物をヘキサン5mLで溶かし、フロリジルミニ充てんカラムに移し、ヘキサン-エチルエーテル混液（95：5 v/v）10mLを流下させ、シラフルオフエンを溶出させた。溶出液を減圧濃縮器を用いて40℃以下で約1mLまで濃縮し、窒素ガス気流中で乾固した。

残留物をトルエンに溶解し1mL定容とし、この2μLをガスクロマトグラフィー質量分析計にてシラフルオフエン重量を算出した。

結果：調製溶液は、水相と同様の分析操作を行い濃度の確認を行った結果、0.000794 μg/mLであった。

吸着試験の結果、水相中の試験物質濃度は全て検出限界0.000125 μg/mL未満であった。

土壌番号 土性	初期 添加量 μg	水分を 含む 固相重量 g	固相中 水分量 mL	分取 上澄み 液量 mL	水相濃度 μg/mL	固相 吸着量* μg	固相へ の吸着 割合 %
I 軽埴土	0.127	83.47	43.47	160	<0.000125	>0.102	>80.3
	0.127	75.22	35.22	160	<0.000125	>0.102	>80.3
II 軽埴土	0.127	88.63	48.63	160	<0.000125	>0.102	>80.3
	0.127	81.85	41.85	160	<0.000125	>0.102	>80.3
III シルト質 埴壤土	0.127	85.60	45.60	160	<0.000125	>0.102	>80.3
	0.127	83.58	43.58	160	<0.000125	>0.102	>80.3
IV 軽埴土	0.127	83.93	43.93	160	<0.000125	>0.102	>80.3
	0.127	78.35	38.35	160	<0.000125	>0.102	>80.3

*：水相濃度と初期添加量からの計算値

固相吸着量 = 初期添加量 - 水相濃度 × 全水相の液量 **

**：蒸留水 40mL + 調製溶液 160mL

6. 生物濃縮性に関する試験

¹⁴C-標識シラフルオフェンを用いたブルーギルにおける生物濃縮、排泄及び代謝試験

(資料 No. 環-4)

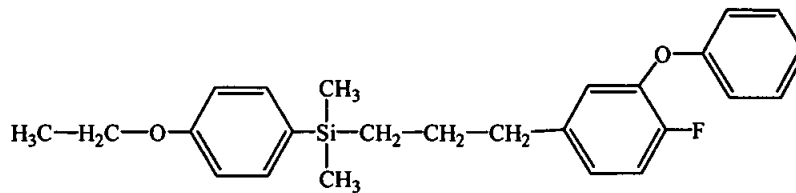
試験機関：ヘキストAG

[GLP対応]

報告書作成年：1988年

被験物質：

化学構造：



*：標識位置

化学名；4-ethoxyphenyl[3-(4-fluoro-3-phenoxyphenyl)propyl]dimethylsilane

比放射能； MBq/g mCi/g dpm/μg

放射化学的純度； %

供試生物：ブルーギル (*Lepomis macrochirus*)

約13月齢、平均体重 3.4 g、平均体長 4.8 cm(220匹の平均)

試験期間：1988年4月6日 - 6月21日(生物学的試験)、8月22日(分析終了)

試験方法：検体の生物濃縮度、それに続く排泄浄化及び代謝を検討するため、70日間流水式で試験を実施した。

ステンレススチール製水槽(73×30×20cm)を用意し、酸素が飽和状態になるまで通気した水を毎分300ml試験水槽へ流した。また、検体を10.02 μg/ml含むアセトン溶液を、自動注入ポンプで、間欠的に処理用水槽に注入した。流水中の検体濃度は0.001mg/Lに設定した。

処理開始日に、約38Lの水を入れた水槽に、対照群及び処理群の魚各110匹を入れた。この時点における単位水量あたりの魚重量は、静止状態で、対照群9.63 g/L、処理群9.9 g/L、流水条件では対照群0.83 g/L/日、処理群0.90 g/L/日であった。

温度、溶存酸素及びpHは週に一回測定した。温度は22±1℃に設定し、pHは7.2~7.7、溶存酸素60~100%であった。

試験は、供試魚による検体の取込み段階として28日間及び排泄段階として42日間の計70日間とした。試験期間中、放射性物質分析のための水試料を毎日採取した。また、取込み段階の間、0、1、3、7、14、21及び28日目に、魚試料各5匹を採取し、それらの内3匹から可食部(筋肉、魚皮、骨)及び非可食部(鱗、頭、内臓)に分け、残りの2匹については魚体全体を分析した。

代謝物の定性に用いる試料は、3日目及び21日目に対照群及び処理群の各15

匹から採取し、可食部及び非可食部に分けた。

第28日目の試料採取後、残りの魚を同一条件の新しい水槽2個に移し、検体を含まない環境下で42日間飼育し、排泄を検討した。

排泄段階の第1、3、7、10、14、17、21、28、35及び42日目に、対照及び処理群から魚3匹を採取し、分析した。ただし、第17、21、28及び35日目は2匹だけを採取した。これらの試料は検体曝露期間と同様の方法で解剖した。固体の試料は、燃焼後、生じた¹⁴C O₂をCarbo-Sorbに吸着させ、シンチレーションカクテルと混合し、液体試料にはシンチレーションカクテルを加えて放射能を測定した。

代謝物の検討については、試料を酢酸エチルで抽出してHPLC-MSで同定した。抽出残査には塩酸を加えて加水分解した後、酢酸エチルで抽出した。

結 果：

(1) 魚体中の放射能濃度 (シラフルオフェン当量mg/試料kg) 及び濃縮倍率

処理開始後の経過日数	魚体全体		可食部合計		非可食部合計		
	濃 度	濃縮倍率	濃 度	濃縮倍率	濃 度	濃縮倍率	
取 込 期 間	0	<0.002	—	<0.002	—	<0.005	—
	1	0.021	27	0.009	12	0.038	49
	3	0.232	129	0.092	51	0.313	174
	7	0.547	333	0.356	217	1.242	756
	14	1.111	687	0.510	315	2.089	1292
	21	1.561	905	0.693	402	2.755	1597
28	1.601	855	0.769	411	3.235	1728	
排 泄 期 間	29(1)	1.575		0.660		2.929	
	31(3)	1.656		0.753		2.920	
	35(7)	1.295		0.672		2.544	
	38(10)	1.288		0.578		2.743	
	42(14)	1.156		0.491		2.720	
	45(17)	1.009		0.469		2.430	
	49(21)	1.028		0.385		1.697	
	56(28)	0.952		0.398		1.670	
63(35)	0.916		0.369		1.472		
70(42)	0.802		0.351		1.167		

28日間暴露後における組織中残留放射能は、魚全体で1.601mg/kg、可食部で0.769mg/kg、非可食部で3.235mg/kgであった。これらの数値はそれぞれ、28日間生物濃縮倍率855、411及び1728に相当する。魚全体及び可食部でのデータから、28日間の曝露期間中、第20日目にプラト一値に達することが示さ

れた。

排泄段階における魚試料の放射能を分析した結果、ゆるやかな放射能の排出が示された。42日間の排泄段階終了後、魚組織中の総残留物は、魚全体で0.802mg/kg、可食部で0.351 mg/kg、非可食部で1.167mg/kgと低下し、それぞれ曝露期間終了時の50%、54%及び64%に相当した。これらの結果から、魚体内での半減期は約30 - 40日と推定された。

(2) 試験水中の検体濃度

試験区 (mg/L)	取 込 期 間 (日)								
	0	1	3	7	14	21	28	平均	
0.001	流入水	0.0009	0.0005	0.0010	0.0009	0.0010	0.0013	0.012	0.0016
	中央部	0.0013	0.0004	0.0024	0.0021	0.0029	0.0042	0.028	0.0021

曝露期間中、平均水中濃度は0.00185mg/Lであり、取込期間を通じて、検体濃度はほぼ一定であった。排泄期間中の濃度は定量限界以下であった。

(3) 魚体中の抽出可能な標識化合物の割合 (%)

処理開始後の経過日数	3		21	
試 料	可食部	非可食部	可食部	非可食部
酸加水分解処理前の画分				
酢酸エチル抽出	87.6	91.4	94.4	97.8
非抽出残査	12.4	8.6	5.6	2.2
非抽出残査を酸加水分解処理した画分				
水抽出	0.9	0.3	0.1	0.1
酢酸エチル抽出	2.8	1.5	0.4	0.9
不溶物	8.1	5.2	4.6	2.6

可食部から抽出された放射能は88% (第3日) 及び94% (第21日) であった。また、非可食部については91% (第3日) 及び98% (第21日) であった。これらの抽出物は、標準品のクロマトグラムと比較した結果、未変化のシラフルオフェンのみであることが判明した。非可食部の第3日試料では、主な残留物であるシラフルオフェンに加えて、極く少量の極性代謝物が、少なくとも3種類含まれていた (抽出された放射能活性の9%未満) が、少量であったため、これ以上分析しなかった。シラフルオフェンを酸加水分解したものと比較した結果、抽出残査の酸加水分解もシラフルオフェンであることが明らかとなった。

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) 観察

処理群の魚に死亡や行動変化などの検体による影響は認められなかった。

[申請者注] : 本試験条件下における魚全体の濃縮倍率は、定常状態に達したと考えられる測定日である14、21及び28日の値の平均値816と考える。

代謝分解のとりまとめ

シラフルオフエンをラットに経口投与すると、投与後48時間以内に、投与放射能に対して90%以上(総回収率が低かった低投与群の雌は75%)が糞及び尿中に排泄された。この内、尿中への排泄は投与放射能に対して1~3%、胆汁を経由した糞中への排泄は1~2%であった。

経口投与後シラフルオフエンの血液中濃度は、投与後2~5時間内に最高となり、96時間以後には検出されなかった。また、雌ラットにおける吸収試験の結果より、シラフルオフエンの吸収率は約2~4%であり、投与した放射能の大半は吸収されず消化管を通過し、未変化のまま体外へ排泄されるものと考えられた。

投与7日後の体内残留放射能は、単回低投与群(100mg/kg)及び単回高投与群(500mg/kg)において、同様の傾向が認められ、投与放射能に対して1~4%であり、血液を除いた全検査臓器及び組織に放射能が存在した。合計数値は、概して雌(低投与群4.0%、高投与群3.6%)のほうが雄(低投与群2.1%、高投与群1.5%)よりも幾分高かった。

最高濃度は、低投与群では腹膜後脂肪(雄 21.46µg/g、雌 45.14µg/g)及び皮下脂肪(雄 19.62µg/g、雌 33.29µg/g)であり、高投与群においても皮下脂肪(雄 65.4µg/g、雌 154.5µg/g)及び腹膜後脂肪(雄 73.8µg/g、雌 190.1µg/g)であった。

他の臓器及び組織に比べ、脂肪組織中に高い残留放射能が認められた。

排泄物中の放射能は、ほとんどが親化合物シラフルオフエン[I]であり、他に3~9%の

代謝物、即ち、及び3%以下の他の代謝物が認められた。

代謝物は、さらに、及びの硫酸抱合体へと代謝された。

稲については、玄米における抽出残留化合物のほとんどは、親化合物シラフルオフエン[I]であり、他に代謝物が3%以下及び未同定代謝物が2%以下の割合で認められた。

籾殻及び藁についても、抽出残留化合物のほとんどは、親化合物シラフルオフエン[I]であり、籾殻では代謝物が4%以下、また藁では代謝物が12%以下及び未同定代謝物の総量は11%以下(5種以上の化合物で各々の残留放射能活性は3%以下)であった。

抽出不能な残渣は、収穫時の試料中の総残留放射能に対して、玄米で37.8%、籾殻で20.4%、藁で19.5%であった。酸加水分解後同定された化合物は、親化合物シラフルオフエン[I]及び代謝物であり、合計で3.5~5%であった。また、シラフルオフエンをするとが生成されることから、は化学的に処理する過程で生成したものであると推定された。

加水分解後も可溶化ができなかった残留放射能については、さらに強い酸性条件下においても残留放射能の遊離は認められず、これらの化合物は生物学的に不活性な物質と考えられた。また、稲による土壌からの取込みは極めて少なかった。

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。

シラフルオフエンの動植物等における代謝分解経路図

代謝分解の概要

<動物> 数値は投与した放射能量に対する割合

代謝分解物		A 親化合物 [I]				F 未同定 抽出物 合計	非抽出物	CO ₂	合計	
高 投 与 量	雄	尿 0 - 48時間 0 - 168	n. d.						2.61 2.93	
		糞 0 - 48時間 0 - 168	78.94						86.66 89.49	
		臓器組織 168 時間 後	肝臓							0.03
			腎臓							0.01
			肺							0.06
			脾臓							0.00
	生殖腺								0.01	
	心臓								0.00	
	雌	尿 0 - 48時間 0 - 168	n. d.						1.14 1.38	
		糞 0 - 48時間 0 - 168	78.08						91.93 96.16	
		臓器組織 168 時間 後	肝臓							0.03
			腎臓							0.02
肺									0.01	
脾臓									0.00	
生殖腺								0.02		
心臓								0.00		
低 投 与 量	雄	尿 0 - 48時間 0 - 168	n. d.						2.96 3.28	
		糞 0 - 48時間 0 - 168	80.17						96.03 97.59	
		臓器組織 168 時間 後	肝臓							0.05
			腎臓							0.01
			肺							0.01
			脾臓							0.00
	生殖腺								0.02	
	心臓								0.00	
	雌	尿 0 - 48時間 0 - 168	n. d.						0.67 0.77	
		糞 0 - 48時間 0 - 168	54.57						101.09 104.30	
		臓器組織 168 時間 後	肝臓							0.04
			腎臓							0.02
肺									0.02	
脾臓									0.00	
生殖腺								0.02		
心臓								0.01		

* : 抱合体としても存在するが、抱合体の同定は不能 n. d. : 検出せず 空欄 : 分析せず

1) : 0-168時間の回収率

注) 表中の代謝分解物は抽出物からHPLCで分離されたもの

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。

<植物> 数値は試料中の総回収放射能に対する割合 (%)

代謝分解物			A 親化合物 [I]	F 未同定 抽出物 合計	非抽出物	CO ₂	合計	分布割合
水稲 3回処理	20日後 ¹⁾	葉	%TRR	65.9			100	100
			ppm	3.65			5.54	
	53日後	穂	%TRR	87.0			100	17
			ppm	7.01			8.06	
		藁	%TRR	64.0			100	83
			ppm	10.9			17.1	
	60日後	玄米	%TRR	60.3			100	0.1
			ppm	0.313			0.519	
		籾殻	%TRR	77.5			100	0.6
			ppm	8.49			11.0	
		藁	%TRR	54.7			100	99.3
			ppm	9.79			17.9	
りんご 1回処理	11日後	果実	%TRR	89.0			100	— ²⁾
			ppm	1.27			1.43	
		葉	%TRR	100			100	— ²⁾
			ppm	224.5			224.5	
	32日後	果実	%TRR	89.3			98.1	8.8
			ppm	2.84			3.12	
		葉	%TRR	91.8			100	91.2
			ppm	140.4			154.8	
キャベツ 2回処理	21日後	Georgia blue stems種	葉 (土付着)	%TRR	96.1		100	92.5
				ppm	7.71		8.02	
			葉 (土非付着)	%TRR	92.7		100	6.25
				ppm	0.69		0.74	
		Vates種	葉	%TRR	96.4		100	80.5
				ppm	4.70		4.87	
			茎	%TRR			100	19.5
				ppm			0.75	

n. d. : 検出せず 空欄 : 分析せず

注 : 日数は、第1回処理後日数

1) : 第2回処理前

2) : 計算できない

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。

<土壌・水中> 数値は処理した放射能量に対する割合 (%)

代謝分解物			A 親化合物 [I]	F 未定抽出物 合計	非抽出物	CO ₂	揮発性 画分	合計	
土壌	好氣的	砂壤土	27.3					82.7	
		砂土	37.0					82.2	
		壤質砂土	56.0					87.9	
		シル質壤土	31.3					85.1	
		砂壤土	34.6					85.5	
		砂土	72.8					94.6	
	好氣的 湛水	壤質砂土	73.0					97.2	
		シル質壤土	58.8					113.4	
		シル質壤土	22.6					84.4	
	嫌氣的 湛水	砂土	12.2					91.6	
		シル質壤土	22.0 ²⁾					83.0	
		砂土	15.0 ²⁾					88.2	
	嫌氣的 湛水	壤土	30日後	83.0					95.0
48日後			76.4					89.2	
143日後			81.3					93.8	
水中	加水分解	pH 5	30日後	加水分解は極わずかであった					
		pH 7	30日後	加水分解は極わずかであった					
		pH 9	30日後	加水分解は極わずかであった					
	光分解	地表水	167時間後	83.6					103.2
		蒸留水	144時間後	85.5					105.8

空欄：分析せず n. d.：検出せず

1)：好氣的条件下で処理後30日間培養した後、嫌氣条件へ切替え、処理後48日目に嫌氣条件が完成した。

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。

附 シラフルオフエンの開発年表