

農薬評価書
スピロジクロフェン

2012年4月
食品安全委員会

目次

	頁
○ 審議の経緯.....	4
○ 食品安全委員会委員名簿.....	4
○ 食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿.....	4
○ 要約.....	7
I. 評価対象農薬の概要.....	8
1. 用途.....	8
2. 有効成分の一般名.....	8
3. 化学名.....	8
4. 分子式.....	8
5. 分子量.....	8
6. 構造式.....	8
7. 開発の経緯.....	8
II. 安全性に係る試験の概要.....	10
1. 動物体内運命試験.....	10
(1) 吸収.....	10
(2) 分布.....	11
(3) 代謝.....	12
(4) 排泄.....	16
(5) 畜産動物（ヒツジ）.....	17
2. 植物体内運命試験.....	18
(1) オレンジ.....	18
(2) レモン.....	18
(3) りんご.....	19
(4) ぶどう.....	20
(5) グレープフルーツ.....	21
3. 土壌中運命試験.....	21
(1) 好氣的土壌中運命試験①.....	21
(2) 好氣的土壌中運命試験②.....	22
(3) 土壌吸脱着試験.....	22
(4) 安定性試験.....	22
4. 水中運命試験.....	23
(1) 加水分解試験.....	23
(2) 水中光分解試験①（緩衝液）.....	23
(3) 水中光分解試験②（緩衝液）.....	24

(4) 水中光分解試験③ (自然水)	24
(5) 水中光分解試験④	25
5. 土壌残留試験	25
6. 作物残留試験	25
7. 一般薬理試験	26
8. 急性毒性試験	27
(1) 急性毒性試験	27
(2) 急性神経毒性試験 (ラット)	28
9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	28
10. 亜急性毒性試験	28
(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)	28
(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)	29
(3) 90日間亜急性毒性試験 (イヌ)	29
(4) 90日間亜急性神経毒性試験 (ラット)	30
(5) 28日間亜急性経皮毒性試験 (ラット) <参考資料>	31
11. 慢性毒性試験及び発がん性試験	31
(1) 1年間慢性毒性試験 (イヌ)	31
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)	31
(3) 18か月間発がん性試験 (マウス)	32
12. 生殖発生毒性試験	33
(1) 2世代繁殖試験 (ラット)	33
(2) 発生毒性試験 (ラット)	35
(3) 発生毒性試験 (ウサギ)	35
(4) 発達神経毒性試験① (ラット)	36
(5) 発達神経毒性試験② (ラット)	36
13. 遺伝毒性試験	37
14. その他の試験	38
(1) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿中濃度	38
(2) ラットにおけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿中濃度並びに副腎及び肝臓中の Chol 及び TG 測定	38
(3) 1年間慢性毒性試験 (イヌ) におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 の血漿及び尿中濃度	39
(4) イヌにおける 8 週間混餌投与による Chol、ホルモン等への影響	39
(5) ラットにおける 19 週間混餌投与によるホルモン濃度への影響	39
(6) スピロジクロフェン及び代謝物 (M1 及び M4) の ER 結合試験、ER 及び AR 転写活性化試験	40
(7) スピロジクロフェン及び代謝物 (M1) のコレステロールエステラーゼ阻害作用 (<i>in</i>	

<i>vitro</i> 試験)	40
(8) ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及びM4) のステロイド産生に対する影響	41
(9) 精巣マイクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、M3 及び M4) のデヒドロゲナーゼに対する影響 (<i>in vitro</i> 試験)	41
(10) 精巣マイクロソーム画分におけるスピロジクロフェン及び代謝物 M1 のモノオキシ ゲナーゼに対する影響 (<i>in vitro</i> 試験)	42
(11) ラット動的精巣細胞組織培養系におけるスピロジクロフェン及び代謝物 (M1、 M3 及び M4) のリンゴ酸デヒドロゲナーゼへの影響 (<i>in vitro</i> 試験)	42
(12) 代謝物 M1 のラット精巣ミトコンドリア内の NADH 及び NADPH の量に対する影響	43
(13) スピロジクロフェン投与マウスにおける肝薬物代謝酵素及びステロイド合成系 遺伝子の発現への影響	43
 III. 食品健康影響評価	 45
・別紙1：代謝物/分解物略称	52
・別紙2：検査値等略称	53
・別紙3：作物残留試験成績 (国内)	55
・別紙4：作物残留試験 (海外)	58
・参照	62

<審議の経緯>

- 2003年 8月28日 初回農薬登録
- 2005年 11月29日 残留農薬基準告示（参照1）
- 2009年 10月9日 インポートトレランス設定の要請（きゅうり、トマト等）
- 2010年 1月25日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請（厚生労働省発食安0125第4号）、関係書類の接受（参照2～7）
- 2010年 1月28日 第318回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2010年 11月29日 第4回農薬専門調査会評価第二部会
- 2012年 2月24日 追加資料受理（参照8～10）
- 2012年 2月27日 第13回農薬専門調査会評価第二部会
- 2012年 3月2日 第81回農薬専門調査会幹事会
- 2012年 3月8日 第422回食品安全委員会（報告）
- 2012年 3月8日 から4月6日まで 国民からの御意見・情報の募集
- 2012年 4月18日 農薬専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2012年 4月19日 第428回食品安全委員会（報告）
（同日付け厚生労働大臣へ通知）

<食品安全委員会委員名簿>

(2011年1月6日まで)	(2011年1月7日から)
小泉直子（委員長）	小泉直子（委員長）
見上 彪（委員長代理*）	熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓
野村一正	野村一正
畑江敬子	畑江敬子
廣瀬雅雄	廣瀬雅雄
村田容常	村田容常

*：2009年7月9日から

*：2011年1月13日から

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2010年3月31日まで)

鈴木勝士（座長）	佐々木有	平塚 明
林 真（座長代理）	代田眞理子	藤本成明
相磯成敏	高木篤也	細川正清
赤池昭紀	玉井郁巳	堀本政夫
石井康雄	田村廣人	松本清司

泉 啓介
今井田克己
上路雅子
臼井健二
太田敏博
大谷 浩
小澤正吾
川合是彰
小林裕子
三枝順三***

津田修治
津田洋幸
長尾哲二
中澤憲一*
永田 清
納屋聖人
西川秋佳
布柴達男
根岸友恵
根本信雄

本間正充
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦**
吉田 緑
若栗 忍

* : 2009年1月19日まで

** : 2009年4月10日から

*** : 2009年4月28日から

(2012年3月31日まで)

納屋聖人 (座長)
林 真 (座長代理)
相磯成敏
赤池昭紀
浅野 哲**
石井康雄
泉 啓介
上路雅子
臼井健二
太田敏博
小澤正吾
川合是彰
川口博明
桑形麻樹子***
小林裕子
三枝順三

佐々木有
代田眞理子
高木篤也
玉井郁巳
田村廣人
津田修治
津田洋幸
長尾哲二
永田 清
長野嘉介*
西川秋佳
布柴達男
根岸友恵
根本信雄
八田稔久

平塚 明
福井義浩
藤本成明
細川正清
堀本政夫
本間正充
増村健一**
松本清司
柳井徳磨
山崎浩史
山手丈至
與語靖洋
義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

* : 2011年3月1日まで

** : 2011年3月1日から

*** : 2011年6月23日から

(2012年4月1日から)

納屋聖人 (座長)
西川秋佳 (座長代理)
相磯成敏

佐々木有
代田眞理子
玉井郁巳

細川正清
堀本政夫
本間正充

赤池昭紀
浅野 哲
泉 啓介
上路雅子
小野 敦
川口博明
桑形麻樹子
腰岡政二
三枝順三

田村廣人
津田修治
永田 清
長野嘉介
根岸友惠
根本信雄
八田稔久
福井義浩
藤本成明

増村健一
松本清司
森田 健
山崎浩史
山手文至
與語靖洋
義澤克彦
吉田 緑
若栗 忍

要 約

テトロン酸誘導体殺ダニ剤である「スピロジクロフェン」(CAS No. 148477-71-8) について、インポートトレランス設定の要請に係る資料、農薬抄録並びに JMPR、米国及び EU が実施した評価を基に食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績は、動物体内運命(ラット及びヒツジ)、植物体内運命(オレンジ、レモン、りんご、ぶどう及びグレープフルーツ)、作物残留、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性等の試験成績である。

各種毒性試験結果から、スピロジクロフェン投与による影響は、主に副腎(皮質空胞化)及び精巣(ライディッヒ細胞肥大等)に認められた。催奇形性、神経毒性、発達神経毒性及び遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験において、ラットの雄でライディッヒ細胞腫が、雌で子宮腺癌が増加、マウスの雄で肝細胞腺腫及び癌が増加したが、遺伝毒性試験ではすべて陰性の結果が得られており、ラット及びマウスで認められた腫瘍発生機序は遺伝毒性によるものとは考え難く、評価に当たり閾値を設定することは可能であると考えられた。2世代繁殖試験において、F₁世代の雄に生殖器官の萎縮及び精子数減少など繁殖への影響が認められた。

各試験で得られた無毒性量のうち最小値は、イヌを用いた1年間慢性毒性試験の1.38 mg/kg 体重/日であったことから、これを根拠として、安全係数100で除した0.013 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

I. 評価対象農薬の概要

1. 用途

殺ダニ剤

2. 有効成分の一般名

和名：スピロジクロフェン

英名：spirodiclofen (ISO 名)

3. 化学名

IUPAC

和名：3-(2,4-ジクロロフェニル)-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.5]デカ-3-エン
-4-イル=2,2-ジメチルブチラート

英名：3-(2,4-dichlorophenyl)-2-oxo-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en
-4-yl 2,2-dimethylbutyrate

CAS(No. 148477-71-8)

和名：3-(2,4-ジクロロフェニル)-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.5]デカ-3-エン
-4-イル=2,2-ジメチルブタノアート

英名：3-(2,4-dichlorophenyl)-2-oxo-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en
-4-yl 2,2-dimethylbutanoate

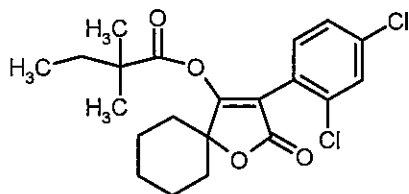
4. 分子式

$C_{21}H_{24}Cl_2O_4$

5. 分子量

411.3

6. 構造式



7. 開発の経緯

スピロジクロフェンは、バイエルクロップサイエンス株式会社により開発された環状ケトエノールに属するテトロン酸誘導体でハダニに広範囲な活性を有する新規構造を有する殺ダニ剤である。脂質合成を阻害することが明らかにされているが、詳細な作用機構は不明である。

国内においては 2003 年に初回農薬登録された。今回、インポートトレランス設定の要請(きゅうり、トマト、いちご等)及び農薬取締法に基づく適用拡大申請(茶)がなされている。また、ポジティブリスト制度導入に伴う暫定基準が設定されている。

II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験 [II. 1~4] は、スピロジクロフェンのジヒドロフラン環 3 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[dih- ^{14}C] スピロジクロフェン」という。）、シクロヘキシル環の 1 位の炭素を ^{14}C で標識したもの（以下「[cyc- ^{14}C] スピロジクロフェン」という。）又は炭素を ^{14}C で標識した標識位置不明のもの（以下「 ^{14}C -スピロジクロフェン」という。）を用いて実施された。

放射能濃度及び代謝物濃度は特に断りがない場合はスピロジクロフェンに換算した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は、別紙 1 及び 2 に示されている。

1. 動物体内運命試験

(1) 吸収

① 血中濃度推移

Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹又は雄 4 匹¹）に[dih- ^{14}C] スピロジクロフェンを 2 mg/kg 体重（以下 [1. (1)~(4)] において「低用量」という。）若しくは 100 mg/kg 体重（以下 [1. (1)~(4)] において「高用量」という。）で単回経口投与又は低用量で 14 日間反復経口投与後、15 日目に[dih- ^{14}C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与（以下 [1. (1)~(4)] において「反復投与」という。）し、血中濃度推移について検討された。

また、Wistar ラット（一群雌雄各 4 匹）に約 15 週間の混餌（原体：50 及び 2,500 ppm、以下 [1. (1)~(4)] において「混餌投与」という。）投与を行った後、[dih- ^{14}C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

各投与群における薬物動態学的パラメータは表 1 に示されている。

血漿中放射能濃度は、単回、反復又は混餌投与群のいずれにおいても同様の推移を示した。混餌投与群の薬物動態学的パラメータは、単回投与群とほぼ同様であり、混餌投与が吸収、分布及び消失へ与える影響は小さいと考えられた。（参照：2、4、8）

¹ 低用量投与群：一群雌雄各 4 匹、高用量及び反復投与群：雄 4 匹

表1 薬物動態学的パラメータ

群	単回投与		反復投与	混餌投与				
				50 ppm		2,500 ppm*		
投与量 (mg/kg 体重)	2		100	2		2		
性別	雄	雌	雄	雄	雌	雄	雌	
T _{max} (hr)	3.00	3.00	8.00	4.00	2.09	3.24	1.63	1.73
C _{max} (µg/mL)	2.66	2.11	51.3	2.12	4.00	4.00	3.00	8.00
T _{1/2} (hr)	0.92	0.32	0.54	0.05	0.84	0.68	0.57	1.29
AUC _{0-∞} (hr · µg /mL)	36.7	23.7	773	21.2	28.9	35.1	18.9	20.9

注：低用量単回投与群の雌雄及び混餌投与群は1コンパートメントモデル、高用量単回投与群の雄及び反復投与群は2コンパートメントモデルにあてはめた。

*：1匹除外したため、一群雌雄各3匹

② 吸収率

胆汁中排泄試験 [1. (4)③] で得られた投与後 24 時間の胆汁、尿及び投与 24 時間後の胃腸管を除く動物体中放射能の合計から、雄の吸収率は 62.4%と算出された。(参照：2、4、8)

(2) 分布

① 分布-1

血中濃度推移試験 [1. (1)①] の低用量単回及び反復投与群の投与 48 時間後並びに高用量群の投与 168 時間後に、血液及び組織を採取し、体内分布試験が実施された。

低用量単回及び反復投与群では、検出された放射能は僅かで肝臓で 0.050 µg/g 未満、腎臓で 0.020 µg/g 未満、血漿で 0.015 µg/g 以下であった。

高用量群においては、投与 168 時間後の組織中残留放射能は、すべて検出限界未満であった。(参照：2、4、8)

② 分布-2

Wistar ラット (一群雌雄各 4 匹) に [dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与し、投与後 3、6 及び 24 時間の血液及び組織を採取し、体内分布試験が実施された。

投与 3、6 及び 24 時間後の主要組織における残留放射能濃度は表 2 に示されている。

血漿中よりも高い放射能分布が認められた組織は肝臓及び腎臓であった。(参照：2、8)

表2 主要組織における残留放射能濃度 (µg/g)

性別	試料採取 (投与後時間)		
	3	6	24
雄	肝臓(13.4)、血漿(4.47)	肝臓(8.42)、血漿(3.47)	肝臓(0.70)、腎臓(0.33)、血漿(0.24)
雌	肝臓(9.45)、腎臓(4.83)、血漿(3.77)	肝臓(7.26)、腎臓(3.80)、血漿(2.82)	腎臓(0.046)、肝臓(0.044)、血漿(0.024)

③ 分布-3

Wistar ラット (各と殺時間で雌雄各 1 匹) に[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを 3 mg/kg 体重で単回経口投与し、投与 48 時間後までの全身オートラジオグラフィ及びその定量的解析による体内分布が検討された。

定量的全身オートラジオグラフィによる主要組織の残留放射能濃度は表 3 に示されている。

全身オートラジオグラフィでは、経口投与された[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンは、投与 1 時間後まで完全には吸収されなかったが、吸収された放射能は速やかに全身に分布し、投与 4 時間後には、より高い放射能が腸の内容物や膀胱で観察されたことから、尿及び糞中への排泄が開始されたことが示唆された。投与 24 時間後には、総残留放射能は顕著に減少したが、肝臓、腎臓、膀胱、腸管及び糞中への分布が認められた。(参照: 2、4、8)

表3 定量的全身オートラジオグラフィによる主要組織の残留放射能濃度 (µg/g)

性別	試料採取 (投与後時間)		
	4	8	48
雄	肝臓(5.54)、小腸(3.82)、膀胱(3.72)、褐色脂肪(2.70)、腎皮質(2.29)、血液(1.52)、副腎(1.02)、精巢上体尾部(0.199)、精巢(0.171)、精巢上体頭部(0.162)、	膀胱(6.46)、肝臓(5.46)、歯根(4.01)、小腸(3.00)、褐色脂肪(1.67)、腎皮質(1.56)、血液(1.28)、腎髄質(0.882)、副腎(0.825)、精巢上体尾部(0.226)、精巢上体頭部(0.204)、精巢(0.139)	すべての組織で n.q.又は n.d.
雌	膀胱(7.43)、腎髄質(1.84)、肝臓(1.74)、腎盂(0.917)、腎皮質(0.615)、血液(0.427)、副腎(0.373)、子宮(0.241)	膀胱(6.48)、腎髄質(2.93)、肝臓(2.83)、腎盂(1.04)、腎皮質(0.886)、血液(0.657)、副腎(0.550)、子宮(0.264)	すべての組織で n.d.

n.q.: 定量限界未満

n.d.: 検出限界未満

(3) 代謝

① 代謝-1

尿及び糞中排泄試験[1. (4)①及び②]で得られた尿及び糞並びに胆汁中排泄試験[1. (4)③]で得られた尿、糞及び胆汁を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、糞及び胆汁中における代謝物は表 4 に示されている。

尿中に未変化のスピロジクロフェンは検出されず、尿中の主要排泄物は M1、M3e、M4e、M3a、M4a 等が認められた。雄では M1 の水酸化反応が雌よりも早いと推察された。糞中には僅かに親化合物が検出された他、主要代謝物として M1、M3e 及び M4e が認められた。尿中の微量代謝物である M3 の酸化体の M5 並びに脱水体の M6 及び M7 は糞中には認められなかった。また、糞中排泄に性差は認められなかった。混餌投与群の糞尿中に認められた代謝物は、単回投与群とほぼ同様であったことから、混餌による代謝への影響は認められなかった。胆汁中の主要代謝物として M1、M3、M4 に加えて M20 が認められた。

スピロジクロフェンのラットにおける主要代謝経路は、エノール体 M1 が生成した後、シクロヘキシル環の 3 位又は 4 位が水酸化し M3 及び M4 が生じ、さらに水酸化エノール体は M5、M6 及び M7 に変換すると考えられた。(参照：2、4、8)

表4 尿、糞及び胆汁中における代謝物 (%TAR)

投与量 (mg/kg 体重)	群	性別	試料*	スピロジク ロフェン	代謝物	
1	単回 投与	雄	尿	n.d.	M4e(13.6)、M3e(4.77)、M4a(3.35)	
			糞	0.67	M1(15.1)、M4e(7.20)、M8(2.14)、M3e(0.75)、 M3a(0.35)、M2e(0.26)	
			胆汁	n.d.	M3e(4.05)、M20(3.40)、M4e(0.96)、M4a(0.49)	
2		雌	雄	尿	n.d.	M3e(26.0~28.4)、M4e(13.3~14.8)、 M4a(6.05~6.65)、M1(2.14~3.33)
				糞	1.83~4.26	M1(4.51~7.00)、M4e(2.73~4.90)、M3e(2.44 ~3.17)、M8(2.45~2.94)
			雌	尿	n.d.	M1(53.4)、M4e(8.63)、M3e(4.34)、M4a(2.61)、 M3a(1.25)
				糞	0.66	M4e(7.40)、M1(4.77)、M8(1.33)、M3e(1.05)
100		雄	尿	n.d.	M3e(12.6)、M4e(7.68)、M1(5.59)、M4a(3.38)	
			糞	16.0	M1(16.3)、M8(7.55)、M3e(1.72)、M4e(1.59)	
2	反復 投与	雄	尿	n.d.	M3e(30.3)、M4e(15.3)、M4a(5.75)、 M3a(4.94)、M1(4.93)	
			糞	2.32	M4e(5.85)、M1(3.75)、M3e(3.02)、M8(1.64)	
2	** 混餌 投与	50 ppm	雄	尿	n.d.	M3e(34.4)、M4e(17.5)、M4a(6.83)、M1(4.88)、 M2e(0.66)
				糞	3.48	M4e(4.39)、U3(3.96)、M1(3.66)、M3e(1.98)、 M18(1.76)
			雌	尿	n.d.	M1(52.4)、M4e(9.63)、M3e(4.54)、M4a(3.17)、 M3a(1.42)
				糞	0.38	M4e(7.71)、U3(1.78)、M17(1.61)、M1(1.33)、 M3a(0.92)
		2,500 ppm	雄	尿	n.d.	M3e(23.0)、M4e(16.9)、M4a(6.77)、M1(5.41)、 M3a(5.02)
				糞	5.43	M4e(8.95)、M1(4.61)、M3e(3.85)、M3a(1.19)、 M4a(0.85)
			雌	尿	n.d.	M1(39.7)、M4e(7.09)、M3e(3.51)、M4a(2.90)、 M3a(1.81)
				糞	13.5	M1(4.54)、M4e(4.43)、M8(0.74)、M3e(0.56)、 M3a(0.52)、M4a(0.32)

n.d. : 検出限界未満

* : 1mg/kg 体重投与群では投与 24 時間後、その他の群では投与 48 時間後に採取

** : 約 15 週間の混餌 (原体 : 50 及び 2,500 ppm) 投与を行った後、[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与

② 代謝-2

体内分布試験[1. (2)②]で得られた投与 24 時間後の血漿、肝臓及び腎臓並びに投与後 24 時間の尿を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿、血漿、肝臓及び腎臓中における代謝物は表 5 に示されている。いずれの試料中にも未変化のスピロジクロフェンは認められなかった。

尿、血漿、肝臓及び腎臓中に検出された主要代謝物は、エノール体 M1 及び水酸化エノール体 M4e、M3a、M3e 及び M4a であった。尿以外の試料中の主要代謝物は M1 であり、雌の血漿中には M1 のみが検出された。M1 は肝臓で最も多く、エノール体は水酸化されて M4e、M3a、M3e 及び M4a に変換後、尿へ排泄されると考えられた。雄は雌よりも代謝反応が早いことから水酸化エノール体への反応が早いと考えられ、肝臓、及び腎臓中の水酸化エノール体濃度は、雄が雌よりも高かった。（参照：2、8）

表5 尿、血漿、肝臓及び腎臓中における代謝物 (%TAR 又はµg/g)

投与量 (mg/kg 体重)	投与 後時 間	性別	試料	代謝物*
2	3	雄	尿	M4e(1.67)、M3e(0.08)、M3a(0.06)、M4a(0.03)、M1(n.d.)
			血漿	M1(3.34)、M4a(0.456)、M3e(0.352)、M4e(0.160)、M3a(0.069)
			肝臓	M1(10.5)、M3e(1.39)、M3a(0.428)、M4a(0.299)、M4e(0.262)
			腎臓	M1(2.12)、M3e(0.694)、M4e(0.294)、M3a(0.101)、M4a(0.099)
		雌	尿	M4e(2.47)、M1(1.49)、M3e(0.46)、M3a(0.41)、M4a(0.19)
			血漿	M1(3.765)
			肝臓	M1(9.18)、M3e(0.108)、M4a(0.071)、M4e(0.050)、M3a(0.025)
			腎臓	M1(4.37)、M4e(0.218)、M3e(0.122)、M4a(0.075)、M3a(0.038)
	6	雄	尿	M4e(9.47)、M3e(6.46)、M4a(1.77)、M3a(1.20)、M1(0.97)
			血漿	M1(2.60)、M4a(0.378)、M3e(0.196)、M3a(0.175)、M4e(0.118)
			肝臓	M1(6.71)、M3e(0.948)、M3a(0.266)、M4a(0.203)、M4e(0.097)
			腎臓	M1(1.66)、M3e(0.532)、M4e(0.130)、M3a(0.097)、M4a(0.073)
		雌	尿	M1(22.3)、M4e(7.00)、M3e(2.67)、M3a(1.27)、M4a(1.13)
			血漿	M1(2.818)
			肝臓	M1(7.09)、M3e(0.091)、M4a(0.062)
			腎臓	M1(3.68)、M3e(0.055)、M4e(0.048)、M4a(0.018)
24	雄	尿	M3e(24.2)、M4e(18.2)、M4a(7.08)、M3a(3.23)、M1(1.55)	
		血漿	M1(0.123)	
		肝臓	M1(0.398)、M3e(0.196)、M4e(0.066)、M4a(0.023)	
		腎臓	M3e(0.137)、M1(0.129)、M3a(0.031)、M4e(0.010)、M4a(0.010)	

投与量 (mg/kg 体重)	投与 後時 間	性 別	試料	代謝物*
		雌	尿	M1(56.2)、M4e(9.47)、M3e(4.13)、M4a(2.56)、M3a(1.68)
			血漿	M1(0.024)
			肝臓	M1(0.042)
			腎臓	M1(0.044)

*：尿中の代謝物量は%TAR、それ以外はスピロジクロフェンに換算した $\mu\text{g/g}$ で示した。

(4) 排泄

① 尿及び糞中排泄（単回及び反復投与）

血中濃度推移試験[1. (1)①]の単回及び反復投与で投与後 168 時間の尿及び糞が採取され、排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率は表 6 に示されている。

投与後 48 時間で 90%TAR 以上が尿及び糞中へ排泄された。低用量投与群の主要排泄経路は尿中であり、高用量投与群では糞中排泄率が尿中よりも高く、高用量では消化管からの吸収が不完全であると考えられた。

低用量単回投与群の雄から投与後 48 時間の呼気が採取されたが、呼気中への排泄は 0.05%TAR であった。（参照：2、4、8）

表 6 投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

群	単回		反復	
	2		100	2
投与量 (mg/kg 体重)				
性別	雄	雌	雄	雄
尿	62.1	74.2	34.6	66.6
糞	30.9	23.3	61.0	27.6
合計	93.0	97.5	95.6	94.2

②尿及び糞中排泄（混餌投与）

血中濃度推移試験[1. (1)①]の混餌投与での投与後 48 時間の尿及び糞が採取され、排泄試験が実施された。

投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率並びに組織残留率は表 7 に示されている。

投与後 48 時間で 92%TAR 以上が尿及び糞中に排泄され、体内残留放射能濃度は低く、混餌投与の排泄への影響はないと考えられた。（参照：2、4、8）

表7 投与後48時間の尿及び糞中排泄率並びに組織残留率(%TAR)

群	混餌投与*			
	50 ppm		2,500 ppm	
性別	雄	雌	雄	雌
尿	72.0	74.7	61.4	56.4
糞	30.6	21.6	30.8	27.6
胃腸管を除く動物体	0.264	0.184	0.620	0.914
胃腸管	0.238	0.488	1.378	0.947
合計	103	97.0	94.2	85.9

*: 約15週間の混餌(原体: 50及び2,500 ppm)投与を行った後、[dih-¹⁴C]スピロジクロフェンを低用量で単回経口投与

③ 胆汁中排泄

胆管カニューレを挿入したWistarラット(雄6匹)に[dih-¹⁴C]スピロジクロフェンを1 mg/kg体重で単回経口投与し、胆汁中排泄試験が実施された。

投与後24時間の胆汁、尿及び糞中排泄率並びに組織残留率は表8に示されている。(参照: 2、4、8)

表8 投与後24時間の胆汁、尿及び糞中排泄率並びに組織残留率(%TAR)

試料	排泄率又は組織残留率
尿	24.3
糞	31.3
胆汁	11.9
胃腸管を除く動物体	26.2
胃腸管	13.3
合計	107

(5) 畜産動物(ヒツジ)

泌乳期ヒツジ(品種及び匹数不明)に¹⁴C-スピロジクロフェン(標識位置不明)を3日間混餌投与(原体: 252 ppm、10.7 mg/kg体重に相当、理論最大摂取量の114倍)し、動物体内運命試験が実施された。

血中濃度は、初回投与8時間後までに0.016~0.074 µg/gで推移し、C_{max}は投与24時間後の0.382 µg/gであった。

主要排泄経路は糞中であり、糞中へ20.0%TAR、尿中へ12.4%TARが排泄された。最終投与6時間後に38.6%TARが胃腸管に残留していた。

乳汁及び最終投与4時間後の組織中残留放射能並びに代謝物は表9に示されている。乳汁及び可食部から0.25%TARが回収された。各試料の残留放射能中に未変化のスピロジクロフェンは認められず、主要成分としてM1が80%TRR以上(筋肉: 0.057 µg/g、脂肪: 0.121 µg/g、腎臓2.78 µg/g、肝臓0.633 µg/g、乳汁: 0.097 µg/g)認められた。(参照: 4、6)

表 9 乳汁及び最終投与 4 時間後の組織中残留放射能並びに代謝物

試料		総残留放射能濃度 (µg/g)	スピロジクロフェン (µg/g)	代謝物 (%TRR)
筋肉		0.068	n.d.	M1(83.8)
脂肪		0.143	n.d.	M1(84.6)
腎臓		2.92	n.d.	M1(95.4)、M4(2.2)
肝臓		0.784	n.d.	M1(80.7)、M4(1.9)
乳汁*	朝	0.114	n.d.	M1(81.6)、M4(8.7)
	夕	0.113	n.d.	M1(85.8)、M4(6.2)

n.d. : 検出限界未満 * : 1 日 2 回 (朝及び夕) 採取

2. 植物体内運命試験

(1) オレンジ

着果早期のオレンジ (品種 : Navelina iniasel) に、フロアブル製剤に調製した [dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを、14 mg ai/樹で樹全体に散布し、処理 160 日後に収穫した果実を用い、植物体内運命試験が実施された。

全果実中総残留放射能の 91.8%TRR (0.066 mg/kg) が果皮、8.3%TRR (0.006 mg/kg) が果肉に存在した。

果皮中の総残留放射能及び代謝物は表 10 に示されている。

残留放射能の主要成分は、未変化のスピロジクロフェンであり、10%TRR を超える代謝物は認められなかった。(参照 : 2、4、8)

表 10 果皮中の総残留放射能及び代謝物

試料		総残留放射能濃度 (mg/kg)	スピロジクロフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)
表面洗浄液		0.022	30.0	—
抽出液	有機層	0.012	1.7	M3e(2.0)、M9(1.7)、M1(1.4)、M12(0.8)、M4e(0.5)、M13(0.4)
	水層	0.028	2.5	M9(7.4)、M13(5.7)、M10(0.8)
未抽出物		<0.01		

/: 測定せず、—: 未検出

(2) レモン

レモン樹 (品種 : Eureka) に、フロアブル製剤に調製した [dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを、8.51 又は 2.83 mg ai/樹で散布 (通常の 1.5 倍濃度処理) し、処理 21 日後に収穫した果実を用い植物体内運命試験が実施された。

レモン果実の総残留放射能濃度は 0.263 mg/kg で、果皮に 99.8%TRR とほとんどの放射能が存在した。果肉中の放射能濃度は 0.001 mg/kg 未満 (0.1%TRR)

であった。

果皮中の総残留放射能及び代謝物は表 11 に示されている。

残留放射能のほとんどが果皮表面に存在しており、主要成分は、未変化のスピロジクロフェンであった。10%TRR を超える代謝物は認められなかった。（参照：2、4、8）

表 11 果皮中の総残留放射能濃度及び代謝物

試料	総残留放射能濃度 (mg/kg)	スピロジクロフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)	
表面洗浄液	0.164	60.9	M1(1.3)	
抽出液	有機層	0.065	14.1	M3e(2.3)、M1(0.8)、M9(0.8)、M4e(0.5)、M12(0.5)
	水層	0.030	0.3	M9(2.1)、M13(1.6)、M10(0.5)
未抽出物	0.004			

/: 測定せず

(3) りんご

着果後のりんご（品種：ゴールドデンデリシャス）に、フロアブル製剤に調製した[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを、収穫 84 又は 23 日前（早期処理又は晚期処理）に 49.3 又は 49.1mg ai/樹で樹全体に散布（通常処理量の約 0.9 倍）し、成熟期に収穫した果実及び葉を試料として、植物体内運命試験が実施された。

各試料中の総残留放射能及び代謝物は表 12 に示されている。

総残留放射能の 82.8～98.0%TRR が果実表面（表面洗浄液中）に未変化のスピロジクロフェンとして存在していた。果実抽出液中の主要成分は未変化のスピロジクロフェンであり、10%TRR を超える代謝物は認められなかった。

葉においても表面洗浄液及び抽出液中のほとんどが未変化のスピロジクロフェンであり、10%TRR を超える代謝物は認められなかった。（参照：2、4、8）

表 12 各試料中の総残留放射能及び代謝物

処理時期	試料	総残留放射能濃度 (mg/kg)	試料内分布	総残留放射能濃度 (mg/kg)	スピロジクロフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)	
早期	果実	0.390	表面洗浄液	0.323	82.8	—	
			抽出液	有機層	0.040	6.56	M11(0.99)、M13(0.47)、M1(0.36)、M4e(0.09)
				水層	0.023	—	M13(4.00)
			未抽出物	0.004			

晩期	果実	0.85	表面洗浄液	0.837	98.0	—	
			抽出液	有機層	0.013	1.45	M1(0.05)、 M11(0.05)、 M13(0.01)
				水層	0.002	0.22	—
			未抽出物	<0.001	0.07		
	葉	59.7	表面洗浄液	57.8	96.7	—	
			抽出液	1.94	2.15	M13(0.42)	
未抽出物			0.06				

/: 測定せず、—: 未検出

(4) ぶどう

着果期（早期処理）又は収穫3週間前（晩期処理）のぶどう（品種：Mueller Thurgau）にフロアブル製剤に調製した[$dih-^{14}C$]スピロジクロフェンを約26.9 mg ai/樹（通常処理量）で散布し、早期処理は処理64日後、晩期処理は処理21日後に収穫した果実を試料として、植物体内運命試験が実施された。

各試料中の総残留放射能及び代謝物は表13に示されている。

総残留放射能の56.8～95.8%TRRが果実表面（表面洗浄液中）に未変化のスピロジクロフェンとして存在していた。2.4～33.2%TRRが果実抽出液に存在し、M13が12.2%TRR（0.14 mg/kg）認められたほかは10%TRRを超える代謝物は認められなかった。（参照：2、4、8）

表13 各試料中の総残留放射能及び代謝物

処理時期	総残留放射能濃度 (mg/kg)	試料	総残留放射能濃度 (mg/kg)	スピロジクロフェン (%TRR)	代謝物 (%TRR)	
早期	1.12	表面洗浄液	0.64	56.8	—	
		抽出液	有機層	0.10	0.8	M3e(2.6)、M9(1.5)、M1(0.5)、 M4e(0.4)
			水層	0.37	—	M13(12.2)、M10(7.9)、M9(5.7)
		未抽出物	0.01			
晩期	1.90	表面洗浄液	1.82	95.8	—	
		抽出液	有機層	0.03	0.6	M3e(0.3)、M9(0.2)、M1(0.1)、 M4e(<0.01)
			水層	0.05	—	M9(0.9)、M13(0.9)、M10(0.6)
		未抽出物	<0.01			

/: 測定せず、—: 未検出

スピロジクロフェンのオレンジ、レモン、りんご及びぶどう中での代謝経路は、

①スピロジクロフェンのエステル結合の開裂によるエノール体 M1 の生成、② M1 のシクロヘキシル環の 3 位若しくは 4 位の水酸化による M3 若しくは M4 の生成、又は M1 のテトロン酸のジヒドロフラノン環構造が開裂した開環のマンデル酸シクロヘキシルエステル中間体 M8 の生成、③M8 の水酸化による M9 若しくは炭水化物との抱合による M10 の生成、又は M8 がさらに分解して遊離のマンデル酸 M12 を生じ、続いてグリコシル化による M13 の生成であると考えられた。

(5) グレープフルーツ

グレープフルーツ（品種：Citrus paradise Macf.）にフロアブル製剤に調製した[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを、収穫 85 日前に、結実した果実の上方又は下方の 3 枚の葉に約 0.17 mg ai/葉（圃場での推奨処理量の 1.5 倍）で塗布し、成熟期果実及び各果実に対応する処理葉を各 3 枚採取し、葉から果実への放射能の移行を検討する植物体内運命試験が実施された。

99.9%TRR が処理した 3 枚の葉中に分布し、果実中の放射能は 0.09%TRR (0.01 mg/kg 未満) と僅かであったことから、葉から果実への放射能の移行はほとんどないと考えられた。果実中の放射能のうち、果肉には 0.04%TRR、果皮に 0.03% TRR、表面洗浄液中に 0.01% TRR 未満が存在した。17.0%TRR が葉から揮発により失われたと考えられた。（参照：2、4、8）

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験①

[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンを砂土（米国）、壤質砂土（ドイツ）、砂壤土（米国）及びシルト（ドイツ）に 0.11（通常処理量）又は 0.53 mg/kg（高濃度処理量）で処理し、約 20℃の暗条件下で最長 360 日間インキュベートし、好氣的土壌中運命試験が実施された。

土壌中の微生物バイオマスは経時的に減少したが、[dih-¹⁴C] スピロジクロフェン添加による影響は認められなかった。

スピロジクロフェンは試験終了時まで 22.5（砂土）～93.1%TAR（壤質砂土）が経時的に ¹⁴CO₂ まで分解され、土壌からの抽出放射能は経時的に減少した。

土壌中には少なくとも 13 種の分解物が存在し、M1、M14、M15 及び M18 は最大で 10%TAR 以上認められ、特に M1 及び M14 は、いずれの土壌においても高く、最大で約 11～52%TAR であった。それ以外は最大で 5%TAR 未満であった。

好氣的土壌中でのスピロジクロフェンの分解経路は、①スピロジクロフェンのエステル結合の開裂によるエノール体 M1 の生成、②M1 のジヒドロフラノン環の酸化によるケトヒドロキシル体 M14 の生成、③M14 のフラノン環の開裂による M18 の生成、M14 から転位によるラクチド体 M16 を経た M18 の生成又は

M14 の還元体 M15 を経た M18 の生成、④M18 は最終的に CO₂ まで分解、であると考えられた。(参照：2、8)

(2) 好氣的土壤中運命試験②

[cyc-¹⁴C]スピロジクロフェンを砂壤土(米国)に 0.11 mg/kg (通常処理量)で処理し、約 20°C の暗条件下で最長 119 日間インキュベートし、好氣的土壤中運命試験が実施された。

土壤中の微生物バイオマスは、試験開始時で少なく、試験期間中に僅かな減少が認められたが、好氣的土壤中運命試験① [3. (1)] より、微生物バイオマス減少はスピロジクロフェンの CO₂ への分解に影響しないと考えられた。

スピロジクロフェンは試験終了時まで 69.1% TAR が ¹⁴CO₂ まで分解され、土壤からの抽出放射能は ¹⁴CO₂ の増加とともに減少した。

土壤中の主要分解物は M1 で最大で 42.6% TAR 存在した。M14 及び M15 はいずれも 10% TAR 以下で好氣的土壤中運命試験① [3. (1)] の生成量よりも低かった。これは土壤採取日が異なり、土壤特性、特に微生物バイオマス、pH 及び有機炭素量の差があるが生成量に影響した主要原因に関しては不明である。他に [3. (1)] では検出されなかった、フラノン環が開裂しベンゼン環の構造を保持していないと推測された分解物が 2 種、最大で 5.9% TAR 存在した。(参照：2、8)

(3) 土壤吸脱着試験

[dih-¹⁴C] スピロジクロフェンは、土壤中では不安定であったため土壤吸脱着試験は実施されなかった。(参照：2、8)

スピロジクロフェンの吸着係数 K_{oc} は、31,000~238,000 で、土壤中での移動性は低いと考えられた。一方で、土壤中の主要代謝物は M1、M14、M15 及び M18 で、土壤中では移動すると推察された。(参照：4、5)

(4) 安定性試験

土壤吸脱着試験条件下において、溶媒(塩化カルシウムとの相互作用)、試験容器壁面への吸着、試験系の微生物及び土壤[砂壤土(ドイツ)及びシルト質壤土(ドイツ)]がスピロジクロフェンの分解に関与するか検討された。

スピロジクロフェンの分解に溶媒の影響はほとんどなく、土壤中では微生物の有無にかかわらず速やかに分解されたことから、試験容器壁面の効果を否定することは出来ないと考えられた。加水分解試験 [4. (1)] でスピロジクロフェンはアルカリ条件下で不安定であることが確認されたことから、溶液中の pH も分解の要因のひとつと推察された。(参照：2、8)