

1. 動物代謝に関する試験

(1) ラットにおける血中動態

(資料 No.M-01)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2009 年 ( ) [GLP 対応]

供試標識化合物： -*syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム ( )

検討項目	薬物動態/排泄 (低/高用量)	代謝物同定 <sup>#</sup> (低用量)	代謝物同定 <sup>#</sup> (高用量)
Lot 番号			
比放射能			
放射化学的純度			
<i>syn/anti</i> 比			

#： 資料 No.M-08 で用いる試料の作製 a)：

供試動物： Han Wistar ラット、雌雄各 13 匹/用量

投与時体重範囲；雄 187～321 g、雌 144～215 g

方 法：

投 与； -*syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザムおよび非標識イソピラザム ( ) をコーンオイルに懸濁し、投与液を調製した。

低用量は 1 mg/kg、高用量は 75 mg/kg とし (投与液量 5mL/kg)、単回強制経口投与した。群構成を表 1 に示す。

[用量設定根拠]；

表 1. 群構成

群番号	用量 (mg/kg)	回数/ 経路	動物数	試験内容	試料採取時点 (投与後時間)
1	1	単回 経口	雌雄 各 3 匹	薬物動態	血液 : 0.25、1.5、4、24
2			雌雄 各 3 匹	薬物動態/排泄	血液 : 0.5、2、6、48 尿/糞 <sup>#</sup> : 24、48
3			雌雄 各 3 匹	薬物動態	血液 : 1、3、12
4	75		雌雄 各 3 匹	薬物動態	血液 : 0.25、1.5、4、24
5			雌雄 各 3 匹	薬物動態/排泄	血液 : 0.5、2、6、48 尿/糞 <sup>#</sup> : 24、48
6			雌雄 各 3 匹	薬物動態	血液 : 1、3、12
7	1		代謝物同定用 試料作製	雌雄 各 2 匹	血液 <sup>#</sup> : 3
8				雌雄 各 2 匹	血液 <sup>#</sup> : 6
9	75			雌雄 各 2 匹	血液 <sup>#</sup> : 3
10				雌雄 各 2 匹	血液 <sup>#</sup> : 6

試料採取： 血液は各採取時点（48 時間後を除く）で尾静脈より採取し、一部は全血として、また一部を遠心分離して血漿を調製した。最終採取時点（48 時間後）ではラットを炭酸ガス麻酔により安楽死させ、大静脈または心臓から血液を採取し、同様に全血及び血漿を調製した。さらに、消化管及びカーカスを採取した。尿及び糞は各採取時点で採取後、水でケージを洗浄し、ケージ洗液とした。尿、糞及び血漿試料は放射能測定後、代謝物調査のための別試験（資料 No.M-08）に提供した。

放射能測定； 放射能は LSC で測定した。尚、糞は水を加えて均質化後、全血はそのまま、消化管は細断後、カーカスは磨砕後、水を加えて均質化して、酸化燃焼法により LSC 測定した。また、尿、ケージ洗液及び血漿試料は直接 LSC 測定した。

結 果：

薬物動態： 全血/血漿中の放射能活性の経時変化を表 2 および図 1~4 に示す。また、薬物動態パラメーターとその用量との相関を表 3 および 4 に示す。

1 mg/kg 用量群； 血漿における T<sub>cmax</sub> は雄で投与後 6 時間、雌で投与後 3 時間であり、その C<sub>max</sub> はそれぞれ 0.0857 及び 0.160 µg eq./g であった。その消失半減期 (T<sub>1/2</sub>) は雌で 4.60 時間であった。一方、雄では最終相が特定できず

算出できなかった。全血における薬物動態パラメーターは血漿におけるパラメーターと明らかな差はなかった。

75 mg/kg 投与群； 血漿における T<sub>max</sub> は雄で3時間、雌で4時間であり、その C<sub>max</sub> はそれぞれ 7.56 及び 17.7 µg eq./g であった。その消失半減期(T<sub>1/2</sub>)は雄で 7.52 時間であった。一方、雌では最終相が特定できず算出できなかった。全血における薬物動態パラメーターは血漿におけるパラメーターと明らかな差はなかった。C<sub>max</sub> 及び AUC (0-t) と用量との相関； C<sub>max</sub> または AUC (0-t)は、ほぼ用量に相関して増加した。雌における全身暴露 (C<sub>max</sub>、AUC) は、各用量で雄よりも約 1.3~2.5 倍高かった。

表2 血漿及び全血中の放射活性の経時変化 (µg eq./g；親化合物換算値、3匹平均)

用量	1 mg/kg				75 mg/kg			
	血漿		全血		血漿		全血	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0.25	0.026	0.021	0.023	0.017	0.938	1.840	0.941	1.267
0.50	0.047	0.062	0.041	0.043	2.665	5.195	2.427	3.258
1	0.072	0.100	0.068	0.073	5.933	8.735	4.874	5.018
1.5	0.076	0.111	0.071	0.087	5.308	11.105	4.594	6.469
2	0.066	0.113	0.055	0.095	4.587	10.057	3.641	6.133
3	0.075	0.160	0.075	0.126	7.556	17.417	6.314	10.915
4	0.065	0.120	0.062	0.098	6.876	17.684	6.249	12.180
6	0.086	0.143	0.061	0.112	4.521	14.570	4.135	10.206
12	0.025	0.029	0.026	-	2.946	9.076	2.547	5.998
24	0.010	0.007	0.010	0.006	0.394	0.545	-	-
48	0.003 *	0.001 *	0.004	0.001 *	0.106 *	0.072 *	0.120 *	0.099

-: 試料なし      \*: 検出限界未満を含むデータの平均値

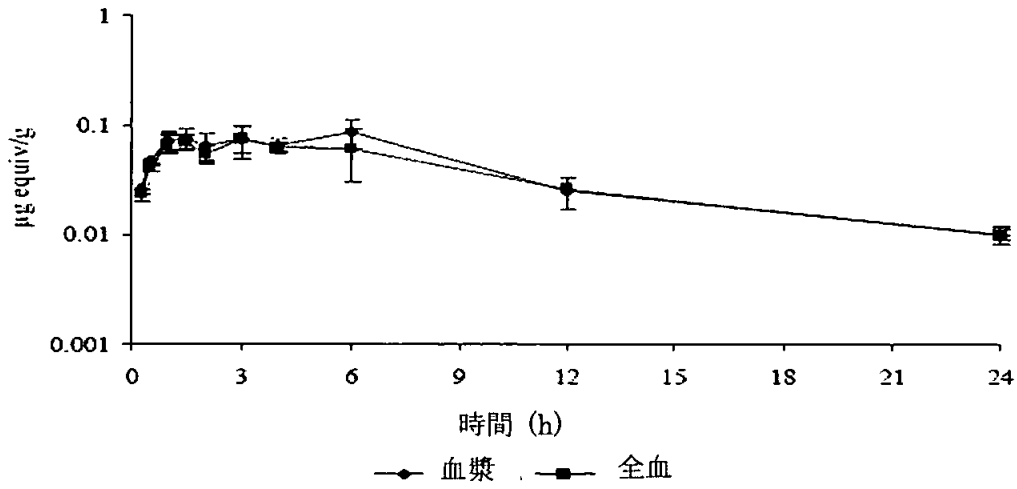


図 1 1 mg/kg 投与群雄の血漿及び血中濃度の推移

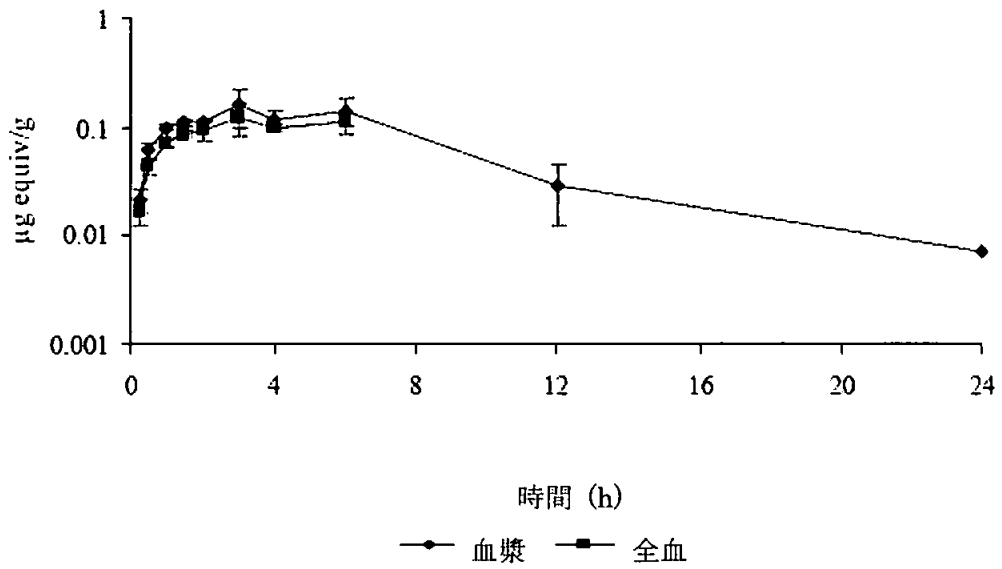


図 2 1 mg/kg 投与群雌の血漿及び血中濃度の推移

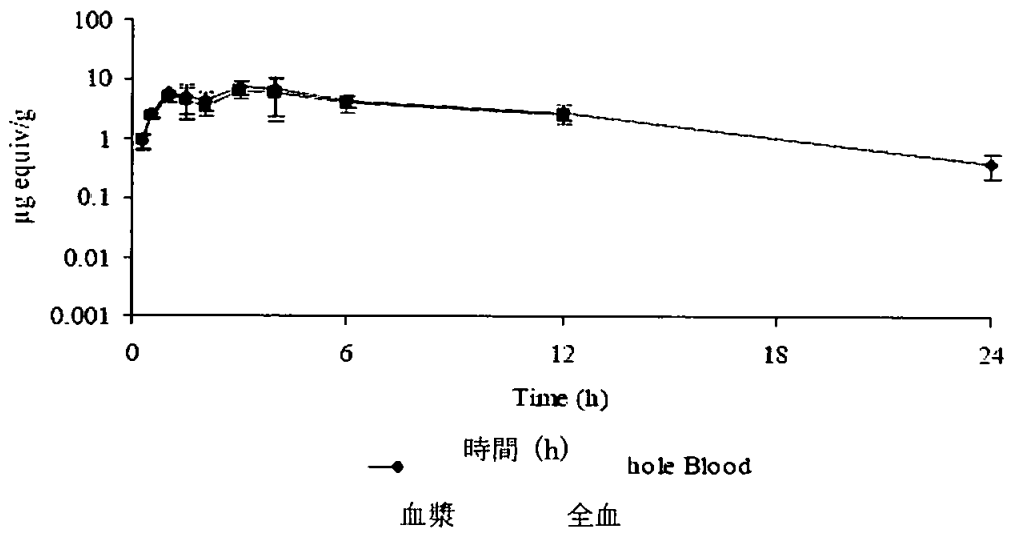


図 3 75 mg/kg 投与群雄の血漿及び血中濃度の推移

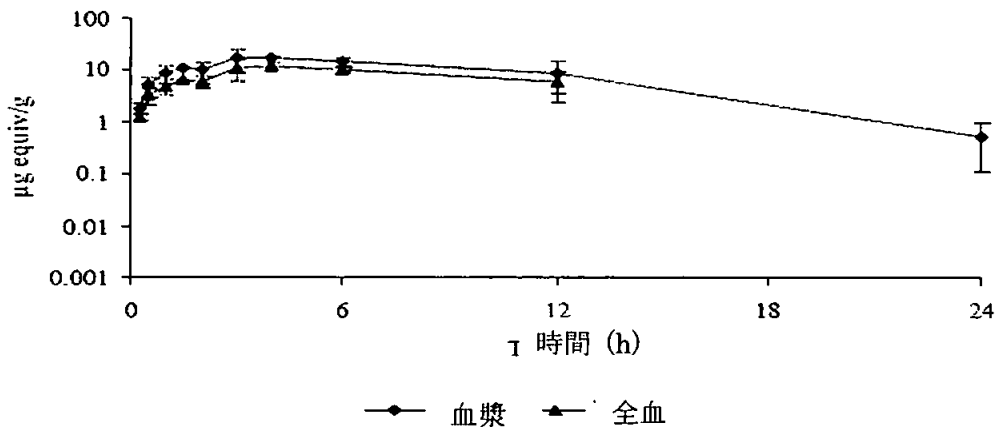


図 4 75 mg/kg 投与群雌の血漿及び血中濃度の推移

表3 薬物動態パラメーター（親化合物換算値）

用量	1 mg/kg									
	血漿					全血				
試料	Cmax	Tc max	AUC (0-48)	AUC (0-∞)	T <sub>1/2</sub>	Cmax	Tc max	AUC (0-48)	AUC (0-∞)	T <sub>1/2</sub>
雄	0.0857	6	1.14	NC	NC	0.0750	3	1.00	NC	NC
雌	0.160	3	1.44	1.49	4.60	0.126	3	1.62	1.67	4.81
用量	75 mg/kg									
	血漿					全血				
試料	Cmax	Tc max	AUC (0-48)	AUC (0-∞)	T <sub>1/2</sub>	Cmax	Tc max	AUC (0-48)	AUC (0-∞)	T <sub>1/2</sub>
雄	7.56	3	81.4	82.7	7.52	6.31	3	96.9	98.7	8.68
雌	17.7	4	207	NC	NC	12.2	4	210	211	6.21

NC.: 計算できず Cmax: µg eq./mL Tcmax: hr AUC: µg eq. · hr/mL T<sub>1/2</sub>: 時間 (hr)

表4 Cmax 及び AUC (0-t) と用量との相関（親化合物換算値）

	用量 (mg/kg)	雄		雌	
		Cmax (µg eq./mL)	AUC (0-t) (µg eq. · hr/mL)	Cmax (µg eq./mL)	AUC (0-t) (µg eq. · hr/mL)
血漿	1	0.0857	1.14	0.160	1.44
	75	7.56	81.4	17.7	207
	増加倍数	75	88.2	71.6	144
全血	1	0.0750	1.00	0.126	1.62
	75	6.31	96.9	12.2	210
	増加倍数	75	84.2	96.9	129

排泄試験； 48時間後までの排泄率および組織中残留を表5に示す。両用量群の雌雄において、投与放射能の大部分は糞へ排泄され、投与48時間後の排泄量は70.9～78.0% TARであった。また、尿中排泄率は12.9～18.0% TARであった。投与後48時間で90% TAR以上が排泄されたことから、速やかな放射能の排泄が示された。しかしながら、投与48時間後の消化管の残留量は2.8～5.2% TARであった（回収率：98.0～101.0% TAR）。

表 5 48 時間後までの累積排泄率および組織中残留 (3 匹平均)

用量		%TAR			
		1 mg/kg		75 mg/kg	
試料及び投与後時間 (hr)		雄	雌	雄	雌
尿	24	12.63	15.62	11.38	11.53
	48	14.53	18.03	12.93	14.27
糞	24	56.99	61.18	51.04	51.83
	48	77.76	72.50	78.00	70.90
ケージ洗液	24	3.50	5.52	2.72	6.35
	48	4.19	7.27	4.34	7.33
消化管+内容物	48	3.85	2.77	4.02	5.17
カーカス	48	0.71	0.45	0.87	0.36
回収率		101.04	101.02	100.16	98.02

ラットに  $-syn-^{14}C$  標識イソピラザムを 1 及び 75 mg/kg で単回経口投与後の雌雄ラットにおける血漿中濃度の  $T_{cmax}$  は投与後 3~6 時間であった。血中放射能の薬物動態パラメーターは血漿におけるパラメーターと明らかな違いはみられなかった。雌における全身暴露 ( $C_{max}$  あるいは  $AUC$ ) は雄よりも高い傾向を示した。

(2) ラットにおける排泄および組織中分布 (資料 No.M-02)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2008 年 ( ) [GLP 対応]

供試標識化合物： -syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム ( )

供試動物： Han Wistar ラット、1 群雌雄各 4 匹

投与時週齢；高用量群 6-7 週、低用量群 13 週

投与時体重範囲；低用量群 雄 217~224 g、雌 184~199 g

高用量群 雄 157~170 g、雌 126~143 g

方 法：

投 与； -syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム及び非標識イソピラザム ( ) をコーンオイルに懸濁し、投与液を調製した。

低用量は 1 mg/kg、高用量は 75 mg/kg とし (投与液量 5mL/kg)、単回経口投与した。群構成を表 1 にまとめる

表 1. 試験群構成

検討項目	用量 (mg/kg)	回数・経路	動物数	試料採取時点 (投与後時間)
排泄/ 組織分布	1	単回経口	雌雄 各 4 匹	尿：12、24、48、72、96、120、144、168 糞：24、48、72、96、120、144、168 組織*：168
	75		雌雄 各 4 匹	

\*：副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣 (雌)、膵臓、脾臓、胸腺、甲状腺、精巣 (雄)、子宮 (雌)、骨 (脛骨、腓骨)、脂肪 (腎周囲)、筋肉、カーカス、血液

[用量設定根拠]；



試料採取； 尿及び糞は各採取時点で採取後、水でケージを洗浄し、ケージ洗液とした。  
最終採取時点では、ラットを炭酸ガス麻酔により安楽死させ、血液、消化管、各組織及びカーカスを採取した。血液は一部を遠心分離して血漿を調製した。

放射能測定； 放射能は LSC で測定した。糞は水を加えて均質化後、全血はそのまま、組織および消化管は細断後、カーカスは磨砕後水を加えて均質化し、酸化燃焼法により LSC 測定した。尿、ケージ洗液及び血漿試料は直接 LSC 測定した。

結 果：

排 泄；排泄の経時変化および組織中残留を表 2 に示す。

1 mg/kg 投与群； 回収率は雄 106.0% TAR、雌 106.4% TAR であった。主要排泄経路は糞であり、投与後 168 時間で雄 83.0% TAR、雌 77.3% TAR が排泄された。また尿中には投与後 168 時間で雄 19.6% TAR、雌 27.1% TAR が排泄された。投与後の放射能の排泄は速やかであり、投与後 48 時間で雄 99.2% TAR、雌 102.4% TAR が排泄された。投与 168 時間後の消化管及びカーカスには有意な放射能は残存せず、投与放射能は投与後 168 時間で完全に排泄された。

75 mg/kg 投与群； 回収率は雄 95.7% TAR、雌 100.5% TAR であった。主要排泄経路は糞であり、投与後 168 時間で雄 79.4% TAR、雌 78.5% TAR が排泄された。また尿中には投与後 168 時間で雄 13.3% TAR、雌 17.5% TAR が排泄された。投与後の放射能の排泄は速やかであり、投与後 48 時間で雄 89.8% TAR、雌 92.2% TAR が排泄された。投与 168 時間後の消化管及びカーカスには有意な放射能は残存せず、投与放射能は投与後 168 時間で完全に排泄された。

表 2. 排泄の経時変化および組織中残留 (%TAR、4 匹平均)

用 量		1 mg/kg		75 mg/kg		
		雄	雌	雄	雌	
尿	0-12	14.7	20.5	7.5	7.8	
	12-24	3.2	4.7	3.5	6.8	
	24-48	1.2	1.5	1.7	2.4	
	0-48	19.1	26.7	12.7	17.0	
	48-72	0.3	0.3	0.3	0.3	
	72-96	0.1	0.1	0.1	0.1	
	96-120	0.0	0.0	0.1	0.1	
	120-144	0.0	0.0	0.0	0.0	
	144-168	0.0	0.0	0.0	0.0	
	0-168	19.6	27.1	13.3	17.5	
	糞	0-24	66.8	61.2	58.6	50.4
24-48		13.2	14.5	18.4	24.8	
0-48		80.0	75.7	77.0	75.2	
48-72		2.1	1.3	1.7	2.8	
72-96		0.7	0.2	0.4	0.3	
96-120		0.2	0.1	0.2	0.1	
120-144		0.1	0.0	0.1	0.1	
144-168		0.0	0.0	0.1	0.0	
0-168		83.0	77.3	79.4	78.5	
総ケージ洗液		3.3	1.9	2.9	4.4	
総排泄量		105.9	106.3	95.6	100.4	
消化管+内容物		0.0	0.0	0.0	0.0	
組織+カーカス*		<0.1	<0.1	0.1	<0.1	
回収率		106.0	106.4	95.7	100.5	

\*: 最終採取時点で採取した血液及び組織を含む

組織分布; 168 時間後の組織中分布を表 3 に示す。

1 mg/kg 投与群; 投与 168 時間後の組織中の放射能の最高レベルは肝臓で認められ、雄 0.010 $\mu$ g/g (0.059% TAR)、雌 0.005 $\mu$ g/g (0.026% TAR) であった。また腎臓においても雄 0.003 $\mu$ g/g (0.003% TAR)、雌 0.002 $\mu$ g/g (0.002% TAR) が検出された。

75 mg/kg 投与群; 投与 168 時間後の組織中の放射能の最高レベルは肝臓で認められ、雄 0.586 $\mu$ g/g (0.049% TAR)、雌 0.284 $\mu$ g/g (0.023% TAR) であった。また雄の腎臓では 0.121  $\mu$ g/g (0.002% TAR) が検出されたが雌では検出限界以下であった。

表 3. 168 時間後の組織中放射能分布 (4 匹平均)

用 量	1 mg/kg				75 mg/kg			
	雄		雌		雄		雌	
性 別	μg/g*	%TAR	μg/g*	%TAR	μg/g*	%TAR	μg/g*	%TAR
試 料	μg/g*	%TAR	μg/g*	%TAR	μg/g*	%TAR	μg/g*	%TAR
副腎	<0.002	<0.001	<0.002	<0.001	<0.147	<0.001	<0.079	<0.001
骨	<0.001	<0.00001	<0.001	<0.0001	<0.013	<0.0001	<0.003	<0.00001
脳	<0.001	<0.0001	<0.001	<0.001	<0.008	<0.001	<0.003	<0.0001
脂肪 (腎 周囲)	<0.001	<0.0001	0.005	0.001	<0.022	<0.0001	<0.218	<0.001
消化管	0.001	0.010	0.001	0.013	0.087	0.021	0.059	0.013
心臓	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.023	<0.001	<0.00001	<0.00001
腎臓	0.003	0.003	0.002	0.002	0.121	0.002	<0.057	<0.001
肝臓	0.010	0.059	0.005	0.026	0.586	0.049	0.284	0.023
肺	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.035	<0.001	<0.005	<0.001
筋肉	<0.001	<0.0001	<0.001	<0.0001	<0.025	<0.001	<0.027	<0.0001
卵巣	-	-	<0.002	<0.001	-	-	<0.071	<0.001
膵臓	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.042	<0.001	<0.042	<0.001
血漿	<0.001	<0.0001	<0.001	<0.00001	<0.007	<0.00001	<0.010	<0.00001
カーカス	<0.0001	<0.005	<0.001	<0.049	<0.088	<0.106	<0.053	<0.063
脾臓	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.032	<0.001	<0.010	<0.0001
精巣	<0.001	<0.001	-	-	<0.012	<0.001	-	-
胸腺	<0.001	<0.0001	<0.001	<0.0001	<0.011	<0.001	<0.00001	<0.00001
甲状腺	<0.003	<0.0001	<0.002	<0.0001	<0.087	<0.0001	<0.073	<0.00001
子宮	-	-	<0.001	<0.0001	-	-	<0.002	<0.00001
全血	<0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.058	<0.001	<0.054	<0.001

\*親化合物換算値

-: 試料なし      結果が検出限界未満の場合は必要に応じて最大 5 桁まで表示した。

-syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム投与後の放射能の排泄経路および速度は両用量群および雌雄で類似しており、主要排泄経路は糞であるが、尿への排泄も見られた。投与放射能は速やかに排泄され、48 時間後までに大部分が排泄された。投与 168 時間後の組織中放射能の分布は雌雄で類似しており、肝臓と腎臓 (75 mg/kg 投与群では雄のみ) に比較的高い放射能が認められた。

(3) ラットにおける組織中分布の経時変化

(資料No.M-03)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2008年 ( ) [GLP 対応]

供試標識化合物： -syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム ( )

供試動物： Han Wister ラット、1群雌雄各15匹

投与時体重範囲； 雄 174~250 g、雌 107~173 g

方 法：

投 与； -syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザムおよび非標識イソピラザム ( ) をコーンオイルに懸濁し、投与液を調製した。

低用量は 1 mg/kg、高用量は 75 mg/kg とし (投与液量 5mL/kg)、単回経口投与した。群構成を表 1 に示す。

[用量設定根拠]；

表 1. 群構成

群	用量 (mg/kg)	回数/経路	動物数	試料採取時点 (投与後時間)
低用量	1	単回経口	雌雄各 15 匹	組織# : 6、12、24、48、96
高用量	75		雌雄各 15 匹	組織# : 10、18、24、48、96

# : 副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、卵巣、膵臓、脾臓、胸腺、甲状腺、精巣、子宮、骨 (脛骨、腓骨)、脂肪 (腎周囲)、筋肉

試料採取； 各採取時点で、1群雌雄各3匹のラットを安楽死させ、血液、消化管（および内容物）、各組織およびカーカスを採取した。血液は心臓又は大静脈より採取し、一部を遠心分離して血漿を得た。

放射能測定； 血漿は直接LSCで放射能測定した。全血はそのまま、組織および消化管は細断後、カーカスは磨砕し水を加えて均質化後、酸化燃焼法によりLSCで放射能測定した。

## 結 果：

低用量群； 組織中分布の経時変化を表2および表3に示す。

雄における組織中最大放射能レベルは投与後6時間で認められ、消化管を除き、カーカスおよび肝臓で最高レベルを示し、それぞれ3.1% TAR および2.3% TARであった。肝臓(0.551 μg/g)、腎臓(0.310 μg/g) および副腎(0.196 μg/g)で高濃度の放射能が検出された。その後、放射能はすべての組織で経時的に減衰し、投与後96時間における放射能濃度は低く、カーカスで0.58% TAR、消化管で4.9% TARであった。

雌における組織中最大放射能レベルは投与後6時間で認められ、消化管を除き、カーカスおよび肝臓で最高レベルを示し、それぞれ7.1% TAR および2.6% TARであった。肝臓(0.677 μg/g)、腎臓(0.397 μg/g)、副腎(0.356 μg/g)及び脂肪(0.351 μg/g)で高濃度の放射能が検出された。雌の投与6時間後の残留量は雄における残留量よりも高く、雌では放射能の吸収および分布が雄よりも速いことが示された。その後、放射能はすべての組織で経時的に減衰し、投与後96時間における放射能濃度は低く、カーカスでは0.53% TAR、消化管で3.1% TARであった。組織中の放射能の減衰をWinNonlin Pro (ver.5.2)を用いてノンコンパートメント解析で求めた半減期を表4に示す。残留放射能が低い組織を除いた各組織中の排泄半減期は、雄では血液、心臓、腎臓、肝臓及び肺で、29～53時間、血漿および骨ではそれぞれ、11 および87時間であった。一方、雌では、骨、脳および血漿で、3～5時間、胸腺、子宮、肺、肝臓、脂肪、脾臓および腎臓では、それぞれ10、14、23、24、53、67及び71時間であった。

表 2 低用量群の組織中分布の経時変化 (µg/g、親化合物換算値、3 匹平均)

用量	1 mg/kg									
	雄					雌				
採取時点 (hr)	6	12	24	48	96	6	12	24	48	96
副腎	0.196	0.051	0.016	0.011	0.013	0.356	0.068	0.013	0.006	0.019
骨	0.021	0.007	0.004	0.002	0.003	0.032	0.007	0.002	0.001	0.001
脳	0.007	0.002	0.001	0.000	0.004	0.058	0.009	0.001	0.001	0.001
脂肪 (腎周囲)	0.032	0.017	0.008	0.004	0.008	0.351	0.162	0.031	0.022	0.012
心臓	0.072	0.021	0.012	0.003	0.006	0.145	0.027	0.006	0.002	0.002
腎臓	0.310	0.067	0.033	0.020	0.012	0.397	0.056	0.015	0.009	0.007
肝臓	0.551	0.233	0.106	0.049	0.030	0.677	0.179	0.044	0.025	0.015
肺	0.078	0.023	0.012	0.003	0.005	0.132	0.028	0.006	0.003	0.002
筋肉	0.038	0.010	0.005	0.001	0.005	0.082	0.018	0.003	0.001	0.002
卵巣	-	-	-	-	-	0.179	0.049	0.011	0.005	0.028
膵臓	0.066	0.026	0.010	0.003	0.007	0.204	0.046	0.009	0.005	0.004
脾臓	0.050	0.015	0.007	0.002	0.006	0.087	0.019	0.004	0.002	0.006
精巣	0.027	0.009	0.004	0.001	0.004	-	-	-	-	-
胸腺	0.048	0.011	0.006	0.001	0.005	0.072	0.014	0.003	0.001	0.001
甲状腺	0.068	0.030	0.010	0.002	0.040	0.164	0.031	0.009	0.001	0.012
子宮	-	-	-	-	-	0.122	0.040	0.007	0.005	0.002
消化管	6.161	2.708	1.489	0.471	0.303	7.037	3.023	0.732	0.389	0.223
カーカス	0.042	0.022	0.014	0.008	0.007	0.099	0.081	0.029	0.013	0.007
全血	0.072	0.021	0.013	0.004	0.002	0.083	0.018	0.005	0.003	0.001
血漿	0.088	0.026	0.014	0.003	0.001	0.125	0.025	0.005	0.002	0.001

-: 該当せず

表 3 低用量群の組織中分布の経時変化 (%TAR、3 匹平均)

用量	1 mg/kg									
	雄					雌				
採取時点 (hr)	6	12	24	48	96	6	12	24	48	96
副腎	0.005	0.001	0.000	0.000	0.000	0.012	0.003	0.001	0.000	0.001
脳	0.007	0.002	0.001	0.000	0.003	0.058	0.009	0.001	0.001	0.001
心臓	0.031	0.009	0.005	0.001	0.002	0.060	0.011	0.002	0.001	0.001
腎臓	0.298	0.056	0.029	0.019	0.011	0.342	0.047	0.013	0.007	0.006
肝臓	2.344	1.040	0.505	0.276	0.146	2.598	0.761	0.249	0.122	0.076
肺	0.054	0.017	0.011	0.002	0.004	0.095	0.028	0.006	0.002	0.001
卵巣	-	-	-	-	-	0.012	0.003	0.001	0.000	0.002
膵臓	0.016	0.008	0.003	0.001	0.002	0.056	0.016	0.004	0.001	0.001
脾臓	0.012	0.003	0.002	0.000	0.002	0.020	0.004	0.001	0.000	0.001
精巣	0.038	0.013	0.006	0.002	0.006	-	-	-	-	-
胸腺	0.009	0.003	0.002	0.000	0.001	0.021	0.004	0.001	0.000	0.000
甲状腺	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000
子宮	-	-	-	-	-	0.030	0.015	0.001	0.001	0.001
消化管	90.165	45.112	19.753	8.640	4.916	84.537	37.177	10.420	4.853	3.130
カーカス	3.115	1.737	1.066	0.645	0.579	7.125	6.038	2.221	1.021	0.526

-: 該当せず

表 4 低用量群の組織中放射能の半減期 (hr)

用量	1 mg/kg	
	雄	雌
性別		
副腎	NC	NC
骨	87.1	4.72
脳	NC	3.16
カーカス	80.1	36.9
脂肪 (腎周囲)	NC	52.9
心臓	53.0	NC
腎臓	34.8	70.6
肝臓	42.0	24.3
肺	43.1	23.0
筋肉	NC	NC
卵巣	-	NC
脾臓	NC	67.2
血漿	11.4	4.02
脾臓	NC	NC
精巣	NC	-
胸腺	NC	9.99
甲状腺	NC	NC
子宮	-	13.5
全血	28.5	NC

-: 該当せず NC: 残留放射能が低いために計算せず

高用量群; 組織中分布の経時変化を表 5 および表 6 に示す。

雄における組織中最大放射能レベルは投与後 10 時間で認められ、消化管を除き、カーカスおよび肝臓で最高レベルを示し、それぞれ 6.9%TAR および 2.5%TAR であった。肝臓 (53.5  $\mu\text{g/g}$ )、腎臓 (17.0  $\mu\text{g/g}$ )、甲状腺 (16.1  $\mu\text{g/g}$ )、骨 (14.1  $\mu\text{g/g}$ ) および副腎 (13.8  $\mu\text{g/g}$ ) で高濃度の放射能が認められた。また脂肪、脾臓および肺中濃度も全血中濃度 (5.14  $\mu\text{g/g}$ ) よりも高かった。その後、放射能はすべての組織で経時的に減衰し、投与後 96 時間では、肝臓 (2.16  $\mu\text{g/g}$ )、腎臓 (0.596  $\mu\text{g/g}$ )、脂肪 (0.584  $\mu\text{g/g}$ )、脾臓 (0.258  $\mu\text{g/g}$ ) および肺 (0.149  $\mu\text{g/g}$ ) で有意な放射能が認められた。カーカスおよび消化管中の残留放射能はそれぞれ 0.48%TAR および 3.93%TAR であった。

雌における組織中最大放射能レベルは投与後 10 時間で認められ、消化管を除き、カーカスおよび肝臓で最高レベルを示し、それぞれ 8.2%TAR および 1.8%TAR であった。脂肪 (58.0  $\mu\text{g/g}$ )、肝臓 (35.5  $\mu\text{g/g}$ )、卵巣 (23.7  $\mu\text{g/g}$ )、副腎 (28.2  $\mu\text{g/g}$ ) および子宮 (20.2  $\mu\text{g/g}$ ) で高濃度の放射能が検出された。また脾臓、腎臓、肺、甲状腺、心臓および脾臓中濃度も全血中濃度 (6.13  $\mu\text{g/g}$ )

よりも高かった。その後、放射能はすべての組織で経時的に減衰し、投与後 96 時間では、肝臓 (0.579 µg/g) および脂肪 (0.426 µg/g) で比較的高い放射能が認められた。カーカスおよび消化管中の残留放射能は低レベルであり、雌での放射能の排泄がより速いことが示された。組織中の放射能の減衰を WinNonlin Pro (ver.5.2) を用いてノンコンパートメント解析で求めた半減期を表 7 に示す。残留放射能が低い組織を除いた各組織中の排泄半減期は、雄では副腎、心臓、筋肉、血漿、脾臓、精巣および胸腺で、4~6 時間、血液、肺、脂肪および腎臓ではそれぞれ、8、24、48 及び 49 時間であった。一方雌では、副腎、肺、卵巣、血漿、脾臓および胸腺で、3~5 時間、筋肉、脾臓、子宮および血液で、6~7 時間、脂肪および肝臓ではそれぞれ 17 および 29 時間であった。

表 5 高用量群の組織中分布の経時変化 (µg/g、親化合物換算値、3 匹平均)

用量	75 mg/kg									
	雄					雌				
採取時点 (hr)	10	18	24	48	96	10	18	24	48	96
副腎	13.787	5.437	2.658	0.423	0.437	28.247	7.837	1.381	0.485	0.113
骨	14.112	0.734	0.233	0.055	0.059	3.165	1.624	0.176	0.096	0.002
脳	0.798	0.308	0.049	0.070	0.016	5.573	1.292	0.101	0.035	0.000
脂肪 (腎周囲)	7.195	2.868	1.617	1.312	0.584	58.014	26.671	9.263	2.226	0.426
心臓	5.141	2.624	0.479	0.083	0.133	9.388	4.108	0.448	0.071	0.013
腎臓	16.972	7.278	1.922	0.671	0.596	15.173	10.553	1.257	0.321	0.105
肝臓	53.465	25.482	7.009	2.340	2.155	35.455	19.318	3.431	1.382	0.579
肺	6.185	2.814	0.520	0.086	0.149	10.260	4.238	0.669	0.102	0.017
筋肉	2.542	1.182	0.261	0.060	0.082	5.655	3.310	0.349	0.091	0.030
卵巣	-	-	-	-	-	23.669	8.064	2.805	0.412	0.217
脾臓	6.615	2.760	0.636	0.238	0.258	16.596	7.804	1.475	0.307	0.072
脾臓	2.949	1.545	0.284	0.060	0.087	6.355	3.150	0.268	0.054	0.013
精巣	1.703	0.946	0.181	0.037	0.053	-	-	-	-	-
胸腺	2.556	1.038*	0.274	0.037	0.059	5.813	2.298	0.204	0.026	0.002
甲状腺	16.136	2.208	0.998	0.097	0.190	9.665	4.223	0.731	0.089	0.015
子宮	-	-	-	-	-	20.169	7.799	2.863	0.472	0.046
消化管	535.64	293.00	141.79	18.656	29.297	520.55	245.04	82.896	11.301	0.441
カーカス	7.761	2.644	0.843	0.675	0.482	9.982	7.912	2.203	0.639	0.201
全血	5.140	2.623	0.450	0.167	0.219	6.129	2.893	0.385	0.160	0.082
血漿	6.429	3.300	0.563	0.079	0.126	9.939	4.057	0.332	0.054	0.001

- : 該当せず \* : 2 匹の平均値



表 6 高用量群の組織中分布の経時変化 (%TAR、3 匹平均)

用量	75 mg/kg									
	雄					雌				
性別										
採取時点 (hr)	10	18	24	48	96	10	18	24	48	96
副腎	0.004	0.001	0.001	0.000	0.000	0.011	0.003	0.001	0.000	0.000
脳	0.007	0.003	0.000	0.001	0.000	0.065	0.018	0.001	0.000	0.000
心臓	0.024	0.011	0.002	0.000	0.001	0.049	0.022	0.002	0.000	0.000
腎臓	0.161	0.066	0.018	0.007	0.010	0.153	0.118	0.014	0.004	0.001
肝臓	2.489	1.437	0.462	0.148	0.113	1.826	1.106	0.246	0.089	0.043
肺	0.048	0.024	0.004	0.001	0.001	0.134	0.056	0.006	0.001	0.000
卵巣	-	-	-	-	-	0.016	0.006	0.002	0.000	0.000
膵臓	0.021	0.009	0.002	0.001	0.002	0.047	0.034	0.008	0.002	0.001
脾臓	0.008	0.004	0.001	0.000	0.000	0.017	0.010	0.001	0.000	0.000
精巣	0.027	0.014	0.003	0.001	0.001	-	-	-	-	-
胸腺	0.007	0.002*	0.001	0.000	0.000	0.021	0.009	0.001	0.000	0.000
甲状腺	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000
子宮	-	-	-	-	-	0.035	0.041	0.008	0.002	0.000
消化管	87.354	44.730	23.166	3.067	3.932	93.282	45.770	13.612	2.053	0.080
カーカス	6.913	2.345	0.771	0.615	0.479	8.152	7.015	2.034	0.562	0.194

- : 該当せず \* : 2 匹の平均値

表 7 高用量群の組織中放射能の半減期 (hr)

用量	75 mg/kg	
	雄	雌
副腎	5.90	3.26
骨	NC	NC
脳	NC	NC
カーカス	90.5	9.28
脂肪 (腎周囲)	47.7	16.7
心臓	4.20	NC
腎臓	48.5	NC
肝臓	NC	29.2
肺	23.8	3.64
筋肉	4.36	6.30
卵巣	-	4.58
膵臓	NC	6.63
血漿	4.10	2.94
脾臓	4.27	3.17
精巣	4.46	-
胸腺	4.42	2.98
甲状腺	NC	NC
子宮	-	7.17
全血	7.78	7.35

- : 該当せず NC : 残留放射能が低いために計算せず

以上より、 $\text{-syn-}^{14}\text{C}$  標識イソピラザム経口投与後の組織中放射能の最高濃度は低用量および高用量群で、それぞれ投与後 6 時間および 10 時間で認められた。その後、全組織中の放射能は半減期 3~87 時間で減衰した。

低用量群の投与 96 時間後では、組織中の放射能濃度は多くの組織で低く、カーカスおよび消化管に残留する放射能はそれぞれ 0.58 (雄) ~0.53 (雌) %TAR および 4.9 (雄) ~3.1 (雌) %TAR であった。高用量群の投与 96 時間後では、雄の肝臓、腎臓、脂肪、脾臓および肺に、雌の肝臓および脂肪に有意な放射能が認められた。カーカスおよび消化管に残留する放射能は雄では 0.48%TAR および 3.93%TAR であったが、雌では何れも極めて低レベルであった。

(4) ラットにおける胆汁排泄試験 (資料 No.M-04)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2008 年 ( ) [GLP 対応]

供試標識化合物： - *syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム ( )

供試動物： Han Wistar ラット、1 群雌雄各 4 匹

投与時週齢；10～11 週

投与時体重範囲；雄 260～297 g、雌 180～204 g

方 法：

投 与； - *syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム及び非標識イソピラザム ( ) をコーンオイルに懸濁し、投与液を調製した。

低用量は 1 mg/kg、高用量は 75 mg/kg とし (投与液量 5mL/kg)、胆管カニューレを挿入したラットに単回経口投与した。群構成を表 1 に示す。

[用量設定根拠]；

表 1. 群構成

群	用量 (mg/kg)	回数/経路	動物数	試料採取時点 (投与後時間)
低用量群	1	単回経口	雌雄各 4 匹	胆汁：0-0.5、0.5-1.0、1-2、2-4、4-8、8-24、24-48 尿/糞：24、48 血液/消化管/カーカス：48
高用量群	75		雌雄各 4 匹	

試料採取； 胆汁は各採取時点で胆管カニューレにより採取した。尿及び糞は各採取時点で採取後、水でケージを洗浄し、ケージ洗液とした。最終採取時点では、ラ

ットを炭酸ガス麻酔により安楽死させ、血液、消化管及びカーカスを採取した。  
血液試料は一部を遠心分離により血漿を得た。

放射能測定； 尿、胆汁、ケージ洗液および血漿試料は、直接 LSC で放射能測定した。  
糞は水を加えて均質化後、全血はそのまま、消化管は細断後、カーカスは磨砕し、水を加えて均質化後、酸化燃焼法により LSC 測定した。

#### 結 果：

排 泄； 各群の排泄率の経時変化および組織中残留を表 2 に示す。

低用量群； 主要排泄経路は雌雄ともに胆汁であり、投与後 48 時間でそれぞれ 47.6% TAR および 57.9% TAR が胆汁中に排泄された。糞への排泄は、雄で 26.4% TAR、雌で 35.7% TAR、尿中への排泄は、雄で 14.9% TAR、雌で 15.9% TAR であった。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 24 時間で約 97.1 (雄) ~ 96.9 (雌) % TAR が排泄された。投与後 48 時間における消化管、カーカスおよび血漿/全血中の放射能の残留は極めて低く、放射能はほぼ完全に排泄されていた。尚、回収率は 101.8 ~ 102.8% TAR であった。

高用量群； 主要排泄経路は雌雄ともに胆汁であり、投与後 48 時間でそれぞれ 57.0% TAR 及び 54.7% TAR が胆汁中に排泄された。糞への排泄は、雄で 27.3% TAR、雌で 21.2% TAR、尿中への排泄は、雄で 7.3% TAR、雌で 13.6% TAR であった。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 48 時間で 91.0% (雄) ~ 94.4 (雌) % TAR が排泄された。投与後 48 時間における消化管、カーカスおよび血漿/全血中の放射能の残留は極めて低く、放射能はほぼ完全に排泄されていた。尚、回収率は 92.2 ~ 95.4% TAR であった。

吸収率；  $^{-syn-^{14}C}$  イソピラザムの消化管からの吸収率を、尿、胆汁、カーカスからの放射能の回収量を合計して求めた。低用量 (1 mg/kg) 群における吸収率は雄で 72.9%、雌で 63.7% であった。高用量 (75 mg/kg) 群における吸収率は雄で 63.1%、雌で 71.4% であった。

表2 排泄率の経時変化および組織中残留 (4匹平均)

用量		%TAR			
		1 mg/kg		75 mg/kg	
試料および投与後時間 (hr)		雄	雌	雄	雌
胆汁	0-0.5	<0.03	<0.00	<0.00	<0.00
	0.5-1	1.8	0.9	<0.2	0.2
	1-2	4.9	3.6	1.7	1.5
	2-4	19.8	14.7	5.1	4.8
	4-8	16.9	10.7	17.9	12.4
	8-24	14.0	16.6	27.4	32.7
	24-48	0.5	1.3	2.5	5.6
	0-48	57.9	47.6	54.7	57.0
尿	0-24	14.2	14.7	6.6	11.0
	24-48	0.7	1.2	0.7	2.5
	0-48	14.9	15.9	7.3	13.6
糞	0-24	23.5	33.7	20.8	16.8
	24-48	2.9	2.0	6.5	4.4
	0-48	26.4	35.7	27.3	21.2
総ケージ洗液	24/48	2.4	3.3	1.6	2.7
総排泄量	0-48	101.6	102.5	91.0	94.4
消化管+内容物	48	0.1	0.2	0.2	0.2
カーカス	48	0.1	0.2	1.1	0.8
回収率		101.8	102.8	92.2	95.4
吸収率		72.9	63.7	63.1	71.4
		μg/g (親化合物換算値)			
血漿	48	<0.001	<0.0005	<0.046	<0.064
全血	48	<0.002	<0.0003	<0.061	<0.057

以上より、 $^{-14}\text{C}$  イソピラザムを胆管カニューレ挿入ラットに 1 mg/kg および 75 mg/kg の用量で単回経口投与後の放射能の排泄は、何れの用量群及び雌雄においても速やかであり、その主要排泄経路は胆汁であった。また、吸収率は 63.1~72.9%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シンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

(5) ラットにおける胆汁排泄試験 (*syn/anti* 異性体比較試験) (資料 No.M-05)

試験実施機関: ( )

報告書作成年: 2008 年 ( ) [GLP 対応]

試験目的:

供試標識化合物:

(1) -*syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム (以下 *syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム)

(2) -*anti*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム (以下 *anti*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム)

供試動物: Han Wister ラット、

一群雌雄各 4 匹 (高用量 *syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム投与群雌のみ 7 匹)

投与時週齢; 11~16 週

投与時体重範囲; 雄 208~390 g、雌 144~236 g

方 法：

投 与；表 1 のとおり  $^{14}\text{C}$  標識イソピラザムおよび非標識イソピラザムを混合し、コーンオイルに懸濁して投与液 1 および 2 ( ) を調製した。低用量は 2 mg/kg、高用量は 75 mg/kg とし (投与液量 5mL/kg)、胆管カニューレ挿入ラットに単回経口投与した。群構成を表 2 に示した。

表 1. 投与液の調製

	投与液 1	投与液 2
標識体	<i>syn</i> - $^{14}\text{C}$ 標識体	<i>anti</i> - $^{14}\text{C}$ 標識体
非標識体	<i>anti</i> -非標識体	<i>syn</i> -非標識体
純度		
<i>syn/anti</i> 比		
投与液の <i>syn/anti</i> 比		

[用量設定根拠]；

表 2. 群構成

投与液	標識位置	用量 (mg/kg)	回数/経路	動物数	試料採取時点 (投与後時間)
1	<i>syn</i> - $^{14}\text{C}$ 標識	2	単回経口	雌雄 各 4 匹	胆汁： 0-0.5、0.5-1、1-2、 2-4、4-8、8-24、 24-48、48-72 尿 / 糞： 24、48、72 血液 / 消化管 / カーカ ス： 72
		75		雄 4 匹 雌 2 匹*	
2	<i>anti</i> - $^{14}\text{C}$ 標識	2		雌雄 各 4 匹	
		75		雌雄 各 4 匹	

\*： カニューレ挿入措置、一般状態の悪化等のために最終的に採用した動物数

試料採取： 胆汁は各採取時点で胆管カニューレにより採取した。尿及び糞は各採取時点で採取後、水でケージを洗浄し、ケージ洗液とした。最終採取時点では、ラットを炭酸ガス麻酔により安楽死させ、血液、消化管およびカーカスを採取した。血液試料の一部を遠心分離して血漿を得た。

放射能測定： 尿、胆汁、ケージ洗液および血漿試料は直接 LSC で放射能を測定した。糞は水を加えて均質化後、全血はそのまま、消化管は細断後、カーカスは磨碎

し、水を加えて均質化後、酸化燃焼法により LSC で放射能を測定した。

結 果：

排 泄；

(1) *syn*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム投与群

排泄の経時変化および組織中残留を表 3 に示す。各用量群及び雌雄において投与後 72 時間における総排泄量（ケージ洗液を含む）は 96.2～100.8%TAR であり、回収率は 96.4～101.0%TAR であった。

低用量群； 主要排泄経路は雌雄ともに胆汁であり、投与後 72 時間で雄 56.3%TAR、雌 48.9%TAR であった。糞および尿中への排泄量は、雄で 23.8 および 15.4%TAR、雌で 19.8 および 26.0%TAR であった。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 24 時間で雄 87.5%TAR、雌 84.6%TAR が排泄された。投与後 72 時間における消化管、カーカスおよび血漿/全血中の放射能の残留量は極めて低く、放射能はほぼ完全に排泄されていた。

高用量群； 主要排泄経路は雄では胆汁次いで糞であり、投与後 72 時間でそれぞれ 58.0%TAR および 34.1%TAR であった。雌における主要排泄経路は、糞（48.3%TAR）および胆汁（41.6%TAR）であった。尿中へは、雄で 7.6%TAR、雌で 7.0%TAR が排泄された。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 24 時間で雄 95.0%TAR、雌 93.9%TAR が排泄された。投与後 72 時間における消化管、カーカスおよび血漿/全血中の放射能の残留量は極めて低く、放射能はほぼ完全に排泄されていた。

(2) *anti*-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム投与群

排泄の経時変化および組織中残留を表 4 に示す。各用量群および雌雄において投与後 72 時間における総排泄量（ケージ洗液を含む）は 94.3～98.7%TAR であり、回収率は 94.5～99.1%TAR であった。

低用量群； 主要排泄経路は雌雄ともに胆汁および糞であり、投与後 72 時間で雄 38.3 および 32.5%TAR、雌 56.1 および 28.3%TAR であった。尿中への排泄量は雄で 22.1%TAR、雌で 12.2%TAR であり、雄で若干多かった。投与放射能の排泄は速やかであり、投与後 24 時間で雄 84.4%TAR、雌 84.5%TAR が排泄された。投与後 72 時間における消化管、カーカスおよび血漿/全血中の放射能の残留量は極めて低く、放射能はほぼ完全に排泄されていた。

高用量群； 主要排泄経路は雄では糞および胆汁であり、投与後 72 時間でそれぞれ 38.3%TAR および 36.5%TAR であった。雌における主要排泄経路は、胆汁（61.1%TAR）であり、次に糞（20.4%TAR）であった。尿中への排泄は、雄で 16.3%TAR、雌で 15.9%TAR であった。投与放射能の排泄は速やかであり、



雄では投与後 24 時間で 84.9% TAR、雌では投与後 48 時間で 97.0% TAR が排泄された。投与後 72 時間における消化管、カーカスおよび血漿/全血中の放射能の残留量は極めて低く、放射能はほぼ完全に排泄されていた。

吸収率；  $syn-^{14}C$  標識イソピラザムおよび  $anti-^{14}C$  標識イソピラザムの消化管からの吸収率を、尿、胆汁、カーカスからの放射能の回収量の合計として求め、結果を表 5 に示す。 $syn-^{14}C$  標識イソピラザムおよび  $anti-^{14}C$  標識イソピラザムとも、高用量で吸収率に雌雄差が認められたが、各群の雌雄平均値は 57.2~73.5% であった。吸収率はジアステレオマー ( $syn$  および  $anti$ ) 間で差はないと判断された。

以上より、吸収および排泄にジアステレオマー間 ( $syn$  および  $anti$ ) で差はないと判断された。

表3  $syn-^{14}C$  標識イソピラザム投与群の排泄の経時変化および組織中残留 (4匹平均)

単位		%TAR			
用量		2 mg/kg		75 mg/kg	
試料および投与後時間 (hr)		雄	雌	雄	雌*
胆汁	0-0.5	<0.0	<0.0	<0.0	<0.0
	0.5-1	<0.3	<0.3	<0.0	0.0
	1-2	3.5	3.4	3.9	1.4
	2-4	8.8	10.2	10.0	5.2
	4-8	18.6	18.4	16.3	7.7
	8-24	23.5	14.7	25.1	25.2
	24-48	1.4	1.7	2.0	1.9
	48-72	0.1	0.2	0.3	0.1
	0-72	56.3	48.9	58.0	41.6
	尿	0-24	14.6	23.8	6.7
24-48		0.8	2.1	0.7	0.7
48-72		0.1	0.1	0.2	0.1
0-72		15.4	26.0	7.6	7.0
糞	0-24	17.5	12.8	31.6	46.6
	24-48	5.8	6.6	2.1	1.5
	48-72	0.5	0.4	0.4	0.1
	0-72	23.8	19.8	34.1	48.3
総ケージ洗液	0-72	1.1	1.5	1.2	1.8
総排泄量	0-72	96.6	96.2	100.8	98.7
消化管+ 内容物	72	<0.0	0.0	0.1	0.0
カーカス	72	<0.1	0.2	0.1	0.1
総回収率		96.8	96.4	101.0	98.7
μg/g (親化合物換算値)					
血漿	72	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
全血	72	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

\* : 2匹の平均値      <LOD : 検出限界以下

表 4 anti-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム投与群の排泄の経時変化および組織中残留 (4 匹平均)

単位		%TAR			
用量		2 mg/kg		75 mg/kg	
試料および投与後時間 (hr)		雄	雌	雄	雌
胆汁	0-0.5	<0.0	<0.0	<0.0	<0.0
	0.5-1	0.2	0.2	<0.0	0.1
	1-2	1.8	2.8	2.6	1.3
	2-4	5.5	7.2	7.4	3.9
	4-8	11.0	12.8	10.6	6.8
	8-24	17.8	25.8	13.5	28.1
	24-48	1.9	6.5	1.9	20.2
	48-72	0.2	0.6	0.4	0.7
	0-72	38.3	56.1	36.5	61.1
	尿	0-24	19.8	9.0	14.7
24-48		2.0	2.6	1.3	6.2
48-72		0.3	0.6	0.3	0.3
0-72		22.1	12.2	16.3	15.9
糞	0-24	25.8	24.9	33.7	13.1
	24-48	6.4	3.2	3.5	6.7
	48-72	0.2	0.2	1.1	0.6
	0-72	32.5	28.3	38.3	20.4
総ケージ洗液	0-72	3.5	2.1	3.2	1.3
総排泄量	0-72	96.4	98.7	94.3	98.6
消化管+ 内容物	72	0.0	0.1	0.1	0.0
カーカス	72	0.2	0.3	0.2	0.2
総回収率		96.6	99.1	94.5	98.8
μg/g (親化合物換算値)					
血漿	72	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
全血	72	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

<LOD: 検出限界以下

表 5 各群における吸収率 (%)

標識体	用量 (mg/kg)	雄	雌	平均*
syn- <sup>14</sup> C 標識イソピラザム	2	71.8	75.1	73.5
	75	65.7	48.7	57.2
anti- <sup>14</sup> C 標識イソピラザム	2	60.6	68.6	64.6
	75	53.0	77.2	65.1

\*申請者が算出した

(6) ラットにおける組織分布および呼気排泄 (資料 No.M-06)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2007 年 ( ) [GLP 対応]

供試標識化合物：  $^{14}\text{C}$  標識イソピラザム ( )

供試動物： Han Wistar (HsdRccHan: WIST) ラット、1 群雌雄各 4 匹  
投与時体重範囲；雄 232~266 g、雌 194~206 g

方 法：

投 与；  $^{14}\text{C}$  標識イソピラザム及び非標識イソピラザム ( ) を 0.5%カルボキシメチルセルロース水溶液に懸濁し、投与液を調製した。低用量は 2.5 mg/kg、高用量は 250 mg/kg とし (投与液量 4mL/kg)、単回経口投与した。試験群構成を表 1 に示す。

表 1. 試験群構成

検討項目	用量 (mg/kg)	回数・経路	動物数	試料採取時点 (投与後時間)
呼気	2.5	単回経口	雌雄各 1 匹	尿及び糞：10、24、48 呼気：10、24、34、48 血液、消化管、カーカス：48
	250			
組織分布 オートラジオグラフィ	2.5	単回経口	雌雄各 3 匹 (各時間 1 匹)	カーカス：2、24、48
	250			

[用量設定根拠]；

試料採取； 呼気・排泄試験では、尿及び糞は各採取時点で採取後、水でケージを洗

浄し、洗液は尿試料に合わせた。最終採取時点ではエタノール：水（1:1）混液でケージを洗浄しケージ洗液とした。呼気は 2N NaOH 溶液及び活性炭捕集剤を用いてそれぞれ CO<sub>2</sub> 及び揮発性代謝物を捕集した。また最終採取時点でラットをハロタン麻酔により屠殺後、血液、消化管（内容物を含む）及びカーカスを採取した。血液は一部を遠心分離により血漿を調製した。組織分布試験ではハロタン麻酔により屠殺後、ラットを凍結乾燥し、全身オートラジオグラフィ用の試料を調製した。

放射能測定； 放射能は LSC で測定した。尚、活性炭捕集剤はアセトニトリルで抽出後、カーカスは可溶化後、全血は可溶化後脱色して LSC 測定した。また、糞は水を加えて均質化後、消化管は均質化後、酸化燃焼法により LSC 測定した。その他の試料は直接 LSC 測定した。また、組織中の放射能は全身オートラジオグラフィで測定した。

#### 結 果：

呼 気；排泄の経時変化を表 2 に示す。低用量群では、48 時間までに尿中に 17.36～24.71% TAR、糞中に 70.25～77.89% TAR が排泄された。高用量群では尿中に 13.98～18.04% TAR が、糞中に 49.25～68.23% TAR が排泄され、消化管/内容物中に 3.39～6.14% TAR が残存した。呼気中の放射能は両用量群の雌雄及び全採取時点において検出限界未満であり、48 時間の総排泄量は 0.05% TAR 未満であった。

表 2. 排泄の経時変化

用量		投与量に対する割合 (%TAR)			
		2.5 mg/kg		250 mg/kg	
試料及び投与後時間		雄	雌	雄	雌
尿	0-10	12.90	17.03	4.85	2.90
	10-24	3.85	5.69	7.08	7.87
	24-48	0.60	1.99	2.05	7.28
	0-48	17.36	24.71	13.98	18.04
糞	0-10	46.03	0.13	<0.01	-
	10-24	26.97	58.46	44.40	20.40
	24-48	4.89	11.65	23.82	28.85
	0-48	77.89	70.25	68.23	49.25
CO <sub>2</sub> 捕集液	0-10	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	10-24	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	24-34	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	34-48	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	0-48	<0.04	<0.04	<0.03	<0.04
活性炭捕集剤	0-10	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	10-24	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	24-34	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	34-48	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
	0-48	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
ケージ洗液		0.33	0.84	0.62	1.73
消化管+内容物		0.51	1.51	3.39	6.14
カーカス		0.14	0.20	0.31	0.71
計		96.26	97.55	86.55	75.90

-: 試料なし

組織分布 ; 各採取時点において全身オートラジオグラフィーにより組織中の放射能を測定した結果、放射能の分布は雌雄及び両投与群で類似していた。投与 2 時間後では、放射能の多くは胃、肝臓、消化管及び腎臓で認められ、次にハーダ一腺、腹部脂肪、褐色脂肪に分布していた。心臓、肺、脾臓、すい臓、副腎、胸腺、唾液腺、精巣、卵巣、子宮、脳、脊髄および筋肉への残留放射能は低レベルであった。なお甲状腺、眼又は骨には放射能は認められなかった。何れの投与群および雌雄において、投与 48 時間後のラット体内に残留する放射能は極めて低く、その大部分は消化管および胃に残留し、肝臓及び腎臓では低レベルであった。

<sup>14</sup>C 標識イソピラザム投与後のラット呼気中には放射能は検出されなかった。全身オートラジオグラフィーによる試験では、放射能は投与後 2 時間で広く組織中に分布していたが、48 時間後にラット体内に残留する放射能は極めて低く、その大部分は消化管および胃に検出され、肝臓および腎臓では低レベルであった。

図 1. 全身オートラジオグラフィーの代表例 1 (低用量群、投与 2 時間後)

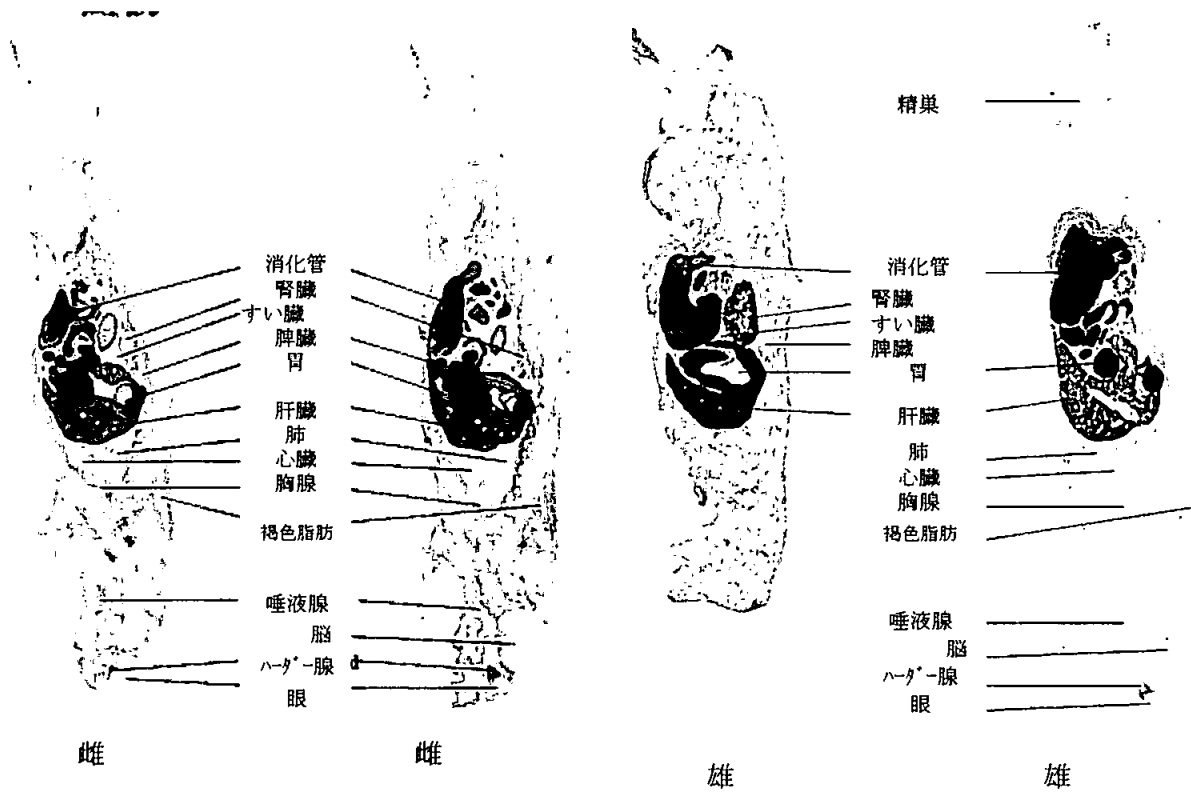
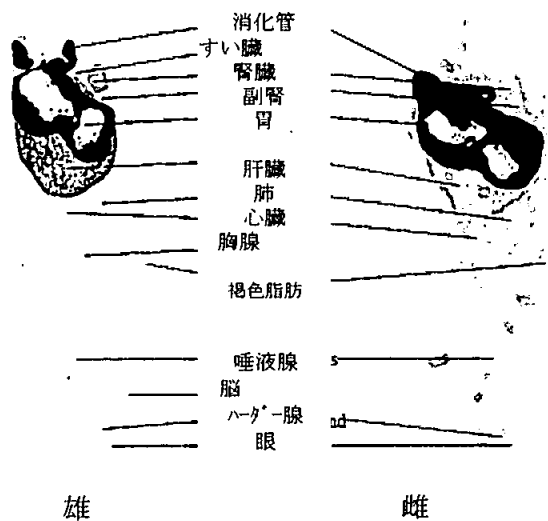


図 2. 全身オートラジオグラフィーの代表例 1 (高用量群、投与 2 時間後)



(7) ラットにおける低用量反復投与後の排泄および組織中分布 (資料 No.M-07)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2008 年 ( ) [GLP 対応]

供試標識化合物： -syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザム ( )

供試動物： Han Wister ラット、1 群 雄 33 匹  
投与開始時体重範囲； 264～361 g

方 法：

投 与； -syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザムおよび非標識イソピラザム ( ) をコーンオイルに懸濁し、投与液を調製した。1 mg/kg (投与液量 5mL/kg/日) の用量で 1 日 1 回、最長 14 日間、反復強制経口投与した。群構成を表 1 に示す。

[用量設定根拠]；



表 1. 群構成； 各群の供試動物数、試料採取時点等を下表にまとめる。

用量 (mg/kg)	回数/ 経路	投与 回数	動物数	検討 項目	試料採取時点 (最終投与後時間)
1	反復 経口	3	雄 3 匹	組織 分布	組織 <sup>#</sup> : 24 hr
		7	雄 3 匹		組織 <sup>#</sup> : 24 hr
		10	雄 3 匹		組織 <sup>#</sup> : 24 hr
		14	雄 21 匹		組織 <sup>#</sup> : 24 hr、3、7、10、14、28、43 日
		14	雄 3 匹	排泄	尿/糞 : 第 1 回投与後 24 時間 第 14 回目投与後 24 時間

# : 副腎、脳、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、脾臓、胸腺、甲状腺、精巣、骨 (脛骨/腓骨)、  
脂肪 (腎周囲)、筋肉

試料採取； 組織分布試験では各採取時点で、ラットを炭酸ガス麻酔により安楽死させ、  
全血、消化管 (および内容物)、各組織およびカーカスを採取した。全血は心臓  
又は大静脈より採取し、一部を遠心分離して血漿を調製した。排泄試験では尿  
および糞を各採取時点で採取後、水でケージを洗浄し、ケージ洗液とした。

放射能測定； 尿、ケージ洗液および血漿試料は直接 LSC で放射能測定した。糞は水を  
加えて均質化後、全血はそのまま、組織および消化管は細断後、カーカスは磨  
砕し水を加えて均質化後、酸化燃焼法により LSC で放射能測定した。

## 結 果：

組織分布； 組織中分布の経時変化を表 2-1 および 2-2 に示す。反復投与後の組織中最  
高濃度は、肝臓 (0.361  $\mu\text{g/g}$ )、腎臓 (0.121  $\mu\text{g/g}$ ) および全血 (0.033  $\mu\text{g/g}$ ) で  
認められた。これらはそれぞれ 14 日間反復投与後 24 時間、10 日間反復投与後  
24 時間および 14 日間反復投与後 24 時間で認められた。その他多くの組織では  
0.05  $\mu\text{g/g}$  以下であった。肝臓および脂肪を除くその他の組織では、組織中放射  
能濃度は 10 日間反復投与後 24 時間で定常状態に達していると判断された。14  
日間反復投与の組織中放射能は、速やかに減衰し、投与後 14 日では、肝臓  
(0.049  $\mu\text{g/g}$ ) および腎臓 (0.020  $\mu\text{g/g}$ ) で、43 日後では腎臓 (0.011  $\mu\text{g/g}$ ) およ  
び脾臓 (0.007  $\mu\text{g/g}$ ) で有意な放射能が検出された。

また組織中の放射能の減衰を WinNonlin Pro (ver.5.2) を用いてノンコンパート  
メント解析で算出し、半減期を求めた (表 2)。残留放射能が低い組織を除い

た各組織中放射能の排泄半減期は、全血、肝臓及び腎臓でそれぞれ、251、218及び814時間であった。

表 2-1 放射能の組織中分布の経時変化 (µg/g; 親化合物換算値、3匹平均)

用量	1 mg/kg									
	3			14						
投与回数	3	7	10	24 hr	3 日後	7 日後	10 日後	14 日後	28 日後	43 日後
採取時点	24 hr	24 hr	24 hr	24 hr	3 日後	7 日後	10 日後	14 日後	28 日後	43 日後
副腎	0.019	0.022	0.031	0.022	0.016*	0.017	0.008	0.009	0.004	0.014
骨	0.005	0.005	0.007	0.005	0.007	0.004	0.001	0.000	0.001	0.004
脳	0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000	0.000	0.001	0.002
脂肪 (腎周囲)	0.013	0.013	0.015	0.017	0.004	0.003	0.002	0.000	0.005	0.001
心臓	0.014	0.012	0.016	0.016	0.005	0.003	0.002	0.001	0.002	0.001
腎臓	0.082	0.080	0.121	0.116	0.053	0.035	0.028	0.020	0.012	0.011
肝臓	0.221	0.277	0.319	0.361	0.164	0.083	0.071	0.049	0.007	0.008
肺	0.015	0.014	0.025	0.019	0.007	0.007	0.004	0.001	0.000	0.002
筋肉	0.005	0.005	0.009	0.008	0.003	0.001	0.001	0.000	0.000	0.002
膵臓	0.034	0.011	0.016	0.014	0.005	0.002	0.001	0.000	0.000	0.001
脾臓	0.011	0.012	0.018	0.018	0.012	0.013	0.008	0.006	0.008	0.007
精巣	0.004	0.005	0.006	0.006	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001
胸腺	0.008	0.007	0.011	0.009	0.004	0.002	0.001	0.001	0.000	0.001
甲状腺	0.019	0.018	0.020	0.018	0.012	0.027	0.011	0.003	0.001	0.029
消化管	3.077	3.072	4.124	3.062	0.683	0.312	0.016	0.011	0.000	0.001
カーカス	0.052	0.059	0.101	0.090	0.043	0.031	0.020	0.019	0.008	0.008
全血	0.009	0.007	0.032	0.033	0.016	0.013	0.010	0.007	0.004	0.001
血漿	0.018	0.016	0.022	0.019	0.006	0.003	0.001	0.002	0.001	0.000

\* : 2匹の平均値

表 2-2 放射能の組織中分布の経時変化 (%TAR、3匹平均)

用量	1 mg/kg									
	3			14						
投与回数	3	7	10	24 hr	3 日後	7 日後	10 日後	14 日後	28 日後	43 日後
採取時点	24 hr	24 hr	24 hr	24 hr	3 日後	7 日後	10 日後	14 日後	28 日後	43 日後
副腎	0.000	0.001	0.001	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
脳	0.000	0.001	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.001
心臓	0.004	0.003	0.005	0.005	0.002	0.001	0.001	0.000	0.001	0.000
腎臓	0.054	0.051	0.082	0.077	0.039	0.025	0.019	0.014	0.009	0.007
肝臓	0.856	1.153	1.253	1.368	0.739	0.309	0.280	0.196	0.030	0.033
肺	0.007	0.008	0.012	0.011	0.004	0.004	0.002	0.000	0.000	0.001
膵臓	0.015	0.004	0.005	0.005	0.001	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000
脾臓	0.002	0.002	0.003	0.003	0.002	0.002	0.002	0.001	0.001	0.001
精巣	0.004	0.005	0.006	0.006	0.002	0.001	0.000	0.000	0.000	0.001
胸腺	0.001	0.001	0.002	0.002	0.001	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
甲状腺	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
消化管	25.483	23.687	29.512	24.791	6.095	2.353	0.118	0.093	0.003	0.007
カーカス	3.734	4.463	7.584	6.870	3.501	2.628	1.711	1.574	0.695	0.697
計	30.162	29.378	38.465	33.138	10.388	5.326	2.132	1.879	0.739	0.750

表 3 14 日間反復投与後の組織中放射能の半減期 (時間)

用量	1 mg/kg
試料	半減期 T <sub>1/2</sub> (hr)
カーカス	257
消化管	39.8
腎臓	814
肝臓	218
肺	NC
脾臓	NC
全血	251

NC : 残留放射能が低いために計算せず。

排 泄 ; 1 あるいは 14 回投与後の排泄率を表 4 に示す。

1 回投与後のラットでは、放射能の大部分は糞に排泄され、投与後 24 時間で 47.9%TAR であった。また尿への排泄は、投与後 24 時間で 19.7%TAR であった。投与後 24 時間の放射能の回収率は 70.1%TAR だった。14 日間反復投与後のラットでは、放射能の大部分は糞に排泄され、最終投与後 24 時間で 88.6%TAR であった。また尿への排泄は、投与後 24 時間で 21.6%TAR であった。投与後 24 時間の放射能の回収率は 113.1%TAR で、投与量よりも多かったが、これは先行の反復投与に関連する放射能が尿および糞に排泄されたことによる。

表 4 1 あるいは 14 回投与後 24 時間の排泄率 (%TAR\*、3 匹平均)

用量		1 mg/kg	
試料	投与後時間	投与回数	
		1 回	14 回
尿	24 hr	19.73	21.58*
糞	24 hr	47.90	88.58*
ケージ洗液	24hr	2.51	2.89*
計		70.14	113.05*

\* : 14 回投与では、14 日目投与で投与された放射能に対する割合

-syn-<sup>14</sup>C 標識イソピラザムの反復投与後の組織中放射能は 10 日間反復投与で定常状態に達すると判断された。いずれの組織においても放射能の蓄積性は認められなかった。14 日間反復経口投与後の組織中放射能は速やかに減衰し、全血、肝臓および腎臓における半減期は、それぞれ 251、218 および 814 時間であった。排泄の主要経路は糞中であつた。

(8) ラットにおける血漿、尿、胆汁および糞中代謝物の同定

(資料 No.M-08)

試験実施機関：

( )

報告書作成年： 2008 年 ( )

[GLP 対応]

試験目的：

試料	試験の種類	資料番号	標識位置	用量 (mg/kg)	動物数
胆汁	カニューレ挿入 排泄	M-04	- <i>syn</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム	1	雌雄各 4 匹
			75	雌雄各 4 匹	
		M-05	- <i>syn</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム	2	雄 4 匹
			- <i>anti</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム	75	雄 3 匹
尿	非カニューレ挿入 排泄	M-02	- <i>syn</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム	1	雌雄各 4 匹
	75			雌雄各 4 匹	
	カニューレ挿入 排泄	M-04		1	雌雄各 4 匹
				75	雄 4 匹、雌 3 匹
	M-05	- <i>syn</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム		2	雄 4 匹
		- <i>anti</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム		75	雄 4 匹
	反復投与排泄	M-07		1	雄 3 匹
	糞	非カニューレ挿入 排泄		M-02	- <i>syn</i> - <sup>14</sup> C 標識イソピラザム
75		雌雄各 4 匹			
カニューレ挿入 排泄		M-04	1	雌雄各 4 匹	
75			雄 4 匹、雌 3 匹		
反復投与排泄	M-07	1	雄 3 匹		
血漿	血中動態	M-01		1	雌雄及び各採取時 点で各 2 匹
				75	

分析方法：

結 果：

抽出効率：血漿、尿、胆汁および糞試料における抽出効率は、80.0～100%であった。

代謝物の同定：

[1] 血漿中代謝物；血中動態試験（資料 No.M-01）における雌雄ラットの血漿中代謝物画分を表 1 に示す。

雄ラットでは、

親化合物[A]は検出されなかった。雌では

親化合物[A]も認められた。











本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

[4] 糞中代謝物； 糞中代謝物画分を表 5（資料 No.M-02）および表 6（資料 No.M-04、07）に示す。カニューレ挿入ラット（資料 No.M-04）の糞からは、親化合物[A]が 10%TAR 以上（11.07～27.17%TAR）検出された。その他の群の糞からは、尿/胆汁と同様の代謝物が検出された。

[5] 代謝分解のまとめ；





図1 イソピラザムのラットにおける想定代謝経路：

図2 イソピラザムのラットにおける想定代謝経路：

図3 イソピラザムのラットにおける想定代謝経路：

図4 イソピラザムのラットにおける代謝経路：



## 2. 植物代謝

### (1)小麦における代謝試験

(資料 No.M-09)

試験実施機関：

( )

報告書作成年：2007年 ( ) [GLP 対応]

供試化合物：

(1)  $^{-14}\text{C}$ -標識イソピラザム ( (以下 標識体))

化学構造；

(2)  $^{-14}\text{C}$ -標識イソピラザム ( (以下 標識体))

化学構造；

(3)  $^{-14}\text{C}$  標識イソピラザム ( (以下 標識体))

化学構造；

供試植物：小麦(品種名：Tybalt)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

< 玄麦試料 >

図 1-1. 茎葉試料の抽出および分配の方法の代表例（申請者が作成）

図 1-2 わら試料の抽出および分配の方法の代表例（申請者が作成）

図 1-3 玄麦試料の抽出および分配の方法の代表例 (申請者が作成)

結 果：

残留放射能；各試料の総残留放射能を表 1 に示す。試料全体から得た値と抽出液及び残渣の放射能を合計した値を比較すると差はみられなかったことから、抽出過程において揮発性放射性成分の損失は生じなかったと考えられた。総残留放射能は茎葉で最大 6.525mg/kg、わらで最大 22.491mg/kg、玄麦の残留濃度は低く、最大で 0.057 mg/kg であった。 標識体区（ ）の総残留放射能が 標識体区（ ）および 標識体区（ ）に比べ低い値を示したが、これは生物学的変動によるもので、*syn/anti* 比の違いには関連しないものと考えられた

各試料中の放射能分布を表 2 に示す。茎葉及びわらにおける抽出性放射能は、95.3～99.5%TRR で、玄麦では 78.6～89.5%TRR であった。

表 1. 各試料中の総残留放射能

標識位置	試料	総残留放射能 (mg/kg) <sup>3)</sup>	
		抽出前 <sup>1)</sup>	抽出後 <sup>2)</sup>
標識体	茎葉	7.088	6.525
	わら	20.844	22.491
	玄麦	0.058	0.056
標識体	茎葉	6.175	6.253
	わら	20.189	20.011
	玄麦	0.059	0.057
標識体	茎葉	4.749	4.933
	わら	14.083	13.370
	玄麦	0.031	0.033

1) 抽出前に燃焼法により LSC で放射能を測定した値

2) 抽出後に抽出液および残渣の放射能をそれぞれ LSC で測定し、合計した値

3) 親化合物換算値

表 2. 各試料中に放射能分布

標識位置	試料	抽出性放射能		残 渣	
		% TRR	mg/kg	% TRR	mg/kg
標識体	茎葉	98.9	6.455	1.0	0.065
	わら	96.1	21.614	3.8	0.855
	玄麦	89.5	0.0498	10.5	0.0058
標識体	茎葉	98.7	6.171	1.3	0.081
	わら	95.3	19.070	4.6	0.921
	玄麦	86.1	0.0496	13.9	0.0079
標識体	茎葉	99.5	4.909	0.5	0.025
	わら	97.0	12.969	3.1	0.414
	玄麦	78.6	0.0256	21.4	0.0070

代謝分解物；TLC 分析に基づく茎葉、わら及び玄麦における放射性成分の分布を、それぞれ表 3-1、表 3-2 及び表 3-3 に示す。

親化合物（含量値）がいずれの試料においても主要な残留化合物であった。茎葉では 78.8～91.3%TRR（4.504～5.807mg/kg）、わらで 60.7～68.7%TRR（8.557～15.451 mg/kg）、玄麦では 53.3～65.6%TRR（0.0206～0.0365 mg/kg）であった。

標識体区（ ）の茎葉の分析において、*syn/anti* 比に変化は認められなかった。

加水水分解；



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

代謝分解経路；推定代謝分解経路を図2に示す。





表 3-3. 玄麦における放射性成分の分布

試 料		玄 麦					
標識位置		標識体		標識体		標識体	
総残留放射能 (mg/kg) <sup>1)</sup>		0.056 <sup>2)</sup>		0.057 <sup>2)</sup>		0.033 <sup>2)</sup>	
放射性成分		%TRR <sup>7)</sup>	mg/kg <sup>1) 7)</sup>	%TRR <sup>7)</sup>	mg/kg <sup>1) 7)</sup>	%TRR <sup>7)</sup>	mg/kg <sup>1) 7)</sup>
親化合物 (合計) [A]		65.6	0.0365	53.3	0.0303	63.2 <sup>3)</sup>	0.0206 <sup>3)</sup>

- 1) 親化合物換算値
- 2) 抽出後に抽出液および残渣の放射能をそれぞれ LSC で測定し、合計した値
- 3) *syn* 体、*anti* 体が共に存在したが、個別に定量できなかったため合量値として記載
- 5) アセトン抽出相
- 6) 分析操作中の超過(+)あるいは損出(-)
- 7) 数字のまるめ方により %TRR と mg/kg の間に若干の不整合がある
- : データなし
- ND : 検出されず

[ ]内は代謝物記号

表 4.


NA : 該当せず

図 2. 小麦における推定代謝分解経路

(2)ぶどうにおける代謝試験

(資料 No.M-10)

試験実施機関： ( )

( )

報告書作成年：2008年 ( ) [GLP 対応]

供試化合物：

(1)  $^{-14}\text{C}$ -標識イソピラザム ( )

化学構造；

(2)  $^{-14}\text{C}$  標識イソピラザム ( )

化学構造；

供試植物：ぶどう(品種名：Syrah)

方法：

栽培方法； ( ) の試験圃場 ( )

で、各標識体について、圃場区域 3.2m<sup>2</sup>内の果樹 2 本を使用し、慣行の方法で栽培した。

処理方法；各標識化合物を製剤化（フロアブル製剤）し、水で希釈して 500mL の散布液を調製し、400g ai/ha 相当を 2006 年 9 月 26 日に 1 回散布処理した。

試料採取及び処理；処理後 21 日に全ての成熟果房及び代表的な葉試料を採取した。

果房の茎部を除去後、果実試料の一部は溶媒（アセトニトリル/水=80：20(v/v)）で 3 回洗浄し、一部は洗浄しなかった。残りの試料も洗浄せずに分析法のバリデーションに用いた。これらの果実、洗浄液及び葉試料は凍結し

て分析機関( )へ搬送した。試料到着後、分析機関で各試料をドライアイスとともにホモジナイズし、さらに分析に供するまで凍結保存した。

放射能測定；

抽出及び分離；

代謝物の特徴づけおよび同定；分配の結果から試料中放射性成分を化学的に特徴付けを行い、TLCを用いて既存の代謝物標準品とのコクロマトグラフィーにより同定した。*syn/anti* 比は HPLC を用いて測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

図 1-1. 果実試料の抽出および分配の方法の代表例（申請者が作成）

図 1-2. 葉試料の抽出および分配の方法の代表例（申請者が作成）



結 果：

残留放射能;各試料における抽出前の総放射能および抽出後の放射能分布を表 1 に示す。

総残留放射能は果実では 標識で 0.128mg/kg、 標識で 0.147 mg/kg で、葉試料で 標識で 10.979 mg/kg、 標識で 3.759 mg/kg であった (いずれも抽出後の値)。葉試料では標識位置の違いにより総残留放射能に差がみられたが、葉試料は代表的な試料のみを採取したため、採取試料 (および散布処理) 間の差異が反映されたものと考えられた。抽出された放射能の割合は、いずれの標識体についても 98%TRR 以上と高く、残渣は 2%TRR 未満であり、残渣の放射能についてはこれ以上の分析は行わなかった。

表 1. ぶどう果実及び葉の放射能濃度

標識位置	試料	抽出後					抽出前の 総残留放射能
		抽出液		抽出残渣		総残留放射能	
		%TRR	mg/kg <sup>1)</sup>	%TRR	mg/kg <sup>1)</sup>	mg/kg <sup>1)</sup>	mg/kg <sup>1)</sup>
	果実	98.2	0.126	1.8	0.002	0.128	0.156
	葉	98.5	10.815	1.7	0.187	10.979	10.973
	果実	98.6	0.145	1.4	0.002	0.147	0.147
	葉	98.3	3.695	1.8	0.068	3.759	3.768

1) 親化合物換算値

代謝分解物；果実及び葉試料から抽出された放射能について放射性成分の分布を表 2 に示す。同定された代謝物の化学構造は推定代謝分解経路図に示す。

果実では、いずれの標識体についても約 90%TRR が未変化の親化合物[A]であり、葉試料でも 86.4 (                      標識体) ~91.2%TRR (                      標識体) が親化合物[A]であった。

異性対比；                      を HPLC を用いて測定した。その結果、親化合物[A]の *syn/anti* 比は                      標識体の果実及び葉試料でそれぞれ                      及び                      、                      標識体の果実及び葉試料でそれぞれ                      及び                      で、処理前と比較して大きな変化はなかった。

代謝分解経路；推定代謝分解経路を図 2 に示す。

表 2. 放射性成分の分布

試料		果実				葉			
標識位置									
総残留放射能 (mg/kg) <sup>1)</sup>		0.128		0.147		10.979		3.759	
放射性成分		%TRR <sup>6)</sup>	mg/kg <sup>1)6)</sup>	%TRR <sup>6)</sup>	mg/kg <sup>1)6)</sup>	%TRR <sup>6)</sup>	mg/kg <sup>1)6)</sup>	%TRR <sup>6)</sup>	mg/kg <sup>1)6)</sup>
親化合物 [A]		90.3	0.116	89.4	0.131	91.2	10.013	86.4	3.248

- 1) 親化合物換算値、2) 標識体についてのみ 2D-TLC によって分離した。  
 3) 。 4) 果実は単一化合物、葉は複数の代謝物。  
 5) 分析操作中の超過(+)あるいは損出(-)  
 6) 数字のまるめ方により %TRR と mg/kg の間に若干の不整合がある  
 - : データなし  
 NA : 該当なし

[ ]内は代謝物記号

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

図 2. ぶどう果実及び葉における推定代謝分解経路

(3)レタスにおける代謝試験

(資料 No.M-11)

試験実施機関： ( )

報告書作成年：2008年 ( ) [GLP 対応]

供試化合物：

(1)  $^{-14}\text{C}$ -標識イソピラザム ( )

化学構造；

(2)  $^{-14}\text{C}$  標識イソピラザム ( )

化学構造；

供試植物：レタス(バターヘッド種、品種名：Mona)

方 法：

栽培方法：面積  $1\text{m}^2$ 、深さ 40cm の容器 2 個(各標識体あたり 1 容器)に施設内の埴壤土を充填し、地表面に合わせて容器を地中に埋め込んだ。2007 年 6 月 12 日に播種後 14 日経過したレタス苗を各容器に 9 個移植した。容器の外側に無処理対照用の苗を植えた。

処理方法；各標識化合物を製剤化(乳剤)し、 $125\text{g ai/ha}$  相当を 10~11 日間隔で 3 回にわたり茎葉散布し、総処理量は  $375\text{g ai/ha}$  であった。散布時の生育ステージは BBCH 40 以前(播種後 42 日)、BBCH 42(播種後 53 日)及び BBCH 46(播種後 63 日)であった。

試料採取及び処理；最終処理の 3 日後(BBCH 47)に 5 個の供試植物全体を採取し、残り 4 個は最終処理の 14 日後(成熟期 BBCH 49)に採取した。試料は葉と根部に分け、

葉は液体窒素で凍結後、ホモジナイズした。根部は分析しなかった。  
放射能測定；

抽出及び分離

同 定；

結 果：

残留放射能；各試料における抽出前の総放射能および抽出後の放射能分布を表 1 に示す。  
総残留放射能は最終処理 3 日後の試料の 標識で 1.555mg/kg、  
標識で 1.538mg/kg で、最終処理 14 日後試料の 標識で 0.311  
mg/kg、 標識で 0.221 mg/kg であった（いずれも抽出後の値）。  
抽出された放射能の割合は高く、いずれの標識体についても最終処理の 3 日後  
の試料で約 96%TRR、最終処理 14 日後試料も約 85~90%TRR であった。  
残渣は最終処理 3 日後の試料で約 3%TRR（約 0.05 mg/kg）、最終処理 14 日後の  
試料では約 10~15%TRR（約 0.03 mg/kg）であった。

表 1. レタス（葉）の放射能濃度

標識位置	試料	抽出後					抽出前の 総残留放射能 mg/kg <sup>1)</sup>
		抽出液		抽出残渣		総残留放射能 mg/kg <sup>1)</sup>	
		%TRR	mg/kg <sup>1)</sup>	%TRR	mg/kg <sup>1)</sup>		
	3 日後	96.9	1.506	3.1	0.048	1.555	1.613
	14 日後	89.8	0.279	10.2	0.032	0.311	0.316
	3 日後	96.4	1.482	3.5	0.054	1.538	1.471
	14 日後	85.1	0.187	14.9*	0.033	0.221	0.217

1) 親化合物換算値

代謝分解物；抽出された放射能について各成分の分布を表 2 に示す。同定された代謝物の化学構造は推定代謝分解経路図に示す。

いずれの標識体についても、主な放射性成分は親化合物[A]で、最終処理 3 日後の試料では 66.2~71.1%TRR、最終処理 14 日後の試料においては 34.8~45.3%TRR であった。

主要な代謝物として

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

代謝分解経路；推定代謝分解経路を図に示す。





図. レタスにおける推定代謝分解経路

### 3. 土壌中動態

#### (1) 好氣的土壌中動態試験-1

(資料 No.M-12)

試験実施機関： ( )

( )

報告書作成年： 2008 年、 修正報告書作成年：2009 年 ( ) [GLP 対応]

標識供試化合物：  $^{14}\text{C}$ -標識イソピラザム ( )

供試土壌： 供試土壌の特性は以下の通りである。

名称	18Acres	Pappelacker	Gartenacker	Marsillargues
採取国	英国	スイス国	スイス国	フランス国
分類 (USDA)	壤土	砂壤土	壤土	シルト質埴土
砂質%	50	73	44	5
シルト質%	28	19	46	54
粘土%	22	8	10	41
pH	6.0	7.4	7.3	8.3
有機物質%	4.4	2.7	4.4	2.4
CEC (meq/100g)	17.8	6.1	10.5	10.6
水分含量%	30.2	28.2	38.0	23.4
圃場容水量% (pF2.0) *	29.78	29.93	38.95	22.71

\*： 申請者注、 一般に pF2.0 (0.1Bar 負圧) ~2.5 (0.33Bar 負圧) の最大容水量が圃場容水量に相当すると考えられる。

試験方法：

処理および培養：  $^{14}\text{C}$  標識イソピラザムをアセトニトリルに溶解し、乾燥土壌当たり 0.17mg/kg (125g a.i./ha 相当) になるように各土壌に添加し、好氣的条件下、20

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

±2℃、暗所でインキュベートした。インキュベーション中、土壌水分は圃場容水量 (pF2.0) 相当になる様に調整した。

試料の採取； インキュベーション中、2N NaOH 捕集液を用い、揮発性物質を捕集した。土壌および捕集液の採取時期を下表に示す。

土壌	18.Acres	Pappelacker	Gartenacker	Marsillargues
採取日	(0)、7、14、29、 43、61、90、120 日後	(0)、7、14、29、 43、61、90、120 日後	(0)、7、14、29、 43、61、90、120、 180、279、369 日後	(0)、7、14、30、 44、58、90、120 日後

( ) 内は土壌のみ

抽 出；

代謝物の分析；

放射能の測定；

結 果：

回収率および半減期； 各土壌における回収率 (LSC) および親化合物[A] (HPLC) の経時変化を表 1~4 に示す。0~120 日の回収率 (4 種土壌) は 89.2~100.1% TAR、180~369 日の回収率 (Gartenacker 土壌) は 84.2~92.6% TAR であった。

単純一次減衰を仮定して SFO 法によりイソピラザムの半減期を求めると表 5 の通りで、半減期は 121 日~592 日であった。尚、syn/anti 比は Gartenacker 土壌で若干 syn の割合が増えた (61~90 日) が、その他には大きな変化は認められなかった。

代謝物； 各土壌における 120 日後に確認された代謝物を表 6 に示す (TLC)。

抽出残渣；

代謝経路； 好氣的土壤中での推定代謝経路を図に示す。

以上より、イソピラザムは好氣的条件下での土壤中で、

半減期は4種土壤で121～592日であった。

表1 18 Acres 土壤における回収率および親化合物[A]の経時変化 (%TAR)

経過 日数	反復	回収率					親化合物 [A]
				非抽出 性残渣	NaOH 捕集	合計	
0	A	4.0	91.0	0.3	-	95.3	95.0
	B	3.8	90.4	0.4	-	94.6	94.2
7	A	3.2	91.2	0.5	0.1	95.0	93.6
	B	3.5	90.8	0.5	0.1	94.9	93.6
14	A	3.3	93.0	0.7	0.1	97.1	95.4
	B	3.0	92.5	0.7	0.2	96.4	94.7
29	A	3.8	91.7	1.1	0.2	96.8	91.3
	B	3.3	92.6	1.0	0.2	97.1	91.5
43	A	4.0	89.3	1.7	0.2	95.2	87.4
	B	3.8	90.1	1.6	0.2	95.7	88.2
61	A	3.8	90.0	1.8	0.2	95.8	87.2
	B	4.0	90.5	1.6	0.2	96.3	86.8
90	A	3.9	88.5	2.0	0.2	94.6	85.1
	B	4.0	89.0	1.9	0.2	95.1	85.5
120	A	4.6	86.0	2.6	0.2	93.4	82.7 <sup>1)</sup>
	B	4.5	87.7	2.5	0.2	94.9	83.5 <sup>2)</sup>

-: 測定せず

1):

2):

表 2 Pappelacker 土壌における回収率および親化合物[A]の経時変化 (%TAR)

経過 日数	反復	回収率					親化合物 [A]
				非抽出 性残渣	NaOH 捕集	合計	
0	A	6.6	90.2	0.1	-	96.9	96.8
	B	7.1	89.6	0.1	-	96.8	96.7
7	A	5.8	87.8	0.4	0.1	94.1	92.7
	B	6.1	90.1	0.4	0.1	96.7	95.5
14	A	5.7	92.7	0.7	0.2	99.3	97.0
	B	5.7	92.9	0.7	0.2	99.5	97.1
29	A	7.4	89.5	1.1	0.3	98.3	93.6
	B	7.7	91.1	1.0	0.3	100.1	93.6
43	A	9.5	87.1	1.7	0.4	98.7	89.6
	B	9.4	87.2	1.7	0.4	98.7	89.7
61	A	10.4	85.6	2.4	0.5	98.9	86.2
	B	11.0	85.5	2.4	0.5	99.4	86.5
90	A	11.1	83.1	3.6	0.6	98.4	82.5
	B	10.9	83.7	3.7	0.6	98.9	81.2
120	A	11.3	82.1	5.1	0.7	99.2	78.2 <sup>1)</sup>
	B	11.3	79.3	5.3	0.7	96.6	74.3 <sup>2)</sup>

- : 測定せず

1) :

2) :

表 3 Gartenacker 土壌における回収率および親化合物[A]の経時変化 (%TAR)

経過 日数	反復	回収率					親化合物[A]	
				非抽出 性残渣	NaOH 捕集	合計	%TAR	
0	A	4.7	92.0	0.1	-	96.8	96.7	
	B	4.9	91.8	0.1	-	96.8	96.7	
7	A	5.1	91.3	0.5	0.2	97.1	95.1	
	B	5.4	89.4	0.5	0.2	95.5	93.5	
14	A	5.5	93.1	0.7	0.3	99.6	94.4	
	B	5.6	92.2	0.7	0.3	98.8	93.8	
29	A	9.3	87.6	1.7	0.6	99.2	86.0	
	B	9.0	87.6	1.7	0.6	98.9	84.9	
43	A	11.6	81.7	3.5	1.0	97.8	79.1	
	B	11.7	81.3	3.9	1.0	97.9	74.3	
61	A	12.4	79.1	5.4	1.1	98.0	70.2	
	B	11.2	79.6	5.3	1.1	97.2	70.8	
90	A	13.7	72.6	9.1	1.6	97.0	55.1	
	B	13.3	73.2	9.2	1.5	97.2	56.7	
120	A	13.4	66.7	12.8	1.6	94.5	48.5	
	B	13.1	67.1	12.8	1.7	94.7	44.9	
180	A	13.0	59.0	18.2	2.4	92.6	33.7	
	B	12.8	58.6	18.6	2.4	92.4	32.6	
279	A	11.9	47.7	22.6*	2.6	84.8	21.9	
	B	12.2	45.8	25.4	2.3	85.7	21.1	
369	A	11.3	41.6	29.6	2.5	85.0	17.5	
	B	11.6	40.9	29.7	2.0	84.2	16.8	

- : 測定せず

\* :

表 4 Marsillargues 土壌における回収率および親化合物[A]の経時変化 (%TAR)

経過 日数	反復	回収率					親化合物 [A]
				非抽出 性残渣	NaOH 捕集	合計	
0	A	8.7	83.6	0.1	-	92.4	91.5
	B	8.5	85.2	0.7	-	94.4	92.8
7	A	6.7	84.1	1.0	0.1	91.9	89.6
	B	6.4	82.7	0.8	0.1	90.0	87.8
14	A	6.2	85.8	2.2	0.1	94.3	88.6
	B	6.5	81.2	1.4	0.1	89.2	85.6
30	A	7.8	82.3	2.1	0.2	92.4	83.3
	B	7.6	80.9	3.9	0.2	92.6	80.9
44	A	8.9	81.6	1.6	0.3	92.4	78.5
	B	8.6	82.8	2.1	0.3	93.8	80.8
58	A	10.1	83.7	1.6	0.3	95.7	80.6
	B	10.1	82.5	1.8	0.3	94.7	78.8
90	A	11.6	84.4	3.0	0.3	99.3	70.8
	B	11.5	79.0	2.6	0.3	93.4	65.5
120	A	12.3	78.4	3.3	0.3	94.3	64.5 <sup>1)</sup>
	B	12.6	77.5	3.3	0.3	93.7	63.2 <sup>2)</sup>

- : 測定せず      1) :

2) :

表 5 各土壌における半減期 (SFO 法)

土壌名	18 Acres	Pappelacker	Gartenacker	Marsillargues
半減期	592	349	121	231
r <sup>2</sup>	0.922	0.953	0.991	0.958

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

表 6 120 日後に各土壌中で認められた代謝物 (%TAR)

代謝物	土 壌 名			
	18 Acres	Pappelacker	Gartenacker	Marsillargues
[A]	79.6	73.1	44.7	61.0

-: 検出されず

図 好氣的土壌中での推定代謝経路  
(申請者が作成)



(2) 好氣的土壤中動態試験-2

(資料 No.M-13)

試験実施機関： ( )

報告書作成年： 2008年 ( ) [GLP 対応]

標識供試化合物：  $^{14}\text{C}$ -標識イソピラザム ( )

供試土壌： Gartenacker 土壌 (スイス国) の特性は以下の通りである。

項目	内容	項目	内容	
分類 (USDA)	壤土	CEC (meq/100g)	10.8	
砂質%	45	圃場容水量 (pF2.5)	28.8%	
シルト質%	43	圃場容水量 (pF2.0)	38.95%	
粘土%	12	受領時水分含量	30.39%	
pH (水中)	7.3	微生物 バイオマス**	開始時	2.04
pH (0.01M CaCl <sub>2</sub> )	6.7		120日	0.93
有機質%	4.3		終了時	0.82
有機炭素%	2.5		—	—

\*\*： 乾土 1g 当たりの微生物炭素 (mg)

試験方法：

処理および培養；  $^{14}\text{C}$  標識イソピラザムをアセトニトリルに溶解、精製水で希釈後、乾燥土壌当たり 0.1682 $\mu\text{g/g}$  (126.2g a.i./ha 相当) になるように試験土壌に添加し、好氣的条件下、20 $\pm$ 2 $^{\circ}\text{C}$ 、暗所で 360 日間インキュベートした。インキュベーション中、土壌水分は圃場容水量 (pF2.0) 相当になる様に調整した。

試料の採取； インキュベーション中、2N NaOH 捕集液を用い、揮発性物質を捕集した。捕集液は処理 7、14、30、45、60、90、120、150、180、210、240、316 および 360

日後に採取した。

土壌は、処理 0、7、14、30、45、60、90、120、150、180、210 および 360 日後に採取した。

抽出；

代謝物の分析；

放射能の測定；

結果；

物質収支； 試験期間中の回収率を表 1 に示す。回収率 (2 連平均) は 93.43~110.32% TAR であった。360 日後には非抽出性残渣は 58.3% TAR、 $^{14}\text{CO}_2$  は 22.7% TAR であった。

代謝物； 抽出液中の親化合物および代謝物の経時変化を表 2 に示す (HPLC)。親化合物 [A] は 30 日後には 44.8% TAR、360 日後には 2.6% TAR に減少した。

半減期； 単純一次減衰反応を仮定して SFO 法で算出した半減期は 40 日、DT90 は 133 日であった。

代謝経路； 好氣的土壌中推定代謝経路を図に示す。

以上より、イソピラザムは好氣的条件下での土壌中で、

SFO 法 (単純一次

反応法) により求めた半減期は 40 日であった。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社及び日産化学工業株式会社にある。

図 好氣的土壤中での推定代謝経路  
(申請者が作成)