

(5) スピネトラム・11.7%水和剤のマウスを用いた LLNA 試験

(Local Lymph Node Assay)

(資料 製 2-5)

試験機関：The Dow Chemical Company

[GLP 対応]

報告書作成年：2005 年

検 体：11.7%水和剤  
組 成：スピネトラム ; 11.7%  
界面活性剤、水等 ; 88.3%

供 試 動 物：BALB/cAnNCrI 系マウス、8~12 週齢、一群雌 6 匹

観 察 期 間：6 日間観察

試 験 操 作：[LLNA 試験 (Local Lymph Node Assay) ]

LLNA 試験；両耳の背部に検体の 4、20 および 100% (w/v) 溶液、あるいは溶媒 (1% Pluronic® L92) を毎日 1 回 (25  $\mu$ L/耳)、3 日間 (1~3 日目) 連続して局所適用した。6 日目に PBS (リン酸緩衝生理食塩水) で希釈した  $^3$ H-チミジン 250  $\mu$ L (20  $\mu$ Ci 相当量) を尾静脈内に投与し、約 5 時間後に各動物の耳介リンパ節を摘出して、放射能 (dpm) を  $\beta$ -シンチレーションカウンターで測定した。一方、陽性対照群には、 $\alpha$ -ヘキシルシンナムアルデヒド (HCA) の 30% (v/v) 溶液 (溶媒：1%Pluronic® L92) を適用した。

観 察 項 目：

体重変化；試験開始時および終了時に体重を測定した。

適用部位の紅斑；検体適用前および  $^3$ H-チミジン投与前に、以下の基準に従って耳の紅斑を評価した。

	評点
肉眼的影響なし	0
軽度の紅斑 (かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし重度紅斑	3
痂皮	4

皮膚感受性；耳介リンパ節中放射能 (dpm) の値から SI 値 (Stimulation Index、各動物の dpm/溶媒対照群の平均 dpm) を算出した。SI 値が 3 未満であれば皮膚感受性なし、3 以上であれば皮膚感受性ありと判定した。皮膚感受性ありと判定された場合には、SI が 3 となる検体濃度 (EC<sub>3</sub>) を算出し、以下の基準に従って皮膚感受性の強さを分類した。

EC <sub>3</sub>	強さ
10%以上 100%以下	弱い
1%以上 10%未満	中等度
0.1%以上 1%未満	強度
0.1%未満	極度

結果：体重増加量および SI 値の各群平均値、および各観察時間における適用部位の紅斑が認められた動物数を下表に示す。

群	供試動物数	紅斑の認められた動物数																平均体重増加量	平均 SI 値					
		1日目				2日目				3日目				6日目										
		紅斑評点																						
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4			
溶媒対照 (1%L92)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.3	1.0	
検体 (%)	4	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.1	1.1
	20	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.5	1.7
	100	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0.3	1.3
陽性対照 HCA	6	6	6	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0	0	6	0	0	0	0	-0.0	14.3

a：統計学的解析は実施しなかった

いずれの検体群においても紅斑は認められなかった。4、20 および 100% 検体群の SI 値は、それぞれ 1.1、1.7 および 1.3 であり、いずれも 3 未満であったため EC<sub>3</sub> は算出しなかった。

陽性対照群の SI 値は 14.3 であった。

以上の結果から、スピネトラム 11.7% 水和剤は皮膚感受性を有しないと判定された。

### 3. スピネトラム 0.50%粒剤

#### (1) スピネトラム 0.50%粒剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 製 3-1)

試験機関：(株) ポゾリサーチセンター

【GLP 対応】

報告書作成年：2007 年

検 体：0.50%粒剤  
組 成：スピネトラム ; 0.50%  
          鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 95.5%

供試動物：Cri:CD(SD)系ラット、8 週齢、体重 184~192 g、一群雌各 3 匹

観察期間：14 日間

試験方法：毒性等級法

投与方法：検体を蒸留水に懸濁して 200mg/mL の懸濁液を調製した。この懸濁液を胃ゾンデを用いて約 16 時間絶食させた動物に 10mL/kg の割合で単回強制経口投与した。

観察・検査項目：一般状態の観察及び生死の有無を 14 日間観察した。また、投与日の投与前 (投与 0 日)、並びに投与後 1、3、7、及び 14 日の午前に体重を測定した。観察期間終了後に、全ての動物の器官及び組織について肉眼的剖検を実施した。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌>2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡の発生はなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状の発現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

毒性徴候および死亡は認められず、体重および剖検においても検体投与の影響は認められなかった。

(2) スピネトラム 0.50%粒剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 製 3-2)

試験機関：(株)ボゾリサーチセンター

【GLP 対応】

報告書作成年：2007 年

検 体：0.50%粒剤  
組 成：スピネトラム ; 0.50%  
          鉍物質微粉、界面活性剤等 ; 95.5%

供試動物：CrI:CD(SD)系ラット、8 週齢、体重 雄 280~286 g、雌 203~226 g、  
          一群雌雄各 5 匹

観察期間：14 日間

投与方法：2000mg/kg の投与量で、検体を 0.3mL の蒸留水で湿らせてリント布 (約 4×5 cm) に均一にのせて、ラットの刈毛した背部皮膚の約 5×6 cm の部分にあてがい、粘着性伸縮テープで 24 時間閉塞した。24 時間後、温水及びガーゼを用いて塗布部位を清拭した。

観察・検査項目：一般状態の観察及び生死の有無を 14 日間観察した。また、投与日の投与前 (投与 0 日)、並びに投与後 3、7、及び 14 日の午前に体重を測定した。観察期間終了後に、全ての動物の塗布部位を含む器官及び組織について肉眼的剖検を実施した。

結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄共 >2000
死亡開始時間及び終了時間	死亡の発生はなかった。
症状発現時間及び消失時間	症状の発現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)	雌雄共 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雌雄共 2000

毒性徴候および死亡は認められず、体重および剖検においても検体投与の影響は認められなかった。また、塗布部位の異常も認められなかった。

(3) スピネトラム 0.50%粒剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験 (資料 製 3-3)

試験機関：住友化学株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：0.50%粒剤  
組 成：スピネトラム ; 0.50%  
          鋳物質微粉、界面活性剤等 ; 95.5%

供 試 動 物：ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、14 週齢、体重 2617.4~2985.6 g、  
          一群 3 匹

観 察 期 間：検体除去後 72 時間

投 与 方 法：微粉末化した検体 0.5 g を 0.5 mL の注射用水で湿らせたリント布 (2.5 cm ×  
          2.5 cm) 上に均一に展延したものを、剪毛した背部の無傷皮膚 1 カ所に貼付  
          し、閉塞固定した。曝露時間は 4 時間とし、皮膚表面に付着した検体は水を  
          用いて拭き取った。

観 察 項 目：検体除去の 1、24、48、および 72 時間後に適用部分の刺激性変化（紅斑およ  
          び浮腫の有無等）を観察し、Draize 法に従って採点した。刺激性の評価は、  
          検体除去の 72 時間後までの採点の平均値（一次刺激率）を求めて行った。

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	最高採点	曝露後時間 (時間)			
			1	24	48	72
1	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	1	1	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0.3	0.3	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

検体除去の 1 および 24 時間後に 1 例において紅斑を認めたが、48 時間後には回復し、一次刺激率は 0.2 であった。

以上の結果から、スピネトラム 0.50%粒剤はウサギの皮膚に対してごく軽度の刺激性がある

と判定した。刺激性変化は 48 時間以内に回復した。

(4) スピネトラム 0.50%粒剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製 3-4)

試験機関：住友化学株式会社

[GLP 対応]

報告書作成年：2007 年

検 体：0.50%粒剤

組 成：スピネトラム ; 0.50%  
鋳物質微粉、界面活性剤等 ; 95.5%

供 試 動 物：ニュージーランドホワイト種雄性ウサギ、一群 3 匹

非洗眼群；15 週齢、体重 2680.4～2911.9 g

洗眼群；16 週齢、体重 2737.9～3131.4 g

観 察 期 間：72 時間

投 与 方 法：微粉末化した検体を、ウサギの片側下眼瞼結膜嚢に 1 匹あたり 0.066 g (0.1 mL 容量) 適用し、3 匹は 30 分後に洗眼した。3 匹については洗眼しなかった。

観 察 項 目：適用の 1、24、48、および 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize 法に従って採点し、Kay and Calandra の方法で評価した。

結 果：観察した刺激性変化の採点は次頁の表のとおりである。

角膜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。

非洗眼群では、虹彩の変化が適用 1 時間後まで認められたが 24 時間後には回復した。結膜の変化は適用 24 時間後まで認められた。適用 72 時間後までの平均合計点の最大値 (MMTS) は 9.3 であった。

洗眼群では、虹彩の変化は認められなかったが、結膜の変化が適用 48 時間後まで認められた。適用 72 時間後までの MMTS は 5.3 であった。洗眼群では虹彩における局所反応が認められず、MMTS も低下したため、洗眼効果はあると考えられた。

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 1	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	充血	2	1	0	0	0	
			結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫		4	1	1	0	0	
		眼脂分泌		3	1	0	0	0	
	動物 番号 2	角膜 混濁		程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	充血	2	0	0	0	0	
			結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫		4	1	1	0	0	
		眼脂分泌		3	1	0	0	0	
	動物 番号 3	角膜 混濁		程度	4	0	0	0	0
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩	充血	2	1	0	0	0	
			結膜	発赤	3	1	1	0	0
		浮腫		4	1	1	0	0	
		眼脂分泌		3	1	0	0	0	
	合計 *				330	28	12	0	0
	平均				110	9.3	4.0	0	0
	洗眼群 (3匹平均)	角膜 混濁	程度	4	0	0	0	0	
面積			4	0	0	0	0		
虹彩		充血	2	0	0	0	0		
		結膜	発赤	3	1	1	0.7	0	
浮腫			4	1	1	0	0		
眼脂分泌			3	0.6	0	0	0		
合計 *				110	5.3	4.0	1.3	0	

\* Draize 法による評価点 (最高 110 点/匹)

以上の結果から、スピネトラム 0.50% 粒剤はウサギの眼粘膜に対してごく軽度の刺激性があると判定した。刺激性変化は 72 時間以内に回復した。また、洗眼効果はあるものと考えられた。



(5) スピネトラム 0.50%粒剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製 3-5)

試験機関：(株)ボツリサ-ケンカ-

【GLP 対応】

報告書作成年：2007 年

検 体：0.50%粒剤  
組 成：スピネトラム ; 0.50%  
          鋳物質微粉、界面活性剤等 ; 95.5%

供試動物：ハートレー系雌性モルモット、試験開始時 6 週齢、体重 321~388g、  
          検体感作群 20 匹、検体非感作群 10 匹

観察期間：感作開始後 30 日間観察

試験操作：Buehler Test 法

感 作：感作開始日 (0 日) に、あらかじめ刈毛・剃毛した左側胴部の皮膚を感作部位として、直径 2.5cm のパッチに乳鉢で粉碎した検体の原末 0.2g をのせ、0.2mL の注射用水で湿らせた状態 (100%) で 6 時間閉塞貼付した。同様の操作を 7 日ごとに計 3 回実施した。また、非感作群には注射用水を同様に投与した。

惹 起：検体感作群及び非感作群について、最終感作の 14 日後に、あらかじめ刈毛・剃毛した右側胴部の皮膚を惹起部位として、直径 2.5cm のパッチに乳鉢で粉碎した検体の原末 0.2g をのせ、0.2mL の注射用水で湿らせた状態 (100%) で 6 時間閉塞貼付した。

陽性対照：試験実施機関で 6 箇月に 1 回実施している 1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼン (DNCB) を用いた背景データ収集試験 (最近時：2007 年 2 月 15 日~2007 年 4 月 16 日) の結果を引用した。

観察項目：検体除去 24 及び 48 時間後に投与部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察し、Magnusson & Kligman 法の評価基準により採点した。一般状態は感作 30 日後まで 1 日 1 回観察した。また、体重は感作誘導開始日、最終感作日、惹起日及び観察終了日に測定した。

結果：各観察時間において、皮膚反応が認められた動物数及びその評点は以下の表の通りである。

群	供試動物数	感作物質	惹起物質	感作反応動物数								陽性率(%)						
				24 時間					48 時間					24 時間	48 時間			
				皮膚反応評点				計	皮膚反応評点				計					
				0	1	2	3		0	1	2	3						
検体	感作群	20	100% 検体	100% 検体	20	0	0	0	0	0/20	20	0	0	0	0	0/20	0	0
	非感作群	10	注射用水	100% 検体	10	0	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0	0/10	0	0
陽性対照	感作群	10	1% DNCB	0.25% DNCB	0	0	0	10	10/10	0	0	0	10	10/10	100	100		
				エタノール	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	0	0		
	非感作群	5	エタノール	0.25% DNCB	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0		
				エタノール	5	0	0	0	0/5	5	0	0	0	0/5	0	0		

陽性率(%) = 陽性感作動物数/供試動物数×100

検体感作群では、検体除去 24 及び 48 時間後のいずれの観察でも、全例 (20/20 例) に皮膚反応は認められなかった。各観察時期における平均評点は 0 であり、陽性率も 0% であった。非感作群においても、検体除去 24 及び 48 時間後の観察で、全例 (10/10 例) に皮膚反応は認められなかった。各観察時期における平均評点は 0 であり、陽性率も 0% であった。

これらの結果から、検体に皮膚感作性はないと判断された。

なお、各試験群とも一般状態及び体重に検体投与による異常は認められなかった。

以上の結果から、スピネトラム 0.50% 粒剤に皮膚感作性はないと結論された。

## IX. 動植物およ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	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
I-1 (GLP)	代謝・分解 (動物) [吸収・排泄、薬物動態]	ラット	経口投与・ 静脈内投与	マクロライド標識体 1回投与 低用量 10 mg/kg 高用量(経口投与のみ) 100 mg/kg	スピネトラムJ体 <ul style="list-style-type: none"> <li>投与した<sup>14</sup>C-スピネトラムは、速やかに糞尿中に排泄された。主要排泄経路は糞中で、投与7日目において低用量群では糞中に86.9% (雄) および84.6% (雌)、尿中に4.03% (雄) および4.58% (雌) が排泄された。一方、高用量群では糞中に83.3% (雄) および83.9% (雌) が、尿中に4.18% (雄)、4.73% (雌) が排泄された。経口投与したラットの排泄経路には、投与量、性別による量的な差は認められなかった。</li> <li>投与7日目における組織残留量は低用量で投与量の0.6%、高用量で1.4%であり、性差は認められなかった。</li> <li>血漿の薬物動態学的パラメータ  <ul style="list-style-type: none"> <li>&lt;低用量&gt; ♂ Tmax: 1.38 時間 Cmax: 0.23 ppm T<sub>1/2</sub>: 3.86 時間</li> <li>♀ Tmax: 1.50 時間 Cmax: 0.28 ppm T<sub>1/2</sub>: 3.90 時間</li> <li>&lt;高用量&gt; ♂ Tmax: 2.00 時間 Cmax: 2.01 ppm T<sub>1/2</sub>: 8.69 時間</li> <li>♀ Tmax: 1.67 時間 Cmax: 1.65 ppm T<sub>1/2</sub>: 10.68 時間</li> </ul> </li> <li>尿および糞抽出物中の主要代謝物として7種類の代謝物が検出された。全ての尿および糞抽出液中に主要代謝物が1種類存在し、投与量の31~61%を占めた。実験群の全てにおいて代謝物プロファイルは定性的に同様で、投与量または性別の間で大きな差はなかった。</li> <li>主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化であり、親化合物のN-脱メチル化、O-脱エチル化および水酸化により生じた代謝物のグルタチオン経路の抱合体も存在した。</li> <li>静脈内投与した場合も77.4~85.1%が糞中に排泄された。</li> <li>吸収率は70%以上と考えられた。</li> </ul>	Dow (2005年)	289
I-2 (GLP)	代謝・分解 (動物) [組織分布・代謝]	ラット	経口投与・ 静脈内投与	マクロライド標識体 1回投与 低用量 10 mg/kg 高用量(経口投与のみ) 100 mg/kg	スピネトラムJ体 <ul style="list-style-type: none"> <li>組織中の放射能は二相性を示して低下した。</li> <li>Cmaxにおける組織中<sup>14</sup>C濃度は、消化管、リンパ節、肝臓、肺、副腎、脾臓の順で高かった。1/2Cmaxにおいては、消化管、リンパ節、肺、副腎、脾臓の順で高かった。</li> <li>組織中<sup>14</sup>C濃度は、ほとんどの組織で投与量と比例し、高用量は低用量の約10倍であった。</li> <li>いずれの時点においても、肝臓、腎臓、血漿および甲状腺中には親化合物が検出された。その他に7種類の代謝物が検出された。</li> <li>主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化であり、親化合物のN-脱メチル化、O-脱エチル化および水酸化により生じた代謝物のグルタチオン経路の抱合体も存在した。また、脱糖後の硫酸またはグルクロン酸抱合体も存在した。</li> </ul>	Dow (2007年)	303

代謝分解試験に使用した検体の標識位置選定理由:

スピネトラム-J およびスピネトラム-Lともマクロライド部分と2つの糖部分 (forosamine およびラムノース) から成るが、これらの糖類は安全上問題ない化合物であるため、マクロライド環の炭素が<sup>14</sup>Cで均一に標識された化合物 (<sup>14</sup>C-スピネトラム-J および<sup>14</sup>C-スピネトラム-L) を、<sup>14</sup>C-酢酸を炭素源として発酵法により調製し、各種代謝分解試験に使用した。

(図1参照: p488)

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
1-3 (GLP)	代謝・分解 (動物) [吸収・排泄・薬物動態]	ラット	経口投与・ 静脈内投与	マクロライド環状体 1回投与 低用量 10 mg/kg 高用量 (経口投与のみ) 100 mg/kg	スピネトラムL体 <ul style="list-style-type: none"> <li>投与した<sup>14</sup>C-スピネトラムは、速やかに糞尿中に排泄された。主要排泄経路は糞中で、投与7日目において低用量群では糞中に84.6% (雄) および84.0% (雌)、尿中に2.69% (雄) および2.77% (雌) が排泄された。一方、高用量群では糞中に82.5% (雄) および83.3% (雌) が、尿中に3.35% (雄)、3.30% (雌) が排泄された。経口投与したラットの排泄経路には、投与量、性別による量的な差は認められなかった。</li> <li>投与7日目における組織残留量は低用量で投与量の3.3%、高用量で7.0%であり、性差は認められなかった。</li> <li>血漿の薬物動態学的パラメータ  <ul style="list-style-type: none"> <li>&lt;低用量&gt;♂ Tmax:3.50時間 Cmax:0.31 ppm T<sub>1/2</sub>:7.77時間</li> <li>♀ Tmax:1.31時間 Cmax:0.36 ppm T<sub>1/2</sub>:7.30時間</li> <li>&lt;高用量&gt;♂ Tmax:4.00時間 Cmax:2.28 ppm T<sub>1/2</sub>:22.79時間</li> <li>♀ Tmax:3.00時間 Cmax:2.89 ppm T<sub>1/2</sub>:23.88時間</li> </ul> </li> <li>尿および糞抽出物中の主要代謝物として9種類の代謝物が検出された。全ての尿および糞抽出液中に主要代謝物が1種類存在し、投与量の51~66%を占めた。実験群の全てにおいて代謝物プロファイルは定性的に同様で、投与量または性別の間で大きな差はなかった。</li> <li>主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化であり、親化合物のN-脱メチル化、O-脱エチル化により生じた代謝物のグルタチオン経路の抱合体も存在した。</li> <li>静脈内投与した場合も78.5~80.7%が糞中に排泄された。</li> <li>吸収率は70%以上と考えられた。</li> </ul>	Dow (2005年)	317
1-4 (GLP)	代謝・分解 (動物) [組織分布・代謝]	ラット	経口投与・ 静脈内投与	マクロライド環状体 1回投与 低用量 10 mg/kg 高用量 (経口投与のみ) 100 mg/kg	スピネトラムL体 <ul style="list-style-type: none"> <li>組織中の放射能は二相性を示して低下した。</li> <li>Cmaxにおける組織中<sup>14</sup>C濃度は、消化管、リンパ節、肝臓、肺、副腎、脾臓の順で高かった。1/2Cmaxにおいては、消化管、リンパ節、副腎、肺の順で高かった。</li> <li>組織中<sup>14</sup>C濃度は、ほとんどの組織で投与量と比例した。Cmaxにおいては高用量が低用量の平均して17倍を示し、1/2Cmaxにおいては低用量の9~13倍を示した。</li> <li>いずれの時点においても、肝臓、腎臓、血漿および甲状腺中には親化合物が検出された。その他に8種類の代謝物が検出された。</li> <li>主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化であり、親化合物のN-脱メチル化、O-脱エチル化、脱糖および水酸化により生じた代謝物のグルタチオン経路の抱合体も存在した。</li> </ul>	Dow (2007年)	330

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
II-1 (GLP)	代謝・分解 (植物)	レタス	茎葉散布	マクロライド標識体 900 又は 300 g ai/ha で1回処理、300 又は 100 g ai/ha で3回処理 (7日 間隔)	<p>・総残留放射能 (TRR) 濃度</p> <p>処理3日後の植物試料を比較すると、3回処理の試料 (スピネトラム-J: 6.1 mg/kg、スピネトラム-L: 3.4 mg/kg) の方が1回処理の試料 (スピネトラム-J: 36 mg/kg、スピネトラム-L: 11 mg/kg) よりも顕著に低かった。</p> <p>・親化合物及び代謝物</p> <p><u>スピネトラム-J (1回処理、処理1日後)</u></p> <p>スピネトラム-J (31%TRR) のほかに代謝物としてN-ジメチル部分が酸化されたN-formyl-175-J (11%TRR) およびN-脱メチル化を受けたN-demethyl-175-J (20%TRR) が認められた。そのほかに forosamine 部分が変化を受けて生成した多数の微量代謝物やマクロライド骨格が開裂または開環されたと推測される多数の極性成分も認められた。</p> <p><u>スピネトラム-L (1回処理、処理1日後)</u></p> <p>スピネトラム-L (12%TRR)、N-demethyl-175-L (7%TRR)、N-formyl-175-L (4%TRR) に加え、多数の微量代謝物や極性成分が認められた。</p> <p><u>3回処理の試料</u></p> <p>スピネトラム-J およびスピネトラム-Lとも、1回処理の試料とほぼ同じ代謝パターンを示した。</p> <p>・代謝経路</p> <p>N-脱メチル体やN-ホルミル体のような forosamine 部分が変化を受ける経路と親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂または開環され多数の極性成分を生成する経路により代謝された。</p>	Dow (2005年)	344
II-2 (GLP)	代謝・分解 (植物)	かぶ	茎葉散布	マクロライド標識体 900 又は 300 g ai/ha で1回処理、300 又は 100 g ai/ha で3回処理 (7日 間隔)	<p>・総残留放射能 (TRR) 濃度</p> <p>いずれの処理においても地上部試料 (スピネトラム-J: 4.9~12 mg/kg、スピネトラム-L: 1.1~5.3 mg/kg) に比べて根部試料 (スピネトラム-J: 0.004~0.12 mg/kg、スピネトラム-L: 0.004~0.031 mg/kg) の方が顕著に低かった。</p> <p>・親化合物及び代謝物</p> <p><u>スピネトラム-J (1回処理、処理3日後、地上部)</u></p> <p>スピネトラム-J (9.4%TRR) のほかに代謝物としてN-demethyl-175-J (8.5%TRR) およびN-formyl-175-J (11%TRR) が認められた。それ以外に forosamine 部分が変化を受けて生成した多数の微量代謝物やマクロライド骨格が開裂または開環されたと推測される多数の極性成分が認められた。</p> <p><u>スピネトラム-L (1回処理、処理3日後、地上部)</u></p> <p>スピネトラム-L (2.9%TRR)、N-demethyl-175-L (1.0%TRR)、N-formyl-175-L (0.6%TRR) や多数の微量代謝物が認められたが、大部分は多数の極性成分として存在した。</p> <p><u>スピネトラム-J (1回処理、処理3日後、根部)</u></p> <p>スピネトラム-J (22%TRR)、N-demethyl-175-J (10%TRR) およびN-formyl-175-J (17%TRR) が認められた。</p> <p><u>スピネトラム-L (1回処理、処理3日後、根部)</u></p> <p>スピネトラム-L (15%TRR)、N-formyl-175-L (3.0%TRR) が認められた。</p>	Dow (2005年)	356

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
					<p><u>3回処理の地上部試料</u></p> <p>スピネトラム-J およびスピネトラム-L とも、1回処理の地上部試料とほぼ同じ代謝パターンを示した。</p> <p>・代謝経路</p> <p>N-脱メチル体やN-ホルミル体のような forosamine 部分が変化を受ける経路と親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂または開環され多数の極性成分を生成する経路により代謝された。</p>		
II-3 (GLP)	代謝・分解 (植物)	りんご	散布	<p>マクロライド標識体スピネトラム-J を 1810 g ai/ha で1回散布、スピネトラム-L を 1108 g ai/ha で1回散布</p>	<p>・りんご果実の総残留放射能 (TRR) 濃度</p> <p>0.71~1.67 mg/kg (スピネトラム-J) および 0.36~1.34 mg/kg (スピネトラム-L)。そのうち、96%を超える放射能は果実表面および果皮に存在し、果肉中の放射能は4%未満。</p> <p>・親化合物</p> <p>りんご果実中のスピネトラム-J およびスピネトラム-L は、処理直後それぞれ 82%TRR および 43%TRR 認められたが、経時的に減少し、処理7日後には 46%TRR および 3%TRR、処理30日後には 22%TRR および検出限界未満となり、スピネトラム-J の方がスピネトラム-L よりも約3倍速く減少した。また、覆いを施したりんご果実中の親化合物濃度は覆いをしないりんご果実よりも高かった。</p> <p>・代謝物</p> <p><u>スピネトラム-J</u></p> <p>N-ジメチル部分がN-脱メチル化を受けた N-demethyl-175-J (最高値 14%TRR、処理3日後の葉)、酸化を受けた N-formyl-175-J (同 5%TRR、3日後のりんご果実)のほか、ラムノース部分が脱離した C9-pseudoaglycone-175-J (同 5%、30日後のりんご果実) および 3' 位で O-脱エチル化を受けた O-deethyl-175-J (4%TRR、処理14日後の葉) が認められた。最終的にはマクロライド骨格が開裂または開環されたと推定される極性成分が約100個以上認められた。</p> <p><u>スピネトラム-L</u></p> <p>N-demethyl-175-L (同 8%TRR、処理直後のりんご果実) および N-formyl-175-L (同 3%TRR、3日後の暗所りんご果実) が認められた。最終的にはマクロライド骨格が開裂または開環されたと推定される極性成分が約100個以上認められた。</p> <p>・代謝経路</p> <p>①forosamine 部分が変化を受けてN-脱メチル体やN-ホルミル体を生成する経路、②ラムノース部分が変化し、C9-pseudoaglycone 体や O-deethyl 体を生成する経路、③親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂または開環され多数の極性成分を生成する経路、により代謝された。</p>	Dow (2005年)	374

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
II-4 (GLP)	代謝・分解(植物)	イネ	水田 土壌にあけた穴に処理した後、イネ(2~4葉期)を定植	マクロライド環状体 0.5 mg ai/植穴(100 g ai/haに相当)	<ul style="list-style-type: none"> <li>植物試料中の総残留放射能 (TRR) 濃度 処理7日後の試料(幼苗)では10~20 mg/kgであったが、経時的に減少し、収穫期の試料では0.001~0.002 mg/kg(玄米)および0.08~0.21 mg/kg(稲わら)となった。</li> <li>親化合物及び代謝物 稲わら中、親化合物は11%TRR(スピネトラム-J)および3%TRR(スピネトラム-L)残存し、代謝物としてN-脱メチル体(最高3%TRR)およびN-ホルミル体(同2%TRR)のほかに34~36個の成分が認められたが、単一成分で6%TRRを超えるものはなかった。抽出残渣中の放射能は40~52%TRRに達したが、その大部分はリグニンやヘミセルロースなどの植物構成成分として存在した。</li> <li>代謝経路 N-脱メチル体やN-ホルミル体のような forosamine 部分に変化を受ける経路と親化合物やこれら代謝物のマクロライド骨格が開裂または開環され多数の極性成分を生成する経路により代謝された。</li> </ul>	Dow (2007年)	388
III-1 (GLP)	代謝・分解(土壌)	水田土壌	土壌混和	マクロライド環状体 乾土あたり1.0 µg/g	<ul style="list-style-type: none"> <li>消失半減期 スピネトラム-J: 193日 スピネトラム-L: 456日</li> <li>親化合物残存量(180日後) スピネトラム-J: 処理量の45% スピネトラム-L: 処理量の65%</li> <li>代謝分解物 N-demethyl-175-J: 最高で処理量の31%(180日後) N-demethyl-175-L: 最高で処理量の11%(100日後)</li> <li>土壌結合残渣 経時的に徐々に増加し、180日後にはスピネトラム-Jおよびスピネトラム-Lとも処理量の14%であった。土壌残渣中の放射能を分画すると、両化合物とも放射能はフミン画分中に最も多く結合し、続いてフルボ酸画分、フミン酸画分の順であった。</li> <li><sup>14</sup>C<sub>2</sub>の発生量(180日後) スピネトラム-J: 処理量の4% スピネトラム-L: 処理量の3%</li> <li>代謝分解経路 N-脱メチル化反応を受けてN-脱メチル体を生成し、徐々に土壌残渣へ結合するか<sup>14</sup>C<sub>2</sub>まで無機化された。</li> </ul>	Dow (2007年)	402

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
III-2 (GLP)	代謝・分解 (土壌)	畑土壌 (4種類)	土壌混和	マクロライド標識体乾土あたり 0.2 µg/g	<ul style="list-style-type: none"> <li>消失半減期 スピネトラム-J: 8~29日 スピネトラム-L: 3~17日 N-demethyl-175-J: 32~273日 N-demethyl-175-L: 5~88日</li> <li>代謝分解物 N-demethyl-175-J: 最高で処理量の45~68% (14~125日後) N-demethyl-175-L: 最高で処理量の12~41% (3~32日後) 他に最大60個の代謝分解物が検出されたが、その大部分は処理量の2%未満の微量な代謝分解物であった。</li> <li>土壌結合残渣 経時的に徐々に増加し、最高値はスピネトラム-Jで処理量の22~38% (276日後)、スピネトラム-Lで33~38% (123~365日後)であった。土壌残渣中の放射能を分画すると、スピネトラム-Jでは3種類の土壌でこれら放射能の多くはフルボ酸画分に、他の1種類の土壌ではフミン画分に結合していたのに対し、スピネトラム-Lでは4種類の土壌とも大部分の放射能はフルボ酸画分に結合していた。</li> <li><sup>14</sup>C<sub>2</sub>の発生量 (365日後) スピネトラム-J: 処理量の5~35% スピネトラム-L: 処理量の10~36%</li> <li>代謝分解経路 初めにN-脱メチル化反応を受けてN-demethyl-175-JおよびN-demethyl-175-Lに分解後、多数の微量代謝分解物や土壌残渣への結合を経て、最終的には<sup>14</sup>C<sub>2</sub>まで無機化された。</li> </ul>	Dow (2005年)	413
III-3 (GLP)	代謝・分解 (土壌表面光分解)	畑土壌	土壌表面処理	マクロライド標識体乾土あたり 20 µg/g	<ul style="list-style-type: none"> <li>消失半減期 <u>北緯40度における夏の太陽光換算値</u> スピネトラム-J: 63日 (光照射区)、139日 (暗対照区) スピネトラム-L: 15日 (光照射区)、99日 (暗対照区)</li> <li>光分解半減期 (暗対照区における反応速度定数で補正した値) スピネトラム-J: 116日 スピネトラム-L: 18日</li> <li>代謝分解物 (15~18日後) スピネトラム-J: 処理量の5%未満である多数の代謝分解物 スピネトラム-L: 処理量の7%未満である多数の代謝分解物</li> <li>土壌結合残渣 (15~18日後) スピネトラム-J: 処理量の7% スピネトラム-L: 処理量の16%</li> <li>揮散性物質 (<sup>14</sup>C<sub>2</sub>と推定) (15~18日後) スピネトラム-J: 処理量の2% スピネトラム-L: 処理量の3%</li> </ul>	Dow (2005年)	430

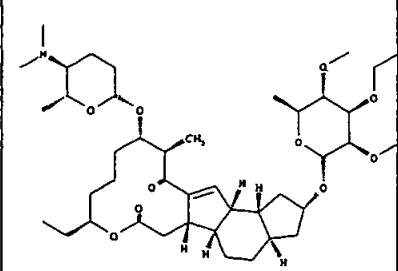
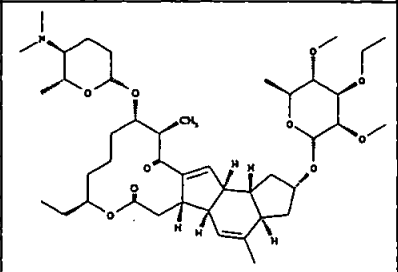


資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
IV-1 (GLP)	代謝・分解 (加水分解)	緩衝液 (pH 5, 7, 9)	水に添加	マクロライド標識体 添加濃度 0.5 µg/mL	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ pH 5 および 7 では安定</li> <li>・ pH 9 での分解半減期 (25℃)</li> <li>・ スピネトラム-J : 分解が遅く算出不能</li> <li>・ スピネトラム-L : 154 日</li> <li>・ 加水分解物 (30 日後)</li> <li>・ N-demethyl-175-J : 処理量の 7%</li> <li>・ N-demethyl-175-L : 処理量の 12%</li> <li>・ 分解経路</li> <li>・ N-脱メチル化</li> </ul>	Dow (2005 年)	441
IV-2 (GLP)	代謝・分解 (水中光分解)	緩衝液 (pH 7)	水に添加	マクロライド標識体 添加濃度: 0.3 µg/mL (スピネトラム-J)、 0.5 µg/mL (スピネトラム-L)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 消失半減期 (東京における春の太陽光換算値)</li> <li>・ スピネトラム-J : 2.2 日</li> <li>・ スピネトラム-L : 0.99 日</li> <li>・ 光分解物</li> <li>・ <u>スピネトラム-J</u></li> <li>・ N-demethyl-175-J : 最高で処理量の 7%</li> <li>・ 分子量 813 の分解物 (分子式 <math>C_{12}H_{11}NO_{11}</math>) : 最高で処理量の 11%</li> <li>・ 分子量 763 の分解物 (分子式 <math>C_{12}H_{10}NO_{11}</math>) : 最高で処理量の 3%</li> <li>・ 分子量 640 の分解物 (分子式 <math>C_{11}H_9NO_{11}</math>) : 最高で処理量の 7%</li> <li>・ <u>スピネトラム-L</u></li> <li>・ N-demethyl-175-L : 最高で処理量の 12%</li> <li>・ これらの分解物は速やかに減少して経時的に高極性化合物となり、試験終了時 (照射 19 日後) には、スピネトラム-J およびスピネトラム-L とともに約 70 個以上の微量分解物 (大部分は処理量の 3%未満) に変換された。</li> <li>・ 分解経路</li> <li>・ 一部 N-脱メチル化反応を受けるが、酸素原子および水酸基の付加を経て、マクロライド環が開裂して多数の極性分解物に分解した。</li> </ul>	Dow (2005 年)	447
IV-3 (GLP)	代謝・分解 (水中光分解)	自然水 (小川から採取した水、pH 8.5)	水に添加	マクロライド標識体 添加濃度: 1 µg/mL (スピネトラム-J)、 2 µg/mL (スピネトラム-L)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ 消失半減期 (東京における春の太陽光換算値)</li> <li>・ スピネトラム-J : 0.94 日</li> <li>・ スピネトラム-L : 0.50 日</li> <li>・ 光分解物</li> <li>・ <u>スピネトラム-J</u></li> <li>・ N-demethyl-175-J : 最高で処理量の 28%</li> <li>・ <u>スピネトラム-L</u></li> <li>・ N-demethyl-175-L : 最高で処理量の 9%</li> <li>・ 13, 14-β-dihydro-C17-pseudoaglycone-175-L (水素付加された forosamine 部分の脱離体) : 最高で処理量の 23%</li> <li>・ これらの分解物は速やかに減少して経時的に高極性化合物となり、試験終了時 (照射 16 日後) には、スピネトラム-J およびスピネトラム-L とともに約 70 個以上の微量分解物 (大部分は処理量の 3%未満) に変換された。</li> </ul>	Dow (2007 年)	456

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関 (報告年)	頁
					<ul style="list-style-type: none"> <li>分解経路</li> <li>一部N-脱メチル化反応を受けるが、forosamine 部分の脱離や酸素原子および水酸基の付加を経て、マクロライド環が開裂して多数の極性分解物に分解した。</li> </ul>		
V-1 (GLP)	<ul style="list-style-type: none"> <li>土壤吸着・脱着性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>土壤 (7種類)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>試験系 (土壤-水) に添加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>マクロライド標識体添加濃度:</li> <li>0.025~2.5 µg/mL (スピネトラム-J)、</li> <li>0.01~0.50 µg/mL (スピネトラム-L)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>予備試験結果より、土壤-水比は1:10、平衡化時間を48時間に設定して吸着・脱着試験を実施。</li> <li>いずれの土壤においても吸着および脱着パターンはフロイントリッヒ等温式によく適合し、同式より求めた有機炭素含量で補正した吸着・脱着係数は以下の通り。</li> <li>平均土壤吸着係数 <math>K_{\text{Foc (ads)}}</math> : スピネトラム-J : 2290 mL/g スピネトラム-L : 2690 mL/g</li> <li>平均土壤脱着係数 <math>K_{\text{Foc (des)}}</math> : スピネトラム-J : 3250 mL/g スピネトラム-L : 9980 mL/g</li> </ul>	Dow (2007年)	464
	<ul style="list-style-type: none"> <li>土壤吸着性 (代謝物)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>土壤 (7種類)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>試験系 (土壤-水) に添加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>N-demethyl-175-J および N-demethyl-175-L のマクロライド標識体添加濃度:</li> <li>0.025~2.5 µg/mL (N-demethyl-175-J)、</li> <li>0.01~0.50 µg/mL (N-demethyl-175-L)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>土壤-水比は1:10、平衡化時間を48時間に設定して吸着試験を実施。</li> <li>いずれの土壤においても吸着パターンはフロイントリッヒ等温式によく適合し、同式より求めた有機炭素含量で補正した平均土壤吸着係数 <math>K_{\text{Foc (ads)}}</math> は以下の通り。</li> <li>N-demethyl-175-J : 2390 mL/g N-demethyl-175-L : 2320 mL/g</li> </ul>		
VI-1 (GLP)	<ul style="list-style-type: none"> <li>生物濃縮性</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>ニジマス</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>連続流水式暴露</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>スピネトラム-J のマクロライド標識体暴露濃度: 80 ng/mL</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>試験濃度にかかわらず魚体中の <math>^{14}\text{C}</math> 濃度は暴露14日後に定常状態に達したが、薬剤を含まない水槽中で <math>^{14}\text{C}</math> は魚体中から速やかに排泄された。</li> <li>排泄半減期 低濃度区: 4.6日 高濃度区: 5.0日</li> <li>スピネトラム-J は魚体中で速やかに代謝されることが認められ</li> </ul>	Dow (2005年)	473

資料 No.	試験の種類	供試動物等	投与方法	投与量・処理量	結果概要	試験機関(報告年)	頁
				(高濃度区)、 8 ng/ml (低濃度区)	<p>た。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>定常状態における<sup>14</sup>C濃度(親化合物換算)の濃縮係数 BCFk 値: 46 (低濃度区) ~ 86 (高濃度区) BCFss 値: 44 (低濃度区) ~ 86 (高濃度区)</li> </ul>		
VI-2 (GLP)	生物濃縮性	ニジマス	連続流水式暴露	スピネトラム-Lのマクロライド標識体 暴露濃度: 80 ng/ml (高濃度区)、 8 ng/ml (低濃度区)	<ul style="list-style-type: none"> <li>試験濃度にかかわらず魚体中の<sup>14</sup>C濃度は暴露14日後に定常状態に達したが、薬剤を含まない水槽中で<sup>14</sup>Cは魚体中から速やかに排泄された。</li> <li>排泄半減期 低濃度区: 4.5日 高濃度区: 5.2日</li> <li>スピネトラム-Lは魚体中で速やかに代謝されることが認められた。</li> <li>定常状態における<sup>14</sup>C濃度(親化合物換算)の濃縮係数 BCFk 値: 344 (低濃度区) ~ 348 (高濃度区) BCFss 値: 76 (低濃度区) ~ 193 (高濃度区)</li> </ul>	Dow (2005年)	479

<代謝物一覧表>

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
親化合物	スピネトラム-J	(2 <i>R</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>aR</i> ,5 <i>bS</i> ,9 <i>S</i> ,13 <i>S</i> ,14 <i>R</i> ,16 <i>aS</i> ,16 <i>bR</i> )-13-(((2 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> )-5-(dimethylamino)-6-methyltetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-yl)oxy)-9-ethyl-14-methyl-7,15-dioxo-2,3,3 <i>a</i> ,4,5,5 <i>a</i> ,5 <i>b</i> ,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16 <i>a</i> ,16 <i>b</i> -octadecahydro-1 <i>H</i> -as-indaceno[3,2- <i>d</i> ]oxacyclododecin-2-yl 6-deoxy-3- <i>O</i> -ethyl-2,4-di- <i>O</i> -methyl-β- <i>L</i> -mannopyranoside	
親化合物	スピネトラム-L	(2 <i>S</i> ,3 <i>aR</i> ,5 <i>aS</i> ,5 <i>bS</i> ,9 <i>S</i> ,13 <i>S</i> ,14 <i>R</i> ,16 <i>aS</i> ,16 <i>bS</i> )-13-(((2 <i>S</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i> )-5-(dimethylamino)-6-methyltetrahydro-2 <i>H</i> -pyran-2-yl)oxy)-9-ethyl-4,14-dimethyl-7,15-dioxo-2,3,3 <i>a</i> ,5 <i>a</i> ,5 <i>b</i> ,6,7,9,10,11,12,13,14,15,16 <i>a</i> ,16 <i>b</i> -hexadecahydro-1 <i>H</i> -as-indaceno[3,2- <i>d</i> ]oxacyclododecin-2-yl 6-deoxy-3- <i>O</i> -ethyl-2,4-di- <i>O</i> -methyl-β- <i>L</i> -mannopyranoside	
動物 植物 土壌 加水分解 水中光分解	N-demethyl-175-J		
動物 植物 土壌 加水分解 水中光分解	N-demethyl-175-L		
植物	N-formyl-175-J		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
植物	N-formyl- 175-L		
動物 植物	O-deethyl- 175-J		
動物	O-deethyl- 175-L		
植物	C9-pseudo aglycone- 175-J		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
動物	C9-pseudo aglycone- 175-L		
動物	C9-ketopseu doaglycone- 175-J		
動物	Aglycone- 175-L		
水中光分解	13,14- $\beta$ - dihydro-C17 -pseudoagly cone-175-L		
動物	Hydroxy- 175-J		

由来	名称 (略称)	化学名	構造式
動物	Hydroxy- C9-pseudo aglycone- 175-J		

## 1. 動物代謝に関する試験

### (1) スピネトラム-Jのラットにおける代謝試験

(資料 I-1)

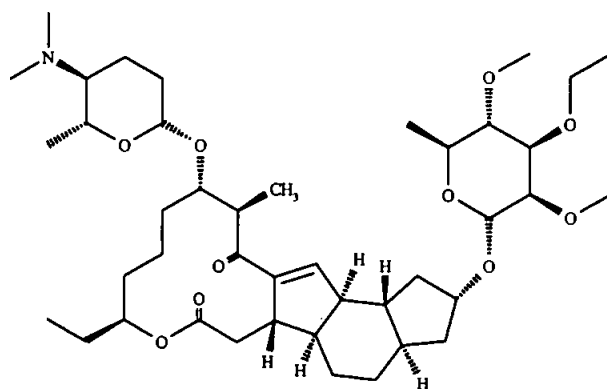
試験機関：Dow AgroSciences LLC

報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

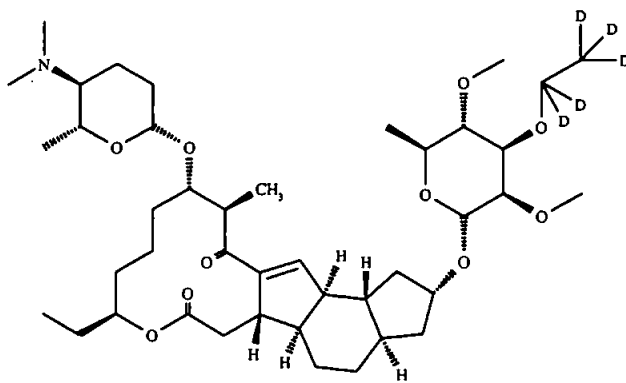
供試標識化合物：

$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D5)、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D2) の混合物

構造式：

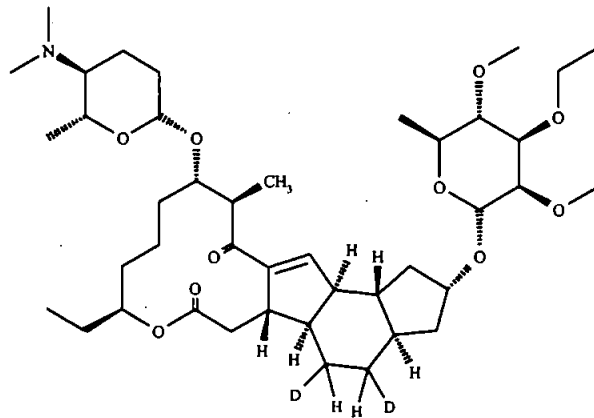


$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D5)





<sup>14</sup>C-スピネトラム-J (D2)

化学名：

(1*S*, 2*R*, 5*R*, 7*R*, 9*R*, 10*S*, 14*R*, 15*S*, 19*S*)-7-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2,4-di-*O*-methyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-15-[(2*R*, 5*S*, 6*R*)-5-(dimethylamino) tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-19-ethyl-14-methyl-20-oxatetracyclo[10.10.0.0<sup>2,10</sup>.0<sup>5,9</sup>]docos-11-ene-13,21-dione

	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J (D5)	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J (D2)
標識位置			
比放射能			
放射化学的純度			

供試動物： F344/DuCrI ラット

体重範囲 168~252 g (雄性ラット)、115~166 g (雌性ラット)

試験方法： 投与群および試験系を表1に示す。

表1 投与群および試験系

投与群	測定	動物数および性別	注
10 mg/kg 単回経口投与群	血中濃度推移	雌雄各 4 匹	A, D, E, G, H
100 mg/kg 単回経口投与群	血中濃度推移	雌雄各 4 匹	A, D, E, G, H
10 mg/kg 反復経口投与群	反復投与影響	雌雄各 4 匹	B, E, G, H
10 mg/kg 静脈内投与群	血中濃度推移	雌雄各 4 匹	C, D, E, G, H

- A.  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J を 1 回経口投与
- B. 非標識スピネトラム-J を 14 日間経口投与後 15 日目に  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J を 1 回経口投与
- C.  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J を 1 回静脈内投与
- D. 経時的に血液を採取し、血漿および赤血球中の放射能を測定
- E. 排泄物および組織を採取し、放射能を分析
- G. 尿および糞を分析
- H. 排泄物の採取を投与後 7 日間継続

投与： $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J を 0.5% METHOCEL に懸濁して投与液を調製し、1 番目の投与群には 10 mg/kg、2 番目の投与群には 100 mg/kg の用量で、ラットに 1 回経口投与した。3 番目の投与群では、非標識スピネトラムを 10 mg/kg の用量でラットに 14 日間経口投与した後、15 日目に  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J を 10 mg/kg の用量で 1 回経口投与した。4 番目の投与群には、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J を 10 mg/kg の用量でラットに静脈内投与した。

採取試料：

尿およびケージ洗液：投与後 12、24、48、72、96、120、144 および 168 時間目に採取し、LSC で放射能を測定した。

糞：投与後 24、48、72、96、120、144 および 168 時間目に採取し、水ホモジネートを作製後、オキシダイザーで燃焼し、LSC で放射能を測定した。

呼気中揮発成分：10 mg/kg 単回経口投与群で、0~24 時間目の採取時点において、投与量の 1% を超える量の放射能は検出されなかったため、24 時間目以降は呼気を採取せず、呼気中揮発成分中の放射能は測定しなかった。このことから、他の投与群については呼気を採取しなかった。

呼気中 CO<sub>2</sub> : 10 mg/kg 単回経口投与群で、0~12 時間または 12~24 時間のいずれの採取時点においても、投与量の 1% を超える量の放射能は検出されなかったため、24 時間目以降は呼気を採取せず、呼気中 CO<sub>2</sub> の放射能を測定しなかった。このことから、他の投与群については呼気を採取しなかった。

組織 : 投与後 7 日目に屠殺して組織を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSC で放射能を測定した。

ケージ洗浄液 : 屠殺後、ケージ洗浄を行い、洗浄液を採取して、一部を秤量し、放射能を分析した。

血液 : 屠殺時に血液を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSC で放射能を分析した。  
投与後 48 時間以内に、血漿および赤血球中の <sup>14</sup>C 残留濃度が定量限界以下まで減少したため、成分別の分析はしなかった。

代謝物の同定および定量 : 各投与群の雌雄の投与後 0~12 時間の尿、0~24 時間および 24~48 時間の糞試料を用いて代謝物の分析を行った。尿試料は氷酢酸を 1% (v/v) 加えて酸性化し攪拌混合した後、遠心分離し HPLC 分析に供した。糞試料はアセトニトリル/メタノール (80/20 v/v, 1% 酢酸) を加えて抽出 (2 回) した後、遠心分離し上清を HPLC 分析に供した。投与量の 5% を超える親化合物および主要代謝物については、HPLC により主要代謝物を単離し同定を試みた。同定には主にマススペクトル分析を用いた。

結果 :

薬物動態 : 血漿薬物動態パラメーターを表 2 に示す。

表 2 血漿薬物動態パラメーター

投与方法	性別	投与量 (mg/kg)	T <sub>max</sub> (時間)	C <sub>max</sub> (μg/mL)	AUC <sub>0-∞</sub> (μg・時間/mL)	T <sub>1/2</sub> (時間)	Cl (mL・kg <sup>-1</sup> ・時間 <sup>-1</sup> )	V <sub>ss</sub> (mL・kg <sup>-1</sup> )	F
経口	雄	10	1.38	0.23	1.55	3.86	6540	NA	0.26
	雌	10	1.50	0.28	1.78	3.90	5654	NA	0.29
	雄	100	2.00	2.01	21.75	8.69	5345	NA	0.37
	雌	100	1.67	1.65	21.99	10.68	5488	NA	0.36
静脈内	雄	10	NA	18.95	5.84	7.38	1734	12401	---
	雌	10	NA	9.53	6.10	6.81	1691	11077	---

T<sub>max</sub> 最高血漿中放射能濃度到達時間

C<sub>max</sub> T<sub>max</sub> 時の血漿中放射能濃度

AUC 血漿中濃度-時間曲線下の面積

T<sub>1/2</sub> 半減期

Cl 血漿クリアランス率

V<sub>ss</sub> 定常状態での分布容積

F 全身生物学的利用率

NA 適用せず

経口投与したスピネトラム-Jは吸収の遅延もなく速やかに吸収され、両投与群における $C_{max}$ は、雌雄ともに約2時間であった。血漿中における $T_{1/2}$ は、低用量群で4時間、高用量群で9~11時間であった。 $AUC_{0-\infty}$ は、高用量群では $22 \mu\text{g}\cdot\text{時間}/\text{mL}$ 、低用量群では $1.6\sim 1.8 \mu\text{g}\cdot\text{時間}/\text{mL}$ であった。これは、 $10 \text{ mg}/\text{kg}$ から $100 \text{ mg}/\text{kg}$ に投与量を増加させた動物では、AUCが約10倍増加し、用量に比例することが示された。これと比較して、静脈内投与した動物の $AUC_{0-\infty}$ は、雄および雌で約 $6 \mu\text{g}\cdot\text{時間}/\text{mL}$ であった。

用量で補正した静脈内投与後のAUC値に対する、用量で補正した経口投与後のAUC値の割合を用いて、生物学的に利用される吸収量（経口投与から）の割合を推定した。経口投与後のスピネトラム-Jの全身生物学的利用率は、 $10 \text{ mg}/\text{kg}$ 投与群では26~29%、 $100 \text{ mg}/\text{kg}$ 投与群では36~37%であった。

単回投与排泄および分布：投与した標識体の放射能回収率を表3に、放射能の組織中の分布を表4および5に、尿中および糞中への排泄量の経時的変化を表6に示す。

表3 放射能回収率

投与群	試料	投与した放射能の回収率 (%)	
		雄	雌
10 mg/kg 単回経口投与群	組織	0.49	0.78
	尿	4.03	4.58
	糞	86.85	84.58
	呼気中 CO <sub>2</sub>	ND	ND
	呼気中揮発成分	ND	ND
	ケージ洗浄液	0.73	0.01
	合計	92.09	89.95
100 mg/kg 単回経口投与群	組織	0.99	1.82
	尿	4.18	4.73
	糞	83.33	83.94
	ケージ洗浄液	0.11	0.11
	合計	88.36	90.60
10 mg/kg 反復経口投与群	組織	0.45	0.73
	尿	3.30	4.08
	糞	85.84	89.58
	ケージ洗浄液	0.42	0.04
	合計	90.01	94.41
10 mg/kg 静脈内投与群	組織	1.50	2.14
	尿	9.00	9.59
	糞	77.43	85.06
	ケージ洗浄液	0.14	0.25
	合計	88.07	97.04

ND: 検出せず

投与したスピネトラム-J 標識体の総回収率は投与量の 88.1~97.0%であった。放射能の排泄は、投与量、性別、または1回と反復投与の違いによる量的な差は認められなかった。投与経路（経口または静脈内）に関わらず、同量の放射能、すなわち投与量の約90%が、糞および尿中に排泄された。主要排泄経路は糞で、糞中に 77.4~89.6%が排泄された。

表4 組織中 <sup>14</sup>C 残留量 (168 時間屠殺時、投与量に対する割合%)

組織	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
膀胱	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
血液	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	ND	0.00	0.00
骨髓	ND	0.00	ND	0.00	ND	ND	0.00	ND
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.01
胃腸管	0.09	0.12	0.19	0.29	0.08	0.12	0.22	0.35
心臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02	0.02	0.07	0.08
肝臓	0.06	0.05	0.05	0.07	0.06	0.06	0.19	0.17
肺	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
リンパ節	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
筋肉	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
卵巣	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00
膵臓	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
脳下垂体	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	0.11	0.16	0.16	0.39	0.11	0.10	0.39	0.20
脾臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
辜丸	ND	NA	ND	NA	ND	NA	0.00	NA
胸腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子宮	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00	NA	0.00
残屍体	0.19	0.40	0.55	1.01	0.17	0.41	0.61	1.30

ND : 検出せず、NA : 該当せず

表5 組織中  $^{14}\text{C}$  残留量 (168 時間屠殺時、 $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J 相当/g 組織)

組織	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.060	0.076	1.894	1.740	0.077	0.083	0.234	0.227
膀胱	0.033	0.126	0.734	1.885	0.033	0.066	0.064	0.225
血液	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
骨	0.008	0.017	0.110	0.214	0.013	ND	0.024	0.025
骨髓	ND	0.036	ND	0.731	ND	ND	0.259	ND
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	0.289	0.431	11.757	12.179	0.295	0.488	0.879	2.374
胃腸管	0.114	0.121	1.616	2.230	0.102	0.105	0.181	0.249
心臓	0.007	0.012	0.117	0.201	0.008	0.010	0.025	0.023
腎臓	0.364	0.368	4.059	3.544	0.278	0.271	0.891	0.736
肝臓	0.158	0.137	1.090	1.531	0.167	0.144	0.410	0.366
肺	0.039	0.045	0.399	0.696	0.034	0.040	0.082	0.146
リンパ節	0.117	0.099	2.731	2.130	0.113	0.115	0.193	0.240
筋肉	0.006	0.007	0.082	0.120	0.007	0.006	0.014	0.029
卵巣	NA	0.122	NA	2.532	NA	0.079	NA	0.347
膵臓	0.037	0.037	1.355	1.542	0.028	0.025	0.078	0.099
脳下垂体	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	0.042	0.065	0.620	1.694	0.029	0.052	0.151	0.093
脾臓	0.036	0.038	0.691	0.881	0.046	0.051	0.325	0.305
睾丸	ND	NA	ND	NA	ND	NA	0.024	NA
胸腺	0.024	0.030	0.381	0.479	0.030	0.031	0.062	0.067
甲状腺	0.018	0.030	0.338	0.485	0.021	0.024	0.046	0.152
子宮	NA	0.099	NA	0.772	NA	0.085	NA	0.175
残屍体	0.034	0.070	0.944	1.647	0.031	0.064	0.100	0.208

ND: 検出せず, NA: 該当せず

168 時間の暴露期間終了時の放射能量 (投与量に対する割合 (%) として) は、全組織で低く、いずれの組織においても投与量の 2% を超えなかった。残屍体中の放射能量が最大であり、投与量の 0.17~1.30% であった。放射能量 (組織の重量 (g) あたり) は、一般に、雄では脂肪 > 腎臓 > リンパ節 > 副腎 > 胃腸管、雌では脂肪 > 腎臓 > 卵巣 > 胃腸管 > リンパ節、の順で高かった。10 および 100 mg/kg 投与群の組織中残留濃度を比較すると、雌雄共に 10 倍以上の差が存在する。単回投与群と反復投与群の組織中残留濃度はほぼ同じである。静脈内投与したラットのいくつかの組織中残留濃度は、経口投与ラットよりも約 3 倍高く、経口投与した  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J の 30% 以上が生物学的に利用されていたことが示唆される。

表6 尿および糞中への排泄量の経時的变化

投与群	試料 (時間)	投与した放射能の回収率、累積 (%)			
		尿		糞	
		雄	雌	雄	雌
10 mg/kg 単回経口 投与群	12	2.90	3.48	---	---
	24	3.40	4.06	78.39	69.32
	48	3.64	4.34	83.66	80.33
	72	3.80	4.39	85.38	82.57
	96	3.93	4.47	86.11	83.50
	120	3.97	4.52	86.49	84.03
	144	4.01	4.55	86.71	84.37
	168	4.03	4.58	86.85	84.58
100 mg/kg 単回経口 投与群	12	2.53	2.73	---	---
	24	3.28	3.52	70.16	57.75
	48	3.62	4.08	78.66	76.32
	72	3.83	4.29	80.91	79.75
	96	3.97	4.53	82.15	81.64
	120	4.02	4.62	82.62	82.68
	144	4.06	4.68	82.97	83.40
	168	4.18	4.73	83.33	83.94
10 mg/kg 反復経口 投与群	12	2.23	2.71	---	---
	24	2.65	3.36	76.94	74.96
	48	2.93	3.77	82.95	84.99
	72	3.08	3.89	84.50	87.32
	96	3.20	3.96	85.17	88.32
	120	3.26	4.01	85.47	88.95
	144	3.28	4.06	85.68	89.33
	168	3.29	4.08	85.84	89.58
10 mg/kg 静脈内 投与群	12	6.43	6.29	---	---
	24	7.36	7.41	52.49	59.31
	48	8.24	8.26	66.95	72.82
	72	8.58	8.81	72.82	78.16
	96	8.76	9.22	75.02	81.16
	120	8.87	9.39	76.18	83.18
	144	8.95	9.50	76.92	84.26
	168	9.00	9.59	77.43	85.06

経口投与した場合、投与後 168 時間目までの尿中に、投与量の 4%以上が排泄され、そのほとんどが 12 あるいは 24 時間目までに排泄された。糞中には 80%以上が排泄され、そのほとんどが 24 時間目までに排泄された。尿および糞中への放射能の排泄量は、投与量、1 回または反復投与、または性別に関わらず、同じであった。静脈内投与した場合、尿中に排泄された割合は、経口投与した場合よりも高く、9.0~9.6%が排泄



された。経口投与の場合と同様、そのほとんどが12～24時間目までに排泄された。糞中には、77.4～85.1%が排泄された。

代謝物の分析：分析結果を表7および8に示す。

表7 尿中における代謝物の分析結果

	投与量に対する割合 (%)							
	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
3.7分ピーク #1	0.03	0.09	0.06	0.04	0.05	0.09	0.04	0.09
4.5分ピーク #2	0.17	0.21	0.05	0.15	0.10	0.11	0.10	0.13
6.8分ピーク #3*	1.39	1.54	0.30	0.41	0.99	0.96	2.74	2.66
7.8分ピーク #4	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
10.5分ピーク #5**	2.29	2.59	3.71	3.93	2.16	2.87	5.74	5.93
18.5分ピーク #6	0.14	0.15	0.05	0.10	0.00	0.06	0.32	0.50
22.5分ピーク #7	0.00	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
33.5分ピーク #8 (スピネトラム-J)	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.05	0.29
総量	4.03	4.57	4.17	4.73	3.30	4.08	8.99	9.59

\*ピーク#3 0-deethyl-175-Jのグルタチオン抱合体およびスピネトラム-J水酸化物のグルタチオン抱合体

\*\*ピーク#5 スピネトラム-J (D5)のグルタチオン抱合体、スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体およびN-demethyl-175-Jのグルタチオン抱合体

表8 糞中における代謝物の分析結果

	投与量に対する割合 (%)							
	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
3.7分ピーク #1	16.76	9.73	7.37	9.36	6.52	8.33	15.02	12.12
4.5分ピーク #2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
6.8分ピーク #3'	13.46	8.71	2.51	1.91	7.30	5.29	17.28	14.69
7.8分ピーク #4	0.00	1.61	3.01	0.00	0.00	1.70	0.00	0.00
10.5分ピーク #5''	29.09	45.76	30.81	57.09	38.54	47.74	26.68	27.25
18.5分ピーク #6	0.00	0.00	0.00	0.00	5.32	0.00	0.00	0.00
22.5分ピーク #7'''	6.60	3.89	0.00	0.00	6.27	4.30	11.50	14.43
33.5分ピーク #8 (スピネトラム-J)	20.93	14.72	40.02	15.59	21.98	22.22	6.93	16.60
総量	86.85	84.41	83.72	83.94	85.93	89.58	77.40	85.09

'ピーク#3 0-deethyl-175-J のシステイン抱合体およびスピネトラム-J 水酸化物のシステイン抱合体

''ピーク#5 スピネトラム-J のグルタチオン抱合体およびスピネトラム-J のシステイン抱合体

'''ピーク#7 0-deethyl-175-J

全投与群の代謝物プロファイルを比較すると、投与量間および性別間、また1回経口投与および反復投与の間でも大きな差は認められなかった。親化合物は、尿および糞中に排泄された総放射能の7~40%を占めた。尿および糞抽出液試料ともに放射能の大部分は、7種類の代謝物として存在した。すべての尿および糞抽出液中に存在した主要代謝物は1種類であり(ピーク#5)、尿中では投与量の2.2~5.9%、糞中では投与量の26.7~57.1%を占めた。尿中代謝物として、0-deethyl-175-Jのグルタチオン抱合体およびスピネトラム-J水酸化物のグルタチオン抱合体(ピーク#3)、スピネトラム-J(D5)のグルタチオン抱合体、スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体およびN-demethyl-175-Jのグルタチオン抱合体(ピーク#5)が同定された。また、糞中代謝物として、0-deethyl-175-Jのシステイン抱合体およびスピネトラム-J水酸化物のシステイン抱合体(ピーク#3)、スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体およびスピネトラム-Jのシステイン抱合体(ピーク#5)、0-deethyl-175-J(ピーク#7)が同定された。

経口吸収率に関する考察：経口投与したラットの尿中に排泄された放射能は吸収されたものとみなすことができる。また、糞中に代謝物として検出されたものは吸収されたスピネトラム-Jに由来し、さらに、糞中に排泄されたスピネトラム-Jのいくらかについても吸収されたものとみなすことができる。スピネトラム-Jを経口投与した6つの投与群/

性のうち5つの投与群において、糞中の代謝物の割合は64~70%であり、未変化体として糞中に排泄されたスピネトラム-Jの割合は、15~22%であった。一方、静脈内投与後の糞中代謝物の割合は69~71%であり、その上、相当量のスピネトラム-J (7~17%)が未変化体として糞中に排泄された。経口投与後の糞中の親化合物/代謝物の割合は静脈内投与の場合と類似していたことから、経口投与されたスピネトラム-Jの少なくともいくらかは吸収された後、未変化体として糞中に排泄されたことを強く支持している。表9に記載されている項目の中で吸収されたスピネトラム-Jに由来するものは、尿中の総放射能、0-24時間に糞中に排泄された代謝物由来の放射能、および24-168時間に糞中に排泄された総放射能でこれらを全て合計すると経口吸収率は71±9%と推定された。よって、スピネトラム-Jは70%以上が経口吸収されたと判断された。

表9 スピネトラム-Jの経口吸収率の計算

	10 mg/kg 単回経口 投与群		100 mg/kg 単回経口 投与群		10 mg/kg 反復経口 投与群		10 mg/kg 静脈内 投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿中総放射能*	4.03%	4.58%	4.18%	4.73%	3.30%	4.08%	9.00%	9.59%
糞中総放射能 (0-168時間)	86.9%	84.6%	83.3%	83.9%	85.8%	89.6%	77.4%	85.1%
糞中代謝物 (0-168時間)	65.9%	69.7%	43.7%	68.4%	64.0%	67.4%	70.5%	68.5%
糞中スピネトラム -J (0-168時間)	20.9%	14.7%	40.0%	15.6%	22.0%	22.2%	6.93%	16.6%
糞中総放射能 (0-24時間)	78.4%	69.3%	70.2%	57.8%	76.9%	75.0%	52.5%	59.3%
糞中スピネトラム -J (0-24時間) (a)	18.9%	12.0%	33.7%	10.7%	19.7%	18.6%	4.70%	11.6%
糞中代謝物* (0-24時間) (b)	59.5%	57.1%	36.8%	47.1%	57.4%	56.4%	47.8%	47.7%
糞中総放射能* (24-168時間)	8.46%	15.3%	13.2%	26.2%	8.90%	14.6%	24.9%	25.8%
吸収率	71.9%	77.0%	54.2%	78.1%	69.6%	75.1%	100%	100%

\* : これらを合計して吸収率を算出した。

(a) 糞中スピネトラム-J (0-24時間) = 糞中総放射能 (0-24時間) ×  
[糞中スピネトラム-J (0-168時間) / 糞中総放射能 (0-168時間)]

例 : 10 mg/kg 単回経口投与群の雄 18.9% = 78.4% × (20.9% / 86.9%)

(b) 糞中代謝物 (0-24時間) = 糞中総放射能 (0-24時間) ×

[糞中代謝物 (0-168 時間) /糞中総放射能 (0-168 時間) ]

例 : 10 mg/kg 単回経口投与群の雄  $59.5\% = 78.4\% \times (65.9\%/86.9\%)$

代謝経路 : スピネトラム-J の主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化、N-脱メチル化、O-脱エチル化および水酸化により生じた代謝物のグルタチオン抱合化およびグルタチオン抱合体からシステイン抱合体への変換であった。推定代謝経路を図 1 に示す。

図1 スピネトラム-Jのラットにおける推定代謝経路

(2) スピネトラム-J のラットにおける代謝試験

(資料 I-2)

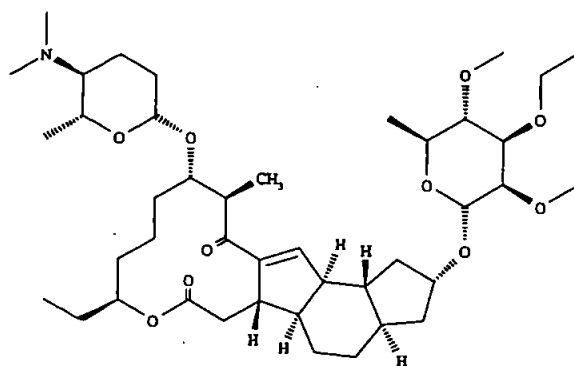
試験機関 : The Dow Chemical Company

報告書作成年 : 2007 年 [GLP 対応]

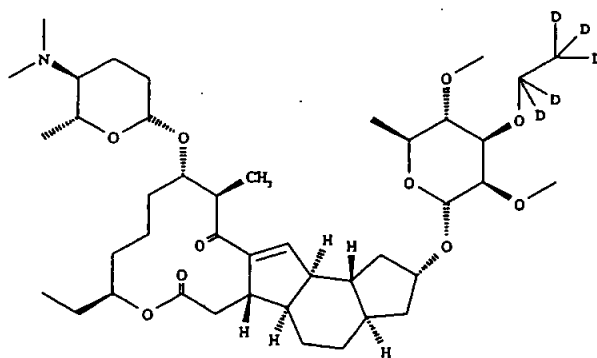
供試標識化合物 :

$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J および  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D5) の混合物

構造式 :



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D5)

化学名 :

(2*R*, 3*aR*, 5*aR*, 5*bS*, 9*S*, 13*S*, 14*R*, 16*aS*, 16*bR*)-13-[[ (2*S*, 5*S*, 6*R*)-5-(dimethylamino)-6-methyl tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]oxy]-9-ethyl-14-methyl-7, 15-dioxo-2, 3, 3*a*, 4, 5, 5*a*, 5*b*, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16*a*, 16*b*-octadecahydro-1*H*-as-indaceno[3, 2-*d*]oxacyclododecin-2-yl  
6-deoxy-3-*O*-ethyl-2, 4-di-*O*-methyl-β-*L*-mannopyranoside

	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J (D5)
標識位置		
比放射能		
放射化学的純度		

供試動物： F344/DuCrI ラット

13 週齢、体重範囲 223~243 g (雄)、147~161 g (雌)

試験方法： 投与群および試験系を以下に示す。

投与群	屠殺時点	動物数および性別	注
10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群	C <sub>max</sub> 時 (投与後 2 時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F
100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群	C <sub>max</sub> 時 (投与後 2 時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F
10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群	1/2C <sub>max</sub> 時 (投与後 7 時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F
100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群	1/2C <sub>max</sub> 時 (投与後 7 時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F

A. <sup>14</sup>C-スピネトラム-J を 1 回経口投与

E. 排泄物および組織を採取し、放射能を分析

F. 屠殺時に採取した血漿、肝臓、腎臓および甲状腺をプールし、親化合物/代謝物を分析

投与： <sup>14</sup>C-スピネトラム-J を 0.5% METHOCEL に懸濁して投与液を調製し、1 番目と 3 番目の投与群（低用量群）には 10 mg/kg、2 番目と 4 番目の投与群（高用量群）には 100 mg/kg の用量で、ラットに 1 回経口投与した。

採取試料：

尿およびケージ洗液：3番目と4番目の投与群（ $1/2C_{max}$ 群）のラットは投与後7時間目に屠殺し、その間に排泄された尿、およびケージを水で洗浄した洗浄液を採取して、LSCで放射能を測定した。

糞： $1/2C_{max}$ 群のラットが投与から屠殺までの7時間の間に排泄された糞を採取し、水ホモジネートを調製後、オキシダイザーで燃焼し、LSCで放射能を測定した。

呼気中揮発成分、呼気中 $CO_2$ ：先に実施した試験で、 $10\text{ mg/kg}$ 単回経口投与群のラットの呼気中に放射能は検出されなかったことから、本試験ではすべての投与群の呼気は採取しなかった。

組織：1番目と2番目の投与群（ $C_{max}$ 群）のラットは投与後2時間目に、 $1/2C_{max}$ 群のラットは投与後7時間目に屠殺して組織を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を測定した。

ケージ洗液：屠殺後、ケージ洗浄を行い、洗浄液を採取して、一部を秤量し、放射能を分析した。

血液：屠殺時に血液を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を分析した。

屠殺時に採取した血液の一部を遠心分離により血漿と赤血球に分離し、血漿の一部をLSCで分析して総放射能を測定した。

代謝物の分析：各投与群の屠殺時に採取した血漿、甲状腺抽出液、および、腎臓および肝臓のホモジネートの抽出液を、HPLCにより分離後、各画分を採取し、LSC分析した。また、スピネトラム-Jのラットにおける代謝試験（資料I-1）で得られた糞尿中の代謝物分析も実施し、親化合物および投与量の5%を超える主要代謝物はHPLCにより単離した後、マススペクトル分析を用いて同定を試みた。

結果：

組織中の放射能分布および濃度：組織および排泄物中の放射能分布を表1に、組織中の放射能濃度を表2に示す。また、組織中 $^{14}C$ 濃度の投与量による比較を表3および4に、組織中 $^{14}C$ 濃度の屠殺時点による比較を表5および6に示す。

放射能量は、消化管において最大であり、投与量の平均65~84%が回収された。組織中濃度（ $\mu\text{g }^{14}C\text{-スピネトラム-J}$ 相当/g組織）では、 $C_{max}$ の時点における組織中 $^{14}C$ 濃度は一般に、消化管>リンパ節>肝臓>肺>副腎>脾臓の順で高かった。 $1/2C_{max}$ の時点で屠殺したラットの組織中放射能濃度の順序は、消化管、リンパ節、肺、副腎および脾臓についてはほぼ同じであったが、肝臓の順序は低く、脂肪および骨髄の順序は高かった。

用量の異なる投与群の組織中放射能濃度を比較すると、ほとんどの組織中放射能濃



度は、用量に比例した関係（ほぼ10倍）を示した。

低用量投与群において、 $1/2C_{max}$ の時点で屠殺したラットの組織中放射能濃度は、平均して、 $C_{max}$ の時点で屠殺したラットの組織中放射能濃度の60%であり、この結果は、a)ほとんどの組織において、投与後7時間目より前に放射能濃度は最高値に達し、b)ほとんどの組織中の放射能濃度は7時間目までに最高値より減少し始めていたことを示す。高用量群のラットでは、 $1/2C_{max}$ と $C_{max}$ の時点における組織中放射能濃度の差は、低用量群のラットで認められた差よりかなり小さく（ $1/2C_{max}$ における量は、平均して、 $C_{max}$ における量の90~100%）、100 mg/kgの用量では、排泄に關与する過程において、ある程度の飽和が起きたことを示す。

組織中の代謝物：肝臓、腎臓、血漿および甲状腺における代謝物の分布を表7に示す。親化合物（スピネトラム-J）は、 $C_{max}$ 群では4種の組織全部で検出され、 $1/2C_{max}$ 群では血漿を除く全組織で検出された。親化合物は肝臓において最も多く認められ、 $C_{max}$ 群では投与量の1.4~3.1%であった。組織抽出液中には、親化合物を除いて、全部で7種の代謝物ピークが検出されたが、投与量の5%を超えるものはなかった。組織中に最も多く認められた代謝物は、スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体と同定された。スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体は甲状腺以外の全種類の組織中に認められたが、肝臓で最も多く、 $C_{max}$ 群では1.2~2.1%であった。さらに、極微量（投与量の1%未満）のN-demethyl-175-Jおよびそれに対応するグルタチオン抱合体が組織中（主に肝臓および腎臓）に認められた。

糞尿中の代謝物：以前の試験（スピネトラム-Jのラットにおける代謝試験（資料1-1））では、投与量の5%を超える放射能を含む2つのピーク（ピーク#1および#6）を同定することができず、また、ピーク#3および#5も完全に分離しない数個の代謝物を含んでいた。本実験において、これら代謝物について更なる情報を得るために以前の試験のラットの尿および糞の試料を用いて代謝物分析を行った。尿および糞中における代謝物の分布を表8に示す。ピーク#1（ほとんどが糞中に存在）は、ピーク#1Ufaおよび#1Ufbと名付けた2個の代謝物を含み、前者はHydroxy-C9-pseudoaglycone-175-Jのグルタチオン抱合体、後者は0-deethyl-175-Jのシステイン抱合体の2種の立体異性体の1つと同定された。尿のピーク#3は、ピーク#3Uaおよび#3Ubを含み、前者は0-deethyl-175-Jのグルタチオン抱合体、後者はHydroxy-175-Jのグルタチオン抱合体と同定された。糞のピーク#3（尿のピーク#3と同じ保持時間に溶出された）は、ピーク#3Faおよび#3Fbを含み、前者は0-deethyl-175-Jのシステイン抱合体の2つ目の異性体、後者はHydroxy-175-Jのシステイン抱合体と同定された。尿のピーク#5は、ピーク#5Uaおよび#5Ubを含み、前者は親化合物のグルタチオン抱合体、後者はN-demethyl-175-Jのグルタチオン抱

合体と同定された。ピーク#5F（尿のピーク#5と同じ保持時間に溶出された）は親化合物のシステイン抱合体と同定され、ピーク#5Uaの更なる代謝物と考えられる。ピーク#6UFは、今回、C9-ketopseudoaglycone-175-JのN-アセチルシステイン抱合体と暫定的に同定された。代謝物#7UFおよび#8UFについては、以前の実験において、それぞれO-deethyl-175-Jおよび親化合物スピネトラム-Jと同定されている。

代謝経路：推定代謝経路を図1に示す。スピネトラム-Jの主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合体であったが、親化合物のN-脱メチル化、O-脱エチル化、脱糖および水酸化により生じた代謝物のグルタチオン抱合体も認められた。

表1 組織中  $^{14}\text{C}$  分布 (屠殺時、投与量に対する割合%)

試料	10 mg/kg 経口投与 $C_{max}$ 群		100 mg/kg 経口投与 $C_{max}$ 群		10 mg/kg 経口投与 $1/2C_{max}$ 群		100 mg/kg 経口投与 $1/2C_{max}$ 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
FCW*	1.36	1.99	0.71	0.69	0.39	0.93	0.68	0.61
糞	NA	NA	NA	NA	0.02	0.00	NA	NA
副腎	0.02	0.06	0.02	0.04	0.01	0.02	0.01	0.03
膀胱	0.04	0.02	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01
血液	0.05	0.08	0.05	0.09	0.04	0.03	0.02	0.03
骨	0.02	0.04	0.02	0.04	0.01	0.03	0.02	0.03
骨髓	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01
脳	0.06	0.04	0.01	0.02	0.04	0.02	ND	0.02
脂肪	0.01	0.03	0.01	0.03	0.01	0.03	0.02	0.04
消化管	72.20	65.49	69.88	70.19	84.05	80.40	75.51	66.58
心臓	0.05	0.12	0.05	0.11	0.02	0.04	0.03	0.06
腎臓	0.28	0.47	0.26	0.28	0.16	0.24	0.14	0.25
肝臓	4.03	5.33	4.94	4.64	1.02	1.28	1.03	1.89
肺	0.49	0.99	0.36	0.71	0.28	0.52	0.29	0.58
リリ節	0.11	0.18	0.04	0.08	0.03	0.04	0.03	0.08
筋肉	0.00	0.01	0.01	0.03	0.00	0.00	0.01	0.03
卵巣	NA	0.02	NA	0.02	NA	0.02	NA	0.02
膵臓	0.07	0.16	0.09	0.14	0.04	0.15	0.04	0.06
脳下垂体	0.00	ND	0.00	0.00	0.00	ND	0.00	0.00
血漿	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
皮膚	6.67	6.09	3.22	4.67	2.28	4.37	5.28	7.84
脾臓	0.13	0.26	0.11	0.19	0.06	0.15	0.07	0.16
睪丸	0.04	NA	0.02	NA	0.04	NA	0.06	NA
胸腺	0.02	0.05	0.02	0.04	0.02	0.04	0.03	0.05
甲状腺	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01
子宮	NA	0.04	NA	0.04	NA	0.02	NA	0.04
残屍体	6.65	9.59	6.08	8.58	4.14	7.63	6.82	12.83
組織計	90.97	89.07	85.20	89.96	92.27	95.03	89.44	90.66
尿	NA	NA	NA	NA	1.52	2.11	0.98	1.65
ケージ洗液	NA	NA	NA	NA	0.13	0.17	0.06	0.13
尿/洗液計	NA	NA	NA	NA	1.66	1.23	1.02	1.77
合計	92.33	91.06	85.91	90.65	94.33	97.19	91.14	93.05

数値は平均値、FCW\* 屠殺後の最終ケージ洗浄液、ND: 検出せず、NA: 該当せず

表2 組織中<sup>14</sup>C濃度(屠殺時、 $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J相当/g組織)

組織	10 mg/kg 経口投与C <sub>max</sub> 群		100 mg/kg 経口投与C <sub>max</sub> 群		10 mg/kg 経口投与1/2C <sub>max</sub> 群		100 mg/kg 経口投与1/2C <sub>max</sub> 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	7.256	16.021	76.884	114.189	4.288	4.983	46.443	91.545
膀胱	5.530	4.509	30.741	24.393	4.239	2.683	20.846	15.122
血液	0.189	0.295	1.895	2.921	0.159	0.094	0.646	1.278
骨	0.951	1.577	7.574	13.284	0.650	0.919	8.058	13.532
骨髓	5.681	10.614	50.473	83.795	3.723	7.844	60.601	149.427
脳	0.869	0.389	1.053	1.375	0.535	0.180	ND	1.708
脂肪	2.621	5.557	26.054	46.958	3.952	8.192	45.289	72.183
消化管	152.271	118.959	1267.041	1159.955	157.028	122.454	833.573	802.790
心臓	1.566	3.327	16.407	30.630	0.569	1.199	7.870	16.290
腎臓	4.411	7.384	39.454	41.162	2.382	3.529	20.715	37.284
肝臓	14.008	22.426	169.670	172.434	3.349	4.956	29.678	67.586
肺	12.736	21.613	92.618	133.206	5.695	10.474	62.199	112.401
リンパ節	37.150	32.254	134.543	140.241	9.162	9.375	127.761	169.745
筋肉	0.771	1.125	7.968	9.850	0.386	0.742	6.462	10.674
卵巣	NA	4.138	NA	44.060	NA	2.642	NA	49.464
脾臓	4.101	7.861	42.272	65.579	1.826	5.256	20.446	26.904
脳下垂体	1.300	ND	28.519	40.502	0.601	ND	17.641	28.385
血漿	0.266	0.407	2.674	4.236	0.091	0.143	0.945	1.778
皮膚	3.295	3.046	14.758	22.885	0.973	2.170	23.222	38.387
脾臓	6.426	11.596	51.353	74.007	2.679	6.320	33.303	67.793
睾丸	0.469	NA	1.810	NA	0.345	NA	5.131	NA
胸腺	2.992	3.902	26.227	28.643	1.801	3.844	26.125	40.587
甲状腺	2.400	5.125	42.706	51.867	1.393	1.609	23.291	33.180
子宮	NA	1.665	NA	13.844	NA	1.233	NA	18.403
残屍体	1.203	1.763	10.571	15.193	0.764	1.326	11.581	23.643

数値は平均値、ND：検出せず、NA：該当せず

表3 組織中<sup>14</sup>C濃度(μg<sup>14</sup>C-スピネトラム-J相当/g組織)の投与量による比較  
C<sub>0.5h</sub>群(投与後2時間目に屠殺)

組織	雄			雌		
	10 mg/kg 経口投与 C <sub>0.5h</sub> 群(A)	100 mg/kg 経口投与 C <sub>0.5h</sub> 群(B)	比 (B/A)	10 mg/kg 経口投与 C <sub>0.5h</sub> 群(C)	100 mg/kg 経口投与 C <sub>0.5h</sub> 群(D)	比 (D/C)
副腎	7.256	76.884	10.6	16.021	114.189	7.1
膀胱	5.530	30.741	5.6	4.509	24.393	5.4
血液	0.189	1.895	10.0	0.295	2.921	9.9
骨	0.951	7.574	8.0	1.577	13.284	8.4
骨髓	5.681	50.473	8.9	10.614	83.795	7.9
脳	0.869	1.053	1.2	0.389	1.375	3.5
脂肪	2.621	26.054	9.9	5.557	46.958	8.4
消化管	152.271	1267.041	8.3	118.959	1159.955	9.8
心臓	1.566	16.407	10.5	3.327	30.630	9.2
腎臓	4.411	39.454	8.9	7.384	41.162	5.6
肝臓	14.008	169.670	12.1	22.426	172.434	7.7
肺	12.736	92.618	7.3	21.613	133.206	6.2
リンパ節	37.150	134.543	3.6	32.254	140.241	4.3
筋肉	0.771	7.968	10.3	1.125	9.850	8.8
卵巣	NA	NA	NA	4.138	44.060	10.6
膵臓	4.101	42.272	10.3	7.861	65.579	8.3
脳下垂体	1.300	28.519	21.9	ND	40.502	NA
血漿	0.266	2.674	10.0	0.407	4.236	10.4
皮膚	3.295	14.758	4.5	3.046	22.885	7.5
脾臓	6.426	51.353	8.0	11.596	74.007	6.4
辜丸	0.469	1.810	3.9	NA	NA	NA
胸腺	2.992	26.227	8.8	3.902	28.643	7.3
甲状腺	2.400	42.706	17.8	5.125	51.867	10.1
子宮	NA	NA	NA	1.665	13.844	8.3
残屍体	1.203	10.571	8.8	1.763	15.193	8.6
平均	-	-	9.1	-	-	7.8

数値は平均値、ND:検出せず、NA:該当せず

表4 組織中  $^{14}\text{C}$  濃度 ( $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J 相当/g 組織) の投与量による比較  
1/2C<sub>max</sub> 群 (投与後7時間目に屠殺)

組織	雄			雌		
	10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (A)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (B)	比 (B/A)	10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (C)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (D)	比 (D/C)
副腎	4.288	46.443	10.8	4.983	91.545	18.4
膀胱	4.239	20.846	4.9	2.683	15.122	5.6
血液	0.159	0.646	4.1	0.094	1.278	13.6
骨	0.650	8.058	12.4	0.919	13.532	14.7
骨髓	3.723	60.601	16.3	7.844	149.427	19.1
脳	0.535	ND	NA	0.180	1.708	9.5
脂肪	3.952	45.289	11.5	8.192	72.183	8.8
消化管	157.028	833.573	5.3	122.454	802.790	6.6
心臓	0.569	7.870	13.8	1.199	16.290	13.6
腎臓	2.382	20.715	8.7	3.529	37.284	10.6
肝臓	3.349	29.678	8.9	4.956	67.586	13.6
肺	5.695	62.199	10.9	10.474	112.401	10.7
リンパ節	9.162	127.761	13.9	9.375	169.745	18.1
筋肉	0.386	6.462	16.7	0.742	10.674	14.4
卵巣	NA	NA	NA	2.642	49.464	18.7
膵臓	1.826	20.446	11.2	5.256	26.904	5.1
脳下垂体	0.601	17.641	29.3	ND	28.385	NA
血漿	0.091	0.945	10.4	0.143	1.778	12.5
皮膚	0.973	23.222	23.9	2.170	38.387	17.7
脾臓	2.679	33.303	12.4	6.320	67.793	10.7
睾丸	0.345	5.131	14.9	NA	NA	NA
胸腺	1.801	26.125	14.5	3.844	40.587	10.6
甲状腺	1.393	23.291	16.7	1.609	33.180	20.6
子宮	NA	NA	NA	1.233	18.403	14.9
残屍体	0.764	11.581	15.2	1.326	23.643	17.8
平均	-	-	13.0	-	-	13.3

数値は平均値、ND: 検出せず、NA: 該当せず

表5 組織中  $^{14}\text{C}$  濃度 ( $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J 相当/g 組織) の屠殺時点による比較  
低用量 (10 mg/kg) 投与群

組織	雄			雌		
	10 mg/kg 経口投与 $C_{\text{max}}$ 群 (A) (2 hr)	10 mg/kg 経口投与 1/2 $C_{\text{max}}$ 群 (B) (7 hr)	比 (B/A)	10 mg/kg 経口投与 $C_{\text{max}}$ 群 (C) (2 hr)	10 mg/kg 経口投与 1/2 $C_{\text{max}}$ 群 (D) (7 hr)	比 (D/C)
副腎	7.256	4.288	0.6	16.021	4.983	0.3
膀胱	5.530	4.239	0.8	4.509	2.683	0.6
血液	0.189	0.159	0.8	0.295	0.094	0.3
骨	0.951	0.650	0.7	1.577	0.919	0.6
骨髓	5.681	3.723	0.7	10.614	7.844	0.7
脳	0.869	0.535	0.6	0.389	0.180	0.5
脂肪	2.621	3.952	1.5	5.557	8.192	1.5
消化管	152.271	157.028	1.0	118.959	122.454	1.0
心臓	1.566	0.569	0.4	3.327	1.199	0.4
腎臓	4.411	2.382	0.5	7.384	3.529	0.5
肝臓	14.008	3.349	0.2	22.426	4.956	0.2
肺	12.736	5.695	0.4	21.613	10.474	0.5
リンパ節	37.150	9.162	0.2	32.254	9.375	0.3
筋肉	0.771	0.386	0.5	1.125	0.742	0.7
卵巣	NA	NA	NA	4.138	2.642	0.6
脾臓	4.101	1.826	0.4	7.861	5.256	0.7
脳下垂体	1.300	0.601	0.5	ND	ND	NA
血漿	0.266	0.091	0.3	0.407	0.143	0.4
皮膚	3.295	0.973	0.3	3.046	2.170	0.7
脾臓	6.426	2.679	0.4	11.596	6.320	0.5
睾丸	0.469	0.345	0.7	NA	NA	NA
胸腺	2.992	1.801	0.6	3.902	3.844	1.0
甲状腺	2.400	1.393	0.6	5.125	1.609	0.3
子宮	NA	NA	NA	1.665	1.233	0.7
残屍体	1.203	0.764	0.6	1.763	1.326	0.8
平均	-	-	0.6	-	-	0.6

数値は平均値、ND：検出せず、NA：該当せず

表6 組織中<sup>14</sup>C濃度(μg<sup>14</sup>C-スピネトラム-1相当/g組織)の屠殺時点による比較  
高用量(100 mg/kg)投与群

組織	雄			雌		
	100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群(A) (2 hr)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群(B) (7 hr)	比 (B/A)	100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群(C) (2 hr)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群(D) (7 hr)	比 (D/C)
副腎	76.884	46.443	0.6	114.189	91.545	0.8
膀胱	30.741	20.846	0.7	24.393	15.122	0.6
血液	1.895	0.646	0.3	2.921	1.278	0.4
骨	7.574	8.058	1.1	13.284	13.532	1.0
骨髓	50.473	60.601	1.2	83.795	149.427	1.8
脳	1.053	ND	NA	1.375	1.708	1.2
脂肪	26.054	45.289	1.7	46.958	72.183	1.5
消化管	1267.041	833.573	0.7	1159.955	802.790	0.7
心臓	16.407	7.870	0.5	30.630	16.290	0.5
腎臓	39.454	20.715	0.5	41.162	37.284	0.9
肝臓	169.670	29.678	0.2	172.434	67.586	0.4
肺	92.618	62.199	0.7	133.206	112.401	0.8
リンパ節	134.543	127.761	0.9	140.241	169.745	1.2
筋肉	7.968	6.462	0.8	9.850	10.674	1.1
卵巣	NA	NA	NA	44.060	49.464	1.1
膵臓	42.272	20.446	0.5	65.579	26.904	0.4
脳下垂体	28.519	17.641	0.6	40.502	28.385	0.7
血漿	2.674	0.945	0.4	4.236	1.778	0.4
皮膚	14.758	23.222	1.6	22.885	38.387	1.7
脾臓	51.353	33.303	0.6	74.007	67.793	0.9
睾丸	1.810	5.131	2.8	NA	NA	NA
胸腺	26.227	26.125	1.0	28.643	40.587	1.4
甲状腺	42.706	23.291	0.5	51.867	33.180	0.6
子宮	NA	NA	NA	13.844	18.403	1.3
残屍体	10.571	11.581	1.1	15.193	23.643	1.6
平均	-	-	0.9	-	-	1.0

数値は平均値、ND: 検出せず、NA: 該当せず



表7 組織中における代謝物の分布、投与量に対する割合 (%)

	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群					100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群					10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群					100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群					
	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	肝臓	腎臓	血漿*	甲状腺	計	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	
雄	3.2分ピーク #1	0.180	0.000	0.000	0.000	0.180	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	6.5分ピーク #2	0.113	0.000	0.000	0.000	0.113	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	10.1分ピーク #3	1.840	0.055	0.001	0.000	1.895	2.064	0.062	0.001	0.000	2.127	0.765	0.046	NA	0.000	0.810	0.587	0.046	0.000	0.000	0.633
	10.2分ピーク #4	0.079	0.002	0.000	0.000	0.081	0.088	0.003	0.000	0.000	0.091	0.033	0.002	NA	0.000	0.035	0.025	0.002	0.000	0.000	0.027
	20.5分ピーク #5	0.000	0.021	0.000	0.000	0.021	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	31.8分ピーク #6	0.160	0.016	0.000	0.000	0.176	0.096	0.006	0.000	0.000	0.102	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.026	0.004	0.000	0.000	0.030
	33.5分ピーク #7	0.292	0.018	0.000	0.000	0.311	0.194	0.017	0.000	0.001	0.212	0.000	0.036	NA	0.000	0.036	0.052	0.007	0.000	0.000	0.059
	35.5分ピーク #8	1.366	0.171	0.001	0.004	1.542	2.497	0.171	0.003	0.007	2.677	0.223	0.077	NA	0.003	0.302	0.341	0.085	0.001	0.004	0.431
	総量	4.030	0.283	0.002	0.005	-	4.940	0.258	0.003	0.007	-	1.020	0.160	0.000	0.003	-	1.030	0.144	0.001	0.005	-
雌	3.2分ピーク #1	0.072	0.000	0.000	0.000	0.072	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	6.5分ピーク #2	0.102	0.000	0.000	0.000	0.102	0.000	0.000	0.000	0.000	0.152	0.000	NA	0.000	0.152	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	10.1分ピーク #3	1.538	0.095	0.000	0.000	1.633	1.178	0.050	0.002	0.000	1.230	0.444	0.045	NA	0.000	0.489	0.563	0.046	0.000	0.000	0.609
	10.2分ピーク #4	0.066	0.004	0.000	0.000	0.070	0.051	0.002	0.000	0.000	0.053	0.019	0.002	NA	0.000	0.021	0.024	0.002	0.000	0.000	0.026
	20.5分ピーク #5	0.000	0.046	0.001	0.000	0.047	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	
	31.8分ピーク #6	0.183	0.000	0.000	0.000	0.183	0.084	0.000	0.000	0.000	0.084	0.000	0.000	NA	0.000	0.000	0.037	0.000	0.000	0.000	0.037
	33.5分ピーク #7	0.654	0.050	0.000	0.001	0.705	0.272	0.022	0.000	0.001	0.294	0.211	0.069	NA	0.001	0.280	0.155	0.026	0.000	0.001	0.182
	35.5分ピーク #8	2.713	0.275	0.002	0.009	3.000	3.056	0.209	0.006	0.008	3.279	0.454	0.129	NA	0.003	0.586	1.111	0.177	0.002	0.008	1.297
	総量	5.327	0.470	0.004	0.010	-	4.640	0.283	0.008	0.009	-	1.280	0.245	0.000	0.003	-	1.890	0.254	0.002	0.008	-

ピーク#3: スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体

ピーク#4: N-demethyl-175-Jのグルタチオン抱合体

ピーク#7: N-demethyl-175-J

ピーク#8: スピネトラム-J

\* 10 mg/kg 経口投与 1/2C<sub>max</sub> 群/血漿: 放射能量不十分であった。

表8 糞尿中における代謝物の分布、投与量に対する割合 (%)

	10 mg/kg 単回経口投与群			100 mg/kg 単回経口投与群			10 mg/kg 反復経口投与群			10 mg/kg 静脈内投与群			
	尿	糞	計	尿	糞	計	尿	糞	計	尿	糞	計	
雄	3.7分ピーク #1UFa	0.01	4.36	4.37	0.02	1.92	1.93	0.01	1.70	1.71	0.01	3.90	3.91
	3.7分ピーク #1UFb	0.02	12.40	12.43	0.04	5.45	5.50	0.04	4.83	4.87	0.03	11.11	11.14
	4.5分ピーク #2U	0.17	0.00	0.17	0.05	0.00	0.05	0.10	0.00	0.10	0.10	0.00	0.10
	6.8分ピーク #3Ua	1.12	0.00	1.12	0.24	0.00	0.24	0.80	0.00	0.80	2.21	0.00	2.21
	6.8分ピーク #3Fa	0.00	11.71	11.71	0.00	2.19	2.19	0.00	6.35	6.35	0.00	15.03	15.03
	6.8分ピーク #3Ub	0.27	0.00	0.27	0.06	0.00	0.06	0.19	0.00	0.19	0.53	0.00	0.53
	6.8分ピーク #3Fb	0.00	1.75	1.75	0.00	0.33	0.33	0.00	0.95	0.95	0.00	2.25	2.25
	7.8分ピーク #4F	0.00	0.00	0.00	0.00	3.01	3.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	10.5分ピーク #5Ua	2.08	0.00	2.08	3.37	0.00	3.37	1.97	0.00	1.97	5.22	0.00	5.22
	10.5分ピーク #5F	0.00	29.09	29.09	0.00	30.81	30.81	0.00	38.54	38.54	0.00	26.68	26.68
	10.5分ピーク #5Ub	0.21	0.00	0.21	0.34	0.00	0.34	0.20	0.00	0.20	0.52	0.00	0.52
	18.5分ピーク #6UF	0.14	0.00	0.14	0.05	0.00	0.05	0.00	5.32	5.32	0.32	0.00	0.32
	22.5分ピーク #7UF	0.00	6.60	6.60	0.00	0.00	0.00	0.00	6.27	6.27	0.00	11.50	11.50
	33.5分ピーク #8UF	0.00	20.93	20.93	0.00	40.02	40.02	0.00	21.98	21.98	0.05	6.93	6.99
総量	4.03	86.85	-	4.17	83.72	-	3.30	85.93	-	8.99	77.40	-	
雌	3.7分ピーク #1UFa	0.02	2.35	2.55	0.01	2.43	2.44	0.02	2.17	2.19	0.02	3.15	3.17
	3.7分ピーク #1UFb	0.06	7.20	7.26	0.03	6.92	6.95	0.06	6.16	6.23	0.06	8.97	9.03
	4.5分ピーク #2U	0.21	0.00	0.21	0.15	0.00	0.15	0.11	0.00	0.11	0.13	0.00	0.13
	6.8分ピーク #3Ua	1.24	0.00	1.24	0.33	0.00	0.33	0.78	0.00	0.78	2.14	0.00	2.14
	6.8分ピーク #3Fa	0.00	7.58	7.58	0.00	1.66	1.66	0.00	4.60	4.60	0.00	12.78	12.78
	6.8分ピーク #3Ub	0.30	0.00	0.30	0.08	0.00	0.08	0.19	0.00	0.19	0.51	0.00	0.51
	6.8分ピーク #3Fb	0.00	1.13	1.13	0.00	0.25	0.25	0.00	0.69	0.69	0.00	1.91	1.91
	7.8分ピーク #4F	0.00	1.61	1.61	0.00	0.00	0.00	0.00	1.70	1.70	0.00	0.00	0.00
	10.5分ピーク #5Ua	2.35	0.00	2.35	3.57	0.00	3.57	2.61	0.00	2.61	5.39	0.00	5.39
	10.5分ピーク #5F	0.00	45.76	45.76	0.00	57.09	57.09	0.00	47.74	47.74	0.00	27.25	27.25
	10.5分ピーク #5Ub	0.24	0.00	0.24	0.36	0.00	0.36	0.26	0.00	0.26	0.54	0.00	0.54
	18.5分ピーク #6UF	0.15	0.00	0.15	0.10	0.00	0.10	0.06	0.00	0.06	0.50	0.00	0.50
	22.5分ピーク #7UF	0.00	3.89	3.89	0.04	0.00	0.04	0.00	4.30	4.30	0.00	14.43	14.43
	33.5分ピーク #8UF	0.00	14.72	14.72	0.06	15.59	15.65	0.00	22.22	22.22	0.29	16.60	16.89
総量	4.57	84.41	-	4.73	83.94	-	4.08	89.58	-	9.59	85.09	-	

ピーク#1UFa: Hydroxy-C9-pseudoaglycone-175-Jのグルタチオン抱合体  
 ピーク#1UFb: 0-deethyl-175-Jのシステイン抱合体 異性体1  
 ピーク#2U, #4F: 未同定  
 ピーク#3Ua: 0-deethyl-175-Jのグルタチオン抱合体  
 ピーク#3Fa: 0-deethyl-175-Jのシステイン抱合体 異性体2  
 ピーク#3Ub: Hydroxy-175-Jのグルタチオン抱合体  
 ピーク#3Fb: Hydroxy-175-Jのシステイン抱合体  
 ピーク#5Ua: スピネトラム-Jのグルタチオン抱合体  
 ピーク#5F: スピネトラム-Jのシステイン抱合体  
 ピーク#5Ub: N-demethyl-175-Jのグルタチオン抱合体  
 ピーク#6UF: C9-ketopseudoaglycone-175-JのN-アセチルシステイン抱合体  
 ピーク#7UF: 0-deethyl-175-J  
 ピーク#8UF: スピネトラム-J

図1 スピネトラム-Jのラットにおける推定代謝経路

(3) スピネトラム-L のラットにおける代謝試験

(資料 I-3)

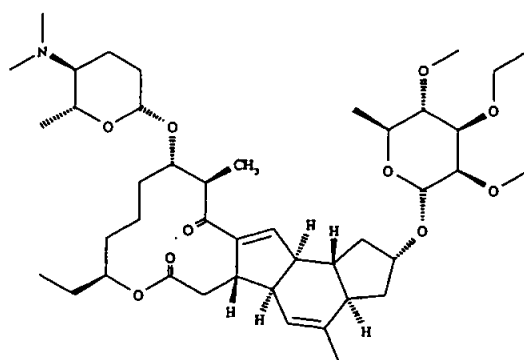
試験機関：Dow AgroSciences LLC

報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

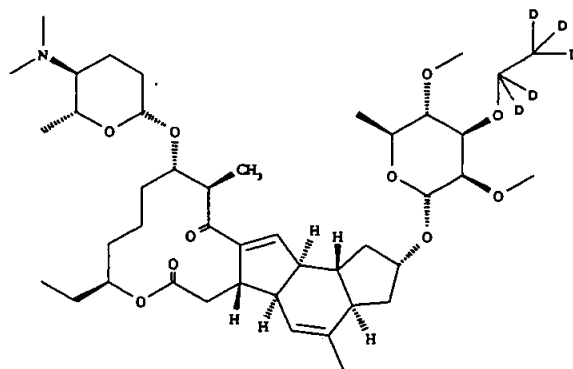
供試標識化合物：

$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L および  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L (D5) の混合物

構造式：



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L (D5)

化学名：

(2*S*, 3*aR*, 5*aS*, 5*bS*, 9*S*, 13*S*, 14*R*, 16*aS*, 16*bS*)-13-[[[(2*S*, 5*S*, 6*R*)-5-(dimethylamino)-6-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]oxy]-9-ethyl-4, 14-dimethyl-7, 15-dioxo-2, 3, 3*a*, 5*a*, 5*b*, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16*a*, 16*b*-hexadecahydro-1*H*-as-indaceno[3, 2-*d*]oxacyclododecin-2-yl  
6-deoxy-3-*O*-ethyl-2, 4-di-*O*-methyl- $\beta$ -L-mannopyranoside

	<sup>14</sup> C-スピネトラム-L	<sup>14</sup> C-スピネトラム-L (D5)
標識位置		
比放射能		
放射化学的純度		

供試動物： F344/DuCr1 ラット

体重範囲 172~254 g (雄性ラット)、113~167 g (雌性ラット)

試験方法： 投与群および試験系を表1に示す。

表1 投与群および試験系

投与群	測定	動物数および性別	注
10 mg/kg 単回経口投与群	血中濃度推移	雌雄各4匹	A, D, E, G, H
100 mg/kg 単回経口投与群	血中濃度推移	雌雄各4匹	A, D, E, G, H
10 mg/kg 反復経口投与群	反復投与影響	雌雄各4匹	B, E, G, H
10 mg/kg 静脈内投与群	血中濃度推移	雌雄各4匹	C, D, E, G, H

- A. <sup>14</sup>C-スピネトラム-L を1回経口投与
- B. 非標識スピネトラム-L を14日間経口投与後15日目に<sup>14</sup>C-スピネトラム-L を1回経口投与
- C. <sup>14</sup>C-スピネトラム-L を1回静脈内投与
- D. 経時的に血液を採取し、血漿および赤血球中の放射能を測定
- E. 排泄物および組織を採取し、放射能を分析
- G. 尿および糞を分析
- H. 排泄物の採取を投与後7日間継続

投与：<sup>14</sup>C-スピネトラム-L を0.5% METHOCEL に懸濁して投与液を調製し、1番目の投与群には10 mg/kg、2番目の投与群には100 mg/kg の用量で、ラットに1回経口投与した。3番目の投与群では、非標識スピネトラムを10 mg/kg の用量でラットに14日間経口投与した後、15日目に<sup>14</sup>C-スピネトラム-L を10 mg/kg の用量で1回経口投与した。4番目の投与群には、<sup>14</sup>C-スピネトラム-L を10 mg/kg の用量でラットに静脈内投与した。

採取試料：

尿およびケージ洗液：投与後 12、24、48、72、96、120、144 および 168 時間目に採取し、LSC で放射能を測定した。

糞：投与後 24、48、72、96、120、144 および 168 時間目に採取し、水ホモジネートを作製後、オキシダイザーで燃焼し、LSC で放射能を測定した。

呼気中揮発成分：10 mg/kg 単回経口投与群で、0～24 時間目の採取時点において、投与量の 1% を超える量の放射能は検出されなかったため、24 時間目以降は呼気を採取せず、呼気中揮発成分中の放射能は測定しなかった。このことから、他の投与群については呼気を採取しなかった。

呼気中 CO<sub>2</sub>：10 mg/kg 単回経口投与群で、0～12 時間または 12～24 時間のいずれの採取時点においても、投与量の 1% を超える量の放射能は検出されなかったため、24 時間目以降は呼気を採取せず、呼気中 CO<sub>2</sub> の放射能を測定しなかった。このことから、他の投与群については呼気を採取しなかった。

組織：投与後 7 日目に屠殺して組織を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSC で放射能を測定した。

ケージ洗浄液：屠殺後、ケージ洗浄を行い、洗浄液を採取して、一部を秤量し、放射能を分析した。

血液：屠殺時に血液を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSC で放射能を分析した。投与後 48 時間以内に、血漿および赤血球中の <sup>14</sup>C 残留濃度が定量限界以下まで減少したため、成分別の分析はしなかった。

代謝物の同定および定量：各投与群の雌雄の投与後 0～12 時間の尿、0～24 時間および 24～48 時間の糞試料を用いて代謝物の分析を行った。尿試料は氷酢酸を 1% (v/v) 加えて酸性化し攪拌混合した後、遠心分離し HPLC 分析に供した。糞試料はアセトニトリル/メタノール (80/20 v/v、1% 酢酸) を加えて抽出 (2 回) した後、遠心分離し上清を HPLC 分析に供した。投与量の 5% を超える親化合物および主要代謝物については、HPLC により主要代謝物を単離し同定を試みた。同定には主にマススペクトル分析を用いた。

結果：

薬物動態：血漿薬物動態パラメーターを表 2 に示す。

表2 血漿薬物動態パラメーター

投与方法	性別	投与量 (mg/kg)	T <sub>max</sub> (時間)	C <sub>max</sub> (μg/mL)	AUC <sub>0-∞</sub> (μg・時間/mL)	T <sub>1/2</sub> (時間)	Cl (mL・kg <sup>-1</sup> ・時間 <sup>-1</sup> )	V <sub>ss</sub> (mL・kg <sup>-1</sup> )	F
経口	雄	10	3.50	0.31	4.10	7.77	2426	NA	0.39
	雌	10	1.31	0.36	3.84	7.30	2786	NA	0.57
	雄	100	4.00	2.28	76.02	22.79	1404	NA	0.73
	雌	100	3.00	2.89	62.08	23.88	1675	NA	0.92
静脈内	雄	10	NA	23.29	10.44	11.98	885	12701	---
	雌	10	NA	9.48	6.77	11.58	1359	17100	---

T<sub>max</sub> 最高血漿中放射能濃度到達時間

C<sub>max</sub> T<sub>max</sub>時の血漿中放射能濃度

AUC 血漿中濃度-時間曲線下の面積

T<sub>1/2</sub> 半減期

Cl 血漿クリアランス率

V<sub>ss</sub> 定常状態での分布容積

F 全身生物学的利用率

NA 適用せず

経口投与したスピネトラム-Lは吸収の遅延もなく速やかに吸収された。両投与群の雄では投与後4時間で、雌では投与後2時間でC<sub>max</sub>に達した。100 mg/kg投与群のC<sub>max</sub>は10 mg/kg投与群の約8倍高く、良好に用量と比例していた。血漿中におけるT<sub>1/2</sub>は、高用量群で約24時間、低用量群で約8時間であり、<sup>14</sup>C-スピネトラム-L由来の放射能は低用量群で比較的速く血漿から消失した。AUC<sub>0-∞</sub>は、高用量群の雄雌では76および62 μg・時間・mL<sup>-1</sup>であったのに対して、低用量群では雌雄共に4 μg・時間・mL<sup>-1</sup>であった。100 mg/kg投与群の血漿AUCは、10 mg/kg投与群のAUCのほぼ20倍高く、AUCの差は用量と正確に比例していなかった。その理由としては、高用量群のラットの血漿中におけるT<sub>1/2</sub>が長かったことが考えられた。また、低用量において肝臓における初回通過効果が大きい可能性が考えられた。

用量で補正した静脈内投与後のAUC値に対する、用量で補正した経口投与後のAUC値の割合を用いて、生物学的に利用される吸収量（経口投与から）の割合を推定した。経口投与後のスピネトラム-Lの全身生物学的利用率は、10 mg/kg投与群では39~57%、100 mg/kg投与群では73~92%であった。

単回投与排泄および分布：投与した標識体の放射能回収率を表3に、放射能の組織中の分布を表4および5に、尿中および糞中への排泄量の経時的変化を表6に示す。

表3 放射能回収率

投与群	試料	投与した放射能の回収率 (%)	
		雄	雌
10 mg/kg 単回経口投与群	組織	2.69	3.92
	尿	2.69	2.77
	糞	84.56	83.97
	呼気中 CO <sub>2</sub>	0.01	0.01
	呼気中揮発成分	0.00	0.00
	ケージ洗浄液	0.46	0.08
	合計	90.30	90.73
100 mg/kg 単回経口投与群	組織	7.13	6.78
	尿	3.35	3.30
	糞	82.47	83.33
	ケージ洗浄液	0.06	0.19
	合計	93.00	93.77
10 mg/kg 反復経口投与群	組織	3.30	2.82
	尿	2.48	2.30
	糞	86.72	86.35
	ケージ洗浄液	0.41	0.04
	合計	92.91	91.50
10 mg/kg 静脈内投与群	組織	7.18	12.83
	尿	3.79	3.57
	糞	80.71	78.49
	ケージ洗浄液	0.58	0.08
	合計	92.27	95.02

投与したスピネトラム-L 標識体の総回収率は投与量の 90.3~95.0%であった。放射能の排泄は、投与量、性別、または1回と反復投与の違いによる量的な差は認められなかった。また、静脈内投与と経口投与における糞および尿中への相対的な排泄割合の差は認められなかった。主要排泄経路は糞で、糞中に 78.5~86.7%が排泄された。



表4 組織中<sup>14</sup>C残留量(168時間屠殺時、投与量に対する割合%)

組織	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.01
膀胱	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01
血液	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.00	0.00
骨	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.02
骨髓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
脂肪	0.01	0.02	0.03	0.05	0.01	0.02	0.04	0.06
胃腸管	0.45	0.55	0.84	1.08	0.62	0.56	1.23	0.97
心臓	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
腎臓	0.03	0.02	0.06	0.07	0.03	0.02	0.08	0.08
肝臓	0.28	0.10	0.24	0.17	0.15	0.05	0.51	0.22
肺	0.01	0.01	0.03	0.03	0.01	0.01	0.01	0.01
リンパ節	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.02	0.03
筋肉	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
卵巣	NA	0.00	NA	0.01	NA	0.01	NA	0.00
膵臓	0.01	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.02	0.06
脳下垂体	ND	ND	0.00	ND	ND	ND	ND	ND
皮膚	0.41	1.49	3.12	2.31	1.14	0.45	1.53	5.87
脾臓	0.00	0.00	0.02	0.02	0.00	0.00	0.01	0.01
睾丸	0.01	NA	0.01	NA	0.00	NA	0.01	NA
胸腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
甲状腺	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
子宮	NA	0.01	NA	0.02	NA	0.01	NA	0.00
残体	1.46	1.70	2.74	3.15	1.32	1.65	3.69	5.75

ND: 検出せず、NA: 該当せず

表5 組織中<sup>14</sup>C残留量(168時間屠殺時、 $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J相当/g組織)

組織	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	0.630	0.534	13.090	8.827	0.595	0.495	1.504	1.148
膀胱	0.212	0.302	4.050	5.364	0.094	0.380	0.551	0.892
血液	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.010	0.009
骨	0.027	0.038	0.868	0.793	0.005	0.004	0.008	0.012
骨髓	0.132	0.167	2.380	2.061	0.334	0.270	0.277	0.455
脳	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.009
脂肪	2.184	2.807	56.460	58.107	2.373	2.312	6.729	7.012
胃腸管	0.397	0.433	7.505	8.795	0.738	0.469	1.076	0.734
心臓	0.025	0.030	1.100	0.976	0.029	0.043	0.060	0.075
腎臓	0.343	0.269	7.505	7.722	0.366	0.266	0.787	0.736
肝臓	0.627	0.238	5.095	3.409	0.391	0.132	1.059	0.463
肺	0.154	0.169	4.315	3.950	0.167	0.165	0.169	0.179
リンパ節	1.158	0.718	18.493	13.907	0.938	0.906	2.375	2.180
筋肉	0.027	0.023	0.985	0.479	0.020	0.019	0.043	0.143
卵巣	NA	0.394	NA	15.417	NA	0.752	NA	0.572
脾臓	0.264	0.355	5.839	5.913	0.317	0.248	0.778	1.213
脳下垂体	ND	ND	0.380	ND	ND	ND	ND	0.219
皮膚	0.159	0.643	13.701	11.118	0.458	0.187	0.512	2.214
脾臓	0.114	0.113	4.129	2.959	0.140	0.149	0.390	0.383
睪丸	0.041	NA	0.884	NA	0.038	NA	0.061	NA
胸腺	0.090	0.076	2.515	2.248	0.142	0.113	0.200	0.186
甲状腺	0.050	0.052	1.851	1.251	0.052	0.061	0.437	0.348
子宮	NA	0.324	NA	11.365	NA	0.445	NA	0.218
残体	0.244	0.302	4.959	5.642	0.240	0.270	0.595	0.875

ND: 検出せず、NA: 該当せず

168時間の暴露期間終了時の放射エネルギー(投与量に対する割合(%))として、全組織で低く、いずれの組織においても投与量の6%を超えなかった。残体および皮膚中の放射エネルギーが最大であり、残体においては投与量の1.32~5.75%、皮膚においては投与量の0.41~5.87%であった。放射エネルギー(組織の重量(g)あたり)は、一般に、雄では脂肪>リンパ節>皮膚>副腎>胃腸管、雌では脂肪>卵巣>リンパ節>子宮>皮膚、の順に高かった。10および100mg/kg投与群の組織中残留濃度を比較すると、雌雄共に10倍以上の差が存在する。単回投与群と反復投与群の組織中残留濃度はほぼ同じである。静脈内投与したラットのいくつかの組織中残留

濃度は、経口投与ラットよりも約3倍高く、経口投与した<sup>14</sup>C-スピネトラム-Lの30%以上が生物学的に利用されていたことが示唆される。

表6 尿および糞中への排泄量の経時的変化

投与群	試料 (時間)	投与した放射能の回収率、累積 (%)			
		尿		糞	
		雄	雌	雄	雌
10 mg/kg 単回経口 投与群	12	1.71	1.75	---	---
	24	2.18	2.21	65.52	55.82
	48	2.42	2.49	76.08	74.52
	72	2.52	2.59	80.21	79.03
	96	2.58	2.66	81.82	81.15
	120	2.63	2.71	83.05	82.48
	144	2.66	2.75	83.93	83.25
	168	2.69	2.77	84.56	83.97
100 mg/kg 単回経口 投与群	12	1.54	1.55	---	---
	24	2.31	2.08	48.33	43.27
	48	2.79	2.70	66.19	64.01
	72	3.01	2.91	73.63	74.14
	96	3.13	3.06	77.56	77.71
	120	3.21	3.17	79.70	80.22
	144	3.26	3.25	81.17	81.97
	168	3.35	3.30	82.47	83.33
10 mg/kg 反復経口 投与群	12	1.59	1.47	---	---
	24	1.97	1.83	68.66	63.18
	48	2.20	2.06	79.23	76.82
	72	2.33	2.15	82.30	81.26
	96	2.38	2.21	84.35	83.01
	120	2.42	2.24	85.39	84.12
	144	2.46	2.28	86.05	85.74
	168	2.48	2.30	86.72	86.35
10 mg/kg 静脈内 投与群	12	2.43	2.19	---	---
	24	2.86	2.62	48.36	46.75
	48	3.25	2.99	63.22	59.79
	72	3.45	3.17	69.81	67.26
	96	3.58	3.30	74.02	71.46
	120	3.67	3.40	76.89	74.59
	144	3.74	3.47	78.97	76.86
	168	3.79	3.53	80.71	78.49

経口投与した場合、投与後168時間目までの尿中に、投与量の約2.8%が排泄され、そのほとんどが12あるいは24時間目までに排泄された。糞中には約84.6%が排泄さ

れた。7日間に回収された総放射エネルギーには、投与量、1回または反復投与、または動物の性別による差は認められなかったが、0～24時間においては、高用量を投与した場合に排泄された放射エネルギーのほうが、低用量を反復投与した場合に比較して、より少ない傾向が認められた。静脈内投与した場合は、尿中に排泄された割合は3.5～3.8%で、そのほとんどが12～24時間目までに排泄された。糞中には、78.5～80.7%が排泄された。

代謝物の分析：分析結果を表7および8に示す。

表7 尿中における代謝物の分析結果

	投与量に対する割合 (%)							
	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
4.0分ピーク #1	0.16	0.18	0.11	0.16	0.16	0.14	0.13	0.10
6.5分ピーク #2	0.16	0.15	0.21	0.11	0.08	0.10	0.26	0.19
8.1分ピーク #3	0.20	0.21	0.14	0.13	0.13	0.15	0.16	0.18
10.3分ピーク #4	0.23	0.28	0.32	0.37	0.19	0.20	0.39	0.36
12.5分ピーク #5'	1.84	1.73	2.38	2.25	1.82	1.49	2.64	2.30
17.5分ピーク #6	0.06	0.08	0.13	0.07	0.05	0.06	0.05	0.06
22.5分ピーク #7	0.04	0.13	0.05	0.17	0.05	0.16	0.09	0.16
31.3分ピーク #8	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
34.8分ピーク #9''	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
35.5分ピーク #10 (スピネトラム-L)	0.00	0.00	0.00	0.05	0.00	0.00	0.07	0.18
総量	2.69	2.77	3.35	3.30	2.48	2.30	3.79	3.53

'ピーク#5 スピネトラム-L(D5)のグルタチオン抱合体、スピネトラム-Lのグルタチオン抱合体およびN-demethyl-175-Lのグルタチオン抱合体

''ピーク#9 N-demethyl-175-L

表8 糞中における代謝物の分析結果

	投与量に対する割合 (%)							
	10 mg/kg 単回経口投与群		100 mg/kg 単回経口投与群		10 mg/kg 反復経口投与群		10 mg/kg 静脈内投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
4.0分ピーク #1	4.46	6.70	0.00	0.00	3.64	3.03	0.00	3.60
6.5分ピーク #2	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8.1分ピーク #3'	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	1.07	0.00	0.00
10.3分ピーク #4	0.00	4.08	0.00	0.00	2.95	1.96	0.00	0.00
12.5分ピーク #5''	51.46	58.30	64.03	55.65	50.89	49.22	52.64	55.37
17.5分ピーク #6	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	5.42	0.00
22.5分ピーク #7	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	2.62
31.3分ピーク #8	5.24	4.47	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
34.8分ピーク #9	6.52	3.91	0.00	5.90	7.69	4.93	0.00	0.00
35.5分ピーク #10 (スピネトラム-L)	16.90	6.50	18.44	21.78	21.48	26.07	22.52	16.90
総量	84.58	83.97	82.47	83.33	86.65	86.29	80.58	78.49

\*ピーク#3 0-deethyl-175-L のシステイン抱合体

\*\*ピーク#5 スピネトラム-L のシステイン抱合体

全投与群の代謝物プロファイルと比較すると、投与量間および性別間、また1回経口投与および反復投与の間でも大きな差は認められなかった。親化合物は、尿および糞中に排泄された総放射能の7~26%を占めた。尿および糞抽出液試料ともに放射能の大部分は、9種類の代謝物として存在した。すべての尿および糞抽出液中に存在した主要代謝物は1種類であり(ピーク#5)、投与量の51~66%を占めた。尿中代謝物として、スピネトラム-L(D5)のグルタチオン抱合体、スピネトラム-Lのグルタチオン抱合体、N-demethyl-175-Lのグルタチオン抱合体(ピーク#5)およびN-demethyl-175-L(ピーク#9)が同定された。また、糞中代謝物として、0-deethyl-175-Lのシステイン抱合体(ピーク#3)およびスピネトラム-Lのシステイン抱合体(ピーク#5)が同定された。

経口吸収率に関する考察：経口投与したラットの尿中に排泄された放射能は吸収されたものとみなすことができる。また、糞中に代謝物として検出されたものは吸収されたスピネトラム-Lに由来し、さらに、糞中に排泄されたスピネトラム-Lのいくらかについても吸収されたものとみなすことができる。スピネトラム-Lを経口投与した6つの投与群において、糞中の代謝物の割合は60~78%であり、未変化体として糞中に排泄されたスピネトラム-Lの割合は、7~26%であった。一方、静脈内投与後の糞中代謝物の割合は58~62%であり、その上、相当量のスピネトラム-L(17~23%)が未変化体として糞中に

排泄された。経口投与後の糞中の親化合物/代謝物の割合は静脈内投与の場合と類似していたことから、経口投与されたスピネトラム-Lの少なくともいくらかは吸収された後、未変化体として糞中に排泄されたことを強く支持している。表9に記載されている項目の中で吸収されたスピネトラム-Lに由来するものは、尿中の総放射能、0-24時間に糞中に排泄された代謝物由来の放射能、および24-168時間に糞中に排泄された総放射能でこれらを全て合計すると経口吸収率は75±4%と推定された。よって、スピネトラム-Lは70%以上が経口吸収されたと判断された。

表9 スピネトラム-Lの経口吸収率の計算

	10 mg/kg 単回経口 投与群		100 mg/kg 単回経口 投与群		10 mg/kg 反復経口 投与群		10 mg/kg 静脈内 投与群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
尿中総放射能*	2.69%	2.77%	3.35%	3.30%	2.48%	2.30%	3.79%	3.57%
糞中総放射能 (0-168時間)	84.6%	84.0%	82.5%	83.3%	86.7%	86.4%	80.7%	78.5%
糞中代謝物 (0-168時間)	67.7%	77.5%	64.0%	61.5%	65.2%	60.2%	58.1%	61.6%
糞中スピネトラム -L (0-168時間)	16.9%	6.50%	18.4%	21.8%	21.5%	26.1%	22.5%	16.9%
糞中総放射能 (0-24時間)	65.5%	55.8%	48.3%	43.3%	68.7%	63.2%	48.4%	46.8%
糞中スピネトラム -L (0-24時間) (a)	13.1%	4.32%	10.8%	11.3%	17.0%	19.1%	13.5%	10.1%
糞中代謝物* (0-24時間) (b)	52.4%	51.5%	37.5%	32.0%	51.7%	44.0%	34.8%	36.7%
糞中総放射能* (24-168時間)	19.0%	28.2%	34.1%	40.1%	18.1%	23.2%	32.4%	31.7%
吸収率	74.1%	82.5%	74.9%	75.4%	72.2%	69.5%	100%	100%

\* : これらを合計して吸収率を算出した。

(a) 糞中スピネトラム-L (0-24時間) = 糞中総放射能 (0-24時間) ×  
[糞中スピネトラム-L (0-168時間) / 糞中総放射能 (0-168時間)]

例 : 10 mg/kg 単回経口投与群の雄 13.1% = 65.5% × (16.9% / 84.6%)

(b) 糞中代謝物 (0-24時間) = 糞中総放射能 (0-24時間) ×  
[糞中代謝物 (0-168時間) / 糞中総放射能 (0-168時間)]

例 : 10 mg/kg 単回経口投与群の雄 52.4% = 65.5% × (67.7% / 84.6%)

代謝経路：スピネトラム-Lの主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化、N-脱メチル化、O-脱エチル化により生じた代謝物のグルタチオン抱合化およびグルタチオン抱合体からシステイン抱合体への変換であった。推定代謝経路を図1に示す。

図1 スピネトラム-Lのラットにおける推定代謝経路



(4) スピネトラム-Lのラットにおける代謝試験

(資料 I-4)

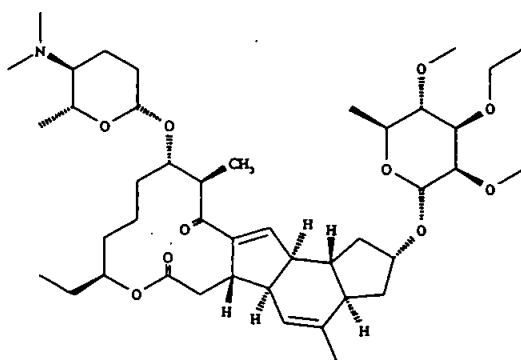
試験機関：The Dow Chemical Company

報告書作成年：2007年 [GLP 対応]

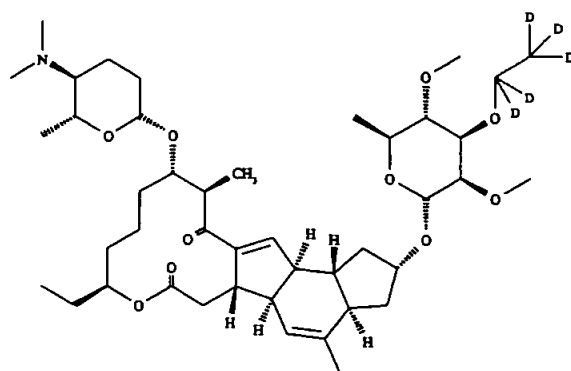
供試標識化合物：

$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L および  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L (D5)の混合物

構造式：



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L (D5)

化学名：

(2*S*, 3*aR*, 5*aS*, 5*bS*, 9*S*, 13*S*, 14*R*, 16*aS*, 16*bS*)-13-[[ (2*S*, 5*S*, 6*R*)-5-(dimethylamino)-6-methyltetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]oxy]-9-ethyl-4, 14-dimethyl-7, 15-dioxo-2, 3, 3*a*, 5*a*, 5*b*, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16*a*, 16*b*-hexadecahydro-1*H*-as-indaceno[3, 2-*d*]oxacyclododecin-2-yl  
6-deoxy-3-*O*-ethyl-2, 4-di-*O*-methyl- $\beta$ -L-mannopyranoside

	<sup>14</sup> C-スピネトラム-L	<sup>14</sup> C-スピネトラム-L (D5)
標識位置		
比放射能		
放射化学的純度		

供試動物： F344/DuCr1 ラット

9～11 週齢、体重範囲 171～211 g (雄)、134～147 g (雌)

試験方法： 投与群および試験系を以下に示す。

投与群	屠殺時点	動物数および性別	注
10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群	C <sub>max</sub> 時 (投与後 3(雄)、2(雌)時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F
100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群	C <sub>max</sub> 時 (投与後 4(雄)、3(雌)時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F
10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群	1/2C <sub>max</sub> 時 (投与後 10(雄)、8(雌)時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F
100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群	1/2C <sub>max</sub> 時 (投与後 21(雄)、10(雌)時間目)	雌雄各 4 匹	A, E, F

A. <sup>14</sup>C-スピネトラム-L を 1 回経口投与

E. 排泄物および組織を採取し、放射能を分析

F. 屠殺時に採取した血漿、肝臓、腎臓および甲状腺をプールし、親化合物/代謝物を分析

投与： <sup>14</sup>C-スピネトラム-L を 0.5% METHOCEL に懸濁して投与液を調製し、1 番目と 3 番目の投与群 (低用量群) には 10 mg/kg、2 番目と 4 番目の投与群 (高用量群) には 100 mg/kg の用量で、ラットに 1 回経口投与した。

採取試料：

尿およびケージ洗液：3番目と4番目の投与群（1/2C<sub>0.1</sub>群）の雄ラットは投与後10および21時間目に、雌ラットは投与後8および10時間目に屠殺し、その間に排泄された尿、およびケージを水で洗浄した洗浄液を採取して、LSCで放射能を測定した。

糞：1/2C<sub>0.1</sub>群の雄ラットは投与後10および21時間目に、雌ラットは投与後8および10時間目に屠殺し、その間に排泄された糞を採取し、水ホモジネートを調製後、オキシダイザーで燃焼し、LSCで放射能を測定した。

呼気中揮発成分、呼気中CO<sub>2</sub>：先に実施した試験で、10mg/kg単回経口投与群のラットの呼気中に放射能は検出されなかったことから、本試験ではすべての投与群の呼気は採取しなかった。

組織：1番目と2番目の投与群（C<sub>0.1</sub>群）の雄ラットは投与後3および4時間目に、雌ラットは投与後2および3時間目に屠殺し、1/2C<sub>0.1</sub>群の雄ラットは投与後10および21時間目に、雌ラットは投与後8および10時間目に屠殺し、屠殺時に組織を採取した。オキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を測定した。

ケージ洗浄液：屠殺後、ケージ洗浄を行い、洗浄液を採取して、一部を秤量し、放射能を分析した。

血液：屠殺時に血液を採取し、オキシダイザーで燃焼後、LSCで放射能を分析した。屠殺時に採取した血液の一部を遠心分離により血漿と赤血球に分離し、血漿の一部をLSCで分析して総放射エネルギーを測定した。

代謝物の分析：各投与群の屠殺時に採取した血漿、甲状腺抽出液、および、腎臓および肝臓のホモジネートの抽出液を、HPLCにより分離後、各画分を採取し、LSC分析した。また、スピネトラム-Lのラットにおける代謝試験（資料I-3）で得られた糞尿中の代謝物分析も実施し、親化合物および投与量の5%を超える主要代謝物はHPLCにより単離した後、マススペクトル分析を用いて同定を試みた。

結果：

組織中の放射能分布および濃度：組織および排泄物中の放射能分布を表1に、組織中の放射能濃度を表2に示す。また、組織中<sup>14</sup>C濃度の投与量による比較を表3および4に、組織中<sup>14</sup>C濃度の屠殺時点による比較を表5および6に示す。

放射エネルギーは、消化管において最大であり、投与量の平均28~73%が回収された。組織中濃度（ $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L相当/g組織）では、C<sub>0.1</sub>の時点における組織中<sup>14</sup>C濃度は一般に、消化管 > リンパ節 > 肝臓 > 肺 > 副腎 > 脾臓の順で高かった。1/2C<sub>0.1</sub>の時点で屠殺したラットの組織中放射能濃度の順序は、消化管、リンパ節、副腎および肺についてはほぼ同じであったが、肝臓の順序は低く、脂肪および骨髄

の順序は高かった。

用量の異なる投与群の組織中放射能濃度を比較すると、ほとんどの組織中放射能濃度は、おおむね用量に比例した関係を示した。 $C_{max}$  時点で屠殺した高用量群のラットにおける放射能濃度は、低用量群のラットより 17 倍高かった。 $1/2C_{max}$  時点で屠殺した高用量群のラットにおける放射能濃度は、低用量群のラットより 9~13 倍高かった。

$1/2C_{max}$  の時点で屠殺した低用量群雄ラットの組織中放射能濃度は、平均して、 $C_{max}$  の時点で屠殺したラットの同じ組織における放射能濃度の 80% であり、 $1/2C_{max}$  の時点で屠殺した高用量群雄ラットの平均組織中放射能濃度は、 $C_{max}$  の時点で屠殺したラットの組織中放射能濃度の 40% であった。 $1/2C_{max}$  の時点で屠殺した低用量群雌ラットの平均組織中放射能濃度は、 $C_{max}$  の時点で屠殺したラットの組織中放射能濃度の 130% であり、 $1/2C_{max}$  の時点で屠殺した高用量群雌ラットの組織中放射能濃度は、 $C_{max}$  の時点で屠殺したラットの組織における測定値とほぼ同じであった。

組織中の代謝物： 肝臓、腎臓、血漿および甲状腺における代謝物の分布を表 7 に示す。親化合物（スピネトラム-L）は、 $C_{max}$  群および  $1/2C_{max}$  群の両方で、4 種の組織全部で検出された。親化合物は肝臓に最も多く認められ、 $C_{max}$  群では投与量の 3.4~6.0% であった。組織抽出液中には、親化合物を除いて、全部で 8 種の代謝物ピークが検出されたが、投与量の 5% を超えるものはなかった。組織中に最も多く認められた代謝物は、N-demethyl-175-L と同定された。N-demethyl-175-L は全種類の組織中に認められたが、肝臓で最も多く、 $C_{max}$  群では 0.8~2.3% であった。スピネトラム-L のグルタチオン抱合体は、主として肝臓中に認められ、 $C_{max}$  群では 0.8~1.2% であった。さらに、極微量（投与量の 1% 未満）の N-demethyl-175-L のグルタチオン抱合体が組織中（主に肝臓、かなり少量が腎臓中）に認められた。

糞尿中の代謝物： 以前の試験（スピネトラム-L のラットにおける代謝試験（資料 [-3]））では、投与量の 5% を超える放射能を含む 3 つのピーク（ピーク #1、#6 および #8）を同定することができず、また、ピーク #5 も完全に分離しない数個の代謝物を含んでいた。本実験において、これら代謝物について更なる情報を得るために、以前の試験のラットの尿および糞の試料を用いて代謝物分析を行った。尿および糞中代謝物の分布を表 8 に示す。ピーク #1UF は Aglycone-175-L の硫酸抱合体と暫定的に同定された。尿中のピーク #5 は、ピーク #5Ua および #5Ub の 2 つのピークを含み、前者は親化合物のグルタチオン抱合体、後者は N-demethyl-175-L のグルタチオン抱合体と同定された。ピーク #5F（尿中のピーク #5 と同じ保持時間に溶出された）は、親化合物のシステイン抱合体と同定された。ピーク #8 は、今回、

C9-pseudoaglycone-175-L のグルクロン酸抱合体と暫定的に同定された。代謝物 #3UF、#9F および #10UF については、以前の実験において、#3UF は O-deethyl-175-L のシステイン抱合体、#9F は N-demethyl-175-L、また、#10UF は親化合物スピネトラム-L と同定されている。

代謝経路： 推定代謝経路を図 1 に示す。スピネトラム-L の主要代謝反応は、親化合物のグルタチオン抱合化であり、親化合物の N-脱メチル化および O-脱エチル化により生じた代謝物のグルタチオン経路の抱合化も認められた。また、脱糖後の硫酸またはグルクロン酸抱合化も認められた。

表1 組織中  $^{14}\text{C}$  分布 (屠殺時、投与量に対する割合%)

試料	10 mg/kg 経口投与 $C_{max}$ 群		100 mg/kg 経口投与 $C_{max}$ 群		10 mg/kg 経口投与 $1/2C_{max}$ 群		100 mg/kg 経口投与 $1/2C_{max}$ 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
FCW*	0.63	0.40	1.00	1.05	0.41	0.54	7.36	2.34
糞	NA	NA	NA	NA	3.96	0.14	35.94	NA
副腎	0.03	0.06	0.06	0.06	0.03	0.06	0.01	0.07
膀胱	0.01	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
血液	0.10	0.09	0.12	0.11	0.05	0.06	0.03	0.06
骨	0.04	0.04	0.06	0.05	0.03	0.04	0.02	0.06
骨髓	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02
脳	0.02	0.02	0.03	0.08	0.01	0.03	0.01	0.02
脂肪	0.02	0.01	0.04	0.05	0.03	0.03	0.06	0.11
消化管	68.32	67.99	56.19	60.98	68.57	72.61	28.49	57.73
心臓	0.15	0.16	0.19	0.18	0.07	0.11	0.03	0.11
腎臓	0.59	0.60	0.71	0.63	0.33	0.46	0.23	0.42
肝臓	7.20	9.89	7.65	7.39	2.29	3.05	1.22	3.13
肺	1.22	1.00	1.35	1.18	1.14	1.55	0.21	0.54
リンパ節	0.10	0.14	0.12	0.11	0.06	0.11	0.06	0.14
筋肉	0.03	0.04	0.03	0.03	0.02	0.03	0.01	0.03
卵巢	NA	0.02	NA	0.04	NA	0.03	NA	0.04
脾臓	0.20	0.15	0.23	0.18	0.10	0.15	0.06	0.13
脳下垂体	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
血漿	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
皮膚	5.15	2.24	10.75	7.45	6.78	7.02	7.22	10.94
脾臓	0.27	0.26	0.31	0.27	0.06	0.30	0.11	0.27
睾丸	0.08	NA	0.12	NA	0.07	NA	0.07	NA
胸腺	0.05	0.04	0.09	0.08	0.07	0.10	0.06	0.11
甲状腺	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.02
子宮	NA	0.03	NA	0.05	NA	0.06	NA	0.09
残屍体	11.34	10.33	18.53	13.40	11.43	12.55	10.67	18.38
組織計	94.94	93.14	96.61	92.34	91.16	98.38	48.60	92.42
尿	NA	NA	NA	NA	1.03	0.61	1.48	1.12
ケージ洗液	NA	NA	NA	NA	0.12	0.06	0.14	0.06
尿/洗液計	NA	NA	NA	NA	1.16	0.68	1.61	1.19
合計	95.57	93.54	97.60	93.39	96.69	99.67	93.51	95.95

数値は平均値、FCW\* 屠殺後の最終ケージ洗浄液、NA : 該当せず

表2 組織中<sup>14</sup>C濃度(屠殺時、 $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L相当/g組織)

組織	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群		100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群		10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群		100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
副腎	14.559	16.088	235.638	174.701	11.540	15.341	77.792	198.686
膀胱	2.553	2.217	43.040	25.919	1.999	2.308	16.691	28.033
血液	0.282	0.297	4.601	3.940	0.149	0.196	0.916	1.963
骨	2.006	1.574	32.141	24.436	1.688	1.946	11.589	27.531
骨髓	9.711	5.587	174.202	168.378	10.391	16.089	91.886	249.489
脳	0.199	0.191	3.340	7.086	0.161	0.282	1.119	2.077
脂肪	5.562	3.054	124.126	71.666	8.240	6.504	156.226	168.734
消化管	112.889	107.618	934.026	902.744	67.230	73.576	370.505	602.450
心臓	3.948	4.073	53.522	49.645	2.223	2.957	11.024	30.842
腎臓	7.992	8.018	110.375	95.157	4.689	6.086	36.203	62.239
肝臓	22.877	34.919	269.759	284.215	6.648	9.769	35.134	108.807
肺	21.372	18.959	303.224	223.545	24.597	26.312	51.310	117.232
リンパ節	25.190	33.365	433.981	299.835	17.044	21.452	217.396	337.622
筋肉	1.711	1.591	31.055	19.611	1.547	1.608	8.760	21.320
卵巣	NA	3.774	NA	73.542	NA	5.714	NA	92.770
脾臓	7.925	7.403	128.048	105.664	4.490	5.800	34.218	58.854
脳下垂体	7.205	5.281	97.026	78.166	2.833	6.440	30.071	65.807
血漿	0.333	0.327	4.915	4.564	0.123	0.106	1.221	2.492
皮膚	2.191	1.047	52.872	39.215	3.096	3.471	35.196	58.908
脾臓	11.747	10.588	153.278	122.849	2.507	11.827	57.066	116.760
睾丸	0.567	NA	10.803	NA	0.508	NA	6.346	NA
胸腺	3.915	2.598	79.721	49.295	5.360	5.568	50.162	75.014
甲状腺	5.303	3.357	116.027	117.786	5.524	6.865	32.825	63.981
子宮	NA	1.164	NA	21.567	NA	2.132	NA	37.178
残屍体	2.051	1.797	38.615	26.853	2.109	2.243	21.553	36.062

数値は平均値、NA: 該当せず

表3 組織中  $^{14}\text{C}$  濃度 ( $\mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L 相当/g 組織) の投与量による比較  
C<sub>max</sub> 群 (投与後 2~4 時間目に屠殺)

組織	雄			雌		
	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (A)	100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (B)	比 (B/A)	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (C)	100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (D)	比 (D/C)
副腎	14.559	235.638	16.2	16.088	174.701	10.9
膀胱	2.553	43.040	16.9	2.217	25.919	11.7
血液	0.282	4.601	16.3	0.297	3.940	13.3
骨	2.006	32.141	16.0	1.574	24.436	15.5
骨髓	9.711	174.202	17.9	5.587	168.378	30.1
脳	0.199	3.340	16.8	0.191	7.086	37.1
脂肪	5.562	124.126	22.3	3.054	71.666	23.5
消化管	112.889	934.026	8.3	107.618	902.744	8.4
心臓	3.948	53.522	13.6	4.073	49.645	12.2
腎臓	7.992	110.375	13.8	8.018	95.157	11.9
肝臓	22.877	269.759	11.8	34.919	284.215	8.1
肺	21.372	303.224	14.2	18.959	223.545	11.8
リリパ節	25.190	433.981	17.2	33.365	299.835	9.0
筋肉	1.711	31.055	18.2	1.591	19.611	12.3
卵巣	NA	NA	NA	3.774	73.542	19.5
膵臓	7.925	128.048	16.2	7.403	105.664	14.3
脳下垂体	7.205	97.026	13.5	5.281	78.166	14.8
血漿	0.333	4.915	14.8	0.327	4.564	14.0
皮膚	2.191	52.872	24.1	1.047	39.215	37.5
脾臓	11.747	153.278	13.0	10.588	122.849	11.6
睾丸	0.567	10.803	19.0	NA	NA	NA
胸腺	3.915	79.721	20.4	2.598	49.295	19.0
甲状腺	5.303	116.027	21.9	3.357	117.786	35.1
子宮	NA	NA	NA	1.164	21.567	18.5
残屍体	2.051	38.615	18.8	1.797	26.853	14.9
平均	-	-	16.6	-	-	17.3

数値は平均値、NA: 該当せず



表4 組織中<sup>14</sup>C濃度 (μg <sup>14</sup>C-スピネトラム-L 相当/g 組織) の投与量による比較  
1/2C<sub>max</sub>群 (投与後8~21時間目に屠殺)

組織	雄			雌		
	10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (A)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (B)	比 (B/A)	10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (C)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (D)	比 (D/C)
副腎	11.540	77.792	6.7	15.341	198.686	13.0
膀胱	1.999	16.691	8.4	2.308	28.033	12.1
血液	0.149	0.916	6.1	0.196	1.963	10.0
骨	1.688	11.589	6.9	1.946	27.531	14.1
骨髓	10.391	91.886	8.8	16.089	249.489	15.5
脳	0.161	1.119	6.9	0.282	2.077	7.4
脂肪	8.240	156.226	19.0	6.504	168.734	25.9
消化管	67.230	370.505	5.5	73.576	602.450	8.2
心臓	2.223	11.024	5.0	2.957	30.842	10.4
腎臓	4.689	36.203	7.7	6.086	62.239	10.2
肝臓	6.648	35.134	5.3	9.769	108.807	11.1
肺	24.597	51.310	2.1	26.312	117.232	4.5
リンパ節	17.044	217.396	12.8	21.452	337.622	15.7
筋肉	1.547	8.760	5.7	1.608	21.320	13.3
卵巣	NA	NA	NA	5.714	92.770	16.2
膵臓	4.490	34.218	7.6	5.800	58.854	10.1
脳下垂体	2.833	30.071	10.6	6.440	65.807	10.2
血漿	0.123	1.221	9.9	0.106	2.492	23.4
皮膚	3.096	35.196	11.4	3.471	58.908	17.0
脾臓	2.507	57.066	22.8	11.827	116.760	9.9
睾丸	0.508	6.346	12.5	NA	NA	NA
胸腺	5.360	50.162	9.4	5.568	75.014	13.5
甲状腺	5.524	32.825	5.9	6.865	63.981	9.3
子宮	NA	NA	NA	2.132	37.178	17.4
残屍体	2.109	21.553	10.2	2.243	36.062	16.1
平均	-	-	9.0	-	-	13.1

数値は平均値、NA: 該当せず

表5 組織中<sup>14</sup>C濃度 (μg <sup>14</sup>C-スピネトラム-L 相当/g 組織) の屠殺時点による比較  
低用量 (10 mg/kg) 投与群

組織	雄			雌		
	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (A) (3 hr)	10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (B) (10 hr)	比 (B/A)	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (C) (2 hr)	10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (D) (8 hr)	比 (D/C)
副腎	14.559	11.540	0.8	16.088	15.341	1.0
膀胱	2.553	1.999	0.8	2.217	2.308	1.0
血液	0.282	0.149	0.5	0.297	0.196	0.7
骨	2.006	1.688	0.8	1.574	1.946	1.2
骨髓	9.711	10.391	1.1	5.587	16.089	2.9
脳	0.199	0.161	0.8	0.191	0.282	1.5
脂肪	5.562	8.240	1.5	3.054	6.504	2.1
消化管	112.889	67.230	0.6	107.618	73.576	0.7
心臓	3.948	2.223	0.6	4.073	2.957	0.7
腎臓	7.992	4.689	0.6	8.018	6.086	0.8
肝臓	22.877	6.648	0.3	34.919	9.769	0.3
肺	21.372	24.597	1.2	18.959	26.312	1.4
リンパ節	25.190	17.044	0.7	33.365	21.452	0.6
筋肉	1.711	1.547	0.9	1.591	1.608	1.0
卵巣	NA	NA	NA	3.774	5.714	1.5
膵臓	7.925	4.490	0.6	7.403	5.800	0.8
脳下垂体	7.205	2.833	0.4	5.281	6.440	1.2
血漿	0.333	0.123	0.4	0.327	0.106	0.3
皮膚	2.191	3.096	1.4	1.047	3.471	3.3
脾臓	11.747	2.507	0.2	10.588	11.827	1.1
睾丸	0.567	0.508	0.9	NA	NA	NA
胸腺	3.915	5.360	1.4	2.598	5.568	2.1
甲状腺	5.303	5.524	1.0	3.357	6.865	2.0
子宮	NA	NA	NA	1.164	2.132	1.8
残屍体	2.051	2.109	1.0	1.797	2.243	1.2
平均	-	-	0.8	-	-	1.3

数値は平均値、ND: 検出せず、NA: 該当せず

表6 組織中<sup>14</sup>C濃度 (μg <sup>14</sup>C-スピネトラム-L 相当/g 組織) の屠殺時点による比較  
高用量 (100 mg/kg) 投与群

組織	雄			雌		
	100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (A) (4 hr)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (B) (21 hr)	比 (B/A)	100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群 (C) (3 hr)	100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群 (D) (10 hr)	比 (D/C)
副腎	235.638	77.792	0.3	174.701	198.686	1.1
膀胱	43.040	16.691	0.4	25.919	28.033	1.1
血液	4.601	0.916	0.2	3.940	1.963	0.5
骨	32.141	11.589	0.4	24.436	27.531	1.1
骨髓	174.202	91.886	0.5	168.378	249.489	1.5
脳	3.340	1.119	0.3	7.086	2.077	0.3
脂肪	124.126	156.226	1.3	71.666	168.734	2.4
消化管	934.026	370.505	0.4	902.744	602.450	0.7
心臓	53.522	11.024	0.2	49.645	30.842	0.6
腎臓	110.375	36.203	0.3	95.157	62.239	0.7
肝臓	269.759	35.134	0.1	284.215	108.807	0.4
肺	303.224	51.310	0.2	223.545	117.232	0.5
リム'筋	433.981	217.396	0.5	299.835	337.622	1.1
筋肉	31.055	8.760	0.3	19.611	21.320	1.1
卵巢	NA	NA	NA	73.542	92.770	1.3
脾臓	128.048	34.218	0.3	105.664	58.854	0.6
脳下垂体	97.026	30.071	0.3	78.166	65.807	0.8
血漿	4.915	1.221	0.2	4.564	2.492	0.5
皮膚	52.872	35.196	0.7	39.215	58.908	1.5
脾臓	153.278	57.066	0.4	122.849	116.760	1.0
睪丸	10.803	6.346	0.6	NA	NA	NA
胸腺	79.721	50.162	0.6	49.295	75.014	1.5
甲状腺	116.027	32.825	0.3	117.786	63.981	0.5
子宮	NA	NA	NA	21.567	37.178	1.7
残屍体	38.615	21.553	0.6	26.853	36.062	1.3
平均	-	-	0.4	-	-	1.0

数値は平均値、NA：該当せず

表7 組織中における代謝物の分布、投与量に対する割合 (%)

	10 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群					100 mg/kg 経口投与 C <sub>max</sub> 群					10 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群					100 mg/kg 経口投与 1/2C <sub>max</sub> 群					
	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	肝臓	腎臓	血漿	甲状腺	計	
雄	4.2分ピーク #1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.122	0.000	0.000	0.000	0.122	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	5.5分ピーク #2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	12.5分ピーク #3	1.035	0.000	0.000	0.000	1.035	1.057	0.025	0.000	0.000	1.082	0.448	0.000	0.000	0.448	0.357	0.022	0.000	0.000	0.379	
	13.0分ピーク #4	0.071	0.000	0.000	0.000	0.071	0.072	0.002	0.000	0.000	0.074	0.031	0.000	0.000	0.031	0.024	0.002	0.000	0.000	0.025	
	16.8分ピーク #5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	31.8分ピーク #6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	34.5分ピーク #7	0.394	0.052	0.000	0.002	0.447	0.245	0.024	0.000	0.000	0.269	0.139	0.021	0.000	0.001	0.160	0.082	0.011	0.000	0.000	0.093
	35.5分ピーク #8	2.270	0.178	0.001	0.005	2.453	0.968	0.087	0.001	0.002	1.058	0.934	0.165	0.001	0.005	1.105	0.327	0.082	0.000	0.002	0.411
	36.5分ピーク #9	3.429	0.365	0.004	0.010	3.806	5.308	0.569	0.006	0.018	5.901	0.617	0.121	0.001	0.006	0.745	0.430	0.115	0.001	0.006	0.551
	総量	7.199	0.595	0.005	0.016	-	7.649	0.707	0.007	0.020	-	2.290	0.333	0.002	0.012	-	1.220	0.232	0.002	0.008	-
雌	4.2分ピーク #1	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	5.5分ピーク #2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	12.5分ピーク #3	1.208	0.000	0.000	0.000	1.208	0.832	0.030	0.000	0.000	0.862	0.560	0.000	0.000	0.560	0.567	0.015	0.000	0.000	0.581	
	13.0分ピーク #4	0.082	0.000	0.000	0.000	0.082	0.057	0.002	0.000	0.000	0.059	0.038	0.000	0.000	0.038	0.039	0.001	0.000	0.000	0.040	
	16.8分ピーク #5	0.000	0.000	0.000	0.001	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
	31.8分ピーク #6	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002	0.002	0.000	0.000	0.000	0.000	
	34.5分ピーク #7	0.226	0.000	0.000	0.000	0.226	0.158	0.019	0.000	0.000	0.177	0.083	0.028	0.000	0.000	0.111	0.083	0.009	0.000	0.000	0.091
	35.5分ピーク #8	2.327	0.136	0.001	0.003	2.490	0.831	0.102	0.001	0.002	0.937	1.478	0.234	0.000	0.006	1.718	0.731	0.131	0.001	0.003	0.866
	36.5分ピーク #9	6.048	0.461	0.006	0.013	6.619	5.512	0.478	0.007	0.021	6.017	0.891	0.199	0.001	0.007	1.098	1.712	0.268	0.004	0.013	1.997
	総量	9.890	0.597	0.007	0.017	-	7.390	0.630	0.008	0.023	-	3.050	0.461	0.001	0.015	-	3.130	0.424	0.005	0.016	-

ピーク#3: スピネトラム-Lのグルタチオン抱合体  
 ピーク#4: N-demethyl-175-Lのグルタチオン抱合体  
 ピーク#8: N-demethyl-175-L  
 ピーク#9: スピネトラム-L

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学株式会社にある。

表8 糞尿中における代謝物の分布、投与量に対する割合 (%)

	10 mg/kg 単回経口投与群			100 mg/kg 単回経口投与群			10 mg/kg 反復経口投与群			10 mg/kg 静脈内投与群			
	尿	糞	計	尿	糞	計	尿	糞	計	尿	糞	計	
雄	4.0分ピーク #1UF	0.16	4.46	4.62	0.11	0.00	0.11	0.16	3.64	3.80	0.13	0.00	0.13
	6.5分ピーク #2U	0.16	0.00	0.16	0.21	0.00	0.21	0.08	0.00	0.08	0.26	0.00	0.26
	8.1分ピーク #3UF	0.20	0.00	0.20	0.14	0.00	0.14	0.13	0.00	0.13	0.16	0.00	0.16
	10.3分ピーク #4UP	0.23	0.00	0.23	0.32	0.00	0.32	0.19	2.95	3.14	0.39	0.00	0.39
	12.5分ピーク #5Ua	1.64	0.00	1.64	2.13	0.00	2.13	1.63	0.00	1.63	2.36	0.00	2.36
	12.5分ピーク #5F	0.00	51.46	51.46	0.00	64.03	64.03	0.00	50.89	50.89	0.00	52.64	52.64
	12.5分ピーク #5Ub	0.19	0.00	0.19	0.25	0.00	0.25	0.19	0.00	0.19	0.28	0.00	0.28
	17.5分ピーク #6UF	0.06	0.00	0.06	0.13	0.00	0.13	0.05	0.00	0.05	0.05	5.42	5.47
	22.5分ピーク #7UP	0.04	0.00	0.04	0.05	0.00	0.05	0.05	0.00	0.05	0.09	0.00	0.09
	33.3分ピーク #8F	0.00	5.24	5.24	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	34.8分ピーク #9F	0.00	6.52	6.52	0.00	0.00	0.00	0.00	7.69	7.69	0.00	0.00	0.00
	35.5分ピーク #10UP	0.00	16.90	16.90	0.00	18.44	18.44	0.00	21.48	21.48	0.07	22.52	22.59
総量	2.69	84.58	-	3.35	82.47	-	2.48	86.65	-	3.79	80.58	-	
雌	4.0分ピーク #1UF	0.18	6.70	6.88	0.16	0.00	0.16	0.14	3.03	3.18	0.10	3.60	3.70
	6.5分ピーク #2U	0.15	0.00	0.15	0.11	0.00	0.11	0.10	0.00	0.10	0.19	0.00	0.19
	8.1分ピーク #3UF	0.21	0.00	0.21	0.13	0.00	0.13	0.15	1.07	1.23	0.18	0.00	0.18
	10.3分ピーク #4UP	0.28	4.08	4.36	0.37	0.00	0.37	0.20	1.96	2.16	0.36	0.00	0.36
	12.5分ピーク #5Ua	1.55	0.00	1.55	2.02	0.00	2.02	1.33	0.00	1.33	2.06	0.00	2.06
	12.5分ピーク #5F	0.00	58.30	58.30	0.00	55.65	55.65	0.00	49.22	49.22	0.00	55.37	55.37
	12.5分ピーク #5Ub	0.18	0.00	0.18	0.24	0.00	0.24	0.16	0.00	0.16	0.24	0.00	0.24
	17.5分ピーク #6UF	0.08	0.00	0.08	0.07	0.00	0.07	0.06	0.00	0.06	0.06	0.00	0.06
	22.5分ピーク #7UP	0.13	0.00	0.13	0.17	0.00	0.17	0.16	0.00	0.16	0.16	2.62	2.77
	33.3分ピーク #8F	0.00	4.47	4.47	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	34.8分ピーク #9F	0.00	3.91	3.91	0.00	5.90	5.90	0.00	4.93	4.93	0.00	0.00	0.00
	35.5分ピーク #10UP	0.00	6.50	6.50	0.05	21.78	21.83	0.00	26.07	26.07	0.18	16.90	17.07
総量	2.77	83.97	-	3.30	83.33	-	2.30	86.29	-	3.53	78.49	-	

ピーク#1UF: Aglycone-175-Lの硫酸抱合体  
 ピーク#2U, #4UP, #6UF, #7UF: 未同定  
 ピーク#3UF: O-deethyl-175-Lのシステイン抱合体  
 ピーク#5Ua: スピネトラム-Lのグルタチオン抱合体  
 ピーク#5F: スピネトラム-Lのシステイン抱合体  
 ピーク#5Ub: N-demethyl-175-Lのグルタチオン抱合体  
 ピーク#8F: C9-pseudoaglycone-175-Lのグルクロン酸抱合体  
 ピーク#9F: N-demethyl-175-L  
 ピーク#10UP: スピネトラム-L

図1 スピネトラム-Lのラットにおける推定代謝経路

## 2. 植物代謝に関する試験

### (1) スピネトラムのレタスにおける代謝試験

(資料 II-1)

試験機関：Dow AgroSciences LLC

報告書作成年：2005年 [GLP 対応]

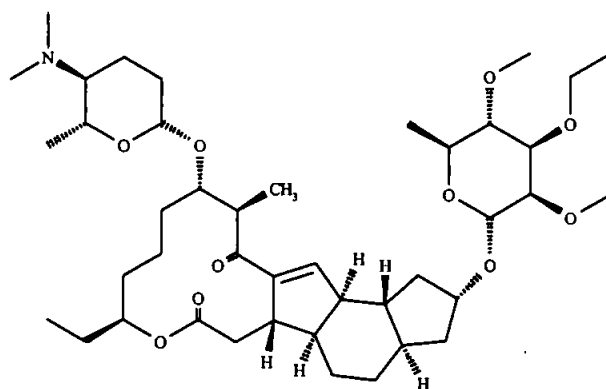
供試標識化合物：

$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D5)、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D2) の混合物 (約 1:1:1 (w/w/w))；

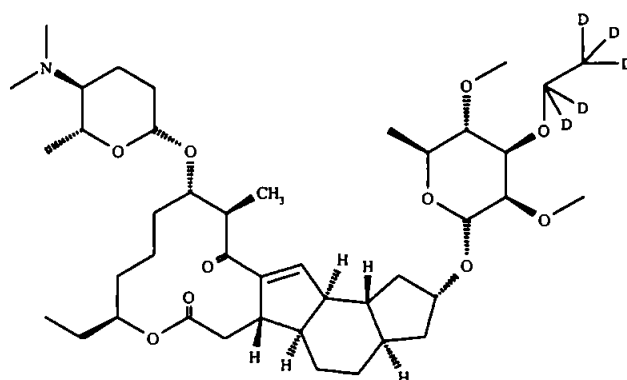
および

$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L (D5) の混合物 (約 1:1 (w/w))；

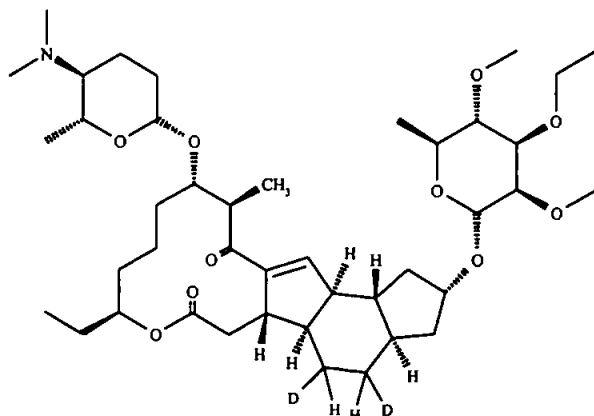
構造式：



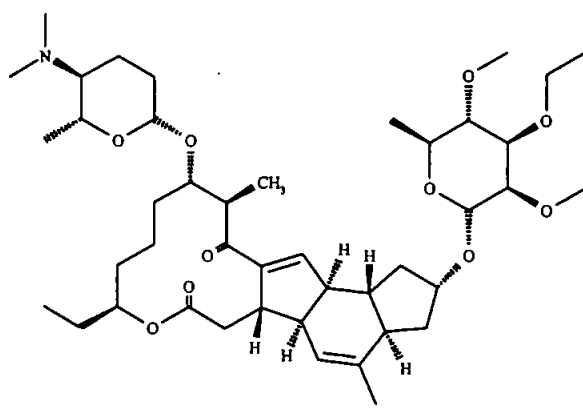
$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J



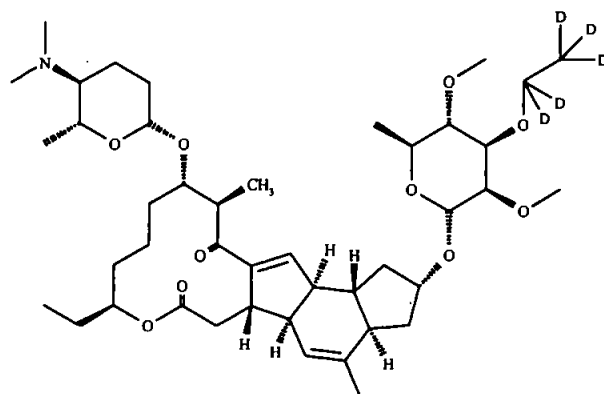
$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D5)



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J (D2)



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L



$^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L (D5)



化学名：

スピネトラム-J；

(1*S*, 2*R*, 5*R*, 7*R*, 9*R*, 10*S*, 14*R*, 15*S*, 19*S*)-7-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2, 4-di-*O*-methyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-15-[(2*R*, 5*S*, 6*R*)-5-(dimethylamino) tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-19-ethyl-14-methyl-20-oxatetracyclo[10. 10. 0. 0<sup>2,10</sup>. 0<sup>5,9</sup>] docosa-13, 21-dione

および

スピネトラム-L；

(1*S*, 2*S*, 5*R*, 7*S*, 9*S*, 10*S*, 14*R*, 15*S*, 19*S*)-7-(6-deoxy-3-*O*-ethyl-2, 4-di-*O*-methyl- $\alpha$ -L-mannopyranosyloxy)-15-[(2*R*, 5*S*, 6*R*)-5-(dimethylamino) tetrahydro-6-methylpyran-2-yloxy]-19-ethyl-4, 14-dimethyl-20-oxatetracyclo[10. 10. 0. 0<sup>2,10</sup>. 0<sup>5,9</sup>] docosa-3, 11-diene-13, 21-dione

	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J (D5)	<sup>14</sup> C-スピネトラム-J (D2)
標識位置			
比放射能			
放射化学的純度			

	<sup>14</sup> C-スピネトラム-L	<sup>14</sup> C-スピネトラム-L (D5)
標識位置		
比放射能		
放射化学的純度		

供試植物：リーフレタス（品種：New Fire Red M1）

栽培条件：戸外に設置したプラスチック製ポットに種子を播き、<sup>14</sup>C-スピネトラム乳剤を1回処理あるいは3回処理を行った。ポットに使用した土壌は、有機物含量0.9%、pH 7.3の砂壤土（砂65%、シルト24%および粘土11%）であった。

方 法：

被験物質の調製： 処理前に、 $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-J 混合物および  $^{14}\text{C}$ -スピネトラム-L 混合物をそれぞれ乳剤の空製剤に溶解し、乳剤として製剤化した。

処理方法： 登録申請に係る使用方法案では、レタスにおける予想年間最大総施用量は 300 g/ha である。スピネトラムは 2 種の活性成分であるスピネトラム-J およびスピネトラム-L を比率約 3:1 (J:L) で含有し、スピネトラム-J の年間最大施用量は 225 g/ha (300 g/ha  $\times$  0.75) であり、スピネトラム-L の年間最大施用量は 75 g/ha (300 g/ha  $\times$  0.25) である。代謝物同定の作業に必要な残留物を十分得るため、各成分の施用量が 4 倍となるスピネトラム-J : 900 g/ha、スピネトラム-L : 300 g/ha で処理した。1 回処理を行うポットでは、この被験物質全量を 1 度に処理した。3 回処理を行うポットでは、同量を 3 等分し、最初の収穫予測日の 2 週間前から開始して、7 日間隔で処理した。処理は  $\text{CO}_2$  使用加圧式単一ノズル研究用散布器を用いて、ポット植えのレタスの葉に散布することにより行った。

試料採取時期： 1 回処理を行ったポットからは、0 日目（処理後約 1 時間目）および処理後 0.25、1、3 および 7 日目に、植物を土壌表面から約 2~3cm 上でハサミで切り取るにより試料を採取した。3 回処理を行ったポットからは、最終処理後 3 および 7 日目に試料を採取した。試験の最後の数日間の気温が異常に高かったため、処理後 7 日目の試料には一部乾燥したものがあつたことから、処理後 7 日目の試料から得られたデータは報告しなかつた。

分析方法： 各試料中の残留物の抽出および分析に用いた方法の詳細なフローチャートを図 1 および 2 に示す。抽出の概要は以下のとおりである。レタス試料を一連の溶媒で表面洗浄に供し、洗浄液については、一部を用いて LSC により総放射能を測定し、洗浄後の試料は凍結して低温で粉碎した後、一部を燃焼分析に供した。未洗浄の試料は一部を凍結して低温で粉碎した後、一部を用いて燃焼分析により総放射能を測定した。洗浄後の試料は、アセトニトリル中でホモジナイズ、またはアセトニトリル/水中でホモジナイズした後、約 1 時間の還流により抽出した。なお、アセトニトリル/水抽出液は中性ならびに酸性条件下、有機溶媒にて液/液分配を行い有機溶媒可溶性画分（中性、酸性）と水溶性画分に分画した。

最初に洗浄液および抽出液（アセトニトリル抽出液）を直接 HPLC で分析した。また、別途、表面洗浄液と抽出液（画分）を合わせた混合物を調製した。これらの試料をシリカカラム分析に供した後、シリカカラム画分の HPLC 分析を行うことにより、更なる化学的特徴付けを行った。

代謝物の同定：スピネトラム-J、N-demethyl-175-J および N-formyl-175-J の同定は、逆相 HPLC を用いた標品とのクロマトグラフィーにより行った。最終的な構造の確認は LC-MS により実施した。スピネトラム-L、N-demethyl-175-L および N-formyl-175-L についても同様にして同定を行った。シリカカラム画分の一部についても LC-MS 分析に供し、分子式の推定を試みた。

#### 結果：

<sup>14</sup>C 分布：試料中の放射能分布を表 1 に示す。処理後 3 日目の総放射能残留量 (TRR) は、3 回処理を行った試料（スピネトラム-J：6.100 mg/kg、スピネトラム-L：3.379 mg/kg）のほうが 1 回処理を行った試料（スピネトラム-J：36.392 mg/kg、スピネトラム-L：10.788 mg/kg）よりも顕著に低かった。また、処理した被験物質に関わらず、抽出残渣または水溶性残留物のいずれについても経時的蓄積はなく、1 回処理または 3 回処理のいずれの試料についても、抽出残渣には TRR の 5.2% 以下、水溶性画分には TRR の 3.4% 以下しか認められなかった。

代謝：試料中の代謝物の分布を表 2 に示す。スピネトラム-J の 1 回処理試料では、処理後 0 日目の試料中の TRR の 75% 以上が、スピネトラム-J、N-demethyl-175-J および N-formyl-175-J として存在した。処理後 3 日目の試料においても、これら 3 成分が TRR の 40% 以上を占め、親化合物と 2 種の主要代謝物はほぼ同量であった。スピネトラム-L 試料については、親化合物および 2 個の代謝物（N-demethyl-175-L および N-formyl-175-L）の残留量および残留割合（%TRR 基準）は、概してスピネトラム-J の場合と比較してかなり低かった。0 日目には TRR の約 75% がこれら 3 成分であったが、処理後 1 日目には TRR の 20~25%、処理後 3 日目には TRR の 5~10% に減少した。スピネトラム-L 試料は、放射能の大部分がシリカカラムの極性部分に溶出される多成分の複合混合物であった。

代謝経路：スピネトラム-J の予想代謝経路を図 3 に、スピネトラム-L の予想代謝経路を図 4 に示す。スピネトラムの代謝には、2 種の代謝経路が関与していると考えられる。1 つ目の経路は、分子の forosamine 部分の変化を引き起こし、生成される主要な成分は N-demethyl および N-formyl 代謝物である。これら両代謝物および親化合物は、マクロライド骨格の 1 箇所以上での開裂または開環を含むと推測される 2 つ目の経路による変化も受ける。最初の生成物またはこの経路によって生成した中間体は、さら

に変化または代謝を受けて、100以上の成分を含む複合混合物となる。これらの両経路は、最初光分解によって促進されると考えられる。スピネトラム-Jについては、forosamine糖の変化を含む経路の方が、マクロライド骨格の変化を含む経路よりやや優位である。スピネトラム-Lについては逆である。この違いは、スピネトラム-Jのマクロライド骨格の5,6位に二重結合がないことによるものと推定される。

表1 レタス試料中の総放射能残留量および各画分における放射能分布

	TRR (mg/kg)	ジクロロメタン 洗浄液		アセトニトリル 洗浄液		抽出液 (有機溶媒 可溶性画分)		抽出液 (水溶性 画分)		抽出 残渣	
		%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
<u>スピネトラム-J:</u>											
0 DAT	49.912	89.2	44.503	7.0	3.503	3.6	1.797	--	--	0.2	0.100
0.25 DAT	64.690	90.4	58.490	5.7	3.684	3.4	2.199	--	--	0.5	0.323
1 DAT	34.438	83.4	28.705	10.4	3.586	5.0	1.722	--	--	1.2	0.413
3 DAT (SA)	36.392	76.6	27.884	10.7	3.906	11.8	4.293	0.3	0.109	0.6	0.218
3 DAT (MA)	6.100	62.3	3.801	14.6	0.892	18.5	1.128	1.7	0.104	3.0	0.183
<u>スピネトラム-L:</u>											
0 DAT	11.796	65.6	7.737	11.5	1.362	21.3	2.513	--	--	1.6	0.189
0.25 DAT	8.099	81.8	6.624	8.7	0.703	5.5	0.445	--	--	4.0	0.324
1 DAT	7.608	78.2	5.948	11.4	0.868	5.2	0.396	--	--	5.2	0.396
3 DAT (SA)	10.788	71.8	7.749	11.3	1.214	13.0	1.402	2.2	0.237	1.8	0.194
3 DAT (MA)	3.379	60.4	2.042	15.2	0.512	17.6	0.594	3.4	0.115	3.4	0.115

DAT: 処理後日数, SA: 1回処理, MA: 3回処理, TRR: 総放射能残留量, mg/kg: 親化合物換算濃度

表2 レタス試料中の親化合物および代謝物の分布

	%TRR	スピネトラム-J		N-demethyl- 175-J		N-formyl- 175-J		微量 代謝物 <sup>a</sup>		多成分 混合物 <sup>b</sup>	
		%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg	%TRR	mg/kg
<u>スピネトラム-J:</u>											
0 DAT	99.8	63.6	31.744	8.9	4.442	6.6	3.294	4.6 <sup>c</sup>	2.297	16.0	7.986
0.25 DAT	99.5	42.1	27.234	18.0	11.644	7.8	5.046	10.5	6.792	21.0	13.585
1 DAT	98.8	31.1	10.710	19.6	6.750	10.6	3.650	13.9	4.786	23.5	8.093
3 DAT (SA)	99.1	17.6	6.405	15.5	5.641	11.2	4.076	17.7	6.441	36.5	13.283
3 DAT (MA)	95.3	8.5	0.519	7.2	0.439	14.8	0.903	13.8	0.843	51.1	3.117
<u>スピネトラム-L:</u>											
0 DAT	98.4	52.4	6.181	17.6	2.076	5.9	0.696	8.6	1.016	13.4	1.581
0.25 DAT	96.0	18.2	1.474	6.7	0.543	5.3	0.429	10.4	0.843	52.0	4.211
1 DAT	94.8	11.9	0.905	7.2	0.548	4.0	0.304	10.7 <sup>c</sup>	0.815	61.1	4.648
3 DAT (SA)	96.0	5.1	0.550	3.5	0.378	2.0	0.216	9.3 <sup>c</sup>	0.873	74.6	8.048
3 DAT (MA)	93.2	2.8	0.095	1.5	0.051	1.1	0.037	7.5	0.254	77.5	2.619

DAT: 処理後日数, SA: 1回処理, MA: 3回処理, TRR: 総放射能残留量, mg/kg: 親化合物換算濃度

<sup>a</sup> これらは、親化合物と構造的に類似していると考えられる、微量の未同定代謝物であった。スピネトラム-Jについては、この群は6~7個の代謝物を含み、TRRの4.9%を超える単一成分はな

かった。そのうち 5 個は、LC-MS 分析から、8~10 個の環および二重結合を含む構造を示し、分子式  $C_{42}H_{71}NO_{10}$ 、 $C_{40}H_{62}NO_{11}$ 、 $C_{43}H_{62}NO_{12}$ 、 $C_{40}H_{65}NO_{10}$ 、 $C_{41}H_{65}NO_{11}$  と推定された。スピネトラム-L の試料のほとんどについては 6 個の微量代謝物を含み、TRR の 3.6% を超える単一代謝物はなかった。そのうち 2 個は、LC-MS 分析から、10~11 個の環および二重結合を含む構造を示し、分子式  $C_{44}H_{69}NO_{12}$ 、 $C_{43}H_{69}NO_{11}$  と推定された。

- b この群は、HPLC でほとんど分離されない、多成分の複合混合物を含んでいた。シリカカラムによる分析では、この混合物は 5 または 6 個の画分に分離され、HPLC 分析では各画分は最高 78 個の成分を含むことが示され、その成分の大部分は TRR の 0.2~0.3% に過ぎなかった。スピネトラム-J 試料では TRR の 0.9% を超える単一代謝物はなく、スピネトラム-L 試料では TRR の 2.9% を超える単一代謝物はなかった。
- c 試験報告書の Table 11、18 または 19 に記載の数値を用いて算出した。

図1 処理後0、0.25 および1日目試料の抽出および分析スキーム

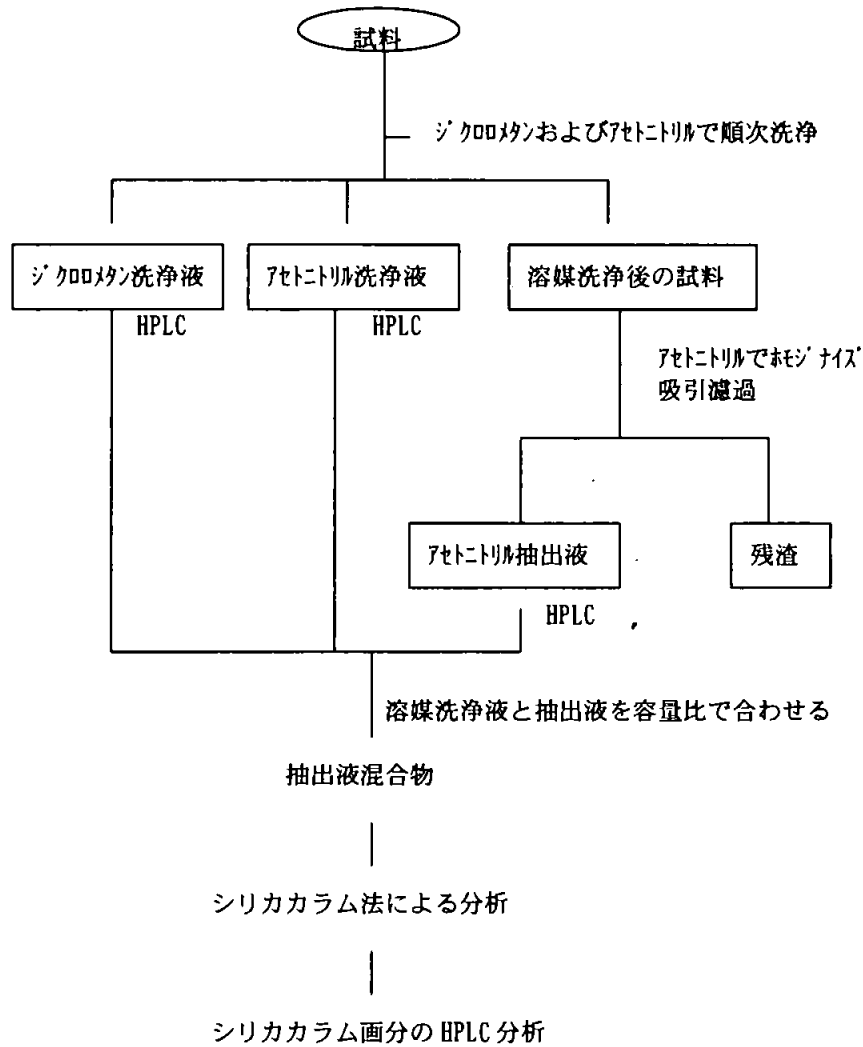


図2 処理後3日目試料の抽出および分析スキーム

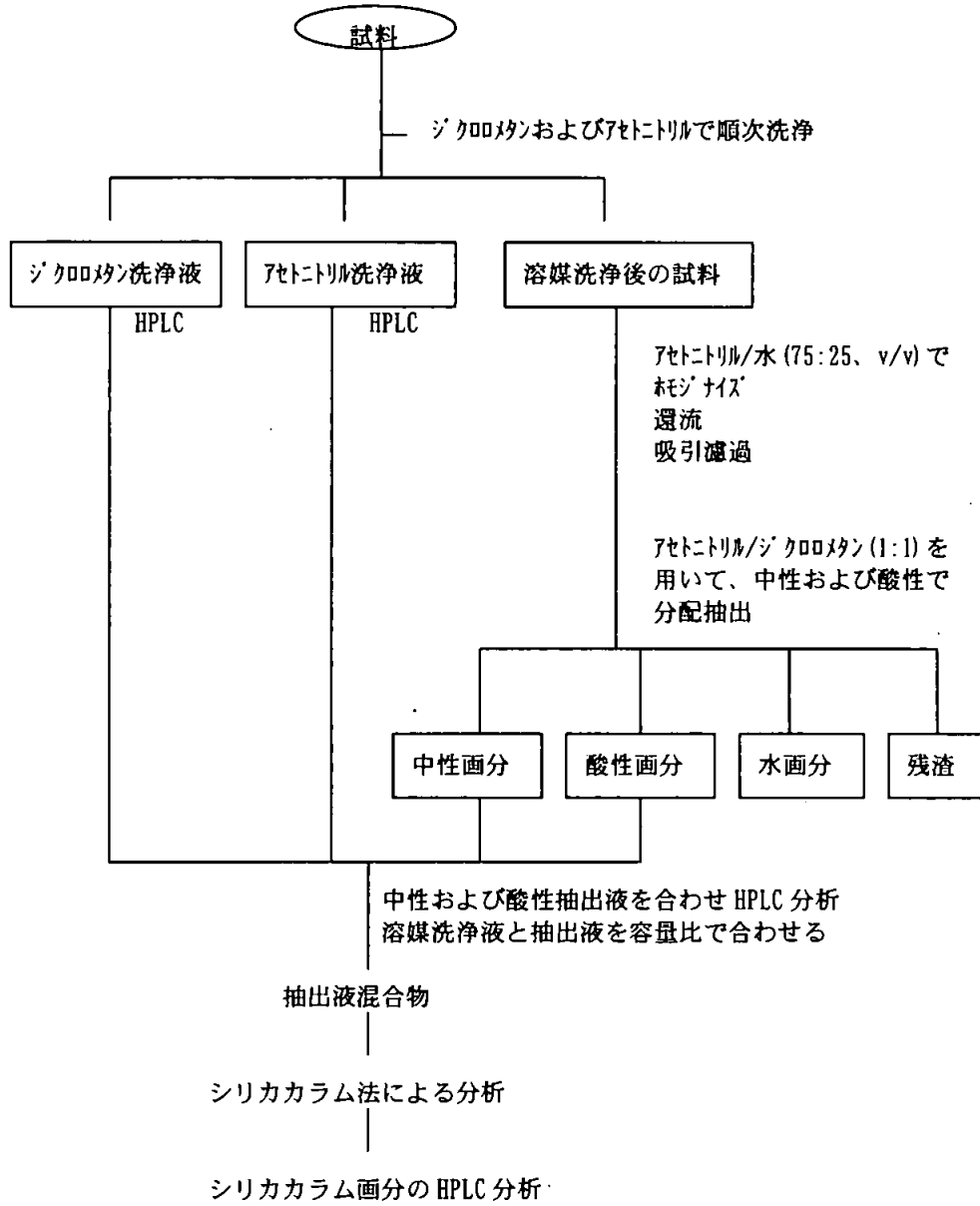




図3 レタスにおけるスピネトラム-Jの予想代謝経路

図4 レタスにおけるスピネトラム-Lの予想代謝経路