

(4) 光学異性体

① のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 毒 32)

試験機関：米国 WIL 研究所

報告書作成年：1997 年 [GLP 対応]

検体純度： %

供試動物： Cr1:CD(SD)ラット、雄 51～58 日齢、雌 72～79 日齢、1 群雌雄各 5 匹
体重；雄 209～263g、雌 206～227g、

観察期間： 14 日間

投与方法： 検体をコーンオイルに溶解して投与 18～20 時間前から絶食させたラットに単回経口投与した。

観察・検査項目： 中毒症状および生死を 14 日間観察した。体重は投与前、投与 1、3、7、14 日後に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雄：400、640、1000、1953 雌：123、192、300、400
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：843、雌：179
死亡開始時間 および終了時間	投与 3 日後から 8 日後まで
症状発現および 消失時間	投与 1 日後から 終了時まで
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	全群で死亡が認められた。

毒性症状として、体表での種々の分泌物、生殖器付近の脱毛、排泄異常、運動低下、運動失調、直立反射の失調、震顫、低体温、呼吸困難 等が認められた。剖検においては、胃・腸に暗赤色な部分または内容物が認められた。

② のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 毒 33)

試験機関：残留農薬研究所

報告書作成年：2003年[GLP 対応]

検体純度： %

供試動物：Fischer(Crj:F334)ラット、9週齢、一群雌雄各5匹

体重；雄 188～196g、雌 118～129g

観察期間：14日間観察

投与方法：検体を1%メチルセルロースに懸濁させ、単回経口投与した。ラットは投与前日夕方から投与後3時間後まで絶食させた。

観察・検査項目：中毒症状および生死を14日間観察した。体重は投与前、投与7および14日後に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	雄：1070 雌：667、1000、1500
LD ₅₀ (mg/kg)	雄：1070mg/kg以上 雌：1070mg/kg
死亡開始時間 および終了時間	投与後6日から10日まで
症状発現および 消失時間	投与後3時間から10日まで
死亡例の認められなかった 最高投与量(mg/kg)	雄：1070

雌の667、1000および1500mg/kg投与区においてそれぞれ2例、1例および5例の死亡が認められた。雄では死亡は認められなかった。中毒症状として、雌でははいずり姿勢、横臥位、円背位、起立不能、混迷、昏睡、自発運動低下あるいは消失、拳尾、異常歩行、よろめき歩行、つま先歩行、はいずり歩行、振戦、痙攣、呼吸緩徐、体温低下、流涙、斜頸、創傷、鼻吻・口周囲および外陰部の被毛の汚れが認められた。これらの症状は投与後3時間から10日にかけて認められた。雄では中毒症状は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

検体投与7日後 667mg/kg以上の群の雌で体重減少が認められたが、投与14日後では投与前の値と比べて全生存動物において体重は増加していた。雄では全動物において投与前より増加していた。

死亡動物の解剖所見として、肺の赤色化、胸腺の赤色あるいは黒色斑点散在、胸腺の小型化、腺胃部の赤色あるいは黒色斑散在、胃・腸・盲腸のガス貯留、腸管の赤色あるいは黒色内容物、小腸の赤色化、脾臓の暗調化と小型化、頸部の創傷、鼻吻・口周囲および外陰部の被毛の汚れが認められたが、これらの所見は急性経口毒性試験における死亡動物において一般的に認められる所見あるいは検体投与によるストレス反応として認められるものであり、本検体による特筆すべき所見は認められなかった。観察終了時の剖検では雌雄ともに脾臓の暗調化が認められた。

3. 製剤

(1) 急性毒性

① 急性経口毒性

ラットにおける急性経口毒性試験

(資料 製毒 1)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体純度： インドキサカルブ MP 10%水和剤

供試動物： Crj:CD 系ラット、7週齢、1群雌雄各5匹、
体重：雄(217~230g)、雌(138~154g)

観察期間： 14日間

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁させ、投与容量を2mL/100g体重として、単回強制経口投与した。投与前16時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。体重は投与前、1、2、3、7、10、14日後に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀：5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀：>5000
死亡開始時間 および終了時間	なし
症状発現および 消失時間	なし
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	♂♀：5000

中毒症状は雌雄ともに認められなかった。
また、剖検所見でも異常は認められなかった。

マウスにおける急性経口毒性試験

(資料 製毒2)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1996年 [GLP対応]

検体純度： インドキサカルブ MP 10%水和剤

供試動物： Crj:CD-1(ICR)系マウス、7週齢、1群雌雄各5匹
体重：雄(27.5~30.2g)、雌(21.2~23.9g)

観察期間： 14日間

投与方法： 検体を蒸留水に懸濁させ、投与容量を0.2mL/10g体重として、単回強制経口投与した。投与前16時間絶食した。

観察・検査項目： 中毒症状および生死を14日間観察した。体重は投与前、1、2、3、7、10、14日後に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について、肉眼的病理検査を行った。

結果：

投与方法	経口
投与量(mg/kg)	♂♀：5000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀：>5000
死亡開始時間 および終了時間	なし
症状発現および 消失時間	なし
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	♂♀：5000

中毒症状は雌雄ともに認められなかった。
また、剖検所見でも異常は認められなかった。

②急性経皮毒性

ラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 製毒 3)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体純度： インドキサカルブ MP 10%水和剤

供試動物： Crj:CD(SD)系ラット、7週齢、1群雌雄各5匹、
体重：雄(237~252g)、雌(165~172g)

観察期間： 14日間

投与方法： 検体をポリエチレンフィルムで裏打ちしたガーゼに塗布し、刈毛した背部皮膚に貼付した。24時間後に貼付物を除去し、塗布部位をガーゼで清拭した。

観察・検査項目： 臨床症状および生死を14日間観察した。体重は投与前、1、2、3、7、10、14日後に測定した。死亡動物および試験終了時の全生存動物について適用部位を含む組織の肉眼的病理検査を行った。

結 果：

投与方法	経皮
投与量(mg/kg)	♂♀：2000
L _D ₅₀ (mg/kg)	♂♀：>2000
死亡開始時間 および終了時間	なし
症状発現および 消失時間	なし
死亡例の認められな かった最高投与量 (mg/kg)	♂♀：2000

中毒症状は雌雄ともに認められなかった。
また、剖検所見でも異常は認められなかった。

(2)皮膚および眼に対する刺激性

①皮膚刺激性

ウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製毒 4)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体純度： インドキサカルブ MP 10%水和剤

試験動物： 日本白色種ウサギ、約15週齢、1群雌6匹、体重2.65～3.08kg

観察期間： 72時間

投与方法： 検体0.5mLをリント布(2.5cm四方)を用いて、刈毛した動物の背部皮膚に閉塞貼付した。4時間後に、貼付物を除去し、水で湿らせた脱脂綿で皮膚に残った検体を拭き取った。

観察項目： 検体除去1、24、48および72時間後に適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize法に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

変化	最高評点*	塗布開始後時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑	4	0	0	0	0
浮腫	4	0	0	0	0
合計	8	0	0	0	0

注) 表の点数は6匹の平均値

*: 判定基準の最高評点

いずれの観察時点においても反応は認められず、皮膚一次刺激指数は0であった。以上の結果から、検体はウサギの皮膚に対して刺激性を有しないと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

②眼刺激性

ウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 製毒 5)

試験機関：株式会社ポゾリサーチセンター

報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体純度： インドキサカルブ MP 10%水和剤

供試動物： 日本白色種雌ウサギ、非洗眼群 6 匹、洗眼群 3 匹 (体重:2.51~2.85kg)

観察期間： 72 時間

投与方法： 検体 0.1mL を左眼結膜嚢に適用し、3 匹は 2~3 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。また、右眼については、非洗眼群は無処置、洗眼群は投与群と同様に洗眼し、それぞれ無処置対照群、洗眼対照群とした。

観察項目： 適用 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、農林水産省の指針に従って採点した。

結果： 観察した刺激性変化の採点は以下の表の通りである。

試験群	項目	最高 評点	投与後観察時間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
非洗眼群 (6 匹平均)	角膜	4	1.0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0
	結膜発赤	3	1.0	0	0	0
	結膜浮腫	4	0	0	0	0
洗眼群 (3 匹平均)	角膜	4	1.0	0	0	0
	虹彩	2	0	0	0	0
	結膜発赤	3	1.0	0	0	0
	結膜浮腫	4	0	0	0	0

非洗眼群では、投与 1 時間後に評点 1 の角膜混濁および結膜発赤が観察され、また、眼に関するその他の変化として閉眼および正常より多い分泌物が認められたが、投与 24 時間後以降、反応は全く認められなかった。一方、洗眼群では、非洗眼群とほぼ同様の反応が認められたが、閉眼は観察されず、洗眼効果が認められた。

以上の結果から、検体はウサギの眼粘膜に対し、刺激性を有しないと判断される。

(3) 皮膚感作性

モルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 製毒 6)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター
報告書作成年：1996年 [GLP 対応]

検体純度： インドキサカルブ MP 10%水和剤

供試動物： ハートレー系モルモット、6週齢、1群雌 20匹、体重 256~319g

観察期間： 48時間

試験操作： [Buehler 法]

投与量設定根拠： 直径 2.5cm のパッチに検体原液および注射用水で調製した 50、25 または 10%の検体希釈液 0.2mL を塗布し、予め刈毛・剃毛した側胴部に 6 時間閉塞貼付し、24 時間後に投与部位を観察した。その結果、各濃度とも皮膚反応が認められなかったことから、検体原液を感作誘導および惹起時の濃度とした。

感作： 直径 2.5cm のパッチに検体原液または 1%DNCB オリーブ油溶液 0.2mL を塗布し、予め刈毛・剃毛した左側胴部に 6 時間閉塞貼付した後、注射用水で投与部位を清拭した。感作は 7 日ごとに 3 回行った。

惹起： 最終感作後 14 日に各感作群の右側胴部を刈毛・剃毛し、直径 2.5cm のパッチに検体原液または 0.25%DNCB オリーブ油溶液 0.2mL を塗布し、6 時間閉塞貼付した後、注射用水で投与部位を清拭した。

観察項目： 皮膚反応の観察は、惹起 24 および 48 時間後に行い、農林水産省の指針に従い採点した。皮膚反応の程度を個体別に点数化し、各試験群の平均評点を算出するとともに陽性率を求め、感作群と非感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

結果： 各観察時間における観察結果を下表に示す。

評価時間	試験群	検体感作群	検体非感作群	DNCB 感作群	DNCB 非感作群
	惹起物質	検体	検体	0.25%DNCB	0.25%DNCB
惹起後 24 時間	紅斑・痂皮	0/20	0/19	10/10	0/10
	浮腫	0/20	0/19	0/10	0/10
	平均評点	0	0	1.2	0
惹起後 48 時間	紅斑・痂皮	0/20	0/19	8/10	0/10
	浮腫	0/20	0/19	0/10	0/10
	平均評点	0	0	0.8	0
陽性率 (%)		0	0	100	0

(反応の認められた動物数/群動物数)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

検体感作群では、惹起後 24 および 48 時間の観察において、全例に皮膚反応は認められず、平均評点は各々 0、陽性率も 0%であった。一方、DNCB 感作群では、惹起後 24 および 48 時間の観察において、8/10 に極軽度～軽度の紅斑が認められ、平均評点は各々 1.2 および 0.8、陽性率は 100%であった。

検体非感作群において、死亡が 1 例に認められたが、前日までの一般状態に異常は認められず、偶発的なものであると判断された。

以上の結果から、検体の皮膚感作性は陰性であると判断される。

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	供試動植物等	試験項目・試験方法等		試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代1 (GLP)	動物体内運命	ラット Cr1:CD (SD)系 IND 標識体 TMP 標識体	単回強制経口投与 (5, 150 mg/kg) ♂:3~5匹 ♀:3~5匹	吸収・排泄	<ul style="list-style-type: none"> 血漿中$t_{C_{max}}$:3.3~27時間 血漿中半減期:35~188時間 性、用量、標識体間で差が認められた。 投与72~96時間以内に大部分が排泄された。 排泄経路については標識体間、用量で差が認められた。 	米国デュポン社 中央研究所 (1997年)	IX-10
				胆汁排泄	<ul style="list-style-type: none"> 低用量群の吸収率は69~81%であった。 高用量群では8~14%まで低下し、消化管吸収が飽和していたことを示唆していた。 		
				分布	<ul style="list-style-type: none"> 特定臓器への蓄積は認められず、大部分の組織において濃度変化は血漿での変化と類似していた。 用量増加に比例した残留濃度の増加は認められなかった。 赤血球中の残留濃度には性差が認められた。 		
			代謝	<ul style="list-style-type: none"> 組織では、脂肪中に認められた。 糞中には、 が認められた。 尿中には、 が認められた。 			
			反復投与 (5mg/kg, 14日間)	反復投与	<ul style="list-style-type: none"> 反復投与による影響は認められなかった。 		
代2 (GLP)		ラット Cr1:CD (IGS)系 TMP 標識体	単回強制経口投与 (130mg/kg) ♂:6匹	分布代謝	<ul style="list-style-type: none"> 赤血球への分布を調べた。放射能は、ヘモグロビン画分および細胞内液画分に分布していた。代謝物として、 が認められた。 	米国デュポン社 ハスケル研究所 (1999年)	IX-39
代3 (GLP)		ラット Cr1:CD (SD)系 IND 標識体 TMP 標識体	単回強制経口投与 (5, 150 mg/kg) ♂♀:2匹	分布	<ul style="list-style-type: none"> 本試験で対象組織としなかった脳下垂体および甲状腺への分布を調べたが、いずれの組織へも有意な分布、蓄積は認められなかった。また、対照として、血漿、全血および肝臓も分析した。 	米国デュポン社 中央研究所 (1998年)	IX-42

IND標識体：インダノン- $1-^{14}C$

TMP標識体：トリフルオロメトキシフェニル(O)- ^{14}C

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等		試験結果の概要	試験機関(報告年)	記載頁
代 4	動物体内運命	ラット Cr1:CD (SD)系 IND 標識体	肝ミクロソームを用いた <i>in vitro</i> 試験	<i>In vitro</i> 代謝試験	肝ミクロソームを用いた <i>in vitro</i> 代謝試験により、代謝経路の性差を検討した。雄では ^{14}C が主に認められ、雌では 3H が主に認められた。また、肝クリアランスを推定したところ、雄の方が雌よりも代謝速度が速かった。	米国デュポン社 中央研究所 (2000年)	IX-46
代 5 (GLP)		ワタ	散布 500g a. i. /ha	分布	<ul style="list-style-type: none"> ● 大部分が植物体表面に留まり、植物体内への移行量は極めて少なかった。 ● 大部分が未変化の親化合物であった。 	米国デュポン社 中央研究所 (1997年)	IX-50
				代謝			
代 6 (GLP)		レタス	散布 500g a. i. /ha	分布	<ul style="list-style-type: none"> ● 大部分が植物体表面に留まり、植物体内への移行量は極めて少なかった。 ● 大部分が未変化の親化合物であった。 	米国デュポン社 中央研究所 (1997年)	IX-57
				代謝			
代 7 (GLP)	植物体内運命	ブドウ	散布 500g a. i. /ha	分布	<ul style="list-style-type: none"> ● 葉と果実のいずれにおいても、大部分が植物体表面に留まり、植物体内への移行量は極めて少なかった。 ● 葉と果実のいずれにおいても、大部分が未変化の親化合物であった。 	米国デュポン社 中央研究所 (1997年)	IX-62
				代謝			
代 8 (GLP)		トマト	散布 150g a. i. /ha 4回	分布	<ul style="list-style-type: none"> ● 葉と果実のいずれにおいても、大部分が植物体表面に留まり、植物体内への移行量は極めて少なかった。 ● 葉と果実のいずれにおいても、大部分が未変化の親化合物であった。 	米国デュポン社 中央研究所 (1997年)	IX-66
				代謝			
代 9		後作物 (レタス、ニンジン、コマクサ、ダイズ)	土壌散布 600g a. i. /ha 30日後に播種	分布	<ul style="list-style-type: none"> ● 地上部、地下部ともに 0.01ppm 以上の親化合物と代謝物は認められなかった。 	米国デュポン社 中央研究所 (1997年)	IX-70

IND標識体：インダノン- $1-^{14}C$

資料 No.	試験の種類	供試動植物等	試験項目・試験方法等	試験結果の概要		試験機関(報告年)	記載頁
代 10 (GLP)	好氣的土壤 中運命	Tama 土壤 silt loam 12 カ月	0.35mg/50g 土壤 (7ppm) 好気条件下	減衰	<ul style="list-style-type: none"> ● 半減期:3 日 ● 90%減衰期:26 日 	米国デュポン社 中央研究所 (1997 年)	IX-72
			代謝	<ul style="list-style-type: none"> ● 投与放射能の 10~37%がCO₂に遊離され揮発した。 ● 投与放射能の約 50%が結合性残留物として残留した。 ● 種々の代謝物が各検査時において認められた。 ● これらの代謝物の濃度は経時的に変動したが、常に %の濃度であった代謝物は認められず、比較的速やかに減衰した。 			
水 1 (GLP)	加水分解	緩衝液	150ppb pH5 pH7 pH9	半減期	pH5 : 400~600 日 pH7 : 38 日 pH9 : 1 日	米国デュポン社 中央研究所 (1996 年)	IX-81
				分解物	● 主に が認められた。		
水 2 (GLP)	水中光分解	自然水 緩衝液	150ppb	半減期	緩衝液 (pH5) : 約 3 日 自然水 : 2.5 日 自然水暗黒対照 : 約 2.5 日	米国デュポン社 中央研究所 (1997 年)	IX-83
				分解物	● 種々の分解物が認められ、CO ₂ の発生も認められた。		
土吸 1	土壤吸着	4 種類 土壤	-	-	K=47.68~238.18 (25°C) Koc=3585~15274 (25°C) (スクリーニング試験の結果)	(財)日本食品 分析センター (1997 年)	IX-86

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

標識位置

標識位置はインドキサカルブのインダノン環 1 位の炭素、またはトリフルオロメトキシフェニルの炭素 (U) とした。

標識位置選定理由：

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
I	親化合物 ラセミ体	JW062	メチル=(<i>RS</i>)-7-クロロ-2,3,4a,5- テトラヒドロ-2-[メトキシ= カルボニル(4-トリフルオロ= メトキシフェニル)= カルバモイル]インデノ= [1,2- <i>c</i>][1,3,4]オキサジアジン -4a-カルボキシラート	
I-S	親化合物 (<i>S</i>)-体 殺虫活性 異性体	KN128	メチル=(<i>S</i>)-7-クロロ-2,3,4a,5- テトラヒドロ-2-[メトキシ= カルボニル(4-トリフルオロ= メトキシフェニル)= カルバモイル]インデノ= [1,2- <i>c</i>][1,3,4]オキサジアジン -4a-カルボキシラート	
I-R	親化合物 (<i>R</i>)-体 不活性 異性体	KN127	メチル=(<i>R</i>)-7-クロロ-2,3,4a,5- テトラヒドロ-2-[メトキシ= カルボニル(4-トリフルオロ= メトキシフェニル)= カルバモイル]インデノ= [1,2- <i>c</i>][1,3,4]オキサジアジン -4a-カルボキシラート	
II				
II-S				
II-R				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
III				
IV				
V				
VI				
VII				
VIII				
IX				
X				

[] : 推定代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
XI				
XII				
XIII				
XIV				
XV				
XVI				
XVII				
XVIII				
XIX				

[] : 推定代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
XX				
XXI				
XXII				
XXIII				
XXIV				
XXV				
XXVI				
XXVII				

[] : 推定代謝物

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

記号	由来	名称 (略称)	化学名	構造式
XXVIII				
XXIX				
XXX				
XXXI				
XXXII				

水光：水中光分解

1. 動物体内における代謝試験

(1) ラット体内におけるインドキサカルブMP (JW062) の代謝試験

(資料 代1)

試験機関：米岡デュポン社中央研究所
[GLP対応]

報告書作成年：1997年

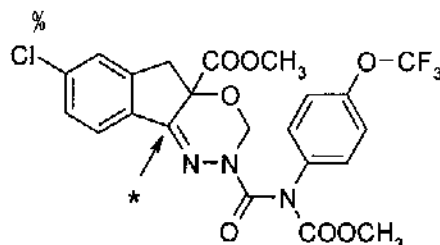
供試標識化合物：

* 標識位置

① インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブMP (IND-JW062)

比放射活性；

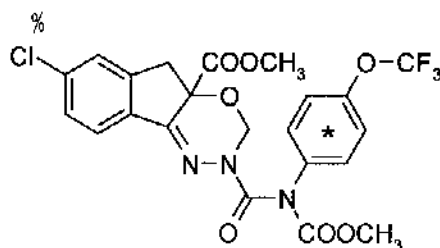
放射化学的純度；



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性；

放射化学的純度；



供試動物：Cr1:CD(SD)系ラット (7-12 週齢) 体重：雄 (179~267g)、雌 (166~242g)

なお、本試験に先立って予備試験を実施した。下表に予備試験の設計を示す。

予備試験 番号	供試動物	供試化合物		用量 (mg/kg)	試験終了 時間 (hr)
		標識体	(mCi/mg)		
1	♂2、♀2	IND-JW062	55.5	500	192
2	♂2、♀2	TMP-JW062	54.0	500	168
3	♂3、♀2	IND-JW062	55.5	500	168
4	♂2、♀2	TMP-JW062	54.0	150	168
5	♂2、♀2	TMP-JW062	54.0	5	168
6	♂2	IND-JW062	52.0	5	168

予備試験 1~3 では溶媒をメチルセルローズ水溶液としたが、検体を均一に分散させることができなかった。予備試験 4~6 において、溶媒に PEG-400 を用いたところ検体が均一に分散したため、本試験で用いる溶媒を PEG-400 とした。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

反復投与に関してはTMP標識体を用い、5mg/kg/dayの用量で、投与期間を14日間とした。脂肪中の¹⁴C-残留物レベルは雌の方が高かったことから、反復投与試験には雌を使用した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

方 法：試験群；試験群の構成を表1に示す。

表1 試験群の構成

試験番号	試験項目	標識体	薬量 (mg/kg)	群構成	群番号	試料採取時間 (時間)	屠殺時間 (時間)
試験1	血中薬物動態	IND-JW062	5	♂5 ♀4	1A	0.5、1、1.5、2、4、8、24、以降24時間間隔	168
			150	♂3 ♀3	1B		
		TMP-JW062	5	♂3 ♀3	1C		
			150	♂4 ♀3	1D		
試験2	排泄動態 および 組織残留 (代謝物同定)	IND-JW062	5	♂5 ♀5	2E	糞尿：8、24、 以降24時間間隔 組織：168	168
			150	♂5 ♀5	2F		
		TMP-JW062	5	♂5 ♀5	2G		
			150	♂5 ♀5	2H		
試験3	$t_{C_{max}}$ および $t_{C_{max}/2}$ 時 における 組織残留 (代謝物同定)	IND-JW062	5	♂4 ♀4	3K	6、24 (♂) 6、24 (♀)	$t_{C_{max}}$ および $t_{C_{max}/2}$
			150	♂4 ♀4	3L	8、39 (♂) 19、64 (♀)	
		TMP-JW062	5	♂4 ♀4	3M	8、16 (♂) 8、19 (♀)	
			150	♂4 ♀4	3N	3、22 (♂) 8*、96* (♀)	
試験4	胆汁排泄 (代謝物同定)	IND-JW062	5	♂3 ♀4	4O	0~8	48
			150	♂3 ♀3	4P	8~24 24~48	
		TMP-JW062	5	♂4 ♀4	4Q	の3試料を採取	
試験5	肝クロムを用いた in vitro 代謝試験	IND-JW062 TMP-JW062	5 - 100 μ M	-	-	最長120分間 インキュベーション	-
試験7	反復投与 -14日間- (代謝物同定)	TMP-JW062	5	♀3	7.3	試験5日目	投与終了 からの 日数
					7.2	9	
					7.1	12	
					7.4	15	
					7.5	17	
					7.6	21	
					7.7	28	
					7.8	35	

$t_{C_{max}}$: C_{max} に達するまでの時間

$t_{C_{max}/2}$: $C_{max}/2$ に達するまでの時間

* : 申請者注；血中薬物動態から得られた $t_{C_{max}}$ および $t_{C_{max}/2}$ はそれぞれ27および118時間であったが、標準偏差が大きかったため（それぞれ 27 ± 39 、 118 ± 136 時間）、個体別のデータも校正して、採取時期を8および96時間とした。

試験 1 : 血中薬物動態試験

頸静脈にカニューレを外科的に挿入したラットを用い、検体を単回強制経口投与した。

採血は、投与前および投与 0.5、1、1.5、2、4、8、24 時間後、それ以降は 24 時間間隔で投与 168 時間後まで行った。

採取した血液を用い、血漿および赤血球中の放射活性を測定し、次の薬物動態パラメータを算出した。

半減期 ($t_{1/2}$)、最高濃度 (C_{max})、 C_{max} に達するまでの時間 ($t_{C_{max}}$)、 C_{max} の 1/2 になるまでの時間 ($t_{C_{max}/2}$)、濃度-時間曲線下面積 (AUC)

試験 2 : 排泄動態および組織残留試験

各ラットをガラス製の代謝ケージに個体別に収容して、一夜絶食させた後、検体を強制単回経口投与した。

投与後 168 時間にわたってガラス製代謝ケージに動物を収容し、尿、糞、ケージ洗液および飼料残渣を採取した。尿と糞は絶食期間中(投与前)、および投与後約 8 時間と 24 時間、ならびにその後は投与後 168 時間まで 24 時間間隔で採取した。168 時間後に屠殺し、直ちに次の組織を全放射活性の分析用に採取した。

全血	副腎	皮膚	筋肉
血漿	腎臓	脾臓	骨(骨髄および無機質部)
赤血球	心臓	脳	消化管と内容物
肝臓	肺	脂肪	カーカス
精巣	卵巣	子宮	

試験 3 : $t_{C_{max}}$ および $t_{C_{max}/2}$ 時における組織残留試験

各ラットを代謝ケージに収容し、一夜絶食後、検体を単回強制経口投与した。 $t_{C_{max}}$ 時または $t_{C_{max}/2}$ 時において、試験 2 に示した組織を採取した。

試験 4 : 胆汁排泄試験

胆管カニューレ挿入ラットを代謝ケージに収容し、12 時間絶食後、検体を単回強制経口投与し、胆汁を採取した。胆汁の採取は投与前に約 12 時間と、投与後 0-8、8-24、および 24-48 時間に分けて行った。同様に、尿と糞も採取した。胆汁と尿のデータは組織残留試験(試験群 2E と 3K、2F と 3L、2G と 3M)のカーカス中の残留放射活性(投与量%)のデータとともに、投与後 0 から 48 時間までの間に吸収された投与量の割合を算出するのに用いた。

試験 5 : Cr1:CD(SD)BR 系雌雄ラットから肝ミクロソームを取り出し、標識検体 5-100 μ M に 1-2mg/mL(タンパク)の肝ミクロソームおよび NADPH 生成系を加え、37°C で最長 120 分間インキュベーションした。

試験 7 : 反復投与試験

合計 24 匹のラットに TMP-JW062 標識体を 5mg/kg/日の用量で、最長 14 日間投与した。投与期間中 4 群のラット(3 匹/群)を第 4 回目、8 回目、11 回目および 14 回目の各投与の 24 時間後に屠殺した。回復期間中は 4 群のラットを最終投与の 3、7、14、および 21 日後に屠殺した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

屠殺したラットから、全血、血漿、赤血球、脳、脂肪、および肝臓を採取した。試験群 7.6 (14 日間投与し、最終投与 7 日後に屠殺) に関しては、代謝ケージに収容し、組織 (カーカスを含む)、尿、糞、ケージ洗液、および餌残渣を採取し、物質収支を求めた。

分析:

血液

全血試料を採取後、遠心して血漿と赤血球に分離した後、放射活性を測定した。測定は試験 1 に関しては 2 反復、試験 2,3 および 7 に関しては 3 反復行った。血漿は LSC で直接計数し、赤血球および全血は燃焼処理したのち計数した。

尿

試験 2,4 または 7 の各採取時点の尿の一部から、3 点を採取して放射活性を測定した。また、残りの尿試料を複数時点分まとめ、尿中に排泄された放射活性の >90% に相当する試料に再構成し、この再構成尿試料を代謝物の同定・定量に用いた。

糞

試験 2,7 ならびに試験 7 の試験群 7.3 および 7.4 の各採取時点の糞試料はホモジナイズし、その一部、3 点を燃焼処理し、LSC 計数した。また、試験 2 の各ラットごとに残部の糞の一部を複数時点分をまとめ、糞中に排泄された放射活性の >90% に相当する試料を再構成し、この再構成糞試料を代謝物の同定・定量に用いた。

組織

試験 2, 3 および 7 のラット組織とカーカスはホモジナイズし、その一部を採取して燃焼処理したのち LSC で計数した。各試料は採取した組織の量に応じて、2 反復または 3 反復で分析した。脂肪は全放射残留量のかなりの部分 (投与量の >5%) を含んでいることが判明した組織であったため、試験 2 の脂肪試料を抽出し、抽出液中の残留放射活性を測定した。その後、この抽出液は代謝物の同定・定量に用いた。

胆汁

試験 4 の各ラットの胆汁の一部、3 点を採取し、LSC を用いて計数した。残部の胆汁試料は代謝物の同定・定量に用いた。

肝ミクロソームを用いた in vitro 代謝試験

インキュベーション後、アセトニトリルを加えて遠心分離し、試料液を C-18 固相抽出 (SPE) カラムで濃縮してアセトニトリルで代謝物を溶出した。

ケージ洗液および餌残渣

試験 2 および試験 7 の試験群 7.6 に関しては、ラットを屠殺したのち、餌残渣とケージ洗液を採取し、残留放射活性を測定した。

代謝物の定量および同定

排泄物（尿、糞および胆汁）

サンプルは HPLC により分析した。投与量の 5%を越える代謝物については構造の同定を行った。投与量の 5%に満たない代謝物に関しても必要に応じ構造決定を行った。脂肪については代謝物の単離と同定を行った。構造の同定は質量分析、合成表品とのクロマトグラフィー、または他の適切な方法で行った。

脂肪

脂肪は投与後 168 時間後で、全投与量の 1-5%を含んでおり、この値は投与量に対して有意な割合であったため、試験群 2E、2F、2G、2H の脂肪試料を分析した。

胆汁

胆汁試料に関しては、投与放射能の大部分が投与 24 時間以内に排泄されたことから、投与後 0~8 および 8~24 時間に採取した胆汁を、個体別にプールした。プールした胆汁試料の一部を濾過し HPLC により分析した。また、雄の低用量 IND 投与群（試験群 0）から採取した胆汁試料を 3 匹分混成し、グルクロニダーゼ/スルファターゼで処理し、HPLC により分析した。

糞

糞試料に関しては、分布試験において採取・プールした糞試料（試験群 2E、2F、2G、2H から雌雄別に採取）のうち、168 時間までに糞中に排泄された放射能の約 90%を含む試料をアセトニトリルを用いて抽出し、抽出液を HPLC により分析した。また、反復投与試験（試験 7）においては、投与開始時と投与終了時の試料を採取し、代謝物プロフィールが変動するかどうかを検討した。

尿

尿試料に関しては、分布試験において採取・プールした尿試料（試験群 2G、2H、7.6 ならびに試験群 2E と 2F）のうち、168 時間までに尿中に排泄された放射能の約 90%を含む試料を HPLC により分析した。また、プール尿の一部をグルクロニダーゼ/スルファターゼで処理し、HPLC により分析した。

肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験

アセトニトリルで抽出した代謝物を HPLC あるいは HPLC/MS で分析し、HPLC、MS および NMR を用いて同定した。

結 果：

A. 血漿および赤血球キネティクス
(報告書 表1、図1、補遺C)

血中濃度推移および薬物動態パラメーターを下記の図表に示す。

血中濃度推移；

IND-JW062標識体 図A-1および図A-2、表A-3

TMP-JW062標識体 図A-3および図A-4、表A-4

薬物動態パラメーター；

IND-JW062標識体 表2-1

TMP-JW062標識体 表2-2

血漿中 $t_{C_{max}}$ は雄ラットでは3.3～8時間、雌ラットでは5.3～27時間であった。

$t_{C_{max}/2}$ も同様に雌(19～64時間)よりも雄(16～39時間)の方がやや短かった。これらのデータから、吸収は雌雄で概ね同じであるが、雌ラットは雄ラットに比べて吸収分の排泄効率が低いことが示唆された。

雌ラット血漿中でのIND-JW062標識体の半減期は、5mg/kgでは52時間、150mg/kgでは59時間であり、雄ラットでの血漿中半減期は雌ラットよりもやや短く、それぞれ、35時間および45時間であった。TMP-JW062標識体の血漿中半減期は、IND-JW062標識体の血漿中半減期よりも、長くかつ変動幅が大きく、雌ラットでは114～188時間、雄ラットでは92～96時間であった。

TMP-JW062標識体を投与した場合の残留放射活性は、血漿に比べて赤血球中の方が高く、また、投与放射能の5%以上が投与1週間後の全血中に保持されていた。これはTMP-JW062標識体のトリフロロフェニル部位から生成されるアニリン様代謝物と赤血球中の高分子成分との共有結合に関連している可能性が考えられた。

図 A-1 血中濃度推移 (IND-JW062 標識体、血漿)

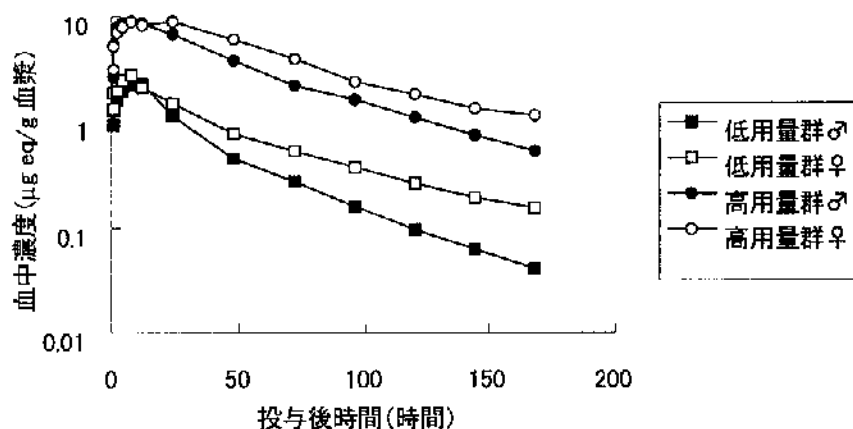


図 A-2 血中濃度推移 (IND-JW062 標識体、赤血球)

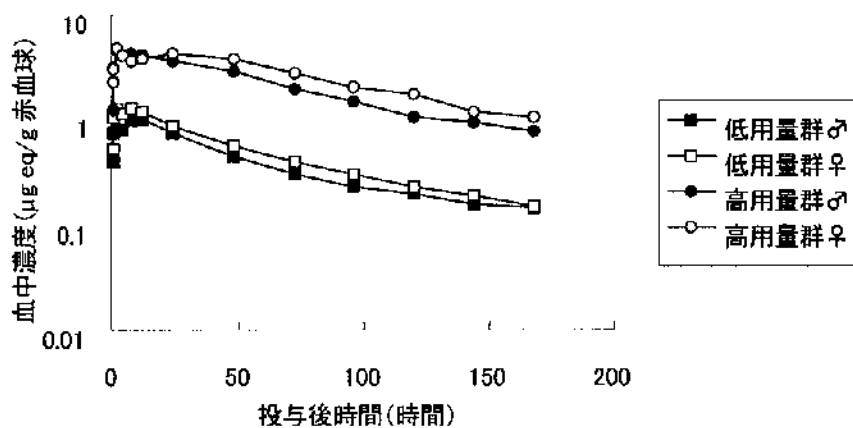


表 A-1 薬物動態パラメーター (IND-JW062標識体)

薬物動態 パラメーター	低用量群 5mg/kg (1A)				高用量群 150mg/kg (1B)			
	血漿		赤血球		血漿		赤血球	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
$t_{1/2}$ (時間)	35	52	97	68	45	59	84	75
AUC (ng/g・時間)	80	135	82	94	536	785	437	545
$t_{C_{max}}$ (時間)	6.8	5.3	6.8	3.3	8.0	18.7	4.0	9.3
$t_{C_{max}/2}$ (時間)	24	24	38	32	39	64	57	88
C_{max} (mg/g)	2.4	3.0	1.1	1.5	9.2	9.3	4.7	4.7
$C_{max/2}$ (mg/g)	1.2	1.5	0.6	0.7	4.6	4.6	2.4	2.4

$t_{1/2}$: 半減期

$t_{C_{max}}$: C_{max} に達するまでの時間

C_{max} : 最高濃度

AUC : 濃度-時間曲線下面積

$t_{C_{max}/2}$: $C_{max/2}$ に達するまでの時間

$C_{max/2}$: 最高濃度の1/2濃度

図 A-3 血中濃度推移 (TMP-JW062 標識体、血漿)

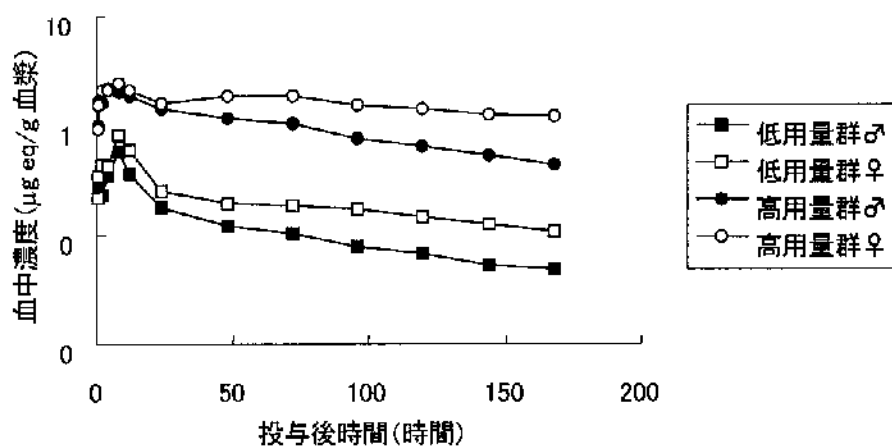


図 A-4 血中濃度推移 (TMP-JW062 標識体、赤血球)

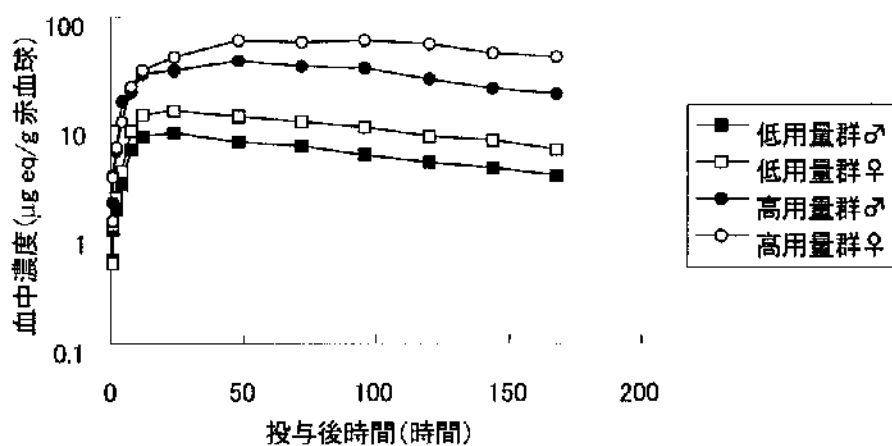


表 A-2 薬物動態パラメーター (TMP-JW062標識体)

薬物動態 パラメーター	低用量群 5mg/kg (1C)				高用量群 150mg/kg (1D)			
	血漿		赤血球		血漿		赤血球	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
$t_{1/2}$ (時間)	92	114	112	119	96	188	95	138
AUC (mg/g・時間)	28	55	1519	2627	241	597	7656	16648
$t_{C_{max}}$ (時間)	8	8	24	24	3.3	27	40	72
$t_{C_{max}/2}$ (時間)	16	19	140	150	22	118	168	225
C_{max} (mg/g)	0.6	0.8	8.4	13.9	2.7	2.6	39	63
$C_{max}/2$ (mg/g)	0.3	0.4	4.2	7.0	1.4	1.3	19	31

$t_{1/2}$: 半減期

$t_{C_{max}}$: C_{max} に達するまでの時間

C_{max} : 最高濃度

AUC : 濃度-時間曲線下面積

$t_{C_{max}/2}$: $C_{max}/2$ に達するまでの時間

$C_{max}/2$: 最高濃度の1/2濃度

表 A-3 血中濃度推移 (IND-JW062標識体)

投与後 時間	低用量群 5mg/kg (1A)				高用量群 150mg/kg (1B)			
	血漿		赤血球		血漿		赤血球	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.03	0.01	0.11
0.5	0.92	1.31	0.39	0.53	2.72	3.10	1.22	2.30
1	1.28	1.90	0.74	1.06	5.40	5.13	3.14	3.01
2	1.62	1.96	0.80	1.28	7.84	7.14	4.57	4.69
4	1.92	2.49	0.82	1.16	8.70	8.06	4.03	4.11
8	2.24	2.80	0.98	1.30	9.00	9.07	4.30	3.58
12	2.28	2.14	1.01	1.18	8.64	8.28	4.06	3.85
24	1.13	1.49	0.73	0.86	6.78	8.77	3.65	4.25
48	0.45	0.77	0.46	0.57	3.73	6.16	2.84	3.77
72	0.27	0.52	0.31	0.40	2.24	3.87	1.92	2.78
96	0.16	0.37	0.24	0.31	1.59	2.42	1.49	2.01
120	0.10	0.26	0.20	0.23	1.08	1.80	1.06	1.72
144	0.06	0.19	0.16	0.19	0.75	1.35	0.95	1.18
168	0.04	0.15	0.14	0.15	0.52	1.15	0.77	1.05

単位： 血漿 ($\mu\text{g eq/g}$ 血漿)
血球 ($\mu\text{g eq/g}$ 赤血球)

表 A-4 血中濃度推移 (TMP-JW062標識体)

投与後 時間	低用量群 5mg/kg (1C)				高用量群 150mg/kg (1D)			
	血漿		赤血球		血漿		赤血球	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.05
0.5	0.23	0.22	0.59	0.53	1.23	0.92	1.92	1.30
1	0.27	0.35	1.06	1.21	2.08	1.53	3.52	3.38
2	0.24	0.44	1.63	2.22	1.88	2.07	5.85	6.16
4	0.34	0.43	2.89	3.83	2.59	2.14	16.67	10.61
8	0.57	0.82	6.00	9.04	2.31	2.41	20.09	23.01
12	0.36	0.60	7.94	12.84	1.99	2.12	29.97	32.07
24	0.18	0.26	8.39	13.92	1.38	1.61	32.73	42.52
48	0.12	0.20	6.98	12.33	1.11	1.87	38.74	60.97
72	0.11	0.19	6.39	10.85	1.02	1.88	35.14	58.97
96	0.08	0.17	5.30	9.52	0.79	1.54	34.01	61.22
120	0.07	0.15	4.55	7.91	0.67	1.43	26.60	54.81
144	0.05	0.12	4.12	7.32	0.57	1.26	22.21	45.75
168	0.05	0.11	3.50	5.92	0.45	1.19	19.63	42.46

単位： 血漿 ($\mu\text{g cq/g}$ 血漿)
血球 ($\mu\text{g cq/g}$ 赤血球)

B. 動態および物質収支
(報告書 表2、表3～5、補遺C)

結果を下記の表に示す。

物質収支	表B-1
累積投与放射能排泄率 (IND-JW062標識体)	表B-2
累積投与放射能排泄率 (TMP-JW062標識体)	表B-3

表 B-1 物質収支 (投与放射能に対する割合(%))

標識体	低用量群 (5mg/kg)				反復*	高用量群 (150mg/kg)			
	IND-JW062		TMP-JW062			IND-JW062		TMP-JW062	
性	♂	♀	♂	♀	♀	♂	♀	♂	♀
尿	41	37	55	47	56	14	13	20	14
糞	44	44	27	30	25	78	75	65	71
組織	3.4	7.8	10.3	16.6	8.4	1.4	3.1	3.6	4.4
回収率**	95	94	97	98	96	98	97	93	95

* : 低用量 (5mg/kg/日) 14日間反復投与

** : ケージ洗液および残餌を含む (約6%)。

累積投与放射能排泄率に関しては、5mg/kg および 150mg/kg のどちらの用量においても投与量の大部分が投与後 72～96 時間以内に排泄された。また、150mg/kg 用量群よりも 5mg/kg 用量群において放射活性の尿経由の排泄量が多かった。150mg/kg 用量群では、5mg/kg 用量群に比べて、組織中残留率と尿排泄率が低いこと、および糞中排泄率が高いことから、消化管吸収率が低かったと考えられる。

表 B-2 累積投与放射能排泄率 (IND-JW062 標識体)

投与後 時間	低用量群 5mg/kg (2E)						高用量群 150mg/kg (2F)					
	♂			♀			♂			♀		
	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計
8	13.4	0.96	14.4	12.5	1.1	13.6	3.4	0.07	3.5	2.7	0.3	3.0
24	29.7	20.6	50.3	26.4	14.2	40.6	7.1	5.4	12.5	6.1	6.2	12.3
48	34.8	37.2	72.0	31.7	33.8	65.5	10.0	33.4	43.4	9.1	31.3	40.4
72	36.8	40.8	77.6	33.8	38.6	72.4	11.7	53.4	65.1	10.6	59.4	70.0
96	38.3	42.2	80.5	35.1	40.4	75.5	12.6	64.2	76.7	11.4	70.5	81.9
120	39.3	43.3	82.6	35.9	41.6	77.6	13.3	71.4	84.7	11.9	73.9	85.8
144	40.1	44.1	84.2	36.6	42.9	79.5	13.7	77.3	91.0	12.3	74.8	87.1
168	40.7	44.8	85.5	37.3	44.3	81.6	14.0	78.1	92.1	12.5	75.4	87.9

(単位：投与放射能に対する%)

表 B-3 累積投与放射能排泄率 (TMP-JW062 標識体)

投与後 時間	低用量群 5mg/kg (2G)						高用量群 150mg/kg (2H)					
	♂			♀			♂			♀		
	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計	尿	糞	合計
8	24.3	0.8	25.1	15.1	0.4	15.5	2.4	1.1	3.5	1.2	0.2	1.4
24	44.0	11.2	55.2	38.5	8.7	47.1	9.9	2.0	11.9	7.4	5.6	13.0
48	48.8	21.2	70.1	42.5	22.3	64.8	13.5	11.0	24.5	10.2	28.1	38.3
72	50.7	24.0	74.8	44.2	24.3	68.5	16.0	28.7	44.7	11.5	47.4	58.9
96	52.0	25.1	77.2	45.3	25.9	71.2	17.9	46.0	63.9	12.4	54.1	66.5
120	53.3	25.9	79.2	46.2	26.8	72.9	19.0	59.1	78.1	13.1	61.1	74.2
144	54.0	26.6	80.6	46.9	27.6	74.5	19.4	63.5	82.9	13.6	69.0	82.6
168	54.9	27.4	82.4	47.5	29.8	77.2	19.7	65.2	84.9	13.9	70.6	84.5

(単位：投与放射能に対する%)

また呼気へは、予備試験の結果、いずれの標識体を投与したラットにおいても有意な放射活性は排泄されなかった (投与量の<1%)。

C. 組織中残留物

(報告書 表5-6、図1-2、補遺C)

結果を下記の表に示す。

IND-JW062標識体、低用量群の組織内分布	(残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) ; 表C-1-1 (投与放射能に対する割合(%)) ; 表C-1-2
高用量群の組織内分布	(残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) ; 表C-2-1 (投与放射能に対する割合(%)) ; 表C-2-2
TMP-JW062標識体、低用量群の組織内分布	(残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) ; 表C-3-1 (投与放射能に対する割合(%)) ; 表C-3-2
高用量群の組織内分布	(残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) ; 表C-4-1 (投与放射能に対する割合(%)) ; 表C-4-2

IND-JW062標識体を投与した場合の組織中残留濃度変化は、肝臓、脳、筋肉のような組織と血漿とで類似していた。

最も高濃度に残留放射活性が認められた組織は脂肪組織であり、24時間～168時間での消失速度は血漿中よりも遅かった。投与168時間後では脂肪/血漿濃度比は雄(10:1)よりも雌(29:1)の方が高かった。脂肪以外の組織の対血漿中濃度比は雌で0.4～4.9、雄で0.2～2.9の範囲であった。

IND-JW062標識体150mg/kg用量群では、5mg/kg用量群に比べ30倍の用量増加に比例した組織中の残留放射活性濃度の増加は認められず、組織/血漿中濃度比は両用量とも類似していた。

TMP-JW062標識体投与群における残留放射活性の組織分布パターンは、大部分の組織について、IND-JW062標識体残留物の分布と類似していたが、赤血球、骨髄、脾臓についてはIND-JW062よりも多く残留する傾向が認められた。また、残留放射活性濃度は雄よりも雌で高い傾向が認められた。脂肪(およびその他の多くの組織)中の残留放射活性濃度ならびに対血漿中濃度比は雌雄で類似していたが、赤血球中の残留放射活性濃度については性差が認められた。

[申請者注：IND-JW062標識体 高用量投与群において、全血の放射残留濃度が血漿および赤血球の濃度に対し、かなり低かった。この原因を追跡調査したが、詳細を解明することはできなかった。しかし、血漿および血球のデータから考察した場合、全血の値に誤りがあったと考えられた。追加試験を実施した際、比較対照を目的として、全血・血漿の他に、肝臓の残留放射活性も測定した。その結果、血漿および肝臓の残留放射活性濃度は本質的に同等であり、全血の値も本試験の血漿および赤血球の値から類推される値と矛盾がなかった。従って、IND標識体高用量群の全血の残留放射活性に関しては、追加試験の値を参照するべきであると判断される。(表中、*として注を付した。)

また、IND JW062標識体およびTMP-JW062標識体高用量投与群の雌において、最終屠殺時の副腎および/または卵巣の放射残留濃度が $t_{C_{max}}$ および $t_{C_{max}/2}$ 時の値よりも高かった。これは各臓器を摘出する際に、脂肪組織が完全に除去されていない試料が数点あったため、平均値が高くなってしまったことに起因すると考えられる。(表中、 $t_{C_{max}}$ として注を付した。)]

群	組織	平均±標準偏差	生データ
IND-JW062標識体 高用量群 ♀	副腎	9.82 ± 7.27	4.018、 21.889、 10.657、 8.050、 4.511
	卵巣	15.4 ± 16.3	6.010、 40.266、 5.155、 23.718、 2.018
TMP-JW062標識体 高用量群 ♀	副腎	6.10 ± 5.17	4.602、 14.887、 6.240、 2.066、 2.728
	卵巣	3.58 ± 2.45	2.889、 7.547、 3.974、 2.357、 1.115

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

表C-1-1 組織内分布（残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織） IND-JW062標識体、低用量群

試料採取時期 (投与後時間)	IND-JW062 標識体、低用量群 5mg/kg					
	♂			♀		
	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺
	6	24	168	6	24	168
血漿	2.83	1.50	0.08	3.46	2.56	0.11
赤血球	1.24	0.84	0.19	1.33	1.13	0.18
全血	1.95	1.10	0.14	2.40	1.76	0.13
副腎	1.16	0.53	0.21	2.08	1.23	0.56
骨	0.39	0.24	0.03	0.45	0.45	0.05
脳	1.00	0.47	0.03	1.39	0.68	0.05
カーカス	0.78	0.62	0.12	1.05	0.99	0.34
脂肪	3.55	4.92	0.87	8.19	7.66	3.16
消化管内容物	18.5	5.26	0.10	22.7	12.7	0.24
消化管	4.25	1.48	0.08	4.58	3.22	0.18
心臓	1.76	0.77	0.08	1.91	1.06	0.11
腎臓	3.45	1.44	0.14	4.74	2.02	0.24
肝臓	4.09	1.65	0.26	5.03	2.23	0.35
肺	1.90	0.87	0.13	2.26	1.43	0.19
骨髄	0.77	0.43	0.05	1.48	1.22	0.08
筋肉	0.40	0.26	0.02	0.48	0.40	0.04
皮膚	0.98	0.89	0.08	1.19	1.77	0.23
脾臓	0.73	0.35	0.05	0.99	0.54	0.08
精巣/卵巣	0.64	0.35	0.02	1.38	1.00	0.36
子宮	-	-	-	0.89	0.86	0.13

表C-1-2 組織内分布（投与放射能に対する割合(%)） IND-JW062 標識体、低用量群

試料採取時期 (投与後時間)	IND-JW062 標識体、低用量群 5mg/kg					
	♂			♀		
	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺
	6	24	168	6	24	168
全血	2.90	1.66	0.26	3.47	2.58	0.24
副腎	0.006	0.004	0.001	0.016	0.008	0.005
骨	0.61	0.38	0.056	0.67	0.69	0.093
脳	0.17	0.09	0.006	0.26	0.13	0.012
脂肪	4.84	6.77	1.76	10.2	9.6	4.7
消化管内容物	46.4	10.2	0.22	39.5	20.8	0.51
消化管	3.46	1.30	0.088	3.83	2.53	0.199
心臓	0.13	0.061	0.008	0.14	0.08	0.010
腎臓	0.60	0.27	0.034	0.71	0.29	0.049
肝臓	2.87	1.69	0.31	3.04	1.53	0.40
肺	0.20	0.10	0.017	0.24	0.16	0.027
骨髄	0.0051	0.0026	0.00015	0.007	0.005	0.0002
筋肉	3.41	2.23	0.25	3.93	3.32	0.42
皮膚	3.96	3.65	0.44	4.68	7.00	1.11
脾臓	0.04	0.02	0.003	0.045	0.023	0.004
精巣/卵巣	0.15	0.058	0.005	0.019	0.012	0.005
子宮	-	-	-	0.037	0.029	0.007
カーカス	<0.00	<0.00	<0.00	0.48	0.64	0.05
合計	69.3	28.2	3.4	71.3	49.4	7.8
消化管内容物を 除く合計	19.5	16.8	3.1	28.0	26.0	7.1

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

表 C-2-1 組織内分布 (残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) IND-JW062 標識体、高用量群

試料採取時期 (投与後時間)	IND-JW062 標識体、高用量群 150mg/kg					
	♂			♀		
	$t_{C_{max}}$	$t_{C_{max}/2}$	最終屠殺	$t_{C_{max}}$	$t_{C_{max}/2}$	最終屠殺
	8	39	168	19	64	168
血漿	8.97	6.76	1.60	6.38	4.26	1.81
赤血球	3.20	3.18	2.44	2.22	2.12	2.35
全血	3.74 ^a	2.71 ^a	0.57 ^a	1.94 ^a	2.84	0.41 ^a
副腎	4.15	6.13	3.38	4.10	3.64	9.82 ^b
骨	1.23	1.02	0.65	1.31	0.82	0.75
脳	2.31	1.79	0.55	1.72	1.12	0.84
カーカス	2.66	5.48	1.33	3.50	4.30	2.58
脂肪	13.0	27.5	9.63	26.0	40.2	40.9
消化管内容物	1163	605	5.55	1150	57.3	5.02
消化管	53.9	20.7	1.50	43.80	7.42	2.79
心臓	4.71	3.45	1.42	2.83	1.91	1.69
腎臓	8.33	6.71	2.72	6.18	4.15	3.33
肝臓	11.8	10.9	3.40	7.07	4.61	4.11
肺	4.67	4.29	2.02	3.96	3.27	2.47
骨髄	3.05	1.19	1.58	4.88	1.98	0.85
筋肉	1.53	1.50	0.51	1.19	0.80	0.68
皮膚	3.36	2.84	1.21	4.21	4.86	4.46
脾臓	1.91	1.80	1.14	1.45	1.28	1.50
精巣/卵巣	2.24	1.79	0.54	2.28	1.87	15.4 ^c
子宮	-	-	-	2.05	2.14	5.41

^a: 資料 追加・代謝-1 を参照

^bおよび^c: 平均±標準偏差はそれぞれ、9.82±7.27 および 15.4±16.3

表 C-2-2 組織内分布 (投与放射能に対する割合(%)) IND-JW062 標識体、高用量群

試料採取時期 (投与後時間)	IND-JW062 標識体、高用量群 150mg/kg					
	♂			♀		
	$t_{C_{max}}$	$t_{C_{max}/2}$	最終屠殺	$t_{C_{max}}$	$t_{C_{max}/2}$	最終屠殺
	8	39	168	19	64	168
全血	0.205	0.152	0.029	0.093	0.142	0.022
副腎	0.0010	0.0013	0.0006	0.001	0.001	0.002
骨	0.071	0.059	0.033	0.064	0.043	0.039
脳	0.015	0.013	0.003	0.010	0.007	0.006
脂肪	0.65	1.33	0.50	1.04	1.80	1.695
消化管内容物	81.2	49.7	0.37	60.6	3.67	0.28
消化管	2.04	0.80	0.049	1.29	0.241	0.092
心臓	0.013	0.010	0.003	0.007	0.005	0.004
腎臓	0.063	0.046	0.017	0.031	0.023	0.019
肝臓	0.33	0.30	0.11	0.157	0.126	0.109
肺	0.019	0.017	0.007	0.014	0.012	0.009
骨髄	0.0003	0.0002	0.00012	0.0004	0.0003	0.0001
筋肉	0.48	0.47	0.15	0.322	0.227	0.197
皮膚	0.50	0.43	0.17	0.544	0.658	0.607
脾臓	0.004	0.003	0.002	0.002	0.002	0.003
精巣/卵巣	0.018	0.016	0.004	0.0010	0.0007	0.0079
子宮	-	-	-	0.003	0.003	0.009
カーカス	<0.00	<0.00	<0.00	0.030	0.0088	0.046
合計	86.6	53.3	1.41	64.2	6.96	3.15
消化管内容物を 除く合計	2.34	2.75	0.99	2.32	3.06	2.78

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

表 C-3-1 組織内分布 (残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) TMP-JW062 標識体、低用量群

試料採取時期 (投与後時間)	TMP-JW062 標識体、低用量群 5mg/kg					
	♂			♀		
	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺
	8	16	168	8	19	168
血漿	0.898	0.33	0.054	1.07	0.42	0.16
赤血球	6.132	7.53	6.610	9.23	13.27	9.71
全血	3.733	4.251	3.545	6.08	7.79	5.50
副腎	1.683	0.590	0.504	2.31	0.98	0.81
骨	0.251	0.139	0.112	0.39	0.34	0.24
脳	0.733	0.207	0.047	0.79	0.25	0.09
カーカス	0.994	0.527	0.129	1.16	0.83	0.54
脂肪	6.796	3.605	0.854	7.86	7.93	5.16
消化管内容物	18.0	17.1	0.093	21.81	11.89	0.25
消化管	3.943	1.734	0.187	4.88	2.29	0.31
心臓	1.141	0.524	0.230	1.16	0.75	0.45
腎臓	1.860	0.951	0.194	2.12	0.94	0.30
肝臓	5.431	1.971	0.345	5.32	2.16	0.58
肺	1.541	0.715	0.401	1.90	1.29	0.69
骨髄	0.874	0.569	0.280	1.59	1.45	0.81
筋肉	0.407	0.152	0.035	0.38	0.15	0.07
皮膚	0.986	0.464	0.078	1.49	1.12	0.37
脾臓	1.010	0.784	0.642	1.31	1.84	0.91
精巣/卵巣	0.399	0.175	0.038	0.93	0.49	0.43
子宮	-	-	-	0.38	0.20	0.21

表 C-3-2 組織内分布 (投与放射能に対する割合(%)) TMP-JW062 標識体、低用量群

試料採取時期 (投与後時間)	TMP-JW062 標識体、低用量群 5mg/kg					
	♂			♀		
	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺
	8	16	168	8	19	168
全血	5.450	6.241	6.621	8.68	11.02	7.22
副腎	0.010	0.004	0.003	0.017	0.008	0.007
骨	0.382	0.211	0.218	0.587	0.497	0.327
脳	0.120	0.035	0.008	0.142	0.042	0.015
脂肪	9.362	4.995	1.724	9.80	9.80	5.783
消化管内容物	35.4	27.7	0.208	34.7	14.5	0.414
消化管	3.939	1.565	0.190	4.684	2.21	0.258
心臓	0.085	0.040	0.019	0.088	0.053	0.031
腎臓	0.334	0.168	0.044	0.335	0.150	0.054
肝臓	3.850	1.581	0.378	3.220	1.51	0.422
肺	0.145	0.070	0.044	0.198	0.137	0.071
骨髄	0.007	0.004	0.001	0.007	0.007	0.001
筋肉	3.365	1.274	0.372	3.061	1.24	0.548
皮膚	3.881	1.809	0.401	5.785	4.35	1.338
脾臓	0.048	0.035	0.038	0.058	0.074	0.041
精巣/卵巣	0.088	0.037	0.010	0.012	0.006	0.005
子宮	-	-	-	0.015	0.007	0.008
カーカス	<0.00	<0.00	<0.00	0.45	0.389	0.023
合計	66.1	45.6	10.3	71.8	46.0	16.6
消化管内容物を 除く合計	26.8	16.3	9.9	32.4	39.7	15.9

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

表 C-4-1 組織内分布 (残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) TMP-JW062 標識体、高用量群

試料採取時期 (投与後時間)	TMP-JW062 標識体、高用量群 150mg/kg					
	♂			♀		
	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺
	3	22	168	8	96	168
血漿	3.33	1.99	0.91	3.03	1.35	1.81
赤血球	9.74	55.9	79.9	21.9	49.6	94.0
全血	6.65	30.6	48.7	13.3	27.4	43.7
副腎	8.20	3.56	3.41	5.05	3.02	6.10 ^d
骨	2.02	1.74	1.27	1.49	0.71	1.71
脳	5.56	1.16	0.57	2.56	0.59	0.88
カーカス	6.73	4.97	1.66	4.76	2.00	2.63
脂肪	60.5	21.9	5.09	28.7	30.6	32.8
消化管内容物	1751	1053	4.06	1695	12.4	7.17
消化管	241	40.0	1.02	70.1	4.6	1.80
心臓	4.92	3.93	3.34	4.00	2.67	3.54
腎臓	7.13	4.92	3.01	5.82	2.41	3.65
肝臓	17.0	10.4	4.16	11.43	3.87	5.33
肺	14.8	5.83	4.81	6.26	4.04	5.84
骨髄	4.77	4.25	2.66	5.00	2.80	6.65
筋肉	2.81	0.96	0.45	1.21	0.40	1.31
皮膚	4.82	2.03	0.59	4.58	2.36	0.92
脾臓	4.03	5.58	5.77	3.80	5.56	10.3
精巣/卵巣	2.57	1.02	0.46	2.78	1.34	3.58 ^e
子宮	-	-	-	1.44	0.61	1.66

^dおよび^e: 平均±標準偏差はそれぞれ 6.10±5.17 および 3.58±2.45

表 C-4-2 組織内分布 (投与放射能に対する割合(%)) TMP-JW062 標識体、高用量群

試料採取時期 (投与後時間)	TMP-JW062 標識体、高用量群					
	♂			♀		
	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺	t_{Cmax}	$t_{\text{Cmax}/2}$	最終屠殺
	3	22	168	8	96	168
全血	0.314	1.50	2.49	0.634	1.326	2.159
副腎	0.002	0.0007	0.0006	0.0012	0.0006	0.0014
骨	0.099	0.09	0.066	0.074	0.035	0.084
脳	0.032	0.01	0.003	0.016	0.004	0.006
脂肪	2.55	1.00	0.277	1.172	1.299	1.229
消化管内容物	72.9	70.1	0.339	78.7	0.628	0.378
消化管	7.20	1.24	0.031	2.377	0.156	0.052
心臓	0.012	0.010	0.009	0.010	0.0063	0.009
腎臓	0.041	0.028	0.017	0.029	0.012	0.019
肝臓	0.368	0.281	0.128	0.235	0.091	0.140
肺	0.050	0.020	0.018	0.021	0.014	0.022
骨髄	0.0014	0.0011	0.0002	0.00065	0.0003	0.0004
筋肉	0.757	0.270	0.135	0.329	0.110	0.353
皮膚	0.617	0.272	0.084	0.592	0.310	0.120
脾臓	0.006	0.0100	0.009	0.005	0.009	0.019
精巣/卵巣	0.020	0.008	0.004	0.0011	0.00056	0.0013
子宮	-	-	-	0.002	0.0011	0.0025
カーカス	0.110	<0.00	<0.00	0.084	0.028	0.063
合計	85.1	74.8	3.57	84.26	4.03	4.41
消化管内容物を除く合計	4.98	3.43	3.20	3.21	3.25	3.98

D. 胆汁排泄
(報告書 表7-8、図3、補遺C)

胆汁排泄試験の結果を下記の表に示す。

胆汁排泄試験における累積投与放射能排泄率 表D-1

投与後48時間までの推定吸収率 表D-2

胆汁への放射活性の排泄は性および用量による差があり、雌よりも雄が高い傾向が認められた。低用量群の吸収率は両標識体で約69～81%の範囲であった。高用量群では両標識体とも消化管からの吸収が低下し、その結果、胆汁排泄は雌雄とも低下した(雄6.4%、雌1.8%)。高用量での吸収の低下は消化管からの吸収が飽和したことを示していた。

表 D-1 胆汁排泄試験における累積投与放射能排泄率

投与後 時間	IND-JW062標識体				TMP-JW062標識体	
	低用量群		高用量群		低用量群	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
8	5.1	1.2	3.6	0.5	8.4	6.2
24	19.7	13.9	5.5	1.0	16.3	13.8
48	22.6	17.1	6.4	1.8	19.0	17.3

(単位：投与量に対する%)

表 D-2 投与後 48 時間までの推定吸収率

投与後 時間	IND-JW062標識体				TMP-JW062標識体	
	低用量群		高用量群		低用量群	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀
カーカス	14.5	22.8	2.6	2.8	15.0	35.1
胆汁	22.6	17.1	6.4	1.8	19.0	17.3
尿	43.8	28.7	4.5	3.6	42.8	26.9
推定吸収率*	80.9	68.7	13.5	8.2	76.8	79.3

(単位：投与量に対する%)

*：推定吸収率はカーカス、胆汁、尿の放射活性（投与量に対する割合）を合計して算出した。

E. 反復投与試験

(報告書 表2、表9～11、図4～5、補遺C)

結果を下記の図表に示す。

反復投与試験における累積投与放射能排泄率 ; 表E-1

反復投与試験における組織中の残留活性濃度および半減期 ; 表E-2

反復投与試験における組織中残留放射活性の推移 ; 図E-1

全個体に実際に投与された用量の平均は4.74mg/kg/日、4.72mCi/日であった。

反復投与試験においては、尿および糞中の排泄量はそれぞれ累積投与量の56%および25%であった。従って、反復投与による残留放射活性の動態は単回投与のそれに類似していると判断された。

表E-1 反復投与試験における累積投与放射能排泄率 (TMP-JW062標識体、低用量、♀)

投与後時間	尿	糞	合計	
反復投与期間	8	1.1	0.1	1.2
	24	3.2	0.8	4.1
	48	6.4	2.0	8.3
	72	9.8	3.1	12.9
	96	12.9	4.6	17.5
	120	16.1	6.0	22.1
	144	19.1	7.5	26.6
	168	23.1	9.1	32.3
	192	27.3	10.9	38.2
	216	31.8	12.6	44.4
	240	36.0	14.1	50.2
	264	40.2	15.9	56.1
	288	44.4	17.8	62.2
回復期間	312	48.5	20.3	68.8
	336	52.7	21.9	74.6
	360	53.7	22.7	76.4
	384	54.3	23.4	77.7
	408	54.9	23.9	78.8
	432	55.3	24.3	79.6
	456	55.6	24.7	80.3
	480	55.9	25.0	80.9

(単位：累積投与放射能に対する%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

血漿中の残留放射活性濃度は投与第8日目と14日目の間に定常状態に達した。投与期間中の血漿中平均濃度は0.99~3.7 $\mu\text{g eq/g}$ であり、最終検査時の35日目には血漿中濃度は0.21 $\mu\text{g eq/g}$ にまで低下した。

採取した全組織中の半減期は血漿中の7.4日から脂肪中の17.7日までの範囲であった。残留放射活性濃度の最も高かった組織は、赤血球と脂肪であり、最も濃度の低かった組織は脳であった。反復投与後に採取した組織中の投与放射能に対する残留放射活性は、大部分の組織で単回投与後のデータと類似していた。

反復投与した場合の血漿中半減期（188時間）は、単回投与した場合の半減期（144時間）よりも長い傾向が認められた。これはデータ採取の間隔が異なっていることに起因していた。即ち、血漿中濃度の低下は第17~21日の間よりも第21~35日の間の方が緩やかであり、反復投与試験での半減期は第21~35日で測定されている一方、単回投与試験において半減期が測定された期間は第17~21日の間に相当しているためである。

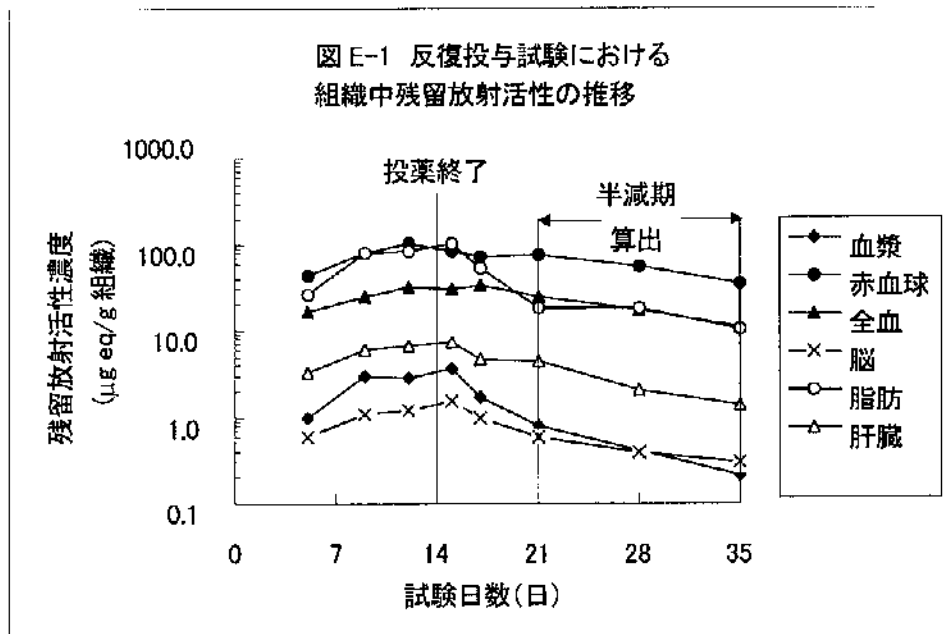
最終投与7日後に組織中に回収された放射活性は8%であり、全体の物質収支は投与放射活性の96%であった。尿および糞中の排泄量はそれぞれ累積投与量の56%および25%であった。従って、反復投与による残留放射活性の動態は単回投与のそれに類似していると判断された。

表E-2 反復投与試験における組織中の残留放射活性および半減期

TMP-JW062標識体、低用量群、♀、反復投与									
試験 日数 (日)	投薬期間			投薬終了後		半減期算出			$t_{1/2}$ (日)
	5	9	12	15	17	21	28	35	
血漿	0.99	2.95	2.80	3.67	1.69	0.78	0.41	0.21	7.4
赤血球	43.1	79.0	100.4	84.2	70.4	76.7	55.8	35.0	12.4
全血	16.8 (6.32)	25.1 (4.96)	31.7 (4.63)	31.1 (3.36)	33.0 (4.00)	25.1 (2.89)	17.3 (2.20)	11.2 (1.57)	12.0
脳	0.6 (0.033)	1.1 (0.031)	1.2 (0.023)	1.5 (0.022)	1.0 (0.015)	0.6 (0.009)	0.4 (0.006)	0.3 (0.004)	13.3
脂肪	30.1 (8.85)	80.3 (12.55)	84.2 (10.25)	102.9 (9.00)	53.6 (5.73)	18.5 (1.92)	19.2 (2.28)	10.7 (1.45)	17.7
肝臓	3.3 (0.72)	5.9 (0.66)	6.7 (0.53)	7.4 (0.43)	4.8 (0.34)	4.4 (0.28)	2.1 (0.15)	1.4 (0.11)	8.5

上段：組織中の濃度 ($\mu\text{g eq/g}$ 組織)、血漿および赤血球の数値は濃度 ($\mu\text{g eq/g}$ 試料)

下段：投与放射能に対する割合 (%)



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

F. 代謝物の定量および同定

肝ミクロソーム

肝ミクロソームを用いたIND-JW062標識体の *in vitro* 代謝試験；

Cr1 : CD(SD)BRラットから調製した肝ミクロソームを用いた、IND-JW062標識体の *in vitro* 代謝の結果、認められた主要な代謝物は、

であった。その他に、

も認められた。また、微量代

謝物として

も認められた。

ラット肝ミクロソームによる代謝経路を図F-1に示す。

図F-1 ラット肝ミクロソームによる代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

脂肪；
結果を下記の表に示す。

脂肪中の代謝物組成：表F-1

残留放射活性の %以上が脂肪から抽出され、その ~ %が であつた。それ以外に親化合物(約0.2~4.7%)および ~ 種の微量代謝物()も認められることがあつたが、個体差があり、親化合物および/または代謝物が検出されない個体も認められた。

脂肪中の については、光学分析の結果、
がより高い濃度で検出された。このことから
の動態には立体選択的な代謝および/または分布が関与していると考えられた。

表F-1 脂肪中の代謝物組成

群		親化合物								異性 体比 S/R *3
		% *1	μg/g *2	% *1	μg/g *2	% *1	μg/g *2	% *1	μg/g *2	
IND- JW062 標識体	低用 量群	♂	nd *5	nd						2.7
		♀ (#1)	nd	nd						1.3
		♀ (#2)	nd	nd						2.1
		♀ (#3)	nd	nd						2.8
		♀ (#4)	nd	nd						1.9
	♀ (#5)	nd	nd						2.0	
	高用 量群	♂	0.2	0.2						1.8
♀	4.2	3.1						1.4		
TMP- JW062 標識体	低用 量群	♂	0.4	<0.1						1.8
		♀	nd	nd					1.1	
	高用 量群	♀	1.6	1.4						1.1
IND-JW062 標識体 低用量 反復投与群 ♀	12 H (#1)	1.0	1.1							1.3
	12 D (#2)	1.5	1.1							1.3
	15 D	0.6	0.7							1.8
	21 H	nd	nd							1.4
	28 D (#1)	nd	nd							3.5
	28 D (#2)	nd	nd							1.9
	35 H	nd	nd							1.6

- *1: 組織中の放射能に対する割合(%)
- *2: 組織中残留放射活性濃度(μg eq/g組織)
- *3: の(S)体/(R)体比
- *4: HPLCでの保持時間が13.1分以下の領域
- *5: 検出されず(nd)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

胆汁；

胆汁中の放射活性の大部分は投与後24時間までに排泄された。それゆえ、HPLCによる代謝物分離は0～8時間と8～24時間の試料を1つにまとめたプール試料で実施した。

代謝物をHPLCにより合計の領域に分離したが、いくつかの領域には複数の代謝物が含まれていた。胆汁中の親化合物は投与量の%未満でしかなく、肝臓が親化合物の有意な代謝部位であることを示していた。

胆汁中の代謝物でその保持時間が糞または尿中の代謝物と一致するものはなかった。また、胆汁を酵素処理した後、分析したが胆汁中にグルクロン酸抱合体または硫酸抱合体が排泄されていることを示す証拠は認められなかった。

いずれの試料においても単独で投与量の%以上を占める代謝物は無く、同定はできなかった。

〔申請者注：(低用量群の) IND-JW062標識体投与胆汁試料とTMP-JW062標識体投与胆汁試料のHPLCパターンは類似しており、胆汁中代謝物の多くは両標識体に共通な代謝物と推定される。〕

糞；

結果を下記の表に示す。

糞中の代謝物組成 表F-2

糞の有意な放射活性の排泄は投与72時間後に完了した。

親化合物は、用量、性および標識体に関わりなく、いずれの糞試料においても認められた。高用量群においては投与量の%が親化合物として排泄されたが、このことは吸収・排泄試験において、高用量群の吸収が低用量群に比べ大幅に低下した結果と一致している。低用量群での糞中排泄率には性差が認められ、雌雄の糞中排泄率はそれぞれ%および%であり、雄の糞中排泄率は雌の約1/3であった。代謝物の組成は用量、性および標識体により変化した。低用量群では複数の代謝物が検出され、クロマトグラフィー上、IND-JW062標識体試料では合計領域に、TMP-JW062標識体試料では領域に分離されたが、1つのクロマトグラフィー領域内には複数の代謝物が存在したため、各代謝物の同定は一部を除き不可能であった。また、未同定の領域については、有意な放射活性は認められなかった。

両標識体とも低用量群の糞抽出液中において、同定された化合物は

であり、さらに

については存在が示唆されたが

同定はできなかった。また、反復投与による代謝の変動はクロマトグラフィー上は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

表F-2 糞中の代謝物組成（投与放射能に対する割合、%）

	低用量群				高用量群				低用量 反復投与	
	IND-JW062		TMP-JW062		IND-JW062		TMP-JW062		TMP-JW062 ♀	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	1日	14日
親化合物	5.7	19.2	6.0	20.0	78.1	78.7	67.9	76.1	1.36	1.35

未同定代謝物*：クロマトグラフィー上、～領域の合計
 に関しては、複数の領域に認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

尿；
結果を下記の表に示す。

尿中の代謝物組成：表F-3

尿からの有意な放射活性の排泄は投与96時間後に完了した。両標識体とも、低用量群では投与放射能の ～ %が、高用量群では ～ %が尿中に排泄された。

尿の代謝物は、各標識体に固有な各代謝物から成っており、IND-JW062標識体投与群の尿中には、IND-JW062標識体に固有な1種類の主要代謝物と多数の微量代謝物が含まれていた。分析の結果、主要代謝物は ～ により生成する代謝物 ～ であった。その他に ～

～ が認められた。

TMP-JW062標識体投与群の尿に関しては、同様にTMP標識体に固有な、 ～ 種類の主要代謝物と ～ 種類の微量代謝物が認められた。分析の結果、主要代謝物は ～ であった。その他に ～

～ が認められた。

また、反復投与による影響は認められなかった。

表F-3 尿中の代謝物組成（投与放射能に対する割合、%）

代謝物	群	低用量群				高用量群				反復投与 TMP-JW062、♀	
		IND-JW062		TMP-JW062		IND-JW062		TMP-JW062		1日	14日
		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀		

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

推定代謝経路：
推定代謝経路を図F-2に示す。

親化合物は先ず、代謝物
に代謝されると考えられる。

主要な代謝経路として が考えられ、 は脂肪、糞および
マイクロソーム試験において認められた。 は
により生成すると考えられ、低用量単回投与の場合、投与量の %
が糞中に認められた。

また、主要な代謝経路としては他に
が考えられ、低用量単回投与の場合、投与量の %が糞を
介して排泄された。 は についても起こり、代謝物
が生成すると考えられるが、 は糞中にわずかに認められたの
みであり、マイクロソーム試験により同定された。

代謝物 は、
により生成し、尿中に認められた種々の代謝物の前駆体であると考えられる。
からは、 により、
が生成すると考えられる。
は推定代謝物であるが、その加水分解物である代謝物 は尿中に
おける IND-JW062 標識体の主要代謝物であり、低用量単回投与の場合、投与量の約
%が尿中に認められた。

また尿中には同じく から、 により生成すると考えられる、代
謝物 が認められた。これら
の代謝物からはさらに により、代謝物
が生成すると考えられ、 からはさら
に により代謝物
が生成すると考えられる。代謝物 の生成量は低用量単回投与
の場合、投与量の %、代謝物 の生成量は低用量単回投与の場
合、投与量の %に達し、これらの経路は IND-JW062 標識体の主要な代謝経
路であると考えられる。

前述の TMP-JW062 残基である代謝物 からも種々の代謝物が生成すると考
えられる。特に の が脱離し、代謝物
が生成する経路が、TMP-JW062 標識体の主代謝経路であると考えられる。
代謝物 は が生成し、抱合体化されることにより代
謝物 として排泄される。 およびその類縁化合物の生成量は低
用量単回投与の場合、投与量の約 %、代謝物 の生成量は約 %に達した。
また、 からは、
を経て代謝物 が生成すると考えられる。 の生成量は低用
量単回投与の場合、投与量の約 %に達した。
その他に、 代謝物 が生成し、
さらに が生成する経路も考えられるが、生成量は低
用量単回投与の場合、投与量の %未満であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

図F-2 インドキサカルブMPのラットにおける推定代謝経路

(2) インドキサカルブ MP (JW062) のラット赤血球における分布

(資料 代 2)

試験機関：米国デュポン社中央研究所

[G.L.P.対応]

報告書作成年：1999年

目的：ラットを用いた代謝試験(資料 代 2)において、血液中の放射能活性については、インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブ(IND-JW062)の試験結果と比較してトリフルオロメトキシフェニル¹⁴C標識インドキサカルブ(TMP-JW 062)を投与した場合に高い値が示された。この結果は、TMP-JW062の部分のみを含む代謝物が赤血球と結合したことが原因と想定されたことから、TMP-JW062の赤血球における分布を測定した。

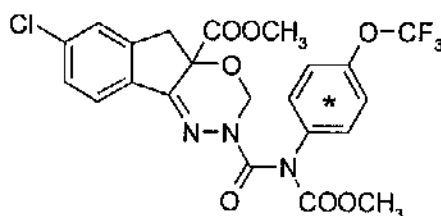
供試標識化合物：

* 標識位置

トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブ(TMP-JW062)

比放射活性； Ci/mg

放射化学的純度； %



供試動物：Cr1:CD(IGS)系ラット (8週齢)

体重：雄(232~255g)

方法：

投与；

TMP-JW062 標識体に非標識の検体を混じて、0.656 μ Ci/mg となるよう PEG-400 に溶解させ、130mg/kg を単回強制経口投与した。ラットは投与一日前にガラス製代謝ケージに移し、一夜絶食させた。投与用量が限られていたため、5匹には130mg/kg で、1匹には111mg/kg の用量で投与した。

屠殺および血液の処理；

各ラットは、投与72時間後にCO₂吸入により屠殺した(投与72時間後は $t_{C_{max}}$ ~ $t_{C_{max}/2}$ の間に相当)。ヘパリン処理バイアルに全血を採取し、重量を測定した後、遠心分離した。血漿(上清画分)を取り除き、残った赤血球および血漿をLSCで分析した。調製後の赤血球は、さらに分析に供した。

細胞内分布試験：

採取・調製した赤血球を0.9% NaCl 溶液を用いて洗浄し、再度、遠心分離した。この手順を3回繰り返し、洗浄液をまとめてLSCにより分析した。また、洗浄後の赤血球の一部を燃焼処理後、LSCにより分析した。その後、赤血球に蒸留水を加え溶解させた後、トルエンを加えて攪拌後、遠心分離した。遠心分離後、トルエン画分、ストローマ画分、細胞内液画分ならびにヘモグロビン画分を採取し、燃焼分析および/またはLSCによる分析に供した。

代謝物の分析：

採取した未洗浄の赤血球をアセトニトリル/水 (4:1、v/v) で 3 回抽出した。抽出後、細胞断片と抽出液を分離し、抽出液を LSC による分析に供した。

上記の操作により得られた細胞断片に酸性ペプシン溶液を加え、1 夜インキュベーションした。得られた溶液を遠心分離後、上清を SPE カラムで処理した後、アセトニトリルで溶出し、HPLC により分析した。

ペプシン処理後のペレットは、アセトニトリルで抽出後、遠心分離し、次いで水酸化ナトリウムに溶解して LSC により分析した。また、ペレットのアセトニトリル抽出液は HPLC により分析した。

結 果：

細胞内分布試験；
結果を下表に示す。

画分	総残留放射能 に対する割合 (TRR、%)
トルエン	0.2
ストローマ	2.9
細胞内液	44.1
ヘモグロビン	52.8
合計	100

赤血球中¹⁴C-濃度の $t_{C_{max}} \sim t_{C_{max}/2}$ に相当する投与 72 時間の時点では、主としてヘモグロビン画分および細胞内液画分から放射能が検出され、ストローマ画分およびトルエン画分からは少量が検出されたに過ぎなかった。

代謝物の分析；

未洗浄の赤血球をアセトニトリル/水で抽出したところ、期待される放射能の一部が抽出されたに過ぎなかった。即ち、抽出に用いた未洗浄の赤血球には、 dpm の放射能が含まれると期待されたが、抽出された放射能は dpm (期待される放射能の %) のみで、濃縮後の濃度はさらに dpm (抽出性放射能のうち % が消失) に減少した。このことは、揮発性代謝物の消失を示唆するものであった。濃縮抽出液は、それ以上の分析を行わなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

次にペプシン処理後の放射能の分布は以下の通りであった。

試料	総残留放射能に対する割合 (TRR, %)
ペプシン処理液	19.0
ペプシン処理後残渣 のアセトニトリル抽出物	14.7
ペプシン処理後残渣の NaOH 溶液	17.7
SPE による前処理済みの両分	1.9
総回収率	53.3

* (画分中dpm×100) /98584

ペプシン処理前のアセトニトリル抽出の結果から、アセトニトリル抽出性放射能は揮発性であることが認められたが、ペプシン処理後のペレット抽出液でも、同様の結果が認められた。ペレットのアセトニトリル抽出液を濃縮乾固し、アセトニトリルに再溶解したところ、この画分中の放射能の %が消失した。この消失から、ペプシン処理および SPE 精製後の相対的な物質収支の低下は、揮発性代謝物の消失によるものと考えられた。

ペプシン処理前のアセトニトリル洗浄液を HPLC で分析したところ、代謝物とクロマトグラフィーにより一致する 1 種類の放射能が検出された。は、本検体を用いたラット代謝試験においても代謝物として認められていた。純粋な I は、沸点 73~75°C の液体であり、放射能の消失は試料調製時の揮散によるものと考えられた。また、のカラム回収率は、それぞれ注入した放射能の %および %であったことから、回収率が低かった原因の一つにはカラムでの消失も考えられた。

以上のことから、TMP-JW062 標識体を投与したラットでは、赤血球中¹⁴C-濃度の $t_{C_{max}} \sim t_{C_{max}/2}$ に相当する投与後 72 時間において、放射能のほとんどは、細胞内液およびヘモグロビン画分にほぼ均一に分布していた。ヘモグロビン画分の¹⁴Cはヘモグロビンに結合していると判断される。また、トルエンおよびストローマ画分からは、痕跡の放射能が検出されたのみであった。赤血球中で同定された主要な放射能は、代謝物であり、未同定の揮発性成分が 1 種類、顕著な濃度で検出されたが、同様に であると考えられた。上記のヘモグロビンへの結合物は、この であると推測される。

[申請者注：時間の経過とともに、非結合物である細胞内液中の代謝物は消失し、168 時間後にはヘモグロビン結合物が赤血球中の主残留物になると考えられる。(投与後 72 時間後から 168 時間で、赤血球中濃度は mg/g からその 56%の mg/g に低下する (資料 代 1、表 A-4)。この濃度は当試験におけるヘモグロビン画分結合物の量に対応している (35.1×0.528=18.5)。)]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

(3) ラット体内におけるインドキサカルブ MP (JW062) の代謝 追加試験 (資料 代 3)

試験報告機関：米国デュポン社ハスケル研究所

[GLP 対応]

報告書作成年：1998 年

目的： 既に行われたラットを用いた代謝試験 (資料 代 1) において、下垂体および甲状腺が測定対象臓器ではなかったため、これらの 2 組織中における分布を調べることが目的とした。また、血漿、全血および肝臓についても測定を行い、試験結果を既報告 (同 資料 代 1) の試験結果と比較した。

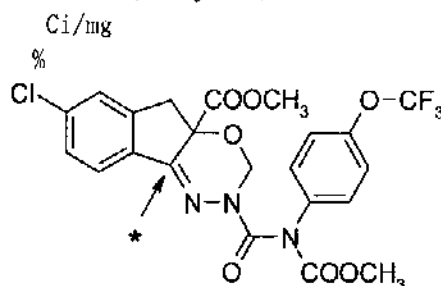
供試標識化合物：

* 標識位置

① インダノン-¹⁴C 標識インドキサカルブ (IND-JW062)

比放射活性；

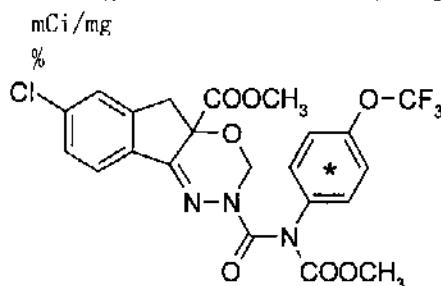
放射化学的純度；



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C 標識インドキサカルブ (TMP-JW062)

比放射活性；

放射化学的純度；



供試動物：Cr1:CD(SD)系ラット (約 8 週齢) 体重：雄 (206~261g)、雌 (178~211g)

試験設計：試験群を下表に示す。

群番号	標識体	用量 (mg/kg)	供試動物	屠殺時間 (投与後時間)	
				t _{Cmax}	最終屠殺
1	IND-JW062	5	♂ 2×2	6	168
			♀ 2×2	6	168
2	IND-JW062	150	♂ 2×2	8	168
			♀ 2×2	19	168
3	TMP-JW062	5	♂ 2×2	8	168
			♀ 2×2	8	168
4	TMP-JW062	150	♂ 2×2	3	168
			♀ 2×2	8	168

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

各ラットを代謝ゲージに收容し、一夜絶食後、検体を PEG-400 に溶解し、単回強制経口投与した。

雌雄各 2 匹を t_{Cmax} および投与 168 時間後に屠殺した。測定対象組織は全血、血漿、肝臓、下垂体および甲状腺とした。

分析： 全血試料は燃焼処理後、LSC により分析した。また、全血試料から遠心により分離した血漿に関しては、LSC により直接分析した。また、組織(肝臓、下垂体および甲状腺)に関しては、試料を燃焼処理後、LSC により分析した。

結果： 結果を以下の表に示す。

表1-1 組織内分布 (残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織) IND-JW062標識体

		IND-JW062 標識体、低用量群				IND-JW062 標識体、高用量群			
		♂		♀		♂		♀	
		t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺
試料採取時期 (投与後時間)		6	168	6	168	8	168	19	168
本追加試験	血漿	3.40	0.07	3.88	0.19	10.09	0.80	9.55	1.43
	全血	2.17	0.13	2.07	0.21	6.74	1.47	5.81	1.63
	肝臓	4.57	0.30	5.69	0.54	18.07	3.33	10.20	1.91
	脳下垂体	0.92	<LOD	1.29	<LOD	<LOD	<LOD	21.61	<LOD
	甲状腺	1.08	<LOD	1.59	1.42	<LOD	<LOD	1.85 (<LOQ)	<LOD
資料代謝-1	血漿	2.83	0.08	3.46	0.11	8.97	1.60	6.38	1.81
	赤血球	1.24	0.19	1.33	0.18	3.20	2.44	2.22	2.35
	全血	1.95	0.14	2.40	0.13	3.74	0.57	1.94	0.41
	肝臓	4.09	0.26	5.03	0.35	11.8	3.40	7.07	4.11

<LOD: 検出限界以下 (バックグラウンドの dpm の 2 倍以内)

<LOQ: 定量限界以下 (バックグラウンドの dpm の 3 倍以内)

表1-2 組織内分布 (投与放射能に対する割合(%)) IND-JW062 標識体

		IND-JW062 標識体、低用量群				IND-JW062 標識体、高用量群			
		♂		♀		♂		♀	
		t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺
試料採取時期 (投与後時間)		6	168	6	168	8	168	19	168
本追加試験	全血	2.80	0.17	2.73	0.26	0.32	0.070	0.25	0.079
	肝臓	3.26	0.32	3.26	0.45	0.42	0.12	0.26	0.075
	脳下垂体	0.0018	<LOD	0.0026	<LOD	<LOD	<LOD	0.0021	<LOD
	甲状腺	0.0021	<LOD	0.0038	0.0025	<LOD	<LOD	0.0004 (<LOQ)	<LOD
資料代謝-1	全血	2.90	0.26	3.47	0.24	0.205	0.029	0.093	0.022
	肝臓	2.87	0.31	3.04	0.40	0.33	0.11	0.157	0.109

<LOD: 検出限界以下 (バックグラウンドの dpm の 2 倍以内)

<LOQ: 定量限界以下 (バックグラウンドの dpm の 3 倍以内)

表2-1 組織内分布（残留濃度 $\mu\text{g eq/g}$ 組織） TMP-JW062標識体

		TMP-JW062 標識体、低用量群				TMP-JW062 標識体、高用量群			
		♂		♀		♂		♀	
		t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺
試料採取時期 (投与後時間)		8	168	8	168	3	168	8	168
本追加試験	血漿	0.44	0.06	1.08	0.27	3.50	0.48 (<LOQ)	6.32	1.50
	全血	5.72	3.22	7.10	6.49	7.17	26.02	30.67	46.07
	肝臓	5.14	0.36	4.38	1.11	17.25	2.26	22.44	5.93
	脳下垂体	0.34	<LOD	0.63	0.47 (<LOQ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	甲状腺	1.04	<LOD	1.60	0.41 (<LOQ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
資料 代謝-1	血漿	0.898	0.054	1.07	0.16	3.33	0.91	3.03	1.81
	赤血球	6.132	6.610	9.23	9.71	9.74	79.9	21.9	94.00
	全血	3.733	3.545	6.08	5.50	6.65	48.7	13.30	43.70
	肝臓	5.431	0.345	5.32	0.58	17.0	4.16	11.43	5.33

<LOD：検出限界以下（ $\mu\text{g eq/g}$ 組織）の dpm の 2 倍以内）

<LOQ：定量限界以下（ $\mu\text{g eq/g}$ 組織）の dpm の 3 倍以内）

表 2-2 組織内分布（投与放射能に対する割合(%)） TMP-JW062 標識体

		TMP-JW062 標識体、低用量群				TMP-JW062 標識体、高用量群			
		♂		♀		♂		♀	
		t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺	t_{Cmax}	最終屠殺
試料採取時期 (投与後時間)		8	168	8	168	3	168	8	168
本追加試験	全血	7.85	4.34	10.02	9.15	0.33	1.23	1.33	2.16
	肝臓	3.68	0.41	2.85	0.64	0.42	0.083	0.43	0.15
	脳下垂体	0.0005	<LOD	0.0015	0.0005 (<LOQ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
	甲状腺	0.0018	<LOD	0.0038	0.0011 (<LOQ)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
資料 代謝-1	全血	5.450	6.621	8.68	7.22	0.314	2.49	0.634	2.159
	肝臓	3.850	0.378	3.220	0.422	0.368	0.128	0.235	0.140

<LOD：検出限界以下（ $\mu\text{g eq/g}$ 組織）の dpm の 2 倍以内）

<LOQ：定量限界以下（ $\mu\text{g eq/g}$ 組織）の dpm の 3 倍以内）

本追加試験において、いずれの標識体および用量を投与した群においても、全血および肝臓における残留放射活性の投与量に対する割合、ならびに血漿、全血および肝臓中の濃度は既提出の報告データ（資料 代 1）と本質的に同じであった。

[申請者注：資料 代 1 において、IND-JW062 標識体を高用量で投与した群では全血の値が、血漿または赤血球の値よりもかなり低かった（本抄録中、表 1-1）。この原因に関して、詳細は不明であるが操作上、何らかのミスがあったと推測される。本追加試験において、比較対照を目的として、全血・血漿の他に、肝臓の残留放射活性も測定した。その結果、血漿および肝臓の残留放射活性は本質的に同等であり、全血の値も資料 代 1 の血漿および赤血球の値から類推される値と矛盾がなかった。従って、IND-JW062 標識体高用量群の全血の残留放射活性に関しては、本追加試験の値を参照するべきであると判断される。]

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

下垂体および甲状腺における¹⁴C残留濃度は、概ね血漿、特に tC_{max} に相当する採取時期で定量された濃度と同様であった。概して、この値は検出限界以下～22 μ g/gの間であった。雌ラットは雄ラットに比較して組織中濃度が僅かに高い傾向にあり、分布および代謝に関する既報告（資料 代 1）の差と一致していた。

下垂体および甲状腺における試験化合物の濃度は、概ね投与後 168 時間までに血漿および肝臓で定量された値と同等かそれ以下であった。従って、本試験結果は、検体が下垂体および甲状腺に蓄積しないことを示している。

(4) ラット肝ミクロソーム試験結果に基づく代謝経路の性差 (資料 代4)

試験機関：米国デュポン社中央研究所

報告書作成年：2000年

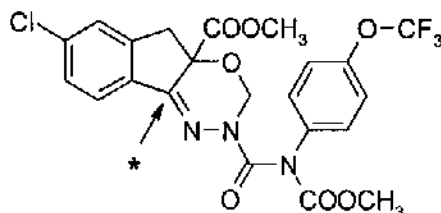
供試標識化合物：

* 標識位置

インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブ (TND-JW062)

比放射活性； Ci/mg

放射化学的純度； %



供試動物：Cr1:CD(SD)系ラット

目的： 代謝試験において、尿・糞・胆汁・組織中の代謝物の分析に先立ち、代謝物の大まかなプロファイルおよび分析に最適な時間を決定するため、肝ミクロソームを用いた *in vitro* 代謝試験を実施した(抄録 資料 代1 「F. 代謝物の定量及び同定」)。このとき、肝ミクロソームを用いた *in vitro* 試験に関しては予備試験的な位置付けであったため、試験報告書にもその詳細は記載せず、代謝経路を推定するにとどまっていた。

しかし、この *in vitro* 試験においては、代謝物の経時的な生成量、親化合物の消失量を定量的に測定していたことから、この試験結果を詳細に再検討することにより、代謝経路の性差に関して新たな知見が得られたため報告する。

試験方法：

肝ホモジナイズを遠心分離し、ミクロソームを調製した。TND-JW062 標識体の添加濃度は5mMとした。肝ミクロソーム濃度は1~2mg/mLとした。各培養は別個の容器で行い、補酵素NADPHを加えることにより開始し、開始から10、20および40分後に冷却したアセトニトリルを加えることにより停止した。培養液を抽出し、HPLCを用いて放射化学分析を行った。

また、親化合物濃度の経時変化、半減期またはAUCを用いて、肝クリアランスの算出を、Obachら、またはCarlileらの方法を用いて行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

肝クリアランスの算出

Obah らの方法

$$Cl_{int} \text{ (mL/min/mg ミクロソーム蛋白)} = 0.693 \times 1/t_{1/2} \text{ (min)} / \text{(mg 蛋白/mL)} .$$

Carlile らの方法

$$Cl_{int} \text{ (mL/min/mg ミクロソーム蛋白)}$$

$$= \text{基質初期濃度 (nmol)} / \text{AUC (nmol} \times \text{min/mL)} / [\text{反応溶液量 (mL)}$$

$$\times \text{(mg 蛋白/mL)}] .$$

なお、 Cl_{int} は、屠殺時の肝臓重量および体重から 37~38gと算出され、文献値から 45 mg ミクロソーム蛋白/g ラット肝臓とした。

内在性の肝クリアランスは($Cl_{int \text{ (hepatic)}}$)は

$$Cl_{int \text{ (hepatic)}} = Cl_{int} \text{ (mL/min/mg ミクロソーム蛋白)} \times$$

$$45 \text{ mg ミクロソーム蛋白/g 肝臓} \times 37 \text{ or } 38 \text{ g 肝臓重量/kg 体重}$$

ここで、 $Cl_{int \text{ (hepatic)}}$ は理論的かつ制限要因がない場合の、遊離した化合物に対する、肝臓による最大のクリアランス量である。「制限要因がなく、遊離した」という意味は、 $Cl_{int \text{ (hepatic)}}$ の計算は、肝臓の血流や、化合物の血漿やミクロソーム蛋白への結合を考慮に入れていないためである。これらのファクターは、この分析の目的が、雌雄ラットにおける代謝の性差を比較することであるので、必要ではないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果：

5mM で IND-JW062 標識体を肝ミクロソーム懸濁液中に添加した場合の代謝物プロファイルの経時変化を下表に示す。

性	インキュベーション時間 (分)	親化合物濃度 (μM) ^a	代謝物およびピーク面積比		
			親化合物	代謝物	代謝物
雄	0	5.00 ^b	100		
	10	1.95	39.0		
	20	2.19	43.9		
	40	1.39	27.7		
雌	0	5.00 ^b	100		
	10	4.77	95.4		
	20	4.18	83.7		
	40	3.37	67.3		

^a ピーク面積比から算出

^b 初期濃度はNADPHを添加せずに 20 分間インキュベーションを行った場合の濃度

^c 検出不可あるいはピークがバックグラウンド 3 倍未満で定量不可

次いで、雌雄ラットにおける親化合物の肝クリアランスを示す。

パラメーター	雄	雌
初期濃度 (nmol)	20	20
肝臓重量/体重比 (g/kg bw)	38	37
肝ミクロソーム蛋白濃度 (mg/mL)	1.76	1.42
反応溶液量 (mL)	4.0	4.0
肝臓蛋白濃度 (mg/g liver) ^a	45	45
半減期 (min) ^b	25.5	67.6
AUC (nmol × min/mL) ^b	137.8	500.6
内在性クリアランス (mL/min/mg protein)	0.0155 ^c	0.0072 ^c
	0.0206 ^d	0.0070 ^d
内在性肝クリアランス (mL/min/kg bw)	26.2 ^c	11.9 ^c
	35.0 ^d	11.6 ^d

^a Houstonらによる文献値

^b 薬物動態解析プログラムWinNonlin™ により算出

^c Obachらの方法

^d Carlileらの方法

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

以上の結果より

培養時間 40 分後の代謝物プロファイルは、明らかな性差を示していた。

親化合物の水酸化物

は雄のマイクロソーム培養液では明らかに認められたが、雌では認められなかった。

代謝物 は、雌のマイクロソーム培養液では定量可能な濃度で認められたが、雄ではほぼ認められなかった。

親化合物から次に生成すると考えられるもう一つの代謝物、 は、定量限界以下であった。

雌雄とも、マイクロソーム培養液中の親化合物濃度は低下した。雄のマイクロソーム懸濁液中の消失速度（半減期：25.5 分）は雌の消失速度（半減期：67.6 分）よりも早かった。対応する懸濁液中の AUC (nmol x min/ml) に関しては、雄で 137.8 であったのに対し、雌では 500.6 であった。

半減期および AUC から肝クリアランス (mL/min/kg 体重) を算出したところ、雄が雌よりも約 2.2~3.0 倍早かった（雄：26.2~35.0、雌：11.6~11.9）。

以上のように、雄のラットでは親化合物は主に水酸化（代謝物 ）される一方、雌では主に代謝物 に代謝された。更に、肝臓における親化合物の代謝速度は、雄の方が雌よりも 2 倍速かった。

また、肝臓で生成された代謝物が、全身性の循環系により、更なる分布、代謝および/または直接的な排泄を受けることが推測される。雌ラットに代謝物 がより多く認められたことから、雌において総血漿¹⁴Cおよび脂肪中の¹⁴C残留濃度が高くなったと考えられる。更に、代謝物 が脂肪から血漿に再分布することにより、本検体を経口投与した場合に雌で血漿中の総¹⁴Cの半減期が長くなったと考えられる。これらのことから、高用量で雌の方が本検体に対し感受性が高くなったと考えられる。

2. 植物体内における代謝

(1) ワタにおけるインドキサカルブ MP (JW062) の代謝試験 (資料 代 5)

試験機関：米国デュポン社中央研究所
[GLP 対応]

報告書作成年：1997年

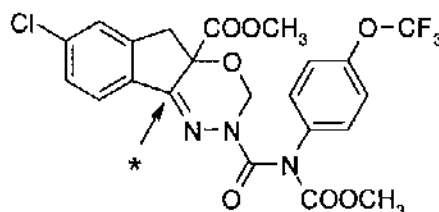
供試標識化合物：

* 標識位置

① インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブMP (IND-JW062)

比放射活性； Ci/mg

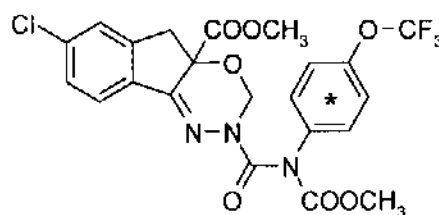
放射化学的純度； %



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性； μCi/mg

放射化学的純度； %



供試植物： ワタ (品種：DPL51)

ミシシッピ州 Greenville Research Farm で栽培、1区 (2.5ft×4ft)

分析はデュポン社中央研究所で実施

方法：

施用量および試料採取；

インダノン標識体 (IND-JW062) およびトリフルオロメトキシフェニル標識体 (TMP-JW062) インドキサカルブ MP を 25%SE 製剤*とし、さく果期に通常の施用量である 500 g a. i. /ha で散布し、散布 0、7、14、30、59 および 90 日後に試料を採取した。各試料採取時期に植物体全体を採取し、散布 90 日後採取の試料については綿および種子を分けた後、試料をデュポン社中央研究所に冷凍輸送した。

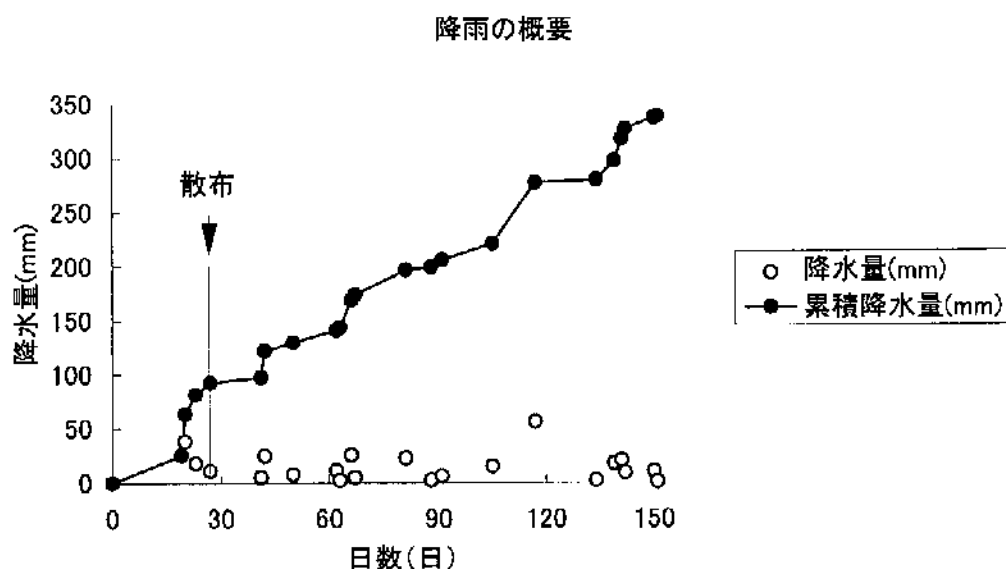
*：製剤化する際に非標識体を加え、比放射活性を希釈した。各製剤の比放射活性を表に示す。

標識体	比放射活性
IND-JW062	9.74 μCi/mg
TMP-JW062	9.11 μCi/mg

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

なお、代謝物の同定のため、更に5倍量散布区も設け、625 g a. i. /haの施用量、約10日間隔で計4回散布した。各散布時期の前後に葉を30枚採取し、散布90日後採取の試料については綿および種子を分けた後、試料をデュポン社中央研究所に冷凍輸送した。

次図に、500g a. i. /ha 散布区の降雨の概要を示す。



抽出・放射活性の測定；

各植物体からさくを除去し破砕後、アセトニトリル・脱イオン水(8:2)を用いて抽出し、遠心分離により上清を採取した(操作は3回繰り返した)。採取した上清はLSCに供し、放射活性を測定した。

また、散布0、7および14日後に採取した試料に関して、抽出液調製後の抽出残渣をセルラーゼおよび塩酸を用いて加水分解し、遊離した放射活性および非抽出残渣の放射活性を分析した。

5倍量散布区に関しては、散布0および30日後の試料をアセトニトリルで洗浄し、葉面上の放射活性をLSCにより分析した。

洗浄後の試料はアセトニトリルで抽出し、遠心分離により上清を採取後、上清をLSCに供し放射活性を測定した(操作は3回繰り返した)。非抽出残渣は燃焼後、LSCにより放射活性を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

下図に分析スキームを示す。

代謝物の分析；

上記の操作により得られた 5 倍量散布区、散布 30 日後のアセトニトリル抽出液を濃縮後、LSC により放射活性を測定した。その後、抽出液を濾過し、LC/MS による分析に供した。なお、散布 30 日後に採取した試料についてはキラル分析を行い、異性体間での消長の差を検討した。

分析条件；

①代謝物分析

カラム Zorbax Rx-C8, 4.6mm×25cm (温度 40°C)

流速 1.5mL/min

検出 UV254nm および放射活性検出

溶離液 I (代謝物分析用)

II (親化合物および 分析用)

溶離液 I			溶離液 II		
時間 (分)	アセトニトリル (%)	脱イソ水 (%)	時間 (分)	アセトニトリル + 2%TfH (%)	脱イソ水 (%)
0	20	80	0	20	80
5	20	80	5	20	80
25	100	0	35	65	35
25.5	20	80	45	65	35
40	20	80	45.5	100	0
-	-	-	50	100	0
-	-	-	50.5	20	80
-	-	-	65	20	80

②キラル分析

カラム Chiral Technologies ChiralPak AD 250mm×4.6mm (温度 37°C)

流速 0.7mL/min

検出 UV254nm および放射活性検出

溶離液 イソプロパノール/ヘキサン (20/80, v/v)

葉面上光分解試験；

代謝・減衰の機構を調べるため、葉面上光分解試験を実施した。

葉面上光分解試験では IND-JW062 標識体アセトニトリル溶液を葉面に散布した。植物体地上部を石英製の蓋で密閉したガラス容器内で栽培し、容器内の気体を水酸化ナトリウム捕集装置ならびにエチレングリコール捕集装置内を通過させることにより、揮発性成分を捕集した。植物体には人工太陽光を 21 日間照射した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

照射終了後、葉面をアセトニトリルで洗浄し、葉面上の放射活性を測定するとともに、洗浄後の葉を抽出し植物体に取り込まれた放射活性を測定した。

結 果：

吸収・移行・分布； 結果を表1に示す。

表1 ワタ植物体における放射活性の分布・推移

採取時期 (日)	IND-JW062 (500g a. i. /ha)				TMP-JW062 (500g a. i. /ha)			
	抽出液	遊離 ¹	非抽出 残渣	総放射 活性 ²	抽出液	遊離 ¹	非抽出 残渣	総放射 活性 ²
0	6.956	0.028	0.085	7.069	13.229	0.111	0.256	13.596
	98.4	0.4	1.2	100.0	97.3	0.8	1.9	100.0
	98.4	0.4	1.2	100.0	97.3	0.8	1.9	100.0
7	6.187	0.041	0.117	6.345	7.153	0.061	0.138	7.352
	97.5	0.6	1.8	100.0	97.3	0.8	1.9	100.0
	87.4	0.6	1.7	89.6	52.6	0.4	1.0	54.1
14	2.164	0.043	0.040	2.247	3.285	—	—	3.285
	96.3	1.9	1.8	100.0	100.0	—	—	100.0
	30.6	0.6	0.6	31.8	24.2	—	—	24.2
30	0.855	—	—	0.899	0.92	0.027	0.025	0.972
	95.1	—	—	95.1	94.7	2.8	2.6	100.1
	12.1	—	—	12.7	6.8	0.2	0.2	7.2
59	0.757	0.017	0.046	0.820	0.496	—	—	0.501
	92.3	2.1	5.7	100.1	92.6	—	—	92.6
	10.6	0.2	0.7	11.5	3.6	—	—	3.7
90 植物体	0.013	—	—	0.019	0.046	—	—	0.053
	68.4	—	—	—	86.8	—	—	85.5
	0.2	—	—	0.3	0.3	—	—	0.4
90 種子	<0.001	—	—	0.007	<0.001	—	—	0.005
	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	0.1	—	—	—	0.0

上段：ppm（親化合物換算）

中段：各時点での植物体残留量に対する割合（%）

下段：総放射残留量に対する割合（%、0日目の総放射活性を100）

¹：含水アセトニトリル抽出残渣のセルラーゼおよび酸加水分解による遊離物

²：抽出液＋遊離＋非抽出残渣の合計

放射活性の残留量は経時的に減少し、散布 59 日後においては IND-JW062 で 0.820ppm、TMP-JW062 では 0.501ppm にまで減少した。また、種子への残留量は 0.01ppm 未満の低レベルであった。

代謝；

極微量の代謝物・分解物が数種類、認められたものの、総放射活性の ()に過ぎず同定はできなかった。放射活性の大部分は未変化の親化合物であった。表 2 に未変化の親化合物の残留量を示す。

表 2 未変化親化合物残留量の推移

採取時期 (日)	IND-JW062			TMP-JW062			
	残留濃度 (ppm)	総放射活性に 対する割合(%)		残留濃度 (ppm)	総放射活性に 対する割合(%)		
		採取時期*1	0日*2		採取時期*1	0日*2	
0	6.942	98.2	98.2	13.189	97.0	97.0	
7	5.611	88.4	79.4	6.888	93.7	50.7	
14	2.045	91.0	28.9	2.979	90.7	21.9	
30	0.716	79.7	10.1	0.789	81.2	5.8	
59	0.687	83.8	9.72	0.413	82.5	3.04	
90	植物体	0.011	60.5	0.16	0.045	83.7	0.33
90	種子	0.007	—	—	0.005	—	—

*1：各採取時点の総放射活性に対する割合

*2：0日の放射活性を100とした場合の割合

5倍量散布試験においても、認められた化合物の大部分は同様に未変化の親化合物であり、代謝物は総放射活性の %に過ぎなかった。

キラル分析の結果、異性体間の変換は認められず、1つの光学異性体の選択的吸収、消失あるいは代謝がなかったことを示唆していた。

葉面上光分解試験；

%の放射活性がCO₂として捕集された。一方、エチレングリコール捕集装置には有意な放射活性は認められなかった。また、ガラス容器の内側に付着した水分を分析したところ、約 %の放射活性がその水分中に含まれ、約4%がCO₂であった。残りの約 %は葉面上に残留しており、約 %が未変化の親化合物であった。

概要を下表に示す。

存在場所	葉面上		捕集装置	容器内側の水分		合計
	親化合物	代謝物	代謝物	CO ₂	代謝物	
放射活性 (%)*	90%	%	%	0.7%	4%	%

*：投与放射能に対する割合(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

以上の結果から、ワタにインドキサカルブMP(JW062)を散布した場合、大部分は植物体の表面に留まり、植物体内に移行する量は微量であると考えられる。残留量は経時的に減少し、その減少の要因として、流亡を伴う生育による希釈が考えられる。また、残留した放射活性の大部分は未変化の親化合物であり、代謝物はクロマトグラフィーによりその存在が示唆されたものの、生成量は極微量であったため同定は不可能であった。揮発成分としては約 5% がCO₂として認められた。

(2) レタスにおけるインドキサカルブ MP (JW062) の代謝試験 (資料 代6)

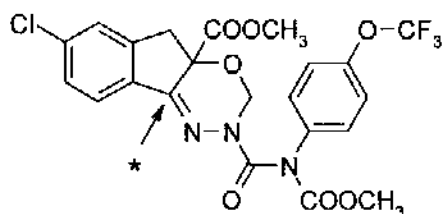
試験機関：米国デュポン社中央研究所
[GLP 対応]
報告書作成年：1997年

供試標識化合物：

* 標識位置

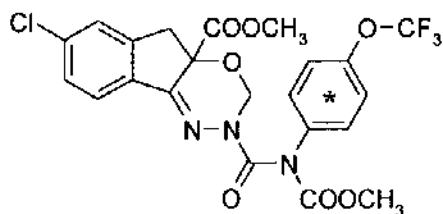
① インダノン-¹⁴C 標識インドキサカルブ MP (IND-JW062)

比放射活性； Ci/mg
放射化学的純度； %以上



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C 標識インドキサカルブ MP (TMP-JW062)

i. 比放射活性； $\mu\text{Ci/mg}$
放射化学的純度； %以上
ii. 比放射活性； $\mu\text{Ci/mg}$
放射化学的純度； %



供試植物： レタス (品種：Pritzhead)

デュポン社中央研究所温室 Sassafras 砂壤土
温室内ポット栽培 (5.5 インチポット)

方法： 施用量および試料採取；

インダノン標識体 (IND-JW062) およびトリフルオロメトキシフェニル標識体 (TMP-JW062) インドキサカルブ MP を SC 製剤*とし、レタス 4~5 葉期に通常の施用量である 500 g a. i. /ha (3.1 mg a. i. /ポット) で散布し、散布 0、7、14、21、28 および 35 日後に試料を採取した。

なお、TMP に関しては代謝物の同定のため、更に 5 倍量散布区も設け、最初の散布後 7、14 および 21 日後の計 4 回散布し、散布 0、7、14、21、28 および 35 日後に試料を採取した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

*：製剤化する際に非標識体を加え、比放射活性を希釈した。各製剤の比放射活性を表に示す。

標識体	比放射活性
IND-JW062	12.08 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$
TMP-JW062	12.09 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$
TMP-JW062(5倍量)	9.04 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射活性の測定； 植物体をアセトニトリルで洗浄し、植物体表面上の放射活性を LSC により測定した。

洗浄後の植物体は破砕・燃焼後、植物体内に取り込まれた放射活性を LSC により測定した。

抽出； 植物体を破砕後、アセトニトリルを用いて抽出し、遠心分離により上清を採取した。(操作は3回繰り返した。)

分析； アセトニトリル抽出液を濃縮後、LSC により放射活性を測定した。その後、抽出液を濾過し、HPLC、LC/MS または TLC による分析に供した。
非抽出残渣は燃焼後、LSC により放射活性を測定した。

分析スキームを下図に示す。

結 果：

吸収・移行・分布； 結果を表1に示す。

植物体表面上の放射活性は経時的に減少し、散布35日後の植物体表面上ではIND-JW062で0.072ppm、TMP-JW062では0.022ppmにまで減少した。

植物体内に取り込まれた放射活性も同様に経時的に減少し、散布35日後にはIND-JW062は0.399ppm、TMP-JW062は0.180ppmにまで減少した。

分布については、経時的に植物体内の放射活性の総放射残留量に対する割合が増加する傾向が認められたが、残留量自体は上記の通り、経時的に減少した。

代 謝；代謝物は認められず、未変化の親化合物のみが認められた。

親化合物残留量の推移を表2に示す。

以上の結果から、レタスにインドキサカルブ MP (JW062) を散布した場合、大部分は植物体の表面に留まり、植物体内に移行する量は微量であると考えられる。残留量は経時的に減少し、その減少の要因として、植物の生長による重量増加が考えられた。また、代謝物は認められず、残留放射活性の大部分は未変化の親化合物であった。

この結果は、ワタを用いた代謝試験結果と一致した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

表1 残留放射活性の分布・推移

<IND-JW062 (500g a. i./ha)>

採取時期 (日)	洗浄液	洗浄後 植物体	洗浄後植物体		総放射 活性*
			抽出液	残渣	
0	5.467	5.721	6.439	0.08	11.986
	48.9	51.1	57.6	0.7	107.2
	45.2	48.1	54.1	0.7	100.0
7	2.244	2.931	2.898	0.09	5.232
	43.4	56.6	56.0	1.7	101.1
	18.9	24.6	24.4	0.8	44.0
14	0.57	2.081	2.073	0.054	2.697
	21.5	78.5	78.2	2.0	101.7
	4.8	17.5	17.4	0.5	22.7
21	0.379	1.035	1.012	0.038	1.429
	26.8	73.2	71.6	2.7	101.1
	3.2	8.7	8.5	0.3	12.0
28	0.059	0.505	0.473	0.02	0.552
	10.5	89.5	83.9	3.5	97.9
	0.5	4.2	4.0	0.2	4.4
35	0.072	0.399	0.395	0.022	0.489
	15.3	84.7	83.9	4.7	103.8
	0.6	3.4	3.3	0.2	4.1

<TMP-JW062 (500g a. i./ha)>

採取時期 (日)	洗浄液	洗浄後 植物体	洗浄後植物体		総放射 活性*
			抽出液	残渣	
0	3.951	6.891	6.511	0.052	10.54
	36.4	63.6	60.0	0.5	97.2
	37.5	65.4	61.8	0.5	100.0
7	2.097	2.724	2.496	0.082	4.675
	43.5	56.5	51.8	1.7	97.0
	19.9	25.8	23.7	0.8	44.4
14	0.766	1.766	1.545	0.056	2.367
	30.2	69.8	61.0	2.2	93.4
	7.3	16.8	14.7	0.5	22.5
21	0.289	0.998	0.936	0.038	1.263
	22.4	77.6	72.7	3.0	98.1
	2.7	9.5	8.9	0.4	12.0
28	0.058	0.301	0.289	0.013	0.36
	16.2	83.8	80.5	3.6	100.3
	0.6	2.9	2.7	0.1	3.4
35	0.022	0.180	0.169	<0.01	0.201
	10.9	89.1	83.7	4.7	99.3
	0.2	1.7	1.6	-	1.9

上段：ppm（親化合物換算）

中段：各時点の総放射活性に対する各画分の放射活性の割合（%）

下段：0日の総放射活性を100としたときの残留量の割合（%）

*：洗浄液＋抽出液＋残渣の合計

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

表2 未変化親化合物残留量の分布・推移

採取時期 (日)	IND-JW062			TMP-JW062		
	洗浄液	抽出液	合計	洗浄液	抽出液	合計
0	5.467	6.439	11.906	3.951	6.511	10.462
	48.9	57.6	106.4	36.4	60.0	96.4
	45.6	53.7	99.3	37.5	61.8	99.3
7	2.244	2.898	5.142	2.097	2.496	4.593
	43.4	56.0	99.4	43.5	51.8	95.3
	18.7	24.2	42.9	19.9	23.7	43.6
14	0.570	2.073	2.643	0.766	1.545	2.311
	21.5	78.2	99.7	30.2	61.0	91.3
	4.76	17.30	22.1	7.27	14.7	21.9
21	0.379	1.012	1.391	0.289	0.936	1.225
	26.8	71.6	98.4	22.4	72.7	95.2
	3.16	8.44	11.6	2.74	8.88	11.6
28	0.059	0.473	0.532	0.058	0.289	0.347
	10.5	83.9	94.3	16.2	80.5	96.7
	0.49	3.95	4.44	0.55	2.74	3.29
35	0.072	0.395	0.467	0.022	0.169	0.191
	15.3	83.9	99.2	10.9	83.7	94.6
	0.60	3.30	3.90	0.21	1.60	1.81

上段：残留濃度 (ppm)

中絶：各採取時期の総放射活性に対する親化合物の割合 (%)

下段：0日の総放射活性を100としたときの割合 (%)

(3) ブドウにおけるインドキサカルブ MP(JW062)の代謝試験 (資料 代7)

試験機関：米国デュポン社中央研究所
 [GLP 対応]
 報告書作成年：1997年

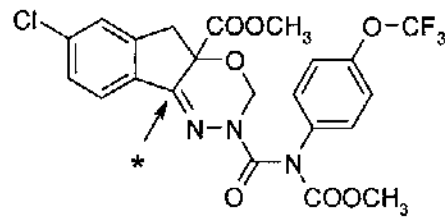
供試標識化合物：

* 標識位置

① インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブMP (IND-JW062)

比放射活性； Ci/mg

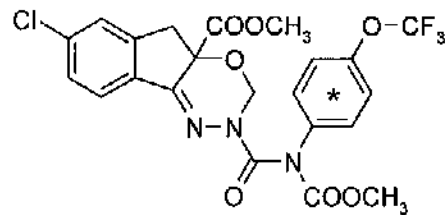
放射化学的純度； %



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性； Ci/mg

放射化学的純度； %



供試植物： ブドウ (品種：Chardonnay 種)

デュポン社中央研究所圃場

方法：

施用量および試料採取；

インダノン標識体 (IND-JW062) およびトリフルオロメトキシフェニル標識体 (TMP-JW062) インドキサカルブ MP を SC 製剤*とし、果実肥大初期に 500 g a. i./ha の施用量で散布し、散布 0、14、45 および 66 日後に葉および果実を採取した。なお、葉に関しては更に散布 7 および 31 日後にも採取した。

*：製剤化する際に非標識体を加え、比放射活性を希釈した。各製剤の比放射活性を表に示す。

標識体	比放射活性
IND-JW062	12.08 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$
TMP-JW062	12.09 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

放射活性の測定；

植物体をアセトニトリルで洗浄し、洗浄液を LSC を用いて分析することにより、植物体表面上の放射活性を測定した。

洗浄後の葉および果実の一部を破碎・燃焼後、植物体内に取り込まれた放射活性を LSC により測定した。

抽 出；

後の葉および未成熟の果実の一部を破碎後、アセトニトリルを用いて抽出し、遠心分離により上清を採取した。（操作は 3 回繰り返した。）

成熟果実については、アセトニトリル抽出後、ジクロロメタンを用いて分配し、水相および有機相の放射活性を LSC により測定した。

分 析；

抽出液を濃縮後、LSC により放射活性を測定した。その後、放射活性が十分に高い試料については抽出液を濾過し、HPLC、LC/MS または TLC による分析に供した。

非抽出残渣は燃焼後、LSC により放射活性を測定した。

結果：
 吸収・移行・分布； 結果を表 1-1 および 1-2 に示す。

表 1-1 ブドウ果実における放射活性の分布・推移 (500g a. i. /ha)

散布後 日数	IND-JW062				TMP-JW062			
	洗浄液	抽出液	残渣	合計	洗浄液	抽出液	残渣	合計
0 日	2.70	0.29	0.01	3.00	3.43	0.22	0.01	3.67
	89.8	9.7	0.5	-	93.5	6.1	0.4	-
	89.7	9.6	0.3	100.0	92.6	6.0	0.3	100.0
14 日	0.72	0.1	0.02	0.84	0.72	0.06	0.02	0.8
	85.3	11.8	2.8	-	89.9	7.6	2.5	-
	23.9	3.3	0.7	27.9	19.6	1.6	0.5	21.8
46 日	0.06	0.03	<0.01	0.09	0.13	0.05	<0.01	0.18
	62.4	35.5	2.0	-	68.6	28.6	2.9	-
	2.0	1.0	-	3.0	3.5	1.4	-	4.9
66 日	0.2	0.17	0.01	0.38	0.26	0.08	<0.01	0.34
	53.0	44.3	2.6	-	75.5	23.0	1.5	-
	6.6	5.6	0.3	12.6	7.1	2.2	-	9.3

上段：ppm (親化合物換算)

中段：各時点の総放射活性に対する各画分の放射活性の割合(%)

下段：総放射残留量(%)、0日目の洗浄液+抽出液+残渣の合計を100)

表 1-2 ブドウ植物体 (葉) における放射活性の分布・推移 (500g a. i. /ha)

散布後 日数	IND-JW062					TMP-JW062				
	洗浄液	植物体'	植物体		合計	洗浄液	植物体'	植物体		合計
			抽出液	残渣				抽出液	残渣	
0 日	89.97	20.66	19.08	0.66	110.63	59.18	17.36	17.68	0.25	76.54
	81.3	18.7	17.2	0.6	-	77.3	22.7	23.1	0.3	-
	81.3	18.7	17.2	0.6	100.0	77.3	22.7	23.1	0.3	100.0
7 日	43.84	19.69	17.72	0.66	63.53	30.38	22.78	20.38	0.64	53.16
	69.0	31.0	27.9	1.0	-	57.1	42.9	38.3	1.1	-
	39.6	17.8	16.0	0.6	59.2	39.7	29.8	26.6	0.8	69.5
14 日	27.27	8.82	7.23	0.64	36.09	11.77	6.16	5.13	0.24	17.93
	75.6	24.4	20.0	1.8	-	65.6	34.4	28.6	1.3	-
	24.6	8.0	6.5	0.6	32.6	15.4	8.0	6.7	0.3	23.4
31 日	30.79	5.69	5.06	0.81	36.48	6.65	2.07	1.75	0.27	8.72
	84.4	15.6	14.0	2.2	-	76.3	23.7	20.0	3.1	-
	27.8	5.1	4.6	0.7	33.0	8.7	2.7	2.3	0.4	11.4
46 日	1.30	1.07	0.91	0.17	2.37	0.65	0.22	0.19	0.05	0.87
	54.9	45.1	38.4	7.2	-	74.7	25.3	21.8	6.4	-
	1.2	1.0	0.8	0.1	2.1	0.8	0.3	0.2	0.1	1.1
66 日	5.2	3.80	3.56	0.25	9.0	5.32	2.28	2.29	0.14	7.6
	57.8	42.2	39.5	2.8	-	70.0	30.0	30.1	1.8	-
	4.7	3.4	3.22	0.23	8.1	7.0	3.0	2.99	0.18	9.9

上段：ppm (親化合物換算)

中段：中段：各時点の総放射活性に対する各画分の放射活性の割合(%)

下段：総放射残留量(%)、0日目の洗浄液+植物体(燃焼分析)の合計を100)

植物体'：燃焼分析

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

植物体表面上の放射活性は果実・葉とも経時的に減少し、散布 66 日後の植物体表面上には IND-JW062 で 0.20ppm、TMP-JW062 では 0.26ppm にまで減少した。

植物体内に取り込まれた放射活性も同様に果実・葉とも経時的に減少し、散布 66 日後の植物体内には IND-JW062 で 0.18ppm、TMP-JW062 では 0.08ppm にまで減少した。

なお、散布 66 日後の残留値が散布 46 日後の残留値よりも大きかったが、これは、採取したサンプルのばらつきに起因していると考えられる。散布 66 日後には、植物体の全量を採取したために、データとしては散布 66 日後のデータの方が信頼できると考えられる。

代 謝；

結果を表 2 に示す。果実と葉のいずれにおいても、洗浄液と洗浄後の抽出液から代謝物は認められず、未変化の親化合物のみが認められた。

表 2 ブドウ果実における未変化親化合物残留量の分布・推移

散布後 日数	IND-JW062			TMP-JW062		
	洗浄液	抽出液	合計	洗浄液	抽出液	合計
0 日	2.70	0.27	2.97	3.43	0.2	3.63
	89.8	9.0	98.7	93.6	5.5	99.1
	90.0	9.00	99.0	93.5	5.45	98.9
14 日	0.72	0.08	0.80	0.72	0.05	0.77
	85.3	9.0	94.3	89.9	6.0	95.9
	24.0	2.67	26.7	19.6	1.36	21.0
46 日	0.05	0.03	0.08	0.12	0.05	0.17
	53.8	31.1	84.9	66.5	25.3	91.8
	1.67	1.00	2.67	3.27	1.36	4.63
66 日	0.20	0.15	0.35	0.26	0.08	0.33
	51.6	39.0	92.3	75.5	19.3	94.8
	6.67	5.00	11.67	7.08	2.18	8.99

上段：残留濃度 (ppm)

中断：各採取時期の総放射活性に対する親化合物の割合 (%)

下段：0 日の総放射活性を 100 としたときの割合 (%)

以上の結果から、ブドウにインドキサカルブ MP (JW062) を散布した場合、大部分は植物体の表面に留まり、植物体内に移行する量は微量であると考えられる。残留濃度は経時的に減少し、その減少の要因として、植物の生長による重量増加および降雨等による流亡が考えられた。また、代謝物は認められず、残留放射活性の大部分は未変化の親化合物であった。

この結果は、ワタおよびレタスを用いた代謝試験結果と一致した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

(4) トマトにおけるインドキサカルブ MP (JW062) の代謝試験 (資料 代 8)

試験機関： 米国デュポン社中央研究所
[GLP 対応]

報告書作成年： 1997年

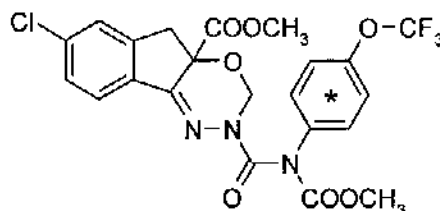
供試標識化合物：

* 標識位置

トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性； Ci/mg

放射化学的純度； %



供試植物： トマト (品種： Heinz 8892 種)

デュポン社スタイン研究所圃場

方 法：

施用量および試料採取；

トリフルオロメトキシフェニル標識体 (TMP-JW062) インドキサカルブ MP を 60%WDG 製剤とし、4 葉期に 1 回目の散布を行い、続いて 6、14 および 24 日後の合計 4 回、散布を行った。散布量は各散布とも 150g a. i. /ha とした。1 回目の散布から 0、6、14、24、27、31 および 38 日後に葉および/または果実を採取し、散布日の採取に関しては、散布の前後とした。

放射活性の測定；

植物体をアセトニトリルで洗浄し、植物体表面上の放射活性を LSC により測定した。

洗浄後の葉および果実の一部を破砕・燃焼後、植物体内に取り込まれた放射活性を LSC により測定した。

抽 出；

葉および果実の一部を破砕後、アセトニトリルを用いて抽出し、遠心分離により上清を採取した。(操作は 3 回繰り返した。) なお、果実の抽出については 14 日目の散布前のサンプルに関してのみ行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

分 析；

抽出液を濃縮後、LSCにより放射活性を測定し、濾過後、HPLC、LC/MSまたはTLCによる分析に供した。6日目散布前および38日目に採取した葉試料についてはキラル分析を行った。

非抽出残渣は燃焼後、LSCにより放射活性を測定した。

果実については、アセトニトリル抽出後、ジクロロメタンを用いて分配し、水相および有機相の放射活性をLSCにより測定した。

下図に分析スキームを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結果：
吸収・移行・分布；

結果を次表に示す。

放射活性の大半は植物表面上に留まり、植物体への移行量は極めて少なかった。

試料採取時期		果実				葉			
		洗浄液	洗浄後植物体		合計	洗浄液	洗浄後植物体		合計
			抽出液	残渣			抽出液	残渣	
0日	初回 散布	—	—	—	—	3.28	0.94	0.25	4.47
		—	—	—	—	73.3	21.0	5.7	100
6日	2回目 散布前	0.04	—	<0.01	0.04	2.05	2.16	0.10	4.31
		95.3	—	4.7	100	47.5	50.2	2.3	100
	2回目 散布後	0.14	—	<0.01	0.14	10.11	1.16	0.08	11.35
		96.7	—	3.3	100	89.1	10.2	0.7	100
14日	3回目 散布前	0.11	0.01	<0.01	0.12	5.23	1.65	0.06	6.94
		88.6	11.2	0.2	100	75.3	23.8	0.9	100
	3回目 散布後	0.08	—	0.01	0.09	4.72	0.49	0.03	5.24
		90.1	—	9.9	100	90.1	9.4	0.5	100
24日	4回目 散布前	0.05	—	0.01	0.06	4.94	0.66	0.06	5.67
		88.9	—	11.1	100	87.2	11.7	1.1	100
	4回目 散布後	0.12	—	0.01	0.12	7.96	1.49	0.10	9.55
		93.8	—	6.2	100	83.4	15.6	1.0	100
27日	最終散布 3日後	0.13	—	0.01	0.14	8.75	0.03	<0.01	8.78
		93.1	—	6.9	100	99.7	0.3	<0.1	100
31日	最終散布 7日後	0.09	—	0.01	0.10	4.87	1.02	0.06	5.95
		93.0	—	7.0	100	81.8	17.1	1.1	100
38日	最終散布 14日後	0.07	—	0.01	0.08	2.38	1.74	0.11	4.23
		87.3	—	12.7	100	56.2	41.1	2.7	100

上段：ppm（親化合物換算）

下段：洗浄液+抽出液+残渣の合計を100とした場合の分布(%)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

代 謝；

代謝物は認められず、未変化の親化合物のみが認められた。

また、キラル HPLC 分析の結果、異性体比は 1:1 であった。

試料採取時期		未変化の親化合物 (TMP-JW062)					
		葉			果実		
		洗浄液	抽出液	合計	洗浄液	抽出液	合計
0 日	初回 散布	3.28	0.94	4.23	—	—	—
		73.3	21.0	94.3	—	—	—
6 日	2 回目 散布前	2.05	2.16	4.23	0.04	—	0.04
		47.5	50.2	97.7	95.3	—	95.3
	2 回目 散布後	10.11	1.16	11.31	0.14	—	0.14
		89.1	10.2	99.3	96.7	—	96.7
14 日	3 回目 散布前	5.23	1.65	6.76	0.11	0.01	0.12
		75.3	23.8	97.1	88.6	11.2	99.8
	3 回目 散布後	4.72	0.49	5.23	0.08	—	0.08
		90.1	9.4	99.5	90.0	—	90.0
24 日	4 回目 散布前	4.94	0.66	5.63	0.05	—	0.05
		87.2	11.7	98.9	88.9	—	88.9
	4 回目 散布後	7.96	1.49	9.48	0.11	—	0.11
		83.4	15.6	99.9	93.8	—	93.8
27 日	最終散布	8.75	0.03	8.81	0.13	—	0.13
	3 日後	99.7	0.3	100	93.1	—	93.1
31 日	最終散布	4.87	0.51	5.35	0.09	—	0.09
	7 日後	81.8	8.6	89.6	93.0	—	93.0
38 日	最終散布	2.38	1.74	4.14	0.07	—	0.07
	14 日後	56.2	41.1	97.3	87.3	—	87.3

上段：残留濃度 (ppm)

下段：放射活性に占める未変化の親化合物の割合 (%)

以上の結果から、トマトにインドキサカルブ MP (JW062) を散布した場合、大部分は植物体の表面に留まり、植物体内に移行する量は微量であると考えられる。また、代謝物は認められず、残留放射活性の大部分は未変化の親化合物であった。

この結果は、ワタ、レタスおよびブドウを用いた代謝試験結果と一致した。

(5) レタス、ニンジン、コムギ、ダイズを用いた後作物への吸収・移行試験 (資料 代9)

試験機関：米国デュポン社中央研究所
報告書作成年：1997年

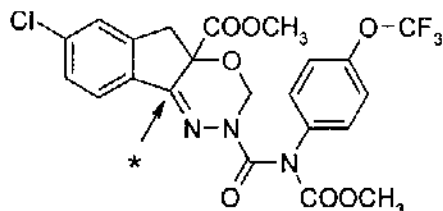
供試標識化合物：

* 標識位置

① インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブ

比放射活性； Ci/mg

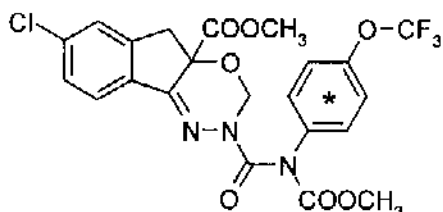
放射化学的純度；



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブ

比放射活性； Ci/mg

放射化学的純度；



供試植物：レタス (品種：Fontana 種)
ニンジン (品種：Katepawa 種)
ダイズ (品種：Prizehead 種)
コムギ (品種：A2242 種)

供試土壌：Sassafras 砂壤土 (デラウェア州、Milford より採取)

砂%	62.5
シルト%	22.5
粘土%	15.0
土性	砂壤土
有機炭素含有率(%)	1.3
pH	6.0~6.5
見かけ比重	1.35
CEC (m eq/100g)	4.3

方法：標識インドキサカルブを 600g a.i./ha の薬量で、直径 28cm のポットに詰めた Sassafras 砂質壤土に施用し、圃場条件下で 30、60 または 90 日間エージングさせた後、温室内で作物を播種・栽培し、収穫した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

結 果：次表に示す。

	30日間エイジング			90日間エイジング			120日間エイジング			
	日数*	IND	TMP	日数*	IND	TMP	日数*	IND	TMP	
土壌	35	0.25	0.34	90	0.33	0.25	135	0.36	0.24	
レタス	101	0.01	0.03	156	0.01	0.01	199	0.01	0.01	
ニンジン	葉部	134	0.03	195	0.01	0.01	231	0.01	0.01	
	根部		0.01		0.01			0.01		
ダイズ	茎葉	64	0.06	0.13	119	0.03	0.08	156	0.02	0.05
	干草	155	0.07	0.14	188	0.06	0.16	225	0.08	0.17
	種子		0.03	0.08		0.02	0.06		0.02	0.03
コマキ	茎葉	64	0.14	0.14	119	0.05	0.07	156	0.02	0.05
	種子	141	0.24	0.04	240	0.04	0.01	254	0.03	0.01
	葉		0.49	0.43		0.12	0.15		0.14	0.13

*：薬剤処理からサンプリングまでの日数。

(単位：ppm、親化合物換算)

分析の結果、いずれの画分にも単一の成分として、0.01ppm以上の濃度で含まれる代謝物は親化合物も含め、認められなかった。

従って、土壌に散布された検体が土壌を介して作物体に取り込まれ、作物に蓄積する可能性は低いと考えられる。

3. 土壌中における代謝

(1) 好氣的条件下におけるインドキサカルブMP (JW062) の土壌代謝試験 (資料 代 10)

試験機関：米国デュボン社中央研究所
[GLP 対応]

報告書作成年：1997年

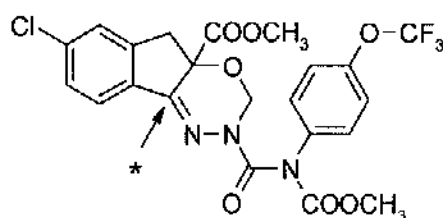
供試標識化合物：

* 標識位置

① インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブMP (IND-JW062)

比放射活性； または Ci/mg

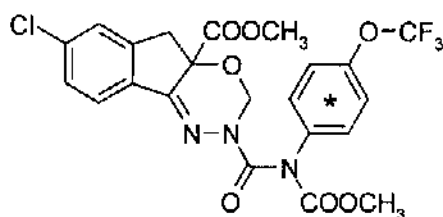
放射化学的純度； %



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性； または Ci/mg

放射化学的純度； %



供試土壌： Tama 土壌 (土性；シルトローム、米国イリノイ州 Greenfield にて採取)

	分析 1	分析 2
砂%	15.2	9.6
シルト%	63.6	66.0
粘土%	21.2	24.4
pH	6.3	6.2
有機炭素含有率%	2.7	2.4
C. E. C. m eq/100g	16.6	16.7
見かけ比重	1.15	1.09
容水率(%、0.33bar)	30.3	23.0

方 法： 乾土 50g 相当の土壌を試験容器に充填し、水分含量を 0.33bar の 75% に調整した後、インダノン標識体 (IND-JW062) およびトリフルオロメトキシフェニル標識体 (TMP-JW062) それぞれ 0.35mg の検体溶液 0.45mL を土壌に添加・混和した (0.35mg/50g 乾土)。なお、この処理量は約 7000g a. i. /ha となり、通常最高使用量 (米国では 500g a. i. /ha、日本では 350 g a. i. /ha) の 14~20 倍である。容器は通気可能とし、通気した空気は揮発性物質捕集用の苛性ソーダトラップを通過させた。容器は約 25°C の暗所に放置し、必要に応じて水分量を調整した。

試験 0 日 (処理直後)、1、3、7、14 および 21 日ならびに 1、2、3、4、6、9 および 12 カ月時に、揮発性物質捕集トラップを含む各試験系を最低 2 個 (4 カ月時には 4 個) を採取して分析に供した。

採取した試料は直ちにアセトニトリル/水 (90/10) を用いて振盪抽出し、抽出液 (抽出液 1) を遠心分離した。土壌はさらにジクロロメタン/メタノール (70/30) を用いて振盪抽出、またはテトラヒドロフランを用いて還流抽出し、抽出液 (抽出液 2) を遠心分離した。次いで土壌を 0.5N 塩酸/5% Triton X-100 (75/25) を用いて振盪抽出・遠心分離後、0.5N 水酸化ナトリウム/5% Triton X-100 (75/25) を用いて振盪抽出・遠心分離した (それぞれ抽出液 3 および抽出液 4)。

土壌抽出物 1、2 および 3 は LSC および HPLC 分析に供し、代謝物の分析をおこなった。代謝物の同定は LC/MS および TLC によるクロマトグラフィーによりおこなった。

抽出物 4 はフルボ酸およびフミン酸画分に分画し、それぞれ LSC 分析に供した。また、抽出後の土壌抽出残液を燃焼/LSC によって分析し、非抽出性放射能を測定した。これらを合計し、結合性残留物の値とした。

揮発性物質トラップの内容物は LSC を用いて総放射能を測定した。また、溶液中の $^{14}\text{CO}_2$ は炭酸バリウムとして、沈殿物を分析することにより行い、上清に顕著な放射能が検出されない場合、揮発性の標識分解物は $^{14}\text{CO}_2$ のみからなっていると考えた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

ト図に分析スキームを示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

結 果： IND-JW062 または TMP-JW062 処理土壌における揮発性、抽出性および結合性残留物への投与放射能の分布を表 1 に示す。
また、抽出された代謝物の組成を、総放射能に対する割合として表 2 および 3 に示す。

分 布；

好氣的条件下で1年間インキュベーションした場合、揮発性放射能は $^{14}\text{CO}_2$ として、IND-JW062処理土壌では総放射能の37%、TMP-JW062処理土壌では10%を占めていた。

また、結合性残留物としての残留放射能は12カ月後に投与放射能の約50%を占めていた。

半減期；

試験0日の抽出性放射能の95%以上（総放射能の95～98%）は未変化の親化合物であったことから、検体は抽出性が高く、抽出条件下で安定であることが確認された。

また、検体の半減期 (DT_{50}) および90%消失期 (DT_{90}) はそれぞれ下記の通りであった。

DT_{50} = 3日

DT_{90} = 26日

代謝物；

抽出液中の代謝物としては、IND-JW062標識体では主に

TMP-JW062標識体ではその他
が認められた。

は両標識化合物処理土壌の抽出物から検出され、処理後1週間以内に総放射能の ~ %に達したのち減少し、試験6カ月までに検出限界以下となった。

は処理後3日以内に最高濃度（
）に達したのち減少し、試験12カ月までに極めて低濃度または検出限界以下に達した。

は、濃度に変動はあるものの試験期間中検出され、供試化合物処理後6カ月で最高濃度（
）に達した。

は処理後1週間以内に最高濃度（
）に達したのち、試験期間中も低濃度が検出された。

TMP-JW062処理土壌では、
が処理3日後に最高濃度（
）に達したのち減少し、試験21日には検出限界以下に達した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

はいずれの試料採取時にも検出されたが、試験6カ月で最高濃度（ ）に達した。

IND-JW062 処理土壌の抽出液中に認められた極性ピークは、試験 14 日後に最高濃度に達し、総放射能の 19%を占めていたが、このピークは少なくとも 5 成分からなり、いずれも少量であった。なお、TMP-JW062 標識体からの極性物質生成量との差が大きいことから、主要成分は分子開裂後の IND-JW062 標識体固有代謝物と推定される。

代謝経路；

好氣的条件下の土壌における代謝は下記のとおりであると考えられる。

なお、想定代謝経路を別図に示す。

主要な代謝経路は であると考えられる。

代謝物 は により生成する。その後、 によって代謝物 が生成し、 によって代謝物 が生成する。または、代謝物 の

により、 を経て代謝物 が生成する。代謝物 は により生成すると考えられる。代謝物 に関しては、 により生成する。このような により、 が生成する。

代謝物 は により生成する。 によって代謝物 が生成し、この場合も が生成する。

表 1 投与放射能の揮発性、抽出性および結合性残留物への分布

	TND-JW062				TMP-JW062			
	$^{14}\text{CO}_2$	抽出液	結合性 残留物	回収率 (%)	$^{14}\text{CO}_2$	抽出液	結合性 残留物	回収率 (%)
0日後	0.0	99.6	0.4	102	0.0	99.5	0.5	104
1日後	0.4	97.5	2.1	100	0.0	98.2	1.8	101
3日後	1.4	75.4	23.2	116	0.1	80.2	19.8	106
5日後	5.7	73.0	21.3	96	0.3	78.8	20.9	96
7日後	6.7	66.3	27.0	98	0.4	73.8	25.9	94
14日後	14.1	48.3	37.5	89	0.8	53.8	45.4	94
21日後	16.7	39.3	44.0	94	1.2	49.2	49.6	92
1ヵ月後	17.4	37.5	45.2	92	1.9	46.8	51.4	92
2ヵ月後	22.9	33.0	44.1	96	3.1	40.9	56.0	81
3ヵ月後	20.7	28.5	50.8	92	2.7	32.5	64.7	96
4ヵ月後	24.5	26.7	48.8	90	4.2	32.8	63.0	86
6ヵ月後	23.4	21.1	55.5	85	5.0	27.5	67.5	82
9ヵ月後	29.9	17.5	45.6	91	4.5	26.2	69.3	79
12ヵ月後	37.1	16.0	46.9	96	9.5	25.2	65.4	79

表中の値は投与放射能に対する割合(%)

7日後～1ヵ月後の値は2反復の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

表 2 抽出液中の代謝物組成 (IND-JW062 標識体)

	IND-JW062						極性物質	合計
	親化合物							
0 日後	97.25						97.25	
	6.61						6.61	
1 日後	68.28						97.84	
	4.64						6.65	
3 日後	39.12						73.68	
	2.66						5.01	
5 日後	24.07						57.60	
	1.64						3.92	
7 日後	23.56						60.68	
	1.60						4.13	
14 日後	10.73						41.14	
	0.73						2.80	
21 日後	7.85						34.69	
	0.53						2.36	
1 カ月後	6.68						29.95	
	0.45						2.04	
2 カ月後	7.35						23.83	
	0.50						1.59	
3 カ月後	5.22						23.39	
	0.35						1.54	
4 カ月後	4.20						25.51	
	0.29						1.73	
6 カ月後	ND						19.01	
	<0.01						1.29	
9 カ月後	0.20						12.24	
	0.01						0.83	
12 カ月後	ND						8.90	
	<0.01						0.61	

上段：総放射能に対する割合(%, 各試験系での総放射能を100%とした)

下段：土壤中濃度(親化合物換算 ppm)、処理濃度は ppm

ND：検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

表3 抽出液中の代謝物組成 (TMP-JW062標識体)

	TMP-JW062								極性物質	合計
	親化合物									
0日後	94.15									94.15
	6.40									6.40
1日後	64.25									91.01
	4.37									6.19
3日後	34.16									80.86
	2.32									5.50
5日後	20.74									58.89
	1.41									4.00
7日後	23.30									63.15
	1.58									4.29
14日後	9.05									36.83
	0.62									2.50
21日後	8.00									33.09
	0.54									2.25
1カ月	7.63									34.96
	0.52									2.38
2カ月	8.63									31.10
	0.59									2.11
3カ月	7.61									24.31
	0.52									1.65
4カ月	5.71									23.62
	0.39									1.61
6カ月	ND									26.85
	<0.01									1.83
9カ月	3.75									21.31
	0.26									1.45
12カ月	0.90									18.90
	0.06									1.29

上段：総放射能に対する割合(%, 各試験系での総放射能を100%とした)

下段：土壌中濃度(親化合物換算 ppm)、処理濃度は ppm

ND：検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

インドキサカルブMPの土壌中での推定代謝経路

*：標識位置、[]：推定代謝

4. 加水分解

(1) インドキサカルブ MP (JW062) の加水分解試験 (資料 水 1)

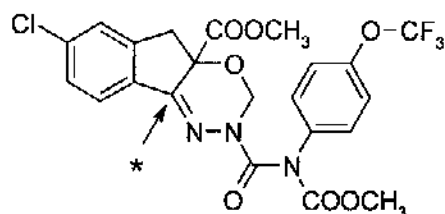
試験機関：米国デュポン社中央研究所
 [GLP 対応]
 報告書作成年：1996年

供試標識化合物：

* 標識位置

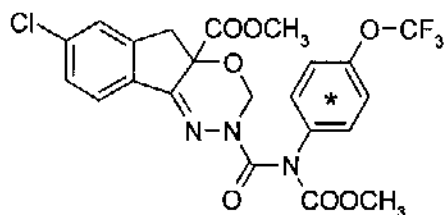
① インダノン-¹⁴C標識インドキサカルブMP (IND-JW062)

比放射活性； Ci/mg
 放射化学的純度； %



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性； Ci/mg
 放射化学的純度； %



供試水溶液： pH5 酢酸ナトリウム緩衝液
 pH7 リン酸カリウム緩衝液
 pH9 ホウ酸ナトリウム緩衝液

試験方法： インダノン標識体 (IND-JW062) およびトリフルオロメトキシフェニル標識体 (TMP-JW062) インドキサカルブ MP 溶液 (1%アセトニトリルを含む緩衝溶液、150ppb) を調製し、濾過滅菌後、25°C、暗黒条件下に保ち、加水分解試験を行った。処理 30 日後まで適宜、各試料を採取し液体シンチレーションカウンターおよび HPLC を用いて分析し、加水分解速度、総放射能および分解物を測定した。

なお、半減期および加水分解速度は、次式を用いて算出した。

$$\ln C_t = (-k)t + \ln C_0$$

ここで、 k-速度定数
 C_t-処理後 t 時間の濃度
 C₀-初期濃度
 t=時間

k の値を最小二乗法により求め、半減期を $\ln(2/k)$ として求めた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

試験結果： 結果を次表に示す。

	半減期 (日)		放射能回収率(%)*		加水分解速度 (日 ⁻¹)	
	IND- JW062	TMP- JW062	IND- JW062	TMP- JW062	IND- JW062	TMP- JW062
pH5	401	604	100	96.6	0.0017	0.0012
pH7	38.2	37.5	104	104	0.018	0.018
pH9	1.03	0.98	105	108	0.67	0.71

* : 30 日後の総放射能回収率

インドキサカルブ MP の加水分解速度は pH に依存し、pH9 の条件下で加水分解が最も速く進行した。

主な加水分解物は

であり、生成量は投与放射能に対し、pH7 の場合 %、pH9 の場合 %であった。

いずれの試験系でも総放射能濃度に変化は認められず、試験期間中安定であった。

5. 水中光分解

(1) インドキサカルブMP (JW062)の水中光分解試験 (pH5 の緩衝液および自然水)

(資料 水2)

試験機関：米国デュポン社中央研究所
[GLP 対応]

報告書作成年：1996年

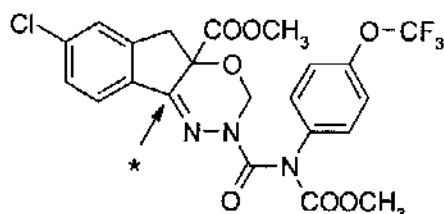
供試標識化合物：

* 標識位置

① インドノン-¹⁴C標識インドキサカルブMP (IND-JW062)

比放射活性； Ci/mg

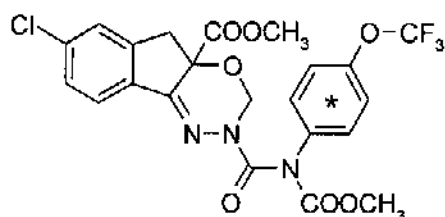
放射化学的純度； %



② トリフルオロメトキシフェニル-¹⁴C標識インドキサカルブMP (TMP-JW062)

比放射活性； Ci/mg

放射化学的純度； %



供試水溶液： pH5 酢酸ナトリウム緩衝液 (滅菌)

自然水 (米国デラウェア州 ニューキャッスル郡、Shellpot Creek より採取)

補助剤としてアセトニトリルを終濃度 1%となるように添加。

光照射条件： 11376W時/m² (300~800nm、360 時間積算)

デラウェア州ウィルミントン市 (北緯 39 度 40 分) の夏期の太陽光とほぼ同じ。

試験方法： インドノン標識体(IND-JW062)およびトリフルオロメトキシフェニル標識体(TMP-JW062)インドキサカルブMP溶液(150ppb)を調製し、石英製の容器に入れ、25°C、人工太陽光連続照射条件下で水中光分解試験を実施した。処理後約2、4、8、10時間および1、2、9および15日に各試料を採取し液体シンチレーションカウンターおよびHPLCを用いて分析し、光分解速度、総放射能および分解物を測定した。また暗黒対照を設けるとともに、光量子効率ならびに揮発性成分を分析する群も設けた。

なお、半減期および速度定数は次式により求めた。

$$\ln(C_t/C_0) = -k(t) + \ln C_0$$

ここで、k-速度定数

C_t =処理後t時間の濃度

C_0 =初期濃度

t=時間

kの値を最小二乗法により求め、半減期を $\ln(2)/k$ として求めた。

試験結果：結果を次表に示す。

	IND-JW062			TMP-JW062		
	緩衝液	自然水		緩衝液	自然水	
	光照射	光照射	暗黒対照	光照射	光照射	暗黒対照
pH	5.19	8.26	—	5.19	8.26	—
半減期 ¹ (日)	3.17	2.34	2.07	3.16	2.52	2.94
加水分解速度(日 ⁻¹)	0.613	0.821	0.335	0.614	0.771	0.236
放射能回収率 ² (%)	90.5	93.5	99.2	78.8	86.0	101

¹：半減期の算出は試験開始から2日目までのデータを用いた。

また、光照射条件下のデータについては、光照射は連続照射としたことから、光度から算出した定数2.8を乗じ、自然太陽光相当日として記述した。

なお、暗黒対照の半減期には定数2.8を乗じていない。

²：試験15日目の回収率

光量子効率 Φ_{JW062} は0.0003であった。

代謝物としては、次図に示す代謝物が認められた。

¹⁴C₂O₂の生成量は自然水光照射条件および暗黒対照で、IND-JW062 標識体ではそれぞれ投与放射能の10.5%および36%、TMP-JW062 標識体ではそれぞれ投与放射能の14.8%および24%であった。

申請者注：インドキサカルブ MP の東京、春における太陽光下での半減期を算出した結果

	IND-JW062			TMP-JW062		
	緩衝液	自然水		緩衝液	自然水	
	光照射	光照射	暗黒対照	光照射	光照射	暗黒対照
太陽光下 半減期	2.37	1.76	4.34	2.37	1.88	6.16

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュボン株式会社にある。

インドキサカルブ MP の光照射条件下での水中における推定代謝経路

*：標識位置 []：推定分解物

6. 土壌吸着

(1) インドキサカルブ MP (JW062) の土壌吸脱着試験 (資料 上吸 1)

試験機関：(財)日本食品分析センター
報告書作成年：1997年

供試化合物：

非標識インドキサカルブ MP (ラセミ体 異性体比 S体：R体/50：50)

供試土壌：下記の4種類の土壌を用いた。

採取場所	道立十勝農試	日植防牛久	愛知農総試	日植防高知
土壌群名	淡色黒ボク土	褐色火山灰土	灰色台地土	沖積鈹質土
土性	壇壤土	シル質壇壤土	砂質壇壤土	軽壇土
砂%	57.1	26.2	68.0	47.6
シル%	21.5	50.9	14.5	27.2
粘土%	21.4	22.9	17.5	25.2
有機炭素含有率(OC%)	2.11	3.30	1.11	1.33
pH				
H ₂ O	5.7	6.4	6.6	6.5
KCl	5.8	6.9	6.0	6.4
C. E. C. me/100g	11.7	21.4	7.9	10.2
リン酸吸収係数	1330	2000	290	370
粘土鈹物の種類	アロフェン パーキェライト	アロフェン パーキェライト	カオリン鈹物 イト	クォライト イト
土壌含水比%	5.6	14.0	1.2	2.0

試験方法：

OECD 試験指針-106-吸着/脱着に従って実施した。

吸着試験：

検体の水溶液 (約 0.005µg/L、0.01 塩化カルシウム溶液) を調製し、試験土壌に加え 16 時間浸透した後、水相中の試験物質濃度 C_0 および土壌に吸着された検体量 X を測定した。ここで得られた値および試験土壌の有機炭素含有率 OC% から吸着係数 K' および有機炭素吸着係数 K'_{oc} を算出した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

脱着試験；

吸着試験と同様の吸着操作を行い、土壌から水相を分離した後、土壌に 0.01M 塩化カルシウム溶液を加えて 16 時間浸透した後、水相を分離し、吸着された検体に対する脱着された検体の割合 D、および脱着されなかった検体の割合 R を算出した。

なお、吸着・脱着とも平衡化温度は 25℃とした。

$$K' = \frac{X/m}{\frac{C_e}{G - (C_e + C_1 + C_2)V}}$$

$$D = 100 \times \frac{(C_1 + C_2)V - (V_0 - V)C_e}{X}$$

$$R = 100 \times \frac{C_e}{G - (C_e + C_1 + C_2)V}$$

X：吸着検体重量[ug]

m：吸着体の重量[g]

C_e：吸着段階での溶液残存濃度[g/L]

C₁：1回目に溶脱した検体濃度[g/L]

C₂：2回目に溶脱した検体濃度[g/L]

V₀：試験に用いた溶液の量[mL]

V：吸着段階後の溶液の量[ml]

G：初期添加検体量[ug]

水相の分析は、水相を遠心分離後、ヘキサンを用いて分配し、ヘキサン層を前処理した後、アセトニトリル-水に溶解させ HPLC により分析した。

土壌の分析は、上記の遠心分離により得られた土壌をアセトニトリル-水を用いて抽出し、抽出液を C₁₈カラムおよびシリカゲルカラムを用いて前処理した後、HPLC により分析した。

結果： 結果を次表に要約する。

採取場所	道立十勝農試	日植防牛久	愛知農総試	日植防高知
土性	埴壤土	シルト質埴壤土	砂質埴壤土	軽埴土
吸着係数 K'	91.97	238.18	169.55	47.68
有機炭素含有率 (OC%)	2.21	3.30	1.11	1.33
有機炭素吸着係数 K' _{oc}	4358.8	7217.6	15273.9	3585.0
脱着された吸着物質の割合 (%)	2.26	1.76	3.49	1.97
回収率 (%)	86.4	86.4	97.1	84.4

代謝分解のまとめ

インドキサカルブ MP の動物、植物、土壌、水における代謝、分解、残留の概要は下記の通りである。また、代謝分解経路及び代謝分解の概要を別紙（「インドキサカルブ MP の代謝分解経路図」及び「インドキサカルブ MP の代謝分解の概要」）に示した。

動物：インドキサカルブ MP の IND 標識体及び TMP 標識体を用いて、Cr1:CD(SD)系ラットにおける吸収、分布、排泄、代謝を検討した。

吸収；

低用量(5 mg/kg)で強制経口投与した場合、吸収は容易に行われるが、高用量(150 mg/kg)では吸収が飽和した。推定吸収率は低用量では65～80%であったが、高用量では8～14%であった。吸収は投与後6～24時間の間で定常状態となり、性及び標識体により半減期は35～188時間であった。血漿中半減期は雌よりも雄の方が短かった。TMP標識体投与群では、

と推定される代謝物が赤血球に保持されたため、血漿中半減期は長くなった。反復投与による影響は認められなかった。

分布・排泄；

低用量で投与した場合、7日後の時点で投与放射能の37～56%が尿に、27～44%が糞に、3.4～16.6%が組織に分布した。組織中残留率は雌よりも雄の方がやや高かった。高用量(150 mg/kg)を投与したラットにおける放射活性の分布は、尿(13～20%)と組織(1.4～4.4%)の割合が低下して糞(65～78%)の占める割合が高まった。組織中の放射活性は殆どが として脂肪組織中に分布した。反復投与による影響は認められなかった。

代謝；

胆汁中への親化合物の排泄が極めてわずかであったことから、本剤は主として肝臓で代謝されると考えられる。若干量の親化合物が糞中に排泄されたが、尿には排泄されなかった。低用量投与群における糞中代謝物の大部分は、

であった。尿中には

が主に認められ、それぞれの標識体に固有の代謝物が認められた。反復投与による代謝の変動は認められなかった。赤血球中では

が主に認められた。

植物： インドキサカルブ MP の IND 標識体及び TMP 標識体を用いて、残留、代謝をワタ、レタス、ブドウ、トマトを用いて検討した。また、レタス、ニンジン、ダイズ、コムギを用いて、土壤に散布したインドキサカルブの土壤を介した移行性を検討した。

全ての植物において、同様の結果が得られた。放射活性は経時的に減少し、その大部分は植物体表面上に留まった。代謝物は認められず、残留放射活性の大部分は未変化の親化合物であった。また、土壤からの放射活性の吸収も認められなかった。

土壤： インドキサカルブ MP の IND 標識体及び TMP 標識体を用いて、シルト質壤土での好氣的条件下における消長、分布、代謝を検討した。

消長；

検体の半減期 (DT_{50}) 及び 90% 消失期 (DT_{90}) はそれぞれ約 3 日及び約 26 日であった。

代謝；

処理 12 ヶ月後の揮発性放射能は CO_2 として処理放射能の約 10~37% を占めていた。また、結合性残留物としての残留放射能は 12 ヶ月後に処理放射能の約 47~65% を占めていた。代謝物としては 及び種々の が認められた。各代謝物の生成量は経時的に変化し、最も生成量が多かった代謝物は であり、処理後 3~5 日目で処理放射能の約 % に達したが、その後は急速に減少した。それ以外の代謝物にも処理放射能の % を越えるものもあったが、1 時点に限られていた。

水中： インドキサカルブ MP の IND 標識体及び TMP 標識体を用いて、緩衝液中 (pH5、7、9) での加水分解性及び水中での光分解性 (緩衝液 (pH5) 及び自然水) を検討した。

半減期を下表に示す。加水分解速度は pH に依存し、アルカリ性条件下で分解が促進された。また、光照射により分解が促進された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

半減期 (日)	加水分解			水中光分解	
	pH5	pH7	pH9	緩衝液 (pH5)	自然水
IND標識体	401	38.2	1.03	3.17	2.34
TMP標識体	604	37.5	0.98	3.16	2.52

分解物としては、水中光分解試験においては、主に
が、加水分解試験では が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。

インドキサカルブ MP の代謝分解経路図

インドキキサカルブMMPの代謝分解の概要

		(受与放射能に対する割合%)		IND JW062		72時間後		IND JW062		72時間後		
		IND JW062	TMP JW062	IND JW062	TMP JW062	IND JW062	TMP JW062	IND JW062	TMP JW062			
動物	尿	使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
	組織	使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
埋物*	土壌	使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
	砂質土壌	使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										
		使用量										
		高用量										

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はデュポン株式会社にある。