

3. 製剤 30%フロアブル

(1) 急性毒性

30%フロアブルのラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-1)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：2000年11月14日

有効成分の含有量 ： スピロジクロフェン； 30%
試験動物 ： SD系ラット、1群雌雄各5匹
 試験開始時； 雄 7週齢 (243～250g)
 雌 7週齢 (165～176 g)
試験期間 ： 14日間

【試験方法】

< 検体調製 >

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

< 投与方法 >

投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

< 一般症状の観察及び体重の測定 >

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7及び14日に行った。

< 剖検 >

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000

<一般症状の観察及び体重の測定>

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に順調な体重増加を示していた。

<剖検>

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

30%フロアブルのマウスを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-2)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：2000年11月14日

有効成分の含有量：スピロジクロフェン；30%
試験動物：ICR系マウス、1群雌雄各5匹
試験開始時；雄5週齢（23.3～25.8g）
雌5週齢（19.4～20.7g）
試験期間：14日間

【試験方法】

<検体調製>

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

<投与方法>

投与前日の夕方より絶食させたマウスに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

<一般症状の観察及び体重の測定>

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7及び14日に行った。

<剖検>

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000

<一般症状の観察及び体重の測定>

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に順調な体重増加を示していた。

<剖検>

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

30%フロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-3)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：2000年11月14日

有効成分の含有量 ： スピロジクロフェン； 30%
試験動物 ： SD系ラット、1群雌雄各5匹
 試験開始時； 雄 7週齢 (262~278g)
 雌 7週齢 (178~200g)
試験期間 ： 14日間

【試験方法】

<検体調製>

投与日に検体を秤量し、蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

<投与方法>

投与の約24時間前に塗布部位の背中中央を約4×5cmの広さで剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.4mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

<一般症状の観察及び体重の測定>

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7及び14日に行った。

<剖検>

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

【結果】

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000

<一般症状の観察及び体重の測定>

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

<剖検>

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

30%フロアブルのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年9月14日

検体の純度： 30%フロアブル

組成 スピロジクロフェン原体；30%
水、界面活性剤等；70%

試験動物： 日本白色種雌ウサギ，1群6匹，試験開始時；2.98～3.22kg

試験期間： 3日間観察

【試験方法】

投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を2つの部分にわけ、検体適用部位(左側)には検体0.5mLを塗布した2.5×2.5cmのリント布をのせ、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。右側は無処理部位とし、リント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。

【観察項目】

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と浮腫について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用後6時間までは経時的に、その後は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【評価】

刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個体別の値を求め、更に供試したウサギの6匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

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

【結果】

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

表にみられる様に、検体除去1時間後の観察で非常に軽度の紅斑(評点1)が全例(6/6)に、24時間後の観察では紅斑(評点1)が1/6例に認められた。48時間以降の観察では、いずれの動物にも皮膚反応は見られなかった。皮膚一次刺激指数は0.3であった。なお、無処置部位には皮膚反応はみられなかった。

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 評点	暴 露 後 時 間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
4	紅斑・痂皮	4	1	1	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
5	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
6	紅斑・痂皮	4	1	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	24	6	1	0	0
	浮腫	24	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	1	0.17	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

以上のことから、本剤をウサギの皮膚に1回適用した場合、除去後1及び24時間後の観察において評点1の紅斑がそれぞれ全例及び1/6例に認められた。皮膚一次刺激指数は0.3であり、「軽度刺激物」と評価した。

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

30%フロアブルのウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年9月14日

- 検体の純度 : 30%フロアブル
組成 スピロジクロフェン原体 ; 30%
水、界面活性剤等 ; 70%
- 試験動物 : 日本白色種雌ウサギ
非洗眼群 6 匹, 洗眼群 3 匹
試験開始時 ; 2.69~3.09kg
- 試験期間 : 3 日間観察

【試験方法】

9匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、検体 0.1mL をそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの 3 匹の動物を、検体投与 2~3 分後に微温湯で洗眼して洗眼群とし、残りの 6 匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も反対側眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では洗眼のみを実施した。

【観察項目】

検眼は、投与 1、24、48 及び 72 時間に角膜、虹彩、結膜及び分泌物について、Draize 法に従って採点した。また適用後 24 時間には 2%フルオレセインナトリウム水溶液を 1 滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。

また、一般症状の観察を適用後 6 時間までは経時的に、その後は 1 日 1 回、検眼時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日に行った。

【結果】

[一般観察]

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[刺激性]

検体適用後の眼の反応の結果を表1～表2に示した。

非洗眼群では、適用後1時間の観察において、結膜浮腫(評点1)及び眼脂分泌物(評点1)がそれぞれ2/6例に認められ、MTSは1.3であった。これらの刺激反応は、適用後24時間後の観察で全ての動物において消失し、MTSが0となった。従ってMMTSは適用後1時間の1.3であった。眼のその他の変化として、閉眼が適用直後で全例に認められた。

検体洗眼群では、いずれの観察時期においても全例(3/3)に刺激反応はみられず、MTSはすべて0であった。眼のその他の変化もいずれの動物においても観察されなかった。これらのことから、洗眼効果が見られた。

各群共に、対照眼の評点は全て0であり、観察期間を通じて変化は何ら認められなかった。

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

表 1. 眼一次刺激性試験成績

項目				最高 評点	投 与 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			2	0	0	0	0
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	
			浮 腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	1	0	0	0	
		合 計**			110	2	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			2	0	0	0	0
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	
			浮 腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	0	0	0	0	
		合 計**			110	0	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			2	0	0	0	0
		結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	
			浮 腫	4	0	0	0	0	
			分泌物	3	0	0	0	0	
合 計**			110	0	0	0	0		
動物 番号 4	角膜混濁	程 度	4	0	0*	0	0		
		面 積	4	0	0	0	0		
	虹 彩			2	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0		
		浮 腫	4	1	0	0	0		
		分泌物	3	0	0	0	0		
	合 計**			110	2	0	0	0	
動物 番号 5	角膜混濁	程 度	4	0	0*	0	0		
		面 積	4	0	0	0	0		
	虹 彩			2	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0		
		浮 腫	4	1	0	0	0		
		分泌物	3	0	0	0	0		
	合 計**			110	2	0	0	0	

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

項目			最高 評点	投 与 後 時 間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
非 洗 眼 群	角膜混濁	程 度	4	0	0*	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	1	0	0	0	
	合 計**			110	2	0	0	0
	総 計			660	8	0	0	0
	平 均 (MTS)			110	1.3	0	0	0
洗眼群 (3 匹の 平均)	角膜混濁	程 度	4	0	0*	0	0	
		面 積	4	0	0	0	0	
	虹 彩		2	0	0	0	0	
	結 膜	発 赤	3	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0	0	0	0	
		分泌物	3	0	0	0	0	
	合 計 (MTS)			110	0	0	0	0

*:フルオレセイン染色斑なし

** : Draize 法による評価点 合計=角膜 (程度×面積×5) +虹彩×5+結膜 (発赤+浮腫+分泌物) ×2

表 2. MTS : 適用眼

観察期間 (適用後)	MTS	
	検体非洗眼群	検体洗眼群
1 時間	1.3*	0
2 4 時間	0	0
4 8 時間	0	0
7 2 時間	0	0

*: MMTS

従って、本剤をウサギの眼に 1 回適用した場合、非洗眼群では適用 1 時間後に結膜浮腫及び眼脂分泌が認められた。これらの刺激反応は適用 24 時間後の観察ですべての動物において消失した。眼のその他の変化としては閉眼が観察された。MMTS は適用 1 時間後における 1.3 であり、本剤の刺激性を Kay and Calandra らの刺激性の評価分類表で評価すると、暫定評価及び最終評価ともに「實際上刺激性なし」であった。一方、洗眼群では、眼に刺激性はみられず、眼のその他の変化もみられなかったことから、洗眼効果ありと評価した。

(3) 皮膚感作性

30%フロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(毒性資料 No. 製剤-6)

試験機関:

[GLP対応]

報告書作成年月日: 2000年 9月 14日

検体の純度: 30%フロアブル

組成 スピロジクロフェン原体; 30.0%

水、界面活性剤等; 70.0%

試験動物: ハートレー系雌モルモット、1群 20匹、

試験開始時体重; 282~353g(5週齢)

試験期間: 約5週間

【試験方法】

Buehler 法により行った。

試験濃度設定の理由

試験試料の調製

検体を、所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試験料として用いた。

感作及び惹起処置

感作開始前日左側胴部を刈毛した。感作試料 0.2mL を 6 時間ずつ 7 日間隔で 3 回閉塞貼付した。最終感作の 13 日後に全動物の右側胴部を刈毛した。その翌日(最終感作 14 日後)、惹起試料 0.2mL を 6 時間貼付した。注射用水で投与部位を清拭した。

【観察項目】

紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後 24 及び 48 時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

皮膚反応の評価法

①紅斑及び痂皮形成

紅斑なし	0
非常に軽度の紅斑(かろうじて識別できる)	1
はっきりした紅斑	2
中等度ないし高度紅斑	3
高度紅斑(beet redness)からわずかな痂皮の形成(深部損傷)まで	4

最高点 4

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

②浮腫の形成

浮腫なし	0
非常に軽度の浮腫(かろうじて識別できる)	1
はっきりした浮腫(はっきりとした膨隆による明確な縁が識別できる)	2
中等度浮腫(約 1mm の膨隆)	3
高度浮腫(1mm の膨隆と暴露範囲を越えた広がり)	4

最高点 4

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日(0日)、感作終了日(14日)、惹起日(28日)及び惹起後2日(30日)に全動物について行った。

【評価】

皮膚反応の程度を個体別に点数化し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出すると共に陽性率を求め、感作群と無感作群の反応の程度を比較して感作性を評価した。

【結果】

[一般観察]

全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[感作性]

各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

群	感作濃度(%)	惹起濃度(%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率(%)		
					貼付除去後 24時間					貼付除去後 48時間					24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	
					皮膚反応評点																
0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	24時間	48時間	24時間	48時間	24時間	48時間	
感作	100	100	20	①	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				②	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	100	20	①	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				②	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

①；紅斑及び痂皮形成(最高点4)，②；浮腫の形成(最高点4)

表に示した様に、検体 100%で惹起したとき、皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

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

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別に実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (2000年5月9日～6月16日)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					惹起後 24 時間					惹起後 48 時間					24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
					皮膚反応評点															
					0	1	2	3	4	0	1	2	3	4						
感作	1	0.25	10	①	0	0	10	0	0	2	4	4	0	0	2.9	1.2	10	8	100	80
				②	1	9	0	0	0	9	10	0	0	0						
無感作	0	0.25	5	①	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				②	5	0	0	0	0	5	0	0	0	0						

① ; 紅斑及び痂皮形成(最高点 4), ② ; 浮腫の形成(最高点 4)

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB[#]には明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性及び試験方法の信頼性が確認された。

38%顆粒水和剤

(1)急性毒性

38%顆粒水和剤のラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-7)

試験機関：

[GLP 対応]

報告書作成年月日：2001年11月21日

有効成分の含有量：スピロジクロフェン；38%

試験動物：SD系ラット、1群雌雄各5匹

試験開始時；雄7週齢(263~270g)

雌7週齢(185~193g)

試験期間：14日間

【試験方法】

<検体調製>

投与日に検体を秤量し、乳鉢中で磨砕しつつ蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

<投与方法>

投与前日の夕方より絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて強制的に経口投与した。投与容量は体重100g当たり1mLとした。

<一般症状の観察及び体重の測定>

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7及び14日に行った。

<剖検>

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

【結果】

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000

<一般症状の観察及び体重の測定>

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に順調な体重増加を示していた。

<剖検>

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

38%顆粒水和剤のラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料 No. 製剤-8)

試験機関:

[GLP 対応]

報告書作成年月日: 2001年11月21日

有効成分の含有量 : スピロジクロフェン; 38%
試験動物 : SD系ラット、1群雌雄各5匹
試験開始時; 雄 7週齢 (278~309g)
雌 7週齢 (200~203g)
試験期間 : 14日間

【試験方法】

<検体調製>

投与日に検体を秤量し、乳鉢中で磨砕しつつ蒸留水を加えて懸濁液を調製した。

<投与方法>

投与の約24時間前に塗布部位の背中中央を約4×5cmの広さで剪毛したラットに経皮投与を実施した。その後は動物が検体を経口的に摂取することのないように、適用部位をガーゼとスポンジで覆い、外科用絆創膏で固定した。投与容量は、体重100g当たり0.4mLとした。

適用時間は24時間とし、その間動物を個別に収容した。適用時間終了後、検体を微温湯で洗浄して取り除いた。

<一般症状の観察及び体重の測定>

検体投与日は頻繁に、翌日からは毎日1回以上、14日間にわたって注意深く臨床観察を行った。

体重測定は、検体投与直前、投与後1、3、7及び14日に行った。

<剖検>

観察終了日に動物をエーテル麻酔下で放血して屠殺後、剖検してその所見を記録した。

【結果】

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	雌雄： 2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	雄： >2000 雌： >2000
死亡開始時間及び 終了時間	雄： — 雌： —
症状発現時間及び 消失時間	雄： — 雌： —
最大無作用量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000
死亡例の認められなかった 最高投与量 (mg/kg)	雄： 2000 雌： 2000

<一般症状の観察及び体重の測定>

本検体投与による中毒症状及び死亡は雌雄共に認められなかった。また、投与部位において刺激性を示唆する所見も認められなかった。

平均体重の推移において、雌雄共に検体投与に起因した変化は認められなかった。

<剖検>

観察終了時の剖検において、雌雄共に肉眼的異常所見は認められなかった。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

38%顆粒水和剤のウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-9)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2001年9月13日

検体の純度： 38%顆粒水和剤

組成 スピロジクロフェン原体 ; 38.0%

界面活性剤、鋳物質微粉等 ; 62.0%

試験動物： 日本白色種雌ウサギ, 1群3匹, 試験開始時 ; 3.12~3.28kg

試験期間： 3日間観察

【試験方法】

投与1日前に動物の背部を刈毛した。刈毛した背部を2つの部分にわけ、検体適用部位(左側)には微粉末とした検体0.5gと0.5mLの注射用水を塗布した2.5×2.5cmのリント布をのせ、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。右側は無処理部位とし、リント布を貼布し、油紙で被覆した後、弾性包帯で固定した。暴露時間は4時間とした。暴露後はリント布を取り除き、注射用水で湿らせた脱脂綿で適用部位を清拭した。

【観察項目】

皮膚刺激性の観察は、検体除去後1、24、48及び72時間に紅斑と痂皮形成及び浮腫の形成について行い、皮膚の反応の評価法(Draize法)に従って採点し記録した。

また、一般症状の観察を適用後4時間までは1時間毎に、翌日以降は1日1回、皮膚の観察時に行った。体重測定は、適用日及び観察終了日(投与3日後)に行った。

【評価】

刺激性の評価は皮膚一次刺激指数を算出して行った。皮膚一次刺激指数は、検体除去後1、24、48及び72時間における紅斑及び浮腫の評点の合計を4で割り、個体別の値を求め、更に供試したウサギの3匹の値を平均して算出した。その数値により、以下のように刺激性を区分した。

皮膚一次刺激指数	刺激性
0	無刺激物
0より大きく2未満	軽度刺激物
2以上5未満	中等度刺激物
5以上	強度刺激物

【結果】

[一般観察]

全例共に一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は見られなかった。

[刺激性]

表にみられる様に、検体除去1、24、48及び72時間後の各観察期間において、いずれの動物の皮膚にも刺激反応は見られなかった。従って皮膚一次刺激指数は0であった。なお、無処置部位にも皮膚に刺激反応はみられなかった。

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 評点	暴 露 後 時 間			
			1 時間	24 時間	48 時間	72 時間
1	紅斑／痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
2	紅斑／痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
3	紅斑／痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0
合計	紅斑／痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫形成	12	0	0	0	0
平均	紅斑／痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫形成	4	0	0	0	0

以上のことから、本剤をウサギの皮膚に1回適用した場合、皮膚刺激反応は認められず、皮膚一次刺激性指数(P. I. I)は0であった。

以上の結果から、本試験条件下において本検体はウサギの皮膚に対して「無刺激物」と結論された。

38%顆粒水和剤のウサギを用いた眼一次刺激性試験

(毒性資料 No. 製剤-10)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2001年9月13日

- 検体の純度 : 38%顆粒水和剤
組成 スピロジクロフェン原体 ; 38.0%
界面活性剤、鋳物質微粉等 ; 62.0%
- 試験動物 : 日本白色種雌ウサギ
非洗眼群 3 匹, 洗眼群 3 匹
試験開始時 ; 2.50~2.78kg
- 試験期間 : 5日間観察

【試験方法】

6匹の動物の左側の下眼瞼を緩やかに眼球から引き離し、微粉末とした検体 0.1g をそのまま結膜嚢内に投与した。検体の損失を防ぐため、約 1 秒間両眼瞼を緩やかに合わせ保持した。そのうちの 3 匹の動物を、検体投与 30 秒後に 100mL の注射用水で 30 秒間洗眼して洗眼群とし、残りの 3 匹の動物は洗眼を行わず、非洗眼群とした。

いずれの群も右眼を対照とし、非洗眼群では無処置、洗眼群では 30 秒間の洗眼のみを実施した。

【観察項目】

検眼は角膜、虹彩、結膜について投与 1、24、48、72 及び 96 時間後、その後は投与 5 日後まで毎日肉眼及び検眼鏡を用いて実施した。各観察項目は、Draize 法に従って採点した。また適用後 24 時間には 2%フルオレセインナトリウム水溶液を 1 滴点眼し、速やかに注射用水で洗眼した後、角膜の損傷により生じる染色斑の有無を観察した。

また、一般症状の観察を適用後 6 時間までは 1 時間毎に、投与翌日以降は投与 5 日後まで 1 日 1 回行った。体重測定は、適用日及び観察終了日(投与 5 日後)に行った。

【結果】

[一般観察]

全例で一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[刺激性]

検体適用後の眼の反応の結果を表1～表2に示した。

非洗眼群では、角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫及び眼脂分泌物が認められた。これらの刺激反応は投与5日後までに全ての動物で消失した。眼のその他の変化として閉眼が観察された。各観察時期における平均値の最大値(MMTS)は投与1時間後の13.7であった。

洗眼群においては、角膜混濁、結膜発赤、結膜浮腫及び眼脂分泌物が認められたが、その程度は非洗眼群と比べていずれも同等もしくは軽度であり、投与48時間後までに全ての動物の刺激反応は消失した。眼のその他の変化として閉眼が観察された。MMTSは投与1時間後の7.7であり、その刺激性は洗眼によって明らかに低下し洗眼効果を認めた。

各群共に、対照眼の評点は全て0であり、観察期間を通じて変化は何ら認められなかった。

表 1. 眼一次刺激性試験成績

項目			最高 評点	投 与 後 時 間						
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	96 時間	5 日	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜	程 度	4	1	1*	1	0	0	0
		混濁	面 積	4	1	1	1	0	0	0
		虹	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	2	1	1	1	0
			浮 腫	4	2	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	2	1	0	0	0
		合 計**			110	15	15	9	2	2
	動物 番号 2	角膜	程 度	4	1	1*	1	0	0	0
		混濁	面 積	4	1	1	1	0	0	0
		虹	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	1	1	1	1	0
			浮 腫	4	1	1	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	0	0	0	0
		合 計**			110	13	11	7	2	2
	動物 番号 3	角膜	程 度	4	1	1*	1	0	0	0
		混濁	面 積	4	1	1	1	0	0	0
		虹	虹 彩	2	0	0	0	0	0	0
		結膜	発 赤	3	1	1	1	0	0	0
			浮 腫	4	1	0	0	0	0	0
			分泌物	3	2	1	0	0	0	0
		合 計**			110	13	9	7	0	0
	総 計			660	41	35	23	4	4	0
	平 均 (MTS)			110	13.7	11.7	7.7	1.3	1.3	0
	洗眼群 (3 匹の 平均)	角膜	程 度	4	0.33	0*	0	0	0	0
混濁		面 積	4	0.33	0	0	0	0	0	
虹		虹 彩	2	0	0	0	0	0	0	
結膜		発 赤	3	1	0.67	0	0	0	0	
		浮 腫	4	0.67	0	0	0	0	0	
		分泌物	3	1.33	0	0	0	0	0	
合 計 (MTS)			110	7.7	1.3	0	0	0	0	

*:フルオレセイン染色斑なし

** : Draize 法による評価点 合計=角膜 (程度×面積×5) +虹彩×5+結膜 (発赤+浮腫+分泌物) ×2

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

表 2. MTS : 適用眼

観察期間 (適用後)	MTS	
	検体非洗眼群	検体洗眼群
1 時間	13.7*	7.7*
2 4 時間	11.7	1.3
4 8 時間	7.7	0
7 2 時間	1.3	0
9 6 時間	1.3	0
5 日	0	0

*: MMTS

以上の結果から、本試験条件下において検体は、ウサギの眼に対して「軽度の刺激性あり」と結論され、明らかな洗眼効果が認められた。

(3) 皮膚感作性

38%顆粒水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buehler 法)

(毒性資料 No. 製剤-11)

試験機関:

[G L P 対応]

報告書作成年月日: 2001年 9月 13日

検体の純度 : 38.0%顆粒水和剤
組成 スピロジクロフェン原体 ; 38.0%
界面活性剤、鋳物質微粉等 ; 62.0%

試験動物 : ハートレー系雌モルモット、1群 20匹、
試験開始時体重 ; 309~375g (6週齢)

試験期間 : 約5週間

【試験方法】

Buehler 法により行った。

試験濃度設定の理由

試験試料の調製

検体を、所定濃度に注射用水で用時希釈した。無感作群には注射用水を感作用試料として用いた。

感作及び惹起処置

感作開始前日左側胴部を刈毛した。感作開始日に検体 50%の感作試料 0.2mL を6時間ずつ7日間隔で3回閉塞貼付した。最終感作の13日後に全動物の右側胴部を毛刈りした。その翌日(最終感作14日後)、検体 50%の惹起試料 0.2mL を6時間貼付した。注射用水で投与部位を清拭した。

【観察項目】

紅斑や浮腫などの皮膚反応の観察は、惹起貼付除去後 24 及び 48 時間に行い、以下の評価表に従って判定した。

皮膚反応の評価法

肉眼的変化なし	0
散在性又は斑状の紅斑	1
中等度のびまん性紅斑	2
強い紅斑と浮腫	3

また、一般症状の観察は、惹起後の皮膚の観察終了日まで毎日行った。体重測定は、感作開始日(0日)、感作終了日(14日)、惹起日(28日)及び惹起後2日(30日)に全動物について行った。

【評価】

皮膚反応の評価表により、採点した個体別の評点を合計し、観察時間ごとに各試験群の平均評点を算出するとともに、評点1以上を陽性とする陽性率を求め、感作群と非感作群の平均評点及び陽性率を比較して感作性を評価した。

【結果】

[一般観察]

全例共一般状態に異常は観察されず、また観察終了日の体重にも著変は認められなかった。

[感作性]

各観察時間における皮膚反応の判定結果を以下の表に示す。

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
				貼付除去後 24 時間				貼付除去後 48 時間				24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	50	50	20	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	100	10	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表に示した様に、検体 50%で惹起したとき、感作群、無感作群ともに皮膚反応は全く認められず、陽性率は0%であった。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断する。

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

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、別の実施した Buehler 法による試験結果を次に示す。

試験実施日 (2001年5月9日～7月9日)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	感作反応動物数								平均評点		陽性動物数		感作陽性率 (%)	
				貼付除去後 24 時間				貼付除去後 48 時間				24 時間	48 時間	24 時間	48 時間	24 時間	48 時間
				皮膚反応評点													
				0	1	2	3	0	1	2	3						
感作	1	0.25	10	0	0	8	2	0	6	2	2	2.2	1.6	10	10	100	100
		0#		10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	0	0.25	5	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0#		5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*エタノール

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB には明らかな感作性が認められ、動物の感作性物質に対する感受性及び試験方法の信頼性が確認された。

IX. 動植物及び土壌等における代謝分解

<代謝分解試験一覧表>

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁																																																																																
1	動物における動態と代謝	ラット	¹⁴ C 投与方法：経口 1 回 試験群 6 投与量：100mg/kg 雄 4 頭 高投与量 168 時間後屠殺 試験群 7 投与量：2mg/kg 雄 4 頭 呼気採取 48 時間後屠殺 試験群 8 投与量：2mg/kg 雄 4 頭 低投与量 48 時間後屠殺 試験群 9 投与量：2mg/kg 雌 4 頭 低投与量 48 時間後屠殺 試験群 10 投与量：2mg/kg 雄 4 頭 連続投与 48 時間後屠殺 試験群 13 投与量：1mg/kg 雄 6 頭 胆汁採取 24 時間後屠殺	吸収分布排泄	<p>総回収率：約89～107%</p> <p><u>吸収、分布、消失、薬物動態パラメータ</u></p> <ul style="list-style-type: none"> 投与と吸収開始の遅延時間は全試験群で、0.22-0.27hであり、投与後直ちに胃腸管からの吸収が開始された。 消失半減期は低投与量雄(4.25h)、雌(3.35h)、高投与量雄(3.13h)であり性及び投与量による差は無かった。 平均滞留時間は全試験群で約8.4-11.6hで性及び投与量による差は無かった。 <p><u>排泄</u></p> <ul style="list-style-type: none"> 呼気排泄：0.05% 約88%以上が尿及び糞から排泄された。 尿排泄は、低投与量で約57-74%、高投与量で約35%、連続投与で約67%であった。 糞排泄は、低投与量で約23-31%、高投与量で約61%であり、高投与量を除いて尿排泄と糞排泄の比は、1.8-3.2であり尿が主要な排泄経路であった。 屠殺時の胃腸管を除く動物体への残留割合は、胆汁採取群を除き、約0.0003-0.55%であった。 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th colspan="2"></th> <th colspan="6">投与放射線量に対する回収放射線量(%)</th> </tr> <tr> <th>試験群：</th> <th></th> <th>6高雄</th> <th>7呼気</th> <th>8低雄</th> <th>9低雌</th> <th>10連投</th> <th>13胆汁</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>呼気</td> <td></td> <td>—</td> <td>0.05</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td></td> <td>35.06</td> <td>62.13</td> <td>57.28</td> <td>74.20</td> <td>66.60</td> <td>24.27</td> </tr> <tr> <td>胆汁</td> <td></td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>—</td> <td>11.94</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td></td> <td>61.23</td> <td>30.90</td> <td>31.08</td> <td>23.28</td> <td>27.63</td> <td>31.27</td> </tr> <tr> <td>排泄計</td> <td></td> <td>96.29</td> <td>93.08</td> <td>88.36</td> <td>97.48</td> <td>94.23</td> <td>67.48</td> </tr> <tr> <td>動物体 (胃腸管を除く)</td> <td></td> <td>0.0003</td> <td>0.3776</td> <td>0.5513</td> <td>0.0156</td> <td>0.1496</td> <td>26.160</td> </tr> </tbody> </table> <p><u>代謝</u></p> <p>尿中の主代謝物は雄では であ り、雌では であった。ただし の合計量はほぼ同 であった。また、少量代謝物として、 等が見られた。糞中 の主代謝物は性差がなく、 であった。また少量代謝物として、 等が認めら れた。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>2mg/kg、1回経口</td> <td>主代謝物</td> <td>雄</td> <td>雌</td> </tr> <tr> <td>尿</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>2mg/kg、1回経口</td> <td>主代謝物</td> <td colspan="2">雄雌両方</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </table>			投与放射線量に対する回収放射線量(%)						試験群：		6高雄	7呼気	8低雄	9低雌	10連投	13胆汁	呼気		—	0.05	—	—	—	—	尿		35.06	62.13	57.28	74.20	66.60	24.27	胆汁		—	—	—	—	—	11.94	糞		61.23	30.90	31.08	23.28	27.63	31.27	排泄計		96.29	93.08	88.36	97.48	94.23	67.48	動物体 (胃腸管を除く)		0.0003	0.3776	0.5513	0.0156	0.1496	26.160	2mg/kg、1回経口	主代謝物	雄	雌	尿				2mg/kg、1回経口	主代謝物	雄雌両方		糞				(2000年)	代 21
		投与放射線量に対する回収放射線量(%)																																																																																					
試験群：		6高雄	7呼気	8低雄	9低雌	10連投	13胆汁																																																																																
呼気		—	0.05	—	—	—	—																																																																																
尿		35.06	62.13	57.28	74.20	66.60	24.27																																																																																
胆汁		—	—	—	—	—	11.94																																																																																
糞		61.23	30.90	31.08	23.28	27.63	31.27																																																																																
排泄計		96.29	93.08	88.36	97.48	94.23	67.48																																																																																
動物体 (胃腸管を除く)		0.0003	0.3776	0.5513	0.0156	0.1496	26.160																																																																																
2mg/kg、1回経口	主代謝物	雄	雌																																																																																				
尿																																																																																							
2mg/kg、1回経口	主代謝物	雄雌両方																																																																																					
糞																																																																																							

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量 に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載 頁代																																								
2	動物における動態と代謝 (亜急性)	ラット 前投与期間: 15週間 混餌 投与後の試験期間: 48時間	¹⁴ C 雌雄各4匹で計4群 試験群1(雄),2(雌) 50 ppm 混餌投与 試験群3(雄),4(雌) 2500 ppm 混餌投与 約15週間の非放射能標識体の自由摂取後、放射能標識体 2mg/kg を経口投与	吸収分布 排泄	<p>総回収率: 約86~103%</p> <p>吸収、分布、消失、薬物動態パラメータ ・投与と吸収開始の遅延時間は全試験群で、約0.2-0.3hであり、投与後直ちに胃腸管からの吸収が開始された。 ・消失半減期は全群で約4-5hであり性及び前投与量による差はなかった。 ・平均滞留時間は全試験群で約8-10hで性及び投与量による差はなかった。 ・薬物動態パラメータに性差及び前投与濃度による差は認められず、代謝資料1と本試験の結果は類似していた。</p> <p>排泄 ・全試験群において、約84-103%が尿及び糞へ排泄された。 ・尿排泄(約56-75%)と糞排泄(約22-31%)の比は約2-3.5で尿が主排泄経路であった。 ・屠殺時の胃腸管を除く動物体への残留量は、性及び前投与濃度に関係なく約0.2-0.9%であった。以上いずれも性及び前投与濃度による有意差は認められなかった。またこれは代謝資料1と同様の結果であった。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="5">投与量・濃度に対する回収率(%)</th> </tr> <tr> <th>試験群:</th> <th>1</th> <th>2</th> <th>3</th> <th>4</th> </tr> <tr> <th>混餌濃度:</th> <th>50ppm</th> <th>50ppm</th> <th>2500ppm</th> <th>2500ppm</th> </tr> <tr> <th>性</th> <th>雄</th> <th>雌</th> <th>雄</th> <th>雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>尿</td> <td>71.97</td> <td>74.67</td> <td>61.41</td> <td>56.38</td> </tr> <tr> <td>糞</td> <td>30.55</td> <td>21.63</td> <td>30.76</td> <td>27.64</td> </tr> <tr> <td>尿・糞計 (尿/糞)</td> <td>102.52 (2.35)</td> <td>96.30 (3.45)</td> <td>92.17 (1.99)</td> <td>84.02 (2.03)</td> </tr> <tr> <td>動物体 (胃腸管を除く)</td> <td>0.2636</td> <td>0.1839</td> <td>0.6197</td> <td>0.9135</td> </tr> </tbody> </table> <p>代謝 尿中の主成分は雄では であり、雌では であった。ただし、 の合算は雌雄で類似していた。糞中の成分には性差がなく、 の順であった。</p>	投与量・濃度に対する回収率(%)					試験群:	1	2	3	4	混餌濃度:	50ppm	50ppm	2500ppm	2500ppm	性	雄	雌	雄	雌	尿	71.97	74.67	61.41	56.38	糞	30.55	21.63	30.76	27.64	尿・糞計 (尿/糞)	102.52 (2.35)	96.30 (3.45)	92.17 (1.99)	84.02 (2.03)	動物体 (胃腸管を除く)	0.2636	0.1839	0.6197	0.9135	(2000年)	42
投与量・濃度に対する回収率(%)																																															
試験群:	1	2	3	4																																											
混餌濃度:	50ppm	50ppm	2500ppm	2500ppm																																											
性	雄	雌	雄	雌																																											
尿	71.97	74.67	61.41	56.38																																											
糞	30.55	21.63	30.76	27.64																																											
尿・糞計 (尿/糞)	102.52 (2.35)	96.30 (3.45)	92.17 (1.99)	84.02 (2.03)																																											
動物体 (胃腸管を除く)	0.2636	0.1839	0.6197	0.9135																																											
主成分					50ppm 前投与 雄 雌	2500ppm 前投与 雄 雌																																									
尿					雄雌両方																																										
糞					雄雌両方																																										

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

資料 No.	試験の種類	供試動物植物期間	供試化合物 ¹⁴ C標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁
3	動物における動態と代謝	ラット(雄) 48時間	¹⁴ C 3mg/kg 1回経口投与	全身オートラジオグラフィ	<p>投与1時間後、胃に強い黒化が認められ、小腸、肝臓、腎臓の順に強い黒化が見られた。また体内に速やかに分布していることが確認された。</p> <p>4時間後、放射能分布パターンは1時間後と同じであったが、腸の内容物及び膀胱で1時間後より強い黒化が観察され、尿及び糞への排泄が開始されていることが示唆された。</p> <p>8時間後、最も高いレベルの黒化が腎臓、肝臓、腸管で認められた。</p> <p>24時間後、総放射能量は顕著に減少した。最も高いレベルの黒化が、肝臓、腎臓、腸管で認められた。</p> <p>48時間後、放射能は腎臓、肝臓、小腸の一部及び糞でのみ検出可能であった。</p> <p>放射能が特定の臓器・組織に蓄積する傾向は全く認められなかった。</p> <p><u>薬物動態のまとめ</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・胃消化管から速やかに吸収される。 ・主要な代謝臓器である肝臓と排泄を制御する主要な臓器である腎臓へ最初に分布し、さらに動物体に分布する。 ・小腸、胃粘膜及び胃上皮深層への放射能の胆汁による分泌 ・ホルモンを制御する分泌臓器あるいは組織(例えば、副腎、精巣または甲状腺)には程度の強い黒化が認められなかった。 ・特定の臓器及び組織に放射能の蓄積が認められなかった。 	(2000年)	代55
4	動物における動態と代謝	ラット(雄) 48時間	¹⁴ C 3mg/kg 1回経口投与	全身オートラジオグラフィ	<p>投与後の雌ラット動物体内での放射能の分布消失は、雄ラット(代謝資料No.3)と同様の挙動を示した。</p> <p><u>薬物動態のまとめ</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ・胃腸管から速やかに吸収される。 ・主要な代謝臓器である肝臓と排泄を制御する主要な臓器である腎臓へ最初に分布し、さらに動物体へ分布する。 ・小腸及び胃への放射能の胆汁による分泌 ・ホルモンを制御する分泌臓器あるいは組織(例えば、副腎、卵巣、子宮または甲状腺)には程度の強い黒化が認められなかった。 ・特定の臓器及び組織に放射能の蓄積が認められなかった。 ・雄ラットによるオートラジオグラフィ試験と同様の挙動が認められた。 	(2000年)	代64

資料 No.	試験の種類	供試動物植物期間	供試化合物 ¹⁴ C標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁	
5	動物における動態と代謝 (尿、血漿、肝臓及び腎臓における残留及び代謝物の消長)	ラット 3、6、 24時間	¹⁴ C 投与方法：経口1回 投与量：2 mg/kg 試験群 1～3：雄 4匹 試験群 4～6：雌 4匹	尿、血漿、腎臓及び肝臓における残留及び代謝物の消長	<ul style="list-style-type: none"> ・回収率： 雄：94.29～101.30% 雌：89.77～98.71% ・臓器・組織における残留： 雌雄いずれのラットにおいても、投与3時間後に屠殺した臓器及び組織(糞を含む胃腸管を除く)における残留量が最大であった。最高残留濃度は雌雄いずれにおいても肝臓で検出された。いずれの臓器及び組織(糞を含む胃腸管を除く)、いずれの性においても残留濃度は投与後3時間から24時間にかけて>10のファクターで減少した。 	(2002年)	代 73	
			臓器及び組織における残留 (換算濃度 mg/kg)					
			試験群1	試験群2	試験群3	試験群4	試験群5	試験群6
採取(屠殺)時間			3時間	6時間	24時間	3時間	6時間	24時間
性			雄	雄	雄	雌	雌	雌
試料								
赤血球			0.580	0.515	0.040	0.531	0.324	0.002
血漿			4.466	3.465	0.243	3.765	2.818	0.024
肝臓			13.444	8.422	0.696	9.447	7.255	0.044
腎臓			3.369	2.543	0.329	4.826	3.796	0.046
残体			0.403	0.350	0.029	0.318	0.242	0.005
胃腸管を除く動物体			1.057	0.842	0.069	0.729	0.608	0.007
皮膚			0.574	0.495	0.042	0.410	0.347	0.005
胃腸管+糞			11.378	5.698	6.017	15.654	8.156	3.364
全動物体+糞			1.805	1.433	0.806	1.801	1.238	0.485
1) 糞は対応するラットの胃腸管に加え、胃腸管と共に放射エネルギーを測定した。胃腸管の放射エネルギーは糞の放射エネルギーを含む。								
					・尿中代謝物： 雄では が、雌では が 主要代謝物であった。			
			尿中代謝物の消長 (投与量に対する割合%)					
			試験群1	試験群2	試験群3	試験群4	試験群5	試験群6
採取(屠殺)時間			3時間	6時間	24時間	3時間	6時間	24時間
性			雄	雄	雄	雌	雌	雌
成分								
			0	0.97	1.55	1.49	22.33	56.18
			1.83	18.90	52.74	3.53	12.07	17.84

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁																																																														
5 続き	動物における動態と代謝 (尿、血漿、肝臓及び腎臓における残留及び代謝物の消長)	ラット 3、6、 24 時間	¹⁴ C 投与方法：経口 1回 投与量：2 mg/kg 試験群 1 ～3：雄 4 匹 試験群 4 ～6：雌 4 匹	尿、血漿、 腎臓及び 肝臓にお ける残留 及び代謝 物の消長	<p>・血漿、肝臓及び腎臓中代謝物： 雌雄いずれにおいてもエノール体 が血漿中の主要代謝物であった。 血漿中濃度に雌雄 の違いは認められなかった。</p> <p>は雄ラットの血漿中で 低いレベルで認められたが、雌ラ ットの血漿中では認められなかつ た。 雌雄いずれにおいても、 が肝臓中の主要代謝物であつ た。血漿とは異なり、雌雄いずれに おいても が認められた が、雌ラットの肝臓中におけるそれ らの濃度は雄ラットの肝臓中に比 べて低かった。 肝臓と同様に、 は雌 雄いずれにおいても認められ、ま た、雌ラットの腎臓中におけるそれ らの濃度は雄ラットの腎臓中に比 べて低かった。</p>	(2002年)	代 73																																																														
<p>血漿、肝臓及び腎臓中における代謝物の消長 (換算濃度 mg/kg)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">採取 (屠殺) 時間 性</th> <th>試験群1</th> <th>試験群2</th> <th>試験群3</th> <th>試験群4</th> <th>試験群5</th> <th>試験群6</th> </tr> <tr> <th>3時間 雄</th> <th>6時間 雄</th> <th>24時間 雄</th> <th>3時間 雌</th> <th>6時間 雌</th> <th>24時間 雌</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>成分</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>血漿</td> <td>3.344</td> <td>2.599</td> <td>0.123</td> <td>3.765</td> <td>2.818</td> <td>0.024</td> </tr> <tr> <td></td> <td>1.037</td> <td>0.867</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>肝臓</td> <td>10.549</td> <td>6.714</td> <td>0.398</td> <td>9.179</td> <td>7.092</td> <td>0.042</td> </tr> <tr> <td></td> <td>2.375</td> <td>1.514</td> <td>0.285</td> <td>0.254</td> <td>0.153</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>腎臓</td> <td>2.115</td> <td>1.661</td> <td>0.129</td> <td>4.371</td> <td>3.672</td> <td>0.044</td> </tr> <tr> <td></td> <td>1.188</td> <td>0.832</td> <td>0.188</td> <td>0.453</td> <td>0.121</td> <td>0</td> </tr> </tbody> </table>								採取 (屠殺) 時間 性	試験群1	試験群2	試験群3	試験群4	試験群5	試験群6	3時間 雄	6時間 雄	24時間 雄	3時間 雌	6時間 雌	24時間 雌	成分							血漿	3.344	2.599	0.123	3.765	2.818	0.024		1.037	0.867	0	0	0	0	肝臓	10.549	6.714	0.398	9.179	7.092	0.042		2.375	1.514	0.285	0.254	0.153	0	腎臓	2.115	1.661	0.129	4.371	3.672	0.044		1.188	0.832	0.188	0.453	0.121	0
採取 (屠殺) 時間 性	試験群1	試験群2	試験群3	試験群4	試験群5	試験群6																																																															
	3時間 雄	6時間 雄	24時間 雄	3時間 雌	6時間 雌	24時間 雌																																																															
成分																																																																					
血漿	3.344	2.599	0.123	3.765	2.818	0.024																																																															
	1.037	0.867	0	0	0	0																																																															
肝臓	10.549	6.714	0.398	9.179	7.092	0.042																																																															
	2.375	1.514	0.285	0.254	0.153	0																																																															
腎臓	2.115	1.661	0.129	4.371	3.672	0.044																																																															
	1.188	0.832	0.188	0.453	0.121	0																																																															

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験機関 (報告年)	記載頁																										
7		レシ ①21 日後 収穫	¹⁴ C フロアブル剤 含有量：22.9% (w/v) 1 回散布 (約 1.5 倍量、晩期処理)	分布代謝	(1999 年)	代 92																										
<p>試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)</p> <p>散布処理 21 日後の果実には 0.263 mg/kg が検出され、99.8%が果皮に存在し、果肉には 0.1%であった。各画分における残留割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>TRR に対する%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><u>果皮</u></td> <td><u>(99.8)</u></td> </tr> <tr> <td>表面洗浄液</td> <td>62.2</td> </tr> <tr> <td>有機溶媒/水抽出物 1</td> <td>36.1</td> </tr> <tr> <td>有機層</td> <td>24.7</td> </tr> <tr> <td>水層</td> <td>11.4</td> </tr> <tr> <td>未抽出残留物 1</td> <td>1.5</td> </tr> <tr> <td><u>果肉</u></td> <td><u>(0.1)</u></td> </tr> <tr> <td>有機溶媒/水抽出物 2</td> <td><0.1</td> </tr> <tr> <td>未抽出残留物 2</td> <td><0.1</td> </tr> <tr> <td><u>TRR</u></td> <td><u>100.0</u></td> </tr> </tbody> </table> <p>TRR の 10%を超える代謝物はなかった。最も多く残留していたのは親化合物 [I] であり、最大量の代謝物は の 2.9%であった。</p> <p>TRR に対する各成分の割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>TRR に対する%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>スピロキサフェン [I]</td> <td>75.3</td> </tr> </tbody> </table> <p>これらの結果は、代謝試験に供したその他の植物と同様の結果であった。</p>							画分	TRR に対する%	<u>果皮</u>	<u>(99.8)</u>	表面洗浄液	62.2	有機溶媒/水抽出物 1	36.1	有機層	24.7	水層	11.4	未抽出残留物 1	1.5	<u>果肉</u>	<u>(0.1)</u>	有機溶媒/水抽出物 2	<0.1	未抽出残留物 2	<0.1	<u>TRR</u>	<u>100.0</u>	成分	TRR に対する%	スピロキサフェン [I]	75.3
画分	TRR に対する%																															
<u>果皮</u>	<u>(99.8)</u>																															
表面洗浄液	62.2																															
有機溶媒/水抽出物 1	36.1																															
有機層	24.7																															
水層	11.4																															
未抽出残留物 1	1.5																															
<u>果肉</u>	<u>(0.1)</u>																															
有機溶媒/水抽出物 2	<0.1																															
未抽出残留物 2	<0.1																															
<u>TRR</u>	<u>100.0</u>																															
成分	TRR に対する%																															
スピロキサフェン [I]	75.3																															

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験機関 (報告年)	記載頁																																																	
8	植物における分布と代謝	りんご ①84 日後 収穫 ②23 日後 収穫 1) 果実 2) 葉	¹⁴ C フロアブル 剤 ①1 回散布 (約 0.9 倍量、早期処理) ②1 回散布 (約 0.9 倍量、晚期処理)	分布代謝①②	(1999 年)	代 102																																																	
<p>試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)</p> <p>1) 果実: TRR は早期処理で 0.390 mg/kg、晚期処理で 0.853 mg/kg であった。大部分の残留はりんご表面に存在しており、その全てが親化合物 [I] であった。</p> <p>各画分における残留割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">画分</th> <th colspan="2">TRR に対する%</th> </tr> <tr> <th>①早期</th> <th>②晚期</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>表面洗浄液</td> <td>82.75</td> <td>98.04</td> </tr> <tr> <td>抽出液</td> <td>16.34</td> <td>1.89</td> </tr> <tr> <td> 有機相</td> <td>10.34</td> <td>1.67</td> </tr> <tr> <td> 水相</td> <td>6.00</td> <td>0.22</td> </tr> <tr> <td>未抽出残留物</td> <td>0.92</td> <td>0.07</td> </tr> <tr> <td>TRR</td> <td>100.01</td> <td>100.00</td> </tr> </tbody> </table> <p>TRR に対する各成分の果実全体における割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2">成分</th> <th colspan="2">TRR に対する%</th> </tr> <tr> <th>①早期</th> <th>②晚期</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>スピロジクロフェン [I]</td> <td>89.31</td> <td>99.49</td> </tr> </tbody> </table> <p>これらの結果は、代謝試験に供したその他の植物と同様の結果であった。</p> <p>2) 葉 (晚期処理): TRR は 59.728 mg/kg であった。各画分における残留割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>TRR に対する%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>表面洗浄液</td> <td>96.66</td> </tr> <tr> <td>有機溶媒/水抽出液</td> <td>3.24</td> </tr> <tr> <td> n-ヘキサン相</td> <td>2.16</td> </tr> <tr> <td> 水相 1</td> <td>1.08</td> </tr> <tr> <td>未抽出残留物</td> <td>0.10</td> </tr> <tr> <td>TRR</td> <td>100.00</td> </tr> </tbody> </table> <p>TRR に対する各成分の割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>TRR に対する%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>スピロジクロフェン [I]</td> <td>98.81</td> </tr> </tbody> </table>							画分	TRR に対する%		①早期	②晚期	表面洗浄液	82.75	98.04	抽出液	16.34	1.89	有機相	10.34	1.67	水相	6.00	0.22	未抽出残留物	0.92	0.07	TRR	100.01	100.00	成分	TRR に対する%		①早期	②晚期	スピロジクロフェン [I]	89.31	99.49	画分	TRR に対する%	表面洗浄液	96.66	有機溶媒/水抽出液	3.24	n-ヘキサン相	2.16	水相 1	1.08	未抽出残留物	0.10	TRR	100.00	成分	TRR に対する%	スピロジクロフェン [I]	98.81
画分	TRR に対する%																																																						
	①早期	②晚期																																																					
表面洗浄液	82.75	98.04																																																					
抽出液	16.34	1.89																																																					
有機相	10.34	1.67																																																					
水相	6.00	0.22																																																					
未抽出残留物	0.92	0.07																																																					
TRR	100.01	100.00																																																					
成分	TRR に対する%																																																						
	①早期	②晚期																																																					
スピロジクロフェン [I]	89.31	99.49																																																					
画分	TRR に対する%																																																						
表面洗浄液	96.66																																																						
有機溶媒/水抽出液	3.24																																																						
n-ヘキサン相	2.16																																																						
水相 1	1.08																																																						
未抽出残留物	0.10																																																						
TRR	100.00																																																						
成分	TRR に対する%																																																						
スピロジクロフェン [I]	98.81																																																						

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験機関 (報告年)	記載頁																													
9	植物における分布と代謝	ぶどう ①64日後収穫 ②21日後収穫	⁻¹⁴ C フロアブル剤 ①1回散布 (約 1.1 倍量、早期処理) ②1回散布 (約 0.9 倍量、晚期処理)	分布代謝 ①②	(1999年)	代 112																													
<p>試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)</p> <p>TRR は早期処理で 1.12 mg/kg、晚期処理で 1.90 mg/kg であった。各画分における残留割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>画分</th> <th>①早期</th> <th>②晚期</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>表面洗浄液</td> <td>56.8</td> <td>95.8</td> </tr> <tr> <td>有機溶媒/水抽出液</td> <td>42.0</td> <td>4.1</td> </tr> <tr> <td> 有機相</td> <td>8.8</td> <td>1.7</td> </tr> <tr> <td> 水相</td> <td>33.2</td> <td>2.4</td> </tr> <tr> <td>未抽出残留物</td> <td>1.2</td> <td>0.1</td> </tr> <tr> <td>TRR</td> <td>100.0</td> <td>100.0</td> </tr> </tbody> </table> <p>TRR に対する各成分の割合は次の通りであった。</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">TRR に対する%</th> </tr> <tr> <th>①早期</th> <th>②晚期</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>スピロシクロフェン[I]</td> <td>57.6</td> <td>96.4</td> </tr> </tbody> </table> <p>これらの結果は、代謝試験に供したその他の植物と同様の結果であった。</p>							画分	①早期	②晚期	表面洗浄液	56.8	95.8	有機溶媒/水抽出液	42.0	4.1	有機相	8.8	1.7	水相	33.2	2.4	未抽出残留物	1.2	0.1	TRR	100.0	100.0		TRR に対する%		①早期	②晚期	スピロシクロフェン[I]	57.6	96.4
画分	①早期	②晚期																																	
表面洗浄液	56.8	95.8																																	
有機溶媒/水抽出液	42.0	4.1																																	
有機相	8.8	1.7																																	
水相	33.2	2.4																																	
未抽出残留物	1.2	0.1																																	
TRR	100.0	100.0																																	
	TRR に対する%																																		
	①早期	②晚期																																	
スピロシクロフェン[I]	57.6	96.4																																	
資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験項目	試験結果の概要 (投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)	試験機関 (報告年)	記載頁																												
10	植物における移行性	グレープフルーツ 85日後収穫 i) 果実 ii) 葉	⁻¹⁴ C フロアブル剤 1回塗布処理 (約 1.5 倍量)	移行性	グレープフルーツを用いて、葉から果実への移行性を試験した。 果実から処理放射能の 0.07% の放射能が検出され、果実へはほとんど移行しないことが示された。	(1999年)	代 122																												

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験期間 (報告年)	記載頁																		
11	土壌代謝 (畑地条件)	畑地土壌 4 種類 砂壤土 (アカ、Fresno 土壌) 砂土 (アカ、Vero Beach 土壌) 壤質砂土 (ドイツBBA 2.2 土壌) シルト (ドイツHoefchen 土壌)	¹⁴ C スピロジクロフェン 添加濃度： 通常量 約 11.1 µg/100g 乾土 (0.25 kg ai/ha 相当) 高薬量 (Fresno 土壌) 約 53.3 µg/100g 乾土 (1.20 kg ai/ha 相当)	(1999 年)	代-126																		
<p>総回収率：94.1-105.6%であり良好であった。</p> <p>CO₂の生成量は経時的に増加し、120 日後に約 23-93%で、土壌微生物は経時的に減少したものの影響を与えなかった。また高薬量では CO₂の生成速度は通常量より遅かったものの、影響を与えないと考察された。</p> <p>半減期 スピロジクロフェン [I] は全ての土壌で速やかに分解した。分解速度に処理量の影響は認められなかった。</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>土壌</th> <th>DT₅₀ (日)</th> <th>DT₉₀ (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Fresno、通常量</td> <td>5.3</td> <td>58.6</td> </tr> <tr> <td>Fresno、高薬量</td> <td>6.0</td> <td>6.4</td> </tr> <tr> <td>Vero Beach</td> <td>5.5</td> <td>28.5</td> </tr> <tr> <td>BBA 2.2</td> <td>3.9</td> <td>43.4</td> </tr> <tr> <td>Hoefchen</td> <td>0.5</td> <td>13.6</td> </tr> </tbody> </table> <p>代謝 試験期間中いずれかの土壌で 10%を超える量で見られた主代謝物は、 の 4 種であった。以下に各 土壌における最大値、t_{max}及び DT₅₀を示す。 各代謝物は代謝経路の順位に従い、t_{max}に達した後、それぞれ CO₂にまで分解した。</p>						土壌	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)	Fresno、通常量	5.3	58.6	Fresno、高薬量	6.0	6.4	Vero Beach	5.5	28.5	BBA 2.2	3.9	43.4	Hoefchen	0.5	13.6
土壌	DT ₅₀ (日)	DT ₉₀ (日)																					
Fresno、通常量	5.3	58.6																					
Fresno、高薬量	6.0	6.4																					
Vero Beach	5.5	28.5																					
BBA 2.2	3.9	43.4																					
Hoefchen	0.5	13.6																					

成分	土 壌														
	Fresno 土壌 (通常量)			Fresno 土壌 (高薬量)			Vero Beach 土壌			BBA2.2 土壌			Hoefchen 土壌		
	最大 量 (%)	t _{max} (日)	DT ₅₀ (日)	最大 量 (%)	t _{max} (日)	DT ₅₀ (日)	最大 量 (%)	t _{max} (日)	DT ₅₀ (日)	最大 量 (%)	t _{max} (日)	DT ₅₀ (日)	最大 量 (%)	t _{max} (日)	DT ₅₀ (日)

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

資料 No.	試験の種類	供試 動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験機関 (報告年)	記載頁
12	土壌代謝 (畑地条件)	畑地土壌 1 種類 砂壤土 (7/11)、 Fresno 土壌	¹⁴ C スピロジクロフェン 添加濃度：通常量 約11.1 µg/100g 乾 土 (0.25 kg ai/ha 相当)	(1999年)	代 136
<p><u>試験結果の概要(投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)</u></p> <p>総回収率は、約 96-102% であり良好であった。</p> <p>CO₂ の発生量は経時的に増加し、119 日後には 69% に達し、標識よりやや速 かった。</p> <p>半減期：6.4 日で 標識の 5.3 日とほぼ等しかった。</p> <p>代謝 主代謝物は、で、い ずれも 標識の主要代謝物であった。 処理 28 日後に 5.9% と 4.7% の代謝物 が認められたが、その後速やかに減少したため、これらの構造は同定されなかった。 二酸化炭素が経時的に増加したため、[I] 及びその代謝物は土壌中で容易に分解し、 蓄積しないことが示唆された。</p>					

資料 No.	試験の種類	供試 動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験機関 (報告年)	記載頁																																																												
13	加水分解	①緩種液 pH4(酢酸) pH7(トリス) pH9(ホウ酸)	- ¹⁴ C スピロジクロフェン 添加濃度：約 0.025mg/L 本試験：25℃ (30 日間) 予備試験：50℃、pH4, 7 (7 日間) pH9 (16 日間)	(2000年)	代 143																																																												
試験結果の概要(投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)																																																																	
回収率は、3種の pH で約 100-102% で良好であった。試験の温度は 25±0.1℃ に保持されていた。																																																																	
半減期(日)：スピロジクロフェン [I] は、何れの pH においても分解したが、pH の上昇に伴って分解速度も速くなった。以下に半減期(日)を示す。20℃の値は外挿値。																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="4">半減期(日)</th> </tr> <tr> <th></th> <th>50℃</th> <th>25℃</th> <th>20℃</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>pH4</td> <td>3.1</td> <td>63.6</td> <td>119.6</td> </tr> <tr> <td>pH7</td> <td>2.5</td> <td>30.8</td> <td>52.1</td> </tr> <tr> <td>pH9</td> <td>0.4</td> <td>1.9</td> <td>2.5</td> </tr> </tbody> </table>						半減期(日)					50℃	25℃	20℃	pH4	3.1	63.6	119.6	pH7	2.5	30.8	52.1	pH9	0.4	1.9	2.5																																								
半減期(日)																																																																	
	50℃	25℃	20℃																																																														
pH4	3.1	63.6	119.6																																																														
pH7	2.5	30.8	52.1																																																														
pH9	0.4	1.9	2.5																																																														
分解物：加水分解物は の 1 種のみであった。以下に 25℃及び 50℃における加水分解消長を示す。																																																																	
25℃における加水分解の消長(処理放射能に対する%)																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">pH 4</th> <th colspan="2">pH 7</th> <th colspan="2">PH 9</th> </tr> <tr> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>94.9</td> <td>0</td> <td>101.3</td> <td>0</td> <td>100.4</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>93.6</td> <td>1</td> <td>95.8</td> <td>0.1</td> <td>94.3</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>91.5</td> <td>7</td> <td>84.1</td> <td>1</td> <td>62.5</td> </tr> <tr> <td>14</td> <td>82.7</td> <td>14</td> <td>70.9</td> <td>2</td> <td>43.6</td> </tr> <tr> <td>21</td> <td>73.6</td> <td>21</td> <td>58.6</td> <td>4</td> <td>17.5</td> </tr> <tr> <td>30</td> <td>70.3</td> <td>30</td> <td>51.0</td> <td>7</td> <td>7.7</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>14</td> <td>2.4</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td>30</td> <td>1.1</td> </tr> </tbody> </table>						pH 4		pH 7		PH 9		期間 [日]	[I]	期間 [日]	[I]	期間 [日]	[I]	0	94.9	0	101.3	0	100.4	2	93.6	1	95.8	0.1	94.3	7	91.5	7	84.1	1	62.5	14	82.7	14	70.9	2	43.6	21	73.6	21	58.6	4	17.5	30	70.3	30	51.0	7	7.7					14	2.4					30	1.1
pH 4		pH 7		PH 9																																																													
期間 [日]	[I]	期間 [日]	[I]	期間 [日]	[I]																																																												
0	94.9	0	101.3	0	100.4																																																												
2	93.6	1	95.8	0.1	94.3																																																												
7	91.5	7	84.1	1	62.5																																																												
14	82.7	14	70.9	2	43.6																																																												
21	73.6	21	58.6	4	17.5																																																												
30	70.3	30	51.0	7	7.7																																																												
				14	2.4																																																												
				30	1.1																																																												
50℃における加水分解消長(処理放射能に対する%)																																																																	
<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>pH 4</th> <th>pH 7</th> <th colspan="2">pH 9</th> </tr> <tr> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> <th>[I]</th> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>101.1</td> <td>102.1</td> <td>0</td> <td>94.8</td> </tr> <tr> <td>0.25</td> <td>95.5</td> <td>93.8</td> <td>0.04</td> <td>78.2</td> </tr> <tr> <td>1</td> <td>75.2</td> <td>69.1</td> <td>0.1</td> <td>54</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>64.1</td> <td>54.7</td> <td>0.25</td> <td>25.8</td> </tr> <tr> <td>3</td> <td>52.5</td> <td>41.2</td> <td>1</td> <td>8.5</td> </tr> <tr> <td>4</td> <td>39.3</td> <td>32.4</td> <td>4</td> <td>3.5</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>21.1</td> <td>14.4</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>							pH 4	pH 7	pH 9		期間 [日]	[I]	[I]	期間 [日]	[I]	0	101.1	102.1	0	94.8	0.25	95.5	93.8	0.04	78.2	1	75.2	69.1	0.1	54	2	64.1	54.7	0.25	25.8	3	52.5	41.2	1	8.5	4	39.3	32.4	4	3.5	7	21.1	14.4																	
	pH 4	pH 7	pH 9																																																														
期間 [日]	[I]	[I]	期間 [日]	[I]																																																													
0	101.1	102.1	0	94.8																																																													
0.25	95.5	93.8	0.04	78.2																																																													
1	75.2	69.1	0.1	54																																																													
2	64.1	54.7	0.25	25.8																																																													
3	52.5	41.2	1	8.5																																																													
4	39.3	32.4	4	3.5																																																													
7	21.1	14.4																																																															

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験機関(報告年)	記載頁																							
14	水中光分解 (緩衝液)	20%アセトニリル 含有 pH 4 緩衝液	①本試験： 試験濃度： 30.8 μg/L 期間：19 日 ②追加試験： 試験濃度： 28.4 μg/L 期間：18 日 暗対照および照射試料の結果を確認するため実施。 ③補足試験： 試験濃度： 26.4 μg/L 期間：17 日 標識位置の異なる被験物質で確認。	(2000 年)	代 153																							
回収率は、本試験で約 94-100%、追加試験で約 82-100%、補足試験で約 100-108%と良好であった。 連続照射における半減期 (日) :			[I] の水中における分解挙動等 [I] の水中光分解は、への加水分解と共に進行した。[I] は水中で光により分解されるが、太陽光の吸収が弱く、分解速度は遅いと考察される。一方加水分解により生成するは [I] よりも光吸収が強く速やかに光分解すると推定された。また、標識 [I] の分解が遅かったのは pH が低かったためと考えられる。以上のことから [I] の分解に光は大きな寄与をせず、加水分解が進行し、生じたが速やかに光により分解すると考察される。 分解物として 10% を超えたのは CO ₂ のみであった。																									
水中光分解物 ①本試験 (⁻¹⁴ C) 主分解物は二酸化炭素であった。二酸化炭素は経時的に増加した。は 12 日後から検出され始めた。 (処理放射能に対する%)			[I] の環境中での推定半減期 (東京、4 月~6 月)																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> <th>CO₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0</td> <td>100.0</td> <td>n. d.</td> </tr> <tr> <td>2</td> <td>90.1</td> <td>1.2</td> </tr> <tr> <td>7</td> <td>88.1</td> <td>9.2</td> </tr> <tr> <td>19</td> <td>61.0</td> <td>21.8</td> </tr> </tbody> </table> n. d.: 検出せず			期間 [日]	[I]	CO ₂	0	100.0	n. d.	2	90.1	1.2	7	88.1	9.2	19	61.0	21.8	<table border="1"> <thead> <tr> <th>標識位置</th> <th>半減期 (日)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>本試験</td> <td>約 270</td> </tr> <tr> <td>追加試験</td> <td>約 260</td> </tr> <tr> <td>補足試験</td> <td>約 1100</td> </tr> </tbody> </table>			標識位置	半減期 (日)	本試験	約 270	追加試験	約 260	補足試験	約 1100
期間 [日]	[I]	CO ₂																										
0	100.0	n. d.																										
2	90.1	1.2																										
7	88.1	9.2																										
19	61.0	21.8																										
標識位置	半減期 (日)																											
本試験	約 270																											
追加試験	約 260																											
補足試験	約 1100																											
②追加試験 (⁻¹⁴ C) 分解速度はやや速かったものの本試験と同様に分解した。			環境中での推定半減期は、連続照射により得られた実験値を 1 日約 5 時間の断続的な太陽光照射に外挿することにより得られた値である。一方、光分解と異なり加水分解は自然条件においても実験条件と同様連続的に起こるため、自然環境中の河川水の pH 及び本試験での暗条件における [I] の分解を考慮すると、環境水中における [I] の分解半減期は加水分解試験の pH 4 緩衝液で得られた半減期約 64 日を超えないと考察される。																									
③補足試験 (⁻¹⁴ C) 本試験より pH が低く、分解は緩やかであった。																												

資料 No.	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験機関 (報告年)	記載頁																				
15	水中光分解 (緩衝液)	1%アセトリル含有 pH 4 緩衝液 - ¹⁴ C、期間:12 日	¹⁴ C スピロ ジクロフェン 試験濃度: 25.3 μg/L ¹⁴ C 試験濃度: 25.6 μg/L	(2001 年)	代 162																				
<p><u>回収率</u>: 97.1-107.1%で良好であった。</p> <p><u>連続照射における半減期 (日)</u> : 半減期: 10.8 日</p> <p><u>水中光分解物</u> 水中光分解物として がそれぞれ最高 10.9%及び 9.8%認められた。</p> <p>(処理放射能に対する%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>88.0</td></tr> <tr><td>1</td><td>91.0</td></tr> <tr><td>2</td><td>86.0</td></tr> <tr><td>4</td><td>76.3</td></tr> <tr><td>7</td><td>62.2</td></tr> <tr><td>10</td><td>48.8</td></tr> <tr><td>12</td><td>39.5</td></tr> <tr><td>10</td><td>73.0</td></tr> <tr><td>暗対照</td><td></td></tr> </tbody> </table> <p>n.d.:検出せず</p> <p><u>連続照射による分解物の半減期(日)</u> : 2.2 日 : 3.1 日</p> <p><u>水中における分解挙動等</u> [I]の光分解は への加水分解と共に進行した。水中では[I]の光による分解よりも、加水分解による への変換が速いため、[I]は主に加水分解により へ分解し、が光によりジオキソケトン体[M19]へと分解した。 の半減期はそれぞれ、2.2 日及び 3.1 日と速く、さらに CO₂にまで分解されることが、代謝資料 14 及び 16 の結果から考察された。</p>			期間 [日]	[I]	0	88.0	1	91.0	2	86.0	4	76.3	7	62.2	10	48.8	12	39.5	10	73.0	暗対照		<p><u>[I] の環境中での推定半減期</u> (東京、4 月～6 月) 半減期 (日) : 約 73</p> <p>この計算値は、連続照射により得られた実験値を 1 日約 5 時間の断続的な太陽光照射に外挿することにより得られた値である。一方、光分解と異なり加水分解は自然条件においても実験条件と同様連続的に起こるため、自然環境中の河川水の pH 及び本試験での暗条件における [I] の分解を考慮すると、環境水中における [I] の分解半減期は本試験の暗条件で得られた分解半減期を超えることはなく、その半減期は 37 日を超えないと考察される</p>		
期間 [日]	[I]																								
0	88.0																								
1	91.0																								
2	86.0																								
4	76.3																								
7	62.2																								
10	48.8																								
12	39.5																								
10	73.0																								
暗対照																									

資料 No	試験の種類	供試動植物 期間	供試化合物 ¹⁴ C 標識位置 投与方法・処理量	試験機関 (報告年)	記載頁																																			
16	水中光分解 (自然水)	20%アセトリル含有河川水 ①本試験 - ¹⁴ C; 期間:19日 ②補足試験 ¹⁴ C; 期間:12日	①本試験: ¹⁴ C ス ⁺ ロジクロフェン 試験濃度:20.7 μg/L ②補足試験: ¹⁴ C ス ⁻ ヒ ⁺ ロジクロフェン 試験濃度:26.2 μg/L	(2001年)	代 168																																			
<p>試験結果の概要: 回収率:①本試験:95.6-110.7%、②補足試験:89.0-101.8%であり良好であった。</p> <p>試験期間中の温度: 温度:①本試験では、25±1℃に保持された。 ②補足試験では、24.61±1.5℃であったが、25±1℃から外れた時間は、6日目以降に計約5時間であり、試験に影響を与えないと考察された。</p> <p>pH:本試験での19日後の照射試料及び暗対照及び補足試験の12日後の照射試料はpHが低下した。</p> <p>「I」の半減期(日)を下に示した。</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2"></th> <th colspan="2">推定半減期(日)</th> </tr> <tr> <th>実験条件下</th> <th>環境中 (東京、春)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>①本試験</td> <td>20.7</td> <td>約149</td> </tr> <tr> <td>②補足試験</td> <td>21.3</td> <td>約168</td> </tr> </tbody> </table> <p>水中光分解物 ①本試験(-¹⁴C)分解物として 及びCO₂が、それぞれ最高5.3%、5.2%、15.2%認められた。表を右欄に示す。 ②補足試験(-¹⁴C)本試験と同様に分解物として 及びCO₂が認められた。</p>				推定半減期(日)		実験条件下	環境中 (東京、春)	①本試験	20.7	約149	②補足試験	21.3	約168	<p>(処理放射能に対する%)</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>期間 [日]</th> <th>[I]</th> <th>CO₂</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td>94.2</td><td>1.9</td></tr> <tr><td>2</td><td>98.2</td><td>7.6</td></tr> <tr><td>5</td><td>81.3</td><td>4.3</td></tr> <tr><td>7</td><td>80.0</td><td>9.0</td></tr> <tr><td>12</td><td>64.6</td><td>6.1</td></tr> <tr><td>19</td><td>52.3</td><td>15.2</td></tr> <tr><td>暗対照 19</td><td>63.4</td><td>0.1</td></tr> </tbody> </table> <p>n.d.:検出せず</p> <p>水中における分解挙動等 [I]の水中光分解においては、光分解よりも加水分解の影響が大きく特に環境水のpH領域では、加水分解の影響が大きいと考察される。また、本試験での暗対照試料の分解率が照射試料の分解率と同程度であることから、環境水中における[I]の分解は本実験で得られた連続照射による半減期約20日をこえることは無いと考察される。</p> <p>環境中における半減期は、連続照射により得られた実験値を1日約5時間の断続的な太陽光照射に外挿することにより得られた値である。一方、光分解と異なり加水分解は自然条件においても実験条件と同様連続的に起こるため、自然環境中の河川水のpH及び本試験での暗条件における[I]の分解が照射試料における[I]の分解と同程度であることを考慮すると、環境水中における[I]の分解半減期は本試験の暗条件で得られた分解半減期を超えることはなく、その半減期は本試験における連続照射における半減期約20日を超えないと推察される。</p>			期間 [日]	[I]	CO ₂	0	94.2	1.9	2	98.2	7.6	5	81.3	4.3	7	80.0	9.0	12	64.6	6.1	19	52.3	15.2	暗対照 19	63.4	0.1
	推定半減期(日)																																							
	実験条件下	環境中 (東京、春)																																						
①本試験	20.7	約149																																						
②補足試験	21.3	約168																																						
期間 [日]	[I]	CO ₂																																						
0	94.2	1.9																																						
2	98.2	7.6																																						
5	81.3	4.3																																						
7	80.0	9.0																																						
12	64.6	6.1																																						
19	52.3	15.2																																						
暗対照 19	63.4	0.1																																						

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

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 14C 標識位置 投与方法・処理量	試験機関 (報告年)	記載頁
17	土壌吸着	—	¹⁴ C スピロジクロフェン CaCl ₂ (0.01M)水溶液	(1999年)	代 177
<p>試験結果の概要(投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)</p> <p>試験条件下、[I]は溶液調製 4 日後に全てが加水分解され、残存率は 0%であった。試験系における[I]の安定性が低いため、土壌吸着試験を実施することができなかった。</p>					
18	土壌吸着	—	¹⁴ C スピロジクロフェン 0.025 mg/L	(2002年)	代 179
<p>試験結果の概要(投与量に対する割合、植物は回収量に対する割合)</p> <p>0.01M CaCl₂水溶液中での安定性 [I]の0.01M CaCl₂水溶液中での安定性と[I]の0.01M NaCl 水溶液中での安定性に違いは認められず、分解物[M1]の生成量は処理後 24 時間まで処理放射能の 3.0~8.3%のみであった。[I]と CaCl₂に特別な相互作用は認められなかった。</p> <p>土壌存在下での溶液中における安定性 土壌存在下における分解物の生成量は約 33%及び約 38%、土壌非存在下での分解物の生成量は約 19%であった。土壌存在下における分解物の生成量は非存在下での約 2 倍であり、土壌存在下で[I]は不安定であった。</p> <p>容器壁面への吸着が本薬の分解に及ぼす影響 異なる 3 種の材質の容器を用いて分解物生成量を比較した結果、24 時間後の分解物生成量はガラス製及びシラン処理したガラス製容器で約 4~5%、テフロン®製容器で約 8%であり、分解物生成量に有意な差は認められなかった。吸着量の違いも分解物生成量に優位に影響しなかった。</p>					

資料 No.	試験の種類	供試動植物期間	供試化合物 14C 標識位置 投与方法・処理量及び結果	試験機関 (報告年)	記載頁
19	生物濃縮性	ブルーギル 取込期間：29 日 排泄期間：13 日	¹⁴ Cスピロジクロフェン 試験濃度：20 μg/L、2 μg/L 流水式 結果：濃縮係数(魚全体) 1.8	(2000年)	代 183

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

<代謝物一覧表>

(代謝)

	名称(略称)	由来	化学名	構造式
I	スピロシクロフェン BAJ2740	親化合物		
M1				
M2				
M3				
M4				
M5				
M6				
M7				
M8				

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

	名称(略称)	由来	化学名	構造式
M9				
M10				
M11				
M12				
M13				
M14				
M15				
M16				
M17				

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

	名称(略称)	由来	化学名	構造式
M18				
M19				
M20				

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

供試化合物

一般名：スピロジクロフェン (spirodiclofen)

試験番号：9761、BAJ 2740

商品名：ダニエモンフロアブル

エコマイト顆粒水和剤

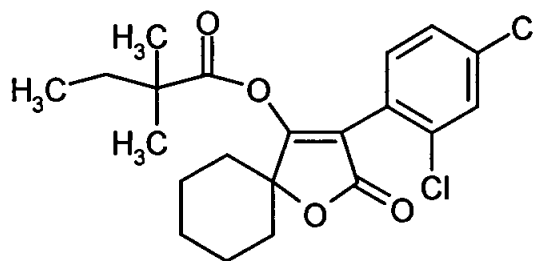
化学名：3-(2,4-ジクロロフェニル)-2-オキソ-1-オキサスピロ[4.5]デカ-3-エン-4-イル=2,2-ジメチルブチラート

分子式：C₂₁H₂₄Cl₂O₄

分子量：411.3 g/mol

代謝経路図での記号：[I]

化学構造式及び¹⁴Cの標識位置：



標識位置の設定理由：

化学構造的に安定な標識位置として を設定し、全ての代謝試験で (A) の標識体を用いた。土壌代謝試験及び水中光分解試験では、

が認められた。このことから、両試験では (A) に加え (B) の標識体を用いて試験を実施し、結果の確認を行った。その他の動物、植物及び加水分解試験では (A) の標識体のみで試験を実施したが、開裂体はほとんど認められず1標識化合物でも代謝を良好に把握することができたため、(A) のみで実施した。

240SC：

試験で製剤を使用する場合はフロアブル製剤として240SCを供試した。240SCとはフロアブル製剤1L中に原体を240 g含有していることを示している。

1. 動物における動態と代謝試験

(1) [¹⁴C] スピロジクロフェン：ラットにおける薬物動態及び代謝研究

(代謝資料 No. 1)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年9月4日

供試標識化合物

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

化学構造：

[* : ¹⁴C 標識部位]

標識：[¹⁴C] 標識スピロジクロフェン [I]

比放射能：

放射化学的純度：>98% (放射能 TLC)、>99% (放射能 HPLC)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-20頁に記す。

【方法】

1. 動物

平均体重約 200 g、7-12 週齢のウィスター系雌雄ラットを、各実験の最低 1 週間前から馴化して、ケージカード及び尾への着色を行い識別し、供試した。

2. 投与用量及び試験群 (表 1)

投与量設定に際しては、被験物質の比放射能、毒性 (ラット慢性毒性試験における無毒性量：雄 14.7 mg/kg、雌 19.9 mg/kg、影響量：雄 110.14 mg/kg、雌 152.90 mg/kg) を考慮して、低投与用量として 2 mg/kg 体重 (試験群 7、8、9 及び 10) を、高投与用量として 100 mg/kg 体重 (試験群 6) を設定した。また低投与用量で呼気採取群 (試験群 7)、連続投与群 (試験群 10) を設け、糞から投与放射能の約 20% を上回る量の放射能が検出されたため胆汁採取群 (試験群 13) を投与用量 1mg/kg 体重で設けた。尚、代謝資料 No. 2 で示す 2500 ppm (約 100 mg/kg/日) 及び 50 ppm (約 2 mg/kg/日) の亜急性混餌投与 (約 15 週間) 試験群を用いた代謝試験から得られた薬物動態及び代謝の結果、及び、本代謝資料 No. 1 の代謝試験の結果を総合的に評価することにより、反復投与及び低・高投与量、雌雄による動態を評価するものである。

表 1 投与用量及び試験群

1) 試験群	投与経路	投与用量 (mg/kg 体重)	投与回数	性	頭数	採取試料	屠殺時間 (最終投与後)	備考
6	経口	100	1	雄	4	血液、尿、糞、皮膚、臓器/組織、動物残体	168 時間	高投与用量
7		2		雄	4	呼気、尿、糞、皮膚、胃腸管、動物残体	48 時間	呼気採取
8		2		雄	4	血液、尿、糞、皮膚、臓器/組織、動物残体		低投与用量
9		2		雌	4	血液、尿、糞、皮膚、臓器/組織、動物残体		低投与用量
10		2		雄	4	血液、尿、糞、皮膚、臓器/組織、動物残体		連続投与
13		1	1	雄	6	胆汁、尿、糞、皮膚、胃腸管、動物残体	24 時間	胆汁採取

1) 試験群番号 1-5 は他の試験で使用した。

3. 投与及び試料採取 (表 2~3)

調製した投与懸濁液、投与液量及び動物の平均体重を表 2 に記載した。各試験群で適切な処理懸濁液の濃度となるように [I] を 0.5% カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液 (0.5% CMC 水溶液/酢酸 (100/0.5, w/v)) へ懸濁し、各ラットへ経口投与した。被験物質は高投与量群 (試験群 6) のみ、非放射能標識親化合物で希釈した (表 2)。

表 2 投与懸濁液

	総調製量 ¹⁾ スピロジクロフェン (mg)			ラット 1 頭当りの投与量 ¹⁾		投与時の 平均 ラット 体重
	¹⁴ C-標識	非放射能標識	量	投与液量	総放射能量	
試験群 6	1.2	119.0	12 mL	2 mL		211 g
試験群 7	2.2	—	11 mL	2 mL		210 g
試験群 8	2.2	—	11 mL	2 mL		207 g
試験群 9	2.2	—	11 mL	2 mL		212 g
試験群 10	2.2	—	11 mL	2 mL		219 g
試験群 13	2.0	—	10 mL	1 mL		197 g

1) 総調製量は計画量を示しており、ラット 1 頭当りの投与量の欄は実際の投与量を示している。

放射能標識親化合物を投与後、ラットを個別に代謝ケージに収容し、表 3 に示す時間に各試料を採取した。血液、尿、糞、呼気、胆汁の各試料を経時的に採取し、屠殺後、臓器及び組織を採取した。血液は各試験群の動物から個別にキャピラリーを用いて尾静脈から経時的に採取した。尿及び糞は各試験群の動物から個別に経時的に採取した。呼気は、代謝ケージを呼気の捕集装置に接続し、2000 mL/分で通気

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

し、経時的に捕集装置を交換して採取した。胆汁は、胆管カニュレーション群の動物から個別に経時的に採取した（表 3）。

表 3 各試料の採取時間

試料	試験群	採取時間（投与後）
尿	6,7,8,9,10	0~4、4~8、8~24、24~48（時間）
	13	0~1、1~2、2~3、3~4、4~6、6~8、8~24（時間）
糞	6,7,8,9,10	0~24、24~48（時間）
	13	0~24（時間）
呼気	7	0~4、4~8、8~24、24~48（時間）
血液	6	5、10、20、40（分）、1、1.5、2、3、4、6、8、24、32、48、72、96、120、144、168（時間）
	8,9,10	5、10、20、40（分）、1、1.5、2、3、4、6、8、24、32、48（時間）
胆汁	13	0~1、1~2、2~3、3~4、4~6、6~8、8~24（時間）

4. 試料調製及び分析

(1) 放射エネルギーの測定

採取した試料のうち、血液は遠心分離して血漿と赤血球に分離した。糞、赤血球、脾臓、肝臓、骨、筋肉、胃腸管、動物残体等の固体試料は重量を測定した後、凍結乾燥して均質化した後、オキシダイザーで燃焼し、生じた $^{14}\text{CO}_2$ を吸収後、液体シンチレーションカウンター（LSC）で放射エネルギーを測定した。凍結乾燥時の放射エネルギーの揮発による損失は肝臓を用いて確認した結果、揮発による損失は 0.03%であった。また、投与懸濁液の凍結乾燥により 0.04%が消失した。副腎、甲状腺、卵巣、腎脂質及び子宮は組織溶解液に溶解した後、LSC で放射エネルギーを測定した。尿、糞抽出液、呼気の捕集液及び血漿等の液体試料は直接 LSC で放射エネルギーを測定した。

(2) 薬物動態パラメーター

薬物動態パラメーターはラット尾静脈から採取した血漿中の放射エネルギー濃度からソフトウェア TOPFIT を使用して算出した。

(3) 尿、糞及び胆汁中の代謝物の分析

尿、糞及び胆汁中の代謝物の同定及び定量を行った。尿試料は直接 HPLC での測定、あるいは C18 による固相抽出後にセミ分取用 HPLC により精製して代謝物を単離し、LC-MS/MS 及び $^1\text{H-NMR}$ により測定し同定した。糞試料はアセトニトリル/水混液を用いて極性を増しながら超音波処理で 6 回抽出し、抽出液をセミ分取用 HPLC で精製して代謝物を単離し、LC-MS/MS により測定し同定した。胆汁試料は氷酢酸を加えた後、遠心分離し透明な上清を直接 HPLC で分析するか、遠心分離後の試料を C18 による固相抽出後、セミ分取用 HPLC で精製して代謝物を単離し、LC-MS/MS により測定し同定した。

【結果】

1. 総回収率 (表 4)

[I]を経口投与した後の各試験群における放射能の総回収率は投与放射能の 89～107%であり、ほぼ定量的に回収された。従って以後は特に記載の無い限り投与放射能に対する割合で示した。

2. 吸収率 (表 4)

投与された放射能が胃腸管から吸収されて、その後尿や胆汁／糞に排泄されることから、尿及び胆汁への排泄割合から吸収率を見積もる。

低投与量で1回経口投与した雌雄のラット及び14日間連続投与後に低投与量で投与した雄ラット(試験群7、8、9及び10、低投与用量群)における尿中排泄の量は回収放射能に対して約64%～76%であったので、吸収率は最低でも64%(試験群8)以上であった。さらに胆管カニュレーションを施し低投与量で1回投与した雄ラット(試験群13)の胆汁中に回収放射能に対して約11%の放射能が検出されたことから、これを加えると吸収率は最低約75%と考えることができる。

表 4 経口投与後の排泄物及び動物体における放射能残留 (%)

試験群：	6	7	8	9	10	13
投与用量(mg/kg 体重)	100	2	2	2	2	1
ラットの性	雄	雄	雄	雌	雄	雄
前投与	なし	なし	なし	なし	14日間	なし
投与放射能に対する割合 (%)						
呼気	----- ¹⁾	0.05	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾
尿	35.06	62.13	57.28	74.20	66.60	24.27
胆汁	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	11.94
糞	61.23	30.90	31.08	23.28	27.63	31.27
排泄計	96.29	93.08	88.36	97.48	94.23	67.48
回収放射能に対する割合 (%)						
胃腸管を除く動物体	0.0003	0.3776	0.5513	0.0156	0.1496	26.160
胃腸管	----- ¹⁾	0.1298	0.0818	0.0226	0.0665	13.250
動物体 計	0.0003	0.5075	0.6332	0.0382	0.2161	39.410
計	96.29	93.59	88.99	97.52	94.44	106.90
回収放射能に対する割合 (%)						
呼気	----- ¹⁾	0.05	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾
尿	36.73	66.31	64.40	76.08	70.51	22.80
胆汁	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	----- ¹⁾	11.29
糞	63.27	33.09	34.89	23.88	29.25	28.65
排泄計	100.00	99.45	99.29	99.96	99.76	62.74
胃腸管を除く動物体	0.0003	0.4029	0.6173	0.0161	0.1625	24.570
胃腸管	----- ¹⁾	0.1378	0.0916	0.0234	0.0698	12.680
動物体 計	0.0003	0.5407	0.7089	0.0395	0.2323	37.250
計	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00

1) 試料を採取せず。

3. 血漿中放射能濃度、薬物動態パラメーター (表 5~7、図 1~5)

(1) 血漿中放射能濃度 (表 5 及び 6)

低投与用量で 1 回投与した雄ラット (試験群 8) では相対濃度 $P^a)$ は投与 3 時間後に最大 (1.477) に達し、投与 2~6 時間後にわたり 1.286 以上を維持した。低投与用量で 1 回投与した雌ラット (試験群 9) では相対濃度 P は投与 3 時間後に最大 (1.338) に達し、投与 1.5~4 時間後にわたり 1.273 以上を維持した (表 5)。従って、低投与用量 1 回投与の雌雄の間には時間的にも量的にも差はなかった。

高投与用量で 1 回投与した雄ラット (試験群 6) では投与 8 時間後に最大の P 値 (0.6098) に達し、投与 3~8 時間後にわたり 0.5122 以上を維持した。高投与用量では低投与用量群に比べ最大量に達するのが遅かった。連続投与群 (試験群 10) は雄で行ったが相対濃度 P は投与 4 時間後に最大 (1.816) に達し、投与 2~6 時間後にわたり 1.171 以上を維持した。低投与用量で 1 回あるいは連続投与した後の雄及び雌ラット (試験群 8、9 及び 10) の血漿中の相対濃度 $P^a)$ の最大値は、ラット動物体全体における理論等量分布濃度 ($P=1$) よりも約 1.4~1.8 倍高く、血漿から周辺コンパートメントへの放射能の分布が僅かに遅いことを示唆していた。一方、高投与用量で 1 回投与した雄ラット (試験群 6) では相対濃度 P の最大値は約 0.5 と理論等量分布濃度 ($P=1$) の $1/2$ であり、放射能が血漿から周辺コンパートメントへ速やかに分布していることが示唆された。また全ての試験群で最高濃度に達した後、血漿中から速やかに放射能が消失することを示した (表 5)。

また、各群における最大値を換算濃度 C で示すと、低投与量雄 (試験群 8) で約 $2.7 \mu\text{g/g}$ 、雌 (試験群 9) で約 $2.1 \mu\text{g/g}$ 、高投与量雄 (試験群 6) で約 $51.3 \mu\text{g/g}$ 、連続投与雄 (試験群 10) で約 $2.1 \mu\text{g/g}$ であった (表 6)。

$$a) \text{ 相対濃度 } P = \frac{\text{組織中の } ^{14}\text{C (mg/kg組織)}}{\text{投与した } ^{14}\text{C (mg/kg体重)}}$$

相対濃度が $P = 1$ のときは等量分布となる。

相対濃度 P を用いると、投与量が異なる群の吸収・分布等に関するパラメーターを直接比較することが可能である。

換算濃度 C : 血漿や臓器中の ^{14}C の濃度 (被験物質換算濃度)

$$\text{換算濃度 } C = \frac{\text{測定放射能 (dpm/(g組織} \times \text{Df))}}{\text{比放射能 (dpm/mg被験物質)}}$$

血漿や臓器中の ^{14}C の換算濃度 ($\mu\text{g/mL}$ または $\mu\text{g/g}$) = 相対濃度 $P \times$ 投与量 (mg/kg 体重)

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

表 5 雄及び雌ラットの血漿における相対濃度 P の経時変化

	試験群 6	試験群 8	試験群 9	試験群 10	
前投与	なし	なし	なし	14日連続	
投与用量 (mg/kg 体重)	100	2	2	2	
ラットの性	雄	雄	雌	雄	
投与後時間 (時間)	0.08	0.0033	0.0034	0.0064	0.0032
	0.16	0.0101	0.0241	0.0429	0.0293
	0.33	0.0383	0.1251	0.2783	0.1478
	0.66	0.1194	0.4312	0.767	0.51
	1	0.1976	0.7284	1.064	0.8348
	1.5	0.3387	1.085	1.273	1.192
	2	0.434	1.286	1.307	1.448
	3	0.5122	1.477	1.338	1.66
	4	0.5327	1.436	1.308	1.816
	6	0.5424	1.385	1.045	1.596
	8	0.6098	1.197	0.9425	1.171
	24	0.0695	0.1661	0.0149	0.0748
	32	0.0267	0.0713	0.0092	0.0281
	48	0.003	0.0083	0.0011	0.003
	72	0.0002	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾
	96	0.0001	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾
120	0.0001	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	
144	0.0001	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	

1) 48 時間で動物屠殺。

表 6 雄及び雌ラットの血漿における換算濃度 C ($\mu\text{g/g}$) の経時変化

	試験群 6	試験群 8	試験群 9	試験群 10	
前投与	なし	なし	なし	14日連続	
投与用量 (mg/kg 体重)	100	2	2	2	
ラットの性	雄	雄	雌	雄	
投与後時間 (時間)	0.08	0.2830	0.0061	0.0102	0.0037
	0.16	0.8540	0.0434	0.0680	0.0344
	0.33	3.2610	0.2255	0.4392	0.1737
	0.66	10.1700	0.7770	1.2120	0.5994
	1	16.7700	1.3120	1.6840	0.9813
	1.50	28.6600	1.9550	2.0140	1.4000
	2	36.6900	2.3170	2.0660	1.6980
	3	43.0900	2.6630	2.1120	1.9440
	4	44.8400	2.5890	2.0620	2.1240
	6	45.7800	2.4960	1.6460	1.8650
	8	51.3400	2.1570	1.4810	1.3690
	24	5.7740	0.2999	0.0236	0.0877
	32	2.2030	0.1290	0.0146	0.0329
	48	0.2474	0.0150	0.0018	0.0036
	72	0.0128	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾
	96	0.0071	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾
120	0.0055	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	
144	0.0054	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	

1) 48 時間で動物屠殺。

(2) 薬物動態パラメータ (表 7、図 1~5)

血液を採取した全ての試験群間で投与用量、性あるいは前投与によらず血漿中濃度曲線の傾向は類似していた。投与から吸収開始までの遅延時間 t_{lag} は全ての試験群で 0.22~0.27 時間と算出され、投与後直ちに投与放射能が胃腸管から吸収されたことが示唆された。全ての試験群で速やかに吸収が開始されたものの、比較的長い時間 (約 3 時間) 高い濃度が保たれていた (図 1~5)。

低投与量の雄雌 (試験群 8 及び 9) あるいは高投与量の雄ラット (試験群 6) における最大血漿中濃度の 50% に達する時間 $t_{1/2a}$ は 0.32~0.92 時間であった。連続投与群 (試験群 10) における $t_{1/2a}$ は 0.05 時間であり、前投与したラットでは更に速やかに放射能が吸収された (表 6)。

消失半減期 $t_{1/2e}$ は、低投与用量 1 回投与雄ラットでは 4.25 時間、低投与用量 1 回投与雌ラットでは 3.35 時間であり、雌雄に差は認められたが、その差は顕著でなかった。高投与用量 1 回投与雄では 3.13 時間であり、亜急性混餌投与 (代謝資料 No. 2) の雄では 3.85~5.26 時間、雌では 3.53~4.87 時間であった。従って高投与用量の雌雄の間に差がなかった。また、低投与用量と高投与用量の間にも差は無かった。

定常状態での理論分布容積 (V_{ss}) は、低投与用量群の雄及び雌で約 228 で、雌雄で同じであった。連続投与の雄で約 433 mL/kg 体重であった。総血液量が約 64 mL/kg 体重で総体水分含量が約 684 mL/kg 体重であることを考慮すると、この V_{ss} は、周辺臓器及び組織への BAJ2740 の分布が僅かに低いことを示した。

ラット動物体における総放射能の全平均滞留時間 (MRT) は、全ての試験群で約 8.4~約 11.6 時間の間であり、亜急性混餌投与での約 8.1~10.5 時間 (代謝資料 No. 2) と同様であり、雌雄及び投与量に関係なく速やかに消失したことを示した。

総クリアランス CL は全試験群で 0.91~2.16 mL/(分×kg 体重) であり、腎クリアランスは、0.59~1.45 mL/(分×kg 体重) で腎糸球体でのろ過速度 (2.1 mL/(分×kg 体重)) よりも低い値であった (表 6)。

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

表7 コンピュータプログラム TOPFIT を用いた血漿中濃度曲線分析によって得られた薬物動態パラメータ

	単位	試験群 6	試験群 8	試験群 9	試験群 9a ¹⁾	試験群 10
前投与	2 mg/kg 体重	なし	なし	なし	なし	14日間連続
投与用量	mg/kg 体重	100	2	2	2	2
ラットの性		雄	雄	雌	雌	雄
頭数		4	4	4	4	4
平均体重	g	211	210	207	212	219
尿中排泄	回収放射能に対する%	36.72	64.33	75.82	75.54	70.95
実験期間	h	168	48	48	48	48
相関係数		0.998	0.999	0.999	0.967	0.999
C_{max} (exp.)	µg/mL	51.34	2.66	2.11	2.11	2.12
t_{max} (exp.)	h	8.00	3.00	3.00	3.00	4.00
C_{max} (model)	µg/mL	52.24	2.69	2.11	2.30	2.05
t_{max} (model)	h	5.56	3.89	2.52	2.69	3.85
$t_{1/2}$ a	h	0.54	0.92	0.32	0.06	0.05
$t_{1/2}$ e (1)	h	3.13	4.25	3.35	1.82	2.39
$t_{1/2}$ e (2)	h	131.90	n. d.	n. d.	6.84	6.36
t_{lag} a	h	0.22	0.26	0.24	0.25	0.27
t_{lag} e	h	1.88	1.36	1.63	2.32	1.35
AUC (model)	µg/mL x h	772.50	36.65	23.71	17.43	21.19
CL	mL/(分 x kg 体重)	2.16	0.91	1.41	1.91	1.57
	mL/(分 x rat)	0.43	0.18	0.28	0.38	0.31
CL _R	mL/(分 x kg 体重)	0.79	0.59	1.07	1.45	1.12
	mL/(分 x rat)	0.16	0.12	0.21	0.29	0.22
MRT	h	11.60	10.53	8.38	6.04	8.30
MRT _{abs}	h	6.62	6.36	5.08	2.88	3.70
MRT _{disp}	h	4.99	4.17	3.29	3.17	4.59
V _{ss}	mL/kg 体重	645.60	227.70	277.60	363.50	433.40
weight. funct.		$g = 1/y^2$	$g = 1$	$g = 1$	$g = 1/y^2$	$g = 1/y$
コンパートメント数		3	2	2	3	3

1) 試験群 9 の値を 3 コンパートメントにて計算、試験群 9a と表示した。

AUC: 血漿薬物濃度-時間曲線を 0 時間から無限時間まで外挿した曲線下面積

$t_{1/2}$ a: 最大濃度の 50% に達する時間

$t_{1/2}$ e(1): 消失の半減期 (第 1 相)

$t_{1/2}$ e(2): 消失の半減期 (第 2 相)

t_{lag} a: 投与と吸収開始の間の遅延時間

t_{lag} e: 投与と消失開始の間の遅延時間

CL: 血漿からの薬物の総クリアランス

CL_R: 腎臓からの薬物のクリアランス
(CL_R = CL x 尿中排泄% x 0.01)

t_{max} : 血管外投与を行った後、血漿中で最高薬物濃度になった時間

C_{max} : 血管外投与を行った後、血漿中での最高薬物濃度

MRT: 測定コンパートメントでの薬物あるいは総放射能の平均滞留時間

MRT_{abs}: 吸収における平均滞留時間

MRT_{disp}: 排泄における平均滞留時間

V_{ss}: 血漿中の薬物濃度に基づいた定常状態での薬物の分布容積 (見かけ上)

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

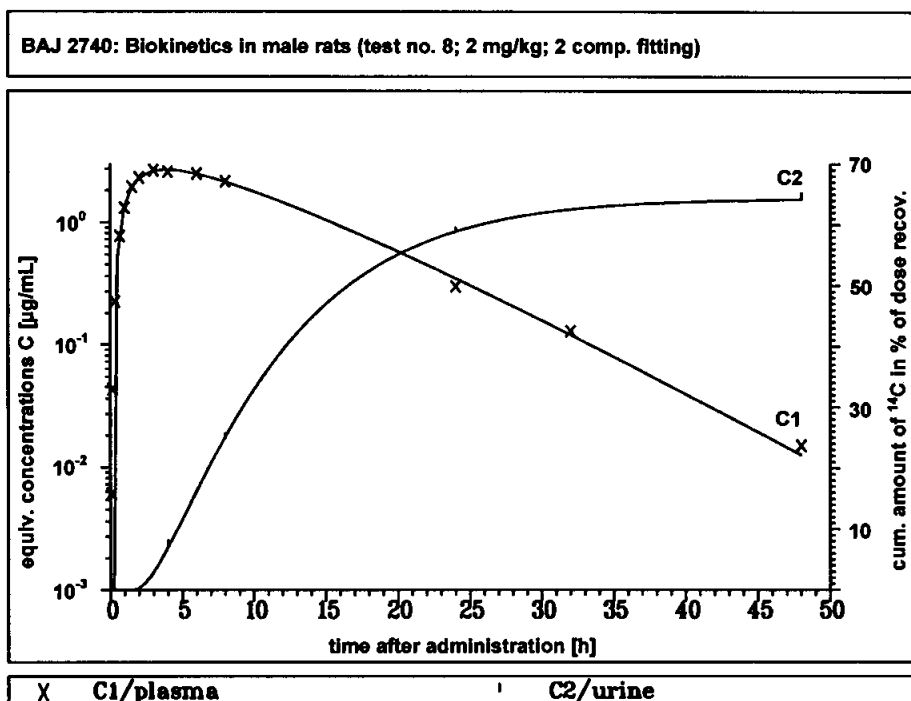


図1 スピロジクロフェンを2 mg/kg 体重で雄ラットへ1回経口投与した後の血漿中換算濃度 C 及び尿中排泄放射能量の経時的変化 (試験群 8)

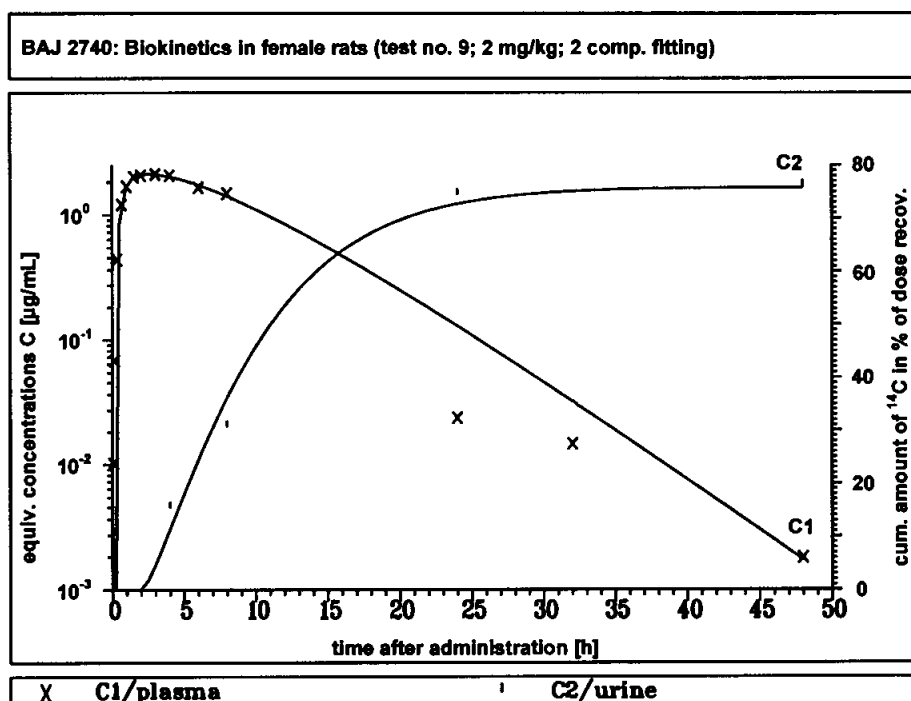


図2 スピロジクロフェンを2 mg/kg 体重で雌ラットへ1回経口投与した後の血漿中換算濃度 C 及び尿中排泄放射能量の経時的変化 (試験群 9、2 コンパートメント計算)

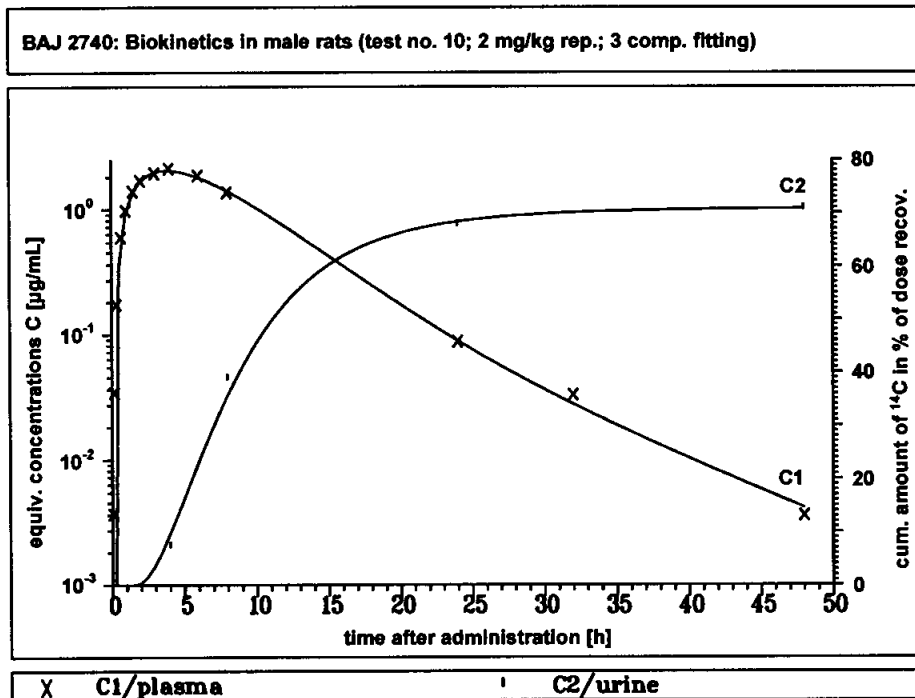


図5 スピロジクロフェンを2 mg/kg 体重で前投与（非放射能標識親化合物を2 mg/kg 体重で14日間連続投与）した雄ラットへ放射能標識親化合物を2 mg/kg 体重で1回経口投与した後の血漿中換算濃度C及び尿中排泄放射能量の経時的変化（試験群10）

4. 排泄（表8、9）

(1) 呼気への排泄（表8）

低投与用量で1回経口投与した雄ラットから、投与48時間で投与放射能量の僅か0.05%のみが¹⁴CO₂や他の揮発性物質として呼気中に排泄された。

(2) 尿、糞及び胆汁への排泄（表8、9）

低投与用量群では投与放射能の約88.3%以上、すなわち、回収放射能の99.3%以上が48時間以内に排泄された。処理放射能の約57.3-74.2%が尿を經由して排泄され、約23.3-31.1%が糞を經由して排泄された。尿排泄と糞排泄の比は1回投与雄ラットでは1.8-2.0であり、連続投与雄ラットでは2.4、1回投与雌ラットでは3.2であった。すなわち雄雌とも尿排泄の割合が高かったが、雌ではさらに尿排泄の割合が高かった。また高投与用量で投与した雄ラット（試験群6）では、投与48時間で95.66%が排泄され、投与168時間以内に96.3%が排泄され、その内約35.1%が尿から、約61.2%が糞を經由して排泄され尿排泄と糞排泄の比は0.57であったが、これは高投与用量群では胃腸管からの吸収が不完全なためと推定された。胆汁採取群の雄ラット（試験群13）では投与24時間で投与放射能の67.48%が排泄され、このうち11.94%が胆汁中に存在した。

各試験群間の尿及び糞の値をWhitney-Mann(Wilcoxon)検定した結果、低投与用量で投与した雄ラット（試験群7及び8）では、同投与用量の雌ラット（試験群9）

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

及び連続投与の雄ラット（試験群 10）と比較して、有意に多くの放射能が糞経由で排泄された。

表 8 経口投与後の排泄物及び動物体における放射能残留、
投与放射能に対する割合 (%)

試験群	6	7	8	9	10	13
投与用量(mg/kg 体重)	100	2	2	2	2	1
ラットの性	雄	雄	雄	雌	雄	雄
前投与	なし	なし	なし	なし	14 日間	なし
呼気	— ¹⁾	0.05	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾
尿	35.06	62.13	57.28	74.20	66.60	24.27
胆汁	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	— ¹⁾	11.94
糞	61.23	30.90	31.08	23.28	27.63	31.27
排泄計	96.29	93.08	88.36	97.48	94.23	67.48
胃腸管を除く動物体	0.0003	0.3776	0.5513	0.0156	0.1496	26.160
胃腸管	— ¹⁾	0.1298	0.0818	0.0226	0.0665	13.250
動物体 計	0.0003	0.5075	0.6332	0.0382	0.2161	39.410
計	96.29	93.59	88.99	97.52	94.44	106.90

1) 試料採取せず。

表 9 尿及び糞における積算排泄放射能、投与放射能に対する割合 (%)

試験群	試験群 6	試験群 7	試験群 8	試験群 9	試験群 10	試験群 13
投与用量 (mg/kg 体重)	100	2	2	2	2	1
投与回数	1	1	1	1	1 ¹⁾	1
性	雄	雄	雄	雌	雄	雄
尿 投与後時間						
4	1.72	4.95	6.48	15.27	7.01	0.42
8	10.37	18.16	22.11	30.11	36.65	5.83
24	32.23	57.09	52.20	72.60	63.76	24.27
48	34.63	62.13	57.28	74.20	66.60	
72	34.86					
96	34.92					
144	35.02					
168	35.06					
糞 投与後時間						
24	57.80	28.66	28.55	20.49	26.25	31.27
48	61.03	30.90	31.08	23.28	27.63	
72	61.15					
96	61.18					
144	61.21					
168	61.23					
胆汁 投与後時間						
4						1.65
8						3.53
24						11.94

1) 非放射能標識 [I] を 14 日間連続経口投与 (2 mg/kg 体重) 後、放射能標識 [I] を投与した。

5. 臓器及び組織への分布・残留 (表 10)

高投与用量で1回投与した雄ラット (試験群 6) では、投与 168 時間後には全ての臓器及び組織中において放射能は検出限界未満 (0.0003%) であった。低投与用量で投与した雌雄のラット (試験群 8、9 及び 10) では、投与 48 時間後における胃腸管を除く動物体への残存量は、投与放射能の約 0.02%~0.6%とかなり低かった。

低投与用量で1回投与した雄ラット (試験群 8) では、臓器及び組織中の相対濃度 P は肝臓で 0.0280、腎臓で 0.0136 であったが、その他の臓器及び組織ではいずれも低く 0.01 未満であった。それぞれ換算濃度 C は肝臓 (0.0494 $\mu\text{g/g}$)、腎臓 (0.024 $\mu\text{g/g}$) 及び血漿 (0.0147 $\mu\text{g/g}$) であった。精巣、腎臓及び副腎等の内分泌系の臓器においては、痕跡量の放射能が精巣 (0.0029 $\mu\text{g/g}$) からのみ検出されたが、その他の内分泌系の臓器中からは検出されなかった。

低投与用量で1回投与した雌ラット (試験群 9) では、臓器及び組織中の相対濃度 P はいずれも低く 0.01 未満であった。換算濃度 C は肝臓 (0.0047 $\mu\text{g/g}$)、腎臓 (0.0044 $\mu\text{g/g}$) 及び血漿 (0.0010 $\mu\text{g/g}$) であった。いずれの臓器及び組織においても雌ラットの換算濃度は雄ラットに比べて低かった。また卵巣、副腎、子宮及び甲状腺等の内分泌系の臓器中から放射能は検出されなかった。

連続投与群 (試験群 10) では、臓器及び組織中の相対濃度 P はいずれも低く 0.01 未満であった。肝臓 (0.0105 $\mu\text{g/g}$)、腎臓 (0.0064 $\mu\text{g/g}$)、血漿 (0.0037 $\mu\text{g/g}$)、赤血球 (0.0016 $\mu\text{g/g}$) のみで定量可能であり、肺 (0.0019 $\mu\text{g/g}$)、心臓 (0.0014 $\mu\text{g/g}$) 及び精巣 (0.0008 $\mu\text{g/g}$) で痕跡量の残留が認められた。肝臓、腎臓及び血漿中の換算濃度は、前投与せずに1回投与した雄ラットにおけるそれらの残留量よりも低かった。精巣、腎臓及び副腎等の内分泌系の臓器においては、痕跡量の放射能が精巣 (0.0008 $\mu\text{g/g}$) からのみ検出されたが、その他の内分泌系の臓器及び組織からは検出されなかった。

低投与用量で1回投与後に屠殺した雌雄のラットの動物体中では、投与放射能のわずか 0.02%及び 0.55%が残存しているのみであった。

尿及び糞での排泄動態及び血漿からの総放射能の消失動態から、屠殺時にラット臓器及び組織中に残留していた少量の放射能はさらに排泄されると推定された。

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

表10 屠殺時の臓器/組織中における放射能の相対濃度P及び換算濃度C

試験群 前投与 投与用量 (mg/kg体重) ラットの性	相対濃度 P			換算濃度 C (μg/g)		
	試験群 8 なし 2	試験群 9 なし 2	試験群 10 14日間連続 2	試験群 8 なし 2	試験群 9 なし 2	試験群 10 14日間連続 2
ラットの性	雄	雌	雄	雄	雌	雄
赤血球	0.0026	n. q.	0.0015	0.0046	n. q.	0.0016
血漿	0.0084	0.0007	0.0034	0.0147	0.0010	0.0037
脾臓	0.0010	n. q.	n. q.	0.0018	n. q.	n. q.
肝臓	0.0280	0.0030	0.0095	0.0494	0.0047	0.0105
腎臓	0.0136	0.0028	0.0058	0.024	0.0044	0.0064
腎脂肪	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.
副腎	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.
精巣	0.0016	—	0.0007	0.0029	—	0.0008
卵巣	—	n. q.	—	—	n. q.	—
子宮	—	n. q.	—	—	n. q.	—
骨格筋	0.0010	n. q.	n. q.	0.0018	n. q.	n. q.
大腿骨	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.
心臓	0.0024	n. q.	0.0013	0.0042	n. q.	0.0014
肺	0.0035	0.0006	0.0017	0.0061	0.0009	0.0019
脳	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.
甲状腺	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.	n. q.
皮膚	0.0061	n. q.	n. q.	0.0107	n. q.	n. q.
動物残体	0.0047	n. q.	0.0018	0.0084	n. q.	0.0020
胃腸管	0.0076	0.0021	0.0055	0.0135	0.0033	0.0061
胃腸管を除く動物体	0.0062	0.0002	0.0017	0.0109	0.0003	0.0019
動物体	0.0063	0.0004	0.0022	0.0112	0.0006	0.0024

n. q. = 検出限界未満のため定量せず

6. 代謝

(1) 尿中代謝物 (表 11)

混合尿試料中の 89.25%~97.87%の放射能が同定され、この同定率は投与放射能の 22.67%~70.96%に相当した。

全ての試験群で[I]は尿中に検出されず、

中における主要代謝物であった。これらの代謝物に続き、
に水酸基を持つ
が尿
の位置
が多く存在した。

低投与用量で投与した雄ラット(試験群7及び8)では、尿中の主要代謝物は
及び

であった。これらの代謝物に次いで、

がそれぞれ投与量の

認められた。

また、0~4、4~8、8~24、24~48 時間の間隔で経時的に採取した尿を分析した

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

結果、各画分間の代謝物の量的な分布は0～48時間で採取した尿中代謝物の量的分布と比較的類似していた。0～4時間で採取した尿中代謝物のみで
よりも多く、への
代謝は速いと考えられた。

低投与用量で投与した雌ラット（試験群9）では、尿中の主要代謝物は
であり、投与量の
と同定された。次いで、

が多く認められた。同じ投与用量の雄ラットに比べ、雌では
の割合が高く、
の割合が低かった。

高投与用量で投与した雄ラット（試験群6）では、尿中に排泄された総放射能の割合が低く、各代謝物の割合は低投与用量で1回投与した雄ラットと異なり、
の割合がやや高く、
等の
の割合はやや少なかった。しかし、観察されたこの代謝物の量的な差は低投与量1回投与の雄や連続投与の雄と比較して統計的に有意な差ではなかった。

連続投与試験群の雄ラット（試験群10）の尿中代謝物の分布は前投与せずに1回投与した雄ラットと同様であった。

すなわち高投与量1回投与の雄、低投与量1回投与の雄及び連続投与の雄の間には差は無かった。

以上の主要代謝物の他に量的に少ない代謝物が数種類同定された。

は胆管カニュレーション群（試験群13）を除く全ての試験群から検出されたが
が酸化されて生成した
は、
低投与用量群の雄、高投与用量群の雄で
検出されたが、それら以外の
試験群では検出されなかった。

は、低投与用量で投与した雄ラット（試験群7、8及び10）からのみ検出された。
は低投与用量で投与した雄ラットからのみ検出された。

尿中代謝物の定量的な分布には、性特異的な差異が認められたが、雄ラットの尿中代謝物の定量的な分布に投与用量あるいは前投与の有無による統計的な有意差は認められなかった。

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

表 11 尿中代謝物の分布、投与放射能に対する割合 (%)

試験群	試験群 6	試験群 7	試験群 8	試験群 9	試験群 10	試験群 13
投与用量 (mg/kg 体重)	100	2	2	2	2	1
投与回数	1	1	1	1	1 ¹⁾	1
性	雄	雄	雄	雌	雄	雄
成分						
同定率計	31.78	55.45	56.06	70.96	62.63	22.67
(尿中放射能に対する同定率)	(90.64)	(89.25)	(97.87)	(95.63)	(94.04)	(93.41)

1) 非放射能標識 [I] を 14 日間連続経口投与 (2 mg/kg 体重) 後、放射能標識 [I] を投与した。
n. d. = 検出限界未満

(2) 糞中代謝物 (表 12)

混合糞試料から抽出された放射能の 74.42%~86.66%が同定あるいは特性化され、この同定率は投与放射能の 19.26%~45.81%に相当した。また糞中に含まれる放射能のほとんど全て (糞中放射能の 96.59%~99.20%) が抽出された (表 12)。

全ての試験群のラットにおいて、糞抽出物中の主要代謝物は

であった。尿中代謝物と異なり、糞中の主要代謝物の分布に性特異的な差異は認められなかった。糞へは主に最初の 0~24 時間で排泄された (0~24 時間 : 28.55%、24~48 時間 : 2.53%、表 9)。

尿中に少量見出された

は糞中には見出されなかった。

は全ての試験群で見出された。

は高投与用量で投与した雄ラット (試験群 6) を除く全試験群から検出された。この点については

への中間代謝物と考えられ、

はいずれも高投与用量の雄ラットで認められていることから、高投与用量雄ラットでの代謝も低投与量群の代謝様式と同様と考えられる。

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

表 12 糞中代謝物の分布 (投与放射能に対する%)

	試験群 6	試験群 7	試験群 8	試験群 9	試験群 10
投与用量 (mg/kg 体重)	100	2	2	2	2
投与回数	1	1	1	1	1 ¹⁾
性	雄	雄	雄	雌	雄
<u>成分</u>					
スピロジクロフェン [I]	16.04	1.83	4.26	0.66	2.32
同定または特性化された成分の合計	45.81	23.15	23.13	19.26	20.85
(糞中放射能に対する同定または特性化率*)	(74.82)	(74.92)	(74.42)	(82.73)	(75.46)

- 1) 非放射能標識 [I] を 14 日間連続経口投与 (2 mg/kg 体重) 後、放射能標識 [I] を投与した。
 2) は分析中に に速やかに変換される代謝物として特性づけられた。
 n. d. = 検出限界未満

(3) 胆汁中代謝物 (表 13)

胆汁中における主要代謝物は であり、それぞれ 認められた。[I] は胆汁中には検出されなかった。尿中及び糞中における主要代謝物である の全てが胆汁中に見出されたが、 を除きそれらの量は微量であった。

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

表 13 胆汁採取群 (試験群 13) における代謝物の分布

成分	投与放射エネルギーに対する%			
	糞	尿	胆汁	合計
スピロジクロフェン[I]	0.67	n. d.	n. d.	0.67
同定または特性付けした成分の合計	27.10	22.67	9.95	59.72
(排泄放射能に対する同定または特性化率*)	(86.7)	(93.4)	(83.3)	(88.5)

1) 代謝物 は に速やかに変換される代謝物として特性づけられた。
n. d. = 検出限界未満

(4) 排泄物全体における代謝物 (表 14)

親化合物[I]は糞中でのみ検出され、低投与用量群では 0.66%~4.26%であったが、高投与用量群では 16.04%であった。これは高投与用量では、投与した被験物質の胃腸管からの吸収が不完全であったためと考えられる。

全試験群の排泄物中に

が共通して同定された。尿中におけるこれらの代謝物の量的な分布には性特異的な差異が認められ、雌ラットの主要代謝物は

であり、雄ラットの主要代謝物は

であった。糞中における主要代謝物の分布には性特異的な差異が認められなかったが、排泄物全体における主要代謝物の分布は尿中における差異を反映した。

尿中代謝物の量的分布が雌雄で異なるのは、恐らく雄ラットではの生成した後、その後の水酸化が雌よりも相対的に速く進み、生成したものが尿中に排泄され、一方、雌ラットではが水酸化される速度が相対的に非常に遅いことからそのまま尿中に排泄されるものと推察され、その結果として尿中代謝物の様式が雄では水酸化が優先し、雌では自身が有意であったと考えられた。

しかしながら、低投与用量群の雄 (試験群 7、8 及び 10) と雌 (試験群 9) との間で、代謝経路上一連の代謝物であるの量を合算して比較すると、低投与量の雄でとなり、その量は類

7 代謝経路 (図 6)

スピロジクロフェン [I] のラットにおける代謝の最初の段階は、
生成する段階であった。 の水溶解度は高いため排泄されるか、あるいは、主として が水酸化される経路により の 2 種へ代謝された。更に、 は量的には少ないものの に変換された。また、 が水酸化された も量的には少ないものの生成した。
もかなり低いレベルで認められ、 を生成した後、更に へと代謝された。へと分解した。これらの代謝物は主に糞中で検出され、これらの生物分解段階は主にラットの胃腸管で行われることが示唆された。

スピロジクロフェンのラットにおける推定代謝経路を図 6 に示す。

【結論】

スピロジクロフェン [I] の薬物動態的挙動は以下の様に特徴づけられる。

- ・ 血漿中の濃度は低かった。
- ・ 投与した放射能は胃腸管から速やかに吸収された。
- ・ 投与した放射能は血漿から周辺臓器へと速やかに分布した。
- ・ 副腎、甲状腺、卵巣、子宮及び精巣等の内分泌系の臓器及び組織では放射能がほとんど検出されなかった。
- ・ 臓器及び組織中には親化合物及び代謝物が蓄積しなかった。
- ・ 吸収された放射能は尿及び糞を経由して速やかに排泄され、尿と糞の排泄比は約 2.3 : 1 であった。
- ・ 水溶解度の高い 代謝され尿及び糞中へと速やかに排泄された。
- ・ 尿中における主要代謝物は雄ラットで 、雌ラットであり、性特異的な差異が認められたが、糞中における代謝物の量的な分布には性特異的な差異は認められなかった。

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

図 6 : スピロジクロフェンのラットにおける推定代謝経路

1. 動物における動態と代謝試験

(2) [¹⁴C]スピロジクロフェン： 亜急性混餌投与後のラットにおける薬物動態及び代謝研究

(代謝資料 No. 2)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年9月6日

供試標識化合物

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

化学構造：

[*：¹⁴C 標識部位]

標識：[¹⁴C] 標識スピロジクロフェン [I]

比放射能：3.59MBq/mg

放射化学的純度：>98% (放射能 TLC)、>99% (放射能 HPLC)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-20 頁に記す。

【方法】

1. 動物

4-5 週齢のウィスター系ラット雌雄各 4 匹を 1 群として 4 群、計 16 匹のラットを実験に供試した。実験の約 10 日前から馴化して、ケージカード及び尾への着色を行い各ラットを識別した。

表 1 供試ラットの週齢及び体重

	雄	雌
週齢-混餌投与開始時	4-5 週齢	
放射能標識被験物質投与時	19-20 週齢	
体重-放射能標識被験物質投与時	401-462g	215-286g

2. 投与用量及び試験群 (表 2)

非放射能標識 [I] を 50 ppm 及び 2500 ppm の濃度で餌に混合し約 15 週間 (約 14 週：毒性研究所、約 1 週：代謝・残留研究所) 自由に摂取させた後、放射能標識被験物質 [I] を 2 mg/kg 体重で 1 回経口投与した後、経時的に血液を採取し、血漿中の ¹⁴C 濃度を測定した。また、尿及び糞への排泄、投与 48 時間後の屠殺時における皮膚、胃腸管及び動物残体の放射能も測定した。

表 2 試験群及び投与用量

試験群	性及び匹数	分析	非放射能標識スピロプロフェンを用いた前投与	¹⁴ C-スピロプロフェン [I] の投与用量		放射能標識化合物投与後試験期間
				mg/kg	mL/ラット	
1	雄 4 匹	血漿中の ¹⁴ C 濃度の測定；尿、糞、皮膚、胃腸管及び動物残体における ¹⁴ C の測定	約 15 週間 50 ppm 混餌投与、自由摂取	2	2	48 時間
2	雌 4 匹					
3	雄 4 匹					
4	雌 4 匹					

3. 投与及び試料採取

放射能標識 [I] の投与量は代謝試験の低投与量 (2 mg/kg) に合わせて 2 mg/kg と設定した。0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液 (0.5%CMC 水溶液/酢酸 (100/0.5, w/v)) に懸濁した放射能標識 [I] を各ラットへ 1 回経口投与した。調製した投与懸濁液、投与液量及び動物の平均体重を表 3 に示す。

表 3 投与懸濁液及び平均体重

	投与懸濁液					平均ラット体重
	全調製量 ¹⁾		ラット 1 匹当りの投与量			
	スピロプロフェン	液量	スピロプロフェン	液量	総放射能量	
試験群 1	4.95 mg	11 mL	0.90 mg	2 mL	129 050 970 dpm	428 g
試験群 2	2.97 mg	11 mL	0.54 mg	2 mL	101 905 135 dpm	268 g
試験群 3	4.40 mg	11 mL	0.80 mg	2 mL	109 032 094 dpm	405 g
試験群 4	2.75 mg	11 mL	0.50 mg	2 mL	81 850 495 dpm	247 g

1) 計 4 匹のラットに投与するために調製した投与懸濁液総量。

放射能標識 [I] を投与後、ラットを個別に代謝ケージに収容し、表 4 に示す時間に各試料を採取した。尿及び糞は各試験群の動物から個別に経時的に採取した。血液は各試験群の動物から個別にキャピラリーを用いて尾静脈から経時的に採取した。また、投与 48 時間後にラットを屠殺し、皮膚、胃腸管及び残体中の放射能濃度を求めた。

表 4 各試料の採取時間

試料	採取時間 (投与後)
尿	0~4、4~8、8~24、24~48 (時間)
糞	0~24、24~48 (時間)
血液	10、20、40 (分) 1、1.5、2、3、4、6、8、24、32、48 (時間)
皮膚、胃腸管、動物残体	48 (時間)

4. 採取試料の分析前処理及び分析

(1) 放射能量の測定

糞、皮膚、胃腸管及び動物残体の固体試料は凍結乾燥して均質化した後、オキシダイザーで燃焼し、生じた ¹⁴CO₂ を吸収後、液体シンチレーションカウンター (LSC) で放射能量を測定した。尿及び糞抽出液、血漿等の液体試料は LSC を用いて測定した。血液は遠心分離して血漿と赤血球に分離後、血漿中の放射能量を測定した。

(2) 薬物動態パラメーター

薬物動態パラメーターはラット尾静脈から採取した血漿中の放射能濃度からソフトウェア TOPFIT を使用して算出した。

(3) 尿及び糞中の代謝物の分析

各試験群のラットから個別に採取した尿及び凍結乾燥した糞をそれぞれ混合し、尿は直接、糞はアセトニトリル/水混液で抽出後、抽出液を HPLC に注入した。先に行った試験（代謝資料 No. 1）で得られた HPLC クロマトグラムにおける既知代謝物の保持時間と本試験で得られた HPLC クロマトグラムにおける代謝物の保持時間を比較して尿及び糞中の代謝物を同定した。更に、糞抽出試料から単離した 2 種の未知代謝物については HPLC で精製後、LC-MS 及び LC-MS/MS を用いて同定した。

【結果】

1. 薬物動態パラメーター、放射能の吸収、分布及び消失（表 5～6、図 1～2）

投与と吸収開始の間の遅延時間 t_{lag} は全ての試験群で約 0.2～0.3 時間と算出され（表 6）、投与後直ちに胃腸管から放射能が吸収されたことが示唆された。投与と吸収開始の間の遅延時間には、前投与の有無あるいは前投与濃度の影響は認められなかった（表 6）。

全ての試験群で速やかに吸収が開始されたものの、血漿中の放射能濃度は比較的長い時間高く保たれていた（図 1～2）。

50 ppm で前投与した雄ラットでは、換算濃度 C^a は放射能標識 [I] の投与 4 時間後に最大 (2.090 $\mu\text{g/g}$) に達し、投与 3～6 時間にわたり約 2 $\mu\text{g/g}$ 以上を維持していた（図 1）。50 ppm で前投与した雌ラットでは、投与 4 時間後に最大 (3.245 $\mu\text{g/g}$) に達し、投与 3～8 時間後にわたり約 3 $\mu\text{g/g}$ 以上を維持していた（図 2）。血漿中濃度曲線から得られた換算濃度の最大値 C_{max} (TOPFIT 計算値) はそれぞれ雄：2.17 $\mu\text{g/g}$ (4.47 時間後) 及び雌：3.33 $\mu\text{g/g}$ (3.94 時間後) であった（表 6）。

2500 ppm で前投与した雄ラットでは、換算濃度 C は放射能標識 [I] の投与 3 時間後に最大 (1.565 $\mu\text{g/g}$) に達し、投与 2～4 時間後にわたり約 1.5 $\mu\text{g/g}$ 以上を維持していた（図 1）。2500 ppm で前投与した雌ラットでは、投与 8 時間後に最大 (1.734 $\mu\text{g/g}$) に達し、投与 4～8 時間後にわたり約 1.5 $\mu\text{g/g}$ 以上を維持していた（図 2）。血漿中濃度曲線から得られた換算濃度の最大値 C_{max} は雄で 1.61 $\mu\text{g/g}$ (2.89 時間後) 及び雌で 1.66 $\mu\text{g/g}$ (4.31 時間後) であった（表 6）。

^{a)} 換算濃度 C ：血漿や臓器中の ^{14}C の濃度（被験物質換算濃度）

$$\text{換算濃度 } C = \frac{\text{測定放射能量 (dpm/(g組織} \times \text{Df))}}{\text{比放射能 (dpm/mg被験物質)}}$$

血漿や臓器中の ^{14}C の換算濃度 ($\mu\text{g/mL}$ または $\mu\text{g/g}$) = 相対濃度 P \times 投与量 (mg/kg 体重)

$$\text{相対濃度 } P = \frac{\text{組織中の } ^{14}\text{C} (\text{mg/kg組織})}{\text{投与した } ^{14}\text{C} (\text{mg/kg体重})}$$

相対濃度が $P = 1$ のときは等量分布となる。

相対濃度 P を用いると、投与量が異なる群の吸収・分布等に関するパラメーターを直接比較することが可能である。

全ての試験群で、最大濃度を保った後の放射能の血漿からの消失は速やかかつ継続的であった（図 1~2）。

亜急性混餌前投与を行ったラットの血漿中濃度曲線は、前投与せずに 1 回経口投与したラットの血漿中濃度曲線と同様の傾向を示した（図 1~2）。

最大濃度の 50%に達する時間 $t_{1/2 a}$ は 0.57~1.29 時間であり、前投与なしのラットの 0.32 及び 0.92 時間と類似した結果となった（表 6）。消失半減期 $t_{1/2 e}$ は 3.53~5.26 時間であり、これも前投与なしのラットにおける 4.25 及び 3.35 時間と類似した結果となった（表 6）。定常状態における理論分布容積 V_{ss} は 290.80~670.90 mL/kg であり、放射能が血漿から末梢の臓器・組織に良好に分布していることが示唆された。全身クリアランス CL は 0.95~1.76 mL/(分×kg 体重)であった（表 6）。腎クリアランス CL_R は 0.73~1.11 mL/(分×kg 体重)であり、前投与なしのラットの 0.59~1.07 mL/(分×kg 体重)と同等であった（表 6）。全平均滞留時間 MRT は約 8.1~10.5 時間であり、前投与なしのラットの約 8.4~10.5 時間と同様に短く、放射能が体内から速やかに消失していることが示唆された（表 6）。

以上の結果から、放射能の吸収、分布及び消失等の薬物動態パラメーターに前投与の有無あるいは前投与濃度の影響はほとんど認められなかった。

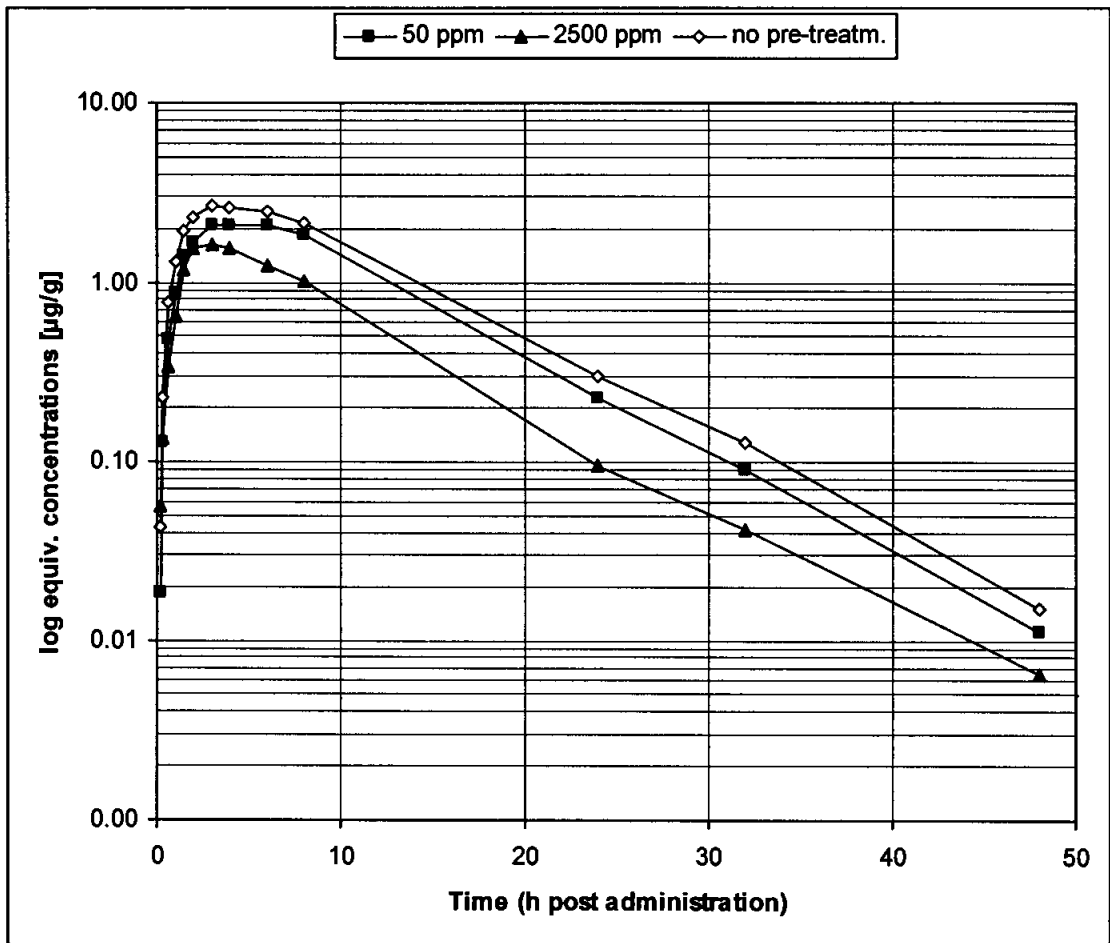
表 5 前投与した雄及び雌ラットに 2 mg/kg 体重で 1 回経口投与した後の血漿における相対濃度 P の経時変化

前投与濃度 動物の性 動物の匹数	50 ppm 雄 4	50 ppm 雌 4	2500 ppm 雄 3 ¹⁾	2500 ppm 雌 3 ²⁾
投与後時間（時間）	試験群 1	試験群 2	試験群 3	試験群 4
0.17	0.013	0.014	0.046	0.056
0.33	0.092	0.133	0.109	0.138
0.67	0.343	0.437	0.270	0.325
1.00	0.632	0.735	0.524	0.453
1.50	0.997	1.120	0.952	0.687
2.00	1.185	1.382	1.239	0.864
3.00	1.483	1.722	1.309	0.987
4.00	1.495	1.819	1.256	1.017
6.00	1.478	1.798	0.987	1.114
8.00	1.324	1.743	0.814	1.170
24.00	0.165	0.035	0.076	0.043
32.00	0.065	0.024	0.033	0.032
48.00	0.008	0.002	0.005	0.005

1) Namilov の異常値検定で異常値として棄却された動物番号 501 の結果を除いた平均。

2) Namilov の異常値検定で異常値として棄却された動物番号 506 の結果を除いた平均。

図1 2 mg/kg 体重で1回経口投与した後の雄ラット（試験群 1、3：前投与あり、試験群 8：前投与なし）の血漿中濃度曲線



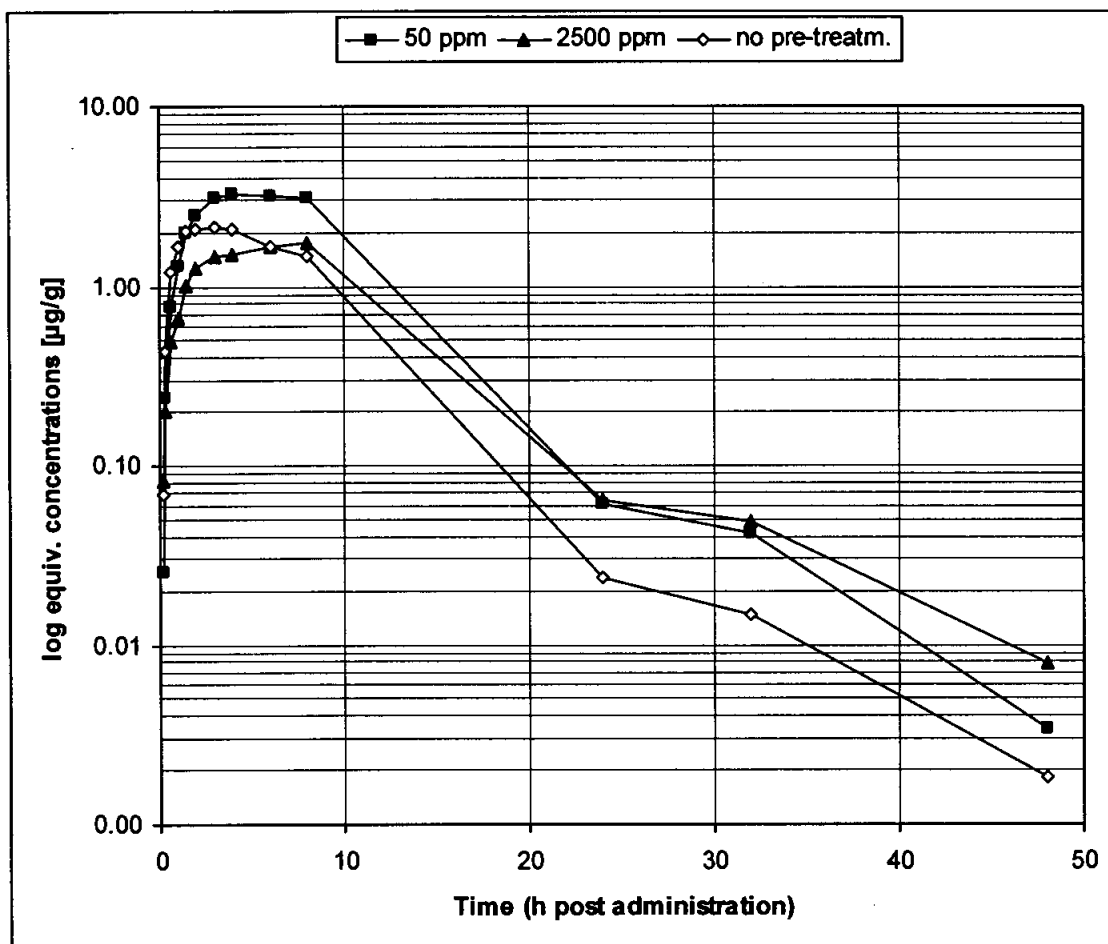
換算濃度 C

投与後時間	試験群 1 雄 4 匹 前投与 50 ppm	試験群 3 雄 3 匹 ¹⁾ 前投与 2500 ppm	試験群 8 ²⁾ 雄 4 匹 前投与なし
0.17	0.018	0.057	0.043
0.33	0.128	0.136	0.226
0.67	0.476	0.335	0.777
1.00	0.876	0.652	1.312
1.50	1.386	1.186	1.955
2.00	1.647	1.543	2.317
3.00	2.073	1.631	2.663
4.00	2.090	1.565	2.589
6.00	2.060	1.229	2.496
8.00	1.846	1.014	2.157
24.00	0.229	0.095	0.300
32.00	0.091	0.042	0.129
48.00	0.011	0.006	0.015

1) Namilov の異常値検定で異常値として棄却された動物番号 501 の結果を除いた平均。

2) Andersch I., Köster, J. (2000): [] スピロジクロフェン: ラットにおける薬物動態及び代謝研究: 代謝資料 No. 1

図2 2 mg/kg 体重で1回経口投与した後の雌ラット（試験群 2、4：前投与あり、試験群 9：前投与なし）の血漿中濃度曲線



換算濃度 C

投与後時間	試験群 2 雌 4 匹 前投与 50 ppm	試験群 4 雌 3 匹 ¹⁾ 前投与 2500 ppm	試験群 9 ²⁾ 雌 4 匹 前投与なし
0.17	0.025	0.082	0.068
0.33	0.237	0.203	0.439
0.67	0.775	0.491	1.212
1.00	1.303	0.667	1.684
1.50	1.992	1.011	2.014
2.00	2.462	1.272	2.066
3.00	3.072	1.456	2.112
4.00	3.245	1.503	2.062
6.00	3.197	1.647	1.646
8.00	3.087	1.734	1.481
24.00	0.061	0.064	0.024
32.00	0.042	0.049	0.015
48.00	0.003	0.008	0.002

1) Namilov の異常値検定で異常値として棄却された動物番号 506 の結果を除いた平均。

2) Andersch I., Köster, J. (2000): [] スピロジクロフェン: ラットにおける薬物動態及び代謝研究: 代謝資料 No. 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バイエルクロップサイエンス株式会社にある。

表 6 コンピュータプログラム TOPFIT による血漿中濃度曲線分析の薬物動態パラメーター

パラメーター	単位	亜急性性混餌投与を行ったラット (試験番号: M 01819074)				前投与なしのラット (試験番号: M 51819060 ¹⁾)	
		試験群 1	試験群 2	試験群 3	試験群 4	試験群 8	試験群 9
用量	mg/kg 体重	2	2	2	2	2	2
前投与	飼料中濃度 (ppm)	50	50	2500	2500	前投与なし	前投与なし
ラットの性		雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物の匹数		4	4	3	3	4	4
平均体重	g	428	268	406	258	200	200
尿中排泄	回収放射能に 対する%	69.86	77.01	63.30	64.22	64.33	75.82
相関係数 r^2		0.999	0.969	0.998	0.968	0.999	0.999
C_{max} (計算値)	$\mu\text{g/mL}$	2.17	3.33	1.61	1.66	2.69	2.11
t_{max} (計算値)	h	4.47	3.94	2.89	4.31	3.89	2.52
C_{max} (実験値)	$\mu\text{g/mL}$	2.09	3.24	1.63	1.73	2.66	2.11
t_{max} (実験値)	h	4.00	4.00	3.00	8.00	3.00	3.00
$t_{1/2a}$	h	0.84	0.68	0.57	1.29	0.92	0.32
$t_{1/2e}$	h	5.26	3.53	3.85	4.87	4.25	3.35
$t_{lag a}$	h	0.27	0.25	0.29	0.19	0.26	0.24
$t_{lag e}$	h	0.89	2.36	1.45	3.09	1.36	1.63
AUC	$\mu\text{g/mL} \times \text{h}$	28.92	35.05	18.85	20.92	36.65	23.71
CL	$\text{mL}/(\text{分} \times \text{kg 体重})$	1.15	0.95	1.76	1.59	0.91	1.41
	$\text{mL}/(\text{分} \times \text{rat})$	0.49	0.25	0.71	0.41	0.18	0.28
CL_R	$\text{mL}/(\text{分} \times \text{kg 体重})$	0.81	0.73	1.11	1.02	0.59	1.07
	$\text{mL}/(\text{分} \times \text{rat})$	0.34	0.20	0.45	0.26	0.12	0.21
MRT	h	10.47	8.11	9.24	9.84	10.53	8.38
MRT_{abs}	h	2.96	3.01	5.85	2.82	6.36	5.08
MRT_{disp}	h	7.51	5.10	3.38	7.02	4.17	3.29
V_{ss}	$\text{mL}/\text{kg 体重}$	519.00	290.80	357.20	670.90	227.70	277.60
weight. funct.:		$g = 1$	$g = 1/y$	$g = 1$	$g = 1/y$	$g = 1$	$g = 1$
コンパートメント数		2	2	2	2	2	2
備考:				動物番号 501の結果 を除く [2]	動物番号 506 の結果を除く [2]		

1) Andersch I., Köster, J. (2000): [¹⁴C] スピロジクロフェン: ラットにおける薬物動態及び代謝研究: 代謝資料 No. 1

2) Nalimov の異常値検定により、血漿中濃度が以上として棄却された動物番号 501 及び 506 の結果を除いて算出した平均換算濃度から算出した血漿中濃度曲線分析の薬物動態パラメーター。

AUC: 血漿中濃度曲線下面積、血漿薬物濃度-時間曲線を 0 時間~無限時間まで外挿した曲線下面積

$t_{1/2a}$: 最大濃度の 50% に達する時間; $t_{1/2e}$: 消失の半減期

$t_{lag a}$: 投与と吸収開始の間の遅延時間

$t_{lag e}$: 投与と消失開始の間の遅延時間

CL: 全身クリアランス

CL_R : 腎からのクリアランス ($CL_R = CL \times \text{尿中排泄}\% \times 0.01$)

t_{max} : 血管外投与を行った後、血漿中で最高薬物濃度になった時間

C_{max} : 血管外投与を行った後、血漿中での最高薬物濃度

MRT: 測定コンパートメントでの薬物あるいは総放射能の平均滞留時間

MRT_{abs} : 吸収における平均滞留時間

MRT_{disp} : 排泄における平均滞留時間

V_{ss} : 血漿中の薬物濃度に基づいた定常状態での薬物の分布容積 (見かけ上)

V. C.: 変動係数 (%) = 相対標準偏差 (%) に等しい

2. 投与した放射能の回収 (表 7)

放射能標識被験物質 [I] を経口投与した後の各試験群における放射能の総回収率は投与放射能の 85.88~103.00%であり、投与放射能がほぼ定量的に回収された。このため、以降では特に記載の無い限り投与放射能に対する割合で示す。

3. 排泄 (表 7)

全試験群において投与量の 84.02%~102.52%が 48 時間以内に尿及び糞中に排泄された (表 7)。尿排泄 (56.38~74.67%) と糞排泄 (21.63~30.76%) の比は約 2.0~3.5 であり、尿が主要な排泄経路であった。これらの値は、前投与なしのラットの尿及び糞からの排泄率が 88.36 及び 97.48%であり、尿/糞の排泄量の比が約 1.8 及び 3.2 であったことと同様の結果であった。尿及び糞からの排泄量、尿/糞の排泄量の比には雌雄及び前投与の違いによる有意な差 (99%信頼限界) は認められなかった。

4. 屠殺時の放射能残留 (表 7)

屠殺時に体内に残っている放射能は全試験群においてかなり低く、50 ppm で前投与したラットの胃腸管を除く体内には屠殺時において投与量の約 0.26% (雄) 及び約 0.18% (雌) が残存し、2500 ppm で前投与した場合は、投与量の約 0.62% (雄) 及び約 0.91% (雌) が残存していた。先に行った前投与なしのラットにおいては、体内に投与量の約 0.55% (雄) 及び約 0.02% (雌) が残存していた (表 7)。ラット体内の残留量に雌雄及び前投与の違いによる有意な差 (99%信頼限界) は認められなかった。

尿及び糞における排泄の速度論的解析及び血漿における総放射能の消失の速度論的解析から、48 時間後の屠殺時にラット体内に残存していた少量の放射能は更に排泄されると推定される。

表 7 前投与した雄及び雌ラットへ放射能標識 [I] を 2 mg/kg 体重で 1 回経口投与した後の排泄及び動物体における放射能残留

	投与放射能に対する割合 (%)					
	試験群 1	試験群 2	試験群 3	試験群 4	試験群 8 ¹⁾	試験群 9 ¹⁾
飼料中の有効成分濃度 ラットの性	50 ppm 雄	50 ppm 雌	2500 ppm 雄	2500 ppm 雌	前投与なし 雄	前投与なし 雌
尿	71.97	74.67	61.41	56.38	57.28	74.20
糞	30.55	21.63	30.76	27.64	31.08	23.28
尿・糞 計 (尿/糞)	102.52 (2.35)	96.30 (3.45)	92.17 (1.99)	84.02 (2.03)	88.36 (1.84)	97.48 (3.18)
胃腸管を除く動物体	0.2636	0.1839	0.6197	0.9135	0.5513	0.0156
胃腸管	0.2375	0.4881	1.3780	0.9465	0.0818	0.0226
動物体 計	0.5012	0.6721	1.9970	1.8600	0.6332	0.0382
総計	103.00	96.97	94.17	85.88	88.99	97.52

1) Andersch I., Köster, J. (2000): [¹⁴C] スピロジクロフェン: ラットにおける薬物動態及び代謝研究: 代謝資料 No. : 1

5. 代謝 (表 8~10)

(1) 尿中代謝物 (表 8)

全ての試験群で [I] は尿から検出されなかった。

前投与した雄ラットにおける尿中の主代謝物は、の位置に
 を持つ であり、前投与 50 ppm 及び 2500 ppm でそれぞれ投与
 放射能の であった。次いで、

であった。

は量的にあまり多くなく、投与放射能の 4.88% 及び 5.41% のみであった。い
 ずれの前投与濃度でも、が脱水された ま
 たは が含量で 検出された。
は、前投与 50 ppm 及び 2500 ppm で 検出され
 た。が更に変換された は 2500 ppm で前投与したラットから
 検出された。

50 ppm 及び 2500 ppm で前投与した雌ラットでは、尿中の主代謝物は であり、
 前投与 50 ppm 及び 2500 ppm でそれぞれ であった。雌ラットでは、
 雄ラットに比べて が水酸化された代謝物は少なかったものの について
 多く、

がそれぞれ であった。前投与 50 ppm 及び 2500
 ppm で、が脱水された
がそれぞれ 検出された。

は、いずれの前投与濃度でも検出されなかった。 が更に
 変換された は 2500 ppm で前投与したラットから 検出された。
 尿に排泄された放射能の約 96.2%~99.2% が同定された。

表 8 前投与した雄及び雌ラットへ 2 mg スピロジクロフェン/kg 体重で放射能標識 [I] を 1 回経口投与した後 0-48 時間に排泄された尿中の放射能代謝物の分布

尿	投与放射能に対する割合 (%)			
	試験群 1 50 ppm 雄	試験群 2 50 ppm 雌	試験群 3 2500 ppm 雄	試験群 4 2500 ppm 雌
飼料中の有効成分濃度 ラットの性 成分				
同定率計 (尿中放射能に対する同定率)	70.84 (98.4)	71.86 (96.2)	59.26 (96.5)	55.93 (99.2)

(2) 糞中代謝物 (表 9)

糞中に含まれるほとんど全ての放射能 (>95%) が抽出された。

50 ppm で前投与した雌雄のラットの糞抽出液から、それぞれ投与量の 3.48% (雄) 及び 0.38% (雌) に相当する [I] が検出された (表 9)。2500 ppm で前投与したラットの糞中には、投与量の 5.43% (雄) 及び 13.54% (雌) に相当する [I] が含まれ、50 ppm で前投与したラットの糞中と比べより多くの [I] が含まれていた。

ラット糞抽出液中での主要代謝物はいずれの試験群でも で、投与量の 4.39% ~8.95%であった。次いで、 であった。更に、以下の代謝物が全試験群の糞中から少ない量で検出された： が投与量の

であった。尿の場合と異なり、糞中の代謝物の分布には雌雄の違いは認められなかった。

更に

の代謝物が 50 ppm で前投与した雄雌のラットの糞中からそれぞれ

検出された。

これらの代謝物は 2500 ppm で前投与したラットの糞抽出液中には見出されないか非常に量が少なかった。不安定な未知代謝物 が主として 50 ppm 前投与群の糞中から検出された。この代謝物は分析中に急速に分解し となることから確認された。50 ppm 前投与群の糞抽出液中の が雌雄それぞれ であった。

糞に排泄された放射能の約 80.4%~89.9%が同定あるいは特性づけされた。

表 9 前投与した雄及び雌ラットへ 2 mg/kg 体重で放射能標識 [I] を 1 回経口投与した後 0-48 時間に排泄された糞中のスピロジクロフェン及び放射能代謝物の分布

糞	投与放射能に対する%			
	試験群 1 50 ppm 雄	試験群 2 50 ppm 雌	試験群 3 2500 ppm 雄	試験群 4 2500 ppm 雌
飼料中の有効成分濃度 ラットの性				
成分 スピロジクロフェン [I]	3.48	0.38	5.43	13.54
同定または特性付けした成分の合計 (糞中放射能に対する同定または特性化率)	24.80 (81.2)	17.38 (80.4)	26.82 (87.2)	24.84 (89.9)

1)

n. d. = 検出せず

(3) 排泄物中の代謝物 (表 10)

雄ラットの排泄物中における主代謝物は、いずれの前投与濃度においても (前投与濃度 50 ppm 及び 2500 ppm で) であり、これらの代謝物に続いて (前投与濃度 50 ppm 及び 2500 ppm で) が多かった。雌ラットの排泄物中では、いずれの前投与濃度においても主代謝物は (前投与濃度 50 ppm 及び 2500 ppm で) であった。

は全試験群において少量検出された。50 ppm で前投与したラットの排泄物中に と分析中に に変換される のような置換ジクロロフェニル代謝物のごく少量見出された () が、2500 ppm で前投与したラットの排泄物にはこれらの代謝物はより量が少ない () かまたは検出されなかった。

尿や糞経路で排泄された代謝物の量について、前投与濃度あるいは前投与の有無による違いは認められなかったが、雄と雌との尿中代謝物の分布には量的な相違が認められた。

表 10 前投与した雄及び雌ラットへ 2 mg/kg 体重で放射能標識 [I] を 1 回経口投与した後に排泄された尿及び糞中のスピロジクロフェン及び代謝物の分布割合

尿及び糞の合計	投与放射能に対する%			
	試験群 1 50 ppm 雄	試験群 2 50 ppm 雌	試験群 3 2500 ppm 雄	試験群 4 2500 ppm 雌
飼料中の有効成分濃度 ラットの性				
成分 スピロジクロフェン [I]	3.48	0.38	5.43	13.54
同定または特性付けした成分の合計 (排泄放射能に対する同定または特性化率)	95.64 (93.3)	89.24 (92.7)	86.09 (93.4)	80.77 (96.2)

1)

n. d. = 検出せず。;

6. 代謝経路 (図 3)

スピロジクロフェン [I] のラットにおける代謝の最初の段階は
を生成するステップであった。 の水溶解度は高
いため排泄されるか、あるいは、主として
となる 2 種の推定経路により変換された。更に、
に変換された。また、
も量的には少ないものの生成した。

量的には少ないが、
が生成した。 へと分
解した。

スピロジクロフェンのラットにおける推定代謝経路を図 3 に示す。

【結論】

4 種の試験群全てにおける薬物動態 (吸収、分布及び消失) は前投与していない場合と同様であり、血漿レベルは低く、放射能 (親化合物と代謝物) が速やかに吸収、消失されることで特徴付けられた。放射能の吸収、分布及び消失等の薬物動態パラメーターに前投与の有無あるいは前投与濃度の影響はほとんど認められず、性特異的な差も認められなかった。投与後 2 日間の尿及び糞に投与放射エネルギーの 84% 以上 (回収放射エネルギーの 95% を超える放射能) が回収され、投与後 2 日の屠殺時において放射能はほとんど残体に残留していなかった。そのため、親化合物及び代謝物が蓄積する可能性はないと考えられる。尿及び糞からの排泄量、尿/糞の排泄量の比には前投与の有無あるいは前投与濃度の影響はほとんど認められず、性特異的な差も認められなかった。

代謝パターンは前投与なしのラットで得られた結果とほぼ同一であり、排泄物中 (尿と糞) に新しい代謝物は認められなかった。本試験でもまた、先に行った試験と同様、代謝物の定量的なパターンにおいて性特異的な差が認められた。雄ラットにおいては

であった。

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

図 3 亜急性混餌投与後のラットにおける推定代謝経路

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

1. 動物における動態と代謝試験

(3) [^{14}C] スピロジクロフェン：雄ラットにおける総放射エネルギーの分布、定量的全身オートラジオグラフィーによる測定

(代謝資料 No. 3)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2000年7月17日

供試標識化合物

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

化学構造：

[*： ^{14}C 標識部位]

標識：[^{-14}C] 標識スピロジクロフェン [I]

比放射能：3.59MBq/mg

放射化学的純度：>98% (放射能 TLC)、>99% (放射能 HPLC)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-20頁に記す。

【方法】

1. 動物、投与量 (表1)

平均体重約 200 g、7-8 週齢のウィスター系雄ラットを、各実験の最低 1 週間前から馴化し、ケージカード及び尾への着色を行い識別した。実験の開始前及び実験期間中は 1 日当り 15 g/頭の標準飼料を与え、水は自由に摂取させた。

投与量は被験物質の比放射能、毒性を考慮し、代謝試験の低投与量 (2 mg/kg) に近い 3 mg/kg とした。投与液中での安定性を考慮し、0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液 (0.5%CMC 水溶液/酢酸 (100/0.5, w/v)) に懸濁した [I] を 1 回経口投与し (投与液量 2 mL/動物)、投与後の吸収、分布、排泄を中心とした体内動態をオートラジオグラフィーの手法により研究した。

また、ラジオルミノグラフィーの手法を用いた定量も実施した。試験設計の概要を表 1 に示す。

表 1. 試験設計の概要

投与経路	投与用量 (mg/kg 体重)	投与回数	性	動物番号	屠殺時間 (投与後)	採取試料	投与化合物
経口	3	1	雄	436	4	-	非標識
				437	1	尿	
				438	4	尿	
				439	8	尿	標識
				440	24	尿、糞	
				441	48	尿、糞	

2. 全身オートラジオグラフィ

3 mg/kg の用量で雄ラットに 1 回経口投与した後、1、4、8、24 及び 48 時間後に各 1 頭を二酸化炭素を用いて屠殺し、金属保定器で身体を伸ばした状態で固定し、直ちに約-70°Cで凍結した。その後、動物を保定器からはずして、マイクロトームのブロック作成器上でカルボキシメチルセルロース (7~8%) 中に包埋した。切片は 50 μm 厚で粘着テープに固着させて作成し、マイクロトームの冷却室中で最低 24 時間凍結乾燥した。次いで、切片をイメージングプレートに対して露光した後、イメージングプレートを Fuji BAS 5000® Image Analyser でスキャンした。

3. 定量的全身オートラジオグラフィ

ソフトウェア Tina®を用いて BAS 5000®でスキャンして得られたイメージ中の放射能を以下の方法により定量した。各臓器あるいは臓器の一部において、一定の面積を積分し、バックグラウンドを減算した後、ある特定の組織中の放射能濃度に比例する mm²当りの Photostimulated luminescence (PSL) 値 (単位 PSL/mm²) を求めた。20 μm 切片厚の脳灰白質の自己吸収特性用に校正されている既知濃度の放射能標準線源をラット切片と同時に露光し、同じ手法で積分した。標準線源の濃度は、切片厚の違いによる透過率の違い (50 及び 20 μm の切片の透過率の比=0.8) で補正した。積分後、PSL/mm² と dpm/g 組織間の一次回帰分析により得られた関係を用いて凍結乾燥したラット切片中の放射能濃度を求めた。凍結乾燥時の水分損失及び各臓器の自己吸収率に基づいて、湿重量当りの総放射能濃度 (TRR) を算出した。

TRR は各組織について、ラジオルミノグラフィにより 1 回から 6 回測定し、それぞれの値の算術平均を求め、次の計算に使用した。

$$\text{TRR [有効成分換算、}\mu\text{g/g wet]} = \frac{(\text{PSL-BKG})/\text{mm}^2 \times C_F \times D_F \times \text{Cor}_F}{\text{SA}}$$

TRR [μg/g wet] : 有効成分換算での湿重量当りの残留濃度 μg/g (ppm)

(PSL-BKG)/mm² : バックグラウンド値で補正した 1mm² 当りの photostimulated luminescence

C_F : 標準線源より導いたキャリブレーション係数; 原点を通る直線回帰の傾き (標準線源の (PSL-BKG)/mm²、厚さ 50 μm の組織と等しい [dpm/g])

D_F : 組織及び臓器の凍結乾燥係数

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

Cor_F : 自己吸収の補正係数

SA : 放射能標識親化合物の比放射能 [dpm/μg]

【結果】

1. 経口投与後のオートラジオグラム

経口投与1時間後、胃にもっとも強い黒化が見られた。続いて、小腸、肝臓、腎臓の順に強い黒化が見られた。これらの代謝及び排泄をつかさどる臓器には血液中濃度より高い放射エネルギーが認められたが、その他の全ての臓器及び組織における放射能濃度は血液中の濃度より低かった。胃に最も強い黒化が認められ、投与1時間後には投与した被験物質が完全には吸収されていないことが示された。しかし、吸収された放射能はラット体内に速やかに分布していることが示された。小腸に均一な黒化が認められたことにより放射性の胆汁が小腸の管腔へ分泌されていることを示していた。

投与4時間後(図2)、投与1時間後の放射能分布パターンと同様であったが、投与1時間後よりも高い濃度の放射能が腸の内容物及び膀胱で観察され、尿及び糞へ放射能の排泄が開始されていることが示唆された。尿への排泄が開始されていることは採取した尿の放射能測定からも確認された(表2)。

投与8時間後(図3)、胃粘膜及び胃の上皮深層が周辺の組織と比較してよく認識された。これは放射能が粘膜を介して臓器へ分泌されていることを示唆している。最も高いレベルの黒化が腎臓、肝臓、腸管及び膀胱で認められた。

投与24時間後(図4)、総放射エネルギーは顕著に減少した。最も高いレベルの黒化が肝臓、腎臓、膀胱、腸管及び糞で認められた。その他の臓器及び組織では血液中の放射能濃度より高いものはなかった。

投与48時間後(図5)、動物体からさらに放射能が排泄されていることが示された。放射能は腎臓、肝臓、小腸の一部及び糞でのみ検出可能であった。投与24時間までと比較して動物体中の放射能濃度は明らかに低かった。

2. 定量的全身オートラジオグラフィ

3 mg/kg で経口投与した後の臓器及び組織における総放射能濃度 (TRR) を経時的に解析し、速度論的挙動を解析した(表3、図6)。

投与1時間後には被験物質が完全には吸収されていなかったため、大部分の臓器及び組織において投与4時間後の放射能濃度は投与1時間後の放射能濃度に比べて高くなった。投与8時間後における臓器及び組織における放射能濃度は排泄に関与する膀胱等の一部の臓器及び組織を除いて投与4時間後に比べて低くなった。投与24時間後には全ての臓器及び組織において放射能濃度は著しく減少した。投与48時間後には大部分の臓器及び組織で検出限界未満まで減少し、投与4時間後あるいは8時間後と比較すると、数桁の程度で減少した。全ての臓器及び組織で試験期間中に濃度が減少し、48時間後には大部分の臓器及び組織で検出限界未満であった。以上の知見及び全てのオートラジオグラムから、[I]及びその代謝物が特定の臓

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

器及び組織に蓄積する徴候は全く認められなかった。

試験期間全般を通して、放射能濃度は小腸、肝臓及び腎臓で最も高かった（最高約 6 $\mu\text{g/g}$ ）。これら代謝及び排泄に関与する臓器の他に投与 1~8 時間後の褐色脂肪で特に高い放射能が認められた（投与 4 時間後に最高 2.7 $\mu\text{g/g}$ ）。副腎、甲状腺及び精巣等の内分泌器官の濃度が常に血液中濃度より低かったことは重要である。

【結論】

[^{14}C] 放射能標識化合物 (3 mg/kg 体重) を 1 回経口投与した後のスピロジクロフェンの雄ラットにおける薬物動態 (投与後 48 時間) は次のようにまとめられる。

- ・胃腸管から速やかに吸収される。
- ・主要な代謝臓器である肝臓と排泄に関連する主要な臓器である腎臓へ最初に分布し、さらに動物体に分布する。
- ・小腸、胃粘膜及び胃上皮深層への放射能の胆汁による分泌。
- ・ホルモンを制御する分泌臓器あるいは組織（例えば、副腎、精巣または甲状腺）には程度の強い黒化は認められなかった。
- ・特定の臓器及び組織に放射能の蓄積は認められなかった。
- ・尿及び糞から高い率の排泄が認められた。

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

表 2. [¹⁴C] スピロジクロフェンを 1 回経口投与した後の雄ラットの尿への放射能の排泄

時間	動物番号	投与量に対する割合 積算量 (%)
0-1 時間	437	0.43
0-4 時間	438	7.04
0-8 時間	439	9.74
8-24 時間	440	58.17
24-48 時間	441	58.63

表 3. [¹⁴C] スピロジクロフェンを 1 回経口投与した後の雄ラットの組織及び臓器における放射能の分布 (有効成分換算 µg/g 湿臓器あるいは湿組織)

臓器あるいは組織	動物番号 437 1 時間後	動物番号 438 4 時間後	動物番号 439 8 時間後	動物番号 440 24 時間後	動物番号 441 48 時間後
下垂体	0.107	0.332	0.436	0.032	n. d. (< LOD) ¹⁾
松果体	0.137	0.765	0.878	0.038	n. d. (< LOD) ¹⁾
脳	0.006 (< LOQ)	0.021 (< LOQ)	0.019 (< LOQ)	0.003 (< LOD)	n. d. (< LOD) ¹⁾
腎皮質	1.343	2.285	1.560	0.262	0.009 (< LOQ)
腎髄質	0.240	0.734	0.882	0.066	0.002 (< LOD)
副腎	0.426	1.020	0.825	0.097	0.003 (< LOD)
肝臓	1.831	5.537	5.460	0.631	0.025 (< LOQ)
脊髄	0.007 (< LOQ)	0.019 (< LOQ)	0.020 (< LOQ)	0.003 (< LOD)	n. d. (< LOD) ¹⁾
骨髄	0.088	0.246	0.204	0.023 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
胸腺	0.039	0.132	0.113	0.010 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
脾臓	0.087	0.179	0.129	0.017 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
膵臓	0.097	0.186	0.154	0.021 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
甲状腺	0.166	0.480	0.417	0.052	n. d. (< LOD) ¹⁾
精巣上体頭部	0.044	0.162	0.204	0.014	n. d. (< LOD) ¹⁾
精巣上体尾部	0.071	0.199	0.226	0.025	n. d. (< LOD) ¹⁾
睾丸	0.019	0.171	0.139	0.015	0.001 (< LOD)
血液	0.471	1.518	1.278	0.140	n. d. (< LOD) ¹⁾
肺	0.091	0.638	0.075	0.012 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
唾液腺	0.138	0.397	0.339	0.039	n. d. (< LOD) ¹⁾
心臓	0.232	0.710	0.415	0.056	n. d. (< LOD) ¹⁾
鼻粘膜	0.029	0.173	0.095	0.018 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
筋肉	0.038	0.116	0.145	0.015 (< LOQ)	n. d. (< LOD) ¹⁾
歯根	0.485	1.403	4.014	0.304	n. d. (< LOD) ¹⁾
小腸	5.691	3.818	3.002	0.092	n. d. (< LOD) ¹⁾
包皮腺	0.177	0.673	0.878	0.030	n. d. (< LOD) ¹⁾
前立腺	0.103	0.578	0.404	0.056	n. d. (< LOD) ¹⁾
皮膚	0.191	0.815	0.597	0.093	n. d. (< LOD) ¹⁾
褐色脂肪	0.797	2.698	1.665	0.190	n. d. (< LOD) ¹⁾
舌筋肉	0.145	0.392	0.299	0.038	n. d. (< LOD) ¹⁾
膀胱	0.251	3.715	6.463	0.372	n. d. (< LOD) ¹⁾

1): 報告書中では 0.000 と記載されているが 48 時間後では検出されておらず、抄録中では n. d. (< LOD): 検出限界未満とした

<LOQ: 定量限界未満

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

図1

[¹⁴C] スピロジクロフェン (3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雄ラットの全身オートラジオグラム及び放射能標準線源の同時露光。(1時間後、動物番号 437、露光時間 24 時間)

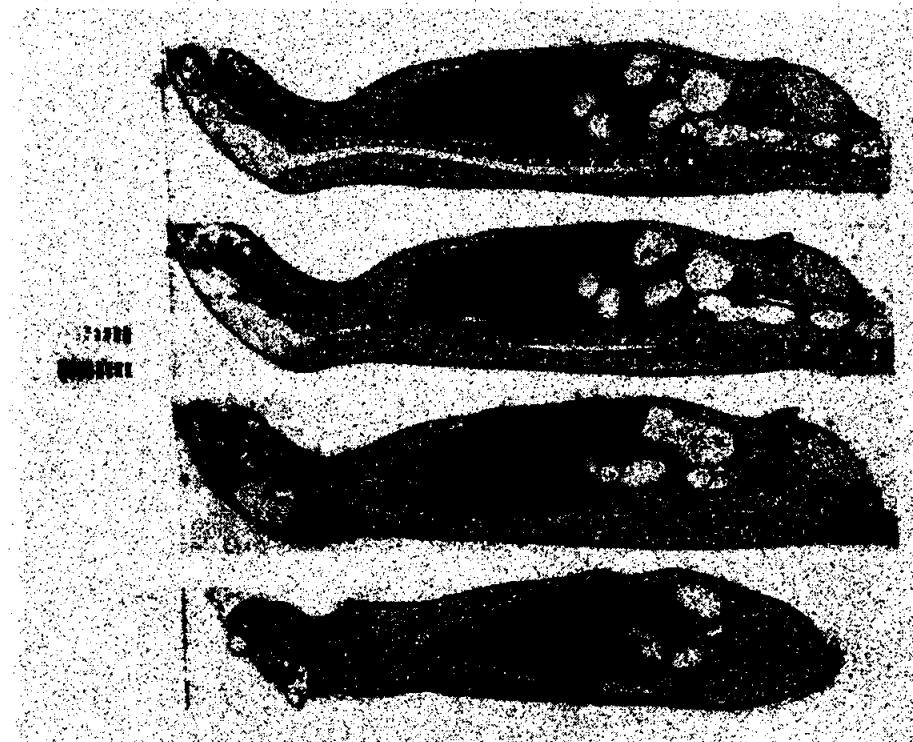
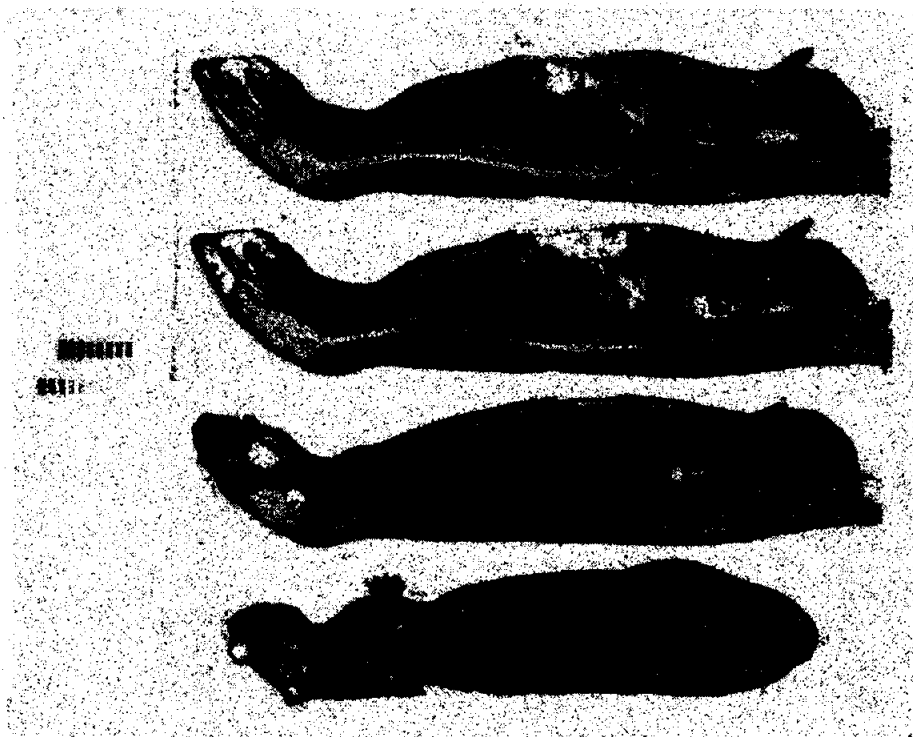


図2

[¹⁴C] スピロジクロフェン (3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雄ラットの全身オートラジオグラム及び放射能標準線源の同時露光。(4時間後、動物番号 438、露光時間 24 時間)



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

図 3

[¹⁴C] スピロジクロフェン
(3 mg/kg 体重) を 1 回経口投与した雄ラットの全身
オートラジオグラム及び放射能標準線源の同時露光。
(8 時間後、動物番号 439、露光時間 24 時間)

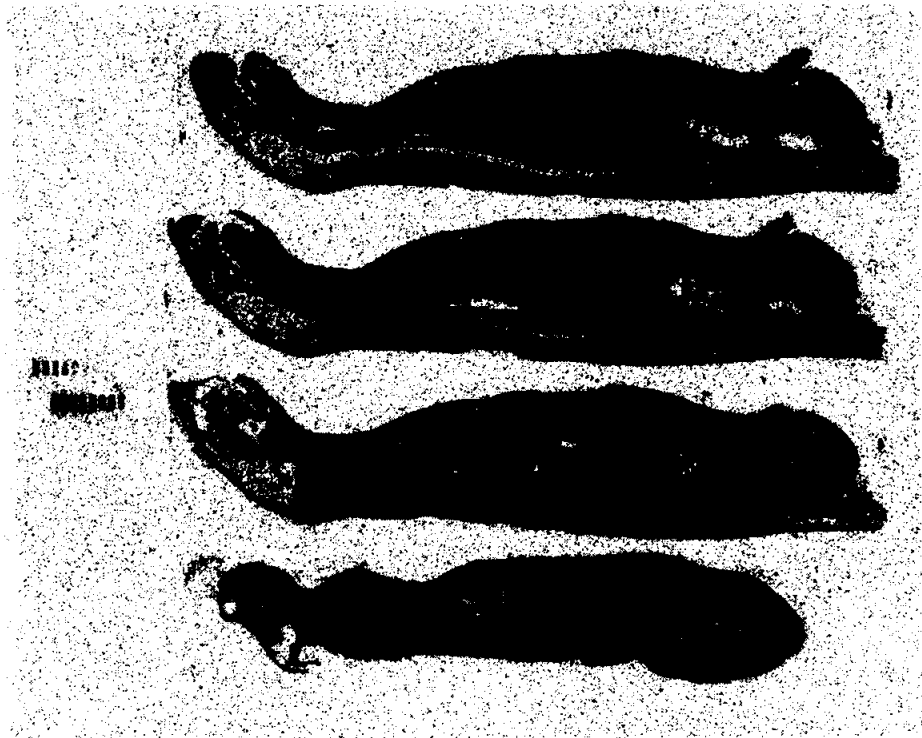


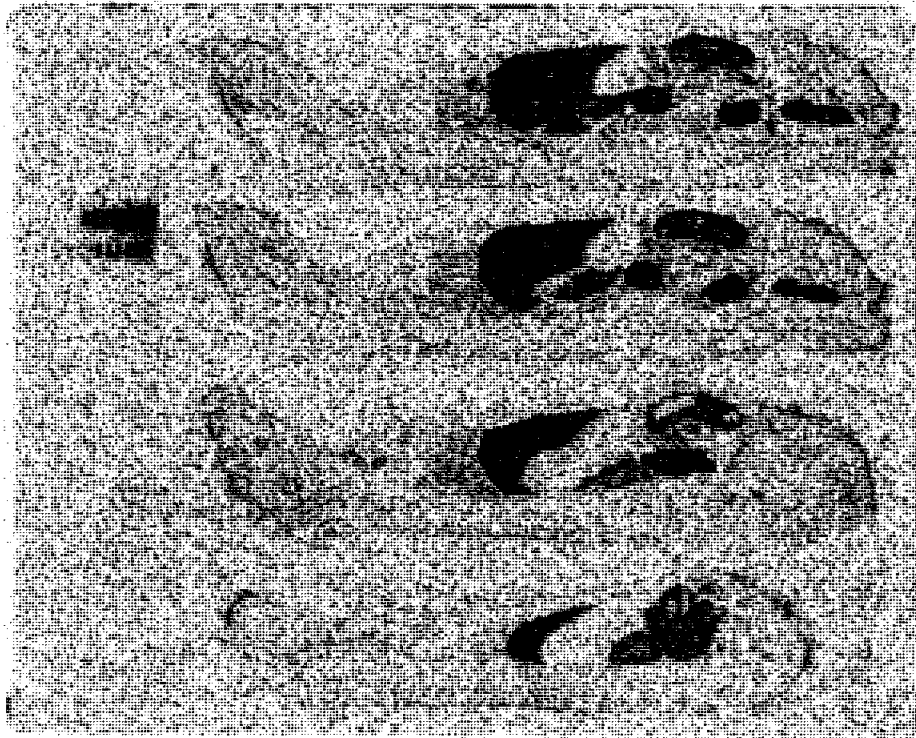
図 4

[¹⁴C] スピロジクロフェン
(3 mg/kg 体重) を 1 回経口投与した雄ラットの全身
オートラジオグラム及び放射能標準線源の同時露光。
(24 時間後、動物番号 440、露光時間 72 時間)。



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

図5 [^{14}C] スピロジクロフェン
(3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雄ラットの全身
オートラジオグラム及び放射能標準線源の同時露光。
(48時間後、動物番号441、露光時間96時間)



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

1. 動物における動態と代謝試験

(4) [¹⁴C] スピロジクロフェン：雌ラットにおける総放射エネルギーの分布、定量的全身オートラジオグラフィによる測定

(代謝資料 No. 4)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2001年1月29日

供試標識化合物

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

化学構造：

[* : ¹⁴C 標識部位]

標識：[¹⁴C] 標識スピロジクロフェン [I]

比放射能：3.59MBq/mg

放射化学的純度：>98% (放射能 TLC)、>99% (放射能 HPLC)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-20 頁に記す。

【方法】

1. 動物、投与量 (表 1)

平均体重約 200 g、7-8 週齢のウィスター系雌ラットを、各実験の最低 1 週間前から馴化し、ケージカード及び尾への着色を行い識別した。実験の開始前及び実験期間中は 1 日当たり約 18 g/頭の飼料を与え、水は自由に摂取させた。投与前、約 16 時間は絶食させた。

投与量は被験物質の比放射能、毒性を考慮し、代謝試験の低投与量 (2 mg/kg) に近い 3 mg/kg とした。投与液中での安定性を考慮して 0.5%カルボキシメチルセルロース (CMC) 溶液 (0.5%CMC 水溶液/酢酸 (100/0.5, w/v)) に懸濁した [I] を 1 回経口投与し (投与液量 2 mL/動物)、投与後の吸収、分布、排泄を中心とした体内動態をオートラジオグラフィの手法により研究した。

また、ラジオルミノグラフィの手法を用いた定量を実施した。試験設計の概要を表 1 に示す。

表 1. 試験設計の概要

投与経路	投与用量 (mg/kg 体重)	投与回数	性	動物番号	屠殺時間 (投与後)	採取試料	投与化合物
経口	3	1	雌	54	4	-	非標識
				49	1	尿	
				50	4	尿	
				51	8	尿	標識
				52	24	尿、糞	
				53	48	尿、糞	

2. 全身オートラジオグラフィ

3 mg/kg の用量で雌ラットに 1 回経口投与した後、1、4、8、24 及び 48 時間後に各 1 頭を二酸化炭素を用いて屠殺し、金属保定器で身体を伸ばした状態で固定し、直ちに約-70℃で凍結した。その後、動物を保定器からはずして、マイクロトームのブロック作成器上でカルボキシメチルセルロース (7~8%) 中に包埋した。切片は 50 μm 厚で粘着テープに固着させて作成し、マイクロトームの冷却室中で一昼夜凍結乾燥した。次いで、切片をイメージングプレートに対して露光した後、イメージングプレートを Fuji BAS 5000® Image Analyser でスキャンした。

3. 定量的全身オートラジオグラフィ

ソフトウェア Tina®を用いて BAS 5000®でスキャンして得られたイメージ中の放射能を以下の方法により定量した。各臓器あるいは臓器の一部において、一定の面積を積分し、バックグラウンドを減算した後、ある特定の組織中の放射能濃度に比例する mm²当りの Photostimulated luminescence (PSL) 値 (単位 PSL/mm²) を求めた。20 μm 切片厚の脳灰白質の自己吸収特性用に校正されている既知濃度の放射能標準線源をラット切片と同時に露光し、同じ手法で積分した。標準線源の濃度は、切片厚の違いによる透過率の違い (50 及び 20 μm の切片の透過率の比=0.8) で補正した。積分後、PSL/mm² と dpm/g 組織の関係を一次回帰分析した関係を用いて凍結乾燥したラット切片中の放射能濃度を算出後、凍結乾燥時の水分損失及び各臓器の自己吸収率に基づいて、湿重量当りの放射能濃度 (TRR) を算出した。

TRR は各組織について、ラジオルミノグラフィにより 1 回から 6 回測定し、それぞれの値の算術平均を求め、次の計算に使用した。

$$\text{TRR [有効成分換算、}\mu\text{g/g wet]} = \frac{(\text{PSL-BKG})/\text{mm}^2 \times C_F \times D_F \times \text{Cor}_F}{\text{SA}}$$

TRR [μg/g wet] : 有効成分換算での湿重量当りの残留濃度 μg/g (ppm)

(PSL-BKG)/mm² : バックグラウンド値で補正した 1mm² 当りの photostimulated luminescence

C_F : 標準線源より導いたキャリブレーション係数 ; 原点を通る直線回帰の傾き (標準線源の (PSL-BKG)/mm²、厚さ 50 μm の組織と等しい [dpm/g])

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

D_F : 組織及び臓器の凍結乾燥係数

Cor_F : 自己吸収の補正係数

SA : 放射能標識親化合物の比放射能 [dpm/ μ g]

【結果】

1. 全身オートラジオグラム

経口投与 1 時間後 (図 1)、胃にもっとも強い黒化が認められた。小腸、肝臓、腎臓にも強い黒化が認められた。最も強い黒化が胃に認められ、投与 1 時間後には投与した被験物質が完全には吸収されていないことが示された。しかし、吸収された放射能はラット体内に速やかに分布していることが示された。肝臓、腎臓、卵巣、そして特に膀胱には血液中濃度より高い放射エネルギーが認められたが、その他の全ての臓器及び組織における放射能濃度は血液中の濃度より低かった。

投与 4 時間後 (図 2)、投与 1 時間後の放射能分布パターンと同様であったが、大腸の内容物及び膀胱でより多くの放射能が測定され、尿及び糞への排泄の開始が示唆された。採取した尿の LSC 測定により尿への排泄が開始されていることが確認された (表 2)。

投与 8 時間後 (図 3)、胃基底粘膜上皮が周辺の組織と比較してより鮮明に観察された。これは放射能が粘膜を介して臓器へ分泌されていることを示している。腎臓、肝臓、消化管及び膀胱で最も高いレベルの黒化が認められた。

投与 24 時間後 (図 4)、総放射エネルギーは顕著に減少した。最も高いレベルの黒化が糞及び大腸内容物に認められた。膀胱、肝臓、腎臓のみで少ない量の放射能が認められた。

投与 48 時間後 (図 5)、動物体からさらに放射能が排泄されていることが示された。放射能は腎臓、肝臓、大腸の一部及び糞でのみ検出可能であった。投与 24 時間までと比較して動物体中の放射能濃度は明らかに低かった。

2. 定量的全身オートラジオグラフィ

3 mg/kg で経口投与した後の臓器及び組織における総放射能濃度 (TRR) を経時的に解析し、速度論的挙動を解析した (表 3、図 6)。

経口投与 1 時間後において放射能の大部分は胃の基底及び幽門部分で検出されたが、露光過多のため、これらの部位における定量は不可能だった。ほぼ全ての臓器及び組織で投与 4 時間後、放射能濃度は増加し、投与 8 時間後の放射能濃度が最も高かった。臓器及び組織中における最高濃度の放射能は肝臓 (2.826 μ g/g、8 時間後) で検出され、次いで腎臓 (1.619 μ g/g : 腎盂、髓質、皮質の平均、8 時間後) で高い濃度の放射能が検出された。投与 24 時間後には全ての臓器及び組織において放射能濃度は著しく減少し、腎臓、肝臓及び膀胱でのみ放射能が検出可能であった。全ての臓器及び組織で試験期間中に濃度が減少し、48 時間後には全ての臓器及び組織で検出限界未満であった。

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

以上の知見及び全てのオートラジオグラムから、[I]及びその代謝物が特定の臓器及び組織に蓄積する徴候は全く認められなかった。

試験期間全般を通して、臓器及び組織における放射能濃度は肝臓及び腎臓で最も高かった（最高約 3 $\mu\text{g/g}$ ）。代謝及び排泄に関与するこれらの主要臓器を除いて、臓器及び組織における放射能濃度は 0.5 $\mu\text{g/g}$ を超えなかった。副腎、甲状腺、子宮、卵巣のようなホルモンを制御する分泌臓器あるいは組織の濃度が高くなく、かつ、蓄積性が認められなかったことは重要である。

【結論】

[^{14}C] 放射能標識化合物（3 mg/kg 体重）を 1 回経口投与した後のスピロジクロフェンの雌ラットにおける薬物動態（投与後 48 時間）は次のようにまとめられる。

- ・胃腸管から速やかに吸収される。
- ・主要な代謝臓器である肝臓と排泄を制御する主要な臓器である腎臓へ最初に分布し、さらに動物体に分布する。
- ・小腸及び胃への放射能の胆汁による分泌。
- ・ホルモンを制御する分泌臓器あるいは組織（例えば、副腎、卵巣、子宮または甲状腺）には程度の強い黒化は認められなかった。
- ・特定の臓器及び組織に放射能の蓄積は認められなかった。
- ・尿及び糞から高い率の排泄が認められた。
- ・雄ラットと同様な挙動が認められた。

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

表 2. [^{14}C] スピロジクロフェンを 1 回経口投与した後の雌ラットの尿への放射能の排泄

時間	動物番号	投与量に対する割合 積算量(%)
0-1 時間	49	0.14
0-4 時間	50	4.61
0-8 時間	51	6.60
8-24 時間	52	33.68
24-48 時間	53	52.41

表 3. [^{14}C] スピロジクロフェンを 1 回経口投与した後の雌ラットの組織及び臓器における放射能の分布(有効成分換算 $\mu\text{g/g}$ 湿臓器あるいは湿組織)

名称 臓器あるいは組織	動物 49 1 時間	動物 50 4 時間	動物 51 8 時間	動物 52 24 時間	動物 53 48 時間
下垂体	0.070	0.125	0.150	< LOD	< LOD
松果体	0.108	0.176	0.180	< LOQ	< LOD
脳	< LOQ	0.009	0.009	< LOD	< LOD
腎皮質	0.220	0.615	0.886	0.006	< LOD
腎髄質	0.506	1.837	2.934	0.021	< LOD
腎盂	0.325	0.917	1.038	0.009	< LOD
副腎	0.186	0.373	0.550	< LOD	< LOD
肝臓	0.569	1.737	2.826	0.012	< LOD
脊髄	< LOQ	0.010	0.010	< LOD	< LOD
骨髄	0.044	0.076	0.131	< LOD	< LOD
胸腺	0.016	0.046	0.049	< LOD	< LOD
脾臓	0.024	0.047	0.071	< LOD	< LOD
膵臓	0.023	0.047	0.115	< LOD	< LOD
甲状腺	0.079	0.143	0.158	< LOD	< LOD
卵巣	0.272	0.130	0.206	< LOQ	< LOD
子宮	0.046	0.241	0.264	< LOD	< LOD
血液	0.189	0.427	0.657	< LOQ	< LOD
肺	0.024	0.063	0.261	< LOD	< LOD
唾液腺	0.063	0.144	0.153	< LOD	< LOD
心筋	0.070	0.165	0.287	< LOD	< LOD
鼻粘膜	0.288	0.079	0.062	< LOQ	< LOD
骨格筋	0.015	0.044	0.054	< LOD	< LOD
褐色脂肪	0.074	0.390	0.429	< LOD	< LOD
腎脂肪	0.067	0.103	0.164	< LOD	< LOD
膀胱	1.805	7.430	6.478	0.024	< LOD

<LOD: 検出限界未満

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

図1 [¹⁴C] スピロジクロフエン
(3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雌ラット切片及び
び放射能標準線源の同時露光を示す全身オートトラジ
オグラム。(投与1時間後、動物番号49、露光時間
28時間)

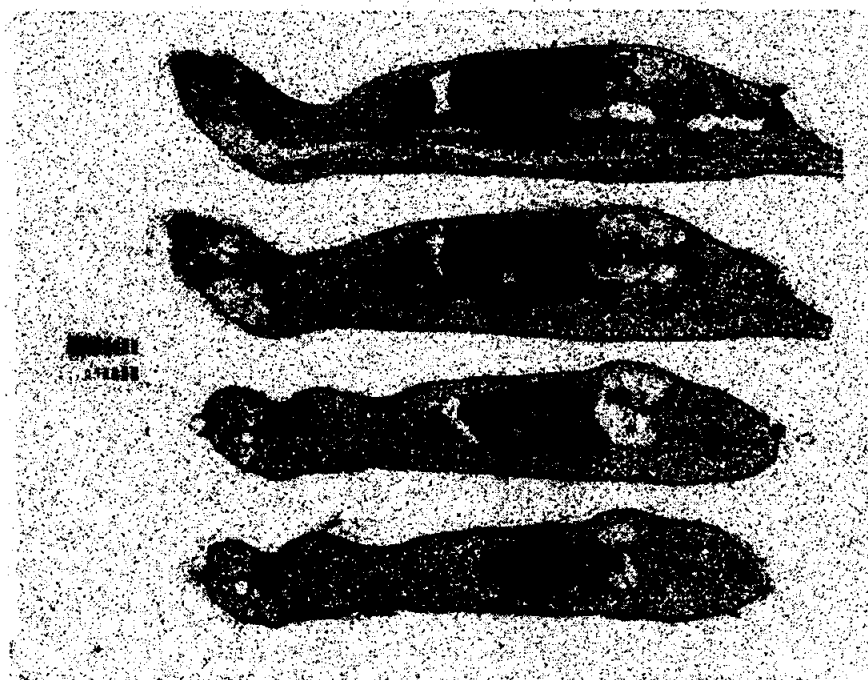
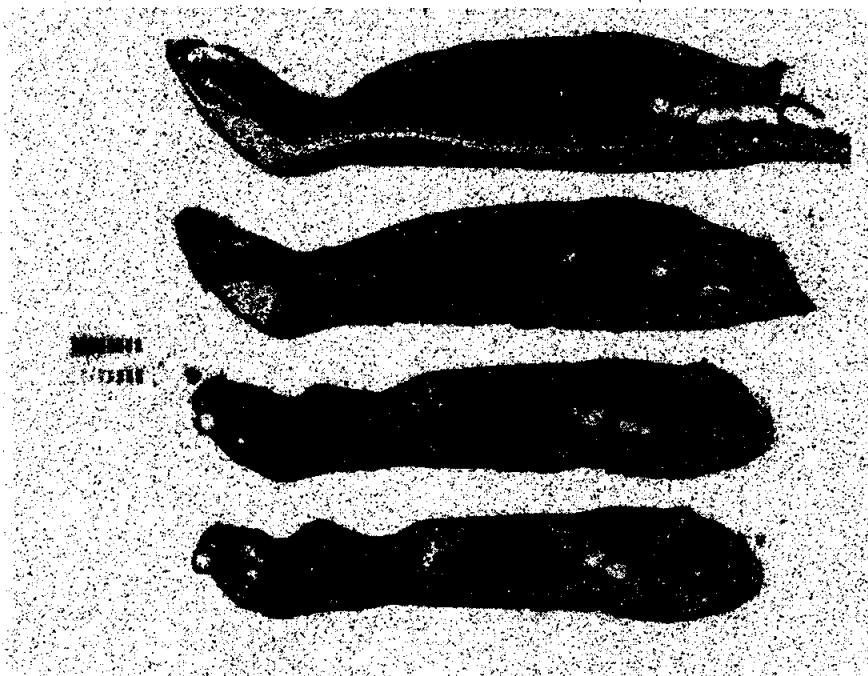


図2 [¹⁴C] スピロジクロフエン
(3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雌ラット切片及
び放射能標準線源の同時露光を示す全身オートトラジ
オグラム。(投与4時間後、動物番号50、露光時間
24時間)



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

図3 [^{14}C] スピロジクロフェン (3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雌ラット切片及び放射能標準線源の同時露光を示す全身オートラジオグラム。(投与8時間後、動物番号51、露光時間24時間)

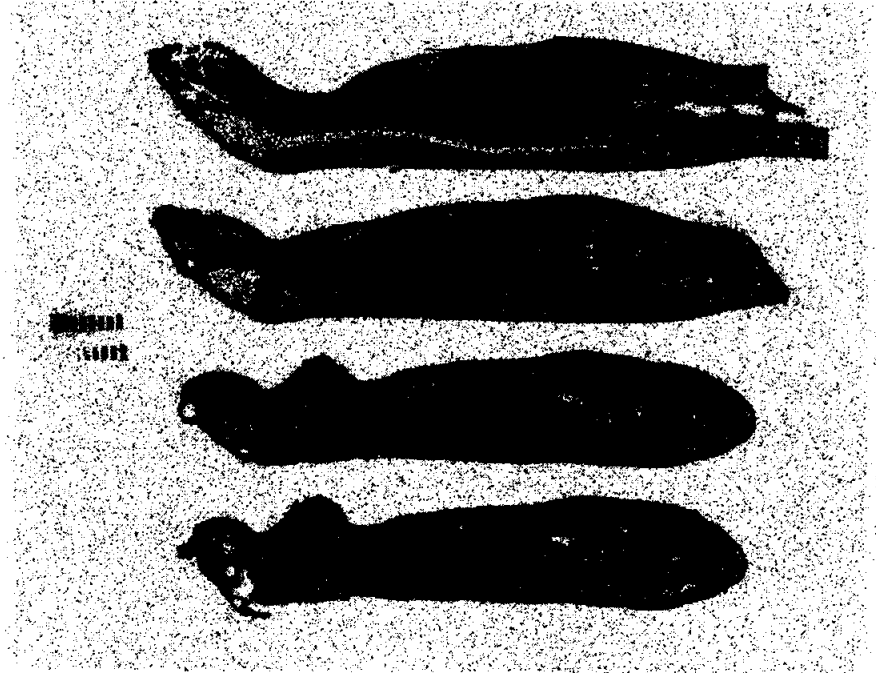
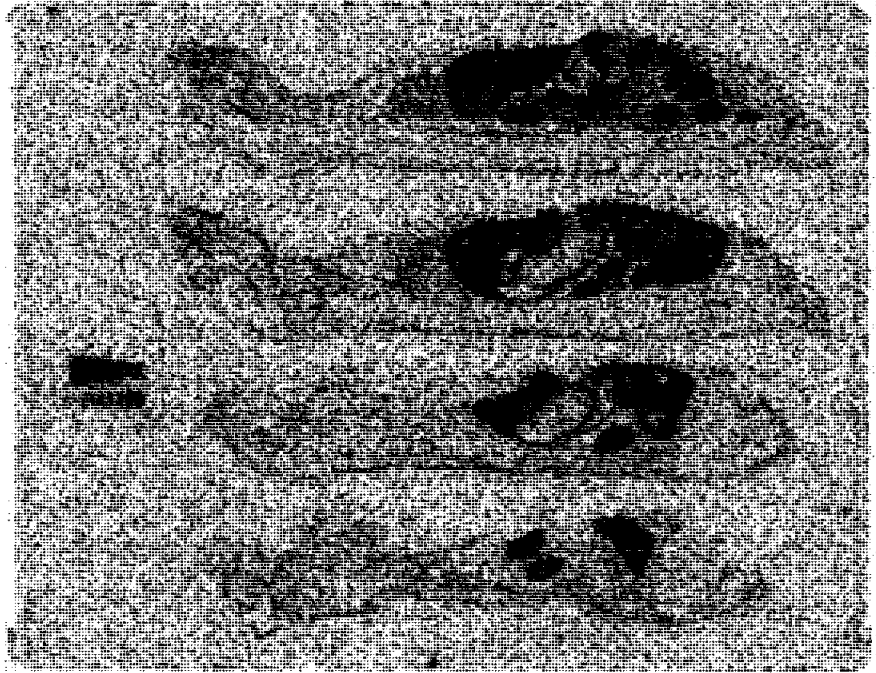
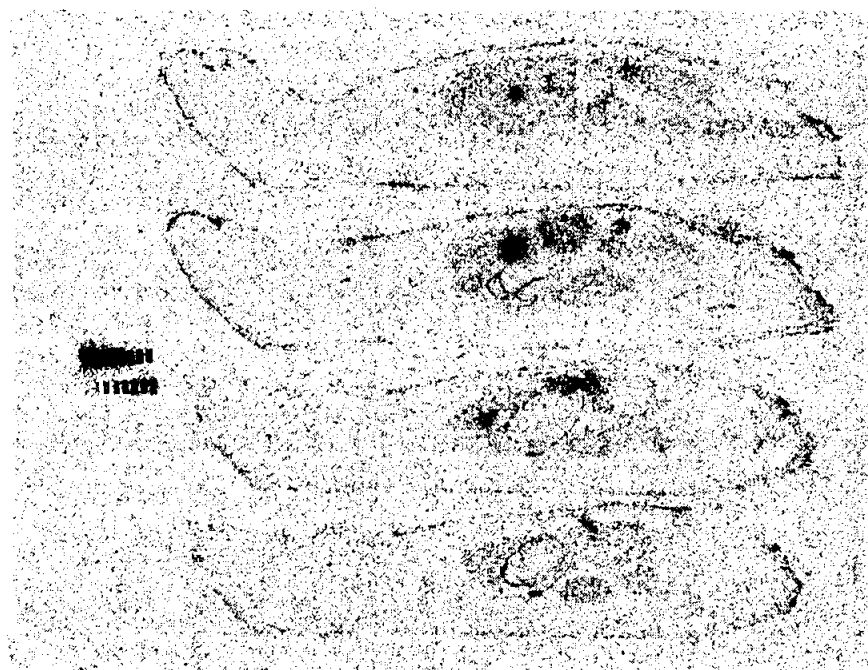


図4 [^{14}C] スピロジクロフェン (3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雌ラット切片及び放射能標準線源の同時露光を示す全身オートラジオグラム。(投与24時間後、動物番号52、照射時間168時間)



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

図5 [ジヒドロフラン-3-¹⁴C] スピロジクロフェン (3 mg/kg 体重) を1回経口投与した雌ラット切片及び放射能標準線源の同時露光を示す全身オートラジオグラム。(投与48時間後、動物番号53、照射時間168時間)



1. 動物における動態と代謝試験

(5) [¹⁴C] スピロジクロフェン：ラットの血漿、尿、腎臓及び肝臓における残留及び代謝物の消長

(代謝資料 No. 5)

試験機関：

[GLP対応]

報告書作成年月日：2002年9月4日

供試標識化合物

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

化学構造：

[*：¹⁴C 標識部位]

標識：[¹⁴C] 標識スピロジクロフェン[I]

比放射能：3.59 MBq/mg

放射化学的純度：>98% (放射能 TLC)、>99% (放射能 HPLC)

供試化合物の一般情報及び標識位置の設定理由は代-20 頁に記す。

【方法】

1. 動物

平均体重約 200 g、7-12 週齢のウィスター系雌雄ラットを、各実験の最低 1 週間前から馴化した。ケージカード及び尾への着色により識別し、供試した。

2. 投与量及び試験群 (表 1)

投与量設定に際しては、被験物質の比放射能、毒性を考慮し、先に実施した代謝試験 (代謝資料 No. 1) と同じ 2 mg/kg 体重に設定した。

試験群 1~3 では雄ラットを、試験群 4~6 では雌ラットをそれぞれ 4 匹ずつ供試した。それぞれの試験群における試験期間は、試験群 1 及び 4 で投与後 0~3 時間、試験群 2 及び 5 で投与後 0~6 時間、試験群 3 及び 6 で投与後 0~24 時間とし、それぞれの試験期間終了時に動物を屠殺した。屠殺時間の設定は先に実施した代謝試験 (代謝資料 No. 1) で得られた薬物動態データに基づいた (C_{max} (3 時間)、1/2 C_{max} (6 時間)、血漿における残留が検出限界付近になる 24 時間)。

表1 投与用量及び試験群

試験群	投与経路	投与用量 (mg/kg 体重)	投与回数 (回)	匹数	性	屠殺時間 (投与後)	採取試料
1	経口	2	1	4	雄	3時間	尿、血液(血漿及び赤血球)、肝臓、腎臓、 皮膚、胃腸管(糞を含む)及び残体
2						6時間	
3						24時間	
4					雌	3時間	
5						6時間	
6						24時間	

3. 投与及び試料採取 (表2)

調製した投与懸濁液、投与液量及び動物の平均体重を表2に記載する。投与懸濁液が適切な濃度となるように0.5%カルボキシメチルセルロース溶液(pH:約4.0)に[I]を懸濁した。

放射能標識[I]を投与後、ラットを個別に代謝ケージに收容し、それぞれの試験群毎に試験期間終了時に二酸化炭素を用いて動物を麻酔した後、頸部の血管を切って屠殺し、採血した。尿及び糞は試験期間に排泄された全量を採取、混合した。採取した糞はそれぞれ対応する試験群の胃腸管に混合した。血液は遠心分離して血漿と赤血球とに分離した。皮膚、肝臓及び腎臓から採取した一部、糞を含む胃腸管(GIT)及び動物残体は解剖後直ちに秤量し、凍結乾燥後に再び秤量し、最後に更に均一化した。

表2 投与懸濁液の調製と投与

試験群	ラット当り投与 放射能量 [dpm]	ラット当り投与量 [mg]	投与用量 (mg/kg 体重)	平均体重 [g]
1	40576390	0.38	1.85	204
2	43278674	0.40	1.99	202
3	40576390	0.38	1.87	202
4	43807178	0.41	2.11	193
5	44333330	0.41	2.01	205
6	43807178	0.41	2.14	191

4. 試料調製及び分析

(1) 放射能量の測定

血球、凍結乾燥後に均一化した皮膚、肝臓及び腎臓から採取した一部、糞を含む胃腸管(GIT)及び動物残体をオキシダイザーで燃焼し、生じた¹⁴C₂を吸収後、液体シンチレーションカウンター(LSC)で放射能量を測定した。尿、血漿、肝臓の抽出液及び腎臓の抽出液等の液体試料は直接LSCで放射能量を測定した。

(2) 尿、血液、肝臓及び腎臓中代謝物の分析

尿については、試験群全動物の尿を混合し(混合試料)、酢酸で pH 4 に調整後、HPLC で直接分析した。血漿については、試験群全動物の血漿を混合・均一化し、酢酸で pH 4 に調整後、アセトニトリルを加えて血漿蛋白を沈殿させ、遠心分離して上清を得た。3 時間及び 6 時間試料は上清を HPLC で直接分析した。24 時間試料は緩やかな窒素気流で上清を少量まで濃縮後 HPLC で分析した。肝臓は、アセトニトリル/水 (80/20) を用いて 3 回磨砕抽出した後、ロータリーエバポレーターを用いて抽出液を約 15-40 mL に濃縮後 HPLC で分析した。腎臓は、アセトニトリル/水 (80/20) を用いて 3 回磨砕抽出した後、ロータリーエバポレーターを用いて抽出液を約 2-10 mL に濃縮後 HPLC で分析した。

先に実施したラット代謝試験(代謝資料 No. 1) で得られた雄及び雌の尿あるいは放射能標識対照物質混合品のクロマトグラムと比較し、代謝物を同定した。更に、尿及び血漿それぞれについて代表試料を LC-MS 及び LC-MS/MS で分析し、質量スペクトルを測定し、クロマトグラムの比較による同定が確かなことを確認した。

【結果】

1. 総回収率 (表 3)

[I] を経口投与した後の各試験群における放射能の総回収率は雄で投与放射能の約 94~101%、雌で投与放射能の約 90~99% であり、投与放射能はほぼ定量的に回収された(表 3)。

2. 臓器及び組織における残留 (表 3 及び 4)

投与 3 時間後に屠殺した雄ラットでは、投与量の約 52% が臓器及び組織に検出され、残りの半量が胃腸管(約 44%) 及び尿(約 1.8%) に検出され、[I] はほとんど完全に吸収され、体内に速やかに分布する事が示唆された。糞を含む胃腸管を除く体内に残留する放射能の投与量に対する割合は投与 24 時間後に約 3.3% まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は約 58% まで増加した(表 3)。

投与 3 時間後に屠殺した雌ラットでは、投与量の 32% が臓器及び組織に、約 53% が胃腸管にそして約 5.1% が尿に検出され、雌でも雄と同様に、[I] はほとんど完全に吸収され、体内に速やかに分布する事が示唆された。胃腸管を除く体内に残留する放射能の投与量に対する割合は投与 24 時間後に約 0.3% まで減少し、一方、尿に排泄された残留量の割合は約 75% まで増加した(表 3)。

表 3 排泄物、臓器及び組織における残留 (投与量に対する割合%)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群 1	試験群 2	試験群 3	試験群 4	試験群 5	試験群 6
	3時間 雄	6時間 雄	24時間 雄	3時間 雌	6時間 雌	24時間 雌
試料						
尿	1.83	20.85	57.66	5.11	34.91	74.78
赤血球	0.51	0.47	0.04	0.43	0.25	0.00
血漿	3.99	2.61	0.20	2.83	2.10	0.02
肝臓	26.00	17.94	1.45	13.52	12.44	0.09
腎臓	1.36	0.88	0.13	1.44	1.17	0.01
残体	12.81	10.22	0.93	9.27	7.34	0.13
臓器計	44.67	32.11	2.75	27.49	23.30	0.26
皮膚	7.22	5.71	0.54	4.34	3.67	0.05
胃腸管を除く動物体	51.89	37.83	3.29	31.81	26.98	0.31
胃腸管+糞	43.57	35.61	40.37	52.86	33.05	23.62
全動物体+糞	95.47	73.44	43.66	84.66	60.03	23.93
回収率	97.30	94.29	101.30	89.77	94.94	98.71

糞を含む胃腸管を除き、最高残留濃度は主要代謝臓器である肝臓で検出された。肝臓中換算濃度は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて雄ラットで 13.444 mg/kg から 0.696 mg/kg に、雌ラットで 9.447 mg/kg から 0.044 mg/kg に減少した。投与後 3 時間に屠殺された動物の臓器中における残留濃度が最大で、投与後 3 時間から 24 時間にかけて糞を含む胃腸管を除くいずれの臓器及び組織でも 1/10 以下の濃度に減少した。血漿における残留量は皮膚及び残体における残留量より約 10 倍高く、血漿とラット組織間における平衡の遅れを示唆した。血漿中換算濃度は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて雄ラットで 4.466 mg/kg から 0.243 mg/kg に、雌ラットで 3.765 mg/kg から 0.024 mg/kg に減少した。腎臓中換算濃度は、雌雄両性のいずれの時期においても血漿中濃度とほとんど変わらなかった(表 4)。

表 4 臓器及び組織における残留 (換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群 1	試験群 2	試験群 3	試験群 4	試験群 5	試験群 6
	3時間 雄	6時間 雄	24時間 雄	3時間 雌	6時間 雌	24時間 雌
試料	平均	平均	平均	平均	平均	平均
赤血球	0.580	0.515	0.040	0.531	0.324	0.002
血漿	4.466	3.465	0.243	3.765	2.818	0.024
肝臓	13.444	8.422	0.696	9.447	7.255	0.044
腎臓	3.369	2.543	0.329	4.826	3.796	0.046
残体	0.403	0.350	0.029	0.318	0.242	0.005
胃腸管を除く動物体	1.057	0.842	0.069	0.729	0.608	0.007
皮膚	0.574	0.495	0.042	0.410	0.347	0.005
胃腸管+糞	11.378	5.698	6.017	15.654	8.156	3.364
全動物体+糞	1.805	1.433	0.806	1.801	1.238	0.485

3. 代謝

(1) 尿中代謝物 (表 5~6)

雄ラットの全試験群で尿中総放射エネルギーの
に帰属された(表 5)。未変化
のスピロジクロフェン[I]は認められなかった。

雄ラットでは、3 時間後の試料で
が認められなかった事を除き、
全試験で同じ代謝物が認められた。試験群 3(雄ラット、投与 24 時間後)の尿中代
謝物分布は先に実施した試験(代謝資料 No. 1)で得られた雄ラットの 48 時間後の
尿中代謝物分布と類似し、
が少なく、
が多かった。
雄ラットの尿における各成分の総放射能残留量(TRR)に対する割合を見ると、
は経時的に減少し、

は経時的に増加し、
は 3 時間後には認められなかったものの、その後認められた後に減少した。
また、
の TRR に対する割合の増加の程度は
に比べ小さかった。これら各成分の TRR に対する割合の経時的な
変化及び 24 時間に渡り排泄されたそれぞれの成分の総量から、尿への排泄速度は
が最も早く、次いで

の順に遅く
なると推定された。また、投与後 3 時間に屠殺した試験群 1 の尿から
が検出されなかったことから、
の排泄は
に比
較して緩やかであると推定された(表 5)。

雌ラットの全試験群で尿中総放射エネルギーの
に帰属された(表 6)。未変化のスピロジクロフェン[I]は認められな
かった。

雌ラットでは、全試験群で
が最も多かった。試験群 6(雌ラッ
ト、投与 24 時間後)の尿中代謝物分布は先に実施した代謝試験(代謝資料 No. 1)で
得られた雌ラットの 48 時間後の尿中代謝物分布と類似していた。雌ラットの尿に
おける各成分の TRR に対する割合を見ると、
はいずれも 3 時間後に
屠殺した試験群 4 が最大で、その後経時的に減少した。一方、
は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて経時的に増加した。
の排
泄も速やかであるものの、
の排泄は
に比較して緩
やかであると推定された(表 6)。

雌雄ラットのいずれにおいても、本試験で得られたラットの尿中代謝物分布は
先のラット代謝試験(代謝資料 No. 1)で得られた尿中代謝物パターンと同等であ
った。

表 5 雄ラットの尿における代謝物の分布 (投与量または TRR に対する割合%)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群1 3 時間 雄		試験群2 6 時間 雄		試験群3 24 時間 雄		代謝資料No. 1 ¹⁾ 48 時間 雄	
	投与量 ²⁾	TRR ³⁾	投与量 ²⁾	TRR ³⁾	投与量 ²⁾	TRR ³⁾	投与量 ²⁾	TRR ³⁾
成分								
小計	1.83	100	19.87	95.4	54.28	94.2	54.43	95.0
その他の代謝物	ND	ND	0.98	4.7	3.38	5.9	2.85	5.0
合計(尿中排泄量)	1.83	100	20.85	100	57.66	100	57.28	100

- 1) 代謝資料 No. 1 の試験群 8 の結果を引用。
- 2) 投与量に対する割合、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。
- 3) TRR に対する割合(申請者計算)、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。
- 4) ND=検出されず。

表 6 雌ラットの尿における代謝物の分布 (投与量または TRR に対する割合%)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群4 3 時間 雌		試験群5 6 時間 雌		試験群6 24 時間 雌		代謝資料No. 1 ¹⁾ 48 時間 雌	
	投与量 ²⁾	TRR ³⁾	投与量 ²⁾	TRR ³⁾	投与量 ²⁾	TRR ³⁾	投与量 ²⁾	TRR ³⁾
成分								
小計	5.01	98.4	34.40	98.5	74.01	99.0	70.26	94.7
その他の代謝物	0.09	1.8	0.51	1.5	0.78	1.0	3.94	5.3
合計(尿中排泄量)	5.10	100	34.91	100	74.78	100	74.20	100

- 1) 代謝資料 No. 1 の試験群 9 の結果を引用。
- 2) 投与量に対する割合、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。
- 3) TRR に対する割合(申請者計算)、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

(2) 血漿中代謝物 (表 7~8、図 1)

雄ラットでは、投与 3 時間後及び 6 時間後の血漿中放射能の
に帰属され、投与 24 時間後の血漿中放射能の
に帰属された (表 7)。未変化のスピロジクロフェン [I] は
認められなかった。

雄ラットの血漿において測定された代謝物分布は 3 時間後と 6 時間後の試料で
同様であったが、24 時間後の試料では、
のみが同定され、
は検出されなかった。雄ラットの血漿中
濃度(換算濃度)
は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて 3.344 mg/kg から 0.123 mg/kg に減少した。
尿中代謝物分布とは異なり、主要代謝物は全試験群で
の割合は低く (3 時間後及び 6 時間後の試料のみから検出)、

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

は尿へ速やかに排泄されることが示唆された (表 7)。

雌ラットでは、全試験群で唯一 のみが同定され、全試験群で
TRR の 100% に相当した (表 8)。未変化のスピロジクロフェン [I] は認められなかつた。

雌ラットの血漿中 濃度 (換算濃度) は投与 3 時間後から 24 時間
後にかけて 3.765 mg/kg から 0.024 mg/kg に減少した。雌では、血漿中から
は検出されなかつた (表 8)。

血漿中 濃度に雌雄の違いは認められず (図 1)、ラット体内にお
ける の暴露量において雌雄の違いは無いと推定された。

は雄ラットの血漿中では低い濃度で
認められ、雌ラットの血漿中では認められなかつたことから、は血
漿中から速やかに消失することが示唆された。

表 7 雄ラットの血漿における代謝物の分布

(TRR に対する割合%または換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群1 3 時間 雄		試験群2 6 時間 雄		試験群3 24 時間 雄	
	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾
成分						
小計	98.08	4.380	100.00	3.465	50.55	0.123
その他の代謝物	1.91	0.085	ND	ND	49.45	0.120
合計	100	4.466	100	3.465	100	0.243

1) TRR に対する割合%、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

2) 換算濃度 mg/kg、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

3) ND=検出されず。

表 8 雌ラットの血漿における代謝物の分布

(TRR に対する割合%または換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群4 3 時間 雌		試験群5 6 時間 雌		試験群6 24 時間 雌	
	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾
成分						
小計	100.00	3.765	100.00	2.818	100.00	0.024
その他の代謝物	ND	ND	ND	ND	ND	ND
合計	100	3.765	100	2.818	100	0.024

1) TRR に対する割合%、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

2) 換算濃度 mg/kg、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

3) ND=検出されず。

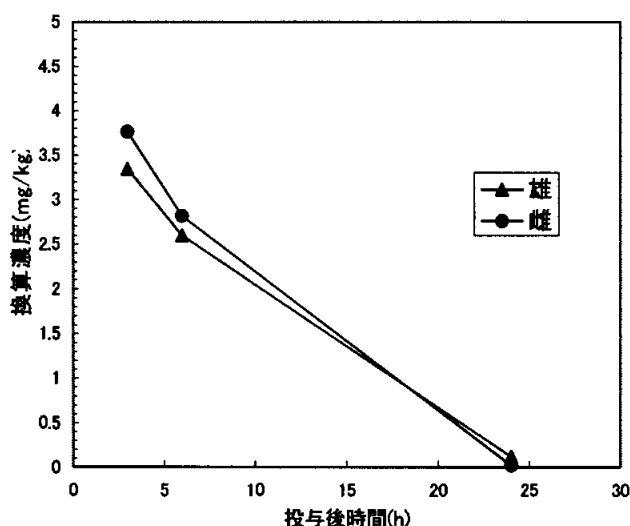


図1 [I]を経口投与後の血漿中エノール体[M1]濃度

(3) 肝臓中代謝物 (表 9~10)

雄ラットでは、肝臓中放射能の約 98~99%が抽出され、
に帰属された (表 9)。未変化のスピロジクロフェン [I]
は認められなかった。

肝臓中の代謝物分布は全試験で類似しており、血漿と同様、
が量的に最も多い成分であった。雄ラットの肝臓中
濃度(換算濃度)は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて
に減少した (表 9)。一方、
は徐々に減少し、投与 3 時間後から 24 時間後
にかけて
の含量で
に減少した。

雌ラットでは、肝臓中放射能の約 96~100%が抽出され、その全てが
に帰属された (表 10)。

雌ラットの肝臓中の代謝物分布は全試験群で類似しており、
が量的に最も多い成分であった。雌ラットの肝臓中
濃度(換算濃度)は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて
に減少した。
の全てが投与 3 時間後に検出されたが、肝臓中放射エネルギーの減少に伴い経時的に減少し、投与 24 時間後にはいずれも検出されなかった (表 10)。

雌雄いずれにおいても、
が肝臓中に最も多い代謝物であった。
の濃度は雄ラットにおいて雌ラットよりも高く、これはラットの薬物代謝速度には著明な性差があり、雄ラットでより速いとされていること¹⁾に関連しているものと考えられた。雌ラットの血漿中では
が認められな
いものの、肝臓ではわずかに検出されていることから、
は肝臓で生成後、速やかに尿へ排泄されることが示唆された。

¹⁾ 鎌滝哲也 (1992) 薬物によるチトクローム P-450 の誘導と阻害、日本薬物動態学会

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

表 9 雄ラットの肝臓における代謝物の分布

(TRR に対する割合%または換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群1 3 時間 雄		試験群2 6 時間 雄		試験群3 24 時間 雄	
	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾
成分						
小計	96.14	12.925	97.69	8.227	98.09	0.683
その他の代謝物	3.31	0.445	1.78	0.150	ND	ND
未抽出残留物	0.55	0.074	0.52	0.044	1.92	0.013
合計	100	13.444	100	8.421	100	0.696

1) TRR に対する割合%、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

2) 換算濃度 mg/kg、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

3) ND=検出されず。

表 10 雌ラットの肝臓における代謝物の分布

(TRR に対する割合%または換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群4 3 時間 雌		試験群5 6 時間 雌		試験群6 24 時間 雌	
	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾
成分						
小計	99.85	9.433	99.85	7.244	96.36	0.042
その他の代謝物	ND	ND	ND	ND	ND	ND
未抽出残留物	0.16	0.015	0.15	0.011	3.64	0.002
合計	100	9.448	100	7.255	100	0.044

1) TRR に対する割合%、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

2) 換算濃度 mg/kg、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

3) ND=検出されず。

(4) 腎臓中代謝物 (表 11、12)

雄ラットでは、腎臓中放射能の約 99~100%が抽出され、約 97~98%が
に帰属された (表 11)。未変化のスピロジクロフェン
[I]は認められなかった。

雄ラットの腎臓中の代謝物分布は全試験で類似しており、
が主
要成分であった。雄ラットの腎臓中
濃度(換算濃度)は投与 3 時間
後から 24 時間後にかけて
に減少した (表 11)。一
方、
は徐々に減少し、投与 3 時間後から 24 時間後にかけて
の合量で
に減少した。

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

雌ラットでは、腎臓中放射能の約 95~100%が抽出され、抽出された放射能の全てが に帰属された (表 12)。 未変化のスピロジクロフェン[I]は認められなかった。

雌ラットの腎臓中の代謝物分布は全試験で類似しており、 が主要成分であった。 雌ラットの腎臓中 濃度(換算濃度)は投与 3 時間後から 24 時間後にかけて に減少した。 全種類の が投与 3 時間後に検出されたが、腎臓中放射エネルギーの減少に伴い経時的に減少し、投与 24 時間後にはいずれも検出されなかった (表 12)。

肝臓と同様に、 の濃度は雄ラットで雌ラットより高かった。

表 11 雄ラットの腎臓における代謝物の分布
(TRR に対する割合%または換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群1 3 時間 雄		試験群2 6 時間 雄		試験群3 24 時間 雄	
	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾
成分						
小計	98.04	3.303	98.07	2.494	96.65	0.318
その他の代謝物	1.84	0.062	1.71	0.043	2.04	0.007
未抽出残留物	0.12	0.004	0.22	0.006	1.30	0.004
合計	100	3.369	100	2.543	100	0.329

1) TRR に対する割合%、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

2) 換算濃度 mg/kg、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

表 12 雌ラットの腎臓における代謝物の分布
(TRR に対する割合%または換算濃度 mg/kg)

採取 (屠殺) 時間 性	試験群4 3 時間 雌		試験群5 6 時間 雌		試験群6 24 時間 雌	
	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾	TRR ¹⁾	濃度 ²⁾
成分						
小計	99.94	4.823	99.92	3.793	95.42	0.044
その他の代謝物	ND	ND	ND	ND	ND	ND
未抽出残留物	0.06	0.003	0.07	0.003	4.58	0.002
合計	100	4.826	100	3.796	100	0.046

1) TRR に対する割合%、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

2) 換算濃度 mg/kg、四捨五入による誤差があるため、各成分と合計は一致しない場合がある。

3) ND=検出されず。

【結論】

スピロジクロフェン [I] の薬物動態的挙動は以下の様に特徴づけられた。

- ・ 臓器及び組織からの速やかな排泄
胃腸管を除く動物体に認められた総放射能残留量は投与 3 時間後から投与 24 時間後にかけて雄ラットで 52% から 3.3%、雌ラットで 32% から 0.3% まで減少し、一方、尿への排泄量は投与 24 時間後に雄ラットで 58%、雌ラットで 75% まで増加した。
- ・ 尿中代謝物の性特異的な分布
尿中における主要代謝物は雄ラットで 、雌ラットで であり、性特異的な差異が認められ、先の試験 (代謝資料 No. 1) の結果が再現された。
- ・ 雌雄で同程度の血漿中 濃度
血漿中に [I] は検出されず、雌雄で同程度の濃度の が認められ、代謝物中で が最も多かった。投与 3 時間～24 時間後にかけて血漿中 濃度は雄ラットで に、雌ラットで に急速に減衰した。
- ・ 血漿、肝臓及び腎臓中に少量認められた 濃度の性差
雄の血漿、雌雄の肝臓及び腎臓で少量の が認められた。一方、その濃度は雌雄で異なり、雄ラットで雌ラットよりも多く認められ、ラットの薬物代謝速度には著明な性差があり、雄ラットでより速いとされていることに関連していると考えられ、尿中代謝物分布の性特異的な違いを反映していた。
- ・ より更に速やかな の排泄
雌ラットで血漿のみから が検出されなかったこと、及び尿中代謝物分布の経時変化より、極性の高い よりも更に速やかに排泄される事が示唆された。