

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

農 薬 抄 録
デスメディファム
(除草剤)

(作成年月日) 平成 7 年 9 月 28 日
平成 27 年 7 月 31 日改訂

バイエルクロップサイエンス株式会社

連絡先 (社名)	(担当部課)	(担当者名)	(TEL)
----------	--------	--------	-------

目 次

	頁
I. 開発の経緯.....	1
II. 物理的・化学的性状.....	3
III. 生物活性.....	15
IV. 適用及び使用上の注意.....	16
V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係.....	18
VI. 有用動植物等に及ぼす影響.....	50
VII. 使用時安全上の注意、解毒法等.....	62
VIII. 毒性.....	毒-1
1. 原体.....	毒-6
(1) 急性毒性.....	毒-6
(2) 皮膚及び眼に対する刺激性.....	毒-13
(3) 皮膚感作性.....	毒-15
(4) 急性神経毒性.....	毒-23
(5) 急性遅発性神経毒性.....	毒-25
(6) 90日間反復経口毒性.....	毒-26
(7) 21日間反復経皮投与毒性.....	毒-49
(8) 90日間反復吸入毒性.....	毒-50
(9) 反復経口投与神経毒性.....	毒-51
(10) 28日間反復投与遅発性神経毒性.....	毒-53
(11) 1年間反復経口投与毒性及び発がん性.....	毒-54
(12) 繁殖毒性及び催奇形性.....	毒-134
(13) 変異原性.....	毒-168
(14) 生体の機能に及ぼす影響.....	毒-191
(15) その他.....	毒-196
2. 代謝物.....	毒-199
3. 製剤の急性毒性.....	毒-201
IX. 動植物及び土壌等における代謝分解.....	運命-1
1. 動物体内運命に関する試験.....	運命-7
2. 植物体内運命に関する試験.....	運命-38
3. 土壌中運命に関する試験.....	運命-59
4. 加水分解運命試験.....	運命-73
5. 水中光分解運命試験.....	運命-82
6. 土壌吸着性試験.....	運命-92
代謝のまとめ.....	運命-94
[付] デスメディファムの開発年表	

I. 開発の経緯

デスメディファム (desmedipham) はカルバニラート系の化合物であり、シェーリング社 (現バイエルクロップサイエンス社) がフェンメディファム (我が国では名称: ベタナール乳剤として既登録) の関連化合物検索中に見いだした。てんさい栽培地帯の一年生雑草防除剤として世界各国において開発が進められてきた。

本化合物は、てんさいに対して高い選択性を有するとともに、フェンメディファムが除草活性を示さないアオビユ、イヌビユといったヒユ科雑草に対して高い除草活性を示す。従って、本化合物とフェンメディファムを混合することによりてんさい栽培における重要かつ広範囲の一年生雑草種の防除が可能となり、また、フェンメディファム単剤に比べ少量の投下有効成分量で十分な効果を示す。

上記の特性から、この混合剤は世界各国のてんさい栽培地帯において、なかでもヒユ科雑草の多い米国においては雑草防除上、非常に重要な位置を占めている。我が国においては、てんさいの一年生雑草防除にフェンメディファム単剤であるベタナール乳剤が使用されてきたが、ヒユ科雑草が多い地域ではヒユ科雑草の同時防除が可能な剤の要望があることから、デスメディファムとフェンメディファムの混合剤であるベタブロード乳剤の開発を行った。本剤により、我が国のてんさい栽培地帯の一年生雑草の十分な雑草防除が可能になると考えられる。

本剤は昭和 59 年より (社) 日本植物調節剤研究協会を通じ、てんさいの茎葉散布除草剤として公的試験を開始し、昭和 61 年度試験終了後、同協会より「実用可」の判定を受けた。諸外国においてこの種の混合剤はベタナールコンパクト、ベタミックス等の商品名で既に上市されている。

本化合物の安全性評価の総括として申請者はラットを用いた慢性・発がん性併合試験 (毒性資料 No. 原体-24) の無毒性量である 5.4mg/kg/日に基づき、安全係数を 100 として ADI を 0.054mg/kg/日と考える。

なお、過去の評価として我が国では 2000 年に食品衛生調査会において、イヌを用いた 90 日間混餌試験 (毒性資料 No. 原体-16) の無毒性量 0.17mg/kg/日に基づき、安全係数を 100 として ADI を 0.0017mg/kg/日と評価された。しかし申請者は本試験における影響が最高用量である 4.97mg/kg/日においてメトヘモグロビ

ンのみで貧血症状やその他の赤血球系の項目に差が認められていないことから、毒性作用とは考えず、また、イヌを用いたより長期の試験における無毒性量が 9.7mg/kg/日であったことから、イヌにおける総体的な無毒性量は 9.7mg/kg/日であったと考える。

海外では、米国において EPA により 1996 年にラットを用いた二世世代繁殖試験(毒性資料 No. 原体-28)の無毒性量である 4mg/kg/日に基づき、安全係数を 100 として ADI を 0.04mg/kg/日と評価されている。

一方 EU では 2004 年にラットを用いた慢性・発がん性併合試験(毒性資料 No. 原体-22)の無毒性量である 3mg/kg/日に基づき、安全係数を 100 として ADI を 0.03mg/kg/日と評価されている。

急性参照用量 (ARfD) については EU でイヌを用いた 80 日間反復投与試験(毒性資料 No. 原体-45)及び 1 年間反復投与試験 (毒性資料 No. 原体-25)、ラットを用いた 90 日間反復投与試験 (毒性資料 No. 原体-15) 及び催奇形成試験 (毒性資料 No. 原体-30-2)、マウス発がん性試験 (毒性資料 No. 原体-26) の複数試験から血液学的影響の総合的な無影響量を 10mg/kg/日と評価し、これに基づいて安全係数を 100 として ARfD 0.1mg/kg/日と評価されている。JMPR 及び米国においては ARfD の評価はなされていない。

海外における残留基準値

デスメディファムはヨーロッパ各国、米国、カナダなどで登録を取得している。諸外国の残留基準値 (MRLs) は次の通りである。

	カナダ	米国	EU
規制対象化合物	デスメディファム	デスメディファム	デスメディファム
てんさい、根部	0.05	0.2	0.1
てんさい、茎葉		0.2	
ガーデンピート、根部		0.05	
ガーデンピート、茎葉		1.0	
ほうれんそう		6.0	

II. 物理的・化学的性状

1. 名称及び化学構造

(1) 有効成分の一般名

デスメディファム Desmedipham (BSI/ISO/ANS/WSSA)

(2) 別名

商品名 : ベタブロード (Betabroad)、ベタダイヤA (BetadaiyaA)、
試験コード : SN38107、ZK14494、EP-475、DMP、NS100

(3) 化学名

(IUPAC)

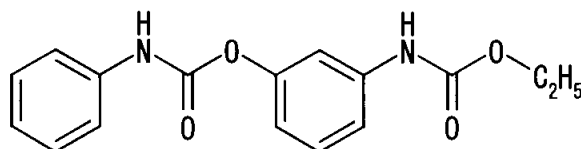
エチル=3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート
ethyl 3-phenylcarbamoyloxy-carbanilate

エチル=3-フェニルカルバモイルオキシフェニルカルバマート
ethyl 3-phenylcarbamoyloxyphenylcarbamate

(CAS)

エチル=[3-[(フェニルアミノ)カルボニル]オキシ]フェニル]カルバ
マート
ethyl [3-[(phenylamino)carbonyl]oxy]phenyl]carbamate

(4) 構造式



(5) 分子式 : $C_{16}H_{16}N_2O_4$

(6) 分子量 : 300.3g/モル

(7) CAS 番号 : 13684-56-5

2. 有効成分の物理的・化学的性状

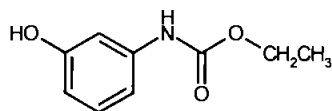
項目	測定値 (測定条件)	測定方法 / 試験機関		
色調	無色	目視 / Hoechst Schering AgrEvo GmbH / 1999年		
形状	結晶性粉末	目視 / Hoechst Schering AgrEvo GmbH / 1999年		
臭気	無臭	官能法 / Hoechst Schering AgrEvo GmbH / 1999年		
密度	1.32 g/cm ³ (20°C)	OECD # 109 (比重瓶法) / Hoechst Schering AgrEvo GmbH / 1999年 / GLP		
融点	117.1 °C	キャピラリー法 / Schering AG / 1990年		
沸点	熱分解のため測定不能	示差熱分析法 (DTA) / Schering AG / 1989年		
蒸気圧	1 × 10 ⁻⁸ Pa (20°C)	OECD # 104 (蒸気圧天秤法) / Schering AG / 1990年 / GLP		
解離定数 (pKa)	解離しないと考えられる	OECD # 112 (分光光度法) / Schering AG / 1990年		
溶解度	水	0.007 g/L (pH 4, 25°C)	OECD # 105 (カラム溶出法) / Schering AG / 1988年	
	有機溶媒	ヘキサン	0.02 g/L (20°C)	フラスコ法 / Schering AG / 1990年
		ヘプタン	—	
		キシレン	—	
		トルエン	1.19 g/L (20°C)	
		ジクロロメタン	19.94 g/L (20°C)	
		アセトン	284.64 g/L (20°C)	
		メタノール	186.92 g/L (20°C)	
		エタノール	—	
		酢酸エチル	181.48 g/L (20°C)	
		イソオクタン	—	
		DMSO	—	

項目	測定値 (測定条件)		測定方法/試験機関
オクタノール/水 分配係数	log Pow=3.39 (pH 3.86, 室温)		OECD#107(フラスコ振とう法) / Schering AG/ 1987年
生物濃縮性	試験省略 (log Pow が 3.5 未満であるため)		
土壌吸着係数	測定不能		Hoechst Schering AgrEvo GmbH/ 1994年
加水分解性	$t_{1/2}$ = 1676 時間 (22°C, pH 5) = 19.6 時間 (22°C, pH 7) = 0.17 時間 (22°C, pH 9)		BBA Merkblatt Nr. 55, Teil I / Schering AG/ 1982年
	DT_{50} 248 日 (25°C, pH 4) 39 日 (25°C, pH 5) 12 時間 (25°C, pH 7) 7 分 (25°C, pH 9)		91/414/EEC and 96/68/EEC Annex1, Part6.1, Section 7.2.1; US EPA OPPTS 835.2110/ Battelle Memorial Institute/ 2003年
水中 光分解性	pH4 緩衝液 (滅菌)	光分解は認められず。	290~400 nm, 86.3 W/m ² pH 4 25°C Draft OECD test guideline 及び EPA Provisional guideline /Schering AG/ 1994年/ GLP
	自然水 (合成)	$t_{1/2}$ = 106.6 (時間)	
	自然水	$t_{1/2}$: 0.17 時間 (実験条件下) 0.05 日 (東京)	300~400 nm, 57.5 W/m ² pH 8.2 25°C 13 生産第 3986 号 Battelle AgriFood Ltd./2004年
安定性	対熱	熱分解開始点 : 234°C	示差熱分析法 (DTA) / Schering AG/ 1990年
	その他	-	-
スペクトル	UV, IR, MASS, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR		機器分析/Hoechst Schering AgrEvo GmbH/ 1999年

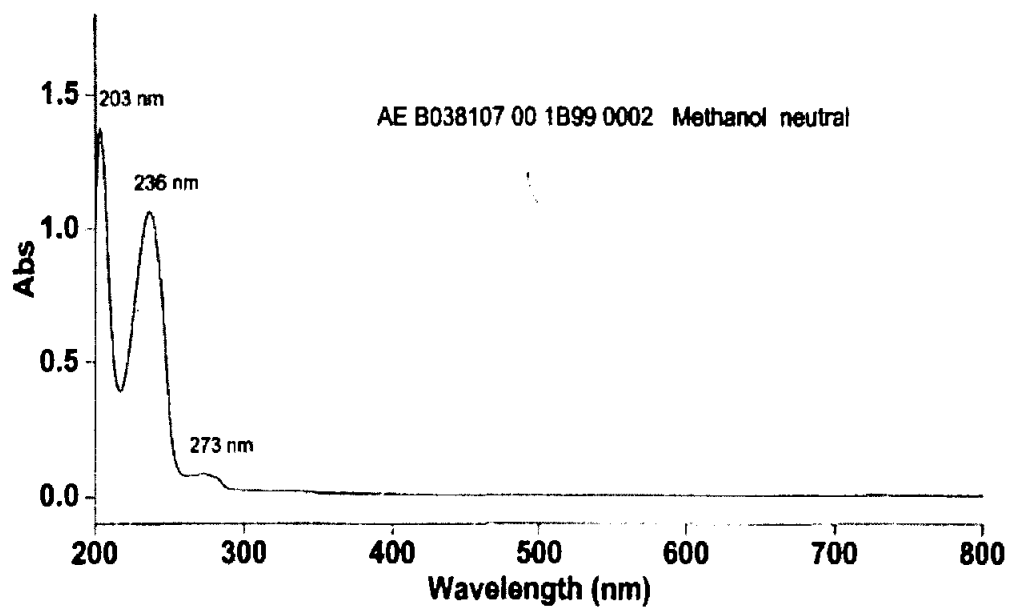
代謝物 EHPC (B) の物理的・化学的性状

項目	測定値 (測定条件)		測定方法/試験機関
蒸気圧	4.6×10 ⁻⁷ hPa 25℃		OECD 104 蒸気圧天秤法/ Siemens Axiva GmbH & Co. KG/2004年
水溶解度	3.18 g/L 20℃		OECD 105 フラスコ法/ Bayer CropScience GmbH/2004年
オクタノール/水 分配係数	Log Pow = 0.87		OECD 117 HPLC 法/ Bayer CropScience GmbH/2004年
加水分解	安定 (pH 4, 5, 7, 9; 50℃)		91/414/EEC and 96/68/EEC Annex I, Part 6.1, Section 7.2.1 US EPA OPPTS 835.2110 Battelle Memorial Institute/2003年
自然水中光分解	半減期 29.7時間(実 験条件下) 9.2日(東京)	300~400 nm, 57.5 W/m ² pH 8.2 25℃	13生産第3986号 Battelle AgriFood Ltd./2004年
土壌吸着係数	Koc : 558, 579, 164		Hoechst Schering AgrEvo GmbH/ 1994年

構造式

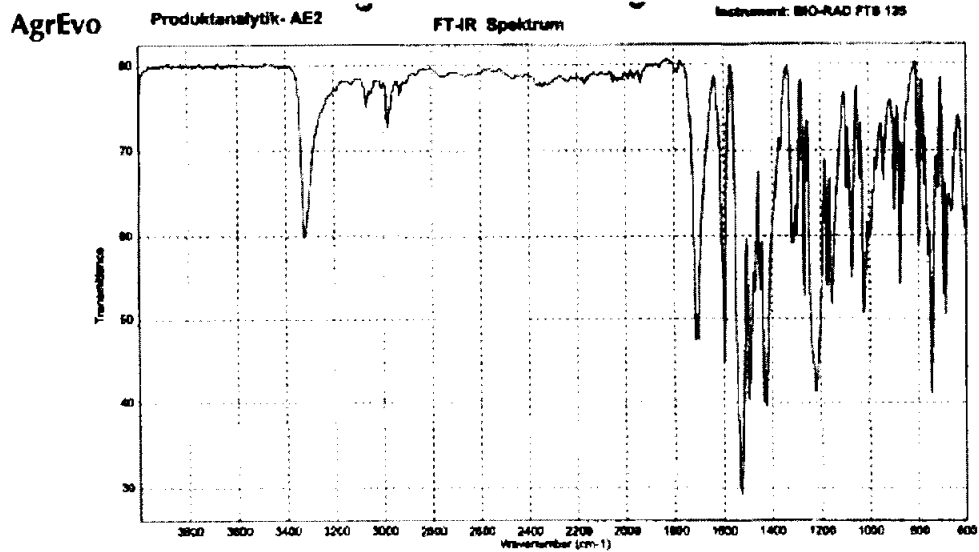


EHPC



溶媒	波長 [nm]	吸光度	モル吸光係数 [L/mol x cm]
メタノール	203	1.3767	5.5726×10^4
pH =6.2	236	1.0656	4.3133×10^4
	273	0.0831	0.3363×10^4

デスメディファムの UV スペクトル及びモル吸光係数

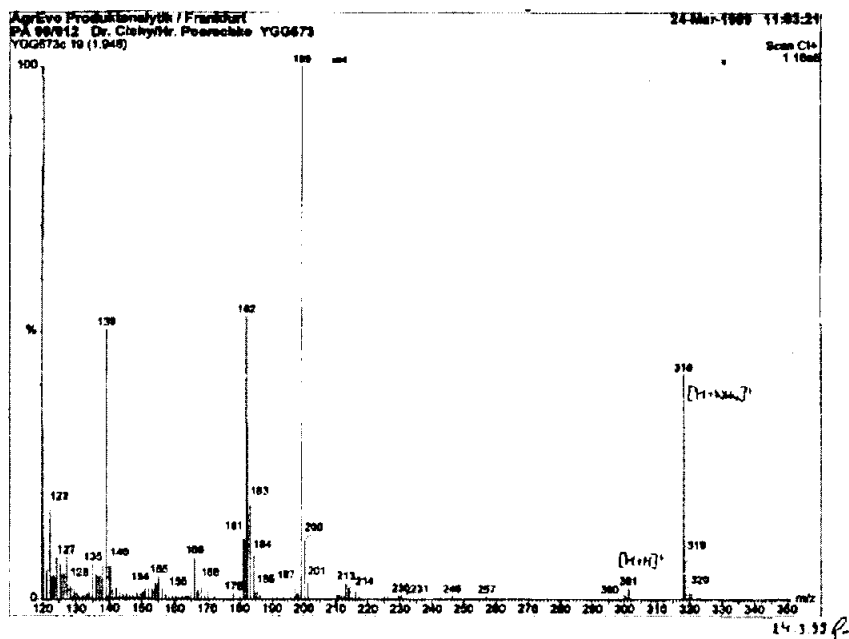


Probe: AE B038107 00 1B98 0002 PA80612 YGG573 Dr. Cichy

Downloaded by: [unreadable]

- $\nu = 3200 - 3350 \text{ cm}^{-1}$ N-H
- $\nu = 2900 - 3100 \text{ cm}^{-1}$ C-H (aryl)
 C-H (aliphatic)
- $\nu = 1700 - 1750 \text{ cm}^{-1}$ C=O
- $\nu = 600 - 1650 \text{ cm}^{-1}$ finger print

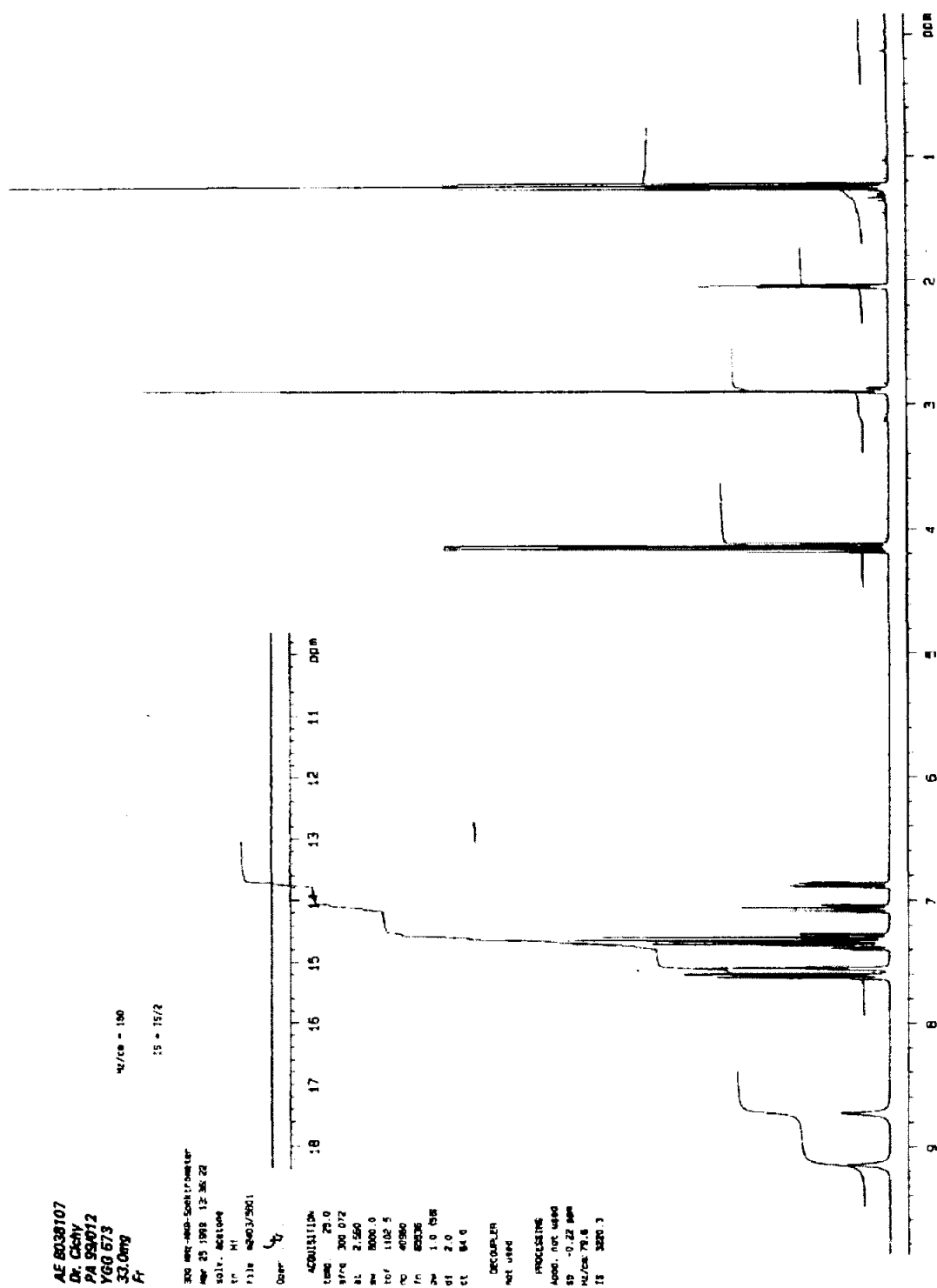
デスメディファムの IR スペクトル



M/e	フラグメント
301	$[M+H]^+$
199	$\left[\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \text{O} \text{C}(=\text{O}) \text{NH} \text{C}_6\text{H}_4\text{OH} + \text{NH}_4^+ \right]^+$
182	$\left[\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \text{O} \text{C}(=\text{O}) \text{NH} \text{C}_6\text{H}_4\text{OH}_2 \right]^+$
166	$\left[\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{H}_2 \end{array} \text{O} \text{C}(=\text{O}) \text{NH} \text{C}_6\text{H}_5 \right]^+ + \text{H}^+$
139	$\left[\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C} \\ \\ \text{OH} \end{array} \text{NH} \text{C}_6\text{H}_5 \right]^+ + \text{NH}_4^+$

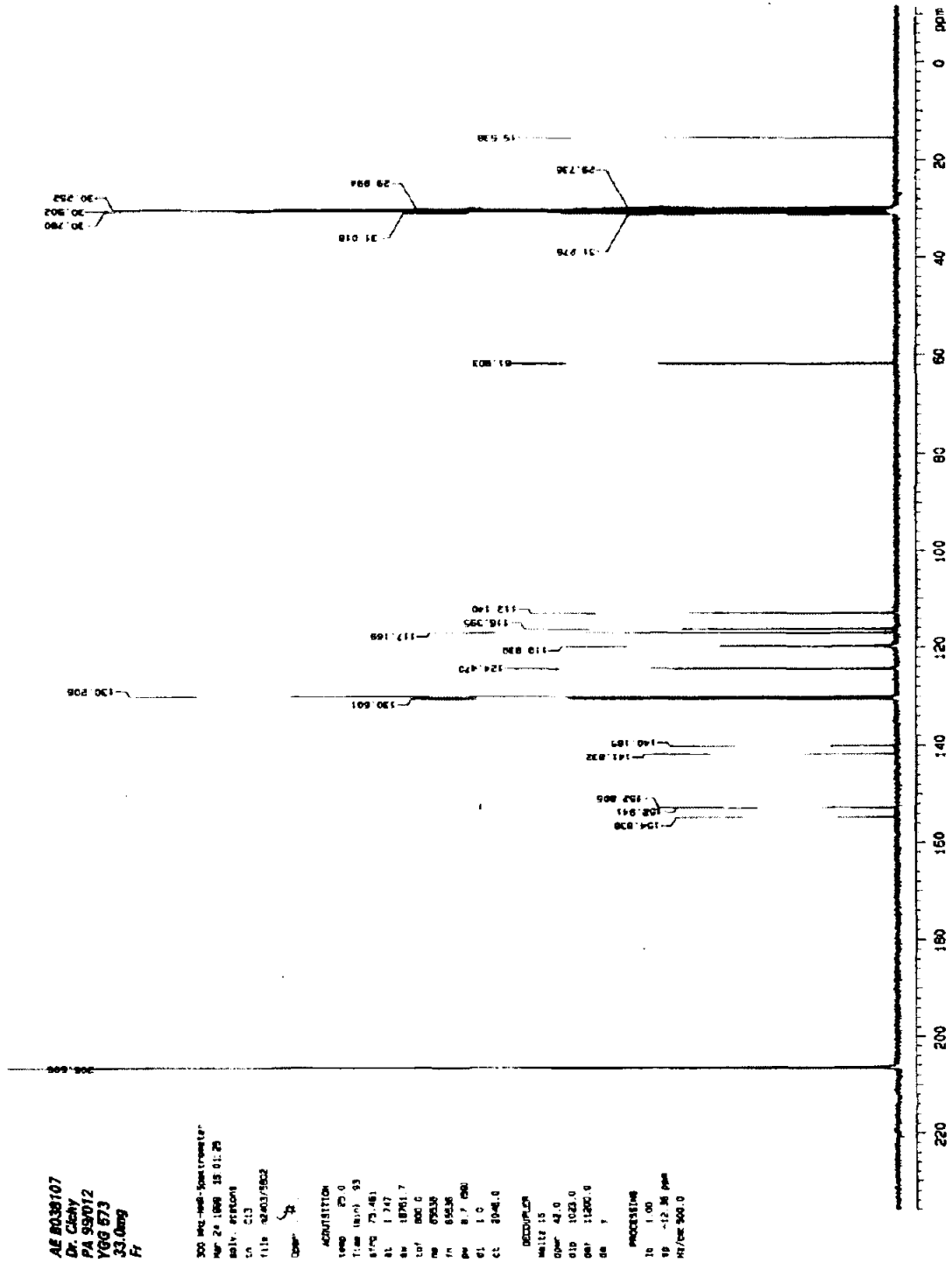
デスメディファムの HPLC-MS (化学イオン化) スペクトル

Figure 5: ^1H - NMR spectrum of AE B038107

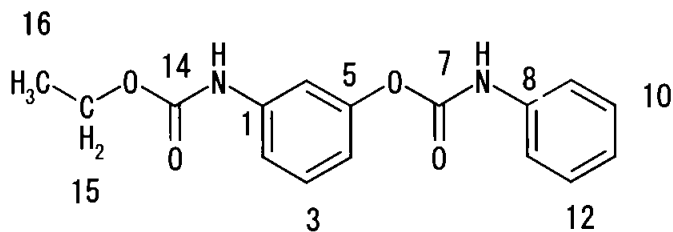


デスメディファムの ^1H -NMR スペクトル

Figure 6: ^{13}C - NMR spectrum of AE B038107



デスメディファムの ^{13}C -NMR スペクトル



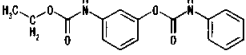
¹H-NMR スペクトルピークの帰属

化学シフト (ppm)	多重度	帰属
9.2	-	N-H
8.7	-	N-H
6.8-7.76	multipletts	H-2, 3, 4, 6, 9 H-10, 11, 12, 13
4.2	quartett	H-16
2.9	singulett	H(H ₂ O)
2.1	multiplett	H(d5 アセトン)
1.3	triplett	H-16-

¹³C-NMR スペクトルピークの帰属

化学シフト (ppm)	多重度	帰属
206.6	S	(d6 アセトン、C=O)
154.8	S	C-14
152.9 / 152.8	S	C-5 / C-7
141.8 / 140.2	S	C-1 / C-8
130.6	D	C-3
130.2	D	C-10 / C-12
124.5	D	C-11
119.9	D	C-9 / C-13
117.2	D	C-2
116.4	D	C-4
113.1	D	C-6
61.9	T	C-15
30.5	M	(d6 アセトン、CH ₃)
15.5	Q	C-16

3. 原体の成分組成

区分	名称		構造式	分子式	分子量	含有量	
	一般名 [CAS 番号]	化学名				規格値	通常値
有効成分	デスマチイファム	エチル-3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート		C ₁₆ H ₁₆ N ₂ O ₄	300.34		
原体 混 在 物							

4. 製剤の組成

3%乳剤

デスメディファム	3.0%
フェンメディファム	13.0%
有機溶剤、界面活性剤等	84.0%

Ⅲ. 生物活性

1. 活性の範囲

茎葉処理により、てんさい栽培地帯で重要かつ広範囲の一年生雑草種に高い防除効果を有し、また、てんさいには高度な選択性を有する。

2. 作用機構

デスメディファムは非ホルモン型、吸収移行性の光合成阻害剤で、雑草の茎葉部に処理することによって効果を示す。吸収部位は主に茎葉部である。

3. 作用特性と防除上の利点

デスメディファムをフェンメディファムに混合することにより、フェンメディファム単剤と比較して、ヒユ科雑草も含むより広範囲の一年生雑草に高い防除効果を示す。また、この2種類の有効成分を組み合わせることによる相乗的ともいえる効果によって、フェンメディファム単剤よりも少量の投下有効成分量で同等以上の防除効果を発揮する。

本剤は茎葉散布剤であり、土壌処理剤のように土壌水分含量によってその効果が左右されることなく、一年生広葉雑草の発生揃期に散布することにより、十分な雑草防除効果を発揮する。

IV. 適用及び使用上の注意

1. 適用病害虫の範囲及び使用方法

ベタブロード乳剤 (デスメディファム 3.0%+フェンメディファム 13.0%)

作物名	適用 雑草名	使用時期	適用 土壌	使用量		本剤の 使用回数	使用方法	適用地帯
				薬量	希釈水量			
てんさい (移植栽培)	畑地一年生雑草	移植活着後の雑草発生揃期 (但し、収穫90日前まで)	全土壌	400mL /10a	50~100L /10a	1回	雑草茎葉散布	北海道

デスメディファムを含む 農薬の総使用回数	フェンメディファムを含む 農薬の総使用回数
2回以内	3回以内

ベタダイヤA乳剤

(デスメディファム 2.3%+フェンメディファム 10.0%+メトラクロール 12.0%)

作物名	適用 雑草名	使用時期	適用土 壌	使用量		本剤の 使用 回数	使用 方法	適用 地帯
				薬量	希釈水量			
てんさい (移植栽培)	畑地一年生雑草	移植活着後の雑草発生揃期 (但し、収穫90日前まで)	全土壌 (砂土を除く)	500mL /10a	50~100L /10a	1回	散布	北海道

デスメディファムを含む 農薬の総使用回数	フェンメディファムを含む 農薬の総使用回数	メトラクロールを含む 農薬の総使用回数
2回以内	3回以内	1回

ベタナールエキスパート乳剤

(エトフメセート 10.0%+デスメディファム 6.4%+フェンメディファム 8.2%)

作物名	適用 雑草名	使用時期	使用量		本剤の 使用回数	使用 方法	適用 地帯
			薬量	希釈水 量			
てんさい (移植栽培)	一年生 雑草	移植活着後 (雑草発生揃 期)ただし、 収穫 60 日前 まで	350～ 450mL	60～ 80L	2 回以内	雑草茎 葉散布	北海道
てんさい (直播栽培)		2 葉期以降 (雑草発生揃 期)ただし、 収穫 60 日前 まで	/10a	/10a			

エトフメセートを含む農薬の 総使用回数	デスメディファムを含む農薬の 総使用回数	フェンメディファムを含む農薬の 総使用回数
2 回以内	2 回以内	3 回以内

2. 使用上の注意事項（上記 3 製剤から代表的なものを抜粋）

- (1) 使用量に合わせ薬液を調製し、使いきること。
- (2) 噴霧器で雑草発生期に散布すること。雑草が大きくなると、効果が極端に劣るので、特に適期散布に努めること。
- (3) 水量が多くなるほど、また薬液調製後の時間が経過するほど結晶を生じ、ノズルをつまらせるため、薬液調製後は速やかに散布すること。
- (4) てんさい以外の作物には薬害の恐れがあるので、できるだけ他の畑に飛散しないように注意すること。
- (5) 本剤の使用に当たっては、使用量、使用時期、使用方法を誤らないように注意し、特に初めて使用する場合には、病害虫防除所等関係機関の指導を受けることが望ましい。

3. 水産動植物に有毒な農薬については、その旨（上記 3 製剤から代表的なものを抜粋）

この登録に係る使用方法では該当がない。

V. 残留性及び環境中予測濃度算定関係

1. 作物残留性試験

(1) 分析法の原理及び操作概要

塩酸酸性化で酢酸エチル加熱還流抽出し、酢酸エチルに転溶する。
シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製後、高速液体クロマト
グラフィー (UV) で定量する。

(2) 分析対象の化合物

デスメディファム

化学名：エチル=3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート

分子式： $C_{16}H_{16}N_2O_4$

分子量：300.3

参考：EHPC（代謝物B）は上記操作を同様に行い親化合物と同時定量し、測定
値に換算係数1.66を乗じて算出する。

EHPC（代謝物B）

化学名：N-(3-ヒドロキシフェニル)エチルカルバマート

分子式： $C_9H_{11}NO_3$

分子量：181.2

(3) 残留試験結果

デスメディファム

作物名 (栽培形態) (分析部位) 年 度	剤 型 (有効成分量) 希釈倍数又は 使用量・使用方法	試 料 調 製 場 所	使 用 回 数	経 過 日 数	分析結果 (ppm)			
					公的分析機関		社内分析機関	
					デスメディファム		デスメディファム	
					最高値	平均値	最高値	平均値
					(財)日本食品分析センター		化学分析コンサルタント(株)	
てんさい [根部] 平成8年度	乳剤 3.0% 600mL/80L/10a 散布	日植調十勝 (河西郡 芽室町)	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			2	60	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			2	90	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
		日植調十勝 (常呂郡 訓子府町)	0	-	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			2	60	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
			2	90	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
					(財)日本食品分析センター		ハ イエルクロップサイエンス(株)	
てんさい [根部] 平成15年度	乳剤 6.4% 450mL/60L/10a 散布	日植調研究 所 北海道試験 地	0	-	<0.02	<0.02	<0.01	<0.01
			2	62	<0.02	<0.02	<0.01	<0.01
		日植調 十勝試験地	0	-	<0.02	<0.02	<0.01	<0.01
			2	60	<0.02	<0.02	<0.01	<0.01

2. 家畜における代謝

(1) 家畜における代謝と分布

ー泌乳牛における吸収、分布、排泄及び代謝 (P 標識)

(資料番号：家畜 1)

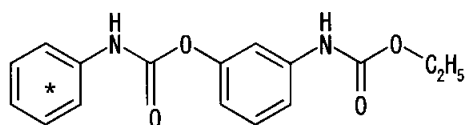
試験機関：

報告書作成年：2002 年 [GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：エチル=3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート

化学構造：



*：¹⁴C 標識部位

比放射能：3.81 MBq/mg (103.1 μCi/mg)

放射化学的純度：98.2%

【方法】

1. 動物

1 頭の泌乳牛 (Holstein Friesian、約 4 歳、562kg) を 13 日間馴化後、実験に供した。

2. 投与

非標識デスメディファムで希釈した ¹⁴C 標識デスメディファムをゼラチンカプセルに秤量し、設定用量 10 ppm (餌中濃度換算、1 日 20kg 摂餌量設定) で、7 日間連続 (一日 2 回：およそ午前 8 時及び午後 4 時) に強制経口投与した。

3. 試料採取

デスメディファムを投与後、それぞれの試料を採取した。試料採取の方法を以下に示す。

乳汁

毎日、朝 8 時及び夕 4 時に搾乳した。

尿及び糞

尿及び糞を投与後 24 時間間隔で採取した。

臓器及び組織

最終投与 23 時間後に動物を屠殺し、全血、血漿、腎臓、肝臓、大網脂肪、腎周囲の脂肪、骨格筋を採取した。

ケージ洗浄液

試験終了時にケージをアセトニトリル：水（1：1）で洗浄し、採取した。

全ての生物試料は分析まで-20℃で保存した。

4. 分析

(1) 放射エネルギーの測定

全血は直接、糞はアセトニトリル：水（1：1）中で磨砕後、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪は均質化後、燃焼後液体シンチレーションカウンタ（LSC）を用いて分析した。

乳汁、尿、ケージ洗浄液及び血漿はシンチレーションカクテルと混合後、LSC 測定した。

(2) 抽出及びクロマトグラフィーによる代謝物の分析

尿は HPLC を用いて直接分析した。

糞はメタノールを用いて 2 回抽出し、抽出後の残渣は燃焼分析し、抽出液は LSC での放射エネルギー測定及びヘキサンと分配して脂肪を除去した後、LSC 及び HPLC を用いて分析した。

乳汁はメタノールを添加後、-20℃に静置して沈殿させた後、遠心分離して上澄を濃縮、ジエチルエーテル、ヘキサンと分配して脂肪を除去し、水層を LSC 及び HPLC 分析した。遠心分離後の沈殿はペプシンを用いて酵素分解（37℃一夜）し、HPLC 分析した。

肝臓、腎臓、筋肉はメタノールを用いて 2 回抽出し、遠心分離した。上澄は LSC 分析し、沈殿はメタノールを用いて穏やかに 2 回還流抽出し、その後更に水を用いて抽出し、HPLC 分析した。水抽出後の沈殿はペプシン、次にプロテアーゼを用いて酵素分解し、HPLC を用いて分析した。酵素分解後の残渣は更に 6N 塩酸を用いて還流分解し、HPLC 分析した。

脂肪はメタノールを用いて2回抽出した。残渣はメタノールを用いて緩やかに還流抽出、更に水で抽出した。メタノール抽出液はヘキサンとの分配して濃縮後 HPLC 分析した。水抽出後の残渣はコラゲナーゼを用いて酵素分解後に HPLC 分析した。更に残渣は 6 N 塩酸と還流して分解後 LSC 測定した。

【結果】

排泄物及び乳汁における放射能の回収 (表 1)

実験終了時 (最初の投与の 175 時間後) までの総放射能の回収は、投与放射エネルギーの 102.11%であった。主要な排泄経路は尿で、81.08%が排泄された。糞へは 18.91%、乳汁へは 1.36%、肝臓、腎臓、ケージ洗浄液ではそれぞれ、0.63%、0.06%、0.06%が認められた。

尿への排泄は投与 48 時間後までは増加したが、それ以降は 1 日あたり 11~14%で安定していた。糞への排泄は 1 日当たり投与総放射エネルギーの約 3%であった。乳汁中の放射エネルギーは最初の投与の 80 時間後からほぼ一定となり約 0.132~0.156 $\mu\text{g/g}$ であった。

表 1 ^{14}C -デスメディファムを経口投与した泌乳牛の排泄物及び乳汁における放射能収支

試料	採取時間	累積% ¹⁾	$\mu\text{g}/\text{g}$ ²⁾	試料	採取時間	累積% ¹⁾	$\mu\text{g}/\text{g}$ ²⁾
尿	投与前	N. A.	N. A.	乳汁	投与前	N. A.	N. A.
	24 h	8.6	8.565		8h	0.01	0.024
	48 h	17.19	12.201		24 h	0.07	0.052
	72 h	28.09	14.255		32 h	0.12	0.095
	96 h	41.65	13.633		48 h	0.22	0.108
	120 h	53.35	12.815		56 h	0.29	0.127
	144 h	66.74	12.985		72 h	0.42	0.133
	168 h	79.13	11.617		80 h	0.50	0.156
糞	175 h	81.08	5.826	96 h	0.65	0.149	
	投与前	N. A.	N. A.	104 h	0.73	0.152	
	24 h	0.7	0.328	120 h	0.87	0.138	
	48 h	3.47	1.477	128 h	0.94	0.145	
	72 h	6.63	1.632	144 h	1.08	0.145	
	96 h	9.26	1.388	152 h	1.15	0.157	
	120 h	12.22	1.383	168 h	1.31	0.149	
	144 h	14.84	1.367	175 h	1.36	0.132	
ケージ洗浄液	175 h	0.06	0.048	腎臓	175 h	0.06	-
				肝臓	175 h	0.63	-
				合計		102.11	-

1) 結果は投与量に対する累積%で表示

2) μg 当量/g

N. A. = 適用せず

組織、全血および血漿中の放射能濃度 (表 2)

最も高い濃度は肝臓で認められ、 $1.181\mu\text{g}/\text{g}$ であった。血漿、全血および腎臓の放射能濃度は類似しており、それぞれ 0.671 、 0.580 、 $0.634\mu\text{g}/\text{g}$ であった。筋肉、腎脂肪、大網脂肪における放射能濃度は低く 0.067 、 0.047 、 $0.37\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

表 2 ^{14}C -デスメディファムを経口投与した泌乳牛の組織中の放射能濃度

試料	μg 当量/g
大網脂肪	0.037
腎周囲の脂肪	0.047
腎臓	0.634

肝臓	1.181
筋肉	0.067
全血	0.58
血漿	0.671

糞、乳汁、組織からの抽出 (表 3、4)

糞、乳汁、組織からの抽出結果を表 3 に示した。糞からはメタノールにより 36.4% TRR が抽出された。乳汁からは 32.4% が抽出され、抽出残渣 (PES) のペプシン処理により 64.2% が抽出された。肝臓では、メタノール抽出、メタノール還流抽出、水抽出により、15.2%、2.5%、1.0% がそれぞれ抽出された。抽出残渣のペプシン処理により 36.4% が、プロテアーゼ処理により 17.1% が、酸分解により 14.6% が抽出された。腎臓ではメタノール抽出、メタノール還流抽出、水抽出により、32.3%、5.7%、1.4% がそれぞれ抽出された。抽出残渣のペプシン処理、プロテアーゼ処理、酸分解によりそれぞれ、34.7%、13.8%、6.0% が抽出された。筋肉では、メタノール抽出、メタノール還流抽出、水抽出によりそれぞれ、15.0%、1.9%、2.2% が抽出された。抽出残渣のペプシン処理、プロテアーゼ処理、酸分解により、それぞれ 36.1%、22.1%、9.7% が抽出された。腎脂肪からはメタノール抽出、メタノール還流抽出、水抽出によりそれぞれ、30.9%、6.4%、1.2% が抽出された。残渣のペプシン処理、酸分解により、44.7%、7.1% が抽出された。大網脂肪ではメタノール抽出、メタノール還流抽出、水抽出により、21.1%、3.3%、1.3% がそれぞれ抽出された。残渣のペプシン処理、酸分解により 44.6%、11.6% がそれぞれ抽出された。メタノールによる抽出率が低く、抽出残渣の酵素処理及び酸分解における抽出率が高くなっており、これはデスメディファム及びその代謝物が生体成分に結合していることを示している。

表3 ¹⁴C デスメディファムを経口投与した泌乳牛の糞、乳汁及び組織の各抽出物における放射能分布

試料		TRR ^(a) (ppm)	メタノール抽出物 ^(b)		メタノール還流抽出物 ^(c)		水抽出物 ^(d)		PES (抽出後の残渣)	
組織	採取時間 (h)		%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
糞	48-72	3.16	36.4	1.15*	NA	NA	NA	NA	63.6	2.01
乳汁	144-152	0.157	32.4	0.051	NA	NA	NA	NA	69.1	0.108
肝臓	175	1.181	15.2	0.18	2.5	0.030	1.0	0.012	81.3	0.960
腎臓	175	0.634	32.3	0.205	5.7	0.036	1.4	0.009	60.6	0.384
筋肉	175	0.067	15.0	0.01	1.9	0.001	2.2	0.001	80.9	0.054
腎周囲の 脂肪	175	0.047	30.9	0.015	6.4	0.003	1.2	0.001	61.8	0.029
大網脂肪	175	0.037	21.1	0.008	3.3	0.001	1.3	<0.001	74.3	0.027

(a) = 放射能測定による TRR

(b) = メタノールを用いて 2 回抽出、乳は 1 回

(c) = メタノールを用いて 2 回抽出 (緩やかに 30 分還流)

(d) = 蒸留水を用いて 1 回抽出

ppm=μg 当量/g

* = 投与量に対する%

PES =抽出後の残渣

NA=適用せず

表4 ¹⁴C デスメディファムを経口投与した泌乳牛の乳汁及び組織の抽出物における放射能分布

酵素分解抽出及び酸加水分解抽出

試料	採取時間 (h)	TRR ^(a) (ppm)	ペプシン/コラーゲナーゼ 抽出物 ^(b)		プロテアーゼ 抽出物 ^(c)		処理抽出物 ^(d)		6N HC 1 ^(e)		PES (抽出残渣)	
			%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm	%TRR	ppm
乳汁	144-152	0.157	64.2	0.101	NA	NA	64.1	0.101	NA	NA	3.4	0.005
肝臓	175	1.181	36.4	0.430	17.1	0.202	43.8	0.517	14.6	0.172	13.2	0.156
腎臓	175	0.634	34.7	0.220	13.8	0.087	41.6	0.264	6.0	0.038	6.3	0.040
筋肉	175	0.067	36.1	0.024	22.1	0.015	53.7	0.036	9.7	0.006	13.0	0.009
腎周囲の 脂肪	175	0.047	44.7	0.021	NA	NA	44.5	0.021	7.1	0.003	24.7	0.012
大網脂肪	175	0.037	44.6	0.017	NA	NA	44.6	0.017	11.6	0.004	18.1	0.007

ppm = ug 当量 / g

PES = 抽出後の残渣

(a) = 放射能測定データに基づいて得られた総放射能残留量 a

(b) = 乳汁、肝臓、腎臓及び筋肉：PES をペプシン分解後の水層抽出物。腎脂肪及び大網脂肪：PES をコラーゲナーゼ分解後の水層抽出物

(c) = ペプシン分解後 PES のプロテアーゼ分解後の水層抽出物

(d) = 乳汁：沈殿、遠心分離、濃縮したペプシン抽出物。肝臓、腎臓及び筋肉：混合して沈殿させ、濃縮、遠心分離したペプシン及びプロテアーゼ抽出物。
腎脂肪及び大網脂肪：沈殿、遠心分離、ヘキササン分配し濃縮したコラーゲン抽出物

(e) = 酵素分解後 PES を 6N HC 1 で還流。肝臓及び腎臓の酸化水分解物の処理後、値は 11.3% TRR, 0.133 ppm. (肝臓) 及び 5.4% TRR, 0.034 ppm. (腎臓)

NA = 適用せず

尿、糞、乳汁及び組織抽出物の HPLC 分析 (表 5 及び 6)

各抽出物を HPLC を用いて分析したが、抽出物中に生体成分が多く、標準品との保持時間の比較は困難であった。

尿 (48~72 時間試料) :

6 成分が認められた。51.5%TRR (投与量の 5.61%) の主要成分を 4-アセトアミドフェノール (G) と仮同定した。残りの 5 成分 (1.0%~22.7%TRR) は未同定であった。

糞 (48~72 時間試料) :

7 成分が認められた。4-アセトアミドフェノール (G) (6.3%TRR)、4-アミノフェノール (E) (0.9%TRR) がコクロマトグラフィーにより確認された。残り 5 成分 (0.4~9.4% TRR) は未同定であった。

表 5 $[^{14}\text{C}]$ デスメディファムを経口投与した泌乳牛の排泄物中の代謝物分布

試料	採取時間 (h)	保持時間 (分)	成分	%TRR	%投与量
尿	48-72	6.4	未同定	1.0	0.11
		10.2	未同定	16.9	1.84
		17.6	未同定	22.7	2.47
		18.5	未同定	6.3	0.69
		19.2	アセトアミドフェノール	51.5	5.61
		20.7	未同定	1.7	0.19
糞	48-72	4	4-アミノフェノール (E)	0.9	0.03
		14	未同定	0.4	0.01
		20	4-アセトアミドフェノール (G)	6.3	0.20
		23	未同定	9.4	0.30
		26	未同定	3.2	0.10
		30	未同定	5.6	0.18
		32	未同定	3.2	0.10

*=試料中の生体成分の存在により仮同定

乳汁：メタノール抽出物からは 4-アセトアミドフェノール (G) (19.2% : 0.03ppm)、4-アミノフェノール (E) (3.3% : 0.005ppm) が認められた。その他に 7.6%、1.3%の未同定成分が認められた。酵素分解抽出液からも 4-アセトアミドフェノール (G) (45.1% : 0.071ppm)、4-アミノフェノール (E) (0.9% : 0.001ppm) が仮同定された。その他に 13.5%、4.6%の成分が認められた。

肝臓：メタノール抽出液の成分は乳汁中と類似しており、4-アセトアミドフェノール (G) (8.4% : 0.099ppm)、4-アミノフェノール (E) (0.9% : 0.01ppm)、その他に 2.5%、1.3%の未同定成分が認められた。酵素分解抽出液でも同様に 4-アセトアミドフェノール (G) (13.1% : 0.155ppm)、4-アセトアミノフェノール (E) (4.9% : 0.058ppm) が認められた。その他に 25.8%の成分が認められたが、ピークの溶出時間が 22~31 分と長く、複数成分で構成されていると考えられた。酸加水分解液では 4-アセトアミドフェノール (G) (1.6% : 0.019ppm)、4-アミノフェノール (E) (1.8% : 0.022ppm) が仮同定され、未同定 2 成分が認められた。

腎臓：メタノール抽出液では 4-アミノフェノール (E) (14.6% : 0.093ppm)、4-アセトアミドフェノール (G) (8.7% : 0.055ppm) が認められた。他に 13.3%、0.9%の未同定成分が認められた。酵素分解抽出液では 4-アミノフェノール (E) (1.0% : 0.006ppm)、4-アセトアミドフェノール (G) (13.3% : 0.084ppm) が認められた。その他に 22.5%の成分が認められたが、ピークの溶出時間が 22~31 分と長く、複数成分で構成されていると考えられた。酸加水分解抽出液では 4-アセトアミドフェノール (G) (0.6% : 0.004ppm) が認められ、残り 2 成分は未同定であったが、3.2%未満であった。

筋肉：メタノール抽出液で 4-アセトアミドフェノール (G) (4.0% : 0.003ppm)、4-アミノフェノール (E) (8.4% : 0.006ppm) が認められ、酵素分解抽出液では 4-アセトアミドフェノール (G) (19.7% : 0.013ppm) が認められた。その他に 34.0%TRR (0.023ppm) の成分が認められた。

腎脂肪：メタノール抽出液で 4-アミノフェノール (E) (9.2% : 0.004ppm) が認められ、8.6% (0.004ppm) の成分は未同定であった。酵素分解抽出液では 4-アセトアミドフェノール (G) (22.0% : 0.010ppm) が認められ、22.5% (0.011ppm : 保持時間 23 分) は未同定であった。

大網脂肪：メタノール抽出液で 4-アミノフェノール (E) (14.3% : 0.005ppm) が認められた。酵素分解液では 4-アセトアミドフェノール (G) (20.2% : 0.007ppm) が認められ、24.4% (0.009ppm) が未同定であった。

表 6 $[^{14}\text{C}]$ デスメディファムを経口投与した泌乳牛の乳汁及び組織の各抽出画分における代謝物の分布

試料	採取時間 (h)	抽出画分	保持時間 (分)	成分	%TRR	ppm		
乳汁	144-152	メタノール	4	4-アミノフェノール* (E)	3.3	0.005		
			19	4-アセトアミドフェノール* (G)	19.2	0.030		
			21	未同定	7.6	0.012		
			24	未同定	1.3	0.002		
		酵素分解	4	4-アミノフェノール* (E)	0.9	0.001		
			20	4-アセトアミドフェノール* (G)	45.1	0.071		
			23	未同定	13.5	0.021		
			27	未同定	4.6	0.007		
		肝臓	175	メタノール	4	4-アミノフェノール (E)	0.9	0.01
					20	4-アセトアミドフェノール (G)	8.4	0.099
23	未同定				2.5	0.03		
25	未同定				1.3	0.016		
酵素分解	5			4-アミノフェノール* (E)	4.9	0.058		
	20			4-アセトアミドフェノール* (G)	13.1	0.155		
	22			未同定	25.8	0.305		
酸加水分解	4			4-アミノフェノール* (E)	1.8	0.022		
	7			未同定	2.2	0.026		
	20			4-アセトアミドフェノール* (G)	1.6	0.019		
	24	未同定	5.6	0.066				
腎臓	175	メタノール	4	4-アミノフェノール (E)	14.6	0.093		
			7	未同定	0.9	0.006		
			20	4-アセトアミドフェノール (G)	8.7	0.055		
			24	未同定	13.3	0.084		
		酵素分解	5	4-アミノフェノール* (E)	1.0	0.006		
			20	4-アセトアミドフェノール* (G)	15.1	0.096		
			22	未同定	25.5	0.162		
		酸加水分解	7	未同定	1.5	0.010		
			20	4-アセトアミドフェノール* (E)	0.6	0.004		
			25	未同定	3.2	0.021		

*：抽出物中に生体成分が存在したため、仮同定

表 6 (続) $[^{14}\text{C}]$ デスメディファムを経口投与した泌乳牛の乳汁及び組織の各抽出画分における代謝物の分布

試料	採取時間 (h)	抽出画分	保持時間 (分)	成分	%TRR	ppm
筋肉	175	メタノール	4	4-アミノフェノール (E)	8.4	0.006
			20	4-アセトアミドフェノール (G)	4.0	0.003
		酵素分解	20	4-アセトアミドフェノール* (G)	19.7	0.013
			22	未同定	34.0	0.023
腎脂肪	175	メタノール	4	4-アミノフェノール (E)	9.2	0.004
			41	未同定	8.6	0.004
		酵素分解	21	4-アセトアミドフェノール (G)	22.0	0.010
			23	未同定	22.5	0.011
大網脂肪	175	メタノール	4	4-アミノフェノール (E)	14.3	0.005
		酵素分解	21	4-アセトアミドフェノール* (G)	20.2	0.007
			23	未同定	24.4	0.009

*: 抽出物中に生体成分が存在したため、仮同定

以上のことから、主排泄経路は尿であり投与量の81%が排泄され、糞へは19%が排泄された。乳汁、肝臓、腎臓へはそれぞれ、1.36%、0.63%、及び0.06%が認められた。最も高濃度の放射能は肝臓で認められ、1.181 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。そのほかの血漿、全血、腎臓の放射能濃度は類似しており、それぞれ、0.671、0.580、0.634 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。溶媒抽出による抽出率は低く、デスメディファム及び代謝物は生体成分に結合していると考えられた。代謝物として4-アミノフェノール (E) が糞、乳汁、組織で認められ、4-アミドフェノール (G) は尿、糞、乳汁、及び組織で認められた。

2. 家畜における代謝

(2) 家畜における代謝と分布—泌乳牛代謝物の同定 (P 標識)

(資料番号： 家畜 2)

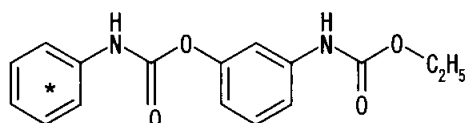
試験機関：

報告書作成年：2003 年 [GLP 対応]

供試標識化合物

化学名： エチル=3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート

化学構造：



* : ^{14}C 標識部位

比放射能： 3.81 MBq/mg (103.1 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$)

放射化学的純度： 98.2%

【方法】

当試験では資料番号：家畜 1 で採取した試料を用いて、HPLC 及び 3 種の異なる系を用いた TLC 分析を行い更なる代謝物の検索・同定を行った。

1. HPLC 及び TLC 条件

HPLC 条件

カラム：Hypersil BDS C18, 250 x 4.6 mm 粒径 5 μm

検出器：UV (254nm) 及び放射能検出器

溶媒系：A=0.1%ギ酸含有水、B=0.1%ギ酸含有アセトニトリル

時間 (分)	流速 (mL/分)	%A	%B	グラジエント
初期	1	100	0	*
10	1	100	0	直線
45	1	5	95	直線
50	1	100	0	直線
55	1	100	0	直線

TLC 条件

シリカゲル 60 F254 層厚 0.25mm (Merk)

- 溶媒系
1. トルエン/酢酸エチル/メタノール (70 : 20 : 10 v/v)
 2. クロロホルム/メタノール/氷酢酸 (95 : 5 : 1 v/v)
 3. ヘキサン/酢酸エチル (80 : 20 v/v)

検出：UV 及び Fujifilm Image Analyser

【結果】

尿の HPLC 分析

尿試料について当試験で用いた HPLC 条件による結果と原報の結果を表 1 に示した。当試験で用いた HPLC 条件では、11 種の放射能画分が確認され、うち 5 種が 3% 以上であった。領域 2、6、7、8、9 については両者で一致していた。原報の保持時間約 10 分の成分は当分析では認められず、明らかに異なっていた。原報では主代謝物として 4-アセトアミドフェノール (G) が認められており、当分析でも保持時間 18 : 31 のピークが 4-アセトアミドフェノール (G) (AE C426745) であることが、標準品の添加により確認された。

表 1 尿試料 HPLC 分析結果の当試験と原試験での比較

領域	当試験		原試験	
	保持時間 (mm:ss)	%ROI	保持時間 (mm:ss)	%ROI
1	3:18	0.53	ND	NA
2	7:57	1.1	6:24	0.99
2bis	ND	NA	10:12	16.88
3	12:13	0.32	ND	NA
4	15:53	3.05	ND	NA
5	16:37	19.2	ND	NA
6	17:04	22.14	17:36	22.65
7	17:56	7.98	18:30	6.29
8	18:31	43.19	19:13	51.49
9	19:02	0.76	20:42	1.71
10	19:23	1.08	ND	NA
11	19:37	0.68	ND	NA

糞メタノール抽出液の HPLC 分析結果 (表 2)

原報では 7 種の領域が報告され、4-アセトアミドフェノール (G) (6.3%) が認められていたが、当分析では 27 種の領域が確認された。4-アセトアミドフェノール (G) (14.02%) が確認され、更に、3 または 4-アミノフェノール (D または E) (1.52%)、3-アセトアミドフェノール (F) (2.21%)、メチルフェニルカーバメート (I) (7.84%)、デスメディファミン (A) (1.40%) が確認された。

表2 糞メタノール抽出液のHPLC分析結果

領域	平均		成分名
	保持時間 (mm:ss)	%ROI	
1	3:34	1.52	3/4-アミノフェノール (D/E)
2	4:26	2.06	
3	17:02	3.42	
4	17:38	6.41	
5	18:24	14.02	4-アセトアミドフェノール (G)
6	18:45	1.33	
7	19:04	1.23	
8	19:30	1.93	
9	19:50	2.21	3-アセトアミドフェノール (F)
10	20:18	2.15	
11	20:26	2.15	
12	21:07	17.97	
13	21:42	2.24	
14	22:11	4.44	
15	23:07	3.06	
16	23:46	3.6	
17	24:15:00	3.48	
18	25:00:00	1.77	
19	25:15:00	1.3	
20	25:49:00	1.89	
21	26:23:00	1.92	
22	27:40:00	7.84	フェニルメチルカーバマート (I)
23	28:22:00	2.43	
24	29:28:00	3.02	
25	30:15:00	2.48	
26	32:23:00	2.8	
27	34:30:00	1.4	デスマステイラム (A)

腎臓のメタノール抽出液のHPLC分析 (表3)

原報では4-アセトアミドフェノール (G) (8.7%) 及び4-アミノフェノール (E) (14.6%) を含む4領域が報告されていた。当分析では4-アセトアミドフェノール (G) (5.82%) を含む7領域が認められた。試料中にUV吸収が大きい物質が含まれており、クロマトグラフィーは不可能であった。

表3 腎臓のメタノール抽出液の HPLC 分析結果

領域	平均		成分名
	保持時間 (mm:ss)	%ROI	
1	4:18	14.58	
2	5:52	4.46	
3	16:01	8.15	
4	17:07	23.72	
5	17:41	9.04	
6	18:25	5.82	4-アセトアミドフェノール (G)
7	21:23	34.24	

肝臓のメタノール抽出液の HPLC 分析結果 (表4)

原報では4-アセトアミドフェノール (G) (8.4%)、4-アミノフェノール (E) (0.9%) を含む4領域が報告されていたが、当分析では4-アセトアミドフェノール (G) (10.54%) を含む6領域が確認された。当試料も UV 吸収が大きい物質が含まれており、標準品とのコクロマトグラフィーは不可能であった。

表4 肝臓のメタノール抽出液の HPLC 分析結果

領域	平均		成分名
	保持時間 (mm:ss)	%ROI	
1	17:32	59.23	
2	18:22	10.54	4-アセトアミドフェノール (G)
3	19:38	7.91	
4	20:48	7.19	
5	23:15	9.23	
6	26:37:00	5.92	

乳汁のメタノール抽出液の HPLC 分析結果 (表 5)

原報では 4-アセトアミドフェノール (G) (19.2%)、4-アミノフェノール (E) (3.3%) を含む 4 領域が報告されていたが、当分析では 4-アセトアミドフェノール (G) (33.97%) を含む 3 領域が認められた。

表 5 乳汁のメタノール抽出液の HPLC 分析結果

領域	平均		成分名
	保持時間 (mm:ss)	%ROI	
1	16:39	26.86	
2	17:22	39.18	
3	18:15	33.97	4-アセトアミドフェノール (G)

糞、肝臓、腎臓及び乳汁のメタノール抽出液の TLC 結果 (表 6)

4-アセトアミドフェノール (G) が糞、肝臓、腎臓及び乳汁中に存在することが当試験の HPLC 及び TLC 及び原報でも確認された。更に、糞では 3-アセトアミドフェノール (F)、3-アミノフェノール (D)、フェニルメチルカーバメート (I) が確認された。肝臓では 3-アミノフェノール (D) が 2 種の TLC で確認された。

表 6 糞、肝臓、腎臓、乳汁のメタノール抽出物の Rf 値

TLC 系	画分番号	メタノール抽出物の Rf 値				成分名
		糞	肝臓	腎臓	乳汁	
1	1.1	ND	0.12	0.12	ND	
	1.2	ND	ND	0.16	ND	
	1.3	0.21	0.21	0.21	0.21	4-アセトアミドフェノール (G)
	1.4	0.27	ND	ND	ND	3-アセトアミドフェノール (F)
	1.5	0.34	0.35	0.35	ND	3-アミノフェノール (D)
	1.6	0.57	ND	ND	ND	デスマテイファム (A) / フェニルメチルカーバメート (I)
2	2.1	0.10	0.09	0.09	ND	4-アセトアミドフェノール (G)
	2.2	0.17	ND	ND	ND	3-アミノフェノール (D)
	2.3	0.32	ND	ND	ND	
	2.4	0.39	0.38	0.36	ND	
	2.5	0.70	ND	ND	ND	フェニルメチルカーバメート (I)
3	3.1	0.03	0.03	ND	ND	3-アミノフェノール (D)
	3.2	0.22	ND	ND	ND	フェニルメチルカーバメート (I)

次頁に推定代謝経路を示す。

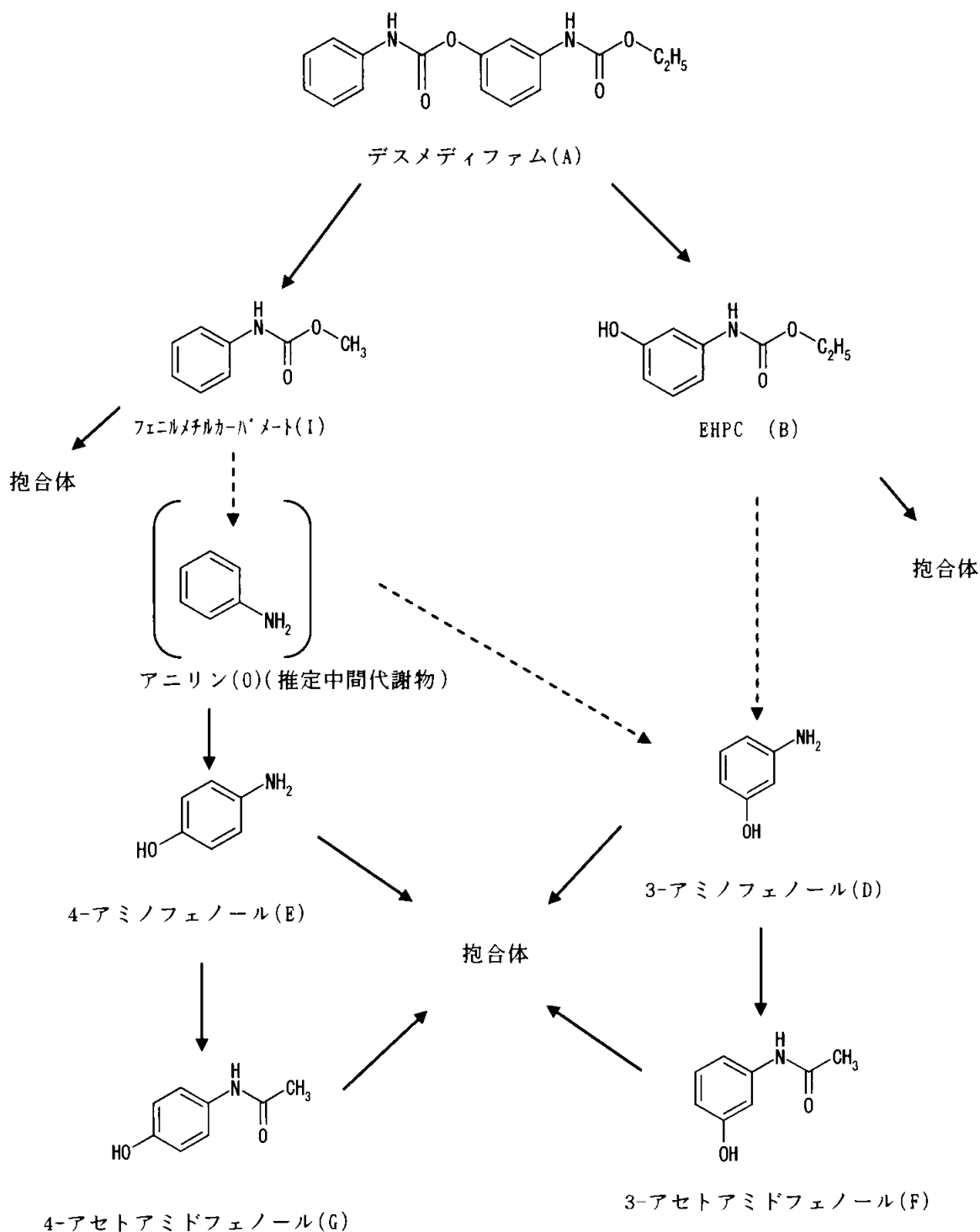


図1 泌乳牛における推定代謝経路

2. 家畜における代謝

(3) 家畜における代謝と分布

—泌乳牛における吸収、分布、排泄及び代謝(A P 標識)

(資料番号：家畜 3)

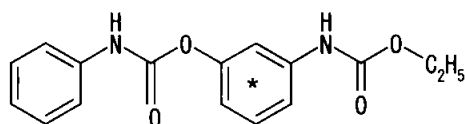
試験機関：

報告書作成年：1992年 [GLP 対応]

供試標識化合物

化学名：エチル=3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート

化学構造：



: ^{14}C 標識部位

比放射能：85.9 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度：>99 %

【方法】

1. 動物

1頭の泌乳牛(British Friesian、548kg)を4日間馴化後、実験に供した。

2. 投与

非標識デスメディファムで希釈した ^{14}C 標識デスメディファムをゼラチンカプセルに秤量し、設定用量 10 ppm (餌中濃度換算) で、4日間連続(一日1回：午前搾乳後のおよそ 11 時)に強制経口投与した。

3. 試料採取

血液は最初の投与の 0.5、1、2、3、4、6、8、12、24 時間後及び屠殺直前に採取した。尿は最終投与時にまとめて採取した。乳汁は試験期間中、1日2回(およそ 8 時と 16 時に)採取した。最終投与 22 時間後に牛を屠殺し、肝臓、腎臓、心臓、筋肉、脂肪(皮下、腎周囲、大網)及び胆汁を採取した。試料は直ちに磨砕し、 -20°C で保存した。

4. 試料調製及び分析

放射エネルギーの測定：

尿、胆汁、乳汁及び血漿は直接シンチレーションカクテルと混合し、全血、皮下脂肪は燃焼後に CO₂ を捕集して、肝臓、腎臓、心臓、筋肉は磨砕後、大網脂肪、腎脂肪はヘキサン中で磨砕溶解化後、シンチレーションカクテルと混合して LSC 測定した。

HPLC 及び TLC 分析：

尿及び胆汁は直接 TLC 分析か、脱抱合させるために pH 5 の緩衝液中で酵素液 (Helix pomatia 液) と 37°C で一夜混合して分解後、C₁₈ カラムで精製し、TLC (シリカゲル) 及び HPLC (C₁₈) を用いて分析した。

乳汁は凍結乾燥後にヘキサン、メタノールを用いて順次ソックスレー抽出した。メタノール抽出液中に生成した沈殿は分離して水に溶解した。抽出液及び沈殿の水溶解液はそれぞれ pH 5 の緩衝液中で酵素液 (Helix pomatia 液) と 37°C で一夜混合して、C₁₈ カラムで精製後、TLC 及び HPLC 分析した。

脂肪はヘキサンに溶解後アセトニトリルと分配して TLC 分析した。

腎臓は凍結乾燥後、ヘキサン及びメタノールを用いて順次ソックスレー抽出した。ヘキサン抽出液はアセトニトリルと分配後 TLC 分析した。メタノール抽出液は pH 5 の緩衝液中で酵素液 (Helix pomatia 液) と 37°C で一夜混合して分解後ろ過し、残渣は酢酸エチルで抽出後に、ろ液の酢酸エチル抽出液と混合して TLC 及び HPLC で分析した。ろ液の酢酸エチル分配後の水層は C₁₈ カラムで精製後 TLC 及び HPLC 分析した。

肝臓は凍結乾燥後にヘキサン、メタノールを用いて順次ソックスレー抽出し、ヘキサン抽出液を C₁₈ カラムを用いて精製後 TLC 分析した。メタノール抽出液は pH 5 の緩衝液中で酵素液 (Helix pomatia 液) で分解した後、酢酸エチルで抽出し、TLC 及び HPLC 分析した。残った水層は遠心分離して上澄とエマルジョン層に分け、上澄は C₁₈ カラムで精製後 TLC 分析した。ソックスレー抽出の残渣は pH 7.4 の緩衝液中でコラゲナーゼ分解し、遠心分離して上澄を C₁₈ カラムで精製後、TLC 分析した。

【結果】

1. 可食組織、乳汁及び血液における残留量

心臓における残留量は 0.0092mg/kg と非常に低く、更に筋肉及び皮下脂肪では検出されなかった。大網脂肪、腎脂肪の残留量はそれぞれ 0.014ppm、0.024ppm の残留が認められた。肝臓及び腎臓ではそれぞれ 0.0402ppm、0.3069ppm が認められた（表 1）。乳汁中の放射エネルギーは第 3 回の投与後に約 0.185ppm の一定値になった（表 2）。全血中の放射エネルギー濃度は最初の投与の 8 時間後には 0.041mg/L の最大値を示したが、その後減少して 24 時間後には 0.019mg/L となり、各投与の 24 時間後には同様に 0.02mg/L を示した。血漿中濃度は全血中の濃度と類似しており、最初の投与の 8 時間後には 0.046mg/L の最大値を示し、各回の投与 24 時間後には 0.02mg/L の一定値となった（表 3）。

表 1 組織中の放射能残留量 (¹⁴C デスメディファムを投与した泌乳牛)

試料	mg/kg
肝臓	0.0402
腎臓	0.3069
心臓	0.0092
筋肉	ND
皮下脂肪	ND
大網脂肪	0.0140
腎脂肪	0.0244

表 2 乳汁中の経時放射エネルギー (¹⁴C デスメディファムを投与した泌乳牛)

最初の投与 からの時間 (時間)	mg/kg
5	0.0712
21	0.1186
29	0.1259
45	0.1519
53	0.1854
69	0.1694
77	0.1869
93	0.1822

表 3 血液及び血漿における経時残留量 (^{14}C デスメディファムを経口投与した泌乳牛)

最初の投与から の時間 (時間)	mg/kg	
	血液	血漿
0.5	0.0149	0.0198
1	0.0327	0.0393
2	0.0313	0.039
3	0.0325	0.0447
4	0.033	0.0426
6	0.0366	0.045
8	0.0408	0.0464
12	0.0312	0.039
24	0.0188	0.0193
48	0.0203	0.0247
72	0.0211	0.025
94	0.0257	0.0306

2. 各試料中の代謝物分布

乳汁中の代謝物

乳汁の放射能の93.4% (0.1702ppm) が溶媒で抽出され、代謝物 EHPC (B) が75.1% TRR (0.136ppm)、3-アセトアミドフェノール (F) が1.3% (0.0024ppm) 認められた。

腎臓における代謝物

腎臓における残留量は 0.3069mg/kg であった。このうち 94.36% (0.2892ppm) が溶媒で抽出された。代謝物として EHPC (B) が76.73% (0.2355ppm) 認められ、3-アセトアミドフェノール (F) が 9.14% (0.0280ppm) 認められた。そのほかには極性物質あるいは沈殿が少量存在した。未抽出残渣は 5.64% であった。

肝臓における代謝物

肝臓における残留量は 0.0402mg/kg であったが、このうち 62.26% (0.0250 ppm) が抽出された。代謝物として EHPC (B) が 13.58% (0.0054ppm)、3-アミノフェノール (D) が 12.00% (0.0048ppm) 認められた。

脂肪における代謝物

採取した大網脂肪及び腎脂肪における残留量は低く、それぞれ 0.014ppm 及び 0.024ppm であった。そのうち約 1/3 が実際の脂肪中に存在しており、残りの大部分は繊維性の結合組織中に存在していた。EHPC (B) が大網脂肪に 0.0013ppm、腎脂肪に 0.0044ppm、デスメディファム (A) が大網脂肪に、0.0016ppm、腎脂肪に 0.0004ppm、痕跡量の 3-アセトアミドフェノール (F) が大網脂肪中に、痕跡量の 3-アミノフェノール (D) が腎脂肪中に存在した。また、デスメディファムより極性の低い代謝物が両脂肪中に少量存在した。

尿中の代謝物

採取した尿を加水分解後、C₁₈ カラムで精製した後 HPLC 分析したところ、EHPC (B) が 84.5%、3-アセトアミドフェノール (F) が 10.1%認められた。

胆汁中の代謝物

採取した胆汁を Helix pomatia 液を用いて加水分解後、TLC 分析を行ったが、大部分は極性領域であった。少量の EHPC (B)、3-アミノフェノール (D)、3-アセトアミドフェノール (F) が認められた。

2. 家畜における代謝

(4)産卵鶏における吸収、分布、排泄及び代謝(AP 標識)

(資料番号： 家畜 4)

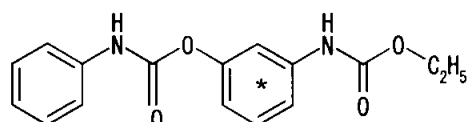
試験機関：

報告書作成年：1991年 [GLP 対応]

供試標識化合物

化学名： エチル=3-フェニルカルバモイルオキシカルバニラート

化学構造：



* : ^{14}C 標識部位

比放射能： 85.9 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$

放射化学的純度： >98 %

【方法】

1. 動物

6羽の産卵鶏(Ross Hisex Brown種、約30週齢)を37日間馴化後、実験に供した。

2. 投与

非標識デスメディファムで希釈した ^{14}C 標識デスメディファムをゼラチンカプセルに秤量し、設定用量 1.5mg/鶏/日 (餌中濃度換算 10ppm、1日 150g 摂餌量設定) で、10日間連続(一日1回)に強制経口投与した。

3. 試料採取

投与後鶏は個別の代謝ケージへ戻した。排泄物及び卵は毎日採取した。卵は卵白と卵黄に分画し、排泄物の採取時にケージを洗浄し、洗浄液を採取した。最終投与の約20時間後鶏を屠殺した。皮膚、骨格筋、肝臓、皮下脂肪及び未産卵の卵を採取した。

4. 試料調製及び分析

放射量の測定

排泄物及び肝臓は均質化し、可溶化してシンチレーション液を加え、LSCで測定した。皮膚、筋肉、脂肪は均質化し、可溶化してLSC測定した。卵黄、卵白及び未産卵の卵は可溶化してLSC測定した。

残留物の測定

排泄物：均質化した排泄物を凍結乾燥し、メタノールを用いてソックスレー抽出した。抽出物はTLCまたは酵素（*Helix pomatia*）液で処理しHPLC分析した。

卵黄：10日目の卵黄を凍結乾燥し、ヘキサン及びメタノールでソックスレー抽出した。ヘキサン抽出液はアセトニトリルと分配し、アセトニトリル抽出液及びメタノール抽出液をTLC分析した。

肝臓：肝臓は均質化して凍結乾燥した後、次の方法により分析した。a) コラゲナーゼ、サブチリシンを用いて順次分解した。分解上澄をC18カラムで精製し、TLC分析した。酵素分解の残渣はメタノールでソックスレー抽出した。b) メタノールでソックスレー抽出し、ヘキサンで洗浄後、酢酸緩衝液中で酵素（*Helix pomatia*）液で分解し、C18カラムで精製後にTLC分析した。ソックスレー抽出残渣はコラゲナーゼで分解し、C18カラムで精製し、TLC分析した。

【結果】

1. 排泄物、組織及び卵における残留量

排泄物中への放射能の回収量を表1に示した。投与された放射能は投与後24時間以内に大部分（1日あたり投与量の85-97%）が排泄された。

表 1 排泄物中の放射能量 (投与放射能に対する%)

排泄物 (投与放射能に対する%)	
1 日目	85.308
2 日目	94.648
3 日目	89.115
4 日目	87.244
5 日目	87.901
6 日目	91.563
7 日目	91.97
8 日目	90.249
9 日目	93.165
10 日目	96.675

最終投与 20 時間後における可食組織の残留量を表 2 に示した。組織中で残留量が最も多かったのは肝臓であったが、それでも 0.0099ppm であった。

表 2 組織及び未産卵の卵における放射能残留量

	ppm
肝臓	0.0099
胸筋	BLQ
皮下脂肪	<0.0083
皮膚	BLQ
未産卵の卵	0.053
大腿筋	BLQ

BLQ= 定量限界未満

表 3 に卵黄及び卵白における残留量を示した。卵においては大部分が卵黄へ残留していた。卵黄への残留は最初の 7 日間は増加し、その後一定量 (0.05~0.06ppm) となった。卵白の残留量は 0.005~0.009ppm であった。未産卵の卵の残留量は 0.05ppm であった (表 2)。

表 3 卵黄及び卵白における残留量

	卵黄	卵白
	ppm	
1 日目	BLQ	0.007
2 日目	0.011	0.008
3 日目	0.022	0.009
4 日目	0.024	0.005
5 日目	0.036	0.008
6 日目	0.043	0.007
7 日目	0.052	0.006
8 日目	0.055	0.006
9 日目	0.057	0.008
10 日目	0.046	0.006

BLQ=定量限界未満

2. 代謝物

排泄物中の主要代謝物は EHPC (B) で最大 34%TRR、3-アセトアミドフェノール (F) が 7.3%、デスメディファム (A) が 4.8%、その他に未同定代謝物 2 種がそれぞれ 20.1%、6.7%認められた (表 4)。

表 4 排泄物のメタノール抽出後酵素分解液の HPLC 分析結果

	抽出%	抽出画分中の%				
		3-アセト アミドフ ェノール	EHPC	デスメデ ィファム	未同定 1	未同定 2
1 日目	64.3	9.1 (5.8)	47.6 (30.6)	4.9 (3.2)	28.1 (18.1)	10.4 (6.7)
10 日目	71.9	10.1 (7.3)	47.3 (34.0)	6.7 (4.8)	27.9 (20.1)	8.1 (5.8)

卵黄中の代謝物は3-アミノフェノール (D) (47.5%TRR)、EHPC (B) (26.5%)が主要であり、その他に3-アセトアミドフェノール (F)、デスメディファム (A)、未同定代謝物が認められた (表5)。

表5 卵黄における代謝物分布

抽出法	抽出%	TLC 溶媒系	抽出物中の%					
			極性物質	3APP (F)	3AP (D)	EHPC (B)	デスメディファム (A)	未同定
ヘキサン/アセトニトリル	5.6	1	23.6 (1.3)	-	-	58.5 (3.3)	18.0 (1.0)	
		2	27.0 (1.5)	3.1 (0.2)	-	51.1 (2.9)	18.8 (1.0)	
		3	19.9 (1.1)	-	-	58.5 (3.3)	-	21.7 (1.2)
		4	20.6 (1.2)	2.7 (0.2)		59.1 (3.3)	17.5 (1.0)	
メタノール	71.7	1	16.8 (12.0)	-	54.4 (39.0)	27.3 (19.5)	1.6 (1.1)	
		4	1.4 (1.0)	-	66.2 (47.5)	32.4 (23.2)	-	

デスメディファムの産卵鶏における代謝は、ラットの代謝と類似していた。残留量は全ての可食組織で低かった。卵黄中の残留量は約 0.05ppm であった。

3. 土壌残留性試験

(1) 分析法の原理及び概要

土壌試料をメタノールで振とう抽出後、メタノールを留去してNaCl溶液及びメタノールに溶解する。これにn-ヘキサンを加えて振とうし、分離したn-ヘキサン相を捨てる。次いで、ジクロロメタンを加えて振とう抽出後、ジクロロメタン相を採取して脱水する。展開溶媒 n-ヘキサン：エーテル混液(7：3, v/v)を用いてシリカカラムクロマトグラフィーを行う。集めた溶出液を留去した後、定容し、高速液体クロマトグラフでデスメディファム(DMP)及び分解生成物であるエチル N-(3-ヒドロキシフェニル)カルバマート(EHPC)を定量する。

なお、DMP 及び EHPC の検出限界は、両者とも 0.002ppm であり、添加濃度 0.12ppm の場合の回収率は圃場・容器内ともに同じ値が得られ、DMP では 78% (北見農試) 及び 85% (中央農試)、EHPC では 81% (北見農試) 及び 86% (中央農試) であった。

(2) 残留分析結果

a) 圃場試験(畑地状態)

分析実施機関：

試料	使用濃度 または量	使用回数	経過 日数	分析値 (ppm)					
				デスメディファム			EHPC		
				実測値	平均	実測値*	平均		
道立北見 農試 (火山灰 壤土)	3%乳剤 400ml/ 60l/10a	0	-	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.004	< 0.004
		2	0	0.136	0.130	0.133	< 0.004	< 0.004	< 0.004
		2	7	0.100	0.083	0.092	0.017	0.013	0.015
		2	14	0.078	0.074	0.076	0.017	0.015	0.016
		2	28	0.073	0.071	0.072	0.015	0.015	0.015
		2	42	0.073	0.068	0.071	0.007	0.005	0.006
平成 元年度	2	63	0.053	0.046	0.050	0.005	0.005	0.005	
道立中央 農試 (沖積 埴壤土)	3%乳剤 400ml/ 60l/10a	0	-	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.004	< 0.004
		2	0	0.133	0.126	0.130	0.008	0.008	0.008
		2	7	0.135	0.122	0.128	0.015	0.013	0.014
		2	14	0.101	0.088	0.094	0.013	0.012	0.012
		2	28	0.092	0.078	0.085	0.010	0.010	0.010
		2	42	0.053	0.046	0.050	0.008	0.007	0.008
平成 元年度	2	62	0.040	0.038	0.039	0.007	0.007	0.007	

*

b) 容器内試験(畑地状態)

分析実施機関：

試料	使用濃度 または量	使用回数	経過 日数	分析値 (ppm)						
				デスメディファム			EHPC*			
				実測値	平均	実測値	平均	実測値	平均	
道立北見 農試 (火山灰 壌土)	0.01%粉 剤	0	-	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
		1	0	0.109	0.102	0.106	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
		1	7	0.073	0.070	0.072	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
		1	14	0.073	0.071	0.072	0.005	0.005	0.005	
	60mg/50g (乾土)	1	28	0.072	0.071	0.072	0.007	0.007	0.007	
		1	42	0.053	0.048	0.050	0.005	0.005	0.005	
		1	63	0.049	0.046	0.048	0.005	0.005	0.005	
		1	91	0.035	0.035	0.035	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
		平成	1	133	0.022	0.020	0.021	< 0.004	< 0.004	< 0.004
		元年度	1	189	0.016	0.013	0.014	< 0.004	< 0.004	< 0.004
道立中央 農試 (沖積 埴壌土)	0.01%粉 剤	0	-	< 0.002	< 0.002	< 0.002	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
		1	0	0.114	0.105	0.110	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
		1	7	0.077	0.074	0.076	< 0.004	0.005	0.004	
		1	14	0.063	0.063	0.063	< 0.004	< 0.004	< 0.004	
	60mg/50g (乾土)	1	28	0.049	0.043	0.046	0.007	0.007	0.007	
		1	42	0.029	0.025	0.027	0.005	0.005	0.005	
		平成	1	63	0.020	0.019	0.020	< 0.004	< 0.004	< 0.004
		元年度	1	91	0.015	0.012	0.014	< 0.004	< 0.004	< 0.004

以上の結果から、半減期を推定すると次表の通りであった。

条件	実施場所	分析対象物質	推定半減期
圃場 畑地 状態	道立北見農試土壌 (火山灰壌土)	デスメディファム (DMP)	約 46日
		DMP+EHPC含量	約 50日
	道立中央農試土壌 (沖積埴壌土)	デスメディファム (DMP)	約 35日
		DMP+EHPC含量	約 36日
容器内 畑地 状態	道立北見農試土壌 (火山灰壌土)	デスメディファム (DMP)	約 39日
		DMP+EHPC含量	約 63日
	道立中央農試土壌 (沖積埴壌土)	デスメディファム (DMP)	約 20日
		DMP+EHPC含量	約 24日

4. 後作物残留性試験

提出除外 (土壌残留試験における半減期が 100 日未満であるため)

VI. 有用動植物等に及ぼす影響

1. 水産動植物に対する影響

番号	試験の種類・ 被験物質	供試 生物	1群当り の 供試数	試験 方法	試験 水温 (°C)	LC ₅₀ 値又は EC ₅₀ 値 (mg/L)				試験機関 (報告年)	備考 ・ 頁
						24h	48h	72h	96h		
1 GLP	魚類急性毒 性試験 原体(98.2%)	コイ	10	半止 水式	21.7 - 22.1	5.38*	5.38*	5.38*	5.38*	(2004)	51
2 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻 害試験 原体(96.8%)	オオミジンコ	20	流水 式	20.3 - 20.9	0.57* [0.55]	0.35* [0.34]	-	-	(1996)	52
3 GLP	藻類生長阻 害試験 原 体 (96.8%)	緑藻 (<i>Selenastrum capricornutum</i>)	初期濃 度 10 ⁶ cells /mL	振 と う 培 養 法	23.5 - 23.8	ErC ₅₀ (0-72hr) : 0.0548* NOECr (0-72hr) : <0.011*				(1993)	53
4	魚類急性毒 性試験、 3.0%乳剤	コイ	10	止水 式	25	5.45	5.45	5.45	5.45	(1990)	54
5 GLP	ミジンコ類 急性遊泳阻 害試験、 3.0%乳剤	オオミジン コ	20	止水 式	20.5 - 20.7	62	11	-	-	(2004)	55
6 GLP	藻類生長阻 害試験、 3.0%乳剤	緑藻 (<i>Pseud- kirchneriella subcapitata</i>)	初期濃 度 10 ⁶ cells /mL	振 と う 培 養 法	23.0 - 23.2	ErC ₅₀ (24-72hr) : 15 NOECr (24-72hr) : 6.7 EbC ₅₀ (0-72hr) : 2.2 NOECb (0-72hr) : 0.2				(2004)	56

* 実測濃度に基づく値

[]:有効成分換算値

*Selenastrum capricornutum*の学名は現在 *Pseudokirchneriella subcapitata*

製剤 ; ベタブロード乳剤

農薬の種類 : デスメディファム・フェンメディファム乳剤(デスメディファム3.0%・フェンメディファム13.0%)

水産動植物への影響に関する試験

1) 魚類急性毒性試験

(資料 No. 水産-1)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：2004年

被験物質：デスメディファム原体（純度 98.2%）

供試生物：コイ（学名 *Cyprinus carpio*）

1群各 10 匹、全長 4.5 ± 0.36 cm、体重 1.2 ± 0.26 g（平均±標準偏差）

方法：予備試験の結果から、本試験の設定濃度は 0.625、1.25、2.50、5.00 および 10.0 mg/L とした。試験には脱塩水に塩を加えて ISO に準拠したイオン濃度に調製した再構成水を試験水として使用した。試験液の調製はまず、所定量の検体をジメチルホルムアミドに溶解して各濃度の調製用原液を調製した。所定量の原液を試験水槽に入れた試験水 40L に入れて攪拌し、各試験濃度に調製した。対照は試験水のみとし、溶媒のみを加えた溶媒対照も設けた。調製用原液および試験液の調製を毎日行い、試験液を毎日交換した。試験開始時に各水槽に無作為に 10 匹の試験魚を入れて 16 時間点灯/8 時間消灯の明暗周期、水温 21~23℃の条件で 96 時間暴露した。暴露開始 4 時間後、その後は毎日 1 回、死亡および毒性徴候を観察した。試験液の溶存酸素濃度、水温および pH を毎日測定した。試験開始時および毎日の試験液交換の前後に試験液中の検体濃度を分析した。

試験水温：21.7~22.1℃

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.625, 1.25, 2.50, 5.00, 10.0	
	平均実測濃度	0.249, 0.629, 1.43, 2.85, 11.9	
LC ₅₀ (mg/L) ¹⁾ [95%信頼限界]	24h	5.38 [3.95~7.33]	
	48h	5.38 [3.95~7.33]	
	72h	5.38 [3.95~7.33]	
	96h	5.38 [3.95~7.33]	
NOEC (mg/L) ¹⁾	0.629		

¹⁾：実測濃度に基づく値

暴露開始後 4 時間より実測濃度 1.43mg/L 以上の濃度区で不活発あるいは活動性が異常に低い状態が認められた。実測濃度 2.85mg/L 以下の濃度区で死亡は認めなかったが、11.9mg/L 区では暴露 4 時間後に 10 例全例が死亡した。

試験期間を通じて溶存酸素濃度は飽和度の 98~102%、pH は 7.2~7.3 であった。

試験液中の分析濃度は設定値に対し調製直後で 67~121%、毎日の更新前で 11~20% であった。

水産動植物への影響に関する試験

2) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No. 水産-2)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：1996年

被験物質：デスメディファム原体（純度 96.8%）

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*) 1 群各 20 頭（生後 24 時間以内の個体）

方法：予備試験の結果から、本試験の設定濃度は 0.41、0.69、1.2、1.9 および 3.2mg/L とし流水式で暴露した。試験には脱イオン井水から硬質合成淡水を調製し、試験水として使用した。試験液の調製はまず、所定量の検体にアセトンを加えて原液調製し、シリンジポンプで希釈装置の混合槽内の試験水に注入・攪拌し、比例希釈装置を経由して試験チャンバーに送った。対照は試験水のみとし、溶媒のみを加えた溶媒対照も設けた。試験チャンバーは各濃度区で 2 反復とし、反復あたり 10 頭のミジンコを配分した。16 時間点灯/8 時間消灯の明暗周期、水温 20±1℃の条件で 48 時間暴露した。暴露後 3、6、24 および 48 時間後に遊泳阻害および行動への影響を観察した。試験液の温度、溶存酸素濃度、pH および伝導度を 0、24 および 48 時間に測定した。試験開始時および 48 時間後に試験液中のデスメディファム及び代謝物 EHPC 濃度を分析した。

試験水温： 20.3～20.9℃

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.41, 0.69, 1.2, 1.9, 3.2	
	平均実測濃度 ¹⁾	0.13, 0.32, 0.57, 0.94, 1.6	
EC ₅₀ (mg/L) [95%信頼限界]	24h	-	
	48h	0.78 [0.67～0.91]	
	24h	0.57 [0.40～0.85] ¹⁾	
		0.55 [0.39～0.82] ²⁾	
48h	0.35 [0.27～0.42] ¹⁾		
	0.34 [0.26～0.41] ²⁾		
NOEC (mg/L)	0.41 (0.13 ¹⁾)		

¹⁾ 実測濃度 (デスメディファムの分析値) に基づく値 (申請者により算出)

²⁾ 有効成分(原体純度 96.8%)換算値

試験中 0.41 mg/L 区では、遊泳阻害や異常は認められなかった。48 時間後では 0.69 及び 1.2 mg/L 区でそれぞれ遊泳阻害が 50% および 80%、1.9 及び 3.2 mg/L 区では全てのミジンコが死亡した。

試験期間中の平均温度は 20.5℃、溶存酸素濃度飽和率は 99～101%、pH は 7.4～7.5 の範囲にあった。

試験液中の分析濃度は設定濃度に対し暴露開始時で 39～52%、暴露 48 時間後で 24～50%の範囲にあった。試験中、希釈装置の混合槽に沈殿が認められた。

水産動植物への影響に関する試験

3) 藻類生長阻害試験

(資料 No. 水産-3)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：1993年

被験物質：デスメディファム原体(純度 96.8%)

供試生物：緑藻類 (*Selenastrum capricornutum* : #1648)

初期生物量 1×10^4 細胞/mL

方法：予備試験の結果から、本試験の設定濃度は 0.065、0.108、0.18、0.3 および 0.5mg/L とした。培地には AAP 培地を使用した。試験液の調製はまず、所定量の検体をジメチルホルムアミド (DMF) に溶解して原液を調製し、これを培地でさらに希釈して調製用原液とした。所定量の調製用原液を培地で希釈し、各濃度の試験液を調製した。対照は培地のみとし、溶媒のみを加えた溶媒対照も設けた。予め培養した藻類を加えて初期生物量とした試験液 (100mL) を各濃度 3 連、対照は 6 連で止水条件下、連続照明、恒温条件で 96 時間振とう培養した。なお、各処理区について濃度分析および pH 測定用にさらに 4 反復を設けた。24 時間毎に顕微鏡下で細胞を観察して細胞密度を計数した。試験液の温度、溶存酸素および比導電率を試験開始時および試験終了時に、pH は毎日測定した。温度はデータ収集システムで連続的な測定も行った。試験開始時および試験中 24 時間毎に試験液中の検体濃度を分析した。

培養温度：23.5~23.8°C

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.065, 0.108, 0.18, 0.3, 0.5
	平均実測濃度 ¹⁾	0.011, 0.009, 0.028, 0.059, 0.121
ErC ₅₀ (mg/L) ²⁾ [95%信頼限界]		(0~72h) 0.0548 [0.0499~0.0608]
NOECr (mg/L) ²⁾		(0~72h) <0.011

¹⁾：申請者により算出

²⁾：実測濃度に基づく値 (申請者により算出)

試験液の比導電率は 80~100µmhos、溶存酸素は 6.8~8.1ppm、pH は 6.0~10.1 の範囲であった (いずれも暴露開始から 96 時間後までの測定値)。

試験液中の被験物質濃度は pH 上昇により分解し、24 および 48 時間後では検体のおよそ 87% および 90% が分解した。

水産動植物への影響に関する試験

4) 魚類急性毒性試験

(資料 No. 水産-4)

試験機関：

報告書作成年：1990年

被験物質：デスメディファム・フェンメディファム乳剤

(デスメディファム 3.0%、フェンメディファム 13.0%)

供試生物：コイ (学名 *Cyprinus carpio*)

1群各 10 匹、全長 4.9 ± 0.3 cm、体重 1.4 ± 0.4 g

方 法：飼育水 (井水) 10L に検体を加えて攪拌し、濃度 1、3 および 10.0 mg/L の各濃度の試験水を調製した。各濃度区の試験水に 10 匹のコイを入れ、96 時間止水条件で暴露した。なお、飼育水のみを対照区を設けた。暴露開始 3 時間後および 24 時間毎に観察し、死亡ならびに異常を記録した。

試験水温：25°C

結 果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	1, 3, 10	
LC ₅₀ (mg/L)	24h	5.45	
	48h	5.45	
	72h	5.45	
	96h	5.45	
NOEC (mg/L)	3		

10mg/L 区では暴露後 3 時間で 5 匹、24 時間後には全例が死亡した。3mg/L 以下の濃度区では死亡や異常は観察されなかった。

水産動植物への影響に関する試験

5) ミジンコ類急性遊泳阻害試験

(資料 No. 水産-5)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：2004年

被験物質：デスメディファム・フェンメディファム乳剤

(デスメディファム 3.0%、フェンメディファム 13.0%)

供試生物：オオミジンコ (*Daphnia magna*) 1群各 20頭 (生後 24 時間以内の個体)

方法：予備試験の結果から、本試験の設定濃度は 1、5、10、17、31、56 および 100mg/L とし、止水条件下で 48 時間暴露した。試験には人工調製水 M4 を希釈水として使用した。試験液の調製はまず、所定量の検体を秤量し、希釈水で溶解して原液を調製した。その後原液を所定量分取して希釈水を加えて各濃度の試験水を調製した。各濃度の試験水 100ml ずつを 2 つの容器に入れ、1 容器あたり 10 頭のミジンコを投入した。なお、希釈水のみを対照区も同様に設けた。16 時間点灯/8 時間消灯の明暗周期、水温 $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ の条件で 48 時間暴露した。暴露後 1、3、6、24 および 48 時間後に遊泳阻害数を記録するとともに観察された毒性徴候あるいは異常を記録した。試験水の温度、pH および溶存酸素濃度を暴露開始時および 48 時間後に測定した。

試験水温：20.5~20.7°C

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	1, 5, 10, 17, 31, 56, 100	
EC50 (mg/L) [95%信頼限界]	24h	62 [47~91]	
	48h	11 [8.3~14]	
NOEC (mg/L)	1		

5 mg/L 区で暴露 48 時間後に 5%の遊泳阻害率を示した。10、17 及び 31 mg/L 区では暴露 24 時間後に 5%、48 時間後に 10 mg/L 区では 40%、17 及び 31 mg/L 区では 95%の遊泳阻害率を示した。56 mg/L 区では、暴露 24 時間後に 20%、暴露 48 時間後に 85%の遊泳阻害率を示した。また、100 mg/L 区では暴露 1 時間後に 85%、暴露 3 時間以降は 100%の遊泳阻害率を示した。

その他の症状として 5 mg/L 以上の濃度区で活動性低下が認められた。

試験期間中の試験水の水温は 20.5~20.7°C、pH は 7.9~8.0、溶存酸素濃度は 6.8~7.0mg/L であった。

いずれの濃度区においても試験水の懸濁や被験物質の沈殿等は観察されなかった。

水産動植物への影響に関する試験

6) 藻類生長阻害試験

(資料 No. 水産-6)

試験機関：

[GLP]

報告書作成年：2004 年

被験物質：デスメディファム・フェンメディファム乳剤

(デスメディファム 3.0%、フェンメディファム 13.0%)

供試生物：緑藻類 (*Pseudokirchneriella subcapitata*) ATCC22662 株

初期生物量 1×10^4 細胞/mL

方法：予備試験の結果から、本試験の設定濃度は 0.2、0.7、2.2、6.7、20 および 60mg/L とした。培地には OECD 培地を使用した。試験液の調製はまず、所定量の検体を培地に溶解して原液 I を調製し、これを培地でさらに希釈して原液 II とした。原液 I または II を所定量分取して培地を加えて各濃度の試験培地を調製した。藻類を加えた培地のみの対照も設けた。予め培養した藻類を加えて初期生物量とした試験培地 (100mL) を各暴露区 3 連で止水条件下、連続照明、温度 $23 \pm 2^\circ\text{C}$ で 72 時間振とう培養した。暴露 24、48 および 72 時間後に各試験培地より培地を少量採取し、細胞自動計測器で細胞数を計測した。暴露終了時には各濃度区の 3 連のうちの一つについて細胞の形態異常および凝集の有無を顕微鏡下で観察した。暴露開始時および暴露終了時に、各濃度区の pH を測定した。暴露中は培養装置内に設置した培地の水温ならびに照度を 24 時間毎に測定した。

培養温度：23.0~23.2°C

結果：

試験濃度 (mg/L)	設定濃度	0.2, 0.7, 2.2, 6.7, 20, 60
EC ₅₀ (mg/L)		ErC ₅₀ (24~72h) 15 [13~16]
[95%信頼限界]		EbC ₅₀ (0~72h) 2.2 [1.9~2.5]
NOEC (mg/L)		NOECr (24~72h) 6.7
		NOECb (0~72h) 0.2

暴露期間中の培養装置内の水温は 23.0 - 23.2°C、照度は 4240 - 4690 Lux であり、どちらも試験条件の範囲内であった。試験培地の pH は暴露開始時で 8.0~8.2、終了時で 8.4~8.7 であった。

2. 水産動植物以外の有用生物に対する影響

2-1 蚕

提出省略（理由：本剤の適用は北海道のみであるが、北海道では養蚕がおこなわれていないため）

2-2 ミツバチ

(1) ミツバチに対する急性経口及び局所経口及び局所処理による毒性試験

（試験機関： 、1990年）

試験方法：各群 50 匹のミツバチに、被験物質を 1 匹当たり 50、5、0.5、0.05 μg の 4 濃度で経口及び局所処理した。

結果：試験したいずれの用量においても、経口及び局所処理後に死亡例は認められず、従って LD_{50} 値は求められなかった。（経口及び接触 LD_{50} ： >50 ($\mu\text{g}/\text{bee}$)) デスメディファムのミツバチに対する毒性は非常に低いことが確認された。

2-3 天敵

試験の種類・ 被験物質	供試生物	1 群 当りの 供試数	投与 方法	投与量	LD50 又は LC50 及び 無影響量	観察された 影響等	試験機関 (報告年)
天敵昆虫等 影響試験 (テ`スチ`イ77ム原 体、純度 98.2%)	クモンクサカゲ ロウ幼虫 (<i>Chrysopa formosa</i>)	20	浸漬	0, 240 (mg/L)	—	被験物質処理群 の 14 日間累積死 亡個体数は 1 例 のみであった。 生存個体に異常 は認められず、 蛹化への影響も 認められなかつ た。	(2004 年)
天敵昆虫等 影響試験 (テ`スチ`イ77ム原 体、純度 98.2%)	ナナホシテント ウ幼虫 (<i>Coccinella septempunctata bruckii</i>)	20	浸漬	0, 240 (mg/L)	無影響量： ≥240 (mg/L)	死亡例は観察さ れず、生存個体 に異常は認めら れなかった。ま た、蛹化への影 響も認められな かった。	(2004 年)
天敵昆虫等 影響試験 (テ`スチ`イ77ム原 体、純度 98.2%)	ハリゲコモリグ モ (<i>Pardosa laura</i>)	20	浸漬	0, 240 (mg/L)	無影響量： ≥240 (mg/L)	死亡例は観察さ れず、生存個体 に異常は認めら 無かった。また、 捕食への影響も 認められなかつ た。	(2004 年)

2-4 鳥類

番号	試験の種類・被験物質	供試生物	1群当たりの供試数	投与方法	投与量	LD ₅₀ 又はED ₅₀ 値及び無影響量	観察された影響等	試験機関(報告年)
1 GLP	急性経口毒性試験 原体(98.3%)	コリンウズラ	雌雄各5羽	強制経口投与	0, 500, 1000, 2000 mg/kg	LD ₅₀ : > 2000mg/kg NOEL 求められず。	なし	(1990)
2 GLP	8日間混餌投与毒性試験 原体(98.2%)	コリンウズラ	10羽	混餌投与	0, 312, 625, 1250, 2500, 5000 ppm	LD ₅₀ : > 5000ppm NOEL 求められず。	なし	(1982)
3 GLP	8日間混餌投与毒性試験 原体(98.2%)	マガモ	10羽	混餌投与	0, 5000ppm	LD ₅₀ : > 5000ppm NOEL 求められず。	なし	(1982)

(1) コリンウズラにおける急性経口毒性試験

(試験機関: 1990年)

試験動物: コリンウズラ、16週齢以上、1群5羽

試験方法: デスメディファム原体を1%メチルセルロース溶液に懸濁した後、投与量を0、500、1000及び2000mg/kgとし、単回強制経口投与した。投与終了後14日間一般状態及び死亡の有無を毎日観察し、体重を投与開始時及び終了時に測定、また摂餌量を測定した。試験終了時、対照群及び最高用量群の全例を剖検し肉眼的病理検査を行った。

試験結果: 全群とも死亡はなかった。また、いずれの動物にも中毒症状はみられず、肉眼的病理検査でも異常はなかった。体重増加は全投与群とも、対照群とほぼ同様であった。

(2) コリンウズラにおける8日間混餌投与試験

(試験機関: 1982年)

試験動物: コリンウズラ、14日齢、1群10羽

試験方法: デスメディファム原体をアセトンに溶解した後、飼料と混和し、投与濃度を0、312、625、1250、2500及び5000ppmとし、5日間連続混餌投与した。混餌終了後3日間未処理飼料を与え、回復状況を調べた。一般状態及び死亡の有無を毎日観察し、体重を投与開始時及び終了時に測定、また摂餌量を測定した。投与終了時、各群4羽を選抜し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：全群とも死亡はなかった。また、いずれの動物にも中毒症状はみられず、肉眼的病理検査でも異常はなかった。体重増加は全投与群とも、対照群とほぼ同様であった。

摂餌量は次表の通りであった。

投与群 (ppm)	摂餌量(g/羽/日)	
	0～5日	5～8日
0	5.2	6.5
312	4.9	6.0
625	4.6	6.1
1250	4.8	6.3
2500	4.7	7.0
5000	3.6	6.5

混餌投与期間0～5日における投与群の摂餌量は、対照群に比べやや低い傾向がみられ、5000ppm群が特に顕著であった。しかし、5～8日においては、ほぼ同様であった。

以上の結果から、本剤における混餌投与によるウズラのLC₅₀値は、5000ppm以上と判断された。

(3) マガモにおける8日間混餌投与試験（試験期間： 、1982年）

試験動物：マガモ、16日齢、1群10羽

試験方法：デスメディファム原体をアセトンに溶解した後、飼料と混和し、投与濃度を0及び5000ppmとし、5日間連続混餌投与した。混餌終了後3日間未処理飼料を与え、回復状況を調べた。一般状態及び死亡の有無を毎日観察し、体重を投与開始時及び終了時に測定、また摂餌量を測定した。投与終了時、各群4羽を選抜し、肉眼的病理検査を行った。

試験結果：全群ともに死亡は認められなかった。また、いずれの動物にも中毒症状はみられなかったが、5000ppm群の全動物において、肝葉周辺部散在性変色（薄茶色）がみられた。体重及び摂餌量は対照群とほぼ同様であった。

以上の結果から、混餌投与によるマガモのLC₅₀値は、5000ppm以上と判断された。

3. その他

ミミズに及ぼす影響試験（試験機関： 、1986年）

試験方法：調製した人工土壌に約44%の土壌水分を加え、これにデスメディファムを最終濃度0、62.5、125、250、500及び1000 ppmとなるように添加し、十分攪拌した。

ミミズ各40匹（10匹4反復）を上記濃度の土壌に入れ、14日間飼育した。処理後 7及び14日における死亡数を調べた。

試験結果：結果を次表に示す。

経過 日数	処理濃度 (ppm)	死 亡 数					
		0	62.5	125	250	500	1000
7		0/40	1/40	0/40	2/40	24/40	37/40
14		0/40	2/40	0/40	2/40	27/40	37/40

(反復：n = 4)

デスメディファムのミミズに対する LC_{50} 値は、本試験では 466.52ppm (95%信頼限界：396.53~548.85ppm)と計算された。従って、通常の圃場条件での使用量では、土壌中のミミズの生育密度に影響を及ぼすことはないと考えられる。

VII. 使用時安全上の注意、解毒法等

1. 使用時安全上の注意事項

- (1) 本剤は眼に対して刺激性があるので、眼に入らないよう注意すること。
眼に入った場合には直ちに水洗し、眼科医の手当を受けること。
- (2) 本剤は皮膚に対して刺激性があるので、皮膚に付着しないよう注意すること。
付着した場合には直ちに石けんでよく洗い落とすこと。
- (3) 散布の際は保護眼鏡、農薬用マスク、手袋、長ズボン・長袖の作業衣などを着用すること。作業後は直ちに手足、顔などを石けんでよく洗い、洗顔・うがいをするとともに衣服を交換すること。
- (4) 作業時に着用していた衣服等は、他のものとは分けて洗濯すること。
- (5) かぶれやすい体質の人は取扱いに十分注意すること。

2. 解毒法及び治療法

本剤を燕下した場合は、水で口を洗い患者を安静にさせ、直ちに医師の手当を受けること。嘔吐させないこと。

本剤を吸入した場合は、新鮮な空気のある場所に移し、なお症状が残るような場合には医師の手当を受けること。

解毒剤は特になし。

3. 製造時、使用時等における事故例

特になし。

VIII 毒性

1. 原体を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁		
<u>1</u> GLP	急性毒性 22日間観察	ラット	♂5 ♀5	経口	♂♀ : 5000	♂♀ : >5000	(1984年)	毒-6		
2 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経口	♂♀ : 2000	♂♀ : >2000	(1991年)	毒-7		
<u>3</u> GLP	急性毒性 14日間観察	マウス	♂5 ♀5	経口	♂♀ : 3500	♂♀ : >3500	(1990年)	毒-8		
<u>4</u> GLP	急性毒性 15日間観察	ウサギ	♂3 ♀3	経皮	♂♀ : 4000	♂♀ : >4000	(1984年)	毒-9		
5 GLP	急性毒性 15日間観察	ラット	♂5 ♀5	経皮	♂♀ : 2000	♂♀ : >2000	(1991年)	毒-10		
<u>6</u> GLP	急性毒性 14日間観察	ラット	♂5 ♀5	吸入	♂♀ : 5.69、7.37mg/L	♂♀ : > 7.37mg/L	(1990年)	毒-11		
7 GLP	皮膚刺激性 72時間観察	ウサギ	♂3	塗布	0.5g一回 (4時間)	刺激性なし	(1991年)	毒-13		
8 GLP	眼刺激性 72時間観察	ウサギ	♂3	結膜囊	0.1g一回 (洗眼せず)	刺激性なし	(1990年)	毒-14		
9 GLP	皮膚感作性 約25日間観察 (Maximization法)	モルモット	処理群: ♂10、♀10 対照群: ♂5、♀5	感作: 皮内0.5%, 貼布25%溶液 惹起: 貼布25%溶液		弱い感作性	(1987年)	毒-15		
<u>10</u> GLP	皮膚感作性 約5週間観察 (maximization法)	モルモット	処理群: ♂10、♀10 対照群: ♂5、♀5	感作: 皮内0.5%, 貼布25%溶液 惹起: 貼布25%溶液		感作性なし	(1988年)	毒-18		
11 GLP	皮膚感作性 約5週間観察 (maximization法)	モルモット	処理群: ♀20 対照群: ♀10	感作:皮内1%, 貼布25%溶液 惹起: 貼布25%溶液		感作性なし	(1991年)	毒-21		
12 除外	急性神経毒性	本剤の急性毒性試験等の結果から、急性神経毒性を有するおそれがないと考えられることから提出除外。						毒-23		
13 除外	急性遅発性神経毒性	本剤の急性毒性試験等の結果から、遅発性神経毒性を有するおそれがないと考えられること、及び遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等から見て、遅発性神経毒性を有するおそれがないと考えられることから提出除外。						毒-25		
<u>14</u> GLP	亜急性毒性 (13週間) 4週間回復	ラット	♂ 25 ♀ 25	混餌	ppm	♂	♀	60ppm ♂5.2 ♀5.6	(1985年)	毒-26
					0	0	0			
					6	0.5	0.5			
					30	2.6	2.7			
					60	5.2	5.6			
				300	26	27				

下線を付した試験成績は平成11年食品衛生調査会で評価済みである。

資料 No.	試験の種類 ・期 間	供試 生物	1群当り 供試数	投与 方法	投 与 量 (mg/kg)			LD50 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試 験 機 関 (報告年)	記載 頁
					ppm	♂	♀			
15 GLP	亜急性毒性 (13週間)	ラット	♂ 10 ♀ 10	混餌	ppm	♂	♀	♂160ppm (10.6) ♀160ppm (12.3)	(1987年)	毒-32
					0	0	0			
					160	10.6	12.3			
					800	54	60			
					ppm	♂	♀	♂♀>150ppm ♂ 4.97 ♀ 5.50	(1986年)	毒-39
					0	0	0			
					1	0.035	0.035			
					5	0.17	0.19			
					ppm	♂	♀	♂500ppm 18.6 ♀100ppm 4.22	(1991年)	毒-44
					0	0	0			
					100	3.73	4.22			
					500	18.6	21.0			
					ppm	♂	♀	♂500ppm 18.6 ♀100ppm 4.22	(1991年)	毒-44
					0	0	0			
					100	3.73	4.22			
					500	18.6	21.0			
18 除外	21日間 反復経皮毒性	本剤の急性経皮毒性試験の結果から、強い経皮毒性等を有するおそれがないと考えられることから提出除外。							毒-49	
19 除外	90日間 反復吸入毒性	本剤の急性吸入毒性試験の結果から、強い吸入毒性等を有するおそれがないと考えられることから提出除外。							毒-50	
20 除外	反復経口 神経毒性	本剤の90日間反復経口投与毒性試験等の結果から、神経毒性を有するおそれがないと考えられることから提出除外。							毒-51	
21 除外	28日間反復遅 発神経毒性	本剤の急性遅発性神経毒性試験成績を提出する必要がないと考えられることから提出除外。							毒-53	
22 GLP	慢性・発がん性 24ヶ月あるい は12ヶ月間 投与	ラット	発がん群 ♂♀50 慢性群 ♂♀20	混餌	ppm	♂	♀	60ppm ♂3.2 ♀3.9 発がん性なし	(1986年)	毒-54
					0	0	0			
					60	3.2	3.9			
					300	15.7	19.8			
23 GLP	慢性 52週間投与	ラット	♂♀20	混餌	ppm	♂	♀	♂100ppm (6.5) ♀100ppm (7.9)	(1991年)	毒-72
					0	0	0			
					100	6.5	7.9			
					400	25.2	31.7			
24 GLP	発がん性 24ヶ月投与	ラット	♂♀50	混餌	ppm	♂	♀	♂100ppm (5.4) ♀100ppm (6.8) 発がん性なし	(1991年)	毒-80
					0	0	0			
					100	5.4	6.8			
					400	21.6	28.4			
25 GLP	慢性毒性 52週間投与	イヌ	♂ 6 ♀ 6	混餌	ppm	♂	♀	300ppm ♂9.7 ♀10.4	(1985年)	毒-95
					0	0	0			
					300	9.7	10.4			
					1500	52.5	57.4			
					7500/5000	167.7	200.7			

下線を付した試験成績は平成11年食品衛生調査会で評価済みである。

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

資料 No.	試験の種類 ・期 間	供試 生物	1 群当 り 供試数	投与 方法	投 与 量 (mg/kg)			LD50 値又は 無毒性量 (mg/kg)	試 験 機 関 (報告年)	記載 頁
					ppm	♂	♀			
<u>26</u> GLP	発がん性 24ヶ月投与	マウス	♂♀60	混餌	ppm	♂	♀	150ppm ♂21.7 ♀30.8 発がん性なし	(1986年) T55	毒-106
					0	0	0			
					30	4.2	5.8			
					150	21.7	30.8			
27 GLP	発がん性 80週間投与	マウス	♂♀50	混餌	ppm	♂	♀	♂<400ppm <60.8 ♀400ppm 71.9 発がん性なし	(1994)	毒-123
					0	0	0			
					400	60.8	71.9			
					1000	152.8	178.4			
<u>28</u> GLP	繁殖試験 (2世代)	ラット	♂30 ♀30	混餌	ppm P	♂	♀	親動物、児動物と も50ppm P世代 ♂3.3♀5.9 F1世代 ♂3.3♀5.6 繁殖に影響なし	(1986年)	毒-134
					0	0	0			
					50	3.3	5.9			
					250	16.5	29.5			
					1250	83.8	147.6			
					ppm F1	♂	♀			
					0	0	0			
					50	3.3	5.6			
250	16.2	27.7								
29 GLP	繁殖試験 (2世代)	ラット	P; ♂28 ♀28 F1; ♂24 ♀24	混餌	ppm P	♂	♀	親動物、児動物と も400ppm P世代 ♂30.7♀45.1 F1世代 ♂34.5♀46.3 繁殖に影響なし	(1991年)	毒-143
					0	0	0			
					100	7.63	11.2			
					400	30.7	45.1			
					1200	92.3	137.0			
					ppm F1	♂	♀			
					0	0	0			
					100	8.5	11.6			
400	34.5	46.3								
<u>30-1</u> GLP	催奇形性	ラット	♀25	経口	0, 10, 100, 1000		母動物:100、胎児:10	(1985年)	毒-150	
					0, 10, 100, 500					
<u>30-2</u> GLP	催奇形性	ラット	♀35	経口	0, 10, 100, 500		母動物:10、胎児:100 催奇形性なし	(1985年)	毒-153	
31 GLP	催奇形性	ラット	♀25	経口	0, 60, 250, 1000		母動物:60、胎児:250 催奇形性なし	(1991年)	毒-157	
<u>32</u> GLP	催奇形性	ウサギ	♀16	経口	0, 50, 150, 450		母動物:150、胎児:50 催奇形性なし	(1984年)	毒-161	
33 GLP	催奇形性	ウサギ	♀16	経口	0, 30, 90, 270		親:30 胎児:90 催奇形性なし	(1991年)	毒-164	

下線を付した試験成績は平成 11 年食品衛生調査会で評価済みである。

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

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁	
34 GLP	変異原性 DNA修復	枯草菌		<i>in vitro</i>	代謝活性化なし 609, 1219, 2438, 4875, 9750, 19500 代謝活性化あり 305, 609, 1219, 2438, 4875, 9750 ($\mu\text{g}/\text{ディスク}$)	陰性	(1990年)	毒-168	
35 GLP	変異原性 復帰変異 (Ames)	サルモネラ菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537 大腸菌 WP2uvr		<i>in vitro</i>	10, 33.3, 100, 333.3, 666.6, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$	陰性	(1990年)	毒-169	
36 GLP	変異原性 復帰変異 (Ames)	サルモネラ菌		<i>in vitro</i>	33, 100, 333, 1000, 3333, 10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$	陰性	(1990年)	毒-171	
37 GLP	変異原性 (チミンキナーゼ) 前進突然変異	マウスリンパ腫培養細胞		<i>in vitro</i>	1回目: 6.3, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 2回目: 20, 40, 60, 80, 100, 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$	弱い陽性	(1984年)	毒-173	
38 GLP	変異原性 (HGPRT) 前進突然変異	チャイニーズハムスター V79培養細胞		<i>in vitro</i>	代謝活性化なし 10, 20, 40, 80, 160, 320 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び25, 40, 55, 70, 85, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 代謝活性化あり 25, 40, 55, 70, 85 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 及び10, 25, 40, 55, 70 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性	(1991年)	毒-175	
39 GLP	変異原性 染色体異常	ヒトリンパ球		<i>in vitro</i>	10, 50, 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性	(1985年)	毒-178	
40 GLP	変異原性 染色体異常	チャイニーズハムスター B4培養細胞		<i>in vitro</i>	代謝活性化なし 10~80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 代謝活性化あり 5~40 $\mu\text{g}/\text{mL}$	高濃度で陽性	(1991年)	毒-179	
41 GLP	変異原性 不定期DNA合成	ラット肝臓培養細胞		<i>in vitro</i>	1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$	陰性	(1990年)	毒-185	
42	小核	マウス	♂18 ♀18	経口	5000	陰性	(1985年)	毒-187	
43 GLP	小核	マウス	♂15 ♀15	経口	2000	陰性	(1991年)	毒-189	
44 GLP	生体の機能に及ぼす影響	一般状態への影響	マウス	♂5	経口	50, 500, 2500	—	(1990年)	毒-191
		呼吸循環系への影響	ウサギ	♂5	腹腔	50, 500	50mg/kgで血圧のみ軽度の低下、500mg/kgで血圧、心拍数、大動脈血流のいずれも軽度の低下。		
		摘出回腸への影響	モルモット	♂5	<i>in vitro</i>	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL	10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mLで各収縮作用を有意に抑制。		
		腸管輸送能への影響	マウス	♂8	経口	50, 500, 2500	影響なし		
		神経筋接合部への影響	ラット	♂5	<i>in vitro</i>	10 ⁻⁶ , 10 ⁻⁵ , 10 ⁻⁴ g/mL	神経刺激による収縮が10 ⁻⁴ g/mLで増強。5分後には有意に抑制。		
		血液凝固系への影響	ラット	♂5	経口	50, 500, 2500	影響なし		
		溶血作用	ウサギ全血	<i>in vitro</i>	0.0007, 0.007mg/mL	溶血作用あり			

下線を付した試験成績は平成 11 年食品衛生調査会で評価済みである。

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

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁			
45 GLP	メトヘモグロビンに対する無毒性量の検討	イヌ	♂2 ♀2	混餌	1群0	300ppm ♂9.7 ♀11.1	(1991年)	毒-196			
					2群				150→	200→	500ppm
					♂				5.1	6.5	15.5
					♀				4.3	5.3	15.7
					3群				75→	300→	1500ppm
					♂				2.5	9.7	45.0
♀	2.5	11.1	49.2								

2. 代謝物を用いた試験成績

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
代謝物 GLP	変異原性 復帰変異 (Ames)	サルモネラ菌 TA98, TA100, TA1535, TA1537		in vitro	10, 100, 333.3, 1000, 5000 µg/plate	陰性	(1990年)	毒-199

3. 製剤を用いた試験成績

混合剤 3.0%デスメディファム・13.0%フェンメディファム乳剤

資料 No.	試験の種類・期間	供試生物	1群当り供試数	投与方法	投与量 (mg/kg)	LD50 値又は無毒性量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)	記載頁
製剤1 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経口	♂♀:2500, 3000, 3500, 4200, 5000	♂:4921 ♀:3261	(1990年)	毒-201
製剤2 GLP	急性毒性 (14日間観察)	マウス	♂♀各5	経口	♂♀:2500, 3000, 3500, 4200, 5000	♂:4316 ♀:3820	(1990年)	毒-202
製剤3 GLP	急性毒性 (14日間観察)	ラット	♂♀各5	経皮	♂♀:4000	♂♀:>4000	(1990年)	毒-203
製剤4	急性吸入	本剤はくん蒸剤、くん煙剤等当該農薬の成分物質を気化させて使用する農薬以外の農薬であることから試験除外						毒-204
製剤5 GLP	皮膚刺激性 (3日間観察)	ウサギ	♀6	背部に貼布	0.5mL/パッチ	軽度刺激性	(1990年)	毒-205
製剤6 GLP	眼刺激性 (3日間観察)	ウサギ	非洗眼群: ♀6 洗眼群♀3	点眼	0.1mL/眼	中等度刺激性 洗眼効果認められず。	(1990年)	毒-206
製剤7 GLP	皮膚感作性 Buehler (約5週間観察)	モルモット	処理群♂♀20 対照群♂♀10		感作:50%懸濁液 惹起:50%懸濁液	感作性あり	(1990年)	毒-208

下線を付した試験成績は平成11年食品衛生調査会で評価済みである。

(1) 急性毒性

デスメディファムのラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料No. 原体-1)

試験機関：

報告書作成年：1984年[GLP]

検体の純度：98%

供試動物：Wistar系ラット(KFM-Han, SPF)、1群雌雄各5匹、9～11週齢、

体重：雄220～236g、雌176～186g

観察期間：22日間

投与方法：検体をポリエチレングリコール(PEG)400水溶液に一定濃度に懸濁して投与液を調製し、体重当たり5000mg/kgとなるよう単回強制経口投与した。投与容量は体重1kg当たり20mLとした。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を投与当日は4時間ごとに、その後は1日1回、投与後22日間観察した。体重は投与直前及び投与後8、15及び22日に測定した。試験終了時の全動物について剖検し肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	5000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂ > 5000 ♀ > 5000
死亡開始時間及び 終了時間	♂ ♀とも死亡例なし
症状発現時間及び 消失時間	♂ 1時間～19日 ♀ 1時間～12日
毒性徴候の認められなかつ た最高投与量 (mg/kg)	♂ - ♀ -
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂ 5000 ♀ 5000

雌雄ともに死亡例はみられなかった。中毒症状として投与1時間後から4日目まで全動物に、鎮静、呼吸困難、屈曲位、体重減少、粗毛及び蒼白化が認められた。雄の1例ではこれらの症状が断続的に投与19日後まで持続した。肉眼的病理検査では異常は認められなかった。

デスメディファムのラットを用いた急性経口毒性試験

(毒性資料No. 原体-2)

試験機関：

報告書作成年：1991年[GLP]

検体の純度：不明

供試動物：SD系ラット1群雌雄各5匹、6～8週齢、系統不明

体重：雄156～171g、雌149～158g

観察期間：14日間

投与方法：検体を0.5%カルボキシメチルセルロース(CMC)水溶液に一定濃度に懸濁して投与液を調製し、体重当たり2000mg/kgとなるよう単回強制経口投与した。投与容量は体重1kg当たり10mLとした。

観察・検査項目：中毒症状及び死亡を投与当日は頻繁に、その後は1日1回、14日間観察した。体重は投与直前及び投与後7及び14日に測定した。試験終了時の全動物について剖検し、肉眼的病理検査を実施した。

結 果：

投与方法	経 口
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂ > 2000 ♀ > 2000
死亡開始時間及び終了時間	♂♀とも死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	♂♀とも症状なし
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ 2000 ♀ 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ 2000 ♀ 2000

いずれの動物にも死亡及び中毒症状は認められなかった。

また体重にも影響はみられず、肉眼的病理検査でも変化は認められなかった。

デスメディファムのマウスを用いた急性経口毒性試験 (毒性資料No. 原体-3)

試験機関：

報告書作成年：1990年[GLP]

検体の純度：98.3%

供試動物：CD-1マウス、1群雌雄各5匹、

雄5週齢、体重26.9～33.1g 雌6週齢、体重22.4～26.9g

観察期間：15日間

試験方法：検体を0.25%メチルセルロース水溶液に一定濃度に懸濁して投与液を調製し、体重当たり3500mg/kgとなるよう単回強制経口投与した。投与容量は体重1kg当たり10mLとした。本投与用量は予備試験で本剤を0.25%メチルセルロース水溶液に懸濁し投与した結果、懸濁液の粘性が高く、3500mg/kgが最大投与可能量であったことに基づき設定した。

観察項目：中毒症状及び死亡を投与当日は頻繁に、その後は1日2回14日間観察した。体重は投与直前、投与後8及び15日に測定した。死亡動物及び試験終了時の全生存動物について肉眼的病理検査を実施した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	0、3500
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂ > 3500 ♀ > 3500
死亡開始時間 及び終了時間	♂ - ♀ 投与後5日
症状発現時間及び 消失時間	♂ - ♀ 投与後5日
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂ 3500 ♀ -
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂ 3500 ♀ -

3500mg群の雌1匹が投与後5日に呼吸困難、体温低下及び昏睡状態を示したため切迫屠殺した。この例の剖検では投与による影響はみられなかった。この1匹を除き、他の動物に死亡及び中毒症状は観察されず、剖検においても投与に関連した変化は認められなかった。体重に影響はみられなかった。

デスメディファムのウサギを用いた急性経皮毒性試験 (毒性資料No. 原体-4)

試験機関：

報告書作成年：1984年[GLP]

検体の純度：98.0%

供試動物：New Zealand White系ウサギ(KFM)、雌雄各3匹、15～16週齢

開始時体重 雄2.3～2.6kg、雌2.8～2.9kg

観察期間：15日間

試験方法：検体を2%CMC水溶液に一定濃度に懸濁して投与液を調製し、体重当たり4000mg/kgとなるよう単回経皮投与した。投与容量としては体重1kg当たり8gの投与液を用いた。投与は前日に刈毛した背部皮膚(4cm×10cm)に投与液を塗布し、閉塞包帯で覆い弾性の粘着バンドで固定した。塗布24時間後、包帯を除去し皮膚を微温湯で洗浄した。

観察項目：処理部位の皮膚の観察とともに中毒症状及び生死を投与当日は4回、その後は1日1回、15日間観察した。体重は処理開始時、処理後8日及び観察終了時に測定し、観察終了時に全動物を剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	4000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂ > 4000 ♀ > 4000
死亡開始時間及び終了時間	♂♀ともに死亡例なし
症状発現時間及び消失時間	♂♀ともに認められず
毒性徴候の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ 4000 ♀ 4000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂ 4000 ♀ 4000

死亡例、全身のあるいは局所的な中毒症状は認められず、体重にも変化は認められなかった。剖検では、雄の2匹及び雌の1匹の肺に暗赤色の変色を伴う充血が認められたが、これは投与に関連したものとは考えられなかった。

デスメディファムのラットを用いた急性経皮毒性試験

(毒性資料No. 原体-5)

試験機関：

報告書作成年：1991年[GLP]

検体の純度：不明

供試動物：SD系ラット、雌雄各5匹、8～10週齢

開始時体重 雄264～273g、雌215～253g

観察期間：15日間

試験方法：検体を体重1kg当たり2000mgの用量で単回経皮投与した。検体はガーゼに均一に塗布し、前日に刈毛した背部皮膚（体表面積の約10%）にこれを貼付して非刺激性包帯で覆いこれを固定した。塗布24時間後、包帯を除去し皮膚を水で湿らせたティッシュペーパーで清拭した。

観察項目：処理部位の皮膚の観察、中毒症状及び生死を投与当日は頻回、その後は1日1回、15日間観察した。体重は処理開始時、処理後7日及び観察終了時に測定した。観察終了時に全動物を剖検した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	2000
LD ₅₀ 値 (mg/kg)	♂ > 2000 ♀ > 2000
死亡開始時間及び 終了時間	♂♀ともに死亡例なし
症状発現時間及び 消失時間	♂♀ともに認められず
毒性徴候の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂ 2000 ♀ 2000
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/kg)	♂ 2000 ♀ 2000

局所的または全身的な毒性症状はいずれの動物にも認められなかった。
剖検では、変化は認められず、体重にも変化は認められなかった。

デスメディファムのラットを用いた急性吸入毒性試験

(毒性資料No. 原体-6)

試験機関：

報告書作成年：1990年[GLP]

検体の純度：98.0%

供試動物：Wistar系ラット(KFM-Han, SPF)、1群雌雄各5匹

雄 8~10週齢、体重181~199g、雌10~12週齢、体重181~200g

観察期間：15日間

試験方法：微粉碎ジェットミルを連動させたエアロゾル発生器を用いて、検体のダストを発生させ、ラットに4時間鼻部暴露させた。

設定濃度； 1群 5.7 mg/L 2群 7.4 mg/L

実際濃度； 1群 5.69±1.03 mg/L 2群 7.37±1.32 mg/L

暴露空気をガラスフィルターを用いて捕集し、重量測定法により実際濃度を求めた。

暴露条件；

設定濃度 mg/L	5.7	7.4
実際濃度 mg/L	5.69±1.03	7.37±1.32
粒子径分布 (%)*		
> 4.6 μm	45.05	41.10
3.0	5.45	8.35
2.13	19.25	15.45
1.6	11.2	14.65
1.06	7.5	10.15
0.715	6.0	6.75
0.325	5.2	3.05
< 0.325	0.35	0.5
空気力学的質量中位径	3μm	3μm
呼吸可能な粒子(<3μm)の割合 (%)	54.95	58.90
チャンバー内容容量/匹 (L)	1	1
チャンバー内通気量 (L/分)	1.7	1.7
暴露条件	ダスト 4時間	鼻部暴露

* Mercerの7段階カスケードインパクターにより2回測定した平均

試験項目：暴露当日は暴露中1回と暴露終了後、その後は1日2回15日間、中毒症状及び生死を観察した。また、体重測定を暴露前、暴露後8日及び15日に行った。試験終了時に全動物につき肉眼的病理検査を行った。

結 果 :

投与方法	吸 入
暴露濃度 (mg/L)	5.69、7.37
LC ₅₀ 値 (mg/L)	♂ >7.37 ♀ >7.37
死亡開始時間 及び終了時間	♂♀ともに死亡例なし
症状発現時間及び 消失時間	♂♀ともに認められず
毒性徴候の認められなかつ た最高投与量 (mg/L)	♂ 7.37 ♀ 7.37
死亡例の認められなかつた 最高投与量 (mg/L)	♂ 7.37 ♀ 7.37

試験期間を通じて、全例に中毒症状及び死亡例は認められなかった。体重及び肉眼的病理検査において、投与による影響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

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

デスメディファムのウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

(毒性資料No.原体-7)

試験機関：

報告書作成年：1991年[GLP]

検体の純度：不明

供試動物：ニュージーランド白色種雄ウサギ 1群3匹 週齢及び体重不明

観察期間：72時間観察

試験方法：投与前日に刈毛した動物の背部皮膚(2.5×2.5cm)に水で湿らせた検体0.5gを直接塗布し、ガーゼで覆った。これを通気性テープで固定し、さらに伸縮性テープで被って4時間暴露させた。4時間の暴露終了後、塗布皮膚面を水で湿らせたティッシュペーパーで清拭した。

観察・検査項目：塗布除去後1、24、48、72時間経過後に塗布部位の刺激性変化を観察しDraize法に従って採点した。

結 果：結果は以下の表の通りである。

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	4	0	0	0	0
2	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
3	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	12	0	0	0	0
	浮腫	12	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

皮膚反応は何らみられなかった。従って、デスメディファム原体のウサギに対する皮膚刺激性はないと判断される。

デスメディファムのウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験 (毒性資料No.原体-8)

試験機関:

報告書作成年: 1990年[GLP]

検体の純度: 不明

供試動物: ニュージーランド白色種 雄ウサギ 1群3匹 週齢及び体重不明

観察期間: 72時間観察

試験方法: 検体100mgを左眼の結膜嚢内に置き、72時間後まで刺激反応を観察した。
洗眼群は設定しなかった。

観察・検査項目: 投与1、24、48及び72時間経過後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、Draize法に従って採点した。

試験結果: 観察した刺激性変化の評点は次表のとおりである。結膜に極めて軽度の刺激症状が投与初期に観察されたが、48時間後には完全に消失した。

項目				最高 評点	適用後時間				
					1時間	24時間	48時間	72時間	
非 洗 眼 群	動物 番号 1	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	0	0	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物*		3	0	0	0	0	
	動物 番号 2	角膜	混濁	4	0	0	0	0	
			面積	4	0	0	0	0	
		虹彩		2	0	0	0	0	
		結膜	発赤	3	1	1	1	0	
			浮腫	4	0	0	0	0	
		分泌物*		3	1*	0	0	0	
	動物 番号 3	角膜	混濁	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*				330	15	5	5	0
	平均*				110	5	1.6	1.6	0

*本試験は Draize法に従って採点しているが、分泌物については、数値ではなく、1時間後に1例においてのみslight dischargeが認められたと表記されている。そのため申請者がこの所見を1として記載し、合計及び平均評点を算出した。

以上の結果から、本剤のウサギの眼粘膜に対する刺激性はないと判断される。

(3) 皮膚感作性

デスメディファムのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(毒性資料 No. 原体-9)

試験機関 :

報告書作成年 : 1987年 [GLP]

検体の純度 : 98.0%

供試動物 : Dunkin-Hartley 系 (DUHA KFM) アルビノモルモット

1 群雌雄各 10 匹 対照群 雌雄各 5 匹

試験開始時 8-9 週齢 体重 ; 雄 380~470g、雌 400~482g

観察期間 : 約 5 週間

試験方法 : Maximization 法

試験濃度設定の理由

予備試験において、雌雄各 1 匹のモルモットに 0.1、0.3、0.5、1.0、3.0、5.0% の検体溶液 (PEG400/生理食塩水=7:3) の 0.1mL を皮内注射し、24 時間後に注射部位を観察した結果、全ての濃度で紅斑及び浮腫がみられ 1% 以上では中等度、0.5% 以下では軽度な反応がみられた。また、貼付については 4 匹 (雄 3 匹、雌 1 匹) のモルモットを用いて、同一個体に 3、5、10 及び 25% 検体溶液 (PEG400/生理食塩水=7:3) を 24 時間閉塞貼付し、貼付開始後 24、48 時間及び 72 時間に貼付部位を観察した結果、皮膚反応は何ら認められなかった。以上の結果から、感作濃度は皮内注射は 0.5%、貼付が 25%、惹起濃度は 25% を貼付投与濃度と設定した。

1. 皮内感作

投与前 24 時間に刈毛した試験動物背頸部の体幹の長軸方向に、平行に 3 ヶ所、2 部位ずつ皮内注射を行った。注射部位あたりの投与容量は 0.1mL とした。

a) 感作群 (検体群)

第一注射部位 (頭方)

Freund の完全アジュバントと溶媒 (PEG400/生理食塩水=7:3) の 1:1 混液

第二注射部位 (中央)

溶媒 (PEG400/生理食塩水=7:3) で調製した検体の 0.5% 液

第三注射部位 (尾方)

第二注射部位の投与液の溶媒 (PEG400/生理食塩水=7:3) と Freund の完全アジュバントの 1:1 混液で調製した検体の 0.5% 液

b) 無感作群 (対照群)

対照群の動物は、検体群と同様に処理したが、第二と第三注射部位の投与液には検体が含まれていなかった。

2. 貼付感作（皮内注射 1 週間後）

貼付部位は貼付感作 1 日前に刈毛した。貼付感作日にろ紙パッチ(4×4 cm)を注射部位上に貼付し、アルミホイルで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 24 時間固定し、さらに不浸透性包帯で覆った。

閉塞性フィルムで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 48 時間固定した。

パッチは次のように処理した。

a) 感作群：25%(PEG400：生理食塩水=7:3)液を浸漬

b) 無感作群：(PEG400：生理食塩水=7:3)液を浸漬

3. 貼付惹起（皮内注射から 2 及び 4 週間後）

惹起操作 1 日前に動物の左腹側部を刈毛した。惹起時に感作群と無感作群の左腹側部(尾方)に検体の 25%(PEG400：生理食塩水=7:3)液で湿らせたろ紙パッチ(2×2 cm)を貼付した。アルミホイルで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 24 時間固定し、さらに不浸透性包帯で覆った。2 週間後に同じ方法で再度貼付惹起を行なった。

4. 反応の評価

2 回目の惹起開始後 48 及び 72 時間の皮膚反応を紅斑及び浮腫について肉眼的に評価した。

5. 一般観察

全試験期間を通じて 1 日 1 回臨床観察を行った。

体重測定は、投与開始前と最終日(25 日目)に行った。

試験結果：

1 回目の惹起後皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					除去 24 時間後					除去 48 時間後					48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
					皮膚反応評点													
0	1	2	3	4	0	1	2	3	4									
感作	皮内:0.5 貼付:25	25	20	紅斑	13	7	0	0	0	13	7	0	0	0	7	7	35	35
無感作	皮内:0 貼付:0	25	9	紅斑	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0

2 回目の惹起後皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					除去 24 時間後					除去 48 時間後					48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
					皮膚反応評点													
0	1	2	3	4	0	1	2	3	4									
感作	皮内;0.5 貼付;25	25	20	紅斑	16	3	1	0	0	15	4	1	0	0	4	5	20	25
無感作	皮内;0 貼付;0	25	9	紅斑	9	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0

無感作群の雄 1 例は健康状態の悪化により試験開始 21 日目に屠殺した。

以上の結果から本検体は弱い皮膚感作性を有すると考えられた。

一般観察及び体重増加において、感作群と対照群との差は認められなかった。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DCNB (1-chloro-2,4-di nitrobenzole) について別に実施した Maximization 法による試験結果を次に示す。溶媒はエタノールを用いた。

皮膚反応を示した動物数 (1986 年 6 月実施)

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数					陽性動物数	感作陽性率 (%)
					除去 24 時間後					24 時間	24 時間
					皮膚反応評点						
0	1	2	3	4							
感作	皮内;0.5 貼付;0.5	1	15	紅斑	7	8	0	0	0	8	53

上記に示す様に、既知の皮膚感作性陽性物質 DCNB 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が確認された。

デスメディファムのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (毒性資料No. 原体-10)

試験機関：

報告書作成年：1988年[GLP]

検体の純度：99.2%

試験動物：Dunkin-Hartley系アルビノモルモット、7～8週齢

処理群：雌雄各10匹、対照群：雌雄各5匹

試験期間：約5週間

試験方法：Maximization法

試験濃度設定の理由

予備試験において、皮内投与濃度設定のため、雌雄各1匹のモルモットに0.1、0.3、0.5、1.0、3.0、5.0%の検体溶液(PEG400/生理食塩水=7:3)の0.1mLを皮内注射し、24時間後に注射部位を観察した結果、全ての濃度で軽度な紅斑及び浮腫がみられた。また、貼付投与濃度については4匹のモルモットを用いて、同一個体に3、5、10及び25%検体溶液(PEG400/生理食塩水=7:3)をしみこませたろ紙(2×2cm)を24時間閉塞貼付し、貼付開始後24、48時間及び72時間に貼付部位を観察した結果、皮膚反応は何ら認められなかった。以上の結果から、感作濃度は皮内注射は0.5%、貼付が25%、惹起濃度は25%を貼付投与濃度と設定した。

1. 皮内感作

投与前24時間に刈毛した試験動物の背頸部の各長軸方向に、平行に3ヶ所、2部位ずつ皮内注射を行った。注射部位あたりの投与容量は0.1mLとした。

a) 感作群 (検体群)

第一注射部位 (頭方)

Freundの完全アジュバントと溶媒(PEG400/生理食塩水=7:3)の1:1混液

第二注射部位 (中央)

溶媒(PEG400/生理食塩水=7:3)で調製した検体の0.5%液

第三注射部位 (尾方)

第二注射部位の投与液の溶媒(PEG400/生理食塩水=7:3)とFreundの完全アジュバントの1:1混液で調製した検体の0.5%液

b) 無感作群 (対照群)

対照群の動物は、検体群と同様に処理したが、第二と第三注射部位の投与液には検体が含まれていなかった。

2. 貼付感作（皮内注射 1 週間後）

貼付部位は貼付感作 1 日前に刈毛した。貼付感作日にろ紙パッチ (4×4 cm) を注射部位上に貼付し、アルミホイルで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 24 時間固定し、さらに不浸透性包帯で覆った。

閉塞性フィルムで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 48 時間固定した。

パッチは次のように処理した。

a) 感作群：25% (PEG400：生理食塩水=7:3) 液を浸漬

b) 無感作群：(PEG400：生理食塩水=7:3) 液を浸漬

3. 貼付惹起（皮内注射から 2 及び 4 週間後）

惹起操作 1 日前に動物の左腹側部を刈毛した。惹起時に感作群と無感作群の左腹側部（尾方）に検体の 25% (PEG400：生理食塩水=7:3) 液で湿らせたろ紙パッチ (2×2 cm) を貼付した。アルミホイルで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 24 時間固定し、さらに不浸透性包帯で覆った。2 週間後に同じ方法で再度貼付惹起を行なった。

4. 反応の評価

2 回目の惹起開始後 48 及び 72 時間の皮膚反応を紅斑及び浮腫について肉眼的に評価した。

試験結果：惹起後 24 及び 48 時間に認められた結果を下表に示す。

1 回目の惹起後皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					除去 24 時間後					除去 48 時間後					48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
					皮膚反応評点													
					0	1	2	3	4	0	1	2	3	4				
感作	皮内;0.5 貼付;25	25	20	紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0
				浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0				
無感作	皮内;0 貼付;0	25	10	紅斑	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
				浮腫	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0				

2 回目の惹起後皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					除去 24 時間後					除去 48 時間後					48 時間	72 時間	48 時間	72 時間
					皮膚反応評点													
					0	1	2	3	4	0	1	2	3	4				
感作	皮内;0.5 貼付;25	25	20	紅斑	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0	0
				浮腫	20	0	0	0	0	20	0	0	0	0				
無感作	皮内;0 貼付;0	25	10	紅斑	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
				浮腫	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0				

以上の結果、本検体はモルモットに対し皮膚感作性はないものと判断された。

陽性対照の試験は本試験と同時には行っていないが、本試験機関では定期的に陽性対照試験を行っており、直近の試験は1987年7月に実施した。

陽性対照として用いたDNCBの結果を下表に示す。

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数										陽性動物数		感作陽性率 (%)	
					除去直後					除去 24 時間後					直後	24 時間	直後	24 時間
					皮膚反応評点													
0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	直後	24 時間	直後	24 時間					
感作	皮内:0.5 貼付:0.5	5	15	紅斑	0	7	8	0	0	0	6	7	1	1	15	15	100	100

既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB(1-chloro-2,4-di nitrobenzole)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が確認された。

デスメディファムのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法)

(毒性資料 No. 原体-11)

試験機関:

報告書作成年: 1991年 [GLP]

検体の純度: 不明

供試動物: Dunkin-Hartley系雌アルビノモルモット

処理群: 雌20匹、対照群: 雌10匹 試験開始時体重: 370~484g 週齢不明

観察期間: 約5週間

試験方法: Maximization 法

試験濃度設定の理由

予備試験において、皮内感作については2匹の雌モルモットに検体の1、2及び5%のパラフィンオイル溶液 0.1mLを同一個体に皮内注射し、24、48、72時間後に観察した結果、皮膚反応はみられなかった。2%以上の濃度では皮内注射は困難であった。また、貼付感作についても別の雌2匹を用いて、同一個体に検体の2、5、10及び25%パラフィンオイル溶液を24時間閉塞貼付した後、24及び48時間後に観察した結果、いずれの濃度でも皮膚反応はみられなかった。従って、感作濃度は皮内注射は1%、貼付が25%とした。惹起濃度については Freund の完全アジュバントで処理した4匹を用いて10及び25%を貼付し、24時間後に皮膚を観察した結果、皮膚反応は何らみられなかった。従って惹起貼付濃度は25%と設定した。

検体試料の調製

検体投与前にパラフィンオイルで1%懸濁液を調製した。

1. 皮内感作

投与前24時間に刈毛した試験動物の背頸部(4×6cm)の各長軸方向に、平行に3ヶ所、2部位ずつ皮内注射を行った。注射部位あたりの投与容量は0.1mLとした。

a) 感作群 (検体群)

第一注射部位 (頭方)

Freund の完全アジュバントと滅菌蒸留水の1:1混液

第二注射部位 (中央)

パラフィンオイルで調製した検体の1%液

第三注射部位 (尾方)

パラフィンオイルで調製した検体1%液と Freund の完全アジュバント/滅菌蒸留水1:1混液との等量混合液

b) 無感作群 (対照群)

対照群の動物は、検体群と同様に処理したが、第二と第三注射部位の調製液には検体が含まれていなかった。

2. 貼付感作 (皮内注射1週間後)

皮内注射6日後に注射部位を刈毛し、10%SLS(ラウリル硫酸ナトリウム)を塗布し炎症反応を起こした。翌日ろ紙パッチ(2×4cm)を注射部位上に貼付し、閉塞性フ

フィルムで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 48 時間固定した。

パッチは次のように処理した。

a) 感作群：25%検体パラフィンオイル液を浸漬

b) 無感作群：パラフィンオイルを浸漬

3. 貼付惹起（皮内注射から 2 週間後）

惹起操作 1 日前に動物の左腹側部を刈毛した。惹起時に感作群と無感作群の左腹側部（尾方）に検体の 25%パラフィンオイル液で湿らせたパッチ（2×2 cm）を貼付した。閉塞性フィルムで覆い、伸縮性の包帯で皮膚に 24 時間固定した。

4. 反応の評価

惹起貼付パッチの除去後 24 及び 48 時間の皮膚反応を紅斑及び浮腫について肉眼的に評価した。

5. 一般観察

全試験期間を通じて 1 日 1 回臨床観察を行った。

体重測定は、投与開始前と終了時に行った。

試験結果：

皮膚反応を示した動物数

群	感作濃度 (%)	惹起濃度 (%)	動物数	皮膚反応	感作反応動物数								陽性動物数		感作陽性率 (%)			
					除去後 24 時間				除去後 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
感作	皮内;1 貼付;25	25	19*	紅斑及び浮腫	19	0	0	0	19	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無感作	皮内;0 貼付;0	25	10	紅斑及び浮腫	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*1 例に惹起前に背部に開口した傷が認められたため試験から除外した。

一般観察及び体重増加において、感作群と対照群との差は認められなかった。感作群と無感作群ではいずれの動物においても、皮膚反応は認められなかった。

以上の結果から本検体の皮膚感作性は陰性であると判断した。

なお、既知の皮膚感作性陽性物質 DNCB について、1990 年 7 月 2 日に別途実施した Maximization 法では、63%の動物で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が確認された。

(4) 急性神経毒性

デスメディファムの急性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-12)

試験成績の提出除外

本薬についての急性神経毒性試験は実施していない。以下の根拠により提出除外（13 生産第 3986 号の 4. 試験成績の除外について(2)－⑦－ア）にあてはまる。

[除外根拠]

1. 急性経口毒性試験からの考察

急性経口毒性試験における一般状態の観察において、致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

2. ラットの 90 日反復経口毒性試験からの考察

ラットの 90 日反復経口毒性試験(毒性資料 No. 原体-14 及び 15)において、以下のとおり致死量以下の用量で特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

(1) 詳細な状態の観察項目

- ① 外観
- ② 体位
- ③ 姿勢
- ④ 自律神経系機能
- ⑤ 歩行の異常
- ⑥ 動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応
- ⑦ 神経系及び異常行動

レポートへの記載はない。

しかし、試験実施機関の標準操作手順書 (SOP) では、「外観、体位、姿勢、自律神経系機能、歩行の異常、動物の取り扱い操作や環境刺激に対する反応、神経系及び異常行動」の観察をおこなうこととしており、これらについて試験動物に何らかの異常があれば、レポートにその旨が記載されることとなるが、本レポートにはこれらについて何らの記載もないことから、致死量以下の用量でこれらに関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(2) 機能検査項目

- ① 刺激に対する感覚運動反応
- ② 握力
- ③ 自発運動量

本レポートには機能検査は行われていない。しかし機能検査に関連した何らかの異常があれば、レポートにその旨が記載されることとなるが本レポートにはこれら

について何らの記載もないことから、致死量以下の用量でこれらに関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はなかったと考えられる。

(3) 病理組織学的検査項目

- ① 脳
- ② 坐骨神経
- ③ 骨格筋
- ④ 脊髄
- ⑤ 眼球及びその付属器

致死量以下の用量でこれらの臓器の病理組織学的検査項目に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

(4) その他の検査項目

①脳重量

致死量以下の用量で「脳重量」に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見は記されていない。

②眼科学的検査

レポートへの記載はない。

しかし、ラットを用いた慢性毒性・発がん性併合試験では、これらの測定及び検査を行っており、これらについて何ら毒性を示唆する所見はなく、致死量以下の用量で眼科学的検査項目に関して、特異的な神経毒性を示唆する所見はない。

試験名：慢性毒性・発がん性併合試験（1986年、毒性資料No. 原体-22）

試験名：慢性毒性試験（1991年、毒性資料No. 原体-23）

試験名：発がん性併合試験（1991年、毒性資料No. 原体-24）

3. 既知神経毒性物質との化学構造の相関について

現在の科学的知見において、本農薬デスメディファムは既知神経毒性物質との化学構造の相関はない。

(5)急性遅発性神経毒性

デスメディファムの急性遅発性神経毒性試験

(毒性資料 No. 原体-13)

試験成績の提出除外

本薬についての急性遅発性神経毒性試験成績は、「農薬の登録申請に係る試験成績について」(平成12年11月24日付け12農産第8147号農林水産省農産園芸局長通知)の運用についての「第4 試験成績の提出の除外について」(2)の⑧のイ」の試験成績の提出の除外にあてはまる。

[除外根拠]

本農薬原体は、リン酸エステル系で、かつ、コリンエステラーゼ阻害性を有する農薬以外の農薬である。したがって、本農薬原体は遅発性神経毒性を有する既知の化学物質との化学構造上の相関等からみて、遅発性神経毒性を有するおそれがないと認められるため、本急性遅発性神経毒性試験の提出は不要であると判断した。

(6) 90日間反復経口毒性

デスメディファムのラットを用いた混餌投与による13週間毒性試験

(毒性資料No. 原体-14)

試験機関：

報告書作成年：1985年[GLP]

検体の純度：98.3%

供試動物：Wistar系(KFM-Han, SPF)ラット、

1群雌雄各25匹(但し、このうち各10匹は回復群)

5週齢、投与前体重 雄68~100g、雌58~86g

投与期間：13週間(1985年2月11日~ 5月15日)

各群雌雄各10匹は4週間の回復試験を行った。

投与方法：検体を飼料に0、6、30、60及び300ppmの濃度で混入してペレットに成型し、13週間にわたって自由に摂取させた。検体を混入した飼料は2週間に1回調製した。

用量設定根拠

投与量の設定は1群雌雄各10匹のラットを用い0、300、1200、4800ppmの濃度の混餌飼料を13週間与えた予備試験(1984年、資料No. 22の予備試験と共通)の結果に基づいた。その結果、1200ppm群では雌のみ、4800ppm群では雌雄で体重増加抑制がみられ、最終13週時に測定した全投与群にメトヘモグロビンの生成、赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリットの減少、さらに平均赤血球容積の増加が認められた。また全投与群の病理組織学的検査で脾臓の腫大及び髄外造血が認められた。これらの所見は、検体投与による溶血性貧血症及び代償性の造血亢進を示唆するものと考えられ、この試験における無作用量は300ppm以下であると推察された。従ってこの予備試験では明確な無作用量が評価できなかつたことから、本試験での投与量を6、30、60及び300ppmと設定した。

申請者注；体重増加抑制は4800ppm雌雄で投与4日からみられていた。しかし、1200ppmでは雌でのみ投与10週以降にみられており投与開始初期に影響は認められない。

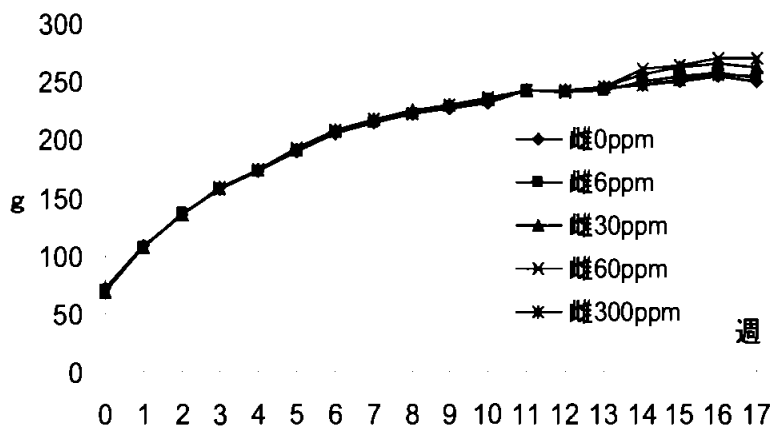
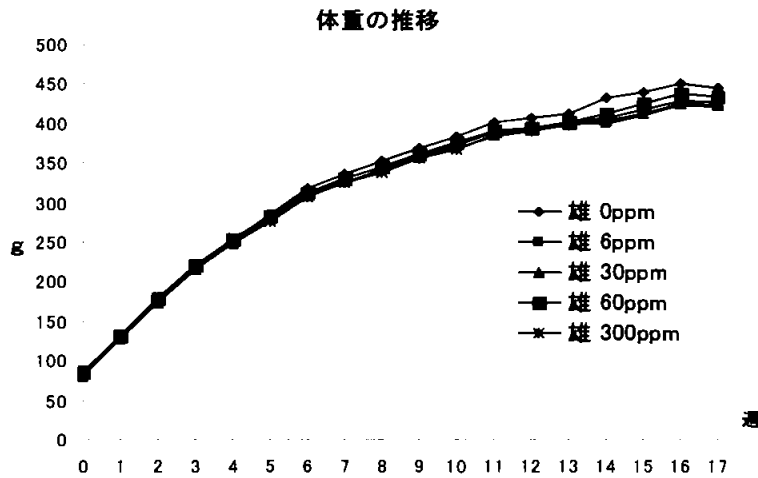
観察・検査項目及び結果：

1) 一般状態及び死亡率；中毒症状及び生死を毎日観察した。

投与に関連した死亡動物及び中毒症状は認められなかつた。

2) 体重変化；体重を毎週測定した。

全投与群とも検体投与による体重への影響はみられなかつた。



3) 摂餌量及び飲水量；摂餌量は毎週測定した。飲水量は投与後11週目に7日間毎日、測定した。

摂餌量及び飲水量に投与による影響は認められなかった。摂餌量から検体摂取量を算定した結果を以下に示す。

表 1. 検体摂取量(mg/kg/日)

投与量(ppm)		6	30	60	300
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	0.5	2.6	5.2	26
	雌	0.5	2.7	5.6	27

4) 眼科学的検査；各群雌雄各10匹を対象に投与前、投与終了時及び回復試験終了時に眼科学的検査をおこなった。

投与に関連した変化は認められなかった。

5) 血液学的検査；投与後4/5週(表中で5週時と記載)、9週及び投与終了時(12/13週、終了時と記載)、さらに投与終了後4週間の回復期間終了時(回復時と記載)に全動物を対象として絶食下で採血し、以下の項目を検査した。

ヘマトクリット(Ht)、ヘモグロビン(Hb)、赤血球数(RBC)、網状赤血球数(Retic)、有核赤血球数、メトヘモグロビン(Met. Hb)、血小板数(PLT)、ハイנטツ小体、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球ヘモグロビン量(MCH)、平均赤血球ヘモグロビン濃度(MCHC)、白血球数、白血球百分率、赤血球形態、プロトロンビン時間(PT)及び部分トロンボプラスチン時間。

対照群と比較して統計学的有意差が認められた項目を下表に示す。

表2. 血液学的検査結果

性	雄										
	6			30	60			300			
	5週	終了時	回復時	回復時	9週	終了時	回復時	5週	9週	終了時	回復時
Met. Hb					↑ 150		↑ 125	↑ 255	↑ 438	↑ 218	↑ 138
Retic									↑ 150	↑ 127	↑ 119
RBC											↓ 95
Hb	↑ 104								↓ 94		↓ 95
Ht									↓ 95		
MCHC	↑ 103							↑ 103			
PT		↑ 103	↑ 105	↑ 105		↑ 103	↑ 107				

性	雌										
	6		30	60			300				
	終了時	回復時	回復時	5週	9週	回復時	5週	9週	終了時	回復時	
Met. Hb					↑ 138		↑ 229	↑ 338	↑ 175		
Retic								↑ 138		↑ 132	
RBC								↓ 95			
MCV					↑ 104			↑ 104	↑ 105		
PT		↓ 94	↓ 94	↓ 88		↓ 96	↓ 91		↓ 93		
PLT	↑ 120										

↑ ↓ : P < 0.05 (Dunnett検定) 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものの、5週; 4/5週。終了時; 投与開始12/13週後の投与終了時。回復時; 投与終了4週後の回復期間終了時。

メトヘモグロビンが300ppm群雌雄で投与期間中に統計学的有意差を伴って増加し、雄では回復期間終了時にも有意に増加していた。網状赤血球が同群雄の9週以降、雌の9週及び回復終了時に有意に増加し、代償性の造血亢進を伴っていることが窺われた。

300ppm群雄では赤血球、ヘモグロビン、ヘマトクリットの低下が、同群の雌では赤血球数の低下及びMCVの上昇が認められ、時に統計学的有意差が認められた。これらの変化はこれらの動物で認められたメトヘモグロビン生成に関連した変化と考えられたがいずれも軽度であり毒性学的に重要なものとは考えなかった。60ppm群雌雄におけるメトヘモグロビン増加及びMCVの上昇には一貫性がなく、軽度でありこれについても毒性学的に重要なものとは考えなかった。

プロトロンビン時間の延長が雄で、短縮が雌でみられたが、用量との関連性がなく、また変化が雌雄で一定していないことから、投与に関連した変化とは考えなかった。

その他の統計学的有意差を伴って認められた項目は、用量との関連性がないか、あるいは投与期間との関連性がないことから、毒性学的に重要なものとは考えられなかった。

6) 血液生化学的検査；血液学的検査と同じ時期に全動物を対象として絶食下で採血し、以下の項目を検査した。

グルコース(Glu)、尿素、クレアチン(Cre)、総ビリルビン(T. Bil)、総コレステロール(T. Chol)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ(AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ(ALT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチンキナーゼ(CPK)、アルカリホスファターゼ(ALP)、γ-グルタミントランスフェラーゼ(GGT)、オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ(OCT)、カルシウム(Ca)、リン(P)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、塩化物(Cl)、トリヨードサイロニン(T3)、サイロキシシン(T4)、総蛋白、蛋白電気泳動及びA/G比。

対照群と比較して有意差の見られた項目を下表に示す。

表 3. 血液生化学的検査結果

性	雄								
	6	30			60		300		
投与群(ppm)	6	30			60		300		
検査時期(週)	5週	5週	終了時	回復時	5週	回復時	5週	終了時	回復時
Glu								↓ 85	
尿素			↑ 111						
T. Bil					↓ 45		↓ 45		
AST			↓ 91						
LDH	↓ 73								
OCT								↓ 78	
Ca			↓ 96						
K		↑ 109							
Cl				↑ 101		↑ 102	↑ 102		↑ 102
総蛋白									↓ 96
A/G比		↓ 90			↓ 89				↑ 112
T4					↓ 85			↓ 70	↓ 77

性	雌						
	6	30	60		300		
投与群(ppm)	6	30	60		300		
検査時期(週)	5週	5週	終了時	回復時	5週	終了時	回復時
尿素						↑ 116	
LDH		↓ 82			↓ 79		
OCT			↑ 130				↑ 188
Ca						↓ 96	
Cl				↓ 98			
A/G比	↓ 90	↓ 88					
T. Chol			↑ 137	↑ 133	↑ 127		
GPT					↑ 140		
T4						↓ 31	

5週； 4/5週。終了時； 投与開始12/13週後の投与終了時。

回復時； 投与開始16/17週後で投与終了4週後の回復期間終了時。

↑↓ : P<0.05 (Dunnett検定) 表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものの。

T4の低下が300ppm群雌雄で投与終了時に、回復期間終了時には300ppm群雄のみで見られた。この所見は関連する病理組織学的所見あるいは、甲状腺重量の変化をともしないものの投与との関連性が否定できなかった。60ppm群の雄でも5週時にT4が低下したが、同時期に300ppmでは変化が認められなかったことから、偶発的な変化と考えられた。

その他の有意差の認められた項目は、用量との関連がないか、投与期間との関連性がないことから、毒性学的に重要なものとは考えられなかった。

7)尿検査；血液学的検査と同じ時期に全動物を1晩（約18時間）代謝ケージに収容して採尿し次の項目を検査した。

尿量、比重、蛋白、グルコース、ケトン、ビリルビン、血液、亜硝酸、ウロビリノーゲン、沈渣の検鏡。

いずれの検査時期にも投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

8)臓器重量；投与終了時に全動物を対象として以下の臓器重量を測定し対体重比も算出した。

脳、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、甲状腺、下垂体、生殖腺。

雌のみに対照群と比較して有意差が見られた。

表 4. 臓器重量

性		雌		
投与群 (ppm)		30	60	300
肝 臓	実重量	↓90	↓89	
	対体重比	↓93	↓94	
心 臓	実重量		↓91	
下垂体	実重量		↓87	↓87

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表わしたものの。

↓ : P<0.05, ↓↓ : P<0.01 (Dunnett検定)

対照群に比べ雌の30及び60ppm群に肝臓実重量及び対体重比、雌の60ppm群の心臓重量の有意な低下が認められた。しかしこれらの変化は300ppm群ではみられず、また病理組織学的所見を伴わないことから偶発的であると考えられた。雌の60及び300ppm群では下垂体実重量の有意な低下が認められたが、関連する肉眼的及び病理組織学所見は認められないことからこれについても毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

9)肉眼的病理検査；投与終了時及び回復試験終了時に全動物を解剖し、肉眼的病理検

査を行った。

投与と関連したと考えられる変化は認められなかった。

10) 病理組織学的検査；投与終了時に全動物を対象として以下の臓器について病理標本を作製した。

脳、下垂体、脊髄、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、心臓、副腎、甲状腺、胃、食道、動脈、気管、精巣及び精巣上体、前立腺、精嚢、卵巣、子宮、胸腺、唾液腺、乳腺、膀胱、坐骨神経、脊髄、リンパ節（顎下及び腸間膜）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、骨格筋、眼、舌、皮膚及び異常組織。

肺、肝臓及び腎臓については全群について検査を行い、その他の臓器については対照群と最高投与群のみ検査した。

雄の300ppm群で脾臓における髄外造血が対照群に較べ有意差をともなって増加し、検体の赤血球系への作用も認められていることから検体投与に起因したものと考えられた。一方雌の300ppm群では、脾臓の髄外造血は対照群と同程度であったことから、雌での影響は明白ではなかった。その他の投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。

表 5. 病理組織学的検査結果

性		雄					雌				
投与群 (ppm)		0	6	30	60	300	0	6	30	60	300
検査動物数		15	15	15	15	15	15	15	15	15	15
脾臓	うっ血	3	-	-	-	0	0	-	-	-	0
	髄外造血	3	-	-	-	14**	12	-	-	-	13
	血鉄素沈着	9	-	-	-	11	15	-	-	-	15

-は検査せず。 ** : P<0.01 (Fisherの直接確率検定、申請者実施)。

以上の結果、デスメディファムのラットに対する13週間混餌投与の結果、300ppm群雌雄でメトヘモグロビン及び網状赤血球数の増加と赤血球数の減少並びにT4の低下が認められ、また同群雄で脾臓の髄外造血がみられたことから、本試験における最大無作用量は60ppm（雄 5.2mg/kg/日、雌 5.6mg/kg/日）と判断された。

デスメディファムのラットを用いた混餌投与による 13 週間毒性試験

(毒性資料 No. 原体-15)

試験機関：

報告書作成年：1987 年[GLP 対応]

検体の純度：97.8%

供試動物： SD 系ラット系統不明、1 群雌雄各 10 匹 週齢不明

試験開始時体重 雄 177~212g、雌 142~172.8g

投与期間： 13 週間

試験方法：

検体を 0(対照群)、160、800 及び 4000ppm となるように粉末飼料に混ぜ、13 週間ラットに自由に摂取させた。検体を混入した飼料は毎週調製した。

用量設定根拠については報告書には 4 週間の予備試験に基づいたとあるのみで、詳細が記載なし。

試験項目及び結果：

1) 臨床症状及び死亡

1日 2 回以上生死を確認し、1日 1 回一般症状を観察した。

投与に関連した死亡はみられなかった。投与 15 日以降から 4000ppm 群雌雄の全例に断続的に蒼白な体表が観察された。また同群雌 3 例では脱毛が投与 79~81 日から認められ、投与終了まで持続した。これらの症状は検体投与に関連したものと考えられた。これ以外の変化はいずれの群にも認められなかった。

2) 体重(図 1a, 1b)

全動物の体重を毎週 1 回測定した。

4000ppm 群の雌雄では対照群と比べ増体重の抑制(対照群に比して最大で雄 14%低下、雌 24%低下)が認められた。その他の投与群では投与による影響はみられなかった。

申請者注；試験 1 週目 4000ppm の体重は対照に対して雄 97%、雌 91%であり毒性影響とは考えられなかった。

図 1a. 体重(雄)

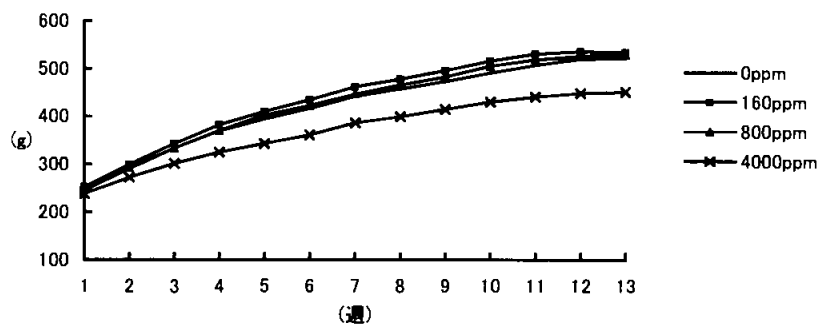
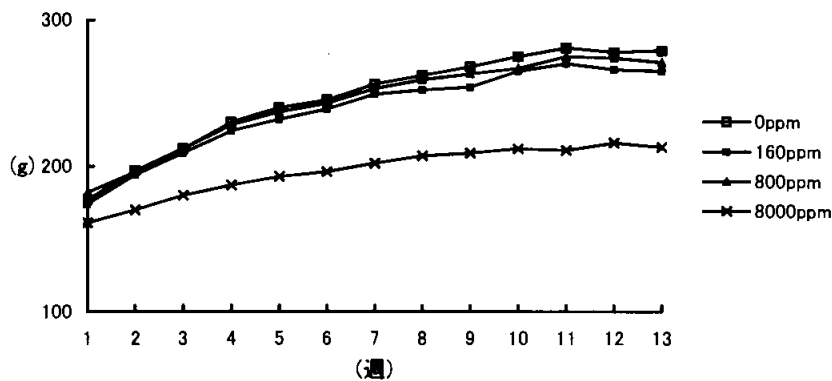


図 1b. 体重(雌)



3) 飲水量

投与 12 週目から 7 日間のみ、飲水量を連日測定した。

4000ppm 群雌で測定開始 2 日目から対照群に比べ統計学的に有意に増加し、この群の 7 日間の累積飲水量は対照群の 126%であった。この飲水量の変化は検体に関連したものとも考えられたが毒性学的な意義は不明であった。これ以外の群では雌雄ともに変化は認められなかった。

4) 摂餌量及び検体摂取量

摂餌量を毎週 1 回測定した。

4000ppm 群雌雄の摂餌量は投与開始時から対照群に比べ低下(最大で雄は対照値の 89%、雌 87%)がみられ、雌では投与 2、4 及び 7~12 週で統計学的有意差が認められた。雄では有意差はみられなかった。この摂餌量の低下は上述の増体重抑制に関連するものと考えられた。その他の投与群では対照群に比べ影響は認められなかった。摂餌量から算定した、検体摂取量を以下に示す。

表 1. 検体摂取量(mg/kg/日)

投与量(ppm)		160	800	4000
検体摂取量 (mg/kg/日)	雄	10.6	54	275
	雌	12.3	60	339

5) 眼科学的検査

投与前及び終了時に全例について、間接検眼鏡を用いて眼科学的検査を行った。

投与に関連した変化は認められなかった。

6) 血液学的検査及び 血液生化学的検査

全動物について投与最終週の 13 週時に絶食、エーテル麻酔下で眼窩静脈叢から採血し、血液学的検査及び血液生化学的検査を行った。

6-1) 血液学的検査

EDTA 処理して採血し以下の項目について検査した。凝固時間測定用試料の採血にはクエン酸を抗凝固剤とした。

赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、平均赤血球容積 (MCV)、平均赤血球ヘモグロビン濃度 (MCHC)、白血球数、白血球百分率、血小板数、凝固時間及び赤血球形態(塗抹標本)

表 2-1 に有意差のみられた項目を、表 2-2 に赤血球形態観察の結果を示す。

雄の 4000ppm 群及び雌の 800ppm 以上の群でヘマトクリット、ヘモグロビン及び赤血球数の低下、MCV の増加及び血小板数の増加、800ppm 以上の雌のみで MCHC の増加がみられた。本試験ではメトヘモグロビンの測定はみていないが、これらは本検体によるメトヘモグロビン生成作用に関連したものと考えられた。

また、赤血球形態観察では 4000ppm の雌雄で赤血球の大小不同及び多染性赤血球症がみられ、これについても本検体の投与により血球産生の亢進を伴っているためと考えられた。

雌雄の 4000ppm のみで白血球数の増加及びリンパ球の増加がみられた。さらに 800ppm 以上の雄及び雌の 4000ppm で好中球の増加がみられた。これらについてはラットを用いたより長期の試験(毒性資料 No. 22, 23 及び 24)ではこれらの項目に検体投与に関連した変化は認められず、偶発的な変化と考えられた。

160ppm 群では変化は認められなかった。

表 2-1 血液学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄		雌	
	800	4000	800	4000
投与群 (ppm)				
ヘマトクリット		↓88	↓94	↓81
ヘモグロビン		↓87	↓97	↓85
赤血球		↓81	↓92	↓78
MCHC			↑103	↑104
MCV		↑108	↑101	↑104
白血球数		↑145		↑137
好中球	↑185	↑148		↑172
リンパ球		↑145		↑135
血小板		↑125	↑116	↑124

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの

↑↓: P<0.05 ↑↓: P<0.01 (William test)

表 2-2 血液学的検査 (赤血球形態所見、所見の見られた例数)

性		雄				雌			
		0	160	800	4000	0	160	800	4000
多染性赤血球		9	9	9	0	10	10	9	6
	異常なし	9	9	9	0	10	10	9	6
	程度 1	0	1	1	10	0	0	1	↑4
赤血球大小不同		7	7	5	0	10	10	7	2
	異常なし	7	7	5	0	10	10	7	2
	程度 1	2	3	3	8	0	0	3	8
	程度 2	0	0	2	2	0	0	0	0
	頻度合計	2	3	5	▲10	0	0	3	▲8

↑↓ : P<0.05 ▲▼ : P<0.01 (Fisher 検定、申請者実施)

不同血球症は合計について検定した。

6-2) 血液生化学的検査

血液学的検査の採血と同時に同一動物からヘパリン処理して採血した血漿を用いて以下の項目について検査した。

グルコース (Glu)、窒素、クレアチン (Cre)、総ビリルビン (T. Bil)、総コレステロール (T. Chol)、アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)、アラニンアミノトランスフェラーゼ (ALT)、乳酸脱水素酵素 (LDH)、クレアチンキナーゼ (CPK)、アルカリホスファターゼ (ALP)、γ-グルタミントランスフェラーゼ (GGT)、オルニチンカルバミルトランスフェラーゼ (OCT)、カルシウム (Ca)、リン (P)、ナトリウム (Na)、カリウム (K)、塩化物 (Cl)、総蛋白、蛋白電気泳動及びA/G比、血漿コリンエステラーゼ、赤血球コリンエステラーゼ。また、後述するように剖検時に採取した大脳の右半球について脳コリンエステラーゼ活性を測定した。

表 3 に対照群と比べ有意差のみられた項目を示す。

800ppm 以上の雄及び 4000ppm 群の雌でグロブリンの増加、800ppm 以上の雄で総蛋白の増加が認められた。雌の 4000ppm のみでみられたアルブミンの低下はこの群のグロブリンの増加に関連した可能性も考えられた。

また 4000ppm 雌雄で ALT の上昇、同群雄で AST の上昇、雌で ALP の上昇が認められた。これらはいずれも、検体投与に関連したものと考えられた。4000ppm 雌雄の Glu の低下及び雄の T. Chol の上昇は、このときの対照群値が Glu は高めであり、T. Chol は低めであったことに関連しており、またラットを用いたより長期の試験ではみられないことから、偶発的な変化と考えられた。

雄の全投与群でみられたナトリウムの低下は、軽度であることから毒性学的な意義はないものと考えられた。

脳コリンエステラーゼ活性が雄の 800ppm 以上で低下した。しかし本検体のラットを用いたより長期の試験のうち、脳、血漿及び赤血球コリンエステラーゼの測定を行った試験 (資料 No. 原体-23, 24) において、いずれのコリンエステラーゼ活性にも影響はみられなかった。さらに本試験においても赤血球コリンエステラーゼに変化は認められず、4000ppm の血漿コリンエステラーゼは反対に上昇していた。また雌では変化は認められなかった。以上のことから本検体はアセチルコリンエステ

ラーゼ阻害作用を有さないものと考えられる。従って本所見は偶発的な変化と考えられた。

160ppm 群では検体投与に関連した変化はなんら認められなかった。

表 3 血液生化学的検査 (有意差の認められた項目)

性	雄			雌
	160	800	4000	4000
投与群 (ppm)				
Glu			↓ 89	↓ 88
総タンパク		↑ 109	↑ 109	
アルブミン				↓ 91
グロブリン		↑ 117	↑ 124	↑ 117
ALP				↑ 164
AST			↑ 129	
ALT			↑ 150	↑ 124
ナトリウム	↓ 99	↓ 98	↓ 98	
T. Chol				↑ 118
血漿コリンエステラーゼ			↑ 127	
赤血球コリンエステラーゼ		(106)	(103)	
脳コリンエステラーゼ		↓ 80	↓ 79	

表中の数値は変動の目安として対照群を 100 とした場合の値を表したもの。かっこ内は統計学的有意差は認められないが、参考のために記載した。

↑ ↓ : P<0.05 ↑ ↓ : P<0.01 (William test)

8) 剖検

投与終了時に全生存動物を二酸化炭素によって窒息致死させ剖検した。また途中死亡例についても剖検した。

脾臓のうっ血が 4000ppm 群雌雄の全例及び 800ppm 群雄の 10 例中 7 例に、腫大が 4000ppm 群雄の全例に認められた。これらは検体投与による造血亢進作用に関連したものと考えられた。

表 4 剖検所見

性別	雄				雌			
	0	160	800	4000	0	160	800	4000
投与量 (ppm)								
脾臓	検査動物数	10	10	10	10	10	10	10
	腫大	0	1	3	10**	0	0	0
	うっ血	0	1	7**	10**	0	0	1

* : P<0.05, ** : P<0.01 (Fisher検定、申請者実施)

9) 臓器重量

投与終了時に全動物の以下の臓器重量を測定し対体重比も算出した。

脳*、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、副腎、甲状腺、下垂体、卵巣、精巣、子宮

*脳は左半球のみを測定し、反対側はコリンエステラーゼ活性の測定に供した。

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
 対照群と比較して有意差が見られた臓器を下表に示す。

表5 臓器重量（有意差の認められた項目）

性 別		雄	雌
投与群 (ppm)		4000	4000
脾臓	対体重比*	▲192	▲138
甲状腺	実重量		▲127
	対体重比	▲144	
肝臓	対体重比	↑111	
下垂体	実重量		↓82

表中の数値は変動の目安として対照群を100とした場合の値を表したものの。

*対体重比は最終体重で実重量を補正した値。

↑↓：P<0.05 ▲▼：P<0.01（ANOVA、いずれも体重との共分散分析）

脾臓の対体重比重量が4000ppm雌雄で統計学的有意差を伴って増加し、投与に関連したものと考えられた。これらは剖検時及び後述の病理組織学的検査で認められた脾臓の腫大及びうっ血に関連したものと考えられた。

4000ppm群の甲状腺実重量あるいは対体重比の増加が雄雌で認められ、病理組織学的検査においてこれらの群で濾胞細胞の肥大が認められたことから、検体投与に関連した可能性が考えられた。

また、肝臓の対体重比重量が4000ppm群雄で統計学的有意差を伴って増加したが、これは投与に関連した可能性が示唆されたものの、病理組織学的に関連する変化が認められないことから、毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。下垂体重量は4000ppm群雌で統計学的有意差を伴って低下したが、個体別値はいずれも背景データ範囲内であり、対体重比重量には有意差は認められず、関連した病理組織学的所見がないことから毒性学的な意義は不明であった。その他の変化はみられなかった。

9) 病理組織学的検査

剖検時、以下の臓器を採取し全例について以下の臓器、組織の病理標本を作成した。染色はヘマトキシリンエオジンで行った。対照群及び4000ppm群について検査を行った。ただし、腎臓、肝臓、肺、脾臓及び甲状腺については全群について実施した。

副腎、大動脈、脳(髄質、大脳及び小脳皮質)、消化管(食道、胃、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸)、心臓、腎臓、肝臓、肺、リンパ節(腸間膜及び頸部)、卵巣、膵臓、下垂体、唾液腺、坐骨神経、脾臓、胸骨(骨髄を含む)、精巣、胸腺、甲状腺(上皮小体)、気管、膀胱、子宮、異常部位

表 6 病理組織学的検査結果

性		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	160	800	4000	0	160	800	4000
検査動物数		10	10	10	10	10	10	10	10
脾臓	うっ血	0	6**	9***	10***	0	0	3	8***
	血鉄素沈着軽微～中等度	0	0	4*	0	3	1	9**	10**
甲状腺	濾胞細胞肥大 軽微～中等度	0	1	4*	8***	0	0	3	9***
腎臓	皮質部尿管褐色色素沈着軽微	0	0	0	7**	0	0	0	1

* : P<0.05, ** : P<0.01, *** : P<0.001 (Fisher検定、申請者実施)

脾臓のうっ血が雄では 800ppm 以上で、雌では 4000ppm でみられた。脾臓のうっ血は検体投与に対する反応の極めて初期の所見であり、毒性学的に意味のある変化と考えられる。一方、雄の 160ppm 群でも脾臓にうっ血が認められたが、これ以外の所見が病理組織学的検査を含めすべての検査項目で認められないことから、この群で認められた脾臓の病変は毒性学的に意味のある変化とは考えられなかった。

脾臓の血鉄素沈着が雌の 800ppm 以上で増加した。雄の 800ppm で認められたこの所見の有意な増加は 4000ppm で認められないことから、偶発的な変化と考えられた。また腎臓の色素沈着が雄 4000ppm 群で、甲状腺濾胞細胞の肥大が雄の 800ppm 以上、雌 4000ppm で増加した。これらの所見は投与と関連した可能性が示唆された。

以上の結果、本剤の影響として 4000ppm 群雌雄で蒼白な体表、増体重抑制、摂餌量低下、脾臓重量対体重比及び甲状腺の実重量あるいは対体重比の増加及び赤血球形態検査で多染性赤血球及び赤血球大小不同の増加がみられた。雄の 4000ppm 群及び雌の 800ppm 以上でヘマトクリット、ヘモグロビン、赤血球数の低下、MCV の増加及び血小板数の増加、雌の 800ppm 以上のみで MCHC の増加が認められた。また雄の 800ppm 以上及び雌の 4000ppm 群でグロブリンの増加、4000ppm 雌雄で ALT の上昇、同群雄で AST の上昇、雌で ALP の上昇が認められた。病理組織学的検査においては雌 800ppm 以上で脾臓の血鉄素沈着、雄の 800ppm 以上及び雌 4000ppm 群で脾臓のうっ血及び甲状腺の濾胞細胞肥大、雄の 4000ppm 群で腎臓の色素沈着がみられた。

従って、デスメディファムの無毒性量 (NOAEL) は、雌雄ともに飼料中濃度 160 ppm (雄 : 10.6mg/kg/日, 雌 : 12.3mg/kg/日) と判断された。