

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(7) 変異原性試験

1) 遺伝子突然変異誘発性

(資料 No.22)

フェンメディファム原体の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験方法： ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 5 株 (*Salmonella typhimurium* TA1535、TA1537、TA1538、TA98 および TA100) を用い、ラット肝由来の代謝活性化系 (S9 mix) の非存在下および存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、1.0~10,000  $\mu\text{g}$ /プレートの範囲で 8 用量とし、各用量 3 枚のプレートを用いて独立して 2 回本試験を実施した。

結果の判定は、溶媒対照値が背景データの正常範囲内にあり、用量反応曲線において 3 段階以上の用量範囲で復帰突然変異コロニーの増加がみられ、ピークを示す用量で TA1535、TA1537 および TA1538 株では溶媒対照値の 3 倍以上、TA98 および TA100 株では溶媒対照値の 2 倍以上の復帰突然変異コロニー数が認められる場合に陽性と判定した。

溶媒対照値の背景データの正常範囲を以下に示す。

試験菌株	TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
コロニー数/プレート	8~30	4~30	10~35	20~75	80~250

試験結果： 本試験の結果を表 1 および 2 に示した。

1 回目の本試験において、S9 mix の有無にかかわらず、すべての試験菌株において復帰突然変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたアジ化ナトリウム、キナクリンマスタード、2-ニトロフルオレンおよび 2-アミノアントラセンは、対応するすべての試験菌株に対して明らかな復帰突然変異コロニー数の増加を示した。2 回目の本試験においても同様の結果が得られ、試験結果の再現性が確認された。ただし、TA1537 株が S9 mix 非存在下でキナクリンマスタードに対して比較的低い復帰突然変異コロニー数を示したが、S9 mix 存在下では 2-アミノアントラセンに対して正常な値を示したことから、試験の有効性に影響はないと判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

以上の結果から、フェンメディファム原体は代謝活性化系を含む本試験条件下で、細菌に対して復帰突然変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

本試験結果（1回目）

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有 無	復帰突然変異コロニー数/プレート (3プレートの平均値 $\pm$ 標準偏差)				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照	DMSO	-					
検体	1	-					
	10	-					
	100	-					
	500	-					
	1000	-					
	2500	-					
	5000	-					
	10000	-					
対照	DMSO	+					
検体	1	+					
	10	+					
	100	+					
	500	+					
	1000	+					
	2500	+					
	5000	+					
	10000	+					
陽 性 対 照	SA	10	-				
	QM	5	-				
	NF	10	-				
	2AA	2.5	+				

注) SA : アジ化ナトリウム

QM : キナクリンマスタード

NF : 2-ニトロフルオレン

2AA : 2-アミノアントラセン

\* : 3枚のうち1枚のプレートにコンタミネーションが認められたため、2枚のプレートの平均値 $\pm$ 標準偏差を示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

本試験結果（2回目）

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有 無	復帰突然変異コロニー数/プレート (3プレートの平均値 $\pm$ 標準偏差)				
			塩基対置換型		フレームシフト型		
			TA1535	TA100	TA1537	TA1538	TA98
対照	DMSO	-					
検体	1	-					
	10	-					
	100	-					
	500	-					
	1000	-					
	2500	-					
	5000	-					
	10000	-					
対照	DMSO	+					
検体	1	+					
	10	+					
	100	+					
	500	+					
	1000	+					
	2500	+					
	5000	+					
	10000	+					
陽 性 対 照	SA	10	-				
	QM	5	-				
	NF	10	-				
	2AA	2.5	+				

注) SA : アジ化ナトリウム  
 QM : キナクリンマスタード  
 NF : 2-ニトロフルオレン  
 2AA : 2-アミノアントラセン

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

1) 遺伝子突然変異誘発性 (2)

(資料 No.22-1)

フェンメディファム原体の細菌を用いた復帰突然変異試験

試験方法: ヒスチジン要求性のネズミチフス菌 4 株 (*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537) および大腸菌 (*Escherichia coli*) 株 WP2uvrA (Pkm101) を用い、ラット肝由来の代謝活性化系 (S9 mix) の非存在下および存在下で Ames らの方法により変異原性を検定した。

検体はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解し、ネズミチフス菌では 9.77~313 µg /プレート の範囲で 6 用量、大腸菌では 313~5,000ug /プレート /の範囲で 5 用量とし、各用量 2 枚のプレートを用いて実施した。

結果の判定は、いずれかの菌株の一つまたはそれ以上の用量で復帰変異コロニー数が陰性対照群の 2 倍以上に増加し、かつその増加に用量依存性あるいは再現性が認められる場合に陽性と判定した。

陰性対照群の背景データの正常範囲を以下に示す。

試験菌株	TA100	TA1535	WP2uvrA (pKM101)	TA98	TA1537
コロニー数/プレート	53~110	4.2~16.5	72~178	6.5~24.5	1.0~11

試験結果: 本試験の結果を表 1 に示した。

代謝活性下非存在下および存在下において、大腸菌を含む各菌株のいずれの用量においても復帰変異コロニー数は陰性対照群の 2 倍を超えず、用量依存的な増加もなかったことから、陰性と判断した。一方、各菌株における陽性対照群の復帰コロニー数は、いずれも陰性対照群と比較して顕著な増加が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

復帰変異コロニー数の

計測には影響がなかった。

本試験用量の各菌株における陰性対照群および陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は背景データの範囲内であった（表2および表3）。

以上の結果より、当該試験条件下において、フェンメディファムの復帰突然変異誘発性は陰性と判断した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1. 本試験の結果

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有無	復帰突然変異コロニー数/プレート 2プレートの平均値 (かっこ内は個別値)				
			塩基対置換型			フレームシフト型	
			WP2 $uvrA$ (pKM101)	TA1535	TA100	TA1537	TA98
対照 (DMSO)	0	-					
検体	9.77	-					
	19.5	-					
	39.1	-					
	78.1	-					
	156	-					
	313	-					
	625	-					
	1250+	-					
	2500+	-					
	5000+	-					
対照 (DMSO)	0	+					
検体	9.77	+					
	19.5	+					
	39.1	+					
	78.1	+					
	156	+					
	313	+					
	625	+					
	1250+	+					
	2500+	+					
	5000+	+					

+: 析出

\*: 生育阻害

(次頁につづく)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

薬物	濃度 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	S9 mix の 有 無	復帰突然変異コロニー数/プレート 2プレートの平均値 (かっこ内は個別値)					
			塩基対置換型			フレームシフト型		
			WP2uvrA (pKM101)	TA1535	TA100	TA1537	TA98	
陽 性 対 照	2-NF	5.0	-					
	SA	1.5	-					
	9-AA	80.0	-					
	AF2	0.005	-					
	2-AA	1.0	+					
		2.0	+					
3.0		+						

2-NF : 2-ニトロフルオレン

SA : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン

AF2 : 2- (2-フリル) -3- (5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド

2-AA : 2-アミノアントラセン

表2. 復帰変異コロニーのヒストリカル陰性コントロール値

系統	S9 mix の有無	N	平均 $\pm$ SD	分布域	
				下限	上限
TA100	-	112			
	+	112			
TA1535	-	112			
	+	112			
WP2uvrA (pKM101)	-	112			
	+	112			
TA98	-	112			
	+	112			
TA1537	-	112			
	+	112			

陰性コントロール: 注入のための水、ジメチル硫酸、アセトン、0.5%メチルセルロース1,500cP、0.5% カ  
ルボキシメチルセルロースナトリウム塩溶液

分布域は $\bar{X}-R-\bar{R}_s$  値から導かれたコントロール値制限値のXにより計算された。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表3. 復帰変異コロニーのヒストリカル陽性コントロール値

系統	S9 mix の有無	陽性 対照	投与 ( $\mu\text{g}/$ プレート)	N	平均 $\pm$ SD	分布域	
						下限	上限
TA100	-	SA					
	+	2-AA					
TA1535	-	SA					
	+	2-AA					
WP2uvrA (pKM101)	-	AF2					
	+	2-AA					
TA98	-	2-NF					
	+	2-AA					
TA1537	-	9-AA					
	+	2-AA					

SA:アジドナトリウム塩

2-AA: 2-アミノアントラセン

AF2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

2-NF: 2-ニトロフルオレン

9-AA: 9-アミノアクリジン

上記のヒストリカルコントロール値は2010年10月8日から2011年9月24日の間にプールされたデータから得た。

分布域は $\bar{X}-R-\bar{R}_s$  値から導かれたコントロール値制限値のXにより計算された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

## 2)染色体異常誘発性

フェンメディファム原体のヒト末梢血リンパ球を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (資料 No. 23)

試験方法： 健康な成人男性から採取した末梢血リンパ球を用い、ラット肝由来の代謝活性化系 (S9 mix) の非存在下および存在下で染色体異常の誘発性を検討した。

検体を DMSO に溶解して調製した試験液による細胞の処理時間は、S9 mix 非存在下で 18 時間、S9 mix 存在下では 3 時間とした。陽性対照として S9 mix 非存在下ではメタンスルホン酸エチル (EMS) を、S9 mix 存在下ではシクロホスファミド (CPA) を用いた。陽性対照および検体の各用量には 2 枚のプレートを、溶媒対照には 4 枚のプレートを用いた。陽性対照を除き、各プレートあたり 1000 細胞中の分裂中期細胞の割合から分裂指数を算出して細胞毒性を調べ、分裂指数をもとに染色体分析を行う用量を決定した。染色体の観察は、44~46 本の染色体を持つ細胞を対象に各プレートあたり 100 個、陽性対照および検体は各用量あたり 200 個、溶媒対照は 400 個の分裂中期像について行い、染色体異常を有する細胞の出現頻度を算出した。

染色体異常を有する細胞の出現頻度について、ギャップを含む場合と含まない場合で Fisher の正確確率検定法により有意差検定を実施し、統計学的に有意な高値がみられる場合を陽性と判定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

本試験結果： 本試験の結果を表 1、2 に示した。

2 回日本試験においては、S9 mix 非存在下で 62.5 µg/mL 以上、S9 mix 存在下では 100 µg/mL 以上で処理開始時に検体の沈殿が観察された。

1 回目および 2 回目の本試験とも、陽性対照の EMS および CPA では染色体異常を有する細胞の出現頻度に統計学的に有意な増加が認められた。

溶媒対照値の背景データの範囲を以下に示す。

S9	総細胞数	ギャップを含まない場合				ギャップを含む場合			
		異常細胞数	平均出現率(%)	出現率(%)の範囲		異常細胞数	平均出現率(%)	出現率(%)の範囲	
				最小	最大			最小	最大
-	176121	1646	0.93	0	5.25	1972	1.12	0	6.5
+	195297	1741	0.89	0	5.25	2161	1.11	0	6.5

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

S9 mix

の有無にかかわらず、検体の沈殿が観察されるとともに細胞毒性が認められる高用量域で、ヒト末梢血リンパ球に対し染色体異常を誘発するものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表1 染色体異常試験結果(1回目)

薬 剤	処理濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	S9 mix の有無	処理時 間(hr)	観察細 胞数	相対 分裂 指数 (%)	染色体異常数					異常細胞数と出現率(%)											
						染色分体型		染色体型		その他	ギャップ		-g		+g							
						切断	交換	切断	交換		染色分 体型	染色 体型	異常細 胞数	平均出現 率(%)	異常細 胞数	平均出 現率(%)						
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{L}/\text{mL}$	-	18	100																		
				100																		
				100																		
				100																		
検 体	31.3					100																
	125 #					100																
				250 #			100															
	陽性対照 EMS			500			100															
						100																
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{L}/\text{mL}$			+	3	100																
						100																
						100																
		100																				
検 体	25					100																
	100					100																
		160 #					100															
	陽性対照 CPA	10					100															
						100																

EMS : メタンスルホン酸エチル CPA : シクロホスファミド # : 処理開始時に検体の沈殿が観察された \*\*\* :  $P < 0.001$  (Fisher の正確確率検定法)

n.t. : 観察しなかった -g : ギャップを含まない場合 +g : ギャップを含む場合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表2 染色体異常試験結果（2回目）

薬物	処理濃度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	S9 mix の有無	処理時間 (hr)	観察細胞数	相対分裂 指数 (%)	染色体異常数					異常細胞数と出現率(%)								
						染色分体型		染色体型		その他	ギャップ		-g		+g				
						切断	交換	切断	交換		染色分 体型	染色体 型	異常細胞 数	平均出 現率(%)	異常細胞 数	平均出現 率(%)			
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{L/mL}$		18	100															
				100															
				100															
				100															
検体	62.5 #		18	100															
				100															
	150 #			100															
				100															
200 #	100																		
	100																		
陽性対照 EMS	500		18	100															
				100															
溶媒対照 (DMSO)	10 $\mu\text{L/mL}$			+	3	100													
						100													
		100																	
		100																	
		検体	25			100													
						100													
100 #	100																		
	100																		
140 #	100																		
	100																		
160 #	100																		
	100																		
陽性対照 CPA	15		3	100															
				100															

EMS : メタンスルホン酸エチル CPA : シクロホスファミド # : 処理開始時に検体の沈殿が観察された \*\*\* :  $P < 0.001$  (Fisherの正確確率検定法)

n.t. : 観察しなかった -g : ギャップを含まない場合 +g : ギャップを含む場合

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

3) フェンメディファム原体のマウスを用いた小核試験

(資料 No.24)

供試動物： NMRI マウス、1 群雌雄各 5 匹

試験方法： 検体をアラキス油に懸濁し、15 g/kg の用量を単回強制経口投与した。溶媒対照群にはアラキス油を、陽性対照群には蒸留水に溶解した 50 mg/kg のシクロホスファミド (CPA) を単回投与した。溶媒および検体の投与容量は とし、陽性対照は 10 mL/kg とした。溶媒対照群および検体投与群については投与 24、48 および 72 時間後に、陽性対照群については投与 24 時間後にマウスを屠殺して大腿骨を摘出し、牛胎児血清を用いて骨髓細胞を採取した。常法により骨髓塗抹標本作製し、メイグリュンワルド/ギムザ液で染色した。検体投与群および陽性対照群については骨髓細胞の各採取時期に雌雄各 5 匹から骨髓塗抹標本作製し、溶媒対照群については投与 24 時間後に雌雄各 2 匹、投与 48 時間後に雄 2 匹および雌 1 匹、72 時間後に雄 1 匹および雌 2 匹からそれぞれ骨髓塗抹標本作製した。

各動物について顕微鏡下で骨髓塗抹標本を観察し、1000 個の多染性赤血球について小核を有する多染性赤血球を計数した。また、骨髓での細胞毒性の指標として、1000 個の全赤血球 (多染性赤血球と正染性赤血球) を観察し、多染性赤血球数の占める割合を求めた。小核を有する多染性赤血球の出現頻度について、検体投与群と溶媒対照群間で統計学的有意差検定を行った。

試験結果： 結果を次頁に示した。

いずれの骨髓採取時期においても小核を有する多染性赤血球の出現頻度に、溶媒対照と比べ統計学的に有意な増加は認められなかった。一方、CPA を投与した陽性対照群では小核を有する多染性赤血球の頻度に明らかな増加が認められた。また、いずれの骨髓採取時期においても溶媒対照と比べ全赤血球中に占

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

める多染性赤血球の割合にわずかな減少が認められ、15 g/kg の用量は骨髄における赤血球生成に対して影響する限界用量であることを示している。

以上の結果から、フェンメディファム原体は本試験条件下で雌雄マウスの骨髄細胞に小核を誘発しないものと判断される。

#### 小核試験観察結果

採取時間(hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	性	観察動物数	MNPCE% (平均値±SD)	PCE/(PCE+NCE)% (平均値±SD)
24	陰性対照 <sup>a</sup>		雄	2		
			雌	2		
	検体		雄	5		
			雌	5		
	陽性対照 <sup>b</sup>		雄	5		
			雌	5		
48	陰性対照 <sup>a</sup>	雄	2			
		雌	1			
	検体	雄	5			
		雌	5			
72	陰性対照 <sup>a</sup>	雄	1			
		雌	2			
	検体	雄	5			
		雌	5			

PCE：多染性赤血球

NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

MNNCE：小核を有する正染性赤血球

a：アラキス油

b：シクロフォスファミド

\*：p < 0.0001 (Bolm's method)



資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(8) 生体機能への影響に関する試験

1) ラットの中枢神経に対する作用

(資料No.25)

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット、7週齢、

1群6匹

試験方法：検体を溶媒(1%メチルセルロース)に懸濁し、

経口投与した。Irwin法による行動観察は投与前、投与45、90、150および300分後並びに投与2日目にケージサイドから行った。観察後、直腸温の測定、自発運動の評価を行った。動物の生死および遅発性毒性影響について投与後7日間観察した。

試験結果：観察期間中、検体投与による行動あるいは生理的状态に変化は認められなかった。また、対照群に比較して自発運動あるいは体温に及ぼす悪影響は認められなかった。投与7日後まで死亡も肉眼的毒性症状も認められなかった。

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

2) ラットの呼吸に対する作用

(資料No.26)

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット、7週齢、

1群8匹

試験方法：検体を溶媒(1%メチルセルロース)に懸濁し、

経口投与した。陽性対照としてパクロフェンを同じ溶媒に懸濁し、30 mg/kgを同様に投与した。

ラットは全身プレチスモグラフィチャンバーに収容し、60分間にわたり呼吸数、一回換気量および分時拍出量を測定した。測定後、ラットをチャンバーから取り出し、溶媒、検体あるいは陽性対照物質を投与直後に、再度チャンバーに収容し、投与後30、60、90、120、150、180、210および240分の時点で同様に測定した。

投与前のデータは測定期間の最後の20分間の平均値とした。投与後のデータは240分の時点を除き、各測定時点の前後各2分間×5(合計20分間)の平均値とした。240分の時点は投与後220~240分のデータの平均値とした。

試験結果：分時拍出量、一回換気量および呼吸数を次表に示す。

経口投与後、30および180分の時点で呼吸数および分時拍出量の有意な減少が溶媒対照群に比し認められた。しかし、その他のすべての時点で呼吸数、一回換気量および分時拍出量に顕著なあるいは統計学的に有意な変化が認められないので、偶発的で、投与関連性がないと考えられる。したがって、検体は

呼吸作用に対し悪影響がないと判断される。

パクロフェンは投与後60、90、120、150、180および240分の時点で分時拍出量の顕著なあるいは有意な増加が溶媒対照群に比し認められた。呼吸数は投与後120、150、180、210および240分の時点で有意に減少し、一回換気量は投与後すべての測定時点で有意に増加した。これらの結果は予想通りで、試験系が有効であることを示している。

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

投与後時間	群 (mg/kg)	分時拍出量 (mL/分)	一回換気量 (mL)	呼吸数/分
30分				
60分				
90分				
120分				
150分				
180分				
210分				
240分				

統計学的方法：共分散分析の誤差平均平方に基づくt-検定

↑↓ :  $p < 0.05$ , 0↓ :  $p < 0.01$ , 00↓ :  $p < 0.001$

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

3) ラットの腎機能に対する作用

(資料No.27)

供試動物：Sprague-Dawley系雄ラット、8週齢、

1群8匹

試験方法：検体を溶媒(1%メチルセルロース)に懸濁し、

経口投与した。投与前に一晚絶食させ、また投与約2時間前から絶水させた後、10 mL/kgの容量で投与した。投与直後に代謝ケージに入れ、24時間採尿し、尿量を投与1、2、4、6および24時間後に測定した。給餌および給水は尿採取6時間後に再開した。6時間尿を用いてNa、K、Clおよび比重を測定した。

試験結果：排泄尿量、電解質 (Na、K、Cl) の排泄および尿比重について次表に示す。

群 (mg/kg)	24 時間 尿量(mL)	電解質* (mmol/L)			電解質* (平均総排泄量 $\mu$ mol)			比重* (g/L)
		Na	K	Cl	Na	K	Cl	
	7.9	23.1	54.9	21.9	67.9	131.9	59.4	1015
	8.6	23.7	58.3	39.6	52.9	133.5	84.8	1020
	12.5 $\uparrow$	94.3 $\uparrow$	34.6	121.9 $\uparrow$	836.3 $\uparrow$	310.0 $\uparrow$	1083.0 $\uparrow$	1008 $\downarrow$

\*：投与後6時間尿

統計学的方法：Student's t-検定。  $\uparrow$  $\downarrow$ :p<0.01

検体投与によると思われる変化は認められなかった。

これに対し、陽性対照は24時間尿の有意な増加が認められ、6時間尿中の電解質 (Na およびCl) の排泄および排泄された電解質 (Na、K、Cl) の総量の有意な増加並びに尿比重の有意な低下が認められた。これらの結果は予想通りで、試験系が有効であることを示している。

以上の結果から、検体投与による尿量、電解質の排泄および尿比重に及ぼす影響は認められなかった。

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

4) イヌの心血管系に対する作用

(資料No.28)

供試動物：ビーグル犬雄、約12ヵ月齢、1群4頭

試験方法：投与前測定時の体重に基づいて 検体をカプセルに充填した。テレメトメータを埋入した無麻酔犬の1群の体重を投与日に測定後、カプセルを経口投与した。

テレメーターによる計測は少なくとも投与90分前～投与後12時間に亘り、動脈血圧（収縮期、拡張期および平均）、心拍数、ECG第II誘導およびPR、QRS、QT並びにQTcR（心拍数の変化により補正したQT）を測定した。

投与前の計測：テレメーターによる計測を偽薬投与前少なくとも90分間、さらに投与セッションと同様の方法で偽薬投与後少なくとも24時間に亘って行った。各データポイントで1分間に亘るデータの平均値を用いて、各動物の心拍数の変化によるQT補正係数を算出した。

測定ポイント：各セッションとも少なくとも投与90分前から投与後12時間に亘り連続して計測した。第1セッションを行った後、1週間後に交差法で第2セッションを行った。投与開始前約60、55、50、45、40、35および30分、投与後0.5、0.75、1、2、3、4、5、6、7、8、10および12時間のポイントの1分間についてデータの解析を行い、平均値を算出した。

症状の観察：各セッションの期間中、投与関連性があると思われる行動あるいは自律神経系の変化並びに一般症状について観察した。

試験結果：

症状の観察：対照群および投与群とも一般症状および行動に投与による悪影響は認められなかった。淡色の糞が第2セッションの2動物で検体投与後翌朝に認められたが、これは検体が白色のためと考えられた。

テレメーターによる計測：計測項目の内、対照に比較し、統計学的有意差の認められた項目について次表に示す。

収縮期血圧は投与後3時間および心拍数は投与後12時間に有意な低下が、PR間隔は

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

投与後12時間およびQT間隔は投与後0.75時間に有意な増加が認められた。いずれの変動も偶発的影響で、投与関連性はないと考えられた。その他の検査項目（拡張期血圧、平均動脈血圧、QRS間隔およびQTcR）には有意な差は認められなかった。また、投与に関連があると考えられる異常なECG波形は認められなかった。

対照に比較し、統計学的有意差の認められた測定項目

測定時間 (投与後)	収縮期血圧		心拍数		PR 間隔		QT 間隔	
0.5								
0.75								
1								
2								
3								
4								
5								
6								
7								
8								
10								
12								

統計学的方法：共変動として投与前値を用い、共分散分析を行い、t-検定で対照と比較した。

↑↓：p<0.05

以上の結果から、検体 の経口投与による一般状態および行動における悪影響は認められず、また動脈血圧、心拍数、ECG第II誘導あるいは波形に明確な影響は認められなかった。

資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

生体機能影響試験の総括表

試験項目 (試験動物)	投与経路 (溶媒)	投与量 (mg/kg)	動物 数/群	作用量 (mg/kg)	無作用量 (mg/kg)	結果の概要
中枢神経系 行動観察  (雄ラット)			6		2000	
呼吸器系 呼吸数、一回 換気量、分時 拍出量 (雄ラット)			8		2000	
心血管系 動脈血圧、心 拍数、ECG第 II誘導、PR、 QRS、QT、 QTcR (雄イヌ)			4		1000	
腎機能 尿量、電解質 (Na、K、Cl)濃 度、排泄量、尿 比重 (雄ラット)			8		2000	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

## 2. 製剤

### (1) フェンメディファム 16%水和剤のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 No.1)

検体の純度：16%

[組成] フェンメディファム原体 16%  
水、界面活性剤等 84%

供試動物：CRJ:CD(SD)系ラット、8週齢、

雌6匹

観察期間：14日間

投与方法：検体の比重は1.064であったので、

第1及び2段階にそれぞれ3匹ずつ経口投与した。

観察・検査項目：中毒症状及び生死を投与当日(0日)は投与後30分後までは頻繁に、その後は投与後1,2,4,6時間、投与後1日から14日までは毎日1回14日間観察した。体重は投与当日(投与前)、投与後3,7および14日(剖検日)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行った。

結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	
LD <sub>50</sub> (mg/kg) (95%信頼限界)	雌 >2000
死亡開始時間 及び終了時間	なし
症状発現時間 及び消失時間	なし
毒性徴候の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雌 2000
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雌 2000

中毒症状及び体重変化に異常は、認められなかった。  
肉眼的病理検査では変化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ユービーエルジャパン株式会社にある。

(2) フェンメディファム 16%水和剤のラットにおける急性経皮毒性試験

(資料 No.2)

検体の純度: 16%

〔組成〕 フェンメディファム原体 16%  
水、界面活性剤等 84%

供試動物: CRJ:CD(SD)系ラット、8~9週齢、  
1群雌雄各5匹

観察期間: 14日間

投与方法: 検体の比重は1.064であったので、検体を希釈せず  
検体を刈毛した背部に24時間塗布した。

観察・検査項目: 中毒症状及び生死を投与当日(0日)は投与後30分後までは頻繁に、その後は投与後1,2,4,6時間、投与後1日から14日までは毎日1回14日間観察した。体重は投与当日(投与前)、投与後3,7および14日(剖検日)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行った。

結果:

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	
LD <sub>50</sub> (mg/kg)	雌雄とも >2000
死亡開始時間 及び終了時間	なし
症状発現時間 及び消失時間	なし
毒性徴候の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000
死亡例の認められなかつた最高投与量 (mg/kg)	雌雄とも 2000

中毒症状は、雌雄共に認められなかった。

肉眼的病理検査では変化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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

(3) フェンメディファム 16%水和剤のウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 No.3)

検体の純度: 16%

[組成] フェンメディファム原体 16%  
水、界面活性剤等 84%

供試動物: ニュージーランド ホワイト種ウサギ(Yac:NZW(KBL))、SPF、雄 16 週齢、  
1 群雄 3 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 動物の背部を刈毛し、正中線を対称軸に左右各1カ所を 2.5 cm 四方の投与部位として、検体 0.5 mL を 2.5 cm 四方のリント布に塗布し適用した。暴露時間は 4 時間とし、皮膚に残った検体は微温湯で除去した。

観察項目: 暴露終了後 1、24、48 及び 72 時間、適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)の有無等を観察し、Draize の判定基準に従って評価した。

結果: 観察した刺激性変化の評価は下表のとおりである。

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	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
	浮腫	4	0	0	0	0
合計	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0
平均	紅斑・痂皮	4	0	0	0	0
	浮腫	4	0	0	0	0

一般状態、体重変化に異常は認められなかった。

それぞれの観察時間において適用部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)は認められなかつ

た。

以上の結果から、本剤はウサギの皮膚に対して刺激性がないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

(4) フェンメディファム 16%水和剤のウサギを用いた眼刺激性試験

(資料 No.4)

検体の純度: 16%

[組成] フェンメディファム原体 16%  
水、界面活性剤等 84%

供試動物: ニュージーランド ホワイト種ウサギ(Yac:NZW(KBL))、SPF、雄 16 週齢、  
洗眼群及び非洗眼群各 3 匹

観察期間: 3 日間

投与方法: 検体 0.1ml を右眼に適用し、左眼は無処置対照とした。

3 匹は投与 30 秒後に洗眼し、3 匹については洗眼しなかった。

観察項目: 適用後 1、24、48 及び 72 時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察し、  
Draize の基準に従って評価した。また、一般状態及び体重変化についても観察  
を行った。

結果: 観察した刺激性変化の評価は下表のとおりである。

	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		4	0	0	0	0
			4	0	0	0	0
			2	0	0	0	0
			3	0	0	0	0
			4	0	0	0	0
			3	0	0	0	0
	動物番号		4	0	0	0	0
			4	0	0	0	0
			2	0	0	0	0
			3	0	0	0	0
			4	0	0	0	0
			3	0	0	0	0
	動物番号		4	0	0	0	0
			4	0	0	0	0
			2	0	0	0	0
			3	0	0	0	0
			4	0	0	0	0
			3	0	0	0	0
	合計		0	0	0	0	
平均		4	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	
		2	0	0	0	0	
		3	0	0	0	0	
		4	0	0	0	0	
		3	0	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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

(表の続き)

		項 目	最高 評点	適 用 後 時 間				
				1 時間	24 時間	48 時間	72 時間	
洗 眼 群	動物 番号		4	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			2	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
	動物 番号		4	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			2	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
	動物 番号		4	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			2	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
	合 計				0	0	0	0
	平均			4	0	0	0	0
			4	0	0	0	0	
			2	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	
			4	0	0	0	0	
			3	0	0	0	0	

非洗眼群の投与後いずれの観察時点においても眼刺激性は観察されなかった。  
 洗眼群の投与後いずれの観察時点においても眼刺激性は観察されなかった。  
 一般状態及び体重変化に異常は認められなかった。

以上の結果から、本剤はウサギの眼粘膜に対して刺激性なしと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

(5)フェンメディファム 16%水和剤のモルモットを用いた皮膚感作性試験

(資料 No.5)

検体の純度:16%

[組成] フェンメディファム原体 16%  
水、界面活性剤等 84%

供試動物: Slc:Hartley 系モルモット、SPF、5 週齢、  
非感作群 10 匹

感作群 20 匹、

観察期間: 48 時間

試験操作: 【Buehler 法】

感作; 肩部位を剃毛し、0.2 mL を塗布したパッチ (2.2×2.5 cm) を 6 時間閉塞貼付した。1 週間に 1 回、計 3 回同様に行った。

惹起; 第 1 回の感作 28 日後に左右腹側部を剃毛し、0.2 mL を塗布したパッチ (2.2×2.5 cm) を 6 時間閉塞貼付した。対照として注射用水を用いた。

観察項目: 惹起 24 及び 48 時間後に、適用部位の紅斑及び浮腫の有無等を肉眼的に観察した。

判定基準	肉眼的に変化なし	0
	軽度又は斑状の紅斑	1
	中等度びまん性の紅斑	2
	強い紅斑と浮腫	3

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

結果: 各観察時間における皮膚変化が認められた動物数を下表に示す。

群			供試動物数	感作反応動物数						陽性率					
				24時間後			48時間後			24時間	48時間				
				皮膚反応評点			皮膚反応評点								
感作	惹起		0	1	2	3	計	0	1	2	3	計			
検体			20	10	0	0	0	0/20	10	0	0	0	0/20	0%	0%
	注射用水		10	10	0	0	0	0/10	10	0	0	0	0/10	—	—
陽性対照*	1%CDNB	0.1%CDNB	10	0	0	3	7	10/10	0	0	3	7	10/10	100%	100%

検体感作群では、皮膚反応はみられなかった。

一般状態及び体重変化に異常は認められなかった。

一方、陽性対照群においては3例に中等度びまん性の紅斑、7例に強い紅斑と浮腫が認められた。

なお、陽性対照として、本試験と同時に実施していないが、定期的にジニトロクロロベンゼン(CDNB)(感作 1%オリーブ油、惹起 0.1%オリーブ油)を用いて、同様に試験を行試験手技に問題のないことを確認している。

以上の結果から、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

## 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 植物等	試験項目・ 試験方法等	試験結果の概要	試験機関 (報告年)	記載頁
代1 GLP	動物代謝 試験	ラット ♂5 ♀5	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム	1)吸収・排泄  2)組織分布  3)排泄物中代謝物		IX-7
代 1-1 GLP	動物代謝 試験	ラット ♂16 ♀24	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム			IX-22

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

代2	植物代謝 試験	てんさい ( <i>Beta vulgaris L.</i> )	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム  処理後 12、24、48 時間、4、7、15、 30 および 60 日後 に収穫し分析	葉からフェンメディ ファムが吸収されて 代謝されるため、4日 後には遊離の親化合 物は減少する。  試験期間中、根部に有 意な量の放射能は認 められなかった。		IX-29
代3 GLP	土壌中動 態試験	土壌： 壤質砂 土	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム	半減期 (DT <sub>50</sub> )		IX-42
代 3-1	土壌中動 態試験	標準土 壌	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム	半減期 (DT <sub>50</sub> )		IX-50



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

代 4	加水分解 動態試験	pH 5、7、9 緩衝液	フェンメディファ ム	半減期  pH 7 : 14.53 時間		IX-60
代 5 GLP	加水分解 動態試験	pH 4、 5、7、9 緩衝液	<sup>14</sup> C-フェンメデ イファム	半減期  pH 7 : 12 時間		IX-63
代 5-1 GLP (参 考資 料)	加水分解 動態試験	pH 4、 5、7、9 緩衝液		50℃において 120 時 間加水分解的に安定 なため、25℃では分解 しないと考えられる		IX-70
代 6 GLP	水中光分 解試験	pH 4、7 緩衝液、 自然水	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム	春期(北緯 35°)DT <sub>50</sub>  pH 7 : 1.38 日		IX-74
代 7	土壌吸着	土 壌 4 種類 (砂土、 壤 質 砂 土、砂質 壤土)	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム	測定不能		IX-85

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

代8 GLP	土壌吸着/ 脱着	土壌 3 種類 (砂土、 砂壤土、 粘土)	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム			IX-91
代9 GLP	生物濃縮 性試験	ニジマ ス ( <i>Salmo gairdne ri</i> Rich.)	<sup>14</sup> C-フェンメディ ファム			IX-94

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

<代謝分解物一覧表>

記号	由来	概要書における名称	化学名 (IUPAC) (Cas Reg. No.)	構造式
フェンメ デ・イフ ム	親化合物	フェンメ・イフ ム	メチル=3-(3-メチルカルバニロイルオキシ)カ ルバニレート  (13684-63-4)	

(次頁に続く)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

記号	由来	報告書 におけ る名称	化学名 (IUPAC) (Cas Reg. No.)	構造式

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(1) 動物代謝試験

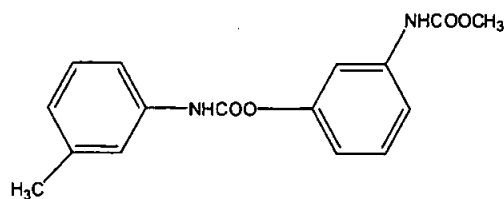
フェンメディファムのラットにおける排泄及び分布

(資料 No.代 1)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学名； 3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式；



供試動物： Sprague-Dawley (SD) 系ラット、約 6~10 週令  
1 群雌雄各 5 匹

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験方法：

試験群の構成および試料採取： $^{14}\text{C}$  標識被験物質を非標識被験物質と同位体希釈して適切な比放射能に調整し、1%トラガカントガム溶液に懸濁した。

設

定した試験群及び排泄物採取間隔、並びに屠殺時期を表1に示す。屠殺時には各動物から以下の器官・組織を採取し、放射能の測定を行った。

肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、脾臓、脳、肺、甲状腺、眼球、副腎、下垂体、卵巣、精巣、骨、心臓、皮膚、消化管、全血、血漿、カーカス

表1：試験群の構成と試料採取間隔

放射能の測定：カーカス、皮膚、卵巣、副腎、甲状腺、眼球、下垂体、筋肉、脂肪、脳、精巣、心臓および腎臓は組織溶解剤に溶解した。糞はアセトンで2回抽出後、上清と風乾残渣を得た。

液体試料（尿、ケージ洗液、組織溶解液、糞抽出液および血漿）はシンチレーションカウンタテルを添加した後、LSCで放射能を計測した。糞抽出残渣、均質化した肝臓、脾臓、骨および胃腸管並びに全血はセルロースペレットとともに燃焼し、発生した $^{14}\text{CO}_2$ を捕集液に捕集して、液体試料と同様に放射能を計測した。

代謝物の放射能測定用試料の調整：

尿：各時期に採取した尿は容量比例でプールした。プール尿試料の酵素加水分解は、一部試料を酢酸でpH5に調整後 37℃で24時間培養した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

無処理、対照および

酵素処理尿の一部を直接薄層クロマトグラフィー(TLC)、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で分析した。

また、代表的尿試料を用いて 2M 塩酸で加熱還流して加水分解を行った。

糞抽出液：各期別に得た糞抽出液も容量比例でプールした。一部抽出液を直接 TLC および HPLC で分析した。

代謝物の分析：糞及び尿中に存在する放射性代謝物を同定並びに定量するために、HPLC 及び TLC 分析を行い、同定した。

表 2：使用した参照標準品の種類と保持時間（HPLC）及び展開移動度（TLC）

参照標準品	HPLC（逆相系）		TLC			
	溶媒系 1	溶媒系 2	溶媒系 A		溶媒系 B	
			Keisegel	LK5F	Keisegel	LK5F
フェンメディファム	25.0~26.0	32.0~35.0	0.66	0.72	0.53	0.70

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験結果：

尿糞中放射能排泄率；各群における尿糞中放射能排泄率を表3に示す。

表3：各群の尿糞中放射能及び体内残留率（投与量%）

標識化合物	
投与量	
投与回数	
性別	
尿	0～6時間
	6～24時間
	24～30時間
	24～48時間
	48～72時間
	72～96時間
	小計
ケージ洗浄液	6時間
	24時間
	30時間
	96時間
	小計
糞	0～24時間
	24～30時間
	24～48時間
	48～72時間
	72～96時間
小計	
体内残留量	
合計	

やや

尿中への排泄率が高かった。

大部分の化

合物が吸収されずに排泄され吸収率がそれ程高くないことが裏付けられた。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

体内残留量； 各群における屠殺時の組織・器官並びにカーカス中の残留放射能を表4に示す。

表4：組織・器官中の残留放射能

標識化合物	
投与量	
投与回数	
屠殺時期	
性別	
肝臓	
腎臓	
筋肉	
脂肪	
脾臓	
脳	
肺	
甲状腺	
眼球	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

副 腎	
下 垂 体	
卵 巣	
精 巣	
骨	
心 臓	
皮 膚	
消 化 管	
全 血	
血 漿	
カーカス	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 5. 尿中の代謝物の HPLC によるプロフィール

2 溶媒系を用いた TLC では、HPLC のようには分離できなかった (表 6-1)。

表 6-1 尿中の代謝物の TLC によるプロフィール

溶媒系 A : ジクロロメタン : エーテル (7 : 3, v/v)

溶媒系 B : トルエン : 酢酸エチル (2 : 1, v/v)

\* : 特定のピークに属しない放射能

い

ずれの成分も 2.7% (平均 : 雄 2.0%、雌 0.9%) を超えるものはなかった。極性物質が

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

最大で 2.5~7.3% (平均: 雄 5.5%、雌 4.1%) を占めていた。

表 6-2

代謝物の TLC によるプロフィール

尿を酵素および酸加水分解した後、HPLC または TLC で分析した結果を表 7~9 に示す。

この代謝物の約 40% が硫酸抱合体であり、残りがグルクロン酸抱合体であることが示唆された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

#### 酵素加水分解

しない抱合体の存在を示唆している。

表 7. 尿の酵素 ( $\beta$ -glucuronidase/sulphatase) 加水分解後、HPLC による代謝物のプロフィール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 8-1

加水分解後、TLC によ

る代謝物のプロフィール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

表 8-2.  
による代謝物のプロフィール

加水分解後、TLC



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

表 9. sulphatase および酸加水分解後、HPLC(溶媒系 1)による代謝物のプロフィール(%TAR)

糞中の代謝物：

糞中代謝物の HPLC による分析結果を表 7 に示す。

物

主要な成分は未変化の親化合

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

表 10. 糞中の代謝物の HPLC(溶媒系 2)による代謝物のプロフィール

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

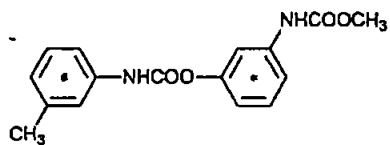


図1：ラットにおけるフェンメディファムの想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(1-1) 動物代謝試験

フェンメディファムのラットにおける血中濃度推移

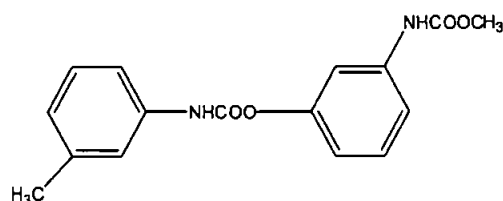
(資料 No.代 1-1)

試験の目的：被験物質のラット代謝試験 基づき、フェンメディファムの  
吸収、薬物動態についてさらに検討するために<sup>14</sup>C-フェンメディファムを  
投与して放射能の動態を調べた。

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学名； 3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式；



供試動物： Sprague Dawley (SD) 系ラット、約 6~10 週令、

雌 24 匹、雄試験方法：

試験群の構成および試料採取：<sup>14</sup>C 標識被験物質を非標識被験物質と同位体希釈して適切な比放

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はコピーエルジャパン株式会社にある。

射能に調整し、1%カルボキシメチルセルロース溶液に懸濁した。

最終サンプリング後の動物は屠殺した。

表 1：試験群の構成

放射能の測定：一定量の組織溶解剤 (Solvable™) を血液および血漿試料に加え、一定時間保温静置後、暗黒下に置いた後、LSCで試料中の放射能を測定した。

薬物動態パラメーターの計算：血液および血漿中の薬物動態学的分析用の放射能濃度の測定はバリデートされた非コンパートメントの薬物動態分析プログラムを用いて実施した。

報告用のパラメーター： $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $t_{1/2elim}$ ,  $AUC_{(0-t)}$ ,  $AUC_{(0-\infty)}$

## 試験結果

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

表 2 : フェンメディファムの薬物動態学的パラメーター

フェンメディファム								
薬物動態学的 パラメーター	雄		雌		雄		雌	
	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
	$C_{max}$ ( $\mu\text{g equiv./g}$ )							
$T_{max}$ (h)								
$AUC_{(0-12)}$ ( $\mu\text{g eq.h/g}$ )								
$AUC_{(0-\infty)}$ ( $\mu\text{g eq.h/g}$ )								
$t_{1/2elim}$ (h)								

NR : 算出不能

表 3 : フェンメディファムの薬物動態学的パラメーター

フェンメディファム								
薬物動態学的 パラメーター	雄		雌		雄		雌	
	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
	$C_{max}$ ( $\mu\text{g equiv./g}$ )							
$T_{max}$ (h)								
$AUC_{(0-12)}$ ( $\mu\text{g eq.h/g}$ )								
$AUC_{(0-\infty)}$ ( $\mu\text{g eq.h/g}$ )								
$t_{1/2elim}$ (h)								

NR : 算出不能

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

血液および血漿中の [<sup>14</sup>C] フェンメディファムの経時変化を表 4 および 5 に示す。

表 4: フェンメディファムの経時変化

フェンメディファム濃度 (μg eq./g)								
試料採取時間	雄				雌			
	雄		雌		雄		雌	
	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
投与前								
0.25								
0.5								
1								
2								
4								
8								
12								
24								
48								
96								
168								

ND : 検出されず

NA : 適用なし

表 5 フェンメディファムの経時変化

フェンメディファム濃度 (μg eq./g)								
試料採取時間	20mg/kg (投与群 C)				1000mg/kg (投与群 D)			
	雄		雌		雄		雌	
	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿	血液	血漿
投与前								
0.25								
0.5								
1								
2								
4								
8								
12								
24								
48								

ND : 検出されず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

各群で得られた知見



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

以上の各投与群で得られた知見を以下に総合した。

・検討した投与レベルのいずれでも フェンメディファムの薬  
物動態において大きな性差は認められなかった。

血液および血漿中の放射能は両投与レベルにおける迅速な吸収を示唆している。

・放射能の血漿濃度は全体的に血液中のより高かったが、これは被験物質に由来する放射能が赤血球中には優先的に分配されないことを示唆している。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

(2) 植物代謝試験

フェンメディファムのでんさいにおける代謝試験

(資料 No.代 2)

供試標識化合物： $^{14}\text{C}$ -フェンメディファム

試験植物：てんさい (*Beta vulgaris L.*) を栽培土壌に植え付け、約 2 週間後に栄養液を入れたプラスチックに移植した。植物を環境制御気象チャンバーで維持した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1： 試料採取時期と収穫試料重量

収穫時期*	植物体数	葉部重量 (g)	根部重量 (g)	平均重量/ 植物 (g)
12 時間	12			
24 時間	12			
48 時間	12			
4 日	12			
7 日	50**			
15 日	13			
30 日	12			
60 日	12			

\* 処理後収穫までの期間

\*\* 抽出法検討のために多くの植物体を使用した。

抽出方法の検討；放射能標識体処理植物の葉部を各抽出方法に従って洗浄・細断し、相当する溶媒を用いてミキサー内で抽出、ろ過、洗浄、再抽出、ろ過及び洗浄を行った。各方法で処理を行った後、洗浄液と抽出液中放射エネルギーを LSC で測定した。抽出残渣は乾燥し、重量測定後、アセトンまたはエタノールで 24 時間還流抽出を行った。その後、抽出液中放射エネルギーを測定し、抽出残渣は乾燥して燃焼分析に供した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2 : 3 種類の抽出法における抽出効率の比較

抽出方法	
洗 淨 主抽出	
還流抽出	
燃 焼	
合 計	

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

葉のクチクラから化合物が浸透するため、葉面上の遊離型フェンメディファム量は経時的に低下する。その後、吸収されたフェンメディファムは植物によって代謝される；初期の浸透速度は代謝速度より高く（膜の両側の濃度勾配によるもの及び最初の時点では代謝されるべき有効成分がないため）、化合物の吸収量は増加する。その後、代謝速度が増加（植物体中により多くのフェンメディファムが存在する）し、4日後には遊離の親化合物が減少する。明らかに、代謝物の量だけが増加する。ほとんどの時期で結合残留量は一定（2～8%）であるが、有効成分処理後60日に28.1%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

に急速に高まる。

試験期間中、有意な量の放射能は根部には認められなかった。これはフェンメディファムが葉面処理された場合、フェンメディファムの代謝及び最終的な蓄積が葉部で起こっていることを示している。したがって、求基本的な移行による根部への残留が予想されない。更に、成熟した葉は衰弱して植物体から枯れ落ちて除かれるため、残留した代謝生成物も除かれ、新たにフェンメディファム処理が行われなければ、植物体中に蓄えられたフェンメディファムの絶対量（総残留量）はゼロ付近まで低下するはずである。

表3：各試料中放射性物質の抽出成績

収穫時期*	メタノール 洗浄液	主要抽出物		還流 抽出物**	燃焼	合計 (葉部)	燃焼 (根部)**	合計 (植物体)
		有機溶媒画分	水溶性画分					
12時間								
24時間								
48時間								
4日								
7日								
15日								
30日								
60日								

\* 処理後、収穫までの時間 (h) または日 (d)

\*\* n.a. : 未分析 ; d.l. : 検出限界

\*\*\* 抽出操作中における放射能の損失が想定される : 4 植物体の凍結乾燥葉部の燃焼では 102.0%が回収された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 4 : TLC によるクロロホルム画分中放射能分析

収穫時期 (時間、日)	化合物*	Rf×100**	TLC 塗布量%	総放射能%
12 時間				
24 時間				
48 時間				
4 日				
7 日				
15 日				
30 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 5 : 水溶性画分中代謝物の分布

収穫時期* (時間、日)	画分/化合物**	R <sub>F</sub> ×100***	塗布量%	総放射能%
24 時間				
48 時間				
4 日				
7 日				
15 日				
30 日				

吸収本試験：ここではてんさいにおいて被験物質から変換された物質の処理、単離及び同定について記載する。水耕栽培されたてんさいに大量の有効成分を吸収させるために、幾つかの方法を検討した。最も効果的な方法を選択した後、多数の植物体に処理を行い、時間を

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

置いた後、収穫して抽出を行った。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 6：同定された代謝物の構造

Hill 反応抑制試験：薬物の代謝が植物体にとって解毒的に行われていることを確認するために、単離精製された代謝物の光合成抑制作用について検討した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

試験結果；

試験に供したすべてが未変化の親化合物の光合成抑制率より極めて低かった。

表 7：単離された代謝物の Hill 反応抑制率と親化合物との効力比

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

図 2 : てんさいにおけるフェンメディファムの想定代謝経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

### (3) 土壌中動態試験

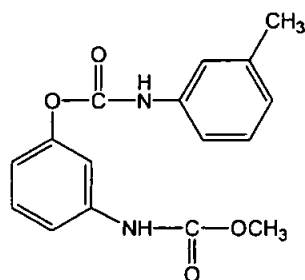
嫌氣的及び好氣的条件下における土壌中動態試験

(資料 No.代 3)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム(PMP)

化学名：3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式：



試験方法：

土壌は屋外の自然天候環境下で保管し、試験に使用する前に 2 mm の篩を通した。処理の 3 日前に水分を最大容水量 (=16 g H<sub>2</sub>O / 乾燥土壌 100 g) の 45% に調整した。篩を通した土壌の一部について、3 回 24 時間隔で各 20 分間加湿土壌をオートクレーブによる滅菌操作を行い、滅菌条件下における試験用土壌とした。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験土壌の特性を下表に示す。

被験物質の処理及び培養方法：ガラス製フラスコ 16 個に土壌試料（2 mm の篩を通した乾燥重量 100 g 相当の土壌）を入れ、1.0 mL のメタノールに溶解した 0.22 mg の <sup>14</sup>C 標識フェンメディファム を土壌にガラスピペットを用いて処理した。処理量は本剤の最大処理量である 1.65 kg/ha に相当する。

培養開始後日数	0	11	20	27	32	35	50(53)*	60	81	117
湛水からの日数	- 20	- 9	0	7	12	15	30(33)	40	61	97
非滅菌/好気条件**	2	2	2		2			2		
非滅菌/嫌気条件				2		2	2		2	2
滅菌/嫌気条件			1				1		1	1

\*：1 個の試験容器の採取が予定より 3 日遅れた。

\*\*：培養開始後 20 日に湛水はせず好气的条件とした。

空欄：サンプルの採取は実施しなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験結果： 各試験条件における放射能の分布（処理放射能％）を下表に示す。

	培養開始 後日数	培養期間 (嫌気的条 件下の日 数)	水層画分	アセトリル 抽出液	還流 抽出液	$^{14}\text{CO}_2$	抽出 残渣	回収率
非滅菌/ 好気条件								
非滅菌/ 嫌気条件								
滅菌/ 嫌気条件								

嫌気的培養終了時（湛水後 97 日）には処理放射能量の約 86%が土壤結  
合画分中に検出された。

放射能の総回収率は一定して高く、約 93~103%、平均約 98%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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

抽出物中に検出された放射性物質とその量（処理量％）を下表に示す。

	培養開始 後日数	培養期間 (嫌気的条 件下の日数)	フェンデイル (親化合物)
非滅菌/ 好気条件	0	0	
	11	0	
	20	0	
	32	0	
	60	0	
非滅菌/ 嫌気条件	27	7	
	35	15	
	50/53	30/33	
	81	61	
	117	97	
滅菌/ 嫌気条件	20	0	
	50	30	
	81	61	
	117	97	

n.d. : 不検出      \*総抽出液（アセトニトリル抽出液と還流抽出液の合計）

0.0 : 定量限界未満

非滅菌/嫌気条件下では、抽出された放射性物質の大部分が同定され、残りの 2%以下が未同定であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

土壌結合残留放射能の50%以上がNaOHで抽出された。これらの画分中の放射性物質の大部分は沈殿するフミン酸画分であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

培養期間中における土壌中微生物量の変化を下表に示す。

培養期間 (日)	試験条件・処理薬物と処理量	微生物量 (mg/kg 土壌)
0		
71(湛水後)		
82		

滅菌/嫌気条件土壌では微生物活性がほとんど認められなかった。非滅菌/好気条件で培養した土壌と非滅菌/嫌気条件で親化合物を処理した土壌では、微生物量が培養開始時とほとんど差がなかった。

本試験条件下におけるフェンメディファムの土壌中における消失速度を下表に示す。

試験条件	DT <sub>50</sub> (日)	DT <sub>90</sub> (日)
非滅菌/好気条件		
非滅菌/嫌気条件		
滅菌/嫌気条件		

試験条件		
非滅菌/好気条件		
非滅菌/嫌気条件		

代謝経路：フェンメディファムの土壌中における想定代謝経路を次頁の図に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

図 1: フェンメディファムの土壌中における想定代謝経路図

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

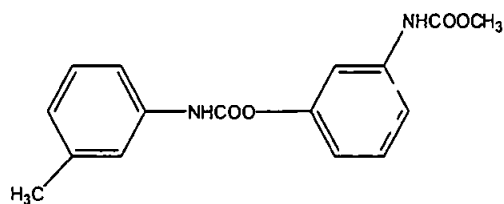
2) 好氣的条件下における土壤中動態試験

(資料 No.代 3-1)

試験化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学名；3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式；



試験方法：

試験を開始する前に、少なくとも2週間にわたって土壌を24℃の人工気象室内に保存した(活性化)。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

被験物質の処理および培養方法：乾土の 50 g に正確に相当する活性化した湿土の一定量を、0.5 mL のメタノールに溶解したと良く混合し、“バイオメーターフラスコ” 中に入れた

試料採取：抽出は 0、7、14、28、56、112 及び 224 日目に行った。

抽出液 I：

抽出液 II：

TLC プレート上にスポットし、1 及び 2 次元展開した。以下の移動相を用いた。

放射性スポットを、Kodirex X 線フィルムを用いたオートラジオグラフィーにより検出し、掻き取ってトルエンカクテルと混合し、液体シンチレーション計数により定量的に測定した。

土壌の燃焼：フミン酸及びフルボ酸画分と共に、土壌構成成分に結合した残留の一部が得られる NaOH 非抽出性の放射能画分を測定するために、純酸素気流中約 940°C で燃焼した。 $^{14}\text{CO}_2$  をエタノールアミンカクテル中に捕集し、放射能を液体シンチレーション計数により測定した。

#### 試験結果

好気性条件下におけるフェンメディファムの試験結果を表-1 から表-6 に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

$^{14}\text{CO}_2$  への変換：いずれの土壤、標識体でも経時的な  $^{14}\text{CO}_2$  の発生が認められた

表-1 土壤における放射能の分布（処理放射能%）

		土壤						
試料採取日		0	7	14	28	56	112	224
フェンメディファム								
分解 産物	$^{14}\text{CO}_2$							
	その他							
抽出残渣								
合計								
フェンメディファム								
分解 産物	$^{14}\text{CO}_2$							
	その他							
中種 t 残渣								
合計								

処理放射能に対する%

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表-2 土壌における放射能の分布 (処理放射能%)

		土壌						
試料採取日		0	7	14	28	56	112	224
フェンメディファム								
分解 産物	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	その他							
抽出残渣								
合計								
フェンメディファム								
分解 産物	<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>							
	その他							
抽出残渣								
合計								

処理放射能に対する%

放射能の分布：無機化による活性物質の減少と共に、土壌中におけるフェンメディファム又はその分解生成物の吸着が経時的に増大し、土壌中における遊離の有効成分の比率が減少する結果になった(表-3、4)。

溶媒抽出液から得られた薄層クロマトグラムの定性および定量的評価の両方から、数種の分解生成物が認められ、さらにある比率の親化合物が土壌中で抽出性であることが判明した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表-3 土壌におけるフェンメディファムの吸着および分解

土壌															
抽出実施日		0		7		14		28		56		112		224	
		DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>															
抽出放射能	溶媒														
	ソックスレー														
フルボ酸および腐植酸	合計														
	腐植酸(DPM)														
	フルボ酸(DPM)														
土壌中残存放射能 (溶媒およびNaOH抽出後)															
回収															
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>															
抽出放射能	溶媒														
	ソックスレー														
フルボ酸および腐植酸	合計														
	腐植酸(DPM)														
	フルボ酸(DPM)														
土壌中残存放射能 (溶媒およびNaOH抽出後)															
回収															

表中の実際の DDM 値は×1000DPM、%は処理量%

NA ; 測定せず ND ; 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

表-4 土壌におけるフェンメディファムの吸着および分解

		土壌													
抽出実施日		0		7		14		28		56		112		224	
		DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%	DPM	%
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>															
抽出放射能	溶媒														
	ソックスレー														
フルボ酸および腐植酸	合計														
	腐植酸(DPM)														
	フルボ酸(DPM)														
土壌中残存放射能 (溶媒およびNaOH抽出後)															
回収															
<sup>14</sup> CO <sub>2</sub>															
抽出放射能	溶媒														
	ソックスレー														
フルボ酸および腐植酸	合計														
	腐植酸(DPM)														
	フルボ酸(DPM)														
土壌中残存放射能 (溶媒およびNaOH抽出後)															
回収															

表中の実際の DDM 値は×1000DPM、%は処理量%

NA ; 測定せず ND ; 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

非抽出性物質：

中に生成した分解生成物  
推測に合致している。

フェンメディファムの代謝  
が土壌に強固に吸着されるとの

表-5 土壌におけるフェンメディファムの分解と分解物の生成 (処理放射能%)

		土壌							
試料採取日		0	7	14	28	56	112	224	Rf 値
フェンメディファム									
Start		0.1	0.9	1.4	0.8	1.2	0.4		
フェンメディファム									
Start			0.3	1.2	1.7	0.6	0.6	0.1	

各化合物の%は初期投与放射能に対する値を示す。空欄は 0.1%未満。

Rf 値 (ベンゼン : エタノール) (9 : 1)

表-6 土壌におけるフェンメディファムの分解と分解物の生成 (処理放射能%)

		土壌							
試料採取日		0	7	14	28	56	112	224	Rf 値
フェンメディファム									
Start		-	0.1	0.7	1.4	1.9	0.8	0.7	
フェンメディファム									
Start		0.1	0.3	1.6	0.8	1.1	0.1		

各化合物の%は初期投与放射能に対する値を示す。空欄は 0.1%未満。-は測定せず。

Rf 値 (ベンゼン : エタノール) (9 : 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

考察：フェンメディファムは中性

よりも酸性

での分解が遅かったが、これは化合物の加水分解速度が土壌の pH 値に強く依存しているという事実により説明可能である。

加水分解は土壌分解メカニズムにおける最初の段階であり、後続の酸化反応がこれに続くものと考えられる。さらに芳香環が分離しない分解経路も想定される。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

土壌に強固に吸着されるものの、他方で急速な微生物分解を受けることを示しているものと思われる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(4) 水中動態試験

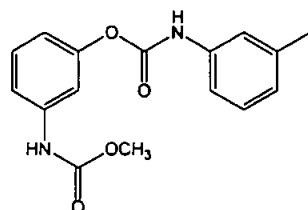
1) フェンメディファムの加水分解動態試験

(資料 No.代 4)

供試化合物：フェンメディファム(PMP)

化学名：3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式：



滅菌処理；シリンジ、針、緩衝液、試料用器具は MDT Catle 真空蒸気滅菌器を用いて最低でも 121℃  
で 30 分以上滅菌処理した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

添加溶液の調製；

供試化合物 を秤量し、メタノール-アセトニトリル溶液、40 : 6 (v:v) に溶解して 100 mL に定容し、保存液とした。この溶液 500  $\mu$ L を緩衝液 99.5 mL に添加し、25 $^{\circ}$ C の恒温槽内、暗所で試験した。

試験方法： pH 5、7 および 9 の緩衝液に供試化合物を添加して、25 $^{\circ}$ C 暗所で試験した。

試料採取及び分析；

試験開始後 0.5 時間～767 時間の間に 11～14 回、試験容器から加水分解溶液 1.0 mL を採取し、内部標準物質及び加水分解の進行を防止するための氷酢酸を含む HPLC 用試料バイアルに移して、HPLC 分析に供した。

試験結果： 下表に、各 pH における PMP の減衰速度定数及び半減期を示す。

pH	減衰速度定数	半減期 ( $\pm 95\%$ 信頼幅)
9		
7		
5		

フェンメディファムの加水分解過程を以下に示す。

物質収率は概ね 95～105% と良好な結果が得られ、このことから、フェンメディファムから生成された 加水分解物が、さらに分解されることはないと考えられる。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

各 pH における試料採取時点ならびに親化合物および分解物の濃度と物質収支 (%)

pH 9				
試験時間	フェンメディファム		物質収支 1 <sup>3)</sup>	物質収支 2 <sup>4)</sup>
0.8				
1.5				
3.0				
5.0				
7.0				
9.0				
12.0				
15.0				
18.0				
22.0				
26.0				
30.0				
35.0				
45.0				
pH 7				
試験時間	フェンメディファム		物質収支 1	物質収支 2
0.5				
2.0				
3.5				
5.0				
8.9				
23.0				
27.7				
32.7				
47.0				
55.8				
71.0				
pH 5				
試験時間	フェンメディファム		物質収支 1	物質収支 2
22.2				
44.2				
95.5				
167.8				
240.5				
336.1				
413.6				
528.5				
604.3				
673.2				
767.8				

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

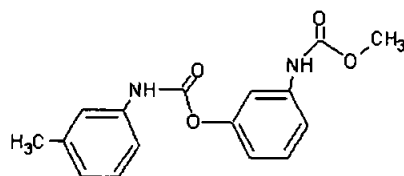
2) フェンメディファムの加水分解動態試験

(資料 No.代 5)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム(PMP)

化学名：3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式：



緩衝液の調製；

【pH 4 および 5 (25℃)】

【pH 7 (25℃)】

【pH 9 (25℃)】

滅菌処理；

シリンジ、針、緩衝液、試料用器具は MDT Castle 真空蒸気滅菌器を用いて最低でも 121℃で 30 分以上滅菌処理した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験方法： ガラス製側管が付属した小型インピンジャーに pH 4、5、7 および 9 のそれぞれ 15mL の緩衝液に添加溶液 100  $\mu$ L を加え、試験溶液を調製し、25℃暗所で培養した。全ての試料をフロースルー系に連結して、二酸化炭素フリーの空気を通じ、試料を通じたあと、エチレングリコールおよび水酸化ナトリウム水溶液でトラップした。

試料採取及び分析：

試験溶液を定期的に採取し、HPLC で分析を行った。試料の加水分解を抑えるために、試験溶液を pH3~4 に酸性化する必要があるため、適切な液量の酢酸を用いて反応を抑制した。pH 7 および 9 の試料では反応を抑制した後に pH を測定した。pH 4 および 5 で インキュベーションした試料の pH は、0 時間目の試料を除き反応の抑制前に測定した。0 時間目の試料は反応直後に抑制した。

各反応を抑制した後、揮発性物質は放射能を LSC で分析した。試験溶液は LSC 及び HPLC で分析した。

試験結果： 各 pH における pH 測定値、回収率および放射能の同定結果を示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1. pH 4 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値	処理放射能%		
				回収率	揮発物捕集	%PMP
	平均値 <sup>a)</sup>		4.02			
0	0h		3.65 <sup>b)</sup>			
24	24h		4.02			
48	48h		4.04			
96	96h		4.02			
168	168h		4.03			
336	336h		4.03			
504	504h		4.03			
672	672h		4.03			
720	720h		4.00			
	平均		4.02 <sup>c)</sup>	100.4-	0.0	

a) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均

b) 酢酸添加後の pH 測定値

c) 前処理および 0 時間目の試料は平均の計算には含まれない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2. pH5 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値	処理放射能%		
				回収率	揮発物捕集	%FMP
	平均値 <sup>a)</sup>		5.03			
0	0h		3.71 <sup>b)</sup>			
24	24h		5.02			
48	48h		5.01			
96	96h		5.04			
168	168h		4.96			
336	336h		5.01			
504	504h		5.03			
672	672h		5.00			
720	720h		5.03			
	平均		5.01 <sup>c)</sup>	100.6	0.0	

a) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均

b) 酢酸添加後の pH 測定値

c) 前処理および 0 時間目の試料は平均の計算には含まれない



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 3. pH7 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値 a)	%処理放射能		
				回収率	揮発物捕集	%PMP
	平均値 b)		7.02			
0	0h		3.86			
0.5	0.5h		3.86			
2	2h		3.81			
4	4h		3.90			
8	8h		3.86			
16	16h		3.90			
24	24h		3.86			
48	48h		3.90			
72	72h		3.97			
	平均		3.88	102.8	0.0	

a) 酢酸添加後の pH 測定値 (pH 7 においてフェンメディファムは急速に分解するため)

b) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均値

(ただし、前処理の試料は平均の計算には含まれない)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

表 4. pH9 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値 a)	%処理放射能		
				回収率	揮発物捕集	%PMP
	平均値 a)		9.06			
0	0m		3.96			
1	1m		3.91			
2	2m		3.90			
4	4m		3.97			
8	8m		3.90			
12	12m		3.93			
18	18m		4.00			
24	24m		3.88			
30	30m		3.91			
	平均			101.1	0.0	

a) 酢酸添加後の pH 測定値 (pH 9 においてフェンメディファムは急速に分解するため)

b) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均値

(ただし、前処理の試料は平均の計算には含まれない)

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

#### 放射能の回収率

試験結果：揮発性放射能はエチレングリコールおよび水酸化カリウムトラップ中には放射能は検出されなかった。pH4、5、7および9の添加処理群の試料からの放射能の平均回収率は、100、101、103 および 101%であった。

放射能の組成：全ての添加処理試料は HPLC で分析し、選抜した試料を HPLC-MS/MS により分析した。

フェンメディファムの加水分解についての速度定数、半減期および DT<sub>90</sub> を下表に示す。

なお、緩衝液中のフェンメディファムの半減期は一時曲線動力学モデルと仮定して計算された。

各々の pH におけるフェンメディファムの百分率の自然対数の直線回帰の対時間データを計算するために MS Excel が使われた。最小二乗法を用いた直線回帰をデータに適合させ、直線の傾きを求めた。半減期 ( $t_{1/2}$ ) は次の式を用いた：

$$t_{1/2} = -\ln 2 / \text{Slop}$$

表 5. フェンメディファムの加水分解についての速度定数、半減期および DT<sub>90</sub>

pH	速度定数	理論半減期	理論 DT <sub>90</sub>
4			
5			
7			
9			

フェンメディファムの想定される加水分解経路を以下に示す。

図 1. フェンメディファムの想定される加水分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(資料 No.5-1 参考資料)

3) 加水分解物 の加水分解動態試験

供試標識化合物：

化学名：

構造式：

緩衝液の調製；

【pH 4 および 5 (50℃)】

【pH 7 (50℃)】

【pH 9 (50℃)】

滅菌処理；

シリンジ、針、緩衝液、試料用器具は、MDT Castle 真空蒸気滅菌器を用いて最低でも 120℃で 30 分以上滅菌処理した。

添加溶液の調製；

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験方法；

ガラス製側管が付属した小型インピンジャーに pH 4、5、7 および 9 のそれぞれ 15mL の緩衝液に試験溶液 100  $\mu$ L を加えて調製した試験溶液を 50  $^{\circ}$ C 暗所で培養した。全ての試料をフロースルー系に連結して、二酸化炭素フリーの空気を供試液に通じたあと、エチレングリコールおよび水酸化ナトリウム水溶液でトラップした。

試料採取及び分析；

試験溶液を定期的に採取し、HPLC で分析を行った。試料の pH は回収に従って測定した。また各々の試料の総重量を測定し記録した。各々の試料の一部の重さを測定し、LSC で分析した。各々の処理試料は HPLC-[ $^{14}$ C] で分析した。さらに選抜した処理試料は HPLC-MS/MS で評価した。

試験結果：

放射能の回収率；

揮発性放射能はエチレングリコールおよび水酸化カリウムトラップ中には放射能は見出されなかった。pH4、5、7 および 9 の添加処理群の試料からの放射能の平均回収率は 99%であった。

被験化合物がこれらの条件下および 50 $^{\circ}$ C において 120 時間後にも加水分解的に安定であることから、25 $^{\circ}$ C でも安定であると考えられたためである。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 1. pH4 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値	%処理放射能			
				回収率			
	前処理 a)						
0	0h						
2.4	2.4h						
120	120h						
	平均			98.8			

a) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均

b) 前処理 pH 値は平均の計算には含まれない

表 2. pH5 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値	%処理放射能			
				回収率			
	前処理 a)						
0	0h						
2.4	2.4h						
120	120h						
	平均			98.6			

a) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均

b) 前処理 pH 値は平均の計算には含まれない

表 3. pH7 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値	%処理放射能			
				回収率			
	前処理 a)						
0	0h						
2.4	2.4h						
120	120h						
	平均						

a) 試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均

b) 前処理 pH 値は平均の計算には含まれない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 4. pH7 試料の測定 pH 値、回収および放射能の同定

時間 (h)	試料 ID	処理割合 (mg/L)	pH 測定値	%処理放射能			
				回収率			
	前処理 a)						
0	0h						
2.4	2.4h						
120	120h						
	平均			98.8			

a)試験直前の滅菌緩衝液の pH 測定値の平均

b)前処理 pH 値は平均の計算には含まれない

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

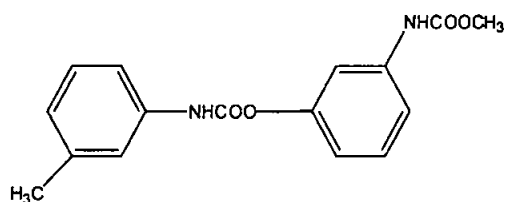
#### 4) フェンメディファムの水中光分解動態試験

(資料番 No.代 6)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学名； 3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式；



試験方法： 滅菌した緩衝液（pH 4 は 0.02 M フタル酸緩衝液、pH 7 は 0.02 M リン酸緩衝液）及び自然水を石英蓋付ガラス製試験容器に分注し、供試標識化合物を処理した。Suntest Accelerated Exposure 試験装置内で最長 10 日間にわたって 290 nm 以下の波長の光を除去し、太陽光と似たスペクトルのキセノンアーク灯光を連続照射した。照射区の試験容器にはポリウレタン泡栓および 0.2% エチレングリコール（エタンジオール）、2% パラフィン含有キシレンおよび 2 本の 2M NaOH 捕集管を装着した。

300~400 nm の照射強度は 23.3 watt/m<sup>2</sup> であった。これは日本の春の太陽光（7.8 watt/m<sup>2</sup>、300~400 nm）の約 2.99 倍であり、10 日間の実験期間は日本の春の自然光の約 29.9 日に相当する。

なお、光照射期間中は試験溶液の温度を 25℃±2℃に維持した。また、暗所対照試料は 25℃のインキュベーター内、暗所で揮発性物質捕集系を装着しないで培養した。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

自然水および緩衝液の調製：

[自然水]

[pH 4]

[pH 7]

試験区および試料採取間隔を次表に示す。

試験溶液の調製：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

各試料採取時に試験容器内容物を回収し、放射能を LSC 法で測定すると共に、HPLC 法および TLC 法により分解生成物の分析を行った。また、必要により、分解生成物を同定するために、LC-MS 分析も行った。また、揮発性放射性物質捕集液、並びにウレタン泡栓および装置連結チューブのメタノール抽出液についても、LSC による放射能の測定を行った。

得られた被験物質の動態から消長速度を求めるとともに、モル吸光係数から量子収量を算出した。

#### 試験結果：

##### 試験溶液の品質：

培養開始前および終了時点における試験溶液の寒天培養では、コロニー形成がみられなかった。  
培養開始前および終了時点における各溶液の pH を下表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

		pH 4 緩衝液	pH 7 緩衝液	自然水
培養開始時	—	3.86	6.90	7.36
培養終了時	光照射	3.91	7.04	8.21
	暗所対照	3.93	6.94	7.68

試験期間を通じて滅菌条件が維持され、緩衝液の pH は設定値から 0.2 以内に維持された。

物質収支と揮発性放射性物質生成量：

緩衝液および自然水における処理放射能の物質収支を下表に示す。

試験系	物質収支 (処理放射能%)			
pH 4 緩衝液				
pH 7 緩衝液				
自然水				

\* 試験第 8 日および 10 日試料の初期の結果 (触媒コンバーター非装着) を除く。

各試験系の光照射試料における揮発性放射性物質の最大回収率を下表に示す：

試験系	揮発性放射能 (処理放射能%で表示)	
pH 4 緩衝液		
pH 7 緩衝液		
自然水		

\* 第 10 日の初期の結果 (触媒コンバーター非装着) を除く。

試験容器洗浄液中の放射能濃度は両標識化合物のすべての培養条件下で 2% 以下であり、ガラス容器への吸着はほとんどなかった。

pH 4 の緩衝液中で、両標識体における揮発性放射性物質の生成は少なく、主に NaOH 捕集液から回収 (最大 1%) され、泡栓抽出物から回収された放射能は 0.1% 以下であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

すべての培養条件において、2M NaOH 溶液に捕集された放射性物質は  $^{14}\text{CO}_2$  であると推定された。

加水分解並びに水中光分解生成物：

各試験系におけるフェンメディファムおよび代謝物の経時的推移を表 1 および 2 に示すとともに、次表に要約する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験系	化合物	処理放射能%			
pH 4					
pH 7					
自然水					

NA=適用なし、ND=未検出、<sup>1</sup> 処理放射能%の最大値（経過日数）

pH 4

光照射および暗所培養条件下で有意な分解がみられず、第 10 日でも処理放射能の 91%以上がフェンメディファムであった。

pH 7

フェンメディファムの濃度は pH 7 の緩衝液で第 0 日の 92% から 1%以下（第 4 日光照射および暗所対照）に急速に低下した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

#### 自然水

被験物質の濃度は第 0 日の 89%から急速に低下し、光照射試料では 12 時間以降、暗所対照試料では 2 日以降、未変化のフェンメディファムが検出されなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

想定分解経路：

最終的に微量であるが、二酸化炭素および有機揮発性物質へと分解する。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

光分解速度：

単相一次動態（SFO）を用いて算出した被験物質の分解速度を下表に示す。

試験系	培養条件	標識体	加水分解および 光分解速度（日）		補正分解速度（日） <sup>1</sup>	
			DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>	DT <sub>50</sub>	DT <sub>90</sub>
pH 4 緩衝液	光 照 射					
	暗所対照					
pH 7 緩衝液	光 照 射					
	暗所対照					
自然水	光 照 射					
	暗所対照					

<sup>1</sup> キセノンアーク灯の 300～400 nm における光強度（23.3 watt/m<sup>2</sup>）と東京の春の太陽光の強度（7.8 watt/m<sup>2</sup>）の比で換算した東京の春の太陽光における分解速度。

pH 4 の緩衝液中における被験物質の消失速度は緩やかであった

。 pH 7 および自然水中における消失速度は、速かであった



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

表1： 標識体処理した試験溶液におけるフェンメディファムと分解生成物（処理放射能%）

試験系		試料採取 間隔	フェンメディファム	その他の 未知分解物 の最大値
pH 4	光 照 射	0 日		
		1 日		
		2 日		
		4 日		
		6 日		
		8 日		
		10 日		
	暗所対照	0 日		
		10 日		
	pH 7	光 照 射	0 時間	
4 時間				
8 時間				
12 時間				
1 日				
2 日				
4 日				
6 日				
8 日				
10 日				
暗所対照		0 時間		
		4 時間		
		8 時間		
		12 時間		
		1 日		
		2 日		
		4 日		
		6 日		
自 然 水	光 照 射	0 時間		
		4 時間		
		8 時間		
		12 時間		
		1 日		
		2 日		
		4 日		
	6 日			
	8 日			
	10 日			
	暗所対照	0 時間		
		4 時間		
		8 時間		
		12 時間		
1 日				
2 日				
4 日				
6 日				
8 日				
10 日				

ND：検出せず    NA：適用せず    空欄：測定対象外    <0.1：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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

表 2: 標識体処理した試験溶液におけるフェンメディファムと分解生成物 (処理放射能%)

試験系	試料採取 間隔	フェンメディ ファム	その他の 未知分解物 の最大値
pH 4	光 照 射	0 日	
		1 日	
		2 日	
		4 日	
		6 日	
		8 日	
		10 日	
	暗所 対照	0 日	
		10 日	
	pH 7	光 照 射	0 時間
4 時間			
8 時間			
12 時間			
1 日			
2 日			
4 日			
6 日			
8 日			
10 日			
暗所 対照		0 時間	
		4 時間	
		8 時間	
		12 時間	
		1 日	
		2 日	
		4 日	
		6 日	
8 日			
自 然 水	光 照 射	0 時間	
		4 時間	
		8 時間	
		12 時間	
		1 日	
		2 日	
		4 日	
		6 日	
		8 日	
		10 日	
	暗所 対照	0 時間	
		4 時間	
		8 時間	
		12 時間	
		1 日	
		2 日	
		4 日	
		6 日	
8 日			
10 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

(5) 土壌吸着性試験

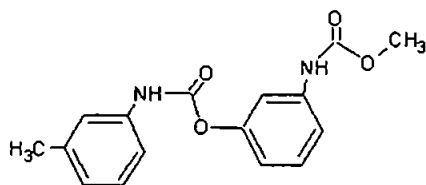
1) 土壌吸着性試験

(資料 No.代 7)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学名； 3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式；



供試土壌：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

土壌の特性；

土壌タイプ				
管理番号				
分析日				
有機炭素含有率(%)				
pH(H <sub>2</sub> O)				
陽イオン交換容量(mVal)				
粒子径(mm)				
粘土(%) (<0.002)				
シルト(%) (0.002-0.02)				
細砂(%) (0.02-0.2)				
疎砂(%) (0.2-2)				
最大含水量(g/100g 土壌)				
土性	砂土	壤質砂土	砂質壤土	砂質壤土

N.A.：適用せず

試験方法：

供試土壌の調製；0.5 mm の篩を通した風乾土 20 g を各々の試験管(200 mL 容)に量り込み、ガラス栓で密栓した。

試験溶液の調製；標識化合物を 1  $\mu$ g/g 溶液となるように水に溶かし、その 100 mL 容を土壌試料に添加した。スラリーは温度をコントロール出来る頭上式の振とう機で一昼夜攪伴した (25℃で 24 時間)。所定の経過時間毎にサンプル溶液を採取した。試料の一部を用いて放射能の測定と TLC によるクロマト分析を行った。全ての容量の重量を測定し、結果は容量ではなく重量に基づいて計算した。

クロマトグラフィー；化合物の安定性は TLC で試験した。クロマトグラムからオートラジオグラムを作成し、放射性スポットをかきとって LSC で放射能を測定した。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験結果：土壌-水系におけるフェンメディファムの分解を次表に示す。

土壌-水系におけるフェンメディファムの分解

時間[h]	土壌			
0				
1				
2				
3				
5				
8				
24				
25				

NA：分析せず      -：該当なし

\*：データは与えられた時間間隔後における土壌スラリー中に残存する親化合物の値（%）を示している。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

吸着試験；吸着試験の結果を次表および次々表に示す。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

ファンメディファム相当物の土壌吸着

時間 [h]	土壌							
	溶液 [μg/g]	土壌 [μg/g]	溶液 [μg/g]	土壌 [μg/g]	溶液 [μg/g]	土壌 [μg/g]	溶液 [μg/g]	土壌 [μg/g]
0								
1								
2								
3								
5								
8								
24								
25								

\* N.A. ; 分析せず

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

24 時間または 25 時間後の土壌に吸着されたフェンメディファム相当物の割合  
(表中の数値は、吸着された標識体の初期濃度に対する%)

土壌			

結論：

全ての土壌スラリーにおいて、供試したフェンメディファムは容易に加水分解された。この挙動の為にほとんどの場合、吸着平衡には達しなかった。

ここで得られた結果からすると、現行ガイドラインに従ったフェンメディファムの土壌吸着/脱着を科学的に試験するのは不可能と思われる。



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はコーピーエルジャパン株式会社にある。

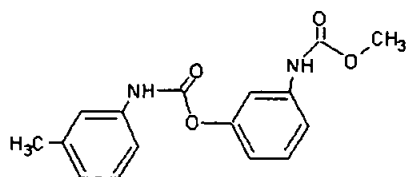
2) 土壌吸着/脱着性試験

(資料 No.代 8)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学名；3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式：



供試土壌：

土壌の特性：

土壌タイプ.	I	II	III
土性	砂土	砂壤土	埴土
粒子径(mm)			
粘土 (%) (<0.002)			
シルト(%) (0.002-0.02)			
砂 (%) (0.02)			
有機炭素含有率 (%)			
pH (H <sub>2</sub> O)			
陽イオン交換容量 (meq/100g)			

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

試験方法：

供試土壌の調製；2 mm の篩を通した風乾土に 0.01M 塩化カルシウム溶液を加え、一夜振とうし、飽和させた。土壌 5g に 0.01M 塩化カリウム溶液 5ml 加えて飽和させた。

試験溶液の調製；標識化合物の保存溶液を 0.01M 塩化カルシウム水溶液に添加し試験溶液を作成した。

試験温度；20 ±1 °C

吸着平衡化時間の測定；1 濃度の試験溶液 を用いて土壌タイプ 3 種、I、II、III で予備試験を実施したところ、水相が平衡に達する時間は約 2 時間であった。

吸着操作；各土壌 5g に各濃度の試験溶液 20ml を加え、20 °C、暗所のインキュベーター内で予備試験から求めた吸着平衡時間（2 時間半）だけ振とうした。遠心分離後、水相中の放射能を測定した。最高濃度の試験溶液で調製した水相について、TLC により放射能の特徴付けを行った。

物質収支；最高濃度の試験溶液で調製した各土壌の水相及び土壌相の放射能を測定して物質収支を求めた。

試験結果：

吸着試験結果；水相中の放射能の測定による結果

係数	単位	土壌		
		I	II	III
$K_{F^{ads}}$	( $\mu\text{g/g}$ )			
$K_{F^{adsoc}}$	( $\mu\text{g/g}$ )			
1/n				
R				

$K_{F^{ads}}$ =Freundlich の吸着等温式による吸着平衡定数

$K_{F^{adsoc}}$  =  $K_{F^{ads}}$  値を各土壌の oc で割り求めた有機炭素吸着係数

1/n=等温式の傾き

R=相関係数

水相中の放射能の測定に基づいた本試験によれば  $^{14}\text{C}$ -フェンメディファムは供試された 3 種土壌、土壌 I 、土壌 II 、土壌 III でやや強く吸着された。これは、これらのタイプの土壌ではむしろ移動性が少ないことに対応している。土壌の有機炭素含量の関数として吸着係数を計算すると、土壌における  $^{14}\text{C}$ -フェンメディファムの吸着の重要性を示唆している。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

物質収支：

<sup>14</sup>C-フェンメディファムを処理した種々の土壌-水系システムにおける放射能の物質収支を次表に示す。

	土壌		
	I	II	III
水相(W%)			
土壌(S%)			
合計			

W%=処理放射能に対して水相中の放射能が占める%

S%=処理放射能に対して土壌表面中の放射能が占める%

<sup>14</sup>C-フェンメディファムの処理および2時間半の平衡操作後における種々の土壌-水系の水相における<sup>14</sup>C-フェンメディファムおよびその分解産物の2時間半の平衡後の水相中の放射能の特徴付けを下表に示す。

溶媒系の Rf 値		同定	土壌		
SS8	SS13		I	II	III
		フェンメディファム			
合計			100.0	100.0	100.0

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

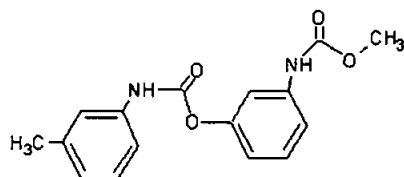
(6) 生物濃縮性に関する試験  
魚類濃縮性試験

(資料 No.代 9)

供試標識化合物：<sup>14</sup>C-フェンメディファム

化学式；3-[(methoxycarbonyl)amino]phenyl(3-methylphenyl)carbamate

構造式；



供試生物：

ニジマス (*Salmo gairdner* Rich.)

	水槽		
	1	2	3
処理グループ	無処理区		
魚体数	30	106	115
魚体重平均(g)	1.7±0.6	1.4±0.7	1.7±0.4
平均バイオマス*	0.2 g/L	0.5 g/L	0.7 g/L

\*平均バイオマスは1日あたり300 Lの流水通過量に基づいている

試験方法：

10匹のニジマスを用い、高濃度投与に相当する0.2 mg/Lの非標識化合物を用いた5日間の予備試験を行った。死亡例は観察されなかったが全ての魚が水槽底部の一隅に寄ったので、本試験では匹数を増やすことにした。本試験に用い

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

た流水式装置はそれぞれ 100L の水で満たした 3 つの水槽からなり、無処理区、他の 2 つを処理区とし、これらの水槽には 24 時間以内に 300 L の試験水が交換されるようにした。暴露期間は 64 時間とし、暴露期間終了後 128 時間の排泄試験期間を設けた。

試験溶液の調製方法；

暴露条件；

試験水の温度： 15～16℃

pH： 7.6～8.2

溶存酸素濃度： 8.4～9.5mg

照射時間： 12～16 時間（約 500 ルックス）

試験項目；

魚体中の放射能濃度；

暴露開始後 5、11、21、43、64 時間と暴露終了後の 32、64、96、128 時間（暴露開始をベース）に可食部と非可食部に分けて LSC により放射能を分析した。

またすべての試料は化学発光の影響を除いた後 TLC 分析に供した。

試験水中の被験物質濃度；

暴露開始前 1 時間、暴露開始 0、0.5、1、1.5、5、11、21、43、64 時間と暴露終了後の 32、64、96、128 時間（暴露開始をベース）に放射能を LSC で測定した。一部の試料は分析の必要性に備えて冷蔵保管した。

死亡率の観察；

1 日 1 回死亡率の観察を行った。

生物濃縮係数（BCF）の計算；

BCF は定常的なレベルにおける標本中の総放射能のレベル(ppm)と水中の放射能レベル(ppm)とで定義される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

$$BCF = \frac{\text{標本中の総放射能(ppm)}}{\text{水中の放射能(ppm)}}$$

試験結果：

(1)魚体中の被験物質濃度 (ppm)

試験区 (mg/L)	魚体部位	取込期間 (時間)					定常状態 <sup>a)</sup>	排泄期間(時間)			
		5	11	21	43	64		32	64	96	128
	可食部										
	非可食部										
	全体 <sup>c)</sup>										
	可食部										
	非可食部										
	全体 <sup>c)</sup>										

a)定常状態は低投与区で採取間隔 11 時間以降および高投与区の可食部で 11 時間以降、非可食部で 21 時間以降の平均濃度を表わしている。

b)値は 5 匹の平均を表す。

c)魚 5 匹の可食部、非可食部の全放射性残留の合計の平均を示す。

魚全体の低投与区で 連続した 3 回の測定における変動が 20%以内であることから定常状態と推測する。

両試験区の結果によると取込期間中に放射性残留は急速に蓄積し、定常状態(プラトー)濃度に到達し、暴露開始から低投与区で 11 時間、高投与区では 21 時間以降であった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

(2)試験水中の被験物質濃度

取込期間中の暴露用水槽における被験物質濃度を下表に示す。

採取時間 (時間)	水槽		
	1 (無処理)		
0	0		
0.5	n.d.		
1	n.d.		
1.5	n.d.		
5	n.d.		
11	n.d.		
21	0		
43	n.d.		
64	0		
平均±s	0		
32	n.d.		
64	n.d.		
96	n.d.		
128	n.d.		

n.d. : 検出されず

0 : 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ユーピーエルジャパン株式会社にある。

相	採取時間 (時間)		
	5	21	64
有機溶媒可溶			
水溶性			
合計			

相	採取時間 (時間)		
	5	21	64
有機溶媒可溶			
水溶性			
合計			

体系	同定	暴露時間 (時間)			
		21		64	
		%	ppm	%	ppm
1	親				
2					
3					
合計					

n.d. : 検出されず



本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

(3)濃縮係数

試験区 (mg/L)	BCF <sub>ss</sub>		
	可食部	非可食部	全体

これらの値を設定被験物質投与レベル及び定常状態レベルと比較した場合、被験物質レベルを10倍に増加しても定常状態の濃度は僅か4倍しか増加せず、それに伴ってBCF<sub>ss</sub>は約2.5倍に低下していると言える。

(4)排泄

本試験設計では、被験物質及び1あるいはその代謝物は魚類における生物濃縮に対する可能性はそれほど大きくないことが示され、むしろ暴露濃度にかかわらず化合物は急速に排泄されることが示された。

(5)死亡率の観察

取入期間および排せつ期間中、死亡例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ユービーエルジャパン株式会社にある。

#### 代謝分解のまとめ

フェンメディファムの動物、植物、土壌および水中における代謝、分解の要約は下記の通りであり、結果の概要をIX-82頁に、代謝分解経路図をIX-84頁に示した。

#### 動物：

フェンメディファムを単回経口（低および高用量）または反復経口（低用量）投与した結果、低用量投与の場合は反復の有無や供試生物の雌雄に関わらず投与30時間以内に大部分が体外へ排泄された。高用量投与群においても、フェンメディファムは投与後96時間以内に大部分が糞経路で排泄された。

体内での放射エネルギーの分布においては、消化管、肝臓、腎臓、肺およびカーカスにやや高濃度の放射エネルギーが認められたが、検出濃度は消化管とカーカスを除けば各臓器とも投与量の0.12%以下であった。

#### 血中濃度推移

血中濃度の推移については追加試験を実施して調べられた。

放射エネルギーの血漿中濃度は全体的に血液中より高く、フェンメディファム由来放射エネルギーは赤血球には優先的に分配されないことが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

植物：

4葉期のでんさいにフェンメディファムを散布し、葉表面、葉部および根部の各試料を経時的に分析した。処理4日後以降、遊離の親化合物は減少し、明らかに代謝物の検出量のみ増加した。

なお、試験期間を通じて根部から有意な量の放射能は認められなかったことから、フェンメディファムの吸収および代謝は葉部でのみ起こると想定される。したがって、でんさい根部に親化合物および代謝物は残留しないと考えられる。

土壌：

フェンメディファムは急速に分解され、土壌環境中に蓄積あるいは持続的に存在することはなかった。

したがって、フェンメディファムは土壌中で速やかに分解され、またその代謝物も同様に無機化が進むと判断されることから、土壌蓄積の恐れは無いと考えられる。

水中：

加水分解：

フェンメディファムの加水分解速度はpHに大きく依存し、pHが高いほど分解は速いことが明らかになった。

水中光分解（緩衝液）：

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

化合物は光条件に関わらず速やかに分解されることが明らかとなった。

水中光分解（自然水）：

親化合物の濃度は試験開始とともに急速に減少し、光照射区では 24 時間以降、暗所区では 2 日後以降検出されなかった。

土壌吸脱着性：

、<sup>14</sup>C-フェンメディファムの吸着には土壌の有機炭素含量が重要な役割を果していることが明らかになった。

生物濃縮性：

<sup>14</sup>C-フェンメディファムおよび/またはその代謝物は魚体中における大きな生物濃縮は示さず、化合物の暴露濃度にもかかわらず迅速に排泄されることが示された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

代謝分解の概要

		代謝分解物		フェンメディファム	未同定 **	抽出 残渣	合計
動物	ラット	雄	雄尿*				
			雌尿*				
			雄糞*				
			雌糞*				
		雌	雄尿*				
			雌尿*				
			雄糞*				
			雌糞*				
		雄	雄				
			雌				
			雄				
			雌				
		雌	雄				
			雌				
			雄				
			雌				
植物	てんさい	葉	30日後				
		根					

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユービーエルジャパン株式会社にある。

		代謝分解物	フェンメディファム	未測定 **	抽出残 渣	合計
土 壤	填質砂土	好氣的条件(11日)				
		好氣的条件(32日)				
加 水 分 解	pH 4	720 h (時間)				
	pH 7	16 h (時間)				
	pH 9	1 h (時間)				
水 中 光 分 解	標識	pH4(10日)				
		pH7(2日)				
		自然水(4時間)				
	標識	pH4(10日)				
		pH7(2日)				
		自然水(4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ユービーエルジャパン株式会社にある。

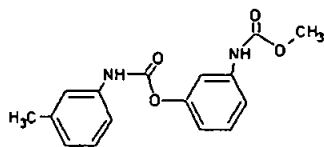


図. フェンメディファムの動植物等における代謝分解経路

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任はユーピーエルジャパン株式会社にある。

## X. フェンメディファムの開発年表