

11.7%TRR 認められた。また、処理葉以外の合計で 1.0%TRR であったことから、処理葉からそれ以外の植物体へ移行するピフェナゼート及び代謝物の量は極めて少ないと考えられた。

14 日後の処理葉で、ピフェナゼートが 12.0%TRR (0.50 mg/kg)、代謝物として B、C、D、F、G、K 及び少なくとも 8 種類の未知代謝物が認められたが、いずれも 6%TRR 未満であった。(参照 14)

② 土壌処理後のなすへの吸収、移行及び代謝

phe-¹⁴C-ピフェナゼートを 1000 g ai/ha となるようになす(品種：千両 2 号)を栽培しているポットの土壌表面に灌注し、処理 7、14、21 及び 28 日後に検体として果実、へた、花、葉及び茎を採取し、ピフェナゼートのなすにおける吸収、移行及び代謝試験が実施された。

28 日後のなすにおける残留放射能濃度は果実で 5.3 mg/kg、葉及び茎で 52.0mg/kg、花で 12.9 mg/kg といずれも 0.3%TAR 以下であり、根からのピフェナゼート及びその代謝物の地上部への移行は少ないと考えられた。なお、なす採取後の土壌中残留放射能濃度は 72.2%TAR あり、アセトニトリル及び塩酸酸性アセトニトリルにより 7.5%TAR が抽出された。抽出液からピフェナゼート、代謝物 B、D、E 及び H が認められた。(参照 15)

3. 土壌中運命試験

(1) 好氣的土壌中運命試験(日本土壌：phe-¹⁴C-ピフェナゼート)

好氣的土壌(軽埴土：静岡、滅菌及び非滅菌)において phe-¹⁴C-ピフェナゼートを、乾土当たり約 0.4 mg/kg となるように均一に分布させて、25℃の暗条件下で 28 日間インキュベートし、好氣的土壌中運命試験が実施された。

非滅菌土壌において、抽出可能画分は添加直後の 99.6%TAR から 28 日後には 13.6%TAR に減少し、抽出残渣は 28 日後で 72.8%TAR となった。

処理直後でピフェナゼートは 85.0%TAR であり、0.5 時間後には 8.4%TAR に減少した。ピフェナゼートの分解に伴い、分解物 B が急速に増加し、0.5 時間後には最高濃度(77.7%TAR)に達した後、急速に分解し、28 日後には 1.2%TAR となった。分解物 D、H 及び J が 1 日後に最高濃度(22.8%TAR、7.9%TAR 及び 5.6%TAR)に達した後、28 日後にそれぞれ 1.9%TAR、0.9%TAR 及び 0.5%TAR に減少した。土壌から発生する放射性気体については、28 日後までに CO₂として 17.1%TAR 認められた。

推定半減期はピフェナゼートのみでは分解が急速であったため求められず、ピフェナゼートと分解物 B を合わせたもので 8.6 時間、分解物 B で 8.0 時間、分解物 D で 5.2 日であった。

滅菌土壌において、抽出可能画分は添加直後の 102%TAR から 28 日後には 65.7%TAR に減少し、抽出残渣は 28 日後で 34.1%TAR となった。

滅菌土壌において、ピフェナゼートは処理直後で 93.8%TAR であり、0.5 時間後には 20.7%TAR に減少した。ピフェナゼートの分解に伴い、分解物 B が急速に増加し、処理直後の 4.6%TAR から 0.5 時間後には最高濃度(73.5%TAR)に達した後、速やかに分

解し、28 日後には 34.6%TAR となった。非滅菌土壌と分解物生成のパターンが類似していたが、全体的な分解速度は遅く、分解物 B の推定半減期は 12.6 日であった。分解物 D 及び H は処理直後から緩やかに増加し、14 日後には 8.6%TAR 及び 3.1%TAR 認められた。土壌から発生する放射性気体は認められなかった。

ビフェナゼートは主に非生物的反応により分解物 B に酸化され、次いで主に生物的反応により分解物 D に分解され、H や J を生成し、これらのビフェニル基を有する主要分解物はさらに微生物によって分解され、最終的に CO₂ に無機化されるか、腐植物質中に取り込まれるか、もしくは腐植物質自体に代謝されて結合性残留物となると考えられた。(参照 16)

(2) 好氣的土壌中運命試験 (米国土壌)

好氣的土壌 (砂壤土 : 米国) において phe-¹⁴C-ビフェナゼートを、乾土当たり約 0.4 mg/kg となるように均一に分布させて、25±1°C の暗条件下で 28 日間インキュベートし、好氣的土壌中運命試験が実施された。

処理直後でビフェナゼートは 93.2%TAR であり、0.5 時間後には 2.8%TAR に減少した。ビフェナゼートの分解に伴い分解物 B が急速に増加し、0.5 時間後に最高濃度 (92%TAR) に達した後、急速に分解し、28 日後には 2.8%TAR となった。土壌から発生する放射性気体については、28 日後までに CO₂ として 1.1%TAR が認められた。

推定半減期はビフェナゼートで 0.5 時間以内、分解物 B で 7.3 時間、分解物 D で 60 日であった。

ビフェナゼートは分解物 B に酸化された後、芳香族ラジカル中間体に分解し、分解物 D を生成するほか、腐植物質に取り込まれて結合性残留物を生成すると考えられた。(参照 17)

(3) 好氣的土壌中運命試験 (日本土壌 : car-¹⁴C-ビフェナゼート)

好氣的土壌 (埴壤土 : 岩手) において car-¹⁴C-ビフェナゼートを乾土当たり 1.2 mg/kg となるように均一に分布させて、25°C の暗条件下で 144 時間インキュベートし、car-¹⁴C-ビフェナゼートの土壌中運命試験が実施された。

ビフェナゼートは添加直後で 88.9%TAR、24 時間後で 2.4%TAR、144 時間後で 1%TAR 未満に減少した。5%TAR を超えて生成した分解物は B のみであった。

分解物 B は添加直後で 7.1%TAR、24 時間後で 5.5%TAR、144 時間後で 1.7%TAR と減少した。その他 9 種類以上の分解物が認められたが、いずれも 3.1%TAR 以下であり、これらは経時的に減少した。残渣中放射能は添加直後で 0.2%TAR、24 時間後に 3.3%TAR に増加した後、144 時間後には 2.1%TAR に減少したので、ビフェナゼートあるいはカルボニル基を有する分解物が土壌中に残留することは少ないと考えられた。CO₂ が 24 時間後までで 77.5%TAR、144 時間後までで 86.2%TAR 認められたので、ビフェナゼートのカルボニル部分は土壌中で速やかに脱離し、CO₂ になると考えられた。

(参照 18)

(4) 嫌氣的湛水底質中運命試験

米国オハイオ州の池より採取した表面水と底質による実験系（水：底質＝3：1）を窒素雰囲気中において嫌気状態とし、その水相に $\text{phe-}^{14}\text{C}$ -ビフェナゼートを約 1 mg/kg となるように添加した後、攪拌して水と底質に分布させ、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗条件下で 12 ヶ月間インキュベートし、嫌氣的湛水底質中運命試験が実施された。

12 ヶ月後には可溶性画分は 47.2% TAR に減少し、結合性残留物は 51.5% TAR に増加した。 CO_2 と揮発性物質は 12 ヶ月の試験期間中に少量（0.5% TAR 未満）認められた。

ビフェナゼートは、28 日後で 70.5% TAR、12 ヶ月後で 4.8% TAR が残存し、推定半減期は 77.9 日であった。分解物としては Z（B の脱メチル体）、E が認められ、それぞれ 8 ヶ月後、10 ヶ月後に最高濃度に達し 14.7% TAR 及び 24.8% TAR であり、12 ヶ月後には 11.4% TAR 及び 21.6% TAR に減少した。

結合性残留物を酸加水分解したところ、分解物 E 等が認められたが、個別の放射能領域では 10% TAR 以下であった。有機物画分では放射能の多く（40% TAR）がフミン画分に認められた。

嫌気条件下で、ビフェナゼートはメチル基の脱離と N=N 結合の形成により分解物 Z が生成した。また、分解物 E や底質の結合性残留物の生成も考えられた。（参照 19）

（5）分解物 D の土壌吸着試験（日本土壌）

ビフェナゼート及びその主要代謝物 B は土壌中の半減期が短いため、土壌中で比較的安定な主要分解物 D について、重埴土（茨城）、砂質埴壤土（愛知）、シルト質埴壤土（熊本）及び埴質砂土（宮崎）を用いて土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 31~2520、有機炭素補正による吸着係数 K_{oc} は 2790~19400 であった。分解物 D の土壌中での移動性は極めて小さいと考えられた。（参照 20）

（6）土壌カラムリーチング試験（米国土壌）

米国 4 土壌（シルト質埴土、砂埴土×2、シルト質埴壤土）を用いて土壌カラムリーチング試験が実施された。

内径 4.8 cm×高さ 30 cm の土壌カラムに 520 g ai/ha の割合で $\text{phe-}^{14}\text{C}$ -ビフェナゼートを処理後、 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ の暗条件下、雨量換算 100 mm/日で 5 日間溶出したところ、いずれの土壌カラムにおいても全溶出液中で 3% TAR 未満であり、放射能の多くは土壌カラムの 0~6 cm 部分に存在したことから、ビフェナゼートの土壌中でのリーチング性は低いと考えられた。（参照 21）

4. 水中運命試験

（1）加水分解試験①

$\text{phe-}^{14}\text{C}$ -ビフェナゼートを pH 4（フタル酸）、7（リン酸）及び 9（ホウ酸）の各滅菌緩衝液に 1 mg/L となるように加えた後、25 及び 35°C でインキュベートし、ビフェナゼートの加水分解試験が実施された。

ビフェナゼートの半減期は pH 4 では 25 及び 35°C でそれぞれ 21.5 日及び 13.1 日、pH 7 ではそれぞれ 50.7 時間及び 16.1 時間、pH 9 ではそれぞれ 6.7 時間及び 3.1 時間

であり、主要分解物として B 及び J が認められた

加水分解によるビフェナゼートの減衰は全ての pH で 2 相性を示し、試験の前半の分解速度は緩やかで、後半の分解速度が上昇する現象が観察された。(参照 22)

(2) 加水分解試験②

phe-¹⁴C-ビフェナゼートをアセトニトリルに溶解し 1 µg/mL となるように pH 4、5 (酢酸緩衝液)、7 (リン酸緩衝液) 及び 9 (ホウ酸緩衝液) の滅菌緩衝液に添加し、暗所、25°C でインキュベートし、ビフェナゼートの加水分解試験が実施された。

pH 4、5、7 及び 9 のそれぞれの推定半減期は 218 時間、130 時間、20 時間、1.6 時間、90% 分解時間は 504 時間、264 時間、28 時間、2.0 時間であった。分解過程は 2 相性を示し、 α 相は緩やかに、 β 相は速やかに進んだ。 α 相では各 pH に共通の分解物 B、D 及び J が生成した。その他、10%TRR を超えて認められた分解物は pH 7 と 9 の緩衝液中で J の 2 量体であった。また、 β 相では pH 4 以外で H が 7%TRR 未満認められた。(参照 23)

(3) 水中光分解試験

phe-¹⁴C-ビフェナゼートを滅菌蒸留水及び河川水 (元荒川：埼玉県蓮田市) に 1 mg/L となるように加えた後、25°C で滅菌蒸留水については 12 時間、河川水については 2 時間キセノン光照射 (450±10 W/m²、波長範囲：290~800 nm) し、ビフェナゼートの水中光分解試験が実施された。

推定半減期は光照射区で滅菌蒸留水が 4.8 時間、河川水が 0.2 時間、春期における東京 (北緯 35°) の太陽光換算でそれぞれ、21.8 時間及び 0.9 時間であり、暗所区で 12 時間以上及び 2 時間以上であった。

河川水中における 2 時間後のビフェナゼートは 1.9% TAR であり、主要分解物として B が 72.3% TAR、その他の分解物 C、D 及び H は 2% TAR 未満であった。

滅菌蒸留水中における 12 時間後のビフェナゼートは 5.0% TAR であり、主要分解物として B が 55.8% TAR、その他、分解物 WS-3 が 5.5% TAR、分解物 C、D 及び H は 3% TAR 未満であった。

光照射によりビフェナゼートは水中で速やかに B に光分解され、さらに C、D、H 及び WS-3 へと分解されることが考えられた。(参照 24)

(4) 水中光分解試験 (pH 5 滅菌緩衝液)

phe-¹⁴C-ビフェナゼートを pH 5 の滅菌酢酸緩衝液に 1 mg/L となるように加えた後、25°C、150 時間 (明暗各 12 時間間隔) キセノンランプの疑似太陽光 (7000 W、波長範囲：250~400 nm、380~750 nm) を照射し、ビフェナゼートの水中光分解試験が実施された。

ビフェナゼートの推定半減期及び 90% 消失時間は光照射区で 17 時間及び 41 時間、暗所区で 58 時間及び 96 時間であった。初期主要分解物 B は、78 時間後に暗所区で最大の 54.3% TAR に達した後減衰した。分解物 B の半減期は光照射区で 41 時間、暗所区で 43 時間であった。光照射区では分解物 D 及び J が 24 時間後に 3.5% TAR 及び 5.4% TAR

が認められた。分解物 J は 150 時間後に 15.8% TAR に増加した。D は 54 時間後に 13.1% TAR に増加し、150 時間後に 2.1% TAR に減衰した。H は徐々に増加して 150 時間後に 30.4% TAR に達した。CO₂ が 4% TAR 認められた。(参照 25)

(5) 自然水及び pH 7 滅菌緩衝液における水中光分解

phe-¹⁴C-ビフェナゼートを濾過滅菌した自然水(河川水、米国オハイオ州)及び pH 7 のリン酸緩衝液にそれぞれ 1 mg/L となるように加えた後、25°C、12 時間キセノンランプ(7000 W、波長範囲: 250~400 nm、380~750 nm)の疑似太陽光を照射し、自然水及び pH 7 滅菌緩衝液における水中光分解試験が実施された。

推定半減期及び 90% 消失時間は光照射区の自然水で 0.7 時間及び 2.5 時間、緩衝液で 9.8 時間及び 11.8 時間、暗所区の自然水で 9.9 時間及び 11.7 時間、緩衝液で 11.8 時間であった。なお、暗所区の 90% 消失時間は 12 時間照射で 40% TAR が残存したため計算しなかった。

自然水中及び緩衝液中の主要分解物として B が最大でそれぞれ 58.4% TAR (2 時間後) 及び 66% TAR (12 時間後)、D が 12.8% TAR (9 時間後) 及び 2.8% TAR (12 時間後)、J が 11.7% TAR (4 時間後) 及び 2.1% TAR (12 時間後)、H が 17.2% TAR (12 時間後) であった。CO₂ は投与 12 時間後までに、光照射区の自然水で 1.2% TAR、緩衝液で 0.40% TAR 認められた。(参照 26)

(6) 水中光分解試験(分解物 B)

phe-¹⁴C-分解物 B を滅菌蒸留水及び河川水(元荒川: 埼玉県蓮田市)に 1 mg/L となるように加えた後、25°C で滅菌蒸留水については 48 時間、河川水については 5 時間キセノン光照射(450 ± 10 W/m²、波長範囲: 290~800 nm)し、分解物 B の水中光分解試験が実施された。

推定半減期は光照射区で滅菌蒸留水が 20.1 時間、河川水が 2.2 時間、春期における東京(北緯 35°)の太陽光換算でそれぞれ、91.5 時間及び 10.0 時間であり、暗所区で 43.0 時間及び 4.6 時間であった。

5 時間後の河川水の分解物 B は 19.9% TAR であり、主要分解物として H が 5.2% TAR、その他ビフェナゼート、分解物 D 及び H がいずれも 5.0% TAR 未満、未知分解物が最大で 7.9% TAR 認められた。CO₂ が 5 時間後で 1.0% TAR 認められた。

48 時間後の滅菌蒸留水中の分解物 B は 17.6% TAR であり、主要分解物として D が 5.2% TAR、その他ビフェナゼート、分解物 C 及び H が認められたが、いずれも 5.0% TAR 未満であった。CO₂ が 48 時間後で 5.4% TAR 認められた。

光照射により分解物 B は水中で C、D、H 及び CO₂ に分解されると考えられた。(参照 27)

5. 土壌残留試験

火山灰・埴壤土及び洪積・埴壤土を用いて、ビフェナゼートと分解物 B の含量及び分解物 D を分析対象化合物としたビフェナゼートの土壌残留試験(容器内及び圃場)が実施された。

推定半減期は、ビフェナゼートと分解物 B の含量としては 2 時間~2 日、分解物 D で 4~19

日、3成分の合計では5時間~10日であった(表7)。(参照28)

表7 土壌残留試験成績(推定半減期)

試験	濃度*	土壌	ビフェナゼートと分解物Bの含量	分解物D	3成分合計
容器内試験	1.2 mg/kg	火山灰・埴壤土	2日	12日	10日
		洪積・埴壤土	2日	4日	3日
圃場試験	1200 g ai/ha	火山灰・埴壤土	2時間	7日	5時間
		洪積・埴壤土	2時間	19日	5時間

※容器内試験で純品、圃場試験でフロアブルを使用

6. 作物残留試験

果実、野菜、茶等を用いて、ビフェナゼート及び代謝物Bまたはその含量を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

結果は別紙3に示されている。

ビフェナゼートの最高値はぶどう(果皮)を除くと、最終散布44~45日後に収穫したぶどう(果実)の1.41 mg/kgであった。(参照29~31、66)

別紙3の作物残留試験の含量分析値を用いて、ビフェナゼート及びそのアゾ体(代謝物B)を暴露評価対象化合物として国内で栽培される農産物から摂取される推定摂取量が表8に示されている。なお、本推定摂取量の算定は、申請された使用方法からビフェナゼート及びそのアゾ体の含量が最大の残留を示す使用条件で、今回申請されたかんしょを含む全ての適用作物に使用され、加工・調理による残留農薬の増減が全くないと仮定の下に行った。(参照29、30、31、66)

表8 食品中より摂取されるビフェナゼート及びそのアゾ体の含量の推定摂取量

作物名	残留値(mg/kg)	国民平均(体重:53.3 kg)		小児(1~6歳)(体重:16.8 kg)		妊婦(体重:55.6 kg)		高齢者(65歳以上)(体重:54.2 kg)	
		ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量	ff	摂取量
		(g/人/日)	(µg/人/日)	(g/人/日)	(µg/人/日)	(g/人/日)	(µg/人/日)	(g/人/日)	(µg/人/日)
トマト	0.17	24.3	4.13	16.9	2.87	24.5	4.17	18.9	3.21
ピーマン	0.41	4.4	1.80	2	0.82	1.9	0.78	3.7	1.52
ナス	0.5	4	2	0.9	0.45	3.3	1.65	5.7	2.85
きゅうり	0.1	16.3	1.63	8.2	0.82	10.1	1.01	16.6	1.66
みかん	0.02	41.6	0.83	35.4	0.71	45.8	0.92	42.6	0.85
みかん以外 のかんきつ	0.3	2.7	0.81	1.7	0.51	3.7	1.11	2.5	0.75
りんご	0.72	35.3	25.4	36.2	26.1	30	21.6	35.6	25.6

なし	0.9	5.2	4.68	4.5	4.05	5.4	4.86	5.2	4.68
もも	0.01	0.5	0.01	0.7	0.01	4	0.04	0.1	0.00
すもも	0.15	0.2	0.03	0.1	0.02	1.4	0.21	0.2	0.03
うめ	0.66	1.1	0.73	0.3	0.20	1.4	0.92	1.6	1.06
おうとう	0.38	0.1	0.04	0.1	0.04	0.1	0.04	0.1	0.04
いちご	1.11	0.3	0.33	0.4	0.44	0.1	0.11	0.3	0.33
ぶどう	0.93	5.8	5.39	4.4	4.09	1.6	1.49	3.8	3.53
その他の果 実(いちじく)	0.54	3.9	2.11	5.9	3.19	1.4	0.76	1.7	0.92
茶	0.54	3	1.62	1.4	0.76	3.5	1.89	4.3	2.32
合計			51.5		45.1		41.6		49.4

- 注) ・残留値は、申請されている使用時期・使用回数による各試験区の平均残留値のうちピフェナゼート及びそのアゾ体の含量の最大値を用いた(参照 別紙3)。
 ・「ff」：平成10年~12年の国民栄養調査(参照 80~82)の結果に基づく農産物摂取量(g/人/日)
 ・「摂取量」：残留値及び農産物残留量から求めたピフェナゼートの推定摂取量(µg/人/日)
 ・みかん以外のかんきつにはなつみかん、カボス、スタチが含まれるが、残留値の最も高かったカボスの0.30 mg/kgを用いた。
 ・さといも、かんしょ、やまいも、スイカ及びメロンは全データが定量限界未満であったため摂取量の計算はしていない。
 ・その他の果実にはいちじくの残留値を用いた。

7. 一般薬理試験

マウス及びラットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表9に示されている。(参照 32)

表9 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 (mg/kg 体重) (投与経路)	無作用量 (mg/kg 体重)	作用量 (mg/kg 体重)	結果概要	
中枢 神経 系	一般状態 (Irwin 法)	ICR マウス	雄 3 雌 3	0、320、 800、2000、 5000 (経口投与)	2000	5000	興奮性症状と抑制 性症状を混在した 非特異的症状。雌 1 例 8 日に死亡。
					320	800	
	一般状態	SD ラット	雄 5	0、800、 2000、5000 (経口投与)	5000	—	影響なし
					800	2000	軽度な減少、3 日 までに回復
					5000	—	影響なし
体重							
体温							

	ヘキサバルビタール睡眠	ICR マウス	雄 8	0、3.28、 8.19、20.5、 51.2、128、 320、800、 2000、5000 (経口投与)	8.19	20.5-320 2000-5000	中間量で短縮 高用量で延長
循環器系	血圧・心拍数	SD ラット	雄 5	0、800、 2000、5000 (経口投与)	5000	-	影響なし
自律神経系	瞳孔径						
消化器系	小腸炭末輸送能	ICR マウス	雄 8	0、128、320、 800、2000、 5000 (経口投与)	320	800	炭末輸送能低下
骨格筋	握力	SD ラット	雄 5	0、800、 2000、5000 (経口投与)	5000	-	影響なし
血液	溶血 凝固		雄 5 雌 5	0、320、800、 2000、5000 (経口投与)			投与後1日に測定した結果において、影響なし

・検体はピフェナゼート原体を0.5%CMC-Naに懸濁したものを単回経口投与した。

8. 急性毒性試験

ピフェナゼート及び各種代謝物を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表10及び11に示されている。(参照33~38)

表10 急性毒性試験結果概要(原体)

投与経路	動物種 (溶媒)	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		症状
		雄	雌	
経口	SDラット 一群雌雄各5匹 (0.5% CMC-Na 水溶液)	>4950	>4950	症状及び死亡例なし

経口	ICR マウス 一群雌雄各 5 匹 (0.5% Tween80 水溶液)	>4950	>4950	雄：腹部膨満 雌：外陰部被毛湿潤 雄 1 匹で死亡例あり
経皮	SD ラット 一群雌雄各 5 匹 (0.9% 生理食塩水)	>5000	>5000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 一群雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		暴露終了直後には湿性ラッセル音と分泌物（紅涙、赤色/褐色鼻汁）が認められたが、これらの症状は暴露後 1 週間以内にすべて消失した。 死亡例なし
		>4.4	>4.4	

表 1 1 急性毒性試験結果概要（代謝物）

検体	投与経路	動物種 (溶媒)	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		症状
			雄	雌	
代謝物 B	経口	SD ラット (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5000	>5000	全動物で立毛、円背位、よろめき/ふらつき歩行、四肢退色及び眼球暗調化、部分的眼瞼閉鎖及び腹部膨満が認められた。 死亡例なし
代謝物 D	経口	SD ラット (0.5% CMC-Na 水溶液)	>5000	>5000	症状及び死亡例なし

9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼一次刺激性試験及び皮膚一次刺激性試験が実施されており、ピフェナゼート原体の眼及び皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 39~40)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施されており、ピフェナゼート原体に軽度の皮膚感作性が認められた。(参照 41)

10. 亜急性毒性試験

(1) 90日間亜急性毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、40、200 及び 400 ppm : 平均検体摂取量は表 12 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 1 2 90日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	200 ppm	400 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	2.7	13.8	27.7
	雌	3.2	16.3	32.6

各投与群で認められた毒性所見は表 13 に示されている。

なお、神経行動学的検査として投与 8 週及び 13 週に全動物を対象として、苦悶反応、旋回、振戦等の機能観察検査を実施したところ、検体投与と考えられる影響は認められなかった。

本試験において、200 ppm 以上投与群の雌雄で小葉中心性肝細胞肥大等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 40 ppm (雄：2.7 mg/kg 体重/日、雌：3.2 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 42)

表 13 90日間亜急性毒性試験(ラット)で認められた所見

投与群	雄	雌
400 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・RBC 及び Hb 減少 ・脳(脳幹を含む)、脾、精巢(精巢上体を含む)及び腎体比重量増加 ・肝及び脾の髓外造血亢進 ・肝クッパー細胞色素沈着 	<ul style="list-style-type: none"> ・Ht 減少 ・副腎比重量増加 ・赤脾髄色素沈着増加
200 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・小葉中心性肝細胞肥大 ・肝単細胞壊死 ・リンパ組織球性細胞浸潤 ・赤脾髄色素沈着増加 ・副腎皮質束状帯空胞化 	<ul style="list-style-type: none"> ・小葉中心性肝細胞肥大 ・体重増加抑制及び摂餌量減少 ・RBC 及び Hb の減少 ・脳(脳幹を含む)、脾、腎及び肝比重量増加
40 ppm	毒性所見無し	毒性所見無し

(2) 90日間亜急性毒性試験(マウス)

ICR マウス(一群雌雄各 10 匹)を用いた混餌(原体:0、50、100 及び 150 ppm:平均検体摂取量は表 14 参照)投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 14 90日間亜急性毒性試験(マウス)の平均検体摂取量

投与群		50 ppm	100 ppm	150 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	8.0	16.2	24.0
	雌	10.3	21.7	32.9

本試験において、いずれの投与群の雄からも検体投与による影響は認められず、100 ppm 以上投与群の雌で脾での色素沈着の発生頻度及び程度の増加が認められたので、無毒性量は雄で 150 ppm (24.0 mg/kg 体重/日)、雌で 50 ppm (10.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 43)

(3) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)

ビーグル犬(一群雌雄各 4 匹)を用いた混餌(原体:0、40、400 及び 1000 ppm:平

均検体摂取量は表 15 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 15 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	400 ppm	1000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.9	10.4	25.0
	雌	1.3	10.7	28.2

各投与群で認められた毒性所見は表 16 に示されている。

本試験において、400 ppm 以上投与群の雌雄で肝比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 40 ppm (雄 : 0.9 mg/kg 体重/日、雌 : 1.3 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 44)

表 16 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) で認められた所見

投与群	雄	雌
1000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・網状赤血球数増加 ・血漿中 Chol 及び ALP 増加 ・肝細胞小葉中心性またはび慢性肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制
400 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・MCV、MCH 及び PLT 増加 ・β1-Glob 減少 ・肝比重量増加 ・クッパー細胞褐色色素沈着 ・尿の褐色化及び Bil 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・RBC、Hb 及び Ht 減少 ・MCV、MCH 及び PLT 増加 ・β1-Glob 減少 ・肝比重量増加 ・クッパー細胞褐色色素沈着 ・摂餌量減少 ・網状赤血球数増加 ・肝細胞小葉中心性またはび慢性肥大
40 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(4) 21 日間亜急性経皮毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた経皮 (原体 : 0、80、400 及び 1000 mg/kg 体重/日) 投与による 21 日間亜急性毒性試験が実施された。

剪毛・剃毛したラットの背部皮膚に、蒸留水で湿らせたピフェナゼート原体を塗布し、投与部位をガーゼで閉塞貼附し、6 時間後に投与部位を湯で洗浄した。

1000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で Hb 減少、脾比重量増加が、雄で体重増加抑制、PLT 増加、尿比重増加、副腎比重量増加、脾の髓外造血亢進が、雌で RBC 及び Ht の減少、血漿中 T.Bil の増加が認められた。

本試験において、400 mg/kg 体重/日以上投与群の雌雄で摂餌量減少が、雄で尿量減少が、雌で体重増加抑制、脾の髓外造血亢進が認められたので、無毒性量は雌雄で 80 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 45)

1.1. 慢性毒性試験及び発がん性試験

(1) 1年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各5匹）を用いた混餌（原体：0、40、400及び1000 ppm：平均検体摂取量は表17参照）投与による1年間慢性毒性試験が実施された。

表17 1年間慢性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群		40 ppm	400 ppm	1000 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.01	8.95	23.9
	雌	1.05	10.4	29.2

1000 ppm 投与群の雄で Hb 及び Ht 減少、血漿中 α 2-Glob 増加が、雌で WBC 及び Lym 増加、肝比重量増加が認められた。

本試験において、400 ppm 以上投与群の雌雄で体重増加抑制傾向、RBC 減少、網状赤血球数、MCV、有核赤血球数及び PLT 増加、血漿中 T. Bil 増加、 β 1-Glob 減少、尿の褐色化及び Bil 増加、大腿骨、肋骨及び胸骨の骨髓過形成、腎の近位尿細管上皮褐色色素沈着、肝クッパー細胞内褐色色素沈着が、雄で摂餌量減少傾向、WBC、分葉 Neu 及び Lym の増加が、雌で MCH 増加、Hb 及び Ht 減少が認められたので、無毒性量は雌雄で 40 ppm（雄：1.01 mg/kg 体重/日、雌：1.05 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 46）

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

SD ラット（一群雌雄各60匹）を用いた混餌（原体：0、20、80及び200（雄）、160（雌） ppm：平均検体摂取量は表18参照）投与による2年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表18 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群		20 ppm	80 ppm	200/160 ppm
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.0	3.9	9.7
	雌	1.2	4.8	9.7

200 ppm 投与群の雄で体重増加抑制、摂餌量減少、血漿中 T. Chol 減少が、160 ppm 投与群の雌で Hb 及び Ht 減少、脾色素沈着程度の増加が認められた。

本試験において、80 ppm 以上投与群の雄で脾色素沈着程度の増加が、雌で体重増加抑制、摂餌量減少、RBC の減少が認められたので、無毒性量は雌雄とも 20 ppm（雄：1.0 mg/kg 体重/日、雌：1.2 mg/kg 体重/日）であると考えられた。発がん性は認められなかった。（参照 47）

(3) 18ヶ月間発がん性試験（マウス）

ICR マウス（一群雌雄各50匹）を用いた混餌（原体：0、10、100及び225（雄）、

175 (雌) ppm : 平均検体摂取量は表 19 参照) 投与による 18 ヶ月間発がん性試験が実施された。

表 19 18 ヶ月間発がん性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群		10	100	225/175
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.5	15.4	35.1
	雌	1.9	19.7	35.7

225 ppm 投与群の雄で体重増加抑制、摂餌量減少、RBC 減少、肝比重量増加が、175 ppm 投与群の雌で肝比重量増加が認められた。

本試験において、100 ppm 投与群の雄で WBC 及び Lym 数減少、腎比重量減少が、雌で体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雌雄で 10 ppm (雄 : 1.5 mg/kg 体重/日、雌 : 1.9 mg/kg 体重/日) であると考えられた。発がん性は認められなかった。(参照 48)

1.2. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代繁殖試験① (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、20、80 及び 200 ppm : 平均検体摂取量は表 20 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 20 2 世代繁殖試験① (ラット) の平均検体摂取量

投与群			20	80	200
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	1.5	6.1	15.3
		雌	1.7	6.9	17.2
	F ₁ 世代	雄	1.7	6.9	17.4
		雌	1.9	7.8	19.4

親動物では、200 ppm 投与群の雌雄で体重増加抑制 (P)、雌で脳、腎、脾、卵巣及び副腎比重量増加 (P 及び F₁) が認められた。

本試験において、80 ppm 以上投与群の雄で体重増加抑制 (F₁) が、20 ppm 以上投与群の雌で体重増加抑制 (F₁) が認められ、児動物ではピフェナゼート投与の影響は認められなかったので、無毒性量は親動物の雄で 20 ppm (P 雄 : 1.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雄 : 1.7 mg/kg 体重/日)、雌で 20 ppm 未満 (P 雌 : 1.7 mg/kg 体重/日未満、F₁ 雌 : 1.9 mg/kg 体重/日未満)、児動物の雌雄で 200 ppm (F₁ 雄 : 15.3 mg/kg 体重/日、F₁ 雌 : 17.2 mg/kg 体重/日、F₂ 雄 : 17.4 mg/kg 体重/日、F₂ 雌 : 19.4 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 49)

(2) 2 世代繁殖試験② (ラット)

SD ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、7.5、15 及び 20 ppm : 平

均検体摂取量は表 21 参照) 投与により、2 世代繁殖試験 (追加試験) が実施された。本試験は 2 世代繁殖試験① (12. (1) 参照) で認められた親動物の 20 ppm 投与群の F₁ 雌で認められた体重への影響を確認するために実施されたものであった。

表 21 2 世代繁殖試験② (ラット) の平均検体摂取量

投与群			7.5	15	20
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	0.6	1.1	1.5
		雌	0.6	1.3	1.7
	F ₁ 世代	雄	0.6	1.1	1.5
		雌	0.6	1.2	1.7

本試験において、親動物では、20 ppm 投与群の雄で肝及び精巣上体尾部比重量増加 (P)、雌で胸腺比重量の増加 (P) が認められ、児動物ではビフェナゼート投与の影響は認められなかったため、無毒性量は親動物の雌雄とも 15 ppm (P 雄: 1.1 mg/kg 体重/日、P 雌: 1.3 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 1.1 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 1.2 mg/kg 体重/日)、児動物の雌雄で 20 ppm (F₁ 雄: 1.5 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 1.7 mg/kg 体重/日、F₂ 雄: 1.5 mg/kg 体重/日、F₂ 雌: 1.7 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 50)

(3) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体: 0、10、100 及び 500 mg/kg 体重/日 溶媒: 0.5%CMC 溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

母動物では、500 mg/kg 体重/日投与群で、四肢の退色、糞量減少、膣からの褐色流出物が認められた。

本試験において、母動物では 100 mg/kg 体重/日以上投与群で体重増加抑制、摂餌量減少、鼻周囲の赤色汚れ・付着物が認められ、胎児ではビフェナゼート投与の影響は認められなかったため、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 500 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 51)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

NZW ウサギ (一群雌 20 匹) の妊娠 7~19 日に強制経口 (原体: 0、10、50 及び 200 mg/kg 体重/日 溶媒: 0.5%CMC 溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、ビフェナゼート投与の影響は親動物、胎児ともに認められなかったため、無毒性量は、母動物及び胎児とも 200 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 52)

1.3. 遺伝毒性試験

ビフェナゼートの細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来培養細胞 (L5178Y) を用いた遺伝子突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞 (CHO) を用いた染色体異常試験、ラットを用いた *in vivo* 肝不定期 DNA 合成 (UDS)

試験、マウスを用いた小核試験が実施された。

試験結果は表 22 に示されており全て陰性であった。ビフェナゼートに遺伝毒性はないものと考えられた。(参照 53~58)

表 22 遺伝毒性試験結果概要 (ビフェナゼート原体)

	試験	対象	処理濃度・投与量	結果
<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>B. subtilis</i> (H17、M45 株)	1500~24000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、 TA1535、TA1537 株) <i>E. coli</i> (WP2 $uvrA$ 株)	10~5000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	遺伝子突然変異試験	マウスリンパ腫由来培 養細胞(L5178Y)	15~50 µg/mL (-S9)、 25~500 µg/mL (+S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスタ ー卵巣由来培養細胞株 (CHO)	12~375 µg/mL (-S9)、 20~1250 µg/mL (+S9)	陰性
<i>in vivo</i>	肝 UDS 試験	SD ラット (一群雄 3 匹)	0、500、2000 mg/kg 体 重 (単回強制経口投与)	陰性
	小核試験	ICR マウス骨髓細胞 (一群雌雄各 5 匹)	雄：0、96、192、384 mg/kg 体重 雌：0、50、100、200 mg/kg 体重 (単回腹腔内投与)	陰性

注) ±S9：代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 B に関して細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスリンパ腫由来培養細胞 (L5178Y) を用いた遺伝子突然変異試験及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験が実施された。代謝物 B の細菌を用いた復帰突然変異試験で S9mix 存在下の TA98 株で弱い陽性反応が認められたが、その他の試験は全て陰性であった (表 23)。

代謝物 B の細菌を用いた復帰突然変異試験で陽性反応が認められたが、マウスリンパ腫由来培養細胞 (L5178Y) を用いた遺伝子突然変異試験で陰性であったこと及びマウスを用いた *in vivo* 小核試験の結果が陰性であったことを考え合わせると、生体において問題となるような遺伝毒性が発現することはないものと考えられた。

代謝物 D に関しても細菌を用いた復帰突然変異試験が行われており、結果は陰性であった (表 23)。(参照 59~62)