

施用されたピフェナゼートは大部分が果実表面に残留し、少量が緩やかに果実内部に浸透し、代謝物 B に酸化され、最終的に極性代謝物及び結合体残留物として存在すると考えられた。(参照 12)

#### (4) リンゴ

Ph-<sup>14</sup>C ピフェナゼートを 1987 年に移植したりんご樹(Granny Smith 種)に 420 g ai/ha (通常施用区) 及び 2240 g ai/ha (過剰施用区) となるように茎葉散布し、散布後 0、31、101 日後に検体として果実及び葉を採取し、ピフェナゼートの代謝試験が行われた。

101 日後の通常施用区の全果実における残留放射能及びその内容が表 6 に示されている。

表 6 101 日後の果実における残留放射能(通常施用区)

試料部位	部位別分布 (%)	ピフェナゼート (%TRR)	代謝物 (%TRR)
表面洗浄液	54.8	33.0	B(4.8), C 及び D(1.0 未満)
絞るかす	34.9	0.6	B(0.8), C 及び D(0.1 以下)
ジュース	10.4	0.1 未満	B, C 及び D (0.1 以下)

※果実全体の TRR は 0.088 mg/kg (2 本の果樹から得られた値の平均値)

101 日後の通常施用区の葉では、TRR が 9.3 mg/kg であり、ピフェナゼートと代謝物 B が認められた。

過剰施用区でも、残留放射能及びその内容については通常施用区と同様の傾向が認められたが、全果実中から微量代謝物として I が 0.3%TRR (0.001 mg/kg) 認められた。

ピフェナゼートの果実中への浸透はきわめて少量であり、果実中に浸透した少量のピフェナゼートは代謝物 B に酸化され、最終的に多数の極性産物及び結合体残留物へと広範に代謝されると考えられた。(参照 13)

#### (5) なす

##### ① なす幼植物における代謝試験

Ph-<sup>14</sup>C ピフェナゼートをアセトニトリル溶液 200 µg/ml に調製したもの 100 µL を、6 葉期まで栽培したなす(品種：千両 2 号)の第 4 葉の表側に処理し、処理後 3、7、14 日後に処理葉、処理葉より上部、処理葉より下部及び根部を検体として、ピフェナゼートのなす幼植物における代謝試験が実施された。

14 日後の検体全体の TRR は 4.4 mg/kg であり、処理葉の表面洗浄液画分で 71.7%TRR、有機溶媒抽出画分で 15.5%TRR、水画分及び残渣でそれぞれ 5.95%、11.7%TRR 認められた。また、処理葉以外の合計で 1.04%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、K、C、G、D、F 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 土壤処理後のなすへの吸収、移行及び代謝

Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼートを 100 g ai/10a 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壤表面に灌注し、散布後 7、14、21、28 日後に検体として果実、へた、花、葉及び茎を採取し、土壤表面に落下したビ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放射能濃度は果実中で 5.3 mg/kg、葉及び茎で 52 mg/kg、花で 12.9 mg/kg といずれも 0.3% TAR 以下であり、なすの根からの土壤中のビ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、なす採取後の土壤には残留放射能が 72 mg/kg 認められ、アセトニトリル、アセトニトリル塩酸抽出により 7.5% TAR が抽出された。抽出液からビフェナゼート、代謝物 B、D、H 及び E が認められた。(参照 15)

## 3. 土壤中運命試験

### (1) 好氣的土壤中運命試験(日本土壤：Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼート)

好氣的土壤(軽埴土：静岡、滅菌及び非滅菌)において Ph-<sup>14</sup>C 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℃の暗条件下で 28 日間インキュベートし、ビフェナゼートの好氣的土壤中運命試験が実施された。

非滅菌土壤において、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。

施用直後でビフェナゼートは 85.0% TAR であり、0.5 時間後には 8.37% 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 時間後には 77.7% TAR と最高濃度に達した後、急速に分解し、28 日後には 1.19% TAR となった。分解物 D、H 及び J が 1 日後にそれぞれ 22.8% TAR、7.9% TAR 及び 5.59% TAR と最高濃度に達した後、28 日後にそれぞれ 1.93% TAR、0.84% TAR 及び 0.48% TAR に減少した。土壤から発生する放射性気体については、28 日後までに CO<sub>2</sub> として 17.1% TAR 認められた。

半減期はビ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、ビ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。

滅菌土壤において、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。

滅菌土壤において、ビフェナゼートは施用直後で 93.8% TAR であり、0.5 時間後には 20.7% 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、施用直後の 4.6% TAR から 0.5 時間後には 73.5% TAR と最高濃度に達した後、速やかに分解し、28 日後には 34.6% TAR となった。非滅菌土壤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 の半減期は 12.6 日であった。分解物 D 及び H は施用直後から緩やかに増加し 14 日後には 8.59% TAR 及び 3.13% TAR 認められた。土壤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な機構により分解物 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 CO<sub>2</sub> 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) 好氣的土壤中運命試験 (米国土壤)

好氣的土壤 (砂壤土: 米国) において Ph-<sup>14</sup>C 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、ビフェナゼートの好氣的土壤中運命試験が実施された。

非滅菌土壤においては、施用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 時間後には 92% TAR と最高濃度に達した後、急速に分解し、28 日後には 2.8% TAR となった。土壤から発生する放射性気体については、28 日後までに CO<sub>2</sub> として 1.1% TAR が認められた。

半減期はビフェナゼートで 0.5 時間未満、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) 好氣的土壤運命試験 (日本土壤: Car-<sup>14</sup>C ビフェナゼート)

好氣的土壤 (埴壤土: 岩手) において Car-<sup>14</sup>C 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-<sup>14</sup>C ビフェナゼートの土壤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 2.38% 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 7.08% TAR、24 時間後で 5.50% TAR、144 時間後で 1.66% 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、3.10% 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 0.15% TAR、24 時間後に 3.31% TAR に増加した後、144 時間後には 2.14% 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壤中に残留することは少ないと考えられた。CO<sub>2</sub> 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壤中ですぐに脱離し、CO<sub>2</sub> になると考えられた。(参照 18)

## (4) 嫌氣性湛水中底質運命試験

米国オハイオ州の池より採取した表面水と低質の実験系 (水/低質=3:1) を窒素雰囲気において嫌氣状態とし、その水相に Ph-<sup>14</sup>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±1°Cの暗条件下で 12 ヶ月インキュベートし、嫌氣性湛水底質 (米国底質土) における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<sub>2</sub> 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、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、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、分解物 E 又は底質の結合性残留物を生成したと考えられた。(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、砂質埴壤土、シルト質埴壤土及び埴質砂土を用いて土壌吸着試験が実施された。

K=31~2520、Koc=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 Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼートを処理後、25±1°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

Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼートを pH4 (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 pH4 では 25 及び 35°C でそれぞれ 21.5 日及び 13.1 日、pH7 では 25 及び 35°C で 50.7 時間及び 16.1 時間、pH9 では 25 及び 35°C で 50.7 時間及び 16.1 時間であり、主要分解物として B 及び J が認められた

加水分解反応は試験を行った全ての pH で 2 相性が認められ、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

Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼートを pH4、5 (酢酸)、7 (リン酸) 及び 9 (ホウ酸) の滅菌緩衝液中、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。

pH4、5、7 及び 9 のそれぞれの半減期は 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、第 1 相は緩やかに、第 2 相は速やかに進んだ。第 1 相では各 pH に共通の分解物 B、J 及

び D が生成した。その他、10%を超えて認められた分解物は pH7 と 9 の緩衝液中で J の 2 量体であった。また、第 2 相では pH4 以外で H が 7% TAR 未満認められた。(参照 23)

### (3) 水中光分解試験

Ph-<sup>14</sup>C 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)に濃度 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(290~800 nm の範囲で 450±10 W/m<sup>2</sup>)し、ビフェナゼートの水中光分解試験が実施された。

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。

2 時間後の河川水中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 H、D 及び C は 2% TAR 未満であった。

12 時間後の滅菌蒸留水中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 H、D 及び C 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消失し、B に光分解され、さらに D、C、H 及び WS-3 へと分解されると考えられた。(参照 24)

### (4) 水中光分解試験 (pH5 滅菌緩衝液)

Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼートを pH5 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。初期主分解物 B は、78 時間後最大の 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。分解物 J 及び D は 24 時間後に 5.4% TAR 及び 3.5% 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。CO<sub>2</sub> が 4% TAR 認められた。(参照 25)

### (5) 自然水及び pH7 滅菌緩衝液における水中光分解

Ph-<sup>14</sup>C ビフェナゼートを濾過滅菌した自然水及び pH7 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の疑似太陽光を照射し、自然水及び pH7 滅菌緩衝液における水中光分解試験が実施された。

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。CO<sub>2</sub>は投与 12 時間後までに、光照射区の自然水で 1.16%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)

Ph-<sup>14</sup>C 分解物 B を滅菌蒸留水及び河川水 (元荒川: 埼玉県蓮田市) に濃度 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 (290~800 nm の範囲で 450±10 W/m<sup>2</sup>) し、分解物 B の水中光分解試験が実施された。

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 時間後の滅菌蒸留水中の分解物 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。CO<sub>2</sub>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。CO<sub>2</sub>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 D、C、H 及び CO<sub>2</sub>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	1.2 kg 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 SC を使用

## 6. 作物残留試験

果実、野菜及び茶を用いて、ピフェナゼート及び代謝物 B 又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。

ピフェナゼートで果皮を除く最高値は 800 g ai/ha で 1 回散布し、最終散布後 44-45 日目に収穫したぶどう（果実）の 1.41 mg/kg であった。（別紙 2）（参照 29～31、66）

作物残留試験の含量分析値を用いて、ピ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、登録されている又は申請された使用方法からピ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、今回適用拡大申請された作物（うめ、ピーマン、あんず（基準値変更）、さといも、やまいも）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ピ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		小児 (1~6 歳)		妊婦		高齢者 (65 歳以上)	
		Ff (g/人日)	摂取量 (µg/人日)	ff (g/人日)	摂取量 (µg/人日)	ff (g/人日)	摂取量 (µg/人日)	ff (g/人日)	摂取量 (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 2）。

・「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、スダチが含まれるが、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、やまいも、スイカ及びメロンは全データが検出限界以下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

マウス又は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

試験の種類	動物種	動物数 匹/群	投与量 mg/kg 体重	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	マウス	雄 3 雌 3	0, 320, 800,2000, 5000	2000	5000	興奮性症状と抑制性症状を混在した非特異的の症状。雌1例8日に死亡。
	体重				320	800	
	一般状態	ラット	雄 5	0, 800, 2000, 5000	5000	—	影響なし
	体重				800	2000	軽度な減少、3日までに回復
	体温				5000	—	影響なし
キヤバール・タール睡眠	マウス	雄 8	0, 3.28, 8.19,20.5, 51.2, 128, 320, 800, 2000, 5000	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	ラット	雄 5	0,800, 2000, 5000	5000	—	影響なし	
自律神経系 瞳孔径							
消化器系 小腸炭末輸送能	マウス	雄 8	0, 128, 320,800 2000, 5000	320	800	炭末輸送能低下	
骨格筋 握力	ラット	雄 5	0, 800, 2000,5000	5000	—	影響なし	



血液	溶血		雄 5	0, 320, 800, 2000,		投与後1日に測定した結果において、影響なし
	凝固		雌 5	5000		

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

## 8. 急性毒性試験

ビフェナゼートの SD ラットを用いた急性経口毒性試験、急性経皮毒性試験、急性吸入毒性試験、ICR マウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。急性経口 LD<sub>50</sub> はラットの雌雄で >4950 mg/kg 体重、マウスの雌雄で >4950 mg/kg 体重、経皮 LD<sub>50</sub> はラットの雌雄で >5000 mg/kg 体重、吸入 LC<sub>50</sub> はラットの雌雄で >4.4 mg/L であった。(参照 33~36)

代謝物 B 及び D について ICR マウス用いた急性経口毒性試験が実施された。

代謝物 B 及び D の急性経口 LD<sub>50</sub> は、ともに ICR マウスの雌雄で >5000 mg/kg 体重であった。(参照 37~38)

## 9. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性

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、ビ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、ビ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、400 ppm : 平均検体摂取量は表 10 参照) 投与による 90 日間の亜急性毒性試験が実施された。

表 10 ラット 90 日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

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主な所見は表 11 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に 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 11 ラット90日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
400 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・赤血球数及びヘモグロビンの減少</li> <li>・脳(脳幹を含む)、脾、精巣(精巣上体を含む)及び腎体比重量増加</li> <li>・肝及び脾の髄外造血亢進</li> <li>・肝クッパー細胞色素沈着</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・Ht 減少</li> <li>・副腎比重量増加</li> <li>・赤脾髄色素沈着増加</li> </ul>
200 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・肝単細胞壊死</li> <li>・リンパ組織球性細胞浸潤</li> <li>・赤脾髄色素沈着増加</li> <li>・副腎皮質束状帯の空胞化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・赤血球数及びヘモグロビンの減少</li> <li>・脳(脳幹を含む)、脾、腎及び肝比重量増加</li> </ul>
40 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

(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、150 ppm:平均検体摂取量は表12参照)投与による90日間の亜急性毒性試験が実施された。

表 12 マウス90日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

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、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、1000 ppm:平均検体摂取量は表13参照)投与による90日間の亜急性毒性試験が実施された。

表 13 イヌ90日間亜急性毒性試験の平均検体摂取量

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主な所見は表 14 に示されている。

本試験において 400 ppm 以上の投与群において、肝比重量増加等が認められたので、無毒性量は雌雄で 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 14 イヌ 90 日間亜急性毒性試験で認められた所見

投与群	雄	雌
1000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・網状赤血球数の増加</li> <li>・血漿中コレステロール及び ALP の増加</li> <li>・肝細胞の小葉中心性又はびまん性の肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> </ul>
400 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・赤血球数、ヘモグロビン及び Ht の減少</li> <li>・MCV、MCH 及び血小板数の増加</li> <li>・β 1-グロブリン減少</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・クッパー細胞褐色色素沈着</li> <li>・尿の褐色化及びビリルビンの増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・赤血球数、ヘモグロビン及び Ht の減少</li> <li>・MCV、MCH 及び血小板数の増加</li> <li>・β 1-グロブリン減少</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・クッパー細胞褐色色素沈着</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・網状赤血球数増加</li> <li>・肝細胞の小葉中心性又はびまん性の肥大</li> </ul>
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、1000 mg/kg 体重/日) 投与による 21 日間の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/日投与群の雌雄でヘモグロビン減少、脾比重量増加が、雄で体重増加抑制、血小板数増加、尿比重増加、副腎比重量増加、脾の髓外造血亢進が、雌で赤血球数及び Ht の減少、血漿中総ビリルビン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、1000 ppm：平均検

体摂取量は表 15 参照) 投与による 1 年間の慢性毒性試験が実施された。

表 15 イヌ 1 年間慢性毒性試験の平均検体摂取量

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 投与群の雄でヘモグロビン及び Ht 減少、血漿中 $\alpha$ 2-グロブリン増加が、雌で白血球数及びリンパ球数増加、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、赤血球数減少、網状赤血球数、MCV、有核赤血球数及び血小板数増加、血漿中総ビリルビン増加、 $\beta$ 1-グロブリン減少、尿の褐色化及びビリルビン増加、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、白血球数、分葉好中球数及びリンパ球数の増加が、雌で MCH 増加、ヘモグロビン及び 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、200 (雄)、160 (雌) ppm: 平均検体摂取量は表 16 参照) 投与による 2 年間の慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 16 ラット 104 週間慢性毒性/発がん性併合試験の平均検体摂取量

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、血漿中総コレステロール減少が、160 ppm 投与群の雌でヘモグロビン及び Ht 減少、脾色素沈着の程度の増強が認められた。

本試験において、80 ppm 以上投与群の雄で脾色素沈着の程度の増強が、雌で体重増加抑制、摂餌量減少、赤血球数の減少が認められたので、無毒性量は雌雄で 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、225 (雄)、175 (雌) ppm: 平均検体摂取量は表 17 参照) 投与による 18 ヶ月間の発がん性試験が実施された。