

1.2%TAR 以下であった。

主要分解経路は脱ブロム化 (B の生成) であり、その他に *tert*-ブチル基、ベンジル位メチル基の酸化 (E、H、I の生成)、アミド結合の開裂 (F、J の生成) が示唆された。これらの分解物も最終的に二酸化炭素にまで無機化されるか、土壤に強固に吸着することが明らかとなった。(参照 2)

(2) 土壤吸着・脱着試験

4 種類の国内土壤 (軽埴土: 高知及び和歌山、壤土: 北海道、砂土: 宮崎) を用いて、土壤吸着・脱着試験が実施された。

土壤における Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 1.6~4.7、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{adsoc} は 163~306 であり、脱着係数 K_{des} は 11~140、有機炭素含有率により補正した脱着係数 K_{desoc} は 507~5710 であった。プロモブチドは土壤において中程度の移行性を示すと予測され、脱着係数 K_{desoc} が吸着係数 K_{adsoc} より高値を示したことから、土壤に一度吸着したプロモブチドは水によって容易に脱着されないか、土壤から水により容易に溶脱しないことが示唆された。(参照 2)

(3) 土壤カラムリーチング試験

砂壤土 (茨城) 及び埴壤土 (岩手) に、[car-¹⁴C]プロモブチドを 3 mg/kg 乾土の用量で混和し、土壤カラムリーチング試験が実施された。

処理放射能は下層へ移行し、21.5~39.4%TAR が土壤カラムより溶出した。溶出液中に親化合物が茨城土壤で 11.2%TAR、岩手土壤で 0.5%TAR、主要分解物 B が茨城土壤で 8.7%TAR、岩手土壤で 35.9%TAR 検出された。その他に、H、I 及び J が 0.5%TAR 以下検出された。(参照 2)

(4) 土壤移動性試験

砂壤土 (茨城) 及び埴壤土 (滋賀) の土壤薄層に、プロモブチド及び分解物 B を 1 mg の用量でスポット塗布し水で展開して、土壤移動性試験が実施された。

プロモブチド及び分解物 B とともに処理部に全量が残存し、移動性は認められなかった。(参照 2)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

プロモブチド及び分解物 B を、pH 5 (フタル酸緩衝液)、pH 7 (リン酸緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各緩衝液に 0.5 mg/L の用量で添加し、25°C の暗所で最長 29 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

プロモブチド及び分解物 B のいずれにおいても、pH 5、pH 7 及び pH 9 における推定半減期は 1 年以上であり、加水分解に対して安定であると考えられた。(参照 2)

(2) 水中光分解試験

[phe-¹⁴C]プロモブチド及び[car-¹⁴C]プロモブチドを、pH 8.3 の水田水 (兵庫)、pH 8.0 の海水 (兵庫)、2%アセトン水及び蒸留水に 1 mg/L の用量で添加し、14 週間 (1 日当たり約 8 時間) 自然太陽光に当てて水中光分解試験が実施された。

プロモブチドの太陽光下の水中での推定半減期は、水田水、海水及び蒸留水中で約 11~13 週 (東京春の太陽光換算値: 約 5~6 週) であり、2%アセトン水中で 1.3 週 (東京春の太陽光換算値: 0.6 週) であった。

プロモブチドは太陽光により主に脱ブロム化を受け、その他にフェニル基の水酸化、ベンジル位メチル基の酸化、*tert*ブチル基の酸化、ベンジル位 α 炭素-窒素結合の開裂、末端メチル基の水素引抜き、あるいはこれらの組み合わせにより、20 個以上の光分解物を生成したが、10%TAR を超えて生成する分解物はなく、これらの分解物はさらに二酸化炭素にまで無機化された。(参照 2)

5. 土壌残留試験

火山灰・砂壤土 (茨城)、沖積・軽埴土 (岩手及び滋賀)、火山灰・壤土 (茨城)、沖積・埴壤土 (岩手) を用いて、湛水状態でのプロモブチド及び分解物 B を分析対象化合物とした土壌残留試験が実施された。

推定半減期は表 6 に示されている。(参照 2)

表 6 土壌残留試験成績 (推定半減期)

試験	濃度	土壌	プロモブチド	プロモブチド+ 分解物B
容器内試験	3 mg/kg ^a	火山灰・砂壤土	約 54 日	約 82 日
		沖積・軽埴土	約 25 日	約 92 日
		沖積・軽埴土	約 34 日	約 106 日
圃場試験	3,200 g ai/ha ^b	火山灰・壤土	3 日	3 日
		沖積・埴壤土	6 日	6 日

^a: 純品、^b: 8%粒剤

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

プロモブチド及び代謝物 B を分析対象化合物とした水稻における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。プロモブチドの最大値は、稲わらを除くと、散布 57 日後に収穫した玄米の 0.04 mg/kg であった。代謝物 B の最大値は、稲わらを除くと、散布 59 日及び 72 日後に収穫した玄米の 0.18 mg/kg であった。(参照 2)

(2) 魚介類における最大推定残留値

プロモブチドの公共用水域における予測濃度である水産動植物被害予測濃度（水産 PEC）及び生物濃縮係数（BCF）を基に、魚介類の最大推定残留値が推定された。

プロモブチドの水産 PEC は 4.4 ppb、BCF は 177、魚介類における最大推定残留値は 3.89 ppm であった。（参照 4）

7. 乳汁移行試験

ホルスタイン種の泌乳牛（一群 2 頭）に、プロモブチド及び代謝物 B をそれぞれ 5 mg/kg 体重/日及び 10 mg/kg 体重/日の用量で 28 日間カプセル経口投与し、乳汁移行試験が実施された。試料の採取は投与開始 1 日前、投与開始 1、7、14 及び 28 日後、最終投与 1 及び 3 日後の朝夕 2 回行った。

試験期間を通していずれの被験物質の残留値も定量限界未満（プロモブチド：<0.01 mg/kg、代謝物 B：<0.014 mg/kg）であった。（参照 2）

8. 一般薬理試験

プロモブチドのマウス、ウサギ及びモルモットを用いた一般薬理試験が実施された。結果は表 7 に示されている。（参照 2）

表 7 一般薬理試験概要

試験の種類	動物種	動物数 /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)	結果の概要
中枢神経系	一般状態 (多元観察法)	ICR マウス 雄 3 雌 3	0、19.5、78.1、 313、1,250、 5,000 (腹腔内)	雄：19.5 雌：78.1	雄：78.1 雌：313	78.1 mg/kg 体重で軀体緊張 軽微低下（雄）、313 mg/kg 体重以上で自発運動低下、筋 緊張低下、眼瞼下垂、よろめ き歩調、立毛、体温低下（雌 雄）
	ヘキソバル ピタール 睡眠時間	ICR マウス 雄 10	0、19.5、78.1、 313、1,250、 5,000 (腹腔内)	19.5	78.1	睡眠時間の有意な延長
	抗痙攣	ICR マウス 雄 10	5,000 (腹腔内)		5,000	ストリキニーネによる痙攣 発現期間延長、ピクロトキシ ンによる強直性痙攣発現時 間短縮及び発現率減少
	脳波	ICR マウス 雄 3 雌 3	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
		日本白色種 ウサギ 雄 3	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
体温	日本白色種 ウサギ 雄 4	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし	

呼吸・循環器系	呼吸、血圧、心電図	日本白色種ウサギ	雄 3	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
自律神経系	摘出輸精管 (マグヌス法)	Hartley モルモット		$5 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-2}$ g/mL (in vitro) ¹⁾	5×10^{-4} g/mL	5×10^{-3} g/mL	5×10^{-3} g/mL で収縮、 5×10^{-2} g/mL で規則性収縮。この収縮は TTX、アトロピン、フェントラミン、グアネチジン、フェノキシベンザミンで消失せず。 5×10^{-3} g/mL で High K ⁺ 収縮を抑制。ACh、NA 収縮に対して弱く増強傾向
	摘出回腸 (マグヌス法)	Hartley モルモット		$5 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-2}$ g/mL (in vitro) ¹⁾	5×10^{-5} g/mL	5×10^{-4} g/mL	5×10^{-4} g/mL 以上で自発運動亢進、 5×10^{-2} g/mL で亢進作用減少、自発運動亢進作用はヘキサメトニウム、アトロピン、TTX に無影響。 5×10^{-3} g/mL で High K ⁺ 収縮を抑制。ACh、5-HT、Hs 収縮に対し抑制傾向
末梢神経系	瞳孔径、角膜反射	日本白色種ウサギ	雄 4	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
	前脛骨筋収縮	日本白色種ウサギ	雄 3	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
血液系	血漿 PT、APTT、Hb 濃度	日本白色種ウサギ	雄 3	5,000 (腹腔内)	5,000	—	影響なし
	試験管内溶血試験	日本白色種ウサギ		$5 \times 10^{-5} \sim 5 \times 10^{-2}$ g/mL (in vitro)	5×10^{-4} g/mL	5×10^{-3} g/mL	5×10^{-3} g/mL 以上で軽微な溶血作用

注) 溶媒として、¹⁾ は Krebs Ringer を、それ以外は 1% Tween80 水溶液を用いた。

— : 作用量が設定できない。

9. 急性毒性試験

プロモブチドのラット、マウス及びウサギを用いた急性毒性試験、代謝物及び原体混在物 (B、F、diBr-プロモブチド (L)) のマウスを用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 8 に示されている。(参照 2)

表 8 急性毒性試験概要

被験物質	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
原体	経口	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	軽度の自発運動低下、群居欠如 死亡例なし
		dd マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし

	経皮	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	軽度の体重増加抑制(雌) 死亡例なし
		dd マウス 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
	皮下	SD ラット 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	軽度の探索行動増加、軽度の体重増加抑制、投与皮膚局所の硬結、潰瘍形成及び肺支形成 死亡例なし
		dd マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	軽度の探索行動増加、投与皮膚局所の硬結、潰瘍形成及び肺支形成 死亡例なし
	腹腔内	SD ラット 雌雄各 10 匹	約 5,000	>5,000	自発運動低下、鎮静、体重増加抑制(雌)、肝腫大、腹腔内臓器癒着
		dd マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発運動低下、鎮静、体重増加抑制、肝腫大、腹腔内臓器癒着
		ICR マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	2,500~ 5,000	鎮静、立毛、よろめき歩調
		日本白色種ウサギ 雄 2 匹	約 5,000	/	食欲減退 死亡 (1例)
	吸入 ¹⁾	SD ラット 雌雄各 10 匹	LC ₅₀ (mg/L)		症状及び死亡例なし
			>0.327	>0.327	
B (代謝物)	経口	ICR マウス 雌雄各 10 匹	>5,000	>5,000	自発運動低下、歩行失調、四肢麻痺、正向反射消失 死亡例なし
F (代謝物)	経口 ²⁾	ICR マウス 雌雄各 10 匹	450	635	興奮、歩行失調、四肢麻痺、流涎、体温降下、正向反射消失、呼吸深大、呼吸困難
	経皮 ²⁾	ICR マウス 雌雄各 10 匹	1,390	1,310	呼吸不規則、歩行失調、呼吸困難、呼吸深大
L (原体混在物)	経口	ICR マウス 雌雄各 10 匹	5,400	5,170	筋痙攣、振戦、自発運動低下、歩行失調、四肢麻痺、正向反射消失、呼吸不規則、呼吸深大、呼吸困難、水様物の排泄、軟便・下痢、体温降下、立毛、尾部先端黒色化・脱落、体重増加抑制 死亡例で胃・盲腸粘膜充血及び出血、小腸粘膜カタル様変化、生存齢で前腎部肥厚

注) 溶媒として¹⁾は補助剤 (Carplex #80、Sorpil 5029-0、San X P-201 及び Radiolite #200) を、
²⁾はコーンオイルを、それ以外は 10% Tween80 水溶液を用いた。

10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

日本白色種ウサギ（雄）を用いた眼及び皮膚一次刺激性試験が実施された。ウサギの眼に対して軽度の刺激性が認められ、皮膚に対する刺激性はなかった。

Hartley モルモット（雄）を用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）が実施されており、試験結果は陰性であった。（参照 2）

11. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験（ラット）（参考）

Fischer ラット（一群雌雄各 6 匹）を用いた混餌（原体：0、300、1,000、3,000、10,000 及び 30,000 ppm）投与による 28 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 9 に示されている。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄に MCV の減少等が、1,000 ppm 以上投与群の雌に肝比重量¹⁾増加が認められたので、無毒性量は雄で 300 ppm 未満、雌で 300 ppm（24.4 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 2）

表 9 28 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
30,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・体重増加抑制 ・Hb、RBC 減少 ・甲状腺濾胞上皮細胞肥大 	
10,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・PLT、WBC 増加 ・GGT 増加、Glu 減少 ・甲状腺絶対・比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・食餌効率低下 ・TP、Alb、Ca 増加 ・TG 減少、直接ビリルビン増加 ・肝絶対重量増加
3,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Ht 減少 ・TG 減少、直接ビリルビン増加 ・肝絶対重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・Glob、GGT 増加 ・小葉辺縁性肝細胞肥大
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・Glob 増加 ・肝比重量増加 ・小葉辺縁性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・MCV 減少 ・TP、Alb、T.Chol、Ca 増加 	300 ppm において 毒性所見なし

(2) 90 日間亜急性毒性試験（ラット）

Fischer ラット（一群雌雄各 20 匹）を用いた混餌（原体：0、100、300、1,000 及び 3,000 ppm）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 10 に示されている。

全投与群の雌雄において血清中塩素イオン（Cl⁻）の増加がみられたが、これは

¹⁾ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

プロモブチド由来の臭素イオン (Br) の干渉作用によるものと考えられた[15. (1)参照]。また、全投与群の雌雄に盲腸絶対・比重量の増加が認められたが、病理組織学的検査において異常はみられず、毒性変化とは考えられなかった。

本試験において、300 ppm 以上投与群の雄に肝比重量増加等が、100 ppm 以上投与群の雌に MCV 減少が認められたので、無毒性量は雄で 100 ppm (6.71 mg/kg 体重/日)、雌で 100 ppm 未満であると考えられた。(参照 2)

表 10 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> ・死亡 (1 例) ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・飲水量増加 ・LDH 増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・尿失禁、陰部の汚れ ・体重増加抑制、摂餌量減少 ・腎比重量、副腎比重量、甲状腺絶対・比重量増加
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・MCV 減少 ・TP、Alb、Ca 増加 ・肝絶対重量増加 ・腎比重量、副腎比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・肝絶対・比重量増加
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> ・肝比重量増加 ・下垂体比重量増加 	<ul style="list-style-type: none"> ・Ht、Hb 減少
100 ppm 以上	100 ppm において 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> ・MCV 減少

(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) を用いたカプセル経口 (原体 : 0、100、300 及び 1,000 mg/kg 体重/日) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 11 に示されている。

本試験において、300 mg/kg 体重/日以上投与群の雄及び 1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌に ALP 増加等が認められたので、無毒性量は雄で 100 mg/kg 体重/日、雌で 300 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2)

表 11 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,000 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> ・T.Bil 増加 (直接ビリルビン増加) 	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 ・肝比重量増加 (1 例) ・肝腫大、小葉像明瞭 ・び慢性肝細胞空胞化、肝細胞単細胞壊死
300 mg/kg 体重/日以上	<ul style="list-style-type: none"> ・ALP 増加 	300 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし
100 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	

1 2. 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 4 匹) を用いたカプセル経口 (原体: 0、3、30 及び 300 mg/kg 体重/日) 投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

300 mg/kg 体重/日投与群の雄において、甲状腺絶対・比重量の有意な増加が認められたが、病理組織学的に異常が認められなかったことから、毒性学的意義はないものと考えられた。同群の雌では、体重の減少または増加抑制傾向がみられ、血液生化学的検査で Glu の減少が認められた。

本試験において、雄ではいずれの投与群でも毒性学的に有意な変化は認められず、300 mg/kg 体重/日投与群の雌で Glu 減少等が認められたので、無毒性量は雄で 300 mg/kg 体重/日、雌で 30 mg/kg 体重/日であると考えられた。(参照 2)

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

Fischer ラット (一群雌雄各 80 匹) を用いた混餌 (原体: 0、50、250 及び 1,250 ppm) 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。

各投与群で認められた毒性所見 (非腫瘍性病変) は表 12 に、脾のラ氏島細胞腺腫の発生頻度は表 13 に示されている。

1,250 ppm 投与群の雌雄において盲腸膨満を示す個体が増加し、250 ppm 以上投与群の雌雄に盲腸の絶対・比重量増加が認められた。しかし、盲腸の変化に長期投与による重篤化はみられず、病理組織学検査においても異常は認められなかったことから、毒性変化とは考えられなかった。

1,250 ppm 投与群の雄において、脾のラ氏島細胞腺腫の発生頻度が有意に増加したが、用量相関性はみられず、その発生率 (6.3%) は本系統ラットの試験実施機関における背景的発生頻度 (2.2%) と有意差がなく、ラ氏島細胞腺腫の自然発生率として報告されている 8% を下回るものであったことから、検体投与との関連性はないものと考えられた。

本試験において、1,250 ppm 投与群の雌雄に体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 250 ppm (雄: 8.8 mg/kg 体重/日、雌: 10.6 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 2)

表 12 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
1,250 ppm	<ul style="list-style-type: none">・ 体重増加抑制・ 食餌効率低下・ T.Bil、直接ビリルビン、GGT 増加・ Na⁺減少・ 脱毛・被毛粗鬆化・ 肝絶対・比重量増加	<ul style="list-style-type: none">・ 体重増加抑制・ MCV 減少・ 脱毛・被毛粗鬆化・ 肝、甲状腺、副腎比重量増加・ 腎近位直尿細管上皮の褐色色素 (リポフスチン) 沈着・ 毛嚢拡張

	・腎比重量増加	
250 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

表 13 腭のラ氏島細胞腺腫の発生頻度

性別		雄				雌			
投与群 (ppm)		0	50	250	1,250	0	50	250	1,250
最終と殺動物	検査動物数	39	36	44	44	38	37	37	37
	ラ氏島細胞腺腫	0	3	0	4	0	0	2	0
全動物	検査動物数	80	80	80	80	80	80	80	80
	ラ氏島細胞腺腫	0	4	0	5*	0	0	2	0

* : Fisher の直接確率計算法、 $p < 0.05$

(3) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 80 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、250 及び 1,250 ppm) 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。

1,250 ppm 投与群の雄で肝絶対・比重量増加、盲腸膨満の発生頻度増加、盲腸の絶対・比重量増加が認められた。病理組織学的検査において、盲腸膨満の組織像は粘膜、筋層の菲薄化を伴うものの、ほぼ正常構造を維持していたことから、盲腸にみられた変化は毒性影響とは考えられなかった。また、最終と殺時に肝細胞癌の発生頻度に有意な増加が認められた。しかし、全動物では同群雄で肝細胞腺腫と肝細胞癌の発生頻度 (35/80) に対照群 (24/80) と比較し有意差は認められず、用量相関性もみられないことから、肝細胞癌の発生は検体投与に起因するものとは考えられなかった (表 14)。

本試験において、1,250 ppm 投与群の雄で肝絶対・比重量増加が認められ、雌ではいずれの投与群にも毒性変化は認められなかったため、無毒性量は雄で 250 ppm (20.9 mg/kg 体重/日)、雌で 1,250 ppm (107 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 2)

表 14 雄マウスにおける肝細胞腺腫及び肝細胞癌の発生頻度

性別	最終と殺動物				全動物			
投与群 (ppm)	0	50	250	1,250	0	50	250	1,250
検査動物数	23	32	23	28	80	80	80	80
肝細胞腺腫	6	9	5	9	14	15	12	19
肝細胞癌	2	9	3	9*	10	21*	16	16

* : Fisher の直接確率計算法、 $p < 0.05$

1.3. 生殖発生毒性試験

(1) 2世代繁殖試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 30 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、50、300 及び 1,800 ppm) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 15 に示されている。300 ppm 以上投与群で雌雄の親動物 (P 及び F₁) 及び児動物 (F₂) に盲腸の内容物うっ滞と膨満が認められたが、病理組織学的検査では異常はみられず、毒性変化とは考えられなかった。

本試験において、親動物では 1,800 ppm 投与群の雄 (P) 及び 300 ppm 以上投与群の雌 (P 及び F₁) に体重増加抑制等が、児動物では 1,800 ppm 投与群の雌雄 (F₁ 及び F₂) に体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は親動物の雄では P 世代で 300 ppm (22.4 mg/kg 体重/日)、F₁ 世代で 1,800 ppm (164 mg/kg 体重/日)、雌では P 及び F₁ 世代とも 50 ppm (P 雌: 4.0 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 4.7 mg/kg 体重/日)、児動物では F₁ 及び F₂ 世代とも 300 ppm (P 雄: 22.4 mg/kg 体重/日、P 雌: 23.4 mg/kg 体重/日、F₁ 雄: 27.3 mg/kg 体重/日、F₁ 雌: 26.8 mg/kg 体重/日) 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 2)

表 15 2 世代繁殖試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群		親: P、児: F ₁		親: F ₁ 、児: F ₂	
		雄	雌	雄	雌
親動物	1,800 ppm	・体重増加抑制 ・肝比重量増加		毒性所見なし	
	300 ppm 以上	300 ppm 以下 毒性所見なし	・体重増加抑制 ・摂餌量減少		・体重増加抑制 ・摂餌量減少
	50 ppm		毒性所見なし		毒性所見なし
児動物	1,800 ppm	・体重増加抑制	・体重増加抑制		・体重増加抑制 ・肝絶対・比重量増加
	300 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし

(2) 発生毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌 24 匹) の妊娠 6~15 日に強制経口 (原体: 0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒: 1%CMC 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の母動物に体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められ、胎児には検体投与に起因すると思われる影響は認められなかったので、無毒性量は母動物で 10 mg/kg 体重/日、胎児で 1,000 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 2)

(3) 発生毒性試験 (ウサギ)

日本白色種ウサギ (一群雌 19~35 匹) の妊娠 6~18 日に強制経口 (原体: 0、10、100 及び 1,000 mg/kg 体重/日、溶媒: 1%CMC 水溶液) 投与して発生毒性試験が実施された。

本試験において、いずれの投与群の母動物及び胎児にも、検体投与に起因すると思われる影響は認められなかったため、無毒性量は母動物及び胎児とも 1,000 mg/kg 体重/日あると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 2)

14. 遺伝毒性試験

プロモブチド原体の細菌を用いた DNA 修復試験、復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来培養細胞を用いた染色体異常試験、マウス骨髄細胞を用いた小核試験が実施された。結果は表 16 に示されている。試験結果は全て陰性であったことから、プロモブチドに遺伝毒性はないものと考えられた。

代謝物及び原体混在物 (B、F、L) の細菌を用いた復帰突然変異試験も実施されており、試験結果はいずれも陰性であった (表 16)。(参照 2)

表 16 遺伝毒性試験概要

試験		対象	処理濃度・投与量	結果	
原体	<i>in vitro</i>	DNA 修復試験	<i>Bacillus subtilis</i> (H-17、M-45 株)	10~2,000 µg/ディスク	陰性
		復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	10~2,500 µg/プレート (+/-S9)	陰性
			<i>Escherichia coli</i> (WP2 _{hcr} 株)		
			<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株) <i>E. coli</i> (WP2 _{uvrA} 株)	10~1,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺由来培養細胞 (CHL)	1.56 × 10 ⁻⁵ ~2.50 × 10 ⁻⁴ M (+/-S9)	陰性	
<i>in vivo</i>	小核試験	ICR マウス骨髄細胞 (一群雄 6 匹)	1,250~5,000 mg/kg 体重 (腹腔内投与)	陰性	
B (代謝物)	<i>in vitro</i>	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、 TA1537、TA1538 株)	5~1,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
F (代謝物)			<i>E. coli</i> (WP2 _{uvrA} 株)	50~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性
L (原体混在物)				10~5,000 µg/プレート (+/-S9)	陰性

注) +/-S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

15. その他の試験

(1) ラットにおける盲腸及び血中塩素イオン濃度に対する影響検討試験

ラット 90 日間亜急性毒性試験[11. (2)]において、血清中 Cl⁻濃度の高値、盲腸膨満、盲腸重量の増加、盲腸内容物の水分含量増加が認められた。本試験は、これらの変化の要因について検討する目的で実施された。

SD ラット（一群雄 5~10 匹）にブロモブチドを 3,000 ppm、ブロモブチドの脱ブロム代謝物（B）を 2,200 ppm、臭化ナトリウム（NaBr）を 1,000 ppm の濃度で含有した飼料をそれぞれ 5 週間摂取させ、血清中 Cl⁻、Br⁻ の測定、血液及び盲腸内容物の浸透圧検査、盲腸重量測定及び病理学的検査を行った。

ブロモブチド投与群では、陰イオンクロマトグラフ法において血清中 Br⁻ は高値を示したが、Cl⁻ に変動はなかった。NaBr 投与群では、陰イオンクロマトグラフ法で血清中 Br⁻ 濃度が増加し、イオン電極法では血清中 Cl⁻ 濃度も増加した。イオン電極法（90 日間亜急性毒性試験で用いた方法）による血清中 Cl⁻ 測定は、Br⁻ 等、他の陰イオンの影響を受けることが知られている。以上のことから、ブロモブチドの投与によって発現した血清中 Cl⁻ 濃度の高値は、ブロモブチド由来の Br⁻ がイオン電極法に影響を及ぼしたためと考えられた。

ブロモブチドの投与により、盲腸膨満、盲腸及び盲腸壁重量増加、盲腸内容物の浸透圧の低下が認められた。抗生物質、浸透圧降下剤や糖類をラット、マウスに投与すると盲腸内で浸透圧の変動や内容物の水分含量の増加が起こり、盲腸膨満が誘発されることが知られている。このことから、ブロモブチドの投与による盲腸膨満は、盲腸内容物の浸透圧の変動がその要因の一つとなっているものと考えられた。

一方、代謝物 B の投与では、このような盲腸への影響は認められなかったことから、一連の盲腸の変化に Br⁻ が関連していると考えられた。しかし、NaBr の投与でも盲腸には変化が認められず、Br⁻ 単独では盲腸に影響を及ぼさないと考えられた。

ブロモブチドの投与による盲腸重量の増加は、盲腸内容物及び盲腸壁重量の増加に起因するものと考えられた。ラット 90 日間亜急性毒性試験[11. (2)]及び 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験[12. (2)]のいずれにおいても、盲腸の組織像に異常は認められなかったことから、盲腸壁重量増加は、盲腸内容物の持続的な容積増加のために発現した可能性が示唆され、毒性学的意義は少なく、ヒトへの外挿性も低いと考えられた。（参照 2）

III. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「プロモブチド」の食品健康影響評価を実施した。

ラット及びマウスを用いた動物体内運命試験において、プロモブチドは速やかに吸収、代謝され、投与後7日間ではほぼ完全に糞尿中に排泄された。臓器・組織への蓄積性は認められなかった。主要代謝物はB、C、D、I及びそれらのグルクロン酸抱合体であり、主要代謝経路は、脱ブロム化、フェニル基の水酸化、*tert*ブチル基の酸化及びそれらのグルクロン酸抱合体化であった。

水稻を用いた植物体内運命試験において、白米、玄米及び稲わらにおける主要残留物は、親化合物、代謝物B、C及びDのグルコシド抱合体であった。主要代謝経路は、脱ブロム化、*tert*ブチル基、ベンジル位メチル基及びフェニル基4位における水酸化、アミド結合の開裂であり、さらに抱合を受ける経路であった。

プロモブチド及び代謝物Bを分析対象化合物とした水稻における作物残留試験の結果、プロモブチドの最大値は、稲わらを除くと、散布57日後に収穫した玄米の0.04 mg/kgであった。代謝物Bの最大値は、稲わらを除くと、散布59日及び72日後に収穫した玄米の0.18 mg/kgであった。また、魚介類におけるプロモブチドの最大推定残留値は3.89 ppmであった。

各種毒性試験結果から、プロモブチド投与による影響は主に肝臓及び盲腸に認められた。しかし、盲腸の変化には長期投与による重篤化はみられず、病理組織学的検査においても異常は認められなかったことから、ヒトへの外挿性も考慮し、毒性影響とは考えられなかった。発がん性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

各種試験結果から、食品中の暴露評価対象物質をプロモブチド（親化合物）及び代謝物Bと設定した。

各試験における無毒性量等は表17に示されている。ラットを用いた90日間亜急性毒性試験において、雌の6.83 mg/kg 体重/日投与群でMCV減少が認められたため、無毒性量が設定出来なかったが、より長期のラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験においては、本所見の無毒性量は10.6 mg/kg 体重/日であった。一方、ラットを用いた2世代繁殖試験の無毒性量が4.0 mg/kg 体重/日であったので、より低い無毒性量である本値を一日摂取許容量（ADI）の根拠とすることとした。

食品安全委員会は、ラットを用いた2世代繁殖試験の無毒性量4.0 mg/kg 体重/日を、安全係数100で除した0.04 mg/kg 体重/日をADIと設定した。

ADI	0.04 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	繁殖試験
(動物種)	ラット
(期間)	2 世代
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	4.0 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

暴露量については、当評価結果を踏まえて暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

表 17 各試験における無毒性量の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日) ¹⁾
			農薬抄録
ラット	90日間 亜急性 毒性試験	0, 100, 300, 1,000, 3,000 ppm ----- 雄：0, 6.71, 19.6, 67.0, 206 雌：0, 6.83, 20.1, 68.3, 203	雄：6.71 雌：— 雄：肝比重量増加等 雌：MCV減少
	2年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験	0, 50, 250, 1,250 ppm ----- 雄：0, 1.73, 8.8, 46 雌：0, 2.07, 10.6, 54	雄：8.8 雌：10.6 雌雄：体重増加抑制等 (発がん性は認められない)
	2世代 繁殖試験	0, 50, 300, 1,800 ppm ----- P雄：0, 3.8, 22.4, 135 P雌：0, 4.0, 23.4, 145 F ₁ 雄：0, 4.7, 27.3, 164 F ₁ 雌：0, 4.7, 26.8, 162	親動物 P雄：22.4 F ₁ 雄：164 P雌：4.0 F ₁ 雌：4.7 児動物 P雄：22.4 F ₁ 雄：27.3 P雌：23.4 F ₁ 雌：26.8 親動物及び児動物：体重増加抑制等 (繁殖能に対する影響は認められない)
	発生毒性 試験	0, 10, 100, 1,000	母動物：10 胎児：1,000 母動物：体重増加抑制等 胎児：毒性所見なし (催奇形性は認められない)
マウス	2年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験	0, 50, 250, 1,250 ppm ----- 雄：0, 4.36, 20.9, 104 雌：0, 4.09, 20.7, 107	雄：20.9 雌：107 雄：肝絶対・比重量増加 雌：毒性所見なし (発がん性は認められない)
ウサギ	発生毒性 試験	0, 10, 100, 1,000	母動物及び胎児：1000 母動物及び胎児：毒性所見なし (催奇形性は認められない)
イヌ	90日間 亜急性 毒性試験	0, 100, 300, 1,000	雄：100 雌：300 雌雄：ALP増加等
	1年間 慢性毒性 試験	0, 3, 30, 300	雄：300 雌：30 雄：毒性所見なし 雌：Glu減少等
ADI			NOAEL：4.0 SF：100 ADI：0.04
ADI設定根拠資料			ラット2世代繁殖試験

NOAEL：無毒性量 SF：安全係数 ADI：一日摂取許容量

①：無毒性量欄には、最小毒性量で認められた主な毒性所見を記した。

—：無毒性量は設定できなかった。

<別紙 1: 代謝物/分解物等略称>

記号	名称 (略称)	化学名 (IUPAC)
B	deBr-プロモブチド (脱プロモ体)	<i>N</i> -(α,α -ジメチルベンジル)-3,3-ジメチルブチルアミド
C	4-OH-プロモブチド	2-プロモ- <i>N</i> -(α,α -ジメチルベンジル)-3-ヒドロキシメチル-3-メチルブチルアミド
D	p-OH-プロモブチド	2-プロモ- <i>N</i> -(α,α -ジメチル-4-ヒドロキシベンジル)-3,3-ジメチルブチルアミド
E	<i>N</i> -2-OH-プロモブチド	2-プロモ- <i>N</i> -(α -ヒドロキシメチル- α -メチルベンジル)-3,3-ジメチルブチルアミド
F	DMBz-Amine	2-フェニルプロパン-2-アミン
G	deBr-p-OH-プロモブチド	<i>N</i> -(α,α -ジメチル-4-ヒドロキシベンジル)-3,3-ジメチルブチルアミド
H	3-COOH-プロモブチド	2-プロモ-3-カルボキシ- <i>N</i> -(α,α -ジメチルベンジル)-3-メチルブチルアミド
I	deBr-3-COOH-プロモブチド	3-カルボキシ- <i>N</i> -(α,α -ジメチルベンジル)-3-メチルブチルアミド
J	Br-DMBu-Acid	2-プロモ-3,3-ジメチルブタン酸
K	deBr-4-OH-プロモブチド	<i>N</i> -(α,α -ジメチルベンジル)-3-ヒドロキシメチル-3-メチルブチルアミド
L	diBr-プロモブチド (ジプロモ体)	(原体混在物)

<別紙 2：検査値等略称>

略称	名称
ACh	アセチルコリン
ai	有効成分量
Alb	アルブミン
ALP	アルカリホスファターゼ
APTT	活性化部分トロンボプラスチン時間
BCF	生物濃縮係数
C _{max}	最高濃度
CMC	カルボキシメチルセルロース
GGT	γ-グルタミルトランスフェラーゼ (=γ-グルタミルトランスペプチダーゼ (γ-GTP))
Glob	グロブリン
Glu	グルコース (血糖)
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
His	ヒスタミン
Ht	ヘマトクリット
5-HT	セロトニン
LC ₅₀	半数致死濃度
LD ₅₀	半数致死量
LDH	乳酸脱水素酵素
MCV	平均赤血球容積
NA	ノルアドレナリン
PEC	環境中予測濃度
PHI	最終使用から収穫までの日数
PLT	血小板数
PT	プロトロンビン時間
RBC	赤血球数
T _{1/2}	消失半減期
TAR	総投与 (処理) 放射能
T.Bil	総ビリルビン
T.Chol	総コレステロール
TG	トリグリセリド
T _{max}	最高濃度到達時間
TP	総蛋白質
TRR	総残留放射能
TTX	テトロドトキシン
WBC	白血球数

<別紙3：作物残留試験成績>

作物名 (栽培形態) (分析部位) 実施年度	試験圃 場数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)				
					プロモブチド		B		合計 ¹⁾
					最高値	平均値	最高値	平均値	平均値
水稻 (露地)(玄米) 1981年度	2	3,200 ^G	1	107	0.014	0.012	0.08	0.08	0.12
				122	0.022	0.021	0.09	0.09	0.14
水稻 (露地)(稲わら) 1981年度	2	3,200 ^G	1	107	0.294	0.225	0.30	0.28	0.54
				122	0.644	0.409	0.22	0.22	0.47
水稻 (露地)(玄米) 1985年度	2	2,400 ^G	1	86	0.02	0.018	0.17	0.16	0.23
				100	0.01	0.010	0.13	0.07	0.10
水稻 (露地)(稲わら) 1985年度	2	2,400 ^G	1	86	0.23	0.22	0.43	0.30	0.62
				100	0.08	0.07	0.15	0.12	0.22
水稻 (露地)(玄米) 1988年度	2	2,000 ^{SC}	1	114	0.010	0.010	0.10	0.10	0.14
				122	0.011	0.010	0.06	0.06	0.09
水稻 (露地)(稲わら) 1988年度	2	2,000 ^{SC}	1	114	0.082	0.082	0.27	0.27	0.44
				122	0.055	0.053	0.09	0.08	0.16
水稻 (露地)(玄米) 1991年度	2	2,000 ^{SC}	1	112	<0.005	<0.005	0.060	0.056	0.08
				147	0.005	0.005*	0.015	0.015	0.03
水稻 (露地)(稲わら) 1991年度	2	2,000 ^{SC}	1	112	0.01	0.01*	0.082	0.064	0.095
				147	0.04	0.03	0.037	0.030	0.070
水稻 (露地)(玄米) 1996年度	2	900 ^J	1	115	0.006	0.005*	0.034	0.024	0.04
				115	0.20	0.12	0.09	0.07	0.21
水稻 (露地)(玄米) 2003年度	2	1,800 ^G	2	57~59	0.04	0.03	0.18	0.12	0.20
				72~75	0.02	0.02	0.18	0.15	0.21
				82~90	0.02	0.02*	0.17	0.09	0.14
水稻 (露地)(稲わら) 2003年度	2	1,800 ^G	2	57~59	0.58	0.38	0.49	0.26	0.74
				72~75	0.22	0.17	0.42	0.34	0.62
				82~90	0.21	0.11	0.59	0.29	0.50
水稻 (露地)(玄米) 2004年度	2	1,500 ^{WP}	2	75	0.02	0.01*	0.14	0.10	0.11
				90	<0.01	<0.01	0.07	0.04	0.06
				100	<0.01	<0.01	0.07	0.04	0.06
水稻 (露地)(稲わら) 2004年度	2	1,500 ^{WP}	2	75	0.55	0.32	0.30	0.18	0.56
				90	0.61	0.28	0.17	0.12	0.44
				100	0.22	0.11	0.15	0.12	0.31

注) 1) D: プロモブチド平均値+代謝物 B 平均値×1.34

- ・ 使用欄にG印は粒剤、SC印はフロアブル剤、WP印は水和剤、J印はジャンボ剤を用いた。
- ・ 一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は、定量限界を検出したものとして計算し、*印を付した。
- ・ 全てのデータが定量限界未満の場合は定量限界の平均に<を付して記載した。

<参照>

- 1 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
- 2 農薬抄録 プロモブチド（除草剤）（平成 19 年 7 月 20 日改訂）：住友化学株式会社
- 3 食品健康影響評価について：第 207 回食品安全委員会資料 1-1
(URL:<http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai207/dai207kai-siryou1-1.pdf>)
- 4 プロモブチドの魚介類における最大推定残留値に係る資料
- 5 暫定基準を設定した農薬等に係る食品安全基本法第 24 条第 2 項の規定に基づく食品健康影響評価について：第 207 回食品安全委員会資料 1-3
(URL:<http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai207/dai207kai-siryou1-3.pdf>)
- 6 第 9 回食品安全委員会農薬専門調査会確認評価第一部会
(URL:http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kakunin1_dai9/index.html)
- 7 第 31 回食品安全委員会農薬専門調査会幹事会
(URL:http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai_dai31/index.html)