

TAR) で低下した。

糞中排泄は、低用量群では雄で 23.0~32.4%TAR、雌で 11.8~13.0%TAR であり、雌より雄で高かったが、高用量群では雌雄とも約 10%TAR と同様であった。なお、単回静脈内投与群で認められた糞中排泄は、胆汁中への排泄に由来するものと考えられた。(参照 3)

表 2 投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与量		低用量						高用量	
投与方法		単回経口		反復経口*		単回静脈内		単回経口	
性別		雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
投与後 48 時間	尿	83.5	89.8	65.5	74.1	68.6	88.7	80.5	82.1
	糞	23.0	12.0	32.4	13.0	27.8	11.8	9.4	9.7
	計	107	102	97.9	87.1	96.4	100	89.9	91.8

* : 非標識体を 14 日間反復経口投与後、[eth-¹⁴C]ベンフレートを単回経口投与

③ 体内分布

SD ラット (一群雌雄各 18 匹) に[phe-¹⁴C]ベンフレートを低用量または高用量で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

主要組織における残留放射能濃度は表 3 に示されている。

いずれの投与群においても、残留放射能濃度は全ての組織で投与 6 時間後に最高濃度となり、消化管を除くと低用量群では腎臓及び肝臓、高用量群では腎臓、腎周囲脂肪、カーカス、肝臓、副腎及び卵巣で高かった。いずれの組織中放射能も以後速やかに減衰し、投与 144 時間後には、多くの組織で血漿中濃度未満あるいは検出限界未満となった。(参照 4)

表 3 主要組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与量	性別	投与 6 時間後	投与 144 時間後
低用量	雄	消化管(49.4)、腎臓(3.39)、肝臓(1.48)、肺(0.96)、血漿(0.95)	消化管(0.18)、カーカス(0.03)、他は検出限界未満
	雌	消化管(40.3)、腎臓(3.82)、肝臓(0.98)、血漿(0.68)	カーカス(0.03)、他は検出限界未満
高用量	雄	消化管(4,780)、腎臓(355)、腎周囲脂肪(152)、カーカス(129)、肝臓(120)、副腎(78.3)、血漿(75.1)	消化管(8.62)、カーカス(4.73)、肝臓(1.47)、腎周囲脂肪(0.87)、腎臓(0.73)、血液(0.47)、血漿(0.23)、他は検出限界未満
	雌	消化管(4,770)、腎周囲脂肪(513)、腎臓(208)、副腎(166)、卵巣(138)、肝臓(114)、カーカス(84.7)、肺(83.6)、血漿(47.9)	消化管(2.35)、カーカス(1.46)、腎周囲脂肪(1.02)、腎臓(0.88)、血液(0.38)、卵巣(0.18)、血漿(0.12)、他は検出限界未満

④ 代謝物同定・定量

SD ラット (一群雌雄各 5 匹) に[eth-¹⁴C]ベンフレートを低用量または高用量で単回経口投与、あるいは低用量で反復経口投与または単回静脈内投与し、投

与後 8 時間の尿及び投与後 24 時間の糞を試料とした代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞における代謝物は表 4 に示されている。

尿中に親化合物は認められなかった。主要代謝物は D であり、次いで多かったのは極性代謝物であった。経口投与群及び雌の静脈内投与群では、D が尿中の総残留放射能 (TRR) の 84~98%、極性代謝物が 1~15%TRR 認められたが、雄の静脈内投与群では D が 69~83%TRR とやや低下し、極性代謝物が 12~31%TRR と高かった。微量代謝物として、高用量群及び静脈内投与群にのみ B 及び C が認められた。

尿試料の酸加水分解により、C が増加し、B がいずれの群でも認められた。これらの結果から、C は酸性条件において D の遊離酸がラクトン体へ変換されたものであり、B はベンゾフラン環 2 位の水酸基が抱合化されたものと考えられた。

糞中にも親化合物は認められず、主要代謝物は D であった。D は 34~95%TRR を占め、他に B 及び C が 0~39%TRR 及び 0~28%TRR 認められた。

ベンフレセートはラット体内において、ベンゾフラン環 2 位の水酸化により B を生成し、B の一部が抱合化を受ける一方、大部分は更に酸化を受け C を経て、主要代謝物かつ遊離酸である D に変換されると考えられた。(参照 5)

表 4 尿及び糞における代謝物 (尿及び糞中の総残留放射能に占める割合、%TRR)

投与量	投与方法	性別	試料	代謝物**
低用量	単回経口	雄	尿	D(90~96)、非極性代謝物(4~10)
			糞	D(75~90)、C(9~14)、B(3~6)、極性代謝物(0~9)
		雌	尿	D(85~97)、極性代謝物(3~15)
			糞	D(57~83)、B(5~21)、C(9~16)、非極性代謝物(0~6)、極性代謝物(0~4)
	反復経口*	雄	尿	D(91~95)、極性代謝物(4~8)、非極性代謝物(0~1)
			糞	D(70~78)、C(7~14)、B(6~12)、極性代謝物(4~9)
		雌	尿	D(85~93)、極性代謝物(7~15)、非極性代謝物(0~1)
			糞	D(80~95)、C(0~20)、B(<4)
	単回静脈内	雄	尿	D(69~83)、極性代謝物(12~31)、C(0~1)
			糞	D(60~76)、B(10~12)、C(5~28)、極性代謝物(0~6)
		雌	尿	D(91~93)、極性代謝物(7~9)、非極性代謝物(0~1)
			糞	D(69~81)、C(14~22)、B(0~9)、非極性代謝物(0~5)、極性代謝物(0~3)
高用量	単回経口	雄	尿	D(94~98)、極性代謝物(1~6)、B(0~1)
			糞	D(34~76)、B(11~25)、C(5~16)、非極性代謝物(1~27)、極性代謝物(1~12)
		雌	尿	D(84~94)、極性代謝物(3~7)、C(1~4)、B(0~7)、非極性代謝物(0~1)
			糞	D(52~85)、B(7~39)、C(3~8)、極性代謝物(0~5)、非極性代謝物(0~1)

* : 非標識体を 14 日間反復経口投与後、[eth-¹⁴C]ベンフレセートを単回経口投与

** : 尿中代謝物は酸加水分解前の値

(2) 動物体内運命試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 3 匹) に[eth-¹⁴C]ベンフレセートを低用量または高用量で単回経口投与し、動物体内運命試験が実施された。

① 排泄

投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率は表 5 に示されている。

ラットと同様、いずれの投与群でも排泄は速やかであり、投与後 48 時間の糞尿中に 90.3~101%TAR が排泄された。低用量群ではより速やかであった。主要排泄経路は尿中であり、投与後 48 時間に 85.4~98.6%TAR が排泄された。(参照 6)

表 5 投与後 48 時間の尿及び糞中排泄率 (%TAR)

投与量		低用量		高用量	
性別		雄	雌	雄	雌*
投与後 48 時間	尿	86.3	98.6	88.8	85.4
	糞	11.3	2.1	4.6	4.9
	計	97.6	101	93.4	90.3

*1 匹は投与 2 日後にと殺された。

② 代謝物同定・定量

投与後 24 時間の尿における代謝物は表 6 に示されている。

ラットと同様、尿中に親化合物は認められなかった。主要代謝物は D であり、低用量群及び高用量群でそれぞれ 83~90%TRR 及び 63~82%TRR 認められ、次いで極性代謝物がそれぞれ 9~19%TRR 及び 16~35%TRR 認められた。他に微量の B 及び C が認められた。また、ラット同様、尿試料の酸加水分解により B 及び C が増加した。

糞中には痕跡量の親化合物が認められた。主要代謝物は D であり、また少量の B、C 及び極性代謝物が認められた。(参照 6)

表 6 尿における代謝物 (尿中の総残留放射能に占める割合、%TRR)

投与量	性別	代謝物*
低用量	雄	D(87~90)、極性代謝物(9~19)、C(1~2)、B(痕跡量)
	雌	D(83~89)、極性代謝物(9~16)、B(1~4)、C(1~2)
高用量	雄	D(73~78)、極性代謝物(19~24)、C(1~3)、B(痕跡量)
	雌	D(63~82)、極性代謝物(16~35)、C(2~3)、B(痕跡量)

*: 尿中代謝物は酸加水分解前の値

2. 植物体内運命試験

水稻 (品種: ササニシキ及びコシヒカリ) に[phe-¹⁴C]ベンフレセートを 1,090 g ai/ha の用量 (通常使用量の 1.8 倍に相当) で移植 45 日後 (未成熟茎葉採取用) 及

び移植 15 日後（稲わら及び玄米採取用）に湛水処理（湛水深：4~5 cm）し、処理 14 日後（移植 59 日後の未成熟茎葉）及び処理 97 日後（移植 112 日後の稲わら及び玄米）に採取した試料を用いた植物体内運命試験が実施された。

採取した未成熟茎葉、稲わら及び玄米中の残留放射能濃度は、それぞれ 6.59~9.66 mg/kg、6.42~7.44 mg/kg 及び 0.26~0.31 mg/kg であった。茎葉部から玄米への放射能の移行は少なかった。

未成熟茎葉、稲わら及び玄米中の抽出性放射能は、それぞれ 68.7%TRR、61.1%TRR 及び 34.3%TRR を占め、植物繊維画分に残存した結合性放射能はそれぞれ 31.3%TRR、38.9%TRR 及び 65.7%TRR であった。

未成熟茎葉、稲わら及び玄米中の抽出性放射能の酸加水分解前と分解後の代謝物の検出量は表 7 に示されている。

未成熟茎葉、稲わら及び玄米中の抽出性放射能は、酸加水分解処理前では極性代謝物が 19.5~58.8%TRR を占めた。他に親化合物、微量の C 及び E が認められた。

酸加水分解により、未成熟茎葉及び稲わらでは C がそれぞれ 27.7%TRR 及び 40.3%TRR、親化合物がそれぞれ 9.0%TRR 及び 3.6%TRR 認められた。玄米では、酸加水分解の有無にかかわらず親化合物が 8.7%TRR (0.024 mg/kg) と最も多く認められ、次いで C が酸加水分解により 6.8%TRR (0.018 mg/kg) 認められた。このことから、主要代謝物 C は主として抱合体で存在すると考えられた。このほか酸加水分解により新たに B 及び F が微量認められた。繊維質に取り込まれた結合性放射能のアルカリによる可溶化により、F が未成熟茎葉、稲わら及び玄米に 8.6~15.4%TRR、E が未成熟茎葉及び玄米に 0.9~6.7%TRR 認められた。[phe-¹⁴C]ベンフレセートの処理区と無処理区を隣接して水稻を栽培した場合、無処理区の玄米から処理区での処理放射能の 9.3% (0.026 mg/kg) の残留放射能が検出された。このことから、玄米中の残留放射能 (0.28 mg/kg) の一部は、土壤中で[phe-¹⁴C]ベンフレセートが二酸化炭素に分解され、気化した二酸化炭素が水稻に吸収されて同化されると考えられた。

ベンフレセートの稲における主要代謝経路は、ベンゾフラン環 2 位の水酸化による B の生成、B の酸化による C の生成、C の加水分解による D の生成であると考えられた。なお、D はさらにエステル抱合を受け、その抱合体は酸加水分解及び環化により、再度ラクトン体である C になることが示唆された。(参照 7)

表 7 各試料の抽出性放射能における代謝物

試料	総残留放射能濃度	酸加水分解処理	抽出性放射能					極性代謝物	
			親化合物	B	C	E	F		
未成熟茎葉	9.66 mg/kg	前	%TRR	7.2	—	0.3	1.0	—	58.8
			mg/kg	0.696	—	0.029	0.097	—	5.68
		後	%TRR	9.0	3.7	27.7	7.5	0.0	6.6
			mg/kg	0.869	0.357	2.68	0.725	0.0	0.638

稲わら	6.42 mg/kg	前	%TRR	1.0	—	0.4	1.1	—	56.8
			mg/kg	0.064	—	0.026	0.071	—	3.65
		後	%TRR	3.6	1.5	40.3	1.3	0.0	4.9
			mg/kg	0.231	0.096	2.58	0.083	0.0	0.314
玄米	0.27 mg/kg	前	%TRR	8.7	—	1.6	0.9	—	19.5
			mg/kg	0.024	—	0.004	0.002	—	0.053
		後	%TRR	8.7	0.1	6.8	1.4	0.7	3.7
			mg/kg	0.024	0.0003	0.018	0.004	0.002	0.010

— : 検出されず

3. 土壤中運命試験

(1) 好氣的湛水土壤中運命試験①

[phe-¹⁴C]ベンフレセートを砂壤土 (英国 Abington) に 1.0 kg ai/ha の用量で土壤処理し、蒸留水で湛水後、25±2°Cの暗条件下で 364 日間インキュベートして、好氣的湛水土壤中運命試験が実施された。

湛水試料中の放射能及び土壤における抽出性放射能は、処理当日ではそれぞれ総処理放射能(TAR)の 32.6%及び 63.3%認められ、その後は経時的に減少して試験終了時 (処理 364 日後) ではそれぞれ 10.6%TAR 及び 40.3%TAR となった。

土壤結合型残留放射能及び二酸化炭素として回収された放射能は、試験期間後半に大きく増加し、試験終了時にはそれぞれ 19.2%TAR 及び 12.4%TAR となった。

ベンフレセートの分解は緩慢であり、処理当日の 93.0%TAR から試験終了時の 45.3%TAR へと減少し、推定半減期は 300 日であった。主要分解物は二酸化炭素であった。他に各種の未知分解物が認められたが、その生成量はいずれも 5%TAR 未満であった。(参照 8)

(2) 好氣的湛水土壤中運命試験②

[phe-¹⁴C]ベンフレセートを砂壤土 (英国 Abington) に 1.0 kg ai/ha の用量で土壤処理後、26 日間は非湛水条件で、その後は蒸留水で湛水して計 364 日間、25±2°Cの暗条件下で好氣的にインキュベートして、好氣的湛水土壤中運命試験が実施された。

湛水開始直後 (処理 26 日後) の試験系における放射能は、主として土壤抽出性放射能 (55.6%TAR) として回収され、湛水試料から回収された放射能は 7.2% TAR であった。同時点における土壤結合型残留及び二酸化炭素としての放射能は、それぞれ 25.3%TAR 及び 14.8%TAR であった。これ以降、56~84 日後までの間は二酸化炭素の発生はほとんど増加せず、水溶性成分が約 17%まで増加したが、試験終了時点では、土壤抽出性放射能は経時的に減少して 11.0%TAR となり、これに対して土壤結合型放射能及び二酸化炭素が増加し、それぞれ 34.1%TAR 及び 36.3%TAR となった。

ベンフレセートの本試験条件下における推定半減期は 50 日であり、主要分解物は二酸化炭素であった。他に未知分解物が認められたが、その生成量はいずれも 5% TAR 未満であった。(参照 8)

(3) 好氣的土壤中運命試験①

[phe-¹⁴C]ベンフレセートを砂壤土(英国 Abington)及びシルト質埴壤土(英国 Terling)にそれぞれ 1.0 kg ai/ha の用量で土壌処理し、364 日間、25±2°C の暗条件下で好氣的にインキュベートして、好氣的土壤中運命試験が実施された。

ベンフレセートは、好氣的条件下では土壌中で速やかに分解し、推定半減期は 18~20 日であった。試験終了時点での二酸化炭素の発生率は 55~61% TAR に達した。結合性残渣は 34~36% であった。未同定分解物が複数検出されたが、いずれも生成率は低く、最大は未同定分解物 A が Abington 土壌で処理 26 日後に 3.1% TAR 検出されたが、試験終了時点では 0.1% TAR に減少した。(参照 8)

(4) 好氣的土壤中運命試験②

[phe-¹⁴C]ベンフレセートを、滅菌及び非滅菌の砂壤土(英国 Abington)に 0.6 kg ai/ha の用量で土壌処理後、20±2°C の暗条件下で 119 日間インキュベートして、好氣的土壤中運命試験が実施された。

滅菌土壌では、ベンフレセートはほとんど分解されなかった。二酸化炭素の発生は 0.1% TAR 以下、結合性残留放射能は 2.3% TAR 以下であった。分解物として C が 56 日後に最大 2.2% TAR が検出され、その他、B が 91 日後に 0.5% TAR が検出されたが、いずれも試験終了時点では検出限界以下であった。

非滅菌土壌中ではベンフレセートは速やかに分解され、処理 56 日後に 6.6% TAR、119 日後には 2.8% TAR に減少した。試験終了時点の二酸化炭素の累積発生量は 46% TAR であった。二酸化炭素以外の分解物は B 及び C が検出されたが、いずれも検出限界以下~0.1% TAR であった。土壌粒子への結合残留放射能は 56 日後で 49% TAR、119 日後で 43% TAR であった。

以上の結果から、ベンフレセートの好氣的土壌中分解には、微生物分解が大きく寄与していることが示唆された。(参照 9)

(5) 土壌吸着試験

4 種類の国内土壌(砂質埴壤土：岡山、軽埴土：石川、砂壤土：宮崎、シルト質埴壤土：茨城)を用いた土壌吸着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 1.28~5.97 であり、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 120~490 であった。(参照 10)

(6) 土壌吸脱着試験

4 種類の土壌(砂壤土：茨城、埴壤土：米国イリノイ州、重埴土：米国ミネソ

タ州、砂土：米国ノースカロライナ州) を用いた土壌吸脱着試験が実施された。

Freundlich の吸着係数 K_{ads} は 0.776~9.20、有機炭素含有率により補正した吸着係数 K_{oc} は 140~259 であり、脱着係数 K_{des} は 0.03~11.2 であった。ベンフレセートの土壌への脱着は吸着と比較して生じにくいものと考えられた。ベンフレセートの土壌中での移動性は低~中程度と考えられた。(参照 11)

4. 水中運命試験

(1) 加水分解試験

[phe-¹⁴C]ベンフレセートを pH 4 (クエン酸)、pH 7 (イミダゾール塩酸) 及び pH 9 (リン酸) の各滅菌緩衝液に 0.451~0.459 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように添加した後、 $50.1\pm 0.1^\circ\text{C}$ の暗所条件下で 5 日間インキュベートして、加水分解試験が実施された。

ベンフレセートは pH 4~9 の各緩衝液中で加水分解に対して安定であった。(参照 12)

(2) 水中光分解試験

[phe-¹⁴C]ベンフレセートを、pH 7 の滅菌リン酸緩衝液及び pH 7 のフミン酸を添加した滅菌合成自然水に 45 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように添加した後、 25°C で 16.2 日間 (388 時間) キセノンランプ照射 (光強度: $4.3 \text{ W}/\text{m}^2$ 、波長: 290~320 nm) して、水中光分解試験が実施された。

両試験水とも、水中から回収される放射能が経時的に減少する一方、揮発性物質として回収された放射能が経時的に増加した。試験終了時 (16.2 日後) には、緩衝液では水中に 78.0% TAR、揮発性物質に 10.2% TAR、合成自然水では水中に 70.8% TAR、揮発性物質に 10.5% TAR が存在した。

両試験水とも、水中の親化合物は経時的に減少し、処理当日で 94.6~94.9% TAR、試験終了時で 24.4~28.0% TAR であった。これに対して未同定分解物が経時的に増加し、試験終了時では 52.5~54.8% TAR となった。未同定分解物は高極性の複数成分で構成されおり、ギ酸及び酢酸が含まれていたことが確認されたが、10% TAR 以上生成した単一分解物はないと考えられた。また、揮発性物質の大部分は二酸化炭素であった。

推定半減期は、緩衝液及び自然水でそれぞれ 7.4 日及び 6.7 日 (北緯 35 度、春の太陽光換算ではそれぞれ 146 日及び 132 日) であった。(参照 13)

5. 土壌残留試験

火山灰・軽埴土 (茨城)、洪積・埴壤土 (大阪)、洪積・壤質砂土 (福岡) 及び洪積花崗岩系・壤質砂土 (福岡) を用いて、ベンフレセートを分析対象化合物とした土壌残留試験 (圃場及び容器内) が実施された。結果は表 8 に示されている。(参照 14)

表 8 土壤残留試験成績 (推定半減期)

試験		濃度*	土壌	ベンフレセート
圃場試験	水田(湛水)状態	600 g ai/ha 2回湛水散布	火山灰・軽埴土	14日
			洪積・埴壤土	5日
	畑地状態	900 g ai/ha 2回散布	火山灰・軽埴土	約21日
			洪積・壤質砂土	約11日
容器内試験	水田(湛水)状態	0.6 mg/kg	火山灰・軽埴土	326日
			洪積・埴壤土	85日
	畑地状態	1 mg/kg	火山灰・軽埴土	約24日
			洪積花崗岩系・壤質砂土	約90日

*：圃場試験では粒剤（水田）及び顆粒水和剤（畑地）、容器内試験では純品を使用

6. 作物等残留試験

(1) 作物残留試験

水稻を用いて、ベンフレセート及び代謝物 C を分析対象化合物とした作物残留試験が実施された。

結果は表 9 に示されている。

ベンフレセート及び代謝物 C の最大残留値は、いずれも散布 89 日後に収穫した稲わらで認められ、それぞれ 0.07 mg/kg 及び 1.83 mg/kg であった。玄米中のベンフレセート及び代謝物 C の残留値はいずれも定量限界以下であった。（参照 15、16）

表 9 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)			
					ベンフレセート		C	
					最高値	平均値	最高値	平均値
水稻 (玄米) 1991年度	2	600	1~2	65~109	<0.01	<0.01	0.01	0.01*
水稻 (稲わら) 1991年度	2	600	1	86~109	<0.05	<0.04	0.77	0.53
			2	65~89	0.07	0.06*	1.83	0.86

注)・使用方法は全て、粒剤を用いた湛水散布とした。

・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、定量限界値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値の平均に<を付して記載した。

(2) 魚介類における最大推定残留値

ベンフレセート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算

出された。

ベンフレセートの PEC は 0.52 µg/L、BCF は 26 (計算値)、魚介類における最大推定残留値は 0.068 mg/kg であった。(参照 44)

上記の作物残留試験の分析値及び魚介類における最大推定残留値を用いて、ベンフレレート (親化合物のみ) を暴露評価対象化合物とした際に食品中より摂取される推定摂取量が表 10 に示されている。なお、本推定摂取量の算定は、登録に基づく使用方法から、ベンフレレートが最大の残留を示す使用条件で水稻に使用され、かつ、魚介類への残留が上記の最大推定残留値を示し、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下に行った。

表 10 食品中より摂取されるベンフレセートの推定摂取量

食品名	残留値 (mg/kg)	国民平均 (体重: 53.3 kg)		小児 (1~6 歳) (体重: 15.8 kg)		妊婦 (体重: 55.6 kg)		高齢者 (65歳以上) (体重: 54.2 kg)	
		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)
魚介類	0.068	94.1	6.4	42.8	2.9	94.1	6.4	94.1	6.4
合計			6.4		2.9		6.4		6.4

注)・残留値は最大推定残留値を用いた。

- ・玄米のデータは全て定量限界未満であったため、摂取量の計算に含めていない。
- ・「ff」:平成 10 年~12 年の国民栄養調査 (参照 45~47) の結果に基づく摂取量 (g/人/日)
- ・妊婦及び高齢者の魚介類の ff は国民平均の ff を用いた。
- ・「摂取量」:残留値から求めたベンフレセートの推定摂取量 (µg/人/日)

7. 一般薬理試験

マウス、ウサギ、モルモット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 11 に示されている。(参照 17)

表 11 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)	結果の概要
中枢神経系	一般状態 (Irwin 改変法)	ICR マウス	雄 5	0, 62.5, 125, 250, 1,000, 2,000 (経口) ¹⁾	—	62.5	高用量で中枢興奮性症状を示すが、速やかに回復
	呼吸・循環器系	日本白色種ウサギ	雄 5	0, 1, 10 (静注) ²⁾	1	10	血圧及び呼吸数の軽度かつ一過性の低下または増加

自律神経系	摘出回腸収縮	Hartley モルモット	雄5	$3 \times 10^8, 3 \times 10^7, 3 \times 10^6, 3 \times 10^5$ g/mL (<i>in vitro</i>) ³⁾	3×10^6 g/mL	3×10^5 g/mL	各収縮作用を有意に抑制
	腸管炭末輸送能	ICR マウス	雄8	0,250,500,1,000 (経口) ¹⁾	1,000	—	影響なし
骨格筋	横隔膜神経筋収縮	Wistar ラット	雄5	$3 \times 10^7, 3 \times 10^6, 3 \times 10^5$ g/mL (<i>in vitro</i>) ³⁾	3×10^6 g/mL	3×10^5 g/mL	神経刺激による収縮増強
血液系	血液凝固	Wistar ラット	雄5	0,1,000,2,000 (経口) ¹⁾	2,000	—	影響なし
	溶血作用	日本 白色種 ウサギ	雄5	0,0.02,0.2 g/mL (<i>in vitro</i>) ⁴⁾	0.2 g/mL	—	影響なし

注) 溶媒として、¹⁾は0.5%CMC+0.04%Tween80溶液、²⁾はポリエチレングリコール+エタノール+生理食塩水、³⁾はエタノール、⁴⁾は1%エタノール生理食塩水を用いた。

—：作用量または無作用量が設定できない。

8. 急性毒性試験

ベンフレサートのラット用いた急性経口、急性経皮及び急性吸入毒性試験、ICRマウスを用いた急性経口毒性試験が実施された。

結果は表 12 に示されている。(参照 18~21)

表 12 急性毒性試験概要 (原体)

投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg 体重)		観察された症状
		雄	雌	
経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>4,000	4,290	泌尿生殖器及び口部汚れ、流涎、後彎姿勢、活動性低下、低体温、呼吸障害、尿失禁、振戦 4,000 mg/kg 体重で死亡例
経口	ICR マウス 雌雄各 5 匹	6,480	5,220	活動性低下、痙攣、挙尾 4,000 mg/kg 体重以上で雌雄に切迫と殺例
経皮	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	症状及び死亡例なし
吸入	SD ラット 雌雄各 5 匹	LC ₅₀ (mg/L)		立毛、流涎、鼻汁分泌、低体温 死亡例なし
		>5.34	>5.34	

ベンフレサートの代謝物及び原体混在物のラットを用いた経口投与による急性毒性試験が実施された。

結果は表 13 に示されている。(参照 38~40)

表 13 急性毒性試験概要（代謝物及び原体混在物）

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	
D (代謝物)	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛 死亡例なし
E (代謝物)	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、嗜眠、呼吸数減少、 四肢蒼白、唾液分泌亢進、 運動失調 3,200 mg/kg 体重以上で 雌雄に死亡例
G (原体混在物)	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	立毛、異常姿勢、異常歩行、 嗜眠、呼吸数減少 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、ならびに Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験（Buehler 法）が実施された。

眼及び皮膚刺激性ならびに皮膚感作性は陰性であった。（参照 22~24）

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、200、500、1,250 及び 3,130 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（ラット）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		200	500	1,250	3,130
検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	12.9	31.7	80.3	202
	雌	15.4	38.7	96.1	233

3,130 ppm 投与群の雄において、腎比重量¹が有意に増加（110%）し、腎臓に硝子滴沈着及び好酸性封入体が多く認められた。両病変の発生頻度に統計学的有意差は認められなかったが、表 15 に示されているように、3,130 ppm 投与群では病変の程度の増加がみられたことから、検体投与の影響と考えられた。

本試験において、3,130 ppm 投与群の雄に腎臓の病理学的変化（硝子滴沈着及び好酸性封入体）が認められたので、無毒性量は雄で 1,250 ppm（80.3 mg/kg 体重/日）、雌で 3,130 ppm（233 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 25）

¹ 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

表 15 硝子滴沈着及び好酸性封入体の発生頻度

投与群 (ppm)		0	200	500	1,250	3,130
硝子滴沈着	軽微	1	3	3	1	0
	軽度	4	4	5	4	4
	中等度	1	2	1	2	6
	計	8	9	9	7	10
好酸性封入体	軽微	0	0	1	0	0
	軽度	0	1	0	2	2
	中等度	2	1	0	0	1
	重度	0	0	0	0	2
	計	2	2	1	2	5

(2) 90日間亜急性毒性試験 (マウス)

ICR マウス (一群雌雄各 20 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、1,000、3,000、9,000 及び 18,000 ppm : 平均検体摂取量は表 16 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 16 90日間亜急性毒性試験 (マウス) の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		1,000	3,000	9,000	18,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	182	645	2,220	4,100
	雌	290	1,050	3,230	6,800

各投与群で認められた毒性所見は表 17 に示されている。

3,000 ppm 以上投与群の雄及び 1,000 ppm 以上投与群の雌で摂餌量の増加が、9,000 ppm 以上投与群の雌で飲水量の増加が認められた。

本試験において、3,000 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制が認められたので、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm (雄 : 182 mg/kg 体重/日、雌 : 290 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 26)

表 17 90日間亜急性毒性試験 (マウス) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
18,000 ppm	[・死亡(3例)] ・腎絶対重量・対脳重量比減少 ・肝比重量増加 [・腎乳頭壊死、腎尿細管拡張]	
9,000 ppm 以上	[・死亡(2例)] [・腎尿細管変性]	[・腎乳頭壊死、腎尿細管変性] [・腎尿細管拡張 (9,000 ppm 投与群のみ)]
3,000 ppm 以上	・体重増加抑制	・体重増加抑制
1,000 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

[]有意差が認められなかった所見

(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) を用いた強制経口 (原体 : 0、10、100 及び 1,000