

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

化学物質の評価における

カテゴリー・アプローチの高度化に関する研究

平成17年度～19年度 総合研究報告書

主任研究者 林 真

平成20(2008)年3月

目 次

I. 総合研究報告書	
化学物質の評価におけるカテゴリー・アプローチの高度化に関する研究.....	1
林 真、江馬 眞	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	37
III. 研究成果の刊行物・別刷.....	45

厚生労働科学研究費補助金  
(化学物質リスク研究事業)

化学物質の評価における  
カテゴリー・アプローチの高度化に関する研究

I. 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
総合研究報告書

化学物質の評価におけるカテゴリー・アプローチの高度化に関する研究

主任研究者	林 真	国立医薬品食品衛生研究所	変異遺伝部	部長
分担研究者	江馬 眞	国立医薬品食品衛生研究所	総合評価研究室	室長
研究協力者	鎌田 栄一	国立医薬品食品衛生研究所	総合評価研究室	主任研究官
研究協力者	広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所	総合評価研究室	主任研究官
研究協力者	平田 睦子	国立医薬品食品衛生研究所	総合評価研究室	主任研究官
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所	総合評価研究室	研究員
研究協力者	中島 宣雅	OECD 環境局	環境健康安全部	
研究協力者	菅谷 芳雄	国立環境研究所	環境リスクセンター	主任研究官
研究協力者	宮地 繁樹	財団法人 化学物質評価研究機構	安全性評価技術研究所	主任
研究協力者	斉藤 和幸	北陸大学	薬学部	教授

研究要旨：日本では年間約 10 万種の化学物質が生産されているが、安全性が明らかになっているものは非常に少ない。これらの化学物質の安全情報を得るためには毒性試験を実施する必要があるが、全ての物質について試験を実施するには多大な時間と予算が必要である。そこで、類似した化学物質を一つのカテゴリーに分類し、既存の毒性情報からカテゴリー全体の毒性学的特徴を推測する手法が検討されている。本研究はこのカテゴリーアプローチ手法の開発を目的とする。

最初に、カテゴリーマトリックスを構成する構造類似物質を選択するためのデータベースを作成した。このデータベースには約 12 万種の化学物質の名称、法規制番号、CAS No.、構造等が収納されている。今後はこれらの化合物の毒性データを追加していく予定である。

次に、Japan チャレンジプログラムの中から 1-ブロモプロパンを選択し、この物質について OECD のガイダンスに基づいてカテゴリー化を行った。1-ブロモプロパンを中心としたカテゴリー案としては、現段階ではプロモエタンとのカテゴリーが可能であるが、今後、1-ブロモブタン及び 1-ブロモトリデカンについて SIDS 項目の試験を実施することで炭素数 2 から 13 までの化合物のカテゴリー化が可能と思われた。また、フェノール骨格を持つ構造異性体について read-across が可能なのか、アミノフェノール、エチルフェノール、モノクロロフェノール、*sec*-ブチルフェノール及び *tert*-ブチルフェノールの毒性影響について検討を行った結果、3 つの異性体の内 2 つ異性体について試験を実施することが望ましいことが判明した。さらに、Japan チャレンジプログラムにリストアップされている物質のうちスポンサー登録がなされていない物質から 5 物質 (*m-tert*-ブチルフェノール、4,α-ジクロロトルエン、*p*-クロロベンゾイルクロリド、*o*-クロロアニリン、4-メチル-2-*tert*-ブチルフェノール)を選択し、その構造異性体とのカテゴリー評価の妥当性について検証を行った結果、*tert*-ブチルフェノール及び α-ジクロロトルエンについては、一部の追加試験を実施し、データギャップを補完することでカテゴリーアプローチが可能と考えられた。この結果を元に担当する企業がデータギャップを補完することでカテゴリーアプローチが可能となり、Japan チャレンジプログラムに直接的に貢献することが出来た。

本研究では、カテゴリーアプローチを行うにあたり、OECD が発行したガイダンス「Guidance on Grouping of Chemicals」の和訳を行い、カテゴリー評価をする際の一助とした。さらに、OECD や各国におけるカテゴリーアプローチに関する活動を調査した結果、OECD の高生産量既存化学物質点検プロジェクトを始め、EU や米国においても、カテゴリー評価が非常に大きな位置を占めており、近年その重要性が益々増大していることが明らかになった。

#### A. 研究目的

日本では、年間約 10 万種の化学物質が生産されており、このうち数千物質は製造量が 1,000 トンを超える高生産量化学物質とみなされている。これらの化学物質には、工業用途に使用されるのみならず、日

用品として広く国民の間で使用されるものが数多く存在する。これらの物質の毒性学的特徴を把握することは、ヒトへの健康危害を考える上で極めて重要であるが、安全性の評価が終了しているものは非常

に少ない。特に既存化学物質（日本では約2万物質）には、その毒性が未だ明らかになっていないものが数多く存在する。

これらの化学物質の安全情報を得るためには毒性試験を実施する必要があるが、全ての物質について試験を実施するには多大な時間と予算が必要である。そこで、類似した化学物質を一つのカテゴリに分類し、既存の毒性情報からカテゴリ全体の毒性学的特徴を推測する手法が検討されている。この手法によりグローバルな評価が成功すれば、動物福祉の面からも大きな福音となる。

本研究は、化学物質の構造と毒性との相関性から、すでに存在する膨大な実データを整理し、包括的にまとめ直すことにより、化学物質の毒性を効率的かつ効果的に検討する、カテゴリ評価手法の開発を目的とする。

## B. 研究方法

1. カテゴリ分類用化学物質データベースの作製  
最初に、カテゴリマトリックスを作製する際の、最初のステップである構造類似物質を選択するためのデータベースを作成した。

日本では、昭和48年に「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（化審法）制定され、昭和61年と平成16年に改正が行われている。昭和48年の制定時に、製造又は輸入されていた化学物質（既存化学物質）は、成書（化審法化学物質 化学工業日報社）やインターネットで閲覧することが出来る。この既存化学物質は約10万種以上登録されているが、カテゴリを組む際にはこの物質群に近縁の物質を含めたデータベースが必要となる。そこで、既存化学物質の構造式やその他の情報を含むデータベースの作製を行い、類似構造やその他の選択因子を入力することで類似物質を選択するシステムを構築した。既存化学物質の構造式やその他の情報収集には、独立行政法人科学技術振興機構（JST）の協力を得た。

次に、肝 Transaminase に影響を及ぼす化合物のデータベースを作成した。対象化合物の抽出作業は DiscoveryGate® (Elsevier MDL 社 <https://www.discoverygate>) を用いて行い、Chemfinder を用いてデータベース化を行った。抽出された化合物に関する情報については、抄録またはオリジナル文献を収集し、試験条件及び肝 Transaminase に対する影響をデータベースに入力した。なお、記載言語は英語及び日本語とし、ヒトに関するデータは除外した。

## 2. カテゴリアプローチの検討

### 2-1. 1-ブromアルカン類への適用

Japan チャレンジプログラムにリストアップされている物質から1-ブromプロパン (CAS No. 106-94-5) を例にとり、ヒト健康影響分野を中心にカテゴリアプローチを試みた。カテゴリアプローチは、経済協力開発機構 (Organisation for Economic Co-operation and Development: OECD) の高生産量既存化学物質点検プログラム (High Production Volume Chemicals Programme: HPV プログラム) 実施マニュアルの一部として取りまとめられたカテゴリアプローチの原則「Guidance on the Development and Use of Chemical Categories in the HPV Chemicals Programme」に基づいた手順で実施した。なお、カテゴリメンバーの選択には、本研究で作製したカテゴリ分類用化学物質データベースと日化辞 WEB

[\[http://nikkajweb.jst.go.jp/nikkaji\\_web/pages/top.html\]](http://nikkajweb.jst.go.jp/nikkaji_web/pages/top.html) を使用した。

### 2-2. フェノール類への適用

カテゴリアプローチを実施する際には、生産の有無、物理化学的条件、環境毒性やヒト健康影響等を考慮し、総合的に判断した上で該当する化合物を選択するが、その選択条件として OECD はガイダンスドキュメントを作製している。しかし、ヒト健康影響については、科学的なカテゴリ化の条件についての記載がないことから、フェノール骨格を持った構造異性体について法則性があるのか、1つの異性体だけのデータで残りの異性体について read-across が可能なのかについて検討を行った。

調査対象物質は、厚生労働省の既存化学物質安全性点検プログラムにおいて、Ames試験、*in vitro* 染色体異常試験及び28日間反復経口投与毒性試験または反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験（反復生殖併合試験）が実施された以下のフェノール類とし、これらの毒性試験結果（化学物質毒性試験報告参照）の異性体間比較により、物質カテゴリ内の未試験物質に関する試験の必要性の有無について考察を行った。

- ① アミノフェノール（メタ及びパラ異性体）
- ② エチルフェノール（メタ及びパラ異性体）
- ③ モノクロロフェノール  
（オルト及びパラ異性体）
- ④ *sec*-ブチルフェノール  
（オルト及びパラ異性体）
- ⑤ *tert*-ブチルフェノール  
（オルト及びパラ異性体）

### 2-3. Japan チャレンジプログラム候補物質のカテゴリ評価の妥当性に関する検討

Japan チャレンジプログラムにリストアップされている物質のうちスポンサー登録がなされていない物質から、*m-tert*-ブチルフェノール、4,  $\alpha$ -ジクロロトルエン、*p*-クロロベンゾイルクロリド、*o*-クロロアニリン、4-メチル-2-*tert*-ブチルフェノールを選択し、その構造異性体でのカテゴリー評価の妥当性について検証を行った。

それぞれのカテゴリー内の構造異性体について、OECDのHPVプログラムにおけるSIDS項目(Screening Information Data Set、初期評価要求項目)を参考に、下記の項目の調査を行った。

#### 物理化学性状

- ① 沸点
- ② 融点
- ③ 密度
- ④ 蒸気圧
- ⑤ 分配係数
- ⑥ 対水溶解度
- ⑦ 解離定数(解離基を有する場合のみ)

#### 環境中運命

- ① 安定性
  - A. 光分解性
  - B. 水中での安定性
- ② 移動と環境分布
- ③ 好氣的生分解性
- ④ BOD-5, COD 及び BOD-5/COD比
- ⑤ 生物濃縮

#### 環境毒性

- ① 魚類急性毒性
- ② 水生無脊椎動物急性毒性(ミジンコ)
- ③ 水生植物(藻類)毒性
- ④ 微小生物(バクテリア)への毒性
- ⑤ 水生生物慢性毒性
  - A. 魚類慢性毒性
  - B. 水生無脊椎動物慢性毒性
- ⑥ 陸生生物への毒性
  - A. 陸上植物毒性
  - B. 土壌生物毒性
  - C. その他の陸上生物(鳥類を含み、ほ乳類を除く)への毒性

#### ヒト健康影響

- ① 急性毒性
- ② 刺激性
- ③ 感作性
- ④ 反復投与毒性
- ⑤ 変異原性
- ⑥ 発がん性
- ⑦ 生殖発生毒性

### 3. カテゴリーアプローチの活動に関する調査研究

近年、OECD加盟国における化学物質の安全性評価に対する関心が一段と高まっている。欧州では、従来の制度体系を大きく変更するREACH(Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals)やその運用のための新たな組織である欧州化学品庁(European Chemicals Agency : ECHA)の設置、米国で

は、拡大HPV計画の実施、日本ではJapan チャレンジプログラムの開始など、新たな取り組みが開始つつある。OECDにおいても、2005年の既存化学物質タスクフォースにおいて2010年までの新たな既存化学物質点検プログラムが同意された。

これらのプログラムには、共通の課題がある。既存化学物質はOECDに登録された高生産量化学物質だけで約5,000物質が存在し、これらの物質について安全性試験を実施するためには、多額の費用と時間が必要であるという点である。また、動物愛護の観点から、いかに動物実験を少なくするかという点も共通の課題である。これらの課題を解決するために、各国が現在、開発をすすめ、もしくは活用している手法の一つがカテゴリーアプローチである。たとえば、カテゴリーアプローチにおいて、28日間反復投与試験をわずか1物質について1試験省略することができるだけでも、数千円単位の費用を節約することが可能であり、そのメリットは極めて大きい。このため、各国、産業界、環境NGOいずれもが、科学的観点からの開発の推進及び当該手法の国際的コンセンサスの一致が強く期待されている。

本研究では、OECD、欧州及び米国におけるカテゴリーアプローチに関わる活動の詳細、カテゴリーアプローチの評価結果のまとめ、解析及び問題点の整理などを行った。この結果はカテゴリーアプローチの国際的な現状把握、今後の日本におけるカテゴリーアプローチの研究及び行政活用に資するものと考えられる。

### C. 研究結果及び考察

1. カテゴリー分類用化学物質データベースの作製  
約12万種の化合物情報(化学物質名、法規制番号、CAS番号、構造等)を収納したデータベースを作成することが出来た。作製した画面と操作方法を図1-1~1-9に示す。

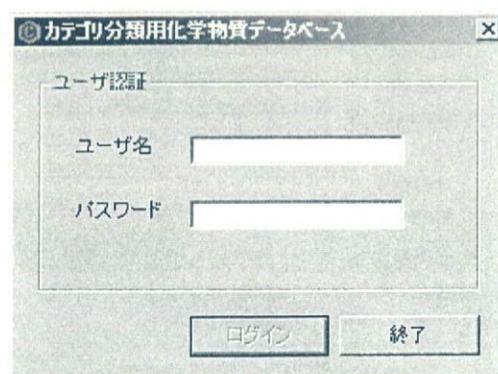


図1-1. ユーザー認証画面

この画面からシステムに入力出来るが、入力に管理者と一般ユーザーに別れる。

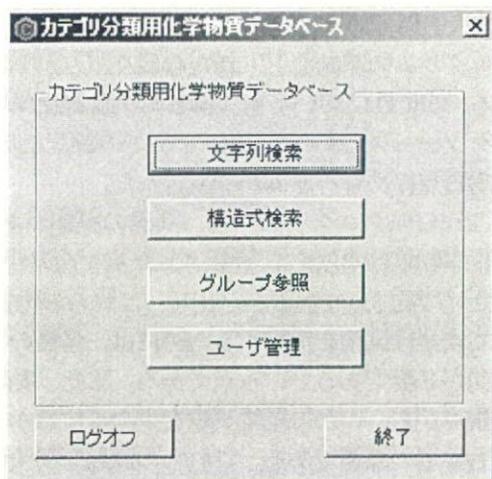


図1-2. 管理者用管理画面  
管理者用のユーザー名とパスワードを  
図1-1の画面に入力することで表示される画面。

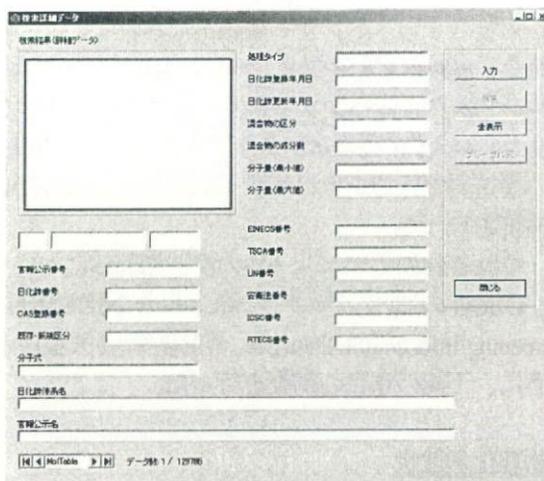


図1-5. 構造式入力画面

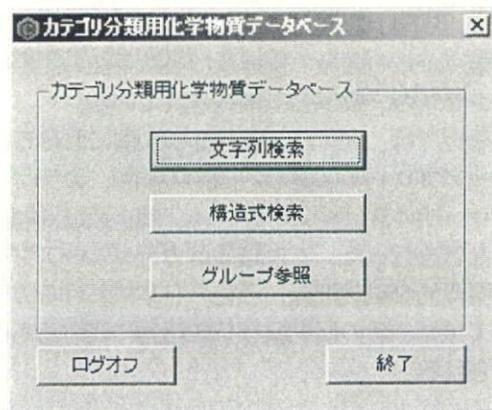


図1-3. 一般ユーザーの入力画面  
この画面で文字列検索が構造式の部分構造に入力により  
検索を選択する。

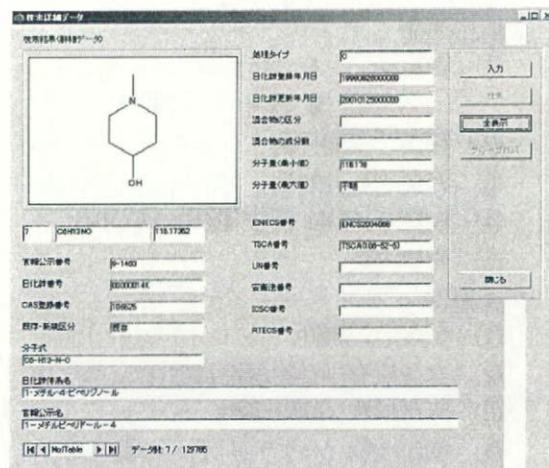


図1-6. 構造式の検索結果画面  
部分構造を入力した結果の画面

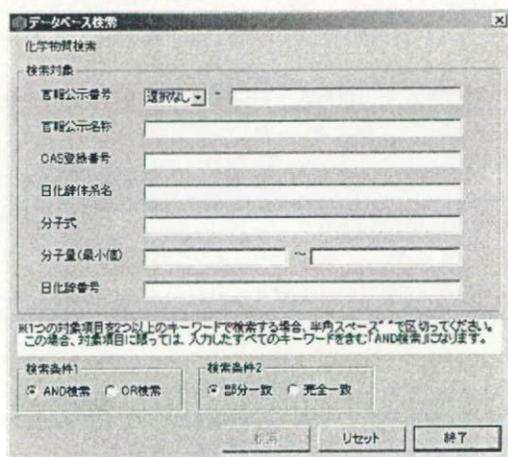


図1-4. 文字検索画面  
ここに表示されている項目について検索ができる。  
今後は毒性情報も検索画面に追加する予定である。

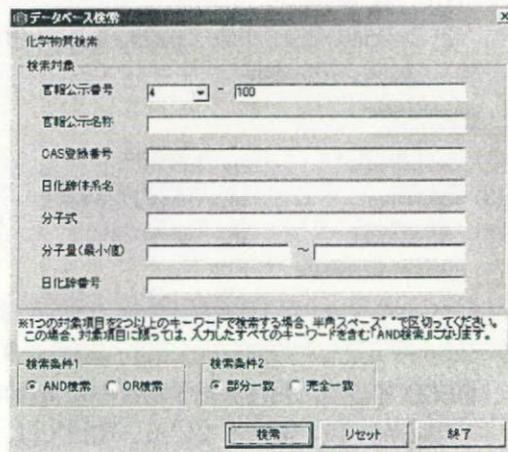


図1-7. 文字列の検索例  
官報公示番号4100を例にとり入力した例。

No.	化学式	CAS番号	日化社名	分子式	分子量	日化社番号
00001	1-プロピル-4-(2-ヒドロキシエチル)ピロリジン	14971	トクai化学工業株式会社	C12H20N	200.30	00001
00002	1-プロピル-4-(2-ヒドロキシエチル)ピロリジン塩酸塩	366290	トクai化学工業株式会社	C12H20N	266.79	00002
00003	2,2'-ビス(4-ヒドロキシフェニル)プロパン	119471	トクai化学工業株式会社	C20H20O2	340.39	00003
00004	2-フェニル-2-プロパノール		トクai化学工業株式会社	C12H14O	170.20	00004
00005	1-プロピル-4-(2-ヒドロキシエチル)ピロリジン		トクai化学工業株式会社	C12H20N	200.30	00005
00006	1-プロピル-4-(2-ヒドロキシエチル)ピロリジン		トクai化学工業株式会社	C12H20N	200.30	00006
00007	1-プロピル-4-(2-ヒドロキシエチル)ピロリジン		トクai化学工業株式会社	C12H20N	200.30	00007
00008	2-ヒドロキシ-1-プロパン	1879610	トクai化学工業株式会社	C3H8O2	76.08	00008
00009	1,4,5,8-テトラヒドロキノリン	120872	トクai化学工業株式会社	C10H12N	144.19	00009
00010	7-アミノ-1-ナフトール	1678101	トクai化学工業株式会社	C10H9N	151.17	00010
00011	2-ヒドロキシ-1-プロパン	1008937	トクai化学工業株式会社	C3H8O2	76.08	00011

図1-8. 検索結果

図1-7で入力した結果で11化合物がヒットし、  
 各々の化合物を選択することで詳細が確認できる。

図1-9. 図1-8でヒットした化合物の詳細画面

図1-8の0001の化合物の詳細表示例で、  
 今後は個々に毒性情報が標示されるようにする予定である。

Discovery Gateを用いて肝Transaminaseに対して影響を及ぼす物質の抽出を行った結果、577物質が見つかったが、そのうち3物質については肝Transaminaseに関する論文が存在しない物質であったことから、合計574物質について検討を行った。その結果、総計676件の文献が抽出された。このうち、英語以外の言語で記載されている文献が193件、ヒトにおける安全性報告が5件、文献情報の不足等から入手できない文献が63件あった。残りの415件の文献から得た情報をデータベース化することが出来た。

今後は、肝Transaminaseへの影響以外の毒性影響についても情報収集を行い、12万種の化合物について、個々に毒性情報が標示されるようにしたいと考えてい

る。

## 2. カテゴリーアプローチの検討

### 2-1. 1-プロモアルカン類への適用

OECDのガイダンスに記載されている鎖長をもとに類似物質の検索を行ったところ、炭素数1から炭素数22までの1-プロモアルカンが検出された(表2-1)。国内の生産実績と用途を「14906の化学商品」(PDF版 化学工業日報社編)を用いて調べたところ、炭素数が14以上の1-プロモアルカンについては、既存化学物質リストに掲載されているものの、現在国内での生産実績は無いと予想されたことから、炭素数1から13の1-プロモアルカンについて毒性データ収集を行った。

その結果、炭素数1のプロモメタンはOECDのHPVプログラムの候補物質であった。第13回初期評価会議 [SIAM (SIDS Initial Assessment Meeting) 13] において評価が終了しており、既に評価文書が公表されている。モンリオール議定書により生産が中止されることから、今後の作業の優先度は低いと報告されていた。炭素数2のプロモエタンについては、米国EPAのチャレンジプログラムの調査報告書が公表されていた。それ以外の1-プロモアルカンについてDiscovery Gateを用いて検索を行った結果、1-プロモプロパンについては、急性毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性、遺伝毒性に関する情報があったが、炭素数が4以上の1-プロモアルカンについては重要な毒性データは存在しないことが明らかになった。

Ames試験に関しては、プロモメタン、プロモエタン及び1-プロモプロパンについては陽性結果が報告されているものの、1-プロモプロパン及び1-プロモオクタンについては陰性結果が報告されている(表2-2)。この様に結果が相反していることから、(Q)SARモデルを用いて結果の予測を行った。使用したモデルはOECDのQSAR専門家会議(36<sup>th</sup> Joint Meeting, 4<sup>th</sup>-6<sup>th</sup> February 2004)において検討対象としているSARモデル(DEREK, MULTICASE)と、日本で開発しているモデル(AdmeWorks)の計3モデルである。これら3モデルの計算結果が2つ以上同じ場合にその化合物の最終予測結果とした。その結果、炭素数1から13のすべての1-プロモアルカンについて「陽性」の予測結果が得られた。Ames試験だけを例にとると炭素数1から13のすべての1-プロモアルカンをカテゴリー化出来るように思われる。

表2-1. 第一候補物質とその国内生産実績及び用途

物質名	分子式	CAS No.	生産実績	生産量 (t)	用途
ブロモメタン	C H3 Br	74-83-9	○	764	食糧及び土壌燻蒸剤、有機合成
ブロモエタン	C2 H5 Br	74-96-4	○	100	有機合成原料、医薬品・冷凍剤原料
1-ブロモプロパン	C3 H7 Br	106-94-5	○	>1000	医薬・農薬中間体
1-ブロモブタン	C4H9 Br	109-65-9	○	20	医薬・農薬中間体、塩ビ安定剤原料
1-ブロモペンタン	C5H11 Br	110-53-2	○	?	?
6-ブロモヘキサン	C6H13 Br	111-25-1	○		医薬・農薬中間体
1-ブロモヘブタン	C7H15 Br	629-04-9	○		?
1-ブロモオクタン	C8H17 Br	111-83-1	○	10	ワザル系紫外線吸収剤原料
1-ブロモノナン	C9H19 Br	693-58-3			
1-ブロモデカン	C10 H21 Br	112-29-8	○		医薬・農薬中間体
1-ブロモウンデカン	C11 H23 Br	765-09-3			
1-ブロモドデカン	C12 H25 Br	143-15-7	○	20	紫外線吸収剤・界面活性剤原料
1-ブロモトリデカン	C13 H27 Br	765-09-3			
1-ブロモテトラデカン	C14H29Br	112-71-0			
1-ブロモペンタデカン	C15H31Br	629-72-1			
1-ブロモヘキサデカン	C16H33Br	112-82-3			
1-ブロモヘプタデカン	C17H35Br	3508-00-7			
1-ブロモオクタデカン	C18H37Br	112-89-0			
1-ブロモノナデカン	C19H39Br	4434-66-6			
1-ブロモイコサン	C20H41Br	4276-49-7			
1-ブロモドコサン	C22H45Br	6938-66-5			

表 2-2. Ames 試験結果及び(Q)SAR モデルによる予測結果

物質名	試験結果	予測結果	(Q)SAR モデル		
			DEREK	Mcase	Aworks
ブロモメタン	陽性	陽性	陽性	陽性	陽性
ブロモエタン	陽性	陽性	陽性	不明	陽性
1-ブロモプロパン	陰性	陽性	陽性	陽性	陽性
1-ブロモブタン	陽性	陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモペンタン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
6-ブロモヘキサン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモヘブタン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモオクタン	陰性	陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモノナン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモデカン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモウンデカン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモドデカン		陽性	陽性	擬陽性	陽性
1-ブロモトリデカン		陽性	陽性	擬陽性	陽性

毒性情報検索により得られたデータのうち、評価に使用できるのは、炭素数1のプロモetanと炭素数2のプロモetanに関するデータであった。さらに、1-ブロモプロパンについては、NTPで評価作業中との検索結果があることから、この炭素数1から3までの1-ブロモアルカンについては適切に利用できるデータが収集可能と思われた。その他の化合物については、毒性情報がほとんど無いことから評価は不可能と考えられた。

このことから、1-ブロモプロパンを中心としたカテゴリー構築を想定した場合、炭素数1のプロモetanはモントリオール議定書により生産が中止されることからカテゴリーから除外し、炭素数2のプロモetanとのカテゴリーが妥当と思われる。しかし、(Q)SARモデルを用いたAmes試験の予測結果を考慮すると、炭素数1から13までの一括したカテゴリー評価が可能と思われる。今後、炭素数4の1-ブロモブタンと炭素数13の1-プロモトリデカンについてSIDS項目の試験を実施し、結果がマトリックスに入力可能ならば、プロモetanから1-プロモトリデカンまでの12化合物を一括して評価する事が出来ると考えられた。

## 2-2. フェノール類への適用

Ames試験に関しては、いずれのフェノール類についても陰性の結果が報告されていた。*in vitro*染色体異常試験については、*p-sec*-ブチルフェノールのみが陰性を示し、他のフェノール類は全て陽性結果を示していた。従ってAmes試験及び*in vitro*染色体異常試験結果については一つの異性体の結果からread-acrossが可能と思われた。対象としたフェノール類の反復投与毒性データを表2-3に示す。反復投与毒性試験に関しては、以下に示すように、異性体間で毒性発現系が異なっており、また、その強さにも一定の法則は見いだせなかった。従って、反復投与毒性については、3つの異性体の内2つの試験を実施することが望ましいことが判明した。

### アミノフェノール

メタ異性体(28日試験)とオルト異性体(28日試験)では、体重低下及び血液系への作用(貧血)が共通して見られた。さらに、メタ異性体では、振戦や肝臓

及び甲状腺の病理組織学変化が見られ、パラ異性体では腎臓への作用(好塩基性尿細管)が見られている。体重や血液系に対する影響の強さとしてはメタ異性体とオルト異性体ではほぼ同様であるが、標的臓器が異性体間で異なっていた。

### エチルフェノール

メタ異性体(28日試験)及びパラ異性体(28日試験)では、一般状態(よろめき歩行等)、肝酵素活性の増加、肝臓及び腎臓の重量増加、刺激性による胃への作用(前胃の扁平上皮化生)が共通して見られた。毒性の強さとしては、メタ異性体では最高用量である1,000 mg/kg投与群のみで肝重量の増加が見られたのに対し、パラ異性体による肝重量増加は300 mg/kg群から見られていることから、パラ異性体の方がやや強いと考えられる。

### モノクロロフェノール

オルト異性体(28日試験)とパラ異性体(28日試験)では、一般状態の変化(振戦や流涎)が共通して観察された。オルト異性体は、パラ異性体によっては引き起こされていない肝臓への作用を示唆する所見(肝臓重量の増加、肝小葉中心性肝細胞肥大)が観察されている。振戦の強さの順は、パラ>オルト異性体であった。

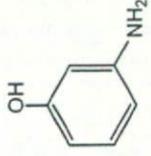
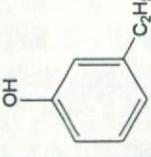
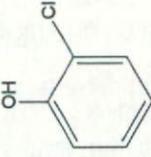
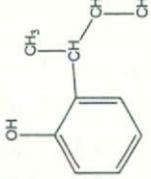
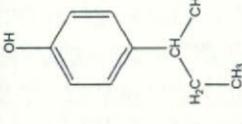
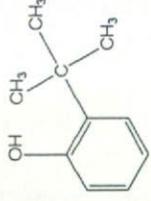
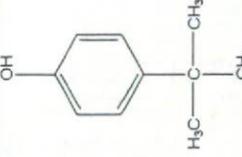
### sec-ブチルフェノール

オルト異性体(反復生殖併合試験)及びパラ異性体(28日試験)に共通して流涎及び肝臓重量の増加が観察されており、その程度を比較すると、流涎についてはパラ異性体がオルト異性体より強い。パラ異性体ではオルト異性体では観察されていない腎臓や刺激性を疑わせる前胃の変化が観察されている。一方、肝臓への作用を見ると、パラ異性体では最高投与量の1,000 mg/kg投与群のみでみられているのに対して、オルト異性体では300 mg/kg投与群から観察され、さらに病理組織学的変化を伴っていた。

### tert-ブチルフェノール

オルト異性体(28日間試験)とパラ異性体(反復生殖併合試験)に共通した変化は見られなかった。オルト異性体では、100 mg/kg以上の投与群で流涎、500 mg/kg投与群で歩行失調や肝臓への作用が見られているが、パラ異性体では最高投与量である200 mg/kg投与群までこれらの影響は観察されなかった。

表 2-3. フェノール類の反復投与毒性

物質名称	m-アミノ フェノール	p-アミノ フェノール	m-エチル フェノール	p-エチル フェノール	o-クロロ フェノール	p-クロロ フェノール	o-sec-ブチル フェノール	p-sec-ブチル フェノール	o-tert-ブチル フェノール	p-tert-ブチル フェノール	
CAS No.	591-27-5	123-30-8	620-17-7	123-07-9	95-57-8	106-48-9	89-72-5	99-71-8	88-18-6	98-54-4	
構造式											
試験法	28 日間	28 日間	28 日間	28 日間	28 日間	28 日間	反復生殖併合	28 日間	28 日間	反復生殖併合	
投与量 (mg/kg/day)	80, 240, 720	4, 20, 100, 500	100, 300, 1000	100, 300, 1000	8, 40, 200, 1000	20, 100, 500	12, 60, 300	100, 300, 1000	4, 20, 100, 500	20, 60, 200	
NOEL (mg/kg/day)	80	20	300	100	40	20	12	100	100	60	
一般状態 体重変化	720 : 振戦・流 涎、体重↓	500 : 自発運動↓ 体重↓	1000 : 横臥/腹 臥、よろめき 歩行など	1000 : よろめき 歩行・流涎 体重↓	>200 : 流涎 1000 : 自発運動↓ 振戦・歩行異 常・腹臥/側臥	500 : 振戦・頻 呼吸・流涎	>60 : 自発運動↓ 300 : 流涎・腹臥位/ 横臥位・半眼・ ふらつき歩行	>100 : 流涎 1000 : 呼吸音異常・ 開口呼吸など 体重↓	>100 : 流涎 500 : 歩行失調	—	
血液学	720 : 貧血傾向	500 : 貧血傾 向・RETT↑	—	—	—	500 : WBC↑	—	—	—	—	
血液生化学	720 : GPT・BIL・ CHO↑など	500 : ALB↑	1000 : GPT・ CHO↑	1000 : GPT・ CHO↑	1000 : Pi↓, TG↑	—	300 : CHO↑	1000 : GOT・GPT・ Na↑など	—	200 : ALB・TP↓	
器官重量	720 : 脾・肝↑	>100 : 腎↑ 500 : 脾・肝↑	1000 : 肝・腎↑	>300 : 肝↑ 1000 : 腎↑	1000 : 肝↑	—	300 : 肝↑	1000 : 肝↑	500 : 肝↑	—	
病理組織	>240 : 腎-近位尿管 上皮褐色色素 沈着 脾-へモジデリ ン沈着 720 : 肝-肝細胞の単 細胞壊死など 甲状腺-濾胞細 胞肥大 腎-硝子滴	>100 : 腎-好塩基性 尿管 500 : 脾-へモジデ リン色素増 加・髄外造 血亢進	1000 : 前胃-境界線/ その他の部 位に扁平上 皮過形成	>300 : 前胃-境界線/ その他の部 位に扁平上 皮過形成	1000 : 肝-小葉中心性 肝細胞肥大	—	300 : 肝-小葉中心性肝 細胞肥大	>300 : 腎-腎乳頭壊死 前胃-粘膜上皮過 形成	—	—	—

— : 変化なし

### 2-3. Japan チャレンジプログラム候補物質のカテゴリ ー評価の妥当性に関する検討

#### 2-3-1. *m-tert*-ブチルフェノール

*m-tert*-ブチルフェノールの構造異性体 (*tert*-ブチルフェノール)に関する調査結果を表 2-4 に示す。

##### 物理化学性状

メタ異性体の密度を除く全ての項目においてデータが入手可能であり、カテゴリ評価を行うにあたり問題はない。一般的に、密度は、オルト、メタ及びパラ異性体間で大きく異なる場合が多く、メタ異性体の密度はオルト異性体及びパラ異性体の密度から予測することが可能であると考えられる。しかしながら、本物質群においては、オルト異性体は液体であるものの、メタ異性体及びパラ異性体は固体であること、オルト異性体とパラ異性体において融点が比較的大きく異なることに注意するべきである。

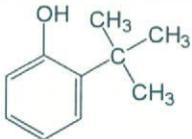
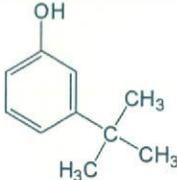
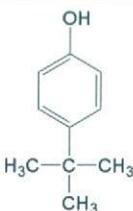
##### 環境中運命及び環境毒性

好氣的生分解性に関しては、パラ異性体についてのみ、28日間でBODベースで98%の分解率との実測値がある。構造活性相関プログラム (BIOWIN v4.02)を用いて生分解性の予測を行った結果、いずれの異性体についても易分解～易分解ではないと予測されたことから、3つの異性体間で大きな違いはないと考えられる。生

物蓄積性についても、パラ異性体についてのみ実測されており低濃縮性であった。オルト、メタ、パラ異性体の生物蓄積性 (BCF) 予測値 (BCFWIN v2.15)は、それぞれ25、69、71と大きな違いは無く、低濃縮性であるとの判断は同じであった。安定性に関しては、パラ異性体について光分解性を有するとの情報があるものの、この情報はUV域に吸収があるとの情報であり、光分解性が顕著であることを示すものではない。他の2つの異性体についても同じと考えられる。Fugacity model (Level III) による計算結果 (大気: 0.2~0.3%、水中: 17~18.5%、土壌: 80.5~81.9%、底質: 0.8%)から、本カテゴリの3つの異性体はほぼ同じ環境分布であると予測された。

環境毒性に関しては、パラ異性体について、魚類、甲殻類、藻類のOECDテストガイドラインに準拠した信頼性の高い実測値がある。オルト及びメタ異性体については同種による実測毒性値が入手できないが、3つの異性体に共通の実測値として甲殻類 *Crangon septemspinosal* に対する96hLC50が得られており、その毒性値は類似した値を示した。構造活性相関プログラム (ECOSAR v0.99hy)を用い、魚類、甲殻類、藻類の急性及び慢性毒性の予測を行った結果、毒性値は3異性体で同一であった。

表 2-4. *tert*-ブチルフェノールの調査結果

名称	<i>o-tert</i> -ブチルフェノール	<i>m-tert</i> -ブチルフェノール	<i>p-tert</i> -ブチルフェノール
CAS 番号	88-18-6	585-34-2	98-54-4
構造式			
外観	液体	固体	固体
物理化学性状			
沸点	223~224 °C	240~241.3 °C	236~239.72 °C
融点	-7~-6.8 °C	42.3~43.0 °C	98~100 °C
密度	d <sub>4</sub> <sup>20</sup> 0.9783 d <sup>20</sup> 0.982	—	d <sub>4</sub> <sup>14</sup> 0.9081 d <sub>4</sub> <sup>114</sup> 0.9081 d <sup>80</sup> 0.908
蒸気圧	1.5 × 10 <sup>-4</sup> mmHg at 25 °C 0.09 mmHg at 25 °C	1.59 × 10 <sup>-3</sup> mmHg at 25 °C 0.0201 mmHg at 25 °C 1.63 × 10 <sup>0</sup> Pa at 25 °C 0.0122 mmHg at 25 °C	0.0381~0.03887 mmHg at 25 °C
分配係数	3.31	3.30 2.6 at 25 °C	3.29-3.31

対水溶解度	Insoluble in water 700 mg/L at 25 °C	2070 mg/L at 25 °C 1.39 g/L at 20 °C	冷水に難溶 Soluble in water Practically insoluble in cold water Insoluble in water 580 - 610 mg/L at 25 °C
解離定数	10.28 10.3 at 25 °C	10.12 at 25 °C 10.12 at 20 °C	10.39 at 25 °C 10.16 at 25 °C
<b>環境中運命</b>			
安定性	—	—	光分解性
モニタリングデータ	—	—	—
好氣的生分解	—	—	98 % (BOD, 4W)
BOD5、COD	—	—	—
生物濃縮 (BCF)	—	—	34 ~120
<b>環境毒性</b>			
魚類への急性毒性	—	—	96hLC50 = 5.1 mg/L ( <i>Pimephales promelas</i> ) (メダカ); 96hLC50=5.1mg/L
ミジンコへの急性毒性	96hLC50=2.4 mg/L ( <i>Crangon septemspinosa</i> )	96hLC50 = 5.2 mg/L ( <i>Crangon septemspinosa</i> )	48hEC50 =3.4-6.7 mg/L (TG202, <i>Daphnia magna</i> ) 96hLC50=1.9 mg/L ( <i>Crangon septemspinosa</i> )
藻類への毒性	—	—	EC50 (72 hr) = 22.7 mg/L (TG201, <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i> )
微生物への毒性	—	—	—
水生生物への慢性毒性	—	—	21dNOEC=0.73mg/L (TG211, <i>Daphnia magna</i> ; reproduction)
陸生生物への毒性	—	—	—
物理的影響の モニタリング	—	—	—
生体内変換と動態	—	—	—
<b>ヒト健康影響</b>			
急性経口	ラット LD50: ♂ 1,231 mg/kg ♀ 1,414 mg/kg	—	ラット LD50: 4,000 mg/kg (OECD401)
急性吸入	ラット LC50: 1,070 mg/m <sup>3</sup> /4h	—	ラット 致死影響なし [20°C飽和空気、8時間]
急性経皮	ウサギ LD50: 7,450 mg/kg —— ラット LD50: 750 mg/kg	—	ウサギ LD50: 2,318 mg/kg
皮膚刺激性	有り	—	有り
眼刺激性	有り	—	有り
皮膚感作性	—	—	無し
反復投与毒性	ラット♂♀ 強制経口、28日間 0,4,20,100,500 mg/kg bw/d NOEL: 20 mg/kg bw/d (100以上で流涎) GLP	—	ラット、強制経口 ♂: 交配前14日~44日間 ♀: 交配前14日~哺育4日 0,20,60,200 mg/kg bw/d NOAEL: 200 mg/kg bw/d (OECD422) GLP
遺伝毒性			

Ames	陰性(S9+), 陰性(S9-) (OECD471)GLP	—	陰性(S9+), 陰性(S9-) (OECD471, 472)
<i>in vitro</i> 染色体異常	陽性(S9+), 陰性(S9-) (OECD473)GLP	—	陽性(S9+), 陽性(S9-) (OECD473)
<i>in vivo</i> 小核	—	—	陰性
発がん性	ラット♀ Benzo(a)pyrene 誘起性 前胃腫瘍の抑制	—	ラット 前胃腫瘍の促進 (二段階試験)
生殖発生毒性	—	—	ラット、強制経口 ♂: 交配前 14 日～44 日間 ♀: 交配前 14 日～哺育 4 日 0,20,60,200 mg/kg bw/d NOAEL: 200 mg/kg bw/d (OECD422)GLP
その他			皮膚の脱色 (職業曝露)

—はデータが入手できなかったことを示す。

### ヒト健康影響

急性毒性については、メタ異性体のデータが得られなかったが、オルト及びパラ異性体の LD50/LC50 値が高い値を示していることから、メタ異性体の急性毒性も弱いと考えられる。同様に、オルト及びパラ異性体は、皮膚・眼刺激性を示すと報告があることから、メタ異性体にも皮膚・眼刺激性があると考えられる。反復投与毒性に関しては、オルト異性体の 28 日間反復経口投与毒性試験が実施されており、100 mg/kg 以上の投与群で流涎が認められ、さらに 500 mg/kg 投与群では歩行失調及び相対肝重量の増加が見られたことから、NOEL (無影響量) は 20 mg/kg/day とされた。パラ異性体に関しては、反復生殖併合試験が行われており、最高投与量の 200 mg/kg/day でも毒性所見は認められず、NOEL は >200 mg/kg/day とされた。このことから、メタ異性体の毒性はオルト異性体とパラ異性体の中間的な値を示す可能性が示唆された。遺伝毒性に関しては、オルト及びパラ異性体共に、Ames 試験では陰性結果を、*in vitro* 染色体異常試験では陽性結果を示したことから、メタ異性体も同様な結果を示すと考えられた。パラ異性体については、*in vivo* 小核試験の結果が得られており、陰性であった。発がん性に関しては、オルト及びパラ異性体について発がん性の疑いがあることが報告されており、メタ異性体についても同様な作用が推測される。生殖発生毒性に関しては、上述のパラ異性体の反復生殖併合試験において、最高投与量の 200 mg/kg/day まで影響が認められなかったことが報告されている。その他の異性体の生殖発生毒性についてはデータが得られていないことから追加試験の実施が望まれる。

### まとめ

*tert*-ブチルフェノールの 3 つの異性体におけるカテゴリアプローチの適用については、オルト異性体の生殖毒性試験を実施し、データギャップ補完することで可能と考えられる。

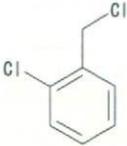
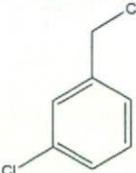
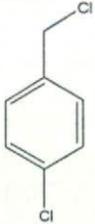
#### 2-3-2.4, $\alpha$ -ジクロロトルエン

4, $\alpha$ -ジクロロトルエンの構造異性体 ( $\alpha$ -ジクロロトルエン)に関する調査結果を表 2-5 に示す。

#### 物理化学的性状

メタ異性体の融点が得られていないが、融点は沸点と異なり、異性体間で大きく異なることがあり、実測することが望ましい。蒸気圧に関しては、パラ異性体のみ実測値が得られており、他の異性体の蒸気圧は入手できていない。パラ異性体は固体であり、オルト異性体は液体であることから、これらの測定も行うことが望ましいと考えられる。分配係数に関しては、オルト及びパラ異性体の値は得られているものの、メタ異性体の値は得られていない。しかしながら、分配係数は異性体間で大きく変動することは少なく、オルト異性体及びパラ異性体の測定値より推測が可能であると考えられる。対水溶解度についても、メタ異性体の値が得られていない。通常、対水溶解度はパラ異性体の値が他の異性体に比較して小さくなる傾向がある。これによりメタ異性体の対水溶解度はパラ異性体の値より大きく、オルト異性体の値に近いものと予想される。しかしながら、対水溶解度は物性上、重要なパラメータであることから、測定することが望ましいと考えられる。

表 2-5.  $\alpha$ -ジクロロトルエンの調査結果

名称	2, $\alpha$ -ジクロロトルエン	3, $\alpha$ -ジクロロトルエン	4, $\alpha$ -ジクロロトルエン
CAS 番号	611-19-8	620-20-2	104-83-6
構造式			
外観	液体	—	固体
物理化学性状			
沸点	217 °C	216 °C	213–223.2 °C
融点	-17 °C ≤ -50 °C	—	26.8–31 °C
密度	d <sup>0</sup> 1.2699	d <sup>15</sup> 1.2695	d <sub>4</sub> <sup>20</sup> 1.256 d <sub>15</sub> <sup>25</sup> 1.270–1.280
蒸気圧	—	—	9.33 × 10 <sup>0</sup> Pa at 25 °C 0.0700 mmHg at 25 °C
分配係数	3.32 at 25 °C	—	3.18 3.63 at 24.7 °C
対水溶解度	Insoluble in water 100 mg/L at 25 °C	—	水に不溶 Insoluble in water 55.8 mg/L at 20 °C
解離定数	解離性基なし	解離性基なし	解離性基なし
環境運命			
安定性	加水分解 半減期 = 33 hr (o-クロロベンジルアルコール) 生分解性試験において、試験液中で、o-クロロベンジルアルコール (3-1050) → o-クロロベンズアルデヒド (3-1162) → o-クロロ安息香酸 (3-1424, 難分解性、低濃縮性) を生成し、残留した。	—	生分解性試験において全て変化し、p-クロロベンジルアルコール (3-1050, log Kow = 1.72*1) 及び p-クロロ安息香酸 (3-1424, log Kow = 2.52*1) を生成し、残留した。 *1: Kowwin v 1.67 による計算値
モニタリングデータ	—	—	—
好氣的生分解	BOD 0% (28 日) ただし、本質的生分解性 (OECD TG 302B) において生分解性あり。	—	BOD 0%
BOD <sub>5</sub> 、COD	—	—	—
生物濃縮	BCF = 72 (推定値) 分解生成物の o-クロロベンズアルデヒド (3-1162) の濃縮性については、o-クロロベンジルアルコール (3-1050, 低濃縮性) から類推。	—	—
環境毒性			
魚類への急性毒性	96hLC50=0.27mg/L (OECD-TG-203, メダカ)	—	—

ミジンコへの急性毒性	48hr-EC50=0.38 (OECD-TG-202, Daphnia magna)	—	—
藻類への毒性	72hErC50=1.2 (OECD TG 201, Pseudokirchneriella subcapitata) 72hEbC50=0.64 (OECD TG 201, Pseudokirchneriella subcapitata)	—	—
微生物への毒性	—	—	—
水生生物への慢性毒性	21dNOEC=0.02 mg/L(OECD TG 211, Daphnia magna; reproduction) 72hNOEbC=0.045、 72hNOErC=0.18mg/L	—	—
陸生生物への毒性	—	—	—
ヒト健康影響			
急性経口	ラット♂♀ LD50: 350~951 mg/kg	—	マウス LD50: 790 mg/kg ————— マウス LD50: 1,160 mg/kg ラット♂ LD50: 1,080 mg/kg ラット♀ LD50: 1,700 mg/kg モルモット LD50: 5,620 mg/kg
急性吸入	ラット♂♀ LC50: 2.8 mg/L(4h)(OECD403)	—	—
急性経皮	ウサギ LD50: ♂1,700 mg/kg, ♀2,200 mg/kg ————— ラット LD50: ♂♀ >2,000 mg/kg	—	—
皮膚刺激性	有り	—	—
眼刺激性	有り	—	—
皮膚感作性	—	—	—
反復投与	ラット、強制経口 ♂: 交配前14日~45日間 ♀: 交配前14日~哺育4日 0, 2, 10, 50 mg/kg/day NOAEL: ♂2, mg/kg/day ♀10 mg/kg/day (直接刺激による前胃の病変等) (OECD422) GLP ————— ラット、吸入 6h・4w(5d/w) 0, 0.01, 0.03, 0.10 mg/L NOAEL: ♂♀0.03 mg/L (直接刺激による気管支等の病変) (OECD412) GLP	—	ラット♀、経口 2ヶ月間 0, 1.7, 17, 170 mg/kg/day NOAEL: 1.7 mg/kg/day
遺伝毒性 Ames	陰性(S9+), 陰性(S9-) —————	—	陰性

<i>in vitro</i> 染色体異常	陰性(S9+), 弱い陽性(S9-) (OECD471) GLP 陽性(S9+), 陽性(S9-) (OECD473) GLP	—	陽性
<i>in vivo</i> 小核	陰性 (OECD474) GLP	—	—
発がん性	—	—	—
生殖発生	ラット、強制経口 ♂: 交配前 14 日~45 日間 ♀: 交配前 14 日~哺育 4 日 0, 2, 10, 50 mg/kg bw/day NOAEL: ♂♀50 mg/kg bw/day (影響なし) (OECD422) GLP	—	—

### 環境運命及び環境毒性

オルト及びパラ異性体について好氣的生分解性試験が実施されており、28日間の分解度はBODベースで0%である。オルト異性体については本質的生分解性試験が行われており、生分解性ありとの判断であった。2つの異性体について行われた好氣的生分解性試験においては、加水分解産物であるそれぞれ $\alpha$ -クロロベンジルアルコール及び $p$ -クロロベンジルアルコールが検出され、さらにその酸化物であるクロロベンズアルデヒド及びクロロ安息香酸が残存した。メタ異性体については実測値の報告はなかった。なお、オルト異性体の純水中での半減期は、33時間 (pH7)であり、自然環境中でも比較的速やかに加水分解される物質であると判断される。生物蓄積性については、不安定な物質であるため実測値はなく、構造類似物の分配係数から推定されている。Fugacity model (Level III) による計算結果 (大気: 3.9~4.9%、水: 12~13%、土壌: 81~83%、底質: 0.5~0.8%)から、本カテゴリーの3つの異性体はほぼ同じ環境分布を示し、主に土壌、次いで水中に分布すると予測された。

環境毒性に関しては、オルト異性体の生態毒性試験が OECD テストガイドラインに準拠して実施されたが、OECD ガイダンスドキュメント 23 発表前に実施された試験であるため、いくつかの点でその信頼性に疑問がある。すなわち本物質の水溶解性は試験実施において溶解助剤の使用の必要がなかったものの、当該試験では界面活性作用を有する分散助剤を用いている。また、藻類生長阻害試験、ミジンコ繁殖試験及び魚類急性毒性試験においては被験物質濃度が試験期間中十分に維持されず、かつ、加水分解産物が生じたと考えられるが、その同定がされていない、被験物質と加水分解産物のどちらに毒性があったか明らかにできていない、等の点がある。分解産物は、 $\alpha$ -クロロベンジルアルコール、 $\alpha$ -クロロベンズアルデヒド及び $\alpha$ -クロロ安息香酸であると

推測されるが、構造活性相関によりこの3つの化学物質の毒性は親物質より低いと推測されている。メタ及びパラ異性体の環境毒性について実測値は入手できなかった。ただし、魚類、甲殻類、藻類の急性及び慢性毒性に関する構造活性相関プログラム (ECOSAR v0.99hy)による推定毒性値からすると、差異があるとの根拠は見いだせなかった。

以上の結果から、本カテゴリーに属する3つの異性体は、環境中での挙動及び生態毒性について類似した特性を有しており、カテゴリーアプローチを適用して有害性評価を行うことは可能である。ただし、生態毒性に関しては、すでに情報のあるオルト異性体を含めて信頼性の高いデータを再度入手した方がよい。新たな試験の実施については、試験溶液中での被験物質の不安定性を考慮し、保存溶液は用いないこと (試験直前に試験用液を調整すること)、藻類生長阻害試験にあつてはpHの変動により加水分解速度が異なる可能性が高いため初期藻類濃度を下げて実施すること、さらに可能ならば、分解産物の濃度を測定すること、等について留意する必要がある。

### ヒト健康影響

経口急性毒性に関しては、オルト及びパラ異性体について報告がある。ラットでのLD50を比較すると、オルト体の方がやや低い値を示しているが、ほぼ同様な傾向が見られることから、メタ異性体も同様な毒性を示すと考えられた。吸入急性毒性に関しては、オルト異性体のみ結果の報告があり、劇物指定範囲の2.0~10 mg/L(4h)であった。経皮急性毒性に関しても、オルト体のみ報告があり、ウサギとラットにおけるLD50は高い値を示している。オルト異性体についてはさらに皮膚・眼刺激性を示す報告があったが、その他の異性体の皮膚・眼刺激性についてのデータは得られなかった。皮膚感作性については、いずれも異性体についても報告は無かった。反復投与毒性に関しては、オルト異性体のNOELは、雄で2

mg/kg/day、雌で10 mg/kg/dayで、パラ異性体のNOAELは雌で1.7 mg/kg/dayとほぼ同様の値を示しているが、オルト異性体が前胃の病変等を引き起こしたのに対し、パラ異性体については血液や肝への作用が報告されている。しかし、パラ異性体については文献の信頼性が低いことから新たな試験の実施が望まれる。遺伝毒性に関しては、RTECSより、オルト異性体のAmes試験で陰性結果が得られたとのデータを入手することが出来た。一方で、OECDガイドラインに準拠して実施されたAmes試験においては、S9条件下で弱い陽性結果が認められている。パラ異性体については陰性結果の報告があった。*in vitro*染色体異常試験では、オルト及びパラ異性体ともに陽性であった。*in vivo*小核試験では、オルト異性体についてのみ陰性の報告があった。以上のことから、3つの異性体についてAmes試験は陰性、*in vitro*染色体異常試験では陽性である可能性が示唆された。生殖発生毒性に関しては、オルト異性体のみ報告があり、最高投与量である50 mg/kg/day投与群においても生殖発生毒性は認められなかった。パラ異性体の生殖発生毒性試験の実施が望まれる。

#### まとめ

$\alpha$ -ジクロロトルエンの3つの異性体におけるカテゴリアプローチの適用については、物理化学的性状及び環境運命分野に関し、メタ異性体の融点測定、オルト及びパラ異性体の蒸気圧測定、メタ異性体の対水溶解度、パラ異性体の環境毒性試験及び反復生殖併合試験を実施し、データギャップ補完することで可能と考えられる。

### 2-3-3. *p*-クロロベンゾイルクロリド

*p*-クロロベンゾイルクロリドの構造異性体(クロロベンゾイルクロリド)に関する調査結果を表2-6に示す。

#### 物理化学的性状

メタ異性体の融点を得られていない。融点は沸点と異なり、異性体間で大きく異なることがあり、実測することが望ましい。密度に関しては、パラ異性体の値のみ得られているが、一般的に密度は、オルト、メタ、パラの異性体間で大きく異なる場合が多く、カテゴリ評価が可能であると考えられる。蒸気圧に関しては、メタ異性体のみ実測値が得られており、他の異性体の蒸気圧は入手できていない。このことより、オルト及びパラ異性体の蒸気圧測定も行うことが望ましい。また、分配係数に関しては、全ての異性体において実測値が得られていない。経験的に、分配係数は異性体間で大きく変動することは少なく、どれか一つの異性体の測定が必要であると考えられる。

#### 環境運命及び環境毒性

クロロベンゾイルクロリドは水中で速やかに加水分解してクロロ安息香酸と塩酸を生じる。オルト異性体は2-クロロ安息香酸、メタ異性体は3-クロロ安息香酸、そしてパラ異性体は4-クロロ安息香酸を生じる。パラ異性体に関しては、4-クロロ安息香酸の逆転法による生分解性試験結果が得られている。本質的生分解性が認められており、TOCベースで100%分解との報告がある。好氣的生分解結果は、別に2-クロロ安息香酸の結果があるが、難分解(BOD=5.6%, 14日間)と判定されている。ただし、クロロベンゾイルクロリド及びクロロ安息香酸は、4-クロロ安息香酸の結果から、本質的には生分解する物質群であると推定される(BIOWIN v4.02)。生物濃縮性に関しては、クロロベンゾイルクロリドについてのデータはないが、2-クロロ安息香酸について実測値があり、低濃縮性と判定されている。オクタノール水分配係数からはいずれの物質も濃縮性に関する懸念は低いと推定される。

Fugacity model (Level III) による計算結果(大気:

6.9-7.9%、水中: 28%、土壌: 65%、底質: 0.1%)から、本カテゴリーの3つの異性体はほぼ同じ環境分布であると予測された。

クロロベンゾイルクロリドの3異性体及びそれらの加水分解産物であるクロロ安息香酸3異性体に関する水生生物に対する生態毒性値はいずれも入手できなかった。そこで、定量的構想活性相関(ECOSAR v0.99h)による推定を行った結果、クロロベンゾイルクロリドについては魚類急性毒性のみ、クロロ安息香酸については魚類、甲殻類、藻類の急性及び慢性毒性を推定できた。いずれの推定毒性値も、異性体間で類似した値を示しており、異性体間に毒性学上の有意な差異があるとの情報は入手できなかった。なお、クロロ安息香酸に関しては、オルト異性体の毒性値が全体として高い数値となったが、構造活性相関による毒性値推定の過程で用いたオクタノール水分配係数の違いを反映したものであり、毒性メカニズムそのものに起因したものではない。

以上のことから、クロロベンゾイルクロリドカテゴリーに属する3つの異性体は、水環境中で挙動することが予測される。いずれの異性体もクロロ安息香酸に急速に分解されるため、それらを含めた6つの化学物質は同じカテゴリーとして評価する事が可能である。クロロベンゾイルクロリドは水環境中で塩酸を容易に生じることから、水生生物への生態毒性については、本物質群が一時期に大量に水中に投入されるような暴露状況ではpHの急速な低下が予想され、物理化学的影響を受ける事になる。ただし低濃度汚染の場合、その影響は環境の緩衝作用により軽減されることが予測され化学物質の真の毒性を評価するためにはクロロ安息香酸の影響を評価すべきである。クロロ安息香酸についても、酸性物質であり高濃度では著しい

pHの低下が懸念されるものの (pKa=2.89-3.98)、通常  
の環境ではクロル安息香酸イオンとして存在するこ  
とが予測される。したがって、物理化学的影響 (低pH)  
と真の毒性を分けて評価するためには、ナトリウム塩  
などの水中でpHの低下を起こさない適当な塩を用い  
て水生生物への毒性を評価すべきである。このことか  
ら、同カテゴリーアプローチとして適用に当たっては、  
クロル安息香酸及びクロル安息香酸塩 (Na, K, など  
の生物への毒性が懸念されないものに限る)も同時に  
評価してよいと考えられる。

#### ヒト健康影響

クロロベンゾイルクロライドの急性毒性試験につい  
てはパラ異性体についてのみ報告があり、オルト異  
性体の経口急性毒性試験の実施が望まれる。皮膚及  
び眼粘膜への刺激性及び皮膚感作性に関しては、オル  
ト及びパラ異性体について報告があり、メタ異性  
体にも同様な作用が考えられる。反復投与毒性に関  
しては、パラ異性体に関するモルモットを用いた静  
脈内投与試験のみであり、信頼性も低いことから、オル  
ト及びパラ異性体の経口反復投与試験の実施が望  
まれる。遺伝毒性については、パラ異性体に関する  
Ames 試験及び *in vitro* 染色体異常試験の報告があり、  
ともに陰性との結果であるが、その他異性体につい  
ての報告が無いことから、オルト異性体の試験実施  
が望まれる。発がん性及び生殖発生毒性に関しては  
いずれの異性体についても報告は無かった。オルト

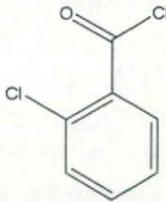
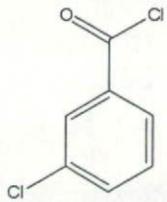
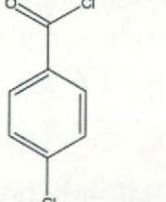
及びパラ異性体の生殖発生毒性試験の実施が望まれ  
る。

#### まとめ

クロロベンゾイルクロライドの異性体に関しては、  
情報が少なくデータギャップも多いことから、現在の  
情報からはカテゴリーアプローチを行うことは出来  
ない。今後の対応として下記の試験を追加する必要  
がある。

- メタ異性体の融点測定
- オルト及びパラ異性体の蒸気圧測定
- いずれか一つの異性体の分配係数測定
- 魚類への急性毒性試験\*
- ミジンコへの急性毒性試験\*
- 藻類への毒性試験\*
- \*クロル安息香酸 (いずれか一つの異性体)の適  
当な塩で試験を実施し、真の毒性が確認され  
た場合は他の異性体での試験を追加する。残  
り1つの異性体については2つの真の毒性が  
類似している場合にはリードアクロスで評価  
してよい
- 陸生生物への毒性試験 (環境分布予測から土壌  
生物を用いた試験が望ましい)
- オルト異性体の経口急性毒性試験
- オルト及びパラ異性体の反復生殖併合試験
- オルト異性体の Ames 試験及び *in vitro* 染色体異  
常試験

表 2-6. クロロベンゾイルクロライドの調査結果

名称	<i>o</i> -クロロベンゾイルクロライド	<i>m</i> -クロロベンゾイルクロライド	<i>p</i> -クロロベンゾイルクロライド
CAS 番号	609-65-4	618-46-2	122-01-0
構造式			
外観	液体	—	液体
物理化学性状			
沸点	225-238 °C	225 °C	220-222 °C
融点	-4 °C	—	16 °C
密度	—	—	d <sub>4</sub> <sup>20</sup> 1.367 d <sup>20</sup> 1.3770
蒸気圧	—	1.40 × 10 <sup>-1</sup> mmHg at 25 °C	—
分配係数	—	—	—
対水溶解度	—	—	加水分解性のため、測定不可
解離定数	解離性基なし	解離性基なし	解離性基なし
環境運命			
安定性	—	—	被験物質は加水分解し、4-クロロ安息香酸 (3-1424,CAS ;

			74-11-3)を生成し、生分解することを確認した。 4-クロロ安息香酸の逆転条件試験結果 (28 日後) TOC 100, 90, 100 (%) HPLC 100, 100, 100 (%)
モニタリングデータ	—	—	—
好氣的生分解	—	—	—
BOD5、COD	—	—	TOC 100 %
生物濃縮	—	—	—
<b>環境毒性</b>			
魚類への急性毒性	—	—	—
ミジンコへの急性毒性	—	—	—
藻類への毒性	—	—	—
微生物への毒性	—	—	—
水生生物への慢性毒性	—	—	—
陸生生物への毒性	—	—	—
物理的影響のモニタリング	—	—	—
生体内変換と動態	—	—	—
<b>ヒト健康影響</b>			
急性経口	—	—	マウス LD50: 790 mg/kg
急性経皮	—	—	—
皮膚刺激性	有り	—	有り
眼刺激性	有り	—	有り
皮膚感作性	腐食性	—	腐食性
反復投与	—	—	モルモット、静注 TDL0: 0.24 mg/kg/12W-I (過敏症、皮膚炎・刺激)
遺伝毒性			
Ames	—	—	陰性(S9±)
<i>in vitro</i> 染色体異常	—	—	陰性(S9±)
<i>in vivo</i>	—	—	—
発がん性	—	—	—
生殖発生毒性	—	—	—

#### 2-3-4. o-クロロアニリン

o-クロロアニリンの構造異性体 (クロロアニリン) に関する調査結果を表 2-7 に示す。

##### 物理化学的性状

全ての項目についてデータが入手可能であり、カテゴリ評価を行うにあたり問題はない。しかしながら、本物質群においては、パラ異性体のみが固体であり、他の異性体に比べ非常に高い融点を持つことに注意をするべきである。また、異性体間で解離定数の相違が見られることにも注意する必要がある。これは、共鳴構造の安定性により説明されると考えられる。

#### 環境運命及び環境毒性

クロロアニリンは、水中で安定で、好氣的生分解性はいずれも低く難分解性物質と判定されている。生物濃縮性については、オルト及びパラ異性体について実測されており、何れも低濃縮と判定されている。オクタノール水分配係数から判断すると、メタ異性体もまた低濃縮と予測される。Fugacity model (Level III) による計算結果から、環境中ではいずれの異性体も同様に分布し、主に土壌 (65~66%)、次いで水中 (33~35%) に分布されると予測された。

クロロアニリンの3異性体の水生生物への生態毒性値は魚類急性、ミジンコ急性/慢性、及び藻類で試験