

カテゴリーアプローチによる
生物濃縮性予測に関する報告書
[生体内での代謝によって排出され易く生体内に
濃縮されにくいことが知られている化学物質群]



平成 24 年 7 月 6 日

(独) 製品評価技術基盤機構

化学物質管理センター

実施体制

本報告書に記載されている「生体内での代謝によって排出され易く生体内に濃縮されにくいことが知られている物質群」(以下、カテゴリーVという。)は、NITE 構造活性相関委員会においてレビューが行われた。当委員会の委員名簿と開催記録を以下に示す。

構造活性相関委員会名簿

米澤 義堯(委員長)	(独)産業総合技術研究所 安全科学研究部門 客員研究員
赤松 美紀	京都大学大学院 農学研究科 准教授
内田 直行	日本大学 生物資源科学部 教授
大川 秀郎	神戸大学 名誉教授
齋藤 昇二	住友化学株式会社 生物環境科学研究所 上席研究員
茂岡 忠義	横浜国立大学大学院 環境情報研究院 客員教授
田中 明人	兵庫医療大学 薬学部 教授

開催記録

平成 23 年度	第 1 回構造活性相関委員会(平成 23 年 7 月 28 日)
平成 23 年度	第 2 回構造活性相関委員会(平成 23 年 12 月 6 日)
平成 23 年度	第 3 回構造活性相関委員会(平成 24 年 3 月 19 日)

目次

1. はじめに	1
2. 生物濃縮性におけるカテゴリーの考え方	2
3. カテゴリーVに該当する化学物質の考え方	3
4. カテゴリーVに該当する化学物質の定義	5
5. カテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性予測手法の検討	6
5.1 カテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性予測の基本的な考え方	6
5.2 カテゴリーVに該当する化学物質の logPow を記述子に用いた logBCF の予測式による 定性的な生物濃縮性予測	7
5.3 カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across(類推)による生物濃縮性予測の検討	12
5.3.1 カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across(類推)に用いる類縁物質の選択方法	12
5.3.2 カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across(類推)に用いた生物濃縮性予測の手順	14
5.3.3 Read-across(類推)によるカテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性の定量的な予測 方法	16
5.3.4 Read-across(類推)によるカテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性の定性的な予測 方法	16
5.4 Read-across(類推)による生物濃縮性予測が可能な物質群の例及びその適用範囲	17
5.4.1 $D_{max} < 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 2 物質の生物濃縮性について	17
5.4.2 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 8 物質の生物濃縮性について	18
5.4.3 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のエステル化合物 6 物質の生物濃縮性について	20
5.4.4 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のカルバメート化合物 5 物質の生物濃縮性について	20
5.4.5 $D_{max} < 11 \text{ \AA}$ のアミド化合物 5 物質の生物濃縮性について	22
5.4.6 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のアミド化合物 6 物質の生物濃縮性について	22
5.4.7 $D_{max} < 11 \text{ \AA}$ のウレア化合物 2 物質の生物濃縮性について	23
5.4.8 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のウレア化合物 3 物質の生物濃縮性について	23
6. カテゴリーVに該当する未点検既存化学物質の生物濃縮性予測例	24
7. 既存の構造活性相関ソフトウェアによる予測結果	27
8. 解析に使用したデータ及びソフトウェア	30
9. 参考文献	31
別添 1	
1. 化学物質の魚体への取り込みと排出の考え方	33
2. 化学物質の生物濃縮性(logBCF)と logPow の関係	33
3. 化学物質の分子間相互作用と静電的相互作用の関係	34
4. 既存の蓄積性 QSAR ソフトウェアにおける代謝反応の取扱い	35
別添 2	
1. カテゴリーVに該当する生物濃縮性が既知の化審法既存化学物質のリスト	37

1. はじめに

これまで我が国における化学物質のリスク評価は、昭和 48 年に施行された「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(以下「化審法」という。)に基づいて審査されてきた。この化審法により、新規の化学物質は製造者あるいは輸入者による、活性汚泥による生分解性、魚類における蓄積性、ほ乳類を用いる 28 日間反復投与毒性などの評価が義務付けられている。また、化審法第 2 条に規定されている法律制定以前の既存化学物質(約 2 万物質)の生分解性、蓄積性に係る実測試験は国が行ってきたが、これまでに取得された実測データは 2,000 物質に満たない。これらの実測試験を行うには膨大な時間、労力、設備、経費がかかるため、実測試験に代わる方法としてカテゴリーアプローチや構造活性相関手法の活用を検討している。

独立行政法人製品評価技術基盤機構(以下「NITE」という。)は、これらの実測試験に代わる方法として構造活性相関手法に関する取り組みを開始し、平成 16 年度に NITE 内で設立された構造活性相関委員会において、生分解性・蓄積性における構造活性相関手法の活用について検討を開始した。平成 16、17 年度に生分解性・蓄積性における構造活性相関モデルの調査及び既存のソフトウェアのバリデーション¹⁾と選定を行い、平成 17～19 年度に選定した構造活性相関ソフトウェアによる未点検既存化学物質の実測試験の優先順位付けを行った。この結果は、未点検既存化学物質における実測試験実施物質の選定に役立てられた。平成 19 年度～現在においては、未点検既存化学物質の優先順位付けに限らず、化学物質のリスク評価におけるハザード評価の第一段階として用いることができる生分解性・蓄積性の構造活性相関手法について検討を行っており、特に現在世界的に検討が進められている“カテゴリーアプローチ”を活用した予測手法について検討を行っている。

本報告書は、化審法の既存化学物質安全性点検の濃縮度試験データ²⁾を基に、NITE で蓄積性におけるカテゴリーアプローチの検討を行い、今まで公表してきた各カテゴリー(I(2009 年 10 月に公表)³⁾、II-A(2010 年 12 月に公表)⁴⁾、II-B(2011 年 12 月に公表)⁵⁾、III(2012 年 6 月に公表)⁵⁾)続いて、カテゴリー V：生体内での反応性が高く、代謝によって生体内から排出され易いことが知られている物質群に分類される化学物質の定義及び予測方法について、報告書としてまとめたものである。

2. 生物濃縮性におけるカテゴリーの考え方

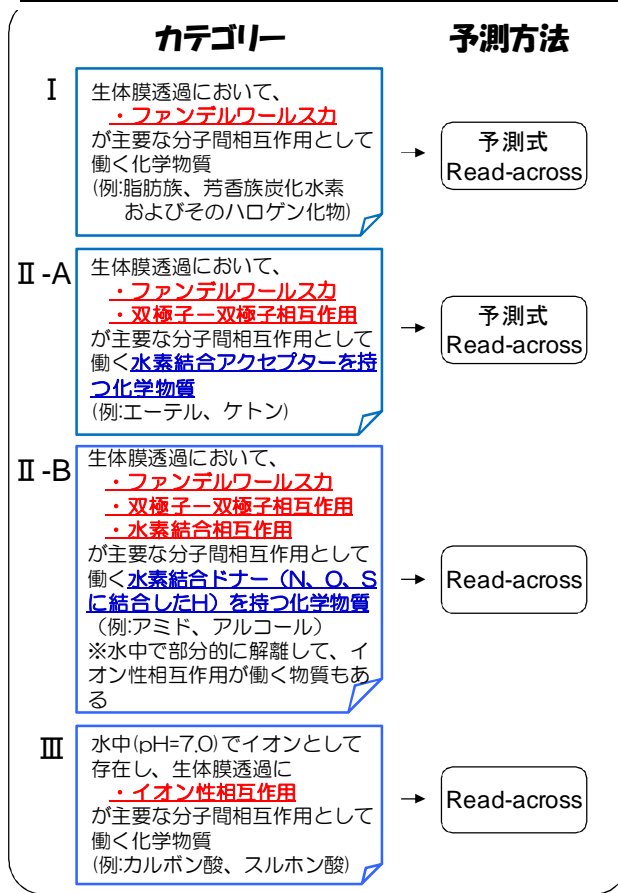
魚類における化学物質の生物濃縮性において、化学物質の生体内への取り込みは、主に①受動拡散、②傍細胞経由、③能動輸送、④膜動輸送によって起こると考えられており、大部分の物質は①受動拡散によって生体内に取り込まれる(3. 参照)。この受動拡散による化学物質の拡散は、理論的には Fick の第 1 法則に従い、水分子との水和や生体膜の生体分子との分子間相互作用の影響を受けると考えられる。また、化学物質の生体内への蓄積と生体内からの排出(排泄)には、脂質に溶解したときの安定性、生体内での反応性(タンパク質結合性、生体内における代謝)などが影響を与える。タンパク質結合性を有する化学物質は、タンパク質との結合により生体内に蓄積され、代謝反応によって代謝物を生成する物質は、生体内から排出され易いことが想定される。

また、化学物質に水分子との水和及び生体分子との分子間相互作用には、主にファンデルワールス力、双極子-双極子相互作用、水素結合性相互作用(水素結合性ドナーまたはアクセプター)、イオン性相互作用が考えられる(3. 参照)。生体膜透過における双極子-双極子相互作用及び水素結合性相互作用の影響として、化学物質が生体膜に取り込まれる際の水素結合の開裂に伴うエネルギーの損失や生体膜のリン脂質等の生体分子との分子間相互作用による拡散速度の低下などが考えられる⁶⁾。また、水素結合性相互作用が生体膜透過に与える影響として、創薬の世界でよく知られている法則の一つに「Lipinski のルールオブファイブ」があり、「水素結合性アクセプター」よりも「水素結合性ドナー」を多数持つ物質の方が、生体膜を透過しにくいことが経験的に知られている⁷⁾。生体膜透過におけるイオン性相互作用の影響としては、水素結合性相互作用の場合と同様に、水素結合の開裂に伴うエネルギーの損失、生体膜の生体分子との分子間相互作用による拡散速度の低下に加えて、水和による見かけ上の分子容積の増大に伴う拡散速度の低下、生体膜表面におけるリン脂質のアニオンとの静電的相互作用なども想定される。

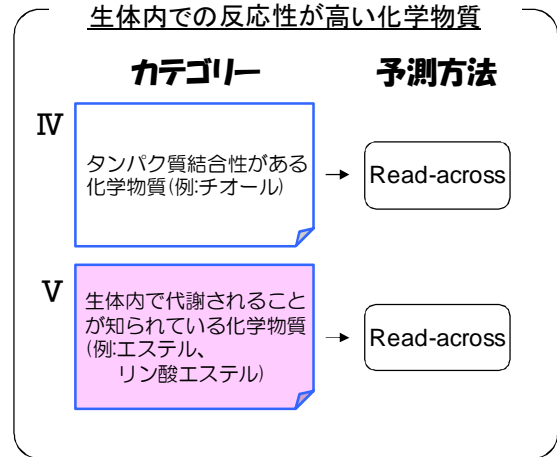
上述のことを考慮すると、1) 化学物質の生体内への取り込みメカニズム、2) 水中及び生体中での分子間相互作用(水分子との水和及び生体分子との分子間相互作用)、3) 生体内における反応性(タンパク質結合性、生体内における代謝)の違いによって、化学物質の生物濃縮挙動は異なる。これらの違いによって化学物質を大まかに分類すると、生物濃縮性におけるカテゴリー分類は Scheme 1 のようになると考えられる。

化学物質の生体内への取り込みは、生体膜透過におけるメカニズムと分子間相互作用の違い(3.参照)によって挙動が異なるため、それぞれを別カテゴリーとして考える必要がある。(Scheme 1 の I ~ III、VI)。また、生体内での反応性が高い物質は、タンパク質との結合による生体内への蓄積や代謝反応によって生体内から排出され易いことが考えられるため、これらの化学物質も別カテゴリーとして取り扱う必要がある(Scheme 1 の IV、V)。「水中において容易に分解する化学物質」は、分解物の生物濃縮性を評価する必要がある(Scheme 1 の VII)。

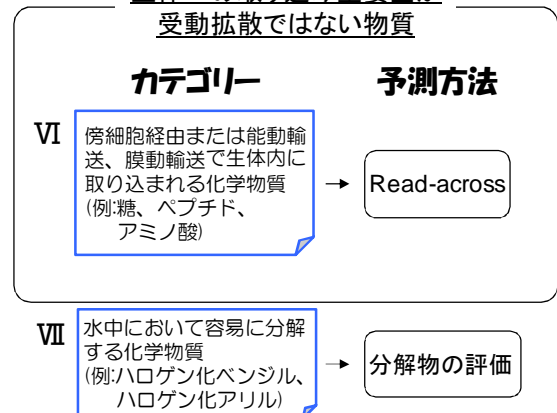
受動拡散が生体への取り込み主要因である化学物質



受動拡散が生体への取り込み主要因で
生体内での反応性が高い化学物質



生体への取り込み主要因が
受動拡散ではない物質



* 化学物質によっては複数のカテゴリーに該当するものもある。

Scheme 1 生物濃縮性におけるカテゴリー分類の全体像(イメージ)

3. カテゴリーVに該当する化学物質の考え方

魚類における濃縮度試験において、化学物質の魚体内への取り込みは、主に鰓の生体膜を透過することによって起こると考えられている。鰓の生体膜からの透過機序としては、主に以下の4つの経路が考えられる^{8),9),10),11)}。

- ① 呼吸細胞経由の濃度勾配(受動拡散)による取り込み
- ② 傍細胞経由による取り込み
- ③ 非呼吸細胞(塩類細胞など)経由の能動輸送による取り込み
- ④ 膜動輸送による取り込み

外来性の化学物質は呼吸細胞経由の濃度勾配(受動拡散)によって、生体内に取り込まれる(透過機序①)。①のメカニズムにおいては、分子の疎水性が重要な因子となる。また、生体膜には細孔が存在し、分子サイズが小さい水溶性の化学物質は、この細孔を水分子と共に透過することで生体内に取り込まれる(透過機序②)。この細孔の大きさは直径 約 4Å で、水の吸収に伴って拡大すると推測されている⁹⁾。一方、ごく一部の生体に必要な物質またはタンパク質は、単純な拡散ではなく、トランスポータによる特異的な輸送機構(透過機序③)やエンドトシスと呼ばれる細胞表面で生体膜の一部が陥入し、物質が膜内に取り込まれる過程(透過機序④)を経て、生体内に取り込まれる¹¹⁾。

ここで①のメカニズムが取り込みの支配要因となる化学物質の魚類における生物濃縮性 ($\log BCF^{*1}$)は、化学物質の疎水性を表すパラメータの一つである $\log Pow^{*2}$ と相関があることがよく知られている^{12),13)}。理論上、 $\log Pow$ と $\log BCF$ が特に良好な相関を持つ化学物質は、物質の生体膜透過における濃度勾配以外の影響因子が少ない、すなわち水中の水分子、生体膜分子との分子間相互作用が弱い物質、生体内での反応性(代謝反応、タンパク質結合性)が低い物質であると考えられ(別添1参照)、カテゴリーIとして分類した。また、①のメカニズムが取り込みの支配要因となる物質であっても、水中の水分子や生体膜分子との分子間相互作用が生物濃縮性に影響を与えると考えられる物質群は、分子間相互作用の違いによりカテゴリーII-A、II-B、IIIに分類した。

上述の①の経路で生体内に取り込まれる化学物質の中で、生体内で速やかに代謝されるものは生物濃縮性が低い傾向にある。Cowan-Ellsberryらは代謝速度とBCFとの関係について調べるために、ニジマスの肝臓のS9(肝臓をすりつぶして遠心分離した分画)を用いて、(A)Chlorpyrifos、(B)Fluroxypyr methylheptyl ester、(C)Zoxamide、(D)Haloxypop methyl esterの4物質のin vitroでの代謝速度定数の測定を行った(次ページのFig.1、Table1)¹⁴⁾。彼らは、 $\log Pow$ が同程度の値である(A)と(B)、(C)と(D)を比較した結果から、in vitroにおける代謝速度が早い物質の生物濃縮性(BCF)は、 $\log Pow$ から期待される値よりも低い傾向にあることを報告している。この結果から、同程度の $\log Pow$ を持つチオリン酸エステル(A)、アミド化合物(C)よりもエステル化合物((B)、(D))の方が魚体内で代謝されやすく、生物濃縮されにくいと考えられる。また、農薬として用いられているリン酸エステル化合物、カルバメート化合物、アミド化合物、ウレア化合物は、水生生物(魚類、藻類など)における濃縮性や代謝反応(Fig.2)が調べられている。これらのほとんどの化学物質のBCFは1000倍未満と報告されており、生体内で速やかに代謝されるため、一般的に生物濃縮されにくいと考えられている^{20),21),22)}。

また、既存の蓄積性のQSARソフトウェアの中には、BCFBAF(US EPA)やBaseline Model (Laboratory of Mathematical Chemistry)のように生物濃縮性における代謝の影響を考慮して、BCF値を算出するものもある(別添1の4.参照)。

以上のことから、生体内で代謝され易い物質は代謝の影響が大きく、これまで定義したカテゴリーI、II-A、II-B、III (Scheme 1参照)に該当する物質とは異なる生物濃縮性を持つと考えられるため、別カテゴリーとして定義する必要がある。

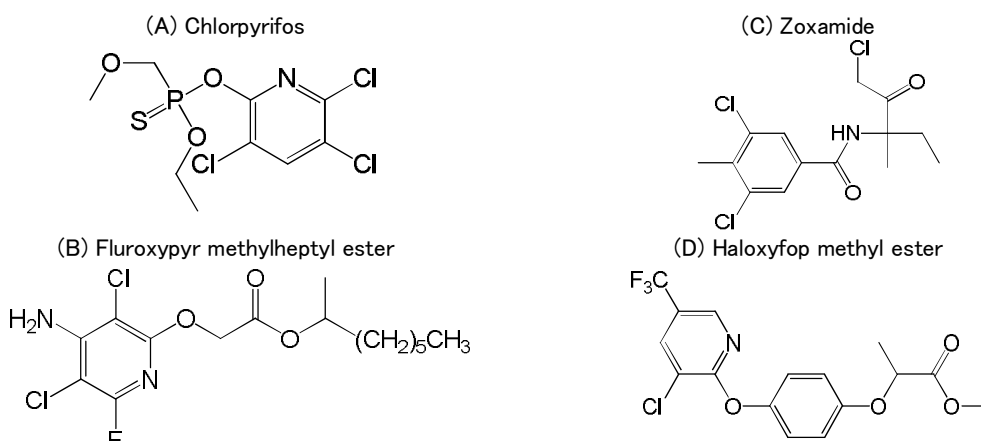


Fig.1 各化合物の分子構造¹⁴⁾

Table1 各化合物の logPow、logBCF の実測値及び代謝速度の測定結果¹⁴⁾

Chemical Name	logPow [-]	Measured <i>in vitro</i> loss rate [$\mu\text{mol h}^{-1} \text{gprotein}^{-1}$]	Mesured BCF [-]
(A) Chlorpyrifos	4.7	0.325	1400 ¹⁵⁾
(B) Fluroxypyr methylheptyl ester	4.7	444	6 ¹⁶⁾
(C) Zoxamide	3.5	2.19	400 ^{17), 18)}
(D) Haloxyfop methyl ester	3.8	12.6	13 ¹⁹⁾

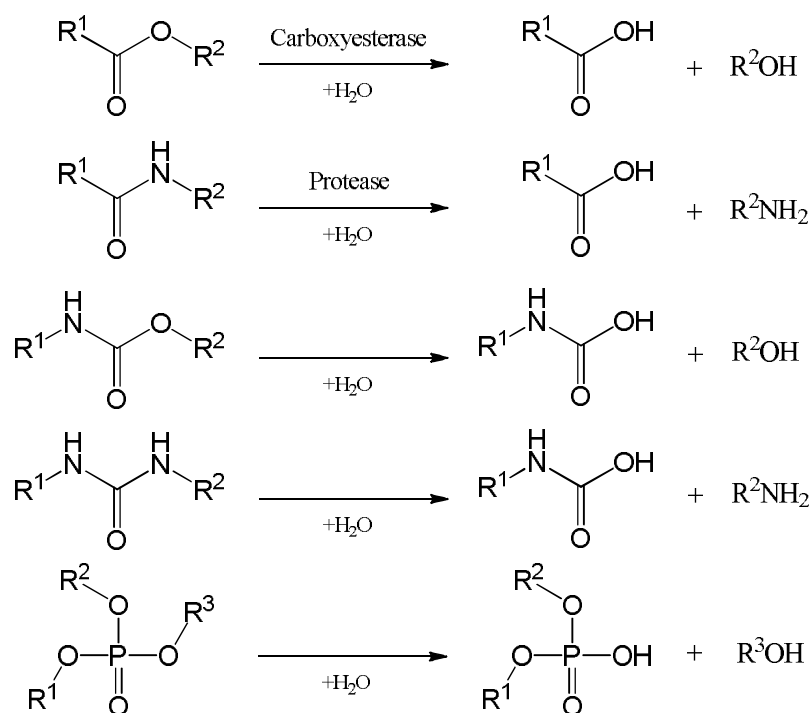


Fig.2 エステル化合物、アミド化合物、カルバメート化合物、ウレア化合物、リン酸エステル化合物の代謝反応^{20), 21), 22)}

* 1 化学物質の魚体中濃度と水中濃度との比([魚体中濃度]/[水中濃度])の対数値

* 2 水と1-オクタノールの2つの溶媒層に化学物質を加えて、平衡に達したときの濃度比
([1-オクタノール中の化学物質の濃度]/[水中の化学物質の濃度])の対数値

4. カテゴリーVに該当する化学物質の定義

生体内で代謝されることが知られている物質（以下、カテゴリーV）は、受動拡散が生体への取り込み主要因である物質の中で、代謝反応によって代謝物を生成し、生体内から排出され易いことが知られている物質と定義する。

今回の検討に用いた化審法既存化学物質 371 物質(8. 参照、以下ベースデータセット)では、次の官能基①～⑤を持つ 36 物質がカテゴリーVに分類される。

- | |
|---|
| ①リン酸エステル基(10 物質)
②エステル基(6 物質)
③カルバメート基(5 物質)
④アミド基(11 物質)
⑤ウレア基(5 物質) |
|---|

* 括弧内の数字は、36 物質における該当物質数。官能基が重複している 1 物質を含む。

カテゴリーVに該当する全 36 物質の logBCF 値及び物理化学的性状値を別添 2 の Table 1 に示す。また、濃縮度試験における魚体中の化学物質濃度が検出限界以下で BCF が算出不能であることから、ベースデータセットに含まれていないカテゴリーVに分類される既存化学物質 24 物質の logBCF 値及び物理化学的性状値を参考データとして別添 2 の Table 2 に示す。

5. カテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性予測手法の検討

5.1 カテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性予測の基本的な考え方

カテゴリーVに該当する化学物質は、極性または水素結合性の官能基を持つことから、受動拡散において双極子-双極子相互作用または水素結合性相互作用が主に働くカテゴリーII-A またはII-B に該当するが、生物濃縮性に生体内での代謝が影響するため、これらの物質よりも生物濃縮性が小さくなることが予想される。そのため、II-B に該当する物質と同じ予測方法(Table2)を用いて、カテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性を定性的に予測する(予測方法[1])。また、Read-across(類推)による生物濃縮性予測に関する検討結果(5.3、5.4 参照)を踏まえ、Read-across(類推)による定性的または定量的な生物濃縮性予測を行う(予測方法[2])。

[1] カテゴリーII-A またはII-B に該当する物質と類似の予測手法を用いた定性的な生物濃縮性予測

[2] Read-across(類推)による定性的または定量的な生物濃縮性予測(Read-across(類推)による生物濃縮性予測の検討結果及び Read-across(類推)に用いる類縁物質の選択方法などについては、5.3、5.4 参照)

Table2 カテゴリーII-A 及びII-B に該当する物質の logPow を用いた生物濃縮性予測手法

カテゴリー名	logPow を用いた生物濃縮性予測方法
カテゴリーII-A	logPow を記述子に用いた logBCF の予測式 (1)、(2) から logBCF (予測値) を算出して、その値から生物濃縮性を定性的に予測する。 $\log\text{BCF} = 1.03\log\text{Pow}(\text{計算値})^3 - 1.48 \quad (1)$ $\log\text{BCF} = 1.05\log\text{Pow}(\text{実測値}) - 1.71 \quad (2)$
カテゴリーII-B	logPow を記述子に用いた logBCF の予測式 (1)、(2) から、logBCFmax(logBCF の 95%信頼限界上限値、5.2 参照) を算出して、その値から生物濃縮性を定性的に予測する。

[1] は、logPow を記述子に用いた logBCF の予測式から予測対象物質の生物濃縮性を定性的に予測する手法である。また、[2] はカテゴリーVに該当する予測対象物質の生物濃縮性を類縁物質の生物濃縮性から予測する手法である(予測手法の詳細については 5.3、5.4 参照)。予測対象物質の生物濃縮性は、予測に用いる類縁物質が 1 物質のみの場合は定性的、類縁物質が 2 物質以上ある場合には定量的に予測される。また、この方法では類縁物質の選択条件及び類縁物質の数によって、予測精度は異なる。

5.2 カテゴリーVに該当する化学物質の logPow を記述子に用いた logBCF の予測式による定性的な生物濃縮性予測

ベースデータセット 371 物質(logPow が実測されている物質は 297 物質)の中でカテゴリーVに該当する 36 物質(logPow が実測されている物質は 27 物質)の位置付けを確認するために、ベースデータセット及びカテゴリーVに該当する化学物質の logPow と logBCF をプロットした。これらの物質の logPow(計算値)^{*3} vs. logBCF プロットを Fig.3a、logPow(実測値) vs. logBCF プロットを Fig.3b に示す。また、①リン酸エステル基を持つ 10 物質、②エステル基を持つ 6 物質③カルバメート基を持つ 5 物質、④アミド基を持つ 11 物質、⑤ウレア基を持つ 5 物質の logPow(計算値)^{*3} vs. logBCF プロットを Fig.3c に示す。

Fig.3a 及び Fig.3b の結果から、カテゴリーVに該当する 36 物質の中で logPow(計算値)^{*3}<6 の物質の logBCF は、カテゴリーII-A の予測式(1)または(2)から算出される logBCFmax よりも全て低い傾向にあった。

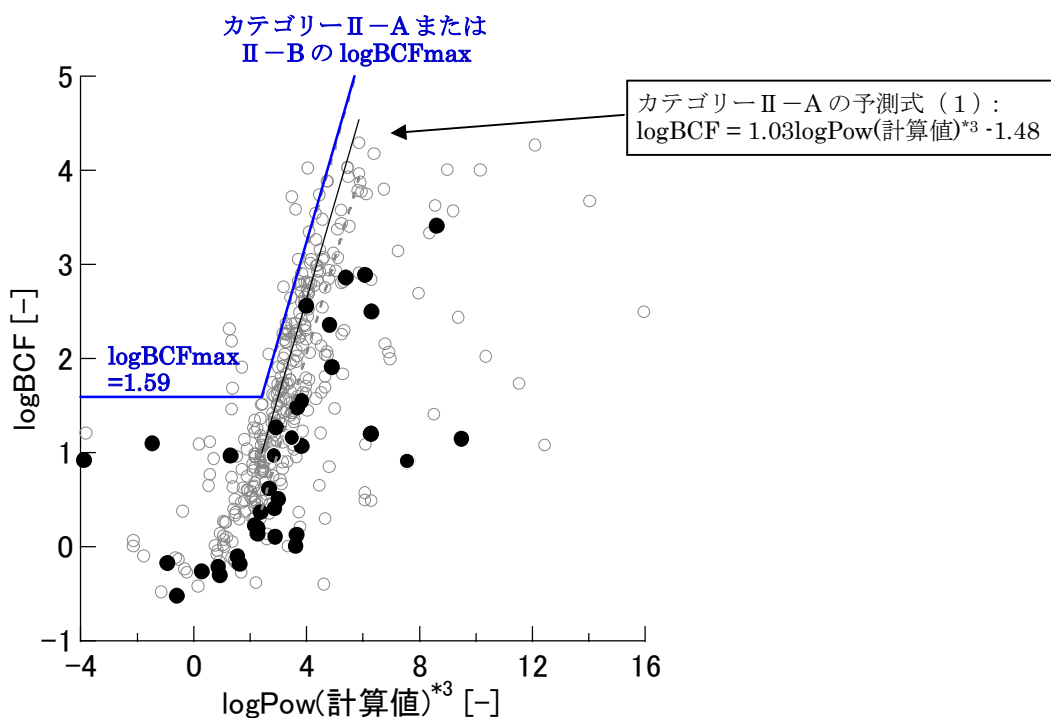


Fig.3a logPow(計算値)^{*3} vs. logBCF プロット (ベースデータセット全 371 物質)
[● : カテゴリーVに該当する化学物質(36 物質)、○ : カテゴリーV以外の物質(335 物質)]

ベースデータセットに含まれているカテゴリ-Vに該当する化学物質のデータが少ないことから、化審法新規化学物質のデータを用いて当該予測方法の確認を行った。カテゴリ-Vに該当する $\log\text{Pow}(\text{計算値})^{*3} < 6$ の化審法新規化学物質 138 物質の $\log\text{Pow}(\text{計算値})^{*3}$ vs. $\log\text{BCF}$ プロットを Fig.4a、に示す。また、化審法新規化学物質 138 物質の中で、①リン酸エステル基を持つ 5 物質、②エステル基を持つ 51 物質③カルバメート基を持つ 9 物質、④アミド基を持つ 58 物質、⑤ウレア基を持つ 15 物質の $\log\text{Pow}(\text{計算値})^{*3}$ vs. $\log\text{BCF}$ プロットを Fig.4b に示す。138 物質中 133 物質の $\log\text{BCF}$ は、カテゴリ-II-A の予測式 (1) から期待される $\log\text{BCFmax}$ よりも低い傾向にあることが確認された。

以上のことから、カテゴリ-Vに該当する大部分の物質の生物濃縮性は $\log\text{BCFmax}$ 未満であることが確認されたため、カテゴリ-II-A の予測式 (1) から算出される $\log\text{BCFmax}$ を用いて、定性的に生物濃縮性を予測することが可能と結論付けた。

* 3 KOWWIN ver.1.67 を用いて算出される値

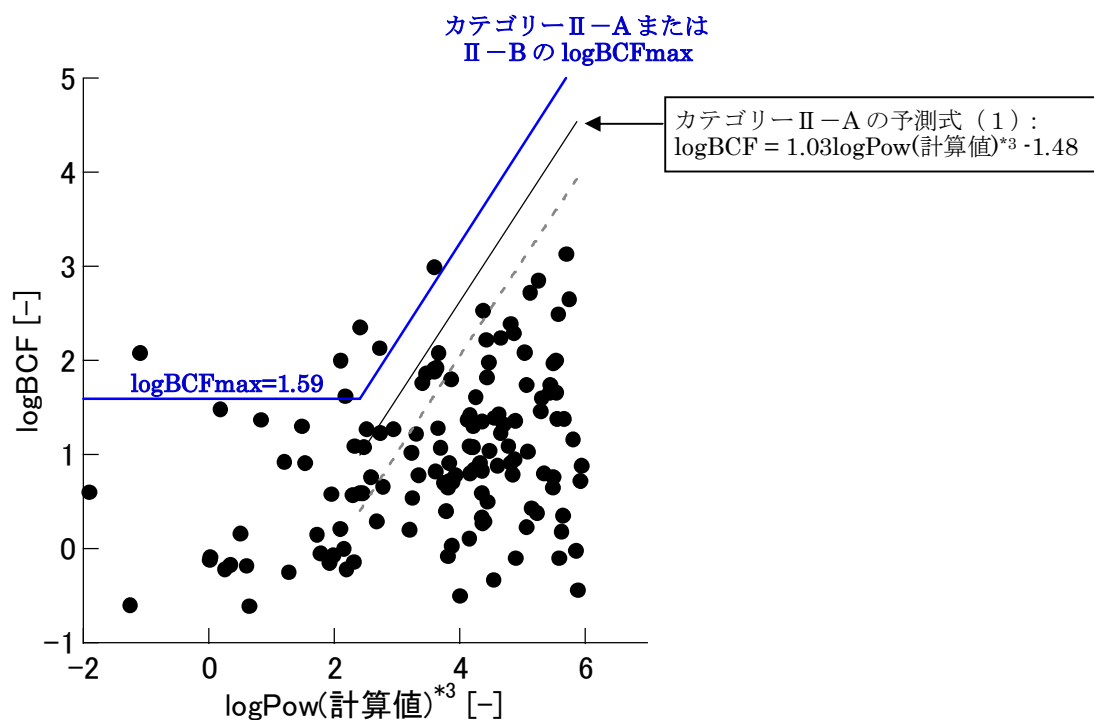


Fig.4a $\log\text{Pow}(\text{計算値})^{*3}$ vs. $\log\text{BCF}$ プロット
(カテゴリ-Vに該当する $\log\text{Pow}(\text{計算値})^{*3} < 6$ の新規化学物質 138 物質)

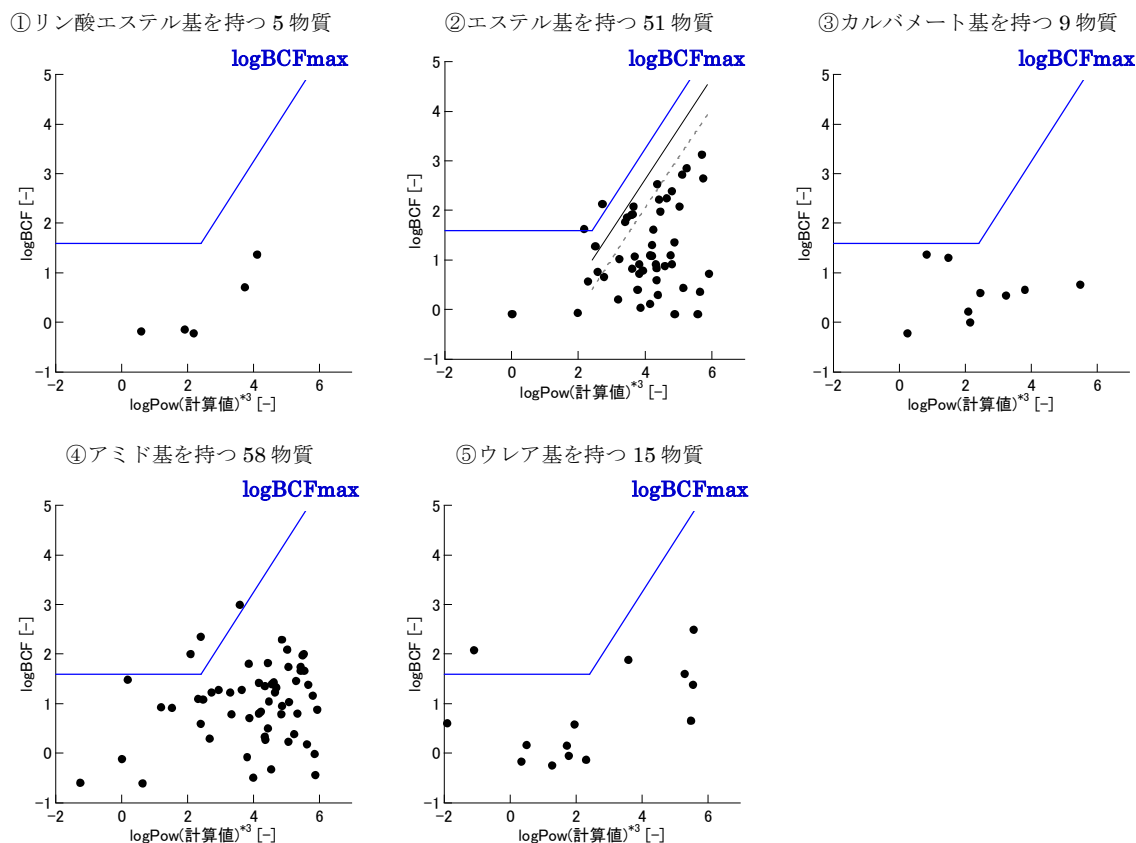
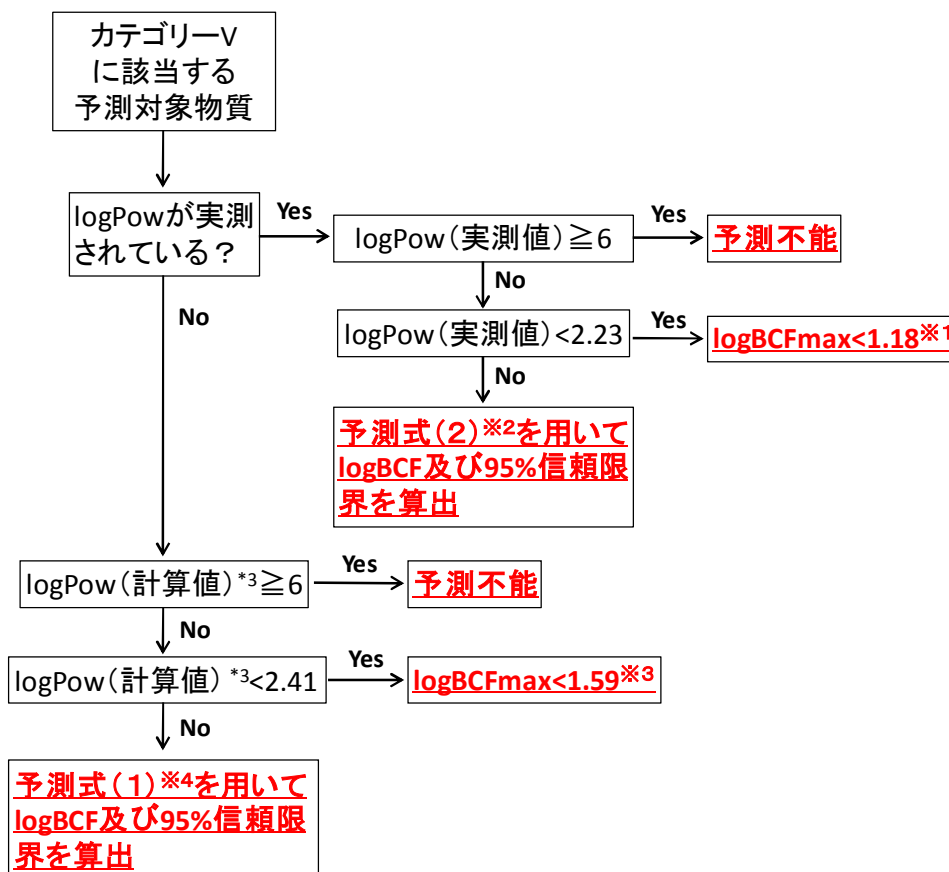


Fig.4b カテゴリーVに該当する $\log\text{Pow}(\text{計算値})^*3 < 6$ の新規化学物質の各物質群の $\log\text{Pow}(\text{計算値})$ vs. $\log\text{BCF}$ プロット

$\log\text{BCFmax}$ の算出方法について 4),5)

予測式(1)または予測式(2)の作成に用いたデータセットにおける $\log\text{Pow}$ の下限値が、 $\log\text{Pow}(\text{計算値})=2.41$ 、 $\log\text{Pow}(\text{実測値})=2.23$ であることから、当カテゴリーに該当する $\log\text{Pow}(\text{計算値}) < 2.41$ の物質は $\log\text{BCFmax} < 1.59$ (この 1.59 は、予測式(1)に $\log\text{Pow}=2.41$ を代入した場合の $\log\text{BCF}$ の 95%信頼限界の上限値)、 $\log\text{Pow}(\text{実測値}) < 2.23$ の物質は $\log\text{BCFmax} < 1.18$ (この 1.18 は、予測式(2)に $\log\text{Pow}=2.23$ を代入した場合の $\log\text{BCF}$ の 95%信頼限界の上限値)と定性的に予測を行う。(詳細は Scheme2 参照)



※1 予測式(2)にlogPow=2.23を代入した場合のlogBCFの95%信頼限界の上限值

※2 予測式(2): $\log BCF = 1.03 \log Pow(\text{計算値})^3 - 1.48$

※3 予測式(1)にlogPow=2.41を代入した場合のlogBCFの95%信頼限界の上限值

※4 予測式(1): $\log BCF = 1.05 \log Pow(\text{実測値}) - 1.71$

Scheme2 カテゴリーVに該当する物質の予測式(1)または予測式(2)を用いた生物濃縮性の定性的評価手順

1. $2.41 \leq \log Pow(\text{計算値}) \leq 6$ の物質の logBCFmax の算出方法

予測対象物質の $\log Pow(\text{計算値})^3$ を予測式(1)に代入し、logBCF(予測値)を算出する。

$$\log BCF = 1.03 \log Pow(\text{計算値}) - 1.48 (R^2 = 0.890, Q^2 = 0.878, n = 54) \cdots \text{予測式(1)}$$

$\log Pow(\text{予測値}) = x_1$ とおくと、logBCFの95%信頼限界は次式(3)より算出される。

$$[95\% \text{信頼限界}] = \sqrt{Ve \left\{ 1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_1 - \bar{x}_1)^2}{Sxx} \right\}} \times t(\text{自由度}, 0.05) \quad (3)$$

ここで、 Ve (予測式(1)の誤差分散)=0.081、 n (データ数)=54、 Sxx (トレーニングセットの x_1 の標準偏差の平方和)=32.024、 \bar{x}_1 (x_1 の平均値)=3.77、 t 分布表より($\alpha=0.05$ 、自由度 53、両側)のとき $t=2.006$ である。

予測式(1)、式(3)から算出された「logBCF(予測値)」及び「95%信頼限界」から、logBCFmax は次のとおり算出される。

$$\log BCF \max = \log BCF(\text{予測値}) + [95\% \text{信頼限界}]$$

2. $2.23 \leq \log \text{Pow}(\text{実測値}) \leq 6$ の物質の $\log \text{BCFmax}$ の算出方法

予測対象物質の $\log \text{Pow}(\text{実測値})$ を予測式(2)に代入し、 $\log \text{BCF}(\text{予測値})$ を算出する。

$$\log \text{BCF} = 1.05 \log \text{Pow}(\text{実測値}) - 1.71(R^2 = 0.905, Q^2 = 0.897, n = 48) \cdots \text{予測式 (2)}$$

$\log \text{Pow}(\text{実測値}) = x_2$ とおくと、予測対象物質の $\log \text{BCF}(\text{予測値})$ の 95%信頼限界は次式(4)より算出される。

$$[95\% \text{信頼限界}] = \sqrt{V_e \left\{ 1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_2 - \bar{x}_2)^2}{S_{xx}} \right\}} \times t(\text{自由度}, 0.05) \quad (4)$$

ここで、 V_e (予測式(2)の誤差分散)=0.067、 n (データ数)=48、 S_{xx} (トレーニングセットの x_2 の標準偏差の平方和)=26.62、 \bar{x}_2 (x_2 の平均値)=3.83、 t 分布表より $t(\alpha = 0.05, \text{自由度 } 47, \text{両側})$ のとき $t = 2.012$ である。

予測式(2)、式(4)から算出された「 $\log \text{BCF}(\text{予測値})$ 」及び「95%信頼限界」から、 $\log \text{BCFmax}$ は次のとおり算出される。

$$\log \text{BCF max} = \log \text{BCF}(\text{予測値}) + [95\% \text{信頼限界}]$$

5.3 カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across(類推)による生物濃縮性予測の検討

Read-across は、未試験物質の有害性等を同じカテゴリー内に属する有害性等が既知の類縁物質(分子構造、物理化学的性状等が類似な物質)から予測する方法で、OECD (Q)SAR Application Toolbox²³で提唱されている予測手法である。カテゴリーVに該当する化学物質においては、5.3.1~5.3.4 に示す類縁物質の選択方法及び予測手順を用いて、Read-across を用いた生物濃縮性予測を行う。

5.3.1 カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across(類推)に用いる類縁物質の選択方法

カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across に用いる類縁物質は、次に述べる(A)予測対象物質と類縁物質の分子構造の類似性、(B)予測対象物質と類縁物質の物理化学的性状の類似性を踏まえ、基本的には「基本骨格」、「官能基」、「 $\log \text{Pow}$ 」、「 Dmax 」の4つの条件を用いて選択する。

(A) 予測対象物質と類縁物質の分子構造の類似性

カテゴリーVに該当するリン酸エステル基、エステル基などを持つ物質は、生体内における代謝反応速度の違いによって、生物濃縮性が異なる傾向にあると考えられる。また、これらの官能基が結合している分子構造(基本骨格)及び置換している官能基の違いによって、立体的効果や電子的効果が異なり、代謝反応における反応性が異なることが予想される。これらのことから、カテゴリーVに該当する化学物質の Read-across を用いた生物濃縮性予測を行う際には、「基本骨格」及び「官能基」の2つを考慮して類縁物質の選択を行う。

(B) 予測対象物質と類縁物質の物理化学的性状の類似性

B-1. 化学物質の生物濃縮性と生体内における代謝との関係について

当カテゴリーに該当する物質の生物濃縮性に影響を与える大きな因子として、生体における

代謝の影響が考えられる。カテゴリーVに該当するエステル化合物は、Cowan-Ellsberry らによって *in vitro* による代謝速度の測定及び同程度の logPow を持つアミド化合物、チオリン酸エステル化合物の BCF との比較が行われており、これらの物質よりもエステル化合物の方が代謝速度は速く、BCF が低い傾向にあることが報告されている。また、農薬として用いられているリン酸エステル化合物、カルバメート化合物、アミド化合物、ウレア化合物は水生生物における BCF の測定と代謝反応(Fig.2)の研究が行われており、一般的に生体内に蓄積されにくい傾向にある。また、代謝反応では反応が起こる官能基における置換基効果（電子的効果、立体効果）によって、化学物質と酵素の活性部位との分子間相互作用が変化し、代謝反応の起こり易さが変わることも容易に想定される。芳香族カルバメート化合物においては、パラ置換体の化合物の方が生体内で代謝され易いことなども報告されている^{24),25)}。

これらの物質の生体内における代謝反応（酸化反応、加水分解反応など）の反応性について、量子化学計算を用いた反応解析等によって定量的に評価する試みも行われている。しかしながら、酵素反応における酵素の立体構造、酵素反応における置換基の電子的効果及び立体効果、酵素反応に関与する化学物質及び水分子の数などの不特定な要因が多く、化学物質の代謝を定量に表現するパラメータは現在までに提案されていない。

以上のことから、当カテゴリー報告書では、Read-across に用いる類縁物質の選択において、物理化学的パラメータではなく、化学物質の分子構造によって代謝の類似性を考慮することとする。

B-2. 化学物質の生物濃縮性と分子サイズ(分子量、Dmax*4 など)との関係について

化学物質の生物濃縮性と分子サイズ(分子量、Dmax など)との関係については、様々な報告例がある。

化学物質の分子サイズが大きくなると、化学物質の魚類における生物濃縮性が低下する傾向にあることはよく知られており、REACH の RIPs(REACH Implementation Projects)では、Dmax>17Åかつ分子量が 1100 を超える物質は「B ではない(BCF が 2,000 を超える可能性は低い)」、Dmax>17Åかつ分子量が 700 を超える物質は「vB ではない(BCF が 5,000 を超える可能性は低い)」と見なされる場合もある²⁶⁾。

化学物質の魚類における生物濃縮性と分子サイズに関する他の報告例として、Dimitrov らは 694 物質の魚類における logBCF の結果から、Dmax*5>14.7Åの物質の生物濃縮性は全て logBCF<3.5 にあることを報告している²⁷⁾。また、当機構における検討結果から分子量>550 かつ Dmax>29Åかつ Deff(分子を円柱に入れた場合の最小となる円柱の直径)>14Åの物質の生物濃縮性は、全て logBCF<3.0 であることを報告している²⁸⁾。

当機構では、カテゴリー I 及び II-A に該当する物質の生物濃縮性の検討結果から、分子サイズが大きい物質(Dmax≥11Å)は生体膜透過における拡散が遅くなるため、生物濃縮性が低下する傾向にあると結論付けた。また、分子サイズが大きい物質は酵素反応における活性部位に入りやすく、反応しにくいことなども想定される。これらのことから、カテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性においても同様に、分子サイズが大きい物質の生物濃縮性は低下する傾向にあると考えられるため、Read-across を用いた生物濃縮性予測を行う際には、Dmax<11Åの物質と Dmax≥11Åの物質を区別して類縁物質の選択を行うこととする。

B-3. 化学物質の生物濃縮性と logPow との関係について

化学物質の生物濃縮性と疎水性を表す代表的なパラメータである logPow との間には、相関性があることが一般的に知られている^{13),14)}。また、Chessells らの研究から、超疎水性化合物 (super-hydrophobic : logPow>6 の物質)は、logPow の増加に伴って脂質溶解性が低下し、logPow と logBCF の相関性から期待されるほどの生物濃縮性を持たないことが報告されている²⁹⁾。

カテゴリ-Vに該当する化学物質においても logPow と logBCF との間に弱いながら相関が認められる(Fig.3、4 参照)ことから、Read-across を用いた生物濃縮性予測を行う際には、logPow(実測値)または logPow(計算値)*³ が一定の範囲内にある物質を類縁物質として選択する。基本的に logPow の範囲が[予測対象物質の logPow*³]±0.5 にある物質を類縁物質として選択することとする。ただし、logPow の範囲が[予測対象物質の logPow]±0.5 にある物質の数が少ない場合には、必要とされる予測精度に応じて、[予測対象物質の logPow]>0.5 の物質を類縁物質として選択する場合もある。

* 4 Dmax: 分子を球に入れたとき最小となる直径の値(Database Manager ver.1.3 を用いて算出)
計算条件: Conversion mode: Automated OASIS、Conformer generation: Rapid、Calculation method: AM1

5.3.2 カテゴリ-Vに該当する化学物質の Read-across(類推)に用いた生物濃縮性予測の手順

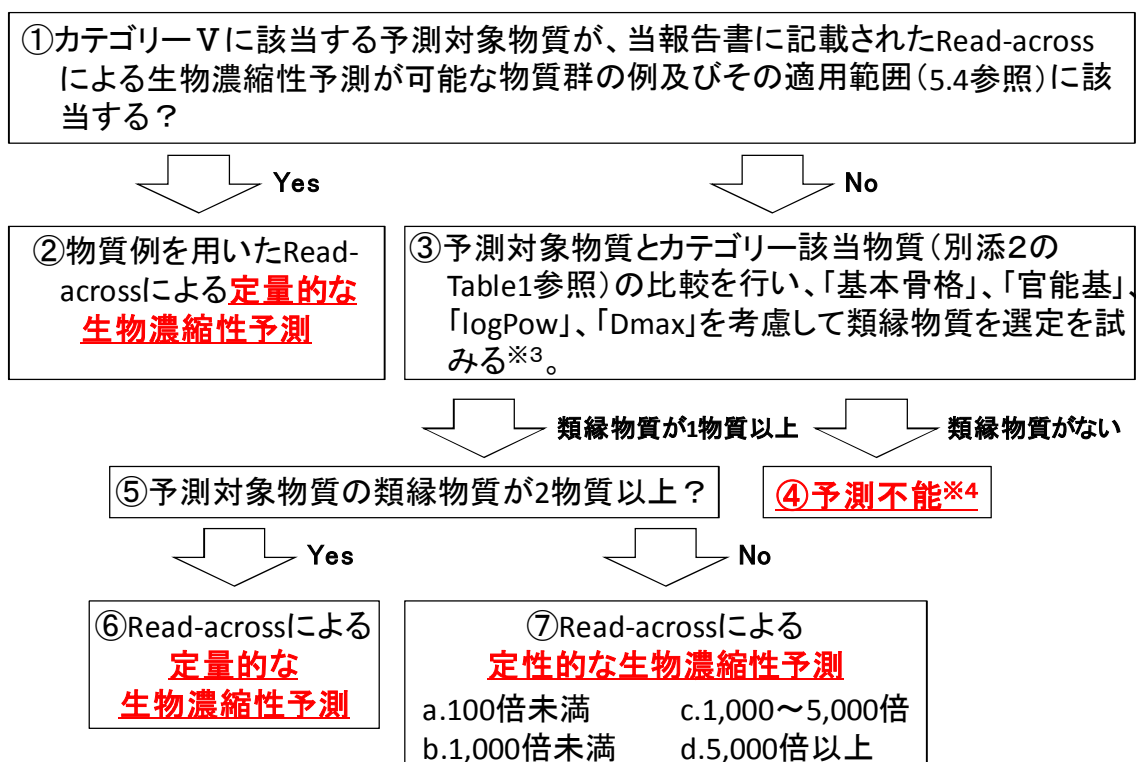
カテゴリ-Vに該当する未試験物質(以下、予測対象物質)のカテゴリ-アプローチによる生物濃縮性予測を行う場合には、次の手順で予測を行う(主な予測手順は Scheme2 参照)。

- ① 予測対象物質が、カテゴリ-Vの定義(4. 参照)に該当する 36 物質を対象とした本報告書における解析結果に基づいて定義された Read-across(類推)による生物濃縮性予測が可能な物質群の例及びその適用範囲(物質群は Table3 参照、詳細は 5.4 参照)に該当するかどうか確認する。
- ② ①に該当する場合は、該当する物質群から類縁物質を選択し、「物質例を用いた Read-across による予測対象物質の定量的な生物濃縮性予測」を行う。
- ③ ①に該当しない場合には、予測対象物質とカテゴリ-該当物質(別添 2 の Table1-1 参照)の比較を行い、類縁物質の選定を試みる。「基本骨格」、「官能基」、「logPow」、「Dmax」を考慮して類縁物質を選定する。また、生物濃縮性との関係を理論的に説明可能な場合には、他のパラメータを選定条件に考慮する場合もある。類縁物質の選定は、評価者の判断に依存するため、第三者が選択した類縁物質の妥当性や Read-across の予測精度について確認できるように、類縁物質の選択条件を明示することが必要である。
- ④ 予測対象物質とカテゴリ-該当物質の比較を行い、「類縁物質がない」と判断された場合には、Read-across による予測対象物質の生物濃縮性予測は「予測不能」とする。
- ⑤ 予測対象物質とカテゴリ-該当物質の比較を行い、「類縁物質が 1 物質以上ある」と判断された場合、類縁物質が 2 物質以上ある場合(⑥)と類縁物質が 1 物質の場合(⑦)に場合分けを行い、Read-across による予測対象物質の生物濃縮性予測を行う。
- ⑥ 予測対象物質とカテゴリ-該当物質の比較を行い、類縁物質が 2 物質以上ある場合には、選択した類縁物質を用いた「Read-across による予測対象物質の定量的な生物濃

縮性予測]を行う。

- ⑦ 予測対象物質とカテゴリ該当物質の比較を行い、類縁物質が1物質の場合には、選択した類縁物質を用いた「Read-across による予測対象物質の定性的な生物濃縮性予測」を行う。

※選択した類縁物質を用いて Read-across(類推)による生物濃縮性予測を行う際には、Read-across(類推)が適用可能な物質の範囲を明確にするため、1. 基本骨格 (分子構造)、2. 置換基、3. logPow 及び Dmax の値の適用範囲を明記する必要がある。



※3 第三者が確認できるように類縁物質の選択条件の記載が必要である。また、必要とされる予測精度に応じて、[予測対象物質のlogPow]>0.5にある物質を類縁物質として選択する場合もある。

※4 類縁物質の選択条件を変更すれば、大まかな予測が可能な場合もある。

Scheme2 カテゴリVに該当する化学物質の Read-across を用いた生物濃縮性の予測手順

Table3 当報告書に記載された Read-across による生物濃縮性予測が可能な物質群の例

	Read-across による生物濃縮性予測が可能な物質群 (データセットに用いた 36 物質における該当物質数)	適用範囲の 詳細について
(ア)	脂肪族鎖状リン酸エステル 1 (2 物質)	p.16 参照
(イ)	脂肪族鎖状リン酸エステル 2 (5 物質)	p.18 参照
(ウ)	フェニルメチルカルバメート化合物(3 物質)	p.20 参照
(エ)	特定の構造を持つウレア化合物(3 物質)	p.23 参照

5.3.3 Read-across(類推)によるカテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性の定量的な予測方法

Read-across を用いた生物濃縮性の定量的な予測では、類縁物質の生物濃縮性(logBCF)の平均値を算出し、予測対象物質の生物濃縮性を予測する。このことから、5.3.2 に示した「Read-across に用いた生物濃縮性予測の手順」に従い、②物質例を用いた Read-across による予測対象物質の定量的な生物濃縮性予測、⑥選択した類縁物質を用いた「Read-across による予測対象物質の定量的な生物濃縮性予測」を行うと判断された場合には、(3)式を用いて類縁物質の生物濃縮性(logBCF)の平均値及び95%信頼限界を算出し、予測対象物質の生物濃縮性の定量的な予測を行う。(予測例は6. 参照)

$$(\text{予測対象物質の logBCF}) = (\text{類縁物質の logBCF の平均値}) \pm (95\% \text{信頼限界} \times) \cdot (3)$$

$$\text{※}(95\% \text{信頼限界}) = (\text{類縁物質の logBCF の標準誤差}) \times t \text{ 値(自由度: [物質数-1], 確率: 5\%)}$$

ただし、Read-across による予測対象物質の生物濃縮性予測の予測精度及び信頼性は、Read-across に用いた類縁物質に依存すると考えられるため、予測結果には「類縁物質の選択条件」及び「類縁物質の logBCF 及び物理化学的性状などの情報」を明示することが必要である。

5.3.4 Read-across(類推)によるカテゴリーVに該当する化学物質の生物濃縮性の定性的な予測方法

5.3.2 に示した Read-across に用いた生物濃縮性予測の手順に従い、⑦Read-across による予測対象物質の定性的な生物濃縮性予測を行う場合には、Read-across による定性的な予測(a.100 倍未満、b.1,000 倍未満、c.1,000~5,000 倍、d.5,000 倍以上の4クラスに分類)を行う。Read-across による定性的な予測の例を Table4 に示す。

Table4 カテゴリーVに該当する未試験物質の Read-across を用いた定性的な生物濃縮性予測例

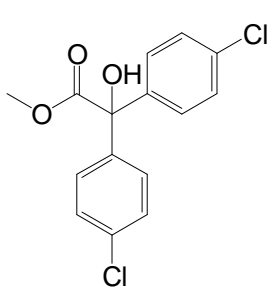
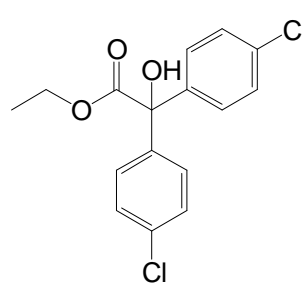
	分子構造	logBCF [-]	Dmax [Å]	logPow(実測値) [-]	logPow(計算値)*3 [-]
未試験物質		-	13.25	-	3.50
カテゴリー該当物質		2.56	13.25	4.74	3.99

Table4 に示したカテゴリーVに該当する予測対象物質は、類縁物質と比較してエステル基の炭素数が1つ短い物質で、分子構造の類似性及び物理化学的性状の類似性が高い。また、これらの物質の物理化学的性状は、 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ かつ $\log Pow = 3.50 \sim 3.99$ で、類似な物理化学的性状を持つことから、類似性が高いと考えられる。このことから、予測対象物質の生物濃縮性は、類縁物質の生物濃縮性($\log BCF = 2.56$)と同程度と考えられるため、未試験物質の生物濃縮性は「b.1,000 倍未満」と推定する。

5.4 Read-across(類推)による生物濃縮性予測が可能な物質群の例及びその適用範囲

カテゴリーVに該当する化学物質の定義(4. 参照)に従い、今回の検討に用いたベースデータセット 371 物質の中でカテゴリーVに該当する 36 物質を①リン酸エステル化合物 10 物質、②エステル化合物 6 物質、③カルバメート化合物 5 物質、④アミド化合物 11 物質、⑤ウレア化合物 5 物質の 5 つに分類した。各物質群における $D_{max} = 11 \text{ \AA}$ を用いた細分類の結果を Table5 に示す。

Table5 カテゴリーVに該当する化学物質の $D_{max} = 11 \text{ \AA}$ を用いた細分類の結果

物質群(物質数)	logPow が計算可能な物質(36 物質)	
	$D_{max} < 11 \text{ \AA}$	$D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$
①リン酸エステル化合物(10 物質)	2 物質	8 物質
②エステル化合物(6 物質)	0 物質	6 物質
③カルバメート化合物(5 物質)	0 物質	5 物質
④アミド化合物(11 物質)	5 物質	6 物質
⑤ウレア化合物(5 物質)	2 物質	3 物質

* 括弧内の数字は、36 物質における該当物質数。官能基が重複している 1 物質を含む。

5.4.1 $D_{max} < 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 2 物質の生物濃縮性について

$D_{max} < 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 2 物質の $\log BCF$ と物理化学性状値を Table6 に示す。

物質 34、37 の 2 物質は、 $D_{max} < 11 \text{ \AA}$ かつ脂肪族鎖状のリン酸エステル基を持つ物質で、同程度の生物濃縮性($\log BCF = -0.21$ 、 -0.52)を持つ傾向にある。このことから、Table7 の全ての条件に当てはまる未試験の「脂肪族鎖状リン酸エステル」は、この 2 物質を用いた Read-across によって生物濃縮性を定量的に予測することが可能と考えられる。

Table6 $D_{max} < 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 2 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値

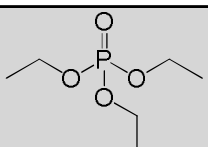
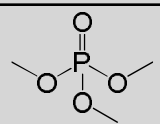
No.	CAS No.	分子構造	分子量	D_{max} [Å]	$\log BCF$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (計算値)*3 [-]
34	78-40-0		182.16	10.85	-0.21	0.79	0.87
37	512-56-1		140.08	8.59	-0.52	-0.49	-0.60

Table7 Read-across を用いて生物濃縮性が定量的に予測可能な
未試験の「脂肪族鎖状リン酸エステル1」の適用範囲：

[1] 基本骨格: 下記の分子構造を持つリン酸エステル化合物
[2] 置換基: R1、R2、R3: 脂肪族炭化水素基(最大炭素数2)、ハロゲン基
[3] $-0.60 \leq \log Pow(\text{計算値}) \leq 0.87$
[4] $D_{max} < 11 \text{ \AA}$
基本骨格

5.4.2 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 8 物質の生物濃縮性について

$D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 8 物質の $\log BCF$ と物理化学性状値を Table8 に示す。これらの 8 物質の中で **16**、**22**、**28**、**29**、**33** の 5 物質は、 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ かつ脂肪族鎖状のリン酸エステル基を持つ物質で、同程度の生物濃縮性($\log BCF = 1.15 \sim -0.18$)を持つ傾向にある。このことから、Table9 の全ての条件に当てはまる未試験の「脂肪族鎖状リン酸エステル」は、これらの 5 物質を用いた Read-across によって生物濃縮性を定量的に予測することが可能と考えられる。

物質 **5**、**9**、**14** の 3 物質は、他の 5 物質と物理化学的性状及び分子構造が大きく異なることから、類似な分子構造を持つ物質がないため、Read-across を用いて定性的な生物濃縮性予測を行う物質群とする。

Table8 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のリン酸エステル化合物 8 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値

No.	CAS No.	分子構造	分子量	D_{max} [Å]	$\log BCF$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (計算値)*3 [-]
5	1241-94-7		362.4	17.06	2.50	-	6.30
9	961-11-5		365.96	12.21	1.55	3.55	3.81
14	78-42-2		434.63	19.23	1.15	5.04	9.49

Table8 Dmax ≥ 11 Å のリン酸エステル化合物 8 物質の logBCF と物理化学的性状値 [続き]

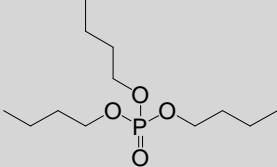
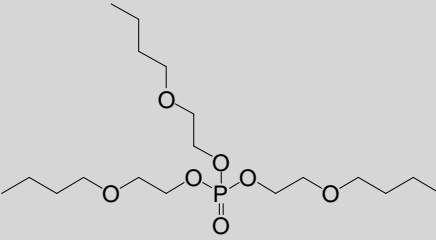
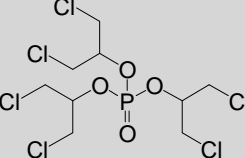
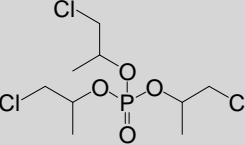
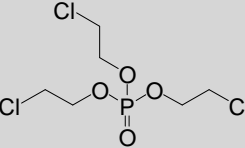
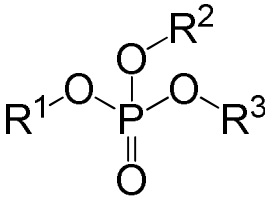
No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値)*3 [-]
16	126-73-8		266.31	14.76	1.07	3.96	3.82
22	78-51-3		398.47	16.82	0.51	3.75	3.00
28	13674-87-8		430.91	12.04	0.13	-	3.65
29	13674-84-5		327.57	11.73	0.11	2.59	2.89
33	115-96-8		285.49	12.38	-0.18	1.44	1.63

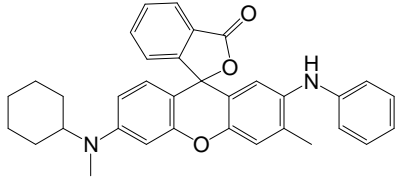
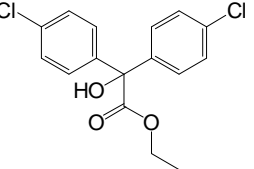
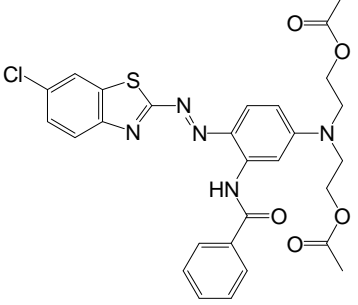
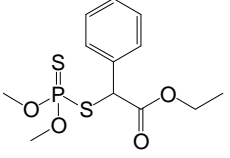
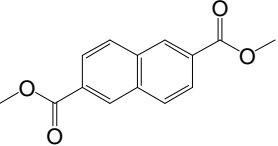
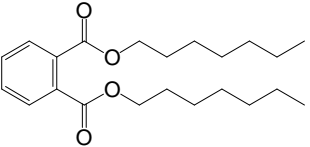
Table9 Read-across を用いて生物濃縮性が定量的に予測可能な未試験の「脂肪族鎖状リン酸エステル2」の適用範囲：

[1] 基本骨格: 下記の分子構造を持つリン酸エステル化合物
[2] 置換基: R1、R2、R3: 脂肪族炭化水素基(最大炭素数6)、ハロゲン基、エーテル基
[3] $1.63 \leq \log\text{Pow}(\text{計算値}) \leq 3.82$
[4] $D_{\text{max}} \geq 11 \text{ \AA}$
基本骨格


5.4.3 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のエステル化合物 6 物質の生物濃縮性について

$D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のエステル化合物 6 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値を次ページの Table10 に示す。これらの 6 物質については、類似な分子構造を持つ物質がないことから、Read-across を用いて定性的な生物濃縮性予測を行う物質群とする。

Table10 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のエステル化合物 6 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値

No.	CAS No.	分子構造	分子量	D_{max} [Å]	$\log BCF$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (計算値)*3 [-]
1	55250-84-5		516.63	20.71	3.41	-	8.60
4	510-15-6		325.19	13.25	2.56	4.74	3.99
12	26630-87-5		580.06	19.18	1.20	-	6.28
13	2597-03-7		320.37	12.81	1.16	3.55	3.47
17	840-65-3		244.24	15.09	0.97	-	2.84
20	3648-21-3		362.5	17.34	0.91	5.18	7.56

5.4.4 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のカルバメート化合物 5 物質の生物濃縮性について

$D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のカルバメート化合物 5 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値を次ページの

Table11 に示す。これらの 5 物質の中で **23**、**24**、**27** の 3 物質は、 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ かつ類似のフェニルメチルカルバメート構造を持つ物質で、同程度の生物濃縮性($\log BCF=0.41 \sim 0.14$)を持つ傾向にある。このことから、Table12 の全ての条件に当てはまる未試験の「フェニルメチルカルバメート化合物」は、これらの 3 物質を用いた Read-across によって生物濃縮性を定量的に予測することが可能と考えられる。

物質 **6** 及び **31** の 2 物質は、物理化学的性状及び分子構造が大きく異なり、類似な分子構造を持つ物質がないことから、Read-across を用いて定性的な生物濃縮性予測を行う物質群とする。

Table11 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のカルバメート化合物 5 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値

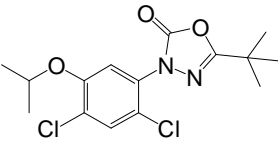
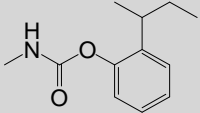
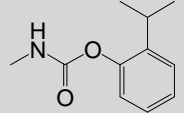
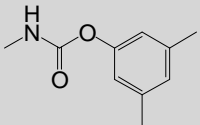
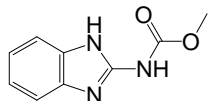
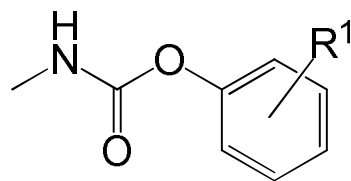
No.	CAS No.	分子構造	分子量	D_{max} [Å]	$\log BCF$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (計算値)*3 [-]
6	19666-30-9		345.22	13.88	2.36	4.75	4.81
23	3766-81-2		207.27	12.23	0.41	2.79	2.86
24	2631-40-5		193.24	11.49	0.37	2.29	2.37
27	2655-14-3		179.22	11.71	0.14	2.24	2.27
31	10605-21-7		191.19	13.31	-0.10	1.52	1.55

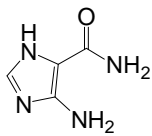
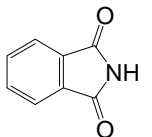
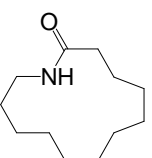
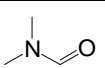
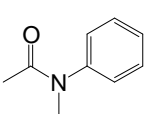
Table12 Read-across を用いて生物濃縮性が定量的に予測可能な未試験の「フェニルメチルカルバメート化合物」の適用範囲：

[1] 基本骨格: 下記の分子構造を持つカルバメート化合物
[2] 置換基: R1: 脂肪族炭化水素基またはハロゲン基
[3] $2.27 \leq \log Pow(\text{計算値}) \leq 2.86$
[4] $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$
基本骨格


5.4.5 Dmax<11Åのアミド化合物 5 物質の生物濃縮性について

Dmax<11Åのアミド化合物 5 物質の logBCF と物理化学的性状値を Table13 に示す。これらの 5 物質については、類似な分子構造を持つ物質がないことから、Read-across を用いて定性的な生物濃縮性予測を行う物質群とする。

Table13 Dmax<11Åのアミド化合物 5 物質の logBCF と物理化学的性状値

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値)*3 [-]
15	72-40-2		126.12	8.76	1.10	-	-1.47
18	85-41-6		147.13	8.83	0.97	1.13	1.30
30	947-04-6		197.32	9.88	0.01	2.92	3.61
32	68-12-2		73.09	6.74	-0.17	-1.01	-0.93
36	579-10-2		149.19	10.4	-0.30	1.12	0.93

5.4.6 Dmax≥11Åのアミド化合物 6 物質の生物濃縮性について

Dmax≥11Åのアミド化合物 6 物質の logBCF と物理化学的性状値を Table14 に示す。これらの 6 物質については、類似な分子構造を持つ物質がないことから、Read-across を用いて定性的な生物濃縮性予測を行う物質群とする。

Table14 Dmax≥11Åのアミド化合物 6 物質の logBCF と物理化学的性状値

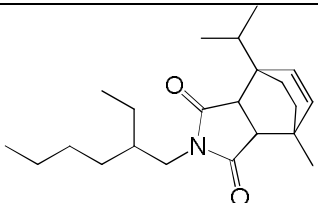
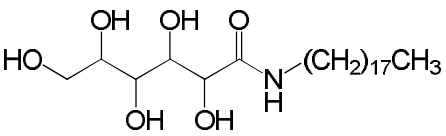
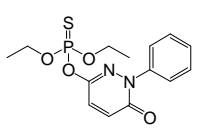
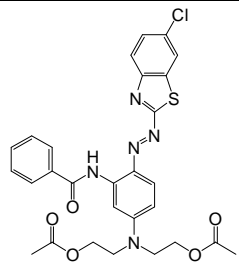
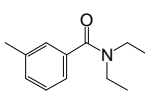
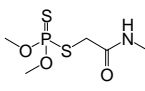
No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値)*3 [-]
2	13358-11-7		345.52	16.12	2.89	5.96	6.07
3	18375-66-1		447.65	34.41	2.86	-	5.39

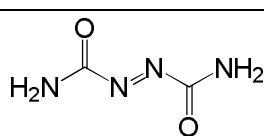
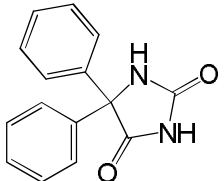
Table14 Dmax ≥ 11 Å のアミド化合物 6 物質の logBCF と物理化学的性状値 [続き]

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値)*3 [-]
10	119-12-0		340.34	14.29	1.48	-	3.66
12	26630-87-5		580.06	19.18	1.20	-	6.28
26	134-62-3		191.27	11.76	0.20	2.06	2.26
35	60-51-5		229.26	11.65	-0.26	0.79	0.28

5.4.7 Dmax < 11 Å のウレア化合物 2 物質の生物濃縮性について

Dmax < 11 Å のウレア化合物 2 物質の logBCF と物理化学的性状値を Table15 に示す。これらの 2 物質については、類似な分子構造を持つ物質がないことから、Read-across を用いて定性的な生物濃縮性予測を行う物質群とする。

Table15 Dmax < 11 Å のウレア化合物 2 物質の logBCF と物理化学的性状値

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値)*3 [-]
19	123-77-3		116.08	9.44	0.92	-	-3.89
25	57-41-0		252.27	10.89	0.23	2.47	2.16

5.4.8 Dmax ≥ 11 Å のウレア化合物 3 物質の生物濃縮性について

Dmax ≥ 11 Å のウレア化合物 3 物質の logBCF と物理化学的性状値を次ページの Table16 に示す。これらの 3 物質は、Dmax ≥ 11 Å かつ類似の分子構造を持つ物質で、同程度の生物濃縮性(logBCF=1.91~0.62)を持つ傾向にある。このことから、Table17 の全ての条件に当てはま

る未試験の「特定の構造を持つウレア化合物」は、これらの3物質を用いた Read-across によって生物濃縮性を定量的に予測することが可能と考えられる。

Table16 $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$ のウレア化合物 3 物質の $\log BCF$ と物理化学的性状値

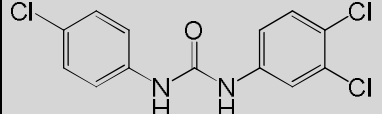
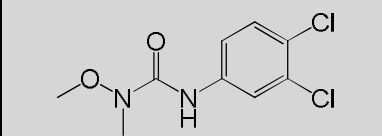
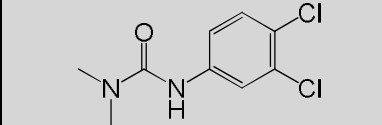
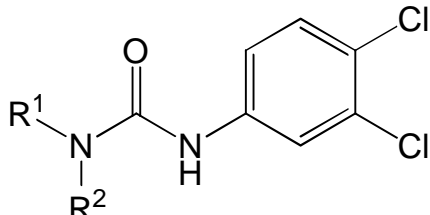
No.	CAS No.	分子構造	分子量	D_{max} [Å]	$\log BCF$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (実測値) [-]	$\log Pow$ (計算値)*3 [-]
7	101-20-2		315.58	15.12	1.91	-	4.90
11	330-55-2		249.09	13.13	1.27	3.14	2.91
21	330-54-1		233.10	12.84	0.62	2.84	2.67

Table17 Read-across を用いて生物濃縮性が定量的に予測可能な未試験の「特定の構造を持つウレア化合物」の適用範囲：

[1] 基本骨格：下記の分子構造を持つウレア化合物
[2] 置換基：R1、R2：炭化水素基、ハロゲン基、エーテル基
[3] $2.67 \leq \log Pow(\text{計算値}) \leq 4.96$
[4] $D_{max} \geq 11 \text{ \AA}$
基本骨格


6. カテゴリーVに該当する未点検既存化学物質の生物濃縮性予測例

カテゴリーVの定義に該当する未点検既存化学物質の中で、トリブチルーリン酸エステル(以下、評価対象物質)の Read-across を用いた生物濃縮性予測例を示す。

①定性的な生物濃縮性予測

評価対象物質の $\log Pow(\text{計算値})=3.60$ をカテゴリーII-A の予測式(1)に代入すると、 $\log BCF$ を次のとおり算出される。

$$\log BCF(\text{予測値}) = 1.03 \times 3.60 - 1.48 = 2.228 \dots \div 2.23$$

$\log Pow(\text{計算値})=x_1$ とおくと、評価対象物質の $\log BCF(\text{予測値})$ の 95%信頼限界は、次式(3)によって次のとおり算出される。(ここで、 V_e (予測式(1)の誤差分散)=0.081、 n (データ数)=54、

S_{xx} (トレーニングセットの x_1 の標準偏差の平方和)=32.024、 \bar{x}_1 (x_1 の平均値)=3.77、 t 分布表より($\alpha=0.05$ 、自由度 53、両側)のとき $t=2.006$ である。)

$$[95\% \text{信頼限界}] = \sqrt{Ve \left\{ 1 + \frac{1}{n} + \frac{(x_1 - \bar{x}_1)^2}{S_{xx}} \right\}} \times t(\text{自由度}, 0.05) \quad (3)$$

$$[95\% \text{信頼限界}] = \sqrt{0.081 \times \left\{ 1 + \frac{1}{54} + \frac{(3.60 - 3.77)^2}{32.024} \right\}} \times 2.006 = 0.577 \dots = 0.58$$

よって、評価対象物質の $\log BCF_{\max} = 2.23 + 0.58 = 2.81$ と算出される。以上の結果から、「評価対象物質の $\log BCF$ は 2.81 未満である。」と定性的に予測する。

②Read-across(類推)による $\log BCF$ の定量的な生物濃縮性予測

評価対象物質($\log Pow$ (計算値)*3=3.60、 D_{\max} *4=13.0 Å)は、当報告書に記載された Read-across による生物濃縮性予測が可能な物質群である「脂肪族鎖状リン酸エステル 2」に該当することから、類縁物質に用いて Read-across による定量的な生物濃縮性予測を行う。Read-across に用いる類縁物質は、①分子構造の類似性(基本骨格、置換基)、②物理化学的性状($\log Pow$ 、 D_{\max})の両方の観点から選択する必要がある。そこで、次の条件に基づいて類縁物質の選択し、Read-across による予測を行った。

- ① 脂肪族鎖状リン酸エステル化合物
- ② 置換基が脂肪族炭化水素基(最大炭素数 6)、ハロゲン基、エーテル基
- ③ $\log Pow$ (計算値)*3 が 3.60(予測対象物質の $\log Pow$ の計算値) ± 1.0 の物質
- ④ $D_{\max} \geq 11 \text{ \AA}$ の物質

①-④の条件を踏まえ、トレーニングセット (36 物質)から 4 物質を評価対象物質の類縁物質として選択した。評価対象物質及び類縁物質 4 物質の各物理化学的性状値と $\log BCF$ を Table 18 に示す。これらの類縁物質 4 物質の $\log BCF$ の平均値を算出し、評価対象物質の $\log BCF$ (予測値)とする。

$$\log BCF(\text{予測値}) = \frac{(1.07 + 0.51 + 0.13 + 0.11)}{4} = 0.46$$

また、 t 分布表より($\alpha=0.05$ 、自由度 3、両側)のとき $t=3.182$ 、4 物質の $\log BCF$ の標準誤差(S.E.)=0.22 より、 $\log BCF$ (予測値)の 95%信頼限界は、

$$[95\% \text{信頼限界}] = 0.22 \times 3.182 = 0.70$$

よって、Read-across から算出される評価対象物質の $\log BCF$ (予測値)は、次のとおりである。

$$\log BCF(\text{予測値}) = 0.46 \pm 0.70$$

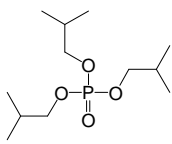
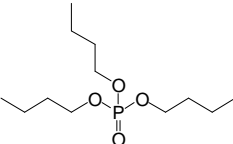
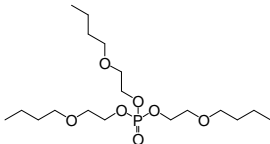
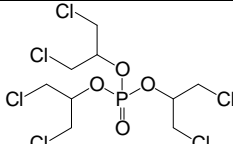
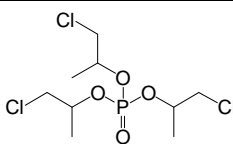
評価対象物質の生物濃縮性の評価

評価対象物質の Read-across による $\log BCF$ の予測結果及び類縁物質 4 物質の $\log Pow$ (計算値)と $\log BCF$ のプロットを Fig. 5 に示す。類似物質である 21 ($D_{\max}=16.8 \text{ \AA}$) は、Dimitrov

らが「分子サイズが生物濃縮性に影響を与える」ことを提案している $D_{max}=14.7\text{\AA}$ よりも大きく、分子サイズの影響によって低濃縮傾向となっている可能性がある。他方、物質 **21** と **27** ($D_{max}=12.0\text{\AA}$)、**28** ($D_{max}=11.7\text{\AA}$) の分子サイズと生物濃縮性との関係と比較すると、物質 **27**、**28** は分子サイズが小さいにもかかわらず、物質 **21** の $\log BCF$ 値よりも小さい傾向にある。これは、物質 **27**、**28** の生物濃縮性における代謝の影響によるものと考えられる。

以上のことを踏まえると、類似物質と構造類似性が高く、 $11.0\text{\AA} \leq D_{max} \leq 16.8\text{\AA}$ の間にある評価対象物質 ($D_{max}=13.0\text{\AA}$) の生物濃縮性は、類似物質 **15** から **28** の間にあることが予想されることから、Read-across(類推)による予測結果 ($\log BCF = 0.46 \pm 0.70$) を用いて、「高濃縮性ではない」と予測する。

Table18 トリブチルーリン酸エステル及び類縁物質 4 物質の物理化学的性状値と $\log BCF$

No.	評価対象物質	15	21
CAS No.	126-71-6	126-73-8	78-51-3
物質名	トリブチルーリン酸エステル	トリ-n-ブチル フォスフェート	リン酸トリ-n- ブトキシエチル
分子構造			
$\log BCF$	実測値	-	1.07
$\log Pow$	実測値	-	3.96
	計算値*3	3.60	3.82
分子量	266.3	266.3	398.5
沸点 [°C]	-	289(分解)	255.0
対水溶解性[ppm]	-	390	1100
D_{max} *4 [Å]	13.0	14.8	16.8
物質No.	27	28	
CAS No.	13674-87-8	13674-84-5	
物質名	トリス(1,3-ジクロロ- 2-プロピル) ホスファート	トリス(1-クロロ-2-ブ ロピル) = ホスファート / ト リス(1-クロロ-2-プロ ピル)ホスファートとトリス	
分子構造			
$\log BCF$	実測値	0.13	0.11
$\log Pow$	実測値	-	2.59
	計算値*3	3.65	2.89
分子量	430.9	327.6	
沸点 [°C]	236-237	235-248	
対水溶解性[ppm]	7	1600	
D_{max} *4 [Å]	12.0	11.7	

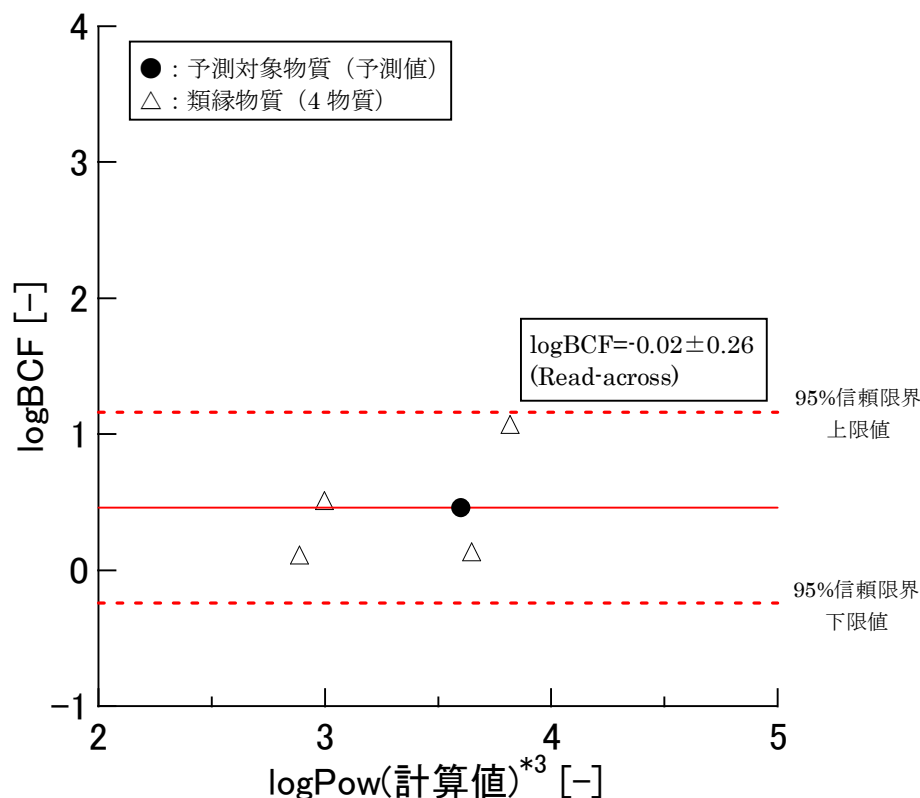


Fig.5 トリブチルーリン酸エステルの Read-across による logBCF の予測結果

7. 既存の構造活性相関ソフトウェアによる予測結果

カテゴリーVに該当する 36 物質において、既存の構造活性相関ソフトウェア(3 モデル、8. 参照)を用いて濃縮性予測を行った。各ソフトウェアを用いた logBCF の定量的な予測値と実測値のプロットを Fig.6-8 に示す。Fig.における R^2 、S.E.は、それぞれ logBCF(予測値)と logBCF(実測値)との間の決定係数(R^2)及び標準誤差(S.E.)の値である。

BCFBAF は、カテゴリーVに該当する 36 物質の中で 7 物質 (物質 No.11、14、18、31、33、34、36) に対して logBCF の定性的な予測を行い、その他の 29 物質に対して logBCF の定量的な予測が行われた(Table19)。BCFBAF では、リン酸エステル化合物に該当する物質の logBCF を算出する際に負の値を補正係数として用いる。この補正係数は、トレーニングセットに用いられた化合物の生物濃縮性から算出されるため、リン酸エステル化合物が低濃縮傾向にあることが反映され、負の補正係数として用いられたと考えられる。また、物質 11(logBCF(実測値)=0.91、logBCF(予測値)=3.25)は予測値と実測値が大きく異なる傾向にあった。

生物濃縮性予測システム (以下「CERI モデル」という) では、カテゴリーVに該当する 36 物質の中で 7 物質 (物質 No.1、4、11、12、13、16、19)に対して予測不能、11 物質 (物質 No3、14、18、25、27、28、31、32、34、36)に対して logBCF の定性的な予測、その他の 18 物質に対して logBCF の定量的な予測が行われた(Table20)。CERI モデルでは、エステル化合物は「加水分解によって変化物を生成するため、logBCF が予測困難な物質」として取り扱われる。また、一部のリン酸エステル化合物は「テンペル類」として取り扱われ、「BCF1,000 倍未満」と定性的に予測される。

Baseline モデルは、カテゴリーVに該当する全 36 物質の logBCF を定量的な予測が行われた。Baseline モデルでは代謝の影響が反応確率として算出されており、logBCF の算出に代謝の影響が考慮されている。カテゴリーVに該当するリン酸エステル化合物、エステル化合物は、Baseline モデルでは生体内での反応確率が 9 割以上と見積もられている。ただし、カルバメート化合物については、反応確率が 1 割以下と反応確率は低く見積もられている。また、物質 1(logBCF(実測値)=3.41、logBCF(予測値)=1.85) 及び物質 3(logBCF(実測値)=2.86、logBCF(予測値)=0.548)と実測値よりも予測値が低い傾向にあった。これは、1 におけるエステル基の代謝の影響が過剰に見積もられたこと、物質 3 は 5 つのアルコール基における代謝が過剰に見積もられたことが原因で、logBCF(予測値)が低く算出されたと考えられる。

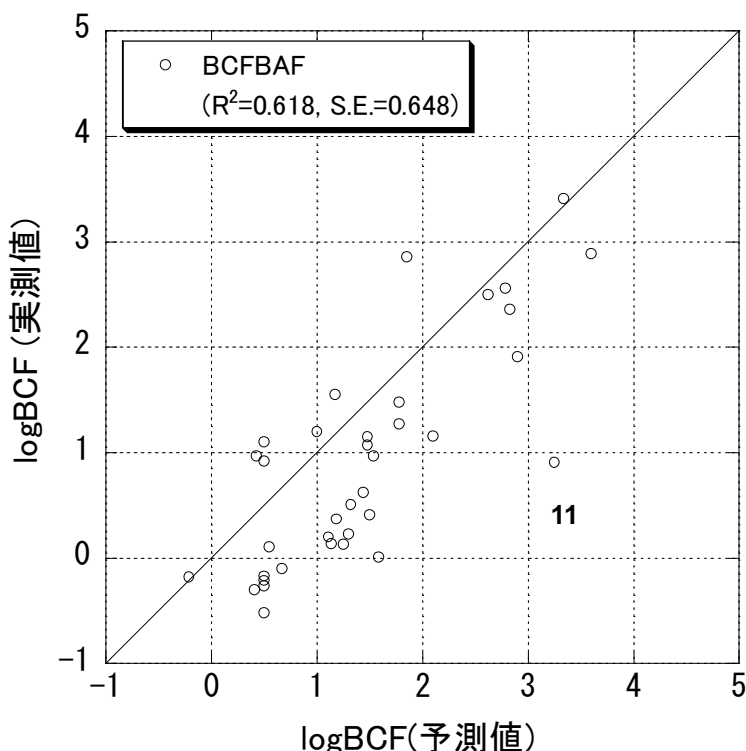


Fig.6 BCFBAF による生物濃縮性の予測結果
(カテゴリーVに該当する化審法既存化学物質 36 物質)

Table19 BCFBAF による生物濃縮性の定性予測及び定量予測の方法及び該当物質数

該当する定性予測及び定量予測の方法	該当物質数
$\text{Log BCF} = 0.6598 \log \text{Kow} - 0.333 + \text{Correction}$	18物質 (2,4,6,7,9,10,12,16,17,20, 22,23,24,25,26,29,30,35)
$\text{Log BCF} = 0.6598 \log \text{Kow} - 0.333 - 0.825(\text{Phosphate ester})$	7物質 (5,8,15,21,27,28,32)
Correction Factors Not Used for Log Pow < 1	6物質 (14,18,31,33,34,36)
$\text{Log BCF} = 0.6598 \log \text{Kow} - 0.333 - 1.374(\text{Alkyl chains (8+ -CH}_2\text{- groups)})$	1物質 (3)
$\text{Log BCF} = -0.49 \log \text{Kow} + 7.554 + \text{Correction}$	1物質 (1)
$\text{Log BCF} = -0.49 \log \text{Kow} + 7.554 - 0.596(\text{Alkyl chains (8+ -CH}_2\text{- groups)})$	1物質 (19)
$\text{Log BCF} = -0.49 \log \text{Kow} + 7.554 - 0.825(\text{Phosphate ester}) - 0.596(\text{Alkyl chains (8+ -CH}_2\text{- groups)})$	1物質 (13)
$\text{Log BCF} = 1.00 \{ \text{Aromatic Azo Specification} \}$	1物質 (11)

※括弧内の数字は該当する物質の物質No.

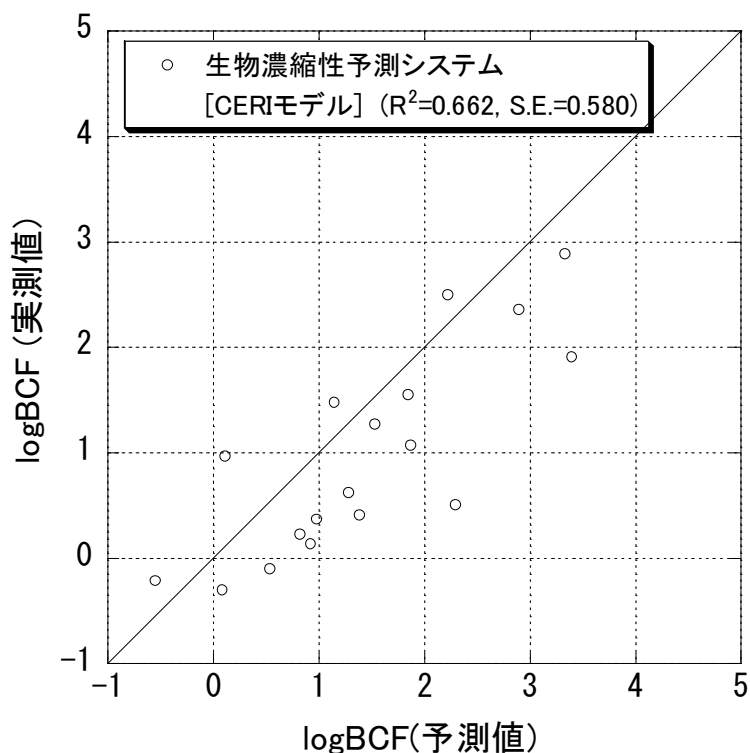


Fig.7 生物濃縮性予測システム（CERI モデル）による定量的な生物濃縮性予測の結果
（カテゴリーVに該当する化審法既存化学物質 18 物質）

Table20 生物濃縮性予測システム（CERI モデル）による生物濃縮性の
定性予測及び定量予測の方法及び該当物質数

該当する定性予測及び定量予測の方法	該当物質数
相関式a	16物質 (6,7,8,9,10,15,17,20,21, 22,23,24,26,30,33,35)
相関式b	2物質 (2,5)
BCF1,000倍未満(logPow<0)	4物質 (14,18,31,36)
BCF1,000倍未満(テンペル類)	3物質 (27, 28, 32)
BCF1,000倍未満(脂肪族アミン)	3物質 (3,25,34)
BCF1,000倍未満(ヘテロ環)	1物質(29)
予測不能(変化物生成(エステル))	5物質 (4, 11, 12, 16, 19)
予測不能(logPow≥7)	2物質 (1,13)

※括弧内の数字は該当する物質の物質No.

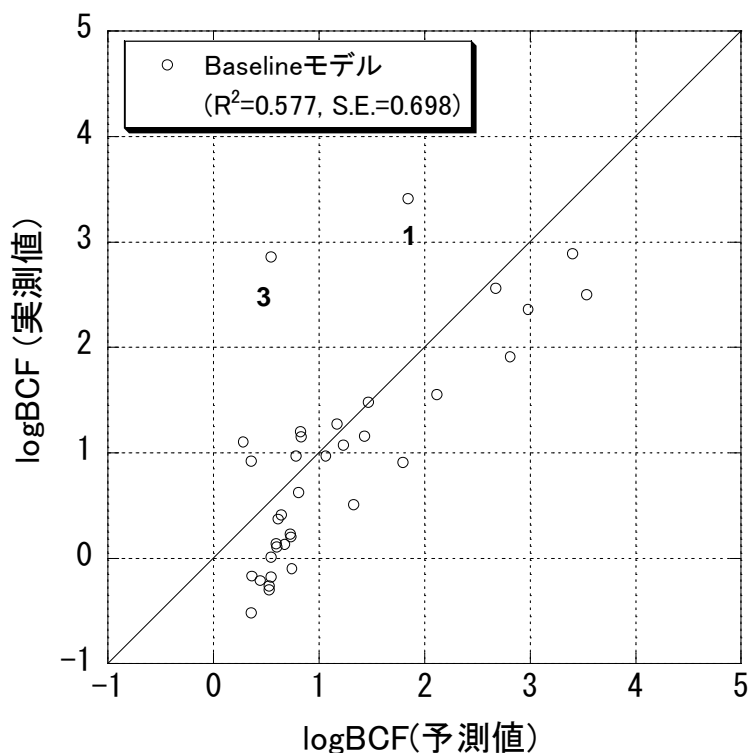


Fig.8 Baseline モデルによる生物濃縮性の予測結果
(カテゴリーVに該当する化審法既存化学物質 36 物質)

8. 解析に使用したデータ及びソフトウェア

8-1. 本報告書で用いた物質及び濃縮度試験データ

(1)ベースデータセット:

化審法既存点検による濃縮度試験結果が公表されている全 783 物質(平成 20 年 8 月 12 日まで)²⁾の中で、以下の条件を満たす 371 物質を解析データに使用した。

- 1) 有機低分子量かつ濃縮度試験が化合物単体で行われているもの(662 物質)
- 2) 対水溶解度が明確に測定されており、対水溶解度より低い濃度で濃縮度試験が行われたもの(417 物質)
- 3) 測定濃度が検出限界以下でなく、BCF 値が明確に測定されており、対象物質のみの濃縮性が測定されているもの(各物質の BCF 値には、最低濃度区の後半 3 週における魚 2 匹(6 点)の濃縮倍率の平均値を使用した。測定結果に「検出限界以下」の記述がある場合には、その上の濃度区のデータを解析に用いた)

(2)化審法新規化学物質のデータ

昭和 50 年度から平成 19 年度までに届け出られた化審法新規化学物質の中で、以下の条件を満たす 906 物質の濃縮度試験結果を検討に用いた。

- 1) 有機低分子量かつ濃縮度試験が化合物単体で行われているもの
- 2) 測定濃度が検出限界以下でなく、BCF 値が明確に測定されているもの(各物質の BCF 値には、最低濃度区の後半 3 週における魚 2 匹 (6 点) の濃縮倍

率の平均値を使用した。測定結果に【検出限界以下】の記述がある場合には、その上の濃度区のデータを解析に用いた)

(3) 予測例に用いた未点検の化審法既存化学物質

濃縮度試験が未実施の第2類から第5類に属する化審法既存化学物質で、平成19年度実績における年間の製造・輸入量³⁰⁾の合計が10t以上と確認された物質のうち、化学構造が特定可能な物質を用いた。

8-2. 本報告書で使ったソフトウェア

- (1) logPow(計算値)の算出： KOWWIN ver.1.67 (US EPA)
- (2) 分子を球に入れたとき最小となる直径(Dmax)の算出：
Database Manager 4.3 ver.1.3 (Laboratory of Mathematical Chemistry)
計算条件： Conversion mode: Automated OASIS
Conformer generation: Rapid
Calculation method: AM1
- (3) データ解析及びグラフ描画：
Igor Pro ver.5.05 (Wave Metrics)
Kaleida Ver.3.6 (Synergy Software)
OECD QSAR Toolbox ver2.2(Laboratory of Mathematical Chemistry)
- (4) 構造活性相関ソフトウェア：
BCFBAF ver.3.00 (US EPA)
濃縮性予測システム ver.1.00.0.00[CERIモデル] ((一財)化学物質評価研究機構)
Catabol ver.5.10.8[Baselineモデル] (Laboratory of Mathematical Chemistry)

9. 参考文献

- 1) OECD原則に基づく構造活性相関モデルのバリデーション
BIOWIN5：http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/biowin5.pdf
生分解性予測システム：http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/ceri.pdf
Catabol：http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/catabol.pdf
- 2) 化学物質総合情報システム(CHRIP)：<http://www.safe.nite.go.jp/japan/db.html>
- 3) カテゴリーアプローチによる生物濃縮性予測に関する報告書(カテゴリーⅠ)：
[http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/category_approach\[1\].pdf](http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/category_approach[1].pdf)
- 4) カテゴリーアプローチによる生物濃縮性予測に関する報告書(カテゴリーⅡ-A)：
[http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/category_approach\[2A\].pdf](http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/category_approach[2A].pdf)
- 5) カテゴリーアプローチによる生物濃縮性予測に関する報告書(カテゴリーⅡ-A)：
[http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/category_approach\[2B\].pdf](http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/qsar_pdf/category_approach[2B].pdf)
- 6) 古賀直文, 生体膜と膜透過, 南江堂, 46-65(1964)
- 7) Lipinski CA., Advanced Drug Delivery Reviews, **23(1-3)**, 3-25(1997).
- 8) Hayton WL., *Environmental Toxicology and Chemistry*, **9(2)**, 151-157(1990).
- 9) Isaia J., *The Journal of Physiology*, **326(1)**, 297-307(1982).

- 10) 構造活性相関懇話会編, 薬物の構造活性相関 ドラッグデザインと作用機作研究への指針, 南江堂, 365-371(1979).
- 11) 加藤隆一, 臨床薬物動態学 改訂第3版, 南江堂, 5-8(2003).
- 12) M. CRAIG BARBER, *Environmental Toxicology and Chemistry*, **22(9)**, 1963-1992 (2003).
- 13) 若林明子, 化学物質と生態毒性 改訂版, 丸善, 193-196(2003).
- 14) Cowan-Ellsberry C. E. et al., *Chemosphere*, **70(10)**, 1804-17(2008).
- 15) Murphy P. G. et al., *Environ. Int.*, **16**, 219-230(1990).
- 16) Robinson R. A., *Unpublished report of The Dow Chemical Company*, RH-117, 281(1998).
- 17) Murphy P. G. et al., *Unpublished report of The Dow Chemical Company*, ES-928, (1986).
- 18) Barron M.G. et al., *Unpublished report of The Dow Chemical Company*, ES-2269 (1990).
- 19) Rick D. L. et al., *Unpublished report of The Dow Chemical Company*, RH-117, 281(1998).
- 20) Katagi T., *Reviews of environmental contamination and toxicology*, 1-132(2010).
- 21) 今井 輝子, 日本薬理学雑誌, **134(5)**, 281-284(2009).
- 22) Zhang Y. et al., *J. ENVIRON. SCI.(CHINA)*, **4(4)**, 46-51(1992).
- 23) OECD Quantitative Structure-Activity Relationships [(Q)SARs] Project :
http://www.oecd.org/document/23/0,3343,en_2649_34365_33957015_1_1_1_1,00.html
- 24) Ramesh C. Gupta, *Toxicology of Organophosphate & Carbamate Compounds*, 134-135(2005).
- 25) Krishna JG et al., *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **14(2)**, 98-105(1966).
- 26) REACH Implementation Projects :
http://guidance.echa.europa.eu/docs/guidance_document/information_requirements_r11_en.pdf?vers=20_08_08
- 27) Dimitrov SD, *QSAR Combinatorial Sci.*, **22**, 58-68(2003)
- 28) Sakuratani Y, *J. Environ. Biol.*, **29**, 89-92(2008).
- 29) Chessells M., *Ecotoxicology and environmental safety*, **23(3)**, 260-273(1992).
- 30) 経済産業省 HP(化学物質の製造・輸入量に関する実態調査(平成19年度実績)結果報告(確報)) :
http://www.meti.go.jp/policy/chemical_management/kasinhou/kakuhou19.html
- 31) Nishihara T., Saito S., Matsuo M., *Pharmaceutical Society of Japan*, **39**, 494-508(1993).
- 32) Israelachvili J. N., 分子間力と表面力 第2版, 朝倉書店, 393-400(1996).
- 33) 西尾元宏, 有機化学のための分子間力入門, 16-22(2009).
- 34) 木下實ほか訳, ベッカー 一般化学 上, 300(1983).

1. 化学物質の魚体中への取り込みと排出の考え方³¹⁾

1.1 速度論的解釈

一般的な化学物質の魚類における取り込みと排出は、基本的に受動拡散によって起こる。ここで、魚類における水中の化学物質の取り込みと排出の速度定数を K_1 、 K_2 、時間を t とおき、生物濃縮の過程をコンパートメントモデル(Fig.1 の左図)で表現すると、水中の化学物質濃度(C_w)と魚体中の化学物質濃度(C_f)は、次の速度式で表現される。

$$\frac{dC_w}{dt} = K_2 \cdot C_f - K_1 \cdot C_w \quad (1)$$

$$\frac{dC_f}{dt} = K_1 \cdot C_w - K_2 \cdot C_f \quad (2)$$

$t=0$ のとき $C_f=0$ より、(2)式を積分して整理すると、(3)式が与えられる。

$$C_f = \frac{K_1}{K_2} \cdot C_w [1 - \exp(-K_2 t)] \quad (3)$$

$t=\infty$ のとき、(4)式が成立することから、 $BCF=(C_f / C_w)$ が取り込みと排出の速度定数の比として表現されることがわかる。

$$\frac{K_1}{K_2} = \frac{C_f}{C_w} = BCF \quad (4)$$

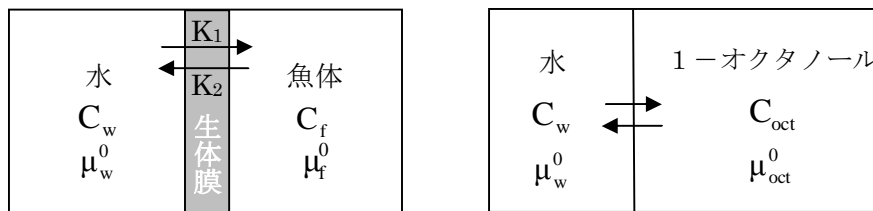


Fig.1 生物濃縮過程における水-魚体中と1-オクタノール中の化学物質の平衡(模式図)

1.2 熱力学的解釈

化学物質の魚類における取り込みと排出に伴う熱力学的な変化を考えると、 $BCF=(C_f / C_w)$ は化学物質の水中における標準化学ポテンシャル(μ_w^0)と魚体中における標準化学ポテンシャル(μ_f^0)の差として考えることができる(Fig.1 の左図)。

$$\mu_f^0 - \mu_w^0 = -RT \cdot \ln\left(\frac{C_f}{C_w}\right) \quad (5)$$

$$= -2.303 \cdot RT \cdot \log BCF \quad (6)$$

ここで R は気体定数、 T は絶対温度である。

2. 化学物質の生物濃縮性(logBCF)とlogPowの関係³¹⁾

化学物質の疎水性を計る指標の一つとして用いられる1-オクタノール/水分分配係数(Pow)^{*2}は、1-オクタノール中の標準化学ポテンシャル(μ_{oct}^0)と μ_w^0 の差として考えることができ、(7)式が成り立つ(Fig.1 の右図)。

$$\mu_{\text{oct}}^0 - \mu_{\text{w}}^0 = -RT \cdot \ln \text{Pow} \quad (7)$$

$$= -2.303 \cdot RT \cdot \log \text{Pow} \quad (8)$$

よって、 $\mu_{\text{oct}}^0 \propto \mu_{\text{f}}^0$ のとき、(6)、(8)から次式が成立する。

$$\log \text{BCF} = a \cdot \log \text{Pow} - b \quad (9)$$

ここで、 a 、 b は任意の定数である。

このように化学物質の 1-オクタノール中における標準化学ポテンシャル(μ_{oct}^0)と魚体中における標準化学ポテンシャル(μ_{f}^0)が近似または比例関係($\mu_{\text{oct}}^0 \propto \mu_{\text{f}}^0$)を示す場合に、 $\log \text{BCF}$ と $\log \text{Pow}$ との間に直線関係が成り立つ。 μ_{oct}^0 と μ_{f}^0 の比例関係からの逸脱は、化学物質と 1-オクタノールまたは魚体中の生体分子(脂肪、リン脂質など)との間における分子間相互作用(ファンデルワールス力、双極子-双極子相互作用、水素結合性相互作用、イオン性相互作用)の違いによって生じると考えられる。

1-オクタノールは、一般に生体分子の代替物(Surrogate)としてよく用いられるが、水素結合性相互作用、イオン性相互作用などの比較的強い(極性)相互作用に関係し得るのはアルコール基(-OH)のみであって、リン脂質に含まれるアミノ基(-NH₂、-NHR、-NRR')などの生体分子の多種多様な官能基の特性を全て記述できるわけではない。従って、水素結合性相互作用、イオン性相互作用が生物濃縮性に影響を与える物質では、 μ_{oct}^0 と μ_{f}^0 の違いが顕著となり、また、その違いの程度は個々の物質によって異なることから、 $\mu_{\text{oct}}^0 \propto \mu_{\text{f}}^0$ の関係は成立し難い。

一方、ファンデルワールス力、双極子-双極子相互作用などの比較的弱い(非極性)相互作用のみが生物濃縮性に影響を与える物質群では、上述のような違いは生じ難いと考えられ、 μ_{oct}^0 と μ_{f}^0 は近似または比例関係を示し、 $\log \text{Pow}$ と $\log \text{BCF}$ は直線関係を持つことが期待できる。

3. 化学物質の分子間相互作用と静電的相互作用の関係^{32),33),34)}

生体膜透過における化学物質と生体膜分子との分子間相互作用は、大まかに A.ファンデルワールス力、B.双極子-双極子相互作用、C.水素結合性相互作用、D.イオン性相互作用の 4 つに分類される(別添 1 の 3. 参照)。一般的に $A < B < C < D$ の順で右にいくほど分子間相互作用が強く、A が主要な分子間相互作用として働く物質(カテゴリー I)は、物質の生体膜透過における濃度勾配以外の影響因子が少なく、 $\log \text{Pow}$ と $\log \text{BCF}$ が良好な相関を持つ。一方、A に加えて B 及び C が働く物質(カテゴリー II-A 及び II-B)、D が働く物質(カテゴリー III)は、カテゴリー I に該当する物質よりも生体膜透過における分子間相互作用が強く働き、 $\log \text{Pow}$ と $\log \text{BCF}$ との相関性に影響を及ぼす(すなわち相関性が低下する)可能性がある。4 つの分子間相互作用における静電的相互作用と静電的相互作用エネルギーの理論式を Table 1 に示す。A は分散力(誘起双極子-誘起双極子の静電的相互作用)に起因する力^注、B は配向力(双極子-双極子の静電的相互作用)に起因する力である。C は B の一種とも考えることができる力で、電気陰性度が高い酸素原子や窒素原子などに結合した水素が正電荷に分極されることによって、配向力が特に強く働くことに起因した力である。D は 2 つの荷電した原子に働くクーロン力(イオン-イオンの静電的相互作用)に起因する力で、分子間相互

作用の中でも特に強い力である。

注:A.ファンデルワールス力は厳密には、分散力(誘起双極子-誘起双極子の静電的相互作用)、誘起力(誘起双極子-双極子の静電的相互作用)、配向力(双極子-双極子の静電的相互作用)の3つに起因する力と定義されるが、誘起力と配向力の寄与は分散力と比較すると極めて小さいため、ここでは考慮していない。

Table 1 分子間相互作用における静電的相互作用と
静電的相互作用エネルギーの関係^{14),15),16)}

分子間相互作用	分子間相互作用において 主に働く静電的相互作用	静電的相互作用 エネルギーの理論式	分子間相互作用 エネルギーの大きさ [kJ mol ⁻¹]
A.ファンデルワールス力	誘起双極子-誘起双極子	$V \propto \frac{\alpha\alpha'}{r^6}$ (1)	< 1
B.双極子-双極子相互作用	双極子-双極子	$V \propto \frac{\mu^2\mu'^2}{r^6}$ (2)	< 2
C.水素結合性相互作用	水素結合	不詳	10~30
D.イオン性相互作用	イオン-イオン	$V \propto \frac{qq'}{r}$ (3)	400~4000

V : 相互作用エネルギー、 r : 2分子間の距離
 α : 分極率、 μ : 双極子モーメント、 q : 点電荷

4. 既存の蓄積性 QSAR ソフトウェアにおける代謝反応の取扱い

BCFBFAF(US EPA)の場合

US EPA で開発された BCFBAF では、下記の式(10)~(15)を用いて BCF が算出される。BCF の算出における代謝の補正には、代謝速度 (k_M) をが用いられており、この値は予測対象物質の分子構造(フラグメント)に割り当てられている固有の値の和から算出される半減期($t_{1/2}$)から算出される。

$$BCF = (1 - L_B) + (k_1 \cdot \phi / k_2 + k_E + k_G + k_M) \quad (10)$$

$$k_1 = 1 / ((0.01 + 1 / Kow) \cdot W^{0.4}) \quad (11) \quad k_2 = k_1 / L_B \cdot Kow \quad (12)$$

$$k_E = 0.125k_D \quad (13) \quad k_G = 0.0005 \cdot W^{-0.2} \quad (14)$$

$$k_D = 0.02 \cdot W^{-0.15} \cdot e^{(0.06-T)} / (5.1 \cdot 10^{-8} \cdot Kow + 2) \quad (15)$$

L_B : 脂質含量 [%] (初期値 : 20%)、 k_1 : 取り込み速度定数 [day⁻¹]
 Φ : 水中における自由に溶解された化学物質の割合 [-]、 k_2 : 排泄速度定数 [day⁻¹]
 k_E : 糞便からの排泄 [day⁻¹]、 k_G : 成長速度定数 [day⁻¹]、 k_M : 代謝速度定数 [day⁻¹]
 W : 体重 [kg] (初期値 : 1kg)、 Kow : 1-オクタノール-水分配係数、 T : 水温 [°C] (初期値 : 10°C)
 V : 相互作用エネルギー、 r : 2分子間の距離

Baseline Model (Laboratory of Mathematical Chemistry)の場合

ブルガリアにある Prof. Assen Zlatarov 大学の Dimitrov らによって開発された Baseline Model では、次の式(16)を用いて logBCF の予測を行う。

$$\log BCF = \log\left(F_{Meta} \frac{P^n}{(aP+1)^{2n}} + F_w\right) + F_{MS} + F_I \quad (16)$$

$$\left(\begin{array}{l} F_{Meta} : \text{物質の代謝性、} P : \text{1-オクタノール/水分分配係数} \\ F_{MS} : \text{物質の分子サイズ、} F_I : \text{物質の解離性} \\ a, n, F_w : \text{定数} \end{array} \right)$$

logP で表される logBCF の非線形の相関式 (Baseline) から、Mitigation factors (F_{Meta} 、 F_{MS} 、 F_I) を差し引くことで logBCF が予測される (Fig.2)。代謝の影響が大きい物質は、 F_{Meta} で表現される Mitigation factors によって低濃縮の方向に補正され、logBCF の予測値が算出される。

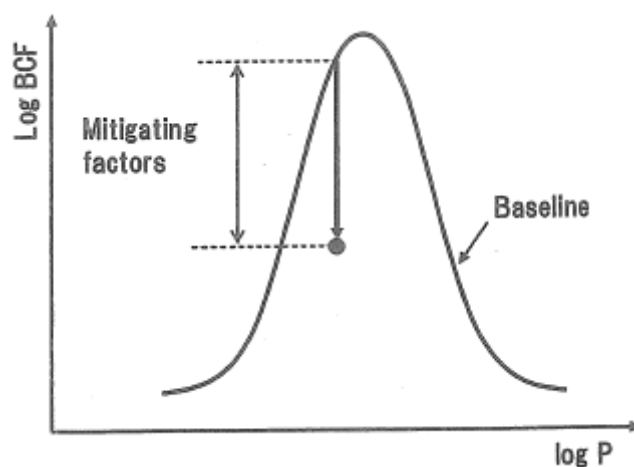


Fig.2 Baseline Model による logBCF 予測のイメージ図

1. カテゴリーVに該当する生物濃縮性が既知の化審法既存化学物質のリスト

Table1 トレーニングセット(化審法既存化学物質(全 36 物質))

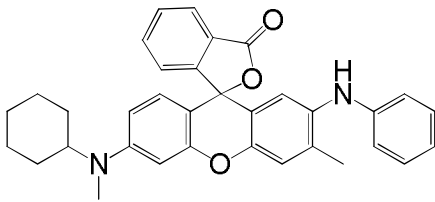
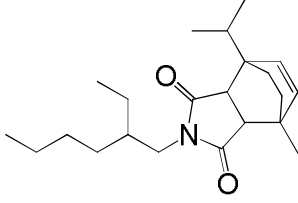
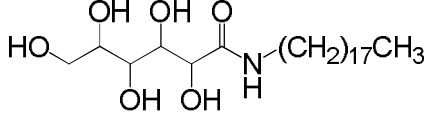
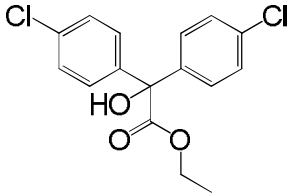
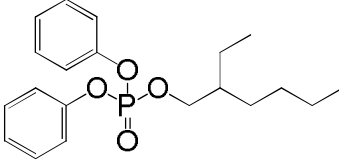
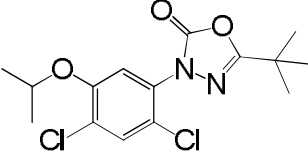
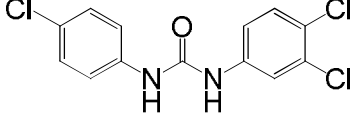
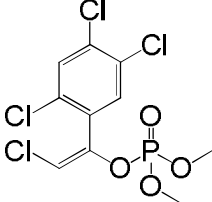
No.	CAS No.	分子構造	分子量	D _{max} [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
1	55250-84-5		516.629	20.71	3.41	-	8.60
2	13358-11-7		345.519	16.12	2.89	5.96	6.07
3	18375-66-1		447.649	34.41	2.86	-	5.39
4	510-15-6		325.187	13.25	2.56	4.74	3.99
5	1241-94-7		362.4	17.06	2.50	-	6.30
6	19666-30-9		345.221	13.88	2.36	4.75	4.81
7	101-20-2		315.582	15.12	1.91	2.91	4.90
8	961-11-5		365.962	12.21	1.55	3.55	3.81

Table1 トレーニングセット(化審法既存化学物質(全 36 物質)) [続き]

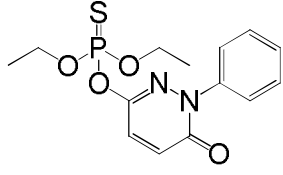
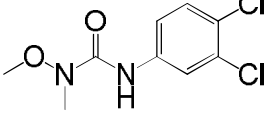
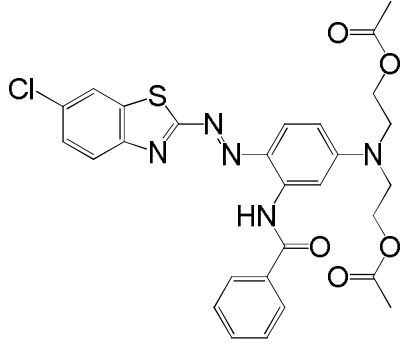
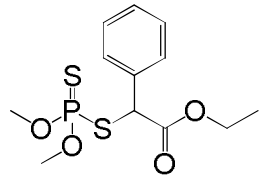
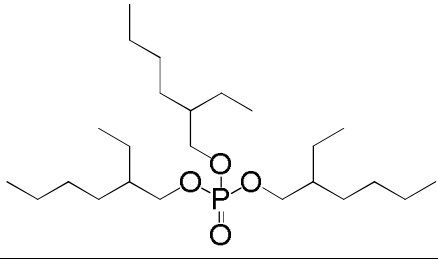
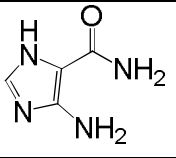
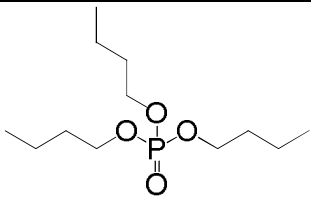
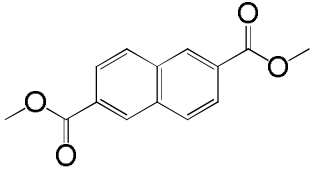
No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
9	119-12-0		340.335	14.29	1.48	-	3.66
10	330-55-2		249.094	13.13	1.27	3.14	2.91
11	26630-87-5		580.055	19.18	1.20	-	6.28
12	2597-03-7		320.365	12.81	1.16	3.55	3.47
13	78-42-2		434.633	19.23	1.15	5.04	9.49
14	72-40-2		126.117	8.76	1.10	-	-1.47
15	126-73-8		266.314	14.76	1.07	3.96	3.82
16	840-65-3		244.243	15.09	0.97	-	2.84

Table1 トレーニングセット(化審法既存化学物質(全 36 物質)) [続き]

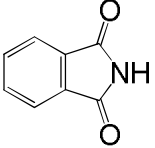
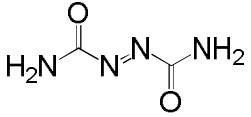
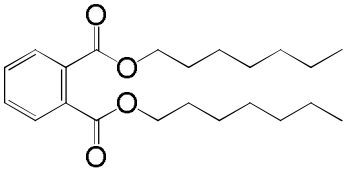
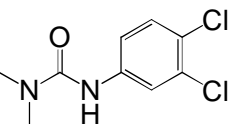
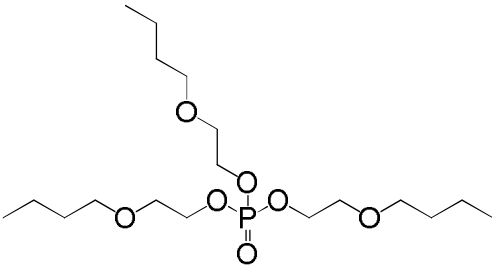
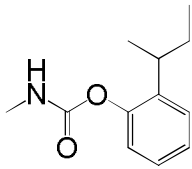
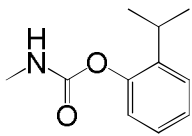
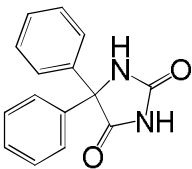
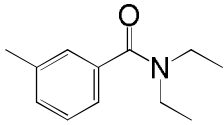
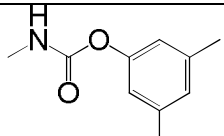
No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
17	85-41-6		147.131	8.83	0.97	1.13	1.30
18	123-77-3		116.079	9.44	0.92	-	-3.89
19	3648-21-3		362.503	17.34	0.91	5.18	7.56
20	330-54-1		233.095	12.84	0.62	2.84	2.67
21	78-51-3		398.472	16.82	0.51	3.75	3.00
22	3766-81-2		207.269	12.23	0.41	2.79	2.86
23	2631-40-5		193.242	11.49	0.37	2.29	2.37
24	57-41-0		252.268	10.89	0.23	2.47	2.16
25	134-62-3		191.269	11.76	0.20	2.06	2.26
26	2655-14-3		179.216	11.71	0.14	2.24	2.27

Table1 トレーニングセット(化審法既存化学物質(全 36 物質)) [続き]

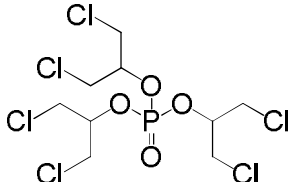
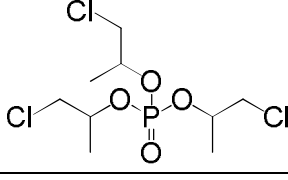
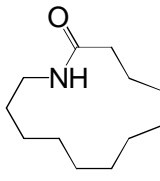
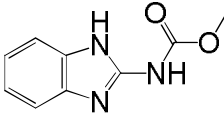

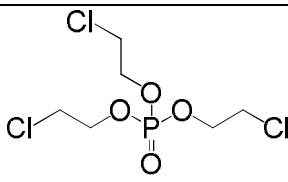
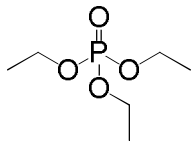
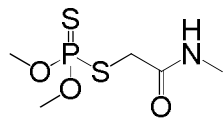
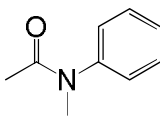
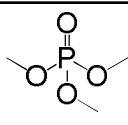
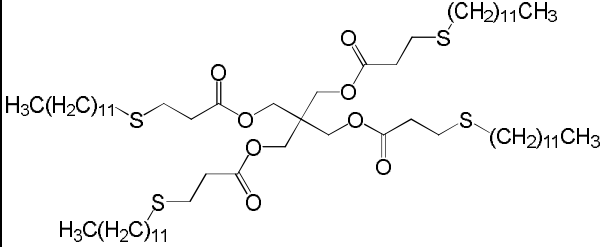
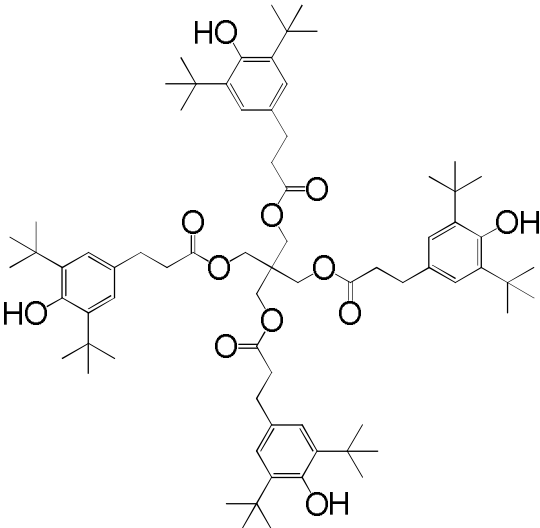
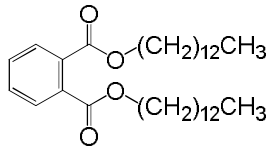
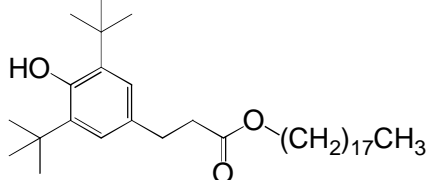
No.	CAS No.	分子構造	分子量	D _{max} [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
27	13674-87-8		430.905	12.04	0.13	-	3.65
28	13674-84-5		327.57	11.73	0.11	2.59	2.89
29	947-04-6		197.317	9.88	0.01	2.92	3.61
30	10605-21-7		191.187	13.31	-0.10	1.52	1.55
31	68-12-2		73.0938	6.74	-0.17	-1.01	-0.93
32	115-96-8		285.49	12.38	-0.18	1.44	1.63
33	78-40-0		182.155	10.85	-0.21	0.79	0.87
34	60-51-5		229.257	11.65	-0.26	0.79	0.28
35	579-10-2		149.19	10.40	-0.30	1.12	0.93
36	512-56-1		140.075	8.59	-0.52	-0.49	-0.60

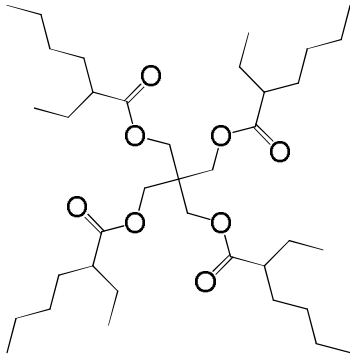
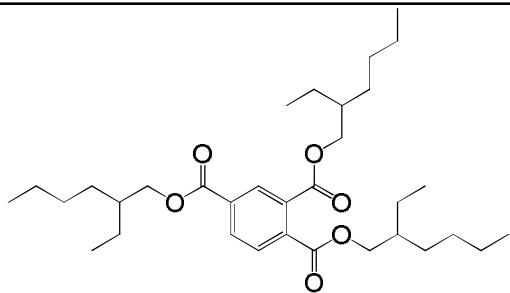
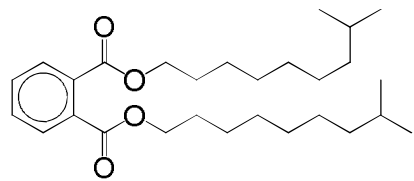
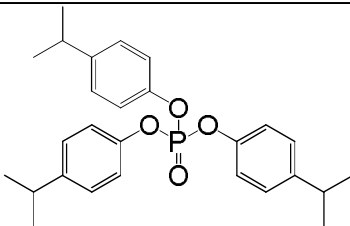
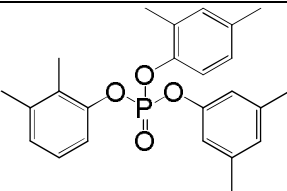
Table2 カテゴリーVに該当する既存化学物質
 (濃縮度試験におけるBCFが検出限界以下の24物質)

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
37	29598-76-3		1161.94	44.24	n.d.	-	24.77
38	6683-19-8		1177.63	24.88	n.d.	-	19.6
39	119-06-2		530.82	28.55	n.d.	-	13.45
40	2082-79-3		530.87	35.13	n.d.	-	13.41

※n.d. 検出限界以下

Table2 カテゴリーVに該当する既存化学物質

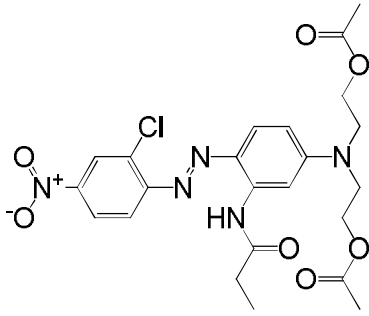
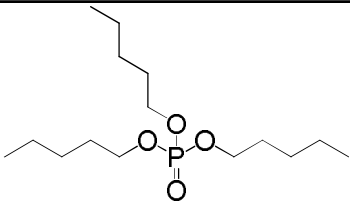
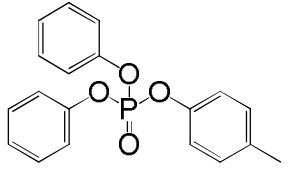
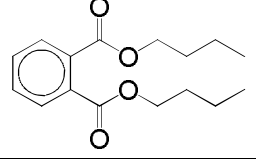
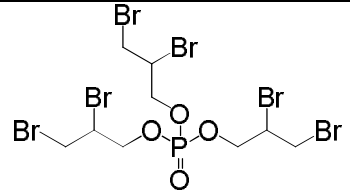
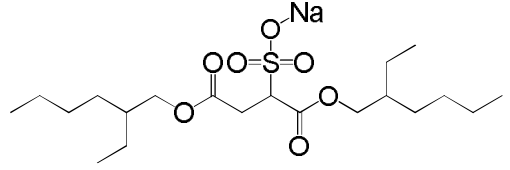
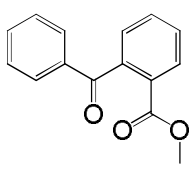
(濃縮度試験におけるBCFが検出限界以下の24物質) [続き]

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
41	7299-99-2		640.93	19.43	n.d.	-	12.34
42	26787-65-5	<chem>HOCH2CH2OC(=O)(CH2)26CH3</chem>	468.80	41.60	n.d.	-	12.17
43	3319-31-1		546.78	21.03	n.d.	5.94	11.59
44	26761-40-0		446.66	30.51	n.d.	-	10.36
45	26967-76-0		452.52	16.68	n.d.	-	9.07
46	25155-23-1		410.44	15.29	n.d.	-	7.98

※n.d. 検出限界以下

Table2 カテゴリーVに該当する既存化学物質

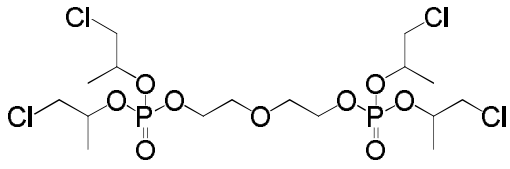
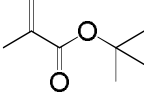
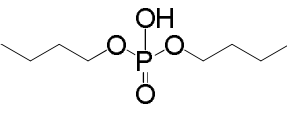
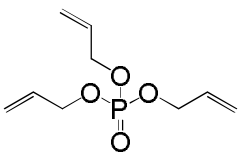
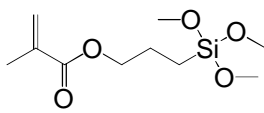
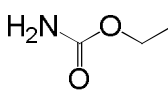
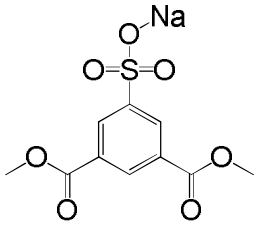
(濃縮度試験におけるBCFが検出限界以下の24物質) [続き]

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [A]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
47	61968-52-3		519.94	16.53	n.d.	4.53	5.39
48	2528-38-3		308.39	16.80	n.d.	-	5.29
49	26444-49-5		340.31	14.51	n.d.	-	5.25
50	84-74-2		278.34	13.79	n.d.	4.56	4.61
51	126-72-7		697.61	14.89	n.d.	3.71	4.19
52	577-11-7		444.56	CC	n.d.	-	3.95
53	606-28-0		240.25	11.64	n.d.	2.70	2.98

※n.d. 検出限界以下

Table2 カテゴリーVに該当する既存化学物質

(濃縮度試験におけるBCFが検出限界以下の24物質) [続き]

No.	CAS No.	分子構造	分子量	Dmax [Å]	logBCF (実測値) [-]	logPow (実測値) [-]	logPow (計算値) [-]
54	52186-00-2		572.18	19.25	n.d.	-	2.83
55	585-07-9		142.20	9.87	n.d.	2.54	2.64
56	107-66-4		210.21	13.91	n.d.	-	2.29
57	1623-19-4		218.19	11.53	n.d.	1.76	1.94
58	2530-85-0		248.35	12.92	n.d.	-	0.75
59	51-79-6		89.09	8.22	n.d.	-0.15	-0.02
60	3965-55-7		296.23	CC	n.d.	-	-3.28

※n.d. 検出限界以下

用語集：

【BCFBFAFver.3.00】

アメリカの EPA で使用されているモデルで、以前開発された BCFWIN の改良版のプログラム。予測対象物質をイオン性と非イオン性に分類し、 $\log\text{Pow}$ - $\log\text{BCF}$ の相関式から生物濃縮係数 (BCF) を予測する。 $\log\text{Pow}$ の算出には KOWWIN を使用する。また、化学物質の魚類における生体内反応速度の予測や生物蓄積係数 (BAF) を予測することも可能である。

【CERI モデル ver.2.18】

(財)化学物評価研究機構によって開発されたモデル。予測対象物質を分子構造によって予測困難物質、定性予測を行う物質、 $\log\text{Pow}$ - $\log\text{BCF}$ の相関式を用いて予測する物質に分類し、BCF の予測を行う。 $\log\text{Pow}$ の算出には ClogP を使用する。

【Baseline Model ver.5.100】

ブルガリアにある Prof. Assen Zlatarov 大学の Dimitrov らによって提唱されたモデル。このモデルでは、 $\log\text{Pow}$ で表される受動拡散の式から $\log\text{BCFmax}$ を算出し、この値から物質の代謝性、分子サイズ、解離性などで表される Mitigation Factor を引くことによって BCF の予測を行う。物質の代謝性は、論文等で公表されている Rat の代謝情報をデータベース化したシミュレータより求める。分子サイズは、自動生成されるいくつかの分子配座を初期構造とし、半経験的量子化学計算を用いて計算される最安定構造から算出する。量子化学計算には MOPAC、 $\log\text{Pow}$ の算出には KOWWIN を使用する。