

### [3] トリブチルアミン

本資料は、第1編「トリブチルアミン」の生態リスク初期評価において実施した定量的構造活性相関 (QSAR) 等による検討の詳細を解説するものである。

なお、ここでの定量的構造活性相関 (QSAR) 等による検討は、本生態リスク初期評価において参考情報として用いることを目的としており、他の評価において利用できることを保証するものではない。

#### 1. 検討対象とした理由

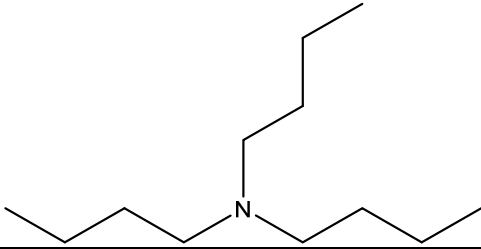
本物質について、採用可能とされた実験値は、3生物群（藻類等、甲殻類等、魚類）の急性毒性値及び藻類等の慢性毒性値であり、甲殻類等及び魚類の慢性毒性値は得られていない。本物質のようなアミン類では、甲殻類の急性毒性よりも慢性毒性に特に強い影響を示す場合があるという専門家の意見を踏まえ、甲殻類の慢性毒性について QSAR による予測や類推を検討した。

#### 2. QSAR による予測

QSAR モデルには、国内外で広く用いられている KATE2020ver4.1<sup>a</sup>及び ECOSAR2.2<sup>b</sup>を用いた。これら2つの QSAR モデルは、化学物質の特徴的な部分構造等に基づき複数の QSAR クラス（分類）を定義している。各 QSAR クラスには、部分構造等の定義に当てはまり、かつ生態毒性試験の実験結果（実験値）を有する既存の化学物質が参照物質として割り当てられている。そして、各 QSAR クラスにおいて、参照物質のデータを用いて、毒性値を被説明変数とし、主に log Kow を説明変数とした、回帰分析による毒性予測を行っている。

上記2つの QSAR モデルで QSAR 予測を実施した本物質の情報を別表1に示す。

別表1 QSAR 予測対象物質の情報

|                            | QSAR 予測対象物質  |
|----------------------------|--|
| 構造                         |  |
| SMILES                     | CCCCN(CCCC)CCCC  |
| 分子量                        | 185.35   |
| log Kow<br>(KOWWIN による推定値) | 4.46   |

別表1の情報をを用いて、QSAR モデルによって求めた急性毒性、慢性毒性の予測結果の概要をそれぞれ別表2、別表3に示す。

a : 国立研究開発法人国立環境研究所 生態毒性予測システム KATE2020 version4.1. (2023年10月2日確認) <https://kate.nies.go.jp/onnet2020-e.html>

b : U.S. Environmental Protection Agency, ECOSAR v2.2. (2023年10月2日確認) <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/ecological-structure-activity-relationships-ecosar-predictive-model>

本検討においては、検討対象とする毒性について、以下の条件（以下、指標という。）を満たす回帰式から、適用領域内と判定された QSAR 予測結果についてのみ妥当性を検討した。

- 回帰式の条件
  - 当てはまりの良さの指標としての決定係数 ( $R^2$ ) が 0.7 以上
  - 毒性試験データ数(n)が 5 以上
  - leave-one-out による内部バリデーション指標 ( $Q^2$ )が 0.5 以上 (KATE のみ)
- 適用領域内の判定
  - 本物質の log Kow が参照物質の log Kow 最小と最大の範囲内にある
  - 部分構造判定において適用領域内であると判定される (KATE のみ)

別表 2 QSAR を用いた急性毒性予測結果の概要

| 生物群 | QSAR 予測値 [μg/L] | エンドポイント              | QSAR モデル      | QSAR クラス                                  | [log Kow range] | Max log Kow | $R^2$ | n   | $Q^2$ | 適用領域     |      |
|-----|-----------------|----------------------|---------------|---|-----------------|-------------|-------|-----|-------|----------|------|
|     |                 |                      |               |   |                 |             |       |     |       | log Kow  | 部分構造 |
| 藻類  | 64              | 96h EC <sub>50</sub> | ECOSAR2.2     | Aliphatic Amines                          | [-1.6, 5.7]     | 6.4         | 0.78  | 35  | —     | —        | —    |
|     | 1,300           | 96h EC <sub>50</sub> | ECOSAR2.2     | Neutral Organics                          | [1.3, 5.3]      | 6.4         | 0.68  | 41  | —     | —        | —    |
|     | 9,400           | 72h EC <sub>50</sub> | KATE2020 v4.1 | CNO_X amine sec,tert unreactive aliphatic | [-0.80, 1.70]   | —           | 0.31  | 5   | -0.95 | out of + | in   |
| 甲殻類 | 140             | 48h LC <sub>50</sub> | ECOSAR2.2     | Aliphatic Amines                          | [-2.2, 4.4]     | 5.0         | 0.76  | 24  | —     | —        | —    |
|     | 670             | 48h LC <sub>50</sub> | ECOSAR2.2     | Neutral Organics                          | [-2.7, 5]       | 5.0         | 0.77  | 98  | —     | —        | —    |
|     | 9,900           | 48h EC <sub>50</sub> | KATE2020 v4.1 | CNO_X amine sec,tert unreactive aliphatic | [-0.80, 4.37]   | —           | 0.89  | 6   | 0.64  | out of + | in   |
| 魚類  | 860             | 96h LC <sub>50</sub> | ECOSAR2.2     | Aliphatic Amines                          | [-2.5, 4.8]     | 5.0         | 0.79  | 90  | —     | —        | —    |
|     | 940             | 96h LC <sub>50</sub> | ECOSAR2.2     | Neutral Organics                          | [-1.8, 5]       | 5.0         | 0.88  | 296 | —     | —        | —    |
|     | 3,100           | 96h LC <sub>50</sub> | KATE2020 v4.1 | CNO_X amine sec,tert unreactive aliphatic | [-0.59, 4.74]   | —           | 0.73  | 16  | 0.64  | in       | in   |

別表 3 QSAR を用いた慢性毒性予測結果の概要

| 生物群 | QSAR 予測値 [μg/L] | エンドポイント  | QSAR モデル      | QSAR クラス   | [log Kow range] | Max log Kow | $R^2$ | n  | $Q^2$ | 適用領域     |      |
|-----|-----------------|----------|---------------|--|-----------------|-------------|-------|----|-------|----------|------|
|     |                 |          |               |  |                 |             |       |    |       | log Kow  | 部分構造 |
| 藻類  | 23              | 72h NOEC | KATE2020 v4.1 | CNO_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso | [-0.80, 4.67]   | —           | 0.72  | 21 | 0.65  | in       | in   |
|     | 26              | ChV      | ECOSAR2.2     | Aliphatic Amines                                   | [-1.5, 5.7]     | 8.0         | 0.83  | 13 | —     | —        | —    |
|     | 560             | ChV      | ECOSAR2.2     | Neutral Organics                                   | [-1.2, 5.9]     | 8.0         | 0.70  | 34 | —     | —        | —    |
|     | 1,600           | 72h NOEC | KATE2020 v4.1 | CNO_X amine sec,tert unreactive aliphatic          | [-0.80, 4.37]   | —           | 0.4   | 7  | -0.03 | out of + | in   |
| 甲殻類 | 15              | ChV      | ECOSAR2.2     | Aliphatic Amines                                   | [4.2, 5.6]      | 8.0         | 0.80  | 5  | —     | —        | —    |
|     | 47              | 21d NOEC | KATE2020 v4.1 | CNO_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso | [-0.80, 4.67]   | —           | 0.81  | 15 | 0.74  | in       | in   |
|     | 78              | 21d NOEC | KATE2020 v4.1 | CN_X amine sec,tert unreactive aliphatic           | [-0.80, 4.37]   | —           | 0.91  | 5  | 0.43  | out of + | in   |
|     | 120             | ChV      | ECOSAR2.2     | Neutral Organics                                   | [-0.15, 7.7]    | 8.0         | 0.87  | 26 | —     | —        | —    |
| 魚類  | 21              | ChV      | ECOSAR2.2     | Aliphatic Amines                                   | [4.2, 5.6]      | 8.0         | 0.98  | 3  | —     | —        | —    |
|     | 23              | NOEC     | KATE2020 v4.1 | CNO_X unreactive Fish Chronic, w/ N <sub>2</sub> O | [-1.61, 5.99]   | —           | 0.62  | 19 | 0.54  | in       | in   |
|     | 120             | ChV      | ECOSAR2.2     | Neutral Organics                                   | [0.49, 6.2]     | 8.0         | 0.74  | 46 | —     | —        | —    |

## QSAR 予測値

予測値を算出するための定量的構造活性相関 (QSAR)ソフトウェアとして、ECOSAR 2.2、KATE 2020 ver.4.1 を用いた。

## エンドポイント

ChV (Chronic Value) : NOEC と LOEC の幾何平均値、EC<sub>50</sub> (Median Effective Concentration) : 半数影響濃度、

LC<sub>50</sub> (Median Lethal Concentration) : 半数致死濃度、NOEC (No Observed Effect Concentration) : 無影響濃度

## log Kow

Max log Kow : 各 QSAR 式に定められる log Kow の値。これを超過する場合、一般的に「飽和状態で影響なし」と考えられる。(ECOSAR のみ)

[log Kow Range] : QSAR を構築する参照物質の最小及び最大の log Kow

## 統計値

R<sup>2</sup> : QSAR 式の決定係数


n : 毒性試験データ数

Q<sup>2</sup> : leave-one-out による内部バリデーション指標 (KATE 2020 のみ)

## 適用領域

in : 適用領域内

out of : 適用領域外

 : QSAR による予測の検討を行う毒性

統計値、適用領域 (下線) : 指標を満たす統計値、適量領域内の判定

QSAR 予測値 (太字) : 統計値が指標を満たし、かつ適用領域内と判定された予測値

甲殻類の慢性毒性について、指標を満たす QSAR クラスとして、KATE2020 v4.1 では「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」及び「CN\_X amine sec,tert unreactive aliphatic」の 2 クラス、ECOSAR2.2 では「Aliphatic Amines」及び「Neutral Organics」の 2 クラスの予測結果が得られた。このうち、KATE2020 v4.1 の「CN\_X amine sec,tert unreactive aliphatic」クラスでは leave-one-out による内部バリデーション指標 (Q<sup>2</sup>) は 0.31 であり指標である 0.5 以上を満たさず、本物質の log Kow (4.46) は参照物質の log Kow 最小 (-0.80) と最大 (4.37) の範囲から外れていた。そのため、このクラスについては QSAR 予測の妥当性についての検討は行わなかった。

以上より、指標を満たした回帰式から得られた適用領域内の判定が下される KATE2020v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」クラスの 47 µg/L と、ECOSAR2.2 「Aliphatic Amines」クラスの 15 µg/L、ECOSAR2.2 「Neutral Organics」クラスの 120 µg/L の 3 つの予測結果について妥当性を検討した。

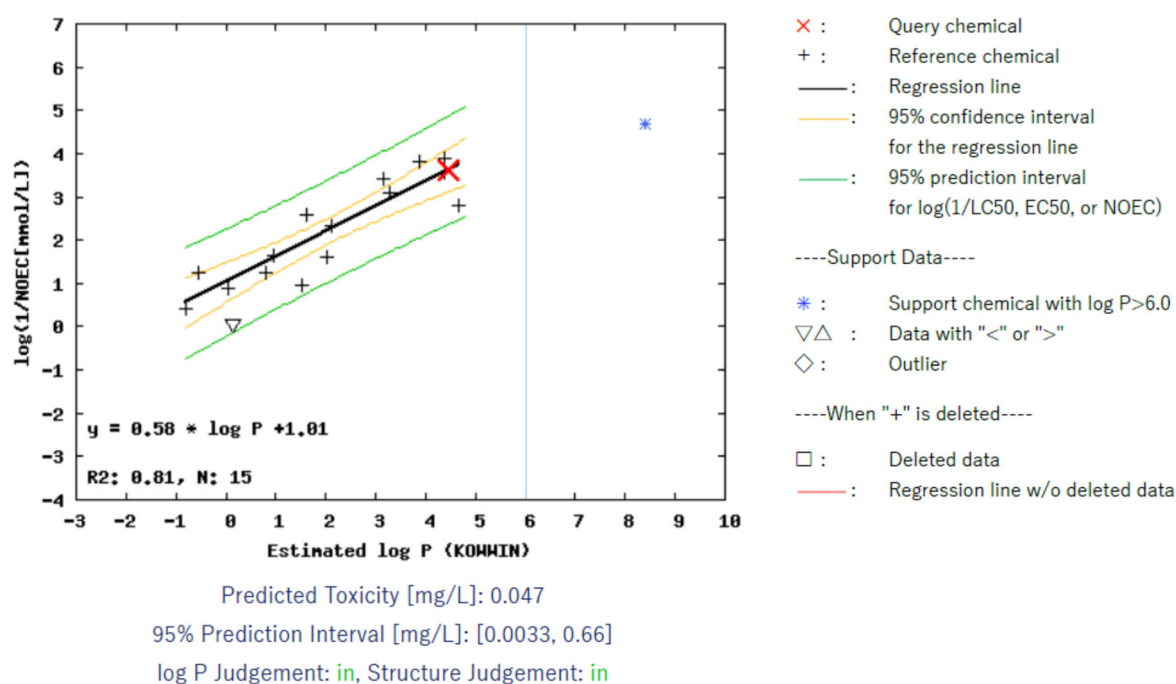
KATE2020v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」クラスの回帰式を別図 1 に示す。式を構成する参照物質には本物質と同様の第三級アミンやアミンの炭素鎖末端がアルコール化した構造が複数含まれていた (別表 4)。特に類似性が高いトリエチルアミンやトリメチルアミン、本物質のプチル基がエタノールで置換された 2-(ジプチルアミノ) エタノールが類似物質に該当する。これらの実験値と予測値を比較したところ、それぞれの実験値は 11,000 µg/L、8,000 µg/L、4,400 µg/L であり、予測値は 1,300 µg/L、5,500 µg/L、1,200 µg/L であった。このように、実験による結果よりも強い毒性が、QSAR により予測された。このことから、KATE2020v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」クラスにおいて、本物質に対して類似性が高い物質群については安全側の予測が行われることを確認した。このことから、KATE2020v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」クラスの回帰式によって求めた 47 µg/L は妥当性が高いと判断された。

ECOSAR2.2 「Aliphatic Amines」クラスの回帰式は指標を満たし、実験値と log Kow の相関は良好であった。しかし、このクラスの参照物質には、本物質作用機序が異なると思われる農薬や、名称・構造ともに不明の物質しか含まれておらず、参照物質 (別表 5) には本物質と同様

の第三級アミンは含まれていなかった。したがって、QSAR 式が類似性の高い物質で構築されていないとして妥当性が低いと判断された。

ECOSAR2.2 「Neutral Organics」クラスの回帰式は指標を満たし、実験値と log Kow の相関は良好であった。しかしながら、このクラスに適用される構造定義には、本物質が分類されるアミン類は含まれていなかった（別表 5）。また、参照物質の構造を実際に確認したところ、アミン類は含まれていなかった。したがって、ECOSAR2.2 「Neutral Organics」クラスによる甲殻類慢性の毒性予測は妥当ではないと判断された。

以上より、甲殻類の慢性毒性に関する妥当性のある QSAR 予測値として、KATE2020 v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」クラスから 47 µg/L が得られた。



別図 1 KATE2020v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」回帰式

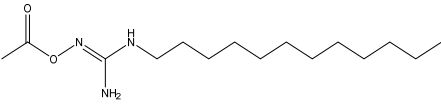
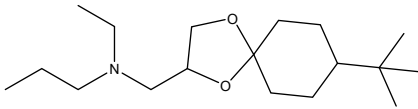
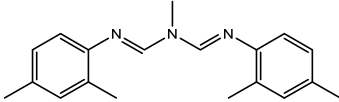
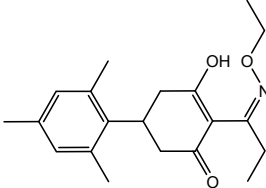
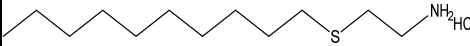
別表 4 KATE2020v4.1 「CNO\_X amine sec,tert unreactive w/ N-Oxide,Nitroso」参照物質

| CAS No.  | 物質名称     | SMILES   | 構造 | 予測物質<br>に対する<br>類似度 | 分子量   | log Kow<br>(KOWWIN<br>による<br>推定値) | 実験値に関する情報      |                         |             |
|----------|----------|----------|----|---------------------|-------|-----------------------------------|----------------|-------------------------|-------------|
|          |          |          |    |                     |       |                                   | NOEC<br>[µg/L] | Log(1/NOEC<br>[mmol/L]) | 出典          |
| 110-85-0 | ピペラジン    | C1CNCCN1 |    | 0.395               | 86.14 | -0.80                             | 33,000         | 0.42                    | MOE<br>2001 |
| 110-91-8 | モルホリン    | C1COCCN1 |    | 0.579               | 87.12 | -0.56                             | 5,000          | 1.24                    | MOE<br>1996 |
| 75-50-3  | トリメチルアミン | N(C)(C)C |    | 0.407               | 59.11 | 0.04                              | 8,000          | 0.87                    | MOE<br>2010 |

| CAS No.   | 物質名称                                    | SMILES                              | 構造 | 予測物質<br>に対する<br>類似度 | 分子量    | log Kow<br>(KOWWIN<br>による<br>推定値) | 実験値に関する情報      |                         |             |
|-----------|---|-------------------------------------|----|---------------------|--------|-----------------------------------|----------------|-------------------------|-------------|
|           |   |                                     |    |                     |        |                                   | NOEC<br>[µg/L] | Log(1/NOEC<br>[mmol/L]) | 出典          |
| 109-89-7  | ジエチルアミン                                 | CCNCC                               |    | 0.500               | 73.14  | 0.81                              | 4,200          | 1.24                    | MOE<br>1999 |
| 2403-88-5 | 2,2,6,6-テトラメチル<br>ピペリジン-4-<br>オール       | CC1(C)CC<br>(O)CC(C)(C)<br>N1       |    | 0.389               | 157.26 | 0.94                              | 3,700          | 1.63                    | MOE<br>1997 |
| 121-44-8  | トリエチルアミン                                | CCN(CC)CC                           |    | 0.630               | 101.19 | 1.51                              | 11,000         | 0.96                    | MOE<br>1999 |
| 100-61-8  | N-メチルアニリン                               | CNc1ccccc1                          |    | 0.156               | 107.16 | 1.62                              | 290            | 2.57                    | MOE<br>1996 |
| 102-81-8  | 2- (ジブチルアミ<br>ノ) エタノール                  | CCCCN<br>(CCO)CCCC                  |    | 0.844               | 173.30 | 2.01                              | 4,400          | 1.60                    | MOE<br>2003 |
| 103-69-5  | N-エチルアニリン                               | CCNc1ccccc1                         |    | 0.176               | 121.18 | 2.11                              | 540            | 2.35                    | MOE<br>2000 |
| 86-30-6   | N-ニトロソ<br>ジフェニルアミン                      | O=NN(c1ccc<br>cc1)c2ccccc2          |    | 0.135               | 198.23 | 3.16                              | 75             | 3.42                    | MOE<br>1996 |
| 122-39-4  | ジフェニルアミン                                | N(c1ccccc1)<br>c2ccccc2             |    | 0.128               | 169.23 | 3.29                              | 130            | 3.11                    | MOE<br>1995 |
| 91-53-2   | 6-エトキシ-1,2-<br>ジヒドロ-2,2,4-ト<br>リメチルキノリン | CCOc1ccc2N<br>C(C)(C)C=C<br>(C)c2c1 |    | 0.129               | 217.31 | 3.87                              | 32             | 3.83                    | MOE<br>1998 |
| 101-83-7  | ジシクロヘキシル<br>アミン                         | C1CCC(CC1)<br>NC2CCCCC2             |    | 0.326               | 181.32 | 4.37                              | 49             | 3.57                    | MOE<br>1998 |
| 620-93-9  | ジ-p-トリルアミン                              | Cc1ccc(Nc2c<br>cc(C)cc2)cc1         |    | 0.126               | 197.28 | 4.39                              | 25             | 3.90                    | MOE<br>2001 |
| 1643-20-5 | ドデシルジメチル<br>アミンオキンド                     | CCCCCCCC<br>CCCCN(=O)<br>(C)C       |    | 0.415               | 229.41 | 4.67                              | 360            | 2.80                    | MOE<br>1998 |

予測物質に対する類似度：Pubchem Fingerprints を用いて tanimoto 係数によって求めた値  
出典：MOE；環境省生態影響試験（数字は報告書年）

別表5 ECOSAR2.2「Aliphatic Amines, Daphnia ChV」参照物質

| CAS No.     | 物質名称                | SMILES  | 構造   | log Kow<br>(KOWWIN<br>による<br>推定値) | 実験値<br>Daphnia<br>ChV [µg/L] | 備考                       |
|-------------|---------------------|---|--|-----------------------------------|------------------------------|--------------------------|
| 2439-10-3   | ドジン                 | CCCCCCCCC<br>CCNC(N)=NOC<br>(=O)C                       |    | 4.2                               | 5.87                         |                          |
| CBI         | CBI                 |   |  | 4.4                               | 17                           |                          |
| CBI         | CBI                 |   |  | 5.4                               | 18                           |                          |
| 118134-30-8 | スピロキサミン             | C1CC(C(C)(C)C<br>)CCC12(OCC(C<br>N(CC)CCC)O2)           |    | 5.5                               | 44                           |                          |
| 33089-61-1  | アミトラズ               | CN(C=Nc1ccc<br>(C)cc1C)C=Nc2c<br>cc(C)cc2C              |    | 5.6                               | 1.6                          |                          |
| 87820-88-0  | トラルコキシジム            | Cc1cc(C)cc(C)c1<br>C2CC(=O)C<br>(C(CC)=NOCC)<br>=C(O)C2 |    | 4.9                               | 2,970                        | 回帰式に<br>含まれない<br>SAR データ |
| 36362-09-1  | 2-デシルチオ<br>エタナミン塩酸塩 | CCCCCCCCCC<br>SCCN.Cl                                   |  | 4.4                               | 13~24.8                      | SAR に<br>含まれない<br>データ    |

ChV (Chronic Value) : NOEC と LOEC の幾何平均値

CBI (confidential business information) : 企業機密情報

別表6 ECOSAR2.2「Neutral Organics」に分類される構造の定義<sup>c</sup>

The following types of example classes are represented by the neutral organics class which assumes a simple non-polar narcosis mechanism of action for solvents and non-reactive, non-ionizable organic compounds

1. Alcohols, 2. Acetals, 3. Ketones, 4. Ethers, 5. Alkyl halides, 6. Aryl halides,
7. Aromatic hydrocarbons, 8. Halogenated aromatic hydrocarbons,
9. Halogenated aliphatic hydrocarbons, 10. Sulfides and di-sulfides

c : U.S. Environmental Protection Agency, ECOSAR v2.2. (2023年10月2日確認)

<https://www.epa.gov/tsc-screening-tools/ecological-structure-activity-relationships-ecosar-predictive-model>

("ECOSAR Class Definition: Neutral Organics"より改行等一部改変)