

[1] フラン

本資料は、II. (II) [4]フラ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 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. QSAR 等による検討の対象とした理由


本物質の有害性情報に関しては、藻類、甲殻類及び魚類の3種の生物群の急性毒性及び藻類の慢性毒性について信頼性のある試験による実験値が得られている。甲殻類及び魚類の慢性毒性については信頼性のある試験による実験値が得られていない。そこで、予測手法を用いた生態毒性の推定結果を参考として用いることができるか検討するため、予測の検討対象とした。

2. QSAR による生態毒性の推定

QSAR モデルには、国内外で広く用いられている KATE2025ver1.0^a (以下、「KATE」という。) 及び ECOSAR2.2^b (以下、「ECOSAR」という。) 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 (構造分類) を定義し、各 QSAR クラスには構造の定義に当てはまり、かつ生態毒性試験による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、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 モデルの QSAR 予測において使用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

構造式	
SMILES	<chem>c1ccoc1</chem>
分子量	68.07
log Kow (KOWWIN による推定値)	1.36

別表1の情報を用いて、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 KATE2025 version1.0 (2025年8月14日確認)
<https://kate.nies.go.jp/>

b : U.S. Environmental Protection Agency, ECOSAR v2.2. (2025年8月14日確認)
<https://www.epa.gov/tsc-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、基本的に以下の条件（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 予測結果について妥当性を検討した。なお、条件からの逸脱が軽微な場合は、それが許容されるものであるかについても検討した。

- 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 フランの PNEC の導出に用いた急性毒性実験値と QSAR による急性毒性予測結果の概要 (KOWWIN による推定値 log Kow= 1.36 を用いた予測)

【急性毒性】

生物群	PNEC 導出に用いた実験値又は QSAR 予測値 (95%予測区間) [$\mu\text{g/L}$]	エンドポイント	QSAR モデル	QSAR クラス	Max log Kow [log Kow range]	R^2	n	Q^2	適用領域		
									log Kow	部分構造	
藻類	PNEC 導出に用いた実験値										
	>58,000	72 h EC ₅₀									
	65,300	96h EC ₅₀	ECOSAR2.2	Neutral Organics	6.4[1.3, 5.3]	0.68	$\frac{41}{(9)}$	—	in	—	
	140,000 (22,000 – 910,000)	72h EC ₅₀	KATE2025 v1.0	CO_X ether unreactive excl. HRAC Ea Alga	[1.34, 5.10]	<u>0.92</u>	$\frac{9}{(16)}$	<u>0.82</u>	in	in	
	270,000 (4,000 – 5,300,000)	72h EC ₅₀	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive Alga	[1.81, 4.17]	<u>0.93</u>	$\frac{4}{(1)}$	0.41	out	in(p)	
400,000 (14,000 – 5,300,000)	72h EC ₅₀	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic excl. pyridine Alga	[1.81, 4.17]	<u>0.83</u>	$\frac{5}{(2)}$	<u>0.52</u>	out	in(p)		
甲殻類	PNEC 導出に用いた実験値										
	110,000	48 h EC ₅₀									
	44,000 (15,000 - 130,000)	48h EC ₅₀	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive Fish, Daphnid	[0.80, 4.17]	<u>0.96</u>	$\frac{7}{(0)}$	<u>0.90</u>	in	in(p)	
	48,000 (12,000 – 200,000)	48h EC ₅₀	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive	[0.80, 4.17]	<u>0.94</u>	$\frac{11}{(0)}$	<u>0.90</u>	in	in(p)	
	85,000 (6,900 – 1,000,000)	48h EC ₅₀	KATE2025 v1.0	CO_X ether unreactive	[0.61, 4.17]	<u>0.83</u>	$\frac{15}{(19)}$	<u>0.74</u>	in	in	
112,000	48h EC ₅₀	ECOSAR2.2	Neutral Organics	5[-2.7, 5]	<u>0.77</u>	$\frac{98}{(30)}$	<u>0.90</u>	in	—		
魚類	PNEC 導出に用いた実験値										
	61,000	96 h LC ₅₀									
	160,000 (17,000 – 1,500,000)	96h LC ₅₀	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive	[0.61, 4.33]	<u>0.84</u>	$\frac{30}{(1)}$	<u>0.81</u>	in	in	
	200,000 (22,000 – 1,800,000)	96h LC ₅₀	KATE2025 v1.0	CO_X ether unreactive	[-1.75, 5.10]	<u>0.82</u>	$\frac{44}{(17)}$	<u>0.78</u>	in	in	
	200,000 (17,000 – 2,400,000)	96h LC ₅₀	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive Fish, Daphnid	[0.76, 4.33]	<u>0.82</u>	$\frac{21}{(0)}$	<u>0.78</u>	in	in	
209,000	96h LC ₅₀	ECOSAR2.2	Neutral Organics	5[-1.8, 5]	<u>0.88</u>	$\frac{298}{(55)}$	—	in	—		

別表3 フランのPNECの導出に用いた慢性毒性実験値とQSARによる慢性毒性予測結果の概要
(KOWWINによる推定値 log Kow= 1.36 を用いた予測)

【慢性毒性】

生物群	PNEC 導出に 用いた実験値又は QSAR 予測値 (95%予測区間) [µg/L]	エンド ポイント	QSAR モデル	QSAR クラス	Max log Kow [log Kow range]	R ²	n	Q ²	適用領域		
									log Kow	部分 構造	
藻類	PNEC 導出に用いた実験値										
	4,400	72 h NOEC									
	7,600 (1,000 - 55,000)	72h NOEC	KATE2025 v1.0	CO_X ether unreactive excl. HRAC Ea Alga	[0.02, 5.13]	<u>0.89</u>	<u>15</u> (9)	<u>0.86</u>	<u>in</u>	<u>in</u>	
	25,000 (330 - 1,900,000)	72h NOEC	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive Alga	[1.81, 4.17]	0.66	<u>5</u> (0)	-1.73	out	<u>in(p)</u>	
	40,000 (180 - 8,700,000)	72h NOEC	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic excl. pyridine Alga	[1.81, 4.17]	0.66	<u>7</u> (0)	0.37	out	<u>in(p)</u>	
15,000	96h ChV	ECOSAR2.2	Neutral Organics	8[-1.2, 5.9]	<u>0.7</u>	<u>34</u> (5)	—	<u>in</u>	—		
甲殻類	PNEC 導出に用いた実験値										
	—	—	—								
	2,700 (200 - 69,000)	21d NOEC	KATE2025 v1.0	CO_X ether unreactive	[0.00, 4.66]	<u>0.88</u>	<u>10</u> (8)	<u>0.76</u>	<u>in</u>	<u>in</u>	
	3,600 (400 - 32,000)	21d NOEC	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive	[0.80, 4.17]	<u>0.83</u>	<u>7</u> (0)	<u>0.64</u>	<u>in</u>	<u>in(p)</u>	
	3,600 (400 - 32,000)	21d NOEC	KATE2025 v1.0	Cnos_X heteroaromatic unreactive Fish, Daphnid	[0.80, 4.17]	<u>0.83</u>	<u>7</u> (0)	<u>0.64</u>	<u>in</u>	<u>in(p)</u>	
9,260	ChV	ECOSAR2.2	Neutral Organics	8[-0.15, 7.7]	<u>0.87</u>	<u>26</u> (1)	—	<u>in</u>	—		
魚類	PNEC 導出に用いた実験値										
	—	—	—								
	3,200 (200 - 4,900)	Chronic NOEC	KATE2025 v1.0	Cnos_X unreactive Fish Chronic	[1.52, 5.52]	<u>0.76</u>	<u>12</u> (0)	<u>0.68</u>	out	<u>in(p)</u>	
19,100	ChV	ECOSAR2.2	Neutral Organics	8[0.49, 6.2]	<u>0.74</u>	<u>46</u> (7)	—	<u>in</u>	—		

生物群：QSARによる予測の検討を行う毒性

PNEC 導出に用いた実験値：II. (II) [4] フランの生態リスク初期評価において PNEC 導出の根拠として採用された実験値

95%予測区間：KATE のみ記載

エンドポイント

ChV (Chronic Value)：NOEC と LOEC の幾何平均値、EC₅₀ (Median Effective Concentration)：半数影響濃度、

LC₅₀ (Median Lethal Concentration)：半数致死濃度、NOEC (No Observed Effect Concentration)：無影響濃度

QSAR モデル

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 及び KATE を用いた。

logKow

Max log Kow：ECOSAR において各 QSAR 式に定められる log Kow の値。これを超過する場合、ECOSAR では「飽和状態で影響なし」と判定される。

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

QSAR 式の統計値

R²：決定係数

n：毒性試験データ数

() 内の数値は KATE では Support Chemicals (log Kow 推定値>6.0 の化学物質、不等号付き、外れ値)、ECOSAR では SAR data not included in Regression Equation 等、いずれも QSAR クラスの定義に合致するものの QSAR 式の構築には使用されないデータの数。

Q²：leave-one-out による内部バリデーション指標 (KATE のみ)

適用領域

log Kow in：適用領域内 (予測対象物質の log Kow が QSAR 式を構築する参照物質の最小及び最大の log Kow の範囲内にある)

out of：適用領域外 (予測対象物質の log Kow が QSAR 式を構築する参照物質の最小及び最大の log Kow の範囲内でない)

部分構造 (KATE のみ) in：適用領域内 (予測対象物質に含まれる「構造判定用部分構造」の全てが、当該 QSAR クラスに含まれる物質を持つ「構造判定用部分構造リスト」に含まれる。

c：生態毒性予測システム「KATE2025」技術文書 (2025年3月27日版)

https://kate3.nies.go.jp/nies/doc/KATE_TechnicalDocument.pdf より一部改変

out of : 適用領域外 (予測対象物質の「構造判定用部分構造」に、当該 QSAR クラスと 反応性が低く特異的な生理活性作用に基づかない物質群を持つ「構造判定用部分構造リスト」に含まれない部分構造がある)

統計値、適用領域 (下線) : 指標を満たす統計値、適用領域内の判定

Neutral Organics : ECOSAR では Baseline Toxicity として Neutral Organics の QSAR 式を用いた毒性値が必ず出力される。

ここで出力された構造は必ずしも Neutral Organics に該当するとは限らない。

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

QSAR 予測結果の検討を行う前に、ECOSAR では Baseline Toxicity として「Neutral Organics」クラスの QSAR 式を用いた毒性値が必ず出力されるが、QSAR 予測対象物質が「Neutral Organics」クラスに該当するとは限らないことから、「Neutral Organics」クラスが適用される物質の構造定義の確認を実施した。別表 4 に ECOSAR 「Neutral Organics」クラスに分類される構造の定義を引用する。QSAR 予測対象物質と同様に炭素と酸素で構成される複素環式芳香族が含まれるか「Neutral Organics」クラスの参照物質を確認したところ、QSAR 予測対象物質そのものが魚類の急性及び慢性において参照物質に含まれていた。以上より、QSAR 予測対象物質が「Neutral Organics」クラスに該当することを確認し、QSAR 予測結果の妥当性を検討する対象に含めることとした。

別表 4 ECOSAR 「Neutral Organics」に分類される構造の定義^d

Application:

Solvents, non-reactive, non-ionizable neutral 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

別表 3 及び上述の ECOSAR のクラス分類の確認により、甲殻類及び魚類の慢性毒性において KATE 及び ECOSAR のいずれにおいても指標を満たす QSAR 式から適用領域内の予測結果が得られた。甲殻類慢性毒性において、KATE の「CO_X ether unreactive」クラスでは 2,700 µg/L、「Cnos_X heteroaromatic unreactive」クラス及び「Cnos_X heteroaromatic unreactive Fish, Daphnid」クラスでは 3,600 µg/L、ECOSAR の「Neutral Organics」クラスでは 19,100 µg/L であり、これらを QSAR 予測結果の妥当性を検討する対象とした。一方、KATE の魚類慢性毒性における「Cnos_X unreactive Fish Chronic」クラスでは、QSAR 式は指標を満たすものの、QSAR 予測対象物質の log Kow (1.36) は参照物質の log Kow 範囲 (1.52~ 5.52) からは逸脱していた。しかしながら、QSAR 予測対象物質の log Kow は 1.36、参照物質の最小 log Kow は 1.52 であることから、逸脱は軽微であり、かつ一般的に毒性は弱いと推察される log Kow の低い側への逸脱であることから、本予測においては許容されうるものと判断し、QSAR 予測結果の妥当性を検討する対象に含めることとした。

d : U.S. Environmental Protection Agency, ECOSAR v2.2. (2025 年 8 月 8 日確認)

<https://www.epa.gov/tscs-screening-tools/ecological-structure-activity-relationships-ecosar-predictive-model>
("ECOSAR Class Definition: Neutral Organics"より改行等一部改変)

QSAR 予測結果の妥当性を検討するため、はじめに QSAR 予測対象物質の構造を確認した。QSAR 予測対象物質は炭素と酸素で構成される複素環式芳香族であり、ECOSAR、KATE のいずれにおいても特異的に強い毒性は予測されないクラスに分類された。なお、KATE では特異的に強い毒性に限らず、反応性のある部分構造を部分構造判定に用いているが、QSAR 予測対象物質ではそのような部分構造は認識されなかった。一方、甲殻類慢性及び魚類慢性毒性において分類されるクラスの参照物質中には、QSAR 予測対象物質と同様に炭素と酸素で構成される複素環式芳香族は含まれていないことが確認された。

次に、他の生物種/エンドポイントにおける予測毒性と試験による毒性を比較した。ここでは 3 生物群の急性及び藻類の慢性毒性において得られている PNEC 導出の根拠値と指標を満たす QSAR 式から得られた予測毒性値の最小値を比較した（別表 2）。なお、予測毒性値の最小値はいずれも KATE の予測値であり、95%予測区間が得られるため、その値についても比較の観点とした。比較を行ったいずれのエンドポイントにおいても、PNEC 導出に用いた実験値と予測毒性値の最小値は 10 倍の範囲に収まり、かつ、PNEC 導出に用いた実験値は予測毒性値の 95%予測区間の中に収まった。このことから、比較を行ったエンドポイントに対しては、妥当な予測が行われていると確認された。また、ECOSAR における予測値は予測毒性値の最小値における 95%予測区間の中に収まっており、KATE 及び ECOSAR の QSAR 予測において概ね同等の毒性が予測されていた。このことから、比較を行った他の生物種/エンドポイントにおいては特別な作用機構は推察されなかった。

以上の確認により、QSAR 予測対象物質のクラス分類や、他の生物種やエンドポイントにおける有害性情報からは QSAR 予測対象物質における特別な作用機構は推察されない一方で、QSAR 予測対象物質が分類されるクラスには、構造が類似する参照物質は含まれていなかった。よって、QSAR 予測結果は概ね妥当であると考えられるが、予測値をそのまま「PNEC の参考値」の導出に使うことはせず、おおよその毒性傾向を示すべきと考えた。QSAR 予測結果は、甲殻類慢性毒性では 2,700~9,260 µg/L、魚類慢性毒性では 3,200~19,100 µg/L であった。