

ミクロブタニルの毒性試験の概要

ローム・アンド・ハース・ジャパン株式会社農薬部
東京有機化学工業株式会社 農薬技術センター

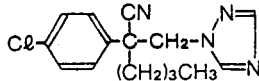
薬剤の概要

ミクロブタニル (ラリー®) は、ローム・アンド・ハース・カンパニーによって発見されたトリアゾール系殺菌剤であり、落葉果樹の黒星病、赤星病、うどんこ病、そ菜及び花卉のうどんこ病、さび病、黒星病に対して高い防除効果を示す。

本剤の化学構造及び物理化学的性質は、以下に示すとおりである。

一般名：ミクロブタニル (myclobutanil) (ISO)
化学名：2-p-chlorophenyl-2-(1H-1,2,4-triazol-1-ylmethyl) hexanenitrile

構造式：



分子式：C₁₅H₁₇ClN₄

分子量：288.78

外観：白色結晶

融点：68-69°C

沸点：202-208°C/1.0mm Hg

蒸気圧：1.6×10⁻⁶mm Hg (25°C)

分配係数：log Po/w=2.94

溶解度(%) W/W)：水0.014、アセトン69.2、トルエン42.9、キシレン36.8

急性毒性試験

結果を表に示す。

検体	動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)		試験期間 (報告年)
			雄	雌	
原 体	ラット	経口	雄	2.62	野村生物 科学研究所 (1987)
			雌	2.71	
	マウス	経口	雄	2.27	
			雌	2.44	
ウサギ	経皮	雌雄	>5,000	R&H (1984)	

10% 水和剤	ラット	吸入	雌雄	>5mg/l	R&H (1987)
	ラット	経口	雌雄	>5,000	R&H (1986)
	マウス	経口	雌雄	>5,000	
25% 乳剤	ラット	経皮	雌雄	>5,000	R&H (1985)
	ラット	経口	雄雌	1,800 1,280	R&H (1984)
	マウス	経口	雄雌	2,470 2,150	R&H (1986)
	ウサギ	経皮	雄雌	>5,000 5,000	R&H (1984)
	ラット	吸入	雄雌	>3.9mg/l 5.0mg/l	

R&H：ローム・アンド・ハース・カンパニー

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

ニュージーランド・ホホワイト系雄ウサギを使用した試験結果を次表に示す。

検体	投与量 (g ml点眼)	結果 (Draize 法)	試験機関 (報告年)
原体	0.1	強い刺激性	R&H (1984)
10% 水和剤	0.1	軽度の刺激性	R&H (1986)
	0.1、0.2% 希釈液0.1	刺激性なし	R&H (1989)
25% 乳剤	0.1	強い刺激性	R&H (1984)
	0.5、1.5 5.0%希釈液0.1	0.5%希釈液で 刺激性なし	R&H (1987)

2. 皮膚一次刺激性試験

ニュージーランド・ホホワイト系雄ウサギを使用した試験結果を次表に示す。

検体	投与量 (ml塗布)	結果	試験機関 (報告年)
原体	0.5	刺激性なし	R&H (1984)
10%水和剤	0.5g (0.85% 食塩水 懸濁液)	刺激性なし	R&H (1986)
25%乳剤	0.5	強い刺激性	R&H (1984)
	0.033、0.067% 希釈液0.5	刺激性なし	R&H (1990)

3. 皮膚感作性試験

ミクロブタニル10%水和剤の36.4% W/W 水懸濁液 0.4mlを浸み込ませたパッチをハートレイ系モルモットの刈毛した背部に1回6時間、1週間に3回の割合で3.5週間にわたり計10回感作処理した。最終感作の2週間後と、さらにその1週間後に感作時と同様の処理を行い、一次惹起及び再惹起させ、惹起24時間及び48時間後に紅斑反応を評価した。その結果、一次惹起時の24時間目で低頻度の紅斑が見られたが、他の観察時点では紅斑は認められなかった。

以上の結果から、ミクロブタニル10%水和剤の皮膚感作性は陰性であると判定された。

(ローム・アンド・ハンス・カンパニー 1987年)

ミクロブタニル25%乳剤 0.4mlを浸み込ませたパッチをハートレイ系モルモットの刈毛した背部に1回6時間、1週間に3回の割合で3.5週間にわたり計10回感作処理した。最終感作の2週間後に乳剤の12.5%水溶液を貼付適用し惹起させ、惹起24時間及び48時間に紅斑反応を評価した。その結果、いづれの観察時点でも紅斑は認められなかった。

以上の結果から、ミクロブタニル25%乳剤の皮膚感作性は陰性であると判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1984年)

亜急性毒性試験

1. マウスを用いた試験

ミクロブタニル原体を0、3、10、30、100、300、1000、3000及び10000ppm含有する飼料をCD-1 (ICR) BR系マウスに13週間摂食させた。

体重増加抑制が、3000及び10000ppm群でみられ、また、

10000ppm群では摂餌量が減少した。血液学的検査では10000ppm群雌雄でヘマトクリット値、平均赤血球容量及び平均赤血球血色素量が減少し、平均赤血球血色素濃度が増加した。同群雄では、更に白血球数及びリンパ球数が減少し、好中球が増加した。また、雄では血色素量が減少し、血小板数が増加した。

血液生化学的検査では、10000ppm群雌雄でSGOT、SGPT、アルカリフォスファターゼ、尿素窒素及びGGTが、3000ppm群雄でSGPTが増加した。また、1000ppm群雄と3000及び10000ppm群雌雄でコレステロールが、3000ppm群雌及び10000ppm群雌雄でブドウ糖が減少した。試験終了時の肝のmixed function oxidase (MFO) 活性の検査では、雄で1000ppm以上及び雌で3000ppm以上の用量群でMFO活性が上昇した。

臓器重量では、1000ppm群雄及び3000ppm以上の群雌雄で肝の絶対重量及び対体重比は増加し、1000ppm群雄で腎の絶対重量が減少した。

肉眼的病理検査では3000及び10000ppm群雌雄で肝の肥大が認められた。病理組織学的検査では肝で1000ppm以上の投与群雄及び3000ppm以上の投与群雌で肝細胞の肥大、空胞化及び壊死、小葉中心性の壊死性肝炎症が、3000ppm以上の投与群雌雄でクーパー細胞の色素沈着が、1000ppm群雌雄で胆管増殖がみられた。また、1000ppm群雄、3000及び10000ppm群雌雄で副腎の束状帯細胞細胞質の好酸性或は肥大が、3000ppm以上の投与群の脾臓及び10000ppm群の腎臓のマクロファージ中に色素沈着がみられた。3、10、30、100、300ppm群では、何ら影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄ともに300ppm(雄：42.7mg/kg/日、雌：65.5mg/kg/日)と判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1986年)

2. ラットを用いた試験

ミクロブタニル原体を0、10、30、100、300、1000、3000、10000、30000ppm含有する飼料をCOBS-CD-(SD) BR系ラットに13週間摂食させた。

30000ppm群で投与63日後までに全ての動物が死亡した。体重増加抑制は、10000及び30000ppm群で投与期間全体を通じて、また3000ppm群雄で第6週から12週までにみられた。血液学的検査では、30000ppm群の1ヶ月目には、雌のヘマトクリット値の上昇、雌雄併せた検定で血色素量、赤血球数及び分核好虫球の増加と、白血球数、

血小板、リンパ球及び単球の減少がみられ、また、10000 ppm群では雄雄併せた検定で血色素量、平均赤血球数、平均赤血球血色素量が減少した。血液生化学検査では、毒性学的に意義ある影響として10000 ppm群でコレステロール及びGGTの増加がみられた。投与11週後に0、3000、10000 ppm群について尿検査を行ったが、検体投与に起因する変化はみられなかった。試験終了時の肝mixed function oxidase (MFO) 活性の検査では、雄で300 ppm以上、雌で1000 ppm以上の用量群でMFO活性が上昇したが、その程度からみて、検体投与に対する生理学的反応であり、毒性学的に意義あるものとは判断されなかった。眼科学的検査では、検体投与に起因すると思われる異常は認められなかった。3000及び10000 ppm群で肝の絶対重量及び対体重比の増加、また腎の対体重比の増加が認められた。病理組織学的検査において、3000及び10000 ppm群雌雄で肝細胞肥大、3000 ppm群以上の雄で腎の曲尿管上皮の軽度な色素沈着及び甲状腺の小胞の増加がみられた。1000 ppm群では検体投与に関係した変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雄で100 ppm (5.22 mg/kg/日)、雌で300 ppm (19.7 mg/kg/日)と判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1984年)

3. イヌを用いた試験

マイクロブタニル原体を0、10、200、800及び1600 ppm含有する飼料をビーグル犬に13週間摂食させた。

1600 ppm群雄で第2週まで、雌で第3週まで有意な体重増加抑制がみられ、また飼料摂取量は雄で第7週まで、雌で試験期間を通して減少した。試験期間を通しての外観、拳動、筋肉状態及び反射、呼吸、心拍数等の健康検査で変化は認められなかった。血液学的検査では、1600 ppm群雌雄で血小板数の増加がみられた。血液生化学的検査では800及び1600 ppm群雌雄でアルカリフォスファターゼ活性の増加がみられ、肝への影響が示唆された。眼科学検査では検体投与によると考えられる異常は認められなかった。臓器重量では、800 ppm群雄及び1600 ppm群雌雄で肝の絶対重量及び対体重比の増加がみられた。検体投与に起因する病理組織学的変化として、200 ppm群雄と800及び1600 ppm群雌雄の肝で小葉中心性肝細胞肥大と小葉中間帯性肝細胞肥大が認められた。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雄

で10 ppm (0.34 mg/kg/日)、雌で200 ppm (7.88 mg/kg/日)と判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1984年)

慢性毒性試験

1. イヌを用いた慢性毒性試験

マイクロブタニル原体を0、10、100、400及び1600 ppm含有する飼料をビーグル犬に52週間摂食させた。

一般状態の変化及び死亡率で検体投与の影響は認められなかった。1600 ppm群雄で投与1週間及び雌で5週間に体重増加抑制がみられ、同群雌で試験期間を通して飼料摂取量が減少した。血液学的検査では1600 ppm群雄で赤血球数の減少と血小板数の増加がみられ、血液生化学的検査で400 ppm群雌及び1600 ppm群雌雄でアルカリフォスファターゼが増加し、1600 ppm群雄でSGPT、雌でGGTの増加、雌雄で無機リンの増加及びアルブミンの減少が認められた。尿検査及び眼科学的検査では投与に関連した変化はみられなかった。400 ppm群雌及び1600 ppm群雌雄で肝重量及び対体重比の増加がみられた。剖検では1600 ppm群で肝の肥大、小葉構造の明瞭化が認められた。病理組織学的検査では400及び1600 ppm群で小葉中心部から小葉全体に肝細胞肥大がみられ、特に雌でその頻度、強度が強い傾向にあった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄共に100 ppm (雄：3.09 mg/kg/日、雌：3.83 mg/kg/日)と判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1986年)

2. ラットを用いた慢性毒性/発癌性併合試験

マイクロブタニル原体を0、50、200及び800 ppm含有する飼料をSD系ラットに104週間摂食させた。投与13、26、52、74週目に中間検査を行った。

一般状態及び死亡率に検体投与の影響は認められなかった。800 ppm群で体重増加抑制がみられ、飼料摂取量が減少した。眼科学的検査では検体投与によると思われる異常は認められなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査では検体投与によると思われる変化は認められなかった。尿検査では、800 ppm群雄で13、74及び104週目に、雌で48週目に尿蛋白が若干増加したが、毒性学的に意義はないと考えられた。臓器重量では、800 ppm群雌で13週目に肝の対体重比及び26週目に肝の絶対重量が増加し、また同群雄で52及び104週目に、200 ppm群

雄で104週目に精巣重量の減少が認められた。肝の mixed function oxidase (MFO) 活性は800ppm群雄で13及び26週目に、雌で13週目に有意に上昇し、52週目の肝の Peroxisomal- β 酸化酵素活性測定では検体投与による影響は認められなかった。

剖検では200及び800ppm群雄で精巣萎縮頻度の増加がみられ、病理組織学的検査でも両群で軽度ないし中等度の精巣萎縮が認められた。いずれの投与群においても腫瘍の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄ともに50ppm(雄:2.49mg/kg/日、雌:3.23mg/kg/日)と判断された。また、最高用量の800ppmにおいても発癌性は認められなかった。

(テグリス・ラボラトリー 1986年)

3. マウスを用いた慢性毒性/発癌性併合試験

ミクロブタニル原体を0、20、100及び500ppm含有する飼料をICR系マウスに104週間摂食させた。投与13、26及び52週目に中間検査を行った。

一般状態及び死亡率に検体投与の影響は認められなかった。500ppm群雌雄で体重増加抑制がみられた。眼科学的検査では検体投与によると思われる異常は認められなかった。血液学的検査では投与に関連した変化はみられなかった。血液生化学的検査では13週目に500ppm群雄でSGPTの増加が認められた。100及び500ppm群雄での総蛋白の減少及び500ppm群雄での総ビリルビンの増加が13週目にみられたが、亜急性試験でより高用量でも変化がなかったことから、これらは毒性学的意義はないと判断された。尿検査で検体投与によると思われる変化は認められなかった。

臓器重量では、13週目に500ppm群雌雄で肝の絶対重量及び対体重比の増加がみられた。肝の mixed function oxidase (MFO) 活性の測定では、13週目の100ppm群雌及び500ppm群雌雄、26週目の100及び500ppm群雌雄、52週目の100ppm群雌及び500ppm群雌雄においてMFO活性の上昇が認められた。肝の Peroxisomal- β 酸化酵素活性に影響はみられなかった。病理組織学的検査では、500ppm群雄で小葉中心性肝細胞肥大、門脈周辺性点状空胞化、クッパー細胞色素沈着、肝細胞壊死及び500ppm群雌雄で限局性の肝細胞変質と多巣性肝細胞空胞化が認められた。いずれの投与群においても腫瘍の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌

雄ともに20ppm(雄:2.7mg/kg/日、雌:3.2mg/kg/日)と判断された。また、最高用量の500ppmにおいても発癌性は認められなかった。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー、リサーチ・パソロジー・サービス 1986年)

繁殖および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖試験

ミクロブタニル原体を0、50、200及び1000ppm含有する飼料をSD系雌雄ラットの2世代にわたって摂食させた。各世代とも1回の交配を行い、新生仔を次世代の親動物として用いて、繁殖に及ぼす影響を調べた。

F₀及びF₁世代の1000ppm群雌雄で肝重量の増加がみられ、病理組織学的検査で肝細胞の肥大が認められた。またF₁世代の1000ppm群雄で精巣萎縮がみられた。F₀及びF₁世代の1000ppm群において妊娠率及び出産率の低下と死産仔数の増加が認められた。仔動物においては1000ppm群のF_{1b}及びF_{2b}動物で哺育期間中の体重増加抑制がみられた。

以上の結果から、本試験における繁殖能への最大無作用量は200ppmであり、一般毒性については50ppm(雄:3.64~3.67mg/kg/日、雌:4.17~4.42mg/kg/日)と判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー、リサーチ・パソロジー・サービス 1985年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

ミクロブタニル原体を有効成分として0、31.3、93.8、8、312.6及び468.9mg/kgの投与量でSD系ラット雌に妊娠6日目から15日目までの10日間毎日1回経口投与した。

親動物においては、312.6及び468.9mg/kg群で落屑、流涎等一般状態の異常が観察された。93.8、312.6及び468.9mg/kg群で生存胎仔率の低下、吸収胚数の増加が認められた。黄体数、着床数に影響はみられなかった。

胎仔においては、312.6及び468.9mg/kg群で第7頸肋骨と第14痕跡肋骨の増加がみられたが、外表、骨格、内臓の奇形の発生率増加は認められなかった。

以上の結果から、ミクロブタニルの親動物に対する最大無作用量は31.3mg/kg/日と判断された。また、最高投与量の468.9mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1984年、ア
ーガス・リサーチ・ラボラトリーズ 1989年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

ミクロブタニル原体を有効成分として0、20、60及び200mg/kgの投与量でニュージーランド系ウサギ雌に妊娠7日目から19日目までの13日間毎日1回経口投与した。

親動物においては、200mg/kg群で体重増加抑制がみられ、また、糞便異常や血尿が認められた。60mg/kg群で体重増加抑制が見られたが、帝王切開までには回復した。200mg/kg群では生存胎仔数及び胎仔生存率の減少、また、流産及び吸収胚数の増加が認められた。

胎仔においては200mg/kg群で有意でなかったが、胎仔重量の減少が認められた。検体に起因する変異、奇形は認められなかった。

以上の結果から、ミクロブタニルの親動物に対する最大無作用量は20mg/kg/日と判断された。また、最高投与量の200mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1984年、ア
ーガス・リサーチ・ラボラトリーズ 1987年)

変異原性試験

1. 復帰変異試験 (Ames test)

ヒスチジン要求性の *Salmonella Typhimurium* (TA1537, TA1535, TA100, TA98) 及びトリプトファン要求性の *Escherichia Coli* (WP2uvrA) を用い、ラット肝薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在及び非存在下で Ames らの方法で変異原性を検定した。被験物質濃度は125~2000 μ g/Plate とした。

ミクロブタニルは S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニーの増加を誘発せず、ミクロブタニルには復帰変異原性はないと判断された。(野村生物化学研究所 1987年)

2. DNA 修復試験 (rec-assay)

Bacillus subtilis の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、ラット肝薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在及び非存在下で DNA 損傷誘発性を検定した。被験物質濃度は312.5~5000 μ g/disk とした。

ミクロブタニルは S-9Mix の有無にかかわらず、いずれの濃度においても両株の間に明かな生育阻止帯の

差は認められず、ミクロブタニルに DNA 損傷誘発性はないと判断された。(野村生物化学研究所 1987年)

3. in vivo 染色体異常試験

ミクロブタニル原体を0、80、321及び802mg/kgの用量でマウスに1回経口投与し、投与6、24及び48時間後に屠殺して骨髓塗抹標本作製した。また、同用量を連続5日間毎日経口投与し、投与6時間後に屠殺して骨髓塗抹標本作製した。各標本について、分裂中期像での切断、ギャップ、断片、転座、転位及び逆位等の染色体異常を検査した。

試験の結果、802mg/kgにおいて染色体異常の増加は認められず、ミクロブタニルは染色体異常誘発性はないと判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1984年)

4. in vitro 染色体異常試験

チャイニーズ・ハムスターの継代培養した卵細胞を用いて、ラット肝薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在及び非存在下で染色体異常誘発性を検討した。非代謝活性化法では25、50及び75 μ g/mlの濃度で17.5時間処理し、代謝活性化法では20、30、40及び50 μ g/mlで2時間処理した。

いずれの濃度においても、S-9Mixの有無にかかわらず染色体異常の発現頻度の増加は認められず、ミクロブタニルは染色体異常誘発性はないと判断された。

(リットン・バイオネティクス 1985年)

5. 不定期 DNA 合成試験

雄ラットの分離肝細胞を用いて、不定期 DNA 合成誘発性を検討した。被験物質の処理濃度は0.1、0.5、1、5、10、50、250、500及び1000 μ g/mlとし、18.5~19.5時間処理した。

50 μ g/ml以上の濃度では細胞生存率が50%以下であり、核内粒子数の計測は行なわなかったが、0.1、0.5、1、5及び10 μ g/mlの濃度では核内粒子数の増加は認められず、ミクロブタニルは不定期 DNA 合成を誘発しないと判断された。

(ローム・アンド・ハース・カンパニー 1986年)

6. 優性致死試験

ミクロブタニルを10、100および735mg/kgの用量で雄ラットに1回経口投与した。投与1日後に、雄1匹に

対して未経産雌2匹を1週間同居させ、交配させた。毎週異なる雌2匹ずつを同居させ精子形成周期である8週間交配させた。雌ラットは妊娠14日目に帝王切開し、黄体数、直床数、着床位置、初期・後期吸収数、生存胚、死亡胚を検査した。雄ラットは同居期間終了後、精巣と辜上体を秤量した。

一般症状では735mg/kg群雄で投与1週目に血涙、血尿、流涎がみられたが、2週目以降にはこれらの症状はみられなかった。また同群では投与4週目まで体重増加抑制が認められた。

精巣重量及び対体重比に対照群と検体投与群の間に有意差は認められなかった。交尾率、受胎率及び妊娠率に検体投与によると思われる影響はみられなかった。また、全ての用量群雌で、黄体数、着床数、生存胚数、初期吸収胚数及び死亡胚数に、全交配期間を通して、対照群との間に差は認められなかった。

以上の結果から、ミクロブタニルは優性致死誘発性はないと判断された。

(アーガス・リサーチ・ラボラトリー 1986年)

一般薬理試験

ddy系マウス、SD系ラット、ニュージーランド・ホワイト系ウサギを用い、下記試験を実施した。

- ①中枢神経系に及ぼす影響— 一般症状、自発運動量、筋統御系、鎮痛作用、睡眠増強作用(マウス)、体温(ラット)
 - ②呼吸・循環器系に及ぼす影響—呼吸、血圧、心拍数(ウサギ)
 - ③自律神経系に及ぼす影響—瞳孔経(マウス)
- 運動機能障害を示す諸症状が一般症状で観察され、懸垂試験でも筋弛緩作用がみられ、ミクロブタニルが運動機能を阻害することが示された。酢酸 writhing 反応回数の減少、hexobarbital 誘発睡眠の延長にも運動機能障害作用が関与していると思われる。

要約

ミクロブタニル原体、10%水和剤及び25%乳剤の安全性評価のために各種毒性試験を実施した。

その結果、原体及び各製剤の急性毒性は弱く、顕著な薬理作用も認められなかった。乳剤で皮膚刺激性、水和剤及び乳剤で眼刺激性を示すが、希釈液では皮膚

及び眼刺激性は認められなかった。また、両製剤とも皮膚感作性は示さなかった。マウス、ラット及びビーグル犬での亜急性毒性、慢性毒性及び発癌性試験において高用量群で肝重量及び対体重比の増加が認められた。マウス及びラットでMFO活性の上昇が認められ、ラットではさらに精巣萎縮がみられた。しかし、いずれの試験においてもミクロブタニル投与に起因する腫瘍性病変の発現は認められず、変異原性も陰性であった。繁殖毒性及び催奇形性は認められなかった。

本剤は1990年に果樹、野菜、茶、花卉に登録された。登録保留基準は果実1.0ppm、野菜1.0ppm、茶20ppmである。

ミクロブタニルは定められた使用基準を遵守すれば安全性の高い農薬であり、有用な農業資材の一つであると考えられる。

問合せ

ローム・アンド・ハース・ジャパン株式会社農薬部
〒106-91 東京都港区麻布台1-8-10倍成ビル