

## ベスロジンの毒性試験の概要

塩野義製薬株式会社 植物薬品開発部

### 薬剤の概要

ベスロジンは1960年に米国イーライリリー社において発見されたジニトロアニリン系除草剤で、雑草種子の発芽を強く阻害する土壌処理剤である。本剤は雑草の発芽時に幼芽および幼根から吸収され、分裂組織の細胞分裂の中期に作用し、隔膜と紡錘体の形成を阻害して多核細胞を形成することにより細胞分裂を停止させる。従って発芽後や生育中の植物に対する作用は弱い。また本剤の雑草活性はイネ科植物>広葉植物であり、芝、たばこおよびまめ科飼料植物に特に高い選択性を有する。

本剤の化学構造および物理化学的性質を以下に示す。

一般名：ベスロジン bethrodine (日本)

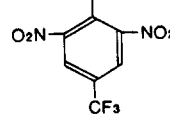
ベンフルラリン benfluralin (ISO)

ベネフィン benefin (WSSA)

化学名：N-butyl-N-ethyl- $\alpha, \alpha, \alpha$ -trifluoro-2,6-dinitro-p-toluidine (IUPAC 名)  
N-butyl-N-ethyl-2,6-dinitro-4-

trifluoromethylaniline (CA 名)

構造式：CH3CH2-N(CH2CH2CH2CH3)-C6H3(NO2)2(CF3)



分子式： $C_{13}H_{16}O_4N_3F_3$

分子量：335.28

性状：赤黄色の結晶

融点：65~66.5°C

分配係数：(n-オクタノール/水)：5.29 (logP)

溶解度(g/l)：水<0.001、アセトン650、エタノール24、キシレン420 (25°C)

蒸気圧： $3.89 \times 10^{-5}$  mmHg (30°C)

### 急性毒性試験

ベスロジン原体、乳剤、粒剤および顆粒水和剤の各種急性毒性試験の結果を下表に示す。

検体	投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg) または LC <sub>50</sub> (mg/l)
原体	経口	ラット	♂ ♀ > 10000 <sup>1)</sup>
		マウス	> 5000 <sup>1)</sup>
	経皮	ウサギ	> 2000 <sup>2)</sup>
	吸入	ラット	♂ ♀ > 2.15843 (4時間 LC <sub>50</sub> ) <sup>3)</sup>
乳剤 (ベスロジン19%)	経口	ラット	♂ > 8.5ml/kg <sup>4)</sup>
	経皮	ラット	♂ > 10ml/kg <sup>4)</sup>
	吸入	ラット	♂ ♀ > 0.9 (1時間 LC <sub>50</sub> ) <sup>5)</sup>
粒剤 (ベスロジン2.5%)	経口	ラット	♂ ♀ > 5000 <sup>6)</sup>
	経皮	ウサギ	♂ ♀ > 2000 <sup>6)</sup>
顆粒水和剤 (ベスロジン60%)	経口	ラット	♂ ♀ > 500 <sup>7)</sup>
		マウス	♂ ♀ > 5000 <sup>8)</sup>
	経皮	ウサギ	♂ ♀ > 2000 <sup>7)</sup>
	吸入*	ラット	♂ ♀ > 4.18 (4時間 LC <sub>50</sub> ) <sup>9)</sup>

\*：顆粒水和剤そのものでは十分な濃度のエアロゾルを発生させることができなかったため、顆粒化する直前の粉末状態の試料を用いて試験を行った。

## 刺激性試験

### 1. 眼一次刺激性試験<sup>5)6)7)</sup>

ベスロジンの3種の製剤各0.1mlを希釈せずに、それぞれ雌雄各3匹のNew Zealand白色種ウサギの片眼に投与し、刺激性変化(角膜混濁、虹彩充血・腫脹、結膜発赤・浮腫)を投与後7日間(粒剤、顆粒水和剤)または21日間(乳剤)観察した。無処置眼を対照とし、洗眼は行わなかった。

その結果、乳剤では投与後1時間目から全例の処置眼に刺激性変化が認められ、次第に重篤化して21日目にも大多数例が回復しなかった。他の2製剤ではいずれも軽度の刺激性変化が観察されたが、粒剤では24時間以内、顆粒水和剤では7日以内に消失した。

### 2. 皮膚一次刺激性試験<sup>5)6)7)</sup>

ベスロジン乳剤は2ml/kg、粒剤および顆粒水和剤は2000mg/kgの用量を希釈せずに、それぞれ雌雄各3匹のNew Zealand白色種ウサギの剪毛した背部皮膚に24時間閉塞貼付した。処置部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫)を貼付終了後14日間観察した。

その結果、乳剤および顆粒水和剤では全例の処置部位に中等度の刺激性変化が認められたが、貼付終了後14日目には乳剤では軽度となり、顆粒水和剤では消失した。粒剤では軽度の刺激性変化が観察されたが8日以内に消失した。

## 皮膚感作性試験<sup>10)11)</sup>

Beuhlerの局所貼付法変法に従って試験を行った。感作処置として、エタノール中5%のベスロジン原体を含む溶液0.2ml、または粉末化した粒剤および顆粒水和剤各50mgを、それぞれ雌12匹のHartley系白色モルモットの剪毛した背頸部皮膚に、6時間閉塞貼付した。この処置を週3回連続2週間行った。最終感作処置後10~11日目に、モルモットの剪毛した背部中央皮膚に感作と同じ処置を1回行い、惹起処置とした。処置部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫)を各回の感作処置後24時間目、惹起処置後24、48および72時間目に観察した。

その結果、原体では6回目の感作処置後から全例の処置部位に刺激性変化が認められ、惹起処置に対して

も陽性反応を示し、感作性陽性であった。粒剤および顆粒水和剤では感作性は陰性であった。

## 亜急性毒性試験

### 1. マウスにおける亜急性経口毒性試験<sup>12)</sup>

ベスロジン原体を1群雌雄各15匹のB6C3F<sub>1</sub>系マウスに0、100、300、1000、3000および10000ppmの濃度で3ヵ月間混餌投与した。

その結果、300ppm以上の投与群に肝臓重量の増加、1000ppm以上の投与群に肝臓のミクロソーム酵素活性の上昇および肝細胞肥大の発生率の上昇、3000ppm以上の投与群にAIPおよびアラニトランスアミナーゼの上昇が認められた。従って最大無作用量は、100ppm(約17.4mg/kg/日)であると判断された。

### 2. ウサギにおける亜急性経皮毒性試験<sup>3)</sup>

0、100、325および1000mg/kg/日の用量のベスロジン原体を、New Zealand白色種ウサギの背部に連続21日間経皮投与した。

その結果、全投与群雌雄に用量に依存した持続性の皮膚刺激性が認められ、325および1000mg/kg群ではこれに付随して白血球数の増加および白血球分画の変動(増加:好塩基球、好酸球、好中球、減少:リンパ球)が認められた。しかし全投与群とも全身性の毒性症状は認められなかった。

## 慢性毒性/発がん性試験

### 1. ラットにおける慢性毒性/発がん性試験<sup>13)</sup>

ベスロジン原体を1群雌雄各25匹のSD系ラットに0、1000、5000および10000ppmの濃度で24ヵ月間混餌投与した。

その結果、10000ppm群雌雄に生存率の低下、5000および10000ppm群雌雄に体重増加の抑制、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値および/または赤血球数の減少が認められた。従って最大無作用量は1000ppm(約50mg/kg/日)であると判断された。また発がん性は認められなかった。

### 2. マウスにおける慢性毒性/発がん性試験<sup>12)</sup>

ベスロジン原体を1群雌雄各60匹のB6C3F<sub>1</sub>系マウスに0、50、300および1500ppmの濃度で24ヵ月間混餌投与

した。

その結果、1500ppm群で雌雄に体重増加の抑制および肝臓重量の増加、雌にAIPおよびアラントランスアミナーゼの上昇、肝細胞過形成の発生率の上昇が認められた。雄では300ppm群にも体重増加の抑制が認められたことから、最大無作用量は50ppm(約6.5mg/kg/日)であると判断された。また発がん性は認められなかった。

### 3. イヌにおける慢性毒性試験<sup>14)</sup>

0、5、25および125mg/kg/日の用量のベスロジン原体をカプセルに入れて、1群雌雄各3~5匹のビーグル犬に24ヵ月間経口投与した。

その結果、125mg/kg群にヘモグロビン量、ヘマトクリット値および赤血球沈降速度の減少、白血球数およびAIPの増加が認められ、25および125mg/kg群に白血球数の減少および血小板数の増加が認められた。従って最大無作用量は5mg/kg/日であると判断された。

## 繁殖／催奇形性試験

### 1. ラットにおける4世代繁殖／催奇形性併合試験<sup>13)</sup>

ベスロジン原体を1群雌雄各20匹(F<sub>0</sub>世代のみ雄30匹、雌40匹)のSD系ラットに0、1000および5000ppmの濃度で4世代にわたり混餌投与した。F<sub>0</sub>世代雌のうち各群20匹は妊娠18~20日に帝王切開して催奇形性について調べ、F<sub>0</sub>世代のその他の雌およびF<sub>1</sub>~F<sub>3</sub>世代雌は自然分娩させて繁殖性に対する影響を調べた。

その結果、5000ppm群でF<sub>0</sub>~F<sub>2</sub>世代の親動物に体重増加の抑制、全世代の仔動物に発育抑制および生存率の低下が認められたが、繁殖性に対する影響および催奇形性は5000ppmでも認められなかった。従って最大無作用量は、親動物および仔動物に関しては1000ppm(親動物:約50mg/kg/日、仔動物:約100mg/kg/日)、繁殖性および催奇形性に関しては5000ppm(約250mg/kg/日)以上であると判断された。

### 2. ラットにおける催奇形性試験<sup>15)</sup>

0、50、225、475および1000mg/kg/日の用量のベスロジン原体を、1群25匹のSD系妊娠ラットに、妊娠6日から15日までの10日間毎日強制経口投与した。妊娠20日に動物を屠殺し、催奇形性について検査した。

その結果、475および1000mg/kg群の親動物に体重増加の抑制および摂餌量の減少が認められたが、胎仔に

対する影響および催奇形性は1000mg/kgでも認められなかった。従って最大無作用量は親動物に関しては225mg/kg/日、胎仔および催奇形性に関しては1000mg/kg/日以上であると判断された。

### 3. ウサギにおける催奇形性試験<sup>13)</sup>

0、50および100mg/kg/日の用量のベスロジン原体を、1群15匹のDutch-Belted系妊娠ウサギに、妊娠6日から18日までの13日間毎日強制経口投与した。妊娠28日に動物を屠殺し、催奇形性について検査した。

その結果、全投与群とも親動物、胎仔に対する影響および催奇形性は認められなかったことから、最大無作用量は100mg/kg/日以上であると判断された。

## 変異原性試験

### 1. 細菌を用いた復帰変異試験<sup>16)</sup>

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌5株およびトリプトファン要求性の大腸菌1株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法によりベスロジン原体の復帰変異誘発性を検定した。

その結果、ベスロジンでは直接法、代謝活性化法とも10000μg/プレートの濃度においても、溶媒対照に比し復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。従ってベスロジンは復帰変異を誘発しないものと判断された。

### 2. In vitro 染色体異常試験<sup>12)</sup>

チャイニーズハムスター卵巣由来培養細胞(CHO)に対するベスロジン原体の染色体異常誘発性を、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下で検定した。

その結果、ベスロジンでは溶解限度の濃度(直接法:40μg/ml、代謝活性化法:125μg/ml)においても溶媒対照に比し染色体異常細胞出現率の上昇は認められなかった。従ってベスロジンは染色体異常を誘発しないものと判断された。

### 3. 細菌を用いたDNA修復試験<sup>16)</sup>

枯草菌の組換修復機構保持株と欠損株を用い、賀田らのRec-assay法によりベスロジン原体のDNA損傷の誘発性を検定した。

その結果、ベスロジンでは2000 $\mu$ g/diskの濃度において両株間に生育阻止の差は認められなかった。従ってベスロジンはDNAの損傷を誘発しないものと判断された。

## 要 約

ベスロジンの安全性評価のための各種毒性試験を実施した。

本剤の急性毒性は弱く、普通物に該当する。ウサギにおいて乳剤では高度、粒剤および顆粒水和剤では軽度の眼刺激性が認められた。また乳剤および顆粒水和剤では中等度、粒剤では軽度の皮膚刺激性が認められた。モルモットにおける皮膚感作性は原体では陽性であったが、粒剤および顆粒水和剤は陰性であった。

亜急性毒性試験では、混餌投与した中間・高用量群のマウスに肝臓障害が認められた。ウサギにおける経皮投与試験では全投与群に用量に依存した持続性の皮膚刺激性が認められたが、全身性の毒性症状は観察されなかった。

慢性毒性/発がん性試験では、中間・高用量群のラットおよびイヌに体重増加の抑制および/または貧血、高用量群のマウスに体重増加の抑制および肝臓障害が認められた。発がん性はラット、マウスとも認められなかった。

ラットにおける4世代繁殖試験では、繁殖性に対する影響は認められず、ラットおよびウサギを用いたいずれの試験においても催奇形性は認められなかった。

各種変異原性試験の結果はすべて陰性であった。

ベスロジンは1968年に乳剤のレタスで初回登録を取得し、以後順次非食用分野への適用拡大を実施した。現在は芝、たばこおよび公園・庭園等の非食用にしほって登録されている。粒剤では1969年に芝の登録を、その後公園・庭園等の登録を取得した。1990年には芝専用剤である顆粒水和剤の登録を取得し、粒剤とともにゴルフ場で広く使用され、好評を得ている。

<試験機関および報告年>

- 1) リリー研究所、1965年
- 2) リリー研究所、1976年
- 3) リリー研究所、1986年
- 4) 東京歯科大学、1967年
- 5) リリー研究所、1981年
- 6) リリー研究所、1980年

- 7) リリー研究所、1982年
- 8) 環境保健生物研究センター、1988年
- 9) リリー研究所、1983年
- 10) リリー研究所、1984年
- 11) リリー研究所、1985年
- 12) リリー研究所、1988年
- 13) リリー研究所、1973年
- 14) リリー研究所、1972年
- 15) ヘーゼルトンラボラトリーズ・アメリカ、1985年
- 16) 残留農薬研究所、1979年

## 問合わせ

塩野義製薬株式会社 植物薬品開発部  
〒541 大阪市中央区道修町3-1-8