

シハロホップブチルの毒性試験の概要

ダウ・ケミカル日本株式会社
ダウ・エランコ事業部門

薬剤の概要

米国ダウ・エランコ社はかねてより除草剤の開発に着手しておりそのひとつとしてシハロホップブチルを開発した。本剤は水稲用除草剤として開発し、日本での登録を最優先しており、その後、韓国、フィリピン等のアジア諸国で登録申請する予定である。さらに、ブラジル・コロンビア等の南アメリカ諸国あるいはアフリカ、中近東、ヨーロッパ諸国でも開発を進めている。日本では、平成3年より、開発を公的に開始し、平成8年に水稲に登録を取得した。

本剤の化学構造と物理化学的性質は以下に示す通りである。

化学名：ブチル＝(R)－2－[4－(4－シアノ－2－フルオロフェノキシ)フェノキシ]プロピオナート

化学構造：

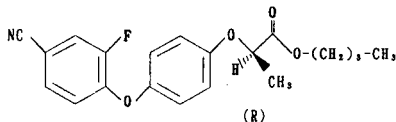


表1：

検体	動物種	投与経路	供試数	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関	報告年
原体	ラット	経口	♂・♀5	>5000	(財)残留農薬研究所	1992
	マウス	経口	♂・♀5	>5000		1992
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000		1992
	ラット	吸入	♂・♀5	>5.63mg/l		1994
0.6%製剤	ラット	経口	♂・♀5	>5000	(株)実医研	1993
	マウス	経口	♂・♀5	>5000		1993
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000		1993
1.8%製剤	ラット	経口	♂・♀5	♂4126 ♀3940	(株)実医研	1993
	マウス	経口	♂・♀5	♂3721 ♀3785		1993
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000		1993
30%製剤	ラット	経口	♂・♀5	♂3883 ♀2992	(株)実医研	1993
	マウス	経口	♂・♀5	>5000		1993
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000		1993

分子量：357.3

性状：類白色結晶性固体

融点：48～49℃

溶解点：(20℃) (g/l)

水 0.0007

ヘキサン 14.2

キシレン 409

ここでは、本剤の登録取得のために実施された安全性評価のための各種毒性試験成績について、とりまとめて報告する。

急性毒性試験（経口、経皮および吸入）

種々の投与経路による急性毒性試験を行ない、表1に示す結果を得た。

刺激性試験

シハロホップブチル製剤の眼および皮膚における一次刺激性を確かめるため、ウサギを用いて実施した。

1. 眼刺激性

一方を対照眼、他方を処理眼として、シハロホップブチル0.6%粒剤を点眼した。角膜、虹彩および結膜について72時間観察し、刺激性の評価を行った。全動物に、結膜の軽度充血・腫脹が認められたが、48時間後には正常に回復した。(実医研、1993年)

同様に、シハロホップブチル1.8%粒剤を点眼し、角膜、虹彩または結膜について刺激性の評価を行った。全例に結膜・虹彩の刺激性変化が、2/6例に角膜の変化が認められたが、全変化は、9日目に正常に回復した。(実医研、1993年)

同様に、シハロホップブチル30%乳剤(EW)を点眼し、検査を行った。5/6例にごく軽度の結膜の充血が認められたが、24時間後に消失した。(実医研 1993年)

2. 皮膚刺激性

刈毛したウサギ背部皮膚に、シハロホップブチル0.6%粒剤の0.5gを塗布し、皮膚の刺激性変化を調べた。全例に刺激性変化は認められなかった。(実医研、1993年)

同様に、シハロホップブチル1.8%粒剤を塗布し、皮膚の刺激性変化を調べた。3/6例にごく軽度の紅斑がみられたが、48時間後には消失した。(実医研 1993年)

同様に、シハロホップブチル30%乳剤(EW)を塗布し、皮膚の刺激性変化を調べた。全動物に異常は認められなかった。(実医研、1993年)

以上の結果より、シハロホップブチル製剤は、軽度から中等度の眼刺激性があるが、皮膚刺激性はないものと判断される。

皮膚感作性試験

ハートレー系モルモットを用い、Maximization法に準じて、シハロホップブチル原体の皮内感作を3回、その後6日目に経皮感作を行った。感作終了後、2週間目に同動物で誘発を行った。誘発後24、及び48時間目に適用部位の反応を観察した。陽性対照にはDNCBを用いた。その結果、検体感作群では、全例に変化は認められなかった。一方、陽性対照群では、全例に紅斑及び浮腫が認められた。(動物繁殖研究所、1995年)

また、ハートレー系モルモットを用い、Buhler法に

準じて、シハロホップブチル0.6%粒剤の経皮感作を3回行った。感作終了後、3週間目に同動物で誘発を行った。誘発後24および48時間目に適用部位の反応を観察した。陽性対照にはDNCBを用いた。その結果、いずれの時期にも変化はみられなかった。一方、陽性対照群では、明白な感作性反応が表われた。(実医研、1993年)

同様に、シハロホップブチル1.8%粒剤についても、皮膚感作性を調べた。いずれの動物にも変化はみられなかった。一方、陽性対照群では明白な感作性反応が表われた。(実医研、1993年)

同様に、シハロホップブチル30%乳剤(EW)の皮膚感作性を調べた。いずれの動物にも変化はみられなかった。一方、陽性対照群では、明白な感作性反応が表われた。(実医研、1993年)

以上の結果より、シハロホップブチルの原体、0.6%、1.8%粒剤および30%乳剤の感作性は陰性であると診断される。

亜急性毒性試験

1. ラットにおける3カ月亜急性毒性試験

一群雌雄各12匹のFischer系ラットにシハロホップブチルを0、30、300、1000及び3000ppmの濃度で基礎飼料に混入し、3カ月間摂食させた。

その結果、試験期間中死亡例はなく、投与に関連した臨床症状も認められなかった。3000ppm群の雄で体重増加抑制が認められた。また、血液学的検査では、1000ppm以上の群の雄で、赤血球関連項目の変化がみられた。血液生化学的検査では、300ppm以上の雄で尿素窒素とA/Gの増加、グロブリンと総コレステロールの減少が、1000ppm以上の雄で、アルカリホスファターゼの増加、GOT、GPTの減少が、また、1000ppm以上の雌でアルブミンとA/G比の増加、3000ppm群の雌雄で、それぞれ総蛋白の増加とグロブリンの減少が認められた。臓器重量では、雄では300ppm以上の群で、雌では1000ppm以上の群で、肝、腎、脾の重量に変化が見られた。病理検査では、1000ppm以上の群の雌雄で肝腫大、肝脂調化、腎脂調化がみられた。また、雄では300ppm以上の群で、雌では1000ppm以上の群で、肝細胞腫大が、雌雄ともに3000ppm群で腎尿細管上皮褐色色素沈着及び上皮内好酸性小体減少が認められた。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチ

ルの最大無作用量は、雄で30ppm(1.72mg/kg/日)、雌で300ppm(19.6mg/kg/日)であると判断した。

(残留農薬研究所、1993年)

2. マウスにおける3カ月亜急性毒性試験

一群雌雄各12匹のICR系マウスにシハロホップブチルを0、3、30、100及び300ppmの濃度で基礎飼料に混入し、3カ月間摂食させた。

その結果、試験期間中死亡例はなかった。投与に関連した臨床症状も認められず、体重増加抑制も認められなかった。血液学的検査・血液生化学的検査ともに異常は認められなかった。30ppm以上の群の雄で、pHおよびケトンが減少した。臓器重量では、30ppm以上の雄と100ppm以上の雌では肝重量の増加が、30ppm以上の雌では腎重量の増加がみられた。病理検査では雌雄とも100ppm以上の群で肝腫大・暗調化が認められた。また、雌雄とも100ppm以上の群で肝細胞腫大が、雄の300ppm群で肝細胞壊死、雌の100ppm以上の群で腎近位尿管腫大が認められた。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチルの最大無作用量は、雌雄ともに3ppm(雄で0.37、雌で0.44mg/kg/日)であると判断した。(残留農薬研究所、1993年)

3. イヌにおける3カ月亜急性毒性試験

一群雌雄各4匹のビーグル犬にシハロホップブチルを0、100、500および2500ppmの濃度で基礎飼料に混入し、3カ月間摂食させた。

その結果、試験期間中死亡例はなかった。2500ppm群の雌雄及び500ppm群の雄で、軟便が観察された以外に一般症状で異常は認められなかった。また、2500ppm群の雄では、平均体重値が対照群と比べ若干低く、累積体重増加量も対照群より低値であった。雌の体重は対照群と同様であった。血液学的検査では、軽度の血色素及び赤血球数の低下、血小板数の増加がみられた。血液生化学的検査では、2500ppm群の雌雄で、総ビリルビンの増加が、また、2500ppm群の雄で中性脂肪が減少した。臓器重量では、2500ppm群の雄で、肝の対体重比が増加し、同群雌で胸腺重量及び体重比が減少した。病理検査では、2500ppmの雌雄に、胆のうの膨満及び胸腺の褐色化が、また、500ppm群の雌に胆のうの膨満が認められた。組織学的検査では、2500ppm群の雌雄で、肝細胞細胞質好酸性化、腎尿管上皮の硝子滴変性が認められた。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチルの最大無作用量は、雄で500ppm(14.7mg/kg/日)、雌で100ppm(3.17mg/kg/日)であった。(残留農薬研究所、1994年)

慢性毒性試験

1. ラットにおける慢性毒性・発がん性試験

一群雌雄各90匹のFischer系ラットにシハロホップブチルを雄には、0、3、6、24及び100ppmの濃度で、雌には0、6、60及び600ppmの濃度で基礎飼料に混入し、24カ月間摂食させた。

その結果、死亡率に、投与群と対照群との間の差は認められなかった。投与に関連した臨床症状も認められなかった。体重増加抑制も認められなかった。摂餌量では、24ppm以上の群の雄及び600ppm群の雌で有意な増加がみられた。血液学的検査では、24ppm以上の群の雄で、赤血球数の減少、MCV及びMCHの増加がみられたが、軽度であり、一時期だけだったため、毒性学的意義は少ないものと考えられた。血液生化学的検査では、100ppm群の雄および600ppm群の雌でA/G比の増加、グロブリン・総コレステロールの減少などがみられた。尿検査では、100ppm群の雄、60ppm以上の雌でpH及び尿量が増加した。臓器重量では、100ppm群の雄及び600ppm群の雌で肝及び腎の重量及び対体重比が増加した。病理検査では、100ppm群の雄及び600ppm群の雌で、腎の暗調化が、また600ppm群の雌で肝の暗調化及び腫大が認められた。組織学的検査では、100ppm群の雄及び600ppm群の雌で、腎尿管褐色色素沈着、600ppm群の雌で肝細胞腫大がみられた。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチルの最大無作用量は、雄で24ppm(0.823mg/kg/日)、雌で6ppm(0.245mg/kg/日)であると判断された。催腫瘍性はないものと判断される。(残留農薬研究所、1994年)

2. マウスにおける慢性毒性・発がん性試験

一群雌雄各76匹のICR系マウスにシハロホップブチルを、0、3、10及び100ppmの濃度で基礎飼料と混合し、18ヶ月間摂食させた。

その結果、死亡率に、投与群と対照群との間の差は認められなかった。投与に関連した臨床症状も、体重増加抑制も認められなかった。血液学的検査及び血液生化学的検査では投与に関連した変化は認められな

かった。尿検査では、10ppm以上の群の雄でpHが増加した。臓器重量では、100ppm群の雌雄で肝重量及び対体重比が増加した。病理検査では、100ppm群の雌雄で、肝の暗調化が、100ppm群の雌及び10ppm以上の雄で肝細胞腫大が、また同群で肝腫大などが認められた。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチルの最大無作用量は雌雄とも3ppm（雄で0.311、雌で0.294mg/kg/日）であると判断した。催腫瘍性はないものと判断された。（残留農薬研究所、1994年）

3. イヌにおける慢性毒性試験

一群雌雄各4匹のビーグル犬にシハロホップブチルを0、50、300及び1800ppmの濃度で基礎飼料と混合し、12カ月間投与した。

その結果、死亡例はなかった。1800ppm群の雌雄で1例ずつに軟便がみられた。300ppm以上の雄で累積体重増加抑制が認められた。血液学的検査で検体投与による影響は認められなかった。血液生化学的検査では、中性脂肪・総蛋白の減少、および総ビリルビンの増加が認められた。臓器重量では変化は認められなかった。病理検査では、1800ppm群の雌雄あるいは300ppm以上の群の雌で胆のうの膨満が観察された。また、1800ppm群の雄で肝の退色、同群の雌で腎の退色などがみられた。組織学的検査では、1800ppm群の雌雄で肝細胞細胞質好酸性化および粘液分泌をともなった胆のう上皮過形成が、また、同群雌で甲状腺ろ上皮肥大が認められた。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチルの最大無作用量は、雌雄とも50ppm（雄で1.22、雌で1.29mg/kg/日）であった。（残留農薬研究所、1994年）

繁殖毒性試験

1. ラットにおける2世代繁殖毒性試験

一群雌雄各24匹のSD系ラットにシハロホップブチルを0、10、100及び100ppmの濃度で基礎飼料と混合し、F₀、F₁、F₂世代にわたって摂食させ、繁殖性に対する影響を調べた。

その結果、動物の一般状態、体重増加量で異常は認められなかった。親動物では、100ppm以上の群の雄のF₀またはF₁世代で、腎重量増加、尿管管上皮腫大がみられた。また、1000ppm群の雌雄では、F₀およびF₁世代で、肝重量増加、肝腫大・暗調化および肝臓細胞腫大が認められた。その他、繁殖能力に関しては、妊娠

率、妊娠期間、出産状況等に変化はなかった。また、仔動物検査では1000ppm群でも何ら影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるシハロホップブチルの最大無作用量は、親動物で10ppm（雄で0.49mg、雌で0.64mg/kg/日）、仔動物で1000ppmと考えられた。繁殖能に対しては、1000ppmまで投与しても何ら影響は認められなかった。（残留農薬研究所、1994年）

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性試験

一群雌24匹のSD系妊娠ラットに、シハロホップブチルを0、25、250及び1000mg/kg/日の用量で妊娠6から15日までの10日間毎日強制経口投与した。

その結果、母動物の一般状態に異常は認められなかったが、体重増加抑制および摂餌量の減少が認められた。胎仔に関しても、体重、生存率、性比、外表、骨格および内臓に1000mg/kg/日の用量まで検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、シハロホップブチルは、ラット胎仔に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。（残留農薬研究所、1992年）

2. ウサギにおける催奇形性試験

一群雌18匹の日本白色種ウサギに、シハロホップブチルを0、40、200及び1000mg/kg/日の用量で妊娠6から18日までの13日間毎日強制経口投与した。

その結果、200mg/kg/日以上群で、母動物に死亡例、血尿、腎の混濁・暗調化が認められた。胎仔では、外表、骨格および内臓奇形に関して、検体投与の影響は認められなかったが、骨格変異（腰肋）の発生頻度が200mg/kg/日以上群で増加した。この腰肋は、対照群でも比較的多くみられるものであり、200mg/kg/日群の値は、背景データの範囲に入る程度のものであった。

以上の結果、シハロホップブチルはウサギ胎仔に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。

（残留農薬研究所、1994年）

変異原性試験

変異原性の有無を検討するために、微生物を用いてDNA損傷性および復帰変異試験（代謝活性化を含む）、チャイニーズハムスターを用いた染色異常誘発

試験、また、マウスを用いた小核試験を行った。

1. 復帰変異試験

復帰変異試験では、通常よく用いられる *Salmonella typhimurium* (TA98, TA100, TA1535及びTA1537株)、および大腸菌 WP 2 UVrA を用いた。本試験では、S-9 mixture を添加する系での代謝活性化も行った。シハロホップブチル添加量は、S-9 mixture の添加及び無添加ともに $313\sim 5000\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。陽性対照として、9-アミノアクリジン、アジド酸ナトリウム、2-アミノアントラセン及び AF-2 を用いた。シハロホップブチルは、代謝活性化を含め、いずれの濃度においても、復帰変異数の増加は認められなかった。また、陽性対照は、いずれも対照と比較して明らかな復帰変異菌数の増加を認めた。(残留農薬研究所、1991年)

2. Rec-assay

Bacillus subtilis の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNA の損傷の誘発性を検定した。試験濃度は、 $200\sim 10000\mu\text{g}/\text{disk}$ とし、培養後阻止帯の長さを測定した。また、溶媒対照として DMSO、陰性対照としてカナマイシン、陽性対照として 2-アミノアントラセン及びマイトマイシン C を用いた。シハロホップブチルは、いずれの濃度においても両株に全く生育阻止帯を認めなかった。一方、陽性対照では明らかな生育阻止帯を生じた。(残留農薬研究所、1991年)

3. チャイニーズハムスターの肺細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺由来の細胞株を用いて試験を行った。シハロホップブチル添加濃度は、S-9 mixture 添加の代謝活性化及び非活性化系とも $312.5\sim 5000\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。陽性対照として、マイトマイシン C、ベンツ (a) ピレンを用いた。検体投与群では、直接法 48 時間処理で、 $312.5, 625\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度において倍数性細胞の増加が多少認められた。しかし、これ以上の濃度 ($1250, 2500, 5000\mu\text{g}/\text{ml}$) ではむしろ減少した。この理由は明らかではなかったが、検体が高濃度で析出していたことを考えると、 $1250\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上では、検体が析出浮遊し細胞との接触が有効ではなかったと推察された。この結果を確認するため $39.1\sim 2500\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で、再試験 (直接法 48 時間処理) を行ったところ、倍数性細胞の出現頻度は $312.5,$

$625\mu\text{g}/\text{ml}$ で増加し、再現性がみられた。

倍数性の増加は、直接法のみでみられ、代謝活性化法では、観察されなかった理由としては、検体が代謝された後、不活性化される可能性などが考えられた。

倍数性を除く染色体異常は、活性化・直接法をとわず検体処理群、陰性対照群ともにみられず、一方、陽性対照群では顕著に増加した。

以上の結果より、本剤は、直接法で 48 時間処理した場合にのみ倍数性の数的染色体異常を弱く誘発したが、その他の染色体異常は、代謝活性化、直接法を問わず、誘発しないものと判断される。(残留農薬研究所、1991年)

4. マウスの骨髄細胞を用いた小核試験

1 群雌雄各 15 匹の CD-1 マウスに、シハロホップブチルを 0 および $5000\text{mg}/\text{kg}$ の用量で単回投与した。投与後 24、48 および 72 時間で雌雄各 5 匹ずつを屠殺し、小核を有する赤血球の出現頻度を記録した。なお、陽性対照にはマイトマイシン C を用いた。またシハロホップブチルを 0、1250、2500 および $5000\text{mg}/\text{kg}$ の用量で雌雄各 5 匹ずつ単回投与して、投与後 24、48 及び 72 時間で屠殺した。また、同用量で雌雄各 5 匹ずつ単回投与して、24 時間後に屠殺し、用量依存性を調べた。いずれの用量群においても小核を有する赤血球の頻度に有意な増加は認められず、用量依存性もなかった。(残留農薬研究所、1991年)

以上より、シハロホップブチルは、変異原性を有さないと判断される。

生体機能に及ぼす影響

シハロホップブチルの生体機能に及ぼす影響について、マウス (CD-1、雌雄)、ウサギ (日本白色種、雄) を用いた一般薬理試験を行い評価した。

1. マウス、ウサギの中樞神経系に対する作用

シハロホップブチルをマウス、ウサギに $0\sim 5000\text{mg}/\text{kg}$ の用量で強制経口投与し、一般状態を多元的に観察した。

その結果、マウスでは死亡例はなく、行動の変化、毒性症状もみられなかった。ウサギでは、行動の変化、毒性症状はみられなかったが、 $5000\text{mg}/\text{kg}$ の群の 1 例が非特異的な抑制性の症状を発現して 4 日目に死亡した。

2. ウサギの呼吸・循環器系に対する作用

シハロホップブチルを麻酔したウサギに0及び5000mg/kgの用量で、経口投与し、血圧、呼吸数、心電図を測定した。検体投与に関する影響は認められなかった。

以上より、シハロホップブチルの急性毒性は弱いと考えられた。(残留農薬研究所、1992年)

要約

シハロホップブチル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、シハロホップブチルの急性毒性は弱く普通物に相当した。眼及び皮膚刺激性は軽度に認められたが短期間で回復した。皮膚感作性は原体、製剤ともに陰性であった。

ラット及びマウスを用いた亜急性毒性試験では、高用量群で肝細胞腫大、腎尿細管上皮の変化が認められた。ラット、マウス及びイヌの慢性毒性試験では、高用量群で、総コレステロール、中性脂肪、蛋白の減少および総ビリルビンの増加、尿量増加などがみられた。また、病理組織検査ではラット、マウスでは肝細胞腫大、ラットでは腎尿細管色素沈着がみられた。イヌでは、肝細胞細胞質好酸性化、胆のう上皮過形成、甲状腺ろ胞上皮肥大が認められた。

繁殖毒性試験では、高用量群で、親動物に肝・腎重量の増加がみられたが、仔動物では変化がみられず、繁殖能に対する影響も認められなかった。

催奇形性試験では、ラット及びウサギに対する催奇形性はみられず、変異原性試験の結果は陰性であった。

シハロホップブチルは除草剤として開発された。平成8年に除草剤として農薬登録され現在に至っている。

問合せ

ダウ・ケミカル日本株式会社

ダウ・エランコ事業部門 研究開発本部登録部

〒140 東京都品川区東品川2-2-24