

テブフェノジドの毒性試験の概要

アグリード株式会社 開発部

薬剤の概要

テブフェノジド (ロムダン®) はローム・アンド・ハース・カンパニーによって創製されたジベンゾイルヒドラジン系殺虫剤であり、エクグイソニアゴニストとして水稻、果樹、茶、そ菜、花卉の鱗翅目害虫に対して低薬量で高い殺虫活性を示す。

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：テブフェノジド (tebufenozide) (ISO)
 化学名：*N-tert-butyl-N'-(4-ethylbenzoyl)-3,5-dimethylbenzohydrazide*

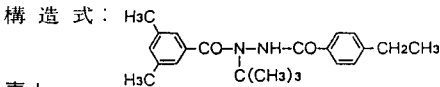


表1

分子式： $C_{22}H_{28}N_2O_2$

分子量：352.48

外觀：無色針状結晶

融点：191-191.5°C

蒸気圧： 3×10^{-6} Pa (25°C)

分配係数： $\log Po/w=4.25$ (25°C)

溶解度(%)：水0.83ppm、アセトン6.5、メタノール10.8、トルエン0.24、塩化メチレン24.0

急性毒性

結果を表1に示す。

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

ニュージーランド・ホホワイト種雄ウサギ及び日本白

検体	動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)		試験機関 (報告年)
			雄	雌	
原 体	ラット	経口	>5000	>5000	ローム&ハース (1991)
	マウス	経口	>5000	>5000	
	ラット	経皮	>5000	>5000	ローム&ハース (1992)
	ラット	吸入	>4.3	>4.5mg/ℓ	
0.75% 粉 剤 DL	ラット	経口	>5000	>5000	三菱化成安全科学研究所 (1992)
	マウス	経口	>5000	>5000	
	ラット	経皮	>2000	>2000	
10% 水 和 剤	ラット	経口	>5000	>5000	
	マウス	経口	>5000	>5000	
	ラット	経皮	>2000	>2000	
20% フ ロ ア ブ ル	ラット	経口	>5000	>5000	
	マウス	経口	>5000	>5000	
	ラット	経皮	>2000	>2000	

色種雌ウサギを用いた試験結果を表2に示す。

表2

検体	投与量 (点眼)	結果	試験機関 (報告年)
原体	0.1g	刺激性なし	ローム&ハース (1988)
0.75%粉剤 DL	0.1g	軽度の刺激性	ボゾリサーチ センター (1992)
10%水和剤	0.1g	軽度の刺激性	
20% フロアブル	0.1ml	刺激性なし	

2. 皮膚一次刺激性試験

ニュージーランド・ホワイト種雄ウサギ及び日本白色種雌ウサギを用いた試験結果を表3に示す。

表3

検体	投与量 (塗布)	結果	試験機関 (報告年)
原体	0.5g	刺激性なし	ローム&ハース (1988)
0.75%粉剤 DL	0.5g	刺激性なし	ボゾリサーチ センター (1992)
10%水和剤	0.5g	刺激性なし	
20% フロアブル	0.5ml	刺激性なし	

3. 皮膚感作性試験

テブフェノジド原体の50%オリーブ油溶液0.2mlを塗布したリント布をハートレー系雌モルモットの刈毛した左腹側部に1回6時間、1、7及び14日に閉塞貼付し感作処理した。最終感作の2週間後に刈毛した右腹側部に感作と同様の処理を行い、惹起させ、惹起24時間及び48時間後に紅斑及び浮腫を観察した。その結果、いずれの観察時点でも陽性反応は認められなかった。

以上の結果から、テブフェノジド原体の皮膚感作性は陰性であると判定された。

(ボゾリサーチセンター 1989年)

テブフェノジド0.75%粉剤DL、10%水和剤の蒸留水懸濁液及び20%フロアブル原液についてモルモットを用いて原体同様に感作及び惹起処理を行った結果、いずれの製剤も陽性反応は認められず、感作性は陰性であると判定された。

(ボゾリサーチセンター 1989年)

亜急性毒性試験

1. マウスを用いた試験

テブフェノジド原体を0、20、200、2000、20000ppm含有する飼料をCr1:CD-(ICR)BR系マウスに13週間摂食させた。

体重増加抑制が200ppm以上の投与群雄でみられたが、摂餌量に検体投与による変化はみられなかった。血液学的検査では2000及び20000ppm群雌雄で網状赤血球数、網状赤血球率、平均赤血球色素量、ハインツ小体及びメトヘモグロビン濃度が増加した。2000ppm群雄及び20000ppm群雌雄で分葉球数及び平均赤血球色素濃度が増加し、2000ppm群雌及び20000ppm群雌雄で白血球数及びリンパ球数が増加した。また、2000及び20000ppm群雄で赤血球数の減少及び平均赤血球容積が増加した。

血液生化学的検査では2000ppm群雄で総タンパク濃度、カルシウム濃度、カリウム濃度及びALP活性が増加し、2000ppm群雄でカリウム濃度及びALP活性が増加した。

尿検査及び眼科学的検査では検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量では2000及び20000ppm群雌雄で肝及び脾の絶対重量及び対体重比が増加した。

肉眼的病理検査では2000及び20000ppm群雌雄4～10例に脾の肥大が認められた。病理組織学的検査では2000及び20000ppm群雌雄で肝、脾及び腎尿細管の色素沈着の発生率及び程度が増加し、脾では髓外造血が増加し、200ppm群雌雄の脾でも髓外造血と色素沈着が僅かに増加した。PB及びホール染色の結果、肝の色素は胆汁であり、肝、脾及び腎の色素は鉄反応陽性物質であった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は20ppm(雄:3.37mg/kg/日、雌:4.27mg/kg/日)と判断された。(Hazleton Lab., America 1991年)

2. ラットを用いた試験

テブフェノジド原体を0、20、200、2000及び20000ppm含有する飼料をCr1:CD BR系ラットに13週間摂食させた。

体重増加抑制が2000及び20000ppm群雌雄でみられ、同群で摂餌量の低下がみられた。

血液学的検査では2000及び20000ppm群雌雄で赤血球、ヘモグロビン濃度及び平均赤血球色素濃度が減少し、平均赤血球容積が増加した。同群雌では更に網状赤血

球率及び平均赤血球血色素量が増加し、ヘマトクリット値及び血小板が減少した。また、2000ppm群雌で骨髄系/赤芽球系比が減少した。

血液生化学的検査では、20000ppm群雌でグロブリン濃度及びグルコース濃度が僅かに増加した。

尿検査、眼科学的検査及び神経学的行動検査で検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量では、2000ppm群雌及び20000ppm群雌雄で最終体重の減少がみられ、20000ppm群雌で絶対重量並びに2000ppm群雌及び20000ppm群雌雄で肝の対体重比及び対脳重量比が増加した。また、20000ppm群雌雄で脾の対体重比が増加した。

肉眼的病理検査では検体投与に関連のある変化は認められなかった。病理組織学的検査では2000及び20000ppm群雌雄の脾で色素沈着が増加し、20000ppm群雌雄例で腎に軽度～中等度の尿細管腎症が認められた。

以上の結果から、本試験における無毒性量は200ppm(雄：13.1mg/kg/日、雌：15.6mg/kg/日)と判断された。(Hazleton Washington 1991年)

3. イヌを用いた試験

テブフェノジド原体を0、50、500及び5000ppm含有する飼料をビーグル犬に13週間摂食させた。

5000ppm群雄で体重増加量に僅かな低下がみられ、また、同群雌雄で摂餌量に僅かな低下がみられ、また、同群雌雄で摂餌量に僅かな低下がみられた。血液学的検査では500ppm群雌及び5000ppm群雌で6週に、5000ppm群雄で13週に網状赤血球数及び率が増加し、同時にハインツ小体が500ppm以上の群雌雄で6週に、5000ppm群雌で13週に増加した。また、メトヘモグロビン濃度が5000ppm群雌で6及び13週に増加した。さらに、500ppm群雌で13週に、5000ppm群雌で6及び13週に赤血球が減少し、5000ppm群雄で6及び13週に血小板が増加し、6週に平均赤血球血色素濃度が低下した。

血液生化学的検査では5000ppm群雌で6週に、同群雌雄で13週に総ビリルビン濃度が増加し、尿検査では5000ppm群雌3例で総ビリルビンが検出された。眼科学的検査では検体投与に関連のある変化は認められなかった。

臓器重量では5000ppm群雌で脾重量が増加した。肉眼的病理検査では500及び5000ppm群雌各1例に脾の腫大が認められた。病理組織学的検査では500及び5000ppm群雌雄で肝のクッパー細胞の色素沈着量が増加し、脾の造血亢進及び脾洞の血液量が増加した。また、5000ppm

群雌雄で骨髄の過形成が認められた。

以上の結果から、本試験における無毒性量は50ppm(雄：2.09mg/kg/日、雌：2.05mg/kg/日)と判断された。(Hazleton UK 1992年)

4. イヌを用いた血液毒性回復性

テブフェノジド原体を0及び1500ppm含有した飼料を雄ビーグル犬に6週間摂食させ、さらに4週間回復期間を設けた。

検体投与終了後の検査で、投与群において赤血球数及びヘモグロビン濃度の低下を指標とする貧血並びにメトヘモグロビン値の増加が認められたが、投与中止後2週では貧血は認められず、メトヘモグロビン値も明らかな回復傾向を示していた。また、投与中止後4週では血液学的検査に異常は認められなかった。以上の結果から、テブフェノジドのビーグル犬における血液毒性は、投与中止後4週間以内に回復すると考えられた。(残留農薬研究所 1992年)

慢性毒性試験

1. イヌを用いた慢性毒性試験

テブフェノジド原体を0、15、50、250及び1500ppm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に検体投与の影響は認められなかった。1500ppm群雄で体重増加量に僅かな低下がみられたが、摂餌量に検体投与の影響はなかった。血液学的検査では250ppm以上の群雌雄でハインツ小体出現率が増加し、同群雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値が減少並びに平均赤血球容積、網状赤血球数が増加した。また、1500ppm群雌雄で平均赤血球血色素量及びメトヘモグロビン濃度が増加し、同群雄で血小板数、雌で平均赤血球容積が増加した。血液生化学的検査では1500ppm群雌雄で総ビリルビンが増加した。尿検査及び眼科学的検査で検体投与に関連のある変化は認められなかった。臓器重量では250及び1500ppm群雄で肝の対体重比、雌で脾の絶対重量が増加し、150ppm群雌で脾の対体重比が増加した。肉眼的病理検査では検体投与の影響を示唆する所見は認められなかった。病理組織学的検査では250及び1500ppm群雌雄で肝のクッパー細胞の色素沈着の増加、脾洞の血液量の増加及び胸骨骨髄の過形成並びに250ppm群雌及び1500ppm群雌で脾の造血亢進及び大腿骨骨髄の過形成が認められた。

以上の結果から、本試験における無毒性量は50ppm(雄

: 1.8mg/kg/日、雌: 1.9mg/kg/日) と判断された。
(Hazleton UK 1992年)

2. ラットを用いた慢性毒性/発癌性併合試験

テブフェノジド原対を0、10、100、1000及び2000ppmを含有する飼料をCrI:CD BR系ラットに104週間摂食させた。

一般症状では1000ppm群以上の雌で乳腺腫張の発生動物数が投与1~12ヶ月及び13~15ヶ月で増加したが、投与16~24ヶ月では対照群との差は認められなくなった。体重変化では1000及び2000ppm群雌雄で対照群に比べ低値で推移し、雌でより顕著であった。試験終了時の平均体重は2000ppm群雌で有意に減少した。摂餌量では1000及び2000ppm群雌で3~5%の減少が認められた。血液学的検査では1000及び2000ppm群雌雄で13、26ないし52週に赤血球数、ヘモグロビン濃度及びヘマトクリット値が減少し、同群雌では網状赤血球数や網状赤血球率が増加した。血液生化学的検査では検体投与に関連のある毒性学上重要な変化は認められなかった。また、尿検査及び眼科学的検査では検体投与に関連のある異常はみられなかった。臓器重量では中間屠殺時に2000ppm群雌で脾の対体重比が増加し、血液学的変化及び脾の組織学的変化に関連するものと考えられた。肉眼的病理検査では乳腺の腫瘍及び肥厚が認められた動物数に投与に関連した増加はなく、用量と関連した所見は認められなかった。病理組織学的検査では1000ppm群雌及び2000ppm群雌雄で脾の色素沈着量が僅かに増加し、2000ppm群雌で下垂体の腺腫及び増殖性病変が僅かに増加した。下垂体の増殖性病変は本試験に用いたラットで頻繁に認められており、また、背景データの範囲内にあり、検体投与の影響とは考えられなかった。いずれの投与群で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、本試験における無毒性量は100ppm(雄: 5 mg/kg/日、雌: 6 mg/kg/日)と判断された。また、最高用量の2000ppmにおいても発癌性は認められなかった。(Hazleton Washington 1992年)

3. マウスを用いた発癌性試験

テブフェノジド原体を0、5、50、500及び1000ppm含有した飼料をCrI:CD-1 (IRC) BR系マウスに78週間摂食させた。

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。体重増加量の増減が散見されたが、最終体重に投与に関連した変化はなく、摂餌量に投与に関連し

た変化はみられなかった。血液学的検査では79週の500ppm群雌で網状赤血球数及び率の増加が、1000ppm群雌雄でメトヘモグロビン濃度の増加及び雌で平均赤血球色素濃度の減少が認められた。また、1000ppm群雌雄で棘状赤血球あるいは多染性赤血球の出現率が増加した。

臓器重量では1000ppm群雌で脾の対体重比が増加した。肉眼的病理検査では検体投与の影響を示唆する所見は認められなかった。病理組織学的検査では500ppm群雌及び1000ppm群雌雄で脾の色素沈着量が増加し、色素はH & E染色で金茶色を呈する顆粒状物質であり、喰食細胞内のヘモジデリンに一致する物質であった。投与群の腫瘍発生率に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量は50ppm(雄: 8 mg/kg/日、雌: 9 mg/kg/日)と判断された。また、最高用量の1000ppmにおいても発癌性は認められなかった。(Hazleton Washington 1992年)

繁殖および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖試験

テブフェノジド原体を0、10、150、2000ppm含有する飼料をCrI:CD BR系ラットの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。

2000ppm群の両世代の雄で体重及び摂餌量が僅かに低下し、親動物の病理学的検査では両世代とも2000ppm群雌雄で脾の色素沈着量の増加及び髄外造血の亢進が認められ、色素沈着の増加は150ppm群雌でも観察された。繁殖性に関しては、各世代とも交尾率、妊娠率に異常はなかったが、2000ppm群でP₁及びP₂世代に分娩しない妊娠動物が増加し、同群のP₂世代で分娩時死亡数の増加、平均着床数の減少が認められた。F₁及びF₂仔に投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における繁殖能への無毒性量は150ppm(雄: 11.5~13.6mg/kg/日、雌: 12.8~14.5 mg/kg/日)であり、一般毒性については雄で150ppm(雄: 11.5~13.6mg/kg/日)、雌で10ppm(0.9~1.0 mg/kg/日)と判断された。

(Rohm and Haas Co. 1992年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

テブフェノジド原体をCMC-Na溶液に懸濁し、0、50、250、1000mg/kgの用量でCrI:CD BR系雌ラットに妊娠6日から15日までの10日間毎日1回経口投与した。

親動物では1000ppm群で体重増加抑制が妊娠6~9日

にみられ、相対摂餌量に一過性の減少もみられた。なお、着床所見に検体投与の影響は認められなかった。胎仔動物では体重、性比、外表観察、内臓及び骨格検査において、検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、テブフェノジドのラット親動物に対する無毒性量は250mg/kg/日、胚～胎仔に対する無毒性量は1000mg/kg/日と判断された。また、最高投与量の1000mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。(Argus Research Lab. 1991年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

テブフェノジド原体をメチルセルロース溶液に懸濁し、0、50、250、1000mg/kgの用量でニュージーランドホワイト種雌ウサギに妊娠7日から19日までの13日間毎日1回経口投与した。

親動物に検体投与に関連のある変化は認められず、着床所見にも検体投与の影響はなかった。また、胎仔動物に検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、テブフェノジドのウサギ親動物及び胚～胎仔に対する無毒性量は1000mg/kg/日と判断された。また、最高投与量の1000mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

(Rohm and Haas Co. 1992年)

変異原性試験

1. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性の*Salmonella typhimurium* (TA 98、TA100、TA1535、TA1537) 及びトリプトファン要求性の*Escherichia coli* (WP2 *uvrA*) を用い、ラットの肝薬物代謝酵素系 (S-9mix) の存在および非存在下でAmesらの方法で変異原性検定した。被検物質濃度は*Salmonella typhimurium*では50～5000μg/plate、*Escherichia coli*では200～5000μg/plateとした。

テブフェノジドはS-9mixの有無にかかわらず、いずれの菌株でも復帰変異コロニーの増加を誘発せず、テブフェノジドには復帰変異原性はないと判断された。

(Rohm and Haas Co. 1991年)

(残留農薬研究所 1992年)

2. DNA修復試験

*Bacillus subtilis*の組換修復機構保持株(H17)と欠損株(M45)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DNA損傷誘発性を検定した。被検物質濃度は100～4000μg/diskとした。

S-9mixの有無にかかわらず、テブフェノジドのい

れの濃度においても両菌株の間に生育阻止帯の差は認められず、テブフェノジドにDNA損傷誘発性はないと判断された。

(残留農薬研究所 1991年)

3. 不定期DNA合成試験

雄ラットの分離肝細胞に検体のDMSO溶液及び³H-チミジンを添加し、18時間培養して不定期DNA合成誘発性を検討した。被検物質濃度は10～60μg/mlとした。

最高濃度でも核当たりの平均銀粒子数の増加は認められず、テブフェノジドは不定期DNA合成を誘導しないと判断された。

(SITEK Research Lab. 1990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。被検物質濃度は5～30μg/mlとした。

いずれの濃度でもS-9mixの有無にかかわらず染色体異常を有する細胞の出現率の増加は認められず、テブフェノジドは染色体異常誘発性はないと判断された。

(SITEK Research Lab. 1987年)

5. in vivo染色体異常試験

テブフェノジド原体を0、500、2500及び5000mg/kgの用量でラットに1回経口投与し、投与6、24及び48時間後に屠殺して大腿骨の骨髓塗抹標本を製し、有糸分裂中期細胞について染色体異常を検査した。いずれの濃度でも染色体異常を有する細胞の出現率の増加は認められず、テブフェノジドは染色体異常誘発性はないと判断された。

(SITEK Research Lab. 1992年)

一般薬理試験

ICR系マウス、SD系ラット、日本白色種ウサギ、ハートレー系モルモットを用いて下記試験を実施した。

- ①中樞神経系に及ぼす影響—一般症状(マウス)、体温(ウサギ)
- ②呼吸・循環器系に及ぼす影響—呼吸、血圧、血流量、心拍数、心電図(ウサギ)
- ③自律神経系に及ぼす影響—瞳孔径(ウサギ)、摘出回腸(モルモット)
- ④消化器に及ぼす影響—小腸輸送能(ラット)
- ⑤骨格筋に及ぼす影響—前脛骨筋(ウサギ)
- ⑥血液に及ぼす影響—溶血性、血液凝固(ウサギ)

アセチルコリン収縮の抑制、即ち副交感神経作用の抑制に関連するラット小腸の炭末輸送能の抑制以外に薬理学的に特徴のある作用は認められなかった。

(実医研/松本歯科大学薬理学教室 1992年)

要約

テブフェノジド原体、0.75%粉剤DL、10%水和剤及び20%フロアブ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、原体及び各製剤の急性毒性は弱く、特異的な薬理作用も認められなかった。0.75%粉剤DL及び10%水和剤で軽度の眼刺激性を示したが、原体及び各製剤で皮膚刺激性および皮膚感作性は認められなかった。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で溶血性貧血を示唆する血液学的変化、脾の色素沈着量の増加、肝及び脾重量の増加が認められた。ラット及びマウスの長期試験でテブフェノジド投与に起因する腫瘍性病変の増加は認められず、各種の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1994年に稲、1995年に果樹、茶、甜菜に登録された。登録保留基準は稲0.5ppm、果実0.5、茶25ppm、甜菜0.1ppmである。

テブフェノジド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

アグリード株式会社 開発部

〒340-0201 埼玉県北葛飾郡鷺宮町八甫2763