

ハルフェンプロックスの毒性試験の概要

三井化学株式会社 農薬事業部

薬剤の概要

ハルフェンプロックスは昭和61年、三井東圧化学㈱によりみいだされたフェノキシベンジルプロピルエーテル系の殺ダニ剤である。

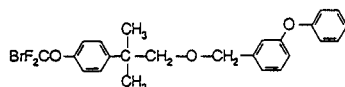
本剤は、既存殺ダニ剤とは異なる化学構造を有し、当初からダニの抵抗性を回避する目的で開発された。昭和62年より財団法人日本植物防疫協会を通じて委託試験を開始し、カンザワハダニ、ナミハダニ等の各種ハダニ類に高い活性を有し、さらにチャノミドリヒメヨコバイ、チャノキイロアザミウマにも有効であることが確認され、平成6年に商品名アニバースとして登録が認可された。

本化合物の化学構造及び物理化学的性質を以下に記す。

一般名：ハルフェンプロックス、halfenprox

化学名：2-(4-bromodifluoromethoxyphenyl)-2-methylpropyl 3-phenoxybenzyl ether

構造式：



分子式：C₂₄H₂₃BrF₂O₃

分子量：477.32

性状：無色透明液体

比重：1.318 (20℃)

沸点：291.2℃ (分解)

蒸気圧：2.86×10⁻⁴ mmHg (100℃)

溶解度：蒸留水；0.05μg/ℓ (25℃)

有機溶媒：殆ど全ての溶媒と良く混和する

分配係数：5.2 (水-オクタノール)

急性毒性試験

種々の投与経路による急性毒性試験の結果は次の通りである。

1. 原体

供試動物	投与方法	性別	LD ₅₀ または最大無作量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
マウス	経口	♂	146	Huntingdon (1990)
		♀	121	
ラット	経口	♂	132	Huntingdon (1990) アニマルリサーチ (1990) 残留農薬研究所 (1991)
		♀	159	
	経皮	♂♀	>2000	
	吸入	♂	1.38	残留農薬研究所 (1991)
		♀	0.36 ^{a)}	
ウサギ	経口	♂	603	実医研 (1993)
		♀	847	

2. 乳剤 (10%)

供試動物	投与方法	性別	LD ₅₀ または最大無作量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
マウス	経口	♂	1600	アニマルリサーチ (1990)
		♀	1900	
ラット	経口	♂	660	
		♀	590	
	経皮	♂♀	>2000	

3. MC剤 (マイクロカプセル剤、5%)

供試動物	投与方法	性別	LD ₅₀ または最大無作量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
マウス	経口	♂♀	>5000	ポソリサーチセンター (1995)
ラット	経口	♂♀	>5000	
		経皮	♂♀	>2000

a) : LC₅₀ (mg/ℓ), 4時間鼻部暴露

眼粘膜一次刺激性試験

1. 原体

日本白色種ウサギ9匹(洗眼群3匹、非洗眼群6匹)の片眼にハルフェンプロックス原体0.1mlを投与し、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を72時間観察した。

その結果、全例に結膜の発赤、2例に結膜の浮腫がみられ、48時間後には消失した。また、洗眼群では、これらの症状が軽度で経過し、24時間後には消失した。

以上の結果から、原体の眼に対する刺激性はない、もしくは非常に弱いものと判断される。また、洗眼による軽減効果が認められた。(実医研、1990年)

2. 製剤

ハルフェンプロックス乳剤(10%)の原液及び500倍希釈液を日本白色種ウサギ各9匹(洗眼群3匹、非洗眼群6匹)の片眼に0.1ml投与し、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を21日間観察した。

その結果、原液では全例の角膜及び結膜、3例の虹彩に刺激性変化がみられ、角膜の変化が21日まで持続した以外は4~10日で消失した。また、洗眼群における刺激性変化の程度は軽度であった。

一方、500倍希釈液では刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、乳剤の原液は強い刺激性を有し、500倍希釈液では刺激性がないものと判断される。また、洗眼による軽減効果が認められた。

(実医研、1990年)

ハルフェンプロックスMC剤(5%)の原液及び500倍希釈液を乳剤と同様の処置を行い5日間観察した。

その結果、全例の結膜に発赤及び浮腫がみられ、5日目に消失した。また、洗眼群ではこれらの症状が軽度に推移し、48時間後には消失した。

一方、500倍希釈液では刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、MC剤の原液はわずかな刺激性を有し、500倍希釈液は刺激性がないものと判断される。また、洗眼による軽減効果が認められた。

(ボゾリサーチセンター、1995年)

皮膚一次刺激性試験

1. 原体

日本白色種ウサギ6匹の剃毛した背部皮膚にハルフェンプロックス原体0.5mlを塗布し、4時間閉塞貼付した後、残存検体を水で除去した。塗布部位の皮膚の刺激性変化を9日間観察した。

その結果、投与後72時間及び4日後にごく軽度の紅斑が1例にみられ、5日後には消失した。

以上の結果、原体は非常に弱い刺激性を有すると判断される。

(実医研、1990年)

2. 製剤

乳剤(10%)の原液及び500倍希釈液の0.5mlを日本白色種ウサギ各6匹の剃毛した背部皮膚に4時間閉塞貼付した後、残存検体を水で除去した。塗布部位の皮膚の刺激性変化を9日間観察した。

その結果、原液では全例に紅斑がみられ、1例で痴

皮及び浮腫があらわれたが9日目には回復した。500倍希釈液では刺激性変化は認められなかった。

以上の結果から、乳剤の原液はやや強い刺激性を有し、500倍希釈液では刺激性はないものと判断される。

(実医研、1990年)

MC剤(5%)の原液及び500倍希釈液についても乳剤と同様に塗布し、7日間観察した。

その結果、原液では全例に紅斑がみられ、7日目に回復した。また、500倍希釈では刺激性変化は認められなかった。

以上の結果、MC剤原液は軽度の刺激性を有し、500倍希釈液では刺激性はないものと判断される。

(ボゾリサーチセンター、1995年)

皮膚感作性試験

1. 原体

ハートレー系モルモット1群10~16匹の背部皮膚を剃毛し、Buehler法による感作及び惹起を行った。感作時には原液を6時間閉塞貼付し、惹起時にはオリーブ油で75%に希釈したものを24時間閉塞貼付した。惹起終了後24及び48時間に判定した。

その結果、いずれの観察時にも皮膚感作性は認められなかった。

(実医研、1990年)

2. 製剤

ハルフェンプロックス乳剤(10%)をハートレー系モルモット1群10~16匹の背部皮膚を用いたBuehler法及び1群10~20匹のハートレー系モルモットを用いたMaximization法による皮膚感作性試験を行った。Buehler法では、感作時及び惹起時ともオリーブ油で75%に希釈した溶液でそれぞれ6及び24時間閉塞貼付した。Maximization法では、皮内感作時は1%、塗布感作時は50%の濃度で48時間閉塞塗布し、惹起時には25%濃度で24時間閉塞塗布した。判定は、いずれの試験の場合も惹起終了後24及び48時間に行った。

その結果、Buehler法ではいずれの観察時にも皮膚感作性は認められなかった。また、Maximization法ではいずれの観察時にも中程度の感作性が認められた。

(実医研、1990年、1995年)

MC剤(5%)の原液を感作及び惹起時に用いてBuehler法による皮膚感作性試験を行った。

その結果、いずれの観察時にも皮膚感作性は認められなかった。

(ボゾリサーチセンター、1995年)

亜急性毒性試験

1. マウスを用いた混餌投与試験

ハルフェンプロックス原液を0、25、100、400及び800ppm含有する飼料を1群雌雄各12匹のICR系マウスに13週間投与した。

その結果、一般状態観察で400ppm以上の投与群の雄に皮膚の脱毛、びらん、潰瘍が有意に増加し、それに対応した皮膚のびらん、痂皮、脱毛が剖検時に確認され、組織学的検査でも剝離、潰瘍及び真皮層における急性炎症性細胞浸潤を特徴とする皮膚炎が認められた。また、800ppm群の雄では、皮膚炎に随伴する二次的变化として脾臓の腫大及び脾臓の髄外造血亢進が有意に増加した。その他、体重及び摂餌量の有意な低下、肝相対重量の有意な増加が認められた。雌でも同様に400ppm以上の投与群で一部の動物に検体によると思われる皮膚病変がみられ、800ppm群では肝相対重量の有意な増加がみられた。その他の検査においては、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、最大無作用量は雌雄とも100ppm(雄：12.3mg/kg/day、雌：14.9mg/kg/day)と判断される。(残留農薬研究所、1990年)

2. ラットを用いた混餌投与試験

ハルフェンプロックス原体を0、25、100、400及び800ppm含有する飼料を1群雌雄各12匹のFischer系ラットに13週間投与した。

その結果、400ppm群では雌雄とも投与1～2週目に摂餌量及び体重の有意な低下が認められた。800ppm群では、雌雄ともに痙攣及び尾根部皮膚のびらんが有意に増加し、試験期間を通じて体重が低値を示し、雄で2例、雌で6例が死亡した。血液検査では雄でヘマトクリット値、ヘモグロビン値及び赤血球数の有意な低下、生化学検査では、雄でGPT、雌でクレアチニンの有意な低下が認められた。剖検では、尾根部皮膚のびらん及び痂皮が有意に増加し、それに対応した皮膚の脱剥、真皮層の炎症性細胞浸潤及び高度な線維増生を特徴とする皮膚炎が組織学的に認められ、さらにこれらの動物では皮膚炎の二次的变化と思われる顆粒球系増生を主体とする全身骨髄の造血亢進、雌では脾臓の髄外造血亢進も有意に増加した。その他の検査においては、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、最大無作用量は雌雄とも100ppm(雄：6.02mg/kg/day、雌：6.64mg/kg/day)と判断さ

れる。

(残留農薬研究所、1989年)

慢性毒性、発がん性試験

1. ラットを用いた慢性・発がん性試験

ハルフェンプロックス原体を0、10、40及び300ppm含有する飼料を1群雌雄各80匹のFischer系ラットに104週間投与した。26、52及び78週に各群雌雄各10匹について種々の検査を行った。

その結果、300ppm群の雌9匹に耳介部分の皮膚にびらん・潰瘍が認められ、1例を除いて15週目には回復した。体重では、雌が試験期間中、雄が1～6週及び78週以降有意に低下した。摂餌量は雌雄とも投与初期に低下した。臓器重量では、雌雄とも肝の相対重量の増加が認められた。その他、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、最大無作用量は雌雄とも40ppm(雄：1.414mg/kg/day、雌：1.708mg/kg/day)と判断される。また、発がん性はないものと判断される。

(残留農薬研究所、1992年)

2. イヌを用いた慢性毒性試験

1%メチルセルロースに懸濁したハルフェンプロックス原体を0、0.5、3及び15mg/kgの濃度で1群雌雄各4匹のビーグル犬に毎日1回52週間強制経口投与した。

その結果、投与初期の一般状態観察時に15mg/kg群の雌雄にふるえ、硬直歩行及び行動抑制がみられた。その他の検査では、毒性学的に意義のある変化は認められなかった。

以上の結果から、毒性学的無影響量は雌雄とも3mg/kg/day、最大無作用量は雌雄とも0.5mg/kg/dayと判断される。

(Huntingdon Research Centre、1992年)

3. マウスを用いた発がん性試験

ハルフェンプロックス原体を0、5、30、100及び300ppm含有する飼料を1群雌雄各70匹のICR系マウスに78週間投与した。投与52週時に各群雌雄各20匹を中間屠殺した。

その結果、100mg/kg以上の投与群で皮膚のびらん・潰瘍及び痂皮などの症状がみられ、削瘦、頸部リンパ節、脾臓及び肝臓の腫大、腎退色、腎表面粗造、皮膚の脱毛、びらん・潰瘍が剖検時に観察された。また、組織学的検査でも皮膚炎に対する反応性変化として、骨髄の造血亢進、頸部リンパ節の形質細胞過形成、多

臓器に及ぶ続発性のアミロイド沈着、脾臓の髄外造血亢進がみられ、300ppm群の雌ではさらに腎不全が著しく、胸骨及び椎骨の線維性骨異栄養症ならびに転移性の腺石灰沈着もみられた。体重については、300ppm群の雌雄で試験期間を通じて低く推移し、100ppmの雄及び300ppm群で死亡率が増加した。臓器重量では100ppmの雌に肝相対重量、300ppm群の雌に肝、腎、副腎の相対重量の増加が認められたが、いずれもアミロイド沈着によるものと考えられた。

以上の結果から、最大無作用量は、雌雄とも30ppm(雄：2.251mg/kg/day、雌：2.403mg/kg/day)と判断される。また、発がん性はないものと判断される。

(残留農薬研究所、1993年)

繁殖及び催奇形性試験

1. ラットによる2世代繁殖性試験

ハルフェンプロックス原体を0、4、20及び100ppm含有する粉末飼料で1群雌雄各24及び28匹のCD(SD)系ラットを2世代にわたって飼育した。各世代毎に交配を行い、次世代への継続は交配における同産群の一部を用い、繁殖能に及ぼす影響を検討した。

その結果、親動物に対しては、20ppm群で回復性の皮膚潰瘍及び痂皮がF0世代のみにみられ、F1世代の雌に投与1週目に飲水量の低下がみられた。

100ppm群では、両世代とも回復性の皮膚潰瘍及び痂皮、投与初期に体重、摂餌量、飲水量の低下及び一部の動物に皮膚の潰瘍が剖検時に認められた。

仔動物に対しては、F1世代のみの変化として20ppmの1同産仔及び100ppm群の2同産仔の哺育期後期に継続的あるいは一過性の振せんがみられ、F2世代のみの変化では、20ppm群に生後4日目の同産仔数の有意な低下が認められた。また、両世代を通じて認められた変化は、100ppm群の出生から離乳までの間の同産仔数の低下及び平均体重の減少、さらに反射の達成の遅れであった。

以上の結果から、最大無作用量は雌雄とも4ppm(雄：0.3mg/kg/day、雌：0.4mg/kg/day)と判断される。また、繁殖能に対する影響は認められなかった。

(Huntingdon Research Centre、1992年)

2. ラットによる1世代繁殖性試験

ハルフェンプロックス原体を0、20及び100ppm含有する飼料を、皮膚への附着性を軽減するために固形にして1群雌雄各24匹のCD(SD)系ラットに1世代にわた

って投与し、仔動物への影響を確認した。

その結果、親動物に対しては、100ppm群の雌雄に皮膚の潰瘍・びらん及び脱毛が増加し、体重及び摂取量の低下が認められた。20ppm群では対照群との間に差は認められなかった。

仔動物に対しては、100ppm群で出生4日目の同産仔数及び出生から離乳までの期間への平均体重が減少したが、振せん及び反射達成の遅れなどは認められなかった。20ppm群に対する影響は認められなかった。

以上の結果から、最大無作用量は雌雄とも20ppmと判断される。また、ハルフェンプロックス原体の皮膚に対する影響を軽減することにより、親動物及び仔動物に対する影響も軽減すると考えられる。

(残留農薬研究所、1994年)

3. ラットにおける催奇形性試験

ハルフェンプロックス原体の0、1、5及び25mg/kgを1群雌25匹のCD(SD)系ラットに妊娠6日から15日までの器官形成期に毎日1回強制経口投与し、催奇形性を検討した。その結果、いずれの投与群においても母動物及び胎仔動物に対する影響は認められなかった。従って、母動物及び胎仔動物に対する最大無作用量は25mg/kg/dayと判断される。また、催奇形性は認められなかった。

(Huntingdon Research Centre、1990年)

4. ウサギにおける催奇形性試験

ハルフェンプロックス原体の0、1、3及び10mg/kgを1群雌17匹のニュージーランドホワイト種ウサギに妊娠6日から18日の器官形成期に毎日1回強制経口し、催奇形性を検討した。

その結果、母動物では3mg/kg以上の投与群に体重増加抑制及び摂取量の減少、自咬動作または前肢を振る動作がみられ、一部の動物では投与期間終了後もこれらの動作が観察された。10mg/kg群の1例に流産が確認された。また、胎仔動物に対する影響は認められなかった。

以上の結果から、母動物の無作用量は1mg/kg/day、胎仔動物に対しては10mg/kg/day以上と判断される。また、催奇形性は認められなかった。

(実医研、1993年)

変異原性試験

1. 復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌5株(TA100、TA

1535、TA98、TA1537、TA1538)及びトリプトファン要求性大腸菌1株(WP2 *uvrA*)を用い、代謝活性化の存在下及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。ハルフェンプロックス原体の濃度は、312.5~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

その結果、代謝活性化の有無に係わらずいずれの濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められず、ハルフェンプロックスは復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

(Huntingdon Research Centre、1990年)

2. 染色体異常試験

1) CHL細胞を用いた試験

チャイニーズハムスターの肺由来の継代培養細胞(CHL)を用いて代謝活性化の存在下及び非存在下で染色体異常誘発性を検討した。ハルフェンプロックス原体の濃度は、非活性化法では100~800 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の4濃度、活性化法では1250~5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の3濃度とし、標本作製は前者が24及び48時間、後者は24時間に行った。染色体分析としては、良好な分裂中期像200個を観察し、種々の染色体異常の出現頻度を算出した。

その結果、非活性化法及び活性化法ともいずれの観察時期においても異常細胞出現率は5%以下であることから、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

(日本生物化学センター、1992年)

2) CHO細胞を用いた試験

チャイニーズハムスターの卵巣由来の継代培養細胞(CHO)を用いてCHL細胞を用いた試験と同様の方法で染色体異常誘発性を検討した。ハルフェンプロックス原体の濃度は、非活性化法、活性化法とも5~40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の3濃度とし、標本作製はいずれも19時間に行った。

その結果、非活性化法及び活性化法ともいずれの観察時期においても染色体構造異常細胞及び倍数体の増加は認められなかったことから、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

(Huntingdon Research Centre、1990年)

3. DNA修復試験

枯草菌の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いて代謝活性化の存在下及び非存在下でのDNA損傷誘発性を検定した。ハルフェンプロックス原体の濃度は非活性化法、活性化法とも50~5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の5濃度とした。

その結果、いずれの濃度においても代謝活性化の有

無に係わらず2種の菌株に対する作用は認められなかったことから、DNA損傷の誘発性はないものと判断される。(Huntingdon Research Centre、1990年)

薬理試験

ハルフェンプロックス原体の生体機能に及ぼす影響について、以下の試験を行った。

1. 中枢神経系に対する作用
(マウス：腹腔、ウサギ：経口、静脈)
2. 呼吸・循環器系に及ぼす影響
(ウサギ：経口、静脈)
3. 自律神経系に及ぼす影響
(in vitro、ウサギ：静脈)
4. 消化器系に及ぼす影響(ラット：皮下)
5. 血液に対する作用(ウサギ：静脈)
6. 骨格筋に対する作用(ウサギ：経口、静脈)
7. 局所麻酔作用(モルモット：点眼)
8. 局所刺激作用(モルモット：皮内)

その結果、マウスの一般症状観察ではハルフェンプロックスの高濃度レベルで触覚反応亢進、刺激によると思われる疼痛反応、行動抑制、体温下降などがみられ、致死量ではさらに中枢興奮性の症状、運動失調、筋緊張の低下がみられた。ウサギの一般症状観察では高濃度レベルで興奮性の症状が、致死量ではさらに行動抑制、体制神経系の抑制、中枢興奮性の症状がみられた。局所麻酔作用及び局所刺激作用に及ぼす影響試験では、いずれも軽度の反応が観察された。その他の作用に対する影響は認められなかった。

(実医研、1991年、1993年)

解毒

ハルフェンプロックス原体の350あるいは400 mg/kg を1群雄10匹のddy系マウスに経口投与し、以下の通り治療効果を調べた。

1. ジアゼパム30及び40 mg/kg を腹腔内投与した結果、30 mg/kg 群で死亡率が低下した。
2. ジアゼパム30 mg/kg をハルフェンプロックス原体を投与した直後、1、2、3及び4時間後に腹腔内投与した結果、痙攣及び振せんなどの症状が発現する3時間目以降の投与では治療効果は認められなかった。
3. Midazolam 50 mg/kg あるいはFlunitrazepamの20 mg/kg を腹腔内投与した結果、効果は認められな

かった。

4. GABAの2500及び5000mg/kgを腹腔内投与した結果、いずれも死亡率が減少し、5000mg/kg群ではより効果的であった。しかし、痙攣などの症状に対する抑制効果はジアゼパムほどではなかった。

5. ジアゼパムとGABAの併用効果では単独投与と大差なかった。

以上の結果から、ハルフェンプロックスの毒性に対し、ジアゼパム30mg/kgを症状発現前のできるだけ早い時期に腹腔内投与するのが最も効果的と考えられた。

(松本歯科大学、アニマルリサーチ、1992年)

要約

ハルフェンプロックスについて各種毒性試験を実施し、安全性評価を行った。

その結果、原体及び乳剤は医薬用外劇物であるが、MC剤はラット、マウスのLD₅₀値が>5000mg/kgと弱く普通物に相当する。眼粘膜一次刺激性試験では、原体、MC剤で弱い刺激性、乳剤で強い刺激性が観察されたが500倍希釈液では刺激性は認められなかった。また、洗眼による軽減効果がみられた。皮膚一次刺激性試験では、原体、MC剤で弱い刺激性、乳剤でやや強い刺激性が認められたが、500倍希釈液では陰性であった。皮膚感作性試験では、原体、MC剤で陰性、乳剤はMaximization法で陽性、Buehler法で陰性であった。亜急性毒性、慢性毒性、発がん性試験の結果、皮膚炎が共通してみられ、それに随伴する変化として造血亢進、アミロイド沈着などの所見がみられた。また、発がん性は認められなかった。繁殖性に及ぼす影響、催奇形性、変異原性は認められなかった。薬理試験では、致死量及び高濃度群に主として触覚反応亢進、疼痛作用、中枢興奮、体制神経抑制、行動抑制などの異常が認められた。また、解毒試験では、ジアゼパムの早期投与で死亡率の低下がみられた。

ハルフェンプロックスを有効成分とする農薬は平成6年11月に農薬登録された。ハルフェンプロックスMC剤は、乳剤の毒性を軽減し、殺ダニ効果を高める目的で開発され、平成8年5月に農薬登録された。

問合せ

三井化学株式会社 農薬事業部

〒100-6070 東京都千代田区霞が関三丁目2番5号