

## ペントキサゾンの毒性試験の概要

科研製薬株式会社 特薬部

### 薬剤の概要

ペントキサゾンは科研製薬(株)および(株)相模中央化学研究所の共同研究によって発見され、開発された水田一年生雑草に有効な環状イミド系のプロトックス阻害型の除草剤である。

1988年より(株)日本植物調節剤研究協会を通じて公的委託試験を開始した。その結果、水稻への安全性が高く、さらに長期残効性等の特徴を有する除草効果が確認された。

本剤の化学構造および主な物理化学的性質を以下に示す。

一般名：ペントキサゾン pentoxazone

化学名：3-(4-chloro-5-cyclopentyloxy-2-fluorophenyl)-5-isopropylidene-1,3-oxazolidine-2,4-dione

化学構造：

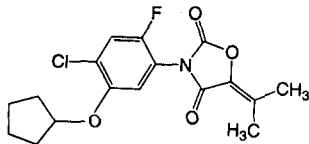


表1 ペントキサゾンの急性毒性試験結果

	動物種	投与経路	性別	LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	試験機関 報告年
原体	ラット	経口	♂♀	>5000	科研製薬(株) (1991年)
	ラット	経皮	♂♀	>2000	科研製薬(株) (1991年)
	ラット	吸入	♂♀	>5100mg/m <sup>3</sup> *	日本バイオアッセイ研究センター (1995年)
	マウス	経口	♂♀	>5000	科研製薬(株) (1991年)
8.6%水和剤**	ラット	経口	♂♀	>5000	(株)残留農薬研究所 (1995年)
	ラット	経皮	♂♀	>2000	(株)残留農薬研究所 (1995年)
	マウス	経口	♂♀	>5000	(株)残留農薬研究所 (1995年)
1.5%粒剤	ラット	経口	♂♀	>5000	(株)ボゾリサーチセンター (1995年)
	ラット	経皮	♂♀	>2000	(株)ボゾリサーチセンター (1995年)
	マウス	経口	♂♀	>5000	(株)ボゾリサーチセンター (1995年)

\*LC<sub>50</sub>値 (4時間暴露) \*\*フロアブル剤 (有効成分8.6%)

分子式：C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>ClFNO<sub>4</sub>

分子量：353.78

外観：白色の結晶性粉末

比重：1.418 (25℃)

融点：104℃

蒸気圧：1.11×10<sup>-5</sup>Pa以下 (25℃)

溶解度 (g/l, 25℃)：

水 0.000216、エタノール 24.8、ヘキサン 5.10、イソプロピルアルコール 12.9、以下の溶媒に易溶：

アセトン、エタノール、クロロホルム、アセトニトリル、ジクロロメタン、キシレン、テトラヒドロフラン、ジメチルスルホキシド、酢酸エチル

分配係数 (n-オクタノール/水、25℃)：

log Pow=4.66

### 急性毒性試験

種々の投与経路によるペントキサゾン原体および剤の急性毒性試験結果は表1の通りであり、特記すべき症状は認められなかった。

## 刺激性試験

### 1. 眼一次刺激性試験

ニュージーランド白色種ウサギ雌9匹を用い、8.6%水和剤の眼に対する一次刺激性を検討した。左眼に検体0.1mlを投与し、洗眼群および非洗眼群の角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を投与後72時間観察し、Draize法に従って採点后、Kay & Calandra法およびGuillotらの方法に従って評価を行った。

その結果、投与1時間後にわずかな結膜発赤が認められたが24時間後には消失した。他の刺激性変化は認められなかった。

以上より、8.6%水和剤はウサギの眼粘膜に対して刺激性がないものと判断された。

(勸残留農薬研究所、1995年)

日本白色種ウサギ雌9匹を用い、1.5%粒剤の眼に対する一次刺激性を検討した。左眼に検体0.1gを投与し、8.6%水和剤と同様Kay & Calandra法により評価した。

その結果、非洗眼群では、結膜の発赤、浮腫、眼脂分泌および角膜の混濁ならびに閉眼が認められたが、投与4日後までにすべて消失した。洗眼群でも同様の反応がみられたが、その程度は弱く、72時間後にはすべて消失した。

以上より、1.5%粒剤は軽度の刺激性を有すると判断されたが、洗眼によりその程度は軽減すると考えられた。

(㈱ボゾリサーチセンター、1995年)

### 2. 皮膚一次刺激性試験

8.6%水和剤ではニュージーランド白色種ウサギ雌6匹、1.5%粒剤では日本白色種ウサギ雌6匹を用い、皮膚に対する刺激性を検討した。検体として水和剤は0.5ml、粒剤は0.5gをそれぞれ4時間閉塞貼付し、検体除去1、24、48および72時間後に刺激性変化の有無を観察し、Draize法および59農蚕第4200号に従って採点、評価を行った。

その結果、両剤とも刺激性変化は全く認められなかった。

以上より、8.6%水和剤および1.5%粒剤ともに皮膚に対して刺激性がないと判断された。

(勸残留農薬研究所および㈱ボゾリサーチセンター、1995年)

## 皮膚感作性試験

Hartley系モルモット雄60匹を用い、ペントキサゾン原体の皮膚感作性をMaximization法により検討した。検体濃度2.5%のエタノール溶液、検体濃度2.5%のFCA乳化液および蒸留水とFCAの等量混合乳化液各0.1mlを皮内注射し、7日後に検体濃度25%のワセリン軟膏0.2gを48時間閉塞貼付し、感作した。感作終了14日後に検体濃度25%のワセリン軟膏0.1gを24時間閉塞貼付して誘発し、24および48時間後に皮膚反応を佐藤らの判定基準に従って評価した。

その結果、検体感作群では約半数の動物に皮膚反応が認められたが、陽性対照と比較して発生率は低く、反応程度も軽度であった。

以上より、ペントキサゾン原体は軽度な皮膚感作性を有すると判断された。

(科研製薬㈱、1996年)

Hartley系モルモット雌60匹を用い、8.6%水和剤の皮膚感作性をBuehler法により検討した。検体0.4mlを7日おきに計3回それぞれ6時間閉塞貼付し、感作した。最終感作の14日後に同様の貼付を行って誘発し、24および48時間後に皮膚反応を観察し、評価した。

その結果、検体感作による皮膚反応は全く認められず、8.6%水和剤の皮膚感作性は陰性と判断された。

(勸残留農薬研究所、1995年)

Hartley系モルモット雌60匹を用い、1.5%粒剤の皮膚感作性をBuehler法により検討した。検体の25%懸濁液0.2mlを7日おきに計3回それぞれ6時間閉塞貼付し、感作した。最終感作の14日後に同様の貼付を行って誘発し、24および48時間後に皮膚反応を観察し、Draizeの基準に従って、評価した。

その結果、検体感作による皮膚反応は全く認められず、1.5%粒剤の皮膚感作性は陰性と判断された。

(㈱ボゾリサーチセンター、1995年)

## 亜急性毒性試験

### 1. ラットにおける3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各12匹のFischer系ラットに、0、80、400、2000および10000ppmのペントキサゾン含有する飼料を3か月間にわたって随時摂食させた。

その結果、10000ppm群では雌雄に体重増加抑制傾向が認められたほか、血液学的検査では雄にヘマトクリット値および平均赤血球容積の低下、臓器重量では雌雄

の肝臓で絶対・相対重量の増加、雌雄の腎臓および雌の副腎で相対重量の増加、病理組織学的検査では雄の肝臓に小葉周辺性肝細胞腫大、雌雄の肝臓に胆管増生、雌の膀胱に粘膜上皮過形成が観察された。2000ppm群では雌雄の肝臓と雌の腎臓の相対重量に増加が認められ、病理組織学的検査では雌の肝臓に胆管増生が観察された。400および800ppm群では雌雄とも検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上より、無毒性量は雌雄400ppm (雄23.60mg/kg/day、雌26.14mg/kg/day) と判断された。

(助残留農薬研究所、1992年)

## 2. マウスにおける3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各12匹のICR系マウスに0、80、400、2000および10000ppmのペントキサゾンを含む飼料を3か月間にわたって随時摂食させた。

その結果、10000ppm群で雌雄とも臓器重量で肝臓の相対重量増加、病理組織学的検査では膀胱の粘膜上皮好酸性小体沈着および粘膜上皮過形成、肝臓の小葉中心性肝細胞腫大が観察された。また、同群雌では尿検査で尿比重の低下および尿pHの上昇、血液学的検査で赤血球数の減少、血液生化学的検査ではGOTおよびCPKが高値を示した。2000ppm群の雌では病理組織学的検査で膀胱の粘膜上皮好酸性小体沈着が認められた。2000ppm群雄ならびに400および800ppm群の雌雄では検体投与による異常は認められなかった。

以上より、無毒性量は雄2000ppm (250.9mg/kg/day)、雌400ppm (54.34mg/kg/day) と判断された。

(助残留農薬研究所、1993年)

## 3. イヌにおける3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル種イヌに0、400、2000および10000ppmのペントキサゾンを含む飼料を3か月間にわたって随時摂食させた。

その結果、10000ppm群では、血液生化学的検査で雌雄ともにALPの有意な増加が観察された。剖検では、肝臓の腫大および胆のうの胆汁うっ滞が雄2例ずつに認められた。臓器重量では、雄において肝臓の絶対および相対重量の有意な増加が観察された。病理組織学的検査では肝臓の小葉周辺から小葉中間帯にかけての肝細胞腫大が雌雄全例に観察された。2000ppm群雄では肝臓絶対重量の増加が認められた。2000ppm群雌および400ppm群の雌雄では検体投与による異常は認められなかった。

以上より、無毒性量は雄400ppm (12.3mg/kg/day)、

雌2000ppm (64.3mg/kg/day) と判断された。

(助残留農薬研究所、1993年)

## 慢性毒性および発がん性試験

### 1. ラットにおける24か月慢性毒性/発がん性試験

1群雌雄各85匹のFischer系ラットに0、200、1000および5000ppmのペントキサゾンを含む飼料を24か月間にわたって随時摂食させた。投与後6、12および18か月時に各群雌雄10匹を中間屠殺し、24か月時には全生存動物を屠殺した。

その結果、5000ppm群雌雄において軽度の体重増加抑制、尿量増加とそれに伴う尿比重の低下、TGの減少、肝臓重量の増加、さらに雌においては貧血症状が認められた。病理組織学的検査では、雄において膀胱の粘膜上皮過形成、前立腺炎の増加が、雌において肝臓の胆管増生、膀胱で粘膜上皮過形成を含む増殖性病変がみられた。5000ppm群雌でみられた膀胱粘膜の増殖性病変に関しPCNA免疫染色法等により検討した結果、本病変は尿性状の変化あるいは尿中代謝物の変異原性によるものではなく、膀胱粘膜上皮の細胞増殖活性が亢進された結果誘発されたものと推察された。1000ppm群では雄において肝臓重量の増加が認められた。1000ppm群雌および200ppm群の雌雄では検体投与による異常は認められなかった。

以上より、無毒性量は雄200ppm (6.92mg/kg/day)、雌1000ppm (43.8mg/kg/day) と判断された。

(助残留農薬研究所、1995年)

### 2. マウスにおける18か月発がん性試験

1群雌雄各65匹のICR系マウスに、0、80、400および2000ppmのペントキサゾンを含む飼料を18か月間にわたって随時摂食させた。投与後12か月時に各群雌雄10匹を中間屠殺し、18か月時には全生存動物を屠殺した。

その結果、いずれの投与群においても検体投与に起因した変化は認められなかった。

以上より、本試験における無毒性量は雌雄2000ppm (雄202.8mg/kg/day、雌190.6mg/kg/day) であり、検体投与による発がん性の誘発はないと判断された。

(助残留農薬研究所、1995年)

### 3. イヌにおける12か月慢性毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル種イヌに0、200、1000および5000ppmのペントキサゾンを含む飼料を12か月間にわたって随時摂食させた。

その結果、5000ppm群雌雄においてALPの増加、肝臓重量の増加およびびまん性肝細胞腫大が認められ、さらに雄においては血漿総コレステロールの増加が認められた。1000ppm以下の投与群の雌雄では検体投与による異常は認められなかった。

以上より、無毒性量は1000ppm(雄23.1mg/kg/day、雌25.2mg/kg/day)と判断された。

(助残留農薬研究所、1995年)

## 繁殖および催奇形性試験

### 1. ラットにおける繁殖試験

1群雌雄各24匹のCD系ラットに0、50、1000および10000ppmのペントキサゾンを含む飼料を2世代(P、F<sub>1</sub>)にわたって随時摂食させ、繁殖性に及ぼす影響を検討した。

その結果、10000ppm群P雌動物、F<sub>1</sub>およびF<sub>2</sub>仔動物において体重の増加抑制、PおよびF<sub>1</sub>雌動物において肝臓重量の増加、F<sub>1</sub>雄動物において肝臓および腎臓重量の増加が認められたが、繁殖能に対する影響は認められなかった。1000ppm以下の投与群雌雄の親動物および仔動物では検体投与による異常は認められなかった。

以上より、親動物および仔動物に対する無毒性量は1000ppm(P; 雄71.21mg/kg/day、雌84.47mg/kg/day、F<sub>1</sub>; 雄85.47mg/kg/day、雌98.56mg/kg/day)であり、10000ppmでも繁殖性に及ぼす影響はないと判断された。

(助残留農薬研究所、1993年)

### 2. ラットにおける催奇形性試験

1群24匹のCD系妊娠ラットにメチルセルロース0.5%水溶液に懸濁したペントキサゾンを0、40、200および1000mg/kgの用量で妊娠6日目から15日目までの10日間、毎日1回強制経口投与した。ラットは妊娠20日目に帝王切開し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果、いずれの投与群においても母動物ならびに胎仔とも検体投与による異常は認められなかった。

以上より、母動物および胎仔動物の無毒性量は1000mg/kg/dayであり、1000mg/kg/dayでも胎仔に対して催奇形性を有しないと判断された。

(助残留農薬研究所、1992年)

### 3. ウサギにおける催奇形性試験

1群18匹の日本白色種妊娠ウサギに、メチルセルロース0.5%水溶液に懸濁したペントキサゾンを0、100、

300および1000mg/kgの用量で妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回強制経口投与した。ウサギは妊娠27日目に帝王切開を行い、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果、母動物では300mg/kg群および1000mg/kg群において流産または早産、死亡が認められた。100mg/kg群の母動物およびすべての投与群の胎仔では検体投与に起因する変化は認められなかった。

以上より、母動物の無毒性量は100mg/kg/day、胎仔の無毒性量は1000mg/kg/dayと判断された。また1000mg/kg/dayでも胎仔に対して催奇形性を有しないと判断された。

(助残留農薬研究所、1993年)

## 変異原性

### 1. 細菌を用いた復帰変異原性試験 (Ames Test)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌4株およびトリプトファン要求性大腸菌を用い、S-9Mixの存在下および非存在下でAmesらの方法により変異原性を検討した。ペントキサゾンの濃度は、156、313、625、1250、2500および5000μg/plateとし溶媒にはDMSOを用いた。

その結果、S-9Mixの有無にかかわらず、すべての濃度において、いずれの試験菌株の復帰変異コロニー数とも溶媒対照とはほぼ同じかそれ以下であった。一方、陽性対照のENNG、2-NFおよび9-AA(S-9Mixの非存在下)、B(a)Pおよび2-AA(S-9Mixの存在下)処理では、すべての試験菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上より、ペントキサゾンの復帰変異原性は陰性と判断された。

(科研製薬㈱、1995年)

### 2. in vitro染色体異常試験

チャイニーズハムスターの肺線維芽細胞(CHL)を用い、S-9Mixの存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検討した。ペントキサゾンの濃度は、25、50および100μg/mlとし溶媒にはDMSOを用いた。

その結果、S-9Mixの存在下で50、100μg/ml処理で染色分体型の交換および100μg/ml処理で倍数体細胞の軽度増加が認められたが、S-9Mixの非存在下ではすべての濃度において、染色体異常の増加は認められなかった。一方、陽性対照のマイトマイシンC(S-9Mixの非存在下)およびシクロホスファミド(S-9Mixの存

在下) 処理では染色体構造異常の著しい増加が認められた。

以上より、ペントキサゾンのCHL細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験における変異原性は、S-9Mix存在下では陽性、S-9Mix非存在下では陰性であると判断された。

(科研製薬㈱、1994年)

### 3. マウスを用いた小核試験

1群5匹のCD系マウス雄を用い、オリーブオイルに懸濁させたペントキサゾンを0、1250、2500および5000 mg/kgの用量で腹腔内に1回投与し、24時間後に屠殺し、骨髄塗抹標本を作製した。多染性赤血球 (PCE) 1000個を観察し、小核を有する細胞 (MNPC) の出現数を調べ、全赤血球中のPCEの割合を算出した。

その結果、すべての濃度において、MNPCの出現頻度、全赤血球中のPCEの割合とも溶媒対照とほぼ同じであった。一方、陽性対照のマイトマイシンC処理ではMNPCの出現頻度が明らかに増加した。

以上より、ペントキサゾンの小核誘発性は陰性であると判断された。

(科研製薬㈱、1992年)

### 4. 細菌を用いたDNA修復試験 (Rec-Assay)

枯草菌の組換え修復能保持株 (H-17、*rec*<sup>+</sup>) および欠損株 (M-45、*rec*<sup>-</sup>) を用い、S-9Mixの存在下および非存在下で基本ストリーク法および生残菌法によりDNA損傷誘発性を検討した。ペントキサゾンの濃度は、基本ストリーク法では625、1250、2500、5000および10000 μg/50 μℓ/site、生残菌法では1250、2500、5000、10000および20000 μg/100 μℓ/plate とし溶媒にはDMSOを用いた。

その結果、全ての濃度においていずれの菌株とも、生育阻止帯の差および生存コロニー数は溶媒対照とほぼ同じであった。一方、陽性対照の2-アミノアントラセン (生残菌法のみ) およびマイトマイシンC処理ではM-45の生育阻害あるいは生存コロニー数の減少が、陰性対照のカナマイシン処理ではH-17およびM-45ともに生育阻害あるいは生存コロニー数の減少が認められた。

以上より、ペントキサゾンはDNA損傷の誘発性を有しないと判断された。

(科研製薬㈱、1995年)

## 一般薬理

### 1. 中枢神経系に対する作用

#### 1. 1 マウスの一般症状

1% Tween80水溶液に懸濁させたペントキサゾンを0、19.5、78.1、313、1250および5000 mg/kgの用量で1群雌雄各5匹のICR系マウスに腹腔内投与し、投与前、投与後30分、1、3、6時間および7日目までの一般症状をIrwinの多次元観察法に従って観察した。

その結果、1250 mg/kg以上の投与群雌雄では、運動性の低下、筋緊張の低下および自律神経系の異常が認められた。さらに、5000 mg/kg投与群雌では、認知力の低下、運動失調および反射の低下が認められた。また、5000 mg/kg投与群に死亡例が認められ、これらの症例では抑制性の症状がみられた。313 mg/kg以下の投与群では、検体投与による異常は認められなかった。

#### 1. 2 ウサギの一般症状および体温に対する作用

1% Tween80水溶液に懸濁させたペントキサゾンを0、19.5、78.1、313、1250および5000 mg/kgの用量で1群雄各3匹の日本白色種ウサギに経口投与し、投与前、投与後30分、1、3、6時間および7日目までの一般症状を「新しい毒性試験と安全性の評価」の多次元観察法に従って観察した。また、体温は一般症状観察時に直腸温を測定した。

その結果、いずれの用量群でも、異常症状および体温の変化は認められなかった。

### 2. 呼吸・循環器系に対する作用

1% Tween80水溶液に懸濁させたペントキサゾンを0、19.5、78.1、313、1250および5000 mg/kgの用量で1群雄各3匹の日本白色種ウサギに経口投与し、投与前、投与後30分、1、3、6時間および1日目の呼吸数、最高血圧、平均血圧、最低血圧、心電図および心拍数を無麻酔下で計測した。

その結果、いずれの用量群でも、明確な変化は認められなかった。

(勸残留農業研究所、1995年)

## 要約

ペントキサゾンの安全性評価を行うため、各種毒性試験を実施した。

その結果、本剤の急性毒性は極めて低く、普通物に相当した。眼刺激性は粒剤で軽度認められたが、水和剤では認められなかった。皮膚刺激性は原体・製剤

ともに認められなかった。皮膚感作性は原体で軽度に認められたが、製剤では認められなかった。

亜急性毒性および慢性毒性、発がん性試験では、ラット、マウスおよびイヌのいずれの動物種においても高用量群に肝臓重量増加ならびに肝臓の腫大が認められた。ラットの慢性毒性・発がん性試験において高用量群の雌にのみ膀胱の増殖性病変が認められたが、本病変は尿性状の変化あるいは尿中代謝物の変異原性によるものではなく、膀胱粘膜上皮の細胞増殖活性の亢進が誘発された結果と考えられ、ラット雌1000ppm以下の用量群ならびにラット雄、マウスおよびイヌではみられなかった。

ラットによる繁殖試験ならびにラットおよびウサギの催奇形性試験では、繁殖性に対する影響あるいは胎仔に対する催奇形性は認められなかった。

変異原性に関しては、*in vitro*染色体異常試験でS-9 Mix存在下のみ陽性と判定されたが、復帰変異原性試験、DNA修復試験およびマウスを用いた小核試験はいずれも陰性であった。

薬理試験では、マウスの高用量腹腔内投与群で、中枢神経系の抑制を示唆する異常症状および自律神経系の異常が認められたが、ウサギの経口投与群では異常症状は認められなかった。また、体温および呼吸・循環器に明確な変化は認められなかった。

ペントキサゾン は平成9年12月に農薬登録された。本剤は定められた使用基準および作業基準を遵守すれば安全性の高い薬剤である。

#### 問合せ

科研製薬株式会社 特薬部特薬開発グループ

〒113-8650 東京都文京区本駒込 2-28-8