

## ベンゾビシクロンの毒性試験の概要

株式会社エス・ディー・エス バイオテック  
技術本部 研究部 登録グループ

## 薬剤の概要

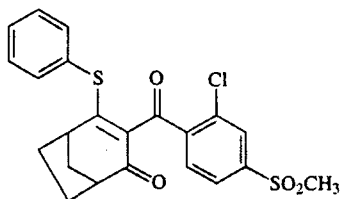
ベンゾビシクロンは(株)エス・ディー・エス バイオテックが1992年に初めて合成し、水稲用除草剤として開発した新規化合物である。

ベンゾビシクロンは、水田における重要雑草であるホタルイ類を始めとするカヤツリグサ科雑草やコナギ等の一年生広葉雑草に対して特に高い効果と残効性を示すことが明確となり、1994年より(財)日本植物調節剤研究協会の委託試験が実施されその効果が確認された。また、水稲や人畜・環境生物に対する高い安全性も確認された。

一般名：ベンゾビシクロン

化学名：3-(2-クロロ-4-メシルベンゾイル)-2-フェニルチオビシクロ [3.2.1] オクタ-2-エン-4-オン

構造式：



## 急性毒性試験

本剤の急性毒性試験の結果を次の表に示す。

検体	動物種	投与経路	L D <sub>50</sub> (mg/kg)	試験機関 (報告年)
原体	ラット	経口	♂ ♀ >5000	(株) ポゾリサーチセンター (1995)
	マウス	経口	♂ ♀ >5000	
	ラット	経皮	♂ ♀ >2000	
	ラット	吸入	♂ ♀ >2720 mg/m <sup>3</sup>	ハンティンドン ライフ サイエンス社 (1997)
5.7% フロアブル剤	ラット	経口	♂ ♀ >5000	セーフファーム ラボラトリーズ社 (1999)
	マウス	経口	♂ ♀ >5000	
	ラット	経皮	♂ ♀ >2000	
3.0% 粒剤	ラット	経口	♂ 5052、♀ 3738	セーフファーム ラボラトリーズ社 (1999)
	マウス	経口	♂ ♀ >5000	
	ラット	経皮	♂ ♀ >2000	

分子式：C<sub>22</sub>H<sub>19</sub>ClO<sub>4</sub>S<sub>2</sub>

分子量：447.0

色 調：緑みの黄(系統色)

形 状：結晶性固体

臭 気：無臭

密 度：1.45g/cm<sup>3</sup> (20.5℃)

融 点：187.3℃ (99.72 kPa)

蒸気圧：<5.6 × 10<sup>-5</sup>Pa (25℃)

溶解度 (g/L, 20℃)：水 0.000052、ヘプタン <0.24、トルエン 1.2、ジクロロメタン 144.0、アセトン 9.3、メタノール 0.39、酢酸エチル 2.6

分配係数 (n-オクタノール/水)：logPow = 3.1 (20℃)

安定性およびその分解物：熱に対して、20～150℃の間で安定。水溶液中において速やかに加水分解され、主加水分解物は速やかに光分解する。

本剤の毒性試験の概要を以下に示す。

## 刺激性試験

(ボゾリサーチセンター、1998年)

### 1. ウサギにおける皮膚刺激性試験

白色種ウサギ6匹を用いて、本剤の原体および3.0%粒剤については0.5gを湿らせ、5.7%フロアブル剤については0.5mLをそれぞれパッチ上に均一に載せ刈毛したウサギの背部皮膚に4時間貼付投与し、貼付終了後1、24、48、72時間に処理部位を観察、採点した。

その結果、原体はウサギの皮膚に対して刺激性はないと考えられ、3.0%粒剤および5.7%フロアブル剤はともに軽度の刺激性があると考えられた。

(ボゾリサーチセンター、1995年、および、  
セーフファーム ラボラトリーズ社、1999年)

### 2. ウサギにおける眼刺激性試験

白色種ウサギ6匹を用いて、本剤の原体については0.1gを、3.0%粒剤については0.1mL (88mg) を、5.7%フロアブル剤については0.1mLを、それぞれウサギの一方の眼だけに投与し、他方は無処理対照とした。また、原体および3.0%粒剤についてはさらに3匹のウサギを用い、投与2～3分後に洗眼し、その効果をみた。投与後1、24、48、72時間に、3.0%粒剤についてはさらに7日、14日に角膜、虹彩、結膜を観察、採点した。

その結果、原体はウサギの眼粘膜に対して刺激性はないと考えられ、5.7%フロアブル剤はごく軽度の刺激性があると考えられた。また、3.0%粒剤では中等度の刺激性があると考えられ、洗眼によりその刺激性は軽減されると考えられた。

(ボゾリサーチセンター、1995年、および、  
セーフファーム ラボラトリーズ社、1999年)

## 皮膚感作性試験

### 1. 原体のモルモットにおける皮膚感作性試験

#### (Maximization法)

本剤の原体について、一群25匹のハートレー系白色モルモットを用いて、皮内および経皮感作の両方を実施するMaximization法により皮膚感作性試験を実施した。皮内感作21日後に経皮による惹起処理を行い、惹起24および48時間後に処理部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応の評価はMaximization法による。

この結果、本剤の原体はモルモットに対して皮膚感作性はないと考えられた。

### 2. 製剤のモルモットにおける皮膚感作性試験

#### (Buehler法)

本剤の3.0%粒剤および5.7%フロアブル剤について、試験群20匹、無感作対照群10匹のハートレー系白色モルモットを用いて、経皮感作処理を1週毎3回行うBuehler法により皮膚感作性試験を実施した。最終感作の14日後に経皮惹起処理を行い、惹起24および48時間後に処理部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。皮膚反応の評価はDraizeの基準によった。この結果、本3.0%粒剤および5.7%フロアブル剤は、ともに、モルモットに対して皮膚感作性はないと考えられた。

(セーフファーム ラボラトリーズ社、1999年)

## 亜急性毒性試験

### 1. ラットにおける亜急性経口毒性試験 (含回復試験)

一群雌雄各12匹 (回復群一群雌雄各6匹) のFischer系ラットを用い、雄動物に0、20、100および400ppm (回復群0、20および400ppm)、雌動物には0、100、400、2000および10000ppm (回復群0、100および10000ppm) の濃度で13週間にわたって混餌投与した。さらに、回復群では基礎飼料を4週間給餌した。

一般状態および生死を毎日観察し、体重、摂餌量を毎週測定した。13週時には (回復群は17週時にも) 眼科学的検査、尿検査を実施し、13週間投与終了後 (回復群はその後の4週間回復期間終了後) に、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、その後病理組織学的検査を実施した。

その結果、雄でのみ腎毒性が認められ、本試験における無毒性量は雄で20ppm (1.130mg/kg/日)、雌で10000ppm (630mg/kg/日) と判断した。

(残留農薬研究所、1999年)

### 2. イヌにおける亜急性経口毒性試験

一群雌雄各4匹のビーグル犬を用い、各動物に0、20、200および2000mg/kgの用量で13週間にわたって1日1回連日経口投与した。

一般状態および生死を1日2回毎日観察し、体重を毎週1回測定、また毎日給餌量と残餌量を測定し摂餌量を算出した。投与開始前、投与開始後6および13週時に血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査を

実施し、投与開始前、投与開始後13週時に眼科学的検査を実施した。13週間投与終了後に、肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、その後病理組織学的検査を実施した。

その結果、検体に関連する毒性学的変化は何ら認められなかった。従って、本試験における無毒性量は雌雄ともに2000mg/kg/日と判断した。

(食品農医薬品安全性評価センター、1998年)

## 慢性毒性および発がん性試験

### 1. ラットにおける慢性毒性/発がん性併合試験

一群雌雄各50匹(衛星群一群雌雄各35匹)のFischer系ラットを用い、雄動物に0、10、20、50および100ppm、雌動物には0、100、1000および10000ppmの濃度で104週間にわたって混餌投与した。投与26、52および78週間終了時に衛星群の各群雌雄各10匹を計画殺に供した。

一般状態および生死を毎日観察し、体重、摂餌量を13週時までは毎週、その後は4週間に1回測定した。26、52、78および104週時に眼科学的検査を、25、51、77および103週時に尿検査を、また、13、26、52、78および104週間投与終了後に血液学的検査、血液生化学的検査を実施した。さらに、26、52、78および104週間投与終了後に肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、その後病理組織学的検査を実施した。

その結果、雄では100ppm群において腎毒性が、雌では10000ppm群において、尿pHの低下および総コレステロール、総蛋白、グロブリンの有意な増加、および、肝臓および腎臓重量の増加が認められた。従って、本試験における無毒性量は雄で50ppm(1.696mg/kg/日)、雌で1000ppm(42.2mg/kg/日)と考えられた。また、検体による腫瘍性病変の発生頻度の増加ないし発生時期の早期化は認められず、催腫瘍性はないと判断した。

(残留農薬研究所、1999年)

### 2. イヌにおける慢性毒性試験

一群雌雄各4匹のビーグル犬を用い、各動物に0、10、100および1000mg/kgの用量で52週間にわたって1日1回連日経口投与した。

一般状態および生死を1日2回毎日観察し、体重を毎週1回測定、また毎日給餌量と残餌量を測定し摂餌量を算出した。投与開始前、投与開始後13、26、39お

よび52週時に血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査を実施し、投与開始前、投与開始後26および52週時に眼科学的検査を実施した。52週間投与終了後に、肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、その後病理組織学的検査を実施した。

その結果、検体に関連する毒性学的変化は何ら認められなかった。従って、本試験における無毒性量は雌雄ともに1000mg/kg/日と判断した。

(食品農医薬品安全性評価センター、1999年)

### 3. マウスにおける発がん性試験

一群雌雄各50匹のICR系マウスを用い、動物に0、300、3000および30000ppmの濃度で78週間にわたって混餌投与した。

一般状態および生死を毎日観察し、体重、摂餌量を毎週1回測定した。52および77週時に血液塗抹標本を作製し鏡検した。また、78週間投与終了後に肉眼的病理検査、臓器重量の測定を行い、その後病理組織学的検査を実施した。

その結果、雌雄ともに検体に関連する変化として、30000ppm群で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大を伴う重量増加が認められ、無毒性量は雌雄ともに3000ppm(雄:373mg/kg/日、雌:473mg/kg/日)と判断した。また、催腫瘍性はないと判断した。

(ハンティンドンライフサイエンス社、1999年)

## 繁殖および催奇形性試験

### 1. ラットにおける繁殖試験

一群雌雄各24匹のSprague-Dawley系ラットを用い、動物に0、100、1000および20000ppmの濃度で2世代にわたって混餌投与した。

一般状態および生死を毎日観察し、体重測定時にはさらに詳細に観察した。発情期の雌を同群の雄と同居させ、膣栓または膣垢中の精子のいずれかが認められた場合に交尾したものと判断した。F1親動物の性成熟を雄は包皮分離、雌は膣開口を指標とし、その完了日まで毎日観察した。観察結果から正常性周期率、雄の交尾率、雌の交尾率、妊娠率、出産率、哺育0日の生存率、哺育4日の生存率および哺育21日の生存率を算出した。

動物はすべて剖検し、剖検時雄親動物からは精子を採取し、その数、運動性および形態を調べた。親動物の脳、下垂体、肝臓、腎臓、脾臓、副腎および生殖器

官の重量を測定した。また、離乳児について各腹の雌雄各1匹の脳、胸腺および脾臓の重量を測定した。対照群と高用量群のすべての親動物、その他必要と認められた群あるいは動物について、下垂体、生殖器官、肝臓、腎臓および副腎の病理組織学的検査を実施した。その結果、1000ppm以上の投与群の雄親動物で腎毒性がみられ、20000ppm群の雄親動物で下垂体での水腫性変化の増加、精巣、精巣上体および肝臓の重量増加がみられた。雌親動物では20000ppm群で肝臓、副腎および腎臓の重量増加がみられた。親動物の繁殖能力と児動物に対する毒性学的変化は何ら認められなかった。これらのことから、親動物の一般毒性影響の無毒性量は、雄で100ppm (6.38mg/kg/日) および雌で1000ppm (72.1mg/kg/日) であり、親動物の繁殖能力と児動物に対する無毒性量は、20000ppm (雄1320 mg/kg/日、雌1469 mg/kg/日) であると判断した。

(残留農薬研究所、1999年)

## 2. ラットにおける催奇形性試験

一群各25匹のSprague-Dawley系妊娠ラットに、0、40、200および1000mg/kgの用量で、妊娠6日目から15日目まで毎日1回経口投与した。

母動物について、一般状態および生死を毎日観察し、決められた日に体重および摂餌量を測定した。妊娠20日目に解剖し、子宮の状態、黄体数、着床数、早期あるいは後期胚吸収の数および位置、生存あるいは死亡胎児の数および位置を検査した。

生存胎児について、性別、体重および外表異常の観察を行った後、各同腹児群の約半数の胎児の内臓を検査し、残りの胎児はアリザリン染色法を用いて骨格異常の有無を検査した。

その結果、母動物および胚・胎児動物に関して検体に起因する変化は認められず、母動物および胚・胎児における無毒性量は最高用量の1000mg/kg/日と判断され、催奇形性もないと判断された。

(コーヴァンス ラボラトリーズ社、1997年)

## 3. ウサギにおける催奇形性試験

一群18~21匹のNew Zealand White妊娠ウサギに、0、40、200および1000mg/kgの用量で妊娠6日目から18日目まで毎日1回経口投与した。

母動物について、一般状態および生死を毎日観察し、決められた日に体重および摂餌量を測定した。妊娠

28日目に解剖し、子宮の状態、黄体数、着床数、早期あるいは後期胚吸収の数および位置、生存あるいは死亡胎児の数および位置を検査した。

生存胎児について、性別、体重および外表異常の観察を行い、全生存胎児の内臓を検査した。その後アリザリン染色法を用いて骨格異常の有無を検査した。約半数の胎児の頭部をブアン液で固定後、ウイルソン法の変法を用いて内部の異常を調べた。

その結果、母動物および胚・胎児動物に関して検体に起因する変化は認められず、母動物および胚・胎児における無毒性量は最高用量の1000 mg/kg/日と判断され、催奇形性もないと判断された。

(コーヴァンス ラボラトリーズ社、1998年)

## 変異原性試験

### 1. 細菌を用いた復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* 4株 (TA100、TA1535、TA98、TA1537株) およびトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株を用い、薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の非存在下および存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。156、313、625、1250、2500および5000 $\mu$ g/プレートの6用量を設定し、各用量2枚のプレートを用いた。

この結果、検体は復帰変異誘発性を有しないと判断された。

(残留農薬研究所、1994年)

### 2. 細菌を用いたDNA修復試験

枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H17) および欠損株 (M45) を用い、S-9 Mix の非存在下および存在下でDNA損傷の誘発性を検定した。20、50、100、200、500および1000 $\mu$ g/diskの計6用量を設定し、各用量2枚のプレートを用いた。

この結果、検体はDNA損傷の誘発性を有しないと判断された。

(残留農薬研究所、1994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・ハムスターの肺由来線維芽細胞株であるCHL/IU細胞を用い、S-9 Mixの非存在下および存在下で、染色体異常誘発性を検定した。直接法の

24時間処理および代謝活性化法では5、10、20および40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、直接法の48時間処理では2.5、5、10および20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の各4用量を設定し、各用量2枚のプレートを用いた。

この結果、構造異常あるいは数値的異常を有する細胞数は、直接法、代謝活性化法を問わず、用量依存的に有意な増加を示し、検体は代謝活性化の有無にかかわらずCHL/IU細胞において染色体異常誘発性を有すると判断された。

(新日本科学、1996年)

#### 4. 小核試験

一群各6匹のICR系雄マウスを用い、0、500、1000および2000mg/kgの用量で単回経口投与した。投与後48時間に大腿骨の骨髓標本を作製し、1000個の多染性赤血球について小核を有する多染性赤血球を計数し、染色体異常誘発性を検定した。

この結果、検体はマウス赤芽球に対する染色体異常誘発性を有しないと判断された。

(新日本科学、1996年)

### 生体の機能に及ぼす影響試験

マウスを用い、78.1、312.5、1250および5000mg/kgの用量で経口投与し、Irwin法により一般状態を観察し、体温を測定した。全用量で一般状態に対する影響は認められなかったが、312.5 mg/kg以上の投与群で、投与後5時間までに体温低下が認められ、投与後24時間では逆に体温上昇が認められた。

麻酔下のラットを用い、1、10および100mg/kgの用量で静脈内投与し、血圧、心拍数、呼吸の速さ、呼吸の深さおよび心電図（ECG）について検査した。100 mg/kgの用量で雌は致死的で急速な呼吸停止を誘発した。同雄では心拍数の減少を伴う顕著な血圧反応が認められたが、呼吸器系検査値には明瞭な影響はなかった。1および10 mg/kgの用量では、軽度で一貫性のない、短時間の動脈血圧の増加が認められたが、心拍数および呼吸器系検査値には明確で、用量に関連した影響は認められなかった。

麻酔したネコを用い、2000mg/kgの用量で十二指腸内に投与し、神経節前刺激膜の反応、両側頸動脈の閉塞およびノルアドレナリンの静脈内投与に対する血圧および心拍数の反応を検査した結果、投与に関連した影響は認められなかった。

モルモットの摘出回腸を用いて浴槽中濃度0.005、0.05、0.5、5、50および500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の検体単独の、および、作動薬の最大下収縮性に対する検体の影響を試験した。500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ では一部の作動薬について誘導収縮の阻害を示したが、その他の濃度では影響は認められなかった。

マウスを用い、200、1000および5000mg/kgの用量で経口投与し、小腸の炭末輸送能に及ぼす影響を調べたところ、全用量で投与の影響は認められなかった。

マウスを用い、200、1000および5000mg/kgの用量で経口投与後、傾斜板を用いて筋弛緩作用の有無を判定した。全用量で筋緊張に影響は認められなかった。

ラットを用い、200、1000および5000mg/kgの用量で経口投与し、投与60分後採血し、全血凝固時間、および、血漿についてプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間を測定した結果、全用量で影響はないと考えられた。

ラットを用い、200、1000および5000 mg/kgの用量で経口投与し、その後24時間尿を採取して尿量を記録すると共に、Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>および総蛋白含量の分析を行った結果、全用量で影響は認められなかった。

(ハンティンドン ライフ サイエンス社、1997年)

## 要 約

ベンゾピシクロンの安全性評価のため、各種毒性試験を実施した。

ベンゾピシクロン原体、および、同5.7%フロアブル剤の経口および経皮LD<sub>50</sub>値は、それぞれ5000および2000mg/kg以上であった。3.0%粒剤の経口LD<sub>50</sub>値は雌ラット3738mg/kgを除けばすべて5000mg/kg以上で、経皮LD<sub>50</sub>値は2000mg/kg以上であった。また、原体の吸入LD<sub>50</sub>値は2720mg/m<sup>3</sup>以上であった。

原体では眼および皮膚に対して刺激性はないが、5.7%フロアブル剤では眼にごく軽度のまた皮膚に対して軽度の刺激性が認められ、3.0%粒剤では眼には中等度の、皮膚には軽度の刺激性が認められた。原体、5.7%フロアブル剤、3.0%粒剤の皮膚感作性はいずれも陰性であった。

ラットの長期毒性試験における無毒性量は雄50ppm、雌1000ppmと考えられ、また、発癌性は認められなかった。イヌの長期毒性試験では無毒性量は雌雄共に1000mg/kgと判断された。さらに、マウスにおける発癌性試験では発癌性は認められなかった。

ラットにおける繁殖試験では、親動物の無毒性量は雄で100ppm、雌で1000ppmと判断された。また、親動物の繁殖能力と児動物に対しては20000ppmで影響は認められなかった。催奇形性試験ではラットおよびウサギのいずれにおいてもその最高投与量の1000 mg/kgにおいて母動物、胚・胎児動物ともに影響がみられず、また、催奇形性も認められなかった。

細菌を用いた復帰変異試験とDNA修復試験ではいずれも陰性の結果であった。CHL/IU細胞を用いた染色体異常試験では陽性と判断されたが、マウスを用いた *in vivo* での小核試験では染色体異常誘発性を有しないと判断された。

生体の機能に及ぼす影響に関する試験では、いくつかの影響が認められたものの特定の作用は認められなかった。

ベンゾピシクロンは平成13年4月に水稻用除草剤として農薬登録され、米に対する農薬登録保留基準は0.1ppmと設定されている。

#### 問合せ

株式会社エス・ディー・エス バイオテック  
技術本部 研究部 登録グループ  
〒105-0014 東京都港区芝二丁目5番6号