

テプラロキシジム (ホーネスト) の 毒性学的安全性

日本曹達株式会社 農業化学品事業部
農業化学品登録グループ

Nippon Soda Co., Ltd. Agro Products Div. Regulatory Affairs Dept.

はじめに

テプラロキシジム(ホーネスト)は、ドイツのビー・イー・エス・エフ社で発明され、日本曹達(株)との間で共同開発が行われた後、日本曹達(株)により平成12年に農薬登録された、イネ科雑草に優れた活性を有する新規除草剤である。

安全性研究において、種々の知見を得ているが、今回は毒性試験すなわち、急性毒性、刺激性、感作性、亜急性毒性、慢性毒性、発癌性、繁殖毒性、催奇形性、変異原性、薬理作用に関する試験成績の概要を報告する。

名称・化学構造と性状

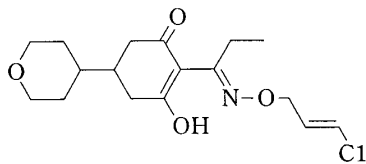
一般名：テプラロキシジム、tepraloxymid

商品名：ホーネスト®、Honest®

化学名：(EZ)-(RS)-2-{1-[(2E)-3-クロロアリロキシイミノ]プロピル}-3-ヒドロキシ-5-ペルヒドロピラン-4-イルシクロヘキス-2-エン-1-オン

(EZ)(RS)-2-{1-[(2E)-3-chloroallyloxyimino]propyl}-3-hydroxy-5-perhydropyran-4-ylcyclohex-2-en-1-one

構造式：



CAS番号 …………… 149979-41-9

分子式 …………… C₁₇H₂₁ClNO₄

分子量 …………… 341.8

融点 …………… 72.5~74.4℃

沸点 …………… 185℃で分解

蒸気圧 …………… 1.1 × 10⁻⁵ Pa (20℃)

解離定数 …………… 4.58 (20℃)

溶解度 (20℃) 精製水 0.433 g/l

アセトン > 198 g/l

メタノール > 198 g/l

クロロホルム > 372 g/l

アセトニトリル > 196 g/l

n-ヘキサン 5.91 g/l

キシレン > 217 g/l

毒性試験

1. 急性毒性

ラットおよびマウスに対する、種々の投与経路における原体および10%乳剤の急性毒性試験結果は、表1に示す通りである。

特筆すべき所見は認められなかった。

2. 刺激性

1) ウサギ眼粘膜一次刺激性試験

6匹のVienna白色種ウサギの右眼に原体38mgを処理した結果、眼一次刺激性はないと判断された。(BASF毒性研究所、1993年)

9匹のニュージーランド白色種ウサギの右眼に10%乳剤0.1mlを処理し、うち3匹については処理2~3分後に洗浄した。その結果、非洗浄群では結膜の発赤が認められたが7日目

表1 急性毒性試験結果

検体	動物	投与経路	性	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)
原体	マウス	経口	雄 雌	>5,000 >5,000	三菱化学 安全性研究所 (1997年)
	ラット	経口	雄 雌	約 5,000 約 5,000	BASF 毒性 研究所 (1993年)
	マウス	経皮	雄 雌	>2,000 >2,000	BASF 毒性 研究所 (1993年)
	ラット	吸入	雄 雌	>5,100 >5,100 (mg/m ³)	BASF 毒性 研究所 (1992年)
10% 乳剤	マウス	経口	雄 雌	>5,000 >5,000	Safepharm (1997年)
	ラット	経口	雄 雌	5,607 4,259	Safepharm (1997年)
	ラット	経皮	雄 雌	>2,000 >2,000	Safepharm (1997年)
	ラット	吸入	雄 雌	>5,070 >5,070 (mg/m ³)	Safepharm (1997年)

は回復した。洗浄群では結膜に軽度な刺激が認められたが、48時間後には回復した。

(Safepharm Labs., 1997年)

9匹の日本白色種ウサギの右眼に10%乳剤の500倍希釈液0.1mlを処理し、内3匹については処理2~3分後に洗浄した。その結果、非洗浄群・洗浄群とも、眼一次刺激性は認められなかった。

((株)ボゾリサーチセンター、1998年)

2) ウサギ皮膚一次刺激性試験

6匹のVienna白色種ウサギの背部を刈毛し、水で湿らせた原体0.5gを4時間塗布した。

その結果、皮膚刺激性はないものと判断された。

(BASF毒性研究所、1993年)

6匹のニュージーランド白色種ウサギの背部を刈毛し、10%乳剤0.5mlを4時間塗布した。その結果、紅斑及び痂皮形成、浮腫が認められたが、14日後には回復した。従って、10%乳剤原液は中程度の皮膚一次刺激性を有すると考えられた。

(Safepharm Labs., 1997年)

6匹の日本白色種ウサギの背部を刈毛し、10%

乳剤500倍希釈液0.5mlを4時間塗布した。その結果、皮膚刺激性は認められなかった。

((株)ボゾリサーチセンター、1998年)

3. 皮膚感作性

ハートレー系モルモット1群雌20匹を用いて、原体についてMaximization法で検討した。

その結果、皮膚感作性はみられなかった。(BASF毒性研究所、1993年)

ハートレー系モルモット1群20匹を用いて、10%乳剤についてBuehler法により検討した。

その結果、処理群において軽度な紅斑及び浮腫が認められ、10%乳剤の皮膚感作性は陽性であると判断された。

(Safepharm Labs., 1997年)

4. 亜急性毒性

1) ラットを用いた3ヵ月間亜急性毒性試験

6週齢のWistar系ラット、1群雌雄

各10匹に原体を0、300、3,000および5,000ppmの濃度で混入した飼料を3ヵ月間摂取させた。

その結果、一般状態、死亡率、血液学的検査、尿検査、眼科学的検査では投与による変化は認められなかった。

3,000ppm群の雄と5,000ppm群の雌雄で体重の増加抑制がみられ、3,000ppm以上の群の雌雄で摂餌量の軽度な減少がみられた。

血液生化学検査では、3,000ppm以上の群の雌雄でグルコースの減少、3,000ppm群の雄および5,000ppm群の雌雄で総タンパク、アルブミン、グロブリンの増加、3,000ppm群の雌および5,000ppm群の雌雄で塩素の減少、3,000ppm以上の群の雌でコレステロールの増加、また5,000ppm群の雄でトリグリセリドの減少がみられた。

剖検の結果、投与に関連する肉眼病変はなく、臓器重量にも変化はなかった。病理組織学的検査では、3,000ppm以上の群の雄で腎臓に硝子滴変性が、5,000ppm群の雄で肝細胞肥大が認められた。

以上の結果から、本試験における無毒性量

(NOAEL)は雌雄とも300 ppm(雄: 22.0 mg/kg/day、雌: 26.0 mg/kg/day)と判断された。

(BASF毒性研究所、1996年)

2) マウスを用いた3ヵ月間亜急性毒性試験

7週齢のC57BL/6Nマウス、1群雌雄各10匹に原体を0、300、1,200および5,000 ppmの濃度で混入した飼料を3ヵ月間摂食させた。

その結果、一般状態、死亡率、摂餌量および摂餌効率には投与による変化は認められなかった。5,000 ppm群の雌雄に体重の増加抑制がみられた。血液学的検査では、1,200 ppm以上の群の雌でMCVの増加および血小板数の減少がみられた。また、血液生化学検査では、5,000 ppm群では雄でカリウムの減少が、雌で総ビリルビンの増加とトリグリセリドの減少がみられた。

投与終了時に屠殺し、病理学的検査を実施した。5,000 ppm群では雌雄で肝臓重量の増加がみられた。組織学的検査では、1,200 ppm以上の群の雌雄で心筋空胞変性が、1,200 ppm群の雄および5,000 ppm群の雌雄で肝細胞肥大がみられた。

以上の結果から、本試験における無毒性量(NOAEL)は雌雄とも300 ppm(雄: 82 mg/kg/day、雌: 107 mg/kg/day)と判断された。

(BASF毒性研究所、1996年)

3) イヌを用いた3ヵ月間亜急性毒性試験

5~7ヵ月齢のビーグル犬、1群雌雄各6匹に原体を0、400、2,000および10,000 ppmの濃度で混入した飼料を3ヵ月間摂食させた。

その結果、一般状態、死亡率、摂餌量および摂餌効率、尿検査、眼科学的検査では、投与による変化は認められなかった。10,000 ppm群の雌で体重の増加抑制がみられた。血液学的検査では、10,000 ppm群の雌雄で赤血球数、ヘモグロビン量、Ht値の減少、血小板数、白血球数の増加がみられた。2,000 ppm群では雌で白血球数の増加がみられた。また、2,000 ppm群の雄および10,000 ppm群の雌雄でAPTTの短縮、10,000 ppm群の雄でQTの短縮がみられた。血液生化学検査では、10,000 ppm群の雌雄でALT、ALP、トリグリセリド、コレステロール、グロブリンの増加、グルコー

ス、Cl、アルブミンの減少がみられた。同群の雄でAST、無機リン、Mgの増加が、雌でAST、総タンパクの増加がみられた。2,000 ppm群の雄でトリグリセリドの増加がみられた。

投与終了時に全動物を屠殺し、病理学的検査を実施した。2,000 ppm以上の群に甲状腺重量と肝臓重量に増加がみられた。10,000 ppm群で腎臓重量の増加が、また同群の雄で精巣重量の減少がみられた。病理組織学的検査では、2,000 ppm以上の群に脾臓のヘモジデリン症、大腿骨および胸骨髄における赤血球過形成がみられた。10,000 ppm群の雌雄に肝細胞肥大、胆汁鬱滞、胆石が、雄に精子数の減少および甲状腺濾胞の拡張がみられた。

以上の結果から、本試験における無毒性量(NOAEL)は雌雄とも400 ppm(雄: 12.9 mg/kg/day、雌: 14.3 mg/kg/day)と判断された。

5. 慢性毒性

1) イヌを用いた12ヵ月間慢性毒性試験

6~9ヵ月齢のビーグル犬に原体を0、100、400および2,000 ppmの濃度で、5~7ヵ月齢のビーグル犬には0、8,000 ppmの濃度で飼料に混入し、12ヵ月間にわたって毎日摂食させた。1群は雌雄各6匹で構成した。

その結果、一般状態、死亡率、体重、摂餌量および摂餌効率、血液凝固検査、尿検査、眼科学的検査では投与による変化は認められなかった。血液学的検査では、8,000 ppm群の雌雄でヘモグロビン量およびヘマトクリットの減少、血小板数および網状赤血球数の増加が、雌で赤血球数の減少がみられた。血液生化学検査の結果、2,000 ppm群の雄でトリグリセリド、コレステロールの増加がみられた。8,000 ppm群の雌雄でALT、無機リン、グロブリン、トリグリセリドおよびコレステロールの増加、Clおよびグルコースの減少がみられた。また、雄に総タンパクの増加がみられた。

投与終了時に屠殺し、病理学的検査を実施した。その結果、2,000 ppm以上の群の雌雄に肝臓および甲状腺の重量の増加が、雄では精巣上体重量の減少がみられた。8,000 ppm群の雌雄に腎臓重量の増加が、雄で精巣および精巣上体重量の減少がみられた。病理組織学的検査

では、2,000 ppm以上の群の雌雄で膀胱移行上皮の過形成が、雄で前立腺の萎縮が増加した。8,000 ppm群の雌雄で肝細胞肥大が、雄で胆汁鬱滞、精細管上皮変性・萎縮、精巣上体内精子数減少、大腿骨髄内赤血球過形成がみられた。

以上の結果から、本試験における無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 400 ppm (雄: 11.5 mg/kg/day、雌: 12.5 mg/kg/day) と判断された。

(BASF毒性研究所、1997年)

2) ラットを用いた24ヵ月間慢性毒性試験

6週齢のWistar系ラット、1群雌雄各20匹に原体を0、100、600および3,000(雄)、4,000 ppm(雌)の濃度で混入した飼料を24ヵ月間摂食させた。

その結果、一般状態、死亡率、血液学的検査、眼科学的検査では投与による変化は認められなかった。高用量群において有意な体重増加抑制が認められ、摂餌量および摂餌効率も試験前半に有意な抑制がみられた。血液生化学検査において、3,000 ppm群の雄で総タンパク、アルブミン、コレステロール、マグネシウムが増加した。600 ppm以上の群の雌では総タンパク、アルブミン、コレステロールの増加およびトリグリセリドの減少がみられ、4,000 ppm群ではグロブリンおよびマグネシウムが増加した。尿検査では、3,000 ppm群の雄で尿尿が18ヵ月目に有意な増加を示したが24ヵ月目には減少した。

24ヵ月間投与終了時に全生存動物を屠殺し、病理学的検査を実施した。その結果、臓器重量に変化はなかった。病理組織学的検査では、600 ppm群の雌及び高用量群雌雄の肝臓で好酸性変異巢の軽度な増加が認められた。また、統計学的に有意な腫瘍発生は見られなかった。

以上の結果から、本試験における無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 100 ppm (雄: 5 mg/kg/day、雌: 6 mg/kg/day) と判断された。

(BASF毒性研究所、1997年)

6. 発癌性試験

1) ラットを用いた発癌性試験

6週齢のWistar系ラット、1群雌雄各50匹に原体を0、100、600および3,000(雄)、

4,000 ppm(雌)の濃度で混入した飼料を24ヵ月間摂食させた。

その結果、一般状態、死亡率、血液学的検査では投与による変化は認められなかった。高用量群の雌雄で対照群に対して有意な体重増加抑制がみられ、摂餌量および摂餌効率も試験前半に高用量群の雌雄に有意な抑制がみられた。

投与終了時に全生存動物を屠殺し、病理学的検査を実施した。その結果、600 ppmおよび4,000 ppm群の雌で卵巣重量の増加がみられた。病理組織学的検査では、600 ppm以上の群の雌雄に肝臓の好酸性変異巢が軽度に増加した。高用量群の雌雄では肝細胞肥大もみられた。4,000 ppm群の雌で肝臓の増殖性変化の発生率がわずかに増加した。

以上の結果から、本試験における無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 100 ppm (雄: 5 mg/kg/day、雌: 6 mg/kg/day) と判断された。

(BASF毒性研究所、1997年)

2) マウスを用いた発癌性試験

7週齢のC57BL/6N系マウス、1群雌雄各50匹に原体を0、200、1,800および5,000 ppmの濃度で混入した飼料を18ヵ月間摂食させた。

その結果、一般状態、死亡率、摂餌量および摂餌効率には投与による変化は認められなかった。1,800 ppm群の雄および5,000 ppm群の雌雄で体重増加抑制が認められた。血液学的検査では、5,000 ppm群の雌でリンパ球の増加と好中球の減少がみられた。

投与終了時に全生存動物を屠殺し病理学的検査を実施した。その結果、1,800 ppm群の雄および5,000 ppm群の雌雄で肝臓重量の対体重比が増加した。病理組織学的検査では、1,800 ppm以上の群の雌で子宮内膜硝子化の増加、5,000 ppm群の雌雄で肝細胞肥大および好酸性変異巢の増加、5,000 ppm群の雄で精囊および包皮腺の分泌活性低下、雌で卵巣活性の低下がみられた。また、5,000 ppm群の雌で肝臓の増殖性病変の発生率がわずかに増加した。

以上の結果から、本試験における無毒性量 (NOAEL) は雌雄とも 200 ppm (雄: 37 mg/kg/day、雌: 52 mg/kg/day) と判断された。

(BASF毒性研究所、1997年)

7. 繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

1) ラットを用いた2世代繁殖試験

5週齢のWistar系ラット、1群雌雄各25匹に原体を0、100、500および2,500 ppmの濃度で混入した飼料を3世代にわたって摂食させた。

その結果、P世代の2,500 ppm群の雌雄とF1世代の2,500 ppmの雄およびF1の500 ppm群の雌に体重増加抑制がみられた。繁殖機能にはいずれの世代にも毒性的影響は認められなかった。

F1a、F1bおよびF2児動物に対しては、2,500 ppm群で体重増加抑制がみられた。

以上の結果から、本試験における一般毒性の無毒性量(NOEL)はP世代の親動物とF1世代の雄で500 ppm(約53 mg/kg)であり、F1の雌では100 ppm(約11 mg/kg)であり、繁殖機能についての無毒性量は2,500 ppm(約268 mg/kg)と判断された。また、発育毒性については2,500 ppmでF1a、F1bおよびF2児動物の体重増加抑制がみられたことから無毒性量は500 ppm(約53 mg/kg)と判断された。

(BASF毒性研究所、1997年)

2) ラットを用いた催奇形性試験および追加試験

11～12週齢の妊娠したWistar系ラット、1群25匹に原体を0、40、120および360 mg/kg/dayの投与量で妊娠6日目から15日目まで毎日1回経口投与した。

その結果、360 mg/kg/day群で体重増加抑制、摂餌量および妊娠子宮重量の低下がみられ、有意な死亡・吸収胚数の増加、生存胎児数の減少、平均胎児重量の低下がみられた。そのほかには母動物および着床所見に有意な変化はみられなかった。

胎児の外表観察では360 mg/kg/day群でひも状の尾を持つ胎児が2例観察された。内臓観察では、360 mg/kg/day群で背景データの範囲から外れた発生率で心室拡張がみられた。骨格観察では、360 mg/kg/day群で背景データの範囲から外れた発生率で総骨格奇形の母動物発生および頸肋骨がみられた。また、40 mg/kg/day以上の群で増加した胸骨の化骨遅延は追加試験により120および360 mg/kg/day群について

生物学的に意義のあるものと考えられた。

以上の結果から、母動物に対する無毒性量は120 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量は40 mg/kg/dayであると判断された。

(BASF毒性研究所、1995、1997年)

3) ウサギを用いた催奇形性試験

21～29週齢の妊娠したHimalayan系ウサギ、1群15匹に原体を0、20、60および180 mg/kg/dayの投与量で妊娠7日目から19日目まで毎日1回経口投与した。

その結果、180 mg/kg/day群で妊娠14～16日目に摂餌量低下と体重増加抑制がみられた。その他母動物に投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

胎児については、投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、母動物に対する無毒性量は60 mg/kg/day、胎児に対する無毒性量は180 mg/kg/dayであると判断された。また、催奇形性はないと考えられた。

(BASF毒性研究所、1995年)

8. 変異原性

1) 細菌を用いた遺伝子突然変異試験(Ames試験)

*S.typhimurium*の4株と*E.coli*の1株を用いてラット肝薬物代謝酵素系(S9)による代謝活性化を含む試験を20～5,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度で行った。

その結果、本剤の遺伝子突然変異性は陰性であると判断された。

(BASF毒性研究所、1993、1997年)

2) 培養細胞を用いた遺伝子突然変異試験

チャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO)を用いてラット肝薬物代謝酵素系(S9)による代謝活性化を含むHPRT座位の変異を指標にした試験を187.5～3,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で行った。

その結果、本剤の遺伝子突然変異性は陰性であると判断された。(BASF毒性研究所、1993年)

3) 培養細胞を用いた染色体異常試験

チャイニーズハムスター卵巣由来細胞(CHO)を用いてラット肝薬物代謝酵素系(S9)による

代謝活性化を含む試験を 62.5 ~ 1,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で行った。

その結果、本剤は染色体異常誘発性を示さないと判断された。

(Centre International de Toxicologie、1993年)

4) マウスを用いた小核試験

体重約 28 gのNMRI系マウス、1群雌雄各5匹に原体を 0、125、250 および 500 mg/kgの用量で腹腔内投与し、24時間後あるいは48時間後に骨髄標本を作成し、観察した。

その結果、本剤は小核誘発性を示さないと判断された。(BASF毒性研究所、1993年)

5) 細菌を用いたDNA損傷性試験

*B.subtilis*のH 17株とM 45株を用いてラット肝薬物代謝酵素系(S 9)による代謝活性化を含む試験を 156 ~ 2,500 $\mu\text{g}/\text{disk}$ で行った。

その結果、本剤のDNA損傷性は陽性であった。

(三菱化学安全科学研究所、1997年)

6) 培養細胞を用いたDNA損傷性試験

(コメットアッセイ)

チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)を用いて 39.1 ~ 5,000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で試験を行った。

その結果、本剤は哺乳動物細胞にDNA損傷性を示さないと判断された。

(日本曹達(株)小田原研究所、1997年)

7) 培養細胞を用いたDNA損傷性試験(UDS試験)

雄Wistarラット由来の初代培養肝細胞を用いて 0.1 ~ 500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で試験を行った。

その結果、本剤は哺乳動物細胞に対してDNA損傷性を示さないと判断された。

(BASF毒性研究所、1996年)

9. 薬理

本剤の一般薬理試験として、一般状態、中枢神経系への作用、呼吸・循環器系への作用、自律神経系(瞳孔)、骨格筋(懸垂)、腸管輸送能、血液凝固に対する作用を検討した。

その結果、本剤を高用量投与した動物では一般状態の不良、自発運動の低下、呼吸数減少および血圧低下、骨格筋力および腸管輸送率の低

下がみられた。瞳孔径および血液凝固に影響はなかった。

(三菱化学安全科学研究所、1997、1998年)

10. 要約

テプラロキシジムの安全性を評価するために各種毒性試験を行った結果、次のように考察される。

本剤のラット・マウスでの急性毒性は弱く、薬理試験においても、本剤に特異的な薬理作用はみられなかった。原体に、眼粘膜と皮膚に対する刺激性および皮膚感作性は認められなかった。10%乳剤原液では、軽度の眼及び皮膚刺激性が認められたが、散布液(500倍希釈液)では、刺激性はみられなかった。10%乳剤では弱いながら皮膚感作性が認められた。しかし、所定の注意事項を遵守すれば、作業者の健康を損なうことはない判断される。

本剤を長期間にわたって実験動物に摂取させた場合の主たる毒性学的影響は、体重増加抑制と肝臓に対する影響であると考えられる。これを指標とした場合、長期毒性試験の無毒性量はラット 5 mg/kg/day、犬 11.5 mg/kg/dayと判断される。

次世代に及ぼす影響、催奇形性、突然変異性はないと判断される。

これらの安全性試験に基づき、安全使用基準が定められ、平成12年4月に農林水産省に農薬登録された。登録保留基準値として、大豆 2 ppm、さや付豆 1 ppm、その他豆類、根・茎類、いも類、てんさい各 0.2 ppm、鱗茎類 0.5 ppmが設定されている。

問い合わせ先

日本曹達株式会社 農業化学品事業部

農業化学品登録グループ YK