

技術情報

ベンゾフェナップの毒性試験の概要

三菱油化株式会社新規事業本部農薬部

(平成元年11月20日受理)

薬剤の概要

ベンゾフェナップはピラゾール系の新規水田用除草剤であり、構造的にはピラゾール環の4位に特殊なトルオイル基を導入することによってイネに対する高い安全性を有するとともに、1年生雑草から多年生雑草まで幅広い殺草スペクトラムを有する薬剤である。

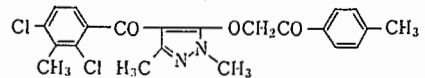
本剤は昭和56年に選抜された後社内にて薬効・薬害試験を開始するとともに、昭和57年より全国の農業試験場等において公式委託試験を実施し、水田雑草に対する優れた除草効果を確認した。

本剤の化学構造および物理化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名: ベンゾフェナップ (benzofenap)

化学名: 2-[4-(2,4-dichloro-*m*-toluoyl)-1,3-dimethylpyrazol-5-yloxy]-4'-methylacetophenone

化学構造:



分子量: 431.3

外観: 白色固体

比重: 1.3

融点: 133.1~133.5°C

蒸気圧:  $1 \times 10^{-7}$  mmHg 以下 (30°C)

溶解度: 水 0.13 mg/l (25°C), *n*-ヘキサン 0.46 g/l (20°C), 混合キシレン 69 g/l (20°C), エタノール 5.6 g/l (20°C), アセトン 73 g/l (20°C), クロロホルム 920 g/l (20°C)

分配係数:  $4.90 \times 10^4$  (*n*-オクタノール/水)

急性毒性試験

ベンゾフェナップ原体およびその製剤の各投与経路における急性毒性試験の結果を表1に示す。

表 1

検体	動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	試験機関	報告書作成年
原体	ラット	経口	♂♀ > 15,000	ボソリサーチセンター	1981
		経皮	♂♀ > 5000	ボソリサーチセンター	1981
		皮下	♂♀ > 5000	ボソリサーチセンター	1985
		腹腔内	♂1775, ♀1094	ボソリサーチセンター	1985
		吸入 (4時間)	♂♀ > 1930 mg/m <sup>3</sup>	Bio/dynamics Inc.	1985
	マウス	経口	♂♀ > 15,000	ボソリサーチセンター	1981
		経皮	♂♀ > 5000	ボソリサーチセンター	1981
		皮下	♂♀ > 5000	ボソリサーチセンター	1985
腹腔内		♂♀ > 5000	ボソリサーチセンター	1985	
粒剤 (8%)	ラット	経口	♂♀ > 5000	野村生物科学研究所	1985
		経皮	♂♀ > 2000	野村生物科学研究所	1985
	マウス	経口	♂♀ > 5000	野村生物科学研究所	1985

## 刺激性試験

### 1. 眼一次刺激性試験

ベンゾフェナップ原体および8%粒剤の眼に対する一次刺激性試験を日本白色種ウサギ(雌)を用いて実施した。原体では8匹を用いて左眼に検体100mgを投与し、5匹は投与5分後に、3匹は投与24時間後に洗眼した。粒剤では9匹を用いて右眼に検体100mgを投与し、6匹は無洗眼、3匹は投与2分後に洗眼した。投与後7日間にわたって角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize法による評価を行なった。

その結果、原体では投与24時間後に一部の動物に結膜に軽微な変化がみられたが、投与48時間後には消失した。一方粒剤では投与後に虹彩および結膜に刺激性がみられたが、投与4日後には全動物とも正常に回復した。以上の結果より、ベンゾフェナップの刺激性はきわめて弱いものと判定された。(原体:ポソリサーチセンター/1982年, 粒剤:日本実験医学研究所/1985年)

### 2. 皮膚一次刺激性試験

ベンゾフェナップ原体および8%粒剤の皮膚に対する一次刺激性試験を日本白色種ウサギ(雌)を6匹用いて実施した。原体では検体500mgをリント布を用いて刈毛後の正常皮膚および角質層剝離皮膚に24時間塗布した。粒剤では検体500mgを刈毛後の正常皮膚に4時間塗布した。塗布後14日(原体)、5日(粒剤)にわたって刺激性変化を観察し、Draize法により評価を行なった。

その結果、原体では塗布1日後に軽度の発赤がみられたが4日後には消失した。粒剤では塗布1日後1匹に軽微な浮腫がみられたものの2日後には正常になった。以上の結果から、ベンゾフェナップの皮膚への刺激性はきわめて弱いと判定された。(原体:ポソリサーチセンター/1982年, 粒剤:日本実験医学研究所/1985年)

## 皮膚感作性

ハートレー系モルモット(雌)10匹を用い、EPA基準に準じてベンゾフェナップ原体を皮内投与により感作および誘発を行なった。観察は感作期間中は投与1および24時間後と誘発24および48時間後に行ない、投与用量として感作は検体の0.1%コーンオイル懸濁液0.1mlを1日おきに計10回、誘発は最終感作2週間後に0.1%コーンオイル懸濁液0.05mlとした。なお、陽性対照としてDNFBを用いた。

その結果、感作期間中は投与24時間と、誘発期間中は投与24および48時間後少数に軽微な紅斑がみられた

以外変化はみられなかった。一方、陽性対照では全動物に明確な紅斑および浮腫がみられた。

(食品農薬薬品安全性評価センター/1985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

一群雌雄各20匹のFischer系ラットにベンゾフェナップを0, 100, 500および2500ppm含有した飼料を3か月間摂食させた。

その結果、試験期間中死亡例はなく、投与に関連した臨床症状も認められなかった。体重増加抑制は雌の2500ppm群と雄の500ppm以上投与群で認められた。血液学検査値は雌雄とも2500ppm群でヘマトクリット値、ヘモグロビン量および赤血球数が減少した。ヘマトクリット値と赤血球数の減少は雌の500ppm投与群でもみられた。血液生化学検査では雌の100および500ppm投与群でGOT, GPTおよびLDHの増加が、雄の500ppm以上投与群では総コレステロールが増加した。アルカリフォスファターゼは雌の全投与群で減少し、一方雌の2500ppm群では増加した。尿検査では雌の2500ppm群と雄の500ppm以上投与群で酸性尿とケトン体増加動物が増加した。臓器重量では肝と腎が雌雄の投与群で対体重比とともに増加し、雌の2500ppm群では卵巣重量が減少したほか、500ppm以上の投与群では体重増加抑制に起因すると考えられる変動がみられた。病理組織検査では最高投与群の雌で黄体数の減少と子宮色素沈着消失がみられた。雄では軽度な肝細胞の脂肪変性がみられた以外特筆すべき所見は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるベンゾフェナップの最小中毒量は100ppm(雄:7.00mg/kg/日, 雌:7.84mg/kg/日)と判断された。

(食品農薬薬品安全性評価センター/1982年)

### 2. マウスにおける3か月亜急性毒性試験

一群雌雄各20匹のB6C3F1系マウスにベンゾフェナップを0, 100, 500および2500ppm含有した飼料を3か月間摂食させた。

その結果、試験期間中投与に関連した臨床症状はみられなかったが、2500ppm群で雌雄各1匹が死亡した(雌は事故死, 雄は原因不明)。500ppm投与群では臓器重量が雌雄とも肝が対体重比とともに増加したほか、雌では一部臓器に変動が認められた。尿検査ではケトン体増加個体が増加した。病理組織検査では雌雄とも一部に軽度の肝細胞核大小不同性がみられたが、可逆的な変化であると見なされた。2500ppm投与群では500ppm群でみられた症状のほか体重増加抑制が認められ、血液学検

畜では赤血球数減少、血液生化学検査では雌雄のアルカリフォスファターゼ増加、雄の尿素窒素および総コレステロール増加が認められた。そのほか、尿検査では雌雄とも酸性尿動物が増加し、雄では蛋白およびウロビリノーゲン高値を示す動物が増加した。臓器重量では雌雄とも、背景データの範囲内変動がみられた。病理組織検査では雌に卵巣の黄体数減少がみられた他 500 ppm 投与群で認められた肝への変化が認められた。以上の結果より、本試験におけるベンゾフェナップの最大無作用量は 100 ppm (雄: 17.6 mg/kg/日, 雌: 23.7 mg/kg/日) と判断された。(食品農薬品安全性評価センター/1982年)

#### 慢性毒性/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

一群雌雄各 70 匹の Fischer 系ラットにベンゾフェナップを 0, 3, 30 および 300 ppm 含有した飼料を 24 か月間摂食させた。なお、投与 52 および 72 週後に各群雌雄 10 匹を中間屠殺した。

その結果、試験期間中に投与に関連すると考えられる臨床症状はみられず、試験終了時の死亡率は各投与群とも対照群との間に有意差はなかった。毒性発現臓器は亜急性毒性試験の結果と同じであり、血液学、血液生化学ならびに尿の各検査値もこのことを反映して亜急性毒性試験の結果と類似していた。

300 ppm 投与群では試験期間を通して雌雄とも体重増加抑制が認められたほか、血液学検査ではヘマトクリット値、赤血球数およびヘモグロビン量の減少等がみられ、これらの変化に対応して赤血球恒数が変動した。血液生化学検査では各検査時期において GPT, GOT, 総蛋白を始め多くのパラメーターに変動がみられたが投与との明らかな関連は認められなかった。尿検査値は中間検査時にはケトン体の増加がみられたが、投与終了時の検査では対照群と差がなかった。臓器重量は雄で肝および腎が増加したほか、体重増加抑制に起因して脳、心および肺の変動がみられたほか、雌では中間検査時に肝、脾が増加した。病理組織検査では投与終了時に雄に自然発生病変の二次的影響と思われる慢性腎症の病変増強がみられた以外にめだつた病変はなかった。一方、30 ppm 投与群では血液および血液生化学検査においてパラメーターに多少の変動がみられたがいずれも正常範囲内であった。尿検査では投与 52 週時で雌でビリルビン陽性動物が増加した。そのほか臓器重量では、雄の脾が投与 52 および 72 週時に増加した以外投与に関連した変化は認められなかった。3 ppm 投与群では何ら投与に関連する変化は認められなかった。

以上の試験結果から、本試験におけるベンゾフェナップの最大無作用量は 3 ppm (雄: 0.193 mg/kg/日, 雌: 0.203 mg/kg/日) と判断された。また催腫瘍性については、全投与群で対照群との間に発生率の変化は認められなかった。(食品農薬品安全性評価センター/1985年)

##### 2. マウスにおける 24 か月慢性毒性/発がん性試験

一群雌雄各 70 匹の B6C3F1 系マウスにベンゾフェナップを 0, 3, 30 および 300 ppm 含有した飼料を 24 か月間摂食させた。なお、投与 52 および 72 週時に各群雌雄 10 匹を中間屠殺した。

その結果、試験期間中に投与に関連すると考えられる臨床症状はみられず、試験終了時の死亡率は各投与群とも対照群との間に有意差はなかった。

300 ppm 投与群では雄で投与後 16 週から投与終了まで体重増加抑制がみられた一方、雌では投与期間の大半で平均体重が対照群より大きかった。血液学検査では、中間検査時に赤血球数に多少の変動がみられたが、投与終了時には対照群との間に明確な差は認められなかった。血液生化学検査では投与終了時に雄で血糖と尿酸の減少、総蛋白とアルブミンの増加が、雌では尿酸の減少、血糖と GOT が増加した。また尿検査では雌雄ともケトン体の増加がみられた。臓器重量では投与終了時に雄で肺と腎がわずかに減少した以外には、投与 52 週で雄の精巣減少と雌の肝増加がみられた程度であった。病理組織検査では雌雄で肝細胞核の大小不同性発生が、雌で肝、腎および脾に色素沈着が増加したが、これは二次的な変化で薬物の影響ではないとみなされた。

30 ppm 投与群では雄に投与 18~86 週の間体重増加抑制がみられた。血液学および血液生化学検査値では一部の項目に多少の変動がみられたもののいずれも正常範囲内であったが、尿検査ではケトン体の増加がみられた。臓器重量は投与 52 週で雌の肝が増加した以外変化はなく、また病理組織検査でも 300 ppm 投与群でみられた病変の発生率が対照群より多少増加した以外変化はなかった。3 ppm 投与群では何ら変化は認められなかった。以上の結果から、本試験におけるベンゾフェナップの最大無作用量は 3 ppm (雄: 0.495 mg/kg/日, 雌: 0.615 mg/kg/日) と判断された。また催腫瘍性については、すべての投与群で対照群との間に差は認められなかった。

(食品農薬品安全性評価センター/1985年)

#### 繁殖性試験

##### ラットにおける二世世代繁殖試験

一群雌雄各 30 匹の SD 系ラットを用い、ベンゾフェナップを 0, 5, 20 および 100 ppm 含有した飼料を与え

て二世代 (F0, F1) にわたって飼育し、繁殖性に及ぼす影響について調べた。なお、交配は F0, F1 世代とも 2 回行ない継代には第 2 回交配産仔 (F1b, F2b) を用いた。

その結果、親動物に対する影響としては体重増加抑制が F0 の 100 ppm 群雌と F1 の 100 ppm 群雄でみられた。また、F0 の 100 ppm 群雌では胃粘膜暗病巣と肺の斑点および軽度な子宮拡大の増加がみられたほか、F1 の 100 ppm 群雌では副腎重量が増加し、20 ppm 以上投与群では妊娠期間中摂餌量が低く腎盂拡張と胃粘膜暗病巣の増加がみられた。

仔動物に対する影響では F1b と F2b の 20 ppm 以上投与群で腎盂拡張の増加がみられたほか、100 ppm 群では F1a で肺の腫瘍増加、F1b と F2a で離乳時の低体重がみられ、F2a の 20 ppm 以上投与群では離乳時の生存率が低かった。一方、繁殖性に及ぼす影響としては 100 ppm 群の親動物で交配時の受精率が F0 では 1 回目、F1 では 1 回目 2 回目とも低かった以外受精率、出産率等に変化はなかった。

以上の結果から、本試験におけるベンゾフェナップの繁殖性に関する最大無作用量は、20 ppm (雄: 1.30 mg/kg/日, 雌: 1.73 mg/kg/日) と判断され、一般毒性に関する最大無作用量は 5 ppm (雄: 0.32 mg/kg/日, 雌: 0.44 mg/kg/日) と判断された。

(Hazleton Laboratories America Inc./1985 年)

### 催奇形性試験

#### 1. ラットにおける試験

一群 25 匹の SD 系妊娠ラットにベンゾフェナップを CMC 溶液に懸濁させ 0, 8, 40 および 200 mg/kg の投与量を妊娠 6~15 日の器官形成期に毎日 1 回経口投与して母体と胎仔に及ぼす影響を調べた。

その結果、親動物では 40 mg/kg 以上投与群で投与期間中体重増加が抑制された以外何ら変化はなかった。仔動物に対する影響としては 200 mg/kg 投与群で化骨遅延の増加が認められた以外何ら異常は認められなかった。

以上の結果から、ベンゾフェナップの母獣に対する最大無作用量は、8 mg/kg/日であると判断され、また催奇形性は認められなかった。

(Hazleton Laboratories America Inc./1985 年)

#### 2. ウサギにおける試験

一群 17 匹の New Zealand White 系妊娠ウサギにベンゾフェナップを CMC 溶液に懸濁させ 0, 4, 20 および 100 mg/kg の投与量を妊娠 7~19 日の器官形成期に毎日

1 回経口投与して母体と胎仔に及ぼす影響を調べた。

その結果、親動物では投与期間中平均体重の軽度な減少がみられた以外変化はなかった。仔動物ではいずれの検査項目とも対照群との間に差はなかった。

以上の結果から、ベンゾフェナップは 100 mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。また、一般毒性に関する最大無作用量は、20 mg/kg/日であると判断された。

(Hazleton Laboratories America Inc./1984 年)

### 変異原性試験

#### 1. 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 S-9 mix の存在下および非存在下で rec-assay によりベンゾフェナップを 100~5000  $\mu$ g/disk の濃度で処理したときの DNA 損傷の誘発性を検定した。

その結果、最高濃度の 5000  $\mu$ g/disk でも両株に生育阻止の差は認められなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C では両株の間に著大な生育阻止の差が認められた。

以上の結果から、ベンゾフェナップは DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。

(食品農薬薬品安全性評価センター/1981 年)

#### 2. 復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 6 株とトリプトファン要求性大腸菌 1 株を用い S-9 mix の存在下および非存在下で Ames 法によりベンゾフェナップを 5~5000  $\mu$ g/plate の濃度で処理したときの遺伝子突然変異性を検定した。

その結果、S-9 mix 存在の有無にかかわらず、最高濃度の 5000  $\mu$ g/plate でいずれの検定菌株に対しても復帰変異コロニー数の増加が認められなかった。一方、陽性対照としてもちいた AF-2, 2-NF 等では著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から、ベンゾフェナップは復帰変異誘発性はないものと判断された。

(食品農薬薬品安全性評価センター/1981 年)

### 染色体異常誘発性試験

チャイニーズハムスターの肺線維芽細胞を用いて S-9 mix の存在下および非存在下で染色体異常の検定を行なった。試験濃度は代謝活性化法では 20~160  $\mu$ g/ml, 代謝非活性化法では 7~56  $\mu$ g/ml とした。陽性対照として MNNG (非活性化法) および 1, 2-ベンゾピレン (活性化法) を用いた。

その結果、ベンゾフェナップは本試験条件下で S-9

mixの有無にかかわらず染色体異常を引き起こさず陰性であると判断された。

(食品農薬安全性評価センター/1985年)

#### 一般薬理試験

マウスおよびラットを用いて、①自発行動に及ぼす影響 (Irwin法)、②自発運動に及ぼす影響 (回転カゴ法)、③体温への影響、を調べた。検体はCMC生理食塩液に懸濁させ、3000 mg/kgを経口投与した。

その結果、いずれも対照群と比較して有意な差はなくベンゾフェナップは生体機能に及ぼす影響はきわめて弱いものと判断された。(薬効開発研究会/1986年)

#### 要約

ベンゾフェナップの安全性評価を行なうため、各種毒性試験を行なった。その結果、本剤は急性毒性はきわめ

て低いほか、眼と皮膚に対する刺激性ならびに皮膚感作性もほとんどなく、薬理作用も乏しかった。亜急性および慢性毒性/発がん性試験では高用量群において体重増加抑制や一部臓器の重量増加がみられたが薬剤に起因した特定の病変は認められず、発がん性もなかった。変異原性は陰性であり、また繁殖性および催奇形性も異常は認められなかった。

ベンゾフェナップは昭和62年4月に登録を取得し、登録保留基準は米について0.1 ppmと設定された。ベンゾフェナップは定められた使用基準を厳守すれば安全性が高い薬剤であり有用な農業資材の一つとして期待されている。

#### 問合せ

三菱油化株式会社新規事業本部農薬部企画開発グループ  
〒100 東京都千代田区丸の内2-5-2 三菱ビル