

エトキサゾールの毒性試験の概要

八洲化学工業株式会社研究開発部

(平成12年8月20日受理)

薬剤の概要

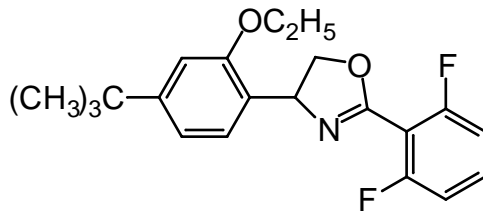
エトキサゾールは八洲化学工業株式会社において平成2年に発明されたオキサゾリン系化合物に属する新規殺ダニ剤である。本剤は果樹，野菜，茶，花卉のハダニ類に対し強い殺卵効果と脱皮阻害効果を持つ。成虫に対しては直接的な殺ダニ効果はみられないが，本剤を処理された成虫の産下した卵は孵化しない。また，既存の殺ダニ剤に対し抵抗性を獲得したハダニ類に対しても高い効果が認められている。さらに，ある種の昆虫，特にアブラムシ類に対しても顕著な殺幼若虫活性が認められている。

本剤の化学構造および物理的・化学的性状等は以下に示すとおりである。

一般名：エトキサゾール(etoxazole: ISO)

化学名：(RS)-5-tert-butyl-2-[2-(2,6-difluorophenyl)-4,5-dihydro-1,3-oxazole-4-yl]phenetole

構造式



分子式：C₂₁H₂₃F₂NO₂

分子量：359.4

観：白色細粒

比重：1.24 (20)

融点：101 ~ 102

蒸気圧：2.18 × 10⁻⁶ Pa (25)

溶解度 (g/l : 25) : 水 : 7.54 × 10⁻⁵ ; アセトン : 300 ; ジクロロメタン : 1050 ;

酢酸エチル : 250 ; メタノール : 90 ; n-ヘキサン : 13

分配係数 (n-オクタノール / 水) : log P_{ow} = 5.59 (25)

以下に本剤の各種毒性試験の結果を取りまとめて報告する。

急性毒性試験

エトキサゾール原体および製剤のラット，マウスにおける経口，経皮および吸入の各経路による急性毒性試験結果を表1に示す。

一般状態の変化としては経口投与で，立毛，円背位，アヒル歩行および嗜眠が，全身暴露による吸入毒性試験では鼻吻部周囲の赤色付着物が認められた。経皮投与では一般状態の変化は認められなかった。剖検ではすべての急性毒性試験で肉眼的異常は認められなかった。

表1 エトキサゾールの急性毒性試験結果

検体	動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値	試験機関 (報告書作成年)
原体	ラット	経口	雄	>5000	HRC (1992)
			雌	>5000	
		経皮	雄	>2000	HRC (1992)
			雌	>2000	
		吸入	雄	>1.09 mg/l	残留農薬研究所 (1994)
			雌	>1.09 mg/l	
マウス	経口	雄	>5000	HRC (1992)	
		雌	>5000		
10%フロアブル剤	ラット	経口	雄	>5000	HRC (1995)
			雌	>5000	
		経皮	雄	>2000	HRC (1995)
			雌	>2000	
		吸入	雄	>1.09 mg/l	残留農薬研究所 (1995)
			雌	>1.09 mg/l	
マウス	経口	雄	>5000	HRC (1995)	
		雌	>5000		

HRC: Huntingdon Research Centre, 現 Huntingdon Life Science.

刺激性試験・感作性試験

1. 眼一次刺激性試験

原体の0.1 ml (53 mg) をニュージーランド白色ウサギ6匹の片方の眼に投与し、他方の眼を対照として、投与後1, 24, 48, 72, 96, 168時間後に角膜、虹彩および結膜の異常を観察した。洗眼群はもうけなかった。

一時的で軽度な結膜の刺激性が投与1時間後に全例のウサギで認められたが、1日後には消失した。

したがって、エトキサゾール原体はウサギの眼粘膜には刺激性はないものと判断された。

(Huntingdon Reserch Centre, 1992)

10%フロアブル剤0.1 mlをニュージーランド白色ウサギに原体と同様に投与した。洗眼群はもうけなかった。

その結果、軽度な結膜の刺激性投与1時間後に全例のウサギで認められたが、発赤は3日後、浮腫は1日後、分泌物は2日後には消失した。したがって、エトキサゾール10%フロアブルはウサギの眼の結膜にわずかな刺激性を示すと判断された。

(Huntingdon Research Centre, 1995)

2. 膚一次刺激性試験

1群6匹のニュージーランド白色ウサギの除毛した皮膚に，原体0.5gを処理した．検体除去後，30分，24，48，72時間後に皮膚の変化（紅斑・痂皮および浮腫）を観察した．その結果，すべての動物で皮膚の変化は観察されなかった．したがってエトキサゾール原体はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと判断された．

（Huntingdon Research Centre, 1992）

1群6匹のニュージーランド白色ウサギの除毛した皮膚に，10%フロアブル剤0.5gを処理した．検体除去後，30分，24，48，72時間後に皮膚の変化（紅斑・痂皮および浮腫）を観察した．

その結果，すべての動物で皮膚の変化は観察されなかった．したがってエトキサゾール10%フロアブル剤はウサギの皮膚に対して刺激性はないものと判断された．

（Huntingdon Research Centre, 1995）

3. 皮膚感作性試験

1群雌20匹のダンキン・ハートレー系のモルモットを用い，Maximization法に準じて原体の試験を行った．0.25%の検体0.1 mlを皮内投与し，6日後に80%の検体を48時間閉鎖塗布して感作した．感作塗布2週間後に80および40%の検体を24時間閉鎖塗布して惹起を行い，皮膚反応を観察した．

その結果，検体感作群のいずれの観察時間にも皮膚反応は認められなかったことから，エトキサゾール原体は本試験条件下では皮膚感作性を有さないものと判断された．

（Huntingdon Research Centre, 1992）

1群雌20匹のダンキン・ハートレー系のモルモットを用い，Maximization法に準じて10%フロアブル剤の試験を行った．2.5%の検体0.1mlを皮内投与し，6日後に検体原液を閉鎖塗布して感作した．感作塗布2週間後に原液および50%の検体を24時間閉鎖塗布することにより惹起を行い，皮膚反応を観察した．

その結果，検体感作群のいずれの観察時にも皮膚反応は認められなかったことから，10%フロアブル剤は本試験条件下では皮膚感作性を有さないものと判断された．

（Huntingdon Research Centre, 1995）

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた13週間亜急性毒性試験

1群雌雄各12匹のSprague Dawley系ラットにエトキサゾール原体を0, 100, 300, 1000および3000 ppm含有した飼料を13週間，自由摂取させた．

その結果，死亡，一般状態，体重，飼料摂取量，尿検査，眼科学的検査への検体投与によると考えられる影響は認められなかった．

血液学的検査では，1000 ppm以上の群の雄でヘマトクリット値および血色素量の低下が認められた．血液生化学的検査では，3000 ppm群雌雄で γ -GTPの増加が認められた．3000

ppm群雄ではGOT, CPK, 総コレステロール, カリウムの上昇が認められ, 同群雌ではGOT, CPKの上昇傾向が認められた。臓器重量では, 300 ppm以上の雄および1000 ppm以上の雌で肝重量の増加が認められた。肉眼的病理観察では, 3000 ppm群雌雄と1000 ppm群雌で肝臓腫大が認められた。病理組織学的検査では, 3000 ppm群雌雄と1000 ppm群雌で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

以上の結果から, 本試験でのエトキサゾールの無毒性量は, 雄で100 ppm (6.12 mg/kg/day), 雌で300 ppm (20.50 mg/kg/day) と判断された。((財) 残留農薬研究所, 1994)

2. マウスを用いた13週間亜急性毒性試験

1群雌雄各12匹のICR系マウスにエトキサゾール原体を0, 100, 400, 1600および6400 ppm含有した飼料を13週間自由摂取させた。

その結果, 死亡, 一般状態, 体重, 飼料摂取量, 血液学的検査, 尿検査, 眼科学的検査への検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

血液生化学的検査では, 6400 ppm群雌雄でALPの増加が認められた。

臓器重量では, 1600および6400 ppm群雌雄で肝臓重量の増加が認められ, 肉眼的病理検査では, 6400 ppm群雌で肝臓腫大が認められた。病理組織学的検査では, 6400 ppm群雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大と小葉周辺性肝細胞壊死が認められ, 雄では1600 ppm群でも小葉中心性肝細胞肥大が認められた。

以上の結果から, 本試験でのエトキサゾールの無毒性量は, 雄で400 ppm (55.13 mg/kg/day), 雌で1600 ppm (250.5 mg/kg/day) と判断された。

((財) 残留農薬研究所, 1994)

3. イヌを用いた13週間亜急性毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル犬にエトキサゾール原体を0, 200, 2000および10,000 ppm含有した飼料を13週間摂取させた。

その結果, 死亡, 体重, 飼料摂取量, 尿検査, 眼科学的検査, 臓器重量, 肉眼的病理検査への検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

一般状態では10,000 ppm群雄2匹で粘液便が認められた。血液学的検査では, 10,000 ppm群雄1匹にヘマトクリット値, 血色素量および赤血球数の低下と白血球数の上昇が認められた。血液生化学的検査では, 10,000および2000 ppm群雌雄でALPの上昇, 10,000 ppm群雌雄でアルブミンの低下(雌ではグロブリンの上昇とA/G比の低下を伴う)および10,000 ppm群の雄1匹でGOTおよびGPTの上昇が認められた。病理組織学的検査では, 2000および10,000 ppm群雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大および炎症性細胞浸潤が認められた。また, 10,000 ppm群で3匹, 2000 ppm群で1匹の雄に前立腺の腺上皮萎縮が認められ, 10,000 ppm群雄1匹で大腸炎が認められた。

以上の結果から, 本試験でのエトキサゾールの無毒性量は, 雌雄ともに200 ppm (雄: 5.33 mg/kg/day, 雌: 5.42 mg/kg/day) と判断された。((財) 残留農薬研究所, 1995)

慢性毒性および発がん性試験

1. イヌを用いた慢性毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル犬にエトキサゾール原体を0, 200, 1000および5000 ppm含有した飼料を52週間摂取させた。

その結果、死亡、体重、飼料摂取量、尿検査、眼科学的検査への検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

一般状態では5000 ppm群雄3匹で粘液便が認められた。血液学的検査では5000 ppm群雄で血色素量と赤血球数の低下が認められ、雌では血色素量の低下が認められた。血液生化学的検査では、5000 ppm群雌雄でALPおよびTGの上昇が認められた。肉眼的病理検査では、5000 ppm群雌雄で肝臓腫大が認められた。臓器重量では、5000および1000 ppm群雌雄で肝臓の絶対重量および相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、5000および1000 ppm群雌雄で肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が認められ、5000 ppm群雄1匹で前立腺の腺上皮萎縮が認められた。

以上の結果から、本試験でのエトキサゾールの無毒性量は、雌雄ともに200 ppm（雄：4.62 mg/kg/day，雌：4.79 mg/kg/day）と判断された。（（財）残留農薬研究所，1996）

2. ラットを用いた慢性毒性・発がん性試験

1群雌雄各85匹のSprague-Dawley系ラットに0, 4, 16, 64 mg/kg/dayとなるようにエトキサゾール原体を混入した飼料を104週間摂取させた。26, 52および78週後に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

その結果、一般状態、死亡、摂餌量、眼科学的検査および尿検査への検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

体重変化では、64 mg/kg/day群雌で試験後半に累積体重増加量の低下傾向が認められた。血液学的検査では、64 mg/kg/day群雄で78週投与後、血色素量の低下が認められた。

血液生化学的検査では、64および16 mg/kg/day群雄で総コレステロール値の上昇および64 mg/kg/day群雄で総ビリルビン値の上昇が認められ、64 mg/kg/day群雌でLDH値の上昇が認められた。臓器重量では、64および16 mg/kg/day群雄で肝臓の絶対重量と相対重量が上昇した。肉眼的病理検査では、64および16 mg/kg/day群雄で26週投与後に肝臓の腫大が認められた。組織病理学的検査では64 mg/kg/day群雄で26週投与後、肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が認められた。腫瘍性病変については、検体投与に関係すると考えられるものは認められなかった。

以上の結果から、本試験でのエトキサゾールの無毒性量は、雄4.01 mg/kg/day，雌16.1 mg/kg/dayと判断された。また、催腫瘍性は認められなかった。

（（財）残留農薬研究所，1996）

3. マウスを用いた発がん性試験

1群雌雄各64匹のICR系マウスに0, 15, 60, 240 mg/kg/dayとなるようにエトキサゾール原体を混入した飼料を18か月間摂取させた。12か月後に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

その結果，一般状態，死亡率，摂餌量，血液学的検査，血液生化学的検査および尿検査への検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

240 mg/kg/day群で体重増加抑制（雌雄），小葉中心性肝細胞脂肪化（雄），肝臓の相対重量の増加（雌）が認められた。これら非腫瘍性の病変が認められた最高投与量240 mg/kg/dayにおいても検体投与に関連する腫瘍性病変の増加は認められず，いずれも自然発生性のものであった。

以上の結果から，本試験でのエトキサゾールの無毒性量は，雄60.1 mg/kg/day，雌60.5 mg/kg/dayと判断された。また，催腫瘍性は認められなかった。

（（財）残留農薬研究所，1996）

繁殖および催奇形性試験

1. ラット用いた繁殖試験

1群雌雄各24匹のSprague-Dawley系ラットに0，80，400および2000 ppmなるようにエトキサゾール原体を混入した飼料をF0世代からF2仔離乳時まで摂取させ，繁殖性におよぼす影響を試験した。

その結果，2世代にわたって本検体を飼料中に混合して投与した場合，2000 ppm群でPおよびF1親動物の肝臓重量の増加が，また保育4日のF1仔動物の生存率の低下と保育期間後半のF1およびF2仔動物の体重の低下が認められた。繁殖能力に関しては，いずれの世代においても検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果から，本試験での親動物および仔動物に対する無毒性量は400 ppm（F0雄28.2 mg/kg/day，F1雄31.7 mg/kg/day，F0雌33.4 mg/kg/day，F1雌35.6 mg/kg/day）と判断された。また，繁殖能に対する影響はないものと判断された。

（（財）残留農薬研究所，1996）

2. ラットを用いた催奇形性試験

1群24匹のSprague-Dawley系ラット妊娠雌に0，40，200および1000 mg/kg/dayの投与用量で妊娠6日から15日までの10日間，1%メチルセルロースに懸濁したエトキサゾール原体を1日1回強制経口投与した。

その結果，母動物では1000 mg/kg/day群で，投与期間中摂餌量が低下した。妊娠20日目の帝王切開時の剖検では卵巣および子宮に異常は認められなかった。胎児に対する検体投与の影響は認められなかった。投与に起因すると思われる胎児奇形および変異は認められなかった。

以上の結果から，親動物に対する無毒性量は200 mg/kg/dayであり，胎児に対する無毒性量は1000 mg/kg/dayと判断された。また，最高投与量の1000 mg/kg/dayでも胎児に対して催奇形性はないものと判断された。

（（財）残留農薬研究所，1994）

3. ウサギを用いた催奇形性試験

1群18匹の日本白色ウサギ妊娠雌に0, 40, 200および1000 mg/kg/dayの投与用量で妊娠6日から18日までの13日間, 1%メチルセルローズに懸濁したエトキサゾール原体を1日1回強制経口投与した。

その結果, 1000 mg/kg/day群で妊娠24日以降, 母動物の体重および体重増加量が低下し, 妊娠6~8日, 妊娠22~24日の摂餌量が低下した。剖検では同群の母動物2匹に肝臓の腫大が認められた。胎児に対する検体投与の影響は認められなかった。投与に起因すると思われる胎児奇形は認められなかったが, 母動物に対して影響の認められる1000 mg/kg/day群で骨格変異の出現頻度がわずかに増加する傾向が認められた。

以上の結果から, 親動物および胎児に対する無毒性量は200 mg/kg/dayと判断された。また, 胎児に対して催奇形性はないものと判断された。((財) 残留農薬研究所, 1994)

変異原性試験

1. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (TA1535, TA1537, TA100, TA98) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP2uvrA) を用い, 肝薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下でAmesらの方法により遺伝子突然変異性を検討した。処理濃度はS 9Mixの存在下および非存在下ともに313, 625, 1250, 2500, 5000 μ g/plateとした。

その結果, S 9Mixの存在, 非存在にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加はなく, 復帰変異誘発性は陰性と判断した。

((財) 残留農薬研究所, 1992)

2. *in vitro* 染色体異常誘発性

チャイニーズハムスターの肺由来の細胞株 (CHL) を用い, 検体を肝薬物代謝酵素系 (S 9Mix) の非存在下で15.6, 31.3, 62.5および125 μ g/ml (24時間処理), または, 12.5, 25.0, 50.0および1000 μ g/ml (48時間処理), 存在下で22.5, 45.0, 90.0および180.0 μ g/ml (24および42時間処理) の濃度で処理した。その結果, S 9Mixの存在, 非存在にかかわらず, 染色体異常誘発性は陰性と判断した。((財) 残留農薬研究所, 1994)

3. DNA修復試験

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H 17) と欠損株 (M 45) を用い, 肝薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下でrec-assay法によりDNAの損傷誘発性を検討した。

処理濃度はS 9Mixの存在下および非存在下ともに50, 100, 200, 500, 1000および2000 μ g/plateとした。

その結果, S 9Mixの存在, 非存在にかかわらず, DNAの損傷誘発性は陰性と判断した。

((財) 残留農薬研究所, 1992)

一般薬理試験

1. 中枢神経に対する作用

1) マウス

エトキサゾールを0, 19.5, 78.1, 313, 1250および5000 mg/kgの用量でICR系マウスに腹腔内投与し, Irwin法に従って行動を多元観察した。

その結果, 78.1 mg/kg以上の投与群に軽度な抑制性の症状が観察されたが, 死亡は認められなかった。

2) ウサギ

エトキサゾールを0および5000 mg/kgの用量で日本白色種雄ウサギに経口投与し, 症状を多元観察した。

その結果, 検体投与によると考えられる異常症状は認められなかった。

3) ヘキソバルビタール睡眠時間に対する作用

ICR系雄マウスに検体を1250 mg/kg投与し, 投与前, 投与1時間, 1, 2, 3, 5, 7, 14および21日後にヘキソバルビタールを100 mg/kg皮下投与し, ヘキソバルビタール睡眠時間に対する影響を調べた。また, 用量依存性をみるために検体をヘキソバルビタール投与の1時間前および3日後に0, 19.5, 78.1, 313, 1250および5000 mg/kgの用量で投与し, ヘキソバルビタール睡眠時間を調べた。

その結果, 313 mg/kg以上の用量を腹腔内投与すると投与初期(1時間後)では延長を示し, 2~3日には短縮が認められた。

2. 呼吸循環器に対する影響

エトキサゾールを日本白色種雄ウサギに0, 19.5, 78.1, 313, 1250および5000 mg/kgの用量で経口投与し, 呼吸数, 血圧, 心拍数および心電図を測定した。

その結果, 検体投与によると考えられる影響は認められなかった。

3. 消化器に対する作用

エトキサゾールを日本白色種雄ウサギに0, 19.5, 78.1, 313, 1250および5000 mg/kgの用量で腹腔内投与し, 30分後に屠殺し, 炭末の小腸内移動率を測定した。

その結果, 78.1 mg/kg以上の投与群で抑制が認められた。

4. 血液に対する作用

エトキサゾールを0, 313, 1250, 5000 mg/kgの用量でICR系雄マウスに腹腔内投与し, 投与1時間後に採血し, 血漿ヘモグロビン濃度, 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。

その結果, いずれの投与群でも血液に対する影響は認められなかった。

5. 肝薬物代謝酵素活性に対する影響

エトキサゾールをICR系雄マウスに1250 mg/kgの用量で腹腔内投与し、投与前、投与1時間、3、7および14日後にヘキソバルビタール酸化酵素活性とアニリン水酸化酵素活性を測定した。

その結果、ヘキソバルビタール酸化酵素活性は投与1時間後に減少傾向が認められたが、投与3日後には増加が認められた。アニリン水酸化酵素活性は全期間にわたって減少した。

((財) 残留農薬研究所, 1995)

要 約

エトキサゾールの安全性を評価するため各種毒性試験を実施した。エトキサゾールの原体および10%フロアブルはラットおよびマウスにおける急性毒性は低く、いわゆる普通物に該当する。

眼および皮膚に対する一次刺激性、皮膚に対する感作性では、10%フロアブルで眼に対して極軽度の刺激性が認められたのみである。

ラット、マウスおよびイヌを用いた亜急性および慢性毒性、発がん性試験では検体投与による影響として、肝の臓器重量の増加、腫大、小葉中心性肝細胞肥大およびこれらを反映する血液生化学的測定項目の変動等が認められたが、いずれの動物種においても催腫瘍性は認められなかった。

ラットを用いた繁殖性におよぼす影響試験、ラットおよびウサギを用いた催奇形性試験では、繁殖性におよぼす影響および催奇形性は認められなかった。

細菌を用いた復帰変異原試験、DNA修復試験および培養細胞を用いた染色体異常試験では、いずれにおいても変異原性は陰性であった。

薬理試験では、エトキサゾールが摂取された場合に重篤な急性中毒の発現する可能性は低いが、非常に大量に摂取された場合には可逆的な抑制性の症状が発現する可能性が示唆された。

エトキサゾールは平成10年4月27日に10%フロアブル剤が果樹、野菜、花卉のダニ剤として登録を取得した。本剤は定められた使用方法および注意事項を遵守することにより、安全で有効な農業資材である。

問合せ

八洲化学工業株式会社 研究開発部

〒213 0002 神奈川県川崎市高津区二子6 14 10 (YTTビル5F)