

ニテンピラムの毒性試験の概要

武田薬品工業株式会社アグロカンパニー農薬開発部開発第三グループ
(平成9年11月6日受理)

薬剤の概要

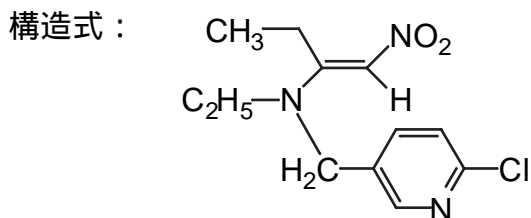
ニテンピラムは武田薬品工業株式会社が創製開発した2,2-ビス(アミノ)ニトロエテンを基本骨格とする新しいタイプのネオニコチノイド系殺虫剤である。本剤はウンカ・ヨコバイ類、アブラムシ類などの半翅目害虫に卓効を示し、優れた速効性、残効性及び浸透移行性を有する点が本剤の特徴であり、作物に対しても安全な化合物である。本剤は1986年に合成研究を開始し、1989年から(社)日本植物防疫協会を通じて全国各地で公的試験を開始した。

本剤はウンカ・ヨコバイ類、アブラムシ類、コナジラミ類及びアザミウマ類等に卓効を示し、水稻、なす、もも、きゅうり、トマト、すいか、りんご、なし、ぶどう、茶等の作物に薬害のないことが確認された。中でもアブラムシ類、コナジラミ類、アザミウマ類に対しては散布処理のみならず、その優れた浸透移行性により、植穴処理、株元処理でも高い効果が認められた。一方、安全性研究の結果からニテンピラムの哺乳動物、水産動物及び鳥類に対する毒性は低く、有用昆虫にも影響の少ない安全な殺虫剤であることが確認された。

本化合物の化学構造及び物理的・化学的性質を以下に示す。

一般名：ニテンピラム (nitenpyram)

化学名：(E)-N-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-ethyl-N'-methyl-2-nitrovinylidenediamine



分子式：C₁₁H₁₅ClN₄O₂

分子量：270.7

外観：微黄色結晶

臭気：なし

比重：1.40 (26)

融点：83~84

蒸気圧：1.1 × 10⁻⁹ Pa (20)

| | | | |
|-------|--------|---------|--------|
| 溶解性：水 | 840g/l | クロロホルム | 700g/l |
| メタノール | 670g/l | アセトニトリル | 430g/l |
| アセトン | 290g/l | 酢酸エチル | 33g/l |
| エタノール | 89g/l | キシレン | 4.5g/l |

(測定温度は水、溶媒とも20)

分配係数：-0.64 (n-オクタノール/水, 25 , log値)

pK_a値：3.1 及び 11.5

表1 ニテンピラムの急性毒性試験結果

| 検体 | 動物種 | 投与経路 | 性別 | LD ₅₀ 値 (mg/kg) | 試験機関 (報告書作成年) |
|------------|-----|------|----------|---------------------------------|---------------------|
| 原体 | ラット | 経口 | 雌雄 | 雄 1680 雌 1575 | 臨床医科学研究所 (1990) |
| | | 経皮吸入 | 雌雄 雌雄 | >2000 >5.8mg/l ^{a)} | Bio/dynamics (1993) |
| | マウス | 経口 | 雌雄 | 雄 867 雌 1281 | 臨床医科学研究所 (1990) |
| 10.0% 水溶剤 | ラット | 経口 | 雌雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 (1993) |
| | | 経皮吸入 | 雌雄 雌雄 | >2000 1.7mg/l ^{a)} | EXXON (1994) |
| | マウス | 経口 | 雌雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 (1993) |
| 1.0% 粒剤 | ラット | 経口 | 雌雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 (1993) |
| | | 経皮吸入 | 雌雄 雌雄 | >2000 | |
| | マウス | 経口 | 雌雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 (1993) |
| 0.25% 粉剤DL | ラット | 経口 | 雌雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 (1994) |
| | | 経皮吸入 | 雌雄 雌雄 | >2000 | |
| | マウス | 経口 | 雌雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 (1994) |

a) 急性吸入毒性 LC₅₀値mg/l (4時間全身暴露) .

急性毒性試験

ニテンピラム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。

中毒症状としては経口投与で，痙攣，よろめき歩行，自発運動の低下等が認められ，全身暴露による吸入毒性試験では呼吸困難，流涎過多及び活動の低下が認められた。

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

ニテンピラム100mgを日本白色種雌ウサギ9匹の右眼に点眼し，左眼を対照眼として点眼1，24，48，72時間後における角膜，虹彩，結膜の異常を観察した。3匹については点眼2分後に生理食塩液で洗眼した。洗眼群及び非洗眼群ともに角膜の混濁，結膜の発赤が認められ，非洗眼群では結膜の浮腫も認められたが，これらの所見は全て72時間後までに消失した。以上より，ニテンピラムはウサギの眼粘膜に対して非常に軽度な一次刺激性を有するが，可逆的なものであると判断された。(臨床医科学研究所，1990年)

2. 皮膚一次刺激性試験

ニテンピラム500mgを0.1 mlの精製水で湿らせ塗布したリント布を日本白色種ウサギ雌6匹の剪毛した背部皮膚に貼付し，4時間被覆固定した．対照群には同量の精製水を適用した．適用部皮膚の刺激性変化（紅斑，痂皮，浮腫）の有無を検体除去1，24，48及び72時間後に観察した結果，いずれの動物においても紅斑・浮腫及び痂皮形成等の変化は認められなかった．

以上よりニテンピラムはウサギの皮膚に対して刺激性はないと判断された．

（臨床医科学研究所，1990年）

皮膚感作性試験

Hartley系モルモット雄1群15匹（陽性物質処置群及びその対照群は雄1群10匹使用）を用い，Buehler法に準じて試験を実施した．

感作：適用前日に刈毛・剃毛したモルモットの左腹側部に25%ニテンピラム水溶液0.5mlを6時間閉塞貼付した．初回感作より7日及び14日後に同様の方法で塗布し，合計3回感作暴露を行った．また陽性物質処置群は2,4-ジニトロクロロベンゼン（DNCB）を白色ワセリンに混合し，1%濃度にて使用した．

誘発：最終感作14日後に25%ニテンピラム水溶液0.5mlを刈毛・剃毛したモルモットの右腹側部に24時間閉塞貼付した．また陽性物質処置群はDNCBを40%エタノール水溶液に溶解し，0.1%濃度にて使用した．

閉塞貼付除去24及び48時間後に，適用部位の紅斑及び浮腫の有無を観察した．

検体除去24及び48時間後においてニテンピラムの感作率は0%であり，皮膚感作性は認められなかった．一方，陽性物質処置群の感作率は100%であり，強度の皮膚感作性が認められた．

以上より，ニテンピラムのモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断された．

（臨床医科学研究所，1990年）

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた3か月亜急性毒性試験

ニテンピラムの0，2500，5000，10,000及び20,000ppmを含有する飼料を1群雌雄各10匹のSD系ラットに3か月間自由摂取させた．

検体投与に関連した影響として，10,000及び20,000ppm投与群の雌雄で有意な体重増加抑制，飼料摂取量（g/kg/day）及び飼料効率の減少が認められた．

以上の結果から本試験の無毒性量は雌雄とも5000ppm（雄：307.74mg/kg/day，雌：382.84mg/kg/day）であると判断された．

（IRDC，1991年）

2. マウスを用いた3か月亜急性毒性試験

ニテンピラムの0，1500，3000，6000及び12,000ppmを含有する飼料を1群雌雄各10匹のICR系マウスに3か月間自由摂取させた．

検体投与に関連した影響として，12,000ppm投与群で有意な体重増加抑制，同群の雌で飼料効率の全般的な減少，3000，6000及び12,000ppm投与群の雌と12,000ppm投与群の雄の

病理組織学的検査において腎のネフローゼが認められた。

以上の結果から本試験の無毒性量は雄で6000ppm (987.43mg/kg/day)，雌で1500ppm (306.92mg/kg/day)と判断された。(IRDC, 1991年)

慢性毒性および発がん性試験

1. ラットを用いた24か月慢性毒性・発がん性試験

ニテンピラムの0, 1000, 3000及び9000ppmを含有する飼料を1群雌雄各80匹のSD系ラットに24か月間自由摂取させた。投与6, 12及び18か月時に1群雌雄各10匹を屠殺し, 24か月時には全生存動物を屠殺した。

検体投与に関連した影響として, 9000ppm投与群の雌雄及び3000ppm投与群の雌で有意な体重増加抑制が認められた。

以上の結果から本試験の無毒性量は雄で3000ppm (129.0mg/kg/day)，雌で1000ppm (53.7mg/kg/day)であり, ニテンピラム投与による発がん性の誘発はないと判断された。(IRDC, 1994年)

2. マウスを用いた18か月発がん性試験

ニテンピラムの0, 300, 1000及び3000ppmを含有する飼料を1群雌雄各50匹のICR系マウスに18か月間自由摂取させた。投与18か月時に全生存動物を屠殺した。

検体投与に関連した影響はいずれの検査項目にも認められなかった。

以上の結果から本試験の無毒性量は3000ppm (雄: 440.3mg/kg/day, 雌: 551.3mg/kg/day)であり, ニテンピラム投与による発がん性の誘発はないと判断された。(IRDC, 1994年)

3. イヌを用いた12か月经口毒性試験

ゼラチンカプセルに封入したニテンピラムの0, 7, 20及び60mg/kg/dayを1日1回, 1群雌雄各4匹のビーグル犬に12か月間連続経口投与した。

検体投与に関連した明白な影響は認められなかった。

以上の結果から本試験の無毒性量は雌雄とも60mg/kg/dayと判断された。

(IRDC, 1994年)

繁殖性に及ぼす影響および催奇形性試験

1. ラットを用いた2世代繁殖試験

ニテンピラムの0, 1000, 6000及び20,000ppmを含有する飼料を1群雌雄各26匹のSD系ラットのF₀及びF₁の2世代にわたって, 自由摂取させ, 繁殖能に及ぼす影響について検討した。検体投与に関連した影響は次の通りであった。

親動物に対する影響として, 6000及び20,000ppm投与群のF₀及びF₁両世代で, 有意な体重増加抑制及び飼料摂取量の低下が認められた。

20,000ppm投与群のF₀及びF₁両世代で対照群に比べ着床数の低下が認められた。

出生児の発育毒性に対する影響として, 20,000ppm投与群のF₁及びF₂出生児において体重が対照群に比べて有意に低下した。

以上の結果から親動物に対する無毒性量は1000ppm (雄: F₀ 71.4mg/kg/day; F₁ 73.0 mg/kg/day, 雌: F₀ 95.6mg/kg/day; 90.3 mg/kg/day)と判断され, 出生児(発育毒性)に対する

無毒性量は雌雄とも6000ppm（雄：F₀ 426.0mg/kg/day；F₁ 440.6 mg/kg/day，雌：F₀ 579.6 mg/kg/day；F₁557.4 mg/kg/day）と判断された。（IRDC，1994年）

2. ラットを用いた催奇形性試験

イオン交換水に懸濁したニテンピラムの0，90，300及び800mg/kg/dayを1群30匹のSD系雌ラットに対し，妊娠6日から15日までの10日間（器官形成期）に毎日1回強制経口投与した。

ラットは妊娠20日に帝王切開し，胎児毒性及び催奇形性の有無を検討した。

母動物に対する影響として，300mg/kg/day以上の投与群で有意な体重増加抑制が認められた。

胎児に対する影響として，800mg/kg/day投与群で体重の低下が認められた。

以上の結果から本試験における無毒性量は母動物については90mg/kg/day，胎児については300mg/kg/dayであり，最高投与量である800mg/kg/dayにおいても胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。（IRDC，1993年）

3. ウサギを用いた催奇形性試験

逆浸透膜処理水に溶解したニテンピラムの0，25，80及び250mg/kg/dayを1群15～20匹のニュージーランドホワイトウサギの雌に対し，妊娠6日から19日までの14日間（器官形成期）に毎日1回強制経口投与した。

ウサギは妊娠29日に帝王切開し，胎児毒性及び催奇形性の有無を検討した。

母動物に対する影響として，250mg/kg/day投与群で有意な体重の増加抑制，飼料摂取量の減少及び排便量の減少が認められた。

胎児に対する影響として，250mg/kg/day投与群で仙椎前椎骨数の増加及び骨盤非対称の発生率に僅かな増加が認められた。

以上の結果から母動物及び胎児についての無毒性量はどちらも80 mg/kg/dayであり，最高投与量である250 mg/kg/dayにおいても胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。（Pharmaco-LSR，1994年）

変異原性試験

1. 復帰変異試験（AmesTest）

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌（*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537株）及びトリプトファン要求性の大腸菌（*Escherichia coli* WP2 *uvrA*株）を用い，ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S-9Mix）の存在下及び非存在下でAmesらの方法により復帰変異性を検討した。ニテンピラムの用量はS-9Mixの存在下及び非存在下ともに0，313，625，1250，2500及び5000 μg/plateとした。なお，溶媒には蒸留水を用いた。S-9Mixの有無にかかわらず，ニテンピラムの最高用量である5000 μg/plateにおいても，またいずれの菌株においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方，陽性対照物質として用いたAF-2，NaN₃，ICR-191（S-9Mix非存在下）及び2AA（S-9Mix存在下）では全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より，ニテンピラムには復帰変異誘発性はないものと判断された。

(化学品検査協会, 1990年)

2. 細菌を用いたDNA修復試験 (Rec-Assay)

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復能保持株 (H-17, rec⁺) と欠損株 (M-45, rec⁻) を用い, ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で孢子法によりDNAの損傷の誘発性を検定した. ニテンピラムの用量はS-9Mixの有無にかかわらず, 0, 625, 1250, 2500, 5000及び10,000 µg/diskとした. なお, 溶媒には蒸留水を用いた.

S-9Mixの有無にかかわらず, またいずれの濃度においても両菌株に対する生育阻止は認めなかった. 一方, 陽性対照物質の2AA (S-9Mix存在下) 及びAF-2 (S-9Mix非存在下) で両菌株間に明らかな生育阻止の差が生じた. また陰性対照のKM (S-9Mix非存在下) では同程度の生育阻止帯が認められた.

以上の結果より, ニテンピラムにはDNA損傷の誘発性はないものと判断された.

(化学品検査協会, 1990年)

3. チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL) を用いたin vitro 染色体異常試験

継代培養したチャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL) を用いて, ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下でニテンピラムによる染色体異常, すなわち染色体または染色分体にみられる構造的異常 (ギャップ, 切断, 交換型異常など) 及び数的異常 (倍数体など) を計測した.

本試験の濃度は細胞増殖抑制試験及び細胞分裂抑制試験の結果に基づいて, 0, 675, 1350及び2700 µg/mlとした.

直接法ではギャップを含む染色体の構造的異常を有する細胞の出現率は24及び48時間処理のいずれの濃度においても5%以下であり, また倍数体の出現率も5%以下であったことから, ニテンピラムによる染色体異常の誘発は認められなかった. 一方, 陽性対照のマイトマイシンC処理では明らかな染色体異常が誘発された.

代謝活性化法ではギャップを含む染色体の構造的異常を有する出現率は5%以下であり, また倍数体の出現率も5%以下であったことから, ニテンピラムの染色体異常の誘発は認められなかった. 一方, 陽性対照物質であるシクロフォスファミド処理により明らかな染色体異常の発現が認められた.

以上の結果から, ニテンピラムには染色体異常誘発性はないものと判断された.

(化学品検査協会, 1990年)

生体機能への影響に関する試験

1. 中枢神経系に対する作用

1) 蒸留水に溶解したニテンピラムの0, 100, 300及び1000mg/kgを1群雄各9匹のICR系マウスに経口投与し, 投与前及び投与15, 30, 60, 120及び180分後の一般症状をIrwinの多次元観察法に準じて観察した.

300及び1000mg/kg投与群でグルーミング回数の減少, やや弛緩状態の低姿勢, 四肢筋の緊張度の低下, 体温下降傾向などが認められた.

2) 蒸留水に溶解したニテンピラムの0, 300, 1000及び3000mg/kgを1群雄各3匹の日本白色種ウサギに経口投与し, 投与前及び投与30, 60, 120, 240及び300分後の一般症状

をイヌの一般症状観察法に準じて観察した。

1000及び3000mg/kg投与群で自発運動の低下などが認められた。

3) 蒸留水に溶解したニテンピラムの0, 100, 300及び1000mg/kgまたは陽性対照物質であるジアゼパム10mg/kg(蒸留水に溶解)を1群雄各11~14匹のICR系マウスに経口投与し, 15, 30, 60, 120及び180分後に30度に傾斜したスリガラス板上にマウスを乗せ, 10秒以内に落下するか否かを観察した。

1000mg/kg投与群で15分後以降に痙攣の発現による落下動物数の増加が認められた。

4) 蒸留水に溶解したニテンピラムの0, 100, 300及び1000mg/kg, または陽性対照物質であるジアゼパム10mg/kg(蒸留水に溶解)を1群雄各12匹のICR系マウスに経口投与した後, 15, 30, 60, 120及び180分後に毎分14回転する直径3cmの回転極上に乗せ, 1分以内に落下する動物数を観察した。

1000mg/kg投与群で15分後以降に痙攣の発現による落下動物数の増加が認められた。

5) 蒸留水に溶解したニテンピラムの0, 30, 100, 300及び1000mg/kgまたは陽性対照物質であるクロルプロマジン10mg/kgを1群雄各10匹のICR系マウスに経口投与し, その60分後にペントバルビタール50mg/kgを腹腔内投与して正面反射の消失から回復までの時間を睡眠時間として測定した。

いずれの投与群においてもペントバルビタールによる睡眠時間に差は認められなかった。

2. 呼吸・循環器系に対する影響

ウレタン1.2g/kgを皮下投与による麻酔後, 背位に固定したウサギに対して, 生理食塩水に溶解したニテンピラム0, 30及び300mg/kgを30分間隔で順次静脈内投与し, 最終投与120分後まで呼吸数, 心電図, 血圧及び心拍数を測定した。

300mg/kg投与群で一過性の血圧下降, 呼吸数の減少後1例の死亡が認められた。

3. 自律神経系に対する作用

モルモットの回腸を摘出し, O_2 (95%) + CO_2 (5%) の混合ガスを通気した液温約32のTyrode液20mlを満たしたマグヌス槽内に懸垂した。 1×10^{-5} , 1×10^{-4} 及び 1×10^{-3} g/mlのニテンピラムまたは対照溶媒(生理食塩水)を低濃度から順次マグヌス槽内に適用し, 各濃度のニテンピラムまたは対照溶媒の適用5分後に 3×10^{-8} ~ 1×10^{-4} Mのアセチルコリン(Ach)またはヒスタミン(His)を累積的に作用させ, 検体の直接作用及びAchまたはHisによって惹起される回腸の収縮に対する影響を検討した。

Achによる回腸の収縮反応に対して, ニテンピラム 1×10^{-3} g/mlの適用でAch (Ach: 1×10^{-7} 及び 3×10^{-7} M) による収縮が抑制され, Hisによる回腸の収縮反応においてはニテンピラム 1×10^{-3} g/mlの適用でHis (3×10^{-7} ~ 1×10^{-5} M) による収縮が抑制された。

4. 消化器系に対する作用

蒸留水に溶解したニテンピラム0, 100, 300及び1000mg/kgまたは陽性対照物質である硫酸アトロピン100mg/kgを1群雄各10匹のICR系マウスに経口投与し, 60分後に10%アラビアゴム液に懸濁させた5%炭素末液を1匹当たり, 0.2ml経口投与した。炭素末投与20分後に動物はクロロホルムにて屠殺し, 胃幽門部から炭素末到達先端までの距離を測定し,

小腸の全長に対する割合を移動率として求めた。

300mg/kg及び1000mg/kg投与群で腸管輸送能がそれぞれ30%及び50%抑制され、有意差が認められた。なお、硫酸アトロピンでも有意な腸管輸送能の抑制が認められた。

5. 骨格筋に対する作用

ウレタン 1 g/kgを皮内投与により、麻酔したラットの左側坐骨神経 - 腓腹筋標本を作製し、切断した坐骨神経末梢側に刺激電極を設置した。電気刺激により誘発された腓腹筋のれん縮に対するニテンピラムの影響を調べるため、生理食塩水に溶解したニテンピラム 0, 100及び1000mg/kgを30分間隔で順次静脈内投与し、最終投与の120分後まで観察した。なお対照群には生理食塩水を投与し、最終投与の120分後に*α*-ツボクラリン75μg/kgを静脈内投与した。1000mg/kg投与群で投与開始直後より、坐骨神経刺激による腓腹筋の収縮が有意に増大した。なお、*α*-ツボクラリン投与では明らかな腓腹筋収縮の抑制が認められた。

6. 血液凝固に対する作用

蒸留水に溶解したニテンピラム 0, 100, 300及び1000mg/kgを1群雄 9 ~ 10匹のWistar系ラットに経口投与し、その60分後に動物の腹大動脈から採血した。直ちに遠心分離した血漿のプロトロンビン時間及びフィブリノーゲン量を測定した。

ニテンピラムの経口投与による血液凝固能に対する影響は何ら認められなかった。

(臨床医科学研究所, 1991年)

要 約

ニテンピラムの安全性を評価するため各種毒性試験を実施した。その結果、原体及び製剤の急性毒性は低く、毒物及び劇物には該当しない。

眼及び皮膚に対する一次刺激性、皮膚に対する感作性では原体において非常に軽度な眼一次刺激性が認められた。

亜急性毒性、慢性毒性及び発がん性試験では、いずれの動物種でも催腫瘍性は認められなかった。

繁殖試験では高用量群で着床数の減少が認められた以外には繁殖能に対する影響は認められなかった。

催奇形性試験では胎児に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

変異原性は復帰変異試験、DNA修復試験及び染色体異常試験でいずれも陰性であった。

薬理試験ではニテンピラムの大量投与により、中枢抑制作用傾向を示し、生体機能の失調や痙攣を引き起こし、骨格筋の収縮を増大させた。

ニテンピラムは平成7年11月28日付で農薬登録された。

問合せ

武田薬品工業株式会社アクロカンパニー農薬開発部開発第三グループ

〒103-0027 東京都中央区日本橋2-12-10