

## 技術情報

# ペフラゾエートの毒性試験の概要

宇部興産株式会社, 北興化学工業株式会社

(平成3年8月20日受理)

### 薬剤の概要

ペフラゾエートは、1984年宇部興産株式会社と北興化学工業株式会社が共同研究により発見したイミダゾール系の稲種殺消毒剤である。

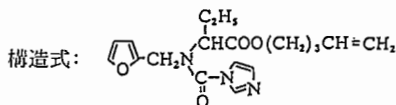
本剤は、稲馬鹿苗病に卓効があり、ベンズイミダゾール系薬剤耐性の稲馬鹿苗病に対しても優れた効果を示す。さらに、稲種殺の主要伝染性病害であるごま葉枯病のほか、いもち病にも有効であり、稲に対する安全性が高い。

各種の安全性評価試験の結果、哺乳動物、水棲動物、鳥類および有用昆虫に対しても安全性の高いことが確認され、1989年に有効成分20%の水和剤（ヘルシード水和剤®）が農薬登録された。

本剤の化学構造式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: ペフラゾエート pefurazoate

化学名: pent-4-enyl *N*-furfuryl-*N*-imidazol-1-yl-carbonyl-DL-homoalaninate (IUPAC)



分子式:  $C_{18}H_{23}N_3O_4$

分子量: 345.4

性状: 黄褐色粘稠液体

比重: 1.152 (20°C)

蒸気圧:  $6.48 \times 10^{-4}$  Pa (23°C)

溶解度 (g/l, 25°C): 水 0.443, *n*-ヘキサン 12.0, シクロヘキサン 36.9, ジメチルスルホキシド >1000, エタノール >1000, アセトン >1000, アセトニトリル >1000, クロロホルム >1000, 酢酸エチル >1000, トルエン >1000

分配係数 (*n*-オクタノール/水):  $\log P_{ow} = 3.00$

以下、本剤の各種毒性試験の結果をとりまとめて報告

する。

### 急性毒性試験

ペフラゾエート原体およびペフラゾエート20%水和剤のラット、マウスに対する種々の投与経路における急性毒性試験結果は表1のとおりである。

### 刺激性試験

#### 1. ウサギを用いた眼一次刺激性試験

原体: 9匹の雄ウサギ(日本白色種)の右眼に、ペフラゾエート原体0.1mlを適用し、3匹については、適用2分後に生理食塩液で洗眼した。左眼は無処置対照とした。適用後1, 24, 48および72時間目に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

その結果、角膜、虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。結膜では、適用1時間後に洗眼群、非洗眼群の全例において軽度の発赤が認められ、また洗眼群の1例にわずかな腫脹が認められたが、24~48時間後にはすべて消失した。

以上の結果から、ペフラゾエート原体はウサギの眼粘膜に対してきわめて軽微な刺激性を有すると判定された。((株)臨床医科学研究所, 1988年)

製剤: 乳鉢で十分に粉砕したペフラゾエート20%水和剤(ヘルシード水和剤)0.1ml(0.021g)を、原体の場合と同様に9匹の雄ウサギ(3匹は洗眼群、6匹は非洗眼群)の眼に適用し、刺激性変化を観察した。

その結果、角膜、虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群ともに認められなかった。結膜の軽度発赤が適用1時間後に洗眼群、非洗眼群の全例に認められたが、24時間までにすべて消失した。

以上の結果から、ペフラゾエート20%水和剤は、ウサギの眼粘膜に対してきわめて軽微な刺激性を有すると判定された。((株)臨床医科学研究所, 1988年)

#### 2. ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

原体: 6匹の日本白色種雄ウサギの剃毛した背部皮

表 1

薬 剤	投与経路	動物種	性	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	試 験 機 関	報告書作成年
原 体	経 口	ラット	雄	981	(株)三菱化成 安全科学研究所	1988 年
			雌	1051		
	経 口	マウス	雄	1299	(株)三菱化成 安全科学研究所	1988 年
			雌	946		
経 皮	ラット	雄	>2000	(株)三菱化成 安全科学研究所	1988 年	
		雌	>2000			
吸 入	ラット	雄	>3450 <sup>a)</sup>	(株)三菱化成 安全科学研究所	1988 年	
		雌	>3450 <sup>a)</sup>			
20%水和剤	経 口	ラット	雄	5257	(株)臨床医科学研究所	1988 年
			雌	6297		
	経 口	マウス	雄	6103	(株)臨床医科学研究所	1988 年
			雌	4324		
	経 皮	ラット	雄	>2000	(株)臨床医科学研究所	1988 年
			雌	>2000		
吸 入	ラット	雄	>2860 <sup>a)</sup>	(株)三菱化成 安全化学研究所	1988 年	
		雌	>2860 <sup>a)</sup>			

<sup>a)</sup> LC<sub>50</sub> (mg/m<sup>3</sup>): 4時間全身暴露

膚にペフラゾエート原体 0.5 ml を適用し、適用 4 時間後に除去した。検体を除去 1, 24, 48 および 72 時間後に塗布部位の刺激性変化（紅斑、痂皮、浮腫）の有無等を観察した。

その結果、まったく異常は認められず、ペフラゾエート原体は、皮膚に対する刺激性はないと判断された。

((株)臨床医科学研究所, 1988 年)

製剤: 原体の場合と同様に、6 匹の日本白色種雄ウサギの背部皮膚に乳鉢で十分に粉碎したペフラゾエート 20% 水和剤 0.5 g を蒸留水で湿らせ、4 時間適用し、塗布部位の刺激性変化を観察した。

その結果、まったく異常は認められず、ペフラゾエート 20% 水和剤は、皮膚に対する刺激性はないと判断された。

((株)臨床医科学研究所, 1988 年)

#### モルモットを用いた皮膚感作性試験

原体: ペフラゾエート原体の皮膚感作性の有無を Hartley 系雄モルモット (1 群 15 匹, 陽性対照群 10 匹) を用い Buehler 法により検討した。

感作は、動物の刈毛した左腹側部にペフラゾエート原体を 0.5 ml, 6 時間閉塞貼付して行なった。一方、陽性対照群には、1% 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) (白色ワセリンに混合) を 0.5 g を同様に適用した。また、陰性対照群にはエタノール 0.5 ml, または白色ワセリン 0.5 g をそれぞれ適用した。これらの感作処置を 7 日ごと合計 3 回行なった。

誘発は、最終感作の 14 日後に動物の刈毛した右腹側部にペフラゾエート原体の 50% エタノール溶液または 0.1% DNCB (40% エタノール溶液) 各 0.5 ml を 24 時間閉塞貼付して行なった。誘発処置 24 および 48 時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等を観察した。

その結果、検体処置群の 24 時間および検体対照群の 24 時間、48 時間後の観察においていずれも 15 例中各 1 例にまばらな軽い紅斑が認められたのみであった。陽性処置群では軽度から強度の紅斑が全例に認められた。

以上の結果から、ペフラゾエート原体の皮膚感作性は陰性であると判断された。

((株)臨床医科学研究所, 1988 年)

製剤: 原体の場合と同様に、ペフラゾエート 20% 水和剤の皮膚感作性の有無を Hartley 系雄モルモット (1 群 15 匹, 陽性対照群 10 匹) を用いて Buehler 法により検討した。

感作は、ペフラゾエート 20% 水和剤の 25% 水懸濁液 0.5 ml で行ない陰性対照群には蒸留水 0.5 ml を適用した。

誘発は、ペフラゾエート 20% 水和剤の 2% 水懸濁液を 0.5 ml で行なった。

その結果、検体処置群および検体対照群のいずれにも 24 時間後に 15 例中 2 例に、検体対照群の 48 時間後の 15 例中 1 例に、まばらな軽い紅斑が認められた。陽性処置群には、軽度から強度の紅斑が全例に認められた。

以上の結果から、ペフラゾエート 20% 水和剤の皮膚

感作性は陰性であると判断された。

((株)臨床医科学研究所, 1988年)

#### ラットを用いた亜急性毒性試験

1群雌雄各12匹のFischer系ラットに、ペフラゾエート原体を50, 350および2500ppmの濃度で混入した飼料を13週間にわたって自由摂取させた。一般症状および死亡の有無を観察し、体重、摂餌量および飲水量を測定した。投与終了時に尿検査を行ない、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査を行ない剖検後、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行なった。

その結果、全期間を通じ一般状態に異常は認められず死亡もなかった。雄の350ppm以上の群に用量依存性の体重増加抑制が認められたが、雌では変化がなかった。摂餌量は雌雄の2500ppm群において検体投与に関連すると考えられる有意な低下が認められた。また飲水量では検体投与群に有意差が散見されたが継続的な一定の傾向は認められなかった。血液学的検査では、雌雄いずれも検体による影響と考えられる変化は認められなかった。血液生化学的検査では、雄において、総コレステロールの増加が全検体投与群で、リン脂質の増加が350ppm以上の群で、総蛋白質およびアルブミンの増加が2500ppm投与群に認められたが、これらの変化は肝臓の適応性変化に付随した生成亢進と判断された。また、雄の350ppm以上の群にアルカリホスファターゼ活性の低下が認められた。一方、雌では、2500ppm投与群にGPT活性の低下およびトリグリセライド濃度の減少が認められた。尿検査におけるpHの上昇が雄で、沈渣でのリン酸アンモニウムマグネシウムの増加が雌に、それぞれ2500ppm投与群に認められた。

臓器重量検査において、雌雄の肝臓重量体重比の増加が350ppm以上の投与群に認められた。その他の臓器について雄の2500ppm投与群に有意差が散見されたが、用量依存性がなく、偶発的变化と考えられた。組織学的検査では検体の投与に起因すると考えられる変化は、2500ppm投与群の雌雄に認められた小葉周辺性の肝細胞のきわめて軽度の肥大であった。その他認められた変化は、通常ラットで観察される変化であり、偶発的病変と考えられた。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雄の50ppm(2.9mg/kg/day)と判断された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

#### 催奇形性試験

##### 1. ラットを用いた催奇形性試験

ペフラゾエート原体を0.5%CMC-Na水溶液に懸濁し、20, 100および450mg/kgの投与用量で5ml/kgの一定液量を1群24匹のSD系妊娠ラットに妊娠6日から15日目(胎仔器官形成期)までの10日間、毎日1回強制経口投与した。

妊娠20日目に帝王切開して妊娠状況を観察するとともに胎仔の外表、内臓および骨格検査を行なった。

その結果、450mg/kg投与で母動物の体重増加抑制および摂餌量の減少がみられ、帝王切開検査において着床後胚死亡率の軽度の増加が認められたが、そのほかには胎仔の奇形発生を含めて有意な異常は認められなかった。また、100mg/kg以下の用量では母動物および胎仔のいずれにも影響は認められなかった。

以上の結果より、最大無作用量は母動物および胎仔ともに100mg/kgであり、母動物に影響のある最高投与量の450mg/kgにおいても胎仔に対して催奇形性はないものと判断された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

##### 2. ウサギを用いた催奇形性試験

ペフラゾエート原体を0.5%CMC-Na水溶液に懸濁し、30, 100および350mg/kgの投与用量で10ml/kgの一定液量を1群16匹の日本在来種白色ウサギに妊娠6日から18日目(胎仔器官形成期)までの13日間、毎日1回強制経口投与した。妊娠28日目に帝王切開して妊娠状況を観察するとともに、胎仔の外表、内臓および骨格検査を行なった。

その結果、350mg/kg群において、母動物の体重増加抑制および摂餌量の減少がみられた。また、帝王切開時の観察では350mg/kg群に母動物の摂餌量減少による栄養障害によるものと思われる胎仔の体重および体長に有意な減少が認められた。そのほかには、胎仔の奇形発生を含め有意な異常は認められなかった。100mg/kg以下の用量では母動物および胎仔のいずれにも影響は認められなかった。

以上の結果より、最大無作用量は母動物および胎仔ともに100mg/kgであり、母動物に影響のある最高投与量の350mg/kgにおいても胎仔に対して催奇形性はないものと判断された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

## 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4株(TA 100, TA 1535, TA 98, TA 1537)およびトリプトファン要求性の大腸菌1株(WP2 *uvrA*)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で Ames の方法により変異原性を検定した。ペフラゾエート原体は DMSO に溶解し 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu\text{g}$ /プレートの濃度を用いた。

その結果、いずれの変異株においても対照と比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果から、ペフラゾエート原体の復帰変異誘発性は陰性であると結論された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

### 2. DNA 修復試験

枯草菌の組換え修復機構保持株(H-17)および欠損株(M-45)を用い、Rec-assay の孢子法によりラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で DNA の損傷の誘発性を検定した。ペフラゾエート原体は DMSO に溶解し、濃度は 78~10,000  $\mu\text{g}/\text{disk}$  とした。

その結果、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの濃度においても両菌株ともに生育阻止帯を誘起しなかった。

以上の結果から、ペフラゾエート原体には DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

### 3. 染色体異常誘発性 *in vitro* 試験

雌性チャイニーズハムスター肺由来細胞株(CHL/IU)を用い、ラット肝臓から調製した薬物代謝酵素系の存在下(直接法)および非存在下(代謝活性化法)で染色体異常誘発性を検討した。ペフラゾエート原体の処理濃度はあらかじめ実施した細胞増殖抑制試験の結果より、直接法では 30, 60 および 120  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、代謝活性化法では 60, 120 および 240  $\mu\text{g}/\text{ml}$  とし、検体処理時間は前者は、24 および 48 時間、後者は 6 時間とした。

その結果、直接法、代謝活性化法いずれの処理においても染色体異常をもつ細胞の出現頻度に有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、ペフラゾエート原体は培養細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験における染色体異常誘発性は陰性であると判断された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

### 4. 染色体異常誘発性 *in vivo* 試験

SD 系ラット(1群雌雄各5匹)を用い、大腿骨髄細胞

における染色体異常誘発性を検討した。ペフラゾエート原体はコーン油に懸濁し、807.0 mg/kg (48 時間以内 10% 致死量)を最高投与量として、403.5 および 80.7 mg/kg の3用量を1回強制経口投与した。投与後 6, 24, 48 時間の3時期において、各投与群の雌雄各5匹を屠殺し、各動物の大腿骨髄細胞より染色体標本作製して染色体異常を計測した。

その結果、10%致死量を含めたいずれの用量においても染色体異常の発現頻度に用量に相関した増加および対照に比較して有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、ペフラゾエート原体は *in vivo* 細胞遺伝学的試験におけるラット骨髄細胞に染色体異常を起こさないと判断された。

(Huntingdon Research Centre Ltd., 1988年)

### 5. 小核試験

ICR 系マウス(1群雄6匹)を用い、大腿骨髄細胞における小核の誘発性を検討した。ペフラゾエート原体はオリブ油に懸濁し、1回投与試験では、171, 342 および 683 mg/kg (半数致死用量 $\times 1/2$ )の3用量を、連続投与試験では、342 mg/kg (半数致死用量 $\times 1/4$ )を24時間ごとに4回経口投与した。標本作製時期は、予備試験の結果から1回投与試験では投与後24時間に、連続投与試験では最終投与後24時間とした。標本は動物あたり1000個の多染性赤血球を観察し、小核を持つ細胞の出現数を調べた。

その結果、いずれの処理においても小核を持つ細胞数の有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、ペフラゾエート原体のマウスにおける小核試験での変異原性は陰性であると結論された。

((株)三菱化成安全科学研究所, 1988年)

## 一般薬理試験

ddy 系マウス, Wister 系ラット, Hartley 系モルモットおよび日本白色ウサギのそれぞれ雄を用い、下記試験を実施した。

①中枢神経系に及ぼす影響(行動観察/マウス, 一般症状, 体温/ウサギ, 麻酔強化作用/マウス)

②呼吸, 循環器系に及ぼす影響(呼吸, 血圧, 心拍数および心電図/ウサギ)

③自律神経系に及ぼす影響(摘出回腸/ウサギ, 各 Agonist に対する作用/モルモット摘出回腸)

④消化器系に及ぼす影響(炭末輸送能作用/マウス小腸, 胃腸粘膜刺激作用/ラット十二指腸, 胃)

⑤血液に及ぼす影響(血液凝固, 溶血性/ウサギ)

⑥骨格筋に及ぼす影響(横隔膜神経筋/ラット)

ペフラゾエート原体の動物への投与用量 (*in vivo* 試験) は、5, 50 および 500 mg/kg で行ない、平滑筋および骨格筋に対する作用 (*in vivo* 試験) では  $10^{-9}$ ,  $10^{-5}$  および  $10^{-1}$  g/ml の濃度で実施した。

その結果、マウスを用いた pentobarbital による睡眠時間に対する延長作用が 50 mg/kg 以上の用量で観察されたが、そのほかにはヘルシード原体の明確な薬理作用は認められなかった。

((株)環境保健生物研究センター, 1988年)

### 要 約

ヘルシード原体および水和剤の安全性評価を行なうために各種毒性試験を実施した。その結果、本剤はラットおよびマウスに対する急性毒性がきわめて低く、ラットの吸入毒性試験では、試験可能な最高濃度 (原体: 3.45 g/m<sup>3</sup>, 水和剤 2.86 g/m<sup>3</sup>) においても死亡例はなかった。

皮膚に対する刺激性および皮膚感作性はなく、眼刺激性はきわめて軽微であった。また、亜急性毒性試験の結果では、雌雄いずれも一般状態に異常はなく、死亡もなかった。最高用量群において、雌雄に摂餌量の低下が、また、雄の 350 ppm 以上の投与群に体重増加抑制が認められた。雄において、肝臓の生成亢進に伴う総コレステロールの増加が 50 ppm 以上の群で、リン脂質の増加

が 350 ppm 以上の群で認められ、350 ppm 以上の群の雌雄で肝臓の重量増加と 2500 ppm 群の雌雄で軽度の肝細胞肥大が観察されたが、これは肝臓の適応性による変化と判断された。血液検査、尿検査、眼科学的検査等、そのほかの検査ではペフラゾエート投与に関連する異常は認められなかった。催奇形性はなく、復帰変異試験、DNA 修復試験および染色体異常誘発性試験はすべて陰性であり、変異原性はまったく認められなかった。

一般薬理試験では、マウスを用いた pentobarbital による睡眠時間に対する延長作用が観察されたが、そのほかには明確な薬理作用は認められなかった。

ペフラゾエートはヘルシード水和剤として 1989 (平成元) 年 9 月 27 日に農薬登録された稲種殺消毒剤であり、稲種初的主要伝染性病害である馬鹿苗病、ごま葉枯病、いもち病に有効である。とくにベンズイミダゾール系薬剤耐性の馬鹿苗病にも優れた効果を発揮する消毒剤として高く評価されている。

### 問合せ

北興化学工業株式会社技術管理部薬品登録課  
〒103 東京都中央区日本橋本石町 4-4-20  
宇部興産株式会社研究開発本部農薬開発部  
〒107 東京都港区赤坂 1-12-32 アーク森ビル