

技術情報

トリクラミドの毒性試験の概要

日本化薬株式会社化学品事業本部農薬事業部技術部

(昭和63年2月20日受理)

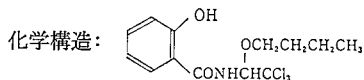
薬剤の概要

トリクラミドは、はくさい、キャベツ、かぶ、なたね、のぎわな等のあぶらな科野菜の根こぶ病に対し、土壤混和処理で優れた防除効果を示す土壤殺菌剤である。本剤は昭和52年に日本化薬(株)において創製され、昭和54年秋作から10%粉剤として日本植物防疫協会の委託試験を行ない、上記あぶらな科野菜の根こぶ病防除剤として、また、アフノミセス属菌に起因する病害に対する防除剤として実用性ありとの評価を得た。トリクラミドの毒性試験は昭和55年にラットを用いた3か月間亜急性毒性試験を実施し、昭和56年から長期毒性試験を開始した。農林水産省の新農薬開発促進事業における対象病害にあぶらな科野菜の根こぶ病がとりあげられたことから、本事業の基金の融資を受け、ラットを用いた慢性毒性・発癌性試験は(財)残留農薬研究所において実施した。また、イヌを用いた慢性毒性試験、ラットを用いた次世代に及ぼす影響試験(催奇形性試験および世代繁殖試験)も同研究所で実施した。その他の各種毒性試験および代謝試験もこれと並行して実施した。長期毒性試験を含むいずれの試験も昭和60年初めには完了し、毒性上問題となる結果は得られていない。以上の結果をもとにトリクラミド粉剤(商品名:ハタクリン®粉剤10)を昭和60年1月に農薬登録申請し、昭和60年9月に登録された。

本剤の化学構造および物理的・化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名: トリクラミド trichlamide (ISO一般名申請中)

化学名: *N*-(1-butoxy-2,2,2-trichloroethyl) salicylamide



分子式: $C_{13}H_{16}Cl_3NO_3$

分子量: 340.65

性状: 白色結晶

比重: 1.43

融点: 73~74°C

溶解度 (g/l, 25°C): アセトン, メタノール, エタノール, クロロホルム, テトラヒドロフラン, 二硫化炭素, ジオキサン, 酢酸エチルおよびメチルエチルケトン >2000, アセトニトリル 1380, ジクロロメタン 1210, ヘキサン 55, ベンゼン 803, キシレン 471, ジエチルエーテル 1200, トルエン 778, 水 6.5 ppm

分配係数: 2.85×10^4 (*n*-オクタノール/水, 25°C)

急性毒性試験

トリクラミド原体およびその製剤のラットとマウスにおける経口、皮下、腹腔内、経皮および吸入の各投与経路による急性毒性試験の結果を表に示した。本剤のラットとマウスに対する急性毒性はきわめて弱く、また、性差も認められなかった。

検体	動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)	
ラット		経口	♂	8320	臨床医科学研究所 (1981)
			♀	7590	
		皮下	♂	>9800	
			♀	>9800	
		腹腔内	♂	1540	
			♀	1140	
経皮	♂	>5000			
	♀	>5000			
原体	マウス	経口	♂	>5000	日本化薬(株) (1983)
			♀	>5000	
		皮下	♂	>5000	
			♀	>5000	
		腹腔内	♂	1593	
			♀	1660	
経皮	♂	>5000			
	♀	>5000			

10% 粉剤	ラット	経口	♂ >7000	臨床医科学研究所 (1981)
			♀ >7000	
	経皮	♂ >10,000		
		♀ >10,000		
吸入	♂ >4.72 mg/kg/m ³	Huntingdon Research Centre (1983)		
	♀ >4.72 mg/kg/m ³			
マウス	経口	♂ >5000	日本化薬(株) (1983)	
				♀ >5000
	経皮	♂ >5000		
		♀ >5000		

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

トリクラミド原体および10%粉剤の眼に対する一次刺激性試験をニュージーランド・ホワイト種雌ウサギ(1群9匹)を用い Draize 法にてそれぞれ評価検討した。右眼に原体または10%粉剤を100 mgそれぞれ投与し、左眼は無処理対照とした。なお、原体投与群では検体投与5分後に3匹、24時間後に残り6匹についてそれぞれ洗眼処理を行なった。10%粉剤投与群では、3匹について検体投与20~30秒後に洗眼処理を行なったが、残り6匹は非洗眼とした。検体投与1日、2日、3日、4日および7日後に角膜、虹彩および結膜について刺激性反応を観察した。

原体の場合、投与5分後洗眼条件では結膜の軽度な充血を認めたが4日後までに回復した。投与24時間後洗眼条件では角膜の軽度の混濁、結膜の軽度の充血と浮腫および眼瞼周辺の排出物を認めた。これらは各個体間で反応に著しい差異を認めたが、いずれの個体も7日後までに回復した。

10%粉剤の場合、洗眼条件では結膜の軽度な充血を認めたが3日後までに回復した。非洗眼条件では角膜の軽度の混濁、虹彩の充血、結膜の浮腫および眼瞼周辺の排出物を認めたが、これら反応は4日後までに回復した。

以上の結果、トリクラミド原体および10%粉剤の眼に対する刺激性は軽度であり、可逆的な変化であると判定した。(日本化薬(株), 1980, 1984年)

2. 皮膚一次刺激性試験

トリクラミド原体および10%粉剤の皮膚に対する一次刺激性試験をニュージーランド・ホワイト種雌ウサギ(1群6匹)を用い Draize 法にてそれぞれ評価検討した。剪毛背部皮膚に2.5 cm×2.5 cmの範囲の塗布部位を1匹当たり4か所作り、非擦過皮膚2か所、擦過皮膚2

か所とした。原体はアセトンに溶解し、10%粉剤は蒸留水に懸濁させ1か所当り0.5 gずつ計2 gを1匹に塗布し、上からガーゼおよび油紙で閉塞被覆した。塗布24時間後に適用部位を微温湯で洗浄し刺激性の有無およびその程度を観察した。さらに塗布72時間後に再度観察した。

原体の場合、塗布72時間後の観察時において非擦過皮膚および擦過皮膚とも軽度な紅斑を認めたほか、とくに異常を認めなかった。

10%粉剤の場合、非擦過皮膚および擦過皮膚とも、紅斑、痂皮および浮腫の形成を認めなかった。

以上の結果、トリクラミド原体および10%粉剤の皮膚に対する刺激性は陰性であると判定した。

(日本化薬(株), 1980, 1984年)

皮膚感作性試験

トリクラミド原体のモルモットにおける皮膚感作性を Maximisation test にて評価検討した。検体濃度5%で皮内注射を行ない、7日後に100%の局所塗布で感作した。14日後に100%の局所塗布で誘発したが、誘発部位の皮膚には紅斑、浮腫、壊死および痂皮形成等はまったく認められなかった。

以上の結果、トリクラミド原体のモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判定した。

(Bio/dynamics, 1984年)

ラット亜急性毒性試験

トリクラミドを0, 250, 1000 および4000 ppm含有する飼料を1群雌雄各20匹のF344系ラットに13週間摂取させた。

その結果、試験全期間を通じて検体投与に関連したと思われる中毒症状は認められなかった。また、対照群を含め全投与群とも死亡例を認めなかった。4000 ppm群雌雄において投与初期より体重増加抑制が認められた。摂餌量は4000 および1000 ppm群雌雄において投与初期に減少傾向が認められたがその後回復した。血液学的検査では4000 ppm群雌雄においてプロトロンビン時間の延長が認められ、血液生化学的検査では4000 ppm群雌においてコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。尿検査としては4000 ppm群雌において尿比重の有意な高値が認められた。肉眼的病理検査では検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。臓器重量の測定では4000 ppm群雌雄および1000 ppm群雌において肝重量の増加が認められた。病理組織学的検査では4000 ppm群雌雄において肝小葉周辺域ないしは中間域に軽

度な小脂肪滴出現が認められた。

以上の結果から、トリクラミドのラットにおける3か月間混餌投与亜急性経口毒性試験での検体投与に関連したと考えられる変化は、4000 ppm 群雌雄における体重増加抑制、肝重量増加および肝小葉周辺域ないしは中間域の軽度な小脂肪滴出現、プロトロンビン時間の延長、コリンエステラーゼ活性の低下、1000 ppm 群雌における肝重量の増加であり、当試験における最大無作用量は250 ppm (雄 18.4 mg/kg/日, 雌 16.1 mg/kg/日) と判定した。(大雄会医科学研究所, 1980年)

慢性毒性試験

1. ラットにおける24か月間慢性毒性・発癌性試験

トリクラミドを0, 10, 100 および 1000 ppm 含有する飼料を1群雌雄各80匹のF344系ラットに24か月間摂取させた(本試験)。なお、同一条件で6か月間の追加試験を1群雄60匹で行なった。

その結果、試験全期間を通じて検体投与に関連したと思われる中毒症状は本試験および追加試験とも認めなかった。本試験各群の死亡率は対照群と比較してとくに差異を認めなかった。また、追加試験では試験期間中死亡例を認めなかった。本試験の1000 ppm 群雌雄において全期間を通じ対照群と比較し10%程度の軽度な体重増加抑制が認められた。100 および 10 ppm 群雌において有意な体重増加抑制が認められたが、追加試験によって再現性のない偶発的な変化であったことが確認された。本試験および追加試験とも摂餌量は1000 ppm 群雌において減少した。血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査では検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。肉眼的病理検査では1000 および 100 ppm 群雌雄において盲腸膨満の発現頻度が有意に増加した。この変化は追加試験においても同様に認められた。臓器重量の測定では1000 および 100 ppm 群雌雄において盲腸膨満に対応したと考えられる盲腸重量、対体重比および対脳重比の有意な増加が認められた。病理組織学的検査では検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。また、盲腸の粘膜上皮および結合組織にも異常を認めなかった。トリクラミド投与に関連した腫瘍の発生は認めなかった。

以上の結果から、トリクラミドのラットにおける24か月間混餌投与慢性毒性・発癌性試験での検体投与に関連したと考えられる変化は、1000 ppm 群雌雄における体重増加抑制、盲腸膨満および盲腸重量の増加、100 ppm 群雌雄における盲腸膨満および盲腸重量の増加であり、当試験における最大無作用量は10 ppm (雄 0.361 mg/kg/

日, 雌 0.341 mg/kg/日) と判定した。

(財)残留農薬研究所, 1987年)

2. イヌにおける24か月間慢性毒性試験

トリクラミドをゼラチンカプセル内に封入し、0, 2, 10 および 50 mg/kg/日の投与量を1群雌雄各6匹のビーグル犬に24か月間毎日経口投与した。

その結果、検体投与群および対照群とも死亡例は認めなかった。50 mg/kg/日群雌雄および10 mg/kg/日群雌において下痢便の発症頻度が有意に増加した。この下痢便にはしばしば投与検体と思われる白色粉末が混在しており、検体が消化管に作用し下痢を発症させたものと解釈されたが、病理組織学的検査では検体投与に関連した消化管の異常は認められなかった。体重変化、摂餌量、飲水量、眼検査、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、肉眼的病理検査および臓器重量測定では検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。また、病理組織学的検査においても検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。

以上の結果から、トリクラミドのビーグル犬における24か月間経口投与慢性毒性試験での検体投与に関連したと考えられる変化は、50 mg/kg/日群雌雄および10 mg/kg/日群雌における下痢便の高頻度発症であり、当試験における最大無作用量は雄 10 mg/kg/日, 雌 2 mg/kg/日と判定した。(財)残留農薬研究所, 1984年)

ラット繁殖試験

トリクラミドを0, 10, 100 および 1000 ppm 含有する飼料を1群雌雄各30匹のWistar系ラットに摂取させ、繁殖に及ぼす影響について継続する3世代(F₀, F₁ および F₂) にわたって試験した。なお、次世代への継続は第2回交配の、第2産仔同胞の一部を用いた。

その結果、各世代の親動物および仔動物とも検体投与に関連したと思われる中毒症状および死亡例は認めなかった。体重変化はF₀ と F₁ の1000 ppm 群雌雄親動物、F₀ の100 ppm 群雌親動物、1000 および 100 ppm 群雌雄仔動物において増加抑制が認められた。摂餌量はF₀ と F₁ の1000 および 100 ppm 群雌親動物および1000 ppm 群雌仔動物において減少が認められた。各世代の繁殖能力として、性周期、交尾率、妊娠率、出産率、妊娠期間、産仔数、性比、生存率および生存仔体重について検査したが、検体投与に関連したと思われる影響はまったく認めなかった。肉眼的病理検査では各世代の1000 および 100 ppm 群雌雄の親動物および仔動物において盲腸膨満の発現頻度が増加した。臓器重量測定および病理組織学的検査では検体投与に関連したと思われる変化を認めな

かった。

以上の結果から、トリクラミドのラットにおける繁殖試験での検体投与に関連したと考えられる変化は1000および100 ppm群における体重増加抑制、摂餌量の減少および盲腸膨満であった。一方、繁殖能力に関する各検査項目には検体投与に関連した変化はなく、当試験における最大無作用量は10 ppm(雄 0.5~2.0 mg/kg/日, 雌 0.5~2.1 mg/kg/日)と判定した。また、繁殖に及ぼす影響については1000 ppm(雄 45.9~196.7 mg/kg/日, 雌 55.8~189.7 mg/kg/日)が無作用量であると判定した。

(財)残留農薬研究所, 1984年)

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性試験

トリクラミドを5%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、投与量0, 10, 30および100 mg/kgを1群23~24匹のWistar系ラットの妊娠6日から妊娠15日までの器官形成期10日間に毎日1回経口投与し、母体および胎仔に及ぼす影響について検査した。

その結果、母親動物に対する影響としては、妊娠13日から妊娠15日にかけて100 mg/kg群において24匹中7匹に膈からの少量の出血が認められた。100 mg/kg群母親動物の体重変化では、妊娠12日から妊娠15日までの間、対照群に比較し有意に低下した。また、体重増加量では、100 mg/kg群で妊娠8日から妊娠20日まで、30 mg/kg群では妊娠12日から妊娠15日までの間それぞれ有意に減少した。摂餌量では検体投与期間中100および30 mg/kg群において有意に減少した。帝王切開成績では100および30 mg/kg群において胎盤重量が有意に減少した。胎仔に対する影響としては生存胎仔数、胎仔死亡率、胎仔重量および奇形学的検査について検査したが、検体投与に関連したと思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、トリクラミドのラットにおける催奇形性試験での検体投与に関連したと考えられる変化は、100および30 mg/kg群母親動物における体重増加の減少、摂餌量の減少および胎盤重量の減少、100 mg/kg群母親動物での体重減少および膈からの出血であった。一方、胎仔に対する影響としては母親動物に対して明らかな影響の認められた100 mg/kgにおいても何ら影響は認められず、奇形および変異の誘発も見られなかった。トリクラミドはラット胎仔に対する胎仔毒性および催奇形性は陰性であると判定した。

(財)残留農薬研究所, 1983年)

2. ウサギにおける催奇形性試験

トリクラミドを5%アラビアゴム水溶液に懸濁させ、投与量0, 20, 66, 200 mg/kgを1群15~16匹のニュージランド・ホワイト種ウサギの妊娠6日から妊娠18日までの13日間、毎日1回経口投与し、母体および胎仔に及ぼす影響について検査した。

その結果、母親動物に対する影響としては、検体投与後半ないし終了後に200および66 mg/kg群においておのおの2匹に貧血が認められ、その後流産する動物がいた。200 mg/kg群母親動物の体重は妊娠15日から妊娠18日までの間、対照群に比較して有意に低下したが、投与終了後に回復し、差はなくなった。摂餌量では検体投与期間中200および66 mg/kg群において有意に減少した。帝王切開成績では検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。胎仔に対する影響としては、生存胎仔数、胎仔死亡率、胎仔体重、性別および奇形学的検査について検査したが、検体投与に関連したと思われる変化を認めなかった。

以上の結果から、トリクラミドのウサギにおける催奇形性試験での検体投与に関連したと考えられる変化は、200および66 mg/kg群母親動物における摂餌量の低下とそれに伴う200 mg/kg群での体重低下、貧血および流産であった。一方、胎仔に対する影響としては母親動物に対して明らかな影響の認められた200 mg/kg群においても何ら影響は認められず、奇形および変異の誘発も見られなかった。トリクラミドはウサギ胎仔に対する胎仔毒性および催奇形性は陰性であると判定した。

(財)残留農薬研究所, 1985年)

変異原性試験

1. Rec-assay

*Bacillus subtilis*の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、rec-assay法でトリクラミドを2, 5, 10, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000, 5000, 10,000および20,000 μg/ディスクの濃度で処理した時のDNA損傷誘発性を検討した。

その結果、最高濃度である20,000 μg/ディスクにおいても両株生育阻止帯を誘発しなかったことから、トリクラミドのDNA損傷誘発性は陰性と判定した。

(財)残留農薬研究所, 1981年)

2. 復帰変異性

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌5株(TA 100, TA 1535, TA 98, TA 1537, TA 1538)およびトリプトファン要求性大腸菌1株(WP2 hcr)を用い、ラット肝より調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および

非存在下で Ames らの方法により、サルモネラ菌の場合は 0, 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, および 500 μg /プレートの濃度で、大腸菌の場合は 0, 5, 10, 50, 100, 500, 1000 および 5000 μg /プレートの濃度で処理したときの遺伝子突然変異性を検討した。

その結果、S-9 Mix の有無にかかわらず最高濃度である 500 あるいは 5000 μg /プレートにおいても、いずれの株においても対照群に比べ復帰変異コロニー数の増加を認めなかったことから、トリクラミドの復帰変異誘発性は陰性と判定した。 ((財)残留農薬研究所, 1981年)

要 約

前述のような各種毒性試験を実施しトリクラミドの安全性を評価した。

本剤の急性毒性は弱く、普通物に相当する。眼および皮膚に対する一次刺激性はきわめて軽度もしくは陰性で

あった。また、皮膚感作性も陰性であった。亜急性および慢性毒性試験においては、ラットでは高薬量投与群で体重増加抑制、盲腸膨満および盲腸重量の増加、イヌでは下痢便の高頻度発症等が認められたが、特定の臓器に病理組織学的変化は認められず、また、発癌性も認めなかった。繁殖性に及ぼす影響、催奇形性および変異原性も認めなかった。

トリクラミド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性を確保できる農薬であり、有用な農業資材の一つとして使用されている。

問合せ

日本化薬株式会社化学品事業本部農薬事業部技術部
〒100 東京都千代田区丸の内1-2-1
東京海上ビル新館 12階