

## 技術情報

## トリネキサパックエチルの毒性試験の概要

ノバルティス アグロ株式会社 開発部

(平成9年8月20日受理)

## 薬剤の概要

トリネキサパックエチルはスイス国チバガイギー社および日本チバガイギー(株)により発見・開発された新規のシクロヘキサジオン系の植物生長調節剤である。本剤は、主に茎葉より吸収された後、速やかに成長点に移行し、ジベレリン生合成を  $GA_{20}$  から  $GA_1$  への変換過程で阻害し、その結果として、葉と節間の伸長を阻害する。

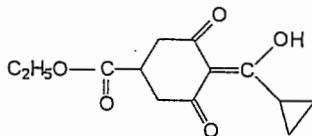
本剤の芝地(日本芝)における刈り込み労力軽減剤としての適用性試験は、1993年より(財)日本植物調節剤研究協会を通じて開始された。1994年にはその有用性が確認され同協会から実用化可能の判定を受けた。本剤の茎葉処理は速効的で、土壌条件の影響を受けにくいため均一な効果が期待できる。また、低薬量で必要十分な効果の持続期間を持つこと、吸収・移行が敏速で優れた耐雨性を持つこと、少ない散布水量でも均一な効果が得られること等の優れた特徴を具備し、芝地における刈り込み労力軽減剤として高い実用性があることが確認されている。更に本剤は土壌中・河川水中で極めて速やかに消失することが確認されており、土壌・河川水汚染の可能性が極めて小さいことも特徴の一つである。

本剤の化学構造および物理化学的性質は以下に示す通りである。

一般名：トリネキサパックエチル trinexapac-ethyl (ISO申請中)

化学名：4-(cyclopropyl- $\alpha$ -hydroxy-methylene)-3,5-dioxo-cyclohexanecarboxylic acid ethyl ester

化学構造：



分子量：252.3

外 観：白色粉末

比 重：1.215 g/cm<sup>3</sup> (20°C)

融 点：36°C

溶解度：水 10.2 g/l (25°C, pH 5.5)

ヘキササン 5 g/l

エタノール, アセトン, トルエン, *n*-オクタノールに易溶

分配係数：log  $P_{ow}$  = 1.60 (pH 5.3)

## 急性毒性試験

トリネキサパックエチル原体およびその製剤のラット、マウスにおける各投与経路による急性毒性試験の結果を表1に示した。

## 刺激性および皮膚感作性試験

## 1. 眼一次刺激性試験(原体)

トリネキサパックエチル原体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ウサギ3匹を用いて実施した。左眼を処理眼、右眼を対照眼として検体0.1 mlを点眼した。点眼1, 24, 48 および72時間後にOECDの採点方法に従い、角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、刺激性および腐食性をEEC通達No. 83/467/1983に従い分類した。

その結果、角膜および虹彩の刺激性変化は認められなかった。結膜の刺激性変化は、軽度の発赤が検体投与後1時間で認められたが、24時間後には消失した。したがって、本剤は非刺激性物質と判断された。

(チバガイギー社, 1987年)

## 2. 眼一次刺激性試験(製剤)

トリネキサパックエチル25%水和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ウサギ9匹を用いて実施した。右眼を処理眼、左眼を対照眼として検体0.1 mlを点眼し、非洗眼群(6匹)と洗眼群(3匹)について評価した。点眼1, 24, 48, 72時間, 7日, 14日および21日後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize法により分類した。

その結果、非洗眼群では角膜、虹彩および結膜に刺激性が認められた。洗眼群では7日目までに刺激性は消失した。また、希釈液では刺激性は認められなかった。

(セーフファーム ラボラトリーズ社, 1994年)

表1 急性毒性試験結果

検体	動物種	投与経路	性別	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	試験機関 (報告年)
原体	ラット	経口	雄	>5000	残留農薬研究所 (1994年)
			雌	>5000	
		経皮	雄	>4000	チバガイギー社 (1987年)
	マウス	吸入	雄	>5300 mg/m <sup>3</sup>	チバガイギー社 (1988年)
			雌	>5300 mg/m <sup>3</sup>	
		経口	雄	5409	残留農薬研究所 (1994年)
雌	7411				
25% 水和剤	ラット	経口	雄	>5000	セーフファームラボラトリーズ社 (1994年)
			雌	>5000	
	マウス	経皮	雄	>2000	セーフファームラボラトリーズ社 (1994年)
			雌	>2000	
		経口	雄	>5000	セーフファームラボラトリーズ社 (1994年)
			雌	>5000	

### 3. 皮膚一次刺激性試験 (原体)

トリネキサパックエチル原体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ウサギ3匹を用いて実施した。検体0.5 mlをガーゼパッチに塗布し、刈毛した皮膚に貼付し、4時間後に除去した。ガーゼパッチ除去1, 24, 48および72時間後にOECDの採点方法に従い、皮膚の紅斑、痂皮および浮腫を観察し、EEC通達No. 83/467/1983に従い刺激性/腐食性を分類した。

その結果、ガーゼパッチ除去1時間後に軽度な紅斑が認められたが、24時間以内に消滅した。したがって、本剤は非刺激性物質と判断された。

(チバガイギー社, 1987年)

### 4. 皮膚一次刺激性試験 (製剤)

トリネキサパックエチル25%水和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ウサギ6匹を用いて実施した。検体0.5 gをガーゼパッチに塗布し、刈毛した皮膚に貼付し、4時間後に除去した。ガーゼパッチ除去1, 24, 48および72時間後に皮膚の紅斑、痂皮および浮腫を観察し、Draize法により刺激性/腐食性を分類した。

その結果、ガーゼパッチ除去1時間後に軽度な紅斑が認められたが、24時間以内に消滅した。したがって、本剤は非刺激性物質と判断された。

(セーフファーム ラボラトリーズ社, 1994年)

### 5. 皮膚感作性試験 (原体)

トリネキサパックエチル原体の皮膚に対する感作性試験をPirbrightホワイト種モルモット20匹を用いて実施した。Optimization法に従い、0.1%の検体0.1 mlを2日おきに10回皮内注射して感作し、感作終了後14日後にさらに1回皮内注射して誘発した。また、皮内誘発の10日後に3%の検体を24時間閉塞貼付し、経皮誘発した。感作第1週における各皮内注射24時間後、皮内誘発の24時間後および経皮誘発の24時間と48時間後に紅斑および浮腫を観察

し、Draize法により分類した。

その結果、検体感作群および非感作群ともにいずれの観察時にも皮膚反応は認められなかった。したがって、本剤は皮膚感作性はないものと判断された。

(チバガイギー社, 1988年)

### 6. 皮膚感作性試験 (製剤)

トリネキサパックエチル25%水和剤の皮膚に対する感作性試験をDunkin-Hartley系雌モルモット20匹を用いて実施した。Buehler法に従い、蒸留水に懸濁した検体0.5 mlをリント布に塗布し、剪毛した動物の左側腹部に6時間閉塞貼付した。同様の操作を7日後と14日後の計3回実施し感作した。最終感作の14日後に、検体0.5 mlをリント布に塗布し、剪毛した動物の右側腹部に6時間閉塞貼付して誘発した。誘発の24時間および48時間後に皮膚反応の評価を行った。

その結果、検体感作群および非感作群ともにいずれの観察時にも皮膚反応は認められなかった。したがって、本剤は皮膚感作性はないものと判断された。

(セーフファームラボラトリーズ社, 1994年)

## 亜急性毒性試験

### 1. ラットにおける3カ月亜急性毒性試験

Sprague-Dawley系ラットにトリネキサパックエチル原体を0, 50, 500, 5000および20,000 ppm含有した飼料を3カ月間摂取させ、死亡、一般症状、体重および摂餌量を測定し、血液検査、尿検査、臓器重量、肉眼適病理検査および病理組織学的検査を実施した。

その結果、5000 ppm以上の投与群の雄で尿細管の諸変化の頻度と肝の体重比の増加が、また20,000 ppm投与群の雌雄で体重増加の抑制、飼料摂取量の減少、尿pHの軽度な低下、腎の体重比の増加が認められた。

以上より、本試験における無影響量は雄500 ppm (34

mg/kg/day), 雌 5000 ppm (395 mg/kg/day) と判断された。

(チバガイギー社, 1989年)

### 2. マウスにおける3カ月亜急性毒性試験

CD-1系マウスにトリネキサパックエチル原体を0, 10, 100, 1000 および 10,000 ppm 含有した飼料を3カ月間摂取させ、死亡、一般症状、体重および摂餌量を測定し、血液検査、尿検査、臓器重量、肉眼的病理検査および病理組織学的検査を実施した。

その結果、100 ppm 群の雌で、ハーダー氏腺の亜急性リンパ球性炎症に対照群と比較して増加したが、用量相関性が認められないことより、偶発的な変化と考えられた。その他に認められた変化は、このマウスで通常認められる所見であり、いずれも自然偶発的な変化で、投与に関連した変化は認められなかった。

以上より、本試験における無影響量は雄雌とも 10,000 ppm (雄: 1552 mg/kg/day, 雌: 1970 mg/kg/day) と判断された。

(チバガイギー社, 1989年)

### 3. イヌにおける3カ月亜急性毒性試験

ビーグル犬にトリネキサパックエチル原体を0, 50, 1000, 15,000 および 30,000 ppm 含有した飼料を3カ月間摂取させ、死亡、一般症状、体重および摂餌量を測定し、血液検査、尿検査、臓器重量、肉眼的病理検査および病理組織学的検査を実施した。

その結果、30,000 ppm 群の雄で排便の減少、瘦削、体重の減少、グルコースの低下、雌で体重増加率の減少が、雌雄で臓器重量の変化および胸腺のびまん性萎縮が認められた。

以上より、本試験における無影響量は雄雌とも 15,000 ppm (雄: 515.9 mg/kg/day, 雌: 582.4 mg/kg/day) と判断された。

(チバガイギー社, 1989年)

## 催奇形性試験

### 1. ラットにおける催奇形性試験

Tif: RAIf系ラットの妊娠6~15日目までの器官形成期にトリネキサパックエチル原体を0, 20, 200 および 1000 mg/kgの用量で毎日1回強制経口投与し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果、親動物では最高投与量の1000 mg/kgでもいずれの検査項目にも影響はなく、検体投与による影響は認められなかった。仔動物でも各群ともいずれの検査項目にも影響は認められなかった。骨格検査で、骨格の未骨化または化骨不全の発現頻度に統計学的有意差が散見されたが、いずれも用量に依存した変化がみられず、対照群における発現頻度の変動による偶発的な変化であった。

以上より、最高投与量の1000 mg/kg/dayにおいても胎仔に対して催奇形性は認められず、本試験の親動物および胎仔における無影響量は1000 mg/kg/dayと判断された。

(チバガイギー社, 1988年)

### 2. ウサギにおける催奇形性試験

ニュージーランド白色種ウサギの妊娠7~19日目までの器官形成期にトリネキサパックエチル原体を0, 10, 60 および 360 mg/kgの用量で毎日1回強制経口投与し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果、親動物では各群とも一般状態に変化は認められなかったが、360 mg/kg群で2例の死亡が認められた。また、360 mg/kg群では検体投与を開始した2日目の妊娠9日に体重が減少し、その後も妊娠15日まで体重増加量の抑制が認められた。繁殖に関する指標は各投与群とも対照群と同等であった。仔動物では各群ともいずれの検査項目にも影響はなく、検体投与による影響は認められなかった。

以上より、最高投与量の360 mg/kg/dayにおいても胎仔に対して催奇形性は認められず、本試験の親動物における無影響量は60 mg/kg/day、胎仔における無影響量は360 mg/kg/dayと判断された。

(ハンチントンリサーチセンター社, 1990年)

## 変異原性試験

### 1. 復帰変異性試験—1

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (TA100, TA1535, TA98, TA1537) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP2 uvrA) を用いて、ラット肝より調整した代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリネキサパックエチル原体を313, 635, 1250, 2500 および 5000  $\mu$ g/プレート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、代謝活性化系の有無にかかわらず、最高濃度でも、いずれの検定菌株につ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、陽性対照のAF-2,  $\text{NaN}_3$ , 9-AA および 2-AA では、それぞれの検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を認めた。

以上より、本剤には復帰変異誘発性はないものと判断された。

(残留農薬研究所, 1994年)

### 2. 復帰変異性試験—2

チャイニーズハムスターの継代培養 V79 細胞を用い、代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリネキサパックエチル原体を70, 140, 280, 560, 840, 1120 および 1400  $\mu$ g/mlの用量での6-チオグアニン (6-TG) 耐性株への突然変異誘発性を検討した。

その結果、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの濃度でも対照群と比較して突然変異株の増加は認められなかった。一方、陽性対照のエチルメタンスルホネート (代謝活性化系非存在下) および N-ニトロソ-ジメチルアミン (代謝活性化系存在下) では、突然変異株の増加を認めた。

以上より、本剤には復帰変異誘発性はないものと判断さ

れた。(チバガイギー社, 1988年)

### 3. 復帰変異性試験—3

マウスの継代培養 L5178 TK<sup>+</sup>リンホーマ細胞を用い、代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリネキサバックエチル原体を 7.54, 30.16, 120.62, 482.5 および 1930  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の用量での 5-トリフルオロチミジン (5-TFT) 耐性株への突然変異誘発性を検討した。

その結果、代謝活性化系の有無にかかわらず、いずれの濃度でも対照群と比較して突然変異株の増加は認められなかった。一方、陽性対照のエチルメタンスルホネート (代謝活性化系非存在下) および *N*-ニトロソ-ジメチルアミン (代謝活性化系存在下) では、突然変異株の増加を認めた。

以上より、本剤には復帰変異誘発性はないものと判断された。(チバガイギー社, 1993年)

### 4. 染色体異常試験

単離したヒトのリンパ球細胞を用い、代謝活性化系 (S9 mix) の存在下および非存在下で、トリネキサバックエチル原体 62.5, 125, 250, 500 および 1000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の濃度での 100 個の分裂中期像について、染色体の異常を数的異常では倍数体、構造異常では特定型として切断、交換、断片および微小断片、非特定型として二重断片、ギャップ、成熟前染色体凝縮に分類して計測した。

その結果、染色体異常の発現頻度において対照群との間に差異は認められなかった。一方、陽性対照のシクロホスファミドおよびマイトマイシン-C では有意な染色体異常の増加が認められた。

以上より、本剤には染色体異常誘発性はないものと判断された。(チバガイギー社, 1989年)

### 5. 小核試験

雌雄のマウスにトリネキサバックエチル原体 700, 1500 および 3000  $\text{mg}/\text{kg}$  の用量で経口投与した。16時間、24時間および48時間後に屠殺し、大腿骨より骨髓を採取した。骨髓塗抹標本の多染性赤血球について小核の発現頻度を検討した。

その結果、小核を有する多染性赤血球数は対照群との間に差異は認められなかった。一方、陽性対照のシクロホスファミドでは小核を有する多染性赤血球数の増加が認められた。

以上より、本剤には突然変異誘発性はないものと判断された。(チバガイギー社, 1989年)

### 6. DNA 修復試験—1

ヒトの線維芽細胞を用い、オートラジオグラフィ法により行った。トリネキサバックエチル原体 37.04 から 4000  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の範囲で6用量を処理し、<sup>3</sup>H-チミジンを加え5時間培養した後、核におけるDNA損傷の修復時における<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みを平均銀粒子数で評価した。

その結果、核当たりの銀粒子数の平均値は対照群との間

に差異は認められなかった。一方、陽性対照の4-ニトロキノリン-*N*-オキシドでは平均銀粒子数の顕著な増加が認められた。

以上より、本剤にはDNA損傷の誘発性はないものと判断された。(チバガイギー社, 1988年)

### 7. DNA 修復試験—2

ラットから分離した肝細胞を用い、オートラジオグラフィ法により行った。トリネキサバックエチル原体 0.8 から 400  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の範囲で6用量、および4から500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  の範囲で8用量を処理し、<sup>3</sup>H-チミジンを加え16時間から18時間培養した後、核におけるDNA損傷の修復時における<sup>3</sup>H-チミジンの取り込みを平均銀粒子数で評価した。

その結果、核当たりの銀粒子数の平均値は対照群との間に差異は認められなかった。一方、陽性対照の4-アミノピフェニルでは平均銀粒子数の顕著な増加が認められた。

以上より、本剤にはDNA損傷の誘発性はないものと判断された。(チバガイギー社, 1988年)

## 生体機能への影響に関する試験

### 一般薬理試験

#### 1) 中枢神経系

一般状態：雄マウスにトリネキサバックエチル原体を0, 500, 1500 および 5000  $\text{mg}/\text{kg}$  の用量で経口投与して検討した。1500  $\text{mg}/\text{kg}$  以下では特に変化は認められなかった。5000  $\text{mg}/\text{kg}$  ではグルーミング、自発運動能の低下、散瞳および眼瞼裂の縮小が認められたが、投与後4時間にはほぼ消失した。

睡眠延長：雄マウスにトリネキサバックエチル原体を0, 500, 1500 および 5000  $\text{mg}/\text{kg}$  の用量で経口投与し、その1時間後にヘキソバルビタールを腹腔内投与し、正向反射消失から回復までの時間を測定した。いずれの用量においても影響は認められなかった。

痙攣誘発：雄マウスにトリネキサバックエチル原体を0, 500, 1500 および 5000  $\text{mg}/\text{kg}$  の用量で経口投与し、電気刺激を与えて検討した。いずれの用量においても痙攣誘発性は認められなかった。

正常体温：雄ラットにトリネキサバックエチル原体を0, 500, 1500 および 5000  $\text{mg}/\text{kg}$  の用量で経口投与して検討した。いずれの用量においても影響は認められなかった。

#### 2) 呼吸・循環系

雄ウサギにトリネキサバックエチル原体を0, 3, 10 および 30  $\text{mg}/\text{kg}$  の用量で生理食塩水に溶解して静脈内投与し、呼吸流速、呼吸数、血圧、心拍数および心電図を測定した。30  $\text{mg}/\text{kg}$  で高浸透圧による血圧上昇が認められた。それ以外では特に変化は認められなかった。

#### 3) 自律神経系

雄モルモットの回腸をトリネキサバックエチル原体濃度

$1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$  g/ml 液に浸し、収縮反応を検討した。最高濃度の  $1 \times 10^{-4}$  g/ml においても影響は認められなかった。

#### 4) 消化器系

雄マウスにトリネキサバックエチル原体を 0, 500, 1500 および 5000 mg/kg の用量で経口投与し、腸管輸送能を検討した。いずれの用量においても影響は認められなかった。

#### 5) 骨格筋

雄ラットの横隔膜神経筋をトリネキサバックエチル原体濃度  $1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$  g/ml 液に浸し、収縮反応を検討した。最高濃度の  $1 \times 10^{-4}$  g/ml においても影響は認められなかった。

#### 6) 血液

血液凝固：雄ラットにトリネキサバックエチル原体を 0, 500, 1500 および 5000 mg/kg の用量で経口投与して血液凝固能を検討した。いずれの用量においても影響は認められなかった。

溶血作用：雄ラットにトリネキサバックエチル原体を 0, 500, 1500 および 5000 mg/kg の用量で経口投与し、血漿の

吸光度を測定した。いずれの用量においても影響は認められなかった。(三菱化学安全科学研究所, 1994 年)

### 要 約

トリネキサバックエチルの安全性評価のため各種毒性試験を行った。

その結果、急性毒性は低く、顕著な薬理作用も認められなかった。25% 水和剤の眼に対する刺激性は洗眼効果が認められ、また皮膚刺激性および皮膚感作性は認められなかった。一方、亜急性毒性試験において高用量群で体重増加抑制や臓器重量の増加等の変化が認められたが、特定の病変は認められなかった。また、変異原性および催奇形性も認められなかった。

### 問合せ

ノバルティス アグロ株式会社 開発部

〒105 東京都港区浜松町 2-4-1 世界貿易センタービル  
34 階