

イソキサベンの毒性試験の概要

ダウ・ケミカル日本株式会社
ダウ・エランコ事業部門

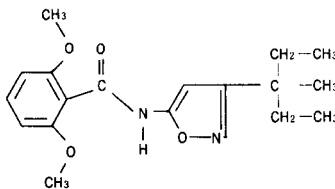
薬剤の概要

イソキサベンは、イソキサゾール環とアミド構造をもつ化合物である。本剤は、米国イーライリリー社で開発され、平成元年に米国農薬登録を取得した。わが国においては、昭和59年より開発を公的に開始し、一年生広葉雑草に効果を示すことを確認した。

本剤の化学構造と物理化学的性質は以下に示す通りである。

化学名：N- [3- (1-エチル-1-メチルプロピル) イソオキサゾール-5-イル] -2, 6-ジメトキシベンズアミド

化学構造：



分子量：332.4

性状：白色ないし類白色結晶性固体

融点：176~179℃

溶解度：(25℃)

水	0.001 g/ℓ
キシレン	4
アセトン	50
メタノール	50

表1：イソキサベンの急性毒性試験成績

検体	動物種	投与経路	供試数	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関	報告年
原体	ラット	経口	♂・♀5	>5000	リリー研究所	1987
	マウス	経口	♂・♀5	>5000	//	
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000	//	
	ラット	吸入	♂・♀10	>2.93mg/ℓ	//	
製剤	ラット	経口	♂・♀5	>5000	//	1989
	マウス	経口	♂・♀5	>5000	//	
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000	化合物安全性研究所	
	ラット	吸入	♂・♀10	>4.93mg/ℓ	リリー研究所	

ここでは、本剤の登録取得のために実施された安全性評価のための各種毒性試験成績について、とりまとめて報告する。

急性毒性試験（経口、経皮および吸入）

種々の投与経路による急性毒性試験を行ない、表1に示す結果を得た。

刺激性試験

イソキサベンの製剤の眼および皮膚における一次刺激性を確かめるため、ウサギを用いて実施した。

1. 眼刺激性

一方を対照眼、他方を処理眼として、イソキサベンの50%製剤を点眼した。角膜、虹彩および結膜について21日間観察し、刺激性の評価を行った。全動物に各膜及び結膜の刺激性変化が、6例中5例で虹彩の刺激性変化がみられた。全症状は処理後5日目までに回復した。(化合物安全性研究所 1989年)

また、50%製剤の2500倍希釈液を同様に点眼し、刺激性変化を観察した。いずれの動物にも刺激性変化は認められなかった。(生活化学研究所 1990年)

2. 皮膚刺激性

刈毛したウサギ背部皮膚(1平方インチ)にイソキサベンの50%製剤を0.5g、4時間塗布し、皮膚の刺激性変化を調べた。6例中全例に紅斑、4例に痂皮形成、1例に軽度浮腫がみられた。(化合物安全性研究所 1989年)

以上の結果より、イソキサベンは、眼刺激性はあるが、使用時最高濃度である2500倍希釈液では刺激性はないものと判断される。また、弱い皮膚刺激性があると判断される。

皮膚感作性試験

ハートレー系モルモットを用い、Buehler法に準じて、イソキサベン50%製剤50mgを、週3回、2週間にわたって適用した。感作終了後、10日間休養し、同動物で誘発を行った。誘発後24、48及び72時間に適用部位の反応を観察した。陽性対照にはDNCBを用いた。その結果、いづれの時期にも変化はみられなかった。一方、陽性対照群では、明白な変化が表われた。

以上の結果より、イソキサベンの感作性は陰性であると判断された。

亜急性毒性試験

1. ラットにおける3ヵ月亜急性毒性試験

一群雌雄各25匹のFischer系ラットにイソキサベンを0、500、1400、4200及び12500ppm含有させた飼料を3ヵ月間摂食させ、その内各群10匹にその後対照飼料を1ヵ月間与えた。

その結果、試験期間中死亡例はなく、投与に関連した臨床症状も認められなかった。4200ppm以上の投与群雄で低体重及び体重増加抑制がみられた。食餌効率率は12500ppm群雌雄で減少が認められた。血液学的及び血液生化学的検査項目で統計学的有意差が散見されたが毒性学的意義はないものと考えられた。臓器重量では、4200ppm群以上の雄及び全投与群の雌で肝重量及び相対重量の増加が、また、12500ppm群雄に腎相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、12500ppm群雌雄で慢性肝細胞肥大が認められた。

以上の結果より、本試験におけるイソキサベンの最大無作用量は雄で1400ppm(93.7mg/kg/日)、雌に関しては500ppm(36.1mg/kg/日)以下であると判断される。しかし、500ppm群で唯一みられた肝重量の増加は、その他の検査で対応する所見が認められなかったことからその毒性学意義は小さいと考えられた。また、上記所見のうち、12500ppm群雄の肝重量の増加を除いて、投与中止後1ヵ月には回復しており、可逆的と考えられる。

(りりー研究所 1987年)

2. マウスにおける3ヵ月亜急性毒性試験

一群雌雄各25匹のB6C3F1マウスにイソキサベンを0、10、100、1400及び12500ppm含有させた飼料を3ヵ月間摂食させ、その内各群10匹にその後対照飼料を1ヵ月間与えた。

その結果、試験期間中死亡例はなく、投与に関連した臨床症状もみられず、体重増加抑制も認められなかった。また、血液学的及び血液生化学的検査項目で統計学的有意差が散見されたが、検体投与に伴う変化はみられなかった。臓器重量では、1400ppm以上の投与群雌雄に、肝重量及び相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、1400ppm以上の投与群雄で肝細胞肥大がみられた。

以上の結果より、本試験におけるイソキサベンの最大無作用量は、雌雄ともに100ppm(雄14.2mg/kg/日、雌17.2mg/kg/日)であると判断される。また、上記所見はすべて、投与中止後1ヵ月には回復していた。(りりー研究所 1987年)

3. イヌにおける3ヵ月亜急性毒性試験

一群雌雄各4匹のビーグル犬にイソキサベンを基礎飼料と混合し、0、25、110及び500mg/kg/日の用量で摂取させた。

その結果、試験期間中死亡例はなかった。一般状態では、500mg/kg/日群雌1例に消瘦がみられた。また、この動物は毛並が悪く、投与開始後1ヵ月で嗜眠が観察され、投与終了時には顔面に潰瘍が認められたが、検査の結果、これらの所見は炎症によるもので検体投与による影響ではないと考えられた。その他の動物に異常は観察されなかった。また、本例の体重は持続的に減少し、その他対照群も含め、各群少くとも一例ずつに投与期間中10%以下の体重減少がみられた。しかし、例数もその程度も少なく、検体投与の影響とは考えられなかった。摂取量に変化は認められなかった。血液学的検査項目では、一般状態に異常のみられた500mg/kg/日群雌の一例が、白血球数の増加及び貧血症状を示し、炎症が進行していると考えられた。その他の動物では異常は認められなかった。また、血液生化学的検査項目でも、同動物には、アルカリホスファターゼの上昇等の変化がみられ、血液学的検査結果と総合すると、これらの変動は炎症に関連したものであり検体投与の影響とは考えられなかった。臓器重量では、500mg/kg/日群雄に、肝重量及び相対重量の増加な

らびに精巣重量及び相対重量の増加が認められた。この内、精巣では病理組織学的検査で対応する所見が認められなかったことから、毒性学的意義はないと考えられた。病理学的検査では、一般状態で異常の認められた500mg/kg/日群雌で、皮膚炎及び慢性間質性肺炎がみられた。その他、検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるイソキサベンの最大無作用量は、雌雄ともに100mg/kgであると判断された。(リリー研究所 1987年)

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性試験

イソキサベンを0、100、320及び1000mg/kg/日の用量で、ラットの妊娠6から15日目までの器官形成期に強制経口投与した。妊娠20日目に雌動物を屠殺、開腹し、子宮内の胎仔の位置、生存胎仔数、吸収胚数、着床数及び黄体数を調べた。また、生存胎仔の性別、体重及び外表異常を調べ、約半数の生存胎仔について内臓異常を検査し、残りの胎仔について骨格異常の検査を行った。親動物ではイソキサベンの投与による毒性症状も死亡もみられず、体重、摂餌量の変化も認められなかった。胎仔も、いずれの投与群においても異常は認められなかった。

以上の結果より、母動物の最大無作用量は1000mg/kg/日であり、また最高投与量の1000mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

(リリー研究所 1987年)

2. ウサギにおける催奇形性試験

イソキサベンを、0、100、320及び1000mg/kg/日の用量で、ウサギの妊娠6から18日目までの器官形成期に強制経口投与した。妊娠28日目に雌動物を屠殺・開腹し、子宮内の胎仔の位置、生存胎仔数、吸収胚数、着床数及び黄体数を調べた。また、生存胎仔の性別、体重及び外表異常を調べ、全生存胎仔について内臓異常及び骨格異常の検査を行った。母動物では、1000mg/kg/日投与群で、死亡例が5例、流産が1例みられた。この流産の例では、解剖時胃内に毛球が認められた。一方、胎仔では、いずれの投与群でも検査項目に異常は認められなかった。

以上の結果より、母動物の最大無作用量は320mg/kg/日であり、また最高投与量の1000mg/kg/日でも催奇

形性は認められなかった。

変異原性試験

変異原性の有無を検討するために、微生物を用いてDNA損傷性および復帰変異試験(代謝活性化を含む)を、またチャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いて染色体異常誘発試験を行った。

1. 復帰変異試験

復帰変異試験では、通常よく用いられるSalmonella typhimurium (TA1535、TA100、TA1537及びTA98株)及び大腸菌(WP2uvrA)を用いた。本試験では、S-9 mixtureの添加する系での代謝活性化も行った。イソキサベン添加量は、S-9 mixtureの添加及び無添加ともに、31~500 μ g/plateとした。陽性対照薬として、N-エチル-N'-ニトロソグアニジン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレイン、2-アミノアントラセンを用いた。イソキサベンは、代謝活性化を含め、いずれの濃度においても、復帰変異菌数の増加は認められなかった。また、陽性対照は、いずれも対照と比較して明らかな復帰変異菌数の増加を認めた。

(リリー研究所 1987年)

2. Rec Assay

Bacillus subtilisの組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。試験濃度は50~2000 μ g/diskとし、培養後阻止帯の長さを測定した。また、溶媒対象としてDMSO、陰性対照としてマイトマイシンCを用いた。イソキサベンは、いずれの濃度においても両株に全く生育阻止帯を認めなかった。一方、陽性対照では明らかな生育阻止帯を生じた。

(残留農薬研究所 1987年)

3. チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた染色体異常試験

チャイニーズハムスターの卵巣細胞を用い、S-9 mixtureを添加する系での代謝活性化も行った。イソキサベンの添加量は、代謝活性化を併用しない場合には、10.0~80.1 μ g/ml、代謝活性化を併用する場合には、25.0~200 μ g/mlであった。イソキサベンはいずれの場合、濃度でも染色体異常を誘発しなかった。

(ヘーゼルトン研究所 1987年)

以上より、イソキサベンは、復帰変異誘発性、DNA

損傷誘発性及び染色体異常誘発性ともに陰性であると判断した。

生体機能に及ぼす影響試験

イソキサベンの生体機能に及ぼす影響について、マウス(ICR系、雌雄)、ウサギ(日本白色ウサギ、雄)を用いた一般薬理試験を用い評価した。

1. マウスの行動に対する作用

イソキサベンをマウスに0、19.5、78.1、313、1250及び5000mg/kg腹腔内投与し、行動を多元観察した。その結果、313mg/kgでは、雌雄ともに立毛が認められた。その他に異常は認められなかった。

2. ウサギの全身症状に対する作用

イソキサベンをウサギに、0、313、1250及び5000mg/kg経口投与し、全身症状(行動、体性神経系及び自律神経系)について多元観察した。その結果、検体投与に起因すると思われる異常は認められなかった。

3. 循環器系に対する作用

イソキサベンを0及び5000mg/kgの用量でラットに強制経口投与し、呼吸、血圧及び心電図を測定した。その結果、検体投与に起因すると思われる異常は認められなかった。

以上より、イソキサベンの急性毒性作用は弱く、急性中毒を生じる可能性は低いことが予想された。

(残留農薬研究所)

要約

イソキサベンの安全性評価のために各種毒性試験を実施した。その結果イソキサベンの急性毒性は弱く普通物に相当した。眼に対しては、50%製剤原液で刺激性はあるものの、使用時最高濃度である2500倍希釈液では刺激性は認められなかった。皮膚刺激性も弱く、皮膚感作性も陰性であった。

ラット、マウス及びイヌを用いた亜急性毒性試験では、高用量群で体重増加抑制、肝重量の増加などがみられた。この内ラットでは、肝細胞肥大が認められた。

催奇形性試験ではラット及びウサギに対する催奇形性はみられず、変異原性試験において、全ての結果は陰性であった。

イソキサベンは、芝生向の除草剤として開発された。平成3年11月にはターザイン水和剤として農薬登

録され現在に至っている。

問合せ

ダウ・ケミカル日本株式会社

ダウ・エランコ事業部門 研究開発本部登録部

〒140 東京都品川区東品川2-2-24