

技術情報

グリホサートトリメシウム塩の毒性試験の概要

アイ・シー・アイ・ジャパン株式会社農薬事業部研究開発部登録課

(平成2年8月20日受理)

薬剤の概要

グリホサートトリメシウム塩は、米国ストウファー・ケミカル・カンパニー（現英国インペリアル・ケミカル・インダストリーズ：ICI）が開発した非選択的殺草活性を有する化合物である。

本化合物は、グリホサートのトリメチルスルホニウム塩で、溶液中では酸（陰イオン）および塩基（陽イオン）がほぼ一対一の比率に解離した状態で存在する。いずれの毒性試験もグリホサートトリメシウム塩として実施した。

本剤の化学構造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： グリホサートトリメシウム塩 glyphosate-trimesium

化学名： trimethylsulfonium *N*-(phosphonomethyl) glycinate

構造式：

$$\text{HOOCCH}_2\text{NHCH}_2\text{P}(\text{O})(\text{OH})\text{S}(\text{CH}_3)_3$$

分子式： $\text{C}_6\text{H}_{16}\text{NO}_5\text{PS}$

分子量： 245.216

外観： 淡黄褐色澄明液体

比重： 1.25(25°C)

pH： 4.3

沸点： 109°C(760 Torr)

蒸気圧： 7.2(10°C), 13.3(20°C), 23.6(30°C) Torr

オクタノール/水分係数： $K_{ow}=2.6 \times 10^{-5}$

溶解性： 水に 4300 g/l, アセトン, エタノール, クロロベンゼン, キシレン, ケロシンに 5 g/l 未満

急性毒性試験

急性毒性試験成績を表1に示す。

刺激性試験

1. 皮膚一次刺激性試験

38% 液剤 0.5 ml を塗布したリント布 (1 インチ平方) を剪毛した Stauffland 種白色ウサギ (雄4匹, 雌2匹) の無傷の背部に貼付した。4時間後リント布を除去し、72時間後まで皮膚を観察し、刺激性の評価を行なった。

その結果、グリホサートトリメシウム塩 38% 液剤に皮膚刺激性はみられなかった。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1987年)

2. 眼一次刺激性試験

38% 液剤 0.1 ml を9匹の Stauffland 種白色ウサギ (雌) の左眼結膜裏に投与した。このうち3匹は、投与20~30秒後に生理食塩水で洗眼し (洗眼群), 残りの6匹は洗眼しなかった (非洗眼群)。投与17日後まで角膜, 虹彩および結膜の変化を観察し, 刺激性の評価を行なった。

その結果, 非洗眼群および洗眼群で, それぞれ投与4および3日後まで, 結膜に軽度の刺激性反応がみられたが, それ以後この反応は消失した。これらの結果から, 本製剤はウサギの眼に対して軽微な刺激性を有するものと考えられた。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1987年)

急性遅発性神経毒性

グリホサートトリメシウム塩を 500 および 5000 mg/kg の用量で, 1群各6~8羽のホワイトレグホン種成鶏雌に1回強制経口投与した。陽性対照物質として, トリオルト-クレシルホスフェート (TOCP) を, 500 mg/kg の用量で経口投与した。試験22日目に再び同一の用量で, 検体あるいは陽性対照物質を同様に投与した。第1回投与後一般状態, 強制歩行をさせたときの様子, 産卵状態および死亡の有無を毎日観察した。体重測定は, 所定の時期に行なった。第1回投与の42日後に全例を屠殺し, 神経病理組織学的検査を実施した。

その結果, 検体投与群では, 体重の低下, 一過性の遅

表1 グリホサートトリメシウム塩(原体および製剤)の急性毒性試験

検体	動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関	報告書作成年
原体	ラット	経口	雄	815	マック研究所	1984
			雌	870		
		腹腔内	雄	247	マック研究所	1984
			雌	250		
		皮下	雄	364	マック研究所	1984
			雌	313		
		経皮	雌雄	>5000	マック研究所	1984
			吸入	>5.18(mg/l)		
	マウス	経口	雄	1420	マック研究所	1984
			雌	1250		
		腹腔内	雄	181	マック研究所	1984
			雌	182		
		皮下	雄	297	マック研究所	1984
			雌	303		
ウサギ	経皮	雌雄	>2000	ストウファー・ケミカル	1982	
38%液剤	ラット	経口	雄	1760	ストウファー・ケミカル	1987
			雌	1298		
マウス	経口	雄	1455	臨床医科学研究所	1985	
		雌	1421			
ウサギ	経皮	雌雄	>2000	ストウファー・ケミカル	1987	

動量の低下, 下痢および産卵数の減少がみられたが, 死亡例はなく, 歩行状態に神経毒性の発現を示唆する変化はみられなかった. 一般状態は第1回投与1週間後に, また産卵数の減少も次第に回復した. 体重は, 高用量投与群で2回目の投与後急激な減少がみられた. 検体投与群では投与に関連する神経病理組織学的変化はみられなかった. 陽性対照群では, 腰仙髄部の軸索変性およびグリア/シュワン細胞数の増加がみられた.

以上の結果から, グリホサートトリメシウム塩は, ニワトリに対して急性遅発性神経毒性を示さないものと判断された.

(アイ・シー・アイ・アメリカズ社, 1989年)

亜急性毒性試験

1. イヌにおける亜急性毒性試験

1群雌雄各6匹のビーグル犬に, グリホサートトリメシウム塩を0, 2, 10, および50 mg/kg/dayの用量で毎週5日間3か月間にわたり強制経口投与した.

その結果, 50 mg/kg/day投与群の雌雄で, 嘔吐および流涎がみられた. 血液学的検査, 血液生化学的検査, 尿検査, 病理学的検査においては有意な変化はみられなかった. 10 mg/kg/day以下の各投与群では, いずれの検

査においても明らかに検体投与に起因すると考えられる変化がみられなかったことから, 本試験における最大無作用量は, 雌雄ともに10 mg/kg/dayであると判断された. (ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1983年)

2. ラットにおける3か月亜急性毒性試験

1群雌雄各20匹のSD系ラットに, グリホサートトリメシウム塩を0, 150, 350, 800 および2000 ppm含有する飼料を13週間にわたり摂食させた.

その結果, 2000 ppm投与群の雄では, 試験期間を通じて体重の有意な低下がみられた. 血液学的検査, 生化学的検査, 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では, 検体投与に関連すると考えられる変化はみられなかった.

以上の結果から, 本試験における最大無作用量は, 雄で800 ppm (36.3 mg/kg/day), 雌で2000 ppm (108.3 mg/kg/day)であると判断された.

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1983年)

慢性毒性試験

1. イヌにおける慢性毒性試験

1群雌雄各5匹のビーグル犬に, グリホサートトリメシウム塩を0, 2, 10 および50 mg/kg/dayの用量で, 毎

週5日間1年間にわたり強制経口投与した。

その結果、投与開始直後から50 mg/kg/day 投与群で、流涎、嘔吐がみられた。体重、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査および病理学的検査においては有意な変化はみられなかった。10 mg/kg 以下の各投与群では、いずれの検査においても検体投与に起因すると考えられる変化はみられなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は10 mg/kg/day であると判断された。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1985年)

2. ラットにおける慢性毒性・発癌性併合試験

1群雌雄各80匹(対照群は雌雄各60匹)のSD系ラットに、グリホサートトリメシウム塩を0, 100, 500および1000 ppm含有する飼料を24か月間にわたり摂食させた。対照群は投与12か月目に、投与群は投与6, 12および18か月目に中間屠殺を行なった。

その結果、1000 ppm 投与群の雄では49週目、雌では75週目まで対照群と比べて統計学的に有意な体重減少がみられ、また、ほぼ同時期に飼料摂取量の有意な減少がみられた。いずれの投与群においても、一般状態、血液学および血液生化学的検査結果に、検体投与に起因すると考えられる異常はみられなかった。また、非腫瘍性および腫瘍性病変についても、それらの発生時期、発生臓器、発現頻度および病変(腫瘍)の種類と検体投与との間に特定の傾向はみられなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は、雌雄ともに500 ppm(雄21.2 mg/kg/day, 雌27.0 mg/kg/day) であると判断された。また、グリホサートトリメシウム塩はラットに対して催腫瘍性を示さないものと考えられた。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー
および昭和大学, 1986年)

3. マウスにおける慢性毒性・発癌性併合試験

1群雌雄各80匹(対照群は60匹)のICR系マウスに、グリホサートトリメシウム塩を0, 100, 1000および8000 ppm含有する飼料を22か月間にわたり摂食させた。投与6, 12および18か月目に中間屠殺を行なった。

その結果、8000 ppm 投与群の雌雄で、試験期間を通じて、体重および体重増加量が対照群と比べて統計学的に有意に減少した。また、同群の飼料摂取量にも低下がみられた。いずれの投与群においても一般状態、血液学および血液生化学的検査結果に、検体投与に起因すると考えられる異常はみられなかった。また、非腫瘍性および腫瘍性病変についても、それらの発生時期、発生臓器、発現頻度および病変(腫瘍)の種類と検体投与との

間に特定の傾向はみられなかった。

以上の結果から本試験における最大無作用量は、雌雄ともに1000 ppm(雄118 mg/kg/day, 雌159 mg/kg/day) であると判断された。また、グリホサートトリメシウム塩はマウスに対して催腫瘍性を示さないものと考えられた。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー
および昭和大学, 1986年)

繁殖性試験および催奇形性試験

1. ラットにおける二世代繁殖試験

1群雄20匹雌30匹のSD系ラットに、グリホサートトリメシウム塩を0, 150, 800および2000 ppm含有する飼料を2世代にわたって摂食させ、繁殖性に及ぼす影響について検討した。

その結果、2000 ppm 投与群では、 P_0 世代の雄親動物で投与5週以降、雌親動物では妊娠・哺育期間中に、また P_1 世代の親動物では、雌雄ともに投与期間を通じて、統計学的に有意な体重の低下がみられた。800 ppm 投与群でも、 P_0 世代の雌親動物の妊娠・哺育期間中に、 P_1 世代の雌親動物で投与期間を通じて有意な体重低下がみられた。

仔動物では、2000および800 ppm 投与群で、 F_1 および F_2 世代ともに母動物に対する毒性の二次的影響と考えられる仔動物の体重増加の抑制がみられた。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は、雌雄ともに150 ppm(雄6.0~8.4 mg/kg/day, 雌6.9~19.8 mg/kg/day) であると判断された。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー
および昭和大学, 1984年)

2. ラットにおける催奇形性試験

交尾を確認した1群25または26匹のSD系雌ラットに、グリホサートトリメシウム塩を0, 30, 100および333 mg/kg/dayの用量で妊娠6から20日目までの15日間、毎日1回強制経口投与し、母動物と胎仔に及ぼす影響について検討した。

その結果、333 mg/kg/day 投与群で母動物に体重増加量および飼料摂取量の低下がみられ、また流涎、傾眠および血性鼻漏等の一般症状の変化がみられた。生存胎仔に母動物に対する毒性の二次的影響と考えられる胎仔重量の減少がみられた。100 mg/kg/day 以下の投与群には検体投与に起因する影響は何らみられなかった。また、いずれの投与群にも投与に起因すると考えられる奇形の発生はみられなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は100 mg/kg/day と判断された。また、グリホサートトリメシ

ウム塩はラットに対して催奇形性を示さないものと考えられた。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1982年)

3. ウサギにおける試験

交尾を確認した1群15または21匹のニュージールランドホワイト種ウサギ雌に、グリホサートトリメシウム塩を0, 10, 40 および 100 mg/kg/day の用量で妊娠7から19日までの13日間、毎日1回強制経口投与し、母体と胎仔に及ぼす影響について検討した。

その結果、100 mg/kg/day 投与群において投与期間中母動物の約40%に死亡がみられ、妊娠動物の約40%に流産がみられた。また、飼料摂取量の減少および体重の低下がみられた。40 mg/kg/day 投与群の母動物にも飼料摂取量の減少がみられた。胎仔動物には、いずれも検体投与に起因する影響はみられなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は10 mg/kg/day と判断された。また、グリホサートトリメシウム塩はウサギに対して催奇形性を示さないものと考えられた。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー
および昭和大学, 1985年)

変異原性試験

1. 復帰変異試験

Salmonella typhimurium のヒスチジン要求株 (TA1535, TA100, TA1537, TA1538, TA98) および *Escherichia coli* のトリプトファン要求株 (WP2 *uvr* ApKM101) を用いて、ラット肝薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で、Ames らの方法に準じて変異原性を検定した。グリホサートトリメシウム塩の試験濃度は1.6~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ とし、陽性対照物質として *N*-メチル-*N'*-ニトロ-*N*-ニトロソグアニジン、塩酸ダウノマイシン、4-ニトロ-*o*-フェニレンジアミン、アクリジンミュータジェン ICR 191 および 2-アミノアントラセンを用いた。

グリホサートトリメシウム塩は、いずれの菌株においても代謝活性化系の存在の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数を増加させなかった。一方、陽性対照物質は復帰変異コロニー数を顕著に増加させた。

以上の結果から、グリホサートトリメシウム塩の復帰変異誘発性は陰性であると判断された。

(ICI, 1988年)

2. Rec-assay

Bacillus subtilis の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用いた Rec-assay 法で DNA 損傷誘発性を検定した。試験濃度は10~5000 $\mu\text{g}/\text{ディスク}$ とし、

対照物質としてカナマイシンおよびマイトマイシンCを用いた。

グリホサートトリメシウム塩は、両菌株にほとんど生育阻止を示さなかった。一方、陽性対照のマイトマイシンCは、両菌株の間に著明な生育阻止の差を生じさせ、また陰性対照のカナマイシンは両菌株に同程度の生育阻止を示した。

以上の結果から、グリホサートトリメシウム塩のDNA損傷の誘発性は陰性であると判断された。

(女子栄養大学, 1984年)

3. 細胞遺伝学的試験

グリホサートトリメシウム塩をSD系ラットに0, 21, 63, 188 mg/kg/day の用量で1回あるいは5日間連続強制経口投与し、1回投与群では投与後6, 12, 27, 51時間目に、連続投与群では最終投与日の翌日にそれぞれコルヒチンを投与した後、屠殺した。屠殺したラットの大腿骨髄細胞の染色体を検査した。陽性対照物質として、シクロホスファミドを用いた。

グリホサートトリメシウム塩投与に起因する染色体異常はみられなかった。一方、陽性対照物質は染色体異常を有する細胞の割合を有意に増加させた。

以上の結果から、グリホサートトリメシウム塩の染色体異常誘発性は陰性であると判断された。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1982年)

4. 小核試験

グリホサートトリメシウム塩をCD-1マウスに雄には0, 700, 900, 1100 mg/kg, 雌には0, 400, 600, 800 mg/kg の用量で1回経口投与し、投与後24, 48, 72時間後に屠殺した。屠殺したマウスの大腿骨髄を採取し、赤血球1000個当たりの多染性赤血球と1000個の多染性赤血球中の小核保有細胞数を調べた。陽性対照物質としてシクロホスファミドを用いた。

グリホサートトリメシウム塩は小核の出現頻度に影響を与えなかった。一方、陽性対照物質は小核出現頻度を有意に上昇させた。

以上の結果から、グリホサートトリメシウム塩は、小核試験陰性であると判断された。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1986年)

5. マウスリンホーマ試験

マウスリンパ腫細胞 L5178Y 株を用いて、直接法および代謝活性化法でグリホサートトリメシウム塩の突然変異誘発性を検定した。培養細胞にグリホサートトリメシウム塩を94~5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の用量で暴露した後、トリフルオロチミジンをふくむ培養液で培養を行ない、細胞増殖の有無を指標として突然変異誘発性を検査した。陽性

対照物質としてエチルメタンスルホン酸塩および *N*-ニトロジメチルアミンを用いた。

グリホサートトリメシウム塩は、マウスリンパ腫細胞の突然変異出現率を上昇させなかった。一方、陽性対照物質は顕著に突然変異細胞の出現率を上昇させた。

以上の結果から、グリホサートトリメシウム塩は、マウスリンパ腫細胞に突然変異を誘発させないものと判断された。(ICI, 1988年)

6. 形質転換試験

グリホサートトリメシウム塩を 0.313, 0.625, 1.250, 2.500, 5.000 mg/ml の濃度で BALB/3T3 マウス線維芽細胞に 3 日間暴露した後培養を続け、陽性対照群に形質転換細胞増殖巣 (フォーカス) が出現したところで全培養系を固定し、フォーカス数を調べた。陽性対照物質として 3-メチルコラントレンを用いた。

グリホサートトリメシウム塩はフォーカス数を増加させなかった。一方、陽性対照物質はフォーカス数を明らかに増加させた。

以上の結果から、グリホサートトリメシウム塩は哺乳動物培養細胞に形質転換作用を示さないと判断された。

(ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1982年)

要 約

グリホサートトリメシウム塩の安全性を評価するために各種毒性試験を行なった。その結果、本剤は、急性毒性が低く、皮膚に対する刺激性はなく、眼に対する刺激性も軽微なものであった。また、急性遅発性神経毒性は陰性であった。亜急性および慢性毒性試験では、高用量群において一般症状および体重に変化がみられたが、発癌性はみられなかった。また、繁殖性に及ぼす影響および催奇形性はみられず、変異原性は陰性であった。

グリホサートトリメシウム塩を有効成分とする農薬は、タッチダウンという名称で平成元年 11 月 16 日に農薬登録され、登録保留基準を、0.5 ppm (米, 果実) と設定された。グリホサートトリメシウム塩は定められた使用基準を遵守すれば安全性の高い農薬であり、有用な非選択性除草剤として期待されている。

問合せ

アイ・シー・アイ・ジャパン株式会社農薬事業部研究開発部登録課

〒100 東京都千代田区丸の内 1-1-1 パレスビル 8 階