

チフェンスルフロンメチルの毒性試験の概要

デュポンジャパンリミテッド農業用製品事業

研究開発・新規事業部

(平成5年8月20日受理)

薬剤の概要

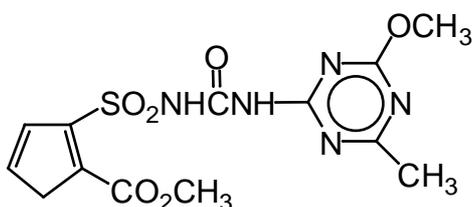
チフェンスルフロンメチル (DPX-M6316) は、昭和53年に米国デュポン社が合成選抜したスルホニルウレア系除草剤の一つである。本剤は、植物の細胞分裂に必要な分岐鎖アミノ酸の生合成阻害作用を有し、ごく低量で、スズメノテッポウや多くの一年生広葉雑草に卓効を示す。わが国では、昭和61年から小麦および大麦用茎葉処理除草剤として単用処理あるいは播種直後土壌処理剤との体系処理で適用性試験を開始した。その結果、ごく低薬量で処理適期幅の広い麦用除草剤として実用性が確認された。

本剤の化学構造および物理化学的性質を以下に示す。

一般名：チフェンスルフロンメチル(thifensulfuron-methyl)

化学名：methyl 3-(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-ylcarbamoylsulfamoyl)-2-thenoate

構造式：



分子式：C₁₂H₁₃N₅O₆S₂

分子量：387.40

外観：白色結晶状固体

臭気：無臭

比重：1.49g/ml (21 ± 2)

融点：176 ~ 178

蒸気圧：1.3 × 10⁻¹⁰ mmHg (25)

溶解度 (mg/ml, 25)：水 0.23(pH5), 6.9(pH7), 8.9(pH8.4), アセトン 11.9, アセトニトリル 7.3, エタノール 0.9, エチルアセテート 2.6, ヘキサン <0.1, メタノール 2.6, メチレンクロライド 27.5, キシレン 0.2

分配係数 (n-オクタノール/水)：0.027 (log K_{ow} = -1.569) : pH7

急性毒性試験

検体	動物種	投与経路	性	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
原体	ラット	経口		>5000 >5000	米国デュポン社ハスケル研究所 (1984)
	ウサギ	経皮		>2000 >2000	米国ヘイズルトン研究所 (1984)
	ラット	吸入 ^{a)}		>7.9mg/l >7.9mg/l	米国デュポン社ハスケル研究所 (1984)
	マウス	経口		>5000 >5000	残留農薬研究所 (1990)
製剤 ^{b)}	ラット	経口		>5000 >5000	米国デュポン社ハスケル研究所 (1984)
	ウサギ	経皮		>2000 >2000	米国ヘイズルトン研究所 (1984)

^{a)} LC₅₀値 (4時間暴露) .

^{b)} 75%水和剤 .

刺激性・感作性試験

1. 眼一次刺激性試験

チフェンスルフロンメチル75%水和剤48mgをそれぞれ1群雄3匹(洗眼群)および6匹(非洗眼群)のニュージーランド白色種ウサギの片眼に投与し、洗眼群については、投与10秒後に眼を洗浄した。投与24, 48および72時間後に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。その結果、非洗眼群において角膜、虹彩、結膜に軽度から中等度の刺激性が認められたが、投与72時間後には、すべて完全に回復した。また、洗眼群では観察期間中、眼刺激性はまったく認められなかった。(米国ヘイズルトン研究所, 1984年)

2. 皮膚一次刺激性試験

チフェンスルフロンメチル75%水和剤0.5gを1群雄6匹のニュージーランド白色種ウサギの刈毛した背部に24時間塗布し、紅斑、痂皮および浮腫の有無等を塗布後48時間観察したところ、皮膚一次刺激性は認められなかった。(米国ヘイズルトン研究所, 1984年)

3. 皮膚感作性試験

チフェンスルフロンメチル75%水和剤を5%および50%の蒸留水懸濁液とし、1群雄10匹のハートレイ系アルビノモルモット(若齢)の刈毛した健常皮膚に0.5ml塗布し、24および48時間後の皮膚刺激性を観察した。また検体の1.0%蒸留水懸濁液0.1mlを週1回ずつ計4回皮内注射による感作処理を行ない、さらに最終感作処理後13日目に5%および50%検液での塗布惹起し、24および48時間後の皮膚感作性を観察した。その結果、皮膚一次刺激性試験で50%検液処理群で24時間後に一部軽微な紅斑が認められたが48時間後には完全に消失した。皮膚感作性試験では、感作性を示す皮膚反応は認められなかった。

(米国ヘイズルトン研究所, 1984年)

亜急性毒性試験

1. ラットにおける3か月間亜急性毒性試験および一世代繁殖試験

チフェンスルフロンメチルを0, 100, 2500および7500ppm含有する飼料を1群雌雄各10匹のCD系ラットに3か月間および1群雌雄各6匹には繁殖試験として7か月間摂食させた。

その結果、亜急性毒性試験においては、いずれの群でも検体投与によると思われる死亡および中毒症状は認められなかった。

体重変化では、2500および7500ppm投与群で3か月間に体重増加量の有意な低下が認められた。

血液生化学的検査では、7500ppm群の雄において血液尿素窒素の増加、血清蛋白質および血清グロブリンの低下が認められた。臓器重量では、2500ppm以上で、体重低下に関連して、相対重量で変化が認められた。

飼料摂取量、食餌効率、血液学的検査、尿検査、肉眼的病理検査および病理組織学的検査において検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より3か月間亜急性毒性での最大無作用量は100ppm（雄：7mg/kg/日，雌：9mg/kg/日）であると判断された。

1世代繁殖試験では、妊娠率、出産率、生存率、哺育指数を算出し、交配能、繁殖能および哺育能を検討した。その結果、検体の投与に関連する変化は認められなかった。

以上の結果より1世代繁殖試験の最大無作用量は7500ppm以上（雄：559mg/kg/日，雌：697mg/kg/日）であると判断された。（米国デュポン社ハスケル研究所，1984年）

2. マウスにおける3か月間亜急性毒性試験

チフェンスルフロンメチルを0, 500, 2500および7500ppm含有する飼料を1群雌雄各10匹のCD-1系マウスに3か月間摂食させた。

その結果、死亡および中毒症状、体重変化、摂餌量および食餌効率、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、肉眼的病理検査、病理組織学的検査のいずれにおいても検体の投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より本試験の最大無作用量は、7500ppm（雄：1427mg/kg/日，雌：2287mg/kg/日）であると判断された。（米国デュポン社ハスケル研究所，1983年）

3. イヌにおける3か月間亜急性毒性試験

チフェンスルフロンメチルを0, 75, 1500および7500ppm含有する飼料を1群雌雄各4匹の純系ビーグル犬に3か月間摂食させた。

その結果、体重変化では、7500ppm投与群の雄で統計学的に有意ではなかったが、体重値に検体の投与によると思われるわずかな減少が認められた。死亡および中毒症状、体重変化、摂餌量および食餌効率、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量、肉眼的病理検査、病理組織学的検査においては、検体の投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験の最大無作用量は、雄：1500ppm（41.56mg/kg/日），雌：

7500ppm (208010mg/kg/日) であると判断された。(米国ヘイズルトン研究所, 1984年)

慢性毒性・発癌性試験

1. ラットにおける24か月間慢性毒性・発癌性

チフェンスルフロンメチルを0, 25, 500および2500ppm含有する飼料を1群雌雄各72匹のCD系ラットに24か月間摂食させた。このうち各群雌雄10匹を投与開始後12か月間に中間屠殺した。

その結果、いずれの群においても検体投与によると思われる死亡および中毒症状は認められなかった。2500ppm投与群、雌雄で検体の投与によると思われる体重の低下が認められた。

血液生化学的検査では、2500ppm投与群雌雄および500ppm投与群雄で血清ナトリウム濃度の低下が認められた。飼料摂取量、食餌効率、血液学的検査、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においては検体によると思われる変化は認められなかった。また、催腫瘍性は認められなかった。

以上の結果より本試験の最大無作用量は、25ppm (雄: 0.96mg/kg/日, 雌: 1.3mg/kg/日) であると判断された。(米国デュポン社ハスケル研究所, 1986年)

2. マウスにおける18か月間慢性毒性試験・発癌性

チフェンスルフロンメチルを0, 25, 750および7500ppm含有する飼料を1群雌雄各80匹のICR系マウスに18か月間摂食させた。

その結果、いずれの群においても検体投与によると思われる死亡および中毒症状は認められなかった。

体重増加、飼料摂取量、食餌効率、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的病理検査および病理組織学的検査においては、検体によると思われる変化は認められなかった。また、催腫瘍性は認められなかった。

以上の結果より本試験の最大無作用量は、7500ppm (雄: 979mg/kg/日, 雌: 1312mg/kg/日) であると判断された。(米国デュポン社ハスケル研究所, 1985年)

3. イヌにおける12か月間慢性毒性

チフェンスルフロンメチルを0, 50, 750および7500ppm含有する飼料を1群雌雄各5匹のビーグル犬に12か月間摂食させた。

その結果、いずれの群においても検体投与によると思われる死亡および中毒症状は認められなかった。7500ppm群の雌において体重増加抑制、7500および750ppm群の雌において食餌効率の低下がみられた。

臓器重量では、7500ppm群の雄において胆嚢を含む肝重量の増加が認められた。血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、肉眼的病理検査、病理組織学的検査においては、検体の投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より本試験の最大無作用量は、750ppm (雄: 19.74mg/kg/日, 雌: 22.36mg/kg/日) と判断された。(米国ヘイズルトン研究所, 1986年)

繁殖試験

チフェンスルフロンメチルを0, 25, 500および2500ppm含有する飼料を1群各20匹のSD系ラットに2世代にわたって摂食させた。各世代で2回の交配を行ない、第2産仔の一部を次世代の粗動物として用い、繁殖性に及ぼす影響を検討した。

その結果、母動物の交配能力および繁殖能力では各世代全群とも検体投与によると思われる変化は認められなかった。病理学的検査のために剖検したF2b世代の離乳仔においては、検体投与によると思われる肉眼的病変、組織学的変化および臓器重量の変化は認められなかった。

以上の結果より本試験の最大無作用量は、2500ppm（雄：175mg/kg/日，雌：244mg/kg/日）と判断された。（米国デュポン社ハスケル研究所，1985年）

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性

チフェンスルフロンメチルを0, 30, 200および800mg/kgの投与レベルで、1群25匹のSD系妊娠ラットに妊娠7日から16日まで毎日1回強制経口投与した。ラットは妊娠21日に帝王切開し、黄体数、着床数、生存・死亡胎仔数を調べ、子宮重量を帝王切開前後に測定した。また生存胎仔の性比、体重および外表・骨格・内臓・頭部異常を検査した。

その結果、母動物に対する影響として、800mg/kg投与群で体重増加量の一時的減少が認められた。

胎仔動物に対する影響として、800mg/kg投与群で腎の小乳頭の発生頻度および1腹当たりの変異を有する平均胎仔率に有意な増加が認められた。検体投与によると思われる奇形はいずれの群においても認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は、母動物および胎仔でいずれも200mg/kg/日であり、また最高投与量の800mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性を示さないものと判断された。（米国デュポン社ハスケル研究所，1984年）

2. ウサギにおける催奇形性試験

チフェンスルフロンメチルを0, 30, 200および650mg/kgの投与レベルで、1群20匹のニュージーランド白色種妊娠ウサギに妊娠7日から19日まで毎日1回強制経口投与した。ウサギは妊娠29日目に帝王切開し、黄体数、着床数、生存および死亡・吸収胎仔数を調べ、子宮重量を帝王切開前後に測定した。また生存胎仔の性比、体重および外表・骨格・内臓異常を検査した。

その結果、母動物に対する影響として650mg/kg投与群において体重減少が認められた。胎仔動物に対する影響はいずれの群においても認められなかった。また検体投与によると思われる奇形はいずれの群においても認められなかった。

以上の結果から本試験における最大無作用量は、母動物200mg/kg/日および胎仔動物650mg/kg/日であり、また最高投与量の650mg/kg/日においても胎仔に対して催奇形性を示さないものと判断された。（米国ヘイズルトン研究所，1985年）

変異原性試験

1. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性株の *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98, TA1537) およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP uvrA) を用い、ラット肝薬物代謝酵素 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で Amesらの方法により変異原性を検定した。試験濃度は *Salmonella* 株で 0.5 ~ 5000 μ g/プレート, *E. coli* 株で 200 ~ 5000 μ g/プレートとした。

その結果チフェンスルフロンメチルではS-9 Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても最高濃度で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方陽性対照として用いたAF-2, SA, 9-AAではS-9 Mixの非存在下で、2-AAではS-9 Mixの存在下で復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果からチフェンスルフロンメチルの復帰変異誘発性は陰性であると判断された。
(残留農薬研究所, 1990年)

2. *in Vitro* 染色体異常誘発性試験

ヒト由来の初代培養リンパ球細胞 (HLC) を用い染色体異常誘発性を検定した。試験濃度は非活性化法および活性化法で2.8mg/mlまでとした。各濃度で細胞100個の中期分裂像を観察し、染色体異常をギャップ, 切断, 交換, 細粉比等に分類し、計測した。

その結果、チフェンスルフロンメチルでは非活性化法および活性化法ともに染色体異常誘発性保有細胞の発現頻度において濃度に相関した有意な増加、または対照群との間に有意な差は認められなかった。一方陽性対照として用いたMMCおよびCPでは、染色体異常保有細胞の発現頻度の顕著な増加が認められた。

以上の結果からチフェンスルフロンメチルの染色体異常誘発性は陰性であると判断された。
(米国デュポン社ハスケル研究所, 1987年)

3. DNA修復性試験

枯草菌 (*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DNAの損傷の誘発性を検討した。試験濃度は、100 ~ 4000 μ g/diskとし、対照物質には、kanamycin, mitomycin c, 2-aminoanthraceneを用いた。

その結果、チフェンスルフロンメチルは最高濃度 (4000 μ g/disk) においても両株に生育阻止を認めなかった。一方、陽性対照のmitomycin cでは代謝活性化系の非存在下で、また2-aminoanthraceneでは代謝活性化系の存在下で両株の間に明らかな生育阻止が認められた。陰性対照のkanamycinでは両株に同程度の生育阻止が認められた。

以上の結果から、チフェンスルフロンメチルのDNA損傷誘発性は陰性であると判断された。
(残留農薬研究所, 1990年)

薬理試験

チフェンスルフロンメチルを生体に投与したときの急性毒性反応の解析を行なう目的で一般薬理試験を行なった。

1. 中枢神経に対する作用

チフェンスルフロンメチルを0, 300, 1000および3000mg/kgの濃度でSlc:ICR系雄マウスに経口投与し, 一般症状 (Irwin法), 運動協調性に及ぼす影響 (ロータ・ロッド法), 筋弛緩作用 (斜析法) およびヘキソバルビタール睡眠延長作用を検討した。その結果, 一般症状の観察では, 300mg/kg投与群では異常がみられなかった。1000mg/kg投与群で受動性の低下, 身づくろいの回数の減少および呼吸数の増加が認められたが, 240分後にはほとんどの症状が消失した。3000mg/kg投与群では1000mg/kg投与群での症状に加えて, 握力の低下, 反応性の低下眼瞼の下垂および有意な体温下降が認められ, 一部の症状は360分後でも残存し, 体温は投与前値と比べて3.7 有意に下降した。また, 60分後までに12匹中2匹の死亡がみられた。運動協調性に及ぼす影響の試験では, 3000mg/kg投与群では有意な落下例の増加が認められ, また120分後までに12匹中4匹の動物が死亡した。筋弛緩作用の試験では, 3000mg/kg投与群では落下例が散見され, 60分後までに11匹中3匹が死亡した。ヘキソバルビタール睡眠に及ぼす影響の試験では, 1000および3000mg/kg投与群でそれぞれ睡眠時間の延長傾向ならびに有意な延長が認められた。

2. 呼吸・循環器系に対する作用

チフェンスルフロンメチルを0, 3000mg/kgの濃度でビーグル犬に腹腔内投与し, 投与後180分まで呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図ならびに血流量を測定した。またノルエピネフリン (NE) およびアセチルコリン (Ach) 投与により惹起される血液反応への影響も観察した。

その結果3000mg/kg投与群で有意な血流量の減少が認められ, また, Achによる血圧の降圧反応を有意に抑制し, NEによる昇圧反応も抑制する傾向を示した。

3. 自律神経に対する影響

チフェンスルフロンメチルを 1×10^{-5} , 1×10^{-4} および 1×10^{-3} g/mlの濃度で, モルモットの回腸の収縮に対する影響を観察した。また, アセチルコリン (Ach) およびヒスタミン (His) により惹起された回腸の収縮反応への影響を観察した。

その結果, いずれの検体群においても摘出回腸への直接作用は認められず, また, AchおよびHisにより惹起された回腸の収縮反応への影響も認められなかった。

4. 消化器に対する影響

チフェンスルフロンメチルを0, 300, 1000および3000mg/kgの濃度でSlc:ICR系雄マウスに, 1回経口投与した後, 120分後に5%炭素末懸濁液をマウス1匹当たり0.2ml経口投与し, 腸管全長に対する炭素末の移動率を求めた。

その結果, いずれの投与群においても対照群と比較して炭素末の輸送能に検体による影響は認められなかった。

5. 骨格筋に対する影響

チフェンスルフロンメチルを0および5000mg/kgの濃度でSlc:Wistar/ST系雄ラットに腹腔内投与し, 腓腹筋の収縮への影響を観察した。

その結果, 腓腹筋の収縮への影響は認められなかったが, 投与60~120分後に6匹中2匹が死亡した。

6. 血液に対する影響

チフェンスルフロンメチルを0, 1000, 3000および10,000mg/kgの濃度でSlc:Wistar/ST系雄ラットに経口投与した。120分後に腹大動脈より採血し、プロトロンビン時間および活性部分トロンボプラスチン時間を測定した。またヘモグロビン量およびヘマトクリット値を測定した。

その結果、いずれの検体投与群においても検体による影響は認められなかった。

(臨床医科学研究所, 1990年)

要 約

チフェンスルフロンメチルについて各種毒性試験を実施し、安全性を評価した。その結果、水剤はきわめて安全性の高い薬剤であることが示された。

チフェンスルフロンメチルのラットおよびマウスにおける急性毒性は低く普通物に相当した。眼一次刺激性試験において非洗眼群で中等度の刺激性が認められたが、洗眼群では認められなかった。皮膚一次刺激性試験では刺激性は認められなかった。また、皮膚感作性試験でも感作性は認められなかった。

ラット、マウスおよびイヌを用いた亜急性毒性および慢性毒性、発癌性試験では、高用量群において体重減少、体重増加抑制、血清ナトリウム濃度の低下、肝重量の増加が認められた。催腫瘍性は認められなかった。

ラットおよびウサギを用いた次世代に及ぼす影響試験では、繁殖性に及ぼす影響・催奇形性ともに認められなかった。

変異原性は復帰変異試験、染色体異常試験、Rec-assayのいずれにおいても陰性であった。

チフェンスルフロンメチルは平成4年4月1日に農薬登録を取得し、登録保留基準は麦・雑穀0.1ppmと設定された。

チフェンスルフロンメチルは魚毒性も弱く、その使用方法および一般的注意事項を遵守すれば環境および作業員への安全性の高い薬剤であると考えられる。

問合せ

デュポンジャパンリミテッド農業用製品事業研究開発・新規事業部登録管理室

〒153東京都目黒区下目黒1-8-1