

## 技術情報

## ベ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企画開発部

(平成3年2月20日受理)

## 薬剤の概要

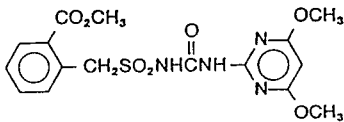
ベンスルフロンメチル(DPX-F 5384)は、昭和50年から55年にかけて米国デュポン社が合成したスルホニルウレア系除草剤の一つである。本剤は、植物に特有な必須アミノ酸の生合成阻害作用を有し、ごく低用量でノビエを除く主要な水田雑草に卓効を示す。わが国ではヒエ剤との混合化により昭和57年から水田用除草剤として適用性試験を開始した。その結果、ごく低用量で殺草スペクトラムが広く処理適期幅の広い水田用除草剤として実用化が確認された。

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：ベンスルフロンメチル bensulfuron-methyl

化学名：methyl- $\alpha$ -(4,6-dimethoxy-pyrimidin-2-ylcarbamoylsulfamoyl)-*o*-toluate

構造式：



分子式：C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>S

分子量：410.40

性状：類白色結晶固体

比重：1.41 g/cc

融点：181°C

蒸気圧：1.3 × 10<sup>-5</sup> mmHg (20°C)

分配係数(log P<sub>ow</sub>)：2.45(pH 1.5), 0.61(pH 7)

溶解度(g/L, 20°C)：ジクロルメタン 11.72, アセトン 1.38, キシレン 0.28, 水(25°C) pH 5 0.0029, pH 6 0.012, pH 7 0.12

## 急性毒性試験

動物種	投与経路	性	LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	試験機関	報告書 作成年
ラット	経口	雄	>5000	残留農薬 研究所	1986
		雌	>5000		
	経皮	雄	>2000	残留農薬 研究所	1986
		雌	>2000		
	吸入 <sup>a)</sup>	雄	>5.0mg/l	米国デュ ポン社 ハスケル 研究所	1983
		雌	>5.0mg/l		
マウス	経口	雄	>10,985	残留農薬 研究所	1982
		雌	>10,985		

<sup>a)</sup> LC<sub>50</sub>値(4時間暴露)。

## 刺激性試験

## 1. 眼一次刺激性試験

ベンスルフロンメチル 29 mg をニュージーランドホワイト種雌ウサギの片眼に投与し、角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を72時間観察したところ、洗眼群・非洗眼群とも眼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)

## 2. 皮膚一次刺激性試験

ベンスルフロンメチル 0.5 g をニュージーランドホワイト種雄ウサギの背部皮膚(健常および擦過皮膚)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)

## 皮膚感作性試験

ベンスルフロンメチルの1%ジメチルフタレート(DMP)懸濁液を雄アルビノモルモットに週1回ずつ計

4回仙骨皮内注射した。最終感作の2週間後に検体の50%および5% DMP懸濁液をモルモットの肩部皮膚に塗布し、塗布部位を48時間観察したところ感作性を示す皮膚反応は認められなかった。

(米国デュポン社ハスケル研究所, 1982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

ベンスルフロンメチルを0, 100, 1500および7500 ppm含有する飼料を1群雌雄各10匹のSD系ラットに3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。

血液学的検査では、7500 ppm群の雄において投与3か月時に溶血性貧血を示す赤血球数、ヘモグロビン量およびヘマトクリット値の減少が認められた。

臓器重量では、7500 ppm群の雌雄において肝重量および対体重比が増加した。

体重増加、飼料摂取量、食餌効率、血液生化学的検査、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は、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から本試験の最大無作用量は、1500 ppm(雄93 mg/kg/日, 雌111 mg/kg/日)と判断した。

(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

ベンスルフロンメチルを0, 300, 1000, 3000および10,000 ppm含有する飼料を1群雌雄各20匹のICR系マウスに3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。

臓器重量では、1000 ppm群以上の雄および10,000 ppm群の雌において肝重量および対体重比が増加した。

肉眼的病理検査では、10,000 ppm群の雌雄において肝の腫大または色調混濁が認められた。

病理組織学的検査では、3000 ppm群以上の雌において小葉中心性の肝臓細胞腫大が認められた。

体重増加、飼料摂取量、食餌効率、血液学的検査、血液生化学検査および尿検査においては、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から本試験の最大無作用量は、雄300 ppm(38.9 mg/kg/日), 雌3000 ppm(407 mg/kg/日)と判断した。

((財)残留農薬研究所, 1984年)

#### 3. イヌにおける3か月間亜急性毒性

ベンスルフロンメチルを0, 100, 1000および10,000

ppm含有する飼料を1群雌雄各4匹のビーグル犬に3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。

体重では、10,000 ppm群の雌雄において体重値および体重増加量の低下が認められた。

食餌効率では、10,000 ppm群の雌雄において低下が認められた。

血液生化学的検査では、10,000 ppm群の雌雄においてアルカリフォスファターゼおよびアラニンアミノトランスフェラーゼ活性値の上昇が認められた。

臓器重量では、10,000 ppm群の雌雄において肝重量および対体重比が増加した。

肉眼的病理検査では、10,000 ppm群の雌雄において肝の暗調化および雄において胆嚢に結石が認められた。

病理組織学的検査では、10,000 ppm群の雌雄において胆汁のうっ帯および小葉中心性肝細胞腫大、また雄において胆嚢内の結石および雌において微小な単細胞性肝臓細胞壊死が認められた。

飼料摂取量、血液学的検査および尿検査においては、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から本試験の最大無作用量は、1000 ppm(雄32 mg/kg/日, 雌37 mg/kg/日)と判断した。

(米国デュポン社ハスケル研究所, 1985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

ベンスルフロンメチルを0, 50, 750および7500 ppm含有する飼料を1群雌雄各80匹のSD系ラットに24か月間摂食させた。このうち各群雌雄各20匹を投与開始後12か月時に中間屠殺した。

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。

体重では、7500 ppm投与群の雌において投与期間後期に減少が認められた。

飼料摂取量では、7500 ppm群の雌において減少が認められた。

血液学的検査では、7500 ppm群の雄において投与開始後24か月時に軽度の貧血が認められた。

病理組織学的検査では、7500 ppm群の雌雄において小葉中心性肝細胞腫大が認められた。

食餌効率、血液生化学的検査、尿検査、臓器重量および肉眼的病理検査においては、検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から本試験の最大無作用量は、750 ppm

(雄 30 mg/kg/日, 雌 40 mg/kg/日) と判断した。また, 催腫瘍性は認められなかった。

(米国デュポン社ハスケル研究所, 1986年)

## 2. マウスにおける24か月間慢性毒性・発癌性

ベンスルフロンメチルを 0, 10, 150, 2500 および 5000 ppm 含有する飼料を 1 群雌雄各 92 匹の ICR 系マウスに 24 か月間摂食させた。このうち各群雌雄各 10 匹を投与開始後 52 および 78 週時にそれぞれ中間屠殺した。

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。

臓器重量では, 5000 ppm 群の雌において肝重量および対体重比が増加した。

病理組織学的検査では, 5000 ppm 群の雄において小葉中心性肝細胞腫大および雌において腎皮質嚢胞が認められた。

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, 尿検査および肉眼的病理検査においては, 検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から本試験の最大無作用量は, 2500 ppm (雄 226 mg/kg/日, 雌 227 mg/kg/日) と判断した。また, 催腫瘍性は認められなかった。

((財)残留農薬研究所, 1986年)

## 3. イヌにおける12か月間慢性毒性

ベンスルフロンメチルを 0, 50, 750 および 7500 ppm 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。

飼料摂取量では, 7500 ppm 群の雌雄において増加が認められた。

血液生化学的検査では, 7500 ppm 群の雌雄においてアラニアミノトランスフェラーゼおよびアルカリフォスファターゼ活性値の上昇が認められた。

臓器重量では, 7500 ppm 群の雌雄において肝重量および対体重比が増加した。

病理組織学的検査では, 7500 ppm 群の雌雄において肝の毛細血管中に褐色物質が認められた。

体重増加, 食餌効率, 血液学的検査, 尿検査および肉眼的病理検査においては, 検体投与によると思われる変化は認められなかった。

以上の結果から本試験の最大無作用量は, 750 ppm (雄 21.4 mg/kg/日, 雌 19.9 mg/kg/日) と判断した。また, 催腫瘍性は認められなかった。

(米国バイオ/ダイナミックス インク, 1986年)

## 繁殖試験

ベンスルフロンメチルを 0, 50, 750 および 7500 ppm 含有する飼料を 1 群雌雄各 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親動物として用い, 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 世代の雌乳仔においては, 検体投与によると思われる肉眼的病変および組織学的変化は認められず臓器重量にも有意差は認められなかった。

以上の結果から本試験における最大無作用量は 7500 ppm と判断した。

(米国デュポン社ハスケル研究所, 1986年)

## 催奇形性試験

### 1. ラットにおける催奇形性

ベンスルフロンメチルを 0, 50, 500 および 2000 mg/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・死亡胎仔数および吸収胚数を調べ, 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はいずれの群においても認められなかった。

胎仔動物に対する影響として, 2000 mg/kg 群において体重減少および第一腰椎部の過剰肋骨骨化中心と胸骨文節の骨化不全 (いずれも軽度の骨格変異) の発生頻度の上昇が認められた。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, 母体 2000 mg/kg/日, 胎仔 500 mg/kg/日であり, また, 最高投与量の 2000 mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性を示さないと判断した。

(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

ベンスルフロンメチルを 0, 30, 300 および 1500 mg/kg の投与レベルで, 1 群 20 匹のニュージーランドホワイト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 日に帝王切開し, 黄体数, 着床数, 生存・死亡胎仔数および吸収胚数を調べ, 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、1500 mg/kg 群において自然死(2匹)、流産(1匹)、体重増加抑制(妊娠7~16日)、体重減少(妊娠16~20日)、飼料摂取量減少(妊娠13~24日)および全胚芽の吸収が認められた。

胎仔動物に対する影響として、1500 mg/kg 群において体重減少が認められた。検体投与によると思われる変異および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、母体・胎仔とも 300 mg/kg/日であり、また、最高投与量の 1500 mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性を示さないと判断した。(米国デュポン社ハスケル研究所, 1985年)

### 変異原性試験

#### 1. Rec-assay

枯草菌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定した。試験濃度は20~5000  $\mu\text{g}/\text{disk}$ とし、対照物質にはKanamycinとMitomycin Cを用いた。

その結果、ペンスルフロメチルは最高濃度(5000  $\mu\text{g}/\text{disk}$ )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では両株の間に明らかな生育阻止の差を生じ、また、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。

以上の結果からペンスルフロメチルのDNA損傷誘発性は陰性であると判断した。

((財)残留農薬研究所, 1981年)

#### 2. 復帰変異

*Salmonella typhimurium* のヒスチジン要求性株(TA 100, TA 1535, TA 98, TA 1537, TA 1538)および*Escherichia coli*のトリプトファン要求性株(WP 2 hcr)を用い、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らの方法により変異原性を検定した。試験濃度は*Salmonella*株で0.01~10  $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、*E. coli*株で10~1000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

その結果、ペンスルフロメチルでは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, ENNG, 9-AA, 2-NF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認められた。

以上の結果からペンスルフロメチルの復帰変異誘発性は陰性であると判断した。

((財)残留農薬研究所, 1981年)

#### 3. 染色体異常

チャイニーズハムスターの肺由来細胞株(CHL)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ともに $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ とした。各濃度で細胞1000個の中期分裂像を観察し、染色体の異常を染色分体型異常(ギャップ, 切断, 交換), 染色体型異常(ギャップ, 切断, 多動原体, 環), 断片, 細粉化およびその他に分類し計測した。染色体異常保有細胞の発現頻度が5%未満を陰性, 5%以上10%未満を疑陽性, 10%以上を陽性とした。

その結果、ペンスルフロ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保有細胞の発現頻度は5%未満であった。一方、陽性対照として用いたMMCおよびB(a)Pでは染色体異常保有細胞の発現頻度の著しい増加が認められた。

以上の結果からペンスルフロメチルの染色体異常誘発性は陰性であると判断した。

((財)残留農薬研究所, 1985年)

### 薬理試験

ペンスルフロ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。

((財)残留農薬研究所, 1985年)

#### 1. 中枢神経系に対する作用

各種供試動物にペンスルフロメチルを最高5000 mg/kg腹腔内投与し、一般症状(マウスおよびウサギ)、ヘキソバルビタール睡眠時間に対する影響(マウス)、ペンチレントラゾール, ストリキニーネ, ピクロトキシン痙攣に対する影響(マウス), 脳波に対する影響(ウサギ)および体温に対する影響(ウサギ)を検討した。

その結果、ペンスルフロメチルの急性中毒症状としてマウス, ウサギともに軽微な鎮静症状を主徴とする諸症状が観察された。また、本剤は中枢性抑制薬であるヘキソバルビタールの睡眠時間を有意に延長し、中枢性の痙攣誘発薬による痙攣・死亡の発現時間に影響を示した。このことから、本剤投与後にみられた鎮静症状の発現には中枢神経が関与している可能性が示唆された。脳波および体温に対する影響は認められなかった。

#### 2. 呼吸・循環器系および骨格筋に対する作用

ペンスルフロメチル5000 mg/kgをウサギに腹腔内投与し、投与後4時間にわたって呼吸, 血圧, 心電図および前脛骨筋収縮に対する影響を調べた。

その結果、前脛骨筋収縮の軽微な増強傾向が認められたがこれは本剤投与のみに起因するとは考えられず、またウサギで認められた急性中毒症状の本質的な発現機序とは思えなかった。呼吸, 血圧および心電図に対する影響は認められなかった。

### 3. 自律神経系に対する作用

ベンスルフロンメチル 5000 mg/kg をウサギに腹腔内投与し、投与後3時間にわたって瞳孔径および角膜反射を調べた。また、試験管内試験としてモルモット輸精管の自発運動、ノルアドレナリンおよび High K<sup>+</sup> 収縮に及ぼす影響 ( $5 \times 10^{-6} \sim 5 \times 10^{-3}$  g/ml)、およびモルモット回腸の自発運動、アセチルコリン、ヒスタミンおよび High K<sup>+</sup> 収縮に及ぼす影響 ( $5 \times 10^{-7} \sim 5 \times 10^{-3}$  g/ml) を調べた。

その結果、瞳孔および角膜反射に対する影響は認められなかった。試験管内試験では高濃度 ( $5 \times 10^{-4} \sim 5 \times 10^{-3}$  g/ml) においてのみ回腸自発運動の亢進が認められた。試験管内で一般に使用される濃度でアトロピン、ヘキサメソニウム、テトロドトキシンを処理しても興奮性反応は消失せず、おそらくこの興奮性反応は筋直接作用に由来していると思われた。また、同じ濃度で本剤はアセチルコリン、ヒスタミン(回腸)、およびノルアドレナリン(輸精管)刺激による収縮を抑制した。これらの収縮に対する抑制作用は High K<sup>+</sup> 刺激による収縮も同様に抑制することから、それぞれの受容体に対する作用ではなく平滑筋に対して直接作用しているものと思われた。

### 4. 血液に対する作用

ベンスルフロンメチル 5000 mg/kg をウサギに腹腔内投与し、投与3時間後に血液凝固能(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)および溶血作用(血漿ヘモグロビン濃度)を調べたところ、いずれにおいても有意な変化は認められなかった。

## 要 約

ベンスルフロンメチルの安全性を評価するため各種毒性試験を実施したところ、本剤はきわめて安全性の高い

薬剤であることが示された。

ベ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、皮膚一次刺激性および皮膚感作性は陰性であった。

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、高用量群で肝重量の増加や小葉中心性肝細胞腫大等肝臓に対する影響が認められたが、これらは肝臓の盛んな化合物代謝のための適応反応と考えられた。いずれの動物種においても催腫瘍性は認められなかった。慢性毒性試験における最大無作用量は、ラットにおいて750 ppm(雄30 mg/kg/日、雌40 mg/kg/日)、マウスにおいて2500 ppm(雄226 mg/kg/日、雌227 mg/kg/日)およびイヌにおいて750 ppm(雄21.4 mg/kg/日、雌19.9 mg/kg/日)と判断された。

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・催奇形性共に認められなかった。

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

ベンスルフロンメチルは、昭和62年4月に水田用除草剤として登録を取得した。登録保留基準値は0.1 ppm(米)と設定された。ベンスルフロンメチルは、定められた使用基準を遵守することにより安全性を確保できる農薬であるとともに、低薬量・低毒性の新世代除草剤として上市以来高い評価を得ている。

### 問合せ

デュポンジャパンリミテッド農業用製品事業企画開発部

〒105 東京都港区虎ノ門2丁目10番1号 新日鉱ビル・デュポンタワー