

技術情報

シアナジンの毒性試験の概要

シエル化学株式会社薬品部

(昭和60年11月20日受理)

薬剤の概要

シアナジンは1965年にシエルが合成した一連のトリアジン系化合物の一つで、スクリーニング試験の結果、光合成阻害作用のある雑草発芽前～生育初期土壌処理用除草剤としての特性が判明した。以来、全世界的に効果、薬害、毒性、残留等の開発が進められてきた。

わが国では昭和45年度より、ばれいしょ、とうもろこし、らっかせい等の畑地雑草に対する試験を開始し、昭和47年には(財)日本植物調節剤研究協会より上記3作物に対して実用化の判定を受けた。また、残留試験においても作物残留性はなく、土壌残留性が比較的短いこと(半減期0～34日)が判明した。

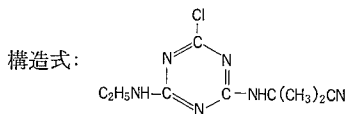
化学構造、物理化学的性質等を以下に記す。

一般名: シアナジン cyanazine (BSI, ISO)

商品名: グラメックス (英名—Bladex)

試験番号: WL 19805, SKH-01, SD 15418, DW 3418

化学名: 2-(4-chloro-6-ethylamino-s-triazin-2-ylamino)-2-methylpropionitrile



性状: 白色粉末結晶, わずかな化学臭

融点: 167.5～169°C

蒸気圧: 1.6×10^{-9} mmHg (20°C)

溶解性(% W/L, 20°C): エタノール 4.5, ベンゼン 1.5, クロロホルム 21.0, メチルシクロヘキサン 21.0, n-ヘキサン 1.5, ジオキサン 9.0, 水 171 (ppm, 25°C)

分配係数: 5000 (オクタノール/水)

熱安定性: 熱に対しては安定で, 75°C で100時間放置した場合の分解率は1.8%であった。

酸, アルカリ安定性: 中性～弱アルカリ性で安定であり, pH 7 の溶液中に 75°C で100時間放置した場合の分解率は8.7%であった。強酸の溶液中では不安定であり, pH 1.2 (38°C) における半減期は約18時間であ

た。主要分解物は, 2-(4-chloro-6-ethylamino-s-triazin-2-ylamino)-2-methylpropionic acid である。

光安定性: 光に対しては安定である。

急性毒性試験

動物	経路	性	LD ₅₀ (mg/kg)	実験場所	年月
マウス	経口	♂	1096	静岡薬大	1973.10
"	"	♀	1028	"	"
ラット	"	♂	367	"	"
"	"	♀	306	"	"
マウス	皮下	♂	3999	"	"
"	"	♀	3715	"	"
ラット	"	♂	1738	"	"
"	"	♀	2200	"	"
マウス	腹腔	♂	174	"	"
"	"	♀	365	"	"
ラット	"	♂	112	"	"
"	"	♀	186	"	"
マウス	経皮	♂	>6590	昭和大学	1976. 5
ラット	"	♂	5440	"	"
マウス	吸入	♂	2470 ^{a)}	"	"

^{a)} LC₅₀ (4時間噴霧)

亜急性毒性試験

1. Carworth Farm E 系ラット試験

1群雌雄各12匹(対照群のみ各36匹)のラットにシアナジンを飼料中に1.5, 3, 6, 12, 25, 50および100 ppm 混入し13週間摂取させた。

その結果, 雌雄の100 ppm 群および雄の50 ppm 群で体重増加および食餌摂取量の抑制が認められ, また50, 100 ppm 投与群で臓器重量, 臓器/体重比の変化が認められた。しかし本薬物の摂取に起因する病理学的変化は認められなかった。

血液学的検査では影響は認められなかったが血清尿素量が50, 100 ppm 投与群でわずかに増加, 1.5, 3.0 ppm 投与群で減少が認められた。この変化の有意性について

は、追加試験で検討中である。

本試験の最大無作用量は 25 ppm (雌雄平均薬物摂取量 1.25 mg/kg/day) であった。

(トNSTOール研究所 1968年7月)

2. Carworth Farm E系ラット試験 (ラットの血清尿素および腎機能に対する作用性についての検討)

上記の試験結果 (1.) にて記述したごとく、低濃度の 1.5 および 3.0 ppm 投与群で血清尿素濃度の減少が認められた。この血清尿素の変化は肝の尿形成、腎の尿排泄、あるいは肝、腎両方の影響によると思われる。また基礎薬理試験では、シアナジンは利尿作用があることを示している。これらの作用を検討するため今回の試験を実施した。

すなわち 1 群雌雄各 20 匹 (対照群は各 40 匹) のラットにシアナジンを飼料中に 0.1, 1.0 および 100 ppm 混入し、13 週間摂食させた。

投与期間中の一般症状、体重および食餌摂取量を記録し、投与終了後採血し、一般血液学的検査および血清タンパク、尿素量を測定した。また採尿し、尿中尿素を測定した。

その結果、上記の試験 (1.) で認められた血清尿素への作用は今回の 13 週間試験では再現しなかった。

利尿作用の検討のために 1) 急性経口試験、2) s-トリアジン系利尿薬「クロラジニル」との比較検討試験、および 3) 4 週間の摂食試験 (1 群雌雄各 10 匹のラットにシアナジンを 0.1, 1.0 および 100 ppm 混入) を実施し、腎機能は腎臓清掃試験法を用いて検査した。

その結果、4 週間投与でも血清尿素に対する影響は再現されず、またシアナジンは利尿作用を認めず、トリアジン系利尿薬クロラジニルの多量投与で認められる腎への毒性作用は認められなかった。

(トNSTOール研究所 1969年2月)

3. Wistar系ラット試験

1 群雌雄各 15 匹のラットにシアナジンを飼料中に 3, 15 および 75 ppm 混入し、13 週間摂取させた。

その結果、75 ppm 群で投与開始から本薬物投与による忌避反応が認められ、採食活動の低下と食餌量の低値、軽度の被毛光沢の欠如、立毛が観察された。また雌雄の 75 ppm で顕著な体重増加抑制が認められ、日数経過とともに対照群との間に有意の差が認められた。しかし 3 および 15 ppm では、特記すべき体重変動は認められなかった。雄の 75 ppm 群でヘモグロビン量および A/G 比の低値が、雌の 75 ppm 群で腎、前立腺、胸腺の重量の低値が、また脳、精巣、副腎、下垂体の体重比の高値が認められ、雌で子宮重量の低値、また脳の体重比

の高値が認められた。しかし剖検および組織学的検索の結果から、直接薬物投与に起因する変化は、各群とも認められなかった。

以上の結果から、本試験の最大無作用量は 15 ppm (雌雄平均薬物摂取量 1.467 mg/kg/day) と示唆された。

(慶応大学、佐々木研究所、日本実験医学研究所
1979年7月)

4. ビーグル犬試験

投与群は 1 群雌雄各 4 頭とし、1 頭ずつ隔離して飼育した。シアナジンはカプセルに封入して毎日 1.5, 5 および 15 mg/kg の割合で経口投与した。対照群は雌雄各 5 頭とし、カプセルのみを投与した。

その結果、13 週間の試験期間を通じて、すべての動物に一般症状および行動に影響は認められなかった。最高投与群 (15 mg/kg) で最初の 5 日間において、投与 1 時間以内に嘔吐が認められた。また雄の体重増加の抑制が投与後半に認められた。また最高投与群の雌に肝、腎重量および心/体重比の増加が認められた。その他の群の雌およびすべての投与群の雄には何ら変化は認められなかった。

試験期間を通じての定期的血液検査では、何ら血液学的および臨床化学的变化は認められなかった。

屠殺時の解剖所見および病理組織所見でシアナジンに起因す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 5 mg/kg/day であった。

(トNSTOール研究所 1968年7月)

2年間慢性毒性試験

1. Carworth Farm E系ラット試験

1 群雌雄各 24 匹 (対照群は各 48 匹) のラットにシアナジンを飼料中に 6, 12, 25 および 50 ppm 混入し、2 年間毎日投与した。

その結果、50 ppm 群の雄で、体重増加の抑制が見られたが、他の実験群 (12 および 25 ppm) では、初めの 8 週間に抑制が認められたにすぎなかった。雌においては、12 ppm 群を除き実験群は各群とも 12 週以後で体重の抑制を認め、12 ppm 群では 40 週以後で抑制が始まった。しかし 25 ppm および 50 ppm のみは他の群が回復しているにもかかわらず、64 週以後もなお抑制または減少が続いた。

飼料摂取量の低下が 25 および 50 ppm 群の雌のみ初めの 6 カ月間に有意に認められ、その他の群では散発的に軽度の低下が見られたが、これらはシアナジンの投与による変化ではないと考えられる。

臓器重量およびその重量比には実験期間を通じて影響はみられなかった。

血液検査, 生化学的検査 および 臨床化学的検査の結果, 実験期間を通じて投与による影響は見られなかった。わずかながら有意差を示す例もあったが, それらの値には一貫性はなく, 投与量との相関も認められなかった。

病理組織学的所見では, 慢性腎症, 多発性動脈炎, 線虫の寄生, 肝小胆管増生など自然発生的な種々の病変を認めたが, 有意な変化ではない。

以上の結果から, 本試験の最大無作用量は 0.6 mg/kg/day であった。

(トNSTOール研究所 1970年9月)
(癌研究所, 順天堂大学 1978年7月)

2. ビーグル犬試験

1群雌雄各4頭(対照群は各6頭)のビーグル犬を1頭ずつ隔離して飼育した。シアナジンはカプセルに封入して毎日 0.625, 1.25 および 5 mg/kg の割合で経口投与した。これは1日に与える飼料約 500 g 中に混入した場合に換算するとそれぞれ 12.5, 25 および 100 ppm となる。なお対照群はカプセルのみを投与した。

その結果, 2年間の試験期間を通じて, 最高投与群(5 mg/kg)の雌, 雄にカプセル投与後1時間以内に嘔吐が認められた。嘔吐以外に 5 mg/kg 群の健康状態および行動は, 影響が認められず, 他の実験群および対照群と同様であった。

5 mg/kg 群の雌の体重増加率は試験期間を通じて有意に抑制が認められ, また雄では初めの6カ月間に体重増加抑制が認められたが統計的に有意ではなかった。

臓器重量については, 5 mg/kg 群の雌の肝重量の減少以外は有意の変化が認められなかった。

6週ごとに行なった血液検査の結果では, 5カ月後の検査で 5 mg/kg の雌, 雄の血清総タンパク量に減少が認められた。それ以外の臨床化学検査および血液検査では, 何ら有意の変化が認められなかった。

病理組織所見について, 各群共通して認められたものは, 回虫の寄生, 腸間膜, 腎, 肺, 甲状腺および卵巣の変化であったが, シアナジンの投与によると考えられるものと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 1.25 mg/kg/day であった。

(トNSTOール研究所 1970年9月)
(癌研究所, 順天堂大学 1978年7月)

ラット三世代繁殖試験

シアナジンを 0, 3, 9, 27 および 81 ppm の濃度で飼料に含有させ, 継続する三世代 (F_0 , F_1 および F_2) のラットに連続投与した。各群につき, 各世代ごとに2回の交配を行ない, 次世代への継続は第2回交配の同産群の一部を用いた。

外見所見および行動については, 3, 9 および 27 ppm 群では, 対照群との間に差はみられなかった。しかし 81 ppm 群の成熟ラットは雄, 雌とも三世代を通して外形の小さなものが認められた。

出産仔数および生存率では, 3 ppm 群の F_{3a} で出産仔数が有意に大きかった以外は対照群と差はなかった。27 ppm 群では, F_{3a} の出産仔数および F_{2b} の生存率のみが, また 81 ppm 群は F_{2b} の生存率のみが, 対照群と比較して有意に大きかった。

離乳ラットの体重については, 各投与群とも差は認められなかった。また離乳ラットの臓器/体重比では, 81 ppm 群の F_{3b} 雌の脳重量比が有意に大きく, 腎重量比が有意に小さかった以外は有意の差を認められなかった。

親ラットの屠殺時体重については, 9 ppm 群で F_0 の雌が例外的に重かった以外は有意な変化がなかった。81 ppm 群では, F_0 の雌, F_{1b} の雌雄, F_{2b} の雄に有意の減少が認められた。

親ラットの肉眼的所見では, 9 ppm 群の F_0 の雌に肺全体にわたる腫瘍形成および2回目の交配後衰弱をきたし, 子宮に胚吸収部位が観察された。それ以外の投与群では, 対照群と差が見られなかった。

F_{3b} 世代離乳仔ラットの病理組織所見では, 投与群, 対照群を通じ雌雄とも肺に肺胞性肺気腫を, また脾で骨髓外造血を認めたが, 他の臓器では異常はみられなかった。

以上の結果から, 本試験の最大無作用量は 27 ppm (1.35 mg/kg/day) であった。

(ハイン研究所 1969年8月)

ラット催奇形性試験

シアナジンを 0, 0.5, 1.5 および 4.5 mg/kg/day の割合で器官形成期の妊娠6日から19日まで14日間毎日1回強制経口投与し, 胎仔毒性と催奇形性の有無について検討した。

母獣に対する影響は, 4.5 mg/kg/day 群で投与4日目(妊娠9日)から体重増加抑制が有意に認められた。また飼料摂取量が投与開始翌日(妊娠7日)から有意な軽度

の減少を示したが投与5日目(妊娠10日)に回復した。

胎仔に対する影響は、外形異常は各群とも1例もなかった。内臓および骨格検査結果で散見された異常所見は、シアナジンとは関連のない自然発生的なものに属するものと考えられる。

以上の結果から、本試験におけるシアナジンのラットに対する催奇形性はないものと考えられる。

(食品農薬薬品安全性評価センター 1981年10月)

変異原性試験

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、Rec-assay法でDNAへの損傷の誘起性を調べた。

シアナジンは最高濃度(2 mg/disk)において両株にまったく生育阻止帯を誘起しなかった。

(残留農薬研究所 1978年3月)

復帰変異試験: *Salmonella typhimurium* (サルモネラ菌)のヒスタジン要求性指示菌5株および *Escherichia coli* (大腸菌)のトリプトファン要求性指示菌1株(WP2 hcr⁻)を用い、Amesらの方法を用いてラット肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で遺伝子突然変異性を検索した。

シアナジンは最高濃度(3 mg/plate, S-9 Mix では1 mg/plate)で、いずれの株においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

(残留農薬研究所 1978年3月)

また、労働安全衛生法、基発第107号の2に準じ、ブレインキューベーション法により、*E. coli* WP2 *uvrA*⁻株と *S. typhimurium* TA系5株を用いて、代謝活性化を含む検索の結果、シアナジンは5 mg/plateの最高濃度において、S-9添加の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異の誘発は認めなかった。

(日本食品分析センター 1979年12月)

In vitro 試験および宿主経路試験: *In vitro* 試験では、*Saccharomyces cerevisiae* D₄株、*Serratia marcescens* 3株および *S. typhimurium* TA系4株を用いて遺伝子突然変異性を検索した結果、シアナジンは最高濃度(4 mg/ml)で、いずれの株においてもコロニー数の増加は認められなかった。

宿主経路試験では、8~10週齢の Carworth Farm 系マウスの雄にシアナジンを160および320 mg/kg 経口投与したのち、ただちに *Saccharomyces cerevisiae* D₄株懸濁液の一部を同じマウスに腹腔注射し、5時間後に屠殺、上記菌液を回収して検索した。

その結果いずれの投与群でもコロニー数の増加は認められず、シアナジンによる遺伝学的影響は認めなかった。

(トNSTOール研究所 1974年7月)

優性致死試験: 1群雄12匹(対照群は24匹)のマウスにシアナジンを80, 160および320 mg/kgを経口投与(対照群の雄には溶剤のDMSOを投与)した。

投与後、1匹の雄に対して3匹の雌と7日間同室させた。同室させる雌は毎週新しくとりかえ、8週間続けた。交尾は雌と同室させた週の中央の日で行なわれたと仮定し、この日から起算して13日後に雌を殺し、妊娠の有無、着床数、早期死胚および後期死胚などに対するシアナジンの影響を検査した。

その結果シアナジンによる優性致死突然変異は認めなかった。

(トNSTOール研究所 1974年4月)

骨髄細胞に対する影響試験: 1群雌雄マウス各4匹に1日1回2日間シアナジンを50および100 mg/kg 経口投与し、陽性対照として、シクロホスファミド50 mg/kgを経口投与した。

各群の動物は4匹ずつシアナジン投与8時間後および24時間後に殺し、大腿骨髄より骨髄細胞の染色体標本を作成した。

その結果、シアナジン投与における染色体異常の出現率は、対照群のそれと差異は認められなかった。

(トNSTOール研究所 1974年7月)

要 約

シアナジン(グラメックス)の安全性評価に関する各種毒性試験を行ない、昭和58年3月に畑地用除草剤として登録を取得した。

問合せ

シェル化学株式会社薬品部

〒100 東京都千代田区霞が関3-2-5 霞が関ビル