

イマゾスルフロンの毒性試験の概要

武田薬品工業株式会社アクロ事業部

農薬開発部開発第三グループ

(平成7年5月20日受理)

薬剤の概要

イマゾスルフロンは、武田薬品工業株式会社が創製開発したイミダゾピリジン環を有する新しいタイプのスルホニル尿素系除草剤である。とくに広い殺草スペクトルと稲に対する高い安全性を有し、全国を通じて安全に使用できる点が本剤の特徴である。本剤は1983年に合成研究を開始し、1986年から日本植物調節剤研究協会を通じて全国各地で、公的試験を開始した。

本化合物はノビエを除く一年生雑草およびマツバイ、ホタルイ、ウリカワ、ミズカヤツリなどの多年生雑草に高い殺草効果を示すとともに、稲に対する安全性の高い除草剤であることが確認された。また、オモダカ、クログワイ、シズイ、エゾノサヤヌカグサなどの難防除雑草に対しても高い効果が期待でき、寒地から暖地まで全国を通じて安全に使用できる。また芝用除草剤としては一年生および多年生広葉雑草、ヒメクグ、ハマスゲに対して高い効果を示すとともに日本芝およびベントグラス、ブルグラスに対する高い安全性が確認された。

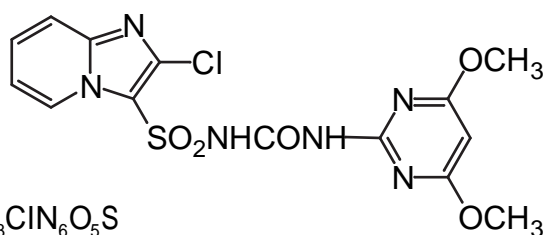
本化合物は哺乳動物や水産動物に対する毒性も低く、有用昆虫にも影響が少ない除草剤である。

本化合物の化学構造および物理的・化学的性質を以下に示す。

一般名：イマゾスルフロン (imazosulfuron)

化学名：1-(2-Chloroimidazo[1,2-a]pyridin-3-ylsulfonyl)-3-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)urea

構造式：



分子式：C₁₄H₁₃ClN₆O₅S

分子量：412.83

外観：無色針状結晶

比重：1.574

融点：183～184 (dec.)

蒸気圧：3.4 × 10⁻¹⁰ mmHg (25)

溶解性：水：0.308g/l (pH7.0) , 0.067g/l (pH6.1) , 0.00675g/l (pH5.1) ,

アセトニトリル：2.45g/l , 酢酸エチル：2.24g/l , アセトン：4.76g/l ,

ジクロルメタン：12.86g/l , キシレン：0.40g/l (測定温度は水, 溶媒とも25) .

分配係数：0.05 (n-オクタノール/水, 25 , log値)

pKa値：4.0

急性毒性試験

イマゾスルフロン原体および製剤のラット，マウスにおける経口，経度および吸入の各経路による急性毒性試験結果を表1に示す。

中毒症状としては，マウスにおける原体の経口投与で投与直後に自発運動の低下がみられたことを除き異常所見は認められなかった。

表1 イマゾスルフロンの急性毒性試験結果

検体	動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)
原体	ラット	経口 経皮	雌雄 雌雄	>5000 >2000	臨床医科学研究所 (1988)
	ラット	吸入	雌雄	>2.4mg/P ^{a)}	IRDC (1988)
	マウス	経口	雌雄	>5000	臨床医学研究所 (1988)
0.3%粒剤	ラット	経口 経皮	雌雄 雌雄	>5000 >2000	臨床医科学研究所 (1991)
	マウス	経口	雌雄	>5000	臨床医学研究所 (1991)
10%フロアブル	ラット	経口 経皮 吸入	雌雄 雌雄 雌雄	>5000 >2000 >4.9mg/P ^{a)}	臨床医科学研究所 (1991) WIL (1991)
	マウス	経口	雌雄	>5000	臨床医学研究所

a) 急性吸入毒性LC₅₀値 (4時間全身暴露)。

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

イマゾスルフロン100mgを日本白色種雄ウサギ9匹の右眼に点眼し，左眼を対照眼として点眼1，24，48，72時間後における角膜，虹彩，結膜の異常を観察した。3匹については点眼2分後に生理食塩液で洗眼した。

洗眼群および非洗眼群ともに点眼1時間後に軽度の結膜発赤および浮腫が認められたが，48時間後までにすべて消失した。

以上より，イマゾスルフロンはウサギの眼粘膜に対して刺激性を有しないと判断された。

(臨床医科学研究所，1988年)

2. 皮膚一次刺激性試験

イマゾスルフロン500mgを0.4m1の蒸留水で湿らせ塗布したリント布を日本白色種ウサギ雄6匹の剪毛した背部皮膚に貼付し，4時間被覆固定した。対照群には同量の蒸留水を適用した。適用部皮膚の刺激性変化(紅斑，痂皮，浮腫)の有無を検体除去1，24，48お

よび72時間後に観察した結果，いずれの動物においても紅斑・浮腫などの異常は認められなかった．

以上より，イマゾスルフロンはウサギの皮膚に対して刺激性はないと考えられた．

（臨床医科学研究所，1988年）

皮膚感作性試験

Hartley系モルモット雄 1 群15匹（陽性物質処置群およびその対照群は雄 1 群10匹使用）を用い，Buehler法に準じて試験した．感作時にはイマゾスルフロンを白色ワセリン中25% 剤として使用し，また陽性物質である2,4-ジニトロクロロベンゼン（DNCB）は白色ワセリン中 1 % 剤として用いた．一方，誘発時にはイマゾスルフロンを白色ワセリン中 1 % 剤として使用し，またDNCBは40%エタノール水溶液中0.1% 剤として用いた．

感作は処置前日に剃毛したモルモットの左腹側部に，各剤の0.5gを塗布したリント布を6時間閉塞貼付した．初回感作より7日および14日後に同じ方法で塗布し，合計3回感作した．誘発は最終感作の14日後，前日に剃毛した動物の右腹側部に各剤の0.5gあるいは0.5mlを塗布したリント布を24時間閉塞貼付した．検体除去24および48時間後に，適用部位の紅斑および浮腫の有無を観察した．なお，対照群として感作時には無処置群および白色ワセリンのみの処置群を設け，誘発時にはそれぞれにイマゾスルフロンおよびDNCBの各剤を処置した．検体除去24および48時間後に検体処置群およびその対照群でそれぞれ15例中 1 例に軽度の紅斑がみられたが，検体の刺激性によるものと判断され，感作率は 0 % であった．一方，陽性対照処置群には明らかな感作反応が認められた．

以上より，イマゾスルフロンのモルモットにおける皮膚感作性は陰性であると判断された．

（臨床医科学研究所，1988年）

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた 3 か月亜急性毒性試験

イマゾスルフロンの 0，2500，10,000および45,000 ppmを含有する飼料を 1 群雌雄各10匹のSD系ラットに 3 か月間自由摂取させた．

検体投与に関連した影響として45,000PPm投与群の雌において消瘦および脱毛が 1 または 2 例に認められ，10,000ppm以上の投与群で体重低下および体重増加抑制がみられた．血液学的検査では45,000ppm投与群にHb，Ht，赤血球数およびMCVの低下，MCHCの上昇がみられた．血液生化学的検査では45,000ppm投与群でグルコース，コレステロール，総タンパク，アルブミンおよびグロブリンの低下が認められ，10,000ppm投与群ではコレステロール，総タンパクおよびグロブリンの低下が認められた．

以上の所見から栄養不良による小赤血球性貧血が発現したものと考えられた．病理組織学的所見としては45,000ppm投与群に軽度の小葉中心性肝細胞肥大が認められた．

以上の結果から本試験の最大無作用量は雌雄とも2500ppm（雄：234.7mg/kg/day，雌：265.7mg/kg/day）と判断された．

（Bio/dynamics Inc.，1990年）

2. マウスを用いた3か月亜急性毒性試験

イマゾスルフロンの 0，2500，10,000および45,000ppmを含有する飼料を 1 群雌雄各10匹のICR系マウスに 3 か月間自由摂取させた．

全群に死亡例はなく，検体投与による影響は次のとおりであった．45,000ppm投与群における雄で試験終了時に体重低下，雌雄ともに血液学的検査でHb，Htおよび赤血球数の低下傾向を示す貧血が認められ，臓器重量では肝重量，対体重比および対脳重量比の上昇が認められた．病理組織学的検査では，45,000ppm投与群雌雄および10,000PPm投与群の雄の全例に小葉中心性肝細胞肥大が認められた．

以上の結果から本試験の最大無作用量は雄で2500ppm（456.3mg/kg/day），雌で10,000ppm（2726.9mg/kg/day）と判断された．

（Bio/dynamicsInc.，1991年）

慢性毒性および発がん性試験

1. ラットを用いた24か月慢性毒性・発がん性試験

イマゾスルフロンの0，200，2000および20,000ppmを含有する飼料を1群雌雄各80匹（発がん性試験用50匹：慢性毒性試験用30匹）のSD系ラットに24か月間自由摂取させた．投与6および12か月時に1群雌雄各10匹，18か月時には1群雌雄各6～9匹を屠殺し，24か月時には全生存動物を屠殺した．20,000ppm投与群雌で死亡率が高かったため全生存動物を22か月後に屠殺した．

検体投与による影響は次のとおりであった．20,000ppm投与群において体重低下，体重増加抑制，血液学的検査ではHb，Ht，MCVおよびMCHの低下，MCHCの上昇が認められ，血液生化学的検査においては雌で総タンパクおよびアルブミン，雄でコレステロールの低下が認められた．臓器重量では雄で副腎および腎重量ならびにその対脳重量比が低下した．病理組織学的検査では対照群を含むすべての群で細菌感染による化膿性気管支肺炎がみられ，その発生頻度は20,000ppm投与群でもっとも高かった．この発生頻度の増加は検体投与により高用量群の動物の細菌感染に対する抵抗性が低下したためと考えられた．また，20,000ppm投与群の雌雄で網膜萎縮がみられ，雌ではこれに関連した変性変化と考えられるレンズ白内障も認められた．イマゾスルフロン投与群に腫瘍性病変の増加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2000ppm（雄：106.10mg/kg/day，雌：132.46mg/kg/day）であり，イマゾスルフロン投与による発癌性の誘発はないと判断された．

（Bio/dynamics Inc.，1991年）

2. マウスを用いた18か月発がん性試験

イマゾスルフロンの0，450，4500および45,000ppmを含有する飼料を1群雌雄各50匹のICR系マウスに18か月間自由摂取させた．投与18か月時に全生存動物を屠殺した．

検体投与による影響は次のとおりであった．雌で45,000ppm，雄で4500および45,000ppm投与群において体重の増加抑制が認められた．また45,000ppm投与群の雄において肝重量およびその対体重比の増加が認められ，病理組織学的検査においては肝臓の小葉中心性肝細胞肥大が全投与群で認められたが，これは検体による代謝亢進によるものと考えられた．イマゾスルフロン投与群に腫瘍性病変の増加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で450PPm（72.7mg/kg/day），雌で4500ppm（870.0mg/kg/day）であり，イマゾスルフロン投与による発癌性の誘発はないと判断された．

（Bio/dynamics Inc.，1991年）

3. イヌを用いた12か月経口毒性試験

ゼラチンカプセルに封入したイマゾスルフロンの0, 75, 150および300mg/kg/dayを1日1回1群雌雄各4匹のビーグル犬に12か月間連続経口投与した。

検体投与による影響として、血液学的検査で300mg/kg/day投与群の雄においてHb, Htおよび赤血球数の低下、血液生化学的検査においては150および300mg/kg/day投与群で総タンパク(雄のみ)およびアルブミンの低下、電気泳動パターンpeak 6の相対値の増加(雄のみ)、また300mg/kg/day投与群でリン脂質、総コレステロールの低下(雄のみ)が認められた。臓器重量では300mg/kg/day投与群で甲状腺/上皮小体重量およびその対体重比が増加した。病理組織学的検査においては150および300mg/kg/day投与群雌雄で甲状腺の肥大が認められた。

一般症状、体重変化、飼料摂取量、眼検査、尿検査および肉眼的病理検査において検体投与による影響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雌雄とも75mg/kg/dayであると判断された。(IRDC, 1990年)

繁殖性に及ぼす影響および催奇形性試験

1. ラットを用いた2世代繁殖試験

イマゾスルフロンの0, 100, 1000および10,000ppmを含有する飼料を1群雌雄各26匹のSD系ラットのF₀およびF₁の2世代にわたって自由摂取させ、繁殖能に及ぼす影響について検討した。検体投与による影響は次のとおりであった。

親動物の臨床症状として10,000ppm投与群において頭部および肩の周りの痂皮、眼、鼻、口周囲の異物、削瘦および局所性の脱毛がみられた。F₀およびF₁両世代の親動物に体重増加抑制および飼料摂取量の低下が認められた。

仔動物では10,000ppm投与群において生存率の低下および有意な成長抑制と体の小型化が認められた。

以上の結果から本試験において繁殖能に対しては何ら影響は認められず、親動物に対する最大無作用量は1000ppm(雄: 77.8mg/kg/day, 雌: 88.4mg/kg/day)と判断された。

(IRDC, 1990年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

0.5%CMC水溶液に懸濁したイマゾスルフロン0, 250, 500, 1000および1500mg/kg/dayを1群25匹のSD系ラットに対し妊娠6日から15日までの10日間(器官形成期)に毎日1回強制経口投与した。

ラットは妊娠20日に帝王切開し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。親動物の1500mg/kg/day投与群において体重増加抑制、飼料摂取量の低下が認められたが、胎仔については検体投与によると考えられる奇形および異常は認められなかった。

以上の結果より、本試験の親動物および胎仔についての最大無作用量はおのおの1000および1500mg/kg/dayであり、最高投与量である1500mg/kg/day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。(IRDC, 1989年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

0.5%CMC水溶液に懸濁したイマゾスルフロンの0, 25, 50および125mg/kg/dayを1群20匹のニュージーランドホワイトウサギに対し、妊娠7日から19日までの13日間(器官形成

期)に毎日1回強制経口投与した。

ウサギは妊娠29日に帝王切開し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。125mg/kg/day投与群の親動物1例に瀕死状態が認められたため、屠殺した以外は何ら検体による影響は認められなかった。検体投与による奇形および異常は認められなかった。

以上の結果から、親動物および胎仔に対する最大無作用量はおのこの50および125mg/kg/dayであり、最高投与量である125mg/kg/dayにおいても胎仔に対する催奇形性を示さないものと判断された。(IRDC, 1990年)

変異原性試験

1. 復帰変異試験 (Ames test)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA1537, TA98株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2 *uvrA*株) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Amesらの方法により復帰変異性を検討した。イマゾスルフロンの用量はS-9Mixの存在下および非存在下ともに0, 313, 625, 1250, 2500および5000 μ g/plateとした。なお、溶媒にはDMSOを用いた。S-9Mixの有無にかかわらず、イマゾスルフロンの最高用量である5000 μ g/plateにおいても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照物質として用いたAF-2, NaN_3 およびICR-191ではS-9Mixの非存在下、また2AAではS-9Mixの存在下ですべての検定菌株で明らかに復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、イマゾスルフロンには復帰変異誘発性はないものと判断された。

(化学品検査協会, 1988年)

2. 細菌を用いたDNA修復試験 (Rec-assay)

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、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で孢子法によりDNAの損傷の誘発性を検定した。イマゾスルフロンの用量はS-9Mixの有無にかかわらず0, 37.5, 75, 150, 300および600 μ g/diskとした。なお、溶媒にはDMSOを用いた。

S-9Mixの有無にかかわらず、両菌株に対する生育阻止は認められなかった。一方、陽性対照物質であるAF-2および2AAでは両菌株に明らかな生育阻止の差が生じた。

以上の結果より、イマゾスルフロンにはDNA損傷の誘発性はないものと判断された。

(化学品検査協会, 1988年)

3. チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL) を用いたin vitro染色体異常試験

継代培養したチャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (CHL) を用いて、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下でイマゾスルフロンによる染色体異常、すなわち染色体または染色分体にみられる構造的異常 (ギャップ, 切断, 交換型異常, 非特定型) および数的異常 (倍数体, 核内倍化) を計測した。

イマゾスルフロンの50%細胞増殖抑制濃度は、直接法24および48時間処理ではおのこの500および300 μ g/mlであり、代謝活性化法では500 μ g/mlでほとんど細胞毒性が認められなかった。また、染色体異常の観察に必要な分裂細胞数の得られる濃度を検討し、本試験では直接法および代謝活性化法ともに500 μ g/mlを最高濃度とした。

直接法では500 μ g/mlの濃度で偽陽性と判断されたが、確認試験で再現性が認められず

偶発的なものと判断された。一方、陽性対照物質のマイトマイシンCでは明らかな染色体異常が発現した。またいずれの処理群においても倍数体の出現は認められなかった。代謝活性化法ではギャップを含む染色体の構造異常を有する出現率は5%以下、倍数体の出現もみられず、染色体異常の誘発は認められなかった。一方、陽性対照物質のシクロホスファミドでは明らかな染色体異常の発現が認められた。

以上の結果より、イマゾスルフロンには染色体異常誘発はないものと判断された。(化学品検査協会, 1988年)

生体機能への影響に関する試験

1. 中枢神経系に対する作用

1) 0.5%CMC-Na水溶液に懸濁したイマゾスルフロン0, 1000, 3000および10,000mg/kg, または陽性対照物質であるクロルプロマジン10mg/kg(蒸留水中に溶解)を経口投与した後, 30, 60, 120, 180, 240, 300, 360分および24時間後に傾斜したスリガラス板上に乗せ, 10秒以内に落下するか否かを観察した。

1000mg/kg投与動物にはスリガラス板上からの落下はなかった。3000mg/kg投与群では投与240分後に, 10,000mg/kg投与群では投与後180~300分の間に落下動物数の統計学的に有意な増加が認められたが, 360分以後回復した。一方, クロルプロマジンには有意な作用が認められた。

2) 0.5%CMC-Na水溶液に懸濁したイマゾスルフロンの1000, 3000および10,000mg/kg, また陽性対照物質であるクロルプロマジン10mg/kg(蒸留水中に溶解)を経口投与した後, 30, 60, 120, 180, 240, 360分および24時間に回転棒状に乗せ, 1分以内に落下するか否かを観察した。

イマゾスルフロン1000mg/kg投与群では落下動物数の有意な増加は認められなかった。3000および10,000mg/kg/day投与群では投与60分以後, 落下動物数の統計学的に有意な増加が認められた。しかし24時間後においてはいずれの投与群の動物も正常に回復した。一方, クロルプロマジン投与群では落下動物数が有意に増加した。

3) 0.5%CMC-Na水溶液にイマゾスルフロン100, 300および1000mg/kg, または陽性対照物質であるクロルプロマジン10mg/kg(蒸留水中に溶解)を経口投与し, 120分後にヘキソバルビタールナトリウム75mg/kgを腹腔内投与して, 正向反射の消失から回復までの時間を測定した。イマゾスルフロンの300および1000mg/kg投与により睡眠時間の有意な延長が認められた。

2. 呼吸・循環器系に対する作用

ペントバルビタールナトリウム30mg/kgを静脈内投与した後, 背位に固定したイヌに対して0.5%CMC添加生理食塩液に懸濁したイマゾスルフロン5000mg/kgを腹腔内投与し, 投与300分後まで呼吸数, 心拍数, 平均血圧および血流量を測定した。イマゾスルフロン5000mg/kg投与により血圧の上昇および血流量の減少が認められた。

3. 自律神経系に対する作用

ウレタン1.5g/kgを腹腔内投与により麻酔して, 背位に固定したネコの上頸交感神経節前腺維および迷走神経を剥離切断後, 刺激電極を設置し, ノルエピネフリン, 塩化アセチルコリン投与あるいは電気刺激によって惹起される瞬膜, 血圧および心拍数の変化に対する

イマゾスルフロンの影響を調べるため、0.5%CMC Na添加生理食塩液に懸濁したイマゾスルフロン10,000mg/kgを腹腔内投与し、3時間観察した。陽性対照物質としては臭化ヘキサメトニウム2mg/kgを静脈内注入により1時間後まで観察した。

イマゾスルフロンは迷走神経刺激による降圧反応を増強し、血圧レベルを低下させた。また、アセチルコリン投与による降圧反応を抑制した。一方、臭化ヘキサメトニウム投与群では上頸交感神経節前腺維刺激による瞬膜収縮は抑制され、迷走神経刺激による降圧反応および心拍数を抑制した。

4. 消化器系に対する作用

0.5%CMC-Na水溶液に懸濁したイマゾスルフロン0, 100, 300, 1000, 3000および10,000mg/kgまたは陽性対照物質である硫酸アトロピン10mg/kg（蒸留水に溶解）を1群雄10~11匹のICR系マウスにおのおの経口投与し、イマゾスルフロン投与120分後あるいは硫酸アトロピン投与20分後に10%アラビアゴム水溶液に懸濁した5%炭素末を1匹当り0.2ml経口投与した。炭素末投与20分後に屠殺して胃幽門部から炭素末到達先端までの距離を測定し、小腸の全長に対する割合を移動率として求めた。

イマゾスルフロン10,000mg/kg投与により腸管輸送能の抑制が認められた。なお、硫酸アトロピンでも有意な抑制が認められた。

5. 骨格筋に対する作用

ウレタン1.5g/kgを腹腔内投与により麻酔したラットの左側坐骨神経-腓腹筋標本を作製し、切断した坐骨神経末梢側に刺激電極を設置した。電気刺激により誘発される腓腹筋のれん縮に対するイマゾスルフロンの影響を調べるため、0.5%CMC添加生理食塩液中に懸濁したイマゾスルフロン5000mg/kgを腹腔内投与し、180分間観察した。なお、対照群には溶媒のみ、陽性対照群にはd-ツボクラリンを投与した。

イマゾスルフロン5000mg/kg投与によって腓腹筋のれん縮に影響は認められなかった。一方、d-ツボクラリン投与によって腓腹筋のれん縮が明らかに抑制された。

6. 血液凝固に対する作用

0.5%CMC水溶液に懸濁したイマゾスルフロン0, 1000, 3000および10,000mg/kgあるいは対照溶媒を1群雄7~8匹のWistar系ラットに経口投与し、60分後に腹大動脈から採血した。直ちに遠心分離した血漿のプロトロンビン時間、活性部分トロンボプラスチン時間およびフィブリノーゲン量を測定した。

イマゾスルフロン経口投与による血液凝固能に対する影響は何ら認められなかった。

（臨床医科学研究所，1989，1991年）

要 約

イマゾスルフロンの安全性を評価するため各種毒性試験を実施した。その結果、原体および製剤の急性毒性は低く、普通物に該当する。

また眼および皮膚における刺激性、および皮膚感作性はまったく認められなかった。

亜急性毒性、慢性毒性および発がん性試験ではイヌにおいて甲状腺の肥大が認められ、ラットおよびマウスでは高用量群で小葉中心性肝細胞肥大が認められたが、これらは大量投与による肝臓の代謝亢進のためと考えられた。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。

また繁殖試験において繁殖能に対する影響は認められず，催奇形性試験において胎仔毒性および催奇形性の誘発はともに認められなかった．

変異原性は復帰変異試験，DNA修復試験および染色体異常試験でいずれも陰性であった．

薬理試験において，イマゾスルフロンの大量投与により，中枢神経系に対し抑制作用を示したが，きわめて大量の投与による非特異的作用と考えられ，通常の使用では本剤による中毒は発現しないと判断する．

イマゾスルフロンは平成5年4月28日付で農薬登録された．

問合せ

武田薬品工業株式会社アクロ事業部農薬開発部開発第三グループ

〒103 東京都中央区日本橋2-13-10