

技術情報

アイオキシニルの毒性試験の概要

塩野義製薬株式会社植物薬品開発部

(平成3年2月20日受理)

薬剤の概要

アイオキシニルは1963年に英国メイ・アンド・ベイカー社において発見された接触型のニトリル系除草剤である。本剤は生育期の広葉雑草に対する活性が高く、イネ科・ユリ科植物に対する活性は非常に低いという明確な選択性を有する。また土壤に強く吸着され分解も速いため、土壤を通して植物に影響を及ぼすことはない。本剤の殺草活性は、莖葉からの吸収後電子伝達系に作用し、光合成および呼吸を阻害することにより発現される。

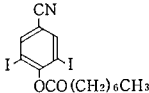
本剤の化学構造および物理化学的性質を以下に示す。

一般名: アイオキシニル, Ioxynil (日本)

アイオキシニルオクタノエート, Ioxynil octanoate (ISO)

化学名: 3,5-diiodo-4-octanoyloxybenzotrile

構造式:



分子式: $C_{16}H_{17}I_2NO_2$

分子量: 497.13

性状: 白色結晶

融点: 53~55°C

溶解度 (g/l): 水 6.2×10^{-6} , エタノール 80, メタノール 90, アセトン 100, キシレン 500

蒸気圧: 4.1×10^{-8} mmHg (25°C)

分配係数 (n -オクタノール/水): 4.5 (log P)

急性毒性試験

アイオキシニルオクタノエート (以下アイオキシニルとする) 原体, 乳剤および水和剤の各種急性毒性試験の結果を表1に示す。

表1 アイオキシニルの急性毒性試験成績

検体	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg) または LC ₅₀ (mg/l)	
原体	経口 ^{a)}	ラット	♂430.1 ♀384.9	
		マウス	♂481.9 ♀509.0	
	経皮 ^{b)}	マウス	♂3200	
30%乳剤	経口 ^{c)}	ラット	♂400 ♀419	
		マウス	♂526 ♀542	
	経皮 ^{e)}	ラット	♂♀>2000	
	吸入 ^{e)}	ラット	アイオキシニルとして ♂♀>2.4 (4時間 LC ₅₀)	
	6%水和剤	経口 ^{d)}	ラット	♂2745 ♀3368
マウス			♂♀>11,250	
		経皮 ^{d)}	ラット	♂♀>2000

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

1) 30%乳剤のウサギにおける眼一次刺激性試験^{e), e)}

30%乳剤の原液または脱イオン水を用いた230倍希釈液各0.1 mlを、それぞれ雌雄各3匹のNew Zealand白色種ウサギの片眼に投与し、刺激性変化(角膜混濁、虹彩充血・腫脹、結膜発赤・浮腫)を原液は投与後21日間、230倍希釈液は72時間観察した(非洗眼群)。また原液を別の雄2匹雌1匹のウサギの片眼に投与し、投与2~3分後に洗眼し、21日間同様に観察した(洗眼群)。無処置眼を対照とした。

その結果、原液では投与後1時間目から洗眼・非洗眼群とも全例の処置眼に高度の刺激性変化が認められ、結膜の刺激性が特に顕著であった。これらの刺激性変化は全例とも21日目も回復しなかった。また洗眼効果も認められなかった。しかし、230倍希釈液では刺激性変化は全く認められなかった。

2) 6%水和剤のウサギにおける眼一次刺激性試験^{d)}

6%水和剤の原液または蒸留水を用いた80倍希釈液各0.1mlを、それぞれ雄6匹(非洗眼群)または雄3匹(洗眼群)のNew Zealand白色種ウサギの片眼に投与し、刺激性変化を原液は投与後7日間、80倍希釈液は72時間観察した。洗眼群は投与3分後に洗眼した。無処置眼を対照とした。

その結果、原液では投与後1時間目から洗眼・非洗眼群とも全例の結膜に非常に軽度の刺激性変化が認められたが、7日目にはすべて消失した。80倍希釈液では両群とも刺激性変化はほとんど認められなかった。

2. 皮膚一次刺激性試験

1) 30%乳剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験^{e,e)}

30%乳剤の原液または脱イオン水を用いた230倍希釈液各0.5mlを、それぞれ雌雄各3匹のNew Zealand白色種ウサギの剪毛した背部の無傷および擦過皮膚各1か所に4時間閉塞貼付した。処置部位の刺激性変化(紅斑・痂皮、浮腫)を、原液は貼付終了後14日間、230倍希釈液は72時間観察した。

その結果、原液では貼付終了後30分目から全例の無傷・擦過両部位に中等度の刺激性変化が認められ、14日目も回復しなかった。しかし230倍希釈液では刺激性変化は全く認められなかった。

2) 6%水和剤のウサギにおける皮膚一次刺激性試験^{d)}

6%水和剤の原液または蒸留水を用いた80倍希釈液各0.5mlを、それぞれ雄6匹のNew Zealand白色種ウサギの脱毛した背部の無傷および擦過皮膚各1か所に4時間閉塞貼付した。処置部位の刺激性変化を、貼付終了後72時間観察した。

その結果、原液、80倍希釈液ともいずれの処置部位にも刺激性変化は全く認められなかった。

皮膚感作性試験

1. 30%乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験^{f)}

雌20匹のHartley系モルモットを用いて、Maximization法により試験を行なった。感作処置として、各動物の剪毛した肩甲骨上に以下の3種の調製液各0.1mlを2か所ずつ計6か所に皮内注射し、その7日後に同部位に脱イオン水を用いた検体の90%希釈液を48時間閉塞貼付した。

①フロインドの完全アジュバントと滅菌水の等容量混合液(FCA調製液)

②生理食塩液中0.5%の検体

③FCA調整液中0.5%の検体

惹起処置は、感作皮内注射後21日目に、各動物の剪毛した腹側部に脱イオン水を用いた検体の75%希釈液を24時間閉塞貼付することにより行なった。惹起処置部位の皮膚反応(紅斑・痂皮、浮腫)を、惹起貼付終了後24および48時間目に観察した。

その結果、30%乳剤では惹起処置部位に皮膚反応は全く認められず、感作性は陰性であった。

2. 6%水和剤のモルモットにおける皮膚感作性試験^{d)}

雄20匹のHartley系モルモットを用いて、Landsteiner-Draize法により試験を行なった。感作処置として、各動物の剪毛した背部から腹側部に、生理食塩液を用いた検体の0.5%希釈液を1回目は0.05ml、2~10回目は0.1mlずつ、2~3日ごとに3週間にわたって計10回皮内注射した。惹起処置として、最終感作処置後2週間目に、感作処置部位とは別の剪毛した腹側部に感作時と同じ調製液0.05mlを1回皮内注射した。処置部位の皮膚反応を各回の感作処置後24時間目、惹起処置後24および48時間目に観察した。

その結果、6%水和剤では7回目から最終回の感作処置後8~13例に非常に軽度の紅斑が認められ、惹起処置に対しては15例に、感作時より顕著な紅斑が認められたため、感作性は陽性であった。

亜急性毒性試験

1. ラットおよびマウスにおける亜急性経口毒性試験^{f)}

アイオキシニルを0, 2.5, 5, 10および20mg/kg/日の用量で、1群雌雄各10匹のWistar系ラットまたはdd系マウスに14週間混餌投与した。

その結果、ラットでは10および20mg/kg群に体重増加の抑制、アルカリホスファターゼの上昇、肝臓および腎臓重量の増加、肝臓の脂肪変性の発生頻度の上昇が認められた。マウスでは10および20mg/kg群に肝臓および肺重量の増加、肝臓の出血または門脈域のリンパ球浸潤および肺の出血・うっ血の発生頻度の上昇が認められた。したがって最大無作用量はラット、マウスとも5mg/kg/日であると判断された。

慢性毒性/発がん性試験

1. ラットにおける慢性毒性/発がん性試験^{g)}

アイオキシニルを0, 2, 10, 50および500ppmの濃度で、1群雌雄各76匹(中間屠殺群を含む)のFischer 344系ラットに24か月間混餌投与した。投与開始後3か

月目に各群雌雄6匹ずつ、投与開始後6、12か月目に各群雌雄8匹ずつを中間屠殺した。

その結果、500 ppm 群雌雄に死亡率および脱毛の発生頻度の上昇、体重増加の抑制、アルカリホスファターゼの上昇、肝臓重量の増加、肝細胞腫大および甲状腺のろ胞上皮過形成の発生頻度の上昇、50 ppm 群雌に脱毛の発生頻度の上昇が認められた。したがって最大無作用量は雄が50 ppm(2.12 mg/kg/日)、雌が10 ppm(0.55 mg/kg/日)であると判断された。発がん性は認められなかった。

2. マウスにおける慢性毒性試験³⁾

アイオキシニルを0、1.25、2.5、5および10 mg/kg/日の用量で、1群雌雄各30匹(中間屠殺群を含む)のdd系マウスに18か月間混餌投与した。投与開始後12か月目に各群雌雄10匹ずつを中間屠殺した。

その結果、2.5 mg/kg 以上の投与群に肝臓の膿瘍および腸間膜リンパ節の肥大・腫脹の発生頻度の上昇が認められた。したがって最大無作用量は1.25 mg/kg/日であると判断された。

繁殖/催奇形性試験

1. マウスにおける2世代繁殖/催奇形性併合試験⁴⁾

アイオキシニルを0、2.5および100 ppmの濃度で、1群雌雄各32~56匹のCH₃系マウスに、F₀世代は5週齢時から29週間、F₁世代は離乳時から31週間混餌投与し、繁殖性に対する影響を調べた。F₀、F₁世代とも2回の交配試験を行ない、F₀世代の第2産仔の中からF₁世代の親動物を選抜した。またF₀およびF₁世代親動物の雌のうち各群の約1/4例を2回目の妊娠18日に屠殺して帝王切開し、催奇形性について調べた。

その結果、F₀、F₁世代とも100 ppm群において、親動物に肝臓および腎臓重量の増加、哺育仔に成長抑制とそれに伴う性成熟期の遅延が認められたが、離乳後の体重増加は抑制されず、繁殖に関する指標に対する影響および催奇形性は認められなかった。したがって繁殖および催奇形性に関する最大無作用量は100 ppm(20 mg/kg/日)以上であると判断された。

2. ウサギにおける催奇形性試験⁴⁾

アイオキシニルを0、25、50および100 mg/kg/日の用量で、1群16匹のNew Zealand 白色種妊娠ウサギに、妊娠6日から18日までの13日間、毎日強制経口投与した。

その結果、100 mg/kg 群の親動物に体重増加の抑制、摂餌量および飲水量の減少が認められた。同群ではこれらの母獣毒性に付随して胎仔の発育遅延を示すと考えられる中手骨の骨化数の減少が認められたが、その他の変

異および奇形胎仔の発生頻度の上昇は認められなかった。したがって親動物および胎仔に関する最大無作用量は50 mg/kg/日であると判断され、100 mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

変異原性試験

1. 細菌を用いた復帰変異試験¹⁾

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌5株およびトリプトファン要求性の大腸菌1株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下で、Amesらの方法により復帰変異誘発性を検定した。

その結果、直接法、代謝活性化法とも最高濃度(1000 μg/プレート)においても、溶媒対照に比し復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。したがってアイオキシニルは復帰変異を誘発しないと判断された。

2. マウスにおける宿主経路試験¹⁾

アイオキシニルを0、30および75 mg/kg/回の用量で、1群雄6匹のICR系マウスに24時間間隔で2回強制経口投与した。最終投与直後にヒスチジン要求性のサルモネラ菌G46株を腹腔内に投与し、その3時間後に動物を屠殺して腹腔内菌液を回収し、復帰変異菌数および生存菌数を測定した。

その結果、全投与群とも溶媒対照群に比し突然変異頻度(生存菌数に対する復帰変異菌数の比)の上昇は認められなかった。したがってアイオキシニルの宿主経路試験における変異原性は陰性であると判断された。

3. *In vitro* 染色体異常試験⁴⁾

チャイニーズハムスター肺由来培養細胞(CHL)に対する染色体異常誘発性を、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下で検定した。細胞分裂が50%抑制される濃度を最高濃度とした。

その結果、直接法では最高濃度(60 μM)においても染色体異常を有する細胞の出現頻度の上昇は認められなかった。代謝活性化法では最高濃度(1000 μM)で倍数性異常を有する細胞の出現頻度が上昇し、濃度依存性も認められた。しかし、1000 μMでの出現頻度は背景データに比し著しく高いとは言えなかった。また250 μMで構造異常を有する細胞の出現頻度が上昇したが、濃度依存性は認められなかった。したがってアイオキシニルの*in vitro* 染色体異常試験における変異原性は直接法では陰性、代謝活性化法では疑陽性であると判断された。

4. マウスにおける小核試験¹⁾

アイオキシニルを1群雄5匹のICR系マウスに、0、

50, 100 および 200 mg/kg の用量で1回腹腔内投与,あるいは0, 12.5, 25 および 50 mg/kg/日の用量で4日間連続腹腔内投与した。1回投与後72時間目,あるいは連続投与の最終投与後24時間目に動物を屠殺し,骨髄細胞における小核誘発性を検定した。

その結果,1回投与,4回投与のいずれの場合も,小核を有する多染性赤血球出現頻度の用量依存性のある上昇は認められず,骨髄細胞の増殖抑制も認められなかった。したがってアイオキシニルは小核誘発性および骨髄細胞に対する毒性を有さないと判断された。

5. 細菌を用いた DNA 修復試験¹⁾

枯草菌の組換え修復機構保持株と欠損株を用い,賀田らの Rec-assay 法により DNA 損傷の誘発性を検定した。

その結果,最高濃度(2000 µg/disk)においても両株間に生育阻止の差は認められず,アイオキシニルは DNA 損傷を誘発しないと判断された。

生体機能に及ぼす影響試験

1. 薬理試験^{1),2)}

ラット,マウス,ウサギ,ネコ,モルモットの生体あるいは摘出標本を用いて,アイオキシニルの中枢神経系,呼吸・循環器系,自律神経系および平滑筋,消化器,骨格筋,血液凝固に対する作用を調べた。また本剤はシアン基を有する化合物であることから,ウサギの生体を用いて静脈血の色調の変化および溶血作用の有無を調べた。

その結果,経口 LD₅₀ 値の約 1/4 に相当する 100 mg/kg の経口投与により,中枢神経系に対する作用として,ラットに軽度の動作緩慢,呼吸促迫状態および体重増加の抑制が認められた。また骨格筋に対する作用として,*in vitro* で,溶解限度の 1×10^{-5} g/ml でのみ,ラット横隔膜の筋自体の収縮および収縮抑制作用が認められた。しかし,呼吸・循環器系,自律神経系および平滑筋,消化器,血液凝固に対する作用は認められなかった。また最大耐量に相当する 500 mg/kg を経口投与したウサギにおいても,静脈血がシアン中毒特有の鮮紅色を呈することはなく,溶血作用も認められなかった。

2. 解毒効果試験¹⁾

アイオキシニルを経口 LD₅₀ 値に相当する 600 mg/kg の用量でラットに単回強制経口投与し,中毒症状(腹臥姿勢および呼吸促迫)が発現した時点で,シアン中毒の解毒薬である亜硝酸ナトリウムおよびチオ硫酸ナトリウムを投与し解毒効果を調べた。

その結果,いずれの解毒薬処置によっても死亡は阻止されず,中毒症状の改善も認められなかった。したがっ

てアイオキシニルによる中毒症状および死亡はシアン中毒によるものではないということが確認された。

要 約

アイオキシニルの安全性評価のための各種毒性試験を実施した。

本剤は原体,乳剤,水和剤とも劇物に指定されている。ウサギにおいて乳剤では高度の眼刺激性および中等度の皮膚刺激性,水和剤では非常に軽度の眼刺激性が認められたが,両製剤とも実使用濃度希釈液では眼・皮膚刺激性は認められなかった。また水和剤ではモルモットにおける皮膚感作性が陽性であった。

亜急性毒性試験,慢性毒性/発がん性試験では,中間・高用量群においてラットおよびマウス肝障害,ラットに体重増加の抑制,脱毛および甲状腺る胞上皮過形成の発生頻度の上昇が認められたが,発がん性は認められなかった。

マウスにおける2世代繁殖/催奇形性併合試験,ウサギにおける催奇形性試験では,繁殖に及ぼす影響も催奇形性も認められなかった。

変異原性に関しては,*in vitro* 染色体異常試験の代謝活性化法の場合のみ疑陽性と判定されたが,小核試験を始めその他の変異原性試験の結果はすべて陰性であった。

薬理試験では特異的な薬理作用は認められなかった。

アイオキシニルは昭和42年,30%乳剤の麦類で初回登録を取得し,その後トウモロコシ,バレイシヨ,タマネギ,リンゴおよび公園・庭園等に順次適用拡大を行なった。さらに平成元年には芝専用剤である6%水和剤の登録を取得した。

アイオキシニルの登録保留基準値は,麦・雑穀,果実,野菜,イモ類についてのおおの0.1 ppmと設定されている。

アイオキシニル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,有用な農業資材の一つとして上市以来好評を得ている。

問合せ

塩野義製薬株式会社植物薬品開発部

〒541 大阪市中央区道修町 3-1-8

試験機関および報告年

^{a)} 徳島文理大学, 徳島大学, 徳島実験動物研究所, 1975年

^{b)} 東京歯科大学, 1966年

-
- c) International Research and Development Corporation, 1989 年
 - d) 環境保健生物研究センター, 1987 年
 - e) International Research and Development Corporation, 1990 年
 - f) 徳島文理大学, 徳島大学, 徳島実験動物研究所, 1972 年
 - g) 日本生物科学研究所, 残留農薬研究所, 1985 年
 - h) 塩野義製薬株式会社研究所, 1975 年
 - i) 残留農薬研究所, 1976 年
 - j) 環境保健生物研究センター, 1988 年
 - k) 環境保健生物研究センター, 1986 年
 - l) 環境保健生物研究センター, 1990 年