

技術情報

メフェナセットの毒性試験の概要

日本特殊農薬製造株式会社開発本部技術部

(昭和63年8月20日受理)

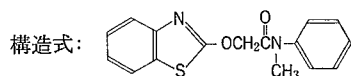
薬剤の概要

メフェナセットは西ドイツのバイエル社で合成され、バイエル社および日本特殊農薬製造(株)で開発された新規水田用除草剤である。本剤はアセトアニリドを基本構造にもち、ノビエを始めとする多くの水田雑草に対してきわめて高い除草効果を発揮する。本剤は昭和55年より全国規模の実用性評価試験を開始し、多くの水田雑草に対する卓越した殺草効果と移植水稲への安全性が確認された。

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: メフェナセット mefenacet

化学名: 2-benzothiazol-2-yloxy-N-methylacetanilide



分子式: C₁₆H₁₄N₂O₂S

分子量: 298.36

外観: 白色結晶

融点: 134.8°C

蒸気圧: 4.8 × 10⁻¹¹ mmHg (20°C)

分配係数(オクタノール/水): log P_{o/w} = 3.23

溶解度(g/l, 20°C): 水 0.004, ヘキサン 0.1~1.0, トルエン 20~50, アセトン 60~100, アセトニトリル 30~60

安定性: 熱に対して安定, 光, 酸・アルカリ性には通常の条件下で安定

急性毒性試験

メフェナセットのラットとマウスにおける経口, 経皮, 腹腔内, 皮下および吸入の各投与経路による急性毒性試験の結果を以下に示した。

ラット, マウスともにいずれの投与経路でも死亡あるいは中毒症状はみられなかった。剖検において, マウスでは異常所見が認められなかったが, ラットでは経口お

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)
ラット	経口	♂	>5000	昭和大学歯学部・ 日本特殊農薬製 造(株)農薬研究所 (1980年)
		♀	>5000	
	経皮	♂	>5000	
		♀	>5000	
腹腔内	♂	>1000		
	♀	>1000		
皮下	♂	>1000		
	♀	>1000		
マウス	経口	♂	>5000	日本特殊農薬製 造(株)農薬研究所 (1981年)
		♀	>5000	
	経皮	♂	>5000	
		♀	>5000	
腹腔内	♂	>1000		
	♀	>1000		
皮下	♂	>1000		
	♀	>1000		
ラット	吸入 ^{a)}	♂	>94.5 mg/m ³	
		♀	>94.5 mg/m ³	

^{a)} LC₅₀ 値 (4時間暴露)。

より腹腔内投与の高薬量群で脾の腫脹, 黒色化が観察された。

特殊試験 (赤血球ヘモグロビンへの作用)

試験機関: 日本特殊農薬製造(株)農薬研究所

方法: メフェナセットをラット (投与量: 50, 150, 500, 5000 mg/kg), マウス (150, 500, 5000 mg/kg) とウサギ (500, 5000 mg/kg) に強制経口投与後, 経時的に採血してメトヘモグロビンおよびスルフヘモグロビン濃度を測定した。また, ハインツ小体の有無を観察した。

結果: メトヘモグロビン形成はラットで 150 mg/kg 以上, マウスで 500 mg/kg 以上で明らかに認められた。スル

フヘモグロビンの形成は、マウスの 5000 mg/kg で認め、その形成濃度の最大値は 2.2% であった。一方、ラット、ウサギではほとんどその形成はみられなかった。ハインツ小体はラットおよびマウスの 5000 mg/kg でみられたが、ウサギでは観察されなかった。

以上のごとく、メフェナセットはメトヘモグロビンおよびスルフヘモグロビン形成作用を有することがラットとマウスで観察された(1982年)。

一次刺激性試験

試験機関： 日本特殊農薬製造(株)農薬研究所

1. 眼一次刺激性試験

方法： メフェナセット原体 50 mg を 12 匹のウサギの左眼に強制開眼して投与し、その後微温湯で洗浄した洗浄眼群 6 匹と無洗浄眼群 6 匹に分けて、角膜、結膜、虹彩の症状を 72 時間観察した。右眼は無処理対照眼とした。

結果： 虹彩紋理の一過性の充血と結膜の軽い炎症等が洗浄眼、無洗浄眼群ともに認められた。しかし、これらの症状はいずれも粉末異物による刺激と考えられ、本薬物による特異的な変化ではなかった。虹彩紋理の充血は投与後 24 時間以内に、結膜の炎症は 72 時間以内に消失した(1982年)。

2. 皮膚一次刺激性試験

方法： ウサギの側腹部皮膚を用い、正常皮膚と損傷皮膚を設定して、メフェナセット原体 100 mg を 6 および 24 時間貼付し、皮膚の状態を Draize の評価表に従い薬剤除去後 24, 72 時間目に評価した。

結果： 損傷皮膚では 6 時間および 24 時間貼付でそれぞれ薬剤除去 24 時間目に軽微発赤が認められたが、72 時間後にはすべて消失した。正常皮膚では刺激性は認められなかった。

以上より、本剤はウサギの皮膚に対してきわめて軽微な刺激性を示した(1982年)。

皮膚感作性試験

試験機関： 日本特殊農薬製造(株)農薬研究所

方法： メフェナセットの 0.5 と 1.0% 試験溶液を調製し、雌モルモットに対し注射感作を行なった。注射感作は 1 週間のうちに試験溶液 0.1 ml を各動物当り 3 回注射し、最終注射 2 週間後に皮内注射惹起と貼付惹起を行なった。皮内注射惹起は 0.005~0.5% の 6 濃度の試験溶液 0.05 ml を側腹部に投与濃度ごとに部位を変えながら実施した。貼付惹起は背部剪毛部を損傷皮膚と正常皮膚に分け、1.0, 5.0 と 10% の試験溶液 0.1 ml を 24

時間閉塞貼付した。皮内注射惹起では投与 48 時間後に、貼付惹起では貼付 24, 48 時間後に肉眼判定を行なった。

結果： メフェナセットの注射感作後、皮内注射惹起によるツベルクリン型アレルギー反応および 24 時間閉塞貼付惹起による接触皮膚炎型アレルギー反応とも認められなかった。

したがって、メフェナセットには皮膚感作性はないものと判断された(1982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

試験機関： 聖マリアンナ医科大学、日本特殊農薬製造(株)農薬研究所

方法： メフェナセットを 0, 50, 200, 800 および 3200 ppm の濃度で含有する飼料を 1 群雌雄各 20 匹の Fischer 系ラットに 3 か月間摂取させた。

結果： 全群ともに一般状態に異常は認められず、死亡例もなかった。体重および飼料摂取量では、雄の 3200 ppm 群で飼料摂取量の低下に伴っての体重増加の抑制が試験前半に一過性に認められた。尿検査において、3200 ppm 群の雄で 1, 3 か月目に、雌では 3 か月目にウロビリノーゲン陽性を示す個体が認められた。血液学的検査では、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量や赤血球数の減少と網状赤血球数、メトヘモグロビン量の増加が雌雄とも 200 ppm 以上で用量相関的にみられた。さらに赤血球形態においても雌雄の 800 ppm 以上の投与群で塩基性斑点や幼若赤血球の出現をみた。これらの赤血球に関連した所見より、メフェナセットが貧血を誘発していることが示唆された。血液生化学的検査では薬剤投与に起因した変化は認められなかった。剖検および臓器重量では、200 ppm 以上の投与群雌雄で脾の暗赤色化、800 ppm 以上の投与群雌雄で脾重量の増加と 3200 ppm 群雌雄で脾の腫大が認められた。また、3200 ppm 群の雌雄で肝重量の増加と雌では肝の黄褐色化がみられた。さらに、腎の帯緑色化が雌では 3200 ppm、雌では 800 ppm 以上で認められ、雌の 3200 ppm 群では腎の比重量の増加も認められた。病理組織学的検査では、雌雄とも 200 ppm 以上の投与群で脾および骨髄に貧血に関連した種々の組織学的変化が認められた。また、雌雄高用量群の肝および腎に血色素由来と考えられる色素の沈着が認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 50 ppm (雄 2.89 mg/kg/日、雌 3.27 mg/kg/日) であった(1981年)。

2. イヌを用いた13週間亜急性毒性試験

試験機関: バイエル社 (西ドイツ)

方法: メフェナセトを0, 25, 250 および 2500 ppmの濃度で含有する飼料を1群雌雄6匹のビーグル犬に13週間摂取させた。

結果: 全群ともに一般状態に異常はみられず、死亡例もなかった。飼料摂取量、体重、眼検査、体温、脈拍および神経学的検査において薬剤に起因した影響はみられなかった。血液学的検査では、2500 ppm群で赤血球数、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の減少、網状赤血球数および血小板数の増加、また赤血球にはハインツ小体の高頻度の出現と大小不同性等の変化も認められた。血液生化学的検査および尿検査では検体に起因する変動は認められなかった。剖検所見および臓器重量において、2500 ppm群で骨髄の色調変化、脾と肝の重量増加がみられた。病理組織学的検査では、2500 ppm群で肝のクッパー細胞、脾の赤脾髄と腎の尿管管の色素沈着および骨髄の活性化と鉄結晶物の増加が認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 250 ppm (10.2 mg/kg/日) であった(1984年)。

慢性毒性試験

試験機関: 残留農薬研究所

1. ラットを用いた24か月慢性毒性試験

方法: メフェナセトを0, 10, 100 および 1000 ppmの濃度で含有する飼料を1群雌雄各80匹のFischer系ラットに24か月間摂取させた。このうち各群雌雄各8匹を26, 52, 78週時に中間屠殺した。

結果: 一般症状、死亡率、体重、飼料摂取量、尿検査および血液生化学的検査に関して、薬剤投与に起因する異常は認められなかった。1000 ppm群の雌雄において、血液学的検査で軽度ながら貧血を示唆する所見(赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少、MCVの増加)ならびにメトヘモグロビン濃度の増加が認められた。雌ではMCHの増加もみられた。また、剖検所見では脾の色調変化(黒色化、暗調化)の発生率が著明に増加し、臓器重量においても脾重量が増加した。病理組織学的検査では、これらの所見に対応して脾のうっ血、褐色色素沈着増加および髄外造血亢進が認められた。100 ppm以下の投与群では薬剤に起因した異常は認められなかった。腫瘍性病変においては、薬剤投与に関連すると思われる病変はみられず、催腫瘍性は認められなかった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 100 ppm (雄 3.65 mg/kg/日, 雌 4.53 mg/kg/日) であった(1985

年)。

2. マウスを用いた24か月慢性毒性試験

方法: メフェナセトを0, 30, 300 および 3000 ppmの濃度で含有する飼料を1群雌雄各80匹のICR系マウスに24か月間摂取させた。このうち各群雌雄各10匹を52週時に中間屠殺した。

結果: 一般症状、死亡率、飼料摂取量、食餌効率、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査および剖検所見に薬剤投与に起因した異常は認められなかった。3000 ppm群の雄において、腎重量の増加が糸球体のメサンギウム肥厚とのう胞形成の増加を伴い認められた。また、雌では試験初期から中期にかけて軽度ではあるが持続性の体重増加抑制が認められた。特定組織に増加した腫瘍性病変はなく、同一個体における重複腫瘍の発生頻度にも投与群と対照群に差はみられず、催腫瘍性は認められなかった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 300 ppm (雄 29.7 mg/kg/日, 雌 28.3 mg/kg/日) であった(1985年)。

繁殖および催奇形性試験

1. ラットを用いた2世代繁殖試験

試験機関: 動物繁殖研究所, 残留農薬研究所

方法: メフェナセトを0, 10, 100 および 1000 ppmの濃度で含有する飼料を1群雌雄各30匹のウィスター今道系ラットにF₀~F₂離乳後13週まで給餌した。F₀およびF₁世代とも2回の交配を行ない、第2産仔で継代し繁殖性に及ぼす影響を検討した。

結果: 親動物では1000 ppm群雌雄の各世代で体重増加抑制または抑制傾向、脾重量の増加および脾の色調変化(暗赤褐色化)がみられた。また、F₁世代の100 ppmと1000 ppm群の雌雄で組織学的に脾に軽度ないし中程度の褐色色素沈着が認められた。交尾率、妊娠率、妊孕率、妊娠期間等、生殖能力への影響は認められなかった。仔動物では、1000 ppm群のF₁世代で体重増加抑制がみられたが、そのほかでは薬剤投与に起因した異常は認められなかった。

以上の結果より、メフェナセトは最高濃度1000 ppmにおいても繁殖性に及ぼす影響は認められなかったが、一般毒性としての無影響量は10 ppmと判断された(1984年)。

2. ラットを用いた催奇形性試験

試験機関: 動物繁殖研究所, 残留農薬研究所

方法: メフェナセトの0, 40, 200 および 1000 mg/kgをラットの妊娠6日から15日までの10日間、毎日1

回強制経口投与した。膣栓または膣垢中に精子を認めた日を妊娠0日とした。妊娠21日目に母動物を屠殺し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

結果：1000 mg/kg 群の母動物で、投与期間中の飼料摂取量の低下と脾の暗赤色化と重量増加が認められた。脾の重量増加は200 mg/kg 群でも認められた。一般症状、死亡率、飲水量、体重には有意な変動は認められなかった。また、1000 mg/kg 群で胎仔死亡率の増加と胎仔体重の減少および仙尾椎の化骨遅延が認められた。本剤に起因する外表、骨格および内臓奇形は認められなかった。

以上より、メフェナセットは1000 mg/kg において母動物に軽度の中毒性変化を発現させ、胎仔死亡率を有意に増加させたが、催奇形性は認められなかった(1984年)。

3. ウサギを用いた催奇形性試験

試験機関：動物繁殖研究所、残留農薬研究所

方法：メフェナセットの0, 50, 200 および 800 mg/kg をウサギの妊娠6日から18日まで毎日1回強制経口投与した。交尾を行なった日を妊娠0日とした。妊娠28日目に母動物を屠殺して胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

結果：各投与群とも検体に起因した母動物の一般症状、体重および飼料摂取量の変化は認められなかった。死亡胎仔数、生存胎仔数、性比、胎仔体重および胎盤重量についても、検体に起因した変化はみられず、外表、骨格および内臓異常についても検体の影響は認められなかった。

以上より、メフェナセットはウサギに対し催奇形性はないものと判断された(1984年)。

変異原性試験

1. Rec-assay

試験機関：残留農薬研究所

方法：*Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いた rec-assay 法で DNA 損傷性を検定した。試験濃度は20~5000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ とした。

結果：メフェナセットは最高濃度5000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ においても両株にまったく生育阻止を認めなかったことより、メフェナセットのDNA損傷性はないものと判断された(1981年)。

2. 復帰変異原性試験

試験機関：残留農薬研究所

方法：ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* (TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538) およ

びトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP2 *hcr*⁻) を用い、Arochlor 1254 を1回腹腔内投与し、酵素誘導したラットの肝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らの方法により変異原性を検定した。試験濃度は10~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

結果：メフェナセットはS-9 Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株に対しても最高濃度5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で復帰変異コロニー数を増加させなかった。

以上より、メフェナセットは復帰変異原性はないものと判断された(1981年)。

3. 優性致死試験

試験機関：バイエル社(西ドイツ)

方法：1群50匹の雄マウスにメフェナセット10,000 mg/kg を1回経口投与した。投与後、1匹の雄に対し未交配の雌1匹を4日間同居させた。同居させる雌は4日ごとに新しく取り替え、これを12回連続して行なった。交配した雌は交配後約14日目に屠殺し、受精率、黄体数、着床数、生存胚数および死胚数等に対するメフェナセットの影響を検査した。

結果：突然変異誘発作用の評価に重要な指標(死胚数、生存胚数、着床数、着床前死胚数)に関し薬剤投与に起因した異常はみられず、メフェナセットによる優性致死突然変異性は認められなかった(1984年)。

4. 小核試験

試験機関：バイエル社(西ドイツ)

方法：メフェナセットの10,000 mg/kg を雌雄各15匹のNMRI系マウスに経口投与した。投与後24, 48, 72時間目にそれぞれ雌雄各5匹の動物を屠殺し、大腿骨の骨髓を摘出し、Schmidの方法により標本を作製し、各種赤血球の算定を行なった。

結果：メフェナセットの10,000 mg/kg 経口投与では、いずれの検査時とも小核を有する多染性赤血球の増加はみられず、突然変異誘発作用は認められなかった。また、多染性赤血球と正常性赤血球の比は正常値を示し、赤血球産生にも悪影響は認められなかった(1983年)。

薬理試験

試験機関：日本特殊農薬製造(株)農薬研究所

方法：メフェナセットの一般症状、中枢神経系、呼吸・循環系、自律神経系、肝・腎機能および血液凝固系に及ぼす影響についてラットおよびウサギを用いて検討した。なお、投与はすべて経口投与とした。

1) 一般症状—ラット(投与量：5000 mg/kg, 以下同様)の外徴、行動パターン、反応性および反射性をIRWIN法により検査した。

2) 中枢神経系—ラット (5000 mg/kg) およびウサギ (1000, 5000 mg/kg) の直腸温を測定した。また、回転カゴを用いてラット (1000, 5000 mg/kg) の自発運動量も測定した。

3) 呼吸・循環系—ラット (5000 mg/kg) とウサギ (5000 mg/kg) の呼吸数を測定した。また、ラット (1000, 5000 mg/kg) の血圧と心拍数を測定し、腹部大静脈より採血して血液ガス値 (酸素分圧, 溶存酸素, 酸素飽和度, pH) を測定した。ウサギ (1000, 5000 mg/kg) の心拍数も調べた。

4) 自律神経系—ウサギ (1000, 5000 mg/kg) の瞳孔径をノギスを用いて測定した。また、ラット (5000 mg/kg) にメフェナセット投与後、活性炭懸濁液を投与し、30分後に屠殺して小腸の全長 (A) と活性炭末到達距離 (B) を測定し、移動率 ($B \times 100/A$) を算出して、腸管輸送能を検討した。

5) 肝・腎機能および血液凝固系—ラット (5000 mg/kg) にメフェナセット投与後、BSP を尾静脈内に投与し、5分後に採血して血清中の BSP 量を測定し肝機能を検討した。また、ラット (1000, 5000 mg/kg) の尿検査をメフェナセット投与後6時間, 1, 3, 7日目に行ない、腎機能を検討した。ウサギ (5000 mg/kg) の耳静脈より採血して、血液凝固時間を測定した。

結果: 一般症状, 中枢神経系, 自律神経系, 肝および腎機能, 血液凝固系への検体への影響は認められなかった。5000 mg/kg 投与後に、ラットで酸素運搬能の低下 (酸素分圧, 溶存酸素, 酸素飽和度の低下または低下傾向) が示唆されたが、呼吸数や心拍数に影響が認められ

ないことから、呼吸・循環生理機能に影響を及ぼさないと思われた(1983年)。

要 約

各種毒性試験を実施し、メフェナセットの安全性評価を行なった。

メフェナセットのラットとマウスに対する急性毒性はきわめて低く、普通物に相当した。眼および皮膚に対する一次刺激性は軽度であり、感作性は認められなかった。亜急性毒性および慢性毒性において、高薬量群で貧血所見 (赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値の減少, 網状赤血球数の増加等) とそれに関連した脾の重量増加・色調変化および腫大等がみられたが、特殊試験により本剤はメトヘモグロビンとスルフヘモグロビン形成作用を有することが認められていることより、上記所見も本作用の結果と思われる。また、発癌性は認められなかった。繁殖性に及ぼす影響、催奇形性および変異原性は認められなかった。

メフェナセットは昭和61年10月に水稻の対象雑草に対し登録を取得し、登録保留基準値は、米; 0.1 ppm と設定された。

メフェナセットは定められた使用基準を遵守すれば、安全性が高い薬剤であり、農業資材の一つとして有用であると考えられる。

問合せ

日本特殊農薬製造株式会社開発本部技術部開発一課
〒103 東京都中央区日本橋本町 2-7-1