

技術情報

メトラクロールの毒性試験の概要

日本チバガイギー株式会社農薬本部営業開発部開発普及室登録課

(昭和63年11月20日受理)

薬剤の概要

メトラクロールは、昭和45年チバガイギー社(スイス)により創製、開発された α -位ハロゲン置換酸アミド系の畑作用選択性除草剤で、イネ科およびカヤツリグサ科雑草に卓効を示す薬剤である。

本剤は昭和50年より日本チバガイギー(株)の社内圃場にて生物効果、薬害等の試験を開始する一方、昭和52年より全国の農業試験場において一般畑作物および各種野菜を対象とした除草試験を開始し、その優れた除草効果ならびに高い作物安全性を確認した。

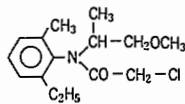
本剤に関し、現在登録されている製品には、芝生用のゲザトップD水和剤(昭和57年9月1日付登録)、畑作用のゲザノンフロアブル、デュアル乳剤、コダール細粒剤Fおよびコダール水和剤(以上4剤昭和62年10月21日付登録)がある。

本剤の化学構造および物理化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名: メトラクロール metolachlor

化学名: 2-chloro-2'-ethyl-*N*-(2-methoxy-1-methyl-ethyl)-6'-methylacetanilide

化学構造:



分子量: 283.80

外観: 無色透明の液体

比重: 1.12 (20°C)

沸点: 100°C (0.001 mmHg)

蒸気圧: 1.3×10^{-5} mmHg (20°C)

溶解度: 水 0.53 g/l (20°C), ジクロロメタン >200 g/l (20°C), その他メタノール, ヘキサンおよびベンゼンに易溶。

分配係数: $\log P=3.45$ (*n*-オクタノール/水)

急性毒性試験

メトラクロール原体およびその製剤のラット, マウスにおける各投与経路による急性毒性試験の結果を表に示した。

検体	動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)
ラット	ラット	経口	雄	3100	臨床医科学研究所 (1980年)
			雌	2200	
		経皮	雄	>4000	
			雌	>4000	
		皮下	雄	>9000	
			雌	>9000	
腹腔内	雄	830			
	雌	620			
原体	ラット	吸入 (4時間)	雄	>1750 mg/m ³	チバガイギー社, スイス (1974年)
			雌	>1750 mg/m ³	
マウス	マウス	経口	雄	1150	臨床医科学研究所 (1980年)
			雌	1170	
		皮下	雄	2400	
			雌	2700	
		腹腔内	雄	418	
			雌	410	
ラット	ラット	経口	雄	3725	臨床医科学研究所 (1986年)
			雌	3231	
		経皮	雄	>2000	
			雌	>2000	
45% 乳剤	マウス	吸入 (4時間)	雄	>2000 mg/m ³	チバガイギー社, スイス (1974年)
			雌	>2000 mg/m ³	
マウス	マウス	経口	雄	2327	臨床医科学研究所 (1986年)
			雌	1974	

刺激性および皮膚感作性試験

1. 眼一次刺激性試験

メトラクロール原体および45%乳剤の眼に対する一

次刺激性試験をロシア種雌雄ウサギ6匹を用いて実施した。右眼を対照眼、左眼を処理眼として各検体0.1mlを点眼し、3匹は30秒後に洗眼した。点眼1, 2, 3, 4および7日後に角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を観察し、Draize法により評価を行なった。

その結果原体では刺激性は認められなかったが、45%乳剤で軽度の刺激性が認められた。この刺激性変化は角膜および結膜におけるものでいずれも7日後までに消失した。また、洗眼例では角膜の変化はまったく認められず、結膜の変化も4日後までに消失した。

(チバガイギー社, スイス, 1973/1974年)

2. 皮膚一次刺激性試験

メトラクロール原体および45%乳剤の皮膚に対する一次刺激性試験をロシア種雌雄ウサギ6匹を用いて実施した。各検体0.5mlを2.5cm×2.5cmのガーゼにしみ込ませ、剃毛後の非擦過皮膚および擦過皮膚に貼付し、24時間後に除去した。貼付24および72時間後に紅斑、痂皮および浮腫を観察し、Draize法により評価を行なった。

その結果、原体および45%乳剤で軽度の刺激性が認められた。これらの刺激は擦過の有無にかかわらず認められ、72時間後までに消失した。

(チバガイギー社, スイス, 1973/1974年)

3. 皮膚感作性試験

メトラクロール原体および45%乳剤の皮膚感作性試験をそれぞれ Pirbright white 系雌雄モルモット20匹および Hartley 系雄モルモット25匹を用いて実施した。原体は Optimization test 法に従って行なった。0.1%の検体0.1mlを1日おきに10回皮内注射して感作し、感作終了14日後にさらに1回皮内注射して誘発した。また、この10日後に軽度皮膚刺激量を腹部に24時間貼付して誘発した。感作第1週における各皮内注射の24時間後および各誘発の24時間後に皮膚反応を観察した。45%乳剤は Maximization test 法に従って行なった。0.1%の検体0.05mlを1回皮内注射し、7日後に50%の検体0.5mlを上背部に48時間閉塞貼付して感作し、2週間後に5%の検体0.5mlを腹部に24時間閉塞貼付して誘発した。誘発終了24および48時間後に皮膚反応を観察した。

その結果、原体では皮内誘発の場合20例中16例に、貼付誘発の場合20例中12例に感作反応が認められ陽性と判断された。また、45%乳剤では25例中23例に軽度ないし中等度の紅斑が認められきわめて強度の皮膚感作性があると判断された。

(原体: チバガイギー社, スイス, 1977年,
45%乳剤: 臨床医学研究所, 1986年)

亜急性毒性試験

1. ラットにおける3か月亜急性毒性試験

Fischer系ラットにメトラクロールを0, 300, 1000, 3000および9000ppm含有した飼料を3か月間摂食させた。

その結果、1000ppm以上の投与群雌および3000ppm以上の投与群雄で体重増加抑制が、1000ppm以上の投与群雄および3000ppm以上の投与群雌で肝重量およびその対体重比の増加が、9000ppm投与群雌雄で腎重量およびその対体重比の増加が、また、9000ppm投与群雄で副腎重量およびその対体重比の増加が認められた。

以上より、本試験におけるメトラクロールの最大無作用量は300ppm(雄: 20.2mg/kg/日, 雌: 17.8mg/kg/日)と判断された。

(大雄会医科学研究所, 1981年)

2. イヌにおける6か月亜急性毒性試験

ビーグル犬にメトラクロールを0, 100, 300および1000ppm含有した飼料を6か月間摂食させた。その後対照群および1000ppm投与群雌雄の一部に1か月間基礎飼料のみを与え回復試験を行なった。

その結果、1000ppm投与群雌雄で摂餌量の低下、体重増加量の低下およびALPの加齢に伴う減少の抑制が認められた。

以上より、本試験におけるメトラクロールの最大無作用量は300ppm(雄: 9.71mg/kg/日, 雌: 8.77mg/kg/日)と判断された。

(International Research and Development Corp.,
アメリカ, 1980年)

慢性毒性/発癌性試験

1. ラットにおける24か月慢性毒性/発癌性試験

SD系ラットにメトラクロールを0, 30, 300および3000ppm含有した飼料を24か月間摂食させた。なお、投与12か月後に対照群および最高投与群雌雄の一部を中間屠殺し、さらに一部を1か月間基礎飼料のみを与え回復試験を行なった。

その結果、3000ppm投与群雌雄で体重増加抑制、肝細胞変異集の増加が、また同群雄の肝重量の増加が認められた。なお、メトラクロール投与に関連した腫瘍の発生は認められなかった。

以上より、本試験における最大無作用量は300ppm(雄: 13.65mg/kg/日, 雌: 18.51mg/kg/日)と判断された。

(Hazleton Raltech, アメリカ, 1983年)

2. マウスにおける24か月慢性毒性/発癌性試験

ICR系マウスにメトラクロールを0, 300, 1000および3000 ppm含有した飼料を24か月間摂食させた。なお、投与12および18か月後に各群の動物の一部を中間屠殺した。

その結果、3000 ppm投与群雌雄で試験期間を通じた体重増加抑制が認められたのみであり、その他の検査項目に異常は認められなかった。なお、メトラクロール投与に関連した腫瘍の発生は認められなかった。

以上より、本試験における最大無作用量は1000 ppm (雄: 174.8 mg/kg/日, 雌: 232.9 mg/kg/日) と判断された。

(Hazleton Raltech, アメリカ, 1982年)

繁殖性試験

1. ラットにおける2世代繁殖性試験

SD系ラットにメトラクロールを0, 30, 300および1000 ppm含有した飼料をF₀, F₁の2世代にわたって摂食させ、繁殖性に及ぼす影響について検討した。

その結果、1000 ppm投与群のF₁親動物雄で甲状腺重量の対体重比および対脳重比の増加が、雌で摂餌量の低下がみられ、F₁, F₂仔動物で体重増加抑制がみられたが、妊娠率、交尾率、出産率のいずれにもメトラクロール投与に起因する影響は認められなかった。

以上より、メトラクロールには最高投与量の1000 ppmにおいても繁殖性に及ぼす影響は認められず、本試験における最大無作用量は300 ppm (雄: 23.5~23.7 mg/kg/日, 雌: 25.7~26.0 mg/kg/日) と判断された。

(Toxi Genics, アメリカ, 1981年)

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性試験

SD系ラットの妊娠6~15日目までの器官形成期にメトラクロールを0, 30, 100, 300および1000 mg/kg/日となるように毎日1回強制経口投与し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果、母動物の300 mg/kg/日以上投与群で体重増加抑制、摂餌量の低下、唾液分泌亢進、また、1000 mg/kg/日投与群で流涙、腹部被毛汚染、強直性あるいは間代性痙攣などの症状が認められた。胎仔の1000 mg/kg/日投与群で体重低下、坐骨の骨化遅延および統計学的に有意ではなかったが、尾椎、胸骨、中手骨、趾節骨の骨化部位数の減少がみられ、母動物における毒性症状に基づく発育遅延であると考えられた。これら以外には着床数、吸収胚数、生存胎仔数、性比、胎仔の外表およ

び内臓にメトラクロール投与に関連した影響は認められなかった。

以上より、メトラクロールには最高投与量の1000 mg/kg/日においても胎仔に対して催奇形性がないものと判断された。

(Argus Research Lab., アメリカ, 1985年)

2. ウサギにおける催奇形性試験

ニュージーランドホワイト種ウサギの妊娠6~18日目までの器官形成期にメトラクロールを0, 36, 120および360 mg/kg/日となるように毎日1回強制経口投与し、胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果、母動物の360 mg/kg/日投与群で縮胎、産出血、摂餌量の低下および体重増加量の低下が、120 mg/kg/日投与群で縮胎および摂餌量の低下が認められた。また、いずれの投与量でも胎仔に対する影響は認められなかった。

以上より、メトラクロールには最高投与量の360 mg/kg/日においても胎仔毒性および催奇形性がないものと判断された。

(Argus Research Lab., アメリカ, 1980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)および欠損株(M-45)を用い、賀田らのrec-assay法でラット肝より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、メトラクロールを0~5000 μg/ディスクの濃度で処理した時のDNA損傷の誘発性を検定した。

その結果、S-9 Mixの有無にかかわらず、最高濃度(5000 μg/ディスク)においても両株に明らかな生育阻止の差は認められなかった。一方、陽性対照のAF-2および2-AAでは両株に顕著な生育阻止の差が認められた。

以上より、メトラクロールにはDNA損傷の誘発性はないものと判断された。

(野村生物科学研究所, 1986年)

2. ヒト線維芽細胞におけるDNA修復試験

ヒトの線維芽細胞を用い、オートラジオグラフ法により行なった。メトラクロールを0~15.625 nl/mlの濃度で処理し³H-チミジンを加え5時間培養した後、核におけるDNA損傷の修復時における³H-チミジンの取り込みを平均銀粒子数で評価した。

その結果、核当りの銀粒子数の平均値は、メトラクロール投与群と陰性対照群との間に差が認められなかった。一方、陽性対照の4-ニトロキノリン-N-オキサイド

では、平均銀粒子数の著しい増加が認められた。

以上より、メトラクロールには DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。

(チバガイギー社, スイス, 1984年)

3. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌5株 (TA100, TA102, TA1535, TA98, TA1537) およびトリプトファン要求性大腸菌1株 (WP2 *uvrA*) を用い、ラット肝より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 らの方法によりメトラクロールを 0~5000 μg /プレートの濃度で処理した時の遺伝子突然変異性を検定した。

その結果、S-9 Mix の有無にかかわらず、最高濃度 (5000 μg /プレート) においても復帰変異コロニー数の増加が認められなかった。一方、陽性対照の AF-2, MMC, ENNG, 9-AA および 2-AA ではおのおの検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上より、メトラクロールには復帰変異誘発性はないものと判断された。

(野村生物科学研究所, 1986年)

4. 染色体異常試験

雌チャイニーズハムスターの肺由来の CHL 細胞を用いた。処理濃度の上限は6時間処理の場合、薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) 存在下で 2.4 mM, 非存在下で 1.2 mM, 24時間処理の場合、S-9 Mix 非存在下で 0.6 mM, 48時間処理の場合、S-9 Mix 非存在下で 0.3 mM とした。染色体異常の観察には、処理条件ごとに観察に耐える上位3濃度を選び、おのおの100個の分裂中期細胞についてギャップ、切断、交換、倍数体細胞出現数などを観察した。

その結果、24時間処理の 0.3 mM 群および 48時間処理の 0.15 mM 群で染色体異常を有する細胞数のわずかな増加が認められた。なお、両濃度とも各処理条件下での細胞増殖を約 50% 抑制する濃度であった。

以上より、メトラクロールは微弱ながら染色体異常を誘起すると判断された。

(野村生物科学研究所, 1986年)

5. 優性致死試験

雄マウスにメトラクロールを 0, 100, 300 mg/kg とするように1回強制経口投与し、無投与の雌と6週間交配した。交配は雄1匹に対し雌2匹とし、1週間ごとに新しい雌と入れ替えた。雌マウスは妊娠14日目に剖検した。

その結果、交尾率、妊娠率、着床数、生存胚率および

死亡胚率のいずれにもメトラクロール投与による影響は認められなかった。

以上より、メトラクロールには優性致死作用はないものと判断された。

(チバガイギー社, スイス, 1976年)

6. 核異常試験

雌雄のチャイニーズハムスターにメトラクロールの 0, 1250, 2500, 5000 mg/kg を1日1回、連続2日間強制経口投与した。2回目投与の24時間後に屠殺し、大腿骨より骨髓を採取した。骨髓塗抹標本の単一ジョリー小体、赤血球の核片、赤芽球の小核、白血球芽球の小核および倍数体細胞について検査した。

その結果、5000 mg/kg 群の雄1匹が死亡したものの、全投与群で核の異常を示す骨髓細胞の増加は認められなかった。一方、陽性対照のシクロホスファミド投与群には核の異常を示す細胞の著しい増加が認められた。

以上より、メトラクロールには核異常の誘発性はないものと判断された。

(チバガイギー社, スイス, 1984年)

生体機能への影響に関する試験

1. 一般薬理試験

中枢神経系: メトラクロールを雄マウスに 0, 200, 400, 600 mg/kg 強制経口投与し、一般症状および自発運動量への影響を検討した。200 mg/kg 投与群で軽度の、400 および 600 mg/kg 投与群で顕著な自発運動の抑制を認めた。

末梢神経系: Bülbring および久我法によりラット摘出横隔膜神経筋に対するメトラクロールの影響を検討した。神経刺激による筋収縮を 10^{-5}g/ml でわずかに、 10^{-4}g/ml で 163~262% 増強するが *d*-tubocurarine ($2 \times 10^{-6}\text{g/ml}$) で遮断された。しかし、PAM では影響を受けなかった。また、メトラクロールには、*d*-tubocurarine および physostigmine の筋収縮に対する作用への影響はなかった。

瞳孔へのメトラクロールの影響は、0, 100, 200 および 400 mg/kg を雄マウスに強制経口投与し検討した。400 mg/kg 投与群で散瞳の傾向が認められた。

自律神経系: モルモット摘出回腸およびラット摘出子宮に対するメトラクロールの影響を検討した。 10^{-8} ~ 10^{-4}g/ml の濃度ではモルモット摘出回腸およびラット摘出子宮の収縮に及ぼす影響はなかった。 10^{-8}g/ml 以上の濃度でアセチルコリン、オキシトシンの収縮作用、 10^{-3}g/ml 以上の濃度でヒスタミンの収縮作用を有意に抑制した。

心臓血管系および呼吸：ウサギにメトラクロールを静注すると、10 mg/kg 以上で血圧下降、心拍数の抑制、呼吸振幅の増大、1 mg/kg 以上で呼吸の増加が認められた。ウサギの摘出心においては、 10^{-4} g/ml 以上で冠血管灌流量の減少および収縮力の抑制、 10^{-3} g/ml で拍動数の減少が認められた。モルモットの摘出心房においては、 10^{-3} g/ml 以上で収縮幅および収縮回数数の抑制が認められた。メトラクロールで前述の摘出心および摘出心房を前処理した場合、アセチルコリンおよびアドレナリンの作用に影響は認められなかった。

血液系：メトラクロールの 1, 5, 10 mg/kg をウサギに静注した場合、出血時間と凝固時間に影響は認められなかった。また、メトラクロールを 0.01 μ g/ml \sim 1 mg/ml の割合でウサギの血液に添加した場合、溶血作用は認められなかった。

(東邦大学/薬効開発研究会, 1980年)

要 約

メトラクロールの安全性評価のため各種毒性試験を行った。

その結果、原体および45%乳剤の急性毒性は比較的低く、本化合物には顕著な薬理作用も認められなかった。また、45%乳剤の眼および皮膚に対する刺激性は

軽度であり、皮膚感作性は陽性であった。一方、亜急性毒性、慢性毒性および発癌性試験における高用量群で体重増加抑制、肝および腎重量の増加等が認められたが、特定の病変は認められず、発癌性も認められなかった。また、変異原性試験において、微かな染色体異常が認められたが、優性致死作用をはじめその他の変異原性は認められず、繁殖性に及ぼす影響および催奇形性も認められなかった。

メトラクロールを有効成分とする農薬は、昭和57年9月に芝生用として、また、昭和62年10月に畑作用として農薬登録され、登録保留基準を麦・雑穀、野菜、いも類、豆類、てんさいでおのおの0.1 ppmと設定された。

メトラクロールは、定められた使用基準を遵守すれば、安全性が確保されるものであり、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

日本チバガイギー株式会社農薬本部営業開発部開発普及室登録課

〒105 東京都港区浜松町2-4-1 世界貿易センタービル34階