

技術情報

テブチウロンの毒性試験の概要

武田薬品工業株式会社アグロ事業部農薬開発部開発第三グループ

(平成3年11月20日受理)

薬剤の概要

テブチウロンは1969年に米国イーライリリー社エラノプロダクト部で開発したチアゾールウレア系除草剤である。本剤は非ホルモン型吸収移行性を有し、光合成を阻害して選効的ではあるが広範囲の雑草に対して強い殺草力を示す。わが国では、1976年から(財)日本植物調節剤研究協会を通じて各地の試験研究機関で試験を開始した。その結果、広範囲の一年生雑草、多年生雑草、雑灌木類に対し強い枯殺力を示し、それらの発生および再発生を抑制する除草剤であることが確認された。

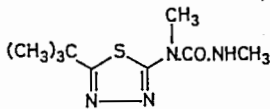
テブチウロンは1974年に米国において農耕地以外の場所における除草剤として登録され、世界各国で同様の除草剤として実用化されている。また、サトウキビ、放牧地にも使用されている。

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: テブチウロン

化学名: 1-(5-*tert*-butyl-1, 3, 4-thiadiazol-2-yl)-1, 3-dimethylurea

構造式:



分子式: $C_9H_{16}N_4OS$

分子量: 228.32

外観: 無色結晶粉末

融点: 162.0~164.2°C

蒸気圧: 2×10^{-6} mmHg (25°C)

分配係数: 61 (*n*-オクタノール/水)

溶解性: (g/l, 25°C): 水 2.5, アセトニトリル 60, ベンゼン 3.7, アセトン 70, ヘキサン 6.1, メタノール 170, 酢酸エチル 20, クロロホルム 250

安定性: 熱に安定, 酸・アルカリ性に対して安定, 光によりわずかに分解

急性毒性試験

テブチウロンのラットおよびマウスにおける経口, 皮下, 腹腔内, 経皮および吸入の投与経路による急性毒性試験の結果を表1に示した。

中毒症状としては, 経口, 皮下, 腹腔内投与で雄雌とも自発運動の減少, 歩行異常, 流涙, 流涎, 痙攣, 呼吸困難などが観察されたが, 経皮投与ではなんら中毒症状はみられなかった。

経口, 皮下, 腹腔内投与による死亡例の剖検所見としては小腸の出血, 肺のうっ血などがみられたが, 生存例

表1 急性毒性試験結果

動物種	投与経路	性	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)	
ラット	経口	雄	2800	臨床医科学研究所 (1983年)	
		雌	1720		
	皮下	雄	570		
		雌	500		
	腹腔内	雄	500		
		雌	480		
経皮	雄	>5000			
	雌	>5000			
マウス	経口	雄	560		臨床医科学研究所 (1983年)
		雌	595		
	皮下	雄	545		
		雌	575		
	腹腔内	雄	535		
		雌	505		
ラット 吸入	雄	>3.696 mg/l ^{a)}	リリー研究所 (1985年)		
	雌	>3.696 mg/l			

^{a)} 急性吸入毒性 LC₅₀ 値 mg/l (4時間鼻部暴露)

では各臓器になんら異常所見は認められなかった。

経皮投与および吸入毒性試験では死亡例はなく、剖検による異常所見もみられなかった。

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

1) テブチウロン原体 71 mg (0.1 cc) をニュージーランドホワイトウサギの片眼の結膜嚢内に適用し、その後、7日間眼に対する刺激性の有無を観察した。

眼結膜に軽度で一過性の充血を含む浮腫がみられたが7日後には正常に回復した。角膜および虹彩に異常は認められなかった。(リリー研究所, 1972年)

2) テブチウロン 80% 水和剤の 0.1 g を日本白色種ウサギの右眼の結膜嚢内に適用し、6匹については洗眼せず、また3頭については適用2分後に水洗して1, 24, 48および72時間後と96時間後に眼に対する刺激性の有無を観察した。適用1時間後に軽度の結膜発赤がみられ、24時間後の1例に虹彩の充血および結膜のび漫性発赤がみられた。これらの変化は72時間後に消失し正常に回復した。なお洗眼により刺激性は軽減された。軽度の眼一次刺激性が認められた。

(臨床医科学研究所, 1986年)

2. 皮膚一次刺激性試験

テブチウロン 80% 水和剤を湿ったガーゼに処理し、それをニュージーランドホワイトウサギの皮膚に24時間閉塞貼布してその外部を被覆した。ガーゼを除去後1時間およびその後14日間毎日1回皮膚刺激性を観察した。1時間後の観察では全例の処理部皮膚に軽度の紅斑が認められたが、それらは2~5日後までに消失し、回復した。テブチウロン 80% 水和剤はウサギ皮膚に対し軽微な刺激性を有すると判断された。

(リリー研究所, 1981年)

皮膚感作性試験

テブチウロン原体の2% エタノール溶液をアルビノモルモット雌の皮膚に0.1 ml ずつ、週3回で3週間塗布して感作し、最終感作後10日および15日に2回、上記溶液0.1 ml で誘発を行ない、各誘発後24時間目に皮膚反応を観察した。

テブチウロンによる皮膚感作性は認められなかった。

(リリー研究所, 1972年)

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた3か月間亜急性毒性試験

テブチウロン原体を0, 400, 1000 および2500 ppm

含有する飼料を1群雌雄各10匹のハーランラット(Wistar系)に3か月間自由摂取させた。

試験期間を通じテブチウロン投与に関連した一般状態の異常はみられず、死亡例も認められなかった。2500 ppm 投与群で体重増加抑制の傾向がみられたが有意差はみられなかった。2500 ppm 投与群で試験開始後1週間の飼料摂取量が著しく低下したが、その後回復した。2500 ppm 投与群でBUN値が増加したが、これは正常値の範囲内であった。血液学的検査値には検体投与による影響はみられなかった。

臓器重量では2500 ppm 投与群で各臓器重量の対体重比がわずかに増加した。これは、体重増加抑制によるものと考えられた。

病理組織学的検査では、2500 ppm 投与群全例に脾の腺房細胞に空胞形成が認められた以外に病変は認められなかった。

以上の結果から本試験における最大無作用量は1000 ppm (雄100 mg/kg/day, 雌100 mg/kg/day) と判断された。(リリー研究所, 1972年)

慢性毒性および発癌性試験

1. ラットにおける24か月間慢性毒性・発癌性試験

テブチウロン原体を0, 400, 800 および1600 ppm 含有する飼料を投与群では1群雌雄各40匹に、また、対照群では1群雌雄各60匹のハーランラット(Wistar系)に24か月間自由摂取させた。

呼吸器に感染症がみられ、皮膚に慢性皮膚病変がみられたが投与群と対照群との間に差はなく、テブチウロン投与に関連した異常所見は認められなかった。各投与の死亡率にも検体投与に関連した差はみられなかった。1600 ppm 投与群雌雄で成長期(試験3~4か月時)に体重増加抑制が認められた。飼料摂取量および尿検査値については検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査項目および血液生化学的検査項目には各群のラットに異常値が散見されたが、これらは感染症、慢性疾患あるいは自然発生病に起因し、検体投与による影響とは考えられなかった。

臓器重量については1600 ppm 投与群雌雄の腎重量がわずかに増加した。病理組織学的検査では1600 ppm 投与群の脾の腺房細胞に空胞形成が認められた。

検体投与による腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果から、本試験での最大無作用量は800 ppm (雄約40 mg/kg/day, 雌約40 mg/kg/day) と判断された。(リリー研究所, 1976年)

繁殖性におよぼす影響および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖性試験

テブチウロン原体を 0, 400 および 800 ppm 含有する飼料を 1 群雌雄各 20 匹のハーランラット (Wistar 系) に 6 週齢時から F₀, F_{1a}, F_{1b} および F_{2a}, F_{2b} 世代を通じて F_{3a} 仔の離乳時まで連続投与により自由摂取させた。

800 ppm 投与群 F₀ 世代雌雄の育成時における体重増加抑制, 400 および 800 ppm 投与群 F₁ 世代雌の育成時における体重増加抑制がみられたが, 繁殖能に対しなら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, テブチウロンはラットの繁殖能および仔動物の生存率に影響を与えないものと判断された。

(リリー研究所, 1975 年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

テブチウロン原体を 0, 600, 1200 および 1800 ppm 含有する飼料を 1 群雌 25 匹のハーランラット (Wistar 系) に妊娠 6 日から 15 日まで自由摂取させた。帝王切開時に黄体数, 胎仔数, 吸収胚を計測し, 生存胎仔の重量, 性比, 外表異常, 内臓および骨格の異常について検査した。

1200 および 1800 ppm 投与群の母体重はやや減少した。胎仔の内臓異常として水腎症が対照群を含むすべての試験群にみられたが, 検体投与に関連するものではなかった。

以上の結果から, テブチウロンは催奇形性を示さないものと判断された。

(リリー研究所, 1972 年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

5% アラビアゴム水溶液に懸濁したテブチウロン原体の 0, 10 および 25 mg/kg/day を, 1 群 15 匹のダッチベルテッドウサギ雌の妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間毎日 1 回強制経口投与した。妊娠 28 日目に帝王切開し, 黄体数, 着床数, 生存あるいは死亡胎仔数および吸収胚数を調査し, また生存胎仔の性比, 体重, 外表異常, 内臓異常および骨格異常について検査した。

テブチウロンの母動物に対する影響はみられず, 胎仔に対する影響も認められなかった。

以上の結果から, テブチウロンは催奇形性を示さないものと判断された。

(リリー研究所, 1975 年)

変異原性試験

1. 細菌を用いた復帰変異試験 (Ames' Test)

ヒステジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA 100, TA 1535, TA 98, TA 1537 お

よび TA 1538 株およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP 2hcr) を用い, 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 DNA 復帰変異誘発性を検討した。テブチウロンの用量は 10,000 μg/plate を最高濃度に 5000, 1000, 500, 100, 50 および 10 μg/plate とした。

テブチウロンは代謝活性化の有無にかかわらず, 最高濃度の 10,000 μg/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, 陽性対照として用いた AF-2, ENNG, 9-AA, 2-NF は S-9 Mix の非存在下で, また 2-AA は S-9 Mix 存在下で復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果から, テブチウロンの復帰変異誘発性は陰性であると判断された。

(残留農薬研究所, 1983 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, 賀田らの rec-assay 法で DNA 損傷の誘発性を検討した。テブチウロン原体の用量は 5000 μg/disk を最高濃度に 2000, 1000, 500, 200, 100, 50 および 20 μg/disk とした。

テブチウロンは代謝活性化の有無にかかわらず最高濃度である 5000 μg/disk においても両株間に生育阻止帯の差を認めなかった。一方, 陽性対照として用いた Mitomycin C では両株間に明らかな生育阻止帯の差がみられ, 陰性対照の Kanamycin では両株とも同程度の生育阻止が認められた。

以上の結果から, テブチウロンの DNA 損傷誘発性は陰性であると判断された。

(残留農薬研究所, 1983 年)

3. チャイニーズハムスター卵細胞を用いた *in vitro* 細胞染色体異常試験

チャイニーズハムスターの卵 CHO 細胞を用い, 代謝活性化系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下でテブチウロンの染色体異常誘発性を検査した。

テブチウロンの用量は細胞の増殖抑制がみられた 2100 μg/ml (S-9 Mix 非存在下) および 1550 μg/ml (S-9 Mix 存在下) を最高用量とし, おのおの, S-9 Mix 非存在下で 1500, 1650, 1800, 1950 および 2100 μg/ml, S-9 Mix 存在下で 1350, 1400, 1450, 1500 および 1550 μg/ml とした。

染色体異常を有する細胞数およびギャップを含む染色体異常を有する細胞数の軽度ではあるが有意な増加が S-9 Mix 非存在下のテブチウロン 1950 μg/ml で, また, S-9 Mix 存在下の 1550 μg/ml において認められた。

しかし、倍數体の出現率の増加はいずれの用量においても認められなかった。

一方、陽性対照の cyclophosphamide では S-9 Mix 存在下で、また、mitomycin C では S-9 Mix 非存在下で顕著な陽性を示した。(リリー研究所, 1989年)

薬理試験

1. 中枢神経系に対する作用

テブチウロン原体の 50, 170 および 578 mg/kg をマウスに経口投与し、Rota-rod 法により筋弛緩作用を検討した。

578 mg/kg 投与により死亡がみられ、死亡前に筋の弛緩がみられた。

テブチウロン原体の 4.3, 14.7, 50, 170 および 578 mg/kg を経口投与したマウスにヘキソバルビタールを腹腔内投与し、正向反射の消失から回復までの時間を測定した。

50 mg/kg 以上の投与によりヘキソバルビタールによる麻酔時間を有意に延長した。

2. 自律神経系に対する作用

ウレタン麻酔したネコの抹消神経に刺激電極を設置し、上頸交感神経節前線維および迷走神経を刺激、または、ノルエピネフリン、アセチルコリンなどの投与により惹起される瞬膜、血圧、および心拍数の変化に対するテブチウロン原体の影響を検討した。

テブチウロン 180 mg/kg の腹腔内投与により血圧の低下、神経刺激や薬剤投与による昇圧あるいは降圧の反応を抑制し、心拍数の減少および瞬膜の収縮を軽度抑制した。

3. 消化器系に対する作用

テブチウロン原体の 50, 170 および 578 mg/kg をマウスに経口投与し、腸管の輸送能を検討した。

578 mg/kg 投与により腸管の輸送能が低下した。

4. 骨格筋に対する作用

ウレタン、ペントバルビタールなどで麻酔したラットの坐骨神経-腓腹筋標本により、テブチウロンの腓腹筋に対する影響を検討した。

テブチウロンの神経筋接合部に対しなら影響は認め

られなかった。

以上の結果から、テブチウロンの大量投与により中枢神経系、自律神経系および腸管輸送能に抑制作用が認められた。

要 約

テブチウロンの安全性評価のため各種の毒性試験を実施した。急性経口毒性 (LD₅₀) はラット雄で 2800, 雌で 1720, マウス雄 560, 雌で 595 mg/kg であった。

軽度の眼一次刺激性および皮膚一次刺激性が認められたが皮膚感作性は認められなかった。

ラットを用いた亜急性毒性試験では高用量群 (2500 ppm) で体重増加抑制、飼料摂取量の低下、脾の腺房細胞に空胞形成が認められた。最大無作用量は雄 100 mg/kg/day, 雌 100 mg/kg/day と判断された。

ラットを用いた慢性毒性・発癌性試験では高用量群 (1600 ppm) で体重増加抑制、腎重量の増加および脾腺房細胞に空胞形成が認められた。なお、テブチウロン投与による催腫瘍性は認められなかった。

最大無作用量は雄 40 mg/kg/day, 雌 40 mg/kg/day と判断された。ラットを用いた繁殖性試験およびラット、ウサギを用いた催奇形性試験から、テブチウロンの繁殖能におよぼす影響はみられず、催奇形性は認められなかった。

細菌を用いた DNA 修復試験および復帰変異試験においてテブチウロンは陰性を示したが、チャイニーズハムスターの培養細胞を用いた試験では高用量において軽度な陽性を示した。

薬理試験では、テブチウロンの大量投与により中枢神経系、自律神経系および腸管輸送能に対し抑制作用を示した。

テブチウロンは昭和 62 年 4 月に農耕地以外の場所における除草剤として登録された。

問合せ

武田薬品工業株式会社アグロ事業部
農薬開発部開発第三グループ

〒103 東京都中央区日本橋 2-12-10