

技術情報

チオシクラムの毒性試験の概要

株式会社エス・ディー・エス バイオテック企画開発部

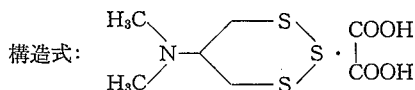
(昭和62年2月20日受理)

薬剤の概要

チオシクラムは海産動物イソメ (*Lumbriconereis heteropoda* MARENZ) から分離されたネライストキシンの誘導体の一つであり、1969年スイスのサンド社において創製開発された殺虫剤である。チオシクラムは接触毒性と食毒性を有しており、多くの咀嚼性害虫、とくに鱗翅目、鞘翅目害虫に卓効を示し、また有機リン系やカーバメイト系とはまったく異なる殺虫作用機構をもつため、これらの剤に抵抗性の発達した害虫に対しても優れた効果を発揮する。

日本では昭和47年から委託試験が開始され、これまでに稲のニカメイチュウ、ツマグロヨコバイ、ウンカ類、イネツトムシ、コブノメイガ、イネドロオイムシ、イネハモグリバエ、イネシガラレセンチュウ等、茶のチャノホソガ、チャノキイロアザミウマ、チャノミドリヒメヨコバイ等、柿のカキミガ等に有効であることが確認されている。チオシクラムの化学構造、物理化学的性質および安定性は以下に示すとおりである。

化学名: 5-dimethylamino-1,2,3-trithiane hydrogen-oxalate



分子式:  $C_7H_{13}NO_4S_3$

分子量: 271.4

性状: 無色無臭結晶

蒸気圧:  $4 \times 10^{-6}$  mmHg (20°C)

溶解性: 水 8.4% (23°C)。メタノール, エタノール, アセトニトリルに可溶。アセトン, クロロホルム, トルエン, ヘキサンに不溶。

熱安定性: 50°C までは安定。融点は 125~128°C。分解温度は 132°C。

耐酸・耐アルカリ性: 酸性溶媒中では pH 3 以下でも安定であるが、中性およびアルカリ性溶媒中では分解してネライストキシンを生成する。

光安定性: 太陽光線により分解される。

ここでは本剤の登録取得に必要な安全性評価のために実施された各種毒性試験成績についてとりまとめて報告する。

急性毒性試験

種々の投与経路による急性毒性試験の結果は次のとおりである。

動物種	投与経路	性別	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	試験機関 (実施年)
〈チオシクラム原体〉				
マウス	経口	雄	540	日本実験医学研究所 (1978年)
		雌	578	
	腹腔内	雄	41.3	
		雌	37.2	
	皮下	雄	33.9	
		雌	36.2	
ラット	経口	雄	399	
		雌	370	
	腹腔内	雄	24.5	
		雌	22.9	
	皮下	雄	27.9	
		雌	28.8	
〈2%粉剤〉				
マウス	経口	雄	8950	
		雌	7550	
ラット	経口	雄	>5000	
		雌	>5000	
	経皮	雄	>7000	
		雌	>7000	

## 〈4%粒剤〉

マウス	経口	雄	6900
		雌	6220
ラット	経口	雄	>5000
		雌	>5000
	経皮	雄	>7000
		雌	>7000

## 刺激性試験

## 1. ウサギにおける眼刺激性試験（スイス・サンド社、1977年）

6匹のアルビノウサギの両眼に、チオシクロラムの1%液を0.1ml点眼し、眼瞼、結膜および角膜の異常の有無を観察した。

その結果、結膜の一次的発赤が2例に認められたが、角膜、虹彩には影響はなく、眼に対する刺激性はないものと判定した。

## 2. ウサギにおける皮膚刺激性試験（スイス・サンド社、1977年）

6匹のアルビノウサギの背部を剪毛し、それぞれ無傷皮膚、擦過傷皮膚の2試験区を設けた。25mgのチオシクロラムをオリーブ油に混和したものを背部に直接塗布し、5cm<sup>2</sup>のパッチにより24時間固定した。

その結果、一般症状として軽度の弛緩、跛行がみられたが、48~72時間後には回復した。無傷皮膚区では24時間後に軽度の紅斑が観察され、擦過傷皮膚区では軽度の水腫がみられたが、いずれも72時間後には消失した。

以上よりチオシクロラムは軽度の皮膚刺激性を有すると判定した。

## 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（日本実験医学研究所、1978年）

1群雌雄各10匹のウイスター系ラットに0, 25, 100, 400, 1600, 3200ppmのチオシクロラムを3か月間混餌投与した。

一般症状および死亡の有無を観察し、体重、飼料摂取量、飲水量を測定した。投与終了時に血液学的検査、血液の生化学的検査、尿検査を行ない、剖検後、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行なった。

1600ppm群では6日目、3200ppm群では3日目までに全例死亡し、400ppm群では雌雄4匹ずつが試験期間中に死亡した。死亡例の剖検では胃底部の小出血、胃内出血、肺の赤色化、膀胱内血尿がみられたが、死因とし

ては摂食活動の低下による衰弱が考えられ、立毛、被毛、光沢の欠除等がみられた。

400ppm群では生存例でも体重増加の抑制、飼料摂取量、飲水量の減少が認められ、ヘモグロビン量、ヘマトクリット値の減少、A/G比の増加、コレステロールの減少、GOTの減少、および脾臓重量の減少等が認められた。

100ppm以下の投与量では異常は認められず、最大無作用量は雌雄とも100ppm（雄9.095, 雌9.340mg/kg）であった。

## 2. イヌにおける20週間亜急性毒性試験（スイス・サンド社、1975年）

1群雌雄各6匹のビーグル犬に0, 15, 75, 375ppmのチオシクロラムを20週間混餌投与した。

試験期間中、一般症状・行動を観察し、体重、飼料摂取量を測定した。また、全動物について血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を行ない、試験20週目には各群雌雄2匹ずつを屠殺して肝の薬物代謝酵素の誘起試験、さらに臓器の肉眼観察、臓器重量の測定、病理組織学的検査を実施した。

375ppm群で雄1例が19週目に肺炎のため死亡した。この群では後肢痙攣、歩行失調がみられ、飼料摂取量が顕著に減少し、体重も減少した。他の群では一般症状、行動、体重等に変化はなかった。血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査とも数値はすべて正常範囲内にあり、チオシクロラム投与に関連した影響はなかった。臓器重量もいずれの群とも正常であった。また肝の薬物代謝酵素に及ぼす影響もみられなかった。病理組織学的検査では375ppm群で胸腺の重度の退縮が観察されたが他の群では著変はなかった。

以上より最大無作用量は75ppm（雄2.23, 雌2.31mg/kg）と判定した。

## 慢性毒性試験

## 1. イヌにおける2年間の慢性毒性試験（ベルン大学、スイス・サンド社、1977年）

1群雌雄各4匹のビーグル犬に0, 15, 75, 375ppmのチオシクロラムを2年間混餌投与した。

一般状態として神経症状、行動等を観察し、体重、飼料摂取量、飲水量を測定した。試験期間中、全動物について血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査および眼科的検査を行ない、107週目には全生存動物を剖検し、臓器重量の測定、肝の薬物代謝酵素の誘起試験、病理組織学的検査を行なった。

15ppm, 75ppm投与群では全動物とも試験期間を通

して良好な状態にあり、行動は正常で、体重、飼料摂取量とも対照群と同様であった。375 ppm 群では雄 1 例が 83 週に、雌 2 例が 71 週と 78 週に死亡し、生存例においても流涎、震蕩、痙攣、運動失調が観察され、雌で体重増加の抑制、飼料および水の摂取量減少が認められた。

血液学的検査では、数値はすべて正常範囲内でチオシクロラムの投与量や時期と関連のある所見はなかった。血液生化学的検査では 375 ppm 群の雌でアルブミン量の減少、雌雄で GOT 値の上昇が認められた。尿検査では群間に差はなく眼科学的検査でも変化はなかった。

剖検では対照群に比較して有意な差のある所見はみられなかったが、死亡例の検査では 1 例に広範囲の出血性梗塞を伴う小腸の捻転、2 例には肺の広範囲充血と水腫、肝の充血が認められた。臓器重量は正常範囲内であり、病理組織学的検査においても、臓器、組織に及ぼすチオシクロラムに関連のある所見は認められなかった。

以上より最大無作用量は 75 ppm (雄 2.11, 雌 2.17 mg/kg) と判定した。

## 2. ラットにおける 2 年間慢性毒性、催腫瘍性試験 (ベルン大学, スイス・サンド社, 1976 年)

1 群雌雄 40 匹ずつの SD 系ラットに 0, 5, 25, 100 ppm のチオシクロラムを 2 年間混餌投与した。

動物は毎日観察し、体重、飼料摂取量、飲水量は毎週 1 回測定した。試験期間中、各群雌雄 5 匹ずつについて血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を行ない、途中死亡動物および最終屠殺動物は剖検して臓器重量の測定、病理組織学的検査を行なった。

試験期間を通して中毒症状はみられず動物の状態は正常であった。各群とも雄の死亡率が雌より高かったが、対照群と比較して投与群に著変はなかった。体重増加量は 100 ppm 群雌で 98 週目以降著しく減少し、飼料摂取量も減少した。

血液学的検査ではすべての値が正常範囲内にあり異常はなかった。また、血液生化学的検査においても投与量に相関した所見は認められずコリンエステラーゼ、トランスアミナーゼ、アルカリフォスファターゼ活性に及ぼす影響もなかった。尿検査では対照群を含む全群でタンパク量が増加し、2 年目には白血球数が増加した。

剖検所見はすべて正常であり、病理組織学的検査でも臓器、組織に及ぼす影響はなく、チオシクロラム投与に関連した腫瘍発生も認められなかった。

以上より最大無作用量は 25 ppm (雄 1.22, 雌 1.54 mg/kg) と判定した。

## 次世代に及ぼす影響

### 1. ラットにおける 3 世代繁殖性および催奇形性試験 (ベルン大学, スイス・サンド社, 1977 年)

0, 5, 25, 100 ppm のチオシクロラムを飼料に混餌して継続する 3 世代 ( $F_0$ ,  $F_1$ ,  $F_2$ ) の SD 系ラットに連続して投与した。繁殖試験用として雌雄各 30 匹、さらに臨床検査用として 5 匹ずつを用いた。

親世代の検査として一般状態の観察、体重、飼料摂取量、飲水量の測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を行ない、90 日後に雌雄各 5 匹を屠殺して剖検に付した。残りの雌雄 30 匹は 1:1 で交配させ最初の同腹仔は廃棄して、さらに 10 日後再度交配して得た  $F_{1B}$ ,  $F_{2B}$ ,  $F_{3B}$  世代を試験に用いた。B 世代誕生の 1 日前に 5 匹の妊娠母獣を屠殺して黄体数、着床数、生存および死亡胎仔数、胎仔重量等、催奇形性所見について検査した。分娩 21 日目に 5 匹の雌から得た新生仔について骨格検査を行ない  $F_{3B}$  世代については病理組織学的検査も行なった。繁殖性に関しては受胎率、妊娠率、生存率、哺育率、分娩仔数等について調べた。

その結果、繁殖性、催奇形性に関するすべてのパラメータとも数値は正常で、チオシクロラムは繁殖能力に影響を及ぼさず、奇形も誘発しないと判定した。

## 変異原性試験

### 1. Rec-assay (残留農薬研究所, 1979 年)

*Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、rec-assay 法で DNA 損傷の誘起性を検索した。

試験濃度は 100, 200, 300, 400, 500, 700, 1000, 2000  $\mu\text{g}/\text{disk}$  とし、培養後阻止帯の長さを測定した。陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシン C を用いた。チオシクロラムは陰性対照のカナマイシンと同様に、両株に同程度の生育阻止帯を示し、結果は陰性であった。

### 2. 復帰変異試験 (残留農薬研究所, 1979 年)

*Salmonella typhimurium* のヒスチジン要求性株 5 株、および *Escherichia coli* のトリプトファン要求性株 1 株を用い、Ames らの方法を用いて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復帰変異試験を行なった。

試験濃度は 10, 50, 100, 500, 1000, 2000, 5000, 10,000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  とし、陽性対照として 2-aminoanthracene,  $\beta$ -propiolactone, 9-aminoacridine, 2-nitrofluorene を用いた。陰性対照は  $\text{H}_2\text{O}$  を用いた。

チオンクラムは S-9 Mix の有無にかかわらず *E. coli* WP2*hcr* 株に弱い突然変異誘起性を示したが、*S. typhimurium* の5株に対しては誘起性を示さなかった。

### 3. マウスを用いた小核試験 (野村総合研究所, 1982年)

1群6匹の雄の *ddy* 系マウスに CMC-Na 水溶液に懸濁した検体を 10.7, 21.4, 42.7, 85.3 mg/kg の濃度で24時間間隔で2回経口投与した。2回目の投与6時間後動物を屠殺して骨髓細胞の塗抹標本を作製し検鏡した。陰性対照には 0.5% CMC-Na, 陽性対照にはマイトマイシンCを用いた。

陽性対照のマイトマイシンCでは明らかに小核の誘起が認められたのに対し、チオンクラム投与群の小核出現率は、陰性対照に比べ成熟赤血球および多染性赤血球ともに有意な差はみられず、チオンクラムは小核を誘起する作用はないものと判定した。

## 要 約

チオンクラムの安全性評価のため、各種毒性試験を行

なった結果、ラット経口投与における LD<sub>50</sub> 値は雄 399 mg/kg, 雌 370 mg/kg であり、経皮投与における値は雌雄とも 5000 mg/kg 以上であった。

刺激性試験では皮膚に対し軽度の刺激性が認められたが、眼に対しては刺激性はなかった。

ラット、イヌを用いた亜急性および慢性毒性試験では、高用量投与群で体重増加抑制や飼料摂取量減少を含め種々の変動がみられたが、チオンクラムの発癌性は示唆されなかった。

細菌を用いた変異原性試験では弱い変異原性が示されたが、マウスの小核試験の結果は陰性であった。

チオンクラムは昭和56年3月に、エビセクト粉剤、粒剤、水和剤として農林水産省に農薬登録され、現在に及んでいる。登録保留基準は米 0.1 ppm, 果実 0.3 ppm, 野菜 1.0 ppm, 茶 25.0 ppm である。

## 問合せ

株式会社エス・ディー・エス バイオテック企画開発部  
〒105 東京都港区東新橋 2-12-7