

技術情報

イソウロンの毒性試験の概要

塩野義製薬株式会社動植薬開発部

(昭和60年11月20日受理)

薬剤の概要

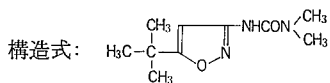
イソウロンは、昭和47年に塩野義製薬株式会社研究所で合成された新規化合物である。本剤は強い光合成阻害作用を有し、イネ科および広葉の1年生雑草に、広範囲な殺草活性を長期間持続する尿素系除草剤である。

昭和52年から日本国内で公開試験が行なわれ、日本芝、さとうきび、鉄道、公園、宅地等の除草剤としての効果が確認された。

本剤の化学構造と物理化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名: イソウロン isouron

化学名: 3-(5-tert-butyl-3-isoxazolyl)-1,1-dimethyl-urea



分子式: C₁₀H₁₇O₂N₃

分子量: 211.26

性状: 無色板状晶、わずかに特異臭

融点: 120°C

蒸気圧: 3.8 × 10⁻⁷ mmHg (25°C)

溶解度(g/l): 水 0.3, メタノール 526, アセトン 270, エーテル 46, ベンゼン 80

ここでは、本剤の登録取得のために実施した安全性評価のための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

イソウロンのマウス、ラットにおける経口、皮下、腹腔内、経皮および吸入の各投与経路による急性毒性試験を行ない、表1に示す結果を得た。

中毒症状として、経口、皮下、腹腔内投与では、マウス、ラットとも行動の不活発ないし沈静化が認められた。そのほかマウスでは回転運動、ジャンピング等が、

ラットでは立毛、流涙、流涎等が認められたが、いずれも投与後3~4日にはほぼ回復した。またマウスにおける経口投与、マウス、ラットにおける皮下・腹腔内投与で角膜混濁が少数例に認められた。

ラットにおける経皮投与では中毒症状は認められず、死亡例もなかった。

ラットにおける吸入投与では高濃度で自発運動の抑制、音反応の鈍化現象等が認められたが、翌日には回復した。また死亡例もなかった。

以上の結果、イソウロンのマウス、ラットにおける急性毒性は比較的弱いと判断された。

表1 イソウロンの急性毒性試験成績

動物種	投与経路	1群当り動物数	LD ₅₀ 値 (mg/kg) または LC ₅₀ 値	試験機関, 報告書作成年
マウス	経口	♂ 10	♂ 520	(財)残留農薬研究所 1979年
		♀ 10	♀ 530	
	皮下	♂ 10	♂ 550	
		♀ 10	♀ 590	
	腹腔内	♂ 10	♂ 390	
		♀ 10	♀ 400	
ラット	経口	♂ 10	♂ 630	
		♀ 10	♀ 760	
	皮下	♂ 10	♂ 640	
		♀ 10	♀ 510	
	腹腔内	♂ 10	♂ 270	
		♀ 10	♀ 315	
経皮	♂ 10	♂ >5000		
	♀ 10	♀ >5000		
吸入	♂ 10	♂ >415 mg/m ³ (8時間暴露)	(財)野村生物科学研究所 1978年	
	♀ 10	♀ >415 mg/m ³ (8時間暴露)		

刺激性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：1976年

1. 眼一次刺激性試験

方法：イソウロン原体 0.1g を雌雄各3匹のウサギの片眼に接触させ、5分後に洗浄した。残る1眼を対照とした。結膜、角膜、前眼房および虹彩を7日間観察し、刺激性の評価を行なった。

結果：処理後1時間に6例中2例に軽度の角膜損傷が認められたが、1例は24時間後に、また1例は48時間後には回復した。処理後7日の剖検では、全例とも眼および諸臓器に異常は認められなかった。

2. 皮膚一次刺激性試験

方法：イソウロン原体 0.5g を、雌雄各3匹のウサギの脱毛した背部皮膚(4cm×4cm)に塗布し、24時間被覆した。塗布部位の変化(紅斑、丘疹、水疱、浮腫、表皮剝離、痂皮形成)の有無を、被覆除去後5日間観察した。

結果：皮膚刺激症状はまったく認められなかった。

亜急性毒性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：1978年

1. マウスにおける3カ月亜急性毒性試験

方法：イソウロンを0, 40, 200, 1000 および 5000 ppm の濃度で含有する飼料を、1群雌雄各15匹のマウスに、13週間連続的に摂取させた。

結果：全群とも一般状態の異常は認められなかった。5000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制が認められ、摂餌量も軽度に減少した。

血液学的検査では、5000 ppm 群雌にヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の減少が認められた。

血液生化学的検査および尿検査では、イソウロン投与によると考えられる影響は認められなかった。

臓器重量の測定では、5000 ppm 群雌雄の肝が絶対、相対重量ともに増加した。

病理組織学的検査では、5000 ppm 群雌雄全例に肝細胞の混濁腫脹が認められた。

以上の結果、5000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制、貧血、肝の病変等が認められたが、1000 ppm 以下の投与群にはイソウロン投与によると考えられる影響は認められなかった。本試験における最大無作用量は雌雄とも1000 ppm (雄 118 mg/kg/日、雌 127 mg/kg/日)と判断された。

2. ラットにおける3カ月亜急性毒性試験

方法：イソウロンを0, 40, 200, 1000 および 5000 ppm の濃度で含有する飼料を、1群雌雄各15匹のラットに13週間連続的に摂取させた。

結果：全群とも一般状態の異常および死亡例は認められなかった。

5000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制が認められ、同群雌の摂餌量は減少した。また1000 ppm 群雌に体重増加の抑制傾向が認められた。

血液学的検査では、5000 ppm 群雌雄にヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の減少が認められた。

血液生化学的検査では、5000 ppm 群雌雄、1000 ppm 群雌に総タンパクおよび総コレステロールの増加が認められた。

尿検査では5000 ppm 群雌雄に尿タンパクの軽度増加が認められた。

臓器重量の測定では、5000 ppm 群雌雄の肝、腎、副腎、1000 ppm 群雌の肝が、絶対、相対重量ともに増加した。

病理組織学的検査では、5000 ppm 群雌雄に肝細胞の混濁腫脹および脂肪化、脾の外分泌腺細胞の空胞化がほぼ全例に認められた。また5000 ppm 群雌雄および1000 ppm 群雌に、腎の下部尿管上皮の変性が増加した。

以上の結果、5000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制、貧血、肝・腎の病変等が、1000 ppm 群雌に腎の病変、同群雌に体重増加の抑制傾向が認められたが、200, 40 ppm 群にはイソウロン投与によると考えられる影響は認められなかった。本試験における最大無作用量は雌雄とも200 ppm (雄 11.9 mg/kg/日、雌 12.6 mg/kg/日)と判断された。

慢性毒性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：1981年

1. マウスにおける24カ月慢性毒性試験

方法：イソウロンを0, 40, 200, 1000 および 5000 ppm の濃度で含有する飼料を、1群雌雄各80匹のマウスに24カ月間連続的に摂取させた。12カ月時に1群雌雄各10匹を中間屠殺し、24カ月時と同様、各検査を実施した。

結果：全投与群でイソウロン投与によると考えられる一般状態の異常は認められず、死亡率にも投与群と対照群の間に差は認められなかった。

5000 ppm 群雌雄に著明な体重増加の抑制が認められ、摂餌量も減少した。また1000 ppm 群雌雄に体重増加の

抑制傾向が認められた。飲水量は 5000 ppm 群雌で増加した。

血液学的検査では、24 カ月時に 200 ppm 以上の投与群雌に赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少が認められた。

血液生化学的検査、尿検査および臓器重量の測定では、5000 ppm 群雌雄に心、肝等の相対重量の増加が認められたほかは、イソウロン投与によると考えられる影響は認められなかった。

病理組織学的検査において、非腫瘍性病変では 5000 ppm 群雌雄に肝細胞腫大、副腎の被膜細胞の空胞化が、同群雄に精巣および精巣上体白膜の肥厚および線維性細胞の空胞化が増加した。また 1000 ppm 群雌にも肝細胞腫大の増加が認められた。腫瘍性病変にはその発生率、発生時期および大きさにおいて、投与群と対照群の間に差は認められなかった。

以上の結果、5000 および 1000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制または抑制傾向、肝の病変等が認められ、200 ppm 以上の投与群雌に貧血が認められたが、200 ppm 群雌および 40 ppm 群雌雄には、イソウロン投与によると考えられる影響は認められなかったので、本試験における最大無作用量は雄で 40 ppm (3.42 mg/kg/日)、雌で 200 ppm (16.6 mg/kg/日) と判断された。

2. ラットにおける 24 カ月慢性毒性試験

方法：イソウロンを 0, 40, 200, 1000 および 5000 ppm の濃度で含有する飼料を、1 群雌雄各 80 匹のラットに 24 カ月間連続的に摂取させた。6, 12 および 18 カ月時に 1 群雌雄各 8 匹ずつを中間屠殺し、24 カ月時と同様、各検査を実施した。

結果：全投与群でイソウロン投与によると考えられる一般状態の異常は認められなかった。死亡率は 5000 ppm 群雌雄で有意に高く、1000 ppm 群雌でいくぶん高い傾向を示した。

5000 ppm 群雌雄に著明な体重増加の抑制が認められ、同群雌の摂餌量は減少した。また 1000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制傾向が認められた。飲水量は 5000 ppm 群雌で増加した。

血液学的検査では、5000 ppm 群雌雄に、全検査時期を通して赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン量の減少が認められ、赤血球の形態異常を示す例が各検査時期に散見された。

血液生化学的検査では、5000 ppm 群雌雄に全検査時期を通して総コレステロールの増加、GPT の減少が認められ、AIP も多くの検査時期に減少した。

尿検査ではイソウロン投与によると考えられる影響は

認められなかった。

臓器重量の測定では、5000 ppm 群雌雄において多くの検査時期に、肝、腎、脾、心、1000 ppm 群雌雄において 24 カ月時に肝が、絶対、相対重量ともに増加した。

病理組織学的検査において、非腫瘍性病変では 5000 ppm 群雌雄に肝細胞腫大、自律神経系のシュワン細胞の空胞化、膵外分泌腺細胞の空胞化などが、また同群雌雄および 1000 ppm 群雌に近位尿管上皮の色素沈着、ネフローゼ、脾のうっ血が増加した。腫瘍性病変では 5000 ppm 群雌の単核細胞性白血病の発生率が対照群に比し有意に高かったが、自然発生率と同程度であった。

以上の結果、5000 ppm 群雌雄に高死亡率、体重増加の抑制、貧血、肝・腎の病変等が認められ、1000 ppm 群雌雄に体重増加の抑制傾向、同群雌に腎の病変が認められたが、200, 40 ppm 群にはイソウロン投与によると考えられる影響は認められなかったので、本試験における最大無作用量は雌雄とも 200 ppm (雄 7.26 mg/kg/日、雌 8.77 mg/kg/日) と判断された。

繁殖試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：1981 年

方法：イソウロンを 0, 200, 600 および 1800 ppm の濃度で含有する飼料を、1 群雄 15 匹、雌 25 匹のラットに、F₀には 25 週間、F₁には 30 週間連続的に摂取させた。F₀は 16 週間投与後に交配を行ない、F₁を得た。F₁は離乳時に継代用として F₀と同数の動物を選抜し、17 週間投与後交配を行ない、F₂を得た。その間一般状態の観察、体重、摂餌量、飲水量の測定を行ない、交尾率、妊娠率、出産率、着床数、新生仔数、性比、生存仔体重など繁殖性に関する項目について検査した。

結果：各世代全投与群ともイソウロン投与によると考えられる一般状態の異常および死亡例は認められなかった。

各世代の親動物、仔動物とも体重増加の抑制が 1800 ppm 群で認められ、600 ppm 群でも軽度に認められた。また両群とも F₁仔を除いて肝の相対重量が増加した。

繁殖性については、F₀の 1800 ppm 群でわずかに着床数が減少し、それに伴い新生仔数もやや減少したが、F₁では着床数、新生仔数の減少は認められなかった。その他の繁殖性に関する項目には F₀, F₁とも、投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

剖検では、各世代全群ともとくに異常所見は認められなかった。

以上の結果、親動物に対しイソウロン投与によると考

えられる明らかな影響が認められた 1800 ppm 群でも仔動物に対する影響は軽度であり、親動物に対し軽度の影響が認められた 600 ppm 群では繁殖性に対する影響は認められなかったため、イソウロンのラットの繁殖性に及ぼす影響はほとんど問題ないと判断された。

催奇形性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：1981年

1. ラットにおける催奇形性試験

方法：イソウロンを 0, 20, 60 および 200 mg/kg の投与量で、1群 24 匹のラットに妊娠 6 日から 15 日まで、毎日 1 回強制経口投与した。一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を行ない、妊娠 20 日に帝王切開し、着床数、生存・死亡胎仔数、吸収胚数を調べ、生存胎仔の性比、体重、外形・骨格・内臓異常を検査した。

結果：母動物に対しては、200 mg/kg 群に体重増加の抑制が、200 および 60 mg/kg 群に摂餌量の減少が認められた。

胎仔に対しては、200 mg/kg 群に胎仔死亡率の増加、生存胎仔体重の減少、5 例の小眼球症が認められたが、60 mg/kg 群では全検査項目において、対照群との間に有意差は認められなかった。

以上の結果、イソウロンはラットの母動物に対して強く影響しない 60 mg/kg では、催奇形作用はないと判断された。

2. ウサギにおける催奇形性試験

方法：イソウロンを 0, 1, 10 および 100 mg/kg の投与量で、1群 20 匹のウサギに妊娠 6 日から 18 日まで、毎日 1 回強制経口投与した。一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を行ない、妊娠 30 日に帝王切開し、着床数、生存・死亡胎仔数、吸収胚数を調べ、生存胎仔の性比、体重、外形・骨格・内臓異常を検査した。

結果：母動物に対しては、100 mg/kg 群で摂餌量が減少したが体重には影響はなかった。

胎仔に対しては、イソウロン投与によると考えられる奇形は認められず、性比、体重にも影響はなかった。

以上の結果、イソウロンは 100 mg/kg ではウサギに対する催奇形作用はないと判断された。

変異原性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所

報告書作成年：1978年

1. Rec-assay

方法：枯草菌の組換え修復機構保持株および欠損株を

用い、イソウロンを 0~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の濃度で、DNA 損傷の誘発性を検定した。

結果：イソウロンでは両株にまったく生育阻止は認められなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C では両株の間に著明な生育阻止の差を生じ、陰性対照のカナマイシンでは両株に同程度の生育阻止が認められた。

以上の結果、イソウロンの DNA 損傷の誘発性はないと判断された。

2. 復帰変異試験

方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 5 株 (TA 1535, TA 100, TA 1537, TA 1538, TA 98) およびトリプトファン要求性の大腸菌 1 株 (WP2 *uvrA*⁻) を用い、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。イソウロンの濃度は 0~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

結果：イソウロンでは代謝活性化を含め、最高濃度の 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 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、陽性対照の AF-2, β -propiolactone, 9-aminoacridine, 2-nitrofluorene および代謝活性化を受けた 2-aminoanthracene では、全菌株に著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果、イソウロンの復帰変異誘発性はないと判断された。

3. 宿主経路試験

方法：イソウロンを 0, 50 および 150 mg/kg の投与量で、1群 6 匹の雄マウスに 24 時間間隔で 2 回強制経口投与した。2 回目の投与直後にヒスチジン要求性のサルモネラ菌 1 株 (G46) を腹腔内投与し、Legator らの方法により変異原性を検定した。

結果：イソウロン投与群では、復帰変異菌数の増加は認められなかった。一方、陽性対照の dimethylnitrosoamine 投与群では、著明な復帰変異菌数の増加が認められた。

以上の結果、イソウロンの復帰変異誘発性はないと判断された。

要 約

イソウロンの安全性評価を行なうため、各種毒性試験を実施した。

本剤のマウス、ラットにおける急性毒性は比較的弱く、普通物に該当する。

ウサギの眼に対して軽度の刺激性が認められたが、2 日以内に回復する可逆性の所見で、眼に障害を残すことはないと考えられる。またウサギの皮膚に対する刺激性は認められなかった。

マウス、ラットにおける亜急性毒性試験および慢性毒性試験では、高投与量群に体重増加の抑制、貧血、肝細胞腫大等が認められたが、マウス、ラットとも催腫瘍性は認められなかった。慢性毒性試験における最大無作用量はマウスでは雄が 40 ppm (3.42 mg/kg/日)、雌が 200 ppm (16.6 mg/kg/日)、ラットでは雌雄とも 200 ppm (雄 7.26 mg/kg/日、雌 8.77 mg/kg/日) と判断された。

ラットにおける繁殖試験では、繁殖性に対して本剤の影響はほとんど認められなかった。

またラット、ウサギに対する催奇形作用も認められなかった。

変異原性は、Rec-assay、復帰変異試験、宿主経路試験のいずれにおいても陰性であった。

イソウロンは、昭和56年9月に日本芝に対して、昭和58年11月に鉄道、公園、宅地等に対して非食用作物を対

象とした登録を取得した。昭和58年1月にはさとうきびを対象とした食用作物の除草剤として適用拡大申請し、昭和60年2月に登録を取得した。イソウロンの登録保留基準値は、さとうきびで 0.05 ppm と設定された。

イソウロンは、定められた安全使用基準を遵守することにより安全性を確保できる農薬であり、有用な農業資材の一つとして、上市以来好評を得ている。

最後に、本資料作成に際しご校閲いただいた残留農薬研究所毒性部長白須泰彦博士に深謝の意を表します。

問合せ

塩野義製薬株式会社動植薬開発部

〒541 大阪市東区道修町 3-12