

技術情報

チウラムの毒性試験の概要

大内新興化学工業株式会社

(平成2年5月20日受理)

薬剤の概要

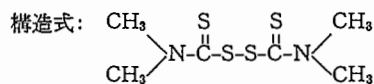
チウラムはジチオ酸誘導体の一つで、ジメチルジチオカルバミン酸ナトリウム塩の酸化反応により生成される。大内新興化学工業株式会社はその優れた殺菌効果に着目し、昭和29年に40%粉剤を上市し日本での開発に着手した。

本剤は開発の当初、穀類、野菜類、花卉類の種子消毒剤として用いられていたが、その後ビートの葉ぐされ病、馬鈴しょの黒痣病、芝生のブラウンパッチ病にも著効を示すことが判明し、有効成分80%の水和剤（グリーンチオノック）を登録した。さらに、ジラムとの混合剤はリンゴの殺菌剤として登録された。また、ナン、モモ、柿など果樹への用途開発も実施されている。

本剤の化学構造および特性化学的性状等は以下に示すとおりである。

一般名: チウラム (thiuram)

化学名: Bis(dimethylthiocarbamoyl) disulfide

分子式: $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_4$

分子量: 240.43

外 観: 白色結晶性の粉末

比 重: 1.40

融 点: 148.5~150.0°C

沸 点: —

蒸気圧: 10^{-5} mb 以下 (20°C)

溶解度: (g/l) 20°C

水 0.01

クロロホルム 191.298

ベンゼン 40.094

アセトン 19.872

二塩化メチレン 160.789

ヘキサソ 0.103

テトラヒドロフラン 36.964

メチルアルコール 1.865

キシレン 0.853

アセトニトリル 18.013

二硫化炭素 9.069

分配係数 (n-オクタノール/水 50°C) 9.3

以下、本剤を用いた各種毒性試験の結果を取りまとめ報告する。

急性毒性試験

ラットおよびマウスに対する種々の投与経路における原体の急性毒性試験結果は以下に示すとおりである。

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関	報告年
ラット	経口	雄 2018	残留農薬 研究所	1981
		雌 2089		
	皮下	雄 646		
		雌 832		
	腹腔内	雄 139		
		雌 143		
	経皮	雄 >5000		
雌 >5000				
吸入 (LD ₅₀) (4時間)	雄 175 ^{a)}	残留農薬 研究所	1987	
	雌 660 ^{a)}			
マウス	経口	雄 >8788	残留農薬 研究所	1981
		雌 >8788		
	皮下	雄 1109		
		雌 1125		
	腹腔内	雄 197		
雌 230				

a): mg/l

刺激性および皮膚感作性試験

1. 眼一次刺激性試験

チウラム原体 0.1g をニューージーランド・ホワイト種雄ウサギ (洗眼群 6匹, 非洗眼群 6匹) の片側の下眼瞼に投与し、両眼瞼を1秒間閉じ合わせた。洗眼群のうち

3匹は投与2~3分後に、残り3匹も投与24時間後洗眼した。他側の眼を無処置対照群とした。

投与後、1, 3時間目、および1, 2, 3, 4, 7, 10, 13, 16, 19, 21日目に角膜、虹彩、および結膜の刺激性変化を観察した。

その結果、洗眼群および非洗眼群とも角膜、虹彩、および結膜に刺激性変化が認められた。角膜および結膜の変化は観察期間の後期に軽減ないし回復したが、虹彩の変化はほとんどの例で回復しなかった。

チウラム原体は眼に対し刺激性を有した。

(残留農薬研究所, 1985年)

2. グリーンチオノックの眼一次刺激性

チウラムの80%水和剤(グリーンチオノック)の蒸留水による500倍希釈懸濁液0.1mlを、ニュージールランド・ホワイト種雄ウサギ(洗眼群6匹、非洗眼群6匹)の片側の下眼瞼に投与し、両眼瞼を1秒間閉じ合わせた。洗眼群のうち3匹は投与2~3分後に、残り3匹も投与24時間後に洗眼した。他側の眼を無処置対照群とした。

投与後、1, 3時間目、および1, 2, 3, 4, および7日後に角膜、虹彩、および結膜の刺激性を観察した。

その結果、洗眼群および非洗眼群とも刺激性変化は認められなかった。

グリーンチオノックの蒸留水による500倍希釈懸濁液は、眼に対する刺激性はないと判断された。

(残留農薬研究所, 1988年)

3. 皮膚一次刺激性試験

チウラム原体0.5gをニュージールランド・ホワイト種雄ウサギ(1群6匹)の刈毛した背部皮膚に塗布し、その上をガーゼパッチで覆い、ポリエチレンシートで閉鎖貼付した。塗布4時間後にガーゼパッチを除去し皮膚を洗浄した。

皮膚洗浄直後、1, 24, 48, および72時間後に塗布部位の刺激性変化(紅斑、浮腫)の有無等を観察した。

その結果、塗布した皮膚には刺激性変化は認められずチウラム原体は皮膚に対する刺激性はないと判断された。

(残留農薬研究所, 1985年)

4. 皮膚感作性試験

チウラム原体の皮膚感作性試験をハートレイ系雌モルモット(1群25匹、陽性対照群では1群10匹)を用いてMaximization法に従って実施した。

感作: 感作皮内投与では、肩甲骨上の2×4cm皮膚区画(前日に剪毛・剃毛)に①フロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水のwater in oil 乳化溶液(以後、W/O 乳化溶液)0.1ml、②被験物質の5%流動パラフ

ィン懸濁液0.1ml、③被験物質の5%W/O 乳化溶液0.1mlの3溶液をそれぞれ皮内投与した。

感作経皮投与では、皮内投与後1週間目に、上記部位(前日に剪毛し、10%ラウリル硫酸ナトリウムを開放塗布)に被験物質の25%経皮貼付薬液を48時間閉鎖貼付した。

一方、陽性対照群では、2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)を用い、皮内投与では0.1%、経皮投与では1%の濃度で被験物質と同様に調製し投与した。

誘発: 感作経皮投与後2週間目に左腹部側の2×2cmの皮膚区画(前日に剪毛・剃毛)に被験物質の25%経皮貼付薬液を24時間閉鎖貼付した。

一方、陽性対照群では、DNCBの0.5%経皮貼付薬液を同様に貼付した。誘発後(惹起経皮貼付除去後)24, 48および72時間目に適用部位の紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察した。

その結果、被験物質投与群では25例中4例に軽度またはまばらな紅斑が認められたため、皮膚感作率[(感作陽性動物数/使用動物数)×100]は16%であった。

一方、陽性対照群では全例に中等度の紅斑あるいは強度の紅斑および浮腫が認められたため、皮膚感作率は100%であった。

以上の結果、チウラム原体の皮膚感作性は軽度であると判断された。

(残留農薬研究所, 1987年)

慢性毒性試験予備試験

1. ラットにおける4週間慢性毒性試験予備試験

1群雌雄各5匹のSD系ラットにチウラムを0, 10, 100, 1,000, および2,500ppm含有した飼料を4週間摂取させた。

その結果、100ppm以上の投与群の雌雄において飼料摂取量の減少を伴う体重増加抑制が認められた。1,000ppm以上の投与群の雌雄では消瘦と脱毛が観察され、投与期間中2,500ppm投与群の雄2/5例、雌5/5例が死亡した。血液学的検査において赤血球数の減少が1,000ppm投与群の雌雄に認められた。

(残留農薬研究所とライフ・サイエンス・リサーチの共同研究, 1974年)

2. イヌにおける4週間慢性毒性試験予備試験

1群雌雄各1頭(200mg/kg/日投与群は雄1頭、雌2頭)のビーグル犬にチウラム原体をゼラチンカプセル内に封入し、0, 4, 40, および200mg/kg/日投与量で4週間投与した。200mg/kg/日投与群では一般状態の悪化が著しく、かつ眼の異常が早期に出現したため、雄の投与を11日目より中止し、42日目まで回復状況を観察した。

その結果、40 および 200 mg/kg/日投与群の雌雄では一般状態が悪化し嘔吐とけいれんが認められた。200 mg/kg/日投与群の雌 2 例および 40 mg/kg/日投与群の雌雄が死亡した。200 mg/kg/日投与群の雄の投与を 11 日目より中止したところ 17 日目に一般状態は回復した。体重は 40 および 200 mg/kg/日投与群において減少したが、投与を中止した 200 mg/kg/日投与群の雌では 17 日目に正常に回復した。飼料摂取量は 200 mg/kg/日投与群でのみ減少したが、雌では投与中止により正常に回復した。

検眼鏡検査において、40 および 200 mg/kg/日投与群の雌雄に網膜の出血と壁紙（タベタム）の色素消失が認められたが、200 mg/kg/日投与群の雄では投与中止後 3 週間において正常に回復した。

（残留農業研究所とライフ・サイエンス・リサーチの共同研究，1974 年）

慢性毒性・発癌性試験

1. Wistar 系ラット慢性毒性・発癌性併合試験

1 群雌雄各 64 匹の Wistar 系ラットにチウラムを 0, 3, 30, および 300 ppm 含有する飼料を 24 カ月間摂取させた。

300 ppm 投与群の雌雄において、飼料摂取量の低下を伴う体重増加抑制が認められ、雌では軽度の貧血が観察された。また、下腿筋重量が雌雄において減少し、雌では組織学的に下腿筋の変性を伴っていた。腫瘍は本系統ラットに通常認められる種類が発生し、投与群においてとくに増加したものはなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄とも 30 ppm（雄 1.15 mg/kg/日、雌 1.39 mg/kg/日）であると判断された。（残留農業研究所，1979 年）

2. ビーグル犬 24 カ月間慢性毒性試験

1 群雌雄各 4 頭のビーグル犬にチウラムをカプセルに充填し、0, 0.4, 4.0, および 40.0 mg/kg/日の用量で 1 日 1 回、24 カ月間強制経口投与した。

その結果、40 mg/kg/日投与群の雌雄では嘔吐、流涎および間代性けいれん、体重低下、眼底出血等が認められ、全例が死亡もしくは切迫殺された。4.0 mg/kg/日においても一部に嘔吐および流涎、体重増加抑制、軽度の貧血、血漿アルカリフォスファターゼとコレステロールの軽度増加、肝において肝細胞萎縮と肉芽腫形成が観察された。0.4 mg/kg/日投与群には特記すべき異常を認めなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄とも 0.4 mg/kg/日であると判断された。

（残留農業研究所，1979 年）

3. B6C3F1 マウス発癌性試験

1 群雌雄各 50 から 53 匹の B6C3F1 マウスにチウラムを 0, 600, および 1,250 ppm 含有する飼料を 100 週間摂取させ、その後 10 週間休薬した。600 ppm 投与群の雌は 80 週後に感染症の発生が疑われたため、投与を中止し屠殺した。

100 および 1,250 ppm 投与群の雌において 10 g 程度の、また雄においても 3 g 程度の体重増加がみられた。腫瘍は本系統マウスに通常認められる種類が発生し、投与群においてとくに増加したものはなかった。

（愛知がんセンター研究所，1980 年）

繁殖および催奇形性試験

チウラムを 0, 10, および 100 ppm 含有する飼料で Wistar 系ラットを 2 世代にわたって飼育し、繁殖性に及ぼす影響について検討した。また、2 回目の交配（F1b および F2b）を行なった後に、各群について 10 腹を妊娠 21 日に帝王切開し、胎子における催奇形性を調べた。

その結果、100 ppm 投与群では育成期と繁殖期を通して雌雄の親動物に有意な体重の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チウラム投与による影響は認められなかった。哺育中の仔動物と離乳後 10 週間育成した F2 世代の仔動物には、それぞれ有意な体重の増加抑制と性成熟の遅延が認められた。胎子の検査では内臓および骨格に異常はなかった。

その結果より、親動物に対する一般毒性の影響に関して 10 ppm が無作用量と考えられるが、100 ppm においても繁殖能力に及ぼす影響は認められず、また、催奇形性も認められないと判断された。

（残留農業研究所，1980 年）

催奇形性試験

チウラムを 0, 1, 4, および 16 mg/kg の投与用量で、1 群 15 匹の日本白色種雌ウサギに妊娠 6 から 18 日（器官形成期）の 13 日間、毎日 1 回強制経口投与し、母体および胎子に及ぼす影響を調べた。

その結果、16 mg/kg 投与群の胎子において、胚・胎子死亡率が増加したが奇形の誘発はなかった。したがって、チウラムは胎子毒性を示す用量を用いてもウサギにおいて催奇形性はないと判断された。

（残留農業研究所と日本生物科学研究所の共同研究，1987 年）

変異原性試験

1. DNA 修復試験

枯草菌の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、賀田等の rec-assay 法で、チウラムを 0.1~10 μg /ディスクで処理したときの DNA 損傷の誘発性を検討した。

その結果、チウラムは 1.0 μg /ディスクまでの濃度において組換え修復機構欠損株 (M-45) にのみ軽度の生育阻止帯を誘起した。したがって、チウラムは軽度 DNA 損傷を誘起すると考えられた。

(残留農薬研究所, 1978 年)

2. 復帰変異原性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538 株) およびトリプトファン要求性大腸菌 (WP2 hcr 株) を用い、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 Ames 等の方法で、チウラムを 1~1,000 μg /プレートで処理したときの遺伝子突然変異性を検討した。

その結果、チウラムは S-9 Mix の有無にかかわらず、WP2 株, TA100 株に復帰変異コロニー数の弱い増加を誘起した。その他の 4 株ではいずれの場合にも増加は認められなかった。したがって、チウラムには弱い復帰変異誘発性があると判断された。

(残留農薬研究所, 1978 年)

3. 小核試験

チウラムを 0, 550, 1,100, および 2,200 mg/kg の投与用量で、1 群 6~7 匹の BDF1 系雄マウスに強制経口投与し、高用量群 (2,200 mg/kg) においては投与の 16, 24, 48, および 72 時間後に、低用量群 (550 mg/kg) および中用量群 (1,100 mg/kg) では投与の 72 時間後に骨髄の塗抹標本作製し、チウラムによる小核の誘発性を検索した。

その結果、いずれの投与群においても小核試験に影響する著しい骨髄抑制は認められず、また、染色体異常に起因する小核の増加はなかった。したがって、チウラムはマウスの骨髄細胞において小核を惹起しないと判断された。

(残留農薬研究所, 1987 年)

4. 染色体異常誘発性試験

継代培養したチャイニーズハムスターの肺由来線維芽細胞 (CHL) を用いた。チウラムの 30 および 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で添加し直接法により染色体異常誘発性の検定をした。

その結果、構造的染色体異常および数的染色体異常を誘起しなかった。したがって、チウラムは染色体異常発

生に関し陰性であると判断された。

(国立衛生試験所変異原性部, 1976 年)

生体機能に及ぼす影響試験

ICR 系マウス, Fischer 系ラット, Hartley 系モルモット, および日本白色種ウサギにチウラムを 1.563~200 mg/kg 投与し、中枢神経系, 呼吸・循環器系, 自律神経系, 消化器系, 骨格筋, および血液に対する作用を検討した。

その結果、マウスでは 100 mg/kg の腹腔内投与で、またウサギでは 12.5 mg/kg の静脈内投与により死亡が認められた。致死量の 1/8 以上の処置量でマウスのヘキソバルビタール睡眠時間の延長作用, 1/2 以上の処置量でマウスの小腸における炭末輸送能の抑制作用, マウスの運動性, 姿勢, 反射等に異常症状, およびウサギの循環器系に対する抑制作用が認められた。摘出臓器に対しては、 10^{-5} g/ml でモルモットの回腸に収縮抑制作用が認められた。

(残留農薬研究所, 1989 年)

要 約

チウラムの安全性評価を行なうための各種毒性試験を実施した。その結果、本剤は急性毒性が低く、皮膚に対する刺激性はなく、感作性も軽微であった。また、眼刺激性が原体に観察されたが、実際の使用時の製剤には認められなかった。慢性毒性試験ではビーグル犬の高用量群において重篤な毒性症状が発現し雌雄の全例が死亡したものの、ラットでは一部の臨床病理学的検査に異常を認めずに催腫瘍性も認められなかった。また、マウスにおいても催腫瘍性はみられなかった。催奇形性はなく繁殖能力に悪影響を及ぼさなかった。変異原性試験では DNA 修復試験および復帰変異原性試験で弱陽性を示したが、小核試験および染色体異常誘発性試験は陰性であった。

チウラムはチウラム・ジラムの混合剤として昭和 53 年 2 月に農薬登録を取得したが、昭和 63 年 10 月にチウラムおよびジラムの分離評価が実施された。現在の登録保留基準値はリンゴ 1.0 ppm, ナン 0.5 ppm, モモ 0.5 ppm および柿 0.5 ppm と設定された。

チウラム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、農業資材として有用であると考えられる。

問合せ

大内新興化学工業株式会社

〒103 東京都中央区日本橋小舟町 7-4