

フルスルファミドの毒性試験の概要

三井化学株式会社 農薬事業部

薬剤の概要

フルスルファミドは昭和55年、三井東圧化学(株)によりみいだされたベンゼンスルホンアニリド誘導体である。本剤は昭和55年より実施されたスクリーニングの結果、アブラナ科野菜の根こぶ病に対し、高活性を有する化合物として見いだされ、その効力は実に既存剤の約70倍から100倍を示した。また、蒸気圧が極めて低いことから浮遊性指数の小さい粉剤に製剤化することにより環境汚染や危被害の防止が図れるものと考えられた。

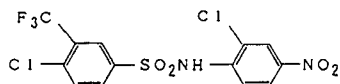
昭和56年より(株)日本植物防疫協会を通じて、全国規模の公式委託試験を開始した。その結果、優れた防除効果が認めれたことから、はくさいやキャベツで代表されるアブラナ科野菜の根こぶ病を対象にした土壌殺菌剤として平成4年11月に商品名ネビジンとして農薬登録を取得した。

本化合物の化学構造及び物理化学的性質を以下に記す。

一般名：フルスルファミド、Flusulfamide

化学名：2,4-dichloro- α , α , α -trifluoro-4'-nitro-*m*-toluenesulfonanilide

構造式：



分子式：C₁₃H₇N₂O₄Cl₂F₃S

分子量：415.18

性状：淡黄色結晶性粉末

比重：1.739 (23℃)

融点：170.0~171.5℃

蒸気圧：5.93×10⁻⁹mmHg (25℃)

溶解度(g/100g, 25℃)：アセトン31.4、メタノール 2.4、エーテル 1.1、*n*-ヘキサン 0.05、水 2.9ppm (25℃)

分配係数：2.4 (オクタノール-水)

急性毒性

原体及び製剤の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。

1. 原体

供試動物	投与方法	性別	LD ₅₀ または最大無作量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
マウス	経口	♂	245	残留農薬研究所 (1986)
		♀	254	
ラット	経口	♂	180	
		♀	132	
	経皮吸入	♂♀	>2000	(1990)
イヌ	経皮吸入	♂♀	>2000	Bio/dynamics (1989)
		♂♀	>79	
		♂♀	<240 ^{b)}	

2. 粉剤 (0.3%)

供試動物	投与方法	性別	LD ₅₀ または最大無作量 (mg/kg)	試験機関 (報告年)
ラット	経口	♂♀	>5000	Bio/dynamics (1989)
		♂♀	>2000	
イヌ	経口吸入	♂♀	>2000	
		♂♀	>580 ^{a)}	

^{a)}：LC₅₀ (mg/m³)、4時間鼻部曝露

^{b)}：LC₅₀ (mg/m³)、4時間全身曝露

眼粘膜一次刺激性試験

1. 原体

ニュージーランド白色種ウサギ9匹(洗眼群 3匹、非洗眼群 6匹)の右眼に、フルスルファミド原体0.1mlを投与し、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を21日間観察した。

その結果、全動物で角膜、虹彩、結膜に変化があらわれ、そのうち5例は7~10日以内に回復したが、1例は21日まで持続した。また、洗眼群では刺激性が著しく軽減され、72時間以内に回復した。

(Bio/dynamics, 1989年)

2. 製剤

ニュージーランド白色種ウサギ6匹の右眼にフルスルファミド粉剤116mgを投与し、24時間後に処理した眼を洗浄して残存検体を除去した。投与後1、24、48、72時間に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。

その結果、投与後1時間より結膜及び虹彩に変化が

あられ、2～3日で回復した。従って、フルスルファミド粉剤は中程度で回復性の刺激性を有すると判断された。
(Bio/dynamics、1989年)

皮膚一次刺激性試験

1. 原体

ニュージーランド白色種ウサギ6匹の背部を剃毛し、生理食塩水で湿らせたフルスルファミド原体500mgを4時間塗布し、塗布終了後30分、24、48、72時間に紅斑及び浮腫を観察した。

その結果、6例中1例で30分及び24時間後にごく軽度の紅斑が観察された。

従って、フルスルファミド原体は、ウサギの皮膚に対する刺激性は殆どないと判断される。

(Bio/dynamics、1989年)

2. 製剤

ニュージーランド白色種ウサギ6匹の背部を剃毛し、フルスルファミド粉剤500mgを4時間塗布した。塗布終了後30分、24、48、72時間に紅斑及び浮腫を観察した。

その結果、皮膚の変化は認められず、フルスルファミド粉剤は皮膚一次刺激性を有しないと判断される。

(Bio/dynamics、1989年)

皮膚感作性試験

Hartley系モルモット1群雌雄各5～10匹の背部を剃毛し、Buehlerの局所塗布法による感作処置、惹起処置を行った。判定は24、48時間に行った。原体及び粉剤の濃度は、感作及び惹起とも100%で0.3cc塗布した。

その結果、いずれも惹起後48時間までの観察で皮膚感作性は認められなかった。

(Bio/dynamics、1989年)

亜急性毒性試験

1. マウスを用いた混飼投与試験

フルスルファミド原体を0、10、40、150及び600ppm含有する飼料を、1群雌雄各12匹のICR系(CD-1)マウスに13週間投与した。

その結果、600ppm群では雌雄とも飼料摂取量、食餌効率の低下を伴った体重増加抑制がみられた。また、雌ではHt、Hb、BBC、血小板の低下、MCVの上昇など貧血所見及び血糖値の上昇がみられ、雄でもRBCの低下、GOTの上昇がみられた。臓器重量では雄の肝相対重量の上昇及び雌の脳重量の上昇ならびに卵巣絶対重

量の低下がみられた。病理組織学的にも雄で脾臓の髓外造血亢進、肝の小葉中心性肝細胞腫大がみられ、雌で卵巣の萎縮がみられた。また、雌雄とも中枢神経組織の脊髄神経線維走行路に空洞化がみられた。150ppmでは雌でHt、Hbの低下及び一部に軽度の中枢神経病変がみられた。

以上の結果から、最大無作用量は雄が150ppm(16.2mg/kg/day)、雌が40ppm(5.43mg/kg/day)と判断される。
(残留農薬研究所、1987年)

2. ラットを用いた混飼投与試験

フルスルファミド原体を0、10、40、150及び600ppm含有する飼料を、1群雌雄各12匹のFischer34344系ラットに13週間投与した。

その結果、600ppm群の雌雄に食餌効率の減少を伴う体重増加抑制がみられ、150ppmの雄でも軽度の体重増加抑制がみられた。尿検査では150及び600ppmの雄で尿蛋白の軽度な上昇、血液検査では600ppm群の雌にHt、Hb、RBCの低下、MCV、MCHの上昇など貧血所見がみられた。血液生化学検査では、150及び600ppmの雌でGOT、T-bil、血糖の上昇、さらに600ppmの雌ではA/G比、尿素窒素、総コレステロールの上昇がみられた。150及び600ppmの雄ではγ-GTPの上昇がみられ、A/G比の上昇が600ppmにみられた。肉眼的病理検査では600ppmの雄に精巣の萎縮がみられる例があった。臓器重量では検体投与によると思われる変化としては、150ppm以上の雌雄に肝相対重量の増加、600ppm雄に精巣絶対重量の減少がみられた。病理組織学的には600ppmの雌雄に肝の小葉中心性肝細胞腫大、腎の乳頭部限局性壊死、中枢神経組織の脊髄神経走行路の空洞化がみられ、中枢神経系の変化は軽度ではあるが150ppmの雌にもみられた。

以上の結果から、最大無作用量は、雌雄とも40ppm(雄2.46mg/kg/day、雌2.52mg/kg/day)であると判断される。
(残留農薬研究所、1987年)

慢性毒性・発がん性試験

1. ラットを用いた混飼投与試験

フルスルファミド原体を0、3、30及び300ppm含有する飼料を、1群雌雄各80匹のFischer344系ラットに104週間投与した。26、52及び78週に雌雄各10匹について中間屠殺を行った。

その結果、一般状態では異常はなかったが、30ppm以上の群で体重増加抑制、300ppm群では食餌効率の低下もみられた。眼科的検査では300ppm雌の104週目の検査で

水晶体、硝子体部の混濁がみられた。同群の雌では尿中蛋白の増加及び血液検査で貧血が認められた。血液生化学的には300ppmの雌雄にALP、 γ -GTP、総コレステロール、尿素窒素の上昇、30ppm以上の雌に総ビリルビンの上昇がみとめられた。その他、毒性学的に意義のない変化も散見された。臓器重量については、300ppmの雌雄で全検査期間を通じて肝、腎重量の増加、一部の時期に脳相対重量の増加がみられ、雄ではさらに副腎、精巣相対重量の増加もみられた。30ppmでは26週目に雌の肝相対重量が増加した。病理組織学的検査では300ppmの雌雄に中枢神経系白質空胞化、脊髄及び坐骨神経の神経線維変性、眼球の網膜萎縮変性、腎の限局性乳頭部壊死及び乳頭部石灰沈着、肝の好酸性肝細胞小増殖巣がみられた。さらに同群の雌では眼球の白内障、腎の慢性腎症、雄では肝の小葉中心性肝細胞腫大がみられた。

以上の結果から、最大無作用量は3ppm(雄0.1037mg/kg/day、雌0.1323mg/kg/day)と判断される。また、発がん性はないものと考えられる。

(残留農薬研究所、1989年)

2. マウスを用いた混餌投与試験

フルスルファミド原体を0、2、20及び200ppm含有する飼料を、1群雌雄各60匹のICR系(CD-1)マウスに78週間投与した。52週に雌雄各10匹について中間屠殺を行った。

その結果、一般状態については200ppm雌に削瘦の発生率が増加し、投与期間中低体重も持続して認められた。また、同群の雌では投与期間初期に飼料摂取量の減少、飼料効率の減少もみられた。血液検査では200ppmの雌の52週目の検査でリンパ球の割合の増加、78週目に単球の割合の増加がみられたが、病理組織学的検査でこれらに対応する変化が認められなかったので検体投与による影響とは考えられなかった。剖検では、200ppm雌の削瘦及び体型の小型化の発生率が増加し、同群の雌では脳重量の増加、78週目に副腎相対重量の増加がみられた。病理組織学的検査では200ppmの雌雄に中枢神経系白質空胞化の増加ないし増加傾向がみられ、同群の雌に腎の尿細管拡張の増加も認められた。

以上の結果から、最大無作用量は、20ppm(雄1.999mg/kg/day、雌1.985mg/kg/day)と判断される。また、発がん性はないものと考えられる。

(残留農薬研究所、1989年)

3. イヌを用いた混餌投与試験

フルスルファミド原体を0、2、10及び50ppm含有する飼料を1群雌雄各5匹のビーグル犬に12カ月間投与した。

その結果、一般状態、死亡率については影響が認められなかった。体重においては、10及び50ppmの雄で投与後20週目より増加抑制があらわれた。飼料摂取量、眼科的検査、尿検査、血液学的検査、剖検において異常はみられなかった。また、血液生化学及び臓器重量において一部有意差が認められたが、いずれの変化も正常範囲内あるいは毒性学的に意味のない変化であった。病理組織学的検査では50ppmの雌雄に中枢神経系白質に空胞形成が認められた。

以上の結果から、最大無作用量は雌雄とも10ppm(雄0.246mg/kg/day、雌0.260mg/kg/day)と判断される。(残留農薬研究所、1989年)

4. サルを用いた試験

フルスルファミド原体を0、0.063、0.315及び1.575mg/kgの濃度で1群雌雄各4匹のシノモルガスザルに経鼻挿管法を用いて1日1回、52週間連続投与した。

その結果、4週間の予備試験では、他の試験と同様の結果がみられたが、本試験では一般状態、体重、眼科的検査、血液及び血液生化学検査、尿検査、剖検、臓器重量、病理組織学的検査のいずれの検査でも変化が認められなかった。従って、最大無作用量は雌雄とも1.575mg/kgと判断される。

(ヘーゼルトン(米国)、1990年)

繁殖および催奇形性試験

1. ラットによる繁殖性試験

フルスルファミド原体を0、2、10及び40ppm含有する飼料で、1群雌雄各24匹のCD(SD)系ラットを2世代にわたって飼育した。各世代ごとに交配を行い、次世代への継続は交配における同産群の一部を用い、繁殖能に及ぼす影響を検討した。

その結果、親動物には、40ppm群で体重増加抑制及び心重量の低下がみられ、仔動物には10ppm以上の投与群で哺育0日の体重低下及び40ppm群で哺育0日の生存率の低下がみられたが交配能力及び繁殖能力に対しては影響がみられなかった。以上の結果から、最大無作用量は、親動物に対しては10ppm、仔動物では2ppmと判断される。(残留農薬研究所、1989年)

2. ラットにおける催奇形性試験

フルスルファミド原体を1%CMCに懸濁し、0、0.

2、1及び5 mg/kg/dayを上記繁殖試験に用いたものと同系のラット（1群雌24匹）に妊娠6日から15日までの器官形成期に毎日1回強制経口投与し、催奇形性を検討した。

その結果、母動物に対しては1 mg/kg以上の投与群で体重増加量の抑制傾向がみられ、5 mg/kg群では飼料摂取量の減少もみられた。胎仔に対しては、1 mg/kg以上の投与で腰肋の出現率がやや増加した。5 mg/kg群では胎仔体重の有意な低下もみられた。

従って、最大無作用量は0.2 mg/kg/dayであり、最高投与量の5 mg/kg/dayでも胎仔に対し、明確な催奇形性の誘発をおこさないものと判断される。

（残留農薬研究所、1989年）

3. ウサギにおける催奇形性試験

フルスルファミド原体を1%CMCに懸濁し、0、2、6及び20 mg/kg/dayを日本白色種ウサギ（1群雌18匹）に妊娠6日から18日までの器官形成期に毎日1回強制経口投与した。その結果、母動物では20 mg/kg群に飼料摂取量及び体重増加量の低下がみられた。仔動物では母動物に対する影響を介しての二次的変化とも考えられる鼻部形成異常、小眼球症、全前脳、前頭骨の融合が3～5例にみられた。

従って、母体毒性を現す高用量において催奇形性が疑われるが、最大無作用量は母動物、胎仔動物とも6 mg/kg/dayと判断される。

（残留農薬研究所、1989年）

変異原性試験

1. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌4株（TA100、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、代謝活性化の存在下および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。フルスルファミドの濃度は、TA100、TA98株で0～200 µg/plate、TA1535、TA1537株で、0～100 µg/plate、WP2 *uvrA*で0～1000 µg/plateとした。

その結果、代謝活性化を含め最高用量においても復帰変異コロニー数の増加は認められず、フルスルファミドは復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

（残留農薬研究所、1987年）

2. 染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺由来の継代培養したCHL細胞を用い、代謝活性化の存在下および非存在下

で染色体異常誘発能を検討した。フルスルファミドの濃度は非活性化法で $1.5 \times 10^{-5} \sim 3.3 \times 10^{-7} M$ の5濃度、活性化法で $1.0 \times 10^{-3} \sim 1.0 \times 10^{-5} M$ の5濃度とし、標本作製時間は前者が24及び48時間に、後者は12及び18時間とした。染色体分析としては、良好な分裂中期像200個を観察し、種々の染色体異常の出現頻度を算出した。

その結果、非活性化法および活性化法とも、いずれの観察時期においても異常細胞出現率は5%以下であることから、染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

（残留農薬研究所、1987年）

3. 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、代謝活性化の存在下および非存在下でDNA損傷の誘発性を検討した。フルスルファミド原体の濃度は0.1～5 µg/diskとした。

その結果、代謝活性化の有無にかかわらず5 µg/diskの最高濃度においても両株に生育阻止を認めなかったことから、DNA損傷の誘発性はないものと判断される。

（残留農薬研究所、1987年）

薬理試験

1. 一般薬理試験

フルスルファミドの生体機能に及ぼす影響について以下の試験を行った。

- 1) 中枢神経系に対する作用（マウス、ウサギ）
- 2) 呼吸・循環器系に及ぼす影響（ウサギ）
- 3) 自律神経系に及ぼす影響（ウサギ、モルモット）
- 4) 消化器に及ぼす影響（マウス、ラット）
- 5) 血液に対する作用（ラット、ウサギ）
- 6) 腎機能に対する作用（ラット）
- 7) 骨格筋に対する作用（ラット）

その結果、フルスルファミドは致死量及び高濃度のレベルにおいて動物の感覚機能及び反射機能の亢進、摘出平滑筋の運動抑制ならびに強直性の収縮、骨格筋の収縮、尿電解質中特に k^+ 排泄の亢進等の作用が認められた。

（環境保健生物研究センター、1987年）

2. 中枢神経系の薬理試験

フルスルファミドの中枢神経系に及ぼす影響について以下の試験を行った。

- 1) マウスにおける一般症状（マウス）
- 2) ウサギにおける一般症状（ウサギ）
- 3) ヘキソバルビタール睡眠に対する作用（マウス）

4) 脳波に対する作用 (ウサギ)

その結果、マウスの一般症状では50mg/kg以上の腹腔内投与で運動性の低下、運動失調、筋緊張の低下、自律神経系の項目の異常がみられ、ヘキソバルビタール睡眠では睡眠時間の延長が観察された。ウサギの一般症状では100mg/kg以上の群に行動、体性神経系、自律神経系の項目の異常がみられ、脳波では、死亡直前に脳波活性の低下ないし消失が観察された。

(残留農薬研究所、1990年)

解毒

フルスルファミド原体の400mg/kgを1群雄10匹のddy系マウスに経口投与し、メトカルバモールの200、300及び400mg/kgを投与直後に1～4回腹腔内投与した。

その結果、メトカルバモール200及び300mg/kg投与群で初期の痙攣死を抑制し、死亡までの時間を明らかに延長させ、300mg/kgの追加投与群では死亡率を低下させた。

従って、フルスルファミドの毒性に対し、メトカルバモールの200～300mg/kgをできるだけ早い時期に腹腔内投与することが有効であると考えられた。

(松本歯科大学、アニマルリサーチ、1989年)

回復性試験

1. マウスを用いた連続投与試験

フルスルファミド原体を200～600ppm含有する飼料でCD (ICR) 系マウスを2週間飼育し、4～8週間の休薬期間を設けてその回復性について以下の種々の試験を行った。

- 1) 行動毒性
- 2) 病理組織学的特殊染色検査
- 3) 電子顕微鏡学的検査
- 4) 神経生化学的検査

その結果、行動毒性では、600ppm投与終了後及び4週間の休薬終了後とも影響は認められなかった。病理組織学的特殊染色検査ではフルスルファミドにより誘発された有髄神経線維の空胞化は休薬により回復することが認められた。また、本病変の成立及び回復には星状膠細胞の関与は認められなかった。なお、200ppmでは異常は認められなかった。電子顕微鏡学的検査では、中枢神経系の有髄神経線維の変化は髄鞘に局限されたものであり、軸索、神経細胞及び希突起膠細胞などに

は影響しないことが認められ、休薬期間を設けることにより回復に向かうことが観察された。また、200ppmでは、電顕的にも異常は認められなかった。神経生化学的検査では、髄鞘の指標蛋白及び酵素に影響を及ぼさなかった。

従って、フルスルファミドにより誘発された中枢神経系有髄神経線維への影響は髄鞘に局限されたものであり、その変化は行動毒性及び髄鞘の指標蛋白や酵素に影響しない程度の比較的軽度なものであったことから、休薬による回復性が認められたと示唆される。

(実医研、1990～1992年)

2. ラットを用いた単回投与による試験

フルスルファミド原体を40、80、及び160mg/kgの濃度で1群20匹のCD (SD) 系ラットに強制経口投与し、投与後2、7、14及び21日に病理組織学的検査を行った。

その結果、全群の死亡例及び生存例とも中枢神経系への影響は認められなかったことから、フルスルファミド原体の単回投与では中枢神経系白質の空胞化は誘発しないと判断される。

(実医研、1992年)

3. ラットの慢性脳波試験

フルスルファミド原体を600ppm含有する飼料でWistar系ラットを28日間飼育し、投与後14及び28日に覚醒期、安静期、徐波軽睡眠期、徐波深睡眠期及び連波睡眠期の脳波と同時に行動観察を行った。また、中枢神経系の病理検査も同時期に実施した。

その結果、フルスルファミド原体により、有髄神経線維の空胞化の誘発は認められたものの脳波及び行動異常は認められなかった。

(環境保健生物研究センター、1992年)

要約

フルスルファミドについて各種毒性試験を実施し、安全性評価を行った。

その結果、原体は医薬用外劇物であるが、粉剤はラットのLD₅₀値が>5000mg/kgと弱く普通物に相当する。眼粘膜一次刺激性試験では原体、粉剤とも刺激性を有するが洗眼により著しく軽減された。また、原体、粉剤とも皮膚に対する刺激性及び感作性は認められなかった。慢性毒性・発がん性試験の結果、高濃度群に、中枢神経白質の空胞化の増加が共通してみられたが、追加試験の結果、投与をやめることによって本病変は正常に回復した。また、本病変は、薬理的、

生化学的影響を誘発しない程度のものであった。発がん性は認められなかった。催奇形性試験では明確な催奇形性は認められなかった。繁殖性に及ぼす影響及び変異原性は認められなかった。薬理試験では致死量及び高濃度群に主として中枢興奮、体性神経系及び自律神経系の項目の異常等が認められた。また、解毒試験ではメトカルバモールの早期投与で死亡時間の延長及び死亡率の低下がみられた。

フルスルファミドを有効成分とする製剤は平成4年11月に農薬登録され、上市以来、有用な土壌殺菌剤として好評を得ている。

フルスルファミド粉剤はその有効成分濃度が0.3%と非常に低く、定められた使用基準を遵守し、適正に使用すれば散布者への曝露はほとんどなく、また、作物への残留もないことから安全性は十分確保でき、農業資材の一つとして有用であると考えられる。

問合せ

三井化学株式会社 農薬事業部

〒100-6070 東京都千代田区霞が関三丁目2番5号