

チフルザミドの毒性試験の概要

アグリード株式会社 開発部

薬剤の概要

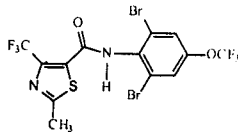
チフルザミド(グレートラム®)はモンサント社によって創製され、ローム・アンド・ハース社が取得したチアゾール系殺菌剤であり、稲の紋枯病に対して予防・治療効果を有するとともに担子菌類(リゾクトニア菌)に高い活性を示す。

本剤の化学構造及び物理化学的性質は、以下に示すとおりである。

一般名：チフルザミド(thifluzamide) (ISO)

化学名：2', 6'-dibromo -2- methyl -4'-trifluoromethoxy -4- trifluoromethyl -1, 3-thiazole-5-carboxanilide

構造式



分子式：C₁₃H₆Br₂F₆N₂O₂S

分子量：528.08

外観：白色固体結晶

融点：177.9~178.2℃

蒸気圧：1.98×10⁻⁹Pa (25℃)

分配係数：log Pow=4.10 (25℃)

溶解度：水2.07ppm、アセトン>250、メタノール147 (g/l) キシレン13.5、n-ヘキサン0.206、(20℃) 酢酸エチル169、ジクロロメタン74.2

急性毒性試験

結果を表1に示す。

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

ニュージーランドホホワイト種ウサギ及び日本白色種ウサギを用いた試験結果を表2に示す。

2. 皮膚一次刺激性試験

ニュージーランドホホワイト種ウサギ及び日本白色種ウサギを用いた試験結果を表3に示す。

3. 皮膚感作性試験

1群雌雄5匹のハートレー系モルモットを用い、Buehler法に準じて試験を行った。0.8mlの脱イオン水

表1

検体	動物種	投与経路	性	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関(報告年)
原体	ラット	経口	雄 雌	>5000 >5000	Springborn Lab. (1993)
	マウス	経口	雄 雌	>5000 >5000	
	ウサギ	経皮	雄 雌	>5000 >5000	WIL Research Lab (1989)
	ラット	吸入	雄 雌	>5.0mg/l >5.0mg/l	
2%粒剤	ラット	経口	雄 雌	>5000 >5000	Springborn Lab. (1992)
	マウス	経口	雄 雌	>5000 >5000	
	ラット	経皮	雄 雌	>5000 >5000	
35%フロアブル	ラット	経口	雄 雌	>5000 >5000	ボゾリサーチセンター (2000)
	マウス	経口	雄 雌	>5000 >5000	
	ラット	経皮	雄 雌	>5000 >5000	

で湿めさせたチフルザミド原体0.4gを週1回、1日6時間、3週間にわたって閉塞塗布して、感作した。最終感作の2週間後に感作と同様の処理を行い、惹起させ、惹起24及び48時間後に紅斑及び浮腫を観察した。

その結果、いずれの観察時点でも陽性反応は認められなかったことから、チフルザミド原体は本試験条件下で皮膚感作性を有しないと判定された。

(WIL Research Laboratories, 1989年)

1群雌20匹のハートレー系モルモットを用い、Maximization法に準じて試験を行った。5.0%のチフルザミド原体0.1mlを皮内投与し、6日後に25%の原体を48時間閉塞塗布して感作した。感作塗布13日後に15%の検体を24時間閉塞塗布して惹起を行い、24及び48時間後に紅斑及び浮腫を観察した。

その結果、チフルザミド原体の皮膚感作率は20%であったことから、チフルザミド原体は本試験条件下で軽度の皮膚感作性を有すると判定された。

(残留農薬研究所, 1996年)

1群雌雄各5匹のハートレー系モルモットを用い、Buehler法に準じて試験を行った。チフルザミド2%粒剤の75%蒸留水懸濁液0.4mlを週1回、1日6時間、3週間にわたって閉塞塗布して、感作した。最終感作の2週間後に感作と同様の処理を行い、惹起させ、惹起24及び48時間後に紅斑及び浮腫を観察した。

その結果、いずれの観察時点でも陽性反応は認められなかったことから、チフルザミド2%粒剤は本試験条件下で皮膚感作性を有しないと判定された。

(Springborn Laboratories, 1992年)

1群雌20匹のハートレー系モルモットを用い、Buehler法に準じて試験を行った。チフルザミド35%フロアブルの原液0.2mlを週1回、1日6時間、3週間にわたって閉塞塗布して、感作した。最終感作の2週間後に感作と同様の処理を行い、惹起させ、惹起24及び48時間後に紅斑及び浮腫を観察した。

にわたって閉塞塗布して、感作した。最終感作の13日後に50%注射用水懸濁液0.2mlを6時間閉塞塗布して惹起を行い、惹起24及び48時間後に紅斑及び浮腫を観察した。

その結果、いずれの観察時点でも陽性反応は認められなかったことから、チフルザミド35%フロアブルは本試験条件下で皮膚感作性を有しないと判定された。

(ボゾリサーチセンター, 2000年)

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた試験

チフルザミド原体を0、40、200、1000、5000及び10000ppm含有する飼料を1群雌雄各10匹のSprague Dawley系ラットに13週間摂食させた。

その結果、200ppm群の雄及び1000ppm以上の群の雌雄でび慢性小葉中心性肝細胞空胞化が、1000ppm以上の群の雌雄で体重増加抑制、摂餌量の減少、多くの血液学的検査項目への影響、ALP活性及びコレステロールの増加、肝臓重量の増加並びに腎臓重量の低下が認められた。さらに、5000ppm以上の群の雌雄でグルコースの低下、 γ -GTP及び尿素窒素の増加並びに腎盂腎炎が認められた。

以上の結果から、本試験の無毒性量は40ppm(雄: 2.6mg/kg/日、雌: 3.4mg/kg/日)と判断された。

(モンサント社, 1991年)

2. マウスを用いた試験

チフルザミド原体を0、50、500、2500及び5000ppm含有する飼料を1群雌雄各10匹のCD-1系マウスに13週間摂食させた。

その結果、雄では500ppm以上の群で体重増加抑制が、2500ppm以上の群で腎臓重量の低下、肝臓の相対重量の

表2

検体	投与量 (点眼)	結果	試験機関 (報告年)
原体	0.1ml	軽度の刺激性	WIL Research Lab (1989)
2%粒剤	0.1g	中等度の刺激性 (洗眼効果あり)	Springborn Lab. (1992)
35%フロアブル	0.1ml	軽度の刺激性 (洗眼効果あり)	ボゾリサーチセンター (2000)

表3

検体	投与量 (塗布)	結果	試験機関 (報告年)
原体	0.5g	軽度の刺激性	WIL Research Lab (1989)
2%粒剤	0.5g	刺激性なし	Springborn Lab. (1992)
35%フロアブル	0.5ml	刺激性なし	ボゾリサーチセンター (2000)

増加及び腎臓の組織学的変化(腎症)が、さらに、5000ppm群でALP活性の増加が認められた。

一方、雌では2500ppm以上の群で体重の増加抑制傾向、腎臓重量の低下及び腎臓の組織学的変化(腎症)が、5000ppm群でALP活性の増加並びに軽度の貧血を示唆する所見として赤血球数及びヘマトクリット値の低下、脾臓でのヘモジテリン沈着が認められた。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雄で50ppm(9.2mg/kg/日)雌で、500ppm(163.8mg/kg/日)と判断された。

(モンサント社、1990年)

3. イヌを用いた試験

チフルザミド原体を0、1、30、300及び1000mg/kgの用量でゼラチンカプセルに封入し、1群雌雄各5匹のビーグル犬に13週間強制経口投与した。

その結果、歩行異常が300mg/kg群雌1例及び1000mg/kg群雌雄各2例に観察された。コレステロール値の増加が300mg/kg以上の群の雌雄で認められた。ALP活性の増加が1000mg/kg群の雌雄に認められた。副腎重量の増加が300mg/kg以上の群の雄で認められた。肝臓の相対重量の増加及び副腎皮質の空胞化と増生が1000mg/kg群の雄に認められた。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄とも30mg/kg/日であると判断された。

(モンサント社、1991年)

慢性毒性試験

1. イヌを用いた慢性毒性試験

チフルザミド原体を0、1、10、100及び1000mg/kgの用量でゼラチンカプセルに封入し、1群雌雄各7匹のビーグル犬に52週間強制経口投与した。

その結果、100mg/kg以上の群でALP活性及びコレステロール値の上昇が、1000mg/kg群の歩行異常、体重増加抑制及び肝臓の相対重量の増加(雌のみ)、摂餌量の減少が認められた。神経学的検査では1000mg/kg群で視覚刺激に対する反応の欠如、脚力低下/失調性歩行、眼球振盪等の異常所見がみられた。さらに、神経病理組織学的検査では対照群を含む全群に脊髄に神経線維軸索の断裂・変性を伴うミエリンの分離・変性病変が認められたが、その程度は1000mg/kg群で対照群と比較して最も重かった。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雌雄とも10mg/kg/日であると判断された。

(モンサント社、1992年)

2. ラットを用いた慢性毒性/発癌性併合試験

チフルザミド原体を0、2、10、30、100及び200ppm含有する飼料を1群雌雄各60匹のSprague Dawley系ラットに104週間摂食させた。

その結果、小葉中心帯肝細胞空胞化の発現頻度及び程度の増加が、100ppm以上の群の雌及び200ppm群の雌雄に認められた。肝臓重量の増加が200ppm群の雌雄で認められた。体重、摂餌量、臨床検査に投与に関連する変化は認められなかった。対照群に比較していずれの投与群でも腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験の無毒性量は雄で100ppm(4.75mg/kg/日)雌で30ppm(1.40mg/kg/日)と判断された。最高用量の200ppmにおいても発癌性は認められなかった。

(モンサント社、1993年)

3. マウスを用いた発癌性試験

チフルザミド原体を、0、2、10、50、250及び500ppm含有する飼料を1群雌雄各60匹のCD-1系マウスに78週間摂食させた。

その結果、体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査及び非腫瘍性病変の発生頻度に投与に関連した影響は認められなかった。投与後12カ月時10、250及び500ppm群雌にみられた副腎の相対重量の減少(10ppmのみ有意)及び18カ月時250及び500ppm群雌にみられた副腎の絶対・相対重量の減少は組織学的検査でこれらの臓器に変化がみられなかったことから、検体投与に起因するものとは考えられなかった。いずれの投与群でも腫瘍性病変の発生頻度の増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験の無毒性量は最高用量の500ppm(雄:91.6mg/kg/日、雌:142.7mg/kg/日)と判断された。

(モンサント社、1993年)

繁殖及び催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖試験

チフルザミド原体を0、40、200及び600ppm含有する飼料を1群雌雄各30匹のSprague Dawley系ラットの2世代にわたって摂食させた。各世代とも1回の交配を行い、新生児を次世代の親動物とし、繁殖に及ぼす影響を調べた。

その結果、親動物に対する影響として、両世代の600

ppm群雌雄、F₀世代の200ppm群雌及びF₁世代の200ppm投与群雄で累積体重増加量の抑制が認められた。

臓器重量については、F₀世代及びF₁世代の600ppm群雌雄でそれぞれ肝重量の増加及び腎重量の低下が認められ、また、F₀世代の600ppm群で精巣の相対重量の増加及び両世代の600ppm群で卵巣の相対重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、両世代の200及び600ppm群雌雄とF₀世代の40ppm群雄で小葉中心性/中間帯肝細胞空胞化の発生頻度が有意に増加した。また、F₁世代の600ppm投与群雌で小葉中心性肝細胞肥大及び肝細胞変性巣の発生頻度の増加が認められた。繁殖性に関しては、交尾率、妊娠率、妊娠期間で検体投与に関連した影響は認められなかった。

児動物に対する影響として、600ppm投与群F₂で平均産児数が減少し、600ppm投与群F₁及びF₂の体重が哺育14日及び21日に有意に減少した。肉眼的病理検査では、検体投与に関連した病変は認められなかった。

以上の結果から、本試験において雌親動物に対する無毒性量は40ppm(3.0~3.3mg/kg/日)、繁殖及び児動物に対する無毒性量は200ppm(雄:12.8~14.1mg/kg/日、雌:15.0~16.2mg/kg/日)と判断された。

(モンサント社、1992年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

チフルザミド原体をコーンオイルに懸濁し、0、5、25及び125mg/kgの用量で1群25匹のCrI:CD BR系ラットに妊娠6日~15日までの10日間、毎日1回経口投与した。

その結果、母体に対する影響として、25mg/kg以上の群で脱毛及び摂餌量の減少が、125mg/kg群で体重増加抑制が認められた。着床所見に検体投与による影響は認められなかった。胎児に対する影響として、125mg/kg群で体重減少が認められた。外表、骨格及び内臓検査において、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、本試験における母動物及び胎児に対する無毒性量はそれぞれ5mg/kg/日及び25mg/kg/日と判断された。最高投与量の125mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

(WIL Research Laboratories、1990年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

チフルザミド原体をコーンオイルに懸濁し、0、10、25及び45mg/kgの用量で1群20匹のニュージージーランドホワイト種ウサギに妊娠7日~19日までの13日間、毎

日1回経口投与した。

その結果、母体に対する影響として、45mg/kg群で削瘦、体重増加抑制及び摂餌量の減少が認められた。着床所見に検体投与による影響は認められなかった。胎児に対する影響として、45mg/kg群で体重減少が認められた。外表、骨格及び内臓検査において、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、本試験における母動物及び胎児に対する無毒性量は25mg/kg/日と判断された。最高投与量の45mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

(WIL Research Laboratories、1991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(TA98、TA100、TA1535、TA1537)及びトリプトファン要求性の大腸菌(WP2uvrA)を用い、ラットの肝薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在及び非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した。試験濃度はサルモネラ菌、大腸菌のいずれにおいても、S-9mixの存在及び非存在下ともに313、625、1250、2500、5000μg/plateとした。

その結果、S-9mixの有無に関わらず、いずれの菌株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。

以上の結果から、チフルザミドは復帰変異誘発性を有しないものと判断された。

(残留農薬研究所、1995年)

2. in vitro遺伝子突然変異試験

チャイニーズ・ハムスター卵巣由来細胞を用い、ラットの肝薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在及び非存在下でHGPRト遺伝子座における変異原性を検定した。試験濃度はS-9mixの存在及び非存在下ともに250、500、700、1000、2500μg/mlとした。

その結果、S-9mixの有無にかかわらず、いずれの濃度においても有意な細胞毒性及び変異体発生率の増加は認められなかった。

以上の結果から、チフルザミドは遺伝子突然変異誘発性を有しないものと判断された。

(モンサント社、1991年)

3. in vivo染色体異常試験

チフルザミド原体を0、1250、2500及び5000mg/kgの用量で1群雌雄各5匹のSprague Dawley系ラットに単回経口投与し、投与6、24及び48時間後に屠殺し、

大腿部の骨髓塗沫標本を作製し、中期分裂細胞について染色体異常の有無を検査した。

その結果、いずれの用量においても染色体異常を有する細胞の出現率の増加は認められなかった。

以上の結果から、チフルザミドは染色体異常誘発性を有しないものと判断された。

(Microbiological Associates, 1992年)

4. 小核試験

チフルザミド原体を1群雌雄各5匹のICR系マウスに単回腹腔内投与し、投与24、48及び72時間後に屠殺し、大腿部の骨髓塗沫標本を作製し、各動物当たり1000個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞数を計測した。本試験の用量は雄では0、100、500及び1000mg/kg、雌では0、114、570及び1140mg/kgとした。

その結果、500及び1000mg/kg群の投与48時間後に屠殺した雄で小核を有する多染性赤血球数の統計学的に有意な増加が認められた。しかし、この値は当研究所の背景データの範囲内であった。

以上の結果から、チフルザミドは小核誘発性を有しないものと判断された。

(モンサント社, 1991年)

5. DNA修復試験

枯草菌*Bacillus Subtilis*の組換修復機構保持株(H17)及び欠損株(M45)を用い、ラット肝薬物代謝酵素系(S-9mix)の存在及び非存在下でDNAの損傷誘発性を検定した。試験濃度は500~20000 μ g/diskの6濃度とした。

その結果、S-9mixの有無にかかわらず、いずれの濃度においても、両菌株に生育阻止は認められなかった。

以上の結果から、チフルザミドはDNA損傷誘発性を有しないものと判断された。

(残留農薬研究所, 1990年)

6. 不定期DNA合成試験

雄ラットの初代培養肝細胞に検体のDMSO溶液及び³H-チミジンを添加し、19時間培養した後、³H-チンジンの取り込みを指標として不定期DNA合成誘発性を検討した。試験濃度は0.01~7.5 μ g/mlの7濃度とした。

その結果、いずれの濃度においても、核当たりの平均銀粒子数の増加は認められなかった。

以上の結果から、チフルザミドは不定期DNA合成誘発性を有しないものと判断された。

(SRI International, 1990年)

一般薬理試験

1. 中枢神経系に対する作用

①マウス

チフルザミド原体を0、20、78、313、1250及び5000mg/kgの用量でICR系雌雄マウスに単回腹腔内投与し、Irwin (1986)の多元観察法によって一般症状を観察した。

その結果、雌雄とも313mg/kg以上の群で認知力の低下、運動性の低下、姿勢異常、運動失調、筋緊張の低下、反射低下、自律神経症状の異常が観察された。313mg/kg群では、これらの症状は投与後2日以内に回復したが、1250及び5000mg/kg群では雌雄とも投与後6時間から2日の間に全例が死亡した。20及び78mg/kg群では検体投与に関連のある症状は観察されなかった。

②ウサギ

チフルザミド原体を0、313、1250及び5000mg/kgの用量で日本白色種雄ウサギに単回経口投与し、多元観察法によって一般症状を観察した。

その結果、いずれの投与群においても、検体投与に関連のある明確な異常症状は観察されなかった。

2. 呼吸、循環系に対する作用

チフルザミド原体を0、1250及び5000mg/kgの用量でウレタン麻醉下の日本白色種雄ウサギに単回経口投与し、呼吸、血圧、心電図、心拍数を測定した。

その結果、呼吸、血圧、心電図及び心拍数に対し何ら作用を示さなかった。

(残留農薬研究所, 1991年)

要約

チフルザミド原体、2%粒剤及び35%フロアブルの安全性評価のための各種毒性試験を実施した。

その結果、原体及び各製剤の急性毒性は弱く、特異的な薬理作用は認められなかった。2%粒剤及び35%フロアブルでそれぞれ中等度及び軽度の眼刺激性を示したが、皮膚刺激性及び皮膚感作性は両製剤とも認められなかった。マウス、ラット及びイヌを用いた亜急性毒性、慢性毒性及び発癌性試験において、高用量で肝(ラット)や脊髄(イヌ)に対する影響が認められたが、ラット、マウスともに発癌性は認められなかった。

繁殖毒性及び催奇形性は認められず、変異原性も陰性であった。

本剤は1997年に稲に登録された。残留基準は米（玄米）0.5ppmである。

チフルザミドは定められた使用基準を遵守すれば、安全性の高い農薬であり、有用な農業資材の一つであると考えられる。

問合せ

アグリード株式会社 開発部

〒340-0201 埼玉県北葛飾郡鷺宮町八甫2763