

技術情報

ピペロホスの毒性試験の概要

日本チバガイギー株式会社アグロテック事業部開発部登録課

(平成3年8月20日受理)

薬剤の概要

ピペロホスは、スイス国チバ社で合成開発されたリン酸エステル系の除草剤で、吸収移行性を有し、ノビエ等の雑草にすぐれた効果を有する。

本剤は、昭和45年にピペロホス単剤およびメチルチオトリアジン系除草剤のジメタメトリンとの混合剤について日本チバガイギー(株)で社内試験を開始し、昭和46年には日本植物調節剤研究協会を通じて各県の農業試験場等に委託して、ジメタメトリンとの混合剤の水稲に対する試験に着手した。昭和48年には、これにペンタゾンを加えた3種混合剤の試験も開始した。これらの試験を通じて、上記の混合剤はピペロホスの効果が高いノビエやカヤツリグサ、マツバイはもちろん、効果が比較的低い広葉雑草に対してもすぐれた効果を有し、水稲に対する安全性も高いことが確認された。

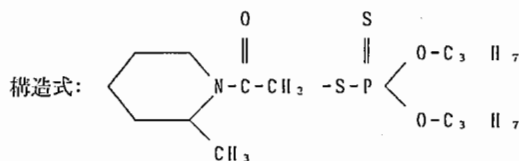
安全性評価に必要な各種毒性試験および作物、土壌残留試験が昭和47年に開始され、これらの試験を通じ、ピペロホスの玄米における残留は検出限界以下、土壌中の半減期は水田圃場条件下で20~30日、容器内で約100日であり、毒性試験でも安全性に関して問題となるような知見は認められていない。

上記2種の混合剤は昭和50年12月に農薬として登録され、昭和57年9月にはジメタメトリン・ピペロホス・MCPB混合剤およびジメタメトリン・ピペロホス混合剤が登録された。以来、これらの製剤は多年性雑草を含む広範囲の雑草に有効な水稲用除草剤として広く使用されている。

本剤の化学構造および物理化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名: ピペロホス piperophos (ISO)

化学名: S-(2-methyl-1-piperidylcarbonylmethyl)-O,
O-di-n-propyl-dithiophosphate



急性毒性試験

ピペロホス原体およびその製剤のラット、マウスを用いた各投与経路による急性毒性試験の結果を表1に示した。

刺激性および皮膚感作性試験

ピペロホス原体およびその製剤の限ならびに皮膚に対する一次刺激性試験および皮膚感作性試験の結果を表2に示した。

急性遅発性神経毒性試験

1. ニワトリを用いた急性遅発性神経毒性試験

Brown Laying系ニワトリにピペロホス原体をコーンオイルに溶解させた検体を0, 250 mg/kgの用量で強制経口投与した。初回投与の21日後に再投与した。各投与後21日間にわたり、一般状態、生死および運動失調の程度を観察し、体重および摂餌量を毎週2回測定した。最終投与の21日後に全生存動物を屠殺剖検し、脳、脊髄および末梢神経について病理組織学的に検索した。

その結果、検体投与群では、ふらつき、流涎、脚部の強直等の中毒症状がみられ、9/20例が死亡あるいは切迫屠殺された。また、体重および摂餌量の減少がみられた。しかし、投与に関連した神経毒性症状、剖検所見あるいは病理組織学的変化は認められなかった。

以上より、本剤には急性遅発性神経毒性はないものと判断された。

(ハンチントンリサーチセンター、英国、1986年)

表 1

| 検 体 | 動物種 | 投与経路 | 性別 | LD ₅₀ (mg/kg) | 試 験 機 関 | 報告年 |
|------|-----|------|--------|--|-------------------|--------|
| 原 体 | ラット | 経 口 | 雄 雌 | 315 335 | 武庫川女子大学 | 1973 年 |
| | | 経 皮 | 雄 雌 | >4000 >4000 | 臨床医科学研究所 | 1979 年 |
| | | 筋肉内 | 雄 雌 | 2520 2650 | 慶応大学医学部 | 1972 年 |
| | | 皮下 | 雄 雌 | >6000 >6000 | チバガイギー社 (スイス国) | 1973 年 |
| | | 腹腔内 | 雄 雌 | 140 94 | | |
| | | 吸 入 | 雄 雌 | >1960 [*] >1960 [*] | チバガイギー社 (スイス国) | 1971 年 |
| | マウス | 経 口 | 雄 雌 | 410 330 | 静岡薬科大学 | 1972 年 |
| | | 筋肉内 | 雄 雌 | 1410 1260 | 慶応大学医学部 | 1972 年 |
| | | 皮下 | 雄 雌 | 約3400 3300 | チバガイギー社 (スイス国) | 1973 年 |
| | | 腹腔内 | 雄 雌 | 290 約 250 | | |
| 混合粒剤 | ラット | 経 口 | 雄 雌 | 5600 4400 | 臨床医科学研究所 | 1978 年 |
| | | 経 皮 | 雌 | >5000 | | |
| | | | 雄 | >5000 | 臨床医科学研究所 | 1979 年 |

* LC₅₀ 値 (mg/m³), 1 時間暴露

表 2

| 検 体 | 動物種 | 試験項目 | 結 果 | 試 験 機 関 | 報告年 |
|--------------------|-----------|---------------------|-----------|-------------------------|--------|
| 原 体 | ウサギ | 眼一次刺激性 | 軽度の刺激性あり | チバガイギー社 (スイス国) | 1983 年 |
| | ウサギ | 皮膚一次刺激性 | 刺激性なし | チバガイギー社 (スイス国) | 1983 年 |
| | モル モット | 皮膚感受性 ^{b)} | 中等度の感受性あり | チバガイギー社 (スイス国) | 1983 年 |
| 混合粒剤 ^{a)} | ウサギ | 眼一次刺激性 | 軽度の刺激性あり | 臨床医科学研究所 | 1986 年 |
| | ウサギ | 皮膚一次刺激性 | 極軽度の刺激性あり | 臨床医科学研究所 | 1986 年 |
| | モル モット | 皮膚感受性 ^{c)} | 感受性なし | セイフファームラボ ラトリーズ (英国) | 1990 年 |

^{a)} ビペロホス 4.4% + ジメタメトリン 1.1%.^{b)} Maximisation test 法による.^{c)} Buehler 法による.

亜急性毒性試験

1. イヌを用いた亜急性毒性試験

ビペロホス原体を 0, 10, 30 および 100 ppm の濃度で飼料に混入し、ビーグル犬に 3 か月間摂食させた。ただ

し、投与開始 26 日目に検体混入濃度をそれぞれ 5, 15, および 50 ppm に、45 日目に高用量群の濃度を 15 ppm に変更した。一部の動物について 28 日間の回復試験を実施した。

その結果、高用量群では摂餌量および体重が減少し瀕

死状態に陥ったために、試験途中で屠殺した。これらの個体では検体投与に起因するコリンエステラーゼ(ChE)活性の低下のほかに血液学的検査および病理組織学的検査に種々の二次的な影響が認められた。中用量群でも、軽度であるが同様の変化が認められた。低用量群では血漿および赤血球 ChE 活性の阻害、下痢および流涎症状と体重増加率の若干の低下が認められた。

以上より、本試験における最大無作用量は、5 ppm (雄: 0.15 mg/kg/日, 雌: 0.16 mg/kg/日) よりもやや低いところにあるものと考えられる。

(チバガイギー社, スイス国, 1972年)

2. ラットを用いた亜急性毒性試験

ピペロホス原体の 0, 2, 5, 10, 25 および 50 mg/kg/日を Wistar 系ラットに週 6 日, 5 か月間強制経口投与した。

その結果, ChE 活性において, 雄では全血および赤血球の ChE 活性は 5 mg/kg 以上の投与群, 脳のそれは 10 mg/kg 以上の投与群で阻害された。しかし, 血漿 ChE 活性は 50 mg/kg 投与でも阻害されなかった。雌では, 全血, 赤血球および血漿 ChE 活性は 5 mg/kg 以上の投与群で, 脳のそれは 25 mg/kg 以上の投与群で阻害された。また, 50 mg/kg 群雌雄の肝に脂肪変性, 脂肪滴の出現が, 腎に腎糸球体および毛細管の腫脹, ヒアリン滴の出現が認められた。

以上より, 本試験における最大無作用量は雌雄とも 2 mg/kg/日と判断された。

(静岡薬科大学薬理学教室, 1972年)

3. ラットを用いた亜急性毒性試験

ピペロホス原体を 0, 10, 30 および 100 ppm の濃度で飼料に混入し, RAI 系ラットに 3 か月間摂食させた。その後, 一部の動物を回復試験に供した。

その結果, 30 および 100 ppm 投与群雌雄の赤血球 ChE 活性で有意な阻害が認められた。血漿 ChE 活性は 100 ppm 投与群で明らかな低下がみられた。

以上より, 本試験における最大無作用量は 10 ppm (雌雄とも 0.79 mg/kg/日) と判断された。

(チバガイギー社, スイス国, 1972年)

4. マウスを用いた亜急性毒性試験

ピペロホス原体を 0, 2, 6, 12, 25 および 100 mg/kg/日となるよう飼料に混入し, ddY 系マウスに週 5 日の割合で 13 週間投与した。

その結果, 雄では, 全血および赤血球 ChE 活性が 12 mg/kg 以上, 脳 ChE 活性は 25 mg/kg 以上の投与群で明らかな低下がみられた。雌では, 血漿および脳の ChE 活性が 12 mg/kg 以上, 全血および赤血球の ChE 活性

が 25 mg/kg 以上の投与群で顕著な低下がみられた。また, 6 mg/kg 以上の投与群雌雄で肝重量の軽度な増加が認められた。

以上より本試験における最大無作用量は 6 mg/kg/日 (雄: 5.9 mg/kg/日, 雌: 5.4 mg/kg/日) と判断された。

(静岡薬科大学薬理学教室, 1972年)

慢性毒性/発癌性試験

1. イヌを用いた慢性毒性試験

ピペロホス原体を 0, 1, 20 および 100 ppm の濃度で飼料に混入し, ビーグル犬に 52 週間摂食させた。なお, 投与 7 週以降, 体重増加量と摂餌量に顕著な影響が認められたため高用量を 50 ppm に下げた。

高用量群の投与量を 100 ppm から 50 ppm に下げた結果, 体重増加量の改善がみられたが, 全試験期間を通じて低体重が認められた。中用量群および高用量群雌雄で, 血漿, 赤血球および脳 ChE 活性の低下が認められた。また, 高用量群の腎重量対体重比の増加がみられた。

以上より, 本試験における最大無作用量は 1 ppm (雄: 0.040 mg/kg/日, 雌: 0.036 mg/kg/日) と判断された。

(ヘーゼルトン社, 英国, 1987年)

2. ラットを用いた慢性毒性/発癌性試験

ピペロホス原体を 0, 10, 50, 200 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し, Tif:RAIf 系ラットに 24 か月間摂食させた。投与 12 か月後に中間屠殺した。

その結果, 1000 ppm 雌雄で体重増加抑制, 50 ppm 群以上の雌雄で血漿および赤血球 ChE 活性の抑制, 200 および 1000 ppm 群雌雄で良性肝細胞腫の軽度の増加および 1000 ppm 群雌雄で胆管のう胞の軽度の増加が認められた。

以上より, 本試験の最大無作用量は 10 ppm (雄: 0.37 mg/kg/日, 雌: 0.42 mg/kg/日) と判断された。

(チバガイギー社, スイス国, 1989年)

3. マウスを用いた発癌性試験

ピペロホス原体を 0, 30, 300 および 3000 ppm の濃度で飼料に混入し, ICR 系マウスに 18 か月間摂食させた。なお, 投与開始 52 週後に中間屠殺した。

その結果, 3000 ppm 群雌雄で体重増加抑制, 同群雌雄で肝の相対重量および小葉周辺性肝細胞腫大の増加が認められた。また, 最高投与量の 3000 ppm においても発癌性は認められなかった。

以上より, 本試験における最大無作用量は 300 ppm (雄: 27.6 mg/kg/日, 雌: 28.3 mg/kg/日) と判断された。

(財)残留農薬研究所, 1988年)

繁殖性および催奇形性試験

1. ラットを用いた2世代繁殖性試験

ピペロホス原体を 0, 100, 500 および 1000 ppm の濃度で飼料に混入し, CrI: CD(SD) BR 系ラットの F₀, F₁ の2世代にわたって摂食させ, 繁殖性に及ぼす影響について検討した。

その結果, 1000 ppm 群において F₀ 雌雄親動物で交配前投与期間に軽度の摂餌量の減少が, F₁ 雌雄親動物で第1次交配前投与期間に体重および体重増加量の軽度の減少が認められた。また, 1000 および 500 ppm 群の子動物で平均体重の減少が認められた。繁殖指数, 妊娠指数, 生存指数, 性比等の繁殖性に関する指数, 発育および機能試験には検体投与に起因する影響は認められなかった。

以上より, 最高投与量の 1000 ppm においても繁殖能には影響は認められず, 本試験における最大無作用量は 100 ppm (雄: 6.7 mg/kg/日, 雌: 7.7 mg/kg/日) と判断された。(ヘーゼルトン社, 西独, 1988年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

ピペロホス原体を 0, 3, 10 および 20 mg/kg の用量でラットの妊娠 6~15 日目までの器官形成期に毎日1回強制経口投与し, 胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果, いずれの投与量でも親動物に対する影響は認められず, また, 着床に関する各種の指標にも有意差は認められなかった。胎仔検査では, 投与群の化骨遅延発生率がやや高い傾向はあるが, 対照群との間に有意差はなく, 検体投与量との相関性も認められなかった。内臓および外表検査についても検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上より, 本試験の母体における最大無作用量は 20 mg/kg/日であり, 最高投与量の 20 mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性は認められなかった。

(チバガイギー社, スイス国, 1974年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

ピペロホス原体を 0, 1, 4 および 16 mg/kg/日の用量で日本白色種ウサギの妊娠 6~18 日目までの器官形成期に毎日1回強制経口投与し, 胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

その結果, 母動物の 4 および 16 mg/kg/日投与群で一般状態の悪化, 体重の減少傾向および摂餌量の低下が認められた。いずれの投与量でも胎仔に対する影響は認められず, 化骨進行度検査においても対照群との間に差はみられなかった。

以上より, 本試験の母動物における最大無作用量は 1 mg/kg/日であり, 最高投与量である 16 mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性は認められなかった。

(日本生物科学研究所, 1986年)

変異原性試験

1. 復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 5 株 (TA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP2 hcr) を用いて, ラット肝から調製した代謝活性化系 (S-9 mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法によりピペロホス原体を 0~5000 μg/プレート の濃度で処理したときの変異原性を検定した。

その結果, S-9 mix 存在の有無にかかわらず, 最高濃度 (5000 μg/プレート) でも復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上より, ピペロホスには復帰変異誘発性はないものと判断された。(財)残留農薬研究所, 1978年)

2. 宿主経路による復帰変異性試験

急性暴露法: ピペロホス原体を DMSO に溶解し, 0, 100, 200 および 400 mg/kg を Swiss Webster 系雄マウスに1回強制経口投与し, 同時に所定濃度の指標菌株懸濁液を腹腔内に投与した。4時間後に指標菌株 (ヒスチジン要求性のサルモネラ菌, TA1538, TA1535) を腹腔内より回収して, 復帰変異性を検定した。

亜急性暴露法: ピペロホス原体を 0, 50, 100 および 200 mg/kg を上記試験と同系統の雄マウスに1日1回, 5日間強制経口投与した。投与最終日に急性暴露試験と同様の方法で復帰変異性を検定した。

その結果, 検体の毒性のため高薬量投与群の生存動物数は少なくなり, とくに亜急性暴露試験の 400 mg/kg 群では全動物が死亡した。検体投与群ではヒスチジン要求変異株数の絶対数および相対数の有意な増加は認められなかった。

以上より, 宿主を経由した条件下で暴露時間の長短にかかわらずピペロホスには復帰変異性はないものと判断された。

(スタンフォード・リサーチ・インスティテュート, 米国, 1975年)

3. DNA 修復試験

枯草菌の組換え修復機構保持株 (H-17) および欠損株 (M-45) を用い, 代謝活性化系の非存在下でピペロホス原体を 0~20,000 μg/ディスク の濃度で処理したときの DNA 損傷の誘発性を rec-assay 法により検定した。

その結果, 代謝活性化系を含まない本試験条件下で

は、両株にまったく生育阻止を認めなかった。

以上より、ピペロホスには DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。(財)残留農薬研究所, 1978 年)

生体機能に及ぼす影響および解毒試験

1. 一般薬理試験

中枢神経系に対する作用: Slc:ICR 系雄マウスにピペロホス原体の 0, 50, 100 および 200 mg/kg を経口投与し、投与後 15, 30 分, 1, 2, 3, 4 および 5 時間後に Irwin の多次元観察法に準じて観察した。200 mg/kg 群で ChE 活性阻害に起因すると考えられる中枢性の一般症状が観察され、100 mg/kg 群でも下痢および縮瞳が認められた。

呼吸・循環器系に対する作用: イヌにピペロホス原体の 0 および 100 mg/kg を腹腔内投与し、投与後 3 時間まで呼吸、血圧、心電図、心拍数および血流量を記録した。また、アセチルコリン(Ach) 1 mg/kg の静脈内投与による降圧反応に対する影響も検討した。投与 3 時間後、投与前に比して呼吸数では 35%、血流量では 43% の減少傾向がみられ、Ach 投与による降圧作用の増強が認められた。

消化器系に対する作用: Slc:ICR 系雄マウスにピペロホス原体の 0, 50, 100 および 200 mg/kg を経口投与し、1 時間後に炭末 5% を含む 10% アラビアゴム溶液を経口投与し、20 分後に小腸の炭末輸送率を測定した。200 mg/kg で 83% の炭末輸送率の亢進が、100 mg/kg で 40% の亢進傾向が認められた。

骨格筋に対する作用: 麻酔下で Slc:Wistar/KY 系雄ラットの坐骨神経-腓腹筋部を切開し、ピペロホス原体の 0, 200 および 400 mg/kg を経口投与した。投与後 30 分, 1, 2 および 3 時間後に坐骨神経の末梢部に電気刺激を与え、腓腹筋のれん縮を記録した。400 mg/kg 群で投与 3 時間後に 30% の腓腹筋収縮の有意な増大が認められ、ChE 阻害による内因性 Ach のニコチン作用と考えられる神経筋接合部における軽度な興奮がみられた。

ChE 活性に対する作用: Slc:Wistar 系雌ラットの腹大静脈から採取したヘパリン処理血液とアセトンに溶解したピペロホス原体 ($3 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-4}$ g/ml) を 30°C で 60 分間インキュベートした後、全血および血漿の ChE 活性を測定し、両者の差を赤血球 ChE 活性とした。血漿および赤血球 ChE 活性を対照群と比較して 50% 抑制する濃度 (IC₅₀) を求めた。ピペロホス濃度 $1 \times$

10^{-5} g/ml 以上で赤血球および血漿とも ChE 活性の有意な抑制がみられた。IC₅₀ は赤血球では 2.4×10^{-5} g/ml、血漿では 1.2×10^{-5} g/ml であった。

(臨床医科学研究所, 1989 年)

2. マウスを用いた解毒試験

Slc:ICR 系雄マウスにピペロホス原体 300 mg/kg を経口投与した。解毒剤としてアトロピン (検体投与 30 分および 5 時間後におのおの 15 mg/kg)、PAM (検体投与 30 分, 2 および 5 時間後におのおの 62.5 mg/kg)、アトロピン+PAM (検体投与 30 分および 5 時間後にアトロピン 15 mg/kg、さらに 30 分および 2 時間後に PAM 62.5 mg/kg) を静脈内投与し、投与 3 日後まで一般状態および生死を観察し、投与前と投与 24 時間および 3 日後に体重測定を行なった。本試験条件下では、PAM およびアトロピン投与により毒性は軽減され、PAM 単独で優れた解毒効果が認められた。また、ピペロホス単独投与群の生存動物で 24 時間後および 3 日後に体重増加抑制が認められた。解毒剤処理群でも投与 24 時間後に体重増加抑制傾向が認められたが、いずれも 3 日後には回復傾向がみられた。(臨床医科学研究所, 1989 年)

要 約

ピペロホスの安全性評価のため各種毒性試験を行なった。その結果、原体および混合剤の急性毒性は比較的低く、急性遅発性神経毒性および顕著な薬理作用も認められなかった。原体および混合剤の眼刺激性は軽度であり、混合剤の皮膚刺激性はきわめて軽度であった。原体の皮膚感作性は中等度であった。

一方、亜急性毒性、慢性毒性および発癌性試験における高用量群で体重増加抑制および ChE 活性の低下が認められたが、ピペロホスによる特異的な病変は認められず、発癌性も認められなかった。また、変異原性、繁殖性に及ぼす影響および催奇形性も認められなかった。

ピペロホスは、定められた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である。

問合せ

日本チバガイギー株式会社アグロテック事業部開発部登録課

〒105 東京都港区浜松町 2-4-1 世界貿易センタービル 34 階