

技術情報

プロチオホスの毒性試験の概要

日本特殊農薬製造株式会社開発本部技術部

(平成2年8月20日受理)

薬剤の概要

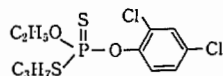
プロチオホスは日本特殊農薬製造株式会社において合成、開発された有機リン殺虫剤であり、従来のジアルキル型と異なり *O*-エチル *S*-プロピル *O*-アシル基を有する非対称型リン酸エステルである。各種の殺虫効力試験の結果、本剤は鱗翅目、半翅目、鞘翅目、双翅目害虫等に対し、広い殺虫スペクトラムを有する反面、蜜蜂等の有用昆虫に対してきわめて作用性の少ない選択性殺虫剤であることが判明した。昭和45年より全国規模の実用化試験が実施されて、果樹、野菜、いも類、豆類、茶、林業および特用作物などの各害虫に優れた防除効果を示すことが確認された。

本剤の化学構造および物理化学的性質を以下に示す。

一般名: プロチオホス prothiofos

化学名: *O*-2,4-dichlorophenyl *O*-ethyl *S*-propyl phosphorodithioate

構造式:



分子式: $C_{11}H_{15}Cl_2O_2PS_2$

分子量: 345.24

外観: 無色～淡黄色液体

沸点: $133\sim 138^\circ\text{C}/0.1\text{ mmHg}$

蒸気圧: $7.5\times 10^{-9}\text{ mmHg}$

分配係数 (オクタノール/水): $\log P_{ow}=4.92$

溶解度 (g/l, 20°C): 水 0.0017, エタノール >700,

ヘキサン >900, キシレン >600, イソプロパノール >700,

トルエン >600, シクロヘキサノン >600

安定性: 熱, 光に対し安定, 酸・アルカリ性に対し比較的安定

急性毒性試験

プロチオホスのラットとマウスにおける経口, 経皮, 皮下および吸入の各投与経路による急性毒性試験の結果

を表1に示した。

観察された主な中毒症状は、動作緩慢、立毛、うずくまり、下痢、流涎、挙尾、けいれん等のコリンエステラーゼ活性阻害に起因すると思われる症状であった。

一次刺激性試験

1. 皮膚一次刺激性試験

方法: プロチオホス原体をセルロースの薄膜に0.5 ml 塗布し、2匹のウサギの毛の生えてない側の耳介に張り付けた。8および24時間後に薬剤を除去して観察した。

結果: 薬剤を8時間貼布した場合、皮膚反応はまったく認められなかったが、24時間貼布の場合、軽度の発赤が3～4日間認められた。

(バイエル社, 西ドイツ, 1975年)

2. 眼一次刺激性試験

方法: プロチオホス原体を2匹のウサギの右眼結膜嚢に0.1 ml 注入した。

結果: 投与1時間経過後、ウサギの上眼瞼の結膜は明らかな発赤がみられた。しかし、この発赤は2～3日後には消失し、角膜には何ら変化を認めなかった。

(バイエル社, 西ドイツ, 1975年)

皮膚感作性試験

方法: 感作法として注射感作と塗布感作の2群を設けモルモットを用いて実施した。注射感作はアジュバンドを加えたプロチオホスの100および500倍液(混合割合1:1)を毎回0.1 ml, 背頸部, 左後肢, 右後肢の順に1日1か所, 1週間で3か所に皮下(背頸部)または筋肉(左右後肢)注射を行なった。塗布感作は原液を毎日0.2 ml/100 g, 動物の背部剃毛部に1日おきに1回, 1週間に計3回塗布した。惹起は感作3週間後に実施し, 注射感作群では1000倍液の皮内注射と10倍液の閉塞貼布の2通り行ない, 塗布感作群では10倍液の閉塞貼布のみ行なった。惹起後24, 48, 72時間後に炎症例数を求め, 感作性の判定を行なった。

表1

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値	試験機関(報告書作成年)
ラット	経口	♂	1700 (mg/kg)	東京歯科大学 (1971年)
		♀	1750	
	経皮	♂	3900	
		♀	4100	
	皮下	♂	>3000	
		♀	>3000	
マウス	経口	♂	940 (mg/kg)	
		♀	960	
	経皮	♂	1650	
		♀	1600	
	皮下	♂	1250	
		♀	1550	
ラット	吸入 ^{a)}	♂	> 271 (mg/m ³)	バイエル社 (1975年)
		♀	> 271	

^{a)} LC₅₀ 値 (4時間暴露).

結果: 注射感作-注射惹起および塗布感作-貼布惹起では、プロチオホスに感作性はなかったが、注射感作-貼布惹起では感作性が認められた。

(日本特殊農薬製造(株)農薬研究所, 1977年)

急性遅発性神経毒性

方法: 一群6羽の白色レグホン系雌ニワトリにプロチオホスを50~400 mg/kgの投与量で1回経口投与して、LD₅₀ 値を測定した。この結果に基づき、硫酸アトロピン50 mg/kgを投与直前、投与4および24時間後に筋注射した一群20羽のニワトリに、プロチオホスの150 (LD₅₀ 相当量) から500 mg/kgを一回経口投与した。死亡および中毒症状の観察を投与後30日間にわたり実施した。陽性対照には、TOCP (200 mg/kg) を用いた。

結果: 解毒剤非処理下および処理下でのプロチオホス一回経口投与による中毒症状としては、鎮静状態、流涎、呼吸困難が認められたが、運動失調や麻痺等の神経毒性症状はまったくみられなかった。一方、TOCP投与群の生存動物は典型的な神経毒性症状を示し、歩行失調、ふらつき、両肢の麻痺が観察された。

以上の結果より、プロチオホスには神経毒性はないものと判断された。

(日本特殊農薬製造(株)農薬研究所, 1973年)

亜急性毒性試験

1. マウスを用いた3か月亜急性毒性試験

方法: プロチオホスを0 (対照群), 1, 5, 25, 125,

625 および 3125 ppm の濃度で含有する飼料を一群雌雄各10匹のICR系マウスに3か月間摂取させた。

結果: 中毒症状は3125 ppm 群雌雄で投与開始2~3日後より食欲不振、飲水量の減少、動作緩慢、うずくまりが認められた。さらに軽いけいれんと立毛がみられ、雄の5例が死亡した。また、625 ppm 群雄の3例で投与開始3週間後より動作が不活発となった。625 ppm 群雌および125 ppm 以下の雌雄では、異常がみられなかった。3125 ppm 群では、体重増加、飼料摂取量、食餌効率の低下がみられ、血液学的検査でヘマトクリット値の低下がみられた。血液化学的検査では、125 ppm 以上の投与群において GOT および ALP の低下傾向が認められた。コリンエステラーゼ活性 (ChE 活性) については、血漿、赤血球ともに 25 ppm 以上の投与群では顕著な阻害を受けて、5 ppm でも低下の傾向がみられた。脳 ChE 活性では、125 ppm 以上の投与群で阻害が認められた。臓器重量を体重比重量でみた場合、25 ppm 以上の投与群で肝重量、125 ppm 以上の投与群で顎下腺重量が薬量に相関して増加した。病理組織学的検査では、薬剤に起因した異常はみられなかった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は1 ppm (雄0.20 mg/kg/日、雌0.23 mg/kg/日)であった。

(東京歯科大学, 1974年)

2. ラットを用いた3か月亜急性毒性試験

方法: プロチオホスを0 (対照群), 8, 40, 200, 1000 および 5000 ppm の濃度で含有する粉末飼料を、一群雌雄各10匹のSD系ラットに3か月間摂取させた。

結果：中毒症状は、5000 ppm 群で立毛や神経過敏の症状が認められ、5000 ppm 群雌が1例のみ死亡した。体重増加は、5000 ppm 群で著明な低下、1000 ppm 群でも低下傾向がみられた。飼料摂取量および食餌効率も、1000 および 5000 ppm 群で低下の傾向が認められた。血液学的検査では、5000 ppm 群で全血比重、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の低下を認め、血液化学的検査では、5000 ppm 群で総蛋白、A/G 比、Ca 量、GPT、ALP の低下が見られた。ChE 活性は、血漿、赤血球ともに 40 ppm 以上の投与群で顕著な阻害を受け、脳 ChE 活性では 1000 ppm 以上で顕著な阻害を示し、200 ppm で中等度の阻害であった。臓器重量では、体重比重量に関し 5000 ppm 群雄で肝、脾の重量増加、1000 ppm 群では、肝、腎、胸腺の重量増加が認められた。病組織学的検査では、対照群と比較して投与群に比較的認められる変化としては、ラット雄の胸腺の髄質出血であった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 8 ppm (雄 0.45 mg/kg/日、雌 0.53 mg/kg/日) であった。

(東京歯科大学, 1974 年)

慢性毒性試験

1. マウスを用いた慢性毒性試験

方法：プロチオホスを 0 (対照群および担体対照群)、1, 20 および 400 ppm の濃度で含有する飼料を一群雌雄各 70~105 匹の ICR 系マウスに 82 週間摂取させた。

結果：一般症状、死亡率、体重増加に関し薬剤投与に起因した変化はみられなかった。飼料摂取量について、400 ppm 群雄で投与 14 週目に低下がみられた。血液学的検査、血液化学的検査、尿検査では薬剤投与に起因した変化はみられなかった。血漿、赤血球の ChE 活性の経時的測定では、いずれも 20 および 400 ppm において投与 2 週以降有意に阻害された。最終屠殺時の脳 ChE では、400 ppm 群において阻害が認められた。臓器重量および病理組織学的検査では薬剤に起因した異常はみられなかった。腫瘍病変は、その性質、発生部位および頻度において投与群と対照群の間に差はみられず、催腫瘍性は認められなかった。

以上の結果より、本試験でのマウスに対する最大無作用量は 1 ppm (雄 0.1561 mg/kg/日、雌 0.1846 mg/kg/日) であった。(アルバニー医科大学, 米国, 1978 年)

2. ラットを用いた慢性毒性試験

方法：プロチオホスを 0 (対照群および担体対照群)、5, 50 および 500 ppm の濃度で含有する飼料を一群雌雄各 70~105 匹の Long Evans 系ラットに 104 週間摂取させた。

結果：中毒症状は、500 ppm 群で試験 7~14 週にコリン作働性の症状 (運動性の亢進、振せん、音に対する過敏性)、攻撃性、奇声、後肢虚弱、立毛等がみられた。体重増加は、500 ppm 群雌雄で体重増加率の低下がみられた。飼料摂取量、血液学的検査、血液化学的検査、尿検査では、薬剤投与に起因した異常はみられなかった。ChE 活性については、50 および 500 ppm の血漿、赤血球 ChE 活性が 2 週目 (50 ppm 雌は 8 週目) より有意に阻害された。500 ppm 群では脳 ChE 活性も阻害された。病理組織学的検査では、各臓器ともに薬剤に起因した変化はみられず、腫瘍病変もその性質、発生部位および頻度に投与群と対照群間に差はみられず、催腫瘍性は認められなかった。

なお、試験中の事故により低濃度群の一部動物が死亡したため、無作用量を得る目的で一群雌雄各 70~90 匹の Long Evans 系ラットにプロチオホスを 0 (対照群)、5 および 25 ppm 含有する飼料を 106 週間摂取させた。その結果、一般症状、死亡率、体重、飼料摂取量、血液学的、血液化学的および尿検査いずれも薬剤に起因した変化はみられなかった。ChE 活性は、25 ppm 群で血漿および赤血球 ChE の阻害がみられたが、脳 ChE 活性に影響はみられなかった。臓器重量は、25 ppm 群雄で腎の実重量および比重量が有意に増加した。病理組織学的検査では薬剤に起因した変化はみられず、催腫瘍性もみられなかった。

以上の結果より、ラットに対する最大無作用量は 5 ppm であった。

(アルバニー医科大学, 米国, 1978, 1979 年)

繁殖および催奇形性試験

1. ラットを用いた 3 世代繁殖試験

方法：プロチオホスを 0 (対照群)、3, 30 および 180 ppm の濃度で含有する飼料を一群雌雄各 25 匹の Long Evans 系ラットに 3 世代にわたって給餌した。各世代で 2 回の交配を行ない、第 2 産仔で継代し、繁殖性に及ぼす影響を検討した。また、妊娠動物の一部を用いて、催奇形性についても検討した。

結果：一般症状、飼料摂取量、飲水量、親動物の体重、親動物の死亡率、交配成績、妊娠率、妊娠期間、同腹仔数、同腹仔体重、出生仔体重、出生仔の哺育期間の死亡率に、プロチオホス投与の影響はみられなかった。F₃ 世代のラットの ChE 活性は 30 ppm 群と 180 ppm 群で阻害された。その他の世代の値には変化が認められたが、著しいものではなかった。催奇形性検査ではプロチオホスに起因する変化は認められなかった。剖検および F₃

世代の組織学的検査ではプロチオホスに起因する影響は認められなかった。

以上のことからプロチオホスは180 ppmの濃度まで繁殖に及ぼす影響を認めなかった。

(アルバニー医科大学, 米国, 1979年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

方法: プロチオホスの0(対照群), 0.25, 2.5および25 mg/kgを一群10匹のLong Evans系雌ラットの妊娠7日から16日までの10日間, 毎日1回強制経口投与した。妊娠19日目に母動物を屠殺し, 胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

結果: 各投与群ともに検体に起因した母動物の一般症状および体重の変化は認められなかった。生存胎仔数, 死亡胎仔数, 吸収胚数および胎仔体重では, 検体に起因した変化はみられず, 外表, 骨格および内臓異常についても検体の影響は認められなかった。

以上より, プロチオホスは最高薬量25 mg/kgでもラットに対し胎仔毒性および催奇形性はないものと判断された。

(アルバニー医科大学, 米国, 1977年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

方法: プロチオホスの0(対照群), 0.15, 1.5, 15および50 mg/kgを一群10匹のDutch系雌ウサギの妊娠7~16日まで毎日1回強制経口投与した。交尾を行なった日を妊娠0日とした。妊娠29日目に母動物を屠殺して, 胎仔毒性および催奇形性の有無を検討した。

結果: 各投与群とも母動物の一般症状および体重に, 検体に起因した変化はみられなかった。生存胎仔数, 死亡胎仔数, 吸収胚数, 胎仔体重についても検体に起因した変化はみられず, 外表, 骨格および内臓異常についても検体の影響は認められなかった。

以上の結果より, プロチオホスは最高薬量50 mg/kgでもウサギに対し催奇形性はないものと判断された。

(アルバニー医科大学, 米国, 1977年)

変異原性試験

1. Rec-assay

方法: *Bacillus subtilis*の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用いたrec-assay法でDNA損傷性を検定した。試験濃度は1~100% v/vとした。

結果: プロチオホスは最高濃度100% v/vにおいても両株にまったく生育阻止を認めなかったことより, プロチオホスのDNA損傷性はないものと判断された。

(残留農薬研究所, 1978年)

2. 復帰変異原性試験

方法: ヒスチジン要求性の*Salmonella typhimurium*

(TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538)およびトリプトファン要求性の*Escherichia coli* (WP 2 hcr-)を用い, Arochlor 1254を一回腹腔内投与し, 酵素誘導したラットの肝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らの方法により変異原性を検定した。試験濃度は10~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

結果: プロチオホスはS-9 Mixの有無にかかわらず, いずれの菌株に対しても最高濃度5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で復帰変異コロニー数を増加させなかった。

以上より, プロチオホスは復帰変異原性はないものと判断された。

(残留農薬研究所, 1978年)

3. 染色体異常試験

方法: ヒトの血液リンパ球を用い, ラット肝より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染色体異常誘発性を評価検討した。プロチオホスの処理濃度は, 細胞毒性を指標とした予備試験より, 非代謝活性化(S-9 Mix非存在下)で100~500 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 代謝活性化(S-9 Mix存在下)で30~300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。

結果: S-9 Mix非存在下での500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ は細胞毒性を示したので評価しなかった。プロチオホスはS-9 Mix非存在下, 存在下いずれも300 $\mu\text{g}/\text{ml}$ までの濃度で染色体異常発現頻度の増加を示さず, 染色体異常誘発性は陰性であると判断された。(バイエル社, 西ドイツ, 1988年)

4. 優性致死試験

方法: 一群20匹のNMRI系雌マウスにプロチオホス500 mg/kgを1回経口投与した。投与後, 1匹の雄に対し未交配の雌3匹を4日間同居させた。同居させる雌は4日ごとに新しく取り替え, これを8回連続して行なった。交配した雌は交配後約14日目に屠殺し, 受精率, 黄体数, 着床数, 生存胚数および死胚数等に対するプロチオホスの影響を検査した。

結果: 突然変異誘発作用の評価に重要な指標(死胚数, 生存胚数, 着床数, 着床前死胚数)に関して, 薬剤投与に起因した異常はみられず, プロチオホスによる優性致死突然変異性は認められなかった。

(バイエル社, 西ドイツ, 1979年)

救命試験

方法: プロチオホス, 750, 850, 1000, 1250および1500 mg/kgを一群15匹のウィスター系雌ラットに1回経口投与した。投与後4~23時間で中毒症状の発現する直前に硫酸アトロピン50 mg/kg, PAM 50 mg/kg, トキソゴニン20 mg/kg(併用の場合は20~50 mg/kg)を単独または併用で腹腔内投与し, 各解毒剤の解毒作用と効果について14日間観察した。

結果：各解毒剤の単独およびそれらの併用はプロチオホスの高薬量投与の際に救命効果を示した。とくに、硫酸アトロピンとPAMの単独および硫酸アトロピンとトキソゴニンの併用において、高い救命効果を認めた。

(バイエル社, 西ドイツ, 1975年)

薬理試験

プロチオホスの生体機能に及ぼす影響について、マウス雌雄, ラット雄, ウサギ雌雄, イヌ雌雄を用いて一般薬理試験を行ない評価した。

中枢神経系; プロチオホスをマウス(投与量: 100, 300, 1000 mg/kg, 以下同様)に腹腔内投与し, Irwin法にて行動を観察した。その結果, 1000 mg/kgで投与24時間後に運動性および反射性の低下, さらに流涎等の自律神経症状がみられた。また, ウサギ(5, 15, 50 mg/kg)にプロチオホスを漸増投与方法により耳静脈内投与し脳波を記録したが, 薬剤の影響はみられなかった。さらに, ウサギ(5, 15 mg/kg)に耳静脈内にプロチオホスを投与し, 投与前および投与4時間にわたり, 直腸温を測定したが, 薬剤に起因する変化はなかった。

呼吸・循環器系; プロチオホスをイヌ(15, 50, 150 mg/kg)およびウサギ(5, 15, 50 mg/kg)の静脈内に漸増投与し, 呼吸, 血圧, 心拍数を測定した。また, イヌは心電図も記録した。その結果, イヌでは50 mg/kg以上の投与量で一過性, 時に持続性の呼吸数の増加と呼吸気量の減少, 血圧下降, 心拍数の減少, さらに心電図で徐脈の傾向がみられた。ウサギでは, 15 mg/kg以上投与で一過性, 時に持続性の呼吸数の増加, 呼吸気量の減少, 血圧下降, 心拍数の減少がみられた。

運動神経系; プロチオホスをウサギ(5, 15, 50 mg/kg)に漸増投与方法にて耳静脈内投与し, 前脛骨筋を分離して間接および直接刺激を加え, その収縮を観察した。その結果, 50 mg/kg投与では直接刺激による筋収縮を軽度に関連させた。

末梢自律神経系; ウサギ(5, 15 mg/kg)の耳静脈内にプロチオホスを投与し, 投与前および投与後1時間にわたり, 左右瞳孔径を測定したが, 薬剤による明らかな

作用は認められなかった。また, プロチオホス(5, 15, 50 mg/kg)をウサギの耳静脈内に漸増投与し, 腸管および子宮の自働運動を記録した。その結果, 15 mg/kg以上の投与で, 腸管自働運動の弱い抑制と子宮の自働運動頻度と収縮圧の低下がみられた。

腎機能; ラットを約18時間絶食, 絶飲した後, 薬剤投与直前に生理食塩水を経口投与し, プロチオホス(0, 5, 15, 50 mg/kg)を尾静脈内投与した。投与4時間後の尿を採取し, 尿量, Na^+ , K^+ , pH, 蛋白, 糖, ケトン体および潜血を調べた。その結果, 薬剤に起因した影響はみられなかった。(東京農工大学, 1976年)

要約

各種毒性試験を実施し, プロチオホスの安全性評価を行なった。

プロチオホスのラットとマウスに対する急性毒性は比較的low, 普通物に相当した。眼および皮膚に対する一次刺激性と皮膚感作性は軽度であった。一方, 亜急性毒性および慢性毒性/発癌性試験では, 高用量投与群において, ChE活性の阻害, 体重増加抑制や一部の臓器重量の増加等の変化がみられたが, 特定の病変は認められず, 発癌性も認められなかった。また, 繁殖性に及ぼす影響, 催奇形性および変異原性は認められなかった。

プロチオホスは昭和50年9月に45%乳剤および2%粉剤の登録を取得し, その後水和剤, 微粒剤F等も登録された。登録保留基準値は, 果実0.1 ppm, 野菜0.1 ppm, いも類0.05 ppm, 豆類0.05 ppm, 茶5 ppm, てんさいおよびさとうきび0.5 ppm, 夏みかんの外果皮5 ppmと設定された。

プロチオホス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, 農業資材の一つとして有用であると考えられる。

問合せ

日本特殊農薬製造株式会社開発本部技術部開発一課
〒103 東京都中央区日本橋本町 2-7-1