

技術情報

ビアラホスの毒性試験の概要

明治製菓株式会社生物産業開発部

(昭和62年2月20日受理)

薬剤の概要

ビアラホスは明治製菓株式会社と宇都宮大学雑草防除研究施設との共同研究によって発見された非選択性茎葉処理型除草剤であり、放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* によって産出される発酵生産物である。発酵生産物による除草剤としては世界で初めて実用化されたものであり、商品名「明治ハービエース液剤」および「明治ハービエース水溶剤」として果樹、野菜、桑、花木等を対象作物として販売されている。

昭和53年から(財)日本植物調節剤研究協会に各種作物に対する薬効・薬害試験を委託し、実用化の判定を受けた。また、残留試験においても作物残留性は認められず、土壌残留性(半減期は時間単位)もきわめて短いことが判明した。

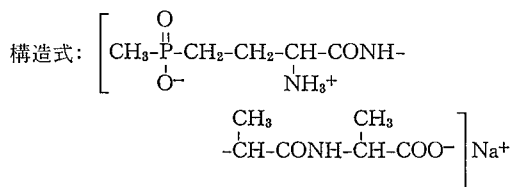
本剤の化学構造、物理的・化学的性状等は以下に示すとおりである。

一般名: ビアラホス bialaphos

商品名: 明治ハービエース液剤, 明治ハービエース水溶剤

試験名: SF-1293Na, MW-801, MW-831

化学名: Sodium salt of L-2-amino-4-[(hydroxy)(methyl)phosphinoyl]butyryl-L-alanyl-L-alanine



分子式: C₁₁H₂₁N₃O₆P · Na

分子量: 345.27

性状: 淡褐色~褐色粉末

臭気: ほとんど無臭

急性毒性試験

ビアラホス, 32% 液剤および 20% 水溶剤の各種急性毒性試験を行ない, 以下に示す試験結果を得た。

中毒症状としては, 各経口投与試験において雌雄とも行動の不活発化, 流涎, 間代性痙攣, 外界刺激に対する興奮性の亢進等が観察された。

検体	動物種	投与経路	LD ₅₀ 値 (mg/kg) または LC ₅₀ 値 (mg/l)	試験機関 (報告書作成年)		
原	ラット	経口	♂ 268	(財)残留農薬研究所 (1981年)		
			♀ 404			
	マウス	経口	♂ 376			
			♀ 372			
	ラット	経皮	♂ 3000 付近		(財)残留農薬研究所 (1982年)	
			♀ 3000 付近			
ラット	吸入	♂ 2.57 mg/l	ライフサイエンスリサーチ (1985年)			
		♀ 2.97 mg/l				
32% 液剤	ラット	経口		♂ 2500		オリエンタル酵母工業(株) (1981年)
				♀ 3150		
20% 水溶剤	ラット	経皮		♂ >3000	(財)食品農薬品安全性評価センター(1981年)	
				♀ >3000		
ラット	経口	経口	♂ 5400	明治製菓(株)薬理安全性研究所 (1986年)		
			♀ 5200			
マウス	経口	経口	♂ 3500			
			♀ 3750			
ラット	経皮	経皮	♂ >2000			
			♀ >2000			

刺激性試験

ビアラホス*1, 32% 液剤*2 および 20% 水溶剤*3 の眼および皮膚に対する刺激性をウサギを用いて検討した。

1. 眼刺激性

右眼を対照眼、左眼を処理眼としてピアラホス 0.1 g, 32% 液剤 0.1 ml, 同 100 倍希釈液 0.1 ml, 20% 水溶剤 0.1 g, および同 100 倍希釈液 0.1 ml を結膜嚢内へ投与し、角膜、虹彩および結膜について、刺激性の評価を行った。

その結果、ピアラホスはきわめて軽度、各製剤は軽～中等度、各製剤の 100 倍希釈液は軽度の刺激性を示したが、ピアラホスでは 48 時間後、32% 液剤では 10 日後および 20% 水溶剤では 7 日後までに全例が回復した。

2. 皮膚刺激性

背部の除毛した皮膚にピアラホス 0.5 g, 32% 液剤 0.5 ml, 同 100 倍希釈液 0.5 ml, 20% 水溶剤 0.5 g および同 100 倍希釈液 0.5 ml を 4 時間閉塞貼布して、皮膚刺激性の評価を行なった。

その結果、ピアラホスおよび 20% 水溶剤では刺激性は認められなかった。32% 液剤は軽度、同 100 倍希釈液はきわめて軽度の刺激性を示したが、32% 液剤では 14 日後、同 100 倍希釈液では 3 時間後までに全例が回復した。

(*1 (財)食品農医薬品安全性評価センター 1984年)

(*2 明治製菓(株)薬理安全性研究所 1984年)

(*3 明治製菓(株)薬理安全性研究所 1985年)

皮膚感作性試験

ピアラホス*1 は Draize 法、20% 水溶剤*2 は Maximization 法にて、いずれもハートレイ系モルモットを用いて皮膚感作性の評価を行なった。

その結果、ピアラホスにはきわめて軽度な感作性が認められたが、20% 水溶剤には感作性は認められなかった。

(*1 (財)食品農医薬品安全性評価センター 1984年)

(*2 明治製菓(株)薬理安全性研究所 1985年)

急性遅発性神経毒性試験

ピアラホスの急性遅発性神経毒性を白色レグホンの雌を用いて、5000 mg/kg を 21 日間隔で 2 回経口投与し評価を行なった。

その結果、初回投与後、歩行異常、活動低下、摂餌量減少等の急性毒性徴候が認められ、2 回目投与後も類似の徴候が認められた。しかし、臨床および光顕所見において、神経筋障害の徴候は認められなかった。

以上より、ピアラホスの急性遅発性神経毒性は陰性と判断された。(バイオダイナミックス社 1984年)

亜急性毒性試験

ピアラホスの亜急性毒性を評価するため、ピアラホスを 0, 3, 30, 300 および 3000 ppm 含有した飼料を 1 群雌雄各 20 匹の F₃₄₄/DuCrj 系ラットに 3 か月間摂取させた。

その結果、ピアラホス投与に起因すると考えられる一般状態の異常および死亡例は認められなかった。3000 ppm 群では雌雄ともに試験開始直後から有意な体重増加抑制が認められた。300 ppm 以上の投与群の雌において平均赤血球色素濃度の軽微な増加、そして、300 ppm 以上の投与群の雌において γ -GTP 値の減少が認められた。30 ppm 以上の投与群の雌雄において腎重量の増加、腎近位直尿細管上皮の肥大・淡明化が認められた。

以上より、本試験におけるピアラホスの最大無作用量は 3 ppm (雄: 0.187 mg/kg/日, 雌: 0.193 mg/kg/日) と判断された。((財)残留農薬研究所 1981年)

慢性毒性・発がん性試験

1. ラットにおける慢性毒性・発がん性試験

ピアラホスの慢性毒性および発がん性を評価するため、ピアラホスを 0, 3, 30, 300 および 3000 ppm 含有する飼料を、1 群雌雄各 80 匹の F₃₄₄/DuCrj 系ラットに 24 か月間摂取させた。

その結果、ピアラホス投与に起因すると考えられる一般状態の異常および薬剤濃度に相関する死亡率の増加は認められなかった。3000 ppm 群の雌雄および 300 ppm 群の雄に体重増加抑制または抑制傾向が認められたが、300 ppm 群の雌および 30 ppm 群以下の雌雄では対照群と比べ、明らかな差は認められなかった。30 ppm 以上の投与群の雌雄において腎重量の増加、300 ppm 以上の投与群の雌で腎近位直尿細管上皮の肥大の発生頻度の増加が認められた。しかし、尿検査および血液生化学的検査において腎機能障害を示唆するパラメータへの変動が認められないことから、薬剤投与を停止すれば速やかに消失する程度の軽微な形態学的異常と思われた。このことは、電子顕微鏡観察でも腎近位直尿細管上皮細胞内に滑面小胞体 (SER) の増加以外にまったく変性変化を認められないことから裏づけられた。また、腫瘍の発現率も対照群と比べて有意差は認められなかった。

以上より、本試験におけるピアラホスの最大無作用量は 3 ppm (雄: 0.108 mg/kg/日, 雌: 0.131 mg/kg/日) と判断された。((財)残留農薬研究所 1984年)

2. マウスにおける慢性毒性・発がん性試験

ピアラホスの慢性毒性および発がん性を評価するた

め、ピアラホスを 0, 3, 30, 100 および 300 ppm 含有した飼料を、1 群雌雄各 80 匹の Jcl-ICR 系マウスに 24 か月間摂取させた。

その結果、ピアラホス投与に起因すると考えられる一般状態の異常および薬剤濃度に相関する死亡率の増加は認められなかった。高濃度群において試験開始直後より 10 週目まで対照群と比べ体重増加抑制または抑制傾向が認められたが、10 週目以降は各濃度群と比べ明らかな差は認められなかった。30 ppm 以上の投与群の雌雄において、GOT, GPT の増加または増加傾向が認められ肝機能への影響が推定されたが、病理組織学的検索では異常は認められなかった。また、腫瘍の発現率も対照群と比べて有意差は認められなかった。

以上より、本試験におけるピアラホスの最大無作用量は 3 ppm (雄: 0.38 mg/kg/日, 雌: 0.44 mg/kg/日) と判断された。(明治製菓(株)薬理安全性研究所 1984年)

次世代に及ぼす影響試験

ピアラホスの次世代に及ぼす影響を評価するため、ウィスター系ラットを用いピアラホスの 0, 3, 30 および 300 ppm を含有した飼料を世代にわたり摂取させ、繁殖能および催奇形性について検討した。なお、F₀ 世代として 1 群雌雄各 30 匹を用い 5 週齢から摂取させた。

その結果は次のとおりであった。

1. 世代繁殖

各世代の妊娠、哺育期間中の母動物に 300 ppm 群で体重増加抑制および飼料摂取量の減少が認められ、妊娠期間の延長および出産仔数の減少も認められた。この出産仔数の減少には、帝王切開成績から推測して生存胎仔数の減少、未着床卵、吸収胚および胎仔死亡数の増加が要因として考えられた。

2. 催奇形性

胎仔の外形検査、内臓検査および骨格検査でピアラホスの濃度に相関した異常は認められず、観察された異常は自然発生的であり、ピアラホスに催奇形性はないと判断された。300 ppm 群の F₀ および F₁ 世代の胎仔で頸椎弓および胸骨核などに化骨遅延が認められ、胎仔重量が低下する傾向にあったことからわずかながら発育遅延を起こす用量と考えられた。

以上より、本試験における最大無作用量は 30 ppm (雄: 2.09~2.23 mg/kg/日, 雌: 1.85~4.43 mg/kg/日) と判断され、また、最高投与量の 300 ppm でも胎仔に対して催奇形性を示さないと判断された。

((財)食品農薬薬品安全性評価センター 1984年)

催奇形性試験

1. ラットにおける催奇形性試験

ピアラホスの催奇形性を評価するため、4, 20 および 100 mg/kg をウィスター系ラットの妊娠 7 日から 17 日まで 11 日間、毎日 1 回経口投与した。

その結果、20 mg/kg 以上の投与群で興奮状態および立毛など、100 mg/kg 投与群で体重増加抑制、飼料摂取量の減少および肝重量の低下が認められた。100 mg/kg 投与群で生存胎仔重量が減少したが、母体の体重増加抑制および飼料摂取量の減少に起因した二次的な発育遅延と考えられた。その他、100 mg/kg 投与群で生存胎仔数の減少および死亡・吸収胎仔(胚)数の増加が認められた。胎仔の骨格検査の化骨進行度で 100 mg/kg 群の胸骨格、中手骨、前肢基節骨に化骨遅延が認められたが、母体の体重増加抑制、摂餌量の低下に起因した二次的な発育遅延と考えられた。そのほかには、外形検査、骨格検査および内臓検査で異常は認められなかった。したがって、ピアラホスには胎仔に対する催奇形性作用はないと考えられた。

以上より、本試験における最大無作用量は 4 mg/kg と判断され、また、最高投与量の 100 mg/kg でも胎仔に対して催奇形性を示さないと判断された。

((財)食品農薬薬品安全性評価センター 1986年)

2. ウサギにおける催奇形性試験

ピアラホスの催奇形性を評価するため、0.8, 4 および 20 mg/kg をニュージーランドホホワイト種ウサギの妊娠 6 日から 18 日まで 13 日間、毎日 1 回経口投与した。

その結果、20 mg/kg 投与群で散瞳、興奮状態等が認められ、体重増加抑制、飼料摂取量の減少および副腎重量の増加も認められた。また、20 mg/kg 投与群で生存胎仔体重が低下傾向を示し、胎仔の骨格検査の化骨進行度で胸骨格に化骨遅延率の増加が認められたが、これらは母体の体重増加抑制に起因した二次的発育遅延と考えられた。その他、外形検査、骨格検査および内臓検査で異常は認められなかった。したがって、ピアラホスには胎仔に対する催奇形性作用はないと考えられた。

以上より、本試験における最大無作用量は 4 mg/kg と判断され、また、最高投与量の 20 mg/kg でも胎仔に対して催奇形性を示さないと判断された。

((財)食品農薬薬品安全性評価センター 1986年)

変異原性試験

1. Rec-assay

枯草菌の組換修復機構野生株 (H-17) と欠損株 (M-

45) を用い、ピアラホスの DNA 損傷誘発性について 0~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の濃度範囲で検討した。

その結果、ピアラホスはいずれの濃度においても円形ろ紙の周囲にはまったく阻止帯を誘起しなかったが、ろ紙より離れた所より数 mm にわたって生育阻止帯が観察された。この現象は M-45 株、H-17 株に共通して見られ、阻止帯の位置、長さに関しては両株間に差異は認められなかった。一方、陽性対照のマイトマイシン C では両株間に著明な生育阻止の差を生じ、陰性対照のカナマイシンでは両株間に同程度の生育阻止が認められた。

以上より、ピアラホスの DNA 損傷誘発性は陰性と判断された。(財)残留農薬研究所 1981年)

2. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 5 株 (TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP 2hcr) を用い、ラット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 らの方法によりピアラホスの変異原性を検討した。ピアラホスの濃度としては 0~0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を設定した。

その結果、0.05 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 濃度以上で菌株に対する生育阻害が認められた。しかし、試験可能な 0.01 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以下においては、S-9 Mix の有無にかかわらずいずれの菌株においても液媒対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2, ENNG, 9-AA, 2-NF では S-9 Mix の添加なしで、2-AA では S-9 Mix の添加により復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上より、ピアラホスの突然変異誘発性は陰性と判断された。(財)残留農薬研究所 1981年)

3. 突然変異誘発頻度試験 (Mutation Frequency Test)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 4 株 (TA1535, TA1537, TA98, TA100) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP 2avrA) を前培養後、リン酸バッファーにより菌懸濁液を調製し、ピアラホスを加え 37°C で 30 分間振盪培養した。遠沈により集菌し、リン酸バッファーに再懸濁後、半分は生存菌数計測用とし残りを変異コロニー計測用とした。生存菌数は菌懸濁液を希釈し Nutrient broth 寒天平板に展開し 24 時間後に形成されたコロニー数によって、変異コロニー数は菌懸濁液を濃縮し Vogel-Bonner E 寒天平板に展開し、48 時間後に形成された変異コロニー数より算定した。ピアラホスの濃度としては 0~5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を設定した。

その結果、変異コロニー出現頻度はピアラホスの添加

によって上昇せず、むしろ自然出現頻度よりやや低い傾向にあった。陽性対照とした ENNG, 9-AA, 2-NF は顕著に上昇した。さらにピアラホス添加群の変異コロニー出現頻度には用量依存性も認められなかった。

以上より、ピアラホスの突然変異誘発性は復帰変異試験より高濃度においても陰性と判断された。

(明治製菓(株)薬理安全性研究所 1985年)

4. *In vitro* 哺乳動物細胞遺伝学的試験

チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺由来線維芽細胞 (CHL) を用いた。試験前に濃度設定のため実施した細胞増殖抑制試験ならびに溶解性から、本試験の濃度は S-9 Mix による非活性化法で 10 mg/ml, 活性化法で 43 mg/ml までとした。各濃度で原則として 200 個の分裂中期像を観察した。染色体の異常をギャップ, 染色分体切断, 染色分体交換, 染色体切断, 染色体交換, 断片化およびその他に分類し計測した。

その結果、ピアラホス投与群では細胞毒性を示したレベルの濃度あるいは溶解限界溶液を適用した濃度を含め、染色体異常保有細胞の発現頻度において濃度と相関した増加または陰性対照と比して有意な増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いたマイトマイシン C あるいは Benzo[a]pyrene では、染色体異常保有細胞の発現頻度の増加が認められた。

以上より、ピアラホスの染色体異常誘発性は陰性であると判断された。

(明治製菓(株)薬理安全性研究所 1987年)

生体の機能に及ぼす影響試験

ピアラホスを用いて、中枢神経系^{*1,*2,*3}, 呼吸・循環器系^{*2,*3}, 自律神経系^{*1,*2}, 消化器^{*1}, 骨格筋^{*1}, その他(局所麻酔^{*2}, 腎機能^{*3}, 肝機能^{*3}, 血液^{*2}) に対する作用について検討した。

その結果、ピアラホスは 30 mg/kg 以上の静脈内投与で、用量依存的に中枢興奮を招来するが、呼吸・循環器系, 自律神経系, 消化器, 骨格筋およびその他の生理機能にとくに影響しないと判断された。

(*1 神戸女子薬科大学 1984年)

(*2 (株)環境保健生物研究センター 1984年)

(*3 明治製菓(株)薬理安全性研究所 1984年)

解毒法および治療法

ピアラホスの解毒法および治療法を検討するため、ピアラホスのラットにおける LD₁₀₀ 値と推定される 1500 mg/kg を経口投与し、次の各処置を行なった。

1) 無処置

- 2) 投与直後に薬用活性炭 500 mg/rat 経口 1 回投与
- 3) 投与直後に配合解毒薬 (活性炭: 酸化マグネシウム: タンニン酸の 2:2:1) を 500 mg/kg 経口 1 回投与
- 4) 投与 4 時間後にフェノバルビタールナトリウムを 30 mg/kg 経口投与し, その 4~6 時間後に同量を再投与
- 5) 投与 4 時間後にクロルジアゼポキシドを 15 mg/kg を経口投与し, その 6 時間後に同量を再投与
- 6) 投与 4 時間後にガンマアミノ酪酸を 500 mg/kg を静注投与
- 7) 投与 4 時間後にジフェニルヒダントインを 60 mg/kg 経口投与

その結果, 無処置, ガンマアミノ酪酸, ジフェニルヒダントインの各区は翌日までに全例が死亡した。薬用活性炭では 8 例中 5 例, クロルジアゼポキシドでは 8 例中 4 例が生じた。配合解毒薬, フェノバルビタールナトリウムでは全例が生じた。

以上より, ピアラホスを誤飲(食)した場合には, 吸収を配合解毒薬で抑制し, 被刺激性の亢進および痙攣発作等をフェノバルビタールナトリウムで治療することによって中毒症状および致死毒性を抑制できることが示唆された。(明治製菓(株)薬理安全性研究所 1984年)

要 約

ピアラホス, 32% 液剤および 20% 水溶剤の安全性評価を行なうため各種毒性試験を実施した。その結果, ピアラホスおよび 32% 液剤は劇物に指定され, 20% 水溶剤は劇物より製剤除去された。眼に対する刺激性はピアラ

ホスできわめて軽度, 各製剤では軽~中等度と判断されたが, いずれも全例回復した。皮膚に対する刺激性はピアラホスおよび 20% 水溶剤では認められず, 32% 液剤では軽度と判断されたが, 試験終了時には全例回復した。急性遅発性神経毒性は陰性であった。亜急性および慢性毒性はラットにおいて腎重量の増加等が認められたものの腎機能障害は認められず, また, マウスにおいては GOT, GPT の増加または増加傾向が認められたものの肝機能障害は認められなかった。そして, その他の特定の病変も認められず, 発がん性も認められなかった。また, 変異原性および催奇形性等も認められなかった。

32% 液剤(商品名: 明治ハービエース液剤)は昭和 58 年 10 月に農林水産省に農薬登録を申請し, 各種の審査を経て昭和 59 年 6 月に花木, 桑, 芝を対象に農薬登録され, その後, 昭和 61 年 4 月にぶどう, かんきつ, りんご, トマト, キュウリ, はくさい, すいか等に適用拡大された。そして, 20% 水溶剤(商品名: 明治ハービエース水溶剤)は昭和 61 年 4 月に農薬登録を申請し, 昭和 62 年 1 月にぶどう, りんご, トマト, キュウリ, はくさい, すいか, 桑等に農薬登録された。

ピアラ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として, 上市以来好評を得ている。

問合せ

明治製菓株式会社生物産業開発部
〒104 東京都中央区京橋 2-4-16