

技術情報

ピラクロホスの毒性試験の概要

武田薬品工業株式会社アグロ事業部
農薬研究所開発部開発第三グループ

(平成2年8月20日受理)

薬剤の概要

ピラクロホスは武田薬品工業株式会社で合成、開発された、非対称構造をもつ新しいタイプの低毒性有機リン殺虫剤である。本剤は4-ピラゾリルリン酸エステルを有し、優れた殺虫活性を示し、比較的温血動物に低毒性である。1980年より(社)日本植物防疫協会を通じ各地の試験研究機関で試験を開始した。

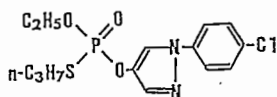
国内・海外での試験を通じピラクロホスは、各種作物の主要害虫である鱗翅目、甲虫目、半翅目、アザミウマ目、双翅目、ゴキブリ目昆虫あるいはハダニ類および線虫類に対しても高い活性を示すことが認められた。また安全性研究を通じ、ピラクロホスは実用性の高い安全な殺虫剤であることが確認された。

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：ピラクロホス pyraclofos

化学名：(RS)-[0-1-(4-chlorophenyl)pyrazol-4-yl
O-ethyl S-propyl phosphorothioate]

構造式：



分子式：C₁₄H₁₆ClN₂O₃PS

分子量：360.80

外観：淡黄色油状液体

比重：1.271 (28°C)

沸点：164°C (0.01 mmHg)

蒸気圧：1.2 × 10⁻⁸ mmHg (20°C)

分配係数：3.77 (n-オクタノール/水, 20°C, log 値)

溶解性：水；3.3 × 10⁻² g/l (20°C)

以下の有機溶媒に易溶；アセトン，エタノール，アセトニトリル，トルエン，キシレン，メタノール，ジクロロメタン，酢酸エチル

安定性：熱に対して安定。酸性では安定であるが、ア

ルカリ性ではやや不安定。通常の散光下では安定。

急性毒性試験

ピラクロホスのラットおよびマウスにおける経口、経皮、皮下、腹腔内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。

中毒症状としては、経口、皮下、腹腔内投与で、自発運動の減少、歩行異常、下痢、流涙、流涎、呼吸困難等がみられたが、遅くとも14日以内にはすべて回復した。死亡例の剖検所見では肺、胃、小腸に出血がみられたが、試験終了時の生存動物においてはいずれの試験においても異常は認められなかった。経皮投与では異常は認められなかった。

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

ピラクロホス原体 0.1 ml を日本白色種雄ウサギの右眼に適用し、その後 1, 24, 48 および 72 時間に角膜、虹彩および結膜における異常を観察した。洗眼群には 3 匹、非洗眼群には 6 匹を使用した。

眼粘膜に刺激性変化は認められなかった。また、一般症状および体重変化においてもすべての動物で検体投与によると思われる影響はみられなかった。

(臨床医科学研究所, 1984年)

2. 皮膚一次刺激性試験

日本白色種ウサギ雄 6 頭の背部皮膚にピラクロホス原体 0.5 ml を塗布したガーゼを適用し、4 時間後に除去した。検体除去 1, 24, 48 および 72 時間後に皮膚の刺激性変化を観察した。

すべての動物の適用部皮膚に検体投与による皮膚刺激性変化はみられなかった。また、検体投与によると思われる一般症状および体重変化は認められなかった。

(臨床医科学研究所, 1984年)

表1 急性毒性試験結果

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関(報告書作成年)
ラット	経口	♂ ♀	237	臨床医科学研究所(1983)
		♂ ♀	> 2000	
	皮下	♂	1370	
		♀	1530	
		♂ ♀	267	
腹腔内	♀	293		
マウス	経口	♂	575	
		♀	420	
	皮下	♂	250	
		♀	312	
		♂ ♀	358	
腹腔内	♀	310		
ラット	吸入	♂	LC ₅₀ 1.69 mg/l	Bio/dynamics (1986)
		♀	LC ₅₀ 1.46 mg/l	

皮膚感作性試験

Hartley 系モルモット雄1群15匹を用い、Buehler法に準じて試験を行なった。ピラクロホス原体はアセトンで希釈し、陽性対照の DNCB は感作時には白色ワセリンに混合し、誘発時には40%エタノールに溶解して用いた。

感作：刈毛、剃毛したモルモットの左腹側部皮膚に、ピラクロホス原体、1% DNCB、白色ワセリンを、0.5 ml または0.5 g 吸着あるいは塗布したリント布を6時間閉塞貼布した。初回感作より7、14日後に同じ方法で計3回感作を行なった。

誘発：最終感作の2週間後、刈毛、剃毛した右腹側部皮膚に25%ピラクロホス溶液0.5 ml を吸着させたリント布を24時間貼布した。検体除去後24および48時間に皮膚の変化を観察した。

ピラクロホスによる皮膚感作性は認められなかった。一方、陽性対照の DNCB にはきわめて強度の皮膚感作性が認められた。(臨床医科学研究所, 1987年)

急性遅発性神経毒性試験

コーンオイルに懸濁したピラクロホス原体 150, 160, 175 および 185 mg/kg をホワイトレグホン種成雌ニワトリに1回強制経口投与した。保護剤として硫酸アトロピン 25 mg/kg を検体投与30分前に腹腔内投与した。陽性対照群には Tri-o-tolyl phosphate (TOTP) 1200 mg/kg を用いた。毒性症状を22日間観察し、神経組織の病理組織学的検査を行なった。

ピラクロホス投与群の神経症状は投与5日後まで認められ、6日後には消失した。一方、TOTP 投与群の神経症状は投与15~19日後に発現し、試験終了時まで継続し、これは遅発性神経毒性症状と判断された。脊髄および脛骨神経の病理組織学的検査では陽性対照群のニワトリに軸索変性および脱髄が認められたが、ピラクロホス投与群には認められなかった。

以上の結果より、ピラクロホスのニワトリに対する急性遅発性神経毒性は認められなかった。(International Research and Development Corporation, 米国, 1987年)

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた3か月亜急性毒性試験

ピラクロホス原体を0, 1, 3, 10, 100 および 1000 ppm 含有する飼料を1群雌雄各20匹の Fischer 系 F₃₄₄ ラットに3か月間自由摂取させた。

試験期間を通じ検体投与に関連した一般状態の異常は認められず、死亡例も認められなかった。100, 1000 ppm 投与群雌雄で試験1~3週時より試験終了時まで体重増加抑制が認められた。100, 1000 ppm 投与群雌雄で飼料摂取量の減少がみられた。血液学的検査では、1000 ppm 投与群雌雄でヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度および赤血球数の減少、血小板の増加が認められ、雌雄の MCV と雄の MCH が高い値を示した。100 ppm 投与群でも上記とほぼ同じ項目に異常が認められた。血液生化学的検査および尿検査においては、検体投与に関連性のある異常はみられなかった。10 ppm 以上の投与群雌雄において検体投与量に依存した血漿および赤血球のコリ

ノエステラーゼ活性の低下がみられ、1000 ppm 投与群雌雄で脳のコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。肉眼的病理検査においては、1000 ppm 投与群雌雄に空・回腸部の白色化、肥厚が、雌に副腎の白色化が認められた以外に異常は認められなかった。1000 ppm 投与群雄で心重量が減少し、雌で下垂体、心および肝の重量が減少したが、用量との相関はなく体重減少に起因する変動であった。試験終了時の病理組織学的検査では、1000 ppm 投与群雌雄に空・回腸粘膜上皮細胞の空胞化、固有層の水腫、軽度の小円形細胞浸潤および粘膜表面における細胞破砕物を含む粘液様物質の付着を伴うカタル性腸炎が認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 3 ppm (雄 0.162 mg/kg/day, 雌 0.171 mg/kg/day) と判断される。(残留農薬研究所, 1983 年)

2. マウスを用いた 3 か月亜急性毒性試験

ピラクロホス原体を 0, 1, 10 および 200 ppm 含有する飼料を 1 群雌雄各 20 匹の $B_6C_3F_1$ 系マウスに 3 か月間自由摂取させた。

試験期間中、検体投与に関連した一般状態の異常は認められなかった。各投与群で動物の死亡が認められたが、検体投与に関連するものではなかった。200 ppm 投与群雄で試験初期に体重増加抑制が認められたが、試験終了時にはいずれの投与群も対照群と同等の値を示した。200 ppm 投与群雌雄で飼料摂取量の減少が、雄で平均飲水量の低下が認められた。血液学的検査では、200 ppm 投与群雌雄で赤血球数、ヘモグロビン濃度、ヘマトクリット値および MCV の低下が雌で MCHC の上昇が認められた。血液生化学的検査では、生物学的に意義のある変化は認められなかった。試験終了時における血漿コリンエステラーゼ活性は 1, 10 および 200 ppm のいずれの群においても有意に低下し、200 ppm 投与群で赤血球および脳コリンエステラーゼ活性の低下が認められた。尿検査、肉眼的病理検査においては、検体投与に関連する影響は認められなかった。200 ppm 投与群雌雄で肝、腎、心、脳の重量および対体重比ならびに精巣重量対対体重比に統計学的有意差が散見されたが、これらは偶発的所見であり、毒性学的な意義はないものと考えられた。病理組織学的検査において、対照群を含む全群の数例のマウスに涙腺炎、唾液腺炎および間質性肺炎などが散見されたが、いずれも検体投与に関連した所見ではなく、自然発生あるいは偶発的な病変と考えられた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は 10 ppm (雄 2.029 mg/kg/day, 雌 19.295 mg/kg/day) と判断される。(International Research and Development

Corporation, 米国, 1984 年)

慢性毒性および発がん性試験

1. ラットを用いた慢性・発がん性毒性試験

ピラクロホス原体を 0, 3, 10, 100 および 300 ppm 含有する飼料を 1 群雌雄各 80 匹の Fischer 系 F_{344} ラットに 24 か月間自由摂取させた。

試験 12 か月頃より外陰部の被毛の汚れがみられ、とくに 300 ppm 投与群雌では対照群に比較して高頻度であった。死亡率には検体投与に関連した影響は認められなかった。10 ppm 投与群雄で投与期間の初期に、100, 300 ppm 投与群雄および 10~300 ppm 投与群雌ではほぼ全期間中、有意な体重増加抑制傾向がみられた。10 ppm 投与群雌では投与期間の初期に飼料摂取量の減少が散見されたが、その後、対照群との間に差は認められなかった。同群雌では、ほぼ全期間を通じて有意な減少傾向が認められた。飼料効率および眼検査では、検体投与に関連した影響は認められなかった。血液学的検査では、100 および 300 ppm 投与群雌雄で投与 12 か月時に Ht, Hb および赤血球数の減少, MCV, MCH および網赤血球数の増加と 6 か月時に雄の Hb の減少が認められた。300 ppm 投与群雌で投与 18 か月時に Ht が減少し、24 か月時に Hb の減少ならびに網赤血球数の増加が認められたが、これらの変化は検体投与によるいわゆる大球性貧血であると考えられ、これは低栄養性によるものと推察される。血液生化学的検査においては、300 ppm 投与群雌で総蛋白、グロブリンおよび AIP の減少が投与 6, 12 および 18 か月時にみられ、100 および 300 ppm 投与群雌では総蛋白、アルブミンおよびグロブリンの減少が 6 および 12 か月時に認められた。また、300 ppm 投与群雌で 6 か月時に、雌では 6, 12, 18 および 24 か月時に脳のコリンエステラーゼ活性の低下がみられ、10~300 ppm 投与群雌雄で血漿および赤血球のコリンエステラーゼ活性が低下した。尿検査では、300 ppm 投与群雌雄に尿量および蛋白質の減少が散見された。また、雄で潜血の増加、雌でケトン体の増加および尿比重の低下が散見された。臓器重量は 100 および 300 ppm 投与群雌で甲状腺重量の対対体重比が増加し、300 ppm 投与群雌で肝重量およびその対対体重比が減少した。肉眼的病理検査では、300 ppm 投与群で試験終了時の屠殺動物の雄に精巣の萎縮、軟化および副腎腫大が、また雌において眼脂が有意に増加した。病理組織学的検査において、非腫瘍性病変としては、300 ppm 投与群雌雄で低栄養状態による変化と考えられる小葉中心性肝細胞脂肪化およびびまん性肝細胞脂肪化の発生頻度が増加した。また、甲状腺の

大型小胞の増加が雌で18, 24か月時の計画屠殺動物に有意に増加した。検体投与による腫瘍性病変は認められなかった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は3 ppm(雄 0.101 mg/kg/day, 雌 0.120 mg/kg/day)と判断される。

また、催腫瘍性はないものと考えられる。

(残留農薬研究所, 1987年)

2. マウスを用いた慢性・発がん性毒性試験

ピラクロホス原体を0, 0.7, 7.0および70.0 ppm 含有する飼料を1群雌雄各80匹のB₆C₃F₁系マウスに24か月間自由摂取させた。

試験期間中、検体投与に関連すると考えられる一般状態の異常は認められなかった。全投与群の死亡率には検体投与に関連した影響は認められなかった。70.0 ppm 投与群雌雄で試験期間中、体重増加抑制がみられた。飼料摂取量の増減が各群に散見されたが、検体投与に関連した影響は認められなかった。飲水量は0.7 ppm 投与群雌雄で増加傾向がみられた以外は、全投与群雌雄で減少傾向が認められた。血液生化学的検査では、投与18か月時の全投与群雌雄にALPの減少がみられ、投与6, 12および24か月時の7.0および70.0 ppm 投与群雌雄にコレステロールの増加が散見されたが、検体投与に関連した変化とは考えられなかった。70.0 ppm 投与群雌雄の赤血球コリンエステラーゼ低下は検体投与に関連した毒性症状と考えられた。血液学的検査、尿検査および臓器重量には検体投与に関連した影響は認められなかった。脱毛、皮膚欠損、歯破損、角膜混濁、腫瘤、肝の変色および各種病巣、肺の充血および結節、リンパ節および脾の腫大、卵巣嚢胞および子宮拡張などの肉眼的病理所見が全群にみられたが、これらは自然発生の頻度以内であり検体投与に関連したものではなかった。また、全群に涙腺炎、腎の小結石、慢性腎炎、間質性肺炎などの非腫瘍性病変およびリンパ腫、肝細胞腺腫、下垂体腺腫などの腫瘍性病変が散見されたが、いずれも検体投与に関連するものではなく、その頻度は本系統のマウスに観察されたバックグラウンドデータの範囲内であった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は7.0 ppm(雄 1.03 mg/kg/day, 雌 1.28 mg/kg/day)と判断される。また、催腫瘍性はないものと考えられる。

(International Research and Development Corporation, 米国, 1987年)

繁殖性に及ぼす影響および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖性試験

ピラクロホス原体を0, 10, 100 および 1000 ppm 含

有する飼料を1群雌雄各25匹のSD系ラットのF₀世代からF₂仔の13週時まで連続投与により自由摂取させた。

1000 ppm 投与群では、F₁ および F₂ 世代のすべての仔動物(F_{1a}, F_{1b}, F_{2a}, F_{2b})の生存率が低下した。死亡はおもに授乳期間中に認められ、死亡仔の胃内に乳汁が認められなかったこと、またカンニバリズムが多発したことから、母動物の異常行動によるものと考えられた。F₀, F₁ および F₂ 動物の体重増加抑制がみられ、飼料摂取量が減少した。100 ppm 投与群で増体重および飼料摂取量が低下した。

以上のように、ピラクロホスを飼料に混入してラットの3世代にわたって投与した場合、繁殖能に及ぼす影響はいずれの投与群においても認められず、飼料摂取量の減少および体重増加抑制がみられ、100 ppm 投与群では体重増加抑制がみられたことから、最大無作用量は10 ppm(雄 0.567 mg/kg/day, 雌 0.692 mg/kg/day)と判断される。

(International Research and Development Corporation, 米国, 1987年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

ピラクロホス原体をコーンオイルに懸濁し、0, 10, 50 および 100 mg/kg/day の投与レベルで妊娠6日から15日までの10日間、1群雌25匹のSD系ラットに毎日1回強制経口投与した。交尾の有無は毎日陰栓の検査により行ない、陰栓の認められた日を妊娠0日とした。妊娠20日目に母動物を帝王切開し、催奇形性の有無を調べた。

親動物の100 mg/kg/day 投与群に呼吸ラ音、活動低下、検体投与直後に振顫、流涎過剰、流涙、眼周囲分泌物、会陰部皮毛汚染などが少数例に認められ、妊娠期間中の体重増加抑制などがみられた。50 mg/kg/day 投与群にはごく少数例に流涎過剰、眼周囲分泌物などがみられ、軽度の体重増加抑制が認められた。10 mg/kg/day 投与群には検体投与による影響は認められなかった。胎仔動物に対する検体投与の影響は何ら認められなかった。

以上の結果より、母動物に対する最大無作用量は10 mg/kg/day であった。また、最高投与量の100 mg/kg/day においても胎仔に対し催奇形性を及ぼさないと判断される。

(International Research and Development Corporation, 米国, 1986年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

ピラクロホス原体をコーンオイルに懸濁し、0, 15, 40 および 100 mg/kg/day の投与レベルで妊娠6日から18日までの13日間、1群雌16匹の交雑チンチラ種ウサギに毎日1回強制経口投与した。交尾の認められた日を

妊娠0日とした。妊娠28日目に母動物を帝王切開し、催奇形性の有無を調べた。

親動物では、すべての投与群の糞および尿に検体臭が認められ、100 mg/kg/day 投与群には下痢および投与直後、横臥が認められた以外に中毒症状は認められなかった。検体投与に関連した飼料摂取量の減少および体重増加抑制などが認められたが、検体投与に関連した繁殖性への影響は何ら認められなかった。検体の最終投与24時間後における親動物の血漿および赤血球コリンエステラーゼ活性は全投与群で低下した。胎仔動物に対する検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、ピラクロホスを妊娠ウサギに投与した場合、最高投与量の100 mg/kg/dayにおいても胎仔に対し催奇形性を及ぼさないと判断される。

(Research and Consulting Company, スイス, 1985年)

変異原性試験

1. 復帰変異性試験

ヒスタジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*), TA 100, TA 1535, TA 98, TA 1537 株およびトリプトファン要求性大腸菌 (*Escherichia coli* WP 2 *uvrA*) を用い、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 DNA 復帰変異誘発性を検討した。用量は 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高濃度に、2000, 1000, 500, 100 および 50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず最高濃度の 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 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ことから、復帰変異誘発性はないものと判断される。

(残留農薬研究所, 1986年)

2. 細菌を用いた DNA 修復試験 (rec-assay)

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、賀田らの Rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検討した。用量は 20,000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ を最高濃度に、10,000, 5000, 2000, 1000 および 500 $\mu\text{g}/\text{disk}$ とした。

検体は代謝活性化の有無にかかわらず、最高濃度である 20,000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ においても両株間に生育阻止帯の差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, 1986年)

3. チャイニーズハムスター卵細胞を用いた *in vitro* 細胞染色体異常試験

チャイニーズハムスターの継代培養した肺の CHL 細胞を用いた。代謝活性化法および非代謝活性化法により染色体異常を有する細胞の出現頻度を計測した。本試験に用いたピラクロホス原体の濃度は代謝活性化の有無に

かかわらず、 3.3×10^{-6} , 1.0×10^{-5} , 3.3×10^{-5} , 1.0×10^{-4} および 3.3×10^{-4} とし、標本作製時間は代謝活性化の存在下では 12 および 18 時間、非存在下では 24 および 48 時間とした。

本試験条件下において、代謝活性化の存在下および非存在下のいずれにおいてもピラクロホス処理群での染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を超えなかった。

以上の結果より、ピラクロホスのチャイニーズハムスター肺 CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験における変異原性は陰性であると判断される。

(残留農薬研究所, 1987年)

薬理試験

ピラクロホスの中枢神経系、呼吸・循環器系、自律神経系、消化器系、骨格筋に対する作用、血液凝固に対する作用を調べるとともに解毒試験を行なった。中枢神経系に対する作用は、斜板法および Rota-rod 法による筋弛緩作用とヘキシバルビタール麻酔に及ぼす影響を調べた。呼吸・循環器系に対する作用は、イヌを用いて呼吸、血圧、心電図、心拍数および血流量に及ぼす影響を調べた。自律神経系に対する作用は、ネコの瞬膜に及ぼす影響を調べた。消化器系に対する作用は、腸管輸送能に及ぼす影響と、モルモットおよびウサギの摘出腸管を用いて平滑筋に対する作用を調べた。骨格筋に対する作用は腓骨神経-前脛骨筋標本に刺激電極を設置して刺激に対する反応性を調べ、また、血液凝固性およびマウスを用いて硫酸アトロピンおよび PAM による解毒効果を検討した。

以上の試験を行なった結果、ピラクロホス投与により麻酔イヌの血圧効果、血流量減少、ACh による降圧反応の増大ならびに NE による昇圧反応の抑制、麻酔ラットの骨格筋ではニコチン様作用によると考えられる腓腹筋の収縮増大が認められた。解毒剤としては硫酸アトロピンが有効であると判断される。

(臨床医科学研究所, 1986年)

要 約

各種毒性試験を実施し、ピラクロホスの安全性評価を行なった。

ラットに対する急性経口毒性 (LD_{50} : 237 mg/kg) より、ピラクロホスは劇物に指定された (6% 以下を含有する製剤は劇物から除外)。眼、皮膚に対する一次刺激性、皮膚感作性および急性遅発性神経毒性は認められなかった。亜急性および慢性毒性において、血液学的検査で高用量群に赤血球、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリッ

ト値の低下がみられ、血漿、赤血球および脳のコリンエステラーゼ活性の低下が認められた。発癌性、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。

ピラクロホスは平成元年3月24日に野菜、いも類、糖類、茶の各種害虫を対象に登録され、登録保留基準値は、野菜: 0.1 ppm, いも類: 0.05 ppm, てんさい: 0.05 ppm, 茶: 5 ppm と設定された。

ピラクロ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、農業資材のひとつとして有用であると考えられる。

問合せ

武田薬品工業株式会社アグロ事業部農薬研究所開発部開発第三グループ

〒103 東京都中央区日本橋2丁目12番10号