

技術情報

スルプロ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

(昭和62年8月20日受理)

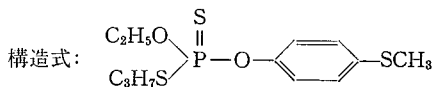
薬剤の概要

スルプロホス (ボルスタール®, NTN 9306) は, 昭和44年 (1969) に日本特殊農薬製造 (株) において合成された有機リン殺虫剤であり, 従来のジアルキル型リン酸エステルとは異なる *O*-エチル *S*-プロピル基を有する非対称型リン酸エステルである。殺虫効力試験の結果, とくに鱗翅目害虫に対して優れた殺虫活性をもつほかに, 従来の有機リン剤に交差抵抗性を示す各種害虫にも有効なことが判明した。この特性は米国において注目され, 薬剤抵抗性により防除が困難であった棉のワタミムシ防除剤として開発が進められ, 昭和53年に米国で農薬登録された。一方, 日本での適用性試験では, 昭和53年頃から西南暖地の施設野菜を中心に被害が大きな問題となっていたミナミキイロアザミウマ (スリップス) に卓効を示したことから, スリップス専用剤としての開発が進められ, 昭和60年2月に登録された。ここでは, 本剤の安全性評価のために実施された各種毒性試験成績の概要について報告する。

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: スルプロホス sulprofos (ISO)

化学名: *O*-ethyl *O*-4-methylthiophenyl *S*-propyl phosphorodithioate



分子式: $C_{12}H_{19}O_2PS_3$

分子量: 322.43

外観: 無色液体 (純品), 黄赤色液体 (原体)

沸点: $125^{\circ}C/0.01\text{ mbar}$

蒸気圧: $7.5 \times 10^{-6}\text{ mmHg}$ ($20^{\circ}C$)

溶解度: (g/l , $20^{\circ}C$) アセトン, ヘキサン, アセトニトリル, ジクロロメタン >1200, イソプロピルアルコール 400~600, 水 <0.05

分配係数 (オクタノール/水): $\log P_{ow}=4.9$

安定性: 熱に対して安定であり, 酸とアルカリには, 通常の条件下で安定

急性毒性試験

スルプロホスのラットとマウスにおける経口, 皮下, 腹腔内, 経皮および吸入の各投与経路による急性毒性試験の結果は以下に示した。

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値 (mg/kg 体重)	試験機関 報告書作成年
ラット	経口	♂	140	昭和大 1979年
		♀	120	
	皮下	♂	610	
		♀	490	
腹腔内	♂	180	女子栄養大学 1981年	
	♀	160		
マウス	経皮	♂	2600	バイエル社 1974年
		♀	2500	
	吸入 ^{a)}	♂	>661	
		♀	mg/m ³	
マウス	経口	♂	580	昭和大 1979年
		♀	490	
	皮下	♂	>1000	
		♀	>1000	
腹腔内	♂	380	女子栄養大学 1981年	
	♀	280		
マウス	経皮	♂	>5000	女子栄養大学 1981年
		♀	>5000	

^{a)} LC₅₀ 値 (4時間暴露)。

刺激性試験

試験機関: 日本特殊農薬製造 (株) 農薬研究所

報告書作成年: 1979年

1. 皮膚一次刺激性試験

白色日本在来種の雌のウサギ5匹を用いて, 刈毛した背部皮膚の右側を正常皮膚, 左側を損傷皮膚とし, スルプロホス原液 0.1 ml を滴下したパッチテスト用絆創膏を24時間閉塞貼付した。

貼付部位の発赤と浮腫の有無を観察したが, 皮膚一次

刺激性を示す変化は認められなかった。

2. 眼一次刺激性試験

スルプロホス原液 0.1 ml を 5 匹のウサギ (白色日本在来種) の左眼に強制投与し、右眼を無処理対照眼として眼粘膜に対する刺激性の評価を行なった。また、洗眼による刺激性の軽減作用についても、5 匹のウサギを用いて試験した。

その結果、スルプロホス原液は角膜と虹彩に対しては刺激性を示さなかったが、結膜には軽度の発赤、浮腫、分泌物がみられ、また、十分な洗眼効果は認められなかった。

急性遅発性神経毒性試験

試験機関: バイエル社 (西ドイツ)

報告書作成年: 1975 年

産卵中のニワトリ (白色レグホン) にスルプロホスを 25~250 mg/kg の投与量で 1 回経口投与して、LD₅₀ 値を測定した。その LD₅₀ 相当量のスルプロホスを 2-PAM 500 mg/kg と硫酸アトロピン 50 mg/kg を筋肉注射して解毒処理した 25 羽のニワトリに 1 回経口投与した。3 週間後、同量の解毒剤とスルプロホスを再投与し、顕著な急性中毒症状を示したニワトリについて病理組織学的検査を実施した。陽性対照には、TOCP (375 mg/kg) を用いた。

その結果、スルプロホス 1 回経口投与による LD₅₀ 値は 65 mg/kg であった。中毒症状として、健康状態の低下と両肢の弱体化が認められたが、神経毒性症状はまったく認められなかった。解毒剤処理の結果、LD₅₀ 量投与にもかかわらず、死亡率は著しく減少し、明らかな解毒効果が認められた。また、健康状態の低下と両肢の弱体化等の中毒症状がみられたが、神経毒性を示す運動失調や麻痺は認められず、病理組織学的検査でも検体投与による神経組織に対する障害は認められなかった。これに対して、TOCP 投与群の生存動物は典型的な神経毒性症状を示し、歩行の不安定、運動失調、跛行、両肢の麻痺が観察された。

救命試験

試験機関: バイエル社 (西ドイツ)

報告書作成年: 1976 年

スルプロホスを 250 mg/kg 経口投与して中毒したウィスター系雌雄ラットに硫酸アトロピン、2-PAM およびオビドキシム (トキソゴン) 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。

その結果、各解毒剤の単独 1 回投与では、スルプロホスの毒性に対する救命効果はなかったが、死亡時間に遅延がみられ、延命効果が認められた。一方、硫酸アトロピンとオビドキシム、あるいは硫酸アトロピンと 2-PAM との併用で、5 回の反復投与により良好な救命効果が得られ、死亡率は著しく低下し、死亡時間も遅延した。

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた試験

試験機関: 東北歯科大学

報告書作成年: 1981 年

スルプロホスを 0 (対照群)、5、10、50、250 ppm の濃度で含有する飼料を 1 群雌雄各 20 匹の SD 系ラットに 13 週間連続して摂食させた。

その結果、試験期間中全投与群で死亡例はみられず、また、一般行動と外観において検体投与による影響はみられなかった。高用量の 250 ppm 投与群では、有意な体重増加の抑制と食餌効率の低下がみられた。

血液学的検査では、雄の 10 ppm 以上の投与群と雌の 50 ppm 以上の投与群で、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量および赤血球数の減少がみられたが、軽度の変化であり、造血臓器への影響は認められなかった。尿検査および血液生化学的検査では、検体投与に関連する変化は認められなかった。

全血コリンエステラーゼ (ChE) 活性の途中検査では、50 ppm 以上の投与群に阻害がみられた。血清、赤血球、脳の各 ChE の最終検査では、血清 ChE は 10 ppm 以上の投与群で、赤血球と脳 ChE は 50 ppm 以上の投与群で用量相関性の低下が認められた。

臓器重量および病理組織学所見では、検体に起因する変化は何ら認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は 5 ppm (雄 0.28 mg/kg/日、雌 0.31 mg/kg/日) と判断された。

2. イヌを用いた試験

試験機関: モーベイ社 (米国)

報告書作成年: 1975 年

1 群雌雄各 4 匹のビーグル犬にスルプロホスを 0 (対照群)、10、20、200 ppm 含有する飼料を 13 週間摂食させた。

その結果、10 および 20 ppm 投与群の一般行動、死亡率、飼料摂取量、体重増加量には変化はみられなかった。200 ppm 投与群では、下痢や嘔吐等の中毒症状が認められ、雌では試験後期において後肢の異常がみられた。また、同群では飼料摂取量の低下がみられ、雄では体重増

加量も有意に減少した。

尿検査および血液学的検査では、10 ppm 投与群と 20 ppm 投与群には検体投与に起因する変化はみられなかった。200 ppm 投与群の血液生化学的所見では、尿酸素と血糖の低下や GPT 活性の増加が認められた。

血漿、赤血球および脳の各 ChE 活性は、200 ppm 投与群で有意な低下が認められた。また、血漿 ChE 活性については、20 ppm 投与群の雄でもわずかに阻害された。

臓器重量は、200 ppm 投与群の雄の脳、肝、腎、肺で実重量の減少がみられた。また、同投与群の雄の脳、心、肺と雌の脳、肝、肺に体重比重量の有意な増加が認められた。

病理組織学的検査では、200 ppm 投与群においてグリソン氏鞘の線維化、小腸の筋層の肥厚、腎皮質出血などの諸病変を認めた。

本試験では、高薬量の 200 ppm 投与群で検査した諸項目に検体投与による影響がみられ、また、20 ppm 投与群では雄にのみ血漿 ChE 活性の抑制が認められたので、最大無作用量は 10 ppm (雄 0.36 mg/kg/日、雌 0.35 mg/kg/日) と判断された。

慢性毒性試験

1. ラットを用いた試験

試験機関：カンサス州立大学 (米国)、モーベイ社 (米国)

報告書作成年：1978 年

1 群雌雄各 50 匹のラット (フィッシャー-344系) にスルプロホスを飼料中に 0 (対照群)、6, 60, 250 ppm 添加し、24 か月間連続して摂食させた。

その結果、外観、挙動、死亡率において、対照群と投与群との間に有意差はなかった。体重および飼料摂取量は、250 ppm 投与群の雌を除き、検体投与による影響は認められなかった。

尿検査、血液学的検査および血液生化学的検査では、薬量相関性の有意な変化や傾向はみられなかった。

6 ppm 投与群の血漿、赤血球、脳 ChE 活性は、生理的に有意なレベルまで低下しなかった。60 ppm と 250 ppm 投与群では血漿 ChE 活性がそれぞれ低下した。

250 ppm 投与群では、腎と生殖腺の実重量と体重比重量が対照群に比べ有意に減少したが、病理組織所見では薬量相関性の組織変化や病変は認められなかった。腫瘍性病変は、散発的な腫瘍がみられたが、いずれも検体投与とは関連のない自然発生的腫瘍であり、検体は催腫瘍性をもたないことが示唆された。

以上の結果から、本試験でのスルプロホスの最大無作用量は 6 ppm (雄 0.27 mg/kg/日、雌 0.32 mg/kg/日) と判断された。

2. マウスを用いた試験

試験機関：エクスペリメンタリー・パソロジー・ラボラトリー (米国)、モーベイ社 (米国)

報告書作成年：1978 年

スルプロホスを 0 (対照群)、2.5, 25, 200, 400 ppm 含有した飼料を 1 群雌雄各 60 匹の ICR 系マウスに 22 か月間連続して摂食させた。

その結果、一般行動、外観、飼料摂取量、体重および死亡率において、検体投与による変化は何ら認められなかった。

投与 3, 6, 12, 18 か月後と試験終了時に実施した血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査では、薬量相関性を示す変化や傾向は認められなかった。

血漿、赤血球および脳 ChE 活性は 2.5 ppm 投与群においては生理的変動の範囲内であった。血漿および赤血球 ChE 活性は、25 ppm 以上の投与群で有意に低下したが、脳 ChE 活性は 400 ppm 投与群の雌のみが低値を示した。

剖検では、臓器実重量および体重比重量において、対照群と投与群との間に有意差はなかった。病理組織学的検査では、検体に特異的な変化は観察されず、また、投与群で有意に発生頻度が高い腫瘍性病変は認められず、検体は催腫瘍性をもたない結論された。

以上の結果、本試験では ChE 活性において 25 ppm 以上の投与群でスルプロホスによる影響が認められたため、最大無作用量は 2.5 ppm (雄 0.41 mg/kg/日、雌 0.51 mg/kg/日) と判断された。

3. イヌを用いた試験

試験機関：モーベイ社 (米国)

報告書作成年：1978 年

スルプロホスを添加した飼料を 1 群雌雄各 4 頭のビーグル犬に 24 か月間摂食させた。飼料中濃度は、0 (対照群)、10, 100 および 150 ppm とした。

その結果、一般行動、外観、死亡率、飼料摂取量、血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査の諸項目において、検体投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。体重増加量は、150 ppm 投与群の雌においてのみ投与 12 週目からわずかな低下傾向を示したが、統計的に有意な変化ではなかった。

検体投与に起因する影響は、100 ppm 以上の投与群で認められた血漿、赤血球および脳の ChE 活性阻害のみであり、試験終了時の剖検所見、臓器重量および病理組

織学的所見のいずれにおいても、対照群と投与群との間に有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験におけるスルプロホスの最大無作用量は 10 ppm (雄 0.27 mg/kg/日, 雌 0.30 mg/kg/日) と判断された。

繁殖試験

試験機関: ヘゼルトン研究所 (米国)

報告書作成年: 1977年

スルプロホスを 0 (対照群), 30, 60, 120 ppm 含有した飼料でSD系ラット(雄10匹, 雌20匹1群)を3世代にわたって飼育し、繁殖能に及ぼす影響について試験した。各投与群, 各世代ごとに2回の交配を行ない, 第1産仔 (F_{1a} , F_{2a} , F_{3a}) は離乳後, その一部を剖検した。第2産仔 (F_{1b} , F_{2b}) の一部は次世代の親動物として選択して, 第3世代の第2産仔 (F_{3b}) については, 離乳後に病理組織学的検査を実施した。また, 検体の親動物に対する抗ChE活性を確認するために対照群と120ppm投与群の第3世代親動物 (P_3) の血漿, 赤血球, 脳のChE活性を測定した。

親動物の体重, 生存率, 臨床所見, 妊娠率, または繁殖成績において, 検体投与に起因する影響は認められなかった。親動物のうち, 120ppm投与群の P_1 および P_2 の雌で飼料摂取量の増加が認められたが, 正常範囲内の変動であり, また, P_3 にはみられなかった。親動物のChE活性は, 雄の脳ChE活性以外は対照群と比較して有意に低下した。

仔動物では, 生存率, 哺育率, 臨床症状, 性比等の各種繁殖指数に有意な変化は認められず, 離乳仔の剖検でも肉眼的病理所見は認められなかった。30および120ppm投与群において, F_{1a} 新生仔の離乳時の体重が有意に低下したが, この傾向はその後の体重値には反映されず, 薬量相関性もなかった。 F_{3b} 離乳仔の病理組織学的検査では検体投与による形態学的組織変化は認められず, 偶発的所見や通常みられる頻度および性質の病変がみられたにすぎなかった。

これらの結果から, スルプロホスの最高投与量である120ppmにおいても繁殖能に及ぼす影響はなかった。

催奇形性試験

1. ラットを用いた試験

試験機関: リサーチ・コンサルティング・カンパニー (スイス)

報告書作成年: 1981年

スルプロホスを 0 (対照群), 3, 10, 30 mg/kg の投与

量で, 1群25匹のウィスター系雌ラットに妊娠6日から15日までの器官形成期に毎日1回経口投与した。被験動物の腔垢中に精子を認めた日, または腔栓を認めた日を妊娠0日とし, 妊娠21日に帝王切開により胎仔を摘出し, 着床数, 胎仔数, 吸収率, 性比, 生存胎仔体重と外形, 内臓および骨格異常について検査した。

その結果, 母動物に対しては, 30 mg/kg 投与群に高死亡率と飼料摂取量および体重増加の抑制が観察され, 一般症状としては妊娠11~15日に眼球突出, 間代性筋痙縮などの中毒症状が認められた。

胎仔については, 30 mg/kg 投与群において生存胎仔体重がわずかに低下したが, そのほかの検査項目には対照群と投与群との間に有意差は認められなかった。外形異常は30 mg/kg 投与群の1例に臍ヘルニア, 内臓異常は対照群(2例), 3 mg/kg 投与群(1例)および10 mg/kg 投与群(2例)に腎盂拡張が観察されたが, 検体投与によるものではなく, また, 骨格異常については全投与群に奇形を認めなかった。

本試験では, 30 mg/kg 投与で母動物に中毒症状がみられ, そのため胎仔体重がわずかに低下したものの, ラットに対する胎仔毒性および催奇形作用はないと判断された。

2. ウサギを用いた試験

試験機関: バイエル社 (西ドイツ)

報告書作成年: 1975年

1群12~13匹の雌ウサギ(ヒマラヤン種)にスルプロホスを0(対照群), 3, 10, 30 mg/kg の投与量で妊娠6日から18日まで, 毎日1回経口投与した。2回の交尾を確認した日を妊娠0日とし, 妊娠29日に帝王切開し, 胎仔毒性と催奇形性の有無について試験した。

その結果, 3 mg/kg の投与量では, 母動物の外観, 一般行動, 体重増加に対して影響は認められなかった。10 mg/kg 投与群の数例と30 mg/kg 投与群の大部分に, 検体投与による飼料摂取と飲水の停止や下痢が認められ, 30 mg/kg 投与群ではさらに, 傾眠, 流涎, 腹臥などのような著しい中毒症状が観察され, 体重増加も有意に抑制された。

妊娠率, 着床数, 生存胎仔数, 吸収胚数, 胎仔体重, 性比などの胎仔の検査項目について, 検体の影響は全投与群に認められなかった。外形, 骨格, 内臓異常については, 自然発生的な奇形が散見され, すべて正常範囲内であった。

以上の結果から, 10および30 mg/kg 投与で母動物に毒性徴候がみられたものの, ウサギに対する胎仔毒性および催奇形作用はないと判断された。

変異原性試験

1. Rec-assay (残留農薬研究所, 1980年)

Bacillus subtilis の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用いた rec-assay 法で DNA 損傷性を検索した。検体は所定濃度 (1, 5, 10, 25, 50, 100%) の DMSO 溶液とし、それぞれ 0.02 ml をろ紙に含ませて試験した。

その結果、検体は 100% 原液でも両株にまったく生育阻止を認めず、したがって、DNA 損傷性はないと判断された。

2. 復帰変異原性試験 (残留農薬研究所, 1980年)

Salmonella typhimurium のヒスチジン要求性株 (TA 1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100) および *Escherichia coli* のトリプトファン要求性株 (WP2^{hcr}) を用いて、ラット肝臓物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で、変異原性を検定した。スルプロホスの試験濃度は、10~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

その結果、スルプロホスはいずれの菌株においても、代謝活性化を含め、復帰変異コロニー数の増加は認められず、復帰変異誘発性はないと判断された。

3. 優性致死試験 (バイエル社 (西ドイツ), 1975年)

20匹の雄マウス (NMRI 系) にスルプロホス 200 mg/kg を 1 回経口投与後、1 匹の雄に対して 3 匹の雌と 1 週間同居させた。雌は毎週別の 3 匹の雌と置きかえて交配を続け、これを 8 週間続けた。雌は妊娠 14 日に子宮を検査して、着床前死胚、着床後死胚、黄体数、着床数、生存胚および死胚数を測定した。

その結果、スルプロホス投与に関連した有意な変化は認められず、優性致死突然変異誘起性はないと判断された。

要 約

スルプロホスの安全性評価のための各種毒性試験を実施した。

スルプロホスはラットとマウスにおける急性毒性値か

ら劇物に指定された。中毒解毒法としては、硫酸アトロピンと 2-PAM の反復投与が有効であった。ウサギを用いた刺激性試験では、皮膚に対する刺激性はみられなかったが、眼粘膜に対しては結膜にのみ軽度の刺激症状がみられた。神経毒性に関して、解毒剤を前処理したニワトリに LD₅₀ 量を投与して試験したが、肉眼的にも組織学的にも遅発性神経毒性作用は認められなかった。

ラットとイヌの亜急性毒性試験では、有機リン剤特有の ChE 活性の阻害が観察され、高薬量群では体重増加の抑制と飼料摂取量の低下もみられた。ChE 活性以外の血液生化学的検査、血液学的検査、剖検および病理組織学的検査においては、一貫した薬量相関性の変化は認められなかった。ラット、マウス、イヌを用いた慢性毒性試験でも、抗 ChE 活性が認められたが、検体長期摂取による組織変化や催腫瘍性作用は認められなかった。

3 世代にわたるラット繁殖試験の結果、30 および 120 ppm 投与群において F₁ 新生仔の離乳時の体重減少を認めたものの、その後の世代には反映されない一時的変化であり、薬量相関性を示す繁殖能の変化はなかった。ラットとウサギにおける催奇形性試験では、ChE 活性阻害に起因する母動物の一般症状の悪化や体重の減少が認められたものの、胎仔毒性や催奇形作用は認められなかった。

スルプロホスは、昭和 60 年 2 月に野菜類のスリップス防除用の殺虫剤として登録を取得した。登録保留基準値は、ピーマン 5 ppm, さやいんげん 2 ppm, きゅうり, なす, かぼちゃ, にがうり 1 ppm, とうがん 0.5 ppm と設定された。

スルプロホス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

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