

技術情報

ESP の毒性試験の概要

日本バイエルアグロケム株式会社開発本部登録センター部

(平成4年8月20日受理)

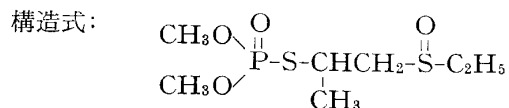
薬 剤 の 概 要

ESP は 1955 年にドイツのバイエル社で合成された浸透性の有機リン殺虫剤である。本剤は吸汁性害虫であるアブラムシ類、ハダニ類に対し著効を示すうえに有用昆虫に対して影響の少ない選択性の殺虫剤である。昭和 36 年に登録を取得し、エストックス乳剤の商品名で果樹、そ菜のアブラムシ類およびハダニ類等の防除薬剤として現在まで広く使用されてきている。

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: オキシデプロホス, oxydeprofos, ESP

化学名: S-2-ethylsulfinyl-1-methylethyl O, O-dimethyl phosphorothioate



分子式: $\text{C}_7\text{H}_{17}\text{O}_4\text{PS}_2$

分子量: 260.30

外観: 無色ないし淡黄色液体

沸点: 115°C (0.02 mmHg)

蒸気圧: 4.7×10^{-6} mmHg (20°C)

分配係数 (オクタノール/水): $\log P_{o/w} = -0.43$

溶解性: 水 > 700 g/l (20°C),

エタノール, キシレン 溶けやすい

ヘキサン ほとんど溶けない

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

ESP のラットとマウスにおける経口, 皮下, 腹腔内および経皮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, 流涙, 流涎, 振せん, けいれん等のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) 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 (エストックス乳剤)

日本白色種の雄ウサギ 6 匹を用いて, 刈毛した背部の左側皮膚に 0.5 ml の乳剤の原液を滴下したリント布を 4 時間閉塞貼布し, 皮膚の変化を経時的に観察した。

リント布除去後 1 時間後に全例にはっきりした紅斑が認められた。紅斑は除去後 24 時間以降軽減し, 4 日目に消失した。(ボゾリサーチセンター, 1985 年)

2. 眼一次刺激性試験 (エストックス乳剤)

0.1 ml の乳剤の原液を 6 匹のウサギ (日本白色種) の左眼に強制投与し, 右眼を無処理対照として眼粘膜に対する刺激性の評価を行なった (非洗眼群)。また, 洗眼による刺激性の低減作用についても 3 匹のウサギを用いて試験を行なった (洗眼群)。さらに, 乳剤の 1000 倍希釈液についても原液と同様に試験を行なった。

原液適用の非洗眼群では, 全例に角膜の散在性またはび浸性の混濁, 虹彩の充血, 結膜の軽微ないし軽度の発赤および腫張などの刺激性が認められた。そのほかに閉眼, 縮瞳および分泌物が認められた。刺激反応は経時的に軽減したが, 角膜の混濁については 6 例中 4 例は適用後 21 日でも回復しなかった。洗眼群では非洗眼群と同様な刺激性であった。1000 倍希釈液を適用したときに, 非洗眼群および洗眼群とも刺激反応は全くみられなかった。(ボゾリサーチセンター, 1985 年)

皮膚感作性試験 (エストックス乳剤)

エストックス乳剤のモルモットにおける皮膚感作性試験をマキシミゼーション法によって行なった。皮内感作濃度は 0.19% 水溶液, 貼布感作濃度は 3% とした。貼布惹起濃度は 0.3 および 3% であった。

0.3% および 3% の適用部位に 20 例中それぞれ 7 例と 11 例に, ごく軽度の紅斑から明らかな紅斑としての皮膚反応が認められ, モルモットに対して中等度の感作性を有すると判断された。(化学品検査協会, 1987 年)

表 1

検 体	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
原 体	ラット	経 口	♂	100	東京歯科大学	1974年
			♀	89		
		皮 下	♂	35		
			♀	29		
		腹腔内	♂	27		
			♀	36		
	マウス	経 皮	♂	820		
			♀	1070		
		経 口	♂	74		
			♀	89		
		皮 下	♂	24		
			♀	25		
エストロックス乳剤 (45% 乳剤)	ラット	腹腔内	♂	32	日本特殊農薬製造(株)	1985年
			♀	32		
	マウス	経 皮	♂	1150		
			♀	1100		
		経 口	♂	150		
エストロックス乳剤 (45% 乳剤)	ラット	経 皮	♂	120	日本特殊農薬製造(株)	1985年
			♀	>2 (ml/kg)		
	マウス	経 口	♂	>2 (ml/kg)		
	マウス	経 口	♂	150		
			♀	120		

急性遅発性神経毒性試験

白色レグホン種のニワトリに ESP を 80~200 mg/kg の投与量で 1 回経口投与して、LD₅₀ 値を求めた。その LD₅₀ 相当量の薬剤を 100 mg/kg の PAM と 50 mg/kg の硫酸アトロピンの筋肉内注射による救命処理した 20 羽のニワトリに 1 回経口投与した。3 週間後に生存したニワトリに同量の薬剤と解毒剤を投与し、さらに 3 週間観察した。観察終了時に生存した動物のうち顕著な急性中毒症状を呈した 10 羽のニワトリについて病理組織学的検査を実施した。

本剤の急性経口投与による LD₅₀ 値は 130 mg/kg であった。中毒症状として AChE の阻害に起因する中毒症状が認められたが、遅発性神経毒性の症状はみられなかった。救命剤処理下の LD₅₀ 相当量の 130 mg/kg の 1 回目の投与後の死亡数は 20 羽中 4 羽であった。AChE の阻害に起因する中毒症状はみられたが、運動失調や麻痺のような遅発性神経毒性は認められなかった。3 週間後に生存した 16 羽のニワトリへの 2 回目の処理後には死亡動物は認められなかった。病理組織学的な検索でも神経組織における形態的な変化は認められなかった。したがって、本剤には遅発性神経毒性はないも

のと判断された。(バイエル社, ドイツ, 1978 年)

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた試験

ESP を 0 (対照群), 3, 15, 75, 200, 375 ppm の濃度に添加した飼料を 1 群雌雄各 10 匹の SD 系ラットに 3 か月間連続して摂食させた。

375 ppm 群の雌に振せん、眼瞼充血、眼球突出などの症状が投与開始後 1 週目頃から出現し試験終了時までみられた。375 ppm および 200 ppm 群の雄でも同様な症状がみられたが、試験終了までみられた少数例の眼球突出を除いて、3 週目頃から徐々に回復した。200 および 375 ppm 群では有意な体重増加の抑制がみられ、375 ppm 群の雌では飼料摂取量および食餌効率の低下もみられた。75 ppm 以下の投与群の一般行動、死亡率、飼料摂取量、体重増加には有意な変化が認められなかった。血液学的検査では 375 ppm 群の雌雄でヘマトクリット値の低下がみられ、雄の 75 ppm 以上の投与群と雌の 200 ppm 以上の投与群において赤血球数の減少がみられた。血液生化学的検査では雄の 200 ppm 以上の投与群に GPT の増加がみられたが、その他の項目に用量に関連した変化は認められなかった。血漿、赤血

球および脳のコリンエステラーゼ (ChE) の活性は 15 ppm 以上の投与群で用量相関的な抑制がみられた。臓器重量は 75 ppm 以上の投与群の雄に脾で実重量および体重比重量の有意な低下が認められた。病理組織学的所見では本剤に起因した形態学的な変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験における無作用量は雌雄とも 3 ppm (雄 0.179 mg/kg/日, 雌 0.219 mg/kg/日) と判断された。(東京歯科大学, 1974 年)

2. イヌを用いた試験

1 群雌雄各 4 匹のビーグル犬に ESP を 0 (対照群), 5, 25, 125 ppm の濃度に添加した飼料を 13 週間摂取させた。

125 ppm 群に食餌効率の低下および一過性の下痢がみられた。そのほかには動物の一般行動と外観に本剤の投与に起因した影響は認められなかった。試験期間中全投与群で動物の死亡はみられなかった。血液学的検査、尿検査および血液生化学検査では本剤の投与に起因した変化は認められなかった。試験終了時まで試験期間中に経時的に測定された血漿、赤血球の ChE の活性について、125 ppm 群に血漿、赤血球 ChE の阻害が認められた。25 ppm 群では試験終了時に赤血球 ChE の活性が有意に阻害された。5 ppm 群ではいずれの ChE の活性も対照群と同等であった。最終検査で 125 ppm 群にのみ、脳 ChE の阻害が認められた。臓器重量でも病理組織学的検査でも本剤に起因した変化は認められなかった。

以上の結果から、無作用量は雌雄とも 5 ppm と判断された。(バイエル社, ドイツ, 1974 年)

慢性毒性試験

1. ラットを用いた試験

1 群雌雄各 50 匹の SD 系ラットに ESP を飼料中に 0 (対照群), 2, 5, 35, 250 ppm の濃度で添加して 104 週間連続して摂取させた。また、各群雌雄各 5 匹のラットを別に飼育し、経時的に ChE を測定した。

250 ppm 群の雌雄とも一般行動の変化として、外部刺激に対する過敏反応 (5 週の末まで)、威嚇性 (14 週から 26 週の間)、攻撃性 (25 週以降) がみられ、飼料摂取量の低下や体重増加の抑制も認められた。35 ppm 群の雌では過敏性が 11 週の末まで認められた。5 ppm 群では一般行動、外観、飼料摂取量、体重の増加は対照群と同等であった。また、動物の死亡はすべての投与群とも対照群と同等であった。血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査から、35 ppm と 250 ppm 群に赤

血球の減少が認められた以外に用量に相関した変化は認められなかった。血漿 ChE 活性の阻害は 35 ppm 以上の群で、赤血球 ChE 活性の阻害は 5 ppm 以上の投与群で、脳 AChE の活性の阻害は雄で 5 ppm 以上の、雌で 35 ppm 以上の投与群で用量相関的にみられた。臓器重量、病理組織学的検査から、投与に起因した形態学的な変化は認められなかった。また、全投与群の腫瘍の発生頻度は対照群と同等であり、催腫瘍性は認められなかった。

以上の結果から、無作用量は雌雄とも 2 ppm (雄 0.08 mg/kg/日, 雌 0.09 mg/kg/日) と判断された。

(バイエル社, ドイツ, 1977 年)

2. マウスを用いた試験

ESP を 0 (対照群), 2, 25, 300 ppm の濃度に添加した飼料を 1 群雌雄各 40 匹の Swiss 系マウスに 80 週間摂取させた。また、各群雌雄各 20 匹のマウスを衛星群として別に飼育し、尿検査、血液生化学検査、血漿と赤血球の ChE 活性の測定を各群雌雄各 5 匹について、血液学的検査を各 10 匹について経時的に行なった。

動物の外観、飼料摂取量、飲水量、体重および死亡率に本剤の投与による変化は認められなかった。尿検査では 52 週に 300 ppm 群での少量で比重の高い尿がみられた以外には、本剤の投与に起因する変化は認められなかった。血液学的検査および血液生化学的検査では用量相関性を示す変化や傾向は認められなかった。経時的に測定した血漿 ChE 活性は 300 ppm 群でのみ有意な阻害がみられ、赤血球では雄で 25 ppm 以上の群で、雌では 300 ppm 群で有意な阻害がみられた。試験終了時に測定した脳 ChE 活性では 300 ppm 群でのみ有意な阻害がみられた。肝重量の増加が 25 ppm と 300 ppm 群の雌で、肺重量の増加と甲状腺重量の低下が 300 ppm 群の雄で、卵巣重量の増加が 300 ppm 群の雌でみられたが、病理組織学的検査ではこれらの臓器を含む検査したすべての臓器にいずれも形態学的な変化は認められなかった。また、いずれの投与群においても腫瘍の発生頻度の増加は認められず、本剤に催腫瘍性はないと結論された。

以上の結果から、無作用量は雄で 2 ppm (0.20 mg/kg/日), 雌で 25 ppm (2.9 mg/kg/日) であると判断された。(ハンティントン研究所, 英国, 1977 年)

繁殖試験

ESP を 0 (対照群), 2, 16, 128 ppm の濃度で添加した飼料で 1 群雌雄各 25 匹の SD 系ラットを 2 世代にわたって飼育し、繁殖能に及ぼす影響について検討し

た。各世代とも2回の交配を行ない、2産仔で継代した。

F₀世代では全投与群で臨床症状、生存率に著明な変化は認められなかった。体重増加の抑制は128 ppm 群の雌で、飼料摂取量の増加が16 ppm と128 ppm 群でみられた。128 ppm 群では妊娠率が著明に低下して、次世代に継代することができなかった。16 ppm 群では2回の交配とも妊娠率は有意に低下したが、新生仔の生存率、離乳率、体重の増加には有意な変化はなかった。2 ppm 群ではこれらの指標には有意な変化は認められなかった。なお、2回目の新生仔の4週の離乳時に親動物の血漿と赤血球のChE活性を測定し、雌では全投与群で、雄では16 ppm と128 ppm 群で有意で用量相関的な阻害がみられた。

F₁世代では、継代できた2群では臨床症状、生存率、体重増加の抑制には有意な変化は認められなかったが、飼料摂取量のわずかな低下が認められた。両群の交尾成績や妊娠率には有意な変化は認められなかった。2回の新生仔の生存率、離乳率、体重の増加に有意な変化は認められなかった。F_{2b}動物を離乳後13週間飼育したが、両群の雌雄とも体重の増加や成長には有意な変化は認められなかった。

以上の結果から、本剤の繁殖能への無作用量は2 ppm であると判断された。

(ハンティントン研究所, 英国, 1977年)

催奇形性試験

1. ラットを用いた試験

ESPを0(対照群), 0.1, 0.5, 2.5 mg/kgの投与量で各群20匹の交尾したSD系ラットに妊娠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。腔栓を認めた日を妊娠0日として、妊娠20日に帝王切開により胎仔を摘出し、黄体数、着床数、生存胎仔数、吸収胚数を検査し、胎仔体重を測定した。生存胎仔について、ウィルソン法により内臓異常を、ドーソン法により骨格異常を検査した。

2.5 mg/kg 群で体重増加の抑制がわずかに認められた。0.1と0.5 mg/kg 群では動物の一般行動と体重の増加には影響は認められなかった。妊娠率、着床率、生存胎仔数、吸収胚数、胎仔体重には全投与群とも薬剤の影響は認められなかった。骨格および内臓の異常について、自然発生的な異常が散見されたのみであった。

以上の結果から、本剤には催奇形性はないものと判断された。

(ハンティントン研究所, 英国, 1977年)

2. ウサギを用いた試験

ESPを0(対照群), 1, 3, 10 mg/kgの投与量で各群

16匹の交尾したチンチラ系ウサギに妊娠6日から18日までの器官形成期に毎日1回経口投与した。交尾を確認した日を妊娠0日として、妊娠28日に帝王切開により胎仔を摘出し、黄体数、着床数、生存胎仔数、吸収胚数を検査し、胎仔体重を測定した。全生存胎仔の脳および内臓の異常の検査後に、ドーソン法により骨格異常を検査した。

各投与群とも母動物の一般症状および体重の増加に薬剤に起因した変化はみられなかった。生存胎仔数、吸収胚数、胎仔体重に有意な変化は認められなかった。外表異常、内臓異常、骨格異常についても薬剤の影響は認められなかった。

以上の結果から、本剤に催奇形性はないものと判断された。

(リサーチアンドコンサルティングカンパニー,
スイス, 1989年)

変異原性試験

1. rec-assay

*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損傷性を検討した。被験液は1, 5, 10, 25, 50%滅菌水溶液と原液(100%)とし、それぞれの0.02 mlをろ紙に含ませた。

本剤の100%液でM-45株に3 mmの生育阻害を生じたのに対しH-17株には全く生育阻害を認めなかった。

以上の結果から、本剤に弱いDNA損傷性があると判断された。

(残留農薬研究所, 1978年)

2. 復帰変異原性試験

*Salmonella typhimurium*のヒスチジン要求株のTA 1535, TA 1537, TA 1538, TA 98, TA 100および*Escherichia coli* WP2 hcrのトリプトファン要求性株を用いて、ラット肝薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在下および非存在下で変異原性を検定した。被験物質濃度は1回目の試験では10, 100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 、2回目の試験では1000, 5000, 10,000, 20,000, 40,000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ であった。

ESPはS-9 Mixの存在の有無にかかわらず、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の濃度で*E. coli*とTA 100株に復帰コロニー数の増加を誘起した。

以上の結果から、ESPに塩基交換型の弱い変異原性があると判断された。

(残留農薬研究所, 1978年)

3. *in vitro* 染色体異常試験

チャイニーズハムスター肺線維芽細胞の株化細胞を用

い、ラット肝より調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で染色体異常誘発性を検討した。被験物質濃度は、非代謝活性化法の24時間処理では500, 1000, 2000 $\mu\text{g/ml}$, 48時間処理で250, 500, 1000 $\mu\text{g/ml}$ であり、代謝活性化法では650, 1300, 2600 $\mu\text{g/ml}$ であった。

非代謝活性化法の24時間処理では1000と2000 $\mu\text{g/ml}$ で用量相関性の、48時間処理では1000 $\mu\text{g/ml}$ のみ有意に構造的染色体異常を誘発した。また、代謝活性化法では、2600 $\mu\text{g/ml}$ のみに有意な構造的染色体異常を誘発した。

以上の結果から、本剤に染色体異常誘発性があるものと判断された。(化学品検査協会, 1989年)

救 命 試 験

ESPを30, 39, 50, 65, 85, 110 mg/kgの割合で各群6匹の交雑系の雄マウスに経口投与して96時間観察した。このLD₅₀値は57.8 mg/kgであった。

次に、PAMによる救命効果を調べるために、本剤を77, 100, 130, 170, 220 mg/kgの割合で各群6匹の同系のマウスに経口投与した後に、ただちにPAMを100 mg/kg, 次いで30分間隔で2回50 mg/kgの皮下注射後96時間観察した。

このLD₅₀値は148.1 mg/kgであり、ESP単独の場合のLD₅₀値の2.5倍となり、死亡時間も遅延した。

以上の結果から、ESPの中毒時にはPAMによる救命効果が期待できると判断された。

(国立衛生試験所, 1960年)

要 約

各種毒性試験を実施してESPの安全性の評価を行な

った。

ESPはラットとマウスに対する急性毒性値から劇物に指定された。中毒時の救命剤としてPAMが有効であった。エストロクス乳剤のウサギを用いた刺激性試験では皮膚に対して弱い刺激性がみられ、眼に対して強い刺激症状がみられたが、1000倍希釈液には刺激性は認められなかった。また、エストロクス乳剤はマキシミゼーション法によりモルモットに対し中等度の感作性を示した。ESPには遅発性神経毒性は認められなかった。亜急性毒性試験および慢性毒性/発癌性試験では高投与群でChEの活性阻害、体重増加の抑制や一部の臓器重量の変化等がみられたが、特定の形態学的な病変は認められず、発癌性も認められなかった。2世代にわたる繁殖試験で、高用量群で著明な妊娠率の低下が認められた。ラットとウサギの催奇形性試験で催奇形性は認められなかった。変異原性試験では弱い作用が認められた。

ESPはエストロクス乳剤として昭和35年に果樹および野菜のアブラムシ類、ハダニ等の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、果実の0.1 ppm, 野菜の0.05 ppm, いも類の0.1 ppmと設定された。

ESP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

日本バイエルアグロケム株式会社

開発本部登録センター部

〒103 東京都中央区日本橋本町 2-7-1