

イソプロチオランの毒性試験の概要

日本農薬株式会社 開発本部 登録センター

薬剤の概要

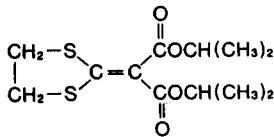
イソプロチオランは、昭和43年に日本農薬（株）が合成したジチオラン環を有する殺菌剤で、イネいもち病、小粒菌核病および果樹の白紋羽病を防除する。またイネムレ苗防止、根の伸長や発根促進および登熟歩合向上にも効果があり、トビイロウンカに対しては増殖抑制作用を示す。本剤は各種作物に対する薬害がなく、哺乳動物ならびに水棲生物に対し安全性が高い。

本剤の化学構造、物理化学的性質を以下に記す。

一般名：イソプロチオラン isoprothiolane (ISO名)

化学名：diisopropyl 1,3-dithiolan-2-ylidene-malonate (IUPAC名)

構造式：



分子式：C₁₂H₁₈O₄S₂

分子量：290.39

性状：無色結晶

融点：54.0~54.5℃

蒸気圧：1.41×10⁻⁴mmHg (25℃)

溶解度：クロロホルム 4130 (g/l、25℃)

アセトン 4060

n-ヘキサン 10

水 0.054

分配係数：log P_{o/w}=3.3

急性毒性試験

急性毒性試験成績を表1に示す。

表1：イソプロチオランの急性毒性試験成績

検体	動物種	投与経路	性	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関	報告書 作成年
原体	ラット	経口	雄	1190	東京歯科大学	1971
			雌	1340		
		経皮	雄	>10250	東京歯科大学	1971
	吸入	雄	>2.77 ¹⁾	(株)三菱化成安全科学 研究所	1984	
		雌	>2.77 ¹⁾			
		マウス	経口	雄	1350	東京歯科大学
		経皮	雄	1520		
			雌	>10250	東京歯科大学	1971
12%粒剤	ラット	経口	雄	>5000	(株)臨床医科学研究所	1985
			雌	>5000		
	経皮	雄	>2000	(株)臨床医科学研究所	1985	
		雌	>2000			
40%乳剤	ラット	経口	雄	2429	(株)三菱化成安全科学 研究所	1984
			雌	2698		
	経皮	雄	>2000	(株)三菱化成安全科学 研究所	1984	
		雌	>2000			

1) mg/l

刺激性・感作性試験

刺激性および感作性試験成績を表2に示す。

表2：イソプロチオラン原体の刺激性・感作性試験成績

試験名	動物種	結果	試験機関	報告書作成年
眼一次刺激性	ウサギ	軽度刺激性	㈱三菱化成安全科学研究所	1984
皮膚一次刺激性	ウサギ	刺激性なし	㈱三菱化成安全科学研究所	1984
皮膚感作性 (Maximization法)	モルモット	感作性なし	㈱三菱化成安全科学研究所	1984

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた亜急性毒性試験

(1) イソプロチオランを、0、20、100、300、900あるいは2700ppm含有する固型飼料を1群雌雄各10匹のSD系ラットに112～113日間摂取させた。

その結果、2700ppm群の雌で体重増加抑制がみられた。投与終了時の血液学検査では、900ppm以上の群で赤血球数の増加、2700ppm群の雌でヘマトクリット値の減少が認められた。血液生化学的検査においては、2700ppm群の雄でGOTおよびAIP活性の低下がみられた。

2700ppm群の雄で肝重量、同群雌雄で肝体重比の増加が認められた。

病理組織学的検査においては、検体投与による異常はみられなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は300ppm(雄17mg/kg/day、雌22mg/kg/day)と判断された。(東京歯科大学、1972年)

(2) またイソプロチオランを0、40、100、400、1000あるいは4000ppm含有する固型飼料を1群雌雄各10匹のSD系ラットに3カ月間摂取させた。

その結果、4000ppm群の雌雄で体重増加抑制および飼料摂取量の減少が認められた。

投与終了時の血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査においては、検体投与による変化は認められなかった。

4000ppm群の雌雄で肝重量が増加し、同群雄では胸腺、雌では脾、下垂体および副腎重量が減少した。

肉眼的病理検査ならびに病理組織学的検査において

は検体投与による異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は1000ppm(雄61.4mg/kg/day、雌67.9mg/kg/day)と判断された。(大阪大学、1974年)

2. マウスを用いた亜急性毒性試験

(1) イソプロチオランを、0、20、100、300、900あるいは2700ppm含有する固型飼料を1群雌雄各10匹のICR系マウスに114～115日間摂取させた。

その結果、2700ppm群の雌雄で肝の重量および体重比が増加した。900ppm以上の群の雄で腎の重量および体重比が減少し、同群雌で卵巣重量が減少した。

体重、血液学的検査、血液生化学的検査および病理組織学的検査において、検体投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は100ppm(雄14.8mg/kg/day、雌14.3mg/kg/day)と判断された。(東京歯科大学、1972年)

(2) またイソプロチオランを0、40、100、400、1000あるいは4000ppm含有する固型飼料を1群雌雄各10匹のICR系マウスに3カ月間摂取させた。

その結果、一般状態、体重あるいは飼料摂取量に検体投与による変化は認められなかった。

投与終了時の血液学的検査では、4000ppm群の雄でヘマトクリット値、雌で赤血球数、ヘモグロビン濃度およびヘマトクリット値の減少傾向がみられた。

血液生化学的検査では、検体投与による変化はみられなかった。尿検査では、4000ppm群の雌でpHおよびタンパク濃度の減少傾向が認められた。

4000ppm群の雌雄で肝重量が増加し、同群の雄では脾

および精巢重量も増加した。

肉眼的病理検査ならびに病理組織学的検査においては検体投与に起因する異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は1000ppm(雄145mg/kg/day、雌 177mg/kg/day)と判断された。(大阪大学、1974年)

慢性毒性および発癌性試験

1. ラットを用いた24カ月慢性毒性試験

イソプロチオランを0、40、200、1000あるいは5000ppm含有する固型飼料を1群雌雄各50匹のラットに24カ月間摂取させた。12カ月後にこのうち各群雌雄各10匹を中間屠殺した。

24カ月後における死亡率は、雄の各群で50~70%、雌の各群で43~68%で、投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。また検体投与による一般状態の変化も観察されなかった。

5000ppm群の雌雄で試験期間を通じて体重増加抑制がみられ、1000ppm以上の群の雄、5000ppm群の雌で飼料摂取量の減少が認められた。

投与終了時における血液学的検査では、5000ppm群の雌雄で12カ月目にヘマトクリット値の減少、同群の雌で6および12カ月目にヘモグロビン濃度の減少が認められた。血液生化学的検査および尿検査においては、検体投与による変化は認められなかった。

5000ppm群の雄で、12および24カ月目に肝の重量および相対重量が、同群の雌で12カ月目に肝の相対重量が増加した。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変として対照群を含む全群で慢性肺炎、びまん性慢性気管支炎、慢性腎炎、副腎血液嚢胞が、また腫瘍性病変として対照群を含む全群で下垂体の嫌色素性腺腫、乳腺の線維腺腫が認められたが、その発生頻度は対照群と投与群の間で有意な差はなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は雄200ppm(8.2mg/kg/day)、雌1000ppm(54.4mg/kg/day)と判断された。

(インダストリアル バイオテスト ラボラトリーズ、1977年)

2. イヌを用いた24カ月慢性毒性試験

イソプロチオランを、0、80、400あるいは2000ppm含

有する固型飼料を1群雌雄各4匹のビーグル犬に24カ月間摂取させた。

試験期間を通じて全群で死亡はなく、一般状態、体重および飼料摂取量に検体投与による影響は認められなかった。血液学的検査、眼科学的検査および尿検査において、いずれの検査時期、検査項目においても検体投与による影響はなかった。血液生化学的検査において、2000ppm群の雌雄でGPT およびAIP 活性の上昇が認められた。

2000ppm群の雌雄で肝の重量および相対重量の増加傾向、脾重量の減少傾向、同群雄で腎体重比の増加がみられた。

病理組織学的検査では、2000ppm群の雌雄で散在性の肝細胞好酸性変化、400ppm以上の群の雄および2000ppm群の雌で散在性の肝細胞肥大の出現頻度の増加が認められた。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は、雄80ppm(3.1mg/kg/day)、雌400ppm(15.9mg/kg/day)と判断された。

(インダストリアル バイオテスト ラボラトリーズ、1977年)

3. イヌを用いた12カ月慢性毒性試験

イソプロチオランをゼラチンカプセルに封入し、0、2、10、50mg/kg/dayの割合で1群雌雄各4匹のビーグル犬に1日1回52週間経口投与した。

試験期間を通じて全群で死亡はなく、一般状態においても、検体投与による影響はみられなかった。

50mg/kg/day群の雌で、体重増加抑制が認められたが飼料摂取量には検体投与による影響は認められなかった。眼科学的検査、血液学的検査および尿検査においては、検体投与による異常は認められなかった。血液生化学的検査においては、50mg/kg/day群の雄でAIP活性が上昇した。

臓器重量では、50mg/kg/day群の雄で肝重量が増加し同群雌で甲状腺の重量および体重比が増加した。

病理組織学的検査では、検体投与による異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は、10mg/kg/dayと判断された。

(バイオリサーチ ラボラトリーズ、1989年)

4. マウスを用いた18カ月発癌性試験

イソプロチオランを0、200、1000あるいは5000ppm含有する固型飼料を1群雌雄各60匹のICR系マウスに18カ月間摂取させた。

18カ月後における死亡率は、雄の各群で25～35%、雌の各群で10～33%で、投与群と対照群との間に有意な差は認められなかった。1000ppm以上の群の雄で、体表部の腫脹、皮膚の痂皮形成が観察された。

1000ppm以上の群の雄、5000ppm群の雌で試験期間を通じて体重増加抑制がみられ、5000ppm群の雄では飼料摂取量の減少が認められた。

血液学的検査では、検体投与による変化は認められなかった。

5000ppm群の雌雄で、脳、肝および副腎体重比が増加し、同群雌では、肝重量および腎体重比も増加した。

肉眼的病理検査では、5000ppm群の雌雄で肝の暗調化および腫大が認められた。

病理組織学的検査では、非腫瘍性病変として5000ppm群の雌雄で小葉周辺性肝細胞腫大、全身性アミロイド症の発生頻度が増加した。腫瘍性病変としては、対照群を含む全群の雌雄で、肺の腺腫、肝細胞腺腫、肺癌、肝細胞癌が観察されたが、いずれの発生頻度においても用量依存性がなく、検体投与による変化ではなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は200ppm(雄20.0mg/kg/day、雌18.2mg/kg/day)と判断された。また、最高濃度(5000ppm)においても発癌性は認められなかった。

((財) 残留農薬研究所、1989年)

繁殖および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖試験

イソプロチオランを0、30、300あるいは3000ppm含有する固型飼料を、1群雌雄各25匹のWistar系ラットにF₀世代からF₂世代まで3世代にわたって摂取させた。各世代で2回の交配を行い第2産仔の一部を次世代の親動物として用い、繁殖に及ぼす影響を検討した。また両世代とも第2回目の交配において各群10腹を開腹し、胎仔に対する催奇形性を調べた。

親動物では、いずれの世代においても3000ppm群の雌雄で生育期間中に、同群雌で妊娠期間中に体重増加抑制がみられた。またF₀世代では、30および300ppm群の雌で生育期間中に体重増加抑制がみられた。飼料摂取量

には、いずれの世代においても検体投与による変化はみられなかった。また、交配成績、分娩成績、着床所見等生殖能力への影響は認められなかった。

仔動物では、3000ppm群のF_{2a}およびF_{2b}雌仔動物、F_{3a}およびF_{3b}雌雄仔動物で、授乳期に体重増加抑制が認められた。また、いずれの世代においても胎仔の外形、骨格および内臓検査において、検体投与による異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は、300ppm(雄4.8mg/匹/day、雌3.3mg/匹/day)と判断された。また催奇形性を示さないと判断された。(東邦大学、薬効開発研究会、1976年)

2. ウサギを用いた催奇形性試験

イソプロチオランを0、15、80あるいは400mg/kg/dayの用量でニュージーランドホワイトウサギの妊娠6から18日までの器官形成期に1日1回強制経口投与した。妊娠29日目に帝王切開し、黄体数、着床数および生存・死亡胎仔数を調べ、生存胎仔の性別、体重、胎盤重量、外表、骨格および内臓異常を検査した。

400mg/kg/day群で妊娠期間を通じて飼料摂取量の減少がみられた。黄体数、着床数、死亡胎仔数および生存胎仔数のいずれにおいても検体投与による異常は認められなかった。また、胎仔の外表、骨格および内臓検査では、検体投与による奇形の発生はみられなかった。

以上の結果から、本試験でのイソプロチオランの最大無作用量は80mg/kg/dayと判断された。また最高投与量(400mg/kg/day)においても催奇形性を示さないと判断された。(財) 化学品検査協会、1986年)

変異原性試験

1. 復帰変異原性試験

ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* (TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538) およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP2 uvrAp) 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。イソプロチオランの濃度は、S-9 Mix 非存在下では8～5000μg/プレート、S-9 Mix 存在下では1.6～1000μg/プレートとした。

イソプロチオランは、S-9 Mix の有無にかかわらず、

いずれの菌株、いずれの濃度においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

以上の結果から、イソプロチオランの復帰変異原性は陰性と判断された。

(トキシコール・ラボラトリーズ、1988年)

2. 宿主経路試験

イソプロチオランをICR系マウス雄に300mg/kgの用量で2回強制経口投与し、ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* (G46) 懸濁液を腹腔内投与した。その後腹腔内から菌液を回収し、変異原性を検討した。

イソプロチオランはG46株に対して復帰変異菌数を増加させず、復帰変異原性を有さないと判断された。

((財)残留農薬研究所、スタンフォード研究所、1977年)

3. DNA修復試験

Bacillus subtilis の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、rec-assay法でDNA損傷誘発性を検討した。イソプロチオランの濃度は、20~2000 μ g/ディスクとした。

イソプロチオランはいずれの濃度においても両株に対し生育阻止帯を示さず、DNA損傷誘発性はないと判断された。

((財)残留農薬研究所、スタンフォード研究所、1977年)

4. 細胞遺伝学的試験

ヒトリンパ球を用いて、ラット肝から調製した薬物代謝酵素系(S-9 Mix)の存在および非存在下で、100個の分裂中期像を観察した。イソプロチオランの濃度は、10~40 μ g/mlとした。染色体の異常をギャップ、染色体欠失、染色体交換、染色分体切断、染色分体欠失、染色分体交換、重複断片化に分類し計測した。

イソプロチオランはS-9 Mixの有無にかかわらず、いずれの濃度においても染色体異常保有細胞を増加させなかった。また特定のタイプの染色体異常を増加させる傾向も認められなかった。

以上の結果から、イソプロチオランは染色体異常誘発性を有さないと判断された。

(トキシコール・ラボラトリーズ、1988年)

薬理試験

マウス、ラットあるいはウサギにイソプロチオラン

を投与し、中枢神経系、呼吸循環器系、角膜反射に対する作用を調べた。

その結果、マウスで懸垂法および斜面法において筋弛緩作用(ED₅₀値はそれぞれ352、407mg/kg)、正向反射の消失が認められた。平滑筋に対する作用としては、モルモットの摘出腸管およびラットの摘出子宮の自動運動が10⁻⁵g/ml処理で抑制され、アセチルコリン等薬物による腸管収縮およびアドレナリンによるモルモット輸精管収縮が抑制された。(日本農薬(株)、1971年)

要 約

各種毒性試験を実施し、イソプロチオランの安全性を評価した。

本剤のラットおよびマウスにおける急性毒性は弱く、普通物に相当した。眼に対する一次刺激性は軽度であり、皮膚に対する刺激性および皮膚感作性は認められなかった。亜急性、慢性毒性および発癌性試験において、高用量群で体重増加抑制、肝重量あるいは肝体重比の増加が観察された。しかし、いずれの試験においてもイソプロチオラン投与に起因する重篤な慢性毒性や催腫瘍性は認められず、変異原性も陰性であった。繁殖や次世代にも悪影響を及ぼすことはなく、催奇形性も認められなかった。

本剤は、昭和49年7月にイネのいもち病防除剤として登録を取得し、その後イネムレ苗防止、果樹の白紋羽病にその適用が拡大された。登録保留基準値は、コメ：2ppm、果実：0.1ppmと設定されている。

イソプロチオランは低毒性で、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

日本農薬株式会社 開発本部 登録センター
〒103 東京都中央区日本橋1-2-5