

有機ひ素の毒性試験の概要

クミアイ化学工業株式会社 研究開発部登録課

薬剤の概要

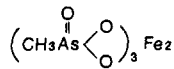
有機ひ素はクミアイ化学工業株式会社で合成、開発された殺菌剤である。本剤はイネの重要病害である紋枯病に対し卓越した効果を示し、又ブドウの晩腐病、褐斑病、黒とう病等にも防除効果が認められている。また安全性研究を通じ、有機ひ素は実用性の高い安全な殺菌剤であることが確認された。ここでは、本剤の安全性評価のための各種毒性試験成績の概要を報告する。

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：有機ひ素

化学名：Ferric methanearsonate

構造式：



分子式：C₃H₉O₉As₃Fe₂

分子量：525.58

外 観：淡褐色粉末

比 重：2.45 (20℃)

融 点：280℃以上

溶 解 度：アルカリに容易、水・アルコール・芳香族炭化水素系溶剤に不溶。

安 定 性：アルカリおよび酸性中で鉄脱離し、遊離アルソン酸あるいはアルソン酸イオンとして存在。熱および光に対しては安定。

急性毒性試験

有機ひ素のマウスおよびラットにおける経口、経皮、皮下、腹腔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、原体の経口、皮下、腹腔投与で自発運動の低下、沈静、腹臥、吐気、下痢等が認められた。死亡例の剖検所見では特記すべき異常は認められなかった。液剤の経口投与で、沈静、腹臥、吐気、横臥、下痢等が認められた。粉剤の経口投与および原体、液剤、粉剤の経皮投与では異常は認められなかった。

表1：急性毒性試験結果

検 体	動物種	投与経路	性 別	LD ₅₀ 値(mg/kg)	試験機関(報告年)
原体	マウス	経口	♂	2,900	東邦大学(1972年)
			♀	2,515	
		皮下	♂	140	クミアイ化学工業(株) (1975年)
			♀	165	
		腹腔	♂	132	
			♀	240	
	ラット	経口	♂	2,600	東邦大学(1972年)
			♀	2,100	
		経皮	♂、♀	>5,000	静岡薬大(1977年)
		皮下	♂	270	クミアイ化学工業(株) (1975年)
♀			254		
腹腔		♂	244		
		♀	241		
吸入		♂、♀	LC50 : >5mg/l	Hazleton Laboratories America, Inc. (1989年)	

6.5%液剤	マウス	経口	♂ ♀	555 580	クミアイ化学工業㈱ (1989年)
	ラット	経口 経皮	♂、♀ ♂、♀	>5,000 >2,000	Safepfarm Laboratories Ltd. (1988年)
0.4%粉剤DL	マウス	経口	♂、♀	>5,000	Safepfarm Laboratories Ltd. (1987年)
	ラット	経口 経皮	♂、♀ ♂、♀	>5,000 >2,000	

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

有機ひ素原体、6.5%液剤および0.4%粉剤DLの眼刺激性について検討した。

有機ひ素原体0.1gを日本白色種雄ウサギの右眼に適用し、その後1、24、48、72および96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。

洗眼群、非洗眼群ともに非常に軽微な結膜の充血および腫脹が認められたが、96時間後には回復した。また一般症状及び体重変化において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、1985年)

6.5%液剤0.1mlをニュージーランド・ホワイト種雌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、1985年)

0.4%粉剤DL0.1gをニュージーランド・ホワイト種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。非洗眼群に6匹を使用した。

角膜に刺激性変化は認められなかった。虹彩の炎症が1例のみ1時間後に認められた。また結膜に刺激性変化が認められたが、72時間後には回復した。

以上の結果から0.4%粉剤DLは軽度の刺激性があると思われた。(Safepfarm Laboratories Ltd.1987年)

2. 皮膚一次刺激性試験

有機ひ素原体、6.5%液剤および0.4%粉剤DLの皮膚刺激性について検討した。

日本白色種ウサギ雄6頭の背部皮膚に有機ひ素原体0.5g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、1985年)

ニュージーランド・ホワイト種ウサギ雌の背部皮膚に6.5%液剤0.5ml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、1985年)

ニュージーランド・ホワイト種ウサギの背部皮膚に0.4%粉剤DL0.5g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。
(Safepfarm Laboratories Ltd.、1987年)

皮膚感作性試験

有機ひ素6.5%液剤および0.4% kona 剤DLの皮膚感作性について検討した。

6.5%液剤は、Hartley系モルモット1群20匹を用い、Buehler法に準じて試験を行なった。

感作：刈毛、剃毛したモルモットの左腹側部皮膚に6.5%液剤0.5ml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6.5%液剤0.2mlを塗布した口紙を6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。また同様に陽性対照として0.1% DNCB を供試した。

6.5%液剤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 には強度の皮膚感作性が認められた。(Safepfarm Laboratories Ltd., 1988年)

0.4%粉剤DLはHartley系モルモット1群雄20匹を用い、Maximisation法に準じて試験を行なった。

感作：背部を剪毛し、アラキス油中5%検体溶液およびFCAとアラキス油等量混合液中5%検体溶液およびFCAとアラキス油等量混合液を各0.1ml皮内投与した。皮内投与1週間後、同部位に黄色ワセリン中75%検体溶液0.2~0.3mlを2×4cmの範囲に48時間閉塞塗布した。

誘発：感作2週間後、剪毛したモルモットの右腹腹部に黄色ワセリン中75%検体溶液0.1~0.2mlを2×2cm範囲に24時間閉塞塗布した。検体除去後24、48時間に皮膚の変化を観察した。

0.4%粉剤DLによる皮膚感作性は認められなかった。(Safepfarm Laboratories Ltd., 1987年)

亜急性毒性試験

1. マウスを用いた3か月亜急性毒性試験

(1)有機ひ素原体を0、100、300、3000および30,000ppm含有する飼料を1群雌雄各40匹のddy-S系マウスに3か月間自由摂取させた。

30,000ppm群で投与終了時、雄47%、雌73%の死亡率を示した。3000ppm以下の群では死亡例は認められなかった。30,000ppm群雌雄で投与直後から体重増加抑制が認められ、また投与開始後2~3週間に飼料摂取量の低下が認められた。血液学検査では、投与後4週の検査でヘマトクリット値の低下が30000ppm群雌雄および300、3000ppmの雌で認められた。また3000ppm以上の投与群でヘモグロビン濃度の低下が認められた。投与後13週の検査では、30,000ppm群雌にのみヘマトクリット値の低下が認められ、3000ppm以上の投与群雌で赤血球数の低下が認められた。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。肉眼的病理検査においては、30000ppm群の死亡例で肝の黄色変性、腎萎縮等が認められた。30,000ppm群雌雄で心、肺、腎重量の低下が認められた。病理組織学的検査では、3000ppm以上の群で肝細胞の混濁腫脹、

肝小葉の慢性ネクロシス、腎尿管上皮混濁腫脹(30000ppm群のみ)、脾小節萎縮、膵腺房の壊死(30000ppm群のみ)、顎下腺上皮変性(30000ppm群のみ)および精子形成低下(30000ppm群のみ)が軽度に認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は300ppm(雄58.1mg/kg/day、雌46.2mg/kg/day)と判断される。

(東邦大学、1972年)

(2)有機ひ素原体を0、100、300、1000および3000ppm含有する飼料を1群雌雄各15匹のddy系マウスに3か月間自由摂取させた。

1000ppm以上の群で被毛光沢にややかけ立毛を示した例が認められた。試験期間を通じ死亡例は認められなかった。体重変化、飼料摂取量ともいずれの投与群も対照群とほぼ同等の値を示した。血液学検査、血清生化学検査および尿検査では、いずれの投与群も検体投与に関連する影響は認められなかった。肉眼的病理検査で検体投与に関連する影響は認められなかったが、病理組織学検査において、3000ppm群雌雄で腎尿管上皮変性、肝細胞の混濁腫脹、クッパー星細胞増生、脾小節の軽度の腫大が認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は1000ppm(雄190mg/kg/day、雌120mg/kg/day)と判断される。

(日本獣医学産大学、1976年)

2. ラットを用いた3か月亜急性毒性試験

(1)有機ひ素原体を0、156、312、625および1,250ppm含有する飼料を1群雌雄各50匹のWistar系ラットに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。投与群雄で経時的に対照群に比べ体重増加促進の傾向が認められた。血液学的検査では検体投与に関連した変化は認められなかった。血清生化学検査において糖、コレステロール値の増加、アルカリフォスファターゼ活性の低下が投与群で認められたが、いずれも投与との相関は認め難く投与に関連した影響とは考えられなかった。尿検査では、投与による影響は認められなかった。肉眼的検査で、625ppm群雌および1250ppm群雌において肝および脾の軽度の暗黒色化が認められた。臓器重量検査では、検体投与の影響と考えられる変化は認められなかった。病理組織学検査では、1250ppm群で脾のリンパ滲胞の軽度の肥大が認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は、625ppm

(雄42.9mg/kg/day、雌67.6mg/kg/day)と判断される。

(東邦大学、1972年)

(2)有機ひ素原体を0、100、300、1000および3,000ppm含有する飼料を1群雌雄各15匹のWistar系ラットに3か月間自由摂取させた。

投与初期に3,000ppm群雌雄の数例に被毛光沢にけるラットが認められたが、投与後5週以降には回復した。試験期間を通じ死亡例は認められなかった。1000ppm以上の投与群雌雄で投与開始まもなく体重増加抑制の傾向がみられた。飼料摂取量は、3,000ppm群雌雄で忌避の傾向がみられたが、有意差は認められなかった。血液学検査および血清生化学検査において、変動する検査項目も認められたが、いずれも検体投与に関連する影響とは考えられなかった。肉眼的検査で、検体投与に関連する変化は認められなかった。病理組織学検査で、3,000ppm群雌雄において肝クッファー星細胞増生、肝細胞混濁腫脹、腎尿管上皮の変性および脾小節腫大が軽度に認められた。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は1000ppm(雄370mg/kg/day、雌170mg/kg/day)と判断される。

(日本獣医畜産大学、1976年)

慢性毒性試験

1. マウスを用いた慢性毒性試験

有機ひ素原体を0、10、100、1000および5000ppm含有する飼料を1群雌雄各56匹のICR系マウスに24か月間自由摂取させた。

5,000ppm群雌雄に投与開始1週頃から軟便が認められ、死亡率が高かったが、1000ppm以下の投与群では試験期間を通じ、一般状態および死亡率ともに対照群とほぼ同様であった。5000ppm群雌雄で体重増加抑制が認められた。5000ppm群雌雄で飼料摂取量の低下が認められ、雌雄でやや高い飲水量値が認められた。血液学検査、血清生化学検査および尿検査で変化の認められた項目が散見されたが、いずれも検体投与に関連した変化とは考えられなかった。肉眼検査で、5000ppm群において盲腸内ガス充満および軟便の貯留を示した例および盲結腸部の潰瘍を示した例が認められた。病理組織学検査において、1000ppm群では13週時の検査で盲腸粘膜上皮の増生が雌雄マウスで認められた。5000ppm群雌雄では、腸陰窩の腸腺および胚細胞の増生を主体とした盲結腸部粘膜上皮の増生および潰瘍、腎の中等度近位尿

細管上皮の水腫変性、萎縮、凝固、壊死および軽度の線維化が認められた。潰瘍の重症例では穿孔性に進展し腸管漿膜炎および腹膜炎を伴っていた。投与群の腫瘍性病変は対照群と同様であり、検体投与に関連するものではなかった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は100ppm(雄11.91mg/kg/day、雌9.44mg/kg/day)と判断される。

(残留農薬研究所、1978年)

2. ラットを用いた慢性毒性試験

有機ひ素原体を0、10、100、1,000および5,000ppm含有する飼料を1群雌雄各60匹のWistar系ラットに24か月間自由摂取させた。

5,000ppm群雌雄に投与開始1週頃から軟便が認められ、20週頃から粘血便が認められた。さらに40週頃から消瘦傾向を示した。1000ppm群雌雄でも投与開始2週頃から軟便が認められた。5000ppm群雌雄でやや高い死亡率が認められたが、他の群の死亡率は対照群とほぼ同様であった。1000ppm以上の投与群雌雄で、投与1週後から体重増加抑制が認められた。1000ppm以上の投与群雌雄で投与開始後3週頃までやや低い飼料摂取量が認められた。血液学検査で、投与終了時において、1000ppm以上の投与群で赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度の減少傾向が認められた。白血球数の変動がみられたが、投与に関連する変化とは考えられなかった。血清生化学検査で、5000ppm群において総タンパク、ビリルビンの変動、コレステロールの増加が認められた。尿検査では、検体投与に関連した変化は認められなかった。肉眼的病理検査において、盲結腸部粘膜の潰瘍性病変が1000ppm以上の投与群で認められた。5000ppm群雌雄で脾重量の減少等いくつかの臓器重量の変動が散見された。病理組織学検査で認められた所見は、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100ppm(雄3.76mg/kg/day、雌4.33mg/kg/day)と判断される。

(残留農薬研究所、1977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

有機ひ素原体を0、100、1000および3000ppm含有する飼料を1群雌雄各25匹のWistar-Imamichi系ラットの

F₀世代およびF₁世代の各々17週間連続投与により自由摂取させた。

F₀、F₁世代の親動物に一般状態および死亡に対し検体投与の影響は認められなかった。両世代とも3000ppm群雌雄で親動物の体重増加抑制が認められた。交尾率、妊娠率、分娩率など繁殖能に検体投与の影響は認められなかった。新生仔数、性比に検体投与の影響は認められなかったが、3000ppm群の哺育4日目の生存率がF₀、F₁世代とも低下が認められた。外表検査で認められた異常はいずれも低頻度であり、自然発生と考えられた。

以上のように、母獣の哺育に対する影響は哺育初期に限局した一過性のものであり、全投与群で正常な次世代が得られたことから、有機ヒ素原体の投与はラットの繁殖能に対して特異的な影響をおよぼさないと考えられる。また両世代における親動物に対する最大無作用量は雌雄とも100ppmと判断される。

(動物繁殖研究所、1986年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

有機ヒ素原体を0.5% CMC 溶液に溶解し、0、10、60および300mg/kg/dayの投与レベルで妊娠6日から15日までの10日間、1群妊娠動物24匹のWistar-Imamichi系ラットに毎日1回強制経口投与した。妊娠21日目に母動物を帝王切開し、催奇形性の有無を調べた。

母動物の300mg/kg/day群に暗緑色の糞が認められた。また同群で死亡例が1例認められたが、検体投与に関連した死亡とは考えられなかった。60mg/kg/day群で妊娠12日以降、300mg/kg/day群で妊娠9日以降21日までの間、体重増加抑制が認められた。平均生存胎仔数、性比、着床率および胎仔死亡率について、検体投与による影響は認められなかった。300mg/kg/day群の胎仔体重に低い傾向が認められた。外表異常で浮腫、頭瘤、多趾症および髄膜瘤が対照群を含め各1例認められたが自然発生的であり検体投与による影響とは考えられなかった。300mg/kg/day群で胸骨核の遅延および仙尾椎化骨数の低下が認められた。内蔵検査および肉眼的病理検査では検体投与の影響は認められなかった。

以上の結果より、母動物に対する最大無作用量は10mg/kg/dayであった。また、最高投与量の300mg/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。

(動物繁殖研究所、1986年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

有機ヒ素原体を0.5% CMC 溶液に溶解し、0、4、8および12mg/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17匹のニュージーランド・ホワイト種ウサギに毎日1回強制経口投与した。交尾翌日を妊娠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。

母動物の12mg/kg/day群で体重増加抑制および飼料摂取量の低下が認められた。胎仔の死亡率または外表、骨格および内蔵検査において、検体投与に関連する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、8mg/kg/dayであった。また最高投与量の12mg/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。

(動物繁殖研究所、1988年)

変異原性試験

1. 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、rec-assay法でDNAの損傷の誘発性を検討した。用量は2000μg/diskを最高濃度に1000、500、200、100および20μg/diskとした。

検体は、最高濃度である2000μg/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、1978年)

2. 復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌(*Salmonella typhimurium*) TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100およびトリプトファン要求性大腸菌(*Escherichia coli* WP 2 hcr)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らの方法により復帰変異誘発性を検討した。用量はS-9 Mix非存在下で10、50、100、500、1000および3000μg/plate、S-9 Mix存在下で10、50、100、500および1000μg/plateとした。

S-9 Mix非存在下のサルモネラ菌TA100に極めて軽度な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

(残留農薬研究所、1978年)

3. 宿主経由試験

ICR系雄マウスに、10%アラビアゴム液で懸濁した検体を150および500mg/kgレベルで強制投与した。第2回目の投与直後ヒスチジン要求性 *Salmonella typhimurium* G-46を腹腔内に注入し、3時間後マウスを屠殺、腹腔内菌液を回収し、2日間培養した後、復帰変異コロニー数および生存菌数を計数し、遺伝子突然変異性を検討した。

いずれの検体投与群においても復帰変異コロニー数の増加を認めなかったことから、遺伝子突然変異性はないものと判断される。(残留農薬研究所、1978年)

4. 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卵細胞を用いた。代謝活性化および非代謝活性化により染色体異常を有する細胞の出現頻度を計測した。用量は代謝活性化の有無にかかわらず、250、499、749および1009 μ g/mlとした。

本試験条件下において代謝活性化の有無にかかわらず検体処理群での染色体異常を有する細胞の増加は認められなかった。

以上の結果より、有機ひ素のチャイニーズハムスター卵細胞を用いた *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。

(Hazleton Laboratories America, Inc. 1988年)

要 約

各種毒性試験を実施し、有機ひ素の安全性評価を行った。

有機ひ素の急性毒性は弱く、粉剤DLで軽度な眼刺激性が認められたが、皮膚刺激性、皮膚感作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および生化学的検査でヘマトクリット値、ヘモグロビン濃度、コレステロール値の変動が認められたが、顕著な影響ではなかった。復帰変異性試験でサルモネラ菌 TA100にのみS-9 Mix非存在下で極めて軽度な復帰変異コロニーの増加を示したが、その他の変異原性試験はいずれも陰性であった。発癌性、繁殖性に及ぼす影響および催奇形性は認められなかった。

有機ひ素剤は、昭和36年4月に農薬登録され、現在に至っている。

有機ひ素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

クミアイ化学工業株式会社 研究開発部登録課
〒110 東京都台東区池之端1丁目4番26号