

BRPの毒性試験の概要

株式会社トーメン 生物産業部

薬剤の概要

BRPは、米国シェブロン社によって開発された速効性、非浸透性の有機リン殺虫剤である。国内では、1962年に50%乳剤が農薬登録を取得し、市販されている。本剤は幅広い昆虫類に有効であるとともに、作物残留は少なく急速に植物表面より消失するため、主に茶用の薬剤として幅広く使用されている。

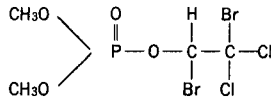
本剤の物理化学的性質を以下に示す。

有効成分の一般名：BRP

化学名：1,2-dibromo-2,2-dichloroethyl dimethyl phosphate

(1,2-ジブromo-2,2-ジクロロエチル ジメチルホスフェート)

構造式：



分子式：C₄H₇O₄Cl₂Br₂P

分子量：380.8

外観：白色固体

比重：1.97

融点：27℃

沸点：110℃ (0.5mm Hg)

蒸気圧：2 × 10⁻⁴ mm Hg (20℃)

溶解度：溶媒：溶解度 (g/100g 溶媒、23.3℃)

水：0.2

ヘプタン：7

ディーゼル液 (SP Type B)：25

分配係数 (n-オクタノール/水)：P=92~150

log P=1.96~2.18

安定性：熱、光および酸性条件下では安定だが、アルカリに対して分解性あり。

本剤の各種毒性試験結果を以下に示す。

急性毒性試験

BRPの急性毒性試験成績

検体	供試動物	投与方法	LD ₅₀ 値又は最大無作用量 (mg/kg)	試験機関	報告書作成年
原体	マウス	経口	♂ 388 ♀ 390	日本実験医学研究所	1980
	ラット	経口	♂ 181 ♀ 178	日本実験医学研究所	1980
	マウス	経皮	♂ 620 ♀ 577	日本実験医学研究所	1980
	ラット	経皮	♂ 940 ♀ 825	日本実験医学研究所	1980
	ラット	吸入	*♂0.20mg/ℓ ♀0.19mg/ℓ	^{b)} CHEC社	1985
	ラット	吸入	**♂ > 1.14μg/ℓ ♀ > 1.14μg/ℓ	CHEC社	1983
	マウス	皮下	♂ 94 ♀ 96	日本実験医学研究所	1981
	ラット	皮下	♂ 112 ♀ 94	日本実験医学研究所	1981
	マウス	腹腔内	♂ 84 ♀ 89	日本実験医学研究所	1981
	ラット	腹腔内	♂ 43 ♀ 44	日本実験医学研究所	1981
50%乳剤	ラット	経口	♂ 591 ♀ 386	^{b)} IRI社	1989
	マウス	経口	♂ 1,087 ♀ 792	IRI社	1989
	ラット	経皮	♂ 1,094 ♀ 1,088	IRI社	1989

a) Chevron Environmental Health Center b) Inveresk Research International Ltd.

*) 240分暴露 **) 260分暴露

刺激性試験

眼および皮膚に対する刺激性をウサギを用いて検討し、以下の結果を得た。

眼一次刺激性

BRP50%乳剤の希釈溶液(0.2% v/v 濃度) 0.1ml を雌雄各3匹のウサギの右眼に適用し、角膜、虹彩および結膜の変化を6日間観察した。角膜、虹彩および結膜の変化は認められなかった。以上の結果から BRP50%乳剤に眼一次刺激性はないものと判断された。

(インバレスク リサーチ インターナショナルリミテッド (以下、IRI)、1990年)

皮膚一次刺激性

BRP50%乳剤0.5mlを雌雄各3匹のウサギの刈毛した無傷皮膚に塗布し、2.5cm×2.5cmのガーゼで覆い、4時間後ガーゼを除去し、1、24、48、74時間及び5、7、9、11日目に皮膚の刺激性変化を観察した。その結果、ガーゼ除去後1時間で高度紅斑、高度浮腫が、24時間および48時間目の早い時期に懷死様状がみられた。

浮腫は24時間後に軽度のものがみられたが、その後減少した。

以上のことから BRP50%乳剤は半閉塞で4時間暴露した場合、ウサギの皮膚に著しい刺激性を示すと判断された。(IRI、1989年)

BRP50%乳剤の希釈溶液(0.2% v/v 濃度) 0.5ml を雌4匹、雄2匹のウサギの刈毛した無傷皮膚に塗布し、2.5cm×2.5cmのガーゼで覆い4時間後ガーゼを除去し、1、24、48、および72時間後に皮膚の刺激性変化を観察した。その結果、観察期間を通じて紅斑および浮腫などの刺激反応は観察されなかった。

以上の結果から、BRP50%乳剤の希釈溶液はウサギの皮膚に対して刺激性を示さないものと判断された。

(IRI、1990年)

皮膚感作性試験

Buehler 法を用いて BRP50%乳剤のモルモットに対

する皮膚感作性を試験した。

用量設定を BRP50%乳剤の50%、25%、10%および5% v/v 濃度で行い、25%の v/v 濃度を感作濃度として選択した。BRP50%乳剤の惹起は10% v/v 濃度で行ったが、BRP50%乳剤の惹起は10% v/v の濃度で処理された試験群および対照群のいずれの動物にも陽性反応は認められなかった。

以上の結果から、BRP50%乳剤はモルモットに対し皮膚感作性を示さないものと判断された。

(IRI、1989年)

急性遅発性神経毒性試験

BRP 原体を用い、あらかじめ求めた LD₅₀値(110mg/kg)に基づき、ニワトリ雌5羽に対して毎日経口投与を行った。また保護剤として硫酸アトロピン15mg/kgを投与し、22日間観察後、病理組織学的検査を行った。その結果、当初コリンエステラーゼ阻害作用が観察されたが、それらの作用が消失した後は神経毒性作用は観察されなかった。また、病理組織学的にも、投与群と対照群には特に有意な差はみられなかった。

以上の結果から、硫酸アトロピンによる前処理後に LD₅₀値に相当する BRP 原体用量を投与した群では、遅発性神経毒性は認められなかった。

(フードアンドドラッグリサーチラボラトリー 1978年)

亜急性毒性試験

(1) Sprague-Dawley 系ラット28日間亜急性毒性試験

1群雌雄各10匹のラットに BRP 原体を0、0.25、1.0、10および100mg/kg/日の用量で28日間経口投与した。その結果、100mg/kg/日投与群の雌雄に筋振せん、流涎、眼やに、尿量増加、軟便の症状がみられた。10mg/kg/日の雄1匹に軽度の筋振せんが、また同群の雄1匹および雌4匹に軽度の昏睡(投与第1週中1回)がみられた。

体重変化では100mg/kg/日投与群の雄に投与開始第1週でみられた体重増加率の低下以外、検体投与に伴う変化はなかった。飼料効率は100mg/kg/日の投与群の雄に投与開始第1週でみられた体重増加率の低下以外、変化はなかった。また、コリンエステラーゼ活性は10、100mg/kg/日投与群の雌雄に、赤血球、血漿および脳コリンエステラーゼ活性の用量依存的な低下がみられた

が、他群ではみられなかった。

また、臓器重量は、100mg/kg/日投与群の雌の肝重量、および対体重比が増加し、同群の雄でも肝の対体重比の増加が認められた。

試験終了時の肉眼的病理検査では特に投与に起因する所見は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄とも1mg/kg/日であると判断された。

(バイオリサーチ ラボラトリー、1981年)

(2) イヌ28日間亜急性毒性試験

BRP 原体を0、0.2、1.0、5.0、25mg/kg/日の用量で雌雄各2匹のビーグル犬に経口投与し、28日間飼育した。その結果、投与直後に5.0および25mg/kg/日投与群の雌雄に嘔吐が認められ、25mg/kg/日投与群の雌では試験の期間を通じ影響があったが、本用量レベルの雄では第3週目より耐性が形成されていることが認められた。5mg/kg/日投与群の雄1匹は、当初の2週間の投与期間中の大部分、その後は間欠的に投与後嘔吐した。他の5mg/kg/日投与群では嘔吐物の再摂取が若干認められた。25mg/kg/日投与群の雄2匹に軟便が時々認められた。

体重については25mg/kg/日投与群の雄2匹に体重減少が認められたが、その他の投与群では投与に起因する影響は見られなかった。

血液学的、血液生化学的検査では、25mg/kg/日投与群に総蛋白、アルブミン、カルシウムおよび無機リン値の低下、25mg/kg/日投与群および1.0mg/kg/日投与群の雄2匹にSGPTの高値が得られた。

コリンエステラーゼ活性は25mg/kg/日投与群の雌雄で赤血球、血漿、脳コリンエステラーゼ活性の減少、1mg/kg/日投与群で血漿コリンエステラーゼ活性のわずかな減少がみられた。

終了時試験では、25mg/kg/日投与群の雄2匹、雌1匹の腹腔内に漿液性液体が認められ、雄1匹ではリンパ節および脾臓の浮腫と関連があった。雌では十二指腸粘膜の肥厚および腸間膜リンパ節の発赤が認められた。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄とも0.2mg/kg/日であると判断された。

(バイオリサーチ ラボラトリー、1983年)

(3) Sprague-Dawley系CDラット28日間亜急性経皮毒性試験

BRP 原体を0.5% CMCに懸濁し、0、1、20、80mg/kg/日の用量で1群雌雄各12匹のラットに週に5回の割合で塗布し、28日間飼育した。

その結果、一般症状、死亡数について各投与群の動物1ないし2匹で、2、5および9日目に振せん、軟便および肛門性器の汚れがみられた。

20mg/kg/日の雌1匹が22および28日目にのみ陰性の瞳孔反応を示した。1mg/kg/日の雌1匹が5日目から試験終了まで、片方の角膜に白濁を示した。これからの徴候は発生率が低く、また一過性である為、毒性学上の有意性はほとんどないと思われる。死亡例は試験期間内を通じて認められなかった。

20および80mg/kg/日群の全例が試験開始9日以内に中等度から重度の紅斑および浮腫を発症し、アトニーおよび裂溝および剥膜を伴う壊死ならびに痂皮を形成した。刺激反応は試験終了まで観察された。

体重変化および摂餌量は、雄の20および80mg/kg/日群において投与7日から試験終了時まで、対照群と比して有意に低く、80mg/kg/日群の雌雄とも、投与第3、4週目の平均摂餌量は対照群よりも有意に高かった。

血液学的検査では80mg/kg/日群の雌雄で網状赤血球数、同群の雌で血小板数の増加がみられた。

血液生化学的検査では、20、80mg/kg/日群の雌雄において赤血球、血漿および脳のコリンエステラーゼ活性の減少、80mg/kg/日群の雌でクレアチニンの減少、同群雌雄と20mg/kg/日群雄では総蛋白、アルブミンの減少、同群雌雄で尿素窒素、尿素窒素/クレアチニン比の上昇が見られた。雄における血中グルコースの減少およびカルシウムの減少、ならびに血清コレステロールおよび塩素の増加、また、雌におけるリンの増加はいずれも統計学上有意であるが、片方の性にのみ認められ、有意性には疑問があると思われた。

臓器重量は、80mg/kg/日の雌雄で副腎重量、副腎重量/体重比および副腎重量/脳重量比の増加、80mg/kg/日の雄で腎臓重量および腎臓重量/脳重量比の減少、80mg/kg/日の雌で肝臓重量、肝臓重量/体重比および肝臓重量/脳重量比の増加、20および80mg/kg/日群雄の肝重量および肝重量/脳重量比、20mg/kg/日の肝重量/体重比の減少がみられたが、体重減少と一致しており、検体投与には起因しないと考えられた。また、80mg/kg/日の精巣重量/体重比の上昇がみられた。

肉眼的病理検査、病理組織学的検査では、20および80mg/kg/日群で皮膚の紅斑、痂皮、壊死、アトニー、

裂溝形成および落屑が認められた。20および80mg/kg/日群で投与に関連する中等度ないし中程度に重度の皮膚の異常が認められた。

1mg/kg/日群の雌に軽微ないし軽度の炎症反応が認められた。そのほかの組織および臓器の検査から、検体投与によると思われる毒性の形跡は認められなかった。異常の結果から、本試験における最大無作用量は、1mg/kg/日であると判断された。

(シェブロン エンバイロメンタル ヘルスセンター(以下、CEHC、1986年))

慢性毒性・発癌性試験

(1) Sprague-Dawley 系ラット慢性毒性・発癌性試験

1群雌雄各55匹のラットに BRP 原体を0、0.2、2.0および10.0mg/kg/日の用量で雌102週、雄105週毎週投与した。その結果、一般症状および死亡率では投与群に対照群と比較して有意な差はみられなかった。

臨床症状では、10.0mg/kg日群の雌4匹に投与直後の軽度の振せん以外には、薬剤投与によると思われる明白な症状は観察されなかった。

体重変化、摂餌量は10mg/kg/日投与群の雌が高い値を示した。

血液学的検査では、2.0および10.0mg/kg/日投与群の雌雄で赤血球数、血色素量、ヘマトクリット値が低値を示した。(投与26、52および78週 時)

また、同群の雄(投与26週 時)、10.0mg/kg/日群の雌雄(投与52週 時)で血小板数の有意な増加が認められたが、一過性の変動であった。

血液生化学的検査、尿検査、眼検査では特に投与に起因する異常は見られなかった。

コリンエステラーゼ検査では、2.0mg/kg/日以上投与群雌雄で血漿コリンエステラーゼ活性の低下(26-78週 時)最終検査時には10.0mg/kg/日投与群の雌のみに低下がみられた。脳コリンエステラーゼは最終屠殺時の2.0および10.0mg/kg/日投与群雌雄にのみ有意な低下を示した。

臓器重量、肉眼的病理検査では検体投与に起因すると考えられる異常はみられなかった。

病理学的検査では非腫瘍性病変では10.0mg/kg/日投与群において肝細胞の空胞化および明細胞巢の出現、胆管増生、顎下リンパ節の形質細胞および組織球増加症の発生頻度が増加傾向を示したが、雄群における肝

の明細胞巢の出現を除くと対照群との有意差は見出されなかった。

また、腫瘍性病変では脳下垂体腺腫が全群にわたって多発、乳腺繊維腫(雌群)、その他副腎髄質腺腫や甲状腺腺腫が散発的に発生したが、検体投与に起因するものとは考えられなかった。

以上の結果から、最大無作用量は0.2mg/kg/日であると判断され、また催腫瘍性はないと考えられた。

(バイオ リサーチ ラボトリー、1984年)

(2) イヌ12ヶ月慢性毒性試験

1群雌雄各6匹のビーグル犬に BRP 原体を0、0.2、2.0および20.0mg/kg/日の用量で12ヶ月間毎日経口的に投与し飼育した。

その結果、一般症状、死亡率、体重変化では20.0mg/kg/日群雄の1匹で食欲不振、消瘦、脱水、運動失調が見出された。2.0、20.0mg/kg/日群の雌雄で軟便、下痢および嘔吐の発生頻度が増加した。嘔吐は、コリンエステラーゼ阻害による二次的影響であると考えられた。死亡例は20mg/kg/日群の雄1匹の切迫殺処分以外には認められなかった。体重変化、摂餌量では、対照群との間に有意な差異は認められなかった。

血液学的検査では2.0および20.0mg/kg/日群雌雄で赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の低下、20.0mg/kg/日群雌雄では、血小板数が増加した。

血液生化学的検査では、20.0mg/kg/日雌雄で試験期間を通じて総蛋白、アルブミンおよびカルシウムが減少した。また、2.0mg/kg/日群以上の雌雄で、塩素、同群雄でコレステロールの増加が観察された。

さらに、血漿および赤血球コリンエステラーゼは0.2mg/kg/日群以上の雌雄で阻害が認められ、脳コリンエステラーゼは20.0mg/kg/日群雌雄および2.0mg/kg/日群の雌で低下した。

尿検査、眼検査では、検体に関連する異常はみられなかった。

臓器重量、肉眼的病理検査では20.0mg/kg/日群雌雄で肝重量、対体重比の増加がみられ、同群雌で腎臓、副腎重量および腎臓の対体重比の増加が認められた。20.0mg/kg/日群の雄3匹、雌1匹に腸の水腫が認められ、途中死亡した20.0mg/kg/日群雄の1匹には、潰瘍性胃炎および胃粘膜の繊維化が観察された。

病理組織学的検査では、投与群において、自然発生病変の発生頻度が増加した。雄では、食道の炎症、脊

髓の限局性鉛物質沈着、脾臓のヘモジデリン沈着および精巢の変性が増加した。雌では、脊髄の限局性鉛物質沈着、脾臓のヘモジデリン沈着は増加した。また、いずれの動物にも腫瘍は認められなかった。

以上の結果から、最大無作用量は0.2mg/kg/日であると判断された。

(インターナショナル リサーチ アンド テベロップメント〔以下、IRDC〕、1986年)

(3) CD-1系マウス89週発癌性試験

1群雌雄各60匹のマウスに0、3、15、75mg/kg/日の用量で89週間毎日投与した。その結果、一般症状、摂餌量、体重変化は試験期間を通じて検体投与に伴う異常所見はみられなかった。

血液学的検査では、3mg/kg/日群の雌で血小板数の減少、15mg/kg/日群の雄で赤血球数、血色素濃度が減少したが、用量相関性は認められなかった。

投与期間終了時の臓器重量、肉眼的病理検査、病理組織学的検査では、75mg/kg/日群雌で、腎臓の対体重比の増加、雄で肝臓の対体重比の増加、全投与群の雄で、腎臓アミロイド症の増加、雌で乳腺嚢胞の若干の増加、肺の気管炎が僅かに増加したが、検体投与には起因しないものと考えられ、非腫瘍性、腫瘍性病変についても検体投与には起因しないと考えられた。

以上の結果から、用量に相関した腫瘍性病変および非腫瘍性病変の増加は認められず、BRPには発癌性はないと判断された。(IRDC、1984年)

繁殖性に及ぼす影響試験および催奇形性試験

(1) ラットにおける繁殖性試験

BRP 原体を0、2.0、8.0および16.0mg/kg/日の用量で投与し、生殖能力に及ぼす影響について、3世代にわたって飼育した。各世代ごとに交配を行い、繁殖性に及ぼす影響について観察した。

その結果、2.0、6.0および18.0mg/kg/日投与群では、F₁世代において体重の低下がみられ、6.0および18.0mg/kg/日投与群では、F₁哺育仔において4日後および21日後生存率の低下が認められた。2.0mg/kg/日投与群では、F_{2a}哺育仔において4日後および21日後生存率に低下が認められたが、6.0および18.0mg/kg/日群では認められなかったことから検体投与に起因するとは思われなかった。18.0mg/kg/日投与群ではF_{2b}哺育仔において、4

日後および21日後生存率の低下が認められた。

病理組織学的検査では、検体投与に起因すると思われる影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大無作用量は2.0mg/kg/日であると判断された。

(バイオ/ダイナミック インク、1985年)

(2) ラットにおける催奇形性試験

BRP 原体を0、2、10および40mg/kg/日の用量で雌のラットに妊娠6日から19日まで経口投与した。

妊娠20日目に帝王切開し、肉眼的病変、子宮内容物、子宮重量、黄体数、着床数、生存および死亡胎仔数、胚致死数を測定し、生存胎仔の性別、体重、外奇形、骨格奇形、内臓奇形について調べた。その結果、外表奇形として、40mg/kg/日群では臍帯ヘルニア、二分脊椎、髄膜脳瘤および舌の突出が見られ、骨格奇形としては10mg/kg/日、40mg/kg/日群で後肢第5中足骨の欠損および尾椎椎体の欠損等がみられ、内臓奇形は40mg/kg/日群で腎臓および卵巣の変位等がみられたが、対照群と有意な差はみられなかった。また、その他検査項目においても対照群と有意な差はみられなかった。以上の結果より、本試験における最大無作用量は40mg/kg/日未満と判断された。

(サイエンス アプリケーション インク、1984年)

(3) ウサギにおける催奇形性試験

BRP 原体0、0.2、2.0、8.0mg/kg/日の用量で雌のウサギに妊娠7日から19日まで経口投与した。妊娠29日目に帝王切開し、肉眼的病変、黄体数、着床数、生存・死亡胎仔数、吸収胚数を測定し、生存胎仔の体重、内臓、骨格の異常を調べた。その結果、すべての投与群の母動物に異常は認められなかった。

胎仔では、水頭症がみられたが投与における影響ではないと考えられる。

以上の結果より、本試験における最大無作用量は8.0mg/kg/日であると判断された。(CEHC、1985年)

変異原性

(1) DNA 損傷誘発性試験

*Bacillus subtilis*の組換え修復機構保持株(H-17)および欠損株(M-45)を用い、Rec-assay法でDNA損傷誘発性を検索した。

BRPの試験濃度は0.005% v/v~0.5% v/vとした。その結果、BRPは陰性対照物質と同様に両菌株に同程度の成育阻止帯を示した。一方、陽性対照物質として用いたマイトマイシンCは両菌株に対して明らかに異なった程度の成育阻止を示した。

以上の結果から、BRPのDNA損傷性は陰性であると判断された。(財団法人 残留農薬研究所、1980年)

(2) 細菌を用いた復帰変異試験

Salmonella typhimurium のヒスチジン要求株および *Escherichia coli* のトリプトファン要求株を用いて、ラット肝薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。BRPの試験濃度は1~5,000 μ g/プレートとした。

その結果、BRPはいずれの場合においても対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照物質として用いた AF-2、 β -プロピオラクトン、2-ニトロフルオレン、9-アミノアクリジンおよび2-アミノアントラセンは復帰変異コロニー数を顕著に増加させた。

以上の結果から、BRPの復帰変異誘発性は陰性であると判断された。(財団法人 残留農薬研究所、1980年)

(3) 細胞遺伝学的試験

チャイニーズハムスター由来の卵巣 (CHO) 細胞を用いてラット肝薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で一連の培養細胞につき100個、各用量段階で合計200個の中期分裂を検査した。

BRPの試験濃度は0.63 μ g/ml~25 μ g/mlとした。

その結果、S-9Mixの存在下において25 μ g/mlでは中程度であるが、再現性の染色体損傷の増加が起こった。他の用量では、染色体異常は誘発されなかった。一方、陽性対照として用いたニトロソアミンでは既知の染色体異常誘発物の分析に感受性を示し、S-9Mixに活性を示した。

以上の結果から、BRPのチャイニーズハムスター由来の卵巣 (CHO) 細胞に対する染色体以上誘発性は陽性であると判断された。(IRI、1990年)

ULV 散布時における人体への影響

BRP85%乳剤の10倍希釈液をULV (高濃度微量散布) 散布機を用いて散布した後、散布者に対する影響

(目、皮膚、呼吸器系に対する刺激、目まい、吐き気、発汗等の有無)を観察した。

その結果、すべての検査項目について異常は認められなかった。

以上より、BRP85%乳剤の10倍希釈液のULV散布では散布者に対する影響は非常に低いと思われる。

(シェブロン、1970年)

要 約

BRPについて各種毒性試験を実施し、安全性を評価した。皮膚一次刺激性試験に於いて、刺激性が確かめられ、劇物に該当した。一方、慢性毒性および発癌性試験に於いても催腫瘍性は認められず、その他の繁殖性、催奇形性および変異原性試験に於いても特記すべき毒性症状の発言は認められなかった。

BRPにおける安全性評価に関する試験を行い、1962年に登録を取得した。登録保留基準値は、米0.1ppmおよび茶0.1ppmと設定された。BRPは定められた安全使用基準を遵守することによって、安全性が確保されるものであり、幅広い有用な農業資材の一つとして評価されている。

問合せ

株式会社トーマン 生物産業部

〒107 東京都港区赤坂2-14-27