

CYAP (サイアノックス®)の毒性試験の概要

住友化学工業株式会社 農業化学品管理室

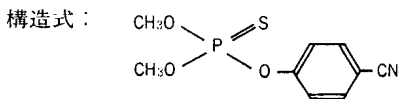
薬剤の概要

サイアノックスは1966年にアブラナ科野菜および豆類の害虫を対象に登録された。その後、対象作物も野菜、果樹、花卉類などに拡大されていった。また、ゴキブリ等の衛生害虫に対しても強い殺虫効力を発揮することから、防疫用の殺虫剤として1972年に厚生省の製造承認を受けている。

一般名：シアホス

種類名：CYAP

化学名：O, O-dimethyl-O-p-cyanophenylthiophosphate



分子量：243.22

症状：わずかに特有の臭いをもつ黄色～赤みの透明な液体

比重 (d^{25})：1.255～1.265

融点：14～15℃

蒸気圧： 7.91×10^{-4} mm Hg (20℃)

溶解性：アルコール、アセトン、クロロホルムなどの有機溶剤に対しては任意の比率で溶解するが、水に対する溶解性は低い (46ppm, 30℃)。

安定性：アルカリ性では分解が大きく、光による分解も比較的大きい。温度による影響は少ない。

キシレンやケロシン液などでは安定であるが、ジメチルホルムアミド、エチレングリコールおよびメチルアルコール中では不安定である。

代謝

CN基を ^{14}C で標識したサイアノックスをラットに経口投与し、代謝について調べた。50mg/kgのサイアノックスを1回経口投与すると、サイアノックスは速やかに代謝・分解され、96時間後に ^{14}C の全てが尿および糞から回収された。尿中の主要代謝物は desmethyl-

cyanox, desmethylcyanoxon, p-cyanophenol および p-cyanophenylsulfate であり、未分解のサイアノックスは検出されなかった。糞中では p-cyanophenol が主であった。いずれの組織においても投与後1あるいは3時間目で ^{14}C 含量が最高となり、組織別では腎臓および副腎で高く、脳および筋肉で低かった。その後各臓器の ^{14}C 含量は減少し、投与後48時間目にはピーク時の1/10～1/100となった。(住友化学 1970年)

急性毒性試験

サイアノックスのラットおよびマウスにおける LD_{50} 値を以下に示す。

動物種	投与経路	LD_{50} (mg/kg)		試験機関 (報告年)
		雄	雌	
ラット	経口	580	610	住友化学(1969年)
	経皮	560	>1000	住友化学(1972年)
	皮下	630	850	住友化学(1972年)
	腹腔	440	510	住友化学(1973年)
	吸入	>1500*	>1500*	住友化学(1988年)
マウス	経口	830	720	住友化学(1972年)
	経皮	>2500	>2500	住友化学(1972年)
	皮下	1750	1500	住友化学(1972年)
	腹腔	480	500	住友化学(1972年)

* LC_{50} (mg/m³, 4時間曝露)

サイアノックスを経口、経皮、皮下、腹腔および吸入経路によりラットあるいはマウスに投与すると、いずれの投与経路においても筋攣縮、振戦、間代性痙攣、失調性歩行、流涙(血涙)、流涎、眼球突出、縮瞳、尿失禁、立毛、呼吸困難などの中毒症状が認められた。これらの症状の殆どがコリンエステラーゼ(ChE)活性の阻害に基づくコリン作動性神経の過興奮に起因すると考えられた。ただし、マウスにおける経皮毒性は弱く、2500mg/kgの投与量においても中毒症状の発現や死亡は認められなかった。死亡しなかった動物においては、投与後10日以内に中毒症状は消失した。

刺激性試験

1. 眼に対する刺激性

0.1ml/匹のサイアノックスを New Zealand White ウサギ（雌雄各3匹）に点眼し、その後72時間目まで観察した。その結果、適用部位に角膜混濁、虹彩充血、結膜潮紅、結膜浮腫、眼脂分泌などの反応が認められなかったことから、眼に対する刺激性はないと判定された。（住友化学 1986年）

2. 皮膚に対する刺激性

0.5ml/匹のサイアノックスを New Zealand White ウサギ（雌雄各3匹）の背部皮膚（有傷および無傷）に4時間閉塞適用し、その後72時間目まで観察した。その結果、適用部位に紅斑、浮腫などの反応が認められなかったことから、皮膚に対する刺激性はないと判定された。（住友化学 1986年）

皮膚感作性試験

サイアノックスの皮膚感作性を Hartley モルモット（雄20匹）を用いて Maximization 法により調べた。皮内感作として、肩甲骨上の皮膚（2cm×4cm）の正中線をはさんだ両側各3箇所以下に示す検体を1箇所当たり0.05mlずつ1回皮内投与した。

上部：蒸留水と Freund's complete adjuvant (FCA) の等量乳化液

中間部：コーンオイルに希釈したサイアノックスの5%液

下部：FCAに希釈したサイアノックスの10%液と蒸留水の等量乳化液

皮内感作の7日後に、10%ラウリル硫酸ナトリウムワセリン軟膏（0.2g/匹）を適用した肩甲骨上の皮膚へ0.4ml/匹のサイアノックスを48時間閉塞貼付することにより経皮感作を行った。皮内感作の21日後に腹側部の皮膚へ0.2mlのサイアノックスを24時間閉塞貼付することにより惹起し、その後48時間目まで観察した。その結果、適用部位に紅斑、浮腫などの反応が認められなかったことから、皮膚感作性はないと判定された。

（住友化学 1986年）

遅発性神経毒性試験

サイアノックスの急性遅発性神経毒性を白色レグホン種ニワトリ（雌12羽）を用いて検討した。20mg/kgのサイアノックス（LD₅₀値：37.5mg/kg）を3週間間隔で2回経口投与し、合計6週間観察した。この間、急性中毒の治療のために atropine および pyridine-2-aldoxime methiodide (2-PAM) を症状に応じて数回併用注射した。その結果、脚部麻痺およびその他の不可逆的な症状の発現ならびに坐骨神経の病理組織学的変化が認められなかったことから、遅発性神経毒性はないと判定された。（住友化学 1974年）

変異原性試験

1. 細菌を用いた復帰変異試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌（TA100、TA98、TA1535、TA1537およびTA1538の5株）およびトリプトファン要求性の大腸菌（WP2uvrAの1株）を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系（S9 mix）の存在下および非存在下でサイアノックスを処理し、変異原性を調べた（プレインキュベーション法による Ames 試験）。サイアノックスの処理濃度は10～10000μg/plateとした。その結果、WP2uvrA株においてのみ S9mix の存在下および非存在下とも復帰変異コロニー数のわずかな増加（対照群の約2倍）が認められた。従って、サイアノックスは本試験条件下で弱い変異原性を示すと判定された。（住友化学 1989年）

2. マウスにおける宿主経由試験

100および200mg/kgのサイアノックスを ICR マウス（雄6匹/群）に24時間間隔で2回経口投与し、2回目の投与直後にヒスチジン要求性のサルモネラ菌（G46）を2.04×10⁹個/匹の割合で腹腔内に投与した。G46を投与した3時間後にマウスを屠殺し、腹腔内の菌を回収して変異原性を調べた。その結果、復帰変異菌数の増加は認められなかったことから、サイアノックスは本条件下で陰性であると判定された。

（残留農薬研究所 1976年）

3. 培養細胞を用いた in vitro 染色体異常試験

チャイニーズハムスター卵巣由来の細胞（CHO-K1）

を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9mix) の存在下および非存在下でサイアノックスを処理し、染色体標本を観察した。サイアノックスの処理濃度は $1 \times 10^{-4} \sim 8 \times 10^{-4}$ モルとした。その結果、S9 mix の存在下および非存在下とも異常細胞の増加が認められたことから、サイアノックスは本試験条件下で染色体異常を誘発すると判定された。

(住友化学 1989年)

4. マウス骨髓細胞を用いた小核試験

600mg/kgのサイアノックスをICRマウス(雄5匹/群)に1回経口投与した24、48および72時間後に、また150、300および600mg/kgのサイアノックスを同様に投与した24時間後に、それぞれ動物を屠殺して大腿骨の骨髓塗抹標本を観察した。その結果、いずれの投与群においても多染性赤血球数や小核の出現頻度に異常が認められなかったことから、サイアノックスは本試験条件下でマウスの骨髓赤血球に小核を誘発しないと判定された。

(住友化学 1989年)

5. 細菌を用いたDNA修復試験

枯草菌 (H17: DNA組換修復機構保持株およびM45: DNA組換修復機構欠損株) を用いて、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S9mix) の存在下および非存在下でサイアノックスを処理し、DNAの損傷性を調べた (孢子法)。サイアノックスの処理濃度は $100 \sim 10000 \mu\text{g}/\text{ディスク}$ とした。その結果、S9mix の存在下および非存在下とも H17 と M45 の生育阻止半径に差が認められたことから、サイアノックスは本試験条件下でDNA損傷性を有すると判定された。

(住友化学 1988年)

6. ラット肝細胞を用いた *in vivo/in vitro* 不定期DNA合成試験

200mg/kgのサイアノックスをSDラット(雄3匹/群)に1回経口投与した3、12および24時間後に、それぞれ動物を屠殺して、 ^3H -チミジン処理した肝細胞塗抹標本を観察した。その結果、細胞核内の銀粒子数および不定期DNA合成陽性細胞数に異常がなかったことから、サイアノックスは本試験条件下で不定期DNA合成を誘発せず、*in vivo* でラットの肝細胞に対してDNA損傷性を有しないと判定された。(住友化学 1989年)

催奇形性試験

1. ラット

1および10mg/kgのサイアノックスをSDラット(雌23~24匹/群)に妊娠9日目から14日目までの6日間、毎日1回経口投与した。その結果、投与期間において体重増加の抑制が10mg/kg投与群の妊娠動物に認められたが、胎仔の体重、性比、外表検査、内臓検査および骨格検査ならびに新生児の生後発育、生後分化、行動および諸反射機能に影響は認められず、胚仔致死作用および催奇形作用はないと判定された。

(和歌山県立医科大 1972年)

2. ウサギ

0.8、2.5および7.5mg/kgのサイアノックスを日本白色種ウサギ(雌18匹/群)に妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回経口投与した。その結果、投与期間において運動失調、流涎、縮瞳、呼吸喘鳴などの中毒症状が7.5mg/kg投与群の妊娠動物に認められたが、胎仔の体重、性比、外表検査、内臓検査および骨格検査に影響は認められず、胎仔致死作用および催奇形作用はないと判定された。(残留農薬研究所 1988年)

繁殖性試験

1、3、10および25ppmの濃度でサイアノックスを飼料へ混合し、SDラット(雌雄各24匹/群)に自由に摂取させて、2世代の繁殖性試験を実施した。混餌投与期間は連続36週間とし、第1世代および第2世代とも第1産仔を得て評価した。親動物においては一般症状、体重、摂餌量、交尾率、妊娠率、妊娠期間、出産率、肉眼的病理所見、臓器重量および病理組織学的所見を、また仔動物においては一般状況、生存率、性比、体重および肉眼的病理所見について検討した。その結果、体重増加抑制および摂餌量の減少(第1世代のみ)が25ppm投与群の雌親動物に認められた。第1世代および第2世代とも親動物の生殖能に影響はみられなかったが、25ppm投与群のF₁哺育仔で衰弱を示す動物と体軀矮小動物の発生頻度の上昇、生存率の低下および体重増加抑制が認められた。以上のことから、本試験における親動物および仔動物に対する無影響濃度は10ppmであるが、親動物の生殖能力に対する無影響濃度は25ppmで

あった。

(残留農薬研究所 1988年)

亜急性毒性試験

1. ラットにおける3週間吸入毒性試験

10および50mg/m³の気中濃度でサイアノックスのミストを1日当たり2時間、連続21日間にわたりSDラット(雌雄各28匹/群、このうち雌雄各18匹/群はChE活性の測定に供した)に全身曝露した。その結果、血漿、血球および脳ChE活性の阻害が雌雄とも50mg/m³曝露群で認められたが、最終曝露終了後21日目までに回復した。10mg/m³曝露群のChE活性は軽微な低下を示したが、最終曝露終了後7日目までに回復し、毒性学的な意義は殆どないと考えられた。その他、一般症状、体重、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的病理検査および病理組織学的検査においては、サイアノックスの曝露と関連のある変化は認められなかった。以上のことから、本試験における無影響濃度は雌雄ともほぼ10mg/m³であった。

(住友化学・奈良県立医科大 1971年)

2. ラットにおける3カ月間摂食毒性試験

10、40および160ppmの濃度でサイアノックスを飼料へ混合し、90日間にわたってSDラット(雌雄各27匹/群、このうち雌雄各15匹/群はChE活性の測定に供した)に自由に摂取させた。その結果、筋攣縮、振戦、立毛などの異常症状が160ppm投与群の雌雄に観察されたが、死亡はなかった。体重増加抑制が160ppm投与群の雌雄に認められた。摂餌量の低値が160ppm投与群の雌雄に、また摂水量の低値が同群の雄に認められた。血漿、血球および脳ChE活性の阻害が雌雄とも40ppm以上の投与群で認められた。その他、尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査、臓器重要、肉眼的病理検査および病理組織学的検査においては、サイアノックスの投与と関連のある変化は認められなかった。以上のことから、本試験における無影響濃度は雌雄とも10ppmであった。

(住友化学・奈良県立医科大 1970年)

3. マウスにおける5週間摂食毒性試験

1、3、10、30および300ppmの濃度でサイアノックスを飼料へ混合し、5週間にわたってB6C3F1マウス(雌雄各50匹/群、このうち雌雄各30匹/群はChE活性の測定に供した)に自由に摂取させた。その結果、体重増

加抑制が300ppm投与群の雌雄に認められた。摂餌量および摂水量の低値傾向が300ppm投与群の雄に認められた。血糖の低値が雄では300ppmおよび雌では30ppm以上の投与群で認められた。血漿ChE活性の阻害が雌雄とも10ppm以上の投与群で、血球ChE活性の阻害が雄では3ppm以上および雌では10ppm以上の投与群で、また脳ChE活性の阻害が雌雄とも10ppm以上の投与群で認められた。その他、一般症状、血液学的検査、臓器重量および肉眼的病理検査においては、サイアノックスの投与と関連のある変化は認められなかった。以上のことから、本試験における無影響濃度は雄で1ppmおよび雌で3ppmであった。

(大雄会医科学研究所 1982年)

慢性毒性・発癌性試験

1. ラット

3、10、30および180ppmの濃度でサイアノックスを飼料へ混合し、104週間にわたってWistarラット(雌雄各70匹/群、このうち雌雄各8匹/群をそれぞれ13、26、52および78週経過時に屠殺した)に自由に摂取させた。その結果、立毛、脱毛、削瘦、歩行異常、白内障などの異常症状が180ppm投与群の雌雄に観察された。同群の雌においては投与期間の早期に死亡例が他の投与群に比べて若干多くみられた。体重増加抑制が180ppm投与群の雌雄に認められた。尿検査において、蛋白および潜血の増加が180ppm投与群の雌に認められた。眼科学的検査において、縮瞳が30ppm以上の投与群の雌雄に、白内障、網膜血管の蛇行が180ppmの雌雄に、虹彩と水晶体などの癒着による散瞳不全が30ppm投与群の雄および180ppm投与群の雌雄に認められた。血液学的検査において、赤血球数、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の減少ならびに白血球数の増加が180ppm投与群の雄に、ヘマトクリット値およびヘモグロビン濃度の減少が同群の雌に認められた。血液生化学的検査において、アルカリフォスファターゼ活性および尿素窒素の上昇が180ppm投与群の雌に認められた。血漿ChE活性の阻害が雌雄とも30ppm以上の投与群で、血球ChE活性の阻害が雄では30ppm以上および雌では10ppm以上の投与群で、また脳ChE活性の阻害が雌雄とも10ppm以上の投与群に認められた。病理組織学的検査において、眼球網膜の外顆粒層および内顆粒層の萎縮ないし白内障が180ppm投与群の雌雄に認められた。その他、種々の腫瘍性病変が認められたが、その発現頻度に用量相関性はなく、自

然発生的な変化と考えられた。以上のことから、サイアノックスにはラットに対して発癌性はなく、また本試験における無影響濃度は雌雄とも3 ppmであった。

(残留農薬研究所 1988年)

2. マウス

1、10および100ppmの濃度でサイアノックスを飼料へ混合し、104週間にわたってB6C3F1マウス(雌雄各90匹/群、このうち雌雄各10匹/群をそれぞれ13、26、52および78週経過時に屠殺した)に自由に摂取させた。その結果、血漿 ChE 活性の阻害が雄では10ppm以上および雌では100ppm投与群で、血球 ChE 活性の阻害が雄では100ppmおよび雌では10ppm以上の投与群で、また脳 ChE 活性の阻害が雌雄とも100ppm投与群に認められた。腎臓の絶対および相対重量の増加が100ppm投与群の雄に認められた。その他、一般症状、体重、摂餌量、摂水量、尿検査、眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査、肉眼的病理検査および病理組織学的検査においては、サイアノックスの投与と関連のある変化は認められず、腫瘍性病変の発現頻度の増加もなかった。以上のことから、サイアノックスにはマウスに対して発癌性はなく、また本試験における無影響濃度は雌雄とも1 ppmであった。(大雄会医科学研究所 1986年)

生体機能に及ぼす影響

1. 薬理試験

ラット、マウス、モルモット、ウサギおよびネコの生体あるいは摘出標本を用いて、サイアノックスの中樞神経系、循環器系、自律神経系、平滑筋、消化器および骨格筋に対する作用について調べた。また本剤はChE阻害作用を有する化合物であることから、マウスの脳を用いて *in vitro* におけるChE活性に対する作用をエゼリンと比較した。その結果、マウスにおける1000 mg/kgの経口または腹腔内投与により呼吸促進、流涎、間代性痙攣および振戦などのコリン作動性の症状が認められた。ネコにおける5 mg/kg以上の静脈内投与により血圧低下、脳局所血流量の増加および脳波に低振幅速波が認められた。血圧低下についてはアトロピンにより遮断されなかったことから、コリン作動性神経の賦活化によるとは考えられなかった。心電図に対する影響は認められなかった。ウサギの角膜に対しては50%濃度で反射抑制が認められたが、刺激作用はなかつ

た。ウサギおよびモルモットの摘出腸官に対しては非特異的な筋弛緩作用が認められた。ウサギの心房に対してはアトロピンで影響を受けない収縮力の抑制が認められたが、心室筋に対しては影響しなかった。ラットの神経筋接合部に対しては神経刺激による収縮が増強されたが、筋刺激による収縮に対しては逆に抑制された。ウサギ摘出耳殻血管に対してはノルアドレナリンの作用が抑制されたが、直接的な作用は認められなかった。マウスの脳におけるChE活性に対して抑制作用が認められたが、その作用はエゼリンと比較して遙かに弱いものであった。(和歌山県立医科大 1971年)

2. 解毒試験

1500mg/kgのサイアノックスをマウスに、また1000mg/kgをラットにそれぞれ経口投与(いずれも致死量に近い量)し、各種薬剤による解毒作用について検討した。その結果、マウスにおいて5~40mg/kgのアトロピン、25および50mg/kgの2-PAMならびに100および200mg/kgの還元型グルタチオン(GSH)の単独処置はいずれも生存率を上昇させ、またこれらを併用することにより更に高い効果が認められた。ラットにおいては1~100 mg/kgのアトロピン処置により顕著な中毒症状の改善や生存率が認められた。また2-PAMおよびGSHの単独処置による解毒効果は軽度であったが、アトロピンとの併用で高い生存率を示した。(住友化学 1973年)

まとめ

サイアノックスの急性毒性は比較的弱く、発現する中毒症状の殆どはChE活性の阻害に基づくコリン作動性神経の過興奮に起因すると考えられた。その他、筋に対して非特異的な弛緩作用を有すると考えられた。体内に吸収されたサイアノックスは速やかに代謝を受けて排泄され、組織への残留も認められなかった。解毒法としては、他の有機リン剤と同様に、アトロピン、2-PAM、還元型グルタチオンなどの処置が有効であり、これらの処置を併用することにより更に高い治療効果が認められている。また、サイアノックスは眼および皮膚に対する刺激性、皮膚感作性、遅発性神経毒性、催奇形性を有さず、繁殖能に対する影響も認められなかった。変異原性については、*in vitro* の試験系において軽度ではあるものの陽性反応がみられたが、*in vivo/in vitro* および *in vivo* の試験系ではいずれも陰

性であることから、哺乳動物に対しては変異原性を発現する可能性は低いと考えられた。ラットおよびマウスを用いた亜急性毒性試験、慢性毒性試験ならびに発癌性試験においても ChE 活性の阻害作用が主要な影響であった。その他、慢性毒性・発癌性試験においては高用量投与により眼に対する影響、貧血傾向、尿蛋白と潜血の増加、血清アルカリフォスファターゼ活性と尿素窒素の上昇がラットに、また腎臓重量の増加がマウスに認められたが、ラットおよびマウスに対する発癌性は認められなかった。サイアノックスの慢性毒性試験における無影響濃度は、ラットで 3 ppm (0.101mg/kg/日に相当する) およびマウスで 1 ppm (0.1mg/kg/日に相当する) であった。

サイアノックスの登録保留基準値は果実0.2ppm、野菜0.05ppm、豆0.1ppmと設定されている。サイアノックスは決められた使用基準や注意事項を遵守すれば安全性は確保できると考えられる。

問合せ

住友化学工業株式会社 農業化学品管理室

〒103 東京都中央区日本橋 2-7-9