

カーバメイト系化合物の毒性に関する研究

I. 3-Methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate の 亜慢性毒性

宮尾 陟・石黒 茂
河野 猪三郎・安田 宜紘

Studies on the Toxicity of Carbamate Compounds

I. Sub-chronic Toxicity of 3-Methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Noboru MIYAO, Shigeru ISHIGURO
(Laboratory of Veterinary Pharmacology)

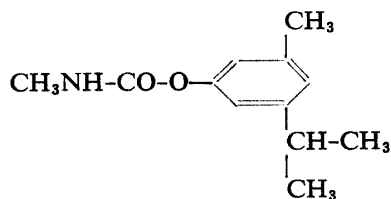
Isaburo KONO and Nobuhiro YASUDA
(Laboratory of Veterinary Pathology)

第2次大戦後、農業の著しい発展は農業生産の面で大きな貢献をなした。初期のものは殺虫効果はすぐれているが、反面人畜に対する毒性も強く、その後低毒性のものが続々開発されてきている。それでもなお、近年になって公害問題がクローズアップされるとともに、残留毒性など思いがけない問題がおこってきている。

置換 phenyl-N-methylcarbamate 類の化学構造と作用機構の関係については多くの研究がなされているが、その慢性毒性については、あまり調べられていない。一般に残留毒性の点では、そう問題がないものとされているが、たまたま新しい carbamate 系化合物の二、三について、その毒性を検討する機会を得たので、その結果を報告する。

材料ならびに方法

3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate は、分子式 $C_{12}H_{17}NO_2$ で、以下の構造のものである。



分子量 207.3, 融点 $87\sim 88^{\circ}C$ で、水に対する溶解性は極めて低く、 92 mg/l であり、有機溶媒では Carbon tetrachloride, xylol に $10\sim 20\%$ cyclohexanol, isopropanol, methanol, benzylalcohol, isobutanol

に $20\sim 40\%$, aceton, ethylenchloride に $40\sim 60\%$ である。ラットおよびマウスに対する経口急性毒性は、 LD_{50} がそれぞれ $20 (19\sim 22)\text{ mg/kg}$, $23 (16.4\sim 30.2)\text{ mg/kg}$ といわれているものである。

(1) マウス、ラットにおける経口急性毒性

上記の LD_{50} では動物が全く死亡しなかったので、マウス、ラットに対する経口急性毒性を検討した。マウスは ddN 系の♂, 体重 $20\sim 26\text{ g}$ のものを、ラットは Wistar 系の♂, 体重 $180\sim 240\text{ g}$ のものを用い、前者は1群10匹、後者は5匹とした。どちらも1ケージに4~5匹を収容し、薬物投与前24時間絶食(水のみは自由に与えた)せしめ、投与2時間後より自由にした。

投与方法はこの methylcarbamate の5% アラビアゴム末水溶液懸濁液をつくり、マウスには $0.1\text{ ml}/10\text{ g}$, ラットには $0.1\text{ ml}/100\text{ g}$ になるようにして、金属製胃ゾンデ針を用い、胃中に注入した。薬量は Table 1 のとおりであり、マウス、ラットにおける公比は、それぞれ 1.5, 1.3 である。投与後1週間観察した。 LD_{50} の計算は LITSHFIELD-WILCOXON 法¹⁰⁾によった。

(2) 亜慢性毒性

供試動物: Wistar 系ラット (6週令, 投与開始時の体重 ♀ $100\sim 130\text{ g}$, ♂ $160\sim 180\text{ g}$). ddN 系マウス (5週令, 投与開始時の体重 ♀ $17\sim 19\text{ g}$, ♂ $17\sim 21\text{ g}$). 開始投与前1週間予備飼育した。

飼育条件: 1ケージに5匹を収容し、餌(日本クレア CE-2) および水は自由に与えた。飼育時の室温

15~25°C.

薬物濃度と供試動物数：

I 群 ♂10, ♀10 50 mg/kg (ラット) 20 mg/kg (マウス) 投与

II 群 ♂10, ♀10 33 mg/kg (ラット) 13.7 mg/kg (マウス) 投与

III 群 ♂10, ♀10 22 mg/kg (ラット) 8.9 mg/kg (マウス) 投与

IV 群 ♂10, ♀10 対照 (5%アラビアゴム末水溶液を投与)

投与期間：3カ月

薬物：上記 methylcarbamate を細砕して 5%アラビアゴム末水溶液で懸濁液とし、ラットでは 0.1 ml/100 g, マウスでは 0.1 ml/20 g の割合で、金属製胃ゾンデ針を用いて、連日胃内に注入した。

剖検：途中死亡例は剖検後 10%ホルマリンに固定した後、パラフィン包埋、H.E. 染色を行ない、病理組織学的検索を実施した。

生存動物は3カ月の投与期間終了後、ラットは尾静脈より血液を採取して、血液検査を行なった後、腹腔内に 0.05%ヘパリン 0.4 ml を注入、約20分後 Nembutal 麻酔を実施、麻酔後開胸して心臓より採血し、血漿分析用の試料を採取、直ちに剖検して臓器重量を測定、以後臓器、死体とも 10%ホルマリンに固定して、組織検索の材料とした。

マウスは断首後、血液を時計皿に採取して血液検査を実施、残りを血漿分析用試料としたが、ごく微量であり、ことにI群のごとき生存したものは2例のみであり、各群適当にプールして試験しても、意味ある考察は不可能と考え、血漿タンパクのみをタンパク計によって測定した。

血液検査：血球数はトーマツァイス型血球計算盤を用いて、所定のとおり行なった。白血球細胞型別百分率は塗抹標本について、ギムザ染色後鏡検した。ヘモグロビン (Hb) 値はザリー法により、ヘマトクリット値は毛細管法により、所定のとおり実施した。

血漿分析：分析方法は次のとおりである。

GOT, GPT: REITMAN-FRANKEL 法の柴田・高橋変法⁹⁾, 尿素窒素: diacetyl monoxime 法⁵⁾, 血糖: 全血について SOMOGYI-NELSON 法¹³⁾, タンパク: 日立タンパク計で測定. コリンエステラーゼ (ChE): 血漿については phenolred 指示薬法⁸⁾に基づき, pH の変化をガラス電極 pH メーターによって測定. 脳については生理食塩水でホモジナイズした後, HESTERIN 法⁴⁾によった。

実験結果ならびに考察

1) 経口急性毒性

Table 1 に本 methylcarbamate の経口投与後の死亡状況を示した。ラット、マウスとも、そのほとんどが投与当日に死亡し、ことに高濃度では、投与後1時間以内に死亡するものがほとんどであった。

表の死亡率から計算した LD₅₀ はラットで 60 (42.3~85.1) mg/kg, マウスで 39.5 (33.1~47.2) mg/kg であり、上記のラット 20, マウス 23 mg/kg は誤まりと思われる。この結果から亜慢性毒性試験の薬用量を前記のように定めた。

2) 連日投与後の一般状況と死亡状況

ラットでは連日投与開始4週目頃より、I, II 群において、投与後30分位で頭部を低く下げ、流涎、流涙が認められ、さらに四肢弛緩、全身の振せんを示すものがあつたが、これらの所見はいずれも2, 3時間

Table 1. Death condition of the rat and mouse after a single oral administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Animal	Quantity of drug administered (mg/kg)	Number of daily dead animal							Ratio of dead animals to survivors	Mortality (%)
		1	2	3	4	5	6	7d		
Rat	22.1	0	0	0	0	0	0	0	0/5	0
	28.7	1	0	0	0	0	0	0	1/5	20
	37.3	1	0	0	0	0	0	0	1/5	20
	48.5	1	1	0	0	0	0	0	2/5	40
	63.1	3	0	0	0	0	0	0	3/5	60
	82.1	3	0	0	0	0	0	0	3/5	60
	106.7	5	0	0	0	0	0	0	5/5	100
Mouse	15.0	0	0	0	0	0	0	0	0/10	0
	22.5	1	0	0	0	0	0	0	1/10	10
	33.6	3	0	0	0	0	0	0	3/10	30
	50.5	8	0	0	0	0	0	0	8/10	80
	75.8	10	0	0	0	0	0	0	10/10	100

Table 2. Weekly cumulative numbers of animals died in the course of the test period

Animal	Group	Sex	Weeks after the first administration												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Rat	I	♂	2	2	2	3	3	3	3	3	4	4	4	5	5
		♀	0	0	2	4	4	4	4	4	7	7	7	7	8
	II	♂	0	0	0	0	1	1	1	1	2	2	2	2	2
		♀	0	0	1	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5
Mouse	I	♂	0	0	3	7	8	8	8	8	8	8	8	8	8
		♀	0	0	0	3	6	7	8	9	10	10	10	10	10
	II	♂	0	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		♀	0	1	4	6	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	III	♂	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		♀	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3
	IV	♂	0	0	0	0	0	0	1	1	1	2	2	2	2
		♀	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

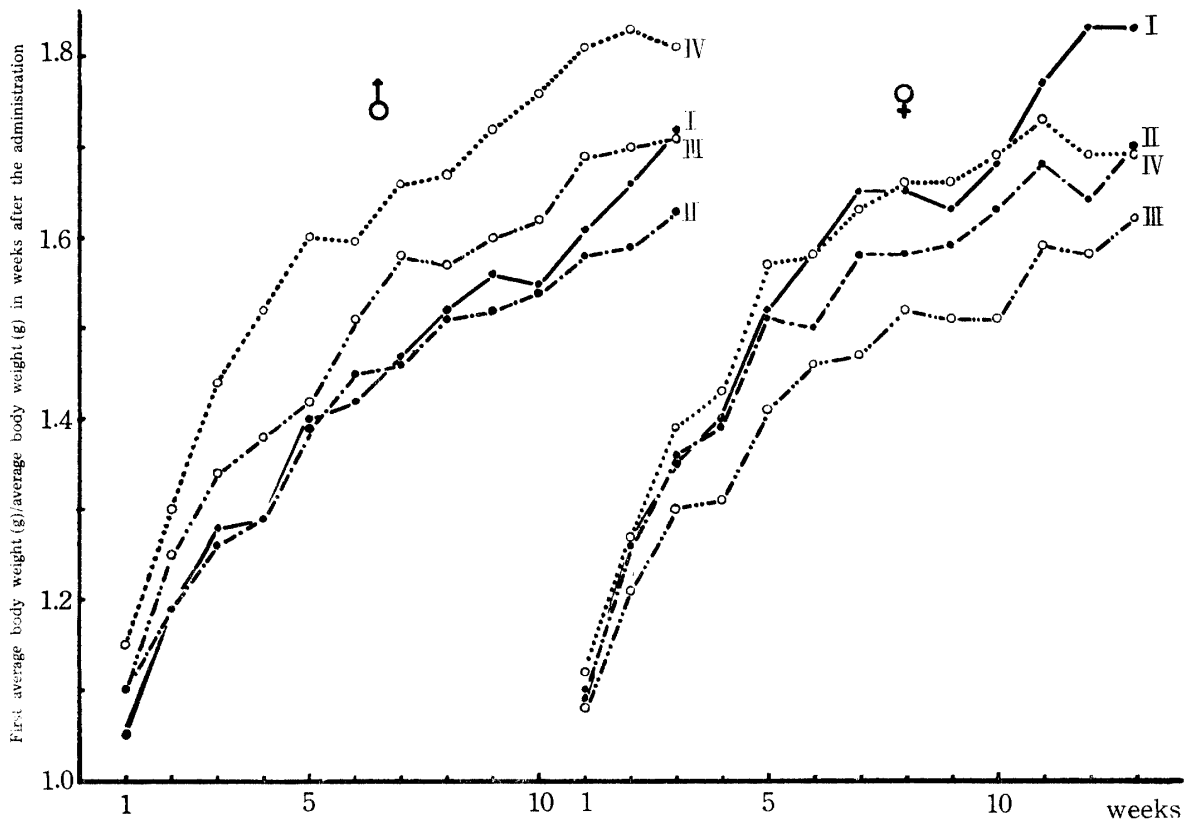


Fig. 1. The rate of body weight increase in rats in each week during the test period.

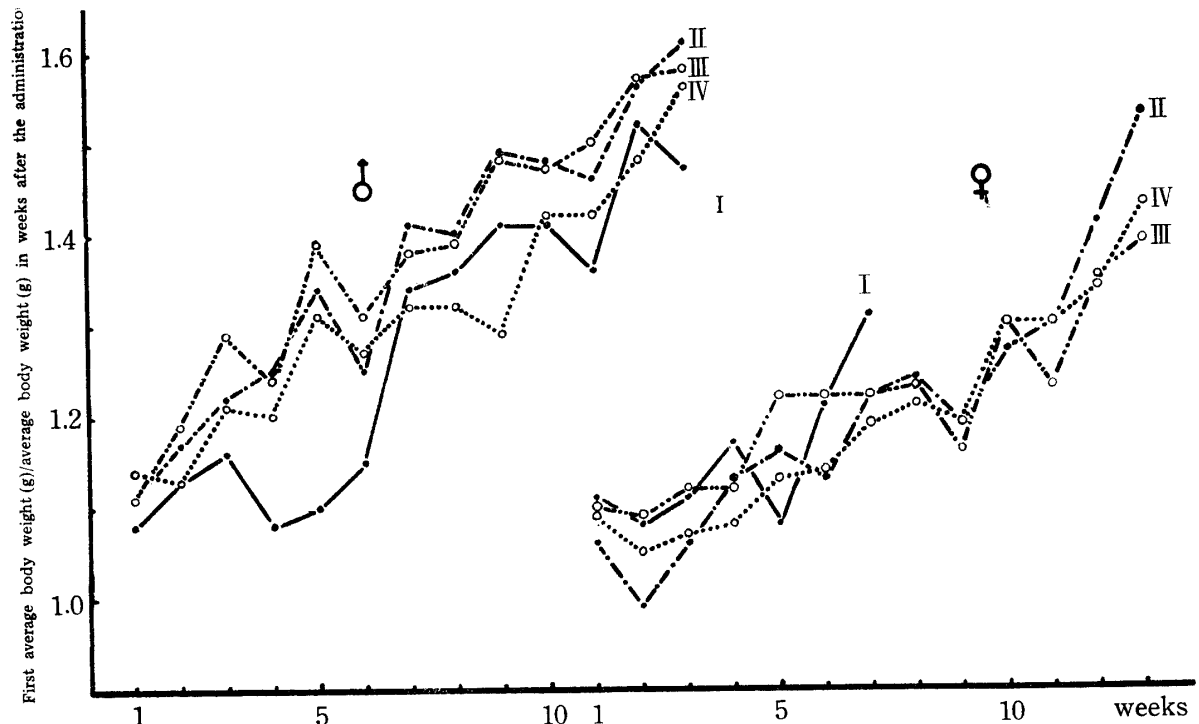


Fig. 2. The rate of body weight increase in mice in each week during the test period.

で消滅した。マウスではI群においてのみ、投与10分後位に振せんを生じ、30分程度持続の後回復するもの、ならびに自由運動の失調を呈するものがあったが、その他の群では、とくに注目すべき所見を呈するものはみられなかった。

投与後の経過的にみた死亡状況は Table 2 のとおりであり、やや♀の方が感受性が高いようである。なお対照の死亡例は病理検索の結果からみて、誤嚥によると思われる例がいくつかみられている。

3) 体重増加率に及ぼす影響

Fig. 1 (ラット), Fig. 2 (マウス) に毎週1回測定した体重の平均値と、投与開始時の体重平均値との割合を示した。ラットではI群の♀を除いて、対照より増加率は悪いようである。ただI群の♀は、その多くが途中で死亡して、最後まで残ったのは2例のみであり、薬物に対する抵抗性がとくに強くて、順調に体重増加をとげた少数例の平均をとったために、高い増加率を示したとも考えられ、一般的には発育に負の影響を与えているものと思われる。もう1つ興味のあることは、対照と投与量の少ないIII群では、♂の方が♀より増加率が高いが、投与量の多いI、II群では、これが逆になっていることであり、♀の方がやや感受性が高いと思われる傾向と、むしろ逆の現象がみられることである。

マウスでは、これらの現象は全くみられなかった。I群の♀は途中で全例死亡したためはっきりしないが、その他ではすべて♂の方が発育がよく、投与群と対照の間では、投与群の方がむしろよい発育率を示しているか、あるいは対照とほとんど同じで、発育の抑制傾向は認められていない。

4) 血液検査結果

Table 3 に殺時の赤・白血球数、血色素量、ヘマトクリット値の平均値を、Table 4, 5 に個々の動物における白血球の細胞型別百分率を示した。マウスI群の空欄は♀が全例死亡したため、♂のヘマトクリット値は、生き残った2例とも測定に失敗したためである。ラット、マウスとも、対照のIV群と比べてとくに差異はないようである。ただラットIV群♂の白血球数に比べると、投与群♂のそれは相当低いことになるが、IV群♂の偏差の大きいことからわかるように、たとえば Table 4 のIV群♂の No. 11 の白血球数は13,500、12は16,400、22が13,700と高い値を示していた。これらはいずれも細胞型別百分率においては、他と比べてとくに認めべき変化がないため、これらも加えて平均をとったが、これらをはぶけば、大体他と同様な値を示すものと思われる。

白血球の細胞型別百分率については、個体によって、ある程度の相違を示すので、一応全例について

Table 3. Some blood valuer in animals sacrificed after the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate*

Animal	Group	Sex	Number of samples	Erythrocyte count (10 ⁶)	Leukocyte count (10 ³)	Hemoglobin concentration (%)	Hematocrit value (%)
Rat	I	♂	5	9.45±0.56	6.6±1.7	110±3	49.6±1.4
		♀	2	9.89±1.18	7.3±0.5	111±2	50.3±1.7
	II	♂	8	9.95±1.03	5.8±1.0	119±16	51.3±2.2
		♀	5	8.88±0.92	6.0±1.9	120±5	47.0±1.4
III	♂	9	10.26±1.51	7.5±1.9	115±12	51.5±3.2	
	♀	10	9.94±0.94	5.8±1.4	113±5	50.0±2.4	
IV	♂	9	9.02±1.64	9.9±3.9	110±11	49.6±2.7	
	♀	10	9.19±1.10	6.9±2.6	104±5	48.7±1.3	
Mouse	I	♂	2	10.26±0.69	6.9±2.3	95±9	
		♀	0				
	II	♂	7	11.20±0.97	5.0±1.6	89±5	44.7±1.4
		♀	2	11.40±0.73	8.0±1.8	89±4	43.5±1.6
III	♂	7	10.36±1.42	7.4±1.4	83±9	41.7±3.4	
	♀	5	8.29±1.39	8.9±2.6	78±9	43.0±2.5	
IV	♂	8	10.53±1.87	7.3±3.1	86±8	45.7±3.7	
	♀	9	10.25±1.43	7.6±2.3	87±12	44.3±2.3	

* Values given are for mean and standard deviation.

Table 4, 5 に示した。対照に比べて著しい変化を示すものはなかったが、好中球の増数を示すものが、投与群にやや多くみられるようである。たとえばラットではI群♂の No. 11, 21, ♀の No. 45, II群♀の No. 42, マウスではI群♂の No. 31, III群♂の No. 35, 42 などである。これらは後述の病理組織学的検索からわかるように、気管支周囲炎、肝炎など何らかの形で炎症をおこしているものであるが、これらと薬物との関係については病理組織学的検索のところで考究する。いずれにして本薬物は血液所見に対しては、とくに影響を与えていないものと思われる。

5) 血漿分析結果と脳 ChE

ラットでは血漿について GOT, GPT, ChE 活性、尿素-N, タンパクを、全血について血糖値を、さらに脳 ChE 活性を測定した。マウスでは前述の理由で、血漿タンパクのみを測定した。それらの結果は Table 6 のとおりである。血清 GOT, GPT は肝疾患、肝胆道疾患、心筋硬塞、筋ジストロフィーなどで高値を示すといわれる¹²⁾が、その正常値域はヒトの場合、KARMEN 単位で 0~50, 0~45 と相当の巾がある。従って本例の場合、Table 8, 9 にみるように心筋のエ死、充血などを示す例もあるが、とくに対照と比べて差があるとはいえない。

尿素-N, タンパク (血漿について測定しているの

で、fibrinogen が含まれることになる)も、ほとんど変化がなく、これらの面からは、本薬物は肝なり腎なりにほとんど影響を与えていないようである。ところが血糖値はIII群でやや高く、I, II群では相当の高値を示していた。中毒症状などで痙攣をおこした後、一時的に高血糖を示すことは考えられるが、本例の場合痙攣をおこしやすい状態にあったとしても、血糖値が高すぎるようであり、肝、筋肉の glycogen 量はもちろん、血糖の維持調節に関係する種々の要因を調べた上でなければ何ともいえない。次報⁶⁾の m-[[[(dimethylamino)methylene]amino]phenylmethylcarbamate による結果では、それほどの高値が認められていないので、I, II群の著しい高血糖値が、薬物の直接の影響とは認め難く、この点は今後の追求をまたねばならないであろう。

ChE 活性度は血漿、脳組織とも、平均値では投与群でとくに減少する傾向はみられなかった。しかし血漿 ChE の場合、個体差が相当大きいこと、*pH* の値が極端に小さいことが注目される。*pH* の正常値はヒトで 0.7~1.1 とされており、現在の成績ではその 1/10 以下である。こころみにマウスで測定してみると、大体ヒトに近い値が得られ、簡易測定法であるアコレストでも、マウスの場合には試験紙の色調が変化したが、ラット血清では全く変化しなかった。一応

Table 4. Differential leukocyte count in percentage in rats sacrificed 3 months after the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Group	Sex	No.	Basophil	Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte		
I	♂	11	0.9	0.9	24.9	72.9	0.9		
		12	0.0	1.4	12.9	84.3	1.4		
		15	0.4	0.0	11.4	88.5	0.4		
		21	0.0	0.9	27.9	70.8	0.4		
		22	0.5	1.8	17.0	80.0	1.3		
	♀	33	0.0	5.0	16.5	77.5	1.0		
		45	0.5	0.9	32.1	66.5	0.0		
		II	♂	11	0.0	1.9	13.0	84.7	0.5
				13	0.0	2.0	21.0	76.5	0.5
				14	0.0	1.0	14.5	83.6	1.0
21	0.0			1.9	22.1	74.5	1.4		
22	0.0			1.9	15.5	81.2	1.4		
23	0.0			2.0	22.5	74.0	1.5		
24	0.0			1.5	23.4	74.2	1.0		
25	0.0		1.7	15.7	82.2	0.4			
♀	34		0.0	2.8	22.5	73.2	1.4		
	41		0.0	0.5	19.4	78.6	1.5		
	42	0.0	2.9	34.5	61.7	1.9			
	44	0.0	4.3	22.6	71.6	1.4			
	45	0.0	1.4	24.4	73.7	0.5			
III	♂	11	0.0	0.0	15.5	84.0	0.5		
		12	0.0	0.0	19.8	80.2	0.0		
		13	0.0	1.0	10.6	87.0	1.5		
		14	0.0	3.0	39.8	55.2	2.0		
		21	0.0	2.0	24.0	71.5	2.5		
		22	0.0	1.5	7.8	84.8	1.0		
		23	0.0	0.0	15.9	81.6	2.5		
		24	0.0	2.0	15.0	80.0	3.0		
		25	0.5	1.0	15.0	83.5	0.0		
		♀	31	0.0	2.0	12.0	85.5	0.5	
	32		0.0	1.0	13.0	85.0	1.0		
	33		0.5	1.0	15.5	88.0	0.0		
	34		0.0	1.0	19.0	80.0	0.0		
	35		0.0	2.0	19.5	77.5	1.0		
	41		0.5	4.8	16.2	78.6	0.0		
	42		0.5	1.0	25.0	73.5	0.0		
	43		1.0	1.5	24.5	72.5	0.5		
	44		1.0	0.5	22.0	71.5	0.0		
	45		0.0	0.5	19.0	79.5	1.0		
	IV	♂	11	0.0	0.0	17.3	82.7	0.0	
12			0.0	1.5	17.3	81.2	0.0		
14			0.0	0.5	27.5	71.0	1.0		
15			0.0	0.5	16.5	74.5	8.5		
21			0.0	0.0	19.0	77.0	4.0		
22			0.0	0.0	29.9	70.1	0.0		
23			0.0	0.0	26.9	72.1	0.1		
24			0.0	0.5	17.0	81.5	1.0		
25		0.0	3.0	13.6	79.8	3.5			
♀		31	0.0	0.5	10.0	85.5	4.0		
		32	0.5	1.5	15.5	82.5	0.0		
		33	0.5	1.5	9.8	87.8	0.5		
		34	0.0	3.0	14.0	82.5	0.5		
		35	0.0	3.0	20.0	76.5	0.5		
		41	0.5	2.5	14.5	80.5	2.0		
	42	0.0	4.0	14.0	81.5	0.5			
43	0.0	1.5	14.0	83.0	1.5				
44	0.0	3.5	17.9	77.6	1.0				
45	0.0	1.5	13.0	85.0	0.5				

Table 5. Differential leukocyte count in percentage in mice sacrificed 3 months after the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Group	Sex	No.	Basophil	Eosinophil	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte
I	♂	31	0.0	2.2	50.7	46.0	1.2
		42	0.0	7.4	17.5	74.3	0.9
II	♂	32	0.0	1.0	23.7	74.8	0.5
		33	0.0	2.0	18.0	79.0	1.0
		35	0.0	0.5	7.5	92.0	0.0
		41	0.0	3.9	26.5	69.7	0.0
		42	0.0	15.5	25.3	59.1	0.9
		44	0.0	5.5	19.0	75.5	0.0
		45	0.0	4.6	14.8	79.2	1.4
	♀	11	0.0	0.0	9.5	90.0	0.5
		23	0.0	0.0	12.9	86.6	0.5
	III	♂	31	0.0	5.1	19.6	74.4
32			0.0	4.0	29.2	65.5	1.3
34			0.0	4.9	26.9	67.3	1.1
35			0.0	2.8	40.3	56.9	0.0
41			0.0	3.9	16.5	78.7	1.0
42			0.0	2.8	42.5	54.7	0.5
43			0.0	4.3	19.3	75.0	1.4
44			0.0	5.4	27.3	66.3	1.0
♀		11	0.0	3.3	11.4	84.6	0.8
		13	0.0	0.9	14.4	83.3	1.4
		15	0.0	2.3	12.6	84.2	0.9
		21	0.0	1.5	7.1	89.6	1.0
		22	0.0	3.3	8.6	88.2	0.0
		23	0.0	3.0	17.3	78.7	1.0
25	0.0	2.5	4.6	91.9	1.0		
IV	♂	32	0.0	0.5	20.0	77.5	2.0
		33	0.0	0.0	11.3	87.7	1.0
		34	0.0	0.5	21.0	69.5	9.0
		35	0.0	0.0	12.5	86.0	1.5
		41	0.0	0.0	21.0	74.5	4.5
		42	0.0	0.0	15.0	83.5	1.5
		43	0.0	4.4	10.8	83.7	1.0
	45	0.0	7.4	22.3	69.8	0.5	
	♀	11	0.0	5.8	15.5	77.4	1.5
		12	0.0	0.0	15.9	89.1	4.5
14		0.0	1.3	9.1	70.5	19.2	
15		0.0	0.0	31.7	62.7	7.0	
21		0.0	0.0	5.4	93.2	1.5	
22		0.0	0.0	6.5	90.0	3.5	
23		0.0	1.5	10.5	86.0	2.0	
24		0.0	0.5	23.3	72.8	3.5	
25	0.0	3.8	10.4	85.3	0.5		

ΔpH が 0.08 以上の例数は、I 群では ♂, ♀ ともに 0, II 群では ♂ 0, ♀ 3, III 群では ♂ 0, ♀ 6, 対照では ♂ 0, ♀ 4 となっており、対照ならびに低濃度群の方が高濃度群に比べて、活性値の高いものが多いとはいえるが、本 carbamate はこの程度の濃度の連日投与では、それに耐えた生存ラットにおいては、ChE 活性の低下は認められないとみてよいであろう。ラットの ChE 活性については、殺時の麻酔の仕方などで低下するという意見もあり、他の測定方法たとえば WARBURG 検圧計による方法、比較的新しいを 5,5-

dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) 用いる方法²⁾³⁾¹¹⁾などによって再検討するつもりである。

6) 臓器重量

殺時の臓器重量を殺時の体重との比率で表わした結果は Table 7 のとおりである。マウス I 群の♀の空欄は全例死亡したためであり、マウス甲状腺のそれは小さすぎて測定不可能なためである。体重増加率は、ラットでは一般的に負の影響があることを前述した。従って体重増加抑制と臓器実質重量の増加を考え合わせると、ラットでは投与群における臓器重量比が、対

Table 6. Some plasma analyses and brain cholinesterase activity in animals sacrificed 3 months after the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate*

Group	Sex	Number of samples	Rat							Mouse	
			Plasma					Brain		Number of samples	Plasma Protein (%)
			** GOT	** GPT	Urea nitrogen (mg/dl)	Glucose [#] (mg/dl)	Protein (%)	Cholinesterase (ΔpH)	Cholinesterase ^{##} (mg/g)		
I	♂	5	27.7 ± 2.7	11.8 ± 1.9	22.1 ± 3.6	261 ± 56	7.1 ± 0.1	0.03 ± 0.007	41.1 ± 1.8	0	
	♀	2	33.5	18.7 ± 2.8	24.6 ± 0.4	240 ± 12	6.2	0.04	38.9 ± 5.0	0	
II	♂	8	34.0 ± 10.1	11.1 ± 4.1	23.9 ± 1.8	280 ± 59	6.5 ± 0.6	0.03 ± 0.01	40.2 ± 7.4	7	6.8 ± 0.5
	♀	5	35.1 ± 2.7	14.7 ± 2.6	24.1 ± 1.8	259 ± 25	7.1 ± 0.3	0.08 ± 0.04	45.3 ± 6.2	2	6.2 ± 0.2
III	♂	8	33.9 ± 5.0	13.0 ± 4.1	23.9 ± 5.4	146 ± 24	7.2 ± 0.7	0.02 ± 0.004	47.3 ± 7.7	7	7.4 ± 0.3
	♀	10	44.0 ± 8.4	13.8 ± 2.6	24.1 ± 5.2	163 ± 17	6.5 ± 0.6	0.10 ± 0.06	56.2 ± 4.4	5	6.8 ± 0.8
IV	♂	9	39.1 ± 4.8	15.4 ± 1.2	24.6 ± 3.1	129 ± 15	6.9 ± 0.7	0.05 ± 0.02	40.7 ± 3.2	5	7.0 ± 0.9
	♀	10	32.2 ± 4.5	12.4 ± 2.4	28.9 ± 2.2	133 ± 40	7.2 ± 0.5	0.06 ± 0.05	45.1 ± 7.1	9	7.0 ± 0.4

* Values given are for mean and standard deviation.

** REITMAN-FRANKEL unit.

Analyzed with whole blood.

Quantity of acetylcholine hydrolyzed at 37°C for 1 hour per gram of brain.

象より高いものがあったとしてもよいと考えられるが、そのような傾向はなく、むしろ脾、卵巢などでは対照より低い値を示し、その他の臓器ではほとんど差がなかった。脾における投与群の重量比の低下は、体重増加抑制傾向のなかったマウスにおいても同様にみられており、脾の病変としては濾胞萎縮、貧血、細網細胞増殖などであるが、後述のようにとくに中毒病変とはみていないので脾重量の低下は薬物の影響と断定はできない。卵巢は後述のように卵發育不良が投与群に多くみられるので、重量低下は薬物の影響とも考えられる。

7) 病理組織学的所見

各群 20 匹の中、ラットでは I 群 13 匹、II 群 7 匹、III 群 1 匹、対照 (IV 群) 1 匹が、マウスでは I 群 18 匹、II 群 11 匹、III 群 5 匹、IV 群 3 匹が途中死亡した。これらの病理組織所見の結果は Table 8 のとおりである。また Table 9 には最後まで生存したものの主要病変を示した。一般に途中死亡したものは、死後時間が経過、あるいは友食いなどあり、自家融解が

顕著で、判定が困難なものが多かったが、途中死亡例と生存例とで、とくに異なる所見は認められず、共通してみられる所見が多い。ラット、マウスでも共通の所見が多いが、ただ卵巢における卵發育不良だけは、マウスにのみ認められた所見であった。

まず対照にみられる肝炎は感染性炎症、気管支周囲炎は経口投与の際の一種の刺激によるリンパ組織の反応と考えられる。腎、副腎の充血は瀕死期のものである。I 群ラットの病変では心筋のエ死は軽度であるが、一種の中毒かとも思われる。しかし、発生例数が少なく中毒病変と定めることは難しい。その他腎の変性以外は対照にもみられるものがあり、直接薬物との関係はないようである。マウスでは肝変性が本薬物の中毒と思われ、卵の發育不良も、対照に 1 例のみ認められるが、投与例に多くみられるのでその影響と考えられる。間質性腎炎は一種の感染症であろう。II 群ラット生存例 (Table 9) における肝変性、腎の硝子滴変性は一種の中毒と考えられる。途中死亡例における

主な死因は肺充血、肺炎などであるが、その他の病変も含めて直接薬物との関係はないようである。マウス死亡例の主な死因は肝変性、肝ウツ血、大脳出血であり、これらは薬物による影響と思われる。卵の発育不良もその影響であろう。生存例においては、もっとも多くみられる変状は肝変性であり、中毒病変であろう。Ⅲ群ラットにおいても、肝変性は一種の中毒と思われるが、その他の病変は対照にもみられるので、主として瀕死期の病変であろう。マウスにおいても肝変性は全例にみられた。肝炎、肺炎、腎炎は対照にもみられるので一種の感染症であろう。総括的にみて薬物と関係ある変状は肝変性、腎変性、大脳出血であり、肝ウツ血は対照のラットの1例で認められるが、投与群の方に非常に認められる病変であり、中毒病変と考えたい。マウスにのみ認められる卵の発育不良も同様であり、ラットにのみ少数例認められた心筋のエ死は中毒病変とも考えられるが、断定はできない。

置換 phenyl-N-methylcarbamate は有機リン化合物、その他の carbamate 化合物と同様、ChE の競合的阻害剤であり、立体障害とくに ChE の anionic site との作用が、生物活性を決定するための重要な因子であり、置換基の種類、結合位置、炭素数などが、ChE 阻害度に影響するといわれている⁷⁾。本薬物のマウス、ラットに対する経口急性毒性 LD₅₀ 39.5, 60 mg/kg は、他の phenyl-N-methylcarbamate たとえば 2-chloro-4,5-dimethylphenyl である carbanolate (マウス 45.8 mg/kg), 0-chlorophenyl である CPMC (マウス 150), 4-ethylmercaptophenyl である toxamate (マウス 109), 2-isopropoxyphenyl である PHC (ラット ♂95, ♀104 マウス 41.5), 3,4-dimethylphenyl であるメオパール (MPMC) (マウス 60, ラット ♂380, ♀290), 2-isopropylphenyl である MIPC (マウス 150), 3-methylphenyl である MTMC (マウス 268), 4-dialylamino-3,5-dimethylphenyl である APC (マウス 48), 4-ethylthiophenyl である ECPMC (マウス 109), 2-sec-butylphenyl である SBPMC (マウス 340) などに比べて、相当高い値である。しかし3カ月間連日投与した結果、最高濃度の群でも血漿 ChE, 脳 ChE に活性値の低下はみられなかった。また病理学的検索で、一応肝、腎の変性など中毒病変と思われる結果が得られたが血漿 GOT, GPT 尿素-N などにも大した変状を認めず、血液学的検査においても、とくに著変を認めなかった。またラットにおける高濃度群の高血糖値も、とくに薬物の影響とは考えられず、I,

Ⅱ群では相当の途中死亡例をだしたが、その死因は肺の病変が主であり、中毒病変と思われるものは比較的少なかったことなどからみて、代表的 carbamate である carbaryl (ラットにおける経口急性毒性 LD₅₀ は 400~800 mg/kg とされているが、代謝がきわめて速く、連続摂取の危険性は非常に少ないといわれている¹⁾) ほどでないにしても、農薬として使用の場合、人畜に対する危険性は少ないものと考えられる。

一応死亡状況その他の所見からみて、ラットにおいては、50 mg/kg は確実中毒量、22 mg/kg は中毒病変と思われる病変があるので、最大安全量とまではいえないが、安全量に近い量、33 mg/kg は中間量と考えられ、マウスでは 20 mg/kg は確実中毒量、13.7 mg/kg は中間量より中毒量に近い量、8.9 mg/kg は中間量位と考えられる。

要 約

3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate を、ラットにおいては 50, 33, 22 mg/kg を、マウスでは 20, 13.7, 8.9 mg/kg を、3カ月間連日経口投与し、その毒性を対照と比較検討した。

1. 本薬物の経口急性毒性 LD₅₀ はラットで 60 (42.3~85.1) mg/kg, マウスで 39.5 (33.1~47.2) mg/kg であった。

2. 動物の途中死亡数は、各群20匹(♂, ♀各10)のうち、ラットではI群♂5, ♀8, II群♂2, ♀5, III群♂1, ♀0, 対照♂1, ♀0, マウスではI群♂8, ♀10, II群♂3, ♀8, III群♂2, ♀3, 対照♂2, ♀1匹であった。

3. 体重増加率からみた成長抑制が、ラットではやや認められるが、とくに一定した抑制傾向ではない。マウスでは認められなかった。

4. 血液学的検査では、とくに薬物の影響と思われる変化は認められなかった。

5. 血漿 GOT, GPT, 尿素-N, タンパクはとくに変化を認めなかったが、ラットでは投与群の血糖値が対照に比べて著しく高かった。

6. 投与群における血漿および脳の ChE 活性の低下はみられなかった。

7. 臓器重量もほとんど変化がなかったが、脾、卵巣では投与群の方が相当低かった。

8. 主な病変は肝炎、肝変性、肝ウツ血、気管支周囲炎、肺充血、肺炎、腎、副腎の充血、腎の硝子滴変性、大脳出血、卵の発育不良、心筋のエ死などであるが、このうち中毒病変と考えられるのは、肝、腎の変

Table 7. The weights of various organs of animals sacrificed 3 months after

Animal	Sex	Group	Body weight when killed (g)	Heart	Kidney	Liver	Spleen
Rat	♂	I	294 ± 33	0.341 ±0.034	0.617 ±0.147	3.228 ±0.200	0.176 ±0.032
		II	260 ± 19	0.350 ±0.035	0.684 ±0.041	3.231 ±0.200	0.179 ±0.013
		III	256 ± 32	0.340 ±0.036	0.592 ±0.150	2.763 ±0.583	0.188 ±0.042
		IV	279 ± 47	0.350 ±0.023	0.644 ±0.133	3.055 ±0.170	0.226 ±0.023
	♀	I	202 ± 6	0.410 ±0.002	0.808 ±0.092	4.358 ±0.442	0.178 ±0.006
		II	190 ± 22	0.410 ±0.019	0.755 ±0.052	4.099 ±0.346	0.185 ±0.022
		III	184 ± 7	0.354 ±0.026	0.748 ±0.032	3.390 ±0.320	0.214 ±0.032
		IV	187 ± 20	0.377 ±0.025	0.804 ±0.059	3.411 ±0.059	0.303 ±0.042
Mouse	♂	I	26.4 ± 2.3	0.523 ±0.062	1.658 ±0.070	4.535 ±0.235	0.532 ±0.218
		II	27.4 ± 3.2	0.389 ±0.117	1.294 ±0.254	3.640 ±0.754	0.336 ±0.096
		III	26.6 ± 1.7	0.497 ±0.037	1.534 ±0.141	4.948 ±0.346	0.627 ±0.222
		IV	26.9 ± 3.3	0.461 ±0.043	1.413 ±0.072	4.665 ±0.331	0.732 ±0.223
	♀	I					
		II	24.7 ± 0.1	0.492 ±0.032	1.315 ±0.177	4.955 ±0.655	0.517 ±0.117
		III	22.8 ± 3.1	0.632 ±0.412	1.268 ±0.122	5.430 ±0.331	0.553 ±0.174
		IV	23.7 ± 2.2	0.445 ±0.036	1.309 ±0.164	4.920 ±0.721	0.680 ±0.223

* The weight of organ is expressed as a ratio (%) of organ-weight (g) to body-weight (g)

the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Lung	Adrenal	Thymus	Thyroid gland	Testis	Ovary	Brain
0.731 ±0.125	0.0202 ±0.0035	0.141 ±0.023	0.00810 ±0.00370	0.842 ±0.043		0.567 ±0.041
0.833 ±0.186	0.0293 ±0.0081	0.185 ±0.048	0.00483 ±0.00220	0.905 ±0.111		0.618 ±0.058
0.677 ±0.178	0.0257 ±0.0117	0.169 ±0.027	0.00530 ±0.00172	0.798 ±0.268		0.644 ±0.079
0.695 ±0.114	0.0234 ±0.0092	0.178 ±0.039	0.00632 ±0.00197	0.878 ±0.081		0.624 ±0.102
0.740 ±0.013	0.0415 ±0.0105	0.154 ±0.002	0.00691 ±0.00150		0.0414 ±0.0264	0.808 ±0.007
0.747 ±0.059	0.0340 ±0.0098	0.187 ±0.048	0.00706 ±0.00239		0.0523 ±0.0136	0.796 ±0.059
0.739 ±0.188	0.0349 ±0.0061	0.188 ±0.039	0.00631 ±0.00264		0.0352 ±0.0135	0.871 ±0.074
0.795 ±0.126	0.0365 ±0.0091	0.182 ±0.040	0.00718 ±0.00257		0.0561 ±0.0207	0.821 ±0.054
0.808 ±0.042	0.025 ±0.007	0.111 ±0.024		0.835 ±0.003		1.464 ±0.158
0.823 ±0.246	0.020 ±0.007	0.165 ±0.019		0.676 ±0.132		1.260 ±0.332
1.113 ±0.241	0.034 ±0.006	0.190 ±0.040		0.722 ±0.100		1.463 ±0.141
0.938 ±0.141	0.020 ±0.006	0.177 ±0.068		0.778 ±0.060		1.481 ±0.164
0.808 ±0.079	0.036 ±0.010	0.304 ±0.086			0.044 ±0.022	1.541 ±0.061
0.805 ±0.163	0.039 ±0.005	0.281 ±0.056			0.072 ±0.019	1.336 ±0.200
0.918 ±0.142	0.042 ±0.011	0.263 ±0.055			0.041 ±0.013	1.708 ±0.136

when killed. Values given are for mean and standard deviation.

Table 8. Main histopathological changes in animals died in the course of the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Group	Kind of animals	Number of animals examined	Tissue examined	Findings	Incidence	Average grade
I	Rat	11 (♂4, ♀7)	Liver Kidney Spleen Lung Heart Thymus Cerebrum Cerebellum	Congestion Degeneration Hyperemia Anemia Anemia Hyperemia and hemorrhage Congestion and hemorrhage Peribronchitis Bronchitis Catarrhal pneumonia Abscess Hemorrhage Heart muscle necrosis Hyperemia Hyperemia Hyperemia	7 3 2 1 4 8 1 2 1 2 1 1 1 5 1 1	+ +~# + + + +~# + +~# # # # + + +~# + +
	Mouse	13 (♂3, ♀5)	Liver Kidney Spleen Adrenal Ovary Lung	Degeneration Degeneration Hyperemia Atrophy of splenic nodules Hemorrhage Hyperemia and hemorrhage Atrophy of ovum Hyperemia and hemorrhage Hyperemia	8 5 5 1 2 5 5 5 7	+ # + + + + + + +
II	Rat	5 (♂2, ♀3)	Liver Kidney Lung Cerebrum Cerebellum Thymus	Congestion Hemorrhage Hyperemia Degeneration Hyperemia and hemorrhage Hemorrhage, edema, and congestion Peribronchitis or bronchitis Purulent or catarrhal pneumonia Abscess Hyperemia Hyperemia Hemorrhage	3 1 1 1 2 2 2 1 1 1 1	+ + # # # +~# + #~# # + + #
	Mouse	5 (♂2, ♀3)	Liver Spleen Lung Anrenal Ovary Cerebrum	Degeneration Congestion Congestion Hyperemia and hemorrhage Hemorrhage Atrophy of ovum Hemorrhage	1 2 1 5 1 2 3	+ # # + + + +
III	Rat	1 (♂)	Liver Spleen Lung Thymus	Fatty degeneration Abscess Proliferation of splenocytes Purulent pneumonia Abscess Hyperemia		+ # # # + #
	Mouse	2 (♂1, ♀1)	Liver Lung	Degeneration Hepatitis Hyperemia	1 2 2	+ + +~#
IV	Rat	1 (♂)	Liver Kidney Lung Thymus	Congestion Interstitial nephritis Hyperemia and edema Abscess Hyperemia		# + + # +

Table 9. Main histopathological changes in animals sacrificed after the daily administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate

Group	Kind of animals	Number of animals examined	Tissue examined	Findings	Incidence	Average grade
I	Rat	7 (♂5, ♀2)	Liver Kidney Spleen Adrenal Lung Heart muscle	Hepatitis Nephritis Congestion Hyperemia Pneumonia Peribronchitis Necrosis	3 3 4 1 1 6 1	+ # + # # # +
	Mouse	2 (♂2, ♀0)	Liver Kidney Spleen	Degeneration Interstitial nephritis Hemorrhage	2 1 1	+ # +
II	Rat	8 (♂4, ♀4)	Liver Kidney Spleen Adrenal Lung Testis	Hepatitis Degeneration Hyperemia Hyaline droplets degeneration Congestion Hyperemia Pneumonia Peribronchitis Interstitial edema	1 3 6 3 6 5 1 6 4	+ + + # + + + + +
	Mouse	8 (♂7, ♀1)	Liver Kidney Lung Cerebrum Thymus	Degeneration Congestion Hemorrhage Nephritis Peribronchitis Hemorrhage Hemorrhage	6 1 1 1 1 1 1	+ + + + + + +
III	Rat	7 (♂4, ♀3)	Liver Kidney Spleen Adrenal Lung Testis	Hepatitis Degeneration Hyperemia Degeneration Congestion Hyperemia Peribronchitis Interstitial edema	2 1 2 1 3 2 3 1	+ + + ± + + + #
	Mouse	12 (♂8, ♀4)	Liver Lung Kidney Ovary	Degeneration Hepatitis Catarrhal pneumonia Nephritis Atrophy of ovum	12 6 1 2 4	#~# + + + +
IV	Rat	5 (♂4, ♀1)	Liver Kidney Adrenal Lung	Hepatitis Hyperemia Interstitial nephritis Hyperemia Pneumonia Peribronchitis	2 1 1 2 1 3	+ + # + + +
	Mouse	12 (♂7, ♀5)	Liver Kidney Lung Adrenal Ovary	Hepatitis Interstitial nephritis Peribronchitis Hemorrhage Atrophy of ovum	9 1 4 1 1	+~# + + ± +

性、大脳出血であり、断定はできないが、その疑いのあるものは肝ウッ血、卵の発育不良、心筋のエ死である。

本試験の遂行に当たり、薬物の提供をうけた塩野義

製薬 K.K., ならびに本試験に協力された大学院学生掘添宏、有馬弘孝、末川守の諸君、専攻学生豊重光和、町園清和、久保田竹次、清水初子、関屋幸男、竹下修史、載騎章の諸君に深く感謝する次第である。

文 献

- 1) CLARKE, E. G. C. and CLARKE, M. L.: *GARNER'S Veterinary Toxicology*, 262, BAILLIÈRE TINDALL & CASELL (London) (1967).
- 2) ELLMAN, G. L. et al.: *Biochem. Pharmacol.*, **7**, 88-95 (1961).
- 3) GRAY, P. J. and ROUTH, J. I.: *Clin. Chem.*, **11**, 91-96 (1965).
- 4) HESTERIN, S.: *J. Biol. Chem.*, **180**, 249 (1949).
- 5) 牧野義彰: 齊藤正行ら編「臨床化学分析Ⅱ」, 12-15, 東京化学同人 (1968).
- 6) 宮尾陟・石黒茂・河野猪三郎・安田宜紘: 鹿大農学術報告. **22**, 35-43 (1972).
- 7) 武藤騰雄: 農薬概説, 209-228, 技報堂 (1970).
- 8) 柴田進・高橋浩: 臨床化学の技術. 118-120, 金原出版 K.K. (1967).
- 9) 柴田進・高橋浩: 同上. 177-180, 金原出版 K.K. (1967).
- 10) 瀬川富郎: 伴義雄ら編「医薬品研究法」, 103-108, 朝倉書店 (1968).
- 11) SIDERS, D. B. et al.: *Amer. J. Clin. Path.*, **50**, 344-350 (1968).
- 12) 山村雄一・勝沼信彦・藤井節郎: 臨床酵素学必携. 382, 南山堂 (1966).
- 13) 吉川春寿: 臨床医化学 I. 132-134, 協同医書出版 K.K. (1966).

Résumé

80 Rats and mice were divided into 4 groups and through the test period of 3 months the oral administration of 3-methyl-5-isopropylphenyl-N-methylcarbamate was made daily to both of the animals. Levels of the drug were 50 mg/kg to the rat and 20 mg/kg to the mouse in group I, 33 and 13.7 mg/kg in group II, 22 and 8.9 mg/kg in group III, and 0 mg/kg in group IV, respectively.

1. The acute oral LD₅₀ of this drug was 60 (42.3 to 85.1) mg/kg in the rat and 39.5 (33.1 to 47.2) mg/kg in the mouse.

2. To date have died 5 males and 8 females of rats, 8 males and 10 females of mice in group I, 2 males and 5 females of rats, 3 males and 8 females of mice in group II, 1 male alone of rats, 2 males and females of mice in group III, and 1 male alone of rats, 2 males and 1 female of mice in group IV.

3. In administered rats was observed a slight but irregular suppression of the rate of body-weight-increase, but not in the mice.

4. No hematologic changes considered to be due to the effect of the drug were recognized in administered animals.

5. Although almost no change was occasioned in the levels of plasma GOT, GPT, urea nitrogen and protein between the control- and administered animals, significantly high blood sugar values were shown in administered rats.

6. No plasma and brain cholinesterase activities were observed in administered animals.

7. Organ weights hardly changed between the control and administered animals, but spleen and ovary weights were significantly light in administered animals.

8. In animals died in the course of or sacrificed after 3 months, main histopathologic changes were hepatitis, liver degeneration or congestion, peribronchitis, pneumonia, lung hyperemia, kidney and adrenal hyperemia, hyaline droplets degeneration of kidney, cerebrum hemorrhage, ovum atrophy, heart muscle necrosis, and so on. Of these changes, liver- and kidney- degeneration, and cerebrum hemorrhage are considered to be the changes occasioned by the effect of the drug, liver congestion, ovum atrophy, and heart muscle necrosis being doubtful changes.

Explanation of Plate

Microphotographs are from sections stained with hematoxylin and eosin.

Fig. 1. Peribronchitis in the rat in group I.

Fig. 2. Interstitial nephritis in the rat in group II.

Fig. 3. Heart muscle necrosis and hemorrhage in the rat in group II.

Fig. 4. Ovum atrophy in the mouse in group III.

Fig. 5. Liver degeneration in the mouse in group I.

Fig. 6. Liver degeneration in the mouse in group I. (High magnification).

