

技術情報

DBEDC の毒性試験の概要

米澤化学株式会社 研究部

(平成 17 年 1 月 31 日受理)

薬剤の概要

DBEDC (サンヨール[®]) は有機銅系の殺菌殺虫剤である。DBEDC の主成分であるドデシルベンゼンスルホン酸の強力な浸透付着脱脂力を有することに着眼し、ドデシルベンゼンスルホン酸の金属塩にエチレンジアミンを配位した金属錯塩を開発した。

薬効作用は強く、特に糸状菌に対して最も大きい作用を示すことを発見した。

また、強い浸透付着力を有することから、アブラムシ類・コナジラミ類・ハダニ類等の虫体に、薬液を十分量散布することにより、気門・気孔を閉塞し窒息死する作用が得られ、現在国内で果菜類・花き類・麦などの農業分野、また家庭園芸分野で殺菌殺虫剤として登録された。

現在、本剤原体を国外にも輸出しており、果菜類の殺菌剤として登録されている。

本剤の化学構造および特性化学的性状は以下に示すとおりである。

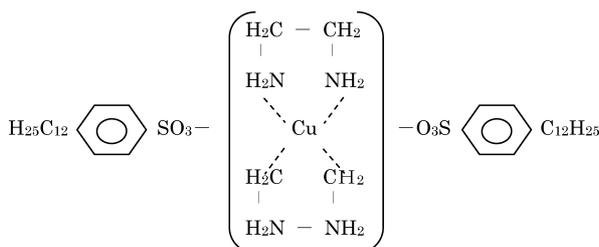
一般名：DBEDC

別名(商品名)：サンヨール

化学名(和名)：ドデシルベンゼンスルホン酸ビスエチレンジアミン銅錯塩 [II]

(英名)：Dodecylbenzenesulphonic acid bisethylenediamine copper [II] salt

構造式：



DBEDC 構造式：

分子式：	$C_{40}H_{74}CuN_4O_6S_2$
分子量：	834.7
外觀：	あざやかな青紫色ペースト状
臭気：	無臭
比重：	1.08 g/cm^3
蒸気圧：	$5.2 \times 10^{-57} \sim 3.2 \times 10^{-9} \text{ Pa}$
溶解度：	$\text{g/l; } 25^\circ\text{C}$
	水：1.53, ヘキサン：146,
	キシレン：104
	ジクロロメタン：186, アセトン：220
	メタノール：174, 酢酸エチル：95.2
土壌吸着係数：	シルト粘土 $K_{oc}: 3688 \text{ cm}^3/\text{g}, K_d: 83 \text{ cm}^3/\text{g}$ (25°C)
	砂土 $K_{oc}: 1459 \text{ cm}^3/\text{g}, K_d: 14 \text{ cm}^3/\text{g}$ (25°C)
	ローム土壌 $K_{oc}: 2893 \text{ cm}^3/\text{g}, 104 \text{ cm}^3/\text{g}$ (25°C)
	ローム土壌 $K_{oc}: 2510 \text{ cm}^3/\text{g}, 128 \text{ cm}^3/\text{g}$ (25°C)
加水分解：	緩衝液 (pH=1.2 および 4.0) 30 日 $t_{1/2}$ (37°C)
	緩衝液 (pH=4.0, 7.0, 9.0) 30 日以上, 1 年以上, 1 年以上 $t_{1/2}$ (25°C)
水中光分解性 (300-800 nm)	
滅菌水：	緩衝液 (pH=5.0, 7.0, 9.0) 29.5, 30.3, 29.2 日 $t_{1/2}$ (25°C, 400W/m ² , nm)
自然水：	37.3 日 $t_{1/2}$ (25°C, 400W/m ² , nm)
安定性：	分解 (100°C)
スペクトル：	$\lambda_{max}: 224 \text{ nm} (\epsilon=33 \text{ 100})$

各種毒性試験の急性毒性試験

動物種	投与経路	LD50	試験機関 (mg/kg)	報告年
ラット	経口	雄 1462	慶応大学	1974
		雌 1017		
	皮下	雄 990	"	"
		雌 711		
	腹腔内	雄 55	"	"
		雌 66		
	経皮	雄 >5000	日本実医研	1986
		雌 >5000		
吸入	雄 >0.756 ^{a)}	Hazleton	1988	
	雌 >0.756 ^{a)}			
マウス	経口	雄 1526	慶応大学	1974
		雌 1755		
	皮下	雄 218	"	"
		雌 234		
	腹腔内	雄 47	"	"
		雌 58		

^{a)}: mg/l

刺激性および皮膚感作性試験

1. 眼一次刺激性試験 (ウサギ)

DBEDC25% 乳剤 0.1ml を日本白色種ウサギ雄 (洗眼 5 匹, 非洗眼 6 匹) の右眼に投与し, 1 時間後から投与 21 日後まで毎日角膜, 虹彩, 結膜の刺激性変化を観察した. その結果, 洗眼群および非洗眼群とも角膜, 虹彩, 結膜発赤および浮腫の刺激性変化が認められた. 反応の回復性は試験終了時まで回復しないのものがほとんどであった.

(日本実験医学研究所, 1986 年)

2. 皮膚感作性 (マウス)

DBEDC 原体の皮膚感作性試験を CBA/Ca 系マウス雌 (3 群各 4 匹) を用いて実施した. その結果死亡例はなかった. 4 日目~6 日目に, 25%w/w の濃度で投与した動物に被毛の喪失が認められた. 適用 4 日後に, 25%w/w の濃度で投与したすべての動物に頭部と耳部に中等度の発赤が認められた. 試験期間中にその他の全身毒性の兆候は認められなかった. よって本試験の条件下では, 感作性物質と考えられた.

(Safepharm Laboratories Limited, イギリス, 2003 年)

亜急性毒性

1. 亜急性経口毒性 (ラット)

DBEDC 原体の Wistar 系ラット (1 群雌雄各 10 匹) を用

いて, 飼料混入投与による亜急性毒性試験を実施した. 原液のまま 10, 100, 1000 mg/kg となるよう混入し 3 ヶ月にわたって自由摂食させた. 1000 mg/kg 投与群雌雄とも 1.5~2.5 週より死亡し, 7.5 週で全例死亡した. 10, 100 mg/kg 投与群については, 対照群と同様に変化は認められなかった. 体重変化, 摂食量は 10, 100 mg/kg 投与群では変化はなかった. 血液学的検査では投与後 3 ヶ月時に, 100 mg/kg 投与群の雌雄で白血球数の減少が認められた他は特に変化はなかった. 病理組織学的検査では無気肺, ヘモシデリン沈着, 気管支肺炎, 肺胞内出血が対照群を含む 10 および 100 mg/kg 投与群に散発的に認められたが, いずれの変化も薬物投与によるものとは考えられない. 以上の結果から本剤 3 ヶ月飼料混入による亜急性毒性試験における最大無作用量は 100 mg/kg (雄 103.00 mg/kg/日, 雌 111.28 mg/kg/日) と判断された.

(慶応大学, 1974 年)

2. 亜急性経口毒性 (ラット)

DBEDC 原体の Wistar 系ラット (1 群雌雄各 10 匹) を用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験を実施した. 原液のまま 10, 100, 500 および 1000 mg/kg となるよう飼料混入し 3 ヶ月にわたって自由に摂食させた. 500 および 1000 mg/kg 投与群で雌雄に関係なく自発運動・警戒性・被毛の光沢低下が認められた. 試験終了時の死亡率は 1000 mg/kg 投与群の雌雄とも 100% であった. その他は 0% であった. 1000 mg/kg 投与群は投与後 7~10 日で全例死亡した. 体重変化は 500 mg/kg 投与群の雌雄に投与後 3~7 日目より体重増加抑制および減少が認められた. 摂食量は 500 mg/kg 投与群の雄で試験期間中を通じ, いくぶん減少し食餌効率の低下がみられた. 血液学的検査では 10 mg/kg 投与群の雄で血小板数の減少, 100 mg/kg 投与群の雌でヘマトクリット値の減少が認められたが用量依存性は明確でないで生理的変動内の変化と考えた. 血液生化学検査では投与量と相関した著変はないが, 雌雄 500 mg/kg 投与群で GPT, アルカリフォスファターゼ活性, A/G, 尿素窒素の増加傾向など非特異的な毒性を示唆するような変化があった. 尿検査では各投与群で対照群との有意差はなく, 異常は認められなかった. 臓器重量は 500 mg/kg 投与群の雌雄とも検査臓器のほとんどに重量減少がみられ, 10 および 100 mg/kg 投与群では変化は認められなかった. 肉眼的病理検査では 1000 mg/kg 投与群の死亡例について雌雄とも肺, 胃腸管のうっ血が過半数以上に認められた. また雄では精巣, 精囊および前立腺の小さい例, 雌では肝, 脾が比較的小さい例が散見された. 10, 100 mg/kg および 500 mg/kg の雌では変化は認められなかった. 病理組織学的検査では 500 mg/kg 投与群および全例死亡した 1000 mg/kg 投与群では肝小葉中心帯にみられる肝細胞の変性と壊死および精巣における軽

度の精子形成不全が認められた。その他、500 mg/kg 投与群に肺の気管支内腔粘液溢出、および気管支拡張が散発的に認められたが、いずれの変化も薬物投与によるものとは考えられなかった。また、全例死亡した 1000 mg/kg 投与群で認められた諸臓器のうっ血、胸腺皮質リンパ球消失、および膀胱拡張は急性毒性死の一般的所見であった。以上の結果から本剤の 3 ヶ月間飼料混入による亜急性毒性試験における影響として 1000 mg/kg 投与群に全例死亡、500 mg/kg 投与群に体重減少、生化学的变化、臓器重量の減少および肝小葉中心帯の肝細胞の変成、精子形成不全がみられたので、最大無作用量は 100 mg/kg (雄 107.94 mg/kg/日、雌 117.30 mg/kg/日) と判断された。

(慶応大学, 日本実験医学研究所, 1974 年)

3. 亜急性経口毒性 (マウス)

DBEDC 原体の JCL[®]ICR 系マウス (1 群雌雄各 10 匹) を用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験を実施した。検体を有効成分換算値より原液のまま 10, 100, 1000 mg/kg とするよう混入し 3 ヶ月にわたって自由に摂食させた。体重・摂餌量変化は認められなかった。血液学的検査では 1000 mg/kg 投与群の雄で赤血球数の減少、雌で赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の減少が認められた。血液生化学検査における変化は、いずれも正常範囲内の変動と考えられた。尿検査における異常は認められなかった。臓器重量における変化は、1000 mg/kg 投与群雌雄では肝重量の増加がみられ、対体重比も同様に増加しており検体投与によるものと考えられた。それ以外の変化は正常値の範囲内であった。肉眼的病理検査では雌雄とも 1000 mg/kg 投与群で肝臓がチョコレート色を呈する変化が全例に認められた。他の臓器および投与群では特記すべき変化は認められなかった。病理組織学的検査では 1000 mg/kg 投与群雌雄に肝小葉中心帯の肝細胞の壊死が認められた。その他、薬物投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果から本剤の 3 ヶ月間飼料混入による亜急性毒性試験における影響として 1000 mg/kg 投与群に肝重量の増加、変色、肝小葉中心帯肝細胞の壊死がみられたので最大無作用量は 100 mg/kg (雄 81.09 mg/kg/日、雌 83.34 mg/kg/日) と判断された。

(慶応大学, 1974 年)

4. 亜急性経口毒性 (マウス)

DBEDC 原体の JCL[®]ICR 系マウス (1 群雌雄各 10 匹) を用いた飼料混入投与による亜急性毒性試験を実施した。原液のまま 10, 100, 1000 mg/kg とするよう混入し 3 ヶ月にわたって自由に摂食させた。一般状態は 1000 mg/kg 投与群で雌雄に関係なくわずかな自発運動の低下が認められた。試験終了時の死亡率は各群とも 0% であった。体重変化・摂餌量・食餌効率における変化は認められなかった。血液学的

検査では用量群間に有意差は認められなかった。血液生化学検査では 1000 mg/kg 投与群雌雄の GPT, アルカリフォスファターゼ, 血糖, コレステロールの増加以外の変化はいずれも正常範囲内の変動であった。尿検査は対照群を含む各投与群に蛋白陽性例が散見されたが用量相関性はなく、検体投与による変化とは考えられなかった。臓器重量では対照群と比べ、1000 mg/kg 投与群雌雄では肝重量の増加がみられ、対体重比も同様に増加した。また 1000 mg/kg 投与群雌では卵巣重量の減少が認められ、これらは検体投与によるものと考えられた。肉眼的病理検査では雌雄とも 1000 mg/kg 投与群で軽度の肝の腫大が認められた。その他、特記すべき変化は認められなかった。病理組織学的検査では 1000 mg/kg 投与群雌雄に軽度の肝小葉中心帯の肝細胞の壊死が認められた。その他、薬物投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果から本剤の 3 ヶ月間飼料混入による亜急性毒性試験における影響として 1000 mg/kg 投与群に生化学的变化、肝重量の増加、卵巣重量の減少および肝小葉中心帯肝細胞の壊死がみられたので最大無作用量は 100 mg/kg (雄 89.16 mg/kg/日、雌 89.29 mg/kg/日) と判断された。

(日本実験医学研究所, 1974 年)

慢性毒性・発がん性試験

1. 発がん性試験 (ラット)

DBEDC 原体の Wistar 系ラット (1 群雌雄各 50 匹) を用いて飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験を実施した。検体を有効成分換算値より原液のまま、10, 100, 500 mg/kg とするよう混入し、24 ヶ月にわたって自由に摂食させた。各検体投与群とも薬物に起因する中毒症状はみられなかった。試験終了時の死亡率はいずれの群においても差はなく、投与による影響はなかった。体重変化は 500 mg/kg 投与群雌雄とも増加抑制が認められた。10, 100 mg/kg 投与群では変化はなかった。摂餌量および食餌効率は 500 mg/kg 投与群雌雄ともきわめてわずかに減少傾向を示した。血液学的検査は 500 mg/kg 投与群で 26 週目に雌雄ともヘモグロビン量の減少、53 週目で雌雄ともヘモグロビン量、ヘマトクリット値、および赤血球数の減少、110 週目で雄のヘモグロビン量、ヘマトクリット値および単球の減少、雌でヘモグロビン量の減少と好塩基球の増加が認められた。10, 100 mg/kg 投与群では格別な変化は認められなかった。血液生化学検査では 500 mg/kg 投与群雌雄の GPT, アルカリフォスファターゼの増加および雄の GOT, 雌の血糖増加以外の変化はいずれも正常範囲内の変動であった。臓器重量は 500 mg/kg 投与群雌雄で各臓器重量および対体重増減が認められたが、直接的な影響とは考えられなかった。肉眼的病理検査・病理組織学的検査ではいずれの変化も薬物投与に起因するものとは考えられなかった。腫瘍性病変と

して下垂体腺腫，子宮内膜ポリープ，および乳腺腫瘍の発生が多かった。ただし薬物投与に関連した発生率の上昇および早期化を示すことはなかった。各群における腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。以上の結果から本剤の24ヶ月飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として，500mg/kg投与群に体重増加抑制，血液学的検査での赤血球数，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値の減少および血液生化学検査でのGOT, GPT, アルカリフォスファターゼ，血糖の増加がみられたので最大無作用量は100mg/kg（雄95.65mg/kg/日，雌116.46mg/kg/日）と判断された。また，催腫瘍性はないものと考えた。

（慶応大学，日本実験医学研究所，1977年）

2. 発がん性試験（マウス）

DBEDC 原体の JCR/SLC 系マウス（1群雌雄各60匹）を用いた飼料混入投与による慢性毒性/発がん性併合試験を実施した。投与方法は原液のまま，10, 100および1000mg/kgとなるように混入し，24ヶ月にわたって自由摂食させた。各検体投与群とも薬物に起因する中毒症状はみられなかった。試験終了時の死亡率はいずれの群においても高い死亡率を示したが差はなく投与による影響はなかった。体重変化は1000mg/kg投与群の雄で，19週目より体重増加抑制が認められたが，70週以降からは対照群との差は認められなくなった。雌についても14週目より体重増加抑制が認められたが，90週以降からは対照群との差は認められなくなった。その他の投与群では変化はなかった。摂餌量については各投与群とも異常はなかった。1000mg/kg投与群の雌雄で食餌効率をきわめてわずかな減少傾向が認められた。他の投与群については変化なかった。血液学的検査では1000mg/kg投与群雌雄で6, 12ヶ月時にヘモグロビン量，ヘマトクリット値，赤血球数の減少が認められた。また24ヶ月時に雄では赤血球数，雌ではヘマトクリット値，赤血球数の減少が認められた。10, 100mg/kg投与群では変化は認められなかった。血液生化学検査は1000mg/kg投与群雌雄のGOT, GPT, アルカリフォスファターゼ，血糖，コレステロールの増加は検体投与による影響と推察された。10, 100mg/kg投与群については変化なかった。尿検査は1000mg/kg投与群雌雄の24ヶ月検査時期に蛋白陽性がみられたが検体投与による影響とは判断し難い。その他各投与群とも異常は認められなかった。臓器重量は1000mg/kg投与群の雌雄では肝重量の増加が各検査時期でみられ，対体重比も同様に増加していた。それ以外の変化は検体による影響とは考えられなかった。肉眼的病理検査では変化はなかった。病理組織学的検査はいずれの変化も自然発生的または老令化による変化であり，用量相関性もなく，薬物投与に起因するものとは考えられなかった。腫瘍性病変として肝腺腫，肺腺腫，白血病，乳腺腺維腺腫の発生が多かつ

た。ただし薬物投与に関連した発生率の上昇および早期化を示すことはなかった。各群における，臓器別，発生時期別の腫瘍発生率は腫瘍の発生頻度に関して検体投与による影響はなかった。以上の結果から，本剤24ヶ月飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として，1000mg/kg投与群に体重増加抑制，血液学的検査での，ヘモグロビン量，ヘマトクリット値，赤血球数の減少，血液生化学検査でのGOT, GPT, アルカリフォスファターゼ，血糖，コレステロールの増加がみられた。また催腫瘍性はないものと考えられた。最大無作用量は10mg/kg/dayと判断された。

（慶応大学，日本実験医学研究所，1977年）

3. 経口毒性試験（イヌ52週）

DBEDC 原体のビーグル犬（1群雌雄各4頭）を用いた52週間経口投与毒性試験を実施した。投与方法は検体を投与期間通じ毎日，投与前にゼラチンカプセルに充填し，0（対照群：空のゼラチンカプセルのみ），5.54, 11.09, 22.17, および110.86mg/kg/day（有効成分量換算で2.5, 5, 10および50mg/kg/dayに相当する）の用量で毎日1回，強制経口投与した。一般状態および死亡率は試験期間を通じ死亡動物はみられなかった。110.86mg/kg/day群の雌雄では投与期間を通じ，糞中あるいはケージトレイ上に紫色顆粒物の排泄がみられた。この所見は22.17および11.09mg/kg/day群の雌雄でも散発的にみられたが，5.54mg/kg/day群の雌雄ではみられなかった。この紫色顆粒物は検体そのものと判断され，毒性学的な影響はないと判断される。110.86mg/kg/day群の動物では糞の色調変化（緑色），軟便/下痢便/水様便あるいは粘性排泄物が頻回にみられた。これらの変化は他の投与群においてもみられたが，発現頻度は低いものであった。体重変化は検体投与に伴う変化はなかった。摂餌量は雄の22.17mg/kg/dayで偶発的な変化であるが，検体投与による影響とは考えられなかった。雄11.09mg/kg/day，雌5.54, 22.17および110.86mg/kg/dayでみられた有意な変化は1日のみのものであり，偶発的な変化と判断され，検体投与による影響とは考えられなかった。血液学的検査では白血球数，リンパ球比率，MCHCおよび血小板数に統計学的有意差がみられたが，いずれの変化も用量相関性がなく，投与期間を通じた変化ではないことより検体投与による影響とは考えられなかった。血液生化学検査ではクレアチニン， γ -グルタミルトランスフェラーゼ，総ビリルビン，リン脂質，A/G比および遊離脂肪酸に統計学的有意差がみられたが，いずれの変化も用量相関性がなく投与期間を通じた変化ではないことより，検体投与による影響とは考えられなかった。尿検査では雄22.17mg/kg/day群の投与52週の尿比重が統計学的に有意な減少を示したが用量相関性はなく，対照群の値が他の検査時期と比べやや高値（1.070）であったことによる偶発的な変化と判断された。他の項目

についても検体投与に関連のある変化は認められなかった。精子検査・眼科学的検査では変化・異常は認められなかった。臓器重量では検体投与に関連のある変化として、心臓重量の有意な低下が雄 22.17 および 110.86 mg/kg/day 群にみられ、肝臓重量の有意な増加が雌 22.17 および 110.86 mg/kg/day 群にみられ、胸腺重量の有意な低下が 22.17 および 110.86 mg/kg/day 群の雌で認められた。その他の臓器重量には変動は認められなかった。肉眼的病理検査・病理組織学的検査では、検体投与に起因すると考えられるような変化はなかった。

上記の結果より、DBEDC 原体の 5.54, 11.09, 22.17 および 110.86 mg/kg の用量をビーグル犬に毎日 1 回、52 週間経口投与した試験において、主に 110.86 mg/kg 群で糞の色調および硬さに変化がみられ、22.17 mg/kg および 110.86 mg/kg 群の雄で心臓重量の減少、雌で肝臓重量の増加および胸腺重量の減少がみられたことより、DBEDC 原体の本試験での無影響量は 11.09 mg/kg/day と判断された。

(ITR Laboratories Canada Inc., カナダ, 1999 年)

繁殖性に及ぼす影響および催奇形性

1. 繁殖性・催奇形性試験 (17 ヶ月・マウス)

DBEDC 原体の ICR/SLC 系マウス (1 群雌雄 60 匹) を用いた次世代に与える影響に関する試験を実施した。投与方法は検体を 30, 3000 ppm 含有した飼料を自由に摂食させた。交配および妊娠の確認雌雄を 1 対 1 で同居させ、翌日膣栓により交尾を確認した。妊娠の確認は触診および出産をもって行なった。3000 ppm 投与群で F1 および F2 世代で体重増加抑制及び減少傾向がみられた。親動物の交配能力および繁殖能力では各世代、各交配とも変化はみられず、検体による影響はないと考えられる。3000 ppm 投与群の F2 世代の胎仔動物の骨格検査において化骨遅延がみられたが、骨格異常、変異に差がないこと、および F2 世代 3 ヶ月投与後の骨格検査で異常がないことより検体投与による影響とは考えられない。以上の結果より 3 世代にわたって本剤を飼料中に混入し投与した場合、3000 ppm 投与群でも繁殖能力に対しなんら影響がみられなかった。また胎仔に対して催奇形性を及ぼさなかった。ゆえに最大無作用量は 3000 ppm と判断された。

(慶応大学, 日本実験医学研究所, 1977 年)

2. 催奇形性試験 (9 ヶ月, ウサギ)

DBEDC 原体のウサギ (ニュージーランド・ホワイト系妊娠ウサギ) における催奇形性試験を実施した。検体を 0.5% Tween80 水溶液に懸濁し、25, 50 および 100 mg/kg の投与レベルで妊娠後 6 日目から 18 日目まで 13 日間、毎日 1 回経口投与した。なお、対照群に 0.5% Tween80 水溶液を同様に投与した。その結果、親動物の 100 mg/kg 投与群では死亡、

流産、早産が各 1 例みられ、その剖検では腹水、腎臓の褪色、肝臓の灰黄色などが認められた。同群の生存例では、飲水量の減少、投与期間中の体重と摂餌量に減少がみられたが、投与終了後回復し、帝王切開時の体重では差はみられなかった。その剖検では死亡例と類似の所見が認められた。胎仔の 100 mg/kg 投与群では早期吸収胚と未熟仔数の増加がみられ、さらに骨格検査では腰肋骨、第 8 腰椎、胸骨核の低化骨の増加尾椎体と手指骨の化骨の遅延が認められた。その他の投与群には、被験物質に起因すると考えられる変化は認められなかった。以上の結果より、本剤を妊娠ウサギに投与したときの母体における最大無影響量は 50 mg/kg/day であった。また、50 mg/kg/day でも胎仔に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

(日本実験医学研究所, 1990 年)

変異原性試験

1. 遺伝子突然変異原性

DBEDC 原体の細菌を用いた復帰変異性試験を実施した。試験方法はヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (TA-1535, TA-100, TA-1537, TA-1538, TA-98) およびトリプトファン要求性大腸菌 (WP-2 hcr⁻, WP-2 hcr⁺) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。その結果、DBEDC 存在下においては、大腸菌 (WP-2 hcr⁻, WP-2 hcr⁺) およびサルモネラ菌 (TA-100, TA-98) には、対照群と比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。同サルモネラ菌 (TA-1535, TA-1537, TA-1538) において、高濃度で弱いコロニー数の増加が認められたが、陽性対照群の薬剤と比較し極めて弱いものであった。一方、陽性対照として用いた AF-2, 2AA, β -プロピオラクトン, 9AC および 2NF では、対照群と比較して顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。以上の結果から、DBEDC は極めて弱い復帰変異誘発性が認められた。

(慶応大学, 日本実験医学研究所, 1979 年)

2. 宿主経路による復帰変異性試験

① *in vivo* 試験に ddy 系マウス (1 群 雌 5 匹) を用いて試験実施した。試験方法は DBEDC の 10, 50 および 100 mg/kg を 2 回 24 時間間隔で、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。陽性対照として DMN (dimethylnitrosamine) の 50 mg/kg を 1 回、胃ゾンデを用いて強制経口投与した。2 回目の薬物投与直後、対数期のヒスチジン要求性のサルモネラ菌 G-46 株 (約 9×10^8 個/ml) を 2 ml マウスの腹腔内に注入した。処置後 3 時間目に頸椎脱臼で屠殺し、phosphate buffer saline を腹腔内に注入し、腹腔内菌液を回収し、復帰変異コロニー数および生存菌数を計数した。その結果、DBEDC の存在下では宿主経路による復帰変異性は認めら

れなかった。一方、陽性対照として用いた DMN では、対照群と比較して強い復帰変異性が認められた。以上の結果から、DBEDC の存在下ではサルモネラ菌 G-46 株の宿主経路による復帰変異誘発性は認められなかった。

② *in vitro* でヒスチジン要求性のサルモネラ菌 G-46 株を用いて復帰変異原性試験を行なった。その結果、DBEDC 存在下においては、サルモネラ菌 G-46 株では対照群と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、陽性対照として用いた β -プロピオラクトンでは、対照群と比較して顕著な復帰変異コロニー数の増加が認められた。以上の結果から、DBEDC のサルモネラ菌 G-46 株での復帰変異誘発性は認められなかった。

(慶応大学, 日本実験医学研究所, 1979 年)

3. DNA 損傷誘発性

細菌を用いた DNA 修復試験

枯草菌 (*B. subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、白須、賀田らの方法に準じて *rec-assay* 法で DNA の損傷の誘発性を検定した。その結果、DBEDC 存在下においては、両株に生育阻害を認めなかった。陽性対照群として用いた mitomycin C では、両株の間に著明な生育阻害の差が生じた。以上の結果より DBEDC の DNA 損傷性は認められなかった。

(慶応大学, 日本実験医学研究所, 1979 年)

4. 細菌を用いた復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* とトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9) の存在下および非存在下で、Ames らの方法で変異原性を検定した。また、検体を溶解させるため DMSO を用いた。その結果、菌の生育阻害が認められた。検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断された。

(新日本科学, 1989 年)

5. 染色体異常誘発性 (ハムスター)

チャイニーズ・ハムスターの培養細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験を、チャイニーズ・ハムスターの継代培養した肺由来の線維芽細胞株 (CHL/IU) を用いて試験実施した。用量設定は予備試験の細胞増殖抑制試験の結果から、非活性化法の 24 時間処理および活性化法は 0.02 mg/ml、非活性化法の 48 時間処理は 0.01 mg/ml までとした。各濃度で 200 個の分裂中期像を観察した。染色体の異常については、数的異常として倍数体を記録した。構造的異常としてギャップ (g)、染色分体型切断 (ctb)、染色分体型交換 (cte)、染色体型切断 (csb)、染色体交換 (cse) およびその他 (o) に分類し計測した。数的または構造的異常の出現率

は 5% 未満を陰性 (-)、5% 以上 10% 未満を疑陽性 (\pm)、10% 以上を陽性 (+) とした。その結果、検体における染色体の数的異常 (倍数体) および構造的異常を有する細胞の出現率は、いずれも陰性対照とほぼ同程度であった。また、陰性対照および陽性対照はそれぞれ適切な応答を示した。以上の結果から、本検体におけるチャイニーズ・ハムスターの線維芽細胞を用いた *in vitro* 細胞遺伝学的試験での変異原性は陰性であった。

(新日本科学, 1989 年)

6. 小核試験 (マウス)

SPF CDj:CD-1 (ICR) マウス (1 群雌雄各 5 匹) 投与量の設定は、マウス腹腔内投与急性毒性試験 LD₅₀ 値を勘案して、30, 15, 7.5, 3.75 mg/kg とした。検体を局方生理食塩液で懸濁し、腹腔内に 1 回投与した。投与 24 時間後屠殺し、骨髓細胞標本を作製した。個体あたり 1000 個の多染性赤血球を検鏡し、小核を有する多染性赤血球の出現率を算出した。また全赤血球 1000 個中の多染性赤血球と正染性赤血球が占める割合を求めた。その結果、検体の各投与群は、小核を有する多染性赤血球の出現頻度および全赤血球中の多染性赤血球と正染性赤血球の比率について、陰性対照群との間に有意差は認められなかった。以上の結果から、本試験において検体は、小核誘発作用は示さず生体内での変異原性を発揮する可能性はほとんどないものと判断された。

(新日本科学, 1989 年)

生体機能に及ぼす影響に関する試験

1. 中枢神経系に対する作用

1) マウスの一般症状

Crlj:CD-1 (ICR) 系マウス (1 群雌雄各 5 匹, 6 群計 60 匹) を用いて試験実施した。検体は 0.5% Tween80 に溶解して 3, 10, 30, 100 および 300 mg/kg を腹腔内投与し、一般症状を観察した。その結果、雄では 30 mg/kg 以上、雌では 100 mg/kg 以上の投与群で認知力、運動性ならびに筋緊張の低下、運動失調、各種反射の消失および自律神経症状がみられた。また、雄では 100 mg/kg 以上の投与群で全例が死亡し、雌でも 100 および 300 mg/kg の投与群の生存は各一例であった。

2) 脳波に対する作用

日本白色ウサギ雄 3 匹を用いて試験実施した。麻酔下のウサギを固定し脳を手術し電極を埋め込み、覚醒後に Tween80 に溶解した検体の 5.6 および 11.3 mg/kg を静脈内投与した。その結果、5.6 mg/kg 投与後に心拍数の減少がみられ、これに関連した皮質脳波および深部脳波の振幅が低下した以外に変化は認められなかった。

3) ウサギの体温に対する作用

日本白色ウサギ(雄1群3匹, 5群計15匹)を用いて試験実施した。検体はポリエチレングリコールに溶解して10, 30, 100および300mg/kgを6ml/kgの容量で経口投与した。体温は電子体温計(オムロン, MC-14B, セパレート型)を用いて投与前, 投与後30分, 1, 2および3時間に直腸温を測定した。その結果, 100mg/kg以上の投与群で体温下降が認められた。

2. ウサギの呼吸および循環器系に対する作用

日本白色ウサギ雄3匹を用いて試験実施した。検体をポリエチレングリコールに溶解して100および300mg/kgを約1時間の間隔で漸増的に皮下投与し呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図および頸動脈血流量を測定した。その結果, 呼吸および血圧には変化が認められなかったが, 心拍数および血流量は時間経過につれてわずかな減少した。

3. 自律神経系に対する作用

1) ウサギの瞳孔径に対する作用

日本白色ウサギ(雄1群3匹, 3群計9匹)を用いて実施した。検体をポリエチレングリコールに溶解して100および300mg/kgを経口投与し, 動物の瞳孔径を測定した。その結果, いずれの群においても変化は認められなかった。

2) ウサギの生体位子宮運動に対する作用

日本白色ウサギ雌3匹用いて実施した。検体をDMSOに溶解して100および300mg/kgを約1時間の間隔で漸増的に経口投与し, 子宮内圧の変化を記録した。その結果, 100mg/kg投与では影響が認められず, 300mg/kgでは自然律動および周期とも抑制が認められた。

3) モルモットの摘出回腸に対する作用

ハートレー系モルモット雄を用いて実施した。検体をDMSOに溶解して最終濃度が 2×10^{-4} g/mlとなるようにマグナス槽内に添加し, 摘出回腸の変化を記録した。また, アセチルコリンおよびヒスタミンの収縮に対する検体の影響も検討した。その結果, 検体の単独適用では収縮は認められず, アゴニストによる収縮に対しても影響を及ぼさなかった。

4) ラット摘出輸精管に対する作用

Wistar系ラット雄を用いて実施した。検体をポリエチレングリコールに溶解して最終濃度が 2×10^{-4} g/mlとなるようにマグナス槽内に添加し, 摘出輸精管の変化を記録した。また, アドレナリンによる収縮に対する検体の影響も検討した。その結果, 検体の単独作用でゆっくりした収縮が認められ, アドレナリンによる収縮もわずかに増強させた。

4. ラットの消化器に対する作用(小腸輸送能に対する作用)

Crj:(SD)系ラット(雄1群3匹, 4群計24匹)を用いて実施した。検体をDMSOに溶解して30, 100および300mgを6ml/kgの容量で皮下投与し30分後に炭末・アラビアゴムの各10%懸濁液を経口投与し, その30分後に開腹して幽門部から炭末先端までの長さを測定し, 小腸全体の長さに対する比率を求めた。その結果, いずれの群においても検体投与による影響は認められなかった。

5. ウサギの骨格筋に対する作用(前脛骨筋収縮に対する作用)

日本白色ウサギ雄3匹用いて実施した。ウサギの腓骨神経と前脛骨筋を露出させ, 腓骨神経の電気刺激による前脛骨筋の収縮を, 検体をポリエチレングリコールに溶解して100および300mg/kgを約1時間の間隔で漸増的に経口投与し測定した。その結果, 検体投与による変化は認められなかった。

6. 血液に対する作用

1) 溶血に対する作用(ウサギ)

日本白色ウサギ雄1匹用いて実施した。血液を採取しヘパリン処理後遠心分離し, 血球は10倍量の生理食塩水に浮遊させた。最終濃度が $0 \sim 10^{-3}$ g/mlとなるように調整した検体9.5mlに上記の調製液を0.5ml加え, インキュベーションし2時間後に溶血の有無を観察した。その結果, 1×10^{-5} g/mlから強度の溶血作用が観察され, 5×10^{-5} g/ml以上では赤血球の変性がみられた。

2) 血液凝固に対する作用(ウサギ)

日本白色ウサギ(雄1群3匹, 3群計9匹)用いて実施した。検体はポリエチレングリコールに溶解し100および300mg/kgを6ml/kgの容量で経口投与した。投与前, 投与後10分, 30分および60分に耳静脈より採血し, Lee-White法変法に従って血液凝固時間を測定した。その結果, いずれの群においても血液の凝固性に影響は認められなかった。

以上のように, マウスの一般症状の観察では主に抑制性の変化が認められた。従って, ウサギの脳波における振幅の低下, 循環系では心拍数および血流量の減少, ウサギ子宮運動の抑制, 体温降下などは溶媒による影響もいくらかあると思われるが, いずれも中枢性の抑制による変化とみられる。ラットの摘出輸精管の検体による収縮作用の機序は不明である。また比較的低濃度で溶血作用が認められたことは細胞膜に対する何らかの作用がうかがえた。

(日本実験医学研究所, 1990年)

20% 乳剤における急性毒性

1. 急性経口毒性（ラット）

ラットにおける急性経口毒性試験に Wistar 系ラット（1 群雌雄各 10 匹）を用いて試験実施した。検体を精製水で希釈投与し、絶食時間は 15 時間とした。中毒症状および生死を 14 日間観察した。その結果、中毒症状としては雌雄に関係なく経口投与では、自発運動の低下、うずくまる姿勢、腹臥位姿勢、横臥位姿勢、軟便、下痢、立毛、呼吸微弱および呼吸困難が観察された。体重変化は雌雄に関係なく経口投与では投与翌日より体重減少が認められたが、徐々に改善した。解剖所見では経口投与の死亡例で口周辺部および肛門周辺部の汚れ、肝のうっ血、胃の漿液貯溜および出血、胃の検体貯溜およびガス充満が認められた。生存例については特記すべき変化は認められなかった。

（日本実験医学研究所，1986 年）

2. 急性経口毒性（マウス）

マウスにおける急性経口毒性試験を ICR 系マウス（1 群雌雄各 10 匹）を用いて試験実施した。検体を精製水で希釈投与し、絶食時間は約 15 時間とした。中毒症状および生死を 14 日間観察した。その結果、中毒症状は、雌雄に関係なく自発運動の低下、うずくまる姿勢、腹臥位姿勢、横臥位姿勢、軟便、下痢、および立毛が観察された。体重変化は雌雄とも投与翌日より体重増加抑制および体重減少が見られたが、その後徐々に改善された。解剖所見では死亡例に肛門周辺部の汚れ、肝のうっ血、胃の検体貯溜および充血が認められた。生存例では特記すべき変化は認められなかった。

（日本実験医学研究所，1986 年）

3. 急性経皮毒性（ラット）

ラットにおける急性経皮毒性試験を Wistar 系ラット（1 群雌雄各 10 匹）を用いて試験実施した。検体原液を背部中央に塗布し、中毒症状および生死を 14 日間観察した。その結果、経皮投与では自発運動の低下、うずくまる姿勢、腹臥位姿勢であった。経皮投与では対照群と有意差はなかった。解剖所見では主要な組織器官に特記すべき変化は認められなかった。

（日本実験医学研究所，1986 年）

20% 乳剤における眼および皮膚に対する刺激性

1. 眼粘膜刺激性（ウサギ）

ウサギを用いた眼粘膜一次刺激性試験を日本白色種ウサギ（1 群雄 11 匹）を用いて試験実施した。検体を右眼に 0.1 ml 投与し、5 匹は 2 分後に洗眼した。6 匹については洗眼しなかった。投与後 1 時間および 21 日まで毎日角膜、虹

彩、結膜の刺激性変化を観察した。その結果、角膜、虹彩、結膜発赤および浮腫の刺激性変化は洗眼群、非洗眼群とも認められた。反応の回復性は試験終了時まで回復しないものがほとんどであった。以上の結果から DBEDC20% 乳剤はウサギの眼粘膜に対し、強い刺激性があるものと思われた。

（日本実験医学研究所，1986 年）

2. 皮膚刺激性（ウサギ）

ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験を日本白色種ウサギ（1 群雄 6 匹）を用いて試験実施した。検体を刈毛した動物の背中皮膚（2.5 cm 四方）に 4 時間塗布した。皮膚に残った検体は水を用いて拭きとった。塗布終了後 30 分後、1, 2, 3 日後および反応陽性の場合反応が消失するまで（14 日限度）塗布部分の刺激性変化（紅斑、痂皮浮腫）および組織破壊（腐蝕性）の有無等を観察した。その結果、塗布後 1 日後に弱い紅斑が認められ、徐々に回復に向かい 4~14 日に消失した。また塗布 30 分後に弱い浮腫も認められたが 1 日後に消失した。なお腐蝕性は認められなかった。以上の結果から DBEDC20% 乳剤はウサギの皮膚に対して弱い刺激性があるものと思われた。

（日本実験医学研究所，1986 年）

3. 皮膚感作性（モルモット）

モルモットを用いた皮膚感作性試験にイングリッシュハートレー系モルモット（1 群雄 20 匹）を用いて試験実施した。〔Maximization Test 法〕感作；背部を刈毛し、検体原液を 0.05 ml 皮内注射した。7 日目には 0.5 ml を塗布した。一方、陽性対照群には 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) の 0.125% 含有エタノール溶液を 0.05 ml 皮内注射し、7 日目には 2.5% 含有エタノール溶液 0.5 ml を塗布した。誘発；最終感作 15 日後に感作時と同様に検体原液 0.5 ml を、陽性対照には DNCB の 2.5% 含有エタノール溶液 0.5 ml を塗布した。誘発 24, 48 および 72 時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無等を肉眼的に観察した。その結果、検体処理群において紅斑を示す皮膚反応は全くみられず接触感作性は認められなかった。しかしながら使用濃度が原液であったため感作誘発部位での色素沈着による痂皮化が生じ、逆に皮膚損傷をみるにいたり、皮膚感作性を的確に捕らえることは出来なかった。一方陽性対照群においては明瞭な紅斑、浮腫、および痂皮形成がみられた。したがって検体処理群は陽性対照群と比較し、紅斑および浮腫の皮膚反応に差がみられ、接触感作性を惹起する可能性はきわめて低いものと推察された。以上の結果から DBEDC20% 乳剤の皮膚感作性は陰性と推察した。

（日本実験医学研究所，1986 年）

動植物および土壌等における代謝分解

1. ラット体内における代謝試験

ラット体内における代謝試験を¹⁴C 標識 DBEDC および Wistar 系ラット雌雄（体重約 200 g, 妊娠 19 日目）を用いて実施した。経口投与（10 mg/kg, 1 回）し吸収、排泄、体内分布を調べた。その結果、動物における本剤の吸収は消化管からされ、胃内で分解して CuCl₂, エチレンジアミン塩酸塩ドデシルベンゼンスルホン酸 (DBS) となり、肝および腎を介してすみやかに尿、糞および呼気中へ排出される。残りは体内に残留し徐々に分解される。

（第一化学薬品株式会社, 1977 年）

2. インゲンマメにおける代謝試験

インゲンにおける代謝試験をインゲン（トップクローブ種, 発芽後 15 日後第 4 葉出芽期）を用いて実施した。¹⁴C-DBEDC の 10% Tween80 水溶液（1 mg/ml）を一葉あたり 0.2 ml（1 mg/ml）塗布し 2 および 24 時間後の移行性ならびに代謝物を測定した。その結果、葉面からの顕著な移行性は認められなかった。植物中代謝物は、DBEDC かエチレンジアミンが最も多く、その他に 3 つの代謝物がわずかに認められた。植物における本剤の代謝は植物体への移行はほとんど認められず、多くは未変化のまま存在し、水分の存在により、エチレンジアミン銅錯イオンと DBS に解離しそれぞれ分解、吸収される。

（第一化学薬品株式会社, 1977 年）

3. 土壌における代謝運命代謝試験

土壌における運命試験を洪積火山灰土壌 60% 含水を用いて実施した。¹⁴C-DBEDC を水で希釈し、0.4 mg/40g（1 回）dry soil 量を含水土壌表面に均一に散布した。分解による

¹⁴CO₂ の排出量を経時的に測定した。土壌中における本剤の代謝分解は 60 日間で CO₂ の排出が約 17% であった。水分の存在によってエチレンジアミン銅錯イオンと DBS に解離し、徐々に分解されるものと考えられる。

（第一化学薬品株式会社, 1977 年）

要 約

ドデシルベンゼンスルホン酸ビスエチレンジアミン銅錯塩 [II] の安全評価を行うための各種毒性試験を実施した。その結果、本剤は急性毒性が極めて低く、普通物に該当することが示された。20% 乳剤では眼に対しては強い刺激性を示した。皮膚に対して弱い刺激性があったが、皮膚感作性は陰性であった。原体において皮膚感作性は陽性であった。慢性毒性は催腫瘍性がないと判断され、催奇形性では繁殖能力に悪影響はなかった。変異原性試験では遺伝子突然変異原性の一部に極めて弱い誘発性誘発性が認められたが、染色体異常誘発性および DNA 損傷誘発性は陰性と判断された。本剤を処理したラットにおける生体内代謝はすみやかに行われ、体内残留傾向も認められなかった。ドデシルベンゼンスルホン酸ビスエチレンジアミン銅錯塩 [II] の ADI は 0.1 mg/kg と設定された。

ドデシルベンゼンスルホン酸ビスエチレンジアミン銅錯塩 [II] は昭和 44 年特許庁より農薬類で承認され、昭和 48 年には乳剤（サンヨール）として農薬登録を取得した。定められた使用基準を遵守すれば、安全性の高い農業資材の一つとして有用であると考えられる。

問合せ先

米澤化学株式会社

〒 601-8455 京都市南区唐橋芦辺町 15 番地