

技術情報

ジクロメジンの毒性試験の概要

三共株式会社農薬開発部

(昭和63年8月20日受理)

薬剤の概要

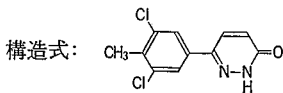
ジクロメジン (diclomezine, 商品名: モンガード®) は、三共株式会社が独自に開発した殺菌剤で、*Rhizoctonia* spp., *Corticium* spp., *Sclerotium* spp. および *Typhula* spp. 等の糸状菌に高い *in vitro* 抗菌活性を有し、水稻の紋枯病や紋枯病類似症に安定した防除効果を発揮する。

昭和47年にピリダジン誘導体が抗リゾクトニア活性を有することを発見して以来、*in vitro* 抗菌活性、温室試験等で稲紋枯病菌にとくに高い活性を示したフェニルピリダジン誘導体に焦点を絞って開発研究を行なった結果、ジクロメジンを開発化合物として決定し、さらに種々の条件下で安定した効果を発揮するための製剤研究を鋭意実施した。昭和51年から本格的な委託試験を実施した結果、本剤は稲紋枯病に対して広い散布適期幅を有し、予防散布・治療散布のいずれでも高い安定した防除効果を示すほか、近年問題になりつつある各種紋枯病類似症に対する防除効果も優れていることが確認された。

本剤はこれらの病害防除剤としての農薬登録を取得しているほか、ゴルフ場におけるリゾクトニア・ラージバッチ病や落花生白絹病等の水稻以外の植物病害に対しても高い防除効果を有し、適用の拡大が期待されている。

本剤の化学構造および物理的・化学的性状等は以下に示すとおりである。

化学名: 6-(3,5-dichloro-4-methylphenyl)-3(2H)-pyridazinone



分子式: C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>ON<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>

外観: 白色結晶

蒸気圧: 1×10<sup>-7</sup> mmHg 以下 (0~60°C 分子拡散法)

融点: 250.5~253.5°C

溶解度: 水 0.74 ppm, DMSO 32.3 g/l, 塩化メチレン 1.1 g/l(以上 25°C)、メチルアルコール 2.0 g/l, アセトン 3.4 g/l, ジオキサン 3.7 g/l, ヘキサソ 0.5 g/l 以下, DMF 29.0 g/l, トルエン 0.8 g/l(以上 23°C)

安定性: 熱, 光, 酸, アルカリに比較的安定

以下, 本剤の登録取得に際して実施した安全性評価のための各種毒性試験をとりまとめて報告する。

急性毒性試験

ラット, マウスおよびウサギに対する種々の投与経路における急性毒性試験結果は以下に示すとおりである。

検体	動物種	投与経路	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	実施機関 (年度)
ジクロメジン原体	ラット	経口	♂ >12,000 ♀ >12,000	静岡薬科大学・三共株式会社 (1977年)
		皮下	♂ >12,000 ♀ >12,000	
		腹腔内	♂ >12,000 ♀ >12,000	
	マウス	経口	♂ 21,240 ♀ 5957	
		皮下	♂ >21,000 ♀ >21,000	
		腹腔内	♂ >10,500 ♀ 6951	
ラット	経皮	♂ > 5000 ♀ > 5000	慶応義塾大学・日本実験医学研究所 (1981年)	
		吸入 (4 hr)	♂ >0.821 (mg/l) ♀ >0.821 (mg/l)	ハンティンド・ンリサーチセンター (1987年)
1.2% 粉剤 DL	ラット	経口	♂ > 5000 ♀ > 5000	動物繁殖研究所 (1985年)
		経皮	♂ > 2000 ♀ > 2000	
	マウス	経口	♂ > 5000 ♀ > 5000	

20% 水和剤	ラット	経口	↑	> 5000	動物繁殖研究 所 (1985年)
		経皮	↑	> 2000	
	経口	↑	> 5000		
	経皮	↑	> 2000		
20% フロア ブル	ラット	経口	↑	> 5000	アニマルリサ ーチ (1988年)
		経皮	↑	> 5000	
	経口	↑	> 5000		
	経皮	↑	> 5000		
マウス	経口	↑	> 5000		
	経皮	↑	> 5000		

### 刺激性試験

ジクロメジン原体<sup>\*1</sup>、1.2% 粉剤 DL<sup>\*2</sup> および 20% フロアブル<sup>\*3</sup>の眼および皮膚に対する刺激性を日本白色ウサギを用いて検討した。

#### 1. 眼一次刺激性試験

片眼を処理眼、他眼を無処理対照眼として、各検体 100 mg を投与した場合の刺激性の評価を角膜、虹彩および結膜について行なった。

その結果、結膜の一過性の発赤がジクロメジン原体で 1 例、1.2% 粉剤 DL で 1 例認められたが、そのほかに異常は認められず、供試験体のいずれも眼に対する刺激性はないと判定された。

#### 2. 皮膚一次刺激性試験

供試ウサギの背部を剪毛し、ジクロメジン原体と 1.2% 粉剤 DL 投与群はそれぞれ擦過皮膚と非擦過皮膚の両試験区を、20% フロアブル投与群は非擦過皮膚の試験区を設けた。

ジクロメジン原体は 500 mg/4×4 cm<sup>2</sup>、1.2% 粉剤 DL は 500 mg/2×3 cm<sup>2</sup>、20% フロアブルは 500 mg/2.5×2.5 cm<sup>2</sup> に 4 時間塗布し、経時的に塗布部分における紅斑・痂皮・浮腫等の刺激性変化の有無を観察した。

その結果、塗布終了直後から 3~7 日後にかけてのいずれの観察時期でも、全試験動物において異常は認められず、供試験体のいずれも刺激性はないと判定された。

<sup>\*1</sup> 慶応義塾大学・日本実験医学研究所, 1981年,

<sup>\*2</sup> 信州動物実験センター, 1985年,

<sup>\*3</sup> 日本実験医学研究所, 1988年)

### 皮膚感作性試験

ジクロメジン原体について、ハートレイ系モルモットを用いて Maximization 法により皮膚感作性の評価を行なった。

その結果、ジクロメジン原体投与群のいずれの動物の皮膚にも何ら変化は認められず、ジクロメジン原体の皮膚感作性は陰性と判定された。

(信州動物実験センター, 1985年)

### 亜急性毒性試験

#### 1. マウスを用いた 12 週間亜急性毒性試験

1 群雌雄各 8 匹の ddy 系マウスにジクロメジンを 0, 10, 70, 500 および 3500 mg/kg となるように 12 週間経餌投与した。投与期間中、一般症状や行動を観察し、体重および摂餌量を測定した。投与期間終了時、全動物について、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を実施し、さらに剖検後に臓器重量の測定および病理組織学的検査を行なった。

その結果、ジクロメジンの 12 週間経餌投与による亜急性毒性試験における影響として、雌雄の 3500 mg/kg 投与群の体重増加抑制、雄の 500 mg/kg 以上、雌の 3500 mg/kg 投与群の肝重量および対体重比の増加および 3500 mg/kg 投与群では雄のヘマトクリット値、ヘモグロビン量、ALP 活性、コレステロール量、雌のヘモグロビン量、コレステロール量の増加が認められたが、70 mg/kg 以下の投与群では何らジクロメジン投与に起因する影響は認められなかったため、最大無作用量は雌雄とも 70 mg/kg/日と判断された。(静岡薬科大学, 1977年)

#### 2. ラットを用いた亜急性毒性試験

ラットを用いた経餌投与による亜急性毒性試験は、1977年、1987年の2回、静岡薬科大学と日本実験医学研究所でそれぞれ実施した。

1977年、1 群雌雄各 10 匹の Wistar 系ラットにジクロメジンを 0, 10, 70, 500 および 3500 mg/kg となるように 12 週間経餌投与した。投与期間中、一般症状および死亡の有無を観察し、体重および摂餌量を測定した。投与期間終了時に、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を行ない、さらに剖検後に、臓器重量の測定および病理組織学的検査を実施した。

その結果、ジクロメジンの 12 週間経餌投与による亜急性毒性試験における影響として、雄では 500 mg/kg 以上の投与群で肝、脾、精巣重量の増加や赤血球数の減少、3500 mg/kg 投与群でコレステロール量の増加が認められ、雌では 3500 mg/kg 投与群で赤血球数、コレステロール量、肝重量の増加が認められた。

以上から、最大無作用量は雄では 70 mg/kg/日、雌では 500 mg/kg/日と判断された。

(静岡薬科大学, 1977年)

つづいて、1987年、1 群雌雄各 10 匹の Wistar 系ラッ

トにジクロメジンを0, 120, 800, 5700 および 40,000 ppm 含有する飼料を3か月間摂取させた。投与期間中、一般状態および死亡の有無を毎日観察し、体重および摂餌量を測定した。投与期間終了時に血液学的検査、血液生化学的検査を行ない、剖検後には臓器重量の測定および病理組織学的検査を実施した。また、投与開始前および投与期間終了時に眼科学的検査を行なった。

その結果、ジクロメジンの3か月経餌投与による亜急性毒性試験における影響として、5700 ppm 以上の投与群では、雄で肝、腎重量の増加および肝細胞の軽度の腫大が、雌雄で A/G 比や無機リンの上昇、尿酸、トリグリセライドおよびビリルビンの低下がみられた。また、40,000 ppm 投与群では、雌で肝重量の増加が、雌雄で体重および摂餌量の増加がみられたが、800 ppm 以下の投与群では、何らジクロメジン投与に起因する影響は認められなかった。

以上から、最大無作用量は 800 ppm (雄 52.63 mg/kg/日、雌 60.91 mg/kg/日) と判断された。

(日本実験医学研究所, 1987年)

#### 慢性毒性試験

##### 1. イヌを用いた24か月間慢性毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル犬に0, 40, 400, 4000 および 40,000 ppm のジクロメジンを含有する飼料を2年間摂取させた。投与期間中、一般状態および生死を毎日観察し、体重、摂餌量および飲水量を測定した。さらに、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査および眼科検査を行なった。投与期間終了後、最終屠殺動物について、剖検後に臓器重量の測定および病理組織学的検査を実施した。

その結果、投与に起因する実験動物の死亡例はなく、ジクロメジンの24か月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響としては、400 ppm 以上の投与群の雌の体重増加抑制および雌雄の血液生化学的検査に変化があり、4000 ppm 以上の投与群では、雄の体重増加抑制および肝、精巣の病変の増加が認められた。しかし、40 ppm 投与群では、投与に起因すると考えられる有意な影響は認められなかったため、最大無作用量は 40 ppm (雄 1.4 mg/kg/日、雌 1.6 mg/kg/日) と判断された。

(インダストリアル BIO-TEST ラボラトリーズ, 1980年)

##### 2. ラットを用いた24か月間慢性毒性試験

1群雌雄各23~24匹のWistar系ラットに0, 1, 10, 100 および 2000 mg/kg/日のジクロメジンを24か月間経餌投与した。投与期間中、一般症状および生死を毎日観察し、体重変化および摂餌量を測定した。投与期間終了

時に血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査を実施し、最終屠殺動物については、剖検後、臓器重量の測定および病理組織学的検査を実施した。

その結果、ジクロメジンの24か月間飼料混入投与による慢性毒性試験における影響として、2000 mg/kg 投与群において、雌の体重増加抑制と雄の肺重量増加が認められたが、100 mg/kg 以下では投与に起因する影響は何ら認められなかったため、最大無作用量は、雌雄ともに 100 mg/kg (雄 98.9 mg/kg/日、雌 99.5 mg/kg/日) であると判断された。また、催腫瘍性はないと考えられた。

(静岡薬科大学, 1981年)

#### 繁殖性試験

ジクロメジンの繁殖性に及ぼす影響を評価するため、SD系ラットを用いて0, 25, 125 および 625 ppm のジクロメジンを含有した飼料を2世代にわたり摂取させた。なお、F<sub>0</sub>世代としては、1群雌雄各30匹を用い、5週齢から摂取させた。親世代の検査として、一般状態を観察し、体重および飼料摂取量を測定した。親動物 (P, F<sub>1</sub>世代) および仔動物 (F<sub>2b</sub>) は、各群雌雄10匹ずつについて臓器重量の測定を行なった。肉眼的病理検査は全試験動物について実施した。また、病理組織学的検査は、臓器重量測定動物および途中死亡動物について実施した。繁殖性に関しては、交尾率、妊娠率、出産率、出産仔数および離乳時生存率等について調べた。

その結果、625 ppm 投与群で、F<sub>1</sub>親動物雄の心臓重量の減少、F<sub>2b</sub>離乳仔雌の脾臓重量の増加がみられたが、いずれの世代においても、各投与群とも、繁殖能に何ら影響はみられなかった。

以上から、最大無作用量は 125 ppm と判断された。

(日本実験医学研究所, 1985年)

#### 催奇形性試験

ジクロメジンの催奇形性を評価するため、1, 5 および 25 mg/kg の用量で、Wistar系ラットの妊娠7日から15日までの9日間、毎日1回経口投与した。供試ラットは交配時12週齢のものをを用い、1群22~23匹 (開腹群16~17匹、育成群6~7匹) とした。開腹群、育成群ともに、妊娠7~21日間にわたって体重、摂餌量を測定し、開腹群は妊娠21日目に開腹して、着床数、生存数、吸収胚数および死胚数を調査した。生存胎子については、性別、体重、体長、尾長、外形異常および骨格異常の有無を観察した。育成群は、自然分娩させて、体重、性別、外形異常および内臓異常の有無を観察した。

その結果、ジクロメジンを妊娠ラットに投与したと

き、最高投与群 (25 mg/kg) でも催奇形性は認められず、最大無作用量は 25 mg/kg/日 と判断された。

(名古屋保健衛生大学, 1978年)

### 変異原性試験

#### 1. DNA 修復試験

*Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNA 損傷の誘発性を rec-assay により検索した。

試験濃度は 100, 300, 1000 および 3000  $\mu\text{g}/\text{disk}$  とし、培養後阻止帯の長さを測定した。陰性対照としてカナマイシン、陽性対照として MMC を用いた。

その結果、陽性対照の MMC では両株の間に明らかな生育阻止帯の差が認められたが、ジクロメジンは、陰性対照のカナマイシンと同様、最高投与量においても両株とも生育阻止を認めないことから陰性と判定された。

(食品薬品安全センター-秦野研究所, 1979年)

#### 2. 復帰変異試験

*Salmonella typhimurium* のヒスチジン要求性株 5 株および *Escherichia coli* のトリプトファン要求性株を用い、ラットの肝臓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 test により復帰変異性を検索した。

試験濃度は 100, 300, 1000 および 3000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  とし、陽性対照として 2AA, 9AA, ENNG, 2NPPD, AF<sub>2</sub> および溶媒対照として DMSO を用いた。

その結果、陽性対照では明らかな復帰変異コロニー数の増加を示したが、ジクロメジンでは S-9 Mix の有無にかかわらず復帰変異コロニー数の増加は認められず、復帰変異誘発性は有しないと判断された。

(食品薬品安全センター-秦野研究所, 1979年)

#### 3. 染色体異常試験

継代培養したチャイニーズハムスターの卵巣細胞を用いた。本試験前に濃度設定のために実施した細胞毒性試験から、本試験の濃度は非代謝活性化法および代謝活性化法のいずれも 6, 30, 60  $\mu\text{g}/\text{ml}$  とし、染色体の異常を

ギャップ、切断、染色分体交換、二動原体染色体、無動原体断片、環状染色体および複雑型に分類して計測した。

その結果、陽性対照として用いた MMC (非代謝活性化)、シクロホスファミド (代謝活性化) では顕著な染色体異常の増加が認められたが、ジクロメジン投与群のいずれも染色体異常の誘発は認められなかったため、本剤の染色体異常誘発性は陰性であると判断された。

(ハンティンドンリサーチセンター, 1986年)

### 要 約

ジクロメジンの安全性評価のため、各種毒性試験を実施した。急性毒性 (LD<sub>50</sub>) は、ラット、マウスの経口投与およびラットの経皮投与とも、5000 mg/kg 以上であり、ウサギを用いた一次刺激性試験でも、皮膚、眼粘膜ともにまったく刺激性は認められなかった。ラット、マウスを用いた亜急性毒性試験、ラット、イヌを用いた慢性毒性試験、ラットを用いた繁殖性および催奇形性試験において、高用量投与群で臓器重量の増加や体重増加抑制等の影響がみられたが、催腫瘍性、繁殖性に及ぼす影響および催奇形性のいずれも認められなかった。また、細菌あるいは培養細胞を用いた変異原性試験では、いずれも陰性であった。

以上から、ジクロメジンには発癌性や生殖能への影響および催奇形性がなく、さらに、急性毒性や皮膚および眼粘膜に対する刺激性等から判断して、非常に安全性の高い化合物といえる。

ジクロメジンは、昭和62年10月21日、モンガード粉剤 DL あるいは他の殺菌剤や殺虫剤との混合粉剤 DL として農林水産省により農薬登録され、さらに水和剤やフロアブル剤ならびに各種混合粉剤 DL を農薬登録申請中である。

### 問合せ

三共株式会社農薬開発部

〒104 東京都中央区銀座 2-7-12