

.....
技術情報

ダイファシノンの毒性試験の概要

大塚薬品工業株式会社開発研究部

(平成4年8月20日受理)

薬剤の概要

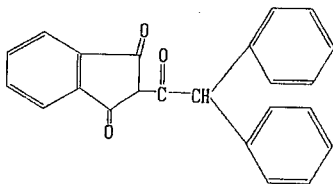
ダイファシノンは抗血液凝固殺そ剤として1955年頃から米国ニースケミカル社 (Nease Chemical Co., Inc.) が原体製造を始め、主として米国内およびカナダの市場で販売し、1970年1月より米国ベルシコールケミカル社 (Velsicol Chemical Corp.) がニースケミカル社を吸収合併することにより販売地域も国際市場へと拡大した。大塚薬品工業(株)は1967年より開発を進め殺そ剤としての効力を確認したため、米国ベルシコールケミカル社と技術提携を結び1973年に農林水産省の農薬登録を申請し、1976年に農薬登録を取得した。この殺そ剤の名称は「ヤソヂオン」でダイファシノン 0.005% を含有する粒剤である。

ダイファシノン剤はクマリン剤と同様、連日摂取することにより毒性が発現し、その作用は血液の凝固を阻止し、体腔内や皮下組織などに浸潤性の出血を起こさせ死に至らしめるものである。しかし、この致死効果は急性毒のように1回の摂取により発現するのではなく、連日少量ずつ継続して摂取することにより発現する。したがって、万一人畜が過って一度に相当量を摂取しても危険は少ない。しかも連続して誤食するという可能性も低いだけに使用上比較的安全な薬剤であるといえる。また、たとえ出血等の中毒症状が現われても解毒剤であるビタミン K₁ を経口投与、あるいは静脈注射することにより回復し、プロトロンビンタイムも約24時間で平常レベルに回復する。クマリン剤と比較すると殺そ効果が高く、0.005% という低濃度で使用されている。

一般名: ダイファシノン

化学名: 2-diphenylacetyl-1,3-indandione

化学構造:



分子式: C₂₃H₁₆O₃

分子量: 340.4

外観: 淡黄色, 結晶性粉末

融点: 145~147°C

安定性: 融点以下で安定

急性毒性試験

ダイファシノン原体およびその製剤のラット, マウスにおける経口および経皮の急性毒性試験の結果を以下に示す。

1. 原体

動物種	投与経路	性	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)
ラット	経口	♂	43.3	鳥取大学農学部応用昆虫学教室 (1972)
		♀	22.7	
ラット	経皮	♂	637	臨床医科学研究所 (1987)
		♀	807	
マウス	経口	♂	30.0	鳥取大学農学部応用昆虫学教室 (1972)
		♀	28.3	

2. 製剤 (0.005% 粒剤)

動物種	投与経路	性	LD ₅₀ 値 (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)
ラット	経口	♂	>5000	臨床医科学研究所 (1987)
		♀	>5000	
ラット	経皮	♂	>2000	臨床医科学研究所 (1990)
		♀	>2000	
マウス	経口	♂	>5000	臨床医科学研究所 (1987)
		♀	>5000	

原体の急性経口毒性試験では、ラット、マウスとも1日以内の死亡例では肝臓、脳に著しい出血を示す個体が多かったが、肺では軽度の出血あるいは充血が認められたにすぎなかった。また、マウスでは腹水のかかなり多い個体が目立った。4日目以降に死亡したラットでは上記の所見に加え、胃、小腸に顕著な出血を認め、精巣およ

びその周辺、膀胱に出血を起こしている個体があった。同じく4日目以降に死亡したマウスでは、小腸、肝臓で顕著な出血が認められたが、肺では斑状出血が認められたにすぎなかった。

原体の急性経皮毒性試験では、貧血および自発運動の低下、体重増加抑制がみられた。剖検においては、途中死亡例および生存例のいずれにも、肺および胸腺の出血がみられ、雄には加えて精巣および精巣上体の出血が認められた。

0.005% 製剤の急性経口毒性試験では、ラット、マウスとも 5000 mg/kg の投与で死亡例はみられず、観察期間中の一般症状および試験終了時の剖検においても投与群の胸腹腔内の各臓器に異常は認められなかった。

同じく製剤の急性経皮毒性試験では、2000 mg/kg 投与で死亡例はみられず、一般症状、投与部位の状態、体重推移および剖検においても異常所見は認められなかった。

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

ダイファシノン 0.1% 粉末（製造段階での中間体）の眼に対する一次刺激性試験を日本白色種雄ウサギ 9 匹を用いて検討した。3 匹ずつの 3 群とし、結膜、虹彩および角膜に異常のないことを確認した後、ウサギの右眼に検体 100 mg を点眼し、各群それぞれ 4 秒後、30 秒後、24 時間後に洗眼し、1 時間後、4 時間後、24 時間後、48 時間後、72 時間後の眼刺激反応を観察した。

各供試動物ともいずれの観察時においても角膜および虹彩には異常は認められなかった。結膜においては 24 時間後洗眼群で 1 時間後の観察で軽度の発赤と腫脹が全個体に認められた。このうち腫脹は点眼後 1 時間における反応の程度にしたがって点眼後 4~48 時間で消失し、発赤は 3 匹中 1 匹では点眼後 24 時間で、他の 2 匹では点眼後 72 時間でほぼ正常に復した。点眼後 4 秒および 30 秒後洗眼群のすべての個体の結膜において点眼後 1 あるいは 4 時間後に軽度の発赤が認められ、点眼後 30 秒洗眼群の 1 匹において発赤と同時期に陽性とは認められない程度の結膜腫脹が認められたが、すべて 24~48 時間で消失した。

以上の結果から、ダイファシノン 0.1% 中間体は、ウサギの眼粘膜に対してきわめて軽微な刺激性を有すると判定された。（日本食品分析センター、1984 年）

2. 皮膚一次刺激性試験

ダイファシノン 0.005% 粒剤の皮膚に対する一次刺激性試験を 6 匹の日本白色種雄ウサギを用いて検討し

た。

乳鉢で粉砕した被験物質 0.5 g を精製水で湿らせ、2.5 cm 角の外科用リント布に塗布し、動物用電気バリカンおよび電気シェーバーを用い除毛した体幹背部の皮膚に 1 匹当たり 2 か所適用した。適用 4 時間後にリント布を除き、適用部位を水で拭いて検体を落とし、1 時間後から 72 時間後まで皮膚反応を観察した。

その結果、検体除去 1 時間後の 1/12 区画に非常に軽度な紅斑が認められたが、24 時間後には消失した。

以上の結果から、ダイファシノン 0.005% 粒剤は、皮膚に対する刺激性はないと判断された。

（化学品検査協会、1987 年）

モルモットを用いた皮膚感作性試験

ダイファシノン 0.005% 粒剤の皮膚感作性を Hartley 系雄モルモット（1 群 20 匹、陽性対照群 10 匹）を用い Buehler 法により検討した。

7 日ごとに 3 回、検体 50% 混合白色ワセリンを 0.5 g、6 時間閉塞貼付し感作した。3 回目感作の 2 週間後、50% 検体混合白色ワセリン 0.5 g を 24 時間閉塞貼付し誘発を行なった。なお陽性対照の感作には、1% 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB) 混合白色ワセリンを、同じく誘発には 0.1% DNCB 溶液を用い検体と同様に処置した。

その結果、検体感作群では誘発貼付除去 24 および 48 時間後の皮膚において、紅斑、浮腫等の皮膚反応はみられなかった。一方、陽性対照群では誘発貼付除去 24 および 48 時間後の皮膚において、まばらな軽い紅斑から中程度の紅斑が全例に観察された。

以上の結果から、検体に皮膚感作性はないと判断された。（臨床医学研究所、1991 年）

ラットを用いた亜急性経口毒性試験

1 群 16 匹（雄 8 匹、雌 8 匹）、合計 96 匹の Sprague-Dawley 系ラットに 6 濃度（0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.0313, 0 ppm）のダイファシノンを混合した餌を 90 日間自由摂取させた。試験開始時の 96 匹のうち 12 匹（各濃度段階から雄 1 匹、雌 1 匹）を 30 日目に、さらに 12 匹を 60 日目に殺処分し、剖検とプロトロンビン凝固時間の測定を行なった。90 日間の投与期間終了後、生存個体の病理学的検査および血液学的検査、プロトロンビン凝固時間の測定を行なった。さらに各濃度段階で生存した個体から無作為に選んだ雄 2 匹、雌 2 匹の血液から血液学的、臨床生化学的検査を行なった。

その結果、30 日および 60 日で殺処分し剖検した 12

匹に異常は認められなかった。ダイファシノンを与えた個体のプロトロンビン凝固時間が平均 12.3 秒、標準偏差 0.8 であったのに対して、対照群は平均 13.2 秒、標準偏差 0.5 であった。0.25 および 0.0625 ppm の群で試験期間中それぞれ雄 1 匹が 17 日目、20 日目に死亡し、死後の検査でおそらく死因と思われる硬膜下出血がみられた。これら死亡個体とダイファシノンを与えた 10 匹に赤味を帯びた目からの滲出物と目の周りのわずかな脱毛がみられたが、対照群ではこれらの症状はみられなかった。これら 10 匹のプロトロンビン凝固時間は平均 12.8 秒、標準偏差 1.5 であった。試験期間終了後まで生存した 70 匹の各処理濃度におけるプロトロンビン凝固時間に有意な差は認められず、血液学的、臨床生化学的検査でも、0.5 ppm 群のフィブリノーゲンレベルが他の群より低かった以外各群間にあまり差はみられなかった。硬膜下出血を起こし死亡した 2 匹、および目の周囲に症状を示した 10 匹を除いて、与えた餌にかかわらず試験動物の健康状態は良いようにみえた。

以上よりダイファシノン原体により 0.0625 ppm でも死亡するラットもいること、また個体による感受性に大きな違いのあることがわかった。

(U.S. Fish and Wildlife Service, Denver Wildlife Research Center, 1981 年)

変異原性試験

1. 復帰変異原性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 5 株 (TA 100, TA 98, TA 1535, TA 1537, TA 1538) とトリプトファン要求性の大腸菌 (WP2uvrA) を用い、ラット肝臓より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 らの方法により復帰変異原性を検定した。TA 100, TA 98, TA 1537, TA 1538 の 4 株はダイファシノン原体を 500, 100, 50, 10, 5, 1, 0.5, 0.1 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度で、TA 1535, WP2uvrA の 2 株は 1000, 500, 100, 50, 10, 5, 1, 0.5 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の濃度でそれぞれ処理した。

その結果、S9-Mix 存在の有無にかかわらずいずれの変異株においても対照と比べて復帰変異コロニー数の増加を認めなかった。

以上の結果よりダイファシノン原体には復帰変異誘発性はないものと判断された。

(日本バイオリサーチセンター羽島研究所, 1983 年)

2. DNA 修復試験

枯草菌の組替修復機構保持株 (H-17) および欠損株 (M-45) を用い、rec-assay 法によりダイファシノン原体を 0.5~1000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ の濃度で処理したときの DNA 損傷誘発性を検定した。

その結果、両株間の生育阻止帯に差は認められず、ダイファシノン原体の DNA 損傷誘発性は陰性であると判断された。

(日本バイオリサーチセンター羽島研究所, 1983 年)

要 約

ダイファシノン原体の急性毒性、亜急性毒性は比較的高いが、製剤は 0.005% と非常に低い濃度であり、急性経口 LD_{50} はマウス、ラットとも 5000 mg/kg 以上、ラットの急性経皮 LD_{50} は 2000 mg/kg 以上であることから、人畜に急性毒性中毒の起こる危険性はきわめて低い。ダイファシノン 0.1% 中間体の眼刺激性はきわめて軽度で、0.005% 製剤の皮膚一次刺激性、皮膚感作性ともに陰性であった。変異原性に関しては復帰変異原性試験、DNA 修復試験ともに陰性であった。

ダイファシノンは抗血液凝固剤であり、0.005% というきわめて低濃度で使用され、連日摂取することにより毒性が発現すること、さらにビタミン K_1 という解毒剤が確立していることから、定められた使用基準を遵守すれば安全性を確保できる有用な殺そ剤であるといえる。

問合せ

大塚薬品工業株式会社開発研究部
〒350 埼玉県川越市下小坂 168