

技術情報

ジラムの毒性試験の概要

大内新興化学工業株式会社東京第2営業部

(平成4年2月20日受理)

薬剤の概要

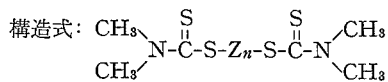
ジラムはジチオ酸塩類に属する化合物である。本系統化合物は1920年頃からゴムの加硫促進剤として使用されてきたが、1931年に Tisdale らによりその殺菌性が発見されて以来農業用殺菌剤としての開発が進められた。大内新興化学工業株式会社は、有機ゴム薬品研究の経験を生かしてジチオ酸塩類の農業用途開拓に務め、一連のジメチルジチオカルバミン酸系殺菌剤を上市してきた。このうち、ジラムは1950年にはじめて20%水和剤として上市された。

本剤は糸状菌に起因する各種の植物病害に対して生物活性を有し、麦さび病、うり類べと病、炭疽病、なし赤星病、黒星病など、穀類から野菜、果樹、花卉類の諸病害に至るまで広い適用範囲を有している。また、ジラム50%、チウラム30%の混合剤は、リンゴ、ナシ、モモ、カキ等、果樹類の諸病害防除剤として高い効果が認められている。

本剤の化学構造および物理化学的性質を以下に示す。

一般名: ジラム (ziram)

化学名: Zinc dimethyldithiocarbamate



分子式: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{N}_2\text{S}_4\text{Zn}$

分子量: 305.80

外觀: 白色粉末

比重: 1.79

融点: 250.0~251.5°C

溶解度(g/l, 20°C): 水 0.033, クロロホルム 10.541, 二塩化メチレン 10.972, テトラヒドロフラン 5.793, エチルアルコール 0.121, アセトン 2.039, キシレン 0.703, ベンゼン 2.497, ヘキサン 0.049, アセトニトリル 0.735, 二硫化炭素 1.414

分配係数(*n*-オクタノール/水 50°C): 3.4

以下、本剤を用いた各種毒性試験の結果を取りまとめ

て報告する。

急性毒性試験

ラットおよびマウスに対する種々の投与経路における原体の急性毒性試験結果は次表に示すとおりである。

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関	報告年
ラット	経口	雄 1208	残留農薬 研究所	1980
		雌 873		
	皮下	雄 96		1981
		雌 69		
	腹腔内	雄 8.7		1981
		雌 10.5		
経皮	雄 >5000		1980	
	雌 >5000			
吸入 (LC ₅₀) (4時間全身暴露, mg/l)	雄 0.12	残留農薬 研究所	1987	
	雌 0.16			
マウス	経口	雄 2183	残留農薬 研究所	1981
		雌 1950		
	皮下	雄 372		
		雌 309		
	腹腔内	雄 15.5		
		雌 17.0		

刺激性試験

1. ジラム原体の眼一次刺激性試験

ジラム原体 100 mg をニューゼランド・ホワイト種の雄ウサギ (洗眼群 6 匹, 非洗眼群 6 匹) の片眼に投与し、角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を投与後 21 日間観察した。なお、洗眼群のうち 3 匹は投与 2~3 分後に、残り 3 匹は投与 24 時間後に洗眼した。観察期間終了時の生存動物については、検体投与側の眼球の病理組織学的検査も実施した。

その結果、観察期間中は洗眼群、非洗眼群とも、角膜および結膜に強度の刺激性変化が認められた。また、虹彩にも刺激性変化が観察された。観察期間終了後の病理組織学的検査では、洗眼群、非洗眼群とも、角膜および

結膜に高度な壊死性・滲出性炎症の陳旧化病巣が認められた。また、虹彩炎も観察された。さらに、非洗眼群と24時間後洗眼群では脈絡膜の顕著な充血およびそれに伴うと考えられる網膜剝離が認められた。しかし、いずれの群とも視神経には異常はなかった。また、網膜への直接的な作用も認められなかった。なお、洗眼による明らかな回復促進効果は認められなかった。

以上の結果、ジラム原体はウサギの眼角膜および結膜に対し強度の刺激性を有していると判断された。

(残留農薬研究所, 1988年)

2. ジラム50%, チウラム30%混合剤(パルノックス水和剤)の眼一次刺激性試験

ジラム50%, チウラム30%混合剤(パルノックス水和剤)を蒸留水で500倍に希釈した懸濁液0.01mlを、ニュージーランド・ホホワイト種の雄ウサギ(洗眼群6匹, 非洗眼群6匹)の片眼に投与し、角膜、虹彩および結膜の刺激性変化を投与後7日間観察した。なお、洗眼群のうち3匹は投与2~3分後に、残り3匹は投与24時間後に洗眼した。

その結果、観察期間中は洗眼群、非洗眼群とも、角膜、結膜および虹彩のいずれにも刺激性変化は認められなかった。

(残留農薬研究所, 1988年)

3. ジラム原体の皮膚一次刺激性試験

ニュージーランド・ホホワイト種雄ウサギ6匹の背部皮膚1インチ平方(約6cm²)を剃毛し、ジラム原体0.5gを4時間閉鎖貼付した。貼付終了後、処置部分の刺激性変化を72時間観察した。

その結果、ウサギの皮膚にはジラム原体による刺激性変化は認められなかった。

(残留農薬研究所, 1985年)

皮膚感作性試験

ハートレイ系雌モルモットを用いてMaximization法により試験を行なった。感作処置として、まず、①フロイントの完全アジュバントと滅菌生理食塩水のwater in oil 乳化溶液(w/o 乳化溶液)、②ジラム原体の5%流動パラフィン懸濁液、③ジラム原体の5%w/o 乳化溶液の3種類の薬液各0.1mlを、あらかじめ剃毛しておいた肩甲骨上の2cm×4cmの皮膚区画に皮内投与(感作皮内投与)した。次に、感作経皮投与として、皮内投与の1週間目に、検体の25%経皮貼付薬液を上記の部位に48時間閉鎖貼付した。惹起処置としては、感作経皮投与後2週間目に、検体の25%経皮貼付薬液をあらかじめ剃毛しておいた腹側部の2cm×2cmの皮膚区画に24時間閉鎖貼付した。惹起経皮貼付除去後、適用

部位の紅斑および浮腫の有無を72時間観察した。

その結果、惹起処置部位に肉眼的変化は認められず、ジラム原体の皮膚感作性は陰性であった。

(残留農薬研究所, 1987年)

亜急性毒性試験

1. ラットにおける4週間試験

ジラム原体を0, 100, 500, 1000, 2000, 5000および10,000ppmの濃度で、1群雌雄6匹のFischer 344ラットに4週間混餌投与した。

その結果、500ppm以上の投与群の雌雄に貧血を主とする血液学的検査の異常と、肝臓および脾臓の対体重比が増加した。飼料摂取量の減少を伴う体重増加抑制が、雄では500ppm以上、雌では1000ppm以上の投与群に認められた。5000ppm以上の投与群では低栄養を示唆する体型小型化あるいは削骨が顕著で、10,000ppm群の雌雄では投与開始後7日までに、全例が死亡もしくは予後不良と判断され切迫殺された。

(残留農薬研究所, 1980年)

2. ビーグル犬における4週間試験

ジラム原体を0, 0.2, 1.0, 5.0および10.0mg/kg/日の投与量で、1群雌雄1頭のビーグル犬に4週間ゼラチンカプセルにより経口投与した。

その結果、1.0mg/kg/日以上投与群に、下痢便あるいは粘液便が頻繁に認められた。5.0mg/kg/日以上投与群では嘔吐も認められた。しかし、体重、飼料摂取量および血液学的・血液生化学的検査を含む臨床病理学的検査に異常はなかった。

(残留農薬研究所, 1980年)

慢性毒性/発癌性試験

1. ラットにおける慢性毒性/発癌性試験

ジラム原体を0, 20, 200および2000ppmの濃度で、1群雌雄80匹(中間屠殺群を含む)のFischer 344ラットに24か月間混餌投与した。投与開始後6, 12および18か月後に各群雌雄8匹ずつを中間屠殺した。

その結果、2000ppm群の雌雄において飼料摂取量および食餌効率の低下を伴う体重増加抑制が認められた。200ppm投与群の雌および2000ppm群の雌雄において貧血が観察された。臓器重量では200ppm以上の投与群の片性あるいは両性において下腿筋重量の減少および脾重量の増加が認められ、さらに、2000ppm群の雌雄では甲状腺重量も増加していた。病理組織学的検査では、これらの動物に下腿筋萎縮、甲状腺小胞肥大、前胃粘膜角化亢進および骨髓・脾臓における造血亢進等の

病変が増加していた。20 ppm 群の雌雄に異常はなかった。これらの結果から、最大無作用量は雌雄とも 20 ppm (雄 0.70 mg/kg/日, 雌 0.83 mg/kg/日) であると判断された。また、認められた腫瘍性病変の種類および発生頻度に対照群と投与群の差は認められず、発癌性はないと判断された。(残留農薬研究所, 1983 年)

2. ビーグル犬の慢性毒性試験

ジラム原体を 0, 0.2, 1.0 および 5.0 mg/kg/日の投与量で、1 群雌雄 6 頭のビーグル犬にゼラチンカプセルにより 24 か月間経口投与した。

その結果、5.0 mg/kg/日群の雌雄に下痢便あるいは粘液便が高頻度に観察され、雌では血液生化学的検査においてアルカリホスファターゼが高かった。病理組織学的検査では 5.0 mg/kg/日群の雄の脾臓において、褐色色素沈着が増加した。1.0 mg/kg/日以下の投与群の雌雄に異常はなかった。これらの結果から、最大無作用量は雌雄とも 1.0 mg/kg/日であると判断された。

(残留農薬研究所, 1983 年)

3. マウスの発癌性試験

ジラム原体を 0, 600 および 1200 ppm の濃度で、1 群雌雄 50 匹の B6C3F1 マウスに 103 週間混餌投与した。

その結果、1200 ppm 群の雌雄で飼料摂取量の減少を伴う体重増加抑制がみられた。病理組織学的検査では、1200 ppm 群の雌において造血系でのリンパ球過形成および甲状腺の濾胞のう胞化が増加した。マウス 1 匹当たりの腫瘍数に、用量に相関した軽度の増加傾向が認められたが、特定の臓器での腫瘍発生は、対照群と投与群の間に差はなかった。

(Southern Research Institute/National Toxicity Program, NIH アメリカ, 1983 年)

繁殖/催奇形性試験

1. ラットにおける繁殖および催奇形性試験

ジラム原体を 0, 10, 100 および 300 ppm の濃度で、1 群雌雄 25 匹の Wistar 系ラットに、F0 世代は 4 週齢から雄は 35 週間、雌は 28 週間、F1 世代は雌雄ともに離乳期から 28 週間、F2 世代は雌雄とも離乳期から 11 週間にわたり混餌投与し、繁殖性に対する影響を調べた。F0, F1 世代とも 2 回の交配試験を行ない、F0 世代の第 2 産仔の中から F1 世代の親動物を選択した。

また、F0 および F1 世代の雌親のうち、1 群 5~9 匹を 2 回目の妊娠 21 日目に安楽死させ、帝王切開し胎仔について催奇形性を調べた。

その結果、100 ppm と 300 ppm 群において F0 お

よび F1 世代の雌親では、育成期の終わりから妊娠中に、飼料摂取量および飲水量の低下を伴う体重増加抑制が認められた。同様の傾向は F2 世代の仔動物の育成期にも観察された。脾重量の体重比の増加が、F0 および F1 世代の雌雄親動物にみられた。しかし、雌雄親動物の繁殖能力に異常は認められず、また、催奇形性もなかった。したがって、繁殖および催奇形性に関する最大無作用量は 300 ppm と判断された。

(日本生物科学研究所・残留農薬研究所, 1984 年)

2. ウサギにおける催奇形性試験

ジラム原体を 0, 1, 5 および 25 mg/kg/日の用量で、1 群 15 匹の日本白色種妊娠ウサギに、妊娠 6 日から 18 日までの 13 日間、毎日 1 回強制経口投与した。妊娠 27 日に動物を安楽死させ、帝王切開により胎仔を摘出し、奇形学的検査を実施した。

その結果、25 mg/kg/日群では親動物に飼料摂取量の低下が認められ、死亡と産産が 1 例ずつ認められた。胎仔に関する所見としては、化骨進行度の遅れと骨格変異の増加が認められたが、体重は対照群と同じであり奇形の誘発もみられなかった。1 および 5 mg/kg/日群では、親動物と胎仔に異常はなかった。したがって、親動物および胎仔に関する最大無作用量は 5 mg/kg/日と判断された。催奇形性は、25 mg/kg/日でも認められなかった。

(日本生物科学研究所・残留農薬研究所, 1987 年)

変異原性試験

1. 細菌を用いた DNA 修復試験

枯草菌の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、賀田らの rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検討した。

その結果、ジラム原体は 10 μ g/disk までの濃度において、組換え修復機構欠損株 (M-45) にのみ最高 7 mm の阻止帯を誘起し、修復機構野生株にはまったく阻止帯を誘起しなかった。したがって、ジラム原体は DNA 損傷を誘起すると判断された。

(残留農薬研究所, 1978 年)

2. 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 5 株およびトリプトファン要求性の大腸菌 1 株を用い、ラット肝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 らの方法で変異原性を検定した。

その結果、ジラム原体は S-9 Mix の有無にかかわらず、TA 100 株にのみ復帰変異コロニー数の弱い増加を誘起した。その他の 5 株ではいずれの場合にも増加は認められなかった。したがって、ジラム原体は弱い復帰変

異性をもつと判断された。(残留農薬研究所, 1978年)

3. *In vitro* 染色体異常誘発性試験

チャイニーズハムスターの肺由来培養細胞 (CHL) に対する染色体異常誘発性を, 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検定した。細胞分裂が50%抑制される濃度を最高濃度とした。

その結果, 直接法では0.38~3.06 $\mu\text{g/ml}$ の濃度において, 染色体異常をもつ細胞の出現頻度は1.5~50.5% (再試験では0~85.0%) であった。代謝活性化法では0.76~12.23 $\mu\text{g/ml}$ の濃度において, 染色体異常が0~49.0% (再試験では0~25.0%) の細胞に認められた。したがって, ジラム原体は薬物代謝系の有無にかかわらず, チャイニーズハムスター肺由来培養細胞に対する染色体異常性をもつと判断された。

(残留農薬研究所, 1988年)

生体機能に及ぼす影響試験

1. 薬理試験

マウス, ラット, ウサギ, モルモットの生体あるいは摘出標本を用いて, ジラム原体の中樞神経系, 呼吸器系, 循環器系, 自律神経系, 消化器系, 骨格筋および血液凝固に対する作用を調べた。

その結果, マウスでは10 mg/kgの腹腔内投与で, また, ウサギでは10 mg/kgの静脈内投与により死亡が認められた。中樞神経系に対する作用では, マウスの腹腔内投与において雌5 mg/kg以上, 雄10 mg/kg以上に認可力, 運動性, 筋緊張の低下ならびに運動失調等の自律神経系の項目に異常が認められた。また, 雄ウサギの静脈内投与において10 mg/kg以上で音反応低下, 筋張力の低下, 反射の低下, 運動失調等の異常がみられた。雄マウスにおいてヘキサバルビタール睡眠に対する効果を調べたところ, 5 mg/kg以上の腹腔内投与で有意な睡眠時間の延長が認められた。しかし, 雄ウサギに100%致死量の20 mg/kgを静脈内投与しても, 脳波および体温に異常はなかった。呼吸器系および循環器系に対する作用では, 雄ウサギの静脈内投与において10 mg/kg以上に呼吸数減少と血圧低下が認められたが, 心電図に異常はなかった。自律神経系に対する作用では, モルモットの摘出輸精管に 10^{-5} g/mlの濃度で処理しても異常を認めなかった。消化器に対する作用では, 雄マウスの全小腸長における炭末移動が, 1.25 mg/kg以上の投与群で抑制された。また, モルモットの摘出回腸の自動運動に対しては, 10^{-5} g/ml以上の処理で抑制効果を示した。骨格筋および血液に対する作用は認めら

れなかった。

(残留農薬研究所, 1990年)

要 約

ジラム原体の安全性評価のための各種試験を実施した。

ジラム原体は急性毒性試験の結果, 普通物に分類される薬物であった。

ジラム原体 (98.4%) は強い眼刺激性を示したが, 作業現場で使用する製剤バルノックス水和剤 (ジラム50%, チウラム30%混合剤) の500倍希釈液に, 眼刺激性はなかった。一方, バルノックス水和剤の原液にはウサギの皮膚に対し軽度の刺激性を示したが, ジラム原体には刺激性はなかった。また, 皮膚感作性は陰性であった。

亜急性毒性試験, 慢性毒性/発癌性試験では, 中間・高用量群においてラットでは飼料摂取量の低下を伴う体重増加抑制, 軽度の貧血, 肝障害, 甲状腺小胞肥大, 下腿筋の萎縮等が観察されたが, 発癌性はなかった。犬では下痢と嘔吐の頻度が増加したが, 臓器の異常はなかった。マウスの発癌性試験では, 明瞭な体重増加抑制が認められる用量で試験したが, 発癌性はなかった。

ラットにおける繁殖/催奇形性試験およびウサギにおける催奇形性試験では, 繁殖に及ぼす影響も催奇形性も認められなかった。

変異原性試験では, 細菌および培養細胞を用いた試験系で弱い変異原性が観察された。

薬理試験では, 致死量の1/8以上の処置量でマウスの小腸の運動性低下, 1/2以上の処置量でマウスに異常症状とヘキサバルビタール睡眠時間の延長作用が認められた。また, モルモットの摘出回腸に高濃度のジラム原体を処置すると, 自律運動と収縮の抑制がみられた。

ジラム原体は昭和25年20%水和剤として初回登録を取得し, その後登録された65%水和剤とともに果樹を中心に用いられてきた。さらにジラム50%, チウラム30%混合剤 (バルノックス水和剤) が昭和53年に登録され, リンゴの諸病害防除剤として高い評価を受けている。

ジラム原体の登録保留基準値は, リンゴ, ナシ, モモ, カキについておのおの1 ppmと設定されている。

ジラム原体は定められた使用基準および作業基準を遵守すれば安全性の高い農薬であり, 有用な農業資材の一つとして上市以来高い評価を得ている。

問合せ

大内新興化学工業株式会社東京第2営業部
〒103 東京都中央区日本橋小舟町 7-4