

ダイムロンの毒性試験の概要

(株)エス・ディー・エス バイオテック 農薬対策室

薬剤の概要

ダイムロンは昭和電工(株)により開発された高度選択性水稲用除草剤で、他の尿素系除草剤とは異なる作用性を有しており、水稲に対する安全性が高く、カヤツリグサ科雑草に対する除草活性及びその残効性に優れている。

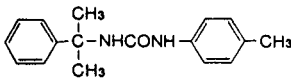
日本では昭和46年から委託試験が開始され、これまでにカヤツリグサ科雑草のうち、特に水田で発生する1年生雑草であるタマガヤツリ、ハリイ及び多年生雑草であるマツバイ、ホタルイ、クログワイに有効であることが確認された。

ダイムロンの化学構造、物理化学的性質及び安定性は次のとおりである。

一般名：ダイムロン

化学名：1-(1-methyl-1-phenylethyl)-3-p-tolylurea (IUPAC)

構造式：



分子式：C₁₇H₂₀N₂O

分子量：268.4

性状：無色結晶性粉末

蒸気圧：3.4×10⁻⁹mm Hg (25℃)

溶解性(g/l、20℃)：水0.0012、アセトン16.1、n-ヘキサン0.033、ベンゼン0.478、クロロホルム9.1、エチルアルコール10.9、メチルアルコール9.95

融点：203℃

安定性：熱・光・酸・アルカリ；安定

ここでは本剤の登録のために実施された安全性評価に係わる各種毒性試験について取りまとめて報告する。

急性毒性試験

種々の投与経路による急性毒性試験の結果は次のとおりである。

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (実施年)
〈原体〉				
マウス	経口	雄	>5000	残留農薬研究所 (1985)
		雌	>5000	
	皮下	雄	>3500	東京女子医科大学 (1972)
腹腔内	雄	>3500		
ラット	経口	雄	>5000	残留農薬研究所 (1985)
		雌	>5000	
	経皮	雄	>2000	東京女子医科大学 (1972)
		雌	>2000	
	皮下	雄	>3500	東京女子医科大学 (1972)
		腹腔内	雄	
	吸入 (4hr)	雄	>3250 ¹⁾	ハンティンドン リサーチセンター 社(1989)
雌		>3250 ¹⁾		
〈7%粒剤〉				
マウス	経口	雄	>5000	セーフファーム ラボラトリーズ 社(1988)
		雌	>5000	
ラット	経口	雄	>5000	社(1988)
		雌	>5000	
	経皮	雄	>2000	
		雌	>2000	

1) LC₅₀ (mg/m³)

刺激性試験

1. ウサギにおける眼刺激性試験

9匹の日本白色種雌ウサギの片眼にダイムロン100mgを投与し、3匹については20~30秒後に微温水で洗眼した。各動物とも他方の眼を対照として、投与7日後まで角膜、虹彩及び結膜の刺激性変化を観察した。

その結果、軽度な結膜の刺激性変化(発赤もしくは分泌物)が非洗眼群のみで認められたが、投与2日目までに消失した。角膜及び虹彩の刺激性変化は認められなかった。

以上の結果より、ダイムロンは洗眼を行わない場合のみウサギの眼に対し僅かな刺激性を有すると判定し

た。(残留農薬研究所、1984年)

2. ウサギにおける皮膚刺激性試験

6匹の日本白色種雌ウサギの背部を刈毛し、各動物につき無傷皮膚2区画と擦傷皮膚2区画の4試験区(いずれも2.5×2.5cm)を設けた。ダイムロン500mgを無傷皮膚と擦傷皮膚の1区画ずつに塗布し、24時間固定した。塗布終了後、処理部位から検体を拭き取り、紅斑、痂皮、浮腫の有無等を4日間観察した。

その結果、試験期間を通じ刺激性反応は認められず、ダイムロンはウサギの皮膚に対して刺激性がないと判定した。(残留農薬研究所、1984年)

皮膚感作性試験

1. モルモットにおける皮膚感作性試験

1群20匹のHartley系雌モルモットを用い、Maximization法によりダイムロン原体とダイムロン7%粒剤の皮膚感作性を試験した。また、1群10匹の動物を用いて陽性対照群を設けた(陽性対照物質:DNCEB)。なお、各群について同数の動物を用いて感作に対する無処理群を設けた。

その結果、陽性対照群では全動物とも皮膚感作性反応(紅斑あるいは浮腫)を示したが、検体処理群(原体処理群、7%粒剤処理群)ではいかなる感作性反応も認められなかった。

以上の結果より、ダイムロン原体及びダイムロン7%粒剤には皮膚感作性がないと判定した。

(野村生物科学研究所、1986年)

亜急性毒性試験

1. マウス及びラットにおける3か月亜急性経口毒性試験

1群雌雄各20匹のマウス(ICR系)及びラット(Sprague-Dawley系)にダイムロンを0、2000、10000及び50000ppmの濃度で3か月間混餌投与した。

一般症状及び生死を観察し、体重、飼料摂取量、飲水量を測定した。投与終了時に血液学的検査、血液生化学検査、尿検査を行い、剖検後、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行った。

試験期間中、マウス、ラットとも死亡例は認められなかった。検体投与に関連した変化として肝臓重量の

軽度の増加がマウスの50000ppm投与群の雌雄で認められた。しかし、血液生化学検査、病理組織学的検査においてこの所見を裏付ける変化は認められなかった。他に投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より、ダイムロンの最大無作用量はマウスでは10000ppm(雄1513mg/kg/day、雌1336mg/kg/day)であり、ラットでは50000ppm(雄3118mg/kg/day、雌3430mg/kg/day)以上であると判定した。

(東京女子医科大学、1972年)

2. マウス及びラットにおける3か月亜急性経口毒性試験

1群雌雄各10匹のマウス(ICR系)及びラット(Sprague-Dawley系)にダイムロンを0、2000、10000及び50000ppmの濃度で3か月間混餌投与した。

一般症状及び生死を観察し、体重、飼料摂取量を測定した。投与終了時に血液学的検査、血液生化学検査、尿検査を行い、剖検後、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行った。

試験期間中、マウス、ラットとも死亡例はなかった。種々のパラメータがわずかに変動したが、いずれにも用量相関性は認められず、投与に起因した変動ではないと判断された。

以上の結果より、ダイムロンの最大無作用量はマウス、ラットとも50000ppm(マウス:雄6615mg/kg/day、雌6658mg/kg/day、ラット:雄4070mg/kg/day、雌4552mg/kg/day)以上であると判定した。

(順天堂大学医学部、1972年)

3. イヌにおける3か月亜急性経口毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル犬にダイムロンを0、100、1000、10000及び30000ppmの濃度で3か月間混餌投与した。

一般症状及び生死を観察し、体重、飼料摂取量を測定し、血液学的検査、血液生化学検査、尿検査及び眼科学的検査を行った。投与終了時に剖検、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行った。

試験期間中、死亡例は認められなかった。影響の認められた最低用量は10000ppmであり、体重増加量及び飼料摂取量の減少、アルカリフォスファターゼの増加が認められた。最高投与量の30000ppm投与群ではこれらの症状に加えて雌雄ともに肝臓重量がわずかに増加したが、剖検及び病理組織学的検査において関連した所見

は認められなかった。他に投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

以上の結果より、試験におけるダイムロンの最大無作用量は1000ppm(雄35.8mg/kg/day、雌36.6mg/kg/day)であると判定した。

(ヘーゼルトン・フランス社、1987年)

4. マウス及びラットにおける2週間亜急性経皮毒性試験

10匹の雄マウス(ICR系)及び雄ラット(Sprague-Dawley系)の背部(1.5×1.5cm)を抜毛し、2日間放置(抜毛時の刺激が消失するのを待つため)後、オリブ油に混和したダイムロンをマウスには20mg(平均1212mg/kg)、ラットには30mg(平均253mg/kg)を1日1回、2週間反覆して塗布した。なお、マウス、ラットとも同数の動物を用いて賦形剤対照群を設けた。

一般症状、生死及び皮膚変化を観察し、体重を測定した。

試験期間中、マウス、ラットとも検体投与の影響は全く認められなかった。

以上の結果より、2週間反覆経皮投与におけるダイムロンの最大無作用量はマウスが1212mg/kg/day以上、ラットが253mg/kg/day以上であると判定した。

(東京女子医科大学、1972年)

慢性毒性及び発癌性試験

1. イヌにおける2か年慢性毒性試験

1群雌雄各4匹のビーグル犬にダイムロンを0、100、1000及び10000ppmの濃度で2年間混餌投与した。

一般症状及び生死を観察し、体重、飼料摂取量、飲水量を測定した。また、定期的に全生存動物について血液学的検査、血液生化学検査、尿検査及び眼科学的検査を行った。24か月時の全生存動物及び切迫屠殺動物を剖検し、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行った。

1000ppm及び10000ppm投与群の雌雄においてアルカリフォスファターゼの増加が認められ、また、同群の一部で組織学的変化を伴う肝臓及び腎臓重量の増加が認められた。さらに、10000ppm投与群の雌1例の体重が減少し、101週目に肝臓及び腎臓障害により衰弱し切迫屠殺された。その他10000ppm投与群の雄の一部で副腎重量の増加が認められた。他に検体投与に関連した変化は認

められなかった。

以上の結果より、本試験におけるダイムロンの最大無作用量は100ppm(雌雄とも3.5mg/kg/day)であると判定した。

(残留農薬研究所、インダストリアルバイオテストラボラトリーズ社、1978年)

2. ラットにおける2か年慢性毒性及び発癌性併合試験

1群雌雄各64匹のWistar系ラットにダイムロンを0、100、1000及び10000ppmの濃度で2年間混餌投与した。

一般症状及び生死を観察し、体重、飼料摂取量、飲水量を測定した。投与開始3、6、12か月時の計画屠殺動物(1群につき雌雄各8匹)及び24か月時の全生存動物について血液学的検査、血液生化学検査、尿検査を行い、さらに切迫屠殺及び途中死亡動物を含めて剖検、臓器重量の測定、病理組織学的検査を行った(切迫屠殺動物については血液学的検査及び血液生化学検査も行った)。

10000ppm投与群では、雌雄とも体重が全試験期間を通じ対照群に比べ低値を保って推移し、また血液生化学検査において雄で血糖値の増加あるいは増加傾向及びアルカリフォスファターゼの減少が、雌で尿素窒素値の減少が認められた。これらの変化はいずれも軽度ではあるが持続的に認められたため、検体投与に起因するものと考えられた。一方、1000ppm投与群でも雄において軽微の体重増加抑制が認められたが、他の検査項目において検体投与による影響を示唆する変化が認められなかったため、投与に起因した中毒性変化ではないと判断した。他に検体の投与に起因すると思われる変化は認められなかった。

発癌性に係わる検索では、全投与群とも腫瘍性病変の発生頻度において対照群との差はなく、発癌性はないと判断された。

以上の結果より、本試験におけるダイムロンの最大無作用量は1000ppm(雄40.8mg/kg/day、雌48.7mg/kg/day)であり、また、本剤には発癌性はないと判定した。

(残留農薬研究所、1978年)

繁殖及び催奇形性試験

1. ラットにおける繁殖試験

ダイムロンを0、1000、3000及び10000ppmの濃度で飼

料に混入し、1群当り雌雄各30匹からなる Sprague-Dawley 系ラットに2世代にわたり摂食させた。第1産仔を次世代の親動物として、繁殖 (P~F2a) に及ぼす影響について検討した。

その結果、10000ppm投与群のF1雄動物に軽度の毒性 (交配前育成期間の平均体重増加量の軽度の低下) が認められた。しかし、明確な母動物毒性は認められず、F1a及びF2a哺育仔の発育並びにP及びF1動物の繁殖能力に対する影響もなかった。1000及び3000ppm投与群では、検体投与に起因すると思われる影響は認められなかった。

以上の結果より、ダイムロンを2世代にわたって餌投与した場合の最大無作用量は雄が3000ppm、雌が10000ppm以上であり、本剤は最高投与量の1000ppmにおいても繁殖能に対して何ら影響を及ぼさないと判定した。

(ヘーゼルトン・ラボラトリーズ・ドイツ社、1988年)

2. ラットにおける催奇形性試験

ダイムロンを1%カルボキシメチルセルロースに懸濁させ、0、40、200及び1000mg/kgの濃度で1群31匹 (40mg/kg投与群のみ25匹) の妊娠した Sprague-Dawley 系ラットに経口投与した。投与期間は妊娠6日目から15日目までの10日間とした。

一般症状及び生死を観察し、体重及び飼料摂取量を測定した。全動物とも妊娠20日目に帝王切開し、妊娠動物数、黄体数、着床数、生存及び死亡胎仔数、吸収胚数を調べ、胎仔の体重、性比、外表・内臓及び骨格異常についての検査を行った。

その結果、検体投与に関連した影響は全く認められなかった。

したがって、ダイムロンを器官形成期のラットに経口投与したときの母体における最大無作用量は1000mg/kg以上であり、最高投与量の1000mg/kgにおいても胎仔毒性及び催奇形性を引き起こさないと判定した。

(ヘーゼルトン・ラボラトリーズ・ドイツ社、1988年)

3. ウサギにおける催奇形性試験

ダイムロンを1%カルボキシメチルセルロースに懸濁させ、0、40、200及び1000mg/kgの濃度で1群18匹の妊娠した New Zealand White 系ウサギに経口投与した。投与期間は妊娠6日目から18日目までの13日間とした。

一般症状及び生死を観察し、体重及び飼料摂取量を測定した。全動物とも妊娠28日目に帝王切開し、妊娠動物数、黄体数、着床数、生存及び死亡胎仔数、吸収胚数を調べ、胎仔の体重、性比、外表・内臓及び骨格異常についての検査を行った。

その結果、1000mg/kg投与群では対照群に比べて平均胎仔重量がわずかに減少したが、この差異は統計学的に有意ではなかった。この群において前肢及び後肢の骨にみられた軽度な化骨遅延は、平均胎仔重量がわずかに減少したことと関連があると考えられた。他のパラメータには検体投与に関連した影響は認められなかった。

以上の結果より、ダイムロンを器官形成期のウサギに経口投与したときの母体における最大無作用量は1000mg/kg以上であり、最高投与量の1000mg/kgにおいても催奇形性を引き起こさないと判定した。

(ヘーゼルトン・ラボラトリーズ・ドイツ社、1988年)

変異原性試験

1. 細菌を用いた DNA 修復試験

枯草菌 *Bacillus subtilis* の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、Rec-assay 法により DNA 損傷の誘発性を検定した。

試験濃度は0、20、100、200、500、1000及び2000 μ g/disk とし、陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてマイトマイシンCを用いた。

その結果、ダイムロンは両株に対して全く生育阻止を引き起こさなかった。したがって、ダイムロンのDNA損傷誘発性は陰性であると判定した。

(残留農業研究所、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 *Salmonella typhimurium* 5菌株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2hcr) 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 (代謝活性化法) 及び非存在下 (非代謝活性化法) で Amesらの方法により復帰変異試験を行った。

試験濃度は10、50、100、500、1000及び5000 μ g/plate とし、陰性対照としてDMSO、陽性対照として代謝活性化法では2-aminoanthracene、非代謝活性化法で

は β -propiolactone、9-aminoacridine、2-nitrofluorene、2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamideを用いた。

その結果、ダイムロンは薬物代謝酵素系の非存在下のTA1535及びTA100株のみにおいて復帰変異コロニー数の軽度の増加を引き起こしたが、この2菌株を用いた繰返し実験では、いずれの菌株においても結果は陰性であった。

したがって、ダイムロンの細菌に対する復帰変異誘発性は陰性であると判定した。

(残留農薬研究所、1978年)

3. サルモネラ菌を用いたマウスにおける宿主経由試験

1群6匹のICR系雄マウスにダイムロンを500もしくは2000mg/kgの濃度でそれぞれ24時間間隔で2回強制経口投与した。

2回目の投与直後にヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* G46株の菌液 (6.8×10^8 個/ml) 2mlを、マウス腹腔内に投与した。菌液投与3時間後にマウスを屠殺し、1/15Mリン酸緩衝液 (pH7.0) 2mlを腹腔内に注入し、腹腔内菌液を採取した。採取した菌液を希釈 ($1/3 \times 10^{-6}$) し、37°Cで2日間培養した後、判定を行った。なお、陰性対照として5%アラビアゴム、陽性対照としてdimethylnitrosamineを用いた。また、G46株を用いて、*in vitro*における復帰変異試験も実施した。

その結果、検体投与群は対照群と比較して復帰変異菌数の有意な増加を認めなかった。また、*in vitro*における復帰変異試験の結果も陰性であった。

以上の結果より、ダイムロンは宿主経由及び *in vitro* の細菌に対し復帰変異を誘発しないと判定した。

(残留農薬研修所、1978年)

4. チャイニーズハムスターの肺細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験

チャイニーズハムスターの肺細胞を用い、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 (代謝活性化法) 及び非存在下 (非代謝活性化法) で染色体異常試験を行った。試験濃度は代謝活性化法、非代謝活性化法とも25、50、100及び200 μ g/mlとし、陰性対照としてDMSO、陽性対照として代謝活性化法ではシクロホスファミド、非代謝活性化法ではマイトマ

イシンCを用いた。

その結果、ダイムロンは染色体構造異常の頻度をやや増加させたが、有意ではなかった。一方、倍数体細胞数の検査では、薬物代謝酵素系の非存在下においてダイムロンを48時間高濃度で処理した場合、その数を有意に増加させた。しかし、48時間の低濃度での処理及び24時間の各濃度での処理、また、薬物代謝酵素系の存在下での全ての処理において倍数体細胞数の有意な増加は認められなかった。

以上の結果より、ダイムロンはチャイニーズハムスターの肺細胞に対し染色体構造異常誘発性をもたないが、数的異常の誘発性については薬物代謝酵素系が存在せず、かつ、高濃度である場合のみにおいてその可能性が示唆された。

(セーフファーム ラボラトリーズ社、1989年)

生体機能に及ぼす影響に関する試験

1. マウスの中樞神経系に対する作用

1群4匹のICR系雄マウスに0.5% CMC溶液に懸濁したダイムロンを0、150、500、1500及び5000mg/kgの濃度で経口投与した。一般症状に及ぼす影響をIrwin法に従って観察し、直腸温を測定した。

その結果、検体投与により軽度から中等度の中樞神経系の興奮を示す変化 (主に呼吸増加、触反応増強、駆幹筋緊張度の増大) がみられ、それは投与後約90分でピークとなった。しかし、7日間の観察期間中に動物の死亡は認められず、直腸温にも顕著な変化は認められなかった。

(ハンティンドン リサーチ センター社、1990年)

2. ラットの呼吸、循環器系に対する作用

麻酔下のSprague-Dawley系雄ラット2匹に20%ポリエチレングリコール400溶液 (0.9%食塩水) に懸濁したダイムロンを0、0.3、1.0、3.0及び10.0mg/kgの濃度で累積的に静脈内投与した (投与間隔20分)。血圧、心拍数、呼吸数及び呼吸の深さを測定し、心電図をとった。

その結果、0~3.0mg/kgの投与では血圧及び呼吸数に関して多くの一時的な影響が認められた。両動物とも最高投与量である10mg/kgの投与直後に呼吸及び循環器系の衰弱により死亡した。

心拍数、呼吸の深さ及び心電図については、10mg/kg

の投与を除き検体投与に関連した影響は認められなかった。

(ハンティンドン リサーチ センター社、1990年)

要 約

ダイムロンの安全性評価のため、各種毒性試験を実施した。その結果、ダイムロン原体及び7%粒剤の急性毒性はマウスとラットにおける経口 LD₅₀が雌雄とも5000mg/kg以上、ラットにおける経皮 LD₅₀が雌雄とも2000mg/kg以上であった。ダイムロン原体を用いたラットにおける急性吸入毒性試験では、試験できる最高濃度であった3250mg/m³でも死亡例は認められなかった。

原体を用いた刺激性試験では、洗眼を行わない場合のみウサギの眼に対して僅かな刺激性が認められたが、皮膚に対する刺激性はなく、皮膚感作性も陰性であった。また、7%粒剤でも皮膚感作性は認められなかった。

マウス、ラット、イヌを用いた亜急性及び慢性毒性試験では、ダイムロンの投与に関連すると考えられるいくつかの所見が最高投与群等で認められたが、各々の試験において無作用量が求められた。

ラットの繁殖試験及びラットならびにウサギにおける催奇形性試験では、いずれの結果も陰性であった。細菌を用いた DNA 損傷誘発性試験及び *in vitro* ならびに *in vivo* における復帰変異誘発性試験の結果はいずれも陰性であった。チャイニーズハムスター肺細胞に対する染色体異常誘発性試験では構造異常は認められなかったものの、薬物代謝酵素系が存在せず、かつ、高濃度処理の場合において数的異常を誘発させる可能性が示唆された。しかし、ラットにおける発癌性試験では、陰性と判断された。

マウス及びラットを用いた生体機能に及ぼす影響に関する試験では、中枢神経系の興奮を示す変化が認められた他には本剤による特定の傾向を示す変化は認められなかった。

ダイムロンは昭和49年10月に単剤が、昭和50年9月に混剤が水稻用除草剤として農薬登録され、米に対する農薬登録保留基準が0.1ppmと設定されている。

問合せ

株式会社エス・ディー・エス バイオテック 農薬対策室

〒105 東京都港区東新橋二丁目12番7号