

ノニルフェノールスルホン酸銅の毒性試験の概要

米澤化学工業株式会社
北興化学工業株式会社

薬剤の概要

ノニルフェノールスルホン酸銅はアルキルフェノールスルホン酸に銅を付加して得られた有機系銅剤である。米澤化学工業株式会社はその優れた殺菌効果に着目し研究の結果、細菌類、糸状菌類に効果の高い農薬として開発した。

昭和48年に乳剤（ヨネボン乳剤）として、ばらのうどんこ病で登録を受けて上市し、続いてきゅうり、メロン、こんにゃく、桑の細菌病、べと病に、また平成3年にはイネの種子消毒剤として粃枯細菌病の防除に適用拡大された。

昭和61年にはこれを水和剤（ヨネボン水和剤）として開発しりんご、なし、はくさい、ばらの斑点落葉病、黒星病、軟腐病、うどんこ病の登録を受けた。

続いてキャベツ、だいこん、レタス、きゅうりに適用拡大された。

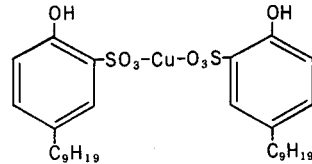
本剤は、既存の無機銅剤、有機銅剤と比較して銅含有量は少ないが、界面活性が強いため殺菌力が強く収穫物に対して汚染の少ないことが特長である。

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：ノニルフェノールスルホン酸銅

化学名：Nonyl phenol sulfonic acid Copper (II)-Salt

構造式：



分子式：C₃₀H₄₆O₈S₂Cu

分子量：662.4

外観：濃緑褐色

比重：1.32

溶解度：水に難溶、温水（60℃）に20%可溶。アルコール、アセトンに可溶。

熱：160℃で黒変分解。

酸、アルカリ：酸性ではノニルフェノールスルホン酸と無機銅塩となる。アルカリ性では分解してノニルフェノールスルホン酸ソーダと水酸化銅になる。

光：比較的安定である。

以下、本剤を用いた各種の毒性試験結果をとりまとめて報告する。

急性毒性試験

検体	動物種	投与経路	LD50 (mg/kg)	実施機関 (報告年)
ヨネボン原体	ラット	経口	♂ 2,200 ♀ 1,800	日本環境衛生センター (1978年)
		皮下	♂ 1,600 ♀ 1,200	
		腹腔	♂ 95 ♀ 98~137	
	マウス	経口	♂ 1,690 ♀ 1,750	
		皮下	♂ 620 ♀ 900	
		腹腔	♂ 70 ♀ 52	
ラット	経皮	♂ 1,480 ♀ 1,100	日本実験医学研究所 (1983年)	
	吸入	♂ >1.191mg/l ♀ >1.191mg/kg	Hazleton UK (英国) (1988年)	
ヨネボン乳剤 (30%)	ラット	経口	♂ 3,260 ♀ 3,400	日本実験医学研究所 (1986年)
		経皮	♂ >1.0mg/kg ♀ >1.0mg/kg	
	マウス	経口	♂ 2,895 ♀ 2,280	
ヨネボン水和剤 (40%)	ラット	経口	♂ 4,500 ♀ 4,090	日本実験医学研究所 (1985年)
		経皮	♂ >5,000 ♀ >5,000	
	マウス	経口	♀ 2,322 ♀ 3,428	

眼および皮膚刺激性試験

1. ウサギにおける眼粘膜一次刺激性試験

日本白色系 SPF ウサギ 9 匹の右眼に、ノニルフェノールスルホン酸銅30%乳剤の0.1mlを投与し、内3匹は2分後に洗眼し、6匹は洗眼しないで投与後1時間およびその後21日間毎日角膜、虹彩、結膜の1次刺激性を観察した。

その結果、角膜、虹彩の刺激性変化は、洗眼群、非洗眼群とも認められ、投与21日後でもほとんど消失しなかった。結膜の刺激性変化は両群とも認められたが、洗眼群は投与後5～9日、非洗眼群は14～15日で消失した。

以上のことから本剤乳剤はウサギの眼粘膜に対し強い刺激性があると推察された。

(日本実験医学研究所、1986年)

本剤の使用濃度(500倍希釈)液について、上記と同様に検討した結果、角膜、虹彩、結膜の刺激性変化は認められずノニルフェノールスルホン酸銅乳剤の使用濃度希釈液では刺激性はないと判断した。

(㈩新日本科学、1988年)

上記と同じ試験方法で本剤の42.8%水和剤の0.1gを投与した結果、角膜、虹彩の刺激性変化は洗眼群、非洗眼群ともに角膜において認められ、洗眼群は投与20日で消失したが、非洗眼群では21日後も消失しなかった。

結膜では洗眼群は投与後7日で消失したが、非洗眼群は21日後でも消失しなかった。その結果40%水和剤はウサギの眼粘膜に対し刺激性があるが、洗眼によりその刺激性は緩和されるものと判断した。

(㈩新日本科学、1988年)

2. 皮膚刺激性

日本白色系ウサギ雄6匹を供試し、この背部を刈毛し(2.5cm四方)本剤30.1%乳剤の0.5mlを塗布し、30分および14日後まで毎日塗布部分の刺激性変化を観察した。

その結果、塗布後24時間より軽度の紅斑が認められ、14日まで消失しなかった。浮腫は30分後より軽度に認められたが、72時間～6日後には消失した。腐蝕性は24時間後より認められたが10日目より1例を除き治癒した。

以上の結果から本剤30%乳剤はウサギの皮膚に対し刺激性があるものと推察される。

(日本実験医学研究所、1986年)

上記と同じ実験方法によって、本剤の42.8%水和剤の0.5gを水で湿らせ塗布した。塗布時間は4時間とし、後は皮膚上の検体を水で拭きとり、1、24、48、72時間および7日目の刺激性変化を観察した結果、塗布1時間後よりごく軽度の紅斑が認められたが7日目には消失し、浮腫は認められなかった。

以上の結果から、本剤40%水和剤はウサギの皮膚に対し弱い刺激性があるものと推察した。

(㈩新日本科学、1989年)

皮膚感作性

イングリッシュハートレー系モルモット雄20匹を供試し Maximization 法により、モルモットの肩甲骨上を刈毛し、検体の30.1%乳剤を0.05ml皮内注射した7日目に検体を0.5mlリント布にしみ込ませた塗布した。一方陽性対照群には DNCB の0.125%含有エタノール液を皮内注射し、7日目に DNCB2.5%液を塗布した。

誘発には最終感作の2週間後に左側腹側部を刈毛し、7日目に DNCB2.5%含有エタノール水溶液を同様に処理し24、48、72時間後に適用部位の紅斑および浮腫の有無を肉眼的に観察した。

その結果、検体処理群においては紅斑を示す皮膚反応は見られず、接触感作性は認められなかった。しかし、原液使用のため感作誘発部位に痂皮化を生じたが、それに伴う強い紅斑、浮腫形成、皮膚潰瘍化、皮膚腐蝕性は認められなかった。一方陽性群において明瞭な紅斑および浮腫が認められた。

以上の結果から本剤の30%乳剤は皮膚感作性が陰性と判断される。

(日本実験医学研究所、1986年)

同じくモルモットを使用し、Maximization 法により、本剤の42.8%水和剤の皮膚感作性を試験した結果、検体処理群においては、陰性対照群と同様皮膚反応はなかったが、陽性対照群においては明瞭な紅斑および浮腫が認められた。

以上の結果、本剤の皮膚感作性は陰性であると判断される。

(㈩新日本科学、1989年)

亜急性毒性試験

1. ラットにおける3カ月飼料混入投与による亜急性経口毒性試験

Wistar系ラット1群雌雄各10匹に本剤原体62%を用いて有効成分が30,300,3,000mg/kg/dayとなるよう毎日調製し飼料に混入して摂食させた。投与期間中は毎日一般状態および生死を観察し、体重変化、摂食量を測定し、投与終了後血液学的検査、尿検査、病理組織学的検査を実施した。

その結果、本剤原体のラット3ヶ月間飼料混入投与による亜急性毒性試験の影響は、3,000mg/kg投与群で雄2例、雌4例の死亡が見られ、体重増加抑制、摂食量の減少、血液学的検査で赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量の低下、血液生化学検査でアルカリフォスファターゼ活性値、コレステロール値の増加が見られたので、最大無作用量は300mg/kg(雄270.3mg/kg/day、雌280.9mg/kg/day)と判断した。

(慶応大学、佐々木研究所、日本実験医学研究所、1975年)

2. マウスにおける3カ月飼料混入投与による亜急性毒性試験

ICR-JCL系マウス1群雌雄10匹を用いて、本剤の有効成分換算より10,50,100および1,500mg/kgの投与量になるよう飼料に混合し、これを毎日調製して3ヶ月自由に摂食させた。投与期間中は毎日一般状態および生死を観察し、体重および摂食量を測定した。投与終了後、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、病理組織学的検査を実施した。

その結果、本剤のマウスに対する3ヶ月間飼料混入投与による亜急性毒性試験では、1,500mg/kg投与群で雌雄とも100%死亡したので、最大無作用量は100mg/kg(雄86.3mg/kg/day、雌96.3mg/kg/day)と判断した。

(慶応大学、佐々木研究所、日本実験医学研究所、1975年)

慢性毒性および発がん性試験

1. ラットにおける飼料混入投与による慢性毒性試験および発がん性併合試験

Wistar系ラット1群雌雄50匹に、本剤の原体60%を

用いて有効成分換算170,840,4,200,5,000ppmになるよう飼料中に混入して自由摂食させ、飼育中は一般状態および死亡率、体重変化、摂食量および血液学的検査を行ない、投与後12カ月時に各群雌雄各6匹を、また24カ月時に各群雌雄10匹を、その後残りの生存例を屠殺し解剖して、臓器重量、病理組織学的検査を行なった。

その結果、本剤60%の24カ月飼料混入投与によりラット慢性毒性試験における影響は、4,200ppm投与群でわずかに立毛、被毛光沢の欠如の一般症状発現、体重増加抑制傾向、血糖値の増加、肝、腎重量の増加が見られたので、最大無作用量は840ppm(雄53.6mg/kg/day、雌55mg/kg/day)と判断された。また催腫瘍性はないものと推察された。

(慶応大学、佐々木研究所、日本実験医学研究所、1980年)

2. マウスを用いた飼料混入投与による慢性毒性および発がん性併合試験

ICR-JCL系マウス1群60匹を用いて前記実験方法により本剤の原体60%を有効成分換算で70,340,1,700ppmになるよう飼料に混入し、自由摂食させ前記と同じ項目を観察した。

以上の結果、本剤60%の24カ月飼料混入投与によるマウス慢性毒性試験における影響として、1,700ppm投与による体重増加抑制、アルカリフォスファターゼ活性値の増加、肝、副腎、甲状腺、下垂体重量の増加が見られたので、最大無作用量は340ppm(雄64.5mg/kg/day、雌62.2mg/kg/day)と判断された。また催腫瘍性はないものと判断した。

(慶応大学、佐々木研究所、日本実験医学研究所、1979年)

繁殖性に及ぼす影響及び催奇形性

1. マウスを用いた次世代に及ぼす影響試験

ICR/JCL系マウス1群雌雄40匹を供試し、本剤60%を用いて検体有効成分500,5,000ppmになるよう飼料に混入し自由摂食させ、P世代からF₂世代までの一般状態、死亡率、繁殖性、骨格検査、臓器重量および病理組織学的検査を行なった。

その結果、5,000ppm投与群ではF₁およびF₂世代で体重増加抑制が認められ、またF₂世代の死亡率が高くなった。

親動物の交配能力および繁殖能力では各世代、各交配で一定した変化は認められなかった。またF₂世代の13週令仔5,000ppm投与群の雄で精巣および肝重量増加がみられた。組織学的には特記すべき所見は得られなかったが精巣、肝重量の増加は安全性を考えると検体毒性の一要因と推考される。

催奇形性に関しては骨格異常、変異の発現は対照群と差がなく、また化骨進行度の発現は一貫した用量相関性が認め難く、薬物投与とは無関係な現象と推察された。

以上の結果により、3世代にわたって本剤を飼料中に混入投与した場合、繁殖性に関してはなんら影響はみられず、また胎仔に対する催奇形性もないものと判断される。ゆえに最小中毒量は5,000ppm、最大無作用量は500ppmと判断される。なお、最小中毒量はF₂b育成仔の死亡および体重増加抑制、出産後の新生仔の発育状況を基礎として5,000ppmと判断した。

2. ウサギにおける催奇形性試験

ニュージーランドホワイト系妊娠ウサギ1群17匹を用い、本剤の62.8%を0.5% CMC水溶液に溶解し6、20、60mg/kgの投与レベルで妊娠後6~18日まで13日間毎日1回経口投与した。なお対照群には0.5% CMC水溶液を5ml/kg投与した。

親動物の各検体投与群において摂食量の減退、脱毛、軟便がみられ、なかでも摂食量の減退は用量依存的に発現例数が増加した。しかし最も多くみられた60mg投与群でも投与開始してまもない妊娠7~10日目に多く、その後は散発的になっており非常に軽度の変化と考えられた。

胎仔動物の骨格検査において20mg/kg、60mg/kg投与群に化骨遅延がやや高い傾向がみられたが、尾椎椎体平均化骨数に差がないことにより、検体投与による影響ではないと思われた。また内臓検査において20mg/kg投与群に心尖部二分の発現が増加したが、用量依存性も無いことより検体投与の影響とは考えられなかった。

以上の結果、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作用量は60mg/kg/dayであり、胎仔に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

(慶応大学、佐々木研究所、日本実験医学研究所、1980年)

変異原性

1. 遺伝子突然変異原性

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium*、トリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (2株) を用いて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らの方法により変異原性を検定した。検体純度は60%で、溶解にはDMSOを用いた。

その結果、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。また溶解限界である3,500μg/plateを最高投与量とした試験の結果では、代謝活性化を含め投与限界である3,500μg/plateの濃度においても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AF-2、2-AA、β-プロピオラクトン、9-アミノアクリジン及び2-ニトロフルオレンでは全ての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より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る。

(慶応大学、日本実験医学研究所、1979年、1982年)

2. 染色体異常誘発性

チャイニーズハムスターの継代培養した肺由来線維芽細胞を用い試験濃度を非活性化法で0.1mg/ml、活性化法で0.2mg/mlとして各濃度の分裂中期像を観察した。

その結果、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* 細胞遺伝的試験での変異原性は陰性であると判断された。

(嶺新日本科学、1988年)

3. DNA損傷誘発性

枯草菌の組換修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) 用い、検体を1,500μg/plateを最高投与量としてDNA損傷の誘発性を試験した結果、DNA損傷の誘発性が無いものと判断された。

(慶応大学、日本実験医学研究所、1979年)

生体の機能に及ぼす影響

ICR系マウス、日本白色種ウサギ、ハートレー系モルモット、Wistar系ラット、SD系ラットを供試し

100~1,600mg/kgの範囲で、中枢神経系、呼吸および循環系、自律神経系、骨格筋、血液等に対する作用を試験した結果、検体の作用点を特定して系統的に理解することはできないが、中枢神経系および呼吸、循環系に対しては抑制的であり、局所に対しては刺激性のあることが示唆された。

(日本実験医学研究所、松本歯科大学薬理学教室、1989年)

¹⁴C 標識ノニルフェノールスルホン酸銅を用いたラット体内における代謝

Wistar 系のラット雄 (体重250g) に、本剤の¹⁴C 標識を用い本剤の吸収、排泄、体内分布等を測定し、また代謝物の同定のため尿中代謝物を分析した。

その結果、本剤の吸収は消化管からされ、肝および腎を介してすみやかに排泄され、組織に残留する傾向は認められなかった。また代謝物について、尿中に未変化体が少なく大部分が極性代謝物であったことから、本剤は生体内できわめて速く代謝されるものと推察された。

(第一化学薬品㈱、1979年)

要 約

ノニルフェノールスルホン酸銅の安全性評価を行なうための各種毒性試験を実施した。

その結果、本剤は急性毒性がきわめて低く、普通物に該当することが示された。眼に対しては刺激性を有するが使用濃度 (500倍) 希釈液では陰性であった。

皮膚に対しては軽微な刺激性を有するが、皮膚感作性は陰性であった。

慢性毒性は催腫瘍性はないと判断され、催奇形性では繁殖能力に悪影響はなかった。

変異原性試験では突然変異誘発性はないものと推察され、また染色体異常誘発性および DNA 損傷誘発性も陰性と判断された。

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なわれ、体内残留傾向も認められなかった。

ノニルフェノールスルホン酸銅について1991年1月23日に ADI が0.21mg/kgと設定され確定した。

ノニルフェノールスルホン酸銅は昭和47年特許庁より農薬類で承認され、昭和48年には乳剤 (ヨネポン乳剤) として、また昭和61年には水和剤 (ヨネポン水和剤) 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

米澤化学工業株式会社

〒601 京都市南区唐橋芦辺町14

北興化学工業株式会社

〒103 東京都中央区日本橋本石町 4 - 4 - 20