

ジネブの毒性試験の概要

東京有機化学工業株式会社 農薬技術センター
クミアイ化学工業株式会社 研究開発部登録課

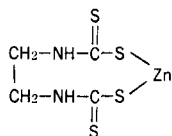
薬剤の概要

ジネブは1948年ローム・アンド・ハース社によって開発されたジチオカーバメート系殺菌剤であり、果樹、野菜、花卉等に広く使用されている。開発に際し、安全性に関する知見を得ているので、各種試験成績の概要について述べる。

本剤の化学構造と物理化学的性質は以下に示すとおりである。

化学名：zinc ethylenebisdithiocarbamate

構造式：



分子式：C₄H₈N₂S₄Zn

分子量：275.74

外 観：類白色粉末

比 重：1.93

溶解度：水に2 ppm溶解する。

ピリジン、クロロホルムに可溶

安定性：熱により分解が促進され、硫化水素等が発生する。

酸・アルカリ性に対しては、酸により分解して、硫化水素、二硫化炭素を発生する。

水酸化ナトリウムにより分解して、ジチオカルバミン酸ナトリウムとなる。

光に対しては紫外線により分解する。

ここでは、本剤の登録取得のために実施された安全性評価のための各種毒性試験成績について、と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結果は次に示すとおりである。

| 検 体 | 動 物 | 投 与 | LD50 (mg/kg) | | 実施機関名 (年度) |
|--------|-------|--------|--------------|------------------|---------------------|
| | | | 雄 | 雌 | |
| 原体 | ラ ッ ト | 経 口 | >10,000 | >10,000 | 財残留農薬研究所 (1975年) |
| | | 皮 下 | >10,000 | >10,000 | |
| | | 腹 腔 内 | >5,000 | >5,000 | |
| | マ ウ ス | 経 口 | >10,000 | >10,000 | |
| | | 皮 下 | >10,000 | >10,000 | |
| | | 腹 腔 内 | >5,000 | >5,000 | |
| ラ ッ ト | 経 口 | >5,000 | >5,000 | 財化学品検査協会 (1985年) | |
| | 経 皮 | >2,000 | >2,000 | 財新日本科学 (1988年) | |
| 72%水和剤 | ラ ッ ト | 経 口 | >5,000 | >5,000 | 財新日本科学 (1988年) |
| | マ ウ ス | 経 口 | >5,000 | >5,000 | |
| | ラ ッ ト | 経 皮 | >5,000 | >5,000 | 財実医研・慶応義塾大学 (1982年) |

刺激性試験

眼および皮膚に対する刺激性をウサギを用いて検討し、以下の結果を得た。

眼刺激性：水和剤（有効成分72%）0.1gをウサギの片方の眼に適用した。非洗眼群および洗眼群において角膜、虹彩、結膜に変化を認めなかったため、本剤は刺激性なしと判定した。

（助化学品検査協会 1985年）

皮膚刺激性：3×3cmのリン布上に水和剤を20%含有するワセリン軟膏を刈毛した動物の背部に適用した。1回適用においては、塗布24時間後、72時間後で軽度な紅斑が認められた。毎日1回連続5日塗布においては、72時間後で軽度な紅斑が認められた。本剤は軽度の刺激性ありと判定した。

（クミアイ化学工業(株)生物科学研究所 1970年）

皮膚感作性試験

皮膚感作性：蒸留水で検体を5倍及び10倍に希釈し、ラットの背部に皮下注射した。24時間後の適用部位は、両希釈倍数とも顕著な充血と浮腫が認められた。

モルモットにおけるマキシミゼーションテストを行った。誘導化のため皮内（投与濃度5%）及び経皮（投与濃度25%）投与を行い、反応を起こさせるため更に経皮（投与濃度2%及0.5%）投与を行った。本剤のアレルギー反応は誘発24時間後と48時間後に観察された。誘発において明瞭なアレルギー反応を認めたため、本剤は感作性を有するものと判定した。

（熊本大学医学部 1976年）

亜急性毒性試験

ラット：1群雌雄各10匹のラットに本剤の原体0、50、500、5,000、50,000ppm含有した飼料を3ヶ月間摂食させた。その結果、50,000ppm群の雄で2週間目から体重増加抑制が認められた。血

液学的検査では、雌の500ppm群以上で白血球数が増加し、白血球分画では5,000ppm以上の群でリンパ球の減少と好中球の増加が認められた。血液生化学検査では、50,000ppm群の雄でGPT値の低下及び血糖値の上昇が認められた。尿検査では、500ppm以上の群の雄でケトン体陽性の個体が増加し、潜血を認めた個体が1例ずつみられた。雌ではいずれもケトン体陽性の個体が増加した。しかしケトン体は対照群の雌雄においても認められ、50,000ppm群の雌雄で有意差がみられた。臓器重量では、50,000ppm群の雌雄で甲状腺の重量及び対体重比に増加が認められた。病理組織学的検査では、甲状腺の濾胞の小型化が50,000ppm群の雌雄では高度に、5,000ppm群の雄では中等度にみられ、その他コロイドの消失、上皮の高さの増加、一部上皮の濾胞腔内への膨隆像が認められた。その他の臓器には変化は認められなかった。無作用濃度（量）は500ppm（雄29.2mg/kg/日、雌32.8mg/kg/日）であった。

（助残留農薬研究所 1975年）

マウス：1群雌雄各10匹のマウスに本剤の原体0、50、500、5,000、50,000ppm含有した飼料を3ヶ月間摂食させた。その結果、50,000ppm群では雌雄とも体重増加抑制が認められた。血液学的検査では、50,000ppm群の雄で、白血球数の減少、白血球分画でリンパ球の減少、好中球の増加が認められた。その他の群では変化は認められなかった。血液生化学的検査では50,000ppm群の雄でGOT活性値に有意な増加が認められた。尿検査ではいずれの群にも異常は認められなかった。臓器重量では、50,000ppm群の雌で副腎重量及び対体重比の増加、並びに卵巣重量の低下、雄では甲状腺重量対体重比に増加が認められた。5,000ppm以下の群では投与に関連したと考えられる変化は認められなかった。無作用濃度（量）は5,000ppm（雄668mg/kg/日 雌737mg/kg/日）であった。

（助残留農薬研究所 1975年）

ラット：1群雌雄各15匹づつのチャールズ・リバー系ラットを用い、検体を0、100、250、500、1,250及び5,000ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたって自由に摂取させた。その結果、一般

状態、死亡率、血液学的検査所見、血液生化学的検査所見、尿検査所見、剖検所見、臓器重量及び対体重比及び病理組織学的検査所見にはいずれも検体投与に起因すると考えられる変化は、5,000ppm群の雌雄における体重増加抑制のみであり、最大無作用濃度は、雌雄とも1,250ppmと判断される。

(Industrial Bio-Test Laboratories, Inc. 1974年)

マウス：1群雌雄各25匹づつのチャールズ・リバー系マウスを用い、検体を0、100、250、500、1,250及び5,000ppmの濃度で飼料に混入し、90日間にわたって自由に摂食させた。その結果、一般状態、死亡率、体重変化、摂餌量、血液学的検査所見、血液生化学的検査所見、尿検査所見、剖検所見、臓器重量及び対体重比及び病理組織学的検査所見には、いずれも検体に起因すると考えられる変化は認められなかった。以上のことより、最大無作用量は雌雄とも5,000ppmであると判断される。

(Industrial Bio-Test Laboratories, Inc. 1975年)

吸入毒性試験

ラットを用いた亜急性吸入毒性試験

SD-SLC系ラットを1群雌雄各10匹づつを用い、0、4、7、20及び73mg/m³の濃度で、1日4時間、毎週6日間で30日間動物の全身に曝露した。その結果、雄の高濃度群で軟便傾向、体重増加抑制、摂餌量の低下、LDH活性値の上昇、白血球数の減少及びすべての投与群のコレステロール濃度の増加がみられた。雌では高濃度群で甲状腺重量の増加が認められた。また雌雄すべての投与群で胸腺の湿重量及び対体重比の有意な減少が認められた。病理組織学的検査では検体投与に起因する変化は認められなかった。以上の結果より無作用濃度は20mg/m³と考えられる。

(榎野村総合研究所 1978年)

慢性毒性試験

イヌ：1群雌雄各4匹のイヌに本剤の原体0、2、20、200mg/kgを104週間強制経口投与した。その結果、

検体投与による体重変化は認められなかった。尿、血液学的及び血液生化学的検査において、いずれの検査項目も投与量及び投与期間に関連した変化は認められなかった。臓器重量では、200mg/kg群で甲状腺重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、検体投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。無作用量は雌雄とも20mg/kg/日であった。

(勸残留農薬研究所、Life Science Research (英国) 1978年)

ラット：1群雌雄各80匹のラットに本剤の原体0、40、200、1,000、5,000ppm含有した飼料を30ヶ月間摂食させた。その結果、体重、尿検査、血液生化学的検査及び臓器重量では、投与量及び投与期間に関連した変化は認められなかった。病理組織学的検査では、5,000ppm群の雄で甲状腺腫及び皮下腺腫の発生頻度が対照群に比較して増加を示した。無作用濃度(量)は雄で1,000ppm(37mg/kg/日)雌で5,000ppm(235mg/kg/日)であった。

(勸残留農薬研究所 1978年)

ラット：1群雌雄各60匹のF-344系ラットを用い、本剤の原体を0、25、350及び5,000ppm含有する飼料を104週間摂取させた。52週目には中間屠殺を行い諸検査を実施した。全動物について病理組織学的検査を行ったが、特に甲状腺には注意を払った。その結果、25ppm群では雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。350ppm群で、雌のコレステロール、尿酸の減少、雄の甲状腺重量及び対体重比の減少が認められた。52週目に雄で甲状腺濾胞上皮に小濾胞化に伴う好塩基性変化などの軽い変性の発生増加が認められたが、102週目では認められなかった。5,000ppm群では、雄の体重増加抑制を認めた。雄のヘマトクリット値及びヘモグロビン量がわずかに減少し、カルシウム、たん白及び血糖も減少した。GOT及びGPT値は増加した。雌で尿酸、コレステロールが減少し、血糖値が増加した。甲状腺重量及び対体重比は雌雄とも減少傾向を示した。甲状腺濾胞の小型化に伴う軽度の好塩基性変化などの発生数が雌雄とも増加した。以上の結果から、無作用濃度(量)

は25ppm (雄、1.03:雌1.32mg/kg/日) となり
 確実中毒濃度(量)は5,000ppm (雄、218:雌、
 267mg/kg/日)となる。なお本剤原体に起因す
 る甲状腺腫及び腫瘍発生率の増加はいずれの
 投与群でも認められなかった。

(助食品農薬品安全性評価センター 1987
 年)

次世代試験

1群雌雄各30匹のJCL-Wistar系ラットを用い、ジ
 ネブを0、50、500及び5,000ppm含有する飼料を3世代
 にわたって摂食させた。次世代への継続は各交配毎に
 第2産仔を用い繁殖性に及ぼす影響について検討した。
 その結果、各世代を通じて、検体に起因した一般状態、
 死亡はなく、体重変化、摂餌量及び飲水量の変化も認
 められなかった。交尾率、妊娠率、出産率及び産仔数
 においても差は認められず、哺育仔の発育も正常であ
 った。また病理組織学的検査においても検体投与に起
 因した変化は認められなかった。催奇形性検査におい
 ても検体投与によると考えられる奇形の誘発は認めら
 れず、胎仔死亡率の増加及び発育抑制も観察されな
 かった。以上の成績から、ジネブは5,000ppmの濃度にお
 いても、ラットの繁殖機能及び胎仔の発育に影響を及ぼ
 さないものと考えられた。

(助残留農薬研究所 1978年)

催奇形性試験

ニュージーランド・ホワイト系妊娠ウサギを用い、
 検体を1% CMCに懸濁し、50、150及び500mg/kgの懸
 濁液を作り妊娠6日目から18日目までの13日間毎日1
 回強制経口投与した。対照群には1% CMC水溶液を同
 様に投与した。その結果本検体は、母動物の一般症状、
 体重変化及び帝王切開の成績ではいずれの検査項目に
 も検体投与に起因する影響は認められなかった。また
 生存胎仔の検査でも検体投与の影響は認められなかつ
 た。しかし飼料摂取量は150mg/kg群で妊娠12~16日、
 500mg/kg群で妊娠13~16日に対照群に比べて有意な減
 少を示した。以上の成績から、母動物に対する最大無
 作用量は50mg/kg、胎仔に対する最大無作用量は500mg/
 kgと考えられる。なお500mg/kgの投与量で催奇形性は
 認められなかった。(助動物繁殖研究所 1989年)

変異原性試験

1. 細菌を用いたDNA修復試験

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H
 -17) と欠損株 (M-45) を用い、rec-assay 法でDNA
 の損傷の誘発性を検定した。ジネブの処理濃度は、1、
 2、5、10、15及び20 μ g/ディスクとした。その結果、
 ジネブは20 μ g/ディスクにおいても両株に生育阻止を
 認めなかったためDNA損傷の誘発性がないものと判断
 される。(助残留農薬研究所 1975年)

2. 細菌を用いた復帰変異性試験

ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium*
 (TA1535、TA1536、TA1537、TA1538株) およびトリ
 プトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2hcr
 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系
 (S-9Mix) の非存在下で、Amesらの方法で変異原
 性を検定した。検体は、DMSOに溶解した。その結果
 検体の投与限界である200 μ g/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ため、
 復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

(助残留農薬研究所 1975年)

3. 細菌を用いた復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella*
typhimurium (TA1535、TA1536、TA1537、TA1538
 株) 及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli*
 (WP2hcr 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬
 物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で、
 Amesらの方法で変異原性を検定した。検体は、代謝活
 性化を含め投与限界である200 μ g/plateの濃度にお
 いても復帰コロニー数の増加は認められなかったため代
 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。(助残留農薬研究所 1975年)

4. 宿主経由試験

1群雄6匹のICR系マウスを用い、検体を10%アラ
 ビアゴムに2,000及び5,000mg/kgになるように懸濁調製
 し、24時間間隔で2回経口投与した。その結果本検体
 2,000mg/kg 2回投与群で対照群と比較して1.9倍程度の
 弱い復帰変異頻度の有意差のある上昇を認めたが、1,000
 mg/kg 2回投与群では上昇は認められなかった。これら

の値は、通常の試験における対照群の値のばらつきの範囲内にあるので、検体の作用によるものとは考えられない。

(助残留農薬研究所 1975年)

5. 細菌を用いた復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100及びTA98株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。その結果、検体は代謝活性化を含め投与限界である200 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 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ので、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。

(助食品薬品安全センター 1978年)

6. 細菌を用いた復帰変異性試験

ヒスチジン及びビオチン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100及びTA98株)を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法で変異原性を検定した。その結果、検体は代謝活性化を含め投与限界である20,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 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ので復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

(榎野村総合研究所 1978年)

7. 細菌を用いた復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA1535, TA100, TA98, TA1537及びTA1538株)及びトリプトファン要求性の大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA株)を用いラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法により変異原性を検定した。その結果、検体はS-9Mixの存在下及び非存在下いずれの場合でも、すべての菌株において対照に比べて復帰変異コロニー数の増加は認められなかったので、復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

(助化学品検査協会 1985年)

8. 染色体異常誘発性試験

チャイニーズハムスターの継代培養した肺線維芽細胞を用い、直接法では、10、20、40及び80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、代謝活性化法では、20、40、80及び160 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で試

験を行った。その結果、直接法24時間処理では、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上で構造異常細胞の出現率が増加し、ギャップ、切断、交換などの異常が認められた。直接法48時間処理では、10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で疑陽性、代謝活性化法S-9Mix存在下では陰性であったので、*in vitro*染色体異常試験では、構造的染色体異常を誘発すると判断される。

(榎相互生物医学研究所 1987年)

一般薬理試験

ジネブは0.5% CMC生理食塩溶液に懸濁して用いた。なお投与液は用時調製とした。投与容量はマウス、ラット経口投与では0.1ml/10gウサギ静脈内投与では0.1 ml/kg、摘出臓器では0.1ml/bathとした。正常対照群にはCMC生理食塩溶液を検体投与液と同容量投与した。

1. 雄マウスによる中枢神経系に対する作用

1群10匹のマウスにジネブ800、2,000および5,000mg/kg経口投与した。2,000mg/kg群で投与後15~30分から、半数例に自発運動の抑制、うずくまり、うとうと状態あるいは閉眼がみられた。しかし6時間後には全例正常に復した。また自発運動量への影響も見た。5,000mg/kg群では、対照群に比し、観察期間中どの時点においても低値を示し、特に、100分後では有意な低下が認められた。

2. 呼吸・循環器系に対する影響

雄ウサギを8匹使用しジネブを大腿動脈に挿入したカニューレより投与した。投与量は1、5及び25mg/kgとした。呼吸数に対しては、25mg/kg群で投与後徐々に増加し、30分後には投与前に比し、平均93.8%の増加を示した。呼吸振幅に対しては、25mg/kg群で投与後徐々に減少し、30分後には投与前に比し、平均17.8%の減少を示した。血圧に対しては、25mg/kg群で呼吸数の増加に伴い、血圧の低下がみられ、30分後には投与前に比し収縮期血圧で12.3%、拡張期血圧で16.1%の低下を示した。心拍数に対しては変化が認められなかった。心電図に対しては、25mg/kg群で5例中2例にR波の減高、STの低下及びT波の増高が認められた。アセチルコリン及びエピネフリンの反応に対する影響を5mg/kg群で検討したが、呼吸数、呼吸振幅、血圧、心拍数及び心電図の反応に対し変化が認められなかった。

3. 平滑筋に対する作用

雄モルモットを4匹使用して摘出回腸への影響を検討したが何ら影響を与えなかった。また処女ラットを3匹使用して摘出子宮への影響を検討したが何の影響も与えなかった。

4. 血液系に対する作用

雄ラットを1群10匹用い、ジネブ2,000及び5,000mg/kgを経口投与して血液凝固への影響を見たが変化はなかった。また雄ウサギを3匹用い溶血試験を行ったが何ら影響を与えなかった。以上の結果からジネブは大量で中枢及び循環器系に抑制的な作用を示すものと思われ、経口的に適用された場合、作用をおこす最低用量は2,000mg/kgであった。

(薬効開発研究会東松山研究所 1989年)

要 約

ジネブは魚介類に対する毒性は弱く、蚕児に対して23日前散布で影響はみられていない。眼に対しては刺激性はないが、皮膚に対して軽度の刺激性がある。またモルモットに対して感作性がある。慢性毒性では、ラットで甲状腺腫及び皮下腺維腫が対照群に比べて増加し、また犬においても甲状腺重量が増加した。繁殖性及び催奇形性は示さなかった。しかしいずれも実際にヒトまた他の動物が高濃度に長時間曝露される可能性はきわめてまれと考えられる。これらの安全性試験結果および他の各種の試験結果などから総合的に評価がなされ設定された農薬登録保留基準値は、果実(なつみかんの外果皮を除く。)0.5ppm、なつみかんの外果皮10ppm、野菜(きゅうり及びとまとを除く。)0.4ppm、きゅうり2ppm、とまと2ppm、いも類0.2ppmである。ジネブ製剤は定められた使用基準や注意事項を厳守して用いれば、安全性が確保されかつ農薬として極めて有用であると考えられる。

問合せ

東京有機化学工業株式会社 農薬技術センター

〒114 東京都北区豊島5-2-1

クミアイ化学工業株式会社 研究開発部登録課

〒110-91 東京都台東区池之端1-4-26