

技術情報

フェリムゾンの毒性試験の概要

武田薬品工業株式会社アグロ事業部
農薬開発部開発第三グループ

(平成6年5月2日受理)

薬剤の概要

フェリムズンは武田薬品工業株式会社が創製し開発した殺菌剤である。本化合物は水稻のいもち病、ごま葉枯病その他に優れた効果を示す。本剤は既存の殺菌剤と化学的構造を異にする新しい作用性をもつ化合物である。本剤については1981年から開発を開始し、1983年より(社)日本植物防疫協会を通じて各地の試験機関で作用性試験を実施した。

本化合物はいもち病に卓越した治療効果を示すと同時に、他のいもち病防除薬剤に耐性を獲得したいもち病にも強い防除効果を示し、また、ごま葉枯病、ごま葉枯病菌による穂枯れ、すじ葉枯病、変色米、その他の水稻出穂期以降の病害にも有効であることが判明した。

本化合物は哺乳類や魚介類に対する毒性が低く、有用昆虫に対しても影響が少なく高い安全性が認められた。

本化合物は上述のように治療的作用の強い薬剤であるが、散布適期の幅を拡大して使用者の便を図り、合わせて本化合物自体への耐性菌の出現をあらかじめ抑制する目的で、予防効果を示すフサライドおよびトリシクラゾールとの混合剤等を開発した。

本剤の化学構造および物理的・化学的性質を以下に示す。

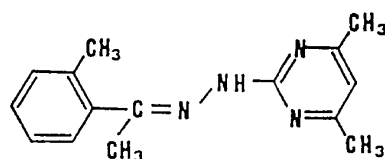
一般名: フェリムゾン (ferimzone)

化学名: (Z)-2'-Methylacetophenone 4,6-dimethylpyrimidin-2-ylhydrazone

分子式: $C_{15}H_{18}N_4$

分子量: 254.34

構造式:



外観: 無色プリズム状結晶

比重: 1.185

融点: 175~176°C

蒸気圧: 3.09×10^{-8} mmHg (20°C)

溶解性: 水 0.162 g/l (30°C) メタノール, エタノール, プロパノール, 酢酸エチル, アセトニトリル, クロロホルム, テトラヒドロフラン, キシレンに易溶

分配係数: $\log P=2.89$ (*n*-オクタノール/水, 25°C)

急性毒性試験

フェリムゾンのラットおよびマウスにおける経口、経皮および吸入の各経路による急性毒性試験結果を表1に示す。

中毒症状としてはラットおよびマウスに対する経口投与では投与直後より雌雄ともに自発運動の減少、歩行異常、筋肉の弛緩および振せんがみられた。ラットに対する経皮投与ではまったく異常は認められなかった。

経口投与による死亡例の剖検所見としてはラット、マウスともに胃および小腸粘膜の出血が認められた。

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

フェリムゾン 100 mg を日本白色種ウサギ雄の右眼に

表1 フェリムゾンの急性毒性試験結果

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値 (mg/kg) LC ₅₀ 値 (mg/l) ^{a)}	試験機関 (報告書作成年)
ラット	経口	雄	725	臨床医科学研究所 (1984)
		雌	642	
マウス	経口	雄	590	臨床医科学研究所 (1984)
		雌	542	
ラット	経皮	雄	>2000	臨床医科学研究所 (1984)
		雌	>2000	
ラット	吸入	雄	>3.8 ^{a)}	Bio/dynamics (1986)
		雌	>3.8 ^{a)}	

^{a)} 急性吸入毒性試験: 全身暴露。

適用し、3 匹については処理 30 秒後に生理食塩液で洗眼し、残りの 6 匹については処理 24 時間後に同様に洗眼した。処理 1, 2, 24, 48 時間後および 19 日後まで毎日、角膜、虹彩、結膜の異常を観察した。眼瞼腫脹、眼分泌物の増加、結膜充血、虹彩および角膜周囲の充血と角膜の慢性混濁が認められたが、19 日後、これらの所見は消失した。処理後、洗眼により上記症状は軽減された。

以上より、フェリムゾンは眼に対し強度の刺激性を有するものと判断された。

(臨床医科学研究所, 1983 年)

2. 皮膚一次刺激性試験

フェリムゾンの 500 mg を 0.5 ml の蒸留水で湿らせたガーゼパッチに塗布して、日本種白色ウサギ雄 6 匹を剪毛し、擦過傷をつけた皮膚および非擦過傷皮膚の 2 か所に貼布し、ガーゼパッチは 24 時間後に除去した。パッチを除去したのち 21 日後まで Draize 法により観察した。非擦過皮膚では、検体除去 72 時間後の全例に紅斑または痂皮形成がみられたが、それらは 8 日後までに正常に回復した。一方、擦過皮膚では検体除去 30 分後より全例に紅斑がみられ、その後痂皮形成が認められた。紅斑は 21 日後まで観察された。フェリムゾンはウサギの正常皮膚に対して軽度の皮膚一次刺激性を有し、擦過皮膚に対しては強度の皮膚一次刺激性を有するものと判断された。

(臨床医科学研究所, 1984 年)

皮膚感作性試験

Hartley 系モルモット雄 1 群 15 匹 (陽性物質処理群およびその対照群は雄 1 群 10 匹使用) を用い Buehler 法に準じて試験を行なった。感性処置時にはフェリムゾンの白色ワセリン中 25% 剤として使用し、また、陽性物質である 2,4-ジニトロクロロベンゼン (DNCB) は白色ワセリン中 1% 剤を用いた。一方、誘発処置時には白色ワセリン中 1% 剤を、また、DNCB は 40% エタノール水溶液中 1% 剤として用いた。

感作は処置前日に剃毛したモルモットの左腹側部に各剤の 0.5 g を塗布したリント布を 6 時間閉塞貼付した。第 1 回感作より 7 日後および 14 日後に同じ方法で塗布し、合計 3 回感作処置を行なった。誘発は最終感作処置の 14 日後に前日に剃毛した動物の右腹側部に各剤の 0.5 g あるいは 0.5 ml を塗布したリント布を 24 時間閉塞貼付した。誘発物質除去 24 および 48 時間後に誘発貼付部皮膚の紅斑および浮腫の有無を観察した。なお、対照群として感作時には無処置群および白色ワセリンのみ処理群を設け、誘発時にはおのおのフェリムゾン

および DNCB の各剤を処置した。

フェリムゾン処置群のモルモット皮膚には感作反応はみられず、一方、DNCB 処置群には明らかな感作反応が認められた。以上、フェリムゾンに皮膚感作性は認められなかった。

(臨床医科学研究所, 1987 年)

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた 3 か月亜急性毒性試験

フェリムゾンの 0, 250, 1000, 4000 および 8000 ppm を含有する飼料を 1 群雌雄各 12 匹の Jcl: Wistar 系ラットに 3 か月間自由摂取させた。

検体投与に関連した一般症状の異常はみられず、いずれの投与群においても死亡例は認められなかった。4000 ppm 以上の投与群雌雄で試験 1 週時より試験終了時まで体重増加抑制が認められ、飼料摂取量も低下した。

血液学的検査の結果、1000 ppm 以上の投与群雌および 4000 ppm 以上の投与群雄において Ht および Hb の減少を伴う軽度の貧血が認められた。

血液生化学的検査の結果、対照群の値に比較して増加した検査項目は 1000 ppm 以上の投与群雌および 4000 ppm 以上の投与群雌における AIP, 4000 ppm 以上の投与群雄における BUN および Ca, 8000 ppm 投与群雌および 4000 ppm 以上の投与群雌における総コレステロール, 1000 ppm 以上の投与群雌および 1000 ならびに 4000 ppm 投与群雌におけるアルブミン, 1000 ppm 以上の投与群雌における A/G 比であった。一方、減少した検査項目は 4000 ppm 以上の投与群雌における血糖およびグロブリン, 4000 ppm 以上の投与群雌における GOT および GPT であった。上記のうち AIP の上昇は病理組織学的検査所見である肝の小葉中心性肝細胞肥大と関連があったが、肝障害の指標である GOP および GPT は投与用量の増加に伴う減少が認められたことから肝障害とこれらの検査値の変動との関連性は明白ではなかった。

臓器重量については、8000 ppm 投与群雌雄の脳、下垂体、心、腎、脾、副腎の各重量が減少し、対体重比は上昇した。これらの変化は体重増加抑制に基づくものであり、生物学的意義はないものと考えられた。

肉眼的病理検査では、4000 ppm 以上の投与群雌雄における肝の暗調化がみられた。

病理組織学的検査では 4000 ppm 以上の投与群雌雄において肝の小葉中心性肝細胞腫大が認められた。

以上の結果より、本試験における最大無作用量は 4000 ppm 以上の投与群における体重増加抑制、飼料摂取量の減少、軽度の貧血、小葉中心性肝細胞腫大および 1000

ppm 以上の投与群における AIP の上昇から 250 ppm (雄 16.4 mg/kg/day, 雌 18.3 mg/kg/day) と判断された。

(残留農薬研究所, 1988 年)

2. マウスを用いた 3 か月亜急性毒性試験

フェリムゾンの 0, 250, 1000, 4000 および 8000 ppm を含有する飼料を 1 群雌雄各 12 匹の Jcl: ICR 系マウスに 3 か月間自由に摂取させた。

一般状態の観察では 8000 ppm 投与群雄で立毛, 被毛の汚染, 歩行異常が散見された。試験終了時における死亡数は 0, 250, 1000, 4000 および 8000 ppm 投与群雄でのおおの 0/12, 0/12, 0/12, 1/12 および 10/12 を示し, 雌でのおおの 0/12, 0/12, 0/12, 0/12 および 2/12 を示した。

8000 ppm 投与群雌雄で, 試験期間を通じて著しい体重増加抑制が認められた。4000 ppm 投与群雌雄では投与開始直後に体重増加抑制がみられ, 雄では 3 週時以降やや回復した。しかし, 雌では試験終了時まで有意な体重増加抑制がみられた。8000 ppm 投与群雌雄の飼料摂取量は試験期間を通じて低下した。4000 ppm 投与群雌雄では投与開始 1 週間の飼料摂取量が低下したが, その後回復した。4000 および 8000 ppm 投与群雌雄では投与開始 1 週間の飲水量が減少したが, 以後対照群の値と同等となった。

血液学的検査の結果, いずれの投与群においてもフェリムゾン投与による影響は認められなかった。

血液生化学的検査の結果, 対照群の値に比較して上昇あるいは上昇傾向を示した検査項目は 4000 および 8000 ppm 投与群雌雄の総コレステロールならびに雄の AIP であり, これらの変化はフェリムゾン投与に関連するものと考えられた。また, 8000 ppm 投与群雌に GOP の低下が認められた。

尿検査の結果, 8000 ppm 投与群雌雄および 4000 ppm 投与群雌雄で尿比重の低下およびウロビリノーゲンの低下傾向が認められた。

臓器重量では 1000 ppm 投与群雌雄で肝重量の対体重比, 4000 および 8000 ppm 投与群雌雄の肝重量およびその対体重比が増加し, 雌の腎重量の減少および脳重量対体重比の増加が認められた。8000 ppm 投与群雌では心, 卵巣重量の減少および腎重量対体重比の増加が認められた。

肉眼的病理検査の結果, 8000 ppm 投与群雌雄および 4000 ppm 投与群雌雄で肝の暗調化がみられ 8000 ppm 投与群雌雄では膀胱内に尿のうっ滞, 肝肥大が認められた。

病理組織学的検査の結果, 4000 ppm 以上の投与群雌

雄に肝の小葉中心性肝細胞腫大がみられ, 単一細胞性肝細胞壊死も散見された。

以上の結果より, 本試験における最大無作用量は 1000 ppm 投与群雄における肝重量の対体重比の増加および 4000 ppm 投与群雌雄における体重増加抑制等から雄で 250 ppm (30.6 mg/kg/day) および雌で 1000 ppm (143 mg/kg/day) と判断された。

(残留農薬研究所, 1988 年)

慢性毒性および発がん性試験

1. ラットを用いた 104 週間慢性毒性・発がん性試験

フェリムゾンの 0, 50, 500 および 3000 ppm を含有する飼料を 1 群雌雄各 50 匹の Jcl: Wistar 系ラットに 104 週間自由摂取させた。なお, サテライト群として 1 群雌雄各 20 匹を用い, 52 および 78 週時に中間屠殺した。

3000 ppm 投与群の雌雄で頭部の腫脹がみられ, 雄で赤色眼脂, 削瘦, 呼吸異常, 行動不活発, 過長歯の増加がみられ, 同投与群雌で皮膚の結節, 腫瘍の減少が認められた。試験終了時における死亡率は 0, 50, 500 および 3000 ppm 投与群雌雄でのおおの 16.3, 18.0, 14.0 および 40.0% を示し, 雌でのおおの 30.6, 27.1, 28.8 および 28.0% を示した。3000 ppm 投与群雌雄で試験期間を通じ体重増加抑制および飼料摂取量の減少がみられ, 500 ppm 投与群雌雄では投与開始時に体重増加抑制が認められた。

血液学的検査の結果, 3000 ppm 投与群雌雄で試験期間を通じ Ht, Hb および赤血球の有意な減少が認められ, 軽度の貧血と判断された。また, 3000 ppm 投与群雌雄でリンパ球の増加が認められたが, これに伴う病理組織学的変化は認められなかったことから, その原因は明らかでなかった。

血液生化学的検査の結果, 3000 ppm 投与群雌雄で AIP および A/G 比の上昇ならびに GOT, GPT および総ビリルビンの低下が認められた。AIP の上昇は病理組織学的検査結果で肝の小葉中心性肝細胞腫大に関連性があるものと考えられ, 血糖の減少は低栄養状態からの二次的変化と考えられたが, GOT, GPT, 総コレステロールおよび総ビリルビンの低下には他の検査項目に関連した変化は認められなかった。

尿検査の結果, 3000 ppm 投与群雌雄で尿量の減少, 蛋白の低下がみられ尿比重の上昇が認められたが, いずれも散発的であったことから, これらの変化には毒性学的意義はないものと考えられた。

肉眼的病理検査の結果, 3000 ppm 投与群雌雄で眼脂,

削瘦、頭部腫脹、胃および腸内にガス貯留、肝の暗調化および総胆管の拡張が増加し、52 週時の中間屠殺時に総胆管結石が認められた。3000 ppm 投与群雌では体型の小型化および肝の暗調化の増加が認められた。一方、3000 ppm 投与群雄における眼球白濁および皮膚の結節、腫瘤ならびに同群雌における下垂体結節、腫瘤が減少した。

病理組織学的検査の結果、3000 ppm 投与群雌雄で肝の小葉中心性肝細胞腫大、び慢性肝細胞脂肪化および総胆管腔の拡張の発生頻度が増加し、同投与群雄で脾の萎縮、鼻炎、前胃のびらん・潰瘍および肝細胞萎縮の発生頻度が増加した。同雌では鼻涙管粘膜上皮過形成および下腿筋萎縮の発生頻度が増加した。一方、3000 ppm 投与群雄では肝の小肉芽腫、慢性腎炎、甲状腺大型小胞、副腎皮質過形成および脾での髓外造血亢進等の発生頻度が低下した。

以上の結果より、本試験における最大無作用量は 500 ppm 投与群雄での試験開始時における体重増加抑制、3000 ppm 投与群雌雄における Ht, Hb および赤血球の低下、AIP の増加、肝重量対体重比の増加等から雄で 50 ppm (1.94 mg/kg/day)、雌で 500 ppm (23.0 mg/kg/day) と判断された。(残留農薬研究所, 1988 年)

2. マウスを用いた 78 週間発がん性試験

フェリムゾンの 0, 50, 500 および 3000 ppm を含有する飼料を 1 群雌雄各 50 匹の ICR 系 (Crj: CD-1) マウスに 78 週間自由摂取させ、試験終了時に全生存例を屠殺した。試験期間中に検体投与に関連した一般状態の異常は認められなかった。試験終了時における死亡率は 0, 50, 500 および 3000 ppm 投与群雄でおおの 34.7, 20.0, 26.0 および 18.0% を示し、雌でおおの 34.0, 24.0, 14.0 および 14.0% を示した。500 および 3000 ppm 投与群雄で投与 4 週時以後、また同群雌では試験期間を通じ体重増加抑制が認められた。また、3000 ppm 投与群雌雄の飼料摂取量は軽度に減少した。

血液学的検査の結果、500 および 3000 ppm 投与群雌で、投与 52 週時に好酸球の百分比の上昇がみられた。

臓器重量では、3000 ppm 投与群雄で脳、甲状腺および精巣重量の対体重量の増加がみられ、同群雌で脳および肝重量の対体重比が増加した。

肉眼的病理検査の結果、3000 ppm 投与群雄で肝の結節および腫瘤の発生頻度が増加し、また、肝の色調混濁あるいは暗調化の増加が認められた。雌では検体投与に関連する所見はみられなかった。

病理組織学的検査の結果、3000 ppm 投与群雄の死亡

例および切迫殺動物に副腎被膜下細胞増生が認められたが、同群雌には認められなかったことから検体投与に関連した変化とは考えられなかった。腫瘍性病変としては対照群を含む各投与群の各種臓器・組織に肺腺腫、肝細胞腺腫、悪性リンパ腫等の腫瘍の発生は認められたが、その発生頻度には検体投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、フェリムゾンに催腫瘍性はないものと判断された。(残留農薬研究所, 1988 年)

3. イヌを用いた 52 週間慢性毒性試験

ゼラチンカプセルに封入したフェリムゾンの 0, 10, 30 および 100 mg/kg/day を 1 日 1 回連続 52 週間経口投与した。100 mg/kg/day 投与群に削瘦、脱水、食欲欠乏、不活発、下痢または軟便、虚脱、跳躍および鼻汁などの症状を呈する動物がみられ、30 および 100 mg/kg/day 投与群の全動物に時折嘔吐が認められた。試験終了時における死亡数は 0, 10, 30 および 100 mg/kg/day 投与群雄でおおの 0/4, 0/4, 0/4 および 1/4 を示し、雌で 0/4, 0/4, 0/4 および 2/4 を示した。30 mg/kg/day 投与群雄および 100 mg/kg/day 投与群雌雄の平均体重は対照群に比較し低値を示したが統計学的有意差は認められなかった。

飼料摂取量および眼検査結果には検体投与による影響は認められなかった。

血液学的検査の結果、赤血球数あるいは Ht, Hb に変化が散見されたが検体投与に関する影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査では、AIP, AST, ALT, リン脂質、コレステロール、LDH 等に変化が散見されたが、フェリムゾン投与との関連は明白ではなかった。

尿検査結果および臓器重量には検体投与による影響は認められなかった。

肉眼的病理検査の結果、100 mg/kg/day 投与群の切迫殺動物に肝の褪色、回腸あるいは胃の粘膜びらんなどがみられ、これは死亡時の変化と考えられた。

病理組織学的検査の結果、100 mg/kg/day 投与群動物の肝細胞およびクッパー細胞に検体あるいはその代謝物と考えられる色素沈着が認められた。腫瘍性病変としては 100 mg/kg/day 投与群雌 1 例に認められた乳頭腫のみであった。

以上の結果より、本試験における最大無作用量は 30 および 100 mg/kg/day 投与群における食欲不振および肝細胞への色素沈着から 10 mg/kg/day と判断された。

(IRDC, 1987 年)

繁殖性に及ぼす影響および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖試験

フェリムゾンの 0, 200, 600 および 1800 ppm を含む飼料を 1 群雌雄各 26 匹の SD 系 (COBS®CD®) ラットの F₀, F₁, F₂ 世代にわたって自由摂取させ、繁殖性に及ぼす影響について検討した。

動物の一般状態、肉眼的および病理組織学的検査ならびに繁殖性の各項目にフェリムゾン投与に関連した影響は認められなかった。

F₀ 世代を通じ、1800 ppm 投与群雌で体重増加抑制および飼料摂取量の低下がみられ、600 および 1800 ppm 投与群雌で飲水量の著しい増加が認められた。また、F₁ および F₂ 世代の 1800 ppm 投与群で出産時における生存同腹仔数が減少し、仔体重の増加抑制が認められた。

以上の結果より、フェリムゾンは最高投与群 (1800 ppm) においても繁殖性に及ぼす影響は認められず、本試験における最大無作用量は 600 ppm 以上の投与群にみられた体重増加抑制および飼料摂取量の減少から、200 ppm (雄 15.1 mg/kg/day, 雌 19.3 mg/kg/day) と判断された。(IRDC, 1987 年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁したフェリムゾンの 0, 2, 6, 18 および 54 mg/kg/day を 1 群 25 匹の SD 系 (COBS®CD®) ラットに対し妊娠 6 日から 15 日までの 10 日間 (器官形成期) に毎日 1 回、強制経口投与を行なった。54 mg/kg/day 投与群の母動物に軽度の脱毛、増体重および飼料摂取量の減少がみられたが、フェリムゾンの最高投与量である 54 mg/kg/day 投与群においても胎仔に対する催奇形性は認められなかった。

以上の結果より、フェリムゾンはラット胎仔に対して催奇形性を及ぼさないものと判断された。

(IRDC, 1988 年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

0.5% メチルセルロース水溶液に懸濁したフェリムゾンの 0, 8, 25 および 75 mg/kg/day を 1 群 16~22 匹のニュージーランドホホワイトウサギに対し、妊娠 7 日から 19 日までの 13 日間 (器官形成期) に毎日 1 回、強制経口投与した。

75 mg/kg/day 投与群の母動物で無排便および平均体重の減少および生存胎仔数の減少が認められた。生存胎仔数の減少は着床後早期吸収によるものと考えられた。フェリムゾンの最高投与量の 75 mg/kg/day 投与群においても胎仔に対する催奇形性は認められなかった。

以上の結果より、フェリムゾンはウサギ胎仔に対し催奇形性を及ぼさないものと判断された。

変異原性試験

1. 復帰変異試験 (Ames test)

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (*Salmonella typhimurum*) TA100, TA1535, TA1537, TA98 株およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2 *uvrA* 株) を用い、ラットの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 らの方法により復帰変異性を検討した。フェリムゾンの用量は S-9 の存在下および非存在下にかかわらず 0, 50, 100, 500, 1000, 2000 および 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ とした。なお、溶媒には DMSO を用いた。

代謝活性化系の有無にかかわらず、フェリムゾンの最高用量である 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 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、陽性対照化合物として用いた AF-2, ENNG および 9AA では S-9 Mix の非存在下で、また、2AA は S-9 Mix の存在下で、すべての検定菌株に対し明らかな復帰変異コロニーの増加を示した。

以上のことより、フェリムゾンには復帰変異誘発性はないものと判断された。(残留農薬研究所, 1986 年)

2. 細菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) 組替修復機構保持株 (H-17) および欠損株 (M-45) を用い、賀田らの方法により DNA の損傷の誘発能を検討した。フェリムゾンの用量はラットの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にかかわらず 0, 20, 50, 100, 200, 500 および 1000 $\mu\text{g}/\text{disc}$ とした。なお、溶媒には DMSO を用いた。

フェリムゾンは S-9 Mix の存在下では 100 $\mu\text{g}/\text{disc}$ の用量において、陰性対照として用いた kanamycin と同様に両株に対し同程度の成育阻止を示した。また、陽性対照化合物として用いた mitomycin C は S-9 Mix の非存在下で、2AA は S-9 Mix の存在下において両株間に明らかな成育阻止帯の差が認められた。

以上のことより、フェリムゾンには DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。(残留農薬研究所, 1986 年)

3. チャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 染色体異常試験

継代培養したチャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL) を用いて、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フェリムゾンによる染色体異常、すなわち、染色体または染色分体にみ

られる構造的異常（ギャップ，切断，交換型異常，非定型）および数的異常（倍数体，核内倍化）を計測した。

フェリムゾンの 50% 細胞増殖抑制濃度は直接法で 24 および 48 時間処理ならびに S-9 Mix 処理によりおのおの 330 $\mu\text{m}/\text{ml}$ ，50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下および 400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上であり，また，染色体異常を観察するために必要な分裂細胞数の得られる濃度を検討し，本試験に用いた用量は直接法 24 時間処理で 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，48 時間処理で 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，代謝活性化法で 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を最高濃度とし，おのおの (0, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$)，(12.5, 25, 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$) および (0, 50, 100, 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の濃度とした。直接法および代謝活性化法のいずれにおいても染色体異常を有する細胞の出現率は 5% 以下であった。以上の結果より，フェリムゾンのチャイニーズハムスター肺腺維芽細胞 (CHL) を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験における変異原性は陰性であると判断された。

(化学品検査協会，1987 年)

生体機能への影響に関する試験

1. 中枢神経系に対する作用

1) 0.5% CMC 水溶液に懸濁してフェリムゾンの 0, 30, 120 および 480 mg/kg を 1 群雄 11 匹の Slc: ICR 系マウスに 1 回経口投与し，投与前，投与 15, 30, 60, 120 および 180 分後に傾斜したスリガラス上に乗せ 10 秒以内に落下する動物数を観察した。陽性対照群のマウスにはクロルプロマジン 10 mg/kg を同様に投与した。投与 60 分後における 10 秒間以内の落下動物数は 0, 30, 120 および 480 mg/kg 投与群でおのおの 0/11, 0/11, 0/11 および 11/11 であり，陽性対照群では 11/11 を示した。なお，フェリムゾン 480 mg/kg 投与群および陽性対照群では投与 15 分後より 180 分後までのすべての観察時において有意な落下動物数が観察された。

2) 上記同様に処理したマウス 1 群雄 11 匹を投与前，投与 15, 30, 60, 120 および 180 分後に rota-rod に乗せ，1 分間以内に墜落する動物数を観察した。投与 60 分後における 1 分間以内の落下動物数は 0, 30, 120, 480 mg/kg 投与群および陽性対照群でおのおの 0/11, 0/11, 0/11, 9/9 (2 匹死亡) および 11/11 を示した。なお，フェリムゾン 480 mg/kg 投与群および陽性対照群では投与 15 分後より 180 分後のすべての観察時において有意な落下動物数の増加が観察された。

3) 0.5% CMC 水溶液に懸濁したフェリムゾンの 0, 7.5, 30 および 120 mg/kg を 1 群雄 10~11 匹の Slc: ICR 系マウスに 1 回経口投与し，その 30 分後に生理

食塩液に溶解したヘキソバルビタール 75 mg/kg を腹腔内投与した。ヘキソバルビタール投与後マウスの正向反射が消失してから回復するまでの時間を測定した。なお，陽性対照化合物としてクロルプロマジン 10 mg/kg を用いた。フェリムゾン 120 mg/kg 投与群で明らかな麻酔時間の延長が認められた。また，陽性対照群にも顕著な麻酔時間の延長が認められた。

2. 呼吸・循環器系に対する作用

ペントバルビタール 30 mg/kg の静脈内投与により麻酔し，背部に保定したイヌに対し，0.5% CMC 生理食塩液に懸濁したフェリムゾン 800 mg/kg を腹腔内に投与し，その後 180 分間呼吸，血圧，心電図，心拍数および血流量を測定した。なお，対照化合物としてクロルプロマジン 10 mg/kg を用いた。フェリムゾン投与 20 分後に 3/9 例が死亡し，死亡例では投与後まもなく呼吸抑制がみられ，5~10 分後に心拍数，血圧，血流量の一過性の増大がみられ，その後，急速に低下し 20 分後に呼吸が停止した。生存例には呼吸，心拍数および血圧変化はみとめられなかったが，一過性の血流量の増加および心電図における T 波の増大が認められた。ノルエピネフリン 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与による昇圧反応はフェリムゾン投与により増大され，Ach 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 投与による降圧反応は抑制された。フェリムゾン 2500 mg/kg を腹腔内投与し，呼吸停止直前にペントトラゾール 50 mg/kg を静脈内投与することにより自発呼吸の回復が認められた。

3. 自律神経系に対する作用

ウレタン 1.5 g/kg 腹腔内投与により麻酔し，背位に保定したネコの節前繊維に刺激電極を設置し，ノルエピネフリン投与あるいは電気刺激による瞬膜の収縮に対するフェリムゾンの影響を検討した。フェリムゾンはノルエピネフリン 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の舌動脈内投与による瞬膜の収縮を増大したが，節前繊維および節後繊維刺激による瞬膜の収縮に対して抑制作用を示した。

4. 消化器系に対する作用

0.5% CMC 溶液に懸濁したフェリムゾンの 0, 30, 120 および 480 mg/kg を 1 群雄 11 匹の Slc: ICR 系マウスに 1 回経口投与し，その 30 分後に 5% 炭素末懸濁液 0.2 ml を経口投与した。腸管内の炭素末輸送距離を測定して，腸管全長に対する炭素末移動距離を算出した。なお，陽性対照化合物として硫酸アトロピン 50 mg/kg を用いた。フェリムゾン 480 mg/kg 投与群で明らかな輸送能の抑制が認められた。なお，陽性対照群でも顕著な抑制がみられた。

5. 摘出平滑筋に対する作用

1) Hartley系モルモット雄の摘出回腸片を通気したタイロード液槽中に懸濁し、フェリムゾンを 1×10^{-4} , 3×10^{-5} , 1×10^{-5} および 1×10^{-6} g/ml となるように液槽に加え、フェリムゾンの腸管に対する直接作用とヒスタミンによる腸管の収縮に対する影響について検討した。

フェリムゾンの摘出腸管に対する直接作用はみられなかったが、フェリムゾンはアセチルコリンおよびヒスタミンによる回腸の収縮を抑制した。

2) 日本白色ウサギ雄の摘出回腸片を通気したタイロード液槽中に懸濁し、フェリムゾンを 1×10^{-4} , 1×10^{-5} および 1×10^{-6} g/ml となるように液槽に加え、腸管の自動運動に対する影響について検討した。最高用量の 1×10^{-4} g/ml 添加により自動運動を軽度抑制した。

6. 骨格筋に対する影響

ウレタン 1.5 g/kg 腹腔内投与により麻酔した日本白色ウサギ雄の右側腓骨神経系-前脛骨格標本を作成して腓骨神経末梢側および前脛骨格に電気刺激を与え、誘発される前脛骨格の収縮に対するフェリムゾンの影響を検討した。フェリムゾン 1000 mg/kg を腹腔内投与しても神経筋接合部に対し何ら影響を与えなかった。

7. 血液凝固に対する作用

0.5% CMC 水溶液に懸濁したフェリムゾンの 0, 30, 120 および 480 mg/kg を 1 群雄 6 匹の Slc: Wistar 系ラットに投与し、投与 30 分後に腹大動脈から採取した血液の血液凝固時間を測定した。フェリムゾン 480 mg/kg 投与においても血液凝固時間に何ら影響は認められなかった。

8. 解毒試験

フェリムゾンの Slc: ICR 系マウスに対する急性経口毒性 LD₅₀ 値は 617 mg/kg であり、主な毒性症状としては自発運動の低下および正向反射の消失が認められた。これらの症状は投与 30 分までに発現し、投与 2 時間後から 3 日後までに毒性症状は消失した。フェリムゾン 0, 462, 600, 780 および 1014 mg/kg を投与した後、各種の市販されている解毒剤を単独投与または併用投与し、毒性症状の軽減および投与 3 日後における生存数を観察した。ベメグリド 10 mg/kg とストロンガーネオミノファーゲン C 10 mg/kg の腹腔内併合投与により、フェリムゾン 462 mg/kg 投与群において毒性症状の軽減および死亡率の低下が認められた。

以上の結果より、フェリムゾンは大量投与により中枢神経および副交感神経系に抑制作用を示し、平滑筋に直接作用して腸管の自動運動を抑制した。また、交感神経末端におけるノルエピネフリンの放出を阻害した。

解毒剤としては呼吸中枢に作用する中枢興奮薬が有効であると考えられた。(臨床医科学研究所, 1986年)

要 約

フェリムゾン原体の安全性を評価するため各種毒性試験を実施した。フェリムゾンはラットおよびマウスにおける急性毒性は低く、毒・劇物でないいわゆる普通物に該当する。

フェリムゾンは眼に対し強度の刺激性を有するが、洗眼により症状は軽減された。皮膚一次刺激性試験では、擦過皮膚に対しては強度の刺激性を有するが、正常皮膚に対しては軽度であった。皮膚感作性は認められなかった。

ラット、マウスおよびイヌを用いた亜急性および慢性毒性・発がん性試験では検体投与による影響として体重増加抑制、小葉中心性肝細胞腫大、肝重量対体重比の増加、肝細胞への色素沈着、Ht, Hb および赤血球の減少、ALPの増加等が認められたが、いずれの動物種においても催腫瘍性は認められなかった。

ラットを用いた繁殖性に及ぼす影響試験、ラットおよびウサギを用いた催奇形性試験では、繁殖性に対する影響および催奇形性は認められなかった。

細菌を用いた復帰変異試験、DNA 修復試験および培養細胞を用いた染色体異常試験では、いずれにおいても変異原性は陰性であった。

薬理試験において、高用量群では中枢神経系、呼吸・循環器系、自律神経系、消化器系、平滑筋に影響を及ぼしたが、低用量群では影響は認められなかった。

フェリムゾンは平成 3 年 11 月 1 日に稲のいもち病剤として登録を取得した。フェリムゾンは、定められた使用基準を遵守することにより安全性を確保できる農薬であるとともに、有用な農業資材の一つとして好評を得ている。

問合せ

武田薬品工業株式会社アグロ事業部農薬開発部開発第三グループ

〒103 東京都中央区日本橋 2-13-10