

=====

技術情報

=====

フサライドの毒性試験の概要

呉羽化学工業株式会社薬農技術部

(平成2年2月20日受理)

薬剤の概要

フサライド (ラブサイド®) は、呉羽化学工業(株)が開発したイネいもち病防除剤である。発売以来19年を経過したが耐性菌の出現のない、予防効果に優れた、効果の持続性の長い薬剤として広く使用されている。

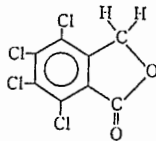
本剤の剤型としては粉剤、微粒剤、水和剤(ゾル剤を含む)があり、その他の殺菌剤および殺虫剤との組合せによる混合剤が約170種類登録されている。

本剤の化学構造、物理化学的性質を以下に示す。

一般名: フサライド fthalide

化学名: 4,5,6,7-テトラクロロフタリド

構造式:



分子式: $C_8H_2Cl_4O_2$

分子量: 271.92

性状: 白色結晶

融点: 209~210°C

蒸気圧: 2×10^{-8} mmHg (23°C)

溶解度: アセトン8.3, エタノール1.1, ジオキサン14.1, テトラヒドロフラン19.3, ベンゼン16.8 g/l (25°C), 水2.49 mg/l (25°C)

分配係数: $\log P_{ow} = 3.0$ (n-オクタノール/水)

急性毒性試験

フサライドのラットとマウスにおける経口、経皮、腹腔内、皮下および吸入の各投与経路による急性毒性試験の結果を以下に示す。

いずれの試験においても中毒症状は認められず、解剖所見でも主要な組織器官に特記する変化は認められなかった。

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)
ラット	経口	♂♀	>10,000	(財)残留農薬研究所 (1973)
		♀	>15,000	
	皮下	♂♀	>10,000	
		♂	9780	
ラット	吸入	♂♀	(LCL ₀ 値) > 4100 mg/m ³	(株)三菱化成安全科学研究所 (1987)
		♂♀	>10,000	呉羽化学工業(株)東京研究所 (1976)
マウス	経口	♂♀	>10,000	(財)残留農薬研究所 (1973)
	皮下	♂♀	>10,000	
	腹腔内	♂♀	>10,000	

一次刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

試験機関: 三菱化成安全科学研究所 (1988)

方法: 9匹のSPF系日本在来種白色ウサギを非洗眼群6匹, 洗眼群3匹に分け, フサライド0.1 ml (0.068 g)を投与した。洗眼群は2分後に洗眼したが, 非洗眼群はそのまま放置した。評価はDraizeの評価基準に従った。

結果: 非洗眼群で評点1の結膜の発赤が投与後1, 24時間に, 洗眼群では投与後1時間に評点1の結膜の発赤が認められたが, これらの症状は48時間までには消失した。

また, 洗眼処置により症状の軽減が認められた。

以上の結果から, フサライドはウサギの眼粘膜に対してごく軽度の一次刺激性を示すと考えられる。

2. 皮膚一次刺激性試験

試験機関: 三菱化成安全科学研究所 (1988)

方法: 6匹のSPF系日本在来種ウサギを用い, フサライド0.5 gを0.5 mlの精製水で湿らせ塗布したパッチを, 刈毛した背中皮膚に4時間貼布した。

結果: フサライド投与による異常は認められず, フ

サライドはウサギに対して皮膚刺激性はないものと考えられる。

皮膚感作性試験

試験機関：(株)三菱化成安全科学研究所(1987)

方法：Maximization法。フサライドをオリーブ油で5.0%懸濁液に調製し、その0.05mlをHartley系雌モルモットの左腹側部の刈毛部に1回皮下注射した。6日後にラウリル硫酸ナトリウム10%水溶液0.5mlを塗布し感作能を増強し、翌日5%フサライド・オリーブ油懸濁液0.5mlを滴下したフランネルで48時間閉塞貼布した。感作暴露後20日にフサライド5.0%オリーブ油懸濁液で同様24時間惹起暴露し、暴露後24、48時間に皮膚の紅斑および浮腫の評価を行なった。

結果：フサライド投与によると思われる皮膚反応は認められず、フサライドは皮膚感作性を示さなかった。

亜急性毒性試験

1. マウスおよびラットを用いた亜急性毒性試験

試験機関：理化学研究所(1968)

方法：フサライドを飼料中に500, 5000, 50,000ppm混入し、雌雄のddOM系マウス(1群10匹)およびFischer344系ラット(1群10匹)に3か月間随時摂食させた。

結果：いずれの群においても動物は健康で死亡例はなく、体重変化、摂餌量、血液検査、解剖所見、臓器重量とも病的変化は認められず、最大無作用量はマウス、ラットの雄雌とも飼料中濃度50,000ppmであった。

2. マウスおよびラットを用いた亜急性毒性試験

試験機関：東北大学医学部(1968)

方法：フサライドを飼料中に混入し、マウス(DDY系雌雄1群10匹)には400, 2000, 10,000, 50,000ppmの4濃度、ラット(Wistar系雌雄1群10匹)には400, 2000, 10,000, 50,000, 100,000ppmの5濃度で3か月間毎日定時に摂食させた。

結果：マウスでは体重変化は認められなかったが、ラット雄の50,000, 100,000ppm投与群で体重低下が認められた。

摂餌量は各群とも有意な変動はなかった。

血液学的検査でマウス雄の10,000, 50,000ppm投与群に血清コリンエステラーゼの低下、抹消血液像のなかに軽度のHistiocytic Cellの出現を認めたが、その他の投与群およびラットでは差は認められなかった。また、マウス雄の10,000ppm投与群で心臓、脾臓重量の低下を認めたが、その他の投与群およびラットでは差を認め

なかった。

病理組織学的検査ではマウス雄の50,000ppm投与群の肝臓にややミクログラニュールを認めたが、他の投与群およびラットでは有意な差はなかった。

以上の結果から、フサライドのマウスおよびラットの3か月亜急性毒性試験における最大無作用量は、マウス♂♀2000ppm(飼料中濃度)、ラット♂♀10,000ppm(飼料中濃度)と判断された。

慢性毒性試験

1. マウスを用いた慢性毒性試験

試験機関：(財)日本生物科学研究所および(財)残留農薬研究所(1985)

方法：フサライドを0, 100, および50,000ppmの濃度で基礎飼料に添加混合し、ICR系マウスに24か月間、親(P)および仔(F₁)の2世代にわたり混餌経口投与した。その間動物の一般状態の観察、繁殖試験、尿検査、血液検査、血液生化学的検査、および病理組織学的検査を実施し、フサライドの慢性毒性および発癌性を調査した。

結果：50,000ppm群では、雌の両世代とも12および24か月時においてグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)値の有意な減少あるいは減少傾向が認められ、腎の絶対重量が増加した。しかし、相対重量(比体重値)が増加したのは親(P)世代の24か月時だけであった。一方雄では、仔(F₁)世代の24か月時で精巢の石灰沈着が増加した。

これらの変化は被験物質投与に関連して生じた変化と思われる。しかし、その他にはいずれの検査項目においてもフサライド投与に起因すると考えられる異常は認められなかった。

100ppm群では、雌雄とも被験物質投与に関連づけられる異常はいずれの検査項目においても認められなかった。

以上のようにフサライドを50,000ppmの高用量で2世代にわたり長期間混餌投与しても、関連して認められた変化はGPT値の減少、腎重量の増加および精巢の石灰沈着の増加のみであり、体重、死亡率、繁殖成績には影響は認められず、また発癌性を示唆する事実も観察されなかった。また100ppm群では、雌雄ともフサライド投与に関連づけられる異常はいずれの検査項目においても認められなかった。したがって最大無作用量は100ppm(親：雄14mg/kg/日、雌15mg/kg/日、仔：雄13mg/kg/日、雌14mg/kg/日)と結論された。

2. ラットにおける慢性毒性試験

試験機関：(財)日本生物科学研究所 (1984)

方法：フサライドを0, 100, 2000 および 50,000 ppm の濃度で基礎飼料に添加混合し, Fischer 系 (F344) ラットに 36 か月間にわたり混餌投与した。その間動物の一般状態の観察, 眼検査, 尿検査, 血液検査, 血液生化学的および病理学的検査を実施し, フサライドの慢性毒性および発癌性を調査した。

結果：50,000 ppm 群では, 雌雄とも試験期間を通じて体重増加抑制が認められたが, 飼料摂取量および飲水量は逆に対照群に比し, 増加あるいは増加傾向を示した。

その結果, 雌では食餌効率が低下した。血液生化学検査では, 6, 12 および 24 か月時において雌雄ともグルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT) 値が有意に減少した。臓器重量では 6, 12 および 24 か月時において雌雄とも体重増加抑制に伴う種々の臓器の, 絶対あるいは相対 (比重重値) 重量の変動が認められた。その他には病理組織学的検査を含め, いずれの検査項目においても被験物質に起因すると考えられる異常は認められなかった。

2000 および 100 ppm 群では, 雌雄とも被験物質投与に関連づけられる異常は, いずれの検査項目においても認められなかった。

以上のようにフサライドを 50,000 ppm の高用量で 3 か年にわたり長期間混餌投与した結果, 食餌効率の低下と体重増加抑制, 摂餌量および飲水量の増加, GPT 値の低下ならびに体重増加抑制に伴う種々の臓器の重量変動が観察されたが, その他の検査値には異常は認められなかった。

また, 2000 および 100 ppm 群では, フサライド投与に起因すると思われる変化は, いずれの検査項目においても観察されなかった。

したがって最大無作用量は 2000 ppm (雄 86 mg/kg/日, 雌 106 mg/kg/日) と判断された。また, 3 年間にわたるフサライドの投与による各群雌雄ラットに観察された腫瘍は, その種類ならびに発生率において対照群と投与群に著差を示さず, 発癌性はないものと結論された。

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性および催奇形性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所 (1975)

方法：フサライドを飼料に 1000 および 10,000 ppm の濃度で混合し, Wistar-Imamichi ラットに 3 世代にわたり摂食させた。各世代で 2 回の交配を行ない, 第 2 産

仔 (F₁(b), F₂(b)) の一部を次世代の親動物として用い, 繁殖性に及ぼす影響を検討した。また, 妊娠 2 回目動物 (P, F₁) の一部を用いて胎仔に対する催奇形性を調べた。

結果：①繁殖性：試験期間中, フサライド投与によると思われる死亡例は 1 例もなく, 病理組織学および血液学・生化学的検査にも異常はみられなかった。

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みられず, また, 成長および繁殖成績にも影響は認められなかった。

以上の結果より, 3 世代にわたってフサライドを飼料中に混入して投与した場合の最大無作用量は, 飼料中濃度 10,000 ppm と判断された。

②催奇形性：①の試験と組み合わせで行なった本試験で, 平均着床数, 平均生仔数, 平均胎仔死亡吸収率等に差は認められなかった。また, フサライド投与に起因すると思われる奇形はなかった。

以上の結果より, フサライドは飼料中濃度 10,000 ppm でも, 胎仔に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

2. ウサギを用いた催奇形性試験

試験機関：(財)残留農薬研究所 (1987)

方法：フサライドを CMC 1% 水溶液に懸濁し, 0, 100, 300 および 1000 mg/kg の投与レベルで, SPF 系日本白色ウサギ (18 週齢) に妊娠後 6~18 日目までの 13 日間, 毎日 1 回経口投与した。

結果：フサライドの親動物に対する影響は, いずれの投与群にも認められなかった。帝王切開時の観察では, 各投与群における親動物の卵巣および子宮の検査結果に異常は認められず, 胎仔および胎盤に関する各指標にも異常は認められなかった。

生存胎仔の奇形学的検査では, 対照群を含む各群で種類の異常や異変が認められたが, それらの出現頻度や, 奇形を持つ腹の頻度と投与量の間で一定の関連性は認められなかった。以上の結果から, フサライド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 1000 mg/kg/日であり, 最大投与量の 1000 mg/kg/日でも胎仔に対して催奇形性を及ぼさないと判断された。

変異原性試験

1. 復帰変異原性

試験機関：(財)残留農薬研究所 (1976)

方法：ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* (TA-1535, TA-1537, TA-1538, TA-90, TA-100) およびトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (WP2hcr)

を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝活性化酵素系 (S-9Mix) の存在下および非存在下で Ames の方法で変異原性を検定した。試験濃度は $10 \sim 1000 \mu\text{g}/\text{plate}$ とした。

結果: フサライドは代謝活性化を含め投与限界である $1000 \mu\text{g}/\text{plate}$ 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ず、復帰変異性を有しないと判断された。

2. Rec-assay

試験機関: (財) 残留農薬研究所 (1976)

方法: *Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持菌株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、DNA の損傷の誘発を検定した。試験濃度は $2 \sim 200 \mu\text{g}/\text{disk}$ とした。

結果: フサライドの最高投与濃度である $200 \mu\text{g}/\text{disk}$ においても両株に生育阻止を認めず、フサライドは DNA 損傷の誘発性がないものと判断された。

3. 宿主経由復帰変異原性試験

試験機関: (財) 残留農薬研究所 (1976)

方法: フサライドを $1000 \text{ mg}/\text{kg}$ および $3000 \text{ mg}/\text{kg}$ 各 2 回 ICS 系マウスに強制経口投与した。2 回目の検体投与直後、対数期のヒステジン要求性サルモネラ菌 (*S. typhimurium* G-46) をマウスの腹腔内に注入した。処置後 3 時間後に菌液を回収し、培養後、復帰変異原性を評価検討した。

結果: いずれの検体投与群でも復帰変異コロニー数の増加を認めなかったことから、フサライドの宿主経由条件下による復帰変異誘発性は陰性と判断された。

4. 染色体異常誘発性

試験機関: (財) 残留農薬研究所 (1988)

方法: チャイニーズハムスター肺由来の継代培養した CHL 細胞を用いた。フサライドの濃度は直接法 (非活性化法) で $3.3 \times 10^{-4} \sim 2.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ の 5 濃度、代謝活性化法で $3.3 \times 10^{-3} \sim 8.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ の 7 濃度とした。

結果: 直接法および代謝活性化法による染色体異常誘発試験において、いずれの原本作成時間、試験濃度においても染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を越えなかった。以上の結果から、フサライドは染色体異常誘発性を示さないと判断された。

薬理試験

試験機関: (株) 環境保健生物研究センター (1988)

マウス (ddY 系), ラット (Wistar 系), ウサギ (日本白色種) およびモルモット (Hartley 系) の雄を用いて、

フサライド投与濃度 $500, 1500, 5000 \text{ mg}/\text{kg}$ ($10^{-6} \sim 10^{-3} \text{ g}/\text{ml}$, $10^{-5} \sim 10^{-7} \text{ g}/\text{ml}$) で下記試験を実施した。

①中枢神経に及ぼす影響 (行動観察/マウス, 体温/ウサギ)

②呼吸, 循環器に及ぼす影響 (呼吸, 血圧, 心拍数, 心電図/ウサギ)

③自律神経に対する作用 (瞳孔径/ウサギ, 摘出回腸 (自動運動*/ウサギ, 各 Agonist に対する作用*/モルモット))

④消化器に対する作用 (炭末輸送能/マウス, 腸粘膜刺激作用/ラット)

⑤血液に対する作用 (血液凝固/ラット, 溶血試験**/ウサギ)

⑥骨格筋に対する作用 (座骨神経腓腹標本/ラット)

結果: 各試験において、フサライドはその最高投与濃度群においても、著明な作用を現わさなかった。

要 約

各種毒性試験を実施し、フサライドの安全性評価を行った。

フサライドのマウスおよびラットに対する急性毒性はきわめて低く、いずれも $10,000 \text{ mg}/\text{kg}$ 以上であった。急性吸入毒性試験では、試験できる最高濃度 $4.1 \text{ g}/\text{m}^3$ でも死亡例はなかった。眼の粘膜に対してはごく軽度の刺激性が認められたが、洗眼処置により症状は軽減した。

皮膚に対する一次刺激性ならびに感作性は認められなかった。

亜急性および慢性毒性試験の結果では、飼料中濃度 $10,000 \text{ ppm}$ 以上の高濃度投与群で体重増加抑制や体重増加抑制に伴う種々の臓器重量の変動が認められたが、それ以外の投与群ではフサライド投与に関連すると思われる異常は認められず、また、発癌性も認められなかった。

繁殖性に及ぼす影響、催奇形性、変異原性および薬理試験においても異常は認められなかった。

フサライドは定められた使用基準を遵守すれば、安全性が確保される薬剤であり、農業資材の一つとして有用であると考えられる。

問合せ先

呉羽化学工業株式会社薬農技術部

〒103 東京都中央区日本橋堀留町 1-9-11