

イミベンコナゾールの毒性試験の概要

北興化学工業株式会社技術管理部薬品登録課

(平成7年5月20日受理)

薬剤の概要

イミベンコナゾールは、北興化学工業株式会社が発明したアゾール系の果樹園芸用殺菌剤である。

1985年から(社)日本植物防疫協会を通じて公式委託試験が実施され、ぶどう、みかん等の果樹類、茶、花卉類等の主要病害に有効であることが確認された。各種の安全性評価試験の結果、哺乳動物、水棲動物、鳥類および有用昆虫に対しても安全性の高いことが確認され、1994年に有効成分15%の水和剤(マネージ®水和剤)および5%の乳剤(マネージ®乳剤)が農薬登録された。

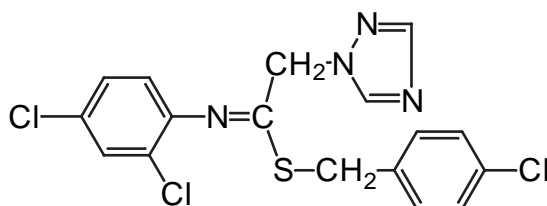
本剤の化学構造式および物理化学的性質は以下に示すとおりである。

一般名：イミベンコナゾール(imibenconazole)(ISO)

化学名：4-Chlorobenzyl *N*-2,4-dichlorophenyl-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-thioacetimidate

(IUPAC)

構造式：



分子式：C₁₇H₁₃Cl₃N₄S

分子量：411.7

外観：白色結晶

比重：1.4779

融点：89.5～90

蒸気圧：85nPa(25)

溶解度：水 1.7mg/l(20)，DMSO 1650g/l(25)，ジクロロメタン 1640g/l(25)，メタノール120g/l(25)，*n*-ヘキサン0.76g/l(25)

分配係数(*n*-オクタノール/水)：log_{P_{ow}}=4.94

以下に本剤の各種毒性試験の結果を取りまとめて報告する。

急性毒性試験

ラットおよびマウスにおける急性毒性試験成績を表1に示す。

中毒症状としては経口投与でラットおよびマウスにうずくまり、よろよろ歩き、四肢の蒼白がみられた。ラットに対する経度投与では異常は認められなかった。

剖検所見としてはラットで膀胱中の血液凝固、膀胱の充血と膨満、腎の蒼白がみられた。

表1 急性毒性試験結果

投与経路	動物種		LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)
1. 原体				
経口	ラット	雄	2800	ハンティンドンリサーチ センター (1988)
		雌	3000	
経口	マウス	雄	>5000	ハンティンドンリサーチ センター (1988)
		雌	>5000	
経皮	ラット	雄	>2000	ハンティンドンリサーチ センター (1988)
		雌	>2000	
吸入	ラット	雄	>1020 ^{a)}	ハンティンドンリサーチ センター (1988)
		雌	>1020 ^{a)}	
2. 15%水和剤				
経口	ラット	雄	>5000	三菱化成安全科学研究所 (1989)
		雌	>5000	
経口	マウス	雄	>5000	三菱化成安全科学研究所 (1989)
		雌	>5000	
経皮	ラット	雄	>2000	三菱化成安全科学研究所 (1989)
		雌	>2000	
吸入	ラット	雄	>3980 ^{a)}	三菱化成安全科学研究所 (1990)
		雌	>3980 ^{a)}	
3. 5%乳剤				
経口	ラット	雄	>5000	三菱化成安全科学研究所 (1989)
		雌	>5000	
経口	マウス	雄	>5000	三菱化成安全科学研究所 (1989)
		雌	>5000	
経皮	ラット	雄	>2000	三菱化成安全科学研究所 (1989)
		雌	>2000	
吸入	ラット	雄	>4980 ^{a)}	三菱化成安全科学研究所 (1990)
		雌	>4980 ^{a)}	

^{a)} LC₅₀(mg/m³): 4時間全身曝露.

刺激性および皮膚感作性試験

1. ウサギを用いた眼一次刺激性試験

原体: 6匹のニュージーランド白色ウサギ(非洗眼群)の片腹にイミベンコナゾール原体0.1 mlを投与し, 刺激性変化を観察した. 洗眼はしなかった.

判定は農林水産省のガイドライン等に記載の評価基準に従って採点した.

その結果, 1時間後に軽度の結膜発赤と1例にごく軽度の結膜浮腫が認められたが, 24時間後にはすべて消失した.

以上から原体は, 眼に対してきわめて軽微な一時的な刺激性を有すると考えられた.

(ハンティンドンリサーチセンター, 1988年)

製剤: 9匹の日本白色種ウサギ(3匹は洗眼群, 6匹は非洗眼群)の片眼に, イミベンコナゾール15%水和剤は0.1 gを, 5%乳剤および水和剤, 乳剤おのこのの実用濃度の希釈液は0.1 mlを投与し, 刺激性変化を観察した. 洗眼群は2~3分後に精製水で約30秒間洗眼した.

判定は農林水産省のガイドライン等に記載の評価基準に従って採点した.

その結果，水和剤，乳剤ともに角膜の混濁，虹彩の充血，結膜の発赤，結膜の浮腫，分泌物が認められた．これらの症状は順次回復し投与7日後までにはすべて消失したが，両剤とも可逆性で中等度の刺激性を有すると考えられた．洗眼群の症状消失は非洗眼群より早い傾向であった．

水和剤および乳剤の希釈液（水和剤は1000倍，乳剤は500倍）では，刺激性変化は認められなかった．
（三菱化成安全科学研究所，1989年）

2. ウサギを用いた皮膚一次刺激性試験

原体：6匹のニュージーランド白色ウサギの刈毛した背部皮膚にイミベンコナゾール原体0.5gを4時間塗布した．検体除去後0.5，24，48および72時間に塗布部位の刺激性変化（紅斑，痂皮，浮腫）の有無等を観察した．

その結果，刺激性変化はまったく認められず，原体は，皮膚に対する刺激性はないと判断された．
（ハンティンドンリサーチセンター，1988年）

製剤：6匹の日本白色種ウサギの刈毛した背部皮膚に，イミベンコナゾール15%水和剤は0.5gを，5%乳剤は0.5mlを，4時間塗布した．検体除去後1，24，48および72時間に塗布部位の刺激性変化（紅斑，痂皮，浮腫）の有無等を観察した．

その結果，水和剤および乳剤とも刺激性変化はまったく認められず，皮膚に対する刺激性はないと判断された．
（三菱化成安全科学研究所，1989年）

3. 皮膚感作性試験

原体－Buehler法：ハートレー系モルモット雄20匹を用い，Buehler法に準じイミベンコナゾール原体0.4mlを動物の左腹側部に6時間閉塞貼付して感作（7日ごとに3回）および惹起（最終感作の14日後およびその7日後の2回）を行なった．各惹起後24および48時間に皮膚の反応を観察した．

その結果，3～4例に陽性の皮膚反応（紅斑）が認められ，原体は軽度の皮膚感作性があると考えられた．
（三菱化成安全科学研究所，1989年）

原体－Maximization法：ハートレー系モルモット雄20匹を用い，Maximization法に準じて感作および惹起を行なった．1回目の感作は，イミベンコナゾール原体3%の検液を動物の背部に皮内投与し，2回目の感作は，原体25%の検液を48時間閉塞貼付し，惹起は，同校液を動物の左右腹側部に24時間閉塞貼付して行なった．惹起後24および48時間に皮膚の反応を観察した．

その結果，1例に陽性の皮膚反応（紅斑）が認められ，原体は軽度の皮膚感作性があると考えられた．
（臨床医科学研究所，1993年）

製剤－Buehler法：ハートレー系モルモット雄20匹を用い，Buehler法に準じ，感作は7日ごとに3回，惹起は最終感作の14日後およびその7日後の2回行なった．

感作はイミベンコナゾール15%水和剤，5%乳剤とも0.4mlを動物の左腹側部に，惹起では水和剤は50%検液を，乳剤は原液をそれぞれ0.4mlを動物の右腹側部に6時間閉塞貼付した．惹起後24および48時間に皮膚の反応を観察した．

その結果，水和剤では8～11例に，乳剤では5～9例に陽性の皮膚反応（紅斑，浮腫）が認められ，両剤とも中等度の皮膚感作性があると考えられた．

（三菱化成安全科学研究所，1989年）

亜急性毒性試験

1. ラットを用いた試験

イミベンコナゾール原体を0, 100, 300および1000ppm含有する飼料を1群雌雄各10匹のSD系ラットに13週間摂食させた。

その結果、検体投与によると考えられる臨床症状および死亡は認められなかった。1000ppm群雌雄で体重増加抑制および摂餌量の低下がみられた。眼科学的検査では眼の異常は認められなかった。

血液学的検査では、300ppm群雄および1000ppm群雌雄において赤血球沈層容積、ヘモグロビン量、赤血球数の低下および血小板数の増加など貧血がみられた。生化学的検査では、1000ppm群雄で総タンパク、グロブリン、尿素窒素、クレアチニン、ナトリウム、カルシウムおよびコレステロール値の増加と血漿グルコースの低下が認められた。1000ppm群雄ではコレステロール値が増加した。

尿検査では、300および1000ppm群雄で尿pHが有意に、また用量依存的に低下した。骨髄像検査では1000PPm群雄で赤血球系細胞の増加と骨髄性細胞の減少がみられ、その結果、赤血球系細胞に対する骨髄性細胞の比率が有意に低下した。雌でも同様の傾向であったが統計学的有意差は散発的であった。こうした変化は赤血球細胞の急速な代替を示すものと考えられた。臓器重量では、1000ppm群の雌雄で肝臓重量が増加した。1000ppm群雄および全投与群の雌では脾臓重量の増加がみられたが、100ppm群雄では、脾臓の病理組織学的検査において、対照群に比して発現率の増加した所見は認められなかった。また、1000ppm群雌雄で腎臓重量の体重比が増加した。

剖検では、検体投与によると考えられる異常は認められなかった。病理組織学的検査では、1000ppm群雌雄に肝臓の小葉中心性肝細胞肥大を示す所見がみられた。300ppm群雄および1000ppm群雌雄で脾臓に、ヘモジデリン沈着の増加を示す個体が増加した。1000ppm雄の腎臓では皮質尿細管細胞質内好酸性物質の発現率の増加がみられた。

以上の結果から、本試験でのイミベンコナゾールの最大無作用量は100ppm（雄7.2mg/kg/日、雌8.3mg/kg/日）と判断された。（ハンティンドンリサーチセンター、1989年）

2. マウスを用いた試験

イミベンコナゾール原体を0, 30, 100, 600および2000ppm含有する飼料を1群雌雄各12匹のICR系マウスに13週間摂食させた。

その結果、検体投与によると考えられる臨床症状および死亡は認められなかった。2000ppm群雌雄において体重増加抑制が認められた。摂餌量は600および2000ppm群雌雄で投与初期に有意な低下が認められた。

血液学的検査では、2000ppm群の雄で貧血（ヘマトクリット値、赤血球数の減少等）が認められた。また、2000ppm群の雌雄で赤血球形態異常所見（ハインツ小体様顆粒、大小不同等）の有意な増加が認められ、600, 100ppm群においても少数例でハインツ小体様顆粒が認められた。血液生化学的検査では、2000ppm群の雌でGOTのわずかな増加と総タンパクの減少が有意に認められた。尿検査および眼検査においては、いずれの群にも異常は認められなかった。臓器重量では、2000ppm群雌雄の肝臓および脾臓重量体重比の増加、600ppm群雄の肝臓重量体重比の増加が有意に認められた。

剖検では、2000PPm群雌雄において肝臓の階調化、脾臓の階調化および腫大の発生頻度

が有意に増加し、雄では肝臓の腫大の発生頻度の増加も認められた。600ppm群の雌でも脾臓の階調化が有意に増加した。病理組織学的検査では、2000ppm群雌雄に肝臓の小葉中心性肝細胞腫大およびクッパー細胞内ヘモジデリン沈着、脾臓のヘモジデリン沈着増加および髄外造血が有意に増加した。肝臓の小葉中心性肝細胞腫大は600ppm群の雄でも有意に増加した。

以上の結果から、本試験のイミベンコナゾールの最大無作用量は30ppm（雄3.782mg/kg/日、雌4.351mg/kg/日）と判断された。（残留農薬研究所、1989年）

3. ビーグル犬を用いた試験

イミベンコナゾール原体をゼラチンカプセルに充填し、0、20、65および200mg/kg/日の用量で1群雌雄各4匹のビーグル犬に1日1回、13週間にわたって、強制経口投与した。

その結果、歯肉の蒼白が200mg/kg/日群では全例に、20および65mg/kg/日群では散発的に観察された。死亡は認められなかった。体重変化では、200mg/kg/日群で体重増加抑制が有意に認められた。摂餌量では検体投与の影響はみられなかった。

血液学的検査では、200mg/kg/日群のとくに雌で赤血球数の減少等赤血球に関する指標の低下がみられ、貧血の徴候が示唆された。雌は65mg/kg/日群も同様の傾向であった。200mg/kg/日群ではその他総白血球数および血小板数の増加が認められた。血液生化学的検査では、200mg/kg/日群の雌雄でアルカリホスファターゼの上昇が認められた。尿検査では65および200mg/kg/日群で尿蛋白の有意な増加がみられた。眼検査においては全群とも異常は認められなかった。骨髄像検査では、65および200mg/kg/日群で骨髄球系細胞の減少、赤血球系細胞の増加およびこれらの比の減少が有意であった。また雌においてリンパ球の減少も認められた。20mg/kg/日群では骨髄像にリンパ球の減少と赤血球系細胞の増加が認められた。臓器重量では、200mg/kg/日群の雌雄の肝臓と雌の腎臓の重量体重比が有意に増加した。

剖検では、膀胱粘膜の浮腫、肥厚およびうっ血が20、65mg/kg/日群の雌と200mg/kg/日群の雌雄に認められた。病理組織学的検査では、65および200mg/kg/日群で肝臓に肝細胞肥大、肝細胞質内小器官の辺縁趨向等が、膀胱に粘膜上皮の肥厚等が、また、腎臓、脾臓、骨髄に褐色色素がみられた。以上の結果から、本試験では最低投与量の20mg/kg/日でも毒性影響がわずかに認められたため、無作用量は20mg/kg/日以下と考えられた。

（ハンティンドンリサーチセンター、1989年）

慢性毒性および発がん性試験

1. ビーグル犬を用いた慢性毒性試験

イミベンコナゾール原体をゼラチンカプセルに充填し、0、1.5、5.0、15.0mg/kg/日の用量で、1群雌雄各4匹のビーグル犬に1日1回、52週間にわたって、強制経口投与した。

死亡例はなく、一般状態、摂餌量、体重変化、眼検査、尿検査、血液生化学的検査、臓器重量において検体投与に関連した変化は認められなかった。

血液学的検査において、15mg/kg/日群の雌で血小板数の増加が、また、雌雄および5mg/kg/日群の雄で活性化トロンボプラスチン時間の短縮が認められた。

剖検では、15mg/kg/日群の雌雄および5mg/kg/日群の雄で膀胱粘膜に赤色点あるいは斑が認められた。病理組織学的検査では、15mg/kg/日群の雌雄および5mg/kg/日群の雄で膀

膀胱粘膜の軽度出血が認められた。

以上の結果から、本試験でのイミベンコナゾールの最大無作用量は雄1.5mg/kg/日、雌5.0mg/kg/日と判断された。（残留農薬研究所、1991年）

2. ラットを用いた慢性毒性発がん性併合試験

イミベンコナゾール原体を0, 25, 100および500ppm含有する飼料を、それぞれ1群雌雄各50匹の主群および衛星群のSD系ラットに24か月間摂食させた。投与後13, 26, 52および78週時に衛星群の各投与群雌雄各10匹ずつを中間屠殺した。

一般状態および死亡率、飲水量、眼科学的検査、尿検査では、投与に関連した変化は認められなかった。体重変化では、500ppm群雄で投与中期まで有意な体重増加抑制が認められ、それ以後も抑制傾向が認められた。摂餌量では、500ppm群雌雄で投与初期に有意な減少ないしは減少傾向が認められた。

血液学的検査では、500ppm群の雌で投与13週時にヘマトクリット値、ヘモグロビン量、赤血球数が、投与26週時にヘモグロビン量、赤血球数が有意に減少した。血液生化学的検査では、500ppm群雄の総コレステロールが13週時に有意に増加した。これは13週間亜急性毒性試験でも認められており、検体の影響と考えられた。臓器重量では、500PPm群雄の肝臓相対重量の増加が13週時に認められ、病理組織学的検査で小葉中心性肝細胞腫大がみられることから検体の影響と考えられた。

剖検では、500ppm群の雌雄で52週まで脾臓の階調化が認められた。病理組織学的検査では、500ppm群の雌雄の脾臓の褐色色素沈着増加が52週時まで認められ、試験期間を通じての総発生頻度も有意に増加した。雄で尿細管上皮細胞内好酸性小体の増加が13および26週で有意な増加ないしは増加傾向を示し、試験期間を通じての総発生頻度も有意に増加した。肝臓において雄で小葉中心性肝細胞腫大が13および26週に、また、総発生頻度も有意に増加した。肝細胞小増殖巣（好酸性細胞）も雌の総発生頻度と104週間投与後に増加ないしは増加傾向を示した。腫瘍性病変においては、有意に増加した腫瘍は認められず、発生時期の早期化もなく、発がん性は認められなかった。

以上100ppm群では、各検査項目ともとくに有意差が認められたものはなかったが、本試験でのイミベンコナゾールの最大無作用量は25ppm（雄0.851mg/kg/日、雌0.950mg/kg/日）と判断された。また、催腫瘍性は認められなかった。（残留農薬研究所、1992年）

3. マウスを用いた発がん性試験

イミベンコナゾール原体を0, 10, 100および1000ppm含有する飼料を、1群雌雄各52匹の主群および1群雌雄各20匹の衛星群のICR系マウスに18か月間摂食させた。投与12か月後に衛星群の各投与群雌雄各10匹を中間屠殺した。

一般状態および死亡率において、投与と関連する影響は認められなかった。体重変化では1000ppm群雌雄でほぼ投与期間を通じて有意に低下した。摂取量は、1000ppm群雌雄において投与1週時に採食忌避による摂餌量の減少がみられたが、その後回復した。

血液学的検査（白血球百分率）において、投与に関連する影響は認められなかった。臓器重量では、1000ppm群雄で投与52週後に肝臓の相対重量が有意に増加した。

剖検では、1000ppm群雌雄で脾臓階調化が、また同群の雄で肝臓階調化が認められた。病理組織学的検査における非腫瘍性病変としては1000ppm群雌雄の肝臓で小葉中心性細胞腫

大が認められたが、その程度は軽微であった。その他1000ppm群の雄で肝臓クッパー細胞内褐色色素沈着増加の発生頻度が、さらに1000ppm群雌雄と100ppm群雄で脾臓褐色色素沈着が増加した。また、1000および100ppm群雄の脾臓に赤芽球系髄外造血亢進が認められた。腫瘍性病変においては、投与量に相関して増加したものはなく、観察された腫瘍性病変は本系統のマウスに自然発生するものであった。

以上の結果から、本試験でのイミベンコナゾールの最大無作用量は、雄では10ppm (0.984mg/kg/日)、雌では100ppm (10.96mg/kg/日)と判断された。また、最高用量の1000ppmにおいても催腫瘍性は認められなかった。(残留農薬研究所, 1991年)

繁殖および催奇形性試験

1. ラットを用いた繁殖試験

イミベンコナゾール原体を0, 30, 100および300ppm含有する飼料を、1群雌雄各24匹のSD系ラットにP(F₀)世代からF₂世代までの2世代にわたって摂食させ、繁殖に及ぼす影響を調べた。

親動物では、いずれの世代においても検体投与に関連した症状は認められなかった。100ppm群ではF₁世代の雄の投与5～7週、雌の哺育7, 14日の体重で有意な増加抑制が認められた。300ppm群ではF₀およびF₁世代の投与中期から後期に有意な体重増加抑制が認められた。親動物の病理学的検査では、300ppm群においてF₀世代の雌とF₁世代の雌雄で脾臓の階調化が有意に増加し、病理組織学的検査では脾臓の褐色色素沈着とうっ血が有意に増加した。この他に、雄の肝臓重量の変化が、F₀世代では100および300ppm群で体重比に、F₁世代では300ppm群で絶対重量と体重比ともに有意な上昇が認められた。親動物の繁殖能力に対する影響は、いずれの投与群にも認められなかった。

仔動物の観察においても、いずれの投与群でも臨床症状、生存率、体重および剖検所見といった指標に異常は認められなかった。

以上の結果から、本試験でのイミベンコナゾールの親動物に対する最大無作用量は30ppm (雄2.3mg/kg/日、雌2.6mg/kg/日)、最高投与量の300ppmにおいても繁殖能力および行動物に対する影響はないと判断された。(残留農薬研究所, 1991年)

2. ラットを用いた催奇形性試験

イミベンコナゾール原体を0.5%CMC-Na水溶液に懸濁し、0, 5, 30および150mg/kg/日の用量で、1群各22匹のSD系ラット雌に妊娠6日目から15日目までの10日間、1日1回強制経口投与した。腔垢内に精子の認められた日を妊娠0日とし、妊娠20日後に屠殺帝王切開して催奇形性の有無を調べた。

親動物では、死亡例はなく、また、一般状態に異常は認められなかった。150mg/kg/日群で体重および摂餌量の減少、飲水量の増加、脾臓重量の増加および脾臓の階調化の増加が、30mg/kg/日群で体重増加抑制と脾臓重量の増加が認められた。

胎仔では、150mg/kg/日群では、明らかな母毒性とともに胎仔の発育遅延および異常発現胎序数の増加がみられた。30mg/kg/日群では丹毒性は認められたものの胎仔への影響は認められなかった。

以上の結果より、イミベンコナゾールの最大無作用量は親動物では5mg/kg/日、胎仔動物では30mg/kg/日と判断された。(三菱化成安全科学研究所, 1991年)

3. ウサギを用いた催奇形性試験

イミベンコナゾール原体を1.0%CMC-Na水溶液に懸濁し，0，10，30および100mg/kg/日の用量で，1群各18匹の日本白色種ウサギ峰に妊娠6日目から18日目までの13日間，1日1回強制経口投与した．交配は人工授精法を用い，授精の翌日を妊娠0日とし，妊娠27日後に屠殺帝王切開して催奇形性の有無を調べた．

親動物では，全投与群で，一般状態，体重，摂餌量，剖検所見等を含め検体に関連する影響はみられなかった．

胎仔動物においても全投与群で検体に関連する影響はみられなかった．

以上の結果より，本試験では，100mg/kg/日の用量は親動物に対する最大無作用量であると考えられるが，用量設定試験（100mg/kg/日以上用量では摂餌量および体重の減少，下痢，貧血がみられ，さらに死亡例もみられた）の結果とあわせて考えると，100mg/kg/日は妊娠動物に対するイミベンコナゾールの毒作用の閾値であり，催奇形性に用いる商用量としては，ほぼ限界に近い量であると考えられる．この用量は胎仔に対して無作用量であり，催奇形性は陰性であると判断された．
(残留農薬研究所，1991年)

変異原性試験

1. 復帰変異試験 (Ames test)

ヒスチジン要求性の*Salmonella typhimurium* (TA1535, TA1537, TA1538, TA98, TA100) およびトリプトファン要求性の*Escherichia coli* WP2 *uvrA*)を用い，ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在および非存在下でAmesらの方法で変異原性を検定した．イミベンコナゾールの用量は，試験菌株に対して毒性が認められなかったため5000 μ g/plateを最高用量とし，312.5 ~ 5000 μ g/plateとした．

その結果，S-9Mixの有無にかかわらず，いずれの菌株も復帰変異コロニー数の増加は認められず，イミベンコナゾールは，復帰変異原性はないと判断された．

(ハンティンドンリサーチセンター，1988年)

2. 培養CHO細胞を用いた染色体異常試験

チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣組織由来の細胞 (CHO) KI-BH4株を用いて，ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在および非存在下で染色体異常誘発性を検定した．イミベンコナゾールの処理濃度は予備試験の結果から，非活性化法では0.3 ~ 24 μ g/ml，活性化法では0.5 ~ 50 μ g/mlとした．

S-9Mixの存在下および非存在下とも，いずれの用量でも染色体異常および倍数性細胞の統計学的に有意な増加は認められなかった．以上の結果から，イミベンコナゾールは，*in vitro* 細胞遺伝学的試験で変異原性は陰性であると判断された．

(ハンティンドンリサーチセンター，1988年)

3. マウスを用いた小核試験

BDF1系マウスを1群雌雄各5匹を用い，イミベンコナゾール原体を1250，2500および5000mg/kgの用量で，1回強制経口投与し，24，48および72時間後に骨髓を採取して標本作製し，小核誘発性を検定した．

その結果，いずれの用量および標本作製時間においても小核を有する多染性赤血球数の発現頻度は増加せず，イミベンコナゾールは，小核誘発性はないと判断された．

(残留農薬研究所 , 1991年)

4. DNA修復試験 (Rec-assay)

Bacillus subtilis の組換え修復機構保持株 (H-17) および欠損株 (M-45) を用いて , ラット肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9Mix) の存在および非存在下で , 孢子法によりDNA損傷誘発性を検定した . 予備試験の結果 , イミベンコナゾールは試験菌株に対して毒性が弱いことから , 最高用量を5000 μ g/mlとした .

その結果 , S-9Mixの有無にかかわらず , いずれの処理濃度においても両菌株の生育阻害に差は認められず , イミベンコナゾールは , DNA損傷誘発性はないと判断された .

(ハンティンドンリサーチセンター , 1988年)

生体機能への影響に関する試験

1. 一般症状観察

イミベンコナゾールを0 , 1250 , 2500 , 5000mg/kgの用量で 1群4匹のCD-1系雄マウスに1回経口投与し , Irwinの多次元観察法に準じて一般症状を観察した . 2500 , 5000mg/kg群で投与後30 ~ 150分間に軽度の無反応 , 運動性の低下および警戒性 , 驚き反応の軽度減少等の症状が観察された . これらの症状は投与後300分までには回復した . 1250mg/kg群では , 検体による影響は認められなかった .

2. 中枢神経系に対する作用

1) イミベンコナゾールを0 , 20 ~ 5000mg/kgの用量で 1群16匹のCD-1系雄マウスに1回経口投与し , Benwick Electronics Activity Platformを用いて , マウスの自発運動量を測定した . 156mg/kg以上の用量で対照群と比較して自発運動量の減少がみられた . 80mg/kg以下の用量では自発運動への影響は認められなかった . また , 陽性対照として塩酸クロルプロマジン10mg/kg経口投与したマウスでは , 自発運動量の明らかな減少が認められた .

2) イミベンコナゾールを0 , 625 , 1250 , 2500 , 5000mg/kgの用量で , 1群6匹のCD4系雄マウスに1日1回 , 5日間にわたって経口投与した . 最終投与の30分後にヘキソバルビタール100mg/kgの用量で腹腔内投与し , 睡眠の持続時間 (正内反射消失から回復までの時間) を測定した . 5000mg/kg群では , 投与期間中に2例が死亡した . 1250 ~ 5000mg/kg群では , 用量に関連した睡眠時間の延長がみられたが , 1250 , 2500mg/kg群では , その程度は弱く対照群と比較して統計学的有異差は認められなかった . 625mg/kg群では検体による影響は認められなかった .

3) イミベンコナゾールを0 , 200 , 600 , 2000mg/kgの用量で , 1群10匹のウイスター系雄ラットに1回経口投与し , 投与2時間 , 1時間前と直前および投与後15 , 30分 , 1 , 2 , 4時間に直腸体温を測定した . 600 , 2000mg/kg群では , 投与後1時間から4時間におおの軽度および中等度の体温低下がみられた . 200mg/kg群では投与による影響は認められなかった .

3. 呼吸 , 循環器系に対する影響

チオペントンナトリウムおよび α -クロラロースの静脈内投与により麻酔したビーグル犬に , イミベンコナゾールを0 , 200 , 600 , 2000mg/kgの用量で使用量から順次十二指腸内に投与し , 血圧 , 心拍数 , 呼吸量および回数 , 血流量 , 血管抵抗および心電図を測定した . 試験には犬3匹 (雄2匹 , 雌1匹) を用いた . いずれの投与群においても検体による影響

は認められなかった。

4. 自律神経系に対する作用

1) ダンキン-ハートレー系モルモットより回腸を摘出し、Kreb's溶液に懸垂し、イミベンコナゾールを0, 10^6 , 10^{-5} , 10^{-4} g/mlの濃度となるように低濃度から順次加え、回腸への影響を調べた。試験には雄モルモット3匹を用いた。いずれの濃度においても検体による影響は認められなかった。

2) ダンキン-ハートレー系モルモットより回腸を摘出し、Tyrode溶液に懸垂し、イミベンコナゾールを0, 10^6 , 10^{-5} , 10^{-4} g/mlの濃度となるように低濃度から順次加えた。検体の各濃度添加2分後にアゴニスト（アセチルコリン、ヒスタミン、塩化バリウム）を作用させ、アゴニストにより惹起される回腸の収縮に対する影響を調べた。試験には、1アゴニスト当り雄モルモット3匹を用いた。各アゴニストにより惹起された回腸の収縮に対していずれの濃度においても検体による影響は認められなかった。

5. 消化器系に対する影響

イミベンコナゾールを0, 1250, 2500, 5000mg/kgの用量で1群10匹のCD-1系雄マウスに1回経口投与し、投与30分後に0.5%炭末懸濁液をマウス1匹当り0.25ml経口投与した。炭末投与30分後にマウスを屠殺して腸管を摘出し、胃幽門部から盲腸への炭末の移動距離を測定し、腸管輸送能への影響を調べた。5000mg/kg群で、対照群と比較して炭末移動距離の中等度の減少がみられた。1250, 5000mg/kg群では検体による影響は認められなかった。

6. 骨格筋に対する影響

ウイスター系ラットより横隔膜神経筋を摘出し、Tyrode溶液中に懸垂しイミベンコナゾールを0, 10^6 , 10^{-5} , 10^{-4} g/mlの濃度となるように低濃度から順次加え、電気刺激により惹起される筋の収縮に対する影響を調べた。試験には雄ラット3匹を用いた。いずれの濃度においても検体による影響は認められなかった。

7. 血液に対する影響

1) 3人の志願者から血液を採取し、生理食塩水中3%の赤血球浮遊液を調製した。この赤血球浮遊液1mlに生理食塩水でおのおのの濃度に調製したイミベンコナゾールの溶液3mlを加え混和した（混和後のイミベンコナゾールの濃度は0, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0mg/ml）。37℃で2時間インキュベートした後、遠心し、上清の吸光度を540nmの波長で測定して溶血性を調べた。いずれの濃度においても検体による影響は認められなかった。

2) イミベンコナゾールを0, 200, 600, 2000mg/kgの用量で1群10匹のウイスター系雄ラットに1回経口投与し、投与60分後にラットの尾穿刺により採血し、全血の凝固時間を測定した（Dale and Laidlaw法）。また、その後直ちにラットの眼後静脈洞から採血し、プロトロンビン時間（Quick法）および活性化部分トロンボプラスチン時間（Proctorらの方法）の測定も行なった。いずれの濃度においても検体による影響は認められなかった。

以上から、イミベンコナゾールの哺乳動物に対するおもな薬理作用は、大量経口投与による自発運動抑制等の一般的な中枢神経系に対する抑制的影響であった。

（ハンティンドンリサーチセンター，1990～1991年）

要 約

イミベンコナゾール原体，15%水和剤および5%乳剤の安全性評価のために各種毒性試験を実施した。

ラットおよびマウスにおける急性毒性はきわめて低く，いわゆる普通物に相当した。

眼に対する一次刺激性は，原体はきわめて軽微の刺激性であったが，製剤は中等度の刺激性であった。しかし，製剤の実際使用濃度では，まったく刺激性は認められなかった。皮膚一次刺激性は，原体および製剤とも認められなかった。皮膚感作性は，原体，製剤とも軽度ないし中等度の感作性が認められた。

ラット，マウスおよびイヌを用いた亜急性毒性，慢性毒性および発がん性試験では，体重増加抑制，血液に対する影響（貧血），および脾臓，腎臓，肝臓への影響が認められたが，いずれの動物種でも催腫瘍性は認められなかった。ラットを用いた繁殖試験，ラットおよびウサギを用いた催奇形性試験では，繁殖に及ぼす影響，催奇形性とも認められなかった。各種変異原性試験では，いずれも陰性であった。薬理試験においては，哺乳動物に対するおもな薬理作用として，大量経口投与による自発運動抑制などの一般的な中枢神経系に対する抑制作用が認められた。

イミベンコナゾールは，1994年4月に果樹等作物の病害防除剤として農薬登録された。水剤は定められた使用方法および一般的注意事項を遵守すれば，安全性の高い有用な農業資材の一つであると考えられる。

問合せ

北興化学工業株式会社技術管理部薬品登録課

〒103 東京都中央区日本橋本石町4-4-20