

## フェナリモルの毒性試験の概要

ダウ・ケミカル日本株式会社  
ダウ・エランコ事業部門

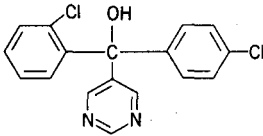
### 薬剤の概要

米国イーライリリー社は、ピリミジン系化合物の農薬を開発しており、その1つ、フェナリモルは、1988年に米国農薬登録を取得。その他南米、ヨーロッパ等で使用されている。わが国においては、昭和51年より開発を公的に開始し、昭和62年になし、りんご等に登録を取得した。

本剤の化学構造と物理化学的性質は以下に示す通りである。

化学名：2,4'-ジクロロ- $\alpha$ - (ピリミジン-5-イル)ベンズヒドリル=アルコール

化学構造：



分子量：331.2

性状：白色結晶

融点：119°C

溶解度：(25°C)

水 0.0137g/ℓ

表1：

検体	動物種	投与経路	供試数	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	試験機関	報告年
原体	ラット	経口	♂・♀10	♂863 ♀814	野村総合研究所	1980
	マウス	経口	♂・♀10	♂7489 ♀6548		
	ラット	経皮	♂・♀6	>2000	環境保健生物研究センター	1987
	ラット	吸入	♂・♀10	>2.04mg/ℓ		
50%製剤	ラット	経口	♂・♀10	♂2444 ♀2562	環境保健生物研究センター	1987
	マウス	経口	♂・♀10	♂6397 ♀>8000		
	ラット	経皮	♂・♀6	>2000		
12%製剤	ラット	経口	♂・♀5	♂7787 ♀6024	環境保健生物研究センター	1985
	マウス	経口	♂・♀5	>10985		
	ラット	経皮	♂・♀5	>2000		

ヘキサン >250  
メタノール 100~125  
キシレン 45~50

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（経口、経皮および吸入）

種々の投与経路による急性毒性試験を行ない、表1に示す結果を得た。

### 刺激性試験

フェナリモル製剤の眼および皮膚における一次刺激性を確かめるため、ウサギを用いて実施した。

#### 1. 眼刺激性

一方を対照眼、他方を処理眼として、フェナリモル12%水和剤を点眼した。角膜、虹彩および結膜について14日間観察し、刺激性の評価を行った。全動物に角膜、結膜及び瞬膜の軽度刺激性変化が、6例中4例に虹彩の充血が認められた。全症例は処理後7日目までに回復した。（環境保健生物研究センター 1986年）

また、12%水和剤の3000倍希釈液を同様に点眼し、

刺激性変化を観察した。いずれの動物にも刺激性変化は認められなかった。

(環境保健生物研究センター 1987年)

同様に、50%水和剤も点眼し、刺激性変化を観察した。全例に、角膜、結膜及び虹彩の刺激性変化が認められた。(環境保健生物研究センター 1987年)

## 2. 皮膚刺激性

刈毛したウサギ背部皮膚に、フェナリモール12%水和剤の0.5gを塗布し、皮膚の刺激性変化を調べた。全例に、紅斑及び浮腫がみられた。全症状は、処理後7日目までに回復した。

(環境保健生物研究センター 1986年)

また、12%水和剤の3000倍希釈液を同様に塗布し、刺激性変化を観察した。いずれの動物にも刺激性変化は認められなかった。

(環境保健生物研究センター 1987年)

同様に、50%水和剤も塗布し、刺激性変化を観察した。全例に、紅斑、浮腫がみられた。

(環境保健生物研究センター 1987年)

以上の結果より、フェナリモール12%水和剤は、眼刺激性、皮膚刺激性ともにあるが、使用時最高濃度である3000倍希釈液では刺激性はないものと判断される。

また、50%水和剤にも眼刺激性、皮膚刺激性があるものと判断される。

## 皮膚感作性試験

ハートレー系モルモットを用い、Draize法に準じて、フェナリモール12%水和剤を、2日または3日ごとに10回適用した。感作終了後、2週間目に同動物で誘発を行った。誘発後24及び48時間目に適用部位の反応を観察した。陽性対照にはDNCBを用いた。その結果、いづれの時期にも変化はみられなかった。一方、陽性対照群では、明白な変化が表われた。

(環境保健生物研究センター 1986年)

同様に、50%水和剤についても、Draize法に従って皮膚感作性を調べた。その結果、フェナリモールを適用した動物では、いづれの時期にも変化はみられなかった。一方、陽性対照群では、明白な変化が表われた。

(環境保健生物研究センター 1987年)

以上の結果より、フェナリモールの感作性は陰性であると判断される。

## 亜急性毒性試験

### 1. ラットにおける3カ月亜急性毒性試験

一群雌雄各10匹のSD系ラットにフェナリモールを0、140、200、275、365及び500ppm含有された飼料を3カ月間摂食させた。

その結果、試験期間中死亡例は365ppm群の雌1例のみであった。投与に関連した臨床症状も認められず、体重増加抑制も認められなかった。また、血液学的及び血液生化学的検査項目でも変化はみられなかった。

一方、肝のP-ニトロアニソール代謝速度の測定では、275ppm以上の投与群雄、また275及び500ppm投与群の雌で代謝速度が有意に増加した。臓器重量では、500ppm投与群の雄及び275ppm投与群の雌で肝重量または対体重比が増加した。その他病理検査では検体投与の影響と考えられる変化はなかった。

以上の結果より、本試験におけるフェナリモールの最大無作用量は、雌雄とも200ppm(雄14.8mg/kg/日、雌15.4mg/kg/日)であった。(リリー研究所 1975年)

### 2. マウスにおける3カ月亜急性毒性試験

一群雌雄各10匹のJCR系マウスにフェナリモールを0、365、620、1100、2000及び3300ppm含有させた飼料を3カ月間摂食させた。

その結果、試験期間中死亡例は、620、1100ppm投与群の雄各1例のみであった。投与に関連した臨床症状は認められず、体重増加抑制も認められなかった。血液学的検査項目に検体投与の影響は認められなかった。血液生化学的検査項目では、1000ppm投与群の雄、及び2000ppm投与群の雌で総ビリルビンが減少した。臓器重量では、620ppm以上の投与群の雄及び1100ppm以上の投与群の雌で、肝重量及び対体重比が増加した。また、病理学的検査では、2000ppm以上の投与群の雄及び3000ppm投与群の雌で肝の肥大が認められた。

以上の結果より、本試験におけるフェナリモールの最大無作用量は、雌雄とも365ppm(雄37.5mg/kg/日、雌46.4mg/kg/日)であった。(リリー研究所 1975年)

### 3. イヌにおける亜急性毒性試験

一群雌雄各4匹のビーグル犬にフェナリモールを基礎飼料に含有させて、0、1.25、5及び20mg/kgの用量で3カ月間投与した。

その結果、試験期間中、死亡例はなかった。投与に関連した臨床症状は認められず、体重増加抑制も認め

られなかった。また、血液学的及び血液生化学的検査項目でも検体投与の影響は認められなかった。その他臓器重量、病理検査等でも変化は認められなかった。

以上の結果よりも、本試験におけるフェナリモルの最大無作用量は、雌雄とも20mg/kg/日以上であった。

(リリー研究所 1975年)

## 慢性毒性試験

### 1. ラットにおける慢性毒性・発がん性試験

一群雌雄各100匹のWistar系ラットにフェナリモルを0、12.5、25及び50ppm含有させた飼料を24カ月間摂食させた。

その結果、死亡率に、投与群と対照群との間の差は認められなかった。投与に関連した臨床症状も認められなかった。50ppm群及び12.5ppm群雄で体重増加抑制が認められた。血液学的及び血液生化学的検査項目においては検体投与の影響は認められなかった。臓器重量でも変化は認められなかった。病理組織学的検査では、50ppm群に肝の脂肪変性の増加が認められた。腫瘍性病変の発生に関して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、本試験においてフェナリモルの最大無作用量は、雌雄とも25ppm(雄1.20mg/kg/日、雌1.46mg/kg/日)であった。(リリー研究所 1985年)

### 2. マウスにおける慢性毒性・発がん性試験

一群雌雄各100~150匹のICR系マウスにフェナリモルを、0、50、170及び600ppm含有させた飼料を24カ月間摂食させた。

その結果、死亡率に、投与群と対照群との間の差は認められなかった。投与に関連した臨床症状も認められなかった。600ppm群雄で体重増加抑制が認められた。血液学的検査項目では、600ppm群雄で白血球数が増加した。血液生化学的検査項目では、600ppm群雄でGPTの増加がみられた以外に検体投与による影響はなかった。臓器重量は、同じく600ppm群雄で肝及び脾の重量の増加がみられた。病理検査では、検体投与によると思われる変化はみられなかった。また腫瘍性病変の発生に関しても影響は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるフェナリモルの最大無作用量は、雄が170ppm(20mg/kg/日)、雌が600ppm(78mg/kg/日)以上であった。(リリー研究所 1981年)

### 3. イヌにおける慢性毒性試験

一群雌雄各6匹のビーグル犬にフェナリモルを0、1.25、12.5及び125mg/kg/日の用量で、12カ月間毎日カプセル投与した。その内各群2匹は、その後投与を中止して3カ月間、回復状態を観察した。

その結果、対照群雄1例が肺炎で死亡した。全投与群に、軟便・流動便等が一時的に観察されたが、それらの動物の健康状態の悪化はみられず、病理検査でも腸管に異常は認められなかった。体重増加抑制も認められなかった。血液学的検査項目では、125mg/kg/日群の雄で、平均赤血球血色素量及び平均赤血球血色素濃度の増加が見られた。血液生化学的検査項目では、125mg/kg/日群の雌雄でアルカリフォスファターゼの増加が認められたが、投与終了後1カ月目には正常に復していた。臓器重量では、125mg/kg/日群の雌雄に肝重量の増加が認められた。病理組織学的検査では、検体投与の影響と考えられる所見は認められなかった。

以上の結果より、本試験におけるフェナリモルの最大無作用量は、雌雄とも12.5mg/kg/日であった。

(リリー研究所 1985年)

## 繁殖毒性試験

### 1. ラットにおける3世代繁殖毒性試験

一群雌雄各20~30匹のWistar系ラットにフェナリモルを0、12.5、25及び50ppm含有させた飼料を、F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>世代にわたって摂食させ、繁殖性に対する影響を調べた。

その結果、動物の一般状態、体重増加量、病理所見で異常は認められなかった。親動物では、50ppmで妊娠率の低下、分娩異常が、仔動物で、25ppm群で生存胎仔数の減少が認められた。

以上の結果より、本試験におけるフェナリモルの最大無作用量は、12.5ppm(0.66~1.61mg/kg/日)であった。(リリー研究所 1978年)

また、上記試験においてみられた妊娠率の低下及び分娩異常のメカニズムを解明するため、下記の2種の動物で繁殖毒性試験を行った。

### 2. マウスにおける3世代繁殖毒性試験

一群雌雄20~30匹のICR系マウスに、フェナリモルを0、35、70及び140ppm含有させた飼料を、F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub>世代にわたって摂食させ、繁殖性に対する影響を調べた。

その結果、親動物では、死亡率、一般状態、体重変化等に各世代とも検体投与における影響は認められなかった。また、妊娠率、妊娠期間、出産状況等にも影響は認められなかった。仔動物でも、生存率、体重等に検体投与の影響は認められなかった。

(リリー研究所 1978年)

### 3. モルモットにおける2世代繁殖試験

一群雌雄15~30匹のHartley系モルモットに、フェナリモルを、0及び400ppm含有させた飼料を、F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub>世代にわたって摂食させ、繁殖性に対する影響を調べた。

その結果、親動物の400ppm群で体重増加抑制がみられた他には、死亡率、一般状態に影響は認められなかった。また、妊娠率、妊娠期間、出産状況等にも影響は認められなかった。仔動物でも、生存率、体重等に検体投与の影響は認められなかった。

(リリー研究所 1983年)

以上により、ラットでみられた繁殖毒性は、マウス及びモルモットでは認められず、種差が存在することが示唆された。そこで、さらに詳細に検索するため、ウサギ及びラットを用いて交差繁殖毒性試験を行ったところ、ウサギで繁殖毒性は全く認められなかった。一方、ラットでは、対照雌と投与雄を交配させた場合に、妊娠率の低下が、また、対照雄と投与雌を交配させた場合に、分娩の異常が認められた。また、ラットの性行動を支配すると考えられる血中ホルモン濃度、芳香族酵素活性を調べたところ、フェナリモルに芳香族酵素活性阻害作用があり、雄ラットの交尾行動の抑制にともなう妊娠率の低下及び雌ラットの分娩異常を引き起こすものと考えられた。なお、この芳香族酵素は、モルモットや霊長類の性行動の発達や維持の支配的要因ではないことは多くの学者の提唱するところである。〔参考文献1)、2)、3)、4)〕したがって、フェナリモルは、モルモットやヒトの繁殖性に影響を及ぼさないものと考えられる。

1) P. Alsum and R.W. Goy, Hormones and Behavior 5:207-217, 1974

2) N.J. MacLusky and F. Naftolin, Science 211: 1294-1303, 1981

3) L. Martin, Clinical Psychoneuroendocrinology in Reproduction 22:271-279, 1978

4) B.S. McEwen, Science 211:1303-1311, 1981

## 催奇形性試験

### 1. ラットにおける催奇形性試験

一群雌24匹のWistar系ラットに、フェナリモルを0、5、20及び80mg/kg/日の用量で妊娠6から15日までの10日間毎日強制経口投与した。

その結果、80mg/kg/日群の母動物で、体重増加抑制、摂餌量の減少、膣からの出血が認められた。胎仔では、20mg/kg/日以上投与群で生存仔数の減少、胎仔死亡率の増加、5mg/kg/日以上投与群で胎盤重量の増加が認められた。胎盤の病理検査では、うっ血等が認められた。フェナリモルの最高投与量の80mg/kg/日でも催奇形性は認められなかった。

以上の結果より、フェナリモルは、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る。

(残留農薬研究所 1984年)

### 2. ウサギにおける催奇形性試験

一群雌15匹のDutch種ウサギに、フェナリモルを0、3、10及び35mg/kg/日の用量で妊娠6から18日までの13日間毎日強制経口投与した。

その結果、いずれの投与量でも、母動物及び胎仔への影響は認められず、検体投与に関連した奇形も認められなかった。

以上の結果、フェナリモルはウサギ胎仔に対して催奇形性を及ぼさないものと判断される。

(リリー研究所 1977年)

## 変異原性試験

変異原性の有無を検討するために、微生物を用いてDNA損傷性および復帰変異試験(代謝活性化を含む)を、また、チャイニーズハムスターを用いた染色体異常誘発試験を行った。

### 1. 復帰変異試験

復帰変異試験では、通常よく用いられるSalmonella typhimurium (TA1535、TA100、TA1537、TA1538及びTA98株)及び大腸菌(WP2uvrA-)を用いた。本試験では、S-9mixtureを添加する系での代謝活性化も行った。フェナリモル添加量は、S-9mixtureの添加及び無添加ともに100~10000µg/plateとした。陽性対照として、N-メチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン、(β-プロピオラクトン、9-アミノアクリジン、2-ニトロフルオレン、2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-

2-フリル) アクリルアミド及び2-アミノアントラセンを用いた。フェナリモルは、代謝活性化を含め、いずれの濃度においても、復帰変異菌数の増加は認められなかった。また、陽性対照は、いずれも対照と比較して明らかな復帰変異菌数の増加を認めた。

(野村総合研究所 1980年)

## 2. Rec-assay

Bacillus subtilisの組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。試験濃度は、2000~100000 $\mu$ g/wellとし、培養後阻止帯の長さを測定した。また、溶媒対照として、DMSO、陰性対照としてカナマイシン、陽性対照としてAF-2を用いた。フェナリモルは、いずれの濃度においても両株に全く生育阻止帯を認めなかった。一方、陽性対照では明らかな生育阻止帯を生じた。

(野村総合研究所 1980年)

## 3. チャイニーズハムスターを用いたin vivo染色体異常試験

一群雄10匹のチャイニーズハムスターに、フェナリモルを、1000mg/kgの用量で経口投与し、その後24時間時に同量を再投与した。第2回投与後24、48、72時間時に動物を屠殺した。陽性対照には、MMSを用いた。フェナリモルは染色体異常を誘発しなかった。

(C.E.R.T.I.1982)

以上より、フェナリモルは、復帰変異誘発性、DNA損傷性及び染色体異常誘発性ととも陰性であると判断される。

## 生体機能に及ぼす影響

フェナリモルの生体機能に及ぼす影響について、マウス(ddY系、雄)、ラット(SD系、雄)、ウサギ(日本白色、雄)を用いた一般薬理試験を行い評価した。

### 1. ラット、マウス、ウサギの中樞神経系に対する作用

フェナリモルをラット、マウス、ウサギに0、50、及び500mg/kgの用量で強制経口投与し、一般状態、自発運動、体温、筋弛緩、運動協調性、睡眠時間延長、鎮痛、抗痙攣に対する作用を調べた。

その結果、一般状態では、500mg/kg群で軽度の腹臥姿勢、歩行失調、軽度の耳介血管拡張、下痢などが、全投与群で自発運動の軽度の抑制傾向が認められた。また、500mg/kg投与ウサギで体温の低下がみられた1

例は死亡したが、他は48~72時間に回復した。睡眠時間の延長では、全投与群で延長が認められたため、0および5mg/kgの用量を一群10匹のマウスに経口投与し追加試験を行った。その結果では、検体投与の影響は認められなかった。また、500mg/kg群では、軽度の鎮痛作用、抗痙攣作用が認められた。

### 2. ネコ、ウサギ、モルモットの呼吸・循環器系に対する作用

フェナリモルをネコに0及び500mg/kgの用量で経口投与し、呼吸、血圧、心拍数、心電図を測定した。500mg/kg群の1例に血圧低下及び心拍数の増加が認められたが他の3例に検体投与の影響は認められなかった。

また、フェナリモルをウサギの耳介血管に、0、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ g/耳の濃度で注入し、灌流量を測定した。検体投与の影響は認められなかった。

モルモットの摘出心房を用いて、0、 $10^{-6}$ 及び $10^{-5}$ g/mlの濃度で添加したKrebs-Henseleit液中で、心拍数及び心収縮力を測定した。 $10^{-5}$ g/mlで心拍数が減少したが、その他には検体投与の影響は認められなかった。

### 3. ウサギ、モルモット、ラットの自律神経系に対する作用

フェナリモルをウサギに、0、50及び500mg/kgの用量で経口投与し瞳孔径に対する作用を調べた。検体投与の影響は認められなかった。また、モルモットとウサギの摘出回腸を用いて、フェナリモルを0、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ g/mlの濃度で添加してTyrode液中で収縮作用を調べた。検体投与の影響は認められなかった。ラットの摘出回腸を用いて、フェナリモルを0、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ g/mlの濃度で添加してTyrode液中で収縮作用を調べた。 $10^{-5}$ g/mlで9~25%の収縮の抑制が認められたが、 $10^{-6}$ g/mlでは検体の作用は認められなかった。

### 4. マウス、ラットの消化器に対する作用

一群雄10匹のマウスに、フェナリモルを0、5、50及び500mg/kgの用量で経口投与し、その後1時間目に5%炭素末懸濁液0.1mlを経口投与し、30分後にマウスを屠殺し、小腸全長に対する炭素末先進部の移行率を測定した。検体投与に対する影響は認められなかった。また、ラットの胃腸粘膜、胃液分泌、摘出胃条片に対する作用を調べた。 $10^{-5}$ g/mlで摘出胃条片の収縮の抑制が認められた他に、検体投与の影響は認められ

なかった。

#### 5. ラットの骨格筋に対する作用

一群雄5匹のラットにフェナリモルを0及び500mg/kgの用量で経口投与し、坐骨神経に電気刺激を与え、腓腹筋の収縮に対する作用を調べた。検体投与に対する影響は認められなかった。

また、ラットの横隔膜神経筋摘出標本に、フェナリモルを0、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 及び $10^{-4}$ g/mlの濃度で添加し、Krebs-bicarbonate液中で収縮作用を調べた。その結果、検体の作用は認められなかった。

#### 6. ラット、ウサギの血液に対する作用

一群雄5～6匹のラットにフェナリモルを0、5、50及び500mg/kgの用量で経口投与し、血液凝固に対する作用を調べた。5及び500mg/kg群でプロトロンビン時間が延長した。

また、一群3匹の雄ウサギから血液を採取し、フェナリモルの0、 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 及び $10^{-5}$ g/mlの濃度の溶液と攪拌し、溶血の有無を調べた。検体の溶血作用は認められなかった。

以上より、フェナリモルは、ラットのLD<sub>50</sub>値の約60%に相当する500mg/kgの経口投与で、歩行失調、睡眠時間延長作用、抗痙攣作用が認められたが、骨格筋に対しては作用しなかったことから、中枢性の筋弛緩作用をもつと考えられた。また、5mg/kg以上の経口投与で血液凝固時間の延長が認められたが、呼吸、循環器系、自律神経系及び消化器に対する作用はほとんど認められなかった。

(環境保健生物研究センター 1985年)

### 要約

フェナリモルの安全性評価のために、各種毒性試験を実施した。その結果、フェナリモルの急性毒性は弱く普通物に相当した。眼に対しては、水和剤原液で刺激性はあるものの、3000倍希釈液では刺激性は認められなかった。皮膚刺激性も製剤原液ではみられたが3000倍希釈液では認められなかった。皮膚感作性は陰性であった。

ラット及びマウスを用いた亜急性毒性試験では、高用量群で肝重量の増加などがみられた。イヌの亜急性毒性試験では、検体投与の影響は認められなかった。ラット、マウス及びイヌの慢性毒性試験では、高用量群で、体重増加抑制、血液学的及び血液生化学的項目

の変化、肝重量の増加などがみられた。また、病理組織検査ではラットで肝の脂肪変性がみられた。

繁殖毒性試験では、高用量群で、妊娠率の低下、分娩異常などがみられたため、詳細を検索する目的で、種々の試験を行ったが、これらの所見はラットのみに観察され、特有の酵素活性阻害作用によっておこることがわかった。しかし、この酵素はモルモットや霊長類の性行動には作用しないとされていることから、フェナリモルはヒトの繁殖性には影響しないものと考えられる。

催奇形性試験では、ラット及びウサギに対する催奇形性はみられず、変異原性試験において全ての結果は陰性であった。

フェナリモルは殺菌剤として開発された。昭和62年にルビゲン水和剤として農薬登録され現在に至っている。

#### 問合せ

ダウ・ケミカル日本株式会社

ダウ・エランコ事業部門 研究開発本部登録部

〒140 東京都品川区東品川2-2-24