

## CNP の毒性試験の概要

三井東圧化学株式会社精密化学品事業部

### 薬剤の概要

CNP は昭和36年、三井東圧化学(株)により見出されたものである。当時の主要な水田除草剤 PCP はその魚毒性が強く、低魚毒性除草剤の開発が課題とされていた。合成石炭酸の主要メーカーとして、石炭酸誘導体に関する豊富な技術的蓄積をもとに、その当時、ジフェニルエーテル系化合物の一部に殺草活性のあることが知られていたため、これらの関連化合物に重点を指向して合成探索を行った。その結果、CNP 除草剤の有効成分である 2, 4, 6-トリクロロフェニル-4'-ニトロフェニルエーテルが低魚毒性で水田の初期雑草防除に有効であることを発見した。

昭和38年頃から日本植物調節剤研究協会を通して全国規模での試験を行い、その有効性が確認され、昭和40年2月7日付でMO粒剤として農薬登録された。

以後、稲作の作業法改良に沿った適正な使用法、剤の改良、普及に努力した結果、水稻に対する安全性の高い除草剤として国内に広く普及し現在に到っている。

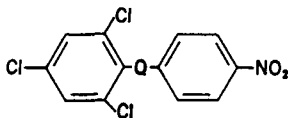
なお、昭和44年に本剤の開発並びに企業化に対し、大河内記念技術賞が授与されている。

本化合物の化学構造および物理化学的性質を以下に記す。

一般名：CNP

化学名：2, 4, 6-trichlorophenyl-4'-nitrophenylether

構造式：



分子式：C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>O<sub>3</sub>NCl<sub>3</sub>

分子量：318.55

性状：淡黄色結晶性固体

比重：1.6243 (23℃)

融点：107℃

蒸気圧：2.4×10<sup>-5</sup>mm Hg (20℃)

溶解度：n-プロパノール 3%、四塩化炭素 16%、

キシレン 36% (以上20℃)、水 0.25ppm (25℃)

分配係数：5.09 (n-オクタノール：水=2：3)

### 急性毒性試験

種々の投与経路による急性毒性試験の結果は次のとおりである。

| 供試動物 | 投与方法   | 性別  | LD <sub>50</sub> または最大無作用量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年)                           |
|------|--------|-----|------------------------------------|--------------------------------------|
| マウス  | 経口皮下腹腔 | ♂ ♀ | >10,000                            | 残留農薬研究所 (1973年)                      |
|      |        | ♂ ♀ | >10,000                            |                                      |
|      |        | ♂   | 7,450                              |                                      |
|      |        | ♀   | 8,160                              |                                      |
| ラット  | 経口皮下腹腔 | ♂ ♀ | >10,000                            | 日本実験医学研究所, 慶応大学 (1978年)              |
|      |        | ♂ ♀ | >10,000                            |                                      |
|      |        | ♂   | 10,100                             |                                      |
|      |        | ♀   | 5,000                              |                                      |
|      |        | 経皮  | ♂ ♀                                |                                      |
| ラット  | 吸入     | ♂ ♀ | >522 (mg/m <sup>3</sup> )          | Huntingdon Research Centre 英国(1989年) |

### 刺激性試験

#### 1. 眼粘膜一次刺激性

日本白色種雄ウサギ6匹の右眼に乳剤0.1mlまたは粒剤0.1gを適用し、適用後、1、4時間、1、2、3、4、7、14および21日目に角膜、虹彩、結膜の異常を Draize 法により評価した。

その結果、乳剤は角膜、結膜に中程度の変化がみられたが、7日目から徐々に回復し21日目には正常になった。洗眼群では14日目には完全に回復した。粒剤で

は結膜に軽度の変化がみられたが、1日目には正常となり、洗眼群では4時間目には完全に回復した。

(三井東圧化学株式会社、1985年)

## 2. 皮膚一次刺激性

日本白色種雄ウサギ6匹の背部を剃毛し、針で傷(擦過)をつけたところに乳剤0.5ml、粒剤は0.5gを塗布し、24時間後に残存検体を微温湯で除去した。その後、1、2、3、4および7日目に刺激性変化をDraize法により評価した。

その結果、乳剤では軽度の紅斑、浮腫が認められた。浮腫は3日目ごろから消失しはじめ、7日目には完全に回復し、紅斑は7日目でもわずかながら認められた。粒剤では刺激性変化は認められなかった。

(三井東圧化学株式会社、1985年)

## 皮膚感作性試験

ハートレー系雌モルモット1群10匹の背部を剃毛し、粒剤の70%水懸濁液をBuehlerの局所塗布法による感作処置、惹起処置を行った。感作処置後1日目、惹起処置後1、2および3日目にDraize法により評価した。

その結果、感作反応は認められなかった。

(Huntingdon Research Centre 英国、1989年)

## 亜急性毒性試験

### 1. マウスによる試験

CNP原体を0、16、80、400、2,000および10,000ppm含有する飼料を、1群雌雄各10匹のICR系マウスに13週間投与した。

その結果、2,000ppm以上の投与群で体重減少、死亡がみられ血液および血液生化学的検査でヘマトクリット値の低下、GOT、ALP、血糖値の上昇、尿素窒素の低下がみられた。臓器重量では肝重量の増加、腎重量および雌生殖腺重量の減少がみられた。病理組織学的検査では400ppm群の肝に極く軽微な小葉中心部細胞質の腫大が、2,000ppm群では肝の細胞質のびまん性腫大、核の大小不等等がみられた。

以上の結果から、確実中毒量は2,000ppm、最小中毒量は400ppm、最大無作用量は80ppm(雄10.8mg/kg/day、雌11.2mg/kg/day)と判断される。

(残留農薬研究所、1973年)

### 2. ラットによる試験

CNP原体を0、80、400、2,000、10,000、50,000および100,000ppm含有する飼料を、1群雌雄各10匹のSD系ラットに13週間投与した。

その結果、2,000ppm以上の投与群で体重減少が、10,000ppm以上で死亡がみられた。血液および血液生化学的検査では2,000ppm以上で赤血球数、CCVおよびヘモグロビン量の低下がみられ、10,000ppm以上でGOT、GPTおよびALPの上昇、血糖値の低下等がみられた。臓器重量は甲状腺および肝重量の増加が2,000ppm以上で、生殖腺重量の増加が400ppm以上でみられた。また、腎の相対重量の増加が400ppm以上でみられた。病理組織学的検査では、肝に軽度の小葉中心部細胞質腫大が2,000ppmで、びまん性腫大が1,000ppmでみられ、腎には尿管管に退行性変化が2,000ppm以上でみられた。

以上の結果から、確実中毒量は死亡例の認められた10,000ppm、最小中毒量は2,000ppm、最大無作用量は400ppm(雄27.0mg/kg/day、雌30.0mg/kg/day)と判断される。

(残留農薬研究所、1973年)

### 3. ラットによる試験

CNP原体を0、10、50、250および6,000ppm含有する飼料を、1群雌雄各10匹のCFY系ラットに13週間投与した。

その結果、体重増加の抑制と死亡が6,000ppm群でみられた。血液学的検査では赤血球数、ヘモグロビン量の減少が6,000ppmでみられた。臓器重量は脳、心、腎、肝の相対重量の増加と雄の副腎および睾丸の相対重量の増加がみられた。剖検所見として精囊と前立腺の萎縮、子宮の縮小、肝の黒化等がみられた。病理組織学的検査においては肝の労作性腫大が認められただけであった。

以上の結果から、確実中毒量は6,000ppmであり、最大無作用量は雌雄とも400ppm(20mg/kg/day)と判断される。(Huntingdon Research Centre、英国1971年)

## 慢性毒性・発がん性試験

### 1. マウスによる試験

CNP原体を0、16、80、400および2,000ppm含有する飼料を、1群雌雄各56匹のICR系マウスに24カ月間投与した。

その結果、一般症状、死亡率に変化はなく、2,000ppm群で体重増加の抑制が認められた。血液学的検査では2,000ppm雄で赤血球数、ヘモグロビン量の軽度の上昇が、104週にみられた。血液生化学的検査では、2,000ppm雌雄とも GOT、GPT および ALP の明らかな増加が後期で認められ、雌では104週時に血糖値の軽度の減少と総蛋白の軽度の増加およびビリルビン値の顕著な増加が認められた。400ppmでは雄で26週時に GPT の増加と雌で104週時にコレステロールの増加が認められた。尿検査では投与に関連した変化はなかった。臓器重量は肝重量が2,000ppm雌雄で増加し、400ppmでも軽度に増加した。腎重量は400ppm以上の雄のみで減少し、脳下垂体は400ppm以上の雌で52週以降減少した。また、2,000ppmで精巣重量の増加と卵巣重量の減少が認められた。病理組織学的検査では2,000ppmで肝細胞の変性、膨化、結節性肥大が雌雄ともみられ、腎の尿細管上皮細胞の変性所見が認められ、雄でより顕著であった。400ppmでは肝および腎の上記所見が軽度ながら雄に認められた。

以上の結果から、最大無作用量は雄80ppm(9.53mg/kg/day)、雌400ppm(44.5mg/kg/day)と判断される。

(残留農薬研究所、1977年)

## 2. ラットによる試験

CNP 原体を 0、16、80、400、2,000 および 10,000ppm 含有する飼料を、1群雌雄各56匹のSD系ラットに24カ月間投与した。

その結果、2,000ppm以上の群で雌雄とも体型の小型化、貧血が認められた。10,000ppmでは初期から脱毛がみられ、雄は44週間までに全例が死亡し、雌でも104週までに殆どの動物が死亡した。400ppm以上で雌雄とも体重増加抑制が認められた。血液学的検査では2,000ppm以上で雌雄とも赤血球数、ヘマトクリット値、ヘモグロビン量が減少し、貧血傾向がみられた。白血球数は400ppm以上の雄で減少した。血液生化学的検査では GOT、GPT が10,000ppmで顕著に増加し、2,000ppmでは減少傾向を示した。血糖値は10,000ppmで雌雄とも減少し、総蛋白値は10,000ppm雄で減少、2,000ppm雌では増加した。蛋白分画値では2,000ppm雄で軽度のグロブリン減少とγグロブリン増加が認められた。また、コレステロール値は2,000ppm以上の雌で増加した。尿検査では異常がなかった。臓器重量は400ppm以上で肝、腎の重量が増加し、2,000ppm以上では脳、甲状腺、心、脾、副腎、筋の相対重量が増加した。10,000ppmでは心、精巣、筋重量

が減少した。病理組織学的検査では、肝、腎の反応性肥大、変性、壊死性変化が高用量投与群で用量相関的に認められた。肝の変化としては小葉中心性の淡明化腫大、滑面小胞体の増加とミエリン体の出現、腎の変化は尿細管上皮細胞の変性、巨核上皮形成を伴う壊死であり、これらの変化は26週時から認められた。1,000ppmでは肝、腎の急性壊死性変化と体腔内等全身性の出血性変化により死亡が開始した。肝の結節性肥大は2,000ppm雄、400ppm以上の雌で軽度に増加した。精巣の萎縮が80ppm以上でみられ、雌では子宮内膜の角化扁平上皮化生、過形成性の変化が80ppm以上で軽度に増加し、卵巣では卵巣間質の増生性の変化が2,000ppmでやや増加し、下垂体の腺腫と乳腺腫瘍は2,000ppmで発生頻度の抑制が認められた。このように雄の精巣、雌の卵巣、子宮等に弱いながらもエストロゲン様の作用が認められた。

以上のことから、最大無作用量は16ppm(雄0.611mg/kg/day、雌0.751mg/kg/day)と判断される。

(残留農薬研究所、1977年)

## 3. イヌによる試験

CNP 原体を 0、300、1,000、3,000、および 10,000ppm 含有する飼料を、1群雌雄各4匹のビーグル犬に26週間投与した。

その結果、10,000ppmでは体重減少がみられ、雌2匹が8週までに死亡し、この群については2カ月で試験を中止した。3,000ppmでは全期間を通して僅かな体重増加抑制がみられた。血液学的検査では10,000ppmで1カ月目に赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値の僅かな低下がみられた。また、雌雄各1匹で総白血球数の増加もみられた。血液生化学的検査では10,000ppmで1カ月目に ALP、GPT の上昇がみられた。3,000ppmでも ALP の上昇がみられた。尿検査では異常がなかった。臓器重量は10,000ppm(2カ月後に死亡または屠殺)の雄2匹に肝重量の増加と雄4匹および雌2匹に生殖腺の縮小がみられた。剖検所見では異常がなかった。病理組織学的検査においても異常はなかった。

以上の結果から、最大無作用量は1,000ppm(雄32.4mg/kg/day、雌35.0mg/kg/day)と判断される。

(イングストリアルバイオテスト研究所、1976年)

## 繁殖および催奇形性試験

### 1. ラットによる繁殖性試験

CNP 原体を 0、20、200ppm 含有する飼料で、1 群雄 30 匹、雌 60 匹の Wistar-Imamichi 系ラットを 3 世代にわたって飼育した。F<sub>0</sub> および F<sub>1</sub> 世代の交配は各々 2 回ずつ行い、次世代への継続は第 2 産仔群の一部を用い、繁殖性に及ぼす影響を検討した。

その結果、各世代を通して検体投与によると考えられる死亡例はなかった。体重変化は 200ppm 群の F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> 雄および F<sub>2</sub> 雌で増加抑制がみられた。交尾率および妊娠率は F<sub>0</sub> 世代では影響はみられなかったが、F<sub>1</sub> 世代の 200ppm 群で低下がみられた。剖検所見および臓器重量では 200ppm で各世代とも副生殖器の重量減少がみられ、F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> では萎縮も認められた。精巣重量は 200ppm で F<sub>1</sub>、F<sub>2</sub> で増加した。しかしながら、精子の量および運動性に変化はみられなかった。病理組織学的検査では 200ppm で前立腺および精囊上皮の変性、萎縮がみられ、精巣では精細管、精巣上皮の萎縮、石灰沈着等がみられた。その他の臓器では変化がなかった。尿検査、血液学的検査、血液生化学的検査では異常がなかった。

以上の結果から、最大無作用量は 20ppm と判断される。

(残留農薬研究所、動物繁殖研究所、1977年)

## 2. ラットによる催奇形性試験

前記のラット繁殖性試験における F<sub>0</sub>、F<sub>1</sub> 各々の第 2 産仔群の母動物を用い、出産直前に帝王切開により胎仔を摘出し、奇形の有無、着床数、胎仔体重、生存胎仔数について検査した。

その結果、胎仔の外表面、骨格、内臓を含め催奇形性は認められなかった。

(残留農薬研究所、動物繁殖研究所、1977年)

## 3. ラットによる催奇形性試験

CNP 乳剤 (20%) の 0、3 および 30mg/kg を 1.5ml/kg の容量で背部を剃毛した Jcl-Wistar 系ラット (1 群雌 22 匹) に妊娠 6 日から 15 日までの器官形成期に、毎日 1 回経皮投与し催奇形性を検討した。

その結果、着床数、生存胎仔数、胎仔体重および胎仔の外表面、骨格、内臓等の異常は認められなかった。

したがって、母動物に対する最大無作用量は、乳剤として 30mg/kg であり、この量でも催奇形性はないと判断される。

(残留農薬研究所、1981年)

## 4. ウサギによる催奇形性試験

CNP 原体をメチルセルローズ液に懸濁させ、0、7、

35 および 175mg/kg/day を New Zealand White 系ウサギ (1 群雌 16 匹) に妊娠 6 日から 18 日までの器官形成期に、毎日 1 回強制経口投与した。

その結果、母動物に対し 175mg/kg/day 群で体重増加抑制がみられたが着床所見には異常はなく、胎仔動物の生死、体重、外表、骨格、内臓等の異常もみられなかった。

したがって、母動物に対する最大無作用量は 35mg/kg/day と考えられ、胎仔に対しては 175mg/kg/day でも催奇形性はないと判断される。

(Huntingdon Research Centre 英国、1988年)

## 変異原性試験

### 1. DNA 修復試験

枯草菌の組換え修復機構保持株 (H17) と欠損株 (M45) を用い、代謝活性化法により DNA 損傷の誘発性を検討した。CNP 濃度は 20~2,000μg/disk とした。

その結果、CNP は最高用量 2,000μg/disk においても両株に生育阻止を認めなかったところから、DNA 損傷の誘発性がないものと判断される。

(残留農薬研究所、1977)

### 2. 復帰変異性試験

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 (TA100、TA1535、TA98、TA1537、TA1538) およびトリプトファン要求性の大腸菌 1 株 (WP 2 uvrA) を用い、代謝活性化および非活性化のもと Ames らの方法で変異原性を検定した。CNP 濃度は 100~2,500μg/plate とした。

その結果、代謝活性化を含め最高用量である 2,500μg/plate においても復帰変異コロニー数の増加は認められず、CNP は復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

(残留農薬研究所、1977)

### 3. 復帰変異性試験

前記の復帰変異性試験と同様の試験を CNP 濃度として 10~5,000μg/plate の 7 濃度で実施した。

その結果、代謝活性化を含め最高用量である 5,000μg/plate においても復帰変異コロニー数の増加は認められず、CNP は復帰変異誘発性を有しないものと判断される。

(残留農薬研究所、1983)

### 4. 染色体異常誘発試験

チャイニーズハムスターの継代培養した卵巣のCHO細胞を用い、非活性化法および活性化法により染色体異常誘発性を検討した。

CNP濃度は検体の溶解性等の予備試験の結果から、非活性化法では検体処理2時間および24時間後検査で75μg/mlまでとし、検体処理48時間後検査で31.69μg/mlまでとした。活性化法では検体処理2時間後検査で75μg/mlまでとした。

各濃度で100個の分裂中期像を観察した。染色体の異常をギャップ(染色体型および染色分体型を含む)、染色体型欠失、染色分体型欠失、染色体型交換、染色分体型交換、細粉化および数的異常に分類して計数した。構造的異常として、1濃度以上で統計学的有意な増加が認められるか、異常の発生率が正常値の範囲を越えている場合、陽性と判断した。

その結果、非活性化法および活性化法とも、いずれの観察時期においても構造的異常の発生率に変化がみられず、染色体異常誘発性は陰性と判断される。

(Microtest Research 英国、1989年)

### 5. ラットによる優性致死試験

CNP原体をアラビアゴム懸濁液とし、0、300および1,000mg/kg/dayをWistar-Imamichi系ラット1群雄15匹に5日間連続強制経口投与した。投与終了後、各群の雄ラットに同系の処女ラットを1:1で交配した。この手順を10週間にわたって繰り返し行い、それぞれの雄ラットについて毎週1匹の妊娠雌を得た。妊娠12~13日目に帝王切開により、黄体数、着床数、生存胎仔数等を検査した。各群について1週間毎に集計し、次式で優性致死誘発率を求めた。

$$\text{優性致死誘発率} = \left[ 1 - \frac{\text{平均生存胎仔数 (処置群)}}{\text{平均生存胎仔数 (対照群)}} \right] \times 100$$

その結果、検体投与による雄ラットの死亡はなく、生殖能および胎仔に対する異常も認められず、優性致死誘発率は陰性と判断される。

(残留農業研究所、1977)

### 薬理試験

CNPの生体機能に及ぼす影響について、以下の試験を行った。

1. 中枢神経に対する作用 (マウス、ウサギ)
2. 呼吸、循環器等に対する作用 (ウサギ)

3. 自律神経系に対する作用 (ウサギ、モルモット)
4. 消化管に対する作用 (ラット)
5. 骨格筋に対する作用 (ウサギ)
6. 血液の溶血性、凝固性に対する作用 (ウサギ)
7. 腎機能に対する作用 (ラット)

これらの結果において、CNPはかなりの高用量(1,000mg/kg)を投与しても特記すべき薬理作用を示さなかった。(日本実験医学研究所、松本歯科大学、1990)

### 1, 3, 6, 8-TCDDの毒性試験の概要

2, 4, 6-trichlorophenolを中間原料としてCNP原体を製造する際に、極く微量の1, 3, 6, 8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin(以下1, 3, 6, 8-TCDD)が副生し、これが最終製品の原体中に不純物として混入することがある。ここに1, 3, 6, 8-TCDDの毒性試験結果について紹介する。

### 急性毒性試験

種々の投与経路による急性毒性試験の結果は次のとおりである。

| 供試動物  | 投与方法 | 性別  | LD <sub>50</sub> または最大無作用量 (mg/kg) | 試験機関 (報告年)                       |
|-------|------|-----|------------------------------------|----------------------------------|
| マウス   | 経口   |     | >2,987                             | 日本実験<br>医学研究所<br>北里大学<br>(1974年) |
|       | 経皮   | ♂ ♀ | >2,000                             |                                  |
|       | 腹腔   |     | >2,000                             |                                  |
| ラット   | 経口   |     | >10,000                            |                                  |
|       | 経皮   | ♂ ♀ | >2,000                             |                                  |
|       | 腹腔   |     | >2,000                             |                                  |
| モルモット | 経口   | ♂ ♀ | >15,000                            |                                  |

### ラットによる慢性毒性試験

1群雌雄各10匹のWistar系ラットに対し、1, 3, 6, 8-TCDDを0、40、200、1,000および5,000mg/kg/day摂取できるように粉末飼料を調製し、6カ月間連続投与した。最高濃度は、飼料に10%以上の異物を混入すると栄養上のバランスが崩れることから5,000mg/kg/dayとした。

その結果、一般症状および死亡に異常は認められなかった。体重変化は5,000mg/kg/dayで有意差はなかつた。

たが、増加抑制傾向がみられた。血液学的検査では、雄で赤血球数、ヘマトクリット値の低下が1,000mg以上で、ヘモグロビン量は5,000mgで低下した。雌では赤血球数、ヘモグロビン量が1,000mg以上で低下し、白血球数が5,000mgで増加した。血液生化学的検査では雄5,000mgでA/G比、血糖値の低下がみられ、雌5,000mgでGPT、Na値が低下した。臓器重量では5,000mgの雄で脾、副腎重量の増加がみられ、雌では副腎、肝、肺重量が増加した。病理組織学的検査では検体投与に関連した異常は認められなかった。

(日本実験医学研究所、北里大学、1974年)

### ラット催奇形性試験

1, 3, 6, 8-TCDDの0.04、0.6、500および3,000 mg/kg/dayをSprague-Dawley系ラット(1群雌15~17匹)に妊娠8日から15日までの器官形成期に、毎日1回経口投与し催奇形性を検討した。

その結果、母動物の体重について500mg以上の投与群で増加抑制が認められた。胎仔への影響については、胎仔体重が500mg以上で減少したが、着床数、生存胎仔数、生死、外表、骨格、内臓等の異常は認められなかった。最高投与量3,000mg/kg/dayでも催奇形性はないものと判断される。(北里大学、1974年)

### CNP原体中のダイオキシン類の分析結果

CNP原体中のダイオキシン類の分析をスウェーデンのウメオ大学に委託して実施した結果により、国際的に毒性があるとみなされている17種(PCDFを含む)のダイオキシン類はCNP原体中には含まれていないことが確認されている。

## 要 約

各種毒性試験の結果をもとにCNPの安全性は評価されている。

CNPを有効成分とする農薬は昭和40年2月7日に農薬登録され、現在、登録保留基準は0.01ppm(玄米)、0.1ppm(野菜)と設定されている。

昭和40年の初上市以来25年間、低温時にも稲に安全な水田用除草剤として好評を得ている。

### 問合せ

三井東圧化学株式会社 精密化学品事業部  
〒100 東京都千代田区霞が関三丁目2番5号