

クロキシホナックの毒性試験の概要

塩野義製薬株式会社 植物薬品開発部

薬剤の概要

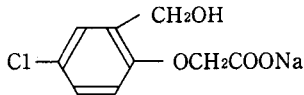
クロキシホナックはオーキシシン活性を有することが見いだされたフェノキシ酢酸の誘導体である。我国では昭和36年から各地の試験研究機関において、施設栽培を中心に試験を行い、トマト、なすの着果促進剤として高い実用性が確認された。また、加工用トマトの栽培に対して、過繁茂を防止することによる収量の増加を計る試験を昭和49年から昭和51年に実施し、実用が可能であることが明らかになった。現在、トマトおよびなすの施設栽培を中心に広く使用されている。

本剤の化学構造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：クロキシホナックナトリウム

化学名：Sodium-4-chloro-2-hydroxymethylphenoxyacetate

構造式：



分子量：216.62

外観：白色粉末

融点：140.5~142.7℃

分配係数 (n-オクタノール/水)：1.75 (logP)

蒸気圧：6.7×10⁻⁷mm Hg (25℃)

安定性：熱；室温、40℃では安定

酸、アルカリ；弱酸、弱アルカリに対して安定

光；安定

溶解度 (g/l)：水 2

メタノール 125

エタノール 91

アセトン 100

急性毒性

ラットおよびマウスに対する各種急性毒性試験の結果を次表に示す。

検体	投与経路	動物種	LD ₅₀ (mg/kg)
原体	経口	ラット ¹⁾	♂7,800 ♀8,200
		マウス ¹⁾	♂6,000 ♀5,500
	経皮	マウス ¹⁾	♂♀ >5,000
		液剤 (クロキシホナック ナトリウム9.8%)	ラット ²⁾
経皮	♂♀ >2,000		

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験²⁾

クロキシホナックナトリウム9.8%液剤の0.1mlを希釈せずに雌雄各3匹のNew Zealand白色種ウサギの右眼の結膜囊内に投与し、左眼を対照とした。角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を投与後1、24、48および72時間目に観察した。洗眼は行わなかった。

試験の結果、投与後1時間目に全例の結膜に軽度~中等度の発赤および/または非常に軽度の浮腫、3例に軽度~高度の眼分泌物が認められたが、いずれも72時間目までに消失した。

2. 皮膚一次刺激性試験²⁾

クロキシホナックナトリウム9.8%液剤の0.5mlを希釈せずに雌雄各3匹のNew Zealand白色種ウサギの刈毛した背部の無傷および擦過部位各1カ所に4時間閉塞貼付し、貼付部位の刺激性変化(紅斑、痂皮、浮腫)を貼付終了後0.5、24、48および72時間目に観察した。

試験の結果、貼付終了後72時間目まで全例の無傷・擦過両部位の刺激性変化は全く認められなかった。

3. 皮膚感作性試験²⁾

クロキシホナックナトリウム9.8%液剤を雌のHartley白色系モルモットを用いてMaximization法により試験を行った。検体処置群はクロキシホナックナトリウム液剤の5%調製液を、陰性対照群は生理食塩液の調製液を、陽性対照群は2,4-DNCBの0.5%調製液を用いて試験した。感作処置として、各動物の剪毛した肩甲

骨上に3群の調製液それぞれ3種類の各0.1mlを2カ所ずつ計18カ所に皮内注射した。皮内注射後7日目にワセリン中10%のラウリル硫酸ナトリウムの調製液を各群に塗布し、7日目に各調製液を用いて同じ肩甲骨上に48時間閉塞貼付した。

惹起処置は皮内注射後21日目に、各動物の剪毛した腹側部の左右に各調製液を24時間閉塞貼付することにより行った。

惹起処置部位の皮膚反応(紅斑、痂皮、浮腫)は周囲の皮膚と比較して、惹起貼付終了後24および48時間目に観察した。

試験の結果、惹起処置部位に皮膚反応は全く認められず、クロキシホナック液剤の感作性は陰性であった。

亜急性毒性試験

1. マウスにおける亜急性経口毒性試験⁴⁾

クロキシホナックを0、800、4,000、20,000、および100,000ppmの濃度で1群雌雄各10匹のICR系マウスに13週間混餌投与した。

試験の結果、100,000ppm群では雄は3~9週にかけて全例死亡し、雌は2~8週にかけて10匹中9匹が死亡し、20,000ppm群では雄にBUNの減少、また、雌に血球コリンエステラーゼの減少、血糖の増加、赤血球数の増加および白血球数の減少が認められた。4,000ppm群では雌に血球コリンエステラーゼの減少が認められた。

従って、最大無作用量は雄では4,000ppm(524.9mg/kg/日)、雌では800ppm(105.4mg/kg/日)であると判断される。

2. ラットにおける亜急性経口毒性試験⁴⁾

クロキシホナックを0、800、4,000、20,000および100,000ppmの濃度で1群雌雄各10匹のWistar Imami-chi系ラットに13週間混餌投与した。

試験の結果、100,000ppm群では雌雄とも投与後2~7週にかけて全例が死亡し、20,000ppm群では雌雄に体重増加の抑制傾向、総コレステロールの減少、雄にはBUNおよび血漿・血球コリンエステラーゼの減少、甲状腺および副腎の病変、また雌にはGOT、GPT、ALPの増加が認められた。

従って、最大無作用量は4,000ppm(雄244.8mg/kg/日、雌246.0mg/kg/日)であると判断される。

慢性毒性試験

1. ラットにおける慢性毒性試験⁶⁾

クロキシホナックナトリウムを0、200、2,000および20,000ppmの濃度で1群雌雄各70匹(中間屠殺群を含む)のFischer344系ラットに24カ月間混餌投与した。投与開始後6カ月および12カ月時に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

試験の結果、20,000ppm群では雌雄とも体重増加の抑制、飲水量および尿量の増加、腎盂上皮の過形成、雄には肝の明細胞巣、また雌には尿比重の減少、副腎嚢胞形成が認められ、2,000ppm群では雌雄に軽度の体重増加の抑制、雌には尿比重の減少が認められた。

従って、最大無作用量は200ppm(雄9mg/kg/日、雌11mg/kg/日)であると判断される。

また、催腫瘍性はないものと考えられた。

2. マウスにおける慢性毒性試験⁶⁾

クロキシホナックナトリウムを0、200、2,000および20,000ppmの濃度で1群雌雄各80匹(中間屠殺群を含む)のB6C3F₁マウスに24カ月間混餌投与した。投与開始後6カ月および12カ月時に各群雌雄10匹を中間屠殺した。

試験の結果、2,000ppm群では雌雄とも、体重増加の抑制および飲水量の増加が認められたが2,000ppm群では雌雄とも有意差は認められなかった。

従って、最大無作用量は2,000ppm(雄241mg/kg/日、雌274mg/kg/日)であると判断される。

また、催腫瘍性はないものと考えられた。

繁殖/催奇形性試験

1. ラットにおける繁殖/催奇形性併合試験⁷⁾

(1)繁殖性に関しては、クロキシホナックナトリウムを0、200および5,000ppmの濃度で、1群雌雄各20匹のCD系ラットにF₀世代は投与開始からF₁世代仔離乳時まで、F₁世代は、離乳時から半数は次産妊娠21日の帝王切開時まで、半数はF₂世代仔離乳時まで、F₂世代は離乳時から13週間にわたり、混餌投与し、繁殖性および催奇形性に対する影響を調べた。F₀、F₁世代とも2回の交配試験を行ない、F₀世代の第2産仔の中からF₁世代の親動物を選択した。

試験の結果、5,000ppm群では、F₀およびF₁世代の雄に飲水量の増加、離乳時平均体重においてF_{2-a}世代雌雄に減少傾向が、F_{2-b}世代雄に減少が認められたが、繁殖性に対する影響は認められなかった。

従って、繁殖性に関する最大無作用量は5,000ppm(雄475mg/kg/日、雌529mg/kg/日)であると判断される。(2)催奇形性に関しては、クロキシホナックナトリウムを0、200および5,000ppmの濃度でF₀世代に投与開始から次産妊娠21日の帝王切開まで混餌投与した。

親動物およびF_{1-a}世代仔動物に関する全検査項目、F_{1-b}世代生存胎仔の性比、平均体重、胎盤重量には検体投与による影響は認められなかった。また、骨格異常および内臓異常についても、投与群と対照群の間に有意差は認められなかった。

従って、催奇形性の最大無作用量は5,000ppm(雄450mg/kg/日、雌513mg/kg/日)であると判断される。

2. ウサギにおける催奇形性試験⁹⁾

クロキシホナックナトリウムを0、100、500および1,000mg/kg/日の用量で、1群18匹のNew Zealand白色種妊娠ウサギに妊娠6日から18日までの13日間、毎日強制経口投与した。

試験の結果、親動物に対する影響として、500mg/kg群以上の親動物に摂餌量の有意な減少が認められ、1,000mg/kgの投与初期(妊娠6～9日)に体重増加量の有意な減少が認められた。

妊娠黄体数、着床数、着床率、生存胎仔数、死亡胚・死亡胎仔数、胎仔生存率および生存胎仔の個体別体重について、いずれの投与群にも対照群との間に有意差は認められなかった。

胎仔に関しては、外表異常、内臓異常および骨格異常は認められず、また骨格変異、化骨状態の異常も認められなかった。

従って、親動物に対する無作用量は100mg/kgであり、胎仔に対する無作用量は1,000mg/kgであると判断され、1,000mg/kgでも催奇形性は認められなかった。

変異原性試験

1. 細菌を用いた復帰変異試験⁵⁾

ヒスチジン要求性のサルモネラ菌5株およびトリプトファン要求性の大腸菌1株を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および

非存在下で、Amesらの方法により復帰変異誘発性を検定した。

試験の結果、直接法、代謝活性化法とも最高濃度(5,000μg/プレート)においても溶媒対照に比し復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

従って、クロキシホナックは復帰変異を誘発しないと判断される。

2. 細菌を用いたDNA修復試験⁵⁾

枯草菌の組換え修復機構保持株と欠損株を用い、DNAの損傷の誘発性を検定した。

試験の結果、最高濃度(2,000μg/disk)においても両菌株に生育阻止は認められず、クロキシホナックはDNA損傷を誘発しないと判断される。

3. In vitro 染色体異常試験⁶⁾

チャイニーズハムスター肺由来培養細胞(CHL)に対する染色体異常誘発性をラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系(S-9Mix)の存在下および非存在下で検定した。

試験の結果、直接法、代謝活性化法とも分析したいずれの濃度においても、構造的染色体異常を有する細胞の総出現頻度は3%以下であり、また、倍数性を有する細胞の出現頻度の増加も認められなかった。

従って、クロキシホナックのチャイニーズハムスター肺由来培養細胞における染色体異常誘発性は陰性であると判断される。

生体機能に及ぼす影響試験

1. 薬理試験⁹⁾

マウス、ウサギを用いてクロキシホナックの中樞神経系、呼吸・循環器系に対する作用を調べた。

試験の結果、中枢神経系に対する作用として、雌雄マウスの2,500mg/kg以上で認知力の低下、運動性の低下、姿勢の異常、運動失調、筋緊張の低下、自律神経系の異常等が認められた。また、雄ウサギの315mg/kg以上で縮瞳筋緊張の低下が、625mg/kg以上では投与直後に痙攣と一過性の呼吸停止が、1,250mg/kgではチアノーゼ、鼻汁が認められた。呼吸・循環器系に対する作用として、625mg/kg以上に心拍数の減少、心電図の異常が認められた。

従って、生体の機能に及ぼす影響が認められた用量

は致死用量の1/4以内で非常に致死量に近接しており、また、致死用量以下での影響は投与直後から認められ、投与3日後には消失する急性かつ可逆的なものであった。

要約

クロキシホナックの安全性評価のための各種毒性試験を行った。

試験の結果、本剤の急性毒性は弱く、液剤ではウサギにおいて、軽度の眼刺激性が認められたが、皮膚刺激性は認められなかった。また、モルモットにおける皮膚感受性は陰性であった。

亜急性経口毒性試験では、中間・高用量群においてマウス・ラットでBUNの減少、血球コリンエステラーゼの減少等が認められた。

慢性毒性試験では、高用量群においてマウス・ラットとも体重増加の抑制及び飲水量の増加が認められたが、催腫瘍性は認められなかった。

ラットにおける繁殖/催奇形性併合試験およびウサギにおける催奇形性試験では繁殖に及ぼす影響はなく、催奇形性も認められなかった。

変異原性に関して、復帰変異試験、DNA修復試験および*In vitro*染色体異常試験の結果、すべて陰性であった。

薬理試験では、生体の機能に及ぼす影響が認められた用量は致死用量の1/4以内で、非常に致死量に近接しており、また、致死用量以下での影響は投与直後から認められ、投与3日後には消失する急性かつ可逆的なものであった。

以上の如く、本剤の毒性は弱いので、人の健康に対して影響することはないが、本剤の使用にあたっては、安全使用基準を遵守し、適切な使用をすることが肝要である。

クロキシホナックは昭和58年1月に植物成長調整剤として登録された薬剤であり、有用な農業資材の一つとして、上市以来好評を得ている。

問合せ

塩野義製薬株式会社 植物薬品開発部

〒541 大阪市中央区道修町3-1-8

〈試験機関および報告年〉

- 1) 環境保健生物センター、1978年
- 2) International Research and Development Corporation、1989年
- 3) International Research and Development Corporation、1992年
- 4) 残留農薬研究所・動物繁殖研究所 1973年
- 5) 残留農薬研究所 1978年
- 6) 残留農薬研究所 1989年
- 7) 日本生物科学研究所 1981年
- 8) 日本生物科学研究所 1982年
- 9) 動物繁殖研究所 1992年