

4-CPAの毒性試験の概要

2,4-D協議会

(日産化学工業(株)、石原産業(株))

薬剤の概要

4-CPAは、米国のアムケム社(現在アベンティスクロップサイエンスジャパン(株)に合併)により創製され開発された、フェノキシ系のオーキシシン活性を示す合成植物ホルモン剤である。

昭和20年、我国に紹介され、日産化学、石原産業の2社により開発試験が開始された2,4-PAの関連物質として、我国での栽培条件下における有効利用法が検討された。

2,4-PAについては、昭和23年、除草剤としての公的評価が開始され、25年登録され、普及販売が開始された。4-CPAも、これに引続き公的機関での植物調節剤としての利用評価結果に基づき普及販売が開始されたが、登録については、植物成長調節剤としての法的規制が制定された昭和39年に過去の評価実績に基づいて、登録されることとなった。本剤は、最も長期間に亘り、広く世界各国において利用され、園芸分野の各種作物の栽培収穫安定のため、寄与している植物成長調節剤である。

トマト、なす等、既登録となっている作物のほか、最近では、メロン、すいか、かぼちゃ等の果菜類の着

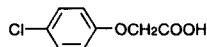
果収穫安定、ぶどう、かき等の無核果形成にも実用性の高い利用技術が研究開発されてきている。

一般名：4-CPA

別名 商品名：トマトトーン、Tomatotone

化学名：4-クロロフェノキシ酢酸

構造式：



分子式：C₈H₇O₃Cl

性状：白色結晶

融点(℃)：163~165

溶解度(g/L)：水

0.48

アセトン

210

ベンゼン

73

DMSO

549

アルコール

易溶

急性毒性試験

4-CPA原体及びトマトトーン(4-CPA0.17または0.18%含有)製剤のラット、マウスにおける急性毒性試験の結果は表1、2に示す通りである。

表1：4-CPA原体の急性毒性試験成績

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ 値	試験機関(報告書作成年)
ラット	経口	雄	2200mg/kg	臨床医科学研究所(1978年)
		雌	2200mg/kg	
マウス	経口	雄	560mg/kg	臨床医科学研究所(1979年)
		雌	580mg/kg	
ラット	経皮	雌雄	>2000mg/kg	臨床医科学研究所(1978年)

表2：トマトトーン(4-CPA0.17または0.18%含有)製剤の急性毒性試験成績

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (LC ₅₀)値	試験機関(報告書作成年)
ラット	経口	雌雄	>5000mg/kg	Huntingdon Research Centre, Ltd.(1989年)
マウス	経口	雌雄	>5000mg/kg	Huntingdon Research Centre, Ltd.(1989年)
ラット	経皮	雌雄	>2000mg/kg	Huntingdon Research Centre, Ltd.(1989年)
ラット	吸入	雌雄	>10.6mg/L	Huntingdon Research Centre, Ltd.(1990年)

刺激性試験

1. 眼一次刺激性試験

New Zealand White種ウサギ9匹（非洗眼群6匹、洗眼群3匹）を用いて、トマトーン製剤（4-CPA0.18%含有）の眼一次刺激性試験を行った。被験物質はそのまま用い、0.1mLを片眼結膜嚢内に投与した。投与後1、24、48、72時間、4及び7日に角膜、虹彩、結膜の刺激性変化を観察した。洗眼群は投与2分後に精製水で洗眼した。他方の眼は無処理対照とした。

その結果、非洗眼群は軽度から中等度の角膜の混濁、結膜の発赤、浮腫が認められた。これらの症状は、投与後7日までに消失した。

洗眼群では非洗眼群と同様の症状が認められたが、非洗眼群に比較して症状の程度は軽く、投与後4日までに消失し、洗浄効果が認められた。

また、製剤原液を用いたウサギ眼一次刺激性試験において刺激性ありと判断されたため、2%希釈液（実用散布濃度）を用いて同種ウサギ6匹（非洗眼群）で実施した結果、刺激性なしと評価された。

以上の結果から、トマトーン製剤はウサギの眼粘膜に対して、可逆性の刺激性を有するものと判断された。

（Huntingdon Research Centre, Ltd., 1990年）

2. 皮膚一次刺激性試験

New Zealand White種ウサギ6匹を用いて、トマトーン製剤（4-CPA0.18%含有）の皮膚一次刺激性試験を行った。試験には製剤をそのまま用いた。約2.5×2.5cm²のガーゼパッチに検体0.5mLを塗布し、刈毛した動物の背腰部皮膚に貼布し、4時間暴露した。

その結果、パッチ除去後全例の投与皮膚に紅斑及び浮腫の形成は認められなかった。

これらの結果より、トマトーン製剤は、ウサギの皮膚に対し刺激性がないものと判断された。

（Huntingdon Research Centre, Ltd., 1990年）

皮膚感作性試験

ハートレー系雌モルモット（1群10～20匹）を用い、Maximization法に準じてトマトーン製剤（4-CPA0.15%含有）の皮膚感作性試験を行った。

予めトマトーン製剤の皮内投与予備試験により壊死の認められなかった5%を皮内感作濃度、経皮投与予備試験により適用24時間の観察で軽度な紅斑が認め

られた原液を感作貼付処理濃度、刺激性反応のみられなかった50%を惹起時の濃度とした。

感作誘導の前日、適用部の刈毛を行い、5%被験物質溶液及び0.1%DNCBオリーブ油溶液（陽性対照）0.05mLを左右一対の部位に皮内感作を行い、6日後100%原液被験物質及び1%DNCBオリーブ油溶液（陽性対照）0.2mLをパッチに塗布して48時間適用した。惹起は皮膚感作後15日に感作群及び非感作群の左右胸部に50%被験物質及び蒸留水、0.01%DNCBオリーブ油溶液（陽性対照）及びオリーブ油0.2mLをパッチに塗布して6時間適用した。

その結果、被験物質感作群、非感作群のいずれも皮膚に変化は認められなかった。一方、DNCBの非感作群においては皮膚反応が見られなかったのに対し、感作群では全例に強度の紅斑及び浮腫が認められ、明らかに陽性反応を示した。

以上の結果から、本試験条件下において、トマトーン（4-CPA）製剤は皮膚感作性がないものと判断された。

（ボゾリサーチセンター、1988年）

亜急性毒性試験

1. マウス14週間亜急性混餌投与毒性試験

ICR系CD-1マウス雌雄それぞれ10匹に4-CPAを0.005～0.32%添加した飼料を14週間自由摂取させて亜急性毒性を検討した。

その結果、0.02%以上の投与群の雄で赤血球数及び血色素量の増加がみられたが、明らかな毒性は雌雄共に0.32%（雄447、雌540mg/kg/day）でも認められなかった。従ってマウスにおける無毒性量（NOAEL）は0.005%、計算により雄7、雌9mg/kg/dayであった。

（Huntingdon Research Centre Ltd., 1989年）

2. ラット13週間亜急性混餌投与毒性試験

Sprague-Dawley系CDラット雌雄それぞれ10匹に4-CPAを0.005～0.32%添加した飼料を13週間自由摂取させて亜急性毒性を検討した。

その結果、0.32%投与群の雌で体重が減少し、肝臓重量が減少したが、0.08%では異常所見を認めなかった。一方、雄では0.32%でも明らかな毒性は認められなかった。従って、ラットにおける無毒性量は0.08%、計算により雄58、雌68mg/kg/dayであった。

（Huntingdon Research Centre Ltd., 1988年）

長期毒性試験

1. マウス発癌性試験

CD-1マウス雌雄それぞれ56匹に4-CPAを0.005~0.5%添加した飼料を95週間自由摂取させて発癌性を検討した。

その結果、雄の0.5%では試験途中から高死亡率を示したため、51週目から0.25%に濃度を変更した。26週時まで0.5%投与群で体重増加抑制がみられたが、その後は回復した。最高用量群で肝臓、腎臓及び子宮に異常所見が認められたが、発癌性は認められなかった。0.05%では雌で肝臓重量が増加した。同群の雄ならびに0.005%の雌雄では毒性変化は認められず、無毒性量は0.005%、計算により雌雄共に6mg/kg/dayとなった。

(Huntingdon Research Centre Ltd., 1991年)

2. ラット慢性毒性・発癌性併合試験

CDラット雌雄それぞれ65匹に4-CPAを0.005~0.32%添加した飼料を104週間自由摂取させた。

その結果、0.32%投与群の雌雄で26週時まで体重増加が抑制され、52週時に雌で血液生化学的検査項目に異常値が見られたが、発癌性は認められなかった。0.04%では雌雄共に異常は認められず、ラットにおける無毒性量は計算により雄17.3、雌22.6mg/kg/dayとなった。

(Huntingdon Research Centre Ltd., 1991年)

3. イヌにおける慢性毒性試験

ビーグル種イヌ雌雄それぞれ4匹に4-CPAを3~30mg/kg/dayの用量でゼラチンカプセルに充填して52週間毎日1回強制経口投与した。

その結果、30mg/kg/day投与群の雌雄は中毒症状を呈して体重増加が抑制され、血液生化学的検査項目に異常値が見られた。10mg/kg/dayでは雌雄共に異常は認められず、本用量がビーグル犬における無毒性量となった。

(株式会社実医研、1998年)

繁殖性試験

Wistar-Imamichi系ラットを用いて4-CPA原体を0.008~0.2%添加した飼料をF0世代は交配前10週間、交配、妊娠及び保育期間、F1世代は離乳時から交配前10週間、交配、妊娠及び保育期間まで自由に摂取させ、二世世代繁殖への影響について検討した。

その結果、4-CPA投与の影響と考えられる変化は、0.2%投与群にみられた雄動物の2世代にわたる体重増加抑制、0.04及び0.2%投与群でみられた母動物の体重増加抑制並びに0.2%投与群でみられた哺育児体重の増加抑制であり、4-CPAの無毒性量は計算により、親動物では雄0.04% (37.7mg/kg/day)、雌0.008% (7.8mg/kg/day)、児動物では0.04% (雄37.7、雌39.7mg/kg/day)と判断された。繁殖機能に関しては、高投与量である0.2% (雄190.4、雌209.9mg/kg/day)の投与においても影響を及ぼさないものと結論された。

(助動物繁殖研究所、1990年)

催奇形性試験

4-CPA原体をWistar-Imamichi系妊娠ラット及びNew Zealand White系妊娠ウサギの胎児器官形成期に経口投与し、母動物に及ぼす影響ならびに胎児への毒性及び催奇形性について検討した。

1. ラット催奇形性試験

ラットは用量を50、150及び450mg/kgとし、対照群には溶媒(0.5%CMC)のみを妊娠6日目から15日目までの10日間、毎日1回投与した。1群の母動物数は23匹とした。

その結果、本検体の投与に起因していると考えられる母動物における変化は、150mg/kg以上の投与群での体重抑制、摂餌量の減少及び450mg/kg投与群で認められた軽度な中毒症状であった。胎児に対しては450mg/kg投与群での成長抑制が認められた。

以上の結果より本試験条件下におけるこの検体の母動物に対する無作用量は50mg/kg/dayであり、胚あるいは胎児に対する無作用量は150mg/kg/dayであると考えられる。なお、全投与群において胎児の形態発生あるいは発育に対する影響は認められなかった。

(助動物繁殖研究所、1985年)

2. ウサギ催奇形性試験

ウサギは用量を30、120及び450mg/kgとし、対照群には溶媒(0.5%CMC)のみを妊娠6日目から18日目までの13日間、毎日1回投与した。1群の母動物数は16匹とした。

その結果、本検体の投与に起因していると考えられる母動物における変化は120及び450mg/kg群で認められた死亡及び摂餌量の減少であった。胚・胎児に対しては検体投与による影響はいずれの投与群においても

認められなかった。

以上の結果より、妊娠ウサギに対する一般毒性的な無作用量は30mg/kg/day、胎児に対しては450mg/kg/day以上と判断された。なお、全投与群において胎児の形態発生あるいは発育に対する影響は認められなかった。

(助動物繁殖研究所、1986年)

変異原性試験

1. 細菌を用いた復帰変異試験

Salmonella typhimuriumのヒスチジン要求株 (TA 100, TA 98, TA 1535, TA 1537, TA 1538) 及び Escherichia coliのトリプトファン要求株 (WP2 uvrA) を用いてラット肝薬物代謝酵素系 (S9Mix) の存在下及び非存在下でAmesらの方法に基づいて1~5000 μ g/プレートの濃度で変異原性を検定した。

その結果、S9Mixの有無にかかわらず、いずれの菌株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。

以上の結果から、4-CPA原体の復帰変異誘発性は陰性であると判断された。

(助残留農薬研究所、1979年)

2. *in vitro*染色体異常誘発性試験

チャイニーズハムスター肺由来細胞株 (CHL) を用い、4-CPA原体の*in vitro*哺乳動物細胞遺伝学的試験を実施した。試験濃度は、あらかじめ細胞増殖抑制試験を行い、細胞増殖を50%以上抑制する濃度を最高濃度に設定し代謝活性化法によらない場合とよる場合について染色体異常誘発性を検索した。

その結果、被験物質処理群は直接法及び代謝活性化法のいずれの試験においても染色体異常を有する細胞の出現率は5%を越えなかった。

以上の結果より本試験条件下では、4-CPAは染色体異常誘発性を示さないと判断された。

(相互生物医学研究所(株)、1987年)

3. 細菌を用いるDNA修復試験

枯草菌 (Bacillus subtilis) の組換修復機構保持株 (H17) 及び欠損株 (M45) を用い、非代謝活性化法によって4-CPA原体20~2000 μ g/ディスクの用量でDNA損傷の誘発性を検討した。

その結果、いずれの濃度においても、両菌株共に生育阻止帯は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下において4-CPA原体

のDNA損傷性は陰性と判断された。

(助残留農薬研究所、1979年)

生体内運命に関する試験

ラットにおける代謝

¹⁴C標識4-CPAをSD系ラットに5及び250mg/kgの用量で単回経口投与並びに5mg/kgの用量で反復経口投与し、体外への排泄、血中濃度、組織分布及び胆汁排泄を測定した。

血液中の最高濃度は、雄、雌とも5mg/kg投与で0.25時間、250mg/kg投与では2時間に見られ、その後急速に減少した。

両投与群とも、雄、雌いずれも放射能の排泄は非常に速く、24時間以内にほぼ完了した。尿経路で92~96%が排泄され、糞へは1%以下であった。胆管カニューレ処置したラットによる胆汁排泄試験では、胆汁への排泄は非常に少なかった。このことから、化合物はほぼ完全に体内へ吸収され、速やかに体外へ排出されることが考えられる。呼気中には放射能は見られなかった。

両投与群とも、雄、雌いずれも組織への分布は広範にわたった。全般的に腎臓、肺、肝臓中の濃度が高く、次いで心臓、副腎、甲状腺等がやや高かったが、脳、骨では非常に低かった。組織の濃度は急速に減少し、168時間までには大部分の組織で極低濃度か又は検出されなかった。

又、反復投与の場合もほぼ5mg/kg投与の場合と同じ結果であり、反復投与による吸収、排泄への影響は見られなかった。

尿及び胆汁中に検出された単一成分は、同定の結果、未変化の4-CPAであった。

(Pharmaco LSR、1995年)

生体機能に及ぼす影響に関する試験

4-CPAの生体機能に及ぼす影響についてマウス、ラット、モルモット、ウサギを用いて検討し、以下の成績を得た。

1. 中枢神経系に対する作用

4-CPA 3~300mg/kgをマウスに単回強制経口投与し、投与後30, 60, 120分後にIrwinの方法に準じてマウスの行動観察を行った結果、中枢神経系に対する影響は認められなかった。

また、4-CPA15~500mg/kgをウサギに単回強制経口投与、直腸温を測定した結果、ウサギの体温に関す

る影響は認められなかった。

2. ウサギの呼吸、循環器系に及ぼす影響

4-CPA15~1500mg/kg単回強制経口投与で、麻酔下ウサギの呼吸、血圧、心拍数及び心電図に対する影響を実施した。

その結果150mg/kg以上の群では血圧の低下が60分後からみられ、また頸動脈血流量の減少が30分後に認められた。1500mg/kg群ではこれらの作用がより顕著であった。これらの作用は120分後まで継続した。15mg/kg群には検体の投与に起因すると思われる有意な変化は認められなかった。

3. ウサギ及びモルモットの自律神経に対する作用

4-CPA10⁶~10⁴g/mL適用で、ウサギの摘出回腸の自動運動に対する影響は認められなかった。

4-CPA10⁶~10⁴g/mL適用で、モルモットの摘出回腸におけるアセチルコリン、ヒスタミン及び塩化バリウムによるいずれの収縮に対しても影響は認められなかった。

4-CPAウサギに15~500mg/kgを単回強制経口投与し、瞳孔径をPulewkaの方法に準じて測定した結果、瞳孔径に変化は認められなかった。

4. マウス及びラットの消化管に対する作用

4-CPA3~300mg/kgをマウスに単回強制経口投与、マウス腸管の炭末輸送能に対する影響は3mg/kgでは認められなかったが、30mg/kg以上の群で炭末移行率の抑制傾向が認められた。

また、4-CPA15~1500mg/kgをラットに単回強制経口投与し、投与6時間後に脱血屠殺し、胃、十二指腸の内壁の障害を肉眼的に観察した結果、1500mg/kg群で腺胃部に点状出血が見られたが、150mg/kg以下の投与群では影響は認められなかった。

5. 血液に対する影響

4-CPA15~1500mg/kgをラットに単回強制経口投与した。ラットの血漿におけるプロトロンビン時間、活性化部分トロンボプラスチン時間に対する影響は認められなかった。

また、4-CPA10⁶~10⁴g/mL適用で、ウサギの赤血球に対し、最高濃度10⁴g/mLで溶血度43%であった。他の群では影響は認められなかった。

6. ラットの骨格筋に対する影響

4-CPA15~1500mg/kgをラットに単回強制経口投与、電気刺激による坐骨神経腓腹筋の収縮に対する影響は認められなかった。

以上、4-CPAは150mg/kgの用量からウサギの呼吸・循環器系に対して血圧の低下及び血流量の減少を示した。マウスの炭末輸送能に対しては30mg/kgから移行率の抑制傾向がみられ、ラットの胃粘膜刺激作用に対しては1500mg/kgで点状出血がみられる動物が出現した。また、ウサギを用いた溶血試験では10⁴g/mLで溶血作用が認められた。尚、中枢神経系、自律神経及び骨格筋に対する本検体の作用は認められなかった。

(㈱環境バイロソ研究所、1993年)

要約

4-CPAについて各種毒性試験を実施した。その結果、本剤のラット及びマウスにおける急性毒性は低く、普通物に相当した。

眼一次刺激性試験では刺激性を認めたが、洗浄効果があり、実用散布濃度では刺激性はなかった。皮膚刺激性は認められず、皮膚感受性は陰性であった。

ラットの亜急性毒性試験では、最高投与群で雌の体重減少が認められ、主な標的臓器は肝臓であった。

長期試験ではマウス発癌性、ラット慢毒/発癌性及びイヌ慢毒性試験を実施し、催腫瘍性は無いものと判断された。

催奇形性及び繁殖性に影響はなかった。

変異原性試験（復帰変異試験、染色体異常誘発性試験及びDNA修復試験）はいずれも陰性であった。

一般薬理試験では、ウサギの血圧の低下及び血流量の減少、マウスの炭末輸送能の抑制傾向、ラットの胃粘膜刺激作用及びウサギの溶血作用が高投与群で観察されたが、そのほかには明確な作用は認められなかった。

問合せ

2,4-D協議会

石原産業株式会社

バイオサイエンス営業企画本部製品企画部

〒102-0071 東京都千代田区富士見2-10-30

日産化学工業株式会社

農業化学品事業部登録部

〒101-0054 東京都千代田区神田錦町3-7-1

興和一橋ビル