

技術情報

バリダマイシン A の毒性試験の概要

武田薬品工業株式会社アグロ事業部農薬開発部開発第三グループ

(平成3年11月20日受理)

薬剤の概要

バリダマイシン A は武田薬品が開発した農業用抗生物質である。本剤は 1966 年兵庫県明石市の土壌から分離された放線菌 T-7545 株の培養液が強い抗紋枯病菌作用を示したことから有効成分の探索が行なわれ、1968 年に有効成分としてバリダマイシン A が単離された。その抗菌性は、一般真菌および細菌に対して、ほとんど抗菌性を示さず、作物上で稲紋枯病を初め *Rhizoctonia* 属菌による病害に対して優れた防除効果を示す。

本剤はヒトあるいは動物の病原菌に対して交叉耐性を示さず、また、安全性研究を通じヒトあるいは動物に対して安全性の高い農業用殺菌剤であることが確認された。

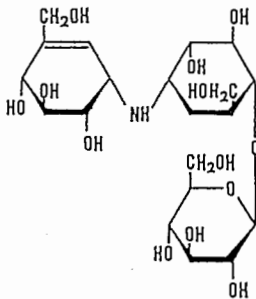
1970 年より (社) 日本植物防疫協会を通じ各地の試験研究機関で試験を開始した。

本剤の化学構造および物理化学的性質を以下に示す。

一般名: バリダマイシン A, validamycin A

化学名: 1L-(1,3,4/2,6)-2,3-dihydroxy-6-hydroxy-methyl-4-[(1S, 4R, 5S, 6S)-4, 5, 6-trihydroxy-3-hydroxymethylcyclohex-2-enylamino] cyclohexyl β-D-glucopyranoside

構造式:



分子式: C<sub>20</sub>H<sub>35</sub>NO<sub>13</sub>

分子量: 497.50

外観: 無色吸湿性粉末

溶解性: 水, メタノール, ジメチルホルムアミド, ジ

メチルスルホキシドに可溶, エタノール, アセトンにわずかに可溶, 酢酸エチル, ジエチルエーテルには不溶

安定性: 熱に対して安定, 強酸性および強アルカリ性条件下で安定, また, 通常の散光下では安定。

急性毒性試験

バリダマイシン A のラットおよびマウスにおける経口, 経皮, 皮下, 静脈内, 腹腔内および吸入の各投与経路による急性毒性試験結果を次表に示した。

急性毒性試験結果

動物種	投与経路	性別	LD <sub>50</sub> 値 (mg/kg)	試験機関 (報告書作成年)
ラット	経口	雄, 雌	>20,000	日本実験医学研究所 (1971年)
		雄, 雌	>5,000	日本実験医学研究所 (1977年)
	皮下	雄, 雌	>15,000	武田薬品工業 (1971年)
		雄	7,500	武田薬品工業 (1971年)
	腹腔内	雄	10,000	武田薬品工業 (1971年)
		雌	10,600	武田薬品工業 (1971年)
マウス	経口	雄, 雌	>20,000	日本実験医学研究所 (1971年)
		雄, 雌	>15,000	武田薬品工業 (1971年)
	腹腔内	雄	13,000	武田薬品工業 (1971年)
		雌	13,100	武田薬品工業 (1971年)
	ラット	吸入	雄, 雌	LC <sub>50</sub> >5 mg/l

ラット、マウスとも経口投与では投与24時間後に軽度の一過性の下痢症状がみられたがそれ以外に中毒症状は認められなかった。経皮投与ではまったく異常はみられなかった。皮下および腹腔内投与では自発運動の減少がみられ、静脈内投与では呼吸速迫、眼球突出、四肢端の紅潮、呼吸困難が認められた。

腹腔内あるいは静脈内投与による死亡例の剖検所見では胃粘膜の出血が認められた。

吸入毒性試験では死亡はみられず、中毒症状も認められなかった。

#### 一次刺激性試験

##### 1. 眼一次刺激性試験

バリダマイシンA 5% 液剤の0.1 mlあるいはバリダマイシンA 0.3% 粉剤DLの0.5 gを日本白色種ウサギ雄の右眼に適用し、1, 24, 48および72時間後に角膜、虹彩および結膜の異常を観察した。バリダマイシンA 5% 液剤では適用後の洗眼の有無にかかわらず、1時間後に結膜の充血がみられたが、24時間後には消失し、正常に回復した。

バリダマイシンA 0.3% 粉剤DLではわずかな結膜発赤が24時間までみられ、48時間後には消失した。

(臨床医科学研究所, 1985, 1987年)

##### 2. 皮膚一次刺激性試験

日本白色種ウサギ雄の背部皮膚にバリダマイシンA 5% 液剤0.5 mlあるいはバリダマイシンA 0.3% 粉剤DL 0.5 gを4時間適用し、検体除去1, 24, 48および72時間後に皮膚の刺激性変化を観察した。

バリダマイシンA 5% 液剤および0.3% 粉剤DLの適用により48時間後まで適用部位にごく軽微な紅斑が認められた。

(臨床医科学研究所, 1985年)

#### 皮膚感作性試験

Hartley系モルモット雌1群20匹あるいは雄1群15匹を用い、Buehler法に準じて試験を行なった。

バリダマイシンAを蒸留水に懸濁し、バリダマイシンA 5% 液剤は原液のまま、また、バリダマイシンA 0.3% 粉剤DLは白色ワセリンに混合して用いた。

感作は剪毛したモルモット左腹側部あるいは肩部の皮膚に検体の0.5 mlあるいは0.5 gを塗布したリント布を6時間閉塞貼布した。初回の感作より7日および14日後に同じ方法で計3回感作を行なった。

誘発は上記検体0.2 mlあるいは0.5 gを吸着させた濾紙あるいはリント布を最終感作の14日後に24時間貼布して行なった。

検体除去後24および48時間に皮膚の変化を観察した。バリダマイシンA, 5% 液剤および0.3% 粉剤DLによる皮膚感作性は認められなかった。

(SafePharm Laboratories, Ltd., 1988年, 臨床医科学研究所, 1988年)

#### 亜急性毒性試験

##### 1. ラットを用いた3か月亜急性毒性試験

バリダマイシンAを0.1, 1.0および10%含有する飼料を1群雌雄各15匹のWistar系ラットに3か月間自由摂取させた。

10%含有飼料投与群雌雄では投与開始3日後より下痢がみられ、2か月後にやや回復した。その他の投与群には検体投与による一般状態の異常は観察されなかった。

試験終了時における死亡率は0, 0.1, 1.0および10%投与群雄で各々7, 7, 7および0%を示し、雌で各々7, 7, 0および13%を示した。

試験期間を通じ、体重増加および飼料摂取量におよぼす検体投与の影響は認められなかった。10%投与群の飲水量は増加した。

血液学的検査の結果、0.1%投与群雄で白血球数の減少傾向がみられたが、検体投与による影響とは考えられなかった。

血液生化学的検査では血糖、GOT、GPT、Alp、Na、K、Clの増減がわずかに散見されたが、投与量に基づく所見ではなく、検体投与による影響とは考えられなかった。尿検査所見には検体投与による影響は認められなかった。肉眼的病理検査では、投与量および雌雄に関係なく少数例の肺に化膿性肺炎、肝のうっ血、脾の腫脹、盲腸の拡張などがみられたが検体投与による影響ではなかった。病理組織学的検査では、各組織に検体投与に関連した異常所見は認められなかった。

(大阪大学, 1971年)

##### 2. マウスを用いた3か月亜急性毒性試験

バリダマイシンAを0, 0.1, 1.0および10%含有する飼料を1群雌雄各15匹のdd系マウスに3か月間自由摂取させた。

10%含有飼料投与群雌雄で投与開始3日後より下痢がみられ、約2か月間持続し、その後やや回復した。その他の投与群には検体投与による一般状態の異常は観察されなかった。

試験終了時における死亡率は0, 0.1, 1.0および10%投与群で各々20, 20, 13および20%を示し、雌で0, 7, 20および27%を示した。死亡例の多くは上部気道

感染によるもので検体投与による影響は認められなかった。

試験期間を通じ、体重増加および飼料摂取量におよぼす検体投与の影響は認められなかった。10% 投与群の飲水量は増加した。

血液学的検査、血液生化学的検査および尿検査では各検査項目に検体投与に関連した影響は認められなかった。

肉眼的病理検査では少数例の肺に化膿性肺炎、肝のうっ血、脾の腫脹、盲腸の拡張などがみられたが検体投与による影響ではなかった。

病理組織学的検査では、対照群を含む各群に病理組織学的変化が散見されたが、検体投与に関連した異常所見は認められなかった。(大阪大学, 1971年)

### 慢性毒性および発がん性試験

#### 1. ラットを用いた慢性毒性・発がん性試験

バリダマイシンAを0, 100, 1000 および 10,000 ppm 含有する飼料を1群雌雄各56匹のSD系ラットに24か月間自由摂取させた。

検体投与に関連した一般状態の異常は認められなかった。

試験終了時における死亡率は0, 100, 1000 および 10,000 ppm 投与群雄で各々, 44, 50, 62 および 53%, 雌で各々, 18, 15, 32 および 21% を示し、検体投与による影響はみられなかった。

10,000 ppm 投与群雄で全試験期間を通じ軽度の体重増加抑制が認められ、100 ppm 投与群雄では1部の期間、軽度の体重増加抑制が認められた。飼料摂取量については検体投与による影響は認められず、飼料効率率は10,000 ppm 投与群雄で軽度の低下がみられた。飲水量には検体投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査では10,000 ppm 投与群雄で26週時にHtおよびHbの軽度の減少がみられた。また、同群雌で104週時に赤血球数の減少およびHbの軽度な減少が認められ、赤血球の大小不同、変形、多染性を示す動物の増加が認められた。白血球数の減少が52および78週時の1000 および 10,000 ppm 投与群に散見されたが104週時には認められなかった。

血液生化学的検査では検体投与群雄で総蛋白、Alp、血糖、GCT、GPTおよびビリルビンにわずかな変動が散見されたが検体投与に関連したものではなかった。

尿検査では検体投与群雄の26から78週時に蛋白尿が散見された。

臓器重量および肉眼的病理検査所見には検体投与に關

連した変化は認められなかった。検体投与に関連した病理組織学的変化は認められなかった。腫瘍性病変としては通常、ラットに多発する下垂体腺腫、副腎腺腫、乳腺腫、繊維腺腫などであり、それらの発生頻度には各群間に差はなく、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、本試験での最大無作用量は最高投与群(10,000 ppm)における栄養学的な欠陥から1000 ppm(雄40.4 mg/kg/day, 雌47.2 mg/kg/day)と判断され、また、催腫瘍性はないと判断された。

(残留農薬研究所, 1977年)

#### 2. マウスを用いた慢性毒性・発がん性試験

バリダマイシンAを0, 100, 1000 および 10,000 ppm 含有する飼料を1群雌雄56匹のICR:JCL系マウスに24か月間自由摂取させた。

検体投与に関連した一般状態の異常は認められなかった。試験終了時における死亡率は0, 100, 1000 および 10,000 ppm 投与群雄で各々63, 71, 63 および 73%, 雌で各々78, 71, 68 および 59% を示し、検体投与による影響はみられなかった。

体重および飼料摂取量に対する検体投与による影響は認められなかった。

飲水量は対照群に比較し検体投与群で高い値を示したが、投与量との関連性は認められなかった。

血液学的検査では10,000 ppm 投与群雄で26週時に赤血球数の軽度の減少がみられ、同群雌で26週時にHbの減少と26 および 52 週時に白血球の減少が認められたが、他の測定時期における測定値の変動はみられなかった。

血液生化学的検査では検体投与群の雌雄で総蛋白、血糖、GOT、ビリルビンおよびBUNに上昇あるいは低下が散見されたが、投与量に関連した変化ではなく検体投与による変化とは考えられなかった。

尿検査、臓器重量、肉眼的病理検査の各項目には検体投与に起因した異常は認められなかった。

病理組織学的検査では非腫瘍性病変および腫瘍性病変とも検体投与に関連した増加は認められなかった。

以上の結果より、本試験での最大無作用量は10,000 ppm(雄1174 mg/kg/day, 雌1124 mg/kg/day)と判断され、また、催腫瘍性はないと判断された。

(残留農薬研究所, 1977年)

### 繁殖性におよぼす影響および催奇形性試験

#### 1. ラットを用いた繁殖性試験

バリダマイシンAを0, 500 および 10,000 ppm 含有する飼料を1群雄30匹, 雌60匹のWistar系ラッ

トの F<sub>0</sub> 世代から F<sub>1a</sub>, F<sub>1b</sub>, F<sub>2a</sub>, F<sub>2b</sub> 世代までの 65 週間、連続投与により自由摂取させた。F<sub>0</sub>, F<sub>1</sub> および F<sub>2</sub> 世代のすべての動物の一般状態、死亡率、体重増加、飼料摂取量、血液学・血液生化学的検査項目および臓器重量には検体投与に関連した影響は認められなかった。

F<sub>0</sub> および F<sub>1</sub> の各世代における各 2 回の繁殖成績では対照群と各投与群との間に差がみられなかった。また、胎子の形態および仔動物の発育に対する検体投与による影響は認められなかった。

以上のように、バリダマイシン A を飼料に混入してラットの 3 世代にわたって投与した場合、繁殖能および仔動物の発育におよぼす影響はいずれの投与群においても認められなかったことから、本試験における最大無作用量は 10,000 ppm と判断された。

(残留農薬研究所, 1977 年)

## 2. ラットを用いた催奇形性試験

この試験は前記の繁殖性試験と併合して実施した。バリダマイシン A を 0, 500 および 10,000 ppm 含有する飼料を Wsitar シラットに連続投与し、F<sub>0</sub> 雌親 1 群 6 あるいは 7 匹について、また、F<sub>1</sub> 雌親 1 群 5 あるいは 6 匹について第 2 産時の妊娠 20 日目に帝王切開し、胎子における催奇形性の有無を調査した。500 および 10,000 ppm 投与群の各 1 例の F<sub>1b</sub> 胎子に軽度の椎骨異常がみられたが、これらは偶発的なものであると考えられた。その他に胎子動物に対する検体投与の影響は何ら認められなかった。

以上の結果より、母動物に対する最大無作用量は 10,000 ppm であり、10,000 ppm 投与群においても胎子に対し催奇形性をおよぼさないと判断された。

(残留農薬研究所, 1977 年)

## 3. ウサギを用いた催奇形性試験

バリダマイシン A を脱イオン水に溶解し、0, 125, 500 および 2000 mg/kg/day の投与レベルで妊娠 7 日から 19 日まで 13 日間、1 群雌 16 匹のニュージーランドホワイトウサギに毎日 1 回胃管を用いて強制経口投与した。人工受精した日を妊娠 0 日として、妊娠 29 日目に母動物を帝王切開し、催奇形性の有無を調べた。

2000 mg/kg/day 投与群に軟便および排便の減少が認められ、死亡率は 0, 125, 500 および 2000 mg/kg/day 投与群で、6.3, 0, 0, 12.5% を示した。試験期間中 2000 mg/kg/day 投与群の母動物に体重増加抑制が認められ、500 および 2000 mg/kg/day 投与群で用量に関連した飼料摂取量および飲水量の減少が認められた。

帝王切開時の観察では 125 mg/kg/day 投与群の黄体

数、総着床数および平均胎盤重量の軽度の増加、500 mg/kg/day 投与群における着床後胚死亡の軽度な増加、総着床数および平均生存胎子数の軽度な減少がみられたが、他の項目については対照群と同程度であった。胎子の形態学的観察所見から奇形および発育変異の発生頻度は検体投与群と対照群との間に差が認められなかった。

以上の結果より、本試験における無作用量は 500 mg/kg/day で、バリダマイシン A は胎子に対して催奇形性をおよぼさないものと判断された。

(International Research and Development Corporation, 1987 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サルモネラ菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100, TA1535, TA1537, TA1538, TA98 およびトリプトファン要求性の大腸菌 (*Escherichia coli* WP2 hcr) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S9 Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法により DNA 復帰変異誘発性を検討した。バリダマイシン A の用量は S9 存在下で、10, 50, 100, 500 および 1000 μg/plate, S9 非存在下で 10, 50, 100, 500, 1000 および 3000 μg/plate とした。

代謝活性化の有無にかかわらず、検体の最高濃度においても復帰変異コロニー数の増加は認められず、復帰変異誘発性はないものと判断された。

(残留農薬研究所, 1977 年)

### 2. 細菌を用いた DNA 修復試験 (rec-assay)

枯草菌 (*Bacillus subtilis*) の組換え修復機構保持株 (H-17) と欠損株 (M-45) を用い、賀田らの rec-assay 法で DNA の損傷の誘発性を検討した。バリダマイシン A の用量は 2000 μg/disk を最高濃度に 1000, 500, 200, 100 および 20 μg/disk とした。検体は代謝活性化の有無にかかわらず、最高濃度である 2000 μg/disk においても両株間に生育阻止帯の差を認めなかったことから、DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。

(残留農薬研究所, 1977 年)

### 3. チャイニーズハムスター肺 CHL 細胞を用いた *in vitro* 細胞染色体異常試験

チャイニーズハムスターの継代培養した肺の CHL 細胞を用いた。薬物代謝酵素系の存在下および非存在下で染色体異常を有する細胞の出現頻度を計測した。本試験に用いたバリダマイシン A の濃度は代謝活性化の有無にかかわらず、1250, 2500 および 5000 μg/ml とし、標本作製時間は代謝活性化の存在下で 18 時間、非存在

下で 24 および 48 時間とした。

本試験条件下において、代謝活性化の存在下および非存在下のいずれにおいてもバリダマイシン A 処理群での染色体異常を有する細胞の出現頻度は 5% を超えなかった。

以上の結果より、バリダマイシン A のチャイニーズハムスター肺 CHL 細胞を用いた *in vitro* 染色体異常誘発性試験における変異原性は陰性であると判断された。

(化学品検査協会, 1988 年)

## 薬理試験

### 1. 中枢神経系に対する作用

ICR 系マウスに対し、蒸留水に溶解したバリダマイシン A の 1500, 5000 および 15,000 mg/kg を各々、経口投与し、投与前、投与後、経時的に Irwin の多次元観察法を用いて観察した。

検体 1500 mg/kg 投与群のマウスには、投与による影響は認められなかった。5000 mg/kg 投与群のマウスでは投与 120 および 180 分後に体温降下が認められ、15,000 mg/kg 投与群では投与 30 分後から 120 分後にかけて身づくろいの減少がみられ、120 分後には反応性の低下が散見された。それらの症状は投与 180 分後に消失した。

### 2. 呼吸・循環器系に対する作用

ペントバルビタールの静脈内投与により麻酔し背位に保定したビーグル犬に対し、生理食塩水に溶解したバリダマイシン A 300, 1000 および 3000 mg/kg を 30 分間隔で低用量より順に静脈内に投与し、経時的にイヌの呼吸、血圧、心電図、心拍数および血流量を測定した。

1000 mg/kg 投与群では投与中から投与直後にかけて呼吸数および血流量の増加傾向がみられたが、呼吸数は投与 30 分後には回復し、血流量は投与前よりも減少した。3000 mg/kg 投与群では投与直後に呼吸数、血流量および平均血圧が上昇したが 15 分後には投与前のレベルに回復した。また心電図は投与直後から 30 分後にかけて QRS 波の増高が認められた。

これらの変化はバリダマイシンの大量投与によるものであり検体の本質的な薬理作用とは考えられなかった。

(臨床医科学研究所, 1990 年)

### 3. マウスの腸内細菌叢および盲腸重量に対する影響

バリダマイシン A を 50 g/l の濃度で水道水に溶解し飲水として、14 日間自由摂取させ、経時的に屠殺して、糞便中の細菌叢の変化、盲腸重量の変化および盲腸の組織学的検査を行なった。

マウス 1 匹、1 日当りのバリダマイシン A の摂取量は 400 mg であった。検体投与群のマウスに軟便の排出が認められたが、飲水量および体重増加に影響は認められなかった。バリダマイシン A 投与群マウスの糞便中細菌叢は無投与対照群のマウスのそれと変わらなかった。

バリダマイシン A 投与群マウスの盲腸湿重量は対照群に比較して、投与 1 日後に急激に増加し、試験終了時まで持続した。しかし、盲腸乾燥重量に差は認められなかった。したがって、盲腸湿重量の増加は盲腸内容物の水分の増加によるものと判断された。盲腸の組織学的検査では粘膜固有層に変化はみられず、内輪走筋の部分的な菲薄化が認められた。

(武田薬品工業, 1974 年)

### 4. バリダマイシンと数種のアミノシクリトール系抗生物質との間の交叉耐性

バリダマイシン A の 10 mg/ml を含有する適切な各斜面培地でヒトに対し病原性を有する *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* および *Mycobacterium smegmatis* ATCC607 を 20 代継代培養し、20 代目の各供試菌のカナマイシン硫酸塩 (KM), デキストロマイシン塩酸塩 (DM), ジヒドロストレプトマイシン硫酸塩 (DSM) およびジゴマイシン (ZM-A) に対する感受性を調査した。バリダマイシン A 含有培地上で継代培養した細菌の KM, DM, DSM および ZM-A に対する耐性は認められなかった。

以上の結果から、バリダマイシン A の薬理作用は、大量投与による盲腸内容物における水分の増加であった。

(武田薬品工業, 1970 年)

## 要約

各種毒性試験を実施し、バリダマイシン A の安全性評価を行なった。バリダマイシン A はラットおよびマウスにおける急性毒性が低く、投与可能な最大投与量においても死亡例はみられずきわめて安全性の高い薬剤である。バリダマイシン A 5% 液剤の眼および皮膚に対する一次刺激性は軽度であり、皮膚感作性は認められなかった。

ラットおよびマウスを用いた亜急性毒性試験ではバリダマイシン A の 10% 含有飼料を投与しても、すべての検査項目に検体投与による影響は認められなかった。

ラットおよびマウスを用いた慢性毒性・発癌性試験ではバリダマイシン A の 10,000 ppm 含有飼料を投与した雄ラットに軽度の体重増加抑制、Ht, Hb および赤血球数の軽度な減少が認められ、10,000 ppm 含有飼料を投与した雌雄マウスに赤血球数の軽度の減少が認められ

た。これら慢性毒性試験における最大無作用量はラットで 1000 ppm (雄 40.4 mg/kg/day, 雌 47.2 mg/kg/day), マウスで 10,000 ppm (雄 1174 mg/kg/day, 雌 1124 mg/kg/day) と判断された。いずれの動物においても催腫瘍性は認められなかった。

ラットを用いた繁殖性に及ぼす影響試験, ラットおよびウサギを用いた催奇形性試験では繁殖性に対する影響および催奇性は認められなかった。

細菌を用いた復帰変異性試験, DNA 修復試験および培養細胞を用いた染色体異常試験では, いずれにおいても変異原性は陰性であった。

パリダマイシン A は昭和 47 年 5 月 2 日に稲の紋枯病を対象に登録され, 以後, 稲の疑似紋枯症, イグサ紋

枯病, ショウガの紋枯病, イチゴの芽枯病, ダイコン亀裂褐変症, フキの白絹病, レタスのすそ枯病, バレイシの黒あざ病, てんさい, トマト, キュウリの苗立枯病等を対象に登録された。

パリダマイシン A は作物中に残留せず, 水中および土壌中において速やかに分解され, しかもヒトに病原性を示す菌に対する抗生物質との間に交叉耐性は認められず, 安全性の高い農薬として評価されている。

#### 問合せ

武田薬品工業株式会社アグロ事業部農薬開発部開発第三グループ

〒103 東京都中央区日本橋 2-12-10