

技術情報

オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩
の毒性試験の概要

ファイザー製薬株式会社農産事業部農産開発部
(平成4年5月20日受理)

薬剤の概要

オキシテトラサイクリンは Finlay ら (1950年) によって *Streptomyces rimosus* から分離された抗生物質で、人体用医薬品として開発され、感染症の治療剤として使用されている。また、動物用医薬品あるいは飼料添加物としても開発が進められ、1956年に動物の疾病予防・治療および家畜・家禽の生産性向上のために用いる動物用医薬品として承認されている。

農薬としてはオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩として開発が行なわれた。1953年から米国ファイザー社によりストレプトマイシン硫酸塩との複合剤としてアグリマイシン-100が開発され、米国において実用化された。わが国では、1956年より(社)日本植物防疫協会を通じて各地の試験研究機関で試験を開始した。その結果、植物病原細菌病に卓効なことが確認され、1957年に登録され使用されている。また、1985年にはオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の単剤であるマイコシールドが登録され使用されている。なお、オキシテトラサイクリン水和剤(マイコシールド)はその有効成分として、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩を31.5% (オキシテトラサイクリンとして17.0%) 含有する。

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: オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩

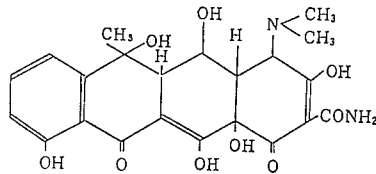
化学名: (イ) 4-dimethylamino-1, 4, 4a, 5, 5a, 6, 11, 12a-octahydro-3, 5, 6, 10, 12, 12a-hexahydroxy-6-methyl-1, 11-dioxo-2-naphthacene-carboxamide dodecyltrimethylammonium chloride

(ロ) 4-dimethylamino-1, 4, 4a, 5, 5a, 6,

11, 12a-octahydro-3, 5, 6, 11, 12, 12a-hexahydroxy-6-methyl-1, 11-dioxo-2-naphthacene-carboxamide calcium

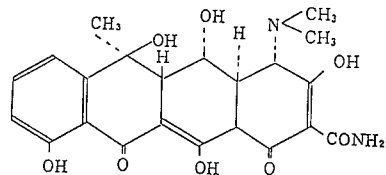
(イ) と (ロ) の混合物

化学構造: (イ)



$\cdot \text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{11} \cdot \text{N} (\text{CH}_3)_3 \text{Cl}$

(ロ)



Ca

分子量: (イ) 694.26

(ロ) 500.52

外観: 黄褐色の粉末

急性毒性試験

オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩(原体)およびその製剤(オキシテトラサイクリン水和剤)の Sprague-Dawley 系ラット, ICR 系マウスにおける各投与経路による急性毒性試験の結果を表1に示した。

刺激性試験

1. 眼刺激性試験

オキシテトラサイクリン水和剤の眼に対する一次刺激性試験を日本白色種雄ウサギ9匹(非洗眼群6匹, 洗眼

表 1

検体	動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg)	試験機関 (報告年)			
原 体	ラット	経 口	雄	9000	名古屋市立大学医学部病理学教室・ ファイザー製薬 (1973)			
			雌	9000				
		皮 下	雄	5886				
			雌	6300				
		腹腔内	雄	518				
			雌	302				
	マウス	経 皮	雄	>5000	浜松医科大学病理学教室 (1973)			
			雌	>5000				
		吸 入 (4時間)	雄	>2190 ^{a)}		TNO Nutrition and Food Research, オランダ (1991)		
			雌	>2190 ^{a)}				
		マウス	経 口	雄			>9000	名古屋市立大学医学部病理学教室・ ファイザー製薬 (1973)
				雌			>9000	
皮 下	雄		3668					
	雌		4095					
腹腔内	雄		279					
	雌		234					
水和剤	ラット	経 口	雄	>5000	ファイザー製薬 (1991)			
			雌	>5000				
		経 皮	雄	>2000				
			雌	>2000				
	マウス	経 口	雄	>5000				
			雌	>5000				

^{a)} LC₅₀ (mg/m³).

群 3 匹) を用いて実施した。左眼に検体 0.1 g を点眼し、右眼は無処置対照とした。洗眼群は投与 2~3 分後に生理食塩液で洗眼処理を行なった。検体投与 1, 24, 48, 72 時間後に角膜、虹彩および結膜について刺激性反応を観察した。

その結果、非洗眼群では投与後、結膜の発赤・腫脹、角膜の混濁、虹彩の充血が軽度認められたが、72 時間後までに投与前の状態に回復した。洗眼群では投与 1 時間後に一過性に軽度な結膜の発赤・腫脹が認められたが、24 時間目までに投与前の状態に回復した。

したがって、オキシテトラサイクリン水和剤は眼に対する刺激性は軽微であると判断された。

(ファイザー製薬, 1991 年)

2. 皮膚刺激性試験

オキシテトラサイクリン水和剤の皮膚に対する一次刺激性試験を日本白色種雄ウサギ 6 匹を用いて実施した。検体 0.5 g を剪毛背部皮膚に 2.5×2.5 cm の範囲で 4 時

間貼付した後、30 分、60 分、24 時間、48 時間および 72 時間目に刺激性変化を観察した。

その結果、塗布部位の皮膚には紅斑、痂皮、浮腫等の変化はいずれの例にも認められなかった。

したがって、オキシテトラサイクリン水和剤は皮膚に対する刺激性はないものと判断された。

(ファイザー製薬, 1991 年)

皮膚感作性試験

オキシテトラサイクリン水和剤の皮膚感作性試験を Hartley 系モルモット 60 匹 (1 群 20 匹, 3 群) を用いて Maximization test により実施した。0.07% の検体 0.1 ml を 1 回皮内注射し、7 日後に 0.2 ml を上背部に 48 時間閉塞貼付して感作し、2 週間後に 0.07% の検体 0.1 ml を腹部に 24 時間閉塞貼付して誘発した。誘発終了 24 および 48 時間後に皮膚反応を観察した。陽性対照には 2,4-dinitrochlorobenzene (DNCB) を用い、

その他に溶媒のみを投与した陰性対照を設けた。

その結果、陽性対照では全動物に中等度～強度の発赤、あるいは浮腫を伴う壊死がみられたが、オキシテトラサイクリン水和剤投与群には皮膚反応は認められなかった。

したがって、オキシテトラサイクリン水和剤の皮膚感受性は陰性と判断された。(ファイザー製薬, 1991年)

亜急性毒性試験

1. ラットにおける試験

1群雌雄各12匹のSprague-Dawley系ラットにオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩を0, 80, 400, 2000, 10,000, 50,000 および 100,000 ppm 含有した飼料を3か月間摂取させた。

その結果、100,000 ppm 群では投与開始後、摂餌がほとんどみられず、投与12日以内に全例が死亡した。

50,000 ppm 群では自発運動の軽度な減少、体重の増加抑制、摂餌量の減少が認められた。血液学的検査ではヘモグロビン量、ヘマトクリット値の低下、血小板数の増加がみられた。血液生化学的検査、尿検査では検体投与に関連した変化は認められなかった。臓器重量では体重の増加抑制にともない諸臓器の重量の減少がみられ、対体重比は逆に増加が認められた。肉眼的病理検査では盲腸の膨大がみられたが、病理組織学的検査では盲腸を含め諸臓器に異常は認められなかった。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の最大無作用量は10,000 ppm (雄 440.5 mg/kg/日, 雌 460.1 mg/kg/日) と判断された。

(名古屋市立大学医学部病理学教室・
ファイザー製薬, 1974年)

2. マウスにおける試験

1群雌雄各12匹のICR系マウスにオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩を0, 80, 400, 2000, 10,000, 50,000 および 100,000 ppm 含有した飼料を3か月間摂取させた。

その結果、100,000 ppm 群では投与開始後、摂餌がほとんどみられず、投与6日以内に全例が死亡した。

50,000 ppm 群でも投与開始後、摂餌がほとんど認められず、投与17日以内に雄は全例、雌は12例中10例が死亡した。

10,000 ppm 群では体重の軽度な増加抑制がみられたが、摂餌量は対照群と差が認められなかった。その他、尿・血液・血液生化学的検査、臓器重量、肉眼的病理検査、病理組織学的検査には検体投与に関連した変化は認められなかった。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の最大無作用量は2000 ppm (雄 173.5 mg/kg/日, 雌 225.4 mg/kg/日) と判断された。

(名古屋市立大学医学部病理学教室・
ファイザー製薬, 1974年)

慢性毒性/発がん性試験

1. ラットにおける試験

1群雌雄各57匹(対照群雌雄各100匹)のSprague-Dawley系ラットにオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩を0, 80, 312.5, 1250, 5000 および 20,000 ppm 含有した飼料を24か月間摂取させた。また、投与6, 12 および 18 か月後に中間屠殺を行なった。

その結果、20,000 ppm 群雄で体重の軽度な増加抑制が認められたが、摂餌量は対照群と差が認められなかった。また、尿・血液・血液生化学的検査、肉眼的病理検査、病理組織学的検査には検体投与に関連した変化は認められなかった。ただ、盲腸重量の増加がみられた。

5000 ppm 群では盲腸重量の増加以外、その他の検査項目に著変は認められなかった。

なお、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩に関連した腫瘍の発生は認められなかった。

以上の結果より、5000 ppm 群でみられた盲腸重量の増加は検体の主作用である抗菌作用によることを考慮すると毒性学的なオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の最大無作用量は5000 ppm (雄 246.5 mg/kg/日, 雌 283.6 mg/kg/日) と判断された。

(浜松医科大学病理学教室・
ファイザー製薬, 1977年)

2. マウスにおける試験

1群雌雄各67匹(対照群雌雄各102匹)のICR系マウスにオキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩を0, 80, 312.5, 1250, 5000 および 20,000 ppm 含有した飼料を24か月間摂取させた。また、投与6, 12 および 18 か月後に中間屠殺を行なった。

その結果、20,000 ppm 群雄で軽度な体重の増加抑制が認められたが、摂餌量は対照群と差がみられなかった。また、尿・血液・血液生化学的検査、肉眼的病理検査、病理組織学的検査には検体投与に関連した変化は認められなかった。ただ、盲腸重量の増加がみられた。

5000 ppm 群では盲腸重量の増加以外、その他の検査項目に著変は認められなかった。

なお、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩に関連した腫瘍の発生は認められなかった。

以上の結果より、5000 ppm 群でみられた盲腸重量の

増加は検体の主作用である抗菌作用によることを考慮すると毒性学的なオキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩の最大無作用量は 5000 ppm (雄 601.6 mg/kg/日, 雌 631.6 mg/kg/日) と判断された。

(浜松医科大学病理学教室・ファイザー製薬, 1977 年)

繁殖試験

1. ラットにおける二世世代繁殖試験

1 群雌雄各 35 匹の Sprague-Dawley 系ラットにオキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩を 0, 2000 および 20,000 ppm 含有した飼料を二世代にわたって摂取させ、繁殖性に及ぼす影響を調べた。なお、交配は F₀, F₁ 世代とも 2 回行ない、次世代への継承は第 2 産仔 (F_{1b}, F_{2b}) を用いた。

その結果、20,000 ppm 群では F_{1b} および F_{2b} の生存率の低下が認められた。その他、各世代の親動物および仔動物とも検体投与に関連したと思われる中毒症状および死亡例は認められず、肉眼的病理検査にも著変はなかった。また、交尾率、妊娠率、着床数、出生仔の発達および行動などに検体投与に関連したと思われる影響は認められなかった。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩の繁殖性に関する最大無作用量は 2000 ppm と判断された。(ファイザー製薬, 1976 年)

催奇形性試験

1. ラットにおける試験

繁殖試験の一部を用いて 1 群 F₀ は 5 匹, F_{1b} は 10 匹の Sprague-Dawley 系ラットにオキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩を 0, 2000 および 20,000 ppm 含有した飼料を妊娠 0~21 日までの 22 日間にわたって摂取させ、母体および胎仔に及ぼす影響を調べた。

その結果、母体に対して中毒症状はみられず、体重変化にも著変は認められなかった。

胎仔に対する影響では、20,000 ppm 群で F₀ および F_{1b} 両世代の胎仔の生存仔体重の軽度な減少が認められたが、化骨遅延はみられず、検体投与に関連したと思われる奇形(外形・内臓・骨格)や骨格変異は認められなかった。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩の最高投与量である 20,000 ppm でも催奇形性は認められず、胎仔毒性に関する最大無作用量は 2000 ppm (159.5 mg/kg/日) と判断された。

(ファイザー製薬, 1976 年)

変異原性試験

1. Rec-assay

枯草菌の組換え修復機構保持株 (H-17) および欠損株 (M-45) を用い、賀田らの rec-assay 法で DNA 損傷の誘発性を検定した。オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩の濃度は 2~2000 μg/disk とし、その他、溶媒対照として DMSO, 陰性対照として 10 μg/disk の kanamycin, 陽性対照として 0.1 μg/disk の mitomycin C を用いた。

オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩存在下においては、陰性対照として用いた kanamycin と同様に両株に同程度の生育阻止帯を示した。一方、陽性対照として用いた mitomycin C では H-17 株に比べ、M-45 株に著明な生育阻止帯を生じた。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩には DNA 損傷の誘発性はないものと判断された。(財)残留農薬研究所, 1978 年)

2. 復帰変異試験

ヒスタジン要求性のサルモネラ菌 (TA 系 5 株) およびトリプトファン要求性の大腸菌 (WP2 hcr 1 株) を用い、ラットの肝から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下および非存在下で Ames らの方法で、オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩を 0.05~100 μg/plate の濃度で処理したときの遺伝子突然変異性を検定した。

その結果、オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩存在下では、いずれの変異株においても代謝活性化の有無にかかわらず、溶媒対照と比べ復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。一方、陽性対照として用いた AF-2, β-propiolactone, 9-aminoacridine および 2-nitrofluorene では、溶媒対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第 4 級アンモニウム塩の復帰変異誘発性はないものと判断された。

(財)残留農薬研究所, 1978 年)

3. 染色体異常試験

継代培養したチャイニーズハムスター肺由来の V79 細胞を用いた。直接法では 3.75~60 μg/ml, 代謝活性化法では 7.81~125 μg/ml の濃度を設定した。1 濃度あたり 100 個の分裂中期像を観察し、形態的異常および数的異常(倍数性細胞)について検索した。形態的異常はギャップ, 切断, 交換, リング形成, 断片化およびその他に分類し計測した。異常を有する細胞の出現頻度は 5% 未満を陰性, 10% 以上を陽性とした。

その結果、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩は細胞増殖抑制作用を示した濃度を含め、形態的異常を持つ細胞および倍数性細胞の出現頻度は、陰性対照と比して差はなかった。一方、陽性対照として用いた benzo(a)pyrene および mitomycin C では染色体異常を持つ細胞の出現頻度の増加がみられた。

以上の結果より、オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の染色体異常誘発性はないものと判断された。
(ファイザー製薬, 1988年)

要 約

オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の安全性評価のため各種毒性試験を行なった。

その結果、本剤の急性毒性は非常に低く、普通物に該当する。また、眼と皮膚に対する刺激性および皮膚感作性はなかった。一方、亜急性および慢性毒性/発がん性試験では高用量群において、死亡例の発生、体重の減少および増加抑制、盲腸重量の増加などの変化がみられた

が、特定の病変は認められず、催腫瘍性もなかった。また、繁殖性、催奇形性についても問題なかった。変異原性は rec-assay, 復帰変異試験, 染色体異常試験ともに陰性であった。

オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩の単剤製剤であるオキシテトラサイクリン水和剤(マイコシールド)は1983年9月に登録申請し、1985年10月に登録を取得した。オキシテトラサイクリン水和剤はモモのせん孔細菌病、キュウリの斑点細菌病の防除に、1500~3000倍に希釈して使用される。

オキシテトラサイクリン第4級アンモニウム塩は、定められた使用基準を遵守すれば、安定性が確保されるものであり、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

ファイザー製薬株式会社農産事業部農産開発部
〒163 東京都新宿区西新宿 2-1-1 新宿三井ビル