

## ポリオキシシン(D亜鉛塩)の毒性試験の概要

科研製薬株式会社 特薬部

## 薬剤の概要

ポリオキシシンは *Streptomyces cacaoi* var. *asoensis* の培養により得られる発酵生産物で、現在までに A~M までの各成分が知られている。農薬用原体としては、ポリオキシシン複合体とポリオキシシン D 亜鉛塩の2種類が製造されており、前者は果樹・蔬菜類のアルタナリア菌による病害及びうどんこ病・灰色かび病の防除に、後者は稲紋枯病及び芝のリゾクトニア菌による病害の防除に用いられている。

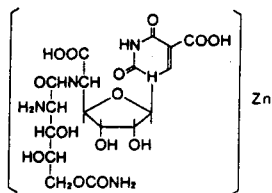
ここでは、ポリオキシシン D 亜鉛塩について、毒性試験の概要を報告する。

本剤の化学構造、物理化学的性質を以下に記す。

一般名：ポリオキシシン polyoxin

化学名：5-(2-amino-5-O-carbamoyl-2-deoxy-L-xylonamido)-5-deoxy-1-(1, 2, 3, 4-tetrahydro-5-carboxy-2, 4-dioxo-pyrimidinyl)- $\beta$ -D-allofuranuronic acid, zinc salt

構造式：



分子式：[C<sub>17</sub>H<sub>23</sub>N<sub>5</sub>O<sub>14</sub>] Zn

分子量：586.76

外 観：灰褐色粉末

融 点：>240℃ (分解)

溶解度 (g/l, 21℃)：水<0.1, 0.1N 塩酸：43.5, 0.1 N 水酸化ナトリウム：4, アセトン<0.1, メタノール<0.1, DMSO<0.1

## 急性毒性試験

ラット及びマウスに対するポリオキシシン D 亜鉛塩原体の各投与経路における急性毒性試験結果を以下に示す。

動物種	投与経路	性	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	試験機関 報告書作成年
ラット	経 口	雄	> 9,600	理化学研究所 (1971年)
		雌	> 9,600	
	経 皮	雄	> 750	科研化学㈱ (1978年)
		雌	> 750	
	皮 下	雄	> 5,000	科研化学㈱ (1972年)
		雌	> 5,000	
腹腔内	雄	483	科研化学㈱ (1972年)	
	雌	455		
マウス	経 口	雄	> 9,600	理化学研究所 (1971年)
		雌	> 9,600	
	皮 下	雄	> 10,000	科研化学㈱ (1972年)
		雌	> 10,000	
	腹腔内	雄	183	科研化学㈱ (1972年)
		雌	171	

## 一次刺激性試験

## 1. 眼一次刺激性試験

ニュージーランドホワイト種ウサギ9匹の眼にポリオキシシン水和剤粉末を60mg(0.1ml相当重量)/眼の割合で適用し、うち3匹は2分後に洗眼した。14日後まで、結膜、角膜及び虹彩の刺激性変化を観察した。

その結果、非洗眼群では投与1時間後に結膜に軽度の刺激性変化が認められ、48時間後には結膜に加えて角膜、虹彩にも軽度な刺激性変化を認められたが、いずれも投与14日後には消失した。これらの症状は洗眼により軽減した。

また、ニュージーランドホワイト種ウサギ6匹の眼にポリオキシシン粉剤粉末を33mg(0.1ml相当重量)/眼の割合で適用して、7日後まで、結膜、角膜及び虹彩の刺激性変化を観察した。

その結果、投与1時間後に6匹のうち4匹で極めてわずかな結膜刺激を認めたが、24時間以後は正常であった。

(ハンティンドン・リサーチ・センター、英国、1988年)

## 2. 皮膚一次刺激性試験

ニュージーランドホワイト種ウサギ6匹を用い、刈毛した背部皮膚(約2.5×2.5cm)に、ポリオキシソルボン水和剤0.5gを貼付し、4時間後に貼付部位を水で拭き、その後の皮膚の変化について72時間後まで観察した。

その結果、いずれの動物においても皮膚の刺激性変化は認められなかった。

また、ニュージーランドホワイト種ウサギ6匹を用い、刈毛した背部皮膚(約2.5×2.5cm)に、ポリオキシソルボン粉剤0.5gを貼付し、4時間後に貼付部位を水で拭き、その後の皮膚の変化について72時間後まで観察した。

その結果、投与30分後に6例中1例に一過性のごく軽度の紅斑を認めたのみで、皮膚刺激性はほとんどないものと判断された。

(ハンティンドン・リサーチ・センター、英国、1988年)

## 急性毒性試験

### 1. ラットを用いた試験

ポリオキシソルボンD亜鉛塩原体を0、10、100、1000、10000あるいは100000ppm含有する飼料を、1群雌雄各13匹のウィスター系ラットに3カ月間摂食させた。投与期間中、一般症状及び生死を観察し、体重及び摂餌量を測定した。投与後1カ月に1群雌雄各5匹を中間屠殺し、血液学的検査、臓器重量の測定、肉眼的病理検査に供した。投与終了時に血液検査及び血清生化学検査を行い、部検後に臓器重量の測定、病理組織学的検査を実施した。

その結果、100000ppm群では雌雄とも体重増加抑制が認められた。また、血液学的検査で1カ月時におけるヘマトクリット値及びヘモグロビンの減少傾向が認められた他、病理組織学的検査で脾臓の外分泌組織の腺細胞不揃、腸管上皮の扁平化等の所見が認められた。10000ppm以下の投与群では各検査項目においてポリオキシソルボンD亜鉛塩投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大安全量は10000ppm(雄706mg/kg/日、雄742mg/kg/日)と判断された。

(理化学研究所、1971年)

### 2. マウスを用いた試験

ポリオキシソルボンD亜鉛塩原体を0、10、100、1000、10000あるいは100000ppm含有する飼料を、1群雌雄各13匹の

ICR系マウスに3カ月間摂食させた。投与期間中、一般症状及び生死を観察し、体重及び摂餌量を測定した。投与後1カ月に1群雌雄各5匹を中間屠殺し、血液学的検査、臓器重量の測定、肉眼的病理検査に供した。投与終了時に血液検査及び血液生化学検査を行い、部検後に臓器重量の測定、病理組織学的検査を実施した。

その結果、100000ppm群では雌雄とも体重増加抑制が認められた。また、血液学的検査で赤血球数、ヘモグロビン及びヘマトクリット値の減少が認められた他、病理組織学的検査においても脾臓の外分泌組織の腺細胞不揃、腸管上皮の扁平化が認められた。10000ppm以下の投与群では各検査項目においてポリオキシソルボンD亜鉛塩投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験における最大安全量は10000ppm(雄1469mg/kg/日、雌1364mg/kg/日)と判断された。

(理化学研究所、1971年)

## 慢性毒性試験・発がん性試験

### 1. ラットを用いた試験

ポリオキシソルボンD亜鉛塩原体を0、0.01、0.1、1及び5%含有する飼料を1群雌雄各36匹のウィスター系ラットに24カ月間摂食させた。このうち、投与後6カ月、12カ月及び18カ月にそれぞれ1群5〜7匹ずつを中間屠殺に供した。

24カ月時までの死亡数は雄の各群で3〜10例、雌の各群で5〜8例で投与量との相関はなく、その死因についても投与群と対照群の間に差は認められなかった。ポリオキシソルボンD亜鉛塩投与によると思われる中毒症状も観察されなかった。雄5%群で8週間以降対照群に比べやや体重増加が抑制される傾向を示したが、有意差は認められなかった。飼料摂取量及び飼料効率ともに各投与群と対照群の間に有意な差を認めなかった。血液学的検査では赤血球数及びヘモグロビンの減少、白血球分類像におけるリンパ球の減少、好中球の増加等が散見されたが、いずれも投与量、投与期間との関連性はなく、ポリオキシソルボンD亜鉛塩投与の影響と思われる所見は認められなかった。血清生化学検査では各検査期とも5%群雌でAl-Pが低い傾向がみられた。その他に対照群と投与群の間に差の認められた項目も散見されたが、その値が正常範囲のものもあり、また、投与量、投与期間との相関も認められなかった。尿検査、臓器重量についてもポリオキシソルボンD亜鉛塩投与の

影響は認められなかった。肉眼的病理検査では対照群を含む各群で肺炎、下垂体腫大、卵巣・子宮の水腫または膿腫が散見された。病理組織学的所見では途中死亡例も含め、肺炎・肺膿瘍の他、加齢による変化と考えられる所見が多く認められたが、ポリオキシン D 亜鉛塩の投与によると思われる病変は認められなかった。腫瘍性病変としては甲状腺腫、下垂体色素嫌性細胞腫、皮膚及び皮下の線維肉腫が認められたが、これは自然発生腫瘍としてラットにしばしば認められるものであり、投与量との関連もなく、ポリオキシン D 亜鉛塩投与による発がん助長などの影響は認められなかった。

以上の結果から、本試験による最大無作用量は雌雄とも5% (雄2059mg/kg/日、雌2470mg/kg/日) と判断された。(日本大学、1976年)

## 2. マウスを用いた試験

ポリオキシン D 亜鉛塩原体を0、0.04、0.4及び4%含有する飼料を1群雌雄各30匹のICR系マウスに24カ月間摂食させた。このうち、投与後6カ月、12カ月、18カ月に各群雌雄5～7匹ずつ中間屠殺に供した。

その結果、一般症状、死亡例についてポリオキシン D 亜鉛塩の投与によると考えられる異常は認められなかった。0.4%群雌では試験前半の増体が大きく、4%群雌ではやや増体が劣る傾向であった。これらの群においては飼料摂取量も多かった。雄では増体・飼料摂取量とも各投与群と対照群との間に明らかな差を認めなかった。血液学的検査、血清生化学検査、尿検査及び臓器重量においては一部の項目で対照群と投与群との間に有意差が認められたが、いずれも投与期間、投与量との相関はなく、ポリオキシン D 亜鉛塩投与の影響とは考えられなかった。肉眼的病理検査では肺炎の他、子宮・卵巣の水腫、精巣肥大及び腎肥大等の加齢によると考えられる所見が多く認められた。病理組織学的検査においては肝、腎、脾等にアミロイド沈着が認められた個体が多かったが、これは食餌及び加齢によるものと考えられた。発生腫瘍については対照を含む各群で肺乳頭状腺腫、子宮乳頭状増殖が数例認められたが、投与量との関連はなく、ポリオキシン D 亜鉛塩投与の影響とは考えられなかった。

以下の結果から、本試験における最大無作用量は雌雄とも4% (雄3591mg/kg/日、雌4177mg/kg/日) と判断された。(日本大学、1976年)

## 繁殖及び催奇形性試験

### 1. ラットを用いた繁殖及び催奇形性試験

ポリオキシン D 亜鉛塩原体を0、0.01及び1%添加した飼料を1群雌雄各30～35匹のウィスター系ラットに、F<sub>0</sub>世代からF<sub>2</sub>世代まで3世代にわたって摂食させた。F<sub>0</sub>世代からF<sub>1</sub>世代で各2回の交配を行い、第2産仔の一部を次世代の親動物として用い、繁殖に及ぼす影響を検討した。また第2回目の交配においてF<sub>0</sub>世代では各群5匹、F<sub>1</sub>世代では各群10匹を開腹し、胎仔に及ぼす影響を調べた。

親動物においては、いずれの世代においても死亡例は認められず、一般状態にも異常はなかった。各世代における交尾率、妊娠率、出産率及び哺育率等の繁殖成績は投与群と対照群の間に差は認められなかった。胎仔観察においても着床所見、外形異常、内臓異常、骨格所見等にポリオキシン D 亜鉛塩投与による影響は認められなかった。

以上の結果より、ポリオキシン D 亜鉛塩は1%の投与においてもラットの繁殖性に及ぼす影響ならびに催奇形性はないものと判断された。(日本大学、1976年)

## 変異原性試験

### 1. DNA 修復試験

*Bacillus subtilis* の組換え修復機構保持株(H-17)と欠損株(M-45)を用い、Rec-assay法でDNA損傷誘発性を検討した。ポリオキシン D 亜鉛塩は水に不溶のため、ポリオキシン D と硫酸亜鉛の1:1(モル比)混合物を用い、濃度は200～2000 $\mu$ g/diskとした。

その結果、ポリオキシン D・硫酸亜鉛混合物では両株の間にほとんど成育阻止の差を認めなかったことから、ポリオキシン D 亜鉛塩にはDNA損傷性はないものと判断された。(残留農薬研究所、1976年)

### 2. 復帰変異試験

ヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* (TA系4株)及びトリプトファン要求性の *Escherichia coli* (wp2 2株)を用い、薬物代謝酵素系(ラット肝から調整したS-9 Mix)の存在及び非存在下でAmesらの方法により変異原性を検定した。検体はポリオキシン D と硫酸亜鉛の1:1(モル比)混合物を用い、濃度

は100~1000 $\mu$ g/plateとした。

その結果、S-9 Mixの有無にかかわらず、ポリオキシシンD・硫酸亜鉛の混合物の最高濃度である1000 $\mu$ g/plateにおいても、対照に比べ復帰変異コロニー数の増加を認めなかったことから、ポリオキシシンD亜鉛塩には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、1976年)

### 3. 宿主経由試験

ICR系雄マウスにポリオキシシンD亜鉛塩原体1000及び2500mg/kgを24時間間隔で2回、強制経口投与し、2回目の投与直後に対数期のヒストジン要求性の*S. typhimurium* (G-46)をマウス腹腔内に注入した。処置3時間後に腹腔内菌液を回収し、培養後復帰変異原性を検討した。

その結果、いずれの濃度においてもポリオキシシンD亜鉛塩の投与による復帰変異菌数の有意な増加は認められなかったことから、ポリオキシシンD亜鉛塩の宿主経由条件下における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、1976年)

## 要 約

各種毒性試験を実施しポリオキシシンD亜鉛塩の安全性評価を行った。

その結果、本剤のラット及びマウスにおける急性経口LD<sub>50</sub>値は9,600mg/kg以上ときわめて低毒性であった。眼に対しては軽度の刺激性が認められたが、洗眼により軽減された。皮膚に対する刺激性はほとんど認められなかった。ラット及びマウスを用いた亜急性及び慢性毒性試験においては、いずれの場合もポリオキシシンD亜鉛塩投与に起因すると考えられる重篤な慢性毒性や催腫瘍性は認められず、変異原性も陰性であった。繁殖や次世代にも悪影響を及ぼすことはなく、催奇形性も認められなかった。

ポリオキシシンD亜鉛塩は、低毒性で安全性が高い薬剤であり、定められた使用基準を遵守すれば農業資材の一つとして有用であると考えられる。

### 問合せ

科研製薬株式会社特薬部

〒103 東京都中央区日本橋本町3-4-10

三井本町ビル