クロルテトラサイクリンの毒性, 特に 加熱の毒性に及ぼす影響について

(昭和 37 年 5 月 24 日 受理)

池田良雄* 篠田光雄* 吉本浜子*
桑村 司* 武藤幸子* 辻 きよ*

Studies on the Acute Toxicity of Chlortetracycline Hydrochloride, with Special Reference to the Effect of Heating on its Toxicity

Yoshio IKEDA, Mitsuo SHINODA, Hamako YOSHIMOTO,
Tsukasa KUWAMURA, Yukiko MUTO, and Kiyo TSUJI

(National Institute of Hygienic Sciences :

Tamagawa-yoga-machi, Setagaya-ku, Tokyo)

Toxicity studies were made on chlortetracycline hydrochloride (CTC) in ddN mice, emphasis being placed on the effect of heating at 100°C for 30 minutes on its toxicity.

1) pH of CTC solutions in distilled water at the concentrations of 0.75% to 2.0%, suitable for assessing LD₅₀ in mice, was in the range of 2.98 to 2.70.

2) pH of CTC buffer solutions consisting of 1/30 M of KH₂PO₄ and Na₂HPO₄·2H₂O at a ratio of 3 to 7, was 6.37 to 6.3 in the 0.75% and 1.0% solutions, and 2.77~3.96 in the 2.0% solution.

3) When injected intraperitoneally, both vehicles and heating exerted no significant changes on the LD₅₀ value of CTC.

4) In the intravenous route, heating had no effect on the LD₅₀ value of CTC in the acid solutions, and elevated its value remarkably in the buffered solutions. But LD₅₀ values of CTC in the latter solutions before and after heating were far less than those in the acid solutions, indicating that the addition of buffer agents mentioned above intensified the toxicity of CTC.

(Received May 24, 1962)

緒 言

Chlortetracycline (CTC) は、米国、カナダなどの諸外国で魚類の保存料として使用されているが、その外、1955年に米国で、料理前の許容量を 7 ppm として家禽に使用することが許可された。数年前、わが国でも本剤を魚類の鮮度保持用に使用したいとの申請があり、食品調査会においてその可否について慎重に討議され、わが国における魚類摂取様式の特異性を考慮して次のような結論が 1957 年に出された。すなわち、「抗生物質を食品の保存に使用する場合は、塩酸クロルテトラサイクリンを水中に 5 ppm 以下含有せしめ、以西遠洋底曳の漁船中で魚肉ねり製品原料用の魚類に使用する場合に限

り差し支えないものとする。」というのである。この結論は、魚区を限定し、かつ生のままでは食べない、熱を加えて加工する製品の原料となる魚に限定して CTC の使用を認めたのであるが、このようなことは、魚あるいは肉中に微量の CTC が残存するとしても調理のときの加熱によって容易に破壊されるという文献的事実に基づいたものである。

一昨年本剤の使用範囲拡大についての申請があり、再び食品調査会でその可否について討議されたが、その際、化学療法研究所の篠塚、遠藤らは、加温または加熱しても CTC の毒性の低下はあまり著明ではない、と報告し、一方、千葉大学相磯らは、CTC は酸性下において、100°, 30 分の加熱によっても毒性の変化は少ないが、中性からアルカリ性下で、100°, 30 分で毒性は著しく低下し、60°, 30 分でも著明であると報告した。同

* 国立衛生試験所薬理部：東京都世田谷区玉川用賀町 2 の 203

調査会は加熱による影響を重視し、われわれにおいてこれらの点を追試するよう要請があったので上記の点を主眼として毒性実験を行なった。

実験方法

検体はレダリー会社から提供された純度 90% 以上の淡黄色粉末状の塩酸クロルテトラサイクリンである。試験動物は ddN 系雄性マウスで、13~15 g のものを購入して 7~10 日間飼育し、発育良好な 16~23 g のものを使用した。室温 24~26°, 湿度 46~50% の環境下において静脈内、腹腔内、皮下、経口、の各投与を行ない、投与後 144 時間観察した。LD₅₀ の算定にはすべて Van der Waerden 面積法によった。

加熱による毒性の変化を調べるため、実際に投与する CTC 液を小さい三角コルベンに入れて、ブンゼン灯の弱い火炎で 100°, 30 分加熱し、この間に蒸発した水分を、あとから追加して加熱前の CTC 濃度にもどした。

CTC 蒸留水液は強酸性であるので、中性に近い CTC 液の加熱による影響を調べるためには溶媒として緩衝液を用いなくてはならないので、その目的に 1/15 M および 1/30 M の、KH₂PO₄ と Na₂HPO₄·2H₂O の混合液を使用した。pH の測定はベックマン pH メーターによった。

実験結果

1) CTC の溶解度と pH (第 1 表)

ある物質の毒性、特に静脈注射時の毒性を調べるときには、溶媒中におけるその物質の溶解度が問題となるので、まず CTC の蒸留水および生理食塩水における溶解度を調べた。第 1 表に見られるように常温においては、蒸留水中には 0.75% まで完全に溶けるが、生理食塩水には 0.5% でも不溶である。

60~85° に加熱した場合には、両溶媒とも 2.0% でも溶けるがこれらを室温で放置した場合、蒸留水では 2.0%、生理食塩水では 0.75% 以上で CTC が析出してくる。溶解した状態における CTC 液の pH は、0.5~2.0% の濃度で蒸留水では 2.98~2.85、生理食塩水では 3.19~2.92 であった。以上のごとく、室温においても加熱したときでも、蒸留水中における方が溶解度が大きいので、以下の実験ではすべて蒸留水を溶媒として実験

第 1 表 CTC の溶解度と pH

濃度 (%)	蒸留水		生理食塩水		pH	
	常温	加熱 (60~85°)	常温	加熱 (60~85°)	蒸留水	生理食塩水
0.05	溶		溶			
0.5	溶		不溶	溶	2.97	3.02
0.75	溶		不溶	溶*	2.98	2.92
1.0	不溶	溶	不溶	溶*	2.98	3.19
2.0	不溶	溶*	不溶	溶*	2.85	3.17

* 室温で放置後析出

を行なった。

2) CTC 液加熱処理 (100°, 30 分) 後の pH (第 2 表)

CTC の 0.75, 1.0, 2.0% 液の加熱処理後における pH は 2.82~2.60 で、0.75% 液における加熱前と加熱後における pH はそれぞれ 2.85 および 2.82 で加熱による影響はほとんどなかった。なお、溶媒に用いた注射用蒸留水の pH はアンプル開封後 20 分で 6.38 であった。

第 2 表 CTC 液加熱 (100°, 30 分) 後の pH

濃度	補正容量	加熱前	加熱後
%	mg/ml	(ml)	
0.75	375/50	2.85	
〃	〃	4.9	2.82
〃	〃	5	
1	500/50	10	2.60
〃	〃	8	2.72
2	1000/50	10	2.70

註：溶媒は注射用蒸留水でアンプル開封 20 分後の pH 6.38

3) 緩衝液を用いた場合の CTC 液の pH (第 3, 第 4 表)

前記のように CTC 液は強酸性であるので、これを中性近くにするには緩衝液を用いる必要がある。そこで緩衝剤として KH₂PO₄ と Na₂HPO₄·2H₂O のそれぞれ 1/15 M 液を 3:7、および 0.5:9.5 の割合で混合した液の pH は第 3 表の示すとおり、それぞれ 7.06, 7.80 で、これらの緩衝液を用いた CTC の 0.75% 液は、加熱前には 6.70 および 7.01、加熱処理後には 6.59 および 6.98 となって、加熱による pH の変動が非常に少ないので目的に沿うように考えられたが、後述するように静脈注射時において緩衝剤自体の毒性が無視しえないような結果が得られたので、両緩衝剤の濃度を半分とし、それぞれ 1/30 M 濃度の液を 3:7 の割合で混合したところ、その pH は 7.07 で、この液を溶媒とした CTC 液の pH は、第 4 表に示すとおり 0.75, 1.0, および 2.0% 液において加熱前ではそれぞれ 6.30, 6.30, および 2.77、加熱処理後ではそれぞれ 6.32, 6.37, および 3.96、という値を得、最高濃度の 2.0% 液においては中性に近い液を

第 3 表 緩衝液を用いた CTC 液の pH

緩衝液 (1/15M)		pH	緩衝液を用いた CTC 液の pH (濃度 0.75% = 75mg/10ml)		
KH ₂ PO ₄	Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O		加熱前	補正容量 (ml)	加熱後*
3	7	7.06 (7.17)**	6.70	4.8	6.59
0.5	9.5	7.80 (8.04)**	7.01	6.0	6.98

* 100°, 30 分

** 理論値

得ることはできなかったが、緩衝剤自体の毒性の影響を避けるという立前からはやむをえないので、本実験においては緩衝液としては 1/30 M の液を用いた。

第 4 表 緩衝液を用いた C T C 液の pH

緩衝液 1/30M KH_2PO_4 : 1/30M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ = 3 : 7

%	mg/ml	加 熱 前	補正容量 (ml)	加 熱 後
0.75	375/50	6.30	9.5	6.32
1.0	500/50	6.30	10.0	6.37
2.0	1000/50	2.77	10.0	3.96
〃	〃	2.74	10.0	4.18

4) 静脈注射時の注射条件に関する予備実験(第 5 表)

静脈注射による毒性を調べるとき、種々の注射条件が毒性に大きな影響を与えることが考えられるので、まず注射条件について検討を加えた。第 5 表に示すとおり、蒸留水だけ注射するとき、0.5 ml/10 g を 30~60 秒の時間で注射しても死亡はもちろん、一般症状に異変はないが、0.94~1.52 ml/10 g の大量の場合には 60~135 秒の時間をかけて注射しても 8 例中 4 例が死亡し、そのうち 3 例は注射終了後 1~3 分でショック状態で死亡した。したがって注射量は 0.5 ml/10 g にとどめるべきである。次いで、0.75% の C T C 蒸留水液の 0.1, 0.12, 0.16 ml/10 g (C T C としてそれぞれ 75, 90, 120 mg/kg) を各 8 匹のマウスに静注したところ、比較的早い 30~60 秒の速度ではいずれの群においてもショック状態が出現し、0.12 および 0.16 ml/10 g の群では注射直後に死亡するものがあった。この 3 用量について注射速度を 120 秒以上としたときには死亡および症状異変が見

られなかった。注射速度 30~60 秒で認められたショック状態あるいは死亡は、C T C そのものによるものか、あるいは C T C 液の酸度 (2.98) によるものかを知る目的で、pH がほぼこれに近い 0.001 M 塩酸 (pH 3.32) の 0.5 ml/10 g を 50~150 秒の時間で静注したところ、8 例中 2 例が死亡し、そのうち 1 例は速度 50 秒のもので注射直後に死亡した。このことから、さきの C T C 液注射時のマウス死亡に対しては pH の影響が大きく関与していることがわかったので、本実験において酸度の強い C T C 液を静注するときは、すべて 120 秒以上の時間をかけてゆっくりと行なうことにした。つぎに緩衝剤自体の毒性を調べるために、1/15 M 液 (pH 7.06) および 1/30 M 液 (pH 7.07) の両液の 0.5 ml/10 g を静脈および腹腔内に注射したところ、1/15 M 液のときには静注および腹腔内注射時とも 8 例中 1 例が 48~72 時間で死亡したが、1/30 M 液では死亡なく、また 1 週間にもわたる観察では体重の減少を認めなかった。このようなことから、緩衝剤自体の影響を避けるために濃度の低い 1/30 M 液のものを使用する方が妥当であることが判明した。なお、緩衝液を用いたときには注射速度を比較的早くしても影響はない。

5) 本 実 験

a) 静脈注射時の毒性

第 6 表は蒸留水を溶媒としたときの C T C の毒性を示すが、注射後 144 時間後における各投与量群の死亡率から Van der Waerden 面積法によって LD_{50} を求めると、無処理の場合では 250.2 mg/kg (205.2~304.9, $p=95$), 100°, 30 分加熱処理した場合は 277.0 mg/kg (239.7~320.1) で、両者の間には有意の差異がない。

第 5 表 注射条件に関する予備試験

検 体	pH	投 与 経 路	注 射 容 量 (ml/10g)	投 与 量 (mg/kg)	注 射 速 度 (秒)	死 亡 率 (144 時間)
C T C 蒸 留 水 液 (0.75%)	2.98	i v	0.1	75		症 状
		i v	0.12	90	53~110	1/8
		i v	0.16	120	90~153	2/8
蒸 留 水	6.38	i v	0.94~1.52		60~153	4/8
		i v	0.5		30~60	0/8
0.001 M 塩酸	3.32	i v	0.5	1.83	50~150	2/8
1/15 M 緩 衝 液	7.06	i v	0.5	*	65~135	1/8
		i p	0.5	*		1/8
1/30 M 緩 衝 液	7.07	i v	0.5	**	68~142	0/8
		i p	0.5	**		0/8
対 照						0/8
						0/8

* KH_2PO_4 : 135 mg/kg + $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 420 mg/kg

** 〃 : 73 mg/kg + 〃 : 210 mg/kg

第6表 CTC 蒸留水液の LD₅₀ (静脈)

	投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)										LD ₅₀ (mg/kg)
		0.5	1	3	5	24	48	72	96	120	144	
無処	120	0/8									0/8	250.2 (205.2~304.9)
	150	0/8								1/8	1/8	
	200	3/8									3/8	
	260	3/8									3/8	
	340	6/8									6/8	
理	440	6/8							8/8		8/8	
加熱	150	0/8									0/8	277.0 (239.7~320.1)
	200	0/8									1/8	
	260	2/8	3/8								3/8	
	340	4/8				5/8	6/8				6/8	
	440	8/8									8/8	
理												

中毒経過は、無処理および加熱処理の場合とも注射後30分以内に大多数が死亡する。注射後間もなく立毛、呼吸速迫かつ細小となり、跳躍を伴う間代性痙攣および強直性痙攣を起してのち、呼吸困難状となって死亡する。

つぎに緩衝液を溶媒としたときの毒性については、第7表に示すように1/15 M 濃度の緩衝液を用いて CTC の

第7表 緩衝液を用いた場合の CTC の LD₅₀
(緩衝液 1/15 M KH₂PO₄+1/15 M NaH₂PO₄·2H₂O)

投与経路	投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)										LD ₅₀ (mg/kg)
		0.5	1	3	5	24	48	72	96	120	144	
i.v.	150	7/8									7/8	<150
i.p.	180	0/8									0/8	348.7 (299.6~405.7)
	230	1/8									1/8	
	300	0/8			1/8		2/8				2/8	
	400	0/8			3/8		4/8	5/8			5/8	
	540	0/8			8/8						8/8	

150 mg/kg を投与したところ30分以内に8匹中7例死亡したので、予備実験によって知られた緩衝剤自体の影響を考慮して、緩衝液の濃度を1/30 M として行なった実験の結果は、第8表で示すとおりである。この場合、無処理のときの LD₅₀ は 51.8 mg/kg (44.4~60.3)、加熱処理の場合は 187.6 mg/kg (160.7~218.9) で、加熱処理によって明らかに毒性の低下が認められるが、この両致死量とも前記の蒸留水液の場合に比べてその値がはるかに小である。緩衝液を溶媒としたときの中毒症状は、蒸留水液の場合と著変はない。

b) 腹腔内注射時の毒性

蒸留水を溶媒としたときの CTC の LD₅₀ は第9表に示すとおり、無処理の場合には 314.4 mg/kg (264.2~

第8表 緩衝液を用いた場合の CTC の LD₅₀ (静脈)
(緩衝液 1/30 M KH₂PO₄+1/30 M Na₂HPO₄·2H₂O)

	投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)										LD ₅₀ (mg/kg)
		0.5	1	3	5	24	48	72	96	120	144	
無処	30	0/8									0/8	51.8 (44.4~60.3)
	35	2/8									2/8	
	45	1/8				2/8					2/8	
	58	5/8									5/8	
	75	6/8				7/8					7/8	
理	100	8/8									8/8	
加熱	120	0/8									0/8	187.6 (160.7~218.9)
	160	3/8									3/8	
	210	4/8				5/8	6/8				6/8	
	270	5/8				6/8					6/8	
	350	8/8									8/8	
理												

第9表 CTC 蒸留水の LD₅₀ (腹腔)

	投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)										LD ₅₀ (mg/kg)
		0.5	1	3	5	24	48	72	96	120	144	
無処	180	0/8									0/8	314.4 (277.0~355.0)
	230	0/8				1/8					2/8	
	300	0/8				2/8			3/8	4/8	4/8	
	400	0/8			1/8	7/8					7/8	
	540	0/8				6/8					6/8	
理	700			1/8		8/8					8/8	
加熱	230	0/8									0/8	313.6 (277.0~355.0)
	300	0/8				3/8					3/8	
	400	0/8				3/8	7/8				7/8	
	520	0/8				8/8					8/8	

375.0)、加熱処理のときは 313.6 (277.0~355.0) で、加熱処理による毒性の変動は認められない。中毒経過は静脈注射時より遅延し、高用量群では投与後30分頃より立毛、嗜眠状、歩行まんさく状を呈して軽度運動麻痺となり、2時間頃からうずくまって立毛、呼吸速進、ついで拳尾、体温下降を示し、腹位となって振顫を起すがこの間、間代性あるいは強直性痙攣が認められ、脱力状態となって5~24時間で死亡するものが多い。

緩衝液を溶媒としたときの毒性については、第7表のように1/15 M 液の緩衝液では CTC の LD₅₀ は 348.7 mg/kg (299.6~405.7)、1/30 M 液の緩衝液を用いたときには第10表に示すように無処理では 346.1 mg/kg (299.5~399.9)、加熱処理後には 301.7 mg/kg (268.1~339.5) で、加熱処理による毒性の低下は見られない。中毒経過は、蒸留水を溶媒としたときと本質的な差異は見られなかった。

第 10 表 緩衝液を用いた場合の

CTC の LD₅₀ (腹腔)(緩衝液 1/30 M KH₂PO₄+1/30 M Na₂HPO₄·2H₂O)

	投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)										LD ₅₀ (mg/kg)
		0.5	1	3	5	24	48	72	96	120	144	
無処理	230	0/8									0/8	346.1 (299.5~399.9)
	300	0/8				1/8		3/8	4/8		4/8	
	400	0/8				3/8		4/8			4/8	
	520	0/8				8/8					8/8	
加熱処理	180	0/8									0/8	301.7 (268.1~339.5)
	230	0/8				1/8					1/8	
	300	1/8						2/8	3/8		3/8	
	400	0/8				4/8	5/8	8/8			8/8	

c) 経口投与時の毒性

第 11 表に示すとおり、蒸留水を溶媒として CTC の 2,300~11,000 mg/kg を各群 8 匹のマウスに経口投与したが、3,000 mg/kg 以上の各群に 1~2 例の死亡が見られたのみで LD₅₀ を得ることはできなかった。

第 11 表 CTC 蒸留水液経口投与時の毒性

投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)											
	0.5	1	2	3	4	5	24	48	72	96	122	144
2,300	0/8											0/8
3,000	0/8	1/8										1/8
3,900	0/8						1/8	2/8				2/8
5,000	0/8							1/8				1/8
6,500	0/8	1/8										1/8
8,500	0/8						1/8					1/8
11,000	0/8						1/8					1/8

d) 皮下注射時の毒性

第 12 表のごとく、10,000~15,000 mg/kg を各群 8 匹のマウスに皮下注射したが、11,000 mg/kg で 1 例、15,000 mg/kg で 5 例の死亡が認められた。15,000 mg/kg 以上の量を投与することは技術的に困難であるので行わず、LD₅₀ を正確に求めることはできなかったが、13,000~15,000 mg/kg の間にあるものと推定される。

第 12 表 CTC 蒸留水液皮下注射時の毒性

投与量 (mg/kg)	経過時間 (hr.)											
	0.5	1	2	3	4	5	24	48	72	96	122	144
10,000	0/8											0/8
11,000	0/8		1/8									1/8
13,000	0/8											0/8
15,000	0/8						1/8		4/8	5/8		5/8

考 察

加熱 (100°, 30 分) によって chlortetracycline (CTC) の毒性が低下するか否かを主眼として、ddN 系雄性マウスに対する CTC の急性毒性試験を行なった。経口投与および皮下注射では CTC の LD₅₀ は 10 g/kg 以上で毒性ははなはだ弱く、正確な LD₅₀ が求められないのでこのような投与経路による毒性試験で加熱の影響を調べることは妥当でない。したがって正確に LD₅₀ を求めることのできる 静脈内および腹腔内注射時の LD₅₀ の変動を目安として加熱の影響を検討したが、その結果のまとめは第 13 表に示すとおりである。注射用蒸留水

第 13 表 種々条件下における CTC の LD₅₀

投与経路	溶 媒	処理	LD ₅₀ (mg/kg)	95%信頼限界
静 脈	蒸 留 水		250.2	205.2~304.9
		加熱	277.0	239.7~320.1
	1/15M 緩衝液		<150	
		加熱	51.8	44.4~60.3
腹 腔	蒸 留 水		314.4	264.2~375.0
		加熱	348.7	299.6~405.7
	1/30M 緩衝液		346.1	299.5~399.9
		加熱	301.7	268.1~339.5

を溶媒としたとき、LD₅₀ を求めるのに適した濃度の CTC 液の pH は 3 よりやや酸性である。このような酸度にある CTC 蒸留水液は、第 13 表に見られるとおり静脈注射の場合でも腹腔内注射による場合でもその毒性は加熱処理によって影響を受けない。中性近くで、加熱によっていかなる影響を受けるかを知るために、溶媒として 1/30 M の KH₂PO₄ と Na₂HPO₄·2H₂O を 3:7 の割合で混合した液を使用した結果では、まず、腹腔内投与では加熱による毒性の減弱は認められず、その LD₅₀ は蒸留水を溶媒としたときの無処理および加熱時の LD₅₀ 値と有意の差異はなかった。静脈注射のときは無処理の場合 51.8 mg/kg、加熱処理後 187.6 mg/kg で、明らかに加熱による毒性の減弱が認められるが、この両値とも前記蒸留水を溶媒としたときの、無処理 250.2 mg/kg、加熱処理後 277.0 mg/kg に比べて、はるかにその値が低い。このように緩衝液を溶媒として用いることによってなぜ毒性が強くなったのであろうか。一応考えられることは、CTC が緩衝剤と反応して化学的变化を生じたということであるが、腹腔内注射では緩衝液による毒性の増強が見られなかったこと、静脈注射時の中毒症状は蒸留水液と緩衝液との間に本質的な差異がなかったこと、などから、CTC が変化を受けて毒性の強いものになったとは考えがたい。むしろ溶液中の物理的状态に変化が生じて、致死効果をもたらす CTC の侵襲部位（おそらくは中枢神経）への移行が容易になったと考える方が妥

当であるように思われるが、これらの点については物理化学的研究によらなければ断定しがたい。

篠塚、遠藤¹⁾は、マウス静脈注射時の致死率を目安として、1%のCTC生理食塩水について温度58~100°、時間10~60分の各組合せによる加熱条件下における毒性の変動を調べているが、このような条件下においてはCTCの毒性は減弱する傾向があるが、きわめて顕著とはいえない、としている。同氏らは正確なLD₅₀を求めているので「毒性の減弱する傾向」は統計的に有意かどうかかわからない。むしろ同氏らが強調している「毒性の減弱は顕著ではない」という点については、われわれの実験において知られたようにCTCの1%生理食塩水はpH 3前後の酸性であって、これよりやや酸度が強いCTC蒸留水を100°、30分加熱しても毒性の減弱を認めなかったわれわれの実験結果とほぼ一致するものである。

相磯ら²⁾は、CTCと、これを一定条件下で加熱したとき産生される分解産物の1つであるisochlortetracycline (ICTC)の毒性をdd系マウスについて検討したが、静脈注射時のLD₅₀はCTCでは100 mg/kg、ICTCでは120 mg/kgで大差なく、腹腔内投与ではCTCは400 mg/kg、ICTC 1200 mg/kgで後者の毒性は著明に低く、CTCの加熱による影響については、酸性下において100°、30分の加熱によっても毒性の変化は少ないが、中性からアルカリ性下で100°、10分で毒性は著しく低下し、60°、30分でも毒性の低下は著明である、と報告している。

緩衝剤として用いた薬品名およびLD₅₀の変動の具体的な数値が記載されていないのでわからないが、われわれが本論文の実験条件下で行なった実験結果と全く一致した傾向である。しかしながら、KH₂PO₄とNa₂HPO₄・2H₂Oの組合せからなる緩衝剤を用いたわれわれの実験では、静脈注射時のCTCの毒性は緩衝剤を加えることによってむしろ増強し、これを加熱したときのLD₅₀値は大となってもなお、蒸留水を溶媒としたときよりも毒性が強いこと、腹腔内注射時では溶媒として蒸留水を用いても緩衝液を使用しても、あるいは加熱してもしなくてもLD₅₀値に差異の認められなかったことより、本実験における条件下では加熱によりCTCはICTCにならないものと考えられる。

Kohler ら³⁾は、CTC 3 ppm 含有する鶏の胸筋肉は15分煮沸するかまたは230°で30分間あぶると全く抗生物質を含まなくなる、と報告し、またJarr ら⁴⁾は、魚の挽肉について6 ppmのCTCを含有するものを80°になるまで加熱すると3 ppmになり、100°、15分の加熱によって1.5~1.8 ppm、30分加熱によって0.35~0.45 ppmになると報告し、その他、内外の研究者も加熱によってCTCが容易に破壊されることを認めている。これらの研究はいずれも、CTCを実際に使用した

際に、魚あるいは家禽の肉中に残存すると考えられる非常に低濃度のCTCを含有する場合で、かつ、毒性ではなくて細菌学的な力価の低下ということを物差しとして行なった結果であり、われわれの実験はもちろん、篠塚ら、および相磯らの実験は、致死量を物差しとしたものであり、そのために必要な1%前後という非常に高濃度な液についての結果であるので、実際に起りうるような低濃度のものについて行なわれた諸外国の前記実験結果と大きな差異のあることはなんら不思議はない。

われわれの行なった追試は、篠塚らおよび相磯らの実験結果が原則的には正しいことを認めたが、これらはすべて静脈あるいは腹腔内注射時の致死量を基準として加熱による影響を検討したものであって、CTCの使用の結果、魚肉中に実際残存するような微量のものの安全性を評価するうえにおいて、重要な資料となるものとは考えがたい。

結 論

chlortetracycline hydrochloride (CTC)の毒性が加熱(100°、30分)によって、いかなる影響を受けるかということを中心にして、ddN系マウスにおける毒性試験を行なった。

1) LD₅₀を求めるのに必要とした、0.75、1.0および2.0%のCTC蒸留水液のpHは2.98~2.70であった。

2) CTC液を中性近くの酸度にするために1/30 MのKH₂PO₄とNa₂HPO₄・2H₂Oを3:7の割合で混合した緩衝液を溶媒としたが、そのときのpHはCTC 0.75および1.0%では6.37~6.30、2%では2.77~3.96であった。

3) 腹腔内注射では、溶媒が蒸留水のときでも緩衝液のときでも、あるいは加熱してもしなくても、CTCのLD₅₀には有意の差異は認められなかった。

4) 静脈注射の場合、蒸留水を溶媒とした酸度の強いときは、加熱によって毒性の低下は認められなかったが、緩衝液を溶媒としたときは加熱によってLD₅₀は明らかに上昇したが、この場合の無処理および加熱後のCTCのLD₅₀は蒸留水を溶媒としたときのそれらに比べてはるかに小さく、本実験で使用したような緩衝剤によってCTCの毒性が増強されることが認められた。

本研究は日本食品衛生学会第3回学術講演会で発表
(昭和37年5月、厚生年金会館において)

文 献

- 1) 篠塚、遠藤：化学療法研彙。13, 1, 2, 3, 4, 合併号(1959)。
- 2) 相磯ら：食品調査会提出資料。
- 3) A. R. Kohler, D. H. Sprunt: Food Technol. 9, 151 (1955)。
- 4) H. C. A. Jarr, et al.: J. Agr. Food Chem. 2, 372 (1954)。