

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号
特許第6387097号
(P6387097)

(45) 発行日 平成30年9月5日 (2018.9.5)

(24) 登録日 平成30年8月17日 (2018.8.17)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 33/06 (2006.01)	A 6 1 K 33/06
A 6 1 K 31/14 (2006.01)	A 6 1 K 31/14
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 39/02 (2006.01)	A 6 1 P 39/02
A 6 1 P 1/00 (2006.01)	A 6 1 P 1/00

請求項の数 29 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-535014 (P2016-535014)	(73) 特許権者	516154543
(86) (22) 出願日	平成26年11月21日 (2014.11.21)		ヌテック, エセ. アー. デ. セー. ウベ.
(65) 公表番号	特表2016-539949 (P2016-539949A)		NUTEK, S. A. DE C. V.
(43) 公表日	平成28年12月22日 (2016.12.22)		メキシコ プエブラ 75700 テワカ
(86) 国際出願番号	PCT/IB2014/066246		ン, テワカン セントロ, 7 ノルテ ヌ
(87) 国際公開番号	W02015/075686		メロ 416
(87) 国際公開日	平成27年5月28日 (2015.5.28)		7 Norte No. 416, Tehu
審査請求日	平成29年10月25日 (2017.10.25)		acan Centro, 75700 T
(31) 優先権主張番号	MX/A/2013/013788	(74) 代理人	100074332
(32) 優先日	平成25年11月25日 (2013.11.25)		弁理士 藤本 昇
(33) 優先権主張国	メキシコ (MX)	(74) 代理人	100114432
			弁理士 中谷 寛昭

最終頁に続く

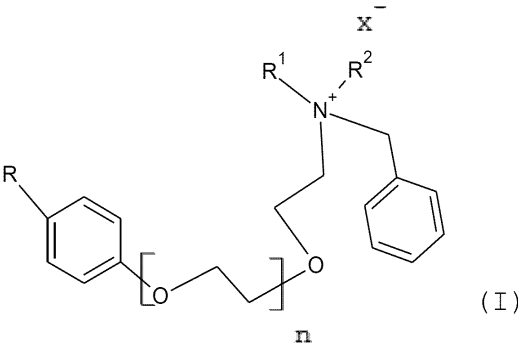
(54) 【発明の名称】 マイコトキシシン吸着剤及びその動物用配合飼料における使用

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下の式 (I) のアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシシン吸着剤。

【化 1】



ここで、R は 1 ~ 2 2 個の炭素原子を備えたアルキルを表し、X はハロゲンであり、n は 9 であり、R¹ はメチルであり、R² はメチルである。

【請求項 2】

前記アルミノケイ酸塩が、テクトケイ酸塩、フィロケイ酸塩又は両者の混合物である、請求項 1 に記載のマイコトキシシン吸着剤。

【請求項 3】

R が単鎖 C₉ アルキル基である、請求項 1 に記載のマイコトキシン吸着剤。

【請求項 4】

R が単鎖 C₈ アルキル基である、請求項 1 に記載のマイコトキシン吸着剤。

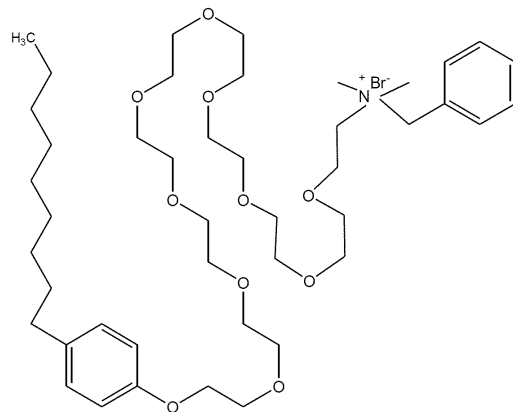
【請求項 5】

X が臭素又は塩素である、請求項 1 に記載のマイコトキシン吸着剤。

【請求項 6】

前記アルキルフェノールエトキシレート誘導体が、以下の式 (I a) を有する、請求項 1 に記載のマイコトキシン吸着剤。

【化 2】



(Ia)

【請求項 7】

前記アルミノケイ酸塩が、材料 100 グラム当たり少なくとも 20 ミリ当量の陽イオン交換容量を有する、請求項 1 ~ 6 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤。

【請求項 8】

前記アルミノケイ酸塩が、材料 100 グラム当たり 55 ミリ当量の陽イオン交換容量を有する、請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤。

【請求項 9】

前記アルキルフェノールエトキシレート誘導体が、前記アルミノケイ酸塩の陽イオン交換容量の 25% ~ 120% の割合で用いられる、請求項 1 ~ 8 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤。

【請求項 10】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤を含む、動物用配合飼料用の添加剤。

【請求項 11】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤を含む、動物用配合飼料用の添加剤を調製するための事前混合物。

【請求項 12】

ヒト以外の動物について、タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、1 つ以上の有害作用又は消化管における症状を治療又は予防する方法であって、前記治療又は予防を必要とする対象に対して治療上有効量の請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤を含む添加剤を含む動物用配合飼料を投与することを含む、方法。

【請求項 13】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、嘔吐を含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 14】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、下痢を含む、請求項 12 に記載の方法。

【請求項 15】

10

20

30

40

50

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、消化管における炎症を含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 6】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、消化管における出血を含む、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 7】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、消化管における壊死を含む、請求項 1 2 に記載の方法。

10

【請求項 1 8】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、ジアセトキシスシルベノール (D A S)、H T - 2 トキシン (H T - 2)、T - 2 トキシン (T - 2)、ネオソラニオール (N E O)、デオキシニバレノール (D O N) すなわちボミトキシン、3 - アセチルデオキシニバレノール (3 - A c D O N)、ニバレノール (N I V)、フザレノン - X (F u s - X)、トリコテコロン (T R I) 及びそれらの組み合わせにより構成される群から選択される、請求項 1 2 に記載の方法。

【請求項 1 9】

20

ヒト以外の動物について、タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、有害作用又は消化管における症状を低減又は排除する方法であって、前記低減又は排除を必要とする対象に対して治療上有効量の請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤を含む添加剤を含む動物用配合飼料を投与することを含む、方法。

【請求項 2 0】

前記有害作用が、デオキシニバレノール (D O N) すなわちボミトキシンの有害作用を含む、請求項 1 9 に記載の方法。

【請求項 2 1】

前記有害作用が、T - 2 トキシンの有害作用を含む、請求項 1 9 に記載の方法。

30

【請求項 2 2】

ヒト以外の動物について、タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、1 つ以上の有害作用又は消化管における 1 つ以上の症状を治療又は予防する方法であって、前記治療又は予防を必要とする対象に対して治療上有効量の請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤を含む添加剤を含む動物用飼料を投与することを含む、方法。

【請求項 2 3】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、嘔吐を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 4】

40

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、下痢を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 5】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、消化管における炎症を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

【請求項 2 6】

タイプ A 及び / 又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、消化管における出血を含む、請求項 2 2 に記載の方法。

50

【請求項 27】

タイプ A 及びノ又はタイプ B トリコテセンによるトリコテセン中毒に関連する、前記 1 つ以上の有害作用又は消化管における症状が、消化管における壊死を含む、請求項 22 に記載の方法。

【請求項 28】

請求項 1 ~ 9 のいずれか 1 項に記載のマイコトキシン吸着剤の調製のためのプロセスであって、以下のステップを備えるプロセス。

- a) 材料 100 グラム当たり少なくとも 20 ミリ当量の陽イオン交換容量を備えたアルミノケイ酸塩を、前記アルミノケイ酸塩の 25% ~ 120% の割合の式 (I) のアルキルフェノールエトキシレート誘導体と、水性媒体中にて 15 ~ 85 の間の温度で 0.25 ~ 3 時間該水性媒体を攪拌しながら接触させるステップ、
- b) 濾過により分離するステップ、
- c) 40 ~ 150 の間の温度で乾燥させるステップ、及び、
- d) 100 ~ 325 盤の間のメッシュにより破碎又は粉碎するステップ

【請求項 29】

前記アルミノケイ酸塩が、材料 100 グラム当たり 55 ミリ当量の陽イオン交換容量を有する、請求項 28 に記載のプロセス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、タイプ A 及びタイプ B トリコテセンの、特にボミトキシン（すなわち、デオキシニバレノール）及び T - 2 トキシンの動物における有害効果を予防するための、配合飼料に用いられるマイコトキシン吸着剤に関する。さらに、本発明は、本発明のマイコトキシン吸着剤を調製するための事前混合物、前記マイコトキシン吸着剤を含む動物用配合飼料又は該動物用配合飼料の配合物のための添加剤、及び、トリコテセン中毒、特にタイプ A 及びノ又はタイプ B トリコテセン中毒、特にボミトキシン（すなわち、デオキシニバレノール）中毒及び T - 2 トキシン中毒に関連する、1 つ以上の有害作用又は消化管における症状を治療又は予防するための、動物用配合飼料用の添加剤の調製における前記マイコトキシン吸着剤の使用にも関する。

【背景技術】

【0002】

マイコトキシンは、菌類によって生成される低分子量の化学物質であり、人間や動物に病的な効果を生じさせる。多種多様な種類の菌類によって生成される何百ものマイコトキシンが存在しており、牧草地又は貯蔵サイロのいずれにおいても、それらは穀物や食料を汚染している。牧草地では、多くの場合に穀物が冒される菌類はフザリウム s p であり、フザリウム s p は、とりわけゼアラレノン、フモニシン及びトリコテセン（ボミトキシン、T - 2 トキシン、D A S）を生成する。

【0003】

特に、トリコテセンは、主にフザリウム属の菌類における様々な種（例えば、F. Sporotrichioides, F. graminearum, F. poae and F. culmorum）によって生成されるマイコトキシンであり、ミロセシウム、セファロスポリウム、トリコデルマ及びトリコセシウムなど他属の種によっても同様に生成されることがある。トリコテセンは、シルペノールの四環式の環による基本系の存在により化学的に特徴付けられる。

【0004】

化学的には、トリコテセンは、12, 13 - エポキシ - 9 - トリコテセンによる中核によって特徴付けられるセスキテルペン環を有し、該分子の 3、4、7、8 及び 15 位にヒドロキシル基又はアセトキシ基による様々な数の置換基を有する化合物である。通常、いくつかのトリコテセンは、単一のアセチル基によってのみ区別される。

【0005】

全部で 4 つのトリコテセン群が存在しているが、フザリウム属のみがタイプ A 及びタイ

10

20

30

40

50

プBのトリコテセンを生成する。家畜に関して、フザリウム属のトリコテセンが注目されていることを考慮すると、これら2つのグループは、主に興味深いものである。

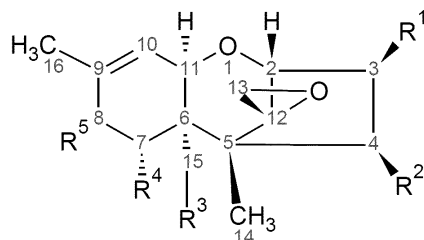
【0006】

タイプAトリコテセンの例としては、T-2トキシシ、HT-2トキシシ、ジアセトキシシルペノール(DAS)及びネオソラニオールが挙げられ、タイプBトリコテセンの最も重要なものとしては、ボミトキシシとして広く知られたデオキシニバレノール(DON)、及びニバレノールが挙げられる。

【0007】

トリコテセンの基本構造は式(I)に示され、グループA及びBを形成する該基本構造のための置換基は、以下の表1に列挙される。

【化1】



式(I) トリコテセンの基本構造

【0008】

【表1】

表1 グループA及びBのトリコテセン構造

トリコテセン	PM ^a	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵
タイプA						
ジアセトキシシルペノール(DAS)	366	OH	OAc	OAc	H	H
HT-2トキシシ(HT-2)	424	OH	OH	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
T-2トキシシ(T-2)	466	OH	OAc	OAc	H	OCOCH ₂ CH(CH ₃) ₂
ネオソラニオール(NEO)	382	OH	OAc	OAc	H	OH
タイプB						
デオキシニバレノール(DON)	296	OH	H	OH	OH	O
3-アセチルデオキシニバレノール (3-AcDON)	338	OAc	H	OH	OH	O
ニバレノール(NIV)	312	OH	OH	OH	OH	O
フザレノン-X(Fus-X)	354	OH	OAc	OH	OH	O
トリコテロン(TRI)	264	H	OH	H	H	O

^a 分子量(g/mol), R1-R5は式1に表されている。

【0009】

通常、トリコテセンは、動物に以下の有害作用を生じさせる：嘔吐、下痢、消化管における炎症、出血及び壊死。特に、このグループにおいて最も強力なマイコトキシシは、T-2トキシシ及びジアセトキシシルペノール(DAS)であり、これらのマイコトキシシにより引き起こされる鳥の口腔病変が特徴的である(図4参照)。これに対し、穀物及び配合飼料において最も頻繁に高濃度で見られる最も蔓延しているトリコテセンは、デオキシニバレノール(DON)すなわちボミトキシシである。ボミトキシシの名前は、動物に嘔吐させることや、飼料を戻させることに由来している。

【 0 0 1 0 】

動物用配合飼料内にトリコテセンが存在していると、飼料の消費量が減少することが観測されている。特に、ブタはトリコテセンの作用に対して非常に敏感である。

【 0 0 1 1 】

T - 2 トキシンの毒性作用とボミトキシシン (DON) の毒性作用との違いは、飼料消費量の観点からは広く知られていないが、両者の毒性は、それ以外の毒性作用の点では明確に異なっている。これらのトキシンの効果は、両方の場合において、齧歯動物及びブタの脳内のドーパミン、トリプトファン、セロトニンおよびセロトニン代謝産物のレベルが変化させられることに起因している (Prelusky et al, 1992)。

【 0 0 1 2 】

これらの物質の脳内濃度の変化は、それらが食欲抑制物質により生成されるのと同じように観測されている。このことは、動物用飼料の消費量の減少が、脳内の神経伝達物質レベルの変化に少なくとも部分的に起因していることを示唆している。将来的には、これらの毒性作用と末梢神経系との関係が発見されることも十分に考えられる。

【 0 0 1 3 】

これまでのことを考慮して、業者は、動物用飼料中のマイコトキシンの問題に対処するための最善の方法は、予防であると確信している。そのためには、穀物や飼料がこれらの毒素により汚染される可能性を低減するのに十分な穀物管理プログラムを実施するよう努めている。さらに、既に汚染されている穀物が貯蔵施設にまで到達することを防止するプログラムを実施する試みもなされている。

【 0 0 1 4 】

そのため、良質な穀物を得るために汚染された穀物を処理する様々な方法が調査され続けているが、これらの方法は全て、汚染を予防するには不十分であった。この点について、国際連合食糧農業機関 (FAO) によれば、世界の穀物の大部分はマイコトキシシンに汚染されており、そのような評価の理由は、まさに、今日まで業者において実施されてきたそのようなプログラムの失敗によるものである (Bhat and Vasanthi, 1999)。

【 0 0 1 5 】

動物用飼料のマイコトキシシン汚染の問題を解決するために提案される解決手段の 1 つには、マイコトキシシン吸着剤を使用することが挙げられる。マイコトキシシン吸着剤は、飼料の添加剤として利用され、いったん動物が汚染された飼料を消費した後、動物の胃腸管内の水性環境にあるときにマイコトキシシンを捕捉及び吸着することによって機能する。これらのマイコトキシシン吸着剤は、マイコトキシシンが動物により吸収されて動物の循環系に到達し、その結果有害作用を引き起こすことを防止する。

【 0 0 1 6 】

マイコトキシシン吸着剤として有機アルミノケイ酸塩を含むアルミノケイ酸塩、粘土及びゼオライトの使用が、広く知られた慣例であった (Phillips et al 1988, Kubena et al 1990)。

【 0 0 1 7 】

先行技術では、マイコトキシシン吸着剤に関する様々な文献が存在している。例えば、文献 DE 3 8 1 0 0 0 4 (1989) は、人間及び動物においてマイコトキシシンを結合するためのペントナイトの使用が開示されている。この文献は、ゼアラレノン、いくつかのトリコテセン (デオキシニパレノール及び T - 2 トキシシンなど)、オクラトキシシン及び PR トキシシンを結合するのに、ペントナイトが有効であることを開示している。

【 0 0 1 8 】

加えて、文献 WO 9 1 1 3 5 5 5 (1991) には、汚染された飼料中のマイコトキシシンを吸着する添加剤として使用するための、金属封鎖剤により被覆されている固体の乾燥した生分解性組成物が記載されている。前記組成物は、カルシウムモンモリロナイトのようなフィロケイ酸塩鉱物を含む。

【 0 0 1 9 】

S.L. Lemke, P.G. Grant, T.D. Phillipsによる文献 "Adsorption of Zearalenone by O

10

20

30

40

50

rganophilic Montmorillonite Clay (親有機性モンモリロナイト粘土によるゼアラレノンの吸着)" J Agric. Food Chem. (1998), pp. 3789-3796には、ゼアラレノンを吸着することが可能な有機修飾された(親有機性)モンモリロナイト粘土が記載されている。

【0020】

文献WO00/41806(2000)には、第四級オニウム化合物を含む有機修飾された層状ケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤が開示されている。このオニウム化合物は、少なくとも1つのアルキル基C10~C22と、芳香族置換基とを含み、層状ケイ酸塩の交換可能なカチオンの2~30%は、第四級オニウム化合物によって交換されている。

【0021】

加えて、本発明者らは、先行技術文献WO02052950(2002)において、長鎖第四級アミン、例えば、ジオクタデシルトリメチルアミン、オクタデシルトリメチルアミン、オクタデシルジメチルアミン及び類似の化合物により修飾された有機鉱物が記載されていることを発見した。この修飾された有機鉱物は、動物においてマイコトキシンを吸着するための飼料中における添加物として使用される。

【0022】

文献US20040028678(2004)には、アフラトキシン、オクラトキシン、フモニシン、ゼアラレノン、デオキシニバレノール、T-2トキシン及びエルゴタミンを吸着するための、酸により活性化される層状ケイ酸塩の使用が開示されている。

【0023】

文献US20080248155(2008)には、例えばT-2のようなマイコトキシンを吸着するためのスチブンサイトを含む組成物の使用が記載されている。

【0024】

文献US20100330235(2010)には、アモルファス及びドデシルアミン(脂肪族、直鎖状かつ非極性の、炭素12個の炭素鎖を有する第一級アミン)構造を備えた有機ケイ酸塩の組み合わせに基づく、アフラトキシン、ゼアラレノン、オクラトキシンA及びフモニシンB1のようなマイコトキシンの吸着剤が記載されている。

【0025】

近年では、他の解決策もまた、飼料のマイコトキシンによる汚染を除去するという問題を解決するために提案されている。例えば、文献US20120070516(2012)には、基本的に植物のリグノセルロース系バイオマス又は単離されたバイオマスの成分を用いることにより、デオキシニバレノール及びT-2トキシンのようなマイコトキシンに汚染された飼料の有害性を低減する方法が開示されている。本発明者らはまた、文献US20120219683(2012)において、飼料中の望ましくないマイコトキシンによる汚染を除去するための、デオキシニバレノール及びT-2トキシンのようなマイコトキシンを吸着する、粘土材料及び活性炭を含むマイコトキシン吸着剤が記載されていることを発見した。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0026】

しかしながら、従来技術に記載されたマイコトキシン吸着剤のいずれも、トリコテセンの生物学的利用能を減少させられていない。T-2トキシンの場合には、その生物学的利用能の減少は限られており、ボミトキシンの場合には、ゼロである。

【課題を解決するための手段】

【0027】

本出願において、本発明者らは、既知のマイコトキシン吸着剤においてボミトキシン(DON)及びノ又はT-2トキシンが効果的に吸着しないのは、主に、これらのトキシンの極性が高いことにより、ボミトキシン(DON)及びノ又はT-2トキシンの水性媒体との相互作用が、既知のマイコトキシン吸着剤の表面との相互作用よりも大きくなるためであると主張する。

【0028】

10

20

30

40

50

このような案はまた、非極性アルキル鎖を含む既知の有機アルミノケイ酸塩であって、これまでアフラトキシン以外のマイコトキシンを吸着するために使用されてきた有機アルミノケイ酸塩が、現にボミトキシンの吸着にはほとんど効果がないと証明されていることの理由を説明するのに役立つ。

【 0 0 2 9 】

したがって、本発明者らは、従来技術のいずれの文献も、マイコトキシんに汚染された飼料の汚染を除去することの問題を総合的に解決することができなかったこと、特に、トリコテセン、とりわけA及びBトリコテセンによる中毒に関連した、有害作用又は動物の消化管における症状を予防、低減又は排除すること、さらに具体的には、ボミトキシン及びT - 2トキシンによる中毒に関連した毒性作用を予防、低減又は排除することができな

10

【 0 0 3 0 】

本願の発明者らは、予想外なことに、高いボミトキシン吸着性及びT - 2トキシン吸着性を可能にするマイコトキシン吸着剤を発見した。該マイコトキシン吸着剤は、対象となるボミトキシンの吸着レベルが特に高いことを示すと同時に、アフラトキシン、オクラトキシンA、フモニシンB 1及びゼアラレノンのような他のマイコトキシンについても高い吸着率を維持していた。

【 0 0 3 1 】

本発明の第1の態様では、本発明は、マイコトキシンの、特にタイプA及びタイプBトリコテセンの、特にボミトキシン（すなわち、デオキシニバレノール）及びT - 2トキシンの動物における有害効果を予防するための、配合飼料に用いられるマイコトキシン吸着剤に関する。

20

【 0 0 3 2 】

別の態様では、本発明は、上記マイコトキシン吸着剤を調製するための事前混合物、本発明の上記マイコトキシン吸着剤を含む動物用配合飼料又は該動物用配合飼料の配合物のための添加剤に関する。

【 0 0 3 3 】

本発明はさらに、トリコテセン中毒、特にタイプA及びタイプBトリコテセン中毒、特にボミトキシン（すなわち、デオキシニバレノール）中毒及びT - 2トキシン中毒に関連する、1つ以上の有害作用又は消化管における症状を治療又は予防するための、配合飼料用の添加剤の調製及び動物用配合飼料の配合物の調製における上記マイコトキシン吸着剤の使用に関する。

30

【 0 0 3 4 】

本発明は、材料100g当たり少なくとも20ミリ当量の陽イオン交換容量に基づくアルミノケイ酸塩と、高極性鎖により官能化された有機化合物とを反応させることによる、トリコテセン吸着剤の調製プロセス、特にボミトキシン用のトリコテセン吸着剤の調製プロセスを提供する。特に、アルミノケイ酸塩の表面に結合するように四級化されたアルキルフェノールエトキシレートが用いられる。

【 0 0 3 5 】

さらに、本発明は、本発明の有機アルミノケイ酸塩の、マイコトキシんに汚染された飼料用の添加剤としてのアルミノケイ酸塩と併せての使用に関する。本発明はまた、動物におけるマイコトキシン症の問題を予防する動物用配合飼料を調製する方法についても目的とする。

40

【 0 0 3 6 】

本発明の有機アルミノケイ酸塩は、マイコトキシン吸着性を向上させてマイコトキシンが動物の糞と共に排泄されるようにするため、単独で又は既知のアルミノケイ酸塩と併せて、粒状又は粉末状のいずれかにおいて、汚染された飼料に添加されることにより用いられる。

【 発明の効果 】

【 0 0 3 7 】

50

したがって、本発明を実施することにより、汚染された飼料内のマイコトキシンが動物の消化管により吸収されることが防止される。これによって、実質的に動物の健康状態が改善されることとなり、動物の体重増加、及び、卵やミルクのような派生製品の生産性に反映される。

【図面の簡単な説明】

【0038】

【図1】図1は、ブタにおいてDONに対抗するために本発明のマイコトキシン吸着剤を用いて試験を行った23日後における体重の結果を表すグラフ表示である（異なる文字は、 $p < 0.05$ で統計的に異なっている）。

【図2】図2は、ブタにおいてDONに対抗するために本発明のマイコトキシン吸着剤を用いて試験を行った23日後の体重増加を示すグラフ表示である（異なる文字は、 $p < 0.05$ で統計的に異なっている）。

【図3】図3は、ニワトリにおいてT-2に対抗するために本発明のマイコトキシン吸着剤を生体内（in vivo）で用いて試験を行った28日後の体重を示すグラフ表示である（異なる文字は、 $p < 0.05$ で統計的に異なっている）。

【図4A】図4Aは、プロイラーニワトリにおけるT-2の作用が原因となる口腔病変を示す。

【図4B】図4Bは、プロイラーニワトリにおけるT-2の作用が原因となる口腔病変を示す。

【図5】図5は、ブタにおいてDONに対抗するために本発明のマイコトキシン吸着剤を用いて試験を行った23日後の体重を示すグラフ表示である（異なる文字は、 $p < 0.05$ で統計的に異なっている）。

【図6】図6は、ブタにおいてDONに対抗するために本発明のマイコトキシン吸着剤を用いて試験を行った23日後の体重増加を示すグラフ表示である（異なる文字は、 $p < 0.05$ で統計的に異なっている）。

【発明を実施するための形態】

【0039】

本発明は、アルミノケイ酸塩の表面が、マイコトキシンの吸着容量を増加するように修飾処理され得ることを基礎としている。処理工程は達成目標によるが、通常は、親水性と、疎水性すなわち親有機性との2つの主な表面特性の操作を含む（Lara et al 1998）。

【0040】

特に、本発明では、表面修飾は、表面が高極性を獲得するように、官能化された鎖を備えた有機化合物によって行われる。表面修飾に用いられる有機化合物は、アルミノケイ酸塩表面の活性部位の一部又は全部を占有し得る。

【0041】

用いられるアルミノケイ酸塩は、テクトケイ酸塩若しくはフィロケイ酸塩、又は両者の混合物であり得る。その場合には、用いられる材料は、材料100グラム当たり少なくとも20ミリ当量の陽イオン交換容量を有しており、好ましくは、材料100グラム当たり55ミリ当量の陽イオン交換容量を有している。

【0042】

有機化合物の選択は、マイコトキシン吸着剤において求められる特異性及び効率によるが、通常は、用いられる有機化合物は、アルキルフェノールエトキシレート誘導体である。この有機化合物は、用いられるアルミノケイ酸塩の陽イオン交換容量の25%～120%の割合で用いられる。反応は、水性媒体中にて15～85の間の温度で0.25～3時間該水性溶液を撹拌することによって行われる。生成物は濾過により分離され、40～150の間の温度で乾燥させられて、100～325盤の間のメッシュにより破砕又は粉碎される。

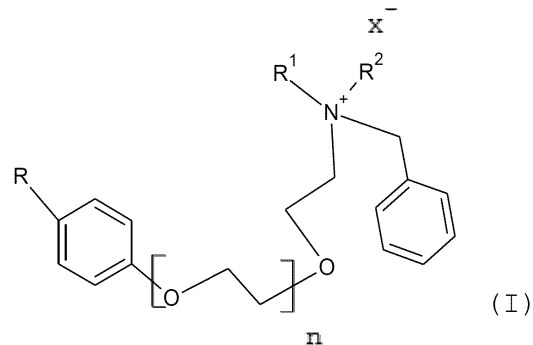
【0043】

本発明の添加物は、飼料の重量の0.025%～0.2%の比率でトリコテセンで汚染された飼料に添加される、低含有量の吸着剤である。

【 0 0 4 4 】

特に、一実施形態では、本発明は、以下の式（Ⅰ）のアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤に関する。

【 化 2 】



10

ここで、Rは1～22個の炭素原子を備えたアルキルを表し、Xはハロゲンであり、nは1～12であり得る。

【 0 0 4 5 】

別の実施形態では、本発明は、式（Ⅰ）のアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤であって、該アルミノケイ酸塩が、テクトケイ酸塩、フィロケイ酸塩又は両者の混合物であるマイコトキシン吸着剤に関する。

20

【 0 0 4 6 】

別の実施形態では、本発明は、式（Ⅰ）のアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤であって、Rが単鎖C₈アルキル基を表す、又はRが単鎖C₉アルキル基を表すマイコトキシン吸着剤に関する。

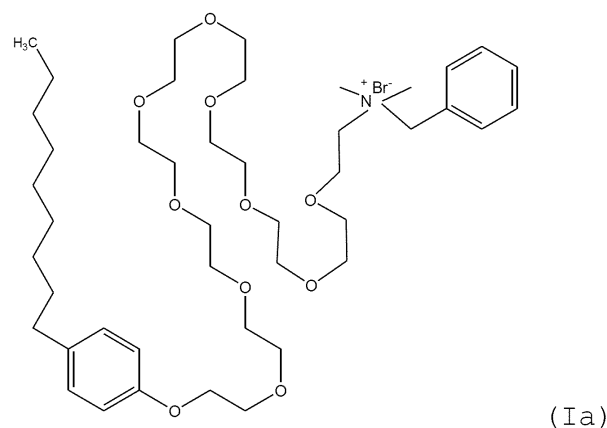
【 0 0 4 7 】

特に、別の実施形態では、本発明は、式（Ⅰ）のアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤であって、Xが臭素かつ/又はn=9であるマイコトキシン吸着剤に関する。別の実施形態では、Xは塩素であってもよい。

【 0 0 4 8 】

加えて、本発明のマイコトキシン吸着剤はまた、本発明は、以下の式（Ⅰa）を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩によっても構成される。

【 化 3 】



40

【 0 0 4 9 】

別の実施形態では、本発明のマイコトキシン吸着剤は、式（Ⅰ）又は（Ⅰa）を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩であって、材料100グラム当たり少なくとも20ミリ当量の陽イオン交換容量を有するアルミ

50

ノケイ酸塩を含む。

【0050】

本発明のマイコトキシン吸着剤はまた、式(I)又は(Ia)を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩であって、該アルキルフェノールエトキシレート誘導体が陽イオン交換容量の25%~120%の割合で用いられるアルミノケイ酸塩を含み得る。

【0051】

別の実施形態では、本発明のマイコトキシン吸着剤は、式(I)又は(Ia)を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩であって、材料100グラム当たり少なくとも20ミリ当量、好ましくは、材料100グラム当

10

【0052】

本発明はまた、式(I)又は(Ia)を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤であって、該アルキルフェノールエトキシレート誘導体が、該アルミノケイ酸塩の陽イオン交換容量の25%~120%の割合で用いられるマイコトキシン吸着剤にも関する。

【0053】

本発明の別の実施形態は、本発明のマイコトキシン吸着剤を含む動物用配合飼料用の添加剤、本発明のマイコトキシン吸着剤を調製するための事前混合物又は本発明に係る動物用配合飼料用の添加剤を調製するための事前混合物からなる。

20

【0054】

加えて、本発明は、本発明に係るマイコトキシン吸着剤を含む動物用配合飼料の配合物、及び、トリコテセン中毒に関連する1つ以上の有害作用又は消化管における症状を治療又は予防するための動物用配合飼料用の添加剤の調製における本発明のマイコトキシン吸着剤の使用に関する。

【0055】

本発明は、トリコテセン中毒に関連する、消化管における嘔吐、下痢、炎症、出血又は壊死のような、タイプA及び/又はタイプBトリコテセン中毒に関連する1つ以上の有害作用又は消化管における症状を治療又は予防するための動物用配合飼料用の添加剤の調製における、式(I)又は(Ia)を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体により有機修飾されたアルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤の使用を含む。

30

【0056】

本発明では、トリコテセン中毒に関連している1つ以上の有害作用又は消化管における1つ以上の症状は、ジアセトキシシルベノール(DAS)、HT-2トキシン(HT-2)、T-2トキシン(T-2)、ネオソラニオール(NEO)、デオキシニバレノール(DON)すなわちボミトキシン、3-アセチルデオキシニバレノール(3-AcDON)、ニバレノール(NIV)、フザレノン-X(Fus-X)、トリコテコロン(TRI)及びそれらの組み合わせを含む群から選択される。

【0057】

また、本発明のさらに別の実施形態は、動物におけるトリコテセン中毒に関連する1つ以上の有害作用又は消化管における症状を低減又は排除するための配合飼料の配合物の調製、特にタイプA及び/又はタイプBトリコテセン、より具体的にはデオキシニバレノール(すなわち、ボミトキシン)及びT-2トキシンの有害作用を低減又は排除するための配合飼料の配合物の調製における、本発明に関する動物用配合飼料の使用に関する。

40

【0058】

本発明はまた、トリコテセン中毒に関連する1つ以上の有害作用又は消化管における1つ以上の症状を治療又は予防するための動物用飼葉のための添加剤として使用するための本発明に関するマイコトキシン吸着剤であって、該動物用飼葉のための添加剤が、嘔吐、下痢、炎症、出血、壊死又は口腔病変を治療又は予防するためのものである、マイコトキシン吸着剤を含む。

50

【 0 0 5 9 】

本発明はさらに、以下のステップを備えたマイコトキシン吸着剤の調製のためのプロセスに関する。

- a) 材料 1 0 0 グラム当たり少なくとも 2 0 ミリ当量の陽イオン交換容量を備えたアルミノケイ酸塩を、水性媒体中にて 1 5 ~ 8 5 の間の温度で 0 . 2 5 ~ 3 時間該水性溶液を攪拌しながら、前記アルミノケイ酸塩の 2 5 % ~ 1 2 0 % の割合の式 (I) 又は (I a) のアルキルフェノールエトキシレート誘導体と接触させるステップ、
- b) 濾過により分離するステップ、
- c) 4 0 ~ 1 5 0 の間の温度で乾燥させるステップ、及び、
- d) 1 0 0 ~ 3 2 5 盤の間のメッシュにより破碎又は粉碎するステップ

10

【 0 0 6 0 】

以下の実施例は、本発明のマイコトキシン吸着剤を適用した際のボミトキシン及び T - 2 トキシンの吸着目標値が、特に高いことを示している。アルキルフェノールエトキシレート誘導体有機化合物を得る代替手段を含んでいるこれらの実施例や、マイコトキシン吸着剤の調製、及びその「生体内での (in vivo) 」評価は、限定するためではなく、例示の目的で提供されるものである。

【実施例】

【 0 0 6 1 】

実施例 1

アルキルフェノールエトキシレート誘導体の合成方法。

20

(トリフェニルホスフィンを用いた方法)

【 0 0 6 2 】

4 9 g を得るための原材料。

トリフェニルホスフィン 6 0 g

トリエチルアミン 2 1 m L

塩化メチレン 3 0 0 m L

臭素 1 2 m L

ノニルフェノールエトキシレート 1 0 モル、エチレンオキシド 5 0 g、塩化メチレン 5 0 m L に溶解。

ヘキサン - 酢酸エチル 1 : 1

30

エチルエーテル

ヘキサン

酢酸エチル

ベンジルジメチルアミン 1 0 . 7 m L

【 0 0 6 3 】

手順

1 . マグネチックスターラーを備えた 1 0 0 0 m L 丸底フラスコ中に、塩化メチレン 3 0 0 m L を加え、トリフェニルホスフィン 6 0 g 及びトリエチルアミン 2 1 m L を溶解させる。

2 . 上記混合物を、氷浴中で 0 に冷却する。

40

3 . 開放系の滴下漏斗を用いて、臭素 1 2 m L をゆっくりと添加する。

4 . 臭素を添加し終えたら、上記混合物を同じ温度で攪拌し続けて 1 0 分間反応させる。

5 . S u r f a c p o l 9 0 1 0 5 0 g を塩化メチレン 5 0 m L に溶解して、反応フラスコに添加する。

6 . さらに 3 0 分間反応させる。

7 . その後、氷浴から取り出し、さらに 2 時間攪拌することにより、反応を室温に到達させる。

8 . その後、多孔質ガラスの底部にシリカを詰めたブフナー漏斗で、上記反応混合物を濾過する。

9 . 濾液から溶媒を減圧下にて蒸発させ、残渣をヘキサン-酢酸エチル 1 : 1 混合液中に溶

50

解させて沈殿物（トリフェニルホスフィンオキシド）を生成し、該沈殿物を濾過処理により取り除く。

10．トリフェニルホスフィンオキシド沈殿物を生成している間、残渣をヘキサン-酢酸エチル混合液により再度洗浄する。

11．黄色の油状物をエチルエーテルで希釈し、ヘキサンを添加することにより二次残渣を結晶化して、最後に、多孔質ガラスの底部にシリカを詰めたブフナー漏斗を用いてこの液体をもう一度濾過する。

12．濾液を減圧下にて濃縮し、淡黄色の油状物質を47g得る。得られた該油状物質は、事前の精製を行うことなく、次の反応工程において直ちに使用される。

13．250mL丸底フラスコ中にて、Surfactopol 9010の臭化物47gをベンジルジメチルアミン10.7mLと混合して、攪拌する。

14．上記混合物を120℃で24時間加熱した後、室温に冷却する。

15．十分な塩化メチレンを加えて、シリカゲルフラッシュカラムで粗混合物を精製する。まず、塩化メチレン/メタノール20：1で溶出させて、無水メタノールを用いて、CH₂Cl₂/MeOH 2：1の溶出混合液が得られるまで極性を徐々に高めてゆく。

16．これにより、本発明のアルキルフェノールエトキシレート誘導体（以下「QUAT Q5」又は「Q5」）49gが、茶色の油状物質として、2段階での抽出効率75%で得られる。

【0064】

実施例2

アルキルフェノールエトキシレート誘導体の合成方法。

（三臭化リンを用いた方法）

【0065】

38gを得るための原材料。

ノニルフェノールエトキシレート 10モル、エチレンオキシド 50g

クロロホルム 100mL

三臭化リンPBr₃ 4mL

ジメチルベンジルアミン10mL

溶出用溶媒、ジクロロメタン及びメタノール

【0066】

手順

1．500mL丸底フラスコ中において、ノニルフェノールエトキシレート10の50gをクロロホルム150mLに溶解し、溶液を氷浴中で0℃にして、15分間攪拌する。

2．シリンジを用いてPBr₃ 4mLを添加し、上記混合物を同じ温度で1時間攪拌する。

3．室温で48時間攪拌し続ける。

4．溶媒を減圧下にて蒸発させる。

5．CH₂Cl₂/MeOH 15：1系を溶出液として用いたカラムクロマトグラフィーにより粗混合物を精製する。

6．得られた生成物を250mL丸底フラスコに移して、ジメチルベンジルアミン10mLを添加する。

7．上記混合物を120℃で24時間加熱した後、該混合物を室温に冷却する。

8．CH₂Cl₂/MeOH 15：1系を溶出液として用いたカラムクロマトグラフィーにより生成物を精製して、本発明のアルキルフェノールエトキシレート誘導体38g（抽出効率50%、以下「QUAT Q5」又は「Q5」）を得た。

【0067】

実施例3

本発明のマイコトキシン吸着剤の調製

【0068】

使用する原材料

- ・表 2 に示されるような表面処理に用いられる有機化合物の特性
- ・使用されるアルミノケイ酸塩基材は、陽イオン交換容量 $55 \text{ meq} / 100 \text{ g}$ のペントナイト型アルミノケイ酸塩である。

【 0 0 6 9 】

【表 2】

表 2 アルキルフェノールエトキシレート誘導体「QUAT Q5」又は「Q5」の特性

第四級	タイプ	構造	分子量	電荷
「QUAT Q5」 又は「Q5」	エトキシレート 界面活性剤	式 (I a) のアルキルフェノール エトキシレート誘導体	857	+1

10

【 0 0 7 0 】

配合

初期の実験計画は、アルミノシリケート基材の陽イオン交換容量 (CEC) の置換率に基づいて進められた。置換率は、CEC の 60 % ~ 120 % とされた。

【 0 0 7 1 】

配合物の実験的開発

【 0 0 7 2 】

材料及び設備

20

1. 実験室用ガラス器具
2. マグネチックスターラー
3. 乾燥器
4. 実験室用モータ又は破砕器
5. 200 メッシュ篩

【 0 0 7 3 】

手順

- ・交換手順は、先行技術 (S.L. Lemke, P.G. Grant and T.D. Phillips "Adsorption of Zearalenone by Organophilic Montmorillonite Clay (親有機性モンモリロナイト粘土によるゼアラレノンの吸着)" J Agric. Food Chem. (1998), pp. 3789-3796) に従い行う

30

- ・混合物を濾過する。
- ・乾燥器にて 105 °C 付近の温度で試料を乾燥させる。
- ・試料を破砕する。
- ・試料を 200 メッシュ篩にかける。
- ・試料を適宜分析する。

【 0 0 7 4 】

実施例 4

ボミトキシシン (すなわちデオキシニバレノール) を吸着するように設計された本発明のマイコトキシシン吸着剤のブタの生体内 (in vivo) での評価

40

【 0 0 7 5 】

本実施例では、マイコトキシシン吸着剤として、式 (I a) を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体で修飾されたアルミノケイ酸塩を用いる。このアルキルフェノールエトキシレート誘導体を、「QUAT 5」又は「Q5」と称する。

【 0 0 7 6 】

実施例 4 による結果の分析

この試験では、離乳直後の雌のブタ 18 匹を用いた。これらのブタを 6 匹ずつ 3 つの群に分けて、各々の動物を反復とみなした。それらの飼料を、表 4 に示されるものと認定した。

【 0 0 7 7 】

50

【表 4】

表 4 DONに対抗するための本発明のマイコトキシン吸着剤を生体内
(in vivo) で評価するための実験計画法

群	DON ppm	吸着剤	投与量 AD kg/T	ブタ／反復	反復	ブタの総数
1	0	NO	0	1	6	6
2	4.5	NO	0	1	6	6
3	4.5	Q5	1.5	1	6	6
計						18

10

【0078】

試験の23日後における体重の結果を、最終的な体重については図1に、累積した体重増加については図2に、グラフを用いて示す。

【0079】

図1及び2は、「QUAT 5」又は「Q5」が、動物をボミトキシン中毒から保護したことを明確に示している。トキシンの作用は、ボミトキシンのみを摂取した群に観測されていることから、陰性対照群からの統計的な差異が示されている。「QUAT 5」又は「Q5」生成物の効力は、陰性対照群と比較した体重の回復に関して計算することができる。したがって、試験生成物「QUAT 5」又は「Q5」は、動物を47.7%の比率で保護したことになる。

20

【0080】

実施例4の結論

上記結果に基づき、マイコトキシン吸着剤「QUAT 5」又は「Q5」は、動物におけるトリコテセン中毒に関連する1つ以上の有害作用又は消化管における症状を低減又は排除するのに役立つ生成物であり、特にタイプA及びノ又はタイプBトリコテセン、より具体的にはデオキシニパレノール（すなわち、ボミトキシン）の有害作用を低減又は排除するのに役立つ生成物であると結論づけることができる。

【0081】

実施例5

成長期のプロイラーニワトリ（生後1～28日）における、フザリウム スポロトリキオイデス（*Fusarium Sporotrichioides*）培養物より得られたT-2トキシン1.8ppmの有害作用に対抗するための本発明のマイコトキシン吸着剤の生体内（in vivo）での評価

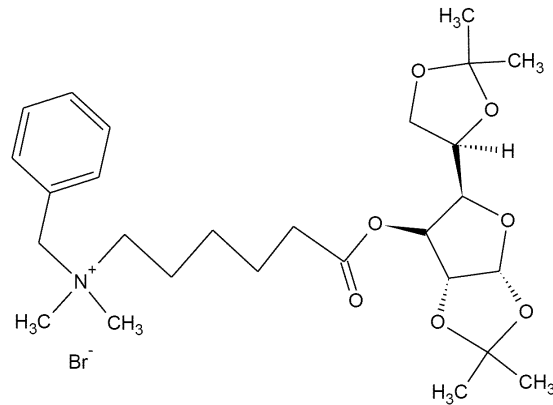
30

【0082】

本実施例では、前述の実施例において「QUAT 5」又は「Q5」と称した式（Ia）を有するアルキルフェノールエトキシレートの第四級アンモニウム誘導体により調製された有機アルミノケイ酸塩を含むマイコトキシン吸着剤を試験した。また、本発明者らは、グルコースの高極性鎖を備えた第四級アンモニウム誘導体により調製された有機アルミノケイ酸塩を含む別のマイコトキシン吸着剤についても評価した。この第四級アンモニウム誘導体を、以下「QUAT 3」又は「Q3」と称する。

40

【化 4】



「QUAT 3」 又は 「Q3」

10

【0083】

本実施例で使用した T2 トキシンは、フザリウム スポロトリキオイデス (*Fusarium Sporotrichioides*) 培養物から得られたものであり、使用した飼料は、ブロイラーニワトリ用の市販品であった。

【0084】

この試験では、生後 1 日のニワトリ 112 匹を用いて、これらを 4 つの処置群に分けた。各処置群は、各反復ごとに 7 匹のニワトリを備えた 4 つの反復からなる。表 5 は、これらの処置群の配分を示す。

20

【0085】

【表 5】

表 5 T2 トキシンに対抗するためのマイコトキシン吸着剤を生体内 (in vivo) で評価するための実験計画法

群	T2 トキシン ppm	吸着剤	投与量 AD Kg/T	ニワトリ ／反復	ニワトリの 総数	ニワトリの 飼料摂取量 Kg	トキシンの 総量 mg	吸着剤の 総量 g
0	NO	0	7	4	28	60.8	0	0
1.8	NO	0	7	4	28	60.8	109.4	0
1.8	QUAT 3	2	7	4	28	60.8	109.4	121.6
1.8	QUAT 5	2	7	4	28	60.8	109.4	121.6
				計	112	243	328	

30

【0086】

決定される応答変数

a. 成果変数又は成績変数

- ・毎週の体重
- ・毎週の飼料摂取量及びその総量
- ・毎週の飼料要求量及びその周期

40

b. 毒性病理学的変数

- ・死亡率
- ・口腔病変の観測

【0087】

試験終了時に、ニワトリ 8 匹、すなわち反復群毎に 2 匹を、以下の臓器の相対質量を測るために殺処分した：腎臓、肝臓及びファブリキウス嚢。

【0088】

実施例 5 の分析結果

試験の 28 日後における体重の結果を図 3 にグラフを用いて示すと共に、表 6 に体重増

50

加量及び飼料要求量も併せて示す。

【 0 0 8 9 】

【表 6】

表 6 初期体重、最終体重（28 日）、体重増加量、飼料要求量

処置群	体重 (g)		体重増加量	飼料要求量
	初期 中央値±標準誤差	最終 中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	43 ± 0.46 ^a	1556 ± 18.76 ^a	1513 ± 18.87 ^a	1.34 ± 0.017 ^a
T-2 トキシン陽性対照群	43 ± 0.43 ^a	1442 ± 29.49 ^b	1399 ± 29.46 ^b	1.45 ± 0.035 ^b
QUAT 3 投与群	43 ± 0.42 ^a	1446 ± 18.82 ^b	1403 ± 18.81 ^b	1.44 ± 0.020 ^b
QUAT 5 投与群	43 ± 0.42 ^a	1527 ± 18.81 ^a	1484 ± 18.75 ^a	1.42 ± 0.018 ^{ab}

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【 0 0 9 0 】

図 3 及び表 6 の両方に見られるように、陽性対照群と陰性対照群との間に最終的な体重及び体重増加の両方において統計的な差異が示されたことから、1.8 ppm レベルの T-2 トキシンの作用が動物において実際に観測された。また、「QUAT 5」又は「Q5」を備えた吸着剤は、対照群と比べてニワトリを最大 74.6% 保護し、陰性対照群との違いがなかったことから、この原型が実際に T-2 トキシンの毒性を低減することに成功したことが観測された。これに対し、「QUAT 3」又は「Q3」を備えた吸着剤が T-2 トキシンの 1.8 ppm に対してニワトリを保護しなかったことは、注意点として重要である。

【 0 0 9 1 】

また、動物に口腔病変があったことに加えて飼料摂取量の減少は T-2 トキシンの中毒の症状であるにもかかわらず、飼料摂取量が影響を受けなかったことも観測された。これらの作用は表 7 において見られる。表 7 はまた、色素であるキサントフィル中における T-2 トキシンの作用も示している。

【 0 0 9 2 】

【表 7】

表 7 飼料摂取量及び処置群の唾液におけるキサントフィル

処置群	飼料摂取量	キサントフィル (唾液) mg/L
	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	2028 ± 20.5 ^a	12.8 ± 0.47 ^a
T-2 トキシン陽性対照群	2035 ± 44.3 ^a	8.92 ± 0.70 ^b
QUAT 5 投与群	2101 ± 16.9 ^a	12.7 ± 0.56 ^a

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【 0 0 9 3 】

前述したように、T-2 トキシンの中毒の典型的な症状の 1 つとしてトリにおける口腔病変が挙げられるが、本試験ではこの口腔病変が実際に観測された。図 4 は、該トキシンの生じたトリの口腔病変を示す。

【 0 0 9 4 】

T-2 トキシンの生じた病変の程度の数値的評価を得るために、これらの病変を検査して以下の数値査定を割り当てた。病変なし：0。軽度の病変++：1。中度の病変+++：2。重度の病変++++：3。この査定系によれば、マイコトキシン吸着剤「QUAT

5」又は「Q5」を与えた群に病変が存在するにもかかわらず、それらの病変は陽性対照群よりも軽度であったことを、表8に示す。陰性対照群における病変は、粉末飼料の種類によるものであった。この階級付けによれば、「QUAT5」を備えたマイコトキシン吸着剤は部分的に保護したが、これらの病変は体重増加に大きく影響しなかったことになる。

【0095】

【表8】

表8 T2トキシン摂取後のニワトリに観測された口腔病変

処置群	21～28日後に口腔病変が認められたニワトリ		病変スコア値
	病変に冒されたニワトリ	病変の程度	
陰性対照群	5/24	1 (+++)	3
T-2トキシン陽性対照群	28/28	3 (+) 15 (++) 10 (+++)	63
QUAT5投与群	26/27	8 (+) 16 (++) 2 (+++)	46

【0096】

試験の最後に、T2トキシンの作用と該作用を減少させる上記原型の効力とを研究するために、殺処分したニワトリを様々な生物学的要因及び組織病理学的要因に基づいて評価した。これらの結果を包含する表であって、肝臓や腎臓などの臓器の大きさ、血液学的示度、ワクチン反応及び臓器の病理組織の測定を含む表を、以下に示す。

【0097】

【表9】

表9

処置群	肝臓の相対重量 (%)	腎臓の相対重量 (%)	脾臓の相対重量 (%)
	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	2.39 ± 0.068 ^a	0.799 ± 0.018 ^a	0.100 ± 0.006 ^a
T-2トキシン陽性対照群	2.57 ± 0.104 ^a	0.809 ± 0.032 ^a	0.094 ± 0.009 ^a
QUAT5投与群	2.53 ± 0.075 ^a	0.846 ± 0.024 ^a	0.098 ± 0.006 ^a

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【0098】

【表10】

表10

処置群	胸腺の相対重量 (%)	ファブリキウス囊の相対重量 (%)
	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	0.318 ± 0.013 ^a	0.254 ± 0.017 ^a
T-2トキシン陽性対照群	0.282 ± 0.020 ^a	0.248 ± 0.016 ^a
QUAT5投与群	0.328 ± 0.016 ^a	0.237 ± 0.013 ^a

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【0099】

【表 1 1】

表 1 1

処置群	白血球 $10^3/\mu\text{L}$	リンパ球 $10^3/\mu\text{L}$	細胞数の中央値 (単球、好塩基球及び 好酸球) $10^3/\mu\text{L}$	粒球 (分葉核好中球、桿状 核好中球) $10^3/\mu\text{L}$
	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	83.5 ± 5.06 ^a	72.1 ± 3.34 ^a	10.0 ± 1.55 ^a	1.4 ± 0.29 ^a
T-2 トキシン 陽性対照群	65.10 ± 4.07 ^b	58.4 ± 3.32 ^b	5.8 ± 0.76 ^a	0.9 ± 0.17 ^a
QUAT 5 投与群	75.1 ± 4.00 ^{ab}	66.2 ± 2.59 ^{ab}	7.6 ± 1.28 ^a	1.3 ± 0.42 ^a

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【0100】

【表 1 2】

表 1 2

処置群	赤血球 $10^6/\mu\text{L}$	ヘモグロビン g/dL	ヘマトクリット値 %	血小板 $10^3/\mu\text{L}$
	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	2.44 ± 0.06 ^a	12.3 ± 0.37 ^a	31.3 ± 0.83 ^a	28 ± 1.92 ^a
T-2 トキシン 陽性対照群	2.46 ± 0.12 ^a	12.1 ± 0.46 ^a	31.8 ± 1.56 ^a	31 ± 4.95 ^a
QUAT 5 投与群	2.34 ± 0.13 ^a	12.4 ± 0.27 ^a	30.4 ± 1.49 ^a	29 ± 3.22 ^a

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【0101】

【表 1 3】

表 1 3

処置群	灰分 %	リン %	カルシウム %	マンガン mg/kg	亜鉛 mg/kg
	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差	中央値±標準誤差
陰性対照群	52.45 ± 0.85 ^b	9.03 ± 0.15 ^b	19.11 ± 0.31 ^b	7.0 ± 0.17 ^a	239 ± 4.87 ^a
T-2 トキシン 陽性対照群	56.37 ± 0.32 ^a	9.72 ± 0.07 ^a	20.43 ± 0.19 ^a	6.7 ± 0.21 ^a	247 ± 4.37 ^a
QUAT 5 投与群	54.53 ± 0.34 ^a	9.13 ± 0.09 ^b	19.18 ± 0.15 ^b	6.6 ± 0.22 ^a	250 ± 4.95 ^a

異なる文字における中央値は、 $p < 0.05$ で統計的に有意である。

【0102】

10

20

30

40

【表 1 4】

表 1 4

処置群	ニューカッスル病の赤血球凝集抑制 (ワクチン接種から18日後) Log_2
	中央値±標準誤差
陰性対照群	9.207 ± 0.30 ^{ab}
T-2 トキシン陽性対照群	8.717 ± 0.29 ^b
QUAT 5 投与群	9.709 ± 0.29 ^a

10

【 0 1 0 3 】

病理組織

【 0 1 0 4 】

陰性対照群

【 0 1 0 5 】

前胃 (1 2) :

腺帯内にリンパ球のクラスターが観察された (1 / 1 2) 。

有意な変化なし (1 1 / 1 2) 。

20

【 0 1 0 6 】

肝臓 (1 2) :

有意な変化なし (1 1 / 1 2) 。

門脈域の周囲及び類洞の間にリンパ球のクラスターが観察された。 (1 / 1 2)

形態学的診断：軽度の多巣性リンパ球性肝炎。

【 0 1 0 7 】

脾臓、砂嚢、胸腺、舌、腎臓 (1 2) :

有意な変化なし (1 2 / 1 2) 。

【 0 1 0 8 】

ファブリキウス嚢 (1 2) :

30

有意な変化なし (1 1 / 1 2) 。

濾胞において巨細胞 (肉芽腫) (1 / 1 2) に囲まれた壊死中心が観察された。

形態学的診断：軽度の限局性の肉芽腫性滑液包炎 (細菌性の病因)。

コメント：マイコトキシンによる病変は観察されなかった。

【 0 1 0 9 】

陽性対照群

【 0 1 1 0 】

舌 (1 2) : 有意な変化なし (4 / 1 2) 。

上皮層上において、ケラチン残屑及び細菌コロニーが混ざった細胞残屑からなる高密度ブ
ラークが観察された。上記ブランクに隣接する粘膜下組織内において、壊死細胞残屑が混
ざったリンパ球及びマクロファージのクラスターが確認された (8 / 1 2) 。

40

形態学的診断：病巣内に細菌が存在するびらん性及び壊死性の口内炎及び舌炎。

【 0 1 1 1 】

喉頭 (1 2) : 有意な変化なし (4 / 1 2) 。

粘膜下組織内及び腺の周りにおいて、主にリンパ球からなる中度または重度の炎症性浸潤
が観察された (8 / 1 2) 。

形態学的診断：中度から重度のびまん性リンパ球性喉頭炎。

【 0 1 1 2 】

前胃 (1 2) : 有意な変化なし (1 1 / 1 2) 。

関連するリンパ系組織に中度の過形成が観察された (1 / 1 2) 。

50

【 0 1 1 3 】

肝臓（ 8 ）：門脈域の周囲及び柔組織内において、多巢性のリンパ球のクラスターが観察された（ 8 / 1 2 ）。併せて、髄外造血巣が観察された（ 1 / 1 2 ）。

形態学的診断：中度の多巢性リンパ球性肝炎。

肝細胞の細胞質内において、脂肪空胞の不足が確認された（ 3 / 1 2 ）。

形態学的診断：軽度から中度のびまん性脂肪症。

【 0 1 1 4 】

砂囊（ 1 2 ）：大量の細菌コロニー及び中度の偽好酸球浸潤が混ざった途切れのない潰瘍が確認された（ 7 / 1 2 ）。

形態学的診断：中度の多巢性潰瘍性脳室炎。

10

被覆領域において、びらんが少ないことが観察された（ 5 / 1 2 ）。

形態学的診断：限局性の多巢性びらん。

【 0 1 1 5 】

脾臓、胸腺（ 1 2 ）：有意な変化なし（ 1 2 / 1 2 ）。

【 0 1 1 6 】

腎臓（ 1 2 ）：細管の上皮細胞の変性及び壊死が観察された（ 4 / 1 2 ）。

いくつかの糸球体が、メサングウム細胞の増殖に起因する細胞であると共に内皮細胞の増殖による膜の肥厚に起因する細胞であるように見られることが観察された（ 4 / 1 2 ）。

間質腔内にリンパ球のクラスターが観察された（ 4 / 1 2 ）。

形態学的診断：中度の多巢性リンパ球性間質性腎炎を伴う中度のびまん性の膜性増殖性糸球体症。

20

【 0 1 1 7 】

「 Q U A T 5 」又は「 Q 5 」投与群

【 0 1 1 8 】

舌（ 1 2 ）：有意な変化なし（ 6 / 1 2 ）。

上皮層上において、ケラチン残屑及び細菌コロニーが混ざった細胞残屑からなる高密度ブラックが観察された。上記ブラックに隣接する粘膜下組織内において、壊死細胞残屑が混ざったリンパ球及びマクロファージのクラスターが確認された（ 6 / 1 2 ）。

形態学的診断：病巣内に細菌が存在するびらん性及び壊死性の口内炎及び舌炎。

【 0 1 1 9 】

喉頭（ 1 2 ）：有意な変化なし（ 6 / 1 2 ）。

粘膜下組織内及び腺の周りにおいて、主にリンパ球からなる中度または重度の炎症性浸潤が観察された（ 6 / 1 2 ）。

形態学的診断：中度から重度のびまん性リンパ球性喉頭炎。

30

【 0 1 2 0 】

前胃（ 1 2 ）：有意な変化なし（ 1 1 / 1 2 ）。

腺帯内に関連するリンパ球のクラスターが観察された（ 1 / 1 2 ）。

【 0 1 2 1 】

肝臓（ 1 2 ）：有意な変化なし（ 5 / 1 2 ）。

門脈域の周囲及び柔組織内において、多巢性のリンパ球のクラスターが観察された（ 2 / 1 2 ）。

40

形態学的診断：中度の多巢性リンパ球性肝炎。

細胞質内に脂肪空胞の不足が確認され、間質域内に空腔（浮腫）が観察された（ 5 / 1 2 ）。

形態学的診断：軽度のびまん性脂肪症。

【 0 1 2 2 】

砂囊（ 1 2 ）：大量の細菌コロニー及び中度の偽好酸球浸潤が混ざった途切れのない潰瘍が確認された（ 4 / 1 2 ）。

形態学的診断：中度の多巢性潰瘍性脳室炎。

被覆領域において、びらんが少ないことが観察された（ 8 / 1 2 ）。

50

形態学的診断：限局性の多巣性びらん。

【0123】

実施例5の結論

実施例5により、飼料中のT2トキシン1.8ppmが、体重増加に有意な効果があったことから、プロイラーニワトリの成果要因に影響したことが実証された。

【0124】

示された結果によれば、「QUAT 5」を備えたマイコトキシン吸着剤は、T2トキシン1.8ppmの毒性作用からニワトリを保護するのに効果的であったと結論付けられる。これに対し、「QUAT 3」を備えた吸着剤は、保護作用を何ら示さなかった。

【0125】

したがって、「QUAT 5」を備えたマイコトキシン吸着剤の配合物は、ボミトキシンの吸着剤に適切であるだけでなく、T2トキシン及び一般的なトリコセンの吸着剤にも適切であると結論付けられる。

【0126】

上記を鑑みると、本発明の特定の実施形態は例示の目的で本明細書に記載されているが、これらの種々の改変は、本発明の本質及び範囲から逸脱することなく行われ得ることが理解される。したがって、本発明は、以下の特許請求の範囲に列挙されている事項を除いて、いかなる制限を受ける対象にもならない。

【0127】

実施例6

ボミトキシン（すなわちデオキシニバレノール）に対抗するように設計された本発明のマイコトキシン吸着剤のブタの「生体内（in vivo）」での評価

【0128】

式（Ia）を有するアルキルフェノールエトキシレート誘導体を備えた有機修飾アルミノケイ酸塩であるマイコトキシン吸着剤の効力を評価するために、別の試験をブタにおいて行った。以下、このアルキルフェノールエトキシレート誘導体を「QUAT 5」と称する。これは、実施例4において報告された良好な挙動を検証することを目的とする。

【0129】

実施例6による結果の分析

この試験では、離乳直後の雌のブタ24匹を用いて、これらのブタを6匹ずつ4つの群に分けて、各々の動物を反復とみなした。それらの飼料を、表15に示されるものと認定した。この場合には、欧州共同体により推奨される最大量（900ppb）に近い値にすることを目的として、ボミトキシン2500ppbの汚染のみを用いた。

【0130】

【表15】

表15 DONに対抗するためのマイコトキシン吸着剤を生体内（in vivo）で評価するための実験計画法

群	ID	DON ppm	吸着剤	投与量 AD kg/T	ブタ ／反復	反復	ブタの 総数	ブタの 飼料摂取量 Kg	マイコトキ シン mg	吸着剤の 総量 g
1	陰性対照群	0	NO	0	1	6	6	6	0	0
2	陽性対照群	4.5	NO	0	1	6	6	6	225	0
3	Q5処方群	4.5	Q5	1.5	1	6	6	6	225	136

【0131】

試験の23日後における体重の結果を、最終的な体重については図5に、累積した体重増加については図6に、グラフを用いて示す。

【0132】

図 5 及び 6 は、吸着剤「Q U A T 5」がボミトキシシ 2 5 0 0 p p b に対して 7 4 . 1 % の保護を提供することについて、明確に示している。

【 0 1 3 3 】

結論

得られた結果によれば、マイコトキシシ吸着剤「Q U A T 5」は、D O N 2 5 0 0 p p b による汚染の際に、動物の摂取量及び体重の有意な回復を提供することが示された。体重に基づく保護率は、7 4 . 1 % と測定された。

【 図 1 】

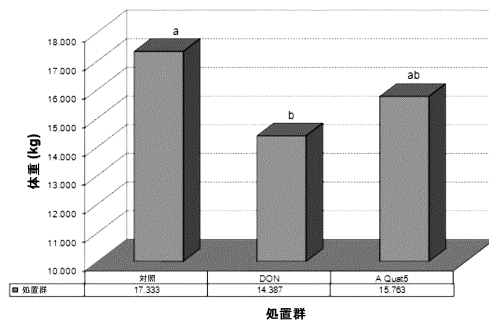


Fig. 1

【 図 2 】

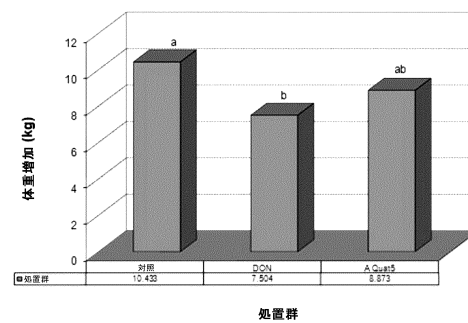


Fig. 2

【図 3】

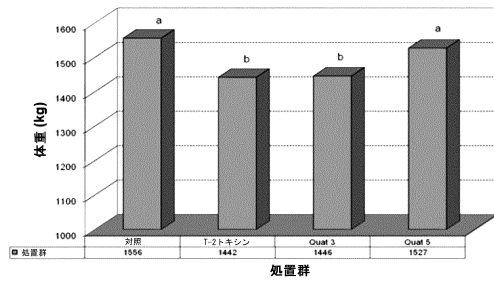


Fig. 3

【図 4 A】



Fig. 4a

【図 4 B】



Fig. 4b

【図 5】

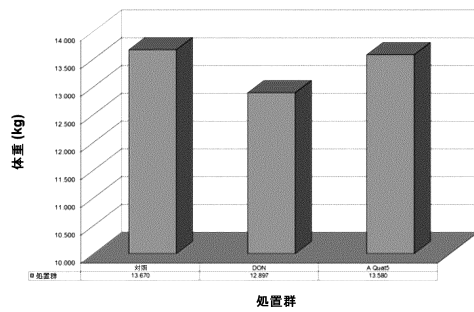


Fig. 5

【図 6】

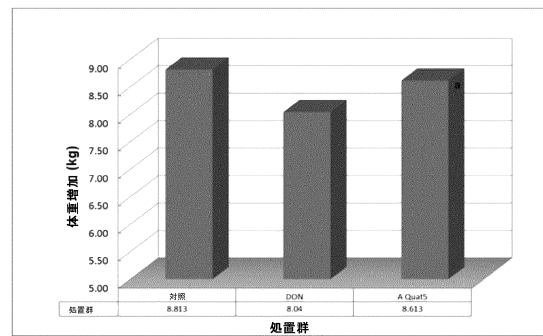


Fig. 6

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I	
A 6 1 P	1/08	(2006.01)	A 6 1 P	1/08
A 6 1 P	1/12	(2006.01)	A 6 1 P	1/12
A 6 1 P	7/04	(2006.01)	A 6 1 P	7/04
A 6 1 P	29/00	(2006.01)	A 6 1 P	29/00
A 6 1 K	31/357	(2006.01)	A 6 1 K	31/357
A 2 3 K	20/111	(2016.01)	A 2 3 K	20/111
A 2 3 K	20/28	(2016.01)	A 2 3 K	20/28
A 2 3 K	50/30	(2016.01)	A 2 3 K	50/30
A 2 3 K	50/75	(2016.01)	A 2 3 K	50/75

- (72)発明者 ララ アレジャーノ, ハビエル アルマンド
メキシコ プエブラ 75760 テワカン, フラクシオナミエント レフォルマ, カジェ ポン
シアノ アリアガ 2606
- (72)発明者 ロメロ マルティネス デル ソブラル, ミゲル アンヘル
メキシコ プエブラ 75700 テワカン, コル. セントロ, 7 ノルテ ヌメロ 416
- (72)発明者 ガルシア ロサス, イルランダ ベロニカ
メキシコ プエブラ 75700 テワカン, コル. セントロ, カジェホン ニコラス ブラボ
ヌメロ 13
- (72)発明者 フィエロ ウエスカ, ホセ アントニオ
メキシコ プエブラ 75740 テワカン, パセオ サン ペドロ, カジェ 13 ノルテ
625 - ベー

審査官 石井 裕美子

- (56)参考文献 特開2007-174926(JP, A)
米国特許出願公開第2012/183588(US, A1)
SANG-MO KOH, JOE BORIS DIXON, PREPARATION AND APPLICATION OF ORGANO-MINERALS AS SORBENTS OF PHENOL, BENZENE AND TOLUENE, APPLIED CLAY SCIENCE, 2001年 3月, VOL.18, ISSUE 3-4, PP. 111-122
STEFAN DULTZ, JONG-HYOK AN, BEATE RIEBE, ORGANIC CATION EXCHANGE MONTMORILLONITE AND VERMICULITE AS ADSORBENTS FOR Cr(VI): EFFECT OF LAYER CHARGE ON ADSORPTION PROPERTIES, APPLIED CLAY SCIENCE, 2012年10月, VOL. 67-68, PP. 125-133

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A 6 1 K 31/00 - 33/44
A 2 3 K 10/00 - 50/90
A 2 3 L 11/00 - 11/30
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)
CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)