

農薬評価書

ピラスルホトール

2008年11月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会農業専門調査会専門委員名簿	3
○ 要約	5
I. 評価対象農薬の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 開発の経緯	6
II. 安全性に係る試験の概要	7
1. 動物体内運命試験	7
(1) 動物体内運命試験（ラット、高用量）	7
① 血中濃度推移	7
② 排泄	7
③ 体内分布	8
④ 代謝物同定・定量	8
(2) 動物体内運命試験（ラット、低用量）	9
① 排泄試験	9
② 体内分布	9
③ 代謝物同定・定量	10
(3) 動物体内運命試験（ヤギ）	10
① 乳汁への排泄及び可食部における残留量	10
② 可食部中の代謝物同定・定量	11
2. 植物体内運命試験	12
(1) 小麦	12
(2) 葉害軽減剤の影響試験	13
3. 土壌中運命試験	14
(1) 好氣的土壌中運命試験	14
(2) 嫌氣的土壌中運命試験	14
4. 水中運命試験	15
(1) 加水分解試験	15

(2) 水中光分解試験	16
5. 土壌残留試験	16
6. 作物残留試験	16
7. 家畜残留試験	17
8. 一般薬理試験	18
9. 急性毒性試験	18
(1) 急性毒性試験	18
(2) 急性神経毒性試験	18
10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験	19
11. 亜急性毒性試験	19
(1) 90日間亜急性毒性試験(ラット)	19
(2) 90日間亜急性毒性試験(マウス)	20
(3) 90日間亜急性毒性試験(イヌ)	21
(4) 90日間亜急性神経毒性試験(ラット)	21
(5) 90日間亜急性毒性試験(代謝物M5、ラット)	22
12. 慢性毒性試験及び発がん性試験	22
(1) 1年間慢性毒性試験(イヌ)	22
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験(ラット)	23
(3) 18カ月間発がん性試験(マウス)	24
13. 生殖発生毒性試験	25
(1) 2世代繁殖試験(ラット)	25
(2) 発生毒性試験(ラット)	27
(3) 発生毒性試験(ウサギ)	28
(4) 発達神経毒性試験(ラット)	28
(5) 発生毒性試験(代謝物M5、ラット)	29
14. 遺伝毒性試験	30
15. その他の試験	30
(1) チロシン給餌による血中チロシン濃度と眼毒性の動物種差・性差	30
(2) チロシン代謝におけるHPLA産生能の動物種差	31
(3) ラットにおける特定臓器に及ぼすチロシン血症の影響	32
(4) チロシン血症下でのラット胎児発育に対する影響	32
III. 食品健康影響評価	33
・ 別紙1: 代謝物/分解物略称	36
・ 別紙2: 検査値等略称	37
・ 参照	38

<審議の経緯>

- 2007年 8月 17日 インポートトレランス申請 (小麦、大麦等)  
2007年 8月 28日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価  
について要請 (厚生労働省発食安第 0828003 号)、関係書  
類の接受 (参照 1~50)  
2007年 8月 30日 第 204 回食品安全委員会 (要請事項説明) (参照 51)  
2008年 5月 9日 第 15 回農薬専門調査会確認評価第一部会 (参照 52)  
2008年 9月 30日 第 43 回農薬専門調査会幹事会 (参照 53)  
2008年 10月 16日 第 258 回食品安全委員会 (報告)  
2008年 10月 16日 より 11月 14日 国民からの御意見・情報の募集  
2008年 11月 19日 農薬専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告  
2008年 11月 20日 第 263 回食品安全委員会 (報告)  
(同日付け厚生労働大臣へ通知)

<食品安全委員会委員名簿>

見上 彪 (委員長)  
小泉直子 (委員長代理)  
長尾 拓  
野村一正  
畑江敬子  
廣瀬雅雄  
本間清一

<食品安全委員会農薬専門調査会専門委員名簿>

(2008年3月31日まで)

鈴木勝士 (座長)	三枝順三	布柴達男
林 真 (座長代理)	佐々木有	根岸友恵
赤池昭紀	代田真理子	平塚 明
石井康雄	高木篤也	藤本成明
泉 啓介	玉井郁巳	細川正清
上路雅子	田村廣人	松本清司
白井健二	津田修治	柳井徳磨
江馬 眞	津田洋幸	山崎浩史
大澤貫寿	出川雅邦	山手丈至
太田敏博	長尾哲二	與語靖洋
大谷 浩	中澤憲一	吉田 緑
小澤正吾	納屋聖人	若栗 忍
小林裕子	西川秋佳	

(2008年4月1日から)

鈴木勝士 (座長)  
林 真 (座長代理)  
相磯成敏  
赤池昭紀  
石井康雄  
泉 啓介  
今井田克己  
上路雅子  
臼井健二  
太田敏博  
大谷 浩  
小澤正吾  
川合是彰  
小林裕子

佐々木有  
代田眞理子  
高木篤也  
玉井郁巳  
田村廣人  
津田修治  
津田洋幸  
長尾哲二  
中澤憲一  
永田 清  
納屋聖人  
西川秋佳  
布柴達男  
根岸友恵

根本信雄  
平塚 明  
藤本成明  
細川正清  
堀本政夫  
松本清司  
本間正充  
柳井徳磨  
山崎浩史  
山手丈至  
與語靖洋  
吉田 緑  
若栗 忍

## 要 約

広葉雑草用除草剤「ピラスルホトール」(CAS No.365400-11-9) について、各種試験成績等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、動物体内運命(ラット及びヤギ)、植物体内運命(小麦)、土壌中運命、水中運命、土壌残留、作物残留、家畜残留、急性毒性(ラット)、亜急性毒性(ラット、マウス及びイヌ)、慢性毒性(イヌ)、慢性毒性/発がん性併合(ラット)、発がん性(マウス)、2世代繁殖(ラット)、発生毒性(ラット及びウサギ)、遺伝毒性試験等である。

試験結果から、ピラスルホトール投与による影響は、主に角膜及び尿路系に認められた。神経毒性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。発がん性試験では、ラットで角膜に扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌、マウスで膀胱に移行上皮乳頭腫及び移行上皮細胞癌、前立腺部尿道に移行上皮細胞癌が低頻度に発生したが、いずれも発生機序は遺伝毒性メカニズムとは考え難く、評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各試験で得られた無毒性量の最小値は、ラットを用いた2年間慢性毒性/発がん性併合試験の1.0 mg/kg 体重/日であったので、これを根拠として、安全係数100で除した0.01 mg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

## I. 評価対象農薬の概要

### 1. 用途

除草剤

### 2. 有効成分の一般名

和名：ピラスルホトール

英名：pyrasulfotole (ISO 名)

### 3. 化学名

IUPAC

和名：(5-ヒドロキシ-1,3-ジメチルピラゾール-4-イル)( $\alpha,\alpha,\alpha$ -トリフルオロ-2-メシル-*p*-トリル)メタノン

英名：(5-hydroxy-1,3-dimethylpyrazole-4-yl)( $\alpha,\alpha,\alpha$ -trifluoro-2-mesyl-*p*-tolyl)methanone

CAS (No.365400-11-9)

和名：(5-ヒドロキシ-1,3-ジメチル-1*H*-ピラゾール-4-イル)[2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル]メタノン

英名：(5-hydroxy-1,3-dimethyl-1*H*pyrazol-4-yl)[2-(methylsulfonyl)-4-(trifluoromethyl)phenyl]methanone

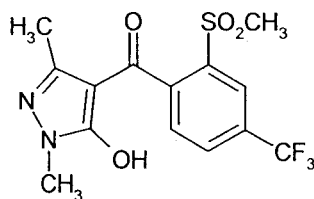
### 4. 分子式

$C_{14}H_{13}F_3N_2O_4S$

### 5. 分子量

362.3

### 6. 構造式



### 7. 開発の経緯

ピラスルホトールは、バイエルクロップサイエンス株式会社により開発された麦類の広葉雑草用除草剤である。作用機構は、植物体のプラストキノン合成経路に関与する 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (4-HPPDase) の阻害である。我が国での農薬登録申請はないが、海外では米国、カナダ及び豪州において登録されている。今回、バイエルクロップサイエンス株式会社からインポートトランス申請 (小麦、大麦等) がなされている。

## II. 安全性に係る試験の概要

各種運命試験[II. 1~4]は、ピラスルホトールのフェニル基の炭素を  $^{14}\text{C}$  で均一に標識したもの ([phe- $^{14}\text{C}$ ]ピラスルホトール) 及びピラゾール環の 3 位の炭素を  $^{14}\text{C}$  で標識したもの ([pyr- $^{14}\text{C}$ ]ピラスルホトール) を用いて実施された。放射能濃度及び代謝物濃度は、特に断りがない場合はピラスルホトールに換算した。代謝物/分解物略称及び検査値等略称は別紙 1 及び 2 に示されている。

### 1. 動物体内運命試験

#### (1) 動物体内運命試験 (ラット、高用量)

##### ① 血中濃度推移

Wistar ラット (一群雌雄各 3 匹) に、[phe- $^{14}\text{C}$ ]ピラスルホトールを高用量 (100 mg/kg 体重) で単回経口投与し、血中濃度推移について検討された。

血中放射能濃度推移は表 1 に示されている。

血中放射能の最高濃度到達時間 ( $T_{\max}$ ) は 0.5 時間、消失半減期 ( $T_{1/2}$ ) は 4.2 ~ 6.3 時間と短く、放射能の初期消失は速やかであった。雌雄いずれにおいても、血中放射能濃度は投与 1 時間後には最高濃度 ( $C_{\max}$ ) の約 1/2 に減少した。(参照 2)

表 1 血中放射能濃度推移

パラメーター	雄	雌
$T_{\max}$ (時間)	0.5	0.5
$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	75.5	56.8
$T_{1/2}$ (時間)	4.24	6.28

##### ② 排泄

Wistar ラット (一群雌雄各 3 匹) に、[phe- $^{14}\text{C}$ ]ピラスルホトールを高用量で単回経口投与し、排泄試験が実施された。

尿及び糞中排泄率は表 2 に示されている。

雌雄いずれにおいても、投与後 72 時間で投与放射能はほぼ完全に尿及び糞中に排泄された。主要排泄経路は尿中であり、投与後 72 時間における尿中排泄量は、雄で総投与放射能 (TAR) の約 75%、雌で約 85%TAR、糞中排泄量は雄で約 12%TAR、雌で約 8%TAR であった。尿及び糞中排泄はいずれも速やかで、大部分が投与後 24 時間で排泄された。呼気への排泄は認められなかった。投与 72 時間後の臓器及び組織中における残留放射能は 0.4%TAR 未満であった。(参照 2)



表 2 尿及び糞中排泄率 (%TAR)

試料		雄	雌
投与後 24 時間	尿	69.5	79.5
	糞	11.1	7.0
投与後 72 時間	尿	74.7	84.4
	糞	11.6	8.0

### ③ 体内分布

Wistar ラット（一群雌雄各 3 匹）に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを高用量で単回経口投与し、体内分布試験が実施された。

主要組織における残留放射能濃度は表 3 に示されている。

投与 72 時間後の臓器及び組織中残留放射能濃度は低く、血液（心臓）、血漿（心血）、脳、脂肪、精巣、卵巣及び筋肉から放射能は検出されなかった。放射能の体内分布は雌雄で類似し、残留放射能濃度は雌雄とも肝臓で最も高く（1.34～1.59 µg/g）、次いで腎臓で高かった（0.42～0.84 µg/g）。（参照 2）

表 3 主要組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与量	標識体	性別	投与 72 時間後
高用量	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	雄	肝臓 (1.34)、腎臓 (0.42)、胃腸管 (0.23)、カーカス (0.22)
		雌	肝臓 (1.59)、腎臓 (0.84)、カーカス (0.31)、胃腸管 (0.23)

### ④ 代謝物同定・定量

排泄試験[1.(1)②]において投与後 48 時間で得られた尿及び投与後 24 時間に得られた糞を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中代謝物は表 4 に示されている。

尿及び糞中放射能の主要成分は親化合物であり、雌雄いずれにおいても 99%TAR 以上を占めた。代謝物として M1（脱メチル）、M4（ヒドロキシメチル）及び M5（カルボン酸）が少量検出された。（参照 2）

表 4 尿及び糞中の代謝物 (%TAR)

投与量	標識体	性別	試料	親化合物	代謝物
高用量	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	雄	尿	72.8	M1 (1.3)、M4 (0.2)、M5 (0.2)
			糞	9.5	M1 (0.8)、M5 (0.5)、M4 (0.2)
			ケージ洗浄液	17.1	M1 (0.4)
			合計	99.4	M1 (2.5)、M5 (0.7)、M4 (0.4)
		雌	尿	83.3	M1 (0.8)
			糞	6.3	M5 (0.4)、M1 (0.3)、M4 (0.1)
			ケージ洗浄液	9.7	M1 (0.3)
			合計	99.3	M1 (1.3)、M5 (0.4) M4 (0.1)

## (2) 動物体内運命試験 (ラット、低用量)

### ① 排泄

Wistar ラット (一群雄 5 匹) に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールまたは[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを、低用量 (10 mg/kg 体重) で単回経口投与または静脈内投与し、排泄試験が実施された。

尿及び糞中排泄率は表 5 に示されている。

標識体及び投与経路によらず、投与後 48 時間で投与放射能はほぼ完全に尿及び糞中に排泄された。主要排泄経路は尿中であり、投与後 48 時間における尿中排泄量は経口投与で 73~75%TAR、静脈内投与で約 87~91%TAR、糞中排泄量は経口投与で約 31~32%TAR、静脈内投与で約 8~10%TAR であった。尿及び糞中排泄はいずれも速やかであり、尿では投与後 6 時間、糞では投与後 24 時間で大部分が排泄された。呼気への排泄は認められなかった。投与 48 時間後の臓器及び組織またはカーカス中における残留放射能は 1.0%TAR 以下であった。(参照 3)

表 5 尿及び糞中排泄率 (%TAR)

試料		経口投与		静脈内投与	
		[phe- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	[pyr- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	[phe- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	[pyr- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール
投与後 6 時間	尿	62.4	56.8	82.7	84.1
投与後 24 時間	糞	30.0	31.1	9.6	7.4
投与後 48 時間	尿	73.0	75.0	86.7	90.7
	糞	31.2	31.9	10.4	8.0

### ② 体内分布

Wistar ラット (一群雄 5 匹) に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールまたは[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを、低用量で単回経口投与または静脈内投与し、体内分布試験が実施された。

主要組織における残留放射能濃度は表 6 に示されている。

投与 48 時間後 ([phe-<sup>14</sup>C]標識体の経口投与群のみ 52 時間後) の臓器及び組織中残留放射能濃度は 2%TAR 以下であった。いずれの投与群においても、残留放射能濃度は肝臓で最も高く (1.54~1.79 µg/g)、次いで腎臓で高かった (0.33~0.41 µg/g) が、その他の臓器・組織における濃度は 0.2 µg/g 未満であった。(参照 3)

表 6 主要組織における残留放射能濃度 (µg/g)

投与群	標識体	投与 48 時間後
経口 投与 <sup>a</sup>	[phe- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	肝臓(1.77)、腎臓(0.33)、その他はすべて 0.2 µg/g 未満
	[pyr- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	肝臓(1.79)、腎臓(0.41)、その他はすべて 0.2 µg/g 未満
静脈内 投与	[phe- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	肝臓(1.54)、腎臓(0.35)、その他はすべて 0.2 µg/g 未満
	[pyr- <sup>14</sup> C]ピラ スルホトール	肝臓(1.66)、腎臓(0.35)、その他はすべて 0.2 µg/g 未満

a : [phe-<sup>14</sup>C]標識体の経口投与群のみ、投与 52 時間後にと殺

### ③ 代謝物同定・定量

排泄試験[1.(2)①]において投与後 48～52 時間で得られた尿及び投与後 24 時間に得られた糞を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

尿及び糞中代謝物は表 7 に示されている。

いずれの投与経路においても、尿及び糞中放射能の主要成分は親化合物であり、約 87～95%TAR を占めた。代謝物として、M1 が経口投与で約 8%TAR、静脈内投与で約 6%TAR と親化合物に次いで多く認められた。その他に M4 及び M5 ([phe-<sup>14</sup>C]標識体のみ) が少量検出された。糞中における親化合物の割合は、経口投与群の方が静脈内投与群に比して高かったが、これは未吸収の割合が高かったためと考えられた。(参照 3)

表 7 尿及び糞中の代謝物 (%TAR)

投与群	標識体	試料	親化合物	代謝物
経口投与	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	尿	66.7	M1 (4.4)、M4 (1.4)、M5 (0.6)
		糞	22.9	M1 (3.7)、M5 (0.9)、M4 (0.6)
		合計	89.7	M1 (8.1)、M4 (2.0)、M5 (1.4)
	[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	尿	67.9	M1 (4.5)、M4 (1.4)
		糞	27.4	M1 (3.6)、M4 (0.9)
		合計	95.4	M1 (8.0)、M4 (2.3)
静脈内投与	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	尿	80.9	M1 (3.7)、M5 (1.1)、M4 (1.0)
		糞	5.84	M1 (2.7)、M4 (0.5)、M5 (0.4)
		合計	86.7	M1 (6.4)、M4 (1.5)、M5 (1.4)
	[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	尿	85.5	M1 (4.1)、M4 (1.1)
		糞	4.48	M1 (2.2)、M4 (0.3)
		合計	90.0	M1 (6.2)、M4 (1.4)

### (3) 動物体内運命試験 (ヤギ)

#### ① 乳汁への排泄及び可食部における残留量

Saanen 種泌乳期ヤギ(一群 2 頭)に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを 0.93 mg/kg 体重/日、または[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを 1.24 mg/kg 体重/日の用量で 3 日間カプセル経口投与し、動物体内運命試験が実施された。乳汁試料は投与後毎日 2 回採取し、午後に採取した試料と翌日の午前に採取した試料を混合した。最終投与 23 時間後にと殺し、筋肉、脂肪、腎臓及び肝臓試料を採取した。

乳汁及び可食部における残留放射能濃度は表 8 に示されている。

いずれの標識体投与群においても、乳汁中では、投与直後に少量の放射能が検出され (0.016～0.039 µg/g)、その濃度は 3 日間の連続投与でもほとんど変化しなかった。可食部については、と殺時の肝臓から最高濃度の放射能が検出され (約 1.5～1.7 µg/g)、次いで腎臓における残留濃度が高かった (約 0.3～0.5 µg/g)。筋

肉及び脂肪における残留濃度は低かった (0.007~0.011 µg/g)。(参照 4、5)

表 8 乳汁及び可食部における残留放射能濃度

試料	投与日数	残留値 (µg/g)	
		[phe- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール
乳汁	1	0.016	0.039
	2	0.017	0.031
	3	0.017	0.044
筋肉	3	0.011	0.007
脂肪	3	0.010	0.008
腎臓	3	0.533	0.269
肝臓	3	1.48	1.72

② 可食部中の代謝物同定・定量

前述の試験[1.(3)①]で得られた乳汁、筋肉、腎臓及び肝臓を試料として、代謝物同定・定量試験が実施された。

各試料中の代謝物は表 9 に示されている。

いずれの標識体投与群においても、乳汁及び可食部中の総残留放射能 (TRR) の主要成分は親化合物であった。

[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトール投与群では、乳汁中に M1 及び M4 が、筋肉中に M4 が認められた。肝臓及び腎臓から代謝物は検出されなかった。脂肪からの抽出放射能量は微量であったことから、代謝物は同定されなかった。

[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトール投与群では、乳汁中に未同定物質 3 成分が認められ、肝臓からは M1 及び未同定物質 1 成分が認められた。脂肪及び筋肉からの抽出放射能量は微量であったことから、代謝物の同定は実施されなかった。腎臓では、抽出液から親化合物が同定されたが、その他の成分は検出されなかった。(参照 4、5)

表 9 乳汁、筋肉、腎臓及び肝臓中の代謝物 (%TRR)

標識体	試料	親化合物	代謝物
[phe- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	乳汁	82.7	M1 (11.7)、M4 (4.4)
	筋肉	80.2	M4 (8.3)
	腎臓	99.6	—
	肝臓	95.5	—
[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスルホトール	乳汁	38.3	未同定物質 3 成分合計 (29.4)
	腎臓	92.4	—
	肝臓	93.3	M1 (1.4)、未同定物質 (1.7)

—: 検出されず

## 2. 植物体内運命試験

### (1) 小麦

春蒔き小麦（品種：Triso）の分けつ期に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラズルホトールまたは [pyr-<sup>14</sup>C]ピラズルホトールを 100 g ai/ha（通常量）の用量で散布処理し、植物体内運命試験が実施された。試料として、処理直後（処理溶液が乾いた後）、処理 27 または 28 日後及び 49 または 50 日後に茎葉部を、処理 89 または 90 日後に麦わら及び玄麦を採取した。

散布処理後の小麦試料における総残留放射能濃度及び代謝物は表 10 に示されている。

[phe-<sup>14</sup>C]ピラズルホトールを散布した小麦試料中の残留放射能は、処理直後に 25%TRR が洗浄液から、74%TRR が抽出液から回収された。処理 28 日から 90 日後の茎葉部からは洗浄による放射能の回収はなく、83~89%TRR が有機溶媒により抽出された。処理 90 日後に収穫した玄麦中からは 95%TRR が抽出された。

[pyr-<sup>14</sup>C]ピラズルホトールを散布した小麦の場合は、散布直後は洗浄液から 22%TRR が回収され、77%TRR が有機溶媒で抽出された。処理 27 日後の茎葉部からは 82%TRR が抽出されたが、その後は残留放射能の抽出率は低下し、89 日後のわらでは 52%TRR が抽出された。処理 89 日後に収穫した玄麦中からは 23%TRR が抽出された。

いずれの標識体処理区においても、処理後残留放射能濃度は経時的に減少し、親化合物は処理直後の試料のみから検出された。代謝物としては、[phe-<sup>14</sup>C]ピラズルホトール処理区から M5 及び M2 が、[pyr-<sup>14</sup>C]ピラズルホトール処理区から M2 が検出された。

主要代謝経路は、①脱メチル化による M1 の生成、その後のグルコースとの抱合化による M2 の生成、②ピラゾール環-カルボニル結合の開裂による M5 の生成であると考えられた。（参照 6、7）

表 10 散布処理後の小麦試料における総残留放射能濃度及び代謝物

標識体	[phe- <sup>14</sup> C]ピラズルホトール					[pyr- <sup>14</sup> C]ピラズルホトール				
	0日	28日	50日	90日		0日	27日	49日	89日	
試料	茎葉部			わら	玄麦	茎葉部			わら	玄麦
総残留放射能濃度 (mg/kg)	11.0	0.44	0.18	0.55	0.30	11.5	0.47	0.06	0.38	0.03
ピラズルホトール (%TRR)	84.8	ND	ND	ND	ND	86.2	ND	ND	ND	ND
M2 (%TRR)	0.8	34.2	10.4	5.1	-	0.9	43.4	25.4	21.7	0.7
M5 (%TRR)	11.5	26.1	61.8	66.0	89.5	/	/	/	/	/
未抽出残留物 (%TRR)	1.1	1.6	11.5	1.7	4.8	1.1	1.8	34.8	4.1	20.0

ND：検出されず

## (2) 薬害軽減剤の影響試験

ピラスルホトールは、薬害軽減剤であるメフェンピルジエチルとの混合剤での使用が計画されているため、本試験は、薬害軽減剤の存在下での代謝を調べることを目的として実施された。

春蒔き小麦（品種：Triso）の分けつ期に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトール（110 g ai/ha）と非標識のメフェンピルジエチルを1.6対1の割合で混合して散布処理し、植物体内運命試験が実施された。試料として、処理直後（処理溶液が乾いた後）、処理 21 日に青刈り茎葉部を、処理 44 日後に飼料用茎葉部を、処理 79 日後に麦わら及び玄麦を採取した。

散布処理後の小麦試料における総残留放射能濃度及び代謝物は表 11 に示されている。

小麦試料中の総残留放射能濃度および同定された代謝物の種類には、いずれの時点においても薬害軽減剤添加による影響は認められなかったが、茎葉部における親化合物及び M2 及び M5 の残留値には、薬害軽減剤の添加区で低下が認められた。

玄麦から親化合物は検出されず、玄麦における唯一の成分は代謝物 M5 であった。茎葉部及びわらにおける同定された主要残留成分は親化合物、代謝物 M2 及び M5 であり、日数が経過するに従い M5 の割合が増加した。

主要代謝経路は、①脱メチルによる M1 の生成、その後のグルコースとの抱合化による M2 の生成、②M1 のグルタチオン抱合を経由した M3 の生成、③ピラゾール環-カルボニル結合の開裂による M5 の生成であると考えられた。（参照 8）

表 11 散布処理後の小麦試料における総残留放射能濃度及び代謝物

処理後日数		21 日		44 日		79 日			
試料		青刈り茎葉部		飼料用茎葉部		わら		玄麦	
薬害軽減剤の有無		有	無	有	無	有	無	有	無
総残留放射能濃度	mg/kg	2.40	2.44	3.14	3.12	2.90	2.80	0.16	0.24
	%TRR	7.3	28.7	4.4	12.1	4.6	7.5	ND	ND
M2	mg/kg	1.04	0.74	1.16	0.80	0.81	0.55	ND	ND
	%TRR	43.5	30.2	36.7	25.7	27.9	19.6	ND	ND
M3	mg/kg	0.19	0.0	0.28	0.17	0.28	0.16	ND	ND
	%TRR	7.8	3.8	8.9	5.4	9.6	5.7	ND	ND
M5	mg/kg	0.39	0.49	0.78	1.06	0.88	1.04	0.15	0.23
	%TRR	16.3	20.1	24.9	33.6	30.5	37.2	97.6	97.7
未抽出残留物	mg/kg	0.06	0.08	0.16	0.21	0.19	0.22	0.004	0.005
	%TRR	2.5	3.5	5.2	6.7	6.4	7.7	2.4	2.3

ND：検出されず

### 3. 土壤中運命試験

#### (1) 好氣的土壤中運命試験

[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールまたは[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを、壤質砂土（米国ノースカロライナ州）、シルト質壤土（米国ノースダコタ州）及び砂壤土（ドイツモンハイム）に、0.13～0.14 mg/kg となるように添加し、25℃の暗条件下で最長 358 日間インキュベートし、好氣的土壤中運命試験が実施された。

好氣的土壤における放射能分布は表 12 に示されている。

いずれの土壤においても、親化合物は試験終了時には総処理放射能（TAR）の 17～25%までに減少した。抽出放射能は経時的に減少し、試験終了時には 19～39%TAR となった。それに伴い、未抽出（結合性）残留物が 30～62%TAR に達し、CO<sub>2</sub> が 16～41%TAR に達した。揮発性有機物はほとんど生成されなかった。いずれの土壤においても、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトール処理区では分解物 M5 が同定され、その量は壤質砂土で最大 12.2%TAR（処理 7 日後）、シルト質壤土で最大 3.8%TAR（処理 30 日後）、砂壤土で最大 8.9%TAR（処理 14 日後）であった。

未抽出残留物を腐植の画分化法に従い分画したところ、壤質砂土及び砂壤土ではフルボ酸画分に、シルト質壤土ではヒューミン画分に最も多くの放射能が分画された。

好氣的土壤における主要分解物は CO<sub>2</sub> 及び M5 であり、主要分解経路は、ピラゾール環の開裂による M5 の生成であると考えられた。ピラスルホトールの推定半減期は、壤質砂土で 11 日、シルト質壤土で 72 日、砂壤土で 32 日と算出された。（参照 9～11）

表 12 好氣的土壤における放射能分布（%TAR）

土壤	壤質砂土 (処理 358 日後)		シルト質壤土 (処理 358 日後)		砂壤土 (処理 120 日後)	
	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	[phe- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール	[pyr- <sup>14</sup> C] ピラスル ホトール
総抽出放射能	38.5	36.2	29.3	26.6	23.3	19.0
ピラスルホトール	20.2	22.8	24.9	22	18.9	17.3
M5	4.2		1		2.3	
未同定物質合計	14.1	13.3	3.5	4.6	2.1	1.7
CO <sub>2</sub>	17.3	18.6	40.5	33.5	16.3	18.0
揮発性有機物	0.2	0.3	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1
未抽出残留物	43.2	44.8	30.1	30.7	60.1	62.1

#### (2) 嫌氣的土壤中運命試験

[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールまたは[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを、壤質砂土（米国ノースカロライナ州）に 0.07 mg/kg となるように添加し、好氣的条件で 30 日間静置した。好氣的条件 30 日後に湛水して嫌氣的条件とし、20℃の暗条件下で

120 日間インキュベートして嫌氣的土壤中運命試験が実施された。

嫌氣的土壤における放射能分布は表 13 に示されている。

ピラスルホトールは、好氣的条件下では処理 30 日後に 66~68%TAR まで減少したが、その後嫌氣的条件としてからはほとんど分解せず、嫌氣的条件 120 日後においても 62~64%TAR 残存していた。嫌氣的条件下ではピラスルホトールの分解はほとんど進行せず、嫌氣的条件下に特有の分解物は認められなかった。好氣的条件下で生成した分解物として M5 が同定されたが、M5 も嫌氣的条件下ではほとんど分解せず、試験期間を通じてその量はほぼ一定であった。推定半減期は >120 日と算出された。(参照 12)

表 13 嫌氣的土壤における放射能分布 (%TAR)

標識体		[phe- <sup>14</sup> C]ピラスルホトール			[pyr- <sup>14</sup> C]ピラスルホトール		
		好氣的条件	嫌氣的条件		好氣的条件	嫌氣的条件	
培養条件		好氣的条件	嫌氣的条件		好氣的条件	嫌氣的条件	
経過日数		0 日	0 日 <sup>1)</sup>	120 日	0 日	0 日 <sup>1)</sup>	120 日
総抽出放射能	水	NA	4.4	13.0	NA	3.1	7.2
	土壤	99.2	74.5	62.8	98.0	62.8	55.0
	計	99.2	78.8	75.8	98.0	65.9	62.2
ピラスルホトール	水	NA	2.4	7.6	NA	3.1	7.2
	土壤	97.3	66.0	56.5	93.5	62.8	55.0
	計	97.3	68.4	64.1	93.5	65.9	62.2
M5	水	NA	1.6	4.1	/	/	/
	土壤	NA	7.7	5.1			
	計	NA	9.3	9.1			
未同定物質合計	水	NA	0.3	1.3	/	/	/
	土壤	NA	0.8	1.2			
	計	NA	1.1	2.6			
CO <sub>2</sub>		0.0	1.3	2.2	0.0	5.5	6.6
揮発性有機物		0.0	0.0	0.1	0.0	0.0	0.1
未抽出残留物		0.8	18.1	22.5	2.0	23.8	24.9

<sup>1)</sup> : 好氣的条件 30 日後、NA : 分析せず

#### 4. 水中運命試験

##### (1) 加水分解試験

pH 5 (酢酸緩衝液)、pH 7 (トリス緩衝液) 及び pH 9 (ホウ酸緩衝液) の各滅菌緩衝液に、[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを 0.14 µg/mL となるように添加した後、25°C の暗条件下で 30 日間インキュベートして加水分解試験が実施された。

pH 5~9 の各緩衝液中で、ピラスルホトールは 30 日間の試験期間中ほとんど分解せず、加水分解に対して安定であった。2%TAR を超える分解物は認められなかった。(参照 13)



## (2) 水中光分解試験

pH 7 の滅菌リン酸緩衝液に、[phe-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールまたは[pyr-<sup>14</sup>C]ピラスルホトールを 1 µg/mL となるように添加した後、25℃で 9 日間キセノン光 (光強度: 680 W/m<sup>2</sup>、波長: 300~800 nm) を照射して水中光分解試験が実施された。

ピラスルホトールは水中光分解を受けなかった。(参照 14)

## 5. 土壌残留試験

土壌残留試験については、参照した資料に記載がなかった。

## 6. 作物残留試験

小麦、大麦及びえん麦を用いて、ピラスルホトール、代謝物 M1 及び M5 を分析対象化合物とした作物残留試験が、米国及びカナダにおいて実施された。

結果は表 14 に示されている。なお、代謝物 M5 については、各国における評価において毒性の懸念がなく、食品及び飼料における規制対象とする必要がないと評価されていることから、分析結果を省略した。

小麦及び大麦におけるピラスルホトール及び M1 の残留値は、すべて定量限界未満 (<0.01 mg/kg) であった。えん麦からはピラスルホトール及び M1 が、それぞれ最大 0.13 及び 0.09 mg/kg 検出された。ピラスルホトールと M1 の合計の最大値は 0.2 mg/kg であった。(参照 15)

表 14 作物残留試験成績

作物名 分析部位 実施年	例数	使用量 (g ai/ha)	回数 (回)	PHI (日)	残留値 (mg/kg)					
					ピラスルホトール		M1		合計	
					最高値	平均値	最高値	平均値	最高値	平均値
小麦 (玄麦) 2004-2005年	80	37~51 <sup>EC</sup>	1	40~69	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
小麦 (玄麦) 2004-2005年	76	49~53 <sup>SE</sup>	1	40~69	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
大麦 (種子) 2004-2005年	80	35~80 <sup>EC</sup>	1	34~70	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
大麦 (種子) 2004-2005年	60	48~102 <sup>SE</sup>	1	34~70	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.02	<0.02
えん麦 (種子) 2004-2005年	64	35~40 <sup>EC</sup>	1	24~65	0.13	0.02*	0.09	0.01*	0.20	<0.03*
えん麦 (種子) 2004-2005年	66	41~52 <sup>SE</sup>	1	24~65	0.09	0.02*	0.08	0.01*	0.17	<0.03*

注) EC: 乳剤、SE: サスポエマルジョン製剤

- ・一部に定量限界未満を含むデータの平均を計算する場合は、定量限界値を検出したものとして計算し、\*印を付した。
- ・すべてのデータが定量限界未満の場合は定量限界値の平均に<を付して記載した。

## 7. 家畜残留試験

乳牛（処理群各 3 頭、無処理群 1 頭）に、ピラスルホトールを飼料中濃度 3、9 及び 30 ppm に相当する用量で 29 日間カプセル経口投与し、投与開始 0、1、3、7、10、14、17、21、24、26 及び 28 日後に乳汁試料を、29 日後に筋肉、脂肪、腎臓及び肝臓試料を採取して残留試験が実施された。なお、泌乳ヤギを用いた代謝試験において、10%を超える代謝物が検出されなかったことから、分析対象化合物はピラスルホトールのみとした。

乳汁中残留放射能濃度の経時的推移は表 15 に、臓器・組織中残留放射能濃度は表 16 に示されている。

乳汁からは 30 ppm 投与群でのみピラスルホトールが検出され、最大残留値は投与開始 3 日後の 0.013 mg/kg であった。9 ppm 投与群ではすべての試料で定量限界未満 (<0.005 mg/kg) であった。

筋肉ではすべての試料で定量限界未満 (<0.010 mg/kg) であった。

脂肪では 30 ppm 投与群でのみピラスルホトールが検出され、最大残留値は 0.014 mg/kg であった。9 ppm 以下投与群の試料ではすべて定量限界未満 (<0.010 mg/kg) であった。

腎臓及び肝臓からはいずれの投与群でもピラスルホトールが検出され、最大残留値はそれぞれ 0.414 及び 1.94 mg/kg であった。（参照 16）

表 15 乳汁中残留放射能濃度の経時的推移

投与日数	9 ppm 投与群		30 ppm 投与群	
	残留値 (mg/kg)		残留値 (mg/kg)	
	最大値	平均値	最大値	平均値
0	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005
1	<0.005	<0.005	0.011	0.007
3	<0.005	<0.005	0.013	0.011
7	<0.005	<0.005	0.011	0.010
10	<0.005	<0.005	0.012	0.010
14	<0.005	<0.005	0.011	0.009
17	<0.005	<0.005	0.012	0.009
21	<0.005	<0.005	0.012	0.011
24	<0.005	<0.005	0.011	0.009
26	<0.005	<0.005	0.011	0.010
28	<0.005	<0.005	0.012	0.010

表 16 臓器・組織中残留放射能濃度

臓器・組織	投与量	残留値 (mg/kg)	
		最大値	平均値
筋肉	3 ppm	<0.010	<0.010
	9 ppm	<0.010	<0.010
	30 ppm	<0.010	<0.010
脂肪	3 ppm	<0.010	<0.010
	9 ppm	<0.010	<0.010
	30 ppm	0.014	0.011
腎臓	3 ppm	0.222	0.198
	9 ppm	0.424	0.263
	30 ppm	0.414	0.391
肝臓	3 ppm	1.23	1.15
	9 ppm	1.59	1.29
	30 ppm	1.94	1.79

## 8. 一般薬理試験

一般薬理試験については、参照した資料に記載がなかった。

## 9. 急性毒性試験

### (1) 急性毒性試験

ピラスルホトール原体及び代謝物 M5 を用いた急性毒性試験が実施された。結果は表 17 に示されている。(参照 17~20)

表 17 急性毒性試験概要 (原体及び代謝物)

被験物質	投与経路	動物種	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)		観察された症状
			雄	雌	
原体	経口	Wistar ラット 雌 3 匹	/		症状及び死亡例なし
	経皮	Wistar ラット 雌雄各 5 匹			>2,000
	吸入	Wistar ラット 雌雄各 5 匹	LC <sub>50</sub> (mg/L)		粗毛、立毛 死亡例なし
			>5.03	>5.03	
M5 (代謝物)	経口	SD ラット 雌雄各 5 匹	>5,000	>5,000	呼吸困難、立毛、流涎、 運動性低下、粗毛 死亡例なし

### (2) 急性神経毒性試験

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた強制経口 (原体 : 0、200、500 及び 2,000 mg/kg 体重) 投与による急性神経毒性試験が実施された。

2,000 mg/kg 体重投与群の雌雄において、投与日に自発運動量及び移動運動量の減少が認められた。しかし、神経毒性を疑わせるその他の臨床症状や神経組織の形態学的な変化はみられなかったことから、運動量の減少については神経毒性

作用を示唆するものではないと考えられた。

本試験において、2,000 mg/kg 体重投与群の雌雄に運動量減少が認められたので、無毒性量は雌雄ともに 500 mg/kg 体重と考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 21)

## 10. 眼・皮膚に対する刺激性及び皮膚感作性試験

NZW ウサギを用いた眼刺激性試験及び皮膚刺激性試験が実施された。その結果、ウサギの眼に対して軽度の刺激性が認められたが、皮膚に対する刺激性は認められなかった。(参照 22、23)

Hartley モルモットを用いた皮膚感作性試験 (Maximization 法) が実施され、結果は陰性であった。(参照 24)

## 11. 亜急性毒性試験

### (1) 90 日間亜急性毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 10 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、2、30、1,000、7,000 及び 12,000 ppm : 平均検体摂取量は表 18 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 18 90 日間亜急性毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		2	30	1,000	7,000	12,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	0.13	1.96	66	454	830 <sup>a</sup>
	雌	0.15	2.32	77	537	956

a : 試験 10 週まで

各投与群で認められた毒性所見は表 19 に示されている。

12,000 ppm 投与群の雄において、試験 10 週までに 10 例中 6 例に死亡または切迫殺がみられたため、試験 72 日に同群の残りの動物すべてがと殺された。これらの動物には尿路系器官に共通した異常が認められ、腎盂及び膀胱内に黄色の砂状内容物が結石を伴って存在した。これに関連して、腎臓退色、腎盂拡張、膀胱膨化が観察され、さらに数例に肝腫大が認められた。7,000 ppm 投与群の雄では、10 例中 3 例が死亡または切迫殺された。このうち 2 例の尿路系器官には 12,000 ppm 投与群と同様の所見が認められた。他 1 例の切迫殺は口腔の血腫に起因したもので、投与との関連は示唆されなかった。12,000 ppm 投与群の雌 1 例に切迫殺がみられたが、外表の汚れ及び削瘦以外の所見は認められなかった。

1,000 ppm 以上投与群の雄及び 7,000 ppm 以上投与群の雌において、黄色尿及びこれによる局所の汚れが観察されたが、これは本検体が尿中に析出したことに起因するものと考えられた。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雌雄に尿 pH 低下等が認められたの

で、無毒性量は雌雄とも 30 ppm（雄：1.96 mg/kg 体重/日、雌：2.32 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 25）

表 19 90 日間亜急性毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
12,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡または切迫殺（6 例）</li> <li>（試験 72 日に残り 4 例と殺）</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・切迫殺（1 例）</li> <li>・T.Chol 増加</li> <li>・尿中上皮細胞増加</li> <li>・胸腺絶対及び比重量<sup>1</sup>、対脳重量比<sup>2</sup>減少</li> </ul>
7,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡または切迫殺（3 例）</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・尿潜血反応陽性</li> <li>・尿中白血球増加</li> <li>・尿中赤血球、上皮細胞増加傾向</li> <li>・角膜混濁（スノーフレーク様）</li> <li>・腎絶対及び比重量、対脳重量比増加</li> <li>・尿路系黄色砂状内容物</li> <li>・尿路系上皮過形成</li> <li>・腎乳頭部拡張</li> <li>・腎尿細管拡張</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・尿潜血反応陽性</li> <li>・尿中赤血球、白血球、上皮細胞増加傾向</li> <li>・腎比重量、対脳重量比増加</li> <li>・尿路系黄色砂状内容物</li> <li>・尿路系上皮過形成</li> <li>・腎乳頭部拡張</li> <li>・門脈周囲肝細胞空胞化</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・T.Chol、TG 増加</li> <li>・尿 pH 低下</li> <li>・尿ケトン体増加傾向</li> <li>・肝絶対及び比重量、対脳重量比増加</li> <li>・小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・甲状腺ろ胞細胞肥大</li> <li>・甲状腺コロイド減少</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・尿 pH 低下</li> <li>・尿ケトン体増加</li> <li>・角膜混濁（スノーフレーク様）</li> <li>・肝比重量、対脳重量比増加</li> </ul>
30 ppm 以下	毒性所見なし	毒性所見なし

## （2）90 日間亜急性毒性試験（マウス）

C57BL マウス（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、100、750、1,500 及び 3,000 ppm：平均検体摂取量は表 20 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。なお、本試験では血液学的検査及び眼科的検査は実施されなかった。

表 20 90 日間亜急性毒性試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		100	750	1,500	3,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	16.5	124	259	500
	雌	19.7	152	326	617

<sup>1</sup> 体重比重量を比重量という（以下同じ）。

<sup>2</sup> 脳重量に比した重量を対脳重量比という（以下同じ）。

本試験において、いずれの投与群の動物にも毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも 3,000 ppm (雄 : 500 mg/kg 体重/日、雌 : 617 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 26)

### (3) 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ)

ビーグル犬 (一群雌雄各 4 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、100、500 及び 1,000 ppm : 平均検体摂取量は表 21 参照) 投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

なお、本試験は再試験として実施されたものである。当初、イヌを用いた 90 日間亜急性毒性試験は 0、1,500、9,000 及び 18,000 ppm の用量で実施されたが、試験 28 日までに 9,000 ppm 以上投与群で多くを切迫殺したため、その時点で全例がと殺された。切迫殺したイヌにはいずれも尿路系に結石が存在し、1,500 ppm 投与群の雄でも血尿がみられたことから、本再試験では高用量は 1,000 ppm に設定された。

表 21 90 日間亜急性毒性試験 (イヌ) の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		100	500	1,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	3	17	40
	雌	3	17	33

本試験において、いずれの投与群にも毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも 1,000 ppm (雄 : 40 mg/kg 体重/日、雌 : 33 mg/kg 体重/日) であると考えられた。(参照 27)

### (4) 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット)

Wistar ラット (一群雌雄各 12 匹) を用いた混餌 (原体 : 0、500、2,500 及び 5,000 ppm : 平均検体摂取量は表 22 参照) 投与による 90 日間亜急性神経毒性試験が実施された。

表 22 90 日間亜急性神経毒性試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		500	2,500	5,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	32.3	166	345
	雌	41.9	216	416

5,000 ppm 投与群の雌雄の多数例、2,500 ppm 投与群の雌 2 例及び 500 ppm 投与群の雄 2 例に黄色尿または黄褐色尿が観察されたが、この尿色調の変化は本検体そのものの排泄に由来しており、その他尿路系に異常は認められなかったことから、この所見を毒性とは考えなかった。

本試験において、いずれの投与群の動物にも毒性所見は認められなかったため、

無毒性量は雌雄とも 5,000 ppm（雄：345 mg/kg 体重/日、雌：416 mg/kg 体重/日）であると考えられた。神経毒性は認められなかった。（参照 28）

#### （5）90 日間亜急性毒性試験（代謝物 M5、ラット）

植物体における主要代謝物である M5 の Wistar ラット（一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（代謝物 M5：0、1,200、4,800 及び 12,000 ppm：平均検体摂取量は表 23 参照）投与による 90 日間亜急性毒性試験が実施された。

表 23 90 日間亜急性毒性試験（代謝物 M5、ラット）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		1,200	4,800	12,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	73.2	306	769
	雌	93.1	371	952

本試験において、いずれの投与群の動物にも毒性所見は認められなかったため、無毒性量は雌雄とも 12,000 ppm（雄：769 mg/kg 体重/日、雌：952 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 29）

## 1 2. 慢性毒性試験及び発がん性試験

### （1）1 年間慢性毒性試験（イヌ）

ビーグル犬（一群雌雄各 4 匹）を用いた混餌（原体：0、250、1,000 及び 3,000 ppm：平均検体摂取量は表 24 参照）投与による 1 年間慢性毒性試験が実施された。

表 24 1 年間慢性毒性試験（イヌ）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		250	1,000	3,000
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	7	34	101
	雌	9	33	93

各投与群で認められた毒性所見は表 25 に示されている。

全投与群において着色尿（褐色または赤褐色）が認められたが、検体そのものの尿排泄によるもので、この所見自体を毒性とは考えなかった。

本試験において、1,000 ppm 以上投与群の雄に尿細管拡張が、3,000 ppm 投与群の雌に肝絶対及び比重量増加等が認められたため、無毒性量は雄で 250 ppm (7 mg/kg 体重/日)、雌で 1,000 ppm (33 mg/kg 体重/日) であると考えられた。（参照 30）

表 25 1年間慢性毒性試験（イヌ）で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・腎絶対及び比重量増加</li> <li>・小葉中心性/中間帯肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝絶対及び比重量増加</li> <li>・小葉中心性/中間帯肝細胞肥大</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・尿細管拡張</li> </ul>	毒性所見なし
250 ppm	毒性所見なし	

(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）

Wistar ラット（主群：一群雌雄各 55 匹、中間と殺群：一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、25、250、1,000 及び 2,500 ppm：平均検体摂取量は表 26 参照）投与による 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

表 26 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		25	250	1,000	2,500
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	1.0	10	41	104
	雌	1.4	14	57	140

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 27 に示されている。

全投与群の雌雄において、甲状腺ろ胞細胞の褐色色素沈着の発生頻度が有意に増加した。これは通常に加齢ラットでもみられるリポフスチンであった。

腫瘍性病変として、2,500 ppm 投与群の雄において、角膜の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌が各 1 例観察された。角膜の腫瘍は自然発生として極めて珍しいこと、高用量投与群のみにみられたこと、また角膜においては、肉眼的には混濁として、組織学的には持続的な角膜炎症やそれに続く再生過程としての過形成が高頻度にみられたことから、これらの腫瘍は検体投与に関連したものであると考えられた。

本試験において、250 ppm 以上投与群の雌雄に体重増加抑制等が認められたので、無毒性量は雌雄とも 25 ppm（雄：1.0 mg/kg 体重/日、雌：1.4 mg/kg 体重/日）であると考えられた。（参照 31、32）

表 27 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
2,500 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡率増加</li> <li>・甲状腺比重量増加</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・T.Chol、TG 増加</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・腎表面粗、退色、腫大</li> <li>・腎集合管過形成</li> <li>・膵臓腺房び慢性変性/萎縮</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・尿ケトン体増加</li> <li>・角膜混濁</li> <li>・角膜浮腫</li> <li>・角膜炎症</li> <li>・角膜過形成（再生）</li> </ul>



250 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・T.Chol 増加</li> <li>・尿 pH 低下</li> <li>・尿ケトン体増加</li> <li>・尿蛋白増加</li> <li>・肝絶対及び比重量、対脳重量比増加</li> <li>・腎絶対及び比重量、対脳重量比増加</li> <li>・角膜混濁</li> <li>・角膜浮腫</li> <li>・スノーフレイク様角膜混濁</li> <li>・角膜炎症</li> <li>・角膜過形成（再生）</li> <li>・角膜血管新生</li> <li>・角膜萎縮</li> <li>・限局性網膜萎縮</li> <li>・小葉中心性肝細胞肥大</li> <li>・甲状腺コロイド変化</li> <li>・甲状腺ろ胞細胞肥大/過形成</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制傾向</li> <li>・尿 pH 低下</li> <li>・スノーフレイク様角膜混濁</li> <li>・角膜血管新生</li> <li>・限局性網膜萎縮</li> <li>・甲状腺コロイド変化</li> </ul>
25 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

### (3) 18 カ月間発がん性試験（マウス）

C57BL マウス（主群：一群雌雄各 50 匹、中間と殺群：一群雌雄各 10 匹）を用いた混餌（原体：0、100、1,000 及び 4,000 ppm：平均検体摂取量は表 28 参照）投与による 18 カ月間発がん性試験が実施された。なお、雌の高用量を当初 6,000 ppm として試験が開始されたが、10 週時に死亡率が 12%に達したため、試験 71 日以降、雄と同じ用量の 4,000 ppm に下げて試験が継続された。

表 28 18 カ月間発がん性併合試験（マウス）の平均検体摂取量

投与群 (ppm)		100	1,000	4,000 <sup>a</sup>
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	雄	13.6	161	643
	雌	16.7	168	713

<sup>a</sup>：雌は試験 70 日までは 6,000 ppm、それ以降は 4,000 ppm

各投与群で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）は表 29 に示されている。

4,000 ppm 投与群の雌雄の腎臓及び膀胱において、検体の尿中析出による結石形成、それに起因した上皮過形成、線維化、炎症性細胞浸潤が高頻度にみられた。また、前立腺部尿道及び尿管においても低頻度ながら同様の所見が認められた。4,000 ppm 投与群における死亡率の増加は、尿路系の障害によるものと考えられた。

全投与群の雌雄において胆石の出現頻度が増加した。この胆石はコレステロール由来のものであると報告されている。本試験に用いたマウスの系統（C57BL）

は、高コレステロール食などで胆石を形成しやすいことで知られていることから、検体投与によってコレステロールの胆汁中排泄が亢進した可能性が考えられた。

腫瘍性病変として、4,000 ppm 投与群の雌雄に、膀胱の移行上皮細胞癌（雄：8/50、雌：2/49）及び移行上皮乳頭腫（雄：3/50、雌：2/49）が、同群の雄に前立腺部尿道の移行上皮細胞癌（1/50）が認められた。いずれの腫瘍とも低頻度ではあるが通常はみられないものであること、高用量投与群のみにみられたこと、同群において尿路系の結石により誘発された二次的な炎症や過形成変化が高頻度にみられていることから、これらの腫瘍は検体投与に関連したものと考えられた。

本試験において、100 ppm 以上投与群の雌雄に胆石が認められたので、無毒性量は得られなかった。（参照 33）

表 29 18 カ月間発がん性試験（マウス）で認められた毒性所見（非腫瘍性病変）

投与群	雄	雌
4,000 ppm <sup>a</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡率増加</li> <li>・被毛汚れ、活動性低下</li> <li>・腹部膨満</li> <li>・RBC 減少</li> <li>・Hb、Ht 減少傾向</li> <li>・腎絶対及び比重量、対脳重量比増加</li> <li>・肝臓グリソン氏鞘周囲細胞浸潤</li> <li>・腎臓：腎盂結石、腎盂拡張、腎盂上皮過形成、集合管過形成、集合管凝集物、乳頭部線維化/萎縮、皮質/髓質の萎縮/線維化/癒痕、尿路上皮下細胞浸潤、間質内出血、ボーマン囊拡張、尿細管拡張、動脈炎</li> <li>・膀胱：結石、尿路上皮過形成、膨満、筋性出血/壊死、尿管うっ血、間質性浮腫、筋層内炎症性細胞浸潤、間質細胞浸潤、漿膜細胞浸潤</li> <li>・前立腺部尿道上皮過形成</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・死亡率増加</li> <li>・被毛汚れ、活動性低下</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・RBC、Hb、Ht 減少</li> <li>・腎臓：腎盂結石、腎盂拡張、腎盂上皮過形成、集合管過形成、集合管凝集物、乳頭部線維化/萎縮、皮質/髓質の萎縮/線維化/癒痕、尿路上皮下細胞浸潤、間質内出血、ボーマン囊拡張、尿細管拡張、動脈炎</li> <li>・膀胱：結石、尿路上皮過形成、膨満、筋性出血/壊死、尿管うっ血、間質性浮腫、筋層内炎症性細胞浸潤、間質細胞浸潤、漿膜細胞浸潤</li> </ul>
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝比重量増加</li> <li>・小葉中心性肝細胞肥大</li> </ul>
100 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・胆石</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・胆石</li> </ul>

<sup>a</sup>：雌は試験 70 日までは 6,000 ppm、それ以降は 4,000 ppm

### 1 3. 生殖発生毒性試験

#### (1) 2 世代繁殖試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌雄各 25 匹）を用いた混餌（原体：0、30、300 及び 3,000

ppm：平均検体摂取量は表 30 参照) 投与による 2 世代繁殖試験が実施された。

表 30 2 世代繁殖試験 (ラット) の平均検体摂取量

投与群		30 ppm	300 ppm	3,000 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	P 世代	雄	2.56	26.3
		雌	3.09	32.6
	F <sub>1</sub> 世代	雄	3.68	34.1
		雌	4.18	38.9

各投与群で認められた毒性所見は表 31 に示されている。

P 及び F<sub>1</sub> 両世代の全投与群において、甲状腺のコロイド変化及び色素沈着の発生頻度が増加し、特に雄で顕著であった。これらの変化については、いずれもラットに特異的なものであり、ろ胞細胞肥大との関連性がみられないことから、毒性変化ではないと考えられた。

F<sub>2</sub> 児動物について出生日に実施された肛門生殖突起間距離の測定では、300 ppm 以上投与群の雄及び 300 ppm 投与群の雌で有意な増加がみられたが、その差の程度が小さいこと、明らかな用量相関性がみられないこと、出生時体重がいずれも対照群に比してやや大きい傾向にあったことから、本所見の毒性学的意義は乏しいと考えられた。

F<sub>1</sub> 児動物における性成熟の観察では、300 ppm 以上投与群の雄で包皮分離の遅延が、3,000 ppm 投与群の雌で膣開口の遅延がみられた。包皮分離の遅延については、分離日の体重が増加傾向にあるものの、明らかな用量相関性がみられないこと、内分泌への影響がみられないこと、精子検査や繁殖成績にも明らかな影響がみられないことから、一般発育の遅延に関連した変化によるものと考えられた。膣開口の遅延については、開口日における各群の体重に差がみられなかったことから、発育遅延に伴った変化と考えられた。

本試験において、300 ppm 以上投与群の親動物 (P 及び F<sub>1</sub> 雌雄) 及び児動物 (F<sub>1</sub> 及び F<sub>2</sub> 児動物) に角膜混濁等が認められたので、無毒性量は親動物及び児動物とも 30 ppm (P 雄 : 2.56 mg/kg 体重/日、P 雌 : 3.09 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雄 : 3.68 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> 雌 : 4.18 mg/kg 体重/日) であると考えられた。繁殖能に対する影響は認められなかった。(参照 34)

表 31 2 世代繁殖試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	親 : P、児 : F <sub>1</sub>		親 : F <sub>1</sub> 、児 : F <sub>2</sub>	
	雄	雌	雄	雌
親動物	3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・肝絶対重量増加</li> <li>・腎絶対重量増加</li> <li>・甲状腺ろ胞細胞肥大</li> <li>・肝細胞肥大</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・腎比重量増加</li> <li>・副腎絶対及び比重量増加</li> </ul>

	300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・び慢性角膜混濁</li> <li>・網状角膜混濁</li> <li>・角膜炎</li> <li>・角膜上皮過形成</li> <li>・角膜血管新生</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・腎比重量増加</li> <li>・甲状腺絶対及び比重量増加</li> <li>・下垂体好酸性封入体増加</li> <li>・肝細胞質変化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・び慢性角膜混濁</li> <li>・網状角膜混濁</li> <li>・角膜炎</li> <li>・角膜上皮過形成</li> <li>・角膜血管新生</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・び慢性角膜混濁</li> <li>・網状角膜混濁</li> <li>・角膜炎</li> <li>・角膜上皮過形成</li> <li>・角膜血管新生</li> <li>・肝比重量増加</li> <li>・腎絶対及び比重量増加</li> <li>・甲状腺絶対及び比重量増加</li> <li>・甲状腺ろ胞細胞肥大</li> <li>・下垂体好酸性封入体増加</li> <li>・肝細胞肥大</li> <li>・肝細胞質変化</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・体重増加抑制</li> <li>・び慢性角膜混濁</li> <li>・網状角膜混濁</li> <li>・角膜炎</li> <li>・角膜上皮過形成</li> <li>・角膜血管新生</li> </ul>
	30 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし	毒性所見なし
児 動 物	3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> <li>・皮膚温降下</li> <li>・低体重</li> <li>・膣開口遅延</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>・死産児数増加</li> <li>・生存率（生後4日）低下</li> <li>・低体重</li> </ul>	
	300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・角膜混濁</li> <li>・角膜血管新生</li> <li>・包皮分離遅延</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>・角膜混濁</li> <li>・角膜血管新生</li> </ul>	
	30 ppm	毒性所見なし		毒性所見なし	

## (2) 発生毒性試験 (ラット)

SD ラット (一群雌 25 匹) の妊娠 6~20 日に強制経口 (原体 : 0、10、100 及び 300 mg/kg 体重/日、溶媒 : 0.5%MC 400 水溶液) 投与して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 32 に示されている。

本試験において、100 mg/kg 体重/日以上投与群で母動物に体重増加抑制等が、胎児に低体重及び骨格変異の発生頻度の増加が認められたので、無毒性量は母動物及び胎児とも 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 35)

表 32 発生毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
300 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・膣分泌物、肛門及び会陰部の汚れ</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・肝絶対重量増加</li> <li>・腎黄色沈着物</li> <li>・膀胱内砂状内容物</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・低体重（雌）</li> <li>・第 14 胸椎過剰骨化点付着</li> <li>・第 5 中手骨不完全骨化</li> </ul>
100 mg/kg 体重/日 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・流涎</li> <li>・体重増加抑制</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・低体重（雄）</li> <li>・第 7 頸椎体未骨化</li> <li>・第 5/6 胸骨分節の不完全骨化</li> <li>・第 14 肋骨（短小）</li> </ul>
10 mg/kg 体重/日	毒性所見なし	毒性所見なし

### (3) 発生毒性試験（ウサギ）

NZW ウサギ（一群雌 25 匹）の妊娠 6～28 日に強制経口（原体：0、10、75 及び 250 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%MC 400 水溶液）投与して、発生毒性試験が実施された。

各投与群で認められた毒性所見は表 33 に示されている。

75 mg/kg 体重/日以上投与群の母動物において、黄色またはベージュ色尿が観察されたが、この尿の着色については本検体そのものに由来しているものであり、毒性的意義はないと考えられた。

本試験において、母動物では 250 mg/kg 体重/日投与群で体重増加抑制等が、胎児では 75 mg/kg 体重/日以上投与群で骨格変異の発生頻度の増加が認められたので、無毒性量は母動物で 75 mg/kg 体重/日、胎児で 10 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。（参照 36）

表 33 発生毒性試験（ウサギ）で認められた毒性所見

投与群	母動物	胎児
250 mg/kg 体重/日	<ul style="list-style-type: none"> <li>・軟便</li> <li>・体重増加抑制</li> <li>・摂餌量減少</li> <li>・肝絶対重量増加</li> <li>・肝小葉構造明瞭</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・低体重</li> <li>・矮小児</li> <li>・恥骨不完全骨化</li> </ul>
75 mg/kg 体重/日 以上	75 mg/kg 体重/日以下 毒性所見なし	<ul style="list-style-type: none"> <li>・第 13 肋骨を伴う第 27 前仙椎骨</li> <li>・環椎体未骨化</li> <li>・環椎骨・軸椎骨間過剰骨化</li> </ul>
10 mg/kg 体重/日		毒性所見なし

### (4) 発達神経毒性試験（ラット）

Wistar ラット（一群雌 30 匹）の妊娠 6 日～哺育 21 日に混餌（原体：0、45、450 及び 4,500 ppm：平均検体摂取量は表 34 参照）投与して、発達神経毒性試験が実施された。

表 34 発達神経毒性試験（ラット）の平均検体摂取量

投与群	45 ppm	450 ppm	4,500 ppm
平均検体摂取量 (mg/kg 体重/日)	3.8	37.1	354

各投与群で認められた毒性所見は表 35 に示されている。

4,500 ppm 投与群で児動物の雄に包皮分離の遅延が認められ、450 ppm 投与群でもその傾向がみられた。この変化は低体重にみられる発育遅延による二次的影響であると考えられた。また、450 ppm 以上投与群の児動物では、脳絶対重量の減少や脳形態測定値（大脳及び小脳全長、頭頂葉及び海馬回の厚さ、小脳高）の減少が認められたが、いずれも低体重に伴った二次的な変化であると考えられた。

本試験において、450 ppm 以上投与群の母動物及び児動物に角膜混濁等が認められたので、無毒性量は母動物及び児動物で 45 ppm (3.8 mg/kg 体重/日) であると考えられた。神経毒性は認められなかった。(参照 37)

表 35 発達神経毒性試験（ラット）で認められた毒性所見

投与群	母動物	児動物
4,500 ppm		<ul style="list-style-type: none"> <li>・角膜混濁（雄）</li> <li>・網膜変性（雄）</li> <li>・包皮分離遅延（雄）</li> <li>・脳絶対重量減少（雄）</li> <li>・受動的回避の試行回数増加、保持試行潜時減少（雄）</li> </ul>
450 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> <li>・角膜混濁</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>・角膜混濁（雌）</li> <li>・網膜変性（雌）</li> <li>・低体重</li> <li>・脳絶対重量減少（雌）</li> <li>・脳形態計測値減少</li> </ul>
45 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

#### (5) 発生毒性試験（代謝物 M5、ラット）

SD ラット（一群雌 25 匹）の妊娠 6～20 日に、代謝物 M5 を強制経口（0、75、250 及び 750 mg/kg 体重/日、溶媒：0.5%MC 400 水溶液）投与して、発生毒性試験が実施された。

本試験において、250 mg/kg 体重/日以上投与群で母動物に流涎、体重増加抑制及び摂餌量減少が認められたが、胎児にはいずれの投与群でも検体投与の影響は認められなかったので、無毒性量は母動物で 75 mg/kg 体重/日、胎児で 750 mg/kg 体重/日であると考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 38)

#### 14. 遺伝毒性試験

ピラスルホトール（原体）の細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺線維芽細胞（V79）を用いた染色体異常試験、遺伝子突然変異試験（HPRT 前進突然変異試験）、マウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 36 に示されているとおり、すべて陰性であった。（参照 39～42）

表 36 遺伝毒性試験概要（原体及び代謝物 M5）

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> (TA98, TA100, TA102, TA1535, TA1537 株)	16~5,000 µg/7 <sup>+</sup> レット (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (V79)	500~2,000 µg/mL (-S9, 4 時間処理) 500~2,500 µg/mL (+S9, 4 時間処理) 200~1,000 µg/mL (-S9, 18 時間処理)	陰性
	遺伝子突然変異試験 (HPRT 前進突然変異試験)	チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (V79)	30~960 µg/7 <sup>+</sup> レット (+/-S9)	陰性
in vivo	小核試験	NMRI マウス (骨髄細胞) (一群雌雄各 5 匹)	雄 : 0, 125, 250, 500 mg/kg 体重 雌 : 0, 250, 500, 1,000 mg/kg 体重 (腹腔内投与、24 時間間隔で 2 回)	陰性

注) +/- S9 : 代謝活性化系存在下及び非存在下

代謝物 M5 の細菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた染色体異常試験、マウスを用いた小核試験が実施された。結果は表 37 に示されているとおり、すべて陰性であった。（参照 43～45）

表 37 遺伝毒性試験概要（代謝物 M5）

試験	対象	処理濃度・投与量	結果	
in vitro	復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i> (TA98, TA100, TA1535, TA1537 株)	100~5,000 µg/7 <sup>+</sup> レット (+/-S9)	陰性
	染色体異常試験	チャイニーズハムスター卵巣細胞	931~2,710 µg/mL (+/-S9, 3 時間処理) 924~2,700 µg/mL (-S9, 17.8 時間処理) 924~2,700 µg/mL (+S9, 3 時間処理)	陰性
in vivo	小核試験	ICR マウス (骨髄細胞) (一群雄 5 匹)	0, 500, 1,000, 2,000 mg/kg 体重 (単回強制経口投与)	陰性

#### 15. その他の試験

##### (1) チロシン給餌による血中チロシン濃度と眼毒性の動物種差・性差

SD ラット、Brown Norway (BN) ラット及び ICR マウス（一群雌雄各 5 匹）に、L-チロシンを 14 日間混餌（0、2 及び 5%）投与して、眼科学的検査及び血中チロシン濃度測定を実施し、チロシン血症における種差及び性差について検討

された。なお、血中チロシン濃度については、雄は全動物、雌はSDラットのみを分析対象とした。

5%チロシン投与群では、SDラットの雄全例に浮腫や血管新生を伴う角膜混濁が観察され、BNラットの雄1例に軽度の角膜混濁が認められた。両系統ラットの雌及びマウスの雌雄には、角膜の変化は観察されなかった。

血中チロシン濃度については、SDラットの雄では2%投与群で3倍、5%投与群で5倍の増加がみられた。SDラットの雌及びBNラットの雄においても5%投与群で同様の増加がみられたが、実測濃度は雄のSDラットより低かった。雄マウスでは血中チロシン濃度の増加は認められなかった。

以上のことから、血中チロシン濃度と角膜混濁の出現頻度に相関があること、またその程度に動物種差、系統差、性差があることが支持された。本試験では雄のSDラットが最も感受性が高いことが示された。(参照46)

## (2) チロシン代謝におけるHPLA産生能の動物種差

Wistarラット(雄)、ICRマウス(雄)、ビーグル犬(雄)、NZWウサギ(雄)及びヒト(女性)由来の各凍結肝細胞(Liverbeads™)の培養系を用いて、4-HPPDase活性阻害の結果生じるチロシン代謝物4-ヒドロキシフェニル乳酸(4-HPLA)産生能の動物種差について検討された。培養液にHPPDase阻害剤である2-(2-ニトロ-4-トリフルオロメチルベンゾイル)-1,3-ジオン(NTBC)(30µM)及びチロシン(100mg/L)を単独または併用添加し、培養0、2及び4時間後に培養液中のチロシン濃度及び4-HPLA濃度を測定することで、動物間の本酵素阻害時のチロシン代謝効率が比較された。試験群の構成は次のとおりであった。①基礎培養群、②基礎培養+NTBC群、③チロシン添加群、④チロシン添加+NTBC群。

培養液中のチロシン濃度は、マウスを除くいずれの動物種の試験群においてもほぼ一定であった。マウスでは、NTBC非添加群(①及び③)で培養期間に比例してチロシン濃度の減少傾向がみられたが、NTBC添加群(②及び④)では、この減少傾向はみられなかった。

4-HPLA濃度については、ラット、イヌ及びウサギでは基礎培養にNTBCを添加(②群)しても4-HPLAは産生されなかったが、マウス及びヒトでは産生がみられ、培養4時間後にはマウスで培養開始時の3.8倍(0.69µg/mg蛋白)、ヒトで定量限界の5.4倍(0.54µg/mg蛋白)に増加した。

チロシンを過剰に負荷(③群)すると、マウスでは培養4時間後に開始時の1.5倍の4-HPLAが検出されたが、ヒトでは痕跡程度であり、他の動物では定量限界未満であった。

チロシン負荷に加えNTBCを添加(④群)すると、培養4時間後の4-HPLA濃度はラットで定量限界の2.3倍、イヌで痕跡程度、ウサギで定量限界の3.6倍に増加したが、マウスでは培養開始時の約11倍に、ヒトでも定量限界の約11倍



に増加した。

以上の結果から、4-HPLA 産生能については、マウス及びヒトのグループと、ラット、イヌ及びウサギのグループに分けられ、前者は4-HPPDase 活性阻害に対して4-HPLA 産生のバイパスが効果的に機能するが、後者はチロシンの負荷、非負荷にかかわらずその産生能が劣ることが示された。したがって、4-HPLA 産生のバイパス機能を有するヒトではチロシンが体内に蓄積しにくく、角膜混濁に代表される二次的変化が生じにくいことが示唆された。(参照 47)

### (3) ラットにおける特定臓器に及ぼすチロシン血症の影響

Wistar ラット (一群雌雄各 5 匹) に、L-チロシン添加飼料 (2%) を 4 週間摂取させ、さらに十分に高い血中チロシン濃度を得るために、試験期間中毎日 NTBC (10 µg/kg 体重/日) を強制経口投与して、ラットの特定臓器 (眼、腎臓、肝臓、膵臓及び甲状腺) に及ぼす影響について検討された。

チロシン添加飼料摂取下での NTBC 投与の結果、角膜炎 (角膜混濁) (雄 5 例、雌 1 例)、血中チロシン濃度の増加 (雄では溶媒対照の 24 倍、雌で 18 倍)、肝比重量増加 (雌)、軽微～軽度の甲状腺ろ胞のコロイド変化 (雄 3 例)、膵臓腺房細胞変性 (雄 3 例、雌 5 例) が認められた。これらの結果はいずれも慢性毒性/発がん性試験[12.(2)]でみられた結果と類似していた。

以上の結果から、ピラスルホトールのラットの各種毒性試験でみられた甲状腺や膵臓の形態学的変化も、角膜変化と同様にチロシン濃度の増加に関連することが示唆された。したがって、チロシン蓄積が生じにくいヒトにおいては、ラットの長期試験でみられるこれらの所見の毒性学的意義は低いと考えられた。(参照 48)

### (4) チロシン血症下でのラット胎児発育に対する影響

SD ラット (一群雌 23 匹) の妊娠 6～21 日に、L-チロシン添加飼料 (2%) を摂取させ、さらに十分に高い血中チロシン濃度を得るために、妊娠 6～20 日に NTBC (10 µg/kg 体重/日) を強制経口投与して、ラット胎児への影響について検討された。

チロシン添加飼料摂取下での NTBC 投与の結果、母動物では体重増加量及び摂餌量の減少傾向、血中チロシン濃度の増加 (溶媒対照の約 63 倍) が、胎児では低体重及び骨格変異 (第 7 頸椎体及び第 5 胸骨体の未骨化、第 14 胸椎の骨化点過剰) の有意な増加が認められた。

以上の結果から、ピラスルホトールのラットの発生毒性試験[13.(2)]においてみられた胎児の低体重や骨格変異の増加は、チロシン濃度の上昇に関連することが示唆された。したがって、チロシン濃度上昇が生じにくいヒトにおいて、ラット胎児と同様の影響が生ずる可能性は低いと考えられた。(参照 49)

### Ⅲ. 食品健康影響評価

参照に挙げた資料を用いて農薬「ピラスルホトール」の食品健康影響評価を実施した。

ラットに経口投与されたピラスルホトールの吸収及び排泄は速やかであり、投与後 72 時間ではほぼ完全に糞尿中に排泄された。主要排泄経路は尿中であった。投与 72 時間後には殆どの臓器・組織で放射能は検出されず、蓄積性は認められなかった。尿及び糞中の主要成分は親化合物であり、代謝物として M1、M4 及び M5 が微量検出された。主要代謝経路は、脱メチルであると考えられた。

泌乳期ヤギを用いた動物体内運命試験において、乳汁中では投与直後に少量の放射能が検出されたが、その濃度は 3 日間の連続投与でもほとんど変化しなかった。残留放射能濃度は肝臓で最も高く、次いで腎臓であり、筋肉及び脂肪では低かった。可食部における残留放射能の主要成分は親化合物であった。

小麦を用いた植物体内運命試験において、分けつ期に散布処理されたピラスルホトールは処理後速やかに減少し、親化合物は処理直後の試料のみから検出され、玄麦からは検出されなかった。玄麦及びわら中の主要代謝物は M5 及び M2 であり、主要代謝経路は、①脱メチル化による M1 の生成、その後のグルコースとの抱合化による M2 の生成、②ピラゾール環-カルボニル結合の開裂による M5 の生成であると考えられた。

ピラスルホトール及び M1 を分析対象化合物とした小麦、大麦及びえん麦における作物残留試験の結果、小麦及び大麦中のピラスルホトール及び M1 の残留値はいずれも定量限界未満 (<0.01 mg/kg) であった。えん麦からはピラスルホトール及び M1 が合計で最大 0.2 mg/kg 検出された。

各種毒性試験結果から、ピラスルホトール投与による影響は主に角膜及び尿路系に認められた。特に角膜混濁は、本検体の 4-HPPDase 阻害作用によるチロシン蓄積に起因するものと考えられ、ラットで感受性が高かった。神経毒性、繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験において、雄ラットで角膜の扁平上皮乳頭腫及び扁平上皮癌、雌雄マウスで膀胱の移行上皮乳頭腫及び移行上皮細胞癌、雄マウスで前立腺部尿道の移行上皮細胞癌が低頻度に発生した。

ラットの角膜腫瘍については、角膜炎症とそれに続く再生過程としての過形成が、マウスの膀胱及び前立腺腫瘍については、尿路系の結石とそれによって誘発された二次的な炎症や過形成変化が高頻度に見られていること、一方で本検体の変異原性を示す結果が得られていないことから、これらの腫瘍は非遺伝性の増殖メカニズムの結果として生じたものと考えられた。したがって、本剤の評価にあたり閾値を設定することは可能であると考えられた。

各種試験結果から、農産物中の暴露評価対象物質をピラスルホトール(親化合物)及び代謝物 M1 と設定した。

各試験における無毒性量等は表 38 に示されている。

表 38 各試験における無毒性量及び最小毒性量

動物種	試験	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	最小毒性量 (mg/kg 体重/日)	備考 <sup>1)</sup>
ラット	90 日間 亜急性 毒性試験	雄：1.96 雌：2.32	雄：66 雌：77	雌雄：尿 pH 低下等
	90 日間 亜急性 神経毒性 試験	雄：345 雌：416	雌雄：－	雌雄：毒性所見なし  (神経毒性は認められない)
	2 年間 慢性毒性/ 発がん性 併合試験	雄：1.0 雌：1.4	雄：10 雌：14	雌雄：体重増加抑制等  角膜の扁平上皮乳頭腫、扁平 上皮癌 (雄)
	2 世代 繁殖試験	親動物、児動物 P 雄:2.56 F <sub>1</sub> 雄:3.68 P 雌:3.09 F <sub>1</sub> 雌:4.18	親動物、児動物 P 雄:26.3 F <sub>1</sub> 雄:34.1 P 雌:32.6 F <sub>1</sub> 雌:38.9	親動物、児動物：角膜混濁等  (繁殖能に対する影響は認 められない)
	発生毒性 試験	母動物：10 胎児：10	母動物：100 胎児：100	母動物：体重増加抑制等 胎児：低体重等  (催奇形性は認められない)
	発達神経 毒性試験	母動物：3.8 児動物：3.8	母動物：37.1 児動物：37.1	母動物、児動物：角膜混濁等  (神経毒性は認められない)
マウス	90 日間 亜急性 毒性試験	雄：500 雌：617	雌雄：－	雌雄：毒性所見なし
	18 カ月間 発がん性 試験	雌雄：－	雄：13.6 雌：16.7	雌雄：胆石  膀胱の移行上皮細胞癌、移行 上皮乳頭腫 (雌雄)。 前立腺部尿道の移行上皮細 胞癌 (雄)
ウサギ	発生毒性 試験	母動物：75 胎児：10	母動物：250 胎児：75	母動物：体重増加抑制等 胎児：骨格変異発生頻度増加  (催奇形性は認められない)
イヌ	90 日間 亜急性 毒性試験	雄：40 雌：33	雌雄：－	雌雄：毒性所見なし
	1 年間 慢性毒性 試験	雄：7 雌：33	雄：34 雌：93	雄：尿細管拡張 雌：肝絶対及び比重量増加

<sup>1)</sup>：備考に最小毒性量で認められた所見の概要を示す。

－：無毒性量または最小毒性量が設定できなかった。

各試験で得られた無毒性量の最小値はラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の 1.0 mg/kg 体重/日であった。マウスを用いた発がん性試験では無毒性量を設定できなかったが、ラットに比してマウス及びヒトではチロシン蓄積が生じにくく、ヒトのリスクアセスメントの観点から、チロシン蓄積に対して感受性の高いラットで得られた無毒性量を一日摂取許容量 (ADI) 設定の根拠にすることは、ヒトの安全性をより担保できると考えられた。したがって、食品安全委員会は、ラットを用いた 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験で得られた無毒性量 1.0 mg/kg 体重/日を根拠として、安全係数 100 で除した 0.01 mg/kg 体重/日を ADI と設定した。

ADI	0.01 mg/kg 体重/日
(ADI 設定根拠資料)	慢性毒性/発がん性併合試験
(動物種)	ラット
(期間)	2 年間
(投与方法)	混餌
(無毒性量)	1.0 mg/kg 体重/日
(安全係数)	100

<別紙1：代謝物/分解物略称>

記号	略称	化学名
M1	脱メチル	(5-ヒドロキシ-3-メチル-1 <i>H</i> ピラゾール-4-イル)[2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル]メタノン
M2	脱メチルグルコシド	3-メチル-4-{{2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル}カルボニル}-1 <i>H</i> ピラゾール-5-イル D-グルコピラノシド
M3	スルフィニル乳酸	2-ヒドロキシ-3-{{5-[(5-ヒドロキシ-3-メチル-1 <i>H</i> ピラゾール-4-イル)カルボニル]-4-(メチルスルホニル)-2-(トリフルオロメチル)フェニル}スルフィニル}プロパン酸
M4	ヒドロキシメチル	5-ヒドロキシ-3-ヒドロキシメチル-1-メチル-1 <i>H</i> ピラゾール-4-イル)-(2-メタンズルホニル-4-トリフルオロメチルフェニル)メタノン
M5	カルボン酸	2-メチル-4-トリフルオロメチル安息香酸

<別紙2：検査値等略称>

略称	名称
ai	有効成分量
C <sub>max</sub>	最高濃度
Hb	ヘモグロビン（血色素量）
4-HPLA	4-ヒドロキシフェニル乳酸
4-HPPDase	4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ
Ht	ヘマトクリット値
LC <sub>50</sub>	半数致死濃度
LD <sub>50</sub>	半数致死量
MC	メチルセルロース
NTBC	2-(2-ニトロ-4-トリフルオロメチルベンゾイル)-1,3-ジオン
PHI	最終使用から収穫までの日数
RBC	赤血球数
T <sub>1/2</sub>	消失半減期
TAR	総投与（処理）放射能
T.Chol	総コレステロール
TG	トリグリセリド
T <sub>max</sub>	最高濃度到達時間
TRR	総残留放射能

<参照>

- 1 ピラスルホトール（除草剤） 農薬等の残留基準設定に係る要請書添付資料概要：バイエル  
クロップサイエンス株式会社、2008年、未公表
- 2 高用量単回投与後の吸収、排泄及び代謝（ラット）（GLP 対応）：Bayer CropScience（フ  
ランス）、2002年、未公表
- 3 低用量単回投与後の吸収、排泄及び代謝（ラット）（GLP 対応）：Bayer CropScience（米国）、  
2005年、未公表
- 4 家畜における代謝と分布－泌乳山羊における吸収、分布、排泄及び代謝（ベンゼン環標識）  
（GLP 対応）：Bayer CropScience（米国）、2006年、未公表
- 5 家畜における代謝と分布－泌乳山羊における吸収、分布、排泄及び代謝（ピラゾール環標識）  
（GLP 対応）：Bayer CropScience（米国）、2006年、未公表
- 6 小麦における代謝（ベンゼン環標識）（GLP 対応）：Bayer CropScience Frankfurt（ドイツ）、  
2004年、未公表
- 7 小麦における代謝（ピラゾール環標識）（GLP 対応）：Bayer CropScience Frankfurt（ドイ  
ツ）、2004年、未公表
- 8 小麦における代謝－薬害軽減剤の影響（ベンゼン環標識）（GLP 対応）：Bayer CropScience  
Monheim（ドイツ）、2004年、未公表
- 9 ピラスルホトールの好気土壌中における分解（壤質砂土）（GLP 対応）：Bayer CropScience  
Frankfurt（ドイツ）、2004年、未公表
- 10 ピラスルホトールの好気土壌中における分解（シルト質壤土）（GLP 対応）：Bayer  
CropScience Frankfurt（ドイツ）、2004年、未公表
- 11 ピラスルホトールの好気土壌中における分解（砂壤土）（GLP 対応）：Bayer CropScience  
Frankfurt（ドイツ）、2005年、未公表
- 12 ピラスルホトールの嫌気土壌中における分解（壤質砂土）（GLP 対応）：Bayer CropScience  
Stilwell（米国）、2005年、未公表
- 13 滅菌緩衝液中における加水分解（GLP 対応）：Bayer CropScience Stilwell（米国）、2004  
年、未公表
- 14 滅菌緩衝液中における水中分解（GLP 対応）：Bayer CropScience Stilwell（米国）、2005  
年、未公表
- 15 作物残留試験：米国及びカナダ、2004～2005年、未公表
- 16 乳牛における残留試験：Bayer CropScience（米国）、2006年、未公表
- 17 ラットにおける急性経口毒性試験（GLP 対応）：Bayer HealthCare（ドイツ）、2004年、  
未公表
- 18 ラットにおける急性経皮毒性試験（GLP 対応）：Bayer HealthCare（ドイツ）、2004年、  
未公表
- 19 ラットにおける急性吸入毒性試験（GLP 対応）：Bayer HealthCare（ドイツ）、2004年、  
未公表
- 20 代謝物 M5 のラットにおける急性経口毒性試験（GLP 対応）：Rhone-Poulenc（フランス）、

1995年、未公表

- 21 ラットにおける急性神経毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience LP (米国)、2005年、未公表
- 22 ウサギを用いた皮膚刺激性試験 (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2004年、未公表
- 23 ウサギを用いた眼刺激性試験 (GLP 対応) : Product Safety Laboratories (米国)、2006年、未公表
- 24 モルモットにおける皮膚感作性試験 (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2004年、未公表
- 25 ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2003年、未公表
- 26 マウスを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2003年、未公表
- 27 イヌを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience LP (米国)、2005年、未公表
- 28 ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与神経毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience LP (米国)、2005年、未公表
- 29 代謝物 M5 のラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Rhone-Poulenc (フランス)、1998年、未公表
- 30 イヌを用いた飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience LP (米国)、2006年、未公表
- 31 ラットを用いた飼料混入投与による 1 年間反復経口投与毒性試験及び発がん性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006年、未公表
- 32 ピアレビュー：ラット 1 年間反復経口投与毒性試験及び発がん性試験において甲状腺に生じた病理組織変化の再評価 (GLP 対応) : 実験病理ラボラトリー社 (米国)、2005年、未公表
- 33 マウスを用いた飼料混入投与による発がん性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006年、未公表
- 34 ラットを用いた繁殖毒性試験 (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2005年、未公表
- 35 ラットにおける催奇形性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006年、未公表
- 36 ウサギにおける催奇形性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006年、未公表
- 37 ラットを用いた飼料混入投与による発達神経毒性試験 (GLP 対応) : Bayer CropScience (米国)、2006年、未公表
- 38 代謝物 M5 のラットにおける催奇形性試験 (GLP 対応) : Rhone-Poulenc (フランス)、1999年、未公表
- 39 細菌を用いた復帰突然変異試験 (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2004年、未公表



- 40 チャイニーズハムスター由来 V79 培養細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2004 年、未公表
- 41 哺乳動物細胞を用いた遺伝子突然変異試験 (HPRT 前進突然変異試験) (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2004 年、未公表
- 42 マウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : Bayer HealthCare (ドイツ)、2003 年、未公表
- 43 代謝物 M5 の細菌を用いた復帰突然変異試験 (GLP 対応) : Rhone-Poulenc (フランス)、1994 年、未公表
- 44 代謝物 M5 のチャイニーズハムスター卵巣細胞を用いた *in vitro* 染色体異常試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories (米国)、1998 年、未公表
- 45 代謝物 M5 のマウスを用いた小核試験 (GLP 対応) : Covance Laboratories (米国)、1998 年、未公表
- 46 チロシン給餌による血中チロシン濃度と眼毒性の動物種差・性差 (GLP 対応) : Rhone-Poulenc (フランス)、1995 年、未公表
- 47 チロシン代謝における HPLA 産生能の動物種差 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006 年、未公表
- 48 ラットにおける特定臓器に及ぼすチロシン血症の影響 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006 年、未公表
- 49 チロシン血症下でのラット胎児発育に対する影響 (GLP 対応) : Bayer CropScience (フランス)、2006 年、未公表
- 50 食品健康影響評価について  
(URL : [http://www.fsc.go.jp/hyouka/hy/hy-uke-pyrasulfotole\\_190828.pdf](http://www.fsc.go.jp/hyouka/hy/hy-uke-pyrasulfotole_190828.pdf))
- 51 第 204 回食品安全委員会  
(URL : <http://www.fsc.go.jp/iinkai/i-dai204/index.html>)
- 52 第 15 回食品安全委員会農薬専門調査会確認評価第一部会  
(URL : [http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kakunin1\\_dai15/index.html](http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kakunin1_dai15/index.html))
- 53 第 43 回食品安全委員会農薬専門調査会幹事会  
(URL : [http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai\\_dai43/index.html](http://www.fsc.go.jp/senmon/nouyaku/kanjikai_dai43/index.html))

## ピラスルホトール (案)

1. 品目名：ピラスルホトール (Pyrasulfotole)

2. 用途：除草剤

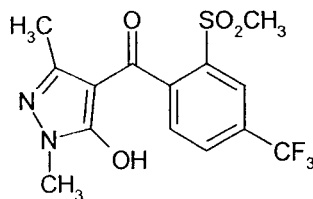
麦類の広葉雑草用除草剤であり、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼを阻害することによりプラストキノンの生合成が阻害されることで、雑草が白化し枯死すると考えられている。

3. 化学名

(5-hydroxy-1,3-dimethylpyrazole-4-yl) ( $\alpha, \alpha, \alpha$ -trifluoro-2-mesyl-*p*-tolyl) methanone (IUPAC)

(5-hydroxy-1,3-dimethyl-1*H*-pyrazol-4-yl) [2-(methylsulfonyl)-4-(trifluoromethyl)phenyl]methanone (CAS)

4. 構造式及び物性



分子式	$C_{14}H_{13}F_3N_2O_4S$
分子量	362.3
水溶解度	2.3 g/L (蒸留水において) 4.2 g/L (pH 3.9) 69.1 g/L (pH 5.9) 49.0 g/L (pH 5.2) (いずれも 20°C)
分配係数	$\log_{10}P_{ow} =$ 0.276 (pH 4) -1.362 (pH 7) -1.580 (pH 9) (いずれも 20°C)

(メーカー提出資料より)

## 5. 適用雑草の範囲及び使用方法

本剤の適用雑草の範囲及び使用方法は以下のとおり。

本剤については、「国外で使用される農薬等に係る残留基準の設定及び改正に関する指針について」(平成16年2月5日付け食安発第0205001号)に基づき、小麦、大麦、ライ麦、えんばく、牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛の食用部分、豚の筋肉、豚の脂肪、豚の食用部分、山羊の筋肉、山羊の脂肪、山羊の肝臓、山羊の食用部分、羊の筋肉、羊の脂肪、羊の肝臓、羊の食用部分、馬の筋肉、馬の脂肪、馬の肝臓、馬の食用部分、乳、家きんの筋肉、家きんの脂肪、家きんの食用部分、卵に係る残留基準の設定が要請されている。

### 【海外での使用方法（米国）】

(1) 37.5 g/L ピラスルホトール+210 g/L プロモキシニル+9.38 g/L メフェンピルジエチル混合乳剤

作物名	適用雑草名	使用量		使用時期	使用回数	使用方法
		製品	水量			
小麦 大麦 えん麦 ライ小麦	一年生広葉雑草	1L/ha	47~187 L/ha	止葉出葉期 まで	1回	雑草茎葉散布

(2) 50 g/L ピラスルホトール+12.5 g/L メフェンピルジエチル混合乳剤

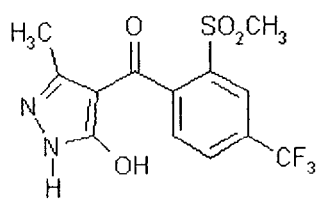
作物名	適用雑草名	使用量		使用時期	使用回数	使用方法
		製品	水量			
小麦 大麦 えん麦 ライ小麦	一年生広葉雑草	1L/ha	47~187 L/ha	止葉出葉期 まで	1回	雑草茎葉散布

## 6. 作物残留試験結果

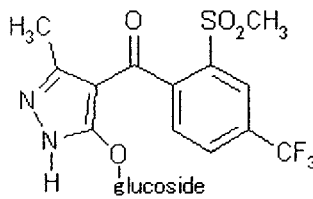
### (1) 分析の概要

#### ① 分析対象の化合物

- ・ ピラスルホトール
- ・ (5-ヒドロキシ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)[2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル]メタノン (以下、代謝物M1)
- ・ 3-メチル-4-{{2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル}カルボニル}-1H-ピラゾール-5-イル D-グルコピラノシド (代謝物M1の O-グルコシド。以下、代謝物M2)



【代謝物M1】



【代謝物M2】

## ② 分析法の概要

試料をアセトニトリル/水/塩酸混液で抽出後、抽出液を60℃に加熱し30分以上保った後、冷却し、C18固相抽出カラムで精製し、高速液体クロマトグラフ質量分析計(HPLC-MS/MS)で定量する。

なお、抽出操作中に代謝物M2は代謝物M1に加水分解されるため、代謝物M1及び代謝物M2が代謝物M1として分析される。

定量限界：ピラスルホトール 0.01~0.02 ppm

代謝物M1 0.01~0.02 ppm

## (2) 作物残留試験結果

海外で実施された作物残留試験成績の結果の概要を、別紙1にまとめた。

## 7. 乳牛における残留試験結果

乳牛に対して、飼料中濃度としてピラスルホトール3、9及び30ppm相当を含有するゼラチンカプセルを29日間にわたり摂食させ、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓中のピラスルホトールを測定した。また、牛乳については、投与開始後、1、3、5、7、10、14、21、24、26及び28日目に搾乳したものを測定した。(定量限界：筋肉、脂肪、肝臓、腎臓0.010ppm、乳0.005ppm)。結果については表1参照。

表1. 組織中の最大残留 (ppm)

	3ppm 投与群	9ppm 投与群	30ppm 投与群
筋肉	<0.010	<0.010	<0.010
脂肪	<0.010	<0.010	0.014
肝臓	1.23	1.59	1.94
腎臓	0.222	0.424	0.414
牛乳	<0.005	<0.005	0.013

上記の結果に関連して、米国及びカナダにおいては畜牛における最大理論的飼料由来負荷 (MTDB<sup>注)</sup>) を 0.39ppm としている。

注) 最大理論的飼料由来負荷 (Maximum Theoretical Dietary Burden : MTDB) : 飼料として用いられる全ての飼料品目に残留基準まで残留していると仮定した場合に、飼料の摂取によって畜産動物が暴露されうる最大量。飼料中残留濃度として表示される。

(参考 : Residue Chemistry Test Guidelines OPPTS 860.1480 Meat/Milk/Poultry/Eggs)

## 8. 産卵鶏における残留試験

産卵鶏における移行性試験は実施されていないが、別途代謝試験が実施されている。

異なる 2 種類の部位を <sup>14</sup>C で標識したピラスルホトールを飼料中濃度として 8.6 ppm 又は 10.5 ppm に相当する量を含むゼラチンカプセルを産卵鶏に対して 14 日間投与し、筋肉、脂肪、肝臓及び鶏卵中に含まれるピラスルホトール及び代謝物 M1 の同定を行った (定量限界 : 0.001 ppm)。

ピラスルホトールは、組織中放射能濃度として筋肉中では 92.9~95.3%TRR (0.018~0.036 ppm)、脂肪では 97.1~97.7%TRR (0.014~0.064 ppm)、肝臓では 93.3~94.6%TRR (1.215~1.456 ppm)、鶏卵では 47.4~83.8%TRR (0.001~0.002 ppm) を占めていた。

また、上記の結果に関連して、米国では MTDB を 0.058 ppm と評価しており、この値から算出されるピラスルホトール及び代謝物 M1 の推定濃度は、筋肉で 0.00025 ppm、脂肪で 0.00043 ppm 及び肝臓で 0.010 ppm としているほか、鶏卵については抽出可能な TRR として <0.01ppm であると推定している。

## 9. ADI の評価

食品安全基本法 (平成 15 年法律第 48 号) 第 24 条第 1 項第 1 号の規定に基づき、平成 19 年 8 月 28 日付け厚生労働省発食安第 0828003 号により食品安全委員会あて意見を求めたピラスルホトールに係る食品健康影響評価について、以下のとおり評価されている。

無毒性量 : 1.0 mg/kg 体重/day

(動物種)                      ラット

(投与方法)                    混餌

(試験の種類)                慢性毒性/発がん性併合試験

(期間)                         2年間

安全係数 : 100

ADI : 0.01 mg/kg 体重/day

## 10. 諸外国における状況

JMPR における毒性評価はなされておらず、国際基準も設定されていない。

米国、カナダ、欧州連合（EU）、オーストラリア及びニュージーランドについて調査した結果、米国、カナダ、EU、オーストラリアにおいて、穀類及び畜産物に基準値が設定されている。

## 11. 基準値案

### (1) 残留の規制対象

ピラスルホトール本体、代謝物M1（ただし、穀類では代謝物M2を含む）

なお、食品安全委員会によって作成された食品健康影響評価においては、暴露評価対象物質としてピラスルホトール（親化合物）及び代謝物M1と設定している。

### (2) 基準値案

別紙2のとおりである。

### (3) 暴露評価

各食品について基準値案の上限まで又は作物残留試験成績等のデータから推定される量のピラスルホトールが残留していると仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1日当たり摂取する農薬の量（理論最大1日摂取量（TMDI））のADIに対する比は、以下のとおりである。詳細な暴露評価は別紙3参照。

なお、本暴露評価は、各食品分類において、加工・調理による残留農薬の増減が全くないとの仮定の下におこなった。

	TMDI/ADI (%) <sup>注)</sup>
国民平均	4.7
幼小児（1～6歳）	10.2
妊婦	4.8
高齢者（65歳以上）	4.5

注) TMDI 試算は、基準値案×摂取量の総和として計算している。

## ピラスルホトール 海外作物残留試験一覧表

農作物	試験圃場数	試験条件				最大残留量 (ppm) ※
		剤型	使用量・使用方法	回数	経過日数	
小麦 (玄麦)	34	37.5 g/L ピラスルホトール +210 g/L プロモキシニル +9.38 g/L メフェンビルジエチル 混合乳剤	0.037~0.051 kg ai/ha 散布	1回	40~69日	圃場1~34 全て <0.02
小麦 (玄麦)	32	50 g/L ピラスルホトール +12.5 g/L メフェンビルジエチル 混合乳剤	0.049~0.053 kg ai/ha 散布	1回	40~69日	圃場1~32 全て <0.02
大麦 (玄麦)	24	37.5 g/L ピラスルホトール +210 g/L プロモキシニル +9.38 g/L メフェンビルジエチル 混合乳剤	0.035~0.080 kg ai/ha 散布	1回	34~70日	圃場1~24 全て <0.02
大麦 (玄麦)	24	50 g/L ピラスルホトール +12.5 g/L メフェンビルジエチル 混合乳剤	0.048~0.102 kg ai/ha 散布	1回	34~70日	圃場1~24 全て <0.02
えん麦 (玄麦)	24	37.5 g/L ピラスルホトール +210 g/L プロモキシニル +9.38 g/L メフェンビルジエチル 混合乳剤	0.04 kg ai/ha・散布	1回	44	圃場1 <0.02
			0.038 kg ai/ha・散布		43	圃場2 <0.02
			0.039 kg ai/ha・散布		38	圃場3 0.20
			0.038 kg ai/ha・散布		45	圃場4 0.04
			0.037 kg ai/ha・散布		45	圃場5 0.03
			0.037 kg ai/ha・散布		44	圃場6 0.09
			0.039 kg ai/ha・散布		44	圃場7 0.08
			0.037 kg ai/ha・散布		50	圃場8 0.14
			0.039 kg ai/ha・散布		44	圃場9 0.03
			0.038 kg ai/ha・散布		42	圃場10 0.03
			0.038 kg ai/ha・散布		46	圃場11 0.04
			0.038 kg ai/ha・散布		45	圃場12 0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		41	圃場13 0.04
			0.038 kg ai/ha・散布		35	圃場14 <0.02
			0.038 kg ai/ha・散布		40	圃場15 <0.02
			0.038 kg ai/ha・散布		42	圃場16 <0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		45	圃場17 <0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		45	圃場18 <0.02
			0.035 kg ai/ha・散布		45	圃場19 <0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		41	圃場20 <0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		45	圃場21 <0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		42	圃場22 <0.02
			0.037 kg ai/ha・散布		35	圃場23 0.03
			0.038 kg ai/ha・散布		24	圃場24 <0.02
えん麦 (玄麦)	25	50 g/L ピラスルホトール +12.5 g/L メフェンビルジエチル 混合乳剤	0.051 kg ai/ha・散布	1回	44	圃場1 <0.02
			0.050 kg ai/ha・散布		43	圃場2 <0.02
			0.049 kg ai/ha・散布		38	圃場3 0.17
			0.050 kg ai/ha・散布		45	圃場4 0.03
			0.048 kg ai/ha・散布		45	圃場5 0.03
			0.049 kg ai/ha・散布		44	圃場6 <0.02
			0.051 kg ai/ha・散布		44	圃場7 0.09
			0.050 kg ai/ha・散布		50	圃場8 0.08
			0.052 kg ai/ha・散布		44	圃場9 0.03
			0.041 kg ai/ha・散布		45	圃場10 0.02
			0.051 kg ai/ha・散布		45	圃場11 0.02
			0.050 kg ai/ha・散布		42	圃場12 0.02
			0.050 kg ai/ha・散布		46	圃場13 0.04
			0.050 kg ai/ha・散布		45	圃場14 0.02
			0.050 kg ai/ha・散布		41	圃場15 0.05
			0.051 kg ai/ha・散布		35	圃場16 0.02
			0.050 kg ai/ha・散布		40	圃場17 <0.02
			0.051 kg ai/ha・散布		42	圃場18 <0.02
			0.051 kg ai/ha・散布		45	圃場19 <0.02
			0.050 kg ai/ha・散布		45	圃場20 <0.02
			0.049 kg ai/ha・散布		45	圃場21 <0.02
			0.049 kg ai/ha・散布		41	圃場22 <0.02
			0.052 kg ai/ha・散布		45	圃場23 <0.02
			0.049 kg ai/ha・散布		35	圃場24 0.03
			0.049 kg ai/ha・散布		24	圃場25 0.02

※ピラスルホトール、代謝物M1及びそのO-グルコシドをピラスルホトールに換算したものの和

農産物名	基準値 案 ppm	基準値 現行 ppm	登録 有無	参考基準値		作物残留試験成績 ppm	
				国際 基準 ppm	外国 基準値 ppm		
小麦	0.02		IT		0.02	アメリカ	【<0.02(n=66)】
大麦	0.02		IT		0.02	アメリカ	【<0.02(n=48)】
ライ麦	0.02		IT		0.02	アメリカ	【小麦、大麦、えん麦を参照】
その他の穀類	0.08		IT		0.08	アメリカ	【<0.02-0.20(n=49)(えん麦)】
牛の筋肉	0.02		IT		0.02	アメリカ	
豚の筋肉	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の陸棲哺乳類に属する動物の筋肉	0.02		IT		0.02	アメリカ	
牛の脂肪	0.02		IT		0.02	アメリカ	
豚の脂肪	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.02		IT		0.02	アメリカ	
牛の肝臓	0.35		IT		0.35	アメリカ	
豚の肝臓	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.35		IT		0.35	アメリカ	
牛の腎臓	0.06		IT		0.06	アメリカ	
豚の腎臓	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.06		IT		0.06	アメリカ	
牛の食用部分	0.06		IT		0.06	アメリカ	
豚の食用部分	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	0.06		IT		0.06	アメリカ	
乳	0.01		IT		0.01	アメリカ	
鶏の筋肉	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の家さんの筋肉	0.02		IT		0.02	アメリカ	
鶏の脂肪	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の家さんの脂肪	0.02		IT		0.02	アメリカ	
鶏の肝臓	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の家さんの肝臓	0.02		IT		0.02	アメリカ	
鶏の腎臓	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の家さんの腎臓	0.02		IT		0.02	アメリカ	
鶏の食用部分	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の家さんの食用部分	0.02		IT		0.02	アメリカ	
鶏の卵	0.02		IT		0.02	アメリカ	
その他の家さんの卵	0.02		IT		0.02	アメリカ	



(別紙3)

ピラスルホトール推定摂取量 (単位:  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$ )

食品群	基準値案 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者 (65歳以上) TMDI
小麦	0.02	2.3	1.6	2.5	1.7
大麦	0.02	0.1	0.0	0.0	0.1
ライ麦	0.02	0.0	0.0	0.0	0.0
その他の穀類	0.08	0.0	0.0	0.0	0.0
陸棲哺乳類の肉類	0.35	20.1	11.5	21.2	20.1
陸棲哺乳類の乳類	0.01	1.4	2.0	1.8	1.4
家禽の肉類	0.02	0.4	0.4	0.3	0.4
家禽の卵類	0.02	0.8	0.6	0.8	0.8
計		25.2	16.1	26.7	24.5
ADI比 (%)		4.7	10.2	4.8	4.5

高齢者については畜産物、妊婦については家きんの卵類の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考とした。

TMDI: 理論最大1日摂取量 (Theoretical Maximum Daily Intake)

(参考)

これまでの経緯

- 平成19年 8月17日 インポートトレランスによる基準値設定要請（小麦、畜産物等）  
平成19年 8月28日 厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請  
平成19年 8月30日 食品安全委員会（要請事項説明）  
平成20年 5月 9日 第15回農薬専門調査会確認評価第一部会  
平成20年 9月30日 第43回農薬専門調査会幹事会  
平成20年10月16日 食品安全委員会における食品健康影響評価（案）の公表  
平成20年11月20日 食品安全委員会（報告）  
平成20年11月20日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知  
平成21年 4月13日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会へ諮問  
平成21年 4月14日 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

- |         |                                        |
|---------|----------------------------------------|
| 青木 宙    | 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授                   |
| 生方 公子   | 北里大学北里生命科学研究科病原微生物分子疫学研究室教授            |
| ○大野 泰雄  | 国立医薬品食品衛生研究所副所長                        |
| 尾崎 博    | 東京大学大学院農学生命科学研究科教授                     |
| 加藤 保博   | 財団法人残留農薬研究所理事                          |
| 斉藤 貢一   | 星薬科大学薬品分析化学教室准教授                       |
| 佐々木 久美子 | 元国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長                   |
| 志賀 正和   | 元農業技術研究機構中央農業総合研究センター虫害防除部長            |
| 豊田 正武   | 実践女子大学生活科学部生活基礎化学研究室教授                 |
| 松田 りえ子  | 国立医薬品食品衛生研究所食品部部長                      |
| 山内 明子   | 日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長                  |
| 山添 康    | 東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野教授            |
| 吉池 信男   | 青森県立保健大学健康科学部栄養学科教授                    |
| 由田 克士   | 国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム国民健康・栄養調査プロジェクトリーダー |
| 鰐渕 英機   | 大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授                |

(○：部会長)

答申（案）

ピラスルホトール

食品名	残留基準値 <sup>注1)</sup>
	DDM
小麦	0.02
大麦	0.02
ライ麦	0.02
その他の穀類 <sup>注2)</sup>	0.08
牛の筋肉	0.02
豚の筋肉	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物 <sup>注3)</sup> の筋肉	0.02
牛の脂肪	0.02
豚の脂肪	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の脂肪	0.02
牛の肝臓	0.35
豚の肝臓	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の肝臓	0.35
牛の腎臓	0.06
豚の腎臓	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の腎臓	0.06
牛の食用部分	0.06
豚の食用部分	0.02
その他の陸棲哺乳類に属する動物の食用部分	0.06
乳	0.01
鶏の筋肉	0.02
その他の家きん <sup>注4)</sup> の筋肉	0.02
鶏の脂肪	0.02
その他の家きんの脂肪	0.02
鶏の肝臓	0.02
その他の家きんの肝臓	0.02
鶏の腎臓	0.02
その他の家きんの腎臓	0.02
鶏の食用部分	0.02
その他の家きんの食用部分	0.02
鶏の卵	0.02
その他の家きんの卵	0.02

(注1) 今回基準値を設定するピラスルホトールは、ピラスルホトール、代謝物(5-ヒドロキシ-3-メチル-1H-ピラゾール-4-イル)[2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル]メタンをピラスルホトールに換算したものの和をいうこと。(ただし、穀類においては、代謝物3-メチル-4-[[2-(メチルスルホニル)-4-(トリフルオロメチル)フェニル]カルボニル-1H-ピラゾール-5-イル D-グルコピラノシドを含む。)

(注2)「その他の穀類」とは、穀類のうち、米、小麦、大麦、ライ麦、とうもろこし及びそば以外のものをいう。

(注3)「その他の陸棲哺乳類に属する動物」とは、陸棲哺乳類に属する動物のうち、牛及び豚以外のものをいう。

(注4)「その他の家きん」とは、家きんのうち、鶏以外のものをいう。

動物用医薬品評価書

ブロチゾラム

2008年3月

食品安全委員会

## 目次

	頁
○審議の経緯	3
○食品安全委員会委員名簿	4
○食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿	4
○要約	5
I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 開発の経緯	6
II. 安全性に係る試験の概要	7
1. 吸収・分布・代謝・排泄試験	7
(1) 投与試験 (雄マウス)	7
(2) 投与試験 (雄ラット)	8
(3) 投与試験 (ラット、イヌおよびサル)	8
(4) 投与試験 (ラット、イヌ、サルおよびヒト)	10
(5) 投与試験 (マウス、ラット、イヌ、サル、牛およびヒト)	10
(6) 体内分布 (泌乳牛)	12
(7) 残留試験 (牛)	15
2. 急性毒性試験	17
(1) 急性毒性試験 (マウス)	17
(2) 急性毒性試験 (ラット)	18
(3) 急性毒性試験 (イヌ)	19
(4) 急性毒性試験 (ウサギ)	19
(5) 急性毒性試験 (サル)	19
3. 亜急性毒性試験	19
(1) 4週間亜急性毒性試験 (ラット)	19
(2) 5週間亜急性毒性試験 (ラット)	20
(3) 13週間亜急性毒性試験 (ラット)	21
(4) 13週間亜急性毒性試験 (サル)	21
(5) 4週間亜急性毒性試験 (イヌ)	22
4. 慢性毒性試験および発がん性試験	23
(1) 12ヶ月間慢性毒性試験 (サル)	23
(2) 18ヶ月間慢性毒性試験 (ラット)	23
(3) 18ヶ月間慢性毒性試験 (マウス)	24
(4) 2年間発がん性試験 (ラット)	25
5. 生殖発生毒性試験	27
(1) 妊娠前及び妊娠初期投与試験 (第I節) (ラット)	27

(2) 器官形成期投与試験 (第Ⅱ節) (ラット) .....	28
(3) 器官形成期投与試験 (第Ⅱ節) (ウサギ) .....	30
(4) 周産期及び授乳期投与試験 (第Ⅲ節) (ラット) .....	31
6. 遺伝毒性試験 .....	34
7. 一般薬理試験 .....	35
(1) 呼吸・循環器系への作用 .....	35
(2) 自律神経系および平滑筋への作用 .....	36
(3) 血液系への作用 .....	37
(4) 中枢神経系への作用 .....	37
(5) 消化器系への作用 .....	39
(6) 体性神経系への作用 .....	39
(7) 水および電解質代謝への作用 .....	40
(8) 抗炎症作用 .....	40
(9) 1週間あるいは1ヶ月間投与試験による血液生化学的パラメーターおよび 体重への影響 (ラット) .....	40
8. その他 .....	41
(1) 甲状腺機能に関する特殊毒性試験 (ラット) .....	41
(2) 甲状腺機能に関する特殊毒性試験 (ヒト) .....	42
(3) その他の甲状腺機能に関する知見 .....	42
9. ヒトにおける知見について .....	43
(1) ヒトボランティア試験 .....	43
(2) 副作用等について .....	43
10. ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響について .....	44
Ⅲ. 食品健康影響評価 .....	44
1. 亜急性・慢性毒性試験について .....	44
2. 生殖発生毒性試験について .....	44
3. 遺伝毒性/発がん性について .....	44
4. ヒトにおける影響について .....	45
5. 毒性学影響のエンドポイントの選択について .....	45
6. 一日摂取許容量 (ADI) の設定について .....	46
・別紙1 .....	47
・参照 .....	48

〈審議の経緯〉

- 2006年 4月 21日 農林水産大臣より再審査に係る食品健康影響評価について要請  
(17 消安第 13900 号)
- 2006年 4月 24日 関係書類の接受
- 2006年 4月 27日 第 141 回食品安全委員会 (要請事項説明)
- 2006年 4月 28日 第 51 回動物用医薬品専門調査会
- 2006年 10月 16日 厚生労働大臣より残留基準設定に係る食品健康影響評価につい  
て要請 (厚生労働省発食安第 1016003 号)、関係書類の接受
- 2006年 10月 19日 第 164 回食品安全委員会 (要請事項説明)
- 2007年 9月 28日 第 80 回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 10月 23日 第 82 回動物用医薬品専門調査会
- 2007年 11月 27日 第 84 回動物用医薬品専門調査会
- 2008年 1月 24日 第 223 回食品安全委員会 (報告)
- 2008年 1月 24日 より 2008年 2月 22日 国民からの御意見・情報の募集
- 2008年 3月 11日 動物用医薬品専門調査会座長より食品安全委員会委員長へ報告
- 2008年 3月 13日 第 230 回食品安全委員会 (報告)  
同日付で厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006年6月30日まで)

寺田雅昭 (委員長)  
寺尾允男 (委員長代理)  
小泉直子  
坂本元子  
中村靖彦  
本間清一  
見上彪

(2006年12月20日まで)

寺田雅昭 (委員長)  
見上彪 (委員長代理)  
小泉直子  
長尾拓  
野村一正  
畑江敬子  
本間清一

(2006年12月21日から)

見上彪 (委員長)  
小泉直子 (委員長代理\*)  
長尾拓  
野村一正  
畑江敬子  
廣瀬雅雄\*\*  
本間清一

\*: 2007年2月1日から

\*\* : 2007年4月1日から

〈食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿〉

(2007年2月11日まで)

三森 国敏 (座長)  
井上 松久 (座長代理)  
青木 宙 津田 修治  
明石 博臣 寺本 昭二  
江馬 眞 長尾 美奈子  
大野 泰雄 中村 政幸  
小川 久美子 林 眞  
渋谷 淳 藤田 正一  
嶋田 甚五郎 吉田 緑  
鈴木 勝士

(2007年9月30日まで)

三森 国敏 (座長)  
井上 松久 (座長代理)  
青木 宙 寺本 昭二  
明石 博臣 長尾 美奈子  
江馬 眞 中村 政幸  
小川 久美子 林 眞  
渋谷 淳 平塚 明  
嶋田 甚五郎 藤田 正一  
鈴木 勝士 吉田 緑  
津田 修治

(2007年10月1日から)

三森 国敏 (座長)  
井上 松久 (座長代理)  
青木 宙 寺本 昭二  
今井 俊夫 頭金 正博  
今田 由美子 戸塚 恭一  
江馬 眞 中村 政幸  
小川 久美子 林 眞  
下位 香代子 山崎 浩史  
津田 修治 吉田 緑  
寺岡 宏樹



## 要約

2-bromo-thieno-triazolo-1,4diazepine 誘導体であり、鎮静、抗痙攣、筋弛緩、睡眠効果を有する動物用医薬品「プロチゾラム」(CAS No.57801-81-7)について、各種評価書等(EMEA レポート、動物用医薬品再審査申請時の添付資料等)を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に供した試験成績は、投与試験(マウス、ラット、イヌ、サル、牛及びヒト)、残留試験(牛)、急性毒性試験(マウス、ラット、イヌ、ウサギ及びサル)、亜急性毒性試験(ラット、イヌ及びサル)、慢性毒性試験及び発がん性試験(マウス、ラット及びサル)、生殖発生毒性試験及び催奇形性試験(ラット、ウサギ)、遺伝毒性試験等である。

試験の結果から、プロチゾラム投与による影響は、鎮静、運動失調など主に薬理作用に関連していた。繁殖能に対する影響、催奇形性及び遺伝毒性は認められなかった。

発がん性試験において、ラットの雄に甲状腺濾胞腺腫、ラットの雌に胸腺型悪性リンパ腫及び子宮における神経鞘腫の増加が認められたが、プロチゾラムが遺伝毒性物質ではないこと、マウスについて発がん性を示唆する所見が得られていないこと及びラットにおいては高用量群にのみ、これら腫瘍性病変の発生の増加が認められていることから、一日摂取許容量(ADI)の設定は可能であると考えられた。

各毒性試験の無毒性量または作用量の最小値は、ヒトボランティア試験から得られた最小作用量 0.0013 mg/kg 体重/日であったため、これを根拠として安全係数 100 で除した 0.013 µg/kg 体重/日を一日摂取許容量(ADI)と設定した。

## I. 評価対象動物用医薬品の概要

### 1. 用途 (参照 1)

動物の食欲不振の改善の補助的効果を目的としている。

### 2. 有効成分の一般名

和名：プロチゾラム

英名：Brotizolam

### 3. 化学名

IUPAC

和名：2-ブロモ-4-(2-クロロフェニル)-9-メチル-6H-1-チア-5,7,8,9a-テトラアザシクロペンタ[e]アズレン

英名：2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-1-thia-5,7,8,9a-tetraazacyclopenta[e]azulene

CAS(No.57801-81-7)

和名：2-ブロモ-4-(2-クロロフェニル)-9-メチル-6H-チエノ[3,2-f][1,2,4]トリアゾロ[4,3a][1,4]ジアゼピン

英名：2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-thieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3a][1,4]diazepine

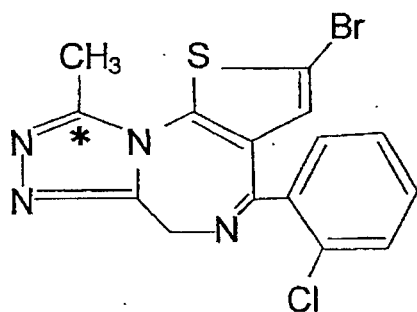
### 4. 分子式

$C_{15}H_{10}BrClN_4S$

### 5. 分子量

393.69

### 6. 構造式



### 7. 開発の経緯

プロチゾラムは、ドイツ・ベーリンガーインゲルハイム社において抗不安薬あるいは睡眠薬の研究の中から発見された 2-bromo-thieno-triazolo-1,4diazepine 誘導体である。ヒト

用医薬品としては睡眠導入剤として開発されているが、動物に対しては食欲不振改善の補助等を目的として開発された。

わが国では、牛用注射剤として1998年9月に承認され、1999年6月より販売されている。用法・用量は、牛に対して1日量として体重1kg当たり2 $\mu$ g以下の量を静脈内に注射することとされ、食用に供するためにと殺する前2日間又は食用に供するために搾乳する前12時間使用禁止期間としている。

また、フランス(1987年6月承認)、ドイツ(1988年9月承認)、アイルランド(1990年10月承認)、イタリア(1988年9月承認)等諸外国においても広く承認を受け、市販されている。

## II. 安全性に係る試験の概要

### 1. 吸収・分布・代謝・排泄試験

#### (1) 投与試験(雄マウス)(参照2)

Chbb: NMRI系雄マウス(9匹/群)に<sup>14</sup>C標識プロチゾラム<sup>1</sup>を単回経口(0.3、10、200 mg/kg体重)投与あるいは非標識プロチゾラムを4週間反復経口(0.3、10、200 mg/kg体重)投与後、同用量の<sup>14</sup>C標識プロチゾラムを単回経口投与した際の体内動態が調べられている。なお、本試験の投与量はマウスを用いた18ヶ月間発がん性試験(参照3)と同一濃度に設定された。

<sup>14</sup>C標識プロチゾラムの単回投与および非標識プロチゾラム0.3、10 mgの4週間前投与後の<sup>14</sup>C標識プロチゾラムの単回投与における血中最大放射活性濃度は、全血量における投与放射活性の2.1-4.6%の範囲にあった。一方、非標識プロチゾラム200 mgを前投与した場合の血中最大放射活性濃度は1.0-1.6%に低下し、 $C_{max}$ およびAUCも低値が認められた。この原因として、反復投与による吸収率の低下や酵素誘導による代謝亢進が示唆された。しかしながら、 $C_{max}$ およびAUCは<sup>14</sup>C標識プロチゾラムの単回および非標識プロチゾラムの4週間前投与に関わらず、いずれの用量においても線形の相関性を示した。また、 $T_{1/2}$ については、前投与の有無および投与量による差は認められず( $T_{1/2}$ : 2.5-3.8時間)、いずれにおいても速やかな排泄が認められた。HPLCによる分析により、<sup>14</sup>C標識プロチゾラムの単回および非標識プロチゾラムの前投与に関わりなく主要代謝物として代謝物A(メチル基の水酸化)(22.2-30.7%)が認められ、その他に代謝物D(脱メチル体)(17.2%)、代謝物B(ジアゼピン環の水酸化)(12.3%)および未変化体(9.3-23%)が認められた。なお、これらの代謝物はいずれも投与後30分に検出されていることから、いずれの用量においてもプロチゾラムは速やかに代謝されることが示唆された。一方、非標識プロチゾラムの10および200 mgを前投与した時に限り、代謝パターンに変化が生じ、高極性物質(21.4-30.5%、プロチゾラムのフェニル環が水酸化されたものと考えられる)の割合が増加した。これに伴い代謝物Bおよび代謝物Dの割合は減少したが、代謝物Aの割合に変化は認められなかった。また、非標識プロチゾラムの200 mgの前投与では未変化体の割合(5.3%)が減少した。このことか

<sup>1</sup> 標識部位は炭素数9位(\*:1ページ構造式参照。以下、特に記載がなければ同じ。)

ら、マウスにおける 10 および 200 mg の 4 週間前投与では、チトクローム P450 による酵素誘導が生じている可能性が示唆された。

## (2) 投与試験 (雄ラット) (参照 4)

Sprague-Dawley 系雄ラットに  $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラム 0.5 mg/kg 体重/日を単回および 7 日間反復経口投与した後の体内動態が調べられている。単回投与後の  $T_{\max}$  は 1 時間で、そのときの  $C_{\max}$  は 18.6 ng/mL であった。血中からの消失はおおむね二相性であり、 $T_{1/2}$  ( $\beta$  相) は 10.5 時間であった。7 日間反復経口投与後の  $T_{\max}$  は最終回投与後 30 分で、そのときの  $C_{\max}$  は 51.6 ng/mL であった。血中からの消失は単回投与時と比べ緩徐であったが経時的に減衰した。

単回投与時の組織内濃度は投与後 1 時間までにほとんどの組織で最高値を示し、胃腸管、肝臓、副腎、腎臓および甲状腺に高濃度の分布が認められたが、以降は経時的に減衰した。7 日間反復経口投与後の組織内濃度は、単回投与時と同様に最終回投与後 1 時間までに最大となり、それらの濃度も単回投与時と同程度であった。投与 4 時間以降は単回投与時に比べ高値傾向にあったが経時的に減衰し、投与 48 時間後には全ての組織で最高値の 1/10 以下となった。また、特定組織に放射能が残留することはなかった。

単回投与後 48 時間までの尿中排泄率は 7.6%、糞中排泄率は 88.0% であった。7 日間反復経口投与における最終回投与後 48 時間までの尿・糞中排泄率は、各々全投与量の 5.8% および 83.9% で、単回投与と同様であった。

単回投与後 24 時間までの胆汁中排泄率は 84.0% と高く、その約 1/2 は投与後 1 時間までに迅速に排泄された。採取した胆汁を別の動物の十二指腸内に投与すると、投与 24 時間後以内に総放射能の 39.2% が胆汁中に再排泄され、腸肝循環率は 32.9% であった。

ラット血漿タンパクとの結合率は *in vivo* で 50.6%、*in vitro* で 77.7% であった。ヒト血漿および血清アルブミンとの結合率は、各々 94.0% および 90.9% であった。

単回投与後 2-24 時間の血中放射能濃度と血漿中濃度の比はおおむね全期間にわたって一定であり、約 1.5 であった。

## (3) 投与試験 (ラット、イヌおよびサル) (参照 5)

Chbb: THOM ラット(雄)、ビーグル犬(雌、4 頭) 及びアカゲザル(雄 3 頭、雌 2 頭) に  $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与した時の体内動態について調べられている。また、ラットについては胆汁中排泄率についても調べられている。

いずれの種においても、経口投与後のプロチゾラムは迅速かつ良好な吸収性を示し、 $C_{\max}$  および  $T_{\max}$  はそれぞれラットで 63 ng eq/mL および 0.25 時間、イヌで 83 ng eq/mL および 1 時間、サルでは 167 ng eq/mL および 1 時間であった。また、経口および静脈内投与ともに血漿中総放射能の消失は二相性を示し、経口投与における  $T_{1/2}$  ( $\alpha$  相) はラットで 0.5 時間、イヌで 2.3 時間、サルでは 1.3 時間、 $T_{1/2}$  ( $\beta$  相) はそれぞれ

17.5 時間、20.8 時間および 17.1 時間であった。静脈内投与における  $T_{1/2}$  ( $\alpha$ 相) はラットで 0.4 時間、イヌで 0.8 時間、サルでは 1.1 時間、 $T_{1/2}$  ( $\beta$ 相) ではそれぞれ 14.8 時間、18.4 時間および 18.9 時間であった。

腎および糞中からの総排泄率は、経口投与ではラットで 83.6%、イヌで 93.6%、サルでは 87.8%、静脈内投与ではそれぞれ 88.5%、82.6% および 87.0% であった。ラットでは腎排泄率は低く、経口および静脈内投与後 6 時間において 5-6% であった。一方、イヌおよびサルにおける腎排泄率はそれぞれ 49-51% および 28-34% であった。いずれの種においても、プロチゾラムは投与 3-4 日後に完全に排泄された。

腸管吸収率はラットで 89%、イヌとサルでは 100% と高値を示し、いずれの種においても良好な吸収性が認められた。

胆汁中排泄率はラットにおいて投与後 10 時間まで調べられており、投与後 1-2 時間で最も高く、1 時間あたりの排泄率は静脈内投与で 24.6%、経口投与では 14.3% であった。また、投与後 3 時間までに静脈内投与では 54.7%、投与後 10 時間では経口投与で 72.9%、静脈内投与では 84.8% が胆汁中に排泄された。

ラットの胆汁中代謝物、サルおよびイヌの尿中代謝物について、TLC により調べられている。ラットの胆汁およびサルの尿中に未変化体の放射活性はほとんど認められず、 $\beta$ -グルクロニダーゼ/アリアルスルファターゼによる加水分解前は TLC 上の原点以外に放射活性は認められなかった。一方、イヌの尿中には未変化体と TLC 上で同じ挙動を示す放射活性体およびいくつかの非抱合代謝物が認められた。 $\beta$ -グルクロニダーゼ/アリアルスルファターゼによる加水分解後は、個々の代謝物は異なるものの、いずれの種においても 2-3 種の主要代謝物が認められた。

泌乳期のラットに単回経口 (1 mg/kg 体重/日) 投与した際の血中および乳汁中への分布、雄ラットおよび妊娠ラット (妊娠 14、20 および 22 日) に単回経口あるいは静脈内 (雄: 2.8 mg/kg 体重/日、妊娠雌: 3.4 mg/kg 体重/日) 投与した際の体内分布について全身オートラジオグラフィにより調べられている。

血中および乳汁中排泄率は、泌乳期ラットにおいて投与後 24 時間まで調べられている。血中と乳汁中濃度の推移には並行性が認められ、投与後 24 時間までにいずれも速やかな低下が認められた。投与 4-8 時間後の乳汁サンプルを用いて TLC による分析を行なった結果、大部分がプロチゾラムの代謝物であり、未変化体はごく微量であった。

全身オートグラフィを用いた体内分布は、雄ラットを用いて投与 0.5、1、4、8 および 24 時間後に調べられている。経口および静脈内投与ともに同様の分布パターンを示し、投与 0.5 時間後には既に全身への分布が認められ、肝臓、腎臓、胃腸管および副腎で高濃度の分布が認められた。また、いずれの投与経路においても、被験物質は脳-血液関門を通過することが確認された。投与 8 時間後には主に消化管および肝臓に分布が認められ、腎臓、副腎および膀胱への分布はわずかであった。その他の臓器・組織への分布はほとんど認められなかった。妊娠 14 日と 20 日のラットにおける体内分布は、経口および静脈内投与 15 分及び 24 時間後では胎盤への通過が認められた。妊娠後期における放射活性の胎児および母動物への分布は同程度であった。投与 24 時間後では、胎児に微量ながら放射活性が認められた。

<sup>14</sup>C 標識プロチゾラムのタンパク結合率が調べられている。ウシ血清アルブミンおよびヒト血清アルブミンとの結合率はそれぞれ 73-87% および 86-91% であった。また、ヒト血漿との結合率は 89-95% であった。血中における <sup>14</sup>C 標識プロチゾラムは、主に血清アルブミンと結合した状態で存在することが示唆された。

#### (4) 投与試験 (ラット、イヌ、サルおよびヒト) (参照 6)

Chbb: THOM ラット (計 6 匹) に <sup>14</sup>C 標識プロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の胆汁中排泄物、雌のビーグル犬およびアカゲザル (雌雄各 2 例) に <sup>14</sup>C 標識プロチゾラム 10 mg/kg を経口投与した後の尿中排泄物、健康ヒトボランティア (男性 3 名、女性 1 名) に <sup>14</sup>C 標識プロチゾラム 0.5 mg を経口投与した後の尿中排泄物について調べられている。

全ての種において、プロチゾラムはほぼ完全に代謝された。ラット、イヌ、サルおよびヒトにおいて、主要代謝経路はプロチゾラム分子の様々な部位における水酸化とその後に続く抱合であることが確認されている。未変化体は排泄されたとしても非常に微量である。質量分析法により、ラットの胆汁およびサルの尿から未変化体の <sup>14</sup>C 標識プロチゾラムが分離同定されたが、その量はラットの胆汁中で 4% 未満、サルの尿中では 3% 未満であった。イヌとヒトにおいてはさらに少なくなると考えられ、RIA を用いた検討では、ヒトにおける未変化体の腎排泄量は投与量のおよそ 1% であることが確認された。

全ての種で認められた代謝物の中で最も多いものは代謝物 A および代謝物 B であった。ヒトとサルにおける主要代謝物は代謝物 A (各々  $\geq 27\%$  および約 46%、腎排泄) と代謝物 B (各々  $\geq 43\%$  および  $\geq 20\%$ 、腎排泄) であり、ヒトにおけるプロチゾラムの代謝はサルと非常に類似していることが確認された。また、ヒトおよびサルの尿抽出物における代謝物 A と代謝物 B の比率はそれぞれ、およそ 4:1 および 3:2 であった。イヌにおける主要代謝物は代謝物 A と代謝物 E (We1064) (各々  $\geq 43\%$  および  $\geq 20\%$ 、腎排泄) であり、尿中における代謝物 A と代謝物 E の比率は 2:1 以上であった。なお、代謝物 E は代謝物 B の異性体であり、代謝物 B はアルカリ媒体中で代謝物 E に変化する。それ故、イヌの尿中から同定された代謝物 E は試料の抽出・精製過程で代謝物 B から形成されるもので、実際に腎臓から排泄されているのものは代謝物 B であると考えられている。ラットの主要代謝物は、フェニルヒドロキシル基を含むプロチゾラムと代謝物 B (各々  $\geq 14\%$  および  $\geq 13\%$ 、胆汁中排泄) であった。

#### (5) 投与試験 (マウス、ラット、イヌ、サル、牛およびヒト) (参照 7)

マウス、ラット、イヌ、サルおよびヒトに <sup>14</sup>C 標識プロチゾラムを単回経口あるいは静脈内投与した後の体内動態について以下のように調べられている。

ラット、イヌおよびサルに <sup>14</sup>C 標識プロチゾラムを単回経口投与すると腸管から速やかに吸収された (ラット: 89%、イヌおよびサル: 100%)。

ラットおよびマウスに <sup>14</sup>C 標識プロチゾラムをそれぞれ単回経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与した際の投与量と AUC、 $C_{max}$  の間には良好な相関性が認められた。

<sup>14</sup>C 標識プロチゾラムをマウス (0.3、10、200 mg/kg 体重/日)、ラット (0.3、0.5、10、200 mg/kg 体重/日)、イヌ (0.5 mg/kg 体重/日) およびサル (0.5、7、10 mg/kg 体

重/日) にそれぞれ単回経口投与した際の  $T_{max}$  および  $C_{max}$  は、それぞれマウスで 0.5 時間および 86-71,539 ng/mL、ラットで 0.25-1.0 時間および 23-15,018 ng/mL、イヌで 1-2 時間および 83 ng/mL、サルで 0.5-2 時間および 167-1,800 ng/mL であった。また、マウス (10 mg/kg 体重/日)、ラット (0.5 mg/kg 体重/日)、イヌ (0.5 mg/kg 体重/日) およびサル (0.5、7、10 mg/kg 体重/日) にそれぞれ単回経口投与した際の分布相半減期および消失相半減期は、それぞれマウスで 0.8 時間および 5.6 時間、ラットで 0.5 時間および 17.5 時間、イヌで 1.8 時間および 20.8 時間、サルでは 0.5 mg 投与で 1.0 時間および 17.0 時間、7 mg 投与で 21 時間 (消失相半減期のみ)、10 mg 投与で 10 時間 (消失相半減期) であった。同様に、単回静脈内投与した際の分布相半減期および消失相半減期は、ラットで 0.33 時間および 14.8 時間、イヌで 0.9 時間および 18.4 時間、サル (0.5 mg 投与) で 1.25 時間および 18.9 時間であった。

$^{14}C$  標識プロチゾラムを単回経口および静脈内投与すると、いずれの投与経路でも全身に広く分布する。体内分布は投与 30 分後には腸管 (胆汁排泄のため)、肝臓、腎臓および副腎に高濃度が認められ、投与 8 時間後には主に腸管に残留がみられるが、肝臓では低濃度、腎臓および副腎ではごく微量が検出されるに過ぎない。

経口および静脈内投与により  $^{14}C$  標識プロチゾラムは血液-脳関門を通過する。妊娠ラットに投与すると胎盤を通過し、妊娠後期には胎児と母動物への分布は同等となる。授乳ラットに経口投与すると放射活性は乳汁中に認められ、乳汁中濃度は血中濃度と同様の推移を示し、速やかに消失することが確認された。泌乳牛に静脈内投与すると、放射活性は投与後 4 時間までに乳汁中に検出される。また、血漿中濃度は乳汁中濃度と同様に速やかな消失が認められた。

サルおよびラットを用いた反復投与試験の結果、プロチゾラムには蓄積傾向および酵素誘導は認められなかった。また、ラット肝ミクロソームを用いて薬物代謝酵素誘導について調べた結果、酵素誘導は認められなかった。一方、マウスではプロチゾラムを 4 週間反復経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与後、同用量の  $^{14}C$  標識プロチゾラムを単回経口投与した際に、200 mg 投与群でやや代謝亢進が認められ、酵素誘導が示唆された。

マウスにおける単回経口 (10 mg/kg 体重/日) 投与後 6 日までの尿中排泄率は 22.5%、糞中排泄率は 53.3% であった。尿中および胆汁中から 7 つの代謝物が同定されおり、胆汁中の主要代謝物は代謝物 A および代謝物 B、その他に代謝物 C および代謝物 D が低濃度に、未変化体は極微量ながら検出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び/あるいは硫酸抱合体として認められた。血漿中の主要代謝物は代謝物 A であり、その他に代謝物 B および代謝物 D が認められた。

ラットにおける単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与後 7 日までの尿中排泄率は 5.3-6.0%、胆汁中排泄率は 72.9-84.9%、糞中排泄率は 78.3-82.6% であり、尿中への排泄は主として未変化体であった。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。胆汁中の主要代謝物はフェニルヒドロキシル基を含むプロチゾラムおよび代謝物 B であり、未変化体は極微量ながら検出された。胆汁中において、いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び/あるいは抱合体として認められた。血漿中における主要代謝物は 2 種類の高極性物質で、その他に代謝物 A、代謝物

B、代謝物 C および代謝物 D が検出された。

イヌでは単回経口あるいは静脈内 (0.5 mg/kg 体重/日) 投与後 8 日までの尿中排泄率は 51.5-49.3%、糞中排泄率は 42.3-33.5%であった。尿中における主要代謝物は代謝物 A (43%) および代謝物 E (20%) であり、未変化体は極微量ながら検出された。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び/あるいは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。

サルにおける単回経口あるいは静脈内 (0.5、7、10 mg/kg 体重/日) 投与後 3 あるいは 5 日までの尿中排泄率は 28-69.2%、糞中排泄率は 23.3-59%であった。尿中の主要代謝物は代謝物 A (46%) および代謝物 B (26%) であった。プロチゾラムは尿中からほぼ完全に排泄され、未変化体としての排泄はわずか 3%に過ぎなかった。いずれの代謝物も水酸化体のグルクロン酸抱合体及び/あるいは硫酸抱合体として認められた。なお、代謝物の排泄パターンに投与経路による差異は認められなかった。また、1 年間反復経口 (7 mg/kg 体重/日) 投与においても代謝パターンは同様であった。

健常人におけるプロチゾラムの各剤型による吸収性が調べられており、溶液>錠剤>カプセルの順に良好な吸収性を示した。また、いずれの剤型においても AUC に差は認められなかった。プロチゾラムの血漿中濃度は 0.125-1.0 mg の用量ではほぼ線形の上昇を示すが、1.5 mg 以上の用量では上昇に明らかな停滞が認められた。健常人においてプロチゾラムは腸管から速やかに吸収され、絶対的生物学的利用率はおよそ 70%であった。血漿中の  $T_{1/2}$  は 4.3-7.3 時間と短く、投与量の 64.9%は尿中から、23.6%は糞中から排泄された。7 日間反復 (1 mg) 投与試験では、血漿中濃度および  $T_{1/2}$  はそれぞれ初回投与日に 19.2 ng/mL および 3.6 時間、最終投与日では 19.6 ng/mL および 3.7 時間と同一であり、蓄積性は認められなかった。プロチゾラムはほぼ完全に代謝されて尿中排泄され、投与後 8 時間までに未変化体の占める割合は 1%であった。主要代謝物である代謝物 A および代謝物 B は、それぞれ 27%および 7%が尿中へ排泄された。いずれの代謝物も抱合体として認められた。また、これら代謝物の排出半減期は未変化体のそれと大差はないことが確認された。

重度の腎疾患患者にプロチゾラムを単回あるいは 7 日間反復 (0.25 mg) 投与したときの  $T_{1/2}$  は 6.9-7.6 時間で、健常人の値の範囲内にあった。高齢者患者に単回あるいは 3 週間反復投与 (0.25 mg) したときの  $T_{1/2}$  は 6.0-9.8 時間であった。肝硬変の患者に単回 (0.25 および 0.5 mg) 投与したときの  $T_{1/2}$  には大幅な延長 (9.4-53.3 時間) が認められ、排出が遅く  $T_{1/2}$  の検出できない患者も認められた。また、肝硬変患者のタンパク結合率は健常人に比べてやや低いことが確認された。健常人、高齢者患者および腎疾患患者のいずれにおいても反復投与による蓄積性および酵素誘導は認められなかった。

#### (6) 体内分布 (泌乳牛) (参照 8,9)

$^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを泌乳牛 3 頭 (動物番号: 1♀、2♀および 3♀) に静脈内 (10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 投与した際の吸収、分布および排泄について、次に示す 2 種類の試験で調べられている。

第 1 試験は 2 相試験 (Phase 1 および Phase 2) から構成されており、 $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを泌乳牛 1 頭 (1♀) に単回静脈内投与した際の代謝および薬物動態について調



べられている。

第2試験は<sup>14</sup>C標識プロチゾラムを泌乳牛(2♀および3♀)に単回静脈内投与した際の体内動態について調べられている。

#### ①第1試験

##### a. 第1相試験、Phase 1: 試験開始後1-6日目

<sup>14</sup>C標識プロチゾラムを泌乳牛1頭(1♀)に単回静脈内(10 μg/kg)投与した際の、総放射活性の回収率および排泄経路、血漿、全血および乳汁中における残留量が調べられている。血液試料は投与前および投与後144時間までに19時点で、糞尿は投与後12-24時間間隔で、乳汁は朝夕(08:00および18:00の2回)の時点で採取され、それぞれにおける回収率が測定された。

放射活性の総回収率は投与後6日目で112%を示し、投与量の25%は投与後144時間までに尿中に排泄され(24時間では24%)、86%は糞中から排泄された。

単回静脈内(10 μg/kg)投与した際の血漿中の総放射活性値は、投与5分後の16.4から投与1時間後には8.6 ng eq/mLまで低下した。さらに、投与12時間後には0.47 ng eq/mLまで低下し、その後は検出限界未満となった。全血の放射活性値は血漿のそれと比べて低かったが、同様の動態傾向を示した。

乳汁中における総放射活性値は非常に低く、総投与量に対する回収量の比率はわずか0.1%であった。総放射活性のC<sub>max</sub>(0.58 ng eq/mL)は初回乳汁サンプル(0-9時間)で確認され、それ以降、乳汁中の放射活性の濃度は検出限界未満であった。乳汁成分である乳脂、凝乳および乳清のうち、高濃度の放射活性が認められたのは乳脂分画でC<sub>max</sub>は1.73 ng eq/mLであった。

##### b. 第2相試験、Phase 2: 試験開始後7日目

第1相試験終了後、<sup>14</sup>C標識プロチゾラムを泌乳牛1頭(1♀)に単回静脈内(10 μg/kg)投与し、その6.5時間後に安楽死させ、全血、血漿、臓器および組織中それぞれの総放射活性の残留量について調べられている。血液試料は投与前および投与6.5時間後までの計5時点で採取した。投与6.5時間後に安楽死させた後、肺、心臓、骨格筋、肝臓、皮膚、胃粘膜、舌、骨塩、骨髄、脂肪(腎臓および皮下)、脾臓、腎臓、副腎、脳、乳汁、胆汁、乳房組織、血漿および全血が採取され、個々の組織および臓器については重量が測定された。また、投与後6時間までの糞尿、乳汁および胆汁が採取され、重量あるいは容量の測定が行われた。

血漿中の総放射活性の濃度は投与30分後に14.05 ng eq/mL、投与1時間後では10.71 ng eq/mLを示し、投与6.5時間後には1.22 ng eq/mLまで低下した。全血中の濃度は投与30分後に11.00 ng eq/mL、投与1時間後では8.25 ng eq/mLを示し、投与6.5時間後には1.16 ng eq/mLまで低下した。これらの結果は、第1相試験の結果と同程度であった。

臓器および組織中濃度は胆汁、肝臓および腎臓の順で高く、総放射活性値はそれぞれ192.5、16.9および5.3 ng eq/gであった。

未変化体の存在について、第1相試験で投与0.25、0.75、1.5、2および8時間後に採取した血漿を用いて調べたところ、それぞれ5.91、5.71、2.97、1.85および0.59 ng/mL

の未変化体が検出された。

肝臓および腎臓中の代謝物産物について HPLC にて分析したところ、代謝物 A あるいは代謝物 B の代謝物は検出されなかったが、少量の未変化体（肝臓で 22.5%、腎臓で 21.5%）が確認された。

## ②第 2 試験

$^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）に 12 時間毎に 2 回（0 および 12 時間）、静脈内（10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）投与したときの体内動態について調べられている。2 回目の静脈内投与後、泌乳牛 1 頭（2♀）は 24 時間に、泌乳牛 1 頭（3♀）は 72 時間に屠殺した。

泌乳牛 1 頭（2♀）では投与後 36 時間までに放射活性の 70% が回収され、そのうち 57% は糞中に、13% は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1% と微量であった。泌乳牛 1 頭（3♀）では投与後 84 時間までに放射活性の 79% が回収され、そのうち 63% は糞中に（36 時間までに 59% が排泄）、15% は尿中に排泄された。乳汁中への排泄は 0.1% と微量であった。

泌乳牛 1 頭（2♀）に初回（0 時間）静脈内投与したときの血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 30.9 ng eq/mL から投与 3 時間後（ $T_{1/2}$  は投与後 0.5 時間であると推測）には 3.1 ng eq/mL まで低下し、投与 12 時間後では 0.5 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与 5 分後で 15.2 ng eq/mL を示し、投与 16 時間後（ $T_{1/2}$  は投与後 1 時間であると推測）では 1.0 ng eq/mL まで低下した後、投与 20 時間後には 0.6 ng eq/mL となった。泌乳牛 1 頭（3♀）に初回静脈内投与後の血漿中の総放射活性値は、投与 5 分後の 23.9 ng eq/mL から投与 2 時間後（ $T_{1/2}$  は投与後 1 時間と推測）には 5.0 ng eq/mL まで低下し、投与 12 時間後では 1.0 ng eq/mL となった。2 回目（12 時間）の投与後の総放射活性値は、投与 5 分後で 27.0 ng eq/mL を示し、投与 15 時間後では 3.7 ng eq/mL まで低下した（ $T_{1/2}$  は投与後 1 時間であると推測）。その後、投与 24 時間後では 1.1 ng eq/mL となった（ $T_{1/2}$  は投与後 5 時間であると推測）。泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）の総放射活性値は、第 1 試験の第 1 相試験で確認した泌乳牛 1 頭（1♀）の結果と類似していた。

泌乳牛 2 頭（2♀および 3♀）に  $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを 2 回、静脈内投与した後の乳汁中濃度は、2 頭共に 0.1% と微量であった。2 回目の投与 0-9 時間後に採取された乳汁中の最高値は、2♀で 0.1 ng eq/mL、3♀で 0.7 ng eq/mL であった。乳汁中の濃度についても、第 1 試験の第 1 相試験の泌乳牛 1 頭（1♀）の結果と類似していた。

泌乳牛 2 頭に  $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを 2 回、静脈内投与したときの 24 時間後（2♀）および 72 時間後（3♀）の肺、心臓、肝臓、腎臓、舌、皮膚、脂肪（腎臓および皮下）、全血、胆汁および骨格筋の総放射活性値について調べたところ、肝臓以外のほとんどは検出限界未満であった。肝臓では 2 回目の投与 24 時間後で 9.7 ng eq/mL（0.8%）、投与 72 時間後では 12.0 ng eq/mL（0.7%）の濃度が確認された。

以上の 2 試験の結果から、 $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを泌乳牛 3 頭（1♀、2♀および 3♀）

に静脈内 (10 µg/kg) 投与すると、放射活性は急速に排泄されることが確認された。主要排泄経路は糞中 (57-86%) であり、多くが胆汁中に排泄されることが考えられた。一方、尿中排泄は少量であった (15-25%)。これらの結果は、先に実施されたラット (糞中排泄 : 86%、尿中排泄 : 6%) およびサル (糞中排泄 : 59%、尿中排泄 : 28%) の試験結果と一致するものであった (参照 10,11)。また、いずれにおいても放射活性の大部分は投与後 24 時間までに排泄された。

血漿中からも急速に排泄され、泌乳牛 3 頭に静脈内投与したときの  $T_{1/2}$  は 0.5-1 時間であった。これらの結果は、ラット ( $T_{1/2}$  : 0.3 時間)、イヌ ( $T_{1/2}$  : 0.9 時間) およびサル ( $T_{1/2}$  : 1.3 時間) を用いた先の試験結果と一致している (参照 12)。全血中の濃度は血漿中よりも低い (1♀)、赤血球中への選択的な取り込みは示されていない。

泌乳牛 3 頭共に乳汁中の総放射活性値は低く、わずか 0.1% であることが確認された。乳汁成分の分析では、乳脂分画中に高濃度の放射活性が認められた (1♀)。

泌乳牛 3 頭に静脈内投与 6.5 時間後 (1♀)、投与 24 時間後 (2♀) および投与 72 時間後 (3♀) に屠殺したときの肝臓における濃度は、それぞれ 16.9 ng eq/mL (2.6%)、9.7 ng eq/mL (0.8%) および 12.0 ng eq/mL (0.7%) であった。腎臓中の濃度は投与 6.5 時間後で 5.3 ng eq/mL を示し、投与 24 および 72 時間後では検出限界未満となった。この結果より、糞中への排泄は高く、尿中への排泄は低いことが明らかになった。また、肝臓では投与 72 時間後において 0.1% 以下のプロチゾラムおよび/あるいはその代謝物の残留が確認された。(参照 8)

泌乳牛 (3 頭/群) に  $^{14}\text{C}$  標識プロチゾラムを静脈内 (2 µg/kg) 投与 6.5、24、72 時間後に各 3 頭から血液、乳汁および組織・臓器 (血漿、骨格筋、脂肪、腎臓、胆汁、肝臓) を採取し、各試料中のプロチゾラム濃度を測定した。血漿では二相性の半減期がみられ、投与 7 分後に  $C_{\max}$  (2.83 ng eq/mL) が認められ、投与 3 時間後には 0.53 ng eq/mL まで急速に減少 ( $T_{1/2}$  は 1.2 時間) し、その後は緩やかな減少を示し投与 36 時間後には 0.01 ng eq/mL まで減少した ( $T_{1/2}$  は 5 時間)。乳汁中の残留量は低く、初回搾乳 7 時間後で  $C_{\max}$  (0.08 ng eq/mL) が認められ、47 時間後には検出限界まで減少した。各組織・臓器中における残留は主に肝臓 (投与 6.5 時間後 : 3.54 ng eq/mL、24 時間後 : 1.24 ng eq/mL、72 時間後 : 0.56 ng eq/mL) および腎臓 (投与 6.5 時間後 : 1.12 ng eq/mL、24 時間後 : 0.13 ng eq/mL、72 時間後 : 0.02 ng eq/mL) で認められた。肝臓では投与 72 時間後まで明らかな残留が認められ、 $T_{1/2}$  は 30 分であった。また、胆汁中にはかなりの量の残留が認められ (投与 6.5 時間後 : 33.61 ng eq/mL、24 時間後 : 3.94 ng eq/mL、72 時間後 : 0.01 ng eq/mL)、プロチゾラムの主要排泄経路は糞中であることが示唆された。筋肉および脂肪中の残留はいずれの時点においても微量であった。(参照 9)

#### (7) 残留試験 (牛) (参照 13,14,15,16)

雌子牛 (約 6 ヶ月齢、31 頭) に SPV-708 (プロチゾラム 0.2 mg/mL 製剤) を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL (有効成分として 0.2 mg、以下同じ) および 2 倍量群 2.0 mL (有効成分として 0.4 mg、以下同じ) として左頸静脈内に 1 日 1 回 3 日間連続投与し、最終投与 2 時間、1、2、3 および 5 日後に各群 3 頭から各組織・臓器を採取してプロチ

ゾラムの経時的な残留推移を確認した。表1に示すように最終投与1日後には全例が検出限界未満となった。(参照13)

表1 プロチゾラム製剤投与後の組織内残留濃度 3試行 単位: µg/g

試料		採材時点		
		2時間目	1日目	2日目
常用量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	<0.001	<0.001	—
	腎臓	<0.001	<0.001	—
	脂肪	<0.001	<0.001	—
	小腸	<0.001	<0.001	—
	血液	<0.001	<0.001	—
2倍量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	<0.001	<0.001	—
	腎臓	<0.001	<0.001	—
	脂肪	0.001*	<0.001	<0.001
	小腸	<0.001	<0.001	—
	血液	<0.001	<0.001	—

・(\*) 3例中2例が検出限界未満      ・ —: 実施せず

同じ試験を異なる雌子牛(約6ヶ月齢、31頭)を用いて実施された残留試験の結果は、表2に示すように最終投与1日後においては、いずれの試料も検出限界未満となった。(参照14)

表2 プロチゾラム製剤投与後の組織内残留濃度 3試行 単位: µg/g

試料		採材時点		
		2時間目	1日目	2日目
常用量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	0.001 0.003*	<0.001	<0.001
	腎臓	0.002**	<0.001	<0.001
	脂肪	0.002**	<0.001	<0.001
	小腸	0.002**	<0.001	<0.001
	血液	0.001**	<0.001	<0.001
2倍量	筋肉	<0.001	<0.001	—
	肝臓	<0.001	<0.001	—
	腎臓	<0.001	<0.001	—
	脂肪	0.001*	<0.001	—
	小腸	<0.001	<0.001	—
	血液	<0.001	<0.001	—

\*は3例中1例で検出限界未満、\*\*は3例中2例で検出限界未満      —: 実施せず

泌乳牛 (2~6 才齢、3 頭/群) に SPV-708 を体重 100 kg あたり常用量群 1.0 mL および 2 倍量群 2.0 mL として、朝の搾乳直後に左頸静脈内に 3 日間連続投与した。乳汁採取は 1 回目投与前 1 回 (対照)、最終投与 12、24、36、48、60 および 72 時間後に、血液採取は 1 回目投与前 1 回 (対照)、最終投与 15、30 分、1、2、6 および 12 時間後に右頸静脈から行い、プロチゾラムの経時的な残留推移を確認した。表 3 においては乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与 24 時間後まで全試料が検出限界未満であった。表 4 においては血液においては、最終投与 1 時間後にはいずれも検出限界未満となった。(参照 15)

表 3 プロチゾラム製剤投与後の乳汁中残留濃度 単位:  $\mu\text{g/g}$

	投与前	12 時間	24 時間	36 時間
常用量	<0.001	<0.001	<0.001	—
2 倍量	<0.001	<0.001	<0.001	—

表 4 プロチゾラム製剤の血液中残留濃度 単位:  $\mu\text{g/g}$

	投与前	15 分	30 分	1 時間	2 時間
常用量	<0.001	0.001, 0.002, 0.002	0.001*	<0.001	<0.001
2 倍量	<0.001	0.002, 0.003, 0.003	0.001, 0.002, 0.002	<0.001	<0.001

同じ試験で異なる泌乳牛 (4 才齢、3 頭/群) を用いて実施された残留試験の結果は、表 5 と表 6 に示すように乳汁では、常用量群および 2 倍量群ともに最終投与 12 時間後で全試料が検出限界未満であった。血液においては、常用量群および 2 倍量群でそれぞれ最終投与 30 分および 1 時間後には検出限界未満となった。(参照 16)

表 5 プロチゾラム製剤投与後の乳汁中残留濃度 単位:  $\mu\text{g/g}$

	投与前	12 時間	24 時間
常用量	<0.001	<0.001	<0.001
2 倍量	<0.001	<0.001	<0.001

36 時間以降は実施せず

表 6 プロチゾラム製剤の血液中残留濃度 単位:  $\mu\text{g/g}$

	投与前	15 分	30 分	1 時間	2 時間
常用量	<0.001	0.001	<0.001	<0.001	—
2 倍量	<0.001	0.003, 0.002, 0.002	0.002, 0.002*	<0.001	<0.001

— は実施せず

\*3 例中 1 例で検出限界未満

6 時間以降は検査実施せず

## 2. 急性毒性試験

### (1) 急性毒性試験 (マウス) (参照 17,18,19)

Chbi: NMRI 系アルビノマウス (雌雄各 10 匹/群) にプロチゾラムを単回強制経口 (6,000、8,000、10,000 mg/kg 体重/日) 投与したときの  $\text{LD}_{50}$  は雌雄ともに 10,000 mg/kg

体重以上であった。死亡例は 8,000 mg/kg 投与群の雄 3 例 10,000 mg/kg 投与群の雌 1 例で認められた。死亡した雄 1/3 例の胃腸管内は乳白色の投与液で満たされていた。また、2/3 例では胃腸管内に残留物は認められなかったものの、1 例の粘膜に充血が認められた。雄 2/3 例および雌 1 例では脱水が認められた。計画解剖例では投与に関連すると思われる変化は認められなかった。

薬物による影響として、全例において投与後に自発運動の著しい減少あるいは睡眠が認められたが、投与後 4 日までには完全に回復した。なお、これらの症状の程度に群間差および性差は認められなかった。(参照 17,19)

ICR-JCL 系マウス (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回静脈内 (0、20 mg/kg 体重/日) 投与したが、死亡例は認められず、LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮静、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、翌日には回復した。剖検では病理学的変化は認められなかった。(参照 18)

ICR-JCL 系マウス (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回腹腔内 (0、1,000 mg/kg 体重/日) 投与したが、死亡例は認められず、LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、鎮静、睡眠、自発運動の減少および失調様歩行が認められたが、投与 2 日後には全例が回復した。剖検ではいずれの投与群においても腹膜炎が認められた。(参照 18)

## (2) 急性毒性試験 (ラット) (参照 18,20)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回静脈内 (0、16 (雌のみ)、20 mg/kg 体重/日) 投与したときの LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 20 mg/kg 体重以上であった。死亡例は 20 mg 投与群の雌 2 例で認められ、1 例は睡眠中投与 5 分後に、別の 1 例は投与 6 時間後に強直性痙攣および呼吸困難により死亡した。

薬物による影響として、雌雄共に鎮静および睡眠が認められたが、投与後 6 時間以内に回復した。また、雌雄共に摂水量の高値が認められた。剖検では、死亡例および計画解剖例に病理学的変化は認められなかった。(参照 18)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 5 匹/群) にプロチゾラムを単回腹腔内 (0、1,000 mg/kg 体重/日) 投与したときの LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 1,000 mg/kg 体重以上であった。投与翌日に 1,000 mg 投与群の雄 1 例で死亡が認められ、剖検では胃底部粘膜の点状出血、腹腔内には被験物質の白色沈着がみられた。

薬物による影響として、鎮静および睡眠、失調様歩行、自発運動の減少、軟便等が認められたが、投与 2~3 日後に回復した。体重変化は雄で投与 7 日後まで遅延が認められ、この期間は摂水量にも低値が認められた。雌では摂水量は高値を示した。計画解剖例ではいずれの投与群でも腹膜炎が認められた。(参照 18)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 10 匹) にプロチゾラムを単回強制経口 (7,000 mg/kg 体重) 投与したとき死亡例は雌 1 例で認められ、LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 7,000 mg/kg 体重以上で

あった。剖検では胃腸管内に投与液が満たされていた以外、明らかな変化は認められなかった。

薬物による影響として、雌雄共に投与 5 分後から鎮静、投与 10 分後にうずくまり、投与 1 時間後に腹臥位、投与 3 時間後には雄では失調様歩行を開始し、雌では腹臥位のまま労作性呼吸を行っていた。雄は翌朝には回復していたが、雌の 3 例が衰弱状態に陥り、そのうち 1 例が死亡した。なお、雌雄共にこれらの症状は投与後 48 時間までには回復した。(参照 20)

### (3) 急性毒性試験 (イヌ) (参照 19)

イヌ (雌雄 2 頭/群、計 6 頭) にプロチゾラムを単回経口投与したときの LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、投与 1-28 時間後に心拍数および呼吸数の増加、運動失調が認められ、投与後 48 時間までに睡眠、鎮静、振戦および嘔吐が認められた。投与 2~4 日後に摂餌量の低値および体重の軽度な低値が認められた。

### (4) 急性毒性試験 (ウサギ) (参照 19)

ウサギ (雌雄 2 羽/群、計 4 羽) にプロチゾラムを単回経口投与したときの LD<sub>50</sub> は雌雄ともに 2,000 mg/kg 体重以上であった。薬物による影響として、運動失調、筋弛緩および鎮静が認められた。

### (5) 急性毒性試験 (サル) (参照 21)

カニクイザル (雌雄各 1 頭) を用いた強制経口 (0.063、0.25、1、4 mg/kg 体重/日) 投与による急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、投与は雌雄各 1 頭に対し、各用量を 7 日間隔で行なった。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.063 mg 投与群の雌雄で発声やひっかき行動の減少、怯えや攻撃性の低下を示す例が認められた。また、振戦、握力の低下および探索行動の増加がいずれも軽度ながら認められた。0.25 および 1 mg 投与群では、自発運動および探索行動の増加が認められた後、鎮静および無関心の状態となった。これ等の症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。4 mg 投与群の症状および程度は 1 mg 投与群と類似していたが、投与後に探索行動は認められず、鎮静状態が長時間認められた。なお、鎮静状態は投与後 24 時間までに回復が認められた。

## 3. 亜急性毒性試験

### (1) 4 週間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 19)

ラット (雌雄各 20 匹/群、最高用量の雌は 30 匹) を用いた強制経口 (0.3、10、400 mg/kg 体重/日) 投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群の雌雄各 10 匹は回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群で鎮静を示した後、興奮が認められた。摂餌量では、400 mg 投与群の雌で高値が認められた。

血液生化学検査では、400 mg 投与群で Tcho の高値が認められた。

臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の高値が認められたが、回復期間中に回復がみられた。

病理組織学的検査では、肝臓を含めて投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

本試験の NOAEL は 0.3mg/kg 体重/日と考えられた。

## (2) 5 週間亜急性毒性試験 (ラット) (参照 20,22)

SD-JCL 系ラット (雌雄各 15 匹/群) を用いた強制経口 (0.5、100、1,000 mg/kg 体重/日、低用量の 0.5 mg/kg は推定臨床用量である 0.005 mg/kg の 100 倍量に相当) 投与における 5 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群にはそれぞれ雌雄各 10 匹を加えて回復群とし、投与終了後 6 週間の観察と検査を行った。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 投与群に一般状態の変化はみられなかった。100 mg 以上投与群で投与 10~15 分後から鎮静状態が認められた。鎮静は 100 mg 投与群では 4 時間、1,000 mg 投与群では 4~7 時間継続したが、投与回数を重ねるにつれて徐々に短くなり、投与終了時には両群ともに継続時間は約 2 時間となった。また、両群共に投与 2 週目から攻撃性を示すようになり、1,000 mg 回復群では投与終了後 3~4 日間、全例において興奮と自発運動の亢進が認められた。

体重変化では、1,000 mg 回復群の雄で体重増加に有意な低値が認められた。

摂餌量は 100 mg 投与群以上の雌で増加傾向が認められた。1,000 mg 回復群の雌雄では回復期間第 1 週に減少が認められた。

摂水量は 100 mg 投与群以上の雌および、1000 mg 投与群の雄で投与第 1 週中に増加が認められたが、その後は投与に関連した変動は認められなかった。

血液学的検査では、100 mg 投与群の雌で赤血球数の減少、1,000 mg 投与群の雄で白血球の減少、雌では Hb 量、RBC、Ht 値および好酸球率の減少、分葉核好中球率の増加が認められた。回復群では、1,000 mg 投与群の雌で RBC になお低値が認められたが、その他の項目については対照群との間に有意差は認められなかった。

骨髄塗抹検査は対照群と 1,000 mg 投与群で実施され、1,000 mg 投与群の雌雄で分葉核好中球率の増加、雌で好酸球率の減少にいずれも僅かな有意差が認められた。また、1000mg 投与群の雌で骨髄の桿状球にも有意な増加が認められている。しかし、回復期間終了時には、これらの値に有意差は認められなかった。

血液生化学検査では、0.5 mg 以上の雌でグルコースの軽度ながら有意な高値が認められたが、背景データと比較して対照群の値が低かったことによるものであり<sup>2</sup>、これらの

<sup>2</sup> 本試験におけるグルコースの背景データは  $9.1 \pm 0.7 \text{ mmol/l}$ 、対照データは  $8.4 \pm 0.8 \text{ mmol/l}$  であった。



高値は投与による影響ではないと考えられた。また、1,000 mg 投与群の雌雄でコレステロールの軽度な高値が認められた。また、雄ではカリウムおよびナトリウムの高値、雌ではGPT、総タンパク、アルブミン、カルシウムの高値およびAP、クロライドの低値が認められた。その他、回復群ではいくつかの項目で有意差がみられたが、いずれも対照群との差はわずかであった。

尿検査では、1000mg 投与群の雄の尿比重は有意に高値を示し、2例のタンパク反応は+++を示したが回復期間終了時には、いずれの投与群出でも明らかな変化は認めなかった。

臓器重量では、1,000 mg 投与群の雌雄で甲状腺の絶対・比重量<sup>3</sup>の高値と脾臓および胸腺の絶対・比重量の低値が認められ、雄では肝臓と腎臓の比重量の高値が、雌ではそれらの絶対・比重量の有意な増加が認められ、回復期間終了時においても肝重量の有意な高値が認められた。

剖検、病理組織学的検査および肝細胞の電子顕微鏡学的検査では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験のNOAELは0.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

### (3) 13週間亜急性毒性試験(ラット)(参照19)

ラット(雌雄各20匹/群、高用量群は雌雄各30匹)を用いた混餌(0.3、10、400 mg/kg 体重/日)投与における13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。また、対照群と高用量群の雌雄各10匹は回復群とし、投与終了後6週間の観察と検査を行った。

本試験期間中、投与に関連すると考えられる死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、400 mg 投与群の雌雄で、投与9週頃から触れると怖がり防御反応を示すなど反応性の増強が認められたが、これらの反応は回復性を示した。体重変化および摂餌量は、いずれも400 mg 投与群の雌雄で低値が認められた。

血液生化学的検査では、400 mg 投与群でAPの低値およびTchoの高値が認められたが、いずれも回復期間中に回復した。

臓器重量では、400 mg 投与群で肝重量の増加認められたが、回復期間中に回復した。

病理組織学的検査では、投与に関連すると考えられる異常は認められなかった。

本試験のNOAELは10mg/kg 体重/日と考えられた。

### (4) 13週間亜急性毒性試験(サル)(参照24)

アカゲザル(雌雄各3頭/群)を用いた強制経口(0、1、10、100 mg/kg 体重/日)投与による13週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、脳波検査用として、別に100 mg 投与群(雌雄各3頭)を設定し、13週間の投与終了後に5週間の回復期間を設けて観察した後に脳波検査に供した。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

<sup>3</sup> 体重比重量を比重量という(以下同じ)。

一般的な臨床症状観察では、1 mg 以上投与群で運動失調、10 mg 以上投与群では睡眠傾向、攻撃性の明らかな低下、運動失調に伴う筋肉の痙攣が認められ、症状の程度には用量相関性がみられた。100 mg 投与群では過反射やハンドリングによる四肢筋肉の痙攣が認められた。回復群では、音刺激による強直性間代性痙攣を示す例が認められた。

体重変化では、投与群の全例において体重増加量の高値が認められたが、回復期間中に回復を示した。摂餌量および摂水量の測定は行なわれていないが、投与期間中の摂餌は旺盛であった。

血液生化学的検査では、100 mg 投与群でカルシウムの低値が認められたが、回復期間中に回復した。

臓器重量では、100 mg 投与群で肝臓重量の高値が認められたが、回復期間中に回復した。

性周期、筋電図、脳波、血液学的検査、尿排泄、尿検査、眼科学的検査、剖検および病理組織学的検査に、被験物質の投与によると考えられる明らかな異常は認められなかった。

本試験では NOAEL は求められず、LOAEL は 1mg/kg 体重/日と考えられた。

#### (5) 4週間亜急性毒性試験 (イヌ) (参考) (参照 23)

ビーグル犬 (雌雄各 3 匹/群) を用いた静脈内 (0, 0.05, 0.1, 0.3 mg/kg 体重/日) 投与における 4 週間の亜急性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、試験は 5 群構成とし、対照群には生理食塩液を、溶媒対照群には 10% アルコール溶液を投与した。

本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、0.05 mg 投与群以上で重篤な運動失調が認められたが、症状は数分以内に軽減し、1 時間以内に消失した。なお、本症状の発現は試験の経過とともに軽減した。溶媒対照群および 0.05 mg 以上投与群で軽度の流涎が認められ、0.1 および 0.3 mg 投与群雄の各 1 例では下痢が頻発した。

本薬の薬理作用として、自発運動能について投与 2 週および 4 週の投与後 3 時間まで調べられている。いずれの時点においても、0.05 mg 以上投与群で対照群に比べ自発運動の亢進がみられ、症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。

体重、摂餌量、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科学的検査、臓器重量、剖検および病理組織学的検査に、被験物質の投与による明らかな影響は認められなかった。

表 7 各種亜急性毒性試験の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	4週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	0.3 鎮静

	5週間 亜急性 毒性試験	0, 0.5, 100, 1000	0.5  鎮静、攻撃性 雌：摂餌量の増加傾向、摂水量の増加、 赤血球数の減少
	13週間 亜急性 毒性試験	0, 0.3, 10, 400	10  反応性の増強、体重の低値、摂餌量の低 値、AP の低値、Tcho の高値、肝重量の 増加
サル	13週間 亜急性毒性 試験	0, 1, 10, 100	—  運動失調、体重増加量の高値

#### 4. 慢性毒性試験および発がん性試験

##### (1) 12ヶ月間慢性毒性試験（サル）（参照 19）

アカゲサル（雌雄各 4 頭/群）を用いた強制経口（0、1、7、50 mg/kg 体重/日）投与による 12ヶ月間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。本試験期間中に死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察では、7 mg 以上投与群で鎮静、運動失調、傾眠および睡眠が認められ、症状の程度および持続時間には用量相関性が認められた。50 mg 投与群では投与 4 週から反射性筋収縮の亢進が認められた。また、禁断症状として、7 mg 以上投与群で嘔吐、50 mg 投与群では突発性あるいは聴原性の強直性間代性発作が認められた。体重変化では、7 mg 以上投与群で体重増加量の高値が認められた。

摂餌量は測定されていないが、摂餌は旺盛であった。

病理組織学的検査では、50 mg 投与群の 4 例で副腎皮質への脂肪浸潤が認められた。本試験の NOAEL は 1mg/kg 体重/日と考えられた。

##### (2) 18ヶ月間慢性毒性試験（ラット）（参照 25）

Chbb: THOM 系ラット（雌雄各 25 匹/群）を用いた混餌（0、0.3、10、400 mg/kg 体重/日、低用量は予想臨床用量の 10 倍量に相当）投与による 18ヶ月間の慢性毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

本試験期間中に对照群の 11 例、0.3 mg 投与群の 3 例、10 mg 投与群の 4 例、400 mg 投与群の 24 例に死亡が認められた。死因は自然発生性病変によるものに加え、採血時の麻酔死が多数を占めたが、400 mg 投与群の死亡例増加は、腎盂腎炎と肺のリン脂質症に起因する一般状態の悪化によるものであった。

一般的な臨床症状観察では、各投与群の多くの例において、口周囲の皮膚にパスツレラ感染によると考えられる小さな膿瘍が認められた。400 mg 投与群の雌雄では、投与 3 週から軽度な立毛と興奮が認められたが、これらの症状は投与 10 週には消失した。また、投与 27 週から試験終了まで一般状態の悪化が認められた。

体重変化は、10 mg 投与群の雌雄で体重増加量の軽度な高値が認められた。400 mg 投与群では、雌雄で体重増加量の低値が認められた。特に、投与 8 週以降に明らかな低

下が認められ、投与 23 週以降は体重増加量の抑制が認められた。

摂餌量は体重変化に伴う変動を示し、10 mg 投与群では軽度な増加が、400 mg 投与群では明らかな減少が認められた。

摂水量および尿検査には、投与に関連する変化は認められなかった。

血液学的検査では、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。網状赤血球の明らかな高値が雄で投与 65 週、雌では投与 25 週から認められた。また、MCH および MCHC の軽度な低値が、雌雄において投与 25 週より認められた。白血球数の軽度な高値が雌で投与 25 週より認められた。また、好中球の中程度から顕著な高値とそれに伴うリンパ球の低値が雄で投与 6 週、雌では投与 13 週より、血小板の軽度な低値が雄で投与 25 週、雌では投与 52 週より認められた。

生化学検査においても、400 mg 投与群で薬物投与に関連した変化が認められた。雌雄において、Tcho の顕著な高値、AP の明らかな低値、BUN の低値およびグルコースの軽度かつ一過性の高値が認められた。また、雄ではカリウムの軽度な低値が認められた。

剖検では、4 例で精巣の萎縮等の所見が見られている。その他に薬物に関連すると考えられる変化は

認められなかった。

臓器重量では、400 mg 投与群の雌雄で脾臓の顕著な低値および唾液腺の低値が、雄で精巣の顕著な低値、心臓、肺および脳の低値が、雌では副腎の顕著な低値が認められた。

病理組織学的検査では、400 mg 投与群の雌雄において、肺の肺胞腔内に泡沫状細胞の集簇がみられるリン脂質症および腎臓で腎盂腎炎が認められた。また、雄では精上皮細胞の減少による精巣萎縮が 18 例で認められ、そのうち 10 例は重度な萎縮であった。

本試験の NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。

### (3) 18 ヶ月間発がん性試験 (マウス) (参照 3)

Chbi: NMRI マウス (対照群: 雌雄各 100 匹、低用量および中用量群: 雌雄各 50 匹、高用量群: 雌雄各 80 匹、計 560 匹) を用いた混餌 (0、0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与による 18 ヶ月間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

死亡率において、薬物投与に関連する変化はみられなかった。

一般的な臨床症状観察では、投与期間を通して全投与群の雌雄で明らかな用量依存性の鎮静が認められ、特に雄で強い影響が認められた。また、10 mg 以上投与群の雄の半数例で、膀胱の拡張に起因すると考えられる腹部の膨張が認められた。

体重変化は、全投与群の雌雄で明らかな高値が認められ、特に雄で強く認められた。

摂餌量は雄でわずかな低値を示し、雌では高値を示した。

摂水量は、10 mg 以上投与群の雌雄でわずかな低値が認められた。

血液学的検査では、投与に関連する変化は認められなかった。

臓器重量では、200 mg 投与群で肝重量の高値が認められた。

剖検では、10 mg 以上投与群の雄で膀胱の中程度～重度の拡張および膀胱壁の肥厚が認められた。

病理組織学的検査では、10 mg 投与群以上の雄で認められた膀胱の拡張に関連する所見として膀胱壁の圧迫萎縮、肥厚に関連する所見として膀胱粘膜下における限局性あるいはびまん性の浮腫、繊維化が認められた。また、雄では、膀胱壁における炎症細胞浸潤や包皮腺における慢性炎症の増加が認められた。200 mg 投与群では、膀胱の所見に随伴して片側性あるいは両側性に水腎症を示す例が 17 例認められた。

558/560 匹 (2 例は試験中に行方不明) は死亡もしくは安楽死後に病理組織学的に検査されたが、自然発生性腫瘍の頻度、腫瘍の種類および発生時期のいずれにおいても投与による影響は認められなかった。

本試験において、被験物質投与に関連する発がん性は認められなかった。

本試験では NOAEL は求められず、LOAEL は 0.3mg/kg 体重/日と考えられた。

#### (4) 2年間発がん性試験 (ラット) (参照 26)

Chbb: THOM (Wistar) ラット (対照群: 雌雄各 100 匹、低用量および中用量群: 雌雄各 50 匹、高用量群: 雌雄各 80 匹、計 560 匹) を用いた混餌 (0、0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与による 2 年間の発がん性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。

死亡率は 200 mg 投与群雄では対照群より有意な増加が認められた。

一般的な臨床症状観察では、200 mg 投与群の雌雄でしばしば被毛の粗剛、雄では著しい鎮静および尿量の増加、雌では後肢足底および膝の角質肥厚が認められた。

体重変化は、雌雄共に 0.3 および 10 mg 投与群で高値を示した。一方、200 mg 投与群では雌雄共に低値を示し、特に雄で明らかであった。

摂餌量は 10 mg 投与群の雌で高値を示し、200 mg 投与群では雌雄共に低値を示した。

摂水量は 10 mg 投与群の雌で高値を示した。

血液学的検査では、白血球数の高値が 10 mg 以上投与群の雄 4 例、全投与群の雌 9 例で認められた。また、対照群を含む全投与群において相対的なリンパ球減少症が認められ、その発生頻度は 200 mg 投与群で高かった。本変化は加齢性の変化である可能性が考えられたが、200 mg 投与群については薬物投与との関連性も示唆された。

途中解剖例の剖検では、200 mg 投与群で泌尿器系および雄の副生殖腺に所見の増加が認められた。一方、計画解剖例では、200 mg 投与群の雌雄に共通して食道拡張、肺、肝臓および腎臓に所見が散見された。また、性差がみられた所見として、雄で甲状腺の大きさおよび外観の変化、膀胱および副生殖腺の変化、鼻汁を伴う鼻腔粘膜の変色 (茶褐色変化) が、雌では胸腺の大きさおよび外観の変化、後肢足底表面の角質肥厚が認められた。

病理組織学的検査では、腫瘍性病変として、200 mg 投与群の雄で甲状腺濾胞腺腫、雌では胸腺型の悪性リンパ腫および子宮における神経鞘腫の発生に有意な増加がみられた。また同群では、非腫瘍性病変として、雌雄の甲状腺におけるコロイドの好塩基性

化、嚢胞状濾胞、結節性過形成、濾胞上皮細胞のびまん性過形成、肺のリポタンパク症、主として雄における泌尿生殖器系における炎症性（腎盂炎、腎盂腎炎、化膿性膀胱炎、前立腺炎、精嚢腺炎）および増殖性（腎盂粘膜上皮のびまん性過形成、膀胱の粘膜上皮過形成）変化が認められた。

本試験のNOAELは10 mg/kg 体重/日であった。

表8 各種慢性毒性試験および発がん性試験の比較

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
サル	12ヶ月間慢性毒性試験	0, 1, 7, 50	1 鎮静、運動失調、傾眠および睡眠、禁断症状（嘔吐）、
ラット	18ヶ月間慢性毒性試験	0, 0.3, 10, 400	10 死亡例増加、軽度な立毛、興奮、体重増加量の低値、摂餌量の減少、網状赤血球の高値、MCH・MCHCの軽度な低値、好中球の高値、リンパ球の低値、血小板の軽度な低値、Tchoの高値、APの低値、BUNの低値、グルコースの軽度かつ一過性の高値、臓器重量の低値（脾臓、唾液腺）、肺のリン脂質症、腎盂腎炎 雄：カリウムの軽度な低値、臓器重量の低値（精巣、心臓、肺、脳）、精巣萎縮 雌：白血球数の軽度な高値、臓器重量の低値（副腎）
マウス	18ヶ月間発がん性試験	0, 0.3, 10, 200	— 鎮静 雄：摂餌量の低値  (発がん性は認められていない)
ラット	2年間発がん性試験	0, 0.3, 10, 200	10 被毛粗剛、体重の低値、摂餌量の低値、リンパ球減少症、食道拡張、肺・肝臓および腎臓の所見散見、甲状腺におけるコロイドの好塩基性化、嚢胞状濾胞、結節性過形成、濾胞上皮細胞のびまん性過形成、肺のリポタンパク症 雄：死亡率増加、鎮静、尿量増加、副生殖腺の所見の増加、甲状腺濾胞腺腫、泌尿生殖器系の炎症性およ

			び増殖性変化 雌：後肢足底・膝の角質厚肥、胸腺型 悪性リンパ腫・神経鞘腫（子宮）
--	--	--	------------------------------------------------

## 5. 生殖発生毒性試験

二世代繁殖毒性試験の代わりに FDA の 3 節試験が実施されている。

### (1) 妊娠前及び妊娠初期投与試験（第 I 節）（ラット）（参照 19,27）

SD 系ラット（雌雄各 20 匹/群）を用いた強制経口（雄；0、0.05、2.5、100 mg/kg 体重/日、雌；0、0.05、2.5、50 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄は交配前 60 日から交配期間中を通じて、雌には交配前 14 日から妊娠 7 日までの間行い、それぞれ交配期間終了後及び妊娠 21 日に剖検した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群の雌雄で投与初日にのみ、投与後に弱い鎮静を示す例がみられ、高用量群では投与 20～60 分後から鎮静状態が 3～4 時間みられたが、その深さ、持続時間ともに投与期間中徐々に軽減していった。

体重変化は、雄では 100 mg 投与群で有意な低値が認められた。雌では 50 mg 投与群で投与期間終了後の妊娠 8～9 日の体重増加に有意な低値がみられたが、妊娠 21 日には対照群と同程度まで回復した。

摂餌量は雄では有意な変化はみられず、雌では 50 mg 投与群で投与期間終了後に有意な低値が認められた。

摂水量は 100 mg 投与群の雄で投与期間の最初の 2 週間に、雌では 50 mg 投与群で交配前第 1 週に有意な高値がみられた。

臓器重量では、特記すべき変化は認められなかった。

剖検では、雌雄ともに薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

いずれの投与群においても、交尾率、妊娠率、黄体数、生存胎児数、死胚数（早期・後期吸収胚数、死亡胎児数）、胎児体重に異常は認められなかった。50 mg 投与群では胎児の有意な骨化遅延が認められた。

本試験における親動物の一般毒性に対する NOAEL は雌雄ともに 0.05 mg/kg 体重/日、生殖に対する NOAEL は雄で 100 mg/kg 体重/日、雌では 50 mg/kg 体重/日、発生に対する NOAEL は 2.5 mg/kg 体重/日と考えられた。（参照 27）

ラット（雌雄各 20 匹/群）を用いた強制経口（0、1、2、10 mg/kg 体重/日）投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、雄は交配前 9 週間、雌は交配前 2 週間の間行なった。

親動物の一般状態、交配、妊娠および出産のいずれにおいても被験物質による影響は認められなかった。また、胎児においても胎児毒性および催奇形性は認められなかった。

本試験の NOAEL は、親動物および胎児ともに 10 mg/kg 体重/日と考えられた。（参

表 9 妊娠前及び妊娠初期投与試験 (第 I 節) (ラット)

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	妊娠前及び妊娠初期 投与試験	雄 ; 0, 0.05, 2.5, 100 雌 ; 0, 0.05, 2.5, 50	親動物 : 0.05 生殖 : 雄 100、雌 50 発生 : 2.5  親動物 : 弱い鎮静 発生 : 胎児の骨化遅延
		0, 1, 2, 10	親動物 : 10 胎児 : 10 投与による影響は認められなかった (催奇形性は認められなかった)

## (2) 器官形成期投与試験 (第 II 節) (ラット) (参照 27,28,29)

SD系ラット (雌 37 匹/群) を用いた強制経口 (0, 0.05, 2.5, 250 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 7 日から 17 日までの間行い、21 日に 25 匹を帝王切開して胎児 ( $F_{1a}$ ) への影響を検査し、残りの母体については自然分娩させ新生児 ( $F_{1a}$ ) を離乳まで哺育して身体発達と行動を検査した。離乳後の児は各群の各母体から雌雄各 2 匹を選抜・飼育し、11 週齢で交配して妊娠末期に次々世代胎児 ( $F_2$ ) を検査した。授乳を終えた母動物 ( $F_0$ ) は、離乳後 1 週間を経て再び第一産と同じ雄動物と交配させ、妊娠末期に胎児 ( $F_{1b}$ ) を検査した。

本試験中に、250 mg 投与群の母動物 2 例で死亡 (1 例: 剖検では胃内に異嗜によると考えられる多量の床敷および噴門部に新鮮な潰瘍が認められた。1 例: 分娩予定日の 24 日後に死亡。子宮内に自家中毒によると考えられる浸軟胎児の残存が認められた。) が認められたが、いずれも薬物による直接作用ではないと考えられた。

$F_0$  母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg 投与群で投与開始後 1~2 日間に、弱い鎮静が 5 例に認められた。250 mg 投与群では投与 10~30 分後から鎮静状態が 3~4 時間続いたが、この持続時間は投与回数を重ねるにつれて短くなった。立毛が若干数に認められた。体重変化は、250 mg 投与群で投与期間中に有意な低値を示し、投与期間終了後には一過性の低下が認められた。自然分娩群では分娩後離乳時まで体重は徐々に回復した。250 mg 投与群では投与期間中に摂餌量は有意な低値を示し、摂水量は高値を示した。自然分娩群では、250 mg 投与群の 7 例において妊娠期間が対照群に比べ 1 日延長した。

$F_{1a}$  胎児では、250 mg 投与群で胎児体重および趾骨の化骨数に有意な低値がみられた。また、14 肋骨および仙椎の腰椎化の発現頻度が有意に上昇し、4 例の奇形胎児 (無尾症、胸椎の異常、水頭症および口蓋裂が各 1 例) が認められた。



F<sub>1</sub> 新生児では、250 mg 投与群で次のような所見がみられた。生後1日の新生児の体重に有意な低値がみられた。哺乳期間中に児の死亡率が有意に増加し、生存児の立ち直り反射および眼瞼開裂に有意な遅延が認められた。離乳後も、精巣下降の遅延と11週齢までの体重に増加抑制が認められた。F<sub>1</sub>の生殖能については、交尾率および妊娠率ともに影響は認められなかったが、黄体数、着床数および生存胎児(F<sub>2</sub>)数は有意に少なかった。

次々世代胎児 (F<sub>2</sub>) および次産胎児 (F<sub>1b</sub>) には、薬物投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験の母動物 (F<sub>0</sub>) に対する NOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日、次世代 (F<sub>1</sub>) に対する NOAEL は、2.5 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 27)

Chbb: THOM ラット (雌 20 匹/群) を用いた強制経口 (0、1.5、3、30 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠6日から15日までの間行い、妊娠21日に帝王切開して2/3例の胎児は骨格検査に、残りの1/3例は内臓検査に供した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。体重変化では30 mg 投与群では投与10日後に有意な低値が認められたが、試験終了時には回復傾向が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

胎児への影響は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は 3 mg/kg 体重/日と考えられ、胎児に対する NOAEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 28)

SD 系ラット (雌 15 匹/群) を用いた強制経口 (0、10、30、250、500 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠7日から17日までの間行い、妊娠21日に帝王切開して胎児の観察を行なった。

母動物の一般的な臨床症状観察では、10 mg 以上投与群で投与10~30分後に鎮静が認められ、3~4時間持続した。なお、鎮静の持続時間および程度は、投与回数を重ねるごとに短縮あるいは軽減した。また、数例において色素涙が認められた。体重変化では10 mg 以上投与群で有意な低値がみられ、250 mg 以上投与群では投与終了後に顕著な低下が認められた。摂餌量についても10 mg 以上投与群で有意な低値が認められ、250 mg 以上投与群ではより顕著であった。摂水量は10 mg 以上投与群で有意な高値が認められた。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

胎児観察では、250 mg 投与群以上で胎児体重の有意な低下、500 mg 投与群で胚/胎児死亡 (特に胎児死亡) の増加が認められた。外表観察では無尾が500 mg 投与群の3例で認められた。内臓観察では大動脈右位が250 mg 投与群の2例、500 mg 投与群の1

例で認められたほか、500 mg 投与群では胸腺の頸部残留が観察された。骨格変異では、30 mg 以上投与群で 14 肋骨の出現頻度が有意に上昇し、250 mg 以上投与群では仙椎の腰椎化の出現頻度が有意に上昇し、骨化遅延が認められた。

本試験の母動物に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 10mg/kg 体重/日と考えられた。一方、胎児に対しては、30 mg 投与群以上で 14 肋骨の出現頻度の上昇が認められたことから、NOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 29)

表 10 器官形成期投与試験 (第 II 節) (ラット)

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	器官形成期 投与試験	0, 0.05, 2.5, 250	母動物 : 0.05 胎児 : 2.5  母動物 : 弱い鎮静 児(F <sub>1</sub> ) : 体重の低値、趾骨の化骨数の低値、14 肋骨および仙椎の腰椎化の発現頻度の上昇、死亡率の増加 (哺乳期間中)、立ち直り反射および眼瞼開裂の遅延、精巣下降の遅延、体重の増加抑制 (11 週齢まで)
		0, 1.5, 3, 30	母動物 : 3 胎児 : 30  母動物 : 体重の低値 (催奇形性は認められなかった)
		0, 10, 30, 250, 500	母動物 : - 胎児 : 10  母動物 : 鎮静、体重増加の低値 胎児 : 14 肋骨の出現頻度の上昇

### (3) 器官形成期投与試験 (第 II 節) (ウサギ) (参照 27,30)

ヒマラヤウサギ (妊娠雌 15 匹/群) を用いた強制経口 (0、0.05、0.5、3 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日までの間行い、妊娠 29 日に帝王切開して胎児を検査した。

母動物の一般的な臨床症状観察では、0.5 mg 以上投与群で投与開始直後から弱い鎮静が 1~4 時間みられたが、投与回数を重ねるにつれて持続時間は短くなり、およそ 1 週間後にはほとんど見られなくなった。3 mg 投与群の 1 例が妊娠 27 日に 8 匹の胎児を流産した。0.5 mg 以上投与群で投与期間中の体重増加が有意に抑制されたが、投与期間終了後は急速に回復した。また、体重の低下と並行して摂餌量および摂水量は低下した。

胎児では、被験物質投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は、0.05 mg/kg 体重/日と考えられ、胎児に対する

NOAELは3 mg/kg 体重/日と考えられた。催奇形性は認められなかった。(参照 27)

ヒマラヤウサギ (13 匹/群) を用いた強制経口 (0, 1.5, 3, 9 mg/kg 体重/日) 投与による催奇形性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は妊娠 6 日から 18 日まで行い、妊娠 29 日に帝王切開して胎児を検査した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与に関連した異常は認められなかった。いずれの投与群においても投与初期に著しい体重低下が認められ、9 mg 投与群では投与 7 日目に 100 g 低下した。剖検では、薬物投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

胎児には投与の影響は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 1.5mg/kg 体重/日と考えられ、胎児に対する NOAEL は 9 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 30)

表 11 器官形成期投与試験 (第 II 節) (ウサギ)

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ウサギ	器官形成期 投与試験	0, 0.05, 0.5, 3	母動物 : 0.05 胎児 : 3  母動物 : 弱い鎮静、体重増加抑制、摂餌量の低下、摂水量の低下 (催奇形性は認められなかった)
		0, 1.5, 3, 9	母動物 : - 胎児 : 9  母動物 : 体重低下 (催奇形性は認められなかった)

#### (4) 周産期及び授乳期投与試験 (第 III 節) (ラット) (参照 19,27,31,32)

SD 系ラット (雌 23 匹/群) を用いた強制経口 (0, 0.05, 2.5, 25 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 17 日から分娩後 21 日までの間行った。母動物 (F<sub>0</sub>) は自然分娩させ、児 (F<sub>1</sub>) の成長、機能および行動に及ぼす影響を検討した。また、離乳時に各母体から雌雄各 1 匹を選抜・飼育し、交配させ生殖能への影響を検査した。

投与に関連した死亡はみられなかった。

F<sub>0</sub> 母動物の一般的な臨床症状観察では、2.5 mg/kg 投与群で弱い鎮静が投与後約 2 時間続き、25 mg 投与群では投与 10 分後から鎮静が 2~3 時間持続したが、分娩後は次第に軽減し、やがて現れなくなった。体重変化は、2.5 mg 以上投与群で用量依存的に低値が認められた。また、2.5 mg 以上投与群で摂餌量に低値がみられ、摂水量は 25 mg 投与群で妊娠末期に高値が認められた。

F<sub>0</sub>母動物の妊娠期間については、25 mg 投与群の6例で対照群に比べて1日延長した。剖検所見に薬物投与の影響は認められなかった。

児 (F<sub>1</sub>) では、2.5 mg 以上投与群で生後3日までの生存率の有意な低下がみられ、25 mg 投与群では離乳時の児生存率が有意に低かった。25 mg 投与群の生後1日および21日の雌児の体重、0.05 mg 投与群以上の生後21日の雄児の体重が有意に低かった。また、25 mg 投与群ではオープンフィールド試験で立ち上がりの回数が有意に低下した。

F<sub>1</sub>の交配試験では、25 mg 投与群で交尾率および妊娠率には影響は認められなかったが、黄体数、着床数および生存胎児 (F<sub>2</sub>) 数に有意な低値が認められた。

本試験の母動物 (F<sub>0</sub>) に対する NOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日と考えられ、次世代 (F<sub>1</sub>) に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日と考えられた。

SD系ラット (雌10匹/群) を用いた強制経口 (0、25 mg/kg 体重/日) 投与による交差乳母哺育試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。本試験では、母動物 (F<sub>0</sub>) の分娩、哺育状態および交換した新生児 (F<sub>1</sub>) の死亡率、成長への影響を検査した。母動物 (F<sub>0</sub>) は自然分娩させ、以下に示す組み合わせに従って、いずれも生後4時間以内に児を交換し観察を行なった。

Cc : 溶媒投与母動物 (C) + 溶媒投与母動物の児 (c)

Ct : 溶媒投与母動物 (C) + 薬物投与母動物の児 (t)

Tc : 薬物投与母動物 (T) + 溶媒投与母動物の児 (c)

Tt : 薬物投与母動物 (T) + 薬物投与母動物の児 (t)

F<sub>0</sub>母動物の一般的な臨床症状観察は、上記第III節試験の25 mg 投与群の母動物と同様であった。

F<sub>1</sub>児を交換した後3日齢までの児の死亡はTt群で多発し、CtおよびCc群では少なかったことから、児死亡は投薬中の母動物側に要因があることが確認された。3日齢から離乳までの児死亡はTt群で多数認められ、Tc群でも有意に多かった。哺乳期間中の体重変化は、Cc群では良好な増加がみられ、Tt群では児数の減少に伴って生存児の体重は特に哺乳期間の後半に増加し、Cc群に近づいた。離乳時におけるTc群の体重は最も低かった。(参照27)

Chbb: THOM (SPF)ラット (雌24匹/群) を用いた強制経口 (0、1、2、10 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠15日から分娩後20日までの間行った。また、児 (F<sub>1</sub>) の機能 (遊泳試験、聴覚および視覚機能試験)、行動 (水迷路試験による学習能および記憶能) および生殖能について検査した。

母動物の一般的な臨床症状観察では、妊娠および哺乳期間を通して、被験物質による影響は認められなかった。体重変化にも投与群と対照群で有意な差は認められなかった。

児 (F<sub>1</sub>) では、10 mg 投与群で死産児数の増加および哺乳期間中の死亡率の増加が認

められたが、行動・機能および生殖能に被験物質投与による影響は認められなかった。

本試験の母動物に対する NOAEL は 10 mg/kg 体重/日、F<sub>1</sub> に対する NOAEL は 2 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 31)

Chbb: THOM ラット (雌 24 匹/群) を用いた強制経口 (0, 400 mg/kg 体重/日) 投与による試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。被験物質の投与は、妊娠 15 日から離乳時 (分娩後 20 日) までの間行った。また、児 (F<sub>1</sub>) の行動・機能および生殖能について検査した。なお、本試験では、前述の試験 (資料番号: ②-5) で母動物に投与による影響が認められなかったことから、ラットを用いた 13 週間亜急性毒性試験 (資料番号: ①-7) で体重低下作用が確認されている用量 (400 mg) について影響評価が行われた。

母動物の一般的な臨床症状観察では、投与後 30 分から立毛、鎮静および運動失調が認められ、それらの症状は数時間持続した。体重変化では、体重の低値が認められた。

F<sub>1</sub> では、死産児数の増加および体重の有意な低値が認められた。生存例では、母動物の鎮静作用に起因する哺育能欠如による死亡率の増加が認められ (死亡率 90%: 15 腹/17 腹)、特に生後 3 日までに高頻度に認められた。また、生存例では体重増加抑制および歩行遅延が認められたが、感覚機能、生殖能力および児の発生に異常は認められなかった。

本試験の母動物および F<sub>1</sub> に対する NOAEL は求められず、LOAEL は 400mg/kg 体重/日であった。(参照 19,32)

表 12 周産期及び授乳期投与試験 (第Ⅲ節) (ラット)

動物種	試験	投与量(mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)
ラット	周産期及び授乳期投与試験	0, 0.05, 2.5, 25	母動物: 0.05 児(F <sub>1</sub> ): 0.05 未満  母動物: 弱い鎮静、体重の低値、摂餌量の低値、 児(F <sub>1</sub> ): 雄; 体重の低値
		0, 1, 2, 10	母動物: 10 児(F <sub>1</sub> ): 2  児(F <sub>1</sub> ): 死産児数の増加、死亡率の増加
		0, 400	母動物: - 児(F <sub>1</sub> ): -  母動物: 立毛、鎮静、運動失調、体重の低値 児(F <sub>1</sub> ): 死産児数の増加、体重の低値、歩行遅延

## 6. 遺伝毒性試験

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を次表にまとめた。

表 13 *in vitro* 試験

試験	対象	投与量	結果
Ames 試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	10-5,000 µg/plate (±S9) <sup>1</sup>	陰性 (参照 33)
	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0.3、10、200 mg/kg/day <sup>2</sup> ① 200 µL/plate <sup>3</sup> ② マウス : 100 µL/plate <sup>4</sup> ラット : 200 µL/plate <sup>4</sup>	陰性 (参照 34)
不定期DNA 合成試験	ヒト胎児肺由来の線維芽細胞 (MRC-5)	20、60、100、140、180、220、 260、300 µg/mL (±S9) <sup>3,5</sup>	陰性 (参照 35)
形質転換試 験	マウス胎児線維芽細胞 (C3H/10T1/2 Cl 8 cells)	50、100、150 µg/mL (±S9) <sup>3</sup>	陰性 (参照 36)
遺伝子変換 試験	酵母( <i>Saccharomyces</i> <i>cerevisiae</i> D4)	62.6、125、250、500、1,000 µg/mL (±S9) <sup>3</sup>	陰性 (参照 37)
HGPRT 突 然変異試験	チャイニーズハムスター肺由来 V79 細胞	10、100、250、350 g/mL <sup>3</sup> (±S9)	陰性 (参照 38)
点突然変異 試験 <sup>6</sup>	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535, TA1537 (ラット・マウ ス), TA1538 (ラット)	0、100、200 mg/kg/day <sup>7</sup> 100 µL/plate (±S9) <sup>3</sup>	陰性 (参照 39)

1. S9 はラット由来を使用。

2. Chbi: NMRI マウス (雄 3 例) および Chbb: THOM ラット (雄 3 例) にプロチノラムをそれぞれ 6 日間  
および 8 日間強制経口 (0.3、10、200 mg/kg 体重/日) 投与し、採取した尿 (マウス: 3 例のプール尿、  
ラット: 個体別の尿) を試験に供した。

3. マウスおよびラットから採取した各尿を 200 µL/plate の濃度で培地上にまいて検査を行なった。

4. マウスおよびラット共に 200 mg/kg 投与群から得られた尿を蒸留水で 10 倍希釈し、マウスは 100  
µL/plate、ラットは 200 µL/plate の濃度で同様に検査を行なった。

5. 260 µg/mL 以上の濃度で沈殿が認められた。

6. ラットおよびマウスにおける血漿中の高極性代謝物に対する試験。

7. Chbb: THOM ラット (雄 5 例/群) および Chbb: NMRI マウス (雄 5 例/群) にプロチノラムをそれぞ  
れ 2 週間強制経口 (0、100、200 mg/kg 体重/日) 投与し、最終投与後に採取した血液から血漿を分離・  
凍結乾燥し、メタノール抽出の後、試験に供した。

表 14 *in vivo* 試験

試験	対象	投与量	結果
染色体異常 試験	チャイニーズハムスター骨髄細 胞	62、311 mg/kg 体重/day 5 日間経口投与	陰性 (参照 40)

小核試験	マウス骨髄細胞	80、400、2,000 mg/kg 体重/day 2日間経口投与	陰性 (参照 41)
優性致死試験	CD-1BR マウス	200、640、2,000 mg/kg 体重/day 単回経口投与	陰性 (参照 42)

上記のように、*in vitro*の細菌、酵母、ヒトを含む動物細胞を用いた Ames 試験、不定期 DNA 合成試験、形質転換試験、遺伝子変換試験および突然変異試験、及び *in vivo*のげっ歯類を用いた染色体異常試験、小核試験および優性致死試験のいずれも陰性であり、プロチゾラムは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

## 7. 一般薬理試験 (参照 43,44,45,46)

### (1) 呼吸・循環器系への作用 (参照 43)

雌雄のビーグル雑種犬 (各3匹群、プロチゾラム 1、5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下) の呼吸数、血圧、心拍数、心電図を観察したところ、1 mg および 5 mg 投与群共に投与後 120 分まで心拍数の明らかな低下とこれに伴う T 波の増高および RR 間隔の延長がみられ、呼吸数の低下が投与後 120 分以上にわたり認められた。なお、血圧には明らかな影響は認められなかった。

雄ウサギ (プロチゾラム 5、10 mg/kg の静脈内投与、ウレタン麻酔下) の呼吸、血圧、心拍数を観察したところ、10 mg 投与群で呼吸数にわずかな低下が認められた。血圧と心拍には明らかな影響は認められなかった。なお、非麻酔下のウサギでも同様の影響が認められた。

モルモットの摘出心房 (プロチゾラム 1-10 mg/L、5 分間隔で累積作用) の心筋収縮力と心拍数について観察したところ、心筋収縮力には明らかな影響は認められなかったが、心拍数は 10 mg/L の濃度で軽度な低下が認められた。

雌雄の雑種犬 (プロチゾラム 0.05、0.5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下) の椎骨動脈流および内頸動脈流について観察したところ、0.5 mg 投与群で椎骨動脈流の増加と頸動脈流の軽度な増加が認められた。なお、これらの変動は 3 分以内に投与前値まで回復した。また、同様の方法でプロチゾラム 0.5、1 mg/kg の静脈内投与により、血圧、心拍数、心拍出量、冠血流および大腿動脈流について観察したところ、1 mg 投与群で血圧と心拍数の低下に伴い心拍出量および冠血流の軽度な減少が認められた。なお、これらの変動は投与 30 分後に正常値まで回復した。いずれの投与群においても、大腿動脈流に変化は認められなかった。

雌雄の雑種犬 (プロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下) の頸動脈洞反射、迷走神経刺激、星状神経節の節前および節後神経刺激に対する反射性昇圧について観察したところ、頸動脈洞反射刺激 (30 秒間の閉塞) に対する血圧反応およ

び迷走神経刺激に対する陰性変時作用にプロチゾラム投与による影響は認められなかった。また、プロチゾラムは星状神経節の節前および節後神経刺激における陽性変時作用を増強したが、有意な増強（プロチゾラム投与 15 分後）が認められたのは節前神経刺激に対する影響であった。

雌雄の雑種犬（プロチゾラム 5 mg/kg の静脈内投与、ペントバルビタール麻酔下）に、ノルエピネフリンおよびエピネフリンを 1  $\mu$ g/kg 投与した際の心血管系への作用に対するプロチゾラム投与の影響について確認したところ、両被験物質の投与による血圧および心拍数への作用はプロチゾラム投与 15 分後および 60 分後で増強され、エピネフリン投与時の血圧に対する影響は有意であった。

## (2) 自律神経系および平滑筋への作用 (参照 43,45)

瞬膜反射に対する作用は、ネコ（プロチゾラム 10  $\mu$ g-3 mg/kg の舌動脈内投与、ウレタン麻酔下）の上頸神経節の節前神経刺激による瞬膜の収縮について確認したところ、プロチゾラム投与による明らかな影響は認められなかった。（参照 43）

瞳孔径（マウス）に対する作用は、プロチゾラム（3、30、100 mg/kg、経口）、ニトラゼパムおよびエスタゾラム（各 30、100 mg/kg）について比較検討されている。プロチゾラムは 30 mg 投与群まで瞳孔径に明らかな影響を及ぼさず、100 mg 投与群では投与 30 分後から 60 分後に縮瞳が認められた。エスタゾラムは 30 mg 以上投与群で、ニトラゼパムは 100 mg 投与群で縮瞳が認められた。（参照 45）

ラット摘出血管（胸部大動脈、Krebs 液）では、プロチゾラムは 10 mg/L の濃度まで平滑筋収縮に影響を及ぼさないが、塩化カリウム（5-30 mM）による収縮およびノルエピネフリン（3 mg/L）による持続性収縮に対して抑制作用を示した。なお、ノルエピネフリンによる一過性収縮には影響は認められなかった。（参照 43）

ウサギ摘出回腸（自動運動測定）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 0.001-1.0 mg/L の濃度まで自発運動に影響はみられなかったが、静止張力については 10 mg/L でわずかな減少が認められた。（参照 45）

モルモット摘出回腸（アセチルコリン誘導収縮）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 10 mg/L でアセチルコリン収縮の抑制作用を示した。（参照 45）

ラット摘出子宮（妊娠および非妊娠子宮）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。摘出非妊娠子宮では、プロチゾラム 0.1-10 mg/L の濃度まで自発運動の振幅に影響は認められなかった。ニトラゼパムについても 10 mg/L の濃度で自発運動に影響は認められなかった。摘出妊娠子宮では、両被験物質ともに自発運動に明らかな影響は認められなかった。（参照 45）



ラット生体位子宮に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。プロチゾラムを 10 mg/kg の濃度まで静脈内投与しても、自発運動能に影響は認められなかった。一方、ニトラゼパムでは同様の濃度で自発運動能にわずかな亢進が認められた。(参照 45)

モルモットの摘出気管（自発収縮）に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 10 mg/L の濃度で摘出気管のヒスタミンによる収縮反応を低下させた。(参照 45)

モルモット摘出輸精管に対する作用がプロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。プロチゾラムは 0.01-10 mg/L の濃度まで影響はみられなかった。一方、ニトラゼパムは 1.0-10 mg/L の濃度で収縮反応が認められた。(参照 45)

### (3) 血液系への作用 (参照 43)

溶血に対する作用は、ウサギの耳介静脈から得られた血液を用いて、プロチゾラム、エスタゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。各被験物質を 125-500 mg/L の濃度で血球とインキュベートした結果、いずれにおいても溶血作用は認められなかった。

凝固に対する作用は、プロチゾラム、エスタゾラムおよびニトラゼパムをウサギに強制経口（各 25 mg/kg 体重/日）投与し、投与 15、30 および 60 分後に耳介静脈から得られた血液を用いて確認されている。いずれの被験物質についても、凝固作用に影響は認められなかった。

### (4) 中枢神経系への作用 (参照 44,45,46)

脊髄反射に対する作用が、プロチゾラムとエスタゾラムについて比較検討されている。エーテル麻酔下で第一および第二頸椎間の脊髄神経を遮断した雌雄のネコに、プロチゾラムを静脈内（0.1 mg/kg）あるいは強制経口（1 mg/kg）投与し、投与 30、60 および 120 分後に単シナプス反射（MSR）および多シナプス反射（PSR）の活動電位について確認したところ、いずれの投与経路および用量においても PSR に影響を及ぼし、弱い抑制作用を有することが確認された。一方、エスタゾラムを強制経口（1 mg/kg）投与した場合は、MSR および PSR 共に投与後 30 および 60 分で抑制作用が認められた。プロチゾラムの脊髄反射に対する抑制作用は、エスタゾラムに比べて軽度であった。(参照 44)

エチルアルコールおよびヘキソバルビタールで誘導される睡眠に対する作用は、プロチゾラム、ニトラゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。エチルアルコールをマウスに皮下（6.25 mg/kg）投与した際に誘導される睡眠時間（30 分）は、各被験物質を投与 30 分前に経口（0.125 mg/kg）投与することにより有意な延長が認められた。ヘキソバルビタールをマウスに腹腔内（85 mg/kg）投

与する 30 分前に各被験物質を経口 (5、15、45 mg/kg) 投与すると、用量非依存的ではあるが睡眠時間は 2.7~3.6 倍に延長した。(参照 45)

メタンフェタミンを投与した際の自発運動量および咀嚼行動に対する作用は、プロチゾラム、ニトラゼパムあるいはエスタゾラムを前投与した際の影響について比較検討されている。自発運動量は、メタンフェタミンをマウスに皮下 (5 mg/kg) 投与する 30 分前にプロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラム (各 10、30 mg/kg)、陽性対照としてジアゼパム (10 mg/kg) をそれぞれ経口投与すると、プロチゾラム、ニトラゼパム、ジアゼパムは 10 mg 投与群、エスタゾラムは 30 mg 投与群で自発運動量の亢進が認められた。咀嚼行動は、メタンフェタミンをマウス (6 匹/群) に静脈内 (16 mg/kg) 投与する 30 分前に、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラム (各 30、90 mg/kg)、陽性対照としてハロペリドール (5 mg/kg) をそれぞれ経口投与すると、ハロペリドールは全例に抑制作用を示したが、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは明らかな抑制は認められなかった。(参照 45)

無麻酔下の自発脳波に対する作用は、ウサギを用いて実施されている。ウサギ (雌雄、14 匹) にプロチゾラムを静脈内 (0.001、0.003、0.01 mg/kg 体重/日) 投与し、投与前 30 分 (最後の 10 分間 : ベースライン) から投与後 2 時間まで脳波を測定したところ、0.003 mg 投与群以上では明らかにプロチゾラムの鎮静催眠作用が認められた。一方、0.001 mg 投与群では、脳波に鎮静や中枢興奮作用を示す明らかな変動は認められなかった。

本試験における NOEL は 0.001 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 46)

鎮痛作用がプロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット (計 6 匹) に各被験物質を強制経口 (プロチゾラム : 1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム : 1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与 30、60、120、180 および 240 分後に、ラットの尾を動脈鉗子で摘んだ際の疼痛に対する鎮痛作用を確認した。プロチゾラムに鎮痛作用は認められなかったが、ニトラゼパムでは 10 mg 以上投与群で、エスタゾラムは 100 mg 投与群では明らかな鎮痛作用が認められた。プロチゾラムの鎮静作用の程度は、高用量においてもニトラゼパムおよびエスタゾラムの約 1/3 であった。(参照 44)

正常体温に対する作用が、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されている。ラット (Wistar 系、雄) を用いて、各被験物質を強制経口 (プロチゾラム : 1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム : 1、10、50 mg/kg 体重/日) 投与 30、60、120、180 および 240 分後に体温を測定した。プロチゾラムでは、10 mg 以上投与群で投与 30 分後から用量依存的な下降が認められたが、投与 240 分以内には正常範囲まで回復あるいは回復傾向が認められた。同様に、ニトラゼパムは 10 mg 以上投与群で、エスタゾラムは 1 mg 以上投与群で用量依存的な下降がみられた。いずれの被験物質も高用量で体温下降作用を示し、類似の作用が認められた。(参照 44)

#### (5) 消化器系への作用 (参照 45)

腸管運動 (雄イス、3匹、空腸) に対する作用は、プロチゾラムおよびニトラゼパムについて比較検討されている。両被験物質ともに 0.01-1 mg/kg の静脈内投与では影響は認められなかった。

腸管輸送能 (マウス) に対する作用は、プロチゾラムおよびニトラゼパムを経口投与した時のバリウム液の移動率について比較検討されている。プロチゾラムは 1-100 mg/kg で、ニトラゼパムは 30 mg/kg で影響は認められなかった。

唾液分泌 (マウス) に対する作用として、カルバコール刺激時の唾液分泌作用への影響についてプロチゾラムおよびニトラゼパムで比較検討されている。プロチゾラムは 3 mg/kg までの皮下投与で影響は認められなかった。一方、両被験物質ともに 10 mg/kg では軽度ながら有意な分泌低下を示した。

胃液分泌 (ラット) に対する作用は、プロチゾラム 1-10 mg/kg までの経口投与では胃液量および酸分泌量ともに影響は認められなかった。

胆汁分泌 (ラット: 各被験物質ともに 12.5、25、50 mg/kg、経口) に対する作用は、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムについて比較検討されている。プロチゾラムおよびニトラゼパムでは 50 mg まで排泄量および胆汁量ともに影響は認められなかった。一方、エスタゾラムでは 12.5 mg で胆汁量の増加、25 mg では排泄量の増加が認められた。

#### (6) 体性神経系への作用 (参照 44,45)

局所麻酔作用は、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。モルモット (Hartley 系、雄) およびウサギ (日本白色種、雄) の目に各被験物質を 1 および 2% の濃度で 0.5 mL 滴下し、同様にもう片方の目には溶媒 (0.5% メチルセルロース) を滴下した。滴下 10、20、30、60、90 および 120 分後に角膜をウマの尾の毛で刺激して角膜反射を確認したところ、各被験物質ともにいずれの濃度および測定ポイントにおいても角膜反射は認められ、局所麻酔作用は認められなかった。プロチゾラムの局所麻酔作用は、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと同様の傾向を示した。(参照 44)

横隔膜神経筋標本 (Wistar 系ラット、雄) の電気刺激に対する作用が、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびツボクラリン (陽性対照) で比較検討されている。電気刺激に対する攣縮反応に対し、プロチゾラムは 0.1 mg/L まで影響はみられなかったが、1-10 mg/L の濃度では軽度な抑制が認められた。ニトラゼパムは 10 mg/L で軽度な抑制が、ツボクラリンでは 0.1 mg/L で明らかな抑制が認められた。(参照 45)

#### (7) 水および電解質代謝への作用 (参照 44)

尿量、電解質代謝 ( $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{Na/K}$ )、pH、グルコースおよび総タンパクに対する作用が、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。ラット (Wistar 系、雄、5 匹/群) に各被験物質をそれぞれ強制経口 (プロチゾラム: 1、10、50、100 mg/kg 体重/日、ニトラゼパムおよびエスタゾラム: 1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与し、採取した尿について確認したところ、尿量の増加がプロチゾラムでは 50 mg 以上投与群で、ニトラゼパムおよびエスタゾラムでは 100 mg 投与群で認められた。尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパクについては、いずれの被験物質においても明らかな影響は認められなかった。プロチゾラムは高用量で尿排泄量を増加させたが、尿中電解質、pH、グルコースおよび総タンパクに影響を及ぼさず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムと類似の作用がみられた。

#### (8) 抗炎症作用 (参照 44)

抗炎症作用は、ラット (Wister 系、雄) を用いた浮腫 (カラゲニン誘発の足蹠浮腫) に対する影響について、プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムで比較検討されている。1%のカラゲニン 0.1 mL をラットの足蹠に投与後、直ちに各被験物質を強制経口 (1、10、100 mg/kg 体重/日) 投与し、足蹠の体積を 1 時間毎に測定した。カラゲニン足蹠浮腫に対する抑制作用はプロチゾラムには認められず、ニトラゼパムおよびエスタゾラムにも明らかな抑制作用は認められなかった。プロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムとの間に作用差異は認められなかった。

#### (9) 1 週間あるいは 1 ヶ月間投与試験による血液生化学的パラメーターおよび体重への影響 (ラット) (参照 45)

ラットを用いたプロチゾラム、ニトラゼパムおよびエスタゾラムの 1 週間あるいは 1 ヶ月間強制経口 (10 mg/kg) 投与による血清中のグルコース、乳酸、TG、Tcho、非エステル化脂肪酸、インスリンおよび体重への影響について検討されている。

##### ① 1 週間投与試験

体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

グルコース、TG および Tcho は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。一方、非エステル化脂肪酸はプロチゾラムおよびエスタゾラムで低値がみられ、乳酸はプロチゾラムで高値、エスタゾラムで軽度な高値、ニトラゼパムは軽度な低値を示し、インスリンはプロチゾラムおよびニトラゼパムで軽度な低値、エスタゾラムでは低値が認められた。

##### ② 1 ヶ月間投与試験

体重変化は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。

グルコース、TG およびインスリン値は、いずれの被験物質においても明らかな変動は認められなかった。一方、非エステル化脂肪酸はプロチゾラムで高値、Tcho はプロチゾラムおよびニトラゼパムで高値、乳酸はプロチゾラムで低値が認められた。

## 8. その他

ラットを用いた2年間発がん性試験において、200 mg 投与群の雌雄で甲状腺に結節性および腺腫性病変が認められていることから、以下に示す甲状腺機能に関する特殊毒性試験が実施されている。

### (1) 甲状腺機能に関する特殊毒性試験 (ラット) (参照 47,48,49)

Chbb: THOM (Wistar) ラット (雌雄各 24 匹/対照群、雌雄各 12 匹/投与群) を用いた強制経口 (0、100、400 mg/kg 体重/日) 投与による 78 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、甲状腺ホルモン ( $T_3$  および  $T_4$ ) および甲状腺刺激ホルモン (TSH) の測定は、投与 28 週に全例について、投与 32 週には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

$T_3$  値は、投与 28 週に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、その程度には用量相関性が認められた (100 mg:  $p \leq 0.05$ 、400 mg:  $p \leq 0.01$ )。また、400 mg 投与群では投与 32 週においても有意 ( $p \leq 0.01$ ) な高値が認められ、いずれの例も投与 28 週の測定値より高値を示した。一方、 $T_4$  値は投与 28 週に 400 mg 投与群の雄で有意 ( $p \leq 0.01$ ) な低値が認められたが、32 週には回復が認められた。TSH 値については、100 mg 投与群以上で軽度ながら高値傾向がみられ、400 mg 投与群の雌では有意 ( $p \leq 0.01$ ) であった。(参照 47)

Chbb: THOM (Wistar) ラット (雌 12 匹、雄 36 匹/対照群、雌 12 匹、雄 12-24 匹/投与群) を用いた強制経口 (0、100、400 mg/kg 体重/日) 投与による 65 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、 $T_3$  および  $T_4$  および TSH の測定は、投与 28 週に全投与群の雌雄各 12 例について、投与 32、53 および 65 週には対照群の雄 8 例、400 mg 投与群の雄 4 例について実施した。

$T_3$  値は、投与 28 週に 100 mg 投与群以上の雄および 400 mg 投与群の雌で有意な高値が認められ、その程度には用量相関性が認められた (100 mg:  $p \leq 0.05$ 、400 mg:  $p \leq 0.01$ )。また、400 mg 投与群では投与 32 週においても有意 ( $p \leq 0.01$ ) な高値が認められ、平均値は投与 28 週より高値を示した。投与 53 および 65 週では、いずれも各 1 例に高値が認められた。一方、 $T_4$  値には低値傾向が認められ、400 mg 投与群の雄では投与 28 および 53 週に有意 (各々  $p \leq 0.01$ 、 $p \leq 0.05$ ) であった。

TSH 値は、投与 28 週に 100 mg 投与群以上で高値がみられ、400 mg 投与群の雌では有意 ( $p \leq 0.01$ ) であった。なお、投与群では対照群に比べて雄で 2.5 倍、雌では 5.7 倍の高値が認められた。投与 32 およ 53 週では 400 mg 投与群の 2 例で高値が認められたが、投与 65 週にはいずれの例においても対照群と同程度の値であった。(参照 48)

Chbb: THOM (Wistar) ラット (雄各 60/群) を用いた強制経口 (試験番号 G44: 0、200 mg/kg 体重/日、試験番号 G61: 0、0.5、2.5 mg/kg 体重/日) 投与による 13 週間の特殊毒性試験において認められた毒性所見は以下の通りであった。なお、本試験では高用量試験 (G44) および低用量試験 (G61) の 2 種類の試験が実施されている。G44 で

はラットにおける発がん性試験で甲状腺に影響（甲状腺腫、甲状腺濾胞の変性、甲状腺の結節性過形成、腺腫性甲状腺腫等）が認められた 200 mg の用量を設定しており、甲状腺の経時的な機能変化について確認することを目的としている。一方、G61 で用いている 0.5 および 2.5 mg の用量は、推定臨床用量の各々 100 および 500 倍であり、低用量における甲状腺機能への影響確認および NOEL の設定を目的としている。血液生化学検査（TSH および  $T_4$ ）は、投与 1 週（2 日および 7 日目）、2 週（7 日目）、4、8 および 13 週（各 2 日目）に各群 10 例について実施し、その 2 日あるいは 3 日後に剖検に供した。

本試験期間中、いずれの試験においても被験物質に起因する死亡例は認められなかった。

一般的な臨床症状観察、体重、摂餌量では、いずれの試験においても被験物質による明らかな影響は認められなかった。

血液生化学検査では、G44 の 200 mg 投与群で投与 2 週から TSH の有意な高値が認められたが、試験の経過と共に値は低下し、投与 13 週には回復が認められた。 $T_4$  値は投与 1、2 および 4 週に一過性の低値が認められた。G61 では TSH および  $T_4$  値ともに影響は認められなかった。

臓器重量では、G44 の 200 mg 投与群では、肝臓の絶対・比重量の高値が投与 3、4、8 および 13 週に認められた。また、甲状腺は投与 3 週より高値傾向が認められ、投与 13 週には絶対・比重量に有意な高値が認められた。G61 では異常は認められなかった。

剖検では、投与に関連すると考えられる変化は認められなかった。

病理組織学的検査は実施されていない。（参照 49）

## （2）甲状腺機能に関する特殊毒性試験（ヒト）（参照 50）

健常人ボランティア（男女各 3 名）に 0.25 mg/日の錠剤を 1 日 1 回 14 日間経口投与し、 $T_3$ 、 $T_4$  および TSH の変動について検査した。各項目について投与前 8 週（対照値）、初回投与前および最終投与後の計 3 回測定した結果、甲状腺機能に投与による明らかな影響は認められなかった。

## （3）その他の甲状腺機能に関する知見（参照 51,52）

下垂体—甲状腺軸が長期にわたり様々な外来性物質や生理学的な変動により攪乱された場合、ヒトのに比べてラットの甲状腺の方が、慢性的な TSH 刺激反応による増殖性病変の発生率が高いことが報告されている。また、雄ラットでは TSH の血中レベルが雌に比べて高いため、慢性毒性および発がん性試験において種々の薬物や化学物質を投与された場合、濾胞上皮細胞過形成および腫瘍の高い発生率が報告されている。ラットとヒトの間でみられる種差として、ヒトに比べてラットでは  $T_4$  の血漿中半減期が著しく短いこと（ヒト：5-9 日、ラット：12-24 時間）、ヒトでは血中の  $T_4$  は輸送タンパクであるサイロキシン結合グロブリン（TBG）に結合しているが、ラットではこのタンパクは存在せず、プレアルブミンやアルブミンと結合していることが挙げられる。なお、TBG の  $T_4$  に対する結合親和性は、プレアルブミンに比べて約 1,000 倍も高く、ヒトでは未結

合の活性  $T_4$  の比率はラットに比べて低いことが知られている。

## 9. ヒトにおける知見について

### (1) ヒトボランティア試験 (参照 53)

健常なヒトボランティア (男性、19~29 歳、12 名、平均体重 76kg) により、プロチゾラム (0.1、0.3mg : 0.0013、0.0039mg/kg に相当) あるいはフルラゼパム (10mg : 0.13 mg/kg に相当) 単回経口投与後の脳波および認知・行動について検討されている。

プロチゾラム 0.1mg、0.3 mg 投与とフルラゼパム 10mg 投与により、投与 1 時間から 6 時間の間に脳波に有意な変化が現れ、その変化は 2 時間後に最も顕著であった。変化としては 8Hz 領域の活性は減少していた。脳波への影響ではプロチゾラム 0.1mg がフルラゼパム 10mg に相当し、さらにプロチゾラム 0.3mg ではこれらのほぼ 3 倍の活性を示した。

脳波測定中に行われた認知機能試験などでもプロチゾラム 0.1mg から影響が認められた。

### (2) 副作用等について (参照 55,56)

プロチゾラムはヒト医薬品として睡眠導入、抗不安、催眠鎮静作用を効能として使用されている。重大な副作用として、肝機能障害及び黄疸 (頻度不明) が報告され、その他の副作用として不穏、興奮、大量連用による薬物依存 (頻度不明) が報告されている。また、類薬のベンゾジアゼピン系薬剤の投与では、呼吸抑制が現れることが報告されている。プロチゾラムの臨床試験および再審査終了時の副作用調査では、調査症例数 6,548 例中、副作用が報告されたのは 256 例 (3.91%) であった。主な副作用は、残眠感・眠気 144 件 (2.20%)、ふらつき 66 件 (1.01%)、頭重感 50 件 (0.76%)、だるさ 48 件 (0.73%)、めまい 25 件 (0.38%)、頭痛 8 件 (0.12%)、倦怠感 7 件 (0.11%) 等であった。就眠時に服用した場合、本剤の作用が翌朝以降に及び、眠気、注意力・集中力・反射運動能力等の低下が起こることがある。また、中枢神経系に対する毒性の強さと発現頻度は、一般に加齢と共に増加することが知られており、高齢者に対しては慎重投与の必要性があるとされている。

妊婦、産婦、授乳婦等、小児等への投与も慎重に投与する必要性があり、特に、妊婦または妊娠している可能性のある婦人には、以下①-③のような報告があることから投与しないことが望ましいとされている。

① 妊娠中にベンゾジアゼピン系化合物の投与を受けた患者の中に奇形を持つ児等の障害児を出産した例が対照群と比較して有意に多いという疫学調査の結果が報告されている。

② 新生児に哺乳困難、筋緊張低下、嗜眠、黄疸の増強等を起こすことがベンゾジアゼピン系化合物 (ジアゼパム、ニトラゼパム) で報告されている。

③ 分娩前に連用した場合、出産後新生児に禁断症状 (神経過敏、振戦、過緊張等) が現れることがベンゾジアゼピン系化合物 (ジアゼパム) で報告されている。

授乳婦への投与は以下に示す④、⑤のような報告があること、また新生児の黄疸を増強

する可能性があることから避けることが望ましいが、やむを得ず投与する場合、授乳は避けさせることになっている。

④ 動物実験で乳汁中に移行することが報告されている。

⑤ ヒト母乳中へ移行し、新生児に嗜眠、体重減少等を起こすことが、ベンゾジアゼピン系化合物（ジアゼパム）で報告されている。

低出世体重児、新生児、乳児、幼児または小児に対する安全性は確立されていない。

## 10. ヒト腸内細菌叢に及ぼす影響について

プロチゾラムに関しては、*in vivo* および *in vitro* において抗菌作用を示唆するデータは得られていない。

## III. 食品健康影響評価

### 1. 亜急性・慢性毒性試験等について

亜急性・慢性毒性試験について、プロチゾラム投与による影響は、鎮静、運動失調など主に薬理作用に関連していた。ラットにおいて行われた経口投与試験においては、NOAEL が得られている。マウスの18ヶ月発がん性試験では0.3 mg/kg 体重/日以上投与群で鎮静が認められ、サルを用いた13週間亜急性毒性試験では、1 mg/kg 体重/日以上投与群で運動失調が認められており、NOAEL は得られなかった。さらに、サルを用いた単回経口投与試験では、0.063mg/kg 体重/日で発声やひっかき行動の減少、怯えや攻撃性の低下を示す例がみられ、NOAEL は得られなかった。この LOAEL (0.063mg/kg 体重/日) は、亜急性・慢性毒性試験で得られた NOAEL 又は LOAEL より低かった。

なお、プロチゾラムの鎮静作用についての試験は、一般薬理試験でウサギを用いたプロチゾラムの静脈内投与によるウサギの自発脳波に対する影響が確認されており、本試験の NOEL (NOAEL) は0.001mg/kg 体重/日であった。しかし、投与方法が静脈投与のため、リスク評価にはこの結果を用いるのは適当でないと考えられた。

### 2. 生殖発生毒性試験について (参照 54)

ラットを用いた FDA の3節試験及びウサギによる器官形成期投与試験が実施されている。催奇形性についてはラット、ウサギとも認められていない。ラットを用いた周産期及び授乳期投与試験（第III節）では、母動物に対する NOAEL が求められたが、0.05 mg 以上投与群で児 (F<sub>1</sub>) の生後21日の雄児の体重が有意に低かったことから NOAEL が求められていない。他の生殖発生毒性試験では NOAEL が求められているが、周産期及び授乳期投与試験の LOAEL が他の生殖発生毒性試験で求められた NOAEL と同じまたは低いことから、生殖発生毒性試験の評価としては、0.05 mg/kg 体重/日を LOAEL とするのが適当と考えられた。

### 3. 遺伝毒性/発がん性について (参照 51,52,54,55)

遺伝毒性については *in vitro* で Ames 試験、不定期 DNA 合成試験、形質転換試験、遺伝子変換試験、HGPRT 突然変異試験において結果は全て陰性であった。また *in vivo* における染色体異常試験、小核試験及び優性致死試験のいずれも陰性であったことから、



プロチゾラムは遺伝毒性を有さないものと考えられる。

発がん性試験については、マウスを用いた 18 ヶ月間発がん性試験及びラットを用いた 2 年間発がん性試験が実施されている。マウスの試験では、発がん性を示唆する所見は得られなかったが、ラットの試験では、200mg 投与群の雄で甲状腺濾胞腺腫、雌では胸腺型悪性リンパ腫及び子宮における神経鞘腫の有意な発生の増加が認められた。この甲状腺濾胞腺腫の発生増加のメカニズムを検討するため複数の甲状腺機能に関する特殊毒性試験が実施されている。その結果、ラットではプロチゾラムの高用量の投与において甲状腺ホルモン( $T_3$  および  $T_4$ ) 及び甲状腺刺激ホルモン (TSH) への影響が認められ、TSH の慢性的刺激により、ラットに甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性変化を引き起こし、甲状腺濾胞腺腫の発生増加をもたらす可能性が示唆された。

雄のラットで認められた甲状腺濾胞腺腫は、ホルモンバランスの変動が関与している可能性が示唆された。また、雌の子宮で認められた神経鞘腫の発生率増加及び雌の胸腺型の悪性リンパ腫の増加原因については不明ではあるが、プロチゾラムが遺伝毒性物質ではないこと、マウスについて発がん性を示唆する所見が得られていないこと、及びラットにおいては高用量群にのみ、これら腫瘍性病変の発生の増加が認められていることから、ADI の設定は可能であると考えられた。

#### 4. ヒトにおける影響について (参照 55,56,57)

健常のヒトボランティアにプロチゾラムを単回経口投与し、脳波及び認知・行動検査を行ったところ、0.1mg 投与により脳波及び認知機能試験で影響が確認された。この試験における LOAEL は 0.1mg/ヒト/日 (=0.0013mg/kg 体重/日=1.3 $\mu$ g/kg 体重/日) であった。

また、プロチゾラムは既にヒト医薬品として睡眠導入、抗不安、催眠鎮静作用を効能とし使用されている。0.25mg/ヒト/日 (ヒト体重を 60kg とすると、0.0042 mg/kg 体重/日) の臨床用量で不穏、興奮等の副作用が報告されている。また、薬理作用である中枢神経系への作用が翌朝以降に及んだ眠気、注意力・集中力・反射運動能力等の低下、妊婦、産婦、授乳婦及び小児等への作用が懸念されている。

#### 5. 毒性学的影響のエンドポイントの選択について

各種の毒性試験において、サルを用いた急性毒性試験においては LOAEL が 0.063 mg/kg 体重/日、生殖発生毒性試験では LOAEL は 0.05 mg/kg 体重/日、ヒトの健常ボランティア試験における LOAEL は 0.0013 mg/kg 体重/日が得られた。プロチゾラム投与による影響は、鎮静、運動失調など薬理作用に関連している。これらの影響は、ヒトで最も感受性が高いと考えられ、実験動物から得られた LOAEL はヒト臨床用量より約 40~50 大きい値となっている。

以上のことを踏まえて、ADI を設定するためのエンドポイントとして、ヒトの健常ボランティア試験における LOAEL 0.0013 mg/kg 体重/日を採用するのが適当であると考えられる。

## 6. 一日摂取許容量(ADI)の設定について

プロチゾラムについては、遺伝毒性を示さないことから ADI を設定することが可能である。

毒性学的試験において、最も低い用量で被験物質投与の影響が認められたと考えられる指標は、ヒトの健常ボランティア試験におけるLOAEL 0.0013mg/kg 体重/日であった。この知見からADIを設定するにあたっては、LOAELからNOAELへの変換10、個体差10 の安全係数100 を考慮し、毒性学的データからはADI は0.013µg/kg 体重/日と設定される。

以上より、プロチゾラムの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

プロチゾラム 0.013 µg /kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。

<別紙 1 検査値等の略称>

ADI	一日摂取許容量
AP	アルカリフォスファターゼ
AUC	血中薬物濃度-時間曲線下面積
BUN	血液尿素窒素
C <sub>max</sub>	最高血(漿)中濃度
GPT	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(→ALT)
Hb	ヘモグロビン(血色素)
HPLC	高速液体クロマトグラフ
Ht	ヘマトクリット
LD <sub>50</sub>	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
MCH	平均赤血球血色素量
MCHC	平均赤血球血色素濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
RBC	赤血球数
RIA	放射免疫測定法(ラジオイムノアッセイ)
T <sub>1/2</sub>	消失相半減期
T <sub>3</sub>	トリヨードサイロニン
T <sub>4</sub>	サイロキシン
TBG	サイロキシン結合グロブリン
Tcho	総コレステロール
TG	トリグリセリド
TLC	薄層クロマトグラフ法
T <sub>max</sub>	最高血(漿)中濃度到達時間
TSH	甲状腺刺激ホルモン

<参照>

- 1 ブロチゾラムの物理的・化学的性質等に関する資料, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 2 Blood levels and metabolite pattern of [<sup>14</sup>C]We 941 in mice after a single administration and after 4 weeks of pretreatment with 0.3, 10 and 200 mg/kg, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 3 We 941 BS Carcinogenicity study in mice with oral administration, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 4 吉田 剛, 大岩 陽子, 小林 捷治, 松村 理一郎, 公平 宏, <sup>14</sup>C-ブロチゾラムの吸収、分布および排泄—ラットにおける単回及び連続経口投与後の血中濃度, 組織内濃度, 尿・糞中排泄および胆汁中排泄, 腸肝循環, 蛋白結合—, 薬理と治療, 1985, 13(6), p.3333-3344
- 5 W.D, Bechtel., J. Mierau., I. Richter., M. Stiasni., Blood Level, Distribution, Excretion, and Metabolite Pattern of [<sup>14</sup>C]-Brotizolam in the Rat, Dog, and Rhesus Monkey, *Arzneimittelforsch* 36, 1986, p.568-574
- 6 W.D, Bechtel., J. Mierau, K. Brandt, H.J.Forster, K.H.Pook, Metabolic Fate of [<sup>14</sup>C]-Brotizolam in the Rat, Dog, Monkey and Man, *Arzneim-Forsch*, 1986, 36(3a), p.578-586
- 7 Synopsis of the pharmacokinetic data on We 941 (brotizolam) in animals and in man, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 8 The metabolism and pharmacokinetics of [<sup>14</sup>C]-We 941 BS in 3 milking cows, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)

- 9 The residue kinetics of [ $^{14}\text{C}$ ]-We 941 BS in the lactating cow, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 10 Bechtel, W.D., Kramer, I. and Stiasni, M., Biochemical investigations with [ $^{14}\text{C}$ ]-WE 941 BS in rats. (ADME I). Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, July 1975.
- 11 Meirau, J., Biochemical investigations with [ $^{14}\text{C}$ ]-WE 941 BS in monkeys. (ADME II). Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, January 1977.
- 12 Bechtel, W.D., Biochemical study of WE 941 BS in man. (ADME III, Oral administration.) Confidential report from Boehringer Ingelheim Vetmedica, Jan. 1978.
- 13 SPV-708 の牛における残留試験，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 14 SPV-708 の牛における畜体残留性試験，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 15 SPV-708 の搾乳牛における乳汁残留試験，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 16 SPV-708 の泌乳牛における乳汁中残留性試験，ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 17 We 941 BS Acute toxicity study (LD50) after oral administration to Chbi:NMRI (SPF) mice, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

- 1 8 ラット, マウスにおけるブロチゾラム (We941-BS) の静脈及び腹腔内投与による急性毒性試験, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料:メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 1 9 Expanded SYNOPSIS of the Toxicological Studies with WE 941 BS (Brotizolam), ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料:メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 2 0 恒成 靖生, Alexander KAST, 本間 征人, 西川 順子, 柴田勉, 矢部 友邦, Brotizolam のラットにおける急性及び亜急性毒性試験, 医薬品研究, 1985, 16(2), p.281-293
- 2 1 INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ACUTE ORAL ADMINISTRATION OF WE 941 BS IN CONSCIOUS MONKEYS, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料:メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 2 2 Brotizolam (We 941-BS), Nitrazepam および Flurazepam のラットにおける 5 週間経口投与による比較経口亜急性毒性試験, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料:メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 2 3 Subacute toxicity study We 941-BS following intravenous administration in beagles -duration 4 weeks-, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料:メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 2 4 Subacute toxicity study of the substance We 941-Bs in rhesus monkeys (Macaca mulatta) following oral administration -Duration 13 weeks-, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料:メデランチル (ブロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)

- 2 5 Chronic toxicity study of the substance We 941-BS in rats with oral administration -Duration 18 months-, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 2 6 We 941 BS Carcinogenicity study of 2 years duration in the rat following oral administration, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 2 7 松尾 朝紀, Alexander KAST, 恒成 靖生, Brotizolam の経口投与による生殖毒性試験 ラットにおける妊娠前・妊娠初期, 器官形成期及び周産期・授乳期投与試験並びにウサギにおける器官形成期投与試験, 医薬品研究, 16(4), 1985, p.818-838
- 2 8 Teratogenicity Study of We 941-BS in Rats, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 2 9 Teratology Study with Brotizolam (We 941-BS) in Rats Dosed by Gavage during the period of Organogenesis, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 3 0 Teratogenicity Study of We 941-BS in Rabbits, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 3 1 Perinatal and Postnatal Investigations of the Substance We 941- BS on Rats (Test No. A 92), ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 3 2 Perinatal and Postnatal Study of the Compound We 941 BS in Rats, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

- 3 3 岩原 繁雄, 坂本 京子, 大岩 陽子, Brotizolam の細菌による遺伝子突然変異試験, 薬理と治療, 1984, 12(1), p.121-123
- 3 4 Studies on the possible mutagenicity of metabolites in urine of brotizolam (We 941-BS)-treated mice and rats: Testing for point-mutagenic activity with *Salmonella typhimurium* (未公表)
- 3 5 We 941 BS Unscheduled DNA synthesis assay in human embryonic cells, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 3 6 We 941 BS: Induction of morphological transformation in C3H/10T1/2 cells, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 3 7 Mitotic Gene Conversion In *Saccharomyces Cervisiae* D4, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 3 8 Determination of mutations at hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase locus in V79 cells: HGPRT test, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 3 9 Studies on the possible mutagenicity of highly polar metabolites in blood plasma of brotizolam-treated rats and mice: Testing for point-mutagenic activity with *Salmonella typhimurium*, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)
- 4 0 Cytogenetic study in Chinese hamster of We 941-BS, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料: メデランチル (プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤) の食品健康影響評価に係る補足資料 (未発表)



- 4 1 Expert report on the possible mutagenic activity of the substance "We 941 BS" as evaluated by the micronucleus test, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 4 2 Study of the mutagenic activity of the substance "We 941 BS" by the dominant lethal test, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 4 3 Pharmacological Study of Brotizolam: Effect on the cardiovascular function and autonomic nervous system, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 4 4 Sato Katsuhiko, Matsuda Hiromi, Hayashi Masaaki, Shibuya Takeshi, Pharmacological Studies on Brotizolam, a Thienotriazolodiazepane Derivative with Special Reference to Central Nervous System and General Pharmacology, J.Tokyo.Med.Coll., 1985, 43(4), p.649-660
- 4 5 Pharmacological Study of Brotizolam: Effect on smooth muscle and other organs, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 4 6 EEG studies on rabbits with WE 941-BS to determine a "no effect dose", ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 4 7 The effect of We 941 BS on thyroid hormones. Interim report on a special study in rats, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 4 8 Effect of We 941 BS on T3, T4 and TSH in the rat, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）

- 4 9 Preliminary report on the influence of We 941 BS on certain parameters possibly associated with thyroid function in the rat, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 5 0 Lendormin tablets (We 941) Phase III Assessment of thyroxine levels after 14 days' administration of Lendormin in man, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料：メデランチル（プロチゾラムを有効成分とする牛の注射剤）の食品健康影響評価に係る補足資料（未発表）
- 5 1 キャサレット&ドール トキシコロジー 第 6 版, 仮家公夫, 佐藤哲男, 高橋道人, 野口英世 総監訳, 株式会社サイエンティスト社, 東京, 2004, p.827-839
- 5 2 Finch, J.M, Capen, C.C.; A mode of action for induction of thyroid gland tumors by Pyrethrins in the rat.; Toxicol. Appl. Pharmacol. 2006, 214, p.253-262
- 5 3 M.Fink, M.D, Professor of Psychiatry, Dept. of Psychiatry and Behavioral Science, ベーリンガーインゲルハイムベトメディカジャパン株式会社社内資料、1981、未公表
- 5 4 EMEA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS, BROTILOLAM, SUMMARY REPORT
- 5 5 日本医薬品集 医療薬 2007 年版, 日本医薬品集フォーラム監修, 株式会社じほう, 東京, 2007, p. 2082-2083
- 5 6 医薬品インタビューフォーム 睡眠導入剤レンドルミン®錠 0.25 mg 第 5 版, 2007
- 5 7 グッドマン・ギルマン薬理書 上 第 10 版, 高折修治, 福田英臣, 赤池昭紀 監訳, 廣川書店, 東京, 2003, p. 501-530

## ブロチゾラム (案)

## 1. 概要

(1) 品目名：ブロチゾラム(Brotizolam)

(2) 用途：牛の諸疾患における食欲不振の改善に対する補助的効果

ブロチゾラムは抗不安薬あるいは睡眠薬の研究の中から発見された2-bromo-thieno-triazolo-1,4diazepine誘導体である。ヒト用医薬品としては睡眠導入剤として開発されているが、動物に対して食欲誘発作用を示すことから、動物に対しては食欲不振改善の補給等を目的として開発され、我が国をはじめ欧米等で用いられている。

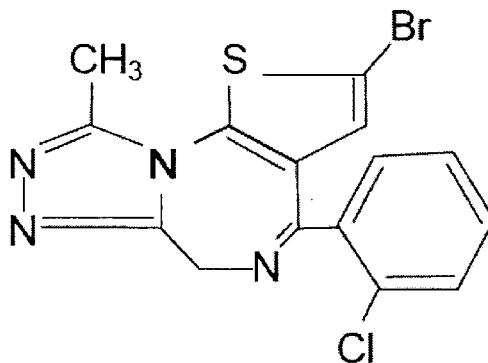
今般の残留基準設定については、ブロチゾラムを有効成分とする製剤（メデランチル）が承認を受けた後、所定の期間（6年）が経過したため再審査申請がなされたことに伴い、内閣府食品安全委員会においてブロチゾラムについてADI設定がなされたことによるものである。

(3) 化学名：

2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-1-thia-5,7,8,9a-tetraazacyclopenta[e]azulene (IUPAC)

2-Bromo-4-(2-chlorophenyl)-9-methyl-6H-thieno[3,2-f][1,2,4]triazolo[4,3a][1,4]diazepine (CAS)

(4) 構造式及び物性



分子式 :  $C_{15}H_{10}BrClN_4S$

分子量 : 393.69

常温における性状 : 白色～微黄色の結晶性粉末

融点(分解点) : 208～212℃

溶解性 : 酢酸又はジクロロメタンに溶けやすく、メタノールにやや溶けに

くく、エタノール、アセトン又は2-ブタノンに溶けにくく、無水ジエチルエーテルに極めて溶けにくく、水にはほとんど溶けない。

(5) 適用方法及び用量

プロチゾラムの使用対象動物及び使用方法等を以下に示す。

対象動物及び使用方法		使用国	休業期間
牛	0.002 mg/kg 体重を単回静脈内投与 (頻回使用の場合は、1日1回3日間まで)	フランス アイルランド	0日
		ニュージーランド	0.25日
		ドイツ オランダ	1日
		日本	2日
	0.002 mg/kg 体重を単回静脈内、筋肉内又は皮下投与	イタリア	4日
泌乳牛	0.002 mg/kg 体重を単回静脈内投与 (頻回使用の場合は、1日1回3日間まで)	フランス アイルランド オランダ	0日
		ドイツ ニュージーランド 日本	0.5日

2. 対象動物における分布、代謝

<sup>14</sup>C標識プロチゾラムを泌乳牛3頭に10 μg/kg体重/頭を静脈内投与したところ、放射活性は急速に排泄され、主要排泄経路は糞中(57-86%)であり、尿中排泄は少量であった(15-25%)。消失半減期(T<sub>1/2</sub>)は0.5-1時間であった。乳汁中の総放射活性値は低く、0.1%であり、乳汁成分の分析では、乳脂分画中に高濃度の放射活性が認められた。静脈内投与6.5、24及び72時間後の肝臓における濃度は、16.9 ng eq/mL(2.6%)、9.7 ng eq/mL(0.8%)及び12.0 ng eq/mL(0.7%)であった。腎臓における濃度は投与6.5時間後で5.3 ng eq/mLを示し、投与24及び72時間後では検出限界未満となった。

<sup>14</sup>C標識プロチゾラムを泌乳牛3頭に2 μg/kg体重/頭を静脈内投与し、血液、乳汁及び組織(血漿、筋肉、脂肪、腎臓、胆汁、肝臓)中のプロチゾラム濃度を測定した。血漿では二相性の半減期が見られ、投与7分後に最高血中濃度(C<sub>max</sub>)2.83 ng eq/mLが認められ、投与3時間後には0.53 ng eq/mLまで急速に減少(T<sub>1/2</sub>1.2時間)し、投与36時間後には0.01 ng eq/mLまで減少した(T<sub>1/2</sub>5時間)。乳汁では、初回搾乳7時間後でC<sub>max</sub>0.08 ng eq/mLが認められ、47時間後には検出限界まで減少した。各組織における残留は主に肝臓(投与6.5時間後:3.54 ng eq/mL、24時間:1.24 ng eq/mL、72時間:0.56 ng eq/mL)及び腎臓(投与6.5時間後:1.12 ng eq/mL、24時間:0.13 ng eq/mL、72時間:0.02 ng eq/mL)で認められた。肝臓では投与72時間後まで明らかな残留が認められ、T<sub>1/2</sub>は30分であった。胆汁中には投与6.5時間後:33.61 ng eq/mL、24時間:3.94 ng eq/mL、72時間:0.01 ng eq/mLが認められた。筋肉及び脂肪中の残留はいずれの時点においても微量であった。

### 3. 対象動物における残留試験結果

#### (1) 分析の概要

① 分析対象化合物：プロチゾラム

② 分析法の概要：

ガスクロマトグラフ法により、各対象動物組織における残留性が検証されている。

添加回収率は平均 (n=3) で、筋肉 93%、脂肪 79%、肝臓 91%、腎臓 90%、小腸 80%、乳汁 84%。

#### (2) 組織における残留

① ウシにプロチゾラムとして 0.002 mg/kg 体重/日 (常用量) 及び 0.004 mg/kg 体重/日 (2倍量) を 3日間連続して静脈内投与した。最終投与後 2時間、1、2、3及び5日の筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び小腸におけるプロチゾラム濃度を以下に示す。

プロチゾラムとして、0.002 mg/kg 体重/日及び0.004 mg/kg 体重/日を3日間連続して静脈内投与した時の食用組織中のプロチゾラム濃度 (ppm)

試験日 (投与後)	筋肉		脂肪		肝臓	
	常用量	2倍量	常用量	2倍量	常用量	2倍量
2時間	<0.001	<0.001	<0.001 (5), 0.002	<0.001 (5), 0.001	<0.001 (4), 0.001, 0.003	<0.001
1日	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
2日	—	—	<0.001	<0.001	<0.001	—
3日	—	—	—	—	—	—
5日	—	—	—	—	—	—

試験日 (投与後)	腎臓		小腸	
	常用量	2倍量	常用量	2倍量
2時間	<0.001 (5), 0.002	<0.001	<0.001 (5), 0.002	<0.001
1日	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
2日	<0.001	—	<0.001	—
3日	—	—	—	—
5日	—	—	—	—

数値は、分析値で示し、括弧内は検体数を示す。

—は分析を実施せず。

定量限界：0.001 ppm

② ウシにプロチゾラムとして 0.002 mg/kg 体重/日 (常用量) 及び 0.004 mg/kg 体重/日 (2倍量) を 3日間連続して静脈内投与した。最終投与後 12 及び 24 時間の乳中におけるプロチゾラム濃度を以下に示す。

プロチゾラムとして、0.002 mg/kg 体重/日及び0.004 mg/kg 体重/日を3日間連続して静脈内投与した時の乳中のプロチゾラム濃度 (ppm)

試験日 (投与後時間)	乳	
	常用量	2倍量
12	<0.001	<0.001
24	<0.001	<0.001

数値は、分析値を示す。

定量限界：0.001 ppm

#### 4. 許容一日摂取量 (ADI) 評価

食品安全基本法 (平成 15 年法律第 48 号) 第 24 条第 2 項の規定に基づき、平成 18 年 10 月 16 日付け厚生労働省発食安第 1016003 号により、食品安全委員会委員長あて意見を求めたプロチゾラムに係る食品健康影響評価について、食品安全委員会において、以下のとおり食品健康影響評価が示されている。

プロチゾラムの食品健康影響評価については、ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

プロチゾラム 0.013  $\mu$ g/kg 体重/日

#### 5. 諸外国における使用状況

米国、EU、豪州、カナダ及びニュージーランドを調査したところ、EU 及びニュージーランドにおいて牛に使用が認められている。

なお、FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 (JECFA) においては評価されていない (平成 20 年 8 月現在)。

#### 6. 基準値案

(1) 残留の規制対象：プロチゾラム

(2) 基準値案

別紙 1 のとおりである。

(3) ADI 比

各食品において基準値 (案) の上限まで本剤が残留したと仮定した場合、国民栄養調査結果に基づき試算される、1 日当たり摂取する本剤の量 (理論最大摂取量 (TMDI)) の ADI に対する比は、以下のとおりである。

	TMDI/ADI (%)
国民平均	16.3
幼小児 (1~6歳)	57.2
妊婦	18.2
高齢者 (65歳以上) *	16.0

\* 高齢者については畜水産物の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考とした。

なお、詳細の暴露評価については、別紙2のとおりである。

- (4) 本剤については、平成17年11月29日付け厚生労働省告示第499号により、食品一般の成分規格7に食品に残留する量の限度（暫定基準）が定められているが、今般、残留基準の見直しを行うことに伴い、暫定基準は削除される。

(別紙1)  
 プロチゾラム

食品名	基準値(案) ppm	基準値現行 ppm	国際基準 ppm	EU <sup>注2</sup> ppm	休薬期間	残留試験成績	試験日
牛の筋肉	0.001	0.001			0日 <sup>*6</sup>	<0.001	2時間
						<0.001	1日
豚の筋肉	● <sup>注1</sup>	0.001					
その他の陸棲哺乳類 <sup>*1</sup> の筋肉	●	0.001					
牛の脂肪	0.002	0.001			0日 <sup>*6</sup>	<0.001(5), 0.002	2時間
						<0.001	1日
豚の脂肪	●	0.001					
その他の陸棲哺乳類の脂肪	●	0.001					
牛の肝臓	0.003	0.001			0日 <sup>*6</sup>	<0.001(4), 0.001, 0.003	2時間
						<0.001	1日
豚の肝臓	●	0.001					
その他の陸棲哺乳類の肝臓	●	0.001					
牛の腎臓	0.002	0.001			0日 <sup>*6</sup>	<0.001(5), 0.002	2時間
						<0.001	1日
豚の腎臓	●	0.001					
その他の陸棲哺乳類の腎臓	●	0.001					
牛の食用部分 <sup>*2</sup>	0.002	0.001			0日 <sup>*6</sup>	<0.001(5), 0.002	2時間 (小腸)
						<0.001	1日 (小腸)
豚の食用部分	●	0.001					
その他の陸棲哺乳類の食用部分	●	0.001					
乳	0.001	0.001			0日 <sup>*7</sup>	<0.001	12時間
						<0.001	24時間
鶏の筋肉	●	0.001					
その他の家きん <sup>*3</sup> の筋肉	●	0.001					
鶏の脂肪	●	0.001					
その他の家きんの脂肪	●	0.001					
鶏の肝臓	●	0.001					
その他の家きんの肝臓	●	0.001					
鶏の腎臓	●	0.001					
その他の家きんの腎臓	●	0.001					
鶏の食用部分	●	0.001					
その他の家きんの食用部分	●	0.001					
鶏の卵	●	0.001					
その他の家きんの卵	●	0.001					
魚介類(さけ目魚類に限る。)	●	0.001					
魚介類(うなぎ目魚類に限る。)	●	0.001					
魚介類(すずき目魚類に限る。)	●	0.001					
魚介類(その他の魚類 <sup>*4</sup> に限る。)	●	0.001					
魚介類(貝類に限る。)	●	0.001					
魚介類(甲殻類に限る。)	●	0.001					
その他の魚介類 <sup>*5</sup>	●	0.001					
はちみつ	●	0.001					



注1：不検出

注2：EUにおいて0.01  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重/日 (0.6  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ ) のADIが設定されているが、食用組織及び乳からの摂取量が0.6  $\mu\text{g}$ を越えないため、残留基準は不要としている。

\*1：その他の陸棲哺乳類に属する動物とは、陸棲哺乳類に属する動物のうち、牛及び豚以外のものをいう。

\*2：食用部分とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいう。

\*3：その他の家きんとは、家きんのうち、鶏以外のものをいう。

\*4：その他の魚類とは、魚類のうち、さけ目魚類、うなぎ目魚類及びびすずき目魚類以外のものをいう。

\*5：その他の魚介類とは、魚介類のうち、魚類、貝類及び甲殻類以外のものをいう。

\*6：フランス、アイルランド

\*7：フランス、アイルランド、オランダ

## (別紙2)

プロチゾラムの推定摂取量 (単位:  $\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$ )

食品名	基準値案 (ppm)	国民平均 TMDI	幼小児 (1~6歳) TMDI	妊婦 TMDI	高齢者*4 (65歳以上) TMDI
牛の筋肉	0.001	0.04*2	0.02*2	0.04*2	0.04*2
牛の脂肪	0.002				
牛の肝臓	0.003	0.00	0.00	0.00*3	0.00
牛の腎臓	0.002	0.00	0.00	0.00	0.00
牛の食用部分*1	0.002	0.00	0.00	0.00	0.00
乳*5	0.001	0.07	0.10	0.09	0.07
計		0.11	0.12	0.13	0.11
ADI 比 (%)		16.3	57.2	18.2	16.0

\*1: 食用部分とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいい、小腸を参照とした。

\*2: 筋肉の基準値×筋肉及び脂肪の摂取量

\*3: 妊婦の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考にした。

\*4: 高齢者については畜水産物の摂取量データがないため、国民平均の摂取量を参考とした。

\*5: 基準値案は0.001であるが、乳の残留試験結果がすべて定量限界0.001ppm未満であったことから、JECFAで過去に用いられた方法である定量限界の1/2を乗じた値を推定摂取量の計算に用いた。

\*5の方法を用いなかった場合、ADI比は、国民平均26.6、乳幼児105.2、妊婦30.9、高齢者26.1であった。

(参考)

これまでの経緯

平成18年10月16日	厚生労働大臣から食品安全委員会委員長あてに残留基準設定に係る食品健康影響評価について要請
平成18年10月19日	第164回食品安全委員会(要請事項説明)
平成19年9月28日	第80回動物用医薬品専門調査会
平成19年10月23日	第82回動物用医薬品専門調査会
平成19年11月27日	第84回動物用医薬品専門調査会
平成20年1月24日	食品安全委員会における食品健康影響評価(案)の公表
平成19年3月13日	第230回食品安全委員会(報告) 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣あてに食品健康影響評価について通知
平成20年8月6日	薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成20年〇月〇日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

●薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会農薬・動物用医薬品部会

[委員]

青木 宙	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
井上 松久	北里大学副学長
○大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所副所長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
加藤 保博	財団法人残留農薬研究所理事
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室准教授
佐々木 久美子	元国立医薬品食品衛生研究所食品部第一室長
志賀 正和	元農業技術研究機構中央農業総合研究センター虫害防除部長
豊田 正武	実践女子大学生活科学部生活基礎化学研究室教授
松田 りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
山内 明子	日本生活協同組合連合会組織推進本部 本部長
山添 康	東北大学大学院薬学研究科医療薬学講座薬物動態学分野教授
吉池 信男	青森県立保健大学健康科学部栄養学科教授
由田 克士	国立健康・栄養研究所栄養疫学プログラム国民健康・栄養調査プロジェクトリーダー
鰐淵 英機	大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学教授

(○:部会長)

(答申案)

プロチゾラムについては、食品に含有されるものであってはならないとする食品規格を設定することが適当である。

ただし、牛の筋肉、牛の脂肪、牛の肝臓、牛の腎臓、牛の食用部位及び乳については、次の残留基準を設定することが適当である。

プロチゾラム

食品名	残留基準値 ppm
牛の筋肉	0.001
牛の脂肪	0.002
牛の肝臓	0.003
牛の腎臓	0.002
牛の食用部分	0.002
乳	0.001