

動物用医薬品評価書

チモール

2018年4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 |
| ○ 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿 | 3 |
| ○ 第208回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿 | 3 |
| ○ 第210回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿 | 3 |
| ○ 要約 | 4 |
| | |
| I. 評価対象動物用医薬品の概要 | 5 |
| 1. 用途 | 5 |
| 2. 有効成分の一般名 | 5 |
| 3. 化学名 | 5 |
| 4. 分子式 | 5 |
| 5. 分子量 | 5 |
| 6. 構造式 | 5 |
| 7. 使用目的及び使用状況等 | 5 |
| | |
| II. 安全性に係る知見の概要 | 7 |
| 1. 薬物動態に関連する知見 | 7 |
| (1) 吸収・代謝・排泄試験（ヒト） | 7 |
| (2) 単回経口投与 | 7 |
| (3) 代謝試験（ラット、ウサギ及びヒト） | 8 |
| (4) 排泄試験（イヌ及びヒト） | 10 |
| 2. 残留試験等 | 11 |
| (1) 残留試験 | 11 |
| (2) 分布試験 | 13 |
| 3. 遺伝毒性試験 | 15 |
| 4. 単回投与毒性試験 | 17 |
| (1) 急性毒性試験 | 17 |
| 5. 亜急性毒性試験 | 17 |
| (1) 28日間亜急性毒性試験（ラット） | 17 |
| (2) 43日間亜急性毒性試験（ラット） | 18 |
| (3) 19週間亜急性毒性試験（ラット） | 18 |
| (4) 8又は9日間亜急性毒性試験（モルモット）〈参考資料〉 | 19 |
| (5) 12日間亜急性毒性試験（ウサギ）〈参考資料〉 | 19 |
| 6. 慢性毒性及び発がん性試験 | 19 |
| 7. 生殖発生毒性試験 | 19 |

| | |
|--|----|
| (1) 1 世代生殖発生毒性試験 (ラット) | 19 |
| (2) 生殖発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料> | 20 |
| 8. その他の毒性試験 <参考資料> | 20 |
| (1) 鶏卵に対する投与試験 | 20 |
| (2) 8 週間腹腔内投与試験 (マウス) | 20 |
| (3) 細胞毒性試験 | 20 |
| (4) 感作試験及び刺激性試験 (モルモット、ウサギ) | 20 |
| 9. ヒトにおける知見 | 21 |
| (1) 中毒事例 | 21 |
| (2) 皮膚炎 | 22 |
| (3) 薬物アレルギー | 22 |
| (4) その他の知見 | 22 |
| 10. 一般薬理試験 | 23 |
| | |
| III. 国際機関等における評価 | 25 |
| 1. JECFA における評価 | 25 |
| 2. 欧州における評価 | 25 |
| 3. 米国における評価 | 25 |
| 4. カナダにおける評価 | 26 |
| | |
| IV. 食品健康影響評価 | 27 |
| | |
| ・表 15 JECFA、EFSA 及び食品安全委員会における各種試験の無毒性量等の比較... | 28 |
| ・別紙 1：代謝物/分解物略称 | 29 |
| ・別紙 2：検査値等略称 | 30 |
| ・参照 | 31 |

<審議の経緯>

- 2017年 10月 12日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について
要請（厚生労働省発生食 1012 第 4 号）、関係資料の接受
- 2017年 10月 17日 第 669 回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2017年 12月 13日 第 208 回動物用医薬品専門調査会
- 2018年 1月 31日 第 210 回動物用医薬品専門調査会
- 2018年 3月 6日 第 687 回食品安全委員会（報告）
- 2018年 3月 7日 から 4月 5日 まで 国民からの意見・情報の募集
- 2018年 4月 11日 動物用医薬品専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
- 2018年 4月 17日 第 693 回食品安全委員会
（同日付で厚生労働大臣に通知）

<食品安全委員会委員名簿>

（2017年 1月 7日から）

佐藤 洋（委員長）
山添 康（委員長代理）
吉田 緑
山本 茂貴
石井 克枝
堀口 逸子
村田 容常

<食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門委員名簿>

（2017年 10月 1日から）

| | | |
|-------------|-------|-------|
| 青山 博昭（座長） | 島田 美樹 | 能美 健彦 |
| 小川久美子（座長代理） | 下地 善弘 | 舞田 正志 |
| 青木 博史 | 須永 藤子 | 宮田 昌明 |
| 石川さと子 | 辻 尚利 | 吉田 敏則 |
| 島田 章則 | 寺岡 宏樹 | 渡邊 敏明 |

<第 208 回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

石塚真由美（北海道大学 大学院 獣医学研究院 教授）
木村 澄（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門 家畜育種
繁殖研究領域 有用遺伝子ユニット 主席研究員）

<第 210 回食品安全委員会動物用医薬品専門調査会専門参考人名簿>

石塚真由美（北海道大学 大学院 獣医学研究院 教授）
木村 澄（国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 畜産研究部門 家畜育種
繁殖研究領域 有用遺伝子ユニット 主席研究員）

要 約

寄生虫駆除剤である「チモール」(CAS No.89-83-8)について、動物用医薬品製造販売承認申請資料等を用いて食品健康影響評価を実施した。

評価に用いた試験成績等は、薬物動態(ラット、ウサギ、イヌ及びヒト)、残留(蜜蜂)、遺伝毒性、急性毒性(マウス、ラット、モルモット及びウサギ)、亜急性毒性(ラット)、生殖発生毒性(ラット)等の試験成績である。

各種毒性試験の結果から、チモール投与による主たる影響は、雄ラットにみられた一過性の体重増加抑制傾向並びに雌ラットにみられた一過性の自発運動量の減少及び歩行失調であった。

各種遺伝毒性試験の結果、チモールには生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられたことから、ADIの設定は可能であると判断した。

各種毒性試験の結果から、最も低い用量でみられた影響は、ラットを用いた43日間亜急性毒性試験の雄にみられた一過性の体重増加抑制傾向並びに雌にみられた一過性の自発運動量の減少及び歩行失調並びに1世代生殖発生毒性試験の児動物でみられた体重及び体重増加量の低値であり、NOAELは40 mg/kg 体重/日であった。

食品安全委員会は、発がん性試験の知見は不足しているものの、投与による影響が一過性で重篤なものではないこと、JECFA、欧州及び米国においてADIやMRLの設定を不要とする評価結果が出ていること並びに食品添加物及び医薬品添加物としての長期にわたる使用経験があることを総合的に考慮し、動物用医薬品として適切に使用される限りにおいて、ADIを特定する必要はないと判断した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

寄生虫駆除剤

2. 有効成分の一般名

和名：チモール

英名：Thymol

3. 化学名

IUPAC：5-methyl-2-(methylethyl)phenol

CAS (No. 89-83-8)

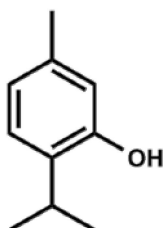
4. 分子式

C₁₀H₁₄O

5. 分子量

150.2

6. 構造式



(参照 1)

7. 使用目的及び使用状況等

チモールはフェノール誘導体で、殺菌作用及び殺虫作用があることから、殺菌剤やダニ等の駆除剤として使用されてきた。また、チモールは、タイム (*Thymus vulgaris* 及び *Thymus zygis*)、タチジャコウソウ、オレガノ等の植物体内で生成される化合物であり、これらのハーブは食品として直接摂取され、抽出物は食品添加物として広く用いられている。チモールは、環境中¹では速やかに代謝・分解され、環境中の濃度分布に影響を与えないとされている。(参照 2)

1964年に米国で、チモール製剤が家畜用の防虫剤として登録され、1996年にスイスで、蜜蜂²の寄生虫病であるバロア病の病原虫であるミツバチヘギイタダニ (*Varroa destructor* 又は *Varroa jacobsoni*) に対する殺虫剤 (殺ダニ剤) として登録された。現

¹ 水系を除く。

² 本評価書において、原則として実験動物種及び人はカタカナ、評価対象動物用医薬品の使用対象となる動物等は漢字又はひらがなで記載する。

在では、世界 20 か国以上で使用されている。(参照 2、3)

日本では、チモールは、ヒト用医薬品(抗酸化剤、保存剤等)として使用されている。また、オレガノ抽出物(チモールを含有)が、食品添加物(既存添加物)として指定されている。動物用医薬品としては承認されていない。(参照 2、4~6)

今回、蜜蜂寄生ダニ(ミツバチヘギイタダニ)の駆除を効能・効果としたチモールを有効成分とする蜜蜂の寄生虫駆除剤の製造販売承認申請がなされたことに伴い、厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価が要請された。(参照 2)

II. 安全性に係る知見の概要

動物用医薬品製造販売承認申請資料等を基に、チモールの安全性に関する主な知見を整理した。

代謝物/分解物略称及び検査値等略称をそれぞれ別紙 1 及び 2 に示す。

1. 薬物動態に関連する知見

(1) 吸収・代謝・排泄試験 (ヒト)

ヒト (ボランティア、健康な成人男性、年齢 29.5 ± 6.74 (平均値 \pm 標準偏差)、ボディマス指数 (BMI) $24.6 \pm 2.0 \text{ kg/m}^2$ (平均値 \pm 標準偏差)、12 名) に、チモール錠剤 (プリムローズ乾燥抽出物 60 mg 及びタイム乾燥抽出物 160 mg 含有、チモールとして 1.08 mg/錠) を単回投与し、投与後 72 時間まで経時的に試料 (血液及び尿) を採取し、試料中のチモール代謝物がガスクロマトグラフィー質量分析法 (GC/MS) で測定された (表 1)。

投与 1.97 時間 (T_{\max}) でチモールは、最高血漿中濃度である 93.1 ng/mL (C_{\max}) に達した。チモールの平均吸収時間は 0.53 時間、消失半減期 ($T_{1/2}$) は 10.2 時間と算出された。投与 20 分後の血漿中から、硫酸抱合体が検出され、投与後平均 38 時間までチモール代謝物が検出された。

投与後 24 時間まで尿中からチモール代謝物が検出され、大部分が投与後 6 時間以内に排泄された。投与後 24 時間までの尿中から検出された硫酸抱合体及びグルクロン酸抱合体は、投与量の約 $16.2 \pm 4.5\%$ であった。腎クリアランスは $0.271 \pm 0.7 \text{ L/時間}$ であった。また、硫酸抱合体は近位尿細管で再吸収されると考えられている。(参照 2、7)

表 1 ヒトにおけるチモール錠剤 (チモールとして 1.08 mg/錠) 単回投与後の薬物動態パラメーター

| 項目 | 平均値 | 標準偏差 |
|----------------------------------|-------|-------------|
| C_{\max} (ng/mL) | 93.11 | ± 24.47 |
| T_{\max} (h) | 1.97 | ± 0.77 |
| $T_{1/2}$ (h) | 10.2 | ± 1.4 |
| $AUC_{0-\text{clast}}$ (ng h/mL) | 837.3 | ± 278.5 |
| MRT_{abs} (h) | 12.6 | ± 2.1 |
| MRT (h) | 0.53 | ± 0.04 |
| CL_{tot}/f (L/h) | 1.2 | ± 0.3 |
| Vd_{ss}/f (L) | 14.7 | ± 5.1 |
| Vd_{area}/f (L) | 17.7 | ± 5.6 |

(2) 単回経口投与

男性 (ボランティア、2 名) にチモールを単回経口投与 (0.6 g/人) し、投与後 24 時間までの尿中の代謝物が検査された。ヒトでは、チモールはグルクロン酸抱合体、硫

酸抱合体及びチモヒドロキノン硫酸抱合体に代謝される可能性がある。チモヒドロキノン硫酸抱合体は他の 2 つの化合物に比べ微量しか生成されないと考えられる。本試験では定量的な検証はされなかった。また極微量のチモールが尿に排出された。(参照 2、4、8)

(3) 代謝試験 (ラット、ウサギ及びヒト)

① 代謝試験 (ラット)

ラット (系統不明、匹数不明) にチモールを単回経口投与 (400 mg/kg 体重) し、代謝及び排泄が検討された。グルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体は、 β グルクロニダーゼ及びスルファターゼによって加水分解後に尿が解析された。尿からは主にチモールが検出されるとともに、投与量の約 15% に当たる水酸化体 2 種が検出された。(参照 2、4)

② 代謝試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雄、体重 250~350 g) にプロピレングリコール溶液に溶解したチモール (純度 >99%) を強制経口投与 (1 mmol/kg 体重 (約 150 mg/kg 体重)) 後、24 時間ごとに尿を採取し、 β グルクロニダーゼ及びスルファターゼによって加水分解後、GC/MS により 72 時間後までの尿中のチモール及びチモール代謝物が測定された。チモールの代謝経路を図 1 に示す。

投与後 24 時間で、チモールのほとんどが尿から排泄された。尿中には主にチモールとして排出されることが示された。投与後 24 時間までの尿から検出されたのは、検出量の多い順に、チモール、T3、T4 及び T5 であった。投与後 24~48 時間までの尿からは、チモール及びチモール代謝物が検出されたが、それ以降は検出されなかった。なお、糞からは検出されなかった。(参照 2、4、9)

③ 代謝試験 (ウサギ)

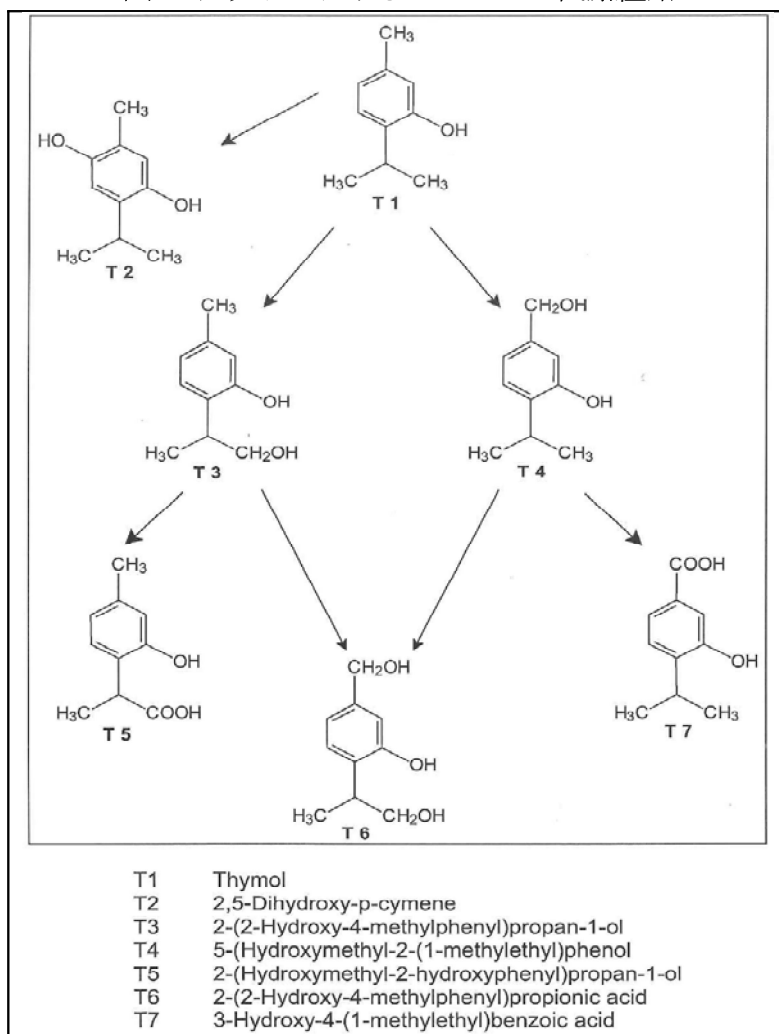
ウサギ (体重 2.76~2.90 kg、3 匹/群) にチモールを経口投与 (0.5 g/匹) し、24 時間ごとに尿を採取し、尿中代謝物を薄層クロマトグラフィー (TLC) 及び GC/MS で測定及び同定が行われた (表 2)。

尿中のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体量は、投与後 24 時間で増加した。グルクロン酸抱合体は、硫酸抱合体に比べて多く、ウサギの主要なチモール代謝物であることが確認された。(参照 2、8)

表 2 ウサギにおけるチモール経口投与後の尿中のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体量 (n=3) (mg)

| | 投与後時間 (平均値 \pm 標準偏差) | | | | |
|-----------|------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | 投与前 | 投与前 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 |
| グルクロン酸抱合体 | 41.6 \pm 15.4 | 55.2 \pm 11.2 | 183.6 \pm 2.0 | 71.4 \pm 19.5 | 43.2 \pm 15.2 |
| 硫酸抱合体 | 8.0 | 20.0 \pm 7.7 | 65.1 \pm 18.0 | 22.8 \pm 12.0 | 10.7 \pm 5.9 |

図1 ラットにおけるチモールの代謝経路



※ 硫酸抱合とグルクロン酸抱合は考慮しない

(参照 2、4)

④ 代謝試験 (ウサギ)

ウサギ (体重 2.76~2.90 kg、3 匹/群) にチモールを経口投与 (0.5 g/匹) し、24 時間ごとに尿を採取し、尿中代謝物を TLC 及び GC/MS で測定及び同定された (表 3)。

尿中のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体量は、投与後 24 時間で増加した。グルクロン酸抱合体は、硫酸抱合体に比べて多く、ウサギの主要なチモール代謝物であることが確認された。(参照 2、8)

表 3 ウサギにおけるチモール経口投与後の尿中のグルクロン酸抱合体及び硫酸抱合体量 (n=3) (mg)

| | 投与後時間 (平均値±標準偏差) | | | | |
|-----------|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 投与前 | 投与前 | 24 時間 | 48 時間 | 72 時間 |
| グルクロン酸抱合体 | 41.6±15.4 | 55.2±11.2 | 183.6±2.0 | 71.4±19.5 | 43.2±15.2 |
| 硫酸抱合体 | 8.0 | 20.0±7.7 | 65.1±18.0 | 22.8±12.0 | 10.7±5.9 |

⑤ 代謝試験（ヒト）

チモールを NADPH 存在下でヒト肝臓由来ミクロソームとインキュベーションし、高速液体クロマトグラフィー紫外吸光光度検出器 (HPLC/UV) で分析したところ、新たな代謝物 (a new metabolite) が検出された。チモールの代謝には CYP1A2 及び CYP2A6 が関与しており、後者が主な代謝酵素と考えられた。(参照 2、8)

⑥ 代謝試験（ヒト）

チモールを NADPH 存在下でヒト肝臓由来ミクロソームとインキュベーションし、高速液体クロマトグラフィー紫外吸光光度検出器 (HPLC/UV) で分析したところ、新しい代謝物 (a new metabolite) が検出された。チモールの代謝には、CYP1A2 及び CYP2A6 が関与しており、特に後者が主な代謝酵素と考えられた。(参照 2、10)

⑦ 代謝試験（ヒト）

ミコフェノール酸を用いて、ヒトの肝臓由来ミクロソーム、腎臓由来ミクロソーム及び腸管由来ミクロソームのグルクロン酸抱合体生成能が検討された。腎臓由来ミクロソームの生成能が最も高かったことから、腎臓がグルクロン酸抱合体の生成の主体と考えられた。(参照 2、11)

(4) 排泄試験（イヌ及びヒト）

① 排泄試験（イヌ）

イヌ（犬種不明、1 又は 4 匹/群）にチモールを経口投与（0.6～1.8 g/匹）し、尿中のチモールが測定された。尿からは、投与量の 31～43%のチモールが検出された。(参照 2、4)

イヌ（犬種及び性別不明、雄、4 匹）にチモールを経口投与（1 g/匹）し、糞及び尿が調べられた。尿からは、48 時間までに投与量の約 35%が排泄され、投与後 12 時間までにそのうちの 90%が排泄された。糞からは検出されなかった。

イヌ（雄、3 匹）にチモール（3 g/匹）を経口投与し、排泄量が調べられた。尿からは、48 時間までに 608～754 mg（約 20～25%）が検出され、投与後 24 時間までにそのうちの 95%が検出された。糞からは検出されなかった。(参照 2、4)

② 排泄試験（ヒト）

ヒト（2 名）にチモールを経口投与（1 g/人）して尿を調べたところ、投与量の 34%がチモールとして検出された。(参照 2、4)

2. 残留試験等

(1) 残留試験

① 残留試験（蜜蜂）

蜜蜂（セイヨウミツバチ、8,000 匹/群、6 群）に、チモール製剤（チモールとして 15 g/シート）を蒸散・接触投与（1 巣箱当たり 1 シート/4 週間×2 回）する残留試験が実施された。そのうちの 1 群は対照群とした。はちみつ（5 g 以上）及び虫体（20 g 以上）を、投与開始前、投与開始 4 週間後、投与終了日（投与開始 8 週間後）並びに投与終了 1、2 及び 4 週間後に採取し、抽出後に GC/MS によりチモール濃度が測定された（表 4、5）。

はちみつ中からは、投与期間中に 0.07～1.3 µg/g のチモールが確認された。試験期間中の最大残留量は投与開始 4 週間後の 1.3 µg/g であった。（参照 2）

表 4 蜜蜂にチモール製剤を 8 週間蒸散・接触投与後のはちみつ中濃度（µg/g）

| 群 | 群番号 | 投与開始 | | 投与終了 | | | |
|-----|-----|------|-------|------------------|----------|----------|----------|
| | | 開始前 | 4 週間後 | 終了日 | 終了 1 週間後 | 終了 2 週間後 | 終了 4 週間後 |
| 対照群 | | <LOQ | — | <LOQ | — | — | <LOQ |
| 投与群 | 1 | <LOQ | 0.17 | 0.19 | 0.19 | 0.48 | 0.06 |
| | 2 | <LOQ | 1.3 | x | 0.90 | 0.60 | 0.02 |
| | 3 | <LOQ | 0.19 | 1.1 ^a | x | 0.06 | 0.17 |
| | 4 | <LOQ | 0.15 | 0.21 | 0.05 | 0.04 | <LOQ |
| | 5 | <LOQ | 0.08 | 0.07 | 0.01 | 0.04 | <LOQ |

<LOQ：定量限界（0.01 µg/g）未満

—：試料未採取

x：採取試料量不足及び採取不可のため定量不可

a：採取試料量 2.5 g

表 5 蜜蜂にチモール製剤を 8 週間蒸散・接触投与後の虫体中濃度（µg/g）

| 群 | 群番号 | 投与開始 | | 投与終了 | | | |
|-----|-----|------|-------|------|----------|----------|----------|
| | | 開始前 | 4 週間後 | 終了日 | 終了 1 週間後 | 終了 2 週間後 | 終了 4 週間後 |
| 対照群 | | <LOQ | — | <LOQ | — | — | <LOQ |
| 投与群 | 1 | <LOQ | 57 | 34 | 15 | 9.6 | 4.7 |
| | 2 | <LOQ | 84 | 57 | 49 | 3.1 | 6.5 |
| | 3 | <LOQ | 120 | 79 | 6.2 | 2.6 | 1.0 |
| | 4 | <LOQ | 56 | 39 | 4.8 | 2.2 | 0.49 |
| | 5 | 0.72 | 70 | 87 | 3.8 | 17 | 1.1 |

<LOQ:定量限界（0.25 µg/g）未満

—：試料未採取

② 残留試験（蜜蜂）

蜜蜂（セイヨウミツバチ、7,000～8,000 匹/群、6 群）にチモール製剤（チモールとして 15 g/シート）を蒸散・接触投与（1 巣箱当たり 1 シート/4 週間×2 回）する残留

試験が実施された。そのうちの 1 群は対照群とした。はちみつ (5 g 以上) 及び虫体 (20 g 以上) を、投与開始前、投与開始 4 週間後、投与終了日 (投与開始 8 週間後) 並びに投与終了 1、2 及び 4 週間後に採取し、GC/MS によりチモール濃度が測定された (表 6、7)。

はちみつ中からは、投与期間中に 0.36~3.2 µg/g のチモールが確認され、投与終了 4 週間後には 0.01~0.04 µg/g に低下した。試験期間中の最大残留量は投与終了日の 3.2 µg/g であった。(参照 2)

表 6 蜜蜂にチモール製剤を 8 週間蒸散・接触投与後のはちみつ中濃度 (µg/g)

| 群 | 群番号 | 投与開始 | | 投与終了 | | | |
|-----|-----|------|-------------------------|-------------------------|------------|------------|------------|
| | | 開始前 | 4 週間後 | 終了日 | 終了 1 週後 | 終了 2 週後 | 終了 4 週後 |
| 対照群 | | <LOQ | — | <LOQ | — | — | <LOQ |
| 投与群 | 1 | <LOQ | 1.3 | 1.3 | 0.51 | 0.11 | 0.03 |
| | 2 | <LOQ | 0.36 | 0.44 | 0.11 | 0.11 | 0.01 |
| | 3 | <LOQ | x | 3.2 | 1.9 | 0.12 | 0.04 |
| | 4 | <LOQ | 0.49 (2.0) ^a | 0.52 | 0.26 | 0.06 | 0.01 |
| | 5 | <LOQ | 0.53 | 0.63 (4.0) ^a | 0.26 | 0.08 | 0.04 |

<LOQ : 定量限界 (0.01 µg/g) 未満

— : 試料未採取

x : 採取試料量不足及び採取不可のため定量不可

a : 採取試料実量 (g)

表 7 蜜蜂にチモール製剤を 8 週間蒸散・接触投与後の虫体中濃度 (µg/g)

| 群 | 群番号 | 投与開始 | | 投与終了 | | | |
|-----|-----|------|-------|------|------------|------------|------------|
| | | 開始前 | 4 週間後 | 終了日 | 終了 1 週後 | 終了 2 週後 | 終了 4 週後 |
| 対照群 | | | — | <LOQ | — | — | <LOQ |
| 投与群 | 1 | <LOQ | 280 | 56 | 13 | 0.48 | <LOQ |
| | 2 | <LOQ | 120 | 140 | 15 | 0.37 | <LOQ |
| | 3 | <LOQ | 260 | 170 | 54 | 2.8 | 0.49 |
| | 4 | <LOQ | 130 | 120 | 19 | 1.2 | 0.26 |
| | 5 | <LOQ | 110 | 67 | 6.1 | 0.35 | <LOQ |

<LOQ : 定量限界 (0.25 µg/g) 未満

— : 試料未採取

③ 残留試験 (蜜蜂) <参考資料>

欧州で、各種用量のチモール混合物を使用した時のはちみつへの残留性が調べられた (表 8)。(参照 2、12)

表 8 蜜蜂におけるチモール投与後のはちみつ中濃度 (mg/kg)

| 投与 | 平均残留量 | 最少値～最大値 |
|--------------------------------------|---------|-------------|
| チモール板 (スイス、通年、1997、n=22) | 0.33 | ≤0.002～0.83 |
| チモール板 (スイス、通年、1998、n=34) | 0.40 | 0.11～1.06 |
| チモール板 (スイス、集密期外、1998、n=10) | 0.17 | ≤0.02～0.32 |
| チモール板 (ドイツ、通年、1997、n=19) | 0.63 | 0.07～2.0 |
| 市販製品 Api Life VAR (秋季、8週間、1～5枚、n=28) | 0.16 | ≤0.02～0.48 |
| ライムはちみつ (Guyot et al, 1998) | 0.08 | 0.02～0.16 |
| はちみつの風味に影響する濃度 | 1.1～1.3 | |
| スイスでの残留最大値 | 0.8 | |

(2) 分布試験

① 分布試験 (蜜蜂)

蜜蜂 (セイヨウミツバチ、6群、約 8,000 匹/群) にチモール製剤 (チモールとして 15 g/シート) を蒸散・接触投与 (1 巣箱当たり 1 シート/4 週間×2 回) する分布試験が実施された。はちみつ、虫体、蜜蝋、蜂児及びローヤルゼリーを、投与開始前から投与終了後 4 週間まで随時採取し、抽出後に GC/MS によりチモール濃度を計測した (表 9)。

分布濃度の最大値は、濃度が高い順に、蜜蝋 1,100 µg/g (投与終了日)、虫体 120 µg/g (投与 4 週間後)、ローヤルゼリー 40 µg/g (投与終了 2 日後)、はちみつ 1.3 µg/g (投与 4 週間後) 及び蜂児 0.56 µg/g (投与 4 週間後) であり、はちみつ及び蜂児のチモール濃度が低かった。(参照 2)

表 9 蜜蜂におけるチモール蒸散・接触投与後の分布濃度 (µg/g)

| 群 | 群番号 | 試料 | 投与開始 | | 投与終了 | | | |
|-----|-----|---------|-------------------------|-------|------|--------------------------|------------------------|------------------------------------|
| | | | 開始前 | 4 週間後 | 終了日 | 終了 1 週間後 | 終了 2 週間後 | 終了 4 週間後 |
| 対照群 | | はちみつ | <LOD | — | <LOD | — | — | <LOD |
| | | 虫体 | <LOD | — | <LOD | — | — | <LOD |
| | | 蜜蝋 | <LOD | — | <LOD | — | — | <LOD |
| | | 蜂児 | <LOD | — | <LOD | — | — | <LOD |
| | | ローヤルゼリー | <LOD (0.3) ^a | — | — | 1.2 (0.7) ^{a,b} | — | <LOD |
| 投与群 | 1 | はちみつ | <LOD | 0.17 | 0.19 | 0.19 | 0.48 | 0.06 |
| | | 虫体 | <LOD | 57 | 34 | 15 | 9.6 | 4.7 |
| | | 蜜蝋 | — | 120 | 260 | 31 | 2.2 | 2.4 ^c 25 ^d |
| | | 蜂児 | — | 0.33 | 0.25 | 0.19 | 0.18 | <LOD |
| | | ローヤルゼリー | — | — | — | 40 (0.1) ^{a,b} | 3.3 (0.6) ^a | 1.1 (0.3) ^a |

| 群 | 群番号 | 試料 | 投与開始 | | 投与終了 | | | | |
|-----|-----|-------|------|-------|---------------------------|-----------------|---------------------------|---------------------------|------------------|
| | | | 開始前 | 4週間後 | 終了日 | 終了1週間後 | 終了2週間後 | 終了4週間後 | |
| 投与群 | 2 | はちみつ | <LOD | 1.3 | x | 0.90 | 0.60 | 0.02 | |
| | | 虫体 | <LOD | 84 | 57 | 49 | 3.1 | 6.5 | |
| | | 蜜蝋 | — | 110 | 1,100 | x | x | <LOD ^c | 15 ^d |
| | | 蜂児 | — | 0.56 | x | 0.43 | 0.05 | <LOD | |
| | | ローゼリー | — | — | — | x ^b | 6.0 | 2.1 (0.6) ^a | |
| | 3 | はちみつ | <LOD | 0.19 | 1.1 (2.5) ^a | x | 0.06 | 0.17 | |
| | | 虫体 | <LOD | 120 | 79 | 6.2 | 2.6 | 1.0 | |
| | | 蜜蝋 | — | 8.3 | 23 | 350 | <LOD | 0.40 ^c | 2.5 ^d |
| | | 蜂児 | — | 0.23 | 0.37 | 0.030 | <LOD | <LOD | |
| | | ローゼリー | — | — | — | 17 ^b | 1.5 | 0.35 | |
| | 4 | はちみつ | <LOD | 0.15 | 0.21 | 0.05 | 0.04 | <LOD | |
| | | 虫体 | <LOD | 56 | 39 | 4.8 | 2.2 | 0.49 | |
| | | 蜜蝋 | — | 3.3 | 6.3 | 3.1 | <LOD | <LOD ^c | 0.7 ^d |
| | | 蜂児 | — | 0.090 | 0.070 | <LOD | <LOD | <LOD | |
| | | ローゼリー | — | — | — | 38 ^b | 2.9 | 0.51 | |
| | 5 | はちみつ | <LOD | 0.08 | 0.07 | 0.01 | 0.04 | <LOD | |
| | | 虫体 | 0.72 | 70 | 87 | 3.8 | 17 | 1.1 | |
| | | 蜜蝋 | — | 5.3 | 4.1 | 2.1 | <LOD | <LOD ^c | 3.5 ^d |
| | | 蜂児 | — | 0.22 | 0.14 | 0.16 | <LOD | 0.040 | |
| | | ローゼリー | — | — | — | 30 ^b | 4.1 (0.4) ^a | 2.3 | |

<LOD：検出限界（はちみつ 0.01 µg/g、虫体 0.25 µg/g、蜜蝋 0.4 µg/g、蜂児及びローゼリー 0.025 µg/g）未満
 —：試料採取計画なし
 x：試料採取できず

a：カッコ内採取量
 b：投与終了後2日
 c：無駄巣
 d：巣脾

② 分布試験（蜜蜂）

蜜蜂（セイヨウミツバチ、約 10,000～13,000 匹/群、4 群）に、チモールを含有したセルローススポンジ（チモールとして 15 g/シート）×2 回を、8 週間（4 週間の間隔で 2 回）蒸散・接触投与（1、2 及び 3 倍量）し、巣箱内の気相濃度を調べた。試料として、初回投与 1、2、7、8、14 及び 27 日後並びに第 2 回投与 1 日後に巣箱内の空気（30 L）をミニポンプで吸引捕集し、抽出後に GC/MS により測定した（表 10）。

いずれの用量群も、投与 1 日後の気相濃度が最も高く、日数の経過とともに濃度が低くなった。第 2 回投与 1 日後の濃度は第 1 回目の投与 1 日後の濃度に比べて低かった。いずれの用量群も、女王蜂の産卵及び蜂群に対して投与による影響はみられなかった。（参照 2）

表 10 チモール蒸散・接触投与後の巣箱内の気相濃度 (µg/L)

| 用量群 | 群番号 | 第 1 回 | | | | | | 第 2 回 |
|------|-----|-------|------|------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 日後 | 2 日後 | 7 日後 | 8 日後 | 21 日後 | 27 日後 | 1 日後 |
| 1 倍量 | 1 | 2.5 | 0.83 | 0.36 | 0.12 | 0.072 | 0.057 | 0.035 |
| | 2 | 3.0 | 0.93 | 0.43 | 0.062 | <LOD | 0.075 | 0.13 |
| 2 倍量 | 3 | 1.9 | 0.91 | 0.38 | <LOD | 0.051 | 0.13 | 0.13 |
| 3 倍量 | 4 | 7.3 | 2.3 | 0.96 | 0.13 | <LOD | <LOD | 0.027 |

<LOD : 検出限界 (0.017 µg/L) 未満

3. 遺伝毒性試験

チモールの遺伝毒性試験の結果を表 11 に示す。(参照 2、4、13~20)

表 11 チモールの遺伝毒性試験結果一覧

| | 検査項目 | 試験対象 | 用量等 | 結果 |
|-----------------|----------|---|--|----------------|
| <i>in vitro</i> | 復帰突然変異試験 | <i>Salmonella typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537)、 <i>Escherichia coli</i> (WP2 <i>uvrA</i>) | 15.6、31.3、62.5、125、250、500 µg/plate(-S9) 62.5、125、250、500、1,000、2,000 µg/plate(+S9、TA98、TA100、WP2 <i>uvrA</i>) 31.3、62.5、125、250、500、1,000 µg/plate(+S9、TA1535、TA1537) 純度 >98.0% | 陰性 |
| | | <i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537) | 6~5,000 µg/plate (±S9) <参考資料 ³ > | 陰性 |
| | | <i>S. typhimurium</i> (TA98、TA100、TA1535、TA1537) | 3 µmol (約 450 µg) /plate (±S9) <参考資料 ⁴ > | 陰性 |
| | | <i>S. typhimurium</i> (TA97、TA98、TA100) | 用量不明 (±S9) <参考資料 ⁵ > | 陰性 |
| | | <i>S. typhimurium</i> (TA97a、TA98、TA100、TA102、TA104) | 15.6、31.3、62.5、125、250 µM (±S9) | 陰性 |
| | 染色体異常試験 | チャイニーズハムスター肺由来細胞 (CHL/IU) | 0.020、0.040、0.080 mg/mL (-S9) 純度 >98.0% 24 時間処理、48 時間処理、 0.080 mg/mL : 細胞毒性 0.020、0.040、0.080 mg/mL (+S9) 純度 >98.0% 6 時間処理、16 時間回復期間 ~15 mg/mL(+S9) <参考資料 ⁶ > | 陰性 陽性 陽性 |

³ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

⁴ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

⁵ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

⁶ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

| | 検査項目 | 試験対象 | 用量等 | 結果 |
|-----------------|---------------------|--------------------------|--|-----------------|
| <i>in vitro</i> | 染色体異常試験 | シリアンハムスター胚細胞 (SHE) | 130、260、390 µmol/L 純度 >98.0% | 陰性 |
| | | ヒト末梢血リンパ球 | 25、50、75、100 µg/mL 純度 >99.6% | 陽性 ^a |
| | 小核試験 | ヒト末梢血リンパ球 | 25、50、75、100 µg/mL 純度 >99.6% | 陽性 ^a |
| | | マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y/Tk±) | 15.62、31.25、62.5、125、250 µmol/L (±S9) | 陰性 |
| | 遺伝子突然変異試験 | マウスリンフォーマ細胞 (L5178Y/Tk±) | 62.5、125、250、500、1,000、1,500 µmol/L (-S9) | 陰性 |
| | DNA 損傷試験 (コメットアッセイ) | チャイニーズハムスター肺線維芽細胞 (V79) | 1、5、25 µmol/L、(-S9) +FPG、 純度 99.5 % (ただし、-FPG では 25 µmol/L で陽性) | 陰性 |
| | | ヒト大腸がん細胞 Caco-2 | 62.5、125、250 µM (-S9) ±FPG、±Endo III | 陰性 |
| | 不定期 DNA 合成(UDS)試験 | シリアンハムスター胚細胞 (SHE) | 0.3、1、3、10 µg/mL (+S9) <参考資料 7> | 陽性 ^a |
| | 姉妹染色分体交換(SCE)試験 | シリアンハムスター胚細胞 (SHE) | 0.3、1、3、10、30 µg/mL (+S9) <参考資料 8> | 陽性 ^a |
| | | ヒト末梢血リンパ球 | 25、50、75、100 µg/mL 純度 >99.6% (-S9) | 陽性 ^a |
| <i>in vivo</i> | 小核試験 | マウス骨髄細胞 (BDF1、雌雄) | 156.3、312.5、625、1,250 mg/kg 体重 単回強制経口投与 純度 >98.0% | 陰性 |
| | | マウス骨髄細胞 (ICR、雌雄) | 275、550、1,100 mg/kg 体重 経口投与 <参考資料 9> | 陰性 |
| | 染色体異常試験 | ラット骨髄細胞 (SD、雄) | 40、60、80、100 mg/kg 体重 純度 99.6% 6、12、24 時間 腹腔内投与 <参考資料 10> | 陽性 |
| | 伴性劣性致死試験 | キイロショウジョウバエ | 3 mmol/L (約 450 µg/mL) 経口投与 変異 2/742 (約 0.27%) | 評価せず |

a : 用量相関なし

in vitro の染色体異常試験、小核試験及び姉妹染色分体交換 (SCE) 試験では陽性の結果が得られているが、*in vitro* の復帰突然変異試験及び *in vivo* の小核試験では陰性であることから、食品安全委員会は、チモールには生体にとって特段問題となる遺伝毒性はな

7 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

8 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

9 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

10 腹腔内投与で実施されていることから参考資料とした。なお、本試験で用いられている SD 系ラット (雌雄) は、一般に用いられているものと比較してかなり小型であった。

いと考えた。

4. 単回投与毒性試験

(1) 急性毒性試験

急性毒性試験の結果を表 12 に示す。(参照 2、4、21)

表 12 チモールの急性毒性試験結果一覧

| 動物種 | 性別 | 投与経路 | LD ₅₀ (mg/kg 体重) |
|-------|----|--------------------------|-----------------------------|
| マウス | 不明 | 経口 (10%ピーナッツオイル) | 1,300 |
| | 不明 | 経口 (10%水性乳剤) | 650 |
| | 雄 | 経口 | 1,800±224 |
| | 雄 | 経口 | 640 |
| | 不明 | 経口 | 1,210 |
| | 雄 | 経口 | 1,200 |
| | 雌 | 経口 | 1,050 |
| | 雄 | 皮下<参考資料 ¹¹ > | 243 |
| | 雌雄 | 腹腔内<参考資料 ¹² > | 110 |
| | 雄 | 静脈内<参考資料 ¹³ > | 100 |
| | 雄 | 静脈内<参考資料 ¹⁴ > | 100 |
| ラット | 雌雄 | 経口 | 980 (817~1,180) |
| | 雄 | 経口 | 2,462.23 |
| モルモット | 雌雄 | 経口 | 880(740~1,050) |
| ラット | 雌雄 | 経皮<参考資料 ¹⁵ > | >2,000 |
| ウサギ | 不明 | 経皮<参考資料 ¹⁶ > | >420 |

5. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (Wistar 系、雄、12 匹/群) にチモール (純度不明) を 28 日間強制経口投与 (15.39、30.78 又は 61.55 mg/kg 体重、対照群には 0.9%生理食塩水 1.00 mL/kg 体重投与) する亜急性毒性試験が実施された。

一般状態、血液学検査、血液生化学的検査及び病理組織学的検査では、投与による影響はみられなかった。(参照 21)

全投与群で投与による影響がみられなかったことから、食品安全委員会は、本試験の NOAEL を最高用量である 61.55 mg/kg 体重/日と設定した。

¹¹ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹² 腹腔内投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹³ 静脈内投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁴ 静脈内投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁵ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁶ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

(2) 43 日間亜急性毒性試験 (ラット)¹⁷

予備試験として、ラット (SD 系、雌雄、8 週齢、雄 10 匹/群、雌 9 匹/群) にチモール (純度 99.6%) を 17 日間強制経口投与 (30、100 又は 300 mg/kg 体重/日) したところ、300 mg/kg 体重/日投与群で、自発運動量の減少、歩行失調、腹這い、呼吸緩徐、眼瞼下垂及び体重減少がみられた。

本試験として、ラット (SD 系、雌雄、8 週齢、雄 10 匹/群、雌 9 匹/群) に 43 日間チモールを強制経口投与 (8、40 又は 200 mg/kg 体重/日) する亜急性毒性試験が実施された。

200 mg/kg 体重/日投与群の雄で、投与 43 日後に死亡例が 1 例みられた。死亡例の一般状態に影響はみられなかったが、剖検では、心房の拡張、肝臓及び肺のうっ血並びに強制経口投与の影響と考えられる前胃壁の肥厚がみられ、組織学的検査では、前胃粘膜上皮の軽度の増生、肝臓の軽度のうっ血、肺で中程度のうっ血性水腫及び軽度の炎症性細胞の浸潤がみられた。

200 mg/kg 体重/日投与群では、雄に一過性の流涎及び体重増加抑制傾向がみられ、雌に一過性の自発運動量の減少、歩行失調及び流涎がみられた。

血液学検査及び血液生化学検査では、全投与群の雄で対照群と比較してリンパ球が有意な高値、40 mg/kg 体重/日以上投与群で単球が有意な低値、8 mg/kg 体重/日投与群でトリグリセリド (TG) が有意な低値を示したが、いずれも用量相関性はみられなかった。著者らは、背景データ、投与量との相関性等から偶発的な変化及び生理的変動範囲と判断している。

剖検により、雌では、200 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に前胃壁の肥厚並びに肥厚した前胃粘膜の白色化及び粗造が、1 例に胸腺の小型化及び 2 例に副腎の白色化がみられ、40 mg/kg 体重/日投与群の 1 例に胸腺の小型化がみられた。

組織学的検査では、200 mg/kg 体重/日投与群の雌の 1 例に副腎皮質束状帯に脂肪滴の増加が、雄の 9 例に前胃壁の肥厚、前胃粘膜表面の白色化及び粗造がみられた。40 mg/kg 体重/日以上投与群では、雌雄に前胃の重層扁平上皮の増生及び角化亢進、粘膜下織に炎症性細胞の浸潤及び水腫を伴う例が多数みられた。また、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌 1 例に胸腺の退縮がみられた。(参照 2、22)

200 mg/kg 体重/日以上投与群でみられた一過性の流涎及び 40 mg/kg 体重/日以上投与群の前胃にみられた肉眼的・組織学的変化は、強制経口投与の刺激により惹起されたものと判断し、毒性指標とはしなかった。また、40 mg/kg 体重/日以上投与群の雌でみられた胸腺の退縮は偶発所見と考えた。200 mg/kg 体重/日以上投与群で雄に一過性の体重増加抑制傾向並びに雌に一過性の自発運動量の減少及び歩行失調がみられたことから、食品安全委員会は、本試験の NOAEL を 40 mg/kg 体重/日と設定した。

(3) 19 週間亜急性毒性試験 (ラット)

ラット (オズボーン・メンデル系、離乳直後、雌雄各 5 匹) にチモール (純度不明)

¹⁷ 7. (1) の 1 世代生殖発生毒性試験と併用

を19週間混餌投与（0、1,000又は10,000 ppm（それぞれ約0、75又は750 mg/kg 体重/日に相当）する亜急性毒性試験が実施された。一般状態、血液学検査及び組織学的検査では、投与による影響はみられなかった。（参照 2、4）

JECFAは、投与による影響がみられなかったことから、本試験の無作用量(NOEL)を1,000 mg/kg 体重/日と設定した。（参照 13）

最高用量でも投与による影響がみられなかったことから、食品安全委員会は、本試験のNOAELを10,000 ppm（750 mg/kg 体重/日）と設定した。

（4）8又は9日間亜急性毒性試験（モルモット）＜参考資料¹⁸＞

モルモット（系統不明、雄）にチモールを8又は9日間皮下投与（20～100 mg/匹）したところ、酸素消費量の増加を伴わない甲状腺の活性化（“activation” of the thyroid gland）がみられた。（参照 2、4）

（5）12日間亜急性毒性試験（ウサギ）＜参考資料¹⁹＞

ウサギ（系統及び性別不明）にチモールを12日間混餌投与（50 mg/kg 体重/日）したところ、タンパク尿がみられた。（参照 2、4）

6. 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていない。

7. 生殖発生毒性試験

（1）1世代生殖発生毒性試験（ラット）²⁰

ラット（SD系、雌、8週齢、9匹/群）に、チモール（純度99.6%）を交配前13日から分娩後3日まで強制経口投与（8、40又は200 mg/kg 体重/日）する1世代生殖発生毒性試験が実施された。

200 mg/kg 体重/日投与群で、分娩した母動物8例の妊娠期間の黄体数、着床数、着床率、出産率及び分娩率に投与の影響はみられなかった。200 mg/kg 体重/日投与群で、投与後一過性の自発運動減少及び歩行失調並びに哺育1～2日に削瘦がみられた母動物の児の胃内乳汁量が少なく、哺育期間中に同腹児17例中5例が死亡した。性周期、交尾率、交尾所要日数及び受胎率に投与による影響はみられなかった。

児動物では、200 mg/kg 体重/日投与群で統計学的有意差はないものの、体重及び体重増加量がやや低値を示した。一般状態、外表検査及び剖検では、40 mg/kg 体重/日投与群で膺ヘルニアが1例、8 mg/kg 体重/日投与群で胸腺の頸部残留が2例みられたことを除き、児動物では異常はみられなかった。（参照 2、22）

40 mg/kg 体重/日投与群の児動物にみられた膺ヘルニア及び胸腺の頸部残留は偶発所見と考えた。食品安全委員会は、母動物の生殖能に対するNOAELは最高用量であ

¹⁸ 皮下投与で実施されていることから、参考資料とした。

¹⁹ 試験の詳細が不明であることから、参考資料とした。

²⁰ II. 5. (2) の43日間亜急性毒性試験（p.21～22）と併用

る 200 mg/kg 体重/日と設定するとともに、児動物では 200 mg/kg 体重/日投与群で体重及び体重増加量が低値を示したことから、児動物に対する NOAEL を 40 mg/kg 体重/日と設定した。

(2) 生殖発生毒性試験 (ウサギ) <参考資料²¹>

妊娠ウサギ (系統不明、3 匹) にチモールを 7 回 (1 g/匹) 投与する生殖毒性試験が実施された。母動物並びに胎児及び児動物に投与による影響はみられなかった。(参照 2、4)

8. その他の毒性試験 <参考資料>

(1) 鶏卵に対する投与試験

孵卵前又は孵卵後 (96 時間後) の鶏卵 (白色レグホン種) の気室又は卵黄嚢に、チモールを投与 (~25 mg/卵) する試験が実施された。孵卵前投与の半数致死量 (LD₅₀) は、気室内投与で 1.16 mg/卵、卵黄嚢内投与で 4.66 mg/卵、孵卵後投与の LD₅₀ は、気室内投与で 0.06 mg/卵、卵黄嚢投与で 1.02 mg/卵であった。LD₅₀ 近似用量では催奇形性がみられた。気室内投与では、孵卵前投与した胚の 36.13%、孵卵後投与した胚の 13.57% に影響がみられ、卵黄嚢内投与では、孵卵前投与した胚の 15.65% に、孵卵後投与した胚の 6.36% に奇形がみられた。孵卵後卵黄嚢内投与群を除き、奇形の発生率が上昇した。(参照 2、4)

(2) 8 週間腹腔内投与試験 (マウス)

マウス (A/He、雌雄各 15 匹/群、体重 18~20 g) にチモールを 8 週間腹腔内投与 (1.2 又は 6.0 mg/kg 体重、3 回/週) する試験が実施された。投与終了後 16 週間で、肺がん発生率は投与により増加しなかった。(参照 2、4、23)

(3) 細胞毒性試験

HeLa 細胞にチモールを添加 (1、10 又は 100 µg/mL) する細胞毒性試験が実施された。細胞毒性はみられなかった。(参照 2、4)

(4) 感作試験及び刺激性試験 (モルモット、ウサギ)

① 感作試験等 (モルモット)

モルモット (Himalayan white-spotted 系、雌雄、体重 400~500 g) を用いて、チモールの各種刺激試験及び感受性試験 (開放粘膜刺激試験 (OET)、ドレイズ試験、皮膚感作試験 (Maximization Test, MT) 及び完全フロインドアジュバント試験) が実施された。OET 試験では、チモール 3% 溶液で刺激性がみられた。OET 試験以外の試験では、刺激性はみられなかった。(参照 2、4)

② 感作試験 (モルモット)

²¹ 投与経路が不明であることから、参考資料とした。

モルモットを用いたチモールの感作試験（MT 試験）では皮膚の感作作用はみられなかった。（参照 2、4）

③ 皮膚刺激試験（ウサギ）

ウサギ（系統不明、雌雄各 6 匹、体重 3.0～3.4 kg）の除毛した側腹部の皮膚に水性のり状のチモール（500 mg）を 4 時間塗布し、投与 1、24、48 及び 72 時間後並びに 7 及び 14 日後に観察した。投与した全てのウサギで観察期間を通して不可逆的な壊死がみられ、チモールは皮膚に対して腐食性を示すことが確認された。（参照 2、4）

④ 皮膚刺激試験（ウサギ）

ウサギ（匹数及び性別不明）の除毛した背部に、チモール（420 mg/kg 体重）を塗布する皮膚刺激試験が実施された。投与後 24 時間まで観察したところ、投与部位が羊皮様を呈し、10 日後には表在層の壊死がみられた。その他の全身性の影響はみられなかった。（参照 2、4）

⑤ 眼刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（アルビノ、雌 3 匹、体重 3.1～3.7 kg）の片方の結膜嚢にチモール（約 60 mg/100 μ L）を投与し、24 時間後に生理食塩水で洗浄した。洗浄 1、24、48 及び 72 時間後並びに 7、14 及び 21 日後に、ドレイズ法により病態をスコア化した。スコアは、結膜で 2～2.3、虹彩で 1.0 及び角膜で 1.3～2.7 であった。また、投与後 21 日まで全ての動物のフルオレセイン試験陽性、投与 14 日後に 2 匹に角膜パンヌス及び別の 1 匹に眼球下部の腫大がみられた。（参照 2、4）

⑥ 眼刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（系統及び性別不明）の眼にチモール（40%エチレングリコール液 0.03 mL）を投与し、ドレイズ法によりスコア化した。24 及び 48 時間後のスコアは、それぞれ 32 及び 80 であった。24 時間後のフルオレセイン試験では 100%の角膜損傷がみられ、チモールは眼刺激性を持つことが明らかとなった。（参照 2、4）

9. ヒトにおける知見

チモールが含まれる薬剤等による中毒等の事例がいくつか報告されている。各事例について詳細な情報が得られなかったため、これらの事例がチモールによるものか、その他の成分によるものかを判断することはできなかった。

（1）中毒事例

6 か月間～3 年間、チモールを含む口腔洗浄剤を使用した 3 名の男性は甲状腺中毒症を示した。2 名の体重が減少し、そのうちの 1 名は振戦、情緒不安定、不眠及び下痢の症状を呈した。これらの症状は、口腔洗浄剤の使用を停止すると回復した。（参照 2、4）

(2) 皮膚炎

チモールは歯科医師に皮膚炎を起こしたとの報告がある。(参照 2、4)

25名(ボランティア)に4%チモールワセリンを塗布したところ、皮膚に対する局所刺激はみられなかった。また、塗布後、48時間密封してもアレルギー反応はみられなかった。(参照 2、4)

メントールに皮膚アレルギーを持つ女性(31歳)の症例では、チモールの同時アレルギーは除外された。(参照 2、4)

チモールのパッチテストの事例が複数報告されている(表13)。(参照 2、4)

表13 チモール等のパッチテストの事例

| 対象者 | 被験者数(名) | 被験物質 | 結果(名) |
|---------------------------------|---------|---------------------|---------------------|
| 皮膚科患者 | 365 | 1%チモール | 陽性: 2 |
| 口腔学部局職員 | 300 | ・歯科材料12物質 | ・陽性: 213 |
| | | ・チモール(5%含有グリセリン溶液) | ・陽性: 39 ・陰性: 87 |
| 患者 | 290 | 1%チモール | 陽性: 0 |
| 皮膚科患者 | 221 | チモール | 1名が反応を示した |
| 皮膚科患者 | 131 | 1%チモール | 陽性: 0 |
| 皮膚科湿疹患者 | 100 | 1%チモール | 陽性: 0 |
| 接触性皮膚炎患者 | 84 | 1%チモール | 陽性: 1 |
| チモールを含有(0.1%)する 抗炎症剤による皮膚炎患者 | 23 | ・抗炎症剤に含まれる 個々の成分 | 陽性: 0 ²² |
| 眼瞼皮膚炎患者 | 19 | 1%チモール | 陽性: 0 |

(3) 薬物アレルギー

チモールを含む感冒薬を吸入した幼児(3週齢)が肺の虚脱を引き起こしたとの報告がある。著者は、肺の虚脱は感冒薬が原因とは思えないと考えた。(参照 2、4)

チモールは吸入麻酔剤に抗酸化剤として0.01%含まれ、まれに術後のハロセン肝炎が生じる。(参照 2、4)

(4) その他の知見

チモールは、殺菌性から主に外用に使用されている。健康な皮膚及び粘膜は腐食せず、わずかに刺激により剥離を起こす程度である。しかし、創傷粘膜に対してはかなりの刺激性を有する。(参照 2、4)

また、チモールは局所の防腐剤又は抗真菌剤として使用されており、妊娠初期に投与した52名の妊婦において、チモールは先天異常の発現頻度に影響を及ぼさなかったとの報告がある。その一方で、チモールは、子宮内に注入することによって流産を誘発することから、流産物質として使用されており、チモールを含む流産誘発剤の使

²² 参照文献には、チモール、エタノールアミン及びホルムアルデヒドがアレルギーの原因として同定されたと記載されている。

用による死亡が1例報告されている。(参照 25~27)

10. 一般薬理試験

マウス、ラット、モルモット、ウサギ及び豚を用いた *in vitro* 及び *in vivo* 試験によりチモールの中樞神経系、循環器系、自律神経系及び体性神経系への作用が検証された(表14)。(参照 2、4)

表14 チモールの一般薬理試験の結果一覧

| 試験項目 | 動物 | 投与経路 | 用量 (mg/kg 体重) | 試験成績 | |
|---------|--------------|---------|--------------------------|----------------------------------|--|
| 中枢神経系 | マウス | 経口及び腹腔内 | 200 | 精神抑制作用、抗痙攣作用、鎮痛作用及び催眠作用はみられなかった。 | |
| | | | | 一般症状 | |
| 呼吸・循環器系 | ラット | 静脈 | 100 µg/匹 | 血圧低下 | |
| | | ウサギ | 静脈 | 5 | 呼吸・血圧の一過性の抑制 |
| | ラット | 培養液 | 5 (麻酔下) | 血圧・呼吸の一過性低下及び抑制 | |
| | | | 低用量 | 収縮促進 | |
| | | | 高用量 | 拘縮 | |
| 抽出横隔膜神経 | ラット | 培養液 | 2x10 ⁻⁴ mol/L | 伝導障害 | |
| 自律神経系 | モルモット | 培養液 | <0.5 mM | 膜電位の発生抑制 | |
| | | | 0.5 mM | 胃を除く消化管各部位の自発的な機械的収縮の抑制 | |
| | | | >0.5 mM | 膜電位及び膜抵抗の減少 | |
| | | | <1 mM | 回腸及び直腸スパイク活性抑制(膜電位に変化なし) | |
| | | | 1 mM | スパイク発生抑制、膜の過分極抑制及び膜抵抗減少 | |
| | | | >1 mM | 細胞膜の脱分極、消化管各部の一過性かつ持続性カリウム拘縮の抑制 | |
| | 腸管運動(抽出小腸) | マウス | 培養液 | 用量不明 | パパバリン型の鎮痙作用 |
| | 腸管運動(抽出十二指腸) | ラット | 培養液 | 4.88 µM(アセチルコリン下) | アセチルコリン拘縮に対するチモールの鎮痙作用の50%有効量(ED ₅₀)は4.88 µM |
| | | | | 7.25 µM(塩化バリウム下) | 塩化バリウム拘縮に対するチモールの鎮痙作用のED ₅₀ は7.25 µM |
| | 腸管運動(抽出十二指腸) | ウサギ | 培養液 | 5.88 µg/mL | 鎮痙作用 |

| 試験項目 | | 動物 | 投与経路 | 用量 (mg/kg 体重) | 試験成績 |
|-----------------------|---------------|-----|------|---------------------------------------|------------------------|
| | 腸管運動 (摘出十二指腸) | ウサギ | 培養液 | 10 ^{-4.23} | 速やかに運動抑制 (可逆的) |
| | | | | 10 ^{-5.25} | 明らかな運動抑制 |
| | | | | 10 ^{-6.25} | 運動減少 |
| | | | | 10 ^{-7.25} | 変化なし |
| | 子宮運 (摘出子宮) | ラット | 培養液 | 14 µg/mL | アセチルコリン拘縮又は塩化バリウム拘縮を阻害 |
| 体 性 神 経 系 | 筋収縮 (摘出骨格筋) | 豚 | 培養液 | 15 mg/L | ハロセン拘縮の亢進 |
| | 筋肉機能 (摘出骨格筋) | 豚 | 培養液 | 300 mg/L | 筋小胞体内の ATP 活性の増加 |
| 600 mg/L | | | | 筋小胞体内の 40-Å サブユニットの消失抑制及び筋小胞体表面の粗面化抑制 | |

²³ 原著では、試験に用いたチモールの用量は明記されておらず、希釈倍率のみ記載されている。

Ⅲ. 国際機関等における評価

1. JECFA における評価

JECFA は、2000 年に、チモールを含む香料としてのフェノール及びフェノール誘導体の評価を行った。チモールの遺伝毒性については、*in vitro* の復帰突然変異試験は陰性、姉妹染色分体交換試験は陽性、不定期 DNA 合成 (UDS) 試験は 0.3~10 µg/mL で陰性、1~10 µg/mL で陽性であった。チモールのラット 19 週間混餌投与試験の結果から、無作用量 (NOEL) は 1,000 mg/kg 体重/日とされた。これらの各種毒性試験の結果から、JECFA は、チモールを含むフェノール及びフェノール誘導体は、香料として摂取する場合、ヒトの健康に対する懸念はないとした。(参照 13、28)

2. 欧州における評価

The Committee of Experts on Flavouring Substances (EC) は、1992 年に香料としてのチモールの評価を行い、食品等における含有量の上限を食品中 50 mg/kg、飲料中 10 mg/kg とした。

EMEA は、1996 年に、馬、牛、ヒツジ及びイヌ用の動物用医薬品としてのチモールの評価を行った。チモールの LD₅₀ は、マウス 1,800 mg/kg 体重、ラット 980 mg/kg 体重及びモルモット 880 mg/kg 体重であった。ラットの 19 週間混餌投与試験 (1,000 ppm (45~53 mg/kg 体重) 又は 10,000 ppm (450~530 mg/kg 体重)) では、投与による影響はみられなかった。*in vitro* の DNA 修復試験及び復帰突然変異試験の結果は陰性であった。生殖発生毒性試験及び発がん性試験データはない。チモールは、ヒトの皮膚疾患、呼吸器疾患及び歯科疾患の治療に使用されてきた。ハーブ等に含まれる成分でもあるチモールは、食品や飲料水の香り付けに使用されてきており、バジルやタイムを用いた食事では、10 mg を超えるチモールが含まれると推計されている。チモールは、食物中に含まれる天然成分であること、食品添加物として使用されていること、摂取後に急速に代謝されて体内から除去されること、動物当たりの使用頻度が小さいこと、各種毒性試験の結果から動物製品への残留によるヒトへの毒性影響は考えられないこと等から、EMEA は、チモールの最大残留基準値 (MRL) を設定する必要はないとした。(参照 29)

EFSA は、2012 年に、飼料用の香料としてフェノール誘導体の評価を行った。チモールについては、ラットの繁殖毒性試験の結果から、NOAEL を 40 mg/kg 体重/日とした。一方、植物用殺虫剤のリスク評価では、哺乳動物を用いた毒性試験及び残留試験のデータが十分でなく、取扱従事者等への影響は評価できないとした。また、環境影響についても、チモールの分解過程、分解率等についての知見が十分でないとしている。その後、2017 年、植物用殺虫剤としてのチモールのリスクに関連する加盟国及び EFSA の評価意見を集約したテクニカルレポートを作成したが、最終結論に至っていない。(参照 30~32)

3. 米国における評価

FDA は、1964 年に、家畜用の防虫剤としてチモールの使用・登録を認め、タイム精油及びタイムを、GRAS (一般的に安全と認められた物) 品目とし、食品添加物と同様にヒトの食品としてリストに掲載した。(参照 2、3)

EPA は、2003 年に、はちみつ及び巣脾中のチモール及びユーカリ油について、ヒトの健康や環境に有害影響をもたらすものでないとし、期限付きで残留基準の設定を除外した。(参照 2、3、33)

EPA は、2007 年に、チモールはハーブ等に含まれる成分であること、食品添加物、精油や香料として安全性が認められていること、米国におけるばく露レベルでは毒性は示さないと考えられること等から、食品中の残留基準の設定を免除することとした。食品自体に含まれるチモールの量は、殺虫剤として使用された場合に食品中に残留する量よりも明らかに多い。例えば、清涼飲料水、菓子等、チモールが添加されている食品に含まれるチモールの量は、食品中に残留している殺虫剤（食品取扱い施設等で使用された殺虫剤）として食品に含まれる量の約 1,000 倍としている。(参照 34)

4. カナダにおける評価

PMRA は、2010 年に、チモール及びチモールを有効成分とする製剤を登録し、バロア病適用剤としての販売・使用を認めた。各種毒性試験の結果を基にヒトの健康評価がなされ、発がん性、遺伝毒性、神経毒性、発生毒性又は繁殖毒性の決定的な証拠はないとされた。各種毒性試験の結果及び食品添加物、医薬品、化粧品等の有効成分として使用されてきた歴史から、チモールはヒトの健康に影響を及ぼす懸念はないとした。(参照 35、36)

IV. 食品健康影響評価

ラットを用いた経口投与による薬物動態試験の結果から、経口投与されたチモールのほとんどが、投与後 24 時間までにチモールとして尿から排泄された。

蜜蜂を対象とした残留試験の結果、投与期間中のはちみつ中に最大 3.2 µg/g (投与 8 週間後) のチモールが認められた。投与終了 8 週間後では 0.17 µg/g であった。

各種毒性試験の結果から、チモール投与による主たる影響は、雄ラットにみられた一過性の体重増加抑制傾向並びに雌ラットにみられた一過性の自発運動量の減少及び歩行失調であった。

各種遺伝毒性試験の結果、チモールには生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられたことから、ADI の設定は可能であると判断した。

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていない。また、発がん性を示唆する情報については、JECFA、欧州及び米国の評価において示されていない。

生殖発生毒性試験では、ラットの 1 世代生殖発生毒性試験 (43 日間亜急性毒性試験と併用) において、児動物の体重及び体重増加量が低値を示した。

各種毒性試験の結果から、最も低い用量でみられた影響は、ラットを用いた 43 日間亜急性毒性試験の雄にみられた一過性の体重増加抑制傾向並びに雌にみられた一過性の自発運動量の減少及び歩行失調並びに 1 世代生殖発生毒性試験の児動物でみられた体重及び体重増加量の低値であり、NOAEL は 40 mg/kg 体重/日であった。

食品安全委員会は、発がん性試験の知見は不足しているものの、投与による影響が一過性で重篤なものではないこと、JECFA、欧州及び米国において ADI や MRL の設定を不要とする評価結果が出ていること並びに食品添加物及び医薬品添加物としての長期にわたる使用経験があることを考慮するとともに、現在得られている知見を総合的に検討した結果、動物用医薬品として適切に使用される限りにおいて、ADI を特定する必要はないと判断した。

表 15 JECFA、EFSA 及び食品安全委員会における各種試験の無毒性量等の比較

| 動物種 | 試験 | 投与量 (mg/kg 体重/ 日) | 無毒性量等 (mg/kg 体重/日) | | |
|-----------------|----------|-----------------------------------|----------------------------|----------------|---|
| | | | JECFA (2000) | EFSA (2012) | 食品安全委員会 |
| ラット | 28 日間亜急性 | 15.39、30.78、 61.55 (強制経口投与) | — | — | 61.55 影響なし |
| ラット | 43 日間亜急性 | 8、40、200 (強制経口投与) | — | — | 雄：40 一過性の体重増加抑制傾向 雌：40 一過性の自発運動量の減少、 歩行失調 |
| ラット | 19 週間亜急性 | 75、750 (混餌投与) | NOEL： 1,000 ppm 影響なし | — | 750 影響なし |
| ラット | 1 世代生殖発生 | 8、40、200 (強制経口投与) | — | 親動物：40 | 親動物：200 児動物：40 体重及び体重増加量の低値 |
| 毒性学的 ADI | | | 香料として摂取する場合は 影響なし | — | 動物用医薬品として適切に 使用される限りにおいて ADI を特定する必要はない |
| 毒性学的 ADI 設定根拠資料 | | | — | — | ラット 43 日間亜急性毒性試験及びラット 1 世代生殖発生毒性試験 |
| ADI | | | — | — | — |

<別紙 1 : 代謝物/分解物略称>

| 略称 | 化学名 |
|----|--|
| T1 | Thymol |
| T2 | 2,5-Dihydroxy-p-cymene |
| T3 | 2-(2-Hydroxy-4-methylphenyl)propan-1-ol |
| T4 | 5-(Hydroxymethyl-2-(1-methylethyl)phenol |
| T5 | 2-(Hydroxymethyl-2-hydroxyphenyl)propan-1-ol |
| T6 | 2-(2-Hydroxy-4-methylphenyl)propionic acid |
| T7 | 3-Hydroxy-4-(1-methylethyl)benzoic acid |

<別紙 2 : 検査値等略称>

| 略称等 | 名称 |
|------------------|---|
| ADI | 一日摂取許容量 |
| ATP | アデノシン三リン酸 |
| AUC | 薬物濃度曲線下面積 |
| BMI | ボディマス指数 |
| CL | 全身クリアランス |
| C _{max} | 最高濃度 |
| CYP | チトクローム P450 |
| EC | 欧州共同体 |
| ED ₅₀ | 50 %有効量 |
| EFSA | 欧州食品安全機関 |
| EMA | 欧州医薬品審査庁 (欧州医薬品庁(EMA)の前身、2004 年まで) |
| EPA | 米国環境保護庁 |
| FDA | 米国食品医薬品局 |
| GC/MS | ガスクロマトグラフィー質量分析法 |
| GRAS | Generally Recognized As Safe (一般的に安全と認められたもの) |
| HPLC/UV | 高速液体クロマトグラフィー紫外吸光光度検出器 |
| JECFA | FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議 |
| LD ₅₀ | 半数致死量 |
| LOAEL | 最小毒性量 |
| LOD | 検出限界 |
| LOQ | 定量限界 |
| MRL | 最大残留基準値 |
| MRT | 平均滞留時間 |
| MT | 皮膚感作試験 |
| NADPH | 還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 |
| NOAEL | 無毒性量 |
| NOEL | 無作用量 |
| OET | 開放粘膜刺激試験 |
| PMRA | カナダ保健省病虫害管理規制局 |
| SCE | 姉妹染色分体交換 |
| T _{1/2} | 消失半減期 |
| TG | トリグリセリド |
| TLC | 薄層クロマトグラフィー |
| T _{max} | 血漿中最高濃度到達時間 |
| UDS | 不定期 DNA 合成 |
| Vd | 分布容積 |

<参照>

1. The merck index 15th. edition, 2013.
2. アリスタヘルスアンドニュートリションサイエンス株式会社, 動物用医薬品製造販売承認申請書 チモバール (非公表)
3. EPA, Fact sheet for thymol. R.E.D. FACTS, 1993.
4. BG Chemie, Thymol (cas number 89-83-8, bg number 259). 2000.
5. 日本薬局方解説書編集委員会, 第十七改正日本薬局方解説書. 廣川書店, 2016:3126-3130.
6. 公益財団法人 日本食品研究振興財団, 既存添加物名簿収載品目リスト (最終改正 平成 26 年 1 月 30 日)
7. C. Kohlert, G. Schindler, R. W. Marz, G. Abel, B. Brinkhaus, H. Derendorf, E. U. Grafe and M. Veit, Systemic availability and pharmacokinetics of thymol in humans. *J Clin Pharmacol*, 2002. 42(7):731-737.
8. M. Takada, I. Agata, M. Sakamoto, N. Yagi and N. Hayashi, On the metabolic detoxication of thymol in rabbit and man. *The Journal of Toxicological Sciences*, 1979. 4(4):341-349.
9. L. T. Austgulen, E. Solheim and R. R. Scheline, Metabolism in rats of p-cymene derivatives: Carvacrol and thymol. *Pharmacology & Toxicology*, 1987. 61(2):98-102.
10. R. H. Dong, Z. Z. Fang, L. L. Zhu, G. B. Ge, Y. F. Cao, X. B. Li, C. M. Hu, L. Yang and Z. Y. Liu, Identification of cyp isoforms involved in the metabolism of thymol and carvacrol in human liver microsomes (hlms). *Pharmazie*, 2012. 67(12):1002-1006.
11. M. Shipkova, C. P. Strassburg, F. Braun, F. Streit, H. J. Grone, V. W. Armstrong, R. H. Tukey, M. Oellerich and E. Wieland, Glucuronide and glucoside conjugation of mycophenolic acid by human liver, kidney and intestinal microsomes. *Br J Pharmacol*, 2001. 132(5):1027-1034.
12. A. Imdorf, S. Bogdanov, R. I. Ochoa and N. W. Calderone, Use of essential oils for the control of varroa jacobsoni oud. In honey bee colonies. *Apidologie*, 1999 30(2-3):209 - 228.
13. JECFA, Phenol and phenol derivatives. WHO food additives series 46, 2001.
14. M. LLana-Ruiz-Cabello, S. Maisanaba, M. Puerto, A. I. Prieto, S. Pichardo, A. Jos and A. M. Camean, Evaluation of the mutagenicity and genotoxic potential of carvacrol and thymol using the ames salmonella test and alkaline, endo iii- and fpg-modified comet assays with the human cell line caco-2. *Food Chem Toxicol*, 2014. 72:122-128.
15. JECFA, Phenol and phenol derivatives (addendum). WHO food additives series 64, 2011:207-253.
16. H. Hikiba, E. Watanabe, J. C. Barrett and T. Tsutsui, Ability of fourteen chemical agents used in dental practice to induce chromosome aberrations in syrian hamster embryo cells. *J Pharmacol Sci*, 2005. 97(1):146-152.

17. M. Buyukleyla and E. Rencuzogullari, The effects of thymol on sister chromatid exchange, chromosome aberration and micronucleus in human lymphocytes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2009. 72(3):943-947.
18. S. Maisanaba, A. I. Prieto, M. Puerto, D. Gutierrez-Praena, E. Demir, R. Marcos and A. M. Camean, In vitro genotoxicity testing of carvacrol and thymol using the micronucleus and mouse lymphoma assays. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 2015. 784-785:37-44.
19. U. Undeger, A. Basaran, G. H. Degen and N. Basaran, Antioxidant activities of major thyme ingredients and lack of (oxidative) DNA damage in v79 chinese hamster lung fibroblast cells at low levels of carvacrol and thymol. *Food Chem Toxicol*, 2009. 47(8):2037-2043.
20. S. Azirak and E. Rencuzogullari, The in vivo genotoxic effects of carvacrol and thymol in rat bone marrow cells. *Environ Toxicol*, 2008. 23(6):728-735.
21. M. M. E. Gad, Acute and repeated-doses (28 days) toxicity of thymol formulation in male albino rats. 2012.
22. 松浦郁夫, 田谷ゆかり, 土谷稔, 涌生ゆみ, 豊田直人, 高野克代, チモールのラットを用いる反復経口投与毒性・生殖発生毒性併合試験. 株式会社三菱化学安全科学研究所 鹿島研究所, 1996.
23. G. D. Stoner, M. B. Shimkin, A. J. Kniazeff, J. H. Weisburger, E. K. Weisburger and G. B. Gori, Test for carcinogenicity of food additives and chemotherapeutic agents by the pulmonary tumor response in strain a mice. *Cancer Res*, 1973. 33(12):3069-85.
24. ファイザー株式会社, 保存剤 日本薬局方 チモール. 医薬品インタビューフォーム, 2013.
25. 日本医薬品添加剤協会, チモール. 医薬品添加物安全性データベース
26. E. B. Keemer, Jr., Looking back at luenbach: 296 non-hospital abortions. *J Natl Med Assoc*, 1970. 62(4):291-3.
27. T. A. Thomas, E. J. Galizia and R. T. Wensley, Termination of pregnancy with utus paste: Report of a fatal case. *Br Med J*, 1975. 1(5954):375-6.
28. JECFA, Summary and conclusions. JECFA 55th meeting, 2000.
29. EMEA, Summary report; thymol. committee for veterinary medicinal products, 1996.
30. EFSA, Scientific opinion on the safety and efficacy of phenol derivatives containing ring-alkyl, ring-alkoxy and side-chains with an oxygenated functional group (chemical group 25) when used as flavourings for all species. *EFSA Journal*, 2012. 10(2)(2573).
31. EFSA, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance thymol. *EFSA Journal*, 2012. 10(11)(2916).
32. EFSA, Outcome of the consultation with member states, the applicant and efsa on the pesticide risk assessment for thymol in light of confirmatory data. technical

report, 2017.

33. USA, Rules and regulations. Federal Register, 2003. 68(109):33876-33882.
34. USA, Rules and regulations. Federal Register, 2009. 74(56):12613-12617.
35. Health Canada, Thymol. Proposed Registration Decision, 2010.
36. Health Canada, Thymol. Registration Decision, 2016.