

分科会報告品目（動物用医薬品関係）

・ クラブラン酸（暫定基準の見直し）	1
・ プリフィニウム（暫定基準の見直し）	37

各剤について

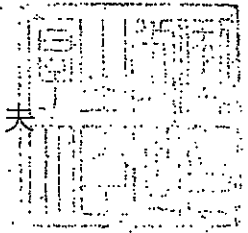
- ・ 諮問書（厚生労働大臣から薬事・食品衛生審議会会長へ）
- ・ 評価書（食品安全委員長から厚生労働大臣へ）

と2文書がございます。

厚生労働省発食安0203第7号
平成23年2月3日

薬事・食品衛生審議会
会長 望月 正隆 殿

厚生労働大臣 細川 律夫



諮問書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、
下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

クラブラン酸

平成23年6月7日

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会報告について

平成23年2月3日付け厚生労働省発食安0203第7号をもって諮問された、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づくクラブラン酸に係る食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

(別添)

クラブラン酸

今般の残留基準の検討については、食品中の動物用医薬品等のポジティブリスト制度導入時に新たに設定された基準値（いわゆる暫定基準）の見直しについて、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において審議を行い、以下の報告を取りまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：クラブラン酸 [Clavulanic acid]

(2) 用途： β -ラクタマーゼ阻害作用

構造的にペニシリン類に関連した化合物で、*Streptomyces clavigulerus* によって産生される。特異的、不可逆的 β -ラクタマーゼ阻害薬で、本物質自体の抗菌活性はほとんど無く、アモキシシリンとの配合剤として用いることにより、アモキシシリンに耐性を有する細菌に対する抗菌性が強化される。クラブラン酸の活性は β -ラクタム構造と関連している。

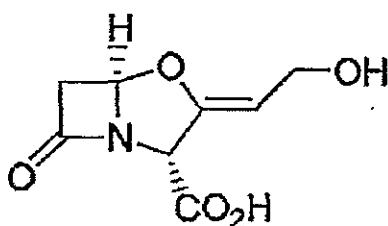
我が国では、クラブラン酸を有効成分とする動物用医薬品は承認されていない。ヒト用医薬品では、アモキシシリンとの配合剤として使用されている。

(3) 化学名：

(2*R*,3*Z*,5*R*)-3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-aza-bicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid (IUPAC)

[2*R*-(2 α ,3*Z*,5 α)]-3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid (CAS)

(4) 構造式及び物性



分 子 式 : $C_8H_9NO_5$

分 子 量 : 199.16

(5) 適用方法及び用量

対象動物	使用方法		使用国	休薬期間
牛	経口投与	2.5mg/kg 体重を12時間おきに6回投与する。	EU	肉：9日間
			豪州	肉：4日間 食肉用子牛には使用しないこと
	乳房注入	50mg/分房を12時間おきに乳房に3回注入する。	EU	肉：7日間 乳：60時間
			豪州	肉：7日間 乳：48時間
	筋肉注射	8.75mg/kg 体重を1日1回3-5日間注射する。	EU	肉：42日間 乳：60時間
豚	筋肉注射	8.75mg/kg 体重を1日1回3-5日間注射する。	EU	肉：31日間

2. 対象動物における残留試験

(1) 分析の概要

①分析対象化合物：クラブラン酸

②分析法の概要

試料からアセトニトリルで抽出し、ジクロロメタンを用いて夾雑物を除去した後、イミダゾール誘導体化して、高速液体クロマトグラフ（UV）を用いて定量する。

(2) 残留試験結果

○経口投与における残留試験結果（単位：ppm）

対象動物	投与量	試験対象	投与後		定量限界
			8時間	56時間	
牛	2.5mg/kg 体重を12時間おきに6回投与する。	筋肉	－	<LOQ	0.0501
		脂肪	－	<LOQ	0.0501
		肝臓	－	<LOQ	0.100
		腎臓	－	<LOQ	0.200
		肺	<LOQ	－	0.102

○牛の乳房注入における残留試験結果 (単位: ppm)

対象動物	投与量	試験対象	投与後		定量限界
			48 時間	72 時間	
泌乳牛	50 mg/分房を 12 時間おきに乳房に 3 回注入する。	筋肉	-	<LOQ	0.0501
		脂肪	-	<LOQ	0.0501
		肝臓	-	<LOQ	0.100
		腎臓	-	<LOQ	0.200
		乳	<LOQ	-	0.0501

○豚の筋肉注射における残留試験結果 (単位: ppm)

対象動物	投与量	試験対象	投与後	定量限界
			5 日	
豚	8.75mg/kg 体重を 1 日 1 回 5 日間頸部に注射する。	筋肉	<LOQ	0.0499
		脂肪	<LOQ	0.0499
		肝臓	<LOQ	0.0999
		腎臓	<LOQ	0.0999
		肺	<LOQ	0.0503

3. 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、食品安全委員会委員長あて意見を求めたクラブラン酸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、ADI として 0.01 mg/kg 体重/日が設定されている。

① 毒性学的 ADI について

最小毒性量: 10 mg/kg 体重/日

(試験の種類) ラットの 1 世代繁殖毒性試験

ラットの催奇形性試験

マウスの催奇形性試験

(投与方法) 強制経口投与

安全係数: 1000

ADI: 0.01mg/kg 体重/日

② 微生物学的 ADI について

EMEA において、微生物学的評価については、CVMP の算出式に基づき、*in vitro* の MIC₅₀ の値を用いて微生物学的 ADI が算出されている。

$$\text{微生物学的 ADI (mg/kg 体重/日)} = \frac{\frac{0.00884 \times 2^{*1}}{5^{*2}} \times 150^{*3}}{0.1^{*4} \times 60^{*5}} = 0.0884 \text{ mg/kg 体重/日}$$

- *1: 生体への換算係数: 細菌濃度の増加に伴い MIC 値が上昇すること及びクラブラン酸の擬似消化管通過後において MIC 値が有意に上昇することから 2 とする。
- *2: クラブラン酸により阻害を受けない染色体及びプラスミド性の β -ラクタマーゼが存在することから 5 とする。
- *3: 結腸内容物の量 (g/日)
- *4: 微生物が利用可能な経口用量の分画: ヒトにおける ^{14}C -標識クラブラン酸の経口投与試験のデータから 0.1 とする。
- *5: ヒト体重 (kg)

4. 諸外国における状況等

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おらず、国際基準も設定されていない。米国、EU、豪州、カナダ及びニュージーランドについて調査した結果、EU において牛、豚及び乳に、豪州において牛及び乳に残留基準が設定されている。

5. 基準値案

(1) 残留の規制対象

クラブラン酸とする。

クラブラン酸は速やかに代謝され、組織、乳中においてそれぞれ総残留の 10%、33% となるが、同定された主要な成分であること、また、代謝物 A (1-アミノ-4-ヒドロキシブタン-2-オン) 及び代謝物 B (2,5-ジヒドロ-4-(2-ヒドロキシル)-5-オキソ-1 水素ピロル-3-カルボキシル酸) は β -ラクタム構造を有しておらず抗菌活性がないと考えられることから、残留の規制対象をクラブラン酸とする。なお、EU 及び豪州においても、クラブラン酸が規制対象物質とされている。

(2) 基準値案

別紙 1 のとおりである。

(3) 暴露評価

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 日当たりの摂取する本剤の量 (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	9.6
幼小児 (1～6歳)	29.5
妊婦	10.7
高齢者 (65歳以上) *	9.4

*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。

なお、暴露評価については、食品中の全ての残留がクラブラン酸であると仮定して試算を行った。その詳細は別紙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。

なお、本剤については、基準値を設定しない食品に関して、食品、添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示第370号第1食品の部 A 食品一般の成分規格の項1に示す「食品は、抗生物質又は化学的合成品たる抗菌性物質を含有してはならない。」が適用される。

(別紙1)

クラブラン酸

食品名	基準値 (案) ppm	基準値 現行 ppm	EU ppm	豪州 ppm
牛の筋肉	0.05	0.06	0.1	0.01
豚の筋肉	0.05	0.1	0.1	
牛の脂肪	0.05	0.1	0.1	
豚の脂肪	0.05	0.1	0.1	
牛の肝臓	0.1	0.1	0.2	0.01
豚の肝臓	0.1	0.2	0.2	
牛の腎臓	0.2	0.2	0.4	0.01
豚の腎臓	0.1	0.4	0.4	
牛の食用部分*1*2	0.1	0.01		0.01
豚の食用部分	0.05	0.2		
乳	0.05	0.1	0.2	0.01

平成17年11月29日厚生労働省告示499号において新しく設定した基準値については、網をつけて示した。

*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う。

*2：食用部分については、肺の値を参照した。

(別紙2)

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 ^{*5} (65歳以上) TMDI
牛の筋肉	0.05	9.9 ^{*2}	4.6 ^{*2}	9.4 ^{*2}	9.9 ^{*2}
牛の脂肪	0.05				
牛の肝臓	0.1	0.1	0.1	0.1 ^{*4}	0.1
牛の腎臓	0.2	0.8	0.3	1.7	0.8
牛の食用部分 ^{*1}	0.1	0.4	0.1	0.3	0.4
豚の筋肉	0.05	17.9 ^{*2}	11.5 ^{*2}	20.1 ^{*2}	17.9 ^{*2}
豚の脂肪	0.05				
豚の肝臓	0.1	0.2	0.1	0.2 ^{*4}	0.2
豚の腎臓	0.1	0.0	0 ^{*3}	0.0 ^{*4}	0.0
豚の食用部分 ^{*1}	0.05	0.2	0.1	0.2 ^{*4}	0.2
乳	0.05	21.6	29.8	27.7	21.6
計		51.1	46.6	59.7	51.1
ADI 比 (%)		9.6	29.5	10.7	9.4

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

*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、肺の値を参照した。

*2: 筋肉の基準値×筋肉及び脂肪の摂取量

*3: 摂取量データがないため、推定摂取量は「0」とした。

*4: 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。

*5: 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にした。

(国民平均の試算例)

食品名	基準値 (ppm) (A)	総残留に占める クラブラン酸の 割合 (%) (B)	当該食品の摂 取量 (g/人/日) (C)	全ての残留をクラブラン酸と 仮定した場合のクラブラン酸 摂取量 (μg) (A) × (100/ (B)) × (C)
牛の筋肉	0.05	10	19.71	9.9
牛の脂肪	0.05	10		
牛の肝臓	0.1	10	0.12	0.1
牛の腎臓	0.2	10	0.4	0.8
牛の食用部分 ^{*1}	0.1	10	0.42	0.4
豚の筋肉	0.05	10	35.83	17.9
豚の脂肪	0.05	10		
豚の肝臓	0.1	10	0.17	0.2
豚の腎臓	0.1	10	0.04	0.0
豚の食用部分 ^{*1}	0.05	10	0.39	0.2
乳	0.05	33	142.7	21.6
計				51.1
ADI 比 (%)				9.6

(参考)

これまでの経緯

平成19年 3月 5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22年 6月24日 食品安全委員会委員長から厚生労働大臣へ通知
平成23年 2月 3日 薬事・食品衛生審議会へ諮問
平成23年 2月10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
平成23年 5月24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]

石井 里枝	埼玉県衛生研究所水・食品担当専門研究員
○大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室准教授
佐藤 清	財団法人残留農薬研究所理事・化学部長
高橋 美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究官
永山 敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野 育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田 りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井 俊一	社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内 明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	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准教授
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)

クラブラン酸

食品名	残留基準値
	ppm
牛の筋肉	0.05
豚の筋肉	0.05
牛の脂肪	0.05
豚の脂肪	0.05
牛の肝臓	0.1
豚の肝臓	0.1
牛の腎臓	0.2
豚の腎臓	0.1
牛の食用部分*	0.1
豚の食用部分	0.05
乳	0.05

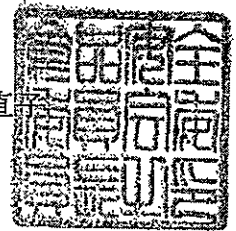
*：食用部分とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいう。



府食第489号
平成22年6月24日

厚生労働大臣
長妻 昭 殿

食品安全委員会
委員長 小泉 直



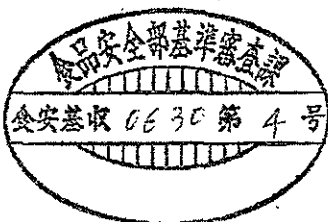
食品健康影響評価の結果の通知について

平成19年3月5日付け厚生労働省発食安第0305030号をもって貴省から当委員会に意見を求められたクラブラン酸に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

クラブラン酸の一日摂取許容量を0.01 mg/kg 体重/日とする。



動物用医薬品評価書

クラブラン酸

2010年6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
○食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	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	 6
1. 薬物動態試験（吸収、分布、代謝、排泄）及び残留試験	6
(1) 薬物動態試験(ラット、イヌ及び牛)	6
(2) 薬物動態試験(牛、豚及び羊)	6
(3) 薬物動態試験(ヒト)	7
(4) 薬物動態試験（分布及び代謝物）	7
(5) 残留試験(牛)	7
(6) 残留試験(豚)	9
(7) 残留試験(羊)	10
(8) 配合剤を用いた残留試験(牛及び豚)	10
2. 急性毒性試験	13
3. 亜急性毒性試験	13
(1) 28 日間及び 6 ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	13
(2) 28 日間及び 6 ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）	13
(参考) 配合剤の経口投与試験（ラット及びイヌ）	14
4. 発がん性試験	14
5. 生殖発生毒性試験	14
(1) 1 世代繁殖試験（ラット）	14
(2) 催奇形性試験（マウス）	15
(3) 催奇形性試験（ラット）	15
(4) 周産期及び授乳期投与試験（ラット）	15
6. 遺伝毒性試験	16
7. 微生物学的影響に関する試験	17
8. その他	18
(1) 皮膚感作試験（モルモット）	18
(2) 皮下投与試験（ウサギ）	18
(3) ヒトにおける知見	18

Ⅲ. 食品健康影響評価	18
1. EMEA における評価	18
2. ADI の設定について	19
3. 食品健康影響評価について	20
・表 11	21
・別紙 1	22
・参照	23

〈審議の経緯〉

2005年 11月 29日 暫定基準告示(参照1)
 2007年 3月 5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0305030号)
 2007年 3月 8日 第181回食品安全委員会(要請事項説明)
 2009年 12月 25日 第34回肥料・飼料等専門調査会
 2010年 5月 13日 第331回食品安全委員会(報告)
 2010年 5月 13日 から 6月 11日 国民からの御意見・情報の募集
 2010年 6月 21日 肥料・飼料等専門調査会座長から食品安全委員会委員長へ報告
 2010年 6月 24日 第377回食品安全委員会(報告)
 (同日付けで厚生労働大臣に通知)

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2009年6月30日まで)

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

(2009年7月1日から)

小泉 直子 (委員長)
 見上 彪 (委員長代理*)
 長尾 拓
 野村 一正
 畑江 敬子
 廣瀬 雅雄
 村田 容常

* 2009年7月9日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2009年10月1日から)

唐木 英明 (座長)
 酒井 健夫 (座長代理)
 青木 宙 高橋 和彦
 秋葉 征夫 舘田 一博
 池 康嘉 津田 修治
 今井 俊夫 戸塚 恭一
 江馬 眞 細川 正清
 桑形 麻樹子 宮島 敦子
 下位 香代子 元井 菫子
 高木 篤也 吉田 敏則

要 約

β -ラクタマーゼ阻害薬である「クラブラン酸」(CAS No.58001-44-8)について、各種評価書等(EMEA レポート等)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、薬物動態試験(ラット、イヌ、豚、羊、牛及びヒト)、残留試験(牛、豚及び羊)、急性毒性試験(マウス及びラット)、亜急性及び慢性毒性試験(ラット及びイヌ)、生殖発生毒性試験(マウス及びラット)、遺伝毒性試験、微生物学的影響に関する試験等である。

クラブラン酸は、発がん性試験は実施されていないが、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADIを設定することが可能であると判断された。

毒性試験において、最も用量の低いところで投与の影響が認められたと考えられる指標は、ラットの1世代繁殖毒性試験及びマウスの催奇形性試験における黄体数及び着床数の減少並びにラットの催奇形性試験におけるF₁児動物の離乳時の体重減少であり、LOAELは10 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的ADIの設定に当たっては、このLOAELに安全係数として、種差10、個体差10、LOAELを用いること並びに慢性毒性試験及び発がん性試験が実施されていないことによる追加の10の1,000を適用し、ADIを0.01 mg/kg 体重/日と設定することが適当と考えられた。

なお、この値は、EMEAにおいて算出された微生物学的ADI 0.09 mg/kg 体重/日よりも十分小さい値である。

以上より、クラブラン酸の食品健康影響評価については、ADIとして0.01 mg/kg 体重/日を設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

β-ラクタマーゼ阻害薬

2. 有効成分の一般名

和名：クラブラン酸

英名：Clavulanic acid

3. 化学名

CAS(No.58001-44-8)

英名：[2*R*-(2*α*, 3*Z*, 5*α*)]-3-(2-hydroxyethylidene)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo
[3.2.0]heptane-2-carboxylic acid

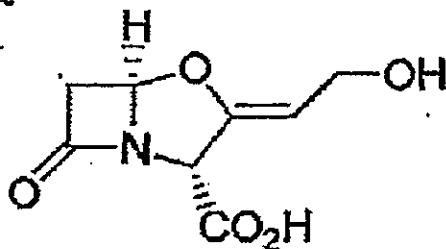
4. 分子式

C₈H₉NO₅

5. 分子量

199.16

6. 構造式



7. 使用目的及び使用状況等

クラブラン酸は構造的にペニシリン類に関連した化合物で、*Streptomyces clavigulerus*によって産生される。特異的、不可逆的β-ラクタマーゼ阻害薬で、本物質自体の抗菌活性はほとんどなく、アモキシシリンとの配合剤として用いることにより、アモキシシリンに通常耐性を有する細菌に対する抗菌性が強化される。クラブラン酸の活性は完全形のβ-ラクタム構造と関連している。(参照 2、3)

日本では、クラブラン酸を有効成分とする動物用医薬品は承認されていない。ヒト用医薬品では、アモキシシリンとの配合剤として使用されている。

EU では、クラブラン酸は、アモキシシリンとの配合剤として使用することによりヒト及び動物用医薬品として広く使用されている。動物用医薬品として、クラブラン酸（通常はクラブラン酸カリウムとして）及びアモキシシリン三水和物が 1:4

の割合で、牛、豚及び羊の筋肉内注射剤（1.75 mg/kg 体重を 1 日 1 回 5 日間）、搾乳牛の乳房内注入剤（50 mg/分房、0.4 mg/kg 体重を 1 日 2 回（0.8 mg/kg 体重/日）3 日間）又は離乳前の子牛の経口投与剤（2.5 mg/kg 体重を 1 日 2 回（5 mg/kg 体重/日）3 日間）として用いられる。（参照 2、3）

なお、クラブラン酸はポジティブリスト制度の導入に伴う残留基準値¹が設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は EMEA レポート及びオーストラリア評価書等をもとに、毒性に関する主な知見を整理したものである。

1. 薬物動態試験（吸収、分布、代謝、排泄）及び残留試験

（1）薬物動態試験（ラット、イヌ及び牛）

ラット及びイヌを用いた ¹⁴C-標識クラブラン酸の経口投与試験が実施された。投与後、かなりの量が吸収され、ラット及びイヌにおいてそれぞれ投与量の 42 及び 52 % が尿中に排泄された。また、呼気中に投与量の 17 % が排泄された。

ラット及びイヌの尿からは、未変化体（ラット及びイヌの尿からの回収はそれぞれ 16～23 及び 14～38 %）及び代謝物 A（1-アミノ-4-ヒドロキシブタン-2-オン）が検出された。代謝物 A のラット及びイヌの尿からの回収はそれぞれ 21～35 及び 10～20 % であった。代謝物 A はラット、イヌ及び子牛肝ホモジネートを用いた *in vitro* においても主要な代謝物として検出された。（参照 2、3）

（2）薬物動態試験（牛、豚及び羊）

泌乳牛、子牛、若齢豚及び羊を用いた 5 日間筋肉内投与（1.75 mg/kg 体重）及び離乳前子牛を用いたクラブラン酸の単回経口投与（2.5 mg/kg 体重）による血清中薬物動態試験が実施された。（表 1）

子牛では単回経口投与後、投与量の 34 % が吸収された。

主要な排泄経路は、子牛及び豚ともに尿中であつた。（参照 2、3）

表 1 各動物種の血清中クラブラン酸薬物動態パラメータ

動物種	投与方法	用量 (mg/kg 体重)	T _{max} (時間)	C _{max} (µg/mL)	T _{1/2} (時間)
泌乳牛	筋肉内 (5 日間)	1.75	1	2 未満	2
子牛			0.5 未満	2～3	1
若齢豚			0.5 未満	2～3	1
羊（成獣）			0.5	4～8	0.76
離乳前子牛	経口（単回）	2.5	3～4 以内	0.8	2.0

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準値

(3) 薬物動態試験 (ヒト)

ヒトにおいて ^{14}C -標識クラブラン酸カリウムの経口投与による薬物動態試験 (*in vivo*) が実施された。

主要な排泄経路は尿中で、投与量の 73 % が排泄された。尿中の放射活性の大半が投与後 24 時間に排泄された (投与量の 68 %)。放射活性は、投与量の 17 % が呼吸から排泄され、糞からの回収はわずか 8 % であった。クラブラン酸は経口投与後に未変化体として投与量の 23 % が尿中に認められた。尿中の主要な代謝物は、代謝物 A 及び代謝物 B (2,5-ジヒドロ-4-(2-ヒドロキシル)-5-オキソ-1 水素-ピロル-3-カルボキシル酸) でそれぞれ投与量の 8.8 及び 15.6 % であった。経口投与後の血漿中の主要物質はクラブラン酸及び代謝物 A であった。クラブラン酸の血漿 $T_{1/2}$ は 0.8 時間であった。代謝物は β -ラクタム構造を有しておらず、抗菌活性は未変化体のみに認められるものと考えられる。(参照 2、3)

(4) 薬物動態試験 (分布及び代謝物)

クラブラン酸及び代謝物 A は、放射標識化合物による試験で得られた組織において、放射 TLC により検出された。クラブラン酸の検出濃度が、分析した早い時点においても非常に低かったことは、放射活性物質を用いない試験で得られた結果と同様であった。早い時点で生成される代謝物又は分解物である代謝物 A は、調査した可食組織においても一貫して認められた。代謝物 A は、未変化体とほぼ同等かそれ以上の濃度で存在した。未変化体及び代謝物 A の両方とも、調査したほとんどの組織において、総残留量に対して比較的少量であった。得られたデータから、未変化体の総残留に対する割合は、試験期間の早い時点で約 10 % と概算された。クラブラン酸及び代謝物 A 以外の残留物質は検出されなかった。クラブラン酸及び代謝物 A が総放射活性に対し比較的少量であるという結果は、クラブラン酸が極性の高い物質に速やかに代謝されるという知見と一致した。(参照 3)

牛及び豚を用いた放射標識化合物による試験が実施され、可食部組織における総放射活性は、投与後 24 時間以内に速やかに減少することが示された。6 日間経口投与 (1 日 1 回) された子牛の最終投与 24 時間後の可食部位における放射活性は、他の動物や別の経路で投与された子牛よりも高く、腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪で、それぞれ 12,000、6,500、1,500 及び 1,800 $\mu\text{g eq/kg}$ であった。しかし、クラブラン酸は速やかに代謝され、早期に総残留の 10 % となることから、クラブラン酸濃度は腎臓、肝臓、筋肉及び脂肪においてそれぞれ 1,200、650、150 及び 180 $\mu\text{g eq/kg}$ と推定される。(参照 3)

(5) 残留試験 (牛)

① 泌乳牛

泌乳牛 (4 頭) を用いた ^{14}C -標識クラブラン酸の乳房内投与 (45 mg、3 回)

による組織残留試験が実施された。各組織中の経時的な放射活性を表 2 に示した。
(参照 3)

表 2 泌乳牛の各組織中クラブラン酸濃度の推移<乳房内投与> ($\mu\text{g eq/kg}$)

組織	投与方法	用量 (mg)	投与後時間 (時間)			
			12	24	36	48
腎臓	乳房内	45 (3 回)	936	519	201	276
肝臓			316	297	299	344
筋肉			58	41	16	41
脂肪			51	15	6	14

泌乳牛を用いたクラブラン酸の乳房内投与 (125 mg/分房、全分房) 及び 5 日間筋肉内投与 (1.75 mg/kg 体重/日) 試験が実施され、経時的な乳汁中クラブラン酸濃度が微生物学的定量法によって検査された。

結果は表 3 に示すとおりで、乳汁中のクラブラン酸濃度は、乳房内投与では投与 72 時間後、筋肉内投与では投与 24 時間後において、検出限界 (0.004 $\mu\text{g/mL}$) 未滿となった。(参照 2、3)

表 3 泌乳牛の乳汁中クラブラン酸濃度の推移<乳房内投与>

(微生物学的定量法) ($\mu\text{g/mL}$)

投与方法	用量	最終投与後時間					
		8	24	32	48	56	72
乳房内	125 mg/分房 全分房投与	30	3.5	0.86	0.07	0.02	<0.004
筋肉内	1.75 mg/kg 体 重/日 (5 日間)	0.02 ~ 0.04	<0.004				

検出限界 : 0.004 $\mu\text{g/mL}$

泌乳牛 (4 頭) を用いた ^{14}C -標識クラブラン酸の乳房内投与 (45 mg/分房、12 時間毎 3 回) 試験が実施された。

1、2、3 及び 4 回目の搾乳における乳汁中 ^{14}C 総残留最高濃度はそれぞれ 11.4、0.937、0.192 及び 0.119 $\mu\text{g eq/g}$ であった。クラブラン酸及び代謝物 A は 1~3 回目の搾乳時に検出され、それぞれ ^{14}C 総放射活性の 41~33 % 及び 45~23 % であった。この結果から、クラブラン酸は、乳汁中の残留マーカールになりうると考えられた。(参照 3)

②子牛

子牛（4頭）を用いた ^{14}C -標識クラブラン酸の筋肉内投与（1.7 mg/kg 体重、5回）による組織中残留試験が実施された。各組織中の放射活性の推移を表 4 に示した。（参照 3）

表 4 子牛の各組織中クラブラン酸濃度の推移＜筋肉内投与＞（ $\mu\text{g eq/kg}$ ）

組織	投与方法	用量 (mg/kg 体重)	最終投与後時間（時間）			
			8	24	32	48
腎臓	筋肉内	1.7 (5回)	5,910	4,660		
肝臓			2,480	1,910		
筋肉			619	264		
脂肪			283	180		
注射部位			16,300	4,060	1,960	3,420

子牛（4頭）を用いた ^{14}C -クラブラン酸の 6 日間経口投与（3.1～3.4 mg/kg 体重/日）試験が実施された。各組織中の放射活性の推移を表 5 に示した。（参照 3）

表 5 子牛の各組織中クラブラン酸濃度の推移＜経口投与＞（ $\mu\text{g eq/kg}$ ）

組織	投与方法	用量 (mg/kg 体重)	最終投与後時間（時間）	
			8	24
腎臓	経口	3.1～3.4 (6日間)	10,900	12,600
肝臓			5,400	6,770
筋肉			1,310	1,430
脂肪			3,140	1,810

子牛を用いたクラブラン酸の 3 日間経口投与（8 mg/kg 体重/日）試験が実施され、最終投与 3 日後以降にと殺し、各組織を微生物学的定量法（検出限界：10 $\mu\text{g/kg}$ ）により検査した。また、肥育子牛を用いた 5 日間筋肉内投与（1.75 mg/kg 体重/日）試験が実施され、投与 10 日後以降に、注射部位も含めて各組織を微生物学的定量法により検査した。

これらの試験では、検出可能な残留は認められなかった。（参照 2、3）

（6）残留試験（豚）

豚（4頭）を用いた ^{14}C -標識クラブラン酸の単回筋肉内投与（1.5～1.8 mg/kg 体重）試験が実施された。各組織中の放射活性濃度の推移を表 6 に示した。（参照 3）

表 6 豚の各組織中クラブラン酸濃度の推移<筋肉内投与> (µg eq/kg)

組織	投与方法	用量 (mg/kg)	投与後時間 (時間)			
			8	24	32	48
腎臓	筋肉	1.5~1.8 (単回)	3,110	1,940		
肝臓			2,160	1,870		
筋肉			390	310		
脂肪+皮膚			462	361		
注射部位			1,520	926	656	796

豚を用いたクラブラン酸の 5 日間筋肉内投与 (1.75 mg/kg 体重/日) 試験が実施され、それぞれ投与 7 日後以降に、注射部位も含めて各組織を微生物学的定量法 (検出限界: 10 µg/kg) により検査した。

本試験では、検出可能な残留は認められなかった。(参照 2、3)

(7) 残留試験 (羊)

泌乳羊を用いたクラブラン酸の 5 日間筋肉内投与 (1.75 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。

最終投与 8 時間後の乳汁中に 0.02 µg/mL の残留が認められたが、24 時間後には検出されなかった。(参照 2、3)

羊を用いたクラブラン酸の 5 日間筋肉内投与 (1.75 mg/kg 体重) 試験が実施され、投与 14 日後以降に、注射部位も含めて各組織を微生物学的定量法 (検出限界: 10 µg/kg) により検査した。

本試験では、検出可能な残留は認められなかった。(参照 2、3)

(8) 配合剤を用いた残留試験 (牛及び豚)

①クラブラン酸/アモキシシリン/プレドニゾン配合剤を用いた残留試験 (牛)

乳牛 (20 頭) を用いた非放射標識クラブラン酸/アモキシシリン/プレドニゾン配合剤の 3 日間乳房内投与 (1 シリンジ (クラブラン酸 50 mg) /分房、1 日 2 回) 試験が実施され、クラブラン酸の組織中濃度が HPLC を用いて測定された。

その結果、腎臓試料 1 例において、投与 48 時間後に 258 µg/kg の濃度が認められた。その他の組織については、クラブラン酸残留濃度は、投与 12 時間後以降にはそれぞれの定量限界 (50~200 µg/kg) 未満となった。(参照 3)

泌乳牛 (フリージアン種、7 頭) を用いたクラブラン酸/アモキシシリン/プレドニゾン配合剤の乳房内投与 (クラブラン酸 125 mg/分房、全分房、24

時間毎 2 回、総計：クラブラン酸として 1,000 mg/頭）試験が実施され、血清及び組織中残留について検査された。血清は投与前及び最終投与 74 時間後に採取、分析された（検出限界：0.004 µg/mL）。最終投与 7 及び 14 日後にそれぞれ 3 頭ずつと殺され、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪及び乳房中のクラブラン酸について分析された（検出限界：10 µg/kg）。

血清中クラブラン酸は 7 頭のうち 4 頭からは検出されなかったが、他の 3 頭では最終投与 0.5～25 時間後に 0.005～0.04 µg/mL が検出された。バルク乳からは、最終投与 96 時間後まで検出された。投与 7 及び 14 日後にはいずれの組織にも残留は認められなかった。（参照 4）

泌乳牛（8 頭）を用いた前述の試験と同じ製剤の乳房内投与（クラブラン酸 125 mg/分房、12 時間毎 3 回、全分房、総計：クラブラン酸として 1,500 mg/頭）試験が実施され、投与 4 及び 7 日後（各 4 頭）におけるクラブラン酸の組織中残留について検査された（定量限界：10 µg/kg）。

試験期間中においてどの被験動物にも、疼痛、腫脹等の異常所見は認められなかった。クラブラン酸は、いずれの時点においても、どの組織からも検出されなかった。（参照 4）

泌乳牛（8 頭）を用いたクラブラン酸/アモキシシリン/プレドニゾロン配合剤の乳房内投与（50 mg/分房、12 時間毎 3 回）による乳汁中の残留試験が実施された。

クラブラン酸濃度は最終投与 36 時間後（3 回目搾乳時）まで測定可能であった。最高濃度は最終投与 12 時間後の 16.7 µg/mL で、24 時間後では 2.14 µg/mL、36 時間後には 0.379 µg/mL であった。最終投与 48 時間後以降は、定量限界（0.05 µg/mL）未満（HPLC により測定。）であった。（参照 3）

泌乳牛（6 頭、平均乳量 18～22 L/日）を用いたクラブラン酸/アモキシシリン/プレドニゾロン配合剤の乳房内投与（クラブラン酸として 125 mg/分房、12 時間毎 3 回 2 分房（右前及び左後））試験が実施された。投与分房のバルク乳、非投与分房の貯乳、4 分房すべてからの貯乳を第 2 回投与 10 時間後及び最終投与後は活性が認められなくなるまですべての搾乳時に採取した。

乳汁中のクラブラン酸濃度は、投与分房では投与 48 時間後までに 0.01 µg/mL 未満に、非投与分房では 34 時間後までに 0.01 µg/mL 以下に、4 分房すべてからの貯乳では投与 48 時間後までに 0.01 µg/mL 未満に低下した。クラブラン酸は最終投与 48 時間後には分房の 58 %、58 時間後にはすべてから検出されなかった（微生物学的定量法により測定、検出限界：0.004 µg/mL）。（参照 4）

②クラブラン酸/アモキシシリン配合剤を用いた残留試験（牛及び豚）

子牛（22 頭）を用いた非放射標識クラブラン酸/アモキシシリン配合剤の 3 日間経口投与（クラブラン酸として 2.5～3.3 mg/kg 体重、1 日 2 回）及び 5 日間乳房内投与（クラブラン酸として 1.75 mg/kg 体重/日）試験、豚（30 頭）を用いた非放射標識クラブラン酸/アモキシシリン配合剤の 5 日間筋肉内投与（クラブラン酸として 1.75 mg/kg 体重/日）試験が実施され、クラブラン酸は HPLC を用いて測定された。

クラブラン酸は非常に早い時点においてのみ、主に子牛の腎臓（経口投与、8 時間後 356 µg/kg）及び豚の筋肉内注射部位（6 時間後 153 µg/kg）で検出された。調査対象の子牛及び豚のいずれの組織においても、投与 12 時間後以降にはそれぞれの定量限界（50～200 µg/kg）未満となった。（参照 3）

泌乳牛（フリージアン種、3.5～10 歳齢、5 頭；低泌乳牛（12 L/日）1 頭・低/中泌乳牛（15.7～18.7 L/日）3 頭・中泌乳牛（22.8 L/日）1 頭）を用いたクラブラン酸/アモキシシリン配合剤（クラブラン酸 50 mg/シリンジ（3 g））の乳房内投与（全分房に投与、12 時間毎 3 回、総計：クラブラン酸として 0.6 g/頭）試験が実施された。最終投与 7 日後に被験動物はと殺され、試料（筋肉、肝臓、腎臓、脂肪（腎臓周囲））が採取され、クラブラン酸は HPLC を用いて測定された。

最終投与 7 日後の可食部組織におけるクラブラン酸の残留は、すべての組織において定量限界（5 µg/kg）未満となった。（参照 5）

泌乳牛を用いたクラブラン酸/アモキシシリン配合剤の乳房内投与試験では、乳汁中のクラブラン酸最高濃度は 12 時間後の 11.9 µg/mL で、24 時間後では 0.645 µg/mL、36 時間後では 0.058 µg/mL、48 時間後では検出限界（0.018 µg/mL）未満（HPLC により測定。）であり、ブレドニゾロンを含む剤と同じような範囲であった。（参照 3）

泌乳牛（フリージアン種、4～7 歳齢、9 頭）を用いたクラブラン酸/アモキシシリン配合剤（クラブラン酸 50 mg/シリンジ（3g））の乳房内投与（全分房、総計：クラブラン酸として 0.6 g/頭、12 時間毎 3 回）試験が実施された。乳汁試料は投与前、最終投与 0、10、24、34、48、58、72、82、96、106、120、130 及び 144 時間後に採取され、クラブラン酸は HPLC を用いて測定された。

乳房内投与後の乳汁中クラブラン酸濃度を表 7 にまとめた。乳汁中クラブラン酸濃度は、最終投与 58 時間後（5 回目搾乳時）において、<0.01～0.072 µg/g の範囲で、7 回目搾乳時（最終投与 82 時間後）までに定量限界（0.01 µg/g）未満に低下した。（参照 5）

表7 乳汁中クラブラン酸濃度の推移<乳房内投与>

試料採取時間 (最終投与後時間)	クラブラン酸残留 (µg/g)	
	範囲	Mean±SD
10	9.27~35.8	25.4±10.4
24	1.08~5.55	3.02±1.48
34	0.066~4.50	1.19±1.41
48	<0.01~0.679	0.125±0.214
58	<0.01~0.072	0.017±0.021
72	<0.01~0.022	0.011±0.004
82 時間以降	<0.01	<0.01±0

定量限界：0.01 µg/g

2. 急性毒性試験

ラット及びマウスの成獣に対するクラブラン酸の経口急性毒性は弱く、LD₅₀ は 2,000 mg/kg 体重以上であった。しかし、離乳前ラットの単回投与試験での毒性は強く、最低投与量 (125 mg/kg 体重) においても消化管に対する影響や死亡例が認められた。(参照 2、3)

3. 亜急性毒性試験

(1) 28 日間及び 6 ヶ月間亜急性毒性試験 (ラット)²

ラットを用いたクラブラン酸カリウムの 4 週間経口投与 (0、30、90 及び 270 mg/kg 体重/日) 及び 6 ヶ月間経口投与 (0、10、20、50 及び 400 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

クラブラン酸投与による最も感受性の高い影響は、尿量減少、尿浸透圧及び白血球数増加で、NOAEL は 6 ヶ月間経口投与における 20 mg/kg 体重/日であった。この他に、盲腸腫大がより低い用量レベルで観察された。(参照 2、3)

上記の盲腸腫大の観察に関しては、病理組織学的所見が認められたとの報告はなく、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と判断された。

(2) 28 日間及び 6 ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ)²

イヌを用いたクラブラン酸カリウムの 4 週間経口投与 (0、30、90 及び 270 mg/kg 体重/日) 及び 6 ヶ月間経口投与 (0、5、10、20 及び 50 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。

臨床症状 (嘔吐、流涎) 及び肝細胞の水腫性変化が認められ、NOAEL は 6 ヶ月間経口投与試験における 20 mg/kg 体重/日であった。(参照 2、3)

² 用量及び投与期間等については、EMEA に確認して記載した。

(参考) 配合剤の経口投与試験(ラット及びイヌ)

ラット及びイヌを用いたクラブラン酸カリウム及びクラブラン酸/アモキシシリン配合剤 (1:2) の経口毒性試験が数種実施された。全般的には、クラブラン酸/アモキシシリン配合剤の方がクラブラン酸カリウムよりわずかに毒性が強かった。反復投与試験では、クラブラン酸/アモキシシリン配合剤を投与されたラット及びイヌで最低投与量 (それぞれ 30 及び 15 mg/kg 体重/日) においても消化管に刺激が認められ、最も感受性の高い影響はイヌにおける尿細管の空胞化であった (NOAEL 15 mg 活性物質/kg 体重/日 ; クラブラン酸としては 5 mg/kg 体重/日)。しかし、これらの配合剤を用いた試験の結果からは、クラブラン酸の毒性学的影響を考える上でアモキシシリンによる干渉は無視できないため、ADI を設定するために使用することはできなかった。(参照 2、3)

4. 発がん性試験

クラブラン酸は遺伝毒性がないという観点から、発がん性試験は行われていない。(参照 2、3)

5. 生殖発生毒性試験³

EMEA では、クラブラン酸の経口投与による以下の試験において、全身性又は母体毒性をわずかに誘発する用量レベルにおいて、雌の受胎能、胎児の成長及び生存率の中程度の低下が認められたことを考慮し、総合的に判断を行い、NOAEL を 10 mg/kg 体重/日と設定している。(参考資料 2、3)

(1) 1 世代繁殖毒性試験 (ラット)

ラットを用いたクラブラン酸カリウムの強制経口投与 (0、10、50 及び 400 mg/kg 体重/日) による 1 世代繁殖毒性試験が実施された。

投与は、雄では交配前 68 日から F₁ 児の出生直後まで、雌では交配前 14 日から妊娠 19 日又は分娩 21 日後まで行った。F₁ 世代は非投与で交配させ、妊娠 20 日に F₂ 胎児を検査した。

400 mg/kg 体重/日投与群の雄で投与第 2 週から軟便、流涎及び赤褐色尿の発現頻度が増加するとともにわずかな体重増加抑制が認められたが、雌では毒性徴候は認められなかった。

400 mg/kg 体重/日投与群において、黄体数、着床数及び生存胎児数の有意な減少が、50 及び 10 mg/kg 体重/日投与群において、用量依存的な黄体数及び着床数の減少傾向が認められた。400 mg/kg 体重/日投与群において、生後 21 日の F₁ 雌雄児ともに体重がわずかに減少し、雄では離乳後においても体重減少が認められた。F₂ 児では影響は認められなかった。しかしながら、50 mg/kg 体重/日以上投与群に

³ 用量及び投与期間等については、EMEA に確認して記載した。

において、F₁ 母動物のわずかな体重減少が認められた。

本試験の LOAEL は、10 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2、3)

(2) 催奇形性試験 (マウス)

マウスの妊娠 6～15 日にクラブラン酸カリウムを強制経口投与 (0、10、50 及び 400 mg/kg 体重/日) した催奇形性試験では母体及び胎児に対する毒性は認められず、フォローアップ群 (投与方法は上記と同じ) において、F₁ 児の成長及び発育について離乳まで観察し、その後、雌雄各 10 匹/群について非投与で交配させ、妊娠 20 日に F₂ 胎児を検査した。

離乳期及び離乳後の期間を通して、400 mg/kg 体重/日投与群において、雌雄ともに体重がわずかに減少した。全投与群の母動物 (F₁) において黄体数及び着床数の減少が認められたが、明らかな用量依存性は認められなかった。本試験における LOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。

上記と同様の試験がクラブラン酸/アモキシシリン配合剤 (1:2) を用いて実施された。クラブラン酸の投与量は、上記試験と同じであった。

母体毒性は認められなかった。投与に関連する唯一の所見は、400 mg/kg 体重/日投与群の F₁ 雌における着床前及び着床後胚死亡のわずかな増加であった。(参照 2、3)

(3) 催奇形性試験 (ラット)

ラットの妊娠 6～15 日にクラブラン酸カリウムを強制経口投与 (0、10、50 及び 400 mg/kg 体重/日) して催奇形性試験が実施された。

母動物では、400 mg/kg 体重/日投与群において、投与期間中の体重増加抑制及び摂餌量の減少、脱毛及び軟便の発生頻度の増加が認められた。妊娠 20 日の着床所見及び胎児に投与に関連する異常は認められなかった。

フォローアップ群 (投与方法は上記と同じ。) において、F₁ 児の成長及び発育について離乳まで観察し、その後、雌雄 10 匹/群について、非投与で交配させ、妊娠 20 日に F₂ 胎児を検査した。F₁ 世代では、全投与群の雌雄ともに、離乳時の体重が有意に減少したが、明らかな用量依存性は認められなかった。50 mg/kg 体重/日以上投与群において、出生後の死亡率のわずかな増加が認められた。

本試験における LOAEL は 10 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2、3)

(4) 周産期及び授乳期投与試験 (ラット)

ラットの妊娠 15 日から出産 21 日後にクラブラン酸カリウムを強制経口投与 (0、10、50 及び 400 mg/kg 体重/日) して周産期及び授乳期投与試験が実施された。F₁ 児は非投与で交配し、妊娠 20 日に F₂ 胎児について検査した。

母動物については、50 mg/kg 体重/日以上投与群において、投与 3～5 日後に体

重増加抑制及び摂餌量の減少が、400 mg/kg 体重/日投与群で脱毛の発現率の増加が認められた。児動物については、400 mg/kg 体重/日投与群において、出生時及び離乳時の体重減少が雌雄ともに認められた。

F₁ 世代の交尾行動及び F₂ 世代に影響は認められなかった。

本試験の NOAEL は、母動物で 10 mg/kg 体重/日、児動物で 50 mg/kg 体重/日と考えられた。(参照 2、3)

6. 遺伝毒性試験⁴

遺伝毒性に関する各種の *in vitro* 及び *in vivo* の試験結果を表 8 及び 9 にまとめた。(参照 2、3)

表 8 *in vitro* 試験

試験系	試験対象	用量	結果
復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100、TA98	5～50 µg/plate クラブラン酸カリウム (±S9)	陰性
		0.5～30 µg/plate クラブラン酸：アモキシシリン (1:2) (±S9)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA1535、TA1537、 TA1538 <i>Escherichia coli</i> WP2	100～350 µg/plate クラブラン酸カリウム(±S9)	陰性
		6～11 µg/plate クラブラン酸：アモキシシリン (1:2) (±S9)	陰性
遺伝子変換試験	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0、1,000、3,000、9,000 µg/ml クラブラン酸：アモキシシリン (1:4)	陰性
前進突然変異試験	マウスリンパ腫細胞 (L5178Y)	0、2,000、4,000、6,000、8,000、9,000 µg/ml クラブラン酸：アモキシシリン (1:4) (±S9)	陽性 ¹⁾
		600、1,200、1,800、2,400、3,600、 4,400 µg/ml クラブラン酸：アモキシシリン (1:4) (-S9)	陽性

1)：突然変異率の有意な増加は、S9 非存在下で認められ、S9 存在下ではより低い

⁴ 用量、試験対象等については、EMEA に確認して記載した。

程度で認められた。S9 存在下では 4,000 $\mu\text{g/mL}$ 、S9 非存在下では 8,000 $\mu\text{g/mL}$ の用量で陽性となり、細胞毒性も同時に認められた。

表 9 *in vivo* 試験

試験系	試験対象	用量	結果
優性致死試験	マウス	0、500、1,500 mg/kg 体重 クラブラン酸カリウム 単回強制経口投与	陰性
優性致死試験	マウス	0、1,500、4,500 mg/kg 体重 クラブラン酸：アモキシシリン(1:4) 単回強制経口投与	陰性
小核試験	マウス	0、750、1,500、3,000 mg/kg 体重 クラブラン酸カリウム 単回強制経口投与	陰性
小核試験	マウス	0、800、3,200 mg/kg 体重 クラブラン酸：アモキシシリン(1:4) 強制経口投与（試料採取 24 及び 48 時間前の 2 回）	陰性
小核試験	マウス	～9,000 mg/kg 体重 経口投与	陰性

上記のように、*in vitro* の前進突然変異試験では細胞毒性が見られる高用量において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遺伝子変換試験、*in vivo* の優性致死試験及び小核試験では陰性であり、クラブラン酸は生体にとって問題となる遺伝毒性はないものと考えられた。

7. 微生物学的影響に関する試験

ヒトの腸内細菌由来の細菌（約 100 株）の MIC について調査された。MIC₅₀ は、表 10 に示すとおりであった。（参照 3）

表 10 主要なヒト腸内細菌の MIC₅₀

菌種	MIC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Eubacterium</i>	128
<i>Proteus</i>	32
<i>Escherichia</i>	32
<i>Lactobacillus</i>	32

<i>Peptostreptococcus</i>	8
<i>Enterococcus</i>	512
<i>Bifidobacterium</i>	12
<i>Bacteroides</i>	8
<i>Clostridium</i>	8
<i>Fusobacterium</i>	2

8. その他

(1) 皮膚感作試験 (モルモット)

Magnusson - Kligman 法による試験を実施した結果、クラブラン酸はモルモットに対して皮膚感作性は示さなかった。(参照 2、3)

(2) 皮下投与試験 (ウサギ)

ウサギにクラブラン酸/アモキシシリン配合剤を皮下投与 (クラブラン酸として 25.5 mg 以上) したところ、抗体価がわずかに低下した。(参照 2、3)

(3) ヒトにおける知見

クラブラン酸/アモキシシリンの配合剤はヒトの医薬品として長年の間広く用いられてきた。動物用医薬品としては、クラブラン酸だけを使用するのではなく、必ずアモキシシリンと併用する。したがって、クラブラン酸の影響とアモキシシリンの影響とを区別するのは容易ではない。ヒトの患者では、250～875 mg のアモキシシリンと 125 mg のクラブラン酸の経口用錠剤が使用される。過敏症と副作用 (ほとんどが消化管) が他の β -ラクタム系物質と同様の割合及び重篤度で生じると報告されている。

ヒトボランティア (男性) の投与試験 (経口 125 mg/ヒト; 通常のヒトの抗菌剤治療に用いられるクラブラン酸用量) により、クラブラン酸を直接投与した場合のデータが得られている。多くの臨床薬理学的パラメータについて検討した結果、血行動態 (脈拍、血圧)、血液学的所見、臨床化学的所見及び尿所見に関して薬理学的変化は認められなかった。(参照 2、3)

III. 食品健康影響評価

1. EMEA における評価

EMEA では、ラット及びマウスの生殖発生毒性試験において得られた NOEL 10 mg/kg 体重/日をもとに、この投与量で認められたラット及びマウスの繁殖能への影響を考慮して、安全係数 200 を適用し、ADI は 0.05 mg/kg 体重/日と設定した。(参照 2、3)

微生物学的評価については、CVMP の算出式に基づき、*in vitro* の MIC₅₀ の値を用いて微生物学的 ADI を算出している。検査した全ての属の MIC₅₀ の幾何平均の 10 % 信頼限界の下限值として 8.84 µg/mL、1 日糞便量として 150 mL、微生物が利用可能な経口用量の分画として 10 %、ヒト体重に 60 kg を適用して次式により算出された。
(参照 3)

$$\text{微生物学的 ADI(mg/kg 体重/日)} = \frac{0.00884 \times 2^{*1}}{0.1^{*3} \times 60} \times 150 = 0.0884 \text{ mg/kg 体重/日}$$

- *1: 生体への換算係数：細菌濃度の増加に伴い MIC 値が上昇すること及びクラブラン酸の擬似消化管通過後において MIC 値が有意に上昇することから 2 とする。
- *2: クラブラン酸により阻害を受けない染色体及びプラスミド性の β-ラクタマーゼが存在することから 5 とする。
- *3: 微生物が利用可能な経口用量の分画：ヒトにおける ¹⁴C-標識クラブラン酸の経口投与試験のデータから 0.1 とする。

毒性学的 ADI (0.05 mg/kg 体重/日) は微生物学的 ADI (0.09 mg/kg 体重/日) に比べると小さい値であることから、毒性学的 ADI が消費者のリスクを評価するための ADI として適切であるとされた。(参照 3)

2. ADI の設定について

クラブラン酸は、発がん性試験は実施されていないが、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられることから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、ADI を設定することが可能であると判断された。

毒性試験において、最も用量の低いところで投与の影響が認められたと考えられる指標は、ラットの 1 世代繁殖毒性試験及びマウスの催奇形性試験における黄体数及び着床数の減少並びにラットの催奇形性試験における F₁ 児動物の離乳時の体重の減少であり、LOAEL は 10 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI の設定に当たっては、この LOAEL に安全係数として、種差 10、個体差 10、LOAEL を用いること並びに慢性毒性試験及び発がん性試験が実施されていないことによる追加の 10 の 1,000 を適用することが適当と考えられた。

したがって、クラブラン酸の毒性学的 ADI としては、LOAEL 10 mg/kg 体重/日に安全係数 1,000 を適用し、0.01 mg/kg 体重/日と設定することが適当と考えられた。

なお、この値は、EMEA において算出された微生物学的 ADI 0.09 mg/kg 体重/日より十分小さい値である。

3. 食品健康影響評価について

以上より、クラブラン酸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であると考えられる。

クラブラン酸 0.01 mg/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。

表 11 EMEA における各試験の無毒性量

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量等 (mg/kg 体重/日)
マウス	催奇形性試験	0、10、50、400 (経口投与)	10 母体毒性及び胎児毒性
ラット	1 世代繁殖試験	0、10、50、400 (経口投与)	
	催奇形性試験	0、10、50、400 (経口投与)	
	周産期及び授乳 期投与試験	0、10、50、400 (経口投与)	—
	28 日間亜急性 毒性試験	0、30、90、270 (経口投与)	
	6 ヶ月間亜急性 毒性試験	0、10、20、50、400 (経口投与)	
イヌ	28 日間亜急性 毒性試験	0、30、90、270 (経口投与)	—
	6 ヶ月間亜急性 毒性試験	0、10、20、50、400 (経口投与)	20 嘔吐、流涎及び肝細胞の水腫性変化
毒性学的 ADI		0.05 mg/kg 体重/日 SF: 200 (この用量で認められたマウス及びラットの繁殖能への影響を考慮)	
毒性学的 ADI 設定根拠資料		マウス及びラットの生殖発生毒性試験 10 mg/kg 体重/日	
微生物学的 ADI		0.09 mg/kg 体重/日	
微生物学的 ADI 設定根拠資料		ヒト腸内細菌由来菌 10 属の幾何平均 MIC ₅₀ 8.84 µg/mL (CVMP の算出式)	
ADI		0.05 mg/kg 体重/日	

<別紙 1 : 検査値等略称>

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
C _{max}	最高濃度
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品庁
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
MIC	最小発育阻止濃度
NOAEL	無毒性量
NOEL	無作用量
T _{1/2}	消失半減期
TLC	薄層クロマトグラフィー
T _{max}	最高濃度到達時間

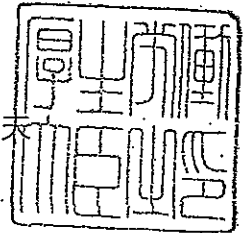
厚生労働省発食安0519第2号

平成23年5月19日

薬事・食品衛生審議会

会長 望月正隆 殿

厚生労働大臣 細川 律夫



諮問書

食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づき、
下記の事項について、貴会の意見を求めます。

記

次に掲げる動物用医薬品の食品中の残留基準設定について

プリフィニウム

平成23年6月7日

薬事・食品衛生審議会

食品衛生分科会長 岸 玲子 殿

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会長 大野 泰雄

薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会

農薬・動物用医薬品部会報告について

平成23年5月19日付け厚生労働省発食安0519第2号をもって諮問された、食品衛生法（昭和22年法律第233号）第11条第1項の規定に基づくプリフィニウムに係る食品規格（食品中の動物用医薬品の残留基準）の設定について、当部会で審議を行った結果を別添のとおり取りまとめたので、これを報告する。

(別添)

プリフィニウム

今般の残留基準の検討については、食品中の動物用医薬品等のポジティブリスト制度導入時に新たに設定された基準値（いわゆる暫定基準）の見直しについて、食品安全委員会において食品健康影響評価がなされたことを踏まえ、農薬・動物用医薬品部会において審議を行い、以下の報告をとりまとめるものである。

1. 概要

(1) 品目名：プリフィニウム [Prifinium]

(2) 用途：牛/消化器や尿路系の鎮痙作用等

プリフィニウムは、アトロピン様の副交感神経遮断作用を示す薬剤であり、消化管及び尿路系で鎮痙作用（平滑筋弛緩作用）を示す。

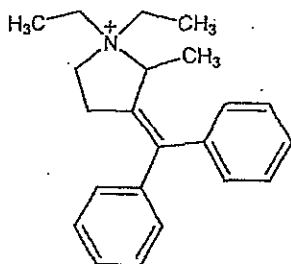
日本では、臭化プリフィニウムが牛の消化器疾患及び尿石症に伴う胃腸管、尿路の緊張・痙攣及び疼痛の緩解等を効能・効果とする動物用医薬品として承認されている。また、ヒト用医薬品としても国内外で承認されている。

(3) 化学名：

3-benzhydrylidene-1,1-diethyl-2-methylpyrrolidin-1-ium (IUPAC)

3-(diphenylmethylene)-1,1-diethyl-2-methylpyrrolidinium (CAS)

(4) 構造式及び物性



分子式： $C_{22}H_{28}N^+$

分子量：306.473

(5) 適用方法及び用量

国内でのプリフィニウム（臭化プリフィニウムとして）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		休薬期間
牛	0.1～0.2mg/kg 体重を単回静脈投与	21 日

2. 対象動物における残留試験

(1) 分析の概要

① 分析対象の化合物：臭化プリフィニウム

② 分析法の概要

筋肉、肝臓、心臓及び腎臓は、試料に内標準物質を加え、0.5%メタリン酸ナトリウム・メタノール（3：7）混液で抽出する。脂肪は、試料に内標準物質を加え、70℃に加温しながらアセトニトリルで抽出し、アセトニトリル/ヘキサン分配する。乳は、試料に内部標準物質を加え、エタノールで希釈して遠心分離し上澄液を得る。C₁₈カラムを用いて精製し臭化カリウム等を加えて溶解した後、クロロホルムに転溶し、高速液体クロマトグラフ（UV）で定量する。なお、検量線は、各試料に標準溶液を添加して、同様に操作して調製する。

定量限界：筋肉、肝臓、心臓、腎臓及び乳 0.05ppm

脂肪 0.03ppm

(2) 残留試験結果

(単位：ppm)

対象動物	投与量	投与後時間	試験対象	残留濃度	定量限界
牛	0.2mg/kg 体重を単回静脈投与	21 日	筋肉	<LOQ	0.05
			脂肪	<LOQ	0.03
			肝臓	<LOQ	0.05
			腎臓	<LOQ	0.05
			心臓	<LOQ	0.05
泌乳牛	0.2mg/kg 体重を単回静脈投与	0 日	乳	<LOQ	0.05

3. 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、食品安全委員会あて意見を求めたプリフィニウムに係る食品健康影響評価について、以下のとおり示されている。

最小毒性量：4 mg/kg 体重/日（臭化プリフィニウムとして 5mg/kg 体重/日）

（動物種） イヌ

（投与方法） 経口投与

（試験の種類） 亜急性毒性試験

（期間） 1 ヶ月間

安全係数：1,000

ADI : 0.004 mg/kg 体重/日

4. 諸外国の状況

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。

米国、EU、豪州、カナダ及びニュージーランドを調査した結果、いずれの国においても残留基準は設定されていない。

5. 基準値案

(1) 残留の規制対象

プリフィニウムとする。

実験動物を利用した代謝試験の結果、臭化プリフィニウムはほとんど代謝されず排泄されており、また、動物体内においてはプリフィニウムとして存在していると考えられることから、残留の規制対象はプリフィニウムとすることとした。

(2) 基準値案

別紙1のとおりである。

(3) 暴露評価

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	3.1
幼小児(1～6歳)	13.1
妊婦	3.7
高齢者(65歳以上)*	3.0

* 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)

プリフィニウム

食品名	基準値(案) *2	基準値現行	薬事法
	ppm	ppm	ppm
牛の筋肉	0.04	0.05	0.05
牛の脂肪	0.02	0.03	0.03
牛の肝臓	0.04	0.05	0.05
牛の腎臓	0.04	0.05	0.05
牛の食用部分*1	0.04	0.05	0.05
乳	0.04	0.05	0.05

平成17年11月29日厚生労働省告示499号において新しく設定した基準値については、網をつけて示した。

*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う。

*2：残留試験では、臭化プリフィニウムの量が測定されているため、換算係数0.8 (306.47/386.37) を乗じてプリフィニウムに換算した値を基準値案とした。

(別紙2)

ブリフィニウムの推定摂取量 (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	0.04	0.8 ^{*2}	0.4 ^{*2}	0.8 ^{*2}	0.8 ^{*2}
牛の脂肪	0.02				
牛の肝臓	0.04	0.0	0.0	0.0 ^{*3}	0.0
牛の腎臓	0.04	0.0	0.0	0.0	0.0
牛の食用部位 ^{*1}	0.04	0.0	0.0	0.0	0.0
乳	0.04	5.7	7.9	7.3	5.7
計		6.5	8.3	8.1	6.5
ADI 比 (%)		3.1	13.1	3.7	3.0

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

*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う。

*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。

(参考)

これまでの経緯

平成17年11月29日	残留基準告示
平成21年3月10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23年4月7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23年5月19日	薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会へ諮問
平成23年5月24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]

石井 里枝	埼玉県衛生研究所水・食品担当専門研究員
○大野 泰雄	国立医薬品食品衛生研究所長
尾崎 博	東京大学大学院農学生命科学研究科教授
斉藤 貢一	星薬科大学薬品分析化学教室准教授
佐藤 清	財団法人残留農薬研究所理事・化学部長
高橋 美幸	農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究所上席研究官
永山 敏廣	東京都健康安全研究センター食品化学部長
廣野 育生	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授
松田 りえ子	国立医薬品食品衛生研究所食品部長
宮井 俊一	社団法人日本植物防疫協会技術顧問
山内 明子	日本生活協同組合連合会執行役員組織推進本部長
由田 克士	大阪市立大学大学院生活科学研究科公衆栄養学教授
吉成 浩一	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准教授
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)

プリフィニウム

食品名	残留基準値 ppm
牛の筋肉	0.04
牛の脂肪	0.02
牛の肝臓	0.04
牛の腎臓	0.04
牛の食用部位*	0.04
乳	0.04

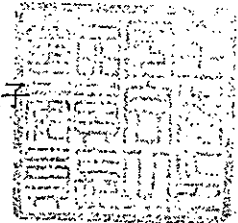
*：食用部分とは、食用に供される部分のうち、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓以外の部分をいう。



府食第292号
平成23年4月7日

厚生労働大臣
細川 律夫 殿

食品安全委員会
委員長 小泉 直子



食品健康影響評価の結果の通知について

平成21年3月10日付け厚生労働省発食安第0310006号をもって貴省から当委員会に意見を求められたプリフィニウムに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

プリフィニウムの一日摂取許容量を0.004 mg/kg 体重/日とする。

動物用医薬品評価書

プリフィニウム

2011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
○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	5
II. 安全性に係る知見の概要	6
1. 薬物動態（吸収・分布・代謝・排泄）及び残留試験	6
(1) 薬物動態試験（ラット・イヌ）	6
(2) 薬物動態試験（牛）	7
(3) 薬物動態試験（ヒト）	7
(4) 残留試験（牛）	8
(5) 残留試験（乳汁）	9
2. 急性毒性試験	10
3. 亜急性毒性試験	10
(1) 1ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	10
(2) 3ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	11
(3) 6ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）	11
(4) 1ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）	11
(参考1) 3ヶ月及び6ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ、皮下投与）	12
(参考2) 1ヶ月間亜急性毒性試験（ウサギ、静脈内投与）	12
4. 慢性毒性及び発がん性試験	12
5. 生殖発生毒性試験	13
(1) 催奇形性試験（マウス）	13
(2) 催奇形性試験（ラット）	13
(参考1) 催奇形性試験（マウス、皮下投与）	13
(参考2) 催奇形性試験（ウサギ、静脈内投与）	14
6. 遺伝毒性試験	14
7. 一般薬理試験	14
(1) 中枢神経系に及ぼす影響	14

(2) 末梢神経系に及ぼす影響	15
(3) 循環器系・呼吸器系に及ぼす影響	15
(4) 平滑筋に及ぼす影響	15
(5) 生体消化管運動に対する影響	16
(6) 消化管輸送能に対する影響	16
(7) 胃液分泌に対する影響	16
(8) 胃粘膜に対する影響	16
(9) 散瞳及び口渴	17
(10) 唾液分泌に対する影響	17
(11) 膀胱収縮に対する影響	17
(12) 角膜反射、散瞳及び局所刺激作用	17
Ⅲ. 食品健康影響評価	18
・ 別紙 1 検査値等略称	19
・ 参照	20

〈審議の経緯〉

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照1）
 2009年 3月 10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0310006号）、関係資料の接受
 2009年 3月 12日 第277回食品安全委員会（要請事項説明）
 2010年 9月 10日 第128回動物用医薬品専門調査会
 2011年 2月 3日 第365回食品安全委員会（報告）
 2011年 2月 3日より3月4日 国民からのご意見・情報の募集
 2011年 3月 15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
 2011年 4月 7日 第377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〉

(2009年6月30日まで)	(2011年1月6日まで)	(2011年1月7日から)
見上 彪（委員長）	小泉 直子（委員長）	小泉 直子（委員長）
小泉 直子（委員長代理）	見上 彪（委員長代理*）	熊谷 進（委員長代理*）
長尾 拓	長尾 拓	長尾 拓
野村 一正	野村 一正	野村 一正
畑江 敬子	畑江 敬子	畑江 敬子
廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄	廣瀬 雅雄
本間 清一	村田 容常	村田 容常

* : 2009年7月9日から * : 2011年1月13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〉

(2009年9月30日まで)	(2010年3月31日まで)	(2010年4月1日から)
三森 国敏（座長）	三森 国敏（座長）	三森 国敏（座長）
井上 松久（座長代理）	寺本 昭二（座長代理）	寺本 昭二（座長代理）
青木 宙 寺本 昭二	石川 さと子 能美 健彦	石川 さと子 福所 秋雄
今井 俊夫 頭金 正博	石川 整 舞田 正志	石川 整 舞田 正志
今田 由美子 戸塚 恭一	小川 久美子 松尾 三郎	小川 久美子 松尾 三郎
江馬 眞 中村 政幸	寺岡 宏樹 山口 成夫	寺岡 宏樹 山口 成夫
小川 久美子 能美 健彦	天間 恭介 山崎 浩史	天間 恭介 山崎 浩史
下位 香代子 山崎 浩史	頭金 正博 山手 丈至	頭金 正博 山手 丈至
津田 修治 吉田 緑	中村 政幸 渡邊 敏明	能美 健彦 渡邊 敏明
寺岡 宏樹		

要 約

自律神経剤である「プリフィニウム (CAS No. 10236-81-4)」について、動物用医薬品承認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。

評価に用いた試験成績は、薬物動態試験 (ラット、イヌ、牛及びヒト)、残留試験 (牛)、急性毒性試験 (マウス、ラット及びイヌ)、亜急性毒性試験 (ラット及びイヌ)、催奇形性試験 (マウス及びラット)、遺伝毒性試験、一般薬理試験等の成績である。各種試験は、臭化プリフィニウムを用いて実施されている。

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていないが、臭化プリフィニウムは、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられ、追加の安全係数を加えることによって ADI を設定することが可能であると判断された。

二世世代繁殖毒性試験は実施されていないが、催奇形性試験において胎児に奇形の発生率の増加は認められていない。

各種動物における毒性試験の結果、最も低い用量で認められた毒性影響は、イヌを用いた 1 ヶ月間亜急性毒性試験における散瞳及び口渇であり、LOAEL はプリフィニウムとして 4 mg/kg 体重/日 (臭化プリフィニウムとして 5 mg/kg 体重/日) であった。

この LOAEL に、安全係数として、種差 10 及び個体差 10 に加えて、慢性毒性試験、発がん性試験及び二世世代繁殖毒性試験が実施されていないこと、ADI 設定の根拠となるイヌの 1 ヶ月間亜急性毒性試験において対照群が設定されていないこと並びに NOAEL ではなく LOAEL を用いることを考慮した追加の係数 10 の 1,000 を適用し、プリフィニウムの ADI を 0.004 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

自律神経剤

2. 有効成分の一般名

和名：プリフィニウム

英名：Prifinium

3. 化学名

IUPAC

英名：3-benzhydrylidene-1,1-diethyl-2-methylpyrrolidin-1-ium

CAS (No. 10236-81-4)

英名：3-(Diphenylmethylene)- 1,1-diethyl-2-methylpyrrolidinium

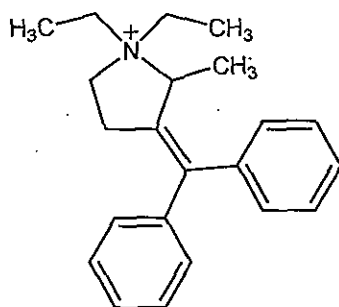
4. 分子式

$C_{22}H_{28}N^+$

5. 分子量

306.473

6. 構造式



7. 使用目的及び使用状況

プリフィニウムは、消化器や尿路系の鎮痙作用等、末梢での副交感神経抑制作用を示すアトロピン様の副交感神経遮断剤で、臭化物塩が使用されている。

日本では、牛の消化器疾患に伴う胃腸管の緊張・痙攣、運動機能亢進及び疼痛の緩解、尿石症に伴う尿路の緊張・痙攣及び疼痛の緩解等を効能・効果とする動物用医薬品が承認されている。用法・用量は、臭化プリフィニウムとして0.1~0.2 mg/kg 体重を1回静脈内に投与するとされている。また、胃腸管の痙攣、運動機能亢進等を適応とするヒト用医薬品（注射剤）が承認されている。（参照 2~4）

外国では、動物用医薬品としての承認はないが、ヒト用医薬品として使用されている。（参照 5）

なお、ポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値¹が設定されている。基準値はプリフィニウムとして設定されているが、各種試験は臭化プリフィニウムを用いて実施されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書は、動物用医薬品承認申請時の添付資料等をもとに、毒性に関する主な知見を整理したものである。(参照 2~7)

1. 薬物動態（吸収・分布・代謝・排泄）及び残留試験

(1) 薬物動態試験（ラット・イヌ）（参照 2,6）

ラットを用いて ¹⁴C 標識臭化プリフィニウムの皮下投与（0.1 及び 0.5 mg/kg 体重）及び経口投与（5 mg/kg 体重）による薬物動態試験を実施した。

各投与における尿中及び胆汁中排泄率を表 1 に示した。皮下投与では、胆汁中への排泄率は尿中に比べて高かった。経口投与においても胆汁中排泄率が尿中排泄率より高く、尿中排泄率は皮下投与に比べて非常に低かった。

代謝物について皮下投与後 48 時間の尿中及び胆汁中を調べたところ、いずれにおいても臭化プリフィニウムのみが検出された。

投与 24 時間後の体内分布については、経口投与では、投与した放射活性の 89 % 以上が消化管に存在し、これに肝臓及び胆汁中への排泄量を合わせると、約 98 % を占めた。一方、皮下投与では、胆汁、尿、消化管、投与部位、肝臓及び腎臓の順に多く分布していた。

イヌを用いて ¹⁴C 標識臭化プリフィニウムの皮下投与（0.1 mg/kg 体重）、静脈内投与（0.1 mg/kg 体重）及び経口投与（1 mg/kg 体重）による薬物動態試験を実施した。

各投与経路における尿中及び胆汁中排泄率を表 1 に示した。皮下投与では、胆汁中への排泄率は尿中に比べて低かった。静脈内投与では、逆に胆汁中への排泄率が尿中に比べて高かった。経口投与では、尿中及び胆汁中排泄率はほぼ同等であった。しかし、両排泄率は皮下及び静脈内投与より非常に低かった。

また、代謝物について皮下投与後 10 時間の尿中及び胆汁中を調べたところ、排泄される放射活性の大部分は臭化プリフィニウムに由来するもので、代謝物は痕跡程度に認められるに過ぎなかった。

臭化プリフィニウムの血中濃度は、静脈内投与では、投与後速やかに低下した。また、皮下投与では、血中濃度は投与 24 時間後までは経時的な減衰を示さず、250~500 dpm/mL の範囲で変動した。経口投与では、血中に放射活性は検出されなかった。

¹ 平成 17 年厚生労働省告示第 499 号によって新たに定められた残留基準値（参照 1）

表 1 ラット及びイヌにおける臭化プリフィニウムの尿中及び胆汁中排泄率 (%)

動物種	ラット			イヌ		
投与方法	皮下投与		経口投与	皮下投与	静脈内投与	経口投与
投与量 (mg/kg 体重)	0.1	0.5	5.0	0.1	0.1	1.0
動物数 (匹)	4	4	4	3	3	5
投与後時間 (時間)	0~48	0~32	0~48	0~24	0~8	0~32
尿中排泄率 (%)	9.7	12.5	0.53	28.0	16.2	1.7
胆汁中排泄率 (%)	15.2	15.2	18.0	17.6	23.0	1.5

(2) 薬物動態試験 (牛) (参照 2,6)

泌乳牛 (5 頭/群) を用いて臭化プリフィニウムの単回静脈内投与 (0.1 及び 0.2 mg/kg 体重) による薬物動態試験を実施した。血液を投与 5、15、30 分、1、4、8 及び 24 時間後に、尿を投与 5、30 分、1、4、8 及び 24 時間後に採取し、血清中及び尿中の臭化プリフィニウム濃度²を HPLC で測定した。

臭化プリフィニウムの血清中濃度を表 2 に、尿中濃度を表 3 に示した。

血清中濃度は、投与 5 分後が最も高く、その後速やかに減少し、投与 24 時間後では、0.1 mg/kg 投与群の 1 例 (5 ppb 検出) を除いて、他は全て定量限界以下になった。

尿中濃度は、投与 1 時間後が最も高く、その後速やかに減少した。投与 24 時間後においても検出された。

表 2 牛における血清中臭化プリフィニウムの濃度 (平均±標準偏差) (ppb)

投与量 (mg/kg 体重)	投与後時間						
	5 分	15 分	30 分	1 時間	4 時間	8 時間	24 時間
0.1	408±155	37±10.6	41±55.4	13±6.4	— ¹⁾	— ¹⁾	— ²⁾
0.2	532±290	72±19.2	38±15.0	26±6.4	7±2.2	— ²⁾	—

1) 5 試料のうち 3 試料が定量限界値 (1 ppb) 以下

(n=5)

2) 5 試料のうち 4 試料が定量限界値 (1 ppb) 以下

表 3 牛における尿中臭化プリフィニウムの濃度 (平均±標準偏差) (ppb)

投与量 (mg/kg 体重)	投与後時間					
	5 分	30 分	1 時間	4 時間	8 時間	24 時間
0.1	2,070±1,150	6,780±6,290	8,630±5,310	1,350±999	529±479	25±10.8
0.2	9,580±9,990	19,400±9,810	21,200±9,280	3,350±1,040	1,220±856	274±151

(n=5)

(3) 薬物動態試験 (ヒト) (参照 7)

健康ヒトボランティア (男性 6 名、一晚絶食) に臭化プリフィニウムを静脈内投与 (7.5 mg/ヒト) し、血液を投与 0.25、0.5、1、2、3、4、6 及び 8 時間後に、尿を 0~2、2~4、

² 血清中及び尿中のプリフィニウムの定量において、臭化プリフィニウムを標準品とした検量線が用いられたため、定量結果は臭化プリフィニウム濃度として示されている。

4~6、6~8、8~24 時間に採取し、血清中及び尿中のプリフィニウムイオン濃度を HPLC で測定した。

血清中のプリフィニウムイオン濃度は、投与 15 分後に 82.5 ng/mL、投与 1 時間後に 36.5 ng/mL となり、投与 8 時間後には、3.91 ng/mL に減少した。終末相 $T_{1/2}$ は、2.13 時間であった (表 4)。投与後 24 時間の尿中排泄率は、47.8 %であった。

同じボランティアに臭化プリフィニウムを経口投与 (60 mg/ヒト) し、血液を投与 1、1.5、2、3、4、6 及び 8 時間後に、尿を 0~2、2~4、4~6、6~8、8~24 時間に採取し、血清中及び尿中のプリフィニウムイオン濃度を HPLC で測定した。

血清中のプリフィニウムイオン濃度は、投与後 2~3 時間以内に最高濃度 (6.76~14.3 ng/mL) に達し (表 4)、投与 8 時間後には 1.88 ng/mL に減少した。終末相 $T_{1/2}$ は、2.18 時間であった。投与後 24 時間の尿中排泄率は、1.38 %であった。

経口投与時と静脈内投与時の間の $T_{1/2}$ に差はなかった。

血清中の濃度データに基づく、経口投与時の生物学的利用率は 3.4 %であり、個体間での変動は小さかった。尿排泄のデータから計算すると、投与量の 2.9 %が利用された。

表 4 ヒトにおける薬物動態パラメータ (平均±標準誤差)

投与経路	投与量 (mg/ヒト)	C_{max} (ng/mL)	T_{max} (時間)	終末相 $T_{1/2}$ (時間)	$AUC_{0-\infty}$ (ng · h/mL)	尿中排泄率 (%)
静脈内投与	7.5			2.13±0.16	173±19	47.8±3.4
経口投与	60	10.8±1.3	2.7±0.2	2.18±0.15	46.9±5.2	1.38±0.13

(n=6)

(4) 残留試験 (牛) (参照 2,6)

子牛 (ホルスタイン種、雄 16 頭) を用いて臭化プリフィニウムの単回静脈内投与 (0.2 mg/kg 体重) による残留試験を 2 施設で実施した。投与 1、2、3、4、5、7、14 及び 21 日後に各 2 頭ずつと殺し、血清、尿、筋肉、肝臓、心臓、腎臓及び脂肪を採取してそれぞれの臭化プリフィニウム濃度²を HPLC で測定した。

第 1 の施設における試験では、血清中からはいずれの時点においても臭化プリフィニウムは検出されなかった (表 5)。心臓及び脂肪では投与 2 日後、肝臓では投与 5 日後、腎臓では投与 7 日後、及び筋肉では投与 21 日後に検出されなくなった。

第 2 の施設における試験でも、血清中からはいずれの時点においても検出されなかった (表 6)。心臓及び脂肪では投与 2 日後、肝臓では投与 3 日後、腎臓では投与 4 日後、及び筋肉では投与 21 日後に検出されなくなった。

表 5 牛における各組織中の臭化プリフィニウム濃度① (ppb)

組織	投与後時間 (日)							
	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	7 日	14 日	21 日
筋肉	123	+ 2)	87	+	103	75	+	—
	70	105	+	97	139	+	—	—
心臓	77	—	—	—	—	—	—	—
	129	—	—	—	—	—	—	—
肝臓	80	+	—	—	—	—	—	—
	70	+	—	+	—	—	—	—
腎臓	267	99	76	—	—	—	—	—
	282	149	—	—	+	—	—	—
脂肪	— 1)	—	—	—	—	—	—	—
	69	—	—	—	—	—	—	—
血清	—	—	—	—	—	—	—	—

1) — : 検出されず (n=2)

2) + : 定量下限値 (筋肉、心臓、肝臓及び腎臓 : 50 ppb、脂肪 : 30 ppb、血清 : 1 ppb) 以下

表 6 牛における各組織中の臭化プリフィニウム濃度② (ppb)

組織	投与後時間 (日)							
	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	7 日	14 日	21 日
筋肉	111	92	144	93	62	58	—	—
	131	61	185	116	85	68	+	—
心臓	— 1)	—	—	—	—	—	—	—
	+ 2)	—	—	—	—	—	—	—
肝臓	+	+	—	—	—	—	—	—
	—	+	—	—	—	—	—	—
腎臓	139	68	65	—	—	—	—	—
	176	98	50	—	—	—	—	—
脂肪	—	—	—	—	—	—	—	—
	76	—	—	—	—	—	—	—
血清	—	—	—	—	—	—	—	—

1) — : 検出されず (n=2)

2) + : 定量下限値 (筋肉、心臓、肝臓及び腎臓 : 50 ppb、脂肪 : 30 ppb、血清 : 1 ppb) 以下

(5) 残留試験 (乳汁) (参照 2.6)

健康な泌乳牛 (ホルスタイン種、10 頭) を用いて臭化プリフィニウムの単回静脈内投与 (0.1 及び 0.2 mg/kg 体重) による残留試験を実施した。投与当日の夕、投与 1、3 及び 5 日後の朝夕に搾乳し、乳汁中の臭化プリフィニウム濃度²を HPLC で測定した。

いずれの時点においても、乳汁中の臭化プリフィニウムは定量限界 (50 ppb) 未満であった。

臭化プリフィニウムの適応となる疾患に罹患している泌乳牛（ホルスタイン種、8頭）を用いて臭化プリフィニウムの単回静脈内投与（0.11~0.30 mg/kg 体重）による残留試験を実施した。投与当日の夕、投与 1、3 及び 5 日後の朝夕に搾乳し、乳汁中の臭化プリフィニウム濃度²を HPLC で測定した。

いずれの時点においても、乳汁中の臭化プリフィニウムは定量限界（50 ppb）未満であった。

2. 急性毒性試験（参照 2）

臭化プリフィニウムの急性毒性試験結果を表 7 にまとめた。

中毒症状として、散瞳及び自発運動の低下が観察され、投与量の増加に伴い、筋弛緩、正向反射の消失及び呼吸抑制が見られ、間代性痙攣を経て、呼吸麻痺によって死亡した。

表 7 臭化プリフィニウムの LD₅₀ (mg/kg 体重)

動物種	投与経路	LD ₅₀ (mg/kg 体重)	
		雄	雌
マウス (ICR-JCL 系)	経口	330	345
	皮下	30	30
	腹腔内	43	40
	静脈内	11	12
マウス (dd 系)	経口	310	
	皮下	79	
	腹腔内	82	
	静脈内	12	
ラット	経口	1,100	1,090
	皮下	170	190
	腹腔内	62	46
イヌ	経口	327	
	皮下	88	
	静脈内	18	

3. 亜急性毒性試験

(1) 1ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）（参照 2、6）

ラット（SD-JCL 系、雌雄各 6 匹/群）を用いて臭化プリフィニウムの経口投与（0、50、100、250、500 mg/kg 体重/日、週 6 日投与）による 1ヶ月間亜急性毒性試験を実施した。

試験期間中、250 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例及び雌 2 例並びに 500 mg/kg 体重/日投与群の雄全例及び雌 5 例が投与開始 5 日以内に死亡した。これら死亡例では、胃がガスで膨満し、腺胃に出血巣が見られ、肺、肝臓、腎臓等のうっ血及び脾臓のリンパ濾胞の萎縮が観察された。また、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 1 例、250 mg/kg 体重/

日投与群の雌雄各 1 例は肺炎により死亡した。

100 mg/kg 体重/日以上投与群で散瞳が観察された。

血液学的検査、血液生化学的検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査では、投与による影響は見られなかった。

本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で散瞳が見られたことから、NOAEL は 50 mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 3 ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）（参照 2,6）

ラット（SD-JCL 系、雌雄各 10 匹/群）を用いて臭化プリフィニウムの経口投与（0、10、30、100、300 mg/kg 体重/日、週 6 日投与）による 3 ヶ月間亜急性毒性試験を実施した。

300 mg/kg 体重/日投与群の雄半数例及び雌 3 例が、投与開始 10 日以内に死亡した。剖検により腺胃の出血、肺、肝臓、腎臓等のうっ血及び脾臓のリンパ濾胞の萎縮が観察された。試験期間中、300 mg/kg 体重/日投与群の雄全例及び雌 8 例が死亡した。100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄各 1 例も死亡したが、2 例とも肺炎によるものであった。

100 mg/kg 体重/日以上投与群で散瞳が観察された。

血液学的検査、血液生化学的検査、剖検及び臓器重量では、投与による影響は見られなかった。

病理組織学的検査では、脾臓について、300 mg/kg 体重/日投与群の雌 2 例に形質細胞及び巨核球の増加が見られ、雌 1 例にリンパ濾胞の萎縮が観察された。

本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群の雌雄に散瞳が見られたことから、NOAEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。

(3) 6 ヶ月間亜急性毒性試験（ラット）（参照 2,6）

ラット（SD-JCL 系、雌雄各 10 匹）を用いて臭化プリフィニウムの経口投与（0、10、30、100 mg/kg 体重/日、週 6 日投与）による 6 ヶ月間亜急性毒性試験を実施した。

試験期間中、100 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例が死亡したが、肺炎によるものであった。

100 mg/kg 体重/日以上投与群で散瞳が観察された。

血液学的検査及び血液生化学的検査に投与による影響は見られなかった。

臓器重量では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で、心臓の比重量の減少及び脳下垂体の比重量の増加が見られたが、変動はわずかであった。

剖検及び病理組織学的検査では、投与による影響は見られなかった。

本試験において、100 mg/kg 体重/日投与群で散瞳、同用量群の雄において心臓の比重量の減少及び脳下垂体の比重量の増加が見られたことから、NOAEL は 30 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 1 ヶ月間亜急性毒性試験（イヌ）（参照 2,6）

イヌ（雑種、2 匹/群）を用いて臭化プリフィニウムの経口投与（5、10、20、50、100 mg/kg 体重/日、カプセルで投与）による 1 ヶ月間亜急性毒性試験を実施した。

100 mg/kg 体重/日投与群では、投与 3 日後までに全例が死亡した。

5、10、20 及び 50 mg/kg 体重/日投与群では、散瞳及び口渇が観察された。また、50 mg/kg 体重/日投与群では、運動抑制が観察された。

50 mg/kg 体重/日以下投与群では、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、剖検、臓器重量及び病理組織学的検査に投与による影響は見られなかった。

本試験において、5 mg/kg 体重/日以上投与群で散瞳及び口渇が観察されたことから、LOAEL は、5 mg/kg 体重/日と考えられた。

なお、本試験では、対照群は設定されていないが、投与前の所見を対照として用いている。

(参考 1) 3 ヶ月及び 6 ヶ月間亜急性毒性試験 (イヌ、皮下投与) (参照 2、6)

イヌ (雑種、3 匹/群³) を用いて臭化プリフィニウムの 3 ヶ月間皮下投与 (0、1、2、5、10、20、50 mg/kg 体重/日、週 6 日投与) 及び 6 ヶ月間皮下投与 (5、10、20 mg/kg 体重/日、週 6 日投与) による亜急性毒性試験を実施した。

3 ヶ月間亜急性毒性試験では、50 mg/kg 体重/日投与群の全例が、投与開始 3 日後までに死亡した。20 mg/kg 体重/日投与群では、被毛の光沢がなくなり、投与後一時的に後肢麻痺の見られるものもあった。投与部位に水腫性肥厚が観察された。5 及び 10 mg/kg 体重/日投与群では、散瞳及び口渇が観察されたが、他に投与による影響は見られなかった。

6 ヶ月間亜急性毒性試験では、3 ヶ月間皮下投与群と異なる所見は見られなかった。

(参考 2) 1 ヶ月間亜急性毒性試験 (ウサギ、静脈内投与) (参照 2、6)

ウサギ (日本白色種、雄 8 匹/群) を用いて臭化プリフィニウムの静脈内投与 (0、0.5、1、2 mg/kg 体重/日) による 1 ヶ月間亜急性毒性試験を実施した。

1 mg/kg 体重/日投与群の 1 例が死亡したが、この個体は死亡 13 日前より摂餌せず、体重減少による衰弱死と考えられた。

投与群では投与後、散瞳が見られ、投与量の増大に伴って著明となったが一時的なものであった。

血液学的検査では、投与群に白血球数の増加が認められた。

血液生化学的検査では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群で血漿コリンエステラーゼの増加が認められた。

剖検では、投与による影響は見られなかったが、臓器重量では、0.5 mg/kg 体重/日以上投与群で副腎比重量の増加、1 mg/kg 体重/日以上投与群で心臓の比重量の減少が認められた。

病理組織学的検査では、投与による影響は観察されなかった。

4. 慢性毒性及び発がん性試験

慢性毒性試験及び発がん性試験は実施されていない。

³ 6 ヶ月間亜急性毒性試験では、5 mg/kg 体重/日投与群に 2 匹、10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群に各 1 匹のイヌを用いている。

5. 生殖発生毒性試験

二世代繁殖毒性試験は実施されていない。

(1) 催奇形性試験（マウス）（参照 2,6）

妊娠マウス（ICR-JCL 系、24~29 匹/群）を用いて臭化プリフィニウムの経口投与（0、20、50 mg/kg 体重/日）による催奇形性試験を実施した。被験物質の投与は妊娠 7~12 日に実施し、19~24 匹/群を妊娠 18 日に帝王切開して、胎児の検査を行った。残り 5~6 匹/群は分娩させ、児動物について離乳（生後 21 日）まで観察した。

母動物に投与の影響は見られなかった。

胎児については、着床数、胎児死亡率、胎児体重、外表及び内臓に投与による影響は見られなかった。骨格観察において、50 mg/kg 体重/日投与群では頸肋、並びに第一及び第二頸椎椎弓の分離又は分裂の発生率が対照群と比較して有意に増加した。

また、出生後から離乳までの児動物については、平均産児数、哺育率、体重増加量、身体発育分化、外表、行動観察及び内臓に投与による影響は見られなかった。

本試験における母動物に対する NOAEL は、本試験の最高用量である 50 mg/kg 体重/日、児動物に対する NOAEL は 20 mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 催奇形性試験（ラット）（参照 2,6）

妊娠ラット（SD 系、20~23 匹/群）を用いて臭化プリフィニウムの経口投与（0、20、50、100 mg/kg 体重/日）による催奇形性試験を実施した。被験物質の投与は妊娠 9~14 日に実施し、妊娠 21 日に帝王切開して、胎児の検査を行った。

母動物に投与の影響は見られなかった。

胎児については、胎児死亡率は、全投与群で有意に高かったが、これは本試験の対照群の胎児死亡率が特に低かったためであり、用量依存性は見られなかった。胎児体重は、100 mg/kg 体重/日投与群で有意に減少した。20 mg/kg 体重/日投与群の胎児体重にも有意な低値が見られたが、50 mg/kg 体重/日投与群の値に対照群と比べて差が認められないことから、被験物質投与に関連した変化とは考えられなかった。着床数、外表、内臓及び骨格に投与による影響は見られなかった。

本試験における母動物に対する NOAEL は、本試験の最高用量である 100 mg/kg 体重/日、児動物に対する NOAEL は 50 mg/kg 体重/日と考えられた。

(参考 1) 催奇形性試験（マウス、皮下投与）（参照 2,6）

妊娠マウス（ICR-JCL 系、25~29 匹/群）を用いて臭化プリフィニウムの皮下投与（0、5、10、20 mg/kg 体重/日）による催奇形性試験を実施した。被験物質の投与は妊娠 7~12 日に実施し、20~23 匹/群を妊娠 18 日に帝王切開して、胎児の検査を行った。残り 5~7 匹/群は分娩させ、児動物について離乳（生後 21 日）まで観察した。

母動物に投与による影響は見られなかった。

胎児については、着床数、胎児死亡率、外表及び内臓に投与による影響は見られなかった。胎児体重については、20 mg/kg 体重/日投与群で有意に減少した。外表観察では、10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群で口蓋裂がそれぞれ 3 及び 5 例見られた。骨格観察では、20 mg/kg 体重/日投与群で上後頭骨化骨不全及び第 5 胸骨核未化骨の発生率が有意に増加した。

また、出生後から離乳までの児動物については、平均産児数、哺育率、体重増加量、身体発育分化、外表、行動観察及び内臓に投与による影響は見られなかった。

(参考2) 催奇形性試験 (ウサギ、静脈内投与) (参照2、6)

妊娠ウサギ (日本白色種、9~10 匹/群) を用いて臭化プリフィニウムの静脈内投与 (0、0.5、1 mg/kg 体重/日) による催奇形性試験を実施した。被験物質の投与は妊娠 8~16 日に実施し、妊娠 29 日に帝王切開して、胎児の検査を行った。

母動物に投与の影響は見られなかった。

胎児については、0.5 mg/kg 体重/日投与群の胎児死亡率が高かったが、1 mg/kg 体重/日投与群では対照群と比較して有意な差が認められないことから、被験物質投与に関連した変化とは考えられなかった。胎児体重、外表及び骨格に投与による影響は見られなかった。

6. 遺伝毒性試験 (参照2、6)

臭化プリフィニウムの遺伝毒性試験結果を表8にまとめた。

いずれの試験においても陰性の結果であり、臭化プリフィニウムは生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられる。

表8 臭化プリフィニウムの遺伝毒性試験

試験		試験対象	用量	結果
in vitro	復帰突然変異試験	<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535、TA1537、TA1538、 TA100、TA98 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	1、5、10、50、100、 500、1,000、5,000 µg/plate ¹⁾ (±S9)	陰性
	DNA 修復試験 (rec-assay)	<i>Bacillus subtilis</i>	10、100、1,000、5,000 µg/plate (±S9)	陰性
in vivo	小核試験	マウス (ICR 系、雄) 骨髓細胞	単回腹腔内投与、 5、10、20 mg/kg 体 重	陰性

1) S9 非存在下では、1,000 µg/plate 以上で *S. typhimurium* の全菌株、5,000 µg/plate 以上で *E. coli* の生育を阻害した。また、S9 存在下では、5,000 µg/plate 以上で *S. typhimurium* の全菌株及び *E. coli* の生育を阻害した。

7. 一般薬理試験

(1) 中枢神経系に及ぼす影響 (参照6)

① 脳波に対する影響

ジメチルツボクラリン (0.1 mg/kg 体重) の静脈内投与により不動化したネコを用いて脳波を測定した。5 mg/kg 体重の臭化プリフィニウムを静脈内投与しても、自発脳波及び中脳毛様体刺激による覚醒波に影響を与えなかった。一方、10 mg/kg 体重の臭化プリフィニウムを静脈内投与すると、大脳皮質で一過性の紡錘波様徐波が見られ、覚醒波

の閾値がわずかに増加した。

② 脊髄反射抑制作用

ペントバルビタールで麻酔したネコを用いて膝蓋腱及び屈曲反射を、ネコの脊髄後根 - 前根標本を用いて単及び多シナプス性活動電位を測定した。脊髄後根 - 前根標本は Hudson の方法によって作製した。

10 mg/kg 体重の臭化プリフィニウムを静脈内投与すると、膝蓋腱及び屈曲反射並びに単及び多シナプス性活動電位を抑制したが、膝蓋腱反射及び単シナプス性活動電位の抑制は約5分で回復し、屈曲反射及び多シナプス性活動電位は約10分で回復した。5 mg/kg 体重の臭化プリフィニウムでは、これらの反射及び活動電位に影響を及ぼさなかった。

(2) 末梢神経系に及ぼす影響 (参照 6)

ラットの横隔膜神経筋標本作製し、神経及び筋肉を直接刺激して筋収縮を観察した。横隔膜神経刺激による収縮反応は、50 µg/mL の臭化プリフィニウムで抑制されたが、筋肉刺激による収縮反応は、100 µg/mL の濃度でも影響を受けなかった。

ペントバルビタール (35 mg/kg 体重、腹腔内投与) で麻酔したネコに臭化プリフィニウムを静脈内投与し、頸部交感神経の節前及び節後神経の電気刺激により瞬膜及び血圧の反応を観察した。

2.0 mg/kg 体重では、節前神経刺激による瞬膜の収縮を完全に遮断し、15 分以内に正常に回復した。血圧下降作用も並行して見られた。

(3) 循環器系・呼吸器系に及ぼす影響 (参照 6)

モルモットの摘出心臓標本作製し、アセチルコリンの心運動振幅及び拍動数減少作用に対する臭化プリフィニウムの抑制作用をアトロピンとの比で求めた。

臭化プリフィニウムは、アトロピンの 1/5 の抑制作用を示した。

ペントバルビタール (40 mg/kg 体重、皮下投与) で麻酔したイヌ及びネコに臭化プリフィニウムを静脈内投与 (10、100 及び 1,000 µg/kg 体重) し、アセチルコリン (1~3 µg/kg 体重、静脈内投与) 又は迷走神経の矩形波刺激 (0.1~0.3 V、30 C/sec、1 msec) による降圧反応に対する抑制効果を調べた。

アセチルコリン及び迷走神経の矩形波刺激による降圧反応に対し、いずれも 100 µg/kg 体重で 80 %以上の抑制率を示した。

(4) 平滑筋に及ぼす影響 (参照 6)

モルモットの摘出回腸を Tyrode 液中に懸垂して、臭化プリフィニウムを滴下し、滴下 1 分後に塩化アセチルコリン (0.2 µg/mL)、塩化バリウム (500 µg/mL)、ヒスタミンリン酸塩 (0.1 µg/mL) 及びニコチン酒石酸塩 (10 µg/mL) を加えて、臭化プリフィニウムの攣縮抑制作用を調べた。また、摘出回腸を Tyrode 液中に懸垂し、アセチルコリンによる攣縮が最大に達した際に臭化プリフィニウムを滴下し、攣縮の緩解作用も調べた。これらの臭化プリフィニウムの効力をアトロピンとの比で求めた。

緩解作用についてはアトロピンと同等であったが、アセチルコリンに対する抑制作用はアトロピンの 1/2 であった。抗ニコチン作用はアトロピンとほぼ同等であった。バリウム及びヒスタミンによる攣縮については、影響を与えなかった。

(5) 生体消化管運動に対する影響 (参照 6)

① 胃及び空腸の自動運動に対する影響

ウレタン (1 g/kg 体重、皮下投与) 及びモルヒネ (5 mg/kg 体重、皮下投与) で混合麻酔したイヌに臭化プリフィニウムを静脈内投与 (2.5、5、10、20、100 及び 500 µg/kg 体重) し、臭化プリフィニウムの胃及び空腸の自動運動への影響を調べた。

5 µg/kg 体重で胃及び空腸の緊張及び運動を抑制し、20 µg/kg 体重で完全に抑制した。

② オッジ氏括約筋及び空腸の攣縮に対する影響

ペントバルビタール (20 mg/kg 体重、静脈内投与) で麻酔したイヌにモルヒネ (1 mg/kg 体重、静脈内投与) 及びネオスチグミン (0.2 mg/kg 体重/時間、静脈内投与) を投与し、オッジ氏括約筋及び空腸の攣縮を惹起させた後、臭化プリフィニウムを静脈内投与 (2.5、5、10、20、100 及び 500 µg/kg 体重) して、オッジ氏括約筋及び空腸の攣縮の抑制作用を調べた。

10 µg/kg 体重で攣縮を完全に抑制した。

③ 増強した空腸の攣縮に対する影響

ペントバルビタール (40 mg/kg 体重、皮下投与) で麻酔したイヌにアセチルコリンを静脈内投与 (10 µg/kg 体重) して空腸の攣縮を惹起させた後、ネオスチグミンを皮下投与 (0.1 mg/kg 体重) して攣縮を増強させた。この状態で臭化プリフィニウムを静脈内投与 (20 及び 50 µg/kg 体重) して、増強された空腸の攣縮の抑制作用を調べた。

20 µg/kg 体重では攣縮を軽度抑制し、50 µg/kg 体重では中等度に抑制した。

(6) 消化管輸送能に対する影響 (参照 6)

ラットに臭化プリフィニウムを腹腔内投与 (1、2、5 及び 10 mg/kg 体重) し、投与 15 分後に 10 %炭末液 (10 %アラビアゴム液に懸濁) 2 mL を経口投与して、更に 20 分後に開腹し、小腸の炭末輸送の抑制率を調べた。炭末輸送抑制率は 14~21 %であった。

(7) 胃液分泌に対する影響 (参照 6)

ラットに臭化プリフィニウムを皮下投与 (0.5、2.5 及び 12.5 mg/kg 体重) し、Shay らによって報告された方法により投与 8 時間後の胃液の量及び酸度を測定した。また、同様に投与 18 時間後の潰瘍発生頻度を肉眼的に観察した。

胃液の酸度については顕著な影響を与えなかったが、0.5 mg/kg 体重以上で胃液分泌抑制作用を示し、2.5 及び 12.5 mg/kg 体重で潰瘍形成を抑制した。

(8) 胃粘膜に対する影響 (参照 6)

ラットに臭化プリフィニウムを皮下投与 (0.5、2.5 及び 12.5 mg/kg 体重) し、Takagi らによって報告された方法により、投与 16 時間後に胃粘膜を肉眼的に観察した。12.5

mg/kg 体重で潰瘍形成を完全に抑制した。

(9) 散瞳及び口渴 (参照 6)

マウスに臭化プリフィニウムを腹腔内投与 (0.5 及び 1.0 mg/kg 体重) し、散瞳を肉眼的に観察した。また、イヌに臭化プリフィニウムを静脈内投与 (10、20、50、100 及び 500 µg/kg 体重) し、散瞳及び口渴を肉眼的に観察した。

マウスでは、1.0 mg/kg 体重で瞳孔は中等度拡張し、60 分間持続した。0.5 mg/kg 体重では瞳孔の拡張は見られなかった。

イヌでは、50 µg/kg 体重で瞳孔が軽度に拡張した。口渴は 20 µg/kg 体重以上で軽度に見られ、100 µg/kg 体重では中等度に見られた。

(10) 唾液分泌に対する影響 (参照 6)

ペントバルビタール (20 mg/kg 体重、静脈内投与) で麻酔したウサギにピロカルピンを静脈内投与 (40 µg/kg 体重) し、唾液分泌に対する臭化プリフィニウム (0.1 mg/kg 体重/日、静脈内投与) の抑制作用を調べた。唾液分泌は、ピロカルピン投与後 30 分間の唾液量から判断した。

臭化プリフィニウムをピロカルピン投与直前に投与したときには、唾液分泌を完全に抑制したが、ピロカルピン投与 60 分前に投与したときには、抑制率は半分以下であった。

ペントバルビタール (20 mg/kg 体重、静脈内投与) 及びフェノバルビタール (60 mg/kg 体重、皮下投与) で麻酔したイヌに、鼓索神経の電気刺激により唾液分泌を亢進させ、臭化プリフィニウムを静脈内投与して、唾液分泌抑制作用を調べた。

5 µg/kg 体重で 50 % 抑制し、40~100 µg/kg 体重ではほとんど完全に抑制した。

(11) 膀胱収縮に対する影響 (参照 6)

ペントバルビタール (20 mg/kg 体重、静脈内投与) 及びフェノバルビタール (60 mg/kg 体重、皮下投与) で麻酔したイヌに、骨盤神経の主幹の電気刺激及びアセチルコリンの下腸間膜動脈内投与により膀胱を収縮させ、臭化プリフィニウムを静脈内投与して、膀胱収縮抑制作用を調べた。

神経刺激で惹起された収縮では、5.0 mg/kg 体重でも完全に抑制できなかったが、アセチルコリンで惹起された収縮では、0.1 mg/kg 体重で完全に抑制した。

(12) 角膜反射、散瞳及び局所刺激作用 (参照 6)

ウサギの眼に、臭化プリフィニウムの生理食塩水溶液を局所適用して、角膜反射、散瞳及び局所刺激作用を調べた。

0.1 % 以上の濃度で散瞳が見られた。0.5 及び 1.0 % の濃度では眼に軽度の刺激を与えた。しかしながら、1.0 % の濃度でも角膜反射に影響を及ぼさなかった。

Ⅲ. 食品健康影響評価

慢性毒性及び発がん性試験は実施されていないが、臭化プリフィニウムは、遺伝毒性試験の結果から生体にとって問題となる遺伝毒性を示さないと考えられ、追加の安全係数を加えることによって ADI を設定することが可能であると判断された。

生殖発生毒性に関しては、二世世代繁殖毒性試験は実施されていないが、臭化プリフィニウムはマウス及びラットの催奇形性試験の結果から、母動物に対する影響が見られない用量で胎児に骨格異常の発生率の増加や体重増加抑制をもたらすが、奇形の発生率の増加は認められていない。胎児に対する NOAEL はマウスで 20 mg/kg 体重/日、ラットで 50 mg/kg 体重/日であった。

毒性試験において、最も低い用量で認められた影響は、イヌの 1 ヶ月間亜急性毒性試験における散瞳及び口渇で、LOAEL はプリフィニウムとして 4 mg/kg 体重/日（臭化プリフィニウムとして 5 mg/kg 体重/日）であった。

プリフィニウムの ADI の設定に当たっては、安全係数として、種差 10 及び個体差 10 に加えて、慢性毒性試験、発がん性試験及び二世世代繁殖毒性試験が実施されていないこと、ADI 設定の根拠となるイヌの 1 ヶ月間亜急性毒性試験において対照群が設定されていないこと並びに NOAEL ではなく LOAEL を用いることを考慮した追加の係数 10 の 1,000 を適用することが適当と考えられた。

したがって、プリフィニウムの ADI は、LOAEL 4 mg/kg 体重/日に安全係数 1,000 を適用し、0.004 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

以上より、プリフィニウ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。

プリフィニウム 0.004 mg/kg 体重/日

暴露量については、当該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 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
AUC	薬物濃度曲線下面積
C _{max}	最高濃度
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
LD ₅₀	半数致死量
LOAEL	最小毒性量
NOAEL	無毒性量
T _{1/2}	消失半減期
T _{max}	最高濃度到達時間

〈参照〉

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日付、平成 17 年厚生労働省告示第 499 号）
2. 株式会社インターベット. 平成 20 年度残留基準見直しに関する資料－成分名：プリフィニウム－（未公表）
3. 農林水産省動物医薬品検査所データベース. “パドリン注”
4. アイロム製薬株式会社. 医薬品添付文書「パドリン®注射液 7.5 mg」
5. 医薬品インタビューフォーム「合成鎮痙剤・パドリン注射液 7.5 mg」
6. 株式会社インターベット. 平成 20 年度残留基準見直しに関する資料－成分名：臭化プリフィニウム－（未公表）
7. H. Noguchi, Y. Tokuma, and Y. Tamura: Pharmacokinetics of prifinium bromide in healthy volunteers. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* 1983; 21(5); 213~217