

動物用医薬品・飼料添加物評価書

タイロシン

2012年9月

食品安全委員会

## 目次

|                                  | 頁     |
|----------------------------------|-------|
| ○ 審議の経緯.....                     | 4     |
| ○ 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.....  | 5     |
| ○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿.....  | 5     |
| ○ 要 約.....                       | 6     |
| <br>I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要..... | <br>7 |
| 1. 用途.....                       | 7     |
| 2. 有効成分の一般名.....                 | 7     |
| 3. 化学名.....                      | 7     |
| 4. 分子式.....                      | 8     |
| 5. 分子量.....                      | 8     |
| 6. 構造式.....                      | 8     |
| 7. 開発の経緯及び使用状況等.....             | 8     |
| <br>II. 安全性に係る試験の概要.....         | <br>9 |
| 1. 薬物動態試験.....                   | 9     |
| (1) 薬物動態試験（ラット）.....             | 9     |
| (2) 薬物動態試験（イヌ）.....              | 11    |
| (3) 薬物動態試験（牛）.....               | 13    |
| (4) 薬物動態試験（豚）.....               | 15    |
| (5) 薬物動態試験（鶏）.....               | 18    |
| 2. 残留試験.....                     | 21    |
| (1) 残留試験（牛）.....                 | 21    |
| (2) 残留試験（豚）.....                 | 24    |
| (3) 残留試験（鶏）.....                 | 25    |
| (4) 残留試験（七面鳥）.....               | 27    |
| 3. 遺伝毒性試験.....                   | 28    |
| 4. 急性毒性試験.....                   | 28    |
| 5. 亜急性毒性試験.....                  | 29    |
| (1) 6週間亜急性毒性試験（ラット）（参考データ）.....  | 29    |
| (2) 亜急性毒性試験（イヌ）（参考データ）.....      | 30    |
| 6. 慢性毒性試験.....                   | 31    |
| (1) 1.5年間慢性毒性試験（マウス）.....        | 31    |
| (2) 1年間慢性毒性試験（ラット）.....          | 31    |
| (3) 17か月間慢性毒性試験（ラット）.....        | 32    |
| (4) 2年間慢性毒性試験（ラット）.....          | 32    |
| (5) 2年間慢性毒性試験（イヌ）.....           | 33    |

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| 7. 慢性毒性/発がん性試験 .....                | 34 |
| (1) 2年間慢性毒性/発がん性試験 (ラット) .....      | 34 |
| 8. 生殖発生毒性試験 .....                   | 35 |
| (1) 2世代繁殖毒性試験 (マウス) .....           | 35 |
| (2) 3世代繁殖毒性試験 (ラット) .....           | 35 |
| (3) 繁殖毒性試験 (ラット) .....              | 36 |
| (4) 発生毒性試験 (マウス) .....              | 36 |
| (5) 発生毒性試験 (ラット) .....              | 37 |
| 9. 対象動物を用いた安全性試験 .....              | 37 |
| (1) 安全性試験 (牛) .....                 | 37 |
| (2) 安全性試験 (豚) .....                 | 37 |
| (3) 安全性試験 (鶏) .....                 | 37 |
| (4) 安全性試験 (ウズラ、カモ、七面鳥) .....        | 38 |
| 10. その他の試験 .....                    | 38 |
| (1) 薬理試験 .....                      | 38 |
| (2) 神経毒性 .....                      | 39 |
| (3) 代謝酵素との相互作用 .....                | 39 |
| (4) 皮膚及び眼刺激性 .....                  | 39 |
| (5) 感作性 .....                       | 40 |
| (6) 抗原性 .....                       | 40 |
| (7) <i>in vitro</i> ホルモン刺激性 .....   | 40 |
| 11. 微生物学的影響に関する試験 .....             | 41 |
| (1) 臨床分離菌に対する最小発育阻止濃度 (MIC) ① ..... | 41 |
| (2) 臨床分離菌に対する MIC ② .....           | 41 |
| (3) 糞便結合試験 (ヒト) .....               | 42 |
| 12. ヒトにおける知見 .....                  | 43 |
| III. 食品健康影響評価 .....                 | 44 |
| 1. 薬物動態及び残留試験について .....             | 44 |
| 2. 毒性学的影響について .....                 | 44 |
| (1) 遺伝毒性試験について .....                | 44 |
| (2) 急性毒性試験について .....                | 44 |
| (3) 亜急性毒性試験について .....               | 45 |
| (4) 慢性毒性及び慢性毒性/発がん性試験について .....     | 45 |
| (5) 生殖発生毒性試験について .....              | 45 |
| (6) 毒性学的 ADI について .....             | 45 |
| 3. 微生物学的影響について .....                | 46 |
| (1) タイロシン残留物による微生物学的影響 .....        | 46 |
| (2) 微生物学 ADI について .....             | 46 |
| 4. ADI の設定について .....                | 47 |

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| ・表 17 JECFA における各種試験の無毒性量の比較 ..... | 48 |
| ・表 18 EMEA における各種試験の無毒性量の比較 .....  | 49 |
| ・別紙：検査値等略称 .....                   | 51 |
| ・参照 .....                          | 52 |

# 〈審議の経緯〉

2005年 11月 29日 暫定基準告示（参照 1）  
 2006年 9月 4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 0904002 号）  
 2006年 9月 7日 第 158 回食品安全委員会（要請事項説明）  
 2006年 10月 6日 第 60 回動物用医薬品専門調査会  
 2011年 4月 27日 第 45 回肥料・飼料等専門調査会  
 2012年 6月 21日 第 436 回食品安全委員会（報告）  
 2012年 6月 21日 から 7月 20 日 国民からの御意見・情報の募集  
 2012年 9月 5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  
 2012 9月 10日 第 446 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〉

|                     |                      |                     |
|---------------------|----------------------|---------------------|
| (2006 年 6 月 30 日まで) | (2006 年 12 月 20 日まで) | (2009 年 6 月 30 日まで) |
| 寺田 雅昭（委員長）          | 寺田 雅昭（委員長）           | 見上 彪（委員長）           |
| 寺尾 允男（委員長代理）        | 見上 彪（委員長代理）          | 小泉 直子（委員長代理*）       |
| 小泉 直子               | 小泉 直子                | 長尾 拓                |
| 坂本 元子               | 長尾 拓                 | 野村 一正               |
| 中村 靖彦               | 野村 一正                | 畑江 敬子               |
| 本間 清一               | 畑江 敬子                | 廣瀬 雅雄**             |
| 見上 彪                | 本間 清一                | 本間 清一               |

\*：2007 年 2 月 1 日から

|                    |                     |                    |
|--------------------|---------------------|--------------------|
| (2011 年 1 月 6 日まで) | (2012 年 6 月 30 日から) | (2012 年 7 月 1 日から) |
| 小泉 直子（委員長）         | 小泉 直子（委員長）          | 熊谷 進（委員長）          |
| 見上 彪（委員長代理*）       | 熊谷 進（委員長代理*）        | 佐藤 洋（委員長代理）        |
| 長尾 拓               | 長尾 拓                | 山添 康（委員長代理）        |
| 野村 一正              | 野村 一正               | 三森 国敏（委員長代理）       |
| 畑江 敬子              | 畑江 敬子               | 石井 克枝              |
| 廣瀬 雅雄              | 廣瀬 雅雄               | 上安平 冽子             |
| 村田 容常              | 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〉

(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 真    |
| 渋谷 淳         | 藤田 正一  |
| 嶋田 甚五郎       | 吉田 緑   |
| 鈴木 勝士        |        |

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(2011年9月30日まで)

|              |       |
|--------------|-------|
| 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        | 館田 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 葭子 |
| 高木 篤也        | 吉田 敏則 |

(2011年10月1日から)

|              |       |
|--------------|-------|
| 唐木 英明 (座長)   |       |
| 津田 修治 (座長代理) |       |
| 青木 宙         | 館田 一博 |
| 秋葉 征夫        | 戸塚 恭一 |
| 池 康嘉         | 細川 正清 |
| 今井 俊夫        | 宮島 敦子 |
| 江馬 眞         | 山中 典子 |
| 桑形 麻樹子       | 吉田 敏則 |
| 下位 香代子       |       |
| 高橋 和彦        |       |

## 要 約

マクロライド系の抗生物質である「タイロシン」について、JECFA レポート、動物用医薬品承認申請時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、豚及び鶏）、残留試験（牛、豚、鶏及び七面鳥）、遺伝毒性試験、急性毒性試験（マウス、ラット、イヌ、鶏及びウズラ）、亜急性毒性試験（ラット及びイヌ）、慢性毒性試験（マウス、ラット及びイヌ）、慢性毒性/発がん性試験（ラット）、生殖発生毒性試験（マウス及びラット）、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

タイロシンは、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はないと考えられること及び慢性毒性/発がん性試験において発がん性は認められていないことから、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられ、一日摂取許容量（ADI）の設定は可能であると考えられた。

毒性学的 ADI については、ラットの 1 年間慢性毒性試験における 無毒性量（NOAEL） 39 mg/kg 体重/日に、安全係数として 100 を適用し、0.39 mg/kg 体重/日と設定することが適当であると考えられた。

一方、微生物学的 ADI については、VICH の算出式に基づいて 0.005 mg/kg 体重/日と設定された。

この微生物学的 ADI の 0.005 mg/kg 体重/日は、毒性学的 ADI の 0.39 mg/kg 体重/日より小さく、毒性学的な安全性も担保していると考えられることから、タイロシンの ADI を 0.005 mg/kg 体重/日と設定した。

# I. 評価対象動物用医薬品及び飼料添加物の概要

## 1. 用途

抗菌剤（動物用医薬品、飼料添加物）

## 2. 有効成分の一般名

和名：タイロシン

英名：Tylosin

## 3. 化学名

タイロシン A

IUPAC

英名：(10E,12E)-(3R,4S,5S,6R,8R,14S,15R)-14-(((6-deoxy-2,3-di-O-methyl-D-allopyranosyl)oxymethyl)-5-(((3,6-dideoxy-4-O-(2,6-dideoxy-3Cmethyl-L-ribo-esopyranosyl)-3-dimethylamino-D-glucopyranosyl)-oxy)-6formylmethyl-3-hydrioxo-4,8,12-trimethyl-9-oxoheptadeca-10,12-dien-15-olide

CAS (1401-69-0)

タイロシン B

IUPAC

英名：2-((4R,5S,6S,7R,9R,11E,13E,15R,16R)-6-((2R,3R,4S,5S,6R)-4-(dimethylamino)-3,5-dihydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-(((2R,3R,4R,5R,6R)-5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde

CAS (11032-98-7)

タイロシン C

IUPAC

英名：2-((4R,5S,7R,9R,11E,13E,16R)-6-((2R,3R,4R,5S,6R)-5-((2S,4R,5S,6S)-4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-15-(((2R,3R,4R,5S,6R)-4,5-dihydroxy-3-methoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-16-ethyl-4-hydroxy-5,9,13-trimethyl-2,10-dioxo-1-oxacyclohexadeca-11,13-dien-7-yl)acetaldehyde

CAS (11049-15-3)



## タイロシン D

### IUPAC

英名 : (11E,13E)-6-(5-(4,5-dihydroxy-4,6-dimethyloxan-2-yl)oxy-4-(dimethylamino)-3-hydroxy-6-methyloxan-2-yl)oxy-16-ethyl-4-hydroxy-15-((5-hydroxy-3,4-dimethoxy-6-methyloxan-2-yl)oxymethyl)-7-(2-hydroxyethyl)-5,9,13-trimethyl-1-oxacyclohexadeca-11,13-diene-2,10-dione

CAS (1404-48-4)

(参照 2、3)

### 4. 分子式

タイロシン A :  $C_{46}H_{77}NO_{17}$

タイロシン B :  $C_{39}H_{65}NO_{14}$

タイロシン C :  $C_{45}H_{75}NO_{17}$

タイロシン D :  $C_{46}H_{79}NO_{17}$

### 5. 分子量

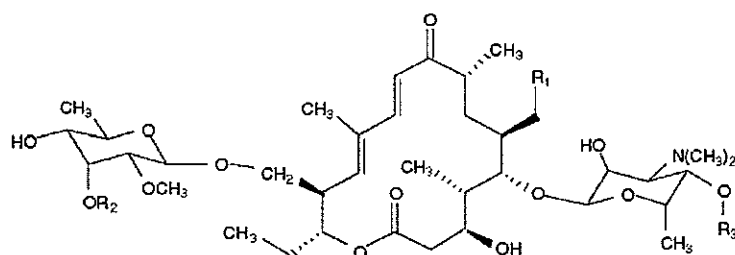
タイロシン A : 916

タイロシン B : 772

タイロシン C : 902

タイロシン D : 918

### 6. 構造式



| Tylosin A                       | Tylosin B<br>(desmycosin) | Tylosin C<br>(macrocin) | Tylosin D<br>(relomydin) |
|---------------------------------|---------------------------|-------------------------|--------------------------|
| R <sub>1</sub> -CHO             | -CHO                      | -CHO                    | -CH <sub>2</sub> OH      |
| R <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> | -CH <sub>3</sub>          | -H                      | -CH <sub>3</sub>         |
| R <sub>3</sub>                  | -H                        |                         |                          |

### 7. 開発の経緯及び使用状況等

タイロシンは土壌中の放線菌の一種である *Streptomyces fradiae* の発酵に

より産生される 16 員環のマクロライド系抗生物質で、グラム陽性菌、マイコプラズマ及びある種のグラム陰性菌に対し有効である。タイロシンは他のマクロライド系抗生物質同様、リボソームの 50S サブユニットと結合し、アミノアシル tRNA 及びペプチジル tRNA の転移反応を抑制することによってタンパク質合成を阻害し、菌の増殖を抑制する。(参照 4、5)

タイロシンは、タイロシン A を主成分とし、その他、デスミコシン (タイロシン B)、マクロシン (タイロシン C) 及びレロマイシン (タイロシン D) を少量含有する混合物である。微生物学的活性の大部分はタイロシン A に存在し、タイロシン B、C 及び D 並びにジヒドロデスミコシン (代謝物) の微生物学的活性はタイロシン A のそれぞれ約 83、75、35 及び 31 %であった。

牛、豚、鶏等において、タイロシン塩基並びにそのリン酸塩及び酒石酸塩がタイロシン感受性微生物による感染症の治療に使用される。(参照 2、6、7)

日本では、動物用医薬品として、タイロシン塩基の牛及び豚用注射剤、リン酸塩の豚及び鶏用飼料添加剤並びに酒石酸塩の牛、豚及び鶏用飲水添加剤が承認されている。また、リン酸タイロシンが豚を対象動物とした飼料添加物として指定されている。

海外では、2006 年 5 月現在、EU 諸国、米国、アジア諸国等で牛、豚、羊、鶏、七面鳥等を対象とした動物用医薬品が承認されている。

タイロシンは、ヒト用医薬品としては使用されていない。

なお、タイロシンはポジティブリスト制度導入に伴う残留基準<sup>1</sup>が設定されている。

## II. 安全性に係る試験の概要

本評価書では、JECFA レポート、動物用医薬品承認申請資料等を用いてタイロシンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称については別紙に記載した。

### 1. 薬物動態試験

#### (1) 薬物動態試験 (ラット)

ラット (系統不明、5 匹/群) を用いたタイロシン塩基又は酒石酸タイロシンの経口投与 (タイロシンとして 50 mg/kg 体重) 試験が実施された。経時的 (投与 15 及び 30 分、1、2、4、5、7 及び 24 時間後) に血清中のタイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

投与 1~2 時間後には低濃度 ( $\leq 1.35 \mu\text{g/mL}$ ) が検出されたが、個体差が大きかったため、明確な傾向は認められなかった。血清中のタイロシン濃度

<sup>1</sup> 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

は投与 5 時間後には定量限界 (0.1 µg/mL) 未満に低下した。(参照 2、7)

ラット (系統不明、6 匹/時点) を用いた  $^3\text{H}$ -タイロシンの単回経口投与試験が実施された。投与 24 時間及び 7 日後の消化管内、糞及び尿中の放射活性の回収率を調べた。

投与後の消化管内、糞及び尿中の放射活性回収率を表 1 に示した。

投与 24 時間後では、放射活性は主に消化管内 (17.5~57.7 %) 及び糞中 (0~55.0 %) から回収され、尿中には少量 (0.3~2.8 %) 排泄された。

血液、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉中から放射活性は検出されなかった。

投与 7 日後では、放射活性は主に糞中 (36.3~93.9 %) から回収され、消化管内 (1.1~2.1 %) に少量分布し、尿中から少量 (1.7~3.6 %) 排泄された。(参照 2、8)

表 1 ラットに  $^3\text{H}$ -タイロシン投与後の放射活性回収率 (%)

| 試料   | 投与 1 日後 (24 h) | 投与 7 日後   |
|------|----------------|-----------|
| 消化管内 | 17.5~57.7      | 1.1~2.1   |
| 糞    | 0~55.0         | 36.3~93.9 |
| 尿    | 0.3~2.8        | 1.7~3.6   |

ラット (系統不明、6 匹) に  $^3\text{H}$ -タイロシンを非標識タイロシン乳酸塩とともに単回経口投与した結果、投与 7 時間後までに血中から放射活性は検出されなかった。(参照 2、8)

ラット (系統不明、雄、4 匹) に非標識タイロシンを 3 日間経口投与 (10 mg/kg 体重/日) した後、続いて同量の  $^{14}\text{C}$ -タイロシン<sup>2</sup>を 5 日間強制経口投与した。糞及び尿中の排泄量を測定するとともに、最終投与 4 時間後の組織 (肝臓、腎臓及び脂肪) 中の放射活性を測定した。組織中放射活性は、肝臓で 0.23 mg eq/kg、腎臓で 0.18 mg eq/kg 及び脂肪で 0.08 mg eq/kg であった。約 99 %の放射活性が糞中に、1 %が尿中に排泄された。抽出可能な糞中放射活性の比率は 93 %であった。ラット糞中の抽出可能な残留物の主要成分は、タイロシン D (10 %)、タイロシン A (6 %) 並びにタイロシン C 及びジヒドロデスミコシン (4 %) であった。残りの極性がより高い代謝物は、特定されなかった。(参照 2、7、9)

ラット (Fischer 344 系、雌雄各 4 匹) を用いた  $^{14}\text{C}$ -タイロシン<sup>3</sup>の 4 日間強制経口投与 (10 mg/kg 体重/日) 試験を実施した。尿及び糞を毎日採取し、最終投与 4 時間後の肝臓及び腎臓を採取した。肝臓、尿及び糞は LSC によ

<sup>2</sup> タイロシンの 16 員ラクトン環を  $^{14}\text{C}$  標識した。

<sup>3</sup> タイロシンのマクロライド環の 5 位を  $^{14}\text{C}$  標識した。

り放射活性を測定し、臓器及び排泄物中の代謝物は ISP/MS により検討した。

排泄された放射活性の約 95 %が糞中に認められた。最終投与 4 時間後の肝臓における平均放射活性は 0.09 mg eq/kg であった。放射活性の分画により肝臓中にタイロシン A、タイロシン D、ジヒドロデスミコシン及びシスチニルタイロシン A 等の多数の代謝物が存在することが示唆された。糞中の主要代謝物としてタイロシン D (24 %) 及びジヒドロデスミコシン (11 %) が存在した。糞中の微量成分としては、タイロシン A、タイロシン C、タイロシン A のセコ酸、タイロシン D のセコ酸及びデスメチルジヒドロデスミコシンが含まれていた。セコ酸は、マクロライド環におけるラク톤の加水分解生成物である。(参照 2、7、10)

## (2) 薬物動態試験 (イヌ)

イヌ (2 匹) を用いたタイロシン塩基の反復経口投与 (カプセル投与:25 及び 100 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。投与開始 1、15 及び 29 日目に経時的 (投与 0、1、2、3、4、5、6 及び 7 時間後) に採血し、血清中のタイロシン濃度を測定した。

その結果、血清中  $C_{\max}$  は、25 mg/kg 体重/日投与群で投与 2 時間後 (投与開始 1、15 及び 29 日目でそれぞれ 1.4、2.7 及び 2.7  $\mu\text{g/mL}$ ) にみられたのに対し、100 mg/kg 体重/日投与群では投与 2~5 時間後に持続的に高値 ( $C_{\max}$  はそれぞれ 2.7、4.6 及び 3.4  $\mu\text{g/mL}$ ) がみられた。いずれの場合も  $C_{\max}$  に大きな差はみられず、用量依存性はみられなかった (表 2)。(参照 2、7、11)

表 2 イヌにおけるタイロシンの反復経口投与後の血清  $C_{\max}$  及び  $T_{\max}$

| 投与量<br>(mg/kg 体重/日) | 反復投与日数 (日)                         |                   |                                    |                   |                                    |                   |
|---------------------|------------------------------------|-------------------|------------------------------------|-------------------|------------------------------------|-------------------|
|                     | 1                                  |                   | 15                                 |                   | 29                                 |                   |
|                     | $C_{\max}$<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | $T_{\max}$<br>(h) | $C_{\max}$<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | $T_{\max}$<br>(h) | $C_{\max}$<br>( $\mu\text{g/mL}$ ) | $T_{\max}$<br>(h) |
| 25                  | 1.4                                | 2                 | 2.7                                | 2                 | 2.7                                | 2                 |
| 100                 | 2.7                                | 4                 | 4.6                                | 4~5               | 3.4                                | 2                 |

十二指腸フィステルを装着したイヌ (4 匹) を用いたタイロシン塩基の単回十二指腸内投与 (25 mg/kg 体重) 試験が実施された。経時的 (投与 0.25、0.5、1、2、3、4 及び 5 時間後) に採血を行った。また、被験動物のうち 2 匹にはその後同量を単回経口投与し、同様に経時的に採血した。血清及び尿中の抗菌活性をバイオアッセイにより測定した。

十二指腸内投与では投与 0.5~2 時間後に  $C_{\max}$  (1.77~1.98  $\mu\text{g/mL}$ ) が認められた後、速やかに減衰した。一方、経口投与では血清中濃度の上昇はほとんどみられなかった。また、投与 5 時間後の尿中回収率は、十二指腸内投

与では 7.2 % (4 例の平均値)、経口投与では 2 % (血清中に抗菌活性がみられた 1 例の値) であった。(参照 2、7、11)

イヌ (8 匹/群) を用いたタイロシン塩基の 8 日間経口投与 (カプセル投与 : 1、10 及び 100 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与直前 (前日の投与 24 時間後) 及び最終投与 2 時間後の血中のタイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した (検出限界:0.15 µg/mL)。

その結果、最終投与 2 時間後には血中濃度の上昇が投与量の増加とともに認められた (各投与量それぞれ検出限界未満~2.15、検出限界未満~2.15、0.198~9.5 µg/mL) が、用量依存性はみられず、いずれの投与量でも最終投与直前のトラフ濃度は、検出限界未満又は検出限界付近にまで低下していた。(参照 2、7、11)

イヌ (雄 10 匹、雌 14 匹) を用いた 2 年間慢性毒性試験において、タイロシン塩基の経口投与 (カプセル投与 : 1、10 及び 100 mg/kg 体重/日) 後、経時的 (148、622 及び 723 回の各投与直前 (前日の投与 24 時間後) 及び各投与 2 時間後) に血清中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

それぞれの投与回の前後における血清中濃度を表 3 に示した。

1 mg/kg 体重/日投与群では、いずれの時点においても検出限界 (0.10 µg/mL) を超える個体はなかった。10 mg/kg 体重/日投与群では、各投与直前のトラフ濃度はほとんど検出限界未満 (148 回の投与直前に 1 例のみ検出) で、投与 2 時間後には検出限界未満~1.9 µg/mL であった。100 mg/kg 体重/日投与群では、各投与直前は検出限界未満~0.43 µg/mL、投与 2 時間後は検出限界未満~35 µg/mL であった。血清タイロシン濃度は、723 回投与後が 148 及び 622 回投与後より低い傾向がみられた。

表 3 イヌにおけるタイロシンの反復 (長期) 経口投与後の血清中濃度 (µg/mL)

| 投与量<br>(mg/kg<br>体重/日) | 性別 | 反復投与回数 (回) |           |           |           |      |           |
|------------------------|----|------------|-----------|-----------|-----------|------|-----------|
|                        |    | 148        |           | 622       |           | 723  |           |
|                        |    | 投与直前*      | 投与 2h 後   | 投与直前      | 投与 2h 後   | 投与直前 | 投与 2h 後   |
| 1                      | 雄  | <LOD       | <LOD      | <LOD      | <LOD      | <LOD | <LOD      |
|                        | 雌  | <LOD       | <LOD      | <LOD      | <LOD      | <LOD | <LOD      |
| 10                     | 雄  | <LOD       | <LOD~0.18 | <LOD      | <LOD~0.95 | <LOD | <LOD~0.11 |
|                        | 雌  | <LOD~0.11  | <LOD~1.9  | <LOD      | <LOD~0.43 | <LOD | <LOD~1.5  |
| 100                    | 雄  | <LOD       | 3.5~35    | <LOD~0.13 | 0.13~5.5  | <LOD | 11~14     |
|                        | 雌  | <LOD~0.43  | 0.25~23   | <LOD~0.13 | <LOD~27   | <LOD | <LOD~14   |

\* : 前日の投与 24 時間後      • <LOD : 検出限界 (0.10 µg/mL) 未満

本試験の追加試験 (投与量:200 及び 400 mg/kg 体重/日、573、727 及び

842 回の各投与 2 時間後に測定) では、血清中タイロシン濃度は、8.0~29  $\mu\text{g/mL}$  であった。試験の進行とともに濃度が高くなることはなく、蓄積性は示さなかった。(参照 2、7、12)

### (3) 薬物動態試験 (牛)

新生子牛 (5 頭/投与群、2 頭/対照群) に酒石酸タイロシンを代用乳に混じて 4、7 及び 10 日間経口投与 (1,000 mg/頭を 1 日 2 回) 試験が実施された。投与前及び各日の 1 回目の投与 4 時間後に採血を行った。各投与期間最終日の 1 回目の投与 4 時間後に肺を採取し、血清及び肺中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。なお、タイロシンの投与量は平均 48 mg/kg 体重/日であった。

投与期間による血清及び肺中濃度に有意差はみられず、4、7 及び 10 日間投与群で平均血清中濃度はそれぞれ 0.41、0.37 及び 0.42  $\mu\text{g/mL}$ 、平均肺中濃度はそれぞれ 1.76、3.16 及び 3.17  $\mu\text{g/g}$  であった。(参照 2、13)

子牛 (ホルスタイン種、1~3 週齢、43 頭) を用いたタイロシン塩基の単回筋肉内投与 (タイロシンとして 17.6 mg/kg 体重) による 2 回の試験が実施された。

投与 2~48 時間後の血液及び肺を採取し、血清及び肺組織中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

試験 1 では、血清中  $C_{\max}$  は投与 2 時間後に約 2.1  $\mu\text{g/mL}$ 、肺中  $C_{\max}$  は投与 6 時間後に 12.6  $\mu\text{g/g}$  であった。投与 24 時間後の肺組織中濃度は 4.5  $\mu\text{g/mL}$ 、肺組織中の AUC は血清中の AUC の約 7 倍であった。

試験 2 では、血清中  $C_{\max}$  は、投与 2 時間後に 2.3  $\mu\text{g/mL}$ 、肺組織中  $C_{\max}$  は投与 24 時間後に 15.7  $\mu\text{g/g}$  であった。血清中濃度は、投与 48 時間後には 0.1  $\mu\text{g/mL}$  以下となったが、肺組織中濃度は 2.2  $\mu\text{g/g}$  であった。肺中の AUC は血清中の約 16 倍であった。(参照 2、14)

同じマクロライド系であるエリスロマイシンやジョサマイシンと同様に、タイロシンでは血清中濃度よりも肺組織中濃度が高くなる傾向がみられるとの報告がある。(参照 14)

子牛 (ホルスタイン種、1~3 週齢、45 頭) を用いたタイロシン塩基の 1~5 日間筋肉内投与 (タイロシンとして 17.6 mg/kg 体重) 試験が実施された。最終投与 2、12 及び 36 時間後の血液及び肺を採取し、血清及び肺中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

投与期間の違いにより血清中及び肺中タイロシン濃度に差はみられなかった。(参照 2、14)

子牛 (ホルスタイン種、16 頭) を用いたタイロシン塩基の単回筋肉内及び皮下投与 (10 mg/kg 体重) 試験が実施された。血液を投与 0.5~24 時間後に

採取し、血清中タイロシン濃度をバイオアッセイにより測定した。

血清中濃度の上昇、 $T_{max}$ 、その後の減衰は、いずれの投与経路においても類似していた。また、AUC は両者間に差はなかったが、皮下投与の方が投与 3 時間後以降により高い血清中濃度が持続する傾向があった。(参照 2、15)

乳牛（フリージアン種、4 頭）を用いた酒石酸タイロシンの単回静脈内投与（20 mg/kg 体重）試験が実施された。タイロシンの乳汁中濃度は、投与 2 時間後以降血清中濃度以上となり、その後は常に血清中濃度を上回った。

潜在性乳房炎罹患乳牛（ホルスタイン種、4 頭）を用いた酒石酸タイロシンの筋肉内投与（20 mg/kg 体重）試験が実施された。タイロシンは速やかに乳汁中に移行し、投与 30 分後には乳汁及び血清中濃度は平衡化した。乳汁中濃度は投与 1 時間後には血清中濃度を上回り、以後その状態が続いた。健康牛の乳汁中  $C_{max}$ /血清中  $C_{max}$  は約 2.5、乳房炎罹患牛の乳汁中  $C_{max}$ /血清中  $C_{max}$  は 1.6 であった。(参照 2、16)

子牛（ホルスタイン種、約 4 か月齢、2 頭/投与群、1 頭/対照群）を用いた  $^{14}C$ -タイロシン<sup>4</sup>の 3 日間筋肉内投与（17.6 mg/kg 体重/日）試験が実施された。投与群の尿及び糞は投与前日から毎日採取した。最終投与 4 時間後に、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚等の組織及び胆汁を採取し、LSC により排泄物、組織及び胆汁の放射活性を測定した。また、HPLC によりタイロシン A 濃度を、バイオアッセイにより微生物活性を、HPLC 及び HPLC/ISP/MS/LSC により放射活性の代謝物パターンをそれぞれ測定した。

平均総残留量（放射活性）は、肝臓 25.2 mg eq/kg、腎臓 47.8 mg eq/kg、筋肉 2.9 mg eq/kg、脂肪 1.5 mg eq/kg 及び胆汁 77.2 mg eq/L であった。HPLC により分析したタイロシン A の平均残留量は、肝臓 2.6 ppm、腎臓 6.9 ppm、筋肉 0.7 ppm 及び脂肪 0.9 ppm（組織総残留のそれぞれ 10.5、14.5、24.1 及び 61.8 %）であった。肝臓、腎臓及び筋肉における微生物学的活性は、総残留のそれぞれ 33.3、39.3 及び 34.5 % であった。また、肝臓、腎臓及び筋肉内の微生物学的残留量のそれぞれ 31.0、36.7 及び 70.0 % がタイロシン A であった。

HPLC/ISP/MS/LSC により分析した各組織中のタイロシン A の総残留に占める割合は、肝臓 34 %、腎臓 20 %、筋肉 34 % 及び脂肪 22 % であった。肝臓及び腎臓におけるその他の主要代謝物として、タイロシン D、タイロシン C 及びシスチニルタイロシン A が認められた。

総放射活性の約 1/5 は尿中に、残りは糞中に排泄された。糞中からはタイロシン A、タイロシン C、タイロシン D 及びジメチルタイロシン D が、尿中からは、シスチニルタイロシン A が主要代謝物として認められた。(参照 2、17)

<sup>4</sup> タイロシンのマクロライド環の 5 位を  $^{14}C$  標識した。

乳牛（ホルスタイン種及びガンジー種各 1 頭）を用いて静脈内、筋肉内及び経口投与によるタイロシン及び酒石酸タイロシンの投与試験が実施された（表 4）。経時的（投与 0、2、4、6、8、24、26、28、30、32 及び 48 時間後）に血液、乳汁及び尿を採取した。なお、各時点の搾乳は完全に実施し、尿もカテーテルで全量採取した。

表 4 乳牛を用いたタイロシン投与試験方法

|                   | 投与時点  |       |       |          |          |          |       |          |
|-------------------|-------|-------|-------|----------|----------|----------|-------|----------|
|                   | 第 1 週 | 第 2 週 | 第 3 週 | 第 4 週    | 第 5 週    | 第 6 週    | 第 7 週 | 第 8 週    |
| 投与経路              | 静脈内   | 筋肉内   | 経口    | 静脈内      | 筋肉内      | 経口       | 経口    | 経口       |
| 被験物質              | タイロシン | タイロシン | タイロシン | 酒石酸タイロシン | 酒石酸タイロシン | 酒石酸タイロシン | タイロシン | 酒石酸タイロシン |
| 投与量<br>(mg/kg 体重) | 5     | 5     | 5     | 5        | 5        | 5        | 50    | 50       |

・各週単回投与

静脈内及び筋肉内投与では、血中濃度はごくわずかな上昇にとどまったが、乳汁中濃度は 2～8 時間にわたり  $1\text{ }\mu\text{g/mL}$  以上を示し、投与 26～32 時間後まで検出可能であった。経口投与では、血中、尿中及び乳汁中濃度はほとんど上昇しなかった。タイロシン  $5\text{ mg/kg}$  体重/日の経口投与では、血液中及び乳汁中濃度の上昇はみられず、尿中濃度は、いずれも  $2\text{ }\mu\text{g/mL}$  未満であった。タイロシン及び酒石酸タイロシン  $50\text{ mg/kg}$  体重/日の経口投与では、血中濃度はわずかに上昇したが乳汁中からは検出されず、尿中濃度は、2 例を除き全て  $2\text{ }\mu\text{g/mL}$  未満であった。（参照 2、18）

#### （4）薬物動態試験（豚）

子豚（各 12 頭/群）を用いたタイロシン塩基の 1～3 日間筋肉内投与（ $8.8\text{ mg/kg}$  体重、1 日 2 回）試験が実施された。最終投与後 2、4 及び 12 時間目（各 4 頭）の血中及び肺組織中濃度をバイオアッセイにより測定した。投与 2 時間後の血中濃度は  $1.4\sim 1.6\text{ }\mu\text{g/mL}$ 、肺中濃度は  $2.2\sim 6.7\text{ }\mu\text{g/mL}$  であった。投与 12 時間後でも、血中及び肺組織中濃度は検出限界以上であった。（参照 2、19）

豚（6 頭）を用いたリン酸タイロシンの単回強制経口投与（ $110\text{ mg/kg}$  体重）試験が実施された。経時的（投与前、投与 0.5、1、2、3、4、6、8、12 及び 24 時間後）に採血を行い、血清中のタイロシン活性をバイオアッセイにより測定した。

各被験動物の血清中  $C_{\text{max}}$  は投与 0.5～2 時間後にみられ、その後速やかに減衰し、投与 12 時間後に平均  $0.23\text{ }\mu\text{g/mL}$  となり、投与 24 時間後には全例



が検出限界未満となった。(参照 2、20)

子豚(30日齢、5頭/群)を用いた酒石酸タイロシンの単回静脈内投与又はカテーテルを用いた単回強制胃内投与(タイロシンとして 30 mg(力価)/kg 体重)のクロスオーバー試験(実験間隔 1 週間)が実施された。経時的(投与 10、20(静脈内投与群のみ)及び 30 分後並びに 1、2、3、4、6、8 及び 24 時間後)に採血を行い、バイオアッセイにより血漿中タイロシン濃度を測定した。

経口投与では、投与 10 分後から血漿中濃度が確認され、平均投与 1.4 時間後に  $C_{\max}$  (2.4  $\mu\text{g/mL}$ ) を示した。その後減少し、投与 24 時間後では 1/10 例 (0.052  $\mu\text{g/mL}$ ) を除き、血漿中タイロシンは検出されなかった。

また、血漿中濃度曲線から求めた経口及び静脈内投与における AUC はそれぞれ 10.4 及び 46.2 ( $\mu\text{g/mL}\cdot\text{h}$ ) で、AUC の比較による経口投与の生物学的利用率は約 22.5 %と算定された。(参照 2、21)

豚(WL 種、雌雄、6 頭/投与群、1 頭/対照群)にリン酸タイロシンを水に懸濁して胃カテーテルを用いて単回強制胃内投与(タイロシンとして 50 mg/kg 体重)した薬物動態試験が実施された。投与 10 及び 30 分後並びに 1、2、8 及び 24 時間後に組織等(肺、肝臓、脾臓、膵臓、胆汁、副腎、腎臓、心筋、筋肉(背部及び臀部)、大脳、小脳、延髄、脊髓、生殖器、リンパ節、気管、皮膚、皮下脂肪、血清、消化管及び消化管内容物)を採取し、バイオアッセイにより各試料中濃度を測定し、体内分布及び消失について検討した。

血清中濃度は、投与 10 分後から認められ、投与 1 時間後には  $C_{\max}$  (8.53  $\mu\text{g/mL}$ ) を示した。その後、順次減少し、投与 8 時間後には 0.5  $\mu\text{g/mL}$  であったが、投与 24 時間後には検出されなかった。各組織には速やかに分布し、肺、肝臓、脾臓、膵臓、腎臓等の主要臓器では、投与 1 時間後に最高値を示すものが多かった。最も高い濃度は胆汁中 (793.75  $\mu\text{g/mL}$ ) で認められた。(参照 2、22)

豚(去勢雄、1 頭)に非標識タイロシンを 2 週間混餌投与 (110 ppm) した後、 $^{14}\text{C}$ -タイロシン<sup>5</sup>を 3 日間混餌投与 (110 ppm) した。糞及び尿を採取するとともに、最終投与 4 時間後に、組織(筋肉、肝臓、腎臓、脂肪、小腸、脳、肺、脾臓、心臓、膵臓及び消化管内容物)の放射活性を LSC により測定した。代謝物については TLC により分析した。

約 99 %の放射活性が糞中に、1 %が尿中に排泄された。抽出可能な糞中放射活性の比率は 85 %であった。豚糞中の抽出可能な残留物の主要成分は、タイロシン D (33 %)、タイロシン A (6 %) 及びジヒドロデスミコシン (8 %) で、少なくとも 10 種類の微量代謝物が存在した。組織中放射活性は、いず

<sup>5</sup> タイロシンのラクトン環を  $^{14}\text{C}$  標識した。

れの組織でも低く、比較的高かったのは胆汁及び小腸（それぞれ 9.52 及び 0.25 mg eq/kg）で、肝臓及び腎臓ではそれぞれ 0.18 及び 0.18 mg eq/kg、その他の組織では、いずれも 0.06 mg eq/kg 未満であった。豚の肝臓からは少なくとも 4 種類の代謝物が検出され、活性を有する代謝物のジヒドロデスミコシンがそのうちの一つとして同定された。その他、極性の高い代謝物も検出された。（参照 2、23）

豚（去勢雄、3 頭）を用いた  $^{14}\text{C}$ -タイロシン<sup>6</sup>の 5 日間混餌投与（220 ppm：約 3.2 mg/kg 体重/日）試験が実施された。最終投与 4 時間後に、組織（肝臓、腎臓、筋肉、肺、脂肪及び皮膚）及び胆汁を採取して LSC により分析した。また、尿及び糞についても分析を行い、排泄経路を調べた。肝臓及び腎臓については、代謝物も検討した。

最終投与 4 時間後の各組織中放射活性を表 5 に示した。組織中放射活性は、肝臓及び腎臓で高値を示した。

表 5 豚における  $^{14}\text{C}$ -タイロシンの 5 日間投与後の各組織中放射活性

| (mg eq/kg) |      |      |      |      |      |      |
|------------|------|------|------|------|------|------|
| 組織         | 肝臓   | 腎臓   | 筋肉   | 脂肪   | 肺    | 皮膚   |
| 平均放射活性量    | 0.45 | 0.46 | 0.07 | 0.05 | 0.17 | 0.07 |

肝臓及び腎臓中のタイロシン A を HPLC で測定した結果、全例が定量限界（50  $\mu\text{g/kg}$ ）未満であった。肝臓のバイオアッセイでは、75 %以上が微生物学的活性を有することが示された。HPLC/ISP/MS/LSC による分析では、肝臓及び腎臓では、全放射活性の 70 %以上が抽出可能であり、それぞれ総残留の 12.3 及び 7.6 %がタイロシン A であった。他にタイロシン D、ジヒドロデスミコシン及びシスチニルタイロシン A（肝臓のみ）が認められた（表 6）。

表 6 豚の  $^{14}\text{C}$ -タイロシンを 5 日間混餌投与後の肝臓及び腎臓におけるタイロシンの代謝物（総  $^{14}\text{C}$  残留に対する成分比）

| 代謝物          | 肝臓   | 腎臓   |
|--------------|------|------|
| タイロシン A      | 12.3 | 7.6  |
| タイロシン D      | 10.3 | 6.1  |
| ジヒドロデスミコシン   | 5.4  | 4.1  |
| シスチニルタイロシン A | 8.9  | —    |
| 計            | 36.9 | 17.8 |

—：検出されず

<sup>6</sup> タイロシンのマクロライド環の 5 位を  $^{14}\text{C}$  標識した。

放射活性は主に糞中に排泄され、糞及び尿中排泄率はそれぞれ約 94 及び 6 %であった。2/3 例では糞中の主要代謝物としてタイロシン D (43 %) 及びジヒドロデスミコシン (44 %) が認められたが、1/3 例の糞中にはタイロシン D のセコ酸(約 56 %)が主要代謝物として認められ、タイロシン D(約 6 %)が微量代謝物として認められた。(参照 2、6、24)

豚(雌雄、3 頭/投与群、1 頭/対照群)を用いた  $^{14}\text{C}$ -タイロシンの 4 日間混餌投与 (110 ppm: 朝夕 2 回給餌) 試験が実施された。最終投与 4 時間後に、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉を採取し、LSC により各組織中放射活性を測定した。また、肝臓については TLC により代謝物を調べた。

肝臓及び腎臓中放射活性は 0.28 mg eq/kg 未満、筋肉及び脂肪中放射活性は 0.04 mg eq/kg 未満であった。

肝臓中には、微生物学的活性を有するタイロシン A 及びジヒドロデスミコシンを含む 5 又は 6 物質が検出された。(参照 2、25)

前述の試験で、豚の肝臓中から検出されたタイロシン A 及びジヒドロデスミコシンは、いずれも抽出可能な総残留の約 5 %であった。

前述の試験で得られた豚の糞から、タイロシン A、D 及びジヒドロデスミコシンが質量分析法により分離された。豚の糞からは、HPLC 及び TLC により、水-クロロホルム抽出の水相から少なくとも 9 種の極性の高い代謝物が分離され、抽出可能な放射活性の 60 %を占めた。また、クロロホルム相からは、タイロシン A、D、ジヒドロデスミコシン及び 4 種以上の微量代謝物が検出された。(参照 2、26)

#### (5) 薬物動態試験 (鶏)

鶏(ブロイラー、雄、10~12 週齢、3 羽)を用いた酒石酸タイロシンの挿管による単回強制胃内投与 (50 mg/羽) 試験が実施された。経時的(投与 30 分、2、8 及び 24 時間後)に採血して、バイオアッセイにより血清中濃度を測定した。

血清中濃度は、投与 30 分後~2 時間後に 0.1 未満~0.23  $\mu\text{g/mL}$  の濃度で認められたが、投与 8 時間後以降には検出されなかった。(参照 2、27)

鶏(8 週齢、8 羽)に酒石酸タイロシンを試験開始 0、1、2 及び 3 時間後に挿管により 4 回強制胃内投与 (50 mg/羽) 試験が実施された。経時的(投与前、投与 2、4、6、8 及び 24 時間後)に採血して、バイオアッセイにより血清中濃度を測定した。

血清中には、投与 2 時間後には認められたが、投与 24 時間後には検出されなかった。 $C_{\text{max}}$  は概ね投与 4 時間後にみられた。(参照 2、28)

鶏（ブロイラー、雄、5～7 週齢、6 羽/群）に尿及び糞を分離して採取できるように手術を行い、酒石酸タイロシンの単回筋肉内投与（25 及び 100 mg/kg 体重）及び単回経口投与（25、100 及び 250 mg/kg 体重）試験が実施された。尿及び糞を経時的（尿：投与 2、4、6、8、24、48 及び 72 時間後、糞：投与 8、24、48 及び 72 時間後）に採取して、バイオアッセイによりタイロシン濃度を測定した。

タイロシンは尿及び糞中に排泄され、その濃度は用量依存的であった。尿中排泄量は投与 2～4 時間後、糞中排泄量は投与 8 時間後で最も多く、その後速やかに減少した。尿及び糞中への総回収率は筋肉内投与で 1.6～43 %、経口投与で 6～76 %であった。（参照 2、29）

鶏（6 羽/時点/投与群、4 羽/対照群）を用いた  $^{14}\text{C}$ -タイロシンの 3 日間飲水投与（528 ppm）試験が実施された。最終投与 0（6 時間）、2、5 及び 7 日後に、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚/脂肪、腹腔脂肪及び胆汁を採取した。排泄物は 7 日後供試群から毎日採取した。採取試料は LSC により放射活性を測定し、HPLC を用いて代謝物を検索した。

組織中の平均総放射活性の分布は、肝臓、腎臓、皮膚/脂肪、腹腔脂肪、筋肉の順に高く、肝臓及び腎臓の組織中濃度は最終投与 5 日後に 0.1  $\mu\text{g eq/g}$  未満に低下した。筋肉、皮膚/脂肪及び腹腔脂肪では、いずれの時点においても 0.1  $\mu\text{g eq/g}$  未満であった。

排泄物中の平均総放射活性は、最終投与 0 日後の 797  $\mu\text{g eq/g}$  から最終投与 5 日後には 14  $\mu\text{g eq/g}$  に低下した。最終投与 7 日後の放射活性の排泄率は最低でも投与量の 69 %（本試験は総回収率を求める試験設定ではない。）であった。

肝臓中の代謝物として、タイロシン D のみが LC-ESI/MS/MS により同定されたが、定量はできなかった。痕跡程度の非極性物質も認められ、タイロシン A と推定されたが、定量限界未満であった。

腎臓の代謝物については、放射活性が非常に低かったため特定されなかった。

排泄物中の主要代謝物としてタイロシン A 及びタイロシン D が認められ、微量代謝物には 20-ジヒドロデスミコシン及びタイロシン B が含まれた。（参照 2、30）

産卵鶏（白色レグホン種、27 週齢、4 羽/時点/投与群、3 羽/対照群）を用いた  $^{14}\text{C}$ -タイロシンの 3 日間飲水投与（529 ppm）試験が実施された。最終投与 0（6 時間）、2、5 及び 7 日後に、肝臓、腎臓、筋肉、皮膚/脂肪及び腹腔脂肪を採取した。卵は投与期間中及び投与後、各被験動物をと殺するまでの期間毎日採取した。排泄物は 5 日後供試群から毎日採取した。採取試料は LSC により放射活性を測定した。

組織中の平均総放射活性の分布は肝臓、腎臓、筋肉、皮膚/脂肪、腹腔脂肪の順に高く、肝臓は最終投与 7 日後に、腎臓では最終投与 2 日後に組織中濃度が 0.1 µg eq/g 未満に低下した。筋肉、皮膚/脂肪及び腹腔脂肪では、いずれの時点においても 0.1 µg eq/g 未満であった。最終投与 2 日後までに、筋肉及び腹腔内脂肪の平均総残留は検出限界未満(それぞれ 9 及び 7 µg eq/kg)となった。

肝臓中の代謝物は LC-ESI/MS/MS により同定された。肝臓に高濃度の残留が認められた 2 例では主要代謝物としてタイロシン A が認められた。肝臓中残留が低濃度であった他の個体及び腎臓に高濃度の残留が認められた 1 例では、タイロシン A 及びタイロシン D の存在が示唆された。

排泄物中の平均総放射活性は、最終投与 0 日後の 358~937 µg eq/g から最終投与 5 日後には 11 µg eq/g に低下した。最終投与後 7 日の放射活性の排泄率は最低でも投与量の 65 % (本試験は、総回収率を求める試験設定ではない。) であった。

排泄物中の主要代謝物としてタイロシン D が認められ、微量代謝物には、タイロシン A 及びタイロシン D のセコ酸が含まれた。

卵は卵黄及び卵白を分離して分析した。最終投与 0 日後の総放射活性は 2/16 例で 1.6 及び 1.7 µg eq/g と高かったが、残りの 14/16 例では 0.113~0.245 µg eq/g であった。最終投与 0 日後の平均放射活性は 0.362 µg eq/g であった。卵黄及び卵白の平均最高濃度は、最終投与 0 及び 1 日後、全卵の平均最高濃度は最終投与 0 日後に認められ、最終投与 6 日後までには検出限界 (0.02 µg eq/g) 未満となった。

卵の代謝物は、LC-ESI/MS/MS により同定された。高濃度の残留が認められた 2 例では主要代謝物としてタイロシン A が認められた。微量代謝物として N-ジメチルタイロシン A、タイロシン D、N-ジメチル-ジヒドロタイロシン A 及び O-ジメチルタイロシン A が認められた。低濃度の残留が認められたその他の卵からはタイロシンは検出されなかった。(参照 2、31)

肉用鶏 (ブロイラー、雌雄各 3 羽/群) を用いてタイロシンの 5 日間飲水投与 (500 ppm : 約 105 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 0、12、24 及び 48 時間後に組織 (筋肉、肝臓、腎臓及び皮膚/脂肪) 中のタイロシン残留について調べた。採取した試料は HPLC/MS/MS (全組織の定量限界 : 50 µg/kg) を用いてタイロシン A を測定した。

肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚/脂肪における残留は最終投与直後 (0 時間後) の 100 µg/kg から最終投与 12 及び 24 時間後には 5 µg/kg (検出限界) 又は検出限界未満に低下した。(参照 6)

## 2. 残留試験

### (1) 残留試験 (牛)

#### ① 組織中残留

子牛（交雑種、雌雄、6頭/群）に酒石酸タイロシンを14日間経口投与（2g/頭/日；タイロシンとして約22mg/kg体重、代用乳に混入して1日2回投与）した。最終投与0（6時間）、5、10及び15日後に組織（筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓）中残留をHPLCにより測定した。

各組織の平均残留量は、最終投与6時間後では、筋肉、脂肪、肝臓及び腎臓でそれぞれ0.12、0.30、2.21及び2.46ppmであったが、最終投与5日後には、肝臓の2例（0.07及び0.11ppm）及び腎臓の1例（0.06ppm）に残留が認められるのみであった。最終投与5日後の他の組織では、全例が定量限界（0.05ppm）又は検出限界（0.02ppm）未満であった。最終投与10日後以降は、最終投与10日後の肝臓1例及び最終投与15日後の筋肉1例で定量限界未満の残留が認められたのみで、他は全て検出限界未満となった（表7）。（参照2、32）

表7 子牛における酒石酸タイロシンの経口投与後の平均組織中残留（ppm）

| 組織 | 最終投与後時間（日） |                         |                         |                         |
|----|------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|    | 0(6時間)     | 5                       | 10                      | 15                      |
| 筋肉 | 0.12       | <LOD                    | <LOD                    | <LOD(5/6)、<br><LOQ(1/6) |
| 脂肪 | 0.30       | <LOD(4/6)、<br><LOQ(2/6) | <LOD                    | <LOD                    |
| 肝臓 | 2.21       | <LOQ(4/6)、<br>0.07、0.11 | <LOD(5/6)、<br><LOQ(1/6) | <LOD                    |
| 腎臓 | 2.46       | <LOQ(5/6)、<br>0.06      | <LOD                    | <LOD                    |

・被験物質は代用乳に混じて投与

・LOQ：定量限界 0.05 ppm

・LOD：検出限界 0.02 ppm

・n=6（）内は例数

子牛（交雑種、生後10日未満、雌雄、3～4頭/群）に酒石酸タイロシンを14日間経口投与（2g/頭/日、タイロシンとして22.2～27.8mg/kg体重、代用乳に混入して1日2回投与）して残留試験が実施された。最終投与0（1時間以内）、1、3、5、7、9及び12日後の組織（肝臓、腎臓及び筋肉）中残留をバイオアッセイにより測定した。

タイロシンの残留は、最終投与0及び1日後には各組織において認められたが、筋肉、腎臓及び肝臓では、それぞれ最終投与3、5及び12日後に検出限界（0.1ppm）未満となった（表8）。（参照2、33）

表 8 子牛における酒石酸タイロシンの経口投与後の平均組織中残留 (ppm)

| 組織 | 最終投与後時間 (日) |      |      |                   |                       |                   |      |
|----|-------------|------|------|-------------------|-----------------------|-------------------|------|
|    | 0           | 1    | 3    | 5                 | 7                     | 9                 | 12   |
| 腎臓 | 3.47        | 3.0  | 0.63 | <LOD              | <LOD                  | <LOD              | <LOD |
| 肝臓 | 7.53        | 5.47 | 1.57 | <LOD(2/3)、<br>0.2 | <LOD(1/3)、<br>0.2、0.4 | <LOD(2/3)、<br>0.1 | <LOD |
| 筋肉 | 0.23        | 0.17 | <LOD | <LOD              | <LOD                  |                   |      |

・被験物質は代用乳に混じて投与

・LOD：検出限界 0.1 ppm      ・ n=3~4      ・ ( )内は例数

子牛（交雑種、雌雄各 3 頭/群）を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与（0 及び 10 mg/kg 体重）試験が実施された。最終投与 0（6 時間後）、3、7、14、21 日後に、筋肉、脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位の各組織を採取し、HPLC により分析した。

肝臓及び筋肉における平均残留量は、最終投与 0 日後では、1.96 及び 0.47 ppm であったが、最終投与 3 日後には 0.17 ppm 及び 0.28 ppm にまで減衰し、それ以降は定量限界（0.05 ppm）未満となった。脂肪中の残留は、最終投与 0 日後にのみ検出された（平均 0.23 ppm）。

最終投与 0 日後では、いずれの組織からも定量可能なタイロシンが検出されたが、その後速やかに減衰し、最終投与 21 日後には注射部位を除き、検出限界（0.02 ppm）未満となった。最終投与 21 日後の注射部位の残留は、初回投与部位では、5 例が定量限界（0.05 ppm）未満、1 例が 0.18 ppm であった。（参照 2、34）

子牛（3 頭/時点、5 頭/対照群）を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与（8.9 mg/kg 体重を 1 日 2 回投与）試験が実施された。最終投与 0、7、10、14、21、28、35、42 及び 49 日後に、肝臓、腎臓及び最終投与の注射部位筋肉における残留をバイオアッセイにより測定した。

各組織における残留は、肝臓では最終投与 21 日後に、腎臓では最終投与 35 日後に、最終投与部位筋肉では最終投与 42 日後に検出限界（0.2 ppm）未満となった。（参照 2、35）

子牛（3 頭/時点、4 頭/対照群）を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与（17.8 mg/kg 体重/日）試験が実施された。肝臓、腎臓及び最終投与部位筋肉の残留をバイオアッセイにより測定した。

最終投与 21 日後に、肝臓及び腎臓における残留は 0.2 ppm 未満となり、注射部位筋肉では最終投与 35 日後に 0.2 ppm 未満となった。（参照 2、36）

泌乳牛（フリージアン種、4 頭/時点）を用いたタイロシン塩基の 4 日間筋

肉内投与（10 mg/kg 体重/日）試験が実施された。最終投与 7、14、21、28、35 及び 42 日後にと殺し、肝臓、腎臓、筋肉、乳房、腹腔脂肪及び注射部位筋肉を採取し、HPLC によりタイロシン残留を測定した。

各組織の平均残留を表 9 に示した。

肝臓、腹腔脂肪及び筋肉では、最終投与 7 日後に検出限界（0.03～0.41 ng/g）未満となった。腎臓では、最終投与 21 日後に、乳房及び注射部位筋肉では、最終投与 28 日後に検出限界（0.03～0.41 ng/g）未満となった。（参照 2、37）

表 9 泌乳牛におけるリン酸タイロシンの 4 日間筋肉内投与後平均組織中残留 (ng/g)

|        | 投与後時間（日） |      |      |      |      |      |
|--------|----------|------|------|------|------|------|
|        | 7        | 14   | 21   | 28   | 35   | 42   |
| 腎臓     | 73.7     | 7.76 | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| 肝臓     | <LOD     | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| 腹腔内脂肪  | <LOD     | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| 筋肉     | <LOD     | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD | <LOD |
| 注射部位筋肉 | 1,621    | 205  | 30.4 | <LOD | <LOD | <LOD |
| 乳房     | 25.1     | 0.35 | 1.02 | <LOD | <LOD | <LOD |

LOD（検出限界）：腎臓－0.05 ng/g、肝臓－0.08 ng/g、脂肪－0.06 ng/g、筋肉－0.41 ng/g、乳房－0.03 ng/g

## ② 乳汁中残留

2 農場の乳牛（ホルスタイン種（高泌乳量）及びエアシャー種（中泌乳量）、各 6 頭）を用いたリン酸タイロシンの 17 日間混餌投与（200 mg/頭/日）試験が実施された。投与期間前から投与期間中（投与開始前日、投与開始 0（当日）、1、2、3、4、5、7 及び 17 日後）の乳汁中のタイロシン濃度を HPLC を用いて測定した（定量限界：0.05 ppm）。

その結果、いずれの品種、いずれの時点においても定量可能な残留は認められなかった。（参照 2、38）

泌乳牛（ホルスタイン種、6 頭/投与群、2 頭/対照群）を用いたタイロシン塩基の 3 日間筋肉内投与（10 mg/kg 体重/日、朝の搾乳後投与）試験が実施された。1 日 2 回搾乳し、投与前から最終投与 5 日後までの各搾乳時の乳汁中残留を HPLC を用いて測定した。

乳汁中残留は、最終投与 3 日後（最終投与後 7 回目搾乳時）まで認められたが、最終投与 4 日後（最終投与後 8 回目搾乳時）以降は全例が検出限界（0.02 ppm）未満となった。（参照 2、39）

泌乳牛（4 頭/投与群、1 頭/対照群）を用いたタイロシン塩基の 3 日間筋肉



内投与（10 mg/kg 体重/日）試験が実施された。1 日に 2 回搾乳し、投与前から最終投与 60 時間後までの各搾乳時の乳汁中残留をバイオアッセイを用いて測定した。

乳汁中残留は、最終投与 0 時間後には 1.0～2.5 µg/mL の濃度で認められたが急速に減衰し、投与 48 時間後には全例が検出限界（0.05 µg/mL）未満となった。（参照 2、40）

## （2）残留試験（豚）

子豚（交雑種、約 8 週齢、雌雄各 3 頭/群）を用いたリン酸タイロシンの 28 日間混餌投与（タイロシンとして 220 ppm）試験が実施された。最終投与 0（6 時間）、2 及び 4 日後の組織（筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓）中残留を HPLC を用いて測定した（検出限界：0.02 ppm）。

その結果、いずれの時点においても全例でタイロシン残留は検出限界未満であった。（参照 2、41）

豚（2 頭/投与量/時点）を用いたリン酸タイロシンの混餌投与（タイロシンとして 100、500 及び 1,000 ppm：投与期間不明）試験が実施された。投与直後及び 48 時間後（100 ppm 投与群は投与直後のみ）に組織（脂肪、心臓、腎臓、筋肉、肝臓及び皮膚）中残留をバイオアッセイにより測定した。各組織の検出限界は、0.218～0.350 ppm であった。

1,000 ppm 投与群では投与直後の肝臓で 0.551 及び 0.564 ppm の残留がみられたが、投与 48 時間後には検出可能な残留は認められなかった。1,000 ppm 投与群のその他の組織では投与直後でも残留は認められなかった。（参照 2、42）

豚（交雑種、約 8 週齢、雌雄各 3 頭/群）を用いた酒石酸タイロシンの 10 日間飲水投与（タイロシンとして 228 ppm）試験が実施された。最終投与 0（6 時間）、2 及び 5 日後に組織（筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓）中残留を HPLC により測定した（検出限界：0.02 ppm）。

最終投与 0 日後の腎臓 1 例で 0.021 ppm の残留がみられたのみで、その他は全例が検出限界未満であった。（参照 2、43）

子豚（約 8 週齢、雌雄各 20 頭）を用いたタイロシン塩基の 5 日間筋肉内投与（10 mg/kg 体重/日）試験が実施された。

最終投与 0、3、7 及び 14 日後に、筋肉、皮膚、脂肪、肝臓、腎臓及び注射部位筋肉を採取し、HPLC により残留濃度を測定した。

最終投与 0 日後において、組織中残留は定量限界（0.05 ppm）又は定量限界付近であった。その後、残留は急速に減衰し、最終投与 3 日後には最終投与の注射部位を除く全ての分析組織で定量限界（0.05 ppm）未満となった。

最終投与 7 日後には、注射部位を含む全ての組織で検出限界 (0.02 ppm) 未満まで低下した。(参照 2、44)

豚 (3 頭/時点、3 頭/対照群) を用いたタイロシン塩基の 3 日間筋肉内投与 (17.6 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 0、2、4、6、8、10 及び 12 日後に、脂肪、腎臓、筋肉、肝臓及び皮膚/脂肪を採取し、バイオアッセイによりタイロシン残留を測定した。

タイロシン残留は、最終投与 0 日後には全組織で認められたが、最終投与 4 日後以降全例が検出限界未満となった。(参照 2、45)

### (3) 残留試験 (鶏)

#### ① 組織中残留

鶏 (ブロイラー、雌雄各 3 羽/群) を用いたリン酸タイロシンの 7 日間混餌投与 (タイロシンとして 962 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、2、5 及び 10 日後に組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留を HPLC により測定した (定量限界 : 0.05 ppm、検出限界 : 0.02 ppm)。

最終投与 0 日後の皮膚 1 例で定量限界未満の残留が検出されたのみで、その他は全例が検出限界未満であった。最終投与 5 日後までの結果から最終投与 10 日後の試料の分析は行わなかった。(参照 2、46)

鶏 (ブロイラー、雌雄各 3 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 8 日間飲水投与 (タイロシンとして 415 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (6 時間)、1、5 及び 10 日後に組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留を HPLC により測定した (定量限界 : 0.05 ppm、検出限界 : 0.02 ppm)。

最終投与 0 日後の肝臓 1 例で 0.083 ppm の残留が検出され、腎臓では定量限界未満の残留が検出された。また、最終投与 1 日後の皮膚 1 例で定量限界未満の残留が検出された以外は、全例が検出限界未満であった。最終投与 5 日後までの結果から最終投与 10 日後の試料の分析は行わなかった。(参照 2、47)

鶏 (ブロイラー、12 週齢、2 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 7 日間飲水投与 (1,300 ppm : タイロシンとして平均 124~132 mg/羽/日) 試験が実施された。最終投与 0 (投与直後)、24、48、72、96 及び 168 時間後に、組織 (肝臓、腎臓、心臓、筋胃、脂肪、皮膚及び筋肉) 中残留をバイオアッセイにより測定した。各組織の検出限界は、0.112~0.360 µg/g であった。

最終投与直後 (0 時間後) の腎臓 (0.432 µg/g) 及び肝臓 (1.03 µg/g) にタイロシンの残留が認められたが、最終投与 24 時間後以降は検出されなかった。その他の組織からはいずれの時点においても検出限界未満であった。(参照 2、48)

## ② 鶏卵中残留

産卵鶏（25～35 週齢、24 羽）を用いたリン酸タイロシンの 5 日間混餌投与（タイロシンとして 800 ppm）試験が実施された。投与前から最終投与 5 日後まで毎日 10 個の卵を無作為に採取し、HPLC により鶏卵中の残留を測定した（定量限界：50.15 ng/g、検出限界：12.5 ng/g）。

投与開始 5 日の 1 例から 74.93 ng/g の残留が検出されたが、それ以外の全例で定量限界未満であった。（参照 2、49）

表 10 リン酸タイロシンの混餌投与による鶏卵中のタイロシン平均残留 (ng/g)

| 投与期間（日） |      |                              |                              |                               |                               | 投与後（日）                        |                              |                              |                              |      |
|---------|------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------|
| 投与前     | 1    | 2                            | 3                            | 4                             | 5                             | 1                             | 2                            | 3                            | 4                            | 5    |
| <LOD    | <LOD | 8.46<br>(<LOD<br>～<br>25.53) | 6.65<br>(<LOD<br>～<br>46.39) | 12.39<br>(<LOD<br>～<br>35.28) | 18.30<br>(<LOD<br>～<br>74.93) | 12.39<br>(<LOD<br>～<br>35.18) | 4.07<br>(<LOD<br>～<br>23.26) | 7.49<br>(<LOD<br>～<br>31.92) | 2.97<br>(<LOD<br>～<br>16.67) | <LOD |

・ LOD：検出限界 12.5 ng/g    ・ 定量限界 50.15 ng/g    ・ n=10

・ 検出限界未満の試料は検出限界の 1/2 量として算定

産卵鶏（ロードアイランドレッド交雑種、17 羽/投与群、3 羽/対照群）を用いた酒石酸タイロシンの 3 日間飲水投与（タイロシンとして 500 ppm: 72.2～75.7 mg/kg 体重/日）試験が実施された。投与開始日から最終投与 14 日後まで毎日 12 個の卵を無作為に採取し、HPLC により鶏卵中の残留を測定した（定量限界：50 ng/g、検出限界：10 ng/g）。

投与開始 24 時間後の 2/12 例、投与開始 48 時間後の 2/12 例及び投与開始 72 時間後の 3/12 例に定量限界以上の残留が認められた。それ以降は最終投与 4 日後に定量限界値となった 2/12 例を除き全例が定量限界未満となり、そのほとんどが検出限界未満であった。（参照 2、50）

鶏（イサブラウン種、7～18 か月齢、8 羽/群）を用いた酒石酸タイロシンの 5 日間飲水投与（500 及び 1,000 ppm）試験が実施された。鶏卵中の残留をバイオアッセイにより測定した。

残留は卵黄の方が卵白より長期間認められた。

全卵中の残留は、1,000 ppm 投与群で最終投与 1 日後に最高値 (0.37 ppm) に達した後低下し、最終投与 4 日後には 0.08 ppm、最終投与 5 日後には検出限界未満となった。（参照 2、51）

産卵鶏（22 羽）を用いたタイロシン製剤の 5 日間飲水投与（タイロシンとして 500 ppm: 87～97 mg/kg 体重/日）試験が実施された。卵を毎日採取し、HPLC によりタイロシン A を測定した。

全卵中平均タイロシン A 濃度は、試験期間を通じて定量限界未満 (50 µg/kg) であった。検出されたタイロシン A の最高濃度は 117 µg/kg で、投

与開始 2 日後の卵でみられたが、投与開始 6 日後には全例が定量限界未満となった。(参照 6)

#### (参考データ)

産卵鶏 (10 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 7 日間飲水投与 (1,300 ppm)、単回皮下投与 (頸部に投与 : 25 mg/kg 体重) 及び単回強制経口投与 (そ嚢内投与 : 100 mg/kg 体重) 試験が実施された。最終投与後 24 時間毎に採卵 (4 個/群) し、鶏卵中残留についてバイオアッセイにより測定した (検出限界 : 0.141 ppm)。

各投与経路における経時的な鶏卵中残留を表 11 に示した。

飲水投与群では、鶏卵中残留は投与開始 4 日に高値 (0.712 ppm) を示し、投与開始 6 日に検出限界値に低下し、最終投与 1 日後に最高値 (0.804 ppm) となった後、最終投与 5 日後には検出限界未満となった。

皮下投与群では、投与 2 日後に最高値 (0.282 ppm) を示した後、投与 6 日後には検出限界値となった。

強制経口投与群では、投与 2 日後に最高値 (4.794 ppm) を示した後、投与 6 日後には検出限界値となった。(参照 2、52)

表 11 酒石酸タイロシンの各投与経路における鶏卵中残留 (ppm)

| 投与経路  | 投与開始後時間 (日) |       |       |       |       |     |       |       |       |       |     |      |
|-------|-------------|-------|-------|-------|-------|-----|-------|-------|-------|-------|-----|------|
|       | 1           | 2     | 3     | 4     | 5     | 6   | 7     | 8     | 9     | 10    | 11  | 12   |
| 飲水*1  | LOD*4       | 0.360 | 0.494 | 0.712 | 0.609 | LOD | 0.420 | 0.804 | 0.508 | 0.353 | LOD | <LOD |
| 皮下*2  | LOD         | 0.282 | LOD   | 0.247 | 0.155 | LOD | LOD   |       |       |       |     |      |
| そ嚢内*3 | LOD         | 4.794 | 0.353 | 0.240 | 0.522 | LOD | LOD   |       |       |       |     |      |

- ・\*1 : 投与量-1,300 ppm 7 日間投与
- ・\*2 : 投与量-25mg/kg 体重 単回投与
- ・\*3 : 投与量-100 mg/kg 体重 単回投与
- ・\*4 : 検出限界 ; 0.141 ppm
- ・n=10

#### (4) 残留試験 (七面鳥)

七面鳥 (ニコラス種、雌雄各 5 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 8 日間飲水投与 (タイロシンとして 500 ppm) 試験が実施された。最終投与 0(6 時間)、1、5 及び 10 日後に組織 (筋肉、皮膚、脂肪、肝臓及び腎臓) 中残留を HPLC により測定した (定量限界 : 0.05 ppm、検出限界 : 0.02 ppm)。

最終投与 0 日後の脂肪及び皮膚でそれぞれ 0.0639 及び 0.0641 ppm の残留が検出された以外、全例で定量限界未満であった。また、最終投与 1 日後以降の全例が検出限界未満であった。(参照 2、53)

七面鳥 (Broad Breasted Bronze 種、6 か月齢、3 羽/群) を用いた酒石酸タイロシンの 7 日間飲水投与 (1,300 ppm) 試験が実施された。最終投与 0 (投与直後)、24、48、72 及び 96 時間後に組織 (皮膚、肝臓、脂肪、腎臓、