

内閣府食品安全委員会事務局  
平成23年度食品安全確保総合調査

ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準の設定された

農薬、動物用医薬品及び飼料添加物に係る

食品健康影響評価に関する調査報告書

サラフロキサシン

平成24年1月

株式会社三菱化学テクノロジー



## はじめに

食品安全委員会では、ポジティブリスト制度導入に伴い、暫定基準の設定された農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本報告書はこの内、サラフロキサシンについて、FAO/WHO 合同添加物専門家会議(以下「JECFA」という。)と欧州医薬品庁(以下「EMA」という。)の評価書の翻訳を行うとともに、評価に必要な情報について整理し、取りまとめたものである。

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクニサーチ



## 目 次

### サラフロキサシン

1. 調査の目的 .....	5
2. 作業の概要 .....	5
2.1. 調査対象物質 .....	5
2.2. 評価書の翻訳 .....	7
2.2.1. 評価書 .....	7
2.3. 翻訳の整理 .....	7
3. 評価書和訳 .....	7
3.1 JECFA(1998年) .....	9
3.2 JECFA(1998年) .....	33
3.3 EMEA(1996年) .....	77
3.4 EMEA(1997年) .....	87
3.5 EMEA(1998年) .....	95



# 海外のリスク評価機関における農薬の評価結果に関する調査 報告書

## サラフロキサシン

### 1. 調査の目的

食品衛生法の一部を改正する法律(平成15年法律第55号)の施行に伴い、いわゆるポジティブリスト制度が、平成18年5月29日に導入された。本施行に伴い、農薬、動物用医薬品及び飼料添加物(以下「農薬等」という。)758物質に暫定基準が設定され、食品安全委員会では、これらの物質について、海外のリスク評価機関等で実施された評価結果を活用し、順次食品健康影響評価を行っているところである。

本調査は、国際的な評価機関である JMPR (FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議) 及び JECFA (FAO/WHO 合同残留添加物専門家会議) と最新の評価を行っている EFSA (欧州食品安全委員会) の評価書が、我が国での評価を行う上で有益性が高いため、今後評価を行うべき農薬のうち、JMPR 及び JECFA と EFSA の双方の評価を比較できるものについて、双方の評価書の翻訳を行うとともに評価に必要な情報について整理し、評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめたものである。

### 2. 作業の概要

本調査では JMPR 及び JECFA と EFSA における評価書の翻訳及び整理を以下のように実施した。

#### 2.1. 調査対象物質

本調査全体では、ポジティブリスト制度施行に伴う暫定基準が設定された農薬等の 758 物質のうち、表1に示した 38 物質を調査対象とした。本報告書では、これらのうちサラフロキサシンの調査について報告した。

**表 1 調査対象の農薬等**

番号	物質名	主な用途
1	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン (アルベンダゾール)	動物薬・寄生虫駆除剤
2	イソメタミジウム	動物薬・寄生虫駆除剤
3	エトキシキン	農薬/飼料添加物・成長調整剤・抗酸化剤
4	オイゲノール	動物薬・麻酔薬
5	オルトフェニルフェノール	農薬・殺菌剤
6	カルバドックス(キノキサリン-2-カルボン酸含む)	動物薬・合成抗菌剤
7	キントゼン(PCNB)	農薬・殺菌剤
8	クロサンテル	動物薬・寄生虫駆除剤
9	クロルプロマジン	動物薬・鎮静剤
10	酢酸トレンボロン	動物薬・ホルモン剤
11	サラフロキサシン	動物薬・合成抗菌剤
12	ジエチルスチルベストール(DES)	動物薬・ホルモン剤
13	ジクラズリル	動物薬・寄生虫駆除剤
14	シクロキシジム	農薬・除草剤
15	ジブチルヒドロキシトルエン	飼料添加物・抗酸化剤
16	ジメトリダゾール	動物薬・寄生虫駆除・抗寄生虫剤
17	スペクチノマイシン	動物薬・抗生物質
18	スルファジミジン	動物薬・合成抗菌剤
19	ゼラノール	動物薬・ホルモン剤
20	デキサメタゾン	動物薬・ホルモン剤
21	テクナゼン	農薬・殺菌剤・成長調整剤
22	ドジン	農薬・殺菌剤
23	トリクラベンダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤

番号	物質名	主な用途
24	トリベヌロンメチル	農薬・除草剤
25	ナイカルバジン	動物薬/飼料添加物・合成抗菌剤・寄生虫駆除剤
26	ネオマイシン	動物薬・抗生物質
27	バシトラシン	動物薬/飼料添加物・抗生物質
28	ビオレスメリン	農薬・殺虫剤
29	ピペロニルブトキシド	農薬/動物薬・共力剤
30	ブチルヒドロキシアニソール	飼料添加物・抗酸化剤
31	フルアズロン	動物薬・ダニ駆除剤
32	フルメリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	プロモプロピレート	農薬・ダニ駆除剤
34	ポリミキシン B	動物薬・抗生物質
35	マレイン酸ヒドラジン	農薬・除草剤・成長調整剤
36	メロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤
37	モキシデクチン	動物薬・寄生虫駆除剤
38	ロニダゾール	動物薬・寄生虫駆除剤・抗原虫剤



## 2.2. 評価書の翻訳

### 2.2.1. 評価書

サラフロキサシンに関して、これまでに食品安全委員会にて収集を行っている JMPR と EMEA 評価書の指定部分の翻訳を行った。各評価書等を表 2 に示した。

表 2 調査対象の評価書

機関	発行年	タイトル
JECFA	1998	FNP 41/11-JECFA 50/107, 1998
JECFA	1998	FAS 41-JECFA 50/37, 1998
EMEA	1997	Committee for Veterinary Medicinal Products, Sarafloxacin (salmonidae), Summary Report (1), 1997
EMEA	1998	Committee for Veterinary Medicinal Products, Sarafloxacin (salmonidae), Summary Report (2), 1998
EMEA	1996	Committee for Veterinary Medicinal Products, Sarafloxacin, Summary Report, 1996

### 2.3. 翻訳の整理

評価書の翻訳について、評価書ごとに以下のように整理した。

- ・評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成した。
- ・翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載した。
- ・評価書ごとに毒性試験とその結果の概要を一覧表に取りまとめた。

## 3. 評価書訳

以下に評価書の指定箇所の全訳を、評価書ごとに掲載した。



# サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理

**JECFA 1998**

ウェブサイト:<ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/41-11-sarafloxacin.pdf>

FNP 41/11-JECFA 50/107



## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理 JECFA (1998) 目次

評価対象動物薬の概要 (原文 P. 107) .....	14
その他の概要特性 (原文 P. 107) .....	15
食品中残留物とその評価 (原文 P. 107) .....	15
使用条件 (原文 P. 107) .....	15
全般的事項 (原文 P. 107) .....	15
薬物動態及び代謝 (原文 P. 108) .....	15
薬物動態 (原文 P. 108) .....	16
代謝 (原文 P. 110) .....	20
組織中残留消失試験 (原文 P. 111) .....	22
放射能標識残留消失試験 (原文 P. 111) .....	22
非標識体を用いた残留消失試験 (原文 P. 113) .....	24
結合性残留物/生物学的利用能 (原文 P. 114) .....	26
組織中残留物の分析法 (原文 P. 114) .....	26
評価 (原文 P. 114 又は P. 115) .....	27
サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1998) .....	32
略称 .....	32

原文 目次

原文ページ

IDENTITY -----	107
OTHER INFORMATION ON IDENTITY AND PROPERTIES-----	107
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION -----	107
CONDITIONS OF USE -----	107
General-----	107
Dosage -----	108
PHARMACOKINETICS ANDMETABOLISM-----	108
Pharmacokinetics -----	108
Toxicological Test Species -----	108
Mice -----	108
Rats-----	108
Rabbits -----	109
Dogs -----	109
Humans -----	110
Food Animals-----	110
Chickens and Turkeys-----	110
Metabolism-----	110
Mice and Rabbits-----	110
Humans -----	110
Chickens -----	111
Turkeys-----	111
TISSUE RESIDUE DEPLETION STUDIES-----	111
Radiolabeled Residue Depletion Studies -----	111
Chickens -----	111
Turkeys-----	112
Residue Depletion Studies with Unlabelled Dreg -----	113
Chickens -----	113
Turkeys-----	113
Bound Residues/Bioavailability -----	114
METHODS OF ANALYSIS FOR RESIDUES IN TISSUES -----	114
APPRAISAL -----	114
Residue Depletion-----	115
Bound Residues/Bioavailability -----	116
Choice of Marker Residue -----	116

Choice of Target Tissues .....	116
Maximum Residue Limits .....	116
REFERENCES .....	116

## サラフロキサシン

初稿

Raymond J. Heitzman (博士)

英国バークシャー、ニューバリー、コンプトン (Compton, Newbury, Berkshire, United Kingdom)

### 評価対象動物薬の概要 (原文 p. 107)

化学名: サラフロキサシン塩酸塩

sarafloxacin hydrochloride;

6-フルオロ-1-(4-フルオロフェニル)-7-ピペラジニル-1,4-ジヒドロ-4-オキソ-3-キノリンカル

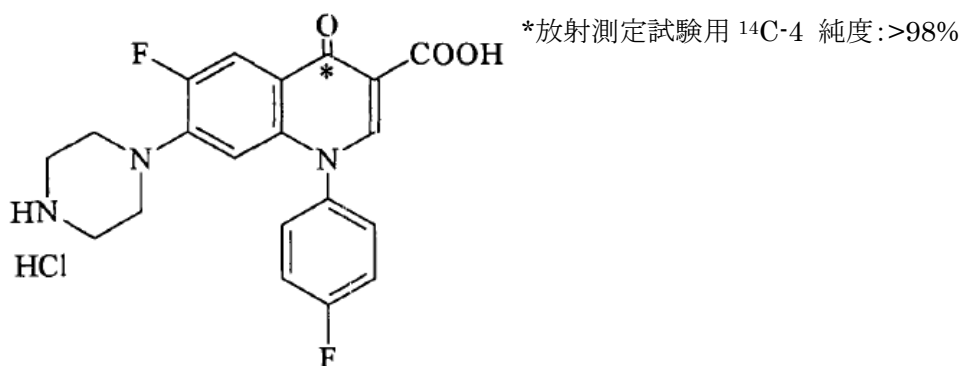
ボン酸塩酸塩

6-fluoro-1-(4-fluorophenyl)-7-piperazinyl-1,4-dihydro-4-oxo-3-quinoline

carboxylic acid hydrochloride

同義語: フロキサゾール (Flozasol)

構造式:



分子式:  $\text{C}_{20}\text{H}_{18}\text{ClF}_2\text{N}_3\text{O}_3$



分子量：421.8（塩酸塩）385.4（遊離塩基）

### その他の概要特性（原文 p. 107）

純粋な活性成分：サラフロキサシン塩酸塩

外観： 白から薄黄色の粉末

融点： 300° C 超

溶解性(g/L)： 水には0.31;メタノールには3.2;エタノールには0.23;1N NaOHには165;DMSOには8.8、1M 塩酸、クロロホルム、ヘキサン、トルエンには実質的不溶。

紫外線吸収極大：261 nm 及び317 nm

安定性に影響を与える因子：塩酸塩は中性、酸性及び塩基性溶液中で安定し、サラフロキサシンは110°Cで30日間安定している。溶液中ではサラフロキサシンは光及び酸化剤によって分解される可能性がある。

### 食品中残留物とその評価（原文 p. 107）

#### 使用条件（原文 p. 107）

#### 全般的事項（原文 p. 107）

七面鳥及び鶏(ブロイラー)に対して抗生物質として飲水投与する。

#### 投与量（p. 108）

鶏： 飲水中20 mg/L;3週齢以上の鶏で4 mg/kg 体重相当。

七面鳥： 飲水中30 mg/L;7週齢の七面鳥で4 mg/kg 体重相当。

### 薬物動態及び代謝（原文 p. 108）

## 薬物動態 (原文 p. 108)

### 毒性試験に用いられる動物種 (原文 p108)

これらの薬物動態試験は、優良試験所基準 (GLP) を遵守することは要求されていなかった。本試験は、現在の科学基準に準拠して計画され、実施された。

### マウス (原文 p. 108)

マウス(3 群、雌 12 匹/群)を用いた  $^{14}\text{C}$  標識サラフロキサシンの単回投与\*試験が実施された。この試験では、初めの 2 群をそれぞれサラフロキサシン(10 mg/kg 体重)の静脈注射投与群と強制経口投与群とし、残りの 1 群はサラフロキサシン(100 mg/kg 体重)の強制経口投与群とした。これらの群の動物の尿及び糞は、1 日ごとに 3 日間採取した。

\*原文では「oral」と記載されているが、このあとに続く文では、一方は静脈注射投与、もう一方には経口投与と説明されているので、省いた。

親化合物の吸収率は 0~24 時間の尿中排泄から推定した。親化合物の吸収率は、用量が 10 mg/kg 体重のときは 48%(範囲:27~73%)、100 mg/kg 体重のときは 34%(範囲:29~38%)であった。

マウスにサラフロキサシン(10 mg/kg)を単回静脈注射投与後の 3 日間で投与した  $^{14}\text{C}$  の 49%が尿中に排泄され、約 44%が糞中に排泄された。同じ用量での経口投与後の尿中排泄率は約 25%、また糞中排泄率は 80%であった。マウスにおける 100 mg/kg 体重での経口投与では投与量の 18%が尿中へ、また 74%が糞中へ排泄された。経口又は静脈注射投与後の 24 時間以内にほとんど全ての放射能が排泄された(第 4a 巻)。

### ラット (原文 p. 108)

ラット(Sprague Dawley 系、6 群、雄雌各 18 匹/群)を用いたサラフロキサシンの投与試験が実施された。この試験ではサラフロキサシンを 1 つの群には 20 mg/kg 体重で単回静脈内投与し、4 種類の群にはそれぞれ 20、75、275 又は 1000 mg/kg 体重で単回経口投与し、残りの 1 群には 1000 mg/kg 体重で連続 14 日間反復経口投与した。単回投与群については投与日に、また 14 日間反復投与群については 1 日目及び 14 日目にそれぞれの投与直前と投与後 0.5 時間、1 時間、2 時間、4 時間、6 時間、8 時間、12 時間及び 24 時間に血液試料(4 匹/群)を採取した。血漿及び尿の試料については、HPLC 法によりサラフロキサシン塩基を定量した。本試験で得られた

薬物動態パラメータは表 1 に示した。サラフロキサシン (20 mg/kg 体重) の単回投与後の 0 時間から無限時間までの AUC を静脈内投与した場合と経口投与した場合を比較したところ、この用量での生物学的利用能は約 12% であった。用量に対して AUC をプロットすると、275 mg/kg 体重の用量まで直線性が認められる (第 4b 巻)。

表 1. ラットにおけるサラフロキサシンの体内動態パラメータ

投与量(経路) (mg/kg 体重)	V <sub>d</sub> (l/kg)	T <sub>1/2</sub> (排 泄) (h)	T <sub>max</sub> (h)	C <sub>max</sub> (mg/L)	k <sub>a</sub> (h <sup>-1</sup> )	k <sub>e</sub> (h <sup>-1</sup> )	ABC (mL/min/kg )
20 (静脈注 射)	5.3	2.0	—	—	—	0.3	30
20 (経口)	60	3.0	1.0	0.3	3.0	0.3	270
75 (経口)	70	2.0	2.0	0.6	1.0	0.4	470
275 (経口)	250	7.0	2.0	0.9	2.0	0.1	420
1000 (経口)	400	6.0	1.0	2.0	2.0	0.1	820
1000 (経口)*	110	6.0	2.0	8.0	1.0	0.1	200

ABC は見かけの全身クリアランス。\*1 日 1 回、14 日間。

#### ウサギ (原文 p. 109)

ウサギ(ニュージーランドホワイト種雌、3 ヶ月齢)を用いた <sup>14</sup>C-標識サラフロキサシンの吸収、代謝及び排泄試験が実施された。この試験では、1 群 3 匹として <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基 (10 mg/kg 体重) を 2 つの群に強制経口投与し、3 つ目の群には同用量で静脈内投与した。血液試料の採取は、2 つの強制経口投与群のうちの 1 つを対象として投与後 1 時間、3 時間、6 時間、12 時間及び 24 時間に行った。尿及び糞試料の採取は、もう 1 つの強制経口投与群と静脈内投与群を対象として 1 日 1 回、連続 5 日間にわたって実施した。投与後 5 日以内に投与量の約 11% が尿中に排泄され、約 79% が糞中に排泄された。静脈内投与後の尿中排泄から、経口投与した場合の全身よる吸収率は投与量の約 16% であることが明らかになった (4c 巻)。

#### イヌ (原文 p. 109)

イヌ(3 群、一群 14 匹。種、年齢、性については記述なし)を用いた <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基の 1 日 1 回 (5、25、125 mg/kg 体重/日)、カプセルによる反復経口投与試験が実施された。投与開始から 1 か月後に各群とも 6 匹ずつをと殺し、血漿及び脳脊髄液を採取し、HPLC で分析した。残り

の動物には、その後も投与を続け、合計 90 日間投与した。本試験で得られた薬物動態パラメータを表 2 に示した。

表 2 イヌにおけるサラフロキサシン塩基経口投与後の薬物動態

投与量 (mg/kg)	平均半減期(h) <sup>1</sup>			AUC(mg·h/L)		
	2回投与	24回投与	79回投与	2回投与	24回投与	79回投与
5	5	6	6	9	9	10
25	5	5	6	30	31	30
125	5	6	6	104	108	106

<sup>1</sup> 試料は投与後 1、3、6 及び 24 時間に採取した。

低用量及び中用量群ではサラフロキサシンの血清中濃度は投与後 3 時間に採取された試料でピークとなることが最も多かった。高用量群ではほとんどのイヌで血清中最高濃度は投与後 6 時間に認められた。従って、高用量群のいくつかの動物では真の半減期が過剰評価され、AUC 値が過少評価された可能性がある。AUC を投与量で標準化することにより、全身暴露の用量比例性を判断する基準が得られる。すなわち、mg/kg あたりの AUC は、5 mg/kg 体重投与群では約 2 µg·h/mL、25 mg/kg 体重投与群では約 1 µg·h/mL、155 mg/kg 体重投与群では約 1 µg·h/mL と減少傾向がみられることから、投与量が増加すると吸収効率が減少することが示唆される。

要約すると、これらのデータからイヌにおけるサラフロキサシンの体内動態は用量や投与期間に依存しないこと、投与量が増加するとサラフロキサシンの吸収効率は減少することが示唆された(4d 巻)。

イヌ(ビーグル成犬、雄 4 匹)を用いた <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基(10 mg/kg 体重)の単回経口投与試験が実施された。この試験では、サラフロキサシンの組織分布が検討された。投与後 2 及び 6 時間に測定された組織中放射能濃度を表 3 に示した(4e 巻)。

表 3. <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基(用量 = 10 mg/kg 体重)経口投与後のイヌ(雄性)における組織中放射能濃度(mg 当量/kg 又は L)

組織	2 時間	6 時間	24 時間	組織	2 時間	6 時間	24 時間
肝臓	14	12	2	骨 <sup>2</sup>	3	3	2
腎臓	16	14	1	網膜/ブドウ膜	15	43	45

肺	6	5	1	血液	3	3	0.4
脳	0.4	0.7	0.3	胆汁	154	454	420
脂肪 <sup>1</sup>	0.6	0.5	0.6	尿	89	412	188
筋肉 <sup>1</sup>	5	6	1				

<sup>1</sup> 筋肉の重量は体重の 46%、脂肪重量は体重の 10%に相当するとして算出した用量パーセント。

<sup>2</sup> 肋骨(骨髄を含む)

イヌ(成犬、雌 6 匹)を用いたサラフロキサシン塩基(200 mg、19.6 mg/kg 体重相当)の経口投与試験が実施され、サラフロキサシンの生物学的利用能が検討された。この試験における投与には、3 種類の剤型—懸濁液、溶液及びカプセル—が用いられた。懸濁液とカプセルの生物学的利用能はほぼ同じであった。すなわち、投与後 0 から 32 時間の平均 AUC 値は、懸濁液を用いた場合は 27 µg·h/mL、カプセルを用いた場合は 23 µg·h/mL であった。これに対して溶液の平均 AUC 値は 52 µg·h/mL であった。この報告書著者は生物学的利用能に関する他の試験結果を報告しているが、それらの試験で溶液を 10 mg/kg 体重で経口投与した場合と静脈内投与した場合を比較したところ、溶液を経口投与した場合の生物学的利用能は 58～70%であったとしている。カプセル剤の用量と生物学的利用能との間には直線性は認められず、また対数変換しても直線性は認められない。懸濁液を用いた場合の AUC 値は溶液を用いた場合のおおよそ半分であったが、著者によると 10 mg/kg 体重という低用量で投与した別の試験では、これらの剤形による AUC はどちらもほぼ同じであった。剤型による違いの理由については容易には明らかにすることはできなかった。また著者は、イヌに投与されたのと同じロットのカプセル剤を投与したヒトにおける臨床試験データに言及している。ヒトでのサラフロキサシンの主要排泄経路は尿中排泄であることから、サラフロキサシンの吸収率は尿中回収率からほぼ推定することができると考えられる。著者は、ヒトにおける臨床試験における尿中回収率は、投与量が 1.3 mg/kg 体重のときの 24%から 10.4 mg/kg 体重のときの 10%までの範囲にあったことから、ヒトにおける吸収率はイヌにおける吸収率より相当低いことを指摘した(4f 巻)。

#### ヒト (原文 p.110)

ヒト(22 名の健康な男性志願者、20～39 歳)におけるサラフロキサシン(100、200、400、800 mg)の単回経口投与試験が実施された。血液試料は投与前、投与後 0.25 時間、0.5 時間、1 時間、1.5 時間、2 時間、3 時間、4 時間、6 時間、8 時間、10 時間、12 時間、16 時間、24 時間、28 時間、32 時間及び 48 時間に、また尿試料は投与後 0～4 時間、4～8 時間、8～12 時間、12～16 時間、16～24 時間、24～32 時間及び 32～48 時間に採取した。本試験は「優良試験所基準」を遵守することは要求されなかったが、本試験の品質とデザインは現在の科学基準に準拠していた。

血漿中濃度は投与後 1.5～4 時間にピークに達し、その後の減少は投与後約 12 時間で終末相となる二相性を示した。各用量群における平均ピーク濃度は、100 mg 投与群では 140 ng/mL、200 mg 投与群では 180 ng/mL、400 mg 投与群では 240 ng/mL、800 mg 投与群では 350 ng/mL であった。これらのピーク濃度を用量で mg/kg あたりに標準化すると、100 mg 投与群では 106 ng/mL、200 mg 投与群では 62 ng/mL、400 mg 投与群では 44 ng/mL、800 mg 投与群では 34 ng/mL であった。各用量群における AUC 値を用量で mg/kg あたりに標準化すると、平均で、100 mg 投与群では 860 ng・h/mL、200 mg 投与群では 570 ng・h/mL、400 mg 投与群では 410 ng・h/mL、800 mg 投与群では 350 ng・h/mL であった。用量で標準化した AUC 値とピーク濃度の低下を用量の関数とすると、吸収率は用量増加のおおよそ 3 倍で減少することを示している。終末相の半減期は平均で、100 mg 投与群では 9 時間、200 mg 投与群では 9 時間、400 mg 投与群では 10 時間、800 mg 投与群では 11 時間であった。主排泄経路は、未変化体の腎排泄であった。腎クリアランスは平均で、100 mg 投与群では 280 mL/分、200 mg 投与群では 290 mL/分、400 mg 投与群では 290 mL/分、800 mg 投与群では 260 mL/分であった。群間のバラツキには有意差は認められなかった。未変化体の尿中回収率は、100 mg 投与群では 19%、200 mg 投与群では 14%、400 mg 投与群では 10%、800 mg 投与群では 7% であった。サラフロキサシンの吸収率は用量が 100 mg ときの約 27～34% であるが、用量が 800 mg ときの 11～13% に減少した(47 巻)。

### 食用動物 (原文 p. 110)

#### 鶏及び七面鳥 (原文 p. 110)

鶏及び七面鳥を用いた <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩の 5 日間(1 日 4 回)反復強制経口投与試験が実施された。投与量の 79～89% 以上が投与後 6 時間以内に排泄された(57 巻、59 巻)。

### 代謝 (原文 p. 110)

#### マウス及びウサギ (原文 p. 110)

上述したマウス及びウサギを用いた試験においては、経口投与及び静脈内投与後の排泄物を調べてサラフロキサシンの生体内変換についても検討した(4a 巻及び 4c 巻)。これらの 2 つの動物種では、排泄物中の主要成分は親化合物であり、投与量の 80% 以上を占めていた。微量残留物としてはサラフロキサシンのグルクロニドが認められた(投与量の 1～10%)。その他に、N-アセチル-サラフロキサシン、3'-オキソ-サラフロキサシン及び 2 つの未知成分が単離されたが、これらは投与量の 1% に満たなかった。

## ヒト (原文 p. 110)

ヒトにおけるサラフロキサシンの薬物動態及び代謝試験が実施された。本試験では、志願者(2群、一群6名)に対してサラフロキサシン(100 mg 又は 200 mg)を単回経口投与し、別の志願者(2群、一群5名)に対してはサラフロキサシン(400 mg 又は 800 mg)を単回経口投与した。

サラフロキサシンの代謝は主としてピペラジニル置換基の酸化的分解が明らかに関わっており、初めに 3'-オキソ-サラフロキサシン(M3)が生成する。次に酸化反応によってエチレンジアミンを置換基として持つキノロン(M5)が生成し、それがさらに酸化されてアミノキノロン(M4)となる。M5の血漿中濃度のプロファイルは親化合物のそれに類似したものであるが、M5のAUCは平均して常にサラフロキサシンのAUCの約6%であった。血漿中及び尿中のM4濃度はそれらのM5濃度に比較して低かった。蛍光強度が弱いため、M3は血漿中で検出されなかった。

尿中における薬物関連の主な成分はサラフロキサシンであり、尿中代謝物全体の75%~80%を占めていた。尿中でサラフロキサシンの次に多かったのは、暫定的にM3とした代謝物である。M3の濃度は、多くの場合、対応するサラフロキサシン濃度の1/3~1/4であった。親化合物に代謝物を加えたものの尿中総回収率は低く、用量依存的であり、用量が100 mgから800 mgまで増加するにつれ、2%から10%に変化した。その減少程度は、用量で標準化したAUCにおける減少とほぼ同じであった。M4及びM5並びにそれらの抱合体を合計しても、それらの量は尿中成分の7%未満であった(47巻)。

## 鶏 (原文 p. 111)

鶏(雌雄各3匹)を用いた<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩(34.4 µCi/mg、3.34 ± 0.26 mg/kg 体重/日)の5日間反復強制経口投与試験が実施された。投与後6時間に肝臓を採取し、性別ごとにプールした。

肝臓試料を酸性と塩基性のアセトニトリルで抽出したところ、残留物の87%(雌)又は85%(雄)が抽出された。代謝物プロファイルは雌雄の抽出物で類似していた。同定した代謝物は表4に示した。本試験はGLPを遵守して実施された(57巻)。

## 七面鳥 (原文 p. 111)

七面鳥(雄3匹雌3匹)を用いた<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩(33.3 µCi/mg、6.9 mg/kg 体重/日)の5日間反復強制経口投与試験が実施された。投与後6時間に肝臓を採取し、性別ごとにプールした。

肝臓試料を酸性と塩基性のアセトニトリルで抽出したところ、残留物の 83%が抽出された。代謝物プロフィールは雌雄の抽出物で類似していた。同定した代謝物は表 4 に示した。

表 4. 家禽類の肝臓中サラフロキサシン代謝物

成分	総残留物%(七面鳥)		総残留物%(鶏)	
	雄	雌	雄	雌
サラフロキサシン	20	21	69	65
サラフロキサシンスルファミン酸	7	6	8	13
サラフロキサシン グルクロニド	20	25	8	13
サラフロキサシンスルファミン酸グルクロニド	30	16	8	13
その他(4)	6	15	8	9

家禽類の肝臓における主な代謝経路は、ピペラジン環の N-位でスルファミン酸抱合体を生成するか、カルボキシル基とグルクロニドを生成するか、又はその両方である。微量な未知代謝物も酸又は塩基で加水分解すると親化合物であるサラフロキサシンが生成するため、これらの代謝物も抱合体であった。七面鳥の肝臓中には鶏の肝臓中と比較して抱合体が多かった。

#### 組織中残留消失試験（原文 p. 111）

#### 放射能標識残留消失試験（原文 p. 111）

残留物に関する試験では、いずれの試験においても雌雄同数のトリが用いられた。これらの試験結果の分析から、有意な性差はないことが示されたことから、雌雄両方の結果を合わせて示した。

#### 鶏（原文 p. 111）

鶏を用いた  $^{14}\text{C}$ -サラフロキサシン (0.54 mg/kg 体重、1 日 4 回) の 5 日間反復強制経口投与試験が実施された (57 巻)。1 日あたりの総投与量を 2.2 mg/羽 (3.4 mg/kg 体重/日) としたが、これは実地で飲水投与する際に用いられる投与量 (20 ppm) の 85% にあたる用量である。休薬 6 時間、18 時間、36 時間及び 72 時間でそれぞれ 6 例ずつと殺し、白筋、赤筋、肝臓、脂肪付き皮膚、脂肪及び腎臓の各試料を採取した。採取した試料は、燃焼したのち又はそのままシンチレーションカウンターで放射能を計測し、総放射能残留物濃度 (サラフロキサシン当量) を測定した (58 巻)。その結果は表 5 に示した。

残留物は、肝臓組織で最も濃度が高く、最も長く残留した (注: 腎臓は測定対象外)。休薬 1 日の



残留物は肝臓及び皮膚にのみ検出された。休薬 3 日には残留物はいずれの組織にも検出されなかった。

表 5. <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩 (3.4 mg/kg 体重/日) の 5 日間反復経口投与後の鶏(ブロイラー)における総残留物 (µg/kg、<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩当量で表示)

組織	6 時間		18 時間		36 時間		72 時間
	範囲	平均 (SD)	範囲	平均 (SD)	範囲	平均 (SD)	
肝臓	221 - 482	322 ± 92	21 - 219	70 ± 75	17 - 28	21 ± 4	<LOD
脂肪付き皮膚	19 - 39	29 ± 7	<LOD(4) - 48	26 ± 11	<LOD		<LOD
脂肪	8 - 65	22 ± 21	<LOD		<LOD		<LOD
白筋	24 - 45	35 ± 8	<LOD		<LOD		<LOD
赤筋	18 - 38	28 ± 8	<LOD		<LOD		<LOD
腎臓	NM		NM		NM		NM

\* SD を求めるために用いた LOD= 21 µg/kg; NM = 測定対象外。

白筋における LOD: 6 時間の試料では 5 µg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 22 µg/kg; 赤筋における LOD: 6 時間の試料では 6 µg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 22 µg/kg; 肝臓における LOD: 6 時間の試料では 4 µg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 15 µg/kg; 脂肪における LOD: 6 時間の試料では 6 µg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 22 µg/kg; 脂肪付き皮膚における LOD: 6 時間の試料では 5 µg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 21 µg/kg。

#### 七面鳥 (原文 p. 112)

七面鳥 (体重約 2.7~3.7 kg) を用いた <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩 (4.25 mg を 1 日 4 回) の 5 日間反復強制経口投与試験が実施された (59 巻)。1 日あたりの総投与量を 21 mg/羽 (約 7 mg/kg 体重/日) としたが、これは実地で同齢の七面鳥に対して用いられる推奨投与量である 4 mg/kg/日 (飲水中 30 ppm) より高い用量である。休薬 6 時間、18 時間、36 時間及び 72 時間でそれぞれ 6 例ずつと殺し、白筋、赤筋、肝臓、脂肪付き皮膚、脂肪及び腎臓の各試料を採取した。採取した試料は、燃焼したのち又はそのままシンチレーションカウンターで放射能を計測し、総放射能残留物濃度 (サラフロキサシン当量) を測定した。その結果は表 6 に示した。

表 6. <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩 (7 mg/kg/日) の 5 日間反復経口投与後の七面鳥における総残

留物(μg/kg、<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩当量で表示)

組織	6 時間		18 時間		36 時間		72 時間	
	範囲	平均#	範囲	平均#	範囲	平均#	範囲	平均#
肝臓	181 - 663	388 ± 175	65 - 108	87 ± 20	48 - 80	60 ± 11	25 - 43	35 ± 6
脂肪	17 - 165	52 ± 56	<LOD(4) - 33	27 ± 3*	<LOD		<LOD	
脂肪付き皮膚	22 - 35	28 ± 5	<LOD(1) - 28	22 ± 4*	<LOD(3) - 26	19 ± 4*	<LOD(1) - 28	20 ± 5
白筋	6 - 18	12 ± 3	<LOD		<LOD		<LOD	
赤筋	6 - 14	12 ± 4	<LOD		<LOD		<LOD	
腎臓	NM		NM		NM		NM	

# ± 標準偏差(SD) \* SDを求めるために用いた LOD。NM = 測定対象外。

白筋における LOD:6 時間の試料では 3 μg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 13 μg/kg;赤筋における LOD:6 時間の試料では 3 μg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 12 μg/kg;肝臓における LOD:6 時間の試料では 3 μg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 15 μg/kg;脂肪における LOD:6 時間の試料では 6 μg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 25 μg/kg;脂肪付き皮膚における LOD:6 時間の試料では 4 μg/kg、18 時間、36 時間及び 72 時間の試料では 16 μg/kg。

残留物は、肝臓組織で最も濃度が高く、最も長く残留した(注:腎臓は測定対象外)。休薬 36 時間の残留物は肝臓及び皮膚にのみ検出された。残留物は休薬 3 日でも肝臓中に検出され、皮膚では 6 例中 5 例で検出された。

#### 非標識体を用いた残留消失試験 (原文 p. 113)

##### 鶏 (原文 p. 113)

鶏(ブロイラー、体重 1.84~2.54 kg)を用いたサラフロキサシン(15.5~18.0 ppm、2.7 mg/kg 体重/日に相当)の 119 時間飲水投与試験が実施された。休薬 0 時間、26 時間、96 時間及び 122 時間でそれぞれ 6 例ずつと殺した(51 巻)。筋肉、肝臓、肺、皮膚、脂肪及び腎臓の各試料を採取し、試料中のサラフロキサシンを HPLC で定量した(60b 巻)。その結果は表 7 に示した。筋肉、肝臓及び腎臓におけるサラフロキサシン濃度の平均値は、0 時間では雌より雄で高かったが、有意差

は認められなかった。したがって、ここでは雌雄双方の結果を一緒にして表示した。

表 7. サラフロキサシンの 119 時間飲水投与(15.5~18.0 mg/L)後の鶏(ブロイラー)における残留物(µg/kg)

組織	0 時間		26 時間		96 時間		122 時間	
	範囲	平均 ± SD	範囲	平均 ± SD	範囲	平均 ± SD	範囲	平均 ± SD
皮膚	35 - 62	44 ± 13	16 - 26	19 ± 4.3	4.9 - 11.1	7.8 ± 2.5	5.6 - 2.9	8.7 ± 2.8
筋肉	21 - 62	36 ± 16	<LOD		<LOD		NM	
肝臓	191 - 929	483 ± 250	5 - 7.5	6.2 ± 0.9	<LOD(5)-<LOQ(1)		NM	
腎臓	112 - 550	229 ± 160	<LOD(4) -<LOQ(2)		<LOD(5) -<LOQ(1)		NM	
脂肪	<LOD		<LOD		<LOD		NM	

数値は 6 例の範囲と平均 ± SD; LOD は 2.5 µg/kg、また LOQ は 5 µg/kg; NM=測定対象外。

休薬時間が 0 では、親化合物の残留物濃度は肝臓及び腎臓組織中で最も高かった。親化合物の濃度は急速に減少した。このことは、この化合物が総残留物中 (TR) では微量成分であることを強く示している。例えば(表 5 参照)、肝臓組織中の総残留物 (TR) の平均値は休薬 18 時間で 70 µg/kg、36 時間で 21 µg/kg であるが、平均サラフロキサシン量は 26 時間で 6 µg/kg であることから、おそらく TR の<20%である代謝試験では(上記表 4 参照)、サラフロキサシンは 6 時間に TR の 65~69%であった。腎臓については同様なデータはないが、休薬 26 時間には親化合物は TR の微量成分となるものと考えられる。

サラフロキサシン残留物は皮膚中で長く残留した。しかし、濃度レベルが低く(<13 µg/kg)、このレベルは放射能を用いた手法の感度(21 µg/kg)を下回ることから、放射能消失試験において残留物が認められなかったこととは矛盾しない。

#### 七面鳥 (原文 p. 113)

七面鳥(体重 6~8.7 kg)を用いたサラフロキサシン(21.1~28.5 mg/L、2.88 mg/kg 体重/日に相当)の 120 時間飲水投与試験が実施された。休薬 0 時間、24 時間及び 120 時間でそれぞれ 6 例ずつと殺した(52 巻)。筋肉、肝臓、肺、皮膚、脂肪及び腎臓の各試料を採取し、試料中のサラフロキサシンを HPLC で定量した(60 巻)。その結果は表 8 に示した。

休薬 0 時間では親化合物は皮膚組織で最も高かった。肝臓における親化合物の濃度は TR の濃

度と比較して低く、サラフロキサシンが総残留物の微量成分であることを強く示した(おそらく TR の約 20%)。腎臓については同様のデータはないが、親化合物は TR の微量成分である可能性が高い。

放射能消失試験で認められたのと同様に、サラフロキサシン残留物は皮膚に残留した。親化合物の皮膚及び筋肉における濃度から、これらの組織においてはともに親化合物が主要成分であることが示唆された。

表 8. サラフロキサシン(21~29 ppm)の 120 時間飲水投与後の七面鳥における残留物( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

組織	0 時間		24 時間		120 時間	
	範囲	平均 $\pm$ SD	範囲	平均 $\pm$ SD	範囲	平均 $\pm$ SD
皮膚	35 - 62	44 $\pm$ 13	16 - 26	19 $\pm$ 4.3	4.9 - 11.1	7.8 $\pm$ 2.5
肝臓	18 - 54	34 $\pm$ 16	3 - 7.8	4.5 $\pm$ 1.7*	<LOD	
筋肉	4.2 - 5.9	5.3 $\pm$ 0.7*	<LOD		<LOD	
腎臓	6 - 19	12 $\pm$ 5	<LOD		<LOD	
脂肪	<LOD		<LOD		<LOD	

数値は 6 例の範囲と平均  $\pm$  SD; LOD は 2.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、また LOQ は 5  $\mu\text{g}/\text{kg}$

\*一部の数値は<LOQ だが、>LOD であった。

### 結合性残留物/生物学的利用能 (原文 p. 114)

鶏と七面鳥の肝臓試料を酸性及び塩基性でアセトニトリルを用いて抽出したところ、13%~18%が抽出不可能であった(57 巻及び 59 巻)。結合性残留物の同定も、またそれらの抗菌活性についての検討も行われなかった。

### 組織中残留物の分析法 (原文 p. 114)

家禽類の可食組織は、いずれの組織についてもサラフロキサシン残留物の分析法がある(49 巻、60 巻、61a 巻、61b、61c、61d)。これらの分析法は、遊離のサラフロキサシンを特異的に測定するものであり、サラフロキサシン抱合体を測定するものではない。これらの分析法では、ホモジェナイズされた組織(筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪付き皮膚)をアセトニトリルで抽出するか、脂肪の場合はアセトニトリルとジクロロメタンの混合物で抽出する。抽出物は乾燥させた後、移動相(水+リン酸+テトラメチルアンモニウム塩化物/アセトニトリル/N、N-ジメチルホルムアミド)に溶解し、蛍光検出付

きの HPLC を用いて分析する。ブロイラー及び七面鳥の試料にこの分析法を用いる場合の特徴が詳述されている。

直線性が認められる範囲は 5~4000 µg/kg であり、LOQ は家禽類のすべての組織において 5 µg/kg とされている。肝臓組織における 5 µg/kg 濃度の CV は、ブロイラーで 14% であり、七面鳥で 11% であった。家禽類の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪付き皮膚からの回収率の範囲は 57~67% であり、CV は 1.2~15.2% であった。脂肪からの回収率はブロイラーで 93%、七面鳥では 100% であった。この分析法の再現性については他の研究所との協同試験においては試験されていないが、試験委託者の研究室において異なる 3 名が同じタイプの異なる 4 種類の HPLC カラムを用いて良好であることを確認している。モネンシン (monensin)、ナラシン (narasin)、サリノマイシン (salinomycin)、フルメキン (flumequine)、エンロフロキサシン (enrofloxacin)、ジフロキサシン (difloxacin) 及びダノフロキサシン (danofloxacin) と混合した場合にもクロマトグラム上に干渉ピークは認められなかった(49 巻参照)。生体試料からの干渉物は、5 µg/kg 未満であった。この分析法は、1 日あたりの試料数が多い定常的な分析に適している。

上述の手法では、残念なことに、サラフロキサシン抱合体として存在する残留物を測定することはできない(表 4 参照)。サラフロキサシン抱合体は七面鳥では肝臓中総残留物の主成分(47~57%)であるが、鶏では肝臓中 TR の 8~13% でしかない。試験委託者はその抱合体の加水分解について検討したところ(表 9 の要約を参照)、抱合体の種類によって異なる特異的な加水分解をする必要があることが判明した(59 巻)。

表 9. 種々の加水分解法に対するサラフロキサシン抱合体の安定性

残留物	酸加水分解	アルカリ加水分解	酵素加水分解
親サラフロキサシン(SFX)	影響なし	影響なし	影響なし
SFX スルファミン酸	脱抱合	影響なし	検討せず
SFX グルクロニド	影響なし(?)	影響なし(?)	脱抱合
SFX スルファミン酸-グルクロニド	スルファミン酸の脱抱合	???	グルクロニドの脱抱合

加水分解によりスルファミン酸が定量的に放出されるものと考えられるが、酵素による加水分解による脱抱合反応の効率については数値が得られていない(59 巻)。

**評価 (原文 p. 114 又は p. 115)**

サラフロキサシンはフルオロキノロン系抗生物質であり、鶏(ブロイラー)及び七面鳥に使用される。鶏(3週齢)での用量は飲水中 20 mg/L であり、これは 4 mg/kg 体重に相当する。七面鳥(7週齢)での用量は飲水中 30 mg/L であり、これは 4 mg/kg 体重に相当する。

ラット、マウス、イヌ、ウサギ、鶏及び七面鳥においては、サラフロキサシンは吸収されやすく、速やかに排泄される。鶏又は七面鳥に対して  $^{14}\text{C}$ -サラフロキサシン塩酸塩を 1 日 4 回、5 日間強制経口投与すると、投与量の 79~89%以上が投与終了後 6 時間までに排泄された。\*

\*原文において p.114 の最後と p.115 の最初が重複している

鶏及び七面鳥における  $^{14}\text{C}$ -サラフロキサシンの代謝試験が実施された。代謝に性差はみられなかったが、肝臓における代謝プロファイルにはこれらの 2 つの種の間には差異が認められた。家禽類の肝臓における代謝の主経路は、ピペラジン環 N 位におけるスルファミン酸抱合体とカルボキシ基におけるグルクロニドの生成のどちらか又はその両方である。微量の未知代謝物については、それらを酸又はアルカリ加水分解すると親化合物であるサラフロキサシンが生成したことから、それらもまた抱合体である。抱合体は、鶏の肝臓(8~13%)よりも七面鳥の肝臓(47~57%)に多かった。親化合物は七面鳥の肝臓では残留物の 21%、鶏の肝臓では 67%を占めていた。

#### 残留物の消失 (原文 p. 115)

残留物に関する試験は全て雌雄同数のトリを用いて実施された。それらの結果を分析したところ、有意な性差が認められなかったことから、雌雄における結果を合わせて評価した。

鶏(ブロイラー)。鶏(雌雄)を用いた  $^{14}\text{C}$ -サラフロキサシン塩酸塩(0.54 mg/kg 体重、1 日 4 回)の 5 日間反復強制経口投与試験が実施された。1 日あたりの総投与量は 2.2 mg/羽(3.4 mg/kg/体重/日)としたが、これは実地での飲水投与で用いられる用量(20 mg/L)の 85%に相当する。休薬 6 時間、18 時間、36 時間及び 72 時間にそれぞれ 6 例ずつと殺し、白筋、赤筋、肝臓、脂肪付き皮膚及び脂肪の各試料を採取した。採取した試料は、燃焼したのち又はそのままシンチレーションカウンターで放射能を計測し、総放射能残留物濃度(サラフロキサシン当量)を測定した。平均値に有意な性差はなかった。投与後 6 時間の残留物のサラフロキサシン当量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )は、白筋で  $35 \pm 8$ 、赤筋  $28 \pm 8$ 、肝臓で  $322 \pm 92$ 、脂肪で  $22 \pm 21$ 、脂肪付き皮膚で  $29 \pm 7$ であった。これよりも後の投与後時点での筋肉及び脂肪では残留物は LOD( $22 \mu\text{g}/\text{kg}$ )を下回った。脂肪付き皮膚では残留物は、休薬 18 時間で  $26 \pm 11 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、36 時間及び 72 時間では LOD( $21 \mu\text{g}/\text{kg}$ )を下回った。肝臓では残留物は休薬 18 時間で  $70 \pm 75 \mu\text{g}/\text{kg}$ 、36 時間で  $21 \pm 4 \mu\text{g}/\text{kg}$  であり、72 時間では  $<\text{LOD}(15 \mu\text{g}/\text{kg})$ となった。このように残留物は、肝臓組織で最も濃度が高く、最も長く残留した。休薬 1 日の残留物は肝臓及び皮膚にのみ検出された。休薬 3 日には残留物はいずれの組織にも検出されなかった。

鶏(ブロイラー、体重 1.84~2.54 kg)を用いたサラフロキサシン(15.5~18.0 mg/L、2.7 mg/kg 体重/日に相当)の 119 時間飲水投与試験が実施された。休薬 0 時間、26 時間、96 時間及び 122 時間でそれぞれ 6 例ずつと殺した。筋肉、肝臓、皮膚、脂肪及び腎臓の各試料を採取し、試料中のサラフロキサシンを HPLC で定量した。平均残留濃度(µg/kg、親化合物で表示)は、肝臓で最も高く、休薬 0 時間で 483、26 時間で 6、96 時間で<LOD(2.5 µg/kg)となった。脂肪付き皮膚では残留物はいずれの時点で採取された試料にも検出された。脂肪付き皮膚における平均濃度(µg/kg)は、休薬 0 時間で 44、26 時間で 19、96 時間で 8、122 時間\*では 9 であった。残留物は脂肪では検出されなかった。筋肉と腎臓で残留物が検出されたのは休薬 0 時点でのみであり、筋肉では平均濃度が 36 µg/kg、腎臓で 229 µg/kg が検出された。

\* 122 時間の数値が示されていないが、この記述は表 9 のデータに関するものなので、表9から 8.7 であると思われる。他の数値は小数点第 1 位を四捨五入しているの、訳文ではこれにない 9 とした。訳文では、この部分を黄色のハイライトで示した。

七面鳥. 七面鳥(体重約 2.7~3.7 kg)を用いた <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩(4.25 mg を 1 日 4 回)の 5 日間反復強制経口投与試験が実施された。1 日あたりの総投与量を 21 mg/羽(約 7 mg/kg 体重/日)としたが、これは実地で同齢の七面鳥に対して用いられる推奨投与量である 4 mg/kg/日(飲水中 30 mg/L)より高い用量である。休薬 6 時間、18 時間、36 時間及び 72 時間でそれぞれ 6 例ずつと殺した。

白筋、赤筋、肝臓、脂肪付き皮膚、脂肪及び腎臓の各試料を採取し、各試料中の総放射能残留物濃度(サラフロキサシン当量)は、試料を燃焼したのち又はそのままシンチレーションカウンターで放射能を測定した。投与後 6 時間の残留物のサラフロキサシン当量(µg/kg)は、白筋で 12、赤筋 12、肝臓で 388、脂肪で 52、脂肪付き皮膚で 28 であった。筋肉で残留物は休薬 18 時間以上で検出限界(LOD = 13 µg/kg)を下回った。脂肪中の平均残留物濃度は休薬 18 時間で 27 µg/kg であり、36 時間及び 72 時間では LOD(25 µg/kg)を下回った。脂肪付き皮膚における残留物の平均濃度は休薬 18 時間で 22 µg/kg で 36 時間で 19 µg/kg、72 時間で 20 µg/kg であった。しかし肝臓では平均濃度は休薬 18 時間で 87 µg/kg、36 時間で 60 µg/kg、72 時間で 35 µg/kg であった。

別の試験として七面鳥(体重 6~8.7\* kg)を用いたサラフロキサシン(21.1~28.5 mg/L、2.88 mg/kg 体重/日に相当)の 120 時間飲水投与試験が実施された。1 群 6 羽として 0、24 及び...にと殺した。\*\*

\* 原文では 8,7 となっているが、8.7 とした

\*\* 原文中の文が途中で切れているので表示された部分のみの訳とした。訳文では、この部分を

黄色のハイライトで示した

### 結合性残留物/生物学的利用能 (原文 p. 116)

鶏と七面鳥の肝臓試料を酸性及び塩基性でアセトニトリルを用いて抽出したところ、13%~18%が抽出不可能であった。結合性残留物の同定も、またそれらの抗菌活性についての検討も行われなかった。

### サラフロキサシンの分析法 (原文 p. 116)

サラフロキサシンの分析法では、遊離のサラフロキサシンを特異的に測定するものであり、サラフロキサシン抱合体を測定するものではない。サラフロキサシン抱合体は七面鳥では肝臓中総残留物の主成分(47~57%)であるが、鶏では肝臓中総残留物の8~13%でしかない。これらの分析法では、ホモジェナイズされた組織(筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪付き皮膚)を有機溶媒で抽出し、抽出物を乾燥させ、移動相に溶解し、蛍光検出付きのHPLCを用いて分析する。ブロイラー及び七面鳥の試料にこの分析法を用いる場合の特徴が詳述されている。直線性が認められる範囲は5~4000 µg/kgであり、LOQは家禽類のすべての組織において5 µg/kgとされている。この濃度範囲にある濃度6点につき、それぞれ6試料を用いてのCV値を求めた。肝臓組織における5 µg/kg濃度のCVは、ブロイラーで14%であり、七面鳥で11%であった。家禽類の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪付き皮膚からの回収率の範囲は57~67%であり、CVは1.2~15.2%であった。脂肪からの回収率はブロイラーで93%、七面鳥では100%であった。この分析法の再現性については他の研究所との協同試験においては試験されていないが、試験委託者の研究室において異なる3名が同じタイプの異なる4種類のHPLCカラムを用いて良好であることを確認している。モネンシン(monensin)、ナラシン(narasin)、サリノマイシン(salinomycin)、フルメキン(flumequine)、エンフロフロキサシン(enrofloxacin)、ジフロキサシン(difloxacin)及びダノフロキサシン(danofloxacin)と混合した場合にもクロマトグラム上に干渉ピークは認められなかった。生体試料からの干渉物は、5 µg/kg未満であった。この分析法は、1日あたりの試料数が多い定常的な分析に適している。

### マーカー残留物の選択 (原文 p. 116)

親化合物は、すべての組織において主要な残留物であることから、マーカー残留物(MR)として明確な選択肢である。非標識体を用いた残留物試験では、総残留物の数値と親化合物の数値との相関性について検討することは必要もなく、また可能でもない。これは、サラフロキサシンのいくつかの代謝物(N-アセチル・サラフロキサシン、N-ホルミル・サラフロキサシン、3'-オキソ・サラフロキ



サシン及びサラフロキサシンのスルファミン酸抱合体)は、親化合物であるサラフロキサシンに比べて微生物に対する活性が有意に低いことを試験依頼者がすでに明らかにしていることからである。

#### 標的組織の選択 (原文 p. 116)

家禽類においては、残留物は肝臓と腎臓で最も濃度が高く、脂肪付き皮膚に長く残留する。家禽類では、通常、腎臓は標的組織になることはなく、主な標的組織は肝臓と脂肪付き皮膚(皮膚及び脂肪)である。家禽類で主な可食組織は筋肉であり、休薬期間が短い場合は筋肉組織中に残留物が検出されることから、MRL は筋肉について設定される。

#### 最大残留基準値 (原文 p. 116)

サラフロキサシンの ADL は 0~0.3 µg/kg 体重である。すなわち 60 kg の体重のヒトが毎日 18 µg 摂取することが可能となる。鶏及び七面鳥の最大残留基準値の設定には、以下の点を考慮した。

1. サラフロキサシンは残留マーカであること
2. 親化合物以外の残留物は微生物学的活性が有意に低いこと
3. 分析法の LOQ は 5 µg/kg であること
4. 家禽類の筋肉中には 18 時間以上の休薬で残留物が検出されなくなることから、MRL は LOQ の 2 倍である必要があること
5. 残留物は、筋肉、皮膚、脂肪よりも肝臓、腎臓において高いこと
6. 鶏における MRL を七面鳥にも同様に適用すること

委員会では、鶏及び七面鳥における MRL を親化合物相当量で表した場合、筋肉中では 10 µg/kg、肝臓中では 80 µg/kg、脂肪中では 20 µg/kg 及び腎臓中では 80 µg/kg とすることを勧告した。これらの MRL を用いて算出した理論最大一日摂取量は、16 µg となる。

サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要（評価書：JECFA 1998）

試験の種類	供試動物等	投与量	結 果
該当試験なし			
その他			ADL = 0~0.3 µg/kg 体重  MRL（筋肉中） = 10 µg/kg MRL（肝臓中） = 80 µg/kg MRL（脂肪中） = 20 µg/kg MRL（腎臓中） = 80 µg/kg  TMDI = 16 µg

略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	acceptable daily intake	一日摂取許容量
CV	coefficient of variation	変動係数
IV	intravenous	静脈内
LOD	limit of detection	検出限界
LOQ	limit of quantitation	定量限界
MR	marker residue	マーカ―残留物
MRL	maximum residue limit	最大残留基準値
NM	not measured	測定対象外
SD	standard deviation	標準偏差
TMDI	theoretical maximum daily intake	理論最大一日摂取量
TR	total residue	総残留物

## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理

JECFA: 1998

ウェブサイト:<http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v041je06.htm>

FAS 41-JECFA 50/37



## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理 JECFA(1998) 目次

1.	説明 (原文 P.2) .....	39
2.	生物学的データ (原文 P.2) .....	39
2.1	生化学的側面 (原文 P.2) .....	39
2.1.1	吸収,分布, 及び排泄 (原文 P.2) .....	39
2.2	毒性試験 (原文 P.9) .....	46
2.2.1	急性毒性 (原文 P.9) .....	46
2.2.2	短期毒性 (原文 P.10) .....	47
2.2.3	長期毒性及び発がん性試験 (原文 P.15) .....	52
2.2.4	遺伝毒性 (原文 P.17) .....	53
2.2.5	生殖毒性 (原文 P.17) .....	53
(I)	多世代生殖毒性 (原文 P.18) .....	54
(II)	発生毒性 (原文 P.19) .....	56
2.2.6	微生物の作用に関する特殊試験 (原文 P.21) .....	57
2.2.7	生態毒性に関する特殊試験 (原文 P.30) .....	67
2.3	ヒトの観察所見 (原文 P.31) .....	67
3.	コメント (原文 P.31) .....	68
4.	評価 (原文 P.37) .....	73
5.	謝辞 (原文 P.37) .....	73
	サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1998) .....	75
	略称 .....	76

## 原文 目次

### 原文ページ

1. 説明	2
2. 生物学的データ	2
2.1 生化学的側面	2
2.1.1 吸収, 分布, 及び排泄	2
2.1.2 生体内変化	
2.2 毒性試験	9
2.2.1 急性毒性	9
2.2.2 短期毒性	10
2.2.3 長期毒性及び発がん性試験	15
2.2.4 遺伝毒性	17
2.2.5 生殖毒性	17
(i) 多世代生殖毒性	18
(ii) 発生毒性	19
2.2.6 微生物の作用に関する特殊試験	21
2.2.7 生態毒性に関する特殊試験	30
2.3 ヒトの観察所見	31
3. コメント	31
4. 評価	37
5. 謝辞	37
6. 引用文献	
1. Explanation	2
2. Biological data	2
2.1 Biochemical aspects	2
2.1.1 Absorption, distribution, and excretion	2
2.1.2 Biotransformation	
2.2 Toxicological studies	9
2.2.1 Acute toxicity	9
2.2.2 Short-term toxicity	10
2.2.3 Long-term toxicity and carcinogenicity	15
2.2.4 Genotoxicity	17
2.2.5 Reproductive toxicity	17

(i) Multigeneration reproductive toxicity .....	18
(ii) Developmental toxicity .....	19
2.2.6 Special studies on microbiological effects .....	21
2.2.7 Special studies on ecotoxicity .....	30
2.3 Observations in humans .....	31
3. Comments .....	31
4. Evaluation .....	37
5. Acknowledgement .....	37
6. References .....	

国際化学物質安全性計画

世界保健機関

## TOXICOLOGICAL EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD

世界保健機関(WHO)食品添加物シリーズ41

作成:

食品添加物のFAO/WHO合同食品添加物専門家会議(JECFA)第50回審議会

世界保健機関、ジュネーブ 1998

サラフロキサシン

原案

Dr P. L. Chamberlain

動物薬センター

米国食品医薬品局、ロックビル、マリーランド、米国

1. 説明
2. 生物学的データ
  - 2.1 生化学的側面
    - 2.1.1 吸収,分布, 及び排泄
    - 2.1.2 生体内変化
  - 2.2 毒性試験
    - 2.2.1 急性毒性



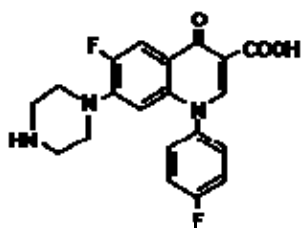
- 2.2.2 短期毒性
- 2.2.3 長期毒性及び発がん性試験
  
- 2.2.4 遺伝毒性
- 2.2.5 生殖毒性
- 2.2.6 微生物の作用に関する特殊試験
- 2.2.7 生態毒性に関する特殊試験
- 2.3 ヒトの観察所見
- 3. コメント
- 4. 評価
- 5. 謝辞
- 6. 参照

## 1. 説明 (原文 p.2)

サラフロキサシンはDNAジャイレースの活性を阻害するフルオロキノロン抗菌剤である。大腸菌及びサルモネラ菌種によって引き起こされる家禽の細菌感染の治療及び抑制に使用される。サラフロキサシンはこれまで審議会で審査されなかった。

サラフロキサシンの構造は図1に示される。

図1 サラフロキサシンの構造



## 2. 生物学的データ (原文 p.2)

### 2.1 生化学的側面 (原文 p.2)

#### 2.1.1 吸収,分布, 及び排泄 (原文 p.2)

## マウス

雌マウス12匹から成る3群に、<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基を次のように投与した：最初の2群は10 mg/kg 体重を、そのうち1群は静脈内、もう1群は強制経口で単回投与した。第3群は、100 mg/kg 体重を強制経口投与した。マウスの尿及び糞は、3日間毎日採取した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

親化合物の吸収は、0-24時間における尿サンプルの内容から推定された：10 mg/kg 体重量の投与後は親化合物の48%(範囲は27-73%)が、100 mg/kg 体重量の投与後は34%(範囲は29-38%)が吸収された。3日間の単回静注投与中に、49%は尿中に排泄され、約44%は糞中に排泄された。同用量の経口投与後は、尿中への排泄は約25%、糞中は80%であった。100 mg/kg 体重を経口投与したマウスは、尿において18%、及び糞において74%を排泄した。経口又は静脈内投与後、最初の24時間でほぼ全ての放射能標識が排泄された(Merits & Bopp, 1985a)。

## ラット

一群雌雄各18匹のSD系ラットから成る5群に、サラフロキサシンを次のように投与した：1群は、20 mg/kg 体重を単回静注投与した。3群は、20、75又は275 mg/kg 体重を単回経口投与した。そして、第5群は、連続14日間毎日1000 mg/kg 体重を経口投与した。投与直前、及び単回投与群で投与0.5、1、2、4、6、8、12、24 時間後(投与1日目)、また14日間投与群では1日目及び14日目に、一群4匹のラットから血液サンプルを採取した。血漿及び尿サンプルは、高速液体クロマトグラフィーでサラフロキサシン塩基について分析した。この試験で測定された薬物動態パラメータを表1に示す。20 mg/kg 体重 サラフロキサシンの単回静脈内又は経口投与後の、薬物血中濃度・時間曲線下面積(AUC)における0から無限までの面積比較から、生物学的利用能が約12%であったことが示された。投与量に関するAUCのプロットは、275 mg/kg 体重まで直線的であったが、1000 mg/kg 体重で逸脱した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた(Patterson, 1985)。

表1. ラットにおけるサラフロキサシンの薬物動態パラメータ

投与量 (mg/kg 体重)	経路	排泄		T <sub>max</sub> (時間)	C <sub>max</sub> (µg/mL)	K <sub>a</sub> (h <sup>-1</sup> )	K <sub>e</sub> (h <sup>-1</sup> )	見かけ上の 全身クリアランス (kgあたりmL/min)
		Vd (L/kg)	t <sub>1/2</sub> (時間)					
20	静注	5.3	2.0	-	-	-	0.3	30
20	経口	60	3.0	1.0	0.3	3.0	0.3	270
75	経口	70	2.0	2.0	0.6	1.0	0.4	470
275	経口	250	7.0	2.0	0.9	2.0	0.1	420
1000	経口	400	6.0	1.0	2.0	2.0	0.1	820
	経口単回/日							
1000	14日間	110	6.0	2.0	8.0	1.0	0.1	200

別の試験の概略報告では、SD系ラット(個体数及び性別の記載なし)に10 mg/kg 体重<sup>14</sup>C-サラフロキサシンを経口投与した。3日以内に、投与した放射能標識のうち約37%は尿中に排泄され、一方約52%は糞中に回収された(Bopp, 1985a)。

#### ウサギ

3カ月齢の雌NZWウサギを用いて、<sup>14</sup>C-標識サラフロキサシンの吸収、代謝及び排泄試験を実施した。一群あたり3頭から成る2群に、<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基10 mg/kg 体重を強制経口投与した。第3群の3頭には、同量を静脈内投与した。血液サンプルは、経口投与1、3、6、12及び24時間後に1群の動物から採取し、尿及び糞は、5日間毎日他群の動物から採取した。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

5日間の経口投与中に、投与量の約11%は尿に、及び約79%は糞中に排泄された。静脈内投与後の尿中への排泄は、経口投与の約16%が全身で吸収されたことを示した(Merits & Bopp, 1985b)。

#### イヌ

14頭のイヌ(品種、年齢及び性別の記載なし)から成る3群に、5、25又は125 mg/kg 体重サラフロキサシン塩基をカプセルで毎日経口投与した。1ヶ月後、一群6頭をと殺し、高速液体クロマトグラフィー用に血漿及び脳脊髄液を採取した。残りのイヌは、計90日間毎日投与を続けた。こ

の試験で測定された薬物動態パラメータは表2に示す。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。イヌにおけるサラフロキサシンの帰属速度論は、サラフロキサシンの吸収は投与量の増加に伴い効率が低下する一方で、用量や投与時間とは無関係であることも示された(Granneman, 1985a)。

ビーグル成犬雄4頭を用いた、<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基 10 mg/kg 体重の単回経口投与の後の組織分布試験を実施した。投与2 時間及び6 時間後の組織における放射能標識の濃度は表3 に示す。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた(Bopp, 1985b)。

成犬雌6頭を用いて、サラフロキサシン塩基 200 mg (20 mg/kg 体重に相当)の経口投与における生物学的利用能試験を行った。化合物は、懸濁液、溶液又はカプセルとして投与した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

表2. イヌに対する経口投与後のサラフロキサシン塩基の薬物動態

投与量 (mg/kg 体重)	平均半減期(時間) <sup>a</sup>			AUC(μg h/mL)			脳脊髄の平均比率流 体:原形質 <sup>b</sup>
	2	24	79	2	24	79	
5	5	6	6	9	9	10	0.2
25	5	5	6	30	31	30	0.2
125	5	6	6	104	108	106	0.2

a 投与後1、3、6、及び24時間後にサンプル採取

b サンプルは投与の約24時間後に採取

懸濁液及びカプセルによる生物学的利用能は類似していた。これらの製剤における0～32時間の平均AUCの値はそれぞれ、27及び23 μg 時間/mLであった。溶液のAUCは、52 μg 時間/mLであった。著者は、10 mg/kg 体重量を溶液で単回経口投与した際の生物学的利用能は、同用量の静脈内投与に比べて58～70%であるとした他の試験結果に言及した。投与量とカプセル製剤における生物学的利用能の関係は、非線形もしくは対数線形とみられた。懸濁液で得られたAUC値は溶液から得られた値の1/2であったが、10 mg/kg 体重の投与試験において製剤の違いはみられなかった。これらの違いの原因は、すぐには明らかにならなかった(Granneman, 1985b)。

要約された報告では、別の試験においてイヌ(品種、性別及び数について記載なし)に<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基 10 mg/kg 体重量を経口又は静脈内投与した。吸収の度合いは、AUCに

基づくと73%、分布量の比較に基づくと89%と推定された。投与した放射能標識のうち約54%は尿中から、約27%は糞中から回収された。静脈内投与の約30%も糞中に排泄されたことから、胆汁分泌が化合物の体内動態の要因であることが示唆された(Bopp, 1985c)。

表3. <sup>14</sup>C-サラフロキサシン 10mg/kg 体重を経口投与した後の雄イヌ組織における放射能標識の濃度(μg 相当/g又はmL)

組織	2h	6h	24h
肝臓	14	12	2
腎臓	16	14	1
肺	6	5	1
脳	0.4	0.7	0.3
脂肪 <sup>a</sup>	0.6	0.5	0.6
筋肉 <sup>a</sup>	5	6	1
骨 <sup>b</sup>	3	3	2
網膜/ぶどう膜	15	43	45
血液	3	3	0.4
血漿	3	3	0.4
胆汁	154	454	420
尿	89	412	188

a 筋肉及び脂肪組織が体重のうちそれぞれ 46%及び 10%を占めると想定して計算した投与割合

b 骨髄を含む肋骨

ヒト

Grannemann(1985b)は、イヌに与えたカプセルと同一ロットをヒトに投与した臨床試験データを引用した。尿中の回収率は、1.3 mg/kg 体重における24%から10 mg/kg 体重における10%にわたった。ヒトの尿中のサラフロキサシンの回収率から吸収の近似推定ができると思われるが、これはヒトにおける主要な排泄経路が尿であるからであり、その結果、人の吸収率はイヌよりも顕著に低いことが示された。

サラフロキサシン100、200、400又は800 mg が、20～39歳までの健康な成人男子22人に単回経口投与された。投与前と、投与0.25、0.5、1、1.5、2、3、4、6、8、10、12、16、24、28、32

及び48 時間後に血液サンプルを採取した。尿は、0-4、4-8、8-12、12-16、16-24、24-32及び32-48 時間に採取した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

血漿中濃度は投与後1.5～4 時間でピークに達し、二相性に減少し、投与約12 時間後には最終局面が支配的となった。100、200、400及び800 mg投与後の各ピーク濃度の平均は、それぞれ140、180、240及び350 ng/mLであった。相当する投与量で規格化したピーク濃度は、mg/kgあたり106、62、44及び34 ng/mLであった。100、200、400及び800 mg投与において、投与量で規格化したAUCの平均値は、それぞれ、mg/kgあたり860、570、410及び350 ng h/mLであった。投与量で規格化したAUC値とピーク濃度の投与に応じた減少は、投与量が増加するにつれて約3倍吸収効率が低下するという証拠となった。最終局面の半減期の平均は、100、200、400、及び800 mgにおいてそれぞれ9、9、10、及び11 時間であった。

排泄は主に未変化体の腎排泄によるものだった。腎クリアランスの平均は、100、200、400及び800 mg投与で、それぞれ280、290、290及び260 mL/分であった。投与群間でほとんど差はみられなかった。尿における未変化体の平均回収率は、100、200、400及び800 mg投与に対しそれぞれ19、14、10及び7%であった。サラフロキサシンの吸収度は、100mg投与群における約27～34%から、800mg投与群における11～13%に減少した (Granneman, 1985c)。

## 2.1.2 生体内変化

### マウス

上記試験における、サラフロキサシンのマウスに対する経口及び静脈内投与後の生体内変化を表4 に示す(Merits & Bopp, 1985a)。

表4. マウスの24時間の排泄物中で同定されたサラフロキサシン代謝物

同定物	10 mg/kg 体重の <sup>14</sup> C投与に おける平均%				100 mg/kg 体重の <sup>14</sup> C 投与における平均%(経口)	
	経口		静脈内		尿	糞
	尿	糞	尿	糞		
不明	0.3	0.2	1	ND	0.4	1
不明	0.1	0.1	0.3	0.2	ND	ND
サラフロキサシン グルクロニド	6	ND	9	ND	5	0.5
サラフロキサシン- N-アセチル	0.2	0.1	1	<0.1	0.1	ND
サラフロキサシン	15	79	32	43	11	71
合計	21.6	79.4	43.3	43.2	16.5	72.5
総量	101		86.5		89	

ND,検出できなかった

#### ウサギ

上記の試験における、サラフロキサシンのウサギに対する経口及び静脈内投与後の生体内変化を表5 に示す(Merits & Bopp, 1985b)。

表5. ウサギの排泄物において同定されたサラフロキサシン代謝物

同定物	<sup>14</sup> C投与における平均%			
	経口		静脈内	
	尿	糞	尿	糞
サラフロキサシングルクロニド	0.8	ND	3	ND
不明	0.3	ND	2	ND
不明	< 0.1	ND	0.2	ND
サラフロキサシン-3'-オキシ	0.2	< 0.1	2	0.2
サラフロキサシン-N-アセチル	0.3	ND	3	ND
サラフロキサシン	9	76	61	24

ND,検出できなかった

イヌ

第2.1.1節で引用された概略報告では、<sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩基10 mg/kg 体重用量の投与のうち約79%は尿及び糞中に未代謝の親化合物として排泄された。胆汁において、未変化体親化合物とそのグルクロニドは、同比率で検出された(Bopp, 1985c)。

ヒト

サラフロキサシンの薬物動態及び代謝は、被験者6人に100又は200 mg サラフロキサシンを単回経口投与する2群、及び5人の被験者に400又は800 mgを単回経口投与する2群で試験した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

サラフロキサシンの代謝は、主にピペラジニル置換基の酸化的分解が関与するようであり、まず3'-オキシサラフロキサシンを生成する。続く酸化でエチレンジアミン置換キノロンが生成され、次いでアミノキノロンに酸化される。エチレンジアミン置換キノロンの血漿中濃度は親化合物のそれらに匹敵するが、キノロンの平均AUCは常にサラフロキサシンの約6%にすぎなかった。血漿及び尿中のアミノキノロンの濃度はエチレンジアミン置換キノロンより相当低かった。発光が弱いため、3'-オキシサラフロキサシンは、血漿中で検出されなかった。尿中で主な薬剤に関連するピークはサラフロキサシンであり、すべての尿中代謝物の75～80%を占めた。サラフロキサシンの投与後、尿中の主要代謝物は、3'-オキシサラフロキサシンと暫定的に同定され、基本的にサラフロキサシンの3分の1～4分の1の濃度が生じた。親化合物及び代謝物の尿中の総回収率は低く、投与量依存的であり、投与量が100～800 mgまで増加するにつれて、24～10%まで減少した。減少の程度は、投与量で規格化したAUCのそれに近かった。アミノキノロン、エチレンジアミン置換キノロン及びそれらの抱合体は、全体で<7%を尿中に排泄した(Granneman, 1985c)。

## 2.2 毒性試験 (原文 p.9)

### 2.2.1 急性毒性 (原文 p.9)

サラフロキサシンの急性毒性試験の結果は表6 に示される。GLP原則に関するコンプライアンスは、本試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。



表6. 雄のげっ歯類におけるサラフロキサシン経口投与の急性毒性

種	製剤	LD <sub>50</sub> (mg/kg 体重)	参照
マウス	懸濁液	18 000	Hahn (1991)
	懸濁液	> 8000	Hahn(1991b)
	カプセル	> 8000	Hahn(1991c)
	懸濁液	> 8000	Majors(1985)
	懸濁液	>5000	Hahn(1991)
	懸濁液	>5000	Hahn(1991e)
ラット	懸濁液	>8000	Hahn(1991a)

### 2.2.2 短期毒性 (原文 p.10)

#### マウス

CD-1マウス一群雄雌各5匹 (4~5週齢)から成る4群に連続15日間混餌投与した食物嗜好性試験が行われた。サラフロキサシン投与量は、約5000、10 000、25 000又は50 000 mg/kg 飼料で、塩基に換算して1250, 2500, 6250, 又は12 500 mg/kg 体重/日に相当した。雄雌各5匹の非投与対照群には基本飼料を与えた。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

生存率、一般状態、臨床症状、体重、摂餌量及び体重増加について評価した。毒性又は死亡率の明らかな徴候は、10 000 mg/kgまでを混餌投与した動物では全く報告されなかった。飼料消費量の減少及び体重増加は、25 000及び50 000 mg/kgを混餌投与したラットで観察された唯一の投与による影響であった(Weltman, 1989)。

#### ラット

CDラットの一雌雄(4~5週齢)5匹のから成る4群に、サラフロキサシンを2週間混餌投与して食物嗜好性試験が行われた。飼料はそれぞれkg飼料あたり約1000、5000、10 000及び50 000 mg サラフロキサシン塩基を含み、投与量は15、480、850又は3000 mg/kg 体重/日に相当した。雄5匹及び雌5匹の非投与対照群には基本飼料を与えた。GLP原則に関するコンプライアンス

スは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

臨床症状、体重、摂餌量及び体重増加について評価した。毒性又は死亡の明らかな徴候は、10 000 mg/kgまでを混餌投与した動物では全く報告されなかった。50 000 mg/kg飼料投与群のラットにおいてみられた投与による影響は、脱毛症、衰弱、脱水、摂餌量低下、及び体重増加であった (Weltman, 1988)。

6週齢のCDラット一群雌雄4匹から成る6群に、サラフロキサシンを20、50、125、275、650又は1500 mg/kg 体重/日を14もしくは15日間強制経口投与する用量設定試験を実施した。非投与対照は、10mLの賦形剤、0.2%ヒドロキシプロピルメチルセルロースを投与した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。臨床症状、眼科学的検査項目、体重、摂餌量及び臨床的外観及び解剖学的(肉眼的及び微視的)病理学的外観を評価した。650 mg/kg 体重までの投与群のラットにおいて、毒性の明らかな徴候もしくは死亡は全く観察されなかった。最高用量群でみられた唯一の異常は、糞の淡色化であった。(Fort & Buratto, 1984)。

一群雌雄各25 匹のSD系ラットから成る4 群で、1か月の中間と殺を伴う90日間試験を実施し、20、75、280又は1000 mg/kg 体重/日のサラフロキサシンを強制経口投与した。非投与対照群の動物は、10 mLの賦形剤、0.2%ヒドロキシプロピルメチルセルロースを投与した。投与1ヶ月後、群あたり10 匹の両性の動物を無作為に選び、中間と殺した。残りの動物は合計90日間投与を続け、投与終了時に一群雌雄10匹のラットをと殺し、剖検を行った。残りの動物は30日の回復期間後にと殺し、剖検を行った。GLPの原則に従って試験を実施した。

臨床観察、体重、摂餌量及び検眼鏡検査上の変化を評価し、尿検査、血液学、臨床化学、臓器重量及び解剖(肉眼的及び微視的)検査を実施した。1ヶ月間投与した動物でみられた投与による唯一の影響は、中高用量群における盲腸の拡大であったが、これら拡大された盲腸において微視的变化はみられなかった。90日間投与した動物でみられた投与による影響は、75 mg/kg 体重/日以上雄、及び280 mg/kg 体重/日以上雌における盲腸の肉眼的拡大が含まれた。微視的变化は、これらの拡大された盲腸で全くみられなかった。盲腸の拡大は、1ヶ月の回復期間後に検死を行ったラットにはみられなかった。肉眼剖検では、90日間投与したラットのうち、低用量で2匹、75 mg/kg 体重/日で1匹、280 mg/kg 体重/日で1匹、及び高用量投与で3匹に耳の膨大が報告された。耳の膨大がみられた高用量群の雌3匹において、組織学的に耳介軟骨炎がみられた。耳介軟骨炎は、微視的には団塊状軟骨細胞の増殖、及び単核細胞を主とする細胞浸潤の特徴があった。1ヶ月で中間と殺した投与群又は対照群の動物では、耳の膨大は報告されなかったが、90日間投与した対照の雄及び雌では臨床検査によりそれが認められた。個々のデータは入手

できなかったため、一群あたりどれだけの動物で、臨床検査において耳の膨大がみられたかを調べることはできなかった。剖検によると、発生頻度は、対照群、20、75、280及び1000 mg/kg 体重/日投与群でそれぞれ0、2、1、1及び3匹であった。剖検においては、発生頻度と投与量の明白な関係性はなく、この所見は投与に起因するものと結論付けられなかった。高用量群の雌3匹には組織学的に耳介軟骨炎が認められた。高用量群の雄3匹は試験中に死亡し、このうち1匹は投与の影響の可能性があった。しかし、この動物の組織のいくつかは緩慢に自己消化していたため、死亡原因はわからなかった。他の2匹の死亡は、投与の事故によるものであった。NOELは1000 mg/kg 体重/日でみられた耳介軟骨炎に基づき、280 mg/kg 体重/日となった(Creighton & Pratt, 1985a, b)。

## イヌ

若い成犬(年齢不明)のビーグル犬の一群雄雌各2頭から成る6群に、8、20、50、125、300あるいは800mg/kg体重/日用量のサラフロキサシンをゼラチンカプセルにより2週間投与する用量設定試験を実施した。2つの陽性対照群には、以下が含まれた:1群は、50 mg/kg 体重/日用量のナリジクス酸をゼラチンカプセルで投与し、もう1群は125 mg/kg 体重/日用量のナリジクス酸を2週間投与した。陰性対照群は、空のゼラチンカプセルを投与した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

臨床症状、体重、摂餌量、臨床病理学及び解剖(肉眼的及び微視的)病理学について評価した。サラフロキサシン投与群の投与による影響は、流涙及び嘔吐(8-125mg/kg 体重/日において)、嘔吐、流涎、流涙、活性低下、脱水、アラニン及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアルカリホスファターゼの血清活性の増加、胆嚢におけるグルクロン酸薬剤の特性を持つ胆汁性堆積物、及び肝臓の小葉中心性壊死(300 mg/kg 体重/日において)が含まれた。肝毒性の兆候は、125 mg/kg 体重/日投与群におけるイヌの肝臓において微視的にもみられた。最高用量群の雌の1頭は死亡し、この動物の肝臓に中等度の空胞変性がみられた。800 mg/kg 体重/日投与群の両方のイヌの両方前肢において、7~8日目から試験終了まで、肢で体重を支えた際の橈側手関節の角度の平坦化がみられた。微視的な関節病変部は、全く観察されなかった。摂餌量の減少及び体重増加、血清アラニンのアミノトランスフェラーゼ活性及び胆嚢におけるグルクロン酸薬剤の特性を持つ胆汁性堆積物の増加もまたこの群において観察された。

50 mg/kg 体重/日のナリジクス酸を投与した動物では、嘔吐、軟便、ビリルビン尿、アラニン及びアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ及びアルカリホスファターゼの血清活性の増加、流涙、脱水及び肝臓の小葉中心性壊死がみられた。嘔吐、流涎、流涙、軟便、脱水、ビリルビン尿、血清アラニンアミノトランスフェラーゼ活性の増加、体重減少、肝臓の小葉中心性壊死、活性の減少が、

125 mg/kg 体重/日のナリジクス酸投与群の2頭で観察された。さらに、7日目から試験終了まで、雄イヌの体の震え、発作、呼吸困難及び両前肢の橈側手関節の角度の平坦化がみられた。微視的関節病変部は、全く観察されなかった(Kimura & Pratt, 1984)。

一群雌雄各1頭の3カ月齢のビーグル犬から成る5群を用いた、サラフロキサシン2、20、50、125、又は300 mg/kg 体重/日の2週間ゼラチンカプセル投与による別の用量設定試験が行われた。50又は125 mg/kg 体重/日のナリジクス酸を投与した2つの陽性対照群が含まれている。陰性対照群は、空のゼラチンカプセルを投与した。GLP原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた。

臨床症状、摂餌量、体重、眼科検査の結果、臨床的及び解剖学的(肉眼的及び微視的)病理学の結果を評価した。サラフロキサシン投与群では、300mg/kg 体重/日投与群の瀕死状態の雄1頭を8日目にと殺し、同群の他に動物においても摂餌量及び体重増加率の低下がみられた。嘔吐及び両橈骨手根骨関節の角度の平坦化は、125及び300 mg/kg 体重/日投与群において観察された。関節軟骨の中度から重度の小胞関節症性変化は、300 mg/kg 体重/日投与群の動物において微視的に観察された。これらの病変は、四肢近位部及び遠位大腿四肢及び上腕骨近位部及び脛骨の表面にみられた。高用量群の雌は、8日目に発作のような状態を経験した。ナリジクス酸投与では、125 mg/kg 体重/日投与群において瀕死状態の雄1頭を12日目にと殺した。両投与群の投与による副作用は、肝毒性(血清肝臓酵素の活性、及び軽度から重度の肝臓壊死及び変性の増加)、橈骨手根関節の平坦化、及び関節軟骨の胞関節症性変化(サラフロキサシン投与群のイヌと同程度の重症度で、同様の部位に発症した)が含まれた(Dudley & Buratto, 1984)。

9～14カ月齢ビーグル犬の一群雌雄各7頭を用いた、サラフロキサシン塩基 5、25、もしくは125 mg/kg 体重/日をゼラチンカプセルで投与した、1ヶ月の中間と殺を伴う90日間毒性試験を行った。対照群は、空のゼラチンカプセルを投与した。30日間の投与後、一群雌雄各3頭のイヌをと殺し、検死を行った。残りの動物は、90日間投与を続けてと殺し剖検を行った。GLP原則に従い試験を実施した。臨床症状、体重及び摂餌量について評価し、網膜電位測定、眼科学的検査、心電図記録法、臨床的病理学、臓器計量、及び解剖(肉眼的及び微視的)病理学検査が行われた。

1ヶ月間投与した雄は、体重増加率が用量依存的に低下した。餌が漏出した事例が多かったため、摂餌量を把握するのは難しい。したがって、体重増加率の減少が、摂餌量の減少によるものか、あるいは投与によるものかどうかはわからなかった。血清グロブリンの平均濃度は全ての投与群の雄及び雌において対照値よりも減少し、全用量の雄において統計的に有意であった。しかし、雌雄とも減少に用量依存的な傾向はみられず、またこの種の正常範囲を逸脱するほどに低濃度というわけでもなかった。抗菌薬を使用した動物のグロブリン濃度の減少はいたるところで報告さ

れており、常在微生物母集団の減少後の免疫系細胞の刺激の減少によるものであった。したがって所見は投与による効果であると思われる。

90日間投与の間、投与群及び陽性対照群の両方の動物において餌が漏出した事例が多数報告され、中高用量群の動物ではより多くの事例がみられた。しかし、0日目及び91日目の間の体重増加率に有意な差は全くみられなかった。低中用量群の雄の平均血清グロブリン濃度は、対照群に匹敵していたが、高用量群の雄ではわずかに低下していた。中高用量群の雌の平均血清グロブリン濃度は、対照群よりも統計的に有意に低かったが、一方低用量群の雌の値は対照群に匹敵していた。高用量を90日間投与した後の雌における血清グロブリン濃度の低下に基づき、NOELは5 mg/kg 体重/日とした (Kimura & Tekeri, 1985a, b)。

4か月齢のビーグル犬の一群6頭を用いて、0又は200 mg/kg 体重/日のサラフロキサシン塩基を含むゼラチンカプセルの90日間投与試験を行った。雌雄4頭からなる更なる2群は、10又は50 mg/kg 体重/日を含むゼラチンカプセルを与えた。GLPの原則に従って、試験を実施した。試験の最初の2週間は、塩酸塩としてのサラフロキサシンは遊離塩基の濃度に関係なく実質的な重量として投与された。このため投与した遊離塩基の事実上の用量は、予定量の80%、すなわち、8、40、そして160 mg/kg 体重/日となった。残る試験期間は、本来の目的投与量である10、50及び200 mg/kg 体重/日になるように用量を調節した(US米国食品医薬品局, 1995)。審議会は、試験中の実際の摂取量に相当するより低い用量について検討した。臨床症状、体重及び摂餌量について評価し、眼科学的検査、心電図記録法、網膜電位測定、尿検査、血液学、臨床化学、臓器計量及び解剖学的(肉眼的及び微視的)病理学を実施した。

投与による影響として、中高用量群の動物に垂れ耳及び鼻口部の紅斑がみられた。9～14週の間、高用量群の動物のうち50%に影響がみられ、この投与群の1匹の雄において紅斑の全体化が認められた。投与期間のうち最初の3週間は、眼、眼瞼及び垂れ耳のまわりの腫大が高用量群の両性2頭にみられた。むくみや腫れは投与2～6時間後に起こったが、翌日(投与前)には顕著ではなかった。高用量群の雌における眼漏の発生頻度の増加が認められた。他の投与による影響は、全く認められなかった。高用量群の雄において、平均血清グロブリン濃度のわずかな低下が認められた。中高用量群の雌において、平均血清グロブリン濃度の統計的に有意な減少が認められた。低用量群の雌における平均血清グロブリン濃度は、陽性対照と同等であった。血清グロブリンの減少は、胃腸内細菌叢へ当然影響したと研究者は提議した。従って、細菌叢における用量依存的な減少は、抗原性の刺激の低減に反応した、免疫グロブリン及び急性期タンパク質合成の二次的減少が生じた可能性がある。当会議は、この作用は投与の影響であるとみなした。中高用量群の雌雄でみられた顔面の膨大と紅斑、及びこれらの投与群の雌においてみられた血清グロブリン濃度の低下に基づき、NOELはサラフロキサシン塩基8 mg/kg 体重/日とした (Kiorpes, 1991)。

### 2.2.3 長期毒性及び発がん性試験 (原文 p.15)

#### マウス

一群雄雌各60匹のCD-1マウスに、サラフロキサシン1000、5000、又は20 000 mg/kg餌(150、750及び3000 mg/kg 体重/日に相当)を混餌投与した。別の雄雌各10匹を、各群の血液学的評価及び52週のと殺に含めた。発がん過程は、死亡率の高さのため78週で終了した。GLPの原則に従って、試験を実施した。死亡率、臨床症状、体重、摂餌量、血液学及び解剖(肉眼的及び微視的)病理学について評価した。

死亡率は中高用量群の雌雄それぞれのマウスにおいて増加し、78週での生存率は、高用量群の雄において23%、高用量群の雌において28%、中用量群の雄で45%、中用量群の雌において40%であり、低用量群のマウスの生存率は、対照群と同等であった。腹部膨満及び糞の量及び水分の増加は、と殺予定前に死亡した動物に一貫して認められた。腎毒性効果(尿管の拡張及び慢性間質性腎炎を伴う上皮の空胞化)は、中高用量群の雌で認められた。高用量群の雄において、胆嚢膀胱結石及び尿路結石がみられた。すべての投与群の雌雄において、盲腸の拡大が認められ、中高用量群の雌雄において盲腸捻転も認められた。影響は、盲腸内細菌叢における化合物の高用量投与の局所的作用によるものであった。低用量群の動物において、投与による病理学的影響は全く観察されなかった。発がん性の兆候は全くみられなかった(Procter et al., 1991)。

#### ラット

SD系ラットに、サラフロキサシン 1000、10 000又は25 000 mg/kgの濃度で混餌投与した。雄雌20匹のラットは毒性試験(52週)に、及び雄雌65匹のラットは発がん性試験(104週)に使用した。両性同数のラットから成る2つの対照群は、試験の両方の段階に含まれた。両性10匹から成る5つのサテライト群は、(対照群2つ及び投与群3つ)、約52週及び103週後に薬物の血漿中濃度を測定し、投与後約13週及び38週の室内試験に用いた。GLP原則に従って、試験を実施した。

臨床検査、死亡率、摂餌量及び体重増加は、眼底鏡検査、尿分析、臨床化学、血液学、臓器計量及び解剖(肉眼的及び微視的)病理学と共に毒性試験段階で評価した。52週に渡る薬物摂取は、61、670及び1700 mg/kg 体重/日に相当した。全体として(週 1~52)の摂餌量は、対照群よりも雄で5%及び雌で11%高かったにもかかわらず、高用量群における平均体重増加率の用量依存的な減少が認められた。血液中の尿素、窒素及びクレアチニン濃度の統計的有意な上昇は、高用量群の雌において52週目、高用量群の雄において51週目に認められた。各サンプリング期間(25/26週及び51/52週)において、全ての投与群の雄と対照群を比較すると、総タンパク値は統計的に有意に減少した。値の減少のうち、グロブリンの統計的に有意な低下及び未変化体アルブ

ミン濃度の相対的な低下が特徴的であった。総タンパク質及びグロブリン濃度は、中高用量群の雌において51/52週目のみで統計的に有意に減少した。高用量群の雌の絶対及び相対腎臓重量は、対照群と比べ統計的に有意に増加しており、これらの動物における相対脳下垂体重量の統計的に有意な増加も認められ、内6/20のラットにおいては脳下垂体の全体的な膨大を伴っていた。中用量群の雌において相対脳下垂体重量のわずかな増加が認められた。10 000又は25 000 ppm のサラフロキサシンを投与したほぼ全てのラットにおける盲腸の拡大が認められた。サラフロキサシン投与に依存的な組織病理学的所見では、高用量群の雌雄10/20、及び中用量群の雌1/20において尿細管性腎症を有した。その尿細管性腎症は、関連する好塩基球増加症、及び皮質と脊髄管双方の拡大を伴う集合管中の糸状性結晶質物質の存在を特徴とした。重症度は変化し、最も重症な例は、細管の間質炎症性浸潤、線維症、稀な巣状細管壊死及び偶発的なアポトーシスや有糸分裂を伴っていた。さらに、わずかな糸球体硬化及び局所性肉芽腫性炎症が観察された。尿細管性腎症は、タンパク質円柱を伴う腎管拡大、単核細胞浸潤及び萎縮性細管を伴う限局性線維症といった特徴をもつ慢性進行性腎症とは異なっていた。慢性進行性腎症でみられる他の変化は、骨盤、偶発的に嚢胞、及び硬化性糸球体のミネラル沈着であった。著しく拡大した盲腸において、組織病理学的変化は全く観察されなかった。そのため、90日間試験と同様、この作用は、盲腸内細菌叢における化合物の高用量投与の局所的作用によるものであった。中高用量群の雌雄でみられた腎毒性、及び高用量の雌雄でみられた体重増加率の低下に基づき、NOELは61 mg/kg 体重/日であった (Smith, 1990)。

発がん性試験で評価するパラメータは、臨床症状、体重増加率、摂餌量、眼科学パラメータ及び血液パラメータ、臓器重量及び解剖(肉眼的及び微視的)病理学的変化であった。発がん過程におけるサラフロキサシンの平均摂取量は、54、580及び1500 mg/kg 体重/日であった。高用量群の雌において、体重増加率の減少及び尿細管性腎症がみられ、投与の影響と思われた。52週間試験で認められたものと類似した尿細管性腎症が、中高用量群の雄で観察された。絶対的及び相対腎臓重量の増加が、高用量群の両性において観察された。また、中用量群の雌において相対腎臓重量の用量依存的な増加が認められた。すべての用量の投与群の両性において、用量依存的な盲腸の拡大が認められた。著しく拡大した盲腸において、組織病理学的変化は全くみられなかったが、当会議は用量依存的な影響であるとみなした。発がん性の兆候は全くみられなかった(Smith et al., 1991)。

#### 2.2.4 遺伝毒性 (原文 p.17)

サラフロキサシンの遺伝毒性の試験の結果は、表7に要約する。GLP原則に従って、全ての試験を実施した。

#### 2.2.5 生殖毒性 (原文 p.17)

(i) 多世代生殖毒性 (原文 p.18)

ラット

SD系ラットの一群各世代雄雌各30匹を用いて、3世代生殖毒性試験を実施した。75、275又は1000 mg/kg 体重/日のサラフロキサシン塩基の強制経口投与を、最低でも繁殖70日前に開始した。雄30匹及び雌30匹からなる対照群は、賦形剤0.2%ヒドロキシプロピルメチルセルロースを毎日10 mL投与した。各世代は2同腹児まで繁殖させた。GLPの原則に従って、試験を実施した。成体動物は、臨床症状、死亡率、生殖能、体重(妊娠及び授乳期間は毎週)、摂餌量(妊娠及び授乳期間は毎週)、死後の解剖(肉眼的及び微視的)検査及び臓器重量を観察した。同腹児の評価項目は、生児出生及び生存能力指数、性比、全身健康状態、死亡率、生存児数及び体重であった。離乳児動物のうち次世代の繁殖に必要でないものは剖検に供した。

サラフロキサシンの糞中への排泄による軟便及び/又は白っぽい糞は、3世代全ての中高用量群の親動物で観察された。試験期間中に死亡、又は予定通りと殺したF<sub>0</sub>動物の肉眼剖検では、胃消化管の内容物の赤色化及びもしくは腹部の赤色病変がみられた。しかし、これらの所見のうち大半は早期に死亡した動物にみられた。予定通りにと殺を行った動物では、陽性対照群(1頭)を含めた全投与群において、これらの病変部の発生に明白な投与との関係性はなく、散発的であった。これらの病変部は投与による影響とは思われなかった。死亡した動物の著しく影響がみられる腸部分、あるいは不自然な腹部についての顕微鏡検査は行わなかった。また死亡した高用量群の第2世代の親動物に腸内容物の赤色化がみられたが、組織病理学的検査を実施しなかった。低中用量群のいくつかの動物は、予定されたと殺時に胃及び腸において病変を認めたが、これらについても顕微鏡検査を行わなかった。



表7. サラフロキサシンの遺伝毒性試験の結果

試験システム	試験対象	濃度	結果	参照
<i>in vitro</i> 正突然変異 <sup>a</sup>	チャイニーズハムスター 卵巣細胞 (hprt遺伝子座)	100-1000 μg/mL	陽性(+S9) 陰性(-S9)	Young(1985)
不定期DNA 合成	ラット初代培養肝細胞	1-500 μg/mL	陽性	Cifone(1985)
染色体異常	チャイニーズハムスター 卵巣細胞	120-2000 μg/mL 50-800 μg/mL	陽性(+S9) 陰性(-S9)	Hemalatha (1988)
<i>in vivo/in vitro</i> 不定期DNA 合成	ラット初代培養肝細胞	250-2500 mg/kg 経口 <sup>b</sup>	陰性 <sup>c</sup>	Cifone(1988)
微小核形成 <sup>d</sup>	マウス骨髄	2000, 4000 8000 mg/kg 体重 経口 <sup>e</sup>	陰性	Diehi(1994)

S9、ラット肝臓由来の 9000×g 画分

- a ±S9
- b 濃度当たり 3 匹のラット
- c 溶媒/賦形剤の使用の正当な基準は定められず、投与方法の選択基準についても定められていない(すなわち予備用量設定試験)。
- d 低中用量群において雄 5 匹及び雌 5 匹、及び投与 24 時間後に採取した骨髄細胞。高用量群において雄雌 15 匹、及び投与 24、48 及び 72 時間後に採取した細胞
- e 高用量投与は、最大適用可能用量を示した。全体的にも骨髄にも毒性は認められなかった。

第1世代の中高用量群の雌親動物において、絶対及び相対肝重量は、陽性対照群と比較して有意に減少した。中高用量群において、第2世代の雄雌親動物、また第3世代の雄の相対肝重量は有意に減少した。高用量群の第3世代の雌親動物の相対肝重量は減少した。この影響は3世代全てにみられ、用量依存的であったため、275 mg/kg 体重/日以上投与による影響と思われた。母動物毒性のNOELは、中高用量群のラットの肝重量の減少に基づき、75 mg/kg 体重/日であった。生殖パラメータ、同腹児パラメータ又は胎児の形態における投与の影響は、1000 mg/kg 体重/日まででは全くみられなかった(Lehrer, 1991)。

## (ii) 発生毒性 (原文 p.19)

### ラット

サラフロキサシンの発生毒性は、妊娠6～15日のラットに化合物を毎日経口投与して評価した。20匹の妊娠したSD系ラットの4群に、20、75、280又は1000 mg/kg 体重/日を強制経口投与した。妊娠した雌20匹の対照群は、投与動物と同じ試験計画で賦形剤0.2%ヒドロキシプロピルメチルセルロースを毎日10mL投与した。妊娠20日にラットをと殺し、胎児を取り出した。GLPの原則に従って、試験を実施した。母動物は、臨床症状、体重(妊娠6、9、12、15及び20日について)、摂餌量(妊娠6～9、9～12及び12～15日について)、着床数及び未発生の着床の割合について評価した。同腹児で評価されるパラメータは、性比、群の平均体重及び外表、内臓及び骨格の形態であった。

母動物の毒性影響はみられず、催奇形性の兆候は全くなかった。研究者は、ラットにおけるサラフロキサシンの生物学的利用能の試験(上述)の結果から、20mg/kg 体重/日投与群では、単回経口投与したサラフロキサシンの約12%が吸収されると示されたと述べた。比較とした75、275及び1000 mg/kg 体重/日投与群の吸収率は、それぞれ約6.5、7及び4%であった。その結果、本試験において、50倍にわたる目的用量範囲では約16倍(2.3～37 mg/kg体重/日)に近かった。母動物毒性は全くみられなかったが、最高用量は、ラットにおいてサラフロキサシンが催奇形性を有しないと結論するのに十分な用量であると思われた。母動物毒性及び催奇形性のNOELは、1000 mg/kg 体重/日であった(Lehrer, 1985 ; Patterson, 1985)。

### ウサギ

発生毒性試験は、人工受精したNZWウサギ18匹から成る3群に、15、35、もしくは75 mg/kg 体重/日の用量のサラフロキサシンを1日1回、妊娠6～18日において強制経口投与して行った。雌18匹から成る平行対照群は、0.5%メチルセルロース賦形剤水溶液2mLを毎日投与した。母動物は、臨床症状及び生存率を観察した。卵巣は黄体数の検査を行い、子宮は生存胎児及び未発生胎児の配置、早期及び後期吸収、及び着床部位総数及び分布も調べた。同腹児パラメータの評価は、群平均体重、性比及び外表、内臓及び骨格の形態であった。

雌14匹は妊娠21日～29日に流産したが、うち3匹は低用量投与、4匹は中用量投与、及び7匹は高用量投与群であった。これらの流産は投与による母動物毒性の二次的影響と思われた。妊娠6日では、高用量群の全て、及び低中用量群の多くの雌において、用量依存的な排便、排尿の減少がみられた。軟便は、低用量群で2匹、中用量群で4匹、及び高用量群で10匹の動物で観察された。下痢は、低中用量群で1匹、及び高用量群で4匹の動物に認められた。体重増加は、投与

の最後の6日間、及び投与中止後最初の6日間の対照値と比較したところ、低用量群でわずかに低下した。中用量群の動物は、投与期間中及び投与中止後最初の6日間を通じて、体重が減少した。妊娠期間を通じた体重の減少は、高用量群の動物では重度であった。

外表検査では、高用量群の1同腹児のうち6匹の胎児に奇形がみられ、手根及び/又は足根の湾曲が報告された。内臓検査は高用量群の1同腹児のうち5匹の胎児に奇形がみられ、水頭症と報告された。高用量群の1同腹児のうち6匹胎児は骨格の奇形を有し、軟骨骨格異常として報告された。3例の奇形(外表2例及び骨格1例)は、中用量群の2同腹児でみられた。奇形数と低用量群において影響を受けた同腹児数は、陽性対照群と同等であった。計画的に胎児を摘出した時点において、投与の影響を受けていなかったパラメータは、平均の黄体数、着床部位、同腹児あたり生存胎児、および着床後死亡数の平均のみであった。35及び75 mg/kg 体重/日の投与群で、胎児の平均体重の用量依存的な減少が生じた。催奇形性及び胎児毒性のNOELは、15 mg/kg 体重/日であった。催奇形性作用は母動物毒性に発生すると思われ、直接的に投与には起因しなかった。母動物毒性のNOELは、設定されなかった(Lahrer & Tekeli, 1986)。

#### 2.2.6 微生物の作用に関する特殊試験 (原文 p.21)

##### *in vitro*

複数の微生物学的評価項目の試験において、ヒト臨床細菌分離株に対するサラフロキサシンの最少発育阻止濃度(MIC)が測定された(表8)。サラフロキサシンのヒト臨床分離株に対する作用の接種量を*in vitro*で検討した(表9)。それから、好気性(表10)及び嫌気性細菌(表11)のヒト臨床分離株に対するサラフロキサシンの作用にpHが及ぼす影響を*in vitro*で検討した。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準と一致した(Prabhavathi, 1984)。

サラフロキサシンの4種の代謝物、N-アセチルサラフロキサシン、N-フォルミルサラフロキサシン、3'-オキソサラフロキサシン及びサラフロキサシンのスルファミン酸抱合体の微生物学的作用は、ブドウ球菌属、連鎖球菌種、球菌種、大腸菌、肺炎桿菌、プロビデンシア・スチュアルティイ、シュードモナス属、アシネトバクター・カルコアセチカス及びラクトバチルスカゼイを用いたMIC試験で測定された。代謝物に対するMIC<sub>50</sub> は試験生物により異なったが、一般的に大腸菌に対するサラフロキサシンでみられる値は有意に高かった。そのため、代謝物は微生物学的に親化合物よりも活性は低かった(Dr Stephan Schutte, Global project and Registration Manager, Fort Dodge Animal Health Holland, 私信, 1998)。

*E. coli* Juhl, *S.aureus* 730a, 及び*P.aeruginosa* 5007といったヒト臨床分離株によるサラ

フロキシサシン耐性の発生頻度を2つの方法で試験した。第1の方法では、単一コロニーを一晩ブロス培養した。0.1mLの無希釈培地及び0.1mLの10倍希釈培地サンプルを、サラフロキシサシンのMICの4又は8倍を含んでいる寒天プレート上で塗布した。生菌は、薬剤フリーのプレート上で計測した。プレートは35 °Cで72 時間インキュベートし、薬剤プレート上のコロニーを数えた。次に、耐性確認のため、耐性コロニーを拾いサラフロキシサシンのMICの4又は8倍を含む培地に画線培養し、耐性株に対するサラフロキシサシンのMICを測定した。最後に、抵抗性の安定性を測定するため、耐性株を薬剤フリー培地に連続10回継代培養した。

第2の方法では、試験生物を培養液に移し、サラフロキシサシンの濃度を増加した。連続的な移動の各過程では、抗菌剤を含まない対照のウェルと同等に生育できる、最高濃度の抗菌剤を含むウェルから培養液の $10^{-3}$ に希釈した接種菌を移した。この手順は10回繰り返され、純度及び推定的同一性を確認するために、各菌はまた寒天プレートの上に画線培養し分離した。最終移動後、サラフロキシサシンに対する菌の感受性は、寒天希釈方法によって測定された。抵抗性の安定性を測定するために、この手順によって得られた耐性株は、10回の連続移動のために薬剤フリーのブロス培地に継代培養され、寒天希釈方法によってMICを測定した。これら試験の結果は、表12及び13に示す。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準と合致していた(Prabhavathi, 1984)。

表8. ヒト臨床分離株( $10^4$ 細菌/接種)のサラフロキシサシンに対する最小発育阻止濃度(MIC)

生物	菌株数	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
		( $\mu\text{g/mL}$ )	( $\mu\text{g/mL}$ )
黄色ブドウ球菌	70	0.25	0.25
表皮ブドウ球菌	43	0.25	0.5
ブドウ球菌種.	12	0.25	0.5
化膿レンサ球菌(グループA)	13	0.5	2
ストレプトコッカスアガラクティエ(グループB)	13	1	2
連鎖球菌(グループC)	3	0.5	1
連鎖球菌(グループD: 腸球菌)	58	2	4
連鎖球菌(グループG)	5	0.5	1
肺炎球菌	5	1	2
コリネバクテリウム種.	10	2	16
緑膿菌	53	0.25	1
シュードモナス種.	3	0.125	0.5
シュードモナス-セパシア	1	2	2

シュードモナスマルトフィリア	7	1	4
アシネトバクターアニトラタス	8	0.5	0.5
アクロモバクター-キシロソキシダンス	1	16	16
アシネトバクタ種.	5	0.125	0.125
エロモナス-ヒドロフィラ	2	<0.031	<0.031
セデセア-ダビセ	1	0.062	0.062
クロモバクテリウム種.	1	0.25	0.25
その他のグラム陰性細菌	1	0.062	0.062
大腸菌 <sup>a</sup>	140	<0.031	0.062
エンテロバクターアエロゲネス	10	0.062	0.125
エンテロバクタークロアカ	18	<0.031	0.5
エンテロバクター-アグロメランス	1	0.062	0.062
クレブシエラニューモニエ	34	0.062	0.125
クレブシエラ-オキシトカ	4	<0.031	4
クレブシエラリノスクレロマチス	2	<0.031	<0.031
シトロバクター-フロインディイ	6	<0.031	0.5
シトロバクター-ダイバーサス	2	<0.031	<0.031
シトロバクター種.	7	0.062	4
霊菌	43	0.25	0.5
モルガン菌	12	0.062	0.25
プロビデンシア-レットゲリ	7	0.125	0.25
プロビデンシア-スチュアルティイ	13	0.062	0.25
プロビデンシア属.	5	0.25	0.5
セラチア菌	1	0.25	0.5
セラチア-リクファシエンス	3	0.25	0.25
フレキシネル菌	4	<0.031	0.062
赤痢菌	1	<0.031	<0.031
ボイド菌	1	0.5	0.5
ゾンネ菌	3	<0.031	<0.031

表8(続き)

生物	種数	MIC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	MIC <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )
ネズミチフス菌	5	<0.031	<0.031
豚コレラ菌	1	0.62	0.062
アリゾナサルモネラ	2	<0.031	<0.031
サルモネラ種.	10	<0.031	0.062
エルシニア菌エンテロコリチカ菌	2	<0.031	<0.031
ハフニア-アルベイ	4	<0.031	0.125
インフルエンザ菌	21	0.125	0.125
淋菌	8	<0.015	0.5
カンピロバクターフィタス	4	2	4
レジオネラ菌種	3	0.25	0.25
バクテロイデスフラジリス	17	2	8
バクテロイデスディシエンサ <sup>a</sup>	1	4	4
バクテロイデスメラノジェニクス <sup>a</sup>	1	2	2
バクテロイデステタイオタオミクロン <sup>a</sup>	4	4	8
バクテロイデスブルガタス <sup>a</sup>	1	8	8
バクテロイデス菌種 <sup>a</sup>	2	4	16
クロストリジウム	1	8	8
クロストリジウムパープリンジェンサ <sup>a</sup>	8	0.5	1
フソバクテリウム種 <sup>a</sup>	1	2	2
ペプトストレプトコッカス種 <sup>a</sup>	3	0.1 25	1
ペプトコッカス種 <sup>a</sup>	2	0.5	1
プロピオニバクテリウム種 <sup>a</sup>	1	2	2
ベイヨネラ種.	1	4	4

a ヒトの腸内細菌叢の構成物の可能性

表9. *in vitro*におけるサラフロキサシンの作用に対する接種量の影響

生物	種数	幾何平均MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	
		$10^5$ CFU/mL	$10^7$ CFU/mL
大腸菌 <sup>a</sup>	7	0.018	0.05
クレブシエラ・ニューモニエ	3	0.04	0.19
セラチア・マルセセンス	3	0.12	0.25
シトロバクター・フロインディ	2	0.015	0.02
エンテロバクタークローカ	3	0.03	0.19
プロテウス - ミラビリス	2	0.25	0.25
プロビデンジアブルガリス	1	0.06	0.12
モルガネラ・モルガニー	2	0.08	0.25
プロビデンシア・ス チュアル ティイ	2	0.17	0.17
プロテウス レッテケリ	1	0.12	0.25
アシネトバクタ種	3	0.04	0.05
緑膿菌	8	0.16	0.35
黄色ブドウ球菌	5	0.12	0.21
表皮ブドウ球菌	3	0.12	0.25
溶血性連鎖球菌	5	1.3	7

CFU、コロニー形成単位

a ヒトの腸内細菌叢の構成物の可能性

表10. *in vitro*において、好気細菌に対するサラフロキサシンの効力におけるpHの影響

生物	種数	幾何平均MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		pH 6.5	pH 7.2	pH 8.0
大腸菌 <sup>a</sup>	7	0.07	0.03	0.03
クレブシエラ・ニューモニエ	3	0.06	<0.03	<0.03
セラチア・マルセセンス	3	0.63	0.32	0.15
シトロバクター・フロインディ	2	0.09	0.04	0.03
エンテロバクタークロアカ	3	0.08	0.04	0.04
プロテウス - ミラビリス	2	0.5	0.25	0.25
プロビデンスシアブルガリス	1	0.5	0.12	0.12
モルガネラ・モルガニー	2	0.25	0.09	0.12
プロビデンスシア・ス チュアルティイ	2	0.98	0.35	0.17
プロテウス レッテケリ	1	0.5	0.12	0.06
アシネトバクタ種.	3	0.25	0.12	0.20
緑膿菌	8	1	0.55	0.65
黄色ブドウ球菌	5	0.16	0.16	0.16
表皮ブドウ球菌	3	0.12	0.12	0.15
溶血性連鎖球菌	5	1.51	1.15	1.15

a ヒトの腸内細菌叢の構成物の可能性



表11. *in vitro*において、嫌気性細菌に対するサラフロキサシンの効力におけるpHの影響

生物	種数	幾何平均MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		pH.6	pH 7.3	pH 8.1
バクテロイデス・フラジリス	6	5.6	1.6	1.4
バクテロイデス種 <sup>a</sup>	7	7.1	3.8	3.9
フソバクテリウム種 <sup>a</sup>	2	2.2	3.1	1.6
クロストリジウム <sup>a</sup>	3	0.4	0.4	0.4
クロストリジウム・ディフィシル <sup>a</sup>	1	6.2	6.2	6.2
ペプトコッカス、及び				
ペプトストレプトコッカス種 <sup>a</sup>	5	0.4	0.6	0.7

a ヒトの腸内細菌叢の構成物の可能性

表12. サラフロキサシンへのヒト臨床分離株の自然耐性の出現頻度

生物(種、品種)	4×MIC選別	8×MIC選別
<i>E. coli</i> Juhl	$1.0 \times 10^{-8}$	$<2.0 \times 10^{-9}$
<i>S. aureus</i> CMX730a	$1.2 \times 10^{-7}$	$1.3 \times 10^{-8}$
<i>P. aeruginosa</i> 5007	$3.2 \times 10^{-6}$	$3.9 \times 10^{-7}$

ヒト由来の5つの大腸菌にサラフロキサシンが及ぼす影響を、*in vitro*の胃腸モデル系で評価した。GLPの原則に従って、試験を実施した。大腸菌株は、National Collection of Type Cultures (ロンドン、英国)及びAbbott Laboratories (ノースシカゴ、米国)から入手した。大腸菌株はNCTC 8603、8761、8783、9437及びATCC 25922であった。モデルは食品中の残留物が摂取された後、分解及びタンパク質結合によりサラフロキサシンが不活性化する可能性をシミュレートするように設計した。そのため、サラフロキサシン水溶液1 mLをクックド-ミート培地 9 mLに加え、残留物の組織への結合をシミュレートするように混合物を37°Cで0.5 時間インキュベートした。次に、混合物のpHを約3まで低下させるため胃液(塩化ナトリウム、ペプシン及び塩酸)を加え、胃の状態をシミュレートするため混合物を37°Cで1 時間インキュベートした。次に、腸液(一塩基リン酸カリウム、水酸化ナトリウム、パンクレアチン及び水酸化ナトリウム)及び胆汁酸塩(ナトリウムコール酸及びナトリウムデオキシコレート)に混合物を添加し、pHを約7まで上昇させた。一晚培養した大腸菌の生菌から約 $10^6$ の細菌を接種する前に、この混合物を37°Cで4~6 時間嫌気的条件下で平衡化させた。この混合物を、高度の嫌気的条件下で37°Cで18時間インキュベートした。

プレートカウントは、接種直後のモデル、及び接種後18時間のモデルの菌懸濁液で実施し

た。各株について、個別のコロニー10個を選び、継代培養した。サラフロキサシンのMICは、ブロス1 mLに対して約 $10^5$ の細菌を接種することで、各分離株に対して測定した。培地は、8、4、2、1、0.5、0.25、0.125、0.625、0.0313、0.0156又は0.0078  $\mu\text{g/mL}$ のサラフロキサシンを含んだ。接種したチューブは(特に記述がない限り)好氣的に $37^\circ\text{C}$ で一晩インキュベートし、生育を目視で評価した。MICは、目視できる生育が完全に阻害された最も低い抗菌性物質剤の濃度と定義された。MIC<sub>50</sub>は、試験株を少なくとも50%抑制した抗菌性物質剤の濃度と定義した。用量設定試験の結果に基づいて、最終的な試験で選択した用量は、0、0.025、0.07、0.1及び0.4  $\mu\text{g/mL}$ であった。

消化管モデルは、0.025-0.4  $\mu\text{g/mL}$ の範囲にわたるサラフロキサシンを添加した。後にモデルの内容物について実施した高性能液体クロマトグラフィー分析で、実際のサラフロキサシン濃度は目標用量より10倍高いことが明らかとなった(すなわち0.25, 0.7, 1, 及び4  $\mu\text{g/mL}$ )。高濃度で18時間インキュベーションした後に生存していた菌株はなかった。NCTC 8761、8783及び9434は1  $\mu\text{g/mL}$ にて、NCTC 8603は0.7  $\mu\text{g/mL}$ にてATCC 25922は0.25  $\mu\text{g/mL}$ にて生存していた。生存可能なサラフロキサシンの最高濃度を含むモデルから選択した各株の試験分離株のMICを測定した。モデルシステムにおける細菌の生存率、及びサラフロキサシンに対する分離株の感受性の変化を表14に示す(McConvile, 1992a, b)。

ヒト由来のバクテロイデス-フラジリスの5株、及びビフィドバクテリウム属菌種の5株に及ぼすサラフロキサシンの影響について、上述の胃腸管モデル系にて評価した。GLPの原則に従って、試験を実施した。表15に、サラフロキサシンを2-16  $\mu\text{g/mL}$ の範囲で添加した腸管モデルにおけるバクテロイデス-フラジリスBの生存率を示す。NCTC 9343、NCTC 9344及びNCTC 11625は、濃度 $<16$   $\mu\text{g/mL}$ にて生存した。NCTC 8560及びNCTC 10581は、8  $\mu\text{g/mL}$ で存続した。全ての株は、サラフロキサシン非存在下で良く生育した。生存可能なサラフロキサシンの最高濃度を含む腸管モデルから得た各菌の分離株のMICを測定した。

ビフィズス菌属については、サラフロキサシンの毒性作用を観察できるような用量を選び、生存菌に選択圧を与えた。*B. adolescentis*, *B. infantis*, *B. breve*, 及び*B. longum*は濃度 $<16$   $\mu\text{g/mL}$ ですべて生存した。*B. angulatum*は、濃度 $<8$   $\mu\text{g/mL}$ で生存したが、生存率は接種物の約0.01%であった。これらの分離株のMIC及びMIC<sub>50</sub> は表16の中で示す。研究者は、分離株の感度が同程度なのは、サラフロキサシン濃度 $>8$   $\mu\text{g/mL}$ におけるモデルの飽和によるものと提案した。

結果は、大腸菌の通性嫌気性菌種より、偏性嫌気性菌のB.フラジリス及びビフィドバクテリウム属菌種に対してよりサラフロキサシンの活性が強いことを示した。菌株がブロス培養と比較して、より高濃度のサラフロキサシンを含むモデルにおいて生育するという所見から、サラフロキサシンは一部利用できないということが示唆された。「利用不能」要因は、大腸菌で3~12、B.フラジリスで2

～4、またビフィドバクテリウム属菌種では原則的に1であった。(McConville, 1992b).

表13. サラフロキサシンへの自然耐性の出現頻度の測定のために設計された実験から得られた耐性突然変異株の感受性

生物	自然耐性の頻度の試験に由来する変異株の感受性	キノロンを含まない培地に10回継代培養した変異株の感受性	キノロン濃度を増加した培養から得た変異株の感受性	キノロンを含まない培地で10回継代培養後、キノロン培地で数回継代培養して得た耐性変異株の感受性
----	------------------------	------------------------------	--------------------------	---

	変異株数		MIC (μg/mL)		変異株数		MIC (μg/mL)	
	株数	MIC (μg/mL)	株数	MIC (μg/mL)	株数	MIC (μg/mL)	株数	MIC (μg/mL)
<i>E. coli Juhl</i>	1	0.5 <sup>a</sup>	1	0.5	NR	0.25	NR	0.12
<i>S. aureus</i>	5	2 <sup>b</sup>	4	2-4	NR	2	NR	2
CMX730a								
<i>P. aeruginosa</i>	6	8 <sup>c</sup>	5	8	NR	4	NR	2

NR、報告なし

a 抵抗性誘導前のMICは<0.03 μg/mL

b 抵抗性誘導前のMICは0.25 μg/mL

c 抵抗性誘導前のMICは0.5 μg/mL

表14. サラフロキサシンを含む消化管モデルから分離した大腸菌のMIC(μg/mL)測定

大腸菌株	親株のMIC(μg/mL)		インキュベーション後の10分離株のMIC <sub>50</sub> (μg/mL)		分離株を得たモデルにおけるサラフロキサシン濃度(μg/mL)
	好気性	嫌気性	サラフロキサシンなし <sup>a</sup>	サラフロキサシンあり	
NCTC 8603	0.0625	0.0625	0.0625	0.0313	0.7
NCTC 8761	0.5	0.25	1	0.5	1
NCTC 8783	0.125	0.125	0.0625	0.125	1
NCTC 9434	0.125	0.125	0.0625	0.0625	1
ATCC 25922	0.0625	0.0625	0.0625	0.125	0.25

<sup>a</sup> 試験した分離株は1つのみ

表15. サラフロキサシンを含む消化管モデルから分離したB.フラジリスのMIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )測定

B.フラジリス株	親株のMIC ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	インキュベーション後の		分離株を得たモデルにおける サラフロキサシン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
		10分離株のMIC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		サラフロキサシンなし <sup>a</sup>	サラフロキサシンあり	
NCTC 8560	4	4	4	8
NCTC 9343	8	2	4	16
NCTC 9344	4	4	4	16
NCTC 10581	4	2	4	8
ATCC11625	4	4	2	16

<sup>a</sup> 試験した分離株は1つのみ

表16. サラフロキサシンを含む消化管モデルから分離したビフィドバクテリアのMIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )測定

ビフィドバク テリア株	親株の MIC( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	インキュベーション後の		分離株を得たモデルにお けるサラフロキサシン濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
		10分離株のMIC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )		
		サラフロキサシンなし <sup>a</sup>	サラフロキサシンあり	
<i>B.adolescentis</i>	8	8	8	16
<i>B.infantis</i>	8	8	8	16
<i>B.angulatum</i>	8	8	8	8及び4 <sup>b</sup>
<i>B.breve</i>	16	16	16	16
<i>B.longum</i>	> 16	> 16	> 16	16

<sup>a</sup> 試験した分離株は1つのみ

<sup>b</sup> 4及び8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  サラフロキサシンを含んでいる消化管モデルからそれぞれ得られた5つの分離株

5つのキノロンである、シプロフロキサシン、ロメフロキサシン、モキシフロキサシン、スパルフロキサシン及びDU-6859の、感染したヒトの患者から分離した320種の嫌気性細菌に対する活性は、*in vitro*において寒天希釈方法で測定した。試験した菌は、ペプトストレプトコッカス50種、ウェルシュ菌30種、ディフィシル菌50種、バクテロイデス-フラジリス100種、プレボテラ及びポルフィロモナス属50種、及びフソバクテリウム40種であった。試験したすべてのキノロンのうち最も感受性が高かったのは、ウェルシュ菌(MIC<sub>50</sub>, 0.008-1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )及びペプトストレプトコッカス(MIC<sub>50</sub>,

0.008-4 µg/mL)であった(Nord, 1996)。

### 2.2.7 生態毒性に関する特殊試験 (原文 p.30)

養魚に対する治療薬としてサラフロキサシンの使用を検討するため、生態毒性に関する様々な側面を評価した。堆積物中に存在する細菌に対する吸脱着及び影響は、食品中の残留物の微生物学的診断に関連し得る評価の一部である。これらの試験結果は、調査資料の一部として委員に提出した環境報告書に要約した。GLPの原則に従って、吸着及び脱着試験を実施したが、サラフロキサシンが堆積物中の細菌に及ぼす影響に関する試験はなかった。

吸脱着試験は、シルト質粘土ローム(pH 5.4)、砂質粘土ローム(pH 6.0)及びローム(pH 8.3)で実施した。結果、サラフロキサシン塩酸塩は、試験を実施した3種の土壤に容易に吸着され、固定されたと考えられることが示唆された。サラフロキサシンの吸光係数(Kd)は、シルト質粘土ロームにおいて8400、砂質粘土ローム土壤において7400、及びロームにおいて143 000であった。3種の土壤全てにおける化合物の脱着能は、それぞれ平均値が0.03、0.02及び0.63%と、無視できる程度であった。

サラフロキサシンが堆積物中に存在する細菌に及ぼす影響を、これまでにサラフロキサシンを使用していない資源に由来する海底の堆積物で試験した。サラフロキサシン塩酸塩0、3、30又は300 µg/mLを含むサンプルの細菌数は、 $10^6$ ~ $10^7$ コロニー形成単位に等しく、抑制効果は全く示されなかった。抑制がみられなかったのは、サラフロキサシン塩酸塩は強力に吸着し、その結果堆積物中に存在する細菌に影響しないことが原因と思われた。堆積物中の細菌にサラフロキサシン塩酸塩が影響しないことは、生分解に対してサラフロキサシンの抵抗性がみられたことに対する説明にも役立つ(Duke, 1990)。

### 2.3 ヒトの観察所見 (原文 p.31)

健康な成人男子ボランティア集団で、サラフロキサシンの単回経口投与により安全性試験を行った。サラフロキサシン100 mgを6人、200mgを6人、400 mgを5人及び800 mgを5人に投与した。最も頻繁にみられた有害症状は、めまい及び無力症であったが、その発生頻度の増加は投与量に依存しなかった。情緒不安定、傾眠及び吃逆は、最低用量群で唯一報告された有害事象であった。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準に合致していた(Tolman, 1986)。

6人の健康な成人男子に、胃の表面の暴露を最大化するために懸濁液の形状でサラフロキサシン100もしくは200 mg用量を、1日2回、連続する7日間経口投与し、安全性試験を行った。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準と一致した。投与した被験者では、無力症、血管拡張、不安、眩暈及び神経過敏が報告されたが、プラセボの投与群ではみられなかった。投与群及びプラセボ群の両方において、傾眠が最も頻繁に報告された有害症状であった。血液学的、臨床化学、凝集、又は尿パラメータにおいて臨床的に有意な変化はみられず、身体的、眼科学又は神経学的検査、あるいは心電図又は脳波においてもみられなかった(Tolman, 1986)。

6人の健康な成人男子ボランティアに、サラフロキサシンを12時間ごとに100 mg、12時間ごとに200 mg又は6時間ごとに100 mg、連続する7日間経口投与して、安全性試験を行った。最も頻繁に報告された有害症状は、無力症(8件の報告, 20%)及び眩暈(6件の報告, 15%)であった。プラセボ投与群で最も頻繁に報告された有害症状は、無力症(6件の報告, 17%)及び傾眠(4件の報告, 11%)であった。GLPの原則に関するコンプライアンスは、この試験では求められなかった。試験の品質及び設計は、現行の科学的基準と一致した(Tolman, 1988)。

### 3. コメント (原文 p.31)

当会議は、薬力学、薬物動態、代謝、急性及び短期毒性、発がん性試験、遺伝毒性、生殖毒性及び発生毒性、微生物の作用に関する特殊試験及び生態毒性、ならびにヒトにおける観察所見の試験データについて検討した。試験プロトコル及び実施についての適切な標準に従ってすべての試験を実施した。

マウス、ラット、ウサギ、イヌ及びヒトでサラフロキサシンの吸収、代謝及び排泄を試験した。経口投与後の吸収率の幅は、800 mgを単回経口投与したヒトにおける10%から、10 mg/kg 体重を単回投与したイヌにおける70%までであった。マウス、ラット及びウサギにおける主要な排泄経路は糞であった。10 mg/kg 体重を経口投与したマウス、ラット、ウサギ及びイヌの尿及び糞中には、親化合物は放射能標識投与の80-90%を占めたことから、サラフロキサシンがこれらの種においてわずかしか代謝されないことが示された。100-800 mgを単回経口投与したヒトでは、サラフロキサシンは尿中の総回収量の75-80%を占めた。代謝物の3'-オキシサラフロキサシンは、回収量の約15%を占めた。試験した全ての種において、高用量群における投与の吸収量は低下した。

マウス及びラットを用いた急性毒性試験では、サラフロキサシンの経口投与はわずかに危険性がみられ、LD<sub>50</sub>はおおよそ>5000から>8000 mg/kg 体重であった。

1ヶ月の中間と殺を行った90日間毒性試験では、ラットに0、20、75、280又は1000 mg/kg 体重/日のサラフロキサシンを強制経口投与した。1ヶ月間投与した動物で観察された唯一の投与の影響は、中高用量群における著しい盲腸の拡大であった。90日間投与した動物の用量依存的な影響には、75 mg/kg 体重/日以上を投与した雄における著しい盲腸の拡大が含まれていた。これらの拡大した盲腸において、微視的な病理学的変化は全くみられなかった。

90日間試験を実施したラットにおいて、対照群で0匹、低用量群で2匹、2つの中用量群でそれぞれ1匹、高用量群で3匹、剖検時に耳の膨大がみられたことが報告された。この所見に毒性学的意義はないと当会議は結論した。高用量群の雌3匹において、耳介軟骨炎が組織学的に認められた。この試験の3匹の死亡例は、いずれも高用量群のラットであった。1匹は投与による影響の可能性があったが、この動物のいくつかの組織は自己消化していたため死因を決定することが不可能であった。75 mg/kg 体重/日以上を投与して著しい盲腸の拡大がみられたことに基づき、NOELは20 mg/kg 体重/日とした。

イヌを用いて、サラフロキサシンが関節症を誘導する可能性を、2つの2週間パイロット試験で評価した。800mg/kg体重/日のサラフロキサシンをゼラチンカプセル投与した若い成犬(年齢について記載なし)において、橈骨手根関節の平坦化を特徴とした関節症がみられたが、病変部に微視的な兆候はなかった。同じ関節炎は、3カ月齢のイヌを用いた125又は300 mg/kg 体重/日による2週間ゼラチンカプセル投与試験でみられた。関節軟骨の中等度～重度の小胞関節症性変化は、300 mg/kg 体重/日投与群のイヌで微視的に観察された。若イヌにおけるサラフロキサシンの関節症に基づき、NOELは50 mg/kg 体重/日であった。

9～14カ月齢のイヌを用いて、1ヶ月の中間と殺を行った90日間試験を行った。イヌの一群雌雄各7頭のから成る3群に、0、5、25、もしくは125 mg/kg 体重/日のサラフロキサシンをゼラチンカプセル投与した。投与後28日の全ての投与群の雌雄において、平均血清グロブリン濃度の低下が観察された。90日の投与後は、中高用量群の雌、及び高用量群の雄において、平均血清グロブリン濃度の統計学的に有意な低下がみられた。雄において、用量依存的な体重増加率の低下が認められた。高用量群の平均血清グロブリン濃度の減少に基づき、NOELは5 mg/kg 体重/日であった。

4カ月齢のイヌの一群雌雄各4頭を用いた、10及び50 mg/kg 体重/日のゼラチンカプセル投与による90日間試験を実施した。雌雄6頭のイヌから成る第3の群には、200 mg/kg 体重/日を投与した。試験期間の最初の2週間は遊離塩基の濃度にかかわらず、サラフロキサシン(塩酸塩として)の実際の重量を投与した。このため、実際の投与量は目標の遊離塩基用量の約80%となった(すなわち、8、40、及び160 mg/kg 体重/日)。残りの試験期間は、投与量が目標用量になるように

調整した。90日間投与後、中高用量群の雌において、平均血清グロブリン濃度の有意な低下が認められた。低用量群の雌の平均血清グロブリン濃度は、対照値と同等であった。用量依存的な毒性は、垂れ耳及び鼻口部の紅斑が中高用量群の雌雄においてみられた。高用量群の雄の1匹は全身に紅斑が認められた。高用量群においては、眼、眼瞼及び垂れ耳のまわりの腫大もみられた。高用量群の血清グロブリンの減少、顔面の腫大及び紅斑に基づき、NOELは8 mg/kg 体重/日であった。

マウスの一群雄雌各60匹群を用い、サラフロキサシン0、1000、5000、あるいは20000mg/kgを混餌投与して、発がん性試験を実施した。中高用量群における高い死亡率のため、試験は78週後に終了した。用量依存的な毒性は、中高用量群の雌において腎毒性、高用量群の雄において膀胱結石及び尿路結石が含まれた。すべての投与群の雌雄において盲腸の膨大、また中高用量群の雌雄において盲腸捻転が認められた。低用量群には用量依存的な毒性は全く認められなかった。発がん性の兆候は全くなかった。

ラットを用いて長期毒性及び発がん性複合試験が実施された。サラフロキサシンの0、1000、10 000又は25 000 mg/kg 飼料を混餌した。毒性試験の過程(52週)においては、一群雄雌各20匹、発がん性試験の過程(104週)においては、一群雄雌各65匹を配した。毒性過程において、投与物質は、61、670又は1700 mg/kg 体重/日に等しかった。高用量群の雌雄において、平均体重増加率の減少が認められた。血液中の尿素、窒素及びクレアチニン濃度の増加は、高用量群の雌及び雄において、それぞれ51週及び52週でみられた。各サンプリング期間で全ての投与群の雄において、総タンパク質量は対照群に比べて低下した。これらの値の減少は、グロブリン濃度の有意な低下及び、未変化アルブミン濃度の相対的低下により説明された。中高用量群の雌の51/52週目において、総タンパク質及びグロブリン濃度hs統計的に有意に減少した。高用量群の雌において、腎臓の絶対及び相対重量が有意に上昇した。高用量群の雌雄10/20匹、中用量群の雌1/20匹には尿細管性腎症がみられた。サラフロキサシン10000もしくは25000 mg/kgを混餌投与したラットの大半において、盲腸の膨大が認められた。著しく膨大した盲腸においても、組織病理学的変化は全く認められなかった。NOELは、61 mg/kg 体重/日であった。発がん過程では、投与物質は54、580又は1500 mg/kg 体重/日に等しかった。毒性徴候は、毒性過程の試験でみられたものと類似していた。発がん性影響の兆候は全くなかった。

サラフロキサシンは、*in vitro*のチャイニーズハムスター卵巣細胞において変異、ラット初代培養肝細胞において不定期DNA合成及びチャイニーズハムスター卵巣細胞において染色体異常を引き起こした。*in vivo*のラット初代培養幹細胞の不定期DNA合成、又は*in vivo*のマウス骨髄において、微小核形成は誘導されなかった。当会議は、サラフロキサシンは*in vitro*で遺伝毒性を持つが*in vivo*では持たないと結論した。



ラット用い、サラフロキサシンの0、75、275又は1000 mg/kg 体重/日を繁殖の少なくとも70日前から強制経口投与して、3世代繁殖毒性試験を実施した。各世代は、一群雄雌各30匹から成っていた。中高用量群の第2親世代の雌雄、中高用量群の第2親世代の雄、及び高用量群の第2親世代の雌において、相対肝重量が有意に減少した。試験の最高用量群の1000 mg/kg 体重/日投与群までは、生殖、同腹児パラメータ又は胎児形態において投与による影響は全くみられなかった。高用量群の雌雄における肝重量の低下に基づき、親動物の毒性のNOELは75 mg/kg 体重/日であった。

ラットを用い、妊娠6～15日の間にサラフロキサシンのを毎日経口投与して発生毒性試験を実施した。妊娠ラット20匹から成る4群には、0、20、75、280又は1000 mg/kg 体重/日のサラフロキサシン塩基を強制経口投与した。いずれの用量においても、母動物毒性又は催奇形性の兆候は全くみられなかった

ウサギに、0、15、35、又は75 mg/kg 体重/日を妊娠6-18日の間強制経口投与し、発生毒性試験を行った。最高用量群は、体重の減少、流産、排便及び排尿の減少などに示される過度の母動物毒性のため、催奇形性評価に不適切であると思われた。母動物毒性は、低中用量群においても観察された。外部、内臓、骨格の奇形及び胎児毒性は中高用量群の胎児においてみられた。催奇形性及び胎児毒性のNOELは、15 mg/kg 体重/日であった。母動物毒性のNOELは、全く認められなかった。本試験における催奇形性作用は母動物毒性から派生していると思われ、直接的にはサラフロキサシンによる投与に起因しなかった。

当会議によって見直されたヒトにおけるデータは、健康な成人男性のサラフロキサシンの経口投与による安全性をプラセボと比較した臨床試験における副作用の報告で構成されていた。投与は、1日当たり100～800 mg/人で、連続1～7日間にわたって行われた。胃腸内細菌叢に及ぼす影響については、これらの試験で評価されなかった。報告された副作用には、無力症、血管拡張、不安、眩暈及び神経過敏、又は散発的に全投与群にみられた傾眠が含まれた。

サラフロキサシンは、主として好気性グラム陰性細菌に対して活性を示すフルオロキノロングループに属する抗菌性物質である。ヒトでは、潜在的病原性細菌による侵入又は過剰繁殖から消化管を保護する優勢嫌気性細菌の腸内細菌叢を維持する一方で、潜在的好気性及び条件的嫌気性病原体を消化管から選択的に排除するための治療に使用されることが特徴である。

サラフロキサシンの微生物学的作用に関するいくつかの*in vitro*試験が、当会議により評価された。1つの試験では、 $10^4$ の細菌の接種濃度における65 属735 株のヒト臨床分離株に対する

MIC<sub>50</sub>及びMIC<sub>90</sub> が測定された。210 株に対するサラフロキサシンの作用が評価され、そのうちの14株はヒトの腸内細菌叢を構成している可能性があるとして同定された。それぞれMIC<sub>50</sub> <0.031 µg/mLの大腸菌及びエンテロバクター・クロアカエで、最も高い感受性を示した。MIC<sub>50</sub> 0.125 µg/mLのペプトストレプトコッカス属は、中度感受性微生物であった。MIC<sub>50</sub> 8 µg/mLのバクテロイデス-ブルガタスが最も感受性の低い微生物であった。*in vitro*におけるサラフロキサシンの作用に対する接種サイズ(*inoculum size*)の影響を評価するために設計した試験において、ヒト由来の50の臨床分離株に対するサラフロキサシンの幾何平均MIC値を計算した。10<sup>5</sup>及び10<sup>7</sup>コロニー形成単位/mLの接種密度において、最も敏感な大腸菌で報告された幾何平均MIC値は、それぞれ0.018及び0.05 µg/mLであった。

サラフロキサシンの4種の潜在的代謝物に対する微生物活性を測定した。MIC<sub>50</sub>は試験株によって様々であるが、一般的に大腸菌に対するサラフロキサシンの値よりも有意に高かった。そのため、当会議は、ヒトの胃腸管でみられる細菌の関連株に対する代謝物の微生物活性は、サラフロキサシンの活性よりも有意に低いであろうと結論した。

ヒト臨床分離株のサラフロキサシンへの自然耐性の出現頻度は、MICの4及び8倍のサラフロキサシンを含む寒天培地上で培養した大腸菌、*S. aureus*、及び*P. aeruginosa*において、及びブロス培地中のサラフロキサシンの濃度を上げながら細菌を繰り返し培養することで試験した。安定的な耐性変異株が出現した。

ヒトに由来する大腸菌、*B. フラジリス*、及びビフィドバクテリウム属菌種のそれぞれ5株に対するサラフロキサシンの作用を、食品中での分解及び結合によるサラフロキサシンの不活化の可能性をシミュレートするように設計した*in vitro*胃腸モデル系で試験した。大腸菌株は、このモデルでは、ブロス培養と比較してより高濃度のサラフロキサシン存在下で生育した。「非利用度」係数は3~12までと多岐にわたり、サラフロキサシンが消化管モデルにおいて有機物に結合し、大腸菌株の感度が低下することを示した。*B. フラジリス*の係数は2~4の範囲で、ビフィドバクテリウム属菌種では原則的に1であった。この試験結果は、サラフロキサシンの消化管モデルにおける利用能はブロス培養より少ないことを示唆した。

*in vitro*において、pHがサラフロキサシンの作用に及ぼす影響を、ヒト由来好気性菌及び嫌気性細菌の分離株によって試験した。一般的に、それらヒト胃腸管の構成要素である生物の幾何平均MIC値は、pH低下に伴い上昇した。

審議会は、サラフロキサシンの抗菌作用に対する感受性が最も高い生物、すなわち大腸菌及びエンテロバクター・クロアカエは、胃腸内細菌叢全体の1%を占めており、消化管への定着抵抗性にわずかに貢献していると思われると忠告した。入手できた微生物学的データでは、試験した

菌株がほんのわずかであったため、ヒトの胃腸管に関する細菌の完全な評価ができなかった。しかし、ヒトの腸内嫌気性細菌関連に対するフルオロキノロン類の活性について公表された報告に基づき、試験した株の中でもウェルシュ菌とペプトストレプトコッカス種が最も敏感であることが示された。関連細菌では、ペプトストレプトコッカス種においてサラフロキサシンの最低MIC<sub>50</sub> 0.125 µg/mLがみられた。審議会は、10株は試験するのが好ましいところ、3株にすぎないため、これらの飼料は限定的であるとみなしたが、ADIの支持には十分であった。

#### 4. 評価 (原文 p.37)

サラフロキサシンの抗菌活性に基づくADIの上限を、p28に記載している式から次のとおり計算した:

ADIの上限値

$$\begin{aligned} & \frac{0.125 \mu\text{g/g}^{\text{a}} \times 220 \text{ g}}{=} \\ & 0.70^{\text{b}} \times 2^{\text{c}} \times 60 \text{ kg} \\ & = 0.33 \mu\text{g/kg 体重} \end{aligned}$$

- a この評価の目的のため、この値はサラフロキサシンで試験したヒト腸内細菌叢の細菌のうち最も敏感であったペプトストレプトコッカス属のヒト分離株 3 種に対する MIC<sub>50</sub> である。
- b ヒトの試験において経口投与したサラフロキサシン 100mg のうち約 70%が吸収されなかったことに基づき、結腸の微生物への作用には投与の一部のみが寄与するとした。
- c ヒトの胃腸管の細菌に対する感受性に関して利用可能な MIC データは限られているため、安全係数 2 を用いた。

委員会は、限定的に適切な微生物学的データを手に入れたヒト腸内細菌叢の関連細菌のうち、最も感受性の高い微生物、すなわちペプトストレプトコッカス種のサラフロキサシンに対する活性に基づき、ADIを0-0.3 µg/kg 体重と設定した。イヌの90日間試験における毒性上の最低NOELである5 mg/kg 体重/日と比較した時、このADIは、17 000の安全マージンを確保する。

#### 5. 謝辞 (原文 p.37)

以下に記す米国食品医薬品局の方々に、この論文の第1稿の作成に伴い助力頂いたことに感謝する: Dr Carl Cerniglia、微生物学者、国立毒性研究センター。Dr Robert Condon、生物統計担当者、動物薬センター。Dr Anna Fernandez、毒物学者、動物薬センター。Dr Louis T.Mulligan、毒物学者、動物薬センター。Dr Terry Peters、病理学者、製剤評価研究センター。Dr Leonard Schechtman、遺伝的毒物学者、動物薬センター。

サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要 (評価書: JECFA 1998)

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性			表 6 に記載の通り
90 日間亜急性経口毒性	ラット	0、20、75、280 又は 1000 mg/kg 体重/日	NOEL = 20 mg/kg 体重/日 >75 mg/kg 体重/日の雄における著しい盲腸の拡大に基づく
用量設定試験	イヌ		NOEL = 50 mg/kg 体重/日 関節症に基づく
90 日間亜急性経口毒性	イヌ	0、5、25、もしくは 125 mg/kg 体重/日	NOEL = 5 mg/kg 体重/日 平均血清グロブリン濃度の減少に基づく
90 日間亜急性経口毒性	イヌ	8、40、160 mg/kg 体重/日	NOEL = 8 mg/kg 体重/日 血清グロブリンの減少、顔面の腫大及び紅斑に基づく
発がん性試験	マウス	0、1000、5000、20000mg/kg 飼料	雌において腎毒性 雄において膀胱結石及び尿路結石 雌雄において盲腸の拡大及び捻転 発がん性なし
長期毒性 / 発がん試験	ラット	0、1000、10 000 又は 25 000 mg/kg 飼料	雌雄において、平均体重増加率の減少、血液中の尿素、窒素及びクレアチニン濃度の増加、尿細管性腎症、盲腸の拡大 雄において、総タンパク値低下 雌において、総タンパク質及びグロブリン濃度減少、絶対及び相対腎臓重量上昇 NOEL = 61 mg/kg 体重/日 発がん性なし
遺伝毒性			表 7 に記載の通り
3 世代繁殖	ラット	0、75、275、1000 mg/kg 体重/日	親動物 NOEL = 75 mg/kg 体重/日 雌雄における肝重量の低下に基づく
発生毒性	ラット	0、20、75、280、1000 mg/kg 体重/日	母動物毒性又は催奇形性の兆候なし
発生毒性	ウサギ	0、15、35、75 mg/kg 体重/日	催奇形性及び胎児毒性 NOEL = 15 mg/kg 体重/日 母動物の NOEL は認められなかった
その他			ADI 0-0.3 µg/kg 体重

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
FAO	Food and Agriculture Organization	国連食糧農業機関
WHO	World Health Organization	世界保健機関
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
LD <sub>50</sub>	50% Lethal Dose	半数致死量
ADI	Acceptable Daily Intake	1日摂取許容量

## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理

EMEA: 1996

ウェブサイト:

[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-Report/2009/11/WC500015842.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-Report/2009/11/WC500015842.pdf)

Committee for Veterinary Medicinal Products, Sarafloxacin, Summary Report, 1996





サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理 EMEA (1996) 目次

動物用医薬品委員会(原文 P.1) .....	81
サラフロキサシン(原文 P.1) .....	81
概略報告(原文 P.1) .....	81
サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 1996) .....	85
略称 .....	86

## 原文 目次

	原文ページ
動物用医薬品委員会 .....	1
サラフロキサシシ .....	1
概略報告 .....	1
COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS .....	1
SARAFLOXACIN .....	1
SUMMARY REPORT .....	1

## 動物用医薬品委員会(原文 p.1)

### サラフロキサシン(原文 p.1)

#### 概略報告(原文 p.1)

1. サラフロキサシンは微生物の DNAトポイソメラーゼ II を阻害することにより作用するフルオロキノロン系抗生物質の一つである。サラフロキサシンは細菌性疾患の治療のために家禽の飲料水中において、また節腫症、ビブリオ症及びレッドマウス症などの疾病の治療に用いるために魚用飼料中において使用することが提案されてきた。
2. サラフロキサシンの吸収量は種によって異なり、容量が増えるに従い減少した。薬剤は尿及び糞の両方に排泄され、広範には代謝されなかった。
3. 毒性試験のほとんどは、比較的に生体利用効率が低い製剤を用いて実施された。

サラフロキサシンの急性毒性は低く(ラット及びマウスにおいて経口半数致死量(LD<sub>50</sub>)\* > 5 g/kg 体重)、また標的動物種において十分許容された。

\*原文では LDSO とあったが、LD50 の誤表記と思われる。

ラットにおける反復投与試験において、最も顕著な所見は可逆的な盲腸の膨大(reversible cecal distension)であった。この影響は、高容量の抗生物質を与えたラットにおいて頻繁にみられる所見である。13 週間反復投与試験における無影響量(NOEL)は、盲腸の膨大に基づき、1 日当たり 20 mg/kg 体重であった。

4. 幼若イヌを用いた反復毒性試験において、サラフロキサシンはこの種の幼動物にキノロン系抗生物質を用いた際に典型的にみられる関節症(arthropathy)を引き起こした。13 週間反復投与試験における NOEL は、関節症に基づき、10mg/kg 体重/日であった。しかし、この容量では、雌イヌにおいて一時的な血中グロブリン濃度の減少がみられた。後者の所見の安全性評価への有意性には疑問の余地があったため、NOAEL として 10 mg/kg 体重/日が受け入れられた。
5. ラットを用いた一日当たり 1,000 mg/kg 体重を上限とした投与による催奇形性試験において母動物\*毒性、催奇形性、又は胎児毒性の証拠はなかった。この試験での有害影響の欠如は、供試物質の吸収率が低いことに関係している。妊娠したウサギへのサラフロキサシンの投与は、着床後死亡の増加、胎児体重の減少、及び奇形を伴った胎児の発生頻度をもたらした。これ

らの影響は抗生物質を与えられた妊娠したウサギに頻繁にみられる腸内細菌叢のかく乱による母動物毒性の副次的なものであり、胎児毒性及び催奇形性に関する NOEL はそれぞれ 15 及び 35 mg/kg 体重/日と設定された。

\*原文では **maternal** とあるが、**maternal** の誤表記であると考えられる

6. サラフロキサシンは *in vitro* 不定期 DNA 合成 (UDS) 試験において核標識 (nuclear labeling) の有意な増加を引き起こした。2 件のさらなる変異原性試験においては不明確な結果が得られた。しかし *in vivo* *in vitro* UDS 試験及び *in vivo* マウス骨髄小核試験は陰性の結果を示した。後者の試験においては高用量 (8 g/kg 体重) が用いられたが、サラフロキサシンが標的である骨髄細胞に到達したという証拠はみられなかった。フルオロキノロン類は微生物及び哺乳類のトポイソメラーゼ II に対する影響をもつことは、*in vitro* 変異原性試験には問題となる。発がん性試験において腫瘍発生頻度増加はみられなかったが、**兩種\***において低い生存率が認められ、またこのマウスを用いた試験期間は短かった。変異原性及び発がん性に関する試験の解釈には難しいところがあるが、優勢な証拠から、提案されたサラフロキサシンの家禽における使用は変異原性や発がん性リスクを消費者に与えないことが示された。

\*どの二つの種を指しているのかが原文からでは判断がつかないため、そのまま訳した。

7. Guinea Pig Maximization test (GPMT) では、サラフロキサシンは感作性物質ではなかった。
8. ヒトの治験ボランティアにおいて、サラフロキサシンは二重盲検プラセボ対照試験の方式で試験された。化合物による有意な効果はみられなかった。経口 **生体利用率\***は低かった (11~34%)。

\*原文では **biavailability** とあったが、**bioavailability** の誤表記であると考えられた。

9. サラフロキサシンの *in vitro* における抗菌作用を、ヒト由来の約 900 にわたる細菌種によって試験した。また、サラフロキサシンのヒト腸内細菌への影響を腸内の類似環境で調べるため、特殊試験を実施した。得られた最小発育阻止濃度 (MIC) の利用を認めるには、試験した細菌種があまりにも限られていたが、標準的な *in vitro* 試験環境に比べてヒト腸内においては微生物のサラフロキサシンへの感受性が減少することが示された。

10. 微生物学的一日摂取許容量 (ADI) は下記の式から次のように算出された。

$$\text{ADI} = \frac{\text{幾何平均 MIC}_{50} \times \text{CF2} \ (\mu\text{g} / \text{mL}) \times \text{一日当たりの糞塊} (0.15 \text{ L})}{\text{CF1}} \ (\mu\text{g} / \text{kg} \text{ 体重})$$

微生物が利用可能な経口量の割合 × ヒトの体重 (60 kg)

MIC<sub>50</sub> 最も敏感な種における幾何平均値は該当するものがなかった。したがって、MIC<sub>50</sub> の下限値には、大腸菌を含めた様々な生物において得られた値である 0.031 が適用された。

CF1 抵抗性の問題に関する証拠はなく、また試験した生物種が多いことから、CF1 の値には1が用いられた。

CF2 腸内シミュレーションモデルによる試験は、モデル上の生物における感受性と標準環境における感受性とを並行して調べていないが、*in vitro* 検定とヒト腸内における状況との違いを計算に入れるには少なくとも 5 倍の係数を用いることができることが指摘されている。したがって、5 倍の係数が CF2 に用いられた。

ヒトにおけるサラフロキサシンの生体利用効率が低いことから、利用可能な用量の割合は 0.9 とした。

$$\text{ADI} = \frac{0.031 \times 5 \text{ (}\mu\text{g /mL)} \times 150}{1} \times \frac{1}{0.9} \times 60 \text{ (}\mu\text{g /kg 体重)}$$

$$\begin{aligned} \text{ADI} &= 0.4 \text{ }\mu\text{g /kg 日} \\ &= 24 \text{ }\mu\text{g /ヒト/日} \end{aligned}$$

4 種類の代謝物候補の抗微生物活性は親化合物であるサラフロキサシンの活性より低いことが示された。

11. 微生物学的 ADI は、幼若イヌを用いた 13 週間試験から求められ、さらに安全係数 100 を適用した総 NOEL である 10 mg/kg 体重/日を基にした、毒性学的 ADI の 100  $\mu\text{g /kg 体重/日}$  を十分に下回る。
12. 放射能標識を用いた試験では、投薬中止の 6 時間後に、七面鳥及び鶏の肝臓における総残留物のそれぞれ 83%及び 86%が、サラフロキサシン及びサラフロキサシンと加水分解物との抱合体の形をとることが示された。その他の組織における残留物の特性及びそれ以降の

時点における残留物の特性は、分析をするには組織中濃度が低すぎる値であったため、特定することができなかった。

13. 親化合物であるサラフロキサシンに有効な高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析法が、鶏組織に対して提案された。この手法の定量限界は、肝臓、皮及び脂肪、ならびに筋肉においては 10 µg /kg 組織であり、また腎臓においては 50 µg /kg 組織である。
14. 鶏の肝臓において、投薬中止 6 時間後、遊離型サラフロキサシンは、サラフロキサシ及びサラフロキサシンと加水分解物の抱合体のうち、約 80%を占めた。その他の組織における残留物及びその他の時点における残留物の濃度は、残留物の特定を行うには低すぎた。鶏組織における最大残留基準値 (MRLs) は、遊離型のサラフロキサシンの分析に基づき、また抱合体の存在確率に関して補正することにより求めることが可能である。肝臓を除く他の組織におけるデータが欠如しているため、同等の相対比率を想定した。この手法では一般的に抱合体は他の組織に比べて肝臓では豊富に存在することから、総合した生物学的活性残留物濃度を過大に見積もる可能性が高い。この推定を行う際に生じる誤差の可能性は、肝臓以外の組織における総残留物濃度が比較的低いことから低いといえる。よって、非抱合体サラフロキサシンは鶏組織のマーカール残留物として許容できる。
15. 鶏組織における MRL は投薬中止 18 時間後における相対的な組織中の総残留物濃度及び前述の予想される遊離型のサラフロキサシンの割合を補正することにより算出することができる。予想される肝臓及び筋肉中の遊離サラフロキサシン濃度は、分析法の定量限界を下回るため、これらの組織における MRL の設定はできない。遊離型サラフロキサシンを MRL レベルで含む完全包装鶏肉 (the complete meat package from chickens) の摂取に起因する生物学的に有意な残留物の予想総摂取量は、約 15 µg/ヒト/日である。これは 24 µg/ヒト/日である ADI の値を十分に下回るものである。鶏に関して推奨される MRLs 以下の通りである。

動物種	マーカール残留物	MRLs	組織
鶏	親化合物であるサラフロキサシン	100 µg/kg	肝臓
		10 µg/kg	皮+脂肪

サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要（評価書: EMEA 1996）

試験の種類	供試動物等	投与量	結果
急性毒性（経口）	ラット、マウス	記載なし	LD <sub>50</sub> > 5 g/kg 体重
13 週間亜急性毒性	ラット	記載なし	NOEL = 20 mg/kg 体重/日、可逆的な盲腸の膨大 (reversible cecal distension) に基づく
13 週間亜急性毒性	幼若イヌ	記載なし	NOEL = 20 mg/kg 体重/日、関節症 (arthropathy) に基づく
奇形学的試験（母動物毒性・催奇形性・胎児毒性）	ラット	最大で 1,000 mg/kg 体重/日	母動物毒性の兆候なし 催奇形性の兆候なし 胎児毒性の兆候なし (供試物質の吸収率が低いことによる)
奇形学的試験（催奇形性・胎児毒性）	妊娠中のウサギ	記載なし	胎児毒性: NOEL = 15 mg/kg 体重/日 催奇形性: NOEL = 35 mg/kg 体重/日 着床後死亡の増加、胎児体重の減少、及び奇形を伴った胎児の発生頻度増加に基づく
変異原性: UDS 試験	記載なし	記載なし	核の標識 (nuclear labeling) の著しい増加
変異原性: <i>in vivo in vitro</i> UDS 試験	記載なし	記載なし	陰性
変異原性: 小核試験	マウス骨髓細胞	8 g/kg 体重	陰性
発がん性試験	記載なし	記載なし	発がん性リスクなし (腫瘍発生頻度増加はなかったが、供試動物種の両方で低い生存率が認められ、またマウスにおける試験の期間が短かった)
皮膚感作性試験 (GPMT)	モルモット	記載なし	皮膚感作性なし
その他			ADI: 微生物学的 ADI = 0.4 µg/kg (24 µg/ヒト) 毒性学的 ADI = 100 µg/kg、幼若イヌを用いた 13 週間試験から得た総 NOEL の値 10 µg/kg と安全係数に 100 を用いて算出  MRL: 鶏の肝臓 = 100 µg/kg 鶏の皮 + 脂肪 = 10 µg/kg

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	許容一日摂取量
EMA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products	欧州医薬品審査局
CF1	Correction Factor 1	補正係数 1
CF2	Correction Factor 2	補正係数 2
GPMT	Guinea Pig Maximization test	モルモットを用いた皮膚感作性試験
MIC	Minimum Inhibitory Concentration	最小発育阻止濃度
LD <sub>50</sub>	Median Lethal Dose	半数致死量
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
FAO	Food and Agriculture Organization	食糧農業機関
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
MRL	Maximum Residue Level	最大残留基準値
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
WHO	World Health Organization	世界保健機関



## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理

EMEA: 1997

ウェブサイト:

[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500015846.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015846.pdf)

Committee for Veterinary Medicinal Products, Sarafloxacin (salmonidae), Summary Report (1), 1997



## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理 EMEA (1997) 目次

動物用医薬品委員会 (原文 P.1) .....	91
サラフロキサシン(サケ科) (原文 P.1) .....	91
概略報告(1) (原文 P.1) .....	91
結論及び提言 (原文 P.2) .....	92
質問事項 (原文 P.3) .....	93
サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 1997) .....	94
略称 .....	94

## 原文 目次

	原文ページ
動物用医薬品委員会 .....	1
サラフロキサシン(サケ科) .....	1
概略報告(1) .....	1
結論及び提言 .....	2
COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS .....	1
SARAFLOXACIN (salmonidae) .....	1
SUMMARY REPORT (1) .....	1
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATION .....	2

## 動物用医薬品委員会（原文 p.1）

### サラフロキサシン(サケ科)（原文 p.1）

#### 概略報告(1)（原文 p.1）

1. サラフロキサシンは微生物の DNA ジャイレースを阻害することにより働くフルオロキノロン系抗生物質の一つである。サラフロキサシンは細菌性疾患の治療用途で家禽の飲水中に、また節腫症、ビブリオ症及びレッドマウス症などの疾病用途で魚の飼料中に使用することが提案されてきた。推奨される投与量は塩酸塩として 10 mg/kg 魚体重であり、5 日間連続して飼料中に投与される。
2. サラフロキサシンの鶏に対する最大残留基準値(MRL)は、肝臓において 100 µg /kg として、また、皮+脂肪においては 10 µg/kg として、規則 2377/90 の附属書 I に盛り込まれた。親化合物であるサラフロキサシンはマーカー残留物とされた。サケ科への拡張適用を支持する追加資料が提出された。
3. タイセイヨウサケを用いた、放射能標識サラフロキサシン塩酸塩の 0.7 及び 9.5 mg/kg 体重投与による混餌投与試験では、薬剤の排泄が速やかであり、主に尿中を経路とすることが示された。サラフロキサシン投与後に、最大血漿中濃度に到達する時間は賦形剤及び温度の影響を受け、単回投与においては 6~24 時間の範囲をとり、反復投与においては 103.5 時間であった。経口投与による生体利用能は投与量の 4~24% であった。
4. 放射能標識 <sup>14</sup>C サラフロキサシン塩酸塩を 9.5 mg/kg 体重で単回投与した後、11~13 °C に飼育したサケ腸内に放射能ピークがあることが、全身オートラジオグラフィーにより示された。肝臓、腎臓、皮及び筋肉内の総残留物は、12 時間目ではそれぞれ 304、222、158、及び 124 µg /kg サラフロキサシン当量/kg であったが、7 日目にはそれぞれ 25、82、57 及び 22 µg /kg サラフロキサシン当量/kg に消失したことが、液体シンチレーションカウンターにより示された。腸管内の残留物は定量されなかった。6~8 °C で飼育したサケを用いた、<sup>14</sup>C サラフロキサシン塩酸塩 9.7 mg/kg 体重の単回投与による類似試験では、全身オートラジオグラフィーにより、腸管で最大放射能が示された。肝臓、腎臓、皮及び筋肉内の総残留物は、12 時間目ではそれぞれ 679、192、166 及び 239 µg /kg サラフロキサシン当量/kg であったが、7 日目ではそれぞれ 94、80、18 及び 12 µg /kg サラフロキサシン当量/kg に消失したことが、液体シンチレーションカウンターにより示された。
5. 14~16°C で飼育され、10 mg/kg 体重の放射能標識 <sup>14</sup>C-サラフロキサシン塩酸塩を投与した

サケ及びマスの皮及び筋肉、及び <sup>14</sup>C-サラフロキサシンラクトビオネートを投与したブチナマズの筋肉を用いた試験では、親化合物であるサラフロキサシンが唯一の検出可能な残留物であることが、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析により示された。サケ及びマスを用いた試験において、投与 18 時間後の筋肉+皮における総残留物は 200~1,330 µg /kg サラフロキサシン塩酸塩/kg 組織に相当した。サケ及びマスの皮及び筋肉における標識残留物のうち約 25%は抽出困難であった。この結合残留物の性質は特定されなかった。これらの試験の結果、フロキサシンはマーカー残留物として提案された。MRL は、マーカー残留物が総残留物の 75%に過ぎないことを見越して算出されるべきである。

6. 残留消失データから、15 又は 5 °Cで飼育されたタイセイヨウサケの皮及び筋肉中のサラフロキサシン残留物は、10 mg/kg 体重サラフロキサシン塩酸塩による 5 日間毎日の投与後 75 °C日 (degree days)において、用いられた手法の検出限界 (50 µg/kg)を下回ったことが示された。薬剤投与中止後 83 °C日 (5.5 日間)においては、高温で飼育された個体の筋肉中残留物は検出限界を下回ったが、5°Cで飼育した個体では筋肉中残留物が最高 166 µg /kg 検出された。同じ薬剤投与中止時に、皮における残留物は 15 °C飼育群では 50~54 µg /kg の範囲以下であり、5 °C飼育群では 50 µg /kg 以下であった。マスにおける残留消失データはサラフロキサシン塩酸塩ではなく、サラフロキサシンラクトビオネートを用いて行われたものであった。ラクトビオチネートは塩酸塩より生体利用効率が高いとされているため、残留物はサラフロキサシン塩酸塩による治療から得られたものより高くなることが予想された。筋肉及び皮中の残留物は、60 °C日において検出限界 (この試験においては 6.7 µg /kg)を下回った。
7. サケ及びマスの皮及び筋肉内の残留物の測定に適したフルオロメトリーによる検出による HPLC に基づいた分析法が提示された。サケ及びマス両者における皮+筋肉内のサラフロキサシン定量限界は 10 µg /kg 組織であった。エンロフロキサシン、フルメキン、及びオキシロニック酸による干渉はないことが示された。有効性確認試験における検出限界は、マス組織中は 6.5 µg /kg であり、またサケ組織中は 4 µg /kg であったが、検出限界は欧州共同体における医薬品管理規則の第 6 巻 (Volume VI of the Rules Governing Medicinal Products in the European Community)の要件に則して求められておらず、また完全な詳細の提供もなかった。

## 結論及び提言 (原文 p.2)

以下のことを検討した:

- サラフロキサシンの微生物学的一日許容摂取量(ADI)は、以前0.4 µg/kg(一人当たり24 µg)に設定された。
- マーカー残留物はサラフロキサシンであり、総残留物の75%に相当する。
- サケ科の皮及び筋肉におけるサラフロキサシン残留物を検出するために用意された物理化学的分析手法は、完全には有効性を証明されていない。

委員会は下記の表のサラフロキサシンの理事会規則(EEC)No. 2377/90の附属書IIIへの盛り込みを提案した。

薬理的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
サラフロキサシン	サラフロキサシン	サケ科	30 µg/kg	自然の状態の比率での筋肉及び皮	暫定MRLは1998年7月1日に期限が切れる

これらのMRLの値に基づき、マーカー残留物と総残留物との比率の算出における誤差範囲を考慮に入れた一日当たりの摂取量は、微生物学的ADIの約50%に相当すると考えられる。

### 質問事項(原文 p.3)

1. 申請者は以下の分析法に関する情報を提供すべきである。
  - ・ 欧州共同体における医薬品管理規則の第6巻(Volume VI of the Rules Governing Medicinal Products in the European Community)の要件に則した有効性の立証及び記述された定量限界の完全な詳細。具体的には、単一試料に対する反復分析ではなく個別試料を分析したことを明示し、関連する個々のクロマトグラムも提供されるべきである。
  - ・ 第6巻の要件に則して有効性を立証し、記述された検出限界に関する情報

完成した手法は国際的に認められた形式(例:ISO 78/2)で提示されるべきである。

## サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要（評価書: EMEA 1997）

毒性試験に関する該当データなし

ADI:

微生物学的 ADI=0.4 µg/kg（24 µg/ヒト）、以前決定された値

MRL:

暫定 MRL=30 µg/kg(サケ科)、有効期限は 1998 年 7 月 1 日

鶏の肝臓=100 µg/kg

鶏の皮+脂肪=10 µg/kg

### 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	許容一日摂取量
EEC	European Economic Community	欧州経済共同体
EMEA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products	欧州医薬品審査局
FAO	Food and Agriculture Organization	食糧農業機関
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィ
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
MRL	Maximum Residue Level	最大残留基準値
WHO	World Health Organization	世界保健機関



## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理

EMEA: 1998

ウェブサイト:

[http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Maximum\\_Residue\\_Limits\\_-\\_Report/2009/11/WC500015848.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015848.pdf)

Committee for Veterinary Medicinal Products, Sarafloxacin (salmonidae), Summary Report (2), 1998



## サラフロキサシン 評価書和訳と情報整理 EMEA (1998) 目次

動物用医薬品委員会 (原文 P.1) .....	99
サラフロキサシン(サケ科) (原文 P.1) .....	99
概略報告(2) (原文 P.1) .....	99
結論及び提言(原文 P.2) .....	101
サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 1998) .....	102
略称 .....	102

## 原文 目次

	原文ページ
動物用医薬品委員会 .....	1
サラフロキサシン(サケ科) .....	1
概略報告(2) .....	1
結論及び提言 .....	2
COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS .....	1
SARAFLOXACIN (salmonidae) .....	1
SUMMARY REPORT (2) .....	1
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATION .....	2

## 動物用医薬品委員会 (原文 p.1)

### サラフロキサシン(サケ科) (原文 p.1)

#### 概略報告(2) (原文 p.1)

1. サラフロキサシンは微生物の DNA ジャイレースを阻害することにより働くフルオロキノロン系抗生物質の一つである。サラフロキサシンは細菌性疾患の治療のために家禽の飲料水中において、また節腫症、ビブリオ症及びレッドマウス症などの疾病の治療に用いるために魚用飼料中において使用することが提案されてきた。推奨投与量は 10 mg/kg 魚体重であり、塩酸塩として 5 日間連続して混餌投与される。
2. サラフロキサシンに関して、微生物学的一日摂取許容量(ADI)は 0.4 µg/kg 体重/日 (2.4 µg/ヒト/日)と算出された。4 種類の代謝物候補の抗菌活性は、親化合物サラフロキサシンの活性より低いことが示された。微生物学的 ADI は幼若イヌを用いた 13 週間試験から得られた総 NOEL の値である 10 mg/kg 体重/日に、安全係数として 100 を用いて得られた 100 µg/kg である毒性学的 ADI を十分に下回る。サラフロキサシンの鶏に対する最大残留基準値 (MRL)の値として、肝臓において 100 µg/kg、及び皮+脂肪においては 10 µg/kg が規則 2377/90 の附属書 I に盛り込まれた。マーカー残留物は親化合物であるサラフロキサシンである。サラフロキサシンは現在サケ科に関して、理事会規則(EEC)2377/90 の附属書 III に以下の通りに盛り込まれている。

薬理的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
サラフロキサシン	サラフロキサシン	サケ科	30 µg/kg	自然のままの比率での筋肉及び皮	暫定 MRL は 1998 年 7 月 1 日に期限が切れる

サラフロキサシンを附属書 I へ含めることを支持する、分析手法の有効性の証明に関する追加情報が提供された。

3. タイセイヨウサケを用いた放射能標識サラフロキサシン塩酸塩を 0.7 及び 9.5 mg/kg 体重で用いた混餌投与試験では、薬剤の排泄が速やかであり、主に腎臓中を経路とすることが示された。サラフロキサシン投与後に最大血漿中濃度に到達する時間は、賦形剤及び温度の影響を受け、単回投与においては 6~24 時間の範囲をとり、反復投与においては 103.5 時間であった。

経口投与における生体利用能は投与量の 4~24%の間であった。

4. 放射能標識  $^{14}\text{C}$  サラフロキサシン塩酸塩を 9.5 mg/kg 体重で単回投与した後、11~13 °C に飼育したサケ腸内に放射能ピークがあることが、全身オートラジオグラフィーにより示された。肝臓、腎臓、皮及び筋肉内の総残留物は、12 時間目ではそれぞれ 304、222、158、及び 124  $\mu\text{g}/\text{kg}$  サラフロキサシン当量/kg であったが、7 日目にはそれぞれ 25、82、57 及び 22  $\mu\text{g}/\text{kg}$  サラフロキサシン当量/kg に消失したことが、液体シンチレーションカウンターにより示された。腸管内の残留物は定量されなかった。6~8 °C で飼育したサケを用いた、 $^{14}\text{C}$  サラフロキサシン塩酸塩 9.7 mg/kg 体重の単回投与による類似試験では、全身オートラジオグラフィーにより、腸管で最大放射能が示された。肝臓、腎臓、皮及び筋肉内の総残留物は、12 時間目ではそれぞれ 679、192、166 及び 239  $\mu\text{g}/\text{kg}$  サラフロキサシン当量/kg であったが、7 日目ではそれぞれ 94、80、18 及び 12  $\mu\text{g}/\text{kg}$  サラフロキサシン当量/kg に消失したことが、液体シンチレーションカウンターにより示された。
5. 14~16°C で飼育され、10 mg/kg 体重の放射能標識  $^{14}\text{C}$ -サラフロキサシン塩酸塩を投与したサケ及びマスの皮及び筋肉、及び  $^{14}\text{C}$ -サラフロキサシンラクトビオネートを投与したブチナマズの筋肉を用いた試験では、親化合物であるサラフロキサシンが唯一の検出可能な残留物であることが、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 分析により示された。サケ及びマスを用いた試験において、投与 18 時間後の筋肉+皮における総残留物は 200~1,330  $\mu\text{g}/\text{kg}$  サラフロキサシン塩酸塩/kg 組織に相当した。サケ及びマスの皮及び筋肉における標識残留物のうち約 25% は抽出困難であった。この結合残留物の性質は特定されなかった。これらの試験の結果、フロキサシンはマーカー残留物として提案された。MRL は、マーカー残留物が総残留物の 75% に過ぎないことを見越して算出されるべきである。
6. 残留消失データから、15 °C 又は 5 °C で飼育されたタイセイヨウサケの皮及び筋肉中のサラフロキサシン残留物は、10 mg/kg 体重サラフロキサシン塩酸塩による 5 日間毎日の投与後 75 °C 日 (degree days) において、用いられた手法の検出限界 (50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) を下回ったことが示された。薬剤投与中止後 83 °C 日 (5.5 日間) においては、高温で飼育された個体の筋肉中残留物は検出限界を下回ったが、5°C で飼育した個体では筋肉中残留物が最高 166  $\mu\text{g}/\text{kg}$  検出された。同じ薬剤投与中止時に、皮における残留物は 15 °C 飼育群では 50~54  $\mu\text{g}/\text{kg}$  の範囲以下であり、5 °C 飼育群では 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$  以下であった。マスにおける残留消失データはサラフロキサシン塩酸塩ではなく、サラフロキサシンラクトビオネートを用いて行われたものであった。ラクトビオチネートは塩酸塩より生体利用効率が高いとされているため、残留物はサラフロキサシン塩酸塩による治療から得られたものより高くなることが予想された。筋肉及び皮中の残留物は、60 °C 日において検出限界 (この試験においては 6.7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) を下回った。

7. サケ及びマスの皮及び筋肉内の残留物の測定に適した、有効性が証明されたフルオロメトリーによる検出による HPLC に基づいた分析法が、ISO 78/2 の形式で提示された。サケ及びマス両者における皮＋筋肉内のサラフロキサシン定量限界は 10 µg /kg 組織であった。内部標準としてエンロフロキサシンが使用された。フルメキン及びオキシリニック酸による干渉がないことが示された。

## 結論及び提言(原文 p.2)

以下の項目を検討してきた：

- サラフロキサシンの微生物学的 ADI は以前 0.4 µg/kg (一人当たり 24 µg) に設定された
- マーカー残留物はサラフロキサシンであり、総残留物の 75% である
- ISO 78/2 形式で記述された有効性が証明された分析法は、サケ科の皮及び筋肉中のサラフロキサシン残留物検出のために利用可能である

委員会は下記の表のサラフロキサシンの理事会規則 (EEC) No. 2377/90 の附属書 I への盛り込みを提案した。

薬理的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
サラフロキサシン	サラフロキサシン	サケ科	30 µg/kg	自然の状態の比率での筋肉及び皮	

これらの MRL に基づき、一日当たりの消費者摂取量は微生物学的 ADI の約 50% に相当すると考えられる。

## サラフロキサシンの毒性試験と結果の概要（評価書: EMEA 1998）

毒性試験に関する該当データなし

### ADI:

微生物学的 ADI=0.4 µg/kg (24 µg/ヒト)

毒性学的 ADI=100 µg/kg、幼若イヌを用いた 13 週間試験から得た総 NOEL の値 10 µg/kg と安全係数に 100 を用いて算出

### MRL:

MRL=30 µg/kg (サケ科)

鶏の肝臓=100 µg/kg

鶏の皮+脂肪=10 µg/kg

## 略称

略称	正式名称(英語)	日本語訳
ADI	Acceptable Daily Intake	許容一日摂取量
EEC	European Economic Community	欧州経済共同体
EMEA	European Agency for the Evaluation of Medicinal Products	欧州医薬品審査局
FAO	Food and Agriculture Organization	食糧農業機関
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィ
ISO	International Organization for Standardization	国際標準化機構
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
MRL	Maximum Residue Level	最大残留基準値
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
WHO	World Health Organization	世界保健機関



