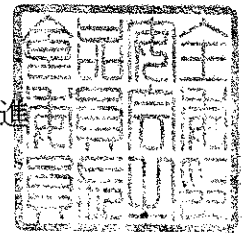




府食第175号
平成25年3月4日

厚生労働大臣
田村 憲久 殿

食品安全委員会
委員長 熊谷 進



食品健康影響評価の結果の通知について

平成21年3月10日付け厚生労働省発食安第0310002号をもって貴省から当委員会に意見を求められたダノフロキサシンに係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

記

ダノフロキサシンの一日摂取許容量を 0.018 mg/kg 体重/日とする。

別添

動物用医薬品評価書

ダノフロキサシン

2013年3月

食品安全委員会

目 次

	頁
○ 審議の経緯	3
○ 食品安全委員会委員名簿	3
○ 食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿	4
○ 要 約	5
 I. 評価対象動物用医薬品の概要	6
1. 用途	6
2. 有効成分の一般名	6
3. 化学名	6
4. 分子式	6
5. 分子量	6
6. 構造式	6
7. 使用目的及び使用状況等	6
 II. 安全性に係る知見の概要	7
1. 薬物動態試験	7
(1) 薬物動態試験（鶏、豚及び牛）	7
(2) 代謝試験（ラット、イヌ、鶏、豚及び牛）	14
2. 残留試験	16
(1) 残留試験（鶏）	16
(2) 残留試験（豚）	18
(3) 残留試験（牛）	22
(4) 残留試験（牛・乳汁）	25
3. 遺伝毒性試験	27
4. 急性毒性試験（マウス及びラット）	29
5. 亜急性毒性試験	30
(1) 亜急性毒性試験（ラット）	30
(2) 亜急性毒性試験（イヌ）	32
6. 慢性毒性及び発がん性試験	33
(1) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）	33
(2) 2年間慢性毒性/発がん性併合試験（ラット）	34
7. 生殖発生毒性試験	36
(1) 2世代生殖毒性試験（ラット）	36
(2) 3世代生殖毒性試験①（ラット）	36
(3) 3世代生殖毒性試験②（ラット）	36
(4) 3世代生殖毒性試験（ラット、脱メチル化体）	37
(5) 発生毒性試験（マウス）	37

(6) 発生毒性試験 (ラット)	37
(7) 発生毒性試験 (ウサギ)	38
8. 光毒性について	38
9. 微生物学的影響に関する試験	39
(1) ヒト由来臨床分離菌に対する MIC①	39
(2) ヒト由来臨床分離菌に対する MIC②	40
10. 一般薬理試験	40
11. その他	41
(1) 皮膚刺激性試験 (モルモット)	41
(2) 皮膚刺激性試験 (ウサギ)	41
(3) 眼刺激性試験 (ウサギ)	41
12. ヒトにおける知見	41
Ⅲ. 食品健康影響評価	41
1. JECFA における評価	41
2. EMEA における評価	42
3. 毒性学的 ADI について	43
4. 微生物学的 ADI について	43
5. ADI の設定について	44
・ JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較	45
・ 別紙 検査値等略称	48
・ 参照	49

〈審議の経緯〉

2003 年 7 月 1 日 厚生労働大臣から残留基準改正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 0701022 号）

2003 年 7 月 3 日 関係資料の接受

2003 年 7 月 9 日 第 2 回食品安全委員会（審議）

2003 年 7 月 18 日 第 3 回食品安全委員会（要請事項説明、審議）

2003 年 7 月 24 日 第 4 回食品安全委員会（審議）
（同日付厚生労働大臣へ通知、府食第 30 号）

2003 年 11 月 26 日 残留基準告示（平成 16 年 6 月 1 日施行）

2005 年 11 月 29 日 暫定基準告示（参照 1）

2009 年 3 月 10 日 厚生労働大臣から残留基準設定に係る食品健康影響評価について
要請（厚生労働省発食安第 0310002 号）、関係資料の接受
（食品安全基本法第 24 第 2 項:暫定基準の見直しに係る評価要請）

2009 年 3 月 12 日 第 277 回食品安全委員会（要請事項説明）

2012 年 7 月 31 日 第 57 回肥料・飼料等専門調査会

2013 年 1 月 21 日 第 460 回食品安全委員会（報告）

2013 年 1 月 22 日 から 2 月 20 日まで 国民からの御意見・情報の募集

2013 年 2 月 27 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

2013 年 3 月 4 日 第 465 回食品安全委員会（報告）
同日付で食品安全委員会委員長から厚生労働大臣に通知

〈食品安全委員会委員名簿〉

(2006 年 12 月 20 日まで)	(2009 年 6 月 30 日まで)	(2011 年 1 月 6 日まで)
寺田 雅昭（委員長）	見上 彪（委員長）	小泉 直子（委員長）
見上 彪（委員長代理）	小泉 直子（委員長代理*）	見上 彪（委員長代理*）
小泉 直子	長尾 拓	長尾 拓
長尾 拓	野村 一正	野村 一正
野村 一正	畑江 敬子	畑江 敬子
畑江 敬子	廣瀬 雅雄**	廣瀬 雅雄
本間 清一	本間 清一	村田 容常

* : 2007 年 2 月 1 日から

* : 2009 年 7 月 9 日から

** : 2007 年 4 月 1 日から

(2012 年 6 月 30 日まで)

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

(2012 年 7 月 1 日から)

熊谷 進 (委員長)
佐藤 洋 (委員長代理)
山添 康 (委員長代理)
三森 国敏 (委員長代理)
上安平 冽子
石井 克枝
村田 容常

* : 2011 年 1 月 13 日から

〈食品安全委員会肥料・飼料等専門調査会専門委員名簿〉

(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 舘田 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

第三世代のフルオロキノロン系合成抗菌剤であるダノフロキサシン（CAS No. 112398-08-0）について、JECFA 及び EMEA の評価書、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、鶏、豚及び牛）、残留試験（鶏、豚及び牛）、遺伝毒性試験、急性毒性試験（マウス及びラット）、亜急性毒性試験（ラット及びイヌ）、慢性毒性及び発がん性試験（マウス及びラット）、生殖発生毒性試験（マウス、ラット及びウサギ）、微生物学的影響に関する試験等の成績である。

ダノフロキサシンは、各種遺伝毒性試験において、一部の *in vitro* 試験で陽性であったが、*in vivo* 試験では全て陰性であったことから、生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと考えた。また、マウス及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験において、発がん性が認められていないことから、ダノフロキサシンは遺伝毒性発がん物質ではなく、一日摂取許容量（ADI）を設定することが可能であると考えた。

各種毒性試験で得られたダノフロキサシンの最小の無毒性量（NOAEL）は、イヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験から得られた 2.4 mg/kg 体重/日であった。

この NOAEL に安全係数 100（種差 10 及び個体差 10）を適用して 0.024 mg/kg 体重/日を毒性学的 ADI として設定することが適切であると考えた。

ダノフロキサシンの代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体の最小の NOAEL は 0.25 mg/kg 体重/日で、ダノフロキサシンより低い値であったが、薬物動態試験及び代謝試験の結果から、ダノフロキサシンの経口投与を受けた場合、その主な代謝物である脱メチル化体にも同時に暴露されており、脱メチル化体について別に ADI を設定する必要はないものと考えた。

一方、微生物学的 ADI については、*in vitro* 試験の MIC データにおけるヒト腸内嫌気性菌の最小の MIC₅₀ から、0.018 mg/kg 体重/日と算出された。

微生物学的 ADI は、毒性学的 ADI よりも小さいため、ダノフロキサシンの ADI を 0.018 mg/kg 体重/日と設定した。

I. 評価対象動物用医薬品の概要

1. 用途

抗菌剤

2. 有効成分の一般名

和名：ダノフロキサシン

英名：Danofloxacin

3. 化学名

CAS No.112398-08-0

英名：1-Cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-7-[(1*S*,4*S*)-5-methyl-2,5-diazabicyclo[2.2.1]hept-2-yl]-4-oxo-3-quinolinecarboxylic acid

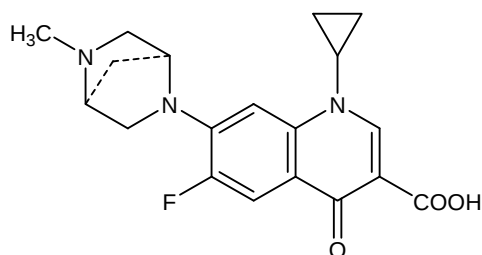
4. 分子式

C₁₉H₂₀FN₃O₃

5. 分子量

357.38

6. 構造式



(参照 2)

7. 使用目的及び使用状況等

ダノフロキサシンは第三世代のフルオロキノロン系の合成抗菌剤であり、立体特異的に合成された S 体である。(参照 3) ダノフロキサシンは、細菌の DNA ジャイレース¹を阻害することにより作用する。しかし、該当するほ乳動物の酵素を著しく阻害するものではない。(参照 4)

ダノフロキサシンは、海外で動物用医薬品としてメシル酸塩が、牛、豚及び鶏の呼吸器病の治療に使用されている。

¹ トポイソメラーゼとも呼ばれ、DNA のトポグラフィの維持に関与する。

日本では、動物用医薬品として、メシル酸ダノフロキサシンを有効成分とする牛の細菌及びマイコプラズマ性肺炎並びに豚の細菌性肺炎を適応症とした筋肉内投与の注射剤が承認されている。

ダノフロキサシンについては、2003年に薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品部会残留動物用医薬品調査会で審議され、ADIとして18 µg/kg 体重/日が設定されている。さらに、2005年にポジティブリスト制度導入に伴う残留基準値²が設定されている。

II. 安全性に係る知見の概要

本評価書では、JECFA 及び EMEA の評価書、動物用医薬品承認申請時資料等を基に、ダノフロキサシンの毒性に関する主な知見を整理した。

検査値等略称は別紙に記載した。

1. 薬物動態試験

(1) 薬物動態試験（鶏、豚及び牛）

① 鶏

a. 吸収及び分布試験（飲水投与）

鶏（肉用鶏、18日齢、雄10羽/時点）を用いたメシル酸ダノフロキサシンの3日間飲水投与（ダノフロキサシンとして5 mg/kg 体重/日）試験が実施された。投与前、投与開始12、18、24、36、48、60及び72時間後並びに最終投与6、12及び18時間後に、血漿及び肺組織中ダノフロキサシン濃度をHPLC（蛍光検出）により測定した。

結果を表1に示した。

表1 鶏におけるダノフロキサシン3日間飲水投与後の血漿及び肺組織中濃度

試料採取時点 (h)		血漿中濃度 (mg/L)	肺組織中濃度 (mg/kg)
投与前		0	0
投与開始後	12	0.20±0.05	0.45±0.06
	18	0.21±0.04 *	0.47±0.06
	24	0.24±0.04 *	0.47±0.06
	36	0.15±0.03 *	0.47±0.09
	48	0.24±0.10 *	0.39±0.12
	60	0.22±0.05	0.39±0.08
	72	0.21±0.05	0.40±0.07
最終投与後	6	0.12±0.02*	0.13±0.03
	12	<0.05	0.05±0.12
	18	<0.05	<0.05

n=10、ただし*のみn=9

検出限界：0.05 mg/L 又は mg/kg

² 平成17年 厚生労働省告示第499号によって定められた残留基準値

血漿中のダノフロキサシンの濃度は、投与開始 12 時間後には定常状態³ (C_{ss} : 0.21 ± 0.03 mg/L) に達し、投与期間中はほぼ一定の濃度 ($0.15 \sim 0.24$ mg/L) を示した。最終投与後には血漿中濃度は漸減し、最終投与 12 時間後には検出限界 (0.05 mg/L) 未満となった。これらの結果から、血漿 $T_{1/2}$ は約 7.4 時間と算出された。また、ダノフロキサシンの代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体 (以下「脱メチル化体」という。) の血漿中濃度は、いずれの時点においても検出限界未満であった。

肺組織中濃度も投与開始 12 時間後には定常状態 (C_{ss} : 0.43 ± 0.07 mg/kg) に達し、投与期間中はほぼ一定の濃度 ($0.39 \sim 0.47$ mg/kg) を示した。最終投与後の $T_{1/2}$ は約 5.8 時間で、最終投与 18 時間後には検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。肺組織中 C_{ss} は血漿中 C_{ss} の約 2 倍であった。(参照 5)

b. 分布及び代謝試験 (飲水投与)

鶏 (肉用鶏、22 日齢、雌雄各 12 羽) を用いた ³H 標識ダノフロキサシン⁴ の 5 日間飲水投与 (5 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 6、12、24 及び 48 時間後の可食部組織中放射活性 (ダノフロキサシン濃度に換算) を測定した。

組織中濃度を表 2 に示した。

表 2 鶏における ³H 標識ダノフロキサシン 5 日間飲水投与後の組織中濃度^a
(mg eq/kg)

試料	最終投与後時間 (h)			
	6	12	24	48
肝臓	0.612 ± 0.134	0.298 ± 0.086	0.103 ± 0.023	0.056 ± 0.025
腎臓	0.406 ± 0.138	0.134 ± 0.034	0.051 ± 0.013	0.020 ± 0.004
筋肉	0.099 ± 0.037	0.033 ± 0.010	0.011 ± 0.002	0.003 ± 0.001
皮膚 (脂肪付)	0.054 ± 0.018	0.046 ± 0.020	0.029 ± 0.010	0.011 ± 0.001

a : ダノフロキサシン濃度に換算
n=6 (最終投与 48 時間後のみ 1 羽斃死により n=5)

最終投与 6 時間後の肝臓、腎臓、筋肉及び皮膚 (皮下脂肪付) 中濃度は、それぞれ 0.612 、 0.406 、 0.099 及び 0.054 mg eq/kg であった。以降経時的に減衰し、最終投与 48 時間後にはそれぞれ 0.056 、 0.020 、 0.003 及び 0.011 mg eq/kg であった。

可食部組織中最も高い放射活性のみられた肝臓について、最終投与 6 時間後の放射活性構成比を調べた結果、約 76 % が未変化体であり、他に代謝物として脱メチル化体が約 14 % 検出された。(参照 5)

³ 投与開始 12～72 時間後の平均値を用いて、この平均値及び標準偏差を算出した。

⁴ シクロプロパンの第 1 位の水素を ³H 標識した。

c. 排泄試験（飲水投与）

鶏（肉用鶏、22 日齢、雌雄各 12 羽）を用いた ^3H 標識されたダノフロキサシンメシル酸塩⁵（以下「 ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシン」という。）の 5 日間飲水投与（ダノフロキサシンとして 5 mg/kg 体重/日）試験が実施された。排泄物を投与開始から最終投与 48 時間後まで 24 時間毎に採取し、排泄物中の放射活性（ダノフロキサシン濃度に換算）を測定した。

排泄物中の放射活性及び排泄率を表 3 に示した。

表 3 鶏における ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシン 5 日間飲水投与後の排泄物中の放射活性及び排泄率

採取時点 (h)		雄		雌	
		放射活性濃度 ^a (mg/kg)	放射活性 排泄率 ^b (%)	放射活性濃度 ^a (mg/kg)	放射活性 排泄率 ^b (%)
投与開始後	0～24	40.3	54.1	34.3	52.7
	24～48	32.1	58.7	37.9	84.8
	48～72	33.4	64.3	59.5	124.0
	72～96	40.9	71.1	39.9	83.5
	96～120	46.5	64.8	38.7	64.1
最終投与後	0～24	19.2	—	21.0	—
	24～48	7.3	—	5.8	—

a : 24 時間毎の排泄物中の放射活性濃度（ダノフロキサシン濃度に換算）

b : 1 日当たりの平均投与放射活性に対する放射活性排泄率

n=12

放射活性は、雄では投与期間中は 32.1～46.5 mg/kg で推移し、最終投与後 0～24 時間及び最終投与後 24～48 時間ではそれぞれ 19.2 及び 7.3 mg/kg に低下した。雌においても雄と同様に推移した。

投与期間中の 24 時間毎の放射活性の排泄率を 5 日間の 1 日当たりの平均投与量を用いて算出した（表 3）。投与開始後 1（0～24 時間）及び 2 日（24～48 時間）では、排泄率は漸増する傾向を示し、投与開始 3 日後以降の 1 日当たりの平均排泄率は、雄では 66.7 % 及び雌では 90.5 % であった。（参照 5）

② 豚

a. 吸収試験（静脈内・筋肉内・経口投与）

豚を用いたダノフロキサシンの薬物動態試験では、単回静脈内、筋肉内及び経口投与（5 mg/kg 体重）のいずれの投与経路でもダノフロキサシンは血漿中から速やかに検出

⁵ ダノフロキサシンメシル酸塩のシクロプロパンの第 1 位の水素を ^3H 標識した。

された。経口投与では、血漿中濃度は投与 3 時間後に $C_{\max}$ (0.42 mg/L) に達した。生物学的利用率は、経口投与では 89 % と推定された。(参照 3)

b. 吸収試験（筋肉内投与、筋肉内投与と静脈内投与のクロスオーバー試験）

豚におけるいくつかの薬物動態試験が 2.5 %ダノフロキサシン製剤を用いて実施された。

ダノフロキサシンの 3 日間筋肉内投与 (1.25 mg/kg 体重/日) 後、平均血漿中濃度は、初回及び第 3 回投与 0.6±0.4 時間後に $C_{\max}$ (0.6±0.5 mg/L) に達した。初回及び第 3 回投与の薬物動態パラメータに統計学的差はみられなかった。豚を用いたダノフロキサシンの筋肉内投与又は静脈内投与 (1.25 mg/kg 体重) のクロスオーバー試験では、 AUC_{0-8} の比較から筋肉内投与における生物学的利用率はほぼ 100 % であることが示唆された。(参照 6)

c. 吸収及び分布試験（筋肉内投与）

豚 (6 頭/時点) を用いたメシル酸ダノフロキサシン製剤の単回筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 1.25 mg/kg 体重) 試験が実施された。投与 1、2、4、8、12 及び 24 時間後の、血漿及び肺組織中ダノフロキサシン濃度を HPLC (蛍光検出) により測定した。

血漿及び肺組織中濃度を表 4 に、薬物動態パラメータを表 5 に示した。

表 4 豚におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤単回筋肉内投与後の血漿及び肺組織中濃度

投与後時間 (h)	血漿中濃度 (mg/L)	肺組織中濃度 (mg/kg)
1	0.40±0.10	1.68±0.30
2	0.38±0.08	1.54±0.09
4	0.36±0.07	1.18±0.24
8	0.21±0.03	0.75±0.15
12	0.13±0.02	0.41±0.02
24	~0.06 ^a	0.11±0.01

a : 6 例中 4 例は、0.05、0.05、0.06 及び 0.06 µg/mL、2 例は<0.05 µg/mL

n=6 検出限界 : 0.05 mg/L 又は mg/kg

表 5 豚におけるメシル酸ダノフロキサシン単回筋肉内投与後の薬物動態パラメータ⁶

試料	AUC (mg・h/L 又は mg・h/kg)		T _{1/2} (h)	kel (h ⁻¹)
	0~t	0~∞		
血漿	3.2	4.6	7.0	0.10
肺組織	14.5	14.7	5.7	0.12

血漿中濃度は、投与 1 時間後には 0.40 mg/L で、それ以降減少し、投与 24 時間後には検出限界 (0.05 mg/L) 未満となった。血漿 T_{1/2} は 7 時間で、血漿 AUC_{0~∞} は 4.6 mg・h/L であった。

肺組織中濃度は、投与 1 時間後には 1.68 mg/kg で、それ以降減少し、投与 24 時間後には 0.11 mg/kg となった。肺組織 T_{1/2} は 5.7 時間で、肺組織 AUC_{0~∞} は 14.7 mg・h/kg で血漿の 3.2 倍であった。(参照 5)

d. 分布及び排泄試験 (筋肉内投与)

豚 (3 頭/時点) を用いた ³H 標識メシル酸ダノフロキサシン (塩基として 2.5 %水溶液) の 5 日間筋肉内投与 (1.25 mg/kg 体重/日) 試験が実施され、最終投与 12、24、48 及び 168 時間後に血漿及び組織中放射活性 (ダノフロキサシン濃度に換算) を測定した。また、投与開始 3、4 及び 5 日並びに最終投与後 24~48 時間及び 48~72 時間の糞及び尿中の放射活性を測定した。

血漿及び組織中濃度を表 6 に、糞及び尿中排泄率を表 7 に示した。

表 6 豚における ³H 標識メシル酸ダノフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の血漿及び組織中濃度^a (mg eq/L 又は mg eq/kg)

試料	最終投与後時間 (h)			
	12	24	48	168
血漿	0.084±0.006	0.039±0.003	0.018±0.004	<0.015
肝臓	0.987±0.031	0.617±0.184	0.408±0.073	0.178±0.142
腎臓	0.883±0.093	0.333±0.078	0.107±0.037	0.005±0.001
筋肉	0.339±0.024	0.118±0.007	0.036±0.011	<0.002
脂肪	0.073±0.045	0.041±0.033	0.017±0.008	<0.004

a: ダノフロキサシン濃度に換算 n=3

⁶ 血漿中又は肺組織中濃度の測定開始 2 時間後から、検出可能な最小濃度 (C_p) に到達する時点 (t) まで、時間・対数濃度最小二乗法により外挿し、消失速度常数 (kel) を求めた。T_{1/2} は 0.693/kel により算出した。AUC_{0~∞} は、測定開始時点から t までの AUC_{0~t} 値を台形法により算出し、C_p/kel により t から無限までの AUC_{t~∞} を求め、それぞれの値を合計した (AUC_{0~∞} = AUC_{0~t} + AUC_{t~∞})。

最終投与 12 時間後の血漿中放射活性は 0.084 mg eq/L で、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中濃度は、それぞれ 0.987、0.883、0.339 及び 0.073 mg eq/kg であった。以降経時的に減小し、最終投与 48 時間後には血漿中濃度は 0.018 mg eq/L となり、組織中濃度は肝臓で最も高かった (0.408 mg eq/kg)。最終投与 168 時間後には、肝臓 (0.178 mg eq/kg) 及び腎臓 (0.005 mg eq/kg) を除き、血漿その他の組織中濃度は、それぞれ検出限界 (血漿 : 0.015 mg eq/L、筋肉 : 0.002 mg eq/kg、脂肪 : 0.004 mg eq/kg) 未満となった。最終投与 12 時間後の胆汁中濃度は 1.7 mg/kg で、最終投与 48 時間後には 0.21 mg/kg に減少した。

表 7 豚における ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の糞及び尿中排泄率

試料採取日/時間		1 日投与量に対する排泄率 (%)		
		糞	尿	糞+尿
投与開始	3 日	21±4	60±8	81
	4 日	24±7	53±15	77
	5 日	17±5	58±13	75
最終投与後	24~48h	20±3	10±2	30
	48~72h	6±3	3±0.6	9

n=3

また、投与開始 3、4 及び 5 日後の 1 日当たりの放射活性の排泄率は、1 日投与量の 75~81 % (糞 : 17~24 %、尿 : 53~60 %) であった。最終投与後 48~72 時間の排泄率は 9 % (糞 : 6 %、尿 : 3 %) に低下した。(参照 3、5)

③ 牛

a. 吸収試験 (静脈内・皮下・筋肉内投与のクロスオーバー試験)

子牛 (雌雄、12 頭) を用いた 2.5 %ダノフロキサシン製剤の単回静脈内投与、5 回反復皮下投与及び 5 回反復筋肉内投与 (1.25 mg/kg 体重/日) のクロスオーバー試験による薬物動態試験が実施された。

吸収は速やかで、血漿中濃度は単回皮下及び筋肉内投与約 1 時間後に $C_{\max}$ (それぞれ 0.37 及び 0.47 mg/L) に達し、生物学的利用率はほぼ 100 %であった。AUC の値から、筋肉内及び皮下投与後のレベルは、単回、3 回及び 5 回投与後において生物学的に同等であると考えられた。(参照 3)

b. 吸収及び分布試験 (筋肉内投与)

牛 (6 頭/時点) を用いたメシル酸ダノフロキサシン製剤の単回筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 1.25 mg/kg 体重) 試験が実施された。投与 1、2、4、8、12 及び 24 時間後に、血漿及び肺組織中ダノフロキサシン濃度を HPLC (蛍光検出) により測定した。

血漿及び肺組織中濃度を表 8 に、薬物動態パラメータを表 9 に示した。

血漿中濃度は、投与 1 時間後には 0.35 mg/L で、それ以降減少し、投与 12 時間後には検出限界 (0.05 mg/L) 未満となった。血漿 $T_{1/2}$ は 3.4 時間で、血漿 $AUC_{0-\infty}$ は 2.0 mg · h/L であった。

肺組織中濃度は、投与 1 時間後には 1.44 mg/kg で、それ以降減少し、投与 24 時間後には検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。肺組織 $T_{1/2}$ は 4.4 時間で、肺組織 $AUC_{0-\infty}$ は 7.4 mg · h/kg で血漿の 3.7 倍であった。(参照 5)

表 8 牛におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤単回筋肉内投与後の血漿及び肺組織中濃度

投与後時間 (h)	血漿中濃度 (mg/L)	肺組織中濃度 (mg/kg)
1	0.35±0.04	1.44±0.34
2	0.31±0.05	0.95±0.08
4	0.20±0.03	0.65±0.10
8	0.08±0.02	0.29±0.03
12	~0.07 ^a	0.13±0.04
24	<0.05	<0.05

a : 6 例中 1 例は 0.07 mg/L、5 例は<0.05 mg/L

n=6 検出限界 : 0.05 mg/L 又は mg/kg

表 9 牛におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤単回筋肉内投与後薬物動態パラメータ

試料	AUC (mg · h/L 又は mg · h/kg)		$T_{1/2}$ (h)	kel (h ⁻¹)
	0~t	0~∞		
血漿	1.6	2.0	3.4	0.21
肺組織	6.2	7.4	4.4	0.16

c. 分布及び排泄試験 (筋肉内投与)

牛 (3 頭/時点) を用いた ³H 標識メシル酸ダノフロキサシン (塩基として 2.5 %水溶液) の 5 日間筋肉内投与 (1.25 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。最終投与 12、24 及び 36 時間後の血漿及び組織中放射活性を測定し、ダノフロキサシン濃度として示した。また、投与開始 3、4、5 日及び最終投与後 24~36 時間の糞及び尿中の放射活性を測定した。

血漿及び組織中濃度を表 10 に、糞及び尿中放射活性排泄率を表 11 に示した。

最終投与 12 時間後の血漿中濃度は 0.05 mg eq/L で、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中濃度は、それぞれ 0.892、0.467、0.113 及び 0.012 mg eq/kg であった。それ以降速やかに減少し、最終投与 36 時間後には最も濃度の高い肝臓で 0.218 mg eq/kg となり、血漿中濃度は検出限界 (0.015 mg eq/L) 未満となった。

また、投与開始 3、4 及び 5 日の 1 日当たりの放射活性の排泄率は、1 日投与量の 79~86 % (糞 : 41~42 %、尿 : 37~45 %) であった。最終投与後 24~36 時間の 1 日当たりの放射活性の排泄率は 7 % (糞 : 5 %、尿 : 2 %) に低下した。(参照 5)

表 10 牛における ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の血漿及び組織中濃度 (mg eq/L 又は mg eq/kg)

試料	最終投与後時間 (h)		
	12	24	36
血漿	0.050 ± 0.013	0.020 ± 0.006	<0.015
肝臓	0.892 ± 0.211	0.499 ± 0.127	0.218 ± 0.060
腎臓	0.467 ± 0.077	0.226 ± 0.184	0.057 ± 0.008
筋肉	0.113 ± 0.014	0.034 ± 0.019	0.012 ± 0.002
脂肪	0.012 ± 0.001	0.012 ± 0.011	0.007 ± 0.004

n=3

表 11 牛における ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシン 5 日間筋肉内投与後の糞及び尿中における放射活性排泄率

試料採取日/時間		1 日投与量に対する排泄率 (%)		
		糞	尿	糞+尿
投与開始	3 日	41 ± 11	38 ± 9	79
	4 日	42 ± 22	37 ± 9	79
	5 日	41 ± 21	45 ± 20	86
最終投与後	24~36h	5 ± 0.6	2 ± 1	7

n=3

d. 排泄試験（筋肉内投与）

子牛（去勢雄 5 頭及び雌 4 頭）を用いた ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシン（2.5 %水溶液）の 5 日間筋肉内投与（1.25 mg/kg 体重）による薬物動態試験が実施され、排泄パターンについて検討された。

排泄物中のダノフロキサシン関連物質合計濃度は、投与開始 3 日後までに定常状態に達した。尿及び糞中にはほぼ同量が排泄された。未変化体は、糞中排泄物の約 48 %、尿中排泄物の約 89 %を占めた。脱メチル化体は、尿中排泄物の 12 %であったが、糞中排泄物では微量のため測定できなかった。（参照 3）

（2）代謝試験（ラット、イヌ、鶏、豚及び牛）

実験動物（ラット及びイヌ）及び対象動物（鶏、豚及び牛）におけるダノフロキサシンの代謝が検討された。 ^3H 標識ダノフロキサシンをラット及びイヌでは 5 日間経口投与（それぞれ 6.25 及び 2.4 mg/kg 体重/日）し、鶏では 5 日間飲水投与（5 mg/kg 体重/日）し、豚及び牛では 5 日間筋肉内投与（いずれも 1.25 mg/kg 体重/日）した。それぞれの動物について糞及び尿の放射活性をラジオ HPLC により測定した。また、ラットでは最終投与 3 時間後、豚及び牛では最終投与 12 時間後の肝臓中放射活性をラジオ HPLC により測定した。

各動物種における排泄物及び肝臓中代謝物を表 12 に示した。（参照 5）

表 12 各動物種における排泄物及び肝臓中代謝物

動物種	投与量 (mg/kg 体重/日) 投与方法	排泄物 (構成比 %)		肝臓 (構成比 %)
		尿	糞	
ラット	6.25 5 日間経口投与	・未変化体 (86) ・脱メチル化体 (6) ・ダノフロキサシン -N-オキシド (5) ・ダノフロキサシン- β-グルクロニド (2)	・未変化体 (85) ・脱メチル化体 (4)	・未変化体 (69) ・脱メチル化体 (15)
イヌ ^a	2.4 5 日間経口投与	・未変化体 (51) ・脱メチル化体 (11) ・ダノフロキサシン -N-オキシド (26) ・ダノフロキサシン- β-グルクロニド (痕跡程度)	・未変化体 (74) ・脱メチル化体 (8)	
鶏	5 5 日間飲水投与	・未変化体 (雄 : 75、雌 : 74) ・脱メチル化体 (雄 : 5、雌 : 7)		
豚	1.25 5 日間筋肉内投与	・未変化体 (79) ・脱メチル化体 (3) ・ダノフロキサシン -N-オキシド (12) ・ダノフロキサシン- β-グルクロニド (3)	・未変化体 (77) ・脱メチル化体 (6)	・未変化体 (63) ・脱メチル化体 (26)
牛	1.25 5 日間筋肉内投与	・未変化体 (74) ・脱メチル化体 (10) ・ダノフロキサシン -N-オキシド (2) ・ダノフロキサシン- β-グルクロニド (2)	・未変化体 (66) ・脱メチル化体 (6)	・未変化体 (27) ・脱メチル化体 (43)

a : 雄の値

2. 残留試験

(1) 残留試験 (鶏)

① 3日間飲水投与試験 a

鶏（肉用鶏、5週齢、雌6羽/時点）にメシル酸ダノフロキサシン製剤を3日間飲水投与（ダノフロキサシンとして0、5(常用量)又は25(5倍量)mg/kg体重/日）し、血清及び組織中におけるダノフロキサシン及びその代謝物である脱メチル化体の残留についてHPLCにより測定した。

血清及び組織中の平均ダノフロキサシン濃度及び平均脱メチル化体濃度を表13及び14に示した。

ダノフロキサシンは、常用量投与群では最終投与48時間後に、5倍量投与群では最終投与96時間後に全例が検出限界（0.05 mg/kg）未満となった。

脱メチル化体は、常用量投与群では最終投与12時間後の肝臓のみで検出され、最終投与24時間後には全例が検出限界未満となった。5倍量投与群では、最終投与12時間後の肝臓、腎臓及び小腸並びに最終投与24時間後の肝臓から検出されたが、最終投与48時間後には全例が検出限界未満となった。（参照5）

表13 鶏におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤3日間飲水投与後の血清及び組織中の平均ダノフロキサシン濃度（mg/kg）

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後時間 (h)					
		12	24	48	72	96	120
5 (常用量)	血清	<0.05	<0.05				*
	皮膚	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05			
	筋肉	<0.05~0.07 ^a	<0.05	<0.05			
	肝臓	0.37	0.09	<0.05	<0.05		
	腎臓	0.30	0.07	<0.05	<0.05		
	脂肪	<0.05	<0.05				
	筋胃	0.14	<0.05	<0.05			
	小腸	<0.05~0.09 ^a	<0.05	<0.05			
25 (5倍量)	血清	0.16	<0.05	<0.05			
	皮膚	0.36	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05		
	筋肉	0.78	<0.05~0.05 ^a	<0.05	<0.05		
	肝臓	3.9	0.27	0.08	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05
	腎臓	2.5	0.24	0.07	<0.05~0.05 ^a	<0.05	<0.05
	脂肪	0.09	<0.05	<0.05			
	筋胃	0.65	0.08	<0.05	<0.05		
	小腸	1.1	0.09	<0.05~0.05 ^a	<0.05	<0.05	

a：測定値の一部が検出限界（0.05 mg/kg）未満 *：採材せず □：分析せず
n=6 ただし、各試料は分析時に2羽分を混合して1分析試料とした。

表 14 鶏におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤 3 日間飲水投与後の血清及び組織中の平均脱メチル化体濃度 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後時間 (h)					
		12	24	48	72	96	120
5 (常用量)	血清	<0.05	<0.05				*
	皮膚	<0.05	<0.05				
	筋肉	<0.05	<0.05				
	肝臓	0.22	<0.05	<0.05			
	腎臓	<0.05	<0.05				
	脂肪	<0.05	<0.05				
	筋胃	<0.05	<0.05				
	小腸	<0.05	<0.05				
25 (5 倍量)	血清	<0.05	<0.05				
	皮膚	<0.05	<0.05				
	筋肉	<0.05	<0.05				
	肝臓	1.5	0.07	<0.05	<0.05		
	腎臓	0.19	<0.05	<0.05			
	脂肪	<0.05	<0.05				
	筋胃	<0.05	<0.05				
	小腸	0.14	<0.05	<0.05			

* : 採材せず □ : 分析せず

n=6 ただし、各試料は分析時に 2 羽分を混合して 1 分析試料とした。 検出限界 : 0.05 mg/kg

② 3 日間飲水投与試験 b

鶏 (肉用鶏、40 日齢、雌 6 羽/時点) にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間飲水投与 (ダノフロキサシンとして 0、5(常用量)又は 25(5 倍量)mg/kg 体重/日) し、血清及び組織中におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

その結果、ダノフロキサシンは、常用量投与群では最終投与 48 時間後に、5 倍量投与群では最終投与 96 時間後に全例が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。

脱メチル化体は、常用量投与群では最終投与 12 時間後に肝臓及び腎臓で検出されたが、それぞれ投与 48 及び 24 時間後に全例が検出限界未満となった。5 倍量投与群では、肝臓、腎臓、小腸、脂肪及び筋胃で検出されたが、肝臓は最終投与 72 時間後に、その他の組織は最終投与 24 時間後に全例が検出限界未満となった。(参照 5)

③ 3 日間飲水投与試験 c

鶏 (3 週齢、30 羽) に非標識メシル酸ダノフロキサシン (可溶性粉末) を 3 日間飲水投与 (ダノフロキサシンとして 5 mg/kg 体重/日) し、最終投与 6、12、18、24 及び 36

時間後の組織中におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

ダノフロキサシン及び脱メチル化体は投与休止後に組織中から速やかに消失した。最終投与 6 時間後において、肝臓ではダノフロキサシン (0.157～0.319 mg/kg) 及び脱メチル化体 (0.035～0.193 mg/kg) の両方に常に最高濃度が認められた。他の組織には肝臓より低濃度のダノフロキサシンがみられ、脱メチル化体は肝臓のみにみられた。筋肉、腎臓及び脂肪中のダノフロキサシン濃度は、最終投与 36 時間後には 0.025 mg/kg 未満に低下した。筋肉では、ダノフロキサシンの最高濃度が最終投与 6 時間後の 1 例で 0.091 mg/kg であったが、最終投与 18 時間後までに検出限界 (0.025 mg/kg) 未満となった。皮膚/脂肪中ダノフロキサシン濃度は、最終投与 6 時間後に 0.061～0.235 mg/kg であったが、最終投与 36 時間後までに、0.025 未満～0.041 mg/kg に低下した。肝臓のダノフロキサシン及び脱メチル化体の濃度はともに速やかに低下し、最終投与 36 時間後には、ダノフロキサシンは 0.041 mg/kg で、脱メチル化体は 0.01 mg/kg 未満であった。(参照 7)

④ 5 日間飲水投与試験

鶏 (3 週齢、23 羽) に ³H 標識メシル酸ダノフロキサシンを 5 日間飲水投与 (ダノフロキサシンとして 5.0 mg/kg 体重/日) し、最終投与 6、12、24 及び 48 時間後に可食部組織中の総残留を測定した。

総残留の最高濃度は最終投与 6 時間後にみられ、肝臓 (0.457～0.850 mg/kg) 及び腎臓 (0.291～0.641 mg/kg) からは常に検出された。肝臓、腎臓及び筋肉における消失半減期は同様であり (9～11 時間)、皮膚/脂肪ではわずかに長かった (18 時間)。いずれの時点においても、プールした肝ホモジネートでは、ダノフロキサシンの残留が最も多く (総残留の 47～61 %)、脱メチル化体が主要代謝物であった (総残留の 13～20 %)。(参照 7)

(2) 残留試験 (豚)

① 3 日間筋肉内投与試験 a

子豚 (LW 種、2～3 か月齢、去勢雄 3 頭/時点) にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 0、1.25(常用量)又は 3.75 (3 倍量)mg/kg 体重/日) し、血清及び組織中におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

血清及び組織中の平均ダノフロキサシン濃度及び脱メチル化体濃度を表 15 及び 16 に示した。

ダノフロキサシンは、最終投与 2 時間後には両投与群ともに全例から検出されたが、最終投与 1 日後には常用量投与群では筋肉及び腎臓の各 1 例並びに注射部位筋肉 1 例を除いて検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となり、3 倍量投与群では血清及び脂肪が検出限界未満となった。また、最終投与 22 日後には両投与群ともに全例が検出限界未満となった。

脱メチル化体は、両投与群ともに最終投与 2 時間後の肝臓、腎臓及び注射部位筋肉並びに最終投与 1 日後の肝臓から検出されたが、他はいずれも検出限界未満であった。(参照 5)

表 15 豚におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤 3 日間筋肉内投与後の血清及び組織中の平均ダノフロキサシン濃度 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後 (日)				
		2 時間	1	22	23	25
1.25 (常用量)	血清	0.19	<0.05	<0.05		
	筋肉	0.67	<0.05~0.08 ^a	<0.05	<0.05	
	肝臓	0.97	<0.05	<0.05		
	腎臓	1.4	<0.05~0.05 ^a	<0.05	<0.05	
	脂肪	0.08	<0.05	<0.05		
	小腸	0.76	<0.05	<0.05		
	注射部位 筋肉	2.2	<0.05~0.09 ^a	<0.05	<0.05	
3.75 (3 倍量)	血清	0.54	<0.05	<0.05		
	筋肉	2.0	<0.05~0.09 ^a	<0.05	<0.05	
	肝臓	2.7	0.07	<0.05	<0.05	
	腎臓	4.4	0.12	<0.05	<0.05	
	脂肪	0.25	<0.05	<0.05		
	小腸	1.9	<0.05~0.08 ^a	<0.05	<0.05	
	注射部位 筋肉	7.0	0.07	<0.05	<0.05	

a : 測定値の一部が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満 □ : 分析せず n=3

表 16 豚におけるダノフロキサシン製剤 3 日間筋肉内投与後の血清及び組織中の平均脱メチル化体濃度 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後 (日)				
		2 時間	1	22	23	25
1.25 (常用量)	血清	<0.05	<0.05			
	筋肉	<0.05	<0.05			
	肝臓	0.28	0.23	<0.05	<0.05	
	腎臓	0.12	<0.05	<0.05		
	脂肪	<0.05	<0.05			
	小腸	<0.05	<0.05			
	注射部位 筋肉	<0.05~0.08 ^a	<0.05	<0.05		
3.75 (3 倍量)	血清	<0.05	<0.05			
	筋肉	<0.05	<0.05			
	肝臓	0.51	0.39	<0.05	<0.05	
	腎臓	0.19	<0.05	<0.05		
	脂肪	<0.05	<0.05			
	小腸	<0.05	<0.05			
	注射部位 筋肉	0.18	<0.05	<0.05		

a : 測定値の一部が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満 □ : 分析せず n=3

② 3 日間筋肉内投与試験 b

子豚 (LW 種、72~83 日齢、去勢雄 3 頭/時点) にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 0、1.25(常用量)又は 3.75(3 倍量)mg/kg 体重/日) し、血清及び組織におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

その結果、ダノフロキサシン及び脱メチル化体は、最終投与 22 日後には両投与群ともに全例が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。(参照 5)

③ 3 日間筋肉内投与試験 c

子豚 (LWD 種、2 か月齢、雌 2 頭) にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 5 mg/kg 体重/日) し、投与前、最終投与 1 及び 3 時間後の血清及び最終投与 22 又は 23 日後の肝臓における脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

脱メチル化体は、血清及び肝臓ともにいずれの時点においても検出限界 (0.05 mg/kg) 未満であった。(参照 5)

④ 3日間筋肉内投与試験 d

豚（4頭/時点）に非標識メシル酸ダノフロキサシンを3日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして1.25 mg/kg 体重/日）し、最終投与2、6、10、14及び18日後の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び注射部位におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の組織中残留についてHPLCにより測定した。

いずれの組織においても、ダノフロキサシン残留は速やかに消失したため、最終投与2日後には非常に低濃度（0.040 mg/kg 未満）しか存在しておらず、最終投与6日後にはいずれの組織からも検出されなかった。脱メチル化体は最終投与2日後に肝臓にみられ（0.408～1.065 mg/kg）、その後減少したが、最終投与18日後でも検出された（0.034～0.147 mg/kg）。（参照 7）

⑤ 3日間筋肉内投与試験 e

豚（4頭/時点）を用いてダノフロキサシンの3日間筋肉内投与（1.25 mg/kg 体重/日）試験が実施され、最終投与2、6、10、14及び18日後における組織中残留についてHPLC（蛍光検出）により測定した。

脱メチル化体は肝臓のみにみられ、最終投与2日後の平均0.622 mg/kg から最終投与6日後には0.211 mg/kg に、最終投与18日後には0.079 mg/kg に減少した。肝臓中ダノフロキサシンの平均残留は最終投与2日後には0.027 mg/kg で、その後のいずれの測定時点でも検出されなかった（0.010 mg/kg 未満）。腎臓中ダノフロキサシンの平均残留は最終投与2日後の平均0.036 mg/kg から最終投与6日後には0.0055 mg/kg に減少し、その後の測定時点では検出されなかった（0.005 mg/kg 未満）。最終投与2日後の筋肉、脂肪及び注射部位におけるダノフロキサシンの平均残留はそれぞれ 0.015、0.005 未満及び 0.017 mg/kg であり、他の組織ではいずれの時点においても検出されなかった（0.005 又は 0.010 mg/kg 未満）。（参照 6）

⑤ 3日間筋肉内投与試験 f

豚（3頭/時点）に³H 標識ダノフロキサシンを3日間筋肉内投与（1.25 mg/kg 体重/日）し、最終投与6、10、14及び18日後の肝臓中残留について調べられた。

最終投与6、10及び14日後の平均肝臓中総残留はそれぞれ0.136、0.084及び0.035 mg/kg であり、いずれの時点における残留もほぼ100%が脱メチル化体であった。最終投与18日後の平均肝臓中総残留は0.004 mg/kg であり、少量のため特定はできなかった。（参照 6）

⑥ 5日間筋肉内投与試験 a

豚（3頭/時点）を用いて³H 標識ダノフロキサシンの5日間筋肉内投与（1.25 mg/kg 体重/日）試験が実施され、最終投与12、24、48及び168時間（7日）後の組織中残留について検討された。

平均総残留は、肝臓、腎臓、脂肪及び筋肉において、最終投与12時間後のそれぞれ0.988、0.833、0.074及び0.339 mg/kg から最終投与48時間後にはそれぞれ0.408、0.106、0.017及び0.036 mg/kg まで減少した。5回目の注射部位における総残留は、最終投与

12 時間後には 0.287 mg/kg、最終投与 48 時間後には 0.030 mg/kg であった。最終投与 7 日後において平均総残留は、肝臓で 0.177 mg/kg、腎臓で 0.005 mg/kg であり、その他の組織では検出されなかった (0.002 又は 0.004 mg/kg 未満)。肝臓試料の加水分解後の結合・非抽出残留は最終投与 12 時間から 7 日後までの肝臓中総残留の約 14 %を占めた。(参照 6)

肝臓中残留は、最終投与 12 時間後において、44 %が脱メチル化体であり、46 %がダノフロキサシンであった。最終投与 24 時間後では、58 %が脱メチル化体であり、26 %がダノフロキサシンであった。最終投与 48 時間後では、85 %が脱メチル化体であり、17 %がダノフロキサシンであった。最終投与 7 日後では、100 %が脱メチル化体であった。(参照 6)

⑦ 5 日間筋肉内投与試験 b

豚 (4 頭/時点) に ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシンを 5 日間筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 1.25 mg/kg 体重/日) し、最終投与 12、24、48 及び 168 時間後の、筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び注射部位におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

最高値は、最終投与 12 時間後の肝臓 (0.960~1.021 mg/kg) 及び腎臓 (0.824~0.991 mg/kg) でみられ、これらの組織は最終投与 168 時間後まで最高量を維持した。放射活性の $T_{1/2}$ は、筋肉、脂肪及び注射部位で 22~24 時間、腎臓で 41 時間及び肝臓で 72 時間であった。

プールしていた肝臓のダノフロキサシン及び脱メチル化体の含有量を HPLC により測定した。最終投与 12 時間後に両物質は同量存在したが、最終投与 48 時間後以降は脱メチル化体が総残留に対して最高割合 (約 90 %) を占めた。(参照 7)

(3) 残留試験 (牛)

① 3 日間筋肉内投与試験 a

子牛 (ホルスタイン種、3~4 か月齢、雄 3 頭/時点) にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 0、1.25 (常用量) 又は 3.75 (3 倍量) mg/kg 体重/日) し、血清及び組織中におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

血清及び組織中の平均ダノフロキサシン濃度及び平均脱メチル化体濃度を表 17 及び 18 に示した。

ダノフロキサシンは、常用量投与群では、最終投与 6 時間後の血清及び最終投与 24 時間後の腎臓 1 例から検出された以外は、残留はみられなかった。3 倍量投与群では、最終投与 6 及び 12 時間後の血清、最終投与 24 時間後の同一個体 1 例の肝臓及び腎臓並びに注射部位筋肉 2 例から検出されたが、最終投与 48 時間後以降は全例が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。

脱メチル化体は、両投与群ともに最終投与 24 時間後の肝臓のみ残留が認められ、肝臓が代謝器官であることが示された。(参照 5)

表 17 牛におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤 3 日間筋肉内投与後の血清及び組織中の平均ダノフロキサシン濃度 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体重/日)	試料	最終投与後時間 (h)						
		6	12	24	48	72	96	120
1.25 (常用量)	血清	0.06	<0.05	<0.05				*
	筋肉	*	*	<0.05	<0.05			
	肝臓	*	*	<0.05	<0.05			
	腎臓	*	*	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05		
	脂肪	*	*	<0.05	<0.05			
	小腸	*	*	<0.05	<0.05			
	注射部位 筋肉	*	*	<0.05	<0.05			
3.75 (3 倍量)	血清	0.21	<0.05~0.07 ^a	<0.05	<0.05			
	筋肉	*	*	<0.05	<0.05			
	肝臓	*	*	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05		
	腎臓	*	*	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05		
	脂肪	*	*	<0.05	<0.05			
	小腸	*	*	<0.05	<0.05			
	注射部位 筋肉	*	*	<0.05~0.07 ^a	<0.05	<0.05		

a : 測定値の一部が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満 * : 採材せず □ : 分析せず n=3

表 18 牛におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤 3 日間筋肉内投与後の血清及び組織中の平均脱メチル化体濃度 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体 重/日)	試料	最終投与後時間 (h)						
		6	12	24	48	72	96	120
1.25 (常用量)	血清	<0.05	<0.05					*
	筋肉	*	*	<0.05	<0.05			
	肝臓	*	*	<0.05~0.05 ^a	<0.05	<0.05		
	腎臓	*	*	<0.05	<0.05			
	脂肪	*	*	<0.05	<0.05			
	小腸	*	*	<0.05	<0.05			
	注射部位 筋肉	*	*	<0.05	<0.05			

3.75 (3 倍量)	血清	<0.05	<0.05					
	筋肉	*	*	<0.05	<0.05			
	肝臓	*	*	0.10	<0.05	<0.05		
	腎臓	*	*	<0.05	<0.05			
	脂肪	*	*	<0.05	<0.05			
	小腸	*	*	<0.05	<0.05			
	注射部位 筋肉	*	*	<0.05	<0.05			

a : 測定値の一部が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満 * : 採材せず □ : 分析せず n=3

② 3 日間筋肉内投与試験 b

子牛（ホルスタイン種、3～4 か月齢、雄 3 頭/時点）にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして 0、1.25(常用量)又は 3.75(3 倍量)mg/kg 体重/日）し、血清及び組織中におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

その結果、ダノフロキサシンは、両投与群ともに最終投与 48 時間後には注射部位筋肉を除き全例が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。注射部位筋肉は、両投与群ともに最終投与後 2 時間後には全例で高濃度に検出されたが、以後急速に減少し、常用量投与群では最終投与 72 時間後に、3 倍量投与群では最終投与 96 時間後に、全例が検出限界未満となった。

脱メチル化体は、両投与群ともに最終投与 2 時間後に全例から検出され、最終投与 24 時間後に 3 倍量投与群の肝臓で残留がみられたが、最終投与 48 時間後以降は全例が検出限界未満となり、メシル酸ダノフロキサシン製剤は、投与後迅速に吸収され、肝臓で代謝されることが示唆された。(参照 5)

③ 3 日間筋肉内投与試験 c

子牛（3 か月齢、3 頭）にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして 1.25 mg/kg 体重/日）し、最終投与 96 時間後の注射部位筋肉中のダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について HPLC により測定した。

その結果、全例がダノフロキサシン及び脱メチル化体ともに検出限界 (0.05 mg/kg) 未満であった。(参照 5)

④ 3 日間筋肉内投与試験 d

子牛（ホルスタイン種、3 か月齢、2 頭）にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして 5 mg/kg 体重/日）し、最終投与 5 及び 6 日後の注射部位筋肉におけるダノフロキサシンの残留について検討した。

その結果、いずれの時点においても注射部位筋肉にダノフロキサシンの残留はみられなかった。(参照 5)

⑤ 5日間筋肉内投与試験 a

成牛に ^3H 標識メシル酸ダノフロキサシンを 5 日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして 1.25 mg/kg 体重/日、1 日 1 回投与）し、最終投与 12、24、36、48、60 及び 72 時間後の可食組織中のダノフロキサシン及び脱メチル化体の総残留量について検討された。

放射活性測定による総残留の最高濃度は肝臓でみられた。肝臓では最終投与 12 時間後の残留濃度 1 mg/kg は、最終投与 72 時間後には約 0.2 mg/kg まで減少し、 $T_{1/2}$ は約 26 時間であった。他の組織において、総残留は更に速やかに減少し、 $T_{1/2}$ は腎臓、筋肉及び注射部位でそれぞれ 14、17 及び 11 時間であった。肝臓のダノフロキサシン及び脱メチル化体の分析から、未変化体は放射活性の 21～32 % を占めるが、代謝物の占める割合は徐々に低下し、最終投与 12 時間後の 41 % が最終投与 72 時間後には 14 % となった。最終投与 48 時間後には、注射部位筋肉の総残留濃度は他の筋肉と同様となった。（参照 7）

⑥ 5日間筋肉内投与試験 b

牛（6 頭/時点）に非標識メシル酸ダノフロキサシンを 5 日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして 1.25 mg/kg 体重/日）し、最終投与 12、36、60、84 及び 120 時間後の筋肉、肝臓、腎臓、脂肪及び注射部位におけるダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について、HPLC により測定した。

ダノフロキサシンの残留の減少は総残留の減少と同様であった。最終投与 5 日（120 時間）後、ダノフロキサシンは肝臓でのみ測定され（0.013 mg/kg）、脱メチル化体は全組織中で定量限界（0.01 mg/kg）未満となった。（参照 7）

（4）残留試験（牛・乳汁）

① 3日間筋肉内投与試験 a

泌乳牛（ホルスタイン種、3～8 歳、3 頭/群）にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与（ダノフロキサシンとして 2.5(常用最高量)又は 5.0(2 倍量)mg/kg 体重/日）し、乳汁及び血清中のダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について、HPLC により測定した。乳汁は、最終投与 12 時間後から 120 時間後まで 12 時間毎に、血清は投与前、最終投与 6、12、24、36、48 及び 60 時間後に採取した。

乳汁中及び血清中の平均ダノフロキサシン及び脱メチル化体濃度を表 19 及び 20 に示した。

乳汁では、両投与群ともにダノフロキサシン及び脱メチル化体は最終投与 36 時間後に全例が検出限界（0.05 mg/kg）未満となった。

血清では、両投与群ともにダノフロキサシンが最終投与 24 時間後に検出限界未満となり、脱メチル化体はいずれの時点でも検出されなかった。（参照 5）

表 19 泌乳牛におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤 3 日間筋肉内投与後の乳汁中
平均ダノフロキサシン及び脱メチル化体 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体重/日)	対象物質	最終投与後時間 (h)			
		12	24	36	48
2.5	ダノフロキサシン	0.42	<0.05~0.08 ^a	<0.05	<0.05
	脱メチル化体	0.20	<0.05~0.05 ^a	<0.05	<0.05
5.0 (2 倍量)	ダノフロキサシン	0.68	0.06	<0.05	<0.05
	脱メチル化体	0.32	<0.05	<0.05	

a : 測定値の一部が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満 □ : 分析せず n=3

表 20 泌乳牛におけるメシル酸ダノフロキサシン製剤 3 日間筋肉内投与後の血清中
平均ダノフロキサシン及び脱メチル化体 (mg/kg)

投与量 (mg/kg 体重/日)	対象物質	最終投与後時間 (h)			
		6	12	24	36
2.5	ダノフロキサシン	0.17	<0.05~0.06 ^a	<0.05	<0.05
	脱メチル化体	<0.05	<0.05		
5.0 (2 倍量)	ダノフロキサシン	0.35	0.10	<0.05	<0.05
	脱メチル化体	<0.05	<0.05		

a : 測定値の一部が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満 □ : 分析せず n=3

② 3 日間筋肉内投与試験 b

泌乳牛 (ホルスタイン種、5~6 歳、3 頭/群) にメシル酸ダノフロキサシン製剤を 3 日間筋肉内投与 (ダノフロキサシンとして 2.5(常用最高量)又は 5.0 mg/kg(2 倍量)体重/日) し、乳汁及び血清中のダノフロキサシン及び脱メチル化体の残留について、HPLC により測定した。乳汁は、最終投与 12 時間後から 120 時間後まで 12 時間毎に、血清は投与前、最終投与 6、12、24、36、48 及び 60 時間後に採取した。

その結果、乳汁では、両投与群ともにダノフロキサシン及び脱メチル化体は最終投与 36 時間後に全例が検出限界 (0.05 mg/kg) 未満となった。

血清では、ダノフロキサシンが 2 倍量投与群の最終投与 24 時間後の 1 例から検出されたが、最終投与 6 時間後には全例が検出限界未満となり、脱メチル化体はいずれの時点でも検出されなかった。(参照 5)

③ 5 日間筋肉内投与試験 a

泌乳牛 8 頭 (泌乳初期牛及び泌乳後期牛各 4 頭) を用いた ³H 標識ダノフロキサシンを 5 日間筋肉内投与 (1.25 mg/kg 体重/日) し、乳汁中の総残留について LSC により測定した。牛は 1 日 2 回搾乳した。

乳汁中総残留の平均値は、各投与後最初の搾乳時に最高値（平均 1.028～1.195 mg eq/kg）に達した。総残留は速やかに減少し、各投与後 2 回目の搾乳時には 0.124～0.190 mg eq/kg になった。大部分の試料では、最終投与 72 時間後には検出されなかった。

乳汁中のダノフロキサシン及び脱メチル化体が HPLC（蛍光検出）を用いて同時に測定された（定量限界：0.012 mg/kg）。ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれの残留も各投与後最初の搾乳時に最高値（それぞれ 0.685～0.947 mg/kg 及び 0.150～0.207 mg/kg）に達した。ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれの濃度も、速やかに減少し各投与後 2 回目の搾乳時にはそれぞれ 0.042～0.082 mg/kg 及び 0.041～0.053 mg/kg になった。5 回目の投与（最終投与）24 時間後の平均残留は、ダノフロキサシンが 0.042 mg/kg、脱メチル化体が 0.042 mg/kg であった。最終投与 48 時間後の残留は、ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれも大部分が定量限界未満となった。（参照 8）

本試験では、各投与 8 時間後の乳汁中の残留は、ダノフロキサシンが総残留の 67～79 %、脱メチル化体が総残留の 14～19 %を占めた。各投与 24 時間後の乳汁中の残留では、ダノフロキサシンとしての残留は約 35 %に減少した。脱メチル化体はこれらの時点で同様の割合を占めた。最終投与 24 及び 32 時間後では、ダノフロキサシンは総残留の約 34 %を占めた。（参照 8）

④ 5 日間筋肉内投与試験 b

泌乳牛 8 頭（泌乳初期牛及び泌乳後期牛各 4 頭）に 2.5 %ダノフロキサシン製剤を 5 日間筋肉内投与（1.25 mg/kg 体重/日）し、乳汁中のダノフロキサシン及び脱メチル化体について HPLC（蛍光検出）により同時に測定した（定量限界：0.015 mg/kg）。牛は 1 日 2 回搾乳した。

ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれの残留も各投与後最初の搾乳時に最高値（それぞれ 0.727～1.042 mg/kg 及び 0.211～0.256 mg/kg）に達した。ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれの平均濃度も、速やかに減少し各投与後 2 回目の搾乳時にはそれぞれ 0.044～0.083 mg/kg 及び 0.04～0.055 mg/kg になった。5 回目の投与（最終投与）24 時間後の平均残留は、ダノフロキサシンが 0.055 mg/kg、脱メチル化体が 0.046 mg/kg であった。最終投与 48 時間後の残留は、ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれも全例が定量限界未満となった。（参照 8）

3. 遺伝毒性試験

ダノフロキサシン及び脱メチル化体の遺伝毒性に関する各種 *in vitro* 及び *in vivo* 試験の結果を表 21 及び 22 にまとめた。（参照 3、5、7）

表 21 ダノフロキサシンを用いた遺伝毒性試験

試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i> 試験			
復帰突然変異試験 ^a	<i>Salmonella typhimurium</i>	0.01～0.2 µg/plate ^b (－S9)	陰性
	TA98、TA100、TA1535、 TA1537	0.001～0.1 µg/plate (+S9) 0.0005～0.2 µg/plate (+S9)	陰性 陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100、TA1535、 TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2 / <i>uvrA</i>	30～625 ng/plate (±S9)	陰性
	<i>S. typhimurium</i> TA98、TA100	312.5～5,000 µg/plate (±S9)	陰性
遺伝子突然変異試験	CHO 細胞 <i>hprt</i>	141～1,070 µg/mL (－S9) 465～2,500 µg/mL (+S9)	陰性 陰性
染色体異常試験	ヒトリンパ球	25～70 µg/mL (－S9) 200～600 µg/mL (+S9)	陽性 ^c 陽性
<i>in vivo</i> 試験			
小核試験	ICR マウス骨髄細胞	1,000 mg/kg 体重 経口投与	陰性

a：同じ細菌株を、ダノフロキサシンを腹腔内投与（5、50 又は 100 mg/kg 体重/日）したマウスから採取した尿と培養したが、遺伝毒性は示さなかった。

b：高用量では、試験菌株に毒性を示した。

c：異常細胞（染色分体切断）が有意に増加した。染色体異常誘発がキレート化によるものかどうか確認するために S9 非存在下で硫酸マグネシウム 400 µg/mL を添加して試験を繰り返したが、異常細胞の増加は観察されなかった。S9 存在下では、被験物質を除去するための追加の洗浄及び硫酸マグネシウムの添加により染色体異常誘発性が低減された。

表 22 脱メチル化体を用いた遺伝毒性試験

試験	対象	用量	結果
<i>in vitro</i> 試験			
復帰突然変異試験	<i>S. typhimurium</i>	0.001～0.5 µg/plate (+S9)	陰性
	TA98、TA100、TA1535、 TA1537	0.01～5 µg/plate (－S9)	陰性
遺伝子突然変異試験	マウスリンフォーマ細胞 L5178Y	90～388 µg/mL (－S9) 63～269 µg/mL (+S9 ^d)	陰性 陰性

不定期 DNA 合成試験	ラット初代肝細胞	2.54～102 µg/mL 5.02～100 µg/mL	陽性 陽性
	ラット初代肝細胞	62.5～250 µg/mL 62.5～500 µg/mL ^e	陽性 陽性
<i>in vivo</i> 試験			
不定期 DNA 合成試験	Fischer 344 ラット肝細胞	250～2,000 mg/kg 体重/日 単回経口投与	陰性
小核試験	CD1 マウス骨髄細胞及び末梢血	250～1,000 mg/kg 体重/日 3 日間経口投与	陰性

d : 非誘導型げっ歯類の肝臓由来

e : 1.62 mmol/L のマグネシウムイオン（硫酸マグネシウム 6 水和物）を添加しても、同様の用量相関的な不定期 DNA 合成は阻止されなかった。

ダノフロキサシンでは、*in vitro* のヒトリンパ球を用いた染色体異常試験においてのみ陽性であった。これは培養液への硫酸マグネシウムの添加及び又は細胞洗浄により低減又は消失したことから、ダノフロキサシンによる染色体異常の出現は、ピリドンカルボン酸系薬物の一般的特徴であるカチオンキレート作用によるものと考えられた。また、脱メチル化体では、*in vitro* のラット初代肝細胞を用いた不定期 DNA 合成試験 2 試験で陽性結果が得られた。しかし、ダノフロキサシン及び脱メチル化体のいずれも *in vivo* 試験では陰性であったことから生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと考えた。

4. 急性毒性試験（マウス及びラット）

ダノフロキサシン及び脱メチル化体は、いずれも経口の急性毒性は低い。実験動物では、ダノフロキサシンは消化器系に軽い影響を及ぼす。ヒトでは、一部のキノロン系抗菌性物質が治療用量で胃腸障害を引き起こすと報告されているが、ダノフロキサシンは、軽度の一過性の皮膚及び眼の炎症のみが報告されている。（参照 4）

各動物種におけるメシル酸ダノフロキサシン及び脱メチル化体のメシル酸塩の急性毒性試験の結果を表 23 に示した。（参照 3）

表 23 メシル酸ダノフロキサシン及び脱メチル化体のメシル酸塩の LD₅₀

動物種	投与経路	性別	LD ₅₀ (mg/kg 体重) ^a
ダノフロキサシン			
マウス (ICR 系)	経口	雌雄	>2,000
ラット (SD 系)	経口	雌雄	>2,000
マウス (ICR 系)	静脈内	雄	100～150
ラット (SD 系)	静脈内	雄	50～100

脱メチル化体			
マウス (ICR 系)	経口	雄	>2,000
マウス (ICR 系)	経口	雌	1,500～2,000
ラット (SD 系)	経口	雌雄	>2,000
マウス (ICR 系)	静脈内	雄	7.5～10
ラット (SD 系)	静脈内	雄	40～50

a: ダノフロキサシンとしての換算量

また、マウス (ICR 系) 及びラット (SD 系) を用いたメシル酸ダノフロキサシン製剤の急性毒性試験が実施されており、経口投与による LD₅₀ はいずれもダノフロキサシンとして 1,000 mg/kg 体重⁷より大きかった。(参照 5)

5. 亜急性毒性試験

(1) 亜急性毒性試験 (ラット)

① 3 週間亜急性毒性試験

ラット (SD 系、6 週齢、雌雄各 5 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 週間 (21 日間) 経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、100、300 又は 1,000 mg/kg 体重/日) 試験が実施された。

その結果、いずれの群にも死亡例はみられなかった。

一般状態では、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で、流涎、鼻・口周囲の赤褐色汚れ、尿失禁、軟便、被毛粗剛、削瘦及び軽度の腹部膨満がみられた。

体重については、1,000 mg/kg 体重/日投与群の雌雄で摂餌量減少に伴う減少がみられ、300 mg/kg 体重/日投与群の雄で軽度な増加抑制がみられた。

血液学的検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で WBC、PLT 及び網状赤血球の減少がみられた。

血液生化学的検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で TP、Glob 及び K の低下がみられ、A/G 比、BUN、AST 及び ALT の上昇がみられた。

尿検査では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で尿比重の上昇を伴う尿量減少がみられた。

剖検では、1,000 mg/kg 体重/日投与群で脂肪の減少、生殖器の縮小等及び栄養障害に起因すると考えられる消耗性変化が観察され、300 及び 100 mg/kg 体重/日投与群では盲腸の腫大がみられた。投与群に認められた盲腸所見は、抗菌性物質の投与による腸内細菌叢の変動に伴う変化であり、げっ歯類等の盲腸の特異性を考慮すると、毒性学的意義に乏しい変化と考えられた。(参照 5)

本試験における NOAEL は 100 mg/kg 体重/日と考えられた。

⁷ 投与可能な最大量

② 1 か月間亜急性毒性試験

ラット（Long-Evans 系、雌雄各 10 匹/群）を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 1 か月間強制経口投与（ダノフロキサシンとして 0、25、75 又は 150 mg/kg 体重/日、水溶液で投与）試験が実施された。血液生化学的試験及び血液学的試験を、投与前並びに投与開始 11～12 日後及び 30～31 日後に実施した。

毒性徴候はみられず、体重増加量及び摂餌量に投与の影響はみられなかった。

血液生化学的試験では、ALT が 150 mg/kg 体重/日投与群の雌で有意に増加した。

臓器重量では、肝臓の絶対及び比重量が 150 mg/kg 体重/日投与群の雄で有意に減少した。

0 及び 150 mg/kg 体重/日投与群の 30 種類の組織並びに他の投与群の剖検でみられた病変部の病理組織学的検査において、投与に起因する影響はみられなかった。（参照 3）

③ 3 か月間亜急性毒性試験 a

ラット（Long-Evans 系、雌雄各 20 匹/群）を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 か月間経口投与（ダノフロキサシンとして 0、25、75 又は 150 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。被験動物は、多世代生殖毒性試験に用いられた F₁ 児から選択されたもので、妊娠中（子宮内）及びほ乳中にダノフロキサシンに暴露されていた。対照群には脱イオン水を投与した。

投与に起因する死亡例はみられず、摂餌量及び体重増加量に投与の影響はみられなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査において、用量相関的な傾向はみられなかった。

尿検査では、用量相関的なタンパク尿の増加が雌でみられたが雄ではみられず、個々の被験動物で尿細管性腎症所見との関連がみられた。

臓器重量では、腎臓重量に投与の影響はみられなかった。75 mg/kg 体重/日以上投与群における精巣の絶対及び比重量が対照群よりも約 10 % 少なかった。

病理組織学的検査では、主に心臓の病変が 75 mg/kg 体重/日以上投与群で発現し、多巣性心筋変性及び壊死並びに多巣性線維化が単独又は両方みられた。

尿細管性腎症が全投与群の雌でみられたため、NOAEL は得られなかった。

④ 3 か月間亜急性毒性試験 b

NOAEL を設定するため、より低い用量の投与試験が実施された。

離乳ラット（Long-Evans 系、雌雄各 20 匹/群）を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 か月間経口投与（ダノフロキサシンとして 0、1、2.5 又は 6.25 mg/kg 体重/日）による亜急性毒性試験が実施された。被験動物は上記試験と同様、多世代生殖毒性試験に用いられた F₁ 児から選択されたもので、妊娠中（子宮内）及びほ乳中にダノフロキサシンに暴露されていた。雌雄各 20 匹の対照群には脱イオン水を投与した。

投与に起因する死亡例及び毒性徴候はみられなかった。

体重増加量、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査のパラメータに投与の影響はみられなかった。

尿検査では、6.25 mg/kg 体重/日投与群で、血尿を示した雄がわずかに増加し、また、雌 1 例で尿タンパクがわずかに増加した。腎臓に関連性のある病理学的変化がみられないことから、投与の影響ではないと考えられた。(参照 3)

本試験における NOAEL は最高用量の 6.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

⑤ 3 か月間亜急性毒性試験 (脱メチル化体)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 20 匹/群) を用いた脱メチル化体のメシル酸塩の 3 か月間経口投与 (脱メチル化体として 0、1、2.5 又は 6.25 mg/kg 体重/日) による亜急性毒性試験が実施された。被験動物は多世代生殖毒性試験に用いられた F₁ 児から選択されたもので、妊娠中 (子宮内) 及び母乳中にダノフロキサシンに暴露されていた。雌雄各 20 匹の対照群には脱イオン水を投与した。

死亡率、体重増加量、摂餌量、血液学的検査及び血液生化学的検査のパラメータ、臓器重量、剖検及び病理組織学的検査に投与の影響はみられなかった。(参照 3)

本試験における NOAEL は、最高用量の 6.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

(2) 亜急性毒性試験 (イヌ)

① 3 か月間亜急性毒性試験 a

イヌ (ビーグル種、約 6 か月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 3 か月間経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、5、10 又は 25 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日量を同量 2 分割して投与) による亜急性毒性試験が実施された。試験終了時には、全被験動物を病理学的検査に供した。

投与開始 7 日後までに、25 mg/kg 体重/日投与群の 8 例及び 10 mg/kg 体重/日投与群の 3 例において、活動低下及び関節症の徴候が観察されたが、これらの影響がみられた被験動物の大部分は投与を続行したにもかかわらず、投与開始 6 週までに回復した。

臨床症状を示した動物では、体重増加量、摂餌量、心拍数及び呼吸数が減少した。

心電図、血圧並びに眼科学的検査、血液学的検査、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータに投与の影響はみられなかった。

剖検では、5 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例を除く投与群の全例で、主要関節の関節軟骨に変化が観察された。病変は、軟骨解離及び軟骨減少 (糜爛) が特徴的であり、その程度は用量相関的であった。

病理組織学的検査では、偏光で観察すると、コラーゲン線維の著明な変化等が明らかとなった。

② 3 か月間亜急性毒性試験 b

NOAEL を設定するため、より低い用量の投与試験が実施された。

イヌ (ビーグル種、約 5 か月齢、雌雄各 4 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 91 日間経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、1 又は 2.4 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日 2 回に分けて投与) による亜急性毒性試験が実施された。

毒性徴候はみられず、体重増加量、摂餌量、血液生化学的検査及び尿検査のパラメータ並びに臓器重量に投与の影響はみられなかった。

投与に起因する病理学的所見もみられなかった。(参照 3)

本試験における NOAEL は、最高用量の 2.4 mg/kg 体重/日と考えられた。

③ 3 か月間亜急性毒性試験（脱メチル化体）a

イヌ（ビーグル種、4～6 か月齢、雌雄各 3 匹/群）を用いた脱メチル化体のメシル酸塩の 3 か月間経口投与（脱メチル化体として 0、2.5、5 又は 10 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日 2 回に分けて投与）による亜急性毒性試験が実施された。

体重増加量、心電図、血液生化学的検査及び血液学的検査並びに臓器重量に、注目すべき投与の影響はみられなかった。

10 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、投与開始 65 日後に左足首関節に圧力をかけたときに、疼痛徴候を示した。2.5 mg/kg 体重/日投与群の雌 1 例では、投与開始 92 日後に左側後肢上部の内側に圧力をかけたときに、疼痛徴候を示した。試験終了時には、10 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、典型的なキノロン系抗菌性物質誘発病変が右側大腿骨顆の関節軟骨にみられた。(参照 3)

④ 3 か月間亜急性毒性試験（脱メチル化体）b

イヌ（ビーグル種、5～6 か月齢、雌雄各 3 匹/群）を用いた脱メチル化体のメシル酸塩の 3 か月間経口投与（脱メチル化体として 0、0.25 又は 0.5 mg/kg 体重/日、ゼラチンカプセルで 1 日 2 回に分けて投与）による亜急性毒性試験を実施した。さらに、もう 1 群ダノフロキサシンを投与（10 mg/kg 体重/日）する群を設定した。

脱メチル化体投与群に毒性徴候はみられなかった。ダノフロキサシン投与群では、後肢の脱力、行動減少及び強直性歩行がみられた。

心電図、血液生化学検査及び血液学的検査のパラメータ並びに臓器重量に投与の影響はみられなかった。

病理組織学的検査では、ダノフロキサシン投与群の全例に典型的なキノロン系抗菌性物質誘発性の関節症が判明した。脱メチル化体 0.5 mg/kg 体重/日投与群の雄 1 例で、右膝の膝蓋骨窩の関節糜爛がみられた。糜爛は関節軟骨の Zone 2 まで拡大しており、他のキノロン系抗菌性物質の投与でみられる変化と類似していた。(参照 3)

本試験における NOAEL は、0.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

6. 慢性毒性及び発がん性試験

(1) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験（マウス）

マウス（ICR 系、雌雄各 50 匹/群）を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 2 年間混餌投与（0、10、50 又は 100 mg/kg 体重/日）による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。

死亡率、体重、摂餌量及び血液学的検査のパラメータに、用量相関的な影響はみられなかった。100 mg/kg 体重/日投与群の雌では、他の群より体重が有意に増加した。試験終了時には、10 mg/kg 体重/日投与群の雄を除き、各群の生存率は 50 %未満であった。

100 mg/kg 体重/日投与群の雌で、腎臓の絶対重量が有意に増加したが、被験動物の体重増加によるものと考えられた。

発がん性はみられなかった。(参照 3)

(2) 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験 (ラット)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 50 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの 2 年間混餌投与 (0、10、50 又は 100 mg/kg 体重/日) による慢性毒性/発がん性併合試験が実施された。対照群として雌雄各 2 群設けた。

一般状態の毒性徴候はみられず、生存率に投与の影響はみられなかった。試験終了時には、100 mg/kg 体重/日投与群の雌及び雄の対照群を除いて、生存率は 50 %未満であった。

体重では、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で、有意な増加抑制が偶発的にみられたが、50 mg/kg 体重/日以上投与群の雌では、投与開始 3～16 か月後に摂餌量増加を伴う有意な増加がみられた。投与に起因する体重変化は非常に小さいものであった。

眼科学的検査が、投与開始 12、18 及び 23 週後に実施され、対照群と 100 mg/kg 体重/日投与群との違いはみられなかった。

血液学的検査及び血液生化学的検査では、試験終了時に、100 mg/kg 体重/日投与群の雄で WBC 及び好中球が有意に減少した。100 mg/kg 体重/日投与群の雌では、Hb、Ht 及びリンパ球が減少した。雄では AST 及びソルビトール脱水素酵素が有意に増加し、Glob の低下に伴う A/G 比の増加が認められた。ソルビトール脱水素酵素は、50 mg/kg 体重/日投与群の雄でも増加した。雌では血液生化学的検査の値に影響はみられなかった。

尿検査では、投与に起因する影響はみられなかった。

臓器重量では、精巣の比重量が 100 mg/kg 体重/日投与群で有意に減少した。絶対重量に有意な影響はみられなかった。

剖検では、投与群で盲腸腫大の発生率が増加したが、病理組織学的変化を伴うものではなかった (表 24)。

表 24 ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の盲腸腫大の発現数

投与量 (mg/kg 体重/日)	盲腸腫大の発現数/被験動物数 (例)	
	雄	雌
0	0/50	1/50
0	0/50	0/50
10	5/50	1/50
50	3/50	1/50
100	6/50	2/50

病理組織学的検査では、100 mg/kg 体重/日投与群で、腎乳頭浮腫の発生頻度増加、精子減少症の増加及び精巣上体の異常内容物がみられた (表 25)。

表 25 ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の非腫瘍性病理解剖学的変化
(発生例数)

投与量 (mg/kg 体重/日)	腎乳頭浮腫		精子減少症		精巣上体の異常内容物	
	雄	雌	雄	雌	雄	雌
0	1	0	17		25	
0	0	2	16		32	
10	0	2	18		28	
50	1	2	17		29	
100	4	4	31		36	

投与群の雌で、子宮及び膣の顆粒細胞腫が発生する傾向がみられた（表 26）。顆粒細胞巢（granular cell foci）は、その大きさが小さいこと及び周囲への圧迫がないことから腫瘍と識別されたが、これらの病変の形態は本質的に同じであった。子宮及び膣における細胞巢及び腫瘍の発生を合算した場合、発生の合計数に群間の有意差はみられなかった。

表 26 雌ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の子宮及び膣の増殖性病変
(発生例数)

	病変	投与量 (mg/kg 体重/日)				
		0	0	10	50	100
子宮	被験動物数	48	50	50	50	50
	顆粒細胞腫	1	3	6	5	6
	顆粒細胞巢	5	6	1	1	2
膣	被験動物数	48	49	49	49	49
	顆粒細胞腫	3	2	2	3	7
	顆粒細胞巢	0	0	1	0	0
子宮+膣	顆粒細胞腫	4	5	8	8	13
	顆粒細胞巢	5	6	2	1	2
計		9	11	10	9	15

雌で下垂体腺腫の増加傾向がみられた（表 27）が、その発生率は、同じ研究室で過去に実施された 5 試験の対照群での発生率の範囲内（30/48～47/49 例）であった。

表 27 雌ラットにおけるダノフロキサシン 2 年間投与後の下垂体の増殖性病変
(発生例数)

病変	投与量 (mg/kg 体重/日)				
	0	0	10	50	100
被験動物数	49	50	50	50	50
下垂体腺腫	32	32	39	39	40
下垂体過形成	13	11	5	6	5
24 か月後の生存数	22	26	19	18	26

以上より、子宮及び膣の顆粒細胞病変及び下垂体腺腫のいずれも投与に起因する発がん性を示唆するものではないと考えられた。(参照 3)

7. 生殖発生毒性試験

(1) 2 世代生殖毒性試験 (ラット)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 45 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、25、75 又は 150 mg/kg 体重/日) による 2 世代生殖毒性試験が実施された。

150 mg/kg 体重/日投与群の母動物では、妊娠期間中の体重増加抑制、着床数の減少及び出生児数の減少がみられた。出生時及びほ乳期間中の児体重は有意に減少した。同様の影響は、F₁ の第 1 回の交配時にも観察された。この影響は F₁ の第 2 回目の交配時にはさらに強くなり、全投与群で妊娠率が低下した。F_{2b} 児の全群で用量相関的な体重の減少がみられた。(参照 3)

(2) 3 世代生殖毒性試験① (ラット)

上記 (1) の試験の 25 mg/kg 体重/日投与群の 2 か月齢の F_{2b} 児を用いて、生殖毒性試験が実施され、メシル酸ダノフロキサシンの投与が続行された。妊娠率は 38 % で (対照群は 65 %) であった。着床後胚死亡は有意に増加し、児の体重及び生存率は低下した。(参照 2)

(3) 3 世代生殖毒性試験② (ラット)

ラット (Long-Evans 系、雌雄各 30 匹/群) を用いたメシル酸ダノフロキサシンの強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、1、2.5、6.25 又は 150 mg/kg 体重/日) による 3 世代生殖毒性試験が実施された。対照群を 2 群設け、脱イオン水を投与した。投与は、雄では交配 9 週間前から、雌では交配 2 週間前から開始し (1 : 1 の交配)、妊娠、出産及び F₁ 児が離乳するまで継続した。これらのうち、各群の雌雄各 25 匹を無作為抽出し F_{2a} 及び F_{2b} の作出まで投与を継続した。同様の方法で F_{2b} を交尾させ F₃ 児を得た。生後 4 日に同腹数の調整を行い、8 匹を選抜した。F_{2b} 児の出生後の発育については、離乳時の自発運動、聴覚機能及び眼科学的パラメータにより評価した。交配に用いた F₀、F₁ 及び F₂ 世代の全動物を剖検し、生殖器官及び主要器官 (腎臓、関節、脳、心臓及び肝臓)

の重量を測定し、病理組織学検査に供した。

親動物では、生存率、体重増加、摂餌量及び一般状態に投与に起因する影響はみられなかった。150 mg/kg 体重/日投与群では、交尾率及び妊娠率が低下し、妊娠期間が延長した。

児動物では、150 mg/kg 体重/日投与群で、同腹児数の減少、出生時体重の減少、新生児の体重増加抑制及び生後 4 日における生存児数の減少がみられた。150 mg/kg 体重/日投与群では、F₁ の 2 回目の交配前に試験を終了した。(参照 3)

本試験における NOAEL は 6.25 mg/kg 体重/日と考えられた。

(4) 3 世代生殖毒性試験 (ラット、脱メチル化体)

上記 (3) の試験と全く同じ試験デザインで、メシル酸ダノフロキサシンの代わりに脱メチル化体のメシル酸塩を用いた生殖毒性試験が実施された。

親動物の体重増加及び摂餌量、一般状態、妊娠率、妊娠期間並びに着床数及び着床後胚死亡数に投与に起因する影響はみられなかった。

児動物でも、体重増加及び生存率に投与の影響はみられなかった。

親動物には雌雄ともに肉眼的な異常は観察されなかった。(参照 3)

(5) 発生毒性試験 (マウス)

マウス (ICR 系、20 匹/群) の妊娠 6~13 日にメシル酸ダノフロキサシンを強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、50、100 又は 200 mg/kg 体重/日、水溶液で投与) した発生毒性試験が実施された。母動物は妊娠 18 日に帝王切開し胎児を検査した。別の 1 群 (10 匹) に 200 mg/kg 体重/日を投与し、母動物の血漿及び羊水中のダノフロキサシン濃度を測定した。

200 mg/kg 体重/日投与群の最終投与 5 時間後の羊水中濃度は母動物の血漿中濃度と同様であったが、胎児ホモジネート中濃度は母動物の血漿中濃度の 2~3 倍であった。

試験は妊娠率が低かったため、少数の妊娠マウスを用いて試験を実施した (0、50、100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群の妊娠動物はそれぞれ 13、16、11 及び 13 例)。

母動物では、200 mg/kg 体重/日投与群の 1 例が妊娠 7~10 日に立毛及び伏臥姿勢を呈し、剖検で皮膚の膿瘍がみられた。200 mg/kg 体重/日投与群で、投与期間中に体重の有意な増加抑制がみられた。

胎児では、胚吸収、胎児死亡率及び性比に影響はみられなかった。200 mg/kg 体重/日投与群で、胎児体重が雌雄ともに有意に減少し、骨化遅延の発現が増加した。(参照 3)

(6) 発生毒性試験 (ラット)

ラット (SD 系、20 匹/群) の妊娠 6~15 日にメシル酸ダノフロキサシンを強制経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、50、100 又は 200 mg/kg 体重/日、水溶液で投与) した発生毒性試験が実施された。母動物は妊娠 20 日に帝王切開し、胎児を検査した。別の 1 群 (5 匹) に 200 mg/kg 体重/日を投与し、母動物の血漿及び羊水中のダノフロキサシン濃度を測定した。

200 mg/kg 体重/日投与群の最終投与5時間後の羊水中濃度は母動物の血漿中濃度と同様であったが、胎児ホモジネート中の濃度は母動物の血漿中濃度の約3倍であった。

各群で19から20匹の妊娠動物が得られた。母動物では、100 mg/kg 体重/日以上投与群では、有意で用量相関的な体重増加抑制がみられた。

胎児では、100 mg/kg 体重/日以上投与群で、胎児体重が有意に減少し、骨化遅延及び脳室拡張の発現が有意に増加した。(参照3)

母体毒性のみられなかった50 mg/kg 投与群で、胎児に対する影響は認められなかったことから、本試験におけるNOAELは、母動物及び胎児に対して50 mg/kg 体重/日と考えられた。

(7) 発生毒性試験 (ウサギ)

ウサギ (NZW 種、20 匹/群) の妊娠 6~20 日にメシル酸ダノフロキサシンを経口投与 (ダノフロキサシンとして 0、2.5、7.5 又は 15 mg/kg 体重/日、水溶液で投与) し、母動物は妊娠 28 日に帝王切開し、胎児を検査した。

不妊率が高かったために、新しい動物を異なる用量群に割り付け、対照群 : 32 匹、低用量 (2.5 mg/kg 体重/日) 群を 29 匹、中用量 (7.5 mg/kg 体重/日) 群を 33 匹及び高用量 (15 mg/kg 体重/日) 群を 39 匹とした。

母動物では、15 mg/kg 体重/日投与群において、摂餌量は妊娠 13~20 日に有意に減少した。11 回の投与で、摂餌量減少を伴う体重減少がみられ、その後妊娠 22~28 日の間に流産した。

同腹児数、性比、胎児体重並びに奇形及び変異の発現率に用量相関的な影響はみられなかった。(参照3)

本試験におけるNOAELは、7.5 mg/kg 体重/日と考えられた。

8. 光毒性について

光毒性反応がキノロン系抗菌剤の副作用として知られており、ダノフロキサシンの光毒性/光感受性効果を誘導する可能性が、その構造に基づき評価された。

光毒性及び光感受性は多くのキノロン系抗菌剤で生ずるといわれている。キノロン系抗菌剤の構造は、その活性、さらには副作用に直接関係する。光反応性とそれによる光毒性はほとんどがキノロン環の8位の影響を受ける。8位はN、CF及びCClのような反応性の高い基を有することで、生体内での薬効を左右する。キノロン系抗菌剤における最も高い光毒性は8位がハロゲンに置換されたときにみられ、最も低いものは8位がCO-Rの時にみられる。その毒性はCO-R < CCF₃ < CH < N < CCl ≤ CFの順に高くなる。

雌のマウス (Balb/c) を用いた、キノロン系抗菌剤の構造と毒性の関連性を調査するいくつかの研究が行われている。

シプロフロキサシン、エノキサシン、フレロキサシン、ガチフロキサシン、ロメフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン及びスパルフロキサシンを静脈内投与 (100 mg/kg 体重) し、その光毒性を比較した。投与直後に紫外線 A (21.6 J/cm²) を4時間照射し、投与96時間後に耳介の厚さの計測及び病理組織学的検査を実施した。各キノロン系抗菌剤による耳介病変の重篤度は、対照群 (溶媒投与、光毒性なし) = ガチフロキサシ

ン＝オフロキサシン<シプロフロキサシン＝ノルフロキサシン<エノキサシン＝フレロキサシン<ロメフロキサシン＝スパルフロキサシンの順に高くなった。

構造と光毒性の関連性の観点から、8 位に F 又は H 及び 1,8-ナフチリジン誘導体の置換基を有するキノロン系薬剤は、マウス耳介に光毒性を誘導したものと考えられた。これらの研究結果により、キノロン系薬剤によって誘導される光毒性は、キノロン環の 8 位の置換基に関連することが証明された。

ダノフロキサシンの光毒性/光感受性を評価する試験は実施されていないが、上述の構造と光毒性関係から、ダノフロキサシンの光毒性/光感受性誘導の可能性が評価される。ダノフロキサシンが 8 位にハロゲンを持していない事実に基づいて、光毒性は最小と考えられた。(参照 9)

9. 微生物学的影響に関する試験

(1) ヒト由来臨床分離菌に対する MIC①

ヒト腸内嫌気性菌の代表的な 6 菌種 64 株 (*Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium* 及び *Peptostreptococcus*) に対するダノフロキサシンの MIC₅₀ が調べられた。さらに、通性嫌気性菌である *Lactobacillus*, *Proteus* 及び *Escherichia coli* のデータも得られた。*Escherichia coli* ATCC 25922 及び *Enterococcus faecalis* ATCC 29242 は参照株として加えられた。求められた MIC₅₀ を表 28 に、参照株の MIC を表 29 に示した。

表 28 ヒト腸内の代表的菌種に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の MIC₅₀

菌種	株数	接種濃度 (CFU/mL)	MIC ₅₀ (μg/mL)	
			ダノフロキサシン	脱メチル化体
嫌気性菌				
<i>Bacteroides fragilis</i> group	12	10 ⁷ ~10 ⁸	4	128
<i>Fusobacterium</i> sp.	10		4	16
<i>Clostridium</i> sp.	10		0.5	0.5
<i>Eubacterium</i> sp.	10		0.5	1
<i>Bifidobacterium</i> sp.	10		2	8
<i>Peptostreptococcus</i> sp.	12		0.5	2
通性嫌気性菌				
<i>Lactobacillus</i> sp.	14	10 ⁶	16	>128
<i>Proteus</i> sp.	11	10 ⁶	0.25	0.06

表 29 参照株に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の MIC (µg/mL)

菌種	嫌気性培養		好気性培養	
	ダノフロキサシン	脱メチル化体	ダノフロキサシン	脱メチル化体
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	0.06	0.06	0.03	0.015
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29242	1	4	2	1

代謝物である脱メチル化体は、同じ分離菌に対してダノフロキサシンの 4 分の 1 から 2 分の 1 の活性を示した。(参照 3)

(2) ヒト由来臨床分離菌に対する MIC②

ヒト腸内嫌気性細菌叢の分離菌における MIC₅₀ を調べた結果、最も小さい MIC₅₀ は、*Eubacterium* sp.及び *Peptostreptococcus* sp.の 0.5 µg/mL であった。(参照 10)

10. 一般薬理試験

非 GLP 試験であるが、ダノフロキサシンを用いた数種類の薬理学的試験が実施されており、表 30 に主要な特性を示した。(参照 3)

表 30 ダノフロキサシンの薬理学的試験結果

対象	用量 (mg/kg 体重/日) 及び投与方法	結果
ラット (SD 系、6 匹/群)	0、5、10、20 蒸留水に溶かして、経口投与	有意な利尿効果なし
イヌ (ビーグル種、雌雄各 2 匹/群)	5 静脈内投与	2 例で血圧、心拍出量、左心室内圧、左心室拡張末期圧の一時的な軽度の低下 心電図の波形に影響なし
ラット (SD 系、雄 3 匹/群)	1、10、100、1,000 経口投与	100：中枢及び末梢神経系に影響なし 1,000：流涎及び振戦
マウス (CD-1 系、雄 8 匹/群)	0、5、10、20 蒸留水に溶かして、経口投与 (陽性対照：硫酸モルヒネ 4 mg/kg 体重/日投与)	溶媒対照と比べ、消化管運動性が 18、27、23 %低下
ラット (SD 系、幽門結さつ雄 8 匹/群)	0、5、10、20 溶液 a を十二指腸内投与 (陽性対照：シメチジン 10 mg/kg 体重/日投与)	全投与群で胃液量の増加 (用量相関的ではない) 全投与群で酸性度の増強

a：溶媒は、一部は 0.25 %メチルセルロース、他は蒸留水

1 1. その他

(1) 皮膚刺激性試験（モルモット）

Buehler の閉塞パッチ法を用いた試験で、メシル酸ダノフロキサシンは、モルモットに遅延型接触性過敏症を引き起こすことはなかった。既知の増感物質であるジニトロクロロベンゼンを使用した場合は、明らかな陽性結果が得られた。（参照 3）

(2) 皮膚刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（NZW 種、3 匹）の健常皮膚部位及び角質層を除去した損傷皮膚部位を設け、メシル酸ダノフロキサシンの皮膚一次刺激性試験が実施された。メシル酸ダノフロキサシン（ダノフロキサシンとして 5.0 g/匹）を蒸留水で湿潤させて、各部位に塗布し、ガーゼで 24 時間覆った後、皮膚反応を 6 日間観察した。

健常皮膚群では、軽度の紅斑が 2～3 日間みられたが、浮腫等はみられなかった。

損傷皮膚群では、健常皮膚に比べてわずかに強い紅斑が観察期間終了までみられたが、浮腫はみられなかった。（参照 5）

(3) 眼刺激性試験（ウサギ）

ウサギ（NZW 種、3 匹）を用いたメシル酸ダノフロキサシンの眼刺激性試験が実施され、左側結膜嚢に 0.1 mL（ダノフロキサシンとして 26 mg/匹）を点眼した。点眼後、眼は洗浄しなかった。軽度の結膜炎及び無色の分泌物が投与後 1 時間以内にみられたが、全ての徴候は 96 時間以内に消失した。（参照 3）

1 2. ヒトにおける知見

ダノフロキサシンはヒト用医薬品として承認されておらず、ヒトにおける知見は得られていない。（参照 3）

III. 食品健康影響評価

1. JECFA における評価

JECFA では、毒性学的 ADI としては、約 5 か月齢のイヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における関節症から得られた NOAEL 2.4 mg/kg 体重/日に安全係数 100 を適用し、有効数字を一桁として 0.02mg/kg 体重/日の ADI を設定した。

微生物学的 ADI については、ヒト消化管由来の最も感受性の高い菌 (*Eubacterium* sp., *Bifidobacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp.) の 32 株のデータから求められた平均 MIC₅₀ (1 µg/mL) を用いて、次に示す式から算出した。（参照 3）

$$\text{ADI} = \frac{1^a \times 220^b}{0.1^c \times 1^d \times 60^e} = 0.037 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a : ヒト消化管における最も感受性の高い関連菌 (*Eubacterium* sp., *Bifidobacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp.) における平均 MIC₅₀

b : ヒト結腸内容物の量 (g)

- c : 豚を用いた経口投与試験 (5 mg/kg 体重) で約 90 %が吸収されたことに基づき、利用可能な腸内細菌叢の経口分画は約 10 %とされた。ダノフロキサシンは牛の糞と強く結合するという所見が得られていることから、この値を用いることの信頼性は高いとみなされる。
- d : 十分な関連菌のデータが得られていることから、安全係数は 1
- e : 成人体重 (kg)

JECFA では、ダノフロキサシンが好気性グラム陰性菌に抗菌活性を示すものであり、ヒト腸管細菌叢の主要構成菌にはほとんど影響を及ぼさないフルオロキノロン系の抗菌性物質であることから、ダノフロキサシンの腸内細菌叢への影響ではなく、毒性に基づいた ADI を設定することとした。結果的に毒性学的 ADI の方が微生物学的 ADI より低かった。

さらに、JECFA では、脱メチル化体を用いたイヌの 3 か月間亜急性毒性試験における関節症から得られた NOAEL 0.25 mg/kg 体重/日に注目した。薬理学的試験及び代謝試験から、ダノフロキサシンを経口投与されたイヌは全身的に代謝物である脱メチル化体に暴露されることが示された。ダノフロキサシンの約 10 倍の毒性を有する代謝物である脱メチル化体を考慮して MRL を設定しなければならないが、脱メチル化体の ADI を別に算出する必要はないと結論付けられた。(参照 3)

2. EMEA における評価

EMEA では、JECFA の評価を追認し、子イヌを用いた 3 か月間反復投与試験における関節症から得られた NOAEL 2.4 mg/kg 体重/日と安全係数 100 に基づき、ダノフロキサシンの毒性学的 ADI として 0.024 mg/kg 体重/日 (1.44 mg/ヒト/日) が設定され、ダノフロキサシンの ADI として採用された。EMEA では、ADI を有効数字を一桁にする必要はないと考えられた。

微生物学的 ADI については、ヒトの正常腸内細菌叢に存在する代表的な数菌種に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の *in vitro* の MIC データから、0.25 µg/mL (*Proteus* sp.) が最も感受性の高い菌種の MIC₅₀ であると結論付け、CVMP の公式に基づき、次のように算出されている。

$$\text{ADI} = \frac{\frac{0.25}{1^a} \times 150^b}{\frac{0.11^c}{100^d} \times 60^e} = 0.6 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a : 全菌種の幾何平均ではなく、最も感受性の高い菌種の MIC が使用されたことから CF1=1

b : ヒトの 1 日当たりの糞便量 (g)

c : 消化管の遠位部で利用可能な経口用量の分画 (豚への経口投与後の生物学的利用率が 89 %であったことに基づく)

d : ダノフロキサシンは、糞と強固に結合することが示され (K_{ads} 吸収定数は 540.7)、糞中に存在するダノフロキサシンの 1 %未満しか吸収されないか、又は利用可能ではないことから、消化管の遠位部で利用可能な経口用量の分画を 100 で除す。

e： 成人体重 (kg)

微生物学的 ADI は毒性学的 ADI より高値であった。(参照 4)

3. 毒性学的 ADI について

ダノフロキサシン及び脱メチル化体については、*in vitro* 及び *in vivo* の各種遺伝毒性試験が実施され、いずれも *in vitro* 試験の一部で陽性であったが、*in vivo* 試験では全て陰性であったことから生体にとって問題となるような遺伝毒性はないと考えられ、また、マウス及びラットを用いた慢性毒性/発がん性併合試験において発がん性が認められていないことから、ダノフロキサシンは遺伝毒性発がん物質ではないと考えた。

報告されている各種毒性試験で得られた最小の NOAEL は、イヌを用いた 3 か月間亜急性毒性試験における関節症から得られた 2.4 mg/kg 体重/日であった。

毒性学的 ADI を設定するに当たっては、この NOAEL に安全係数 100 (種差 10 及び個体差 10) を適用して 0.024 mg/kg 体重/日を毒性学的 ADI として設定することが適切であると考えられた。

ダノフロキサシン脱メチル化体の最小の NOAEL は 0.25 mg/kg 体重/日で、ダノフロキサシンより低い値であったが、薬物動態試験及び代謝試験の結果から、ダノフロキサシンの経口投与を受けた場合、その主な代謝物である脱メチル化体にも同時に暴露されており、脱メチル化体について別に ADI を設定する必要はないものと考えた。

4. 微生物学的 ADI について

微生物学的 ADI の設定に関して、利用可能なデータはヒト腸内の代表的菌種に対するダノフロキサシン及び脱メチル化体の MIC₅₀ のみである。

in vitro 試験の MIC データにおいて、ヒト腸内嫌気性菌の最小の MIC₅₀ は、*Eubacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp. の 0.5 µg/mL であり、この値を用いて微生物学的 ADI を算出した。(参照 10)

$$\text{ADI} = \frac{0.5^a \times 220^b}{0.1^c \times 1^d \times 60^e} = 0.018 \text{ mg/kg 体重/日}$$

a：ヒト消化管内優性細菌叢で最も感受性の高い菌属 (*Eubacterium* sp. 及び *Peptostreptococcus* sp.) の MIC₅₀

b：ヒト結腸内容物の量 (g)

c：豚を用いた経口投与試験 (5 mg/kg 体重) で約 90 % が吸収されたことに基づき、利用可能な腸内細菌叢の経口分画は約 10 % とされた。ダノフロキサシンは牛の糞と強く結合するという所見が得られていることから、この値を用いることの信頼性は高いとみなされる。

d：十分な関連菌のデータが得られていることから、安全係数は 1

e： 成人体重 (kg)

5. ADI の設定について

ダノフロキサシンについては、遺伝毒性発がん物質ではないと考えられることから、ADI の設定は可能であると考えた。

微生物学的 ADI (0.018 mg/kg 体重/日) は、毒性学的 ADI (0.024 mg/kg 体重/日) よりも小さいため、ダノフロキサシンの ADI として次の値を採用することが適当と考えられる。

ダノフロキサシン 0.018 mg/kg 体重/日

暴露量については、当評価結果を踏まえ暫定基準値の見直しを行う際に確認することとする。また、残留基準を見直すに当たっては、代謝物であるダノフロキサシン脱メチル化体の毒性がダノフロキサシンの 10 倍であることを考慮する必要がある。

表 31 JECFA 及び EMEA における各種試験の無毒性量等の比較

動物種	試験	投与量 (mg/kg 体重/日)	無毒性量 (mg/kg 体重/日)	
			JECFA	EMA
マウス	2 年間慢性毒性/発がん性併合	0、10、50、100 混餌	— 100 雌：体重増加 発がん性なし	— 50 以上：生存率 50 %未満 発がん性なし
	発生毒性	0、50、100、200 経口	100 200 母動物：体重増加抑制 200 胎児：胎児体重減少、 骨化遅延発現増加 催奇形性なし	100 200：母体毒性、胎児体重 減少、骨化遅延 催奇形性なし
ラット	1 か月間亜急性毒性	0、25、75、150 経口	— 150 雌：ALT 増加 150 雄：肝臓重量減少	2.5 雌：タンパク尿の用量相 関的增加（尿細管腎症と 関連性） — 投与の影響なし
	3 か月間亜急性毒性	0、25、75、150 経口	— 25 以上雌：尿細管性腎症	
	3 か月間亜急性毒性	0、1、2.5、6.25 経口	6.25 投与の影響なし	
	3 か月間亜急性毒性	0、1、2.5、6.25 経口 脱メチル化体	6.25 投与の影響なし	
	2 年間慢性毒性/発がん性併合	0、10、50、100 混餌	— 50 以上雄：ソルビトール 脱水素酵素増加 発がん性なし	— 生存率：50 %未満 100 雌：血液学的検査のパ ラメータの低値 100 雄：AST 上昇 発がん性なし
	2 世代生殖毒性	0、25、75、150 経口	— 150 母動物：体重増加抑 制、着床部位数減少、出生 児数減少	
	3 世代生殖毒性	25 経口	— F ₃ 世代：着床後胚死亡増 加	

ラット (続き)	3 世代生殖毒性	0、1、2.5、6.25、150 経口	6.25 150 親動物：交尾率低下、 妊娠率低下、妊娠期間延長 150 児動物：同腹児数減少、 出生児体重減少、新生児の 体重増加抑制及び生後 4 日 生存児数減少	6.25 (ダノフロキサシン及び 脱メチル化体) 高用量親動物：繁殖への悪 影響 高用量児動物：同腹児数の 減少、体重及び生存率への 影響
	3 世代生殖毒性	0、1、2.5、6.25、150 経口 脱メチル化体	— 投与の影響なし	6.25 (ダノフロキサシン及び 脱メチル化体) 高用量親動物：繁殖への悪 影響
	発生毒性	0、50、100、200 経口	50 100 母動物：体重増加抑制 100 胎児：胎児体重減少、 骨化遅延増加、脳室拡張発 現増加	高用量児動物：同腹児数の 減少、体重及び生存率への 影響 50 100：体重増加抑制 100 以上胎児：脳室拡張、 骨化遅延
ウサギ	発生毒性	0、2.5、7.5、15 経口	7.5 15 母動物：平均摂餌量及び 体重の減少	7.5 15 母動物：平均摂餌量減少、 流産発生率の高値 催奇形性なし
イヌ	3 か月間亜急性毒性	0、1、2.4、5、10、 25 経口	2.4 >5：関節軟骨解離、軟骨 減少（糜爛）	2.4 典型的なキノロン系抗菌 性物質誘発病変
	3 か月間亜急性毒性	0、0.25、0.5、5、10 経口 脱メチル化体	0.25 0.5：膝蓋骨窩関節糜爛	0.25 典型的なキノロン系抗菌 性物質誘発病変
毒性学的 ADI			0.02 mg/kg 体重/日	0.024 mg/kg 体重/日
毒性学的 ADI の設定根拠			NOAEL：2.4 mg/kg 体重/ 日 SF：100 イヌ 3 か月間亜急性毒性 試験における関節軟骨解 離、軟骨減少	NOAEL：2.4 mg/kg 体重/ 日 SF：100 イヌ 3 か月間亜急性毒性 試験における関節症

微生物学的 ADI	0.037 mg/kg 体重/日	0.6 mg/kg 体重/日
微生物学的 ADI の設定根拠	MIC₅₀ : 1 µg/mL ヒト消化管由来の最も感受性の高い菌 (<i>Eubacterium</i> sp., <i>Bifidobacterium</i> sp., <i>Peptostreptococcus</i> sp.) の平均 MIC₅₀ (JECFA 算出式)	MIC₅₀ : 0.25 µg/mL 最も感受性の高い菌種 (<i>Proteus</i> sp.) の MIC₅₀ (CVMP 算出式)

〈別紙 検査値等略称〉

略称	名称
ADI	一日摂取許容量
A/G 比	アルブミン/グロブリン比
ALP	アルカリホスファターゼ
ALT	アラニンアミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT))
AST	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (=グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ(GOT))
AUC	薬物濃度曲線下面積
BUN	血中尿素窒素
CFU	コロニー形成単位
CHO 細胞	チャイニーズハムスター卵巣由来細胞
C _{max}	最高濃度
C _{ss}	定常時血中濃度
CVMP	欧州医薬品審査庁動物用医薬品委員会
EMA	欧州医薬品審査庁
Glob	グロブリン
GLP	医薬品安全性実施基準
Hb	ヘモグロビン (血色素量)
HPLC	高速液体クロマトグラフィー
Ht	ヘマトクリット値
JECFA	FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議
kel	消失速度定数
LD ₅₀	半数致死量
LSC	液体シンチレーション計測 (計数)
MIC	最小発育阻止濃度
MIC ₅₀	50 %最小発育阻止濃度
MRL	最大残留基準値
NOAEL	無毒性量
PLT	血小板
R	アルキル基
T _{1/2}	消失半減期
TP	総タンパク質
WBC	白血球数

〈参照〉

1. 食品、添加物等の規格基準（昭和 34 年厚生省告示第 370 号）の一部を改正する件（平成 17 年 11 月 29 日 厚生労働省告示第 499 号）
2. The Merck Index, 14th Edition, 2006
3. JECFA : Toxicological evaluation of certain veterinary drug residues in food WHO FOOD ADDITIVES SERIES No.39, 1997
4. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS , DANOFLOXACIN , SUMMARY REPORT (2), 1997
5. ファイザー株式会社：平成 20 年度残留基準見直しに関する資料（非公表）
6. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS , DANOFLOXACIN(extension to pigs) , SUMMARY REPORT(2) , 1999
7. JECFA : EVALUATION OF CERTAIN VETERINARY DRUG RESIDUES IN FOOD : WHO Technical Report Series 879, 1998
8. EMEA : COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS , DANOFLOXACIN (extension to milk), SUMMARY REPORT , 1998
9. Pfizer : Potential Phototoxicity/Photosensitivity Effects of Danofloxacin, 2006
10. 薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会乳肉水産食品部会残留動物用医薬品調査会報告（平成 15 年）