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

トリクラベンダゾール.

平成 24 年 1 月

株式会社三菱化学テクノリサーチ

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、トリクラベンダゾール.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「EMEA」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ノリサーチ

目　次

トリクラベンダゾール.

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（1992 年） 9
3.2　JECFA（1992 年） 31
3.3　JECFA（2006 年） 55
3.4　JECFA（2009 年） 79
3.5　EMEA（1996 年） 133
3.6　EMEA（1997 年） 143
3.7　EMEA（1998 年） 161
3.8　EMEA（2006 年） 167

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
トリクラベンダゾール.

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、これらのうちトリクラベンダゾール.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ロール（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・抗原虫剤
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

番号	物質名	主な用途
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
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	ビオレスメトリン	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	フルメトリン	農薬/動物薬・殺虫剤
33	ブロモプロピレート	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	メトロニダゾール	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

トリクラベンダゾール.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JECFAとEMEAにおける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	1992	FNP 41/5-JECFA 40/63, 1992
JECFA	1992	FAS 31-JECFA 40/63, 1992
JECFA	2006	FNP 2/2006, 2006
JECFA	2009	FNP 6/2009, 2009
EMEA	1996	Committee for Veterinary Medicinal Products, Triclabendazole, Summary Report (1), 1996
EMEA	1997	Committee for Veterinary Medicinal Products, Triclabendazole, Summary Report (3), 1997
EMEA	1998	Committee for Veterinary Medicinal Products, Triclabendazole, Summary Report (2), 1998
EMEA	2006	Committee for Veterinary Medicinal Products, Triclabendazole (Modification of Maximum Residue Limits), Summary Report (4), 2006

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. 評価書和訳

以下に評価書の指定箇所の全和訳を、評価書ごとに掲載した。

トリクラベンダゾール　評価書和訳と情報整理

JECFA　1992

ウェブサイト：ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/6-2009-triclabendazole.pdf

FNP 6/2009, 2009

トリクラベンダゾール 評価書和訳と情報整理 JECFA(1992) 目次

識別及び性状に関するその他の情報(原文 p.63) 13
食品中の残留物とその評価(原文 p.64) 13
使用条件(原文 p.64) 13
概要(原文 p.64) 14
用量(原文 p.64) 14
代謝(原文 p.65) 14
概要(原文 p.65) 14
ラット(原文 p.65) 15
ウサギ(原文 p.66) 15
イヌ(原文 p.66) 15
羊及びヤギ(原文 p.66) 16
牛(原文 p.67) 16
豚(原文 p.67) 16
馬、小馬、ロバ(原文 p.67) 17
組織残留消失試験(原文 p.68) 17
放射能標識残留消失試験(原文 p.68) 17
ラット(原文 p.68) 17
羊及びヤギ(原文 p.68) 17
牛(原文 p.71) 19
羊及びヤギ(原文 p.71) 20
牛(原文 p.74) 23
バイオアベイラビリティ(原文 p.76) 25
羊及びヤギ(原文 p.76) 25
組織残留物の分析方法(原文 p.77) 26
評価(原文 p.80) 28
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 1992) 30
略称 30

原文 目次

原文ページ

識別 ……63
識別及び性状に関するその他の情報 ……63
食品中の残留物とその評価 ……64
使用条件 ……64
代謝 ……65
組織残留消失試験 ……68
その他の残留消失試験 ……71
バイオアベイラビリティ ……76
組織残留物の分析方法 ……77
評価 ……80
引用文献 ……82

IDENTITY ……63
OTHER INFORMATION ON IDENTITY AND PROPERTIES ……63
RESIDUES IN FOOD AND THEIR EVALUATION ……64
CONDITIONS OF USE ……64
METABOLISM ……65
TISSUE RESIDUE DEPLETION STUDIES ……68
OTHER RESIDUE DEPLETION STUDIES ……71
BIOAVAILABILITY ……76
METHOD OF ANALYSIS FOR RESIDUES IN TISSUES ……77
APPRAISAL ……80
REFERENCES ……82

識別

化学名:トリクラベンダゾール
CAS 番号:68786-66-3

CAS 名:
5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-2-メチルチオ-1H-ベンズイミダゾール
6-クロロ-5-(2,3-ジクロロフェノキシ)-2-メチルチオ-ベンズイミダゾール
異名:
Fasinex®、Fascinex®、Fanex®、Soforen®、
レバミゾール含有:Endex®、Combinex®、Parsifal®

構造式:
分子式:$C_{14}H_9Cl_3N_2OS$
分子量:359.66

識別及び性状に関するその他の情報(原文 p.63)

純活性成分
外観:
白色の細結晶性粉末で、においはないか、あってもごくわずか。
融点:
175°C(α 像)、162°C(β 像)
溶解性:
テトラヒドロフラン、シクロヘキサノン(45.0%)、アセトン(16.0%)、イソプロパノール(12.5%)、n-オクタノール(17.5%)に溶けやすい。
メタノール(5.5%)にやや溶けやすい。
ジクロロメタンにやや溶けにくい。
クロロホルム、トルエン(0.9%)、キシレン(0.8%)、酢酸エチルに溶けにくい。
水、ヘキサンにほとんど溶けない。
オクタノール/水分配係数:約 1.75×10^6

食品中の残留物とその評価(原文 p.64)

使用条件(原文 p.64)

概要（原文 p.64）

トリクラベンダゾールは、ベンズイミダゾールというよく知られ、広く使用されている化学分類に属する化合物である。化学構造及び薬理学的特性において、チアベンダゾール、フェンベンダゾール、オキシベンダゾール、メベンダゾール、フェバンテルのような他の化合物に関係している。

トリクラベンダゾールは、牛、野牛、羊及びヤギにおける肝吸虫症の幼若・若齢動物実質期及び成獣胆管期の治療・管理に使用される駆虫薬である。肝蛭（*Fasciola hepatica*）及び巨大肝蛭（*F. gigantea*）に対して集中した狭い活性スペクトルを有する。巨大肝吸虫（*Fascioloides magna*）や肺吸虫属（*Paragonimus*）に対しても有効性が記録・確認されている。線虫に対しては活性がない。牛及び野牛の推奨治療用量は、トリクラベンダゾールとして 12 mg/kg 体重である。羊及びヤギの推奨治療用量は、トリクラベンダゾールとして 10 mg/kg 体重である。肝吸虫の活動期を通して 8～10 週間隔で反復投与する。春季の投与は、その年の秋に放牧地での外寄生を抑えるのに役立つ。急性/亜急性の大発生に際しては、診断後直ちに投与すべきである。羊及びヤギの群れにはその後、5 週間隔で反復投与すべきである。牛及び野牛には、初回診断・投与の 6 週間後に 2 回目の投与を行うこと。新着動物はすべて、群れに加える前に投与すべきである。

用量（原文 p.64）

いくつかのトリクラベンダゾール製剤が食料生産動物の治療用に開発されている。これらの製剤には、懸濁液（羊・ヤギ用：5%、牛・野牛用：10%及び 12%［オーストラリア］）や錠剤（羊・ヤギ用：トリクラベンダゾールとして 250 mg、牛・野牛用：トリクラベンダゾールとして 900 mg）がある。さらに、トリクラベンダゾールはレバミゾールとの配合懸濁液として入手できる（羊用［8.75%］：5%トリクラベンダゾール＋3.75%レバミゾール、牛用［19.5%］：12%トリクラベンダゾール＋7.5%レバミゾール）。

代謝（原文 p.65）

概要（原文 p.65）

トリクラベンダゾールの吸収、分布、代謝及び排泄は広範囲に検討されており、牛と羊とでは質的に類似している。経口投与後、トリクラベンダゾールはその一部が消化管から吸収される。吸収後、トリクラベンダゾールとその代謝物の血中濃度は、同じ用量のフェンベンダゾール又はアルベンダゾールがもたらす血中濃度よりも高い。これは主として強いタンパク質結合によるものであり、それほどではないがフェンベンダゾール及びアルベンダゾールの吸収低下にも起因している（Mohammed-Ali 他 1986）。吸収されなかったトリクラベンダゾールは、未変化体又は未確認代謝物として糞中に排泄される。

吸収されたトリクラベンダゾールは循環血液に入り、肝臓で速やかに代謝される（Strong 他 1982a）。経口投与後、親化合物は通常、血液中に検出されない（Bull 及び Shume 1984）。代謝は 2 つの経路で進む。すなわち、メチルチオ基からスルホキシドへの速やかな酸化とそれに続くスルホキシドからスルホンへの比較的緩徐な酸化、及びジクロロフェノキシ環の 4 位のヒドロキシル化（胆汁中への直接分泌を伴う）である。親化合物であるトリクラベンダゾールの消失は、スルホキシド代謝物の出現よりもずっと速やかである。これは、スルホキシドへの転化時にトリクラベンダゾールが一時的に組織に結合し、その後にスルホキシド代謝物が循環血液中に放出されること

を示唆している(Hennessy 他 1987)。循環血液中のスルホキシド及びスルホン代謝物は血漿アルブミンに結合しており、胆汁中への排泄がいくらかある。確認された 5 つの代謝物が投与量の約 40～60%を占める。同じ代謝物がラット、羊及びヤギの糞中に確認されている。ただし、この 3 種の間には、代謝物の相対的比率に量的な差がある(Hamböck 1983)。

トリクラベンダゾールの消失は、投与後 10 日目までにほぼ完了する(Bull 及び Shume 1981)。吸収された物質の排泄は、主に胆汁を介して行われる。尿中排泄は投与量のごく一部を占めるにすぎない。

ラット(原文 p.65)

ラットへの ^{14}C 標識トリクラベンダゾール(0.52 及び 25.3 mg/kg 体重)経口投与後、放射能の 6%が尿中で回収され、90%が糞中に排泄される。^{14}C 標識トリクラベンダゾール 4.6 mg/kg 体重を 1 匹のラットに投与したとき、49 時間後までに投与量の 34%が胆汁中に排泄された(Hamböck 1983)。全体で、投与量の 96%以上をラットの排泄物及び呼気から回収可能である。

ラットの試験食餌糞検査(バランススタディ)において、経口投与量の大部分は投与後 6～10 日で排泄された(Mücke 1981、Reports 1991)。投与後 6 日目のと殺の際、投与量の約 1%がラットの体内に残っていた。放射能は、脂肪(放射能は検出されなかった)を除く組織にかなり均等に分布していた。用量及び性別は、どちらも分布パターンに影響を与えなかった。

ウサギ(原文 p.66)

雌ウサギを用いて、^{14}C 標識トリクラベンダゾール 3 mg/kg 体重による吸収及び体内動態が、静脈内投与後、ならびに 3 及び 26 mg/kg 体重の経口投与後に検討された(Reports DM 12/91 及び CRBR 22/1991)。

用量にかかわらず、トリクラベンダゾールはかなりの程度まで消化管から吸収された。代謝は速やかであり、血液中に親化合物はほとんど検出できなかった。スルホンの生成は、スルホキシドの生成よりも緩徐であった。

静脈内投与後も、経口投与後も、血液中の放射能物質は二相性の減少を示した。放射能の大部分は、胆汁を介して 72 時間以内に循環血液から消失した。7 日以内に排泄された放射能は、投与量の 80～93%を占めた。投与量のほとんどが糞中に排泄された。腎臓で排泄された代謝物は、主に抱合体であった。

経口投与の場合、3 mg/kg 体重と 26 mg/kg 体重の間で、代謝物への全身暴露量が用量の差に比べて過度に増加していた。この現象は、高いバイオアベイラビリティと併せて考えると、ウサギにおけるトリクラベンダゾールの高い急性毒性を説明しうる。

イヌ(原文 p.66)

トリクラベンダゾールの未変化体、スルホキシド代謝物及びスルホン代謝物の濃度がイヌの血漿及び尿において、^{14}C 標識トリクラベンダゾールの静脈内及び経口投与後に測定された(Report CRBR 25/91)。親化合物は血液中から速やかに消失し、そのスルホキシド及びスルホン代謝物に転化された。静脈内投与後も、経口投与後

も、スルホキシドは循環血液中の放射能の約 16%を占めた。0.5 mg/kg 体重の経口投与の後で、スルホキシドへの全身暴露量は静脈内投与の場合の 46%を示した。スルホンは緩徐に生成され、排泄された。イヌにおけるスルホンの割合は、ウサギにおけるよりも高かった。5 及び 40 mg/kg 体重での相対的バイオアベイラビリティは、0.5 mg/kg 体重での投与後のそれと同様であった。トリクラベンダゾールとその代謝物の腎排泄は、ごくわずかであった。

羊及びヤギ(原文 p.66)

羊と泌乳ヤギ各 1 頭に、標識トリクラベンダゾールを 10 mg/kg 体重の用量でゼラチンカプセルに入れて投与した。投与量の約 2%及び 3.5%がそれぞれ、投与を受けたヤギ及び羊の尿中で回収された。投与を受けた動物の糞は、投与量の 97%(ヤギ)～101%(羊)を含んでいた。乳は投与量の 0.5%を含んでいた。投与後 10 日目までに、回収はほぼ完了した(Hamböck 及び Strittmatter 1981/1982)。

^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重を投与した羊及びヤギの血液における総放射能の薬物動態パラメータを、非標識物質 10 mg/kg 体重による羊(Hamböck 1982、Strong 他 1983、Bull 1985)又は 12 mg/kg 体重によるヤギ(Kinabo 及び Bogan 1988)投与後のスルホキシド及びスルホンの動態パラメータと比較した。各時点の各代謝物の濃度の算術平均を表す積算曲線の値のばらつき、及び総放射能は、羊の集団で確認された値の範囲にある。

羊とヤギにおいて、吸収及び分布の 3 つの時期が確認できる。最初の時期は投与直後から 48 時間後まで続いた。第 2 期(48～168 時間後)では、排泄が一次速度論に従っており、見掛けの生物学的半減期はヤギで 22 時間、羊で 26 時間であった。第 3 期(168 時間後～)では、排泄はやはり一次速度論に従っているが、見掛けの生物学的半減期は羊で 45 時間、ヤギで 60 時間であった。乳中の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール総濃度は、常に血漿中残留物の約 10 分の 1 であった。

羊及びヤギにおけるバランススタディは、投与後 6～10 日で経口投与量の大半が(主に糞を介して)排泄されたことを示している(Hamböck 及び Strittmatter 1981/1982、Mücke 1981、Reports 1991)。確認された 5 つの代謝物は羊及びヤギにおいてそれぞれ、投与量の約 43%及び 45%を占める。羊における胆汁中代謝物は、主として 4-OH-トリクラベンダゾールの硫酸又はグルクロン酸抱合体、4-OH-トリクラベンダゾール-スルホキシド、及び 4-OH-トリクラベンダゾール-スルホンである(Hennessy 他 1987)。

牛(原文 p.67)

牛において、トリクラベンダゾールは静脈内投与後に速やかに代謝される。スルホキシド代謝物が速やかに生成され、投与後 4 時間で最高血中濃度に達する。スルホキシドの最終半減期は約 13 時間である。スルホンはより緩徐に生成される。最高血漿濃度が投与の 32 時間後に観測された。スルホンの最終消失半減期は 40 時間と算出されている(Bull 他 1986)。

豚(原文 p.67)

豚において、10 及び 30 mg/kg 体重の経口投与後にトリクラベンダゾール及びそのスルホキシド及びスルホン

代謝物の血漿濃度が測定された。親化合物の血漿濃度は、高い方の用量でのみ検出可能であった。スルホキシド代謝物は速やかに生成され、投与後 8 時間で最高血漿濃度に達した。スルホン代謝物はより緩徐に生成され、最高血漿濃度は投与の 12～24 時間後に生じた。スルホンはまた、より長い消失半減期を示した。豚における全体的な代謝は、反芻動物におけるよりも約 3 倍速かった（Galtier 及び Alvinerie 日付なし）。

馬、小馬、ロバ（原文 p.67）

馬、小馬（*Equus caballus*）及びロバ（*E. assinus*）に、トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を経口投与した。トリクラベンダゾールはいずれの血漿検体にも検出されなかった（Formica 1987、Kinabo 及び Bogan 1987、Tournayre 1986）。この 2 つの種において、スルホキシドの血漿濃度及び血漿濃度 - 時間曲線下面積（AUC）は同様であった。スルホキシドの濃度は、同じ用量でヤギ、羊及び牛において得られた濃度の約 33%である。スルホンの濃度及びAUCはロバにおいて、他の種におけるよりもずっと小さかった（Kinabo及びBogan 1987）。

組織残留消失試験（原文 p.68）

放射能標識残留消失試験（原文 p.68）

ラット（原文 p.68）

^{14}C 標識トリクラベンダゾールの経口投与の 6 日後、ラットをと殺して残留放射能を測定した。残留物濃度は、0.5 mg/kg 体重を投与したラットでは一様に低く、25 mg/kg 体重を投与したラットではそれ相応に高かった。放射能標識の臓器特異的蓄積はなく、投与量の約 1%が投与の 6 日後に動物に残留していた（Mücke 1981）。

羊及びヤギ（原文 p.68）

羊とヤギ各 1 頭にそれぞれ、^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10.12 及び 10.49 mg/kg 体重を単回経口投与した（Giannone 及び Formica 1981b、Giannone 及び Formica 1983a）。投与後 10 日目に動物をと殺した。採取した組織を十分にアルカリで可溶化し、ジクロロメタンの中へ分配した後、残留物を抽出した。総放射能のデータを表 1 に示す。

泌乳ヤギ 1 頭に ^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10.1 mg/kg 体重を単回経口投与した。血液及び乳中の放射能を 240 時間にわたって測定した。投与後 10 日目のと殺時に、特定組織中の放射能を測定した。血漿及び乳中の残留物を表 2 に示す（Hamböck 及び Strittmatter 1981）。組織残留物は表 1 に示したそれと同程度であった。

表 1:羊及びヤギ(それぞれ 10.49 及び 10.12 mg/kg 体重を経口投与)の組織中の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール残留物

動物	サンプル	全放射能	抽出した放射能		抽出できなかった放射能	
		mg/kg	mg/kg	%total	mg/kg	%total
羊	筋肉	0.58	0.011 0.020	l.9 3.6	0.53 0.56 0.56	91 96 96
	肝臓	1.84	0.13	7.2	1.66 1.72	90 93
	腎臓	1.11	0.14	12.9		
	脂肪	0.09	0.012	13.0		
ヤギ	筋肉	0.44	0.009	2.0		
	肝臓	1.00	0.075 0.069	7.5 6.9		
	腎臓	0.69	0.05	7.2		
	脂肪	0.08	0.005	6.0		

表 2:^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10.1 mg/kg 体重を投与した泌乳ヤギの血漿及び乳中の放射能濃度(トリクラベンダゾール当量として、単位:ppm)

採取(時間)	トリクラベンダゾール当量(ppm)	
	血漿	乳汁
8	15.75	0.529
24	22.78	1.788
48	15.30	1.375
72	7.28	0.771
96	3.17	0.372
120	1.28	0.158
144	0.52	0.072
168	0.26	0.039
176	NA	0.027
192	0.15	0.020
200	NA	0.020
216	0.11	0.016
224	NA	0.014
239	0.09	0.012

羊 1 頭に ^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10.5 mg/kg 体重を単回経口投与した。血液中の放射能を 240 時間測定した。一次排泄による半減期は、投与の 48 時間後から 200 時間後までは 26 時間、200 時間後から 240 時間後（検体採取終了時）までは 45 時間であった。投与後 10 日目に羊をと殺し、特定組織中の残留物を測定した。血漿中の放射能濃度を表 3 に示す（Hamböck 及び Strittmatter 1982）。組織残留物は表 1 に示したそれと同程度であった。

表 3：^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10.5 mg/kg 体重を投与した羊の血漿中の放射能濃度（トリクラベンダゾール当量として、単位：ppm）

採取（時間）	トリクラベンダゾール当量 (ppm)
1	0.05
4	5.16
8	13.62
24	27.04
48	22.08
72	12.14
96	6.08
120	3.00
144	1.62
168	0.71
192	0.37
216	0.22
239	0.11

牛（原文 p.71）

反芻中の未経産牛 2 頭に ^{14}C 標識トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口投与した。投与後 28 及び 42 日目に動物をと殺した（Downs 他 1991）。総残留物を表 4 に示す。

表 4:^{14}C 標識トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口投与した牛の組織中の放射能濃度(トリクラベンダゾール当量として、単位:ppm)

休止 (日)	肝臓	腎臓	筋肉	脂肪
28	0.241 ± 0.013	0.106 ± 0.016	0.131 ± 0.017	0.013 ± 0.003
42	0.093 ± 0.009	0.069 ± 0.011	0.097 ± 0.007	< 0.008 ± 0.001

その他の残留消失試験 (原文 P.71)

羊及びヤギ(原文 p.71)

泌乳ヤギでは、トリクラベンダゾール 10.12 mg/kg 体重の経口投与後の乳にトリクラベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物が存在する。投与後 96 時間、トリクラベンダゾールの未変化体を乳検体中に検出できる。スルホキシド代謝物とスルホン代謝物はともに、投与後 24 時間でそれぞれの最高乳中濃度に達し、その後は減少する(Giannone 及び Formica 1981a)。

羊 16 頭にトリクラベンダゾール 10 又は 15 mg/kg 体重を単回経口投与した。酸化によって 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one(MR)になるトリクラベンダゾール及びその代謝物の残留物を測定する方法により、「総」残留物を算定した。「総」残留物は、1.0913 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算される。10 mg/kg 体重を投与した羊では投与後 2、7、14、21 又は 28 日目に、15 mg/kg 体重を投与した羊では投与後 7 及び 14 日目に残留物を測定した(Giannone 及び Formica 1983a)。試験の結果を表 5 に示す。

表 5:トリクラベンダゾール 10 又は 15 mg/kg 体重を単回経口投与した羊の組織における総残留物

投与 mg/kg	投与後の日数	残留物 (mg)トリクラベンダゾール当量/kg)			
		筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照群		< 0.029	< 0.047	< 0.029	< 0.029
10	2	1.1 1.5	3.0 4.0	2.8 3.4	1.6 1.1
10	7	0.16 0.19	0.54 0.66	0.34 0.42	0.043 0.050
10	14	0.17 0.13	0.46 0.20	0.35 0.15	< 0.029 < 0.029
10	21	0.092 0.085	0.18 0.17	0.15 0.15	< 0.029 < 0.029
10	28	0.083 0.14	0.074 0.18	0.11 0.12	< 0.029 < 0.029
15	7	0.43 0.31	1.2 1.3	0.79 0.82	0.11 0.14
15	14	0.15 0.13	0.33 0.44	0.19 0.22	0.029 < 0.029

別の試験において、羊 18 頭にトリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重を単回経口投与した。投与後 2、7、14、21、28、42 又は 56 日目に動物をと殺した。総残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one として測定し、1.0913 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算した(Giannone 及び Formica 1983e)。羊組織中の残留物を表 6 に示す。

表 6:トリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重を単回経口投与した羊の組織における総残留物

投与後の日数	残留物 (mg トリクラベンダゾール当量/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
7	0.30	0.62	0.28	0.071
	0.19	0.49	0.40	0.061
	0.20	0.52	0.20	0.088
14	0.25	NA	0.14	< 0.03
	0.15	0.24	0.14	< 0.03
	0.16	0.21	0.11	< 0.03
21	0.16/0.14	0.16	0.097	< 0.03
	0.15	0.11	0.11	< 0.03
	0.12	0.12	0.07	< 0.03
28	0.13	0.070	0.052	< 0.03
	< 0.095	0.098	0.048	< 0.03
	0.082	0.061	0.048	< 0.03
42	0.036	< 0.03	< 0.044	< 0.03
	0.043	0.03	< 0.03	< 0.03
	0.061/0.058	< 0.03	< 0.03	< 0.03
56	0.092	NA	< 0.03	< 0.03
	0.070	< 0.03	< 0.03	< 0.03
	0.070/0.066	< 0.03	< 0.03	< 0.03

トリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重を経口投与した羊 1 頭を含む試験において、トリクラベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物の血漿濃度が個別に定量された。親化合物は試験中、いずれの時点でも検出されなかった。スルホキシド代謝物は投与後 24 時間で、スルホン代謝物は投与後 48 時間で最高濃度に達した。スルホキシド及びスルホンの複合最終消失期から、消失半減期は約 30 時間と算出された(Alvinerie 及び Galtier 1986)。

羊 12 頭に 8.75% ENDEX®懸濁液(トリクラベンダゾール 10 mg＋塩酸レバミゾール 7.5 mg)を 17.5 mg/kg 体重の用量で単回経口投与した。別に未経産牛 2 頭を対照として使用した。投与後 1、21 及び 28 日目に動物をと殺した。結果を表 7 に示す。総残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one として測定し、1.0913 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算した(Lanter 1989a)。

表 7:8.75% ENDEX を投与した羊の組織における総残留物(トリクラベンダゾール当量/kg として)

投与後の日数	残留物 (mg トリクラベンダゾール当量/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照群	< 0.04	< 0.05	< 0.04	< 0.05
1	2.2	5.4	6.2	13.4
	2.1	8.9	6.2	10.7
	2.3	7.6	8.7	8.8
	1.7	7.8	6.0	7.6
21	0.16	0.25	0.17	< 0.05
	0.15	0.15	0.13	< 0.05
	0.15	0.24	0.12	< 0.05
	0.09	0.16	0.07	< 0.05
28	0.10	0.11	0.07	< 0.05
	0.19	0.10	0.06	< 0.05
	0.14	0.11	0.07	< 0.05
	0.17	0.18	0.06	< 0.05

牛(原文 p.74)

牛 12 頭にトリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口投与した。投与後 2、7、14、21 又は 28 日目に動物をと殺した。総残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one として測定し、1.0913 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算した(Giannone 及び Formica 1983c)。牛組織中の残留物を表 8 に示す。

表 8:トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口投与した牛の組織における総残留物

投与後の日数	残留物 (mg トリクラベンダゾール当量/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照群	< 0.03	< 0.03	< 0.046	< 0.03
2	1.01	2.9	2.8	1.7
	0.74	3.6	3.3	1.9
7	0.14	0.43	0.41	0.088
	0.16	0.44	0.52	0.079
14	0.080	0.096	0.14	< 0.03
	0.064	0.17	0.16	< 0.03
21	0.056	0.089	0.068	< 0.03
	0.065	0.12	0.092	< 0.03
28	0.044	0.055	0.049	< 0.03
	< 0.03	0.048	0.046	< 0.03

別の試験（Formica 1984）において、牛 10 頭にトリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口投与した。投与後 2、7、14、28 又は 42 日目に動物をと殺した。総残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンとして測定し、1.0913 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算した。結果を表 9 に示す。

表 9:トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口投与した牛の組織における総残留物

投与後の日数	残留物 (mg トリクラベンダゾール当量/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照群	< 0.04	< 0.04	< 0.03	< 0.06
2	1.42	7.46	4.33	2.55
	1.42	4.28	4.26	2.39
7	0.34	1.0	0.70	0.11
	0.24	0.58	0.68	0.15
14	0.20	0.61	0.29	0.07
	0.19	0.35	0.28	< 0.05
28	0.09	0.17	0.09	< 0.06
	0.10	0.15	0.11	< 0.05
42	0.11	0.07	0.08	< 0.06
	0.09	0.09	0.07	< 0.05

ホルスタイン種の未経産牛 12 頭に 19.5% ENDEX®懸濁液（トリクラベンダゾール 12 mg＋塩酸レバミゾール 7.5 mg）を単回経口投与した。この他に未経産牛 2 頭を対照として使用した。投与後 1、21 及び 28 日目に動物をと殺した。結果を表 10 に示す。総残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンとして測定し、1.0913 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算した（Lanter 1989b）。

表 10:19.5% ENDEX を投与した牛の組織における総残留物(トリクラベンダゾール当量/kg として)

投与後の日数	残留物 (mg トリクラベンダゾール当量/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照群	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04
1	1.3	6.4	5.8	3.7
	1.9	9.5	6.9	7.6
	1.3	6.3	5.4	4.6
	1.1	6.0	5.0	4.1
21	0.19	0.32	0.18	< 0.04
	0.11	0.19	0.14	< 0.04
	0.15	0.26	0.17	< 0.04
	0.16	0.29	0.22	< 0.04
28	0.11	0.15	0.11	< 0.04
	0.14	0.14	0.10	< 0.04
	0.13	0.12	0.08	< 0.04
	0.19	0.16	0.12	< 0.04

バイオアベイラビリティ(原文 p.76)

羊及びヤギ(原文 p.76)

羊におけるトリクラベンダゾールの経口投与後のバイオアベイラビリティを試算するため、スルホキシド代謝物の AUC を静脈内投与後と経口投与後で比較した。スルホキシドを用いたのは、親化合物がこの一次代謝物に速やかに代謝されるからである。静脈内投与した薬物は 100%利用可能であると仮定されている。経口投与後の(静脈内投与後に対する)相対的バイオアベイラビリティは 90%と算出された(Strong 他 1982a、Strong 他 1983)。胆汁中及び腎排泄データは、静脈内投与後のバイオアベイラビリティについて疑念が持たれる。羊では、6 日間で胆汁中に投与量の約 50%が排泄されたが、10 日間の尿中排泄は投与量の 2.1%にすぎなかった。

これは、実際のバイオアベイラビリティが静脈内投与と経口投与の比較によって算出されたそれよりずっと低いことを意味する。その原因として、特定の組織によって静脈内投与量の一部が除去された可能性がある。血漿におけるトリクラベンダゾールの代謝物の出現が消化管からの吸収と結合型代謝物の放出とによって決まるのに対し、循環血液中の濃度は、吸虫管理におけるトリクラベンダゾールの有効性と直接には相関していない(Strong 他 1982b)。

限られた実験によれば、トリクラベンダゾールの 25、50 又は 100 mg/mL 懸濁剤の吸収特性(Strong 他 1982a)、異なる 50 mg/mL 懸濁剤(Strong 他 1982b)、あるいはボーラス剤と飲薬の間(Bowen 他 1984)に一貫した差はない。トリクラベンダゾールの代謝物の血漿濃度に認めた差は動物間差異の結果であり、投薬された羊の食道溝反射によるものではないと思われる(Strong 他 1983)。一般に、結晶形又は粒径分布の変化

は、トリクラベンダゾールの代謝物の血漿中動態に影響を及ぼさない（Strong 他 1986）。

組織残留物の分析方法（原文 p.77）

トリクラベンダゾール残留物は、紫外吸光検出を利用した高速液体クロマトグラフィ（HPLC）法によって測定することができる。この方法は、加水分解と酸化によって 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one（MR）になるトリクラベンダゾールの残留物を測定する。組織検体を90～100ºCのアルカリ性条件下で加水分解し、すべての加水分解物を酸性条件の下、ジクロロメタンで抽出する。ジクロロメタンを蒸発させた後、残留物をヘキサンに溶かしてアセトニトリルとともに分散することにより、脂質を除去する。アセトニトリルを蒸発させ、残留物を酢酸/エタノール混合液に溶かして一晩、90ºC の過酸化水素で酸化させる。この混合液を酸性化し、MR をジクロロメタンの中へ分配する。Silica Gel カラム、次いで C_{18} SEP-PAK カラムで残留物をさらに洗浄してから、10 µm LiChrosphere Si 100 カラム（25 cm×内径 4.6 mm）で HPLC を行う。ジクロロメタン/ヘキサン/無水エタノール/氷酢酸（700/300/50/4）混合物から成る流量 1.5 cm^3/分の移動相を用いて分離を生じさせる。流出液を 295 nm で観察する（Giannone 及び Formica 1983b）。代案として、2 本の LiChrosphere Si 100 カラムによるカラム切替えを利用すれば SEP-PAK 洗浄を省くことができる（Giannone 及び Formica 1983f）。検出限界は 4 ng であり、これは MR 0.027 mg/kg、すなわちトリクラベンダゾール 0.03 mg/kg に相当する（換算係数：1.0913）。牛及び羊組織における補強検体からの回収率を表 11 に示す。

表 11：牛及び羊組織における MR の回収率（%）

組織	強化レベル mg/kg	SEP-PAK 後の回収		カラム切り替え後の回収
		牛	羊	羊
筋肉	0.1	109	85 / 69 / 95	97 / 95
	0.5	76	87 / 67 / 70 / 74	72 / 79
腎臓	0.1	80	80 / 73 / 83 / 74	89 / 98
	0.5	70	77 / 72 / 75 / 67 / 75	75 / 76
肝臓	0.1	41	82 / 76 / 68 / 68	67 / 75
	0.5	77	58 / 70 / 60 / 66	76 / 79
脂肪	0.1	69	53	71 / 73 / 68
	0.5	55	69	54 / 60 / 61

10 µm Lichrosorb Diol を LiChrospher Si 100 の代わりに装填した HPLC カラム 2 を用いるように上記の方法を変更すれば、8.75% ENDEX 投与羊（Lanter 1989a）又は 19.5% ENDEX 投与牛（Lanter 1989b）の組織における MR の測定が可能になる。実際の検出限界は、CGA 89317（トリクラベンダゾール）として 0.04～0.05 mg/kg である。

5 µm Partisil シリカゲルカラムでヘキサン/エタノール/氷酢酸（体積比 500：50：0.6）の移動相を用いて、酢酸エチル抽出後の血漿マトリックスからトリクラベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物を定量する。こ

の HPLC システムは、215 nm にセットした紫外吸光検出器と 1.5 mL/分の溶媒流量を利用する。オクスフェンダゾールを内部標準として使用する。このシステムは 0.1～4.0 μg/mL の範囲で線形を示し、検出限界はあらゆる生成物に対して 50 ng/mL である（Alvinerie 及び Galtier 1986）。

10 μm microBondapak カラム、及びメタノール/水/試薬 1（氷酢酸 120 mL＋酢酸アンモニウム 200 g、十分に 1 L）/クロロホルム（体積比 750：200：25：10）を含む溶媒系を用いた逆相 HPLC 法も、トリクラベンダゾールとその代謝物の定量を実現する。検出は 300 nm での紫外吸光検出と 1 mL/分の流量で行う。検出限界は 0.1 mg/L である（Bull 及び Shume 1987a）。

同様の方法がフェンベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物、ならびに対応するトリクラベンダゾールの代謝物の同時検出に利用されている。逆相カラムを用いて、アセトニトリル/0.04M オルトリン酸水素二アンモニウム（体積比 41：59、pH 7.5～7.6 に調整）を含む溶媒系で分離を生じさせる。このシステムは 5～500 ng/mL の範囲で線形を示し、定量限界は血漿中で 10 ng/mL である（Bull 及び Shume 1987b）。

フェンベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物、ならびに対応するトリクラベンダゾールの代謝物の同時測定のための初期の方法では、5 μm Hypersil SAS（C_2-、C_4-、C_6-シリカ混合）カラムが使用された。0.005M リン酸（水酸化テトラエチルアンモニウム溶液で pH 5.9 に調整）/アセトニトリルを 70：30 の比で含む移動相（流量：2.0 mL/分）が分離に使用された。流出液は 300 nm で観察された。このシステムは、血漿中でフェンベンダゾールとその代謝物に対して 20～1,000 ng/mL、トリクラベンダゾールの代謝物に対しては 50～1,000 ng/mL の範囲で線形を示す。定量限界は、フェンベンダゾールの代謝物に対しては 10 ng/mL、親化合物フェンベンダゾールに対しては 15 ng/mL、トリクラベンダゾールの代謝物に対しては 20 ng/mL と記載されている（Lehr 及び Damm 1986）。

固相抽出法も、蛍光検出による HPLC 分析に先立つ検体調製のために報告されている。ヤギ、馬、小馬及びロバの血液検体とヤギの乳検体に対してアセトンによる沈殿を行った。得られた上澄み液を水と混合し、事前調整された SEP-PAK カートリッジに装填した。5 μm ODS-Hypersil カラムを 0.13M 酢酸アンモニウム緩衝液（pH 6.7）/メタノール（体積比 30：70）の移動相と併用し、分離を生じさせた。励起波長及び発光波長はそれぞれ、300 及び 676 nm であった。検出限界は、トリクラベンダゾールスルホンに対して 0.02 μg/mL、トリクラベンダゾールスルホキシドに対して 0.04 μg/mL であった。血漿及び乳からのトリクラベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物の回収率は 76～92%にわたっていた（Kinabo 及び Bogan 1987/1988）。

化学的抽出によって生じた残留物と、燃焼分析及び液体シンチレーションを利用して算定した「真の」総残留物との関係を明らかにするため、抽出法のバリデーションが行われた。組織検体をメタノールで冷浸し、30 分間振盪した。透明な抽出物の一定部分をシンチレーション計測のために取り分けた。総放射能のほんの 2～13%が組織検体から抽出された。この方法は、組織検体中の総残留物の測定には妥当でないと考えられる（Giannone 及び Formica 1981b）。

HPLC-UV によって測定した残留物と、「真の」総残留物との関係を明らかにするため、HPLC 法のバリデーシ

ョンが行われた。^{14}C 標識トリクラベンダゾールをヤギに投与し、10 日後に組織検体を採取した。燃焼後の液体シンチレーション計測により、総放射能を測定した。組織検体の調製にSEP-PAK洗浄は含まれておらず、筋肉組織だけが分析された。ヤギ筋肉中の総放射能の約 32～38%が HPLC-UV 法によって測定できる（Giannone 及び Formica 1983d）。

^{14}C 標識トリクラベンダゾールを投与したヤギから血液と乳を採取した。乳及び血液検体は、アセトンで蛋白を沈殿させてからジクロロメタンの中へ分配するという調製を行った。検体を蒸発乾固した。乳検体はヘキサンに溶かし、アセトニトリルで洗浄した。アセトニトリルを蒸発させた後、検体を洗浄し、最終HPLC-UV分析に先立って脱気済みアルミナカラムで分離させた。血液検体も同様に調製したが、ヘキサン/アセトニトリル分配の工程は除かれた。トリクラベンダゾールとその代謝物の残留物は、乳中放射能の約 54～79%、血中放射能の 100%を占める。血液及び乳中の定量限界は 0.005 mg/kg である（Giannone 及び Formica 1981a）。

評価（原文 p.80）

トリクラベンダゾールの吸収、分布、代謝及び排泄はすでに検討されており、牛と羊とでは質的に似ている。他のいくつかのベンズイミダゾール化合物と同様、トリクラベンダゾールは食料生産動物に使用すると、総残留物の大半が内因性組織に結合することになる。総残留物に対する結合型残留物の割合は、消退期間が長くなるにつれて増加する。トリクラベンダゾールの指標残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one（MR）である。MRは、トリクラベンダゾール関連残留物の共通断片が90～100ºCのアルカリ性条件下で加水分解されたときに生じる。指標残留物は総残留物の尺度にはならないので、指標残留物と総残留物の比は種ごとに算定する必要がある。指標残留物濃度は、1.09 という換算係数を用いてトリクラベンダゾール当量に換算される。

牛：3 つの別個の残留消失試験において、トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重が牛に投与された。可食組織中の MR 残留物が種々の消退時点で測定された。3 つの試験すべてに共通の消退時点は投与後 28 日目であった。この時点の MR 残留物濃度の平均値（n＝8）は、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪において 0.12、0.07、0.11 及び 0.05 mg/kg 体重であった。28 日目の消退時で、これらの数値はそれぞれ、当該組織中の総残留物の 50、66、84 及び>100%に相当する。

羊：2 つの別個の残留消失試験において、トリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重が羊に投与された。可食組織中の MR 残留物が種々の消退時点で測定された。両試験に共通の消退時点は投与後 7、14 及び 28 日目であった。7 日目と 14 日目の測定値を結合し、放射能標識試験における 10 日目の MR 残留物濃度を概算すると、その平均値（腎・筋：n＝10、肝：n＝9）は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪において 0.44、0.25、0.19 及び 0.04 mg/kg 体重であった。これらの数値はそれぞれ、当該組織中のトリクラベンダゾール関連総残留物の 24、23、33 及び 51%に相当する。これらの割合、及び 28 日目の消退時の各組織における MR 残留物濃度（0.097、0.076、0.11 及び<0.03 mg/kg 体重）から概算すると、トリクラベンダゾール関連総残留物の濃度は 159 μg/kg 体重である。

トリクラベンダゾールの最大残留限界（MRL）を設定するに当たり、下記の情報が利用された。

0～3 μg/kg 体重という許容 1 日摂取量（ADI）が確定された。したがって最大 ADI は、体重 60 kg の人で 180 μg になる。

MR の分析法の強力な抽出条件を考慮すると、この方法ではおそらく、抽出可能と通常みなされる残留物よりも多くの残留物が測定される。ただし、この方法では総残留物は測定されない。

牛におけるトリクラベンダゾールの推奨 MRL

羊におけるトリクラベンダゾールの推奨 MRL
羊における投与後 28 日目の消退時の残留物データを用いた上で、この時点の指標残留物 - 総残留物濃度比が 10 日目の消退時の比によって概算されると仮定すれば、28 日目の消退時のトリクラベンダゾール関連総残留物の 1 日摂取量は約 159 μg である。

羊におけるトリクラベンダゾールの MRL を増加させる場合、追加のデータが求められる。可食組織中の総残留物のより正確な試算が必要である。また、指標残留物濃度に対する総残留物濃度の比も必要である。推奨 MRL が投与後 28 日目の全 ADI を必要とすることを考えると、毒性学上懸念される残留物の量を減らすためにトリクラベンダゾールの結合型残留物に関するバイオアベイラビリティ試験が必要かもしれない。

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:JECFA 1992）

該当する試験なし

ADI:0～3 μg/kg 体重

羊における推奨 MRL
投与後 28 日目の消退時の残留物データを用いた上で、この時点の指標残留物 - 総残留物濃度比が 10 日目の消失時の比によって概算して、28 日目の消退時の関連総残留物の 1 日摂取量は約 159 μg。

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
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD_{50}	50% Lethal Dose	半数致死量

トリクラベンダゾール　評価書和訳と情報整理

JECFA　1992

ウェブサイト：ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/6-2009-triclabendazole.pdf

FNP 6/2009, 2009

トリクラベンダゾール 評価書和訳と情報整理 JECFA(1992) 目次

トリクラベンダゾール 35
1. 解説（原文 p.1）..... 35
2. 生物学的データ（原文 p.1）..... 35
2.1 生化学的性質（原文 p.1）..... 35
2.1.1 吸収、分布、生体内変化及び排泄（原文 p.1）..... 35
2.1.1.1 ラット（原文 p.1）..... 35
2.1.1.2 ウサギ（原文 p.1）..... 35
2.1.1.3 イヌ（原文 p.1）..... 36
2.1.1.4 ヒト（原文 p.2）..... 36
2.2 毒性試験（原文 p.2）..... 37
2.2.1 急性毒性試験（原文 p.2）..... 37
2.2.2 短期毒性試験（原文 p.3）..... 38
2.2.2.1 ラット（原文 p.3）..... 38
2.2.2.2 イヌ（原文 p.3）..... 38
2.2.3 長期／発がん性試験（原文 p.4）..... 39
2.2.3.1 マウス（原文 p.4）..... 39
2.2.3.2 ラット（原文 p.4）..... 40
2.2.4 生殖試験（原文 p.5）..... 41
2.2.4.1 ラット(原文 p.5)..... 41
2.2.5 胚毒性ならびに催奇性に関する特別試験（原文 p.5）..... 41
2.2.5.1 ラット（原文 p.5）..... 41
2.2.5.2 ウサギ（原文 p.6）..... 42
2.2.5.3 羊（原文 p.6）..... 42
2.2.5.4 牛（原文 p.6）..... 43
2.2.6 遺伝毒性に関する特別試験（原文 p.7）..... 43
2.2.7 刺激及び感作に関する特別試験（原文 p.7）..... 44
2.2.7.1 モルモット（原文 p.7）..... 44
2.2.7.2 ウサギ（原文 p.7）..... 45
2.2.8 トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験（原文 p.7）..... 45
2.2.9 トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験（原文 p.8）..... 45
3. 解説（原文 p.9）..... 47
4. 評価（原文 p.10）..... 48
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:JECFA 1992）..... 49
略称 53

原文 目次

原文ページ

1. 解説 ……1
2. 生物学的データ ……1
2.1 生化学的性質 ……1
2.1.1 吸収、分布、生体内変化及び排泄 ……1
2.2 毒性試験 ……2
2.2.1 急性毒性試験 ……2
2.2.2 短期毒性試験 ……3
2.2.3 長期／発がん性試験 ……4
2.2.4 生殖試験 ……5
2.2.5 胚毒性ならびに催奇性に関する特別試験 ……5
2.2.6 遺伝毒性に関する特別試験 ……7
2.2.7 刺激及び感作に関する特別試験 ……7
2.2.8 トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験 ……7
2.2.9 トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験 ……8
3. 解説 ……9
4. 評価 ……10
5. 引用文献 ……10

1. EXPLANATION ……1
2. BIOLOGICAL DATA ……1
2.1 Biochemical aspects ……1
2.1.1 Absorption, distribution, biotransformation and excretion ……1
2.2 Toxicological studies ……2
2.2.1 Acute toxicity studies ……2
2.2.2 Short-term toxicity studies ……3
2.2.3 Long-term／carcinogenicity studies ……4
2.2.4 Reproduction studies ……5
2.2.5 Special studies on embryotoxicity and teratogenicity ……5
2.2.6 Special studies on genotoxicity ……7
2.2.7 Special studies on irritation and sensitization ……7
2.2.8 Special studies on triclabendasole and fenbendazole in combination ……7
2.2.9 Special studies on triclabendazole and levamisole in combination ……8
3. COMMENTS ……9
4. EVALUATION ……10
5. REFERENCES ……10

トリクラベンダゾール

Dr G. Roberts による草稿初稿
保健省、住居地域サービス局、環境保健支局
オーストラリア、キャンベラ

1. 解説（原文 p.1）

トリクラベンダゾールはベンゾイミダゾール系駆虫薬である。本薬剤は羊、ヤギ及び牛における肝吸虫の蔓延防止に用いられる。トリクラベンダゾールは、食品添加物に関する FAO/WHO 合同専門家会議でこれまで検討された事はなかった。

2. 生物学的データ（原文 p.1）

2.1 生化学的性質（原文 p.1）

2.1.1 吸収、分布、生体内変化及び排泄（原文 p.1）

2.1.1.1 ラット（原文 p.1）

ラットに ^{14}C 標識したトリクラベンダゾールを、用量 0.5 又は 25 mg/kg 体重で経口単回投与すると、排泄は急速に進み、投与量のおよそ 93%は、48 時間で消失した。144 時間後、総回収率は 98%に達し、その 88-95%は糞中に、4-10%は尿中に存在し、大気中への飛散は 0.05%以下で、組織内には最高 1%までが認められた。性別及び用量による差はなかった。胆嚢に挿管したラットに 5 mg/kg を強制経口挿管投与すると、49 時間で投与量の 34%が胆汁排泄された(Muecke, 1981; Hambock, 1983)。

前回のラットの試験から得られた排泄物のクロマトグラフ分析を行い、分解物を検討した。糞中代謝物は:未代謝薬剤(投与量の 6-9%)、トリクラベンダゾールスルホキシド(20-27%)、トリクラベンダゾールスルホン(3%)、2-ベンゾイミダゾール(8-10%)、4-ヒドロキシトリクラベンダゾールと微量の同定不能物(11-12%)、未知物質(9-13%)、及び抽出されない放射能標識(16-32%)であった。尿中の代謝物は、その性質上通常より極性が高く、2-ベンゾイミダゾールが唯一同定出来た代謝物であった。質的に類似の代謝物が羊やヤギでも認められると報告されている(Hambock, 1983)。

2.1.1.2 ウサギ（原文 p.1）

雌のウサギに用量 3 又は 26 mg/kg 体重の ^{14}C-標識トリクラベンダゾールを、経口単回投与した。血漿中の放射活性は 8 時間でピークに達し、その後急速に減少した。経口及び静注投与後の薬物動態を比較し、消化管からの吸収が極めてよいことが分かった。低用量投与では血漿中には未代謝薬剤

は検出されず、高用量投与後でもわずかに認められたのみであった。トリクラベンダゾールスルホキシドが、初めの 24 時間での血漿中の主要代謝物で、スルホン体がそれと同等ないしはその後はやや高めであった。他の代謝物（未同定）は、24 時間から 48 時間の間に出現した。

7 日以内に、80-90%の放射活性が消失し、そのうちの 66-76%は糞中に、7-22%は尿中に存在した。高用量では尿排泄量の増大が認められた。スルホキシド体、スルホン体及び他の代謝物が尿中に検出されたが、未代謝のトリクラベンダゾールは認められなかった(Wiegand ら, 1991a,b)。

2.1.1.3 イヌ（原文 p.1）

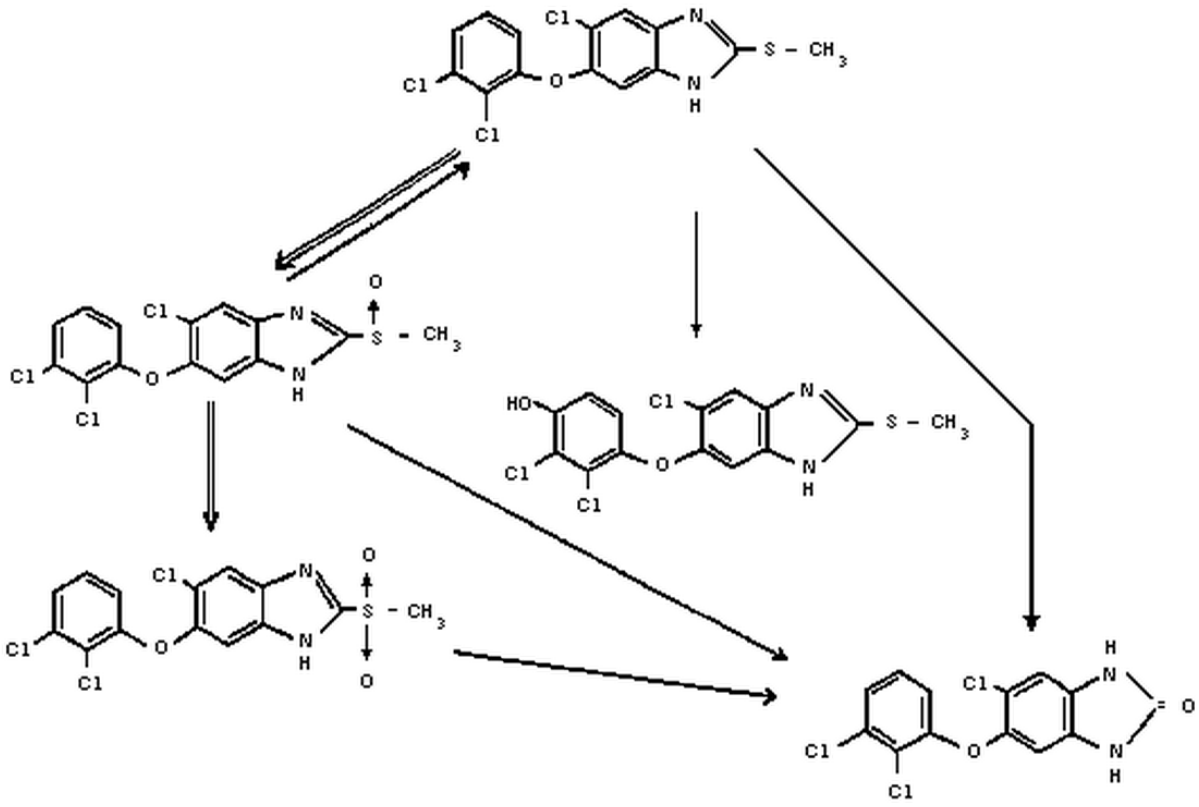
イヌに用量 0.5、5 又は 40 mg/kg 体重の ^{14}C-標識トリクラベンダゾールを、経口単回投与した。血漿中放射活性のピークは、低用量では 8 時間後、最高用量では 24 時間後に到達し、その後 2-3 日維持された。静注投与後の薬物動態を比較したところ、経口投与量の約 40%が吸収されていた。血漿中には、未代謝薬剤は実質検出不能であった。はじめの 8 時間から 12 時間では、スルホキシド体がスルホン体より多く存在したが、その後はスルホン体が主要代謝物で、7 日後でも有意な量が認められた。投与量の 1%のみが尿中に排泄された(Schutz ら, 1991)。

2.1.1.4 ヒト（原文 p.2）

肝蛭感染患者 3 名に、用量 10 mg/kg 体重のトリクラベンダゾールを、ファシネックス錠剤の形で単回経口投与した。絶食患者では、血漿濃度ピークは 2 時間で到達した。HPLC 分析の結果、未代謝薬剤が低濃度存在し、スルホキシド代謝物が高濃度、スルホン体が中等度量存在することが分かった。8 時間後には未代謝薬剤は検出されなかった。低濃度のスルホキシド体とスルホン体は、分析の最終回である 24 時間時点でも依然として存在していた。患者の 1 人では、食事後 1 時間投与での血漿濃度が絶食患者に比較し 3 倍高く、食事といった条件下で吸収が促進されることが示唆された(Poltera ら, 1989)。

実験動物での試験結果に基づいたトリクラベンダゾールの代謝経路案を、図 1 に示す。

図1. ラット、ヤギ、羊におけるトリクラベンダゾールの代謝経路案



2.2 毒性試験（原文 p.2）

2.2.1 急性毒性試験（原文 p.2）

トリクラベンダゾールの急性毒性試験結果を、表 1 にまとめた。

表 1. 急性毒性

動物種	性別	投与経路	LD50 (mg/kg bw)	参照文献
マウスM+F		経口	>8000	Bathe & Sachsse (1979a)
ラット M+F		経口	>8000	Bathe & Sachsse (1979b)
	M+F	経皮	>4000	Bathe & Sachsse (1979c)
	M+F	吸入	>500 mg/m^3	Ullman & Sachsse (1979b)
	M+F	腹腔内	1666	Bathe & Sachsse (1979d)
ウサギ	M+F	経口	206	Ullman & Sachsse (1979a)

主な毒性の兆候は、鎮静状態、呼吸困難、眼球突出、被毛の乱れ、屈曲体位であり、経口、皮膚接触、吸入による暴露後にみられた。運動失調も腹腔内投与に続いて認められた。

雌雄ラットに対するスルホキシド及びスルホン代謝物の経口 LD_{50} 値は、5000 mg/kg 体重を越えていた。毒性の兆候はトリクラベンダゾールで起こるものと類似していた(Sarasin, 1982a,b)。

2.2.2 短期毒性試験（原文 p.3）

2.2.2.1 ラット（原文 p.3）

一群雄 20 匹と雌 20 匹の Charles River CD ラットに、トリクラベンダゾール（97%純度）0、10、100 又は 1000 ppm を、13 週間混餌投与した。被験物質の摂取量を計算すると、雄で 0.7、6.6 及び 68.5 mg/kg 体重/日、雌で 0.8、7.9 及び 87.3 mg/kg 体重/日であった。

生存率には全く影響はなく、また明瞭な臨床症状もなかった。餌と飲料水の摂取は、1000 ppm 投与の雄では減少し、一方 100 ppm 投与の雄と、1000 ppm 投与の雄と雌では、体重増加は抑制された。眼科及び聴覚試験が、投与前と第 6 週及び 13 週に実施されたが、投与に関連した影響は認められなかった。

血液学的検査、血液化学検査及び尿検査が、投与前、投与後第 5 週及び 12 週に行われた。赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値は、1000 ppm 投与の雄と雌で減少した。リンパ球及び総白血球数は、1000 ppm 投与の雌で減少した。血清アルカリフォスファターゼは 1000 ppm 投与群で増加した。コレステロール、アルブミン及び総タンパクは、1000 ppm 投与群で、特に雌では増加した。尿量は、1000 ppm 投与の雄では減少した。

全ての動物は解剖された。臓器重量には影響はみられなかった。肉眼的所見では、100 及び 1000 ppm 投与で血の気の薄い腎臓と肝臓が、1000 ppm 投与で鬱血肺が増加したが、病理学的には明確な所見はなかった。NOEL は 10 ppm で、0.7 mg/kg 体重/日に相当した(Hunter ら, 1982)。

2.2.2.2 イヌ（原文 p.3）

一群雄 6 頭と雌 6 頭のビーグル犬に、0、10、100 又は 1000 ppm のトリクラベンダゾール（純度 97%）を混ぜた餌を、13 週間与えた。被験物質の摂取量を計算すると、雄では 0.35、3.4 又は 37 mg/kg 体重/日、雌では 0.35、3.5 又は 39 mg/kg 体重/日となった。

明白な毒性の臨床症状はなかった。餌の摂取量は影響を受けなかったが、体重増加は 1000 ppm 投与のイヌでは顕著に抑制されていた。投与前と投与後第 6 週と 13 週に、眼科検査が行われたが、投

与に関連した影響の痕跡はみられなかった。心電図におけるQT間隔とQTc値の延長が、1000 ppm投与の雄及び雌に、第5週と9週にみられたが、第13週にはみられなかった。

血液学的検査及び血液化学検査が、投与前と投与後第5週、9週及び13週に行われた。赤血球、ヘモグロビン値及びヘマトクリット値は、試試験期間を通じて、1000 ppm 投与群で顕著に減少し、網状赤血球も第9週のみだが出現した。アルカリフォスファターゼは、100 及び1000 ppm投与群で上昇し、血清GPTとコレステロールも1000 ppm投与のイヌで上昇した。尿検査は投与前と投与後第6週及び13週に行われたが、影響はみられなかった。

全ての動物に対し、本格解剖を実施した。投与関連の影響がみられたのは、1000 ppm 用量群のみであった。肝重量が増大し、細胞質内好塩基性を伴う小葉肝細胞色素粒子、グリコーゲンの枯渇及び色素性マクロファージ病巣の所見があった。卵巣と精巣は組織重量が低下し、未成熟で、雌は発情に至らず、雄は精子生成不全であった。NOEL は 10 ppm で、0.35 mg/kg 体重/日相当であった(Taupin, 1981)。

2.2.3 長期／発がん性試験（原文 p.4）

2.2.3.1 マウス（原文 p.4）

一群雄80匹と雌80匹のアルビノTif:MAGfマウスに、0、3、15、60又は300 ppmのトリクラベンダゾール(純度99.5%)を含む餌を2年間与えた。それぞれの群の動物は、1年中途での解剖用(雌雄10匹ずつ)、臨床検査用(雌雄10匹ずつ)及び血液学的検査用(雌雄10匹ずつ)に割り当てられた。被験物質の摂取量を計算すると、雄で0.29、1.44、5.7又は29.6 mg/kg体重/日、雌で0.27、1.39、5.35又は87.3 mg/kg体重/日であった。

投与されたマウスは明白な毒性の兆候は示さず、死亡率は対照群と同等であった。餌と飲料水の摂取量には問題になるような影響はみられず、一方で体重増加は全ての雄の投与群、とりわけ初めの年に上昇していた。しかしながら、この効果はわずかで(10%以下)、用量依存性がなく、雌では観察されなかった。

眼科検査、血液学検査、血液化学検査及び尿検査を、6ヶ月間隔で行った。アルカリフォスファターゼ、GPT及びGOTの血清中濃度は、初めの年は300 ppm投与群で、2年目は全ての投与群で上昇していた。2年目の影響は用量依存性がなく、有意差も時々みられるに止まった。

全ての動物は本格解剖にかけられた。中途解剖群には投与に起因すると思われる所見はなかった。試験の最後に、15 ppm 以上の投与群で肝重量の絶対値及び相対値が増大していた。肝腫瘍が雌の全投与群で増加したが、有意差は 99%レベルには届かなかった。がん腫の発生とがんの出現時期には影響はなかった(表2)。

NOEL は 3 ppm で、0.27 mg/kg 体重/日相当であった(Basler ら, 1988a)。

表 2.　雌マウスでの肝腫瘍発生状況

トリクラベンダゾール（ppm）	0	3	15	60	300
雌マウス供試験数	80	80	80	80	80
良性肝腫瘍	7	16	15	9	20
肝細胞がん	1	2	2	2	3
肝芽種	0	0	0	1	0
肝腫瘍数合計	8	18	17	12	23

2.2.3.2　ラット（原文 p.4）

一群雄 60 匹と雌 60 匹の Charles River CD ラットに、0、3、15、30 又は 100 ppm のトリクラベンダゾール（純度 99.5%）を含む餌を 2 年間与えた。追加群の動物を、1 年中途での解剖用（雌雄 10 匹ずつ）と、血液学的検査、臨床検査及び尿検査用（雌雄 20 匹ずつ）に割り当てた。被験物質の摂取量を計算すると、雄で 0.1、0.6、1.2 又は 4.0 mg/kg 体重/日、雌で 0.2、0.7、1.5 又は 5.2 mg/kg 体重/日であった。

死亡率に対する影響はなく、明白な毒性の兆候はみられなかった。餌と飲料水の摂取量には影響はみられなかったが、体重増加は 100 ppm 投与群で抑制された。ただ、有意差は雌のみ認められた。眼科検査と聴覚検査は 6 ヶ月ごとに行われたが、これらも影響はみられなかった。

臨床検査値を、試験前と、試験後第 13、26、51、78 及び 104 週に検討した。30 及び 100 ppm 投与群で、リンパ球数が試験終了時に低下していたが、報告値は正常変動範囲内であった。雄の 100 ppm 投与群における血漿中の塩素及び BUN のわずかな減少と、カルシウム及びタンパクの増加、並びに雌の全投与群での BUN の減少は、変動値が小さく、試験全体を通じて一定でないことと、正常の変動範囲内であることから、毒性学的に有意ではないと判定された。尿検査値に変化はなかった。

全ラットに対し本格解剖が行われた。試験中途解剖の雄 100 ppm 投与群で、腎臓の重量が低かったが、実験終了時解剖群では認められなかった。病理学検査で、雄の 15 及び 100 ppm 投与群に、膵島細胞腺腫の発生が増加していた。投与薬剤との関連については否定的であった。統計学的に有意差がなく、雄対照群で投与群を上回るがん腫数がみられたからである（表 3）。

表 3.　雄ラットに生じた膵島細胞腺腫（70/群）

用量（ppm）	0	3	15	30	100
腺腫	3	4	12	4	11
がん腫	6	4	4	2	4
合計	9	8	16	6	15

NOEL は 30 ppm で、1.2 mg/kg 体重/日相当であった（Charnley ら, 1986)。

2.2.4　生殖試験（原文 p.5）

2.2.4.1　ラット（原文 p.5）

一群雄 20 匹と雌 20 匹の Tif:RAIf ラットに、0、3、15 又は 75 ppm のトリクラベンダゾール（純度 97.6%）を含む餌を与えた。第 1 世代(P)への投与は、交配の 62 日に開始し、第 2 世代(F2)を通じ、第 3 世代(F3)児動物の分娩後 35 日まで継続した。被験物質の平均摂取量を計算すると、雄で 0.2、1.1 又は 5.5 mg/kg 体重/日、雌で 0.3、1.4 又は 7.4 mg/kg 体重/日であった。

P 及び F1 世代生体の観察からは、毒性の兆候はみられず、体重増加、生殖評価値への影響はみられなかった。

児ラットの初期発達や行動試験での評価では、F1 世代児動物には問題になるような変化はみられなかった。F2 の児動物では、15 及び 75 ppm 投与群で、授乳期間中の死亡率が上昇した。この上昇は、平行して試験した対照群との間に有意差があったが、F1 群との比較では優位差はなかった。離乳期の体重は、15 及び 75 ppm 投与では低かったが、有意の差には至らなかった。NOEL は 75 ppm で、5.5 mg/kg 体重/日相当であった(Fritz ら, 1984)。

2.2.5　胚毒性ならびに催奇性に関する特別試験（原文 p.5）

2.2.5.1　ラット（原文 p.5）

一群 25 匹の妊娠 Tif:RAIf ラットに、0、10、30 又は 100 mg/kg 体重/日のトリクラベンダゾール（純度 97.6%）を、0.5% (w/v)カルボキシメチルセルロース懸濁液として、強制経口挿管投与した。投与は

妊娠第 6 日から 15 日の間に行われ、ラットは妊娠第 21 日にと殺された。

投与に関連した死亡率変化や臨床症状の兆候はみられなかった。体重増加及び摂餌量は、100 mg/kg 体重/日投与では顕著に減少し、10 及び 30 mg/kg 体重/日では体重増加が若干抑制された。母ラットの病理学的肉眼検査所見には、特筆すべき点はなかった。

各群の着床率は同等で、投与は胎児の吸収あるいは胎児死亡の数に影響を与えなかった。生存胎児重量は 100 mg/kg 体重/日投与で減少したが、外観、内臓及び骨格の異常生成は起こらなかった。NOEL は 30 mg/kg 体重/日であった(Giese ら, 1981a; Giese, 1987)。

一群 20 匹の妊娠 Sprague-Dawley ラットに、0、10、25、50、100 又は 200 mg/kg 体重/日のトリクラベンダゾール（純度 100%）を、水懸濁液として、強制経口挿管投与した。投与は妊娠第 8 日から 15 日の間に行われ、母ラットは妊娠第 21 日にと殺された。

100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群では、母ラットの体重増加は抑制されたが、より低い用量では毒性の兆候はなかった。子宮と胎児の検討では、胚又は胎児の生存率、あるいは胎児の生成不全には影響がないことが明らかになった。胎児にみられた唯一の影響は、100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群における体減少であった(Yoshimura, 1987)。

2.2.5.2 ウサギ（原文 p.6）

一群 20 羽の妊娠チンチラウサギに、0、3、10 又は 20 mg/kg 体重/日のトリクラベンダゾール（純度不明）を、0.5% (w/v)カルボキシメチルセルロース懸濁液として、強制経口挿管投与した。投与は妊娠第 6 日から 18 日の間に行われ、妊娠第 28 日にと殺された。

低用量の 3 羽が死亡し、各投与群から 2-3 羽に下痢が認められた。試験期間中の母ウサギの体重増加は全ての投与群で同等であったが、子宮とその中身重量を差し引いて「補正」すると、投与群で若干の用量に依存しない低下があった。

着床数、吸収数及び胎児死亡数は各群で同等であり、胎児体重に影響はなかった。胎児の検査では、10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群で、前後肢に骨化していない指骨がみられた。20 mg/kg 体重/日投与の 1 羽には、このウサギ種にはまれな臍帯ヘルニアが見つかった。NOEL は 3 mg/kg 体重/日であった(Giese ら, 1981b)。

2.2.5.3 羊（原文 p.6）

妊娠第三期のメリノ羊に、用量 0、5 あるいは 10 mg/kg 体重/日のトリクラベンダゾールを強制経口投与した。出産や児動物の形態に影響はみられなかった(Strong & Ryan, 1981)。

一連の試験で、雌のメリノ羊に、用量0あるいは30 mg/kg体重/日のトリクラベンダゾールを、妊娠前と妊娠第一期中に、以下のように強制経口投与した:

A. 3 回の投与を、妊娠最初の 24 日中に。
B. 4 回の投与を、妊娠最初の 43 日中に。
C. 2 回の投与を、妊娠前 2- 3 週に、さらに 2 回の投与を、妊娠最初の 25 日中に。
D. 3 回の投与を、妊娠前 2- 4 週に、さらに 1 回の投与を、妊娠後 7-9 日目に。
E. 3 回の投与を、妊娠前 2- 4 週に。

いずれの投与形態でも、雌羊に毒性の兆候はみられず、出産や子羊の発育にも影響はなかった(Strong, 1981)。

一群 27- 28 頭の妊娠メリノ羊に、用量 0 あるいは 50 mg/kg 体重/日のトリクラベンダゾールを強制経口投与した。投与は交配後 12、17、21、24 あるいは 28 日に行った。出産状況や子羊の発育には影響はなかった(Strong & Steiger, 1983)。

2.2.5.4 牛（原文 p.6）

Hereford 種の雌牛に、単回用量 24 mg/kg 体重/日のトリクラベンダゾールを、妊娠最初の月に強制経口投与した。分娩や子牛の子宮内発達には影響がなかった(Bowen & Ryan, 1985a)。

Hereford種ないしは黒頭種の雌牛に、単回用量0又は24 mg/kg体重/日のトリクラベンダゾールを、妊娠2、3、4及び4- 6ヶ月に強制経口投与した。分娩には困難はなく、子牛には何ら異常はなかった(Bowen & Ryan, 1985b)。

2.2.6 遺伝毒性に関する特別試験（原文 p.7）

トリクラベンダゾールに関する遺伝毒性試験結果を表 4 にまとめた。

表 4. トリクラベンダゾールに関する遺伝毒性試験結果 [1]

試験方法	試験材料	濃度	結果	参照文献
復帰突然変異 [2]	*S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538	0.5-1250 µg/ﾌﾟﾚｰﾄ	陰性	Ogorek & Arni, 1987a
正突然変異 [2]	チャイニーズハムスター V79 細胞	0.025-0.5 µg/mL (-S9) 3.5-70 µg/mL (+S9)	陰性	Dollenmeier & Puri, 1988
不定期 DNA 合成	初代ラット肝細胞	0.3-40 µg/mL	陰性	Hertner & Puri, 1988
不定期 DNA 合成	ヒト線維芽細胞	0.4-60 µg/mL	陰性	Meyer & Puri, 1988
核異常	チャイニーズハムスター骨髄	172-688 mg/kg 体重 経口挿管投与	陰性	Hool ら, 1982
姉妹染色分体交換	チャイニーズハムスター骨髄	173-692 mg/kg 体重 経口挿管投与	陰性	Hool & Muller, 1982

1 適切な陽性対照が用いられた。

2 両方ともラット肝 S9 分画存在／非存在時

2.2.7 刺激及び感作に関する特別試験（原文 p.7）

2.2.7.1 モルモット（原文 p.7）

一群雄 10 匹と雌 10 匹の Pirbright モルモットを最適化試験に用いた。プロピレングリコール／生理食塩水の 0.1% (w/v)懸濁液を 10 箇所皮内注射により投与して、誘導段階を実施した。上皮へ投与しても反応はなかったが、皮内投与では陽性の感作反応が起こった(Ullmann & Sachsse, 1979e)。

2.2.7.2　ウサギ（原文 p.7）

一群雄 3 羽と雌 3 羽をとして、New Zeeland white ウサギにパッチ試験を施した。トリクラベンダゾールをプロピレングリコール／生理食塩水に懸濁し、24 時間作用させた。被験物質はわずかに皮膚刺激性であると判定された(Ullmann & Sachsse, 1979c)。

一群雄 3 羽と雌 3 羽の、New Zeeland white ウサギの眼の結膜嚢に 0.1 g のトリクラベンダゾールを注入した。引き続き実施した試験では眼刺激性は示されなかった(Ullmann & Sachsse, 1979d)。

2.2.8　トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験（原文 p.7）

50%トリクラベンダゾールと 50%フェンベンダゾールを含有する試験試料を用いて、一連の試験が行われた。その簡単なまとめを以下に示す。

妊娠ラットに強制経口挿管にて用量 0、10、40 又は 120 mg/kg 体重/日で、妊娠第 6 日から 15 日の間に投与した。120 mg/kg 体重/日投与母ラットは摂餌量が減少し、受胎産物の部分流産と吸収が増加した。同じ用量での胎児毒性としては、胎児体重の減少、骨化の減少、ねじれた尾、髄膜脳瘤及び水頭症が挙げられる。骨化の遅れは 40 mg/kg 体重/日投与の胎児にみられたが、10 mg/kg 体重/日投与群には何も悪影響認められなかった(Giese ら, 1985)。

羊での 2 件の発達試験では、妊娠羊が、2 回、0 又は 50 mg/kg 体重の用量、あるいは単回で 0 又は 150 mg/kg 体重の用量を、妊娠の初めの月に投与された。分娩の具合には影響なく、児動物での唯一の悪影響は、腎臓の内部構造破綻を伴う強度の奇形で、高用量の子羊 25 頭中 3 頭に生じていた(Bowen & Heckenberg, 1985; Richards ら, 1985)。

Salmonella typhimurium A98、TA100、TA1535 及び TA1537 株と、*Saccharomyces cerevisiae* D7 株を用いた突然変異試験結果は、ラット肝ミクロゾームの有無に関わらず陰性であった(Deparade & Arni, 1983; Hool & Arni, 1985)。培養ヒトリンパ球中の染色体異常は、22 及び 44 μg/mL 投与で増加していた（用量依存性）が、11 μg//mL では影響はみられず、またラット肝 S)分画存在下でのみ観察された(Strasser & Arni, 1985a)。チャイニーズハムスターの骨髄では、1000, 2000 あるいは 4000 mg/kg 体重の経口投与群に核の異常（Jolly 小体一つのみ）の増加がみられた。増加は統計学的に有意であるものの、増加はわずかで用量依存性はなかった(Strasser & Muller, 1984)。染色体異常は、2500 mg/kg 体重まで経口で投与しても、マウスの 1 次及び 2 次精母細胞、あるいは精原細胞では誘導されなかった(Strasser & Arni, 1985b; Strasser ら, 1985)。

2.2.9　トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験（原文 p.8）

61.5%トリクラベンダゾールと38.5%レバミゾールを含有する試験試料を用いて、一連の試験が行われ

た。その簡単なまとめを以下に示す。

雌雄のラットによる急性試験で、経口投与での LD_{50} 値は 1996 mg/kg 体重、皮膚投与では>2000 mg/kg 重量となった(Hartmann & Schoch, 1987a,b)。ウサギでは、眼に対する可逆的刺激がわずかにみられたが、被験物質は、皮膚に対し刺激性はないと結論された(Schoch, 1987a,b)。

ラットに用量 0、20、200 又は 2000 ppm の被験物質を、3ヶ月間混餌投与された。200 ppm 以上の投与で体重増加が抑制され、2000 ppm 投与では貧血がみられた。血清中の肝酵素及びコレステロール濃度上昇及びトリグリセライド濃度の減少から、2000 ppm 投与、そして程度は低いが 200 ppm 投与での肝細胞障害が示唆された。剖検では、2000 ppm 投与で、尿細管損傷、副睾丸内の睾丸肉芽種、副腎皮質脂肪変化、胸腺萎縮及び骨格筋萎縮といった変化がわずかながらみられた。20 ppm、あるいは 1.4 mg/kg 体重/日相当の投与では影響はなかった(Basler ら, 1988b)。

イヌに 0、20、60、240 又は 1000 ppm の被験物質を、3ヶ月間混餌投与した。1000 ppm 投与で、体重増加と摂餌量は減少し、動物の半数は死亡した。この用量は 45 日後に中止された。貧血、アルカリフォスファターゼとコレステロール値の増加は 240 ppm 以上の投与群で明らかであった。60 及び 240 ppm 投与で、肝臓と脾臓の重量が増加していた。60 ppm 以上の投与で、胸骨での血球産生が亢進していた。以前の 45 日間は投与を受けていない 1000 ppm 投与群で、生き残ったものは、毒性の影響から少なくとも部分的には回復を見せた。20 ppm、あるいは 0.75 mg/kg 体重/日相当の投与群では影響はなかった(Monnot, 1988)。

妊娠ラットに、強制経口挿管にて用量 0、10、80 又は 160 mg/kg 体重/日で、妊娠第 6 日から 15 日の間に投与した。被毛の乱れが 160 mg/kg 体重/日投与で、寝床の濡れの亢進が 80 mg/kg 体重/日以上の投与で認められ、これは多尿症のためとみられた。母ラットの体重増加及び摂餌量は、80 及び 160 mg/kg 体重/日投与で減少していた。胎児への影響は、80 及び 160 mg/kg 体重/日投与でみられ、体重の減少、2 分された胸骨分節及び骨化の減少のみであった。10 mg/kg 体重/日投与では、悪影響は何もみられなかった(Thouin ら, 1988)。

妊娠ウサギに、強制経口挿管にて用量 0、1.5、30 又は 50 mg/kg 体重/日で、妊娠第 7 日から 19 日の間に投与した。では、体重増加の抑制と、1 例の流産及び受胎産物の吸収がみられた。吸収率は 50 mg/kg 体重/日投与では若干増加したが、有意な差には至らなかった。発達への影響の増加は、いずれの群にもみられなかった。30 mg/kg 体重/日投与までは悪影響はなかった(Khalil ら, 1989)。

Salmonella typhimurium A98、TA100、TA1535 及び TA1537 株と、チャイニーズハムスター V79 細胞株を用いた突然変異試験結果は、ラット肝ミクロゾームの有無に関わらず陰性であった(Ogorek & Arni, 1987b; Dollenmeier & Puri, 1987)。ラットから分離された肝細胞及びヒト線維芽細胞を用いた実験では、不定期 DNA 合成が暴露した細胞で起こっている兆候はなかった(Hertner & Puri, 1987; Meyer & Puri, 1987)。被験物質を経口投与したマウスの骨髄では、小核は誘導され

なかった(Strasser ら, 1988)。

3. 解説（原文 p.9）

トリクラベンダゾールに関する広範な試験成果が、評価のため集められた。その中には薬物動態、代謝、急性毒性、短期及び長期毒性、生殖及び発達毒性、ならびに遺伝毒性のデータが含まれる。

ラット及びイヌに放射能標識したトリクラベンダゾールを、経口単回投与すると、およそ 40-50%が吸収された。ウサギでの経口吸収は、それよりかなり高かったが、ヒトの試験では定量化出来なかった。放射活性の血漿中濃度ピークは、通常 8 時間以内に到達した。ラット、ウサギ、ヒトでの消失（主として糞中）は速やかであった。イヌでは血清中の放射活性ピークは 2-3 日維持され、7 日以上有意なレベルが続いた。ウサギ、イヌ及びヒトでは、トリクラベンダゾールは速やかかつ大幅に分解され、スルホキシドとスルホンが血清中に認められる主な代謝物であった。これらの酸化産生物に加え、ラットの排泄物中には、4-ヒドロキシトリクラベンダゾールと、2-ベンゾイミダゾールが含まれていた。

マウス、ラットに対しては、トリクラベンダゾールは、単回経口投与では、毒性はわずか（LD50 > 8000 mg/kg 体重）だが、ウサギに対しては毒性は中等度 (LD50 = 206 mg/kg 体重)であった。ウサギの感受性が高いのは、恐らく経口用量に対する生物学的利用度がより高いせいである。

ラット及びイヌへの短期経口投与後の所見には、これといった特徴はなかった。3 ヶ月間の試験では、体重増加の抑制が、ラットでは 7 mg/kg 体重/日以上の投与で、イヌでは 37 mg/kg 体重/日投与で観察された。貧血はラットで 68 mg/kg 体重/日、イヌで 37 mg/kg 体重/日投与でみられた。例えば肝酵素やコレステロールの血漿中濃度や、肝重量の上昇といった肝毒性の証拠は、ラットではおよそ 70 mg/kg 体重/日で、イヌでは 37 mg/kg 体重/日でみられた。小さな非腫瘍性肝瘤が、イヌに用量 37 mg/kg 体重/日を 3 ヶ月間投与した試験で観察された。NOEL は、ラットで 0.7 mg/kg 体重/日、イヌで 0.35 mg/kg 体重/日であった。

肝腫瘍が、29 mg/kg 体重/日に達する用量を、2 年間投与された雌マウスでみられた。腺腫の発生頻度は、全ての用量群で、対照群より高かったが、用量依存性はみられなかった。99%レベルの有意差は、腫瘍発生の背景率が高い場合の評価に広く用いられているレベルであるが、このマウスの一般良性腫瘍のケースでは、これに届かなかった。更に、肝細胞がんの発生に関しては、いずれの用量レベルでも有意の発生率増加はなかった。NOEL は 2 番目に高い用量 1.4 mg/kg 体重/日における肝重量増加に基づき、0.27 mg/kg 体重/日であった。ラットの 2 年間の給餌試験では、腫瘍は誘導されず、4 mg/kg 体重/日用量での体重増加抑制に基づき、NOEL は 1.2 mg/kg であった。数件の *in vitro* 及び *in vivo* の遺伝毒性試験結果は明確に陰性であった。これらの結果から、トリクラベンダゾールが発がん性物質である可能性はないと考えられる。

ラットの 2 世代生殖試験において、第 2 世代の授乳時期に 1 mg/kg 体重/日以上を投与した群で、生

後生存率及び成長が抑制された。しかしながら、こうした影響の発生頻度に用量依存性はみられず、また第 1 世代児動物にみられた影響と類似していた。更に、統計学的に有意の差には至らなかった。従ってこうした所見は、被験物質投与とは関係していないと結論された。NOEL は 5.5 mg/kg 体重/日であった。

ラット及びウサギの発達試験からは、胚毒性の兆候は認められなかった。胎児毒性については、ラットでは低体重、ウサギでは骨化の低下という形で、100 及び 10 mg/kg 体重/日投与群で観察された。20 mg/kg 体重/日投与のラットの胎児の 1 匹に、この系ではまれな臍帯ヘルニアが発現した。以上の影響は全て、母動物毒性のある用量域でのみ生じた。羊と牛での妊娠中の化合物投与は、子宮内容物の成長と発達には影響しなかった。NOEL は、ラットでは 50 mg/kg 体重/日、ウサギでは 3 mg/kg 体重/日であった、

トリクラベンダゾールと、フェンベンダゾール（発達及び遺伝毒性試験）あるいはレバミゾール（急性、亜慢性、発達及び遺伝毒性試験）の合剤は、何ら化合物相互作用は示さなかった。

4. 評価（原文 p.10）

トリクラベンダゾールの安全性評価を支えるデータベースは十分な内容を持つ。最も低い NOEL 値は、マウス長期毒性試験での肝重量増加に基づく 0.27mg/kg 体重/日であった。当委員会は、安全係数 100 を用いて、トリクラベンダゾールの ADI（1 日摂取許容量）を 0-3 μg/kg 体重と定めた。

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:JECFA 1992）

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
急性毒性	表1参照		
13 週間亜急性毒性 （経口）	ラット Charles River CD	0、10、100 又は 1000 ppm （97%純度） 雄:0.7、6.6 及び 68.5 mg/kg 体重/日 雌:0.8、7.9 及び 87.3 mg/kg 体重/日 に相当	餌と飲料水の摂取は、1000 ppm 投与の雄では減少し、一方 100 ppm 投与の雄と、1000 ppm 投与の雄と雌では、体重増加は抑制された赤血球数、ヘモグロビン量及びヘマトクリット値は、1000 ppm 投与の雄と雌で減少した。リンパ球及び総白血球数は、1000 ppm 投与の雌で減少した。血清アルカリフォスファターゼは 1000 ppm 投与群で増加した。コレステロール、アルブミン及び総タンパクは、1000 ppm 投与群で、特に雌では増加した。尿量は、1000 ppm 投与の雄では減少した。 肉眼的所見では、100 及び 1000 ppm 投与で血の気の薄い腎臓と肝臓が、1000 ppm 投与で鬱血肺が増加したが、病理学的には明確な所見はなかった。 NOEL＝10 ppm（0.7 mg/kg 体重/日に相当）
2 年間長期／発がん性試験	マウスアルビノ Tif:MAGf	0、3、15、60 又は 300 ppm（純度 99.5% ）雄で 0.29 、1.44 、5.7 又は 29.6 mg/kg 体重/日 、雌で 0.27、1.39、5.35 又は 87.3 mg/kg 体重/日	体重増加は全ての雄の投与群、とりわけ初めの年に上昇していた。しかしながら、この効果はわずかで（10%以下）、用量依存性がなく、雌では観察されなかった。 眼科検査、血液学検査、血液化学検査及び尿検査を、6 ヶ月間隔で行った。アルカリフォスファターゼ、GPT 及び GOT の血清中濃度は、初めの年は 300 ppm 投与群で、2 年目は全ての投与群で上昇していた。2 年目の影響は用量依存性がなく、有意差も時たまみられるに止まった。 試験の最後に、15 ppm 以上の投与群で肝重量の絶対値及び相対値が増大していた。肝腫瘍が雌の全投与群で増加したが、有意差は 99%レベルには届かなかった。がん腫の発生とがんの出現時期には影響はなかった。 NOEL は 3 ppm で、0.27 mg/kg 体重/日相当。
長期／発がん性試験	ラット Charles River CD	0、3、15、30 又は 100 ppm（純度 99.5%）雄で 0.1、0.6、1.2 又は 4.0 mg/kg 体重/日、雌で 0.2、0.7、1.5 又は 5.2 mg/kg 体重/日	体重増加は 100 ppm 投与群で抑制された。ただ、有意差は雌のみ認められた。 30 及び 100 ppm 投与群で、リンパ球数が試験終了時に低下していたが、報告値は正常変動範囲内であった。雄の 100 ppm 投与群における血漿中の塩素及び BUN のわずかな減少と、カルシウム及びタンパクの増加、並びに雌の全投与群での BUN の減少は、変動値が小さく、試験全体を通じて一定でないことと、正常の変動範囲内であることから、毒性学的に有意ではないと判定された。 試験中途解剖の雄 100 ppm 投与群で、腎臓の重量が低かったが、実験終了時解剖群では認められなかった。雄の 15 及び 100 ppm 投与群に、膵島細胞腺腫の発生が増加していた。投与薬剤との関連については否定的であった。統計学的に有意差がなく、雄対照群で投与群を上回るがん腫数がみられたからである。

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
生殖試験	ラット Tif:RAIf	0、3、15 又は 75 ppm（純度 97.6%）雄で 0.2、1.1 又は 5.5 mg/kg 体重/日、雌で 0.3、1.4 又は 7.4 mg/kg 体重/日	F2 の子では、15 及び 75 ppm 投与群で、授乳期間中の死亡率が上昇した。この上昇は、平行して試験した対照群との間に有意差があったが、F1 群との比較では優位差はなかった。離乳期の体重は、15 及び 75 ppm 投与では低かったが、有意の差には至らなかった。NOEL は 75 ppm で、5.5 mg/kg 体重/日相当であった。
胚毒性、催奇性特別試験	ラット Tif:RAIf	0、10、30 又は 100 mg/kg 体重/日（純度 97.6%）	体重増加及び摂餌量は、100 mg/kg 体重/日投与では顕著に減少し、10 及び 30 mg/kg 体重/日では体重増加が若干抑制された。生存胎児重量は 100 mg/kg 体重/日投与で減少したが、外観、内臓及び骨格の異常生成は起こらなかった。NOEL は 30 mg/kg 体重/日であった。
胚毒性、催奇性特別試験	Sprague-Dawley ラット	0、10、25、50、100 又は 200 mg/kg 体重/日（純度 100%）	100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群では、母ラットの体重増加は抑制されたが、より低い用量では毒性の兆候はなかった。子宮と胎児の検討では、胚又は胎児の生存率、あるいは胎児の生成不全には影響がないことが明らかになった。胎児にみられた唯一の影響は、100 及び 200 mg/kg 体重/日投与群における体減少であった。
胚毒性、催奇性特別試験	チンチラウサギ	0、3、10 又は 20 mg/kg 体重/日	低用量の 3 羽が死亡し、各投与群から 2-3 羽に下痢が認められた。試験期間中の母ウサギの体重増加は全ての群で同等であったが、子宮とその中身重量を差し引いて「補正」すると、投与群で若干の用量に依存しない低下があった。 胎児の検査では、10 及び 20 mg/kg 体重/日投与群で、前後肢に骨化していない指骨がみられた。20 mg/kg 体重/日投与の 1 羽には、このウサギ種にはまれな臍帯ヘルニアが見つかった。NOEL は 3 mg/kg 体重/日であった。
胚毒性、催奇性特別試験	羊メリノ	0、5 あるいは 10 mg/kg 体重/日	出産や子の形態に影響はみられなかった。
胚毒性、催奇性特別試験	メリノ羊雌	0 あるいは 30 mg/kg 体重/日	いずれの投与形態でも、雌羊に毒性の兆候はみられず、出産や子羊の発育にも影響はなかった。
胚毒性、催奇性特別試験	メリノ羊	0 あるいは 50 mg/kg 体重/日	出産状況や子羊の発育には影響はなかった。
胚毒性、催奇性特別試験	牛 Hereford 種の雌	24 mg/kg 体重/日	分娩や子牛の子宮内発達には影響がなかった。
胚毒性、催奇性特別試験	Hereford 種又は黒頭種の雌牛	0 又は 24 mg/kg 体重/日	分娩には困難はなく、子牛には何ら異常はなかった。
遺伝毒性	表4参照		
刺激及び感作に関する特別試験	モルモット Pirbright	記載なし	上皮へ投与しても反応はなかったが、皮内投与では陽性の感作反応が起こった。
刺激及び感作に関する特別試験	ウサギ New Zeeland white	記載なし	被験物質はわずかに皮膚刺激性であると判定された。

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
刺激及び感作に関する特別試験	New Zeeland white ウサギ	0.1 g	眼刺激性は示されなかった。
トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験	妊娠ラッ	50%トリクラベンダゾールと 50%フェンベンダゾール 0、10、40 又は 120 mg/kg 体重/日	120 mg/kg 体重/日投与母ラットは摂餌量が減少し、受胎産物の部分流産と吸収が増加した。同じ用量での胎児毒性としては、胎児体重の減少、骨化の減少、ねじれた尾、髄膜脳瘤及び水頭症が挙げられる。骨化の遅れは 40 mg/kg 体重/日投与の胎児にみられたが、10 mg/kg 体重/日投与群には何も悪影響認められなかった。
トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験発達試験	羊	0 又は 50 mg/kg 体重、0 又は 150 mg/kg 体重	分娩の具合には影響なく、子での唯一の悪影響は、腎臓の内部構造破綻を伴う強度の奇形で、高用量の子羊 25 頭中 3 頭に生じていた。
トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験突然変異試験	Salmonella typhimurium A98 、TA100 、TA1535 及び TA1537 株と、Saccharomyces cerevisiae D7 株		ラット肝ミクロゾームの有無に関わらず陰性。
トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験染色体異常	培養ヒトリンパ球		22 及び 44 μg/mL 投与で増加していた(用量依存性)が、11 μg//mL では影響はみられず、またラット肝 S)分画存在下でのみ観察された。
トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験	チャイニーズハムスターの骨髄	1000, 2000 あるいは 4000 mg/kg 体重	核の異常(Jolly 小体一つのみ)の増加がみられた。増加は統計学的に有意であるものの、増加はわずかで用量依存性はなかった。
トリクラベンダゾールとフェンベンダゾール合剤に関する特別試験染色体異常	マウスの 1 次及び 2 次精母細胞、あるいは精原細胞	2500 mg/kg 体重	誘導されなかった。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験急性試験	ラット	61.5%トリクラベンダゾールと 38.5% レバミゾール	LD50 値は 1996 mg/kg 体重、皮膚投与では>2000 mg/kg 重量となった。

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	ウサギ		眼に対する可逆的刺激がわずかにみられたが、被験物質は、皮膚に対し刺激性はないと結論された。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	ラット	0、20、200 又は 2000 ppm	200 ppm 以上の投与で体重増加が抑制され、2000 ppm 投与では貧血がみられた。血清中の肝酵素及びコレステロール濃度上昇及びトリグリセライド濃度の減少から、2000 ppm 投与、そして程度は低いが 200 ppm 投与での肝細胞障害が示唆された。剖検では、2000 ppm 投与で、尿細管損傷、副睾丸内の睾丸肉芽種、副腎皮質脂肪変化、胸腺萎縮及び骨格筋萎縮といった変化がわずかながらみられた。20 ppm、あるいは 1.4 mg/kg 体重/日相当の投与では影響はなかった。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	イヌ	0、20、60、240 又は 1000 ppm	1000 ppm 投与で、体重増加と摂餌量は減少し、動物の半数は死亡した。この用量は 45 日後に中止された。貧血、アルカリフォスファターゼとコレステロール値の増加は 240 ppm 以上の投与群で明らかであった。60 及び 240 ppm 投与で、肝臓と脾臓の重量が増加していた。60 ppm 以上の投与で、胸骨での血球産生が亢進していた。以前の 45 日間は投与を受けていない 1000 ppm 投与群で、生き残ったものは、毒性の影響から少なくとも部分的には回復を見せた。20 ppm、あるいは 0.75 mg/kg 体重/日相当の投与群では影響はなかった。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	妊娠ラット	0、10、80 又は 160 mg/kg 体重/日	被毛の乱れが 160 mg/kg 体重/日投与で、寝床の濡れの亢進が 80 mg/kg 体重/日以上の投与で認められ、これは多尿症のためとみられた。母ラットの体重増加及び摂餌量は、80 及び 160 mg/kg 体重/日投与で減少していた。胎児への影響は、80 及び 160 mg/kg 体重/日投与でみられ、体重の減少、2 分された胸骨分節及び骨化の減少のみであった。10 mg/kg 体重/日投与では、悪影響は何もみられなかった。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	妊娠ウサギ	0、1.5、30 又は 50 mg/kg 体重/日	体重増加の抑制と、1 例の流産及び受胎産物の吸収がみられた。吸収率は 50 mg/kg 体重/日投与では若干増加したが、有意な差には至らなかった。発達への影響の増加は、いずれの群にもみられなかった。30 mg/kg 体重/日投与までは悪影響はなかった。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験突然変異試験	Salmonella typhimurium A98 、TA100 、TA1535 及び TA1537 株と、チャイニーズハムスターV79 細胞株		ラット肝ミクロゾームの有無に関わらず陰性。

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	ラットから分離された肝細胞及びヒト線維芽細胞		不定期 DNA 合成が暴露した細胞で起こっている兆候はなかった。
トリクラベンダゾールとレバミゾール合剤に関する特別試験	マウスの骨髄		小核は誘導されなかった。

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
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD_{50}	50% Lethal Dose	半数致死量

トリクラベンダゾール　評価書和訳と情報整理

JECFA　2006

ウェブサイト：ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/2-2006-triclabendazole.pdf
FNP 2/2006, 2006

トリクラベンダゾール 評価書和訳と情報整理 JECFA(2006) 目次

トリクラベンダゾール(原文 p.1) 60
特性(原文 p.1) 60
特性及び性質に関するその他の情報(原文 p.1) 60
食品中の残留物(原文 p.1) 60
使用条件(原文 p.2) 61
用量(原文 p.2) 61
薬物動態及び代謝(原文 p,2) 61
実験動物種(原文 p.2) 61
ラット(原文 p.2) 61
イヌ(原文 p.4) 63
食科生産動物(原文 p.5) 63
牛(原文 p.5) 64
羊(原文 p.4) 65
組織残留消失試験(原文 p.6) 66
放射能標識残留消失試験(原文 p.6) 66
牛(原文 p.6) 66
羊(原文 p.7) 67
放射能非標識薬剤を用いた残留消失試験(原文 p.7) 67
牛(原文 p.7) 67
羊(原文 p.8) 68
組織中の残留物に関する分析法(原文 p. 9) 69
まとめ(原文 p. 11) 72
最大残留基準値(原文 p.13) 75
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 2006) 77
略称 77

原文 目次

原文ページ

トリクラベンダゾール ……1
特性 ……1
特性及び性質に関するその他の情報 ……1
食品中の残留物 ……1
　使用条件 ……2
　用量 ……2
薬物動態及び代謝 ……2
　実験動物 ……2
　　ラット ……2
　　イヌ ……4
　食科生産動物 ……5
　　牛 ……5
　　羊 ……6
組織残留消失試験 ……6
　放射能標識残留消失試験 ……6
　　牛 ……6
　　羊 ……7
　非標識薬剤を用いた残留消失試験 ……7
　　牛 ……7
　　羊 ……8
組織中残留物の分析法 ……9
まとめ ……11
最大残留物基準値 ……13
参考文献 ……15

TRICLABENDAZOLE ……1
IDENTIRY ……1
OTHER INFORMATION ON IDENTIFY AND PROPERTIES ……1
RESIDUES IN FOOD ……1
　Conditions of Use ……2
　Dosage ……2
PHARMACOKINETICS AND METABOLISM ……2
　Laboratory Animals ……2
　　Rats ……2

Dogs ····4
Food Producing Animals ····5
Cattle ····5
Sheep ····6
TISSUERESIDUEDEPLETION STUDIES ····6
Radiolabelled Residue Depletion Studies ····6
Cattle ····6
Sheep ····7
Residue Depletion Studies with Unlabelled Drug ····7
Cattle ····7
Sheep ····8
METHODS OF ANALYSIS FOR RESIDUES IN TISSUES ····9
APPRASIAL ····11
MAXIMUM RESIDUE LIMITS ····13
REFERENCES ····15

トリクラベンダゾール（原文 p.1）

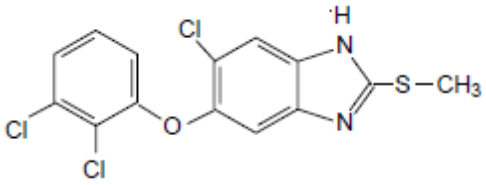
特性（原文 p.1）

化学名： 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-2-メチルチオ-1H-ベンズイミダゾール{国際純正応用化学連合、又は IUPAC 名}

化学情報検索サービス機関（CAS）番号： 68786-66-3

同義語： トリクラベンダゾール（慣用名）；CGA 89317、CGP 23030；商標名 Fasinex®、Fascinex®、Soforen®、Endex®、Combinex®、Parsifal®、Fasimec®、Genesis™Ultra

構造式:



分子式： $C_{14}H_9Cl_3N_2OS$

分子量：359.66

特性及び性質に関するその他の情報(原文 p.1)

純粋な活性物質： トリクラベンダゾール

外観： 白色結晶固形物

融点： 175~176℃(Merck)、α-体、162℃(β-体)

溶解性： テトラヒドロフラン、シクロヘキサノン、アセトン、イソプロパノール、n-オクタノール、メタノールには溶解、ジクロロメタン、クロロホルム、トルエン、キシレン、エチルアセテートには難溶、水、ヘキサンには不溶解

食品中の残留物(原文 p.1)

委員会の第 40 回会合はマウス慢性試験で得られた無影響量（NOEL）0.27 mg/kg 体重/日及び安全係数として 100 を用いることで許容一日摂取量（ADI）を 0~3 μg/kg と定めた。委員会は牛及び羊における最大摂取基

準値(MRLs)を推奨した。牛において、トリクラベンダゾール当量で表されたMRLsは筋肉及び脂肪においては200 μg/kg、また肝臓及び腎臓においては300 μg/kgであった。羊においては、MRLsは筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪に関して100 μg/kgであった。マーカー残留物は5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンであった。第 40 回委員会は可食組織中の総残留物ならびに総残留物濃度対マーカー残留物濃度の比率のより正確な推定が羊における MRLs を再考する前に必要であると結論付けた。食品残留動物用医薬品部会(CCRVDF)の第 15 回会合は新たな評価を要請した。牛及び羊に関するデータが提供された。

使用条件(原文 p.2)

トリクラベンダゾールは羊、ヤギ、及び牛における肝吸虫である肝蛭(*Fasciola hepatica*)及び巨大肝蛭(*Fasciola gigantica*)の制御に用いられるベンズイミダゾール系駆虫薬である。トリクラベンダゾールはフェンベンダゾール及びチアベンダゾールなどが挙げられる他のベンズイミダゾール系化合物と化学構造的にも薬物動態活性的にも類似している。

用量(原文 p.2)

トリクラベンダゾールは牛に対してドレンチ剤での 12 mg/kg 体重、又は滴下剤(pour-on)での 30 mg/kg 体重の投与を受ける。推奨治療経口用量は牛においては 12 mg/kg 体重であり、また羊及びヤギでは 10 mg/kg 体重であった。反復投与治療における投与間隔に関する獣医のアドバイスは国ごとに異なるが、通常は肝蛭の流行期には 8~10 週間の間隔、あるいは急性又は亜急性感染がみられた場合は 5~6 週間間隔で行われる(FAO,1993; EMEA, 1997)。

薬物動態及び代謝(原文 p,2)

ラット、ウサギ、イヌ、羊、ヤギ、牛及び豚に対して ^{14}C-標識トリクラベンダゾールを用いた試験を取り上げた第 40 回委員会による評価はトリクラベンダゾールの吸収、分布、代謝及び排泄は実験動物と食科生産動物の両方で定性的に類似すると判断した。トリクラベンダゾールの生体内変化及び排泄は極めて速やかであり、二つの主要代謝経路が特定されている。それらはメチルチオール基の酸化によるスルホキシドからスルホン代謝物への変化、ならびにジクロロフェノキシ環の 4-ヒドロキシル化の 2 つである(図1.)。5 つの特定された代謝物―トリクラベンダゾール、スルホキシド、スルホン、環状ヒドロキシル化代謝物及びケト-トリクラベンダゾールは投与量の約40~60%に相当し、異なる動物種の間ではこれらの代謝物の相対比率には定量的な違いがみられた。

実験動物種(原文 p.2)

ラット(原文 p.2)

^{14}C-トリクラベンダゾールの吸収及び排泄は 1 mg/kg 体重での単回静脈内投与、1、10、80 mg/kg 体重での単回経口投与、又は 10 日間にわたる 1 日当たり 1 mg/kg 体重の経口投与を受けた雄ラットにおいて調査された

(Study DM23/1991, 1996)。低用量(1 mg/kg 体重)におけるトリクラベンダゾールの経口吸収はほぼ完全であったが、高用量(10 mg/kg 体重)においては約 50%まで減少した。48 時間以内に 1 mg/kg の用量(経口又は静脈内投与)のうち 87~92%が尿及び糞中に排泄された。主要な排泄経路は糞経由であり、投与量の82~85%に相当する。服用レベルに関係なく、血漿中放射能の最大濃度は経口投与から 8 時間後にみられた。投与からさまざまな期間を空けて測定された放射能の濃度は、経口及び静脈内投与を受けたラット組織中のトリクラベンダゾール代謝物の分布が広範にわたることを示した。

続いて行われた医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施基準(GLP)で実施された試験において、12 匹のラットに ^{14}C-トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を単回経口強制混餌投与した(Study a969/024, 2004)。放射能の回収率は 4 匹のラットから 10 日間にわたって毎日採取された排泄物及び呼気二酸化炭素において定量化された。放射能測定のために血液及び組織が 10 日目(ラット 6 匹)及び 28 日目(ラット 10 匹)の解剖時に採取された。投与後 10 日間以内のラットの糞中での平均回収率は 96%であると同時に、尿中からの平均回収率は8%であった。呼気からの検出は 0.01%を下回った。放射能の主な排泄が糞中であることは胆汁中排泄がラットにおいて重要であることを示唆した。組織中(肝臓、腎臓及び筋肉)の放射能の分布は 10 日後の時点では残留物が最も多くあるのは腎臓であることを示し、また 28 日後の時点ではそれが腎臓及び筋肉であることを示した。10 日目にと殺されたラットの排泄物及び組織から抽出された放射能抽出物のクロマトグラフィーによる分析は4~12 の代謝物画分を生じ、そのすべてが既存の標準品との比較により特定することができなかった。

トリクラベンダゾール残留物のバイオアベイラビリティーに関する GLP 準拠の試験において、雄ラットは ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回投与を経口強制給餌、静脈内投与、又は粉末化飼料への添加、あるいは牛組織由来の ^{14}C-トリクラベンダゾール派生残留物の食餌中への添加を受けた(Study 1969/023, 2004)。牛組織由来の ^{14}C-トリクラベンダゾール派生残留物の投与を受けたラット群は 12 mg/kg 体重での単回経口投与を受けた 28 日後にと殺された牛の凍結乾燥された肝臓、筋肉及び腎臓を投与された(Study 1969/023, 2004)。

図 1. 実験動物及び食科生産動物におけるトリクラベンダゾールの代謝経路案

トリクラベンダゾール →スルホキシド → スルホン → トリクラベンダゾール
→4-OH-トリクラベンダゾール →

^{14}C-トリクラベンダゾールの混餌投与を受けたラットの血液中の放射能の最大濃度は強制給餌の 4 時間後に、また粉末化飼料による投与の 4.8 時間後にみられた一方で、トリクラベンダゾール残留物を含む凍結乾燥した筋肉又は肝臓を投与された群における最大血中濃度到達時間(T_{max})はそれぞれ 12 と 16 時間であった。血中濃度曲線下面積(AUC)の測定はトリクラベンダゾールとトリクラベンダゾール派生残留物との間にはバイオアベイラビリティーに関して著しい違いがあることを示した。トリクラベンダゾールのバイオアベイラビリティーは強制給餌を受けた場合は 71.5%、粉末化飼料の投与を受けた場合は 67.6%であったが、凍結乾燥された牛の筋肉又は肝臓由来のトリクラベンダゾール派生残留物の投与を受けた場合はそれぞれ 6.4%と 9.8%までバイオアベイラビリティーは減少した。

胆管挿入した雄ラットを用いた 2 件の追加の GLP 準拠の試験では、牛及び羊から採取された組織中の ^{14}C-トリ

クラベンダゾール派生残留物のバイオアベイラビリティーについて報告された(Study 017AM04, 1995; Study 1969/025, 2004)。一件目の試験(Study 017AM04, 1995)において、トリクラベンダゾール残留物を含んだ組織はそれぞれ 12 mg/kg 体重での単回経口投与を受けた牛(Study 380/214-1011, 1994)及び 10 mg/kg 体重での単回経口投与を受けた羊(Study 380/215-1011, 1994)から採取され、投与から 28 日後にと殺された。凍結乾燥した組織は飼料と混ぜる形でラットに 24 時間にわたって経口投与された。投与後に体循環へ入ったことが観察された放射能の量、すなわち尿、胆汁、組織及びと体中の放射線量の百分率の合計は、バイオアベイラビリティーとして定義された。牛及び羊におけるバイオアベイラビリティーはそれぞれ腎臓では 14%及び 7%、肝臓では 9%及び 8%、また筋肉では 4%及び 5%であった。AUC を用いたバイオアベイラビリティーに関する試験(Study 1969/026, 2004)に似て、凍結乾燥した組織由来のトリクラベンダゾール派生残留物のバイオアベイラビリティーは経口投与を受けたラットでみられたトリクラベンダゾール濃度に比べて極めて低かった。投与量は 48 時間以内にほぼ完全に、主に糞中に排泄された。最初の投与から 48 時間後にラットはと殺され、組織中の残留物は放射能により定量された。残留物は無視できるものとみなされ、肝臓と腎臓においてのみ定量限界である 0.002 mg/kg を下回る値でしか検出されなかった。

2 件目の新たに実施された残留物バイオアベイラビリティーに関する GLP 準拠の試験(Study 1969/025, 2004)において、トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を投与された牛由来の ^{14}C-トリクラベンダゾールを含む凍結乾燥肝臓、腎臓及び筋肉の投与を受けたラットは、投与後 28 日目にと殺された(Study 1969/023, 2004)。バイオアベイラビリティー(尿、胆汁、組織及び屠体中の放射線量の百分率として定義される)は肝臓、腎臓、筋肉においてそれぞれ 20%、3.3%、18%であった。放射能の平均回収率は>90%であり、主に糞中へ排泄された(>80%)。胆汁中での回収は 3~19%、尿中での回収率は投与量の<1%であった。投与から 72 時間後に測定された限りでは、吸収された残留物はラットの組織に貯まらなかった。組織中の放射能濃度は極めて低いかあるいは定量限界を下回った。

イヌ(原文 p.4)

雄イヌ 2 匹が ^{14}C-トリクラベンダゾールを 0.5、5 又は 40 mg/kg 体重での経口投与ならびに 0.5 mg/kg 体重での静脈内注射を受けた 1 件の非 GLP 準拠の試験が報告された(Study DM23/1991, 1996)。経口投与後の血液及び血漿中の ^{14}C-トリクラベンダゾール関連残留物の濃度は低容量では投与量 0.5 mg/kg のうち約 35~53%が吸収され、高用量では吸収率は約 25%まで減少した。血漿において、放射能は経口投与の 8~24 時間後に最高濃度に到達した。トリクラベンダゾールの排泄はほとんど糞経由に限定された。静脈内投与又は経口投与された 0.5 mg/kg のトリクラベンダゾールに関連した放射能のうちそれぞれ 79%及び 54%が糞中から回収された。投与後 168 時間における糞及び尿中の総回収率は静脈内投与の 80%に相当したが、経口投与ではたった 55%であった。排泄物中の放射能が最も多く回収された(投与量の 90%)のは高用量(40 mg/kg)での経口投与においてであった。

食科生産動物(原文 p.5)

牛(原文 p.5)

委員会の第 40 回会合により検討された試験では、牛における静脈内注射後のトリクラベンダゾールの代謝が速やかであることが示された。投与後 4 時間目にスルホキシド代謝物は最大血中濃度に達し、その終末相半減期は約 13 時間であった。スルホン代謝物はよりゆっくりと生成され、その最大血漿中濃度は投与後 32 時間に起こり、終末相半減期は 40 時間であった(Study 86/12/1099, 1986; FAO, 1993)。

1 件の新しい GLP 準拠の試験において、雌雄各 1 頭の 2 頭の反芻行動をとる仔牛はそれぞれ 12 mg/kg 体重での ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回投与を受けた(Study 380/214-1011, 1994)。投与後 24 時間毎に 7 日間にわたって採取された尿及び糞試料中への放射能の排泄が測定された。投与された放射能のほんの一部分が尿中(2.2%)でみられると同時に、主な排泄は糞中(76%)であった。用量の 4%が投与後 7 日目に糞中で検出されたことから、糞中排泄は完全に終了していなかったとみなされた。組織中の放射能の分布は投与後 28 日目では広範にわたった。放射能の最高濃度は肝臓(0.461 mg 当量/kg)において検出され、次いで筋肉(0.33~0.35 mg 当量/kg)、腎臓(0.195 mg 当量/kg)の順であった。脂肪中で検出された残留物は極めて僅かであった(0.05~0.08 mg 当量/kg)。

尿及び糞中の代謝物の詳細な試験は別の GLP 準拠の試験において実施された(Study 017AM02, 1995)。尿中では 4 種類の代謝物が検出されたが、標準品と照らして特定できるものはなかった。しかしながら、硫酸塩又はグルクロニド抱合体は尿中では全く検出されなかった。糞抽出物からは 8 つの代謝物画分が検出され、最も極性の高い画分は尿中でみられた画分と類似したクロマトグラフィーによる展開挙動(chromatographic behavior)を呈した。主な画分は親化合物であるトリクラベンダゾールであり、投与量の 17%に相当した。その他の糞抽出物から特定された代謝物は 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロ-フェノキシ)-2-メタンスルフィニル-1H-ベンズイミダゾール、5-クロロ-6-(2,3-ジクロロ-フェノキシ)-2-メタンスルフォニル-1H-ベンズイミダゾール、2,3-ジクロロ-4-(6-クロロ-2-メチルスルファニル-3H-ベンズイミダゾール-5-イルオキシ)-フェノール及び 2,3-ジクロロ-4-(6-クロロ-2-メチルスルフォニル-3H-ベンズイミダゾール-5-イルオキシ)-フェノールであり、それぞれ用量の 3%、5%、4%及び 3%に相当した。

続いて実施された 1 件の GLP 準拠の試験において、^{14}C-トリクラベンダゾールの分布、代謝及び排泄が反芻行動を取る 1 頭の雄の仔牛において調査された(Study 1969/023, 2004)。12 mg/kg 体重での単回経口投与の後、尿及び糞は 10 日間にわたって採取され、個体は投与後 28 日目にと殺された。先行試験(Study 380/214-1011, 1994; Study 017AM02, 1995)に類似し、糞中排泄が優位を占めて投与量の 78.2%に相当し、また尿には投与量の 3.4%しか含有されていなかった。トリクラベンダゾールは糞中の主要な代謝物であると同時に、少量のスルホン、スルホキシド、及びヒドロキシル化代謝物も含まれていた。尿中代謝物の大半はトリクラベンダゾールよりも極性が高く、それには少量の 5-クロロ-6(2,3-ジクロロ-フェノキシ)-2-メタンスルフィニル-1H-ベンズイミダゾール、5-クロロ-6(2,3-ジクロロ-フェノキシ)-1,3-ジヒドロ-ベンズイミダゾール-2-オン、2,3-ジクロロ-4-(6-クロロ-2-メタンスルフォニル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イルオキシ)-フェノール、2,3-ジクロロ-4-(6-クロロ-2-メタンスルファニル-3H-ベンズイミダゾール-5-イルオキシ)-フェノール及び 2,3-ジクロロ 4-4(6-クロロ-2-メタンスルフィニル-3H-ベンズイミダゾール-5-イルオキシ)-フェノールが含まれた。投与後 28 日目には、放射能濃度によ

って測定されたトリクラベンダゾール残留物量は肝臓(0.283 mg 当量/kg)及び筋肉(0.209 mg 当量/kg)において最も高かった。腎臓中の残留物はそれよりも低く(0.163 mg 当量/kg)、またそれよりもはるかに少ない量が脂肪中において検出された(0.026 mg 当量/kg)。血中(0.070 mg 当量/kg)及び血漿中(0.051 mg 当量/kg)の放射能の全身量は組織中のそれよりも一貫して低かった。

試験により、牛への経口治療用量(12 mg/kg 体重)での投与の後トリクラベンダゾールが速やかに吸収されること、ならびに主に糞を経由して排泄されることが立証された。糞中の主要代謝物はラットにおけるそれと類似した。投与後 28 日目の組織中の残留物濃度は肝臓において最も高く、次いで筋肉、腎臓の順で高かった。脂肪中の残留物はその他の組織に比べると無視できるものであった。

羊(原文 p.4)

委員会による先の評価で報告された羊及びヤギにおけるトリクラベンダゾールの吸収、分布及び排泄の試験では、羊及びヤギにおけるトリクラベンダゾールの代謝が他の調査済みの動物種におけるそれと類似していることが示された(FAO, 1993)。経口投与された用量は効果的に吸収され、また速やかに代謝された。同じ代謝物が羊及びヤギによっても排泄され、また投与後 10 日までにはほぼ完全に排泄された。投与量の 90%以上は糞中から、尿中からは 2~3%、及び乳汁中からは 0.5%回収された。放射能量によって示された羊及びヤギの組織中のトリクラベンダゾール残留物の体内動態は、牛において観察されたものに類似していた。投与後 28 日目、肝臓が最も高い濃度を有し、次いで筋肉、腎臓の順であったが、脂肪組織中の放射能量は比較的小さなものであった。

反芻行動を取る羊を用いたトリクラベンダゾール代謝に関する新たな GLP 準拠の試験では、先行試験と対応する代謝パターンが示された。雌雄各 1 頭の羊への名目投与量(10 mg/kg 体重)による ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回経口投与後の放射能の平均回収率は投与後 7 日目において投与量の 85%であった(Study 380/215-1011, 1994)。主な排泄経路は糞中であり、投与量の 77%に相当した。血漿中の放射能によって示されたトリクラベンダゾールの吸収は投与後 8 時間目が最も高く(19.59 mg 当量/kg)、48 時間目には 10.05 mg 当量/kg まで減少した。投与後 28 日目の組織中の放射能分布は最も高い量が筋肉にあり(0.237~0.306 mg 当量/kg)、続いて肝臓(0.237 mg 当量/kg)、腎臓(0.198 mg 当量/kg)の順であることを明らかにした。一方で大幅に少ない量(0.02 mg 当量/kg)が脂肪組織中で検出された。

クロマトグラフィーによる排泄物の分析は糞抽出物からは 11 種類の代謝物分画、また尿中からは 5 つの代謝物分画を明らかにした(Study 017AM03, 1995)。糞抽出物のうち 5 つの構成要素だけが標準品と同じ挙動を取り(co-chromatographed)、それらはスルホキシド、スルホン、ヒドロキシル化代謝物及び元のトリクラベンダゾールに対応した。羊における主要代謝経路はその後のスルホンへの更なる酸化を伴うスルホキシドへの酸化、ならびにジクロロフェニル部分のヒドロキシル化であり、牛で見つかったものと基本的に同じであった。牛における排泄でみられた代謝パターンのように(Study 380/214-1011, Study 017AM02, 1995; Study 1969/023, 2004)、糞試料から回収された未変化のトリクラベンダゾールが主な代謝画分であり、投与量の 16~17%に相当した。羊における代謝及び排泄はラットにおいて観察されたそれと類似していた。

組織残留消失試験(原文 p.6)

放射能標識残留消失試験(原文 p.6)

牛(原文 p.6)

トリクラベンダゾールの総残留消失を調べるための 1 件の試験的な GLP 準拠の試験において、2 頭の反芻行動を取る牛(7 か月の未経産の雌牛)はそれぞれ 12 mg/kg 体重での ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回経口投与を受けた(Study 400-05, 1991)。牛はそれぞれ薬剤投与後 28 と 42 日目にと殺され、肝臓、腎臓、複合筋肉及び脂肪サンプルはそれぞれの組織中の総残留物を定量するために燃焼分析により分析された。定量限界は肝臓に関して 0.002 mg/kg、腎臓及び筋肉に関しては 0.003 mg/kg、ならびに脂肪に関しては 0.007 mg/kg であった。それぞれの牛の組織中に認められた総残留物は表 1 に示した。

表 1. C^{14}-トリクラベンダゾールの単回経口投与(12 mg/kg 体重)による投与後の牛の組織中の ^{14}C-トリクラベンダゾールの総残留物

投与後経過日数	組織中の総 ^{14}C-トリクラベンダゾール残留物(平均±SD, mg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
28	0.131±0.017	0.241±0.013	0.106±0.016	0.013±0.003
42	0.097±0.007	0.093±0.009	0.069±0.011	＜0.008±0.001

薬剤投与後 28 日目にと殺された牛から採取された組織は-20℃での約 5 ヶ月間にわたる冷凍貯蔵の後に分析された(Study 400-05A, 1992)。続いて組織サンプル(20 g)は 40 mL メタノールによって 3 回抽出された後、酢酸エチルによって 3 回抽出された。放射能標識された残留物の回収率は低く(肝臓:13.8%、腎臓:4.7%、筋肉:4.7%、脂肪:0.0%)、よって抽出残留物のより詳細な解析は試みられなかった。

引き続き行われた GLP 準拠の試験において、12 mg/kg 体重の ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回経口投与の後 28 日目にと殺された 1 頭の雄仔牛から得られた肝臓、腎臓及び筋肉組織はケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物と総残留物との間の関連性を明らかにするために分析された(Study 1969/023, 2004)。ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物は投与後 28 日目では肝臓においては総残留物の 24%、腎臓においては総残留物の 27%、また筋肉においては総残留物の 32%に相当した。

12 mg/kg 体重の ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回経口投与後 28 日目にと殺された 2 頭の反芻行動を取る仔牛から得られた組織(Study 380/214-1011, 1994)はケト-トリクラベンダゾール残留物及び総放射能標識残留物の両方を定量するために分析された(Study 132/94, 1995)。GLP に準拠して実施されたこの試験において、ケト-トリクラベンダゾール分析の結果は回収率補正がされなかった。ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物は投与後 28 日目では肝臓においては総残留物の 13%、腎臓においては総残留物の 21%、また筋肉に

おいては総残留物の 31%に相当した。0.1 mg/kg で強化された筋肉、肝臓、腎臓に関する試験で報告された平均回収率を用いてケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物を補正した後、補正されたマーカー対総残留物の比率は筋肉:42%、肝臓:19%、腎臓:24%であった。

羊(原文 p.7)

10 mg/kg 体重での ^{14}C-トリクラベンダゾールの単回経口投与を受けた 28 日後にと殺された 2 頭の羊から採取された筋肉及び肝臓組織(Study 380/215-1011, 1994)は、ケト-トリクラベンダゾール残留物と総放射能標識残留物の両方を定量するために分析された(Study 132/94, 1995)。ケト-トリクラベンダゾールの濃度(回収率補正されていない)は筋肉中では総残留物の 29%に相当し、また肝臓中では残留物の 17%に相当した。ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物は、回収分析(Analytical recovery)に関して補正した後、筋肉と肝臓中の総残留物のそれぞれ 39%と 24%に相当した。

放射能非標識薬剤を用いた残留消失試験(原文 p.7)

牛(原文 p.7)

第 40 回委員会(FAO, 1993)により準備された試験論文において 3 件の残留物試験が報告され、その試験において牛は 12 mg/kg 体重トリクラベンダゾールの単回経口投与を受けた。これらの試験において、残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-オンとして測定され、トリクラベンダゾール当量へは変換係数である 1.0913 を用いて変換された。初めの 2 件の試験においてはタイムポイント毎に 2 頭の動物がと殺されたが、3 件目の試験においてはタイムポイント毎に 4 頭の牛がと殺された。1 件目及び 3 件目の試験は 2~28 日間の間のタイムポイントを含んでいたが、2 件目の試験は 42 日まで延長された。試験は一貫性のある消失プロファイルを示したが、残留物濃度はそれぞれの試験の同じ又は同等のタイムポイントにおいて異なっていた。一貫して、最も高い残留物量は肝臓と腎臓において投与後 7 日目までみられ、その一方で脂肪中の残留物は投与後 14 日目では用いられた分析手法の検出限界値(0.03~0.06 mg/mg)に近いかそれを下回る値であった。投与後 7~14 日目では筋肉組織中の残留物濃度は肝臓及び腎臓中におけるそれに比べて低かったが、それ以降のタイムポイントではそれらは類似していた。これらの試験が GLP 準拠で実施されたか否かは記載されてなかった。

1 件の新しい GLP 準拠の試験が実施され、その試験において 24 頭の牛(168~367 kg)は 18 mg/kg 体重でのトリクラベンダゾールの経口投与を受けた上、その初回投与から 28 日後にも反復投与を受けた(Study Y03/49, 2004)。サンプリング時間である 2 回目の投与後 14、28、42 及び 56 日目にそれぞれ 6 頭ずつと殺された。筋肉(テンダーロイン)、肝臓、腎臓及び腎臓脂肪の試料が採取され、定量限界が 0.05 mg/kg の液体クロマトグラフィー法を用いてケト-トリクラベンダゾールの残留物について分析された。結果は analytical recovery に関して補正された。先の試験(FAO, 1993)にもあったように、投与後 14 日目において最も多い残留物は腎臓と肝臓においてみられ、一方で脂肪中の平均残留物は 0.10 mg/kg を下回った。投与後 42 日目においては、筋肉と肝臓中の残留物は類似しており、腎臓に比べて約 2.5 倍高く、その一方で投与後 56 日目に

おいて残留物は筋肉と肝臓中においてのみ検出可能であった(表 2.)。

表 2. トリクラベンダゾール(Fasinex®-10%)18 mg/kg 体重での 2 回の経口治療(28 日間隔)を受けた牛組織中でケト-トリクラベンダゾールとして測定されたトリクラベンダゾールの残留物

2 回目の投与後経過日数(日)	ケト-トリクラベンダゾールとして測定されたトリクラベンダゾール残留物 (平均±SD, mg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
14	0.238±0.027	0.979±0.235	0.656±0.265	0.089±0.029
28	0.14±0.027	0.365±0.083	0.129±0.020	<0.050~0.062[a]
42	0.127±0.021	0.228±0.054	0.066±0.015	<0.050
56	0.091±0.015	0.102±0.033	<0.050	N.A.[b]

[a]6 つ脂肪試料のうち 1 つだけが残留物を 0.050 mg/kg 以上含んでいた。[b] 未分析。

羊(原文 p.8)

委員会の第 40 回会合(FAO, 1993)のために用意された試験論文において 3 件の残留消失試験が報告され、その試験において羊はトリクラベンダゾールの経口単回投与(10 mg/kg 体重又は 15 mg/kg 体重)を受けた。投与後 14~21 日以内に脂肪中の残留物は検出限界値(0.03 mg/kg)を下回ったが、肝臓、腎臓及び筋肉においては 28 日間にわたって検出が可能なままであった。投与後 21 日目では最も多くの残留物は肝臓においてみられたが、投与後 28 日目では肝臓、腎臓、及び筋肉における結果は相似していた。これらの試験が GLP に準拠して実施されたかは言及されていない。

1 件の GLP 準拠の試験が現行の委員会の会合に提出され、その試験において 24 頭の仔羊(体重 24~42 kg)は 10~13 mg/kg のトリクラベンダゾール/体重に相当する 0.2 mL の単回経口投与を受けた(Study Y04/22, 2004)。投与後 14、28、42、56 日目のそれぞれの時点で 6 頭ずつと殺された。2 頭の対照動物は投与を受けず、投与群の最初のグループより前にと殺された。肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪の試料は各個体から採取され、液体クロマトグラフィーによりケト-トリクラベンダゾール残留物に関して分析され、その結果は analytical recovery に関して補正された。いくつかの組織試料はそれより前の時点の試料が定量限界を下回っていたため、それ以降の時点の試料は分析されなかった。最も難分解性の残留物は筋肉においてみられ、投与後 56 日目の 6 頭のうち 3 頭において検出可能であった。残留物は投与後 42 日目の肝臓あるいは腎臓試料、また投与後 14 日目の脂肪試料においては検出されなかった。

表 3. トリクラベンダゾール（Fasinex®-5%）での単回経口治療を 10~13 mg/kg 体重で受けた羊の試料中のケト-トリクラベンダゾールとして測定されたトリクラベンダゾールの残留物

投与後経過日数	ケト-トリクラベンダゾールとして測定されたトリクラベンダゾール残留物（平均±SD, mg/kg）			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
対照	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
14	0.154±0.030	0.429±0.073	0.242±0.031	<0.05
28	0.112±0.030	0.158±0.037	0.096±0.022	N.A.
42	0.065±0.014	<0.05	<0.05	N.A.
56	0.054±0.003[a]	N.A.[b]	N.A.	N.A.

[a] 検出可能な残留物を有した 3 頭から得られた筋肉試料の平均。[b] 未分析。

組織中の残留物に関する分析法（原文 p. 9）

委員会の第 40 回会合のために用意された試験論文において、トリクラベンダゾール残留物に関する分析法は紫外線（UV）検出による逆相液体クロマトグラフィーに基づいて再評価された（FAO, 1993）。第 40 回会合で検討された消失試験において使用された分析法はケト-トリクラベンダゾールへの酸化後に加水分解が可能なトリクラベンダゾールの残留物、又はマーカー残留物と指定された 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)－ベンズイミダゾール-2-オンを測定する。牛及び羊の組織に関する analytical recoveries が報告された。マーカー残留物をトリクラベンダゾール当量に変換するために 1.0913 の係数が用いられた。公開文献から得られた複数の手法についても同様に試験論文中で触れている。しかしながら、報告された手法の妥当性確認は現代の基準を満たすものではなかった。

牛及び羊の試料中（肝臓、腎臓、筋肉、脂肪）のトリクラベンダゾール残留物を定量するための分析法の妥当性確認に関する報告が、現在の員会によって再評価された（Study V03/57, 2004）。これは第 40 回目の委員会によって検討された手法の更新版である。最初に組織は結合残留物を放出するために熱いアルカリ溶液で消化された後、酸性化され、冷却された後にジクロロメタンを用いて抽出された。脂肪組織に関しては脂質を除くために追加のヘキサン-アセトニトリル分配の工程を含む。抽出物は蒸発乾固された後、エタノール：氷酢酸（1:1）に移され、残留物をケト-トリクラベンダゾール（マーカー残留物、第 40 回委員会において 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)－ベンズイミダゾール-2-オンと特定された）へ酸化させるため、過酸化水素水を添加した後に加熱された。さらなる分配工程と酢酸を除くための蒸発工程の後、残留物はジクロロメタンに溶解され、陰イオン交換固相抽出カートリッジにロードされ、イソプロパノール/ジクロロメタン（12%v/v）により溶出された。

乾燥させた溶出液はアセトニトリルに溶解され、液体クロマトグラフに注入され、逆相（C-18）カラムでの分離と 296nm での UV 検出が行われた。検量線の濃度範囲外で定量した。この手法について決められたパフォーマンス特性は表 4. にまとめられた。検出及び定量限界が較正曲線からの推定に基づく事に注意しなければならない。精度と回収率が調査され、許容可能なパフォーマンス基準を満たした最小濃度は 0.050 mg/kg トリクラベ

ンダゾール当量（0.046 mg/kg ケト-トリクラベンダゾール）であった。

抽出物中に存在した内因性物質はいずれの組織においてもケト-トリクラベンダゾールに関する定量限界を超過した量に対して反応を起こさなかった。フェンベンダゾール、チアベンダゾール、アルベンダゾールなどの他のベンズイミダゾール系薬剤は検出されなかった。検出波長である 296 nm が干渉可能性を限定的にしていることが認められた。トリクラベンダゾールの代謝物であるトリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンらは親薬剤であるトリクラベンダゾールと同様に検出されたが、この手法で用いられたクロマトグラフィーの条件で完全に分離された。これらの化合物が普通は分析の過程でケト-トリクラベンダゾールへ酸化されることに注意するべきである。フェニル液体クロマトグラフィーカラムを代替の液体クロマトグラフィー系として用いる確認法が提案された。定量限界は元の手法よりも高く、またそれによって得られる情報は構造的確認（structural confirmation）に関する十分な証拠を提供しない。

表 4. 様々な可食組織中のトリクラベンダゾール残留物の液体クロマトグラフィーによる分析に関する確認試験の結果のまとめ

種	可食組織	検出限界 [a] (mg/kg)	定量限界 [b] (mg/kg)	平均回収率 (%)	再現性 [c] (%)
牛	筋肉	0.012	0.036	81~100	2.1~8.5
	肝臓	0.024	0.074	84~87	1.6~9.6
	腎臓	0.020	0.058	89~97	2.8~8.9
	脂肪	0.007	0.020	78~97	2.8~8.9
羊	筋肉	0.014	0.041	80~102	3.1~5.2
	肝臓	0.008	0.024	90~102	2.3~4.3
	腎臓	0.012	0.034	89~93	5.0~6.5
	脂肪	0.015	0.042	79~102	6.8~10.0

a ブランクの平均応答と標準偏差を 3 足したものに基づく

b ブランクの平均応答と標準偏差を 10 足したものに基づく

c 同時再現性、0.050、0.100 及び 0.200 mg/kg で測定された

*原文では 10.0~6.8 であったが、それ以外の値が小→大の値の順で記されていたため、統一化。

羊及び牛の試料の分析法の更なる妥当性確認は後続の報告において提供された（Study V05/24, 2005）。これらの試験はバックグラウンド干渉を全く示さず、濃度が 0.10 mg/kg での精度が≦15%であることが確認され、また残留物の凍結/解凍条件下での安定性を示した。

この手法はまたヤギ組織の分析にも拡張適用された（Study Y04/51, 2004）。表 5 に挙げられた結果は、これらの 3 つの供試組織（筋肉、肝臓、腎臓）に関してそれぞれ 3 つの濃度で 3 回ずつ反復実験した分析に基づく。

表 5. ヤギの組織中のケト-トリクラベンダゾール残留物の定量に関する回収率及び真度

組織	ケト-トリクラベンダゾール濃度（mg/kg）					
	50		100		100[a]	
	回収率 (%)	変動係数（CV） (%)	回収率 (%)	変動係数（CV） (%)	回収率 (%)	変動係数（CV） (%))
筋肉	99	2.2	102	2.2	95	4.1
肝臓	110	13	97	3.4	91	11
腎臓	98	1.7	85	2.7	85	5.4

[a] 強化サンプル、室温で 16~24 時間貯蔵した後の分析。

ケト-トリクラベンダゾールとして測定された牛組織中のトリクラベンダゾール残留物の安定性は Study Y03/49 で採取された 2 頭の動物から得られた組織を用いて測定された（Study V03/57, 2004a）。各組織は貯蔵する前に 3 回反復して分析され、その後、最高平均-8℃から最低平均-22℃の間に気温が保たれた冷凍室で 1.5、3、6.5 ヶ月間貯蔵した後にも分析された。表 6 に示した回収率補正された平均結果は、少々の減少（最大で 33%）が最終時点でみられたが、この貯蔵期間では残留物がほぼ安定した状態を保ったことを示した。

表 6. 典型的凍結著上条件下における牛組織中のトリクラベンダゾール残留物の安定性

		ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物、analytical recovery に関して補正済み（mg/kg）		
	0 ヶ月（貯蔵前）	1.5 ヶ月	3 ヶ月	6.5 ヶ月
筋肉 1	0.23±0.01	0.24±0.00	0.21±0.00	0.19±0.02
筋肉 2	0.25±0.01	0.24±0.02	0.20±0.01	0.17±0.02
腎臓 1	0.48±0.03	0.42±0.01	0.43±0.05	0.36±0.02
腎臓 2	0.47±0.03	0.47±0.06	0.44±0.04	0.41±0.02
肝臓 1	0.85±0.04	0.80±0.02	0.78±0.15	0.70±0.04
肝臓 2	0.75±0.04	0.76±0.04	0.81±0.05	0.62±0.01

*原文では表の内容が表 7. と逆になっていたので、表 6 と表 7 の内容を交換した。

冷凍貯蔵の典型的な条件下におかれた羊の組織中での残留物安定性に関する類似した試験が Study Y04/22 で採取された 2 頭の動物から得られた筋肉、肝臓、腎臓を用いて測定された（Study Y04/22, 2004a）。貯蔵前ならびに凍結貯蔵後 2 及び 4 ヶ月目に各組織の分析は 3 回反復して行われた。貯蔵期間中の貯蔵気温には-5℃から-21℃までの幅があった。牛の組織と同様に、貯蔵期間中の残留物濃度の変化は微小なものであった（表 7）。

表 7. 典型的凍結貯蔵条件下における羊組織中のトリクラベンダゾール残留物の安定性

	ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物、analytical recovery に関して補正済み（mg/kg）		
	0 ヶ月（貯蔵前）	2 ヶ月	4ヶ月
筋肉 1	0.17±0.01	0.15±0.00	0.16±0.01
筋肉 2	0.13±0.01	0.12±0.00	0.11±0.006
腎臓 1	0.25±0.013	0.27±0.01	0.24±0.00
腎臓 2	0.17±0.01	0.15±0.02	0.15±0.00
肝臓 1	0.47±0.02	0.41±0.04	0.41±0.05
肝臓 2	0.34±0.01	0.27±0.02	0.28±0.02

*原文では表の内容が表 7 と逆になっていたので、表 6 と表 7 の内容を交換した。

まとめ（原文 p. 11）

委員会の第 40 回会合による先の評価はラット、ウサギ、イヌ、羊、ヤギ、牛及び豚における ^{14}C-標識トリクラベンダゾールを用いた試験を取り上げた。トリクラベンダゾールの吸収、分布、代謝及び排泄は実験動物と食科生産動物の両方において定性的に類似していた。^{14}C-標識トリクラベンダゾールの経口投与の後、トリクラベンダゾールの生体内変化及び排泄は非常に速やかであった。吸収されたトリクラベンダゾールは血液循環に入り、二つの主要な経路を経て速やかに代謝された。それらはメチル-チオール基のスルホキシドへの酸化に続いてスルホン代謝物への酸化及びジクロロフェノキシ環の 4－ヒドロキシル化である。5 つの特定された代謝物、トリクラベンダゾール、スルホキシド、スルホン、環状ヒドロキシル化代謝物及びケト-トリクラベンダゾールは投与量の約 40~60%に相当した。代謝物の相対的比率の定量的な違いが動物種間で認められた。投与後 10 日間以内にトリクラベンダゾールの排泄はほぼ完了した。トリクラベンダゾール及びその代謝物の糞中排泄は投与量の主要部分を占め、尿中排泄による排泄は極めて僅かであった。

新しい試験は第 40 回委員会の報告書にあった試験結果を裏付けるものであった。それによると吸収は速やかであり、ラットへの経口投与後の吸収は用量依存ではなく、血漿中最大濃度に投与後 8 時間で到達した。これらの試験は同様に排泄が速やかであり、投与量の約 90%が尿及び糞中、主に糞経由で（＞80%）48 時間以内に排泄されることを確認した。トリクラベンダゾール残留物を含む凍結乾燥組織を給餌されたラットを用いた試験はこれら残留物の生体内利用効率が低いことを示した(20%)。

トリクラベンダゾールの生体内変化はイヌにおいても速やかであり、血漿中においてはスルホキシドとスルホン代謝物が経口投与された用量のほぼ全量に相当した。経口投与後、0.5 mg/kg の用量のうち約 35~53%が吸収され、高用用量においてはその値は 25%まで減少した。血漿中最大濃度には経口投与から 8~24 時間後に到達し、トリクラベンダゾールの排泄は主に糞経由で排泄された。

先行試験は牛への静脈内投与後のトリクラベンダゾールが速やかに代謝されることを示した。投与後 4 時間でスルホキシド代謝物が血中最大濃度に達し、その終末相半減期は約 13 時間であった。スルホン代謝物の最大血

漿中濃度は投与後 32 時間でみられ、その終末相半減期は 40 時間であった。

新しい試験は牛での吸収及び排泄がラットやイヌでみられたものと同様に速やかであり、排泄が主に糞中であること確認した。牛糞中の主要代謝物はラットにおけるそれと類似した。投与後 28 日目の組織中の残留物濃度は肝臓において最も高く、次いで筋肉と腎臓の順であった。脂肪中の残留物はその他の可食組織に比べて無視できるものであった。

第 40 回委員会によって再評価されたトリクラベンダゾールの吸収、分布及び排泄の試験は羊とヤギにおけるトリクラベンダゾールの代謝がその他の調査済みの動物種におけるそれと類似していることを示した。^{14}C-トリクラベンダゾールの投与後 28 日目では、肝臓における残留物濃度が最も高く、次いで筋肉、腎臓の順であったが、その一方で脂肪組織中の残留物は無視できるものであった。反芻行動をとる羊におけるトリクラベンダゾールの代謝に関する新しい試験結果は、先行試験でみられた代謝パターンと一致していた。糞中排泄は投与量の 77%に相当した。投与後 28 日目における組織中の放射能分布は最も多くの総残留物が筋肉にあり、次いで肝臓と腎臓の順であることを明らかにした。

第 40 回委員会によって検討された 3 件の残留消失試験は 12 mg/kg 体重での単回経口投与後 28 日目では平均残留物濃度が肝臓においては 0.12 mg/kg、腎臓においては 0.07 mg/kg、筋肉においては 0.11 mg/kg、また脂肪においては 0.05 mg/kg あることを示し、それぞれこれらの組織中の総残留物の 50%、66%、84%、及び>100%に相当した。

^{14}C-トリクラベンダゾールを用いて 12 mg/kg 体重での経口投与を行った 2 件の GLP 準拠の試験は牛におけるマーカー対総残留物の関係についての追加情報を提供した。1 件目の試験において、2 頭の反芻行動を取る仔牛は 12 mg/kg での ^{14}C-トリクラベンダゾールの経口単回投与後 28 日目にと殺された。ケト-トリクラベンダゾールとして測定され、analytical recovery に関して補正された残留物は投与後 28 日目において肝臓においては総残留物の 24%に相当し、腎臓においては総残留物の 19%に相当し、また筋肉においては総残留物の 42%に相当した。続いて、12 mg/kg での ^{14}C-トリクラベンダゾールの経口単回投与後 28 日目にと殺された 1 頭の仔牛から得られた組織中の残留物はケト-トリクラベンダゾールとして測定された。各組織中のケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物はそれぞれ肝臓においては総残留物の 24%、腎臓においては総残留物の 27%、筋肉においては総残留物の 32%に相当した。これらの試験は委員会の第 40 回会合で利用可能な情報から算出されたマーカー対総残留物の関係がマーカー残留物として表された総残留物の割合を過剰推定したことを立証した。

10 mg/kg での ^{14}C-トリクラベンダゾールの経口単回投与後 28 日目にと殺された 2 頭の羊から採取された筋肉及び肝臓組織において、ケト-トリクラベンダゾールとして測定され、analytical recovery に関して補正された残留物は肝臓においては総残留物の 39%に相当し、筋肉においては残留物の 24%に相当した。これらの結果は投与を受けた牛組織（incurred tissues from cattle）でみられた結果ならびに第 40 回委員会で羊に関して報告された関係性と一致するものであった。

牛及び羊を用いた新しい試験の結果に基づき、回収率補正されたケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物の変換係数は肝臓に関しては4、腎臓に関しては3.7、また筋肉に関しては2.5である。脂肪組織中の残留物分布が限られていたこともあり、脂肪に関しては変換係数の必要性は認められなかった。

牛及び羊を用いた新しい GLP 準拠の試験は第 40 回委員会によって再評価された分布及び排泄試験と合致する結果を出した。しかしながら先行試験とは異なり、牛を用いた新たな GLP 準拠の試験は反復治療条件下で実施され、初めの治療から 28 日後に推奨治療容量の 1.5 倍量の用量が用いられた。ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物の最大量はすべての時点（14、28、42、56 日目）において肝臓でみられたが、2 回目の投与後 56 日目においては筋肉中の残留物は肝臓中のそれと相似していた。投与後 56 日後の腎臓中の残留物は検出限界である 0.05 mg/kg を下回り、また脂肪においては投与後 14 日目においてのみ検出が可能であった。それ以降の時点において、その他の組織中の残留物が MRLs に近付いているにも関わらず、脂肪では検出可能な残留物はなかった。そのため脂肪中の残留物は理論最大一日摂取量の計算からは除かれた。

第 40 回委員会によって検討されたトリクラベンダゾール（10 mg/kg 体重あるいは 15 mg/kg 体重での単回投与）の経口投与を受けた羊を用いた 3 件の残留消失試験は投与後 14~21 日以内に脂肪中の残留物が検出限界（0.03 mg/kg）以下に消失することを示したが、肝臓、腎臓及び筋肉中では 28 日間にわたって検出が可能であったことを示した。投与後 21 日目の肝臓中の残留物が最大量であったと報告されたが、投与後 28 日目では肝臓、腎臓、筋肉中の残留物量は相似した結果であった。現在の委員会によって検討された新たな GLP 準拠の試験では、羊は 10~13 mg/kg 体重での単回経口投与を受けた。最も難分解性の残留物は筋肉においてみられ、投与後 56 日目では投与群の 50%の筋肉から検出された。残留物は投与後 42 日目の肝臓や腎臓試料、あるいは投与後 14 日目の脂肪試料においては検出されなかった。

この試験結果は特に投与後約 4 週間以内の牛でみられたように、最初に最も多くの残留物が見つかる組織が肝臓であることを証明したが、筋肉も標的組織に適切な組織であり、より長い期間を投与後に設ける場合では肝臓よりも推奨される標的組織である。

管理目的で使用可能な残留物をケト-トリクラベンダゾールとして検出及び定量するための適切な有効性が確認された液体クロマトグラフィー法が存在する。しかしながら、液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)のような多くの国で現代の基準を満たす確認法は再検討の場へ提出されなかった。

95%信頼区間で設定された MRL に代表される残留物に対して算出された残留物中央値は、残留物が投与群の 95%で MRL を下回る個体群における正規分布を反映しており、また一日当たりの摂取量を推定するための代替手法としてみなされた。データから算出された残留物濃度中央値は筋肉：88.5 μg/kg、肝臓：99.5 μg/kg、腎臓： 25 μg/kg、脂肪：12.5 μg/kg であった。脂肪に関する値は牛と羊の脂肪に関して提案された管理手法の検出限界（LOD）の中間値である初期値であり、その値は肝臓や筋肉中の残留物が MRLs 近付くにつれて、検出可能な残留物が脂肪中になくなったことを反映させるために選ばれた。この残留物中央値による手法を用いることで（Using the median residue approach）、推定一日摂取量の計算には食事で脂肪から摂取される残留物の推定量が含められた。中央値に基づき、対応する推定一日摂取量は 121.7 μg である。

最大残留基準値（原文 p.13）

MRLs を推奨するに当たり、委員会は以下の要素を考慮に入れた。

- マーカー残留物はケト-トリクラベンダゾールである。
- 適切な標的組織は筋肉である。
- 牛、羊及びヤギの可食組織中のトリクラベンダゾールの分析に関する有効性が確認された分析法が存在する。
- ラットへ給餌された組織中のトリクラベンダゾール残留物のバイオアベイラビリティーは 20%を超過しなかった。
- 委員会の第 40 回会合により算出された牛の組織中のマーカーから総残留物への変換を算出するための係数はその時点で利用可能であった試験に基づいたものであったが、同じ組織における総残留物とマーカー残留物の両方の濃度を提供したより最近の GLP 準拠の試験から得られたデータにより、正しくないことが立証された。
- マーカー残留物を総残留物へ変換するための係数は、牛及び羊を用いた新たな GLP 準拠の試験の平均結果から得られ、牛及び羊において肝臓に関しては 4.3、腎臓に関しては 4.2、また筋肉に関しては 2.7 であり、推奨用量での単回投与から 28 日後に算出された。複数回投与においても、これらの係数は残留物が MRLs にあるようなさまざまなタイムポイントへも適用できるほど十分に控え目な値である。利用可能な情報に基づき、ヤギに対しても同じ係数が適用できる。肝臓及び筋肉についての MRLs を計算する際に用いられるタイムポイントにおいては腎臓にある検出可能な残留物が定量限界（LOQ）を下回るため、腎臓に関しては係数が必要となった。この操作により腎臓中の残留物量は摂取量の推定に含められる。脂肪中の残留物消失が速やかであることから、マーカー残留物から総残留物への変換を可能にする係数は必要とされなかったが、これは分析手法の LOQ の半量に基づく推定摂取量が控え目な推定を提供することになるためである。
- 牛、羊、ヤギの肝臓及び腎臓に関する最大残留基準値は牛及び羊を用いた新たな GLP 準拠の試験から得られた平均残留物濃度＋3SD に基づく。牛についての MRLs が算出されたタイムポイントは推奨用量の 1.5 倍量での 2 回目の投与から 56 日後であった。残留物消失は推奨用量での単回投与を受けた牛の方が早かった。羊においてこれらの MRLs に到達するのは推奨用量での単回投与後 28~42 日の間の時点においてである。
- 腎臓及び脂肪の最大残留基準値は定量限界の 2 倍の値に基づく。
- 委員会の第 40 回会合により許容一日摂取量（ADI）として 0~3 μg/kg 体重が設定され、その値は体重が 60 kg あるヒトに対する 0~180 μg に相当する（WHO, 1993）。

上記の留意事項に基づき、委員会は牛、羊及びヤギの可食組織について、マーカー残留物であるケト-トリクラベンダゾールとして表される以下の MRLsを推奨する。

筋肉	150 μg/kg
肝臓	200 μg/kg

腎臓　　100 µg/kg
脂肪　　100 µg/kg

上記の推奨 MRLs は筋肉の一日当たりの食事摂取量が 300 g、肝臓は 100 g、及び腎臓と脂肪がそれぞれ 50 g であるとの仮定、もしくは許容一日摂取量の上限の 128%に基づき、論最大一日摂取量(TMDI)は 230 µg となった。TMDI として算出された残留物摂取量の推定は以下のように一覧にされた。

表 8. トリクラベンダゾール残留物の理論最大一日摂取量(TMDI)

食品	MRL(µg/kg)	標準的な食事摂取量(kg)	MR/TR[1]	TMDI(µg)
筋肉	150	0.300	2.7	121.5
肝臓	200	0.100	4.5	90
腎臓	100	0.050	3.7	18.5
脂肪	100	0.050	1	-
総合:				230.0

[1]MR＝マーカー残留物(親薬剤)、TR＝総残留物

委員会は同様に、推奨 MRLs を設定する際に用いた残留物データにある中央値を用いて長期(慢性)暴露による推定一日摂取量の中央値を算出した。MRL ではなく、MRL を導き出す際に用いた残留物濃度の分布の中央値が点推定として用いられた。FAO/WHO 合同残留農薬会議(JMPR)が用いた摂取量計算の手法と一致する、このやり方がより現実的な摂取量の推定が表せると委員会は考える。データから計算された残留物濃度の中央値はそれぞれ筋肉では 88.5 µg/kg、肝臓では 99.5 µg/kg、腎臓では 25 µg/kg、また脂肪では 25 µg/kg であった。MRLs が推奨される時点においては腎臓及び脂肪中に定量可能な残留物が存在しないことから、LOQ の半分の値が腎臓及び脂肪由来の控え目な推定一日摂取量として指定された。上記の残留物濃度中央値は筋肉の一日食事量が 300 g、肝臓が 100 g、腎臓及び脂肪がそれぞれ 50 g であること、あるいは許容一日摂取量の上限 67%に基づき、推定一日摂取量は 121 µg となった。EDI として算出された推定残留物摂取量(EDI)は表 9 に一覧にした。

表 9. トリクラベンダゾール残留物の推定一日摂取量

食品	MRL(µg/kg)	標準的な食事摂取量(kg)	MR/TR[1]	EDI(µg)
筋肉	88.5	0.300	2.7	71.7
肝臓	99.5	0.100	4.3	42.8
腎臓	25	0.050	4.2	5.2
脂肪	25	0.050	1	1.3
総合:				121.0

[1]MR＝マーカー残留物(親薬剤)、TR＝総残留物

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書：JECFA 2006）

該当する毒性試験なし

ADI：0~3 μg/kg 体重（体重 60 kg のヒトでの 0~180 μg/kg に相当）

MRL：すべての反芻動物に関して

筋肉	150 μg/kg
肝臓	200 μg/kg
腎臓	100 μg/kg
脂肪	100 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
AUC	Areas Under the Curve	血中濃度曲線下面積
CCRVDF	Codex Committee on Residues of Veterinary Drugs in Foods	食品残留動物用医薬品部会
CV	Coefficient of Variation	変動係数
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
EDI	Estimated Daily Intake	推定一日摂取量
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
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性 に関する非臨床試験の実施基準
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
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
LC/MS	Liquid Chromatography/Mass Spectrometry	液体クロマトグラフィー/質量分析
LOD	Limit of determination	検出限界

略称	正式名称(英語)	日本語訳
LOQ	Limit of Quantification	定量限界
MRL	Maximum Residue Limits	最大残留基準値
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
SD	Standard Deviation	標準偏差
t_{max}	Maximum Drug Concentration Time	最高血中濃度到達時間
TMDI	Theoretical Maximum Daily Intake	理論最大一日摂取量
UV	Ultraviolet	紫外線
WHO	World Health Organization	世界保健機関

トリクラベンダゾール　評価書和訳と情報整理

JECFA　2009

ウェブサイト：ftp://ftp.fao.org/ag/agn/jecfa/vetdrug/6-2009-triclabendazole.pdf
FNP 6/2009, 2009

トリクラベンダゾール 評価書和訳と情報整理 JECFA(2009) 目次

識別(原文 p.1) 83
識別及び性状に関するその他の情報(原文 p.1) 83
食品中の残留物とその評価(原文 p.1) 84
薬物動態及び代謝(原文 p.3) 86
ウサギ(原文 p.12) 96
イヌ及びラット(原文 p.13) 96
食料生産動物(原文 p.15) 99
羊(原文 p.20) 104
ヤギ(原文 p.22) 108
組織残留消失試験(原文 p.23) 108
非標識薬による残留消失試験 (原文 p.23) 108
牛 (原文 p.23) 108
羊(原文 p.25) 112
結合型残留物とバイオアベイラビリティ(原文 p.26) 112
1 日摂取量の試算(原文 p.28) 114
分析方法(原文 p.30) 117
評価(原文 p.35) 123
最大残留限界(原文 p.41) 129
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:JECFA 2006) 131
略称 131

原文 目次

原文ページ

識別(原文 p.1) ……1
識別及び性状に関するその他の情報(原文 p.1) ……1
食品中の残留物とその評価(原文 p.1) ……1
薬物動態及び代謝(原文 p.3) ……3
食料生産動物(原文 p.15) ……15
組織残留消失試験(原文 p.23) ……23
非標識薬による残留消失試験 (原文 p.23) ……23
分析方法(原文 p.30) ……28
評価(原文 p.35) ……30
最大残留限界(原文 p.41) ……41
引用文献 ……42

IDENTIRY ……1
OTHER INFORMATION ON IDENTIFY AND PROPERTIES ……1
RESIDUES IN FOOD ……1
PHARMACOKINETICS AND METABOLISM ……3
Food Producing Animals ……15
TISSUERESIDUEDEPLETION STUDIES ……23
Residue Depletion Studies with Unlabelled Drug ……23
METHODS OF ANALYSIS FOR RESIDUES IN TISSUES ……28
APPRASIAL ……30
MAXIMUM RESIDUE LIMITS ……41
REFERENCES ……42

トリクラベンダゾール

初稿作成者:
Philip T. Reeves(キャンベラ、オーストラリア)
Gerald E. Swan(プレトリア、南アフリカ)

第 40 回及び第 66 回 JECFA 会議で作成され、それぞれ FAO Food & Nutrition Paper 41/5 及び FAO JECFA Monographs 2 に発表されたモノグラフの補遺

識別(原文 p.1)

化学名:
5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-2-メチルチオ-1H-ベンズイミダゾール
{国際純正・応用化学連合(IUPAC)名}
化学情報検索サービス機関(CAS)番号:68786-66-3

異名:
トリクラベンダゾール(一般名);
CGA 89317、CGP 23030;
商標名として Fasinex®、Soforen®、Endex®、Combinex®、Parsifal®、Fasimec®、Genesis®、Genesis™ Ultra

構造式:
分子式:$C_{14}H_9Cl_3N_2OS$
分子量:359.66

識別及び性状に関するその他の情報(原文 p.1)

純活性成分:トリクラベンダゾール
外観:白色の結晶性固体
融点:
175～176ºC(Merck)、α 像;
162ºC、ß 像
溶解性:
テトラヒドロフラン、シクロヘキサノン、アセトン、イソプロパノール、n-オクタノール、メタノールに溶けやすい。
ジクロロメタン、クロロホルム、トルエン、キシレン、酢酸エチルに溶けにくい。
水、ヘキサンに溶けない。

食品中の残留物とその評価（原文 p.1）

FAO/WHO 合同食品添加物専門委員会（JECFA）は、その第 40 回及び第 66 回会議でトリクラベンダゾールを検証した（FAO/WHO, 1993, 2006）。第 40 回会議で、JECFA は 0～3 μg/kg 体重（体重 60 kg の人で 0～180 μg/日）という許容 1 日摂取量（ADI）を確定し、下記の最大残留限界（μg/kg 体重）を推奨した。

種	第 40 回会議で JECFA が推奨した MRL (μg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
羊	100	100	100	100
牛	200	300	300	200

第 40 回会議で作成された FAO Food & Nutrition Paper の残留物モノグラフ（FAO, 1993）は、「トリクラベンダゾールの指標残留物は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one であり、トリクラベンダゾール関連残留物の共通断片が 90～100ºC のアルカリ性条件下で加水分解されたときに生じる…（中略）指標残留物の濃度は、換算係数として 1.09 を掛けることにより、トリクラベンダゾール当量に換算できる」と述べている。第 40 回 JECFA 会議の報告書（FAO/WHO, 1993）では、最大残留限界（MRL）は 5-クロロ-6-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one として表されると付録 2 に記載されている。

第 66 回会議は指標残留物を「ケト-トリクラベンダゾール」と定義し、下記の MRL（μg/kg 体重）を推奨した。

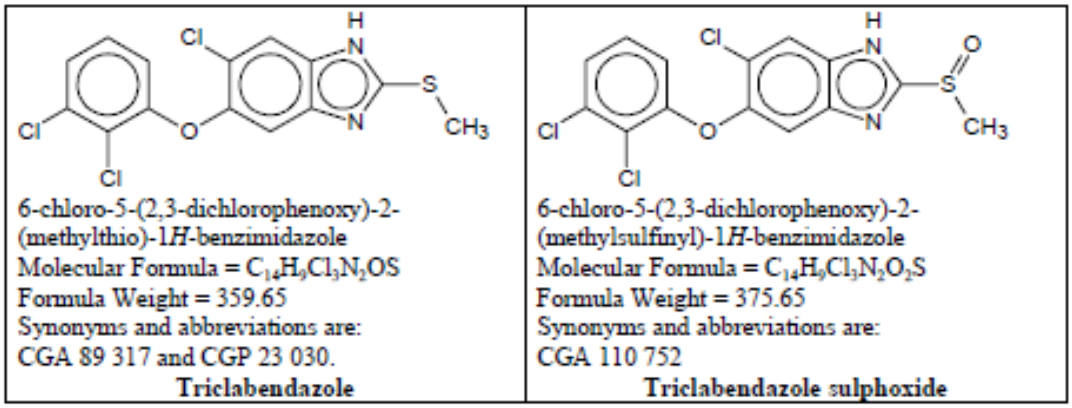
種	組織における MRL (μg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
牛	150	200	100	100
羊	150	200	100	100
ヤギ	150	200	100	100

スポンサーは指標残留物を「酸化されてケト-トリクラベンダゾールになる可能性のある抽出性残留物の総量」と（正確に）定義し、牛への経口投与後 35 日、ならびに羊及びヤギへの経口投与後 27 日という消退期間と一致する下記の MRL を提案した。

種	組織における MRL (μg/kg)			
	肝臓	腎臓	脂肪	筋肉
牛	275	600	375	200
羊	275	600	375	200
ヤギ	275	600	375	200

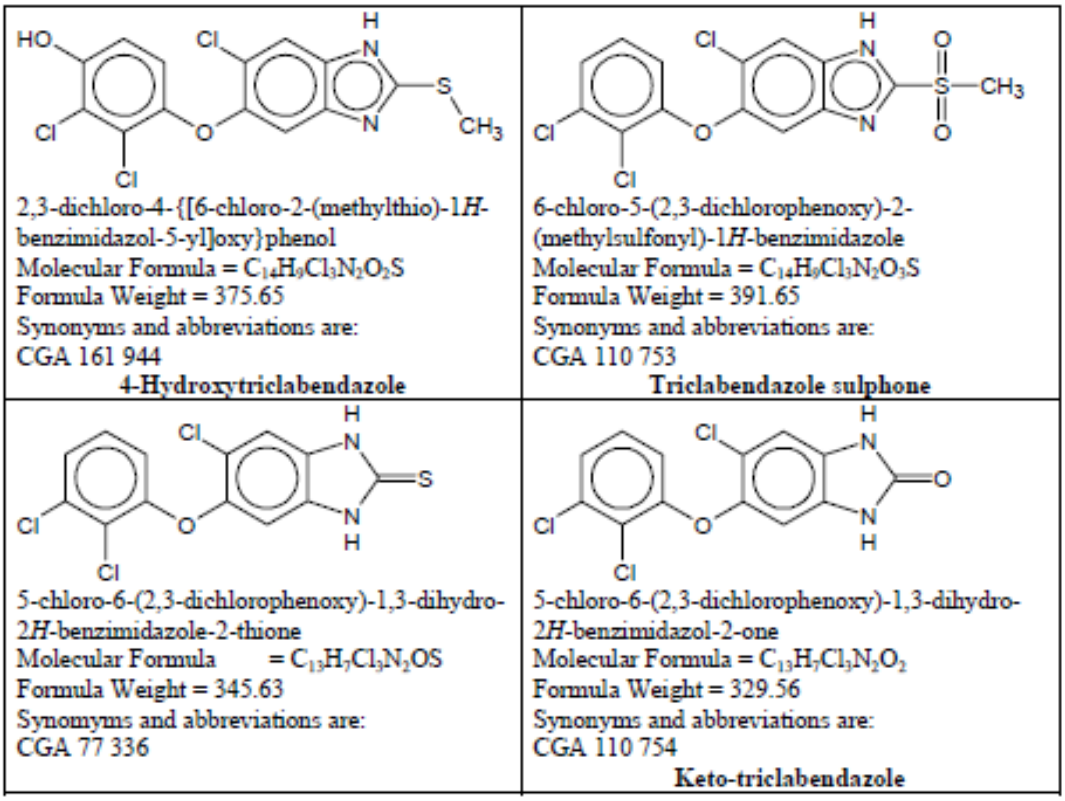
トリクラベンダゾールは、6-クロロ-5-(2',3'-ジクロロフェノキシ)-2-メチルチオ-1-*H*-ベンゾイミダゾールである（CAS

番号:68786-66-3)。その構造、及びいくつかの関連化合物(代謝物や変換産物)の構造を下図に示す。



6-chloro-5-(2,3-dichlorophenoxy)-2-(methylthio)-1*H*-benzimidazole
Molecular Formula = $C_{14}H_9Cl_3N_2OS$
Formula Weight = 359.65
Synonyms and abbreviations are:
CGA 89 317 and CGP 23 030.
Triclabendazole

6-chloro-5-(2,3-dichlorophenoxy)-2-(methylsulfinyl)-1*H*-benzimidazole
Molecular Formula = $C_{14}H_9Cl_3N_2O_2S$
Formula Weight = 375.65
Synonyms and abbreviations are:
CGA 110 752
Triclabendazole sulphoxide



2,3-dichloro-4-{[6-chloro-2-(methylthio)-1*H*-benzimidazol-5-yl]oxy}phenol
Molecular Formula = $C_{14}H_9Cl_3N_2O_2S$
Formula Weight = 375.65
Synonyms and abbreviations are:
CGA 161 944
4-Hydroxytriclabendazole

6-chloro-5-(2,3-dichlorophenoxy)-2-(methylsulfonyl)-1*H*-benzimidazole
Molecular Formula = $C_{14}H_9Cl_3N_2O_3S$
Formula Weight = 391.65
Synonyms and abbreviations are:
CGA 110 753
Triclabendazole sulphone

5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazole-2-thione
Molecular Formula = $C_{13}H_7Cl_3N_2OS$
Formula Weight = 345.63
Synonyms and abbreviations are:
CGA 77 336

5-chloro-6-(2,3-dichlorophenoxy)-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-one
Molecular Formula = $C_{13}H_7Cl_3N_2O_2$
Formula Weight = 329.56
Synonyms and abbreviations are:
CGA 110 754
Keto-triclabendazole

使用条件

トリクラベンダゾールは、牛、羊及びヤギにおける肝吸虫、肝蛭(*Fasciola hepatica*)及び巨大肝蛭(*F. gigantica*)の管理に使用される駆虫薬である。牛、羊及び(一部の国では)ヤギ用の経口懸濁液や、牛用のpour-on(PO)製剤に含まれている。また、ヒトにおける肝蛭症の治療にも使用される。

用量

トリクラベンダゾールは牛に対して、12 mg/kg 体重の名目用量で飲薬として、また 30 mg/kg 体重の名目用量で PO 剤として投与される。羊及びヤギには、10 mg/kg 体重の名目用量で経口投与される。反復投与の間隔に関する獣医勧告は国によって異なるが、カンテツ(肝蛭)の活動期における定期投与の間隔としては 10 週間

が望ましいと報告されている。

薬物動態及び代謝（原文 p.3）

実験動物

ラット

Muecke による試験（1981）では、雄雌各 2 匹のラットにそれぞれ、^{14}C 標識トリクラベンダゾール 0.5 又は 25 mg/kg 体重を単回経口投与した。放射能標識は、ベンズイミダゾール環系の 2 位の炭素原子にあった。液体シンチレーション計測法によって放射能を測定した。尿は計測用シンチレーション液に直接添加したが、組織は計測前に直接燃焼させ、糞は凍結乾燥し、均質化して計測前に燃焼させた。糞の検体をメタノール/水（80:20）で抽出し、TLC プレート上で標準試料とともに同時色相分析（コクロマトグラフィ）を行った。

呼気 $^{14}CO_2$ の量はごくわずか（投与量の 0.05%未満）であった。放射能は主に糞中に排泄され、尿中への排泄は比較的少なく、変動が大きかった。144 時間（6 日）にわたり算出された、総投与量に対する放射能の糞尿中累積排泄率を表 1 に示す。この試験では 144 時間後の回収率が約 97%であったことが分かる。各動物のデータ点を図 1 に示す。

表 1：^{14}C 標識トリクラベンダゾール 0.5 又は 25 mg/kg 体重の単回経口投与後のラットにおける放射能の累積排泄率（投与量に対する相対比率）

	低用量投与で得られた結果			高用量投与で得られた結果			両投与量を合せた結果		
	糞	尿	糞尿	糞	尿	糞尿	糞	尿	糞尿
パラメーター推計	単回経口投与後 144 時間内における放射能回収率								
平均	90.9	6.1	97	90.1	6.3	96.5	90.5	6.2	96.7
標準偏差	1.8	2.4	3.5	3.5	1	2.9	2.6	1.7	3
最小値	88.4	4.2	94.2	87.8	5.3	95	87.8	4.2	94.2
最大値	92.6	9.6	102.2	95.2	7.3	100.8	95.2	9.6	102.2

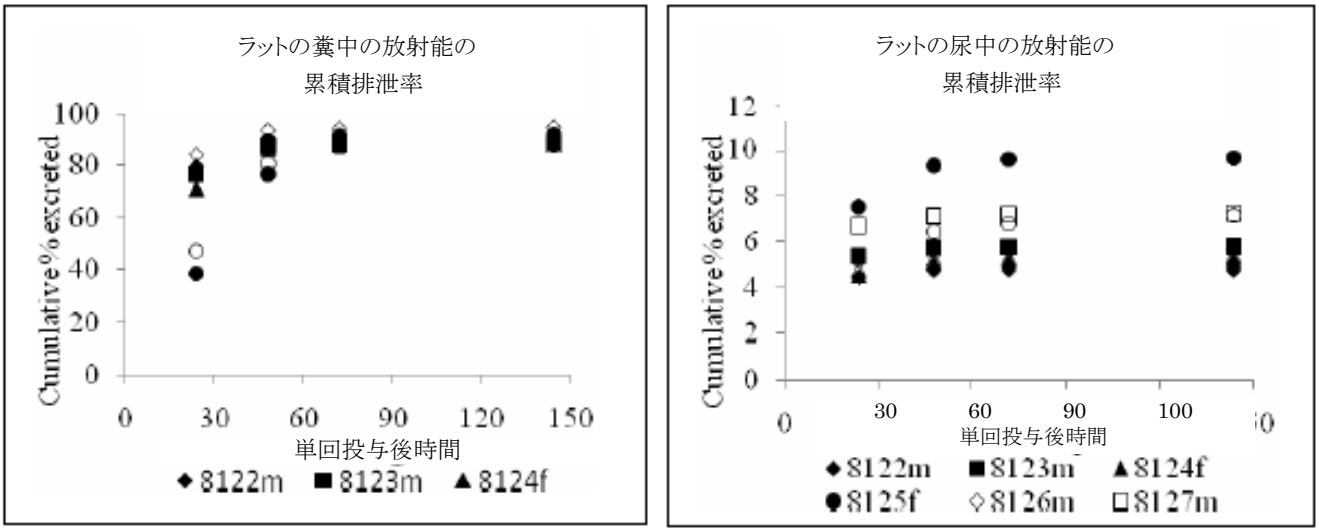
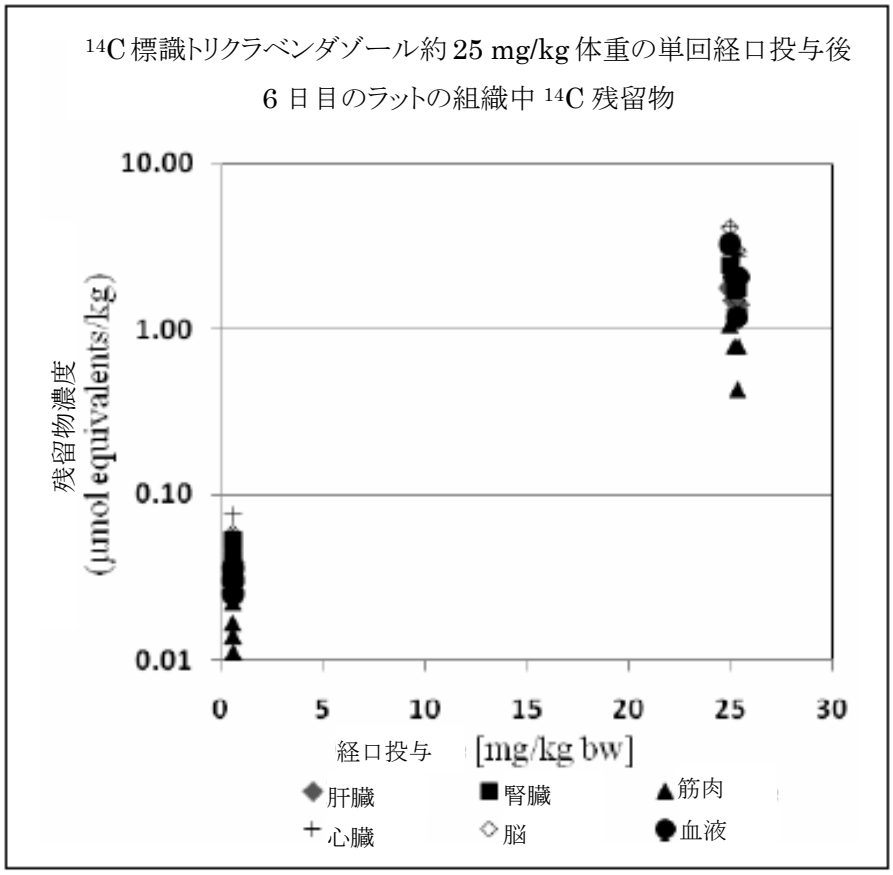


図 1:^{14}C 標識トリクラベンダゾール 0.5 又は 25 mg/kg 体重の単回経口投与後のラットにおける放射能の累積排泄率(投与量に対する相対比率)

図中のコード番号は動物 ID である(m=雄、f=雌)。黒い印は低用量(約 0.5 mg/kg 体重)で得られた結果を示し、白い印は高用量(約 25 mg/kg 体重)で得られた結果を示す。

糞の抽出物は未変化体をいくらか(投与量の 7%)含んでいたが、主たる成分は対応するスルホキシド代謝物(投与量の 24%)及び少量のスルホン代謝物(投与量の 2%)であった。糞中放射能の約 27%は、メタノール/水溶媒による 3 回の連続抽出で抽出されなかった。投与の結果、代謝物の質的パターンに大きな変化はなかった。より極性の高い尿中代謝物の構造は、この試験では確定できなかった。特定組織中の残留物が投与後 6 日目に測定された。判明した残留物濃度は、心臓、脳及び血液で最も高かった。いくつかの特定組織(肝臓、腎臓、筋肉、心臓、脳及び血液)について、個々の結果を図 2 に示す。脂肪中の残留物は、高用量を受けたラットからの 1 検体を除き、検出限界(0.06 mg/kg 体重)を下回った。投与された高用量と低用量は 47.4%の差があった。図 2 に示した、組織で検出された放射能の比率(相乗平均)は、肝臓で 40.7%、腎臓で 42.9%、筋肉で 47.8%、心臓で 49.4%、脳で 57.9%及び血液で 67.2%であった。用量の増加は、一部の組織への残留物分布だけを高める効果をもたらした。

図 2:^{14}C 標識トリクラベンダゾール約 25 mg/kg 体重の単回経口投与後 6 日目のラットの組織中 ^{14}C 残留物



ラット、羊及びヤギ(原文 p.5)

羊及びヤギ各 1 頭に 10 mg/kg 体重、ならびにラット 2 匹(雄雌各 1)に 0.5 又は 25 mg/kg 体重をそれぞれ単回経口投与した後、糞尿中への放射能の排泄を 72 時間観察した(Hamböck, 1983)。総投与量に対するラットの糞尿中排泄率は、Muecke 試験(1981)の結果と同様であったが、雌羊及び雌ヤギのそれは、初期の時点で両経路とも低かった。排泄はヤギで最も遅かった。各動物で得られた結果を図 3 に示す。

図 3:Hamböck 試験(1983)で得られた排泄データ

図中の記号:黒い四角＝雌羊、黒い三角＝雌ヤギ、白い菱形＝低用量の雄ラット、黒い菱形＝高用量の雌ラット

代謝物は、プールした糞の検体で測定された(羊、ヤギ及び雄ラットでは 0～72 時間、雌ラットでは 0～48 時間)。これらの検体中の放射能は、羊、ヤギ、雄ラット及び雌ラットにおいてそれぞれ、総投与量の 76.7%、79.8%、90.0%及び 87.6%に相当した。放射能の約 50～72%はメタノールによって抽出可能であった。代謝物は、TLC プレート上での標準試料とのコクロマトグラフィによって確認した。化学的還元/酸化反応を利用した特異的トランスフォーメーションや、質量分析、核磁気共鳴により、構造をさらに明確にした。同様に、プールした尿検体を解析した。尿中代謝物は一般に、糞中代謝物よりも極性が高かった。最も極性の低い尿中代謝物はケト-トリクラベ

ンダゾールであった。

親化合物に加えて 4 つの主要代謝物が、3 種の動物すべての糞中で確認された。羊とヤギでは、排泄された代謝物のほとんどが親化合物の未変化体であったが、ラットでは、スルホキシドが主要な排泄代謝物であった（表 2）。2 種の反芻動物とラットの間の差は、バイオトランスフォーメーション経路の差よりもむしろ腸内細菌叢の差を反映していると考えられた。

表 2：プールした糞から抽出された放射能物質の特性解析

種	ラット		羊	ヤギ
性別	雄	雌	雌	雌
用量（mg/kg 体重）	0.5	25	10	10
TLC プレート上の放射能バンドの同定	投与量の%			
6-chloro-5-(2',3'-dichlorophenoxy)-2-methylthio-1-H-benzoimidazole (parent drug) (CGA 89 317) C14H9Cl3N2OS; MW: 359.66	6	9	19	25
6-chloro-5-(2',3'-dichlorophenoxy)-2-methylsulfinyl-1-H-benzimidazole (sulphoxide) (CGA 110 752) C14H9Cl3N2O2S; MW: 375.66	20	27	7	6
6-chloro-5-(2',3'-dichlorophenoxy)-2-methylsulfonyl-1-H-benzimidazole (sulphone) *plus minor unknowns* CGA 110 753 C14H9Cl3N2O3S; MW: 391.66	3	3	2	2
5-chloro-6-(2',3'-dichlorophenoxy)-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-one (keto-triclabendazole) (CGA 110 754) C13H7Cl3N2O2; MW: 329.57	8	10	2	3
Minor unknowns plus 6-chloro-5-(2',3'-dichloro-4-hydroxyphenoxy)-2-methylthio-1-H-benzimidazole (hydroxy-triclabendazole) (CGA 161 944) C14H9Cl3N2O2S; MW: 375.66	11	12	13	9
未知	9	13	6	6
Non-extractable	32	16	27	29

トリクラベンダゾールとその代謝物の排泄は、4.55 mg/kg 体重を単回経口投与された胆管挿管雄ラットにおいても検討された。この試験では、投与量の 34%が胆汁とともに排泄された。胆管挿管ラット及び非挿管ラットで得られた結果の比較により、吸収された投与量のかなりの割合が胆汁中に排泄されたこと、したがって糞中放射能のほんの一部が未吸収トリクラベンダゾールであることが分かった。胆汁中代謝物はそれ以上特性を解析されていないが、酸に不安定ではないと試験責任医師は述べている。

ラット(原文 p.7)

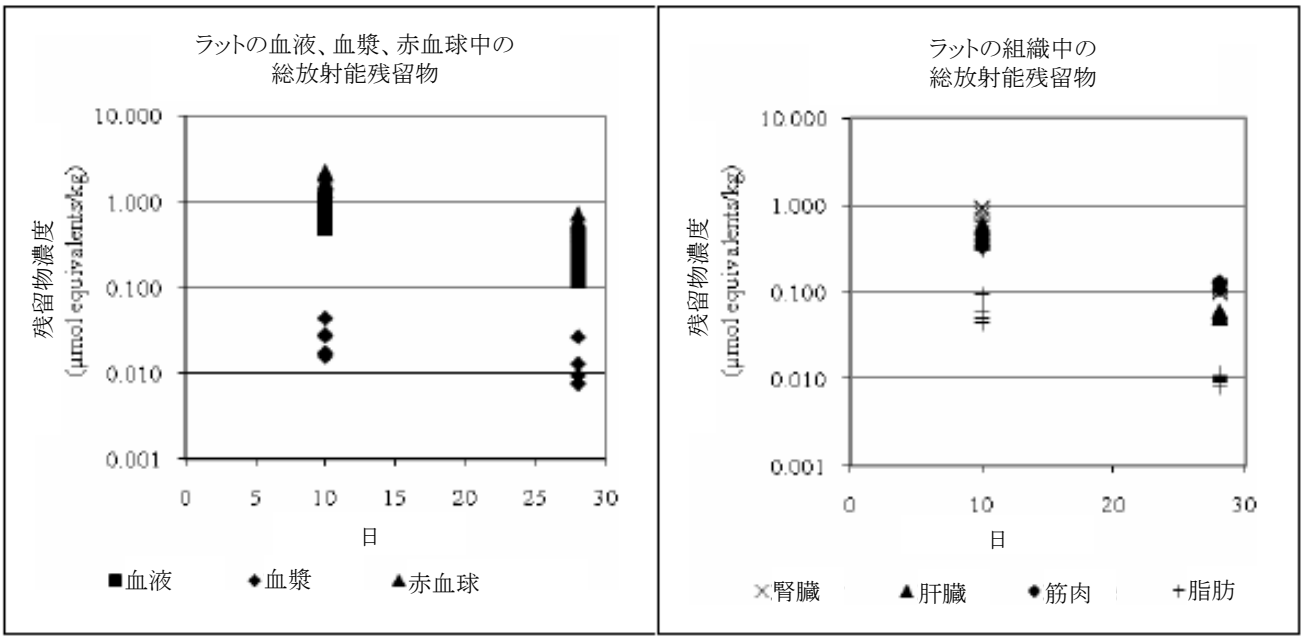
トリクラベンダゾールを 12 mg/kg 体重(範囲:10.32～12.14 mg/kg 体重)の名目用量で強制経口投与された 12 匹の SD ラットにおいて、排泄バランス及び組織分布試験(Hardwick, 2004a)が実施された。トリクラベンダゾールは、ベンズイミダゾール部分のベンゼン環に標識された(比放射能:13.9 MBq/mg)。6 匹のラットから糞尿と呼気を最大 10 日間採取し、投与後 10 日目にこれらのラットをと殺して血液、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪の検体を採取した。投与後 28 日目に残りの 6 匹のラットをと殺し、同じ種類の検体を得た。そして血液、血漿、赤血球、尿、糞、呼気、ケージ洗浄液、肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪中の放射能を測定した。投与後 10 日目の糞尿からの回収率は、1 匹当たり投与量の 88.2～127.7%の範囲で変動しており(表 3)、回収方法の不確かさが示唆された。放射能標識残留物のいずれも、支給された標準試料と同様のクロマトグラフ特性を示さなかった。しかしコクロマトグラフィは、牛組織に存在するすべての残留物がラット組織にも存在することを示した。

表 3:^{14}C 標識トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重の単回経口投与後 0～10 日目の雄ラットからの総放射能回収率

動物 ID:	101M	102M	103M	104M	105M	106M
用量 (mg/kg)	10.6	10.3	12.1	10.4	11.1	10.3
母動物	回収 (% of dose)					
尿	7.7	10	6.8	10.1	7.8	3.9
糞	86.5	78.2	98.1	88.9	119.8	106.6
ケージの洗浄	6.2	3.3	2	2.3	1.4	0.3
ケージの破片	<LOQ	0.009	0.01	0.003	0.025	<LOQ
呼気	0.007	0.003	0.006	0.008	0.005	<LOQ
組織	0.16	0.19	0.19	0.28	0.17	0.17

投与後 10 日目と 28 日目の組織中の残留物について図 4 に示す。残留物濃度は赤血球中で最高、脂肪中で最低であった。2 つの時点の間の消失率は脂肪中で最高であり、次いで肝臓中及び腎臓中、最低なのが筋肉中及び血液成分中であった。肝臓中の残留物の約 80%が非抽出性であった。抽出性残留物は広範囲の極性を示した。組織のアルカリ加水分解とそれに続く酸性化が抽出効率を高めた。トリクラベンダゾール(加水分解されてより極性の低い化合物になった)を除き、標準試料はアルカリ加水分解の影響を受けなかった。アルカリ加水分解後に抽出された残留物のトリクラベンダゾール部分は、加水分解によって開裂した細胞成分に(硫黄原子を介して)共有結合してはいるが、おそらく無傷であると著者は報告している。アルカリ組織抽出物には、少なくとも 7 つの結合型残留物が存在した。

図 4：^{14}C 標識トリクラベンダゾールを 12 mg/kg 体重の名目用量で経口投与されたラットの特定組織における残留消失



NaOH 加水分解後の抽出性に関する試験の結果を表 4 に示す。2M の NaOH は、赤血球、肝臓及び腎臓中の残留物の一部を等しい効率で可溶化したことが分かる。

表 4：水酸化ナトリウム（NaOH）処理後の放射能残留物のジクロロメタン/水分配

組織	処理	ジクロロメタンの抽出物 (%)	水相における残留物 (%)
赤血球	2M NaOH	80	12
肝臓	0.2 M NaOH	49	39
肝臓	2M NaOH	78	25
筋肉	0.2 M NaOH	65	26
腎臓	2M NaOH	75	14

^{14}C 標識トリクラベンダゾール 1 mg/kg 体重の単回静脈内（IV）及び PO 投与、ならびに複数回 PO 投与後に、ラットの血液、血漿及び 22 臓器・組織中の放射能分布を測定した。経口投与の 8 時間後、残留物濃度は肝臓で最高であり、次いで腎臓、心臓、白色脂肪及び肺、脳、筋肉の順に高かった。残留消失の動態は二相性であり、総消失率は白色脂肪、肝臓、肺及び腎臓、筋肉、心臓、脳の順に低下していた。投与の 168 時間後、残留物濃度はほとんどの組織で、IV 投与に比べて PO 投与のほうがまだ若干低かった。図 5 に消失動態の例をいくつか示す（各線は同種の組織の 3 つのデータ点の中央値を結んでいる）。^{14}C 標識トリクラベンダゾール 1 mg/kg 体重を 1 日 1 回、10 日間投与すると、血漿を除くすべての組織でかなりの残留物蓄積を招いた。蓄積は

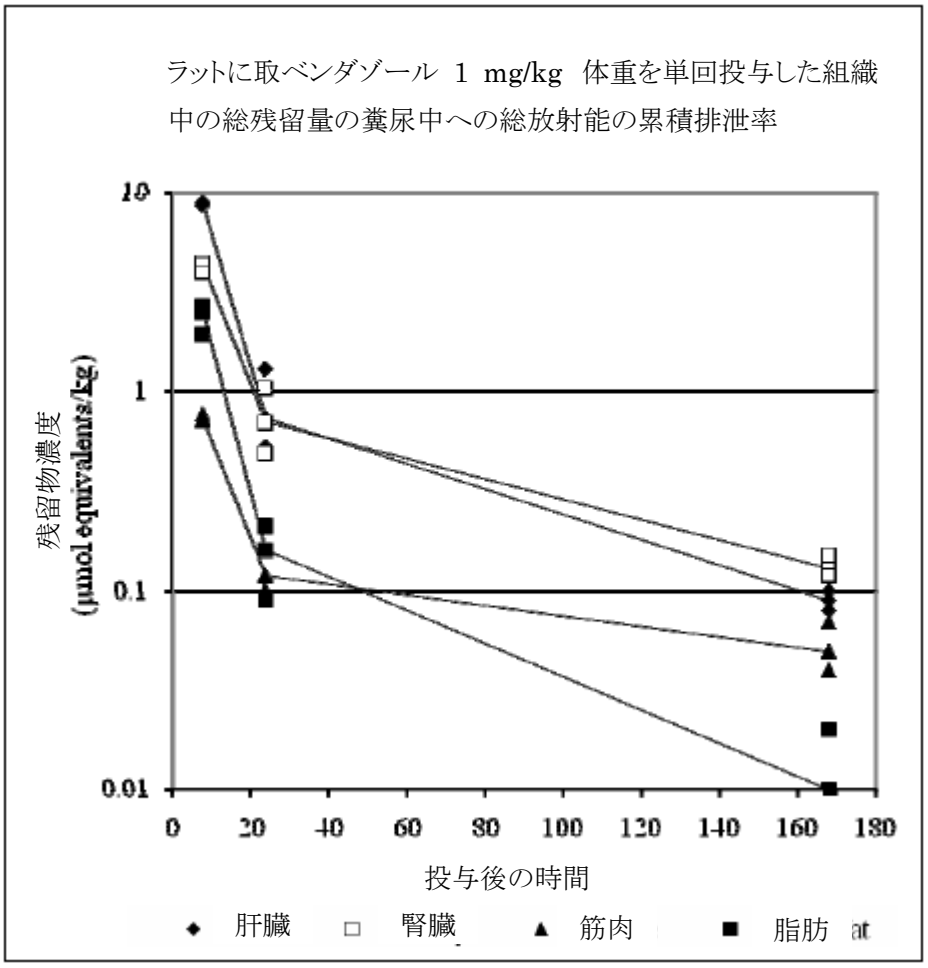
脳と心臓で最も顕著であった。

図 5：^{14}C 標識トリクラベンダゾール 1 mg/kg 体重の単回経口投与後のラットにおける放射能残留物の消失

投与計画	採取時間 (DALT[1])	トリクラベンダゾールの残留濃度 (mg/kg)[2,3]				
		筋肉	肝臓	腎臓	背脂肪	腎臓脂肪
単回ポアオン投与 0.75 mg アバメクチン /kg 体重 及び 45 mg トリクラベンダゾール /kg 体重	49	ND, 0.03, 0.04, 0.11, 0.15	0.51, 0.55, 0.99, 1.15, 1.27	0.26, 0.28, 0.57, 0.73, 0.82	ND, 0.10, 0.14, 0.2, 0.33	ND, 0.12, 0.16, 0.31, 0.68
	56	ND, 0.07, 0.08, 0.10, 0.12	0.45, 0.72, 0.73, 0.76, 1.01	0.26, 0.37, 0.40, 0.46, 0.49	0.09, 0.19, 0.24, 0.30, 0.36	0.04, 0.05, 0.11, 0.32, 0.39
	63	ND, ND, 0.01, 0.03, 0.05	0.31, 0.35, 0.39, 0.66, 0.84	ND, 0.18, 0.20, 0.36, 0.43	ND, ND, ND, 0.16, 0.19	ND, ND, ND, ND, 0.04
	70	ND, ND, ND, ND, 0.01	0.35, 0.37, 0.41, 0.45, 0.63	ND, 0.19, 0.20, 0.31, 0.39	ND, ND, ND, ND, 0.15	ND, ND, ND, ND, ND

血液及び血漿中動態の確定に用いたのと同じいくつかの用量で、ラット及びイヌの糞尿中への総放射能の排泄が測定された。投与の 168 時間後、排泄はラットにおいて完全ではなく、イヌではさらに不完全であった（表 5 参照）。尿中に排泄された投与量の割合は、ラットよりもイヌのほうが小さく、両種とも経口投与量の増加に伴って消失した。

表 5:ラット及びイヌの糞尿中への総放射能の累積排泄率



^{14}C 標識トリクラベンダゾール(比放射能:13.9 MBq/mg、放射化学的純度:99.7%)の薬物動態が、6～12 週齢の雄 SD ラット(体重:0.27～0.37 kg)への PO 及び IV 投与後に検討された(Needham, 2004a)。この試験の凍結乾燥組織試験材料は、比放射能 6.585 MBq/mg の ^{14}C 標識トリクラベンダゾールを投与した牛から得ていた(Needham, 2004b)。試験のデザインを表 6 に示す。

表 6：Needham（2004a）SD ラット試験のデザイン

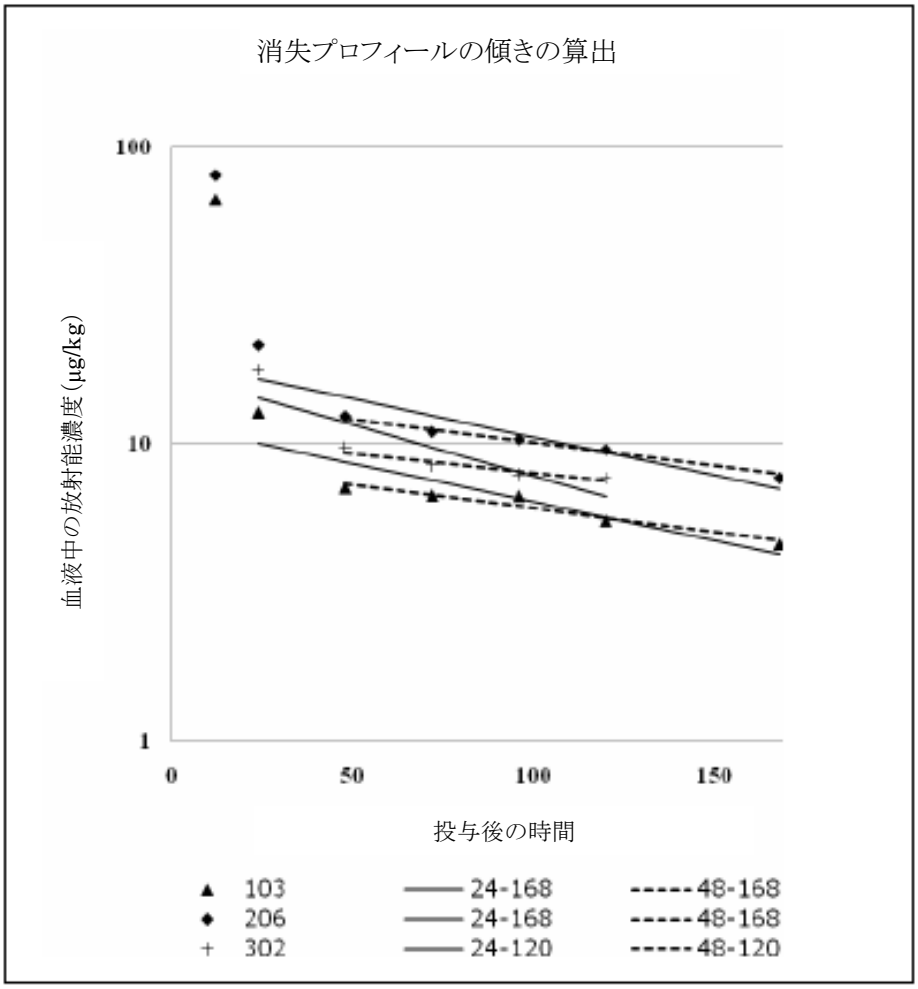
投与計画	採取時間	ケト-トリクラベンダゾールとして測定されたトリクラベンダゾールの残留濃度（mg/kg）			
	(DALT[1])	筋肉	肝臓	腎臓	腎周囲脂肪
単回ポアオン投与 0.68 mg アバメクチン /kg 体重 及び 38 mg トリクラベンダゾール /kg 体重	77	<LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10, 0.13	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10, 0.13
	91	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ
	105	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ
	119	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10

凍結乾燥組織を与えるラットには 4 時間、その食餌を食べることを許し、その後で食餌を取り去り、ラットを秤量し、通常の食餌に切り替えた。^{14}C 標識トリクラベンダゾールを含む食餌（C 群）又は残留物を含む凍結乾燥組織（D～H 群）への初回暴露の 1、2、3、4、6、9、12、24、48、72、96 及び 120 時間後に血液検体（150 μL）を採取した。血液検体は、^{14}C 標識トリクラベンダゾール投与の 30 分後（A 群）及び 20 分後（B 群）、そして凍結乾燥組織への食餌暴露の 168 時間後（C～F 群、剖検時）にも採取した。肝臓、腎臓及び筋肉の検体は、A 群及び C～F 群のラットから剖検時に採取した。G 群については、最も大量に組織を摂取した 3 匹からのみ血液検体を採取した。

A 及び B 群では 168 時間、C、G 及び I 群では 120 時間、放射能濃度の動態を調べた。^{14}C 標識トリクラベンダゾールの経口、IV 又は食餌投与後の全動物について、液体シンチレーション計測法によって血中放射能の検出可能濃度を測定した（A～C 群）。D～F 群から得たデータは、これらの動物に吸収された放射能の薬物動態パラメータを測定するには不十分であった。加速器質量分析（AMS）を利用しても、凍結乾燥組織を与えた群における放射能濃度を測定することは可能であった。

放射能マーカのバイオアベイラビリティー（バイオアベイラビリティ）の試算は、投与後 0 時間から無限遠時点までの AUC（$AUC_{0\text{-infinity}}$）の計算に基づいている。$AUC_{0\text{-infinity}}$の計算は、最終消失が投与の 120～168 時間後（最後の血液検体採取時点）でも完了していないことを示した。図 6 は、消失特性曲線の傾きを試算する際の問題を浮き彫りにしている。この試験の著者は、投与の 24 時間後に得た結果を最終半減期の計算に常に用いた。けれども、図 6 に示した 3 つの例から明らかなように、24 時間後に測定した濃度は初期の体内動態に依存している。

図 6：Needham（2004a）試験における最終半減期及び $AUC_{t\text{-}infinity}$ を算出するための消失特性曲線の傾きの試算



図中の三角印は、動物 103（標識トリクラベンダゾール 0.25 mg/kg 体重を強制経口投与）で得た動態の最終 6 つのデータ点を示す。実線は、試験の著者による最終半減期の計算の基礎を示す。破線は、計算が最終 5 つのデータ点のみに基づく場合との差を示す。その差は大きい。動物 206（0.30 mg/kg 体重を IV 投与）で得た結果（菱形印）についても同じことが言える。傾きがより急なため、$AUC_{t\text{-}infinity}$ 計算への影響は重大であり、より適切な計算の結果と比べて著者の算出した最終半減期は通常短く、AUC の値は小さい。ただし、各対の線は平行であるので AUC の比に対する影響は最小限であり、強制経口投与量の血中バイオアベイラビリティの「正確な」試算が得られる。動物 302（食餌中の 0.26 mg/kg 体重に暴露）で得た結果（十字印）の評価を見ると、状況は異なっている。「不正確に」算出された線はもはや平行ではないが、「正確に」算出された線はやはり役に立つ。

実験全体の結果をこのように再計算した。すべての消失曲線のグラフを作成し、最終消失の一次的影響を受けるデータ点を選択した。これらのデータ点を用いて最終半減期と $AUC_{t\text{-}infinity}$ を再計算し、下記の結果を得た。このように計算した最終半減期はいずれも著者の報告したそれより長く、$AUC_{t\text{-}infinity}$ の値もすべて高かった。これは、動物に強制経口投与した場合には試算したバイオアベイラビリティに大きな影響を与えなかったが、残留

物への食餌暴露の場合には算出したバイオアベイラビリティは増加していた。表 7 は、再計算の結果と著者の得たそれとの比較である。

表 7：Needham（2004）試験の結果の一部を再計算した結果

投与群	平均生物学的利用能		平均最終半減期（hrs）	
	著者による計算	再計算	著者による計算	再計算
A	0.715	0.694	147.7	197.4
C	0.676	0.913	91.4	289.4
G	0.064	0.086	90.7	203.7
I	0.098	0.094	135.9	164.9

再計算した最終半減期は、著者の報告したそれよりかなり長かった。バイオアベイラビリティの試算への影響は、強制経口投与の場合はごくわずかだが（A 及び I 群）、食餌暴露の場合は重大である（C 及び G 群）。概して、最終半減期は著者の試算よりも長い。食餌暴露に関して、この試験デザインの弱点は暴露後 120 時間より後の検体採取時点がないことであった。これはまた、十分に適切な試算を行うには利用できるデータ点が少なすぎる場合の再計算にとっても問題である。著者の主要知見に変更はない。すなわち、組織（投与後 28 日目にと殺した動物）からの残留物のバイオアベイラビリティは低い。

これらのデータより、^{14}C 標識トリクラベンダゾールの絶対的バイオアベイラビリティはラットへの強制経口投与の場合に約 70%であることが明らかになった。他方、ラットに強制経口投与した残留物の絶対的バイオアベイラビリティは肝臓において 9.2%であり、この数値は他の組織よりも高かった。したがって、牛における肝残留物のバイオアベイラビリティは強制経口投与と比較して 13%（9.2/70×100）であると計算された。

ウサギ（原文 p.12）

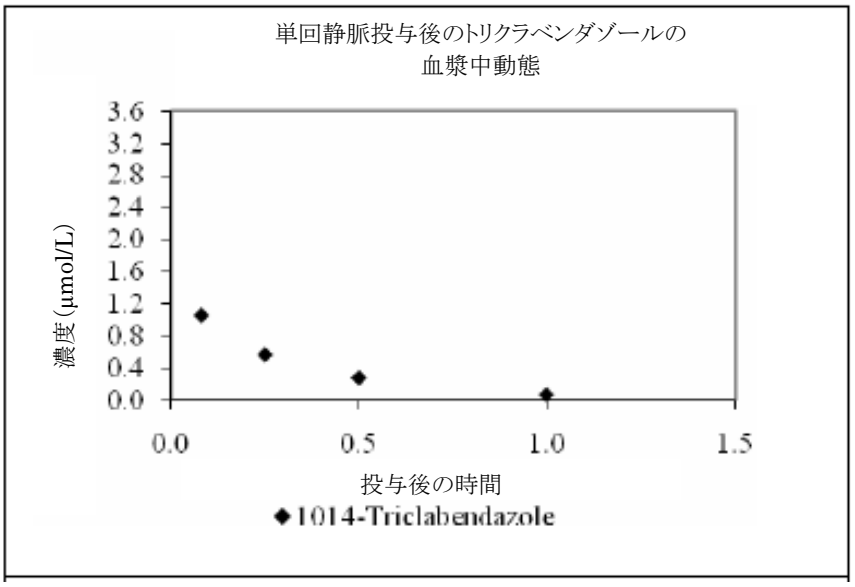
^{14}C 標識トリクラベンダゾールを 2 匹の雌チンチラ兎に IV 及び PO 投与した（Wiegand 他, 1991a）。動物は試験期間中、2.7～4.3 kg の体重範囲にあった。最低 4 週間の間隔で、最初は 3 mg/kg 体重の IV 投与、その後は 3 mg/kg 体重及び 26 mg/kg 体重の経口投与を行った。血液及び血漿中の総放射能濃度、ならびに糞尿中への排泄を測定した。消化管からのトリクラベンダゾールの吸収は、用量にかかわらず完全であった。血中放射能物質は、血漿中で二相性の消失を示した。放射能の大部分は 72 時間以内に循環血液から（主に胆汁中に）排泄されたが、約 17～20%は投与後 7 日間排泄されなかった。なお、トリクラベンダゾール未変化体、ならびにスルホキシド代謝物及びスルホン代謝物の血漿濃度も測定された（Wiegand 他, 1991b）。IV 注射後 5 分で、トリクラベンダゾールスルホキシドの濃度はトリクラベンダゾールのそれより高かった。経口投与の後、血漿中にトリクラベンダゾールは検出されなかった。スルホンの生成はスルホキシドの場合より緩徐であった。この 2 つの代謝物が、投与後最初の 8 時間に血漿中で測定された総放射能を表していた。

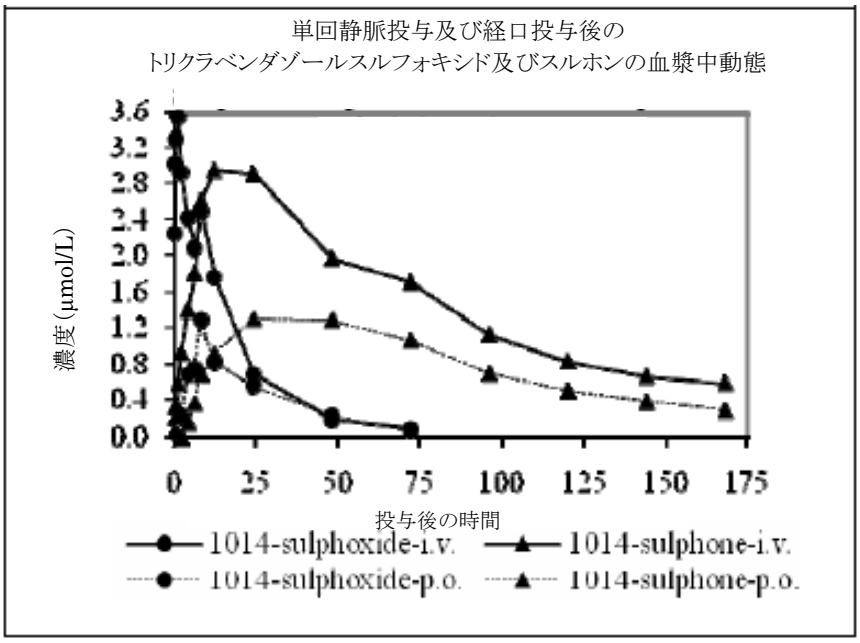
イヌ及びラット（原文 p.13）

^{14}C 標識トリクラベンダゾールの吸収、分布及び排泄をイヌ及びラットにおいて検討する大規模な試験が実施された（Schütz 他, 1991）。^{14}C 標識トリクラベンダゾール IV 及び PO 投与後のイヌ及びラットにおいて、トリクラベ

ンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン代謝物の血漿中及び尿中濃度が報告された。ビーグル犬 2 匹中の 1 匹における 0.5 mg/kg 体重 IV 投与後の親化合物、ならびに同じイヌにおける同用量 PO 投与後のスルホキシド及びスルホン代謝物の血漿中動態を図 7 に示す。トリクラベンダゾールは速やかに代謝され、そのスルホキシド及びスルホン代謝物になった。IV 投与後、親化合物は速やかに消失し、トリクラベンダゾールスルホキシドの濃度が直ちに増加した。IV 注射後 1 時間を過ぎると、未変化体は検出されなかった。0.5 及び 5 mg/kg 体重の経口投与後、血漿中にトリクラベンダゾールは検出されず、スルホンは緩徐に生成されて排泄された。トリクラベンダゾールの腎排泄は、イヌではごくわずかであった。

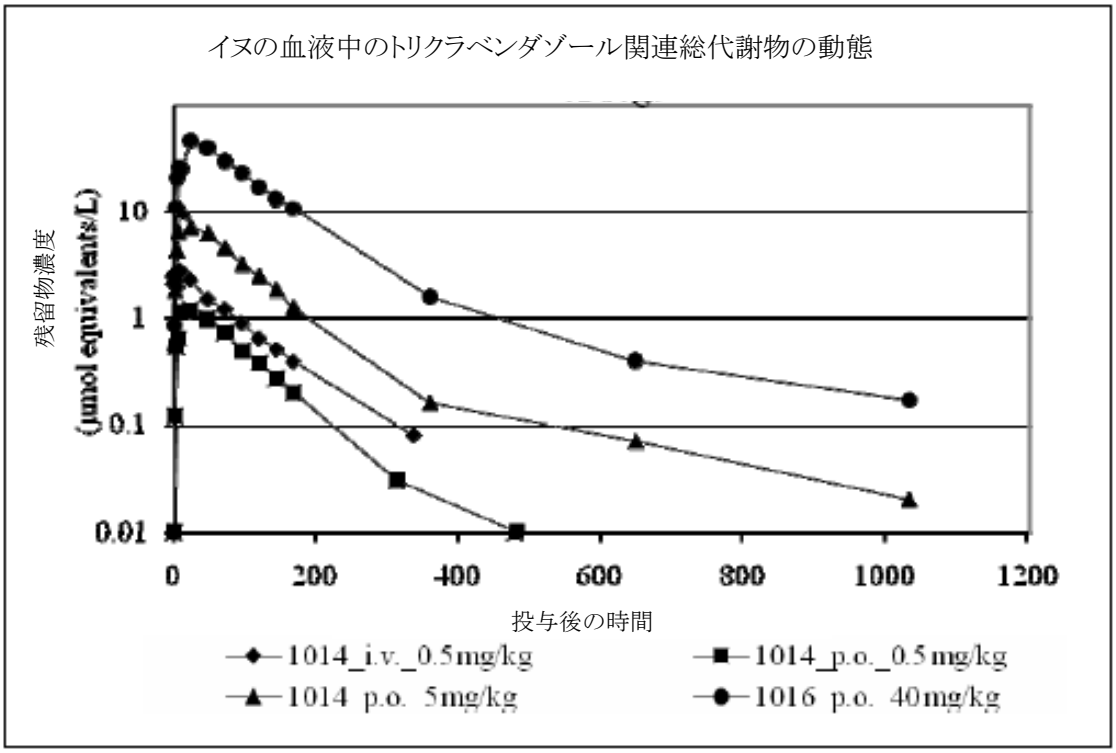
図 7:0.5 mg/kg 体重の単回静脈投与又は経口投与後のビーグル犬(動物 1014)におけるトリクラベンダゾールとその主要代謝物の血漿中動態





血漿及び血液中の総放射能の動態は、イヌにおける 0.5 及び 5 mg/kg 体重の IV 及び PO 投与後と 40 mg/kg 体重の PO 投与後、ならびにラットにおける 1 mg/kg 体重の IV 及び PO 投与後と 10 及び 80 mg/kg 体重の PO 投与後にも測定された（Schütz 他, 1996）。2 匹のイヌ（動物 1014 及び 1016）で得られた総放射能に関する血液分析の結果の一部を図 8 に示す。

図 8：^{14}C 標識トリクラベンダゾール投与イヌの血液中の総放射能残留物の動態



血漿中の総放射能の濃度は、全血中で測定したそれより当初は高かった。血漿中濃度に対する血中濃度の比は最も低い用量で約 0.59 であり、投与経路が IV でも PO でも同じであった。この比は経口投与量の増加に伴って消失したが、ある用量について見れば数日間一定であった。血漿中のスルホキシド及びスルホン濃度の和（図 7）は、総放射能残留物の濃度とよく相関している。

ラットでは、血漿中濃度に対する血中濃度の比は 1 mg/kg 体重の IV 投与後に 0.7 を超える程度、1 mg/kg 体重の経口投与後に 0.6 を超える程度であった。けれどもこの比は時間とともに増加し、投与の 24 時間後には 1 を超えた。そして 2 日後、IV 投与では 3.2～5.5（n＝3）、PO 投与では 7～8（n＝3）に達した。

放射能残留物の動態特性は、濃度 - 時間曲線下面積（AUC）の測定にも利用された。結果を表 8 にまとめる。ラットで算出した血漿中バイオアベイラビリティは、1 mg/kg 体重の経口投与でほぼ 100%であった（n＝3）。この数値は、10 倍の用量まで若干減少し、80 倍の用量までさらに大きく減少した。イヌで算出した血漿中バイオアベイラビリティは、$AUC_{0\text{-infinity}}$（n＝2）に基づいて約 37.7～55.6%であり、用量が 0.5 mg/kg のときに 43.8%（n＝1）、40 mg/kg 体重のときに 26.8%（n＝1）であった。この実験では、各ラットは 1 つの用量でのみ検討されたが、2 匹のイヌはそれぞれ、3 つの用量で検討された。

表 8:イヌ及びラットの血液及び血漿中総放射能残留物の特定 AUC(用量を補正;投与後 0～168 時間)

用量 (mg/kg 体重)	経路	母動物	イヌ		ラット									
			1014	1016	RA 13	RA 14	RA 15	RA 1	RA 2	RA 3	RA 101	RA 102	RA 105	RA 106
			Specific AUC [µmoles x h/(L x mg/kg)]											
0.5	静脈	血	405	503										
		血漿	686	881										
	経口	血	215	174										
		血漿	353	303										
1	静脈	血			49	61	55							
		血漿			55	66	61							
	経口	血						53	61	55				
		血漿						58	66	57				
5	経口	血	141											
		血漿	252											
10	経口	血									46	37		
		血漿												
40	経口	血		106										
		血漿		213										
80	経口	血											26	27
		血漿												

食料生産動物(原文 p.15)

<u>牛</u>

12 mg/kg 体重の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール(比放射能:82.6 µCi/mg、放射化学的純度:95.7%)がアンガス種の若い雌牛(動物 159、約 7 か月齢、体重 177 kg)及びヘレフォード種の若い雌牛(動物 156、約 7 か月齢、体重 160 kg)各 1 頭に経口カプセルで投与された(Downs 他, 1991)。動物 159 は投与後 28 日目に、動物 156 は 42 日目にそれぞれと殺され、組織検体が採取されて、^{14}C 標識測定のための燃焼分析が行われた。結果を表 9 にまとめる。

表 9:投与を受けた若い雌牛の組織中の総 ^{14}C 標識残留物

組織	肉用若雌牛	
	動物 159 (投与後 28 日でと殺)	動物 156 (投与後 42 日でと殺)
	残留物 (mg/kg 当量*	
肝臓	0.24 ± 0.013	0.09 ± 0.009
腎臓	0.11 ±0.016	0.07 ± 0.011
筋肉(混合物 composite)	0.13 ± 0.017	0.10 ± 0.007
脂肪(混合物 composite)	0.01 ± 0.003	<0.01 ± 0.001

* データは平均±標準偏差

上記の試験(Downs 他, 1991)において投与後 28 日目にと殺されたアンガス種の若い雌牛(動物 159)の組織検体は、メタノール及び酢酸エチルでの 3 回の連続抽出による抽出物の放射能標識測定が行われた(Krautter, 1992)。抽出効率が低く、クロマトグラフィによる組織残留物の特性解析はできなかった。

^{14}C 標識トリクラベンダゾール(比放射能:5.96 MBq/mg、放射化学的純度:95.7%)が 12 mg/kg 体重の単回投与として、アバディーンアンガス種の雌(投与時体重 63 kg)及びホルスタイン/リムーザン交配種の雄(投与時体重 96 kg)の反芻仔牛各 1 頭に強制経口投与された(Ferguson, 1994a)。投与後 0～168 時間の糞中及び尿中排泄はそれぞれ、投与放射能の 76%及び 2.2%を占めた。血漿蛋白との結合はすべての検体で 99%を超えた。両動物は投与後 28 日目にと殺された。肝臓、腎臓、テンダーロイン筋肉、後四半部筋肉、前四半部筋肉、腎周囲脂肪、皮下脂肪、血漿及び赤血球中の放射能が測定された。放射能は検体採取したすべての組織に存在し、放射能濃度は肝臓で最も高く、次いで筋肉と腎臓で高く、脂肪で最も低かった。

Dieterle 及び Kissling による別の試験(1995)において、上記の試験(Ferguson, 1994a)の組織検体が REM 15/83 法のバリデーション試験の一環として分析された。ジクロロメタンでの抽出性は牛の場合、102%(筋肉)、64%(肝臓)、82%(腎臓)及び 97%(腎周囲脂肪)であった。紫外検出による REM 15/83 法の計測性(回収手順について未補正)は牛の場合、総残留物の 34%(筋肉)、14%(肝臓)、22%(腎臓)であった。これらの結果は後ほど、食事摂取との関連で検討し、表 21 にまとめる。

Thanei による試験(1995a)は、Ferguson(1994a)試験を引き継いでいる。具体的には、牛の糞尿の抽出物における代謝物パターンを定量的に測定し、個々の代謝物の特性を解析した。投与後 168 時間採取した尿に、投与量の約 2%が排泄されていた。尿中にトリクラベンダゾールの代謝物が 4 つ検出されたが、親化合物そのものは検出されなかった。他方、投与後 168 時間採取した糞には投与量の約 76%が排泄されていた。糞中の主要代謝物は、トリクラベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホン、ならびに 2,3-ジクロロ-4-(6-クロロ-2-メチルスルファニル-3H-ベンゾイミダゾール-5-イルオキシ)-フェノールとそのスルホンであった。

ホルスタイン種の雄の反芻仔牛 1 頭(9 週齢、体重 91 kg)に、12 mg/kg 体重の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール(比放射能:13.9 MBq/mg、放射化学的純度:99.5%)がカプセルで単回経口投与された(Needham, 2004b)。投与後 10 日間にわたり 24 時間おきに採取した尿及び糞はそれぞれ、投与放射能の 78.2%及び 3.4%を含ん

でいた。仔牛は投与後 28 日目にと殺され、放射能の組織分布が測定された(表 10)。

表 10:^{14}C 標識トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重の単回経口投与後 28 日目の仔牛の組織における放射能残留物の濃度

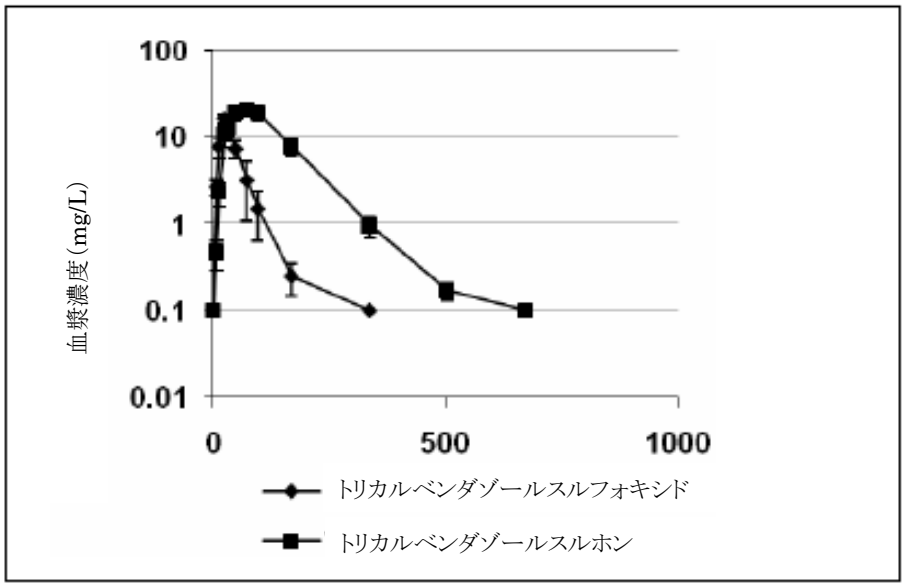
組織	放射能濃度(μg トリカルベンダゾール相当/kg 組織)
肝臓	283.3
腎臓	163.3
筋肉	209.1
脂肪	25.8
血液	70.4
赤血球	63.1
血漿	51.1

分別試験(Needham, 2004b)は、肝臓及び筋肉中の放射能の 92～98.6%が脂質又は蛋白と関連していることを示した。抽出溶媒の pH を酸性から塩基性に変更しても組織残留物が放出されなかったことから、組織残留物は細胞中の巨大分子に共有結合していると考えられる。残留物のトリクラベンダゾール由来部分はアルカリ加水分解又はプロテアーゼ消化のどちらによっても遊離代謝物として放出されなかったが、酸化はケトン CGA-110754(ケト-トリクラベンダゾール)を開裂した。その他の代謝物はトリクラベンダゾールのフェノール性代謝物(例:CGA-161 944 及び CGA-183 196)に由来し、抽出物から放出される可能性があるが、残留物分析法の洗浄プロセスを通して実施されなかった。放射能標識残留物の抽出率が一連の溶媒について測定された(Needham, 2004b)。最も効率的な抽出は、2M の NaOH による組織のアルカリ加水分解を必要とした。この条件下で、総放射能残留物の 70～85%がジクロロメタンで抽出された。しかし、得られた抽出物は高速液体クロマトグラフィ(HPLC)分析が困難であり、HPLC/MS からデータは得られなかった。

バリデーション済みの残留物分析法(定量限界:0.03 mg/kg、各牛組織のトリクラベンダゾール当量として)は、肝臓、腎臓及び筋肉に存在する総放射能の 26.5%(肝臓)、29.4%(腎臓)及び 34.9%(筋肉)を計測した(Needham, 2004b)。血漿では、蛋白分画によって沈殿する放射能の 90%がトリクラベンダゾール - 蛋白結合体として存在した。184 日(筋肉)及び 194 日(肝臓と腎臓)の間冷凍保存した牛組織検体中の残留物の保存安定性が検討された(Needham, 2004b)。筋肉及び腎臓中の残留物は保存期間中安定していたが、牛の肝臓では、6 か月間冷凍保存したトリクラベンダゾールの平均濃度は当初の 72%に低下していた。

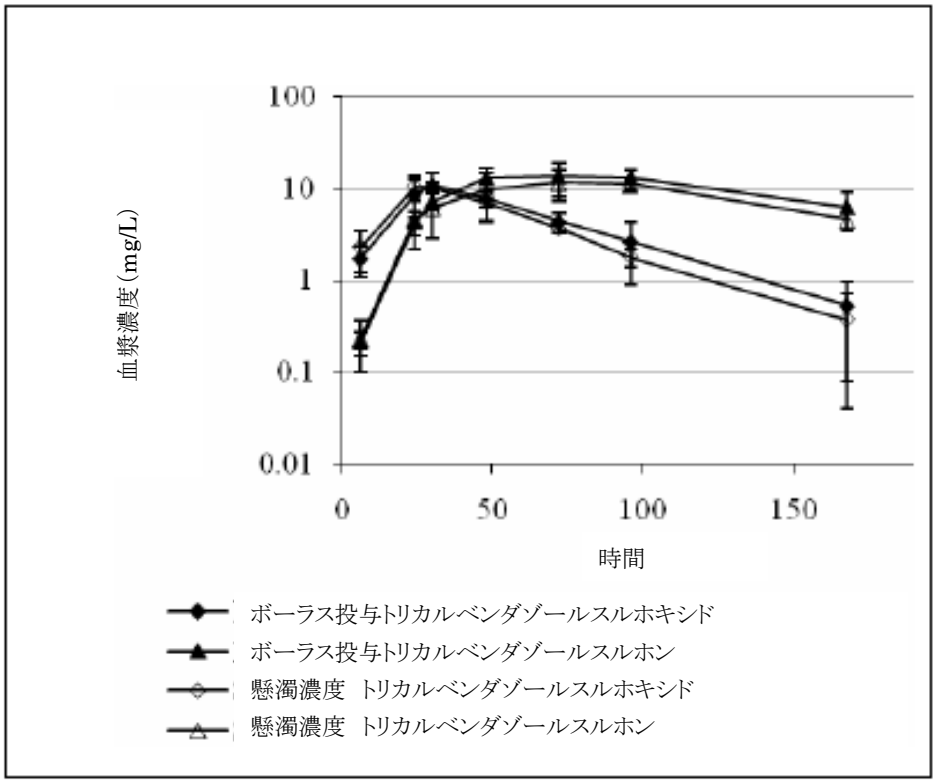
体重 165～196 kg の仔牛 4 頭に 12 mg/kg 体重のトリクラベンダゾールを(10% w/v 懸濁液として)経口投与した(Bull 他, 1986a)。血漿検体を取得し、トリクラベンダゾールスルホキシドとトリクラベンダゾールスルホンについて HPLC で分析した。代謝物血漿濃度 - 時間曲線の片対数グラフを図 9 に示す。スルホキシドは 24 時間、スルホンは 72 時間でそれぞれ最大血漿濃度を示した。

図 9:12 mg/kg 体重のトリクラベンダゾール経口投与後の牛におけるトリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンの血漿濃度 - 時間特性



9か月齢のヘレフォード種交配仔牛10頭（体重192～238 kg）に12 mg/kg体重のトリクラベンダゾールをボーラス（n＝5）又は10% w/v懸濁液（n＝5）として投与した（Bull他, 1990）。ボーラス投与動物には半ボーラス近くまで投与してから、正確な投与速度を計算した。血漿検体を採取し、トリクラベンダゾールスルホキシドとトリクラベンダゾールスルホンについて分析した。代謝物血漿濃度 - 時間曲線の片対数グラフを図 10 に示す。ボーラス及び懸濁液によって牛に投与したトリクラベンダゾールのバイオアベイラビリティは同様であった。

図10：ボーラス又は10% w/v懸濁濃縮液による12 mg/kg体重のトリクラベンダゾール経口投与後の牛におけるトリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンの血漿濃度 - 時間特性



Strong 他による羊試験（1983）と同様の試験が牛で行われた（Bull 他, 1986b）。ホルスタイン種牛 6 頭（10 か月齢、体重 186～236 kg）を 2 群（各群 3 頭）に割り付けた。第 1 群にはトリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重を（10% w/v 懸濁液として）IV 投与した。第 2 群にはトリクラベンダゾールスルホキシド 12 mg/kg 体重を（10% w/v 懸濁液として）IV 投与した。両群のすべての動物が IV 投与後に有害な臨床徴候を示し、第 2 群の 1 頭が死亡した。HPLC 分析のために血漿検体を採取した。

両群の代謝物血漿濃度 - 時間曲線の片対数グラフを図 11 と図 12 に示す。第 1 群では、平均最大濃度（30.1 mg/L）のトリクラベンダゾールスルホキシドを投与後約 4 時間で認め、最大濃度（23.9 mg/L）のトリクラベンダゾールスルホンを投与後約 32 時間で認めた。トリクラベンダゾールの血漿濃度は、投与後 12 時間で 3 頭中 2 頭において 0.1 mg/L を下回った。第 2 群では、平均最大濃度（159 mg/L）のトリクラベンダゾールスルホキシドを最初の血液検体（投与後 2 分で採取）に認め、平均最大濃度（41.3 mg/L）のトリクラベンダゾールスルホンを投与後 32 時間で認めた。

図 11：12 mg/kg 体重のトリクラベンダゾール IV 投与後の牛におけるトリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンの血漿濃度 - 時間特性

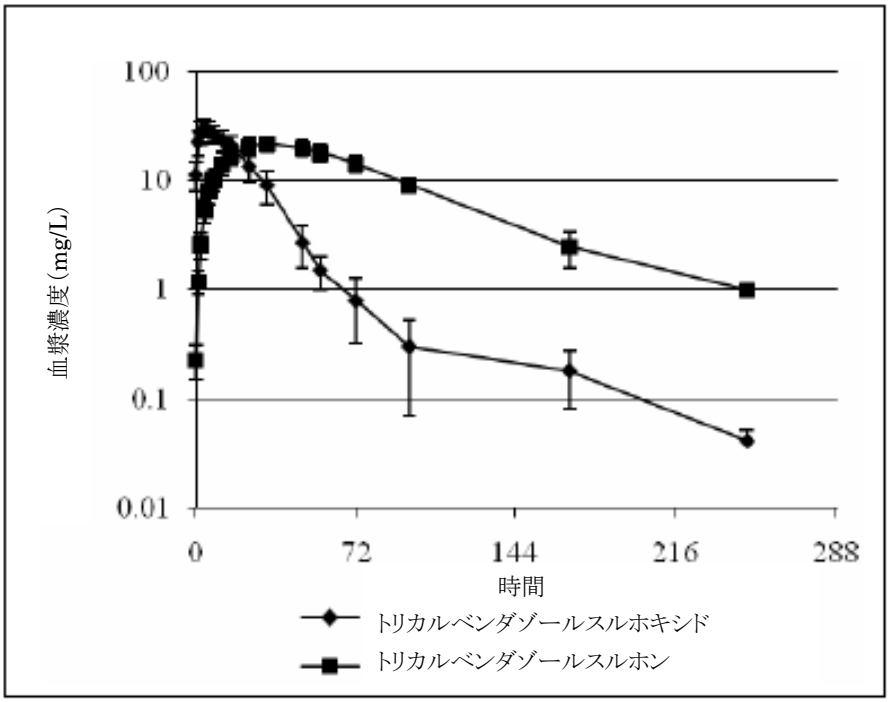
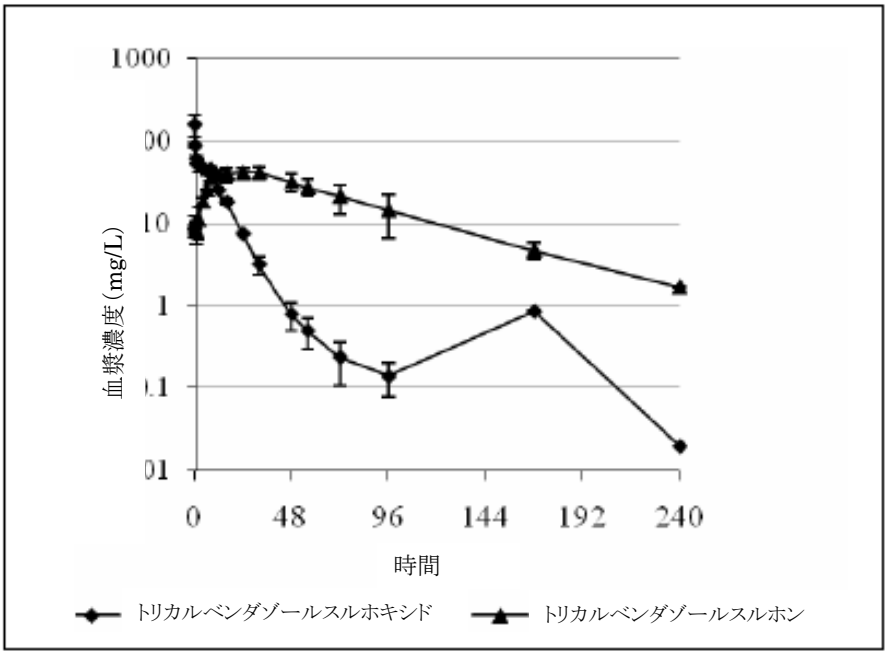


図 12:12 mg/kg 体重のトリクラベンダゾールスルホキシド IV 投与後の牛におけるトリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンの血漿濃度 - 時間特性



トリクラベンダゾールとレバミゾールの同時投与がどちらかの化合物の薬物動態を変えるかどうかを検討した試験(Strong 他, 1987)では、仔牛 21 頭を 3 群(各群 7 頭)に割り付けた。第 1 群にはトリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重、第 2 群には塩酸レバミゾール 7.5 mg/kg 体重及びトリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重、第 3 群には塩酸レバミゾール 7.5 mg/kg 体重を投与した。血漿検体を採取し、トリクラベンダゾールスルホキシドとトリクラベンダゾールスルホン及び(又は)塩酸レバミゾールについて分析した。トリクラベンダゾールスルホキシド、トリクラベンダゾールスルホン及びレバミゾールの薬物動態パラメータを計算した。その結果、牛においてトリクラベンダゾールとレバミゾールの同時投与は、両化合物の薬物動態を大きくは変えないことが明らかになった。

羊(原文 p.20)

羊及び牛におけるトリクラベンダゾール(CGA-89 317)IV 投与後の血漿中トリクラベンダゾールスルホキシド(CGA-110 752)及びトリクラベンダゾールスルホン(CGA-110 753)の動態パラメータの比較を表 11 に示す。

表 11:羊及び牛におけるトリクラベンダゾール IV 投与後の血漿中トリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンの動態パラメータ

動物	CGA-89317 用量	血漿プロフィール	AUC (mg/L.h)	Cmax (mg/L)	Tmax (h)	T1/2(h)
羊	10 mg /kg of bw	CGA-110 752	651	42	42	14
		CGA-110 753	596	13	13	27
牛	12 mg/kg of bw	CGA-110 752	795	34	34	13
		CGA-110 753	2043	24	24	40

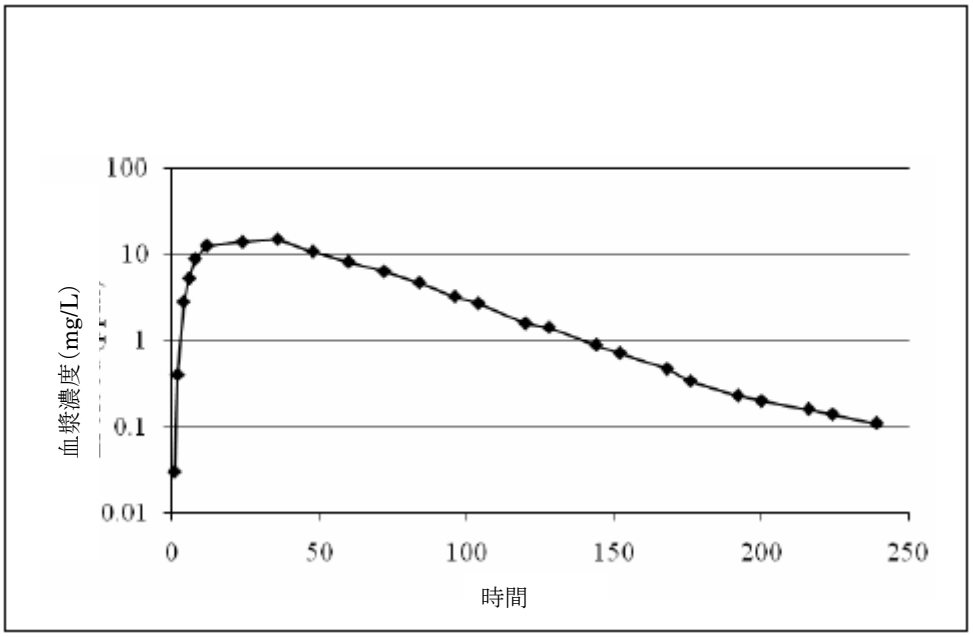
^{14}C 標識 CGA-89 317(比放射能:1.129 MBq/mg、放射化学的純度:99%)が 4 か月齢の雌羊 1 頭(Swiss White Alp X Ile de France 種、体重 28.5 kg)に、10.5 mg/kg 体重のゼラチンカプセル剤として経口投与された(Hamböck 及び Strittmatter, 1982)。血液検体を採取し、検体中の放射能を測定した。血中放射能濃度 - 時間曲線の片対数グラフを図 13 に示す。糞尿中への放射能の排泄は投与後 10 日間、24 時間おきに測定された。糞及び尿中への排泄はそれぞれ、投与量の 100.9%及び 3.5%を占めた。糞の抽出物(0～72 時間)は、トリクラベンダゾール未変化体(投与量の 19.3%)、トリクラベンダゾールスルホキシド(6.6%)、トリクラベンダゾールスルホン(2.2%)及びいくつかの不明代謝物を含んでいた。尿は極性分画のみを含んでいた。羊は投与後 10 日目にと殺され、放射能の組織分布が検討された。結果を表 12 に示す。

表 12:10.5 mg/kg 体重の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール経口投与後 10 日の羊の特定組織・臓器における放射能

組織	mg/kg トリクラベンダゾール当量	組織	mg/kg トリクラベンダゾール相当
血液	0.11	第一胃壁	0.21
肝臓	1.84	中身	0.02
胆嚢	0.4	腸壁	0.17
腎臓	1.11	- 中身	0.09
肺	1.35	黄色骨髄	～LOQ
膵臓	0.24	- 赤色骨髄	～LOQ
心臓	0.92	脊髄	1.13
脳	0.95	リンパ節	0.22
ランプ肉	0.58	眼球	0.29
-ラウンドステーキ	0.58	卵巣	0.14
- テンダーロイン	0.53	副腎	1.07
腎周囲脂肪	0.09	甲状腺	1.67
-皮下	0.08	膵臓	0.41
		胸腺	0.11

LOQ 評価: 血液 = 0.006 ppm; 組織 100 mg = 0.023 ppm; 組織 150-250 mg = 0.012 ppm;組織 300-400 mg = 0.008 ppm.

図 13:10.5 mg/kg 体重の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール経口投与後の羊血液中の放射能



この解析法での LOQ は 0.006 mg/kg トリクラベンダゾール当量であった。

テクセル交配種の羊 2 頭(雄雌各 1。投与時体重:雄 33 kg、雌 27 kg)に、^{14}C 標識トリクラベンダゾール(比放射能:5.96 MBq/mg、放射化学的純度:97.0%～比放射能:6.13 MBq/mg、放射化学的純度:98.5%)を 10 mg/kg 体重の名目用量で強制経口投与した(Ferguson, 1994b)。投与後 168 時間に、投与量の 77%が糞中に、4.7%が尿中にそれぞれ排泄された。補強検体(試験管内で測定)、ならびに投与後 8 及び 48 時間で採取した血漿(生体外で測定)における血漿蛋白との結合率は 99%であった。動物は投与後 28 日目にと殺し、放射能の組織分布を測定した。放射能濃度(^{14}C 標識トリクラベンダゾール当量として、単位:mg/kg)は、前四半部筋肉で 0.24、テンダーロイン筋肉で 0.24、肝臓で 0.24、腎臓で 0.20、皮下脂肪で 0.02、腎脂肪で 0.02 であった。

上記の試験(Ferguson, 1994b)において ^{14}C 標識トリクラベンダゾールを経口投与して 28 日後にと殺した羊の組織が REM 15/83 法のバリデーション試験の一環として分析された(Dieterle 及び Kissling, 1995)。ジクロロメタンでの抽出性は 91%(筋肉)及び 78%(肝臓)であり、紫外検出による REM 15/83 法の計測性(回収手順について未補正)は羊の場合、総残留物の 32%(筋肉)及び 19%(肝臓)であった。

^{14}C 標識トリクラベンダゾールが体重 42.5 kg のヤギ及び 28.5 kg の羊各 1 頭に、10 mg/kg 体重の経口カプセル剤として投与された(Hamböck, 1982)。動物は投与後 10 日目にと殺された。種々の有機溶媒及び 0.01M リン酸緩衝水溶液による残留物の抽出性は、両動物とも低かった。他方、2N の NaOH 水溶液で可溶化した後に pH<3 まで酸性化した組織からジクロロメタンで抽出した ^{14}C 標識残留物の割合は、ヤギでは 85%(肝臓)、89%(腎臓)及び 82%(筋肉)であり、羊では 78%(肝臓)、79%(腎臓)及び 89%(筋肉)であった。過酸化水素による酸化は、ヤギ及び羊の筋肉においてそれぞれ、^{14}C 標識組織残留物の 40%及び 42%を共通部分のケト-トリクラベンダゾール(CGA-110 754)に変換した。

Fergusonの羊試験（1994b）は、投与後168時間採取した糞尿における代謝パターンの測定によって引き継がれた（Thanei, 1995b）。尿と糞はそれぞれ、投与された放射能の 4.7%及び 77%を排泄し、それぞれ 5 つ及び 11 個の代謝分画を含んでいた。トリクラベンダゾール未変化体は尿中に検出されなかったが、糞中では投与量の16%を占めた。羊におけるトリクラベンダゾールの主要代謝経路はスルホキシド（最終的にはスルホン）への酸化、及びジクロロ-フェニル環の4位でのヒドロキシル化であった。したがって、トリクラベンダゾールの代謝経路は、羊と牛において基本的に同じである。

トリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重が、外科的に胆管挿管した羊の第一胃内に投与された（Hennessy 他, 1987）。血漿及び胆汁中のトリクラベンダゾール代謝物の特性を測定した。血漿では、トリクラベンダゾールスルホキシドとトリクラベンダゾールスルホンだけが存在し、血漿アルブミンと結合していた。胆汁では、主要トリクラベンダゾール代謝物はジクロロ-フェニル環の 4 位でヒドロキシル化されて、主に硫酸エステルとして（一部はグルクロン酸抱合体として）排泄された。投与した量のトリクラベンダゾールのうち、9.7%は遊離代謝物として胆汁中に排泄され、35.8%は抱合代謝物として排泄され、6.5%は尿中に排泄された。

異なる用量（5 及び 10 mg/kg 体重）、異なる剤形（懸濁液と水溶液）、そして異なる投与経路（経口、第一胃内、IV）を用いて、トリクラベンダゾール及びトリクラベンダゾールスルホキシドの吸収が羊において検討された（Strong 他, 1982）。予備情報が報告されただけで、この試験はそれ以上検討されなかった。

羊において、トリクラベンダゾールを 2 回、異なる剤形で投与した後、トリクラベンダゾール及びトリクラベンダゾールスルホキシドの血漿濃度が測定された（Strong 他, 1983）。著者の報告によると、トリクラベンダゾールの薬物動態の変動は同一動物の中では小さかったが、異なる動物の間では大きかった。また、懸濁液からのトリクラベンダゾールの吸収とピーナッツ油調合物からのそれは同様であると報告された。8 週間を隔てて 2 回のトリクラベンダゾール投与の結果、個々の羊においてトリクラベンダゾールスルホキシド及びトリクラベンダゾールスルホンの血漿濃度は変わらなかった。食道溝反射の部分的刺激が 15 頭のうちの 1 頭に生じ、残りの 14 頭に食道溝の閉鎖は発生しなかったと報告された。トリクラベンダゾールは反芻羊に経口投与すると、通常は第一胃に入ると結論付けられる。

血漿中のトリクラベンダゾールとその代謝物を試算するための速やかで簡単な HPLC 法が報告されている（Sanyal, 1994）。この方法を用いて、羊とヤギ各 5 頭の第一胃内に投与されたトリクラベンダゾールの薬物動態が測定された。C_{max}、T_{max}、AUC 及び $t_{1/2}$ の値は、2 つの種で同様であった。

24 頭の羊を 3 群（各群 8 頭）に割り付けた（Strong 他, 1988）。第 1 群にはトリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重、第 2 群には塩酸レバミゾール 7.5 mg/kg 体重及びトリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重、第 3 群には塩酸レバミゾール 7.5 mg/kg 体重を経口投与した。トリクラベンダゾールとレバミゾールの血漿中動態はどちらも、他方の化合物の影響を受けなかった。

異なる品種及び性別の羊 6 頭（年齢 1～5 歳、体重 36～61 kg）を 3 群（各群 2 頭）に割り付けた（Mohammed

Ali 他, 1986)。第 1 群にはトリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重、第 2 群にはトリクラベンダゾール 10 mg/kg 体重及びフェンベンダゾール 10 mg/kg 体重、第 3 群にはフェンベンダゾール 10 mg/kg 体重を経口投与した。各群の投薬法はその後、4 週間隔で他の 2 群に投与された。トリクラベンダゾールの薬物動態は、フェンベンダゾールとの同時投与の影響を受けなかった。

ヤギ(原文 p.22)

3 歳の泌乳ヤギ(体重 42.5 kg)3 頭に、ベンズイミダゾール環系の 2 位の炭素原子に標識した ^{14}C 標識トリクラベンダゾール(比放射能:1.129 MBq/mg、放射化学的純度:99%)10.1 mg/kg 体重が経口投与された(Hamböck 及び Strittmatter, 1981)。血液、乳、糞及び尿を投与後 10 日間採取してヤギをと殺した。と殺時に採取した組織を含むすべての検体中の放射能を、液体シンチレーション計測法によって測定した。血液では、トリクラベンダゾール当量で 13.7 mg/kg という最大放射能濃度を投与の 36 時間後に観測した。乳の最大放射能濃度は、投与の 8～24 時間後に採取した検体における 1.8 mg/kg(トリクラベンダゾール当量)であった。放射能の総回収率は 103.9%であり、尿及び糞中への排泄はそれぞれ、投与量の 2%及び 98%を占めた。糞はトリクラベンダゾールとそのスルホキシド及びスルホンを含んでいたが、尿は含んでいなかった。投与後 10 日目の放射能分布は肝臓(トリクラベンダゾール当量として 1.0 mg/kg)と甲状腺(1.3 mg/kg)で比較的高く、脂肪及び血液(それぞれ 0.08 mg/kg)、赤色骨髄(0.06 mg/kg)、黄色骨髄(0.02 mg/kg 未満)では比較的低い濃度が観測された。

組織残留消失試験(原文 p.23)

非標識薬による残留消失試験 (原文 p.23)

牛 (原文 p.23)

ヘレフォード種牛の一群(雄雌各 12 頭、7～10 か月齢、体重 168～367 kg)に、トリクラベンダゾール 18 mg/kg 体重を経口投与し、28 日後に再投与した(Adams, 2004a)。この投薬法は、製品ラベルに記載の使用方法にある最短の再投与間隔と一致していた。6 頭は 2 度目の投与の 14、28、42 及び 56 日後にと殺された。筋肉(テンダーロイン)、腎臓、肝臓及び腎脂肪の検体を採取し、トリクラベンダゾール残留物(ケト-トリクラベンダゾールとして測定)について HPLC で分析した。分析法の定量限界は 0.05 mg/kg であった。結果(回収手順について補正)を表 13 に示す。

表 13:*Fasinex 100*(トリクラベンダゾールとして 18 mg/kg 体重)の経口投与後の牛におけるトリクラベンダゾール残留物(ケト-トリクラベンダゾールとして測定)

採取時間 (DALT[1])	ケト-トリクラベンダゾールとして測定したトリカルベンダゾールの残留濃度 (μg/kg)2			
	筋肉	肝臓	腎臓	腎臓脂肪
14	194, 221, 237, 248, 254, 271	797, 845, 862, 871, 1084, 1413	476, 487, 514, 586, 706, 1169	<50, <50, 72, 74, 78, 132
28	104, 118, 128, 155, 159, 175	263, 300, 339, 377, 424, 489	109, 118, 118, 129, 133, 165	<50, <50, <50, <50, <50, 62
42	103, 109, 124, 129, 132, 162	149, 183, 219, 262, 269, 288	49, 53, 62, 69, 75, 89	<50, <50, <50, <50, <50, <50
56	70, 85, 87, 90, 104, 111	48, 91, 96, 103, 131, 142	<50, <50, <50, <50, <50, <50	na, na, na, na, na, na

1. DALT =最終投与後日数、2. 補正回収量. na = 分析不可

EMEA/CVMP ガイドライン（EMEA, 1996）に従い、Adams による牛試験（2004a）の残留物データ（回収手順について補正）が線形回帰によって解析された（Strehlau, 2004a）。片側 95%許容上限及び 95%信頼限界が筋肉、肝臓及び腎臓について算出された。モデル仮定は診断テストによって確認された。分散の等質性、及び誤差の正規分布の等質性に関する線形回帰仮定は筋肉、肝臓及び腎臓について妥当であった。線形性の仮定は肝臓についてのみ妥当であった。

肉牛への PO 投与に関する別の GLP 準拠・残留消失試験（Study No. AA031, 2001）が JECFA によって検証された。この試験の動物実験はアーミデイル（オーストラリア・ニューサウスウェールズ州）で行われた。25 頭の肉牛（ヘレフォード種/ヘレフォード×アンガス種、雌 15 及び雄去勢 10、体重 126～192 kg）に、アバメクチン 0.75 mg/kg 体重及びトリクラベンダゾール 45 mg/kg 体重の単回 PO 投与を行った。投与後 14、21、28、35 及び 42 日目に 5 頭ずつと殺し、脂肪（背部と腎周囲）、肝臓、腎臓及び筋肉の検体を採取した。残留物について分析するまで、すべての組織検体を冷凍保存した。

追加の 5 頭（雌 3 及び雄去勢 2、体重 114～166 kg）に、アバメクチン 1.5 mg/kg 体重及びトリクラベンダゾール 90 mg/kg 体重の単回 PO 投与を行った。投与後は、被覆したおりに一晩入れておいた。翌日、牛たちを屋外の放牧地に、別の放牧場にいた異なる投薬群の動物と一緒に戻した。そして投与後 35 日目にと殺し、残留物分析のために脂肪（背部と腎周囲）、肝臓、腎臓及び筋肉の検体を採取した。組織検体中のトリクラベンダゾール残留物の濃度はバリデーション済みの方法で測定し、検体採取から 14 か月以内に分析を完了した。結果を表 14 に示す。

表 14: *Genesis Ultra Pour-on Roundworm, Liver Fluke & External Parasiticide for Cattle*(トリクラベンダゾールとして 45 mg/kg 体重)の単回 PO 投与後の肉牛におけるトリクラベンダゾール残留物

投与計画	採取時間	トリクラベンダゾールの残留濃度(mg/kg)[2,3]				
	(DALT[1])	筋肉	肝臓	腎臓	背脂肪	腎周囲脂肪
単回ポアオン投与 0.75 mg アバメクチン /kg 体重 及び 45 mg トリクラベンダゾール /kg 体重	14	0.08, 0.34, 0.57, 0.59, 0.82	1.32, 2.76, 2.99, 3.59, 4.18	0.75, 1.36, 1.85, 2.08, 2.52	0.35, 2.08, 2.59, 2.92, 4.07	0.29, 1.12, 1.49, 1.52, 10.83
	21	0.13, 0.17, 0.21, 0.44, 0.53	0.75, 1.26, 1.63, 1.74, 1.88	0.40, 0.85, 1.01, 1.08, 1.17	0.29, 0.73, 0.82, 0.91, 0.93	0.16, 0.41, 0.42, 0.46, 0.76
	28	0.12, 0.15, 0.26, 0.28, 0.35	1.33, 1.57, 1.80, 1.85, 2.72	0.56, 0.91, 0.97, 1.00, 1.20	0.33, 0.43, 1.06, 1.06, 1.25	0.23, 0.35, 0.59, 0.76, 0.78
	35	0.09, 0.14, 0.14, 0.15, 0.26	0.39, 0.86, 0.95, 0.97, 2.29	0.15, 0.41, 0.45, 0.48, 0.89	0.15, 0.21, 0.33, 0.39, 0.63	0.09, 0.11, 0.20, 0.26, 0.62
	42	0.15, 0.22, 0.27, 0.27, 0.42	0.72, 0.74, 0.90, 0.93, 2.23	0.28, 0.28, 0.36, 0.42, 0.96	<0.03, 0.10, 0.18, 0.27, 1.37	0.04, 0.05, 0.11, 0.16, 0.57
単回ポアオン投与 1.5 mg アバメクチン /kg 体重及び 90 mg トリクラベンダゾール /kg 体重	35	0.16, 0.16, 0.20, 0.25, 0.30	1.40, 1.54, 1.63, 1.86, 1.91	0.62, 0.67, 0.82, 0.98, 1.22	0.30, 0.42, 0.45, 0.51, 1.31	0.20, 0.26, 0.26,0.33, 0.85

LOQ トリクラベンダゾール(全組織) = 0.03 mg/kg; 1.DALT =最終投与後日数、 2.残留物の結果は回収法では補正されなかった。; 3.残留物の結果はトリクラベンダゾール当量として示されたが、値に 0.916 を掛けることによってケト-トリクラベンダゾール当量に変換することができる。

同じ PO 剤を用いた別の GLP 準拠・残留消失試験(Study No. ANT1274, 2002)が肉牛に実施された。この試験の動物実験はアーミデイル/デンジャースレイ(オーストラリア・ニューサウスウェールズ州)で行われた。20 頭の肉牛(ヘレフォード種又はアンガス交配種、雌 10 及び雄去勢 10、体重 208～290 kg)に、アバメクチン 0.75 mg/kg 体重及びトリクラベンダゾール 45 mg/kg 体重の単回 PO 投与を行った。投与後は、被覆したおりに 48 時間入れておいた。その後、牛たちを屋外の放牧地に戻し、週 1 回観察した。投与後 49、56、63 及び 70 日目に 5 頭ずつと殺し、脂肪(背部と腎周囲)、肝臓、腎臓及び筋肉の検体を採取した。残留物について分析するまで、すべての組織検体を冷凍保存した。組織検体中のトリクラベンダゾール残留物の濃度はバリデーション済みの HPLC 法で測定し、検体採取から 6 か月以内に分析を完了した。結果を表 15 に示す。

表 15：*Genesis Ultra Pour-on Roundworm, Liver Fluke & External Parasiticide for Cattle*（トリクラベンダゾールとして 45 mg/kg 体重）の単回 PO 投与後の肉牛におけるトリクラベンダゾール残留物

投与計画	採取時間 (DALT[1])	トリクラベンダゾールの残留濃度（mg/kg） (mg/kg)[2,3]				
		筋肉	肝臓	腎臓	背脂肪	腎周囲脂肪
単回ポアオン投与 0.75 mg アバメクチン /kg 体重 及び 45 mg トリクラベンダゾール /kg 体重	49	ND, 0.03, 0.04, 0.11, 0.15	0.51, 0.55, 0.99, 1.15, 1.27	0.26, 0.28, 0.57, 0.73, 0.82	ND, 0.10, 0.14, 0.2, 0.33	ND, 0.12, 0.16, 0.31, 0.68
	56	ND, 0.07, 0.08, 0.10, 0.12	0.45, 0.72, 0.73, 0.76, 1.01	0.26, 0.37, 0.40, 0.46, 0.49	0.09, 0.19, 0.24, 0.30, 0.36	0.04, 0.05, 0.11, 0.32, 0.39
	63	ND, ND, 0.01, 0.03, 0.05	0.31, 0.35, 0.39, 0.66, 0.84	ND, 0.18, 0.20, 0.36, 0.43	ND, ND, ND, 0.16, 0.19	ND, ND, ND, ND, 0.04
	70	ND, ND, ND, ND, 0.01	0.35, 0.37, 0.41, 0.45, 0.63	ND, 0.19, 0.20, 0.31, 0.39	ND, ND, ND, ND, 0.15	ND, ND, ND, ND, ND

1. DALT = days after last treatment; 2. 残留物の回収量は補正された。;3.. 残留物の結果はトリクラベンダゾール当量として示されたが、値に 0.916 を掛けることによってケト-トリクラベンダゾール当量に変換することができる。

GLP 準拠・残留物試験（Study EL-55021, 2004）が肉牛（雌 21 頭、体重 106～148 kg）を用いてニュージーランドで実施された。1 頭を無投薬陰性対照とし、その他の 4 群（各群 5 頭）にアバメクチン 0.68 mg/kg 体重及びトリクラベンダゾール 38 mg/kg 体重の単回 PO 投与を行った。投与後 77、91、105 及び 119 日目にと殺した各群の動物から脂肪（腎周囲）、筋肉、肝臓及び腎臓の検体を採取し、トリクラベンダゾール残留物について HPLC で分析した。結果を表 16 に示す。

表 16：*Genesis Ultra Pour-on Roundworm, Liver Fluke & External Parasiticide for Cattle*（トリクラベンダゾールとして 38 mg/kg 体重）の単回 PO 投与後の肉牛におけるトリクラベンダゾール残留物

投与計画	採取時間 (DALT[1])	ケト-トリクラベンダゾールとして測定した トリクラベンダゾールの残留濃度（mg/kg）			
		筋肉	肝臓	腎臓	腎周囲脂肪
単回ポアオン投与 0.68 mg アバメクチン/kg 体重 及び 38 mg トリクラベンダゾール /kg 体重	77	<LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10, 0.13	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10, 0.13
	91	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ
	105	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ
	119	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ	<LOQ, <LOQ, <LOQ, <LOQ, 0.10

LOD = 0.03 mg/kg; LOQ = 0.1 mg/kg; 1DALT = days after last treatment

羊（原文 p.25）

羊 24 頭（雄雌各 12、7 か月齢、体重 29～42 kg）にトリクラベンダゾール 10～13 mg/kg 体重の経口投与を行い、24 頭を 4 群（各群に雄雌各 3）に割り付けた。投与後 14、28、42 及び 56 日目にそれぞれ 1 群をと殺した。筋肉（テンダーロイン）、腎臓、肝臓及び腎脂肪の検体を採取し、トリクラベンダゾール残留物（ケト-トリクラベンダゾールとして測定）についてHPLC で分析した。分析法の定量限界は 0.05 mg/kg であった。結果（回収手順について補正）を表 17 に示す。

表 17: *Fasinex 50*（トリクラベンダゾールとして 10～13 mg/kg 体重）の経口投与後の羊におけるトリクラベンダゾール残留物（ケト-トリクラベンダゾールとして測定）

採取時間 (DALT[1])	ケト-トリクラベンダゾールとして測定したトリクラベンダゾールの残留濃度 (µg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	腎臓脂肪
14	111, 143, 148, 152, 171, 200	327, 353, 428, 473, 487, 503	200, 219, 228, 258, 265, 279	<50, <50, <50, <50, <50, <50
28	70, 99, 101, 117, 140, 144	106, 128, 148, 181, 183, 201	68, 73, 93, 99, 118, 122	na, na, na, na, na, na
42	50, 51, 60, 64, 80, 83	<50, <50, <50, <50, <50, <50	<50, <50, <50, <50, <50, <50	na, na, na, na, na, na
56	<50, <50, <50, 51, 54, 57	na, na, na, na, na, na	na, na, na, na, na, na	na, na, na, na, na, na

1. DALT =最終投与後の日数; 2. 回収について訂正した; na = 分析不可

EMEA/CVMP ガイドライン（EMEA, 1996）に従い、Adams による羊試験（2004a）の残留物データ（筋肉、肝臓及び腎臓からの回収手順について補正）が解析された（Strehlau, 2004b）。単回投与後の消失曲線を作成し、片側 95%許容限界及び 95%信頼限界を算出して、初回投与後 28 日目の反復投与が推定された。肝臓及び腎臓残留物の線形性（時点が 2 つしかなく、確認できなかった）を除き、モデル仮定は診断テストによって確認された。検定したモデル仮定は満足であることが分かった。初回投与後 28 日目の反復投与に基づいて予測した残留消失曲線及び対応する許容限界が示された。

結合型残留物とバイオアベイラビリティ（原文 p.26）

牛（Ferguson, 1994a）及び羊（Ferguson, 1994b）（^{14}C 標識トリクラベンダゾール 12 mg/kg 体重（牛）又は 10 mg/kg 体重（羊）の経口投与後 28 日目にと殺）から得た組織を凍結乾燥して均質化し、粉末標準ラット飼料と 80/20 w/w の比で混合して胆管挿管ラットに与えた（Hassler, 1995）。さらに、牛の腎臓と羊の腎臓及び肝臓を含む混合食を水中で均質化し、上記の補強ラット飼料を与えた最初の 8 時間にシリンジで経口投与した。こうすることで、胆管挿管ラットによる混合食の摂取を確実にした。摂食開始から 2 日後にと殺するまで、尿、糞及び胆汁をラットから採取した。腹部脂肪、腎臓、肝臓及び骨格筋を含む組織を剖検時に採取した。ラットの糞は、摂

取した各牛組織中の放射能の 85%(肝臓)、68%(腎臓)及び 91%(筋肉)と、摂取した各羊組織中の放射能の 88%(肝臓)、88%(腎臓)及び 88%(筋肉)を含んでいた。牛及び羊組織からの放射能のバイオアベイラビリティを表 18 に示す。

表 18:^{14}C 標識トリクラベンダゾール由来残留物を含む牛及び羊組織を与えた雄の胆管挿管ラットからの放射能回収率(投与量に対する百分率)

組織	牛			羊		
	肝臓 1	腎臓 2	筋肉 1	肝臓 1	腎臓 2	筋肉 1
雌ラット数	5	4	5	4	6	3
尿	0.9	0.4	1.7	1.5	0.5	1.0
胆汁	6.3	9.3	1.4	4.9	5.6	2.8
残留物						
組織及びカーカス	1.6	4.0	0.7	1.8	1.0	1.7
バイオアベイラビリティ(%)	8.8	13.7	3.7	8.2	7.0	5.5

1. 組織標本は凍結乾燥され、均質化され、そして粉末状になったラットの餌中にミキサーで 80/20 w/w の割合で混ぜられた。; 2. 飼料混合物は水に懸濁された。

先の牛試験(Needham, 2004b)で採取された組織を用いて、^{14}C 標識トリクラベンダゾール由来化合物の放射能残留物のバイオアベイラビリティが SD ラットにおいて検討された(Hardwick, 2004b)。筋肉、肝臓及び腎臓の組織を凍結乾燥して粉末にし、厚いペーストとして調製した。また、凍結乾燥した筋肉の懸濁液を水中で調製した。胆管挿管ラットを 3 群に割り付けた。このうちの 1 群(n=6)には牛の筋肉を経口ペーストとして 24 時間与え、その後、水中に懸濁した凍結乾燥筋肉 0.5 g を追加的に強制経口投与した。別の 1 群(n=6)には牛の肝臓を経口ペーストとして 24 時間与えた。残りの 1 群(n=3)には牛の腎臓を経口ペーストとして 24 時間与えた。尿、糞及び胆汁を 24 時間ずつ 3 回、72 時間後まで採取し、ラットをと殺した。筋肉、肝臓、腎臓、及び内容物を含む消化管を剖検時に採取した。食餌暴露後の平均放射能回収率(平均値±SD)は、投与量の 91.4 ± 17.3%(筋肉)、116.7 ± 6.8%(肝臓)及び 90.6 ± 1.7%(腎臓)であった。尿、糞及び胆汁中放射能の回収率を表 19 に示す。

表 19:^{14}C 標識トリクラベンダゾール由来残留物を含む牛組織を与えた胆管挿管ラットからの放射能回収率(投与量に対する百分率)

	筋肉内投与	肝臓投与	腎臓投与
ラットの数	6	6	3
試料			
尿	0.78±0.79	0.53±0.45	<LOQ
糞	72.5±19.3	93.6±9.4	87.3±1.3
胆汁	17.2±7.7	19.2±5.0	3.3±0.4

データは、概算値平均±標準偏差

同じ試験で、牛の筋肉、肝臓及び腎臓への食餌暴露を中止して48時間後に胆汁中の放射能を検出することができた(表 20)。胆汁中の放射能として回収された肝臓投与量の割合は 48～72 時間後に採取した検体において最も高かった。これは、採取時間が不十分で、牛肝臓中の残留物のバイオアベイラビリティが過小評価されたことを示唆している。

表 20:^{14}C 標識トリクラベンダゾール由来残留物を含む牛組織を与えた胆管挿管ラットの胆汁からの放射能回収率(投与量に対する百分率)

	筋肉内投与	肝臓投与	腎臓投与
ラットの数	6	6	3
時間(h)			
24	4.2 ± 1.8	5.6 ± 2.0	1.8 ± 0.8
48	11.7 ± 6. 5	4. 7 ± 5.4	0.7 ± 0.6
72	1.2 ± 0.6	8.9 ± 5.3	<LOQ
合計	17.2 ± 7.7	19.2 ± 5.0	2.5 ± 1.5

データは、概数平均±標準偏差である。

1 日摂取量の試算(原文 p.28)

トリクラベンダゾール残留物の推定 1 日摂取量(EDI)の計算は、指標残留物の濃度中央値及び指標残留物 - 総残留物濃度比、摂取された食料品(基本食料品バスケットによって定義)の数量、そして残留物のバイオアベイラビリティに関するデータを必要とする。残留物のバイオアベイラビリティのデータは、未放出及び未溶解の残留物を無視することによって、より現実的な食事摂取量の試算を可能にする。特定組織中の指標残留物の濃度中央値は、MRL の確定に用いたのと同じ時点における回帰直線の予測値から算出される。トリクラベンダゾールの場合、牛組織の指標残留物 - 総残留物濃度比が分かっているのは投与後 28 日目だけなので、時点の選択は限られている。羊における当該情報は、なおいっそう限られている。

牛及び羊における下記の試験からのデータを基に、指標残留物 - 総残留物濃度比に関する利用可能な情報をまとめた(表 21)。

反芻仔牛 2 頭(アバディーンアンガス種の雌(投与時体重 63 kg)及びホルスタイン/リムーザン交配種の雄(投与時体重 96 kg)各 1 頭)に、^{14}C 標識トリクラベンダゾールを 12 mg/kg 体重の名目用量で投与した(Ferguson, 1994a)。両動物は投与後 28 日目にと殺された。肝臓、腎臓、筋肉(テンダーロイン、後四半部、前四半部)、腎周囲脂肪、皮下脂肪、血漿及び赤血球中の放射能が測定された。この試験で得られた組織は後に、分析法バリデーション試験の一環として分析された(Dieterle 及び Kissling, 1995)。雄の動物についてのみ、肝臓、腎臓及び筋肉中の指標残留物の濃度が測定された。

雄の反芻仔牛 1 頭(投与時体重 91 kg)が検討された。^{14}C 標識トリクラベンダゾール 12.55 mg/kg 体重が経口カプセルで投与され、仔牛は投与後 28 日目にと殺された。肝臓、腎臓、筋肉、脂肪、血液、赤血球及び血漿中の放射能が測定された。肝臓、腎臓及び筋肉中の指標残留物の濃度が測定された(Needham, 2004b)。

上記の評価から明らかなように、指標残留物 - 総残留物濃度比は年齢及び体重の点で小さな下位集団の若い雄動物 2 頭の肝臓、腎臓及び筋肉についてのみ分かっている。

デザインの点で上記の牛試験(Ferguson, 1994a)と似ている試験が羊で行われた(Ferguson, 1994b)。投与前体重 27 kg(雌)及び 33 kg(雄)の 2 頭の羊に、^{14}C 標識トリクラベンダゾールが 10 mg/kg 体重の名目用量で強制経口投与された。動物は投与後 28 日目にと殺された。肝臓、腎臓、筋肉(後四半部、前四半部、テンダーロイン)、腎周囲脂肪及び皮下脂肪中の放射能が測定された。雄羊の筋肉及び肝臓中の指標残留物の濃度が、Dieterle 及び Kissling による分析法バリデーション試験(1995)の一環として測定された。2 つの試験の間には、総残留物の計算における比放射能の使用に重大な不一致があり、また肝臓について示された総残留物濃度にも大きな相違があった。下記の最終結果は、誤差の伝搬を考慮に入れ、データを独自に再計算して得られた。

割合	平均	標準誤差
筋肉	0.400	0.104
肝臓	0.248	0.011

詳細はほとんど記載されていないが、ある報告書に、投与後初期の時点でと殺したヤギ及び羊の筋肉における指標残留物 - 総残留物濃度比について、一定の限られた情報が載っている。体重 42.5 kg のヤギ 1 頭と 28.5 kg の羊 1 頭にそれぞれ、10.1 及び 10.5 mg/kg 体重の単回経口投与が行われた。動物は投与後 10 日目にと殺された。報告によると、筋肉における指標残留物 - 総残留物濃度比はヤギで 0.4、羊で 0.42 であった(Hamböck, 1982)。

表 21:指標残留物 - 総残留物濃度比に関する利用可能な情報

種	体重(kg)	用量(mg/kg 体重)	投与後日数	総残留物濃度に対するマーカーの割合		
				肝臓	腎臓	筋肉
牛	96	12	28	0.19	0.24	0.41
	91	12.55	28	0.24	0.27	0.32
羊	33	10.45	28	0.25		0.4
	28.5	10.5	10			0.42
ヤギ	42.5	10.1	10			0.4

牛組織中の指標残留物の濃度中央値は、投与後 28 日目(指標残留物 - 総残留物濃度比が分かっている唯一の日)に採取した検体のデータに基づいていた。そこで、非標識薬による 2 つの牛残留消失試験を考慮に入れた。1 つはヘレフォード種牛 24 頭への経口投与(28 日後に再投与)による試験(Adams, 2004b)で、もう 1 つ

は肉牛への PO 投与による試験（Study No. AA031, 2001）である。後者の試験で採取された検体は、分析まで最大 14 か月間冷凍保存されたが、この保存条件の妥当性を裏付ける安定性データは示されていない。先行試験（Needham, 2004b）で、6 か月間冷凍保存したトリクラベンダゾールの平均濃度は当初の 72%に低下していることが明らかになった。したがって、PO 投与による試験のデータは、残留物濃度中央値の算出を目的とする（あるいは MRL を推奨する）には適していないと考えられた。

経口投与した牛における残留消失試験（Adams, 2004b）のデータが、第 66 回 JECFA 会議で採択された手順（WHO Technical Report Series, No. 939, 2006）を用いて評価された。すなわち、投与後 28 日目の第 95 百分位数を超える片側 95%信頼上限を示す曲線及び線形回帰直線上の点が筋肉、肝臓及び腎臓について算出された。結果をそれぞれ、“Tol28”及び“Median28”として表 22 に示す。この表には、f 値（指標残留物 - 総残留物濃度比の逆数）も筋肉、肝臓及び腎臓について示してある。対応する脂肪の値は、観測値が入手できないためにやむを得ず、控えめな試算になっている。脂肪における指標残留物濃度の「真の」中央値は、（表 22 に示した 100 µg/kg という控えめな値に対して）50 µg/kg 程度かもしれない。この推定は、脂肪が総摂取量に寄与する割合はおそらく 5%を大きく下回るということを示す。脂肪における残留物濃度中央値の控えめな試算は、したがって容認できると思われる。

表 22：投与後 28 日目の牛の組織で確認された残留物濃度に基づく摂取量の試算

摂餌量の算出							
牛	“Tol28”	“Median28”	マーカー（µg/人*日）	合計/マーカー	総摂餌量（µg/人*日）	バイオアベイラビリティ	EDI（µg/人*日）
	µg/kg			f			
筋肉	246	161	48.2	3.1	149.4	0.13	19.4
肝臓	827	423	42.3	5.4	228.5	0.13	29.7
腎臓	390	173	8.6	4.2	36.2	0.13	4.7
脂肪		100	5.0	2.5	12.5	0.13	1.6
合計					126.6		55.5

この結果より、最終投与後 28 日目に確認された指標残留物濃度の許容限界に基づき確定された MRL は、バイオアベイラビリティを考慮しない場合、ADI（0～180 µg/人/日）を大きく上回る EDI をもたらすことが分かる。けれども、より現実的な消費者摂取量の試算を可能にするバイオアベイラビリティのデータを織り込むと、EDI は体重 60 kg の人で 55.5 µg（ADI の 30.8%）になる。

同様の考慮が羊に関する残留物データの評価に適用された。羊では、測定可能な量の指標残留物が腎臓と肝臓において投与後 14 日目と 28 日目にのみ確認されたため、利用可能なデータベースは牛のそれよりなお小さい。脂肪では、すべての濃度が 50 µg/kg を下回った。

表 23：投与後 28 日目の羊の組織で確認された残留物濃度に基づく摂取量の試算

摂餌量の算出							
羊	“Tol28”	“Median28”	マーカー（μg/人*日）	合計/マーカー	総摂餌量（μg/人*日）	バイオアベイラビリティ	EDI（μg/人*日）
	μg/kg			f			
筋肉	174	103	31.0	2.50	77.6	0.13	10.1
肝臓	288	154	15.4	4.00	61.6	0.13	8.0
腎臓	164	93	4.7	4.20	19.6	0.13	2.6
脂肪		50	2.5	2.50	6.3	0.13	0.8
合計			51.1		165.1		21.5

表 23 において、脂肪の残留物濃度中央値は仮定の値であり、意図的に控えめにされている（腎臓については、牛腎臓の換算係数が使用されている）。脂肪と腎臓を合わせると、その総摂取量への寄与は約 15%である。羊では、残留物のバイオアベイラビリティを考慮しない場合、EDI は ADI の約 92%を占める。残留物のバイオアベイラビリティを考慮すると、EDI は ADI の 12%未満となる。投与後 28 日目に確認された指標残留物濃度の許容限界は、したがって MRL の推奨にとって容認できる出発点である。

分析方法（原文 p.30）

牛及び羊組織（肝臓、腎臓、筋肉、脂肪）中のトリクラベンダゾール残留物を測定するための分析法のバリデーション報告書（Adams, 2004c）が第 66 回 JECFA 会議で検証された。これは、第 40 回会議で考察された方法の改訂版であった。最初に組織を高温のアルカリ溶液で消化して結合型残留物を放出させ、次に酸性化して冷まし、ジクロロメタンで抽出する。脂肪組織の場合、ヘキサン/アセトニトリル分配によって脂質を除去する手順が追加される。抽出物を蒸発乾固し、次いでエタノール：氷酢酸（1：1）に取り入れる。そして残留物を酸化してケト-トリクラベンダゾール（指標残留物、第 40 回 JECFA 会議の報告書において 5-クロロ-6-(2,3-ジクロロフェノキシ)-ベンズイミダゾール-2-one と識別されている）にするために過酸化水素を添加した後、加熱する。さらなる分配処理と蒸発によって酢酸を除去した後、残留物をジクロロメタンに溶かし、陰イオン交換固相抽出カートリッジに装填して、イソプロピルアルコール/ジクロロメタン（12% v/v）で溶出する。乾燥した溶出物をアセトニトリルに溶かし、液体クロマトグラフに注入して、逆相（C-18）カラムでの分離と 296 nm での紫外検出を行う。定量は外部標準曲線による。この分析法について測定された性能特性を表 24 にまとめる。この方法の検出限界及び定量限界は、較正曲線からの推定値に基づいている。許容性能基準を満たすための最低濃度は、トリクラベンダゾール当量として 0.05 mg/kg であった（ケト-トリクラベンダゾール 0.046 mg/kg に相当）。

表 24: 可食組織中のトリクラベンダゾール残留物の液体クロマトグラフィ分析に関するバリデーション試験結果の概要

種	食用組織	検出限界 1 (mg/kg)	定量限界 1 (mg/kg)	平均回収率 (%)	再現性(%)
牛	筋肉	0.012	0.036	81-100	2.1-8.5
	肝臓	0.024	0.074	84- 87	1.7-9.6
	腎臓	0.020	0.058	89-97	3.1-9.4
	脂肪	0.007	0.020	78-90	5.8-12
羊	筋肉	0.014	0.041	80-102	3.9-5.8
	肝臓	0.008	0.024	90-102	2.4-4.8
	腎臓	0.012	0.034	89-93	5.6-7.0
	脂肪	0.015	0.042	79-102	1.0-7.4

1. blank の平均応答に基づいて、標準偏差を3足した。; 2. blank の平均応答に基づいて、標準偏差を 10 足した。; 3. Within run, 0.050, 0.100 及び 0.200 mg/kg において測定した。

ケト-トリクラベンダゾールに対する定量限界を超える反応を生じた内因性物質は、いずれの組織の抽出物にも存在しなかった。その他のベンズイミダゾール系薬物(フェンベンダゾール、チアベンダゾール、アルベンダゾールなど)は検出されなかった。

296 nm の検出波長は潜在的干渉を制限することが指摘された。親化合物のトリクラベンダゾールに加えて、トリクラベンダゾールスルホキシドとトリクラベンダゾールスルホンが検出された。けれども、3 つの化合物はこの分析法に用いたクロマトグラフィ条件によって完全に分離されていた。これらの化合物は通常、分析中に酸化されてケト-トリクラベンダゾールになる。代替の液体クロマトグラフィシステムとしてフェニル液体クロマトグラフィカラムを使用する確認法が提案された。定量限界は元の方法によるよりも高かったが、得られた情報は構造確認にとって十分な証拠を示していない。

Study Y03/49(Adams, 2004b)で得た動物 2 頭の組織中の残留物を用いて、牛組織におけるトリクラベンダゾール残留物(ケト-トリクラベンダゾールとして測定)の安定性が評価された(Adams, 2004d)。各組織の 3 つの複製検体を保存前と、冷凍室(試験期間中、最高で平均-8ºC、最低で平均-22ºC の温度範囲に維持)で 1.5、3 及び 6.5 か月保存した後に分析した。平均の結果(回収手順について補正)を表 25 に示す。残留物は試験期間中、基本的に安定した状態を保つことが分かるが、最終の時点では一定の消失(最大 33%)がみられる。

表 25：通常の冷凍保存条件の下での牛組織におけるトリクラベンダゾール残留物の安定性

	ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物、回収分析（mg/kg）			
	0ヶ月 （事前ステージ）	1.5ヶ月	3ヶ月	6.5ヶ月
筋肉 1	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.00	0.21 ± 0.00	0.19 ± 0.02
筋肉 2	0.25 ± 0.01	0.24 ± 0.02	0.20 ± 0.01	0.17 ± 0.02
腎臓 1	0.48 ± 0.03	0.42 ± 0.01	0.43 ± 0.05	0.36 ± 0.02
腎臓 2	0.47 ± 0.03	0.47 ± 0.06	0.44 ± 0.04	0.41 ± 0.02
肝臓 1	0.85 ± 0.04	0.80 ± 0.02	0.78 ± 0.15	0.70 ± 0.04
肝臓 2	0.75 ± 0.04	0.76 ± 0.04	0.81 ± 0.05	0.62 ± 0.01

加水分解と酸化によってケト-トリクラベンダゾール（CGA-110 754）になる残留物の測定に際して、REM 3/38 法の手順が報告されている（Giannone, 1983）。検体を 99～100ºC のアルカリ性条件下で加水分解し、すべての加水分解物を酸性条件の下、ジクロロメタンで抽出する。ジクロロメタンを蒸発乾固し、残留物を酢酸/エタノール混合液に溶かして、一晩、90ºC の過酸化水素で酸化する。混合液を酸性化し、ケト-トリクラベンダゾールをジクロロメタンの中へ分配する。LiChrospher Si 100 カラムでの HPLC による最終測定に先立ち、Silica Gel カラム、次いで C_{18} Sep-Pak カラムで残留物のさらなる洗浄を行う。この方法の定量限界はケト-トリクラベンダゾール 0.027 mg/kg であり、これはトリクラベンダゾール 0.03 mg/kg に相当する。

ヤギ筋肉中の、加水分解と酸化によってケト-トリクラベンダゾールになる残留物が REM 3/38 法によって定量され、ヤギ筋肉中の総放射能と比較された（Adams, 2004e）。体重 42.5 kg のヤギ 1 頭に ^{14}C 標識トリクラベンダゾール 10.12 mg/kg 体重を経口投与し、投与後 10 日目に動物をと殺した。組織検体を採取し、-20ºC で保存した。筋肉中の残留物を調べた。総放射能は燃焼後のシンチレーション計測によって測定した。ケト-トリクラベンダゾールは、残留物を Sep-Pak カラムを用いて洗浄しなかったこと以外は REM 3/38 法に従い、HPLC で測定した。REM 3/38 法によって測定した残留物は、ヤギ筋肉中の総放射能の 32～39%を占めた（表 26）。

表 26：^{14}C 標識トリクラベンダゾールを投与して 10 日後にと殺したヤギの筋肉中の総放射能と、HPLC で測定した総残留物の比較

サンプル	トリクラベンダゾール相当 mg/kg に換算した総放射能	方法 REM3/83 を用いて HPLC により測定した総残留物	
		mg/kg	総放射能の%
1	0.44	0.17	39
2		0.15	34
3		014	32
4		0.14	32

1. 残留物はケト-トリクラベンダゾールと決められ、値に 1.09 を掛けるてトリクラベンダゾールに変換した。

REM 3/38 法に代わる REM 15/83 法について報告されている（Giannone 及び Formica, 1983）。この 2 つの

方法は、C_{18} Sep-Pak カラムでの残留物の洗浄まで含めて、すべての手順が同一である。C_{18} Sep-Pak カラムでの洗浄後、REM 3/38 法では、ケト-トリクラベンダゾールの最終測定を LiChrospher 100 カラムで行う。代替法である REM 15/38 では、(REM 3/38 法と同様)LiChrospher Si 100 カラムでの HPLC によって、又は 2 本の LiChrospher Si 100 カラムによるカラム切替え法によってケト-トリクラベンダゾールを測定する。ケト-トリクラベンダゾール測定の際の回収率は、カラム切替え法を使用してもしなくても大差はない(表 27)。REM 15/83 法の定量限界はケト-トリクラベンダゾール 0.027 mg/kg(トリクラベンダゾールでは 0.03 mg/kg)である。

表 27:羊及び牛の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪からのケト-トリクラベンダゾールの回収率

組織	添加(mg/kg)	Sep-Pak 洗浄後の回収(%)		カラム変更後の回収(%)
		牛	羊	羊
筋肉	0.1	109	85, 69, 95	97, 95
	0.5	76	87, 67, 70, 74	72, 79
肝臓	0.1	71	82, 76, 68, 68	67, 75
	0.5	77	85, 70, 60, 66	76, 79
腎臓	0.1	80	80, 73, 83, 74	89, 98
	0.5	70	77, 72, 75, 67, 75	75, 76
脂肪	0.1	69	53	71, 73, 68
	0.5	55	69	54, 60, 61

羊及び牛組織の分析法のさらなるバリデーションが Study V05/24(Adams, 2005)に示された。この試験はバックグランド干渉がないことを示し、0.10 mg/kg 体重を上回る濃度での精度が 15%以下であることを確認し、さらに冷凍/解凍条件の下で残留物の安定性を証明した。

Study Y04/51 では、ヤギ組織の分析に方法が拡大適用された(Adams, 2004e)。3 種類の組織(筋肉、肝臓、腎臓)について、それぞれ 3 つの複製検体を 3 つの濃度で分析した結果を表 28 に示す。

表 28:ヤギ組織中のケト-トリクラベンダゾール残留物の測定における回収率及び精度

組織	ケト-トリクラベンダゾール濃度(μg/kg)					
	50		100		100[1]	
	回収(%)	CV(%)	回収(%)	CV(%)		
筋肉	99	2.2	102	2.2	95	4.1
肝臓	110	13	97	3.4	91	11
腎臓	98	1.7	85	2.7	85	5.4

1. 要塞化された飼料は室温で 16-24 時間保管した後分析された。

Study Y04/22（Adams, 2004a）で得た動物 2 頭の組織中の残留物を用いて、羊組織におけるトリクラベンダゾール残留物（ケト-トリクラベンダゾールとして測定）の安定性が評価された（Adams, 2004f）。各組織の 3 つの複製検体を保存前と、2 及び 4 か月冷凍保存した後に分析した。試験中、保存温度は-5ºC から 21ºC まで変動した。保存期間中、残留物濃度にわずかな変化があった（表 29）。

表 29：通常の冷凍保存条件の下での羊組織におけるトリクラベンダゾール残留物の安定性

	ケト-トリクラベンダゾールとして測定された残留物、回収分析（mg/kg）		
	0ヶ月 （事前ステージ）	2ヶ月	4ヶ月
筋肉 1	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.00	0.16 ± 0.01
筋肉 2	0.13 ± 0.01	0.12 ± 0.00	0.11 ± 0.01
腎臓 1	0.25 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.24 ± 0.00
腎臓 2	0.17 ± 0.01	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.00
肝臓 1	0.47 ± 0.02	0.41 ± 0.04	0.41 ± 0.05
肝臓 2	0.34 ± 0.01	0.27 ± 0.02	0.28 ± 0.0

動物組織中のトリクラベンダゾール残留物を測定する 2 つの新しい方法（以下では、方法 1 及び方法 2 と呼ぶ）が第 70 回 JECFA 会議での検証のために提出された（Study No. AA031, 2001；Study No. ANT1274, 2002）。これらの方法は、Adams によって報告された上述の方法（2004c）に似ている。手短に言えば、両法は 90～100ºC での組織ホモジェネートのアルカリ加水分解と、それに続く酸性条件下でのジクロロメタンによる抽出を必要とした。方法 1 では、液体/液体分配を用いて溶媒抽出物を洗浄した。方法 2 は洗浄手順を含んでいなかった。両法とも、次に抽出物を一晩、85～90ºC の過酸化水素で酸化した。その後、SPE カラムでの洗浄（方法 2 のみ）及び 295～297 nm での紫外検出による HPLC 定量の前に、ケト-トリクラベンダゾール分析物をジクロロメタンの中へ分配した。残留物濃度（ケト-トリクラベンダゾール当量で表示）は、外部標準較正曲線を用いて測定した。検出器応答の線形性、補強検体からの回収率、方法の精度、定量限界及び検出限界を明らかにするため、分析法のバリデーションデータが提供された。方法 1 については Study No. AA031（2001）において、バリデーションパラメータとして線形性、精度、正確度、特異度、定量限界及び検出限界が検討された。バリデーションの結果を表 30 に示す。

表 30:牛組織中のトリクラベンダゾール残留物の液体クロマトグラフィ分析(方法 1)に関するバリデーション試験結果の概要

評価パラメータ	試験の詳細	組織	添加量	直線性	正確性(回収%)	精度(%RSD)
直線性	キャリブレーションスタンダードは組織から抽出	筋肉	0.1-2.5	0.9995	--	--
		腎臓	0.05-2.5	0.9998	--	--
		肝臓	0.05-2.5	0.9997	--	--
		脂肪	0.05-2.5	0.9994	--	--
回収	添加した組織サンプル(n=3)からの回収%	筋肉	0.007-0.46	--	74-112	--
		腎臓	0.02-1.0	--	85-121	--
		肝臓	1.2-1.6	--	94-100	--
		脂肪	0.015-2.3	--	95-158	--
精度	添加したサンプルの分析を反復	筋肉	0.007-0.46	--	--	10.9
		腎臓	0.02-1.0	--	--	10.3
		肝臓	1.2-1.6	--	--	2.3
		脂肪	0.015-2.3	--	--	24.0
特異性	組織成分又は関連化合物と関連する方法の干渉があるかどうかを決定			既知の干渉は検出されず、クロマトグラフィーの実行により全組織タイプに対する特異性が示された。フェンベンダゾール又はオキシフェンダゾールによる干渉はみられなかった。		
LOQ	Limit of quantitation (mg/kg)			LOQ (all tissues) = 0.045 mg/kg		
LOD	Limit of detection (mg/kg)			LOD (all tissues) = 0.03 mg/kg		

方法 2 に関して Study No. ANT1274(2002)において検討されたバリデーションパラメータは、線形性、補強検体からの回収率、精度及び定量限界であった。バリデーションの結果を表 31 に示す。

表 31：牛組織中のトリクラベンダゾール残留物の液体クロマトグラフィ分析（方法 2）に関するバリデーション試験結果の概要

評価パラメータ	試験の詳細	組織	添加量	直線性	正確性（回収%）	精度(%RSD)
直線性	キャリブレーションスタンダードは組織から抽出	筋肉	--	0.9999	--	--
		腎臓	--	0.9870	--	--
		肝臓	--	0.9983	--	--
		脂肪	0.0519-25	0.9992-0.9998	--	--
回収	添加した組織サンプル（n=3）からの回収%	肝臓	0.39-25.0	--	78-120	--
		脂肪	0.39-6.25	--	62-121	--
精度	添加したサンプルの分析を反復	肝臓	0.4 3.1 25.0	--	--	20.5 6.6 5.1
		脂肪	0.4 1.6 6.3	--	--	20.4 10.0 15.2
LOQ	Limit of quantitation (mg/kg)			筋肉 0.13 腎臓 1.25 肝臓 0.39 脂肪 0.19		

腎臓に対する定量限界（LOQ）が 1.25 mg/kg と異常に高いことに気づく。両法のバリデーションデータは容認できる。

評価（原文 p.35）

第 17 回コーデックス食品残留動物用医薬品部会（CCRVDF）は、牛及び羊におけるトリクラベンダゾールの MRL の再評価（バイオアベイラビリティに関するデータの再考を含む）を要望した。評価に向けて薬物動態や代謝に関する新たな試験は示されなかったが、PO 剤を用いた牛残留物試験が新たに 3 件提出された。これを受けて、JECFA は牛及び羊におけるトリクラベンダゾール MRL の再評価において、第 40 回及び第 66 回会議で考察された薬物動態及び代謝データを再評価し、新たな 3 件の牛試験を評価するとともに先の会議で考察された残留物試験を再評価し、さらにトリクラベンダゾールの残留物のバイオアベイラビリティを調べた試験を再考した。このモノグラフは、牛及び羊中のトリクラベンダゾールに関する JECFA の考察と MRL 推奨値を報告するものである。推奨 MRL は、第 66 回 JECFA 会議で採択された手順（WHO Technical Series Report, No. 939, 2006）を用いて算出された。

第 40 回及び第 66 回 JECFA 会議で考察された薬物動態及び代謝データの再評価は、初期の知見を確認した。投与後 28 日目の牛組織(筋肉・肝臓・腎臓)及び羊組織(筋肉・肝臓)における指標残留物 - 総残留物濃度比が代謝試験から得られた(表 21 参照)。

牛組織に存在する残留物の食事摂取のモデリングは、投与後 28 日目(指標残留物 - 総残留物濃度比が分かっている唯一の日)に実施された。モデリングの結果は、牛 MRL を確定する際に残留物のバイオアベイラビリティを考慮する必要がある(そうしないと、EDI が ADI を上回る)ことを示している。バイオアベイラビリティに関する 3 つの試験(Hassler, 1995、Hardwick, 2004b、Needham, 2004a)が第 66 回 JECFA 会議で評価され、現在の会議で再考された。Needham による試験(2004)のみが、強制経口投与した ^{14}C 標識トリクラベンダゾール及び食事中の凍結乾燥牛組織に由来する ^{14}C 標識トリクラベンダゾール残留物の絶対的バイオアベイラビリティの算定、さらには強制経口投与した ^{14}C 標識トリクラベンダゾールのバイオアベイラビリティとの比較による凍結乾燥牛組織中の ^{14}C 標識トリクラベンダゾール由来残留物のバイオアベイラビリティの算定に適していた。放射能 - 時間曲線下面積の測定より、^{14}C 標識トリクラベンダゾールの絶対的バイオアベイラビリティはラットへの強制経口投与の場合に約 70%であることが判明した。この数値がトリクラベンダゾールの ADI の確定に使用されたことに留意すべきである。牛組織中の残留物の絶対的バイオアベイラビリティは肝臓において最も高く、9.2%であった。これらの数値に基づき、牛における肝残留物のバイオアベイラビリティは強制経口投与と比較して 13%(9.2/70×100)であると計算された。胆管挿管ラットモデルを用いた Hassler(1995)及び Hardwick (2004b)による試験は、肝臓からの残留物のバイオアベイラビリティが筋肉や腎臓のそれより高いことを確認した。けれども、これらの試験のデータから相対的バイオアベイラビリティを計算することはできなかった。したがって、肝臓での相対的バイオアベイラビリティである 13%(最悪のケースを表している)が EDI の計算に使用された。

牛への PO 投与に関する残留消失試験が新たに 3 件提出された(Study No. AA031, 2001、Study No. ANT1274、Study EL-55021, 2004)。これらの試験ではそれぞれ、投与後 14、21、28、35 及び 42 日目、投与後 49、56、63 及び 70 日目、投与後 77、91、105 及び 119 日目に動物がと殺された。第 66 回 JECFA 会議で採択された手順を用いて MRL を推奨するには、考察している時点の指標残留物 - 総残留物濃度比を知る必要がある。トリクラベンダゾールの場合、そのような情報は投与後 28 日目についてのみ利用できるが、この点については、3 つの PO 試験のうちの最初の試験だけが最終投与後 28 日目に採取した検体を分析している。この試験ではしかし、残留物について分析する前に最大 14 か月間検体を冷凍保存したが、この期間保存された残留物の安定性を検討する試験からのデータが示されていない。Needham(2004b)及び Adams(2004d)による初期の試験はそれぞれ、肝臓中のトリクラベンダゾール残留物が 6 か月保存後に初期濃度の 72%及び 83%に消失していることを見出した。14 か月間冷凍保存した場合の残留物の安定性をめぐる不確かさにより、Study No. AA031 からのデータは MRL を推奨するという目的に適しているとは考えられなかった。

第 66 回 JECFA 会議で評価された残留消失試験(Adams, 2004b)が再考された。残留物のバイオアベイラビリティを考慮に入れて、MRL が第 66 回会議で採択された手順(FAO/WHO, 2006)によって推奨された。試験依頼者の統計専門家は、「分散の等質性、及び誤差の正規分布の等質性に関する線形回帰仮定は筋肉、肝臓及び腎臓について満たしている。線形性の仮定は肝臓についてのみ満たしている」と述べている。それでもなお、この手法が使用された。算出された許容限界は、現在の評価とのわずかな数値差(0.6～1.7%)を示した。

試験結果を図 14 にまとめる。

図 14:名目用量 18 mg/kg 体重のトリクラベンダゾールを 28 日の間隔で 2 回経口投与した牛の各組織における残留物の減少動態(ケト-トリクラベンダゾールに換算可能)

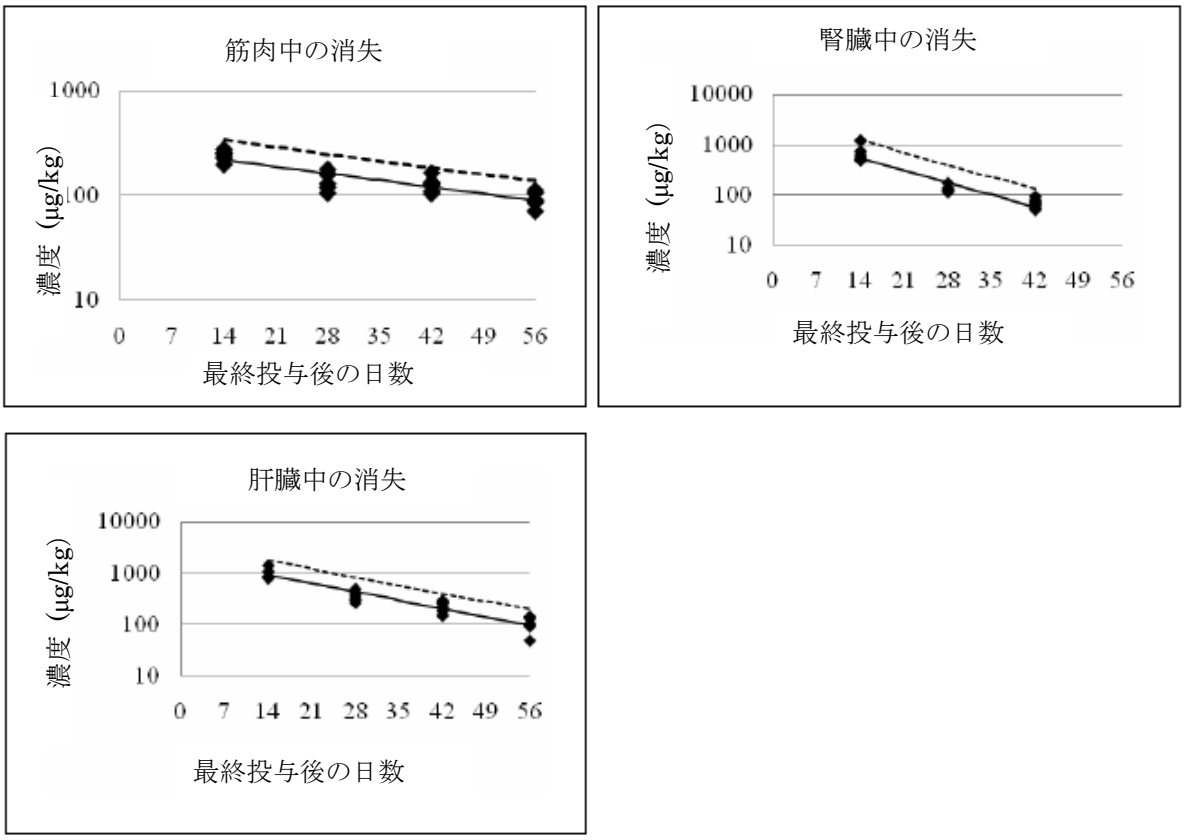


図 15 は、牛の肝臓、腎臓及び筋肉における指標残留物濃度の許容限界曲線である。投与後 28 日目(指標残留物 - 総残留物濃度比が分かっている唯一の日)に対応する値が強調されている。食事摂取量の試算が可能なのはこの日だけである。

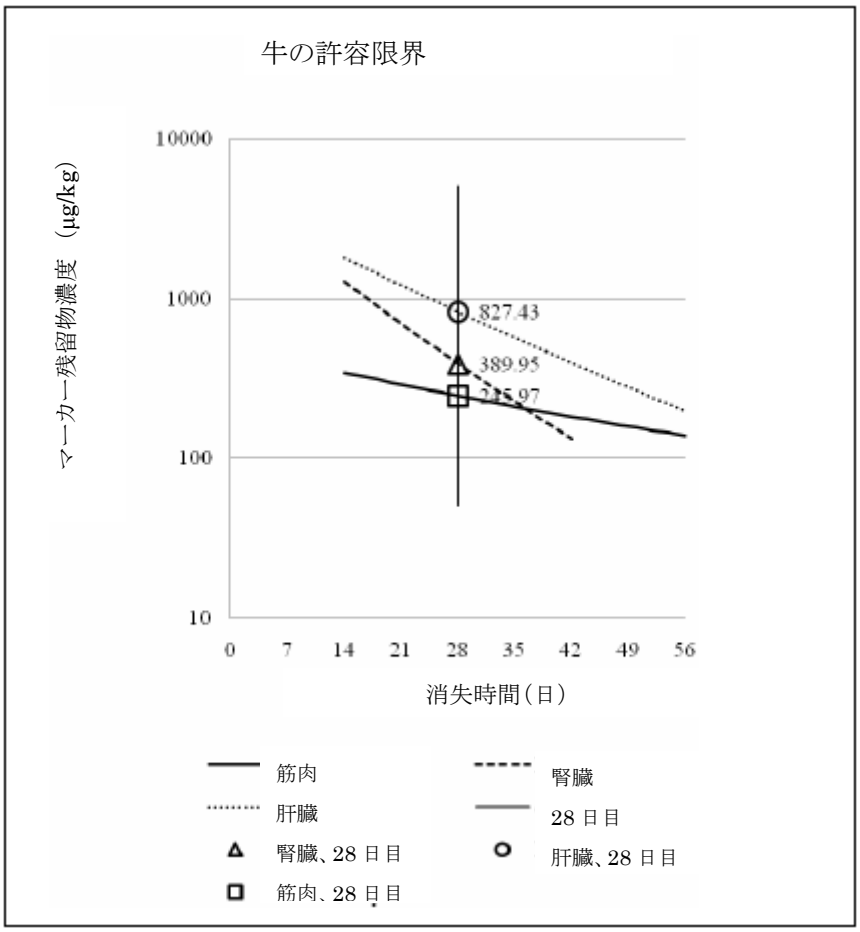
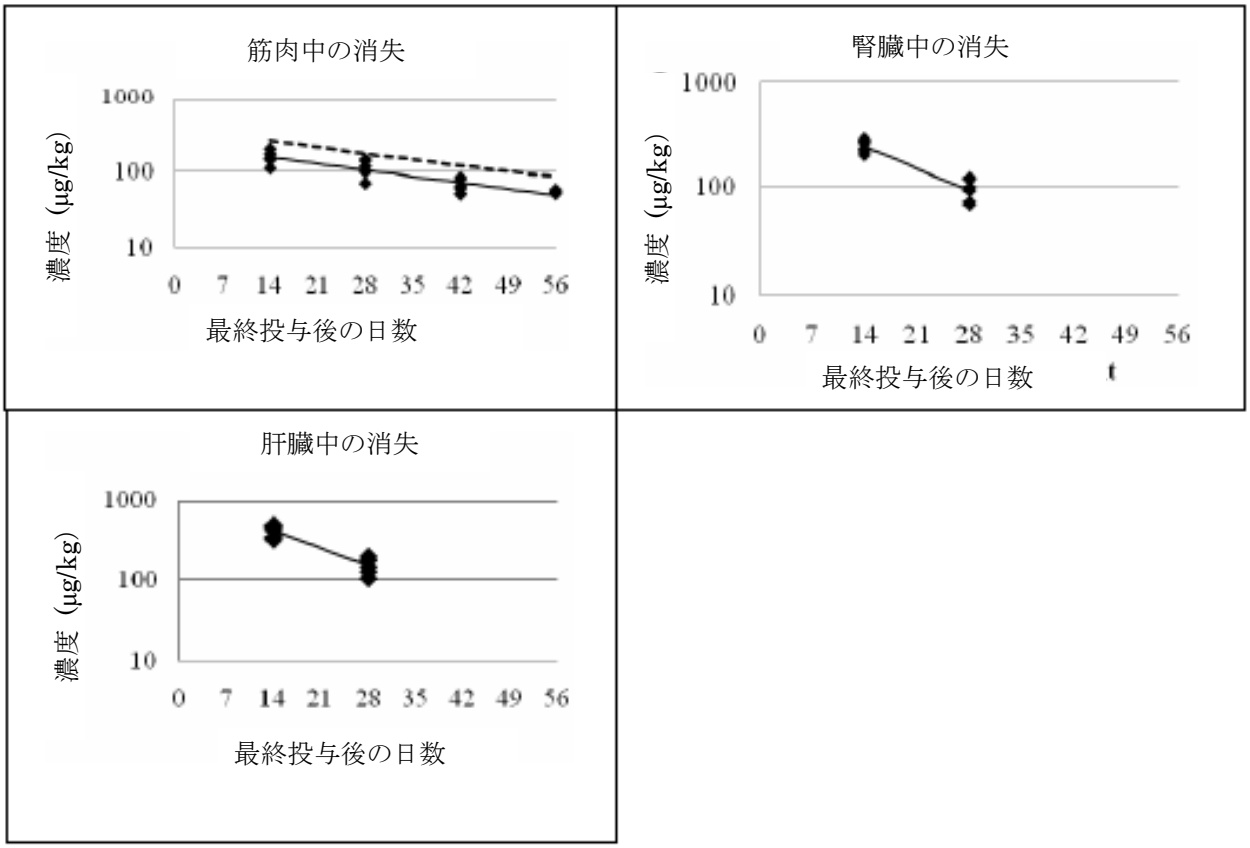


図 15：牛の各組織における指標残留物濃度の許容限界曲線、及び投与後 28 日目の指標残留物濃度

算出された投与後 28 日目の許容限界の比は、827：390：246（肝：腎：筋）である。牛における MRL のモデル計算を表 22 に示した。

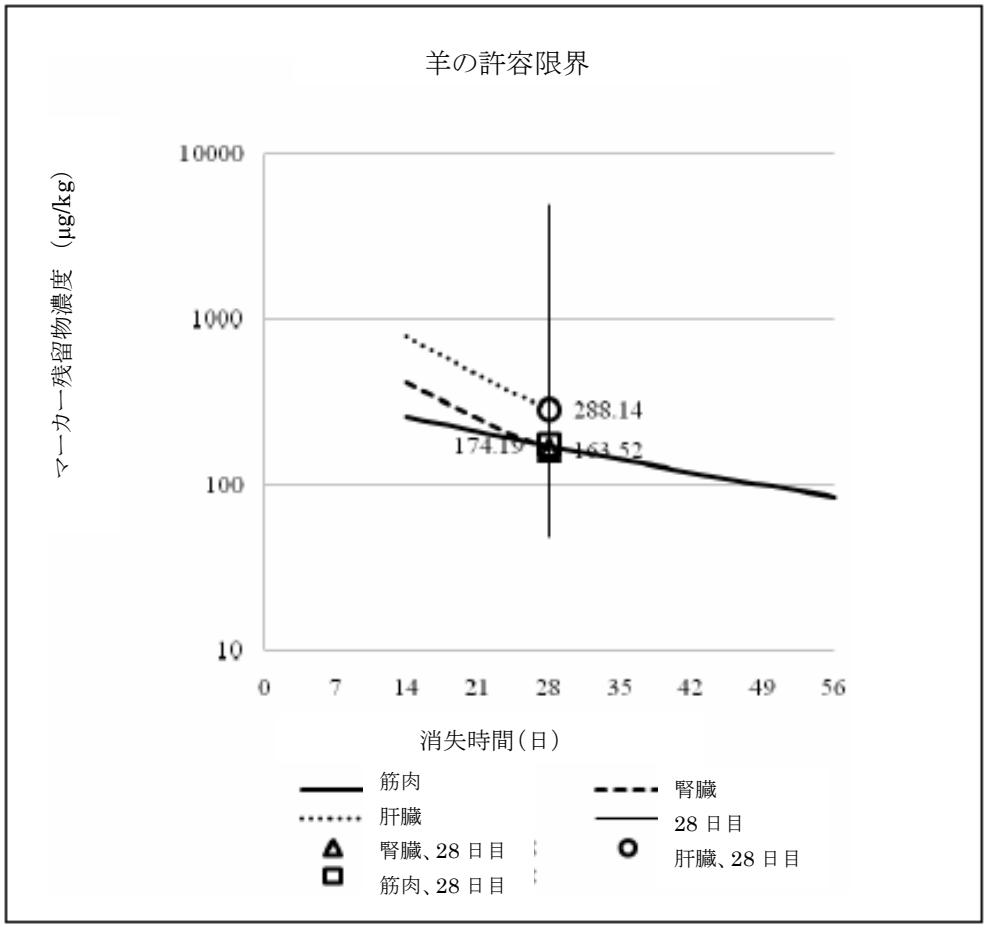
牛に関する上記の考察は、同様に羊残留物データの評価に適用された。図 16 は、羊の各組織における指標残留物濃度の減少を示している。

図 16:10.5～13 mg/kg 体重のトリクラベンダゾールを単回経口投与した羊の各組織における残留物の消失動態(ケト-トリクラベンダゾールに換算可能)



羊では、測定可能な量の指標残留物が腎臓と肝臓において投与後 14 日目と 28 日目にのみ確認されたため、利用可能なデータベースは牛のそれより小さい。脂肪では、すべての濃度が 50 µg/kg を下回った。統計的データ解析の結果を図 17 にまとめる(図 15 に似ている)。

図 17:羊の各組織における指標残留物濃度の許容限界曲線、及び投与後 28 日目の指標残留物濃度

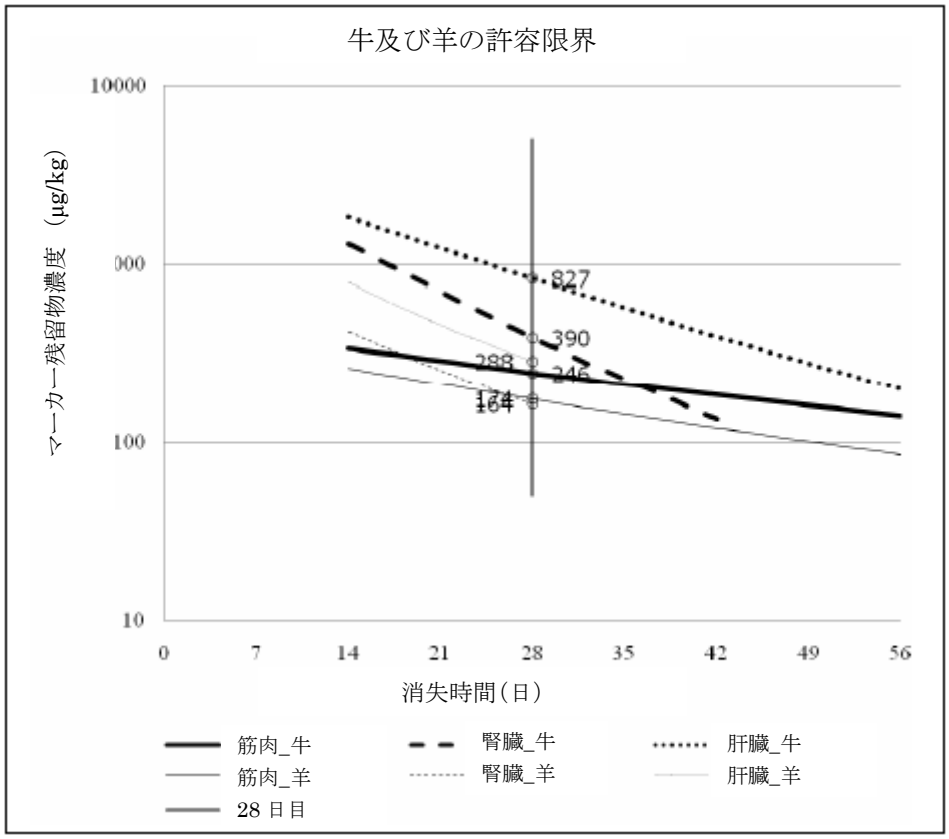


算出された投与後 28 日目の許容限界の比は、288:164:174（肝:腎:筋）である。羊における MRL のモデル計算を表 23 に示した。

食事摂取量の試算より、羊では、投与後 28 日目に確認された指標残留物濃度の許容限界は MRL の確定に適していることが分かる。

図 18 は、牛と羊における残留消失試験の結果を同時に示している。このグラフより、トリクラベンダゾールの動態は牛と羊とで明確に異なっていること、そして同一の数値で両種の MRL を確定する基盤はないことが分かる。

図 18:牛及び羊の各組織における指標残留物濃度の許容限界曲線



最大残留限界(原文 p.41)

最大残留限界(MRL)を推奨するに当たり、JECFA は以下の因子を考慮した。

・0～3 μg/kg 体重という ADI が第 40 回 JECFA 会議で確定された。この ADI は、体重 60 kg の人で 0～180 μg に相当する。
・指標残留物は、抽出してケト-トリクラベンダゾールに換算したすべての残留物の合計である。
・肝臓と筋肉は適当な標的組織である。
・牛及び羊の可食組織中のトリクラベンダゾール残留物の分析に、バリデーション済みの分析法が利用できる。
・ラットに強制経口投与された ^{14}C 標識トリクラベンダゾール及び ^{14}C 標識トリクラベンダゾール由来残留物のバイオアベイラビリティはそれぞれ、70%及び 9.2%であった。このデータに基づけば、残留物の相対的経口バイオアベイラビリティは 13%であった。
・牛において、投与後 28 日目の指標残留物 - 総残留物濃度比は筋肉で 0.32、肝臓では 0.19、腎臓では 0.24、脂肪では 0.4 であった。羊では、筋肉で 0.4、肝臓では 0.25、腎臓では 0.24、脂肪では 0.4(牛の脂肪での比に基づく控えめな値)であった。
・トリクラベンダゾールの動態は牛と羊とで明確に異なっており、同一の数値で両種の MRL を確定する基盤はない。
・牛及び羊の肝臓、腎臓及び筋肉の MRL は、最終投与後 28 日目の指標残留物ケト-トリクラベンダゾールの残

留物の第 95 百分位数を超える片側 95%信頼上限を示す曲線から算出されたので、第 66 回 JECFA 会議で推奨された当該組織の MRL（56 日目の検体に基づく）よりも高い。
・脂肪の MRL は、分析法の定量限界（LOQ）の 2 倍に基づいていた。

上記の考慮に基づき、JECFA は牛の可食組織におけるトリクラベンダゾールの MRL として、筋肉：250 μg/kg、肝臓：850 μg/kg、腎臓：400 μg/kg、及び脂肪：100 μg/kg を推奨した（指標残留物であるケト-トリクラベンダゾールとして表示）。これらの値は、最終投与後 28 日目の残留物の第 95 百分位数を超える片側 95%信頼上限を示す曲線から算出された（表 22 に“Tol28”として示した）。

JECFA はまた、羊の可食組織におけるトリクラベンダゾールの MRL として、筋肉：200 μg/kg、肝臓：300 μg/kg、腎臓：200 μg/kg、及び脂肪：100 μg/kg を推奨した（指標残留物であるケト-トリクラベンダゾールとして表示）。これらの値は、最終投与後 28 日目の残留物の第 95 百分位数を超える片側 95%信頼上限を示す曲線から算出された（表 23 に“Tol28”として示した）。

JECFA は、投与後 28 日目の牛組織中の指標残留物の濃度中央値を用いて EDI を計算した。残留物濃度中央値はいずれの組織でも牛のほうが羊より高かったので、EDI の計算には、羊（表 23）ではなく牛（表 22）のデータが選ばれた。その結果、EDI は ADI の 47.4%を示している。

牛及び羊におけるトリクラベンダゾールについて、先に第 66 回 JECFA 会議で推奨された MRL は取り消された。牛と羊とで大きく異なる MRL を推奨したことに加えて、ヤギにおける限られた残留物データベースを検証して、JECFA は推奨 MRL をヤギに拡大適用するにはデータが不足していると結論付けた。このため、第 66 回会議で推奨されたヤギの MRL は取り消された。

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:JECFA 2006）

該当する試験なし

ADI:0～3 μg/kg 体重（体重 60 kg の人で 0～180 μg/日）

MRL:

トリクラベンダゾール

種	第 40 回会議で JECFA が推奨した MRL (μg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
羊	100	100	100	100
牛	200	300	300	200

ケト-トリクラベンダゾール

種	組織における MRL (μg/kg)			
	筋肉	肝臓	腎臓	脂肪
牛	150	200	100	100
羊	150	200	100	100
ヤギ	150	200	100	100

酸化されてケト-トリクラベンダゾールになる可能性のある抽出性残留物の総量

種	組織における MRL (μg/kg)			
	肝臓	腎臓	脂肪	筋肉
牛	275	600	375	200
羊	275	600	375	200
ヤギ	275	600	375	200

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
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residues	FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議
LD_{50}	50% Lethal Dose	半数致死量

トリクラベンダゾール　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/WC500015666.pdf

Committee for Veterinary Products, Triclabendazole, Summary Report (1), 1996

トリクラベンダゾール 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) 137
トリクラベンダゾール(原文 p.1) 137
概要報告(1)(原文 p.1) 137
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 1996) 140
略称 141

原文 目次

原文ページ

動物用医薬品委員会 ……1

トリクラベンダゾール ……1

概要報告(1) ……1

COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ……1

TRICLABENDAZOLE ……1

SUMMARY REPORT(1) ……1

動物用医薬品委員会(原文 p.1)

トリクラベンダゾール(原文 p.1)

概要報告(1)(原文 p.1)

1. トリクラベンダゾールは食用動物で用いられるベンゾイミダゾール系駆虫薬であり、主に羊及び牛における肝吸虫である肝蛭(*Fasciola hepatica*)の制御に使用される。通常、10 mg/kg を経口投与により投与される。

2. i. ラット、羊、ヤギ及びウサギにおける試験では、経口投与されたトリクラベンダゾールの大多数が投与後 6～10 日目には糞中に排泄されることが示された。そのうち約半分は吸収されなかった化合物であり、残りは胆汁中排泄*によるものであった。すべての供試動物において尿中排泄はわずかであった(ラットでは 6%)。組織残留物はラットでは6日後、また羊及びヤギにおいては10日後に測定され、大抵の場合1~2%を下回った。最も高い濃度はラットの心臓と脳、ならびに羊及びヤギの肝臓と甲状腺においてみられた。
*原文では binary excretion とあるが、bilialy excretion の誤表記であると考えられたため。

すべての供試動物において(羊、牛、ヤギ及びラット)同じトリクラベンダゾールの代謝物が糞中にみられたが、その割合は異なっていた。それらはトリクラベンダゾールのスルホン、スルホキシド、ケトン及び4－ヒドロキシ誘導体であった。

ヒトにおける予備試験では、トリクラベンダゾールが消化管から良好に吸収されることが示された。スルホキシド及びスルホン代謝物は血漿中で特定されたが、スルホンの量は羊においてみられたそれに比べて低く、またスルホキシドはより短い血漿中半減期を有していた。

ii. 経口、腹腔内、皮膚及び吸入経路で投与された場合のトリクラベンダゾールの急性毒性は低かった。トリクラベンダゾールのスルホキシド及びスルホン代謝物の経口急性毒性も同様に低いものであった。トリクラベンダゾールのもたらす皮膚刺激性はわずかなものであり、眼感作性はなく、また潜在的皮膚感作性は限られたものであった。

iii. ラットにおける反復投与毒性試験(13 週間)は高用量(飼料中に≧100 mg/kg)において軽度の一過性の血液学的影響(minor transient hematological effects)、摂食量の減少(decreased food intake)及び成長遅延(growth retardation)を明らかにした。イヌにおける 13 週間給餌試験は高用量(飼料中に≧100 mg/kg)において軽度の肝毒性(slight hepatotoxicity)、成長遅延(growth retardation)、性的成熟の始まりの遅発(delayed onset of sexual maturity)、可逆性の心電図変化(reversible electrocardiogram changes)及び溶血(hemolysis)を示した。

iv. ラット及びチンチラウサギにおいて催奇形性の証拠はみられなかったが、母動物毒性を及ぼす用量(ラ

ットにおいては 100 mg/kg 体重以及びそれ以上の用量、またウサギにおいては 10 mg/kg 体重）においては胎児発生に遅れがみられた（低い胎児体重（low fetal body weight）、骨化の遅延(delayed ossification)）。羊への最大 50 mg/kg 体重までの経口投与では雌雄ともに繁殖パラメーターへの悪影響を及ぼさなかった。しかしながら、妊娠した羊へのフェンベンダゾールとの併用で高用量での経口投与は（150 mg/kg 体重の 1 対 1 混合物）腎臓及び骨格異常(kidney and skeletal abnormalities)を児動物にもたらした。

ラットにおける 2 世代繁殖試験において、児動物の生存率及び体重は F2 世代では減少したが、F1 世代では減少しなかった。離乳したばかりの児動物の剖検では、最高用量群の F1 世代の雄において肺/脳の重量比、精巣*/脳の重量比、及び副腎/体重の比率が減少したことが明らかになった。組織学検査では、軽度の肝小葉周辺脂肪変化（minimal fatty changes in perilobular hepatocytes）が最高投与群の F1 世代には雌雄関係なく数匹、また中用量群の F2 世代には雌において 2 匹みられたことが明らかになった。F2 世代の雌においては用量依存的な肝重量の減少(decrease in liver-weight)がみられた。これらの影響は治療に関連したものと考えられたが、無影響量（NOEL）は 0.15 mg/kg 体重/日と定められた。
*原文では test/brain とあるが、他のふたつの比が臓器同士で行われていることから、testis の誤表記であると考えられ、精巣と訳した。

v. トリクラベンダゾールは、エイムズ試験（ネズミサルモネラ菌 5 株を用いた）、代謝活性化系の存在下及び非存在下での V79 チャイニーズハムスター細胞を用いた変異原性試験、ラット肝細胞及びヒト繊維芽細胞を用いたオートラジオグラフィーによる DNA 修復試験、ならびにチャイニーズハムスター（CHO）骨髄細胞における *in vivo* 小核試験及び姉妹染色体分体交換（SCE）試験を含む数々の *in vitro* 及び *in vivo* 変異原性試験において明らかに陰性を示した。

vi. マウスにおいて発がん性試験が実施されたが、唯一みられた病理所見は最高投与群（飼料中に 300 mg/kg）の雌においてみられた肝酵素の血清中濃度の増加（increased serum levels of hepatic enzymes）、肝重量の増加（increased liver-weight）及び良性の肝癌（benign hepatoma）であった。

ラットにおいて、十分に実施された発がん性試験では、いずれの用量においても発がん性に対する統計学的に有意な影響がなく、また、その他のいずれのパラメーターについても、最大 30 mg/kg（1.5 mg/kg 体重/日に相当）までの混餌投与においては統計学的に有意な影響も統計的に有意な影響はなかったことが示された。

vii. トリクラベンダゾールはヒトにおける寄生虫の繁殖の治療に関する臨床試験に用いられてきた。10 mg/kg 体重での単回及び 2 回の投与は良好な耐用性を示した。一過性の上腹部痛は寄生虫の死によるものである。

3. トリクラベンダゾールは有意な抗菌活性を持たない。

4. 許容一日摂取量(ADI)

ADI はラットを用いた 2 世代繁殖試験でみられた F2 世代での分娩後の死亡率の増加に基づき（NOEL=1.5 mg/kg 体重/日）、安全係数に 100 を用いて設定された。

ADI=0~0.0015 mg/kg 体重

5. 作業部会はトリクラベンダゾールに関して次の最大残留基準値(MRLs)で合意した。

筋肉、肝臓、腎臓：0.15 mg/kg
脂肪：0.05 mg/kg

以上はケトトリクラベンダゾールへ酸化される可能性がある抽出可能な残留物の合計に基づいている。推定される残留物の総摂取量は第 4 節で算出された ADI の範囲内にある。

6. 作業部会は毒性学的データに関する FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）による解釈と異なることを認識している。JECFA による報告は、ラットでの 2 世代繁殖試験の 15 ppm 投与群（0.75 mg/kg 体重/日）でみられた F2 世代での死亡率の上昇及び児動物の低体重は治療依存ではないと結論付けており、マウスでの慢性試験に基いて、ADI として 0~0.003 mg/kg 体重を提案した。第 2.iv 節で述べたように、作業部会はこれらの影響が治療依存である可能性は反証されていないと考えている。しかしながら、羊の可食組織中の総残留物に関する追加データが、標的組織に関する MRLs の再考を JECFA や作業部会に促す可能性がある事実を鑑み、第 5 節で設定された MRLs を暫定的なものとすることに作業部会も合意した。

7. 高速液体クロマトグラフィー（HPLC）に基づく妥当な感度を持つ分析法が利用可能である。

トリクラベンダゾール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
急性毒性試験（経口、腹腔内、皮膚、吸入経路）	記載なし	記載なし	急性毒性は低い
感作性試験	記載なし	記載なし	皮膚刺激性はわずか 眼感作性はない 潜在的皮膚感作性は限られたもの
13 週間反復投与試験（給餌）	ラット	詳細の記載なし	高用量（≧100 mg/kg）では軽度の一過性の血液学的影響、摂食量の減少及び成長遅延がみられた
13 週間反復投与試験（給餌）	イヌ	詳細の記載なし	高用量（≧100 mg/kg）では軽度の肝毒性、成長遅延、性的成熟の始まりの遅発、可逆性の心電図変化及び溶血がみられた
催奇形性試験	ラット、チンチラウサギ	詳細の記載なし	催奇形性の証拠はなかったが、母動物毒性を及ぼす用量（ラット≧100 mg/kg 体重、ウサギ≧10 mg/kg 体重）においては胎児発生（胎児の体重が低く、骨化の遅延）がみられた
催奇形性試験（経口）	羊	最大で 50 mg/kg	雌雄どちらの繁殖パラメーターへの悪影響なし 妊娠した羊へのフェンベンダゾールとの併用での高用量での経口投与（150 mg/kg 体重の 1 対 1 混合物）は腎臓及び骨格異常を児動物にもたらした
2 世代繁殖試験	ラット	記載なし	NOEL=0.15 mg/kg 体重/日（児動物の生存率及び体重が F2 世代でのみ減少、F1 世代の雄の最高用量群において肺/脳、精巣/脳重量比及び副腎/体重の比率が減少、F1 世代の両性の最高投与量群の複数匹ならびに F2 世代の雌の中用量群において軽度の肝小葉周辺脂肪変化、F2 世代の雌において用量依存的な肝重量の減少がみられた）
変異原性試験（エイムズ試験）	ネズミサルモネラ菌 5 株	記載なし	変異原性なし
変異原性試験	V79 CHO 細胞（代謝活性化系の存在下及び非存在下）	記載なし	変異原性なし
変異原性試験（オートラジオグラフィーによる DNA 修復試験）	ラット肝細胞、ヒト繊維芽細胞	記載なし	変異原性なし
変異原性試験（*in vivo* 小核試験、SCE 試験）	CHO 骨髄細胞	記載なし	変異原性なし
発がん性試験	マウス	最高投与量は 300 mg/kg 飼料	雌:肝酵素の血漿中濃度の増加、肝重量の増加、良性の癌

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
発がん性試験	ラット	最高投与量は 30 mg/kg 飼料（1.5 mg/kg 体重/日）	腫瘍発生率及びその他パラメーターへの影響なし
その他			
			ADI: 毒性学的 ADI=0~0.0015 μg/kg 体重 (ラット 2 世代繁殖試験でみられた F2 世代での分娩後の死亡率増加に基づき（NOEL=0.15 mg/kg 体重/日）、安全係数には 100 を用いて算出) 一方で JECFA は上記の所見は投与に関連しないと見なし、マウス慢性毒性試験に基づいた毒性学的 ADI の値 0~0.003 mg/kg 体重を提案している 暫定 MRLs： 筋肉、肝臓、腎臓：0.15 mg/kg 脂肪：0.05 mg/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
CHO	Chinese Hamster Ovary	チャイニーズハムスター子宮
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
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ー
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

トリクラベンダゾール　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/WC500015670.pdf

Committee for Veterinary Products, Triclabendazole, Summary Report (3), 1997

トリクラベンダゾール 評価書和訳と情報整理 EMEA(1997) 目次

トリクラベンダゾール(原文 p.1) 147
概要報告(3)(原文 p.1) 147
結論及び提言(原文 p.6) 153
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 1997) 155
略称 159

原文 目次

原文ページ

動物用医薬品委員会 ……1
トリクラベンダゾール ……1
概要報告(3) ……1
結論及び提言 ……6

COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ……1
TRICLABENDAZOLE ……1
SUMMARY REPORT(3) ……1
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATION ……6

動物用医薬品委員会(原文 p.1)

トリクラベンダゾール(原文 p.1)

概要報告(3)(原文 p.1)

1. トリクラベンダゾールは食用動物で用いられるベンゾイミダゾール系駆虫薬であり、主に羊及び牛における肝吸虫である肝蛭(*Fasciola hepatica*)の制御に使用される。通常、10 又は 12 mg/kg 体重の経口投与がそれぞれ羊及び牛に対し、吸虫の流行時期には 8~10 週間間隔、また急性あるいは亜急性の事例においては 5~6 週間間隔で与えられる。トリクラベンダゾールはヒトにおける寄生虫の繁殖(肝蛭症及び肺吸虫症)の治療のための臨床試験に 10 mg/kg 体重での単回又は 2 回の経口投与で用いられてきた。

2. 動物用医薬品委員会(CVMP)はトリクラベンダゾールの検討を既に行っている。その最大残留基準値(MRLs)の附属書 I への盛り込みを可能にする前に対処されるべき懸案事項とは、合意された許容一日摂取量(ADI)の採択(不十分なデータ)、ならびに申請者のマーカー残留物に関する高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるルーチン分析法により、測定可能な可食組織中の総残留物の割合を定めることであった。CVMP は理事会規則(EEC)No.2377/90 に記載された通り、初期評価の際に利用可能であったデータに基づいた以下の暫定的 MRLs を提案した。

薬理学的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
トリクラベンダゾール	ケトトリクラベンダゾールへと酸化される可能性がある抽出可能な残留物の合計	牛、羊	150 µg/kg 150 µg/kg 150 µg/kg 50 µg/kg	腎臓 肝臓 筋肉 脂肪	暫定 MRLsは 1997 年 7 月 1 日に有効期限が切れる

3. 放射能標識体の最大 26 又は 5 mg/kg 体重での単回経口投与したウサギ及びイヌでは、8 時間目までに最大血漿濃度に達した。40 mg/kg 体重の投与したイヌでは、最大血漿濃度は 24 時間目に達し、それは 2~3 日の間維持された。ラット、イヌ、羊、ヤギ、及びウサギを用いた試験では、経口投与したトリクラベンダゾールの大部分は糞中に排泄され、尿中への排泄は極わずかであることが示された。ラットにおいて、0.5 又は 25 mg/kg 体重で経口投与されたうち約 93%は 48 時間以内に排泄され、144 時間後には 98%が排泄された。その内訳は糞中へ 88~95%、尿中へ 4~10%、また組織中に残留したのは最大でも 1%のみであった。性別や用量依存性の影響はみられなかった。胆内送管されたラットにおいて、経口投与された 5 mg/kg 体重のうち 34%が 49 時間以内に胆汁中に排泄された。組織残留物はラットにおいては 6 日後、また羊及びヤギにおいては 10 日後に測定され、大抵の場合は 1~2%を下回った。最も高い濃度はラットの心臓と脳、また羊及びヤギの肝臓と甲状腺においてみられた。

4. 羊を用いて医薬品の安全性 に関する非臨床試験の実施基準(GLP)で実施された放射能分析試験におい

て、10 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重を投与した 28 日後、投与後 7 日間にわたって尿及び糞中へ排泄された量はそれぞれ投薬量の 5%及び 77%に相当した。尿、糞、及びケージ洗液(cage washing)は合計して 7 日間の総排泄量である投薬量の 85.35%に相当した。吸収(尿中の含有量及び未回収の用量)は投与量の 19.34%に相当した(牛と同じである)。

5. 牛を用いた新たな放射能試験において、尿及び糞中排泄はそれぞれ 12 mg/kg 体重での投与の 2.2%及び 76%に相当し、7 日間の総排泄は投与量の 81.49%に相当した。吸収(尿中の含有量及び未回収の用量)は投与量の 21%に相当した。

6. ラット、ウサギ、イヌ、羊、牛、ヤギ及びヒトにおける薬物動態試験では、血漿及び糞中で特定されたトリクラベンダゾールのスルホン、スルホキシド、ケトン及び 4-ヒドロキシ誘導体の代謝との定性的な類似点が示された。尿中で特定された唯一の代謝物は 2-4-ヒドロキシ誘導体であった。ラットにおいて特定された糞中の主要代謝物は、スルホキシド及び 4-ヒドロキシ誘導体であった。羊及びヤギにおいては、トリクラベンダゾール及び 4-ヒドロキシ誘導体が主成分であった。経口投与後のスルホキシド及びスルホン誘導体の血漿中動態試験を様々な動物種で行ったところ、ウサギ、羊、及びヒトにおいてはスルホキシドが優位を占め、また馬、イヌ及び牛においてはスルホンが優位を占めた。ほとんどの種において薬物動態は線形性であったが、ウサギにおいては食糞によるものと考えられる線形からの逸脱がみられた。10~12 mg トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与におけるスルホキシドに関する血漿中最高濃度到達時間(t_{max})は、殆どの種において約 6~12 時間であり、また牛においては 22 時間であった。スルホンに関する血漿中 t_{max} は殆どの種において約 12~30 時間であり、また牛においては 72 時間であった。

7. ヒトにおける予備試験において、トリクラベンダゾールは消化管から良好に吸収されることが示された。絶食患者では、最大血漿濃度には 10 mg/kg 体重での単回経口投与から 2 時間後に到達した。食事後の投与では、血漿中濃度が絶食患者のそれに比べて約 3 倍になった。スルホキシド及びスルホン代謝物が血漿において特定され、そのうちスルホキシドが優位を占めた。親化合物は 8 時間後には検出不可能な状態にあり、スルホキシド及びスルホンの最大濃度は 4 時間後にみられ、また 24 時間後にも低い量ながらもまだ存在していた。

8. ラット及びマウスへの経口、腹腔内、皮膚、及び吸入経路による投与では、トリクラベンダゾールの急性毒性は低く、ラットにおいて経口半数致死量(LD_{50})の値は 8,000 mg/kg を超え、また腹腔内 LD_{50} の値は 1,666 mg/kg であった。しかしながら、ウサギにおける経口 LD_{50} の値は 206 mg/kg であった。トリクラベンダゾールのスルホキシド及びスルホン代謝物の経口急性毒性もまた低かった。ウサギにおいてトリクラベンダゾールはわずかな皮膚刺激性を引き起こしたが、眼刺激性はみられなかった。モルモットにおける最適化試験では、皮内抗原投与においては感作性を生じたが、表皮暴露では生じなかった。

9. ラットに、10、100 又は 1,000 mg トリクラベンダゾール/kg 飼料を含む食餌を与えた反復投与毒性試験では、わずかな一過性の血液学的影響(赤血球及びリンパ球数、ならびにヘモグロビン濃度の減少)及び臨床化学への効果(アルブミン、アルカリフォスファターゼ及びコレステロールの増加)が高用量(≧100 mg/kg 飼

料）においてみられた。食餌摂取量の減少（decreased food intake）及び成長遅延(growth retardation)が 1,000 mg/kg 飼料においてみられた。10 mg/kg 飼料では影響は全くみられなかった（無影響量（NOEL）＝0.7 mg/kg 体重）。イヌにおける 13 週間給餌試験（10、100 又は 1,000 mg トリクラベンダゾール/kg 飼料）では、1,000 mg/kg/飼料では軽度の肝毒性（slight hepatotoxicity）、成長遅延（growth retardation）、成長遅延性的成熟の始まりの遅発(delayed onset of sexual maturity)、可逆性の心電図変化(reversible electrocardiogram changes)及び溶血(hemolysis)が起こることが明らかになった。100 mg/kg 飼料ではアルカリフォスファターゼの増加もみられた。NOEL は 10 mg/kg 飼料（0.35 mg/kg 体重）であった。

10. 羊において、10%懸濁液による 250、500 又は 1,000 mg トリクラベンダゾール/kg 体重の単回経口投与は、それぞれ 1/20、6/20 及び 5/5 の割合で死亡をもたらした。鬱血肺（congested lungs）及び腎障害(renal damage)が剖検においてみられ、また数々の血液学的及び生化学的パラメーターへの用量依存性の影響がみられた。125 mg/kg 体重での投与は副作用の報告もなく、耐用された。羊に対して、50、100 及び 200 mg トリクラベンダゾール/kg 体重での単回経口投与が 5%懸濁液の形で与えられた。100 mg/kg 又はそれ以上での投与において食欲減退(reduced appetite)、血中尿素窒素(BUN)の増加及び血清 α 2-グロブリンの変化が観察された。絶対的な肝重量のわずかな増加(slight increases in absolute liver weight)がすべての用量においてみられた。仔牛において 200 mg/kg での単回経口投与は食欲不振（inappetance）、一過性の体重減少(transient weight loss)、ならびに運動活動及び血清ブドウ糖-乳酸脱水素酵素(GLDH)への僅かな影響(slight effects on motor activity and GLDH)がみられた。

11. ラットにおける 2 世代試験において、ラットは 3、15 及び 75 mg/kg 飼料の暴露を受けた。新生児ラットの生存率及び体重は F2 世代の 15 及び 75 mg/kg 飼料の投与群において減少したが、F1 世代においては減少しなかった。離乳したばかりの児動物の剖検では、最高用量群の F1 世代の雄において肺/脳の重量比、精巣*/脳の重量比及び副腎/体重の比率が減少したことが明らかになった。組織学検査では、軽度の肝小葉周辺脂肪変化（minimal fatty changes in perilobular hepatocytes）が最高投与群の F1 世代には雌雄関係なく数匹、また中用量群の F2 世代には雌において 2 匹みられたことが示された。F2 世代の雌においては用量依存的な肝重量の減少(decrease in liver-weight がみられた。これらの影響は治療に関連したものと考えられたが、NOEL は 3 mg/kg 飼料（0.15 mg/kg 体重/日）と定められた。
*原文では test/brain とあるが、他のふたつの比が臓器同士で行われていることから、testis の誤表記であると考えられ、精巣と訳した。

12. 10、30 又は 100 mg トリクラベンダゾール/kg での経口強制給餌を受けた妊娠 6~16 日目のラットにおいて、催奇形性の証拠はみられなかった。100 mg/kg では胎児発生に遅れ（低い胎児体重（low fetal body weight）、骨化の遅延(delayed ossification)がみられ、母動物毒性を伴った。10、25、50 又は 100mg/kg の投与を妊娠 8~15 日目に受けたラットにおいて、100 及び 200 mg では母動物及び胎児の体重増加(decreased maternal and fetal bodyweight gain)に減少がみられた。これらの試験に関する総 NOEL は 50 mg/kg 体重であった。チンチラウサギは妊娠 6~18 日目に 3、10、及び 20 mg/kg の投与を受けた。10 及び 20 mg/kg において母動物毒性及び胎児発生の遅延(retarded growth)がみられた。

NOEL は 3 mg/kg 体重であった。羊への 10~50 mg/kg 体重での単回又は複数回経口投与による繁殖パラメーターや児動物への悪影響はなかった。しかしながら、妊娠した羊へのフェンベンダゾールとの併用での高用量（12、17、21、又は 28 日目での1:1混合物の 150 mg/kg 体重での単回投与）での経口投与は妊娠 12 又は 21 日目に暴露を受けた雌羊の児動物のうち数匹において腎臓及び骨格異常(kidney and skeletal abnormalities)を引き起こした。牛において、妊娠 1 カ月目又は 2~7 ヶ月目の期間中に 15~30 mg/kg 体重での投与は悪影響を全く及ぼさなかった。単回又は 1 週間当たり 4 回の 50 mg/kg 体重での経口投与は雄羊の精巣重量や精子の濃度及び質への影響をは全くみられなかった。

13. エイムズ試験（ネズミサルモネラ菌の 5 株を用いて、0.5~1,250 μg/プレート）、代謝活性化系の存在下及び非存在下での V79 チャイニーズハムスター細胞を用いた変異原性試験（代謝活性系の存在下では 3.5~70 μg/mL、非存在下では 0.025~0.5 μg/mL）、ラット肝細胞(0.3~40 μg/mL)及びヒト繊維芽細胞(0.4~60 μg/kg)を用いたオートラジオグラフィーによる DNA 修復試験、チャイニーズハムスター骨髄細胞における *in vivo* 小核試験及び姉妹染色体分体交換（SCE）試験(173~692 μg/kg)を含む、数々の *in vitro* 及び *in vivo* 変異原性試験においてトリクラベンダゾールは明らかに陰性を示した。

14. マウスを用いて慢性毒性/発がん性試験が実施された（737~752 日間にわたった飼料中への 3、15、60 又は 300 mg/kg/飼料トリクラベンダゾールでの投与）。生存率、臨床所見、血液学的及び尿検査は治療による影響を受けなかった。投与群において体重増加及び摂餌量はわずかに増加した。投与群において血清グルタミン酸ピルビン酸アミノ基転移酵素（SGPT）、血清グルタミン酸オキサ酪酸アミノ基転移酵素（SGOT）及びアルカリフォスファターゼは増加した。これらの増加は散発的に統計学的に有意なものであり、また折にふれては有意な正の傾向を示したが、用量依存性は明白ではなかった。投与群において肝重量は増加した。雄において、1 年目には 60 mg/kg/飼料では絶対的な重量が、また 300 mg/kg/飼料では相対的な重量が顕著に増加し、2 年目には絶対的ならびに相対的重量が 15~300 mg/kg/飼料で増加した。雌において、2 年目には絶対的重量はすべての用量群において、また相対的重量は 60 及び 300 mg/kg/飼料の投与群において顕著な増加がみられた。唯一みられた病理所見は雌の最高投与群でのみみられた良性肝癌の事例の増加（increased incidents of benign hepatomas）であった。類似しているが比較的弱い影響の兆候が、雄の最高投与群及びそれより低い雌の投与群においてみられたが、利用可能な証拠はその影響を証明するには不十分なものであった。すべての投与群においてみられた肝重量及び血清酵素への軽度の影響は雌の最高投与群でみられた肝癌の発生へとつながる病理プロセスと同じであるマイルドインジケータである可能性があったが、これらの影響はそれ単独で毒性学的に有意なエンドポイントとして捉えるべきではない。この試験に関連した NOEL は 60 mg/kg/飼料（5.35 mg/kg 体重）であった。

15. ラットにおける十分に実施された慢性毒性/発がん性試験（2 年間にわたった飼料中に 3、13、30 又は 100 mg/kg での投与）は生存率、臨床所見、食餌又は水の摂取量、血液学、生化学、尿検査又は腫瘍発生率への統計学的又は生物学的に有意な影響をいずれの用量群も持たないことを示した。52 週間目では雌の高用量群において体重増加の顕著な落ち込みが、また雄の高用量群においては腎臓重量の低下がみられた。NOEL は 30 mg/kg/飼料（約 1.5 mg/kg 体重/日に相当）であった。

16. トリクラベンダゾールには有意な抗菌活性はない。

17. トリクラベンダゾールはヒトにおける寄生虫の繁殖の治療に関する臨床試験に用いられてきた。10 mg/kg 体重での単回及び 2 回の投与は良好な耐用性を示した。一過性の上腹部痛は寄生虫の死によるものである。

18. CVMP は毒性学的データに関する FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）による解釈と異なることを認識している。JECFA による報告はラットでの 2 世代繁殖試験の 15 ppm 投与群（0.75 mg/kg 体重/日）でみられた F2 世代での死亡率の上昇及び児動物の体重減少は治療依存ではないと結論付けた。第 14 節で述べられた通り、CVMP はこれらの影響が治療依存であると考えている。JECFA はマウスおける慢性毒性試験で得られた NOEL の値 15 mg/kg/飼料（約 0.27 mg/kg 体重/日に相当）に基づき、ADI として 0~0.003 mg/kg 体重を定めた。第 14 節で述べられた通り、CVMP はより高い投与量である 60 mg/kg/飼料（5.35 mg/kg 体重/日）がこの試験に関する NOEL であるととらえている。

19. CVMP による ADI はラットを用いた 2 世代繁殖試験でみられた F2 世代での分娩後の死亡率の増加に基づき（NOEL=1.5 mg/kg 体重/日）、安全係数に 100 を用いて設定された。

ADI=0.0015 mg/kg 体重（すなわち 0.09 mg/kg ヒト）

20. GLP 準拠の放射分析による残留消失試験は既に考察された。この古い試験では牛（1 頭/時点）は 12 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与を受け、組織残留物は液体シンチレーションカウンターによって定量された（定量限界＝2~7 μg/kg）。組織残留物濃度は投与後 28 日目（最初の時点）において肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 241、106、131、及び 13 μg/kg であった。投与後 42 日目（最終時点）において濃度はそれぞれ 93、69、97 μg/kg 及び 8 μg/kg 未満まで消失した。これらの総残留物データに基づき、牛の組織試料（投与後 28 日目）においてルーチン分析法は総残留物のうち 33~55%を検出することができることが推定された。

21. 牛（2 頭/時点）を用いた新たな GLP 準拠の放射分析残留消失試験が提示され、牛 12 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与を受け、組織残留物は液体シンチレーションカウンターによって定量された（定量限界＝2~7 μg/kg）。平均組織残留濃度は投与後 28 日目（唯一の時点）において肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 462、195、339、及び 63 μg/kg であった。総残留物の結果とマーカー残留消失試験のデータを比較することで、牛の組織試料（投与後 28 日目）においてルーチン分析法は総残留物のうち 33~55%を検出することができることが推定された。

22. 2 件の牛を用いた非 GLP 準拠の試験は以前考察された。その試験では牛は 12 mg トリクラベンダゾールの経口投与を受け、組織残留物は UV 検出を用いた HPLC によって定量された。1 件目の試験において（2 頭/時点、検出限界＝40~60 μg/kg）、投与後から 2 日目（最初の時点）の組織残留物濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 5,870、4,300、1,420、及び 2,470 μg/kg であった。投与後 42 日目（最

終時点）にはこれらの濃度はそれぞれ 80、75、100 μg/kg 及び 60 μg/kg 未満まで消失していた。 2 件目の試験において（2 頭/時点、検出限界＝27~43 μg/kg）、投与後から 2 日目（最初の時点）の組織残留物濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 3,250、3,050、875、及び 1,800 μg/kg であった。投与後 28 日目（最終時点）ではこれらの濃度はそれぞれ 52、47、23 μg/kg 及び 3 μg/kg 未満まで消失していた。

23. 1 件の非 GLP 準拠の試験がトリクラベンダゾール及びレバミゾール塩酸塩を含む併用製品を用いて実施された。ホルスタイン種未経産牛は 12 mg/kg 体重トリクラベンダゾール＋7.5 mg/kg 体重レバミゾール塩酸塩に相当する単回経口投与を受けた。一時点当たり 4 頭 1 群の牛が投与後 1、21 及び 28 日目にと殺された。筋肉、肝臓及び腎臓中の抽出可能な残留物は投与後 1 日目においてはそれぞれ 1,400、7,050、及び 5,800 μg/kg から投与後 28 日目には 142、142、及び 102 μg/kg まで消失した。脂肪中の平均残留物は投与後 1 日目では 5,800 μg/kg であったが、それ以降の時点で摂取された試料は検出限界(40 μg/kg)を下回る値であった。

24. 1 件の羊を用いた非 GLP 準拠の試験は以前考察された。この試験において、羊は 10 又は 15 mg トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与を受け、組織残留物は UV 検出を用いた HPLC によって定量された。この試験において（2 頭/時点、検出限界＝29 μg/kg）、投与後 2 日目（最初の時点）でのマーカー残留物濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪においてそれぞれ 3,500、3,100、1,420 及び 1,350 μg/kg であった。治療後から 28 日目（最終時点）ではこれらの濃度はそれぞれ 127、115、95 μg/kg 及び 29 μg/kg 未満まで消失した。

25. 1 件の非 GLP 準拠の試験が南アフリカにおいて実施された。羊（品種及び性別は未公表）は 10 mg/kg 体重トリクラベンダゾールを単回経口投与によって与えられた。一群 3 頭の羊が投与後 7、14、21、28、42、及び 56 日目にと殺された。ケトトリクラベンダゾールへ酸化される抽出可能な残留物は UV 検出を用いた HPLC によって求められた。筋肉、肝臓、及び腎臓における平均残留物は投与後 7 日目の 230、540 及び 290 μg/kg から投与後 28 日目には 100、76 及び 49 μg/kg まで消失した。脂肪における平均残留物は投与後 7 日目の時点では 73 μg/kg であったが、投与後 14 日目には検出限界（30 μg/kg）を下回る値であった。

26. 別の非 GLP 準拠の試験がトリクラベンダゾールとレバミゾール塩酸塩を含む併用製品を用いて実施された。黒面雌羊（black-faced ewes）に、10 mg/kg 体重トリクラベンダゾール＋7.5 mg/kg 体重レバミゾール塩酸塩に相当する単回経口投与した。一群 4 頭の牛が投与後 1、21 及び 28 日目にと殺された。ケトトリクラベンダゾールへ酸化される抽出可能な残留物は、UV 検出を用いた HPLC によって求めた。筋肉、肝臓、及び腎臓における平均残留物は投与後 1 日目の 2,100、7,400、及び 6,800 μg/kg から投与後 28 日目時点の 150、200 及び 65 μg/kg まで消失した。脂肪における平均残留物は投与後 1 日目の時点では 10,100 μg/kg であったが、それ以降に摂取された試料は検出限界(50 μg/kg)を下回る値であった。

27. 羊（一群 2 頭）を用いた新たな GLP 準拠の放射分析的残留消失試験が提示され、その試験において羊は 10 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与を受け、組織残留物は液体シンチレーションカ

ウンターにより定量した（定量限界＝2~7 μg/kg）。組織残留物濃度は投与後 28 日目（最初の時点）において肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪においてそれぞれ 238、198、321、及び 23 μg/kg であった。総残留物の結果とマーカー残留消失試験のデータを比較することで、牛の組織試料（投与後 28 日目）においてルーチン分析法は総残留物のうち 29~53%を検出可能であると推定された。

28. 総残留物対マーカー残留物の比を求めるための特殊試験において、先行試験の動物組織は再分析された。組織は 1 頭の去勢雄牛及び 1 頭の雄羊から摂取された。初めは組織中の総 ^{14}C-残留物が求められ、次いでメチレンクロライドへ分裂した後（抽出性を求めるため）、不純物除去の後、HPLC 後に採集されたピーク画分において、また第 30 節で述べる手法の後に求められた。この試験の結果はマーカー残留物として検出された総残留物の割合が牛の筋肉、肝臓、及び腎臓ではそれぞれ 46%、20%、及び 26%であり、また羊の筋肉及び肝臓ではそれぞれ 42%及び 26%であった。羊の腎臓に存在した放射能は信頼性がある定量には低すぎる値であった。

29. トリクラベンダゾールに関連する残留物の生体利用可能性について調査するために胆管挿管ラットが用いられた。実現可能性試験といわれている 1 件目の試験において、凍結乾燥された牛の筋肉は ^{14}C-トリクラベンダゾールによって強化され（約 100 μg/kg トリクラベンダゾール相当）、市販の齧歯動物類用の飼料と混ぜられて胆管挿管ラットへ給餌された。合計して投与量の 52~74%が死骸、48 時間尿及び胆汁試料から回収された。2 件目の試験において、牛及び羊はそれぞれ 12 mg/kg 体重又は 10 mg/kg 体重 ^{14}C-トリクラベンダゾールの経口投与を受け、28 日後にと殺された。組織サンプルは凍結乾燥されたのち、市販のラット飼料に混ぜられるか胃管による経口投与によって胆管挿管された雄ラットへ投与された。尿中及び胆汁中（48 時間以上）ならびに組織及び死骸に残った残留物の放射能の合計として算出されたバイオアベイラビリティーは牛肝臓、腎臓及び筋肉に関してそれぞれ 8.8%、13,7%、及び 3.7%であった。羊においてそれに当たる値は 8.15%、7.0%、及び 5.5%であった。この実験において脂肪試料は一件も評価されていない。

30. 抽出可能な残留物をアルカリ環境下で加水分解し、ケトトリクラベンダゾールへ酸化する分析法が述べられている。測定は UV 検出を用いた HPLC によるものであった。手法は ISO 形式で提示され、また羊及び牛の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪に関して十分に有効性が確認されたものであった。これらのすべての組織に関して、定量限界は 100 μg/kg であった。ヤギに関する妥当性検討データは提出されなかった。

結論及び提言（原文 p.6）

以下を考慮し、

- ADI として 0.0015 mg/kg 体重（0.09 mg/ヒト）が定められた
- 治療後 28 日目にと殺された牛の筋肉、肝臓、及び腎臓におけるマーカー残留物の平均濃度はそれぞれ 99、105、及び 71 μg/kg であった。この時点においてマーカー残留物はこれらの組織中に存在する総残留物のうちそれぞれ 46%、20%及び 26%に相当した
- 脂肪における残留物は速やかに消失した。脂肪は標的組織ではなかったため、MRLs は必要とされない

- 残留物の類似した分布が羊においてみられた
- UV 検出を用いた HPLC による分析法は羊及び牛の可食組織に関して有効性が確認されている

委員会はトリクラベンダゾールを以下の表に従って理事会規則（EEC）2377/90 の附属書 I へ盛り込むことを推奨する。

薬理学的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
トリクラベンダゾール	ケトトリクラベンダゾールへ酸化される可能性がある抽出可能な残留物の合計	牛、羊	100 µg/kg	筋肉 肝臓 腎臓	食用の乳汁を生産する動物へは使用してはならない

これと同じ MRLs の値が羊に関して 1992 年 6 月に開かれた JECFA において策定された。JECFA は牛に関してはより高い MRLs の値を策定した。

これらの MRLs に基づき消費者による摂取量は最大で約 134 µg/kg に達すると算出された。この値は ADI の 149%に当たるが、累積残留物のバイオアベイラビリティーが 20%未満であり、より現実的な消費者による摂取量の推定は 134 µg/kg を下回ることになることから、消費者へのリスクを生じないと考えられた。

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:EMEA 1997）

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
急性毒性試験（経口、腹腔内、皮膚、及び吸入経路）	マウス、ラット、ウサギ	記載なし	ラット:経口 LD_{50}>8,000 mg/kg 体重 腹腔内 LD_{50}=1,666 mg/kg 体重 ウサギ:経口 LD_{50}=206 mg/kg
感作性試験	ウサギ、モルモット	記載なし	ウサギ:弱い皮膚感作性、眼刺激性なし モルモット:皮内抗原投与では感作性あり 表皮暴露では感作性なし
13 週間亜急性試験（給餌）	ラット	10、100、1,000 mg/kg/飼料	NOEL＝10 mg/kg/飼料（0.7 mg/kg 体重） 100、1,000 mg/kg 投与群では軽度の一過性の血液学的影響（赤血球及びリンパ球の数ならびにヘモグロビン濃度の減少）、臨床化学への効果（アルブミン、アルカリフォスファターゼ及びコレステロールの増加） 1,000 mg/kg 投与群では摂食量の減少及び成長遅延
13 週間亜急性試験（給餌）	イヌ	10、100、1,000 mg/kg/飼料	NOEL=10 mg/kg/飼料（0.35 mg/kg 体重） 1,000 mg/kg 投与群では軽度の肝毒性、成長遅延、性的成熟の始まりの遅発、可逆性の心電図変化及び溶血がみられた 100 mg/kg/飼料ではアルカリフォスファターゼの増加もみられた
急性毒性試験（経口）	羊	250、500、1,000 mg/kg 体重（10%懸濁液による単回投与）	250 mg/kg 体重:死亡率 1/20 500 mg/kg 体重:死亡率 6/20 1,000 mg/kg 体重:死亡率 5/5 鬱血肺、腎障害、数々の血液学的・生科学的パラメーラーへの用量依存性の影響あり 125 mg/kg 体重は耐用された
急性毒性試験（経口）	羊	50、100、200 mg/kg 体重（5%懸濁液による単回投与）	100 mg/kg 体重、200 mg/kg 体重では食欲減退、BUN 増加、血清-α-2 グロブリンの変化あり すべての投与量において絶対的な肝重量の僅かな増加あり
急性毒性試験（経口）	牛	200 mg/kg 体重	食欲不振、一過性の体重減少、運動活動及び GLDH への軽微の影響あり

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
2 世代繁殖試験	ラット	3 、 15 、 75 mg/kg 飼料	NOEL=3 mg/kg 体重/飼料(0.15 mg/kg 体重/日) 15、75 mg/kg 飼料の投与群では F2 世代の新生児動物の生存率及び体重が減少 75 mg/kg 飼料の投与群では F1 世代の雄において肺/脳、試験/脳重量及び副腎/体重の比率が減少、また F1 世代の両性の数匹で軽度の肝小葉周辺脂肪変化 15 mg/kg 飼料の投与群では F2 世代の雌において軽度の肝小葉周辺脂肪変化 F2 世代の雌において用量依存的な肝重量の減少がみられた)
催奇形性試験(経口強制給餌)	ラット	10 、 30 、 100 mg/kg (妊娠 6~16 日目)	催奇形性の証拠はなかったが、母動物毒性を及ぼす用量(100 mg/kg 体重)においては胎児発生(胎児の体重が低く、骨化の遅延)がみられた
催奇形性試験	ラット	10 、 25 、 50 、 100、200 mg/kg (妊娠 8~15 日目)	NOEL=50 mg/kg 体重(上記の試験との総合した NOEL) 100、200 mg/kg では母動物及び胎児の体重増加に減少
催奇形性試験	チンチラウサギ	3 、 10 、 20 mg/kg (妊娠 6~18 日目)	NOEL=3 mg/kg 体重 10、20 mg/kg では母動物毒性及び胎児発生に遅延
催奇形性試験(経口)	羊	最大で 50 mg/kg	雌雄どちらの繁殖パラメーターへの悪影響なし 妊娠した羊へのフェンベンダゾールとの併用での高用量での経口投与(150 mg/kg 体重の 1 対 1 混合物)は腎臓及び骨格異常を児動物にもたらした
繁殖試験(単回又は複数回経口投与)	羊	10~50 mg/kg 体重	繁殖パラメーターや児動物への悪影響なし (しかしながら妊娠した羊へのフェンベンダゾールとの併用での高用量(12、17、21、又は 28 日目での 1:1混合物の 150 mg/kg 体重での単回投)与)での経口投与は妊娠 12 又は 21 日目に暴露を受けた雌羊の児動物のうち数匹において腎臓及び骨格異常を引き起こした)
繁殖試験	牛	15~30 mg/kg 体重(妊娠 1 カ月目又は 2~7 ヶ月目の期間中)	悪影響なし
繁殖試験(経口)	羊	50 mg/kg 体重(単回又は 1 週間当たり 4 回)	精巣重量、精子の濃度や質に影響なし
変異原性試験(エイムズ試験)	ネズミサルモネラ菌 5 株	0.5~1,250 μg/kg/プレート	変異原性なし

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
変異原性試験	V79 CHO 細胞（代謝活性化系の存在下及び非存在下）	3.5~70 μg/mL(代謝活性存在下) 0.025~0.5 μg/mL(代謝活性系非存在下)	変異原性なし
変異原性試験（オートラジオグラフィーによる DNA 修復試験）	ラット肝細胞	0.3~40 μg/mL	変異原性なし
変異原性試験（オートラジオグラフィーによる DNA 修復試験）	ヒト繊維芽細胞	0.4~60 μg/mL	変異原性なし
変異原性試験（*in vivo* 小核試験、SCE 試験）	CHO 骨髄細胞	173~692 μg/kg	変異原性なし
慢性毒性/発がん性試験	マウス	3、15、60、300 mg/kg/飼料（737~752 日間）	NOEL=60 mg/kg/飼料（5.35 mg/kg 体重） 生存率、臨床所見、血液学的及び尿検査への影響なし 投与を受けた個体には体重増加及び食餌摂取量の僅かな増加ならびに SGPT、SGOT、及びアルカリフォスファターゼの増加がみられたが、その用量依存性は統計学的な有意性は明白なものではあなかった ・肝重量増加 雄、1 年目：60 mg/kg/飼料では絶対的重量増加 300 mg/kg/飼料では相対的重量増加 雄、2 年目：15~300 mg/kg/飼料で絶対的・相対的重量が増加 雌、2 年目：すべての投与量で絶対的重量増加 雌、2 年目：60、300 mg/kg/飼料で相対的重量に顕著な増加 ・病理所見 雌の最高投与群においてのみ、肝酵素の血漿中濃度の増加、肝重量の増加、良性の肝癌の事例増加

試験の種類	供試動物等	投与量	結　果
2 年間慢性毒性/発がん性試験	ラット	3、15、30、100 mg/kg	NOEL＝30 mg/kg/飼料（約 1.5 mg/kg 体重/日） いずれの投与群においても生存率、臨床所見、食餌又は水の摂取量、血液学、生化学、尿検査、及び腫瘍発生率への統計学的・生物学的に有意な影響なし 52 週目では雌の高用量群においては体重増加の顕著な落ち込み、雄の高用量群では腎臓重量の低下がみられた
その他			
			ADI＝0.0015 μg/kg 体重（0.09 mg/kg ヒト） (ラット 2 世代繁殖試験でみられた F2 世代での分娩後の死亡率増加に基づき（NOEL=0.15 mg/kg 体重/日）、安全係数には 100 を用いて算出) 一方で JECFA は ADI として 0~0.003 mg/kg 体重をマウスで実施した慢性毒性試験に基づいた 15 mg/kg 飼料（約 0.27 mg/kg 体重/日に相当）と定めている。しかし CVMP はマウス慢性毒性試験に関する NOEL はそれよりも高い 60 mg/kg 飼料（5.35 mg/kg 体重/日）であると考えている MRLs（牛、羊）： 筋肉、肝臓、腎臓：100 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
BUN	Blld Urea Nitrogen	血中尿素窒素
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
C_{max}	Maximum Concentration	最高濃度
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
GLDH	Glucose Lactate Dehydrogenase	ブドウ糖-乳酸脱水素酵素
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性 に関する非臨床試験の実施基準
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
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
LD_{50}	50% Lethal Dose	半数致死量
MRL	Maximum Residue Level	最大残留基準値
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
SCE	Sister Chromatid Exchange	姉妹染色体分体交換
SGOT	Serum Glutamic-Oxalactic Transaminase	血清グルタミン酸-オキザロ酢酸アミノ基転移酵素
SGPT	Serum Glutamate Pyruvate Transaminase	血清グルタミン酸-ピルビン酸アミノ基転移酵素
t_{max}	Maximum Drug Concentration Time	最高血中濃度到達時間
UV	Ultra Violet	紫外線
WHO	World Health Organization	世界保健機関

トリクラベンダゾール　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/WC500015668.pdf

Committee for Veterinary Products, Triclabendazole, Summary Report (2), 1998

トリクラベンダゾール 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) 165
トリクラベンダゾール(原文 p.1) 165
概要報告(2)(原文 p.1) 165
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 1998) 166
略称 166

原文　目次

原文ページ

動物用医薬品委員会 ……1

トリクラベンダゾール ……1

概要報告(2) ……1

COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ……1

TRICLABENDAZOLE ……1

SUMMARY　REPORT(2) ……1

動物用医薬品委員会(原文 p.1)

トリクラベンダゾール(原文 p.1)

概要報告(2)(原文 p.1)

1. トリクラベンダゾールは理事会規則(EEC)2377/10 の要件に従って、既に科学的に評価されている。この評価に則ってとられた措置は委員会規則(EEC)895/93 に記載されている。

2. ケトトリクラベンダゾールへと酸化される可能性がある抽出可能な残留物の合計に関する次の暫定的最大残留物基準値(MRLs)が定められた。

0.15 mg/kg	筋肉、肝臓、腎臓
0.05 mg/kg	脂肪

   これらは牛及び羊に適用される。1995 年 7 月 1 日を期限とする期間が暫定的 MRLs に適用された。

3. 動物用医薬品委員会(CVMP)は毒性学的データに関する解釈が FAO/WHO 合同食品添加物専門家会議(JECFA)によるものと異なることを認識している。JECFA による報告は報告されたラットの 2 世代試験の 15 ppm 投与群(0.75 mg/kg 体重/日)の F2 世代でみられた児動物の死亡率及び低体重の増加が治療依存ではないと結論付け、またマウスの慢性毒性試験に基づき、許容一日摂取量(ADI)として 0~0.003 mg/kg 体重/日を提案した。 CVMP はこれらの影響が治療依存である可能性はまだ反証されていないと考えている。しかしながら、羊の可食組織中の総残留物に関する追加データが JECFA や CVMP にこれらの標的組織に関する MRLs の再考へと導く可能性がある事実を鑑み、第 2*節で設定された MRLs を暫定的なものとすることに作業部会も合意した。
   *原文では paragraph 5 とあったが、これは前回の報告書内(23-05TRICLABENDAZOLE.pdf)で暫定 MRL について扱っていた節である。今回の報告書で暫定 MRL の数値を扱う節は第 2 節であるため、その通り修正した。

4. CVMP による本化合物の先行の科学的評価において挙げられた問題点に取り組んだ調査書類が企業によって公表され、本案件に関連した科学的調査が現在進行中であることは明確となった。

5. 理事会規則(EEC)2377/90 の第 4 条項に則り、進行中の試験の完了を可能にするため、暫定 MRLs に適用される期限は 1997 年 7 月 1 日まで延長された。現行試験から提供されると考えられるその後の情報の提出は 1996 年 7 月 1 日より前になされるべきである。

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:EMEA 1998）

該当する試験なし

ADI:
毒性学的 ADI=0~0.0015 μg/kg 体重
(ラット 2 世代繁殖試験でみられた F2 世代での分娩後の死亡率増加に基づき （NOEL=1.5 mg/kg 体重/日）、安全係数には 100 を用いて算出)

一方で JECFA は上記の所見は投与に関連しないと見なし、マウス慢性毒性試験に基づいた毒性学的 ADI の値 0~0.003 mg/kg 体重を提案している

暫定 MRLs（JECFA と CVMP が主張している ADI のうちどちらが適切か定まっていないため）
筋肉、肝臓、腎臓：0.15 mg/kg
脂肪:0.05 mg/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
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
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
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

トリクラベンダゾール　評価書和訳と情報整理

EMEA：2006

ウェブサイト：

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Maximum_Residue_Limits_-_Report/2009/11/WC500015670.pdf

Committee for Veterinary Products, Triclabendazole (Modification of Maximum Residue Limits), Summary Report (4), 2006

トリクラベンダゾール 評価書和訳と情報整理 EMEA(2006) 目次

動物用医薬品委員会(原文 p.1) 171
トリクラベンダゾール(最大残留基準値の修正)(原文 p.1) 171
概要報告(4)(原文 p.1) 171
結論及び提言(原文 p.5) 176
トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 (評価書:EMEA 2006) 177
略称 177

原文 目次

原文ページ
動物用医薬品委員会 ……1
トリクラベンダゾール(最大残留基準値の修正) ……1
概要報告(4) ……1
結論及び提言 ……5

COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS ……1
TRICLABENDAZOLE (Modification of Maximum Residue Limits) ……1
SUMMARY REPORT(4) ……1
CONCLUSIONS AND RECOMMENDATION ……5

動物用医薬品委員会(原文 p.1)

トリクラベンダゾール(最大残留基準値の修正)(原文 p.1)

概要報告(4)(原文 p.1)

1. トリクラベンダゾールは食用動物で用いられるベンゾイミダゾール系駆虫薬であり、主に羊及び牛における肝吸虫である肝蛭(*Fasciola hepatica*)の制御に使用される。通常、羊及び牛に対してはそれぞれ 10 及び 12 mg/kg 体重での経口投与が行われ、吸虫の流行時期には 8~10 週間間隔、また急性あるいは亜急性の事例においては 5~6 週間間隔で投与される。

2. 動物用医薬品委員会(CVMP)は、トリクラベンダゾールの検討を既に行っており、0.0015 mg/kg 体重(すなわち 0.09 mg/ヒト)とした毒性学的許容一日摂取量(ADI)は、ラット 2 世代繁殖試験でみられた F2 世代での分娩後の死亡率の増加に基づき(NOEL=0.15 mg/kg 体重/日)、安全係数に 100 を用いて設定された。紫外線(UV)検出を用いた高速液体クロマトグラフィー(HPLC)に基づいた有効性が確認された分析手法が存在し、また羊及び牛の可食組織に関しても有効性は確認された。CVMP は理事会規則(EEC) No.2377/90 に従い、利用可能なデータに基づいて以下の最終的な最大残留基準値(MRLs)を提案した。

薬理学的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
トリクラベンダゾール	ケトトリクラベンダゾールへと酸化される可能性がある抽出可能な残留物の合計	牛、羊	100 µg/kg 100 µg/kg 100 µg/kg	筋肉 腎臓 肝臓	食用の乳汁を生産する動物へは使用してはならない

申請者はトリクラベンダゾールに関する MRLs の変更に関連した科学的な助言を求めた。

トリクラベンダゾールの MRLs 変更に関する申請がなされた。

申請者はバイオアベイラビリティーを決定するためのデータを提出したことにより、残留物のバイオアベイラビリティーがより少なく、組織成分への結合がより弱いことを証明した新たに提供された情報を踏まえた MRLs の修正ができる。

3. 放射能標識体を最大で 26 又は 5 mg/kg 体重を単回経口投与されたウサギとイヌにおいて、最大血漿中濃度には 8 時間目までに到達した。40 mg/kg 体重の投与を受けたイヌにおいて最大血漿中濃度には 24 時間目に到達し、そのまま 2~3 日の間維持された。ラット、イヌ、羊、ヤギ、及びウサギを用いた試験では、経口投与されたトリクラベンダゾールの大部分が糞中に排泄され、尿中への排泄は極わずかであることが示さ

れた。ラットにおいて、0.5 又は 25 mg/kg 体重で経口投与されたうち約 93%は 48 時間以内に排泄され、また 98%が 144 時間後には排泄された。その内訳は糞中へ 88~95%、尿中へ 4~10%、また組織中への残留は最大でも 1%であった。性別や用量依存性の影響はみられなかった。胆内送管されたラットにおいて、経口投与された 5 mg/kg 体重のうち 34%が 49 時間以内に胆汁中に排泄された。組織残留物はラットにおいては 6 日後、また羊及びヤギにおいては 10 日後に測定され、ほとんどの場合で 1~2%を下回った。最も高い濃度はラットの心臓と脳、また羊及びヤギの肝臓と甲状腺においてみられた。

4. 医薬品安全性に関する非臨床試験の実施基準(GLP)で実施された羊を用いた放射能分析による試験において、10 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重の投与を受けた 28 日後、投与後 7 日間にわたって尿及び糞中へ排泄された量はそれぞれ投薬量の 5%及び 77%に相当した。尿、糞、及びケージ洗液(cage washing)は合計して 7 日間の総排泄量である投薬量の 85.35%に相当した。吸収(尿中の含有量及び未回収の用量)は投与量の 19.34%に相当した(牛と同じである)。

5. 牛を用いた新たな放射能試験において、尿及び糞中排泄はそれぞれ 12 mg/kg 体重での投与の 2.2%と 76%に相当し、7 日間の総排泄は投与量の 81.49%に相当した。吸収(尿中の含有量及び未回収の用量)は投与量の 21%に相当した。

6. ラット、ウサギ、イヌ、羊、牛、ヤギ及びヒトにおける薬物動態試験では、血漿及び糞中で特定されたトリクラベンダゾールのスルホン、スルホキシド、ケトン及び 4-ヒドロキシ誘導体の代謝との定性的な類似点が示された。尿中で特定された唯一の代謝物は 2-4-ヒドロキシ誘導体であった。ラットにおいて特定された糞中の主な代謝物はスルホキシド及び 4-ヒドロキシ誘導体であった。羊及びヤギにおいて、トリクラベンダゾール及び 4-ヒドロキシ誘導体が主成分であった。経口投与後のスルホキシド及びスルホン誘導体の血漿中動態試験を様々な動物種で行ったところ、ウサギ、羊、及びヒトにおいてはスルホキシドが優位を占め、また馬、イヌ及び牛においてはスルホンが優位を占めた。ほとんどの種において薬物動態は線形性であったが、ウサギにおいては食糞によるものと考えられる線形からの逸脱がみられた。10~12 mg トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与におけるスルホキシドに関する血漿中最高濃度到達時間(t_{max})は殆どの種において約 6~12 時間であり、また牛においては 22 時間であった。スルホンに関する血漿中 t_{max} は殆どの種において約 12~30 時間であり、また牛においては 72 時間であった。

7. 牛(2 頭/時点)を用いた新たな GLP 準拠の放射分析残留消失試験が実施された。牛に 12 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重を経口投与し、組織残留物は液体シンチレーションカウンターによって定量した(定量限界＝2~7 μg/kg)。平均組織残留濃度は投与後 28 日目(唯一の時点)において肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 462、195、339、及び 63 μg/kg であった。総残留物の結果とマーカー残留消失試験のデータを比較することで、牛の組織試料(投与後 28 日目)においてルーチン分析法では総残留物のうち 33~55%を検出することができると推定された。

8. 2 件の牛を用いた非 GLP 準拠の試験が実施され、牛に 12 mg トリクラベンダゾールを経口投与し、組織残留物を UV 検出を用いた HPLC によって定量した。1 件目の試験において(2 頭/時点、検出限界＝40~60

μg/kg)、投与後から 2 日目(最初の時点)の組織残留物濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 5,870、4,300、1,420、及び 2,470 μg/kg であった。投与後 42 日目(最終時点)にはこれらの濃度はそれぞれ 80、75、100 μg/kg 及び 60 μg/kg 未満まで消失していた。2 件目の試験において(2 頭/時点、検出限界＝27~43 μg/kg)、投与後から 2 日目(最初の時点)の組織残留物濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪ではそれぞれ 3,250、3,050、875、及び 1,800 μg/kg であった。投与後 28 日目(最終時点)ではこれらの濃度はそれぞれ 52、47、23 μg/kg 及び 3 μg/kg 未満まで消失していた。

9. 1 件の非 GLP 準拠の試験がトリクラベンダゾール及びレバミゾール塩酸塩を含む併用製品を用いて実施された。ホルスタイン種未経産牛に、トリクラベンダゾール当量で 12 mg/kg 体重＋レバミゾール塩酸塩に相当する 7.5 mg/kg 体重を単回経口投与した。一群 4 頭の牛を投与後 1、21、28 日目にと殺した。筋肉、肝臓及び腎臓中の抽出可能な残留物は投与後 1 日目においてはそれぞれ 1,400、7,050、及び 5,800 μg/kg から投与後 28 日目には 142、142、及び 102 μg/kg まで消失した。脂肪中の平均残留物は投与後 1 日目では 5,800 μg/kg であったが、それ以降の時点で摂取された試料は検出限界(40 μg/kg)を下回る値であった。

10. 1 件の羊を用いた非 GLP 準拠の試験では、羊に 10 又は 15 mg トリクラベンダゾール/kg 体重を経口投与し、組織残留物は UV 検出を用いた HPLC によって定量した。この試験において(一群 2 頭、検出限界＝29 μg/kg)、投与後 2 日目(最初の時点)でのマーカー残留物濃度は肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪において、それぞれ 3,500、3,100、1,420 及び 1,350 μg/kg であった。治療後から 28 日目(最終時点)ではこれらの濃度はそれぞれ 127、115、95 μg/kg 及び 29 μg/kg 未満まで消失した。

11. 1 件の非 GLP 準拠の試験では、羊(品種及び性別は未公表)に 10 mg/kg 体重トリクラベンダゾールを単回経口投与した。一群 3 頭の羊を投与後 7、14、21、28、42、及び 56 日目にと殺した。ケトトリクラベンダゾールへ酸化される抽出可能な残留物は UV 検出を用いた HPLC によって求められた。筋肉、肝臓、及び腎臓における平均残留物は投与後 7 日目時点の 230、540 及び 290 μg/kg から投与後 28 日目には 100、76 及び 49 μg/kg まで消失した。脂肪における平均残留物は投与後 7 日目の時点では 73 μg/kg であったが、投与後 14 日目には検出限界(30 μg/kg)を下回る値であった。

12. 別件の非 GLP 準拠の試験がトリクラベンダゾールとレバミゾール塩酸塩を含む併用製品を用いて実施された。黒面雌羊(black-faced ewes)に、10 mg/kg 体重トリクラベンダゾール＋7.5 mg/kg 体重レバミゾール塩酸塩を単回経口投与した。一群 4 頭の牛が投与後 1、21 及び 28 日目にと殺された。ケトトリクラベンダゾールへ酸化される抽出可能な残留物は UV 検出を用いた HPLC によって求められた。筋肉、肝臓、及び腎臓における平均残留物は投与後 1 日目時点の 2,100、7,400、及び 6,800 μg/kg から投与後 28 日目の 150、200 及び 65 μg/kg まで消失した。脂肪における平均残留物は投与後 1 日目の時点では 10,100 μg/kg であったが、それ以降の時点で摂取された試料は検出限界(50 μg/kg)を下回る値であった。

13. 羊(一群 2 頭)を用いた新たな GLP 準拠の放射分析的残留消失試験を実施し、その試験において羊に 10 mg^{14}C-トリクラベンダゾール/kg 体重での経口投与し、組織残留物は液体シンチレーションカウンター

によって定量した（定量限界＝2~7 μg/kg）。組織残留物濃度は投与後 28 日目（唯一の時点）において肝臓、腎臓、筋肉及び脂肪においてそれぞれ 238、198、321、及び 23 μg/kg であった。総残留物の結果とマーカー残留消失試験のデータを比較することで、牛の組織試料（投与後 28 日目）においてルーチン分析法では総残留物のうち 29~53%を検出可能であると推定された。

14. 総残留物対マーカー残留物の比率を求めるための特殊試験では、先行試験の動物組織が再分析された。組織は 1 頭の去勢雄牛及び 1 頭の雄羊から採取されたものである。もともとの組織中の総 ^{14}C-残留物を最初に測定した後にメチレンクロライドへの分裂後（抽出性を決定するため）、不純物除去の後、HPLC 後に採集されたピーク画分中、ならびに以下で述べられる手法の後にそれぞれ測定された。この試験の結果、マーカー残留物として検出された総残留物の割合が牛の筋肉、肝臓、及び腎臓ではそれぞれ 46%、20%、及び 26%であり、また羊の筋肉及び肝臓ではそれぞれ 42%及び 26%であった。羊の腎臓に存在した放射能は信頼性できる定量には低すぎる値であることが分かった。

組織のアルカリ消化に続いて過酸化水素による酸化を受けると、トリクラベンダゾール及びその代謝物はケトトリクラベンダゾールへと変換された。牛を用いた 2 件の試験において、投与動物の生体から採取された放射能残留物（incurred radioactive residues）は酸化された後にケトトリクラベンダゾールへ転換されることが特定された。筋肉、肝臓及び腎臓からのトリクラベンダゾールの回収率はある試験では、それぞれ 42%、19%、及び 24%であったの対し、別の試験ではそれぞれ 32%、24%及び 27%であった。マーカー残留物は脂肪において検出されなかった。

投与後 28 日目にと殺された羊を用いた、筋肉、肝臓及び腎臓におけるバイオアベイラビリティーを求める別の試験では、求められた値はそれぞれ 5%、8%、7%であり、またマーカー対総残留物の比率は筋肉及び肝臓に関してそれぞれ 38%及び 24%であった。マーカー残留物の比率は腎臓や脂肪に関しては算出されなかった。

15. トリクラベンダゾールに関連する残留物全体の生体利用可能効率について調査するために胆管挿管ラットが用いられた。代謝物の濃度が極めて低く、またラットにおける更なる代謝によってバイオアベイラビリティーが正しく反映されないため、総残留物を用いる手法は適切であると考えられた。

1 件目の試験において、凍結乾燥された牛の筋肉は ^{14}C-トリクラベンダゾールによって強化され（約 100 μg/kg トリクラベンダゾール相当）、市販の齧歯動物類用の飼料と混ぜられて胆管挿管ラットへ混餌投与した。合計して投与量の 52~74%が屠体ならびに 48 時間尿及び胆汁試料から回収された。

2 件目の試験において、牛及び羊に、それぞれ 12 mg/kg 体重又は 10 mg/kg 体重 ^{14}C-トリクラベンダゾールを経口投与し、28 日後にと殺した。組織サンプルは凍結乾燥したのち、市販のラット飼料に混合する形（80:20 の比率）で混餌投与するか、又は胆管挿管された雄ラット群に胃管による経口投与により投与した。尿中及び胆汁中（48 時間以上）ならびに組織及びと体に残った残留物の放射能の合計として算出されたバイオアベイラビリティーは牛肝臓、腎臓及び筋肉に関してそれぞれ 8.8%、13,7%、及び 3.7%であった。

羊においてそれに当たる値は 8.15%、7.0%、及び 5.5%であった。この実験において脂肪試料は一件も評価されていない。放射能の回収率には 76 から 131%の幅があった。放射能の大半は糞中に排泄された。

別の新たに実施された類似した実験デザインを用いた放射能標識試験において、胆瘻が生成されたラット（bile fistulated rat）は味を良くするために糖蜜及びシロップと混ぜられた凍結乾燥組織を与えられた。尿、胆汁及び糞は 72 時間をかけて採集され、その全放射能の回収率は上記の試験に比べてばらつきが少なく（90.6%から 116.7%）、また排泄パターンは類似したものであった（主に糞を経由）。肝臓、腎臓及び筋肉におけるバイオアベイラビリティーはそれぞれ 17%、4%、及び 20%であった。経口及び静脈内投与を受けたラットの血中濃度曲線下面積(AUC)を用いて算出されたバイオアベイラビリティーは筋肉及び肝臓に関してそれぞれ 6%及び 10%であった。この試験において脂肪試料は調査されなかったが、消化された残留物に関して脂肪のバイオアベイラビリティーは 10%と推定された。

ラットにおける飼料中のトリクラベンダゾールのバイオアベイラビリティーは約 70%であることがわかった。

ラット、羊、ヤギ及び牛における代謝が類似していることから、毒性学的懸念がある残留物も類似すると結論付けられ、それ故 MRLs はバイオアベイラビリティーに基づいて改訂することができた。

投与動物の生体内に生じた残留物（incurred residue）のバイオアベイラビリティーはとても低く、その値は Gallo-Torres 法ならびにトリクラベンダゾールの静脈内投与後の AUC と投与動物の生体から採取された残留物（incurred residue）の経口投与後の AUC を比較する方法の両方によって求められた。

数々の抽出溶媒（厳密な方法を含む）が用いられたが、トリクラベンダゾール及び/又はその代謝物は組織に固く結合した状態で残り、強い結合を示したので（共有結合の可能性あり）、よってバイオアベイラビリティーは低い。

16. 抽出可能な残留物をアルカリ環境下で加水分解し、ケトトリクラベンダゾールへ酸化する分析法が述べられている。測定は UV 検出を用いた HPLC によるものであった。手法は ISO 形式で提示され、また羊及び牛の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪に関して十分に有効性が確認されたものであった。これらのすべての組織に関して、定量限界は 50 μg/kg であった。ヤギに関する妥当性検討データは限られたものしか提出されず、本手法はマーカー残留物量を許容できる正確及び精密さで測定できた。

17. 動物由来の食品における動物用医薬品中の残留物に関するリスク分析アプローチに関する指針書（Note for Guidance on Risk Analysis Approach for Residues of Veterinary Medicinal Products in Food of Animal Origin）(EMEA/CVMP/187/00-FINAL)を考慮にいれ、また牛及び羊における MRLs が相同であることを鑑み、牛及び羊に関する MRLs をすべての反芻動物に拡張適用することは適切であると考えられた。MRLs は同じ値の MRLs がすべての反芻動物に適用されるように外挿されるべきである。

結論及び提言（原文 p.5）

以下を考慮し、

- ADI として 0.0015 mg/kg 体重（0.09 mg/ヒト）が以前定められた
- 実験動物及び標的動物種（ラット、羊、ヤギ及び牛）におけるトリクラベンダゾールの代謝プロファイルは類似している
- 提出されたデータはトリクラベンダゾール及びその代謝物は組織に強く結合しており、よって低いバイオアベイラビリティーを示した
- 羊及び牛の筋肉、肝臓、及び腎臓組織から生体利用能があるトリクラベンダゾール残留物はそれぞれたった 20%、17%及び 4%であり、これらの値は先に設定された MRLs 値の上昇を可能にするものであった
- 脂肪、筋肉、肝臓、及び腎臓に関するマーカー対総残留物の比率はそれぞれ牛においては 0.3、0.32、0.24 及び 0.27、また羊においては 0.3、0.38、0.24 及び 0.24 であった。
- 類似した残留物の分布が羊及びヤギにおいてみられた
- 脂肪が標的組織リストに加えられた
- ケトトリクラベンダゾールへと酸化される可能性がある抽出可能な残留物のための UV 検出による HPLC に基づいた分析法は羊及び牛の筋肉、肝臓、腎臓及び脂肪組織に関して有効性が確認された
- 牛及び羊において推奨される MRLs は相同である
- 牛及び羊の可食組織におけるケトトリクラベンダゾールへと酸化される可能性がある抽出可能な残留物の定量を可能にする有効性が確認された分析法があり、これはすべての反芻動物に適用されるべきである

委員会はトリクラベンダゾールを以下の表に従って理事会規則（EEC）2377/90 の附属書 I へ盛り込むことを推奨する。

薬理学的有効成分	マーカー残留物	動物種	MRLs	標的組織	その他の条件
トリクラベンダゾール	ケトトリクラベンダゾールへ酸化される可能性がある抽出可能な残留物の合計	すべての反芻動物	225 µg/kg 100 µg/kg 250 µg/kg 150 µg/kg	筋肉 脂肪 肝臓 腎臓	食用の乳汁を生産する動物へは使用してはならない

これらの MRLs に基づき、また組織中の残留物のバイオアベイラビリティーを考慮に入れると、消費者による一日当たりの摂取量は最大で ADI の約 70%に相当する（約 63 µg/日）。

トリクラベンダゾールの毒性試験と結果の概要 （評価書:EMEA 2006）

該当する毒性試験なし

ADI:0.0015 mg/kg 体重(0.09 mg/ヒト)

MRL:すべての反芻動物に関して

筋肉　225 μg/kg

脂肪　100 μg/kg

肝臓　250 μg/kg

腎臓　150 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
AUC	Areas Under the Curve	血中濃度曲線下面積
CVMP	Committee for Medicinal Products for Veterinary Use	動物用医薬品委員会
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
GLP	Good Laboratory Practice	医薬品の安全性 に関する非臨床試験の実施基準
HPLC	High Performance Liquid Chromatography	高速液体クロマトグラフィー
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 Limit	最大残留基準値
NOEL	No Observed Effect Level	無影響量
UV	Ultraviolet	紫外線
WHO	World Health Organization	世界保健機関