

No.5 オキシクロザニド

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

調査報告書

平成25年1月

(株) 東レリサーチセンター

目 次

ページ

| | |
|-----------------------|---|
| 1. 調査の概要 | 1 |
| 2. 作業内容 | 1 |
| 2. 1 専門家の選定等 | 1 |
| 2. 2 翻訳 | 2 |
| 2. 3 評価書の情報の整理 | 3 |
| 3. 調査期間 | 3 |
| 4. 調査結果 | 3 |

1. 調査の概要

ポジティブリスト制度導入に伴い、食品安全委員会において、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が行われている。

国際的な評価機関である FAO/WHO 合同残留農薬専門家会議（以下「JMPR」という。）及び FAO/WHO 合同添加物専門家会議（以下「JECFA」という。）と最新の評価を行っている欧州食品安全機関（以下「EFSA」という。）、欧州医薬品庁（以下「EMA」という。）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、動物用医薬品及び飼料添加物（以下「農薬等」という。）のうち、JMPR、JECFA、EFSA 及び EMA の評価結果を有しているものについて、それぞれの評価書の翻訳を行うとともに必要な情報を整理し、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。

2. 作業内容

ポジティブリスト制度導入に伴い暫定基準が設定された農薬等のうち、平成24年度に要請される予定の物質のうち表1に示す物質を調査対象とし、EMAにおける評価書の翻訳を行うとともに、必要な情報の整理を行った。

表 1 調査対象の農薬等

| No. | 物質名 | 用途 |
|-----|----------|------------|
| 5 | オキシクロザニド | 動物薬・寄生虫駆除剤 |

2. 1 専門家の選定等

本調査では、5分野（①動物代謝、②植物代謝及び環境運命（土壌中、水中、土壌残留）、③毒性（一般毒性、病理、発がん性）、④生殖発生毒性、⑤遺伝毒性）の専門家に、翻訳確認のご協力を頂いた。専門家一覧を表2に示した（五十音順）。

専門家の選定は、食品安全委員会事務局担当官殿の了解のもとに実施した。

表 2 専門家一覧

| 分野 | 氏名 | 所属※ |
|--------------|-------|--|
| ② 植物代謝及び環境運命 | 上路 雅子 | 日本植物防疫協会 顧問 |
| ① 動物代謝、③ 毒性 | 宇佐見 誠 | 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 第4室長 |
| ④ 生殖発生毒性 | 江馬 眞 | (独)産業技術総合研究所 安全科学研究部門 招聘研究員 |
| ① 動物代謝 | 黒瀬 陽平 | 北里大学獣医学部 准教授 |
| ③ 毒性 | 三枝 順三 | (独)科学技術振興機構 技術参事 |

| | | |
|--------------------------|--------|---|
| ⑤ 遺伝毒性 | 下位 香代子 | 静岡県立大学 環境科学研究所 教授 |
| ① 動物代謝 | 須藤 まどか | (独)農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所 栄養素代謝研究チーム長 |
| ③ 毒性 | 高木 篤也 | 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部 室長 |
| ④ 生殖発生毒性 | 高橋 研 | (財)残留農薬研究所 毒性部 生殖毒性研究室 主任 |
| ② 植物代謝及び 環境運命 ③ 毒性 | 中田 晴彦 | 熊本大学大学院 自然科学研究科 准教授 |
| ⑤ 遺伝毒性 | 松元 郷六 | (財)残留農薬研究所 毒性部副部長 兼 遺伝毒性研究室長 |
| ② 植物代謝及び 環境運命 | 與語 靖洋 | (独)農業環境技術研究所 有機化学物質研究領域 研究コーディネータ |

(※平成 25 年 1 月現在)

2. 2 翻訳

評価書の必要部分を原文に忠実に翻訳を行った。調査対象の評価書を表 3 に示した。

翻訳に際しては「食品の安全性に関する用語集（食品安全委員会第 4 版）」等を用いて翻訳し、原文に記載の略称等は英語での正式名称、日本語訳をまとめた表を作成した。

2. 1 に示した専門家には、専門分野に係る試験方法、試験結果等（数値及び単位を含む。）の専門的な表現、記述等について翻訳文の確認を依頼した。

表 3 調査対象の評価書

| 番号 | 物質名 | 評価書タイトル | 文書番号 (物質名_発行機関_通し番号) |
|----|----------|---|-------------------------|
| 5 | オキシクロザニド | Oxyclozanide: Summary report (1) - Committee for Veterinary Medicinal Products | オキシクロザニド_EMA_01 |
| | | Oxyclozanide: Summary report (2) - Committee for Veterinary Medicinal Products | オキシクロザニド_EMA_02 |
| | | Oxyclozanide (Extrapolation to all ruminants): Summary report (3) - Committee for Veterinary Medicinal Products | オキシクロザニド_EMA_03 |

2. 3 評価書の情報の整理

評価書の次の①～③の項目について情報の整理を行った。

- ① 評価書ごとに見出しを整理し、原文の目次を作成。
- ② 翻訳の見出し部分に原文の該当ページを記載。
- ③ 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。該当する試験がない場合はその旨を記載。

3. 調査期間

平成 24 年 6 月 19 日～平成 25 年 1 月 31 日

4. 調査結果

表 1 に示した物質における評価書（表 3）について「毒性試験とその結果の概要一覧」および「評価書の翻訳文」（以下、「和訳版」）を作成した。その結果を物質ごとに整理して、調査報告書にまとめた。

以上

添 付 資 料

評価書 (受領文書番号) : 3 報

- オキシクロザニド _EMA_01
- オキシクロザニド _EMA_02
- オキシクロザニド _EMA_03

オキシクロザニドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書：EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS
OXYCLOZANIDE SUMMARY REPORT (1))

| 試験種類 | 供試動物等 | 投与量 (投与期間等) | 結果 | 和訳版 (ページ) | 原文 (ページ) |
|---------------|-------------|--|---|--------------|-------------|
| 急性毒性 | ラット | | LD50： 3519 mg/kg体重 | 1 | 2 |
| 亜急性毒性 | ラット | 0、0.45、9、44.5 mg/kg 体重/日 (3ヶ月) | NOEL： 9 mg/kg体重 高用量群の雄で肝臓の可逆性の脂肪蓄積と重量低下。雌で脳細胞（髄質）の空胞化と血漿総タンパク質量の減少。雄雌で脾臓と副腎の重量増加。 | 1 | 2 |
| 亜急性毒性 | イヌ | 0.5、5、25 mg/kg 体重/日 (3ヶ月) | NOEL： 5 mg/kg体重 高用量の雄雌全例の脳橋部に脳細胞の空胞化。高用量群の雌はアルカリホスファターゼが増加。 | 1 | 2 |
| 生殖毒性：二世世代繁殖試験 | ラット | 0、100、400、1200 mg/kg飼料（雄では0、6、25、75mg/kg体重/日、雌では0、9、35、100 mg/kg体重/日に相当） | NOEL： 25 mg/kg体重/日 高投与量では、投与に関連すると考えられるわずかなF1児数の減少が見られた。雄の25 mg/kg体重/日、雌の35 mg/kg体重/日までの投与量では、受胎能力と出生前及び出生後の児発育には投与の影響は観察されなかった。 | 2 | 2 |
| 催奇形成試験 | ラット | 0、5、100、200mg/kg体重/日 | 最高投与量まで、胎児毒性及び催奇形性はみられなかった。 | 2 | 2 |
| 催奇形成試験 | ウサギ | 0、16、32、64 mg/kg体重/日 | 催奇形性と胎児毒性に関するNOEL： 32 mg/kg体重/日 64 mg/kg体重/日で、催奇形性（随伴性水頭症をもつ頭蓋骨癒合、頭蓋骨及び椎骨の骨化不全、少数例の臍帯ヘルニアを特徴とする症候群）及び胎児毒性（マイナーな骨格異常の発現増加）。 | 2 | 2 |
| 遺伝毒性：突然変異試験 | ネズミチフス菌 | 10～100 μ g/プレート | 突然変異誘発の兆候は認められなかった。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性：突然変異試験 | ネズミチフス菌と大腸菌 | 10～100 μ g/プレート | 突然変異誘発の兆候は認められなかった。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性：細胞遺伝学的試験 | マウスリンパ腫細胞 | 62.5 μ g/ml以下 (代謝活性化系の存在下と非存在下) | 最高濃度で陽性。 3回繰り返した実験のうちの1回で、細胞毒性のない濃度（30～50 μ g/ml）で陽性。 | 2 | 3 |

| 試験種類 | 供試動物等 | 投与量 (投与期間等) | 結果 | 和訳版 (ページ) | 原文 (ページ) |
|---|----------|---------------------------------------|--|--------------|-------------|
| 遺伝毒性：細胞遺伝学的試験 | ヒトリンパ腫細胞 | 250 μ g/ml以下 (代謝活性化系の存在下と非存在下) | 3名のドナーのうち1名の細胞で、250 μ g/mlで、毒性学上有意性は疑わしいが、染色体異常誘発性を示した。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> マウス 経口投与小核試験 | マウス | 最大用量256.5 mg/kg体重 | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> マウス 経口投与小核試験 | マウス | 最大用量1200 mg/kg体重 | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> ラット 肝臓不定期 DNA合成試験 | ラット | 632.5、2000 mg/kg 体重 (単回経口 投与) | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性 | | | 上記の遺伝毒性に関する全データ一式で、オキシクロザニドの変異原性はないと結論。 | 2 | 3 |
| ADI | ヒト | | ADI：0.03 mg/kg体重、1.8 mg/ヒトに相当。 各種試験から得られたオキシクロザニドのNOELのうち最小値はイヌの90日試験の5 mg/kg体重/日であった。このNOELと対象動物に副作用を惹起する治療用量の差が少ないため、安全係数を200とした。 | 3 | 3 |

動物医薬品委員会

オキシクロザニド

サマリーレポート (1)

1. オキシクロザニドはウシ、ヒツジ、ヤギの肝蛭症の治療と制御に使用されるサルチルアニリド駆虫剤である。オキシクロザニドのみ又はレバミソール塩酸塩またはオックスフェンダゾールと組み合わせて、経口投薬の飲薬又は粉末で混餌投与される。推奨用量は、ウシは 10~15 mg オキシクロザニド/kg 体重、ヒツジとヤギは 15 mg オキシクロザニド/kg 体重である。ヒツジの乳とヤギの組織と乳への施用は除外するように修正された。オキシクロザニドは人間医療には使用されない。
2. オキシクロザニドの作用機序は吸虫の酸化的磷酸反応の脱共役である。二次的な薬力学的効果についてはデータ入手可能でなかった。
3. 実験動物の正式な薬物動態学的研究は入手可能でなかった。ラットの 90 日反復経口投与毒性試験(用量: 0、0.45、9、44.5 mg/kg 体重/日で混餌投与) の 6 週目と 12 週目に血漿濃度が測定された(時点、性別ごとに各 1 匹)。6 週目と 12 週目の最大血漿濃度は: 1.3~3.9 と 1.0~3.7 µg/ml (低投与量)、5.4~7.0 と 8.0~15.0 µg/ml (中投与量)、22~30 と 43~65 µg/ml (高投与量) であった。中投与量から集められた限られたデータから、血漿半減期は 14 時間及び 10 時間と算出された。イヌの 90 日経口投与試験(用量: 0.5、5、25 mg/kg 体重/日) では、6 週目と 12 週目の最大血漿濃度(投与量ごと、性別ごとに各 1 匹又は 2 匹)は: 2.9~7.5 と 0.1~2.5 µg/ml (低投与量)、2.9~6.8 と 2.0~6.0 µg/ml (中投与量)、8.2~23 と 1.7~12 µg/ml (高投与量) であった。限られたデータから、6 週目と 12 週目の血漿半減期は 16~20 時間と 7 時間 (5 mg/kg 体重)、5~13 時間と 7~9 時間 (25 mg/kg 体重) と算出された。
4. 雄イヌ 1 匹と雌イヌ 1 匹に ¹⁴C-オキシクロザニド 25 mg/kg 体重/日を 7 日間経口投与し、初回の投与から最後の投与の 24 時間後まで測定した結果、投与量の 68~73%が糞便中に排出され、1.2~1.9%が尿中に排出された。最終投与から 24 時間後、胆汁は 1731~2307 µg 等量/g、肝臓は 20.95~22.59 µg 等量/g、腎臓は 6.517~6.675 µg 等量/g を含有していた。総バイオアベイラビリティは測定されなかった。投与後 24 時間後の肝臓中残留物にはわずかな親化合物(約 2~4%)と未同定の代謝物が含まれていた。尿中の同定された成分は、スルホン代謝物、2 種類のグルクロニドそして親化合物だった。糞便中の同定可能な成分は親化合物だけだった。スルホン代謝物を除く同じ代謝物が、ヒツジの尿及び糞便中でも同定された。*in vitro* の実験で、オキシクロザニドはイヌとヒツジの肝ミクロソーム懸濁液ではほとんど又は全く代謝されず、ウシの肝ミクロソーム懸濁液でのみ若干代謝された。
5. 雌ラットの経口 LD₅₀ は 3519 mg/kg 体重であった。急性毒性の症状は、鼻口部の染血 (blood staining of muzzle)、蒼白 (pallor)、下痢 (diarrhoea)、呼吸促迫 (increased respiration)、傾眠 (lethargy)、会陰部の糞便や尿汚染 (faecal and urine staining of perineum) であった。剖検時に、いくつかの臓器のうっ血、肝毒性の兆候(脂肪化、小葉構造の明瞭化)と液体が充満して膨化した子宮が見られた。ラット、ネズミ、ウサギの経口 LD₅₀ 値は 310 mg/kg 体重から 2000 mg/kg 体重以上までと幅があるが、報告書原本が入手できないため評価することができなかった。
6. ラットの 3 ヶ月の混餌経口投与毒性試験 (0、0.45、9、44.5 mg/kg 体重/日) では、高用量群の雄で肝臓の可逆性の脂肪蓄積と重量低下を、雌で脳細胞(髄質)の空胞化と血漿総タンパク質量の減少

を、また雄雌で脾臓と副腎の重量増加を認めた。イヌの3ヶ月の経口投与毒性試験（0、0.5、5、25 mg/kg 体重/日）では、高用量の雄雌全例の脳橋部に脳細胞の空胞化を認めた。同様の変化はこの用量を投与し回復性を観察したグループの数例の雌雄でも見られた。高用量群の雌はアルカリホスファターゼが増加した。これらデータから最高用量のオキシクロザニド投与は肝臓と脳に毒作用があると結論された。それぞれの試験から、ラットのNOELは9 mg/kg 体重、イヌのNOELは5 mg/kg 体重と考えられた。

7. ウシとヒツジの耐性データから比較的低用量（15 mg/kg 体重）の単回投与でも中枢神経と腸機能（沈鬱行動、下痢、食欲不振）に悪影響をおよぼすことが分っている。これよりも高用量では毒性症状は増悪し、50 mg/kg 体重以上で死亡も発生した。これら副作用は本剤の薬理動態的作用によると推測された。
8. 投与量0、100、400、1200 mg/kg 飼料（雄では0、6、25、75 mg/kg 体重/日、雌では0、9、35、100 mg/kg 体重/日に相当）を与えたラットの二世繁殖試験が行われた。最高投与量では雄F₀の体重増加がわずかに抑制され、剖検時には有意に低い体重が観察された。雌F₀及び雌F₁では、脳の空胞化がみられた雌数は高投与量群で対照群に比べて多かった。脳の組織学的検査は低及び中投与量群では行われなかった。組織病理学的検査は高投与量群及び対照群でしか実施しなかったために、親の脳毒性のNOELは設定できなかった。高投与量では、投与に関連すると考えられるわずかなF₁児数の減少が見られた。雄の25 mg/kg 体重/日、雌の35 mg/kg 体重/日までの投与量では、受胎能力と出生前及び出生後の児発育には投与の影響は観察されなかった。一世代用量設定試験では、親動物の体重及び摂餌量の減少、児動物の体重及び生存率の低下がオキシクロザニド80~160 mg/kg 体重/日の投与量でみられた。生殖期間の数段階で推奨治療量を投与した動物では、胎児毒性、催奇形性及び繁殖への影響はみられなかった。生殖毒性のNOELは25 mg/kg 体重/日であった。
9. 0、5、100、200 mg/kg 体重/日の投与量を用いたラットの催奇形性試験では、胎児毒性及び催奇形性は最高投与量までみられなかった。中投与量と高投与量では、母体毒性（軟便）がみられた。ウサギの催奇形性試験（0、16、32、64 mg/kg 体重/日）では、催奇形性（随伴性水頭症をもつ頭蓋骨癒合（fused cranial bones with associated hydrocephaly）、頭蓋骨及び椎骨の骨化不全（incomplete cranial ossification and vertebral aberrations）、少数例の臍帯ヘルニア（umbilical hernia）を特徴とする症候群）及び胎児毒性（マイナーな骨格異常の発現増加）が最高投与量で観察された。中投与量と高投与量では母体毒性（糞便の異常、摂餌量及び成長の低下）がみられた。ウサギの試験結果に基づき、催奇形性と胎児毒性に関するNOELは32 mg/kg 体重/日であった。
10. 代謝活性化系の存在下と非存在下で細菌による2つの突然変異試験（1つはネズミチフス菌のみ、もう1つはネズミチフス菌と大腸菌）が実施されたところ、試験された10~100 µg/プレートの内、最大濃度を含む全ての濃度で突然変異誘発の兆候は認められなかった。代謝活性化系の存在下と非存在下における濃度62.5 µg/ml以下のマウスリンパ腫試験では、細胞毒性を示した最も高い濃度で陽性だった。3回繰り返した実験のうち1回で、細胞毒性のない濃度（30~50 µg/ml）で被験物質処理に関連した陽性反応が見られた。代謝活性化系の存在下と非存在下で250 µg/ml以下の濃度で行われた培養ヒトリンパ細胞の細胞遺伝学的試験では、3名のドナーのうち1名の細胞で、細胞毒性を示した濃度の250 µg/mlで、毒性学上有意性は疑わしいが、染色体異常誘発性を示した（統計学的に有意差はあるが過去の陰性対照の範囲の上限値を若干上回るかそれに近い値であった）。

最大用量256.5 mg/kg 体重と最大用量1200 mg/kg 体重による2つのマウス経口投与小核試験と、0、632.5、2000 mg/kg 体重を単回経口投与した *in vivo* ラット肝臓不定期DNA合成試験の結果は、陰性であった。微生物試験と3つの独立した *in vivo* の哺乳類試験は陰性であったことと、2種類の *in vitro* の哺乳類試験で見られた陽性結果の有意性が毒性学的に疑わしいことから、全データ一式で、オキシクロザニドの変異原性はないと結論された。

11. 発がん性試験は実施されていない。オキシクロザニドは変異原性がなく、また既知発がん物質と構

造的な相関性がないので、発がん性関連データは必要とされなかった。

12. 免疫毒性についての特定のデータは提供されなかった。
13. オキシクロザニドは *Bacillus stearothermophilus* を用いた試験で、乳汁中濃度が 1 mg/kg 以上で抗菌作用を有すると考えられ、5 及び 8 mg/kg では明確に抑制作用を示した。*Streptococcus thermophilus* を用いた試験では乳汁中濃度が 128 mg/kg 以下では抗菌活性は見られなかった。これらの濃度は乳汁中の最大残留量よりもはるかに高い濃度であるので、報告された作用は懸念されるような問題とみなされなかった。
14. オキシクロザニドはヒトには使用されないため、ヒトへの作用の情報は入手することが出来なかった。
15. ADI 算出のための各種試験から得られたオキシクロザニドの NOEL のうち最小値はイヌの 90 日試験の 5 mg/kg 体重/日であった。この NOEL と対象動物に副作用を惹起する治療用量の差が少ないため、安全係数を 200 とした。これにより、ADI は 0.03 mg/kg 体重となり、1.8 mg/ヒトに相当する。
16. ウシへの市販製剤の経口投与後（用量 12.5 mg オキシクロザニド/kg 体重）、親化合物の血漿 C_{max} は 25 時間の時点で約 14~17 mg/l であった。 $t_{1/2}$ は約 21 時間であった。
17. ヒツジへの市販製剤の投与後（用量 12.5 mg オキシクロザニド/kg 体重）、血漿中の親化合物は平均 t_{max} 約 22 時間で、 C_{max} 約 25~29 mg/L に達した。オキシクロザニドのみを含有する飲薬製剤の曲線下面積(AUC)値は 880 mg hour/L、オキシフェンダゾールとオキシクロザニドを混ぜた飲薬製剤では 1007 mg hour/L であった。オキシクロザニドのみを含有する飲薬のヒツジにおける $t_{1/2}$ は、21.3 時間で、オキシフェンダゾールも配合された飲薬では 26.0 時間であった。15 mg のオキシクロザニド/kg 体重投与後のヒツジにおける血漿濃度に適合する三次指数関係的な血漿の薬物動態モデルは、 C_{max} 19.0 mg/l、AUC 1224 mg hour/l、 $t_{1/2\alpha}$ 7 時間、 $t_{1/2\beta}$ 14 時間、 $t_{1/2}$ 154 時間を示した。10~50 mg/l の濃度で 99%が血漿タンパク質と結合していた。
18. ^{14}C -オキシクロザニド 15 mg/kg 体重を単回経口投与した 4 頭の泌乳牛の平均の最高血漿濃度は、投与後 24 時間での 26 μ g 等量/ml であった。排泄半減期は約 24 時間だった。投与後 5 日間で投与量の 84%が糞便に、7.5%が尿中に排泄され、0.07%未満が乳中に排泄された。これらの動物における乳中の ^{14}C -残留物の個別濃度の最高値は 0.153 mg/kg で、投与後 2 回目の搾乳で見られ、対応する親化合物の濃度は 12.5 μ g 等量/l だった。ほとんどのサンプルで親化合物は検出されなかった。9 頭の未経産牛に ^{14}C -オキシクロザニドを 13.3~14.6 mg/kg 体重で単回経口投与の 24 時間後、最高血漿濃度 38 μ g 等量/ml が見られた。血液全体における全放射能と親化合物の排泄半減期は 26 時間及び 15 時間であった。尿中に回収されたのは 3 日間で用量の 10%未満であった（最初の 24 時間で 4%）。胆汁中の放射性活性化合物の合計濃度は、投与後 1 日、7 日、14 日で、600~1624 μ g 等量/g、2.63~5.19 μ g 等量/g、0.32~0.68 μ g 等量/g であった。尿中排泄産物のほとんどが 2 種類又は 3 種類の O-グルクロニドからなるということが明らかになった。
19. 市販の飲薬製剤として ^{14}C -オキシクロザニド 15 mg/kg 体重をヒツジに投与する放射線標識試験が行われた。血漿中放射能の最高値は投与 8 時間後に認められ、10~20 μ g 等量/mL であった（時点当たり 2 匹、測定時点は 2、4、8、24 時間）。投与 8 日後、血漿濃度は 0.12 から 0.15 μ g 等量/ml へ減少した。投与後 14 日間で 67~75%の摂取放射能が糞便中に回収され、11~22%が尿中に回収された。ほとんどの放射能が投与後最初の 2 日間で排泄された。4、7、14、21 日の休薬期間後に屠殺したヒツジ（各日 4 頭）の胆汁中の平均濃度は、4.79、0.11、0.08、0.17 μ g 等量/g であった。ヒツジ糞便中への排泄産物は主に親化合物で構成されていた。ヒツジの尿中にはオキシクロザニド以外に 2 種類のグルクロニド抱合体が同定された。糞便及び尿中におけるその他の代謝産物は、これらは排泄中に回収された総放射能のごく一部（10%未満）にすぎなかった。*In vitro* ではヒツジの肝臓のミクロソームはオキシクロザニドをほとんど代謝しないか、全く代謝しなかった。組織残留物について

は、2種類の溶媒系（1つは親化合物を回収するもので、もう1つは最初の系で見出された広い極性範囲を分離するもの）を用い、4、7、14、21日目で屠殺したヒツジの肝臓の残留抽出物と、投与後4日目で屠殺したヒツジの腎臓、筋肉と脂肪組織の残留抽出物のラジオ-HPLC プロファイルを作って検査した。放射活性のいくつかのピークと拡散域が見られた。これらの分画に存在する代謝物を同定する試みはされなかった。この方法で、肝臓抽出物で親化合物と同時に溶出する物質の割合は4日目の約18~21%から、7、14、21日目の2~4%に下降した。腎臓、筋肉、脂肪組織抽出物におけるこの物質の割合は、4日目で、それぞれ3~8%、18~22%、24~44%であった。

20. 未経産牛に¹⁴C-オキシクロザニド 13.3~14.6 mg/kg 体重を単回経口投与した後（屠殺時点ごと各3頭）、休薬期間1日、7日、14日での総残留物濃度はそれぞれ、肝臓で21600~27600、4700~8200、1700~4100 µg 等量/kg、腎臓で8500~9500、300以下、300 µg 等量/kg 以下、筋肉で1300~1700、100以下、150~100 µg 等量/kg 以下であった。脂肪組織では、残留物は確実に測定されなかったが、濃度は筋肉組織の濃度よりも若干高いようであった。24時間での親化合物/総¹⁴C-残留物の比率は肝臓で45~61%、腎臓で50~60%、筋肉で68~89%の範囲であった。1つの脂肪検体からは110%という割合が報告されたが、他の脂肪検体からはまったく測定されなかった。肝臓の比率のみが7日及び14日で測定され（他の組織の残留物の濃度は極めて低値だった）、7日で1.1%（3頭全て）で、14日は1.1~1.5%（2頭：3頭目の比率は測定できなかった）であった。

更に、2つの泌乳期乳牛グループに9~10 mgの¹⁴C-オキシクロザニドを単回経口投与し、4日後と7日で屠殺し、残留物の消失と組成が調べられた。4日目の総残留物濃度は、肝臓で2961~7989 µg 等量/kg（平均値6035）、腎臓で223~989 µg 等量/kg（平均値631）、筋肉で20~152 µg 等量/kg（平均値84）、脂肪で98~316 µg 等量/kg（平均値213）であった。7日目の総残留物濃度は肝臓で3426~6972 µg 等量/kg（平均値5198）、腎臓で88~203 µg 等量/kg（平均値159）、筋肉で13以下~24 µg 等量/kg、脂肪で46以下~163 µg 等量/kgであった。4日目で、LC-MS法により肝臓、腎臓、筋肉、脂肪で測定された標識残留物の濃度は（検出限界2 µg/kg、定量限界5 µg/kg）、それぞれ139~569 µg/kg（平均値400）、44~164 µg/kg（平均値97）、2以下~49 µg/kg、5~57 µg/kg（平均値33）であった。7日目の濃度は、肝臓が2~10 µg/kg、腎臓が2以下~6 µg/kg、筋肉が2以下~8 µg/kg、脂肪が2 µg/kg 以下であった。4日目の標識残留物の総残留物に対する比率は肝臓、腎臓、筋肉、脂肪でそれぞれ6、17、31、14%であった。7日目の標識残留物の比率は、標識残留物が全ての組織で低く、筋肉と脂肪の合計残留物が低かったため確実に決定できなかった。ラジオ-HPLCクロマトグラムでは、親化合物は広く代謝され、全残留物のごく一部（を占める）にすぎない。

代謝物は同定されなかった。グルクロニダーゼ処理した肝臓の検体のラジオクロマトグラムは全く変化がなかった。乳中の総残留物が最大の濃度になるのは、投与後3回目と4回目の搾乳時で、30~80 µg 等量/kgの範囲であった。3回目の搾乳時の標識残留物の濃度は、8頭のうち5頭は検出限界（2 µg/kg）を下回り、残り3頭では3~5 µg/kg（すなわち、定量限界値かそれ以下）であった。この搾乳時の標識残留物の比率は2.5以下~9%であった（が、ほとんどの検体で標識残留物が定量限界以下のため信頼できない）。

21. 市販製剤の飲薬として¹⁴C-オキシクロザニド 15 mg/kg 体重をヒツジに単回投与した。投与後、4、7、14、21日の各時点で4頭のヒツジを屠殺した。4日目では、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪の放射能濃度はそれぞれ4377、337、54、74 µg 等量/kgであった。肝臓と腎臓では、7日目は2125と89 µg 等量/kg、14日目では1538と53 µg 等量/kg、21日目では1221と60 µg 等量/kgであった。筋肉の濃度は7日目と14日目で14以下~17 µg 等量/kgの範囲であり、21日目で14 µg 等量/kg 以下であった。脂肪の濃度は7日目、14日目、21日目でそれぞれ14以下~31、14以下~16、14 µg 等量/kg 以下の範囲であった。親化合物（すなわち、標識残留物）の濃度はHPLC-MS法（肝臓と腎臓）又はHPLC-UV法（筋肉と脂肪）で測定された。4日目は肝臓で315~1611 µg/kg（平均値775）、腎臓で33以下~102 µg/kg、筋肉で25以下~25 µg/kg、脂肪で25以下~39 µg/kgであった。7日間休薬で、オキシクロザニドは肝臓の4検体のうち1検体から検出されたのみで（濃度39 µg/kg）、肝臓では14日と21日で、その他の組織では7日でのこの分析手法による定量限界以下（50 µg/kg）で

あった。標識残留物の総残留物に対する比率は4日間休薬の肝臓では10～33%（平均18%）、腎臓では23～26%（2頭のみ残留物濃度が定量限界を上回った）であった。残りの2頭の腎臓と4頭全ての筋肉と脂肪の標識残留物について意味のある比率を計算するには、標識残留物の濃度は低値すぎた（定量限界以下）。

22. 子ウシにオキシクロザニド 10 及び 15 mg を投与した 2 件の残留物消失試験では、7 日の休薬期間後に屠殺した個体で、肝臓の親化合物濃度が腎臓、筋肉、脂肪組織と比較して若干高かった。しかし、濃度は概して測定方法（HPLC-UV）の定量限界（50 µg/kg）を下回った。15 mg/kg 体重が投与され、7 日で屠殺した子ウシのうち 3 頭のみ（試験された 4 頭のうち）肝臓で 51～71 µg/kg の濃度（定量限界を若干上回る）であった。この時点で、肝臓には有意な量のグルクロニドは見られなかった。10 mg/kg のオキシクロザニドを投与し、2 日後に屠殺した残りの反芻子ウシ 2 頭のプールされた肝臓では、脱グルクロニド化の後、オキシクロザニド濃度が 1730～2220 µg/kg に上昇し、これはグルクロニドの存在を示唆している。
23. 市販製剤を用いたヒツジにおける組織残留物試験（単回経口投与 15 mg/kg 体重）では、投与後 7 日と 21 日での食用組織の親化合物濃度（と、7 日目の食用組織のグルクロニド濃度）は HPLC-UV 法の定量限界（50 µg/kg）を下回った。
24. 入手可能な、オキシクロザニド 5.4～12.6mg/kg 体重でウシに行った 4 種類の乳中残留物試験では、乳中の親化合物濃度は定量限界（50 µg/kg）以下のものばかりであった。乳中に有意な量のグルクロニドは見られなかった。
25. ウシとヒツジの組織とウシの乳の残留物のルーチン測定法として逆相 HPLC-MS 法が提案された。それらは ISO 78/2 形式で記載されている。報告された検出限界は、ウシの組織及び乳、ヒツジの腎臓、筋肉、脂肪で 2 µg/kg、ヒツジの肝臓で 5 µg/kg であったが、これらを支持するには実験データが不十分である。報告された定量限界は、ウシの組織及び乳、ヒツジの腎臓、筋肉、脂肪で 5 µg/kg、ヒツジの肝臓で 50 µg/kg であったが、精度の試験が不適切であるためまだ受け入れられていない。

結論と勧告:(原文、7 ページ)

以下を考慮した結果：

- 毒性学的 ADI はオキシクロザニド 0.03 mg/kg 体重/日、1.8 mg/60 kg 体重/日相当、と設定された。
- MRL は、投与後 4 日のウシおよびヒツジの食用組織中の濃度と、投与後初日のウシの乳中濃度から導かれた。標識残留物と総残留物の比率はおよそ：ウシの肝臓で 6%、ウシおよびヒツジの腎臓とヒツジの肝臓で 17～19%、ウシおよびヒツジの筋肉と脂肪組織で 14～43%、ウシの乳で 2% となった。
- オキシクロザニドの残留物をモニタリングする解析法は入手できるが、その解析法は完全に検証されていない。

欧州委員会は下記の表に従い、ウシおよびヒツジの組織とウシの乳についてオキシクロザニドを委員会規則 No 2377/90 (EEC) の付録 III に含めることを勧告する。

| 薬理的活性物質 | 標識残留物 | 動物種 | MRL | 標的細胞 | その他条件 |
|----------|----------|-----|--|---------------------------|---------------------------------|
| オキシクロザニド | オキシクロザニド | ウシ | 20 µg/kg 20 µg/kg 500 µg/kg 100 µg/kg 10 µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳 | 暫定 MRLs の期限 200 年 7 月 1 日 |
| | | ヒツジ | 20 µg/kg 20 µg/kg 500 µg/kg 100 µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 | |

これらの MRL に基づき、ウシとヒツジの組織とウシの乳から消費者が摂取する残留物は、ADI のほぼ 100% とする。

質問リスト(原文、8 ページ)

1. 申請者は、ウシの組織および乳、ヒツジの組織について、精度、直線性、検出限界に関する追加の検証データを提出しなければならない。

原文目次

| | |
|-------------------------------------|---|
| SUMMARY REPORT (1) | 1 |
| Conclusions and recommendation..... | 6 |
| LIST OF QUESTIONS | 7 |

略称等

| 略称等 | 正式名称（英語） | 日本語訳 |
|---------|---|-------------------------------|
| ADI | Acceptable Daily Intake | 一日摂取許容量 |
| AUC | area under the curve | 曲線下面積 |
| HPLC-MS | High Performance Liquid Chromatography -Mass Spectrometry | 高速液体クロマトグラフィー質量分析法 |
| HPLC-UV | High Performance Liquid Chromatography -Ultra Violet | 高速液体クロマトグラフィー紫外吸光検出法 |
| LC-MS | Liquid Chromatography-Mass Spectrometry | 高速液体クロマトグラフィー-サーモスプレイオン化質量分析法 |
| MRL | Maximum residue level | 残留基準 |
| NOEL | No Observed Effect Level | 無影響量 |

オキシクロザニドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書：EMA, COMMITTEE FOR VETERINARY MEDICINAL PRODUCTS
OXYCLOZANIDE SUMMARY REPORT (2))

| 試験種類 | 供試動物等 | 投与量 (投与期間等) | 結果 | 和訳版 (ページ) | 原文 (ページ) |
|---------------|-------------|--|---|--------------|-------------|
| 急性毒性 | ラット | | LD50： 3519 mg/kg体重 | 1 | 2 |
| 亜急性毒性 | ラット | 0、0.45、9、44.5 mg/kg 体重/日 (3ヶ月) | NOEL： 9 mg/kg体重 高用量群の雄で肝臓の可逆性の脂肪蓄積と重量低下。雌で脳細胞(髄質)の空胞化と血漿総タンパク質量の減少。雄雌で脾臓と副腎の重量増加。 | 1 | 2 |
| 亜急性毒性 | イヌ | 0.5、5、25 mg/kg 体重/日 (3ヶ月) | NOEL： 5 mg/kg体重 高用量の雄雌全例の脳橋部に脳細胞の空胞化。高用量群の雌はアルカリホスファターゼが増加。 | 1 | 2 |
| 生殖毒性：二世世代繁殖試験 | ラット | 0、100、400、1200 mg/kg飼料(雄では0、6、25、75mg/kg体重/日、雌では0、9、35、100 mg/kg体重/日に相当) | NOEL： 25 mg/kg体重/日 高投与量では、投与に関連すると考えられるわずかなF1児数の減少が見られた。雄の25 mg/kg体重/日、雌の35 mg/kg体重/日までの投与量では、受胎能力と出生前及び出生後の児発育には投与の影響は観察されなかった。 | 2 | 2 |
| 催奇形成試験 | ラット | 0、5、100、200mg/kg体重/日 | 最高投与量まで、胎児毒性及び催奇形性はみられなかった。 | 2 | 2 |
| 催奇形成試験 | ウサギ | 0、16、32、64 mg/kg体重/日 | 催奇形性と胎児毒性に関するNOEL： 32 mg/kg体重/日 64 mg/kg体重/日で、催奇形性(随伴性水頭症をもつ頭蓋骨癒合、頭蓋骨及び椎骨の骨化不全、少数例の臍帯ヘルニアを特徴とする症候群)及び胎児毒性(マイナーな骨格異常の発現増加)。 | 2 | 2 |
| 遺伝毒性：突然変異試験 | ネズミチフス菌 | 10~100 μ g/プレート | 突然変異誘発の兆候は認められなかった。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性：突然変異試験 | ネズミチフス菌と大腸菌 | 10~100 μ g/プレート | 突然変異誘発の兆候は認められなかった。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性：細胞遺伝学的試験 | マウスリンパ腫細胞 | 62.5 μ g/ml以下(代謝活性化系の存在下と非存在下) | 最高濃度で陽性。 3回繰り返した実験のうちの1回で、細胞毒性のない濃度(30~50 μ g/ml)で陽性。 | 2 | 3 |

| 試験種類 | 供試動物等 | 投与量 (投与期間等) | 結果 | 和訳版 (ページ) | 原文 (ページ) |
|---|----------|---------------------------------------|--|--------------|-------------|
| 遺伝毒性：細胞遺伝学的試験 | ヒトリンパ腫細胞 | 250 μ g/ml以下 (代謝活性化系の存在下と非存在下) | 3名のドナーのうち1名の細胞で、250 μ g/mlで、毒性学上有意性は疑わしいが、染色体異常誘発性を示した。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> マウス 経口投与小核試験 | マウス | 最大用量256.5 mg/kg体重 | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> マウス 経口投与小核試験 | マウス | 最大用量1200 mg/kg体重 | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> ラット 肝臓不定期 DNA合成試験 | ラット | 632.5、2000 mg/kg 体重 (単回経口 投与) | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性 | | | 上記の遺伝毒性に関する全データ一式で、オキシクロザニドの変異原性はないと結論。 | 2 | 3 |
| ADI | ヒト | | ADI：0.03 mg/kg体重、1.8 mg/ヒトに相当。 各種試験から得られたオキシクロザニドのNOELのうち最小値はイヌの90日試験の5 mg/kg体重/日であった。このNOELと対象動物に副作用を惹起する治療用量の差が少ないため、安全係数を200とした。 | 3 | 3 |

動物医薬品委員会

オキシクロザニド

サマリーレポート (2)

1. オキシクロザニド(CAS no.2277-92-1)はウシ、ヒツジ、ヤギの肝蛭症の治療と制御に使用されるサルチルアニリド駆虫剤である。オキシクロザニドのみ又はレバミソール塩酸塩またはオックスフェンダゾールと組み合わせて、経口投薬の飲薬又は粉末で混餌投与される。推奨用量は、ウシは 10~15mg オキシクロザニド/kg 体重、ヒツジとヤギは 15mg オキシクロザニド/kg 体重である。ヒツジの乳とヤギの組織と乳への施用は除外するように修正された。オキシクロザニドは人間医療には使用されない。

現在、オキシクロザニドは下記の表に従い委員会規則(EEC) no.2377/90 の付録 III に記載されている。

| 薬理的活性物質 | 標識残留物 | 動物種 | MRL | 標的細胞 | その他条件 |
|----------|----------|-----|---|---------------------------|---------------------------|
| オキシクロザニド | オキシクロザニド | ウシ | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg 10µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳 | 暫定 MRL の期限 2002 年 7 月 1 日 |
| | | ヒツジ | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 | |

オキシクロザニドの暫定 MRL の確証のため、質問リストに応じる為の追加データが提供された。

2. オキシクロザニドの作用機序は吸虫の酸化的燐酸反応の脱共役である。二次的な薬力学的効果についてはデータ入手可能でなかった。
3. 実験動物の正式な薬物動態学的研究は入手可能でなかった。ラットの 90 日反復経口投与毒性試験(用量: 0、0.45、9、44.5mg/kg 体重/日で混餌投与)の 6 週目と 12 週目に血漿濃度が測定された(時点、性別ごとに各 1 匹)。6 週目と 12 週目の最大血漿濃度は:1.3~3.9 と 1.0~3.7µg/ml (低投与量)、5.4~7.0 と 8.0~15.0µg/ml (中投与量)、22~30 と 43~65µg/ml (高投与量)であった。中投与量から集められた限られたデータから、血漿半減期は 14 時間及び 10 時間と算出された。イヌの 90 日経口投与試験(用量:0.5、5、25mg/kg 体重/日)では、6 週目と 12 週目の最大血漿濃度(投与量ごと、性別ごとに各 1 匹あるいは 2 匹)は:2.9~7.5 と 0.1~2.5µg/ml (低投与量)、2.9~6.8 と 2.0~6.0µg/ml (中投与量)、8.2~23 と 1.7~12µg/ml(高投与量)であった。限られたデータから、6 週目と 12 週目の血漿半減期は 16~20 時間と 7 時間(5mg/kg 体重)、5~13 時間 と 7~9 時間(25mg/kg 体重)と算出された。
4. 雄イヌ 1 匹と雌イヌ 1 匹に ¹⁴C-オキシクロザニド 25mg /kg 体重/日を 7 日間経口投与し、初回の投与から最後の投与の 24 時間後まで測定した結果、投与量の 68~73%が糞便中に排出され、1.2~1.9%が尿中に排出された。最終投与から 24 時間後、胆汁は 1731~2307µg 等量/g、肝臓は 20.95~22.59µg 等量/g、腎臓は 6.517~6.675µg 等量/g を含有していた。総バイオアベイラビリティは測定されなかった。投与後 24 時間後の肝臓中残留物にはわずかな親化合物(約 2~4%)と未同定の代謝物が含

まれていた。尿中の同定された成分は、スルホン代謝物、2種類のグルクロニドそして親化合物だった。糞便中の同定可能な成分は親化合物だけだった。スルホン代謝物を除く同じ代謝物が、ヒツジの尿及び糞便中でも同定された。in vitroの実験で、オキシクロザニドはイヌとヒツジの肝ミクロソーム懸濁液では殆どまたは全く代謝されず、ウシの肝ミクロソーム懸濁液でのみ若干代謝された。

5. 雌ラットの経口 LD50 は 3519mg/kg 体重であった。急性毒性の症状は、鼻口部の染血(blood staining of muzzle)、蒼白(pallor)、下痢(diarrhoea)、呼吸促迫(increased respiration)、傾眠(lethargy)、会陰部の糞便や尿汚染(faecal and urine staining of perineum)であった。剖検時に、いくつかの臓器のうっ血、肝毒性の兆候(脂肪化、小葉構造の明瞭化)と液体が充満して膨化した子宮が見られた。ラット、ネズミ、ウサギの経口 LD50 値は 310mg/kg 体重から 2000mg/kg 体重以上までと幅があるが、報告書原本が入手できないため評価することができなかった。
6. ラットの 3 ヶ月の混餌経口投与毒性試験(0、0.45、9、44.5mg/kg 体重/日)では、高用量群の雄で肝臓の可逆性の脂肪蓄積と重量低下を、雌で脳細胞(髄質)の空胞化と血漿総タンパク質量の減少を、また雄雌で脾臓と副腎の重量増加を認めた。イヌの 3 ヶ月の経口投与毒性試験(0、0.5、5、25mg/kg 体重/日)では、高用量の雄雌全例の脳橋部に脳細胞の空胞化を認めた。同様の変化はこの用量を投与し回復性を観察したグループの数例の雌雄でも見られた。高用量群の雌はアルカリホスファターゼが増加した。これらデータから最高用量のオキシクロザニド投与は肝臓と脳に毒作用があると結論された。それぞれの試験から、ラットの NOEL は 9mg/kg 体重、イヌの NOEL は 5mg/kg 体重と考えられた。
7. ウシとヒツジの耐性データから比較的低用量(15mg/kg 体重)の単回投与でも中枢神経と腸機能(沈鬱行動、下痢、食欲不振)に悪影響をおよぼすことが分っている。これよりも高用量では毒性症状は増悪し、50mg/kg 体重以上で死亡も発生した。これら副作用は本剤の薬理動態的作用によると推測された。
8. 投与量 0、100、400、1200mg/kg 飼料(雄では 0、6、25、75mg/kg 体重/日、雌では 0、9、35、100mg/kg 体重/日に相当)を与えたラットの二世代繁殖試験が行われた。最高投与量では雄 F0 の体重増加がわずかに抑制され、剖検時には有意に低い体重が観察された。雌 F0 及び雌 F1 では、脳の空胞化がみられた雌数は高投与量群で対照群に比べて多かった。脳の組織学的検査は低及び中投与量群では行われなかった。組織病理学的検査は高投与量群及び対照群でしか実施しなかったために、親の脳毒性の NOEL は設定できなかった。高投与量では、投与に関連すると考えられるわずかな F1 児数の減少が見られた。雄の 25mg/kg 体重/日、雌の 35mg/kg 体重/日までの投与量では、受胎能力と出生前及び出生後の児発育には投与の影響は観察されなかった。一世代用量設定試験では、親動物の体重及び摂餌量の減少、児動物の体重及び生存率の低下がオキシクロザニド 80~160mg/kg 体重/日の投与量でみられた。生殖期間の数段階で推奨治療量を投与した動物では、胎児毒性、催奇形性及び繁殖への影響はみられなかった。生殖毒性の NOEL は 25mg/kg 体重/日であった。
9. 0、5、100、200mg/kg 体重/日の投与量を用いたラットの催奇形性試験では、胎児毒性及び催奇形性は最高投与量までみられなかった。中投与量と高投与量では、母体毒性(軟便)がみられた。ウサギの催奇形性試験(0、16、32、64mg/kg 体重/日)では、催奇形性(随伴性水頭症をもつ頭蓋骨癒合(fused cranial bones with associated hydrocephaly)、頭蓋骨及び椎骨の骨化不全(incomplete cranial ossification and vertebral aberrations)、少数例の臍帯ヘルニア(umbilical hernia) を特徴とする症候群)及び胎児毒性(マイナーな骨格異常の発現増加)が最高投与量で観察された。中投与量と高投与量では母体毒性(糞便の異常、摂餌量及び成長の低下)がみられた。ウサギの試験結果に基づき、催奇形性と胎児毒性に関する NOEL は 32mg/kg 体重/日であった。
10. 代謝活性化系の存在下と非存在下で細菌による 2 つの突然変異試験(1 つはネズミチフス菌のみ、もう 1 つはネズミチフス菌と大腸菌)が実施されたところ、試験された 10~100µg/プレートの内、最大濃度を含む全ての濃度で突然変異誘発の兆候は認められなかった。代謝活性化系の存在下と非存在下における濃度 62.5µg/ml 以下のマウスリンパ腫試験では、細胞毒性を示した最も高い濃度で陽性

だった。3回繰り返した実験のうちの1回で、細胞毒性のない濃度(30~50 $\mu\text{g/ml}$)で被験物質処理に関連した陽性反応が見られた。代謝活性化系の存在下と非存在下で250 $\mu\text{g/ml}$ 以下の濃度で行われた培養ヒトリンパ細胞の細胞遺伝学的試験では、3名のドナーのうち1名の細胞で、細胞毒性を示した濃度の250 $\mu\text{g/ml}$ で、毒性学上有意性は疑わしいが、染色体異常誘発性を示した(統計学的に有意差はあるが過去の陰性対照の範囲の上限値を若干上回るかそれに近い値であった)。

最大用量256.5mg/kg体重と最大用量1200mg/kg体重による2つのマウス経口投与小核試験と、0、632.5、2000mg/kg体重を単回経口投与した*in vivo*ラット肝臓不定期DNA合成試験の結果は、陰性であった。微生物試験と3つの独立した*in vivo*の哺乳類試験は陰性であったことと、2種類の*in vitro*の哺乳類試験で見られた陽性結果の有意性が毒性学的に疑わしいことから、全データ一式で、オキシクロザニドの変異原性はないと結論された。

11. 発がん性試験は実施されていない。オキシクロザニドは変異原性がなく、また既知発がん物質と構造的な相関性がないので、発がん性関連データは必要とされなかった。
12. 免疫毒性についての特定のデータは提供されなかった。
13. オキシクロザニドは *Bacillus stearothermophilus* を用いた試験で、乳汁中濃度が1mg/kg以上で抗菌作用を有すると考えられ、5及び8mg/kgでは明確に抑制作用を示した。*Streptococcus thermophilus* を用いた試験では乳汁中濃度が128mg/kg以下では抗菌活性は見られなかった。これらの濃度は乳汁中の最大残留量よりもはるかに高い濃度であるので、報告された作用は懸念されるような問題とみなされなかった。
14. オキシクロザニドはヒトには使用されないため、ヒトへの作用の情報は入手出来なかった。
15. ADI算出のための各種試験から得られたオキシクロザニドのNOELのうち最小値はイヌの90日試験の5mg/kg体重/日であった。このNOELと対象動物に副作用を惹起する治療量の差が少ないため、安全係数を200とした。これにより、ADIは0.03mg/kg体重となり、1.8mg/ヒトに相当する。
16. ウシへの市販製剤の経口投与後(用量12.5mgオキシクロザニド/kg体重)、親化合物の血漿C_{max}は25時間の時点で約14~17mg/Lであった。t_{1/2}は約21時間であった。
17. ヒツジへの市販製剤の投与後(用量12.5mgオキシクロザニド/kg体重)、血漿中の親化合物は平均t_{max}約22時間で、C_{max}約25~29mg/Lに達した。オキシクロザニドのみを含有する飲薬製剤の曲線下面積(AUC)値は880mg hour/L、オキシフェンダゾールとオキシクロザニドを混ぜた飲薬製剤では1007mg hour/Lであった。オキシクロザニドのみを含有する飲薬のヒツジにおけるt_{1/2}は、21.3時間で、オキシフェンダゾールも配合された飲薬では26.0時間であった。15mg/kg体重投与後のヒツジにおける血漿濃度に適合する三次指数関係的な血漿の薬物動態モデルは、C_{max}19.0mg/L、AUC1224mg.hour/L、t_{1/2 α} 7時間、t_{1/2 β} 14時間、t_{1/2 γ} 154時間を示した。10~50mg/Lの濃度で99%が血漿タンパク質と結合していた。
18. ¹⁴C-オキシクロザニド15mg/kg体重を単回経口投与した4頭の泌乳牛の平均の最高血漿濃度は、投与後24時間での26 μg 等量/mlであった。排泄半減期は約24時間だった。投与後5日間で投与量の84%が糞便に、7.5%が尿中に排泄され、0.07%未満が乳中に排泄された。これらの動物における乳中の¹⁴C-残留物の個別濃度の最高値は0.153mg/kgで、投与後2回目の搾乳で見られ、対応する親化合物の濃度は12.5 μg 等量/ml^{*}だった。ほとんどのサンプルで親化合物は検出されなかった。9頭の未経産牛に¹⁴C-オキシクロザニドを13.3~14.6mg/kg体重で単回経口投与の24時間後、最高血漿濃度38 μg 等量/mlが見られた。血液全体における全放射能と親化合物の排泄半減期は26時間及び15時間であった。尿中に回収されたのは3日間で用量の10%未満であった(最初の24時間で4%)。

* 原文は12.5 μg equivalents/L

胆汁中の放射性活性化化合物の合計濃度は、投与後 1 日、7 日、14 日で、600~1624 μg 等量/g、2.63~5.19 μg 等量/g、0.32~0.68 μg 等量/g であった。尿中排泄産物のほとんどが 2 種類または 3 種類の O-グルクロニドからなるということが明らかになった。

19. 市販の飲薬製剤として ^{14}C -オキシクロザニド 15mg/kg 体重をヒツジに投与する放射線標識試験が行われた。血漿中放射能の最高値は投与 8 時間後に認められ、10~20 μg 等量/L であった（時点当たり 2 匹、測定時点は 2、4、8、24 時間）。投与 8 日後、血漿濃度は 0.12 から 0.15 μg 等量/ml へ減少した。投与後 14 日間で 67~75% の摂取放射能が糞便中に回収され、11~22% が尿中に回収された。ほとんどの放射能が投与後最初の 2 日間で排泄された。4、7、14、21 日の休薬期間後に屠殺したヒツジ(各日 4 頭)の胆汁中の平均濃度は、4.79、0.11、0.08、0.17 μg 等量/g であった。ヒツジ糞便中への排泄産物は主に親化合物で構成されていた。ヒツジの尿中にはオキシクロザニド以外に 2 種類のグルクロニド抱合体が同定された。糞便及び尿中におけるその他の代謝産物は、これらは排泄中に回収された総放射能のごく一部(10%未満)にすぎなかった。 *In vitro* ではヒツジの肝臓のミクロソームはオキシクロザニドをほとんど代謝しないか、全く代謝しなかった。組織残留物については、2 種類の溶媒系(一つは親化合物を回収するもので、もう一方は最初の系で見出された広い極性範囲を分離するもの)を用い、4、7、14、21 日目で屠殺したヒツジの肝臓の残留抽出物と、投与後 4 日目で屠殺したヒツジの腎臓、筋肉と脂肪組織の残留抽出物のラジオ-HPLC プロファイルを作って検査した。放射活性のいくつかのピークと拡散域が見られた。これらの分画に存在する代謝物を同定する試みはされなかった。この方法で、肝臓抽出物で親化合物と同時に溶出する物質の割合は 4 日目の約 18~21%から、7、14、21 日目の 2~4%に下降した。腎臓、筋肉、脂肪組織抽出物におけるこの物質の割合は、4 日目で、それぞれ 3~8%、18~22%、24~44%であった。
20. 未経産牛に ^{14}C -オキシクロザニド 13.3~14.6mg/kg 体重を単回経口投与した後（屠殺時点ごと各 3 頭）、休薬期間 1 日、7 日、14 日での総残留物濃度はそれぞれ、肝臓で 21600~27600、4700~8200、1700~4100 μg 等量/kg、腎臓で 8500~9500、300 以下、300 μg 等量/kg 以下、筋肉で 1300~1700、100 以下、150~100 μg 等量/kg 以下であった。脂肪組織では、残留物は確実に測定されなかったが、濃度は筋肉組織の濃度よりも若干高いようであった。24 時間での親化合物/総 ^{14}C -残留物の比率は肝臓で 45~61%、腎臓で 50~60%、筋肉で 68~89%の範囲であった。1 つの脂肪検体からは 110%という割合が報告されたが、他の脂肪検体からはまったく測定されなかった。肝臓の比率のみが 7 日及び 14 日で測定され(他の組織の残留物の濃度は極めて低値だった)、7 日で 1.1%(3 頭全て)で、14 日は 1.1~1.5%(2 頭 : 3 頭目の比率は測定できなかった)であった。

更に、2 つの泌乳期乳牛グループに 9~10mg の ^{14}C -オキシクロザニドを単回経口投与し、4 日後と 7 日で屠殺し、残留物の消失と組成が調べられた。4 日目の総残留物濃度は、肝臓で 2961~7989 μg 等量/kg (平均値 6035)、腎臓で 223~989 μg 等量/kg (平均値 631)、筋肉で 20~152 μg 等量/kg (平均値 84)、脂肪で 98~316 μg 等量/kg (平均値 213) であった。7 日目の総残留物濃度は肝臓で 3426~6972 μg 等量/kg (平均値 5198)、腎臓で 88~203 μg 等量/kg (平均値 159)、筋肉で 13 以下~24 μg 等量/kg、脂肪で 46 以下~163 μg 等量/kg であった。4 日目で、LC-MS 法により肝臓、腎臓、筋肉、脂肪で測定された標識残留物の濃度は(検出限界 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、定量限界 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、それぞれ 139~569 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (平均値 400)、44~164 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (平均値 97)、2 以下~49 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、5~57 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (平均値 33) であった。7 日目の濃度は、肝臓が 2~10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、腎臓が 2 以下~6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、筋肉が 2 以下~8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、脂肪が 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 以下であった。4 日目の標識残留物の総残留物に対する比率は肝臓、腎臓、筋肉、脂肪でそれぞれ 6、17、31、14%であった。7 日目の標識残留物の比率は、標識残留物が全ての組織で低く、筋肉と脂肪の合計残留物が低かったので確実に決定できなかった。ラジオ-HPLC クロマトグラムでは、親化合物は広く代謝され、全残留物のごく一部(を占める)にすぎない。

代謝物は同定されなかった。グルクロニダーゼ処理した肝臓の検体のラジオクロマトグラムは全く変化がなかった。乳中の総残留物が最大の濃度になるのは、投与後 3 回目と 4 回目の搾乳時で、30~80 μg 等量/kg の範囲であった。3 回目の搾乳時の標識残留物の濃度は、8 頭のうち 5 頭は検出限界(2 $\mu\text{g}/\text{kg}$)を下回り、残り 3 頭では 3~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (すなわち、定量限界値かそれ以下)であった。この搾

乳時の標識残留物の比率は 2.5 以下～9%であった(が、ほとんどの検体で標識残留物が定量限界以下のため信頼できない)。

21. 市販製剤の飲薬として ^{14}C -オキシクロザニド 15mg/kg 体重をヒツジに単回投与した。投与後、4、7、14、21 日の各時点で 4 頭のヒツジを屠殺した。4 日目では、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪の放射能濃度はそれぞれ 4377、337、54、74 μg 等量/kg であった。肝臓と腎臓では、7 日目は 2125 と 89 μg 等量/kg、14 日目では 1538 と 53 μg 等量/kg、21 日目では 1221 と 60 μg 等量であった。筋肉の濃度は 7 日目と 14 日目で 14 以下～17 μg 等量/kg の範囲であり、21 日目で 14 μg 等量/kg 以下であった。脂肪の濃度は 7 日目、14 日目、21 日目でそれぞれ 14 以下～31、14 以下～16、14 μg 等量/kg 以下の範囲であった。親化合物(すなわち、標識残留物)の濃度は HPLC-MS 法(肝臓と腎臓)あるいは HPLC-UV 法(筋肉と脂肪)で測定された。4 日目は肝臓で 315～1611 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (平均値 775)、腎臓で 33 以下～102 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、筋肉で 25 以下～25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、脂肪で 25 以下～39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。7 日間休薬で、オキシクロザニドは肝臓の 4 検体のうち 1 検体から検出されたのみで(濃度 39 $\mu\text{g}/\text{kg}$)、肝臓では 14 日と 21 日で、その他の組織では 7 日でこの分析手法による定量限界以下(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)であった。標識残留物の総残留物に対する比率は 4 日間休薬の肝臓では 10～33%(平均 18%)、腎臓では 23～26%(2 頭のみ残留物濃度が定量限界を上回った)であった。残りの 2 頭の腎臓と 4 頭全ての筋肉と脂肪の標識残留物について意味のある比率を計算するには、標識残留物の濃度は低値すぎた(定量限界以下)。
22. 子ウシにオキシクロザニド 10 及び 15mg を投与した 2 件の残留物消失試験では、7 日の休薬期間後に屠殺した個体で、肝臓の親化合物濃度が腎臓、筋肉、脂肪組織と比較して若干高かった。しかし、濃度は概して測定方法(HPLC-UV)の定量限界(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)を下回った。15mg/kg 体重が投与され、7 日で屠殺した子ウシのうち 3 頭のみ(試験された 4 頭のうち)肝臓で 51～71 $\mu\text{g}/\text{kg}$ の濃度(定量限界を若干上回る)であった。この時点で、肝臓には有意な量のグルクロニドは見られなかった。10mg/kg のオキシクロザニドを投与し、2 日後に屠殺した残りの反芻子ウシ 2 頭のプールされた肝臓では、脱グルクロニド化の後、オキシクロザニド濃度が 1730～2220 $\mu\text{g}/\text{kg}$ に上昇し、これはグルクロニドの存在を示唆している。
23. 市販製剤を用いたヒツジにおける組織残留物試験(単回経口投与 15mg/kg 体重)では、投与後 7 日と 21 日での食用組織の親化合物濃度(と、7 日目の食用組織のグルクロニド濃度)は HPLC-UV 法の定量限界(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)を下回った。
24. 入手可能な、オキシクロザニド 5.4～12.6mg/kg 体重でウシに行った 4 種類の乳中残留物試験では、乳中の親化合物濃度は定量限界(50 $\mu\text{g}/\text{kg}$)以下のものばかりであった。乳中に有意な量のグルクロニドは見られなかった。
25. ウシとヒツジの組織とウシの乳の残留物のルーチン測定法として逆相 HPLC-MS 法が検証された。それらは ISO78/2 形式で説明されている。報告された定量限界はウシ及びヒツジの肝臓で 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ウシ及びヒツジの腎臓で 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ウシ及びヒツジの筋肉と脂肪で 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、ウシの乳で 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ であった。

結論と勧告:(原文、6 ページ)

以下を考慮した結果:

- オキシクロザニドの毒性学的 ADI は、オキシクロザニド 0.03mg/kg 体重/日、1.8mg/ヒト 相当、と設定された。
- MRL は、投与後 4 日のウシ及びヒツジの食用組織中の濃度と、投与後初日のウシの乳中濃度から導かれた。標識残留物と総残留物の比率はおおよそ: ウシの肝臓で 6%、ウシ及びヒツジの腎臓

とヒツジの肝臓で 17～19%、ウシ及びヒツジの筋肉と脂肪組織で 14～43%、ウシの乳で 2% となった。

- オキシクロザニドの残留物を検出する検証された解析方法がある。

欧州委員会は下記の表に従い、ウシ及びヒツジの組織とウシの乳について、オキシクロザニドを委員会規則(EEC) No2377/90 の付録 I に含めることを勧告する。

| 薬理的活性物質 | 標識残留物 | 動物種 | MRL | 標的細胞 | その他条件 |
|----------|----------|-----|---|---------------------------|------------------------|
| オキシクロザニド | オキシクロザニド | ウシ | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg 10µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳 | |
| | | ヒツジ | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 | ヒトが消費する乳を生産する動物には使用しない |

これら MRL に基づき、ウシ及びヒツジの組織とウシの乳から消費者が摂取する残留物は ADI のほぼ 100%とする。

原文目次

SUMMARY REPORT (2) 1
Conclusions and recommendation..... 6

略称等

| 略称等 | 正式名称(英語) | 日本語訳 |
|---------|---|-------------------------------|
| ADI | Acceptable Daily Intake | 一日摂取許容量 |
| AUC | area under the curve | 曲線下面積 |
| HPLC-MS | High Performance Liquid Chromatography -Mass Spectrometry | 高速液体クロマトグラフィー質量分析法 |
| HPLC-UV | High Performance Liquid Chromatography - Ultra Violet | 高速液体クロマトグラフィー紫外吸光検出法 |
| LC-MS | Liquid Chromatography-Mass Spectrometry | 高速液体クロマトグラフィー-サーモスプレイオン化質量分析法 |
| MRL | Maximum residue level | 残留基準 |
| NOEL | No Observed Effect Level | 無影響量 |

オキシクロザニドの毒性試験と結果の概要一覧

(評価書：EMA, COMMITTEE FOR MEDICINAL PRODUCTS FOR VETERINARY USE
OXYCLOZANIDE (Extrapolation to all ruminants) SUMMARY REPORT (3))

| 試験種類 | 供試動物等 | 投与量 (投与期間等) | 結果 | 和訳版 (ページ) | 原文 (ページ) |
|---------------|-------------|--|---|--------------|-------------|
| 急性毒性 | ラット | | LD50： 3519 mg/kg体重 | 1 | 2 |
| 亜急性毒性 | ラット | 0、0.45、9、44.5 mg/kg 体重/日 (3ヶ月) | NOEL： 9 mg/kg体重 高用量群の雄で肝臓の可逆性の脂肪蓄積と重量低下。雌で脳細胞（髄質）の空胞化と血漿総タンパク質量の減少。雄雌で脾臓と副腎の重量増加。 | 1 | 2 |
| 亜急性毒性 | イヌ | 0.5、5、25 mg/kg 体重/日 (3ヶ月) | NOEL： 5 mg/kg体重 高用量の雄雌全例の脳橋部に脳細胞の空胞化。高用量群の雌はアルカリホスファターゼが増加。 | 1 | 2 |
| 生殖毒性：二世世代繁殖試験 | ラット | 0、100、400、1200 mg/kg飼料（雄では0、6、25、75mg/kg体重/日、雌では0、9、35、100 mg/kg体重/日に相当） | NOEL： 25 mg/kg体重/日 高投与量では、投与に関連すると考えられるわずかなF1児数の減少が見られた。雄の25 mg/kg体重/日、雌の35 mg/kg体重/日までの投与量では、受胎能力と出生前及び出生後の児発育には投与の影響は観察されなかった。 | 2 | 2 |
| 催奇形成試験 | ラット | 0、5、100、200mg/kg体重/日 | 最高投与量まで、胎児毒性及び催奇形性はみられなかった。 | 2 | 2 |
| 催奇形成試験 | ウサギ | 0、16、32、64 mg/kg体重/日 | 催奇形性と胎児毒性に関するNOEL： 32 mg/kg体重/日 64 mg/kg体重/日で、催奇形性（随伴性水頭症をもつ頭蓋骨癒合、頭蓋骨及び椎骨の骨化不全、少数例の臍帯ヘルニアを特徴とする症候群）及び胎児毒性（マイナーな骨格異常の発現増加）。 | 2 | 2 |
| 遺伝毒性：突然変異試験 | ネズミチフス菌 | 10～100 μg/プレート | 突然変異誘発の兆候は認められなかった。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性：突然変異試験 | ネズミチフス菌と大腸菌 | 10～100 μg/プレート | 突然変異誘発の兆候は認められなかった。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性：細胞遺伝学的試験 | マウスリンパ腫細胞 | 62.5 μg/ml以下 (代謝活性化系の存在下と非存在下) | 最高濃度で陽性。 3回繰り返した実験のうちの1回で、細胞毒性のない濃度（30～50 μg/ml）で陽性。 | 2 | 3 |

| 試験種類 | 供試動物等 | 投与量 (投与期間等) | 結果 | 和訳版 (ページ) | 原文 (ページ) |
|---|----------|---------------------------------------|--|--------------|-------------|
| 遺伝毒性：細胞遺伝学的試験 | ヒトリンパ腫細胞 | 250 μ g/ml以下 (代謝活性化系の存在下と非存在下) | 3名のドナーのうち1名の細胞で、250 μ g/mlで、毒性学上有意性は疑わしいが、染色体異常誘発性を示した。 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> マウス 経口投与小核試験 | マウス | 最大用量256.5 mg/kg体重 | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> マウス 経口投与小核試験 | マウス | 最大用量1200 mg/kg体重 | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性： <i>in vivo</i> ラット 肝臓不定期 DNA合成試験 | ラット | 632.5、2000 mg/kg 体重 (単回経口 投与) | 陰性 | 2 | 3 |
| 遺伝毒性 | | | 上記の遺伝毒性に関する全データ一式で、オキシクロザニドの変異原性はないと結論。 | 2 | 3 |
| ADI | ヒト | | ADI：0.03 mg/kg体重、1.8 mg/ヒトに相当。 各種試験から得られたオキシクロザニドのNOELのうち最小値はイヌの90日試験の5 mg/kg体重/日であった。このNOELと対象動物に副作用を惹起する治療用量の差が少ないため、安全係数を200とした。 | 3 | 3 |

動物医薬品委員会

オキシクロザニド
 (全ての反芻類に外挿)

サマリーレポート (3)

1. オキシクロザニド(CAS no.2277-92-1)はサルチルアニド駆虫剤である。オキシクロザニドはウシとヒツジの肝蛭症の治療と制御に使用される。同物質は現在、委員会規則(EEC)no.2377/90 付録 I に下記の表にしたがって含まれている。

| 薬理的活性物質 | 標識残留物 | 動物種 | MRL | 標的細胞 | その他の条件 |
|----------|----------|-----|---|---------------------------|------------------------|
| オキシクロザニド | オキシクロザニド | ウシ | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg 10µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳 | |
| | | ヒツジ | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 | ヒトが消費する乳を生産する動物には使用しない |

2. ヒツジとヤギの内部寄生生物撲滅薬と外部寄生生物撲滅薬の有用性をレビューするために、オキシクロザニドをウシとヒツジから全ての反芻類へ外挿することが検討された。オキシクロザニドの同定につながる検討と基準は Position Paper Regarding Availability of Veterinary Medicines – Extrapolation of MRLs(動物用医薬品の有用性に関するポジションペーパー、MRLの外挿)(EMEA/CVMP/457/03-FINAL)で説明されている。
3. この外挿の科学的な正当性は Notes for Guidance on Risk Analysis Approach for Residues of Veterinary Medicinal Products in Food of Animal Origin (動物由来食品用の動物医薬品残留物のリスク分析アプローチに関する指導概要)(EMEA/CVMP/187/00-FINAL)と Establishment of Maximum Residue Limits for Minor Animal Species(少数派動物種のMRLの確証)(EMEA/CVMP/153a/97-FINAL)に従って評価された。
4. オキシクロザニドの元の評価でADIを設定するために、以下の段落にまとめたデータが考慮された。
5. オキシクロザニドの作用機序は吸虫の酸化的燐酸反応の脱共役である。二次的な薬力学的効果についてはデータ入手可能でなかった。
6. 実験動物の正式な薬物動態学的研究は入手可能でなかった。ラットの90日反復経口投与毒性試験(用量:0、0.45、9、44.5mg/kg体重/日で混餌投与)の6週目と12週目に血漿濃度が測定された(時点、性別ごとに各1匹)。6週目と12週目の最大血漿濃度は:1.3~3.9と1.0~3.7µg/ml(低投与量)、5.4~7.0と8.0~15.0µg/ml(中投与量)、22~30と43~65µg/ml(高投与量)であった。中投与量から集められた限られたデータから、血漿半減期は14時間及び10時間と算出された。イヌの90日経口投与試験(用量:0.5、5、25mg/kg体重/日)では、6週目と12週目の最大血漿濃度(投与量ごと、性別ごとに各1匹あるいは2匹)は:2.9~7.5と0.1~2.5µg/ml(低投与量)2.9~6.8と2.0~6.0µg/ml(中投与量)8.2

～23 と 1.7～12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (高投与量)であった。限られたデータから、6 週目と 12 週目の血漿半減期は 16～20 時間と 7 時間(5mg/kg 体重)、5～13 時間 と 7～9 時間(25mg/kg 体重)と算出された。

7. 雄イヌ 1 匹と雌イヌ 1 匹に ^{14}C -オキシクロザニド 25mg /kg 体重/日を 7 日間経口投与し、初回の投与から最後の投与の 24 時間後まで測定した結果、投与量の 68～73%が糞便中に排出され、1.2～1.9%が尿中に排出された。最終投与から 24 時間後、胆汁は 1731～2307 μg 等量/g、肝臓は 20.95～22.59 μg 等量/g、腎臓は 6.517～6.675 μg 等量/g を含有していた。総バイオアベイラビリティは測定されなかった。投与後 24 時間後の肝臓中残留物にはわずかな親化合物(約 2～4%)と未同定の代謝物が含まれていた。尿中の同定された成分は、スルホン代謝物、2 種類のグルクロニドそして親化合物だった。糞便中の同定可能な成分は親化合物だけだった。スルホン代謝物を除く同じ代謝物が、ヒツジの尿及び糞便中でも同定された。in vitro の実験で、オキシクロザニドはイヌとヒツジの肝ミクロソーム懸濁液では殆どまたは全く代謝されず、ウシの肝ミクロソーム懸濁液でのみ若干代謝された。
8. 雌ラットの経口 LD50 は 3519mg/kg 体重であった。急性毒性の症状は、鼻口部の染血(blood staining of muzzle)、蒼白(pallor)、下痢(diarrhoea)、呼吸促迫(increased respiration)、傾眠(lethargy)、会陰部の糞便や尿汚染(faecal and urine staining of perineum)であった。剖検時に、いくつかの臓器のうっ血、肝毒性の兆候(脂肪化、小葉構造の明瞭化)と液体が充満して膨化した子宮が見られた。ラット、ネズミ、ウサギの経口 LD50 値は 310mg/kg 体重から 2000mg/kg 体重以上までと幅があるが、報告書原本が入手できないため評価することができなかった。
9. ラットの 3 ヶ月の混餌経口投与毒性試験(0、0.45、9、44.5mg/kg 体重/日)では、高用量群の雄で肝臓の可逆性の脂肪蓄積と重量低下を、雌で脳細胞(髄質)の空胞化と血漿総タンパク質量の減少を、また雄雌で脾臓と副腎の重量増加を認めた。イヌの 3 ヶ月の経口投与毒性試験(0、0.5、5、25mg/kg 体重/日)では、高用量の雄雌全例の脳橋部に脳細胞の空胞化を認めた。同様の変化はこの用量を投与し回復性を観察したグループの数例の雌雄でも見られた。高用量群の雌はアルカリホスファターゼが増加した。これらデータから最高用量のオキシクロザニド投与は肝臓と脳に毒作用があると結論された。それぞれの試験から、ラットの NOEL は 9mg/kg 体重、イヌの NOEL は 5mg/kg 体重と考えられた。
10. ウシとヒツジの耐性データから比較的低用量(15mg/kg 体重)の単回投与でも中枢神経と腸機能(沈鬱行動、下痢、食欲不振)に悪影響をおよぼすことが分っている。これよりも高用量では毒性症状は増悪し、50mg/kg 体重以上で死亡も発生した。これら副作用は本剤の薬理動態的作用によると推測された。
11. 投与量 0、100、400、1200mg/kg 飼料(雄では 0、6、25、75mg/kg 体重/日、雌では 0、9、35、100mg/kg 体重/日に相当)を与えたラットの二世代繁殖試験が行われた。最高投与量では雄 F0 の体重増加がわずかに抑制され、剖検時には有意に低い体重が観察された。雌 F0 及び雌 F1 では、脳の空胞化がみられた雌数は高投与量群で対照群に比べて多かった。脳の組織学的検査は低及び中投与量群では行われなかった。組織病理学的検査は高投与量群及び対照群でしか実施しなかったために、親の脳毒性の NOEL は設定できなかった。高投与量では、投与に関連すると考えられるわずかな F1 児数の減少が見られた。雄の 25mg/kg 体重/日、雌の 35mg/kg 体重/日までの投与量では、受胎能力と出生前及び出生後の児発育には投与の影響は観察されなかった。一代用量設定試験では、親動物の体重及び摂餌量の減少、児動物の体重及び生存率の低下がオキシクロザニド 80～160mg/kg 体重/日の投与量でみられた。生殖期間の数段階で推奨治療量を投与した動物では、胎児毒性、催奇形性及び繁殖への影響はみられなかった。生殖毒性の NOEL は 25mg/kg 体重/日であった。

12. 0、5、100、200mg/kg 体重/日の投与量を用いたラットの催奇形性試験では、胎児毒性及び催奇形性は最高投与量までみられなかった。中投与量と高投与量では、母体毒性(軟便)がみられた。ウサギの催奇形性試験(0、16、32、64mg/kg 体重/日)では、催奇形性(随伴性水頭症をもつ頭蓋骨癒合(fused cranial bones with associated hydrocephaly)、頭蓋骨及び椎骨の骨化不全(incomplete cranial ossification and vertebral aberrations)、少数例の臍帯ヘルニア(umbilical hernia)を特徴とする症候群)及び胎児毒性(マイナーな骨格異常の発現増加)が最高投与量で観察された。中投与量と高投与量では母体毒性(糞便の異常、摂餌量及び成長の低下)がみられた。ウサギの試験結果に基づき、催奇形性と胎児毒性に関する NOEL は 32mg/kg 体重/日であった。
13. 代謝活性化系の存在下と非存在下で細菌による 2 つの突然変異試験(1 つはネズミチフス菌のみ、もう 1 つはネズミチフス菌と大腸菌)が実施されたところ、試験された 10~100µg/プレートの内、最大濃度を含む全ての濃度で突然変異誘発の兆候は認められなかった。代謝活性化系の存在下と非存在下における濃度 62.5µg/ml 以下のマウスリンパ腫試験では、細胞毒性を示した最も高い濃度で陽性だった。3 回繰り返した実験のうちの 1 回で、細胞毒性のない濃度(30~50µg/ml)で被験物質処理に関連した陽性反応が見られた。代謝活性化系の存在下と非存在下で 250µg/ml 以下の濃度で行われた培養ヒトリンパ細胞の細胞遺伝学的試験では、3 名のドナーのうち 1 名の細胞で、細胞毒性を示した濃度の 250µg/ml で、毒性学上有意性は疑わしいが、染色体異常誘発性を示した(統計学的に有意差はあるが過去の陰性対照の範囲の上限値を若干上回るかそれに近い値であった)。
- 最大用量 256.5mg/kg 体重と最大用量 1200mg/kg 体重による 2 つのマウス経口投与小核試験と、0、632.5、2000mg/kg 体重を単回経口投与した *in vivo* ラット肝臓不定期 DNA 合成試験の結果は、陰性であった。微生物試験と 3 つの独立した *in vivo* の哺乳類試験は陰性であったことと、2 種類の *in vitro* の哺乳類試験で見られた陽性結果の有意性が毒性学的に疑わしいことから、全データ一式で、オキシクロザニドの変異原性はないと結論された。
14. 発がん性試験は実施されていない。オキシクロザニドは変異原性がなく、また既知発がん物質と構造的な相関性がないので、発がん性関連データは必要とされなかった。
15. 免疫毒性についての特定のデータは提供されなかった。
16. オキシクロザニドは *Bacillus stearothermophilus* を用いた試験で、乳汁中濃度が 1mg/kg 以上で抗菌作用を有すると考えられ、5 及び 8mg/kg では明確に抑制作用を示した。*Streptococcus thermophilus* を用いた試験では乳汁中濃度が 128mg/kg 以下では抗菌活性は見られなかった。これらの濃度は乳汁中の最大残留量よりもはるかに高い濃度であるので、報告された作用は懸念されるような問題とみなされなかった。
17. オキシクロザニドはヒトには使用されないため、ヒトへの作用の情報は入手出来なかった。
18. ADI 算出のための各種試験から得られたオキシクロザニドの NOEL のうち最小値はイヌの 90 日試験の 5mg /kg 体重/日であった。この NOEL と対象動物に副作用を惹起する治療用量の差が少ないため、安全係数を 200 とした。これにより、ADI は 0.03mg/kg 体重となり、1.8mg/ヒトに相当する。
19. 付録 I に全ての反芻類を含めるよう拡張するため、以下のパラグラフにまとめられた情報が考慮された。

20. ウシへの市販製剤の経口投与後（用量 12.5mg オキシクロザニド/kg 体重）、親化合物の血漿 C_{max} は 25 時間の時点で約 14~17mg/L であった。 $t_{1/2}$ は約 21 時間であった。
21. ヒツジへの市販製剤の投与後（用量 12.5mg オキシクロザニド/kg 体重）、血漿中の親化合物は平均 t_{max} 約 22 時間で、 C_{max} 約 25~29mg/L に達した。オキシクロザニドのみを含有する飲薬製剤の曲線下面積(AUC)値は 880mg hour/L、オキシフェンダゾールとオキシクロザニドを混ぜた飲薬製剤では 1007mg hour/L であった。オキシクロザニドのみを含有する飲薬のヒツジにおける $t_{1/2}$ は、21.3 時間で、オキシフェンダゾールも配合された飲薬では 26.0 時間であった。15mg のオキシクロザニド/kg 体重投与後のヒツジにおける血漿濃度に適合する三次指数関係的な血漿の薬物動態モデルは、 C_{max} 19.0mg/L、AUC1224mg.hour/L、 $t_{1/2\alpha}$ 7 時間、 $t_{1/2\beta}$ 14 時間、 $t_{1/2\gamma}$ 154 時間を示した。10~50mg/L の濃度で 99%が血漿タンパク質と結合していた。
22. ^{14}C -オキシクロザニド 15mg /kg 体重を単回経口投与した 4 頭の泌乳牛の平均の最高血漿濃度は、投与後 24 時間での 26 μ g 等量/ml であった。排泄半減期は約 24 時間だった。投与後 5 日間で投与量の 84%が糞便に、7.5% が尿中に排泄され、0.07%未満が乳中に排泄された。これらの動物における乳中の ^{14}C -残留物の個別濃度の最高値は 0.153mg/kg で、投与後 2 回目の搾乳で見られ、対応する親化合物の濃度は 12.5 μ g 等量/mL*だった。ほとんどのサンプルで親化合物は検出されなかった。9 頭の未経産牛に ^{14}C -オキシクロザニドを 13.3~14.6mg/kg 体重で単回経口投与の 24 時間後、最高血漿濃度 38 μ g 等量/ml が見られた。血液全体における全放射能と親化合物の排泄半減期は 26 時間及び 15 時間であった。尿中に回収されたのは 3 日間で用量の 10%未満であった（最初の 24 時間で 4%）。胆汁中の放射性活性化合物の合計濃度は、投与後 1 日、7 日、14 日で、600~1624 μ g 等量/g、2.63~5.19 μ g 等量/g、0.32~0.68 μ g 等量/g であった。尿中排泄産物のほとんどが 2 種類または 3 種類の O-グルクロニドからなるということが明らかになった。
23. 市販の飲薬製剤として ^{14}C -オキシクロザニド 15mg/kg 体重をヒツジに投与する放射線標識試験が行われた。血漿中放射能の最高値は投与 8 時間後に認められ、10~20 μ g 等量/L であった（時点当たり 2 匹、測定時点は 2、4、8、24 時間）。投与 8 日後、血漿濃度は 0.12 から 0.15 μ g 等量/ml へ減少した。投与後 14 日間で 67~75% の摂取放射能が糞便中に回収され、11~22% が尿中に回収された。ほとんどの放射能が投与後最初の 2 日間で排泄された。4、7、14、21 日の休薬期間後に屠殺したヒツジ(各日 4 頭)の胆汁中の平均濃度は、4.79、0.11、0.08、0.17 μ g 等量/g であった。ヒツジ糞便中への排泄産物は主に親化合物で構成されていた。ヒツジの尿中にはオキシクロザニド以外に 2 種類のグルクロニド抱合体が同定された。糞便及び尿中におけるその他の代謝産物は、これらは排泄中に回収された総放射能のごく一部(10%未満)にすぎなかった。 *In vitro* ではヒツジの肝臓のミクロソームはオキシクロザニドをほとんど代謝しないか、全く代謝しなかった。組織残留物については、2 種類の溶媒系(一つは親化合物を回収するもので、もう一方は最初の系で見出された広い極性範囲を分離するもの)を用い、4、7、14、21 日目で屠殺したヒツジの肝臓の残留抽出物と、投与後 4 日目で屠殺したヒツジの腎臓、筋肉と脂肪組織の残留抽出物のラジオ-HPLC プロファイルを作って検査した。放射活性のいくつかのピークと拡散域が見られた。これらの分画に存在する代謝物を同定する試みはされなかった。この方法で、肝臓抽出物で親化合物と同時に溶出する物質の割合は 4 日目の約 18~21%から、7、14、21 日目の 2~4%に下降した。腎臓、筋肉、脂肪組織抽出物におけるこの物質の割合は、4 日目で、それぞれ 3~8%、18~22%、24~44%であった。
24. 未経産牛に ^{14}C -オキシクロザニド 13.3~14.6mg/kg 体重を単回経口投与した後（屠殺時点ごと各 3 頭）、休薬期間 1 日、7 日、14 日での総残留物濃度はそれぞれ、肝臓で 21600~27600、4700~8200、1700~4100 μ g 等量/kg、腎臓で 8500~9500、300 以下、300 μ g 等量/kg 以下、筋肉で 1300~1700、100 以下、150~100 μ g 等量/kg 以下であった。脂肪組織では、残留物は確実には測定されなかったが、濃度は筋肉組織の濃度よりも若干高いようであった。24 時間での親化合物/総 ^{14}C -残留物の比

*原文は 12.5 μ g equivalents/L

率は肝臓で 45～61%、腎臓で 50～60%、筋肉で 68～89%の範囲であった。1 つの脂肪検体からは 110%という割合が報告されたが、他の脂肪検体からはまったく測定されなかった。肝臓の比率のみが 7 日及び 14 日で測定され(他の組織の残留物の濃度は極めて低値だった)、7 日で 1.1%(3 頭全て)で、14 日は 1.1～1.5%(2 頭：3 頭目の比率は測定できなかった)であった。

更に、2 つの泌乳期乳牛グループに 9～10mg の ¹⁴C-オキシクロザニドを単回経口投与し、4 日後と 7 日で屠殺し、残留物の消失と組成が調べられた。4 日目の総残留物濃度は、肝臓で 2961～7989µg 等量/kg (平均値 6035)、腎臓で 223～989µg 等量/kg (平均値 631)、筋肉で 20～152µg 等量/kg (平均値 84)、脂肪で 98～316µg 等量/kg (平均値 213)であった。7 日目の総残留物濃度は肝臓で 3426～6972µg 等量/kg (平均値 5198)、腎臓で 88～203µg 等量/kg (平均値 159)、筋肉で 13 以下～24µg 等量/kg、脂肪で 46 以下～163µg 等量/kg であった。4 日目で、LC-MS 法により肝臓、腎臓、筋肉、脂肪で測定された標識残留物の濃度は(検出限界 2µg/kg、定量限界 5µg/kg)、それぞれ 139～569µg/kg (平均値 400)、44～164µg/kg (平均値 97)、2 以下～49µg/kg、5～57µg/kg(平均値 33)であった。7 日目の濃度は、肝臓が 2～10µg/kg、腎臓が 2 以下～6µg/kg、筋肉が 2 以下～8µg/kg、脂肪が 2µg/kg 以下であった。4 日目の標識残留物の総残留物に対する比率は肝臓、腎臓、筋肉、脂肪でそれぞれ 6、17、31、14%であった。7 日目の標識残留物の比率は、標識残留物が全ての組織で低く、筋肉と脂肪の合計残留物が低かったため確実に決定できなかった。ラジオ-HPLC クロマトグラムでは、親化合物は広く代謝され、全残留物のごく一部(を占める)にすぎない。

代謝物は同定されなかった。グルクロニダーゼ処理した肝臓の検体のラジオクロマトグラムは全く変化がなかった。乳中の総残留物が最大の濃度になるのは、投与後 3 回目と 4 回目の搾乳時で、30～80µg 等量/kg の範囲であった。3 回目の搾乳時の標識残留物の濃度は、8 頭のうち 5 頭は検出限界(2µg/kg)を下回り、残り 3 頭では 3～5µg/kg (すなわち、定量限界値かそれ以下)であった。この搾乳時の標識残留物の比率は 2.5 以下～9%であった(が、ほとんどの検体で標識残留物が定量限界以下のため信頼できない)。

25. 市販製剤の飲薬として ¹⁴C-オキシクロザニド 15mg/kg 体重をヒツジに単回投与した。投与後、4、7、14、21 日の各時点で 4 頭のヒツジを屠殺した。4 日目では、肝臓、腎臓、筋肉、脂肪の放射能濃度はそれぞれ 4377、337、54、74µg 等量/kg であった。肝臓と腎臓では、7 日目は 2125 と 89µg 等量/kg、14 日目では 1538 と 53µg 等量/kg、21 日目では 1221 と 60µg 等量/kg であった。筋肉の濃度は 7 日目と 14 日目で 14 以下～17µg 等量/kg の範囲であり、21 日目で 14µg 等量/kg 以下であった。脂肪の濃度は 7 日目、14 日目、21 日目でそれぞれ 14 以下～31、14 以下～16、14µg 等量/kg 以下の範囲であった。親化合物(すなわち、標識残留物)の濃度は HPLC-MS 法(肝臓と腎臓)あるいは HPLC-UV 法(筋肉と脂肪)で測定された。4 日目は肝臓で 315～1611µg/kg (平均値 775)、腎臓で 33 以下～102µg/kg、筋肉で 25 以下～25µg/kg、脂肪で 25 以下～39µg/kg であった。7 日間休薬で、オキシクロザニドは肝臓の 4 検体のうち 1 検体から検出されたのみで(濃度 39µg/kg)、肝臓では 14 日と 21 日で、その他の組織では 7 日でこの分析手法による定量限界以下(50µg/kg)であった。標識残留物の総残留物に対する比率は 4 日間休薬の肝臓では 10～33%(平均 18%)、腎臓では 23～26%(2 頭のみ残留物濃度が定量限界を上回った)であった。残りの 2 頭の腎臓と 4 頭全ての筋肉と脂肪の標識残留物について意味のある比率を計算するには、標識残留物の濃度は低値すぎた(定量限界以下)。
26. 子ウシにオキシクロザニド 10 及び 15mg を投与した 2 件の残留物消失試験では、7 日の休薬期間後に屠殺した個体で、肝臓の親化合物濃度が腎臓、筋肉、脂肪組織と比較して若干高かった。しかし、濃度は概して測定方法(HPLC-UV)の定量限界(50µg/kg)を下回った。15mg/kg 体重が投与され、7 日で屠殺した子ウシのうち 3 頭のみ(試験された 4 頭のうち)肝臓で 51～71µg/kg の濃度(定量限界を若干上回る)であった。この時点で、肝臓には有意な量のグルクロニドは見られなかった。10mg/kg のオキシクロザニドを投与し、2 日後に屠殺した残りの反芻子ウシ 2 頭のプールされた肝臓では、脱グルクロニド化の後、オキシクロザニド濃度が 1730～2220µg/kg に上昇し、これはグルクロニドの存在を示唆している。

27. 市販製剤を用いたヒツジにおける組織残留物試験（単回経口投与 15mg/kg 体重）では、投与後 7 日と 21 日での食用組織の親化合物濃度（と、7 日目の食用組織のグルクロニド濃度）は HPLC-UV 法の定量限界(50µg/kg)を下回った。
28. 入手可能な、オキシクロザニド 5.4~12.6mg/kg 体重でウシに行った 4 種類の乳中残留物試験では、乳中の親化合物濃度は定量限界(50µg/kg)以下のものばかりであった。乳中に有意な量のグルクロニドは見られなかった。
29. ウシ、ヒツジやヤギなどの反芻類は類似する消化管生理機能をもつ。入手可能な薬物動態や残留物消失に関するデータにはウシとヒツジの間の著しい差異は示唆されておらず、よって、これらパラメータで他の反芻類も著しい違いを示す可能性が低いであろうとみなされた。既存のウシとヒツジの組織の MRL は同一であるため、MRL の拡張の勧告は適切であるとみなされ、(ウシ、ヒツジと)同じ組織 MRL 値が全ての反芻類に適用され、ウシの乳の MRL も全ての反芻類に拡大されることが勧告された。
30. ウシとヒツジの組織とウシの乳の残留物のルーチン測定法として逆相 HPLC-MS 法が検証された。それらは ISO78/2 形式で記載されている。報告された定量限界はウシ及びヒツジの肝臓で 250µg/kg、ウシ及びヒツジの腎臓で 50µg/kg、ウシ及びヒツジの筋肉と脂肪で 10µg/kg、ウシの乳で 5µg/kg であった。この方法は他の反芻類にも適用されるので、他の反芻類の組織と乳への外挿が可能である。

結論と勧告

以下を考慮した結果、

- オキシクロザニドの毒性 ADI は 0.03mg/kg 体重(例：1800µg /ヒト)が以前に確立された。
- ウシとヒツジの MRL が確立された。これらの MRL は同一である
- 全ての反芻類の組織と乳の残留物をモニタリングする解析方法は入手可能である

動物用医薬品委員会(the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use)は下記の表に従って現在委員会規則(EEC)No2377/90 付録 I に含まれるウシとヒツジのオキシクロザニドについて修正を勧告する

| 薬理学的活性物質 | 標識残留物 | 動物種 | MRL | 標的組織 | その他条件 |
|----------|----------|--------|---|---------------------------|-------|
| オキシクロザニド | オキシクロザニド | 全ての反芻類 | 20µg/kg 20µg/kg 500µg/kg 100µg/kg 10µg/kg | 筋肉 脂肪 肝臓 腎臓 乳 | |

これら MRL に基づき、ウシとヒツジの組織とウシの乳から消費者が摂取する残留物は ADI のほぼ 100% とする。

原文目次

SUMMARY REPORT (1) 1
Conclusions and recommendation..... 6

略称等

| 略称等 | 正式名称(英語) | 日本語訳 |
|---------|---|-------------------------------|
| ADI | Acceptable Daily Intake | 一日摂取許容量 |
| AUC | area under the curve | 曲線下面積 |
| HPLC-MS | High Performance Liquid Chromatography -Mass Spectrometry | 高速液体クロマトグラフィー質量分析法 |
| HPLC-UV | High Performance Liquid Chromatography - Ultra Violet | 高速液体クロマトグラフィー紫外吸光検出法 |
| LC-MS | Liquid Chromatography-Mass Spectrometry | 高速液体クロマトグラフィー-サーモスプレイオン化質量分析法 |
| MRL | Maximum residue level | 残留基準 |
| NOEL | No Observed Effect Level | 無影響量 |