

## 2,5-ジメチルピラジンの概要

## 1. はじめに

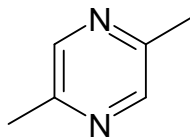
2,5-ジメチルピラジンは、アスパラガス、生落花生、緑茶等食品中に天然に存在、また牛肉、豚肉、エビ、ポテト等の加熱調理および、コーヒー、カカオ等の焙煎により生成する成分である<sup>1)</sup>。欧米では、焼き菓子、アイスクリーム、清涼飲料、肉製品など様々な加工食品において風味を向上させるために添加されている<sup>2)</sup>。

## 2. 名称等

名称：2,5-ジメチルピラジン

英名：2,5-Dimethylpyrazine

構造式：



化学式：C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>N<sub>2</sub>

分子量：108.14

CAS 番号：123-32-0

## 3. 安全性

厚生労働省が行った安全性試験の結果、National Library of Medicine (NLM：PubMed、TOXLINE)、米国香料工業会のデータベース (RIFM-FEMA database)、製品評価技術基盤機構 (NITE) データベースの検索結果、JECFA モノグラフの内容等に基づき、遺伝毒性試験、反復投与毒性試験等の成績をとりまとめた。

## (1) 遺伝毒性

細菌を用いた復帰突然変異試験 (サルモネラ菌 TA98、TA100、TA102 を用いて最高用量 97.3 mg/plate<sup>i)</sup> で、S9mix の有無にかかわらず陰性であった<sup>3)</sup>。また、細菌を用いた別の復帰突然変異試験 (サルモネラ菌 TA98、TA100 を使用、使用した用量の記載無し<sup>ii)</sup> でも、S9mix の有無にかかわらず陰性であった<sup>4)</sup>。さらに、細菌を用いた別の復帰突然変異試験 (サルモネラ菌 TA98、TA100、TA1537 を使用、最高用量 200 mg/plate) でも、S9mix の有無にかかわらず陰性であった<sup>5)</sup>。

チャイニーズ・ハムスター培養細胞 (CHO 細胞) を用いた染色体異常試験 (最高用量 40 mg/ml、±S9mix の 3 時間処理) の結果は、最高用量において S9mix

<sup>i</sup> 文献では 0.9 mmol/plate なので、 $0.9 \times 108.14 = 97.326$  97.3 mg/plate に相当。

<sup>ii</sup> この文献で試験されている他の物質の最高用量は、いずれも 100 μmol/plate であるので本物質も同じ用量であるとする、10.8 mg/plate となる。

の存在、非存在で、いずれも陽性であった<sup>5)</sup>。

酵母を用いた分裂交差及び分裂遺伝子変換を検出する試験 (*Saccharomyces cerevisiae* を用いて最高用量 135 mg/ml) で、分裂遺伝子変換には陽性結果が散見されたが、分裂交差は検出されなかった<sup>5)</sup>。

9週齢の雄の ICR マウスを用いた *in vivo* 骨髄小核試験(最高用量 1,000 mg/kg 体重/日 × 2、日局注射用水溶液、強制経口投与)の結果は陰性であった<sup>6)</sup>。

以上の結果から、*in vitro* の遺伝毒性試験の一部で陽性の結果が報告されているが、十分高用量まで試験されたマウス *in vivo* の小核試験で陰性であることを考慮して総合的に判断すると、本物質は少なくとも香料として用いられるような低用量域では、生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないものと考えられる。

## (2)反復投与毒性

5週齢の雌雄の SD ラットを用いた強制経口投与による 90 日間(雄 90 日間、雌 91 日間)の反復投与毒性試験 (0、0.44、4.4、44 mg/kg 体重/日) で、すべての投与群の一般状態の観察、体重測定、摂餌量測定、血液学的検査、血液生化学的検査、尿検査、眼科的検査、臓器重量測定、病理解剖検査及び病理組織学的検査において、明らかな毒性変化は認められなかった<sup>7)</sup>。

この結果から、無毒性量 (NOAEL) は、44 mg/kg 体重/日 とした。

## (3)発がん性

International Agency for Research on Cancer (IARC)、European Chemicals Bureau (ECB)、U. S. Environmental Protection Agency (EPA)、National Toxicology Program (NTP) では、発がん性の評価はされていない。

## (4)その他

本物質の皮下投与による生殖器への影響を調べた三つの報告がある。

3週齢から7週齢の雌の Wistar ラットに膣開口がみられるまで 一日1回 100 mg/kg 体重/日 を皮下投与することで、子宮重量の減少が認められた。また、7週齢の群で一日2回同用量を2日間及び4日間皮下投与した群でエストラジオールの注入後、卵巣切除ラットに通常観察される子宮の重量の増加が阻害され、子宮による<sup>[3H]</sup>エストラジオールの取り込みが減少した<sup>8)</sup>。

4週齢及び6週齢の雄の Wistar ラットに 10、30、70、100、300 mg/kg 体重/日 で、それぞれ2週間皮下投与することで、4週齢の群では、70 mg/kg 体重/日 を超える用量群において、前立腺のスペルミン濃度及び血漿中のテストステロンの減少が、更に、100 mg/kg 体重/日 を超える用量群では、前立腺のスペルミジン濃度及び酸性フォスファターゼについても減少が認められたが、6週齢の群には見られなかった<sup>9)</sup>。

3週齢の雄の Wistar ラットに 0、10、30、70、100 mg/kg 体重/日 で、2週間皮下投与することで、70 mg/kg 体重/日 を超える投与群において、前立腺及

び精囊の重量が、100 mg/kg 体重/日 投与群においてテストステロンの血漿中濃度、前立腺の酸性フォスファターゼ活性、精囊の果糖含有量が、それぞれ減少した<sup>10)</sup>。

以上の試験はいずれも投与経路が皮下投与であり、あらわれた生殖器への影響は、30 mg/kg 体重/日 以下の用量ではみられないことから、本物質は少なくとも香料として用いられるような低用量域では、生体にとって特段問題となるような生殖毒性はないものと考えられる。

いずれも経口投与による試験成績ではないことから、NOAEL の設定根拠には用いなかった。

なお、参考までに、ピラジン化合物をゴールデンハムスターの輸卵管に投与した試験で、卵母細胞ピックアップ率 (oocyte pickup rate)、輸卵管の鞭毛のたなびく頻度 (ciliary beat frequency) 阻害及び、卵管漏斗部の平滑筋収縮 (infundibular muscle contraction) に、ナノモル又はミリモルの濃度で影響が認められたと言う文献がある<sup>参考1)</sup>。また、ピラジン化合物を鶏胚の絨毛尿膜上に投与した試験で、鶏胚の成長及び絨毛尿膜の脈管形成にナノモルの濃度で影響が認められたという文献がある<sup>参考2)</sup>。

いずれも経口投与による試験成績ではないことから、NOAEL の設定根拠には用いなかった。

#### 4. 摂取量の推定

本物質の香料としての年間使用量の全量を人口の 10%が消費していると仮定する JECFA の PCTT 法<sup>iii)</sup>による 1995 年の使用量調査に基づく米国及び欧州における一人一日あたりの推定摂取量は、それぞれ 8 及び 22 µg<sup>11)</sup>となる。正確には認可後の追跡調査による確認が必要と考えられるが、既に許可されている香料物質の我が国と欧米の推定摂取量が同程度との情報がある<sup>12)</sup>ことから、我が国の本物質の推定摂取量は、おおよそ 8 から 22 µg/ヒト/日 の範囲になると推定される。

なお、米国では食品中にもともと存在する成分としての本物質の摂取量は、意図的に添加された本物質の 628 倍であるとの報告がある<sup>13)</sup>。

#### 5. 安全マージンの算出

90 日間反復投与毒性試験成績の NOAEL 44 mg/kg 体重/日 と、想定される推定摂取量 (8~22 µg /ヒト/日) を日本人平均体重 (50kg) で割ることで算出される推定摂取量 (0.00016~0.00044 mg/kg 体重/日) と比較し、安全マージン 100,000~275,000 が得られる。

#### 6. 構造クラスに基づく評価

---

<sup>iii</sup> 計算は、[年間使用量(kg)]/[人口(億人)]/[365(日)]/[報告率]/[人口の 1 割で消費]×10 で求める。1995 年の年間使用量は米国が 59kg、欧州が 156kg、人口は、米国が 2.6 億人、欧州が 3.2 億人、報告率は米国が 0.8、欧州が 0.6 とされている (文献 11)。

ピラジン誘導体に分類される食品成分である本物質は、メチル基がピラジン環の 2 及び 5 位に置換していることから、メチル基が酸化されてピラジンカルボン酸を生成し、排泄されるが、一部はその後グリシン抱合されて排泄される<sup>11),14)</sup>。

本物質及びその推定代謝産物は生体成分ではないが、24 時間以内に代謝産物のほとんどが排泄され、経口毒性は低いことが示唆されることよりクラス II に分類される<sup>11),15)</sup>。

## 7. JECFA における評価

JECFA では、2001 年にピラジン誘導体のグループとして評価され、推定摂取量 (8~22 µg/ヒト/日) は、クラス II の摂取許容値 (540 µg/ヒト/日) を大幅に下回るため、香料としての安全性の問題はないとされている<sup>11)</sup>。

## 8. 「国際的に汎用されている香料の我が国における安全性評価法」に基づく評価

本物質は生体にとって特段問題となる遺伝毒性はないと考えられる。90 日間反復投与毒性試験に基づく安全マージン (100,000~275,000) が 90 日間反復投与毒性試験の適切な安全マージンとされる 1000 を大幅に上回ること、本物質の想定される推定摂取量 (8~22 µg/ヒト/日) が構造クラス II の摂取許容値 (540 µg/ヒト/日) を超えていないことなどから、本物質は着香の目的で使用される範囲において安全性の懸念がないと考えられる。

## 引用文献

- 1) TNO (1996) Volatile compounds in food. Ed. By L.M.Nijssen et.al. 7<sup>th</sup>.ed. Index of compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist.
- 2) RIFM-FEMA Database, (Accessed in 2005) Material Information on 2,5-Dimethylpyrazine (未公表)
- 3) Aeschbacher, U. W., et. al., (1989), Contribution of coffee aroma constituents to the mutagenicity of coffee, *Fd. Chem. Toxicol.* **27**(4), 227-232
- 4) Lee H., et. al., (1994), Genotoxicity of 1,3-dithian and 1,4-dithiane in the CHO/SCE assay and the Salmonella/microsomal test, *Mutation Research* **321**:213-218
- 5) Stich, H. F., et. al., (1980), Mutagenic activity of pyrazine derivatives : a comparative study with Salmonella typhimurium, Saccharomyces cerevisiae and Chinese hamster ovary cells., *Fd. Cosmet.. Toxicol.* **18**, 581-584
- 6) 2,5-ジメチルピラジンのマウスを用いる小核試験 (2005) (財)食品薬品安全センター 秦野研究所 (厚生労働省委託試験)
- 7) 2,5-ジメチルピラジンのラットにおける 90 日間反復経口投与毒性試験

- (2005) (財)食品薬品安全センター 秦野研究所 (厚生労働省委託試験)
- 8) Yamada K. et al., (1992) Effects of 2,5-dimethylpyrazine on reproductive and accessory reproductive organs in female rats. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, **75**(1), 99–107.
  - 9) Yamada K. et al., (1994) Effects of 2,5-dimethylpyrazine on plasma testosterone and polyamines- and acid phosphatase-levels in the rat prostate., *Biol. Pharm Bull.* **17**(5)730-731
  - 10) Yamada K. et al., (1993) Effects of dimethylpyrazine isomers on reproductive and accessory reproductive organs in male rats. *Biol. Pharm. Bull.*, **16**(2), 203–206.
  - 11) WHO Food Additives Series 48. Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Pyrazine Derivatives (Report of 57th JECFA meeting)
  - 12) 平成 14 年度厚生労働科学研究報告書「日本における食品香料化合物の使用量実態調査」、日本香料工業会
  - 13) Adams T. B. et.al. (2002) The FEMA GRAS assessment of pyrazine derivatives used as flavor ingredients. *Fd. Chem. Toxicol.* **40**, 429-451.
  - 14) Hawksworth, G. et.al. (1975) Metabolism in the rat of some pyrazine derivatives having flavour importance in foods. *Xenobiotica*, **5**(7), 389-399.
  - 15) アルキルピラジン類の構造クラス (要請者作成資料)

(参考文献)

- 1) Riveles K., et. al., (2004), Pyrazine derivatives in cigarette smoke inhibit hamster oviductal functioning, *Reproductive Biology and Endocrinology*, **2**: 23-36
- 2) Melkonian G., et. al., (2003) Growth and angiogenesis are inhibited *in vivo* in developing tissues by pyrazine and its derivatives. *TOXICOLOGICAL SCIENCES* **74**, 393-401

No.	項目	内容
(1)	名称	2,5-ジメチルピラジン
	一般的名称	2,5-Dimethylpyrazine
	化学名	2,5-Dimethylpyrazine
	CAS番号	123-32-0
(2)	JECFA等の国際的評価機関の結果	FEXPANにより評価され1972年のGRAS 5 に公表された <sup>1)</sup> 。2001年 第57回JECFA会議にてピラジン誘導体のグループとして評価され、本物質はクラスⅡに分類され、クラスⅡの閾値以下であったためステップA3で安全性に懸念なしと判断された <sup>2)</sup> 。
	JECFA番号	766
(3)	外国の認可状況・使用状況	欧米をはじめ各国で認可され広く使用されている。
	FEMA GRAS番号	3272
	CoE番号	2210
	FDA	なし
	EUレジスター	FL No. 14.020
	使用量データ	59kg(米国)、156kg(EU) <sup>3)</sup>
(4)	我が国での添加物としての必要性	本物質はナッツ様の加熱香気を有する食品に通常に存在する成分であり、種々の食品の香りを再現する際に必要不可欠な物質である。本物質は現在日本では未認可であるが、その添加量は微量ながら効果は非常に大きく、様々な加工食品に対してすでに国際的には着香の目的で広く使用されている。したがって国際的整合性の面からみても、これらの物質を日本で使用できるようにすることが不可欠と考えられる。
	天然での存在	糖およびアミノ酸を含有する食品の加熱により生成する物質 <sup>2)</sup> 。アスパラガス、コールラビ、調理牛肉、調理豚肉、ビール、ラム、フィンランドウイスキー、ココア、コーヒー、紅茶、ピーナッツ、脱脂大豆、調理大豆、調理ココナツ、とうもろこし、トルティーヤ、モルツ、オキアミ、調理エビ、発酵調理エビ、調理二枚貝など <sup>3)、4)</sup> 。
	米国での食品への使用例	焼き菓子、シリアル、アイスクリーム類、ゼリー&プリン、グレービーソース、肉製品、乳製品、炭酸飲料、ソフトキャンディー、スープ 各10ppm <sup>3)</sup>
(5)	参考資料	1) Food Technology.(1972) Vol. 26, No. 5, pp35-42. 2) Evaluation of certain food additives and contaminants (Fifty-seventh report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO Technical Report Series. 3) RIFM-FEMA Database 4) TNO(1996) Volatile Compounds in Food. Edited by L. M. Nijssen et al. 7th Ed. Index of Compounds. TNO Nutrition and Food Research Institute. Zeist.