

部分翻訳

**European Union**  
**Risk Assessment Report**  
**Ethyl acetoacetate**  
**CAS No: 141-97-9**  
1st Priority List, Volume 13, 2002

欧州連合

リスク評価書 (Volume 13, 2002)

アセト酢酸エチル

The cover of the report includes the following information:

- Header:** Institute for Health and Consumer Protection, European Chemicals Bureau, Existing Substances, European Union Risk Assessment Report, CAS No: 141-97-9, EINECS No: 205-516-1, ethyl acetoacetate.
- Left Side (Yellow Bar):** European Chemicals Bureau, CAS: 141-97-9, EC: 205-516-1, PL-1, 13, 1<sup>st</sup> Priority List, Volume: 13.
- Chemical Structure:** CC(=O)CC(=O)OCC
- Bottom Right:** EUROPEAN COMMISSION JOINT RESEARCH CENTRE, EUR 20396 EN.

国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部

2018年8月

本部分訳文書は、Ethyl acetoacetate (CAS No: 141-97-9)に関するEU Risk Assessment Report, (Vol. 13, 2002)の第4章「ヒト健康」のうち、第4.1.2項「影響評価：有害性の特定および用量反応関係」を翻訳したものである。原文(評価書全文)は、

<https://echa.europa.eu/documents/10162/1b855b85-306d-4969-ae96-f2da4a66aead>を参照のこと。

#### 4.1.2 影響評価：有害性の特定および用量（濃度）－反応（影響）評価

##### 4.1.2.1 トキシコキネティクス、代謝および分布

トキシコキネティクスに関して得られているデータは非常に限定的である。

問題となる吸入曝露は一般に、毒性学的に関連があると考えられているアセト酢酸エチルの蒸気圧（20°Cで約 1 hPa）が原因で起こる。水溶性（16°Cで約 125 g/L）および分配係数（log Pow = 0.25）から、アセト酢酸エチルの生物学的利用能は良好であることが示唆されている。

アセト酢酸エチルは、酸性 pH または細菌の作用により、消化管内ですでに部分的に開裂すると予測される。代謝の第一段階では、吸収されたアセト酢酸エチルが血中の非特異的エステラーゼによって加水分解され、3-オキソブタン酸とエタノールを生じる。3-オキソブタン酸は生体内の脂質代謝産物の一つであり、さらに代謝されて主に二酸化炭素と水になる。同様に、エタノールも既知の経路により代謝される。

雄のウサギの十二指腸に放射性標識した C<sup>14</sup>-アセト酢酸エチルを投与した場合、投与後 24 時間までに投与放射能の 1.5%がケトン体として胆汁中に排泄された (Asagoe et al., 1968)。

さらに別の試験においては、雄ラットに 1日 4.2、8.4、33.7 g/m<sup>2</sup>体表面積 (0.66、1.31、5.26 g/kg bw に相当) として計算した投与量を 4～6 日に渡り強制経口投与した。投与量にかかわらず、投与後 24 時間までに投与放射能の 1.5～15.1%がアセトンとして尿中に排泄された。低用量および中用量群では、初回投与から最終投与にかけてアセトン排泄量が 4 倍に増加した。高用量群では、アセトン排泄量は全期間通して投与量の 6%のままであった (Deuel et al., 1936)。

動物試験のデータを用いてヒトでのエステル加水分解速度を予測するには、ヒト血漿中のエステラーゼ活性が通常ラットの血漿中エステラーゼよりも低いことを考慮しなければならない。この結論はエステル型の薬剤、プロドラッグなど様々な物質の加水分解における種差に基づいたものである。例えば、ラット血漿中エステラーゼのフェニル酢酸、パラオクソンおよびフルアジホップブチルに対する活性は、概してヒトのエステラーゼよりも高かった (McCracken et al., 1993)。さらに、ラット血中エステラーゼの TEI-9090 (イソカルバサイクリンメチルエステル) に対する活性はヒト血中よりも約 400 倍高く (Minagawa et al., 1995)、またプロドラッグであるグリコビルのラット血中での加水分解速度は、ヒトに比べて 15 倍速かった (Cook et al., 1995)。よって、全身に分布するアセト酢酸エチルの安定性 (半減期) は、明らかにラットよりもヒトで高いと考えてよい。

##### 4.1.2.2 急性毒性

###### 動物でのデータ

## 経口

ラットにおける経口 LD50 は、3,980 mg/kg bw (Smyth et al., 1949) かそれより高い値 (雄で 12,300 mg/kg bw、雌で 10,800 mg/kg bw) が報告されている。用量ごとに雌雄各 5 匹のラットを用いた試験において、2~4 g/kg bw、8 g/kg bw を投与したラットでそれぞれ中等度、中等度から重度の下痢を認めた。10 g/kg bw では雄 5 匹中 1 匹、雌 5 匹中 2 匹が死亡した (臨床徴候: 急速で不規則な呼吸、嗜眠、重度の下痢、毛づくろいされていない乱れた毛)。16 g/kg bw の強制投与後には、30 分以内に全ラットが死亡した (Bio-Toxicology Laboratories, 1975)。

## 吸入

試験の要約しか得られていない (Smyth et al., 1949)。アセト酢酸エチルの飽和蒸気にラットを 8 時間曝露した結果、死亡例の報告はなかった。

## 経皮

経皮 LD50 は 10 mL/kg bw (10.3 g/kg bw) を超えると報告されているが (Smyth et al., 1949)、これ以上のデータは得られていない。

## ヒトでのデータ

ヒトでのデータは得られていない。

## 結論

ヒトにおけるアセト酢酸エチルのデータは得られていない。

経口投与時のアセト酢酸エチルの毒性は低く、ラットの経口 LD50 は 3,980~12,300 mg/kg bw であった。吸入による毒性に関する有効なデータはない。ただし、報告は不十分であるが、飽和蒸気への 8 時間曝露後にラットが生存していた試験に基づき、吸入毒性は低いと考えられる。ウサギにおける急性経皮毒性は低く、経皮 LD50 値は 10 mL/kg (10.3 g/kg) 体重を超えることが確認された。

### 4.1.2.3 刺激性

#### 動物でのデータ

アセト酢酸エチルのウサギ皮膚に対する刺激性は、曝露期間および用量によって、全く認めないか軽度であった (Smyth et al., 1949)。アルビノウサギ 3 匹にアセト酢酸エチル 0.5 mL を 4 時間、半閉塞適用した試験においては、いずれのウサギでも刺激性の徴候は認められなかった (Hoechst AG, 1983a)。

アセト酢酸エチルは、ウサギの眼に軽度の刺激を引き起こすことが報告されている (Smyth et al., 1949)。OECD のガイドラインに従い、Draize 法を用いて、アセト酢酸エチル 0.1 mL をアルビノウサギ 3 匹で試験した。いずれのウサギでも角膜への影響は認めなかったが、中等度の結膜刺激が認められた (2 日以内に回復)。3 匹中 1 匹で軽度の虹彩発赤を認めたが、3 日以内に回復した (Hoechst AG, 1983b)。

#### ヒトでのデータ

ヒトでのデータは得られていない。

## 結論

局所刺激性に関するヒトでのデータは得られていない。

アセト酢酸エチルは、曝露期間および用量に応じてウサギの皮膚および眼に対して軽度の刺激性を示す。

#### 4.1.2.4 腐食性

##### 動物でのデータ

アセト酢酸エチルは、曝露期間および用量に応じてウサギの皮膚および眼に対してごく軽度の刺激性を示す（4.1.2.3 項参照）。

##### ヒトでのデータ

ヒトでのデータは得られていない。

##### 結論

局所刺激性に関するヒトでのデータは得られていない。

アセト酢酸エチルは、ウサギの皮膚および眼に対してごく軽度の刺激性を示す。アセト酢酸エチルは局所腐食性物質ではないと結論づけられる。

#### 4.1.2.5 感作性

##### 動物でのデータ

有効なデータは得られていない。

##### ヒトでのデータ

ヒトでの有効なデータは得られていない。

ヒトにおけるマキシマイゼーション試験においてワセリンを媒体とした 8%アセト酢酸エチルの局所曝露を行ったところ、ボランティア 26 名で陽性皮膚反応は認められなかった（Opdyke, 1974；要約のみ入手可能）。

##### 結論

ヒトまたは動物での有効なデータは得られていない。

特にマニキュアの成分としての長年のヒト曝露の経験、および曝露された人で接触アレルギーの報告がないことを考慮すると、アセト酢酸エチルは皮膚感作性を示さないと考えられる。

#### 4.1.2.6 反復投与毒性

##### 動物でのデータ

##### 経口投与

有効な反復投与毒性試験（OECD 407, Hazleton, 1991）では、Sprague-Dawley ラット（雌雄各 5 匹／群）に、アセト酢酸エチル（純度 99.6%）50、225 または 1,000 mg/kg bw/d を 4 週間連続して強制経口投与した。上記とは別に対照群、および高用量群は、投与終了後に 2 週間の非投与期間を設け観察した。死亡例は認めなかった。第 2 週には、高用量群の約半数で投与直後に唾液分泌が生じた。第 3 週、第 4 週には高用量群の全てのラットで唾液分泌を認めた。体重増加および摂餌量は投与群と対照群で同等であった。眼科検査で眼病変は認めず、血液学的パラメータお

よび臨床化学パラメータにおいて投与に関連した差はなかった。また投与群と対照群で臓器重量の差はみられなかった。投与に関連した肉眼的、顕微鏡的所見は認められなかった。本試験において、1,000 mg/kg bw/d が NOAEL と確認された。

ラット (Olac : Sprague-Dawley 系) を用いた 28 日間経口投与毒性試験を、BIBRA が実施している (1988, Cook et al., 1992)。雄 16 匹と雌 16 匹からなる群に 0、100、300、1,000 mg/kg bw/d に相当する濃度のアセト酢酸エチル (スプレードライによりアラビアゴムでカプセル封入したもの) を含む食餌を与え、一方対照群にはスプレードライしたアラビアゴムを含む食餌を与えた。被験物質の純度に関するデータがなく、かつ研究報告に個々の動物のデータに関する別表も含まれていなかったため、本試験は有効ではないが付加的な情報として評価された。体重変化や摂餌量の変化に投与に関連のあるものはなかった。投与群の雌雄ラットにおいて、血液学的パラメータである平均赤血球容積 (MCV) のわずかな上昇が記録された。雄ラットについては、他の赤血球関連項目において投与群と対照群との差は認められなかった。一方雌ラットでは、中用量群および高用量群において、対照群と比較してヘマトクリット値の上昇および MCHC (平均赤血球血色素濃度) の低下を認めた。赤血球数は、高用量群の雌で対照群よりも上昇していた。ただしいずれの変化も正常範囲内であり、毒性学的に有意であるとは考えられなかった。血液生化学パラメータは全て正常範囲内で、観察された個々の差は投与とは関連しないと判断された。高用量群の雄では盲腸全体と空の盲腸の相対重量が増加していたが、組織病理は正常であった。高用量群の雌ではごくわずかな盲腸重量減少の傾向を認めたが、有意ではなかった。BIBRA は、雄ラットにおける盲腸重量への影響は活動性肥大によるものと考察した。盲腸の病理組織学的変化がなかったことを考慮し、毒性学的に意義はないと考えられた。病理組織学的検査の結果、1,000 mg/kg bw を投与した雌において腎石灰化症の発生率が上昇していた。高用量群の雌 16 匹のうち 10 匹で皮髄部に小さなカルシウム沈着を認めたが、対照群の雌で同様の沈着を認めたのは 16 匹中わずか 4 匹であった。また、1,000 mg/kg bw を投与した雄の 16 匹中 7 匹で膀胱にタンパク質性円柱を認めたのに対し、対照対照群では 1 匹のみであった。円柱は、前立腺および精囊の分泌物の逆流により生じたと考察された。これらの観察結果は、同系の対照ラットに共通する所見である。アセト酢酸エチル投与によるこれら所見の発生率上昇の毒性学的意義は不明である。尿検査の結果、投与群で腎機能障害の徴候は認められなかった。

全体として、観察された徴候は投与には関連しているがアセト酢酸エチルによる有害影響を明らかに示すものではないと結論づけられた。よって、本試験の NOAEL は 1,000 mg/kg bw/d と推定された。

他の投与経路での反復投与毒性に関する試験は得られていない。

無毒性量 (NOAEL) : 1,000 mg/kg bw/d (Hazleton, 1991)

#### ヒトでのデータ

データは得られていない。

#### 結論

ラットを用いた経口反復投与試験においては、1,000 mg/kg bw/d 以下の用量で関連のある毒性影響は認められなかった。

#### 4.1.2.7 変異原性

##### 細菌を用いた試験

アセト酢酸エチルは、適切に実施された試験において、4~10,000 µg/plate の用量範囲ではアロクロールで誘導したラット肝 S-9 mix の有無にかかわらず、遺伝子変異を誘発しなかった (Hoechst AG, 1988)。試験菌株としては *Salmonella typhimurium* TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA1538 株および *Escherichia coli* WP2uvrA 株などが用いられた。毒性影響は認められなかった。

*Salmonella typhimurium* TA92、TA94、TA98、TA100、TA1535、TA1537 株を用いたスクリーニング試験でも結果は陰性であった (Ishidate et al., 1984)。本試験ではプレインキュベーション法が用いられ、カネクロールで誘導したラット肝 S-9 mix を添加し、25,000 µg/plate までの用量が検討された。

##### 哺乳類細胞を用いた試験

V79 細胞を用いた *in vitro* の染色体異常試験では、325~1301 µg/mL の用量範囲において S-9 mix の有無にかかわらず結果は陰性であった (Hoechst Marion Roussel, 1999)。処理時間は 3 時間 (S-9 mix 添加および無添加) と 20 時間 (S-9 mix 無添加のみ) とし、試料の採取は処理開始 20 時間後に行った。650 および 1,301 µg/mL で、S-9 mix 非存在下での 20 時間処理後に有糸分裂活性の明らかな抑制を認めた。検討を行った最大用量は、10 mmol/L に相当する。

また CHL 細胞を用いた染色体異常誘発性スクリーニング試験では、外因性の代謝活性系非存在下において、500、1,000 または 2,000 µg/mL のアセト酢酸エチルによる異常細胞数の増加は認められなかった (Ishidate, 1988)。細胞の採取は処理開始 24 時間後および 48 時間後に行われた。本試験は S-9 mix 非存在下でのみ実施され、さらに各実験群で分析された細胞数はわずか 100 個であったため、完全に信頼できるものではない。

##### 結論

アセト酢酸エチルは、細菌突然変異試験および *in vitro* の染色体異常試験において陰性を示し、変異原性に関する懸念はない。よってアセト酢酸エチルは変異原には分類されない。

#### 4.1.2.8 発がん性

実験データは得られていない。

他の類似化合物での経験および代謝物に関する知見を総合すると、アセト酢酸エチルの発がん作用を懸念する根拠はない。

#### 4.1.2.9 生殖毒性

##### 動物でのデータ

OECD ガイドライン 421 に基づく GLP に準拠した生殖/発生毒性スクリーニング試験が実施されている (LPT, 1999, 2000)。各群雌雄それぞれ 10 匹のラット (Sprague Dawley/CRL:CD®BR) に 0、50、225 または 1,000 mg/kg bw/d (投与容量は 10 mL/kg bw/d) のアセト酢酸エチルを強制経口投与し、対照群に対する溶媒としては水道水を用いた。雄には交配 2 週間前から交配期間が終了するまで、雌には交配 2 週間前から授乳 4 日目まで、毎日投与が行われた。

全投与期間を通じて、低用量群、中用量群、高用量群のいずれの雌雄親ラットにも死亡例は認めなかった。またいずれの投与群でもアセト酢酸エチルに関連した行動変化は観察されなかった。試験中各段階における投与群雌雄ラットの体重および体重変化は、全て対照の正常範囲内であった。絶対的・相対的摂餌量、および飲水量について、50、225、1,000 mg/kg bw/d の投与では対照と比較してアセト酢酸エチルに関連した影響は認められなかった。

投与群ラットの剖検において、いずれの雄親にもアセト酢酸エチルに関連した肉眼的変化は認められなかった。投与群の雄の精巣および精巣上体の相対重量は、対照群の範囲内であった。1,000 mg/kg bw/d を投与した雄でこれらの器官の病理組織学的検査を行った結果、いずれの個体でも変化は認められなかった。さらに雌親においても、解剖時にアセト酢酸エチルに関連した病理所見は認められなかった。1,000 mg/kg bw/d を投与した雌の卵巣の病理組織学的検査を行ったが、いずれの個体でもアセト酢酸エチルに関連した変化は示されなかった。

50 および 225 mg/kg bw/d の投与では、黄体数や着床数への影響は認められなかった (Table 4.5 参照)。高用量 (1,000 mg/kg bw/d) 群の雌親では、対照群に対して黄体数および着床数がわずかに減少し、平均着床前胚損失率が 5.0% (同時対照：2.0%) であった。

交尾前時間は対照群と投与群で類似していた。同様に、投与群の妊娠期間は対照群の範囲内で、分娩への影響はなかった。

50 または 225 mg/kg bw/d 投与群の出生後のラットにおいて、対照群と比べてアセト酢酸エチルに関連した生物学的差異は認められなかった。生存仔数および出生仔の性比にも影響はなかった。また、死産や出生仔の肉眼的な奇形は認められなかった。生殖指標 (出生率、生存出生率、生存率)、雌親による仔動物の保護のいずれにも影響はなかった。

1,000 mg/kg bw/d 投与群では、着床数の低下に関連して、出生時および 4 日間の授乳期間の仔動物数が対照群に比べてわずかに減少した。よって、平均着床後胚損失率は 13.2% に上昇し (同時対照：5.9%)、平均出生率および平均生存出生率 (ともに 86.8%) は同時対照 (ともに 94.1%) よりも低下した (Table 4.5 参照)。一方、平均生存率 (97.6%) は同時対照 (93.7%) の範囲内であった。

検討が行われた全投与群において、授乳 1 日目および 4 日目の仔動物の体重は対照の範囲内であった。授乳 4 日目の仔動物の外観観察では、アセト酢酸エチルに関連した病理所見は認められなかった。

試験施設の他の OECD421 試験 7 試験の背景対照データ (Table 4.5 参照) を考慮すると、本試験でアセト酢酸エチル 1,000 mg/kg bw/d 投与後に観察された影響は毒性学的に有意であるとは考えられない。また着床前後の胚損失の程度および平均出生率/生存出生率の低下は、利用可能な背景対照データの範囲に入っている。よって、最高用量で認められた影響は、アセト酢酸エチルの投与には関連しないと考えられる。

他の投与経路での生殖毒性に関する試験は得られていない。

無毒性量 (NOAEL/生殖毒性) : 1,000 mg/kg bw/d (LPT Report No. 11232/98)

生殖毒性に関するリスクアセスメントにおいては、アセト酢酸エチルの生殖への有害影響が OECD421 スクリーニング試験のみから評価され得ることを考慮しなければならない (本質的な限界)。



### ヒトでのデータ

データは得られていない。

### 結論

アセト酢酸エチルの生殖毒性に関するヒトでのデータはない。

OECD ガイドライン 421 に基づくラットへの経口投与試験において、スクリーニングレベルで、生殖および発生へ有害な影響を及ぼす可能性が検討された。

試験施設の他の OECD421 試験 7 試験の背景対照データを考慮すると、1,000 mg/kg bw/d 以下の用量ではアセト酢酸エチルによる統計的に有意な影響は認められなかった。よって、当該試験の結果より、生殖毒性に関する NOAEL は 1,000 mg/kg bw/d と推定された。

Table 4.5 Reproduction / Development Toxicity Study on Rats OECD Guideline 421

Parameter	Control	50 (mg/kg/ bw/d)	225 (mg/kg bw/d)	1000 (mg/kg bw/d)	Historical control	
					mean value $\pm$ SD (n = 7) *	range
Pre-implantation loss mean litter index in %	2.0	2.6	2.7	5.0	3.6 $\pm$ 1.8	1.4 – 6.9
Post-implantation loss mean litter index in %	5.9	6.3	5.4	13.2	8.1 $\pm$ 3.8	4.4 – 13.8
Birth index mean litter index in %	94.1	93.7	94.7	86.8	91.2 $\pm$ 5.6	83.4 – 98.3
Live birth index mean litter index in %	94.1	93.7	94.7	86.8	90.6 $\pm$ 6.1	81.6 – 98.3

\* Data were obtained from the control groups of 7 studies performed at LPT during 1997-2000 (LPT, 2000).