

2. 原体混在物及び代謝物

2-1 原体混在物

(1) 急性毒性

①ピリダリル原体混在物 のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年〔GLP非対応〕

検体：ピリダリル原体混在物

純度：99.4%

試験動物：Crj:CD (SD) 系のラット (8週齢、体重 雄 270~289g、雌 192~202g)

1群雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁した検体を投与前約20時間絶食したラットに2000mg/kg体重(10ml/kg体重)の割合で単回投与した。

試験項目：一般状態および生死を14日間観察し、体重は投与直前(0日目)、投与後7日目、および解剖直前の生存時(14日目)に測定した。試験期間終了時に、全動物を安楽死させ、肉眼的剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	症状発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 2000

中毒症状および死亡は認められなかった。体重については、全動物は試験期間中順調な増加を示した。剖検では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

②ピリダリル原体不純物のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混1-2)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年 [GLP 非対応]

検体：ピリダリル原体不純物

純度：99.2%

試験動物：Crj:CD (SD) 系のラット (8週齢、体重雄 265~279g、雌 186~195g)

1群雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：被験物質は希釈することなく、投与前約20時間絶食したラットに2000mg/kg-体重の割合で単回投与した。

試験項目：一般状態および生死を14日間観察し、体重は投与直前(0日目)、投与後7日目、および解剖直前の生存時(14日目)に測定した。試験期間終了時に、全動物を安楽死させ、肉眼的剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	症状発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 2000

中毒症状および死亡は認められなかった。体重については、全動物は試験期間中順調な増加を示した。剖検では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

③ピリダリル原体不純物のラットにおける急性経口毒性試験

(資料 混 1 - 3)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年 [GLP 非対応]

検体：ピリダリル原体不純物

純度：99.8%

試験動物：Crj:CD (SD) ラット (8週齢、体重雄 255~281g、雌 190~200g)

1群雌雄各5匹

観察期間：14日間観察

投与方法：0.5%メチルセルロース水溶液に懸濁した検体を、投与前約20時間絶食したラットに2000mg/kg-体重の割合で単回投与した。

試験項目：一般状態および生死を14日間観察し、体重は投与直前(0日目)、投与後7日目、および解剖直前の生存時(14日目)に測定した。試験期間終了時に、全動物を安楽死させ、肉眼的剖検を行った。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	症状発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 2000

中毒症状および死亡は認められなかった。体重については、全動物は試験期間中順調な増加を示した。剖検では、被験物質投与に起因した変化は認められなかった。

(2) 変異原性

①ピリダリル原体混在物

の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 混2-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年[GLP 非対応]

検 体：ピリダリル原体混在物

純 度：99.4%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100、TA98、TA1535、TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、S-9 Mix 存在下、非存在下とも 156～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲の 6 濃度で本試験を実施した。試験は 2 連制とし 2 回行なった。

用量設定根拠：5～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲の 7 濃度で用量設定試験を実施した。試験菌株に対して 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ まで生育阻害が認められなかった。検体の析出が S-9 Mix 存在下の 1500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上、S-9 Mix 非存在下の 500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量において認められた。S-9 Mix 存在下 TA1535 株で検体処理群の復帰変異コロニー数の増加が認められた。以上により、5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ を最高用量とし、S-9 Mix 存在下及び非存在下の全菌株について 5000, 2500, 1250, 625, 313 及び 156 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量を設定し、本試験を実施した。

試験結果：結果を表に示した。

S-9 Mix 存在下 TA1535 株で検体処理群の復帰変異コロニー数が対照群の 2 倍以上にかつ用量依存的に増加し、増加には再現性が認められた。その他の菌株についてはいずれの条件下においても復帰変異コロニー数が対照群の 2 倍以上にかつ用量依存的に増加することはなかった。

一方、陽性対照化合物である 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン及び 2-アミノアントラセンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性を有するものと判断される。

用量設定試験結果

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	86	7	25	26	18
ヒダリル 原体混在物	5	—	95	11	24	29	19
	15	—	98	8	25	31	21
	50	—	100	9	25	37	22
	150	—	85	9	23	37	17
	500*	—	92	9	16	28	14
	1500*	—	111	9	27	26	14
	5000*	—	122	7	15	24	23
陽性対照	b)	—	505	312	94	352	788
対照(DMSO)	0	+	82	9	30	27	13
ヒダリル 原体混在物	5	+	100	8	34	43	9
	15	+	108	8	38	43	12
	50	+	136	16	43	30	16
	150	+	122	14	36	37	12
	500	+	140	13	46	33	14
	1500*	+	133	20	42	29	13
	5000*	+	140	14	40	28	10
陽性対照	b)	+	691	259	856	259	151

a) 2 枚のプレートの平均値

b) 陽性対照化合物(μ g/プレート) :

	S-9 Mix 非存在下
TA100	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)
TA1535	アジ化ナトリウム (0.5)
WP2uvrA	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)
TA98	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)
TA1537	9-アミノアクリジン (80)

S-9 Mix 存在下
2-アミノアントラセン (1)
2-アミノアントラセン (2)
2-アミノアントラセン (10)
2-アミノアントラセン (0.5)
2-アミノアントラセン (2)

* : 被験物質の析出が認められた。

本試験結果

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9 Mix の 有無	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	106	8	37	25	17
ピリダリル 原体混在物	156	—	95	6	19	35	13
	313	—	105	9	28	35	17
	625*	—	84	10	31	30	19
	1250*	—	90	10	29	33	15
	2500*	—	96	8	24	28	16
	5000*	—	117	11	25	29	17
陽性対照	b)	—	481	317	92	366	799
対照(DMSO)	0	+	81	7	37	29	14
ピリダリル 原体混在物	156	+	146	12	46	34	12
	313	+	128	17	42	34	14
	625	+	131	14	45	41	11
	1250	+	133	15	46	34	15
	2500*	+	151	12	44	33	16
	5000*	+	157	12	50	37	12
陽性対照	b)	+	770	263	680	272	174

a) 2 枚のプレートの平均値

b) 陽性対照化合物(μ g/プレート) :

S-9 Mix 非存在下

TA100 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)

TA1535 アジ化ナトリウム (0.5)

WP2uvrA 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)

TA98 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)

TA1537 9-アミノアクリジン (80)

S-9 Mix 存在下

2-アミノアントラセン (1)

2-アミノアントラセン (2)

2-アミノアントラセン (10)

2-アミノアントラセン (0.5)

2-アミノアントラセン (2)

* : 被験物質の析出が認められた。

(資料 混 2-2)

試験施設：食品農医薬品安全性評価センター
報告書作成年：2002 年 [GLP 非対応]

純度：99.4%

1群6匹（評価は1群5匹）

試験方法：検体をコーンオイルに溶解し、500、1000 及び 2000mg/kg の用量で単回経口投与した。投与 24 時間後（500、1000 及び 2000mg/kg）及び 48 時間後（2000mg/kg）に各動物から大腿骨を採取して骨髓塗抹標本を作製した。陽性対照群にはマイトマイシン C を 2 mg/kg で腹腔内投与し、24 時間後に標本を作製した。標本は、メタノールで固定後、5 %ギムザ液で染色した。各動物当たり 1000 個の多染性赤血球を観察し、小核を有する細胞の出現頻度を求め、500 個の赤血球（多染性赤血球及び正染性赤血球）中の多染性赤血球の出現頻度も求めた。

用量設定根拠：1群3匹の雄マウスを用いた単回投与毒性試験（250、500、1000、2000mg/kg）の結果、死亡はなく一般症状の変化も認められなかったため、投与量を500、1000及び2000 mg/kgとして試験を実施した。

試験結果： 結果を次頁の表に示す。いずれの投与群においても死亡は認められず、一般症状の変化も見られなかった。いずれの投与群においても、溶媒対照群と比較して全赤血球に対する多染性赤血球の割合に有意な減少は認められず、小核を有する多染性赤血球の出現頻度の有意な増加も認められなかった。陽性対照であるマイトマイシンCでは、小核を有する多染性赤血球の出現頻度が溶媒対照群と比較して統計学的に有意に増加した。

以上の結果から、本試験条件下において、ピリダリル原体混在物はマウス骨髓細胞に対して小核を誘発せず、染色体異常性誘発性は陰性と結論した。

採取時間 (hr)	薬物	投与量 (mg/kg)	観察 動物数	MNPCE ^{a)} (%, 平均±SD)	PCE/(PCE+NCE) ^{b)} (%, 平均±SD)
24	陰性対照 (コーオイル)	— ^{c)}	5	0.22±0.19	54.8±3.8
	ピリダリル	500	5	0.28±0.18	58.4±6.5
	原体混在物	1000	5	0.22±0.18	58.7±3.1
	脱塩酸体	2000	5	0.20±0.16	64.0±8.5
	陽性対照 (マイマイシ C)	2	5	8.92±1.59**	45.7±8.9
48	陰性対照 (コーオイル)	-	5	0.22±0.16	53.8±8.5
	ピリダリル 原体混在物 脱塩酸体	2000	5	0.20±0.14	58.5±7.4

PCE：多染性赤血球 NCE：正染性赤血球

MNPCE：小核を有する多染性赤血球

a) 1個体につき 1000 個の多染性赤血球を観察した

b) 1個体につき 500 個の赤血球を観察した

c) 10mL/kg

統計学的解析：小核を有する多染性赤血球の出現頻度は Kastenbaum and Bowman の方法で行い，全赤血球に対する多染性赤血球の割合については Dunnett の t 検定を行った。

**p<0.05

③ピリダリル原体混在物 のチャイニーズハムスターの肺由来 V79 細胞を用いた
遺伝子突然変異試験

(資料 混 2-3)

試験施設：食品薬品安全センター

報告書作成年：2002 年 [GLP 非対応]

検 体：ピリダリル原体混在物

純 度：99.4%

試験方法：チャイニーズハムスターの継代培養した肺由来 V79 細胞を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) 存在下及び非存在下で、6-チオグアニン存在下でのコロニー増殖を指標とする HGPRT 遺伝子座の遺伝子突然変異誘発性を検定した。検体は DMSO に溶解して用い、S-9 Mix 非存在下では 0.01、0.02、0.04、0.06、0.1mg/mL、S-9 Mix 存在下では 0.01、0.02、0.04、0.06、0.08、0.1mg/mL で試験を実施した。試験は 1 連制で 1 回行なった。

用量設定根拠：用量設定のための細胞毒性試験を 2 回行なった。1 回目は S-9 Mix 存在下、非存在下ともに 0.01~4.55mg/mL (10mmol/L) の範囲の 6 濃度で行なった。検体の析出が S-9 Mix 存在下、非存在下ともに 0.1mg/mL 以上の濃度で認められた。細胞毒性作用は、S-9 Mix 存在下の 0.1mg/mL 以上の濃度で認められたが、非存在下では 4.55mg/mL まで認められなかった。2 回目は S-9 Mix 非存在下では検体の析出が認められた用量を、存在下では細胞毒性作用が認められた用量をもとに最高用量を設定した。S-9 Mix 非存在下では 0.005~0.1mg/mL、存在下では 0.005~0.2mg/mL の範囲の 5 あるいは 6 濃度で行った。S-9 Mix 非存在下では細胞増殖は阻害されなかったが、存在下では濃度に依存して阻害された。以上の結果から、S-9 Mix 非存在下では 0.01~0.1mg/mL の 5 濃度、存在下では 0.01~0.1mg/mL の 6 濃度で突然変異試験を実施した。

試験結果：結果を次表に示した。

S-9 Mix 存在下では 0.08mg/mL 以上の濃度で強い細胞増殖阻害作用が認められたため、これらの処理群では突然変異細胞の検出を行わなかった。突然変異細胞の検出を行なった処理群の突然変異率は、いずれの条件においても対照群の 3 倍未満であった。一方、陽性対照として用いたエチルメタンスルホン酸及び N-ニトロソジメチルアミンは、突然変異率を有意に増加させた。

以上の結果より、検体は代謝活性化存在下及び非存在下で遺伝子突然変異誘発性を有しないものと判断される。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

薬物	濃度 (mg/mL)	S-9 Mix の有無	相対細胞増殖率 (%) ^{a)}	相対コロニー 形成率 (%) ^{b)}	突然変異率 ($\times 10^{-6}$) ^{c)}
対照 (DMSO)	0	—	100.0	100.0	11.4
ピリダリル 原体混在物	0.01	—	101.3	114.3	11.1
	0.02	—	100.3	119.4	10.6
	0.04	—	97.7	87.7	7.2
	0.06	—	100.0	104.7	8.5
	0.1 †	—	99.0	101.3	5.0
陽性対照 (NDMA)	2	—	99.3	98.4	6.4
陽性対照 (EMS)	1	—	97.0	77.6	1228.4 ^{d)}
対照 (DMSO)	0	+	100.0	100.0	11.4
ピリダリル 原体混在物	0.01	+	104.7	94.9	2.7
	0.02	+	103.0	108.9	9.3
	0.04	+	102.4	93.6	1.4
	0.06	+	85.0	94.4	14.8
	0.08	+	2.7	NT	NT
	0.1 †	+	0.7	NT	NT
陽性対照 (NDMA)	2	+	101.4	83.9	565.2 ^{d)}

a) 対照群と比較した相対吸光度から求めた。

b) 薬物処理 6 日後に 100 個播種した細胞のコロニー数から求めた。

c)

$$\text{突然変異率} = \frac{\text{突然変異コロニー数の平均値} \times 10}{10^6} \times \frac{100}{\text{コロニー形成率の平均値}}$$

d) 対照群の 3 倍以上の値を示した。

NDMA : N-ニトロソジメチルアミン EMS : エチルメタンスルホン酸

† : 検体の析出が認められた。

NT : 強い細胞増殖阻害作用のため突然変異細胞の検出を行わなかった。

④ピリダリル原体混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 混2-4)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年 [GLP 非対応]

検体：ピリダリル原体混在物

純度：99.9%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、試験は 1 用量当たり 1 枚のプレートを用い、一回行った。

用量設定根拠：S-9 Mix 存在下、非存在下ともに、ガイドライン定められた最高用量の 5000 μ g/プレート を最高用量とし、以下公比 2 で希釈し 6 濃度を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

試験菌株に対して 5000 μ g/プレートまで生育阻害が認められなかった。検体の析出が S-9 Mix 存在下の 625 μ g/プレート以上、S-9 Mix 非存在下の 156 μ g/プレート以上の用量において認められた。検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、菌株の生育阻害を起こさない最高用量 (5000 μ g/プレート) においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン及び 2-アミノアントラセンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

試験結果

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	78	8	16	16	6
ピリダリン 原体混在物	156*	—	90	8	20	13	5
	313*	—	92	10	11	19	1
	625*	—	87	11	14	20	7
	1250*	—	102	13	23	9	5
	2500*	—	100	13	11	18	6
	5000*	—	117	10	13	24	6
陽性対照	a)	—	466	323	148	471	910
対照(DMSO)	0	+	90	7	20	26	14
ピリダリン 原体混在物	156	+	102	11	13	21	9
	313	+	103	4	26	31	11
	625*	+	101	9	22	23	17
	1250*	+	81	10	23	28	6
	2500*	+	105	4	19	23	9
	5000*	+	78	8	34	24	6
陽性対照	a)	+	641	164	754	378	124

a) 陽性対照物質(μ g/プレート) :

	S-9 Mix 非存在下	S-9 Mix 存在下
TA100	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)	2-アミノアントラセン (1)
TA1535	γ-ヒドロキシブチロ酸 (0.5)	2-アミノアントラセン (2)
WP2uvrA	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)	2-アミノアントラセン (10)
TA98	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)	2-アミノアントラセン (0.5)
TA1537	9-アミノアクリジン (80)	2-アミノアントラセン (2)

b) * : 検体の析出が認められた。

⑤ピリダリル原体混在物 の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 混2-5)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002年 [GLP 非対応]

検体：ピリダリル原体混在物

純度：98.6%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Amesらの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、各用量につき、本試験は 1 枚、追加試験 (S-9 Mix 非存在下 TA1535 株のみ) は 2 枚のプレートを用い、各試験を一回ずつ行った。

用量設定根拠：S-9 Mix 存在下、非存在下ともに、ガイドライン上定められた最高用量の 5000 μ g/プレート を最高用量とし、以下 1500、500、150、50、15 μ g/プレートの 6 濃度を設定した。

試験結果：結果を次表に示した。

試験菌株に対して 5000 μ g/プレートまで生育阻害が認められなかった。検体の析出が S-9 Mix 存在下の 500 μ g/プレート以上、S-9 Mix 非存在下の 150 μ g/プレート以上の用量において認められた。S-9 Mix 非存在下 TA1535 株の一部に復帰変異コロニー数のわずかな増加が散見されたため、156~5000 μ g/プレートの範囲の 6 濃度で追加試験を実施した。その結果追加試験において、対照群の 2 倍を超えかつ用量依存性のある復帰変異コロニー数の増加は認められず、本試験の増加の再現性は認められなかった。その他の菌株についてもいずれの条件下においても復帰変異コロニー数が対照群の 2 倍以上にかつ用量依存的に増加することはなかった。

一方、陽性対照として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン及び 2-アミノアントラセンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

本試験結果

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照 (DMSO)	0	—	97	7	14	25	7
ヒダリル 原体混在物	15	—	109	13	16	26	9
	50	—	89	8	17	15	7
	150*	—	98	24	19	17	9
	500*	—	105	12	21	19	5
	1500*	—	110	9	25	21	6
	5000*	—	98	15	13	20	3
陽性対照	a)	—	428	332	164	332	689
対照 (DMSO)	0	+	99	15	27	45	19
ヒダリル 原体混在物	15	+	105	5	26	43	8
	50	+	121	5	27	38	12
	150	+	90	6	21	18	8
	500*	+	84	9	14	33	10
	1500*	+	118	10	23	23	11
	5000*	+	72	17	19	22	9
陽性対照	a)	+	564	190	513	311	142

a) 陽性対照物質(μ g/プレート) :

	S-9 Mix 非存在下	S-9 Mix 存在下
TA100	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)	2-アミノアントレン (1)
TA1535	アジ化ナトリウム (0.5)	2-アミノアントレン (2)
WP2uvrA	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)	2-アミノアントレン (10)
TA98	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)	2-アミノアントレン (0.5)
TA1537	9-アミノアクリジン (80)	2-アミノアントレン (2)

* : 検体の析出が認められた。

追加試験結果

薬物	濃度 (μg /プレート)	S-9 Mix の有無	復帰変異コロニー数 ^{a)} /プレート
			塩基置換型
			TA1535
対照(DMSO)	0	—	9
ピリタリル 原体混在物	15	—	6
	50	—	5
	150*	—	10
	500*	—	8
	1500*	—	6
	5000*	—	11
陽性対照	b)	—	305

a) 2枚のプレートの平均値

b) 陽性対照物質(μg /プレート): S-9 Mix 非存在下 TA1535 7ジ化ナトリウム (0.5)

c) *: 検体の析出が認められた。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

2-2 代謝物

(1) 変異原性

①ピリダリル代謝分解物()の細菌を用いる復帰突然変異試験

(資料 代1-1)

試験機関：住友化学工業株式会社

報告書作成年：2002 年[GLP 非対応]

検 体：ピリダリル代謝分解物()

純 度：98.8%

試験方法：ヒスチジン要求性のサルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA1535, TA1537 株) 及びトリプトファン要求性大腸菌 *Escherichia coli* (WP2uvrA 株) を用い、ラットの肝臓から調製した薬物代謝酵素系 (S-9 Mix) の存在下及び非存在下で、Ames らの方法を用いて変異原性を検定した。

検体は DMSO に溶解し、S-9 Mix 存在下、非存在下で 0.05~5000 μg /プレート の用量範囲で試験を実施した。各用量につき、用量設定試験は 1 枚、本試験は 2 枚のプレートをを用い、各試験を 1 回ずつ実施した。

用量設定根拠：15~5000 μg /プレートの範囲の 6 濃度で用量設定試験を実施した。検体の析出が S-9 Mix 存在下の 5000 μg /プレート、S-9 Mix 非存在下の 1500 μg /プレート以上で認められた。試験菌株に対する生育阻害は S-9 Mix 存在下 TA100、TA1535 及び TA1537 株の 50 μg /プレート以上、TA98 株の 500 μg /プレート以上、WP2uvrA 株の 5000 μg /プレートで、S-9 Mix 非存在下 TA100、TA98、TA1535 及び TA1537 株の 15 μg /プレート以上、WP2uvrA 株の 500 μg /プレート以上でそれぞれ認められた。以上により、各試験菌株で抗菌性が認められた用量を最高用量とし、S-9 Mix 存在下 TA100、TA1535 及び TA1537 株においては 0.5~150 μg /プレート、TA98 株においては 1.5~500 μg /プレート、WP2uvrA 株では 15~5000 μg /プレートの範囲で、S-9 Mix 非存在下 TA100、TA98、TA1535 及び TA1537 株においては 0.05~15 μg /プレート、WP2uvrA 株では 1.5~500 μg /プレートの範囲の 6 濃度を設定し、本試験を実施した。

試験結果：結果を表に示した。

検体は S-9 Mix の有無にかかわらず、各菌株が抗菌性を示す最高用量においても、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数を増加させなかった。

一方、陽性対照化合物として用いた 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、アジ化ナトリウム、9-アミノアクリジン及び 2-アミノアントラセンではすべての検定菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。

以上の結果より、検体は代謝活性化を含む本試験条件下で復帰変異誘発性は有しないものと判断される。

用量設定試験結果

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9Mix の有 無	復帰変異コロニー数/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	94	16	26	22	24
ピリタリル 代謝分解物 ()	15	—	55*	5*	16	21*	2*
	50	—	0*	0*	24	8*	0*
	150	—	0*	0*	23	12*	0*
	500	—	0*	0*	6*	0*	0*
	1500†	—	0*	0*	0*	0*	0*
	5000†	—	0*	0*	0*	0*	0*
陽性対照	a)	—	650	266	110	234	749
対照(DMSO)	0	+	80	8	28	41	15
ピリタリル 代謝分解物 ()	15	+	94	8	23	27	14
	50	+	74*	8*	32	27	12*
	150	+	66*	4*	27	23	10*
	500	+	0*	2*	23	13*	0*
	1500	+	0*	0*	11	8*	0*
	5000†	+	0*	0*	6*	3*	0*
陽性対照	a)	+	708	245	949	241	142

a) 陽性対照化合物(μ g/プレート) :

S-9 Mix 非存在下

TA100 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)
 TA1535 アジ化トリウム (0.5)
 WP2uvrA 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)
 TA98 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)
 TA1537 9-アミノアクリジン (80)

S-9 Mix 存在下

2-アミナントレン (1)
 2-アミナントレン (2)
 2-アミナントレン (10)
 2-アミナントレン (0.5)
 2-アミナントレン (2)

†: 検体の析出が認められた。

*: 検体による菌の生育阻害が認められた。

本試験結果

薬物	濃度 (μ g/ プレート)	S-9Mix の有無	復帰変異コロニー数 a)/プレート				
			塩基置換型			フレームシフト型	
			TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
対照(DMSO)	0	—	115	7	23	36	19
ピリタリル 代謝分解物 ()	0.05	—	101	8	NT	32	24
	0.15	—	93	4	NT	44	14
	0.5	—	100	7	NT	26	19
	1.5	—	92	13	21	37	16
	5	—	99	8	24	37	16
	15	—	63*	5*	24	18*	2*
	50	—	NT	NT	18	NT	NT
	150	—	NT	NT	27	NT	NT
	500	—	NT	NT	8*	NT	NT
陽性対照	b)	—	626	321	120	357	884
対照(DMSO)	0	+	83	8	32	30	23
ピリタリル 代謝分解物 ()	0.5	+	88	5	NT	NT	19
	1.5	+	103	7	NT	32	12
	5	+	109	9	NT	30	16
	15	+	100	8	38	36	14
	50	+	69*	4	39	27	14*
	150	+	61*	5*	31	16	14*
	500	+	NT	NT	19	14*	NT
	1500	+	NT	NT	9	NT	NT
	5000†	+	NT	NT	7*	NT	NT
陽性対照	b)	+	753	299	745	249	150

a) 2枚のプレートの平均値

b) 陽性対照化合物(μ g/プレート):

S-9 Mix 非存在下

TA100 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)
 TA1535 アジ化ナトリウム (0.5)
 WP2 $uvrA$ 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.01)
 TA98 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (0.1)
 TA1537 9-アミノアクリジン (80)

S-9 Mix 存在下

2-アミノアントラセン (1)
 2-アミノアントラセン (2)
 2-アミノアントラセン (10)
 2-アミノアントラセン (0.5)
 2-アミノアントラセン (2)

†: 検体の析出が認められた。

*: 検体による菌の生育阻害が認められた。

NT: 試験せず。

3. 製剤

(1) 急性毒性

①プレオフロアブルのラットを用いた急性経口毒性試験

(資料 製1-1)

試験機関：(株) ポリサーチセンター

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

検体： プレオフロアブル

組成： ビリダリル原体 10%
水、界面活性剤等 残量

試験動物：SD系ラット、(7週齢、体重：雄 213～228g、雌 148～162g)

1群雌雄各5匹

観察期間：14日間観察(投与日 2001年11月12日、観察終了剖検日 2001年11月26日)

投与方法：投与前(約16時間)絶食させたラットに、金属製胃ゾンデを用いて所定量(比重換算で2ml/kg体重)の被験物質を2000mg/kgの割合で1回経口投与した。対照群の動物には蒸留水のみを同様に投与した(0mg/kg)。投与後6時間に給餌を再開した。

試験項目：一般状態および生死を14日間観察し、体重は投与直前、投与後1、2、3、7、10および14日目に体重測定した。全動物は14日間の観察期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死させ、体表外ならびに頭部、胸部および腹部の器官・組織を肉眼的に観察した。

試験結果：

投与方法	経口
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 0, 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	症状の発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 2000

一般状態では、雌雄ともに異常はなく、被験物質投与の影響は認められなかった。体重では、雄で体重増加量に有意差が認められたが、通常見られる程度の一時的な変化であり、被験物質投与の影響はないものと考えられた。剖検では、雌雄ともに異常はなく、被験物質投与の影響は認められなかった。

②プレオフロアブルのラットを用いた急性経皮毒性試験

(資料 製1-2)

試験機関：(株)ボソリサーチセンター

報告書作成年：2002年 [GLP 対応]

検体：プレオフロアブル

組成：ピリダリル原体 10%
水、界面活性剤等 残量

試験動物：SD系ラット、(7週齢、体重：雄 246～259g、雌 167～180g)
1群雌雄各5匹

試験期間：14日間観察(投与日 2001年11月12日、観察終了剖検日 2001年11月26日)

投与方法：投与前日に電器バリカン(松下電工株式会社)を用いて背部皮膚を刈毛(約30cm²：5×6cm)した。投与は、所定量(2000mg/kg、比重換算で2mL/kg体重)の被験物質をリント布(約20cm²：4×5cm)にのせ、刈毛した背部皮膚に貼付した。更に粘着性伸縮テープ(キネシオテックス：株式会社キネシオ)を用いて固定した。塗布後24時間にリント布および粘着性伸縮テープを除去し、温水およびガーゼを用いて塗布部位を清拭した。対照群の動物には被験物質の塗布を除き、リント布および粘着性伸縮テープを同様に処置した。

試験項目：一般状態および生死を14日間観察し、体重は投与直前、投与後1、2、3、7、10および14日目に体重測定した。全動物は14日間の観察期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死させ、塗布部位を含む体表外ならびに頭部、胸部および腹部の器官・組織を肉眼的に観察した。

試験結果：

投与方法	経皮
投与量 (mg/kg)	♂, ♀ ; 0, 2000
LD ₅₀ (mg/kg)	♂♀共 >2000
死亡開始および終了時間	死亡例なし
症状発現および終了時間	症状の発現なし
最大無作用量 (mg/kg)	♂♀共 2000
死亡例の認められなかった最高投与量 (mg/kg)	♂♀共 2000

中毒症状および死亡は認められなかった。体重では、対照群を含め雌雄で投与翌日に減少あるいは増加抑制が認められたが、対照群と被験物質投与群における体重の変化は同様であり、粘着性伸縮テープ固定に伴うストレス性の変化と判断されたことから、被験物質投与の影響はないものと考えられた。剖検では、投与部位の皮膚を含めて、雌雄ともに異常はなく、被験物質投与の影響は認められなかった。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

(2) 皮膚及び眼に対する刺激性

①プレオフロアブルのウサギを用いた皮膚刺激性試験

(資料 製2 - 1)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

報告書作成年：2002年 [GLP対応]

検 体： プレオフロアブル

組 成： ピリダリル原体 10%

水、界面活性剤等 残量

試験動物： 日本白色種ウサギ、雌 (18週令、体重2.95～3.22kg)

試験期間： 14日間観察

試験方法： 検体の0.5mLを塗布したリント布を3匹の動物の剃毛した左側背部に貼付した。貼付後その上から自着性弾力包帯を胴体に巻き付け、さらにポリエチレンフィルムのテープで固定し、4時間閉塞した。4時間後、リント布を取り除き、投与部位を清拭した。その後経時的に観察した。右側背部は無処置対照群とした。

観 察： 検体除去後、1、24、48、72時間後、その後は14日後まで1日1回、紅斑および痂皮と浮腫を観察し、Draizeらの判定基準に従って、皮膚の局所反応を点数化して記録した。

試験結果： Draizeらの判定基準による局所反応の平均値は以下の通りであった。

反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
		1時間	24時間	48時間	72時間
紅斑・痂皮	4	1.7	1.7	1.3	1.3
浮腫	4	1.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	2.7	1.7	1.3	1.3

表の点数は3匹の平均値

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
		4日	5日	6日	7日
紅斑・痂皮	4	1.3	1.3	1.3	0.7
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	1.3	1.3	1.3	0.7

表の点数は3匹の平均値

反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
		8日	9日	10日	11日
紅斑・痂皮	4	0.7	0.7	0.7	0.7
浮腫	4	0.0	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.7	0.7	0.7	0.7

表の点数は3匹の平均値

反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間		
		12日	13日	14日
紅斑・痂皮	4	0.3	0.0	0.0
浮腫	4	0.0	0.0	0.0
合計	8	0.3	0.0	0.0

表の点数は3匹の平均値

検体投与部位において、検体除去1～72時間後に紅斑、浮腫が認められた。刺激反応は7～13日後に消失した。また、7～13日後には刺激性の二次的变化と考えられる鱗屑が2/3例に認められた。

以上の結果から、皮膚一次刺激性指数は1.8となり、「軽度の刺激性あり」と判断された。

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

②プレオフロアブルのウサギを用いる眼一次刺激性試験

(資料 製2-2)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

報告書作成年：2002年[GLP対応]

検 体： プレオフロアブル

組 成： ビリダリル原体 10%

水、界面活性剤等 残量

試験動物： 日本白色種ウサギ、雌（非洗眼群；14週令、体重2.50～2.58kg、洗眼群；15週令、体重2.25～2.80kg）

試験期間： 3日間観察

試験方法： 非洗眼群では、検体の0.1mLを3匹の動物の左眼結膜嚢内に適用し、1秒間眼瞼を閉じた後、経時的に観察した。右眼は無処置対照とした。

洗眼群では、検体の0.1mLを3匹の動物の左眼結膜嚢内に適用し、適用30秒後に注射用水で30秒間洗眼した。右眼は30秒間の洗眼のみの対照眼とした。

観 察： 検体適用後、1、24、48、72時間後に、角膜、虹彩、結膜を観察し、Draizeらの判定基準に従って、眼の局所反応を点数化して記録した。

試験結果： Draizeらの判定基準による局所反応の平均値は以下の通りであった。

	反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
非洗浄眼	角膜	80	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩	10	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	20	4.0	0.0	0.0	0.0
	(発赤)	(6)	2.0	0.0	0.0	0.0
	(浮腫)	(8)	0.0	0.0	0.0	0.0
	(眼脂分泌)	(6)	2.0	0.0	0.0	0.0
	合計	110	4.0	0.0	0.0	0.0

表の点数は3匹の平均

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

	反応の種類	刺激反応 の 最高評点	適用後の経過時間			
			1時間	24時間	48時間	72時間
洗浄眼	角膜	80	0.0	0.0	0.0	0.0
	虹彩	10	0.0	0.0	0.0	0.0
	結膜	20	0.0	0.0	0.0	0.0
	(発赤)	(6)	0.0	0.0	0.0	0.0
	(浮腫)	(8)	0.0	0.0	0.0	0.0
	(眼脂分泌)	(6)	0.0	0.0	0.0	0.0
	合計	110	0.0	0.0	0.0	0.0

表の点数は3匹の平均

非洗眼群において投与1時間後に結膜発赤および眼脂分泌が観察されたが、投与24時間以降では刺激反応は認められなかった。洗眼群においては観察期間を通じて角膜、虹彩、結膜等に眼刺激性は認められなかった。

以上の結果から、眼刺激性評点は4.0であり、「ごく軽度の刺激性あり」と判断された。また、洗眼効果が認められた。

(3) 皮膚感作性

①プレオフロアブルのモルモットを用いた皮膚感作性試験 (Buchler Test法)

(資料 製3-1)

試験機関：株式会社ボゾリサーチセンター

報告書作成年： 2002年 [GLP対応]

検 体： プレオフロアブル

組 成： ピリダリル原体 10%

水、界面活性剤等 残量

試験動物： ハートレー系白色モルモット、雌 (7週令、体重353~432g)

試験期間： 30日間観察

方 法： Buchler法

投与量設定

根拠：

感 作； 検体0.2mLを直径2.5cmのパッチに塗布して、剃毛した動物の左側胸部に貼付した。6時間後に除去し貼付部位を清拭した。同様の操作を感作開始日、7日後、14日後の3回行った。陽性対照群として1%DNCB溶液、非感作群は溶媒である注射用水またはエタノールを貼付した。

惹 起； 感作27日後に、検体の0.2mLを直径2.5cmのパッチに塗布して、剃毛した動物の右側胸部に貼付した。6時間後に除去し貼付部位を清拭した。陽性対照として0.25%DNCB溶液を貼付した。

観 察； 各感作の貼付除去24および48時間後ならびに惹起貼付除去24および48時間後に、適用部位の紅斑および浮腫の有無等をMagnusson & Kligmanの基準により肉眼的に観察した。

試験結果； 各観察時間における感作変化が認められた動物数を下表に示す

本資料に記載された情報に係る権利及び内容の責任は住友化学工業株式会社にある。

群		供試動物数	検体濃度	感作反応動物数								平均評点 24時間	平均評点 48時間	陽性動物数	陽性感作率(%)	
				皮膚反応	24時間				48時間							
					皮膚反応評点											
					0	1	2	3	0	1	2	3				
検体	感作群	20	25%	紅斑	9	11	0	0	11	9	0	0	0.6	0.5	13	65
				浮腫	20	0	0	0	20	0	0	0	0	0	0	0
	対照群	10	25%	紅斑	10	0	0	0	8	2	0	0	0	0.2	2	20
				浮腫	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

群		供試動物数	検体濃度	感作反応動物数								平均評点 24時間	平均評点 48時間	陽性動物数	陽性感作率(%)	
				皮膚反応	24時間				48時間							
					皮膚反応評点											
					0	1	2	3	0	1	2	3				
DNCB	感作群	10	0.25%	紅斑	0	0	5	5	0	4	4	2	2.5	1.8	10	100
				浮腫	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
	対照群	10	0.25%	紅斑	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0
				浮腫	10	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

検体感作群では、惹起貼付除去後紅斑が認められ、陽性率は65%であった。検体非感作群でも、紅斑が認められ、陽性率は20%であった。検体感作群に認められた反応は非感作群に比べてわずかではあるが陽性率を上回るものであった。

以上の結果より、皮膚感作性を有すると判断された。