

『p-(アセチルアミ)ペンシリンカリドの細菌を用いる復帰突然変異試験』

PROJECT No. H-00358

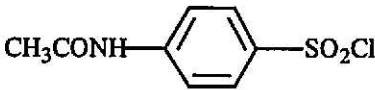
平成 13 年 3 月 30 日

群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58

株式会社 実医研

## 細菌を用いる復帰突然変異試験結果報告書

### 1. 一般的事項

|                                  |   |     |                       |            |     |         |
|----------------------------------|---|-----|-----------------------|------------|-----|---------|
| 新規化学物質の名称<br>(IUPAC 命名法による)      | p-(アセチルアミノ)ベンゼンスルホニルクロリド  |     |                       |            |     |         |
| 別 名                              |   |     |                       |            |     |         |
| 構造式又は示性式<br>(いずれも不明の場合は、その製法の概要) | <br>$\text{CH}_3\text{CONH}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}_2\text{Cl}$<br>$\text{C}_8\text{H}_8\text{ClNO}_2\text{S}$ |     |                       |            |     |         |
| 試験に供した新規化学物質の純度                  | 99.7%   |     | 試験に供した新規化学物質の Lot No. | XXXXXXXXXX |     |         |
| 不純物の名称及び濃度                       |   |     |                       |            |     |         |
| C A S 番 号                        | 121-60-8  |     | 蒸 気 圧                 |            |     |         |
| 分 子 量                            | 233.67  |     | 分 配 係 数               |            |     |         |
| 融 点                              | 145~148℃  |     | 常温における性状              | 白色の粉末      |     |         |
| 沸 点                              |   |     |                       |            |     |         |
| 安 定 性                            |   |     |                       |            |     |         |
| 溶媒に対する溶解度等                       | 溶媒  | 溶解度 | 溶媒中の安定性               | 溶媒         | 溶解度 | 溶媒中の安定性 |
|                                  | 水   | 溶解  | 不安定                   | DMSO       | 溶解  | 不安定     |
|                                  | アセトン  | —   | —                     | その他 ( )    | —   | —       |

### 2. 試験に用いた菌株

| 菌株名     | 入 手 先                         | 入手年月日           |
|---------|-------------------------------|-----------------|
| TA98    | 中央労働災害防止協会<br>日本バイオアッセイ研究センター | 2000 年 8 月 22 日 |
| TA100   | 中央労働災害防止協会<br>日本バイオアッセイ研究センター | 2000 年 8 月 22 日 |
| TA1535  | 中央労働災害防止協会<br>日本バイオアッセイ研究センター | 2000 年 8 月 22 日 |
| TA1537  | 中央労働災害防止協会<br>日本バイオアッセイ研究センター | 2000 年 8 月 22 日 |
| WP2uvrA | 中央労働災害防止協会<br>日本バイオアッセイ研究センター | 2000 年 8 月 22 日 |

### 3.S9 mix

#### (1) S9 の入手方法等

|                |                                  |
|----------------|----------------------------------|
| 自製・購入の別        | 1.自製      ②.購入（製造年月日：キッコーマン株式会社） |
| 製造年月日          | 2000 年 12 月 1 日                  |
| 購入の場合の Lot No. | RAA-436                          |
| 保存温度           | -80℃以下（設定温度；-85℃）                |

#### (2) S9 の調製方法

| 使用動物 |          | 誘導物質                   |                         |
|------|----------|------------------------|-------------------------|
| 種・系統 | ラット・SD 系 | 名 称                    | PB および 5,6-BF           |
| 性    | 雄        | 投与方法                   | 腹腔内投与                   |
| 週 令  | 7 週      | 投与期間及び投与量<br>(g/kg 体重) | PB      0.03g/kg   1 回  |
| 体 重  | 210~245g |                        | PB      0.06g/kg   3 回  |
|      |          |                        | 5,6-BF   0.08g/kg   1 回 |

#### (3) S9mix の組成

| 成 分               | S9mix 1mL 中の量 | 成 分       | S9mix 1mL 中の量 |
|-------------------|---------------|-----------|---------------|
| S9                | 0.1 mL        | NADPH     | 4 μmol        |
| MgCl <sub>2</sub> | 8 μmol        | NADH      | 4 μmol        |
| KCl               | 33 μmol       | Na-リン酸緩衝液 | 100 μmol      |
| グルコース-6-リン酸       | 5 μmol        | その他 ( )   | —             |

### 4.被験物質溶液の調製

| 使用溶媒                 | 名称   | 製造元                      | Lot No.   | グレード | 純度 (%) |
|----------------------|--|--------------------------|-----------|------|--------|
|                      | *DMF   | ALDRICH CHEMICAL CO.,INC | KS00154ES | —    | 99.8   |
| 溶媒選択の理由              | 事前に目視により確認した結果、DMSO およびアセトンには溶解するが不安定であり、水には不溶である。DMF には溶解し、発熱、発泡、着色が認められなかったことから安定と判断し、DMF を選択した。 |                          |           |      |        |
| 被験物質溶液の性状            | (溶解) 懸濁 その他 ( )  |                          |           |      |        |
| 被験物質が難溶性の場合における懸濁の方法 | —  |                          |           |      |        |
| 溶液の調製から使用までの保存時間と温度  | 0 時間 00 分 (用時調製)      室温   |                          |           |      |        |
| 純度換算の有無              | 有      (無)   |                          |           |      |        |

\* : N,N-Dimethylformamide

### 5.前培養の条件等

#### (1) 条件

| ニュートリエントブロス  | 名称                  | 製造元     | Lot No.   |
|--------------|---------------------|---------|-----------|
|              | Nutrient broth No.2 | OXOID 社 | 028 59355 |
| 前 培 養 時 間    | 10 時間 00 分          |         |           |
| 培養容器 (形状・容量) | L 字型試験管・15×80×180mm |         |           |
| 培 養 液 量      | 12mL                | 接 種 菌 量 | 24 μL     |

## (2) 前培養終了時の生菌数等

| 菌 株 名                              |             | 塩基対置換型                                 |        |         | フレームシフト型 |        |
|------------------------------------|-------------|--|--------|---------|----------|--------|
|                                    |             | TA100                                  | TA1535 | WP2uvrA | TA98     | TA1537 |
| 生菌数<br>( $\times 10^6/\text{mL}$ ) | 用 量 設 定 試 験 | 1.3                                    | 1.5    | 2.9     | 2.0      | 1.5    |
|                                    | 本 試 験       | 1.2                                    | 1.4    | 2.6     | 1.7      | 1.2    |
|                                    | 確 認 試 験     | 1.3                                    | 1.5    | 2.8     | 2.0      | 1.4    |
| 測 定 方 法                            |             | ①.O.D.値より換算    2.段階希釈法    3.その他 (    ) |        |         |          |        |

## 6.最小グルコース寒天平板培地

|                     |                                  |
|---------------------|----------------------------------|
| 自 製 ・ 購 入 の 別       | 1.自製      ②.購入 (製造元: 極東製薬工業株式会社) |
| 製 造 年 月 日           | 2000 年 11 月 16 日 製造              |
| 購 入 の 場 合 の Lot No. | DZA1BG01                         |
| 使用寒天の名称・製造元・Lot No. | Agar、OXOID、Lot No.802714         |

## 7.試験の方法

## (1) 試験方法とその選択理由

|               |   |
|---------------|---|
| 採用した試験方法      | ①.ブレインキュベーション法    ②.プレート法    3.その他 (    ) |
| その他の場合はその選択理由 | _____                                     |

## (2) 試験条件

|             |                      |        |
|-------------|----------------------|--------|
| 組 成         | 菌 懸 濁 液              | 0.1 mL |
|             | 被 験 物 質 溶 液          | 0.1 mL |
|             | Na-リン酸緩衝液 (直接法による場合) | 0.5 mL |
|             | S9mix (代謝活性化法による場合)  | 0.5 mL |
|             | ト ッ プ ア ガ ー          | 2.0 mL |
|             | そ の 他 (    )         | _____  |
| ブレインキュベーション | 温 度                  | 37 °C  |
|             | 時 間                  | 20 分   |
| インキュベーション   | 温 度                  | 37 °C  |
|             | 時 間                  | 48 時間  |

## 8.コロニー計測の方法

|           |                          |
|-----------|--------------------------|
| 計 測 方 法   | ①.マニュアル計測      ②.機器計測    |
| 補 正 の 有 無 | ①.無      2.有 (補正の方法    ) |

## 9. 結果の判定及び参考事項

(1) 試験結果は別表および図による


(2) 結果の判定

| 判 定<br>(いずれかを○で囲むこと)  | 陽性 | 陰性 |
|---|----|----|
| <p>判定の理由</p> <p>本被験物質の復帰変異コロニー数は用量設定試験、本試験および確認試験ともに用量依存性ならびに陰性対照群の2倍以上の増加を認めなかった。なお、生育阻害が各試験菌株で認められ、その濃度は代謝活性化によらない場合の TA100、TA1535、WP2uvrA 株、代謝活性化による場合の TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA 株では 2500 <math>\mu</math>g/plate 以上、代謝活性化によらない場合の TA98、TA1537 株では 1000 <math>\mu</math>g/plate であった。被験物質の沈澱は認められなかった。</p> <p>一方、各試験菌株の陽性対照群の復帰変異コロニー数はいずれも陰性対照群と比較して顕著な増加が認められた。</p> <p>以上の結果より、当該試験条件下における p-(7セチルアミ)ベンゼンスルホニルクロリドの変異原性は陰性と判断された。</p> <p>データの統計学的処理はしていない。</p> <p>その他、試験の信頼性に影響を及ぼした要因はない。</p> |    |    |

(3) 考事項

|   |
|---|
| <p>本被験物質は、用量設定試験（プレート法）の結果、生育阻害が各試験菌株で認められ、その濃度は代謝活性化によらない場合の TA100、TA1535、WP2uvrA 株、代謝活性化による場合の TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA 株では 5000 <math>\mu</math>g/plate、代謝活性化によらない場合の TA98、TA1537 株では 1000 <math>\mu</math>g/plate 以上であった。被験物質の沈澱は認められなかった。このことから、本試験の最高用量を全試験菌株について生育阻害の認められた最低用量を最高用量とし、代謝活性化によらない場合の TA100、TA1535、WP2uvrA 株、代謝活性化による場合の TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA 株では 5000 <math>\mu</math>g/plate を最高用量に設定し、以下公比 2 で 2500、1250、625、312.5 および 156.3 <math>\mu</math>g/plate、代謝活性化によらない場合の TA98、TA1537 株では 1000 <math>\mu</math>g/plate を最高用量に設定し、以下公比 2 で 500、250、125、62.5 および 31.3 <math>\mu</math>g/plate のそれぞれ計 6 用量で実施した。</p> <p>本試験（プレート法）の結果、各試験菌株の被験物質群の復帰変異コロニー数は用量依存性ならびに陰性対照群の2倍以上の増加を認めなかったことから陰性と判定した。</p> <p>本試験の結果が陰性であった場合には、別の方法で再現性を確認する必要があるため、確認試験をブレインキューベーション法で実施した。用量として代謝活性化によらない場合の TA100、TA1535、WP2uvrA 株、代謝活性化による場合の TA98、TA100、TA1535、TA1537、WP2uvrA 株では 5000、2500、1250、625、312.5、156.3 および 78.1 <math>\mu</math>g/plate の計 7 用量、代謝活性化によらない場合の TA98、TA1537 株では 1000、500、250、125、62.5 および 31.3 <math>\mu</math>g/plate の計 6 用量とした。確認試験では本試験とほぼ同様な結果が得られ、再現性が確認された。</p> <p>各陰性対照群および陽性対照群の復帰変異コロニー数は、用量設定試験および本試験のいずれもバックグラウンドデータ（添付資料 1、2）の近似値であったことから、当該試験が適正な条件下で実施されたことが確認された。</p> <p>用量設定試験および本試験で実施した無菌試験では、雑菌の汚染は認められなかった。</p> |
|---|

10.その他

|        |  |   |
|--------|--|---|
| 試験実施施設 | 名称   | 株式会社 実医研 榛名試験所  |
|        | 所在地  | 群馬県吾妻郡吾妻町大字大戸 3303-58 電話 0279 (69) 2216<br>FAX 0279 (69) 2251 |
| 試験責任者  |  |   |
| 試験期間   | 平成 13 年 12 月 25 日 より 平成 13 年 3 月 30 日  |   |
| 試験番号   | H-00358  |   |

[別表 1]

## 用量設定試験結果表

被験物質の名称 : p-(7ヒドロキシ)ベンゾ[1,2-b]キノリン

| 試験実施期間            |                                   | 2001年1月11日より2001年1月15日   |                    |                    |                     |                    |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 代謝活性<br>化系の<br>有無 | 被験物質の用量<br>( $\mu\text{g}$ /プレート) | 復帰変異数 (コロニー数/プレート)       |                    |                    |                     |                    |
|                   |                                   | 塩基対置換型                   |                    |                    | フレームシフト型            |                    |
|                   |                                   | TA<br>100                | TA<br>1535         | WP2<br>uvrA        | TA<br>98            | TA<br>1537         |
| -S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)                     | 158<br>147 ( 153 )       | 13<br>19 ( 16 )    | 44<br>30 ( 37 )    | 26<br>34 ( 30 )     | 11<br>15 ( 13 )    |
|                   | 5                                 | 160<br>160 ( 160 )       | 15<br>13 ( 14 )    | 39<br>31 ( 35 )    | 33<br>34 ( 34 )     | 14<br>16 ( 15 )    |
|                   | 10                                | 140<br>159 ( 150 )       | 20<br>14 ( 17 )    | 40<br>31 ( 36 )    | 34<br>29 ( 32 )     | 14<br>12 ( 13 )    |
|                   | 50                                | 141<br>158 ( 150 )       | 14<br>16 ( 15 )    | 28<br>36 ( 32 )    | 45<br>30 ( 38 )     | 8<br>15 ( 12 )     |
|                   | 100                               | 155<br>153 ( 154 )       | 18<br>14 ( 16 )    | 30<br>31 ( 31 )    | 38<br>35 ( 37 )     | 14<br>11 ( 13 )    |
|                   | 500                               | 143<br>157 ( 150 )       | 13<br>13 ( 13 )    | 41<br>34 ( 38 )    | 23<br>20 ( 22 )     | 11<br>13 ( 12 )    |
|                   | 1000                              | 168<br>145 ( 157 )       | 11<br>16 ( 14 )    | 36<br>31 ( 34 )    | 0 *<br>0 * ( 0 )    | 4 *<br>3 * ( 4 )   |
|                   | 5000                              | 0 *<br>0 * ( 0 )         | 0 *<br>0 * ( 0 )   | 0 *<br>0 * ( 0 )   | 0 *<br>0 * ( 0 )    | 0 *<br>0 * ( 0 )   |
| +S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)                     | 157<br>176 ( 167 )       | 16<br>22 ( 19 )    | 36<br>29 ( 33 )    | 42<br>43 ( 43 )     | 18<br>13 ( 16 )    |
|                   | 5                                 | 161<br>156 ( 159 )       | 15<br>13 ( 14 )    | 38<br>46 ( 42 )    | 41<br>39 ( 40 )     | 19<br>12 ( 16 )    |
|                   | 10                                | 155<br>154 ( 155 )       | 11<br>20 ( 16 )    | 51<br>52 ( 52 )    | 44<br>39 ( 42 )     | 17<br>19 ( 18 )    |
|                   | 50                                | 147<br>169 ( 158 )       | 15<br>17 ( 16 )    | 41<br>40 ( 41 )    | 47<br>52 ( 50 )     | 18<br>14 ( 16 )    |
|                   | 100                               | 154<br>164 ( 159 )       | 14<br>21 ( 18 )    | 30<br>48 ( 39 )    | 48<br>41 ( 45 )     | 18<br>20 ( 19 )    |
|                   | 500                               | 173<br>157 ( 165 )       | 6<br>21 ( 14 )     | 41<br>41 ( 41 )    | 35<br>45 ( 40 )     | 19<br>15 ( 17 )    |
|                   | 1000                              | 171<br>152 ( 162 )       | 16<br>19 ( 18 )    | 48<br>41 ( 45 )    | 37<br>57 ( 47 )     | 15<br>16 ( 16 )    |
|                   | 5000                              | 0 *<br>0 * ( 0 )         | 0 *<br>0 * ( 0 )   | 0 *<br>0 * ( 0 )   | 0 *<br>0 * ( 0 )    | 0 *<br>0 * ( 0 )   |
| 陽性対照              | S9 mix<br>を必要としないもの               | 名称                       | AF-2               | SA                 | AF-2                | 9-AA               |
|                   |                                   | 用量( $\mu\text{g}$ /プレート) | 0.01               | 0.5                | 0.01                | 0.1                |
|                   |                                   | コロニー数<br>/プレート           | 450<br>477 ( 464 ) | 566<br>523 ( 545 ) | 227<br>228 ( 228 )  | 562<br>551 ( 557 ) |
|                   | S9 mix<br>を必要とするもの                | 名称                       | 2-AA               | 2-AA               | 2-AA                | 2-AA               |
|                   |                                   | 用量( $\mu\text{g}$ /プレート) | 1                  | 2                  | 10                  | 0.5                |
|                   |                                   | コロニー数<br>/プレート           | 874<br>950 ( 912 ) | 203<br>209 ( 206 ) | 775<br>1057 ( 916 ) | 508<br>512 ( 510 ) |

[備考]

( ) : 復帰変異コロニー数の平均値

PROJECT No. H-00358

\* : 試験菌株の生育阻害

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA : Sodium azide, 9-AA : 9-Aminoacridine

2-AA : 2-Aminoanthracene

DMF : N,N-Dimethylformamide

被験物質の名称 : p-(アセチルアミ)ベンゼンジスルホニド

| 試験実施期間            |                            | 2001年2月15日より2001年2月19日 |            |             |          |            |
|-------------------|----------------------------|------------------------|------------|-------------|----------|------------|
| 代謝活性<br>化系の<br>有無 | 被験物質の用量<br>( $\mu$ g/プレート) | 復帰変異数 (コロニー数/プレート)     |            |             |          |            |
|                   |                            | 塩基対置換型                 |            |             | フレームシフト型 |            |
|                   |                            | TA<br>100              | TA<br>1535 | WP2<br>uvrA | TA<br>98 | TA<br>1537 |
| -S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)              | 143                    | 21         | 33          |          |            |
|                   |                            | 141 ( 145 )            | 16 ( 18 )  | 27 ( 32 )   |          |            |
|                   |                            | 151                    | 16         | 37          |          |            |
|                   | 156.3                      | 125                    | 10         | 30          |          |            |
|                   |                            | 128 ( 127 )            | 11 ( 13 )  | 31 ( 29 )   |          |            |
|                   |                            | 127                    | 19         | 26          |          |            |
|                   | 312.5                      | 125                    | 15         | 26          |          |            |
|                   |                            | 154 ( 140 )            | 10 ( 12 )  | 27 ( 27 )   |          |            |
|                   |                            | 142                    | 10         | 28          |          |            |
|                   | 625                        | 124                    | 13         | 29          |          |            |
|                   |                            | 125 ( 126 )            | 16 ( 15 )  | 23 ( 29 )   |          |            |
|                   |                            | 129                    | 16         | 34          |          |            |
|                   | 1250                       | 114                    | 12         | 35          |          |            |
|                   |                            | 104 ( 111 )            | 13 ( 11 )  | 39 ( 35 )   |          |            |
|                   |                            | 115                    | 9          | 31          |          |            |
| +S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)              | 0 *                    | 0 *        | 12 *        |          |            |
|                   |                            | 1 *( 0 )               | 0 *( 0 )   | 8 *( 9 )    |          |            |
|                   |                            | 0 *                    | 0 *        | 7 *         |          |            |
|                   | 156.3                      | 0 *                    | 0 *        | 0 *         |          |            |
|                   |                            | 0 *( 0 )               | 0 *( 0 )   | 0 *( 0 )    |          |            |
|                   |                            | 0 *                    | 0 *        | 0 *         |          |            |
|                   | 312.5                      | 158                    | 23         | 46          |          |            |
|                   |                            | 160 ( 162 )            | 24 ( 24 )  | 35 ( 41 )   |          |            |
|                   |                            | 167                    | 26         | 41          |          |            |
|                   | 625                        | 151                    | 20         | 47          |          |            |
|                   |                            | 173 ( 164 )            | 14 ( 19 )  | 40 ( 40 )   |          |            |
|                   |                            | 168                    | 23         | 33          |          |            |
|                   | 1250                       | 154                    | 20         | 39          |          |            |
|                   |                            | 178 ( 170 )            | 18 ( 19 )  | 30 ( 37 )   |          |            |
|                   |                            | 179                    | 20         | 42          |          |            |
| 対照                | S9 mix<br>を必要と<br>しないもの    | 172                    | 17         | 33          |          |            |
|                   |                            | 174 ( 172 )            | 24 ( 20 )  | 30 ( 32 )   |          |            |
|                   |                            | 170                    | 19         | 32          |          |            |
|                   | S9 mix<br>を必要と<br>するもの     | 151                    | 23         | 33          |          |            |
|                   |                            | 159 ( 150 )            | 20 ( 22 )  | 36 ( 36 )   |          |            |
|                   |                            | 139                    | 24         | 40          |          |            |
|                   | 名 称                        | AF-2                   | SA         | AF-2        | AF-2     | 9-AA       |
|                   |                            | 用量( $\mu$ g/プレート)      | 0.01       | 0.5         | 0.01     | 0.1        |
|                   |                            | コロニー数<br>/プレート         | 440        | 448         | 200      | 80         |
|                   | 名 称                        | 2-AA                   | 2-AA       | 2-AA        | 2-AA     | 2-AA       |
|                   |                            | 用量( $\mu$ g/プレート)      | 1          | 2           | 10       | 0.5        |
|                   |                            | コロニー数<br>/プレート         | 763        | 260         | 1082     | 2          |
|                   | 名 称                        | AF-2                   | SA         | AF-2        | AF-2     | 9-AA       |
|                   |                            | 用量( $\mu$ g/プレート)      | 0.01       | 0.5         | 0.01     | 0.1        |
|                   |                            | コロニー数<br>/プレート         | 440        | 448         | 200      | 80         |
|                   | 名 称                        | 2-AA                   | 2-AA       | 2-AA        | 2-AA     | 2-AA       |
|                   |                            | 用量( $\mu$ g/プレート)      | 1          | 2           | 10       | 0.5        |
|                   |                            | コロニー数<br>/プレート         | 763        | 260         | 1082     | 2          |

[備考]

( ): 復帰変異コロニー数の平均値

PROJECT No. H-00358

\*: 被験菌株の生育阻害

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 2-AA: 2-Aminoanthracene

DMF: N,N-Dimethylformamide



被験物質の名称 : p-(7-フルリル)ベンゼンアクリルアミド

| 試験実施期間            |                                   | 2001年2月15日より2001年2月19日   |            |             |                       |                           |                           |
|-------------------|-----------------------------------|--------------------------|------------|-------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| 代謝活性<br>化系の<br>有無 | 被験物質の用量<br>( $\mu\text{g}$ /プレート) | 復帰変異数 (コロニー数/プレート)       |            |             |                       |                           |                           |
|                   |                                   | 塩基対置換型                   |            |             | フレームシフト型              |                           |                           |
|                   |                                   | TA<br>100                | TA<br>1535 | WP2<br>uvrA | TA<br>98              | TA<br>1537                |                           |
| -S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)                     | —                        | —          | —           | 25<br>30 ( 29 )<br>33 | 14<br>13 ( 14 )<br>14     |                           |
|                   | 31.3                              | —                        | —          | —           | 42<br>34 ( 34 )<br>26 | 12<br>12 ( 12 )<br>13     |                           |
|                   | 62.5                              | —                        | —          | —           | 28<br>35 ( 32 )<br>32 | 11<br>17 ( 14 )<br>15     |                           |
|                   | 125                               | —                        | —          | —           | 45<br>40 ( 41 )<br>37 | 12<br>12 ( 10 )<br>6      |                           |
|                   | 250                               | —                        | —          | —           | 39<br>38 ( 35 )<br>29 | 12<br>12 ( 13 )<br>14     |                           |
|                   | 500                               | —                        | —          | —           | 23<br>24 ( 22 )<br>19 | 18<br>12 ( 15 )<br>15     |                           |
|                   | 1000                              | —                        | —          | —           | 3*<br>1*( 1 )<br>0*   | 8*<br>11*( 8 )<br>6*      |                           |
| +S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)                     | —                        | —          | —           | 37<br>39 ( 38 )<br>38 | 14<br>18 ( 14 )<br>11     |                           |
|                   | 156.3                             | —                        | —          | —           | 44<br>45 ( 44 )<br>44 | 17<br>12 ( 15 )<br>15     |                           |
|                   | 312.5                             | —                        | —          | —           | 35<br>43 ( 41 )<br>44 | 13<br>15 ( 16 )<br>20     |                           |
|                   | 625                               | —                        | —          | —           | 31<br>38 ( 36 )<br>38 | 15<br>17 ( 17 )<br>20     |                           |
|                   | 1250                              | —                        | —          | —           | 27<br>39 ( 31 )<br>28 | 20<br>16 ( 16 )<br>11     |                           |
|                   | 2500                              | —                        | —          | —           | 0*<br>1*( 1 )<br>1*   | 7*<br>7*( 6 )<br>4*       |                           |
|                   | 5000                              | —                        | —          | —           | 0*<br>0*( 0 )<br>0*   | 0*<br>0*( 0 )<br>0*       |                           |
| 陽性<br>対照          | S9mix<br>を必要とし<br>ないもの            | 名 称                      | AF-2       | SA          | AF-2                  | AF-2                      | 9-AA                      |
|                   |                                   | 用量( $\mu\text{g}$ /プレート) | 0.01       | 0.5         | 0.01                  | 0.1                       | 80                        |
|                   |                                   | コロニー数<br>/プレート           | —          | —           | —                     | 507<br>451 ( 483 )<br>490 | 518<br>500 ( 501 )<br>485 |
|                   | S9mix<br>を必要と<br>するもの             | 名 称                      | 2-AA       | 2-AA        | 2-AA                  | 2-AA                      | 2-AA                      |
|                   |                                   | 用量( $\mu\text{g}$ /プレート) | 1          | 2           | 10                    | 0.5                       | 2                         |
|                   |                                   | コロニー数<br>/プレート           | —          | —           | —                     | 526<br>562 ( 539 )<br>528 | 160<br>207 ( 190 )<br>203 |

[備考]

( ) : 復帰変異コロニー数の平均値

PROJECT No. H-00358

\* : 被験菌株の生育阻害

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 9-AA : 9-Aminoacridine, 2-AA : 2-Aminoanthracene

DMF : N,N-Dimethylformamide

被験物質の名称 : p-(7-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

| 試験実施期間            |                            | 2001年2月26日より2001年3月2日 |            |             |          |            |
|-------------------|----------------------------|-----------------------|------------|-------------|----------|------------|
| 代謝活性<br>化系の<br>有無 | 被験物質の用量<br>( $\mu$ g/プレート) | 復帰変異数 (コロニー数/プレート)    |            |             |          |            |
|                   |                            | 塩基対置換型                |            |             | フレームシフト型 |            |
|                   |                            | TA<br>100             | TA<br>1535 | WP2<br>uvrA | TA<br>98 | TA<br>1537 |
| -S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)              | 137                   | 13         | 23          | —        | —          |
|                   |                            | 135 ( 139 )           | 13 ( 12 )  | 31 ( 29 )   | —        | —          |
|                   |                            | 144                   | 11         | 32          | —        | —          |
|                   | 78.1                       | 143                   | 10         | 35          | —        | —          |
|                   |                            | 168 ( 149 )           | 11 ( 11 )  | 30 ( 30 )   | —        | —          |
|                   |                            | 137                   | 12         | 25          | —        | —          |
|                   | 156.3                      | 167                   | 8          | 17          | —        | —          |
|                   |                            | 167 ( 163 )           | 9 ( 10 )   | 18 ( 20 )   | —        | —          |
|                   |                            | 156                   | 12         | 24          | —        | —          |
|                   | 312.5                      | 158                   | 10         | 27          | —        | —          |
|                   |                            | 161 ( 163 )           | 14 ( 11 )  | 21 ( 22 )   | —        | —          |
|                   |                            | 169                   | 10         | 18          | —        | —          |
| +S9 mix           | 陰性対照<br>(DMF)              | 121                   | 10         | 18          | —        | —          |
|                   |                            | 150 ( 140 )           | 13 ( 10 )  | 21 ( 20 )   | —        | —          |
|                   |                            | 148                   | 8          | 21          | —        | —          |
|                   | 625                        | 108                   | 8          | 25          | —        | —          |
|                   |                            | 89 ( 110 )            | 7 ( 9 )    | 17 ( 26 )   | —        | —          |
|                   |                            | 133                   | 13         | 35          | —        | —          |
|                   | 1250                       | 93 *                  | 7 *        | 17 *        | —        | —          |
|                   |                            | 82 *( 87 )            | 2 *( 5 )   | 17 *( 16 )  | —        | —          |
|                   |                            | 87 *                  | 7 *        | 15 *        | —        | —          |
|                   | 2500                       | 0 *                   | 0 *        | 6 *         | —        | —          |
|                   |                            | 0 *( 0 )              | 0 *( 0 )   | 0 *( 2 )    | —        | —          |
|                   |                            | 0 *                   | 0 *        | 0 *         | —        | —          |
| 陽性対照              | S9 mix<br>を必要としないもの        | 143                   | 18         | 31          | —        | —          |
|                   |                            | 155 ( 150 )           | 15 ( 14 )  | 33 ( 34 )   | —        | —          |
|                   |                            | 153                   | 10         | 39          | —        | —          |
|                   | 78.1                       | 162                   | 16         | 23          | —        | —          |
|                   |                            | 144 ( 151 )           | 17 ( 16 )  | 24 ( 27 )   | —        | —          |
|                   |                            | 148                   | 14         | 34          | —        | —          |
|                   | 156.3                      | 166                   | 9          | 27          | —        | —          |
|                   |                            | 177 ( 170 )           | 14 ( 13 )  | 27 ( 26 )   | —        | —          |
|                   |                            | 168                   | 15         | 25          | —        | —          |
|                   | 312.5                      | 176                   | 17         | 24          | —        | —          |
|                   |                            | 162 ( 173 )           | 10 ( 16 )  | 27 ( 23 )   | —        | —          |
|                   |                            | 180                   | 21         | 18          | —        | —          |
| 対照                | S9 mix<br>を必要とするもの         | 179                   | 17         | 24          | —        | —          |
|                   |                            | 155 ( 165 )           | 18 ( 16 )  | 41 ( 31 )   | —        | —          |
|                   |                            | 162                   | 14         | 29          | —        | —          |
|                   | 625                        | 170                   | 11         | 30          | —        | —          |
|                   |                            | 172 ( 174 )           | 16 ( 15 )  | 34 ( 31 )   | —        | —          |
|                   |                            | 181                   | 18         | 29          | —        | —          |
|                   | 1250                       | 157 *                 | 11 *       | 23 *        | —        | —          |
|                   |                            | 158 *( 155 )          | 8 *( 9 )   | 26 *( 24 )  | —        | —          |
|                   |                            | 149 *                 | 9 *        | 23 *        | —        | —          |
|                   | 2500                       | 124 *                 | 13 *       | 15 *        | —        | —          |
|                   |                            | 134 *( 133 )          | 9 *( 12 )  | 17 *( 14 )  | —        | —          |
|                   |                            | 142 *                 | 15 *       | 9 *         | —        | —          |
| 陽性対照              | S9 mix<br>を必要とするもの         | 名 称                   | AF-2       | SA          | AF-2     | AF-2       |
|                   |                            | 用量( $\mu$ g/プレート)     | 0.01       | 0.5         | 0.01     | 0.1        |
|                   |                            | コロニー数/プレート            | 546        | 375         | 170      | 170        |
|                   | S9 mix<br>を必要とするもの         | 名 称                   | 2-AA       | 2-AA        | 2-AA     | 2-AA       |
|                   |                            | 用量( $\mu$ g/プレート)     | 1          | 2           | 10       | 0.5        |
|                   |                            | コロニー数/プレート            | 776        | 207         | 833      | 833        |

[備考]

( ) : 復帰変異コロニー数の平均値

\* : 被験菌株の生育阻害

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA : Sodium azide, 2-AA : 2-Aminoanthracene

DMF : N,N-Dimethylformamide

PROJECT No. H-00358

被験物質の名称 : p-(757777)ベンゼンホルム

| 試験実施期間        |                            | 2001年2月26日より2001年3月2日 |            |             |                             |                             |  |
|---------------|----------------------------|-----------------------|------------|-------------|-----------------------------|-----------------------------|--|
| 代謝活性<br>化系の有無 | 被験物質の用量<br>( $\mu$ g/プレート) | 復帰変異数 (コロニー数/プレート)    |            |             |                             |                             |  |
|               |                            | 塩基対置換型                |            |             | フレームシフト型                    |                             |  |
|               |                            | TA<br>100             | TA<br>1535 | WP2<br>uvrA | TA<br>98                    | TA<br>1537                  |  |
| -S9 mix       | 陰性対照<br>(DMF)              | —                     | —          | —           | 24<br>26 ( 27 )<br>32       | 9<br>9 ( 10 )<br>11         |  |
|               | 31.3                       | —                     | —          | —           | 24<br>21 ( 26 )<br>34       | 8<br>11 ( 9 )<br>9          |  |
|               | 62.5                       | —                     | —          | —           | 34<br>33 ( 35 )<br>39       | 12<br>11 ( 13 )<br>15       |  |
|               | 125                        | —                     | —          | —           | 24<br>19 ( 23 )<br>25       | 12<br>11 ( 10 )<br>8        |  |
|               | 250                        | —                     | —          | —           | 18<br>25 ( 21 )<br>19       | 10<br>13 ( 11 )<br>11       |  |
|               | 500                        | —                     | —          | —           | 21<br>18 ( 19 )<br>17       | 10<br>7 ( 7 )<br>5          |  |
|               | 1000                       | —                     | —          | —           | 10 *<br>8 * ( 10 )<br>11 *  | 5 *<br>7 * ( 5 )<br>3 *     |  |
| +S9 mix       | 陰性対照<br>(DMF)              | —                     | —          | —           | 44<br>35 ( 38 )<br>36       | 16<br>11 ( 14 )<br>14       |  |
|               | 78.1                       | —                     | —          | —           | 36<br>49 ( 41 )<br>37       | 18<br>20 ( 17 )<br>13       |  |
|               | 156.3                      | —                     | —          | —           | 40<br>32 ( 37 )<br>40       | 13<br>16 ( 18 )<br>24       |  |
|               | 312.5                      | —                     | —          | —           | 32<br>38 ( 36 )<br>38       | 26<br>19 ( 20 )<br>16       |  |
|               | 625                        | —                     | —          | —           | 44<br>41 ( 42 )<br>42       | 20<br>16 ( 16 )<br>12       |  |
|               | 1250                       | —                     | —          | —           | 21<br>35 ( 30 )<br>34       | 22<br>16 ( 18 )<br>16       |  |
|               | 2500                       | —                     | —          | —           | 19 *<br>20 * ( 22 )<br>26 * | 13 *<br>11 * ( 12 )<br>12 * |  |
|               | 5000                       | —                     | —          | —           | 14 *<br>11 * ( 12 )<br>10 * | 5 *<br>5 * ( 6 )<br>7 *     |  |
| 陽性対照          | 名 称                        | AF-2                  | SA         | AF-2        | AF-2                        | 9-AA                        |  |
|               | 用量( $\mu$ g/プレート)          | 0.01                  | 0.5        | 0.01        | 0.1                         | 80                          |  |
|               | コロニー数<br>/プレート             | —                     | —          | —           | 513<br>576 ( 536 )<br>518   | 536<br>513 ( 538 )<br>585   |  |
|               | 名 称                        | 2-AA                  | 2-AA       | 2-AA        | 2-AA                        | 2-AA                        |  |
|               | 用量( $\mu$ g/プレート)          | 1                     | 2          | 10          | 0.5                         | 2                           |  |
|               | コロニー数<br>/プレート             | —                     | —          | —           | 490<br>587 ( 557 )<br>593   | 214<br>225 ( 213 )<br>200   |  |

[備考]

( ) : 復帰変異コロニー数の平均値

PROJECT No. H-00358

\* : 被験菌株の生育阻害

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 9-AA : 9-Aminoacridine, 2-AA : 2-Aminoanthracene

DMF : N,N-Dimethylformamide

被験物質の名称：p-(7セチル7ミノ)ベンゼンスルホニルクロリド

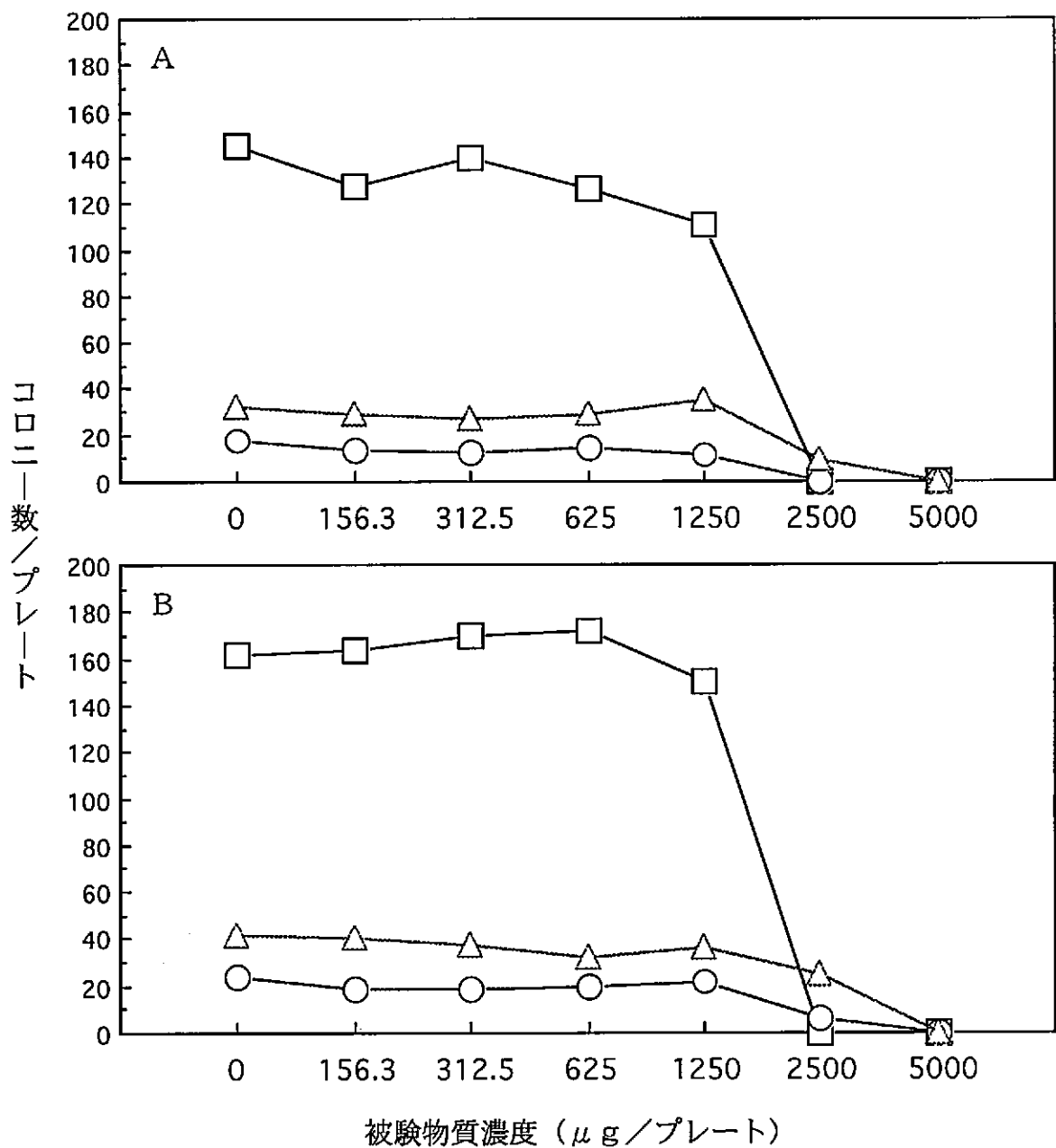


図1 用量-反応曲線 (塩基対置換型菌株, 本試験)

A : 代謝活性化によらない場合 (-S9)

B : 代謝活性化による場合 (+S9)

□ : TA100 ; ○ : TA1535 ; △ : WP2uvrA

PROJECT No. H-00358

被験物質の名称：p-(7セチル7ミノ)ベンゼンスルホニルクロリド

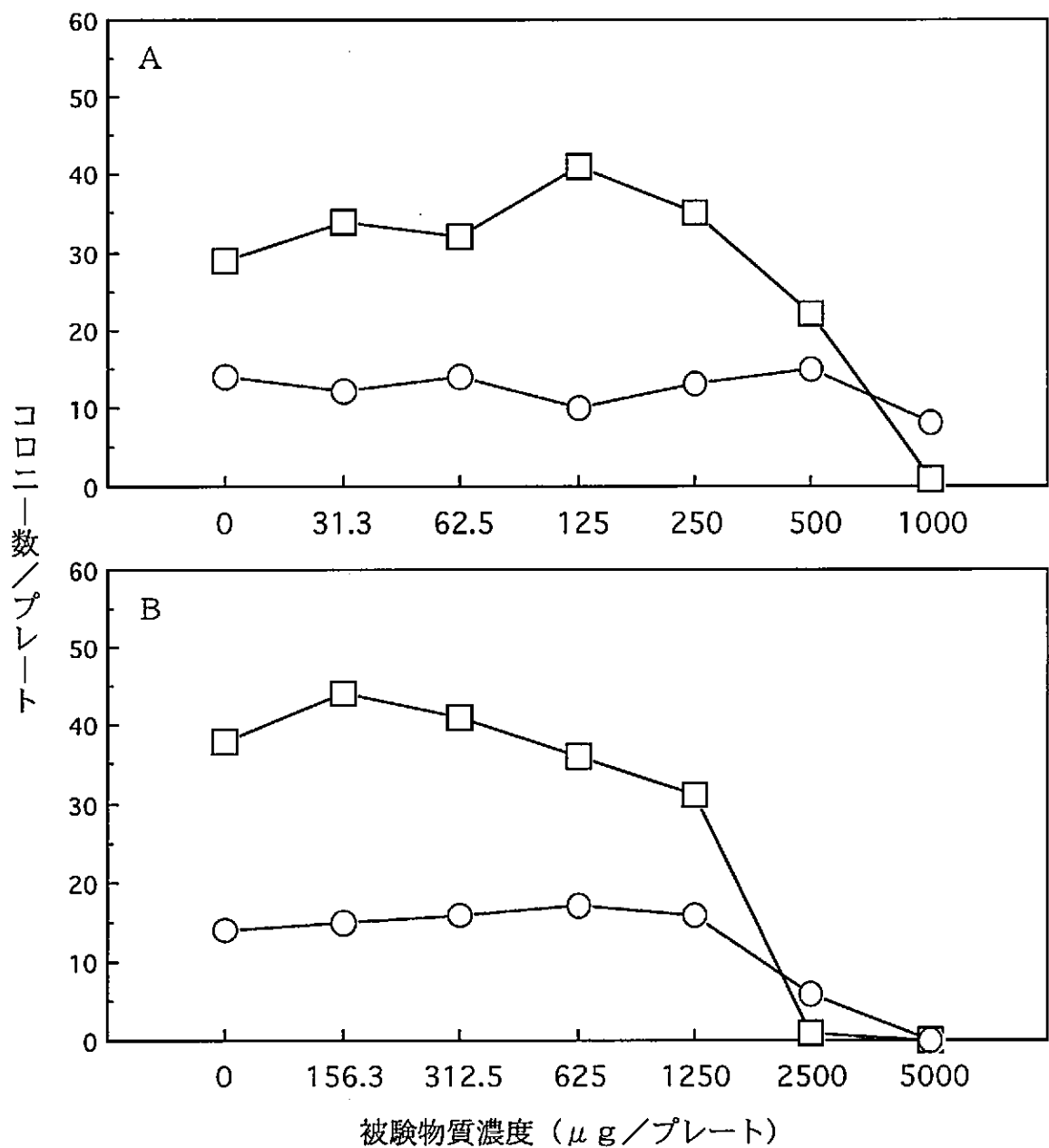


図2 用量—反応曲線（フレームシフト型菌株，本試験）

A：代謝活性化によらない場合（-S9）

B：代謝活性化による場合（+S9）

□：TA98；○：TA1537

PROJECT No. H-00358

被験物質の名称：p-(アセチルアミノ)ベンゼンスルホニルクロリド

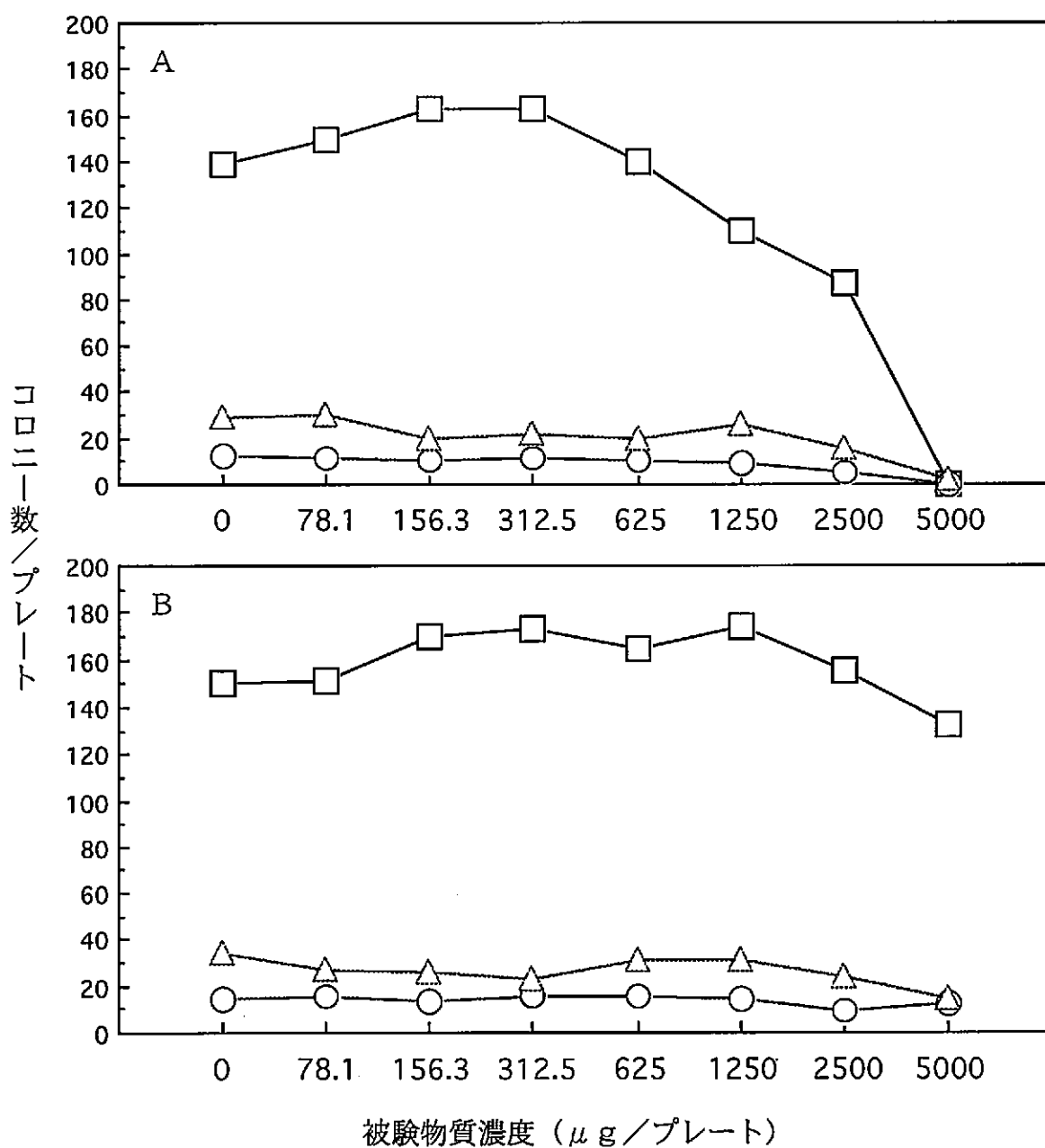


図3 用量-反応曲線（塩基対置換型菌株，確認試験）

A：代謝活性化によらない場合（-S9）

B：代謝活性化による場合（+S9）

□：TA100；○：TA1535；△：WP2uvrA

PROJECT No. H-00358

被験物質の名称：p-(アセチルアミノ)ベンゼンスルホニルクロリド

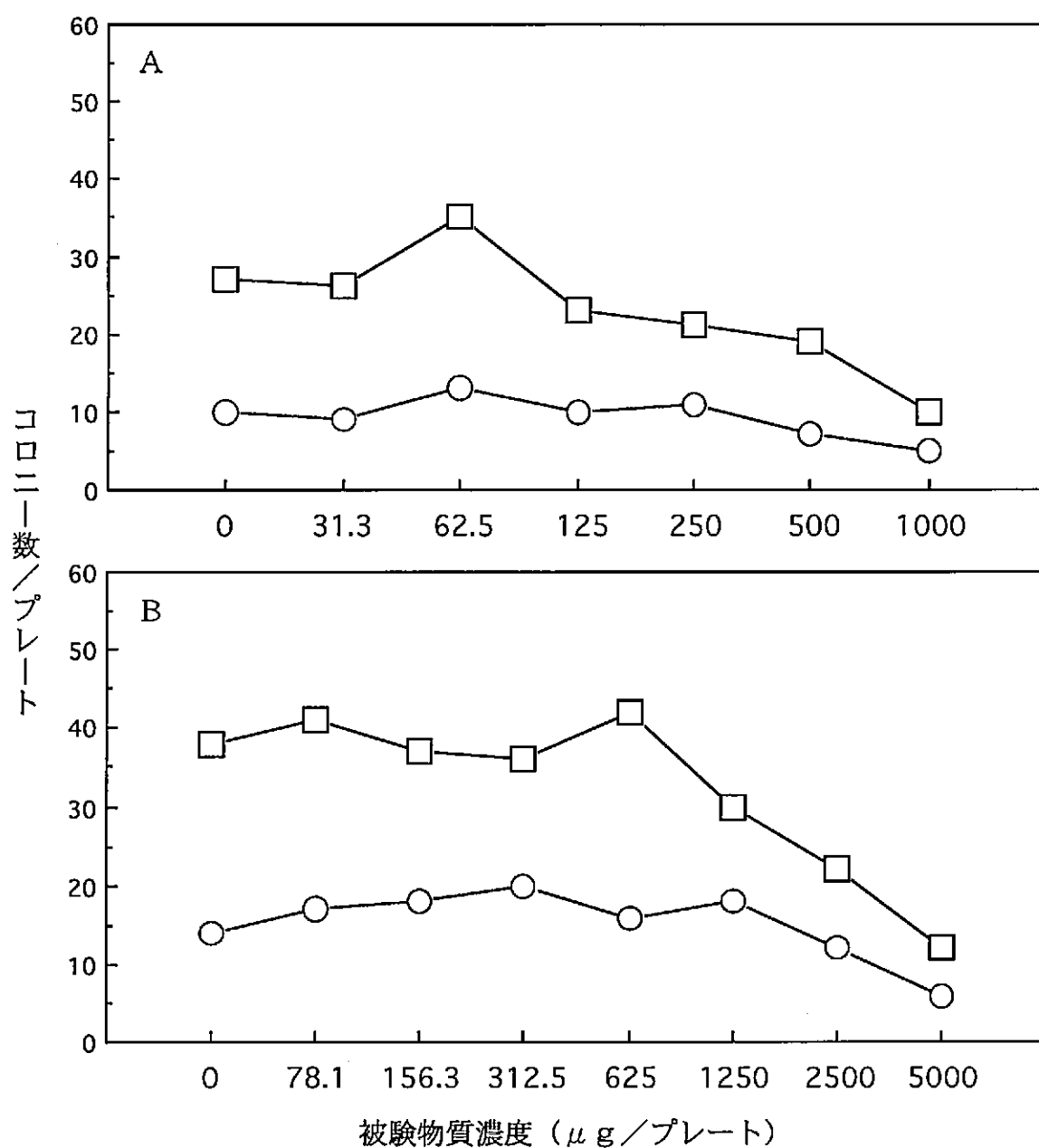


図4 用量-反応曲線（フレームシフト型菌株，確認試験）

A：代謝活性化によらない場合（-S9）

B：代謝活性化による場合（+S9）

□：TA98；○：TA1537

PROJECT No. H-00358

## 添付資料 1

## 背景データ (Plate法)

| 陰性対照       | その他   |        |         |      |        |       |        |         |      |        |
|------------|-------|--------|---------|------|--------|-------|--------|---------|------|--------|
| S 9 mix    | -     |        |         |      |        | +     |        |         |      |        |
| 菌株名        | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 |
| N          | 5     | 5      | 5       | 5    | 5      | 5     | 5      | 5       | 5    | 5      |
| Mean       | 148   | 17     | 34      | 34   | 16     | 164   | 22     | 37      | 44   | 17     |
| S.D.       | 7     | 5      | 7       | 8    | 4      | 8     | 8      | 6       | 6    | 5      |
| 2S.D.      | 14    | 10     | 14      | 16   | 8      | 16    | 16     | 12      | 12   | 10     |
| Mean-2S.D. | 134   | 7      | 20      | 18   | 8      | 148   | 6      | 25      | 32   | 7      |
| Mean+2S.D. | 162   | 27     | 48      | 50   | 24     | 180   | 38     | 49      | 56   | 27     |

| 陽性対照       | AF-2  | SA     | AF-2    | AF-2 | 9-AA   | 2-AA  | 2-AA   | 2-AA    | 2-AA | 2-AA   |
|------------|-------|--------|---------|------|--------|-------|--------|---------|------|--------|
| S 9 mix    | -     |        |         |      |        | +     |        |         |      |        |
| 菌株名        | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 |
| N          | 128   | 74     | 102     | 130  | 74     | 124   | 74     | 98      | 126  | 74     |
| Mean       | 510   | 528    | 217     | 531  | 597    | 993   | 223    | 974     | 569  | 222    |
| S.D.       | 42    | 47     | 35      | 37   | 60     | 97    | 29     | 103     | 47   | 37     |
| 2S.D.      | 84    | 94     | 70      | 74   | 120    | 194   | 58     | 206     | 94   | 74     |
| Mean-2S.D. | 426   | 434    | 147     | 457  | 477    | 799   | 165    | 768     | 475  | 148    |
| Mean+2S.D. | 594   | 622    | 287     | 605  | 717    | 1187  | 281    | 1180    | 663  | 296    |

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、SA : Sodium azide、9-AA : 9-Aminoacridine、

2-AA : 2-Aminoanthracene その他 : N,N-Dimethylformamide

収集期間 : 2000年1月 4日～2001年2月19日

PROJECT No. H-00358



## 添付資料 2

## 背景データ (Preincubation法)

| 陰性対照       | その他   |        |         |      |        |       |        |         |      |        |
|------------|-------|--------|---------|------|--------|-------|--------|---------|------|--------|
| S 9 mix    | -     |        |         |      |        | +     |        |         |      |        |
| 菌株名        | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 |
| N          | 5     | 5      | 5       | 5    | 5      | 5     | 5      | 5       | 5    | 5      |
| Mean       | 145   | 12     | 36      | 25   | 8      | 145   | 14     | 42      | 36   | 11     |
| S.D.       | 10    | 2      | 4       | 1    | 1      | 6     | 3      | 6       | 3    | 4      |
| 2S.D.      | 20    | 4      | 8       | 2    | 2      | 12    | 6      | 12      | 6    | 8      |
| Mean-2S.D. | 125   | 8      | 28      | 23   | 6      | 133   | 8      | 30      | 30   | 3      |
| Mean+2S.D. | 165   | 16     | 44      | 27   | 10     | 157   | 20     | 54      | 42   | 19     |

| 陽性対照       | AF-2  | SA     | AF-2    | AF-2 | 9-AA   | 2-AA  | 2-AA   | 2-AA    | 2-AA | 2-AA   |
|------------|-------|--------|---------|------|--------|-------|--------|---------|------|--------|
| S 9 mix    | -     |        |         |      |        | +     |        |         |      |        |
| 菌株名        | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 | TA100 | TA1535 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 |
| N          | 251   | 237    | 223     | 237  | 255    | 245   | 233    | 219     | 233  | 245    |
| Mean       | 512   | 516    | 216     | 519  | 592    | 966   | 223    | 941     | 557  | 221    |
| S.D.       | 40    | 63     | 30      | 31   | 56     | 95    | 33     | 91      | 43   | 32     |
| 2S.D.      | 80    | 126    | 60      | 62   | 112    | 190   | 66     | 182     | 86   | 64     |
| Mean-2S.D. | 432   | 390    | 156     | 457  | 480    | 776   | 157    | 759     | 471  | 157    |
| Mean+2S.D. | 592   | 642    | 276     | 581  | 704    | 1156  | 289    | 1123    | 643  | 285    |

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide、SA : Sodium azide、9-AA : 9-Aminoacridine、

2-AA : 2-Aminoanthracene その他 : N,N-Dimethylformamide

収集期間 : 1999年3月1日～2000年12月28日

PROJECT No. H-00358

## GENETIC TOXICITY IN VITRO (BACTERIAL TEST)

## TEST SUBSTANCE

- Identity: p-(Acetylamino)benzenesulfonyl chloride (CAS No. 121-60-8)
- Remarks (source): XXXXXXXXXX Lot No. XXXXXX  
Purity: 99.7%  
Stored at 4°C in dark until use. Stability during the period of use was confirmed by HPLC.

## METHOD

- Method/guideline: OECD #471 and #472
- Type of test: Bacterial reverse mutation assay
- GLP: Yes
- Year (study performed): January 11, 2001 ~ March 2, 2001
- Species/Strain: Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537  
Escherichia coli Wp2uvrA
- Metabolic activation:  
Species and cell type:  
Sprague-Dawley male rat liver homogenates (S9)  
Quantity: The S9 of 50  $\mu$ L/plate was used.  
Induced or not induced:  
Induced with phenobarbital and 5,6-benzoflavone.
- Concentrations tested:  
(1) Plate incorporation test  
- S9: 0, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu$ g/plate in the strains of TA100, TA1535 and WP2uvrA;  
0, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000  $\mu$ g/plate in the strains of TA98 and TA1537 ;  
+ S9: 0, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu$ g/plate (five strains)  
(2) Pre-incubation test  
- S9: 0, 78.1, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu$ g/plate in the strains of TA100, TA1535 and WP2uvrA;  
0, 31.3, 62.5, 125, 250, 500, 1000  $\mu$ g/plate in the strains of TA98 and TA1537 ;  
+ S9: 0, 78.1, 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000  $\mu$ g/plate (five strains)  
• Statistical methods: No statistical method was followed.  
Remarks field for Test Conditions

#### Test Design:

##### Procedure

(1) Plate incorporation test with and without S9 using five strains

(2) Pre-incubation test with and without S9 using five strains

Number of replicates: 2

Plates/dose: 3

Negative control: The solvent, N, N- dimethylformamide was used

Positive controls:

— S9 mix; 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (TA100, TA98, WP2uvrA), sodium azide (TA1535) and 9-aminoacridine(TA1537)

+ S9 mix; 2-aminoanthracene (five strains).

##### Description of follow up repeat study:

A confirmation test was carried out in pre-incubation method as negative mutagenic effect (—) was noted in plate incorporation test.

##### Criteria for evaluating results:

The test substance was judged positive (+) when the number of revertant colonies in the test substance treated plates increased dose dependently and became two-fold or more compared to that of the negative control and this effect was reasonably reproducible or significant reproducible increase was noted at one or more concentrations at least in one strain with or without metabolic activation system and negative (—) when any of the above criteria were not fulfilled.

## RESULTS

### • Cytotoxic concentration:

— S9: Toxicity was noted at the dose of 1,000  $\mu$ g/plate or more in the strains of strains of TA98 and TA1537.

+ S9: Toxicity was noted at the dose of 2,500  $\mu$ g/plate or more in all strains (five strains).

### • Genotoxic effects:

— With metabolic activation

— Without metabolic activation

### • Statistical analysis:

Statistical analysis was not done.

## CONCLUSION

### • Bacterial gene mutation:

- With metabolic activation
- Without metabolic activation

#### DATA QUALITY

- Reliabilities: Valid without restriction

Remarks field for Data Reliability

Well conducted study, carried out by Nippon Experimental Medical Research Institute Co. Ltd.,  
Gunma, Japan.

#### REFERENCES

None

#### GENERAL REMARKS

Bactericidal (cytotoxicity) effect or bacterial reverse mutation (gene mutation) may differ in the pre-incubation test compared to that of the plate incorporation test. Considering such a reason, pre-incubation test was conducted selecting more numbers of doses compared to that of the plate incorporation test.