

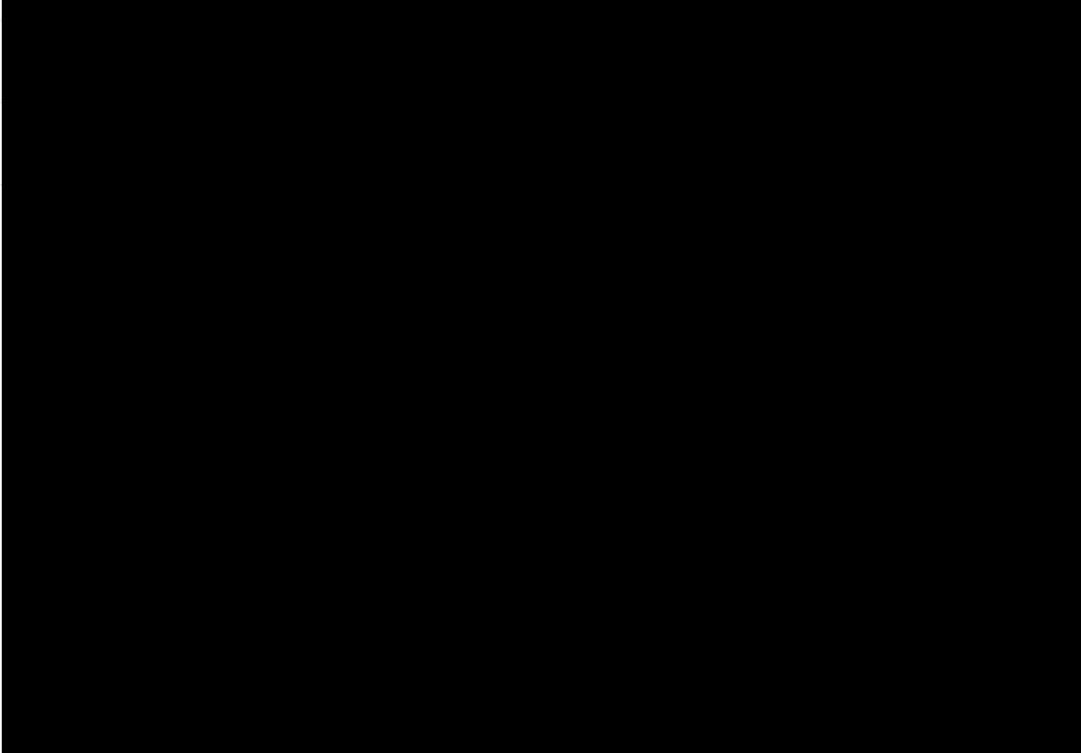
ポリアミノプロピルビグアナイド

資料概要

- イ. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料
- ロ. 物理化学的性質等に関する資料
- ハ. 安全性に関する資料

目 次

イ. 起源又は発見の経緯および外国における使用状況に関する資料	4
1. 起源または発見の経緯	5
1) はじめに	5
(1) 化粧品用防腐剤の種類と現状	5
(2) 化粧品の防腐における特異性	7
(3) ポリアミノプロピルピグアナイドの有意点と位置付け	7
2) 発見の経緯	8
3) 開発の経緯	9
2. 特性および有効性	11
1) 特性	11
2) 有効性	11
(1) グラム陽性菌、グラム陰性菌への防腐・殺菌効果	11
(2) 細菌、カビ、酵母への防腐・殺菌効果	13
3) 作用機序	13
(1) 菌への作用	13
(2) 生体への作用	16
4) 他の防腐剤との比較	16
(1) パラベン類との比較	16
(2) ホルマリン系防腐剤との比較	18
(3) 各種防腐・殺菌剤の比較 — まとめ	19
(4) 化粧品処方中における防腐効果の比較試験	20
3. 外国における使用状況	25
1) 各国、地域での化粧品用防腐剤としての認可状況	25
2) 化粧品を含むパーソナルケア製品における販売・使用実績	25
3) その他カテゴリーにおける規制登録状況	35
4. 一般的名称	35
1) INN 名称	35
2) INCI 名称	35

ロ. 物理化学的性質等に関する試料.....	36
1. 製造方法.....	37
2. 構造決定.....	40
	
3. 化学的安定性.....	47
1) 保存安定性.....	47
2) 水、化粧品基剤中での安定性.....	53
4. 製品規格.....	54
1) 規格設定の理由.....	54
2) 製品規格.....	55
3) 試験結果.....	56

ハ 安全性に関する資料.....	65
1. 安全性に用いた被験資料について.....	66
2. 安全性の総括.....	67
3. 省略した安全性試験およびその理由.....	70
4. 試験結果の詳細.....	72
1) 単回経口毒性（急性経口毒性）.....	72
2) 反復投与毒性.....	73
2) -1 1年間混餌投与毒性.....	73
2) -2 80週皮膚塗布毒性.....	75
3) 生殖発生毒性.....	77
4) 皮膚一次・連続皮膚刺激性.....	79
4) -1 皮膚一次刺激性（単回適用刺激）.....	79
4) -2 連続皮膚刺激性（累積適用刺激）.....	79
5) 感作性.....	81
6) 眼刺激性.....	83
7) 遺伝毒性.....	86
7) -1 復帰突然変異.....	86
7) -2 染色体異常.....	93
7) -3 小核.....	95
8) ヒトパッチ.....	97
9) 吸収・分布・代謝・排泄.....	99
9) -1 胆汁排泄実験.....	99
9) -2 生物学的利用性実験.....	101
9) -3 排泄および組織蓄積性実験.....	103
5. ポリアミノプロピルピグアナイドの安全性に関する結論.....	105
参考資料：ウサギにおけるポリアミノプロピルピグアナイド5%水溶液の眼刺激性試験.....	106

イ. 起源又は発見の経緯及び
外国における使用状況等に関する資料

イ. 起源又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料

1. 起源または発見の経緯

1)はじめに

化粧品の変質、変臭、カビの発生を防止し、消費者が安心して使用できるようにするためには、菌による汚染を防止する必要がある。近年は、防腐剤フリーであることを標榜する化粧品が上市され、容器や流通過程の工夫などがなされているが、消費者の使用時の2次汚染に対して、完全に防衛しているかと言う点においては、疑問な点多々有る。

化粧品の微生物汚染による劣化を抑えるためには、有効な防腐システムを組んだ商品を提供することが、消費者に安心して化粧品を使用してもらうことにつながる。現在、各化粧品製造業者はこのような観点から微生物汚染対策を実施した化粧品を市場へ導入している。

しかし、近年の化粧品剤型開発の進歩、使用する原料の多様化、例えばレシチン、糖類、種々の抽出物など（これらの原料はN元素、P元素を含むもの多く、資化性が高い成分といわれている）を安定に配合できる化粧品の製剤化技術の進歩があり、既存の防腐剤だけでは十分な防腐対応がとりにくい製品もでてきた。また、シャンプー、洗顔フォームなどの水系製品の防腐や、目の周りを初めとするメイクアップ化粧品の防腐にも、より確実な防腐が望まれている。

このような状況において、防腐システムの改良と、より効果の優れた安全性の高い防腐剤が望まれている。

つぎに、化粧品の防腐についての現状を以下にまとめ、ポリアミノプロピルピグアナイドの位置付けについて述べる。

(1)化粧品用防腐剤の種類と現状

化粧品に使用されている防腐剤を大別すると以下のように分類される。

- ① 安息香酸、サリチル酸などの有機酸やその塩（Na、K 塩）
 - ② ベンジルアルコールやフェノキシエタノールなどのアルコール類
 - ③ *p*-オキシ安息香酸のエステル
- など（6 ページ 表-1 に各種防腐剤をまとめて記載した）

現在、日本で使用されている化粧品用の代表的な防腐剤として、③のパラヒドロキシ安息香酸エステル類（以下「パラベン類」と記載）を挙げる事が出来る。

パラベン類が多く使用される理由は無色、無臭、不揮発性で化粧品へ配合したとき、化粧品の品質への影響が少なく、有害性も少ないといわれているからである¹。また防腐としての効果も高いこともその理由である。

パラベン類が開発される以前においては、防腐効果が優れていると言われている、安息香酸などの酸もしくはその塩が多用されていた。しかし、これら酸の抗菌力はpHの低い領域において効果を示すため、防腐に有効性を示す化粧品のpHが限定される。また、多くの化粧品が弱酸性から中性付近のpHで設計されることから汎用的に安息香酸やサリチル酸で防腐効果をもたせる事が難しい。

しかし、安息香酸を種々のアルコールでエステル化することにより幅広いpH領域で防腐効果があることを見出してから、化粧品防腐剤として多く使用されるようになった。

このように優れた防腐剤ではあるものも、パラベン類は次のような欠点がある。

- ① エステルであることから加水分解により、効果に変化する。
- ② 酵母やカビに対して効果的な防腐効果を示すが、グラム陰性菌よりもグラム陽性菌に対して効果が高い。
- ③ エステル化することにより親油性が増すため水への溶解性が少なくなる。このため溶解するためには多量の水を必要とすることから、緑膿菌に対しては効果がないと言われている。
- ④ 化粧品製剤においては界面活性剤（乳化剤、可溶化剤など）を使用することが多く、これによる可溶化が起こり、防腐剤として必要な場所（水／油界面）に存在しなくなり、効果を示さないことがある。

この欠点を解消する目的で、プロピレングリコール、1, 3-ブチレングリコールなどのジオール類を併用することにより、水相への溶解性を高め水／油界面への分配を高めることで防腐効果を高める方法を取っているが、すべての問題を解決できているわけではない。

その他の防腐剤の使用例としては、6 ページ表-1 に示した他の防腐剤との組み合わせなどで防腐効果を高める工夫はしているが、基本的にはパラベンによる防腐システムを基本としているのが現状である。

また、効果の高い防腐剤といわれて、海外で使用されているホルマリンリリース型の防腐剤、例えばイミダゾリジニルウレア（商品名；ジャーマル 115）やイソチアゾリンからなるメチルクロロイソチアゾリン・メチルイソチアゾリン（商品名；ケーソン CG）も日本で使用が可能になったが、使用できる範囲は洗い流す製品のみであり、汎用性はない。

¹ 化粧品、医薬品防腐・殺菌剤の科学、ジョン・J・カバラ、フレグランスジャーナル社

(2)化粧品の防腐における特異性

化粧品は食品や医薬品とは、商品形態、商品の使用方法、商品流通方法が異なる点が多い。とくに使用方法、流通においては特別な考慮が払われているわけではない。このような使用方法を考慮して、化粧品の微生物汚染対策を考えると、次のことに留意する必要がある。

- 1) 手で直接製品にふれるため、不特定多数の微生物で汚染される。
- 2) 購入後、化粧品を使用する期間が長い。(数シーズンに渡る場合も有る)
- 3) 毎日使用するものもあるため、高度の安全性が要求される。
- 4) 温度、湿度変化の大きいところに置かれるため、安定性の高いものが必要である。
- 5) 製品に応じた適切な防御処方が必要である。
- 6) 防腐剤の選定においては
 - ①化粧品としての商品機能との関係から、着色、変臭が少ないものが必要である。
 - ②抗菌スペクトルが広い
 - ③水溶性あるいは通常使用の基材への溶解性がよい
 - ④構成成分、容器、製造工程により抗菌活性が影響を受けない
 - ⑤広い温度、pH 範囲で抗菌活性が安定である

(3)ポリアミノプロピルビグアナイドの有意点と位置付け

ポリアミノプロピルビグアナイドの特性は水溶性が高い、においがなく変臭、着色がない、種々の条件下で抗菌活性への影響がないなど、上に示した防腐剤の選定の項目①～⑤をほぼ満足する防腐剤と考えられる。

化粧品に多用されているパラベン類は、乳化系において油相へ分配し効力が低減することがある。一方、ポリアミノプロピルビグアナイドは水溶性であるため、各種の化粧品剤型例えば水と油を乳化したクリームや、油成分（例えば油溶性ビタミン、香料など）を可溶化した化粧水などにおいて、水相側に存在し、防腐剤が油相に分配しないため、水/油界面の水側に必ず存在することになり、防腐効果の低下はない。

さらに、パラベン類は、エステル化しているアルコールの種類により水に対する溶解度が異なり、メチルパラベン以外は、水に溶解しない。パラベン類の化粧品への配合方法は、乳化系の場合は油相に溶解して添加したり、ローションなどの水相成分が主の場合は、プロピレングリコール、グリセリンなどの多価アルコールに溶解して加たり、化粧品剤型により配合方法を変更する必要がある。しかし、ポリアミノプロピルビグアナイドは、水相に添加する方法だけで配合することができるため製造上の取り扱いも簡便である。

また、ポリアミノプロピルピグアナイドはその繰返し単位毎に陽電荷をもっており、他の単価カチオン系の防腐剤（塩化ベンザルコニウム、クロルヘキシジン類等）がアニオン系の成分による塩の形成による著しい不活化が認められるのに対して、ポリアミノプロピルピグアナイドは不活化が起こりにくい。

表-1 化粧品に使用されている防腐剤の種類

		抗菌作用
有機酸類	<ul style="list-style-type: none"> ・安息香酸およびその塩類 ・サリチル酸およびその塩類 ・ソルビン酸およびその塩類 ・デヒドロ酢酸及びその塩類 	主に静菌的作用を発揮する
アルコール類	<ul style="list-style-type: none"> ・ベンジルアルコール ・フェニルエチルアルコール ・クロルブタノール 	殺菌作用もあるが、常法で静菌的作用を発揮する
p-オキシ安息香酸エステル類	<ul style="list-style-type: none"> ・p-オキシ安息香酸メチル ・p-オキシ安息香酸エチル ・p-オキシ安息香酸プロピル ・p-オキシ安息香酸ブチル ・p-オキシ安息香酸イソブチル 	静菌的作用から殺菌的作用を発揮する
その他	<ul style="list-style-type: none"> ・イソプロピルメチルフェノール ・塩化ベンザルコニウム ・オルトフェニルフェノール ・クロルクレゾール ・グルコン酸クロルヘキシジン ・臭化アルキルイソキノリニウム ・テトラメチルチウラムジアルフェート ・トリクロロカルバニリド ・ヘキサクロロフェン ・レノルシン 	

2) 発見の経緯

現在、糖尿病治療薬及び抗マラリア剤として用いられているピグアナイド系化合物の起源は、20世紀の初頭にまで遡る。英国においてのこれら化合物の抗菌剤としての研究は、IG Farbenindustrie 社において始められ、第1次、第2次世界大戦の際の国策として英国の主要化学会社を合併して設立されたICI社*1に引き継がれた。

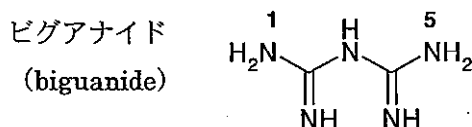
*1 Imperial Chemical Industry 社

1993年にZeneca社と分社。Zeneca社は1999年にAstra社と合併、AstraZeneca社となる。ポリアミノプロピルピグアナイドの製造者、Avecia社は1999年、合併以前にZeneca社より分離独立して設立された。Avecia社は2004年4月にバイオサイドビジネス部門をArch Chemicals社に売却、現在はArch Chemicals社がポリアミノプロピルピグアナイドの製造販売を行っている。

ICI社においてはヒピテン[現在 AstraZeneca 社の登録商標=クロルヘキシジン]、及び Vantocil IB/Vantocil P/Baquacil/Cosmocil CQ [何れも現在 Avecia 社商標=ポリヘキサニド (INN 名称)、ポリアミノプロピルビグアナイド (INCI 名称)、通称 PHMB (ポリヘキサメチレンビグアナイド)] を製造してきた。

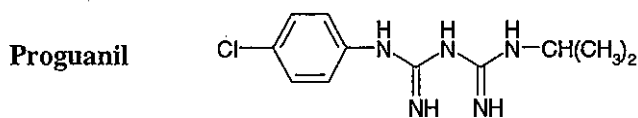
3) 開発の経緯

ビグアナイド系化合物は防腐剤として香粧品類、医薬品の防腐に、また殺菌剤としても長年用いられて来ている²⁻³。Rose、及び Swan らはその特許の中で特に高分子体のビグアナイド系化合物が *Streptococcus* 属、*Staphylococcus* 属、大腸菌、緑膿菌に対して優れた抗菌性をもち、また、幅広い種類のカビの生育を抑制する効果をもつことを示している⁴。



ビグアナイド系化合物の抗微生物活性についての報告は、1933年の Farberind によるアリルビグアナイドの抗細菌活性及び抗原生動物活性についてのものが初めてであった。この報告が後の Curd 及び Rose の抗マラリア剤としての研究に繋がったものと考えられている¹⁻³。

これらの研究者らは、ビグアナイドを部分構造としてもつ化合物の優れた抗マラリア活性を示し、更に N-1 位と N-5 位の置換体の開発へと進められた (抗マラリア剤として知られる、N¹-p-chlorophenyl, N⁵-isopropylbiguanide (Proguanil))。Proguanil は、マラリア予防薬、且つ治療薬として効果が確認された。



² Curd F.H.S. and Rose F.L. 1946, Synthetic antimalarials . Part X . Some aryl- diguanide ("biguanide-") derivatives. J.Chem.Soc. 1946, 729-739

³ Rose F.L. and Swain G. 1956 Biguanides having antibacterial activity J.Chem. Soc. 1956, 4422-4425.

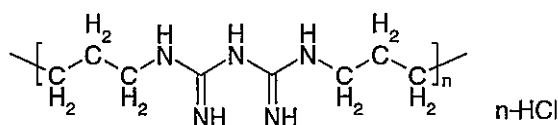
⁴ Rose F.L. and Swain G. 1954. Polymeric Biguanides British Patent No. 702, 268

Proguanil の開発の成功を受けて抗マラリア剤以外の他の治療用に有効なビグアライド系化合物の探索が行われた。

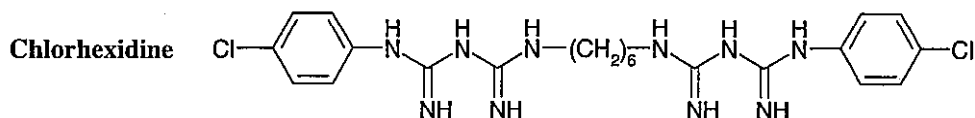
収載希望ポリアミノプロピルビグアナイド (INN 名称 : Polyhexanide) は、XXXXXXXXXX合成され、以下に示す構造であるが、医療用の薬剤のスクリーニングとしては、Polyhexanide よりはむしろ平易な構造のものに焦点が置かれた。ビグアナイド構造を部分的にもつ物質が更に幅広く研究され、分子中に 2 つのビグアナイド構造を有する化合物が幅広い微生物種に効果を示すことが明らかとなった。また、ビグアナイド構造を結ぶ中間構造がヘキサメチレンである場合に最も効果が高いことが確認された。

Polyhexanide

ポリアミノプロピルビグアナイド



広く現在医療用の殺菌剤として用いられている Chlorhexidine はこのような開発経過の下で見出された薬剤である。



収載希望のポリアミノプロピルビグアナイド (上記 INN 名称 Polyhexanide) は、繰り返し単位にビグアナイドをもつ高分子である。ICI 社では 60 年代後半より Vantocil IB、Vantocil P の製品名で一般工業用の除菌、防腐剤として全世界で販売を行っている⁵。

香粧品類の防腐剤としては一段厳しい規格の下、Cosmocil CQ の製品名で 20 年以上の販売実績をもち、EU Cosmetics Directive 76/768/EC Annex6 に 1986 より収載、またアメリカの International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook にも 1984 年より収載され、各国で使用されている。

Chlorhexidine に先んじて見出されていたものであり、姉妹品とも言うべき関係のものであるが、ポリアミノプロピルビグアナイドがその高い水溶性、各種配合原料により不活化されない点を特徴に一般工業製品の分野でまず市場を広げたのち、化粧品用途、医薬部外用用途へ展開されてきた。

⁵ Boardman g., A Polymeric Biguanide for Industrial Disinfection. Food Technology. New Zealand, 4 (12), 421, 423, 425 (1969)

2. 特性及び有効性

1) 特性

ポリアミノプロピルピグアナイドは水溶性であるため、各種の化粧品剤型、例えば水と油を乳化したクリームや、油成分（例えば油溶性ビタミン、香料など）を可溶化した化粧水などにおいて、水相側に存在し、水/油界面の水側に必ず存在することになり、防腐剤として有効に働く。

これに対して、化粧品に多用されているパラベン類は、エステル化しているアルコールの種類により水に対する溶解度が異なる。水へ溶解するものは、メチルアルコールのエステルであるメチルパラベンだけである。パラベン類の化粧品への配合法は、

- ① 乳化系の場合は油相に溶解して添加
- ② ローションなどの水相成分が主の場合は、プロピレングリコール、グリセリンなどの多価アルコールに溶解して添加、若しくは可溶化剤により可溶化して添加。

などがあり化粧品剤型により、配合方法を変更する必要がある。

しかし、ポリアミノプロピルピグアナイドは水相に添加する方法だけで配合することができるため製造上の取り扱いも簡便である。

また、ポリアミノプロピルピグアナイドはその繰返し単位毎に陽電荷をもっており、他の単価カチオン系の防腐剤（塩化ベンザルコニウム、クロルヘキシジン類等）がアニオン系の成分による塩の形成による著しい不活化が認められるのに対して、ポリアミノプロピルピグアナイドは不活化が起こりにくいことが知られている。

2) 有効性

(1) グラム陽性菌、グラム陰性菌への防腐・殺菌効果⁶

ポリアミノプロピルピグアナイド（PHMB）のグラム陽性菌、グラム陰性菌に対する防腐・殺菌効果について、塩化ベンゼトニウム、パラクロロメタキシレノール（PCMX）、トリクロサンと比較した場合の最小発育阻止濃度（MIC）を次ページに示す。最高濃度は1000ppm、公比2で段階希釈を行った結果である。

これより、ポリアミノプロピルピグアナイドは、他の防腐・殺菌剤と比較して、さまざまなグラム陽性菌、グラム陰性菌にも有効であると考えられる。

⁶ Dr. Alex Cornish, *et al.*, *Cosmetic & Toiletry Manufacture Worldwide 2002*

微生物種	菌株	最小発育阻止濃度 (ppm)			
		PHMB	塩化ベンゼト ニウム	PCMX	トリクロ サン
グラム陰性菌					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCTC 10662	8	63	500	250
<i>Burkholderia cepacia</i>	NCTC 10661	31	31	63	125
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	ATCC 13525	8	31	250	250
<i>Enterobacter cloacae</i>	NCTC 11936	31	31	125	0.2
<i>Escherichia coli O157:H7</i>	NCTC 12900	2	16	125	0.2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 4352	6	16	125	0.2
<i>Proteus vulgaris</i>	NCTC 4175	8	63	125	0.2
<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 14028	1	31	125	0.2
<i>Serratia marcescens</i>	NCTC 11935	6	125	125	250
<i>Vibrio cholerae Non O:1</i>	NCTC 11348	1	31	31	31
<i>Yersinia enterocolitica</i>	NCTC 10460	63	31	125	125
グラム陽性菌					
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	4	4	63	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	NCTC775	4	1	250	8
Multiple Antibiotic Resistant <i>Enterococcus faecium (VRE)</i>	wild type	6	nd	nd	nd
<i>Listeria monocytogenes</i>	NCTC 11994	4	8	125	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	0.5	0.2	125	0.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCTC 6571	2	0.2	63	0.2
Resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (EMRSA)	wild type	6	nd	nd	nd

Dr. Alex Cornish, *et al.*, Cosmetic & Toiletry Manufacture Worldwide 2002より抜粋

試験方法 ; Microtitre plate 法

- ① 菌液の調製 ; 37℃、18時間普通ブイヨン液体培地で前培養した菌液を、新鮮な液体培地で0.1%(v/v)に希釈して試験菌液とする (菌数約 10⁶/mL)。
- ② 薬液の調製 ; 最高濃度の10倍濃度となるよう滅菌精製水で希釈して試験薬液を調製する。
- ③ Microtitre plate の well 1 に試験菌液の 180 μL を分注する。well 2 以降には 100 μL を分注する。Well 1 に試験薬液の 20 μL を添加して、ピペッティングにより良く混合する。well 1 の 100 μL を well 2 に分注し、ピペッティングにより良く混合する。以下、この操作を繰り返す。対照として、試験薬液を添加しない系列を作製する。
- ④ 37℃、24時間培養後の濁度を対照系列と目視で比較し、最小発育阻止濃度を判定する。

(2) 細菌、カビ、酵母への防腐・殺菌効果⁷

ポリアミノプロピルピグアナイドの細菌、カビおよび酵母に対する MIC を下記に示す。

微生物種	菌株	最少発育阻止濃度 (ppm)
細菌		
<i>Bacillus subtilis</i>	NCIMB 1650	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	NCIMB 8271	4
<i>Escherichia coli</i>	NCIMB 9137	1
<i>Proteus vulgaris</i>	NCTC 4175	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	NCIMB 10421	20
<i>Pseudomonas putida</i>	NCIMB 9494	5
<i>Staphylococcus aureus</i>	NCIMB 9518	0.2
<i>Streptococcus faecalis</i>	ATCC 6569	5
<i>Streptococcus lactis</i>	NCTC 7944	5
カビ		
<i>Aspergillus niger</i>	IMI 17454	150
<i>Tricophyton mentagrophytes</i>	ATCC 20099	5
酵母		
<i>Candida albicans</i>	NCYC 10231	60
<i>Rhodotorula rubra</i>	NCYC 1659	5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ATCC 9763	20

試験方法；ディスク法

- ① 細菌類、酵母類については普通ブイヨン液体培地に1白金耳接種し、30℃、24時間静置培養する。カビ類は0.005% Aerosol OT水溶液に懸濁し、孢子濃度 $10^5 \sim 10^6$ spores/mLに調整する。
- ② 溶解して50℃程度に保った寒天培地10mLに各濃度の薬剤を添加し、シャーレに移し固める（細菌類：普通寒天培地、酵母類・カビ類：ポテトデキストロース寒天培地）
- ③ 前もって乾熱殺菌した直径10mmのろ紙を1)の菌液に浸し、2)の培地上に置く。
- ④ 細菌、酵母類は30℃で2日間、カビ類は28℃で4日間培養する。
- ⑤ ろ紙上に微生物の生育していない最低の濃度を発育阻止濃度 (MIC) として記録する。

3) 作用機序

(1) 菌への作用^{8,9,10}

ポリアミノプロピルピグアナイドはカチオン系の高分子であるため、負に帯電する細菌表面へ容易に迅速に接近する点、また細胞外膜、細胞壁、原形質膜を構成する陰イオン性の成分への親和力が高い点が作用機序に貢献している。各細胞外膜、原形質膜においてリン脂質は親水性基（リン酸基）を外側に脂質鎖を内側にした2層膜を構成していることが知られている（流動モザイクモデル）。ヘキサメチレンで適度に距離を置かれた陽電荷が、膜のリン酸基のうち負電荷をもつサイトへ相互作用することにより、当該2層膜の構造に変化をもたらす。濃度が上昇するに従って膜の一部に層分離を生じ、膜の透過度を増加させることから、膜内の物質収支に異常を生

⁷ Avecia Biocides, Cosmocil CQ Technical Information Bulletin

⁸ Broxton P. et al., Microbios, 41, 15-22 (1984)

⁹ Broxton P. et al., Microbios, 40, 187-193 (1984)

¹⁰ Broxton P. et al., Microbios, 57, 115-125 (1984)


ずる。更に濃度が上昇すると一部に膜の構造の完全な破壊が起こり、溶菌を引き起こすものと考えられている。

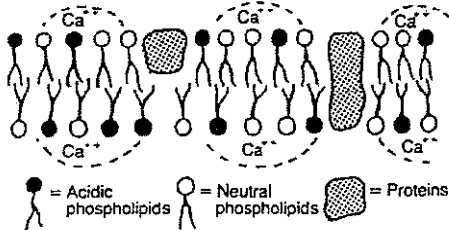
ポリアミノプロピルピグアナイドは、次の多段階プロセスによる作用機序が提案されている。

1. 細菌類表面（負に帯電）への電気泳動的な急速な接近（次ページ作用機序模式図B）
2. 細菌類表面への相互作用¹²（次ページ作用機序模式図B）
3. 細胞壁ペプチドグリカンの陰性サイトでの Ca^{2+} との置換（細胞壁の排他機構の克服）
（次ページ作用機序模式図B）
4. 原形質膜への相互作用（下記の3つのレベル）
 - ・原形質の低分子量成分の溶出（ K^+ イオンなど）、及び膜結合酵素の阻害（ATPaseなど）¹³ [制菌レベル]
（次ページ作用機序模式図C）
 - ・原形質膜の破壊。巨大分子の溶出（ヌクレオチドなど）¹⁴ [殺菌レベル]（次ページ作用機序模式図D）
 - ・原形質の成分中、リン酸基をもつ高分子（核酸など）との凝集反応 [完全な溶菌]

次ページにポリアミノプロピルピグアナイドの作用機序を模式図にして示す。

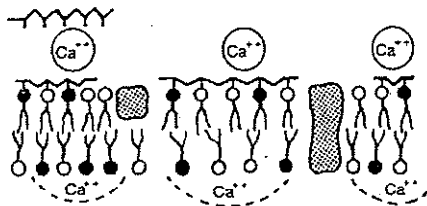
ポリアミノプロピルピグアナイド(ポリヘキサニド)

(Polyhexanide is represented by )



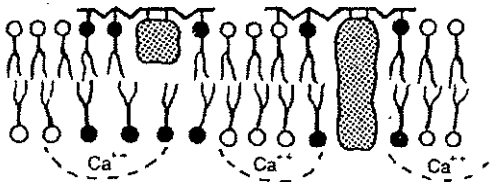
(A) Bacterial cytoplasmic membrane conforming to "fluid mosaic" model; stabilised by Ca^{2+} and phospholipid mixture and distribution

(A) 流動モザイクモデルに例えられる細菌類の細胞膜。Ca²⁺およびリン脂質が分布している。



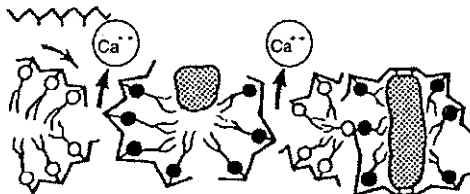
(B) Initial wave of polyhexanide displaces surface cations, binds to phospholipids, causes change in packing

(B) ポリアミノプロピルピグアナイドが細胞膜表面の陽性電荷部分に接近し、リン脂質に結合、細胞表面が変化おこす。



(C) Polyhexanide induces a phospholipid phase separation, affects concentrate in the area of integral proteins; causes increase in membrane permeability, K^+ efflux, loss of enzyme function, i.e. bacteriostatic level

(C) ポリアミノプロピルピグアナイドが、リン脂質の分解を引き起こし、原形質の低分子量成分の溶出 (K⁺など) および膜結合酵素 (ATPase) の阻害がおこる。



(D) Destabilised zones aggregate into favourable hexagonal phase, further stabilised by binding of excess polyhexanide (electrostatic and hydrophobic); complete loss of membrane function, i.e. bactericidal level

(D) 過剰のポリアミノプロピルピグアナイドにより、細胞質の成分中の高分子との凝集反応がおこる。

100mg/L 未満 (0.01w/v%) で静菌的に、100~500mg/L (0.01~0.05w/v%) で殺菌的に作用する。

- 静菌的な濃度 (100mg/L 未満) では、細菌表面のリン酸基部位に吸着し、細胞壁を透過し、細胞膜透過性を障害する。その後、カリウムイオンのような低分子成分の漏出を引き起こし、また、ATPase のような膜結合酵素の阻害をする。
- 殺菌的な濃度 (100~500mg/L) では、細胞内に急速に侵入し、ATP や核酸を凝固し沈殿を生成する。

(2) 生体への作用

ラットを用いた吸収分布代謝排泄試験において、ポリアミノプロピルピグアナイドの生体への吸収は非常に低く、単回経口投与されたポリアミノプロピルピグアナイドの94%が単に糞中に排泄された。残りが尿中排泄物として観察され、胆汁への排泄は認められなかった。尿中排泄物はより低い分子量分画が主であった。当該試験においては構造解析に用いるだけの尿中排泄物の分離は行えなかった。

過去の試験においてペーパークロマトグラム、分光分析による尿中排泄物の構造に対する検討が行われている¹¹。単回経口投与後の尿中への¹⁴C 標識化試料の排泄はこの場合も極めて低く、5.6%にとどまった。このうち5.4%については構成成分オリゴマー [redacted] であると結論している。また、残りの0.2%については残渣レベルの [redacted] 不純物とした。従って、尿中排泄物の何れも元々成分として含まれるものであり、ポリアミノプロピルピグアナイドの成分は、生体中での吸収、代謝を受けないことから、生体への作用はないと考えられる。

4) 他の防腐剤との比較

(1) パラベン類との比較¹²⁻¹³

パラベン類は、一般的には細菌に対するよりも酵母やカビに対して効果的であり、グラム陰性菌よりもグラム陽性菌に対して効果的であるといわれている。また、水に対する溶解性が低く緑膿菌に対するMICまで溶解しないため、パラベン類は緑膿菌に対して効果が無いといわれている。

防腐効果は、ブチルエステルまではアルキル基の長さに従って増大するといわれているが、水に対する溶解度は逆に減少するため、短い鎖長のエステルであるメチル、エチル、プロピルが多用されている。また溶解度に起因する有効性の問題を解消する目的では、2種類以上を混合して使用している。

しかし、幅広い剤型の化粧品に使用できることや臭いや着色などが少なく化粧品には一番多量に使用されている。

その他の問題点としては油性成分への溶解性が高いことによる水/油分配において油相側に存在して界面に有効に作用しにくいこと、乳化剤・可溶化剤に取り込まれ同様に作用しにくいことが上げられる。

¹¹ Harold Bratt *et al.*, Makromol. Chem. 177, 2591-2605 (1976)

¹² 化粧品, 医薬品防腐・殺菌剤の科学, ジョン・J・カバラ, フレグランスジャーナル社

¹³ 桑原裕史ら, 講座/化粧品・医薬品に用いられる防腐剤・殺菌剤と微生物10, 防菌防黴 28 (12), p811 (2000)

また、パラベン類を不活化する成分は多々知られており、ペプチド、タンパク質の共存下では防腐効果は望めない。

表-2 に、ポリアミノプロピルピグアナイドの防腐剤としての効果を比較するために、文献に記載されている最小発育阻止濃度 (MIC) のデータを対比させた¹⁴。また、参考にホルマリンリリース型の防腐剤である DMDM ヒダントイン (ジメチロールジメチルヒダントイン) のデータも併記した。異なる文献のため試験法などは同じではないが、参考のため示した。

表-2 ポリアミノプロピルピグアナイドと他の防腐剤の MIC の比較

微生物種	ポリアミノプロピルピグアナイド	メチルパラベン	エチルパラベン	プロピルパラベン	ブチルパラベン	DMDM ヒダントイン
Bacillus subtilis	1	2000	1000	500	250	500
Staphylococcus aureus	0.2	2000	1000	500	125	500
Staphylococcus epidermidis	—	2000	1000	500	250	—
Escherichia coli	1	2000	1000	500	500	500
Klebsiela pneumoniae	—	1000	500	500	250	—
Salmonella typhosa	—	1000	1000	500	500	250
Proteus vulgaris	40	1000	500	250	125	500
Serratia marcescens	—	1000	1000	500	500	—
Enterobacter cloacae	4	1000	1000	500	250	—
Pseudomonas aeruginosa	20	4000	>2000	>1000	>1000	250
Pseudomonas stutzeri	—	2000	1000	500	500	—
Candida albicans	—	1000	500	250	125	250
Saccharomyces cerevisia	20	1000	500	125	32	—
Aspergillus niger	150	1000	500	250	125	250
Penicillium chrysogenum	—	500	250	125	63	—
Trichophyton mentagrophytes	5	250	125	63	32	—

—: データなし、単位 ppm

この比較からもわかるよう、ポリアミノプロピルピグアナイドの MIC は他の防腐剤よりも小さく、より低い濃度で防腐効果があることがわかる。

¹⁴ 化粧品、医薬品防腐・殺菌剤の科学、ジョン・J・カバラ、フレグランスジャーナル社

(2)ホルマリン系防腐剤との比較

日本で許可されているホルマリンリリース型の防腐剤は、N,N'-メチレンビス[N'-(3-ヒドロキシメチル-2,5-ジオキソ-4-イミダゾリニル)ウレア] (商品名：ジャーナル 115) と 1, 3-ジメチロール 5, 5-ジメチルヒダントイン (商品名：グライダント) の 2 種類であり“粘膜に使用されることがない化粧品のうち洗い流すもの”で 100 g 中 0. 3 g の濃度で許可されている。

ジャーナル 115 は、主として細菌に対する効果は高いが、カビや酵母に対しての効果は選択的であるとされており¹⁵

、パラベン類のような抗真菌性の防腐剤と併用する。海外ではこの使用法が一般的である。

また、グライダントは水への溶解性が高いため抗菌性を示す範囲は、水相及び水相と油界面に及び本申請のポリアミノプロピルピグアナイドの性質と類似している。また細菌に対する作用はグラム陰性菌に対して効果があるといわれている。

このようにホルマリンリリース型の防腐剤の使用方法は、本申請のポリアミノプロピルピグアナイドと類似する点はある。

しかし、この 2 つの防腐剤は間接的にはあるがホルマリンを使用するということになる。これによる使用上の制限があり、日本においてはすべての化粧品に使用できる状況ではない。

¹⁵ 化粧品、医薬品防腐・殺菌剤の科学、ジョン・J・カバラ、フレグランスジャーナル社

(3)各種防腐・殺菌剤の比較一まとめ¹⁶⁻¹⁷

各種防腐・殺菌剤の特徴を下の表にまとめた。

表-3 各種防腐・殺菌剤の特徴(まとめ)

防腐剤	水への溶解性	抗菌スペクトル	安定性、化粧品中の不活化成分	その他の特徴
ポリアミノプロピルピグア ナイド	20%超	緑膿菌に有効。スペクトル広い。	安定。不活化されにくい。	極めて電離度の高いアニオン系界面活性剤に部分的に不活化される(電荷中和)。
パラベン類(*1)				
-メチルエステル	0.2%	広い。但し、緑膿菌に対して無効	アニオン、非イオン性物質及びタンパク質で不活化。pH8以上で加水分解。	エマルション、クリームにおいては油相への分配度が極めて高く、腐敗の原因である水相の微生物に効果を示さない。
-エチルエステル	0.08%	広い。但し、緑膿菌に対して無効	同上	同上
-プロピルエステル	0.04%	真菌類に特に有効	同上	同上
-ブチルエステル	0.015%	真菌類に特に有効	同上	同上
イミダゾリジニルウレア(*2)	20%超	真菌類に無効	ホルマリン遊離タイプ	
ジメチロールジメチルヒダ ントイン(*3)	20%超	真菌類に無効	ホルマリン遊離タイプ	
塩化ベンザルコニウム	20%超	広い。緑膿菌に対して効果低い。	石ケン、アニオン系化合物他、不活化のため配合不可の成分多し。	気泡性。

*1 パラオキシ安息香酸エステル及びそのナトリウム塩

*2 N,N'-メチレンビス[N-(3-ヒドロキシメチル)-2,5-ジオキソソノ-4-イミダゾリニル]ウレア]

*3 1,3-ジメチロール-5,5-ジメチルヒダントイン

¹⁶ 防菌防黴ハンドブック、技報堂出版 1986

¹⁷ Microbicides for the Protection of Materials, Chapman&Hall 1993

(4)化粧品処方中における防腐効果の比較試験

化粧品用途に使用されている防腐剤は、そのほとんどがパラベン類であるが、6 ページで述べたように、様々な問題を抱えるパラベン類よりも使用性の高い、化粧品用の防腐剤が望まれている。

そこで、パラベン類と比較した場合のポリアミノプロピルピグアナイドの特徴、利点を確認するために、化粧品処方中における、ポリアミノプロピルピグアナイドの抗菌力を測定し、同一処方におけるパラベン類の効果と比較した。

この処方で調製された製剤は、レシチンおよびペプチドを高濃度含有しているため、防腐剤が不活化されやすい系である。

<試験方法>

日本薬局法「保存効力試験法」に準じて試験を行なった。0、3、7、10、14、21 および 28 日に、大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌、カンジダ、黒コウジカビの生存数を測定した。使用した菌株を以下に示す。試験方法の詳細は、添付資料「特性および他の成分との比較検討」の参照。

微生物種	菌株
<i>Escherichia coli</i> (大腸菌)	Migula 1895
<i>Staphylococcus aureus</i> (黄色ブドウ球菌)	Rosenbach 1884
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (緑膿菌)	Migula 1900
<i>Candida albicans</i> (カンジダ)	Berkhout
<i>Aspergillus niger</i> (黒コウジカビ)	Tieghem

<試験結果>

(4)－1. ポリアミノプロピルピグアナイドの試験結果

各菌に対するポリアミノプロピルピグアナイド 0.002～0.2%の効果を次ページ表 4～8 に示す。

① 細菌類(大腸菌、黄色ブドウ状球菌、緑膿菌)

0.02%以上の配合濃度で非常に大きな効果を示した。

② 真菌類(カンジダ、黒コウジカビ)

本試験条件下では、有効性を認めることができなかった。また、菌数がいったん減少し、また増加するという、リバウンド現象が認められた。

(4)－2. パラベン類の試験結果

各菌に対するパラベン類 (パラオキシ安息香酸メチル：パラオキシ安息香酸プロピル=2：1) 0.3～1.0%の効果を表 9～11 に示す。

① 細菌類(大腸菌、黄色ブドウ状球菌、緑膿菌)

1%の配合濃度で、大腸菌、黄色ブドウ状球菌に効果を示したが、緑膿菌に対する効果は認められなかった。0.5%以下の濃度においては、まったく効果を示さなかった。

② 真菌類(カンジダ、黒コウジカビ)

1%、0.5%の配合濃度で菌数の減少が認められたが、0.3%以下の濃度においては、まったく効果を示さなかった。

(4)－3. 対 照

防腐剤を添加しない製剤中の各菌数の変化を対照（ブランク）として表 12 に示す。28 日の試験期間中、防腐剤を添加しない製剤中で 5 種の菌数は、減少しなかった。

なお表中、大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌およびカンジダの「∞」とは 4,000 cfu/mL 以上を意味する。黒コウジカビの場合、菌糸の集塊を形成し、目視によって 2,000 cfu/mL 以上のコロニー数を正確に数えることができないため、2,000 cfu/mL 以上を「∞」と記載した。

また、表中ポリアミドピグアナイドを PHMB と記載する。

表 4 ポリアミドピグアナイド 0.2%の保存効力試験

PHMB 0.2%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	0	0	0	0	0	0	0
黄色ブドウ球菌	0	0	0	0	0	0	0
緑膿菌	0	0	0	0	0	0	0
カンジダ	270	30	0	0	680	10	0
黒コウジカビ	0	200	10	10	50	100	370

表中の数字：検出したコロニー数 (cfu/製剤 1g)

表 5 ポリアミドピグアナイド 0.1%の保存効力試験

PHMB 0.1%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	0	0	0	0	0	0	0
黄色ブドウ球菌	0	0	0	0	0	0	0
緑膿菌	0	0	0	0	0	0	0
カンジダ	∞	2220	1870	930	270	0	0
黒コウジカビ	150	650	170	290	560	∞	∞

表6 ポリアミドビグアナイド 0.06%の保存効力試験

PHMB 0.06%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	0	0	0	0	0	0	0
黄色ブドウ球菌	0	0	0	0	0	0	0
緑膿菌	0	0	0	0	0	0	0
カンジダ	∞	∞	∞	∞	3260	130	10
黒コウジカビ	∞	∞	∞	1600	∞	∞	∞

表7 ポリアミドビグアナイド 0.02%の保存効力試験

PHMB 0.02%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	0	0	0	0	0	0	0
黄色ブドウ球菌	0	0	0	0	0	0	0
緑膿菌	0	0	0	0	0	0	0
カンジダ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黒コウジカビ	∞	∞	∞	720	380	240	100

表8 ポリアミドビグアナイド 0.002%の保存効力試験

PHMB 0.002%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黄色ブドウ球菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
緑膿菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
カンジダ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黒コウジカビ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

表9 パラベン類 1%の保存効力試験

パラベン類 1%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	∞	2650	0	0	0	0	0
黄色ブドウ球菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	0
緑膿菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
カンジダ	∞	60	0	0	160	0	0
黒コウジカビ	∞	∞	440	310	250	90	40

表10 パラベン類 0.5%の保存効力試験

パラベン類 0.5%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黄色ブドウ球菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
緑膿菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
カンジダ	∞	∞	∞	∞	∞	3820	380
黒コウジカビ	∞	∞	∞	∞	200	10	0

表 11 パラベン類 0.3%の保存効力試験

パラベン類 0.3%	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黄色ブドウ球菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	0
緑膿菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
カンジダ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黒コウジカビ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

表 12 対照 (ブランク)

対照 (ブランク)	0日後	3日後	7日後	10日後	14日後	21日後	28日後
大腸菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黄色ブドウ球菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
緑膿菌	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
カンジダ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞
黒コウジカビ	∞	∞	∞	∞	∞	∞	∞

<結果の考察>

- ① レシチン・ペプチド含有処方中において、ポリアミノプロピルピグアナイドは、大腸菌、黄色ブドウ球菌および緑膿菌に対して 0.02%以上で効果を示した (表 4~8)。しかし、真菌類 (カンジダ、黒コウジカビ) には効果を示さなかった (表 4~8)。これは 12 ページに記載した最少発育阻止濃度 (MIC) で見られる傾向に一致する。多くの防腐剤で真菌類に対する防腐に高い濃度を要する傾向があり、何れの防腐剤においても共通する点といえる。
- ② また、真菌類がいったん減少し、その後増加するというリバウンド現象が認められたが、これは、真菌類が作る胞子が、ある時点で出芽し、増殖してくるためであると推測される。
- ③ 配合成分中、L-アルギニン (両性イオン)、ヒドロキシエチルセルロース (多価陰イオン性) によるポリアミノプロピルピグアナイドの不活化の傾向は認められなかった。
- ④ 一方、同一処方にパラベン類を 1.0% 配合した場合、大腸菌、黄色ブドウ球菌、カンジダおよび黒コウジカビを抑制したが、緑膿菌には効果を示さなかった (表 10~12)。また、0.3% では黄色ブドウ球菌以外の菌に対して、全く効果を示さなかった。これは、パラベン類が不活化されたためであると考えられる。パラベン類の日本における配合上限は 1.0% であることから、実質的には、この製剤系をパラベン類で防腐することは難しい。
- ⑤ パラベン類の効果が認められなかった原因として、共存する水素添加大豆リン脂質 (レシチン)、コラーゲンペプチド、アルギニンによる不活化、及びクリームでの油相にパラベン類の大部分が分配したことが示唆される。

(4)－4. 参考:一般的な化粧品処方中における防腐効果

一般的な化粧品処方中におけるポリアミノプロピルピグアナイドの効果をつぎに示す。試験方法の詳細および菌株は、添付資料(4)化粧品処方中における防腐効果の比較(20ページ)の項参照。

ポリアミノプロピルピグアナイドは、本処方中において0.02%および0.06%の両方の濃度で効果を示した。

	ポリアミノプロピルピグアナイドの濃度			
	0.02%		0.06%	
	0日後	7日後	0日後	7日後
大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>)	6	0	2	0
黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>)	0	0	0	0
緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	0	0	0	0
カンジダ (<i>Candida albicans</i>)	0	0	0	0
黒コウジカビ (<i>Aspergillus niger</i>)	70	0	13	0

表中の数字: 検出したコロニー数 (cfu/製剤 1g)

(4)－5. 結論

本試験結果より、ポリアミノプロピルピグアナイドについて、以下のことが明らかとなった。

- 防腐剤が不活化されやすい処方系においては、0.1%程度を必要とする。
- 一般的な化粧品処方においては0.02%以上で効力を示す。
- 大腸菌、黄色ブドウ球菌、緑膿菌に対して有効であるが、カンジダ、黒コウジカビなどの真菌類に対する効果は、比較的低い。
- ポリアミノプロピルピグアナイドの防腐力は、パラベン類よりも強い。

これより、ポリアミノプロピルピグアナイドは、パラベン類よりも効果が高く、化粧品の処方に対応することのできる、防腐剤であることが示された。

3. 外国における使用状況

ポリアミノプロピルピグアナイドは、化粧品を含む、パーソナルケア分野において全世界計、年間 [REDACTED] (過去 10 年間の販売量) が販売されている。

使用範囲としては一般の化粧品類 (通常の添加量 [REDACTED] %) から、本邦では医薬部外品に相当する腋の下等の消臭剤、皮膚消毒用のウェットワイプ等が含まれ、これら用途では全般に配合量が最高 [REDACTED] % と高いものとなっている。

1) 各国、地域での化粧品用防腐剤としての認可状況

EU 域 EU Cosmetics Directive 76/768/EC の Annex 6 収載、1986 年より収載。
Classification 'A' (用途限定なし)。配合上限は 0.3%

アメリカ 当局による許認可制度なし。
業界自主規制-CTFA International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook 収載。1984 年より収載。

2) 化粧品を含むパーソナルケア製品における販売・使用実績

ポリアミノプロピルピグアナイド配合化粧品の市場は、EU 域、アメリカ、及び南米各国であり、何れも個別の化粧品についての許可制度のない地域、国である。

EU 域 主要納入先: [REDACTED] 等多数、
計年間 [REDACTED]

アメリカ 主要納入先: [REDACTED] 等多数、計年間 [REDACTED]

各化粧品メーカーが上市している、ポリアミノプロピルピグアナイド配合パーソナルケア製品の種類および推定される配合量、販売市場を次にまとめて示す。

表-13 ポリアミノプロピルピグアナイド配合パーソナルケア製品

種類	使用例 (次ページ)	配合量	販売市場	販売開始年
モイスチャークリーム	写真 2, 3		EU 域	2001
ウエットボディワイプ	写真 4		イギリス	1996
ベビーワイプ	写真 5		南米各国	1996
	写真 6		アメリカ	1991
ウエットフェイスタオル	写真 7		アメリカ	1998
清拭ワイプ	写真 8		アメリカ	不明
アイメイクアップリムーバ ローション	写真 9		南米各国	1999
	写真 12		ドイツ	不明
フェースケアウォーター	写真 10		南米各国	1999
	写真 11		ドイツ	不明
	写真 13		ドイツ	不明
医薬部外品に相当する製品				
腋臭防止剤	写真 14		EU 域	不明
創傷適用ガーゼ	写真 15		アメリカ	不明
コンタクトレンズ洗浄液	写真なし		アメリカ	1987

つぎに、各国で発売されているポリアミノプロピルピグアナイド含有製品のパッケージ写真を添付する。

ポリアミノプロピルビグアナイドを配合しているパーソナルケア製品例

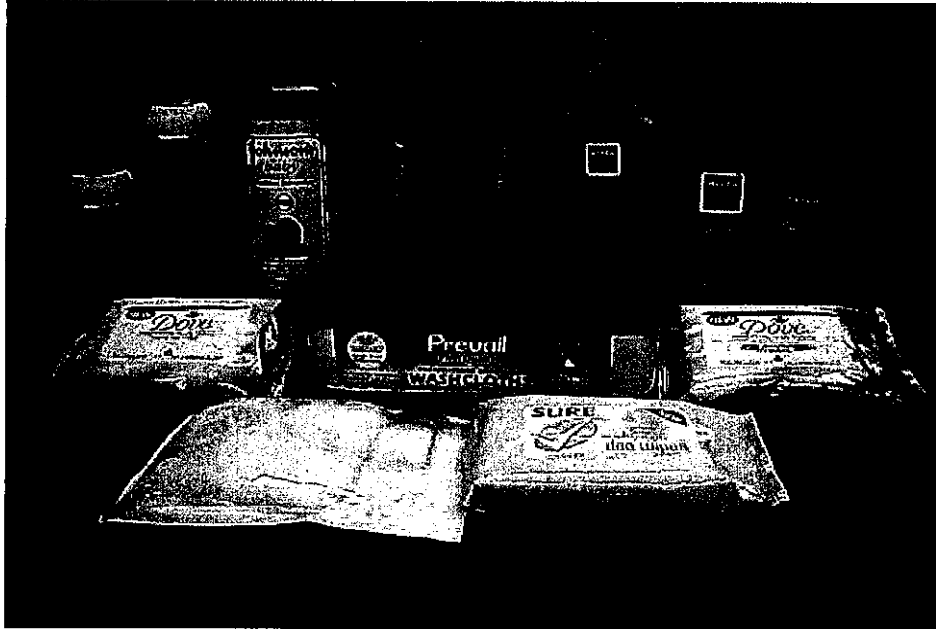


写真1 ポリアミノプロピルビグアナイドの海外での使用製品例

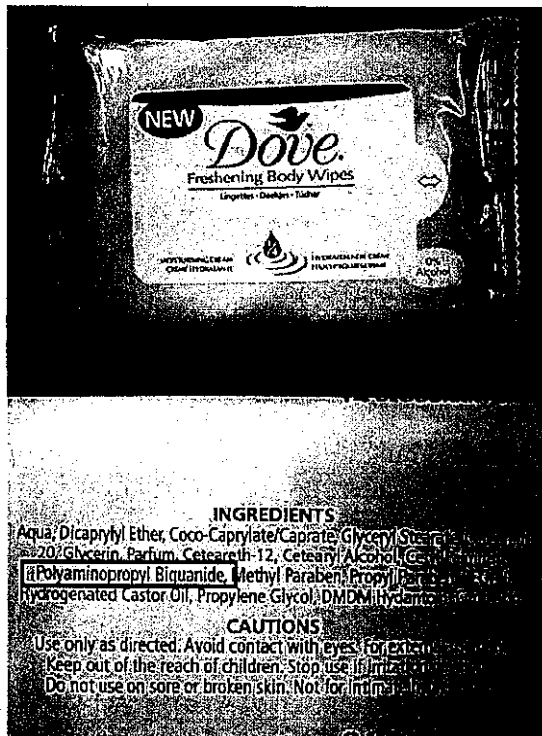


写真2 ウエットワイプタイプのモイスチャークリーム(EU域)

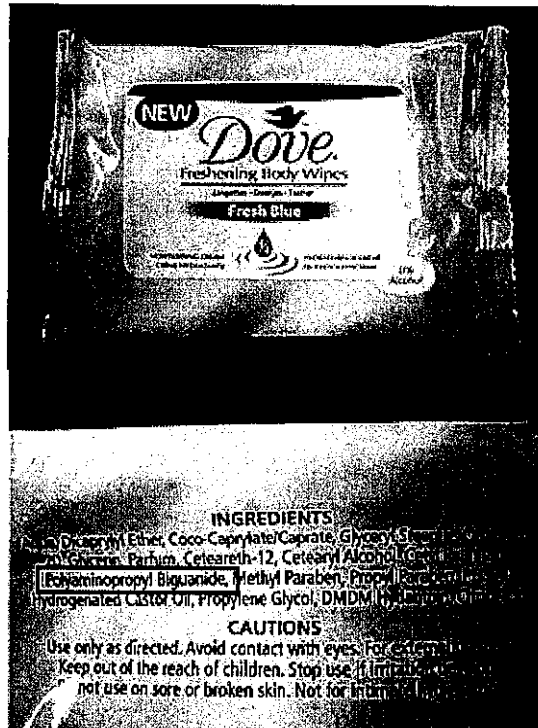


写真 3 ウエットワイプタイプのモイスチャークリーム (EU 域)

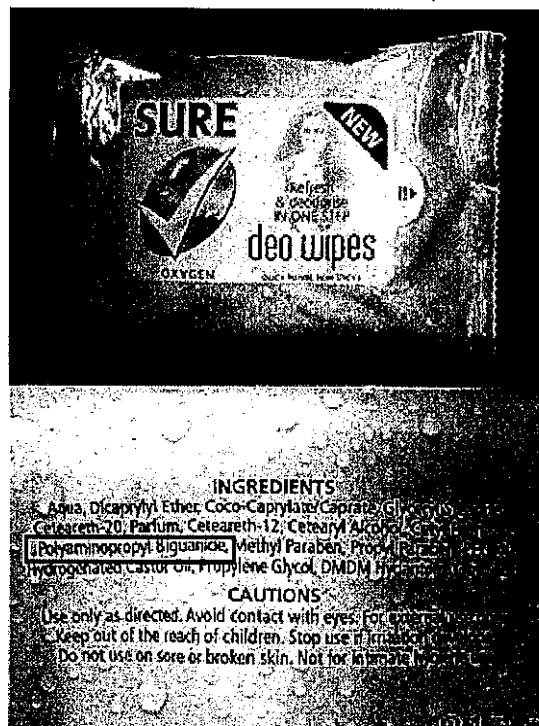


写真 4 ウエットボディワイプ防臭用 (イギリス)



Recoloque a tampa. • Puxe os lenços para cima e destaque-os lateralmente. • Os lenços já estão pré-cortados.

Ingredientes: Tela não Tejada, Water, Chamomile Distillate, Rose Distillate, Witch Hazel Distillate, Propylene Glycol, PEG-40 Hydrogenated Castor Oil, Soluble Collagen and Sodium Lauryl Sulfate, Polyaminopropyl Biguanide, Fragrance, Sodium Hydroxide.

Ingredientes: Não-Tecido, Água, Água de Rosas, Água de Camomila, Água de Hamamélis, Propileno glicol, Complexo de Colágeno, PEG-40, Óleo de Mamona

写真5 ベビーワイプ (南米域、アルゼンチン他)

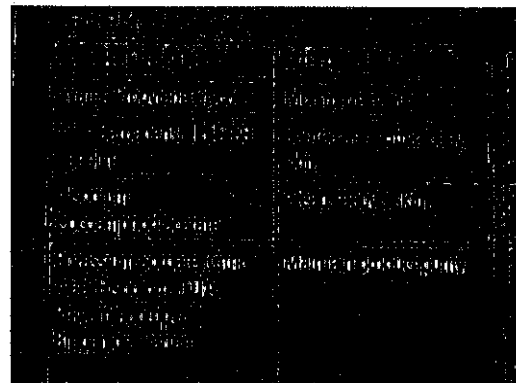
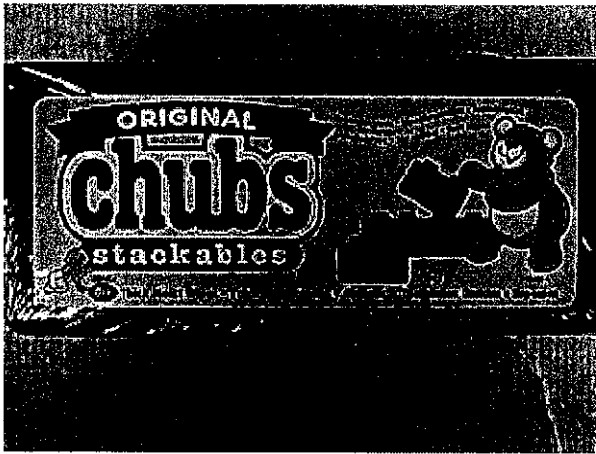
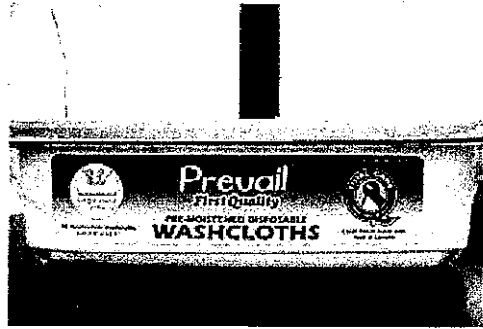
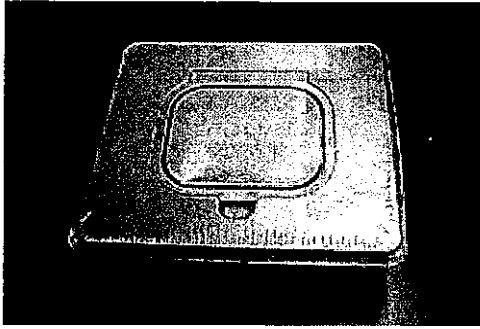


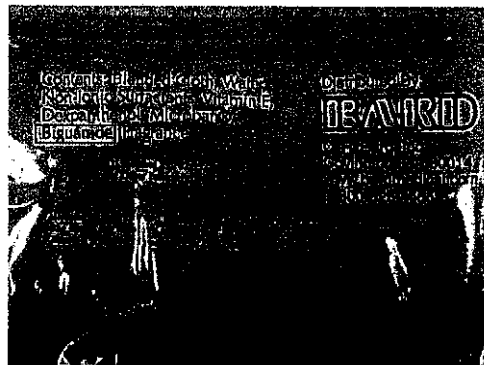
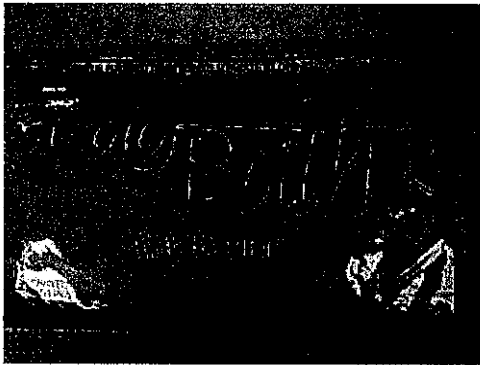
写真6 ベビーワイプ (アメリカ)



INGREDIENTS	BENEFITS
Purified Water Disodium Cocamidopropylacetate Soybean Amidopropyl Phosphatidyl	Gently cleanses and conditions the skin
Propylene Glycol Lanolin PEG-75 Aloe Vera Gel	Keeps skin soft & moisturized
Propyl Gallate Potassium Sorbate Disodium EDTA	Keeps product pure and fresh
Polyhexamethylene Biguanide HCl C10H19N3	Preserves and enhances life
Fragrance	

「Polyhexamethylene Biguanide HCl」とは、ポリアミノプロピルビグアナイドを意味する。

写真 7 ウェットフェイスタオル (アメリカ)



「Biguanide」とは、ポリアミノプロピルビグアナイドを意味する。

写真 8 清拭ワイプ (アメリカ)

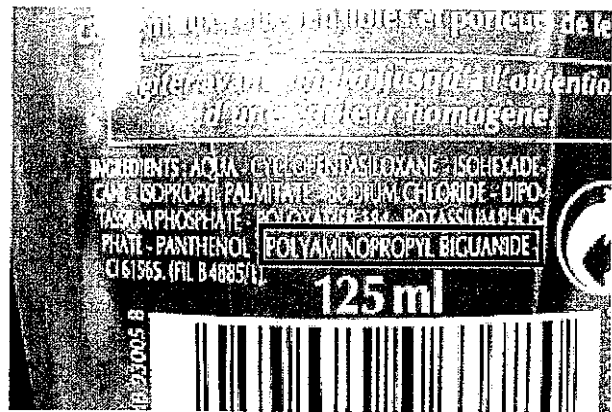
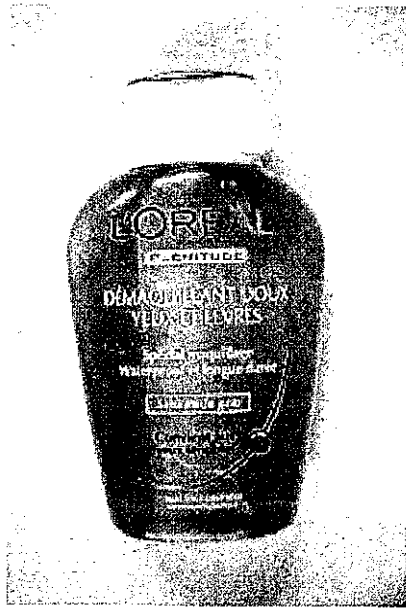


写真 9 アイメイクアップリムーバーローション (南米全域)

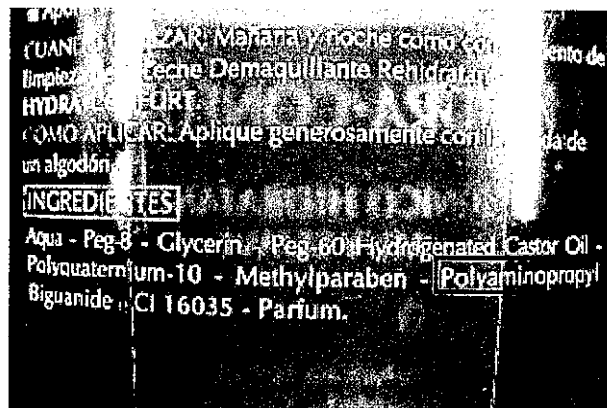


写真 10 フェースケアウォーター (南米全域)

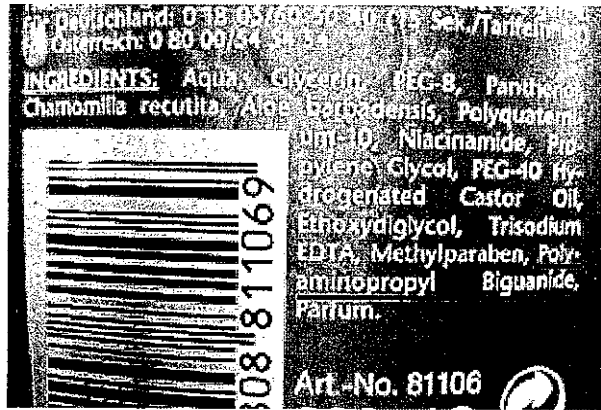


写真 11 フェースケアウォーター (ドイツ)

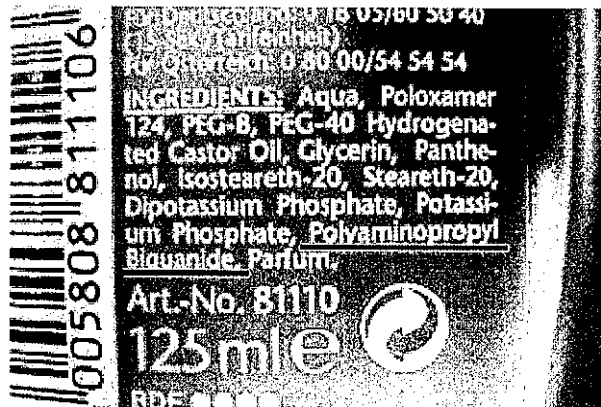


写真 12 アイメイクアップリムーバーローション (ドイツ)



写真 13 フェースケアウォーター (ドイツ)

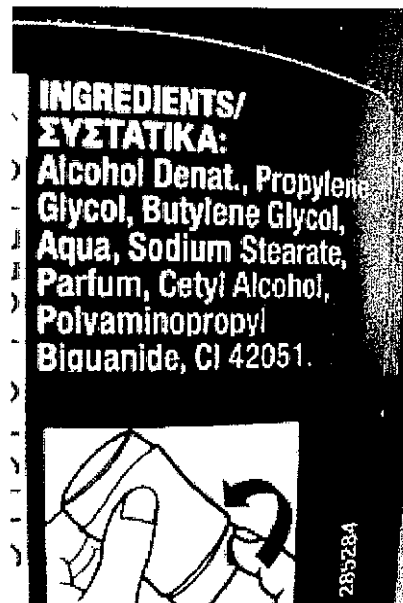
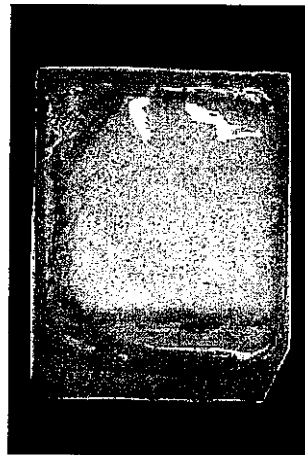


写真 14 ロールオンタイプの腋臭防止剤 (EU 域)



CAUTION: Not intended as a treatment for clinical infection. If signs of clinical infection are present, consult a physician. KERLIX A.M.D. Dressings can be used in conjunction with the prescribed therapy.

INDICATIONS: Primary dressing for exuding wounds, first and second degree burns, surgical wounds, and wound packing. Securement of primary dressing.

CONTAINS: Polysporin Antimicrobial Ointment (0.2%)

STERILE EO: Sterility guaranteed unless package is damaged or open.

CONTENTS: 2 Sponges

Patent Pending
TYCO HEALTHCARE GROUP LP • HANFIELD, VA 20241
MADE IN U.S.A. © 2000 TYCO HEALTHCARE GROUP LP
ALL RIGHTS RESERVED. 658112 • IN U.S. 1-800-282-0668 • www.kendall.com

100141

写真 15 創傷適用の防腐調製綿、ないしガーゼ (アメリカ)

3) その他のカテゴリーにおける規制登録状況

アメリカ ■■■■■ 製品名 Vantocil P は容器ビンの洗浄の際の感染性グラム陽性、陰性菌の制御剤、間接食品包材の接着剤用の防腐剤等として EPA 登録あり (EPA 登録番号 ■■■■■)

■■■■■ 製品名 Baquacil はプール用殺菌剤としての EPA 登録あり (EPA 登録番号 ■■■■■)

日本においては 医薬部外品 ソフトコンタクトレンズ用消毒剤の有効成分として認可、平成 13 年 7 月 PMS 終了済み [INN 名称 ポリヘキサニド (塩酸ポリヘキサニド) として、ポシュロムジャパン社 (レニュー)、エー・エム・オー ジャパン社 (元アラガン社) (コンプリート)、チバビジョン (フレッシュロック Care、ロート C キューブ Soft One)、旭化成 (ワンボトルケア) などに配合]

■■■■■ 製品名 Vantocil IB は食品工場の工程殺菌剤として 20 年来の販売実績あり。

■■■■■ 製品名 Proxel IB は繊維用抗菌消臭剤として数年来の使用実績あり。これら一般工業用途での国内年間販売量は約 ■■■■■ に及んでいる。

4. 一般的名称

1) INN 名称

世界保健機関 (WHO) より「Polyhexanide」の INN 名称を与えられた。

2) INCI 名称

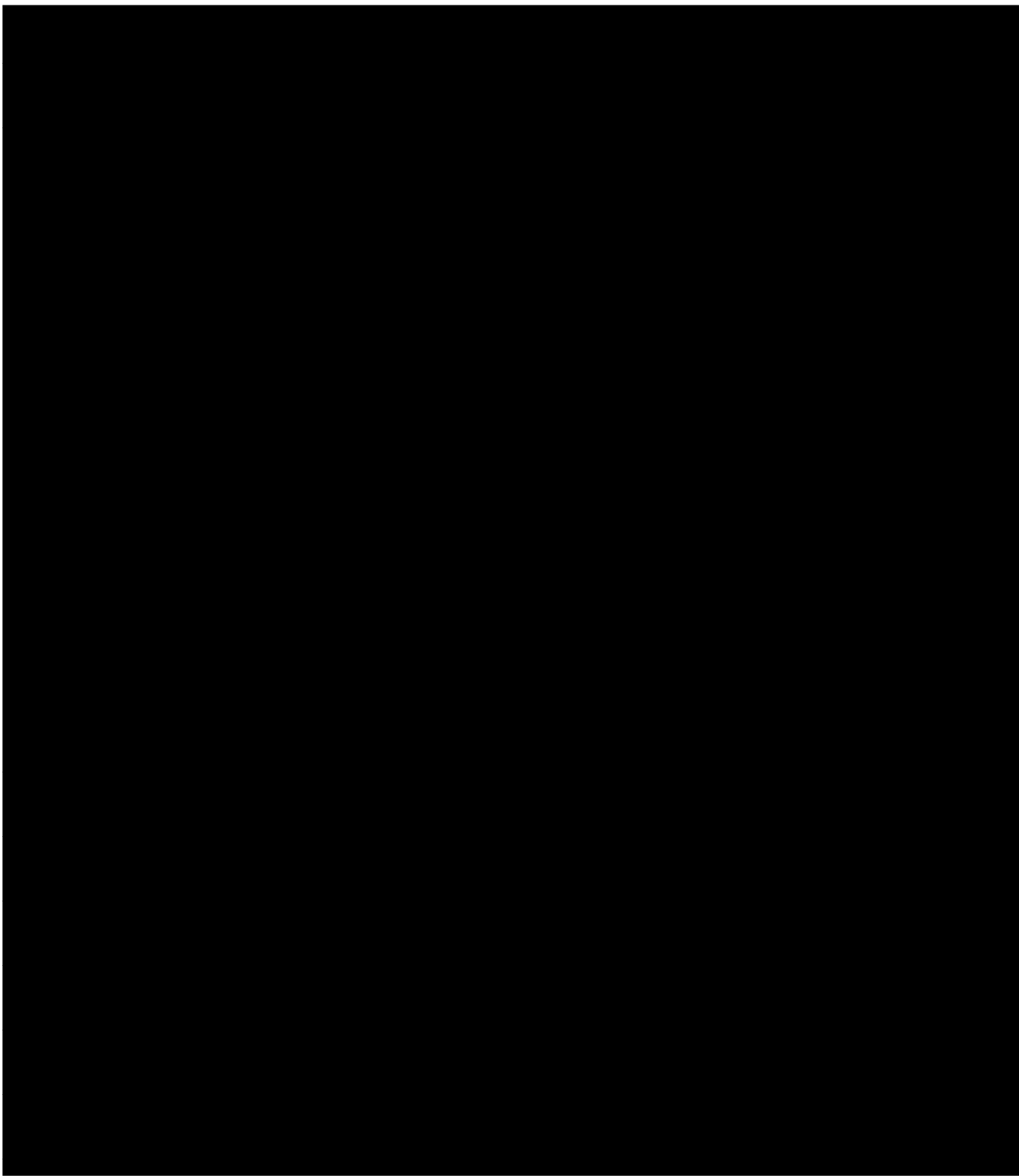
CTFA (The Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association) より、「Polyaminopropyl biguanide」の INCI 名称を与えられた。

ロ. 物理科学的性質等に関する資料

ロ. 物理化学的性質等に関する資料

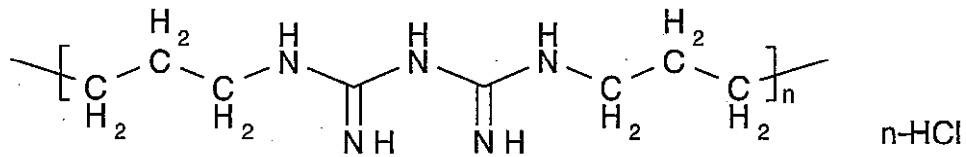
1. 製造方法

ポリアミノプロピルビグアナイドの製造方法を以下に示す。

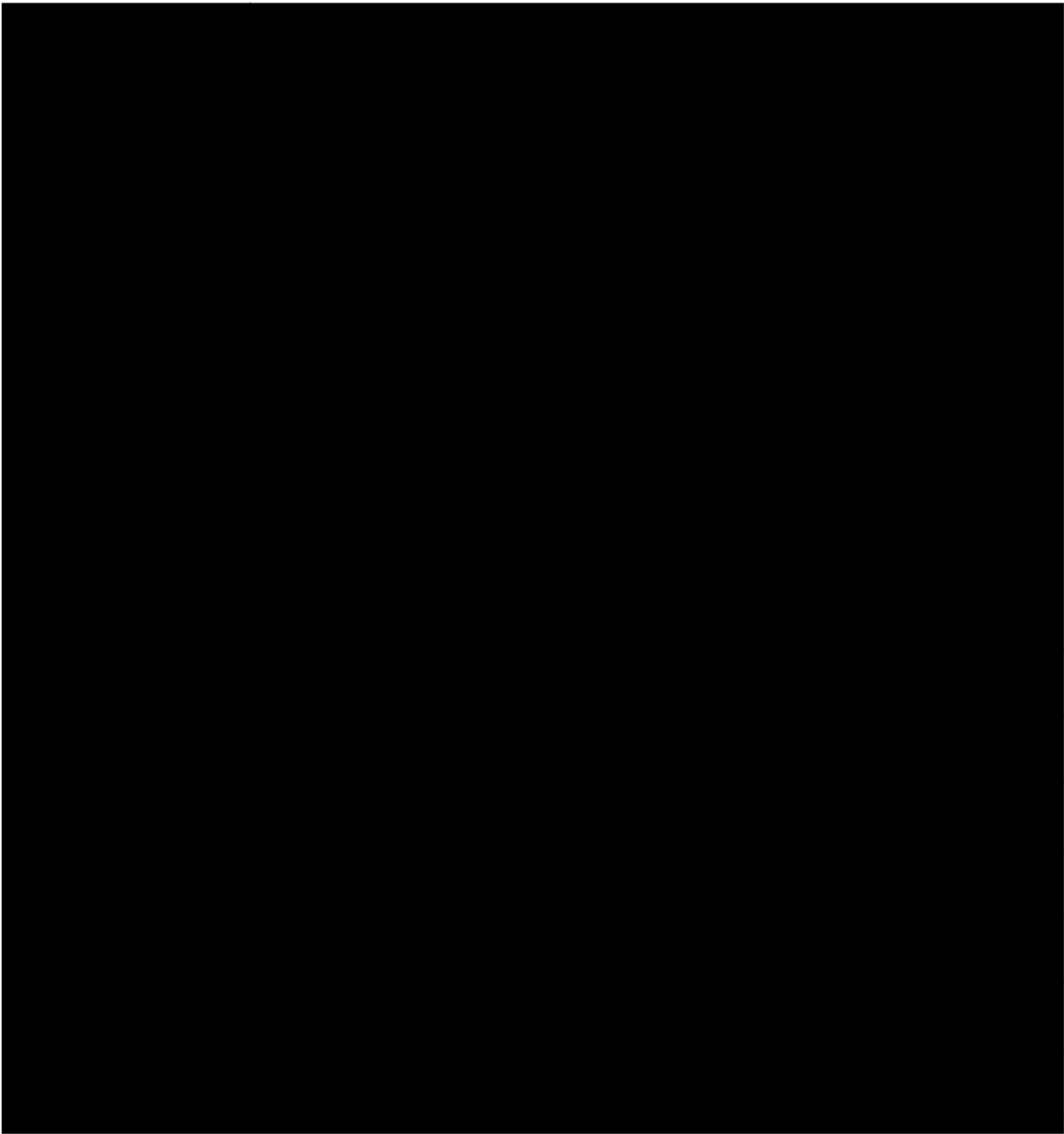


2. 構造決定

ポリアミノプロピルピグアナイドは下記の模式構造で示される高分子である。分子式及び分子量については、ポリマーのため記載していない。



ここにおいてnは [REDACTED]、平均 [REDACTED]



3. 化学的安定性

1) 保存安定性

ICH ガイドラインで推奨される以下の2つの保存条件における、ポリアミノプロピルピグアナイド 20%水溶液 (Cosmocil CQ) の安定性試験を実施した。

- 条件 1 : 25℃/相対湿度 60%、12 ヶ月
- 条件 2 : 40℃/相対湿度 75%、6 ヶ月

(1) 保存安定性試験結果

試験報告書の要約をつぎに示す。

報告書表題 : Cosmocil CQ : Stability Testing to ICH Guideline. Project 1264597

試験実施機関 : (1)

(2)

報告書番号 : RD12935B

報告書作成日 : 2003 年 5 月

保存条件

保存容器には [] を用いた。温湿度条件には ICH ガイドラインでの 2 条件を選択した。

- 条件 1 : 25℃/相対湿度 60%、12 ヶ月
- 条件 2 : 40℃/相対湿度 75%、6 ヶ月

試料

試験委託者より実製品、3 バッチの試料を入手し、下表の参照番号を設定した。

表-3

25℃/相対湿度 60%	
試験所参照番号	試験委託者製造ロット番号
ASG 10305789	[]
ASG 10305791	[]
ASG 10305793	[]

表-4

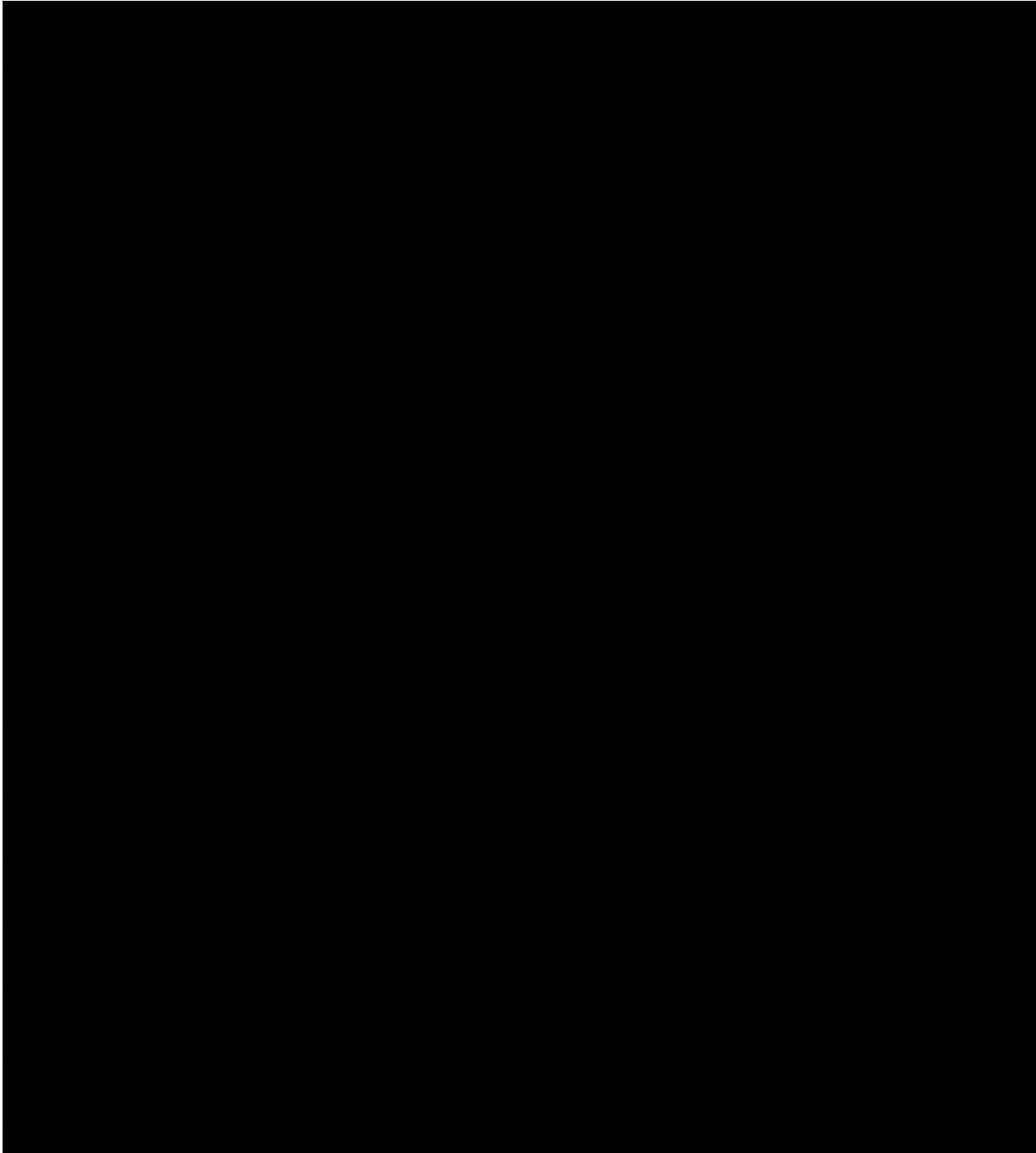
40℃/相対湿度 75%	
試験所参照番号	試験委託者製造ロット番号
ASG 10305790	[]
ASG 10305792	[]
ASG 10305794	[]

保存期間中における経時分析ポイント

安定性の確認のため、以下の時期に保存試料についての分析を行った。

- 25℃/相対湿度 60%：保存開始時、6 ヶ月後、9 ヶ月後、12 ヶ月後
- 40℃/相対湿度 75%：保存開始時、3 ヶ月後、6 ヶ月後

分析項目



結論

各条件下、保存期間中の各経時分析ポイントでの結果から、25℃/相対湿度 60%–12 ヶ月、40℃/相対湿度 75%–6 ヶ月の何れの条件においても被験物質の化学組成には有意な変化が生じていないことが示された。

各条件下 [REDACTED] での各項目について、経時分析ポイントにおける各結果と保存期間を通じての 95%信頼限界での最少有為差からの逸脱を検討した。

ほとんどの経時分析ポイントでの結果は最少有為差の範囲内であった。一部最少有為差からの逸脱が認められたものの何れも自然誘発的なものと考えられた。

何れの測定項目においても経時分析ポイントでの結果は保存期間を通した平均値に対してランダムに分布することが確認され、増加、減少何れの傾向も示していないことを確認した。

以上より、ポリアミノプロピルピグアナイドは、20%水溶液の状態において、安定性に優れることが示された。



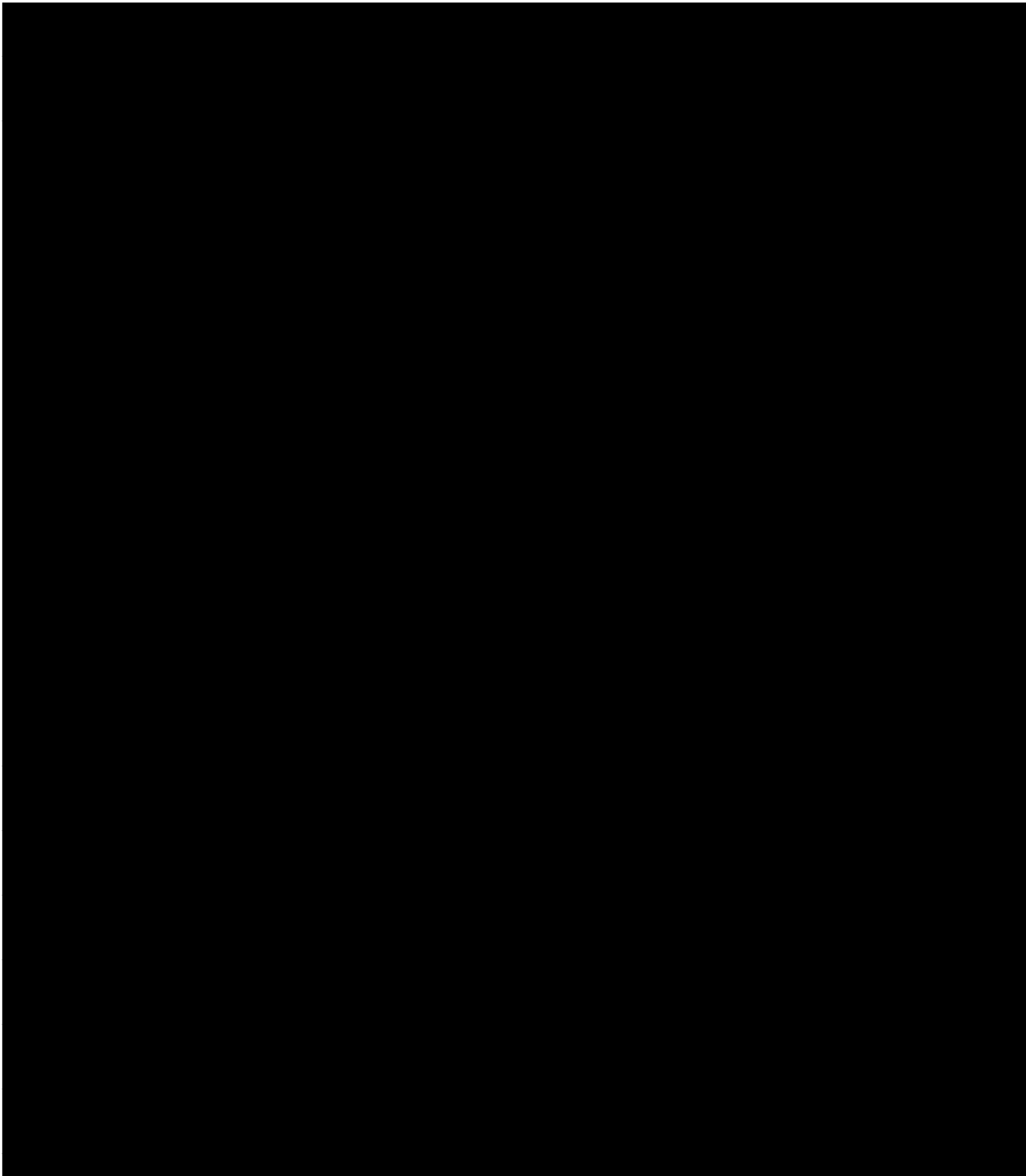
2)水、化粧品基剤中での安定性

ポリアミノプロピルビグアナイドは、水溶性であるため、化粧品基剤中においても、水相中に分配する。1) 化学的安定性の項で述べたように、水相中におけるポリアミノプロピルビグアナイドは、安定であることが示されている。

ハ. 安全性に関する資料

1. 安全性試験に用いた被験試料について

現在、市場で流通しているものは、ポリアミノプロピルピグアナイド 20%水溶液であるため、全ての安全性試験は、ポリアミノプロピルピグアナイド 20%水溶液を用いて実施している。しかし、本資料概要中においては、全ての試験結果をポリアミノプロピルピグアナイド原体に換算して記載した。



2. 安全性の総括

ポリアミノプロピルビグアナイドの単回投与毒性、反復投与毒性、生殖発生毒性、皮膚一次刺激性、連続皮膚刺激性、感受性、眼刺激性、遺伝毒性、ヒトパッチ、吸収・分布・代謝・排泄について検討した。これらの概要を表ハ-3に示す。また、試験を省略した眼刺激性(製剤)、ヒトパッチ(製剤)、光毒性・光感受性については、「3. 省略した安全性試験およびその理由」の項に省略理由を示す。

表ハ-3 安全性試験結果の総括

試験項目	動物種	投与経路	投与期間	本成分としての投与量	本成分に換算した試験結果	試験実施施設	GLP
単回投与毒性 (急性毒性)	ラット 雌雄各群 5 匹	経口	単回	1.40~1000mg/kg	概略の致死量=400mg/kg以上(♂、♀)		—
	犬 1 群雌雄各 4 匹	経口	1 年間	0~4500ppm	無毒性量(NOAEL)=1500ppm (♂46mg/kg/日、♀45mg/kg/日)		適合
反復投与毒性	マウス 1 群雌雄各 50 匹	経皮	80 週間	0~30mg/マウス/日	発癌性なし 無影響量=0.6mg/マウス/日		—
	ラット 1 群雌雄各 26 匹	経口	F0 世代: 10 週間 F1 世代: 10 週間 妊娠期: 3 週間 授乳期: 4 週間	0~2000ppm	生殖発生毒性なし 繁殖能力への無影響量 = 2000ppm (238.9mg/kg/日) 成熟動物における無毒性量 = 600ppm (56.9mg/kg/日) 仔動物における無毒性量 = 2000ppm (187.7mg/kg/日)		適合
皮膚一次刺激性	ウサギ 雌各群 3 匹	経皮	24 時間	10~20%	Mild: 15%以下 Moderate: 20%		適合
連続皮膚刺激性	ウサギ 雌各群 3 匹	経皮	14 日間	0.3~1%	皮膚刺激性なし		適合
感受性	モルモット 陰性、陽性対照群 各 5 匹 被験物質投与群 10 匹	経皮	感作(1次誘導): 単回 感作(2次誘導): 48 時間 惹起: 24 時間	0.6~20%	最低感作濃度 2%から6%の間		適合

光毒性・光感作性		UV 吸収がないため、省略				
限刺激性	ウサギ 9 匹 (うち 3 匹は洗浄)	点眼	単回 (無洗浄) 単回 (20~30 秒後洗浄)	20%	非洗浄群：中程度の刺激性 洗浄群：弱度の刺激性	—
遺伝毒性 (復帰突然変異)	サルモネラ菌 5 株 大腸菌 代謝活性化系 存在下、 非存在下			0.064 ~ 100µg/プレート (サルモネラ菌) 0.062 ~ 1000µg/プレート (大腸菌)	変異原性なし	適合
遺伝毒性 (染色体異常)	ヒト末梢血リンパ球 代謝活性化系 存在下、 非存在下			1~100µg/mL	染色体異常誘発性なし	適合
遺伝毒性 (小核)	マウス 雌雄各群 5 匹	経口	単回	250~400mg/Kg	染色体異常誘発性なし	適合
ヒトパッチ	ヒト 45 名 (日本人)	経皮	24 時間	0.3~1.0%	刺激性なし	—
吸収・分布・ 代謝・排泄	ラット 胆汁排泄：雌雄各 3 匹 生物学的利用性：雄 12 匹 排泄組織累積：雌雄各 5 匹	経口	単回	20mg/Kg	高分子量分画部よりも低分子量分画部のほうが容易に吸収されるが、その吸収量は低く、投与量の大部分が糞中に排泄された。	適合

ポリアミノプロピルピグアナイドを化粧品用途に使用した場合の安全性について、以下にまとめる。

単回投与毒性(急性経口毒性)

ポリアミノプロピルピグアナイドのラットにおける経口急性毒性は、概略の致死量として雌雄とも 400 mg/kg 以上である。この結果より、ポリアミノプロピルピグアナイドを化粧品に配合した場合の毒性は低いと考えられる。

反復投与毒性

① イヌを用いた 1 年間混餌投与試験においてポリアミノプロピルピグアナイドの投与により腎臓、肝臓が標的臓器として影響が認められたが、これらの毒性は高用量群に限定されて観察された。無毒性量 (NOAEL) は中用量である 1500ppm (雄 46 mg/kg/日、雌 45 mg/kg/日) 以上であった。

② マウスを用いた 80 週間皮膚塗布試験においてポリアミノプロピルピグアナイドは発癌性を示さなかった。無影響量 (NOEL) は、雌雄 0.6mg/マウス/日 (雄 13.7 mg/kg/日、雌 15.8 mg/kg/日) 以上と考えられる。

この結果より、ポリアミノプロピルピグアナイドを化粧品に配合した場合の反復投与毒性はないと考えられる。

生殖発生毒性

ラットを用いた 2 世代繁殖試験においてポリアミノプロピルピグアナイド 2000ppm の濃度において、生殖パラメーターに影響を与えなかった。この結果より、ポリアミノプロピルピグアナイドを化粧品に配合した場合の生殖発生毒性はないと考えられる。

皮膚一次・連続皮膚刺激性

ポリアミノプロピルピグアナイドの皮膚刺激性は、①一次刺激性試験において刺激が観察されるものの、適用量により用量相関をもって低下が確認されること、また②14 日間の累積刺激性試験において配合上限の提案値である 0.1% の 10 倍用量である 1% においても刺激性が確認されないことから、実使用にあたっての刺激性は低いと考えられる。

感作性

ポリアミノプロピルピグアナイドは Maximization 法による皮膚感作性試験によって陽性応答を示したが、感作可能最大濃度で感作誘導した際の感作応答の認められない惹起濃度が 0.6% である点、MR1 値から推定される最低感作濃度が 2% から 6% の間であると判断された点から、実使用での配合上限提案値 0.1% においては感作性を生ずる可能性は低いものと考えられる。

眼刺激性

① ウサギにおける眼刺激性試験では、ポリアミノプロピルピグアナイド 20% 水溶液を適用後、洗浄を行わない場合に一過性の角膜への影響は認められるものの、恒久的な損傷を示唆する結果が認められないことから、この濃度では中等度の刺激性 (8 等級において等級 5 の刺激) と結論された。

② 同様の試験系において、適用後、洗浄を行った場合には初期に充血を含む結膜炎が観察されるものの、この濃度では単に弱度の刺激性（8等級において等級4の刺激）を有するのみと考えられた。

③ ポリアミノプロピルピグアナイド5%水溶液を3匹のウサギに適用した場合、刺激を示さなかった。

遺伝毒性

遺伝毒性試験の3項目、①Ames試験、②染色体異常試験及び③小核試験の何れとも明白な陰性結果が得られ、ポリアミノプロピルピグアナイドは遺伝毒性をもつ可能性はほとんどないものと考えられる。

ヒトパッチ

提案配合上限の10倍用量である1%の適用において、被験者45人中1人に48時間後の弱い刺激が認められるものの、ヒトの皮膚に塗布した場合の刺激性は非常に低いと考えられる。

吸収・分布・代謝・排泄

ラットにおける吸収・分布・代謝・排泄試験において、ポリアミノプロピルピグアナイドは生物学的利用性が低く、吸収されたものは迅速に、かつ完全に尿へ排泄されることが確認された。

3. 省略した安全性試験およびその理由

眼刺激性(製剤)

① ポリアミノプロピルピグアナイドの申請配合上限は、アイライナー化粧品を含めて、0.1%である。動物試験、代替試験の結果ともポリアミノプロピルピグアナイドは、濃度1%未満においては刺激性を示す可能性は低いことが示されている。

② ポリアミノプロピルピグアナイドは、ヨーロッパにおいて化粧品用防腐剤として認可されており（配合上限0.3%）、眼の周辺に塗布する化粧品にも配合され、異常報告がない。

③ ポリアミノプロピルピグアナイドは、全世界で眼に適用される用途、例えばプール用の殺菌剤、コンタクトレンズ消毒液、アイメイクアップ化粧品（この用途での使用濃度は最高0.3%）などでの実績をもち、刺激性に問題がないことが確認されている。

④ ポリアミノプロピルピグアナイドは、日本において医薬部外品であるコンタクトレンズ用消毒剤用の殺菌剤として認可され、平成13年7月にPMSが終了している。

以上より、ポリアミノプロピルピグアナイドを化粧品に配合した場合の眼刺激性は、実濃度では低いと考えられるため、試験を省略した。

光毒性・光感作性

ポリアミノプロピルピグアナイドは、約 235nm に極大吸収をもち、これより長波長側には吸収をもたないことから、試験を省略した。図 1 にポリアミノプロピルピグアナイドの UV 吸収スペクトルを示す。

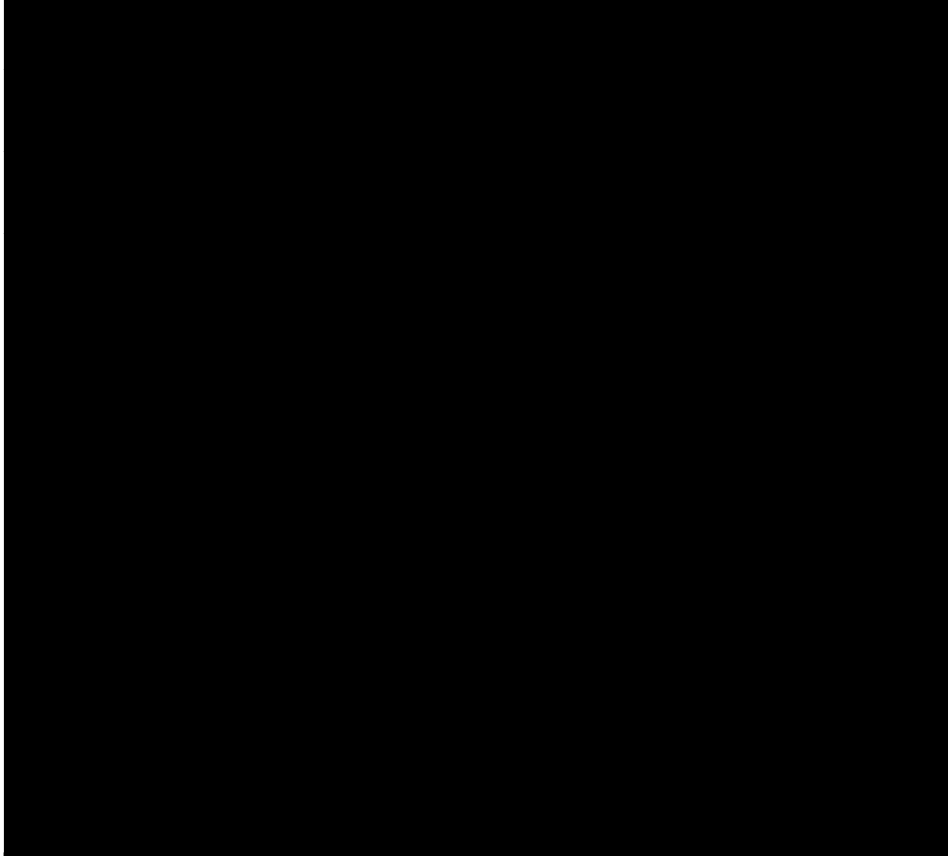


図 1 ポリアミノプロピルピグアナイドの UV 吸収スペクトル

ヒトパッチ試験(製剤)

ポリアミノプロピルピグアナイド単体での試験結果、及びこれまでの知見から試験製剤によるヒトパッチ試験は以下の点から何らの新たな示唆を与えるものとは考えられず、試験を省略した。

- ① ポリアミノプロピルピグアナイド原体を用いたヒトパッチ試験において、1%までの濃度において刺激性は認められず、一次刺激惹起性に関する安全性に問題はないと考えられた。
- ② 当該原体は日本を除く各国において化粧品に配合使用の実績をもつ(使用濃度は最高で 0.3%)。ポリアミノプロピルピグアナイドの申請配合上限は 0.1%である。上記①からポリアミノプロピルピグアナイド自体は配合上限の 10 倍濃度である 1%においても刺激性が認められていない。また、上記②での各国での使用実績、および異常報告がない点も特筆される点と考える。

以上より、試験製剤を用いてのヒトパッチ試験は有用な追加情報を与えるものではないと判断し、試験を省略した。

4. 試験結果の詳細

1) 単回投与毒性(急性経口毒性)

1)-1 試験デザイン

1 群雌雄各 5 匹の [] 系ラットに脱イオン水で希釈したポリアミノプロピルピグアナイドを単回強制経口投与し、14 日間に亘り死亡数、一般状態を観察した。Probit 法により LD₅₀ 値を求めた。

1)-2 投与量設定の根拠

LD₅₀ 値の決定を目的に、ポリアミノプロピルピグアナイドとして 200~700mg/kg 間を 100mg/kg 公差で設定し、上下に 2 用量を設定した。最高用量 1000mg/kg は当該試験の上限を採った。

1)-3 結果

投与後初期の一般症状として軽度の流涎、流涙、立毛、及び行動抑制が観察された。ポリアミノプロピルピグアナイド 140、200、300mg/kg 投与の動物では死亡例は認められなかった。400mg/kg 投与群の雌雄各 1 動物が投与 1 時間で死亡した。500mg/kg 投与群の雌雄各 2 動物が投与 6 時間内に死亡した。600mg/kg 投与群の雄 3 匹、雌 4 匹が投与 1 時間以内に死亡、残りの雌 1 匹も投与 6 時間以内に死亡した。700mg/kg 投与群の雌雄各 2 匹が投与 1 時間以内に死亡、更に雌雄各 2 匹が投与 2 日目までに死亡した。1000mg 投与群では雄 4 匹、雌 3 匹が投与 1 時間以内に死亡、更に雌の残り 2 匹も投与 6 時間以内に死亡した。LD₅₀ 値は、雄 549mg/kg、雌 501mg/kg と算出された。

単回投与毒性試験の結果を、表ハ-3 にまとめて示す。

1)-4 概略の致死量

本成分として、雌雄ともに 400mg/kg 以上と算出された。

表ハ-4 ラット単回投与毒性試験成績

GLP/試験実施施設：GLP 制度以前/[]

動物種/系統	投与経路(投与方法)	投与量(mg/kg)	性別	死亡例数(死亡例数/被験動物数)	概略の致死量	一般状態
ラット/ []系	強制経口 (各濃度に脱イオン水で希釈。10mL/kgの容量で単回投与)	140	♂	0/5	♂ 400 mg/kg 以上	投与初期の症状として軽度の流涎、流涙、立毛、及び行動抑制が観察された。
		200	♂	0/5		
		300	♂	0/5		
		400	♂	1/5		
		500	♂	2/5		
		600	♂	4/5		
		700	♂	4/5		
		1000	♂	4/5		
		140	♀	0/5	♀ = 400 mg/kg 以上	
		200	♀	0/5		
		300	♀	0/5		
		400	♀	1/5		
		500	♀	2/5		
		600	♀	5/5		
700	♀	4/5				
1000	♀	5/5				

統計学的処理方法

LD₅₀ 値の算出に Probit 法を用いた。

2) 反復投与毒性

2)-1 1年間混餌投与毒性(イヌ)

2)-1-1 試験デザイン

ポリアミノプロピルピグアナイドを 0、300、1500、4500ppm の濃度で配合飼料に均一に混合し、一群あたり雌雄各 4 匹からなる 4 群の [REDACTED] ビーグルに 1 年間毎日与えた。

2)-1-2 投与量設定の根拠

本試験の投与量は予備試験であるイヌ 6 週間混餌投与試験での結果、無影響量(NOEL)が 2500ppm、毒性兆候が 4000ppm 及び 5500ppm であったことに基づいて設定した。最高用量を 4500ppm とし、NOEL の確認も含めて毒性の検索が可能なように公比 5 で中用量 1500ppm、低用量 300ppm とした。なお、高用量群では 9 週目において重篤な症状が見られ、11 週から 12 週においてこの用量を 3000ppm に減量した。

2)-1-3 結果及び考察

4500ppm 投与群において重篤な症状が見られ、雄 4 匹中 3 匹 (第 9 週の 1 日目に 1 匹、第 15 週の 2 日目に 2 匹)、雌 4 匹中 1 匹 (第 35 週の 7 日目) を人道的な理由で屠殺した。屠殺動物においてポリアミノプロピルピグアナイドの投与と関連した陰囊皮膚の発赤/剥皮、食欲不振、体重減少、血漿アラニントランスアミナーゼ及びアスパラギン酸トランスアミナーゼ活性の上昇が認められた。第 11/12 週に高用量レベルを 3000ppm へ減量後も雌 1 匹に被毛の状態の悪化、肢足の擦過傷、痂皮、潰瘍、ならびに血漿アラニントランスアミナーゼ及びアスパラギン酸トランスアミナーゼ活性の上昇がこの動物を人道的に屠殺に至る第 35 週まで継続的に観察されたことから、この動物で観察されたポリアミノプロピルピグアナイド 3000ppm 投与による影響と考えた。壊死、不全角化、微小膿瘍形成を特徴とする皮膚炎が途中屠殺した雄 2 匹の陰囊、同じ雄 1 匹の肢、雌 1 匹の肢、頤に認められ、ポリアミノプロピルピグアナイドの陰囊皮膚や皮膚に及ぼす影響を示していると考えた。肝臓の小葉中心および小葉中間肝細胞における大きな好酸性細胞質内封入体を特徴とする病理組織学的変化が 4500/3000ppm 投与群の全ての動物において観察され、雌雄で血漿コレステロール値の低下と血漿アラニントランスアミナーゼ活性の上昇、雄で血漿アスパラギン酸トランスアミナーゼ活性の上昇を伴って観察されたことから、肝臓がこの用量レベルでの標的臓器であることを示唆するものと考えた。途中屠殺した全ての雄の腎臓で硝子滴形成のわずかな増加が認められたが、試験終了まで生存した雄には認められず、高用量レベルを 3000ppm に減量後に消失した可能性があることが示唆された。両側性精細管変性が 4500/3000ppm を投与した雄 2 匹において認められ、この変化は試験終了時まで生存した雄 1 匹において高度であり、この動物の低精巣重量を来たし、ライディヒ細胞過形成を伴った。したがって、高用量群の雄 2 匹において認められた両側性精細管変性は、ポリアミノプロピルピグアナイドの投与と関連したものと考えた。

1 年間混餌投与毒性試験の結果を表 8-5 にまとめて示す。

2)-1-4 無毒性量

本試験における無毒性量(NOEL)は 1500ppm (雄 46 mg/kg/日、雌 45 mg/kg/日) 以上である。

表ハ-5 反復投与(1年間混餌投与毒性)試験成績

GLP/試験実施施設		適合/ [redacted]							
動物種/系統/週齢		ビーグル、 [redacted]、17~20週齢							
投与方法(投与経路)		混餌(経口)							
投与期間		1年間							
投与量(ppm)		0		300		1500		4500/3000 ^a	
性別		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		4	4	4	4	4	4	4	4
死亡動物数		0	0	0	0	0	0	3(屠殺)	1(屠殺)
一般症状		-	-	-	-	-	-	肢足の擦過傷。被毛の状態悪化。肢、頤、陰囊での皮膚炎。 屠殺例：上記に加えて食欲不振、体重減	
体重		-	-	-	-	-	-	-	- ^b
摂餌量		-	-	-	-	-	-	-	- ^b
血液生化学的検査	コレステロール	-	-	-	-	-	-	↓	↓↓
	ALT	-	-	-	-	-	-	↑↑	↑↑
	AST	-	-	-	-	-	-	↑	-
臓器重量	腎臓	-	-	-	-	-	-	↑	-
	精巣	-	-	-	N/A	-	N/A	↓	N/A
剖検	精巣：萎縮	-	-	-	N/A	-	N/A	1	N/A
病理組織学的検査	陰囊皮膚：皮膚炎	軽度	-	-	N/A	-	N/A	1	N/A
		高度	-	-	-	-	-	1	-
	肢皮膚：皮膚炎	-	-	-	-	-	-	1	1
	頤皮膚：皮膚炎	-	-	-	-	-	-	-	1
	精巣：両側性精細管変性	軽度	-	-	N/A	-	N/A	1	N/A
		高度	-	-	N/A	-	N/A	1	N/A
	：ライゲル化細胞過形成	-	-	-	N/A	-	N/A	1	N/A
	肝臓：好酸性細胞質内封入体	軽度	-	-	-	-	-	4	4
	腎臓：硝子滴形成増加	ごく軽度	-	-	-	-	-	3	-

a: 試験 11~12 週に 4500ppm から 3000ppm に減量。b: 4500ppm から 3000ppm へ減量後においては差異なし。
 -: 投与に関連すると考えられる異常所見なし。↓: 減少(p<0.05)。↓↓: 減少(p<0.01)。↑: 増加(p<0.05)。↑↑: 増加(p<0.01)
 略号 ALT: アミノトランスアミナーゼ (=アミノトランスフェラーゼ)、AST: アスパラギン酸トランスアミナーゼ (=アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)

統計学的処理方法

計量的データは分散分析で解析し、次いで Student の t 検定を行った。

2)-2 80 週皮膚塗布毒性

2)-2-1 試験デザイン

皮膚への発癌性の可能性の検索を主目的に、一群あたり雌雄各 50 匹のマウスからなる 4 群に、ポリアミノプロピルピグアナイドを 0mg、0.6mg、6.0mg、30mg の用量で刈毛した背部に 1 日 1 回、5 日(月曜から金曜)毎週の頻度で 80 週間塗布した。適用量を 1 動物あたり 0.3mL に固定し、設定用量に合わせてエタノールで希釈、0.2%、2.0%および 10%の溶液を得て投与を行った。

2)-2-2 投与量設定の根拠

28 日間投与の予備試験を行い、ポリアミノプロピルピグアナイドの 30mg 投与において皮膚に明確な刺激性が示され、塗布後約 10 分間での自発運動の増加、第 1 週に紅斑、軽度の角質増殖の発現を確認した。しかしながら第 4 週においてマウスはより耐容性となることが示された。これら結果から、80 週の塗布試験においても当該用量はマウスに著しいストレスを生じない用量と判断した。以下、5 分の 1 用量を中用量(6mg)、50 分の 1 用量を低用量(0.6mg)にとり試験を行った。高用量群で第 76~77 週において 8 回、誤投与により 60mg が投与されたことにより一般症状の急激な悪化が観察された。これら動物には 2 日間休薬の後、試験終了まで適正な投与を継続した。

2)-2-3 結果及び考察

最高用量である 30mg/マウス/日のみに主たる影響が認められた。主な影響は皮膚への高度の刺激作用であり、紅斑、角質増殖、引っかきによる塗布領域の癬痕形成を来とし、体重の低下が認められた。最高用量では塗布領域の引っかき後の毛繕いに起因して投与液が眼に沈着した結果と考えられる、眼の両側性突出が第 22 週以降で観察された。顕微鏡的に特定病原菌は同定されなかったものの高用量群で重症型の肝炎が観察された。一般症状の悪化が非常に高濃度の被験物質の長期適用により衰弱を来とし、より易感染性にしたものと考えた。この長期持続性の炎症性肝病変が高用量群での肝腫瘍発生率のわずかな増加の原因であり、直接被験物質によるものではないと考えた。中用量群では極軽度の皮膚刺激が認められた。低用量群においては被験物質投与に関連すると考えられる影響は認められなかった。

80 週皮膚塗布毒性試験の結果を表ハ-6 にまとめて示す。

2)-2-4 結論及び無毒性量

ポリアミノプロピルピグアナイドは 30mg/マウス/日までの用量を 80 週間にわたって塗布した場合にマウスの皮膚に対して発癌性ではないと考えた。本試験における無影響量(NOEL)は 0.6mg/マウス/日(雄 13.7 mg/kg/日、雌 15.8 mg/kg/日)であると考えた。

表ハー6 反復投与(80週皮膚塗布毒性)試験成績

GLP/試験実施施設		GLP 制度以前/							
動物種/系統/週齢		マウス、 、6~7週齢							
投与方法(投与経路)、頻度		塗布(経皮)、5日/週							
投与期間		80週間							
投与量(mg/マウス/日)		0		0.6		6.0		30 ^a	
性別		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
動物数		50	50	50	50	50	50	50	50
累積死亡動物数	第20週時	1	2	1	1	1	1	3	4
	第40週時	2	4	1	2	2	3	8	5
	第60週時	8	8	2	5	7	10	14	12
	第80週(試験終了時)	16	14	9	16	13	18	39	39
皮膚刺激の発生率(%)	紅斑			—	—	—	—	19.6	14.4
	角質増殖			—	—	6.1 ^b	—	64.9	23.5
	落屑			—	—	—	—	49.2	28.9
	癬痕			—	—	—	—	85.4	44.3
眼球突出の発生率(%)				—	—	—	—	100	100
体重				—	—	—	—	↓↓	↓↓
病理組織学的検査	肝臓: 肝細胞腫大			—	—	—	—	11	2
	: 孤立性の炎症巣			—	—	—	—	13	17
	: 肝炎-軽乃至中等度			—	—	—	—	3	5
	: 肝炎-塊状壊死伴う			—	—	—	—	4	—
腫瘍性異常	肝臓: 肝細胞腺腫	(2)	(0)	—	—	—	—	2	2
	: 血管肉腫	(1)	(0)	—	—	—	—	1	2

a: 第76~77週において8回、誤投与により60mgが投与。2日間休薬の後、終了まで30mg。

b: 25週に観察されたが、以後溶媒対照群との差異なし。

—: 投与に関連すると考えられる異常所見なし。↓↓: 減少(p<0.01)。

統計学的処理方法

計量的データは分散分析、共分散分析で解析し、次いでStudentのt検定を行った。異常発生頻度の解析にはχ²検定を用いた。

3) 生殖発生毒性(2世代繁殖毒性)

3)-1 試験法選択の理由

本成分は化粧品に防腐剤として添加され、低用量が長期間に亘って適用される形となる。3試験計画法によらず、OECD416、及びEPA OPP 83-4に準拠した2世代繁殖毒性試験により親の繁殖能力と仔の発生成長に対する情報を検索した。

3)-2 試験デザイン

一群あたり雌雄各26匹のラットからなる4群のF0親世代に交配の10週間前からポリアミノプロピルピグアナイド0、200、600、2000ppmの濃度で混餌投与を開始した。雄動物は3週間の交配期間終了後に計画屠殺、雌動物は次世代(F1A仔)の離乳後に計画屠殺した。投与は屠殺に至る全期間で継続した。F1A仔の離乳後、各群において雌雄各26匹を選抜し、F1親世代とした。F0親世代と同様に投与を行いF2A仔を得た。食餌量からの本成分の摂取量への換算は表ハ-6に記載した。

3)-3 投与量設定の根拠

催奇形性試験を含む、ラットを用いた過去の各種試験での結果から最高用量を設定した。催奇形性試験における母動物での毒性兆候が2000ppmで見られたことに基づき、当該試験では最高用量を2000ppmとし、NOELの確認も含めて毒性の検索が可能なように中用量600ppm、低用量200ppmとした。

3)-4 結果及び考察

何れの親世代においても被験物質投与に起因する死亡率の変化、一般状態の変化は見られなかった。高用量群の交配前期間においてスポット的な摂餌量の僅かな低下、及び食餌効率の低下を伴った体重の低下が認められた。被験物質による繁殖パラメータへの影響は確認されなかった。また、被験物質による仔の発生成長のパラメータへの影響は確認されなかった。成熟動物、仔動物ともに、被験物質投与と関連した病理学的検査所見は見られなかった。

生殖発生毒性試験の結果を表ハ-7にまとめて示す。

3)-5 無影響量及び無毒性量

繁殖能力への被験物質投与による影響が認められなかったことから、繁殖能力への無影響量(NOEL)は本試験での最高用量である2000ppm(238.9 mg/kg/日)と考えた。成熟動物への投与により2000ppmにおいて雌雄とも体重低下によって示される毒性があったことより、成熟動物における無毒性量(NOEL)は中用量である600ppm(59.6 mg/kg/日)と考えた。仔動物に対して被験物質に関連する異常は認められなかったことから、仔動物への無影響量(NOEL)は最高用量である2000ppm(187.7 mg/kg/日)と考えた。

表ハー7 生殖発生毒性(ラット2世代繁殖毒性)試験成績

GLP/試験実施施設		適合/ [REDACTED]								
動物種/系統		ラット, [REDACTED]								
投与方法 (投与経路)		混餌 (経口)								
投与期間		第1世代、第2世代とも 雄 交配10週前から交配期間終了まで 雌 交配10週前から交配、妊娠、哺育期を通じて離乳まで								
投与量(ppm)		0		200		600		2000		
性別		♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	
動物数		26	26	26	26	26	26	26	26	
F0 親	死亡動物数	0	1	0	1	0	1	1	0	
	一般症状	-	-	-	-	-	-	-	-	
	投与期間全般での体重			-	-	-	-	↓↓	↓↓	
	投与期間全般での摂餌量			-	-	-	-	↓	-	
	投与期間全般での食餌効率			-	-	-	-	↓↓	-	
	繁殖能力	交配期間*1			N/A	-	N/A	-	N/A	-
		妊娠期間			N/A	-	N/A	-	N/A	-
受精能*2				-	-	-	-	-	-	
臓器重量/剖検/組織学的所見				-	-	-	-	-	-	
F1A 仔	一腹仔数			-	-	-	-	-	-	
	哺育仔の生存率			-	-	-	-	-	-	
	一般症状			-	-	-	-	-	-	
	体重			-	-	-	-	-	-	
	臓器重量/剖検/組織学的所見				-	-	-	-	-	-
F1 親	死亡動物数	0	0	0	1	0	0	1	0	
	一般症状	-	-	-	-	-	-	-	-	
	投与期間全般での体重			-	-	-	-	-	↓	
	投与期間全般での摂餌量			-	-	-	-	-	↑(哺育期)	
	投与期間全般での食餌効率			-	-	-	-	↓	↓(交配前)	
	繁殖能力	交配期間*1			N/A	-	N/A	-	N/A	-
		妊娠期間			N/A	-	N/A	-	N/A	-
受精能*2				-	-	-	-	-	-	
臓器重量/剖検/組織学的所見				-	-	-	-	-	-	
F2A 仔	一腹仔数			-	-	-	-	-	-	
	哺育仔の生存率			-	-	-	-	-	-	
	一般症状			-	-	-	-	-	-	
	体重			-	-	-	-	-	-	
	臓器重量/剖検/組織学的所見				-	-	-	-	-	-

-:投与に関連すると考えられる異常所見なし。↓:減少(p<0.05)。↓↓:減少(p<0.01)

*1: 交配開始から臍垢中の精子が陽性となる日数は期待通り 1-4 日であった。

*2: 各交配の成功(生 1 腹仔の出産)

統計学的処理方法

計量的データは分散分析、共分散分析で解析し、次いで Student の t 検定を行った。妊性動物についての項目、生産仔についての項目は主に Fisher の直接法によって検討した。

食餌量から本成分の摂取量への換算

投与量(ppm)			0		200		600		2000	
性別			雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
本成分の摂取量 への換算値 (mg/kg/日)	F0 親	交配前	0	0	23.0	25.3	69.6	77.0	238.9	258.2
		妊娠期	N/A	0	N/A	18.6	N/A	56.9	N/A	187.7
		授乳期	N/A	0	N/A	50.7	N/A	150.8	N/A	537.3
	F1 親	交配前	0	0	23.9	26.1	71.3	79.2	249.3	270.5
		妊娠期	N/A	0	N/A	19.3	N/A	57.0	N/A	201.5
		授乳期	N/A	0	N/A	44.6	N/A	133.6	N/A	486.3

4) 皮膚一次刺激・連続皮膚刺激性

4)-1 皮膚一次刺激性試験(単回適用刺激)

4)-1-1 試験デザイン

ASTM F719-81 に準じて行った。一群雌各 3 匹の白色ウサギの背部に損傷、非損傷部を区分後、投与検体 0.5mL を塗布したリント布を閉塞貼付した。適用 24 時間後に投与検体を除去し、適用部位を温水で洗浄後の 1、24、48 時間に観察した。刺激を Draize の基準により、紅斑/痂皮 5 水準(評点 0~4)、浮腫形成 5 水準(評点 0~4)で記録し、総合評点を算出してポリアミノプロピルビグアナイドの皮膚刺激性を検討した。

4)-1-2 用量設定の根拠

市販製品原液(ポリアミノプロピルビグアナイド 20%水溶液)およびそれを日局注射用水で希釈し、ポリアミノプロピルビグアナイド 15%水溶液、10%溶液を調整し検体とした。また陽性対照に 1%ラウリル硫酸ナトリウムを用いた。

4)-1-3 結果

結果を表ハ-7 に示した。ポリアミノプロピルビグアナイドの皮膚刺激性は非損傷および損傷両部位ともに適用濃度に比して強くなり、損傷部位の皮膚反応は非損傷部位に比べて強かった。ポリアミノプロピルビグアナイドは 10~20%濃度においては中等度以下の皮膚刺激性を示すと考えた。皮膚一次刺激性試験の結果を表ハ-8 にまとめて示す。

4)-2 連続皮膚刺激性試験(累積適用刺激)

4)-2-1 試験デザイン

一群雄各 3 匹の白色ウサギの背部を正中線を境に 2 区分後、投与検体 1.0mL を開放塗布した。適用 24 時間後に投与部位を観察し、再び検体を塗布した。これを繰り返し 14 日間繰り返して、刺激を Draize の基準により、紅斑/痂皮 5 水準(評点 0~4)、浮腫形成 5 水準(評点 0~4)で記録し、総合評点を算出してポリアミノプロピルビグアナイドの連続皮膚刺激性を検討した。

4)-2-2 用量設定の根拠

収載希望上限(0.1%)及びそれ以上の濃度での皮膚累積刺激性が問題とならないことを確認するため、希望上限の 3 倍濃度である 0.3%を低用量に、10 倍濃度である 1.0%を高用量とし、他に中用量として 0.5%を設定した。

4)-2-2 結果

結果を表ハ-9 に示した。各投与群ともに投与期間を通じて皮膚刺激性は認められず、何れも刺激無しと考えた。

表ハ-8 皮膚一次刺激性試験成績(単回適用刺激)

GLP/試験実施施設：適合/

動物種/系統	投与方法	投与濃度	部位	投与部位数	総合評点 ^a			PII値 ^b	刺激性ランク ^c
					1時間	24時間	48時間		
白色ウサギ、 Kbl:NZW、 SPF系	閉塞貼付、 各濃度に日 局注射用水 で希釈。 0.5mL容量 を適用。	0	非損傷	6	0	0	0	0	なし
		0	損傷	6	0	0	0		
		10%	非損傷	6	0.83	0.83	0.67	1.38	Mild
		10%	損傷	6	1.83	2.00	2.17		
		15%	非損傷	6	1.50	1.33	1.00		
		15%	損傷	6	2.17	2.00	2.33		
		20%	非損傷	6	1.50	1.50	1.67	2.04	Moderate
		20%	損傷	6	2.33	2.33	2.67		
		陽性対照 ^d	非損傷	6	3.67	3.50	2.83	3.46	Moderate
		陽性対照 ^d	損傷	6	4.17	3.33	3.17		

表ハ-9 連続皮膚刺激性試験成績(累積適用刺激)

GLP/試験実施施設：適合/

動物種/系統	投与方法	投与濃度	投与部位数	総合評点 ^a	PII値 ^b	刺激性ランク ^c
白色ウサギ、 Kbl:NZW、 SPF系	開放塗布、各濃度 に日局注射用水 で希釈。1.05mL 容量を適用。	0	6	0	0	なし
		0.3%	6	0	0	なし
		0.5%	6	0	0	なし
		1.0%	6	0	0	なし

判定基準 (評点)

(1)紅斑及び痂皮形成

紅斑無し	評点 0
極軽い紅斑 (かろうじて知覚し得る。)	評点 1
はっきりとした紅斑	評点 2
中位乃至は強度の紅斑	評点 3
強度の紅斑 (ヒート色の赤) から軽い痂皮形成 (深部傷害)	評点 4

(2)浮腫形成

浮腫無し	評点 0
極軽い浮腫 (かろうじて知覚し得る。)	評点 1
軽い浮腫 (明確な盛り上がりにより稜がはっきりする。)	評点 2
中位の浮腫 (約1mmの盛り上がり。)	評点 3
強度の浮腫 (1mm以上の盛り上がりで曝露部分を超えた広がり。)	評点 4

a: 総合評点 = (紅斑痂皮評点+浮腫評点)÷投与部位数

b: PII (刺激の強さ; Primary Irritation Index) = 1時間と48時間における総合評点の平均値

c: 刺激性ランク: 2 ≥ PII; Mild, 2 < PII ≤ 5; Moderate, 5 < PII; Severe

d: 陽性対照: 1%ラウリル硫酸ナトリウム水溶液

5) 感作性

5)-1 試験デザイン

5 週齢の雄 Hartley 系モルモットを用い、陰性対照 1 群雄各 5 匹、陽性対照 1 群雄各 5 匹、ポリアミノプロピルピグアナイド群各 10 匹として Maximization 法によりポリアミノプロピルピグアナイドの皮膚感作性について検討した。肩甲骨上部を用いて皮内注射による感作 1 次誘導、48 時間閉塞貼付による感作 2 次誘導を行い、その後、腰背部皮膚で惹起反応を適用 24 時間後、48 時間後の皮膚反応から観察した。各群の平均評価点および陽性率を算出して、感作応答の認められない惹起濃度、ならびに平均評価点が約 1.0 となる惹起濃度から最低感作濃度を推測した。

5)-2 用量設定の根拠

Maximisation 法、及び中村ら* の方法に沿って、感作可能最大濃度で誘導した場合の惹起での用量相関、最低感作濃度を確認できるよう設定を行った。予備試験結果に沿って 1 次誘導、2 次誘導での濃度を設定した。1 次誘導はポリアミノプロピルピグアナイド 0.06、0.2、0.6、2.0% の皮内投与後の反応が、0.2% 以上では過度の紅斑、壊死が、0.06% においては軽度の紅斑のみが観察されたことから、1 次誘導での感作可能最大濃度に 0.06% を採用した。2 次誘導ではポリアミノプロピルピグアナイドの 20% 溶液がモルモット皮膚に刺激が認められなかったことから採用した。惹起濃度は最低感作濃度及び感作応答が認められなくなる濃度を検索するために最高濃度を 20% とし、低濃度へ 3 段階 (6.0、2.0、0.6%) を採った。

* A Makamura, J Momma, H Sekiguchi, T Noda, T Yamano, M Kaniwa, S Kojima, M Tsuda and Y Kurokawa, Contact Dermatitis, 31, 72-85

5)-3 結果

感作惹起の閉塞解除後の 24 及び 48 時間の感作応答は、20% 塗布部位では平均評価点 2.9 および 2.8 (ともに陽性率 100%)、6.0% 塗布部位では 1.5 および 1.6 (陽性率 100%、および 80%)、2.0% 塗布部位では 0.4 および 0.3 (陽性率 40% および 30%) であった。0.6% 塗布部位においては何らの皮膚反応も認められなかった。

感作性試験の結果を表 8-10 にまとめて示す。

5)-4 惹起陰性濃度、最低感作濃度

感作可能最大濃度で誘導した場合のポリアミノプロピルピグアナイドの惹起陰性濃度は 0.6% 以下と考えられた。ポリアミノプロピルピグアナイドの最低感作濃度は 2.0% から 6.0% の間であると判断される。

表ハ-10 感作性試験成績

GLP/試験実施施設	適合/							
動物種/系統/週齢	モルモット/Hartley 系/5 週齢							
1 次誘導 (皮内注射)	被験物質群	1) 水:FCA の 1:1 乳化液 2) 0.06%ポリアミノプロピルビグアナイド調製液 3) 0.06%ポリアミノプロピルビグアナイドの FCA 乳化液 [FCA : Freund's Complete Adjuvant]						
	陰性対照群	1) 水 : FCA の 1:1 乳化液 2) 水 3) 水 : FCA の 1:1 乳化液						
	陽性対照群	1) 水 : FCA の 1:1 乳化液 2) 0.1% DNCB のオリーブ油液 3) 0.1% DNCB の FCA 乳化液 [DNCB : 2,4-dinitrochlorobenzene]						
2 次誘導 (閉塞貼付)	被験物質群	20%ポリアミノプロピルビグアナイド						
	陰性対照群	水						
	陽性対照群	0.1% DNCB のオリーブ油液						
結果								
誘導物質	惹起物質	惹起濃度	動物数	観察時間	紅斑評点	浮腫評点	平均評価点 ^a	陽性率(%) ^b
水	水	0	5	24, 48	0	0	0	0
水	本成分	0.6, 2, 6%	5	24, 48	0	0	0	0
水	本成分	20%	5	24, 48	0.2 ^c , 0.2 ^c	0	0.2 ^c , 0.2 ^c	20% ^c , 20% ^c
本成分	水	0	10	24, 48	0	0	0	0
本成分	本成分	0.6%	10	24, 48	0	0	0	0
本成分	本成分	2%	10	24, 48	0.4, 0.3	0	0.4, 0.3	40, 30
本成分	本成分	6%	10	24, 48	1.3, 1.4	0.2, 0.2	1.5, 1.6	100, 80
本成分	本成分	20%	10	24, 48	2.4, 2.3	0.5, 0.5	2.9, 2.8	100, 100
DNCB	ワセリン	0	5	24, 48	0	0	0	0
DNCB	DNCB	0.1%	5	24, 48	4.0, 4.0	2.0, 1.0	6.0, 5.0	100, 100

a : 平均評価点 = $\Sigma_{(1-n)} [(紅斑評点) + (浮腫評点)] \div 動物数$

b : 陽性率 = $100 \times (皮膚反応の見られた動物数) \div (全動物数)$

c : 一次刺激による反応

判定基準(評点)

(1)紅斑

紅斑無し	評点 0
極軽い紅斑 (かろうじて識別できる。)	評点 1
明らかな紅斑	評点 2
中～強度の紅斑	評点 3
極度の紅斑～わずかな痂皮形成 (深部傷害)	評点 4

(2)浮腫形成

浮腫無し	評点 0
軽度浮腫	評点 1
中等度浮腫	評点 2
高度浮腫 (投与域を越え 1 mm 以上になる)	評点 3

6) 眼刺激性

6)-1 試験デザイン

非洗浄：雌性ウサギ 6 匹の片眼下瞼の結膜囊にポリアミノプロピルピグアナイド 20%水溶液 0.1mL を点眼し、その後 1~2 秒両眼瞼を穏やかに合わせ保持した。もう片方の眼は無処置とし、対照とした。

洗浄：雌性ウサギ 3 匹の片眼下瞼の結膜囊にポリアミノプロピルピグアナイド 20%水溶液 0.1mL を点眼し、その後 1~2 秒両眼瞼を穏やかに合わせ保持した。20~30 秒後に約 200mL の微温水を用いて 1 分間洗浄した。もう片方の眼は無処置とし、対照とした。

両試験とも、点眼直後の痛みを 6 段階基準に沿って記録し、眼の損傷度合いを Draize scale の基準に沿って、適用後 1~2 時間、1、2、3、4、7、8、15、18、25、26、29、35 日まで観察記録した。眼刺激性評点と評点の継続時間からの刺激性のランク付けを行った。

6)-2 投与量設定の根拠

EU での危険有害性表示の規定に沿って原液（ポリプロピルピグアナイド 20%水溶液）での試験を行った。

6)-3 結果および考察

ポリアミノプロピルピグアナイド 20%水溶液を適用後、洗浄を行わない場合には、一過性の結膜炎症状、角膜の混濁等が認められるものの、恒久的な損傷を示唆する結果が認められないことから、この濃度では中等度の刺激性（8 等級において等級 5 の刺激）と結論された。全ての動物が適用 22 日目までに回復した。

適用 20~30 秒後に洗浄を行った場合には、初期に充血を含む結膜炎症状が観察されるものの、この濃度では単に弱度の刺激性（8 等級において等級 4 の刺激）を有するのみと考えられた。

また、開発・製造元である Avecia（現 Arch Chemicals）社で実施した試験において、ポリアミノプロピルピグアナイド 5%水溶液を 3 匹のウサギの片眼下瞼に適用した結果、刺激性を示さないことが確認されている。これより、ポリアミノプロピルピグアナイドは、5%以下の濃度において眼に対して安全であると考えられる。

表ハ-11 眼刺激性試験試験成績

GLP/試験実施施設	GLP 制度以前/ (英国)			
動物種/性別/匹数	ウサギ/雌/9 匹 (非洗浄 6 匹、洗浄 3 匹)			
投与経路	点眼			
投与回数	単回			
投与濃度	20%			
適用後の時間	平均評点 ^a			
	角膜 (Max 80)	虹彩 (Max 10)	結膜 (Max 20)	平均総評点
非洗浄群の結果				
1~2 時間	5.8	5.0	15.3	26.2
1 日	5.8	5.0	14.0	24.9
2 日	5.0	2.5	12.0	19.5
3 日	3.3	1.7	10.3	15.3
4 日	3.3	1.7	9.3	14.3
7 日	9.2	2.5	6.7	19.0
8 日	9.2	2.5	6.3	18.0
15 日	6.7	0.8	4.3	11.9
18 日	2.5	0	4.3	6.9
25 日	0	0	1.3	1.3
26 日 ^b	0	0	1.0	1.0
29 日	0	0	1.0	1.0
35 日 ^c	0	0	6.0	6.0
洗浄群の結果				
1~2 時間	0	1.7	12.7	14.3
1 日	0	1.7	10.7	12.3
2 日	0	1.7	11.3	13.0
3 日	0	0	9.3	9.3
4 日	0	0	6.7	6.7
7 日	0	0	2.7	2.7
8 日	0	0	2.7	2.7
14	0	0	2.7	2.7
16	0	0	2.7	2.7
19 日	0	0	0.7	0.7
22 日	0	0	0	0
23 日	0	0	0	0

a: 眼刺激性評点と評点の継続時間からの刺激性のランク付け

適用後 4 日目までの平均評点の最高値	病変評点の継続性		刺激性ランク
0~0.5	1 日目での平均評点 = 0		刺激性無し
	1 日目での平均評点 > 0		実質刺激性無し
0.5~2.5	1 日目での平均評点 = 0		刺激性無し
	1 日目での平均評点 > 0		実質刺激性無し
2.5~15	2 日目での平均評点 = 0		軽度の刺激性
	2 日目での平均評点 > 0		弱度の刺激性
15~25	3 日目での平均評点 = 0		弱度の刺激性
	3 日目での平均評点 > 0		中程度の刺激性
25~50	7 日目での平均評点 20 以下	7 日目での評点が 10 以下である動物数が過半数	中程度の刺激性
		7 日目での評点が 10 を超える動物数が過半数であるが、評点が 30 を超えるものがない	中程度の刺激性
		7 日目での評点が 10 を超える動物数が過半数であり、評点が 30 を超えるものがある	重度の刺激
	7 日目での平均評点が 20 を超える		重度の刺激
50~80	7 日目での平均評点 40 以下	7 日目での評点が 30 以下である動物数が過半数	重度の刺激
		7 日目での評点が 30 を超える動物数が過半数であるが、評点が 60 を超えるものがない	重度の刺激
		7 日目での評点が 30 を超える動物数が過半数であり、評点が 60 を超えるものがある	著しく重度の刺激
	7 日目での平均評点が 40 を超える		著しく重度の刺激
80~100	7 日目での平均評点 80 以下	7 日目での評点が 60 以下である動物数が過半数	著しく重度の刺激
		7 日目での評点が 60 を超える動物数が過半数であるが、評点が 100 を超えるものがない	著しく重度の刺激
		7 日目での評点が 60 を超える動物数が過半数であり、評点が 100 を超えるものがある	極度に重度の刺激性
	7 日目での平均評点が 80 を超える		極度に重度の刺激性
100~110	7 日目での平均評点 80 以下		著しく重度の刺激
	7 日目での平均評点が 80 を超える		極度に重度の刺激性

b: 26 日目の結果は 2 匹での観察結果のみから算出

c: 5 匹は 29 日目で病変が消滅。残りの 1 匹のみの結果から算出

7) 遺伝毒性試験

7)-1 細菌を用いた復帰突然変異試験

7)-1-1. サルモネラ菌を用いた復帰突然変異試験

7)-1-1-1 試験デザイン

ポリアミノプロピルピグアナイドの細菌に対する復帰突然変異誘発性を検索する目的で、サルモネラ菌 5 菌株 (TA1535、TA1537、TA1538、TA98、TA100) を用いる復帰突然変異試験を実施した。代謝活性化系 S9mix 存在下および非存在下において、最高濃度として 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ まで実施した。

7)-1-1-2 投与量設定の根拠

TA100 菌株のみを用いて用量設定のための試験を実施し、ポリプロピルピグアナイドとして 1000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ から公比 5 で 6 用量を用いて菌の生育阻害の有無を確認した。40 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の用量で著しい生育阻害が認められたことから、本試験においては最高用量を 100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ として、次段の用量を 40 $\mu\text{g}/\text{plate}$ として公比 5 で計 6 用量で試験を行った。

7)-1-1-3 結果および考察

独立する 2 実験 (本試験 1 および 2) において、代謝活性化系の添加有りの場合に、菌株 TA1535、TA1537、TA1538 及び TA100 では有意で再現性の有る復帰コロニー数の増加は認められなかった。また、代謝活性化系の添加なしの場合、いずれの菌株においても有意で再現性の有る復帰コロニー数の増加は認められなかった。これより、著しい菌の生育阻害を示す 100 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を濃度上限として、ポリアミノプロピルピグアナイドは、代謝活性化系の添加の有無に依らずサルモネラ 5 菌株において陰性、つまり突然変異を誘発しないと判断された。

復帰突然変異試験の結果を表ハ-12~14 にまとめて示す。

備考：本試験 2 での TA98 菌株/-S9Mix の溶媒対照での実験の失敗、及び TA1537 菌株でのコンタミネーションのために追加の試験 (本試験 3) を更に行った。

表ハ-12 細菌を用いた復帰突然変異試験:本試験1

GLP/試験実施施設: 適合/

代謝活性化系	被験物質	濃度 μg/plate	復帰変異数コロニー数/プレート ^a					
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100	
S9Mix [-]	溶媒対照 [DMSO]		9.6±4.0	3.2±1.1	3.2±1.1	13.8±4.8	73.2±5.5	
	ポリアミノプロピルピグアナイド	0.064	11.3±5.7	3.0±1.0	3.7±0.6	13.3±2.5	78.0±4.6	
		0.32	11.3±2.1	2.3±0.6	4.6±0.6	12.7±1.5	65.3±7.6	
		1.6	7.0±3.6	2.3±0.6	2.7±0.6	15.3±4.7	74.3±6.4	
		8	9.0±1.0	2.0±0.0	3.0±1.0	10.3±0.6	69.3±8.0	
		40	3.0±1.7	2.3±2.1	1.7±0.6	4.7±1.2	28.3±2.9	
		100 ^b	0.3±0.6	0.0±0.0	1.0±1.0	0	19.3±5.0	
	MNNG ^c	1.0	40.0±8.5**	-	-	-	559.5±494.3**	
		2.0	1319.5±449.0**	-	-	-	1303.0±224.9**	
		5.0	2730±48.1**	-	-	-	2987.0±199.4**	
	ICR191 ^c	0.5	-	17.0±2.8**	-	-	-	
		1.0	-	109.0±17.0**	-	-	-	
		2.0	-	404.5±37.5**	-	-	-	
	4NPD ^c	1.0	-	-	73.0±4.2**	-	-	
		2.0	-	-	118.0±15.6**	-	-	
		5.0	-	-	272.0±22.6**	-	-	
	DR ^c	0.2	-	-	-	222.5±16.3**	-	
		0.5	-	-	-	855.5±24.7**	-	
		1.0	-	-	-	1062.5±105.4**	-	
	S9Mix [+]	溶媒対照 [DMSO]		10.4±3.8	4.6±3.0	6.5±3.3	18.8±3.8	87.4±5.9
		ポリアミノプロピルピグアナイド	0.064	11.0±2.0	3.3±2.5	5.7±1.5	26.0±1.7*	90.0±7.0
0.32			16.0±5.0	3.3±0.6	4.0±2.6	24.3±4.0	113.0±11.3**	
1.6			9.0±4.6	2.3±2.1	5.0±2.6	24.3±3.8*	98.0±22.7	
8			13.0±3.5	3.0±1.0	3.3±2.3	14.7±9.0	102.7±18.3	
40			7.3±2.9	2.3±1.2	2.7±0.6	21.0±7.0	82.3±25.1	
100 ^b			1.3±1.5	1.3±1.2	0.3±0.6	2.3±1.5	31.3±10.3	
2AA ^c		0.2	-	-	25.5±2.1**	74.5±6.4**	154.0±9.9**	
		0.5	39.0±1.4**	7.5±2.1	38.5±3.5**	167.5±55.9**	288.5±37.5**	
		1.0	90.0±15.6**	14.0±4.2*	61.0±15.6**	445.5±64.3**	1041.0±86.3**	
		2.0	137.0±9.9**	46.5±9.2**	-	-	-	

-: 試験実施せず

陽性対照物質

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

2AA: 2-aminoanthracene

DR: Daunomycin HCl

復帰変異コロニー数の有意な増加: *p<0.05, **p<0.01

統計学的処理方法

Student's t 検定 (片側) を行った。

ICR191: Acridine Mutagen ICR191

4NPD: 4-nitro-o-phenylenediamine

表ハ-13 細菌を用いた復帰突然変異試験:本試験 2

GLP/試験実施施設: 適合/ [REDACTED]

代謝活性化系	被験物質	濃度 μg/plate	復帰変異数コロニー数/プレート ^a				
			TA1535	TA1537	TA1538	TA98	TA100
S9Mix [-]	溶媒対照 [DMSO]		6.8±2.8	コンタミ	4.0±3.2	0	62.0±6.4
	ポリアミノ プロピルピ グアナイド	0.064	10.5±0.7	コンタミ	2.0±0	-	66.0±3.5
		0.32	8.0±1.7	コンタミ	2.7±1.2	-	73.0±6.1*
		1.6	7.0±2.6	コンタミ	4.3±1.5	-	69.0±10.6
		8	5.3±3.2	コンタミ	1.7±1.5	-	50.0±8.5
		40	1.0±1.0	コンタミ	0.3±0.6	-	3.7±1.5
		100 ^b	0	コンタミ	0	-	0
	MNNG ^c	1.0	50.5± 12.0**	コンタミ	-	-	90.5±42.7*
		2.0	1713.5± 365.6**	コンタミ	-	-	1228.5± 1167.4*
		5.0	6923.0± 2188.5**	コンタミ	-	-	4529.5± 1129.2**
	ICR191 ^c	0.5	-	コンタミ	-	-	-
		1.0	-	コンタミ	-	-	-
		2.0	-	コンタミ	-	-	-
	4NPD ^c	1.0	-	-	22.0±5.7**	-	-
		2.0	-	-	40.5±0.7**	-	-
		5.0	-	-	84.5±23.3**	-	-
	DR ^c	0.2	-	-	-	0	-
		0.5	-	-	-	31.0±19.8*	-
		1.0	-	-	-	5.5±7.8	-
	S9Mix [+]	溶媒対照 [DMSO]		7.2±2.0	コンタミ	6.2±2.8	7.6±2.5
ポリアミノ プロピルピ グアナイド		0.064	8.0±2.0	コンタミ	8.0±4.2	10.7±5.7	74.3±14.0
		0.32	4.3±0.6	コンタミ	8.3±4.7	15.0±5.2*	77.0±4.6
		1.6	7.7±3.5	コンタミ	8.7±2.5	14.7±5.1*	70.0±8.9
		8	5.3±3.5	コンタミ	10.7±1.2*	16.3±2.5**	80.7±13.1
		40	4.3±1.2	コンタミ	9.3±1.5	4.7±0.6	47.7±1.5
		100 ^b	0	コンタミ	0	0	0.3±0.6
2AA ^c		0.2	-	コンタミ	28.0±5.7**	35.0±18.4**	145.5±8.5**
		0.5	38.0±5.7**	コンタミ	104.5±20.5**	137.0±0**	586.0±22.6**
		1.0	99.5±0.7**	コンタミ	301.0±28.3**	443.5±27.6**	1474.5± 143.5**
		2.0	145.5± 30.4**	コンタミ	-	-	-

a: ポリアミノプロピルピグアナイド: 3プレートでの平均±標準偏差
 溶媒対照 (DMSO): 5プレートでの平均±標準偏差
 陽性対照 (MNNG, ICR191, 2AA, 4NPD, DR): 2プレートでの平均±標準偏差
 復帰変異コロニー数の有意な増加: * p<0.05, **p<0.01

b: 菌の生育障害が認められた濃度

-: 試験実施せず

c: 陽性対照物質

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

ICR191: Acridine Mutagen ICR191

2AA: 2-aminoanthracene

4NPD: 4-nitro-o-phenylenediamine

DR: Daunomycin HCl

コンタミ: 全てのプレートでコンタミネーションが認められた

統計学的処理方法

Student's t検定 (片側) を行った。

TA98 (-S9 Mix) での溶媒対照の実験の失敗および TA1538 にコンタミネーションが認められたため、次の試験 (本試験 3) を実施した。

表ハ-14 細菌を用いた復帰突然変異試験:本試験3

GLP/試験実施施設: 適合

代謝活性化系	被験物質	濃度 μg/plate	復帰変異数コロニー数/プレート ^a	
			TA1537	TA98
9Mix [-]	溶媒対照 [DMSO]		3.4±1.5	5.6±1.1
	ポリアミノプロピルビグアナイド	0.064	3.0±1.7	6.7±0.6
		0.32	6.0±2.0*	5.3±2.1
		1.6	5.7±3.5	5.0±3.0
		8	4.0±0	4.7±2.9
		40	1.3±1.5	0.7±0.6
		100 ^b	0	0
	MNNG ^b	1.0	-	-
		2.0	-	-
		5.0	-	-
	ICR191 ^b	0.5	33.5±2.1**	-
		1.0	45.0±4.2**	-
		2.0	80.5±6.4**	-
	4NPD ^b	1.0	-	-
		2.0	-	-
		5.0	-	-
	DR ^b	0.2	-	91.0±21.2**
		0.5	-	197.0±21.2**
1.0		-	223.0±19.8**	
S9Mix [+]	溶媒対照 [DMSO]		5.6±4.4	10.8±2.5
	ポリアミノプロピルビグアナイド	0.064	6.0±3.5	10.7±3.1
		0.32	4.0±2.0	12.3±1.2
		1.6	5.7±2.9	13.7±3.5
		8	5.3±2.3	12.7±4.2
		40	2.7±1.2	2.7±1.5
		100 ^b	0	0.3±0.6
	2AA ^b	0.2	-	36.5±2.1**
		0.5	16.0±5.7**	112.0±22.6**
		1.0	44.0±5.7**	232.5±64.3**
		2.0	195.0±4.2*	-

a: ポリアミノプロピルビグアナイド: 3プレートでの平均±標準偏差
 溶媒対照 (DMSO): 5プレートでの平均±標準偏差
 陽性対照 (MNNG, ICR191, 2AA, 4NPD, DR): 2プレートでの平均±標準偏差
 復帰変異コロニー数の有意な増加: *p<0.05, **p<0.01

-: 試験実施せず

b: 菌の生育阻害の認められた用量

c: 陽性対照物質

MNNG: N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine

ICR191: Acridine Mutagen ICR191

2AA: 2-aminoanthracene

4NPD: 4-nitro-o-phenylenediamine

DR: Daunomycin HCl

統計学的処理方法

Student's t検定 (片側) を行った。

7)-1-2 大腸菌を用いた復帰突然変異試験

7)-1-2-1 試験デザイン

ポリアミノプロピルピグアナイドの細菌における復帰突然変異誘発性を検索する目的で、大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA を用いて変異原性試験を行った。

7)-1-2-2 投与量設定の根拠

用量設定のための試験を実施し、ポリアミノプロピルピグアナイド水溶液を日本薬局方注射水に溶解・希釈して、1000 µg/plate を最高用量に公比 4 の計 7 用量を用いて、代謝活性化系 (S9 Mix) のない場合 (直接法) または用いた場合 (代謝活性化法) の条件下で試験を行い、本試験での最高用量を決定した。(直接法においては、著しい菌の生育阻害が認められ、ガイドライン*での用量数を充たさなかったため、別途本試験とは別に確認試験を行った)

*「微生物を用いる変異原性試験の基準」(労働省告示第 67、77 号、基発第 413 号)

7)-1-2-3 結果および考察

独立する 2 試験において、代謝活性化の有無に依らず、いずれの用量においても陰性対照値の 2 倍を越える復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。これより、ポリアミノプロピルピグアナイドの大腸菌 WP2uvrA 株における変異原性は認められないと結論づけられた。

表ハ-15 大腸菌を用いた復帰突然変異試験(用量設定試験)

GLP/試験実施施設：適合/

代謝活性化系	被験物質	濃度 µg/plate	復帰変異数 (コロニー/プレート)			
			菌株 WP2uvrA			
S9Mix [-]	陰性対照 [注射用水]		16	19	22	(19)
	ポリアミノプロピルピグアナイド	0.244	14	16	—	(15)
		0.976	21	21	—	(21)
		3.9	27*	33*	—	(30)
		15.62	3*	18*	—	(11)
		62.5	0*	0*	—	(0)
		250	0*	0*	—	(0)
	1000	0*	0*	—	(0)	
AF-2	0.01	195	196		(195)	
S9Mix [+]	陰性対照 [注射用水]		20	23	24	(22)
	ポリアミノプロピルピグアナイド	0.244	22	26	—	(24)
		0.976	24	4	—	(24)
		3.9	35	36	—	(36)
		15.62	21	32	—	(27)
		62.5	0*	14*	—	(7)
		250	0*	0*	—	(0)
	1000	0*	0*	—	(0)	
2-AA	10	660	714	—	(687)	

() 平均値を示す

* 育成阻害あり

陽性対照

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2AA : 2-aminoanthracene

表ハ-16 大腸菌を用いた復帰突然変異試験(本試験)

GLP/試験実施施設: 適合/

代謝活性化系	被験物質	濃度 μg/plate	復帰変異数 (コロニー/プレート)			
			菌株 WP2uvrA			
S9Mix [-]	陰性対照 [注射用水]		20	21	21	(21)
	ポリアミノプロピルピ グアナイド	0.062	18	20	—	(19)
		0.02	18	20	—	(19)
		0.244	23	25	—	(24)
		0.488	20	27	—	(24)
		0.976	22	28	—	(25)
		1.954	19*	27*	—	(23)
	3.9	14*	24*	—	(19)	
AF-2	0.01	267	315	—	(291)	
S9Mix [+]	陰性対照 [注射用水]		22	24	24	(23)
	ポリアミノプロピルピ グアナイド	0.976	15	18	—	(17)
		1.954	23	24	—	(24)
		3.9	23	25	—	(24)
		7.82	21	28	—	(25)
		15.62	24	25	—	(25)
		31.2	13*	14*	—	(14)
	6.6	0*	4*	—	(2)	
2-AA	10	291	389	—	(340)	

() 平均値を示す

* 育成阻害あり

陽性対照

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

2AA : 2-aminoanthracene

表ハ-17 大腸菌を用いた復帰突然変異試験(確認試験)

GLP/試験実施施設：適合/

代謝活性化系	被験物質	濃度 μg/plate	復帰変異数 (コロニープレート)			
			菌株 WP2uvrA			
S9Mix [-]	陰性対照 [注射用水]		26	28	28	(27)
	ポリアミノプロピルピ グアナイド	0.062	23	28	—	(26)
		0.02	26	34	—	(30)
		0.244	25	31	—	(28)
		0.488	23	28	—	(26)
		0.976	22	25	—	(24)
		1.954	19*	21*	—	(20)
		3.9	7*	8*	—	(8)
	AF-2	0.01	320	333	—	(327)

() 平均値を示す

* 育成阻害あり

陽性対照

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

7)-2 染色体異常試験

ヒト末梢リンパ球を用い *in vitro* 染色体異常試験を実施した。代謝活性化系存在下および非存在下において分裂中のリンパ球にポリアミノプロピルピグアナイドを処理した。

7)-2-1 投与量設定の根拠

被験物質が高い細胞毒性を示すものと考えられたため、細胞毒性の確認のための予備試験を実施し、1500、1000、750、500、200、150、100、20、10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 処理における有糸分裂の度合いを定性的に観察した。被験物質による細胞毒性は著しく高く、本試験では低い用量で狭い濃度区分 100、75、50、37.5、20、10、7.5、5、2、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ で処理を行った。有糸分裂率の抑制のおおよそ 50% ~80% を基準としてスライド観察に用いる最高用量を決定し、加えて低い 2 用量を選定した。

7)-2-2 結果および考察

ポリアミノプロピルピグアナイドは試験系において生理活性を示し、培養細胞の有糸分裂率の抑制が認められた。

陽性対照として用いた mitomycin C、及び cyclophosphamide で処理された培養細胞で観察された応答から、試験系の染色体異常誘発性に対する感度が充分であったことが確認された。

二人の何れの供血者に依らず、代謝活性化系の添加の有無に依らず、いずれの培養細胞においても統計的にまたは生物学的に有意な染色体異常の発生頻度の増加は認められなかったことから、ポリアミノプロピルピグアナイド液は本試験系においてヒト末梢血リンパ細胞に対して染色体異常誘発性ではないと結論される。

染色体異常試験の結果を表ハ-18 にまとめて示す。

表ハ-18 染色体異常試験成績

GLP/試験実施施設	適合/			
動物種/系統	ヒト末梢リンパ球			
代謝活性化系	無添加		添加	
処理濃度	ギャップを除く構造異常の出現頻度の平均値 (%)	有糸分裂率の平均値 (%)	ギャップを除く構造異常の出現頻度の平均値 (%)	有糸分裂率の平均値 (%)
供血者 1 溶媒対照 (生理食塩水) 10 μ L/mL 陽性対照 (Mitomycin C) 0.5 μ g/mL 100 μ g/mL ポリアミノプロピルピグアナイド 37.5 μ g/mL 20.0 μ g/mL 10 μ g/mL 5 μ g/mL 1 μ g/mL	0.0 20.0 ** - - - 0 0.5 1.0	8.75 2.70 - - - 2.15 5.60 6.60	0.0 - 26.0 ** 0.5 2.0 - 1.0 -	12.30 - 4.30 5.45 6.10 - 8.20 -
供血者 2 溶媒対照 (生理食塩水) 10 μ L/mL 陽性対照 (Mitomycin C) 0.5 μ g/mL 100 μ g/mL ポリアミノプロピルピグアナイド 50 μ g/mL 20 μ g/mL 10 μ g/mL 5 μ g/mL 1 μ g/mL	1.0 25.4 ** - 0.5 0 0.5 - -	7.00 2.40 - 3.65 6.60 4.60 - -	0.5 - 14.0 ** 0.9 0.0 - 1.0 -	8.9 - 4.10 4.80 6.80 - 16.05 -

有意差有り: **p<0.01

陽性対照の有糸分裂率 については1検体のみの結果

統計学的処理法

Fisher の片側検定を用いた。

7)-3 小核試験

7)-3-1 試験デザイン

*in vitro*におけるポリアミノプロピルピグアナイドの染色体異常誘発性を検索する目的で、マウスを用いた小核試験を実施した。

雌雄それぞれ1群あたり5匹のマウスに250mg/kg および400mg/kgのポリアミノプロピルピグアナイドを胃部へ単回強制投与した。投与の24、48、72時間後に骨髓試料を採取し、多色素メチレンブルー及びエオシンYで染色し、1スライドあたり1000個の多染性赤血球を観察し小核をもつ割合を算出した。また1000個の赤血球を観察し、そのうちに占める多染性赤血球の割合から細胞毒性を評価した。

7)-3-2 投与量設定の根拠

予備試験(Phase I)において単用量単回投与4日後までの致死数の検討を行い、半致死濃度MLD/4として500mg/kgを得た。この結果から、本試験(Phase II)においては最大耐用量をMLD/4の80%および50%と考え、ポリアミノプロピルピグアナイド400mg/kgおよび250mg/kgを用いて試験を行った。

7)-3-3 結果および考察

性別を分けずに結果をまとめた場合、統計学的に有意な小核をもつ多染性赤血球の発生頻度の上昇は何れの用量、サンプリング時間に依らず認められなかった。

性別を分けて検討した場合、雄の400mg/kg投与群、48時間サンプリングにおいて、軽度ではあるが統計学的に有意な小核をもつ多染性赤血球数の発生頻度の上昇が疑われる結果が得られた。しかしながら、この群、このサンプリング時間においては溶媒対照値が他の溶媒対照の他のサンプリング時間で得られた値より小さい点、また、動物間での数値のバラツキが大きいことが確認された。したがって、この有意差の有効性を確認するために、この400mg/kg投与の雄、及び溶媒対照の雄の3種のサンプリング時間全て更に2000個の多染性赤血球を観察した。この結果、48時間サンプリング観察で得られた雄での小核をもつ多染性赤血球数の増加の有意性は、追加2000個での観察結果、当初の1000個観察と追加2000個観察の組み合わせの何れにおいても否定された。

陽性対照に用いたcyclophosphamideは期待どおり、何れの性においても統計学的にまた生物学的に有意な小核をもつ多染性赤血球の発生頻度の上昇を示した。

400mg/kg被験物質処理群において、何れのサンプリング時間においても溶媒対照群で得られたそれと比較して統計学的に有意な全赤血球数に占める多染性赤血球数の減少が認められた。また、陽性対照についても同じことが確認された。

これより、ポリアミノプロピルピグアナイドはマウスを用いる小核試験において染色体異常誘発性ではないと結論づけられた。試験の結果を表ハ-19にまとめて示す。

表ハ-19 小核試験成績:小核をもつ多染性赤血球数(平均値)

GLP/試験実施施設	適合/ [REDACTED]				
動物種/系統/週齢	マウス/6JfCD-1/9~11 週齢				
性別/動物数	雌雄各群 5 匹				
投与経路	経口				
投与回数	単回				
陽性対照	シクロフォスファミド				
骨髄採取時間	投与 24、48 および 72 時間後 (陽性対照投与群およびポリアミノプロピルピグアナイドの 50%MLD 投与群は 24 時間後のみ)				
試験群	溶媒対照	ポリアミノプロピルピグアナイド		シクロフォスファミド	
投与量	10mL/kg	250mg/kg	400mg/kg	65mg/kg	
性別を考慮しない場合 ^a					
小核の出現頻度/ 1000 細胞	24 時間	1.6	2.6	3.2	21.3**
	48 時間	1.8	-	3.3	-
	72 時間	2.5	-	2.2	-
性別分けをした場合 ^b					
小核の出現頻度/ 1000 細胞	24 時間	♂1.8	♂3.0	♂4.0	♂23.0**
		♀1.4	♀2.2	♀2.4	♀19.6**
	48 時間	♂1.2	-	♂5.4**	-
		♀2.4	-	♀1.2	-
	72 時間	♂4.0	-	♂3.2	-
		♀1.0	-	♀1.2	-
追加観察分: 雄性ラットの結果 ^c					
小核の出現頻度/ 1000 細胞	24 時間	3.1	-	5.1	-
	48 時間	3.5	-	3.6	-
	72 時間	3.6	-	3.0	-
当初及び追加観察分の総合: 雄性ラットの結果 ^d					
小核の出現頻度/ 1000 細胞	24 時間	2.7	-	4.7	-
	48 時間	2.7	-	4.2	-
	72 時間	3.7	-	3.1	-
全赤血球に占める多染性赤血球の割合 ^e					
多染性赤血球の 割合	24 時間	47.8	42.4	38.8**	39.9**
	48 時間	42.3	-	34.9*	-
	72 時間	42.2	-	31.4**	-

a: 各群 10 観察数での平均値 (各動物あたり 1 観察)

b: 各群 5 観察数での平均値 (各動物あたり 1 観察)

c: 各群 10 観察数での平均値 (各動物あたり 2 観察)

d: 各群 15 観察数での平均値 (各動物あたり 3 観察)

e: 各群 10 観察数での平均値 (各動物あたり 1 観察)

有意差あり: * p<0.05、** <0.01

統計学的処理方法

Student's T 検定 (片側) を行った

8) ヒトパッチ試験

ポリアミノプロピルビグアナイドをヒト皮膚に適用した場合の刺激性を評価する目的で、ヒトパッチ試験を実施した。

8)-1 試験デザイン

健康な被験者 45 名（男性 17 名、女性 28 名）の上腕内側部に被験物質を塗布したプラスター（フィンチャンパー）を適用した。24 時間後にプラスターを除去し、その 30 分後（適用の 24 時間後に相当）に皮膚刺激の程度を観察した。プラスター除去 24 時間後（適用の 48 時間後に相当）に同様の観察を行った。皮膚の判定は「本邦パッチテスト研究班の基準」に従って行った。皮膚刺激指数を算出し、皮膚刺激指数の評価基準に従って判定した。

8)-2 用量設定の根拠

ポジティブリスト収載希望上限（0.1%）より高い濃度でのヒトにおける刺激性を確認するため、および刺激性の用量相関を検討するために、3 用量を設定した。低用量を配合上限の 3 倍濃度である 0.3%、高用量を 10 倍濃度の 1.0%とし、他に中用量として 0.5%を設定した。

8)-3 試験結果および考察

皮膚刺激指数は、①精製水（対照）で 6.6、②ポリアミノプロピルビグアナイド 0.3%水溶液では 5.5、③ポリアミノプロピルビグアナイド 0.6%水溶液では 5.5、④ポリアミノプロピルビグアナイド 1.0%水溶液では 8.8 であった。いずれの濃度においても、ポリアミノプロピルビグアナイドの刺激指数は精製水とほぼ同程度であり、許容品に分類された。

ヒトパッチ試験の結果を表ハ-20 にまとめて示す。

表ハー-20 ヒトパッチ試験結果成績

GLP/試験実施施設	非適合/											
人種/被験者数/性別	日本人 45名(女性 28名、男性 17名)											
試験責任医師												
投与経路/部位	経皮/上腕内側部											
投与回数	単回											
適用期間	24時間											
観察時間	適用 24 及び 48 時間後											
被験物質/濃度	精製水 (対照)			ポリアミノプロピルピグアナイド								
				0.3% ^b			0.6% ^b			1.0% ^c		
皮膚反応 ^a	+	±	-	+	±	-	+	±	-	+	±	-
24時間後の人数	1	4	40	1	3	41	1	3	41	1	4	40
48時間後の人数	0	0	45	0	0	45	0	0	45	1	0	44
皮膚刺激指数 ^d	6.6			5.5			5.5			8.8		
判定 ^e	許容品			許容品			許容品			許容品		

a: 皮膚反応 (本邦パッチテスト研究班の規準より)

反応	評価	評点
反応なし	-	0
微弱な紅斑	±	0.5
明らかな紅斑	+1	1.0
紅斑と浮腫	+2	2.0
丘疹・小水疱を認めるもの	+3	3.0
水疱・びらん・壊死を生じたもの (大水疱)	+4	4.0

b: 4名の被験者で顕著な絆創膏皮膚炎が認められ、被験部に波及した可能性が考えられる

c: 2名の被験者で顕著な絆創膏皮膚炎が認められ、被験部に波及した可能性が考えられる

d: (適用後 24 時間、48 時間のうち高い評点の総和) ÷ (症例数) × 100

e: 皮膚刺激指数からの判定

皮膚刺激指数	判定
5 以下	安全品
5~15	許容品
15~30	要改良品
30 以上	リスク品

9) 吸収・分布・代謝・排泄

ポリアミノプロピルピグアナイドの生体内における分布を知る目的で、非標識および¹⁴C 標識ポリアミノプロピルピグアナイドを系ラットに経口投与し、胆汁排泄実験、生物学的利用性実験および排泄・組織蓄積実験を実施した。

9)-1 胆汁排泄試験

9)-1-1 試験デザイン

雌雄各 3 匹のラットを試験に使用した。胆管にカニューレを挿入し、非分画標識化ポリアミノプロピルピグアナイド 20mg/kg を単回強制経口投与した。胆汁および尿を投与後 3 および 6 時間後に採取した。また、胆汁、尿および糞を投与後 12、24、36 および 48 時間後に採取した。実験終了時にケージを洗浄し、洗液を保存した。投与後 48 時間目に放血死させ、血液検体を採取した。また消化管を切開し、内容物を除去し、残部屍体とともに保存した。採取した糞、尿、胆汁、血液、組織等の試料は適当な前処理の後、液体シンチレータを用いて放射能含量の測定を行った。

9)-1-2 用量設定の根拠

単回投与で毒性影響の認められない十分に低い濃度として、また代謝物が生成した場合の排泄物の分析で十分な精度の得られる高い濃度として 20mg/kg を選定した。

9)-1-3 結果

胆管にカニューレを挿入した本実験で、非分画試料の約 3% のみがラットによって吸収され、また吸収された投与量の内の少量が胆汁中に排泄された。投与量の大部分は吸収されないままであり、糞中に排泄された。これは、ポリアミノプロピルピグアナイドの腸内微生物叢およびその他の腸内容物との結合に起因するものと考えられる。この実験において排泄プロファイルに性差は認められなかった。

投与量の 0.2% 未満のみが胆汁を介して排泄されたことから、ラットにおけるポリアミノプロピルピグアナイドの排泄において腸肝循環の重要性はほとんどない。これより、尿中排泄と組織蓄積がポリアミノプロピルピグアナイドの吸収の主たるものであると考えられる。試験の結果を表 8-21 にまとめて示す。

表ハ-21 胆汁排泄実験成績

GLP/試験実施施設	適合/					
動物種/系統/週齢	ラット/系/6~12週齢					
動物数	雌雄各3匹					
投与方法	強制経口					
投与期間	単回					
被験物質	ポリアミノプロピルビグアナイド調整液 ^a					
投与量	20mg/kg					
試料採取	胆汁：投与3、6、12、24、36および48時間後 尿：投与3、6、12、24、36および48時間後 糞：投与12、24、36および48時間後 血液：投与48時間後					
性別	♂			♀		
放射能投与後の時間	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)	胆汁中放射能の排泄 (%)	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)	胆汁中放射能の排泄 (%)
0~3時間	0.18±0.18	-	0.03±0.01	0.34±0.01 ^{b,c}	-	0.04±0.01
3~6時間	0.57±0.13	-	0.02±0.01 ^c	0.78±0.06 ^b	-	0.02±0.01 ^c
6~12時間	0.52±0.21	-	0.02±0.01 ^c	1.16±0.41	-	0.03±0.01
0~12時間	-	41.40±10.31	-	-	40.48±33.39	-
12~24時間	0.47±0.27	49.68±10.56	0.02±0.01 ^c	0.55±0.21	41.24±28.19	0.03±0.01
24~36時間	0.19±0.18	2.54±1.42	0.01±0.01	0.15±0.06	9.24±6.95	0.01±0.01 ^c
36~48時間	0.17±0.15	3.18±1.37	0.01±0.01 ^c	0.07±0.01	7.99±3.02	0.01±0.01 ^c
0~48時間	2.03±0.30	96.80±0.21	0.12±0.01	2.67±0.43	98.94±3.31	0.14±0.02
ケージ洗液 (48時間) 中の放射能 (%)	0.20±0.22			0.45±0.52		
全体としての放射能の排泄 (%)	99.15±0.21			102.2±2.38		
組織	投与2日後の放射能率 (%)	投与2日後の放射能濃度 (μg equiv/g)	投与2日後の放射能率 (%)	投与2日後の放射能濃度 (μg equiv/g)		
消化管	0.26±0.16	0.90±0.50	0.53±0.25		1.92±0.78	
消化管内容物	0.76±0.64	N/A	1.61±1.74		N/A	
血液血漿	-	0.02±0.01 ^c	-		0.03±0.01 ^c	
残部屍体	0.27±0.04	<0.01	0.38±0.10		0.01±0.01 ^c	
全体	1.28±0.84	0.07±0.02	2.51±2.08		0.09±0.02	

平均値±標準偏差

a: ポリアミノプロピルビグアナイド調整液

標識化非分画の¹⁴Cポリアミノプロピルビグアナイド(約4mg)と非標識化非分画のポリアミノプロピルビグアナイド(46mg)を滅菌2回脱イオン水で溶解し、容量を10mLとした。これを強制経口にて4mL/kg投与した。本試験液中のポリアミノプロピルビグアナイド総量は20mg/kgであり、標識化非分画のポリアミノプロピルビグアナイドとしては1.6mg/kgである。

b: 2匹の平均値を示す (他は3匹の平均を表す)

c: 標準偏差が0.01以下であることを示す

N/A: 該当せず

-: 残部屍体の値に含まれる

9)-2 生物学的利用性実験

9)-2-1 試験デザイン

胆汁排泄試験において排泄プロファイルに性差がなかったことから、本試験には雄性ラットを使用した。各群 4 匹の雄ラットからなる 3 群に、標識化ポリアミノプロピルビグアナイドの低、中、及び高分子量分画を単回強制経口投与した（非標識化物の非分画試料と混合し、夫々トータル 20mg/kg の用量）。尿のみを投与後 6 時間目に採取し、尿と糞を投与後 12、24、36、48 および 72 時間目に採取した。各採取時点および試験終了時に、ケージを洗浄し、洗液を保存した。投与後 72 時間目に放血致死させ、血液検体を採取した。また、消化管を切開し、その内容物を除去し、残部屍体とともに保存した。また、糞試料の代表的プールを溶媒抽出した。採取した糞、尿、血液、組織等の試料は適当な前処理の後、液体シンチレータを用いて放射能含量の測定を行った。

9)-2-2 用量設定の根拠

単回投与で毒性影響の認められない十分に低い濃度として、また代謝物が生成した場合の排泄物の分析で十分な精度の得られる高い濃度として 20mg/kg を選定した。

9)-2-3 結果および考察

何れの分子量分画とも放射能の大部分が糞中に排泄された。投与後 72 時間で低、中、高分子量分画は、糞中にそれぞれ 94.9%、101.4%、96.0% の割合で排泄された。

尿中で低い放射能が検出され、低分子量分画を投与したラットにおいて最高の排泄率であった。尿中 72 時間の総量で低、中、高分子量分画それぞれ 5.2%、0.2%、0.2% の放射能が検出され、尿と糞中に排泄された総放射能はそれぞれ 100.3%、101.6%、96.3% であった。

投与後 72 時間での、血中放射能濃度は 3 つの分子量分画のすべてで投与後と類似しており、 $0.10 \mu\text{g} \sim 0.15 \mu\text{g equiv/g}$ であった。3 つの分子量分画のすべてで、血漿中放射能濃度は $0.02 \mu\text{g equiv/g}$ 未満であった。残部屍体は投与放射能の 0.15%~0.54% を含有していた。排泄物および組織残留量を含む、総平均回収率は、低、中間および高分子量分画でそれぞれ 101.0%、102.0%、96.8% であった。

プール糞試料の溶媒抽出では、糞中総放射能の 14% 未満が抽出されたにすぎなかった。

試験の結果を表ハ-22 にまとめて示す。

表ハ-22 生物学的利用性実験成績

GLP/試験実施施設	適合/ [redacted]					
動物種/系統	ラット/ [redacted] 系					
動物数/性別	各群 4 匹/雄					
投与方法	強制経口					
投与期間	単回					
被験物質	ポリアミノプロピルピグアナイド 低、中、高分子分画物調整液 ^a					
投与量	20mg/kg					
試料採取	尿：投与 6、12、24、36、48 および 72 時間後 糞：投与 12、24、36、48 および 72 時間後 血液：投与 72 時間後					
排泄	低分子量分画		中分子量分画		高分子量分画	
	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)
放射能投与後の時間						
0~6 時間	3.11±0.73	-	0.07±0.02	-	0.13±0.02	-
6~12 時間	0.97±0.08	-	0.03±0.01	-	0.04±0.01	-
0~12 時間	-	23.10±15.72	-	29.99±23.06	-	35.44±23.08
12~24 時間	0.67±0.03	59.44±11.82	0.02±0.01 ^b	61.12±18.31	0.03±0.01	50.78±21.58
24~36 時間	0.24±0.06	8.76±5.10	0.02±0.01 ^b	7.36±5.18	<0.01	7.17±9.73
36~48 時間	0.14±0.05	2.87±1.70	±	1.67±1.04	<0.01	2.02±2.68
48~72 時間	0.09±0.01	0.77±0.29	<0.01	1.28±1.79	<0.01	0.62±0.76
0~72 時間	5.22±0.66	94.94±3.15	0.15±0.05	101.42±2.48	0.22±0.03	96.03±1.33
ケージ洗液 (72 時間) 中の放射能 (%)	0.10±0.02		<0.04		<0.04	
全体としての放射能の排泄 (%)	100.26±3.32		101.61±2.47		96.30±1.32	
組織貯留	低分子量分画		中分子量分画		高分子量分画	
	投与 3 日後の放射能率 (%)	投与 3 日後の放射能濃度 (μg equiv/g)	投与 3 日後の放射能率 (%)	投与 3 日後の放射能濃度 (μg equiv/g)	投与 3 日後の放射能率 (%)	投与 3 日後の放射能濃度 (μg equiv/g)
組織						
消化管	0.05±0.01 ^a	0.12±0.01	0.03±0.01	0.08±0.03	0.13±0.01 ^a	0.04±0.01
消化管内	0.18±0.01	N/A	0.18±0.08	N/A	0.22±0.14	N/A
内容物	-	0.13±0.01	-	0.15±0.13	-	0.10±0.04
血液血漿	-	<0.02	-	<0.02	-	<0.02
残部屍体	0.54±0.12	0.10±0.02	0.15±0.05	<0.03	0.23±0.20	<0.05
全体	0.77±0.13		0.35±0.14		0.47±0.28	

平均値±標準偏差

a: ポリアミノプロピルピグアナイド低、中、高分子分画物調整液

分画後の標識ポリアミノプロピルピグアナイド (1mg) と分画後の非標識ポリアミノプロピルピグアナイド (24mg) を滅菌 2 回脱イオン水で溶解し、容量 5mL として (ポリアミノプロピルピグアナイド 5mg/mL) 同様に投与した。標識化分画ポリアミノプロピルピグアナイドとしては低分子量分画、中分子量分画、高分子量分画共通で 0.8mg/kg である。

b: 標準偏差が 0.01 以下であることを示す

N/A: 該当せず

-: 残部屍体の値に含まれる

9)-3 排泄および組織蓄積実験

9)-2-1 試験デザイン

雌雄各 5 匹のラットに、標識化物の低分子量分画（非標識化物の非分画試料と混合しトータル 20mg/kg）を単回強制経口投与した。

尿のみを投与後 6 時間目に採取し、尿と糞を投与後 12、24、36、48 および 72 時間目に採取した。各採取時点および試験終了時に、ケージを洗浄し、洗液を保存した。

投与後 72 時間目に放血致死させ、血液検体を採取した。また、消化管を切開し、その内容物を除去し、残部屍体とともに保存した。さらに、脳、生殖腺、心臓、腎臓、肝臓、肺、脾臓、脂肪（腹部）、骨（大腿骨）、筋肉（大腿部）を摘出した。

代表的プール尿を、0～24 時間尿および 0～72 時間蓄尿から調製した。採取した糞、尿、血液、組織等の試料は適当な前処理の後、液体シンチレータを用いて放射能含量の測定を行った。

9)-3-2 用量設定の根拠

単回投与で毒性影響の認められない十分に低い濃度として、また代謝物が生成した場合の排泄物の分析で十分な精度の得られる高い濃度として 20mg/kg を選定した。

9)-3-3 試験結果および考察

雌雄とも、投与した放射能の大部分が糞中に排泄され、尿中排泄はこれに比して小さかった。尿中排泄に性差が認められ、雄は雌に比べて高い割合で排泄した。投与後 72 時間にわたって、尿中に雄は投与放射能の 7.8% を、雌は 2.6% を排泄した。同じ期間にわたって、雄および雌は糞中にそれぞれ投与放射能の 94.1%、93.5% を排泄した。72 時間にわたって排泄された総放射能は、雄が 102.3%、雌が 96.2% であった。

投与後 72 時間の放射能の測定結果では、分析した組織中、肝臓と腎臓で最も高く、雄の肝臓、及び腎臓での濃度（0.568 $\mu\text{g equiv/g}$ 、及び 0.499 $\mu\text{g equiv/g}$ ）、雌の肝臓、及び腎臓での濃度（0.752 $\mu\text{g equiv/g}$ 、及び 0.807 $\mu\text{g equiv/g}$ ）の結果であった。[ここにおいて、濃度記載は組織 1g あたりの有効成分濃度]

肝臓に存在した放射能量は、雄において投与量の 0.18%、雌において 0.19% であった。他の組織での結果は何れも肝臓、腎臓での値に比べて低いものであった。残部屍体は雄と雌でそれぞれ投与量の 0.22%、0.28% の放射能を含有していた。

排泄物および組織残留量を含む、総平均回収率は雄が 102.8%、雌が 97.0% であった。

プール尿の SEC ラジオクロマトグラムによる分析の結果、雌雄とも、尿中放射能は投与溶液中のより低い分子量成分に起因するものであることが確認された。雌のプール尿および雄の 0～24 時間尿においては単一の放射性標識ピークが観察されたが、雄の 0～72 時間尿では 2 つ以上のピークが確認された。

試験の結果を表ハ-23 にまとめて示す。

表ハ-23 排泄および組織貯留実験成績

GLP/試験実施施設	適合/ [redacted]			
動物種/系統	ラット/ [redacted] 系			
性別/動物数	雌雄各 5 匹			
投与方法	強制経口			
投与期間	単回			
被験物質	ポリアミノプロピルピグアナイド低分画物調整液 ^a			
投与量	20mg/kg ^a			
試料採取	尿：投与 6、12、24、36、48 および 72 時間後 糞：投与 12、24、36、48 および 72 時間後 血液、脳、生殖腺、心臓、肝臓、肺、脾臓、脂肪(腹部)、骨(大腿骨)、筋肉(大腿部)：投与 72 時間後			
性別	♂		♀	
放射能投与後の時間	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)	尿中放射能の排泄 (%)	糞中放射能の排泄 (%)
0~6 時間	2.75±1.21	-	0.73±0.37	-
6~12 時間	2.07±0.70	-	0.58±0.15	-
0~12 時間	-	37.56±13.69	-	18.49±17.42
12~24 時間	2.33±1.40	48.40±14.25	0.82±0.30	64.12±18.12
24~36 時間	0.20±0.09	5.42±2.87	0.12±0.05	6.32±3.68
36~48 時間	0.23±0.11	2.16±0.83	0.14±0.05	3.11±1.90
48~72 時間	0.26±0.15	0.60±0.41	0.16±0.06	1.42±1.71
0~72 時間	7.84±3.03	94.13±1.94	2.55±0.80	93.46±2.03
ケージ洗液 (72 時間) 中の放射能 (%)	0.22±0.13		0.33±0.11	
全体としての放射能の排泄 (%)	96.23±1.84		102.31±2.53	
組織	投与 3 日後の放射能率 (%)	投与 3 日後の放射能濃度 (μg equiv/g)	投与 3 日後の放射能率 (%)	投与 3 日後の放射能濃度 (μg equiv/g)
脳	<0.01	0.013±0.002	<0.01	0.013±0.003
生殖腺	<0.01	0.017±0.002	<0.01	0.050±0.010
心臓	<0.01	0.023±0.005	<0.01	0.037±0.013
腎臓	0.03±0.01	0.499±0.182	0.04±0.01	0.807±0.260
肝臓	0.18±0.06	0.568±0.169	0.19±0.06	0.752±0.189
肺	<0.01	0.054±0.028	<0.01	0.074±0.015
脾臓	<0.01	0.132±0.054	<0.01	0.193±0.068
消化管	0.04±0.01	0.126±0.036	0.08±0.03	0.271±0.098
消化管内容物	0.05±0.01	N/A	0.15±0.21	N/A
腹部脂肪	-	0.045±0.008	-	0.033±0.005
骨	-	0.035±0.009	-	0.043±0.012
筋肉	-	0.019±0.004	-	0.020±0.005
血液	-	0.016±0.005	-	<0.014
血漿	-	0.007±0.001	-	0.008±0.001
残部屍体	0.22±0.41	0.050±0.007	0.28±0.07	0.068±0.017
全体	0.53±0.13		0.74±0.33	

平均値±標準偏差

a: ポリアミノプロピルピグアナイド低分画物調整液

標識化低分子量分画ポリアミノプロピルピグアナイド (6mg) と非標識化低分子量分画ポリアミノプロピルピグアナイド (69mg) を溶解し、容量を 15mL に調整した(ポリアミノプロピルピグアナイドとして 5mg/mL)。投与したポリアミノプロピルピグアナイド調整液中の標識化低分子量分画ポリアミノプロピルピグアナイドは 1.6mg/kg である。

N/A: 該当せず

-: 残部屍体の値に含まれる

9)-4 吸収・分布・代謝・排泄に関する結論

¹⁴C で標識化したポリアミノプロピルピグアナイドを用いた単回強制経口投与による吸収・分布・排泄・代謝試験において、雌、雄の何れのラットにおいても被験物質の吸収は低いことが確認された。被験物質のより低い分子量成分はより高い分子量分画に比べてより容易に吸収されることが認められた。吸収に性差が認められ、雌ラットは雄ラットに比べて、被験物質の低分子量分画を吸収する割合がより低かった。投与量の大部分が吸収されず、糞中に排泄された。

5. ポリアミノプロピルピグアナイドの安全性に関する結論

ポリアミノプロピルピグアナイドの安全係数について、以下に記載する。

本成分は、経口投与された場合も、ほとんどが糞中に排泄される（雄 96.8%、雌 98.94%）ことから、実使用の場合の経皮投与での吸収率を雄 3.2%、雌 1.1%として、1日2回塗布した場合、イヌの反復投与毒性試験における無毒性量（雄 46mg/kg/日以上、雌 45mg/kg/日以上）、マウスの経皮反復投与毒性試験における無毒性量（雄 13.7mg/kg/日以上、雌 15.8mg/kg/日以上）、生殖発生毒性試験における親動物への無影響量（NOEL：238.9mg/kg/日以上）、成熟期出生児への無毒性量（NOAEL：56.9mg/kg/日以上）、出生児への無影響量（NOEL：187.7mg/kg/日以上）の結果より、次の方法で安全係数を算出した。なお、前述のように本品の経皮吸収率は極めて低いと考えられるが、仮に100%吸収したと過程して算出した。

・ 製品中の本成分の配合量	: 0.1%
・ 1 cm ² の皮膚への製品塗布量	: 2mg
・ 製品の皮膚への塗布範囲（顔面 15×20cm）	: 300cm ²
・ 1回塗布時の製品塗布量	: 2mg/cm ² ×300cm ² =600mg
・ 1回塗布時の本成分の量	: 600mg×0.1/100=0.6mg
・ 体重1kg当りの本成分の塗布量	: 0.6mg÷50kg=0.012mg/kg

これより、1日2回塗布（0.024mg/kg）したの場合の安全係数は、以下のとおりである。

- ・ イヌの反復投与毒性試験における無毒性量（45mg/kg/日）に対し $45 \div 0.024 = 1875$ 倍
- ・ マウスの経皮反復投与毒性試験における無毒性量（13.7mg/kg/日以上）の対し、 $13.7 \div 0.024 = 571$ 倍
- ・ 生殖発生毒性試験における親動物への無毒性量無影響量（NOEL：238.9mg/kg/日）に対し、 $238.9 \div 0.024 = 9954$ 倍
- ・ 成熟出生児への無影響量（NOEL：56.9mg/kg/日以上）に対し $56.9 \div 0.024 = 2371$ 倍
- ・ 出生児への無影響量（NOEL：187.7mg/kg/日以上）に対し $187.7 \div 0.024 = 7821$ 倍

以上より、本成分の安全性は高く、ヒト皮膚塗布による毒性惹起の可能性は少ないと考えられる。