



最 終 報 告 書

モノオレイン酸グリセリルのラットを用いた
経口投与による急性毒性試験

B-5272

2005年12月7日

株式会社 **ボゾリサーチセンター**

東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7
本社・東京研究所 〒156-0042 東京都世田谷区羽根木1-3-11
御殿場研究所 〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284
函南研究所 〒419-0101 静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125

目 次

	頁
目 次	1
要 約	6
緒 言	7
試験材料及び方法	8
1. 被験物質及び媒体	8
1) 被験物質	8
2) 媒体	8
2. 被験液の調製	9
1) 被験液の調製方法	9
2) 被験液の保存方法	9
3) 被験液の安定性	9
4) 被験液の濃度・均一性確認	9
3. 試験動物	10
4. 飼育条件	11
5. 投与経路の選択理由、投与方法及び観察期間	11
6. 投与量及び試験手順	11
7. 検査方法	12
1) 一般状態及び生死の観察	12
2) 体重測定	12
3) 病理学検査	12
8. LD ₅₀ 値の推定	12

	頁
試験結果	13
1. LD ₅₀ 値	13
2. 一般状態	13
3. 体重	13
4. 剖検	13
考 察	14

図

Fig. 1 体重

表

Table 1	死亡状況及び LD ₅₀ 値
Table 2、3	一般状態
Table 4、5	体重
Table 6、7	剖検所見

要 約

モノオレイン酸グリセリルの急性毒性を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を用いて、1 投与段階（1 群）につき雌 3 匹ずつ用いて「急性毒性等級法」により検討した。投与は 2000mg/kg の投与量で 2 段階行った。

1. LD₅₀ 値

死亡動物は認められず、LD₅₀ 値は 2000mg/kg を上回るものと推定された。

2. 一般状態

いずれの動物にも一般状態に異常はみられなかった。

3. 体重

いずれの動物も体重推移に異常は認められなかった。

4. 剖検

いずれの動物にも剖検結果に異常はみられなかった。

緒 言

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、モノオレイン酸グリセリルをラットに1回経口投与したときの影響を調べたので、その成績を報告する。なお、遵守した基準及び準拠したガイドラインなどは以下の通りである。

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

1) 被験物質

モノオレイン酸グリセリルは厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室から提供された。使用した被験物質のロット番号及び性状などを以下に示した(添付資料 1)。

製造者 :

名称 : モノオレイン酸グリセリル (CAS 番号 : 111-03-5)

Glyceryl Oleate (一般名)

9-Octadecenoic acid, (9Z)-, 2,3-dihydroxypropyl ester (IUPAC 命名法)

ロット番号 :

性状 : 淡黄色の粒状で僅かな特異臭

含量 : 99.93%

酸価 : 1.2

けん化価 : 159.9

ヨウ素価 : 68.6

強熱残分 : 0.1%以下

融点(流動点) : 37.6°C

引火点 : 224°C (クリーブランド開放式)

安定性 : 動物試験終了後、被験物質製造者にて安定性を確認した(添付資料 2)。

保存方法 : 室温・密栓(実測値 : 17~28°C)

保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び第 1 研究棟 2 階被験物質調製室

返却 : 動物試験終了後の残量は本被験物質を使用する関連試験が全て終了した後、全てに返却した。

2) 媒体

メーカー : 和光純薬工業株式会社

名称 : コーンオイル

ロット番号 : CER5860

保存方法 : 室温

保存場所 : 御殿場研究所 第 1 研究棟 2 階被験物質調製室

2. 被験液の調製

1) 被験液の調製方法

被験物質の必要量を秤取し、約 37°C に加温・融解した後、媒体を加え規定量とした。調製は投与 2 日前に行い、使用時まで褐色ガラス瓶（遮光瓶）に入れた。

2) 被験液の保存方法

褐色ガラス瓶（遮光瓶）に入れ冷暗所（冷蔵庫内、実測値：3~5°C）に保存した。

3) 被験液の安定性

本被験物質の 50 及び 200 mg/mL 懸濁液（媒体：コーンオイル）は、遮光容器で冷暗所（冷蔵庫内）7 日間保存後室温 24 時間は安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（添付資料 3、株式会社ボゾリサーチセンター試験番号：A-1585）。

4) 被験液の濃度・均一性確認

投与前に投与に使用した被験液について株式会社ボゾリサーチセンターで HPLC 法により実施した。その結果、被験液の表示値に対する割合は 102.5%、均一性（変動係数：C.V.）は 1.0% であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料 4）。

[分析方法]

測定試料を約 40°C で加温し、十分に攪拌した後採取して、以下の手順に従いテトラヒドロフラン（以下 THF と略）で希釈して測定実測試料を調製した。なお、測定試料の調製は投与液の上、中及び下層について n=1 で行った。

測定試料 (mg/mL)	1次希釈		2次希釈		希釈率
	採取量 (mL)	定容量 (mL)	採取量 (mL)	定容量 (mL)	
200	1	20	1	10	200

[HPLC システム]

送液ユニット	LC-10AT	(株式会社島津製作所)
オンラインデガッサ	DGU-14A	(株式会社島津製作所)
オートインジェクタ	SIL-10AXL	(株式会社島津製作所)
カラムオーブン	CTO-10A	(株式会社島津製作所)
検出器	RID-10A	(株式会社島津製作所)
システムコントローラ	SCL-10A	(株式会社島津製作所)
サンプルクーラー	SAMPLE COOLER	(株式会社島津製作所)

～125g（平均体重±20%の範囲内）であった。動物は各投与段階の投与前日に段階内（群内）の体重ができるだけ均等となるよう体重層別化無作為抽出法により1段階3匹選抜（群分け）した。動物の個体識別は入荷時に小動物用耳標を付けて行った。飼育ケージには、投与日ごとに色分けしたケージラベルに試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び投与日を明記し表示した。余剰動物は、試験系から除外した。

注)：注文匹数は15匹であったが、実際には16匹が納入された。

4. 飼育条件

動物は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ （実測値：20～25 $^{\circ}\text{C}$ ）、相対湿度 $50 \pm 20\%$ （実測値：42～51%）、換気回数1時間当たり10～15回、照明1日12時間（07：00～19：00）となるように設定した飼育室（飼育室番号：103号室）でブラケット式金属製網ケージ（W 250× D 350× H 200 mm：日本ケージ株式会社）に個別収容し、固形飼料 CRF-1（オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：040608）及び飲料水（御殿場市営水道水：給水瓶使用）を自由に摂取させ飼育した。

飼料は使用したロットについて財団法人日本食品分析センターで分析したデータを入手し、飲料水は水道法に準拠した水質の分析を財団法人静岡県生活科学検査センターに定期的（年4回）に依頼してそのデータを入手し、それぞれ混入物質などの異常がないことを確認して当該報告書の写しを保存した。

5. 投与経路の選択理由、投与方法及び観察期間

投与経路は毒性試験ガイドラインに準じ、経口を選択した。

投与容量は10 mL/kg 体重とし、投与前一夜（約16時間）絶食させたラットに胃ゾンデを用いて、所定量の被験液を1回強制経口投与した。絶食後の再給餌は投与6時間後の一般状態の観察終了後に実施した。また、観察期間は投与後14日間とした。

6. 投与量及び試験手順

被験物質の急性経口毒性は極めて弱いと予想された。したがって、開始投与量は2000mg/kgを選択した。以降の投与量については、毒性試験ガイドライン「急性毒性等級法」の試験手順に準じて設定した。すなわち、第1段階の投与において死亡動物が認められなかったことから、第2段階の投与量も2000mg/kgを選択した。1段階（1群）の動物数は雌3匹とした。群構成を次に示す。

投与段階	投与量 (mg/kg)	被験物質濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg 体重)	性	動物数	動物番号
第1段階	2000	200	10	雌	3	1101~1103
第2段階	2000	200	10	雌	3	2101~2103

7. 検査方法

1) 一般状態及び生死の観察

投与後 6 時間は頻繁（投与直後～投与 5 分後、～15 分後、～30 分後、～1 時間後、～2 時間後、～4 時間後、～6 時間後）に、その後は 1 日 1 回（08：15～11：34）14 日間、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物の異常などの一般状態を観察した。

2) 体重測定

投与日の投与直前（09：11～09：52）に体重を測定し、これを投与液量算出の基準にした。更に、投与 1、2、3、7、10 及び 14 日後の午前中（08：17～11：27）に体重を測定した。

3) 病理学検査

全動物は 14 日間の観察期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死させ、体外表並びに頭部、胸部及び腹部の器官・組織を肉眼的に観察した。なお、剖検において被験物質投与に起因すると考えられる変化が認められなかったことから、器官・組織の保存は行わなかった。

8. LD₅₀ 値の推定

毒性試験ガイドライン「急性毒性等級法」に従って、投与後 14 日間の死亡状況をもとに、おおよその LD₅₀ 値を推定した。

試験結果

1. LD₅₀ 値

死亡状況及びLD₅₀ 値を Table 1 に示した。

2000mg/kg を投与した第 1 及び第 2 段階のいずれにも死亡動物は認められなかった。したがって、LD₅₀ 値は 2000mg/kg を上回るものと推定された。

2. 一般状態

一般状態を Table 2、3 に示した。

各段階いずれの動物にも、観察期間を通じて一般状態に異常はみられなかった。

3. 体重

体重変化を Fig. 1、Table 4、5 に示した。

各段階いずれの動物にも、観察期間を通じて体重推移に異常は認められなかった。

4. 剖検

剖検所見を Table 6、7 に示した。

各段階いずれの動物にも、体外表並びに頭部、胸部及び腹部の器官・組織に異常はみられなかった。

考 察

モノオレイン酸グリセリルの急性経口毒性を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を 1 投与段階（1 群）につき雌 3 匹ずつ用いて「急性毒性等級法」により検討した。投与は 2000mg/kg の投与量で 2 段階行った。

2000mg/kg を投与した 2 段階の投与において死亡動物は認められなかったことから、LD₅₀ 値は 2000mg/kg を上回るものと推定された。

一般状態、体重及び剖検では、各段階のいずれの動物にも異常はなく、被験物質投与の影響は認められなかった。

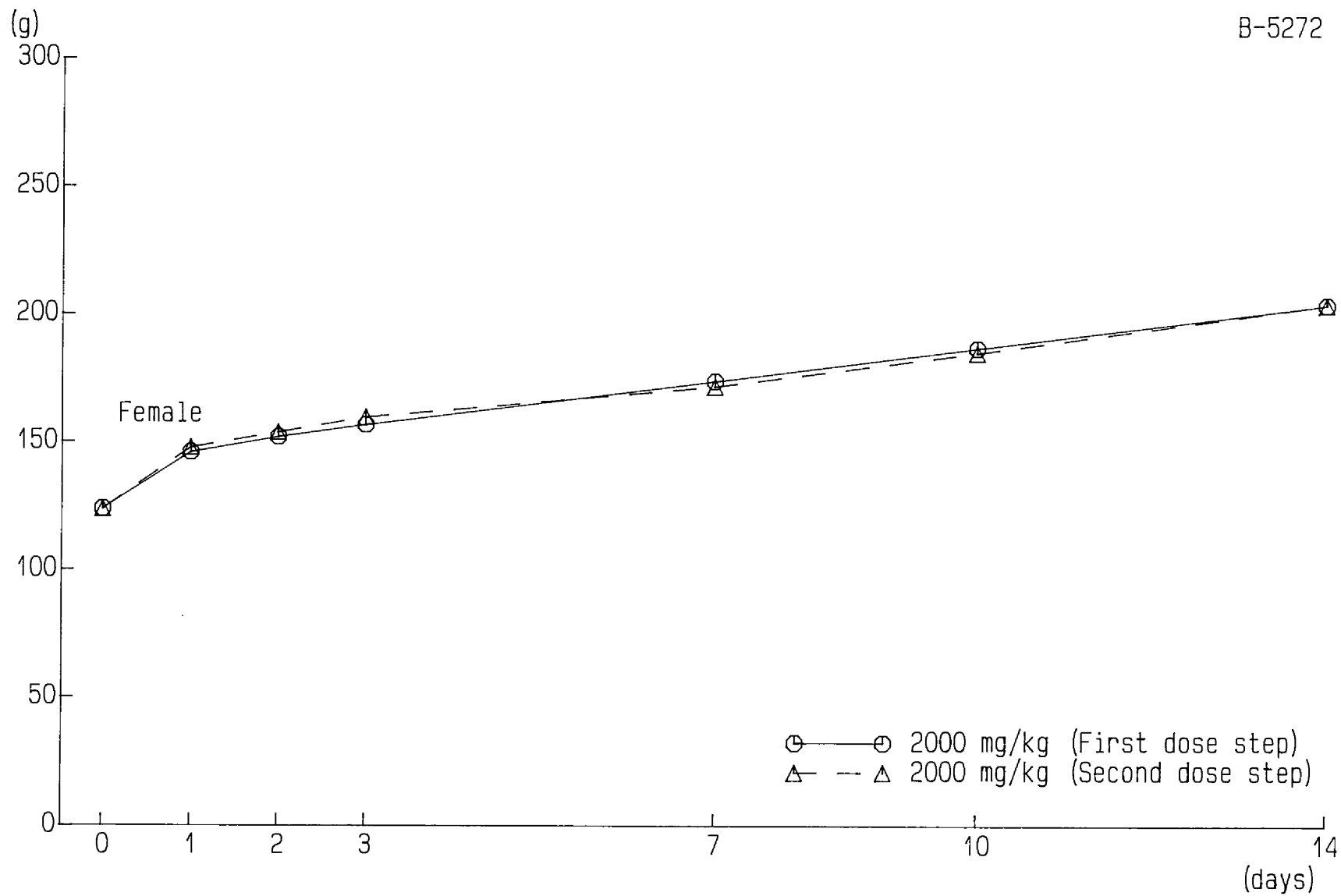


Fig.1 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats

———— Body weight ————

Table 1 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats
Mortality and LD₅₀ values
Female

Dose mg/kg	Number of animals	Distribution of death																		Mortality	LD ₅₀ (mg/kg)					
		minutes			hours				days																	
		i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			12	13	14		
2000 (1)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	> 2000
2000 (2)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	

(1): First dose step

(2): Second dose step

i : Immediately after dosing

Table 2 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats

Individual clinical signs

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (First dose step)

Animal number	minutes			hours				days														
	i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

i : Immediately after dosing

- : No abnormality

Table 3 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats

Individual clinical signs

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (Second dose step)

Animal number	minutes			hours				days														
	i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
2101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

i : Immediately after dosing

- : No abnormality

Table 4 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats

Individual body weight

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (First dose step)

Animal number	Day after administration							Gain 0-14
	0	1	2	3	7	10	14	
1101	123	144	146	152	170	176	191	68
1102	123	144	151	158	176	188	202	79
1103	125	150	160	162	177	198	218	93
Mean	124	146	152	157	174	187	204	80
S.D.	1	3	7	5	4	11	14	13

Unit : g

Table 5 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats

Individual body weight

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (Second dose step)

Animal number	Day after administration							Gain 0-14
	0	1	2	3	7	10	14	
2101	124	156	160	164	176	192	209	85
2102	125	146	151	158	168	179	199	74
2103	123	143	151	158	172	184	203	80
Mean	124	148	154	160	172	185	204	80
S.D.	1	7	5	3	4	7	5	6

Unit : g

Table 6 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats
 Individual gross pathological findings
 Sex : Female
 Dose (mg/kg) : 2000 (First dose step)

Organs	Findings	Animal number		
		1101	1102	1103
External appearance		-	-	-
Brain		-	-	-
Spinal cord		-	-	-
Sciatic nerve		-	-	-
Pituitary		-	-	-
Salivary gland		-	-	-
Submandibular lymph node		-	-	-
Trachea		-	-	-
Thyroid		-	-	-
Thoracic cavity		-	-	-
Thymus		-	-	-
Heart		-	-	-
Lung		-	-	-
Abdominal cavity		-	-	-
Liver		-	-	-
Spleen		-	-	-
Pancreas		-	-	-
Kidney		-	-	-
Adrenal		-	-	-
Esophagus		-	-	-
Stomach		-	-	-
Small intestine		-	-	-
Large intestine		-	-	-
Mesenteric lymph node		-	-	-
Bone marrow		-	-	-
Femoral muscle		-	-	-
Urinary bladder		-	-	-
Ovary		-	-	-
Uterus		-	-	-
Vagina		-	-	-
Other tissues or organs		-	-	-

- : No abnormality

Table 7 Acute oral toxicity study of Glyceryl Oleate in rats
 Individual gross pathological findings
 Sex : Female
 Dose (mg/kg) : 2000 (Second dose step)

Organs	Findings	Animal number		
		2101	2102	2103
External appearance		-	-	-
Brain		-	-	-
Spinal cord		-	-	-
Sciatic nerve		-	-	-
Pituitary		-	-	-
Salivary gland		-	-	-
Submandibular lymph node		-	-	-
Trachea		-	-	-
Thyroid		-	-	-
Thoracic cavity		-	-	-
Thymus		-	-	-
Heart		-	-	-
Lung		-	-	-
Abdominal cavity		-	-	-
Liver		-	-	-
Spleen		-	-	-
Pancreas		-	-	-
Kidney		-	-	-
Adrenal		-	-	-
Esophagus		-	-	-
Stomach		-	-	-
Small intestine		-	-	-
Large intestine		-	-	-
Mesenteric lymph node		-	-	-
Bone marrow		-	-	-
Femoral muscle		-	-	-
Urinary bladder		-	-	-
Ovary		-	-	-
Uterus		-	-	-
Vagina		-	-	-
Other tissues or organs		-	-	-

- : No abnormality