
ビニルトリメトキシシランのラットを用いる単回経口投与毒性試験

最 終 報 告 書

作成日 2005年12月8日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

信頼性保証書

試験番号：401223

表 題：ビニルトリメトキシシランのラットを用いる単回経口投与毒性試験

当試験に関して、2004年4月15日から2005年12月8日にかけて調査を実施し、その結果は運営管理者及び試験責任者に報告した。

当試験が「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」（平成15年11月21日：薬食発第1121003号，平成15・11・17製局第3号，環保企発第031121004号）及びOECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE (OECD 化学物質の安全性試験の実施に関する基準) に従って実施され、この最終報告書には試験の方法が正確に記載され、かつ生データが正確に反映されていることを保証する。

(調査の状況は、別紙1のとおりである。)

2005年12月8日

株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所

信頼性保証部門責任者



別紙 1

調査の状況

調査項目	調査実施日	調査結果の報告日
1. 試験計画書及び主計画表	2004年 4月15日	2004年 4月15日
2. コンピュータプロトコール	2004年 4月21日	2004年 4月21日
3. 動物の受け入れ<第1クール>	2004年 5月12日	2004年 5月12日
4. 被験物質の管理	2004年 5月19日	2004年 5月19日
5. 検体の調製<第1クール>	2004年 5月19日	2004年 5月19日
6. 群分け及び個体識別<第1クール>	2004年 5月19日	2004年 5月19日
7. 投与<第1クール>	2004年 5月19日	2004年 5月19日
8. 一般状態観察<第1クール>	2004年 5月19日	2004年 5月19日
9. 体重測定<第1クール>	2004年 5月26日	2004年 5月26日
10. 動物飼育管理<第1クール>	2004年 5月26日	2004年 5月26日
11. 試験計画書変更書(No. 1)	2004年 5月31日	2004年 5月31日
12. 被験物質の管理(再調査)	2004年 5月31日	2004年 5月31日
13. 剖検<第1クール>	2004年 6月 2日	2004年 6月 2日
14. 検体の調製<第2クール>	2004年 6月 2日	2004年 6月 2日
15. 投与<第2クール>	2004年 6月 2日	2004年 6月 2日
16. 一般状態観察<第2クール>	2004年 6月 2日	2004年 6月 2日
17. 標本作製(病理:切り出し)	2004年 6月 4日	2004年 6月 9日
18. 体重測定<第2クール>	2004年 6月 9日	2004年 6月 9日
19. 動物飼育管理<第2クール>	2004年 6月 9日	2004年 6月 9日
20. 動物の受け入れ<第3クール>	2004年 6月 9日	2004年 6月 9日
21. 標本作製(病理:薄切)	2004年 6月10日	2004年 6月10日
22. 試験計画書変更書(No. 2)	2004年 6月11日	2004年 6月11日
23. 検体の調製<第3クール>	2004年 6月16日	2004年 6月16日
24. 投与<第3クール>	2004年 6月16日	2004年 6月16日
25. 一般状態観察<第3クール>	2004年 6月16日	2004年 6月16日
26. 剖検<第2クール>	2004年 6月16日	2004年 6月16日
27. 剖検<第3クール>	2004年 6月30日	2004年 6月30日
28. 生データ	2004年 8月19日 ～ 8月20日	2004年 8月20日
29. 標本	2004年 8月20日	2004年 8月20日
30. 最終報告書(一次案)	2004年 8月20日	2004年 8月20日
31. 生データ(再調査)	2004年 8月30日	2004年 8月30日
32. 最終報告書(一次案)(再調査)	2004年 8月30日	2004年 8月30日
33. 最終報告書	2005年12月 8日	2005年12月 8日

最終報告書作成者署名

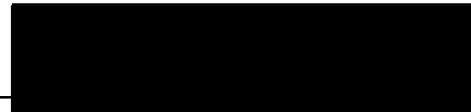
試験番号：401223

表 題：ビニルトリメトキシシランのラットを用いる単回経口投与毒性試験

2005 年 12 月 8 日

株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所

試験責任者



被験物質名：ビニルトリメトキシシラン(CAS No. 2768-02-7)

試験系：Crj:CD(SD)IGS 雌ラット(SPF)

試験委託者：厚生労働省 医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

試験施設：株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所
岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地

試験目的：当試験は、ビニルトリメトキシシランが人に摂取された場合の健康への影響を推定するためにビニルトリメトキシシランを雌ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。

準拠したガイドライン：

OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method (Revised Guideline 423)

遵守した GLP：

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」(平成15年11月21日：薬食発第1121003号,平成15・11・17製局第3号,環企発第031121004号)及び OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE(OECD 化学物質の安全性試験の実施に関する基準)

遵守した動物の福祉に関する法令など：

「動物の愛護及び管理に関する法律」(昭和48年10月1日法律第105号,平成11年12月22日改正),「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」(昭和55年3月27日総理府告示第6号,平成14年5月28日一部改正)及び「動物実験に関する指針」(昭和62年5月22日社団法人日本実験動物学会)

試験開始日：2004年4月14日

試験終了日：2005年12月8日

試験実施日：

<第1回試験>	
動物入手日	2004年5月12日
実験開始日(群分け日及び投与日)	2004年5月19日
最終剖検日	2004年6月2日
観察終了日(病理組織所見最終化日)	2004年6月15日
<第2回試験>	
動物入手日	2004年5月26日
群分け日及び投与日	2004年6月2日
観察終了日(最終剖検日)	2004年6月16日
<第3回試験>	
動物入手日	2004年6月9日
群分け日及び投与日	2004年6月16日
実験終了日[観察終了日(最終剖検日)]	2004年6月30日

資料、標本及び被験物質の保存場所：

当試験の実施により得られたすべての資料及び標本並びに保存すべき被験物質は、最終報告書提出後10年間は株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所の資料保管室、標本保管室及び被験物質保管室にそれぞれ保存する。その後は、試験委託者と協議の上で決定する。

試験計画書に従わなかったこと：

1. 被験物質保管室の保管庫(使用冷蔵庫:RC-M501, 株式会社日立製作所)の温度が許容範囲(2~8℃)を逸脱し、2004年4月25日に最高8.2℃, 2004年6月14日に最高12.0℃, 2004年7月4日に最高12.0℃, 2004年9月15日に最高12.0℃と2004年9月23日に最低1.8℃となった。しかし、いずれの温度の逸脱幅及び逸脱時間ともわずかであり、試験成績への影響はないと判断した。
2. 被験物質の秤量に使用する電子天秤として AT250 を予定していたが、PM2500 も使用した。これは、被験物質の秤取量に対応しての逸脱であり、試験成績への影響はないと判断した。
3. 飼育室の湿度(許容範囲:40~70%)が、2004年5月24日に最低34%となった。しかし、湿度の逸脱幅及び逸脱時間はわずかであり、試験成績への影響はないと判断した。

その他には、当試験では試験計画書に従わなかったことはなかった。

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態：

当試験の実施期間中に、予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態は認められなかった。

試験従事者及び業務分担

試験責任者: [REDACTED]

(試験計画書の作成, 試験実施の指示, データの確認, 最終報告書の作成)

試験従事者:

[REDACTED]

(検体の投与, 一般状態観察, 動物の一般飼育管理)

[REDACTED]

(剖検, 病理組織標本作製, 病理組織学検査)

[REDACTED]

(被験物質の管理, 投与検体の調製)

[REDACTED]

(投与検体中の被験物質濃度測定)

[REDACTED]

(統計解析)

目次

要約	8
緒言	9
方法	9
1. 被験物質及び媒体	9
2. 投与検体及び濃度確認	9
3. 使用動物及び飼育条件	9
4. 投与経路, 投与方法, 群構成及び投与量	11
5. 観察及び検査項目	11
6. 統計解析	12
結果	12
1. 死亡状況, LD ₅₀ 値及び一般状態	12
2. 体重	12
3. 剖検	13
4. 病理組織学検査	13
考察	13
文献	13

Attachment, Table, Fig. 及び Appendix の目次

Attachment 1	Stability of silane, ethenyltrimethoxy- in test preparations	14
Attachment 2-1 ~2-3	Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- in dosing preparation	15~17
Table 1	Mortality and LD ₅₀ value of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-	18
Table 2	General signs of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-	19
Table 3	Body weights of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-	20
Table 4	Necropsy findings of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-	21
Table 5	Histopathological findings of dead female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-	22
Fig.1	Chemical structure of silane, ethenyltrimethoxy-	23
Appendix 1-1~ 1-3	Individual general signs of female rats	24~ 26
Appendix 2-1~ 2-3	Individual body weights (g) of female rats	27~ 29
Appendix 3-1	Individual necropsy findings of dead female rats	30
Appendix 3-2~ 3-4	Individual necropsy findings of surviving female rats	31~ 33
Appendix 4	Individual histopathological findings of dead female rats	34

要約

ビニルトリメトキシシランを雌ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。投与量は、第1回試験は2000 mg/kg、第2回試験及び第3回試験は300 mg/kgとした。媒体にはトウモロコシ油を用いた。使用動物数は各3例とした。

1. 死亡状況及び一般状態

死亡例は、2000 mg/kg 投与で投与後3日に2例に認められた。

一般状態において、2000 mg/kg 投与で下痢、肛門周囲の汚れ及び赤色尿がみられた。300 mg/kg 投与では、下痢及び肛門周囲の汚れがみられた。

2. 体重

2000 mg/kg 投与では、投与後1日に体重の低値がみられた。300 mg/kg 投与では、体重推移に異常はみられなかった。

3. 剖検

2000 mg/kg 投与の死亡例で胸腺及び脾臓の小型化がみられた。300 mg/kg 投与では、剖検所見に異常はみられなかった。

4. 病理組織学検査

2000 mg/kg 投与の死亡例で胸腺に皮質の萎縮、脾臓に赤脾髄及び白脾髄の萎縮がみられた。

以上の結果から、ビニルトリメトキシシランのLD₅₀値は、300 mg/kg と2000 mg/kg の間にあると推定される。

緒言

ビニルトリメトキシシラン(CAS No. 2768-02-7)が人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method (Revised Guideline 423)に従って、ビニルトリメトキシシランを雌ラットに1回経口投与して、その毒性について検討した。

方法

1. 被験物質及び媒体

被験物質のビニルトリメトキシシラン(CAS No. 2768-07-7)は、Fig.1 に示す化学構造を有し、無色透明の液体で微臭があり、沸点:123 °C, 蒸気圧:2.7 kPa 以下/25 °C, 揮発性:なし, 融点:0 °C 以下, 比重又は嵩比重:0.97 (25°C), 水に難溶(加水分解性あり)である¹⁾。当試験には、XXXXXXXXXXから入手したものをを用いた[製造元:XXXXXXXXXX, Lot No. 308595, 含量:100%]。入手後は、試験施設の被験物質保管室の保管庫(使用冷蔵庫:RC-M501, 株式会社日立製作所)に冷蔵(設定:4°C, 実測値:1.8~12.0 °C)・遮光の条件下で保管した。反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験の投与期間終了後に被験物質をXXXXXXXXXXへ返却し、XXXXXXXXXXでそれを再分析した結果、純度は 99.8%であり、使用期間中の安定性が確認された。

媒体として、トウモロコシ油[以下, Corn Oil, Lot No. V3N5420, ナカライテスク株式会社, 使用期限:2008年10月29日, 保管条件:室温(設定:23°C, 実測値:19.6~27.3 °C), 保管場所:被験物質保管室の保管庫]を用いた。

2. 投与検体及び濃度確認

ビニルトリメトキシシランは、必要量を秤量(使用電子天秤:AT250 及び PM2500, メトラー・トード株式会社)後、Corn Oil で所定濃度となるように溶解して調製した。

20 及び 200 mg/mL の調製液は、調製後、冷蔵及び遮光の条件下で7日間保管後、さらに室温及び遮光の条件下で6時間保管しても安定性に問題のないことが確認されている²⁾(Attachment 1)。投与検体は、用時調製とし、調製後6時間以内に使用した。投与後の残余投与検体は廃棄した。

投与に使用した投与検体中の被験物質濃度をガスクロマトグラフ(GC-14B, 株式会社島津製作所)で測定した。その結果、被験物質含量は表示濃度の 96.2~100.3%と目標値の範囲内(100±10%)であった。従って、各投与検体中の含量に問題はなかった(Attachment 2-1~2-3)。

3. 使用動物及び飼育条件

3.1. 動物種及び系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかである Crj:CD(SD)IGS 雌ラット(SPF)を用いた。動物は、日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育

センター)から7週齢で2004年5月12日(第1回試験用), 2004年5月26日(第2回試験用)及び2004年6月9日(第3回試験用)に各5匹を入手した。入手後1日の体重範囲は, 167~189 gであった。

3.2. 検疫及び馴化, 群分け法並びに個体識別法

入手した動物は, 第1回試験, 第2回試験及び第3回試験とも5日間の検疫期間及びその後2日間の馴化期間を設けた。この間に, 体重測定(使用電子天秤:PM2000, PB3002及びPG2002-S, メトラー・トレド株式会社)を4回と一般状態の観察を毎日行って検疫・馴化とし, 一般状態及び体重推移に異常の認められなかった動物を群分け後, 試験に用いた。

群分けは, 第1回試験, 第2回試験及び第3回試験とも投与日にコンピュータを用いて無作為抽出法により試験に用いる各3例に動物番号を割り当てた。群分け後の残余動物は, 投与日にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

動物の個体識別は, 検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法及び油性インクによる色素塗布法を, 群分け後は油性インクによる色素塗布法及び耳パンチ法を併用して行った。さらに, 検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号, 入手年月日及び検疫・馴化動物番号を記入したラベルを, 群分け後の各ケージには試験番号, 投与量及び動物番号を記入し, 色分けしたラベルを取り付けた。

3.3. 環境条件及び飼育管理

動物は, 設定温度 23 °C(実測値:20~24 °C), 設定湿度 55%(実測値:34~65%), 明暗各 12 時間(照明:午前6時~午後6時), 換気回数 12 回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持された飼育室(E棟8号室, ただし, 検疫期間中はE棟7号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中及び群分け後とも, ステンレス製五連ケージ(W:755×D:210×H:170 mm)を用いて個別飼育した。ケージの受け皿及び給水瓶の交換は1週間に2回以上, ケージ及び給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお, 動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)及び0.02%次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

3.4. 飼料及び飲料水

飼料は, 製造後5ヵ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ, 自由に摂取させた。ただし, 投与前日の夕刻(午後3時30分~4時00分)から投与までの約18時間30分と投与後約6時間まで絶食させ, その後に飼料を与えた。使用した飼料と同一ロットの飼料の分析結果は, 財団法人日本食品分析センター及びオリエンタル酵母工業株式会社で実施した成績を入手した。

飲料水は, 水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし, 群分け時から投与後約6時間までは絶水させ, その後に飲料水を与えた。飲料水の水質検査結果は, ほぼ6ヵ月ごとに東西化学産業株式会社 東日本分析センターで実施した成績を入手した。

飼料及び飲料水の分析結果は, いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路, 投与方法, 群構成及び投与量

4.1. 投与経路及び投与方法

ビニルトリメトキシシランは, 経口的に人に摂取される可能性が考えられるため, 投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては, 金属製経口胃ゾンデ(有限会社フチガミ器械)を取り付けたポリプロピレン製ディスポーザブル注射筒(テルモ株式会社)を用いて, 強制経口投与した。投与液量は, 投与直前に測定した体重を基準として 10 mL/kg で算出した。投与時刻は午前 10 時 15 分~10 時 33 分の間で, 投与回数は 1 回とした。

投与日の週齢は 8 週齢であり, 体重範囲は 173~186 g であった。

4.2. 群構成及び投与量

群構成は, 下記のように設定し, 各試験の動物数は, 3 例とした。

<第 1 回試験>

試験群	投与量(濃度)	動物数(動物番号)
ビニルトリメトキシシラン	2000 mg/kg (200 mg/mL)	3 (F01151~F01153)

ビニルトリメトキシシランのラット経口投与による LD₅₀ 値は 11300 mg/kg との情報がある¹⁾。従って, OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method (Revised Guideline 423)で最高用量とされている 2000 mg/kg を第 1 回試験の投与量とした。

<第 2 回試験>

試験群	投与量(濃度)	動物数(動物番号)
ビニルトリメトキシシラン	300 mg/kg (30 mg/mL)	3 (F01251~F01253)

第 1 回試験の 2000 mg/kg 投与で 2 例が死亡したため, 300 mg/kg を第 2 回試験の投与量とした。

<第 3 回試験>

試験群	投与量(濃度)	動物数(動物番号)
ビニルトリメトキシシラン	300 mg/kg (30 mg/mL)	3 (F01351~F01353)

第 2 回試験の 300 mg/kg 投与で死亡例が認められなかったため, 300 mg/kg を第 3 回試験の投与量とした。

5. 観察及び検査項目

5.1. 観察期間

投与後 14 日間とした。

5.2. 一般状態

投与日は投与後 6 時間(投与直後～投与後 30 分, 投与後 2, 4 及び 6 時間)まで, 投与翌日からの観察期間中は 1 日 1 回, 一般状態及び死亡の有無を観察した。

5.3. 体重測定

投与日(投与直前)並びに投与後 1, 3, 7, 10 及び 14 日に測定した(使用電子天秤:PM2000, PB3002 及び PG2002-S, メトラー・トレド株式会社)。

5.4. 剖検

死亡動物は, 速やかに剖検した。剖検で異常が認められた器官・組織(胸腺及び脾臓)は, 20 vol%中性緩衝ホルマリンで固定後, 10 vol%中性緩衝ホルマリンに保存した。

生存動物は, 観察期間終了時にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

5.5. 病理組織学検査

投与後 24 時間以上生存した死亡例の剖検において, 異常の認められた器官・組織(胸腺及び脾臓)は, パラフィン包埋標本作製後, HE 染色組織標本作製し, 病理組織学検査を実施した。

6. 統計解析

LD₅₀ 値は概略の範囲を推定した。

体重は, 各群で平均値及び標準偏差を算出した。

結果

1. 死亡状況, LD₅₀ 値及び一般状態(Table 1~2, Appendix 1-1~1-3)

死亡例は, 第 1 回試験の 2000 mg/kg 投与で投与後 3 日に 2 例に認められた。第 2 回試験及び第 3 回試験の 300 mg/kg 投与では, 死亡例は認められなかった。以上の結果から, ビニルトリメトキシシランの LD₅₀ 値は, 300 mg/kg と 2000 mg/kg の間にあると推定される。

一般状態において, 第 1 回試験の 2000 mg/kg 投与で投与後 4 時間に下痢及び肛門周囲の汚れが 1 例, 投与後 1 日に赤色尿が 3 例にみられた。第 2 回試験の 300 mg/kg 投与では, 投与後 2 時間に下痢及び肛門周囲の汚れが 2 例, 投与後 6 時間に肛門周囲の汚れが 1 例にみられた。第 3 回試験の 300 mg/kg 投与では, 異常はみられなかった。

2. 体重(Table 3, Appendix 2-1~2-3)

第 1 回試験の 2000 mg/kg 投与では, 投与後 1 日に体重の低値がみられたが, 投与後 3 日以降の体重は順調に推移した。第 2 回試験及び第 3 回試験の 300 mg/kg 投与では, 体重は順調に推

移した。

3. 剖検 (Table 4, Appendix 3-1~3-4)

第1回試験の2000 mg/kg 投与による死亡例では、胸腺及び脾臓の小型化が2例にみられた。

第1回試験の2000 mg/kg 投与による生存例並びに第2回試験及び第3回試験の300 mg/kg 投与による生存例では、剖検所見に異常はみられなかった。

4. 病理組織学検査 (Table 5, Appendix 4)

第1回試験の2000 mg/kg 投与による死亡例では、胸腺に皮質の中等度の萎縮、脾臓に赤脾髄及び白脾髄の中等度の萎縮が2例にみられた。

考察

ビニルトリメトキシシランのLD₅₀値は、300 mg/kg と2000 mg/kgの間と考えられる。

ビニルトリメトキシシランの2000 mg/kg 投与により、下痢、肛門周囲の汚れ及び赤色尿、剖検で胸腺及び脾臓の小型化、病理組織学検査で胸腺に皮質の萎縮並びに脾臓に赤脾髄及び白脾髄の萎縮が認められたことから、ビニルトリメトキシシランによる全身状態の悪化により死に至ったと考えられる。

文献

- 1) 信越化学工業株式会社, MSDS
- 2) [REDACTED] ほか：ビニルトリメトキシシラン調製液の安定性確認試験 (試験番号：401223P) (株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)

Stability of silane, ethenyltrimethoxy- in test preparations

Test article: Silane, ethenyltrimethoxy- (Lot No. 308595)
 Vehicle: Corn Oil
 Date of preparation: March 29, 2004
 Method: GC method
 Date of analysis: March 29, 2004, March 30, 2004, April 5, 2004
 Storage condition: 1) Stored under refrigeration (set at 4 °C) and light-shielded conditions for 1 day
 2) Stored at room temperature (set at 23 °C) and light-shielded conditions for 6 hours after being stored under refrigeration (set at 4 °C) and light-shielded conditions for 7 days
 Testing facility: Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc.

Results

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- (mg/mL)	Storage period	Measured concentration (mg/mL)			Recovery rate (%)	Residual rate to the value immediately after preparation (%)
		1st	2nd	Mean		
20	Immediately after preparation	18.92	19.77	19.35	96.8	-
	At 1 day after preparation ¹⁾	20.02	19.91	19.97	99.9	103.2
	At 7 days after preparation ²⁾	19.01	19.25	19.13	95.7	98.9
200	Immediately after preparation	201.9	200.7	201.3	100.7	-
	At 1 day after preparation ¹⁾	200.7	198.4	199.6	99.8	99.2
	At 7 days after preparation ²⁾	198.2	199.2	198.7	99.4	98.7

The concentration of each preparation was within the acceptable range (100±10%).

The stability of each preparation was in conformity with the regulation [Residual rate (%) to the value immediately after preparation was 90% or higher].

Deviation from the protocol:

This analysis was conducted according to the protocol and there were no deviations from the protocol during the analysis.

GLP:

This study was conducted in compliance with the OECD Guidelines for Safety Studies on Chemicals (OECD GLP Standards) and the Law Concerning the Examination and Regulation of Manufacture etc. of Chemical Substances.

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- in dosing preparation

Test article: Silane, ethenyltrimethoxy- (Lot No. 308595)
 Vehicle: Corn oil
 Date of preparation: May 19, 2004
 Method: GC method
 Date of analysis: May 19, 2004
 Testing facility: Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc.

Results (Test group 1: silane, ethenyltrimethoxy- group at 2000 mg/kg)

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- (mg/mL)	Measured concentrations (mg/mL)			Recovery rate (%)
	1st	2nd	Mean	
200	203.1	197.8	200.5	100.3

The concentration of the preparation was within the acceptable range ($100 \pm 10\%$).

Deviation from the protocol:

This analysis was conducted according to the protocol and there were no deviations from the protocol during the analysis.

GLP:

This study was conducted in compliance with the OECD Guidelines for Safety Studies on Chemical (OECD GLP Standards) and Law Concerning the Examination and Regulation of Manufacture etc. of Chemical Substances.

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- in dosing preparation

Test article: Silane, ethenyltrimethoxy- (Lot No. 308595)
 Vehicle: Corn oil
 Date of preparation: June 2, 2004
 Method: GC method
 Date of analysis: June 2, 2004
 Testing facility: Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc.

Results (Test group 2: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- (mg/mL)	Measured concentrations (mg/mL)			Recovery rate (%)
	1st	2nd	Mean	
30	29.05	28.67	28.86	96.2

The concentration of the preparation was within the acceptable range ($100 \pm 10\%$).

Deviation from the protocol:

This analysis was conducted according to the protocol and there were no deviations from the protocol during the analysis.

GLP:

This study was conducted in compliance with the OECD Guidelines for Safety Studies on Chemical (OECD GLP Standards) and Law Concerning the Examination and Regulation of Manufacture etc. of Chemical Substances.

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- in dosing preparation

Test article: Silane, ethenyltrimethoxy- (Lot No. 308595)
 Vehicle: Corn oil
 Date of preparation: June 16, 2004
 Method: GC method
 Date of analysis: June 16, 2004
 Testing facility: Hashima Laboratory, Nihon Bioresearch Inc.

Results (Test group 3: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Concentration of silane, ethenyltrimethoxy- (mg/mL)	Measured concentrations (mg/mL)			Recovery rate (%)
	1st	2nd	Mean	
30	28.90	29.75	29.33	97.8

The concentration of the preparation was within the acceptable range ($100 \pm 10\%$).

Deviation from the protocol:

This analysis was conducted according to the protocol and there were no deviations from the protocol during the analysis.

GLP:

This study was conducted in compliance with the OECD Guidelines for Safety Studies on Chemical (OECD GLP Standards) and Law Concerning the Examination and Regulation of Manufacture etc. of Chemical Substances.

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-

Group	mg/kg	Number of females	Number of deaths														Total number of deaths	LD ₅₀ (mg/kg)							
			Hours after administration						Days after administration																
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			11	12	13	14			
Test group 1 silane, ethenyltrimethoxy-	2000	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	>300	
Test group 2 silane, ethenyltrimethoxy-	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<2000	
Test group 3 silane, ethenyltrimethoxy-	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<2000

Table 2 General signs of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Hours after administration						Days after administration													
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Test group 1 silane, ethenyltrimethoxy-	2000	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
		Normal	3	3	2	3	0	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		Diarrhea	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Perianal soil	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Reddish urine	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Death	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Test group 2 silane, ethenyltrimethoxy-	300	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		Normal	3	1	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
		Diarrhea	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Perianal soil	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Test group 3 silane, ethenyltrimethoxy-	300	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Table 3 Body weights of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-

Group	Test group 1 silane, ethenyltrimethoxy- mg/kg	Test group 2 silane, ethenyltrimethoxy- mg/kg	Test group 3 silane, ethenyltrimethoxy- mg/kg
Number of females	2000	300	300
Days after administration	3	3	3
0	180 ± 1	175 ± 3	183 ± 3
1	179 ± 5	187 ± 3	200 ± 7
3	205	205 ± 2	207 ± 5
7	213	213 ± 4	220 ± 3
10	219	216 ± 6	230 ± 3
14	231	226 ± 7	239 ± 5

Each value shows mean (g) ± S.D.

Table 4 Necropsy findings of female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-

Group mg/kg	Test group 1 silane, ethenyltrimethoxy- 2000	Test group 2 silane, ethenyltrimethoxy- 300	Test group 3 silane, ethenyltrimethoxy- 300
Number of surviving females	1	3	3
Findings			
Normal	1	3	3
Number of dead females	2	0	0
Findings			
Thymus			
Small in size	2	-	-
Spleen			
Small in size	2	-	-

Table 5 Histopathological findings of dead female rats in single dose oral toxicity test of silane, ethenyltrimethoxy-

Group	Test group I silane, ethenyltrimethoxy-
Dose (mg/kg)	2000
Number of females	2
Grade	- ± + 2+ 3+
Findings	
Thymus	
Atrophy, cortex	0 0 0 2 0
Spleen	
Atrophy, red and white pulp	0 0 0 2 0

Grade of histopathological findings: -: no abnormality detected, ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.



Fig. 1 Chemical structure of silane, ethenyltrimethoxy-

Study No. 401223

Appendix 1-1 Individual general signs of female rats

(Test group 1: silane, ethenyltrimethoxy- group at 2000 mg/kg.)

Female No.	Hours after administration						Days after administration													
	0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
F01151	N	N	N	N	C	N	Z	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
F01152	N	N	A,B	N	C	N	Z	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
F01153	N	N	N	N	C	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
Number of females	3	3	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
N	3	3	2	3	0	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
A	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
B	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
C	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Z	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

N: Normal.

A: Diarrhea.

B: Perianal soil.

C: Reddish urine.

Z: Death.

Appendix 1-2 Individual general signs of female rats

(Test group 2: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Female No.	Hours after administration						Days after administration													
	0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
F01251	N	A,B	N	B	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
F01252	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
F01253	N	A,B	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
N	3	1	3	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
A	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
B	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

N: Normal.

A: Diarrhea.

B: Perianal soil.

Appendix 1-3 Individual general signs of female rats

(Test group 3: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Female No.	Hours after administration						Days after administration													
	0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
F01351	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
F01352	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
F01353	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N		
Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		
N	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3		

N: Normal.

Appendix 2-1 Individual body weights (g) of female rats

(Test group 1: silane, ethenyltrimethoxy- group at 2000 mg/kg)

Female No.	Days after administration					
	0	1	3	7	10	14
F01151	180	175	Died 3 days after administration			
F01152	181	185	Died 3 days after administration			
F01153	179	177	205	213	219	231
Number of females	3	3	1	1	1	1
Mean	180	179	205	213	219	231
S.D.	1	5				

Appendix 2-2 Individual body weights (g) of female rats

(Test group 2: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Female No.	Days after administration						
	0	1	3	7	10	14	
F01251	178	191	206	216	216	225	
F01252	175	185	203	214	222	233	
F01253	173	186	205	208	211	220	
Number of females	3	3	3	3	3	3	
Mean	175	187	205	213	216	226	
S.D.	3	3	2	4	6	7	

Appendix 2-3 Individual body weights (g) of female rats

(Test group 3: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Female No.	Days after administration						
	0	1	3	7	10	14	
F01351	181	194	205	222	230	238	238
F01352	182	197	203	216	227	234	234
F01353	186	208	213	222	232	244	244
Number of females	3	3	3	3	3	3	3
Mean	183	200	207	220	230	239	239
S.D.	3	7	5	3	3	5	5

Appendix 3-1 Individual necropsy findings of dead female rats

(Test group 1 : silane, ethenyltrimethoxy- group at 2000 mg/kg)

Female No.	Findings
F01151	Thymus
	Spleen
	Other organs and tissues
F01152	Thymus
	Spleen
	Other organs and tissues

Appendix 3-2 Individual necropsy findings of surviving female rats

(Test group 1: silane, ethenyltrimethoxy - group at 2000 mg/kg)

Female No.	Findings
F01153	Whole organs and tissues Normal

Appendix 3-3 Individual necropsy findings of surviving female rats

(Test group 2: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)	
Female No.	Findings
F01251	Whole organs and tissues Normal
F01252	Whole organs and tissues Normal
F01253	Whole organs and tissues Normal

Appendix 3-4 Individual necropsy findings of surviving female rats

(Test group 3: silane, ethenyltrimethoxy- group at 300 mg/kg)

Female No.	Findings
F01351	Whole organs and tissues Normal
F01352	Whole organs and tissues Normal
F01353	Whole organs and tissues Normal

Appendix 4 Individual histopathological findings of dead female rats

(Test group 1: silane, ethenyltrimethoxy- group at 2000 mg/kg)

Female No.	Organ/Tissue	Findings	Grade
F01151	Thymus	Atrophy, cortex	2+
	Spleen	Atrophy, red and white pulp	2+
F01152	Thymus	Atrophy, cortex	2+
	Spleen	Atrophy, red and white pulp	2+

Grade of histopathological findings: -: no abnormality detected, ±: slight, +: mild, 2+: moderate, 3+: marked.