最 終 報 告 書

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドのラットを用いる急性経口毒性試験

試験番号：4192（ 115 － 110 ）

平成 12 年 9 月 20 日

試験委託者
厚生省　生活衛生局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目　　次

	1~12
1. 要約	2
2. 試験題目	3
3. 試験目的	3
8. 被験物質	5
9. 試験材料および方法	7
10. 試験結果	10
11. 考察および結論	11
Tables	T-01~13
Table 1 Mortality	T-01
Table 2 Clinical observation	T-02
Table 3 Body weight	T-06
Table 4 Gross finding	T-10

1. 要約

1 群につき雌雄各 5 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットを用いて N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの急性経口毒性試験を実施した.
N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドはコーンオイルに懸濁し，雌雄ともに 2000 mg/kg を単回強制経口投与した．また，媒体対照としてコーンオイルのみを投与した群も設定した.
観察期間は 14 日間とし，生死，中毒症状および発現時期，体重推移について観察し，病理学的検査を実施した．その結果は次の通り要約される.

1) 死亡率および LD_{50} 値
死亡動物は，雌雄いずれにも認められなかった．LD_{50} 値は雌雄ともに 2000 mg/kg 以上であった.

2) 一般状態
観察期間を通じて雌雄ともに異常は認められなかった.

3) 体　重
投与後 7 および 14 日の測定において雌雄ともに前回の測定値と比較して増加していた.

4) 病理学的検査
観察期間終了時の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった.

2. 試験題目

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドのラットを用いる急性経口毒性試験

3. 試験目的

N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの安全性を評価するため，OECD テストガイドライン 401（1987 年 2 月 24 日）に従って，ラットを用いる急性経口毒性試験を実施した．
なお，試験の実施は環企研第 233 号，衛生第 38 号，63 基局第 823 号（昭和 63 年 11 月 18 日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第 4 条に規定する試験施設について」および OECD の GLP（1997 年）の基準を満たすものとした．

8. 被験物質

8.1 被験物質名	N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミド
8.2 CAS No.	110-30-5
8.3 ロット番号	
8.4 純　　度	99.7 wt % （生成重量－（不純物の未反応脂肪酸重量＋揮発分重量＋未反応アミン分重量））／生成重量× 100
8.5 提 供 元	
8.6 保管条件	室温
8.7 保管場所	安評センター被験物質保管庫
8.8 化 学 名	N,N'-1,2-ethanediylbis-octadecanamide
8.9 示 性 式	$C_{17}H_{35}CO\text{-}NH\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}NH\text{-}OCC_{17}H_{35}$
8.10 分 子 式	$C_{38}H_{76}O_2N_2$
8.11 分 子 量	593.01（分子式から算出）
8.12 性　　状	白色固体
8.13 融　　点	149.1 ℃
8.14 溶 解 性	水：不溶 アセトン：不溶
8.15 安 定 性	熱に対して安定
8.16 取り扱い上の注意	吸入，皮膚への直接接触を避けるため取り扱い時には，マスクおよびゴム手袋を着用した．

8.17 被験物質保管および残余被験物質の処理　　投与終了後，残りは 28 日間反復投与毒性試験に使用した．

なお，被験物質の試験成績書を『Reference data 1』に示した．

9. 試験材料および方法

9.1 供試動物

供試した Crj:CD(SD)IGS ラット[SPF]は日本チャールス・リバー株式会社（神奈川県横浜市）から5週齢で雌雄各13匹購入した.

動物は検収後，試験環境に馴化し，6週齢で投与した.

動物はあらかじめ体重によって層別化し，無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした.

動物の識別は，耳介入墨法により行うとともに，ケージに動物標識番号（Animal ID-No.）を付けて行った.

投与時の体重は，雄で 160 ～ 179 g，雌で 124 ～ 136 g であった.

9.2 試験系の選択理由

げっ歯類の種は試験ガイドラインで推奨されているラットを選択した．系統は背景データ，感染性疾患に対する抵抗性および遺伝的安定性などを考慮して選択した.

9.3 飼　育

動物は飼育室（W 3.6 × D 10.0 × H 2.5 m，90 m^3）で飼育し，環境調節の目標値は温度23 ± 3 ℃，相対湿度55 ± 20 %，換気回数1時間20回，照明12時間（150 ～ 300 lux，午前7時点灯，午後7時消灯）とした．なお，動物飼育期間中の温湿度の実測値は 23.3 ～ 24.4 ℃および 51 ～ 67 %であり，動物の馴化期間を含め観察期間中データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった.

株式会社　東京技研サービス（東京都府中市）製の水洗式飼育機（W 745.0 × D 50.0 × H 182.0 cm）を使用し，ステンレス製網目飼育ケージ（W 21.5 × D 27.5 × H 19.5 cm，飼育ケージ・スペース 11529 cm^3）に動物を5匹ずつ収容した.

飼育ケージおよび給餌器は週1回取り換えた.

飼料はオリエンタル酵母工業株式会社（東京都中央区）製造の固型飼料 MF（ロット番号：980910）を使用し，飼育期間中，自由に摂取させた．使用した飼料の夾雑物の分析を，オリエンタル酵母工業株式会社が，財団法人　日本食品分析センター（東京都渋谷区）に依頼し実施した．その結果を『Reference data 2』に示した.

また，動物には水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた．水道法に基づく水道水の分析を株式会社　エコプロ・リサーチ（静岡県清水市）に依頼し，実施した．その分析結果を『Reference data 3』に示した.

9.4　試験群の構成

試験群の構成は，次表に示した．

試験群	用量 (mg/kg)	性	動物数	動物番号
1	0	雄	5	1001 ～ 1005
2	2000	雄	5	1101 ～ 1105
3	0	雌	5	2001 ～ 2005
4	2000	雌	5	2101 ～ 2105

[用量設定理由]

本試験に先立って実施した予備試験（投与量：2000 mg/kg，媒体：コーンオイル，投与液量：1.0 mL/100 g BW）の結果，死亡例は認められなかった．従って本試験の用量は雌雄ともに OECD ガイドライン「急性経口」で上限用量として指定されている 2000 mg/kg の 1 用量とし，さらに雌雄それぞれに媒体対照群を設置した．

9.5　投与方法

投与経路は OECD ガイドライン「急性経口」で指示されている強制経口投与経路とした．

投与容量は体重 100 g あたり 1.0 mL とし，個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出した．

投与回数は 1 回とし，投与前 16 時間絶食させた動物に胃ゾンデを用いて 10:00 から 11:00 の間に強制経口投与した．なお，媒体対照群にはコーンオイル（ナカライテスク株式会社，京都府京都市，Lot No. V5E1697）のみを投与した．給餌は，被験物質投与後 3 時間に行った．

9.6　投与液の調製

被験物質をコーンオイル（ナカライテスク株式会社）に懸濁した．調製は用時に行った．

9.7　投与液中の被験物質の安定性および濃度分析

被験物質の特性上，分析器機を用いての測定が不可能であるため，コーンオイル中の安定性の確認および投与液中の被験物質濃度の分析は実施しなかった．

9.8　一般状態の観察

中毒症状および生死の観察は，投与後 6 時間までは 1 時間間隔，その後 14 日までは 1 日 2 回午前と午後（土，日曜日，祝日は午前のみ）実施した．観察された中毒症状は，観察所見記録用紙に記録した．

9.9　体　　重

体重は投与直前，投与後 7 および 14 日に電子天秤 PM 4800（メトラー・トレド社，スイス）を用いて測定した．

9.10　病理学的検査

観察終了時にすべての動物をエーテル麻酔後放血安楽死させ解剖し，肉眼的病理所見を病理解剖所見記録用紙に記録した.

9.11　統計解析

統計学的手法を用いた検定は実施しなかった.

9.12　余剰動物の処分

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた.

10. 試験結果

試験結果は，Table 1 に観察期間中の経日死亡状況および LD_{50} 値を，Table 2 に中毒症状およびその発現時期を示した．また，Table 3 に体重推移を，Table 4 に剖検所見を示した．

1 群につき雌雄各 5 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットを用いて N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの急性経口毒性試験を実施した．
その結果は次の通りである．

1) 死亡率および LD_{50} 値（Table 1）
雌雄ともにいずれの投与群にも死亡動物は認められなかった．従って，LD_{50} 値は雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定された．

2) 一般状態（Table 2）
観察期間を通じていずれの動物にも一般状態に異常は認められなかった．

3) 体　　重（Table 3）
投与後 7 および 14 日の測定ですべての動物の体重が前回の測定値と比較して増加していた．

4) 病理学的検査（Table 4）
観察期間終了時の解剖でいずれの動物にも異常は認められなかった．

11. 考察および結論

1 群につき，雌雄各 5 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットに N,N'-(1,2-エタンジイル)ビスオクタデカンアミドの 2000 mg/kg を強制経口投与した結果，一般状態に異常は見られず，死亡動物も認められなかった．また，観察期間終了時の病理解剖においても異常は認められなかった．
従って LD_{50} 値は雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定された．

Table 1. Mortality

Sex	Group	Dose level (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths on the day														Mortality (%)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Male	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	3	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

LD_{50} Value

Male : > 2000 mg/kg

Female : > 2000 mg/kg

Table 2. Clinical observation

Sex : Male Dose level : 0 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Male Dose level : 2000 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female Dose level : 0 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female Dose level : 2000 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 3. Body weight

Sex : Male (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
1	0	1001	160	230	270
		1002	164	228	276
		1003	166	248	285
		1004	173	257	303
		1005	170	248	292
		Mean ± S.D.	167 ± 5	242 ± 13	285 ± 13

Table 3. -continued Body weight

Sex : Male (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
2	2000	1101	166	242	289
		1102	168	229	269
		1103	179	262	309
		1104	170	251	296
		1105	171	245	282
		Mean ± S.D.	171 ± 5	246 ± 12	289 ± 15

Table 3. -continued Body weight

Sex : Female (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
3	0	2001	127	170	198
		2002	127	165	184
		2003	124	163	194
		2004	127	171	189
		2005	136	187	214
		Mean ± S.D.	128 ± 5	171 ± 9	196 ± 11

Table 3. -continued Body weight

Sex : Female (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
4	2000	2101	125	166	180
		2102	126	172	197
		2103	127	168	186
		2104	134	178	201
		2105	135	183	205
		Mean ± S.D.	129 ± 5	173 ± 7	194 ± 10

Table 4. Gross finding

Sex : Male Dose level : 0 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1001	Sacrificed	14		Normal
1002	Sacrificed	14		Normal
1003	Sacrificed	14		Normal
1004	Sacrificed	14		Normal
1005	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male Dose level : 2000 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1101	Sacrificed	14		Normal
1102	Sacrificed	14		Normal
1103	Sacrificed	14		Normal
1104	Sacrificed	14		Normal
1105	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female Dose level : 0 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2001	Sacrificed	14		Normal
2002	Sacrificed	14		Normal
2003	Sacrificed	14		Normal
2004	Sacrificed	14		Normal
2005	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female Dose level : 2000 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2101	Sacrificed	14		Normal
2102	Sacrificed	14		Normal
2103	Sacrificed	14		Normal
2104	Sacrificed	14		Normal
2105	Sacrificed	14		Normal