

## 最終報告書

3,3'-チオビス (プロパン酸) のラットを用いた  
経口投与による急性毒性試験

(試験番号：B020083)

2003年10月6日

株式会社三菱化学安全科学研究所

## 目 次

緒 言.....	5
要 約.....	6
材料および方法.....	7
1. 被験物質.....	7
2. 試験動物.....	7
3. 動物飼育.....	8
4. 投 与.....	9
5. 投与液の調製.....	10
6. 群構成.....	11
7. 観察・測定項目.....	11
8. 統計学的解析.....	11
9. コンピュータシステムの使用.....	11
結 果.....	12
1. 死亡.....	12
2. 一般状態.....	12
3. 体重.....	12
4. 剖検所見.....	12
考 察.....	13
参考文献.....	14

図および群別表 (ページ 1~8)

## 緒 言

3,3'-チオビス (プロパン酸) は酸化防止剤として用いられている[1].

今回、既存化学物質の安全性点検調査事業の一環としてラットを用いて 3,3'-チオビス (プロパン酸) の急性毒性試験を行い、生体への毒性学的影響について検討したので報告する。

## 要 約

3,3'-チオビス (プロパン酸) を 0 および 2000 mg/kg の用量で雌雄のラットに 1 回経口投与し、毒性を検討した。1 群の動物数は雌雄各 5 匹、観察期間は 14 日間とした。

その結果、死亡動物は認められなかった。一般状態観察、体重測定および剖検において、被験物質投与の影響は認められなかった。

本被験物質の LD<sub>50</sub> 値は、雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると考えられる。

## 材料および方法

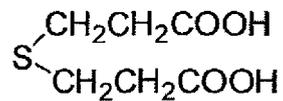
### 1. 被験物質

1.1 名 称 : 3,3'-チオビス (プロパン酸) (略称 : TBPA)

1.2 CAS No. : 111-17-1

1.3 化 学 名 : Propanoic acid, 3,3'-thiobis-

1.4 化 学 式 :



1.5 分 子 量 : 178.21

1.6 物理化学的性状 :

融点 123~134°C, 白色結晶粉末, 吸湿により不安定, 水 (20°C) への溶解度は 2.5%, メタノールへの溶解度は 20%程度.

1.7 入 手 先 :

1.8 入 手 日 : 2002年2月28日

1.9 ロット番号 :

1.10 純 度 : 99.50%

1.11 不 純 物 : SO<sub>4</sub>根 0.02%

水 0.04%

1.12 保 存 条 件 : 冷蔵, 暗所

1.13 安定性の確認 : 入手先より安定性を保証する資料を入手し, 確認した.

### 2. 試験動物

2.1 動 物 種 : ラット

2.2 系 統 : Cj:CD(SD)IGS

2.3 系統選択理由 : げっ歯類を用いた毒性試験に広く使用され, 背景データが豊富であり, 多数の個体の入手が可能である.

2.4 微生物レベル : SPF 動物

2.5 購 入 先 : 日本チャールス・リバー(株) (厚木生産所)

2.6 購入動物数 : 雌雄各 13 匹 (発注動物数 ; 雌雄各 12 匹)

- 2.7 検疫・馴化： 検疫期間は5日間とし、全例の一般状態を1日1回観察して健康状態が良好であることを観察するとともに、動物入荷時および検疫終了時に体重測定し体重の推移に異常がないことを確認した。それ以降も馴化は継続し、入荷日から投与直前まで7日間毎日観察した。
- 2.8 投与時週齢： 5週齢
- 2.9 投与時体重： 動物の体重範囲は、平均体重 $\pm 20\%$ であることを確認した。  
雄；133～150 g，雌；111～126 g
- 2.10 群分け： 投与前日に体重層別化無作為抽出法により、各群の平均体重がほぼ均一になるように群分けした。なお、群分け日に咬創が認められた雄1例を群分けから除外した。
- 2.11 動物の識別： 尾に油性ペンで標識して識別した。ケージには、群分け前は検疫・馴化期間、ケージ番号、試験番号、性別、動物番号およびケージ内匹数を、群分け後は試験番号、被験物質名、試験種、群名（用量）、性別、動物種、系統、動物番号および投与日を記載したラベルを付けた。

### 3. 動物飼育

3.1 飼育室： ラット・マウス飼育室（検疫期間 4125 室，検疫終了後 2124 室）

#### 3.2 飼育環境

- (1) 温度： 許容範囲 19.0～25.0°C，4125 室の実測値 22.0～23.2°C，2124 室の実測値 21.1～22.4°C
- (2) 相対湿度： 許容範囲 35.0～75.0%，4125 室の実測値 46.2～57.9%，2124 室の実測値 56.9～69.5%
- (3) 換気： 6～20 回/時，オールフレッシュエア―供給
- (4) 照明時間： 12 時間/日 (7:00-19:00)

#### 3.3 飼育器材

- (1) ケージ： オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製ケージ (265W × 426D × 200H (mm)，トキワ科学器械(株)) を使用し，7 日以内に 1 回交換した。
- (2) 給餌器： オートクレーブ滅菌したステンレス製固型飼料用給餌器 (トキワ科学器械(株)) を使用し，7 日以内に 1 回交換した。

(3) 給水瓶：オートクレーブ滅菌したポリカーボネート製給水瓶（700 mL，トキワ科学器械㈱）を使用し，7日以内に1回交換した。

(4) 架台：ベンザルコニウム系特殊洗浄剤（マイクロカット，エコラボ㈱）の希釈液で消毒したスチール製架台（トキワ科学器械㈱）を使用した。

### 3.4 床敷

(1) 種類：オートクレーブ滅菌した実験動物用床敷（ベータチップ，日本チャールス・リバー㈱）を使用し，7日以内に1回交換した。

(2) 汚染物質の確認：

残留農薬等の汚染物質の分析結果を定期的に入手し，当研究所の基準に適合していることを確認している。

### 3.5 飼料

(1) 種類：実験動物用固型飼料（MF，オリエンタル酵母工業㈱）

(2) 給餌法：自由摂取とし，7日以内に1回交換した。ただし，2000 mg/kg 群の雄では，第7日～第8日の間に一時的に給餌されなかった。

(3) 汚染物質の確認：

使用するロットの残留農薬等の汚染物質濃度が，当研究所の基準に適合していることを確認した。

### 3.6 飲用水

(1) 種類：5  $\mu$ m フィルター濾過後，紫外線照射した水道水

(2) 給水法：自由摂取とし，7日以内に1回交換した。

(3) 分析：水質検査を定期的実施し，水道法の基準に適合していることを確認している。

3.7 収容動物数：検疫・馴化期間（群分け前）は1ケージあたり5又は4匹（同性），群分け以降は5匹（同性）とした。

## 4. 投与

4.1 経路・方法：経口（強制経口投与）。投与前日の夕方から約18時間絶食したラットにラット用胃ゾンデを装着したディスポーザブルシリンジを用いて投与した。投与後3時間は飼料を与えなかった。

4.2 回数：1回

## 4.3 投与条件の選択理由：

OECD ガイドラインに規定されている。

## 4.4 用量および用量の選択理由：

3,3'-チオビス（プロパン酸）をラットに経口投与したときのLD<sub>50</sub>値は、3000 mg/kg との情報を得た。また、予備試験（試験番号；B020909、用量；0, 500, 2000 mg/kg、動物数；雌雄各3匹/用量、観察期間；投与後5日間）を実施した。その結果、一般状態観察、体重測定および剖検において、被験物質投与に起因する変化は認められなかった。これらの結果から、本試験はガイドラインの上限である2000 mg/kgの1用量とした。また、媒体（0.5%CMC-Na水溶液）のみを投与する対照群を設けた。

## 4.5 投与液量：10 mL/kgとし、投与直前に測定した体重に基づいて算出した。

## 5. 投与液の調製

5.1 方法：被験物質を必要量秤量し、イエローランプ下で0.5%CMC-Na水溶液（CMC-Na；和光純薬工業㈱、ロット番号LDN0917、注射用水；㈱大塚製薬工場、ロット番号1L86）に乳鉢を用いて懸濁させ、200 mg/mLの被験物質溶液を調製した。調製は、投与の6日前に行い、投与に供するまで冷蔵・遮光保存した。

5.2 安定性の確認：投与液の分析バリデーション試験（試験番号：B020293）において、投与液中の被験物質の冷蔵・遮光保存条件下8日間の安定性を9および200 mg/mLの濃度で滴定終点検出法により確認した（添付資料2）。

## 5.3 濃度・均一性の確認：

投与液を滴定終点検出法により分析し（添付資料1）、その平均値が設定濃度±10%以内であることを確認した。また、均一性（C.V.値が10%以内にあること）を確認した（添付資料3）。

## 6. 群構成

群名	濃度	雄		雌	
		動物数	動物番号	動物数	動物番号
対照*	0 mg/mL	5	30101~30105	5	70101~70105
2000 mg/kg	200 mg/mL	5	30201~30205	5	70201~70205

\*, 0.5%CMC-Na 水溶液

## 7. 観察・測定項目

下記の項目を検査した。なお、日の表記は投与日を第1日とした。

## 7.1 一般状態

全例の生死および外観・行動等の異常について、投与日には投与直前、投与後 0.5, 1, 3 および 6 時間、その後は 1 日 1 回、14 日間観察した。

## 7.2 体重

電子天秤 (EB-3200S, 憐島津製作所) を用いて、投与直前、第 2, 4, 8, 10 および 15 日に全例の体重を測定した。

## 7.3 病理学的検査

全例について、第 15 日にチオペンタールナトリウム (ラボナール, 田辺製薬(株)) の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し、安楽死させた後剖検した。剖検で異常は認められなかったため、器官・組織は採取しなかった。

## 8. 統計学的解析

体重データについて、F 検定を行い、等分散であれば Student の t 検定、等分散でない場合は Aspen-Welch の t 検定を行った。有意水準は 5% とした。

## 9. コンピュータシステムの使用

体重のデータ収集および統計学的解析、一般状態および剖検所見の集計、群分けおよび投与液量の算出には安全性試験システム (MiTOX, 三井造船システム技研(株)) を使用した。当該システムのコンピュータプロトコールにはデータ収集範囲、データ収集の日程等を登録した。コンピュータシステムのプロトコール番号として B020083\_ ( \_ は空白) を用いた。

## 結 果

### 1. 死亡 (Table 1)

対照群, 2000 mg/kg 群の雌雄ともに死亡動物は認められなかった.

### 2. 一般状態 (Table 2, Appendix 1)

対照群, 2000 mg/kg 群の雌雄ともに変化は認められなかった.

### 3. 体重 (Figure 1, Table 3, Appendix 2)

2000 mg/kg 群の体重は, 雌雄ともに対照群と同様に推移した.

なお, 統計学的に有意ではなかったが, 第 8 日に 2000 mg/kg 群の雄で低値が認められた. しかし, これは第 7 日から第 8 日に一時的に 2000 mg/kg 群の雄で給餌されていなかったためであり, 被験物質投与の影響ではないと考えられる.

### 4. 剖検所見 (Table 4, Appendix 3)

対照群, 2000 mg/kg 群の雌雄ともに変化は認められなかった.

## 考 察

3,3'-チオビス（プロパン酸）を0および2000 mg/kgの用量で雌雄のラットに1回経口投与し、毒性を検討した。

その結果、死亡動物は認められなかった。一般状態観察、体重測定および剖検において、被験物質投与の影響は認められなかった。

本被験物質のLD<sub>50</sub>値は、雌雄ともに2000 mg/kgを上回ると考えられる。

## 参考文献

1. 3,3'-チオジプロピオン酸, 第1部 化学名インデックス. In.: 1994年版 新化学インデックス. 東京: 化学工業日報社, p.388.

## 図 および 群別表

Figure 1	平均体重	1
Table 1	死亡	3
Table 2	一般状態	4
Table 3	体重	6
Table 4	剖検所見	8

最終ページ：8

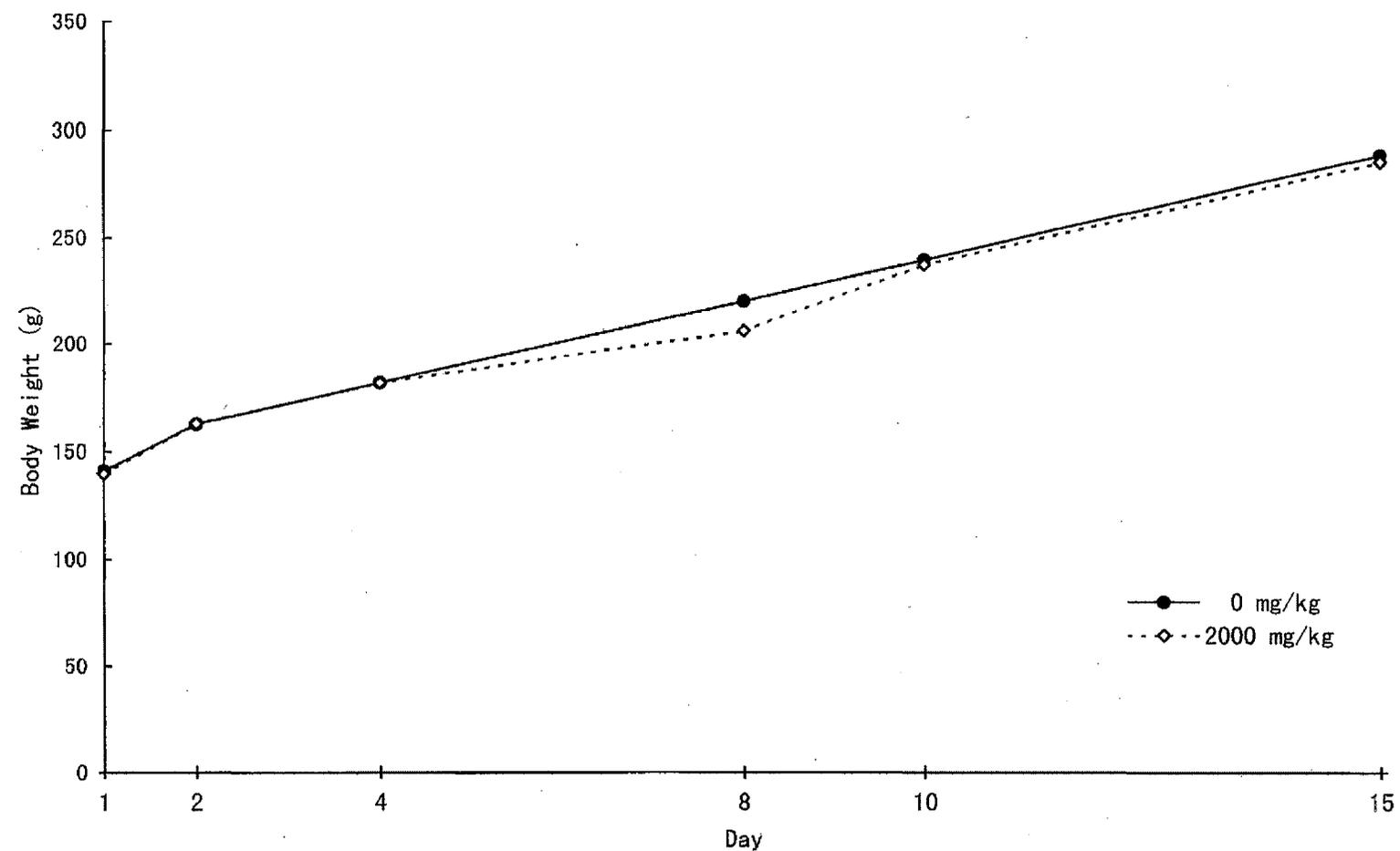


Figure 1 - 1 Mean Body Weight - Male

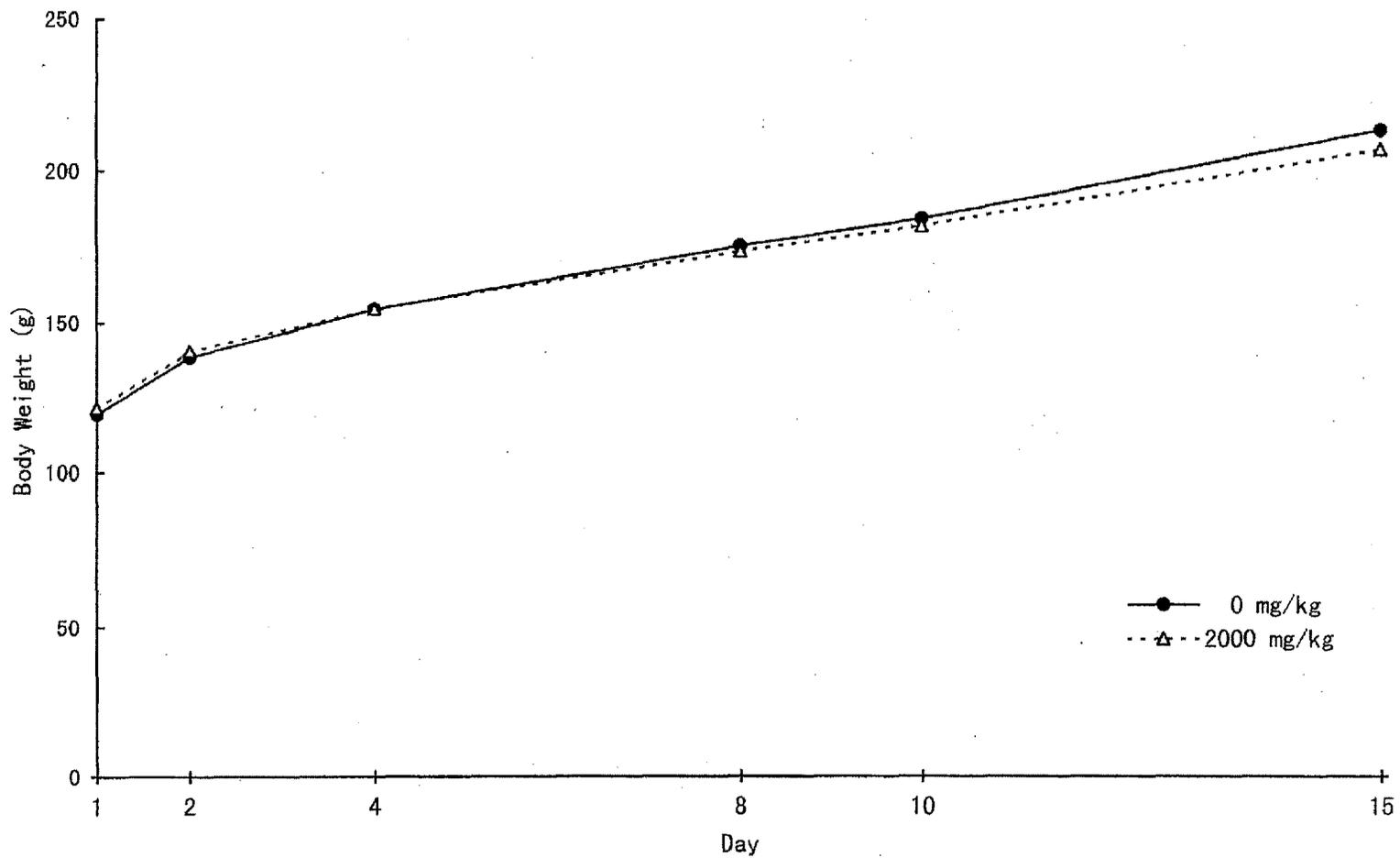


Figure 1 - 2 Mean Body Weight - Female

Table 1 Mortality (Cumulative)

Sex	Test Substance Dose (mg/kg)	Number of Animals	Day Time	1 Pre	30m	1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mortality (%)	
Male	TBPA 0	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	TBPA 2000	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Female	TBPA 0	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	TBPA 2000	5		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Pre , Pre-dose

Table 2 Clinical Sign - Summary

Male

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day 1																		
		Time Pre	30m	1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
TBPA 0	Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
TBPA 2000	Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

+ , Present;    1 , Slight;    2 , Moderate;    3 , Severe;  
Pre , Pre-dose

Test Substance Dose (mg/kg)	Findings	Day 1																		
		Time Pre	30m	1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
TBPA 0	Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
TBPA 2000	Number of Animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

+ , Present;    1 , Slight;    2 , Moderate;    3 , Severe;  
Pre , Pre-dose

Table 3		Body Weight - Summary						Male	Unit : g
Test Substance	Dose (mg/kg)	Day	1	2	4	8	10	15	
TBPA	0	Mean	141.0	162.6	181.8	220.2	240.0	289.6	
		S. D.	4.1	7.1	11.1	13.8	16.1	23.8	
		n	5	5	5	5	5	5	
TBPA	2000	Mean	139.8	162.8	181.8	206.4	237.8	286.4	
		S. D.	6.3	7.7	8.2	11.1	14.7	19.7	
		n	5	5	5	5	5	5	

Significantly different from control : \*, P<0.05; \*\*, P<0.01.

Table 3		Body Weight - Summary						Female	Unit : g
Test Substance	Dose (mg/kg)	Day	1	2	4	8	10	15	
TBPA	0	Mean	119.2	138.4	154.6	175.6	184.4	213.2	
		S. D.	4.9	4.7	6.5	7.1	6.3	7.5	
		n	5	5	5	5	5	5	
TBPA	2000	Mean	121.4	140.4	154.8	174.0	182.2	207.0	
		S. D.	6.0	8.6	8.6	9.3	10.3	9.4	
		n	5	5	5	5	5	5	

Significantly different from control : \*, P<0.05; \*\*, P<0.01.

Table 4	Necropsy Findings - Summary	Scheduled Sacrifice (Day 15)			
		Male		Female	
	Sex				
	Test Substance	TBPA	TBPA	TBPA	TBPA
	Dose (mg/kg)	0	2000	0	2000
Organ	Number of Animals	5	5	5	5
Findings	Number of Animals Examined	<5>	<5>	<5>	<5>

No abnormalities were found in any animals.