ドコサン酸のラットにおける
単回経口投与毒性試験

厚生省生活衛生局　委託

財団法人食品薬品安全センター
秦　野　研　究　所

【目　　次】

要　約 …… 1
緒　言 …… 2
方　法 …… 3
　1．被験物質 …… 3
　2．投与検体の調製 …… 3
　3．使用動物および飼育方法 …… 3
　4．投与量および投与方法 …… 4
　5．観察 …… 5
　6．データ解析法 …… 5
結　果 …… 6
　1．一般状態 …… 6
　2．体重 …… 6
　3．剖検所見 …… 6
　4．結論 …… 6
Table 1～2

【要　　約】

ドコサン酸の Sprague-Dawley 系（Crj:CD）雌雄ラットにおける単回経口投与毒性試験を、OECD 化学物質試験法ガイドラインおよび化学物質 GLP に準拠して実施した。

雌雄とも、1群5匹からなる2群を設け、それぞれに被験物質 2000 mg/kg または溶媒対照物質としてコーン油 10 ml/kg を投与した。投与日を観察第1日とし、観察は投与後14日間行い、観察第15日に全例を剖検した。

観察期間中、供試動物に死亡例はなかった。一般状態の変化としては、投与後間もなく一過性の軟便排泄が、被験物質投与群の雌雄各4例および溶媒対照群の雄全例ならびに雌4例に認められた。その他の一般状態、投与後の体重の推移および剖検所見のいずれにも、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、ドコサン酸のラットにおける単回経口投与による LD_{50}は、雌雄とも 2000 mg/kg を上回ると推定された。

【緒　　言】

ドコサン酸の安全性評価の資料とするために、ラットにおける単回経口投与毒性試験を実施したので、その結果を報告する。

なお、本試験は、「OECD 化学物質試験法ガイドライン」〔401〕急性経口毒性試験（1987年２月24日採択）および化学物質 GLP（昭和59年３月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、改訂昭和63年11月18日、環企研第 233号、衛生第38号、63基局第823号）に準拠して実施した。

【方　　法】

1．被験物質

被験物質として、　　より提供されたドコサン酸（以下 DA と略記、別名：ベヘニン酸またはベヘン酸、ロット番号：　　CAS No.：112-85-6、分子量：340.59、分子式：$C_{22}H_{44}O_2$、比重：0.822(100℃)、融点（凝固点）：76.5℃、沸点：306℃/60 mmHg、純度：85.9wt%、性状：白色粉末）を使用した。受領した被験物質は、使用時まで被験物質保管室または検体調製室で室温にて保管した。

2．投与検体の調製

投与当日に、コーン油（ナカライテスク㈱、ロット番号：V6H2050）を用いて被験物質を 20%(w/v) の濃度となるように攪拌、懸濁した。媒体対照群にはコーン油を用いた。

調製検体の化学分析を実施した結果、コーン油を用いて調製した被験物質の20%(w/v)懸濁液の均一性および冷蔵遮光での９日間の安定性が共に良好であることが確認された(Appendix１、２)。また、本試験で用いた投与検体中の被験物質含量は、調製指示濃度の102%であった(Appendix ３)（注１）。

3．使用動物および飼育方法

４週齢の Sprague-Dawley 系（Crj:CD, SPF）雌雄ラットを、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターから購入し、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて６日間予備飼育した（注２）。試験には、予備飼育中の一般状態に異常が認められなかった個体の中から雌雄各10匹を使用した。雌雄ともに検疫終了時の測定体重をもとに体重別層化無作為抽出法により１群５匹からなる２群に分けた。全飼育期間を通じて、動物を、金属製金網床ケージ（220W×270D×190Hmm、日本ケージ㈱）に１匹ずつ収容し、温度23.3～

（注１）　安定性試験は、予備試験（A-96-032）中の項目として実施されたことになるが、分析方法の検討に時間を要したため、投与日の調製検体が化学分析試料に用いられた。

（注２）動物入荷日：1996年10月23日
入荷時匹数：雄12匹、雌12匹
入荷時体重：雄69.8 ～77.4g(平均73.6 g)、雌 64.6～71.3g(平均 67.2g)
投　与　日：1996年10月29日
検疫終了時体重：雄 117.8～129.9g(平均 123.4g)、
雌　95.2～112.2g(平均 107.0g)

24.3℃、湿度54～68%、換気回数約15回／時、照明12時間（7時～19時）に制御された飼育室で、固型飼料（CE-2、日本クレア㈱）と水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させて飼育した。なお、上記湿度は本試験計画書に記載された飼育室基準湿度（50～65%）の上限を超えているが、かかる基準範囲外湿度の継続時間は2時間未満であったことが確認されており、本試験における飼育室環境に異常はなかったとみなされる。動物の個体識別は油性フェルトペンで雌雄それぞれ尾に一連番号を記入して行い、各飼育ケージには個体識別の補助として試験計画番号、試験系識別番号、投与量、性および動物番号を記入した動物カードを付けた。

4．投与量および投与方法

本試験における投与量は、先に秦野研究所において行った予備試験（A-96-032）の結果をもとに決定した。予備試験では、被験物質 20、200 および 2000 mg/kg 投与群の3群を設け、各群3匹の雄ラットを用いて体重1kg当たり10mℓの投与液量で強制的に経口投与し、その影響を8日間観察した。その結果、軟便排泄以外に一般状態の変化および死亡例は認められなかった。

以上の結果より、本試験の投与量を OECD 化学物質試験法ガイドライン[401]による限度量である 2000 mg/kg とした。また、予備試験において認められた一過性の軟便排泄がコーン油に起因すると考えられたため、溶媒対照群を設けた。投与液量は、体重1kg当たり10mℓとし、動物をあらかじめ約18時間絶食させた後、投与直前に測定した体重を基に投与液量を算出し、ラット用胃管を用いて強制的に経口投与した。投与は午前11時14分～11時30分の間に行った。

群構成

群	投与物質	投与用量 (mg/kg)	動物番号	
			雄	雌
溶媒対照群	コーン油	0	1 ～ 5	11 ～ 15
被験物質投与群	DA	2000	6 ～ 10	16 ～ 20

5．観察

投与日を観察第１日とし、投与後14日間にわたり、死亡例の有無を確認し、各動物の一般状態を観察した。観察は、投与日（観察第１日）においては投与直後から１時間まで連続して行い、以後１時間間隔で投与後６時間まで、観察第２日から15日までは、毎日１回行った。体重は全例について、投与直前、観察第２、４、８、11および15日に測定した。

観察第15日には全例をペントバルビタール・ナトリウム麻酔下で放血屠殺して剖検（注３）した。また、その際 2000 mg/kg 投与群の１例（雄 No. 6）について心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓および胃をホルマリン固定保存したが、肉眼的観察では変化がみられなかったので、病理組織学的検査は行わなかった。

6．データ解析法

体重の測定値について、平均値および標準偏差値を求めた。

（注３）剖検時の肉眼的観察器官・組織
脳、下垂体、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、生殖器、顎下腺、甲状腺、副腎、大動脈、気管、食道、消化管、膀胱、眼球（ハーダー腺を含む）、皮膚、乳腺、頸部および腸間膜リンパ節、大腿骨骨髄、舌

【結　　果】

1．一般状態

雌雄各群とも、観察期間中の死亡例は認められなかった。

一般状態の変化としては、軟便排泄が 2000 mg/kg 投与群の雌雄各４例に投与後30分から６時間まで認められた。しかし、コーン油を投与した溶媒対照群においても、雄全例および雌４例に同様の変化が同時間内に認められた。その他には観察終了日まで雌雄いずれにおいても一般状態の変化は認められなかった。

2．体重（Table 1、2）

雌雄各群とも体重は、観察終了日まで順調に増加した。

3．剖検所見

観察第15日に屠殺剖検を行った結果、いずれの器官および組織にも変化は認められなかった。

4．結論

DA のラットにおける経口投与によるLD_{50}は、雌雄とも 2000 mg/kg を上回ると推定された。

Table 1 Body weight changes in male rats after single oral administration by gavage of DA

Group	Animal No.	Body weight (g) Day 1	2	4	8	11	15
0 mg/kg	1	99.6^{L}	121.8	146.6	196.6^{H}	230.4^{H}	279.2^{H}
	2	99.6^{L}	115.8	137.3^{L}	173.1^{L}	202.3^{L}	240.2^{L}
	3	105.0^{H}	125.9^{H}	152.1^{H}	195.8	228.1	274.9
	4	99.8	114.4^{L}	142.7	185.6	217.1	260.0
	5	99.6^{L}	120.6	141.7	181.8	211.5	257.1
	Mean	100.7	119.7	144.1	186.6	217.9	262.3
	S.D.	2.4	4.7	5.6	9.9	11.7	15.5
2000 mg/kg	6	99.8	116.2^{L}	140.4^{L}	180.6	207.6	253.0
	7	98.8^{L}	121.3	145.4	182.3	207.4	245.2
	8	104.1^{H}	127.0	149.2	188.9	216.8	255.3
	9	100.4	121.8	144.0	176.9^{L}	200.1^{L}	234.0^{L}
	10	103.1	128.3^{H}	152.4^{H}	193.4^{H}	221.1^{H}	269.2^{H}
	Mean	101.2	122.9	146.3	184.4	210.6	251.3
	S.D.	2.3	4.9	4.7	6.6	8.3	13.0

Day 1 : The day of administration
S.D. : Standard deviation from the mean
L : Lowest
H : Highest

Table 2 Body weight changes in female rats after single oral administration by gavage of DA

Group	Animal No.	Body weight (g) Day 1	2	4	8	11	15
0 mg/kg	11	91.8	108.4	127.4	155.2	171.6	197.0
	12	91.1	113.6[H]	128.8	149.7	167.9	186.1
	13	87.3[L]	100.3[L]	120.6[L]	146.5[L]	160.6[L]	175.9[L]
	14	92.2[H]	111.4	130.2[H]	162.9[H]	186.4[H]	213.5[H]
	15	90.2	105.4	124.7	155.8	177.7	202.0
	Mean	90.5	107.8	126.3	154.0	172.8	194.9
	S.D.	2.0	5.2	3.8	6.3	9.8	14.5
2000 mg/kg	16	89.4	109.9	123.1	150.3	165.8	182.9[L]
	17	92.8[H]	108.8	125.9	158.9[H]	174.5[H]	197.3[H]
	18	85.4	102.1[L]	122.1	149.1	164.5[L]	187.4
	19	91.1	113.1[H]	129.5[H]	155.8	174.5[H]	190.4
	20	85.3[L]	104.5	119.9[L]	148.9[L]	166.8	183.0
	Mean	88.8	107.7	124.1	152.6	169.2	188.2
	S.D.	3.4	4.4	3.7	4.5	4.9	6.0

Day 1 : The day of administration
S.D. : Standard deviation from the mean

L : Lowest
H : Highest