最終報告書

表　　題：SIPE のラットにおける急性経口投与毒性試験

試 験 番 号：ＳＲ０８２１３

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

頁

表紙 ---------- 1

目次 ---------- 5

要約 ---------- 9
緒言 ---------- 10
材料および方法 ---------- 10
成績および考察 ---------- 15
参考資料 ---------- 16

Figure
1 Body weight of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213) ---------- 18

Tables
1 Mortality of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213) ---------- 19
2 General appearance of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213) ---------- 20
3 Body weight of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213) ---------- 21
4 Gross findings of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213) ---------- 22

要　約

SIPE(媒体:精製水)の 300 mg/kg(第 1、2 群)および 2000 mg/kg(第 3、4 群)を 1 群につき各 3 匹の Crl:CD(SD)系雌ラットに毒性等級法(OECD 試験法ガイドライン 423)により単回経口投与して、死亡の有無ならびに急性毒性の概要を検討し、以下の成績を得た。

1. 死亡率は、300 および 2000 mg/kg のいずれも 0/6 であった。
2. 一般状態では、300 mg/kg の投与後 14 日間に毒性徴候の発現は認められなかった。
   2000 mg/kg の投与後 1 日に 1 例で軟便が認められたが、投与後 2 日から投与後 14 日まで異常は認められなかった。
3. 300 あるいは 2000 mg/kg を投与した各投与群ともに順調な体重増加がみられ、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。
4. 剖検所見では、300 あるいは 2000 mg/kg を投与した各投与群とも全例に異常所見は認められなかった。

以上のように、SIPE の 2000 mg/kg の投与により、軟便が 1 例で認められたが、300 mg/kg の投与では異常は認められなかった。300 および 2000 mg/kg の投与後に死亡例はみられず、また、体重推移および剖検所見に異常は認められなかった。

したがって、SIPE は OECD 試験法ガイドライン(423)の ANNEX 2c より GHS(Globally Harmonized Classification System)の Category 5 あるいは Unclassified と結論された。

緒　言

SIPE(媒体:精製水)の 300 mg/kg(第 1、2 群)および 2000 mg/kg(第 3、4 群)を 1 群につき各 3 匹の Crl:CD(SD)系雌ラットに毒性等級法(OECD 試験法ガイドライン 423)により単回経口投与して、死亡の有無ならびに急性毒性の概要を検討した。

材料および方法

1. 被験物質

名称　：ナトリウム=3,5-ビス[(2-ヒドロキシエトキシ)カルボニル]ベンゼンスルホナートを主成分(50%以上)とする、ナトリウム=3,5-ビス(メトキシカルボニル)ベンゼンスルホナートとエチレン=グリコールの反応生成物
(1,3-Benzenedicarboxylic acid, 5-sulfo-, mixed 2-hydroxyethyl and Me esters, monosodium salts)

略称　：SIPE

CAS No.　：149289-50-9

化審法官報公示整理番号：(3)-4587

成分(Appendix 1-1 および 1-2)：水分；0.14%
色数（APHA）；10
ジ EG エステル体；50.3%（HPLC area%）
モノ EG エステル体；34.6%（HPLC area%）

物理化学的性質[1)]　：形状；液状
色；淡黄色
臭い；わずかに特異臭
pH；約 5（5%水希釈液）
沸点；198℃（EG）
凝固点；0℃以下
引火点；112℃（COC）
発火点；398℃（EG）
爆発限界；3.2～15.3%（EG）
比重；約 1.11（20℃）
溶媒に対する溶解性；水に可溶
粘度；データなし

蒸気密度；2.14（EG）

入手量　　：1 kg（関連試験と共に一括受入）
安定性[1)]　　：通常の取り扱い条件においては、光、熱、衝撃に対して化学的に安定。強酸化剤とは反応して危険。
保存条件　　：遮光気密容器に入れ、冷蔵保存した。
保存場所　　：株式会社 化合物安全性研究所の被験物質保存室
実測保存温度および期間：3～8℃；2010 年 4 月 30 日(受入)～2010 年 8 月 6 日(最終回調製)
取扱い上の注意　　：眼、皮膚および衣服にふれないように、適切な保護具を着用した。
サンプリング　　：適用しなかった。
残余被験物質の処置：関連試験も含めすべての試験操作終了後、焼却処分するために産業廃棄物として回収した。

2. 媒体

名称　　：精製水(日本薬局方精製水)
ロット番号　　：7XA1
製造者　　：ヤクハン製薬株式会社
保存条件　　：室温
取扱上の注意　　：特になし。

3. 投与液の調製

調製方法　　：被験物質を精秤し、所定の濃度となるように媒体を加え混合し、均一であることを確認後、投与液とした。
調製頻度　　：用時
保存条件　　：遮光気密容器に入れた。保存はしなかった。
調製上の注意　　：揮発する可能性を考慮して被験物質はドラフト内で取扱い、調製の際にはゴム手袋およびマスクを着用し、吸い込んだり、眼、皮膚および衣類に触れないようにした。
残余投与液の処置　：残余の投与液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

4. 試験方法

(1) 試験系

性・種・系統　：雌ラット、Crl:CD(SD)

微生物統御　：SPF

生産業者(生産場)　：日本チャールス・リバー株式会社(厚木飼育センター)

微生物モニタリング：動物生産業者よりデータを入手した。

動物選定理由　：ラットは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

発注動物週齢	：7週齢(第3、4群用)	8週齢(第1、2群用)
発注動物数	：7匹	7匹
出荷体重基準	：140～210 g	160～230 g
受入時体重範囲	：164～180 g	186～210 g

投与時週齢　：9週齢

群数　：4群

各群動物数　：3匹

(2) 検疫および馴化

検疫方法　：一般状態を1日1回観察し、体重を受入時および群分け時を含む2～3回測定した。

期間　：受入日を馴化1日と規定して、最短で馴化6日までの5日間、最長で馴化16日までの15日間。

検疫および馴化期間中に、異常例は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間中に実施した一般状態観察および体重測定の結果を参考にして、動物の使用の適否を決定した。検疫および馴化期間終了日の体重に基づいて、各群の平均体重が均一になるように1群あたり3匹、計12匹をそれぞれの投与前日に選抜した。これらの動物の体重範囲は、228～245 gであり、最終的な全使用動物の平均体重(238.3 g)の±20%以内であった。選抜から外れた第1、2群用および第3、4群用の雌ラット各1匹は試験から除外し標準操作手順書に従って適切に取扱った。

なお、投与時の体重範囲は207～225 g、平均値は214.4 gであった。

(4) 動物およびケージの識別

動物　：油性フェルトペンで尾部に印を付け、個体識別を行った。

飼育ケージ　：群分け前はラベルに試験番号および受入時の動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

群分け後はラベルに試験番号、試験群および動物番号を明記し、各ケージの前面に標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

飼育室番号　　：307 号室

温度・湿度　　：22±3℃(実測範囲 20～24℃)，50±20%(実測範囲 49～70%)

換気回数　　：10～15 回／時間

照明時間　　：人工照明 12 時間(8:00～20:00)

動物飼育室の温度および湿度を毎日監視し、異常のないことを確認した。

2) 飼育器材および飼育方法

ケージの種類　　：ブラケット式金属製金網床ケージ(300W×410D×200H, mm)

1 ケージあたりの収容動物数：検疫および馴化期間中は 1 または 2 匹、群分け後は 1 匹とした。

ケージ交換　　：群分け時に 1 回実施した。

受皿交換　　：週 2 回以上実施した。

給餌器交換　　：群分け時に 1 回実施した。

自動給水装置の水抜き：週 1 回以上実施した。

室内の清掃　　：1 日 1 回以上実施した。

室内の消毒　　：塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用する清拭消毒を 1 日 1 回以上実施した。

3) 飼料

種類・名称　　：固型飼料、CRF-1

製造業者　　：オリエンタル酵母工業株式会社

給餌方法　　：金属製給餌器を用いて自由に摂取させた。

汚染物質および微生物検査：試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット(100406)の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人 日本食品分析センター(分析試験成績書：第 10035281004-01 号)が、微生物検査は飼料製造業者(分析試験報告書：No. 10G03-055)がそれぞれ行った。分析データを飼料製造業者から入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

4) 飲料水

種類　　：札幌市水道水

給水方法　　：自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

汚染物質検査　　：試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2010 年 7 月 1 日に当該飼育室と同系統配管の最末端(306 号室)から試料を採取し

て分析した。分析は日本衛生株式会社(水質検査結果表：A220983)が行い、分析データを入手した。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった。

(6) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

投与量　：第 1 群；300 mg/kg
第 2 群；300 mg/kg
第 3 群；2000 mg/kg
第 4 群；2000 mg/kg

設定理由　：本被験物質に関するラットにおける LD_{50} 値(経口)に関する報告がないため、本試験の開始用量を 300 mg/kg に設定した。
第 2 群以降の投与量は、投与後 3 日までの死亡率あるいは投与後の動物の状態により、Appendix 2 に従って決定した。

試験群の構成　：試験群の構成と各群の動物番号は以下の通りとした。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号) 雌
第 1 群	300	30	3 (151～153)
第 2 群	300	30	3 (251～253)
第 3 群	2000	200	3 (351～353)
第 4 群	2000	200	3 (451～453)

2) 投与

投与方法および投与経路：一晩(17～18 時間)の絶食後、ディスポーザブル胃ゾンデおよびディスポーザブルシリンジを用いて胃内に強制経口投与した。給餌を投与後 4 時間に再開した。

投与方法および投与経路の選定理由：試験法ガイドラインに準拠した。

投与回数　：1 個体につき 1 回

投与時刻　：9：30～10：30

投与容量　：10 mL/kg とした。各個体の投与液量は投与日の体重に基づいて算出した。

(7) 観察、測定および検査項目

1) 一般状態観察

例数　：全例

期間　：投与日を 0 日として起算し、投与 0 日から投与後 14 日まで。

頻度　：投与前、投与直後から投与後 1 時間まで、さらに 2 および 4 時間に観察した。

投与後 1 日から 13 日までは毎日の午前・午後の少なくとも 1 日 2 回、投与後 14 日は午前にのみ 1 回観察した。

観察方法　：生死、外観、行動等について観察した。異常が認められる場合は、その症状ならびに症状の発現および消失が観察された時刻を記録した。

2) 体重測定

例数　：全例

期間・頻度　：0(投与日の投与前)、投与後 1、3、5、7、10 および 14 日に実施した。

測定方法　：電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社 エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1 g 単位で記録した。

体重増加量および体重増加率：以下の式により算出した。

体重増加量(g/14d)＝　投与後 14 日体重－0 日体重

$$体重増加率(\%/14d) = \frac{体重増加量(g/14d)}{0日体重(g)} \times 100$$

3) 剖検

例数　：全例

時期　：投与後 14 日にエーテル麻酔下にて放血致死により安楽死させ、剖検した。

検査方法　：体外表を観察した後、全身の器官･組織を肉眼的に観察した。

5. 統計学的方法

体重、体重増加量および増加率の成績について平均値および標準偏差を算出した。

成績および考察

1. 死亡状況および死亡率

死亡状況および死亡率を Table 1 に示す。

第 1 および 2 群(300 mg/kg)では、投与後 14 日間に死亡例は認められなかった。

第 3 および 4 群(2000 mg/kg)では、投与後 14 日間に死亡例は認められなかった。

死亡率は 300 および 2000 mg/kg のいずれも 0/6 であった。

2. 一般状態

一般状態の成績を Table 2、INDIVIDUAL DATA 1-1 および 1-2 に示す。

第 1 および 2 群(300 mg/kg)では、投与後 14 日間に毒性徴候の発現は認められなかった。

第 3 および 4 群(2000 mg/kg)では、投与後 1 日に 1 例(No. 353)のみに軟便が認められた。

3. 体重

体重推移を Figure 1、Table 3、INDIVIDUAL DATA 2-1 および 2-2 に示す。

各投与群(300 および 2000 mg/kg)ともに順調な体重増加がみられ、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

4. 剖検

剖検所見を Table 4、INDIVIDUAL DATA 3-1 および 3-2 に示す。

各投与群(300 および 2000 mg/kg)とも全例に異常所見は認められなかった。

以上のように、SIPE の 2000 mg/kg の投与により、1 例で軟便が認められたが、300 mg/kg の投与では異常は認められなかった。300 および 2000 mg/kg の投与後に死亡例は認められず、また、体重推移ならびに剖検所見にも異常は認められなかった。

したがって、SIPE は OECD 試験法ガイドライン(423)の ANNEX 2c より GHS(Globally Harmonized Classification System)の Category 5 あるいは Unclassified と結論された。

参考資料

1) SIPE-35. 製品安全データシート. 三洋化成工業株式会社. (2009)

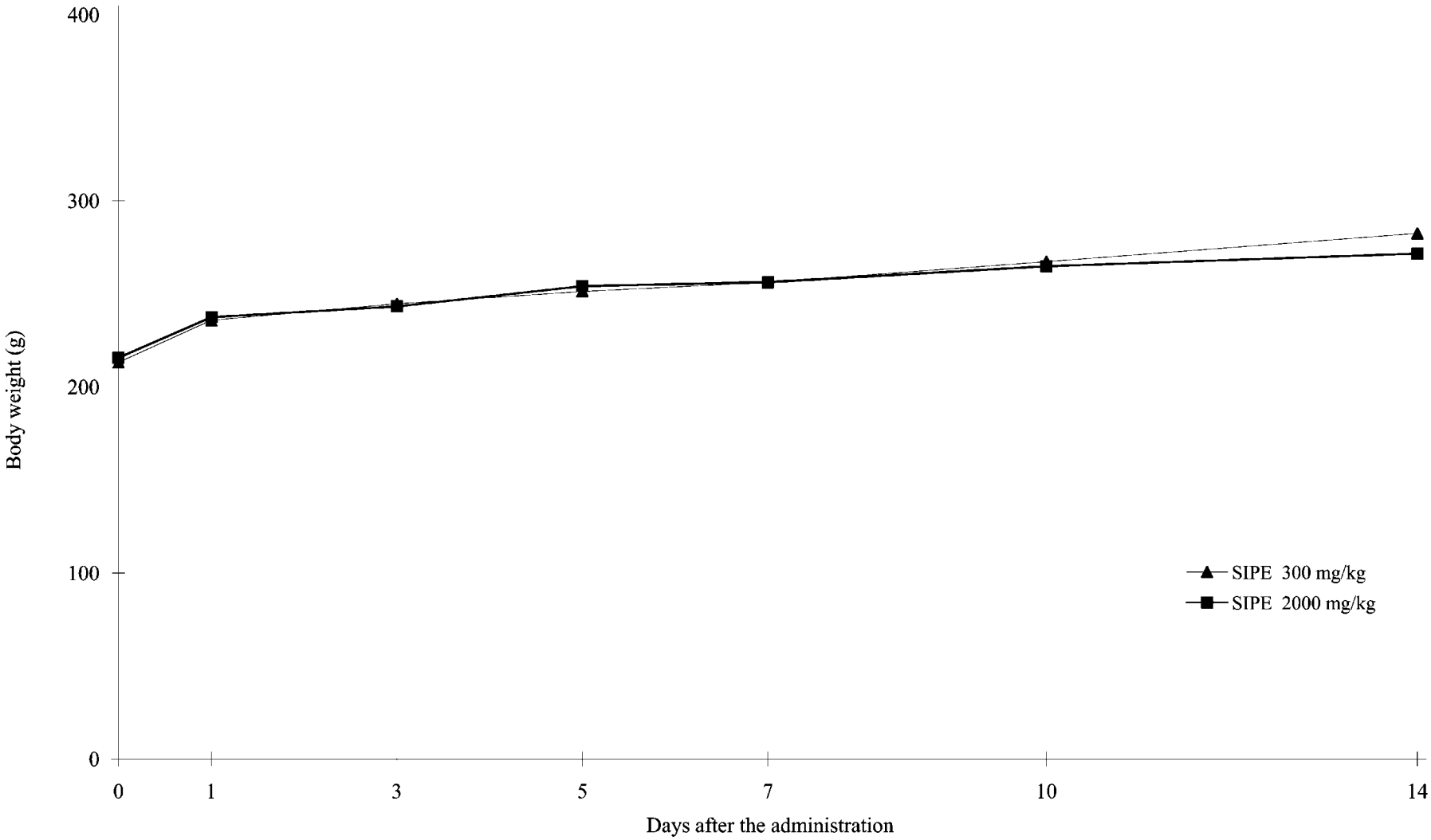

Figure 1 Body weight of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213)
Day 0 : Pre-administration.

Table 1 Mortality of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213)

Group	Number of dead animals						Mortality
	Hours after the administration					Days after the administration	
	0	0.5	1	2	4	1 - 14	
SIPE 300 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0 / 6
SIPE 2000 mg/kg	0	0	0	0	0	0	0 / 6

Hour 0 : Pre-administration.
Mortality : Number of dead animals / number of animals dosed.

Table 2 General appearance of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213)

Group	Hours after the administration					Days after the administration	
Findings	0	0.5	1	2	4	1	2 - 14
SIPE 300 mg/kg							
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	6	6	6	6	6	6
SIPE 2000 mg/kg							
Number of animals examined	6	6	6	6	6	6	6
No abnormal findings	6	6	6	6	6	5	6
Soft feces	0	0	0	0	0	1	0

Hour 0 : Pre-administration.
Values are number of animals with findings.

Table 3 Body weight of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213)

Group		Body weight (g) on days after the administration							Body weight gain (Day 1-14)	
		0	1	3	5	7	10	14	g	%
SIPE 300 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	MEAN	213.2	235.8	244.7	251.3	256.2	267.3	282.5	69.3	32.517
	S.D.	6.1	6.0	7.7	8.3	10.8	14.3	16.3	14.0	6.471
SIPE 2000 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	MEAN	215.7	237.5	243.3	254.2	256.3	264.8	271.7	56.0	25.988
	S.D.	3.4	4.3	6.1	7.3	6.6	4.2	6.4	7.0	3.399

Day 0 : Pre-administration.

Table 4 Gross findings of female rats in an acute oral toxicity study of SIPE (SR08213)

	SIPE	
Group (Dose)	300 mg/kg	2000 mg/kg
Number of animals examined	6	6
No abnormal findings	6	6

Values are number of animals with findings.