



BOZO RESEARCH
CENTER INC.



最終報告書

2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone のラットを用いた
経口投与による急性毒性試験

B-5518

2006年11月15日

株式会社 **ボソリサーチセンター**

東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7
本社・東京研究所 〒156-0042 東京都世田谷区羽根木1-3-11
御殿場研究所 〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284
函南研究所 〒419-0101 静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125

目 次

	頁
目 次	1
要 約	7
緒 言	8
試験材料及び方法	9
1. 被験物質及び媒体	9
1) 被験物質	9
2) 媒体	9
2. 被験液の調製	10
1) 被験液の調製方法	10
2) 被験液の保存方法	10
3) 被験液の安定性	10
4) 被験液の濃度・均一性確認	10
3. 試験動物	11
4. 飼育条件	12
5. 投与経路の選択理由、投与方法及び観察期間	12
6. 投与量及び試験手順	12
7. 検査方法	13
1) 一般状態及び生死の観察	13
2) 体重測定	13
3) 病理学検査	13
8. LD ₅₀ 値の推定	13

要 約

2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone の急性経口毒性を毒性試験ガイドライン「急性毒性等級法」に従って検討した。動物は6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔CrI:CD(SD)〕とし、1投与段階につき雌3匹を用いて2000mg/kgの投与量で2段階行った。

1. LD₅₀ 値

死亡動物は認められず、LD₅₀値は2000mg/kgを上回るものと推定され、GHSのCategory 5 (>2000-5000 mg/kg)に分類される。

2. 一般状態

一般状態に異常は認められなかった。

3. 体重

体重推移に異常は認められなかった。

4. 剖検

剖検結果に異常は認められなかった。

緒 言

厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone の安全性評価の一環として、ラットを用いた急性経口毒性試験を実施したので、その成績を報告する。なお、遵守した基準及び準拠したガイドラインなどは以下の通りである。

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

1) 被験物質

2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone は厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室から提供された。使用した被験物質の名称及びロット番号などを以下に示した（添付資料 1）。

名 称 : 2,3,4,4'-テトラヒドロキシベンゾフェノン
2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone

CAS 番号 : 31127-54-5

構造式又は示性式

: $C_{13}H_{14}O_5$

分 子 量 : 250.25

純 度 : 99.86%

ロット番号 :

性 状 : 黄色の粉末

沸 点 : 220.7℃

メタノール溶状 (1→20)

: 澄明

安 定 性 : 関連試験終了後に特性を測定し安定性を確認した（添付資料 2）。

保 存 方 法 : 冷暗所（冷蔵庫、保存期間中の実測値：2～8℃）

保 存 場 所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び第 2 研究棟被験物質調製室
動物試験終了後の残余被験物質は廃棄した。

2) 媒体

名 称 : コーンオイル

メ ー カ ー : 和光純薬工業株式会社

ロット番号 : CEE2389

保 存 方 法 : 室温

保 存 場 所 : 御殿場研究所 第 2 研究棟被験物質調製室

2. 被験液の調製

1) 被験液の調製方法

必要量の被験物質を秤取し、磁製乳鉢を用いてコーンオイルに懸濁して規定量とした。被験液の調製は第1段階投与の5日前、第2段階投与の8日前に行い、調製後は褐色ガラス瓶（遮光瓶）に入れて保存した。

2) 被験液の保存方法

褐色ガラス瓶（遮光瓶）に入れ、冷暗所（冷蔵庫内、保存期間中の実測値：2～6℃）で保存し、使用前に室温に戻して投与に用いた。

3) 被験液の安定性

本被験物質の0.1及び200 mg/mL溶液（媒体：コーンオイル）は、遮光容器で冷暗所（冷蔵庫内）8日間保存後室温24時間は安定であることが株式会社ボゾリサーチセンターで確認されている（添付資料3）。

4) 被験液の濃度・均一性確認

投与に用いる200 mg/mL濃度の被験液について実施した。

(1) 濃度・均一性確認分析実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所
〒412-0039 静岡県御殿場市かまど 1284

(2) HPLCによる被験液中2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenoneの被験液中濃度・均一性測定法

① 測定対象物質

2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone

② 測定対象標準物質

名 称 : 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone
 供給者 : 厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
 ロット番号 : GL01
 保存方法 : 冷暗所（冷蔵庫、保存期間中の実測温度：2～6℃）
 保存場所 : 御殿場研究所 生化学部標準物質保存場所

③ 使用機器

・ HPLC システム（日本ウォーターズ株式会社）
 HPLC : 2690 セパレーションモジュール
 検出器 : 2487 デュアルλ UV/VIS 検出器

データ処理装置	ミレニアム ³² クロマトグラフィーマネジャー	
・ 天秤 (Mettler-Toledo AG)		
分析用上皿電子天秤	AE240	
電子上皿天秤	PM2000	
・ その他		
マグネチックスターラー	MGM-66	(柴田科学株式会社)
超純水製造装置	Milli-Q SP	(日本ミリポア株式会社)
ソニケーター	T460	(Elma)
ガラス電極 pH メータ	HM-26S	(東亜ディーケー株式会社)

④ HPLC 測定条件

カラム	: CAPCELL PAK C18 UG120 (5 μ m、4.6mmI.D.×250mm、株式会社資生堂)
カラム温度	: 35°C (カラムオープン設定温度)
移動相	: 0.01mol/L SDS 含有 0.02mol/L リン酸二水素ナトリウム緩衝液 (pH 3.0) /アセトニトリル (70/30、v/v)
流量	: 1.0mL/min (2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone の保持時間が約 4.5 分になるように調整した。)
検出	: UV (測定波長 313nm)
試料注入量	: 20 μ L
試料温度	: 室温

⑤ 測定結果

被験液は表示濃度に対し 104.0%、変動係数 (CV) 3.8%を示し (添付資料 4)、濃度及び均一性の許容範囲 (濃度 ; 表示値 \pm 10%、均一性 ; CV10%以下) 内であり、調製に問題はなかった。

3. 試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] の雌 21 匹^{注)} を 5 週齢で入手し、当所で 1 週間以上検疫・馴化飼育した後、一般状態及び体重を基に健康な動物を選び、6 週齢で試験に供した。投与時の体重範囲は 123~135g (平均体重 \pm 20%の範囲内) であった。動物は各投与段階の投与前日に段階内 (群内) の体重ができるだけ均等となるよう体重層別化無作為抽出法により群分けを行った。動物の個体識別

は入荷時に小動物用耳標を付けて行った。飼育ケージには、投与日ごとに色分けしたケージラベルに試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号、耳標番号及び投与日を明記して表示した。余剰動物は、試験系から除外した。

注) : 注文匹数は 20 匹であったが、実際には 21 匹が納入された。

4. 飼育条件

動物は、温度 $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度 $50 \pm 20\%$ 、換気回数 1 時間当たり 10~15 回、照明 1 日 12 時間 (07:00~19:00) となるように設定した動物飼育室 (飼育室番号: 706 号室) でブラケット式金属製網ケージ (W 254×D 350×H 170 mm: リードエンジニアリング株式会社) に個別収容し、固形飼料 CRF-1 (放射線滅菌: オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号: 050609) 及び飲料水 (御殿場市営水道水: 自動給水装置使用) を自由に摂取させ飼育した。飼育期間中の飼育室の実際の温度は $21 \sim 25^{\circ}\text{C}$ 、相対湿度は 40~59% であった。また、飼料は使用したロットについて財団法人日本食品分析センターで分析したデータを入手し、飲料水は水道法に準拠した水質の分析を財団法人静岡県生活科学検査センター (2005 年 5 月までの検査) 及び東芝機械環境センター株式会社 (2005 年 8 月 1 日以降の検査) に定期的 (年 4 回) に依頼してそのデータを入手し、それぞれ混入物質などの異常がないことを確認して、それらの写しを保存した。

5. 投与経路の選択理由、投与方法及び観察期間

投与経路は毒性試験法ガイドラインに準じ、経口を選択した。

投与容量は 10 mL/kg 体重とし、投与前一夜 (約 16 時間) 絶食させたラットに胃ゾンデを用いて、所定量の被験液を 1 回強制経口投与した。絶食後の再給餌は投与後 6 時間の一般状態の観察終了後に実施した。また、観察期間は投与後 14 日間とした。

6. 投与量及び試験手順

被験物質の急性経口毒性は極めて弱いと予想されたことから、開始投与量は 2000 mg/kg を選択した。以降の投与量については、毒性試験ガイドライン「急性毒性等級法」の試験手順に従って設定した。すなわち、第 1 段階の投与において死亡動物が認められなかったことから、第 2 投与段階においても 2000 mg/kg を選択した。各投与段階の動物数は雌 3 匹とした。群構成を次に示す。

投与段階	投与量 (mg/kg)	被験物質濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg 体重)	性	動物数	動物番号
第 1	2000	200	10	雌	3	1101~1103
第 2	2000	200	10	雌	3	2101~2103

7. 検査方法

1) 一般状態及び生死の観察

投与後 6 時間は頻繁（投与直後～投与 5 分後、～15 分後、～30 分後、～1 時間後、～2 時間後、～4 時間後、～6 時間後）に、その後は 1 日 1 回（08：13～10：58）14 日間、体外表、栄養状態、姿勢、行動及び排泄物の異常などの一般状態を観察した。

2) 体重測定

投与日（投与直前）、投与 1、3、7 及び 14 日後に体重を測定（08：13～10：58）した。投与日の体重を投与液量算出の基準にした。

3) 病理学検査

全動物は 14 日間の観察期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死（腹部大動脈切断）させ、体外表並びに頭部、胸部及び腹部の器官・組織を肉眼的に観察した。なお、剖検において異常が認められなかったことから、器官・組織の保存は行わなかった。

8. LD₅₀ 値の推定

毒性試験ガイドライン「急性毒性等級法」に従って、投与後 14 日間の死亡状況をもとに、おおよその LD₅₀ 値を推定した。

試験結果

1. LD₅₀ 値

死亡状況及びLD₅₀ 値を Table 1 に示した。

各投与段階いずれの動物にも、死亡は認められなかった。したがって、LD₅₀ 値は 2000mg/kg を上回るものと推定され、GHS の Category 5 (>2000-5000 mg/kg) に分類される。

2. 一般状態

一般状態を Table 2 及び 3 に示した。

各投与段階いずれの動物にも、観察期間を通じて一般状態に異常は認められなかった。

3. 体重

体重変化を Fig. 1、Table 4 及び 5 に示した。

各投与段階いずれの動物にも、観察期間を通じて体重推移に異常は認められなかった。

4. 剖検

剖検所見を Table 6 及び 7 に示した。

各投与段階いずれの動物にも、体外表並びに頭部、胸部及び腹部の器官・組織に異常は認められなかった。

考 察

2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone の急性経口毒性を毒性試験ガイドライン「急性毒性等級法」に従って検討した。動物は6週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [CrI:CD(SD)] とし、1投与段階につき雌3匹を用いて 2000mg/kg の投与量で2段階行った。

2000mg/kg の2段階の投与においても死亡動物は認められなかったことから、LD₅₀ 値は 2000mg/kg を上回るものと推定され、GHS の Category 5 (>2000-5000 mg/kg) に分類される。

一般状態では、各投与段階いずれの動物にも異常はなく、被験物質投与の影響は認められなかった。

体重では、各投与段階いずれの動物もほぼ順調な推移を示し、被験物質投与の影響は認められなかった。

剖検では、各投与段階いずれの動物にも異常はなく、被験物質投与の影響は認められなかった。

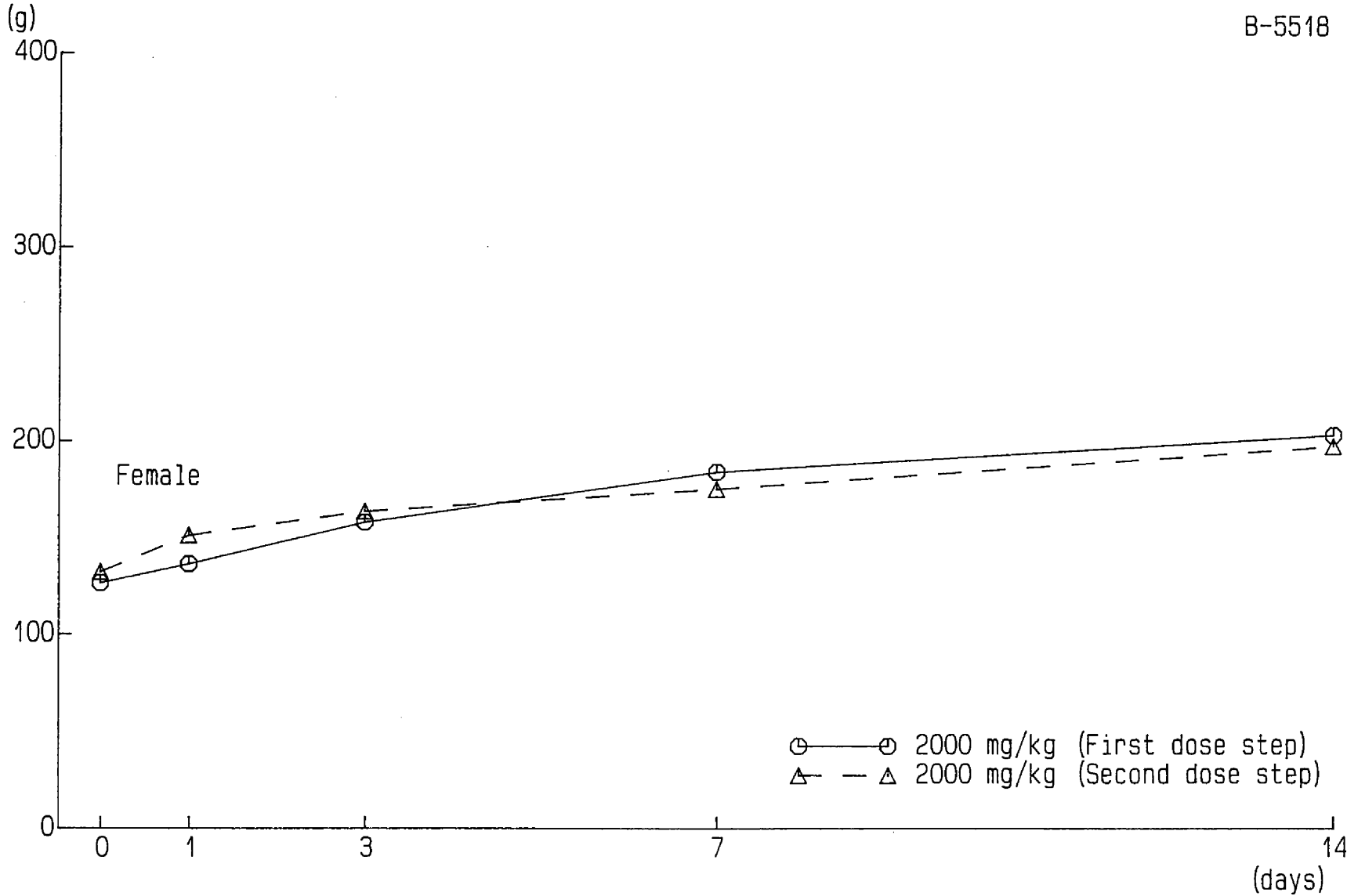


Fig.1 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats

———— Body weight ————

Table 1 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats
Mortality and LD₅₀ values
Female

Dose mg/kg	Number of animals	Distribution of death																		Mortality	LD ₅₀ (mg/kg)							
		minutes			hours				days																			
		i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			12	13	14				
2000 (1)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	> 2000
2000 (2)	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/3	

(1): First dose step

(2): Second dose step

i : Immediately after dosing

Table 2 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats

Clinical signs

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (First dose step)

Animal number	minutes			hours				days														
	i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

i : Immediately after dosing

- : No abnormality

Table 3 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats

Clinical signs

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (Second dose step)

Animal number	minutes			hours				days														
	i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
2101	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2103	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

i : Immediately after dosing

- : No abnormality

Table 4 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats

Body weight

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (First dose step)

Animal number	Day after administration					Gain 0-14
	0	1	3	7	14	
1101	129	134	161	192	209	80
1102	125	140	158	173	191	66
1103	123	135	155	189	216	93
Mean	126	136	158	185	205	80
S.D.	3	3	3	10	13	14

Unit : g

Table 5 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats

Body weight

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (Second dose step)

Animal number	Day after administration					Gain 0-14
	0	1	3	7	14	
2101	135	150	163	170	194	59
2102	132	155	165	178	205	73
2103	128	148	165	181	199	71
Mean	132	151	164	176	199	68
S.D.	4	4	1	6	6	8

Unit : g

Table 6 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats

Gross pathological findings

Sex : Female

Dose (mg/kg) : 2000 (First dose step)

Organs	Findings	Animal number		
		1101	1102	1103
External appearance		-	-	-
Brain		-	-	-
Spinal cord		-	-	-
Sciatic nerve		-	-	-
Pituitary		-	-	-
Salivary gland		-	-	-
Submandibular lymph node		-	-	-
Trachea		-	-	-
Thyroid		-	-	-
Thoracic cavity		-	-	-
Thymus		-	-	-
Heart		-	-	-
Lung		-	-	-
Abdominal cavity		-	-	-
Liver		-	-	-
Spleen		-	-	-
Pancreas		-	-	-
Kidney		-	-	-
Adrenal		-	-	-
Esophagus		-	-	-
Stomach		-	-	-
Small intestine		-	-	-
Large intestine		-	-	-
Mesenteric lymph node		-	-	-
Bone marrow		-	-	-
Femoral muscle		-	-	-
Urinary bladder		-	-	-
Ovary		-	-	-
Uterus		-	-	-
Vagina		-	-	-
Other tissues or organs		-	-	-

- : No abnormality

Table 7 Acute oral toxicity study of 2,3,4,4'-Tetrahydroxybenzophenone in rats
 Gross pathological findings
 Sex : Female
 Dose (mg/kg) : 2000 (Second dose step)

Organs	Findings	Animal number		
		2101	2102	2103
External appearance		-	-	-
Brain		-	-	-
Spinal cord		-	-	-
Sciatic nerve		-	-	-
Pituitary		-	-	-
Salivary gland		-	-	-
Submandibular lymph node		-	-	-
Trachea		-	-	-
Thyroid		-	-	-
Thoracic cavity		-	-	-
Thymus		-	-	-
Heart		-	-	-
Lung		-	-	-
Abdominal cavity		-	-	-
Liver		-	-	-
Spleen		-	-	-
Pancreas		-	-	-
Kidney		-	-	-
Adrenal		-	-	-
Esophagus		-	-	-
Stomach		-	-	-
Small intestine		-	-	-
Large intestine		-	-	-
Mesenteric lymph node		-	-	-
Bone marrow		-	-	-
Femoral muscle		-	-	-
Urinary bladder		-	-	-
Ovary		-	-	-
Uterus		-	-	-
Vagina		-	-	-
Other tissues or organs		-	-	-

- : No abnormality