

アルカノール(C5~38)

[3, 5, 5-トリメチルヘキサノール]

(CAS No. 3452979)

試験番号 : SR - 9533

試験名 : 3, 5, 5-トリメチルヘキサノールのラットにおける急性経口毒性試験

株式会社 化合物安全性研究所

目 次

	頁
表題・試験番号	3
要 約	4
緒 言	5
材料及び方法	5
成 績	9
考 察	10

Figures.....添付

1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of
TMH (SR-9533)
2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test
of TMH (SR-9533)

Tables.....添付

1. Experimental design for acute oral toxicity test of TMH in
rats (SR-9533)
2. Mortality and LD50 values of rats in acute oral toxicity test
of TMH (SR-9533)
3. General appearance of rats in acute oral toxicity test of
TMH (SR-9533)
4. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of
TMH (SR-9533)
5. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test
of TMH (SR-9533)

- 6 . Gross pathological findings of rats in acute oral toxicity test of
TMH (SR-9533)
- 7 . Histopathological findings of rats in acute oral toxicity test of
TMH (SR-9533)

表 題 3,5,5-トリメチルサノールのラットにおける急性経口毒性試験

試験番号 SR-9533

要 約

3,5,5-トリメチルヘキサール (CAS No.3452-97-9) の 2000 mg/kg を 5～6 週齢の Crj:CD (SD) 系雌雄ラットに経口単回投与した結果、以下の知見が得られた。

1. 死亡例は雌雄のいずれにも認められず、LD₅₀値は 2000 mg/kg を超えると推察された。
2. 一般状態観察では投与日に自発運動の減少がみられ、また観察期間中の体重増加抑制あるいは体重増加抑制傾向も認められた。
3. 剖検及び病理組織学的検査では、3,5,5-トリメチルヘキサール投与による影響は認められなかった。

緒 言

OECD 既存化学物質の安全性点検事業の一環として、3,5,5-トリメチルヘキサノール (CAS No. 3452-97-9) をラットに経口単回投与し、死亡状況、一般状態などを観察し、その毒性を検討した。

なお、本試験は「OECD 優良試験所指針 C (81) 30 最終別添 2」に従い、試験方法は OECD テストガイドラインに準拠した。

材料及び方法

1. 被験物質

被験物質は、3,5,5-トリメチルヘキサノール (3,5,5-Trimethylhexanol、以下 TMH と略す、CAS No.3452-97-9、Lot 番号： 純度：92.7%) で、特有の臭いを有する無色透明な液体であり、遮光気密容器に入れ、冷蔵庫内 (-1~11 °C) に保存した (Appendix 1~3)。なお、投与終了後の被験物質の安定性を製造業者が分析し、投与期間中の被験物質の安定性が確認された (Appendix 4)。

2. 投与量の設定

本試験の投与量設定のために実施した予備試験では、TMH の 500、1000 及び 2000 mg/kg 群、媒体であるオリブ油を投与する対照群の計 4 群を設定し、1 群当たり雌雄各 5 匹のラットに投与した。投与後 14 日間の観察において、雌の 2000 mg/kg 群で自発運動の減少、呼吸緩徐、被毛汚染、流涙が認められたが、死亡例は認められなかった。したがって、限界試験として 2000 mg/kg の 1 用量を投与する群と、媒体であるオリブ油を投与する対照群を設けた (Table 1)。

3. 被験物質の調製方法

使用当日に、被験物質を精秤し、40 w/v%となるようにオリブ油 (日本薬局方：Lot No.509003、ヤクハン製薬株式会社) に溶解した。40%の TMH 調製液は規定の濃度であり、かつ均一であることが財団法人日本食品分析センターにより確認された (Appendix 5)。

4. 試験動物

生後4週齢の Crj:CD (SD) 系の SPF ラット (雄: 13 匹、体重範囲 71~79g、雌: 13 匹、体重範囲 72~82g) を、日本チャールス・リバー株式会社より受け入れ、13 日間の馴化飼育を行った。馴化期間中、一般状態観察を1日1回、体重測定を期間中4回実施し、異常がなく順調な発育を示した動物を試験に用いた。

5. 飼育環境条件

動物は、バリアシステム内で温度 23 ± 3 °C、湿度 $RH55 \pm 10\%$ 、換気回数 10~15 回/時間及び照明時間 12 時間 (午前8時から午後8時まで点灯) に設定された飼育室 310 号室において、ブラケット式金属製金網床ケージ (260W×380D×180H,mm) を用いて行った。ケージ当たりの収容匹数は、群分け前は5匹以内、群分け後は1匹とした。ケージの交換は群分け時に1回行った。

飼育室内の清掃及び床の清拭消毒は1日1回行った。なお、消毒には塩素系消毒薬 (ヤクラックス、ヤクハン製薬株式会社) 及びヨウ素系消毒薬 (ダイヤモンド、伊勢化学工業株式会社) を1週間単位で交互に使用した。

飼料は固型飼料 (CRF-1、オリエンタル酵母工業株式会社) を金属製給餌器を用いて、飲料水は水道水 (札幌市水道水) を自動給水装置を用いて、それぞれ自由に摂取させた。給餌器の交換は群分け時に1回、自動給水装置の水抜きは週1回の頻度で実施した。

飼料の分析及び検査は財団法人日本食品分析センター (Appendix 6) 及びオリエンタル酵母工業株式会社 (Appendix 7) で実施し、混入物質について当社 SOP の許容範囲内であることを確認した。飲料水の水質検査は日本衛生株式会社で実施し、当社 SOP の水質基準の範囲内であることを確認した (Appendix 8)。

6. 群分け及び個体識別

群分けは、馴化期間の最終日 (投与前日) に各群の体重が均一になるように体重別層化無作為抽出法により行った。

動物の識別は、受け入れ時及び群分け時に尾部に油性フェルトペンを用いて行った。ケージには性別毎に色分けしたカードに試験番号、試験群及び動物番号を明記して標示した。

7. 投与方法

投与経路は、被験物質が人体に経口的に曝露される可能性があることから、経口投与とした。投与は、動物を約 17～18 時間絶食させた後、胃ゾンデを用いて強制的に胃内に 1 回行った。投与容量は、体重 1 kg 当たり 5 ml として投与日に測定した体重に基づいて算出した。

投与時の週齢は雌雄ともに 5～6 週齢で、その平均体重（体重範囲）は雄で 156.7g（149～165g）、雌で 133.9g（126～144g）であった。投与時刻は午前 9 時から午後 2 時の間とした。

8. 観察、測定及び検査項目

(1) 一般状態観察

全例について、投与日は投与後 6 時間までは頻繁に、投与後 1 日以降は 1 日 1 回の頻度で投与後 14 日の剖検日まで観察した。発現した症状については、その種類及び観察時刻を記録した。各群の雌雄毎に投与後 14 日までの死亡率 [(死亡例数 / 群当たり動物数) × 100] を算出した。

(2) 体重測定

全例について、投与日を 0 日と起算し、0、1、3、5、7、10 及び 14 日に電子天秤を用いて測定した。

(3) 剖検

全例について、投与後 14 日に体外表を観察した後、エーテル麻酔下で放血致死させ、全身の器官・組織を肉眼的に観察した。その後、肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸及び卵巣を 10% 中性緩衝ホルマリン液で固定、保存し、精巣及び精巣上体はブアン液で固定し、70 % エタノールで保存した。

(4) 病理組織学的検査

摘出器官のうち、対照群及び TMH 投与群の雌雄各 2 例の肝臓、腎臓、脾臓、心臓、肺、脳（大脳・小脳）、胃（前胃・腺胃）、十二指腸、空腸、回腸、盲腸、結腸、直腸、精巣、精巣上体、卵巣について、パラフィン包埋後薄切し、ヘマトキシリン・エオジン染色標本を作製し、病理組織学的検査を行った。

9. 統計処理

体重値について、Bartlett の検定法により分散を検定した結果、等分散 ($p > 0.05$) を示したため、一元配置分散分析法により解析し、有意な場合 ($p \leq 0.10$)、Dunnett の検定法により対照群と TMH 投与群との比較を行った。対照群との検定に際しては、危険率 5% 以下を統計学的に有意とした。

成 績

1. 死亡状況及びLD₅₀値

死亡状況及びLD₅₀値を Table 2 に示す。

雌雄ともに、いずれの群においても死亡は認められず、LD₅₀ 値は 2000 mg/kg を超えると推察された。

2. 一般状態観察

一般状態観察の成績を Table 3、INDIVIDUAL DATA 1-1-1～1-2-2 に示す。

投与日に、自発運動の減少が 2000mg/kg 群の雄で3例、雌で2例に認められたが、いずれも同日中に回復が認められた。他に、対照群の雌1例では受皿上に下痢便が認められた。

投与後1日以降に異常は認められなかった。

3. 体重推移

体重推移を Figure 1、2、Table 4、5、INDIVIDUAL DATA 2-1-1～2-2-2 に示す。

2000 mg/kg 群の雄で投与後 1～14 日に、雌で投与後 3 日に有意な低値が認められ、観察期間中の増加抑制あるいは増加抑制傾向が認められた。

4. 剖検

剖検の成績を Table 6、INDIVIDUAL DATA 3-1-1～3-2-2 に示す。

いずれの群にも異常は認められなかった。

5. 病理組織学的検査

病理組織学的検査の成績を Table 7、INDIVIDUAL DATA 4-1-1～4-2-2 に示す。

検査を実施した各群の雌雄各2例について、異常は認められなかった。

考 察

TMHの2000 mg/kgを5週齢のCrj:CD (SD)系雌雄ラットに経口単回投与し、その毒性を検討した。

死亡例は雌雄のいずれにも認められず、LD₅₀値は2000 mg/kgを超えると推察された。

一般状態観察では、投与日に自発運動の減少が雌雄に認められたが、同日中に回復が認められ、投与後1日以降には、異常は認められなかった。しかし、体重推移では雌雄ともに増加抑制あるいは増加抑制傾向が認められ、TMH投与による影響と考えられた。剖検及び病理組織学的検査ではTMH投与による影響は認められなかった。

なお、下痢便が対照群の雌1例で投与日に認められ、これは媒体であるオリブ油によるものと考えられた。同例では下痢便は投与後1日以降には認められず、体重推移にも異常はみられなかった。

Figures

Figure 1. *Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Figure 2. *Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Tables

Table 1. *Experimental design for acute oral toxicity test of TMH in rats (SR-9533)*

Table 2. *Mortality and LD50 values of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Table 3. *General appearance of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Table 4. *Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Table 5. *Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Table 6. *Gross pathological findings of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

Table 7. *Histopathological findings of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)*

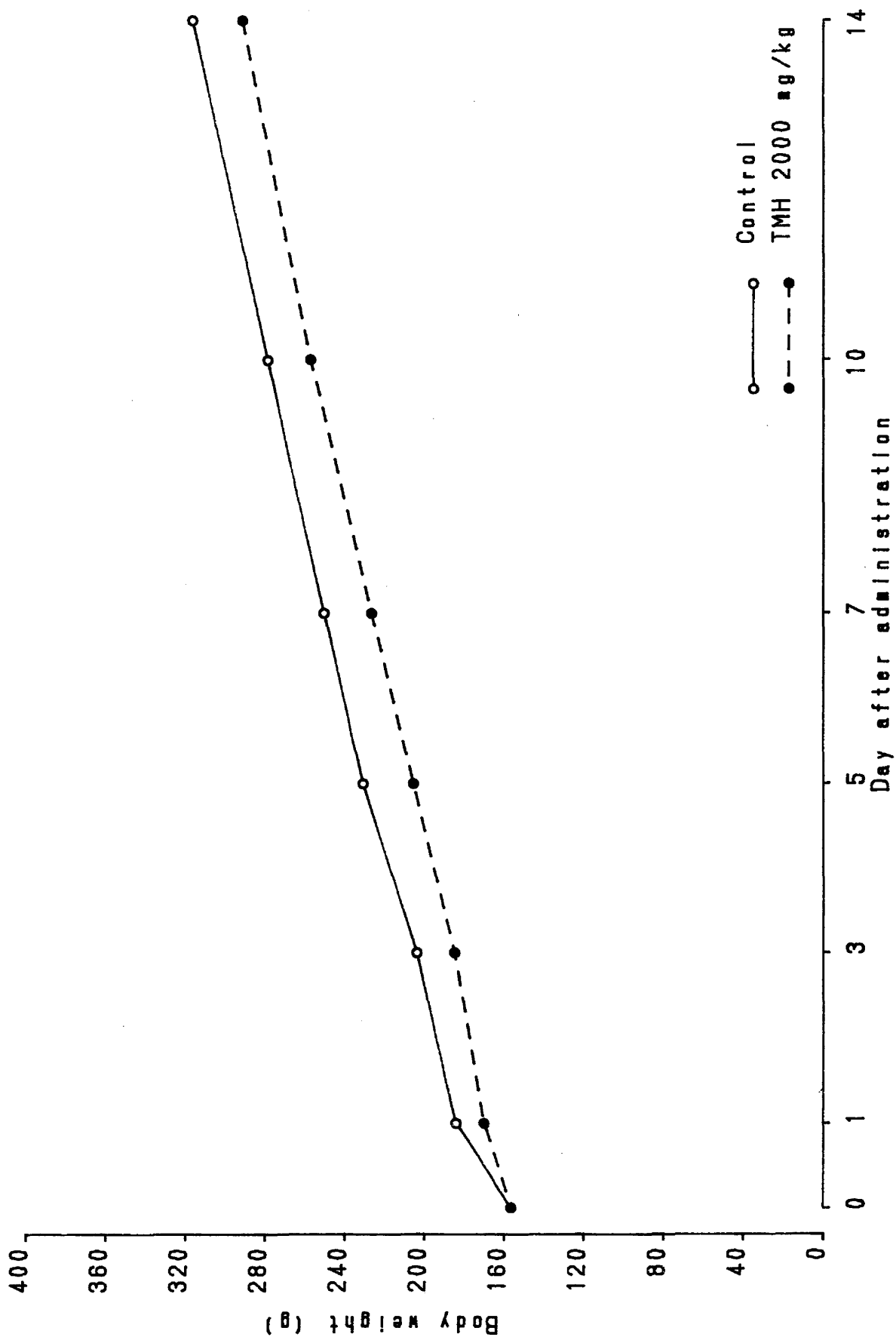


Figure 1. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

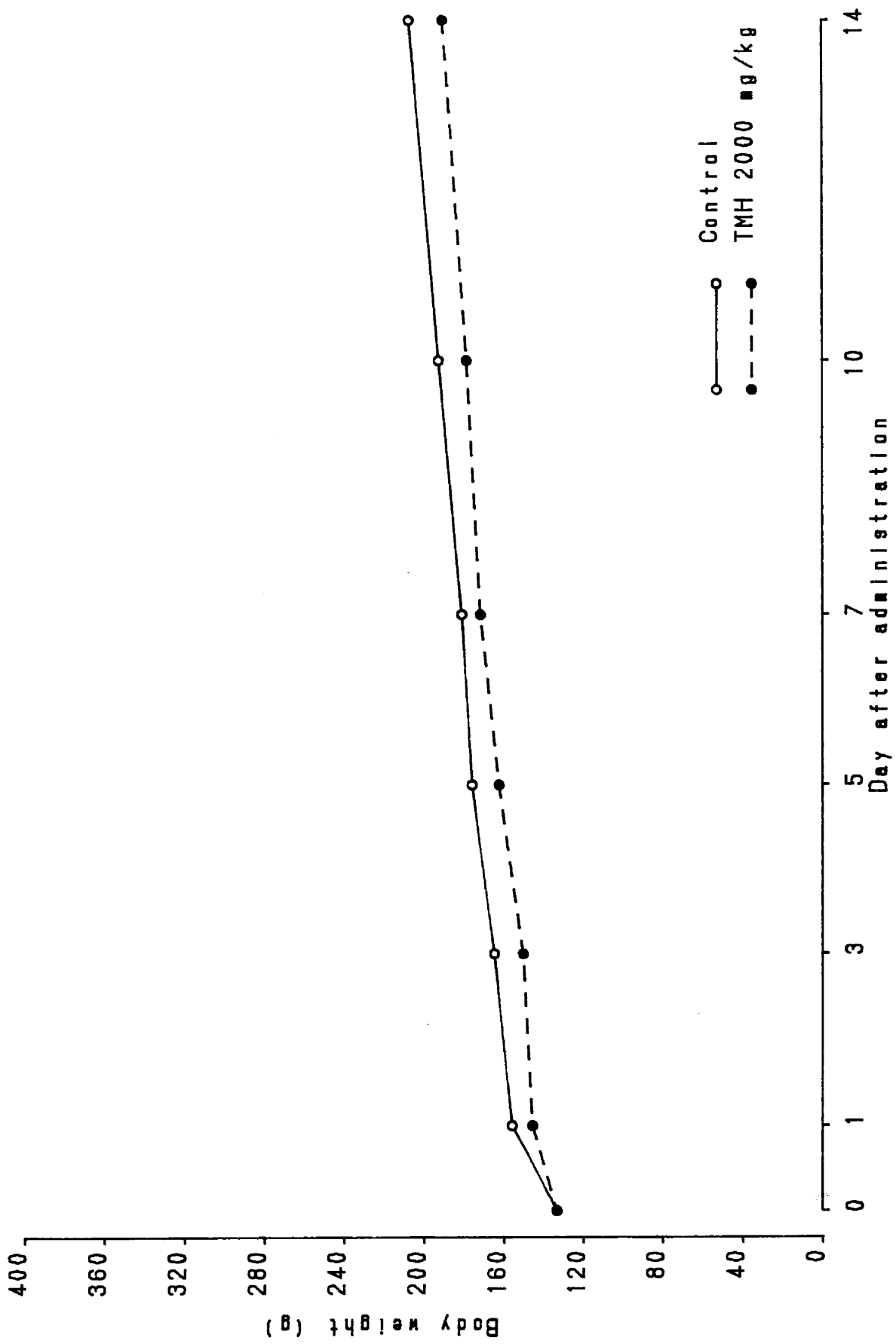


Figure 2. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Table 1. Experimental design for acute oral toxicity test of TMH in rats (SR-9533)

Sex	Group	Concentration of TMH (w/v %)	Volume (ml/kg)	No. of animals ^a
Male	Control ^b	0	5	5
	TMH 2000 mg/kg ^c	40	5	5
Female	Control	0	5	5
	TMH 2000 mg/kg	40	5	5

a: Crj:CD(SD) rats were dosed orally at the age of 5 weeks.

b: Control was dosed with olive oil.

c: TMH (3,5,5-Trimethylhexanol) was dissolved in olive oil.

Table 2. Mortality and LD50 values of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Sex	Group	Distribution of dead animals				LD50 value (mg/kg)
		0	1	a 2-14	b Mortality	
Male	Control	0	0	0	0/5	>2000
	TMH 2000 mg/kg	0	0	0	0/5	
Female	Control	0	0	0	0/5	>2000
	TMH 2000 mg/kg	0	0	0	0/5	

a: Day after administration.

b: No. of dead animals / no. of animals dosed.

Table 3. General appearance of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Item	Male		Female	
	Control	TMH 2000 mg/kg	Control	TMH 2000 mg/kg
No. of animals examined	5	5	5	5
Findings on administration day				
Decrease in spontaneous activity	^a 0	3	0	2
Diarrheal feces on cage tray	0	0	1	0
Findings on days 1-14 after administration				

^a: Values are no. of animals with findings.

^b: There were no abnormal findings during the period.

Table 4. Body weight changes of male rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	156.8	184.4	204.0	231.0	250.4	278.8	317.0
		6.9	10.0	9.4	10.4	13.2	13.5	14.7
TMH 2000 mg/kg	5	156.6	170.4*	185.2**	206.0**	226.8*	257.2*	291.8**
		3.6	5.3	7.1	7.0	9.1	9.4	5.8

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

** : Differs from control, $p \leq 0.01$.

Table 5. Body weight changes of female rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Group	No. of animals	Day after administration						
		0	1	3	5	7	10	14
Control	5	133.8	156.2	164.8	176.0	181.2	192.6	207.4
		8.7	9.9	11.8	10.7	14.8	17.3	16.3
TMH 2000 mg/kg	5	134.0	146.0	150.6*	162.6	171.8	178.8	190.4
		4.2	4.1	6.8	10.7	11.3	12.1	14.4

a: Values are means and S.D. thereunder, and expressed in gram.

*: Differs from control, $p \leq 0.05$.

Table 6. Gross pathological findings of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Item	Male		Female	
	Control	TMH 2000 mg/kg	Control	TMH 2000 mg/kg
No. of animals examined	5	5	5	5
Organ : Findings				
Abnormal findings	a 0	0	0	0

a: Values are no. of animals with findings.

Table 7. Histopathological findings of rats in acute oral toxicity test of TMH (SR-9533)

Item	Male		Female	
	Control	TMH 2000 mg/kg	Control	TMH 2000 mg/kg
No. of animals examined	2	2	2	2
Organ : Findings				
Abnormal findings	0 ^a	0	0	0

There were no abnormal findings in the Liver, kidney, spleen, heart, lung, cerebrum, cerebellum, forestomach, glandular stomach, duodenum, jejunum, ileum, cecum, colon, rectum, testis, epididymis or ovary.

a: Values are no. of animals with findings.