最 終 報 告 書

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole の
ラットを用いる急性経口毒性試験

試験番号：5465（ 115－155 ）

平成 14 年 6 月 20 日

試験委託者
厚生労働省　医薬局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目　次

1.　要約 2

12.　被験物質 5
13.　試験材料および方法 7
14.　試験結果 10
15.　考察および結論 11

Tables　T-1~13
Table 1　Mortality　T-01
Table 2　Clinical observation　T-02
Table 3　Body weight　T-06
Table 4　Gross finding　T-10

1. 要約

1 群につき雌雄各 5 匹の Crj:CD(SD)IGS ラットを用いて 2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole の急性経口毒性試験を実施した.

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole はコーンオイルに懸濁し，雌雄ともに 2000 mg/kg を単回強制経口投与した．また，媒体対照としてコーンオイルのみを投与した群も設定した.

観察期間は 14 日間とし，一般状態の観察，死亡動物の確認，体重の推移および病理学検査を実施した．その結果は次の通り要約される.

観察期間を通じて雌雄ともに異常は観察されず死亡動物も認められなかった.

体重測定の結果，投与後 7 および 14 日の測定値は雌雄とも対照群に比較して差が認められなかった.

病理学検査の結果，観察期間終了時の剖検では雌雄ともに異常所見は認められなかった.

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole のラットにおける LD_{50} 値は雌雄ともに 2000 mg/kg より大であった.

12. 被験物質

被験物質の試験成績書を『Reference data 1』に示した.

12.1. 被験物質名

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole

12.2. CAS No.

3846-71-7

12.3. ロット番号

12.4. 純度

100 wt%（LC 面百法）

12.5. 提供元

12.6. 保管条件

室温

12.7. 保管場所

安評センター被験物質保管庫

12.8. 化学名

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole

12.9. 分子式

$C_{20}H_{25}N_3O$

12.10. 分子量

323.44

12.11. 性状

白色粉末

12.12. 融点

154.3～154.6°C

12.13. 溶解性

水：不溶

トルエン：35.0 g/100 g 溶，エタノール：0.9 g/100 g 溶

12.14. 安定性

常温で安定

12.15.　取り扱い上の注意

吸入，皮膚への直接接触を避けるため取り扱い時には，マスクおよびゴム手袋を着用すること.

12.16.　被験物質保管および残余被験物質の処理

投与終了後，残りは反復投与毒性試験に使用するため保管した.

13. 試験材料および方法

13.1. 試験動物

供試した Crj:CD(SD)IGS ラット[SPF] は日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センターから 5 週齢で雌雄各 16 匹購入した.

動物は検収後，試験環境に馴化し，6 週齢で投与した.

動物はあらかじめ体重によって層別化し，無作為抽出法により各試験群を構成するように群分けした.

動物の識別は，耳介入墨法により行うとともに，ケージに動物標識番号（Animal ID-No.）を付けて行った.

投与時の体重は，雄で 157～176 g，雌で 126～141 g であった.

13.2. 試験系の選択理由

げっ歯類の種は試験ガイドラインで推奨されているラットを選択した. 系統は背景データ，感染性疾患に対する抵抗性および遺伝的安定性などを考慮して選択した.

13.3. 飼育管理

動物は 202 号飼育室（W 3.6 × D 10.0 × H 2.5 m，90 m^3）で飼育し，環境調節の基準値は温度 23±3°C，相対湿度 55±20%，換気回数 1 時間 20 回，照明 12 時間（午前 7 時点灯，午後 7 時消灯）とした. なお，動物飼育期間中の温度および湿度の実測値は 23.4～24.3°C および 51～67%であり，動物の馴化期間を含め観察期間中データの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因の変化はなかった.

株式会社東京技研サービス製の水洗式飼育機（W 745.0 × D 50.0 × H 182.0 cm）を使用し，ステンレス製網目飼育ケージ（W 21.5 × D 27.5 × H 19.5 cm，飼育ケージ・スペース 11529 cm^3）に動物を 5 匹ずつ収容した.

飼育ケージおよび給餌器は週 1 回取り換えた.

飼料はオリエンタル酵母工業株式会社製造の固型飼料 MF（ロット番号：010205）を使用し，飼育期間中，自由に摂取させた. 使用した飼料の夾雑物の分析は，ロット毎にオリエンタル酵母工業株式会社が，財団法人日本食品分析センターに依頼し実施し，許容基準内であることを確認した. その結果を『Reference data 2』に示した.

また，動物には水道水を自動給水ノズルから自由に摂取させた. 水道法に基づいた水道水の検査を株式会社エコプロ・リサーチで行い水道水基準（平成 4 年 12 月 21 日厚生省令第 69 号）の基準内であることを確認した. その分析結果を『Reference data 3』に示した.

13.4. 試験群の構成

試験群の構成は，次表に示した．

試験群	用量 (mg/kg)	性	動物数	動物番号
1	0	雄	5	1001～1005
		雌	5	2001～2005
2	2000	雄	5	1101～1105
		雌	5	2101～2105

［用量設定理由］

本試験に先立って実施した予備試験で 2000 mg/kg を投与した結果，雌雄とも一般状態に変化が観察されず死亡例もみられなかった．従って，本試験の用量は雌雄ともに OECD ガイドライン「急性経口」で上限用量として指定されている 2000 mg/kg を設定し，さらに媒体対照群を設置した．

13.5. 投与液の調製

被験物質を 4000 mg 秤量し，コーンオイル（ロット番号：V7B5849，ナカライテスク株式会社）に懸濁し 20 mL に定容した．調製は投与直前に行った．

13.6. 投与液中の被験物質の安定性および濃度分析

投与液中の冷蔵（約 4°C）保存下 7 日間の安定性（10 および 2000 mg/kg；投与液濃度として 1 および 200 mg/mL）を代謝分析グループにおいて確認した．また，0 および 2000 mg/kg の投与液中の被験物質濃度を，調製後速やかに当センター代謝分析グループにおいて測定した結果，適切に調製されていたことが確認された．この結果を『Reference data 4』に示した．

13.7. 投与経路の選択理由および投与方法

投与経路は OECD ガイドライン「急性経口」で指示されている強制経口投与とした．

投与容量は体重 100 g 当たり 1.0 mL とし，個体別に測定した体重に基づいて投与量を算出した．

投与回数は 1 回とし，投与前約 16 時間絶食させた動物に胃ゾンデを用いて強制経口投与した．なお，媒体対照群にはコーンオイルのみを投与した．

給餌は，被験物質投与後約 3 時間に行った．

13.8. 一般状態の観察

中毒症状および生死の観察は，投与後 6 時間までは 1 時間間隔，投与翌日からは 1 日 1～2 回実施した．観察期間は被験物質投与後 14 日間とした．

13.9.　体重

体重は投与直前，投与後7および14日に電子天秤 PM 4800（メトラー・トレド社）を用いて測定した.

13.10.　病理学検査

観察終了時に全ての動物をエーテル麻酔後放血安楽死させ解剖し，肉眼的病理所見を病理解剖所見記録用紙に記録した.

13.11.　統計解析

統計学的手法を用いた検定は実施しなかった.

13.12.　余剰動物の処分

余剰動物は炭酸ガスにより安楽死させた.

14. 試験結果

試験結果は，Table 1 に観察期間中の死亡状況および LD_{50} 値を，Table 2 に中毒症状およびその発現時期を示した．また，Table 3 に体重推移および Table 4 に剖検所見を示した．

14.1. 死亡率および LD_{50} 値（Table 1）

雌雄ともにいずれの投与群にも死亡動物は認められなかった．LD_{50} 値は雌雄ともに 2000 mg/kg より大であった．

14.2. 一般状態（Table 2）

観察期間を通じていずれの動物にも一般状態に異常は認められなかった．

14.3. 体重（Table 3）

投与後 7 および 14 日の測定で全ての動物の体重が前回の測定値と比較して増加していた．

14.4. 病理学検査（Table 4）

観察期間終了時の解剖でいずれの動物にも異常は認められなかった．

15. 考察および結論

2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole について Crj:CD(SD)IGS ラットを用いて急性経口毒性試験を実施した．その結果，2000 mg/kg 群の雌雄において一般状態に異常はみられず，死亡動物も認められなかった．観察期間中，体重は雌雄とも順調な推移を示した．

また，観察期間終了時の病理解剖においても異常は認められなかった．

従って LD_{50} 値は雌雄ともに 2000 mg/kg より大と考えられた．

Table 1. Mortality

Sex	Group	Dose level (mg/kg)	Number of animals	Number of deaths on the day														Mortality (%)	LD_{50} (mg/kg)
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
Male	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	〉2000
	2	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Female	1	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	〉2000
	2	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 2. Clinical observation

Sex : Male Dose level : 0 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Male Dose level : 2000 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female Dose level : 0 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 2. -continued Clinical observation

Sex : Female Dose level : 2000 mg/kg Number of animals : 5

Signs	Hours							Days												
	1	2	3	4	5	6	24	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Normal	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Dead																				

Number of affected animals : 0 Number of recovered animals : 0 Mortality : 0 / 5

Table 3. Body weight

Sex : Male (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
1	0	1001	159	228	282
		1002	168	250	299
		1003	167	236	288
		1004	165	240	303
		1005	168	241	296
		Mean ± S.D.	165 ± 4	239 ± 8	294 ± 9

Table 3. -continued Body weight

Sex : Male (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
2	2000	1101	157	223	275
		1102	163	226	280
		1103	166	244	290
		1104	170	234	283
		1105	176	262	314
		Mean ± S.D.	166 ± 7	238 ± 16	288 ± 15

Table 3. -continued Body weight

Sex : Female (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
1	0	2001	129	177	206
		2002	130	172	208
		2003	135	174	194
		2004	135	191	229
		2005	138	187	214
		Mean ± S.D.	133 ± 4	180 ± 8	210 ± 13

Table 3. -continued Body weight

Sex : Female (unit : g)

Group	Dose level (mg/kg)	Animal ID-No.	Days after administration 0	7	14
2	2000	2101	127	177	211
		2102	129	177	205
		2103	126	181	209
		2104	136	188	224
		2105	141	192	225
		Mean ± S.D.	132 ± 6	183 ± 7	215 ± 9

Table 4. Gross finding

Sex : Male Dose level : 0 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1001	Sacrificed	14		Normal
1002	Sacrificed	14		Normal
1003	Sacrificed	14		Normal
1004	Sacrificed	14		Normal
1005	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Male Dose level : 2000 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
1101	Sacrificed	14		Normal
1102	Sacrificed	14		Normal
1103	Sacrificed	14		Normal
1104	Sacrificed	14		Normal
1105	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female Dose level : 0 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2001	Sacrificed	14		Normal
2002	Sacrificed	14		Normal
2003	Sacrificed	14		Normal
2004	Sacrificed	14		Normal
2005	Sacrificed	14		Normal

Table 4. -continued Gross finding

Sex : Female Dose level : 2000 mg/kg

Animal ID-No.	Classification	Days after administration	Organ	Findings and comments
2101	Sacrificed	14		Normal
2102	Sacrificed	14		Normal
2103	Sacrificed	14		Normal
2104	Sacrificed	14		Normal
2105	Sacrificed	14		Normal