

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナン
のラットにおける
急性毒性試験
(経口投与)

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】

| | 頁 |
|-----------------------------------|---|
| 要 約 | 1 |
| 試験目的 | 2 |
| 試験方法 | 3 |
| 1. 被験物質および投与検体 | 3 |
| 2. 動物および飼育方法 | 3 |
| 3. 群分けおよび投与方法 | 4 |
| 4. 観察および病理学的検査 | 4 |
| 試験結果および考察 | 6 |
| 1. 試験の経過 | 6 |
| 2. 死亡率およびLD ₅₀ 値 | 6 |
| 3. 一般状態の変化 | 6 |
| 4. 体重の変化 | 6 |
| 5. 病理学的検査所見 | 6 |
| 参考文献 | 8 |

Tables 1~3

【要 約】

2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの急性経口投与毒性試験を雌雄の Sprague-Dawley 系 (Crj:CD) ラット計20匹を用いて実施した。なお、投与量は、雌雄とも 0 (溶媒対照群) および 2000 mg/kg とした。

その結果、雌雄とも、溶媒対照群および 2000 mg/kg 投与群に死亡例はみられず、また、投与後の一般状態の変化も、溶媒として用いたコーンオイルの大量投与に起因すると思われる一過性の下痢便あるいは軟便の排泄がみられた以外には、異常は認められなかった。投与後の体重は、溶媒対照群、2000 mg/kg 投与群ともに順調に増加し、15日目に行った剖検においても各器官・組織に異常所見は認められなかった。

以上の結果から、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのラットにおける経口投与による LD₅₀値は、雌雄とも 2000 mg/kg を上回る量と推定された。

【試 験 目 的】

既存化学物質の安全性評価の一環として、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのラットにおける急性経口投与毒性試験を実施した。

なお、本試験は、OECD 化学物質試験法ガイドライン（1987年2月24日採択，401 急性経口毒性試験法）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。

【試 験 方 法】

1. 被験物質および投与検体

本試験の被験物質として、から提供された 2,2,4,4,6,8,8-
ヘプタメチルノナン [CAS No.: 4390-04-9、ロット番号：

)、無色透明の液体、比重：0.78、純度：99.9%] を用いた。

投与に際して、比重を考慮し、被験物質を 25.6%(v/v) の濃度になるようコーンオイル (ロット番号：VOK5232、ナカライテスク(株)製) に混和し、投与検体とした。投与検体は、調製後 1 時間以内に試験に使用した。

なお、この方法に従って調製された 2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンの安定性試験は、秦野研究所で実施され、コーンオイルに混和して調製した 2.56 および 25.6%(v/v) 溶液中の被験物質は、室温遮光の条件下で 7 日間は安定であることが確認されている (Appendix 4-1)。また、今回の試験で使用した 25.6%(v/v) 溶液の含量試験についても秦野研究所で行われ、溶液中の平均被験物質含量は、所定濃度の 97.9%であった (Appendix 4-2)。

2. 動物および飼育方法

生後 4 週で購入した雌雄の Sprague-Dawley 系ラット (Crj:CD; SPF、日本チャールス・リバー(株)、厚木飼育センター生産) (注 1) を 7 日間にわたり予備飼育した後、一般状態に異常の認められなかった雌雄各 10 匹を試験に供した (注 2)。全飼育期間を通じて、動物を金属製金網床ケージ (220 W×270 D×190 H mm、日

| | | |
|-------------|---|-------------------------------|
| (注 1) 動物購入日 | : | 1991年 9 月 4 日 (雌・雄) |
| 入荷匹数 | : | 雌; 12匹、雄; 12匹 |
| 入荷時体重 | : | 雌; 67.3~76.5 g (平均 72.1g) |
| | : | 雄; 69.3~75.3 g (平均 72.6g) |
| (注 2) 投与日 | : | 1991年 9 月 12 日 (雌・雄) |
| 投与時体重 | : | 雌; 98.2~109.5 g (平均 102.5 g) |
| | : | 雄; 107.7~120.1 g (平均 113.8 g) |

本ケージ(調製)に1匹ずつ収容し、温度 24 ± 1 ℃、湿度 55 ± 5 %、換気回数約15回/時間、照明時間12時間(7~19時点灯)に設定された飼育室内(バリアーシステム)で飼育した。動物には、投与前約18時間と投与後約3時間の絶食期間を除く全飼育期間を通じて固型飼料(CB-2、日本クレア(調製))を自由に摂取させ、また、飲料水としては、全飼育期間を通じて水道水を自由に摂取させて維持管理した。なお、雌雄ともに各動物の尾にフェルトペンで各々異なる標識をして個体識別を行い、飼育ケージには、群ごとに色彩の異なったカードを掛け、試験系識別番号、性、群および動物番号を記入して個体識別の補助とした。

3. 群分けおよび投与方法

群分けは、無作為選択による自由群分けによって行い、投与は以下の要領で行った。即ち、雌雄ともあらかじめ約18時間の絶食を行った後、1群5匹からなる2群に分け、体重100g当たり1mlの割合でラット用胃管を用いて強制経口投与した。本試験に先立って実施した1群3匹の雄ラットを用いた予備試験の結果、500、1000 および 2000 mg/kg 投与群では、いずれも死亡例は認められなかったため、本試験では、雌雄とも被験物質の投与用量を 2000 mg/kg とし、他の1群(対照群)には溶媒(コーンオイル)のみを投与した。

4. 観察および病理学的検査

投与日(1日目)においては、投与後約2時間まで継続して、また、それ以降6時間までは、1ないし2時間に1回の頻度で各動物の一般状態と死亡例の有無を観察した。2日目から15日目には、毎日1回動物の状態を観察した。また、投与直前、2、4、8、11および15日目に体重の測定を行い、各群ごとに平均値と標準偏差を求めた。15日目には各動物をペントバルビタール・ナトリウム麻酔下で放血屠殺した後、病理解剖を行い、雌雄とも 2000 mg/kg 投与群の各1例の主

要な器官・組織を10%リン酸緩衝ホルマリン液で固定し保存した。

【試験結果および考察】

1. 試験の経過

試験期間を通じて、試験の信頼性に悪影響を及ぼすと考えられる動物飼育環境の変化を含む予期し得ない異常事態の発生および試験計画書からの逸脱は認められなかった。

2. 死亡率およびLD₅₀値 (Table 1)

雌雄とも、いずれの投与群にも14日間の観察期間中に死亡例は認められなかった。従って、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノタンのラットにおける経口投与によるLD₅₀値は、雌雄とも 2000 mg/kg を上回る量と推定された。

3. 一般状態の変化 (Table 2, Appendixes 1-1, 1-2)

投与後約30分から4時間の間に一過性の下痢便あるいは軟便の排泄が、溶媒対照群の雌雄の全例、2000 mg/kg 投与群の雌の5例中3例および雄の5例中4例に認められた。しかし、いずれも、それ以降は正常便となり、観察終了時まで一般状態に異常はみられなかった。

4. 体重の変化 (Table 3, Appendixes 2-1, 2-2)

雌雄とも、いずれの投与群においても体重の増加抑制はみられず、観察期間中の体重増加は順調であった。

5. 病理学的検査所見 (Appendixes 3-1, 3-2)

15日目に屠殺剖検を行った結果、雌雄とも溶媒対照群および 2000 mg/kg 投与群のいずれの動物にも、肉眼的変化は認められなかった。

なお、肉眼的観察において、病理組織学的検査を要すると思われる変化がみられなかったため、病理組織学的検査は行わなかった。

以上のように、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのラットにおける急性経口投与毒性試験を行った結果、雌雄とも溶媒対照群および 2000 mg/kg 投与群のいずれにも死亡例はみられず、投与後の一般状態の変化として、いずれの投与群にも、一過性の下痢便あるいは軟便の排泄がみられた以外に異常は認められなかった。一般状態においてみられた一過性の下痢便あるいは軟便の排泄については、一般に大量の植物油を経口投与すると、一過性の下痢便の排泄がみられることが知られており、¹⁾溶媒として用いたコーンオイルに起因するものと考えられる。

以上の結果から、2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナンのラットにおける経口投与によるLD₅₀値は、雌雄とも 2000 mg/kg を上回る量と推定される。

【参 考 文 献】

- 1) 白須泰彦、吐山豊秋編： 新毒性試験法－方法と評価－，リアライズ社，
東京，1985， p.46

Table 1 Mortality in rats after single oral administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane

| Sex | Group | Number of treated rats | Number of dead rats | | | | | | | | | | | | | Mortality | | | |
|--------|------------|------------------------|---------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|-----------|----|----|-----|
| | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | | 14 | 15 | |
| Female | Control | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 |
| | 2000 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 |
| Male | Control | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 |
| | 2000 mg/kg | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0/5 |

Day 1: The day of administration

Table 2 Summary of clinical signs in rats after single oral administration of 2,2,4,4,6,8,8-heptamethylnonane

| Clinical sign | Sex | Group | Number of treated rats | Number of rats with clinical sign | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--------|------------|------------------------|-----------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|---|---|
| | | | | Day of observation | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | | |
| Diarrhea or loose feces | Female | Control | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| | | 2000 mg/kg | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | Male | Control | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | | 2000 mg/kg | 5 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Day 1: The day of administration

Table 3 Body weight changes in rats after single oral administration of 2,2,4,4,6,6,8,8-heptamethylnonane

| Sex | Group | Body weight (g) | | | | | |
|--------|------------|-----------------|-------|-------|--------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 4 | 8 | 11 | 15 |
| Female | Control | n | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 103.1 | 122.6 | 136.7 | 151.9 | 163.6 |
| | S.D. | ± 4.2 | ± 4.1 | ± 3.8 | ± 5.6 | ± 7.1 | ± 8.5 |
| | 2000 mg/kg | n | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 102.0 | 120.8 | 135.3 | 149.5 | 159.8 |
| | S.D. | ± 3.5 | ± 8.1 | ± 5.2 | ± 5.3 | ± 4.1 | ± 3.7 |
| Male | Control | n | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 115.2 | 139.5 | 164.8 | 202.9 | 231.0 |
| | S.D. | ± 3.5 | ± 5.8 | ± 7.2 | ± 13.2 | ± 14.9 | ± 19.8 |
| | 2000 mg/kg | n | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| | | Mean | 112.4 | 136.1 | 159.7 | 198.0 | 224.3 |
| | S.D. | ± 5.0 | ± 7.1 | ± 8.4 | ± 11.7 | ± 12.6 | ± 13.1 |

Day 1: The day of administration

n : Number of rats

S.D. : Standard deviation from the mean