

試 験 報 告 書

メトキシメタノールのラットを用いた
経口投与による単回投与毒性試験

(試験番号：2 L 2 9 9)

株式会社三菱化成安全科学研究所

目次

	頁
1 要約	1
2 材料と方法	
2.1 被験物質	2
2.2 試験動物	2
2.3 動物飼育	2
2.4 投与液の調製	3
2.5 投与用量および投与液量	3
2.6 投与方法	3
2.7 一般状態観察	3
2.8 体重測定	3
2.9 剖検	4
2.10 LD ₅₀ 値の算出	4
3 結果および結論	
3.1 死亡動物	5
3.2 一般状態	5
3.3 体重	5
3.4 剖検	5
3.5 致死量 (LD ₅₀ 値)	5
図表	
Fig. 1 Body weight	6
Table 1 Mortality	7
Table 2 Clinical signs	8
Table 3 Mean body weight	12
Table 4 Autopsy findings	13

1 要約

- (1) メトキシメタノールをSD系(Crj:CD)ラット(SPF)の雌雄に単回経口投与した時の毒性について検討した。被験物質には46.73%のメトキシメタノールの他、メタノールが44.93%含まれる。
- (2) 雌雄とも707、1000、1414、2000および2828mg/kgの5用量（純度換算値はそれぞれ330、467、661、935および1322mg/kg）を設定し、1群各5匹に投与した。溶媒は精製水を使用した。投与液量は10ml/kgとした。
- (3) 死亡動物は雌雄とも1000mg/kg以上の群で認められ、雄の2000mg/kg以上の群、雌の2828mg/kgの群で全例が死亡した。雄の1000mg/kgの1例（投与後7日に死亡）を除き、死亡の発現は投与後5分以内から翌日に認められた。
- (4) 一般状態の観察では、投与当日に自発運動量減少、呼吸緩徐、眼瞼下垂、流涎、横たわり、あえぎ、間代性痙攣、流涙、赤色流涙、赤色鼻汁および挙尾が観察された。これらの症状は投与後5日までに消失した。なお投与後7日の死亡例には3日から腹部膨満が認められた。
- (5) 体重では、1414および2000mg/kg群の生存動物の一部が投与後3日に減少を示したが、他の生存動物はいずれも観察期間中増加を示した。
- (6) 剖検において、死亡例では心房拡張、肺の鬱血・水腫、胃の鬱血・水腫・出血・びらん、胃・腸管のガス膨満が認められた。生存動物では、胃の肥厚・びらん・潰瘍および肝臓との癒着が1414mg/kg以上の群で認められた。
- (7) LD₅₀値は、雄が1269mg/kg（95%信頼限界：981～1636mg/kg）、雌が1451mg/kg（95%信頼限界：1059～2000mg/kg）であった。なお、純度換算後のLD₅₀値は、雄が593mg/kg（95%信頼限界：458～765mg/kg）、雌が678mg/kg（95%信頼限界：495～935mg/kg）である。

2 材料と方法

2.1 被験物質

より提供されたメトキシメタノール（

ロット番号： ）を使用した。被験物質は下記の構造および組成を有する無色の液体である。本ロットについては投与開始前および投与終了後に分析し、安定であることが確認された。

化学名：methoxymethanol

化学式： $\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{OH}$

構造式： $\text{CH}_3-\text{O}-\text{CH}_2-\text{OH}$

組 成：メトキシメタノール	46.73 %
メタノール	44.93 %
遊離酸	0.006%

2.2 試験動物

日本チャールス・リバー株式会社より1992年12月2日および1993年1月6日に購入したSD系(Crj:CD)ラット(SPF)の雌雄を6～12日間馴化し、健康な動物を試験に使用した。投与時の週齢は雄は5週齢、雌は5～6週齢、体重範囲は雄で125g～147g、雌で104g～144gであった。

2.3 動物飼育

2.3.1 飼育管理

馴化・検疫期間を含めた全飼育期間中、温度20～25℃、湿度40～70%R. H.、換気約12回/時、照明12時間（7:00～19:00）に自動調節された飼育室を使用した。実験動物用床敷（ベータチップ：日本チャールス・リバー株式会社）を敷いたポリカーボネート製ケージ（265W×426D×200Hmm：トキワ科学器械株式会社）に1ケージ当たり5匹収容し、スチール製架台（4段：トキワ科学器械株式会社）上で飼育した。ステンレス製の固型飼料用給餌器（トキワ科学器械株式会社）およびポリカーボネート製の給水瓶（700ml：トキワ科学器械株式会社）を用いた。ケージ（含床敷）、給餌器および給水瓶は、週1回の頻度でオートクレーブ滅菌したものと交換した。

2.3.2 飼料

実験動物用固型飼料（MF：オリエンタル酵母工業株式会社）を自由摂取させた。飼料は週1回の頻度で交換した。残留農薬等汚染物質の分析値が当社のSOPで定めた濃度以下であることが保証された飼料を使用した。

2.3.3 飲水

5 μ mのフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由摂取させた。飲水は週1回の頻度で交換した。なお水道法に準拠した水質検査を定期的に行い、厚生省令56の別表に定める基準範囲内であることを確認した。

2.4 投与液の調製

投与直前に秤量した被験物質を精製水に溶解調製した。なお、純度換算は行わなかった。

2.5 投与用量および投与液量

予備試験の結果を参考に、707、1000、1414、2000、2828mg/kgの5用量を各用量につき雌雄各5匹に投与した。投与液量は10ml/kgとした。

2.6 投与方法

投与前日の夕方から絶食させ、胃ゾンデを用いて、胃内に1回強制経口投与した。投与後約3時間は飼料を与えなかった。

2.7 一般状態観察

投与当日は投与後5、15、30分、1、3および6時間、以後1日1回、14日間にわたって各動物の生死および一般状態を観察した。

2.8 体重測定

投与日を0日として、投与直前、投与後3、7および14日に体重を測定した。測定には上皿電子天秤（BB-5000：株式会社島津製作所）を使用した。

2.9 剖検

死亡動物については、発見後速やかに剖検した。生存動物については観察終了後（投与後14日）にバルビツール酸誘導体（ラボナール：田辺製薬株式会社）の麻酔下で腹大動脈を切断し、放血致死させ剖検した。

2.10 LD₅₀値の算出

各用量群における投与後14日の死亡率をもとにProbit法によりLD₅₀値を算出した。

3 結果および結論

3.1 死亡動物 (Table 1)

雌雄ともに1000mg/kg以上の群で死亡が認められ、雄は2000mg/kg以上、雌は2828mg/kg群で全例が死亡した。死亡の殆どは投与後5分以内から翌日までに発現したが、雄の1000mg/kg群の1例のみは投与後7日に死亡した。

3.2 一般状態 (Table 2)

自発運動量減少、呼吸緩徐、眼瞼下垂が全群、横たわり、あえぎおよび間代性痙攣が1414mg/kg以上の群、流涎が雌の707および2828mg/kgを除く群で認められた。その他に、流涙、赤色流涙、赤色鼻汁、挙尾も観察された。これらの中毒症状は投与後5分以内に発現し、1000mg/kg以上の群では自発運動量減少および呼吸緩徐が4日まで観察された。また、投与後7日の死亡例には3日以降腹部膨満が認められた。

3.3 体重 (Fig. 1, Table 3, Appendix 1)

投与後3日に1414および2000mg/kg群の生存動物の一部が投与後3日に減少を示したが、以後は増加した。雄の1000mg/kg群の死亡動物は観察期間中減少を示した。その他の動物はいずれも観察期間中増加を示した。

3.4 剖検 (Table 4)

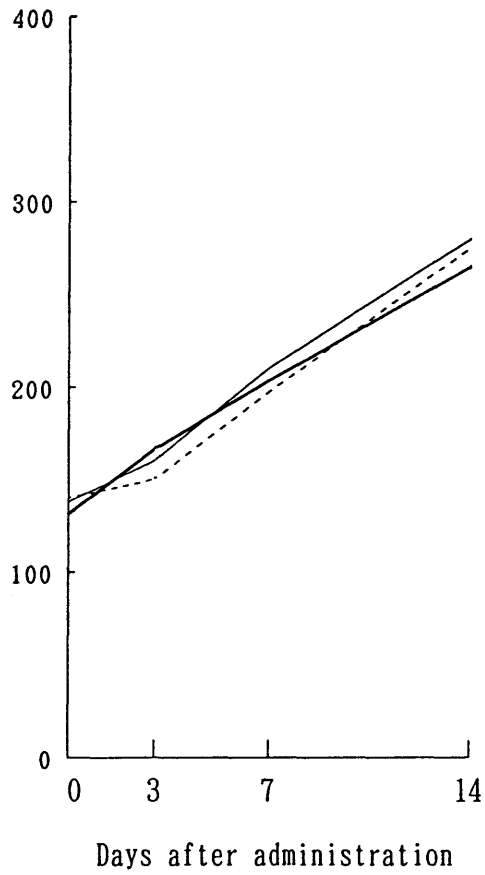
死亡例の剖検では、心房拡張、肺の鬱血・水腫、腺胃粘膜の鬱血・水腫・出血・びらんが認められた。また、腹部膨満を示した動物には胃および小腸のガスによる膨満が観察された。生存動物の観察終了後の剖検では、胃と肝臓の癒着、前胃粘膜の肥厚および腺胃粘膜のびらん・潰瘍が1414mg/kg以上の群で認められた。

3.5 致死量 (LD₅₀値)

雄 1269mg/kg (95%信頼限界：981~1636mg/kg)

雌 1451mg/kg (95%信頼限界：1059~2000mg/kg)

Body weight(g)



Body weight(g)

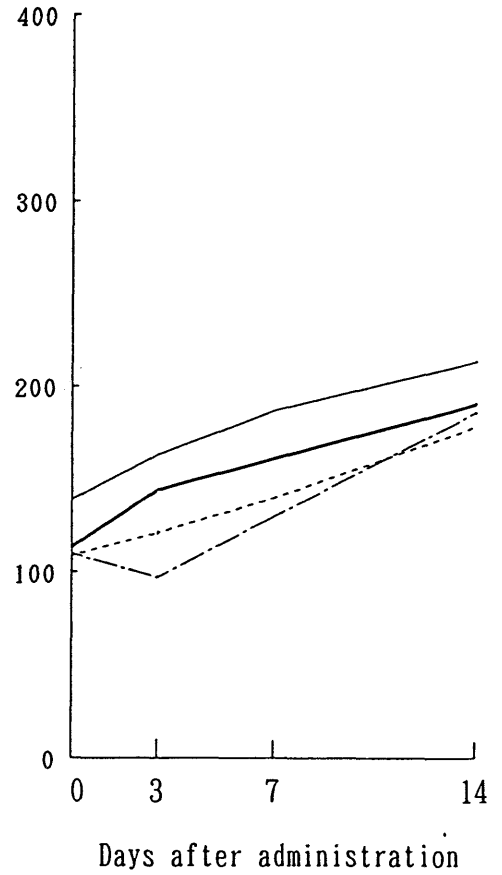


Fig. 1 Body weight (left : Male, right : Female)

— : 707 mg/kg - - - : 1414 mg/kg
- - - : 1000 mg/kg - · - · : 2000 mg/kg

(Cumulative mortality / No. of test animals)

Sex	Dose (mg/kg)	Time after administration						Days after administration							Mortality rate (%)	
		5m	15m	30m	1h	3h	6h	1	2	3	4	••	7	••		14d
Male	707	0/5	—————→											0/5	0	
	1000	0/5	—————→											1/5	→1/5	20
	1414	0/5	1/5	—————→				3/5	—————→				3/5	60		
	2000	0/5	—————→		1/5	2/5	5/5	—————→				5/5	100			
	2828	3/5	4/5	5/5	—————→								5/5	100		
Female	707	0/5	—————→											0/5	0	
	1000	0/5	—————→					2/5	—————→				2/5	40		
	1414	0/5	—————→				1/5	—————→				1/5	20			
	2000	2/5	3/5	—————→			4/5	—————→				4/5	80			
	2828	5/5	—————→									5/5	100			

m : minutes, h : hour(s), d : days.

Table 2-1-1 Clinical signs (Male)

STUDY NO. 2L299

Dose (mg/kg)	Clinical signs	(No. of animals with findings / No. of animals examined)														
		Time after administration						Days after administration								
		0-5m	15m	30m	1h	3h	6h	1	2	3	4	5	6	7	-14d	
707	Decrease of locomotor activity	+	5/5	5/5	1/5	1/5	1/5	1/5								
	Hypopnoea		5/5	5/5	5/5	4/5	4/5	4/5								
	Ptosis		2/5	1/5												
	Salivation		1/5													
Normal			0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	-5/5
1000	Decrease of locomotor activity	+		3/5	5/5	5/5			5/5	4/5						
		†	5/5	2/5						1/5						
	Hypopnoea		5/5	4/5	2/5				1/5	1/5	1/5					
	Ptosis		2/5	2/5	2/5											
	Salivation			1/5												
	Abdominal distention									1/5	1/5	1/5	1/5			
Normal			0/5	0/5	0/5	0/5	5/5	5/5	5/5	0/5	0/5	4/5	4/5	4/5	4/4	-4/4
1414	Decrease of locomotor activity	+			3/4	4/4	4/4	4/4	2/2	2/2	2/2					
		†	4/5	4/4	1/4											
		‡	1/5													
	Prone position		1/5													
	Clonic convulsion		1/5													
	Hypopnoea		5/5	4/4	4/4	4/4	4/4	4/4								
	Gasping		1/5													
	Ptosis		2/5	1/4	1/4											
Salivation		1/5	3/4													
Normal			0/5	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4	0/2	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2	2/2	-2/2
2000	Decrease of locomotor activity	+			2/5	1/4										
		†	4/5	2/5	4/5	2/5	3/4	2/3								
		‡	1/5	3/5	1/5	1/5		1/3								
	Prone position		1/5	3/5	1/5	1/5		1/3								
	Clonic convulsion				1/5				AD							
	Hypopnoea		5/5	5/5	5/5	5/5	4/4	3/3								
	Lacrimation		1/5	2/5												
	Ptosis		5/5	3/5	5/5	5/5	1/4	3/3								
Salivation		2/5	4/5													
Normal			0/5	0/5	0/5	0/5	0/4	0/3								

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, † : moderate, ‡ : severe.
 AD : all animals were dead.

		(No. of animals with findings / No. of animals examined)													
Dose (mg/kg)	Clinical signs	Time after administration						Days after administration							
		0-5m	15m	30m	1h	3h	6h	1	2	3	4	5	6	7	-14d
2828	Decrease of locomotor activity	+	2/5												
		+	3/5	1/1											
	Prone position		3/5	1/1											
	Clonic convulsion		3/5	1/1											
	Hypopnoea		5/5	1/1	AD										
	Gasping		3/5												
	Lacrimation		2/5	1/1											
	Reddish tear		2/5												
	Ptosis		5/5	1/1											
Normal			0/5	0/1											

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, # : moderate, ## : severe.
 AD : all animals were dead.

Table 2-2-1 Clinical signs (Female)

STUDY NO. 2L299

		(No. of animals with findings / No. of animals examined)															
Dose (mg/kg)	Clinical signs		Time after administration						Days after administration								
			0-5m	15m	30m	1h	3h	6h	1	2	3	4	5	6	7	-14d	
707	Decrease of locomotor activity	+	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5									
	Hypopnoea		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5									
	Ptosis		1/5		1/5												
	Normal		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	-5/5
1000	Decrease of locomotor activity	+	4/5	4/5	4/5	4/5	5/5	5/5	3/3								
		†	1/5	1/5	1/5	1/5											
	Hypopnoea		5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5									
	Red snivel						1/5										
	Ptosis		3/5	2/5	1/5	1/5											
	Salivation			1/5													
	Normal		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	-3/3
1414	Decrease of locomotor activity	+			4/5	5/5	5/5	5/5	3/4		4/4	2/4					
		†	4/5	3/5	1/5												
		‡	1/5	2/5													
	Prone position		1/5	2/5													
	Hypopnoea		5/5	5/5	5/5	1/5	1/5	1/5									
	Gasping		1/5														
	Ptosis		3/5	3/5	2/5	1/5											
Salivation		3/5	1/5														
	Normal		0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	1/4	4/4	0/4	2/4	4/4	4/4	4/4	4/4	-4/4
2000	Decrease of locomotor activity	+		1/2			1/2	1/2	1/1	1/1	1/1	1/1					
		†	3/5	1/2	2/2	2/2	1/2	1/2									
		‡	2/5														
	Prone position		2/5														
	Clonic convulsion		2/5														
	Hypopnoea		3/5	2/2	2/2	2/2	2/2	1/2									
	Gasping		3/5														
	Ptosis		4/5		1/2	1/2											
Salivation		3/5															
	Normal		0/5	0/2	0/2	0/2	0/2	0/2	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	-1/1

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, † : moderate, ‡ : severe.
 AD : all animals were dead.

		(No. of animals with findings / No. of animals examined)													
Dose (mg/kg)	Clinical signs	Time after administration						Days after administration							
		0-5m	15m	30m	1h	3h	6h	1	2	3	4	5	6	7	-14d
2828	Decrease of locomotor activity	##	2/5												
	Prone position		2/5												
	Clonic convulsion		5/5												
	Straub tail		1/5 AD												
	Hypopnoea		1/5												
	Gasping		1/5												
	Ptosis		5/5												
	Normal		0/5												

m : minutes, h : hour(s), d : days, + : slight, # : moderate, ## : severe.
AD : all animals were dead.

Table 3 Mean body weight

STUDY NO. 2L299

Unit : g

Sex	Dose (mg/kg)		Days after administration			
			0	3	7	14
Male	707	Mean	131	166	203	264
		S. D.	5.5	7.7	9.2	14.1
		Number	5	5	5	5
	1000	Mean	138	160	210	279
		S. D.	3.9	27.4	9.0	6.7
		Number	5	5	4	4
	1414	Mean	140	150	197	274
		S. D.	1.9	36.8	36.8	34.6
		Number	5	2	2	2
	2000	Mean	141			
		S. D.	2.3	AD		
		Number	5			
2828	Mean	140				
	S. D.	5.5	AD			
	Number	5				
Female	707	Mean	113	144	161	190
		S. D.	4.5	4.9	5.3	11.0
		Number	5	5	5	5
	1000	Mean	139	163	187	213
		S. D.	6.2	7.0	6.7	11.7
		Number	5	3	3	3
	1414	Mean	109	121	140	178
		S. D.	4.5	20.7	29.2	23.0
		Number	5	4	4	4
	2000	Mean	110	97	130	186
		S. D.	4.0			
		Number	5	1	1	1
2828	Mean	110				
	S. D.	4.0	AD			
	Number	5				

AD : all animals were dead.

Table 4 - 1 Autopsy findings (Male)

STUDY NO. 2L299

(No. of animals with findings / No. of animals examined)

Organ : findings		Dose (mg/kg)	707	1000	1414	2000	2828
Dead animals	Heart : atrial dilatation	-	1/1	3/3	2/5	4/5	
	Lung : congestion/edema	-	1/1	1/3	2/5	0/5	
	Stomach : congestion/edema/hemorrhage (glandular area)	-	0/1	2/3	4/5	0/5	
	erosion(glandular area)	-	0/1	2/3	3/5	0/5	
	flatulence(gas)	-	1/1	0/3	0/5	0/5	
	Small intestine : flatulence(gas)	-	1/1	0/3	0/5	0/5	
Normal		-	0/1	0/3	1/5	1/5	
Surviving animals	Stomach : adhesion with liver	-	-	0/2	-	-	
	tickening of mucos (non-glandular area)	-	-	1/2	-	-	
	erosion/ulcer(glandular area)	-	-	1/2	-	-	
	Normal	5/5	4/4	1/2	-	-	

Table 4 - 2 Autopsy findings (Female)

STUDY NO. 2L299

(No. of animals with findings / No. of animals examined)

Organ : findings		Dose (mg/kg)	707	1000	1414	2000	2828
Dead animals	Heart : atrial dilatation	-	2/2	1/1	3/4	4/5	
	Lung : congestion/edema	-	1/2	1/1	0/4	0/5	
	Stomach : congestion/edema/hemorrhage (glandular area)	-	2/2	1/1	1/4	0/5	
	Stomach : erosion(glandular area)	-	0/2	1/1	1/4	0/5	
	Normal	-	0/2	0/1	1/4	1/5	
Surviving animales	Stomach : adhesion with liver	-	-	3/4	1/1	-	
	Stomach : tickening of mucos (non-glandular area)	-	-	3/4	1/1	-	
	Stomach : erosion/ulcer(glandular area)	-	-	1/4	0/1	-	
	Normal	5/5	3/3	1/4	0/1	-	