



最 終 報 告 書

ラウリルリン酸ナトリウムのラットを用いた
経口投与による急性毒性試験

B-5271

2005年12月7日

株式会社 **ボゾリサーチセンター**

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	11
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	12
1) 一般状態及び生死の観察	12
2) 体重測定	13
3) 病理学検査	13
8. LD ₅₀ 値の推定	13

	頁
試験結果	14
1. LD ₅₀ 値	14
2. 一般状態	14
3. 体重	14
4. 剖検	14
考 察	15

図

Fig. 1 体重

表

Table 1	死亡状況及び LD ₅₀ 値
Table 2、3	一般状態
Table 4、5	体重
Table 6、7	剖検所見

要 約

ラウリルリン酸ナトリウムの急性毒性を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット [Crj:CD(SD)IGS] を用いて、1 投与段階 (1 群) につき雌 3 匹ずつ用いて「急性毒性等級法」により検討した。投与は 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た。

2. 一般状態

いずれの動物にも一般状態に異常はみられなかった。

3. 体重

いずれの動物も体重推移に異常は認められなかった。

4. 剖検

いずれの動物にも剖検結果に異常はみられなかった。

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、ラウリルリン酸ナトリウムをラットに1回経口投与したときの影響を調べたので、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

ラウリルリン酸ナトリウム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ロット番号及び性状などを以下に示した(添付資料1)。

製造者 :

名称 : ラウリルリン酸ナトリウム (CAS 番号 : 50957-96-5)

Sodium lauryl phosphate (一般名)

Phosphoric acid,dodecyl ester,sodium salt (IUPAC 命名法)

ロット番号 :

構造式又は示性式

: $C_{12}H_{26}NaO_4P$

分子量 : 288.30

性状 (25℃) : 白色粉末でわずかに特異なおいがある。

酸価 : 110~150 (第2法、2g、ただし、溶媒はエタノール、ベンゼン、水の5:5:1容量混液使用)

乾燥減量 : 2.5%以下 (1g、105℃、1時間)

重金属 : 20ppm 以下

ヒ素 : 2ppm 以下

安定性 : 動物試験終了後、被験物質製造者にて安定性が確認された(添付資料2)。

保存方法 : 室温・密封 (実測値 : 15~25℃)

保存場所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び第1研究棟2階被験物質調製室

返却 : 動物試験終了後の残量は本被験物質を使用する関連試験が全て終了した後、全てに返却した。

2) 媒体

メーカー : 丸石製薬株式会社

名称 : オリーブ油

ロット番号 : 3X21

保存方法 : 室温

保存場所 : 御殿場研究所 第1研究棟2階被験物質調製室

2. 被験液の調製

1) 被験液の調製方法

被験物質の必要量を秤取し、メノウ乳鉢内で媒体に懸濁して所定濃度とした。調製は投与 5 日前に行い、使用時まで褐色ガラス瓶（遮光瓶）に入れた。

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、実測値：2～5℃）に保存した。

3) 被験液の安定性

本被験物質の 50 及び 200mg/mL 懸濁液（媒体：オリブ油）は、遮光容器で冷暗所（冷蔵庫内）7 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、試験番号：A-1584）。

4) 被験液の濃度・均一性確認

投与前に投与に使用した被験液について株式会社ボゾリサーチセンターで HPLC 法により実施した。その結果、被験液の表示値に対する割合は 101.0%、均一性（変動係数：C.V.）は 1.0%であり、いずれも許容範囲内であった（添付資料 4）。

【分析方法】

測定試料（投与液）1mL を 60 vol%テトラヒドロフラン（以下、THF と略す）溶液で 10mL とし、遠心（2000 rpm、1000×g、20℃、5 分間）した後、下層の 1mL を HPLC 移動相で 5mL とした。この試料をマイレクス・HV フィルターでろ過した後、HPLC システムを用いて測定した。なお、測定試料の調製は投与液の上、中及び下層について n=1 で行った。

【HPLC システム】

送液ユニット	LC-10AT	（株式会社島津製作所）
オンラインデガッサ	DGU-14A	（株式会社島津製作所）
オートインジェクタ	SIL-10AXL	（株式会社島津製作所）
カラムオープン	CTO-10A	（株式会社島津製作所）
検出器	RID-10A	（株式会社島津製作所）
システムコントローラ	SCL-10A	（株式会社島津製作所）
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	（日本ウォーターズ株式会社）

【HPLC 条件】

カラム：CAPCELL PAK C18 UG120

(4.6 mm I.D. × 250 mm、5 μm、株式会社資生堂)

- カラム温度 : 50°C (カラム恒温槽設定温度)
 移動相 : 0.25 mol/L 過塩素酸ナトリウム溶液 (メタノール/精製水
 (85/15、v/v)、pH 2.5)
 流速 : 1.0 mL/min
 検出 : RI
 試料注入量 : 10 μL
 試料温度 : 室温
 注入順序 : 検量線用標準試料溶液を注入後、測定実測試料を注入した。
 注入回数 : 検量線用標準試料溶液、測定実測試料ともに 1 回

[測定値の算出]

検量線用標準試料溶液及び測定実測試料を HPLC へ注入し、ミレニアム³²クロマトグラフィーマネジャーを用いて求めた検量線用標準試料溶液のラウリルリン酸ナトリウムのピーク面積 (Y) と調製濃度 (X) との関係から最小二乗法により直線回帰式 ($Y=aX+b$) を求めた。この直線回帰式に測定実測試料のラウリルリン酸ナトリウムのピーク面積を当てはめ、測定実測試料中のラウリルリン酸ナトリウム濃度を算出し、希釈率を乗じて測定試料中ラウリルリン酸ナトリウム濃度を算出した。

3. 試験動物

Sprague-Dawley 系 SPF ラット [Crj:CD(SD)IGS、日本チャールス・リバー株式会社、厚木飼育センター] の雌 16 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 127～134g (平均体重±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 1 段階 3 匹選抜 (群分け) した。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表示した。余剰動物は、試験系から除外した。

注) : 注文匹数は 15 匹であったが、実際には 16 匹が納入された。

4. 飼育条件

動物は、温度 23±3°C (実測値 : 21～24°C)、相対湿度 50±20% (実測値 : 40～49%)、

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飼育室（飼育室番号：101 号室）でブラケット式金属製網ケージ（W 250× D 350× H 200 mm：日本ケージ株式会社）に個別収容し、固形飼料 CRF・1（オリエンタル酵母工業株式会社、ロット番号：040401）及び飲料水（御殿場市営水道水：給水瓶使用）を自由に摂取させ飼育した。

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当該報告書を保存した。

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ガイドラインに準じ、経口を選択した。

投与容量は 10mL/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 6 時間後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。したがって、開始投与量は 2000mg/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」の試験手順に準じて設定した。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 段階の投与量も 2000mg/kg を選択した。1 段階（1 群）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 段階	2000	200	10	雌	3	1101～1103
第 2 段階	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(08:40～11:21)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

投与日の投与直前(09:05～09:18)に体重を測定し、これを投与液量算出の基準にした。更に、投与1、2、3、7、10及び14日後の午前中(08:51～11:21)に体重を測定した。

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、剖検において被験物質投与に起因すると考えられる変化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。

2000mg/kg を投与した第 1 及び第 2 段階のいずれにも死亡動物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た。

2. 一般状態

一般状態を Table 2、3 に示した。

各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みられなかった。

3. 体重

体重変化を Fig. 1、Table 4、5 に示した。

各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、7 に示した。

各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・組織に異常はみられなかった。

考 察

ラウリルリン酸ナトリウムの急性経口毒性を 6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を 1 投与段階（1 群）につき雌 3 匹ずつ用いて「急性毒性等級法」により検討した。投与は 2000mg/kg の投与量で 2 段階行った。

2000mg/kg を投与した 2 段階の投与において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た。

一般状態、体重及び剖検では、各段階の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。

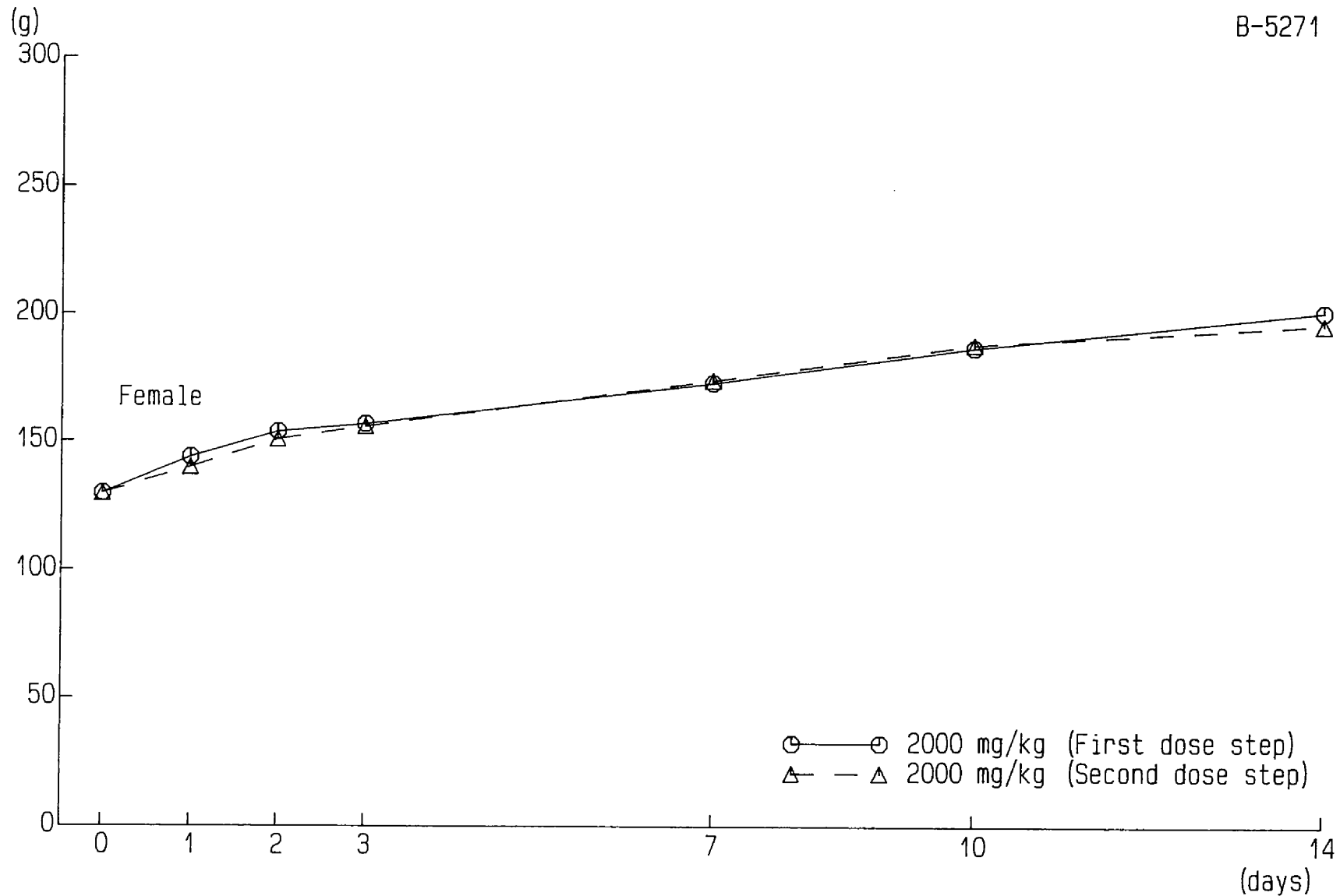


Fig.1 Acute oral toxicity study of sodium lauryl phosphate in rats

—— Body weight ——

Table 1 Acute oral toxicity study of sodium lauryl phosphate 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	0/3	> 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	0/3	

(1): First dose step
(2): Second dose step
i : Immediately after dosing

Table 2 Acute oral toxicity study of sodium lauryl phosphate in rats

Individual 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 sodium lauryl phosphate in rats

Individual 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 sodium lauryl phosphate in rats

Individual body weight

Sex : Female

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

Animal number	Day after administration							Gain 0-14
	0	1	2	3	7	10	14	
1101	128	141	150	154	165	181	191	63
1102	132	148	155	159	175	185	200	68
1103	131	144	156	157	178	196	211	80
Mean	130	144	154	157	173	187	201	70
S.D.	2	4	3	3	7	8	10	9

Unit : g

Table 5 Acute oral toxicity study of sodium lauryl phosphate in rats

Individual body weight

Sex : Female

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

Animal number	Day after administration							Gain 0-14
	0	1	2	3	7	10	14	
2101	130	146	155	159	180	193	204	74
2102	134	136	149	155	174	185	194	60
2103	127	137	148	155	169	185	190	63
Mean	130	140	151	156	174	188	196	66
S.D.	4	6	4	2	6	5	7	7

Unit : g

Table 6 Acute oral toxicity study of sodium lauryl phosphate in rats
 Individual 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 sodium lauryl phosphate in rats
 Individual 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