最終報告書

表　　題：2-クロロベンゾイルクロリドのラットにおける急性経口投与毒性試験

試 験 番 号：ＳＲ０６１７０

株式会社 化合物安全性研究所

目　次

頁

表紙 ---------- 1

目次 ---------- 5

要約 ---------- 9
緒言 ---------- 10
材料および方法 ---------- 10
成績および考察 ---------- 15
参考資料 ---------- 16

Figure
1 Body weight changes of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170) ---------- 18

Tables
1 Mortality of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170) ---------- 19
2 General appearance of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170) ---------- 20
3 Body weight changes of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170) ---------- 21
4 Gross findings of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170) ---------- 22

要　約

2-クロロベンゾイルクロリド(媒体:トウモロコシ油)の 2000 mg/kg(第 1 および 2 群)を 1 群につき各 3 匹の Crl:CD(SD)系雌ラットに毒性等級法(OECD 試験法ガイドライン 423)により単回経口投与して、死亡の有無ならびに急性毒性の概要を検討し、以下の成績を得た。

1. 死亡率は、2000 mg/kg で 0/6 であった。
2. 一般状態では、2000 mg/kg の投与後 30 分から 1 日の間に下痢あるいは粘液便、肛門周囲や外尿道口周囲の被毛汚れが認められたが、死亡例は認められなかった。
3. 体重推移では、投与後 1 日にごく軽度な体重減少あるいは体重増加抑制が認められた。
4. 剖検所見では、被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

以上のように、2-クロロベンゾイルクロリドの 2000 mg/kg で投与後に下痢あるいは粘液便が認められ、肛門周囲や外尿道口周囲の被毛汚れも認められたが、全身性の毒性徴候や死亡は認められなかった。また、投与後 1 日にごく軽度な体重減少あるいは体重増加抑制が認められたが、投与後 14 日の剖検所見には異常所見は認められなかった。

したがって、2-クロロベンゾイルクロリドは OECD 試験法ガイドライン(423)の ANNEX 2d より GHS(Globally Harmonized Classification System)の Category 5 or Unclassified と結論された。

緒　言

2-クロロベンゾイルクロリド(媒体:トウモロコシ油)の 2000 mg/kg(第 1 および 2 群)を 1 群につき各 3 匹の Crl:CD(SD)系雌ラットに毒性等級法(OECD 試験法ガイドライン 423)により単回経口投与して、死亡の有無ならびに急性毒性の概要を検討した。

材料および方法

1. 被験物質

被験物質は　　純度 99.2%(不純物として不明物を 0.8%含有) の 2-クロロベンゾイルクロリド　　を関連試験と共に一括で 1500 mL 購入して使用した(Appendix 1-1)。

2-クロロベンゾイルクロリドを受入後は、遮光気密容器に入れ、冷蔵(実測範囲 2～10℃：受入から実験終了日まで)に保存し、取扱い時には手袋およびマスクを着用し、クリーンベンチ内で取り扱った。

試験操作終了後は、残余の 1 部を被験物質の純度に関する再分析のため

送付し、他は焼却処分するために産業廃棄物として回収した。分析成績を入手して被験物質の保存安定性を確認した(Appendix 1-2)。

2-クロロベンゾイルクロリドの被験物質に関する情報を以下に示す。

名称　　：2-クロロベンゾイルクロリド

化学名 (IUPAC)　　：2-Chlorobenzoyl chloride

別名　　：2-クロロ安息香酸クロリド [1)]

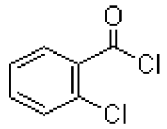
CAS No.　　：609-65-4

化審法官報公示整理番号：(3)-62, (3)-1409・[安衛法 4-(7)-345, 4-(7)-1733]

示性式　　：ClC_6H_4COCl [1)]

分子式　　：$C_7H_4Cl_2O$

構造式　　：



分子量　　：175.01

物理化学的性質　　：外観　；無色透明液体[1)]

融点　；-4℃[1)]

沸点　；235～238℃[1)]

引火点；124℃[1)]

比重　；1.3788(20/20)(Appendix 1-1)

屈折率；1.5720(n20/D)(Appendix 1-1)

2. 媒体

トウモロコシ油に溶解することが確認されたことから、トウモロコシ油(ロット番号 V6R2129、ナカライテスク株式会社)を媒体とし、投与液の調製に使用した。

3. 投与液の調製

被験物質を精秤し、所定の濃度となるように媒体を加え混合(溶解)し、均一であることを目視により確認後、投与液とした。調製は以下のように、投与毎に用時調製を2回行った。調製後は遮光気密容器に入れ、投与に用いた。残余の投与液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

調製年月日	濃度(mg/mL)	被験物質秤量値(g)	調製量(mL)
2007年8月14日	400	4.0001	10
2007年8月17日	400	4.0025	10

4. 試験方法

(1) 試験系

試験には、日本チャールス・リバー株式会社厚木飼育センター生産のSPF Crl:CD(SD)系雌ラットを用いた。ラットは毒性試験等で通常用いられている動物種であり、当研究所での使用経験が豊富であることからこの系統を選定した。

2007年8月8日に第1、2群用として8週齢、第3、4群用として7週齢の雌ラット各8匹を同時に購入した。受入時の動物の体重範囲は、7週齢 165～173 g、8週齢 178～200 gであり、微生物学的モニタリングでも問題がないことを確認した。

(2) 検疫および馴化

受入から群分けまでの期間を検疫および馴化期間とし、個々の動物について一般状態の観察を1日1回、体重測定を受入時および群分け時を含む、週1または2回行った。

受入日を馴化1日と起算して、第1群の動物は馴化6日に、第2群の動物は馴化9日に検疫および馴化期間を終了とした。検疫および馴化期間中に、体重増加が他例と比較して劣る例が認められたため、この例を安楽死させた。他例については、全例で異常は認められなかった。

(3) 群分け

検疫および馴化期間中に実施した一般状態観察および体重測定の結果を参考にして、動物の使用の適否を決定した。検疫および馴化期間終了日の体重に基づいて、各群の平均体重が均一になるように1群あたり3匹、計6匹をそれぞれの投与前日に選抜した。これらの動物の体重範囲は、210～228 gであり、最終的な全使用動物の平均体重(218.0 g)の±20%以内であった。選抜から外れた第1、2群用の雌ラット1匹および使用しなかった第3、4群用の雌ラット8匹は試験から除外して、安楽死させた。

なお、投与時の体重範囲は184～204 g、平均値は195.5 gであった。

(4) 動物およびケージの識別

受入時および群分け時に、油性フェルトペンで尾部に印を付け、動物の個体識別を行った。

飼育ケージについては、各ケージの前面に、群分け前は試験番号および受入時の動物番号を、群分け後は試験番号、試験群および動物番号を、ラベルに明記して標示した。

(5) 動物飼育

1) 飼育環境

動物を温度 22±3℃(実測範囲 21～24℃)、湿度 50±20%(実測範囲 47～69%)、換気回数 10～15 回／時間、照明時間 12 時間(人工照明、8:00～20:00)の動物飼育室(309 号室)で飼育した。動物飼育室の温度および湿度を毎日監視し、異常のないことを確認した。

2) 飼育器材および飼育方法

ブラケット式金属製金網床ケージ(260W×380D×180H, mm)に、検疫および馴化期間中は 2 匹ずつ、群分け後は 1 匹ずつ収容した。ケージおよび給餌器は群分け時に 1 回、受皿は週 2 回洗浄滅菌済みのものと交換した。自動給水装置の水抜きは週 1 回実施した。動物飼育室内の清掃および清拭消毒は、1 日 1 回の頻度で実施した。清拭消毒に際しては、塩素系消毒薬およびヨウ素系消毒薬を 1 週間単位で交互に使用した。

3) 飼料

オリエンタル酵母工業株式会社製γ線照射固型飼料、CRF-1 を金属製給餌器により自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質あるいは微生物の有無を、使用したロット(070405)の飼料について分析した。汚染物質の分析は財団法人 日本食品分析センターにおいて、微生物検査は飼料製造業者がそれぞれ行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった(Appendix 2-1～2-2)。

4) 飲料水

札幌市水道水を、自動給水装置を用いて自由に摂取させた。

試験に悪影響を及ぼす恐れのある汚染物質の有無を、2007 年 7 月 2 日および 2007 年 10 月 1 日に当該飼育室と同系統配管の最末端(306 号室)から試料を採取して分析した。分析は日本衛生株式会社において行った。分析項目と許容値は株式会社 化合物安全性研究所の標準操作手順書に準拠した。分析の結果、いずれの項目にも許容値を超える値は認められなかった(Appendix 3-1 および 3-2)。

(6) 試験群の構成

試験群の構成と各群の動物番号を以下に示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	動物数(動物番号) 雌
第1群	2000	400	3 (151～153)
第2群	2000	400	3 (251～253)

(7) 被験物質の投与

1) 投与量の設定

本被験物質に関するラットにおける LD_{50} 値(経口)に関する報告はないが、関連物質である4-クロロベンゾイルクロライドのラットにおける LD_{50} 値(経口)は820 mg/kgとの報告があること[2)]から、本試験の開始用量を2000 mg/kgに設定した。第2群以降の投与量は、投与後3日までの死亡率により、Appendix 4 に従って決定した。

2) 投与

OECD試験法ガイドラインに従って、一晩(16～18時間)の絶食後、ディスポーザブル胃ゾンデおよびディスポーザブルシリンジを用いて強制的に胃内に1回経口投与した。給餌の再開は投与後4時間とした。9：00から10：00の間に、5 mL/kgの投与容量で、各個体毎に投与日の体重に基づいて算出した投与液量を投与した。

(8) 観察、測定および検査項目

1) 一般状態観察

全例について動物の生死、外観、行動等を、投与日(0日)の投与前、投与直後から投与後1時間までは連続して観察し、以降は投与後2および4時間、第2群については投与後6時間にも観察した。投与後1日から13日までは毎日午前・午後の1日2回観察し、投与後14日は午前にのみ1回観察した。

2) 体重測定

全例について動物の体重を、0(投与日の投与前)、投与後1、3、5、7、10および14日に、電子式上皿天秤(GX-2000、株式会社エー・アンド・デイ)を用いて測定し、1 g単位で記録した。

以下の式により体重増加量および体重増加率を算出した。

$$\text{体重増加量(g/14d)} = \text{投与後14日体重(g)} - \text{0日体重(g)}$$

$$\text{体重増加率(\%/14d)} = \frac{\text{体重増加量(g/14d)}}{\text{0日体重(g)}} \times 100$$

3) 剖検

投与後14日にエーテル麻酔下で放血致死により安楽死させ、全例について体外表を観察後、全身の器官･組織を肉眼的に観察した。

5. 統計学的方法

体重、体重増加量および増加率の成績について平均値および標準偏差を算出した。

成績および考察

1. 死亡状況および死亡率

死亡状況および死亡率を Table 1 に示す。

第 1、2 群(2000 mg/kg)のいずれも投与後 14 日間に死亡例は認められなかった。

死亡率は 2000 mg/kg で 0/6 であった。

2. 一般状態

一般状態の成績を Table 2、INDIVIDUAL DATA 1 に示す。

第 1 および 2 群(2000 mg/kg)では、投与後 30 分までに 1 例(No. 251)に下痢および肛門周囲の被毛汚れ、投与後 2 時間に 3 例(No. 151、251、252)に粘液便が認められる等、投与後の便性状の変化および被毛汚れの発現が認められたものの、全身的な毒性徴候はいずれの例にも認められなかった。投与後 1 日にも 3 例(No. 153、251、252)に肛門周囲あるいは外尿道口周囲の被毛汚れが認められたが、投与後 2 日以降には全例に異常は認められなかった。

3. 体重

体重推移を Figure 1、Table 3、INDIVIDUAL DATA 2 に示す。

第 1 および 2 群(2000 mg/kg)では、投与後 1 日に 1 例(No. 153)にごく軽度な体重減少(7 g)が認められ、他の例にも体重増加抑制が認められたが、投与後 3 日以降には被験物質投与に関連した変化は認められなかった。

4. 剖検

剖検所見を Table 4、INDIVIDUAL DATA 3 に示す。

第 1 および 2 群(2000 mg/kg)では、いずれの例にも異常所見は認められなかった。

以上のように、2-クロロベンゾイルクロリドの 2000 mg/kg で投与後に下痢あるいは粘液便が認められ、肛門周囲や外尿道口周囲の被毛汚れも認められたが、全身性の毒性徴候や死亡は認められなかった。また、投与後 1 日にごく軽度な体重減少あるいは体重増加抑制が認められたが、投与後 14 日の剖検所見には異常所見は認められなかった。

したがって、2-クロロベンゾイルクロリドはOECD試験法ガイドライン(423)のANNEX 2dよりGHS(Globally Harmonized Classification System)のCategory 5 or Unclassifiedと結論された。

参考資料

1) 2-クロロベンゾイルクロリド．化学物質等安全データシート．東京化成工業株式会社.
2) 4-クロロベンゾイルクロライド．製品安全データシート．ナカライテスク株式会社．(1999)

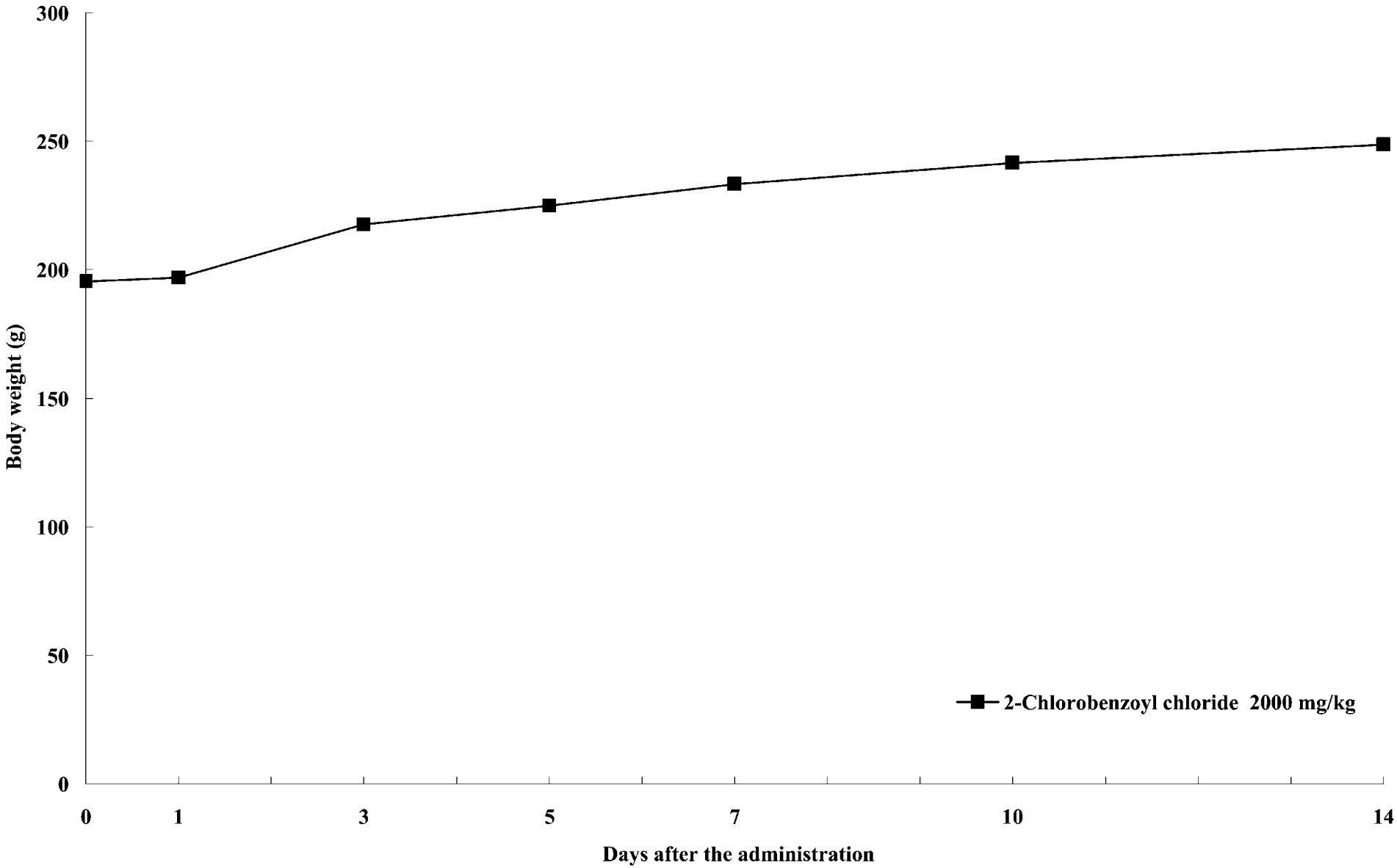


Figure 1 Body weight changes of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170)

Table 1 Mortality of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170)

Group	Number of animals	Number of dead animals							Mortality
		Hours after the administration						Days after the administration	
		Pre	0.5	1	2	4	6	1 - 14	
2-Chlorobenzoyl chloride 2000 mg/kg	6	0	0	0	0	0	0	0	0 / 6

Pre : Pre-administration.
Mortality : Number of dead animals / number of animals dosed.

Table 2 General appearance of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170)

Group	Findings	Hours after the administration						Days after the administration	
		Pre	0.5	1	2	4	6 a)	1	2 - 14
2-Chlorobenzoyl chloride 2000 mg/kg	Number of alive animals	6	6	6	6	6	3	6	6
	No abnormal findings	6	5	6	3	4	1	3	6
	Diarrhea	0	1	0	0	0	0	0	0
	Mucous feces	0	0	0	3	1	0	0	0
	Soil of perianal fur	0	1	0	1	1	2	2	0
	Soil of perigenital fur	0	0	0	0	0	0	3	0

Pre : Pre-administration.
Values are number of animals with findings.
a) : Summary of 2nd group only.

Table 3 Body weight changes of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170)

Group		Body weight (g) on days after the administration							Body weight gain Day 0-14	
		0	1	3	5	7	10	14	g	%
2-Chlorobenzoyl chloride 2000 mg/kg	N	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	MEAN	195.5	197.0	217.7	225.0	233.3	241.7	248.7	53.2	27.133
	S.D.	6.9	3.4	4.3	7.7	17.2	19.1	17.0	12.7	6.236

Day 0 : Pre-administration.

Table 4 Gross findings of female rats in an acute oral toxicity test of 2-Chlorobenzoyl chloride (SR06170)

Findings	2-Chlorobenzoyl chloride (mg/kg)
	2000
Number of animals examined	6
Number of surviving animals	6
No abnormal findings	6

Values are number of animals with findings.