

# 最終報告書

コハク酸二ナトリウム六水和物のラットを用いる急性経口毒性試験

試験番号：4799 ( 115-141 )

平成 13 年 6 月 6 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       |
| 2. 表題 .....  | 3       |
| 3. 試験目的 .....  | 3       |
|  |         |
| 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-01~13 |
| Table 1 Mortality  | T-01    |
| Table 2 Clinical observation   | T-02    |
| Table 3 Body weight  | T-06    |
| Table 4 Gross finding  | T-10    |
|  |         |
| Reference data   | R-01~23 |
| Reference data 1 Certification of test substance   | R-01    |
| Reference data 2 Analysis of contaminants in diet  | R-08    |
| Reference data 3 Analysis of contaminants in tap water   | R-11    |
| Reference data 4 Analysis of Butanedioic acid, disodium salt, hexahydrate<br>in dose formulation | R-15    |

## 1. 要約

1群につき雌雄各5匹のCrj: CD(SD)IGS ラットを用いてコハク酸二ナトリウム六水和物の急性経口毒性試験を実施した。

コハク酸二ナトリウム六水和物は注射用蒸留水に溶解し、雌雄ともに2000 mg/kg を単回強制経口投与した。また、媒体対照として注射用蒸留水のみを投与した群も設定した。

観察期間は14日間とし、生死、中毒症状および発現時期、体重推移について観察し、病理学的検査を実施した。その結果は次の通り要約される。

### 1.1. 死亡率およびLD<sub>50</sub>値

死亡動物は、雌雄いずれにも認められなかった。LD<sub>50</sub>値は雌雄ともに2000 mg/kg 以上であった。

### 1.2. 一般状態

観察期間を通じて雌雄ともに異常は認められなかった。

### 1.3. 体重

投与後7および14日の測定において雌雄ともに前回の測定値と比較して増加していた。

### 1.4. 病理学的検査

観察期間終了時の剖検では雌雄ともに異常は認められなかった。

2. 表題

コハク酸二ナトリウム六水和物のラットを用いる急性経口毒性試験

3. 試験目的

既存化学物質の安全性評価の一環として、ラットを用いる急性毒性試験を実施した。

## 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

コハク酸二ナトリウム六水和物

## 12.2. CAS No.

6106-21-4

## 12.3. ロット番号

## 12.4. 純度

99.9 wt%

## 12.5. 提供元

## 12.6. 保管条件

室温，開封後は密閉保管

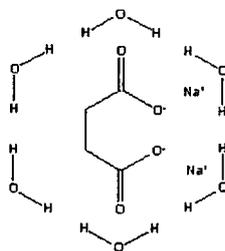
## 12.7. 保管場所

安評センター被験物質保管庫

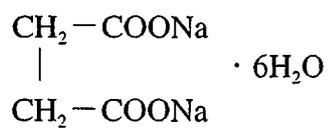
## 12.8. 化学名

Butanedioic acid, disodium salt, hexahydrate

## 12.9. 化学構造



## 12.10. 示性式



## 12.11. 分子量

270.14

**12.12. 性状**

白色結晶性粉末

**12.13. 溶解性**

水：34.9 g/100 g at 25℃

**12.14. 安定性**

経時変化によりわずかに水分が増加する。

**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 ReproTox 毒性試験に使用した。

### 13. 試験材料および方法

#### 13.1. 供試動物

供試した C<sub>1</sub>: CD(SD)IGS ラット[SPF]は日本チャールス・リバー株式会社(神奈川県横浜市)から5週齢で雌雄各14匹搬入した。

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167~177 g、雌で127~143 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<sup>3</sup>)で飼育し、環境調節の基準値は温度23±3℃、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湿度の実測値は23.2~24.4℃および50~64%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(東京都府中市)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<sup>3</sup>)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(東京都中央区)製造の固型飼料MF(ロット番号:000112, 000308)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を、オリエンタル酵母工業株式会社、財団法人日本食品分析センター(東京都渋谷区)に依頼し実施した。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。水道法に基づく水道水の分析を株式会社エコプロ・リサーチ(静岡県清水市)に依頼し、実施した。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<br>(mg/kg) | 性 | 動物数 | 動物番号      |
|-----|---------------|---|-----|-----------|
| 1   | 0             | 雄 | 5   | 1001~1005 |
| 2   | 2000          | 雄 | 5   | 1101~1105 |
| 3   | 0             | 雌 | 5   | 2001~2005 |
| 4   | 2000          | 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(投与量:500, 1000 および 2000 mg/kg, 媒体:蒸留水, 投与液量:1 mL/100 g BW)の結果, いずれの群にも異常は認められず, 死亡もみられなかった。以上の結果から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 の 1 用量とし, さらに雌雄それぞれに媒体対照群を設置した。

#### 13.5. 投与液の調製

被験物質を必要量秤量し 200 mg/mL の濃度となるよう蒸留水(注射用蒸留水:株式会社大塚製薬工場, 徳島県鳴門市, Lot No. 9D90)に溶解した。調製は用時に行った。

#### 13.6. 投与液中の被験物質の安定性および濃度分析

投与液中の調製後室温(約 25℃)保存下 24 時間および冷蔵(約 4℃)保存下 7 日間の安定性(30 および 2000 mg/kg; 投与液濃度として 3 および 200 mg/mL: n=3)を, 投与開始前に当センター代謝分析室において測定した。

また, 投与液中の被験物質濃度(全濃度: n=3)を, 調製後速やかに当センター代謝分析室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『Reference data 4』。

#### 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経路とした。

投与容量は体重 100 g あたり 1 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 16 時間絶食させた動物に胃ゾンデを用いて 10:03 から 10:21 の間に強制経口投与した。なお, 媒体対照群には蒸留水

のみを投与した。給餌は、被験物質投与後 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 2 回実施した。観察された中毒症状は、観察所見記録用紙に記録した。なお、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 1, 3, 7 および 14 日に電子天秤 PM 4800 (メトラー・トレド社, スイス) を用いて測定した。

**13.10. 病理学的検査**

観察終了時にすべ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 に観察期間中の経日死亡状況および LD<sub>50</sub> 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 に体重推移を、Table 4 に剖検所見を示した。

##### 14.1. 死亡率および LD<sub>50</sub> 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。従って、LD<sub>50</sub> 値は雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定された。

##### 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 日の測定ですべ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. 病理学的検査 (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

コハク酸二ナトリウム六水和物についてラットを用いる急性経口毒性試験を実施した。その結果、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。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<sub>50</sub>値は雌雄ともに 2000 mg/kg 以上と推定された。

Table 1. Mortality

| Sex    | Group | Dose level<br>(mg/kg) | Number of<br>animals | Number of deaths on the day |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |    |    | Mortality<br>(%) |
|--------|-------|-----------------------|----------------------|-----------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|------------------|
|        |       |                       |                      | 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                |
|        | 2     | 2000                  | 5                    | 0                           | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                |
| Female | 3     | 0                     | 5                    | 0                           | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                |
|        | 4     | 2000                  | 5                    | 0                           | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0                |

LD<sub>50</sub> Value

Male : &gt; 2000 mg/kg

Female : &gt; 2000 mg/kg

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  | 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  | 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  | 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  | 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<br>(mg/kg) | Animal<br>ID-No. | Days after administration |         |         |         |          |
|            |                       |                  | 0                         | 1       | 3       | 7       | 14       |
| 1          | 0                     | 1001             | 171                       | 183     | 201     | 245     | 297      |
|            |                       | 1002             | 176                       | 187     | 203     | 246     | 308      |
|            |                       | 1003             | 171                       | 180     | 198     | 236     | 286      |
|            |                       | 1004             | 172                       | 185     | 208     | 250     | 319      |
|            |                       | 1005             | 176                       | 188     | 211     | 257     | 322      |
|            |                       | Mean ± S.D.      | 173 ± 3                   | 185 ± 3 | 204 ± 5 | 247 ± 8 | 306 ± 15 |

Table 3. -continued Body weight

| Sex : Male |                       |                  | ( unit : g )              |         |         |         |          |
|------------|-----------------------|------------------|---------------------------|---------|---------|---------|----------|
| Group      | Dose level<br>(mg/kg) | Animal<br>ID-No. | Days after administration |         |         |         |          |
|            |                       |                  | 0                         | 1       | 3       | 7       | 14       |
| 2          | 2000                  | 1101             | 167                       | 180     | 200     | 239     | 292      |
|            |                       | 1102             | 168                       | 178     | 199     | 236     | 295      |
|            |                       | 1103             | 170                       | 182     | 203     | 252     | 318      |
|            |                       | 1104             | 171                       | 179     | 201     | 246     | 300      |
|            |                       | 1105             | 177                       | 186     | 204     | 247     | 292      |
|            |                       | Mean ± S.D.      | 171 ± 4                   | 181 ± 3 | 201 ± 2 | 244 ± 6 | 299 ± 11 |

Table 3. -continued Body weight

| Sex : Female |                       |                  | ( unit : g )              |         |         |         |         |
|--------------|-----------------------|------------------|---------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Group        | Dose level<br>(mg/kg) | Animal<br>ID-No. | Days after administration |         |         |         |         |
|              |                       |                  | 0                         | 1       | 3       | 7       | 14      |
| 3            | 0                     | 2001             | 129                       | 136     | 148     | 169     | 203     |
|              |                       | 2002             | 132                       | 140     | 151     | 184     | 214     |
|              |                       | 2003             | 134                       | 143     | 156     | 181     | 215     |
|              |                       | 2004             | 136                       | 146     | 152     | 181     | 215     |
|              |                       | 2005             | 142                       | 150     | 166     | 187     | 218     |
|              |                       | Mean ± S.D.      | 135 ± 5                   | 143 ± 5 | 155 ± 7 | 180 ± 7 | 213 ± 6 |

Table 3. -continued Body weight

| Sex : Female |                       |                  | ( unit : g )              |         |         |         |         |
|--------------|-----------------------|------------------|---------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Group        | Dose level<br>(mg/kg) | Animal<br>ID-No. | Days after administration |         |         |         |         |
|              |                       |                  | 0                         | 1       | 3       | 7       | 14      |
| 4            | 2000                  | 2101             | 127                       | 132     | 149     | 177     | 210     |
|              |                       | 2102             | 134                       | 140     | 151     | 180     | 220     |
|              |                       | 2103             | 131                       | 137     | 140     | 178     | 211     |
|              |                       | 2104             | 136                       | 141     | 156     | 187     | 223     |
|              |                       | 2105             | 143                       | 150     | 163     | 185     | 207     |
|              |                       | Mean ± S.D.      | 134 ± 6                   | 140 ± 7 | 152 ± 9 | 181 ± 4 | 214 ± 7 |

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                |