BOZO RESEARCH CENTER INC.

最 終 報 告 書

トリチル=クロリドのラットを用いた
経口投与による急性毒性試験

B-4476

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

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) 被験液の調製及び保存方法 …… 10
   2) 被験液の安定性 …… 10
   3) 被験液の濃度・均一性確認 …… 10
3. 試験動物 …… 10
4. 飼育条件 …… 11
5. 投与経路、投与方法及び観察期間とその選択理由 …… 11
6. 投与量及びその設定理由、群構成並びに動物数 …… 11
7. 検査方法 …… 12
   1) 一般状態の観察 …… 12
   2) 体重測定 …… 12
   3) 病理学検査 …… 12
8. 統計解析 …… 12

頁

試験結果

1. 死亡状況及び致死量 …… 13
2. 一般状態 …… 13
3. 体重 …… 13
4. 剖検 …… 13

考　　察 …… 14

文　　献 …… 15

Figure and Tables

Fig. 1　　Body weight

Table 1　　Mortality and Lethal dose
Table 2-1、2-2　　Clinical signs
Table 3-1、3-2　　Body weight
Table 4-1、4-2　　Gross pathological findings

要　約

6週齢のSprague-Dawley系SPFラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を用いて、トリチル=クロリドの経口投与による急性毒性を検討した。投与量は0（オリーブ油：対照群）及び2000mg/kgとし、ラットに1回強制経口投与した。1群の動物数は各群とも雌雄各5匹とした。

1. 致死量

雌雄ともに死亡はみられず、致死量は2000mg/kgを上回ると推定された。

2. 一般状態

いずれの動物にも異常はみられなかった。

3. 体重

雌雄ともに、被験物質投与による影響はみられなかった。

4. 剖検

いずれの動物にも異常はみられなかった。

緒　言

厚生省生活衛生局の依頼により、トリチル=クロリドをヒトが摂取した場合の影響を推定する目的で、被験物質をラットに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、本試験は、以下の基準及びガイドラインに準拠して実施した。

・「『新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第4条に規定する試験施設について』の一部改正について」
（平成12年3月1日環保安第41号環境庁企画調整局長、生衛発第268号厚生省生活衛生局長、平成12·02·14基局第1号通商産業省基礎産業局長連名通知）

・「『新規化学物質に係る試験の方法について』の一部改正等について」
（昭和61年12月5日；環保業第700号環境庁企画調整局長、薬発第1039号厚生省薬務局長、61基局第1014号通商産業省基礎産業局長連名通知）

・「実験動物の飼養及び保管等に関する基準」
（総理府告示第6号、昭和55年3月27日）

・「動物実験に関する指針」
（㈳日本実験動物学会、昭和62年5月22日）

試験材料及び方法

1. 被験物質及び媒体

1) 被験物質

トリチル=クロリドは、厚生省生活衛生局企画課　生活化学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。

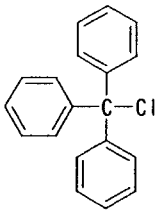
製造者　：

名　　称　：　トリチル=クロリド

（CAS 番号：76-83-5）

構造式又は示性式

：



ロット番号　：

純　　度　：　99.5%

性　　状　：　白色～微黄色結晶性粉末

分子量　：　278.78

融　　点　：　115℃

沸　　点　：　310℃

保存方法　：　室温・密閉

安定性　：　返却後の被験物質の分析結果から、動物試験期間中安定であったことが確認された。

保存場所　：　御殿場研究所　被験物質保存室及び被験物質調製室

なお、動物試験終了後の残余被験物質は、全量を製造者に返却した。

2) 媒体

製造者　：　丸石製薬株式会社

名　　称　：　オリーブ油

規　　格　：　日本薬局方

ロット番号　：　0310

保存方法　：　室温

保存場所　：　御殿場研究所　被験物質調製室

2. 被験液の調製

1) 被験液の調製及び保存方法

投与容量が 10mL/kg 体重となるように、各濃度ごとに必要量の被験物質を秤取し、磁製乳鉢を用いて媒体に懸濁し、規定量とした。調製は投与 4 日前に行い、使用時まで褐色ガラス瓶に入れて冷蔵（約 4℃）保存した。

2) 被験液の安定性

本被験物質の 1 及び 200mg/mL 懸濁液（媒体、オリーブ油）は、冷蔵（約 4℃）8 日後室温 24 時間保存で安定かつ均一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（Attached Data 1）。

3) 被験液の濃度・均一性確認

投与前に、投与に用いる被験液について HPLC 法により株式会社ボゾリサーチセンターで測定した。その結果、被験物質濃度は表示値に対して 98.2%、変動係数は 4.0%であり、いずれも許容範囲内（濃度：表示値±10%、変動係数 10%以内）で適正であった（Attached Data 2）。

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〕雌雄各 21 匹[注]を 5 週齢で入手し、約 1 週間検疫・馴化飼育した後、一般状態に異常のみられない健康な動物を選び 6 週齢で試験に供した。

投与日における動物の体重範囲は、雄で 154～163g（平均値：158.2g）、雌で 118～132g（平均値：126.9g）であり、いずれの動物も平均値±20%以内であった。

動物は、投与前日の体重により層別化し、無作為抽出法により各群の平均体重ができるだけ均等になるように割り付けた。動物の個体識別は群構成後に尾に油性インクで印をつけて行い、ケージには投与量ごとに色分けしたケージラベルをつけ、試験番号、投与経路、投与量、性、動物番号及び投与日を明記した。なお、余剰動物は、投与後 7 日にエーテル深麻酔により安楽死させた。

注：試験計画書に従い、注文匹数は雌雄各 20 匹であったが、実際には雌雄各 21 匹が納入された。

4. 飼育条件

動物は、温度 22～26℃、相対湿度 45～70％（ただし、一時的に最大温度 27℃あるいは最大湿度 72％まで上昇した各 1 回を除く）、換気回数 1 時間 10～15 回、照明 1 日 12 時間（07：00～19：00）の飼育室（815 号室）で飼育した。動物は、ブラケット式金属製網ケージ（W 254 x D 350 x H 170 mm：リードエンジニアリング株式会社）に 2～3 匹ずつ収容し、固形飼料（放射線滅菌 CRF-1：オリエンタル酵母工業株式会社）及び飲料水（御殿場市営水道水：自動給水装置使用）を自由に摂取させて飼育した。飼料中の混入物質などについては、使用した全ロットについて財団法人日本食品分析センターで分析を行いデータを入手し、また、飲料水については、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、得られたデータを入手し、それぞれ異常のないことを確認して保存した。

5. 投与経路、投与方法及び観察期間とその選択理由

投与経路は、毒性試験法のガイドラインに準じて経口投与を選択し、観察期間は投与後 14 日とした。投与容量は 10mL/kg 体重とした。また、投与方法はげっ歯類の経口投与に際して一般的に行われている方法を選択した。すなわち、投与前約 16 時間絶食させたラットに、被験液を金属性胃ゾンデを用いて 1 回強制経口投与した。対照群には媒体（オリーブ油）を同様に投与した。投与後の再給餌は投与後 6 時間に実施し、給水は投与に関係なく継続して行った。

6. 投与量及びその設定理由、群構成並びに動物数

投与量は、予備試験[1)]の成績を参考にして設定した。すなわち、トリチル=クロリドの 250、500、1000 及び 2000mg/kg を 1 群雌雄各 3 匹のラットに 1 回投与した結果、いずれの群にも死亡はみられなかった。この結果から、雌雄とも 2000mg/kg の 1 用量のみを設定し、これに対照群を加えて 2 群構成とした。1 群の動物数は、雌雄とも 5 匹とした。以下に群構成を示す。

試験群	投与量 (mg/kg)	濃度 (mg/mL)	投与容量 (mL/kg)	性	動物数	動物番号
対照群	0	0	10	雄	5	1001～1005
				雌	5	1101～1105
投与群	2000	200	10	雄	5	2001～2005
				雌	5	2101～2105

7. 検査方法

1) 一般状態の観察

投与6時間後までは頻繁（投与直後～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（08：01～12：00）、14日間にわたって全個体について体外表、体位・姿勢、意識・態度、行動、神経症状などの一般状態を観察した。

2) 体重測定

投与日（投与直前）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日後の一定時刻（08：17～12：00）に体重を測定した。

3) 病理学検査

全動物について観察期間終了後にエーテル麻酔下で放血致死させた後、体外表並びに頭部、胸部及び腹部を含む全身の器官・組織の観察を行い記録した。

8. 統計解析[2)]

投与後14日間の累積死亡率をもとにおおよその致死量を推定した。体重については以下の手順で対照群と投与群との間で統計解析を行った。まず、F検定により各群の分散の均一性の検定（有意水準、5%片側）を行った。その結果、分散が均一の場合にはStudentのt検定を、分散が不均一の場合はAspin-Welchのt検定を行った。検定はいずれも両側で、有意水準は5及び1%とした。

試験結果

1. 死亡状況及び致死量

経日死亡状況及び致死量を Table 1 に示した。

雌雄ともに死亡はみられず、最小致死量は雌雄とも 2000mg/kg を上回ると推定された。

2. 一般状態

成績を Table 2-1、2-2 及び Appendix 1～4 に示した。

いずれの動物にも異常はみられなかった。

3. 体重

成績を Fig. 1、Table 3-1、3-2 及び Appendix 5～8 に示した。

雄では、投与 2 日後に対照群に比べて有意な低値を示したが、その後は対照群とほぼ同様に推移した。

雌では、被験物質投与群の体重は対照群とほぼ同様に推移した。

4. 剖検

成績を Table 4-1、4-2 及び Appendix 9～12 に示した。

いずれの動物にも異常はみとめられなかった。

考　察

6 週齢の Sprague-Dawley 系 SPF ラット〔Crj:CD(SD)IGS〕を用いて、トリチル=クロリドを 0（オリーブ油）及び 2000mg/kg の用量で 1 回経口投与し、その急性毒性を検討した。

雌雄ともに被験物質投与群で死亡はみられず、最小致死量は雌雄ともに 2000mg/kg を上回ると推定された。また、一般状態及び剖検では被験物質投与による変化は認められなかった。体重では雄で投与 2 日後にわずかな体重増加抑制が認められた。しかし投与 3 日後以降は対照群と試験物質投与群の間に差はみられず、被験物質の体重に対する影響はごく軽度と考えられた。

文　献

1)

トリチル=クロリドのラットを用いた経口投与による急性毒性予備試験

(B-4476 予備試験)

(株式会社ボゾリサーチセンター　試験番号 : U-1916, 2000 年 3 月)

2) Shayne C. Gad and Carrol S. Weil (1994) : Chapter 7. Statistics for Toxicologists, *In* Principles and Methods of Toxicology (A. Wallace Hayes, ed.), 3rd ed., pp. 221-274, Raven Press, Ltd., New York.

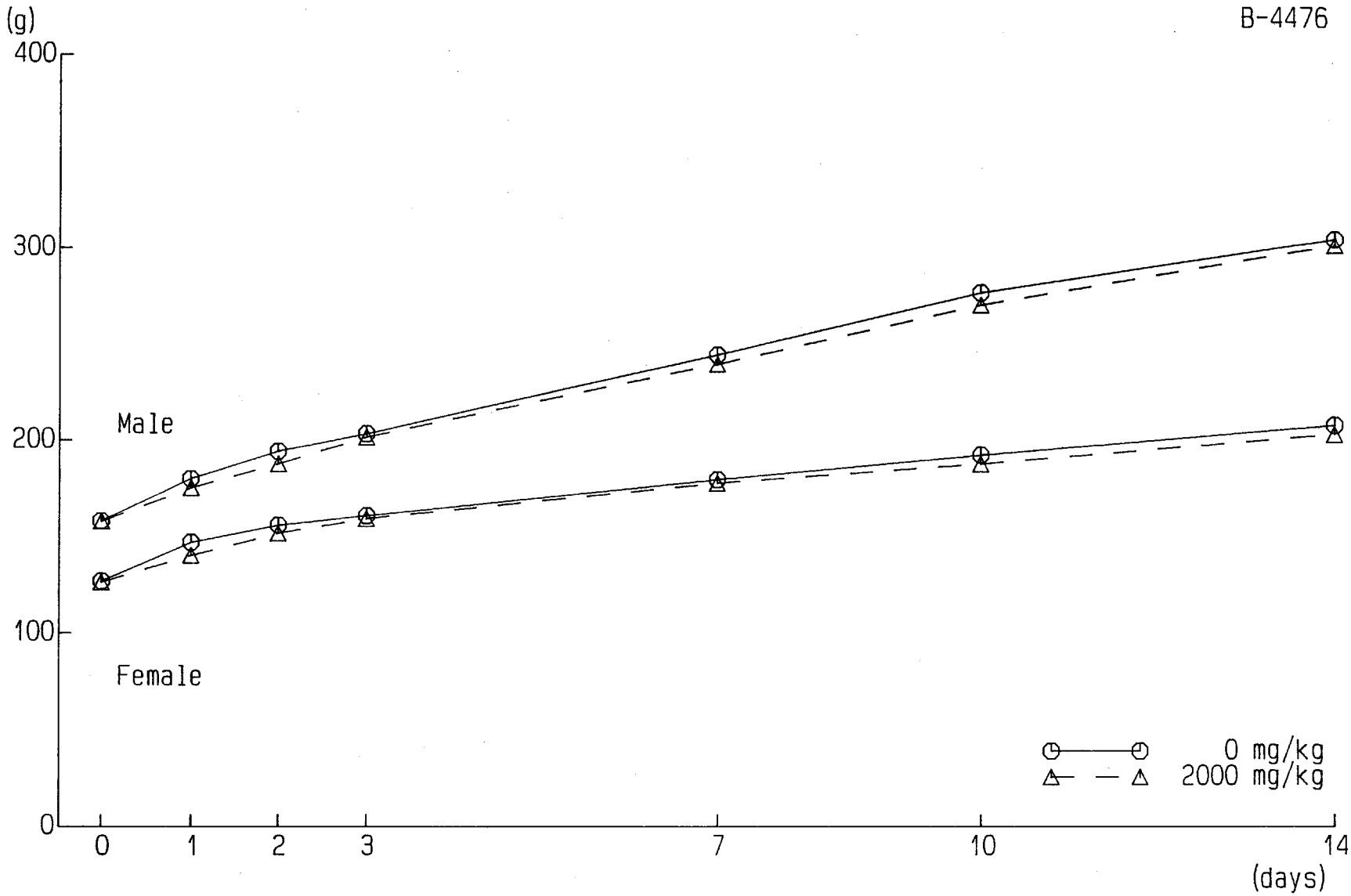


Fig.1 Body weight oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Table 1 Mortality and Lethal dose oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Sex	Dose	Number of animals	Distribution of death																					Mortality	Lethal dose
			minutes			hours				days															
	mg/kg		i~5	~15	~30	~1	~2	~4	~6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		mg/kg
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	> 2000
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
Female	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	> 2000
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	

i : Immediately after dosing

Table 2-1 Clinical signs oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Male

Dose mg/kg	Findings	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
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

i : Immediately after dosing

Table 2-2 Clinical signs oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Female

Dose mg/kg	Findings	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
0	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	No. of animals	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No abnormality	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

i : Immediately after dosing

Table 3-1 Body weight oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Male

Dose mg/kg		Day after administration 0	1	2	3	7	10	14	Gain 0-14
0	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	158	180	194	203	244	276	303	145
	S.D.	3	5	3	4	6	10	11	9
2000	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
	Mean	158	175	188**	202	239	269	300	142
	S.D.	3	4	3	2	3	7	10	11

Unit : g
Significantly different from control (**:p<0.01)

Table 3-2 Body weight oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Female

Dose mg/kg		Day after administration 0	1	2	3	7	10	14	Gain 0-14
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
0	Mean	127	147	156	161	179	192	207	80
	S.D.	4	5	5	8	9	14	12	9
	No.	5	5	5	5	5	5	5	5
2000	Mean	127	140	152	159	178	187	203	76
	S.D.	6	6	8	8	8	9	10	9

Unit : g
No significant difference between treated group and control group.

Table 4-1 Gross pathological findings oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Male

Organs	Findings	Dose (mg/kg)	0	2000
		No. of animals	5[a](0)[b]	5[a](0)[b]
External appearance	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of cranial cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of thoracic cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of abdominal cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)

a : Survived
b : Died

Table 4-2 Gross pathological findings oral acute toxicity study of Trityl chloride in rats

Female

Organs	Findings	Dose (mg/kg)	0	2000
		No. of animals	5[a](0)[b]	5[a](0)[b]
External appearance	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of cranial cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of thoracic cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)
Viscera of abdominal cavity	No abnormality		5 (-)	5 (-)

a : Survived
b : Died