

厚生省生活衛生局 殿

最終報告書

2-クロロフェ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：8L653)

2000年7月7日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要約	7
緒言	8
材料および方法	9
1. 被験物質	9
2. 試験動物	9
3. 動物飼育	10
4. 投与	10
5. 群構成	11
6. 観察・測定項目	11
6.1 一般状態	11
6.2 体重	11
6.3 病理学的検査	12
7. 半数致死量(LD ₅₀ 値)の算出	12
結果および考察	13
1. 死亡および LD ₅₀ 値	13
2. 一般状態	13
3. 体重	13
4. 剖検所見	13
5. 考察	13
参考文献	14

図および群別表

要約

2-クロロフェノールを1群あたり雌雄各5匹のSD系ラットに1回経口投与し、その急性毒性を検討した。投与用量は雌雄ともに0, 500, 1000 および 2000 mg/kg, 投与液量は 10 mL/kg とし、投与後 14 日間の観察を行った。

その結果、2000 mg/kg 群の雄 3 例と雌 2 例が死亡した。

死亡動物では、投与日に自発運動の低下、間代性痙攣、腹臥位あるいは側臥位がみられ、剖検では脾臓の褪色が 2000 mg/kg 群の雌 1 例にみられた。

生存動物では、全被験物質投与群の雌雄で自発運動の低下、歩行異常、間代性痙攣、雄で腹臥位あるいは側臥位、また、2000 mg/kg 群の雌雄で呼吸不整がみられた。これらの症状は、500 および 1000 mg/kg 群では雄で投与後 6 時間、雌で投与後 3 時間、2000 mg/kg 群では雄で第 5 日、雌で第 4 日に消失した。体重の低値が 2000 mg/kg 群の雌雄で第 4 日にみられたが、以降の体重増加は対照群と同様に推移した。剖検では、異常はみられなかった。

2-クロロフェノールを雌雄のラットに 1 回経口投与した結果、半数致死量(LD₅₀ 値)は、雌雄ともに 2000 mg/kg 付近と推定した。

緒言

2-クロロフェノールは、染料中間体、農薬原料である¹⁾。本被験物質は刺激作用があり、皮膚からの吸収も大きく、皮膚に付着すると灼熱感を与える²⁾。

今回、既存化学物質の安全性点検調査事業の一環として、ラットを用いて単回投与毒性試験を実施し、生体への毒性学的影響について検討したので報告する。

材料および方法

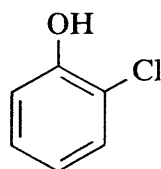
1. 被験物質

から提供された 2-クロロフェノール(略称：2CP, CAS No. 95-57-8, ロット番号 純度 99.49%)を使用した。被験物質は下記の化学名, 構造式, 分子量および不純物を有する沸点 174.9℃, 融点 9℃, 蒸気圧(25℃) 360Pa, 光, 空气中で着色するが, 密閉容器内では常温, 常圧で安定, 水での溶解度 2.71%, アセトン, DMSO に易溶, 白色～淡褐色の液体である。被験物質は室温・密栓条件下で保存した。

被験物質の安定性は, 被験物質提供者より保証する資料を入手し, 確認した。

化学名： 2-chlorophenol

構造式：



分子量： 128.56

不純物：	フェノール	0.18%
	2,4-ジクロロフェノール	0.32%

2. 試験動物

日本チャールス・リバー(株)(生産場所 厚木)から 1999年3月10日に Crj:CD(SD)IGS ラット(SPF)雌雄各 23 匹を入手した。

動物入荷後, 6 日間検疫・馴化し, いずれの動物も健康状態が良好なことを確認した。投与前日に, 体重層別化無作為抽出法によって各群の体重がほぼ均一となるように群分けし, 雌雄各 20 匹を使用した。投与日の週齢は 5 週齢, 体重範囲は雄が 128～139 g, 雌が 108～120 g であった。

動物は, 尾に油性ペンによる番号付けを行い, 個体識別した。ケージには試験番号, 被験物質名, 試験種, 動物番号, 性別, 用量, 投与日, 動物種および系統を記載したラベルを付けた。

3. 動物飼育

検疫・馴化期間を含む全飼育期間を通して、温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (目標値)、相対湿度 $55 \pm 15\%$ (目標値)、換気約 12 回/時(オールフレッシュエア供給)、照明 12 時間/日 (7:00 - 19:00) に自動調節した飼育室を使用した。当研究所で定めた温湿度の許容範囲は $19 \sim 25^\circ\text{C}$ 、 $35 \sim 75\%$ であり、実測値はそれぞれ $23 \sim 26^\circ\text{C}$ 、 $45 \sim 63\%$ であった。湿度は許容範囲内で推移したが、温度については 1999 年 3 月 14 日に上昇 (10:30-11:00、最高温度 26°C) して許容範囲外となった。しかし、一過性の軽微な上昇であること、該当日の前後で動物に一般状態の変化がみられなかったことから、試験系への影響はなかったと考えられる。

動物は、滅菌済の実験動物用床敷(ベータチップ、日本チャールス・リバー(株))を敷いたポリカーボネート製ケージ(265W×426D×200H mm, トキワ科学器械(株))に、群分け前はケージあたり 5 または 4 匹(同性)、群分け後はケージあたり 5 匹(同性)収容し、スチール製架台(トキワ科学器械(株))上に配置して飼育した。給餌には滅菌済ステンレス製固型飼料用給餌器(トキワ科学器械(株))を、給水には滅菌済ポリカーボネート製給水瓶(700 mL, トキワ科学器械(株))を使用した。ケージ(含床敷)、給餌器および給水瓶は週 1 回交換した。

動物には、実験動物用固型飼料(MF, オリエンタル酵母工業(株))と、 $5 \mu\text{m}$ のフィルター濾過後、紫外線照射した水道水を自由に摂取させ、飼料および飲用水は週 1 回交換した。

床敷と飼料中の残留農薬等の汚染物質濃度が、当研究所で定めた基準に適合していることを確認した。また、飲用水は水道法に準拠した水質検査を定期的を実施し、分析値が基準範囲内にあることを確認している。

4. 投与

投与経路は OECD ガイドライン(No.401, 1987)に従い経口、投与回数は 1 回とした。投与前日より約 18 時間絶食させたラットにゾンデを用いて強制経口投与し、投与後約 3 時間は飼料を与えなかった。

予備試験として、被験物質を 0, 250, 500, 1000 mg/kg の用量で 1 群雌雄各 3 匹の SD 系ラットに単回経口投与し、投与後 7 日間観察した。その結果、死亡例はみられな

かった。しかし、投与日に 1000 mg/kg 群では重度の自発運動の低下がみられたことから、本試験では、1000 mg/kg 群でも投与日に死亡する可能性が考えられた。このため、本試験の用量は 2000 mg/kg を最高用量とし、以下公比 2 で 1000 および 500 mg/kg の 3 用量を設定した。この他に溶媒のみを投与する対照群を設けた。投与液量は 10 mL/kg とし、投与直前の体重に基づいて算出した。

投与液の調製は投与 4 日前に行った。被験物質をオリブ油(丸石製薬株)、ロット番号 8123)に溶解調製し、投与に供するまで冷蔵保存した。投与液中の被験物質の冷蔵保存条件下での 8 日間の安定性は、投与前に 0.4 から 200 mg/mL の範囲で確認した。また、各用量群の投与液を分析し、設定濃度の±10%以内であることを確認した(添付資料)。

5. 群 構 成 :

群 名	動物数(匹)	動物番号
0 mg/kg	雄5	10101-10105
	雌5	50101-50105
500 mg/kg	雄5	10201-10205
	雌5	50201-50205
1000 mg/kg	雄5	10301-10305
	雌5	50301-50305
2000 mg/kg	雄5	10401-10405
	雌5	50401-50405

6. 観察・測定項目

次の項目を検査した。なお、日の表記は投与日を第 1 日とした。

6.1 一般状態

投与日は 15, 30 分, 1, 3 および 6 時間の 5 回, 以後は 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。

6.2 体重

生存動物について投与直前, 第 4, 8 および 15 日に上皿電子天秤(EB-6200S, (株)島津製作所)を用いて測定した。また, 死亡動物については発見時に測定した。

6.3 病理学的検査

観察終了後(第 15 日)に生存動物をチオペンタール・ナトリウム(ラボナール, 田辺製薬株)の腹腔内投与による麻酔下で腹大動脈を切断・放血し, 安楽死させた後剖検した。また, 死亡動物については発見後速やかに剖検した。

7. 半数致死量(LD₅₀ 値)の算出

観察終了時の死亡率からは, 正確な LD₅₀ 値を算出することが出来ないと判断し, 実施しなかった。

結果および考察

1. 死亡およびLD₅₀値 (Table 1)

2000 mg/kg 群の雄 3 例と雌 2 例が投与後 1 時間から第 2 日までに死亡した。LD₅₀ 値は、死亡状況から雌雄ともに 2000 mg/kg 付近と推定した。

2. 一般状態 (Table 2, Appendix 1)

死亡動物では、投与日に投与後 15 分から自発運動の低下、間代性痙攣、腹臥位あるいは側臥位がみられた。

生存動物では、投与日に投与後 15 分から症状が認められた。全被験物質投与群の雌雄で自発運動の低下、歩行異常、間代性痙攣、雄で腹臥位あるいは側臥位、2000 mg/kg 群の雌雄で呼吸不整がみられた。これらの症状は、500 および 1000 mg/kg 群では雄で投与後 6 時間、雌で投与後 3 時間までに消失した。2000 mg/kg 群では第 2 日以降に雌雄で歩行異常、雄で自発運動の低下がみられ、雄では第 5 日、雌では第 4 日に症状が消失した。

3. 体重 (Figure 1, Table 3, Appendix 2)

生存動物では、体重の低値が 2000 mg/kg 群の雌雄で第 4 日にみられたが、以降の体重増加は対照群と同様に推移した。

4. 剖検所見 (Table 4, Appendix 3)

死亡動物で、脾臓の褪色が 2000 mg/kg 群の雌 1 例にみられた。

生存動物では、異常はみられなかった。

5. 考察

2-クロロフェノールを雌雄のラットに 0, 500, 1000 および 2000 mg/kg の用量を 1 回経口投与した結果、全被験物質投与群で自発運動の低下、間代性痙攣を主徴とする急性症状が発現し、2000 mg/kg 群の雄 3 例と雌 2 例が死亡した。本被験物質の LD₅₀ 値は、死亡状況から雌雄ともに 2000 mg/kg 付近と推定した。

参 考 文 献

- 1) 第1部 化学名インデックス, o-クロロフェノール, “新化学インデックス 1994”
東京, 化学工業日報社, p.198.
- 2) 荒木峻, 沼田眞, 和田攻(編集), 1985, クロロフェノール, “環境科学事典” 東
京, (株)東京化学同人, p.209.

図 および 群 別 表

Figure 1	体重	1
Table 1	死亡	3
Table 2	一般状態	4
Table 3	体重	6
Table 4	剖検所見	8

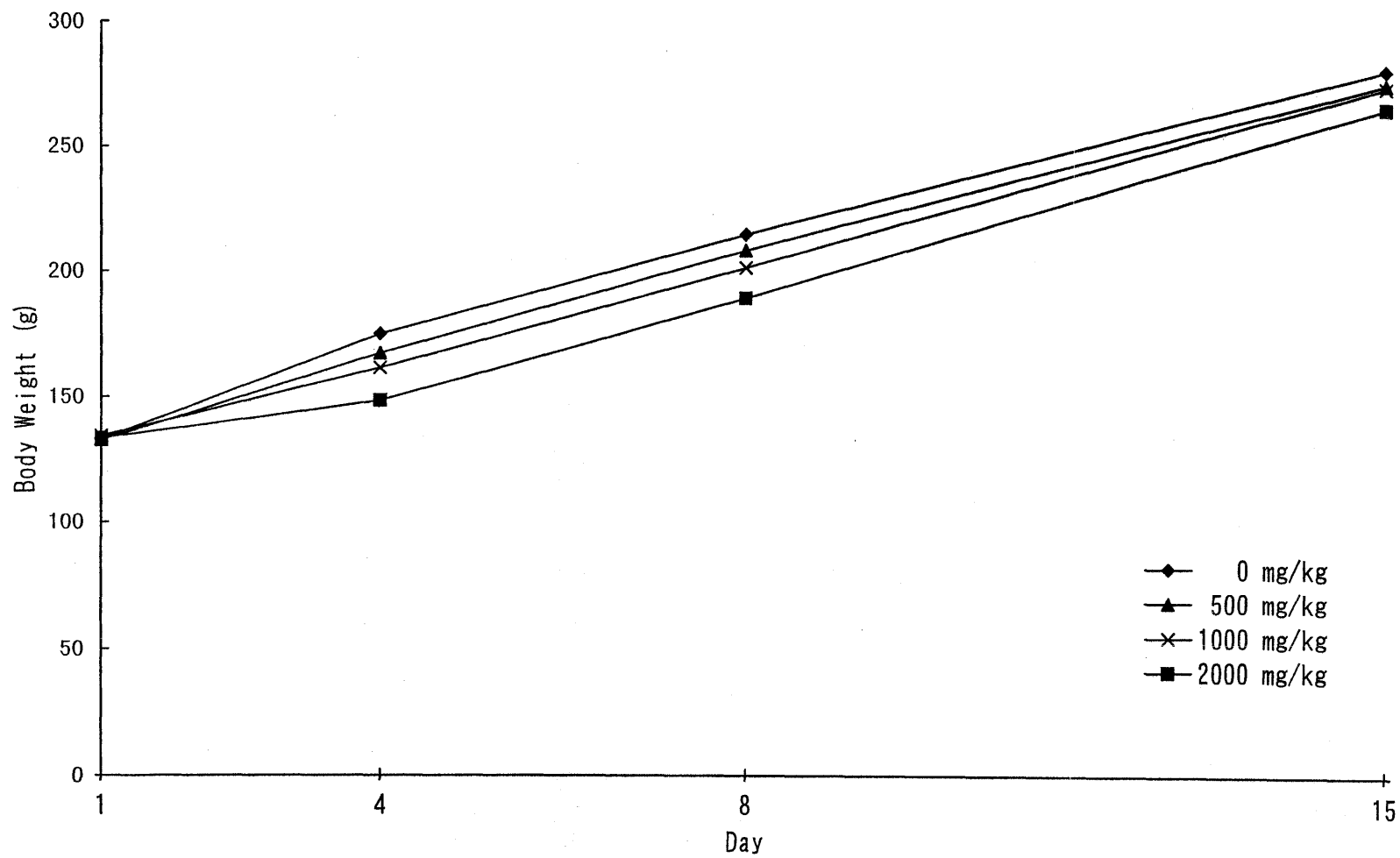


Figure 1 - 1 Mean Body Weight - Male

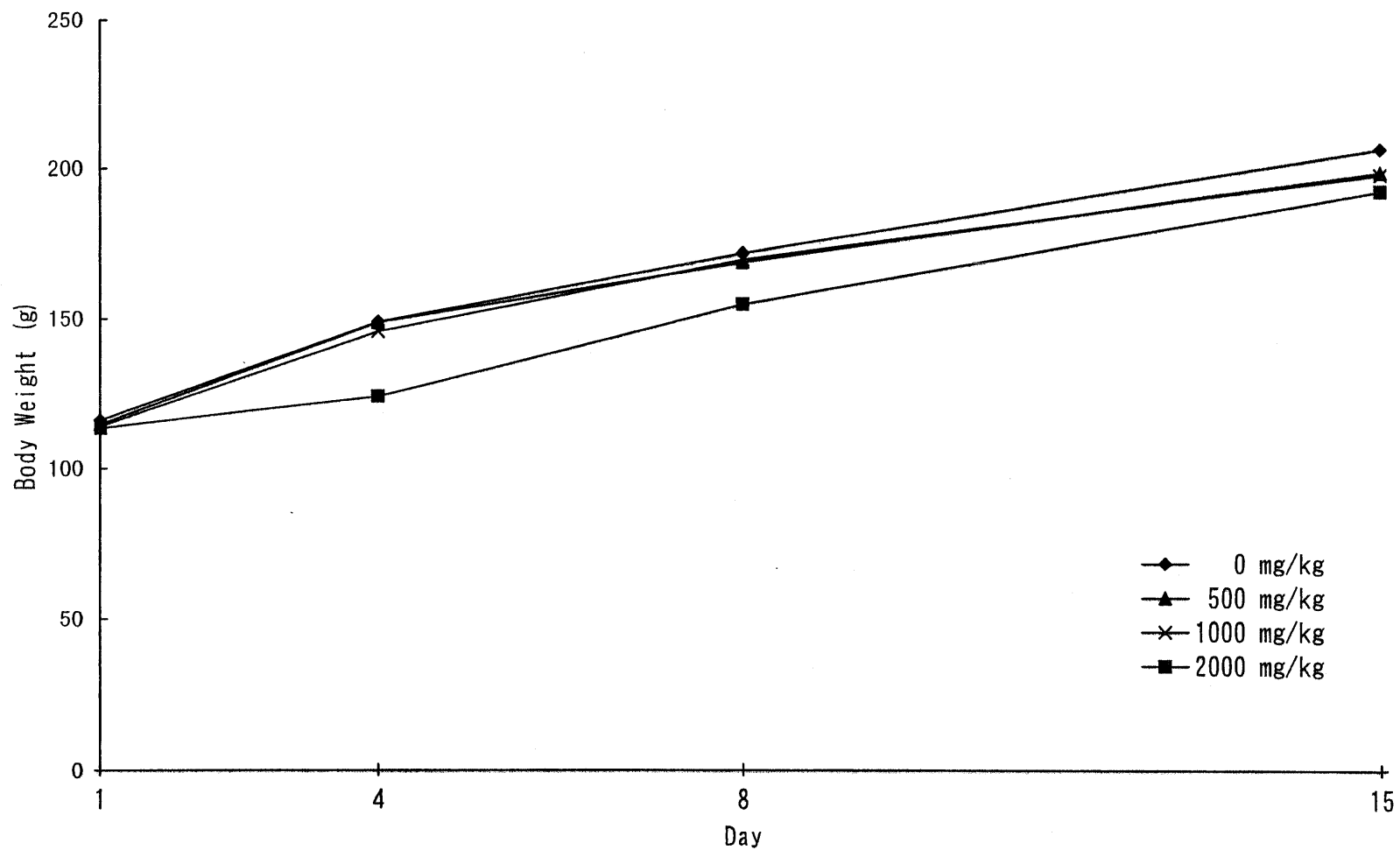


Figure 1 - 2 Mean Body Weight - Female

Table 1 Mortality (Cumulative)
 Test Substance : 2CP

Study No. 8L653

Sex	Dose (mg/kg)	Day Time	1					2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Mortality (%)
			15m	30m	1h	3h	6h															
Male	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2000		0	0	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	60
Female	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	500		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1000		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2000		0	0	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	40

Table 2 - 1 Clinical Sign - Summary
 Test Substance : 2CP

Study No. 8L653

Male

Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Day	1					2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
			Time	15m	30m	1h	3h	6h														
0	Number of Animals			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	
500	Number of Animals			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	No Abnormality			1	2	3	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	Lateral position			1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Decrease in locomotor activity	1		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		3		1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Abnormal gait			2	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Clonic convulsion			2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1000	Number of Animals			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	No Abnormality			2	1	2	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	Prone position			3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Lateral position			0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Decrease in locomotor activity	1		0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		3		2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Abnormal gait			0	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Clonic convulsion			3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
2000	Number of Animals			5	5	5	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	No Abnormality			0	0	1	2	2	1	1	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
	Death			0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Prone position			1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Lateral position			3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Decrease in locomotor activity	1		0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		2		2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		3		3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Abnormal gait			0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Clonic convulsion			5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Irregular respiration			0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Grade (1, Slight ; 2, Moderate ; 3, Severe)

Table 2 - 2 Clinical Sign - Summary
 Test Substance : 2CP

Study No. 8L653

Female

Dose (mg/kg)	Findings	Grade	Day Time	1		1h	3h	6h	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
				15m	30m																	
0	Number of Animals			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
500	Number of Animals			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality			3	2	4	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Decrease in locomotor activity	2		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Abnormal gait			1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Clonic convulsion			1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	Number of Animals			5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	No Abnormality			1	0	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	Decrease in locomotor activity	1		1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Abnormal gait			4	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2000	Number of Animals			5	5	5	4	4	4	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	No Abnormality			0	0	0	1	3	1	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
	Death			0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Prone position			3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Lateral position			1	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Decrease in locomotor activity	1		0	1	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			2		1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			3		4	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Abnormal gait			0	1	2	2	1	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Clonic convulsion			5	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Irregular respiration			0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Grade (1, Slight ; 2, Moderate ; 3, Severe)

Table 3 - 1 Body Weight - Summary
 Test Substance : 2CP

Male

Study No. 8L653
 Unit : g

Dose (mg/kg)	Day	1	4	8	15
0	Mean	133.0	175.0	214.8	280.6
	S. D.	2.0	3.6	6.8	10.2
	n	5	5	5	5
500	Mean	132.6	167.4	208.6	275.0
	S. D.	4.3	5.7	5.6	10.4
	n	5	5	5	5
1000	Mean	134.2	161.6	201.6	273.8
	S. D.	3.3	5.4	5.9	10.1
	n	5	5	5	5
2000	Mean	133.4	148.5	189.5	265.5
	S. D.	3.8	3.5	4.9	3.5
	n	5	2	2	2

Table 3 - 2 Body Weight - Summary
 Test Substance : 2CP

Female

Study No. 8L653
 Unit : g

Dose (mg/kg)	Day	1	4	8	15
0	Mean	116.0	149.0	171.6	206.0
	S. D.	2.4	5.6	5.5	6.4
	n	5	5	5	5
500	Mean	114.6	148.8	168.6	198.4
	S. D.	2.8	4.7	6.5	13.4
	n	5	5	5	5
1000	Mean	113.8	145.8	169.4	197.6
	S. D.	4.8	6.7	7.9	9.5
	n	5	5	5	5
2000	Mean	113.4	124.0	154.7	192.0
	S. D.	4.4	10.1	10.7	7.0
	n	5	3	3	3

Table 4 - 1 Necropsy Findings - Summary
 Test Substance : 2CP

Scheduled Sacrifice (Day 15)

Study No. 8L653

Organ	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
Findings	Number of Animals	5	5	5	2	5	5	5	3

No animal showed abnormal findings.

Table 4 - 2 Necropsy Findings - Summary
 Test Substance : 2CP

Dead Animals

Study No. 8L653

Organ	Sex	Male				Female			
	Dose (mg/kg)	0	500	1000	2000	0	500	1000	2000
Findings	Number of Animals	0	0	0	3	0	0	0	2
Spleen Discoloration		0	0	0	0	0	0	0	1