

最終報告書

3-メチル安息香酸のラットを用いる
経口投与による急性毒性試験

(試験番号：97-080)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

Study No. 97-080

目次

要約	-----	1
目的	-----	2
材料および方法		
1. 被験物質	-----	2
2. 供試動物および飼育条件	-----	2
3. 供試動物数および投与量	-----	3
4. 投与液調製および投与方法	-----	3
5. 観察事項	-----	3
結果および考察	-----	4
添付資料		
A. 群別平均値表		
Table 1	死亡および致死量 -----	1
Table 2	一般状態 -----	2
Table 3	体重 -----	3
Table 4	剖検 -----	4

要 約

3-メチル安息香酸の急性毒性試験を、5週齢のSD系[Crj:CD(SD)]ラットを1用量群雌雄各5匹用い、0、1000および2000mg/kg用量を単回経口投与して実施した。

その結果、投与後14日間の観察期間中雌雄とも、死亡例は認められず、また一般状態、体重の増加および剖検においても、被験物質の投与による影響は認められなかった。

以上の結果から、LD₅₀値は雌雄とも2000mg/kg以上と推定された。

目的

この試験は、3-メチル安息香酸のラットにおける経口投与による急性毒性を明らかにする目的で実施した。

材料および方法

1. 被験物質

3-メチル安息香酸 (CAS No. 99-04-7) は、分子量 136.15、融点111.7°C、沸点263°C、有機溶剤に易溶、植物油にほとんど不溶、水に難溶な弱い刺激臭のある無色ないし淡黄色の粒状物である。試験には、のもの
の (ロット番号 純度98.79%) を入手し、冷暗所 (4°C) で密栓保管し使用した。本物質の詳細はAppendix 1に示した。試験に用いた被験物質は使用期間中安定であったことを確認した (Appendix 2)。なお、被験物質の分析は、に委託して
実施した。

2. 供試動物および飼育条件

SD系 [Crj:CD(SD)] SPFラットを日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市下古沢795) より4週齢 (雄21匹、雌21匹) で搬入し、7日間試験環境に馴化させた後、発育が順調で一般状態の良好な雌雄各15匹を選び、5週齢で供試した。投与時の平均体重 (体重の範囲) は、雄 134 (127~138) g、雌 116 (110~120) g であった。

動物は、馴化期間および投与後の観察期間とも室温 21~22°C、湿度52~59%、換気回数 10回以上/時 (オールフレッシュエアー方式)、照明12時間/日 (午前6時点灯、午後6時消灯) に設定されたバリアーシステム動物飼育室 (第3室) で、ステンレス製金網ケージ (260W×380D×180Hmm) に馴化期間は原則として3匹、投与後の観察期間は2~3匹ずつ雌雄別に収容して飼育した。飼料 [日本農産工業株式会社製、固型飼料ラボMRストック、Lot No. 97.12.61] と水 (1 μm カートリッジフィルター濾過後紫外線照射した殺菌水道水) は自由に摂取させた。動物飼育室の温度・湿度測定結果、飼料および水の汚染物質の分析結果 (Appendices 3~5) などから、動物の飼育期間を通じて、試験成績の信頼性に影響を及ぼすと思われる環境要因の変化はなかったものと判断された。

3. 供試動物数および投与量

供試動物数は、1群雌雄各5匹とし、各用量群への振り分けは、投与直前の体重に基づいて層化無作為抽出法により行い、各群の体重が均一になるようにした。

投与用量は、予備試験の結果に基づいて設定した。すなわち、1用量群雌雄各3匹のラットを用い、雌雄とも1000、2000および4000mg/kg用量を単回経口投与した結果、死亡は雄の4000 mg/kg用量の1匹のみで、急性毒性は弱いものと推定された。したがって、本試験の投与用量は、OECDの毒性試験法ガイドラインで規定された上限量の2000mg/kgおよびその半量の1000mg/kgの2用量を設定した。他に、媒体のみ投与の対照を設けた。

4. 投与液調製および投与方法

3-メチル安息香酸は、水および植物油にほとんど溶けないため、1.0%メチルセルロース水溶液に懸濁したところ、均一な投与液の調製が可能であった。したがって、本試験では、被験物質を1.0%メチルセルロース水溶液 [メチルセルロース100cP：和光純薬工業(株)製 Lot No. TPK 5604；局方精製水：共栄製薬(株)製 Lot No. 181124] を媒体にして、所定の投与用量になるような濃度 (1000mg/kg：10^{w/v}%；2000mg/kg：20^{w/v}%) の懸濁液に調製した。調製は投与直前に行った。投与液量は、体重100g当り1.0mLとした。

投与方法は、テフロン製胃ゾンデおよび注射筒を用いて動物の胃内に単回投与 (投与時刻：午前10:28～10:38) した。なお、動物は前日の午後5時より投与後3時間まで除餌し、水のみ自由に摂取させた。

5. 観察事項

観察期間は投与後14日間とし、その間の一般状態の観察と生死の確認は、投与日においては投与後1時間までと投与後1～3時間および3～6時間の間に少なくとも1回ずつ行い、これを投与0日とした。また、翌日 (投与後1日) 以降は、前日の午後5時から当日の午後5時までを1日とし、実際の観察は午前9時から午後5時までの間に、投与翌日は午前午後各1回、その後は1日1回行った。体重は、投与直前 (投与0日)、投与後1、3、7および14日に測定した。また、測定日間の体重増加量を算出した。剖検は、全例とも観察期間終了後にエーテル麻酔死させて行った。なお、剖検において、いずれの動物にも異常が認められなかったため、病理組織学検査は実施しなかった。

結果および考察

LD₅₀値、一般状態、体重および剖検所見の群別平均表は、それぞれ Tables 1、2、3 および 4 に、一般状態、体重および剖検所見の個体別表は、それぞれ Appendices 6、7 および 8 に示した。

死亡および一般状態の変化は、各群の雌雄とも認められなかった。また、各群の雌雄とも順調な体重増加を示し、剖検においても変化は認められなかった。

以上の結果から、3-メチル安息香酸の急性毒性を示唆する変化は認められなかった。LD₅₀値は、雌雄とも2000mg/kg以上と推定された。

最終報告書

3-メチル安息香酸のラットを用いる
経口投与による急性毒性試験

(試験番号：97-080)

添付資料 A

群別平均値表

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of rats treated orally with 3-methyl benzoic acid in the acute oral toxicity study

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Number of animals that died												Mortality	LD ₅₀ value (mg/kg)	
			Day 0			1	2	3	4	5	6	7	8	9~14			
			Hr.	1	3												6
Male	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ^a /5 ^b	>2000
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2000	5	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	0/5	>2000
	1000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	
	2000	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5	

a : Number of animals that died; b : Number of animals examined

Table 2 Incidence of clinical signs of rats treated orally with 3-methyl benzoic acid in the acute oral toxicity study

Clinical sign	Sex	Dose (mg/kg)	Day 0			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
			Hr. 1	3	6																
Abnormality	Male	0	0 ^a /5 ^b	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	
		1000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		2000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
	Female	0	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		1000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
		2000	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

a : Number of animals with sign; b : Number of animals examined

Table 3 Body weights of rats treated orally with 3-methyl benzoic acid in the acute oral toxicity study

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Body weight(g)				
			Day 0	1	3	7	14
Male	0	5	134 ± 4	156 ± 6 (22) ^a	181 ± 6 (25)	222 ± 10 (41)	284 ± 11 (62)
	1000	5	134 ± 3	156 ± 2 (22)	181 ± 2 (25)	222 ± 4 (41)	289 ± 7 (67)
	2000	5	133 ± 4	153 ± 3 (20)	181 ± 6 (28)	222 ± 7 (41)	290 ± 10 (68)
Female	0	5	116 ± 3	135 ± 4 (19)	156 ± 5 (21)	177 ± 6 (21)	204 ± 8 (27)
	1000	5	116 ± 3	136 ± 4 (20)	152 ± 3 (16)	171 ± 7 (19)	195 ± 10 (24)
	2000	5	116 ± 4	133 ± 5 (17)	154 ± 6 (21)	177 ± 10 (23)	204 ± 14 (27)

Each value is expressed as mean±S.D., a : Increase from last mean body weight measured(g)

Table 4 Incidence of necropsy findings of rats treated orally with 3-methyl benzoic acid in the acute oral toxicity study

Sex	Dose (mg/kg)	Number of animals examined	Number of animals with abnormalities
Male	0	5	0
	1000	5	0
	2000	5	0
Female	0	5	0
	1000	5	0
	2000	5	0