

既存化学物質の人健康影響に関する情報

(平成18年12月22日 3省合同審議会)

Cas No.	官報公示番号	物質名称	急性	28日	Repro Tox	簡易	Ames	染色体	小核	評価文書	頁
88-53-9	3-2024	2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸	○	○			○	○			1
4390-04-9	2-10	2,2,4,4,6,8,8-ヘプタメチルノナン	○	○			○	○			23
5460-09-3	3-523	4-アミノ-5-ヒドキシ-2,7-ナフタレンジスフホン酸モノナトリウム	○	○			○	○			44
126-30-7	2-240	2,2-ジメチル-1,3-プロパンジオール			○		○	○			63
2581-34-2	3-790	3-メチル-4-ニトロフェノール				○	○	○		○	80
58-90-2	3-791	2,3,4,6-トリクロロフェノール					○	○		○	109

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸の ラットを用いた急性経口投与毒性試験

Acute Oral Toxicity Study of 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid in Rats

要約

既存化学物質の安全性を評価するため、2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸の2,000 mg/kgをラットに強制経口投与し、急性毒性を検討した。

死亡例は雌雄ともに観察期間を通じ、いずれの投与群にも観察されなかった。従ってLD₅₀値は雌雄ともに2,000 mg/kg以上と推定された。

一般状態では、雌雄ともに一過性の下痢および軟便が観察された。

体重では、雌雄ともに投与後1および2週時の測定でいずれも前回の値に比較して全例に増加が認められた。

観察終了時の病理解剖結果では、雌雄ともに肉眼的異常は認められなかった。

緒言

OECDを中心として行われている国際協力による安全性点検評価事業の一環として、既存化学物質で現在十分な安全性資料のない、2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸の急性毒性を検討するため、CD (SD) 系ラットを用いて急性経口毒性試験を実施した。

上記の試験は、OECD毒性試験ガイドライン401 (1987年2月24日) に従い、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号 (昭和63年11月18日) の「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」に基づいて実施したものである。

方法

1) 供試動物

供試したCrj:CD(SD)系ラット(SPF)は日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から生後5週齢の雌雄各40匹を平成3年9月2日に購入した。

動物は8日間検疫・馴化飼育した後、6週齢で投与に用いた。投与時の体重は、雄で162~167g、雌で120~134gであった。

2) 飼育

動物は、温度21~25℃、湿度45~65%、換気回数20回/時間、照明度150~300 lux、照明時間12時間 (午前7時点灯、午後7時消灯) に設定された飼育室 (W3.6×D10×H2.5m、90m³) で飼育した。株式会社東京技研サービス (東京都府中市) の自動水洗式飼育機 (W745.0×D50.0×H182.0cm) を使用し、金属製網目飼育ケージ (W21.5×D27.5×H19.5cm、飼育ケージ・スペース11,529cm³) に動物を5匹ずつ収容し飼育した。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) 製造の固形飼料MFを使用した。

飲水は、水道水を自由に摂取させた。

3) 試験群の構成

試験群の構成は、雌雄各1群ずつの計2群とした。

性	試験群	用量(mg/kg)	動物数	動物番号
雄	1	2,000	5	1101~1105
雌	2	2,000	5	2101~2105

4) 用量設定理由

投与量を設定するため、SD系ラットを用い、300、1,000および2,000 mg/kgの3用量を雌雄各3匹に投与した。その結果、死亡例は認められず、毒性が弱いと推定されたため、急性経口毒性試験の投与量の上限である2,000 mg/kgの1用量を設定した。

5) 投与液の調製

被験物質の必要量を瑪瑙乳鉢にとり、粉碎した後0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液 (和光純薬工業株式会社、大阪府大阪市) に懸濁し、20 (w/v) %懸濁液を調製した。

単回投与毒性試験

Table 1. Mortality and LD₅₀ values in rats after single administration of 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid

Sex	Dose (mg/kg)	No. of animals	Mortality	LD ₅₀ values (mg/kg)
Male	2,000	5	0/5	>2,000
Female	2,000	5	0/5	>2,000

6) 投与方法

投与経路は、経口投与とした。

投与前16時間絶食させた動物に上述の被験物質懸濁液を胃内に1回強制経口投与した。

投与容量は体重100g当り1mlとし、個体別に測定した体重に基づいて算出した。

給餌は被験物質投与後3時間に行った。

7) 一般状態の観察

中毒症状および生死の観察は、投与後8時間までは1時間間隔、以後1日2回午前と午後（休日は午前のみ）に行い、その結果を観察所見記録用紙に記録した。

なお、観察期間は投与後14日間とした。

8) 体重

体重は投与直前、投与後7および14日に測定した。

9) 病理解剖

観察終了時に全個体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用紙に記録した。

結果および考察

1) 死亡率およびLD₅₀値 (Table 1)

死亡動物は、雌雄いずれの群にも認められず、従ってLD₅₀値は雌雄ともに2,000 mg/kg以上と推定された。

2) 一般状態

一般状態の観察で、雌雄ともに下痢および軟便が認められた。

これらの症状は、投与後6から8時間の間に観察され、投与後8-24時間までに回復した。

3) 体重

雌雄ともに投与後1および2週時の体重測定でいずれも前回の値に比較して全例に増加が認められた。

4) 剖検所見

観察終了時における剖検で、雌雄ともに被験物質投与による影響が示唆される所見は観察されなかった。

連絡先：試験責任者 山本利男

(財) 食品農医薬品安全性評価センター

〒437-12 静岡県磐田郡福田町塩新田字荒浜 582-2

Tel 0538-58-1266 Fax 0538-58-1393

Correspondence : Yamamoto, Toshio

Biosafety Research Center, Foods, Drugs and

Pesticides (An-pyo Center), Japan

582-2 Shioshinden Arahama, Fukude-cho, Iwata-gun,

Shizuoka, 437-12, Japan

Tel 81-538-58-1266 Fax 81-538-58-1393

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸の ラットを用いる28日間の反復投与毒性試験

Twenty-eight-day Repeated Dose Toxicity Test of 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid in Rats

要約

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸の毒性を明らかにするため、SD系ラットを用いた強制経口投与による28日間反復投与毒性試験を実施した。

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸は、0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液に懸濁し、0、100、300および1,000 mg/kgを毎日1回、4週間連続経口投与した。その結果は、次のとおり要約される。

投与期間および回復期間を通じて、雌雄いずれの群にも一般状態の観察で異常の認められた動物はなく、死亡例も認められなかった。

体重は、雄の300および1,000 mg/kg群で増加抑制傾向にあったが、被験物質投与の影響と言える程明確なものではなかった。

摂餌量には、投与期間および回復期間を通じて雌雄とも群間で差が認められなかった。

血液形態学的検査、血液凝固検査および血液生化学的検査結果には、雌雄とも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

尿検査の結果、雌雄ともウロビリノーゲン陽性、尿pHの低下が認められたが、主に被験物質の代謝物による変化と考えられ、特定臓器の障害に起因した変化とは考えられなかった。

臓器重量測定の結果、雌雄とも重量測定を実施したすべての臓器について、被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。

病理学検査の結果、投与終了時および回復試験終了時の計画屠殺動物において、被験物質投与によると考えられる肉眼所見は、雌雄とも観察されなかった。

投与終了時の対照群および1,000 mg/kg群について組織学検査を行ったが、被験物質投与によると考えられる所見は、雌雄とも観察されなかった。

以上の結果、雌雄とも無影響量は1,000 mg/kg/dayと判断された。

緒言

OECDを中心にして、既存化学物質点検作業が実施されているが、日本独自の点検作業として、2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸のラットを用いた28日間反復投与毒性試験を実施した。

方法

1. 被験物質

2-アミノ-5-クロロ-4-メチルベンゼンスルホン酸 (CAS No. 88-53-9、別名：C酸、大日本インキ化学工業株式会社製造、社団法人日本化学工業協会提供) は白色粉末で、水に難溶、分子式 $C_7H_6ClNO_3S$ 、分子量221.5の物質である。本試験に用いたロットの純度は99.5%以上である。

2. 供試動物

供試したラット [Crj: CD(SD)系、SPF] は日本チャールス・リバー株式会社 (神奈川県厚木市) から4週齢で購入した。

動物を検収後、試験環境に9日間馴化させた後、6週齢で投与を開始した。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、個体別飼育ケージに動物標識番号 (Animal ID-No.) を付すことにより行った。

投与開始時の体重は雄で137~151 g、雌で111~127 gであった。

3. 飼育条件

動物はバリアシステムの飼育室 (W 9.8×D 8.2×H 2.5 m、200.9 m³) で飼育し、環境調節の目標値は温度23±1℃、相対湿度55±5%、換気回数20回/時、照明150~300 lux、12時間 (午前7時点灯、午後7時消灯) とした。

株式会社東京技研サービス (東京都府中市) の水洗式飼育機 (W 674.2×D 80.0×H 175.5 cm) を使用し、金属製前面・床網目飼育ケージ (W 20.0×D 28.2×H 18.0 cm、飼育ケージ・スペース10,152 cm³) に動物を1匹ずつ収容し、オリエンタル酵母工業株式会社 (東京都中央区) 製造の放射線滅菌改良NIH公開ラット・マウス飼料および水道水を自由に摂取させた。飼育ケージは隔週1回、給餌器は週1回取り換えた。

なお、動物の馴化期間を含め、投与および回復期間中、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。

4. 試験群の構成

試験群の構成は下記に示した。

1群雌雄各5匹とし、0および1,000 mg/kg群に雌雄各5匹の回復群を設け、計60匹を使用した。

試験群	1		2		3		4	
用量 (mg/kg)	0		100		300		1,000	
性	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
動物数	10	10	5	5	5	5	10	10
動物番号	1001 1005	2001 2005	1101 1105	2101 2105	1201 1205	2201 2205	1301 1305	2301 2305
回復試験 動物番号	1006 1010	2006 2010	--	--	--	--	1306 1310	2306 2310

【用量設定理由】

用量設定のための2週間投与による予備試験を0、100、300および1,000 mg/kg/dayの4用量で実施した。

その結果、死亡例はいずれの投与群でもみられず、また、体重、飼料摂取量、病理解剖所見および臓器重量にも被験物質投与に起因すると考えられる変化は認められなかった。従って、28日間反復投与試験における最高用量は、限界用量の1,000 mg/kgとし、以下公比3で除し中用量を300 mg/kg、低用量を100 mg/kgに設定した。別に、担体（0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液）のみを投与する対照群を設けた。

5. 投与方法

被験物質の投与経路は経口とした。被験物質は0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液に懸濁し、胃ゾンデを用いて経口投与した。投与容量は体重100 g当り0.5mlとした。対照群には担体（0.5%カルボキシメチルセルロース・ナトリウム水溶液）のみ投与した。

6. 投与液の調製、分析

被験物質は、指定用量（100、300および1,000 mg/kg）ごとに所定量を精秤し、メノー乳鉢を用いて懸濁液を調製した。投与液は調製後、冷蔵庫保存で2週間安定であることが確認されているが、本試験においては毎週1回調製を行った。投与液の濃度分析をすべての群に関し投与1および4週の調製液について実施した結果、設定濃度の97.3～104%の範囲であり、適切に調製されていた。

7. 投与期間

投与期間は28日間とし、投与終了後0および1,000 mg/kg群について2週間の回復試験を実施した。

8. 観察、測定および検査

1). 一般状態の観察

全動物を毎日午前、午後の2回（休日は1回）観察し、中毒症状の有無、行動異常、死期の迫った動物および死亡動物の有無等を記録した。

2). 体重

投与開始から回復試験終了時まで、毎週1回測定した。

3). 摂餌量

毎週1回給餌した残量を測定し、飼料摂取量 (g/week) を算出した。

4). 臨床検査

投与終了時および回復期間終了時の計2回実施した。

採血するに当り、動物は約16時間絶食させた。動物をエーテルで麻酔後開腹し、腹部大動脈から採血した。

a. 血液形態学的検査

検査にはEDTA-3Kを添加した初血を用いた。

白血球数 (WBC: 暗視野板法)、赤血球数 (RBC: 暗視野板法)、ヘモグロビン量 (HGB: シアンメトヘモグロビン法)、ヘマトクリット値 (HCT: 全赤血球の容積より補正)、平均赤血球容積 (MCV: RBC, HCTより算出)、平均赤血球血色素量 (MCH: HGB, RBCより算出)、平均赤血球血色素濃度 (MCHC: HGB, HCTより算出)、血小板数 (PLT: 暗視野板法) および白血球百分率 (フローサイトケミストリー法) は血液自動分析装置THMS (米国テクニコン社) を用いて測定した。

網赤血球 (RC) 率算定用に、全血をキャピロット (テルモ株式会社、東京都渋谷区) で染色後、血液塗抹標本を作製し保管した。

また、クエン酸ソーダ添加血液の血漿について、プロトロンビン時間 (quick 1段法) および活性化部分トロンボプラスチン時間 (クロット法) を血液凝固自動測定装置KC-40 (独国Amelung社) を用いて測定した。

b. 生化学的検査

血清を用いて、総蛋白 (ビュレット法)、アルブミン (B.C.G.法)、A/G比 (計算値)、血糖 (ヘキソキナーゼ法)、中性脂肪 (酵素法)、総コレステロール (酵素法)、尿素窒素 (BUN: ウレアーゼ改良法)、カルシウム (アリザリン法)、無機リン (モリブデンブルー法)、ナトリウム (電極法)、カリウム (電極法) および塩素 (電極法) をEKTACHEM 700N (米国コダック社) で、クレアチニン (Jaffe法)、グルタミン酸オキザロ酢酸トランスアミナーゼ (GOT: Karmen改良法)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (GPT: Wroblewski and LaDue改良法)、 γ -グルタミルトランスアミナーゼ (γ -GTP: 酵素法) およびアルカリホスファターゼ (ALP: Bessey-Lowry-Brock改良法) をCentrifiChem EN-CORE II (米国ベーカー社) で測定した。

c. 尿検査

血液学検査に先立ち、採尿器を用いて24時間（午前10時から翌日午前10時まで）尿を採取し、尿量、色調および濁度を検査後、尿比重計UR-S（株式会社アタゴ、東京都板橋区）を用いて尿比重を測定した。また、尿を遠心分離後Sternheimer変法により沈渣を染色し、鏡検した。

pH、潜血、ケトン体、糖、蛋白、ビリルビンおよびウロビリノーゲンについて、N-マルティスティックスSG試験紙（マイルス・三共株式会社、東京都中央区）およびCLINITEK200（米国マイルス社）を用いて測定した。ウロビリノーゲンについては、ウロペーパー“栄研”UAG-3（栄研化学株式会社、東京都文京区）を追加使用した。

5). 病理学検査

病理解剖は投与終了時および回復期間終了時に動物をエーテル麻酔し、放血致死させ実施した。肉眼的異常を病理解剖所見記録シートに記録した。また、脳、肝、腎、脾、副腎、精巣および卵巣について重量を測定し、臓器重量・体重比を算出した。上記重量測定臓器と下垂体、眼球、甲状腺（上皮小体を含む）、心、肺、胃、膀胱、髄（大腿骨）および肉眼所見で変化が認められた器

官・組織は10%中性緩衝ホルマリン液で固定した。

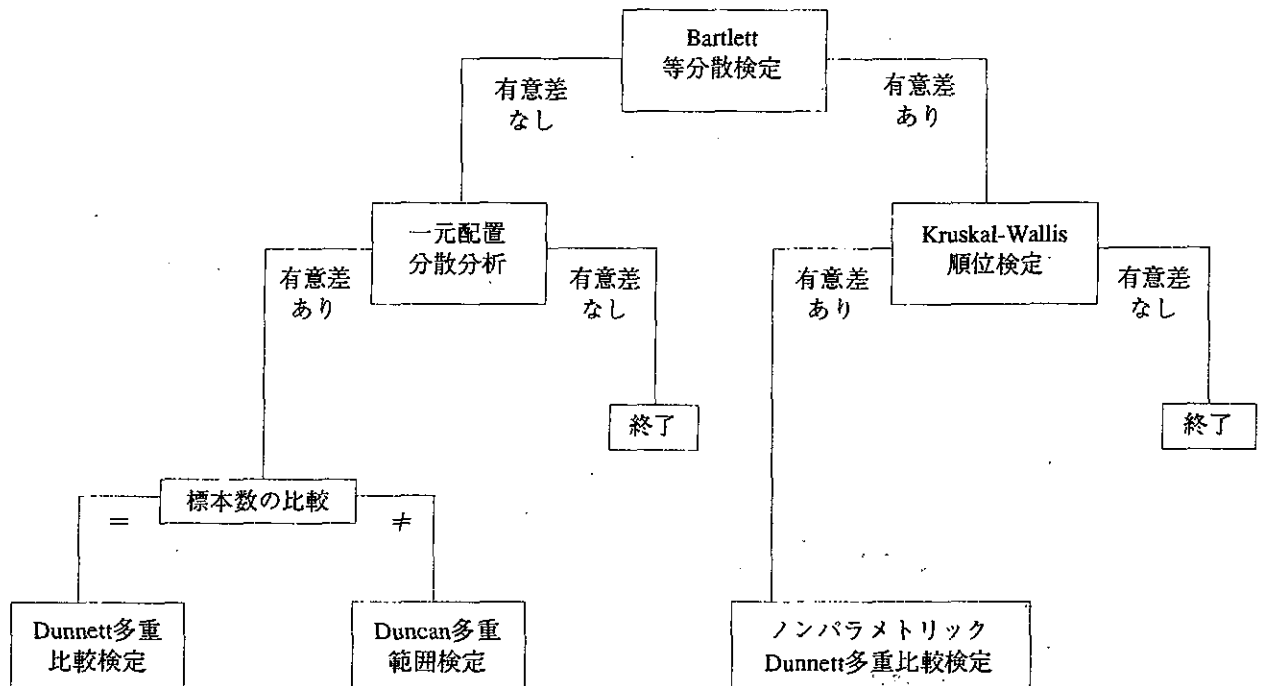
病理組織学検査は固定した器官・組織のうち、対照群と高用量群の心、肝、脾、腎および副腎について行った。常法に従って薄切標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色し鏡検した。

6). データの記録および統計分析

各試験群の体重、飼料摂取量、血液学検査値、生化学検査値、尿検査値（尿量および尿比重のみ）、臓器重量および臓器重量・体重比は、下記に示した自動判別方式に従い、最初にBartlettの等分散検定を実施した。等分散の場合は一元配置の分散分析を行い、分散が有意で各群の標本数が同数の場合はDunnettの多重比較検定、各群の標本数が異なる場合はDuncanの多重範囲検定で対照群と各投薬群間の有意差を検定した。Bartlettの等分散検定で不等分散の場合はKruskal-Wallisの順位検定を実施し、有意の場合はノンパラメトリックのDunnettの多重比較検定で対照群と各投薬群間の有意差を検定した。

なお、用量相関性については、Jonckheereの傾向検定を用いて有意差を検定した。

有意水準は5および1%の片側検定で実施した。



結果

1. 死亡率

投与期間中、雌雄とも対照群を含むすべての試験群で死亡例は認められなかった。また、回復期間中、雌雄とも対照群および1,000 mg/kg群で死亡例は認められなかった。

2. 一般状態の観察

投与期間および回復期間を通じて雌雄いずれの群にも異常動物は観察されなかった。

3. 体重 (Fig. 1)

雄では1,000 mg/kg群で投与後3週に対照群に比べ低値が認められ、4週間の体重増加量は300および1,000 mg/kg群で低値を示した。回復期間中は、対照群と1,000 mg/kg群で有意差は認められなかった。

雌では投与期間および回復期間を通じて群間で差が認められず、0~4および4~6週間の体重増加量にも差はなかった。

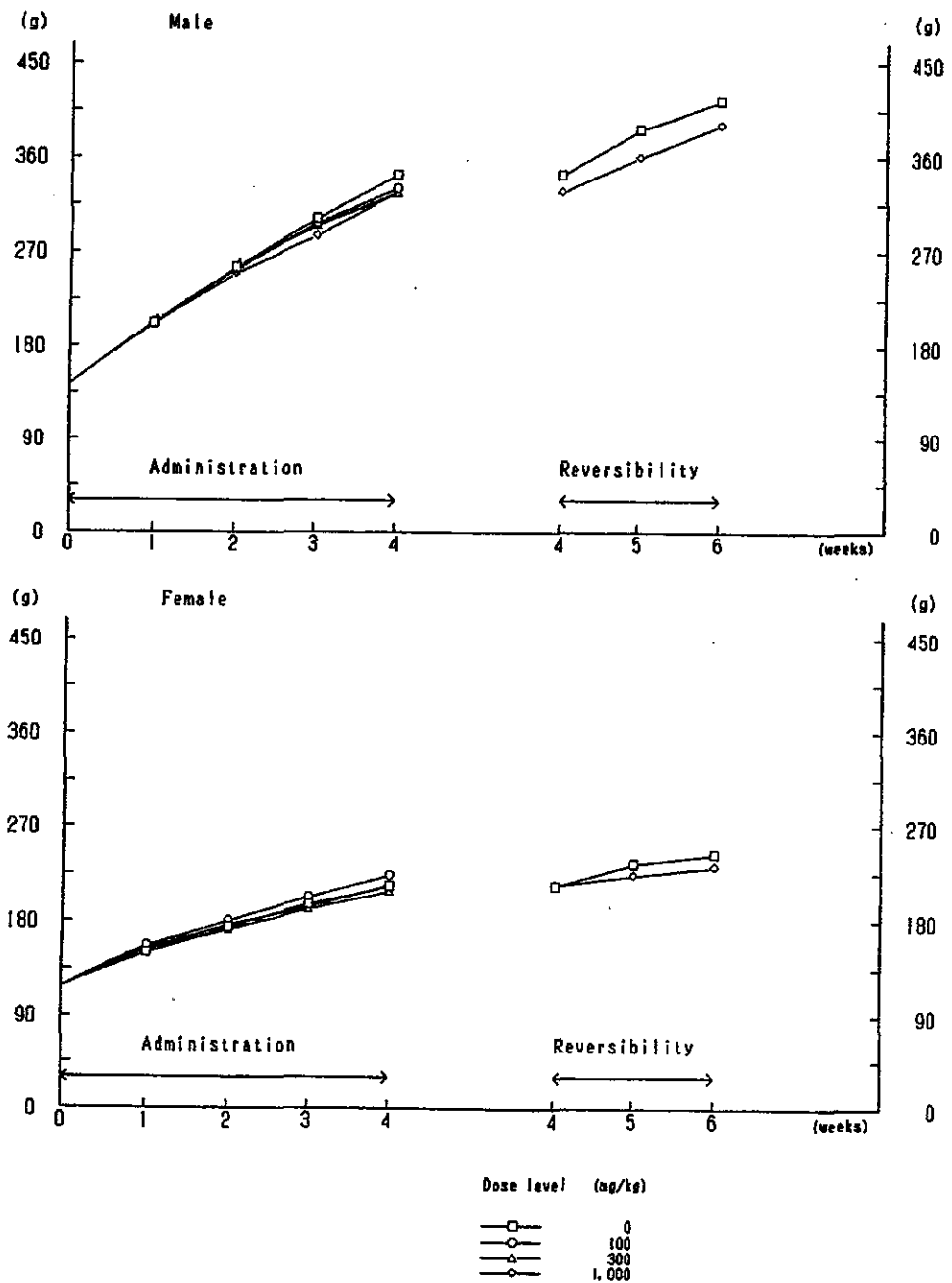


Fig. 1 Body weights of rats administered orally with 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid for 28 days

4. 飼料摂取量 (Fig. 2)

雌雄とも投与期間および回復期間中を通じて差が認められず、0~4および4~6週間の総摂取量にも差は認められなかった。

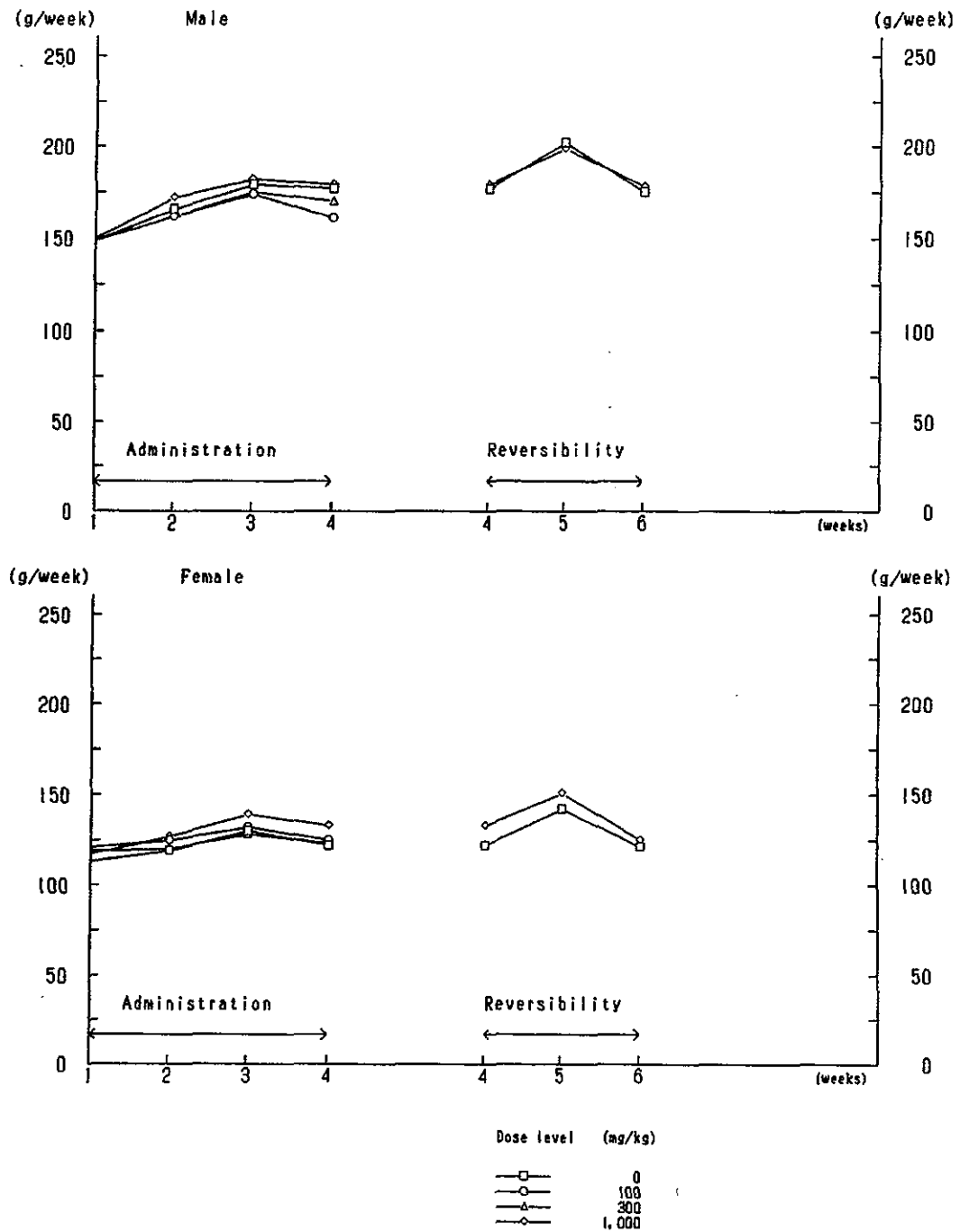


Fig. 2 Food consumption of rats administered orally with 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid for 28 days

5. 血液形態学的検査 (Table 1)

a) 投与終了時の結果

雄では 300 および 1,000 mg/kg群で対照群に比較して MCHCが低値を示した。

雌ではいずれの検査項目においても対照群との間に差は認められなかった。

b) 回復期間終了時の結果

雄では1,000 mg/kg群で対照群に比較してヘモグロビン量および血小板数の減少が認められた。

雌では1,000 mg/kg群で対照群に比較して白血球数の減少が認められた。

6. 血液凝固検査 (Table 1)

投与期間終了時の検査において、雌雄ともにプロトロンビン時間および活性化部分トロンボプラスチン時間は群間で差がなかった。

回復期間終了時の検査で、雌の1,000 mg/kg群でプロトロンビン時間が対照群に比較して延長した。

Table 1 Hematological findings of rats administered orally with 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Item	28 days dosing groups (mg/kg)				14 days recovery groups (mg/kg)	
	0	100	300	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
HCT (%)	46.6±0.7	47.4±1.1	47.6±1.7	48.1±1.2	46.7±0.6	45.4±1.2
HGB (g/dl)	14.3±0.2	14.3±0.3	14.2±0.5	14.4±0.3	14.9±0.1	14.4±0.3**
RBC (x10 ⁶ /mm ³)	7.57±0.29	7.69±0.19	7.68±0.43	7.89±0.15	8.08±0.21	7.87±0.44
MCV (μm ³)	61.6±2.2	61.6±1.3	62.1±2.0	60.9±1.6	57.9±0.9	57.8±2.3
MCH (pg)	19.0±0.7	18.6±0.4	18.5±0.7	18.2±0.5	18.5±0.4	18.3±0.7
MCHC (%)	30.8±0.1N	30.2±0.2	29.8±0.6**	29.9±0.2**	31.9±0.3	31.7±0.2
PLT (x10 ³ /mm ³)	1199±63	1221±62	1180±118	1107±48	1238±60	1093±94**
WBC (x10 ³ /mm ³)	12.3±2.7	13.6±1.8	12.7±3.4	12.2±2.3	12.4±3.3	14.5±2.4
Differential leukocyte counts (%)						
NEUT	12±3	12±2	9±1	13±3	11±4	12±4
LYMPH	84±3	84±2	89±2	84±3	85±5	85±5
MONO	2±1	2±1	1±1	1±1	2±2	2±1
EOSN	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0
BASO	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
LUC	1±0	1±0	1±1	1±0	1±0	1±0
PT (sec.)	14.8±0.6	14.5±0.4	14.5±0.7	14.5±0.4	15.4±0.5	15.2±0.6
APTT (sec.)	23.0±1.4	21.8±0.6	24.0±1.8	22.6±2.0	27.1±2.3	26.9±1.8
Female						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
HCT (%)	46.2±1.1	47.3±2.7	46.6±0.7	46.3±1.2	44.9±1.3	43.8±1.0
HGB (g/dl)	13.8±0.5	13.9±0.7	13.8±0.3	13.7±0.5	14.3±0.4	14.0±0.2
RBC (x10 ⁶ /mm ³)	7.42±0.28	7.51±0.29	7.44±0.34	7.46±0.21	7.75±0.32	7.42±0.14
MCV (μm ³)	62.3±1.3	63.0±1.9	62.7±2.5	62.1±1.9	57.9±1.3	59.1±1.4
MCH (pg)	18.6±0.3	18.5±0.5	18.5±0.9	18.4±0.6	18.4±0.6	18.9±0.3
MCHC (%)	29.9±0.4	29.4±0.3	29.6±0.5	29.6±0.4	31.7±0.3	32.0±0.9
PLT (x10 ³ /mm ³)	1190±164	1205±110	1117±88	1110±112	1196±156	1107±75
WBC (x10 ³ /mm ³)	6.5±2.1	6.3±1.9	6.1±1.3	8.3±2.4	10.7±2.4	6.9±2.1*
Differential leukocyte counts (%)						
NEUT	11±2N	12±3	13±8	10±1	8±2	12±4
LYMPH	86±2N	86±3	85±10	87±1	89±2	84±5
MONO	1±0	1±1	1±1	1±0	1±1	2±1
EOSN	1±0	1±0	1±0	1±0	1±0	1±1
BASO	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0	0±0
LUC	0±1	0±0	0±0	0±1	1±0	0±1
PT (sec.)	16.0±0.4	15.7±0.5	15.5±0.3	15.4±0.4	15.5±0.5	16.3±0.5*
APTT (sec.)	21.2±2.1	21.1±1.4	19.2±1.2	18.9±1.4	22.1±1.4	25.2±4.2

NEUT: Neutrophil

LYMPH: Lymphocyte

MONO: Monocyte

EOSN: Eosinophil

BASO: Basophil

LUC: Large unstained cells

Values are expressed as Mean±S.D.

Significant difference from control group; **: P≤0.01

7. 生化学的検査 (Table 2)

a) 投与終了時の結果

雄では対照群に比較して100および300 mg/kg群でカルシウムが、また、300 mg/kg群でアルブミンが減少した。

雌ではすべての被験物質投与群で対照群に比較してγ-GTPの減少、カルシウムの増加が認められ、また、100 mg/kg群で血糖の増加が認められた。

b) 回復期間終了時の結果

雄では対照群に比較して1,000 mg/kg群でクレアチニンの増加、総蛋白、アルブミンおよびカリウムの減少が認められた。

雌ではすべての検査項目において対照群と1,000 mg/kg群で差は認められなかった。

Table 2 Blood chemical findings of rats administered orally with 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Item	28 days dosing groups (mg/kg)				14 days recovery groups (mg/kg)	
	0	100	300	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
BUN (mg/dl)	12.4±1.9	11.5±1.9	13.1±2.3	11.3±1.5	11.2±2.2	13.0±1.9
Creatinine (mg/dl)	0.59±0.03	0.56±0.07	0.55±0.10	0.59±0.06	0.58±0.03	0.63±0.02**
T.cholesterol (mg/dl)	49±16	48±5	44±15	47±9	51±21	43±8
T.protein (g/dl)	5.34±0.13	5.24±0.08	5.10±0.21	5.25±0.06	5.65±0.21	5.33±0.09**
Albumin (g/dl)	2.98±0.07	2.93±0.07	2.83±0.09*	2.94±0.09	3.02±0.08	2.86±0.09**
A/G	1.27±0.08	1.27±0.03	1.25±0.04	1.28±0.08	1.15±0.04	1.16±0.07
Glucose (mg/dl)	134±19	138±14	146±11	137±11	146±19	151±21
Triglyceride (mg/dl)	56.4±13.2	51.3±14.5	52.2±24.7	36.3±6.1	48.2±17.2	45.0±14.7
GOT (U/l)	61±6	65±2	57±6	56±7	45±7	42±7
GPT (U/l)	13±1	12±3	13±3	15±4	17±4	18±5
ALP (U/l)	151±23	176±48	154±21	153±22	126±24	141±30
Gamma-GTP (U/l)	0.0±0.0N	0.1±0.2	0.2±0.3	0.2±0.2	0.0±0.0	0.1±0.1
Sodium (mmol/l)	141.3±0.8	141.1±0.7	140.6±1.3	139.7±1.4	142.2±1.5	142.4±0.7
Potassium (mmol/l)	4.97±0.23	4.95±0.29	4.89±0.38	4.94±0.34	4.94±0.35	4.49±0.24*
Chloride (mmol/l)	106.6±1.6	106.4±0.7	107.4±1.0	105.4±1.0	106.8±1.7	107.7±1.5
Calcium (mg/dl)	9.52±0.14	9.11±0.12**	9.17±0.16**	9.40±0.14	9.52±0.29	9.47±0.14
I.phosphate (mg/dl)	8.09±0.53	7.60±0.34	7.72±0.62	7.58±0.35	7.35±0.58	6.73±0.32
Female						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
BUN (mg/dl)	14.5±2.9	16.0±1.2	16.1±3.7	14.3±4.8	13.7±0.9	15.2±1.5
Creatinine (mg/dl)	0.60±0.03	0.54±0.11	0.63±0.06	0.58±0.06	0.65±0.05	0.63±0.03
T.cholesterol (mg/dl)	44±10	52±20	56±14	61±11	64±13	56±7
T.protein (g/dl)	5.55±0.27	5.73±0.24	5.43±0.13	5.52±0.26	5.84±0.17	5.69±0.09
Albumin (g/dl)	3.24±0.20	3.32±0.20	3.14±0.05	3.22±0.21	3.38±0.22N	3.27±0.04
A/G	1.40±0.06	1.38±0.10	1.37±0.03	1.40±0.09	1.37±0.12	1.36±0.06
Glucose (mg/dl)	112±14	150±30**	133±8	120±14	131±21	125±9
Triglyceride (mg/dl)	27.8±5.3	34.6±15.9	26.2±5.1	42.1±13.1	42.5±12.0N	34.8±3.7
GOT (U/l)	56±8	54±6	55±4	51±10	48±8	46±4
GPT (U/l)	13±1	15±4	13±3	14±6	15±5	13±3
ALP (U/l)	102±16	105±20	91±17	112±23	72±17	85±30
Gamma-GTP (U/l)	0.9±0.5	0.2±0.2**	0.3±0.3*	0.4±0.3*	0.3±0.4	0.3±0.4
Sodium (mmol/l)	142.2±0.8	141.7±0.5	141.4±1.4	140.8±1.2	141.6±0.8	142.3±1.5
Potassium (mmol/l)	4.86±0.13	4.54±0.21	4.64±0.28	4.53±0.30	4.46±0.18	4.47±0.30
Chloride (mmol/l)	108.8±1.8	109.1±2.0	109.8±1.5	106.8±1.2	108.2±2.1	109.6±1.8
Calcium (mg/dl)	9.23±0.08	9.56±0.21**	9.51±0.14*	9.66±0.19**	9.45±0.17	9.37±0.17
I.phosphate (mg/dl)	6.29±0.15	6.37±0.26	6.05±0.49	6.27±0.28	6.02±0.38	5.36±0.63

Values are expressed as Mean±S.D.

Significant difference from control group; *: P≤0.05 **; P≤0.01

N: Non parametric analysis

28日間反復投与毒性試験

8. 尿検査 (Table 3)

a) 投与終了時の結果

雌雄ともすべての被験物質投与群でウロビリノーゲン1.0 E.U./dl以上の動物が増加し、さらに、300 mg/kg以上の群で尿pH 5.5以下の動物が増加した。

b) 回復期間終了時の結果

雄では対照群と1,000 mg/kg群で、すべての検査項目について明確な差は認められなかった。

雌では1,000 mg/kg群で対照群に比較して尿比重が高値を示した。

Table 3 Urinary findings of rats administered orally with 2-Amino-5-chloro-4-methylbenzenesulfonic acid for 28 days and a recovery period for 14 days

Item	28 days dosing groups (mg/kg)				14 days recovery groups (mg/kg)	
	0	100	300	1,000	0	1,000
Male						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
Volume (ml)	8±2	8±2	7±2	6±1	8±1N	7±2
Specific Gravity	1.053±0.013	1.061±0.016	1.070±0.017	1.067±0.006	1.062±0.004N	1.072±0.018
Color	Slight yellow	5	4	4	4	5
	Yellow-brown	0	1	1	1	0
Turbidity	Clear	5	5	5	5	5
pH	5	0	0	1	2	0
	5.5	0	1	1	3	0
	6	4	4	2	0	5
	6.5	1	0	1	0	0
Occult Blood	-	5	5	5	5	5
Ketones	-	0	0	1	2	0
	+/-	1	3	3	3	0
	1+	4	2	1	0	5
Glucose	-	5	5	5	5	5
(g/dl)	30	4	4	2	1	2
Protein	100	1	1	2	4	3
(mg/dl)	≥300	0	0	1	0	0
Bilirubin	-	1	3	0	0	1
	1+	4	2	5	5	4
Urobilinogen	0.1	5	2	0	0	5
(E.U./dl)	1.0	0	3	5	2	0
	2.0	0	0	0	3	0
Erythrocytes	-	5	5	5	5	5
Leukocytes	-	5	3	3	4	3
	1+	0	2	2	0	2
	2+	0	0	0	1	0
Epith. Cells	-	5	5	5	5	5
Casts	-	5	5	5	5	5
Fat glob.	-	5	5	5	5	5
M. threads	-	5	5	5	5	5
others	+	5	5	5	5	5

others : Crystals

Values of volume,specific gravity are expressed as Mean±S.D., other values are expressed as No. of animals

N : Non parametric analysis

Table 3 (-continued)

Item	28 days dosing groups (mg/kg)				14 days recovery groups (mg/kg)	
	0	100	300	1,000	0	1,000
Female						
No. of animals	5	5	5	5	5	5
Volume (ml)	5±2	5±2	5±1	6±2	6±2	3±1
Specific Gravity	1.065±0.015	1.070±0.025	1.077±0.011	1.069±0.017	1.068±0.021	1.101±0.014**
Color	Slight yellow	5	4	4	4	5
	Yellow-brown	0	1	1	1	0
Turbidity	Clear	5	5	5	5	5
		0	1	3	4	0
pH	5	1	2	2	0	1
	5.5	4	1	0	1	3
	6	0	1	0	0	1
Occult Blood	-	4	5	5	5	4
	+/-	1	0	0	0	1
Ketones	-	3	4	3	4	3
	+/-	2	1	2	1	2
Glucose (g/dl)	-	5	5	5	5	5
		0	0	0	1	1
Protein (mg/dl)	+/-	3	4	5	4	1
	30	2	1	0	0	3
	100	0	0	0	0	3
	≥300	0	0	0	0	0
Bilirubin	-	2	2	0	1	2
	1+	3	3	5	4	3
Urobilinogen (E.U./dl)	0.1	5	2	0	0	5
	1.0	0	3	5	1	0
	2.0	0	0	0	1	0
	4.0	0	0	0	3	0
Erythrocytes	-	5	5	5	5	5
Leukocytes	-	5	3	1	3	4
	1+	0	1	3	0	1
	2+	0	1	1	2	0
Epith. Cells	-	5	5	5	4	5
	1+	0	0	0	1	0
Casts	-	5	5	5	5	5
Fat glob.	-	5	5	5	5	5
M. threads	-	5	5	5	5	5
others	-	0	0	1	0	1
	+	5	5	4	5	4

others : Crystals

Values of volume, specific gravity are expressed as Mean±S.D., other values are expressed as No. of animals

Significant difference from control group; **: P≤0.01