

原著 サッカリンの熱分解および分解生成物に関する研究

(第6報)

分解生成物(o-SABA)のラット生体機能におよぼす影響

高村一知, 阿左美章治, 崎原幸子, 益子雪枝

Studies on the thermal decomposition of Saccharin Sodium and It's Products.

Part VI. Effects of the thermal decomposition Products (o-SABA) on the biological function of rats.

KAZUNORI TAKAMURA, SHOJI AZAMI,  
YUKIKO SAKIHARA and YUKIE MASUKO

緒言

サッカリン(以後, SASと略す)の安全性に関する研究の一環として, SASの熱分解<sup>3)</sup>に対する安定性の研究をかさねてきた。

その結果, SASの分解生成物はオルトスルファモイル安息香酸(以後, o-SABAと略す)およびオルトスルフォ安息香酸<sup>3)</sup>が分解生成することを, 前報で確認した。

そこで, SASの分解生成物であるo-SABAがラットの生体機能におよぼす影響について研究するためo-SABAをラットに1回経口投与し, 尿および糞中への排泄量を定量した。また, o-SABAを15日間連続経口投与を行ない, 主要臓器の肉眼および顕微鏡観察について検討したのでその報告をする。

実験方法

1. 試料および処理

(1) 試料

o-SABAは, 前報で合成した, 無色無

臭の板状結晶で, mp 153.5°~161.7°, 水およびエタノールに可溶の製品を用いた。

(2) 実験動物の飼育条件

実験動物はDonryu.SPF系雄ラット(日本ラットKK製)の体重60~70g, 3週令のものを購入し, その後1週間メタボリックケージで予備飼育を行ない, 一般状態, 発育の良好なものを実験に供した。なお, 実験開始時の体重は80g±0.05gとした。

飼料は市販固型飼料(オリエンタル酵母KK製)および水は自由に摂取させた。

(3) 投与量の設定

前報によりSAS熱分解による, 分解生成物o-SABAの生成率<sup>1)</sup>は0.1~1.24%であった。そこでByardらの代謝実験でのSAS投与量(100~500mg/kg/day)を参考にし, SAS 300mg/kg/dayに対しo-SABA 1%量および倍量を投与量として設定した。

(4) 投与方法

1群を5匹とし, A投与群にはo-SABAを3mg/kg/day水に溶解し, 投与液量が

5 ml/kg/day となるよう調整し、15日間ラット用胃ゾンデにより連続経口投与をした。B投与群には o-SABA を 6 mg/kg/day で A群に準じ投与した。対照群には生理的食塩水を投与した。実験開始後18日目に断頭、放血致死せしめ剖検に供した。

別に、尿および糞中への排泄実験は、上記と同様の飼育方法で、体重 150 g 前後のラットに o-SABA 30 mg/kg/day を一度だけ胃内経口投与を行ない、48時間内の尿および糞中への排泄量を液体クロマトグラフ（以後、HSLC と略す）にて定量した。試料は、常に用時調製した。

(5) 尿および糞中より o-SABA の抽出  
尿は 10 ml に対し  $N/10$  蔘酸 5 ml, 水 5 ml および酸性白土 2 g を添加混和し、3 分間振盪した後、ろ過した。また、糞は乾燥した後、乳ばちにて良く粉碎し、尿と同様の操作を行った。ろ液は 100 ml ナス型フラスコに入れ、減圧下にて濃縮し、濃縮残留物を 90% メタノール 3 ml に溶解して、その一定量 40  $\mu$ l  $\times$  75 回をシリカゲル FM（和光純薬製）プレート 10 枚に、それぞれ帯状にスポットした。

展開溶媒にはアセトン：10%アンモニア（9：1）を使用し、標準物質の Rf 値より o-SABA を分取し、90%メタノール 10 ml  $\times$  2 を加え、振盪した後 3,000 rpm で遠心分離した。上層のメタノール液を取り、エバポレートし濃縮残留物に、90%メタノール 1 ml および内部標準液として SAS を加え溶解し、試験溶液とした。

## 2. HSLC による o-SABA の定量

上記溶液 10  $\mu$ l を HSLC に注入し、Fig. 1 に示すように o-SABA の定量を行なった。

HSLC の定量条件は、ヤترون KK 製 LC-1 型、検出波長 254 nm, カラム日立 KK 製 Porus Polymer 3011 (4 mm  $\times$  500 mm), 移動相 90% メタノール, カラム圧 35 kg/cm<sup>2</sup> で

3.5 分に o-SABA, 9 分程度で SAS が溶離した。検量線は o-SABA 10 ppm ~ 200 ppm の間で直線性を示し、添加回収実験は 82% であった。

なお、他のカラム、ヤترونビーズ 6 CP-2020 移動相 90% メタノール, 40 kg/cm<sup>2</sup> および島津 Zipax SAX 移動相 0.01 M Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> + 0.1 M NaClO<sub>4</sub>, 100 kg/cm<sup>2</sup> でも定量は可能であった。

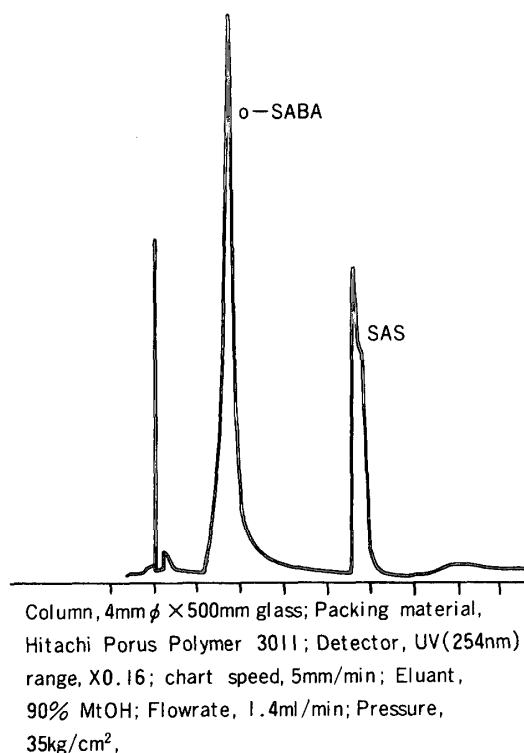


Fig. 1. HSLC Spectrum of o-SABA

## 実験結果および考察

### 1. 体重の変動

試験期間中の平均体重の推移を Fig. 2 に示した。

A投与群に比し B投与群は若干の体重増加の抑制がみられるが、有意の差は認められなかった。同様に対照群、AおよびB投与群間

に著しい、有意の差は認められなかった。

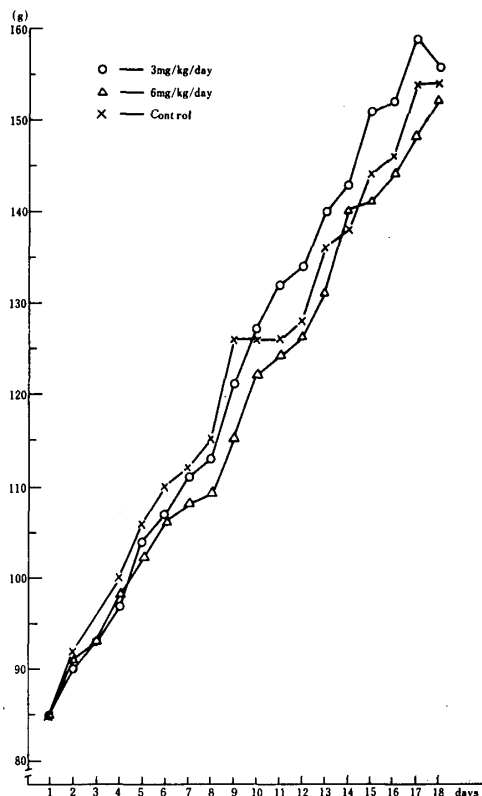


Fig. 2 Body weight growth curves of male rats served o-SABA by oral administration.

## 2. 臓器重量の変化

Table.1は心、肺、肝および腎臓における実重量を示し、Table.2は各臓器の体重比重量を示した。

肝臓実重量の、o-SABA投与のA投与群およびB投与群は対照群よりも若干の高値を示したが、体重比重量値ではA投与群が、B投与群ならびに対照群よりも高値を示した。

しかし、いずれにも有意の差はみられなかった。また、その他の臓器は対照群に対して、A投与群ならびにB投与群ともに有意の差は認められなかった。

Table. 1 Organs weight of male Rats served o-SABA by oral administration. (Absolute)

Dose	Organs (g) mean $\pm$ S.D				
	Body weight	Heart	Lung	Liver	Kidney
Control	154.0 $\pm$ 11.1	0.61 $\pm$ 0.02	0.93 $\pm$ 0.15	6.41 $\pm$ 0.59	1.30 $\pm$ 0.12
A-Group (3 mg/kg/day)	156.0 $\pm$ 11.1	0.63 $\pm$ 0.05	0.93 $\pm$ 0.18	6.36 $\pm$ 0.89	1.24 $\pm$ 0.09
B-Group (6 mg/kg/day)	156.8 $\pm$ 12.6	0.63 $\pm$ 0.07	0.87 $\pm$ 0.13	6.70 $\pm$ 0.91	1.24 $\pm$ 0.11

Significantly different from control

$P < 0.05^*$ ,  $P < 0.01^{**}$

Table. 2 Organs weight of male Rats served o-SABA by oral administration (Relative)

Dose	Organs (g) mean $\pm$ S.D			
	Heart	Lung	Liver	Kidney
Control	0.40 $\pm$ 0.02	0.61 $\pm$ 0.09	4.16 $\pm$ 0.25	0.85 $\pm$ 0.08
A-Group (3 mg/kg/day)	0.40 $\pm$ 0.03	0.60 $\pm$ 0.13	4.07 $\pm$ 0.43	0.80 $\pm$ 0.08
B-Group (6 mg/kg/day)	0.42 $\pm$ 0.04	0.57 $\pm$ 0.08	4.40 $\pm$ 0.27	0.82 $\pm$ 0.07

Significantly different from control  $P < 0.05^*$ ,  $P < 0.01^{**}$

### 3. 肝・腎・胃・小腸・膀胱の肉眼および顕微鏡観察

対照群とo-SABA投与群ラットの肝臓、腎臓、胃、小腸および膀胱を摘出し、その直後の肉眼所見ではo-SABA投与群ラットの臓器に形態変化はなく、各臓器の体重比重量、臓器色においても対照群、o-SABA投与群の間に差異は認められなかった。また、それらの臓器をヘマトキシリン-エオシン染色で顕微鏡観察した結果は、

肝臓：肝小葉の中心静脈とそのまわりの肝細胞、クップエル星細胞、小葉間結合組織を観察したが形、大きさに対照群、o-SABA投与群の差異は認められなかった。

腎臓：腎小体、尿細管、間質組織、血管、集合管について観察したが、対照群とo-SABA投与群との間に組織形態について変化は認められなかった。

胃：腺胃部、前胃部の腺上皮、重層扁平上皮、血管、筋層について観察したが対照群に比べて、o-SABA投与群の組織形態に差異は認められなかった。

小腸：粘膜固有層、粘膜下組織、腸絨毛、杯細胞、小腸腺について観察したが、対照群とo-SABA投与群との組織形態に変化は認められなかった。

膀胱：上皮細胞、粘膜固有層、筋層を観察したが対照群とo-SABA投与群との間に組織形態変化は認められなかった。

### 4. o-SABAの尿および糞中への排泄量

前記HSLC分析操作にしたがって、体重150g前後のラットにo-SABA 30mgを一度だけ、胃内経口投与を行ない48時間内のo-SABA排泄率を示すとTable. 3の通りである。

Table 3. Excretion quantity of o-SABA

No. of Animal	Excretion quantity (%)	
	Urine	Feces
No. 1	17.5	54.6
No. 2	19.2	56.7
No. 3	16.3	58.1
Total	17.7	56.5

48時間内の全尿量は21.5～25ml, 乾燥全糞量は5.7g～6.2gであった。

Table 3の結果からみると, o-SABAの尿中への排泄率は16.3%～19.2%で, 平均17.7%であった。糞中への排泄率は54.6%～58.1%で, 平均56.5%であり, 尿中よりも糞中への排泄率の方が高いことを示した。

o-SABAの尿糞中への総排泄率は, 48時間で74.2%の結果であった。

嶺岸<sup>2)</sup>およびJ. L. Byard<sup>1)</sup>らによると, o-SABAの尿糞中排泄率は, 96時間で尿中に26.7%, 糞中に63.1%であり, 総排泄率89.8%と報告している。

これらの結果から, 実験動物の個体数は若干少ないが, o-SABAは48時間で約70%程度が排泄することを確認した。

## 要 約

SASの熱分解生成物o-SABAをラットに15日間連続経口投与して, 病理学的検索を行なった。また糞尿中への排泄量の定量を行なった。

(1) o-SABA 3mg/kg/day, 6mg/kg/dayを胃内経口投与を行ない心, 肺, 肝および腎臓の実重量および比重量の結果に, 有意の差はみられなかった。

(2) 肝, 腎, 胃, 小腸および膀胱を摘出し, 肉眼的観察, 顕微鏡観察を行なった結果, 各臓器の組織形態について顕著な変化は認められなかった。

(3) o-SABA 30mgを一度だけ経口投与し, 48時間内の糞尿中への排泄量は, 尿中に17.7%, 糞中に56.5%で総排泄率74.2%であった。

本研究の一部は東京都私立短期大学協会委託研究費補助金にて実施しました。また, 本研究の一部は第34回日本食品衛生学会にて発表しました。

最後に, 本研究を行なうにあたり顕微鏡所見の御指導を賜りました国立衛生試験所小林和雄博士, 高村二三知氏に深く感謝致します。

文 献

- 1) Byard, J. L.: Fd. Cosmet. Toxicol, 11, 391 (1973).
- 2) Minegishi, K. Chem. Pharm. Bull., 20, 7, 1351 (1972).
- 3) 高村一知ほか：聖徳栄養短大紀要, 7, 1 (1976).