

資料 3 - 1 - 5

既存化学物質の人健康影響に関する情報（第一種特定化学物質審議関係②）

（平成 17 年 11 月 18 日）

- No. 6 1,1-ビス (tert-ブチルジオキシ) -3,3,5-トリメチルシクロヘキサン ……p. 1
- No. 18 2,4-ジ-tert-ブチル-6-(5-クロロ-2H-1,2,3-ベンゾトリアゾール-2-イル) フェノール……p. 62

6-1. 1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの 28 日間試験・Ames 試験・染色体異常試験

1,1-Bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane

1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン

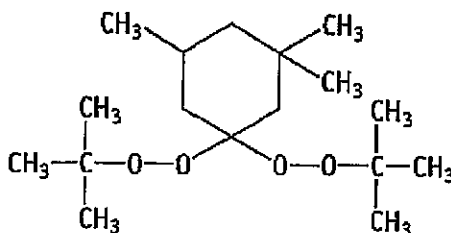
[CAS No. 6731-36-8]

1,1-Bis(*tert*-butylperoxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane

1,1-ビス(*tert*-ブチルペルオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン

Molecular formula: C₁₇H₃₄O₄

Molecular weight: 302.45



ABSTRACT

A single dose oral toxicity test of 1,1-bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane revealed an LD₅₀ value of more than 2000 mg/kg for both sexes.

1,1-Bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane was studied for oral toxicity in rats in a 28-day repeat dose toxicity test at doses of 0, 100, 300 and 1000 mg/kg. One male animal in the 1000 mg/kg group died during the recovery period. Repeated administration of test substance caused centrilobular hypertrophy of hepatocytes in the female animals given 100 mg/kg and more, and in the male animals given 300 mg/kg and more. The female animals receiving 100 mg/kg and more also showed enhanced periportal fatty change and a decreased A/G ratio. In addition, in the 1000 mg/kg group, animals of both sexes demonstrated a prolonged blood coagulation time, and increased GPT activity, suggesting hepatic dysfunction. In the male animals given 100 mg/kg and more, intracytoplasmic eosinophilic inclusive bodies appeared in the proximal renal tubules, suggesting renal toxicity of the test substance. Thus, the NOEL for the 28-day repeat dose oral toxicity test of 1,1-bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane is considered to be less than 100 mg/kg/day for males and females.

Genotoxicity of 1,1-bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane was studied by the reverse mutation test in bacteria and by the chromosomal aberration test in cultured Chinese hamster lung (CHL/IU) cells.

1,1-Bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane was not mutagenic in *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 and *Escherichia coli* WP2 *uvrA*, with or without an exogenous metabolic activation system.

1,1-Bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane did not induce chromosomal aberrations in CHL/IU cells, with and without an exogenous metabolic activation system.

SUMMARIZED DATA FROM THE STUDIES

1. Single Dose Oral Toxicity ¹⁾

Purity	: 97.9 %
Test species/strain	: Rat/Crj:CD(SD)IGS
Test method	: OECD Test Guideline 401
Route	: Oral (gavage)
Doses	: Males, 0 (vehicle), 1000, 2000 mg/kg Females, 2000 mg/kg
Number of animals/group	: Males, 5; females, 5
Vehicle	: Corn oil
GLP	: Yes

Test results:

No death occurred in any group. Clinical signs of diarrhea or soft feces were observed in all groups on the treatment day. No effects were found on body weight or autopsy findings.

The LD₅₀ value was concluded to be more than 2000 mg/kg for both sexes.

2. Repeat Dose Toxicity ¹⁾

Purity	: 97.9 %
Test species/strain	: Rat/Crj:CD(SD)IGS
Test method	: Guideline for 28-Day Repeated Dose Toxicity Test in Mammalian Species (Chemical Substances Control Law of Japan)
Route	: Oral (gavage)
Doses	: 0 (vehicle), 100, 300, 1000 mg/kg/day
Number of animals/group	: Males, 10; females, 10 (0, 1000 mg/kg) Males, 5; females, 5 (100, 300 mg/kg)
Vehicle	: Corn oil
Administration period	: Males and females, 28 days
Terminal kill	: Males and females, on days 29 and 43
GLP	: Yes

Test results:

No deaths occurred during the administration period, but one male animal in the 1000 mg/kg group died on the 3rd day of the recovery period. On hematological examination, animals of both sexes in the 1000 mg/kg group showed a tendency for prolongation or significant prolongation of prothrombin and activated partial thromboplastin time. Regarding blood chemistry, male animals in the 1000 mg/kg group showed a significant decrease in plasma glucose and a significant increase in GPT activity. The female animals in this group showed significant increases in γ -GTP activity and total protein level in addition to increase in GPT activity. Females receiving 100 mg/kg showed a significant decrease in albumin level. The A/G ratio in the test substance groups was significantly decreased. Dose-dependent increases in organ weights of the liver and the kidneys were observed in the animals of both sexes of the test substance groups. Histopathological examination revealed centrilobular hypertrophy of hepatocytes which became evident dose-dependently in male animals given 300 mg/kg and more, and in the female animals given 100 mg/kg and more. Dose-dependent periportal fatty change was found in female animals. In the kidneys of all the male animals of

the test substance groups intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies and eosinophilic bodies were found in the proximal tubules and the degree of the former increased with increasing dose.

Thus, the NOEL for the 28-day repeat dose toxicity is considered to be less than 100 mg/kg/day for males and females.

3. Genetic Toxicity

3-1. Bacterial test ²⁾

Purity	:	97.9 %
Test species/strain	:	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA1535, TA98, TA1537, <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>
Test method	:	Guidelines for Screening Mutagenicity Testing of Chemicals (Chemical Substances Control Law of Japan) and OECD Test Guideline 471
Procedures	:	Pre-incubation method
Solvent	:	DMSO
Positive controls	:	-S9 mix; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide (TA100, TA98, WP2 <i>uvrA</i>), Sodium azide (TA1535) and 9-Aminoacridine (TA1537) +S9 mix; 2-Aminoanthracene (all strains)
Doses	:	-S9 mix; 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate +S9 mix; 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/plate
S9	:	Rat liver, induced with phenobarbital and 5,6-benzoflavone
Plates/test	:	3
Number of replicates	:	2
GLP	:	Yes

Test results:

This chemical did not induce gene mutations in the *S. typhimurium* and *E. coli* strains. Toxicity was not observed in any strain, with and without S9 mix.

Genotoxic effects:

Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537

	+	?	-
Without metabolic activation:	[]	[]	[*]
With metabolic activation:	[]	[]	[*]

Escherichia coli WP2 *uvrA*

	+	?	-
Without metabolic activation:	[]	[]	[*]
With metabolic activation:	[]	[]	[*]

3-2. Non-bacterial *in vitro* test (chromosomal aberration test) ²⁾

Purity	:	97.9 %
Type of cell used	:	Chinese hamster lung (CHL/IU) cells
Test method	:	Guidelines for Screening Mutagenicity Testing of Chemicals (Chemical Substances Control Law of Japan) and OECD Test Guideline 473
Solvent	:	DMSO
Positive controls	:	-S9 mix; 1-Methyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine +S9 mix; 3,4-Benzo[<i>a</i>]pyrene
Doses	:	-S9 mix (6 hr short-term treatment) : 0, 93.75, 187.5, 375, 750, 1500, 3000 $\mu\text{g/mL}$ +S9 mix (6 hr short-term treatment) : 0, 375, 750, 1500, 3000 $\mu\text{g/mL}$ -S9 mix (24 hr continuous treatment) : 0, 6.25, 12.5, 25, 37.5, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$
S9	:	Rat liver, induced with phenobarbital and 5,6-benzoflavone
Plates/test	:	2
GLP	:	Yes

Test results:

With 6 hr short-term treatment, chromosomal aberrations were not induced with and without S9 mix. Moreover, chromosomal aberrations were not induced after 24 hr continuous treatment without S9 mix.

Cytotoxicity was not observed in the 6 hr short-term treatment with and without S9 mix and the 24 hr continuous treatment without S9 mix.

Genotoxic effects:

	clastogenicity			polyploidy		
	+	?	-	+	?	-
Without metabolic activation:	[]	[]	[*]	[]	[]	[*]
With metabolic activation:	[]	[]	[*]	[]	[]	[*]

- 1) The tests were performed by the Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center, 729-5 Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa, 257-8523, Japan. Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627
- 2) The tests were performed by the Research Institute for Animal Science in Biochemistry and Toxicology, 3-7-11 Hashimotodai, Sagami-hara-shi, Kanagawa 229-1132, Japan. Tel +81-42-762-2775 Fax +81-42-762-7979

1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの ラットを用いる単回経口投与毒性試験

Single Dose Oral Toxicity Test of 1,1-Bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane in Rats

要約

1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの1000および2000 mg/kgを1群5匹からなる5週齢の雄ラットに、雌ラット5匹には2000 mg/kgを単回経口投与した。媒体対照として、雄5匹にコーン油を投与した。

全投与群で投与日に下痢便あるいは軟便の排泄がみられた。体重の推移および剖検所見には、変化は認められなかった。

1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンのLD₅₀値は、雌雄ともに2000 mg/kgを上回ると推定された。

方法

1. 被験物質

被験物質として、日本油脂(株)(愛知)より提供された無色透明の液体である1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン(Lot No.8X01, 純度97.9%)を用いた。受領物質は、使用時まで冷蔵保管した。なお試験終了後、残余被験物質を提供元で再分析し、被験物質が試験期間中安定であったことを確認した。

投与検体の調製においては、各用量毎に被験物質を秤量し、所定濃度となるようにコーン油(Lot No.V8P7069, ナカライテスク(株))を加えて溶解し、投与時まで冷蔵・遮光下で保存し、調製3日後に使用した。なお、2および20 w/v%に調製した被験物質は、冷蔵、遮光条件下で12日間安定であることを確認した。また、各投与検体の含量を測定した(95.7~99.9%)。

2. 使用動物および飼育方法

4週齢のSprague-Dawley系(Crj:CD(SD)IGS)雌雄ラットを、日本チャールス・リバー(株)筑波飼育センターから購入し、検疫と馴化を兼ねて8日間予備飼育した。試験には、予備飼育中、動物の一般状態に異常が認められなかった雄15匹、雌5匹を用い、雄は検疫終了時の体重を基に体重別層化無作為抽出法により1群5匹からなる3群に分け、雌は無作為に5匹を選んで1群とした。投与開始時の週齢は雌雄ともに5週齢であり、体重は雄が123.8~144.3 g、雌が109.6~121.4 gであった。

全飼育期間を通じ、動物を金属製金網床ケージに1匹ずつ収容し、温度23~25℃、湿度50~65%、換気回数約15回/時、照明12時間(7時~19時点灯)に設定された

飼育室で、固型飼料(CE-2, 日本クレア(株))および水道水(栗野市水道局給水)を自由に摂取させて飼育した。

3. 投与量の設定および投与方法

投与量は、文献調査(RTECS No.:SD8600000)の結果および本被験物質のラットを用いる28日間反復経口投与毒性試験の予備試験の結果に基づいて決定した。すなわち、本被験物質のラットにおける単回投与時のLD₅₀値は12918 mg/kgであり、予備試験において1000 mg/kgを投与した雌で投与初期に体重の増加抑制が認められたことから、雄では、1000および2000 mg/kgの2用量を設定し、加えて媒体対照群としてコーン油を被験物質投与群と同容量投与する群を設けた。また、予備試験では明らかな性差は認められなかったことから、雌については、2000 mg/kgの1用量を設定した。

投与容量は体重1 kg当たり10 mLとし、動物を約18時間絶食させた後、投与直前に測定した体重を基に投与液量を算出し、ラット用胃管を用いて強制的に単回経口投与した。給餌は投与後約3時間に行った。

4. 観察および検査

観察第1日(投与日)から14日間にわたって死亡の有無を確認し、各動物の一般状態を観察した。観察は投与日においては投与直後から1時間まで連続して行い、その後は投与後6時間まで約1時間間隔で実施した。観察第2日から15日までは毎日1回行った。

体重は全例について、投与直前、観察第2, 4, 8, 11および15日に測定した。

剖検は、観察第15日に全例をペントバルビタールナトリウム麻酔下で放血屠殺して実施した。

結果および考察

雌雄ともに、死亡例はなかった。

一般状態では全投与群で投与日に下痢便あるいは軟便の排泄がみられた。また、2000 mg/kg投与群の雄3例では投与日あるいは観察第2日に肛門周囲の汚れが観察された。

体重は、雌雄ともに順調に増加した。

剖検においても雌雄いずれの器官・組織にも変化は認められなかった。

以上の結果から、1,1-ビス(*tert*-ブチルジオキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンのLD₅₀値は、雌雄ともに2000 mg/kgを上回ると推定された。

文献

- 1) 三井雅之, 古川文夫, 鈴木順子, 榎並倫宣, 西川秋佳, 高橋道人, 国立衛生試験所報告, 110, 42(1992).

連絡先

試験責任者: 永田伴子
試験担当者: 勝村英夫, 松本浩孝, 堀内伸二,
三枝克彦, 稲田浩子, 安生孝子
(財)食品薬品安全センター 秦野研究所
〒257-8523 神奈川県秦野市落合729-5
Tel 0463-82-4751 Fax 0463-82-9627

Correspondence

Authors: Tomoko Nagata (Study director)
Hideo Katsumura,
Hirotaka Matsumoto,
Shinji Horiuchi, Katsuhiko Saegusa,
Hiroko Inada, Takako Anjo
Hatano Research Institute, Food and Drug Safety
Center,
729-5 Ochiai, Hadano-shi, Kanagawa, 257-8523,
Japan.
Tel +81-463-82-4751 Fax +81-463-82-9627