
2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのラットを用いる単回経口
投与毒性試験

最 終 報 告 書

作成日 2007年1月30日

株式会社日本バイオリサーチセンター
羽島研究所

目次

要約	8
緒言	9
方法	9
1. 被験物質及び媒体	9
2. 投与検体及び濃度確認	9
3. 使用動物及び飼育条件	10
4. 投与経路, 投与方法, 群構成及び投与量	11
5. 観察及び検査項目	12
6. 統計解析	12
結果	12
1. 死亡状況, LD ₅₀ 値及び一般状態	12
2. 体重	13
3. 剖検	13
考察	13
文献	13

Attachment, Table, Fig. 及び Appendix の目次

Table 1	Mortality and LD ₅₀ value of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	19
Table 2	General signs of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	20
Table 3	Body weights of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	21
Table 4	Necropsy findings of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	22
Fig.1	Chemical structure of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	23

要約

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンを雌ラットに1回経口投与し、その毒性について検討した。投与量は、第1回試験及び第2回試験を2000 mg/kg、第3回試験及び第4回試験を300 mg/kgとした。媒体にはトウモロコシ油を用いた。使用動物数は各3例とした。

1. 死亡状況及び一般状態

死亡例は、第1回試験の2000 mg/kg投与で投与後1日に1例と第2回試験の2000 mg/kg投与で投与後1日に2例に認められた。

一般状態において、第1回試験及び第2回試験の2000 mg/kg投与で振戦、間代性痙攣、下腹部の汚れあるいは下痢がみられた。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg投与では、異常はみられなかった。

2. 体重

第1回試験及び第2回試験の2000 mg/kg投与では、投与後1日に体重増加の抑制がみられた。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg投与では、体重推移に異常はみられなかった。

3. 剖検

第1回試験及び第2回試験の2000 mg/kg投与では、死亡例及び生存例とも剖検所見に異常はみられなかった。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg投与では、剖検所見に異常はみられなかった。

以上の結果から、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのLD₅₀値は、300 mg/kgと2000 mg/kgの間にあると推定される。

緒言

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン(CAS No. 6362-80-7)が人に摂取された場合の健康への影響を推定するために、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method (Revised Guideline 423)に従って、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンを雌ラットに1回経口投与して、その毒性について検討した。

方法

1. 被験物質及び媒体

被験物質の2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン[英語名称: 1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene, 英語別名: 2,4-Diphenyl-4-methyl-1-pentene, CAS No. 6362-80-7]は、Fig.1に示す化学構造を有し、無色透明の液体でスチレン臭があり、分子量:236.36, 沸点:310 °C, 蒸気圧:11Pa(170 °C), 揮発性:なし, 融点:-82 °C, 比重 0.975(20 °C)である¹⁾。当試験には、

から入手したものをを用いた[

含量:96.97%(不純物:2,4-Diphenyl-4-methyl-2-pentene 2.54%)。入手後は、試験施設の被験物質保管室(設定温度:23 °C, 実測値:20.0~25.3 °C)の保管庫に室温・遮光の条件下で保管した。2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのラットを用いる経口投与による反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験(試験番号:100524)の投与期間終了後に製造元で被験物質を再分析した結果、含量は96.94%であり、使用期間中の安定性が確認された。

媒体にはトウモロコシ油[以下, corn oil, Lot No. V4N3566, 使用期限 2009年10月4日, ナカライテスク株式会社, 被験物質保管室(設定温度:23 °C, 実測値:20.0~25.3 °C)の保管庫に室温保管]を用いた。

2. 投与検体及び濃度確認

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンは、必要量を秤取(電子天秤:AT250 及び PM2500, メトラー・トレド株式会社)後, corn oil で所定濃度に溶解させた。なお、調製に際して被験物質の含量による補正を実施した。

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの 2, 20 及び 200 mg/mL 濃度液は、調製後 7 日間冷蔵・遮光の条件下で保管し、その後室温・遮光で 6 時間保管しても安定性に問題のないことが確認されている²⁾(Attachment 1)。投与検体は、用時調製とし、調製後 2 時間以内に使用した。残余投与検体は廃棄した。

投与に使用した投与検体中の被験物質濃度をガスクロマトグラフ(GC-14B, 株式会社島津製作所)で測定した。その結果、被験物質含量は表示濃度の 95.3~98.7%であり、規定された濃度の範囲内(100±10%)であった。従って、各投与検体中の濃度に問題はなかった(Attachment 2-1~2-4)。

3. 使用動物及び飼育条件

3.1. 動物種及び系統

試験には、毒性試験に一般的に用いられている動物種で、その系統維持が明らかである Cj:CD(SD)IGS 雌ラット(SPF)を用いた。動物は、日本チャールス・リバー株式会社(日野飼育センター)から7週齢で2005年2月23日(第1回試験用)、2005年3月9日(第2回試験用)、2005年3月23日(第3回試験用)及び2005年3月30日(第4回試験用)に各5匹を入手した。入手後1日の体重範囲は、166~191gであった。

3.2. 検疫及び馴化、群分け法並びに個体識別法

入手した動物は、第1回試験、第2回試験、第3回試験及び第4回試験とも5日間の検疫期間及びその後2日間の馴化期間を設けた。この間に、体重測定(電子天秤:PM2000及びPG2002-S, メトラー・トレド株式会社)を4回と一般状態の観察を毎日行って検疫・馴化とし、一般状態及び体重推移に異常の認められなかった動物を群分け後、試験に用いた。

群分けは、第1回試験、第2回試験、第3回試験及び第4回試験とも投与日にコンピュータを用いて無作為抽出法により試験に用いる各3例に動物番号を割り当てた。群分け後の残余動物は、群分け日にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に廃棄処分した。

動物の個体識別は、検疫・馴化期間中は入手日に油性インクによる記入法及び油性インクによる色素塗布法を、群分け後は油性インクによる色素塗布法及び耳パンチ法を併用して行った。さらに、検疫・馴化期間中の各ケージには試験番号、入手年月日及び検疫・馴化動物番号を記入したラベルを、群分け後の各ケージには試験番号、投与量及び動物番号を記入し、色分けしたラベルを取り付けた。

3.3. 環境条件及び飼育管理

動物は、設定温度23℃(実測値:21~23℃)、設定湿度55%(実測値:40~61%)、明暗各12時間(照明:午前6時~午後6時)、換気回数12回/時(フィルターにより除菌した新鮮空気)に維持された飼育室(E棟11号室、ただし、検疫期間中はE棟7号室)で飼育した。

検疫・馴化期間中及び群分け後とも、ステンレス製五連ケージ(W:755×D:210×H:170mm)を用いて個別飼育した。ケージの受け皿及び給水瓶の交換は1週間に2回以上、ケージ及び給餌器の交換は2週間に1回以上行った。なお、動物飼育室の清掃(床の掃き掃除)及び0.02%次亜塩素酸ナトリウム水溶液での床のモップ拭きによる消毒は毎日行った。

3.4. 飼料及び飲料水

飼料は、製造後5ヵ月以内の固型飼料(CRF-1, オリエンタル酵母工業株式会社)を給餌器に入れ、自由に摂取させた。ただし、投与前日の夕刻(午後4時00分~10分)から投与までの約17時間30分~約18時間30分と投与後約6時間まで絶食させ、その後に飼料を与えた。使用した飼料と同一ロットの飼料の分析結果は、財団法人日本食品分析センター及びオリエンタル酵母工業株式会社で実施した成績を入手した。

飲料水は、水道水を給水瓶を用いて自由に摂取させた。ただし、群分け時から投与後約6時

間までは絶水させ、その後に飲料水を与えた。飲料水の水質検査結果は、ほぼ6ヵ月ごとに東西化学産業株式会社 東日本分析センターで実施した成績を入手した。

飼料及び飲料水の分析結果は、いずれも試験施設で定めた基準値の範囲内であった。

4. 投与経路、投与方法、群構成及び投与量

4.1. 投与経路及び投与方法

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンは、経口的に人に摂取される可能性が考えられるため、投与経路として経口投与を選択した。

投与に際しては、金属製経口胃ゾンデ(有限会社フチガミ器械)を取り付けたポリプロピレン製ディスプレイ注射筒(テルモ株式会社)を用いて、強制経口投与した。投与液量は、投与直前に測定した体重を基準として10 mL/kgで算出した。投与時刻は午前9時38分～10時25分の間で、投与回数は1回とした。

投与日の週齢は8週齢であり、体重範囲は175～187gであった。

4.2. 群構成及び投与量

群構成は、下記のように設定し、各試験の動物数は、3例とした。

<第1回試験>

試験群	投与量(含量)	動物数(動物番号)
2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン	2000 mg/kg(200 mg/mL)	3(F01151～F01153)

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのラット経口投与によるLD₅₀値は3.8 mL/kgとの情報がある¹⁾。従って、OECD Guideline for Testing of Chemicals for Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method (Revised Guideline 423)で最高用量とされている2000 mg/kgを第1回試験の投与量とした。

<第2回試験>

試験群	投与量(含量)	動物数(動物番号)
2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン	2000 mg/kg(200 mg/mL)	3(F01251～F01253)

第1回試験の2000 mg/kg投与で死亡例が3例中1例に認められたため、2000 mg/kgを第2回試験の投与量とした。

<第3回試験>

試験群	投与量(含量)	動物数(動物番号)
2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン	300 mg/kg(30 mg/mL)	3(F01351～F01353)

第2回試験の2000 mg/kg投与で死亡例が3例中2例に認められたため、300 mg/kgを第3回試験の投与量とした。

<第4回試験>

試験群	投与量(含量)	動物数(動物番号)
2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン	300 mg/kg (30 mg/mL)	3(F01451~F01453)

第3回試験の300 mg/kg 投与で死亡例が認められなかったため、300 mg/kg を第4回試験の投与量とした。

5. 観察及び検査項目

5.1. 観察期間

投与後14日間とした。

5.2. 一般状態

投与日は投与後6時間(投与直後～投与後30分、投与後2、4及び6時間)まで、投与翌日からの観察期間中は1日1回、一般状態及び死亡の有無を観察した。

5.3. 体重測定

投与日(投与直前)並びに投与後1、3、7、10及び14日に測定した(電子天秤:PG2002-S, メトラー・トレド株式会社)。

5.4. 剖検

死亡動物は、速やかに剖検した。

生存動物は、観察期間終了時にジエチルエーテル麻酔下で腹大動脈から放血致死させた後に剖検した。

6. 統計解析

LD₅₀値は概略の範囲を推定した。

体重は、各群で平均値及び標準偏差を算出した。

結果

1. 死亡状況、LD₅₀値及び一般状態 (Table 1~2, Appendix 1-1~1-4)

死亡例は、第1回試験の2000 mg/kg 投与で投与後1日に1例と第2回試験の2000 mg/kg 投与で投与後1日に2例に認められた。第3回試験及び第4回試験の300 mg/kg 投与では、死亡例は認められなかった。以上の結果から、2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンのLD₅₀値は、300 mg/kg と2000 mg/kg の間にあると推定される。

一般状態において、第1回試験の2000 mg/kg 投与で投与後4時間に振戦が1例、投与後6時間に振戦及び間代性痙攣が1例、投与後1日に下腹部の汚れが2例と間代性痙攣が1例にみられた。第2回試験の2000 mg/kg 投与で投与後2時間に下痢が1例、投与後4時間に下痢が2例、

投与後 6 時間に下腹部の汚れが 2 例，振戦及び間代性痙攣が 1 例，投与後 1 日に下腹部の汚れが 1 例にみられた。第 3 回試験及び第 4 回試験の 300 mg/kg 投与では，異常はみられなかった。

2. 体重 (Table 3, Appendix 2-1~2-4)

第 1 回試験及び第 2 回試験の 2000 mg/kg 投与では，投与後 1 日に体重増加の抑制がみられたが，投与後 3 日以降の体重は順調に推移した。第 3 回試験及び第 4 回試験の 300 mg/kg 投与では，体重は順調に推移した。

3. 剖検 (Table 4, Appendix 3-1~3-6)

第 1 回試験及び第 2 回試験の 2000 mg/kg 投与による死亡例では，剖検所見に異常はみられなかった。

第 1 回試験及び第 2 回試験の 2000 mg/kg 投与による生存例並びに第 3 回試験及び第 4 回試験の 300 mg/kg 投与による生存例では，剖検所見に異常はみられなかった。

考察

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの LD₅₀ 値は，300 mg/kg と 2000 mg/kg の間と考えられる。

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの 2000 mg/kg 投与により，振戦及び間代性痙攣が認められたことから，2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンによる呼吸麻痺あるは中枢神経の異常により死に至ったと考えられる。

文献

- 1) 旭化成ファインケム株式会社; MSDS
- 2) 渡邊ゆかりほか：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン調製液の安定性確認試験(試験番号：401924P)(株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所)

Table 1 Mortality and LD₅₀ value of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene

Group	mg/kg	Number of females	Number of deaths																Total number of deaths	LD ₅₀ (mg/kg)					
			Hours after administration				Days after administration																		
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			13	14			
Test group 1 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	2000	3	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	>300 <2000
Test group 2 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	2000	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
Test group 3 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Test group 4 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene	300	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Table 2 General signs of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene

Group	mg/kg	Number of females and general signs	Hours after administration				Days after administration																				
			0~0.5	2	4	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14							
Test group 1 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	2000	Number of females	3	3	3	3	3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2		
		Normal	3	3	2	1	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
		Tremor	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Clonic convulsions	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled perineal region	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Death	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Test group 2 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	2000	Number of females	3	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		Normal	3	2	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Diarrhea	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Tremor	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Clonic convulsions	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Soiled perineal region	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Death	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
Test group 3 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	300	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Test group 4 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	300	Number of females	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
		Normal	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Table 3 Body weights of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene

Group	Test group 1 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene	Test group 2 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene	Test group 3 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene	Test group 4 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3- propanediyl) bisbenzene
mg/kg	2000	2000	300	300
Number of females	3	3	3	3
Days after administration				
0	181 ± 1	179 ± 4	185 ± 2	181 ± 4
1	187 (2)	186 (1)	205 ± 8	201 ± 3
3	212 (2)	199 (1)	218 ± 5	207 ± 3
7	221 (2)	207 (1)	227 ± 5	217 ± 10
10	232 (2)	212 (1)	236 ± 10	221 ± 14
14	237 (2)	217 (1)	246 ± 13	234 ± 19

Each value shows mean (g) ± S.D.

Figures in parentheses indicate number of females.

Table 4 Necropsy findings of female rats in single dose oral toxicity test of 1,1' - (1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene

Group	Test group 1 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	Test group 2 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	Test group 3 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene	Test group 4 1,1'-(1,1-dimethyl-3- methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene
mg/kg	2000	2000	300	300
Number of surviving females	2	1	3	3
Findings Normal	2	1	3	3
Number of dead females	1	2	0	0
Findings Normal	1	2	-	-

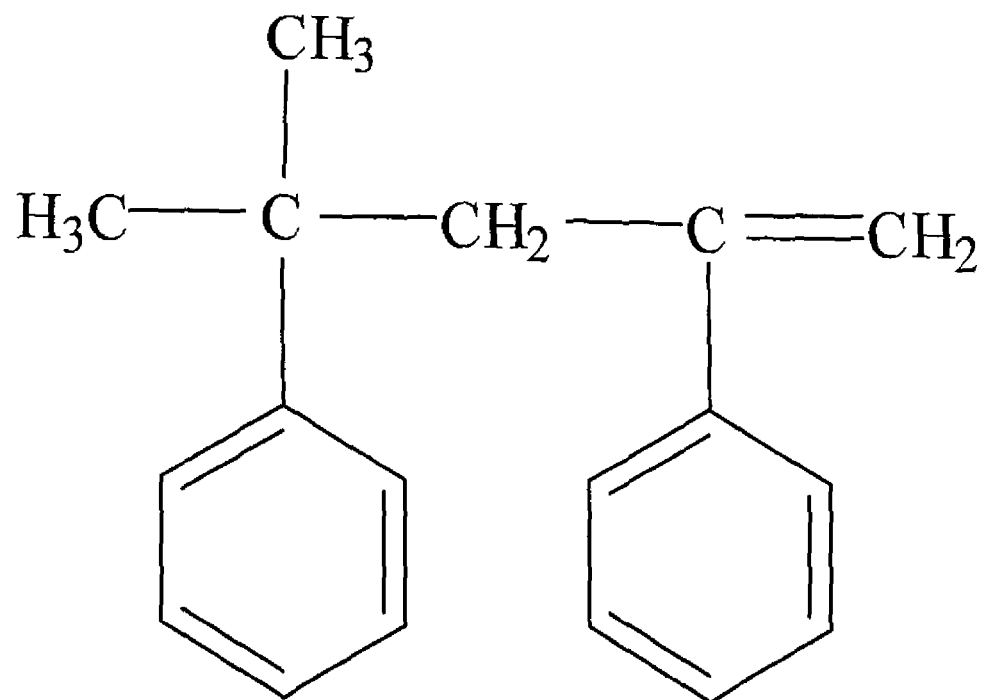


Fig. 1 Chemical structure of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene