

食薬セ研第10-1626号

2000年 7月25日

1,1-ビス [tert-ブチルパーオキシ]-
3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの
ラットにおける急性経口投与毒性試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究所

【目 次】

要約	1
緒言	2
方法	3
1. 被験物質	3
2. 使用動物および飼育方法	3
3. 投与検体の調製	4
4. 投与量の設定および投与方法	4
5. 観察および検査	5
6. データ解析法	5
結果	6
1. 死亡動物	6
2. 一般状態	6
3. 体重推移	6
4. 病理学検査	6
考察	7
文献	8

Tables 1 ~ 2

【要 約】

1,1-ビス[*tert*-ブチルパーオキシ]-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン（以下 BPTC と略記）の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD) IGS, SPF] ラットにおける急性経口投与毒性試験を実施した。

1 群 5 匹からなる 5 週齢の雄ラットに BPTC 1000 および 2000 mg/kg を、5 匹の 5 週齢雌ラットに BPTC 2000 mg/kg をそれぞれ単回経口投与し、観察第 1 日（投与日）から 14 日間観察を行い、観察第 15 日に屠殺して剖検した。また、媒体対照群として、雄 5 匹にコーン油を 10 mL/kg 投与して、同様に観察した。

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、BPTC 投与群ではその発現例数がわずかに多かった。

体重の推移および観察第 15 日に実施した剖検所見においては、全例に異常は認められなかった。

これらのことより、本試験条件下における BPTC の LD₅₀ は、雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると推定された。

【緒 言】

1,1-ビス[*tert*-ブチルパーオキシ]-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの(以下 BPTC と略記)は、不飽和ポリエステル樹脂の加熱硬化用触媒、天然ゴムや合成ゴムをはじめとするアルファオレフィンポリマー・コポリマーの架橋剤、スチレン等の重合触媒として工業的に使用されているフリーラジカル触媒で、ラットにおける単回経口投与時の LD₅₀ は 12918 mg/kg であることが報告されている¹⁾。今回、OECD 既存化学物質安全性点検等に係る毒性調査の一環として、BPTC の安全性確認の資料を得るために、ラットにおける急性経口投与毒性試験を実施したので、その結果を報告する。

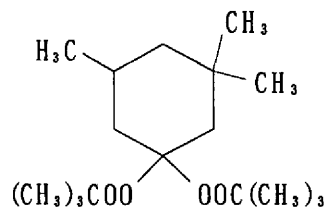
本試験は、OECD 化学物質試験法ガイドライン「[401] 急性経口毒性試験(1987年2月24日採択)」および「化学物質 GLP」(昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、昭和63年11月18日改正、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号)に準拠して実施した。

【方 法】

1. 被験物質

被験物質として、1,1-ビス[*tert*-ブチルパーオキシ]-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン（以下 BPTC と略記）を用いた。本被験物質は、別名をパーヘキサ 3 M と称し、英名は 1,1-Bis(*tert*-butylperoxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane であり、CAS No. 6731-36-8、分子量 302.46、分子式 $C_{17}H_{34}O_4$ 、融点（凝固点） -40°C 以下、蒸気圧 4.3 mmHg/83 $^{\circ}\text{C}$ の無色透明の液体である。BPTC の構造式を以下に示す。

構造式



本試験には、より提供された BPTC（ロット番号： 純度： 97.9 wt%）を用いた。受領した被験物質は、使用時まで被験物質保管室において、冷蔵保管した。

2. 使用動物および飼育方法

4週齢の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS, SPF] 雌雄ラットを、日本チャールス・リバー株式会社筑波飼育センターから購入し、飼育環境への馴化と検疫を兼ねて8日間予備飼育した。予備飼育中、動物の一般状態に異常は認められなかった。試験には、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、雌は入荷番号の若い方から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週齢であった（注）。

全飼育期間を通じ、動物を金属製金網床ケージ（220w×270d×190hmm）に1匹ずつ収容

（注） 動物入荷日：1999年1月27日
入荷時匹数：雄17匹、雌6匹
入荷時体重：雄 79.8~90.1g、雌 79.3~84.0g
投与日：1999年2月4日
投与時体重：雄 123.8~144.3g、雌 109.6~121.4g

し、基準温度 24 ± 1 ℃、基準湿度50～65%、換気回数約15回/時、照明12時間（7時～19時点灯）に制御された飼育室で、固型飼料（CE-2、日本クレア株式会社）および水道水（秦野市水道局給水）を自由に摂取させて飼育した。なお、飼育期間中、飼育室の温湿度の実測値は、それぞれ 24.0～24.5℃、48.5～65.5%で、湿度が基準値をわずかながらはずれる値を示したが、1時間以内の逸脱であり、それ以外は基準の範囲内であった。また、供給した飼料および水に試験に支障を来す可能性のある混入物はなかった。

動物の個体識別は、各動物の尾に油性フェルトペンで雌雄に一連の番号を付した。また、各飼育ケージには個体識別の補助として試験計画番号、投与量、性および動物番号を記入した動物カードを掛けた。

3. 投与検体の調製

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（英名：Corn oil、商品名：トウモロコシ油、ロット番号：V8P7069、ナカライテスク株式会社）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。

本試験に先立ち、秦野研究所で実施した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（試験計画番号：C-98-017）において、被験物質の2および20 w/v%の調製検体の、冷蔵、遮光条件下での12日間の安定性を確認した（Appendix A）。また、各濃度の投与検体について、被験物質の含量を測定し、規定範囲内にあることを確認した（Appendix B）。なお、本投与検体は溶液であることから、均一性試験は実施しなかった。調製検体中の被験物質の濃度は、ガスクロマトグラフ法により測定した（Appendix C）。

4. 投与量の設定および投与方法

本試験における投与量は、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投与量設定のための予備試験（試験計画番号：C-98-016）の結果に基づいて決定した。すなわち、文献調査から得られた本被験物質のLD₅₀は12918 mg/kg¹⁾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軽度な増加抑制が認められたことから、片性（雄）について、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。投与は午前9時43分～9時55分の間に行い、給餌は投与後約3時間に行った。

各群の投与物質、投与量、濃度、投与容量および動物番号は次の通りである。

投与物質	投与量 (mg/kg)	濃度 (w/v%)	投与容量 (mL/kg)	動物番号	
				雄	雌
コーン油	0	0	10	1～5	
BPTC	1000	10	10	6～10	
BPTC	2000	20	10	11～15	16～20

5. 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。剖検時に、脳、下垂体、胸腺、心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓、膵臓、生殖器、顎下腺、甲状腺、副腎、大動脈、気管、食道、消化管、膀胱、眼球（ハーダー腺を含む）、皮膚、乳腺、頸部および腸間膜リンパ節、大腿骨骨髓および舌の肉眼観察を行った。これらのうち、2000 mg/kg 投与群の雄の1例（動物番号：11）について心臓、肺、肝臓、腎臓、脾臓および胃を0.1Mリン酸緩衝10%ホルマリン溶液で固定した。なお、観察第2日以降、一般状態に異常は観察されず、剖検によっても異常は認められなかったことから、組織学検査は実施しなかった。

6. データ解析法

体重の測定値について、平均値および標準偏差を求めた。

【結 果】

1. 死亡動物

雌雄ともに、死亡例はなかった。

2. 一般状態 (Table 1-1、1-2)

雄では、媒体対照群の2例、1000 mg/kg 投与群の4例および2000 mg/kg 投与群の3例で、投与日に下痢便あるいは軟便の排泄がみられ、2000 mg/kg 投与群の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。

雌の2000 mg/kg 投与群でも、投与当日3例で下痢便あるいは軟便の排泄がみられた。

その他、異常所見は認められなかった。

3. 体重推移 (Table 2)

雌雄ともに、投与後順調な体重増加が認められた。

4. 病理学検査

観察第15日に実施した剖検では、雌雄全例の器官・組織に異常は認められなかった。

【考 察】

BPTC 1000 および 2000 mg/kg を 5 週齢の Sprague-Dawley 系 [Crj:CD(SD)IGS, SPF] 雄ラットに、また、BPTC 2000 mg/kg を同週齢同系統の雌ラットに単回強制経口投与して単回投与時の BPTC の毒性を検討した。

その結果、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。2000 mg/kg 投与群の雄では投与日あるいは観察翌日に下痢便あるいは軟便の排泄によると考えられる肛門周囲の汚れが観察された。本試験では媒体としてコーン油を用いていることから、媒体対照群における下痢便あるいは軟便の排泄はコーン油の投与によるものであると推察されるが、BPTC 投与群ではその発現例数が媒体対照群に比較してわずかに多くみられたが、観察第 3 日以降には異常所見は観察されず、体重の推移に対照群と被験物質投与群の間で明らかな差はみられなかった。また、観察第 15 日に実施した剖検でも消化管に異常所見は認められなかったことから、被験物質投与群における下痢便あるいは軟便の発現例数のわずかな増加の原因は不明であった。

これらのことより、本試験条件下における BPTC の LD₅₀ は、雌雄ともに 2000 mg/kg を上回ると推定された。

【文 献】

- 1) 国立衛生試験所報告第110号 (1992)

Table 1-1 Individual clinical findings in male rats after single oral administration of BPTC

Dose	Animal No.	Clinical findings	Hours after administration						Days of observation								
			0~1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	7	8	9	10~15
Control	1	Diarrhea	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	Loose feces	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	No abnormality															
	4	No abnormality															
	5	No abnormality															
1000 mg/kg	6	No abnormality															
	7	Diarrhea	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	8	Diarrhea	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	9	Diarrhea	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	10	Diarrhea	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2000 mg/kg	11	Perianal smudge	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	12	Diarrhea Perianal smudge	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	13	Diarrhea Perianal smudge	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	14	No abnormality															
	15	Loose feces	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+, positive; -, negative; The first day, the day of administration.

Table 1-2 Individual clinical findings in female rats after single oral administration of BPTC

Dose	Animal No.	Clinical findings	Hours after administration						Days of observation								
			0~1	2	3	4	5	6	2	3	4	5	6	7	8	9	10~15
2000 mg/kg	16	No abnormality															
	17	Loose feces	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	18	No abnormality															
	19	Diarrhea	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	20	Diarrhea	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+, positive; -, negative; The first day, the day of administration.

Table 2 Body weight changes in male and female rats after single oral administration of BPTC

Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	Days of observation						
			1 *	2	4	8	11	15	
Male	0	1	142.4	164.6	186.3	227.4	254.8	295.5	
		2	136.9	159.7	182.9	221.7	253.0	296.7	
		3	135.9	157.3	179.4	217.5	245.9	286.6	
		4	141.8	165.2	184.8	231.9	261.9	319.4	
		5	123.8	140.7	165.4	201.8	230.8	271.7	
		Mean	136.2	157.5	179.8	220.1	249.3	294.0	
		S. D.	7.5	10.0	8.4	11.6	11.8	17.4	
		1000	6	128.7	147.5	167.5	206.6	230.3	265.0
			7	141.0	155.6	182.1	220.2	253.6	302.1
			8	126.2	148.9	165.9	195.5	219.5	255.8
			9	138.2	159.7	183.9	216.7	241.8	278.9
			10	127.8	149.7	169.8	207.3	236.7	277.1
			Mean	132.4	152.3	173.8	209.3	236.4	275.8
			S. D.	6.7	5.2	8.5	9.7	12.7	17.5
		2000	11	144.3	163.2	184.2	231.7	264.0	311.2
	12		126.3	139.1	163.5	190.4	214.6	252.5	
	13		137.7	155.1	178.7	217.1	245.2	283.3	
	14		132.6	153.4	175.0	215.8	246.6	289.5	
	15		125.9	138.6	161.1	189.2	217.6	257.2	
		Mean	133.4	149.9	172.5	208.8	237.6	278.7	
		S. D.	7.8	10.7	9.9	18.5	21.0	24.2	
Female	2000	16	117.6	131.5	149.3	165.7	180.5	205.3	
		17	119.2	132.0	148.4	161.3	172.2	184.3	
		18	121.4	136.0	150.4	163.5	171.7	182.1	
		19	109.6	123.0	139.2	159.7	172.0	189.0	
		20	117.0	129.6	152.2	175.4	192.8	205.6	
		Mean	117.0	130.4	147.9	165.1	177.8	193.3	
	S. D.	4.5	4.8	5.1	6.2	9.1	11.4		

*, the day of administration; unit, g