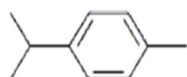


## p-サイメン

### 基本情報

英名 : *p*-cymene  
CAS No. : 99-87-6  
SEQ No. : 480  
FEMA No. : 2356  
JECFA No. : 1325  
別名 : benzene, 1-isopropyl-4-methyl-  
camphogen  
cumene, *p*-methyl-  
cymene  
cymol  
dolcymene  
4-isopropyl-1-methylbenzene  
*p*-isopropylmethylbenzene  
*p*-isopropyltoluene  
1-methyl-4-isopropylbenzene  
*p*-methylisopropyl benzene  
paracymene  
paracymol  
化学式 : C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>  
分子量 : 134.23  
構造式 :



### 1. 食品添加物名

テルペン系炭化水素類 (12 類)

*p*-サイメン

### 2. 指定年月日

昭和 23 年 7 月 13 日

### 3. 主な用途及び使用基準

#### 1) 主な用途

香料

## 2) 使用基準

着香の目的以外に使用してはならない。

## 4. 摂取量等に関する情報

使用量 313.07 kg/年 (令和 2 年実績) <sup>1)</sup>

推定摂取量 79.419 µg/人/日 (令和 2 年実績より推定) <sup>1)</sup>

## 5. 安全性試験成績の概要

### 1) 急性毒性試験

ラット 経口 LD<sub>50</sub> 4,750 mg/kg <sup>2)</sup>

ラット 経口 LD<sub>50</sub> 3,200 mg/kg <sup>2)</sup>

ラット 経口 LD<sub>50</sub> 1,400 mg/kg <sup>2)</sup>

マウス 経口 LD<sub>50</sub> 1,695 mg/kg <sup>2)</sup>

### 2) 反復投与毒性試験

CrI:CD (SD)ラット (5 週齢、雌雄各 10 匹/群) を用いた *p*-サイメンの強制経口投与 (溶媒: コーン油、0、12、60 及び 300 mg/kg 体重/日) による 90 日間反復投与毒性試験を実施した <sup>3)</sup>。

その結果、300 mg/kg 群雌 1 例について投与第 45 日に状態悪化 (消瘦、腹臥位、体温低下、自発運動の消失、死戦期呼吸、無便及び無尿等) のため切迫屠殺した。切迫屠殺例の病理組織学的所見として肝臓での所見 (肝細胞のびまん性肥大、門脈周囲から小葉中間帯の肝細胞空胞化、小葉中心性の肝細胞壊死等)、腎臓での所見 (うっ血及び好中球浸潤を伴う乳頭壊死、腎乳頭上皮及び乳頭管で硝子滴、尿細管上皮細胞の空胞化、遠位尿細管及び集合管のびまん性の拡張、慢性進行性腎症等)、脾臓の白脾髄及び赤脾髄の萎縮、胸腺・顎下リンパ節・腸間膜リンパ節の萎縮、回腸のパイエル板のリンパ球壊死等が認められた。

生存動物では、一般状態の変化として 300 mg/kg 投与群の雌雄で一過性の流涎、赤色尿、雌で排便量の減少が認められた。体重の変化として、300 mg/kg 群の雌で体重減少、摂餌量の減少がみられたが、対照群と比較して有意な差は認められなかった。眼科学的検査では被験物質投与による影響は観察されなかった。尿検査では、60mg/kg 以上の群の雌で尿比重の減少、尿中 Na、K、Cl イオンの減少、300 mg/kg 群の雌雄で尿量の増加、雄で尿比重の減少、尿中 K、Cl イオンの減少、Na、K、Cl イオン総排泄量の増加、尿潜血反応が認められた。血液学的検査では、60 mg/kg 以上の群の雌で PLT の減少、300 mg/kg 群の雄で血色素量、HCT、MCH、MCHC の減少、雌で Retic の減少が認められた。300 mg/kg 群の雌 1 例では、RBC、血色素量及び HCT が低く Retic が高い傾向がみられた。血液生化学的検査では、60 mg/kg 以上の群の雄で GLU の増加、雌で  $\gamma$ -GTP 活性の増加、300 mg/kg 群の雌雄で BUN の増

加、Cl イオンの減少、雄で AST、ALT 活性の上昇、TG の減少が認められた。器官重量測定では、12 mg/kg 以上群の雄で脳の絶対重量の減少、60 mg/kg 群の雄で肝臓の相対重量の増加、雌で肝臓の絶対重量及び相対重量の増加、300 mg/kg 群の雌雄で腎臓の相対重量の増加、雄で肝臓及び腎臓の絶対重量の増加、精巣及び精嚢の絶対重量及び相対重量の減少、雌で卵巣の絶対重量及び相対重量の増加、下垂体の絶対重量の減少が認められた。病理組織学的所見として、60 mg/kg 以上の群の雌雄で肝細胞肥大、腎乳頭上皮及び乳頭管の硝子滴、雄で門脈周囲性の肝細胞脂肪化の減弱、雌でクーパー細胞の褐色色素沈着、300 mg/kg 群の雌雄で小葉中心性の肝細胞肥大及び肝細胞の単細胞壊死、腎乳頭壊死、腎乳頭先端部のうっ血、集合管の細胞質空胞化及び皮質部遠位尿細管のびまん性の尿細管拡張、雄で門脈周囲性の肝細胞脂肪化の減弱、クーパー細胞の褐色色素沈着、精細管の変性/萎縮、ライディッヒ細胞のびまん性過形成及び間質の水腫、精巣上尿管腔の精子減少及び細胞残屑、精嚢の萎縮が認められた。

以上より、雌雄ともに 60 mg/kg 以上の投与群で肝臓、腎臓への影響、300 mg/kg 群で造血機能（貧血傾向）、雄性生殖器への影響が認められた。また、脳重量の減少が雄の 12 mg/kg 以上の群で用量依存的に認められ、脳の病理組織学的変化に異常は観察されなかったが実施施設の背景値よりも低値であったことから、脳重量の変化を被験物質投与の影響と考え、無毒性量（NOAEL）は雄で 12 mg/kg 体重/日未満、雌で 12 mg/kg 体重/日と判断した。

上記の先行試験において、雄で低用量群から脳重量の減少が認められ NOAEL が求められなかったことから、脳への影響を画像解析にて精査することを目的とした追加試験を実施した。5 週齢の Crl:CD(SD)ラット雌雄各群 10 匹にコーン油を溶媒として、先行試験において雌雄ともに肝臓、腎臓への影響が認められた *p*-サイメン 60 mg/kg 体重を最高用量と設定した。以下、公比 5 で除して 12、2.4、ならびに 0 mg/kg 体重/日を 90 日間強制経口投与した<sup>4)</sup>。なお、脳への影響を画像解析にて精査するため、サテライト群を設定し、雌雄各群 3 匹のラットに *p*-サイメンを主試験群と同様に投与した。剖検時にイソフルラン麻酔下にて 10%緩衝ホルマリン液を心臓から注入して灌流固定により脳の固定標本を得た。また、参考データとして、小動物用核磁気共鳴画像法（MRI）による脳の主要領域の体積を算出した。

その結果、死亡動物は認められず、一般状態、体重、摂餌量、眼科学的検査及び剖検所見に被験物質投与による毒性影響は認められなかった。尿検査では、60 mg/kg 群の雌で尿量の増加、及び K イオン総排泄量の増加、尿比重の減少、尿中 Na・K・Cl イオンの減少が認められた。血液学的検査では、60 mg/kg 群の雄で血色素量及び HCT の減少が認められた。血液生化学的検査では、60 mg/kg 群の雄で TG、TP、ALB の減少が認められた。器官重量では、60 mg/kg 群の雄で肝臓の相対重量の増加、雌では肝臓の絶対重量及び相対重量の増加が認められた。なお、脳重量の低値を示す個体

が各群に存在したが、統計学的に有意差はなかった。病理組織学的検査では、60 mg/kg 群の雄 1 例で赤白血病、雌で小葉中心性の肝細胞肥大が認められた。脳においてはいずれの投与群にも異常所見は観察されなかった。なお、60 mg/kg 群の雄 1 例でみられた赤白血病については、先行試験及び当該試験の 60 及び 300 mg/kg 群に赤芽球系の増殖性変化を示唆する変化は認められていないこと、この週齢の SD ラットでの自然発生の症例報告があること<sup>5,6)</sup>、遺伝毒性試験の結果も踏まえ特段の増殖機転も想定されないこと等から、本剤投与による影響の可能性は低く、自然発生病変である可能性が高いと判断された。

脳の画像解析は、サテライト群から得られた脳標本から文献 7 を参考に 7 断面の病理組織標本を作製した。ヘマトキシリン・エオジン染色標本による病理組織学的検査とともに、文献 8 を参考にしてクリューバー・バレラ染色標本を用いた画像解析により、大脳皮質 (2 部位)、脳梁 (2 部位)、線条体、海馬、小脳皮質、大脳 (2 部位) の計 9 部位の幅を計測した。その結果、病理組織学的検査及び画像解析結果共に用量に関連した有意な差は認められなかった。参考として実施した MRI による画像解析においても、脳への影響は雌雄とも 60 mg/kg 体重/日まで認められなかった。

以上より、60 mg/kg 群の雄で肝臓及び腎機能、造血機能への影響が認められたことから、NOAEL は雌雄ともに 12 mg/kg 体重/日と判断された。脳重量に関しては、統計学的有意差は認められず、画像解析においても *p*-サイメンの影響は認められなかった。

*p*-サイメンの毒性として、2 つの 90 日間反復投与毒性試験において、肝臓、腎臓、造血機能への影響については同様の傾向が認められ NOAEL は 12 mg/kg 体重/日と判断されたが、脳重量の減少については、減少傾向を示す個体はみられたものの群として統計学的有意差はないこと、関連する神経病理組織学的変化はみられなかったことから、*p*-サイメンの毒性影響と判断しうる根拠は得られなかった。

### 3) 遺伝毒性試験

*p*-サイメンの遺伝子突然変異誘発性を、塩基対置換型変異株のサルモネラ菌 (TA100 及び TA1535)、大腸菌 (WP2 *uvrA*)、フレームシフト型変異株のサルモネラ菌 (TA98 及び TA1537) を用い、37 度、20 分間のプレインキュベーション法により検討した。試験は、非代謝活性化条件下及び代謝活性化存在下の用量設定試験、並びに本試験により実施し、用量設定試験及び本試験での試験結果の再現性を確認した。

本被験物質は、代謝活性化の有無に関わらずいずれの菌株、いずれの用量段階においても復帰変異コロニー数を用量反応的に増加させず、それぞれの陰性対照と比較して 2 倍以上の増加も示さなかった。被験物質処理の用量あたりの復帰変異コロニー数は、全ての用量において、背景データから算出したそれぞれの陰性対照の変動範囲の

上限を超えなかった。また、用量設定試験及び本試験において、試験結果の再現性が確認された。

陽性対照群は、代謝活性化の有無に関わらず、全ての菌株に対して復帰変異コロニー数をそれぞれの陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陽性対照の復帰変異コロニー数の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した変動範囲の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果から、試験が適切に実施されたと判断した。

以上の結果より、本試験条件下において *p*-サイメンは遺伝子突然変異誘発性を有しないと判定した<sup>9)</sup>。

ヒト末梢血リンパ球細胞（18～35歳）を用いた染色体異常試験が、4時間処理（非代謝活性化及び代謝活性化条件下）、及び24時間処理（非代謝活性化条件下）で実施された。用量設定試験の結果を参考に、4時間処理は10～80 µg/mL、24時間処理は20～160 µg/mLの用量範囲で本試験が行われた。その結果、被験物質処理による染色体の構造異常を有する細胞、及び倍数体の出現頻度は有意な増加を示さなかった。以上の結果より、本試験条件下で *p*-サイメンはヒト末梢血リンパ球細胞において染色体異常誘発能を示さない（陰性）と判定した<sup>10)</sup>。

チャイニーズハムスター肺繊維芽細胞 V79 を用いる HPRT 遺伝子変異試験が実施された。用量設定試験（4時間処理、非代謝活性化及び代謝活性化条件下）の結果を参考に、本試験は、非代謝活性化条件下では 1.25～50 µg/mL、代謝活性化条件下では 5～80 µg/mL の用量範囲で実施された。いずれの用量でも変異体の頻度が有意に誘発しなかった。以上の結果より、*p*-サイメンは V79 細胞を用いる HPRT 遺伝子座の変異試験に関して変異原性を有しないと判断された<sup>10)</sup>。

*p*-サイメンの生体内における染色体異常誘発性の有無を評価するため、マウス骨髄細胞を用いる小核試験を実施した。被験物質は純度 99.2%、溶媒はトウモロコシ油（溶解）とし、純度換算は行わなかった。

毒性予備試験は、雌雄マウスを用いて、被験物質を 250、500、1,000 及び 2,000 mg/kg 体重/日の用量で、1日1回、24時間間隔で2日間強制経口投与した。その結果、雌雄ともに 2,000 mg/kg 群において全例の死亡が認められた。また、雌雄ともに 250、500 及び 1,000 mg/kg 群においては、一般状態の変化及び死亡は認められず、最大耐量は雌雄マウスともに 1,000 mg/kg 体重/日であった。

予備試験の結果に基づき、小核本試験は、陰性対照群（トウモロコシ油）、被験物質投与群（250、500 及び 1,000 mg/kg 体重/日）、陽性対照群（cyclophosphamide monohydrate）の計5群を設定し、雄マウスを用いて行った。陰性対照群及び被験物

質投与群は、1日1回、24時間間隔で2日間強制経口投与した。陽性対照群は50 mg/kgの用量で、単回強制経口投与した。いずれの投与群も、最終投与の18~24時間後に骨髄塗抹標本を作製して小核の観察を行った。その結果、被験物質投与群の小核出現頻度に統計学的な有意差は認められなかった。一方、陽性対照群の小核出現頻度は1%水準で有意な増加が認められ、本試験系の妥当性が確認された。赤血球中に占める幼若赤血球の比率は、被験物質投与群と陰性対照群との間に統計学的な有意差は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下では、*p*-サイメンは、マウス骨髄細胞において染色体異常誘発作用を示さない（陰性）と結論した<sup>11)</sup>。

#### 遺伝毒性試験のまとめ

Ames 試験	陰性
染色体異常試験	陰性
哺乳類細胞を用いる遺伝子変異試験	陰性
<i>in vivo</i> 小核試験	陰性
総合判定	陰性

#### 4) JECFA の評価

JECFA では、*p*-サイメンは構造クラス I に分類され、その代謝産物は無害であると推定されており、推定摂取量は欧州で1,085 µg/人/日（18 µg/kg 体重/日）、米国で472 µg/人/日（8 µg/kg 体重/日）と、構造クラス I 化合物の許容値である1,800 µg/人/日を下回っている。そのため、香料としての使用において安全上の懸念はないと判断されている<sup>12,13)</sup>。

#### 6. 検討結果のまとめ

*p*-サイメンの安全性について、本邦での推定摂取量 79.419 µg/人/日は、反復投与毒性試験の無毒性量 12 mg/kg 体重/日に対し十分な安全域（約  $8 \times 10^3$ ）を有すると考えられる。また、本剤の遺伝毒性は陰性と判定されており、現状の香料としての使用においてヒトの健康影響に対する懸念はないと結論された。

#### 7. 引用文献

1. 榭村聡：香料化合物及び天然香料物質の使用量調査研究（日本香料工業会）：令和4年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品添加物の試験法の検討及び摂取量に基づく安全性確保に向けた研究」分担研究「食品添加物生産量調査・香料使用量及び SPET 法による調査に基づく摂取量推計に関する研究」、2023
2. RTECS Number : GZ5950000

3. 北嶋聡：平成 30 年度 指定添加物の安全性に関する試験「*p*-サイメンのラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験」、国立医薬品食品衛生研究所、2019
4. 北嶋聡：令和 4 年度 指定添加物の安全性に関する試験「*p*-サイメンのラットを用いた 90 日間反復経口投与毒性試験に係る病理組織学的検査及び脳の画像解析」、国立医薬品食品衛生研究所、2023
5. Nonoyama T, Hayashi S, Urano T, Yanagi K, Miyajima H: Spontaneous Erythroleukemia in a 16-Wk-Old Female S1c:SD Rat. *Toxicol. Pathol.* 21 (3) 335–339, 1993.
6. Yamamoto E, Maruyama T, Masuno K, Fujisawa K, Takasu N, Tsuchiya N: Spontaneous Erythroid Leukemia in a 7-Week-Old Crl:CD (SD) Rat. *J Toxicol Pathol.* 23: 91–94, 2010.
7. Bolon B, Garman R H, Pardo I D, Jensen K, Sills R C, Roulois A, Radovsky A, Bradley A, Andrews-Jones L, Butt M, Gumprecht L: STP position paper: Recommended practices for sampling and processing the nervous system (brain, spinal cord, nerve, and eye) during nonclinical general toxicity studies. *Toxicol. Pathol.* 41 (7) 1028–48, 2013.
8. Aoyama H, Takahashi N, Shutoh Y, Motomura A, Crofton K M : Developmental Neurotoxicology: History and Outline of Developmental Neurotoxicity Study Guidelines. *Food Safety.* 3 (2), 48–61, 2015.
9. 加藤雅之：最終報告書 *p*-Cymene(CAS RN99-87-6)の細菌を用いる復帰突然変異試験、2021 年 2 月
- 10 ECHA: *p*-cymene, <https://echa.europa.eu/it/registration-dossier/-/registered-dossier/28185/7/7/2/?documentUUID=0679d480-6c8e-4bfe-8adc-05ea58db2377>
- 11 杉山圭一：令和 3 年 指定添加物・既存添加物の安全性に関する試験報告書、2022 年 3 月 31 日
- 12 JECFA: Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 54, 2006
- 13 JECFA: Evaluation of certain food additives. WHO Technical Report Series 928, 2005