

＜その４＞ 食品用器具・容器包装に用いられる安定剤に関する研究（第２報）

研究分担者	藤原 恒司	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	平川 栞	明治薬科大学
研究協力者	近藤 翠	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	黒原 崇	国立医薬品食品衛生研究所
研究協力者	六鹿 元雄	名古屋市衛生研究所
研究代表者	阿部 裕	国立医薬品食品衛生研究所

A. 研究目的

合成樹脂は元来、熱や光に対する安定性が高くなく、紫外線等の外部要因によって容易に劣化する性質を有する。そのため、多くの合成樹脂製品には耐用年数の延長を目的として紫外線吸収剤や酸化防止剤といった安定剤が添加されている。これらの安定剤は外部要因からの影響を受けて分解等を引き起こすことにより、ポリマーをはじめとした合成樹脂を構成する主成分の分解等を防ぐ。食品添加物として使用されているブチルヒドロキシアニソール (BHA) やジブチルヒドロキシトルエン (BHT) から生じる物質については検討されているが¹⁻²⁾、合成樹脂製品に使用されている安定剤から生じる物質についてはよく知られていない。

本研究では食品用器具・容器包装の安定剤として世界的に広く用いられている 35 物質を対象として、これらの物質の紫外線照射により生じる分解物等について検討を行っている。令和 6 年度の研究では、7 物質に紫外線を照射した際にフォトダイオードアレイを検出器とするクロマトグラム (PDA クロマトグラム) 上で新たな物質が生成することを明らかにし、その構造をマスペクトルから予想した³⁾。

そこで、本年度の研究では 7 物質のうち 2 種の物質 [2,4-di-*tert*-butylphenyl 3',5'-di-*tert*-butyl-4'-hydroxy-benzoate (物質 1) および 4-((4,6-bis(octylthio)-1,3,5-triazin-2-

yl)amino)-2,6-di-*tert*-butylphenol (物質 2)] を対象として、紫外線照射により生じる生成物を各種クロマトグラフィーで分離精製し、精製した生成物について MS および各種 NMR を用いて構造解析を行った。さらに、構造を明らかにした生成物の遺伝毒性についても併せて検討した。

B. 研究方法

1. 試薬

本研究で用いた 2,4-di-*tert*-butylphenyl 3',5'-di-*tert*-butyl-4'-hydroxy-benzoate (物質 1, PL 通し番号: 612, CAS RN[®]: 4221-80-1) は富士フイルム和光純薬 (株)、4-((4,6-bis(octylthio)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)-2,6-di-*tert*-butylphenol (物質 2, PL 通し番号: 569, CAS RN[®]: 991-84-4) は加商株式会社から購入したものを用いた。その他、1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロイソプロパノール (HFIP)、ジクロロメタン (DCM)、酢酸エチル (EtOAc)、ヘキサン (*n*-Hex)、ギ酸 (FA、約 99%、LC/MS 用)、ギ酸アンモニウム溶液 (AF、1 mol/L (1 M)、HPLC 用)、メタノール-*d*₄ (MeOH-*d*₄、重水素化率 99.8%)、ジメチルスルホキシド-*d*₆ (DMSO-*d*₆、重水素化率 99.9%) (以上、富士フイルム和光純薬 (株) 製)、メタノール (MeOH、LC-MS 用)、アセトニトリル (MeCN、LC-MS 用) (以上、関東化学 (株) 製)、アセトン (Acetone、残留農薬・PCB 分析用、シグマアルドリッチ社製)、超純

水装置 PURELAB flex (ORGANO 社製) で製造した超純水および PURIC- ω (ORGANO 社製) により製造した超純水 (H₂O) を使用した。

2. 試薬

本研究では以下の装置を用いた。

紫外線ランプ : Handy UV Lamp SLUV-6、AS ONE 社製

キセノンランプ : MAX-303 Compact Xenon Light Source、ASAHI SPECTOR 社製

LC-MS : AQUITY UPLC H-Class、AQUITY PDA e λ Detector、Xevo TQ-S cronos、Waters 社製

LC-QTOF-MS : AQUITY UPLC H-Class、AQUITY PDA e λ Detector、Xevo G2-XS QToF、Waters 社製

中圧分取装置 : Isolera One、Biotage 社製および Pure C-850、Buchi 社製

高圧分取装置 : LC-20AD ポンプ、DGU-20A オンラインデガッサ、SIL-20AC オートインジェクター、CTO-20AC カラムオーブン、CBM システムコントローラ、SPD-M20A フォトダイオードアレイ検出器、FRC-10A フラクションコレクタ、shimadzu 社製

NMR 装置 : ECZ600R、ECZ800、ECZL800、JEOL 社製

3. 反応溶液の調製

物質 **1** および物質 **2** の紫外線による生成物を分析するにあたり、**1** または **2** を石英製の試験管に 10 mg 量りとり、5 mL の HFIP または DCM を加えて溶解した。この溶液に対して波長 254 nm の紫外線 (UV₂₅₄) を約 0.5 mW/cm² の強度で 16~18 hr 照射した。このようにして得られた反応溶液をメタノールで 200 倍に希釈して表 1 の条件により生成物の確認を行った。

物質 **1** および物質 **2** の紫外線による生成物を分離、精製するにあたり、**1** または **2** を石英製の試験管 1 本あたり 10~50 mg 量りとり、5 mL の HFIP または DCM を加えて溶解した。この溶液に対して UV₂₅₄ を約 0.5 mW/cm² の強度で 16~64 hr 照射した。この操作で得られた反応溶液をエバポレーターで濃縮乾固し、分離精製の試料とした。

4. 生成物の分離精製

1) 物質 **1** から生成した物質の分離精製

物質 **1** の紫外線照射による生成物を得るため、物質 **1** の HFIP 溶液に波長 254 nm の紫外線を 16 または 64 hr 照射した。生成物の増量のため、この操作を計 3 回行い、それぞれ 62.9、57.7 および 163.7 mg の反応生成物を得た。これらの反応生成物について、シリカゲルカラムクロマトグラフィー (Si. C. C. (*n*-Hex-EtOAc)) およびオクタデシルシリル化シリカゲル (ODS) カラムを用いた分取 HPLC (ODS HPLC (MeOH-H₂O または MeCN-H₂O, COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 4.5 または 20 mL/min, 10 × 250 または 20 × 250 mm, 5 mm, Nacalai Tesque)) により順次分離、精製を行い、生成物 **1a** (5.1 mg)、**1b** (0.9 mg)、**1c** (1.4 mg)、**1d** (1.0 mg)、**1e** (0.7 mg) および **1h** (16.0 mg) を得た。

2) 物質 **2** から生成した物質の分離精製

物質 **2** の紫外線照射による生成物を得るため、物質 **2** の DCM 溶液に波長 254 nm の紫外線を 64 hr 照射した。生成物の増量のため、この操作を計 2 回行い、それぞれ 283.8 および 312.9 mg の反応生成物を得た。これらの反応生成物について、Si. C. C. (*n*-Hex-EtOAc) および ODS HPLC (MeOH-H₂O, COSMOSIL 5C₁₈-MS-II, 4.5 mL/min, 10 × 250 mm, 5 mm, Nacalai Tesque) により順次分離、精製を行い、生成物 **2a** (2.6 mg)、**2b**

表 1 LC/MS の分析条件

LC conditions	Column temp.	35°C
	Flow rate	0.2 mL/min.
	Injection volume	2 μ L
	Detector	PDA and MS
Column	AQUITY UPLC [®] HSS C18 (2.1 $\times$ 100 mm, 1.8 μ m, Waters, USA)	
Mobile phase	Solvent A	H ₂ O/formic acid/1 mol/L ammonium formate (99.4/0.5/0.1, v/v/v)
	Solvent B	MeCN/formic acid (99.5/0.5, v/v)
	Gradient system	20% B (0 min) 20-100% B (15 min, Linear) 100% B (40 min) 20% B (5 min)
PDA condition	Wave length	210-400 nm
MS conditions	Capillary voltage	3.0 kV
	Cone voltage	30 V
	Source temp.	150°C
	Desolvation temp.	500°C
	Desolvation flow	1000 L/h
	Cone flow	50 L/h
	Ionization mode	ESI (+) and (-)
	Acquisition type	SCAN (<i>m/z</i> 100-800) for Xevo TQ-S cronos MS ^E (<i>m/z</i> 50-1000, collision 20-30 V) for Xevo G2-XS QTof
(0.5 mg)、2c (2.6 mg)、2d (2.0 mg)、2e (0.1 mg)、2f (1.6 mg) および 2g (1.25 mg) を得た。 5. 生成物の構造解析 1) 精密質量測定 生成物 1a-1h および 2a-2g を測定対象物質として、LC-QToF-MS を用いて精密質量測定を行った。測定した質量電荷比はロイシンエンケファリンによる質量電荷比の校正 (<i>m/z</i> 556.2771 for positive ion mode; <i>m/z</i> 554.2615 for negative ion mode) を行い、その結果に基づいて各生成物の分子式を決定した。 2) NMR 測定 生成物 1a-1e, 1h および 2a-2g を測定対象物質として、1D-NMR (¹H NMR、¹³C NMR、DEPT および 1D-NOE) および 2D-NMR (Correlation spectroscopy (COSY)、		
Heteronuclear Multiple Quantum Correlation (HMQC)、Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy (HMBC)、Nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY) および Long Range Heteronuclear Single Quantum Multiple Bond Correlation (LR-HSQMBC)) による構造解析を行った。測定温度は室温とし、測定対象物質由来の化学シフト (δ_H for ¹H NMR, δ_C for ¹³C NMR) は、残留溶媒に由来するシグナル (MeOH-<i>d</i>₄: 3.30 ppm for ¹H NMR, 49.0 ppm for ¹³C NMR; DMSO-<i>d</i>₆: 2.49 ppm for ¹H NMR, 39.5 ppm for ¹³C NMR) を基準シグナルとして示した。カップリングによる ¹H NMR の分裂パターンは、シングレット (s)、ダブルレット (d)、トリプレット (t)、セプテット (sep)、ダブルダブルレット (dd)、マルチプレット (m) およびオーバーラップ (o) で示し、シグナルの分裂幅は <i>J</i> 値 (Hz) で示した。また、¹H NMR のシグナル面積比は整数で示		

した。

3) プロダクトイオンスペクトルの測定

生成物 **2c** および **2e** を測定対象物質として、LC-MS によりプロダクトイオンスペクトルを測定した。衝突解離エネルギーはそれぞれ 30 eV および 40 eV とした。得られたプロダクトイオンスペクトルは、LC-QTOF-MS の MS^E モードで測定したスペクトルと比較し、同一のイオンについて、その精密質量から分子式を決定した。

6. 遺伝毒性の評価

生成物 **1a-1h** および **2a-2g** の遺伝毒性を Ames 試験の変異原性を予測する(Q)SAR 手法 (Ames/QSAR) により評価するため、各物質はその構造式を SMILES 記法で作成し、SDF ファイル形式に変換した。Ames/QSAR を行うためのソフトとしては、知識ベース型の Derek Nexus (Lhasa 社) および統計ベース型の Case Ultra (MultiCASE 社) を用いた。Case Ultra のモジュールは GT1_BMUT を使用した。それぞれのソフトに作成した SDF ファイルをインポートし、Ames 変異原性を予測した。本研究では、Derek Nexus のバージョンは 6.4.1 (生成物

1a-1g) および 6.4.0 (生成物 **2a-2g**)、Case Ultra のバージョンは 1.2.9.1 を使用した。

C. 研究結果及び考察

1. 物質 **1** の紫外線照射により生成する物質の構造解析

物質 **1** の HFIP 溶液に対して UV₂₅₄ を照射し、反応溶液を MeOH で 200 倍希釈した溶液について LC/MS 分析を行った。その結果、図 1 に示したように PDA クロマトグラムで生成物 **1a-1h** が検出された³⁾。そこで、この反応生成物を Si. C. C. および ODS HPLC を用いて分離したところ、生成物 **1a-1e**, **1h** が得られた。このうち、生成物 **1d** は分離精製の過程で新たに見出した物質であった。得られた生成物については高分解能 MS スペクトルや各種 NMR スペクトルを用いて構造解析を行った。なお、生成物 **1f** および **1g** については高分解能 MS スペクトルによりその構造推定を行った。各生成物の ¹H および ¹³C NMR の帰属は表 2 に示した。

1) 生成物 **1a** の構造解析

生成物 **1a** は白色アモルファスとして得られ、その分子式はポジティブイオンモード

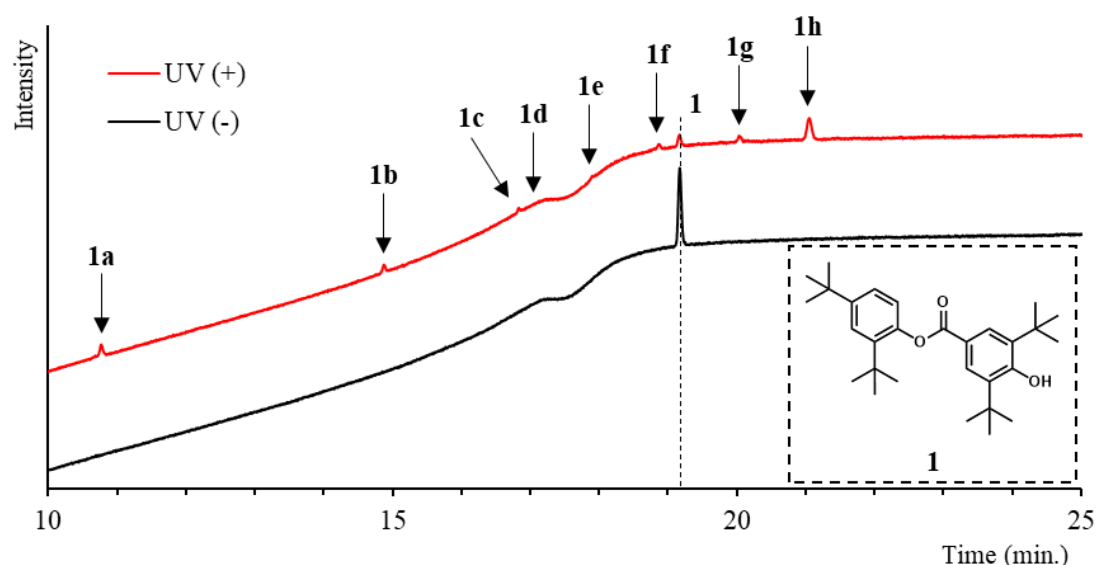


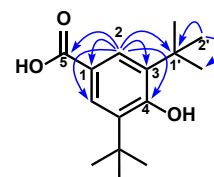
図 1 PDA chromatograms of compound **1** in HFIP with and without UV irradiation

表 2 ^1H and ^{13}C spectroscopic data for compounds **1a–1e**, and **1h** (600 or 800 MHz in

Position	1a			1b			1c			1d			1e			1h		
	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}
1	122.6	C		130.3	C		117.6	C		129.4	C		130.1	C		130.7	C	
2	128.1	CH	7.88 (s)	129.0	CH	7.64 (s)	128.1	CH	7.93 (s)	151.7	C		128.6	CH	7.61 (s)	128.6	CH	7.57 (s)
3	138.4	C		138.3	C		136.3	C		138.4	C		138.5	C		138.5	C	
3- <u>C</u> (CH ₃)	35.5	C		35.6	C		34.3	C		36.1	C		35.7	C		35.7	C	
3-C(<u>CH</u> ₃)	30.5	CH ₃	1.44 (s)	30.5	CH ₃	1.44 (s)	30.0	CH ₃	1.45 (s)	30.5	CH ₃	1.44 (s)	30.5	CH ₃	1.45 (s)	30.5	CH ₃	1.46 (s)
4	159.9	C		159.8	C		159.8	C		123.9	CH	7.31 (d, 2.5)	160.1	C		159.7	C	
5	171.2	C		198.6	C		163.6	C		143.4	C		202.0	C		203.5	C	
5- <u>C</u> (CH ₃)										35.2	C							
5-C(<u>CH</u> ₃)										32.1*	CH ₃	1.32 (s)						
6				130.2	C					127.0	CH	7.06 (d, 2.5)	121.0	C		119.9	C	
7				131.2	CH	7.68 (d, 2.2)				127.6	C		160.8	C		161.1	C	
8				136.7	C					152.3	C		118.5	CH	6.95 (d, 8.7)	138.7	C	
8- <u>C</u> (CH ₃)				35.7	C											36.1	C	
8-C(<u>CH</u> ₃)				29.8	CH ₃	1.40 (s)										29.9	CH ₃	1.46 (s)
9				162.0	C					116.4	CH	6.88 (d, 8.5)	133.8	CH	7.59 (dd, 8.7, 2.5)	131.5	CH	7.60 (d, 2.4)
10				116.8	CH	6.84 (d, 8.3)				126.6	CH	7.27 (dd, 8.5, 2.4)	142.4	C		140.9	C	
10- <u>C</u> (CH ₃)													35.1	C		35.2	C	
10-C(<u>CH</u> ₃)													31.8	CH ₃	1.28 (s)	31.9	CH ₃	1.27 (s)
11				131.1	CH	7.52 (dd, 8.3, 2.2)				144.4	C		130.3	CH	7.57 (d, 2.5)	128.9	CH	7.47 (d, 2.4)
11- <u>C</u> (CH ₃)										34.9	C							
11-C(<u>CH</u> ₃)										32.0*	CH ₃	1.32 (s)						
- <u>CH</u> (CF ₃)							66.6	CH	6.45 (sep, 6.2)									
-CH(<u>CF</u> ₃)							120.8	C										
12										130.2	CH	7.21 (d, 2.4)						

の高分解能 ESI-MS (positive HRESIMS) の m/z 251.1651 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{O}_3$, 251.1642) より $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{O}_3$ と決定した。生成物 **1a** の ^1H NMR では δ_{H} 1.44 (18H, s)、7.88 (2H, s)、 ^{13}C NMR では δ_{C} 30.5 (CH₃)、128.1 (CH)、35.5、122.6、138.4、159.9、171.2 (each C) に由来するシグナルが観測された。このうち、 δ_{H} 1.44 (18H, s)、 δ_{C} 30.5 (CH₃)、35.5 (each C) に由来するシグナルの存在から物質 **1** に由来する 2 つの *tert*-butyl 基の存在が示唆された。また、 δ_{H} 7.88 (2H, s)、 δ_{C} 128.1 (CH)、122.6、138.4、159.9 (each C) に由来するシグナルの存在、および δ_{C} 171.2 (C) に由来するシグナルの存在から、生成物 **1a** は四置換ベンゼン構造を有し、それぞれの置換基は分子式や HMBC 相関より、2 つの *tert*-butyl 基、1 つのカルボキシ基および 1 つの水酸基であることが示唆された。これらの置換基は、 δ_{H} 7.88 (2H, s) に由来するシグナルの存在から、対称構造となるように位置していると考えられた。以上の 1D-NMR データと、図 2 に示した詳細な HMBC 相関による解析から、生成物 **1a** は物質 **1** のカルボン酸部位に由来する 3,5-di-

tert-butyl-4-hydroxybenzoic acid (CAS RN®: 1421-49-4) であることが明らかとなった。生成物 **1a** は掲載されている文献が多数存在し、広く知られている物質であった。

図 2 Key HMBC correlations of product **1a**

2) 生成物 **1b** の構造解析

生成物 **1b** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 383.2589 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{25}\text{H}_{35}\text{O}_3$, 383.2581) より $\text{C}_{25}\text{H}_{34}\text{O}_3$ と決定した。生成物 **1b** の ^1H NMR では δ_{H} 1.40 (9H, s)、1.44 (18H, s)、6.84 (1H, d, 8.3)、7.52 (1H, dd, 8.3, 2.2)、7.64 (2H, s)、7.68 (1H, d, 2.2)、 ^{13}C NMR では δ_{C} 29.8、30.5 (each CH₃)、116.8、129.0、131.1、131.2 (each CH)、35.6、35.7、130.2、130.3、136.7、138.3、159.8、162.0、198.6 (each C) に由来するシグナルが観測された。このうち、 ^1H NMR

スペクトルで δ_{H} 1.44 (18H, s)、7.64 (2H, s) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1b** は生成物 **1a** と共通の部分構造を有することが示唆され、 ^{13}C NMR で δ_{C} 198.6 (C) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1a** のカルボキシ基に相当する構造がカルボニル基に変化していることが示唆された。また、 ^1H NMR スペクトルで δ_{H} 6.84 (1H, d, 8.3)、7.52 (1H, dd, 8.3, 2.2)、7.68 (1H, d, 2.2) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1b** は生成物 **1a** に相当するベンゼン環の他に 1,3,4-三置換ベンゼン構造を有し、それぞれの置換基は分子式や図 3 に示した HMBC 相関より、1 つの *tert*-butyl 基、1 つのカルボニル基および 1 つの水酸基であることが示唆された。以上の解析と、図 3 に示した詳細な HMBC 相関による解析から、生成物 **1b** は (3-(*tert*-butyl)-4-hydroxyphenyl)(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)methanone であることが明らかとなった。類似物質 (CAS RN[®]: 29372-72-3) を扱った文献⁴⁾ はいくつか存在するものの、生成物 **1b** はこれまでに報告のない物質であった。

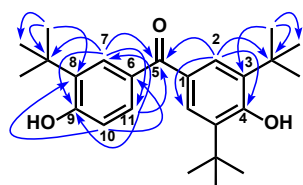


図 3 Key HMBC correlations of product **1b**

3) 生成物 **1c** の構造解析

生成物 **1c** は白色アモルファスとして得られ、その分子式はネガティブイオンモードの高分解能 ESI-MS (negative HRESIMS) の m/z 399.1391 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd. for $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{O}_3\text{F}_6$, 399.1400) より $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{O}_3\text{F}_6$ と決定した。生成物 **1c** の ^1H NMR では δ_{H} 1.45 (18H, s)、6.45 (1H, sep, 6.2)、7.93 (2H, s)、 ^{13}C NMR

では δ_{C} 30.0 (CH_3)、66.6、128.1 (each CH)、34.3、117.6、120.8、136.3、163.6、163.6 (each C) に由来するシグナルが観測された。このうち、 ^1H NMR スペクトルで δ_{H} 1.45 (18H, s)、7.93 (2H, s) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1c** は生成物 **1a** と共通の部分構造を有することが示唆され、 ^{13}C NMR でフッ素原子とのカップリングにより七重線に分裂した δ_{C} 66.6 (CH) および四重線に分裂した δ_{C} 120.8 (C) に由来するシグナルが観測されたことから、反応溶液の調製で用いた HFIP が生成物 **1c** 内に存在することが示唆された。以上の解析と、図 4 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **1c** は 1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-yl 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzoate であることが明らかとなった。生成物 **1c** はこれまでに報告のない物質であった。また、生成物 **1c** は物質 **1** の溶解溶媒として用いた HFIP が生成に関与したと考えられることから、実際の合成樹脂製品中では生成しないと考えられた。

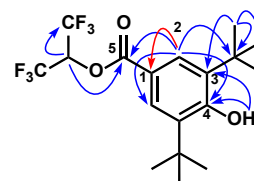


図 4 Key HMBC and LR-HSQMBC correlations of product **1c**

Blue arrows, HMBC correlations;
red arrows, LR-HSQMBC correlations

4) 生成物 **1d** の構造解析

生成物 **1d** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は negative HRESIMS の m/z 353.2481 $[\text{M}-\text{H}]^-$ (calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{33}\text{O}_2$, 353.2486) より $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{O}_2$ と決定した。生成物 **1d** の ^1H NMR では δ_{H} 1.32、1.32、1.44 (each 9H, s)、6.88 (1H, d, 8.5)、7.06 (1H, d, 2.5)、7.21 (1H, d, 2.4)、7.27 (1H, dd, 8.5, 2.4)、7.31 (1H, d, 2.5)、 ^{13}C NMR では δ_{C}

30.5、32.0、32.1 (each CH₃)、116.4、123.9、126.6、127.0、130.2 (each CH)、34.9、35.2、36.1、127.6、129.4、138.4、143.4、144.4、151.7、152.3 (each C) に由来するシグナルが観測された。このうち、¹H NMR スペクトルで δ_{H} 1.32、1.32、1.44 (each 9H, s) および ¹³C NMR スペクトルで δ_{C} 30.5、32.0、32.1 (each CH₃)、34.9、35.2、36.1 (each C) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1d** は構造中に *tert*-butyl 基が 3 つ存在することが示唆された。また、¹H NMR で δ_{H} 6.88 (1H, d, 8.5)、7.21 (d, 2.4)、7.27 (dd, 8.5, 2.4) に由来するシグナルが観測されたことから 1,2,4-三置換ベンゼン構造、および δ_{H} 7.06 (d, 2.5)、7.31 (d, 2.5) に由来するシグナルが観測されたことから 1,2,3,5-四置換ベンゼン構造が構造中に存在することが示唆された。それぞれの置換基は、¹H NMR および ¹³C NMR から 3 つの *tert*-butyl 基、分子式から 2 つの水酸基であることが示唆され、HMBC 相関および 1D-NOE スペクトルから生成物 **1d** はジフェニル構造であることが示唆された。以上の解析と、図 5 に示した詳細な HMBC 相関および 1D-NOE スペクトルによる解析から、生成物 **1d** は 3,5,5'-tri-*tert*-butyl-[1,1'-biphenyl]-2,2'-diol (CAS RN®: 31604-07-6) であることが明らかとなった。本物質は 1971 年に NMR スペクトルの研究⁵⁾ で用いられた物質であった。

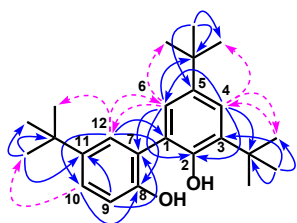


図 5 Key HMBC and 1D-NOE correlations of product **1d**

Blue arrows, HMBC correlations;
purple dashed arrows, 1D-NOE correlations

5) 生成物 **1e** の構造解析

生成物 **1e** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 383.2586 [M+H]⁺ (calcd. for C₂₅H₃₅O₃, 383.2581) より C₂₅H₃₄O₃ と決定した。生成物 **1e** の ¹H NMR では δ_{H} 1.28 (9H, s)、1.45 (18H, s)、6.95 (1H, d, 8.7)、7.57 (1H, d, 2.5)、7.59 (1H, dd, 8.7, 2.5)、7.61 (2H, s)、¹³C NMR では δ_{C} 30.5、31.8 (each CH₃)、118.5、128.6、130.3、133.8 (each CH)、35.1、35.7、121.0、130.1、138.5、142.4、160.1、160.8、202.0 (each C) に由来するシグナルが観測された。このうち、¹H NMR スペクトルで δ_{H} 1.45 (18H, s)、7.61 (2H, s) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1e** は生成物 **1a** と共通の部分構造を有することが示唆され、¹³C NMR で δ_{C} 202.0 (C) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1a** のカルボキシ基に相当する構造がカルボニル基に変化していることが示唆された。また、¹H NMR スペクトルで δ_{H} 6.95 (1H, d, 8.7)、7.57 (1H, d, 2.5)、7.59 (1H, dd, 8.7, 2.5) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1e** は生成物 **1a** に相当するベンゼン環の他に 1,2,4-三置換ベンゼン構造を有し、それぞれの置換基は分子式や図 6 に示した HMBC 相関および NOESY 相関より、1 つの *tert*-butyl 基、1 つのカルボニル基および 1 つの水酸基であることが示唆された。以上の解析と、図 6 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **1e** は (5-(*tert*-butyl)-2-hydroxyphenyl)(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)methanone であることが明らかとなった。生成物 **1e** はこれまでに報告のない物質であった。

6) 生成物 **1h** の構造解析

生成物 **1h** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の

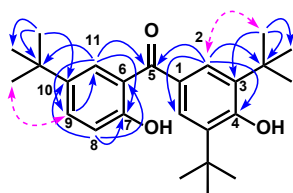


図 6 Key HMBC and NOESY correlations of product **1e**

Blue arrows, HMBC correlations;
purple dashed arrows, NOESY correlations

m/z 439.3207 $[M+H]^+$ (calcd. for $C_{29}H_{43}O_3$, 439.3207) より $C_{29}H_{42}O_3$ と決定した。生成物 **1h** の ^1H NMR では δ_H 1.27、1.46 (each 9H, s)、1.46 (18H, s)、7.47 (1H, d, 2.4)、7.57 (2H, s)、7.60 (1H, d, 2.4)、 ^{13}C NMR では δ_C 29.9、30.5、31.9 (each CH_3)、128.6、128.9、131.5 (each CH)、35.2、35.7、36.1、119.9、130.7、138.5、138.7、140.9、159.7、161.1、203.5 (each C) に由来するシグナルが観測された。このうち、 ^1H NMR スペクトルで δ_H 1.46 (18H, s)、7.57 (2H, s) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1h** は生成物 **1a** と共通の部分構造を有することが示唆され、 ^{13}C NMR で δ_C 203.5 (C) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1a** のカルボキシ基に相当する構造がカルボニル基に変化していることが示唆された。また、 ^1H NMR スペクトルで δ_H 7.47 (1H, d, 2.4)、7.60 (1H, d, 2.4) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **1h** は生成物 **1a** に相当するベンゼン環の他に 1,2,3,5-四置換ベンゼン構造を有し、それぞれの置換基は分子式や図 7 に示した HMBC 相関および LR-HSQMBC 相関より、2つの *tert*-butyl 基、1つのカルボニル基および1つの水酸基であることが示唆された。以上の解析と、図 7 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **1h** は (3,5-di-*tert*-butyl-2-hydroxyphenyl) (3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)metha-

none であることが明らかとなった。生成物 **1b** と同様に、類似物質 (CAS RN®: 29372-72-3) を扱った文献⁴⁾はいくつか存在するものの、生成物 **1h** はこれまでに報告のない物質であった。

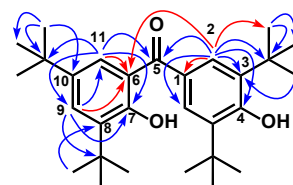


図 7 Key HMBC and LR-HSQMBC correlations of product **1h**

Blue arrows, HMBC correlations;
red arrows, LR-HSQMBC correlations

7) 生成物 **1f** および **1g** の構造解析

生成物 **1f** および **1g** は物質 **1** の紫外線照射により生成が確認されたものの、その再現性は良好ではなかった。そのため、MS スペクトルでの解析のみを行った。生成物 **1f** および **1g** の分子式は negative HRESIMS の m/z 426.2286 $[M-H]^-$ および m/z 426.2282 $[M-H]^-$ (calcd. for $C_{25}H_{32}NO_5$, 426.2286) より $C_{25}H_{33}NO_5$ と決定した。分子式 $C_{25}H_{33}NO_5$ を有する物質が生成物 **1f** および **1g** の2種類であったことから、これらの生成物は、分子式 $C_{25}H_{34}O_3$ を有する生成物 **1b** および **1e** から生成した物質と考えられた。このことから、図 8 に示したように、生成物 **1f** および **1g** は生成物 **1b** および **1e** のプロトンがニトロ基に置き換わった構造と推定された。生成物 **1f** および **1g** は、物質 **1** の HFIP 溶液に混入した窒素酸化物または紫外線照射中に溶液中で生成した窒素酸化物と生成物 **1b** および **1e** の求電子置換反応またはラジカル反応により生成したと推定された。生成物 **1f** および **1g** はこれまでに報告のない物質であった。

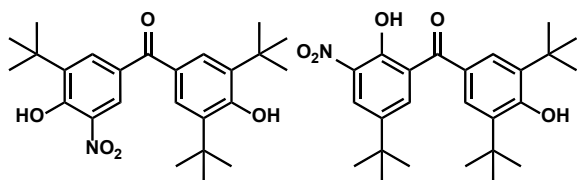


図 8 Estimated structures of products **1f** and **1g**

8) 生成物 **1a–1h** の生成経路の推定

物質 **1** の紫外線照射により得られた生成物の構造から、その生成経路について図 9 のように考察した。紫外線による反応機構として光 Fries 転位がよく知られており、この反応では図 10 に示したようにアシルフェノールエステルのアシル基が転位反応を起こし、アシルフェノールが生成する。本研究でも同様の転位反応により、物質 **1** から生成物 **1b**, **1e** および **1h** が生成したと推定された。また生成物 **1f** および **1g** は、物質 **1** の溶液に混入した窒素酸化物または紫外線照射中に溶液中で生成した窒素酸化物と生成物 **1b** および **1e** の求電子置換反応またはラジカル反応により生成したと推定された。一方、生成物 **1a** および **1c** は、物質 **1** の紫外線照射によるホモリシスまたは加水分解を経由して生成したと推定された。生成物 **1d** は、生成物 **1a** および **1c** が生成す

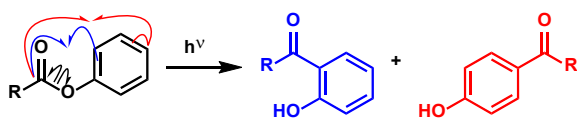


図 10 Reaction mechanism of the photo-Fries rearrangement

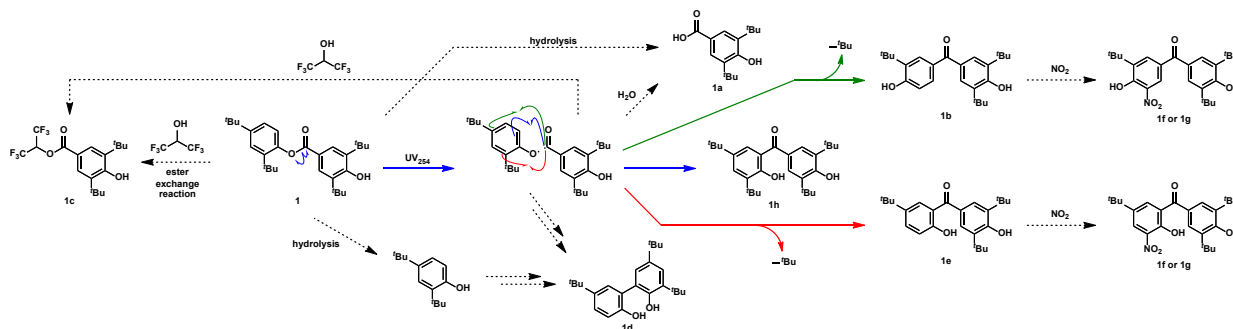


図 9 Estimated formation pathways of products **1a–1h**

る過程で生じた 2,4-di-*tert*-butylphenol が二量化して生成したと推定された。

2. 物質 **2** の紫外線照射により生成する物質の構造解析

物質 **2** の DCM 溶液に対して UV₂₅₄ を照射し、反応溶液を MeOH で 200 倍希釈した溶液について LC/MS 分析を行った。その結果、図 11 に示したように PDA クロマトグラムで生成物 **2a–2g** の生成が検出された。³⁾ そこで、この反応生成物を Si. C. C. および ODS HPLC を用いて分離したところ、生成物 **2a–2g** が得られた。このうち、生成物 **2e** は分離精製の過程で新たに見出した物質であった。また、保持時間 15.0 分のピークは分離精製により消失した。得られた生成物 **2a–2g** については高分解能 MS スペクトルや各種 NMR スペクトルを用いて構造解析を行った。各生成物の ¹H および ¹³C NMR の帰属は表 3 に示した。

1) 生成物 **2b** の構造解析

生成物 **2b** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 241.1484 [M+H]⁺ (calcd. for C₁₁H₂₁N₄S, 241.1487) より C₁₁H₂₀N₄S と決定した。生成物 **2b** の ¹H NMR では δ_H 0.89 (3H, t, 7.2)、3.08 (2H, t, 7.5)、¹³C NMR では δ_C 14.4 (CH₃)、23.7、29.9、30.3、30.4、30.4、30.7、33.0 (each CH₂) に由来するシグナルが観測された。これらのシグナルから、生

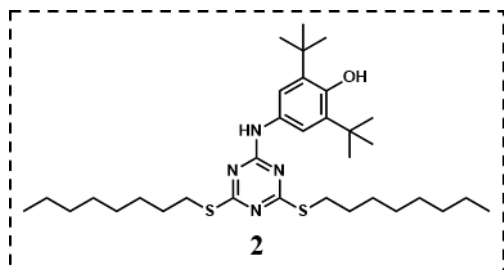
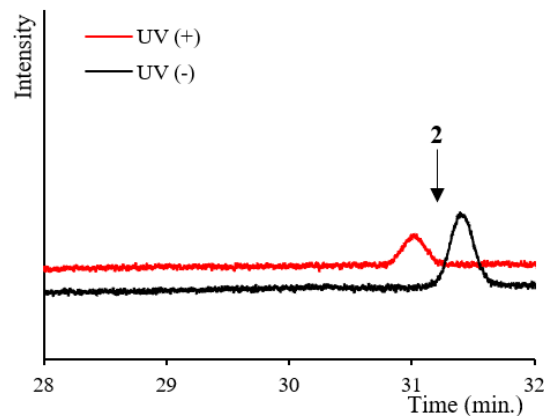
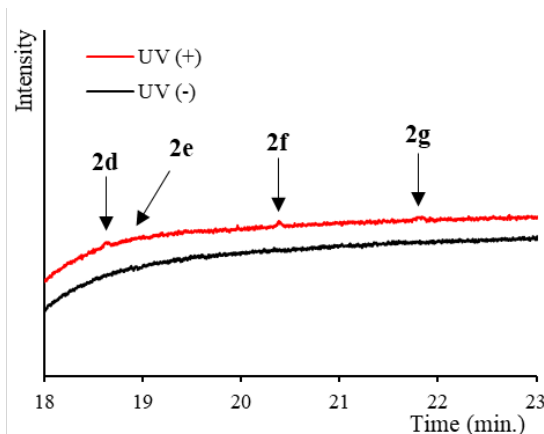
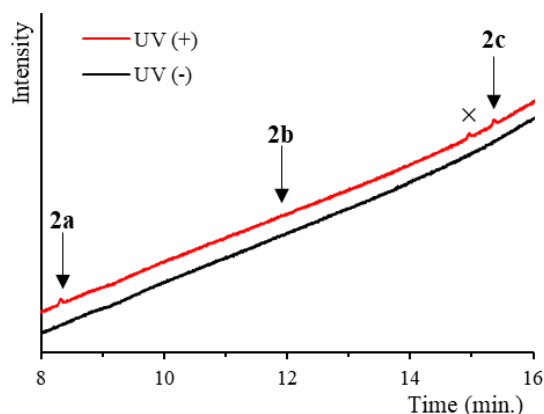


図 11 PDA chromatograms of compound **2** in DCM with and without UV irradiation (8–16, 18–23, and 28–32 min)

生成物 **2b** の部分構造としてチオオクチル基が存在することが示唆された。また、 ^{13}C NMR で δ_{C} 165.5 (CH)、166.4、182.6 (each C) に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **2b** は部分構造としてトリアジン環構造を有することが示唆された。さらに、 ^1H NMR で δ_{H} 8.14 (1H, s)、 ^{13}C NMR で δ_{C} 165.5 (CH) が観測されたことから、生成物 **2b** のトリアジン環は二置換体であることが示唆された。以上の解析と、図 12 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **2b** は 4-(octylthio)-1,3,5-triazin-2-amine であることが明らかとなった。生成物 **2b** はこれまでに報告のない物質であった。

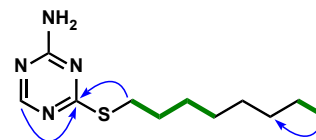


図 12 Key HMBC and COSY correlations of product **2b**

Blue arrows, HMBC correlations;
green bonds, COSY correlations

2) 生成物 **2a** の構造解析

生成物 **2a** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 257.1435 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{11}\text{H}_{21}\text{N}_4\text{OS}$, 257.1431) より $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{OS}$ と決定した。その分子式および生成物 **2a** の ^1H NMR および ^{13}C NMR には芳香族メチン炭素に由来するシグナルが観測されなかったことから、生成物 **2a** は生成物 **2b** の芳香族メチンプロトンが水酸基に置き換わった構造であることが示唆された。以上の解析と、図 13 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **2a** は 4-amino-6-(octylthio)-1,3,5-triazin-2-ol であることが明らかとなった。生成物 **2a** はこれまでに報告のない物質であった。

表 3 ^1H and ^{13}C spectroscopic data for compounds **2a**, **2b**, **2d**, **2f**, and **2g** (600 or 800 MHz in DMSO- d_6 or MeOH- d_4)

Position	2a^a			2b^b			2d^c			2f^c			2g^{a, #}		
	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}	δ_{C}	type	δ_{H}
2	158.3 ^a			165.5	CH	8.14 (s)	164.5	CH	8.30 (s)	178.8	C		181.2	C	
4	154.1 ^a			166.4	C		161.6	C		163.6	C		161.2	C	
4-NH ₂												7.43 (s)			
4-NH-															10.28, 10.49 (s)
6	182.0	C		182.6	C		180.5	C		178.8	C		180.4	C	
1'	29.4	CH ₂	2.93 (br s)	30.7	CH ₂	3.08 (t, 7.5)	29.1	CH ₂	3.02 (t, 7.0)	29.0	CH ₂	3.00 (t, 7.4)	51.5, 51.6	CH ₂	2.96-3.15 (o)
2'	29.0	CH ₂	1.56 (quin, 7.3)	30.4	CH ₂	1.68 (quin, 7.5)	28.5 ^c	CH ₂	1.61 (m)	29.2	CH ₂	1.60 (quin, 7.4)			
3'	28.2	CH ₂	1.33 (quin, 7.3)	29.9	CH ₂	1.43 (quin, 7.5)	28.1 ^c	CH ₂	1.52 (quin, 7.0)	28.3	CH ₂	1.34 (quin, 7.4)			
4'	28.6 ^c	CH ₂	1.25 (o)	30.3	CH ₂	1.32 (o)	28.6 ^c	CH ₂	1.11-1.29 (o)	28.6 ^c	CH ₂	1.25 (o)			
5'	28.6 ^c	CH ₂	1.25 (o)	30.4	CH ₂	1.28 (o)	30.3 ^c	CH ₂	1.11-1.29 (o)	28.7 ^c	CH ₂	1.25 (o)			
6'	31.2	CH ₂	1.23 (o)	33.0	CH ₂	1.29 (o)	31.1	CH ₂	1.11-1.29 (o)	31.2	CH ₂	1.22 (o)			
7'	22.1	CH ₂	1.24 (o)	23.7	CH ₂	1.31 (o)	22.1	CH ₂	1.11-1.29 (o)	22.1	CH ₂	1.24 (o)	22.1	CH ₂	1.23 (o)
8'	14.0	CH ₃	0.84 (t, 7.1)	14.4	CH ₃	0.89 (t, 7.2)	14.0	CH ₃	0.80 (t, 7.0)	14.0	CH ₃	0.84 (t, 7.1)	13.9	CH ₃	0.82 (o)
1''													29.5	CH ₂	2.96-3.15 (o)
2''															
3''															
4''															
5''															
6''															
7''													22.1	CH ₂	1.23 (o)
8''													13.9	CH ₃	0.82 (o)
1'''							130.2	C					129.8, 129.9	C	
2'''							118.3	CH	7.32 (s)				118.2, 118.5	CH	7.39, 7.45 (s)
3'''							139.6	C					139.6, 139.7	C	
3'''-C(CH ₃)							34.7	C					34.7, 34.7	C	
3'''-C(CH ₃)							30.3	CH ₃	1.33 (s)				30.3, 30.3	CH ₃	1.36, 1.36 (s)
4'''							150.2	C					150.5, 150.7	C	
4'''-OH															6.88, 6.91 (s)

^aMeasured in DMSO- d_6

^bMeasured in MeOH- d_4

*Assignments may be interchanged

#Only Key chemical shifts are shown

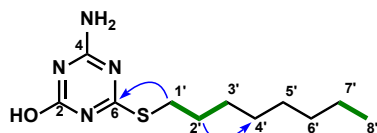


図 13 Key HMBC and COSY correlations of product **2a**

Blue arrows, HMBC correlations;
green bonds, COSY correlations

3) 生成物 **2d** の構造解析

生成物 **2d** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 445.2988 $[\text{M}+\text{H}]^+$ (calcd. for $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_4\text{OS}$, 445.3001) より $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_4\text{S}$ と決定した。生成物 **2d** の ^1H NMR および ^{13}C NMR が生成物 **2b** と同様のシグナルパターンを示したことから、生成物 **2d** は生成物 **2b** と共通の部分構造を有することが示唆さ

れた。また、生成物 **2d** の ^1H NMR で δ_{H} 1.33 (18H, s)、7.32 (2H, s)、 ^{13}C NMR では δ_{C} 30.3 (CH_3)、118.3 (CH)、34.7、130.2、139.6、150.2 (each C) に由来するシグナルが観測された。これらのシグナルから、生成物 **2d** の構造中に 1,3,4,5-四置換ベンゼンの存在が示唆された。この四置換ベンゼンは、 ^1H NMR の δ_{H} 1.33 (18H, s) および 7.32 (2H, s) に由来するシグナルより、生成物 **1a** と共通の部分構造を有することが示唆された。以上の解析と、図 14 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **2d** は 2,6-di-*tert*-butyl-4-((4-(octylthio)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)phenol (CAS RN®: 1570097-37-8) であることが明らかとなった。生成物 **2d** は光硬化性印刷材料の添加剤として米国特許⁶⁾に記載されている物質

であった。

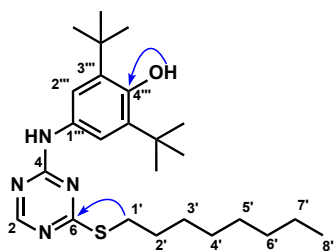


図 14 Key HMBC correlations of product **2d**

4) 生成物 **2c** の構造解析

生成物 **2c** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 461.2951 $[M+H]^+$ (calcd. for $C_{25}H_{41}N_4O_2S$, 461.2945) より $C_{25}H_{40}N_4O_2S$ と決定した。その分子式より、生成物 **2c** は生成物 **2d** のいずれかのプロトンが水酸基に置き換わった構造であることが示唆された。NMR スペクトルによる構造解析を試みたものの、生成物 **2c** の NMR スペクトルはシグナルのブロードニングにより解析が困難であったため、 m/z 461 をプリカーサーイオンとするプロダクトイオンスペクトルにより構造解析を行った。その結果、プロダクトイオンスペクトルにおいて図 15 に示したような m/z 405、349、293、234 のシグナルが観測されたことから、これらのプロダクトイオンは図 16 に示したような構造であることが示唆された。このことから、生成物 **2c** は生成物 **2d** の芳香族メチンプロトンが水酸基に置き換わった構造であることが示唆された。また、生成物 **2a** の NMR スペクトルもブロードニングしていたことから、生成物 **2a** のような部分構造を有している物質は、その NMR スペクトルがブロードニングすると考えられた。以上のことから、生成物 **2c** は 4-((3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)amino)-6-(octylthio)-1,3,5-triazin-2-ol であると推測された。生成物 **2c** はこれまでに報告のない物質であった。

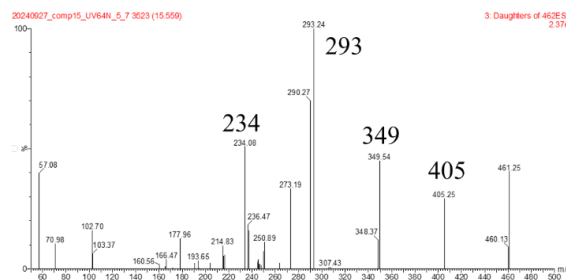


図 15 MS/MS spectrum (30 eV) of the $[M+H]^+$ ion of product **2c**

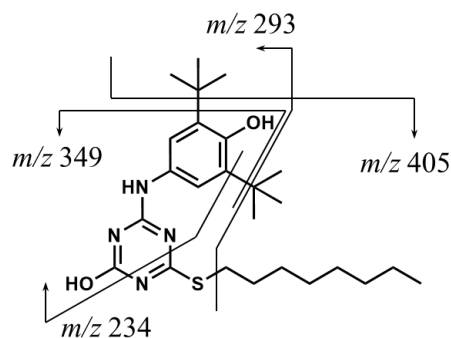


図 16 MS/MS fragment of the $[M+H]^+$ ion of product **2c**

5) 生成物 **2e** の構造解析

生成物 **2e** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 543.2186 $[M+H]^+$ (calcd. for $C_{22}H_{39}N_8S_4$, 543.2175) より $C_{22}H_{38}N_8S_4$ と決定した。生成物 **2e** の ^1H NMR スペクトルは生成物 **2a** および **2b** とほぼ同様のスペクトルパターンを示したものの、 ^{13}C NMR スペクトルでは試料量が極少量であったためにほとんどシグナルが観測されなかった。そこで、分子式および m/z 543 をプリカーサーイオンとするプロダクトイオンスペクトルにより構造解析を行った。その結果、プロダクトイオンスペクトルにおいて図 17 に示したような m/z 305、273、193、161、102 のシグナルが観測されたことから、これらのプロダクトイオンは図 18 に示したような構造であることが示唆された。以上のことから、生成物 **2e** は 6,6'-disulfanediylbis(4-(octylthio)-1,3,5-triazin-2-amine) であると推測された。生成物 **2e** はこれまでに報告のない物

質であった。

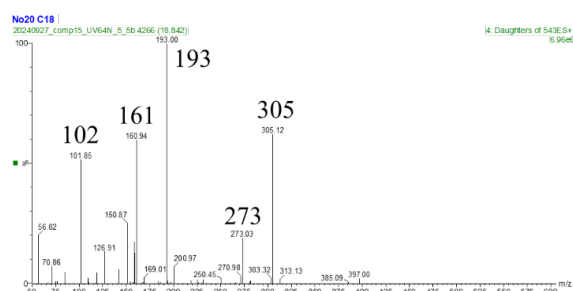


図 17 MS/MS spectrum (40 eV) of the $[M+H]^+$ ion of product **2e**

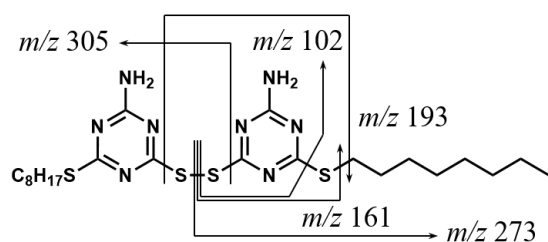


図 18 MS/MS fragmentation of the $[M+H]^+$ ion of product **2e**

6) 生成物 **2f** の構造解析

生成物 **2f** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 385.2452 $[M+H]^+$ (calcd. for $C_{19}H_{37}N_4S_2$, 385.2454) より $C_{19}H_{36}N_4S_2$ と決定した。生成物 **2f** の ^1H NMR スペクトルは生成物 **2a** や **2b** とほぼ同様のスペクトルパターンを示したものの、 ^{13}C NMR スペクトルは芳香族炭素に由来するシグナルが2つのみ (δ_C 163.6、178.8 (each C)) 観測された。このことから、生成物 **2f** は生成物 **2b** の芳香族メチンプロトンがチオオクチル基に置き換わった構造であることが示唆された。以上の解析と、図 19 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **2f** は 4,6-bis(octylthio)-1,3,5-triazin-2-amine (CAS RN®: 119644-90-5) であることが明らかとなった。生成物 **2f** は、ガンマ線照射された PP または LDPE をクロロホルム中、物質 **2** 存在下で加熱還流した際に生成した物質 **2** のキノン体 (4-((4,6-bis(octylthio)-1,3,5-

triazin-2-yl)imino)-2,6-di-*tert*-butylcyclohexa-2,5-dien-1-one, CAS RN®: 119644-89-2) が、系中に存在する水により加水分解して生成した物質として報告されていた⁷⁾。

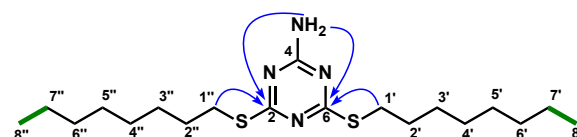


図 19 Key HMBC and COSY correlations of product **2f**

Blue arrows, HMBC correlations;
green bonds, COSY correlations

7) 生成物 **2g** の構造解析

生成物 **2g** は白色アモルファスとして得られ、その分子式は positive HRESIMS の m/z 605.3937 $[M+H]^+$ (calcd. for $C_{33}H_{57}N_4O_2S_2$, 605.3917) より $C_{33}H_{56}N_4O_2S_2$ と決定した。その分子式より、生成物 **2g** は物質 **2** の酸化体であることが示唆された。生成物 **2g** の ^1H NMR スペクトルでは芳香族領域において二本一対のシングレットシグナルが3種類 (δ_H 6.88 および 6.91 (合計 1H)、7.39 および 7.45 (合計 2H)、10.28 および 10.49 (合計 1H)) 観測された。また、 ^1H NMR において、チオエーテル近傍のメチレン炭素に由来する δ_H 3 ppm 付近のシグナルが極めて複雑なシグナルとして観測され、チオオクチル基末端のメチル炭素に由来する δ_H 0.8 ppm 付近のシグナルも単なるトリプレットシグナルの重なりでは説明できない複雑な分裂パターンを示した。これらのシグナルは、 ^1H NMR 測定を 100°Cで行うことにより著しく単純化した。このことから、生成物 **2g** はアトロプ異性を有する可能性が示唆された。一方、 ^{13}C NMR においては δ_C 51 ppm 付近に物質 **2** では観測されなかったメチレン炭素に由来するシグナルが観測された。このメチレン炭素は、HMBC 相関の解析により、チオエーテル近傍のメチレン炭

素に帰属された。このように低磁場シフトしたメチレン炭素に由来するシグナルが観測されたことから、生成物 **2g** は物質 **2** の 1 つのチオエーテルがスルホキシドとなった物質であることが示唆された。また、硫黄原子の酸化によりトリアジン環の電子密度が低下し、それに隣接するアミンの二重結合性が増大した結果、NMR の時間スケールでは平均化されないアトロプ異性が生じ、これに起因して NMR スペクトルの複雑化が生じたと考えられた。以上の解析と、図 20 に示した詳細な 2D-NMR 相関による解析から、生成物 **2g** は 2,6-di-*tert*-butyl-4-((4-(octylsulfinyl)-6-(octylthio)-1,3,5-triazin-2-yl)amino)phenol であることが明らかとなった。生成物 **2g** はこれまでに報告のない物質であった。

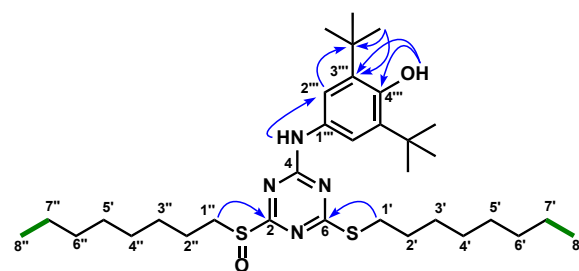


図 20 Key HMBC and COSY correlations of product **2g**

Blue arrows, HMBC correlations;
green bonds, COSY correlations

8) 生成物 **2a–2g** の生成経路の推定

物質 **2** の紫外線照射により得られた生成物の構造から、その生成経路について図 20 のように考察した。生成物 **2g** は物質 **2** の酸化体であることから、物質 **2** の紫外線照射中に溶液中に存在する酸素により、生成物 **2g** が生成したと推定された。生成物 **2d** は物質 **2** の脱チオオクチル体であることから、

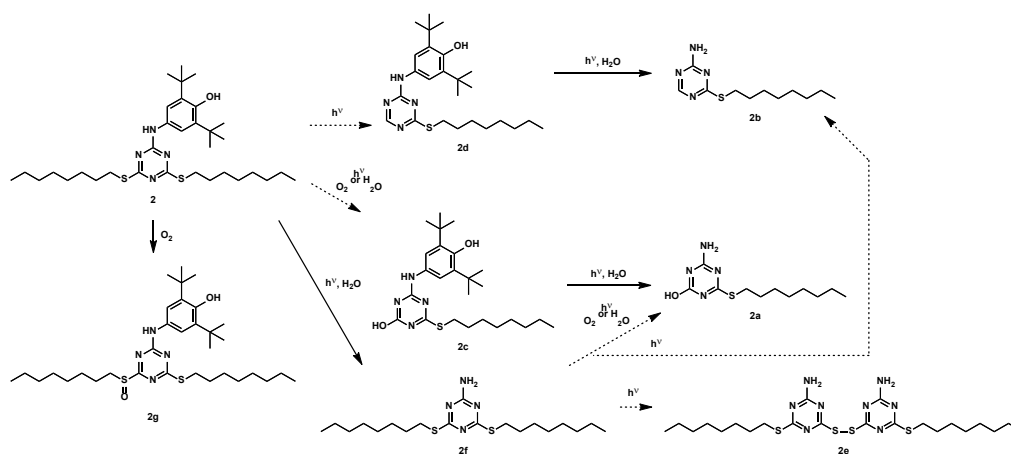


図 21 Estimated formation pathways of products **2a–2g**

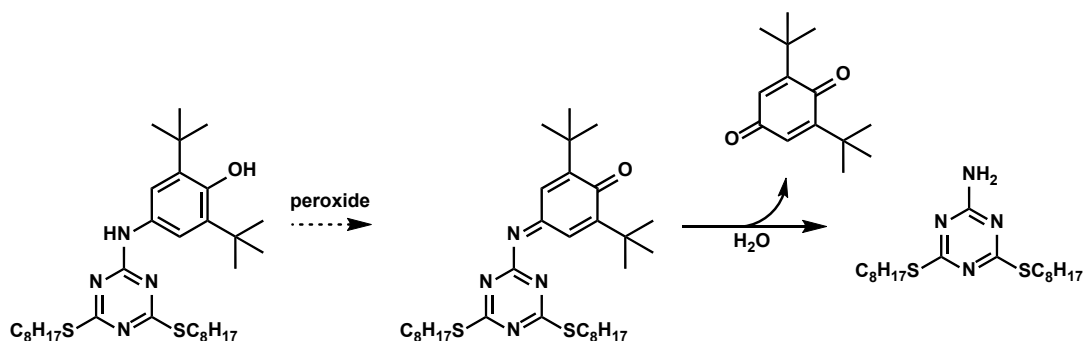


図 22 Proposed Mechanism for the Elimination of the Phenol Moiety

物質 **2** の紫外線照射中にチオオクチル基が脱離して物質 **2d** が生成したと推定された。チオオクチルが脱離する際、酸素や水が付加することで、生成物 **2c** が生成したと推定された。また、物質 **2** は既知の文献⁷⁾ により、図 21 に示したように物質 **2** の合成樹脂の炭素鎖中に存在するペルオキシドによるキノン体への変換、続く水による加水分解により物質 **2** 中のフェノールが脱離することが提唱されていることから、生成物 **2f** は紫外線を駆動力とした同様の機構で生成したと推定された。生成物 **2a** および **2b** については、生成物 **2c** および **2d** から同様の機構でフェノールが脱離、または生成物 **2f** からのチオオクチル基の脱離により生成したと推定された。生成物 **2e** は、生成物 **2f** のメチレン炭素と硫黄原子間のホモリシスを介する二量化により生成したと推定された。

3. 紫外線照射により得られた生成物の毒性評価

本研究により得られた生成物 **1a–1h** および **2a–2g** について、その遺伝毒性を Ames/QSAR により評価した。その結果、専門家が定義した構造アラートに基づいて Ames 変異原性を予測する Derek Nexus においては、すべての生成物が INACTIVE と判定された。また、機械学習により学習した膨大なデータを統計的に評価する手法によって Ames 変異原性を予測する CASE Ultra においても、すべての生成物が Negative と判定された。これらの結果から、紫外線照射により物質 **1** および物質 **2** から生成し得る化学物質については、Ames 変異原性に基づく遺伝毒性の懸念は低いと考えられた。

D. 結論

本研究では令和 6 年度の研究で着目した 7 物質のうち、2 物質を取り上げ、紫外線

照射により得られる生成物の構造解析を行った。その結果、物質 **1** から得られた 6 種の生成物 (**1a–1e, 1h**) の構造を明らかにし、2 種の生成物 (**1f, 1g**) の構造を推定した。また、物質 **2** から得られた 5 種の生成物 (**2a, 2b, 2d, 2f, 2g**) の構造を明らかにし、2 種の生成物 (**2c, 2e**) の構造を推定した。これらの構造式を基にして、Derek Nexus および Case Ultra による Ames/QSAR による遺伝毒性評価を行ったところ、全ての生成物が INACTIVE および Negative と判定された。これらのことから、紫外線照射により物質 **1** および物質 **2** から生成し得る物質については、Ames 変異原性に基づく遺伝毒性の懸念が低いことが明らかとなった。今後は、残りの 5 物質について同様に調査を行うとともに、この調査手法が実態に即した方法として妥当かどうかを併せて検討する予定である。

E. 参考文献

- 1) 呉地伝夫: 抗酸化剤に関する研究 IV ブチルヒドロキシアニソール (BHA) の光分解, 衛生化学, 13, 191–196 (1967)
- 2) 原納靖子, 星野乙松, 浮田忠之進: 大豆油中に添加した BHT の紫外線による分解について, 衛生化学, 13, 197–201 (1967)
- 3) 令和 6 年度食品衛生基準科学研究費補助金 食品安全科学研究事業食品用器具・容器包装等の衛生的な製造管理等の推進に資する研究 総括・分担研究報告書, p 138–153 (2025)
- 4) Fukuda Y., Yokoyama Y.: Cosmetics containing triterpene acids and 2,6-di-*tert*-butylphenol derivatives, Japanese Patent JP2010030927A (2010)
- 5) Leupold I., Musso H., Vičar J.: Aromatic Solvent Induced Shifts (ASIS) in the N.M.R. Spectra of *tert*-Butyl-, *tert*-Butoxy-and Nitro(*tert*-butyl)benzene

Derivatives, *Chemische Berichte*, 104, 40–49 (1971)

- 6) Boukaftane C., Lee E.: Method of improving light stability of flexographic printing plates featuring flat top dots, United States Patent US20180297388 A1 (2018)
- 7) Allen D. W., Leathard D. A.: The unexpected degradation of an internal standard in the HPLC determination of antioxidants in gamma-irradiated food contact polyolefins: a possible basis for a chemical test for an irradiated plastic, Smith C., *Chemistry & Industry*, 2, 38–39 (1989)