

Methyl isobutyl ketone の代謝と生物学的モニタリング

第 1 編

Methyl isobutyl ketone 腹腔内投与ラットの呼気・ 尿中 methyl isobutyl ketone の排泄及び尿中代謝産物

岡山大学医学部公衆衛生学講座 (指導: 緒方正名教授)

廣 田 直 敷

(平成 2 年12月27日受稿)

Key words : MIBK, 尿中代謝産物, 4-メチル-2-ペンタノール,
メチルイソブチルケトン, ラット腹腔内投与

緒 言

メチルイソブチルケトン Methyl isobutyl ketone (MIBK CAS: 108-10-1) は、脂溶性、微水溶性 (溶解度は、1.91 g/100 g 水) の安定した中沸点溶剤であり、その性質から合成樹脂、硝酸セルロース、ペイント剥離剤、ラッカー溶剤などシンナーの成分として工業製品のみならず広く一般に用いられている。従って、作業現場では様々な暴露の可能性が考えられる¹⁾。MIBK の侵入経路は作業現場では経気道が主であるが、その化学的性質から経皮吸収による中毒の可能性も否定できない²⁾。

急性毒性について、Smyth は、経口投与によるラットの LD₅₀ を MIBK 2.08 g/kg・BW (BW: 体重) と報告している³⁾。腹腔内投与の場合の LD₅₀ は、ラットでは、400-800 mg/kg・BW、モルモットでは、800-1,600 mg/kg・BW である⁴⁾。MIBK は、比較的毒性低であるが、高濃度では麻酔作用を有する。マウスを使った実験では、19,500 ppm, 30分間の MIBK の暴露によって10匹のうち7匹までに麻酔作用が認められた。解剖の結果、肺うっ血が認められた。20,000 ppm で20分15日間暴露させると10匹中6匹が死亡した⁴⁾。MacEwen らは、ラットに100 ppm で2週間の連続暴露を行い、腎臓重量および腎臓体重比が

増加したことを報告している。また200 ppm, 2週間, 100 ppm, 90日の暴露で腎臓と肝臓重量、臓器体重比も増加した。このような影響は、イヌ、サル、マウスでは2週間暴露後には見られなかった⁵⁾。

MIBK に構造及び化学的性質の類似したメチルブチルケトン (MBK) やノルマルヘキサン (n-Hexan) で認められる末梢神経毒性は、MBK, n-Hexan, メチルエチルケトン (MEK) などと比較検討されたが、ラット、イヌ、ネコを用いた動物実験では MIBK に末梢神経毒性は見いだされていない⁶⁾。その理由として、MBK, n-Hexan が代謝物として2,5-ヘキサンジオン (2,5-hexandione) を生じるのに対し、MIBK では2,5-ヘキサンジオンを生じないためとされている⁷⁾。

ヒトに対する影響は、MIBK の臭いの感知限界を 8 ppm 以上とし、50%のヒトが、200-400 ppm で眼・鼻・咽頭の刺激を訴える⁸⁾。また、MIBK 取り及び作業場で100-500 ppm の暴露による脱力、食欲不振、頭痛、悪心、嘔吐、下痢の報告がある⁹⁾¹⁰⁾。皮膚に長時間反復接触すると脱脂作用による皮膚炎をおこす⁷⁾。

MIBK は、国内では消防法第2条危険物第四類第二石油類、労働安全衛生法施行令別表第6の2有機溶剤 (第二種有機溶剤) に指定されている²⁾。粘膜への刺激性と腎毒性を考慮して、日

本産業衛生学会が許容濃度を50ppm(205mg/m³) (1986),同様に米国政府関係産業衛生専門者会議(ACGIH) (1981)が, TLV(Threshold Limit Value) 50ppm を勧告している¹¹⁾¹²⁾.

しかし, MIBK の体内動態に関する実験及び報告は数が少なく, 広く一般に用いられながら他の有機溶剤と比較して toxicokinetics に関する研究が充分とは言えない状況にある. すなわち呼気への排出, 血中濃度, 尿中への排泄及び代謝経路についてごく少数の報告があるのみであり詳細は未だ解明されていない¹³⁾.

著者は, 最終的に生体試料を用いて作業現場における MIBK の暴露量を推定することを研究の目的としているが, まず, ヒトの有機溶剤に対する代謝に比較的近いと言われているラットを用いて MIBK の排泄の概要を検討した. すなわち, ラットの腹腔内に MIBK を投与し呼気中及び尿中排泄量を測定して排泄曲線を求め, 投与量と呼気排泄量の相関を求めた. 同様に, 投与量と尿中排泄量, 呼気中 MIBK と尿中 MIBK 排泄量の相関を求めた. また, 投与1時間後の MIBK の血中濃度についても測定を行った.

さらに, MIBK の代謝産物としてこれまでにモルモットの血中でのみ確認されていた¹⁴⁾4-メチル-2-ペンタノール(4-methyl-2-pentanol 以下4M2P)及び4-ヒドロキシ-4-メチル-2-ペンタノン(4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone 以下4H4M2P)をラットの血中及び尿中に確認定量することを試みた. そして, ラットの尿中に4M2Pを同定し, その尿中排泄曲線を求めたのでその成果を報告する.

材 料 と 方 法

1. 実験動物

Wistar系ラット25匹(生後約7週-10週, 体重230±20g ♂)を用いた.

2. 試薬及び使用器具

MIBK (和光純薬製 特級),
β-グルクロニダーゼ (SIGMA 社製 Type H-2 β-glucuronidase 100,000units/ml sulfatase 4500units/ml)

3. 実験方法

1) 呼気及び尿中 MIBK 排泄量の測定と排泄曲線

ラットを3時間 Fig. 1 のチャンバーに入れ呼気及び尿を採取した後取り出し, 腹腔内に, 100, 200及び300mg/kg·BW (BW 体重) の割合になるように MIBK (50μl/ml·olive oil) を投与し, 投与後36時間にわたって, 一定の間隔 (0-0.5, 0.5-1, 1-1.5, 1.5-2, 2-3, 3-4, 4-6, 6-9, 9-12, 12-18, 18-24, 24-36時間) で呼気を Charcoal Tubes (Shibata) に採取した. olive oil のみ投与したものを対照群とした. 採取に用いた charcoal を CS₂ 2ml で抽出 (2時間). その1μl をガスクロマトグラフ(以下 GC) に注入して呼気中 MIBK 排泄量を定量した.

尿中に排泄された MIBK 濃度は, 投与後一定の間隔 (0-3, 3-6, 6-9, 9-12, 12-24, 24-36時間) で尿を採取し, 無水硫酸ナトリウムによる強制気化法を併用した head space GC 法を用いて測定した¹⁵⁾. すなわち尿試料0.1ml を内部標準のメチルブチルケトン・メタノール溶液 (1.0μl MBK/1.0ml MeOH) 0.1ml と共に, 5g の Na₂SO₄ の入った 5ml バイアルビンに入れ, テフロンライナー付ゴム栓及びアルミシールにより密栓し, 2時間冷所ににて保存, head space gas 0.5ml を GC に注入した.

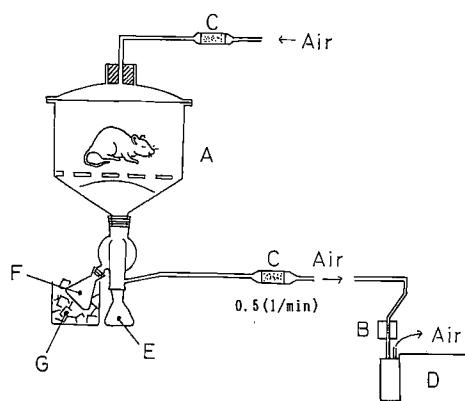


Fig. 1 Diagram of respiration chamber for rats
A ; chamber, B ; flowmeter, C ; charcoal tube, D ; pump, E ; stool, F ; urine, G ; ice

2) 血中 MIBK の測定

1)と同様にして200mg/kg・BW の割合で MIBK をラットに投与し、投与1時間後に外頸静脈から血液を0.2ml採取し、2mlの蒸留水の入った5mlバイアルビンに入れた。テフロンライナー付ゴム栓及びアルミシールで密栓後、60℃で加温(30min)後、head space gas 0.5mlを GC で定量した。

3) 尿中代謝産物のβ-グルクロニターゼ水解条件

尿中代謝産物は、グルクロン酸抱合及び硫酸抱合されて尿中に排泄される¹⁴⁾と考えられるので、β-グルクロニターゼ(サルファターゼ含有)を用いて加水分解した。その際の、加水分解の最適時間を以下の方法で求めた。

上記1)にて採取した尿を-18℃で凍結保存し、実験1時間前に解凍。その0.5mlをそれぞれ酢酸ナトリウム・塩酸 buffer (pH 5.0) 0.5ml, β-グルクロニターゼ0.1ml, 内部標準のメチルプチルケトン・メタノール溶液(1.0μl MBK/1.0ml MeOH) 0.1mlと共に20mlバイアルビンに入れた。テフロンライナー付ゴム栓及びアルミシールにより密栓後、恒温槽(37℃)で一定時間(0, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 36時間)震蕩し、さらに60℃で30min加熱後 head space gas 0.5mlを GC を用いて定量し、加水分解のための最適時間を求めた。

4) 血中及び尿中代謝産物の測定と排泄曲線

上記1)にて採取した尿及び血液を-18℃で凍結保存し、実験6時間前に解凍。その0.5mlを上記3)に従って、恒温槽(37℃)にて24時間震蕩し、60℃で30min加熱後 head space gas 0.5mlを GC 及びマススペクトログラフ(以下 GC-MS)を用いて定性、定量した(GC 検出限界 4 M 2 P: 0.6mg/l, 4 H 4 M 2 P: 5 mg/l)。その際、olive oilのみ投与したものを対照群とした。

5) GC条件

使用機器: 島津 GC-14 A (FID)
 使用カラム: J&W社製, DB-WAX, φ0.53mm × L 30m (膜厚 1 μm)
 カラム温度: 40℃ (2 min) → (20℃/min) → 180℃ (3 min)
 注入口温度: 150℃, 検出器温度: 230℃。

ガス条件: キャリヤガス, He 10ml/min, 追加ガス, He 20ml/min

燃 料: 水素40ml/min, 空気500ml/min

6) GC-MS 条件

使用機器: 島津 QP-1000, 島津 GC-15 A
 使用カラム: J&W社製 DB-WAX φ0.53mm × L 30m (膜厚 1 μm)
 カラム温度: 40℃ (2 min) → (20℃/min) → 180℃ (3 min)

注入口温度: 150℃, 検出器温度: 230℃

イオン源温度, セパレータ温度: 250℃

イオン化電圧: 70 eV

ガス条件: キャリヤガス, He 10ml/min, 追加ガス, He 20ml/min

燃 料: 水素40ml/min, 空気500ml/min

結 果

1. 呼気中への MIBK 排泄量の経時変動とその累積値: その成績は, Fig. 2 に示すように, MIBK を200mg/kg・BW の割合で投与したものについて, 投与後0-0.5時間で最高値18.7±5.8 mg/h (平均値±標準偏差: m±SD)を示し, 投与後18-24時間まで排泄を認めた。そして, 呼気排泄の迅速相の半減期は, 約0.6時間を示した。投与量に対する呼気中排泄量の割合は, 41.4±8.7% (m±SD)であった。

2. 尿中への MIBK 排泄量の経時変動とその累積値: その成績は, Fig. 3 に示すように MIBK を200mg/kg・BW の割合で投与したものについて, 投与後0-3時間で最高値16.9±3.3 μg/hr

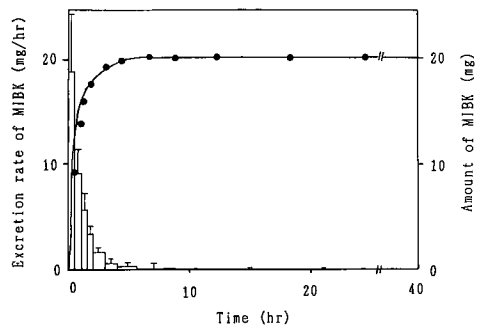


Fig. 2 Amount of excretion per hour of exhaled MIBK (column) and accumulated excretion (curve with solid line)

($m \pm SD$)を示し、12-18時間まで排泄を認めた。尿中排泄の迅速相の半減期は、約1.8時間を示した。投与量に対する尿中排泄の量の割合は、 $0.19 \pm 0.11\%$ ($m \pm SD$)であった。

3. 投与量と、呼気排泄量の自然対数値の相関：Fig. 4に示すように平均値の信頼区間とデータの予測区間を求めた。投与量と、呼気排泄量の自然対数値は、相関係数 $r=0.91$ で相関した(母相関係数 $\rho=0$ の検定： $p<0.001$ の危険率で相関あり)。

4. 投与量と、尿中排泄量の自然対数値の相関：Fig. 5に示すように回帰直線の信頼区間と個々のデータの予測区間を求めた。投与量と、尿中排泄量は、相関係数 $r=0.90$ で相関した($\rho=$

0の検定： $p<0.001$ で相関あり)。

5. 血中MIBK濃度：投与後1時間で $0.035 \pm 0.002 \text{ mg/ml}$ ($m \pm SD$)を示した。一方、血中には代謝産物は認められなかった。

6. 呼気排泄量と尿中排泄量の相関：Fig. 6に示すように回帰直線の信頼区間とデータの予測区間を求めた。呼気排泄量と尿中排泄量は、相関係数 $r=0.79$ で密接な相関が認められた。(母相関係数 $\rho=0$ の検定： $p<0.001$ で相関あり)。

7. 尿中代謝産物の β -グルクロニダーゼ水分解曲線：Fig. 7から、加水分解の最適時間を24時間とした。

8. 尿中代謝産物： β -グルクロニダーゼ処理した3時間尿のガスクロマトグラムをFig. 8に

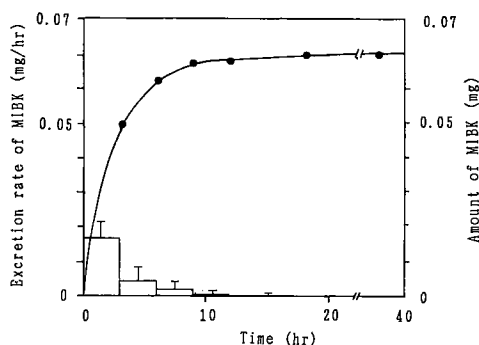


Fig. 3 Amount of excretion per hour of urinary MIBK (column) and accumulated excretion (curve with solid line)

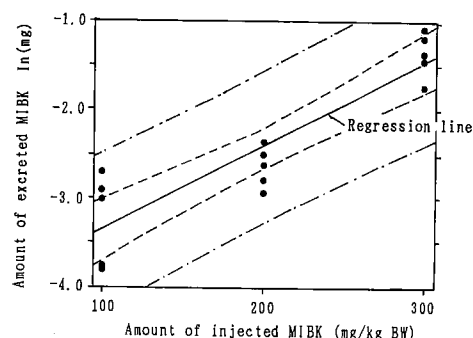


Fig. 5 Relationship between amount of injected MIBK and amount of excreted MIBK in the urine

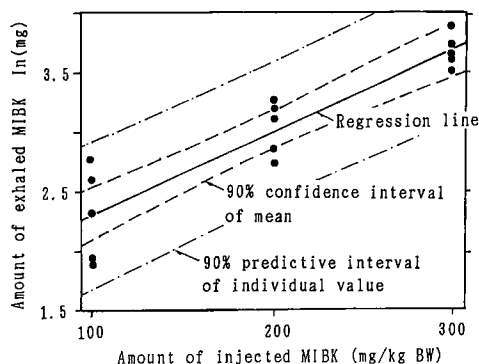


Fig. 4 Relationship between amount of injected MIBK and amount of exhaled MIBK

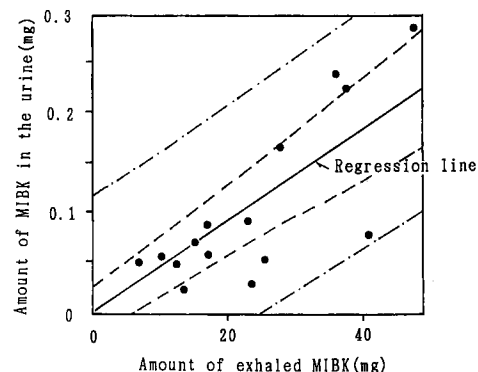


Fig. 6 Relationship between amount of exhaled MIBK and amount of excreted MIBK in the urine

示す。Table. 1 に示すように保持時間が 4 M 2 P 及び 4 H 4 M 2 P に一致するものが見られた。

9. 尿中代謝産物の同定：酵素水解後 4 M 2 P と考えられる peak のマスプロマトグラム及びマススペクトラムを Fig. 9 及び Fig. 10 に示した。これには、molecular ion を示す peak はないが、prominent fragment ion のパターンは 4 M 2 P の authentic sample に一致している¹⁶⁾。

10. 尿中の 4 M 2 P 排泄量の経時変動とその累積値：その成績は、Fig. 11 に示すように投与後 3-6 時間で最高値 $0.061 \pm 0.038 \text{mg}$ ($m \pm SD$) となり、投与後 9-12 時間まで排泄を認めた。そして、尿中排泄の迅速相の半減期は、約 3.2 時間

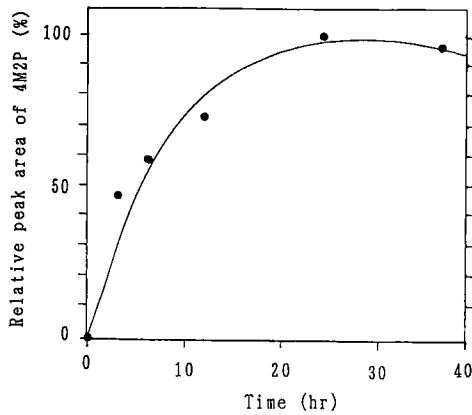


Fig. 7 Time course of hydrolysis of 4 M 2 P conjugated with glucuronic acid at 37°C

であった。投与量に対する総尿中排泄量の割合はモル比で、 $0.31 \pm 0.18\%$ ($m \pm SD$) であった。

11. 尿中代謝産物として Fig. 8 で示した 4 H 4 M 2 P と保持時間の等しい peak のマススペクトルを求めたが、4 H 4 M 2 P は検出されなかった。

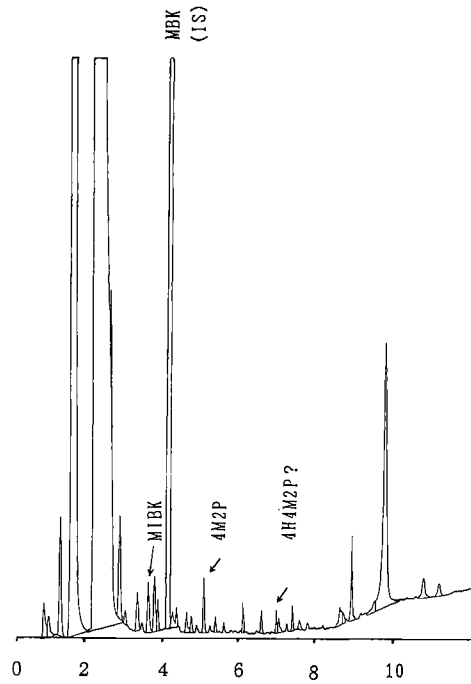


Fig. 8 Gas chromatogram of a urine sample of a MIBK injected rat

Table 1 Identification of metabolites in the urine of subjects exposed to MIBK.

Structure assigned	Gas chromatography		Gas chromatography-Mass spectrometry		
	Retention time of peaks on gas chromatogram (min)	DB-WAX (column)	Prominent fragment ions (m/e)		
Methyl isobutyl ketone	3.60	DB-WAX			
Methyl butyl ketone	4.39	DB-WAX			
4-methyl-2-pentanol	5.28	DB-WAX	45 (1000)	69 (119)	84 (27)
			87 (42)	102 (1P)	
4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone	7.20	DB-WAX	43 (1000)	58 (213)	59 (85)
			101 (25)	116 (1P)	

1 P = rare

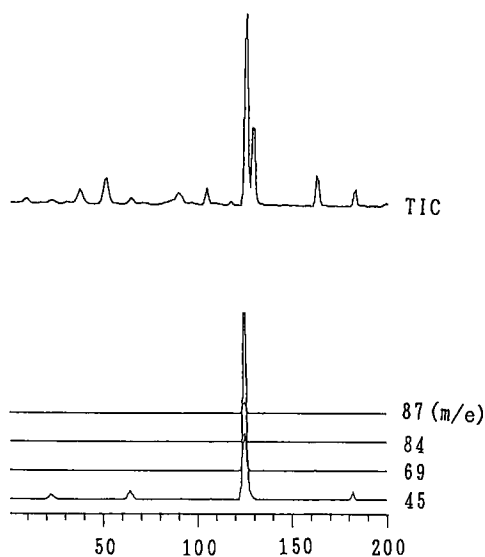


Fig. 9 Mass chromatogram of urine sample of MIBK injected rats

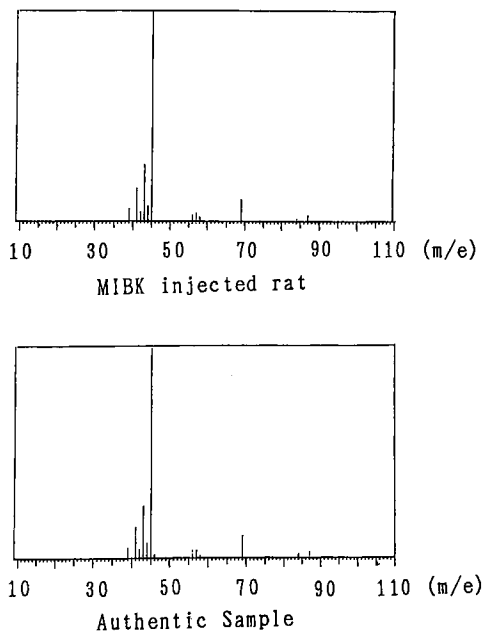


Fig. 10 Mass spectrum of 4-methyl-2-pentanol with M^+102 .

Peak 43 ($M^+-CH_3CH(OH)CH_2$ or $-(CH_3)_2CHCH_3$)
45 ($M^+-(CH_3)CHCH_2$) 69 (M^+-CH_3OH-H)

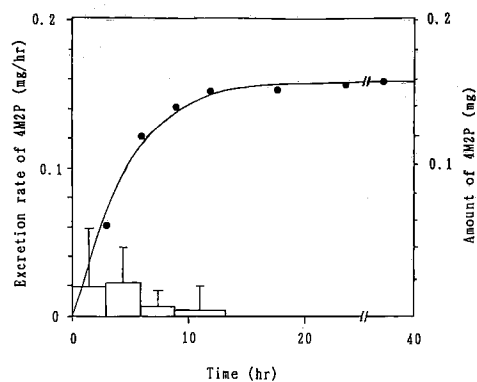


Fig. 11 Amount of excreted 4 M 2 P in the urine per hour (column) and accumulated excretion (curve with solid line)

考 察

本研究の結果、 LD_{50} に近い(約12.5-75%)量のMIBKを腹腔内に投与されたラットにおけるMIBKの排泄機転の概要をつかむことができた。すなわち、主な排泄経路が肺であり、未変化のまま24時間以内に排泄される。また、微量ではあるが、血液及び尿中に未変化のMIBKが存在することが示され、投与量と、呼気及び尿中排泄量の対数値との間に良好な相関があることが示された。

呼気中MIBKの経時的変動からは、呼気中排泄量の迅速相の半減期が、0.6時間と短いことが示された。この結果は、Hjelmらのヒトによる気中2時間の暴露実験で示された血中MIBKの排泄相の記述と一致する。Hjelmらは、8人のVolunteerを使って22.4及び44.8ppm 2時間50W負荷の吸入暴露実験を行い、暴露後血中MIBKについて2つの排泄相を認めている。その中で早い排泄相(α -phase 0-30分後)は、それぞれ11, 13分であり、遅い排泄相(β -phase 60-180分後)は、59, 74分と報告している¹³⁾。MIBKは、呼気中の排泄量が尿中排泄量に比べて多く、本実験の結果では、投与量の $41.1 \pm 8.7\%$ ($m \pm SD$)が呼気中に排泄された。Hjelmらは、肺を通してどの程度未変化の溶剤が排泄されるかは、分配係数(blood/air)が一つの大きな決定要因であり、MIBKの場合、分配係数がトルエンよ

り高く、MEKより低い(血中/空気:トルエン16, MIBK90, MEK202), MIBKの呼気からの排泄率はMEKとトルエンの間になると推定した¹³⁾. CarlssonやLiiraらは、ヒトの暴露実験でMEKでは2-3%, トルエンでは7-14%が、未変化で呼気から排泄されるとしている¹⁷⁾¹⁰⁾. しかし、本実験では、MIBKの呼気からの排泄率が投与量の $41.1 \pm 8.7\%$ ($m \pm SD$)で、MEK及びトルエンの両方を上回る高い値を示した。これは種差以外に、投与量が LD_{50} に近い量であったことによるものと思われる。本実験結果のMIBKの呼気中排泄率は、Haggardらが類似化合物であるメチルイソプロピルケトン (Methyl isopropyl ketone) (blood/air:101) をラットに $1 \text{ g/kg} \cdot \text{BW}$ の割合で腹腔内投与した実験結果の38.5-53.5%に近似している¹⁹⁾. 一方、神谷²⁰⁾が、ラットの腹腔内に 184 mg/kg のトルエンを投与して求めた呼気排泄率の $25.22 \pm 10.44\%$ ($m \pm SD$)は、本実験結果のMIBKの呼気排泄率よりも小さいので投与方法等について検討の余地があると考えられる。

尿中MIBK排泄量は、 $0.19 \pm 0.11\%$ ($m \pm SD$)であった。これは、Hjelmらのヒトの吸入暴露で、実験後3時間以内における尿中未変化MIBKの排泄の0.04%に比較して大きい。また、暴露直後の濃度との比較では、Ogataらの混合有機溶剤作業現場のMIBK暴露作業者の尿中MIBKの濃度と比べて大きな値となっている¹³⁾²¹⁾. この理由として投与量が、 LD_{50} に近い大量であることがあげられるが、呼気排泄率の場合と同様投与方法や種差も影響しているのかもしれない。腎臓からの排泄は、尿管からの拡散によると考えられるが、血中濃度の急激な上昇を伴う腹腔内投与と、低濃度のヒトの暴露とでは単純な比較にならない。Ghittoriらは、有機溶剤暴露と、尿中未変化有機溶剤について、吸収量の1%を目安としている²²⁾. 本実験結果のMIBK尿中排泄量が、これよりも少なかったことについては、MIBKが微水溶性であり、blood/urine比が1.31と他の有機溶剤に比べて高いことから充分ありうると考えられる²³⁾.

大量投与ながら投与量と、呼気及び尿中排泄量のどちらも比較的相関が高い。これらのこと

から、呼気、尿を用いて生物学的モニタリングが行える可能性がある。

また、MIBKは、正常ラットの生体試料中には存在しないので、呼気、血中、尿中のいずれに検出されても、暴露を証明することになる。呼気及び尿中の未変化MIBKの排泄は、いずれも暴露直後の試料を取ることが勧められる。

$200 \text{ mg/kg} \cdot \text{BW}$ で腹腔内にMIBKを投与したラットの尿を用いた代謝産物の同定では、DiVincenzoらが推定したMIBK代謝産物のうち、代謝産物の一つとされる4-methyl-2-pentanolが確認された。DiVincenzoらは、MIBKをモルモットの腹腔に投与し、血液を直接GCに導入する事によって代謝産物である4H4M2Pと、4M2Pを測定し、4H4M2PについてはGC-MSで確認したが、4M2PについてはGC-MSの感度に達しなかったとして2種類のカラムにおいて保持時間の一致からその存在を推定した¹⁴⁾. Hjelmらは、ヒトの 200 mg/m^3 の2時間の暴露実験で血液、尿のサンプルに β -グルクロニダーゼ処理したものをを用いて代謝産物を測定しようとしたが感度以下で検知されなかったとしている¹³⁾. つまり、MIBKの尿中代謝産物に関しては、本研究が初めての報告であり、また4M2PのGC-MSによる初めての確認試験である。GCにおける4M2Pに相当する保持時間のpeakは12時間尿にまで観察され、MS-GCのマスペクトラム上4M2Pであることが確認できた。

尿中4M2Pの排泄は、MIBKと比較して、最大排泄時間及び迅速相の半減期が遅くなっている。これは、代謝によって時間のずれが生じたものと考えられる。本実験結果では、未変化の尿中MIBKに比べて尿中4M2Pは、約1.5倍の排泄量が得られた。暴露量との相関及び検出方法など検討すべき課題はあるが、尿中有機溶剤を測定の際に、保存上の問題となる揮発による測定誤差が、MIBKより小さいことが考えられる。よって、尿中4M2Pが、作業現場での暴露の新たな指標となる可能性がある。

4H4M2Pについては、GCで標品と同じ保持時間にpeakが見られたが、GC-MSではpeakが見られなかった。また、標準品の保持時

間と近傍の peak についてマススペクトルを求めたが 4 H 4 M 2 P に一致しなかった。したがって、GC-MS においては 4 H 4 M 2 P の感度が低いことに加え、量的にも少ないため、4 H 4 M 2 P を検出できなかったものと考えられる。

DiVincenzo らは、Williams の文献を引用し、Fig.12に示す様に、MIBK が ω -1 酸化によって対応する水酸化ケトンである 4-hydroxy-4-methyl-2-pentanone となり、カルボニル基の還元によって2級アルコールである 4-methyl-2-pentanol になるとした。定量報告はしていないが、血中濃度からモルモットでは 4 H 4 M

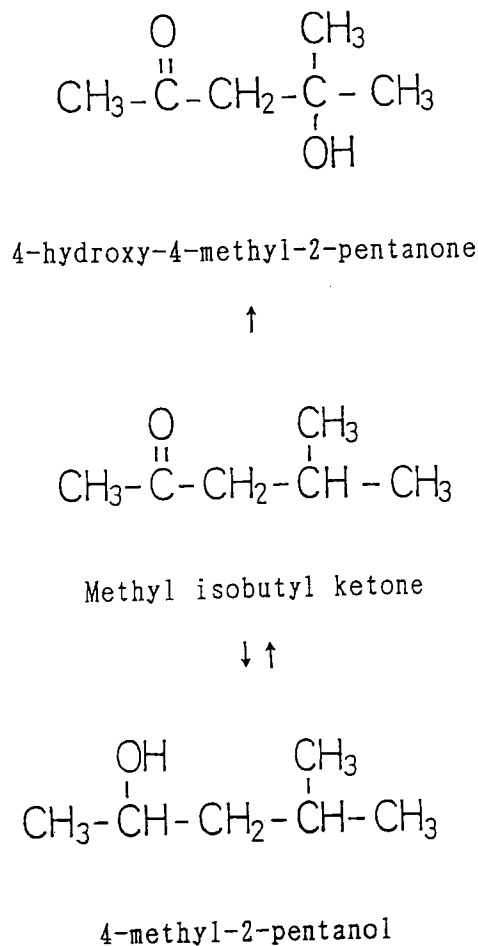


Fig. 12 Proposed metabolic pathways for methyl isobutyl ketone

2 P が血中で優位な代謝産物であると報告されている¹⁴⁾。しかし、本実験結果では、4 M 2 P のみが尿中に検出されて、血中尿中ともに 4 H 4 M 2 P が検出されなかった。これは、種差により代謝経路が異なるためと思われるが、4 H 4 M 2 P が 4 M 2 P に比べて尿中排泄率が低い可能性や、4 H 4 M 2 P が早く代謝される可能性を示している。また、FID 及び GC-MS のどちらも 4 M 2 P に比べ 4 H 4 M 2 P に対する感度が低いため、検出方法の改良、血中代謝産物の生体内運命を含め、今後さらに検討が必要である。

便中排泄については、生物学的モニタリングの指標となりにくいため特に行なわなかった。しかし、排泄経路全体を考えるとときには当然必要となってくる。その際には、尿道カテーテルの使用など尿と便との厳密な分離が必要となる。

末梢神経毒性及びそれ以外の毒性については、今回の研究からは何も導き出すものはない。しかし、代謝産物として 4 M 2 P が指摘できたことから 4 M 2 P の毒性試験を含めて MIBK の毒性を論じることが必要と考えられる。それはまた、遺伝的酵素欠損症による毒性遺伝学的なアプローチの必要性も示唆している。

また、今回は MIBK 及び代謝産物の経時的血中濃度を測定することができなかったが、呼吸及び尿中排泄との相関を考える上から、MIBK および代謝産物である 4 M 2 P について経時的定量が必要である。

さらにラットの尿中において代謝産物が得られたことからヒトの MIBK 暴露者に対する追試が望まれる。

結 論

MIBK の体内における動態を調べるためにラットの腹腔内に MIBK を投与し、経時的に MIBK の呼気中排泄量、MIBK の尿中排泄量及び投与一時間後の血中濃度を調べた。同時に、その尿中代謝産物の定性定量試験を行った。

①呼気中への MIBK 排泄量は、投与後 0-0.5 時間で最高値 $18.7 \pm 5.8 \text{ mg/h}$ ($\text{m} \pm \text{SD}$) を示し、投与後 18-24 時間まで認めた。呼気排泄の迅速期の半減期は、約 0.6 時間を示した。投与量に対する呼気中排泄量の割合は、 $41.1 \pm 8.7\%$ であった。

②尿中への MIBK 排泄量は、投与後 0-3 時間で最高値 $16.9 \pm 3.3 \mu\text{g/hr}$ (m±SD) を示し、投与後 12-18 時間まで排泄を認めた。尿中排泄の迅速相の半減期は、約 1.8 時間を示した。投与量に対する尿中排泄量の割合は、 $0.19 \pm 0.11\%$ (m±SD) であった。

③投与量と、呼気排泄量の自然対数値の間には、良い相関関係があり、相関係数 $r=0.91$ を示した。

④投与量と、尿中排泄量の自然対数値の間には、良い相関関係があり、相関係数 $r=0.90$ を示した。

⑤血中 MIBK 濃度は、投与後 1 時間で $0.035 \pm 0.002 \text{mg/ml}$ (m±SD) を示した。血中には代謝産物は認められなかった。

⑥呼気排泄量と尿中排泄量の間には、良い相関関係があり、相関係数 $r=0.79$ を示した。

⑦β-グルクロニダーゼ加水分解処理したラットの尿から、GC-MS を使って 4 M 2 P が同定定量された。

⑧尿中への 4 M 2 P 排泄量は、MIBK 200mg/kg 投与後 3-6 時間で最高値 $61.4 \pm 38.3 \mu\text{g/hr}$ (m±SD) を示し、投与後 9-12 時間まで排泄を認めた。尿中 4 M 2 P 排泄の迅速相の半減期は、約 3.2 時間を示し、尿中 MIBK より排泄は遅かった。投与量に対する尿中排泄量の割合 (モル比) は、 $0.31 \pm 0.18\%$ (m±SD) で尿中 MIBK 排泄量の約 1.5 倍であった。

⑨ MIBK 投与ラットの尿中及び血中から、4 H 4 M 2 P は検出されなかった。

稿を終えるにあたり、ご指導いただいた緒方正名教授に深く感謝の意を表します。本論の主旨は、第 34 回中国四国合同産業衛生学会で発表した。

文 献

- 1) Inoue T, Takeuchi Y, et al.: A Nationwide Survey on Organic Solvent Components in Various Solvent products: Part 1. Homogeneous Products Such as Thinner, Degreasers and Reagents. *Ind Health* (1983) 21, 175-183.
- 2) 環境科学辞典, 荒木 峻, 沼田 眞, 和田 攻編, 東京化学同人, 東京 (1985) pp 778
- 3) Smyth, Jr HF, Carpenter CP, and Weil CS, : Range Finding Toxicity Data : List IV. *Arch Ind Hyg Occup Med* (1951) 4, 119-122.
- 4) Krasavage WJ, O'donghue JL, and DiVincenzo GD, : Patty's Industrial Hygiene and Toxicology, 3rd ed., Wiley, New York (1982) pp 4747-4800.
- 5) MacEwen JD, Vernot EH, and Haun CC. : Effects of 90-day Continuous Exposure to Methyl isobutyl Ketone on Dogs, Monkeys, and Rats, : U. S. Nat. Tech. Info. Serv., AD Rep : (1971) ISS # 7 30291.
- 6) Spencer PS and Schaumberg HH : Feline Nervous System Response to Chronic Intoxication with Grades of Methyl n-Butyl Ketone, Metyl isoButyl Ketone, and Methyl Ethyl Ketone. *Toxicol Appl Pharmacol* (1976) 37, 301-311.
- 7) 産業中毒便覧, 第 2 版, 医歯薬出版, 東京 (1981) pp 867-868.
- 8) May J, : Oder Thresholds of Solvents for Evaluating Solvent Oder in Air : Staub, (1966) 26, 385.
- 9) Armeli G, Linari F, and Martorano G, : Rilievi Clinici ed Ematochimici in Operai Esposti All'azione di un Chetone Superiore (MIBK) Ripetuti a Distanza di 5 anni. *Lav. Um.*, (1968) 20, 418-423.
- 10) Elkins HB, : The Chemistry of Industrial Toxicology, 2nd ed., Wiley, New York (1959) pp 119-122.
- 11) 石油化学工業協会産業衛生委員会 : 許容濃度提案理由書集, 日本産業衛生学会, 東京 (1990) pp 100-101.
- 12) Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices 1990-1991 American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, Ohio

- (1990) pp 27.
- 13) Hjelm EW, Haegberg M, Iregren A, and Loef A : Exposure to methyl isobutyl ketone : toxicokinetics and occurrence of irritative and CNS symptoms in man. *Int Arch Occup Environ Health* (1990) **62**, 19—26.
 - 14) DiVincenzo GD, Kaplan CJ, and Dedenas J : Characterization of the Metabolites of Methyl n-Butyl Ketone, Methyl iso-butyl ketone, and Methyl Ethyl Ketone in Guinea Pig Serum and Their Clearance. *Toxicol Appl Pharmacol* (1976) **36**, 511—522.
 - 15) 須那 滋 : 新ヘッドスペース法による尿中メタノール, アセトンの定量, *産業医学* (1983) **25**, 199—200.
 - 16) Stehagen E, Abrahamsson S, and McLafferty FW, : *Atras of Mass Spectral Data.*, Interscience Publishers, New York.
 - 17) Carlsson A : Exposure to toluene. Uptake, distribution and elimination in man. *Scand J Work Environ Health* (1982) **8**, 43—55.
 - 18) Liira J, Riihimaki V, Pfaffli P : Kinetics of methyl ethyl ketone in man : Absorption, distribution and elimination in inhalation exposure. *Int Arch Occup Environ Health* (1988) **60**, 195—200.
 - 19) Haggard HW. et al. : *J Ind Hyg Toxicol* (1945) **27**, 1—14.
 - 20) 神谷次郎 : 芳香族有機溶剤の生体内運命, 第三編トルエン投与ラットにおけるトルエンの血中濃度及び呼気中排泄量の時間変動. *岡山医誌* (1987) **99**, 1647—1650.
 - 21) Ogata M, Taguchi T, Hirota N, Shimada Y and Nakae S : A Database for Biological Monitoring of Aromatic Solvent ; in *Biological Monitoring of Exposure to Industrial Chemicals, V.* Fiserova-Bergerova and M. Ogata eds, American Conference of Governmental Industrial Hygienist, Inc. Cincinnati, Ohio (1990) pp 119—125.
 - 22) Ghittori S, Imbriani M, Pezzagno G and Capodaglio E : The Urinary Concentration of Solvents as a Biological Indicator of Exposure : Proposal for the Biological Equivalent Exposure Limit for Nine Solvents. *Am Ind Hyg Assoc J* (1987) **48** (9), 786—790.
 - 23) Imbriani M, Ghittori S, Pezzagno G and Capodaglio E : Urine/air Partition Coefficients for Some Industrially Important Substances. *G Ital Med Lav* (1985) **7**, 133—140.

**The metabolism of methyl isobutyl ketone
and its biological monitoring**
**Part 1. Qualitative and quantitative studies of methyl
isobutyl ketone exhaled from the lungs and excreted in the urine,
and the metabolites in the urine of rats injected
with methyl isobutyl ketone**

Naomasa HIROTA

**Department of Public Health,
Okayama University Medical School,
Okayama 700, Japan
(Director : Prof. M. Ogata)**

Rats were injected intraperitoneally with 100mg/kg, 200mg/kg and 300mg/kg of methyl isobutyl ketone (MIBK) in a single dose, and the amount of MIBK in the expired air and in the urine were studied. One of the metabolites was identified as 4-methyl-2-pentanol (4M2P) in the urine by gas chromatography-mass spectrometry. The concentration of MIBK in the exhaled air attained its maximum within 0.5 hour. Thereafter it decreased with a half life of 0.6 hour, and 41.1 ± 8.7 (m \pm SD) % of the total amount injected was exhaled within 24 hours. The concentration of MIBK in the urine attained its maximum within 3 hours after injection. Then it decreased with a half life of 1.8 hours and 0.19 ± 0.11 (m \pm SD) % of the total amount administered was excreted in 18 hours. The concentration of 4M2P in the urine attained its maximum in 3-6 hour and decreased gradually thereafter. Its half life was 3.2 hours and 0.31 ± 0.18 (m \pm SD) % of the total amount was excreted in 12 hours.