

Phenol 経口投与ラット尿中における Phenylsulfate と Phenylglucuronide の 排泄について

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (指導: 緒方正名教授)

山 崎 吉 郎

(昭和56年7月1日受稿)

Key words : phenylsulfate, phenylglucuronide,
phenol

緒 言

尿中の代謝産物を測定することにより有機溶剤の吸入量を推定することができる。この研究の一環として phenol の代謝産物の定量を試みた。phenol は医薬品、染料、可塑剤、香料、塗料、溶剤などの製造原料として用いられるほか、消毒殺菌剤、防腐剤、歯科用局麻剤として用いられている。

Williams らの実験によれば、経口投与した phenol の77%、注射した phenol の62%が総 phenol として排泄される。代謝産物のうちでは phenyl glucuronide (PhG と略) と phenyl sulfate (PhS と略) がそれぞれ40~50%であり大部分を占め、他に Quinol が約10%、Catechol が約1%を占めている¹⁾。このため、尿中の PhG および PhS を測定できれば phenol の暴露量を推定することが可能と思われる。先に筆者らはラットに腹腔内注射した o-Xylene, phenol および benzene の尿中代謝産物の HPLC による定量について報告した^{2),3)}。今回はラットを用いて phenol を比較的少量経口投与した場合の PhG および PhS の代謝率の比較を HPLC で行なった結果について報告する。

実 験 方 法

1. 試料

ラット 6 匹 (体重150~200 g) に5% phenol 懸濁水を 1 mMol/kg に相当する量だけ経口投与した。試料は phenol 投与後 24 時間ごと 5 日

間採尿したものを使用した。

2. 分析条件

分析機器: 日立 635 型高速液体クロマトグラフ, 充填剤: Nucleosil 5 C18 (Machery Na-gel), カラム: 4.0mmφ×150mm, 移動相: PhG 分析用に0.05M tetra-n-butylammonium bromide (TBAB と略) 含有 MeOH/H₂O/AcOH (20/80/0.2) PhS 分析用に0.05 M TBAB 含有 MeOH/H₂O/AcOH (50/50/0.2), 流量: 1.0ml/min, 検出器: UV 254 nm, 標品 PhG は中外製薬KKより購入し, PhS は東京化成KKのものを再結して使用した。

実 験 結 果

Fig 1 の 1-a, 1-b に PhS 分析のクロマトグラムを示す。PhS は5分後に溶出され、phenol は3分後、PhG は2分後に溶出される。2-a, 2-b に PhG 分析のクロマトグラムを示した。PhG は6分後に溶出され、馬尿酸 (HA と略) は7分後に溶出されている。PhS はこの展開液では溶出が不良である。Fig 1 の PhS, PhG の各ピークはよく分離されており定量が可能である。Fig 2 に10 μ g 以下の濃度における PhS と PhG の検量線を示した。それぞれ254nmの吸光度で直線性を示していた。Table 1 に6匹の実験例の分析結果を示した。1 mMol/kg量の phenol の投与では PhS の約76%が24時間以内に排泄され、48時間以内にほとんど完全に排泄されることがわかった。PhG は24時間で73%、48時間で95%が排泄された。また phenol を 1 mMol/kg 投与

Table 1. The excretion of metabolites by rats receiving phenol orally

Metabolites		Metabolites (m mol/day) excreted during the periods (day) after the administration				
		0-1	1-2	2-3	Total	(%)
Phenylsulfate	m	0.280	0.089	tr	0.369	36.9
	SEM	0.019	0.014	tr	0.016	—
Phenylglucuronide	m	0.192	0.058	0.012	0.261	26.1
	SEM	0.023	0.013	0.002	0.010	—

(%) : percent of administered phenol excreted as metabolites

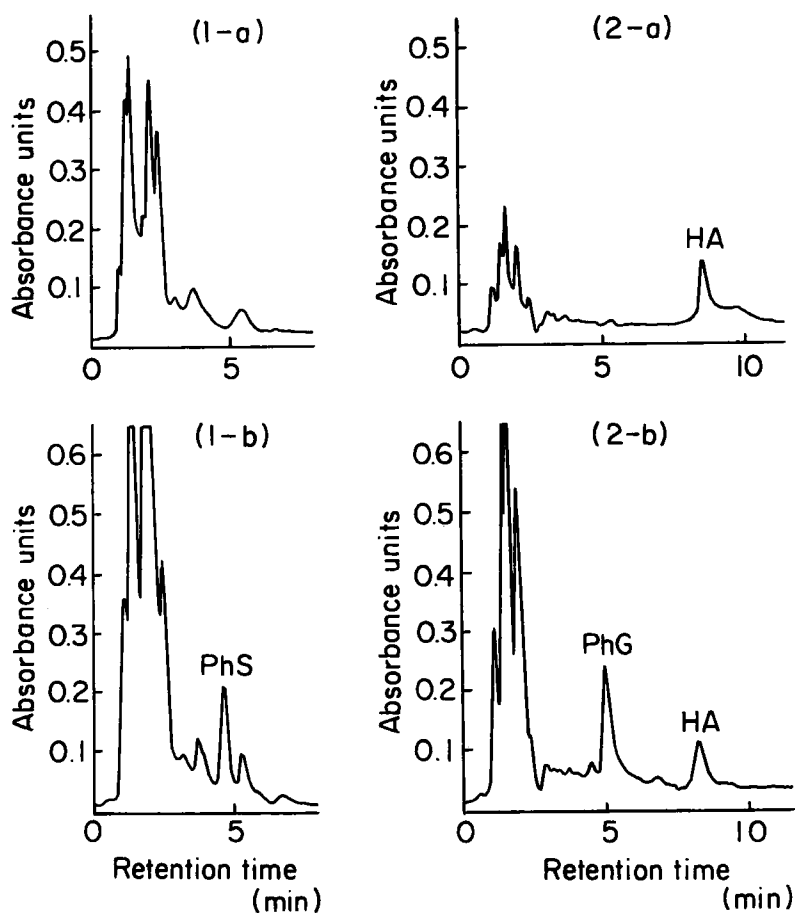


Fig. 1. High performance liquid chromatograms of phenylsulfate and phenylglucuronide in rat urine before administration (1-a, 2-a) and 1 day after orally administered phenol (1-b, 2-b).

Dose administered were 1m mol/Kg respectively. 1-a, 1-b using mobile phase 1. 2-a, 2-b using mobile phase 2. PhS=phenylsulfate, PhG=phenylglucuronide and HA=hippuric acid

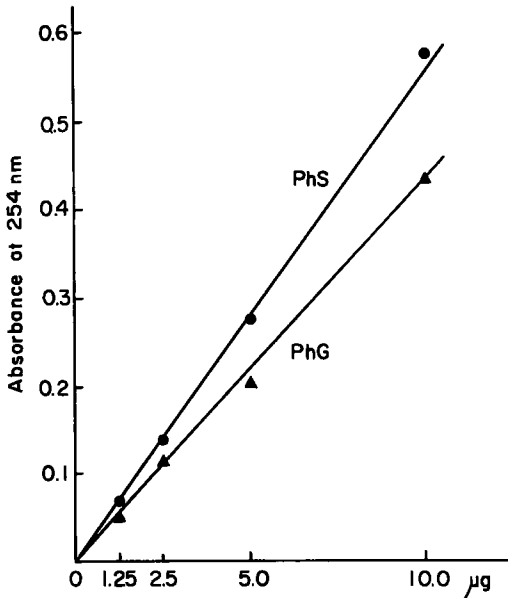


Fig. 2. Calibration curves of phenylsulfate and phenylglucuronide in water

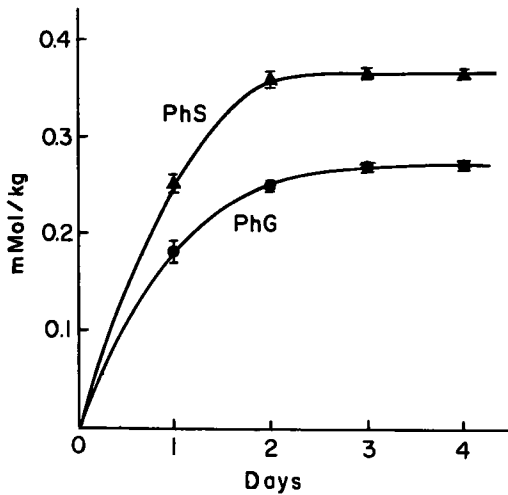


Fig. 3. The excretion of phenylsulfate and phenylglucuronide by the rat after an oral dose of 1m mol/Kg phenol
The curve is cumulative.

した場合の PhS と PhG の排泄比から、投与された phenol の 37% が PhS として、26% が PhG として代謝された。両者の合計は 63% であり 30% 以上が吸収されないで肺から呼出されるか局所に残存していると思われた。PhG と PhS の総量

の経時変化のグラフを Fig 3 に示した。

Williams らはラビットに 125~250mg/Kg の phenol 投与で 15~16% の PhS と 70% の PhG を得、100mg/Kg 以下の投与では PhG よりも PhS の排泄率が高くなることを報告している⁴⁾。すなわち 100mg を境にして PhS と PhG の排泄比が逆転している。ラットで行なった我々の実験では投与量は 1 m Mol/Kg (94mg/Kg) であり PhG よりも PhS の排泄率が高く、Williams らの報告とよく一致していた。

考 察

phenol による中毒としては、phenol 蒸留を連日行っていた分析技術者、phenol 類合成工場で phenol の暴露を受けた作業員⁷⁾などの例がみられる。このような中毒をおこす phenol の吸収経路としては、経気道吸入、経皮吸入、経口吸入の 3 種が考えられる。今回はそのうちの経口吸入の代謝産物の定量を行なった。前回の少量投与の実験結果および Williams らの文献との比較から、尿中に排泄される PhG、PhS の比は実験条件によって異なることが確認された。

また尿中 PhG、PhS の生物学的半減期は両者の濃度減少曲線から同じであることがわかった。

以上の結果、PhS と PhG の dose-response については phenol 投与量により差があるため排泄量比について検討の必要がある。現時点では、phenol の各種尿中代謝産物について高速液体クロマトグラフィーにより、PhS と PhG 量を求め、phenol 量に換算し、その和から総 phenol を求めることによって吸入量を推定することが可能と思われる。

結 論

ラットに 1 m Mol/Kg の phenol を投与して、PhS と PhG の尿中排泄量を推定し、以下の成績を得た。

1. PhS と PhG のいずれも 1 日以内にほとんど排泄された。
2. 本実験条件のもとでは PhS の排泄量は PhG より高かった。
3. PhS、PhG の高速液体クロマトグラフィーによる定量で大量の処理を簡便化できた。

文 献

- 1 . Parks, D.V. and Williams, R.T.: Studies in detoxication. *Biochem. J.* 55, 337—340, 1953.
- 2 . Ogata, M., Yamasaki, Y., Shimada, Y., Sugihara, R. and Meguro, T.: Quantitation of urinary o-xylene metabolites in rats and human being by high performance liquid chromatography. *Ind. Health* 17, 123—125, 1979.
- 3 . Ogata, M. and Yamasaki, Y.: High performance liquid chromatography for the quantitative determination of urinary phenylsulfate and phenylglucuronide as indices of benzene and phenol exposure in rats. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 44, 177—184, 1979.
- 4 . Porteus, J.W. and Williams, R.T. Studies in detoxication. *Biochem. J.* 44, 46—55, 1949.
- 5 . Flickinger, C.W.: The benzenediols catechol, resorcinol and hydroquinone a review of the industrial toxicology and current industrial exposure limits. *Ind. Hyg. Assoc. J.* 37, 596—606, 1976.
- 6 . Deichmann, W.B. and Keplinger, M.L.: Phenols and phenolic compounds, In *Industrial Hygiene and Toxicology*. Vol 2 ed. Patty, F.A., Interscience, New York, 1963.
- 7 . Hirosawa, I. Asaeda, G., Arizono, H., Shimbo, S. and Ikeda, M.: Effects of catechol on human subjects. A field survey. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 37, 107—114, 1976.

**Excretion of phenylsulfate and phenylglucuronide
in the urine of rats given phenol**

Yoshio YAMASAKI

Department of Public Health, Okayama University Medical School, Okayama Japan

(Director: Prof. M. Ogata)

The quantity of Phenylsulfate(PhS) and Phenylglucuronide(PhG) excreted by rats after an oral dose of 1m mol/Kg phenol was estimated and the following results were obtained.

- 1. Both PhS and PhG were almost completely excreted within 1 day.**
- 2. The excretory quantity of PhS was greater than that of PhG.**
- 3. High performance liquid chromatography, simplified the determination of PhS and PhG.**