m-Dichlorobenzene 投与ラットの胆汁および尿中含硫抱合体の定量

加藤 善久, 大石 哲久, 木村 良平

Concentration of the Sulfur-containing Metabolites of m-Dichlorobenzene in Rats Bile and Urine

Yoshihisa KATO, Norihisa OHISHI and Ryohei KIMURA

School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka, Shizuoka

Summary: Eleven sulfur-containing conjugates were determined in the bile of rats administered with *m*-DCB. Mercapturic acid conjugate concentration in urine after administration of *m*-DCB to bile duct-cannulated rats was measured.

1. Following administration of *m*-DCB to rats, the main metabolites in the bile were glutathione conjugates. The amount of $H_2 \cdot OH$ -2,4- and $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPGs accounted for about 35% of the administered dose that corresponded to 2/3 of the biliary metabolites. The biliary excretions of $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC, 3,5-DCPGs, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPCG, 2,4-DCPGs, MCPG, 3,5- and 2,4-DCPCs, and 2,4- and 3,5-DCPMs, within 4 days after administration, accounted for 5%, 4%, 3.5%, 3%, 2%, 2%, 1%, 0.1% and 0.04% of the administered dose, respectively. The sum of sulfur-containing metabolites in the bile accounted for 56% of the dose.

2. The amount (about 34% of the dose) of two mercapturic acid conjugates excreted to urine over 48-hr period after the administration of *m*-DCB, markedly decreased to 1/4 (about 8% of the dose) in the bile duct cannulated rats.

3. The metabolic pathway of sulfur-containing metabolites of *m*-DCB in rats was postulated.

Key words: *m*-Dichlorobenzene, Sulfur-containing conjugate, Metabolite, Bile, Rat

緒 言

種々の薬物あるいは化学物質が生体内において代謝反応を受け、メチルチオ化体を生成することが報告されている^{1,2)}。Kimura ら³⁾は、*m*-dichlorobenzene (*m*-DCB) を投与したラットの血液、尿、組織中に、メチルチオ化体の酸化物である、2,4-および 3,5-dichlorophenyl methyl sulfoxides (2,4-および 3,5-DCPSOMes), 2,4-および 3,5-dichlorophenyl methyl sulfones (2,4-および 3,5-DCPSO₂Mes) を見出した。さらにこれら含硫代謝物が、その投与によって微量で強力なラット肝ミクロゾーム薬物代謝酵素の誘導を引き起こすことを明らかにし⁴⁾、*m*-DCB の酵素誘導の作用本体はそのメチルスルホン代謝物であることを報告した^{5,6)}。しかし、これら含硫代謝物の生成機構は、いまだ確定していない。

既に我々は、胆汁中に排泄され、腸内細菌による代謝を受け、メチルチオ化体、さらにメチルスルホン体になる前駆体の存在を予想し、*m*-DCB 投与ラットの胆汁中代謝物として、8 つの dihydrohydroxy ($H_2 \cdot OH$) 抱合

体、7 つの dichlorophenyl 抱合体および 3 つの monochlorophenyl 抱合体を単離し、その化学構造を明らかにした⁷⁾。そこで、本研究においてこれらの含硫抱合体の胆汁中への排泄量を調べ、含硫代謝物、メチルスルホン体の生成機構について考察した。

実験材料および方法

1. 供試化合物および試薬

m-DCB はナカライテスク精製、パナセート 810® (主としてカプリル酸 60%, カプリン酸 38% からなる中級脂肪酸トリグリセライド混合物; パナセート) は日本油脂精製のものを使用した。2,4-および 3,5-dichlorophenyl cysteines (2,4-および 3,5-DCPCs), 2,4-および 3,5-acetyl-S-dichlorophenyl cysteines (2,4-および 3,5-DCPMs) は Parke の方法⁸⁾ に準じて、2,4-および 3,5-dichlorophenyl glutathiones (2,4-および 3,5-DCPGs) は Pabst らの方法⁹⁾ に準じて合成した。trans-3,5-Dichloro-6-(glutathion-S-yl)-cyclohexa-2,4-dien-1-ol (H_2

・OH-2,4-DCPG), *trans*-2,4-dichloro-6-(glutathion-S-yl)-cyclohexa-2,4-dien-1-ol ($H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPG), *trans*-2,4-dichloro-6-(cysteine-S-yl)-cyclohexa-2,4-dien-1-ol ($H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC), *trans*-2,4-dichloro-6-(cysteinylglycin-S-yl)-cyclohexa-2,4-dien-1-ol, ($H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPCG), monochlorophenol glutathion 抱合体 (MCPG)は, Kimura ら⁷⁾により単離されたものを用いた. それらの含硫抱合体の化学構造式を **Fig. 1** に示した.

その他の試薬は全て市販の特級規格品を使用した. 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) に用いた充填剤 Fine SIL C₁₈-5 は日本分光工業株式会社製を用いた.

2. 実験動物

動物は日本エスエルシー株式会社から購入した Wistar 系雄性ラット (体重約 250 g) を用い, 屠殺前約 18 時間水のみを与えて絶食させた. ラット用固形飼料 (オリエンタル酵母工業株式会社製; MF) および飲料水を自由に与え, 室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ で飼育した. ラットの一部分については, 次の前処置 (胆管カニューレ処置) を施したのち実験に供した. ラットを背位に固定し, エーテル麻酔下で正中線に沿って開腹し, 総胆管にポリエチレンチューブ (PE-10; Clay Adams 社製) を挿入した. 手術後, 相本らの方法¹⁰⁾に従ってラットを固定し, 水と餌を自由に摂取できるようにした.

Fig. 1 Chemical structures of sulfur-containing conjugates of *m*-DCB

3. 供試化合物の投与

m-DCB は, パナセートに溶解し 200 mg/kg を腹腔内に投与した. 対照動物にはパナセート 5 ml/kg の割合で腹腔内に投与した.

4. 胆汁および尿の採取

胆汁および尿は, 相本らの方法¹⁰⁾を用いて *m*-DCB 投与後 48 時間まで所定の時間ごとに採取し, 含硫抱合体量の測定まで -20°C で凍結保存した.

5. 胆汁および尿中の含硫抱合体濃度の測定

(1) 胆汁の処理

胆汁 0.5 ml にメタノール 1.0 ml を加えて振盪した後, $1,500 \times g$, 10 分間遠心分離し, その上清を HPLC 用試料とした.

(2) 尿の処理

Kimura らの方法³⁾に従い, 尿を酸性で加熱処理した後, 試料とした. すなわち, 尿 0.5 ml に 50 μl の濃塩酸を加え, 沸騰水中で 5 分間加熱した後, 冷却し, 炭酸水素ナトリウムで中和し, メタノール 1.5 ml を加えて振盪した後, $1,500 \times g$, 10 分間遠心分離し, その上清を HPLC 用試料とした. この処理によりプリメルカプツール酸抱合体をメルカプツール酸抱合体に変化させて^{3,11,12)}定量した.

(3) 高速液体クロマトグラフィー

(1) で調製した胆汁の HPLC 用試料中の $H_2 \cdot OH$ -2,4-DCPG, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPG, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPCG, MCPG の測定は, **Table I** に示す Mobile phase A) の分析条件で行った.

$H_2 \cdot OH$ -2,4-DCPG は 0~4.9 nmol, $H_2 \cdot OH$ -3,5-

Table I HPLC conditions

Instrument	
Chromatograph	JASCO TRIROTAR
Detector	JASCO UVIDEC-100-II
Wave length	257 nm
Column	
Packing material	Fine SIL C ₁₈ -5
Precolumn i.d. and length	4.6 mm $\times$ 50 mm
Column i.d. and length	4.6 mm $\times$ 250 mm
Mobile phase, flow rate and injection volume	A) MeOH-buffer 1 ^{a)} (2 : 1, v/v), 0.8 ml/min, 10 μl B) MeOH-buffer 2 ^{b)} (55 : 45, v/v), 0.8 ml/min, 10 μl C) MeOH-buffer 3 ^{c)} (3 : 1, v/v), 0.8 ml/min, 5 μl

a) buffer 1 : 239 mM SDS in 0.08 M H_3PO_4 .

b) buffer 2 : 30 mM SDS in 0.1 M phosphate buffer, pH 3.0.

c) buffer 3 : 0.03 M H_3PO_4 .

DCPG は 0~2.1 nmol, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC は 0~3.5 nmol, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPCG は 0~3.0 nmol, MCPG は 0~4.5 nmol の範囲で、注入量とピーク高との間に直線関係が得られた。2,4-および 3,5-DCPGs, 2,4-および 3,5-DCPCs, 2,4-および 3,5-DCPMs の測定は **Table I** の Mobile phase B) の分析条件で行った。2,4-および 3,5-DCPGs は 0~5 nmol, 2,4-および 3,5-DCPCs は 0~1.5 nmol, 2,4-DCPM は 0~0.4 nmol, 3,5-DCPM は 0~0.5 nmol の範囲で、注入量とピーク高との間に直線関係が得られた。

(2)で調製した尿の HPLC 用試料中の 2,4-および 3,5-DCPMs の測定は、**Table I** に示す Mobile phase C) の分析条件⁴⁾で行った。2,4-DCPM は 0~8 nmol, 3,5-DCPM は 0~10 nmol の範囲で、注入量とピーク高との間に直線関係が得られた。

なお、対照動物の胆汁 0.1 ml に $H_2 \cdot OH$ -2,4-DCPG 0.076 μ mol, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPG 0.032 μ mol, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC 0.053 μ mol, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPCG 0.044 μ mol, MCPG 0.069 μ mol を添加した時の回収率 (mean $\pm$ S.E. (%), $n=3$) はそれぞれ、101.5 $\pm$ 0.5, 94.9 $\pm$ 0.8, 82.9 $\pm$ 2.4, 92.8 $\pm$ 0.8, 97.7 $\pm$ 2.3 であり、胆汁 0.5 ml に、2,4-および 3,5-DCPGs 各 0.75 μ mol, 2,4-および 3,5-DCPCs 各 0.225 μ mol, 2,4-DCPM 0.061 μ mol, 3,5-DCPM 0.075 μ mol を添加した時の回収率 (mean $\pm$ S.E. (%), $n=3$) は、それぞれ 91.4 $\pm$ 1.3, 91.5 $\pm$ 1.2, 92.7 $\pm$ 1.3, 92.0 $\pm$ 0.6, 96.0 $\pm$ 1.1, 90.8 $\pm$ 1.0 であった。胆汁中濃

度の測定値はそれぞれこれらの値で補正した。

また、対照動物の尿 0.1 ml に、2,4-DCPM 0.64 μ mol, 3,5-DCPM 0.8 μ mol を添加した時の回収率 (mean $\pm$ S.E. (%), $n=3$) は、それぞれ 96.7 $\pm$ 1.9, 96.3 $\pm$ 1.8 であった。尿中濃度の測定値はそれぞれこれらの値で補正した。

結 果

1. *m*-DCB 投与後の含硫抱合体の胆汁中への排泄

m-DCB 腹腔内投与後の 11 種の含硫抱合体の胆汁中排泄量を調べた結果を **Fig. 2** に示す。

m-DCB 投与後 48 時間までに $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPG が最も多く胆汁中に排泄され、その排泄量は投与量の約 28% であった。ついで $H_2 \cdot OH$ -2,4-DCPG の約 8% で、この 2 つの代謝物の排泄量は本実験において測定した含硫抱合体の 2/3 を占めた。以下、各代謝物の 48 時間までの排泄量は投与量に対して $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC が約 5%, 3,5-DCPG が約 4%, $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPCG が約 3.5%, 2,4-DCPG が約 3%, MCPG が約 2%, 3,5-DCPC が約 2%, 2,4-DCPC が約 1%, 2,4-DCPM が約 0.1%, 3,5-DCPM が 0.04% であり、これらの排泄量の総量は約 56% であった。また、これらの代謝物は投与 36-48 時間後にはほぼ排泄が終了した。

Fig. 2 Biliary excretion of sulfur-containing conjugates after administration of *m*-DCB to rats
Rats were given a 200 mg/kg i. p. dose of *m*-DCB and killed at the appropriate times after the administration.
Each point represents the mean $\pm$ S. E. (vertical bars) for 4 animals.

2. 尿中への抱合体の排泄

胆管カニュレーション処置ラットに *m*-DCB を投与し、採尿した。その尿を酸性で加熱処理することにより種々の抱合体をメルカプツール酸抱合体に変化させ、メルカプツール酸抱合体の尿中排泄量を測定した結果を Fig. 3 に示す。

m-DCB 投与後 48 時間までの 2 つの代謝物の排泄量は投与量に対して、2,4-DCPM が約 31%, 3,5-DCPM が約 3% であった。両抱合体の排泄量は胆管カニュレーション処置により著しく減少し、*m*-DCB 投与後 48 時間までの排泄量は 2,4-DCPM が約 7%, 3,5-DCPM が 0.8% になった。2,4-DCPM の排泄量は 3,5-DCPM の排泄量に比較し 9~12 倍多く排泄された。なお、*m*-DCB を投与後、尿中にグルタチオン抱合体、システイン抱合体は排泄されていなかった。

考 察

m-DCB 投与ラットの胆汁中に排泄された代謝物は大部分がグルタチオン抱合体で、2,4-および 3,5-DCPSO₂Mes の前駆体であるジヒドロヒドロキシグルタチオン抱合体 ($H_2 \cdot OH$ -2,4-および $H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPGs) が投与量の約 35%, 胆汁中排泄代謝物の 2/3 を占めた。以下、ジヒドロヒドロキシシステイン抱合体 ($H_2 \cdot OH$ -3,5-DCPC), 2,4-および 3,5-DCPGs, $H_2 \cdot$

Fig. 3 Effect of bile duct cannulation on urinary excretion of mercapturic acid conjugates after the administration of *m*-DCB to rats

The rats, which previously received the bile duct cannulation as described in Methods, were given *m*-DCB (200 mg/kg) i. p. and killed at the appropriate times after the administration. Each point represents the mean $\pm$ S. E. (vertical bars) for 4 animals.

—○—, 2,4-DCPM; —●—, 3,5-DCPM (intact rat);
--○--, 2,4-DCPM; --●--, 3,5-DCPM (bile duct-cannulated rat).

OH-3,5-DCPCG, MCPG, システイン抱合体(2,4-および 3,5-DCPCs), メルカプツール酸抱合体(2,4-および 3,5-DCPMs)の排泄が認められ、その総和は投与量の約 56%に達した。すなわち、投与した *m*-DCB の半分以上がグルタチオン抱合体と一部その分解産物として胆汁中に排泄されていた。ウサギでは主要な代謝物はグルクロン酸抱合体、水酸化体、メルカプツール酸抱合体、硫酸抱合体であると報告されている¹³⁾が、ラットでもグルタチオン抱合体、システイン抱合体、メルカプツール酸抱合体以外の代謝物は水酸化体、硫酸抱合体であると考えられる。

ジヒドロヒドロキシシスチニルグリシン抱合体、ジヒドロヒドロキシシステイン抱合体は、ジヒドロヒドロキシグルタチオン抱合体が腎において代謝を受け肝を経て胆汁中に排泄されたもの、あるいは胆汁内において酵素反応を受け生成したものと考えられる。

Abbott ら¹⁴⁾によると、 γ -glutamyltranspeptidase (γ -GTP)活性は胆汁に 10 U/ml, 脾液に 1000 U/ml 認められ、胆管の十二指腸開口部では胆汁と脾液が混合し、約 100 U/ml の活性を示すと報告されている。また Hirata ら¹⁵⁾は、胆汁中のメチル水銀システイン抱合体が、胆汁中に混入した脾液によりそのグルタチオン抱合体から生成したものであることを示唆している。今回採取した胆汁に脾液の混入の可能性が考えられるため、胆汁内でジヒドロヒドロキシグルタチオン抱合体およびグルタチオン抱合体が脾液由来の γ -GTP, アミノペプチダーゼによりそれらのシステイン抱合体に変化したことは否定できない。しかし、 γ -GTP 活性は脾液のほか小腸粘膜にも認められる¹⁶⁾ことから、胆汁中に排泄されたジヒドロヒドロキシグルタチオン抱合体およびグルタチオン抱合体は小腸に移行して、ジヒドロヒドロキシシステイン抱合体およびシステイン抱合体に代謝されることが考えられる。

酸性で加熱処理をした *m*-DCB 投与ラットの尿中にはグルタチオン抱合体およびシステイン抱合体は検出されず、メルカプツール酸抱合体のみが認められた。*m*-DCB 投与後 48 時間までの 2 つのメルカプツール酸抱合体の尿中排泄量の和(投与量に対して約 34%)は、胆管カニュレーション処置により約 1/4(投与量に対して約 8%)に激減した。このことから、尿中に排泄される種々の抱合体の大部分は、まず、その前駆体として胆汁中に排泄され、腸管から吸収されるという経路をたどることを示しており、メチルスルホン代謝物の生成には、含硫抱合体として前駆体が胆汁中に投与量の半分以上排出されることが、極めて重要であることを意味している。また、胆管カニュレーション処置をしたラットの投与後 48 時間までの尿中メルカプツール酸抱合体排泄量と胆汁中の含硫抱合体の排泄量の和は約 64%であり、

未処置ラットの尿中メルカプツール酸抱合体排泄量約34%に比較して約2倍となった。このことから、胆汁中に排泄された抱合体は最終的に種々の抱合体として尿中に排泄される以外に、糞中に排泄されるか、あるいは腸管内、または腸管から吸収された後に他の代謝物に変換される経路をたどることを示している。

胆管カニュレーション処置ラットに *m*-DCB 投与後の2,4-DCPM の尿中排泄量は3,5-DCPM のその量より多く、胆汁中の2つの異性体の含硫抱合体量の比とは大きく異なっていた。このことは、ジヒドロヒドロキシ抱合体の酸による脱水反応において、チオエーテルの置換基の転移¹⁷⁾が起こったとも考えられる。

既に我々⁶⁾は、 γ -glutamylcysteine synthetase を特異的に阻害することにより肝臓内グルタチオンを枯渇させる DL-buthionine-(S,R)-sulfoximine を前投与したラットに *m*-DCB を投与し、メチルスルホン代謝物の生成には肝臓内グルタチオンが必要であることを示している。また、胆管カニュレーション処置ラットおよび抗生物質前処置ラットに *m*-DCB を投与し、血液、肝臓、腎臓、脂肪組織中2,4-および3,5-DCPSO₂Mes 濃度が著しく低下するか、全く認められなくなることから、メチルスルホン代謝物の生成にはその前駆体の胆汁中への排泄が必須であること、腸内細菌 β -lyase による代謝を含むことを示唆した⁵⁾。また、肝臓および腎臓の105,000×g 上清、あるいは盲腸および大腸内容物の20,000×g 上清を用いた再構成系に2,4-および3,5-DCPCs を添加し、反応を行ったところ、いずれの場合にもチオール誘導体が生成し、その生成量は肝臓および腎臓の105,000×g 上清を酵素源に用いた場合に比較し、盲腸および大腸内容物の20,000×g 上清を酵素源とした時に著しく多いことを報告している¹⁸⁾。さらに、*in vitro* で肝ミクロゾームを用いて DCPSOMe および DCPSO₂Me の生

成について検討し、メチルスルフィド→メチルスルホキシド→メチルスルホンへの変換が認められた⁴⁾。

肝臓でもチオール体が生成する可能性はあるが、肝臓の β -lyase 活性は盲腸および大腸より弱いこと¹⁸⁾から、*m*-DCB のメチルスルホン代謝物の主要な生成経路は、Fig. 4 のようであると推定される。

すなわち、*m*-DCB は肝臓内でグルタチオン抱合を受け、一部はシステイン抱合体となり、それらが胆汁中に排泄され、そのあと腸管内でグルタチオン抱合体は胆汁あるいは小腸上皮の γ -GTP により¹⁶⁾システイン抱合体になり、主に盲腸および大腸内で腸内細菌の β -lyase による代謝を受けチオール体となり、ついで腸管から吸収され、その過程で腸管上皮および肝臓においてメチル化を受け¹⁶⁾、メチルスルフィド体となり、さらに肝臓で cytochrome P450 が関与する酵素群によって酸化されてメチルスルフォキシド体、メチルスルホン体となるものと考えられる。

要 約

m-DCB を投与したラットの胆汁中に排泄される11種の含硫抱合体を定量した。また、胆管カニュレーション処置ラットに *m*-DCB を投与し、メルカプツール酸抱合体の尿中排泄量を測定し、以下の結果を得た。

1. *m*-DCB 投与ラットの胆汁中に排泄された代謝物は大部分がグルタチオン抱合体で、ジヒドロヒドロキシグルタチオン抱合体(H₂·OH-2,4-およびH₂·OH-3,5-DCPGs)は投与量の約35%であり、胆汁中排泄代謝物の2/3を占めた。以下、ジヒドロヒドロキシシステイン抱合体(H₂·OH-3,5-DCPC), 2,4-および3,5-DCPGs, H₂·OH-3,5-DCPCG, MCPG, システイン抱合体(2,4-および3,5-DCPCs), メルカプツール酸抱合体(2,4-および3,5-DCPMs)の排泄が認められ、その総

Fig. 4 Speculative representation of the formation of the sulfur-containing metabolites of *m*-DCB in rats

和は投与量の約56%に達した。

2. *m*-DCB 投与後48時間までの2つのメルカプツール酸抱合体の尿中排泄量の和(投与量に対して約34%)は、胆管カニュレーション処置により約1/4(投与量に対して約8%)に激減した。

3. *m*-DCB のメチルスルホン代謝物の推定生成経路を示した。

文 献

- 1) Tateishi, M.: Methylthiolated metabolites. *Drug Metab. Rev.* **14**: 1207-1234 (1983).
- 2) 立石 満, 富澤宏樹, 市原成泰: メルカプツール酸の新代謝経路-生体内メチルチオ化反応-. 蛋白質 核酸 酵素. **30**: 130-142 (1985).
- 3) Kimura, R., Sano, H., Itagaki, K., Kogure, T., Sato, M., and Murata, T.: Identification of sulfur-containing metabolites of *m*-dichlorobenzene and their disposition and relationship with glutathione in rats. *J. Pharmacobio-Dyn.* **7**: 234-245 (1984).
- 4) Kimura, R., Kawai, M., Kato, Y., Sato, M., Aimoto, T., and Murata, T.: Role of 3,5-dichlorophenyl methyl sulfone, a metabolite of *m*-dichlorobenzene, in the induction of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes by *m*-dichlorobenzene in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **78**: 300-309 (1985).
- 5) Kato, Y., Kogure, T., Sato, M., Murata, T., and Kimura, R.: Evidence that methylsulfonyl metabolites of *m*-dichlorobenzene are causative substances of induction of hepatic microsomal drug-metabolizing enzymes by the parent compound in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **82**: 505-511 (1986).
- 6) Kato, Y., Kogure, T., Sato, M., and Kimura, R.: Contribution of methylsulfonyl metabolites of *m*-dichlorobenzene to the heme metabolic enzyme induction by the parent compound in rat liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **96**: 550-559 (1988).
- 7) Kimura, R., Ohishi, N., Kato, Y., Yamada, S., and Sato, M.: Identification of biliary metabolites of *m*-dichlorobenzene in rats. *Drug Metab. Dispos.* **20**: 161-171 (1992).
- 8) Parke, D. V.: Studies in detoxication. 64. The synthesis of the isomeric dichlorophenylmercapturic acids. *Biochem. J.* **59**: 422-426 (1955).
- 9) Pabst, M. J., Habig, W. H., and Jakoby, W. B.: Glutathione S-transferase A. A novel kinetic mechanism in which the major reaction pathway depends on substrate concentration. *J. Bio. Chem.* **249**: 7140-7150 (1974).
- 10) 相本太刀夫, 伊藤 成, 野崎和子, 原川悦子, 村田敏郎: 新気管支拡張薬ビトルテロールのマウスにおける体内動態. 薬剤学. **37**: 128-134 (1977).
- 11) Gillham, B., and Young, L.: Biochemical studies of toxic agents. The isolation of premercapturic acids from the urine of animals dosed with chlorobenzene and bromobenzene. *Biochem. J.* **109**: 143-147 (1968).
- 12) Boyland, E., and Sims, P.: Metabolism of polycyclic compounds. 12. An acid-labile precursor of 1-naphthylmercapturic acid and naphthol: An *N*-acetyl-S-(1:2-dihydrohydroxynaphthyl)-L-cysteine. *Biochem. J.* **68**: 440-447 (1958).
- 13) U. S. Environmental Protection Agency: *Ambient Water Quality Criteria for Dichlorobenzenes*. EPA440/5-80-039, USEPA, Washington, DC (1980).
- 14) Abbott, W. A., and Meister, A.: Biliary glutathione; Hepatic and pancreatic contributions. *Fed. Proc.* **41**: 1430 (1982).
- 15) Hirata, E., and Takahashi, H.: Degradation of methyl mercury glutathione by the pancreatic enzymes in bile. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **58**: 483-491 (1981).
- 16) Meister, A., and Anderson, M. E.: Glutathione. *Ann. Rev. Biochem.* **52**: 711-760 (1983).
- 17) Jeffery, A. M., and Jerina, D. M.: Novel rearrangements during dehydration of nucleophile adducts of arene oxide. A reappraisal of premercapturic acid structures. *J. Am. Chem. Soc.* **97**: 4427-4428 (1975).
- 18) 溝口真奈美, 加藤善久, 山田静雄, 木村良平: *m*-Dichlorobenzene (DCB) および 1, 2, 4-trichlorobenzene (TCB) のチオール誘導体生成における腸内細菌の関与. 日本薬学会第110年会, 札幌, 講演要旨集 **4**: p156 (1990).