

研究課題名:気管内投与による化学物質の有害作用とくに発癌性の効率的評価手法の開発に関する
研究:迅速化かつ国際化に向けてに関する研究

分担研究課題名:経気管肺内噴霧投与試験物質(7種)のキャラクタリゼーションに関する研究

分担研究者 大西 誠 独立行政法人労働者健康安全機構日本バイオアッセイ研究センター・試験管理部・分析室技術専門役

研究要旨

本研究では、長期吸入暴露試験が実施されたものを含む物質について、吸入試験の代替法として開発された「経気管肺内噴霧投与方法(TIPS法)」を用いてラットに投与し、主要臓器の病変を観察し、評価する事を目的としている。令和2年の研究として、それら投与に用いた7種類の物質について各化学物質の持つ特有の物理化学的及び化学構造の特性を明確にするために、各物質の赤外分光分析を行い、動物に投与した化学物質のキャラクタリゼーションを実施した。赤外分光分析では赤外吸収スペクトルを測定し、各化学物質特有の官能基の吸収ピークから各化学物質の特定を行った。その結果、1,4-ジオキサンでは炭素と酸素からなる環状エーテル構造の伸縮運動のピーク、2-エトキシエチルアセテートでは脂肪族エステル及び脂肪族エーテルの伸縮運動のピーク、*N,N*-ジメチルアセトアミド及び*N,N*-ジメチルホルムアミドではアミド系脂肪族ケトンの伸縮運動のピーク、アセチルアセトンでは脂肪族ケトンの伸縮運動のピーク、グリシドールでは水酸基の伸縮運動を示す吸収ピーク、架橋型アクリル酸ポリマーではカルボキシル基の伸縮運動のピークが認められ、各化学物質はそれぞれの分子構造の特定の官能基の特徴を個々に示していることから、本研究で用いた各化学物質は変性等なく、動物に投与されたことを確認した。

以上のことから、本研究に用いられた7種類の物質(1,4-ジオキサン、2-エトキシエチルアセテート、*N,N*-ジメチルアセトアミド、*N,N*-ジメチルホルムアミド、アセチルアセトン、グリシドール、架橋型アクリル酸ポリマー)のキャラクタリゼーションを行った結果、赤外分光分析により個々の物質特性を示し、吸入試験の代替法として新たに開発された「経気管肺内噴霧投与方法(TIPS法)」を用いて7種類の個々の物質特性は赤外分光分析よりそれらの構造特性と一致した。

A. 研究目的

本研究の目的は、長期吸入暴露試験が実施されたものを含む7種類の物質(1,4-ジオキサン、2-エトキシエチルアセテート、*N,N*-ジメチルアセトアミド、*N,N*-ジメチルホルムアミド、アセチルアセトン、グリシドール、架橋型アクリル酸ポリマー)について、吸

入試験の代替法として開発された「経気管肺内噴霧投与方法(TIPS法)」を用いてラットに投与し、主要臓器の病変を観察することである。

この分担研究では、その投与に用いた7種類の物質について各化学物質の持つ特有の物理化学的及び化学構造の特性を明確にするために、各物質の

赤外分光分析を行い、動物に投与した化学物質のキャラクタリゼーションを実施した。赤外分光分析では赤外吸収スペクトルを測定し、各化学物質特有の官能基の吸収ピークから各化学物質の特定を行った。

B. 研究方法

本研究に用いた各化学物質の持つ特有の物理化学的及び化学構造の特性を明確にするために、各物質の赤外分光分析を行い、動物に投与した化学物質のキャラクタリゼーションを実施した。

測定は下記 7 物質について実施した。

- ・ 1,4-ジオキサン(液体)
- ・ 2-エトキシエチルアセテート(液体)
- ・ *N,N*-ジメチルアセトアミド(液体)
- ・ *N,N*-ジメチルホルムアミド(液体)
- ・ アセチルアセトン(液体)
- ・ グリシドール(液体)
- ・ 架橋型アクリル酸ポリマー(固体)

液体物質に関しては、KBr 液体セル法により、固体物質についてはヌジョール法により試料を作成し、赤外分光分析（梶島津製作所 IR Affinity-1）（図 1）により 4000～400 cm^{-1} (0.00025～0.0025 cm) の範囲で赤外吸収スペクトルを測定し、各化学物質特有の官能基の吸収バンドから各化学物質の特定を行った。

C. 研究結果

図 2 に 1,4-ジオキサンの化学構造式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、波数 1120 cm^{-1} 近辺に、炭素と酸素からなる環状エーテル構造の C—O 伸縮運動のシャープな吸収ピークが認められ、1,4-ジオキサンの構造が確認された。

図 3 に 2-エトキシエチルアセテートの化学構造式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、波数 1750 cm^{-1} 近辺にエステルの C=O 伸縮運動及び 1250 cm^{-1} 、1050 cm^{-1} 近辺にエステルの C—O 吸収ピークが、1130 cm^{-1} 近辺にエーテルの C—O 伸縮運動の強い吸収ピークが認められ、2-エトキシエチルアセテートの構造が確認された。

図 4 に *N,N*-ジメチルアセトアミドの化学構造

式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、1630 cm^{-1} 近辺に、アミドの C=O の伸縮運動を示す吸収ピークが認められ、*N,N*-ジメチルアセトアミドの構造が確認された。

図 5 に *N,N*-ジメチルホルムアミドの化学構造式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、1670 cm^{-1} 近辺に、アミドの C=O の伸縮運動を示す吸収ピークが認められ、*N,N*-ジメチルホルムアミドの構造が確認された。なお、類似構造物質である図 4 で示した *N,N*-ジメチルアセトアミドの 1630 cm^{-1} 近辺のアミド系脂肪族ケトンの伸縮運動のピークは、1 つのメチル基を持たないことから 1670 cm^{-1} 近辺にシフトしたことが考えられた。

図 6 にアセチルアセトンの化学構造式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、1620 cm^{-1} に C=O の伸縮運動の吸収ピークが認められ、アセチルアセトンの構造が確認された。

図 7 にグリシドールの化学構造式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、1040 cm^{-1} に C—O の伸縮運動及び 3100～3700 cm^{-1} 近辺に O—H の伸縮運動を示す吸収ピークが認められ、グリシドールの構造が確認された。

図 8 に架橋型アクリル酸ポリマーの化学構造式と赤外吸収スペクトルを示した。その結果、1740 cm^{-1} 近辺にカルボキシ基の C=O 伸縮運動のブロードな吸収ピーク及び 3000 cm^{-1} 近辺にカルボキシ基の O—H の伸縮運動のブロードなピークが認められ、架橋型アクリル酸ポリマーの構造が確認された。なお、当物質はヌジョール法（流動パラフィン添加）により測定したため、1350 cm^{-1} 、1450 cm^{-1} 及び 2900 cm^{-1} に、流動パラフィンの吸収ピークが認められた。

また、図 2～図 7 の各スペクトルは、国立研究開発法人産業技術総合研 (https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/cre_index.cgi) のスペクトルデータベースと一致した。

D. 考察

今回、キャラクタリゼーションを実施した 7 種類の物質において、それらの構造における赤外吸収と官能基の関係として、1,4-ジオキサンでは環状エーテ

ルの C-O 伸縮運動、2-エトキシエチルアセテートではエステル C=O 及び C-O 伸縮運動、エーテルの C-O 伸縮運動、*N,N*-ジメチルアセトアミド及び *N,N*-ジメチルホルムアミドではアミドの C=O の伸縮運動、アセチルアセトンでは C=O の伸縮運動、グリシドールでは C-O、O-H の伸縮運動、架橋型アクリル酸ポリマーではカルボキシ基の C=O 及び、O-H の伸縮運動が認められた。以上のことから、各化学物質はそれぞれの分子構造の特定の官能基の特徴を個々に示していることから、本研究で用いた各化学物質は変性等なく、動物に投与されたことを確認した。

E. 結論

本研究に用いられた7種類の物質(1,4-ジオキサン、2-エトキシエチルアセテート、*N,N*-ジメチルアセトアミド、*N,N*-ジメチルホルムアミド、アセチルアセトン、グリシドール、架橋型アクリル酸ポリマー)のキャラクタリゼーションを行った結果、赤外分光分析により個々の物質特性を示した。

F. 健康危機情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Saleh DM, Alexander WT, Numano T, Ahmed

OHM, Gunasekaran S, Alexander DB, Abdelgied M, El-Gazzar AM, Takase H, Xu J, Naiki-Ito A, Takahashi S, Hirose A, Ohnishi M, Kanno J, Tsuda H. : Comparative carcinogenicity study of a thick, straight-type and a thin, tangled-type multi-walled carbon nanotube administered by intra-tracheal instillation in the rat. Particle and Fibre Toxicology Vol. 17, 48 (2020)

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特許出願 ;

独立行政法人労働者健康安全機構、大西誠、笠井辰也、鈴木正明: 粒子状物質の浮遊特性測定方法及び浮遊特性測定装置 特許第 6362669 号 特許登録日 : 平成 30 年 7 月 6 日

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし



図 1. 測定に用いた赤外分光光度計（榊島津製作所 IR Affinity-1）

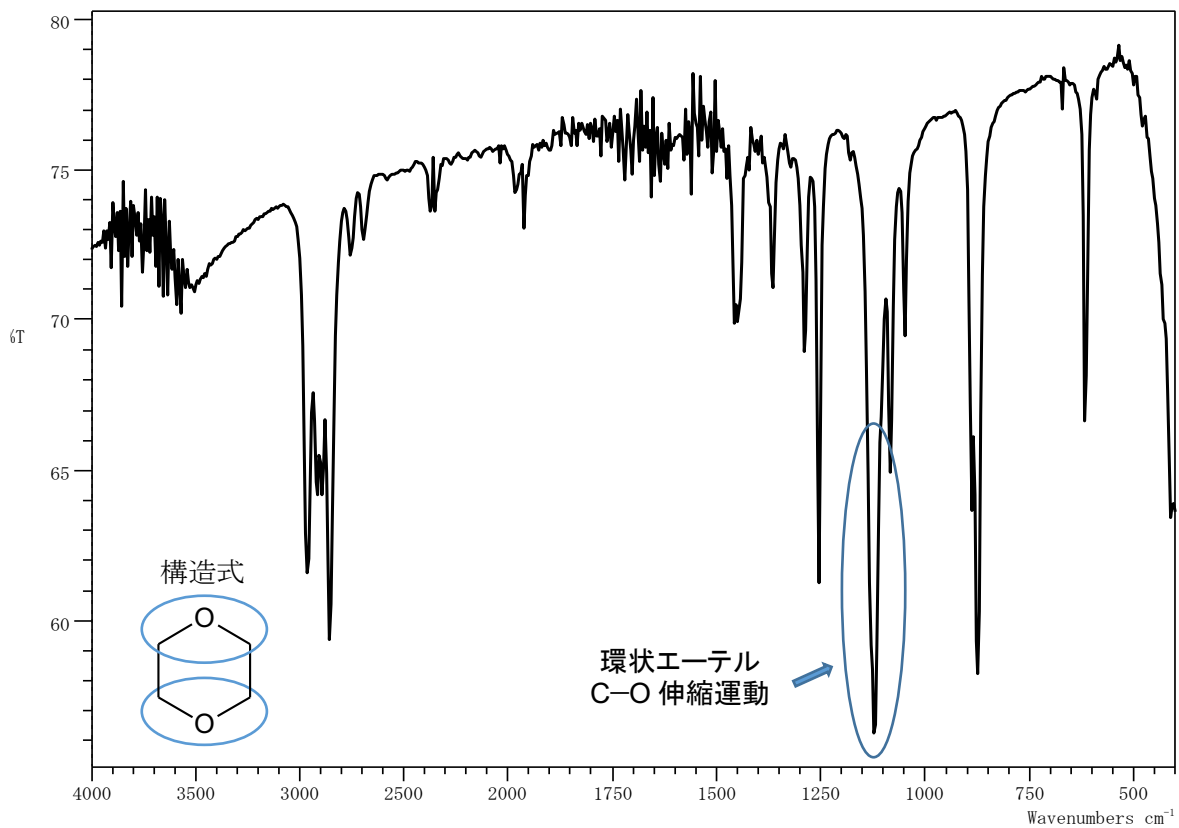


図 2. 1,4-ジオキサンの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動

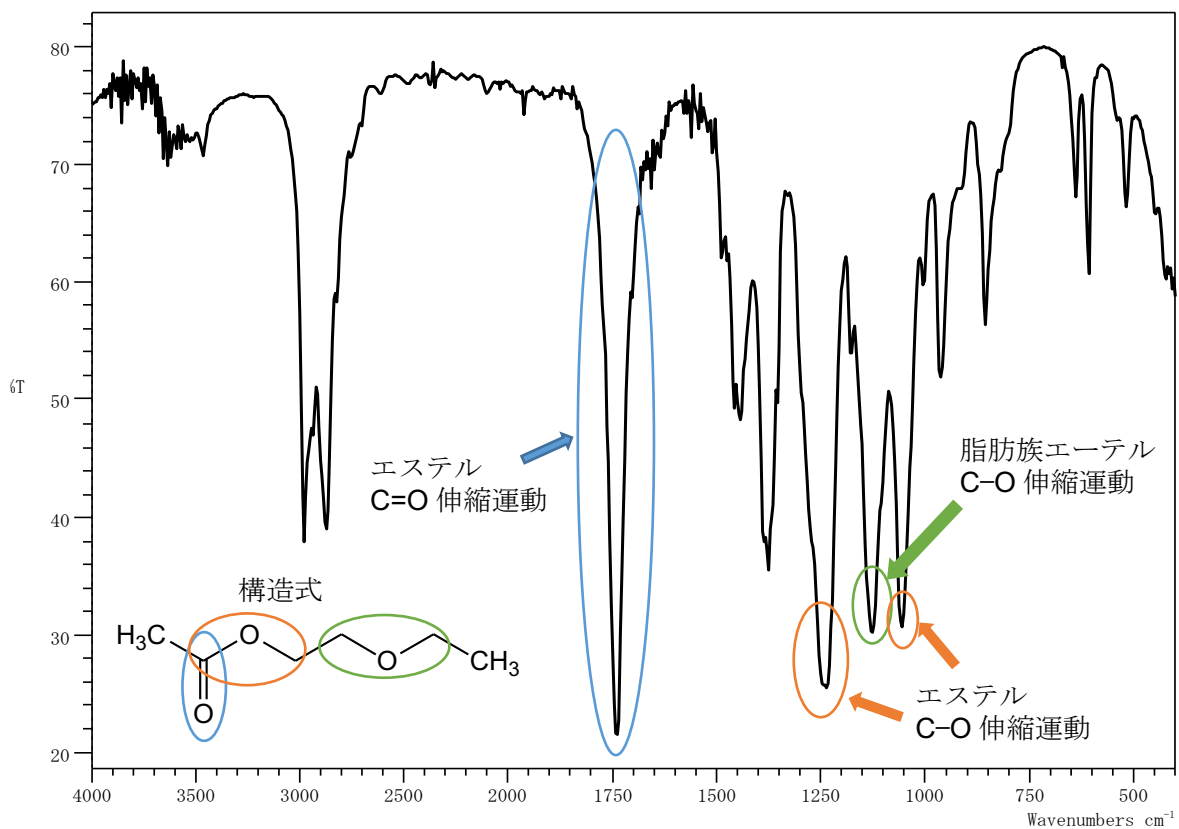


図 3. 2-エトキシエチルアセテートの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動

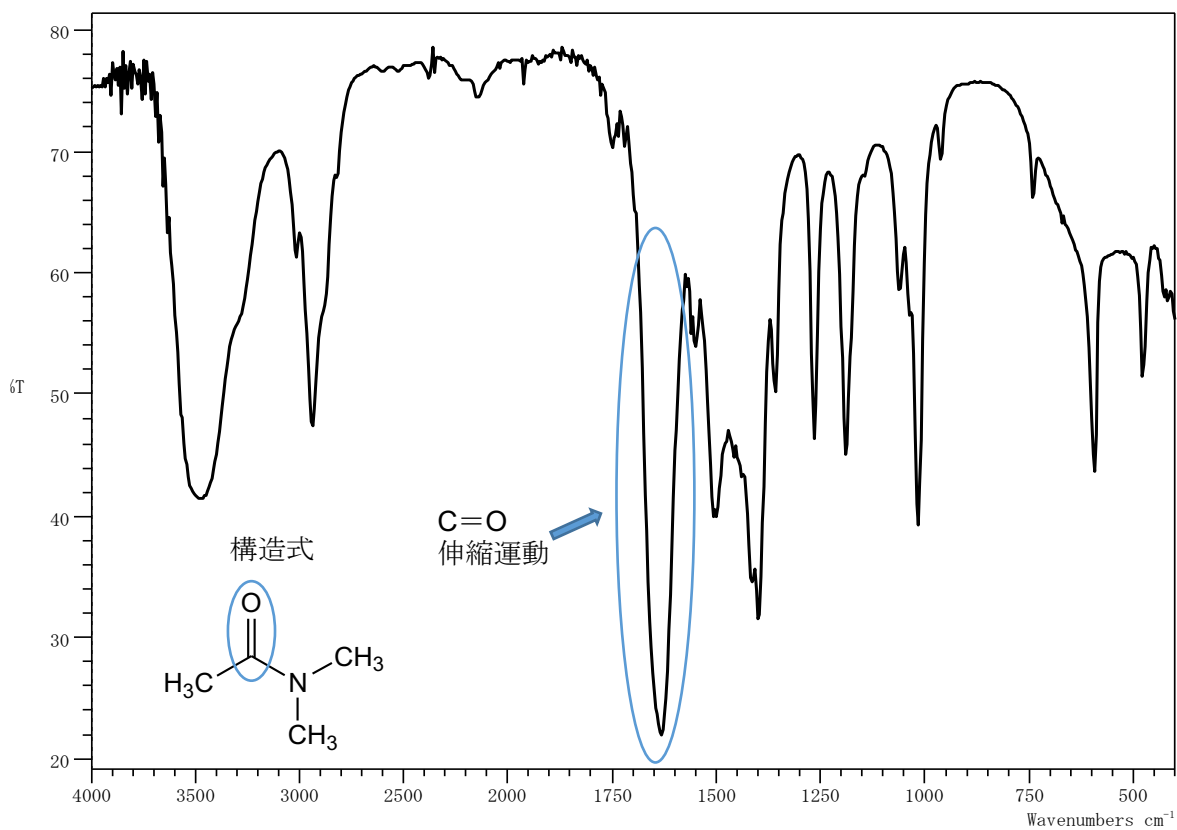


図 4. *N,N*-ジメチルアセトアミドの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動

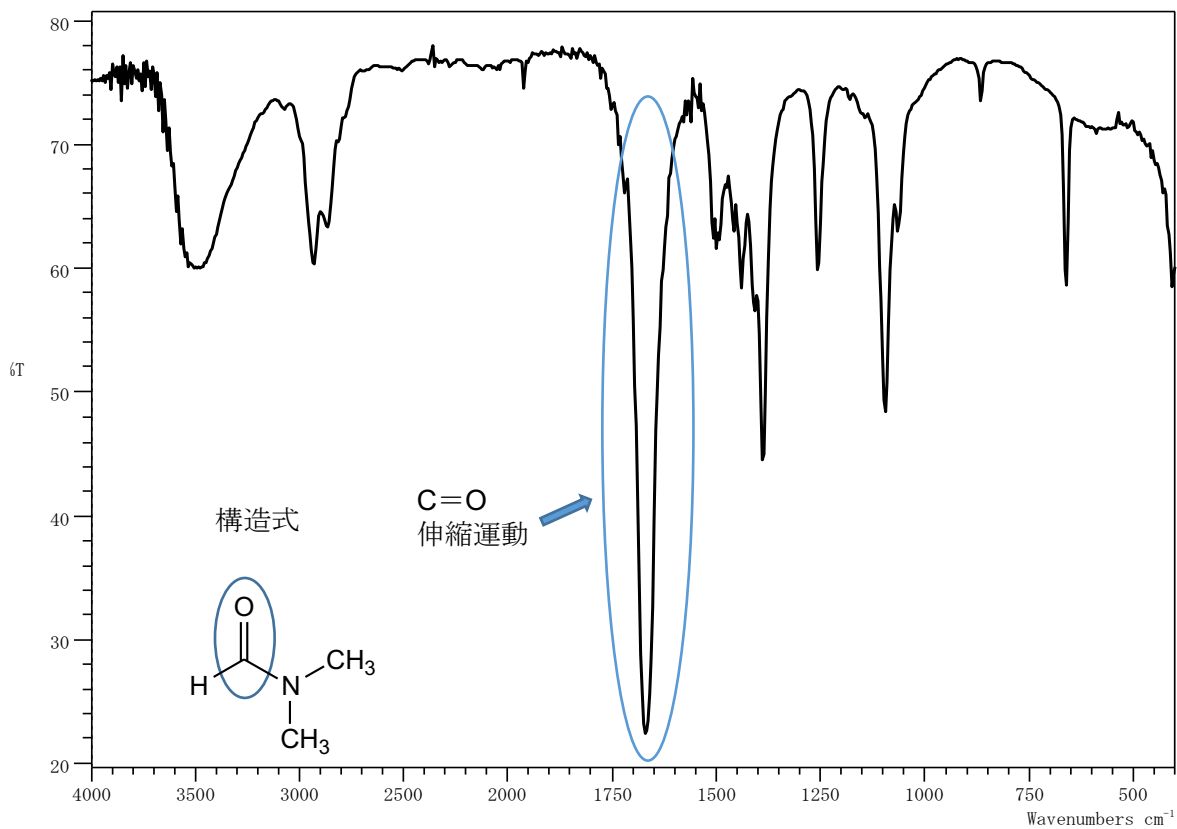


図 5. *N,N*-ジメチルホルムアミドの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動

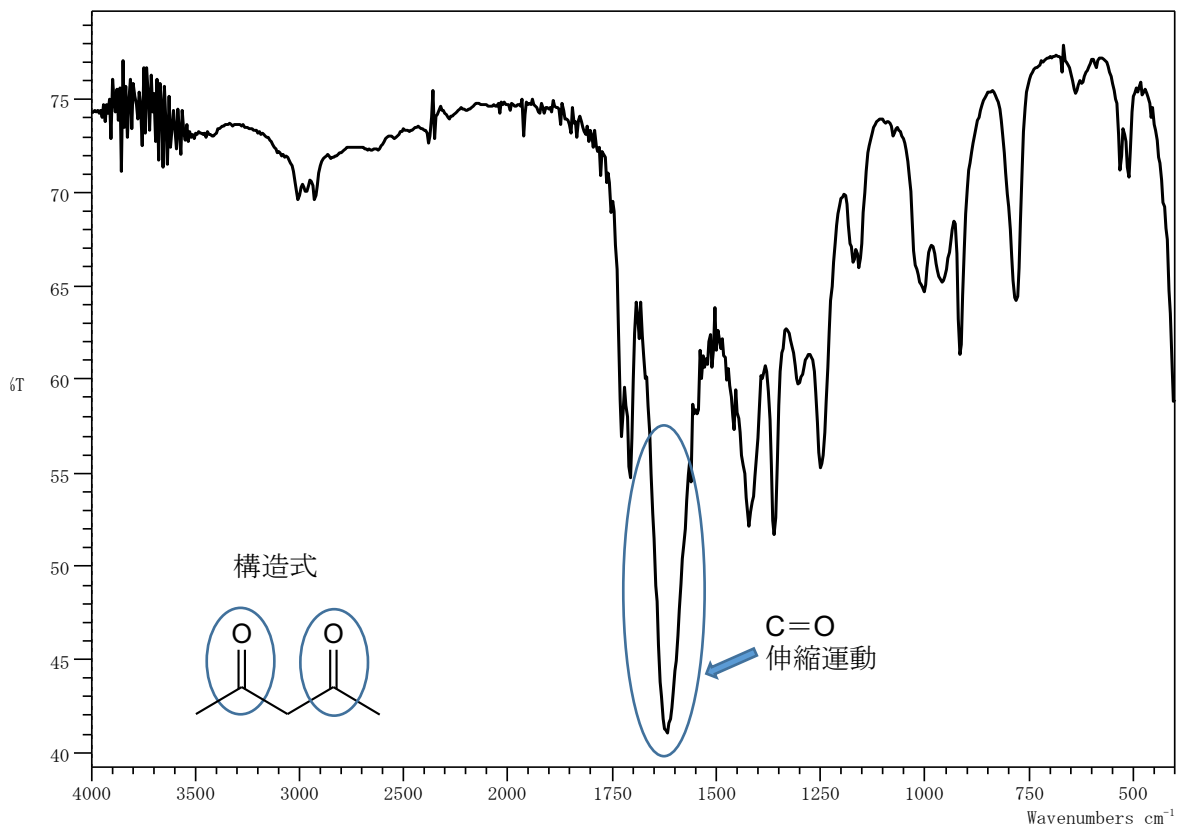


図 6. アセチルアセトンの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動

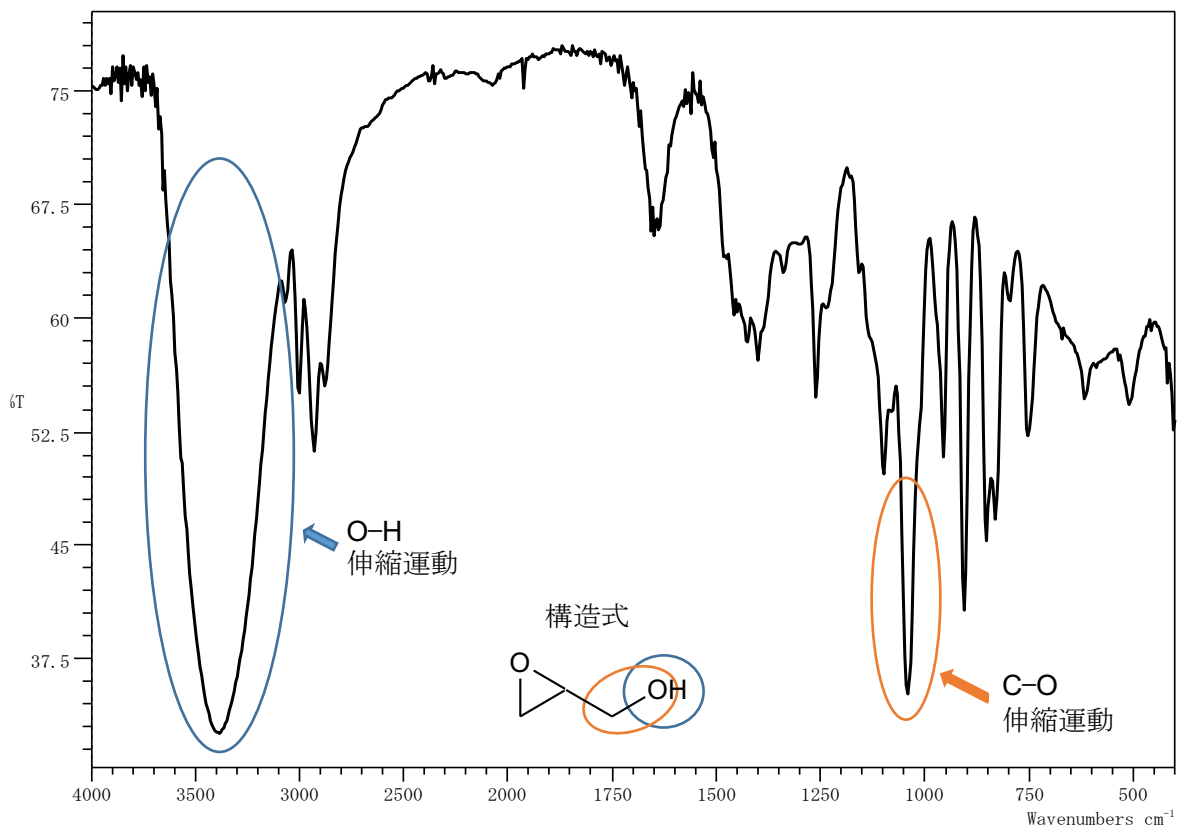


図 7. グリシドールの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動

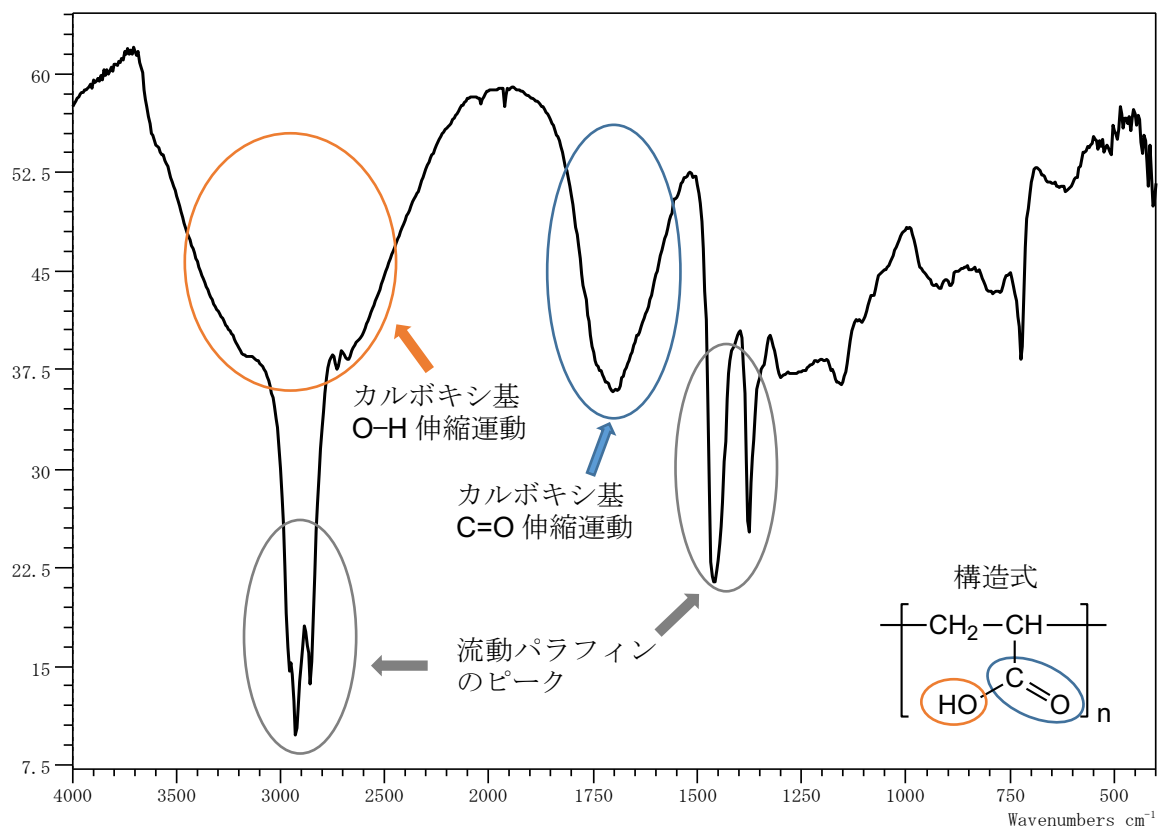


図 8. アクリル酸ポリマーの赤外吸収スペクトル及び構造式・赤外吸収特性運動