

学会賞受賞論文

(奨励賞)

ブラストサイジン S およびメトキシフェノンの
代謝分解に関する研究

山 口 勇

理化学研究所微生物薬理研究室

Studies on the Fate of Blasticidin S and Methoxyphenone
in the Environment

Isamu YAMAGUCHI

*The Fungicide Laboratory, The Institute of Physical and Chemical Research,
Wako, Saitama 351, Japan*

The behavior and metabolism of blasticidin S and methoxyphenone were studied in the model system to evaluate their safety in the environment. ^{14}C -blasticidin S was prepared biosynthetically by the producing organism, *St. griseochromogenes*. Prior to the study on the metabolism of blasticidin S, its site for accumulation was investigated to find that the antibiotic was mostly located on the surface of the rice plant after foliar application. From the wound or infected part, however, blasticidin S was uptaken by the plant and was translocated mainly to the upper part. The compound on the plant surface was decomposed by sunlight and gave rise to cytosine as the main degradation product. In the plant the antibiotic was metabolized gradually, and a small amount of cytomycin and trace of others were produced. A considerable quantity of blasticidin S was supposed to fall on the ground by rainfall besides those fallen when it was sprayed, which was found to be bound firmly onto the soil surface. From ^{14}C -blasticidin S-treated soil significant liberation of $^{14}\text{CO}_2$ was observed, and several microbes usually inhabiting in the paddy field were involved in lowering the biological activity of blasticidin S. Among the microbes, an isolated fungal strain, which was identified as *Asp. terreus*, caused marked inactivation by converting the antibiotic to deaminohydroxy-derivative. The enzyme was isolated and characterized to be a new aminohydrolase. Methoxyphenone was readily metabolized in the treated plants, in soils, and by rats. Products oxidized at 3 or 3'- CH_3 , a 4-desmethyl metabolite, and a reduced one at carbonyl group were identified as metabolites in common by using ^{14}C -methoxyphenone labeled at carbonyl carbon. There were observed some differences in metabolism in each system, e.g., $^{14}\text{CO}_2$ was liberated only from a treated soil. An isolated bacterium (*Bacillus* sp.) capable of degrading methoxyphenone showed a remarkable activity to phosphorylate phenolic OH of the desmethylated metabolite.

は じ め に

農薬をはじめとする種々の生理活性物質による自然環境の汚染あるいは食物連鎖等を通じての人体への影響等が各方面で深く憂慮されるようになって以来、それらの

残留および代謝分解の研究が不可欠となり、多くの研究が精力的に行なわれてきたことは周知のことである。農薬用抗生物質（あるいはその誘導体）は、他の合成薬剤に比べて作用が特異的で有効濃度が低く、また元来が天然物であるために自然環境下で容易に分解される可能性

が高いなど、環境における安全性の面からは利点を備えていると考えられているが、標識化合物の調製や想定代謝物の合成が困難である場合が多く、環境中における代謝分解の観点にたつて上に述べた可能性を実証した研究はきわめて少ない。本研究はこのような現状に鑑み、わが国で開発実用化された最初の本格的抗生物質農薬であるブラストサイジン S¹⁾ と抗生物質アミノマイシン²⁾ が植物の根の伸長を阻害することに着目して開発実用化された除草剤メトキシフェノン^{3,4)} (3,3'-ジメチル-4-メトキシベンゾフェノン) の代謝分解、とくに生物代謝機構を解明することを意図して行なったものである。以下その結果を概説する。

ブラストサイジン S の環境中における挙動と代謝⁵⁾

ブラストサイジン S (以下 Bc S と略) は、イネいもち病に卓越した治療効果を有している⁶⁾ ほか、抗ウイルス作用⁷⁾、抗腫瘍活性⁸⁾ も知られており、そのユニークな性格から、化学構造⁹⁾、作用機作^{10,11)}、あるいは低毒化¹²⁾ など多くの研究がなされている。生合成についても瀬戸および著者らの研究¹³⁾ があり、化学的全合成が困難であるので標識化合物の調製は生合成によって行なった。すなわちシトシン-2-¹⁴C、メチオニン-メチル-¹⁴C を前駆体とし、Bc S 生産菌 *Streptomyces griseochromogenes* を用いて生合成し、Bc S (*cyt) および Bc S (*met) を調製した。これらはそれぞれ Bc S のシトシン核あるいは N-メチル基が特異的に標識されている¹³⁾。

1. イネ体におけるブラストサイジン S の挙動と代謝

乳熟期および IV 葉期のイネに Bc S を散布してその生物活性の変化を種々の条件下で検討したところ、活性の低下率は散布量の少ないほど、また幼苗のほうが著しく、とくに戸外で太陽光に暴した場合に最も顕著であった⁴⁾。これらの結果の原因を究明するために、¹⁴C-Bc S を用いてその浸透移行性を検討した。表 1 は乳熟期イネの茎葉部に均一に ¹⁴C-Bc S (20 ppm) を塗布して一定期日後に採取し、蒸留水 (中性洗剤 0.2% を含む) で軽く水洗した場合の、水洗前後の放射能を比較したものである。水洗によって失われる放射能をもってイネ体表面に存在したもの、残存した放射能を浸透したもの (吸着を含む) として考えると、葉身部における ¹⁴C-Bc S の浸透量は経時的に次第に増加するものの、処理 10 日後においても 80% 以上がイネ体表面に存在し、稈部ではいっそう浸透性の劣ることを示している。次にイネ体での ¹⁴C-Bc S の移行性をラジオオートグラムでみると、図 1 A に示すように、健全な成熟稲では 1 週間以上わたって、処理したいずれの部位からも移行は

Table 1 Uptake of blasticidin S by rice plant after foliar application.

Days after treatment	Control cpm/mg	Washed cpm/mg	Uptake %
0 (leaf)	725	41.1	5.65
1	720	69.7	9.70
3	565	65.0	11.50
5	572	72.0	12.60
10	518	81.5	15.73
5 (stem)	77.5	1.6	2.10

まったく認められなかった。ただ、幼苗、とくにその罹病葉においては、部分的ながら主として上方移行が見られ、また病斑部に沿って集積する傾向が認められた (図 1 B)。さらに浸根処理の場合に顕著な吸収移行がみられることと、成熟稲においても葉身部をカーボランダムあるいは溶剤等で処理した後で ¹⁴C-Bc S を塗布すると若干の移行が認められることから、Bc S のイネ体内移行はその浸透性に支配されていると考えられた。すなわちイネの茎葉部に付着した場合、Bc S は脂溶性がきわめて乏しいために植物体表面を覆っているワックス層に浸透を妨げられるが、外界に接した部位 (気孔、水孔または傷口等) から部分的に浸透し、移行するものと推定された。これらの結果は、Bc S がクチクラ層の未発達の子葉に葉斑を生じることがあることや、ポットテストにおいて、いもち病に対する効果が治療的に優れ、予防的な効果が弱い⁶⁾ こと、また Bc S 散布後に展開した新葉におけるいもち病の発病阻止効果がほとんどないことなどによく符合するものである。

イネ体内における代謝は、浸根処理した V 葉期イネの茎葉部より抽出される代謝物を、セファデックス、イオン交換樹脂を用いて夾雑物を除去した後に、*tlc*-ラジオオートグラムにより分析した結果、水耕 5 日後においてもそのほとんどが Bc S のままであり、サイトマイシン⁹⁾ (脱アミノ体) が 4.8%、デアミノヒドロキシブラストサイジン S¹⁴⁾ と考えられる代謝物が痕跡程度生成するにすぎなかった。ただセファデックスによるゲル濾過において、かなりの放射能が高分子分画に溶出され、この挙動は Bc S が植物体成分に組み込まれている可能性を示唆した。

2. イネ体上におけるブラストサイジン S の光分解

総体的にみると、イネ体に付着した Bc S の大部分が長期間イネ体表面に存在すると考えられたので、イネ葉上における光分解を検討したところ、Bc S は太陽光による分解を受けることが判明し、しかもその分解物はガ

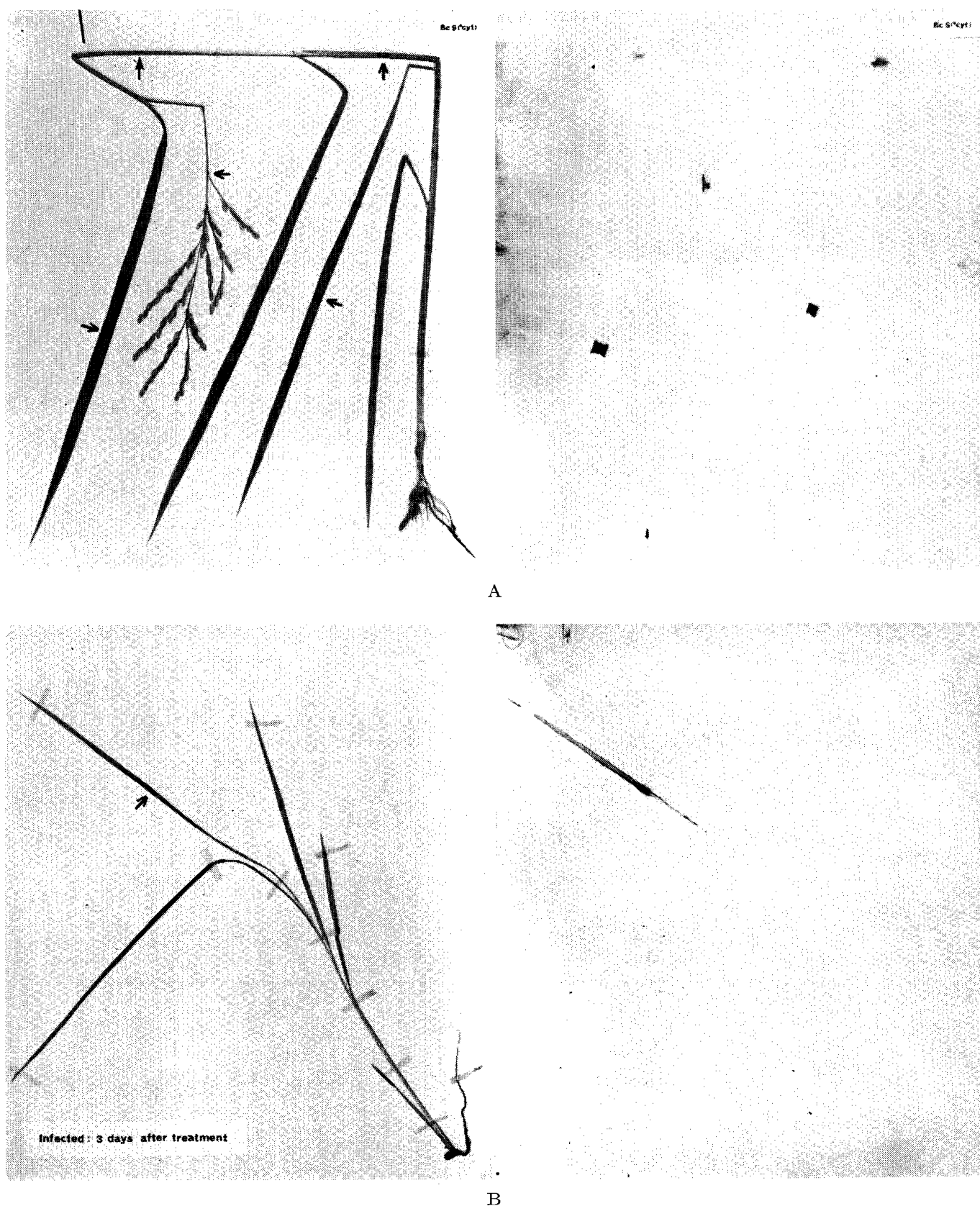


Fig. 1 Translocation of blasticidin S in the rice plant.

A; The radioautogram (right) was prepared one week after application of ^{14}C -blaticidin S on the plant (left) at milk-ripe stage.

B; ^{14}C -blaticidin S was treated on the IV leaf stage plant (left) 40 hr after infection. The radioautogram (right) was prepared 3 days later.

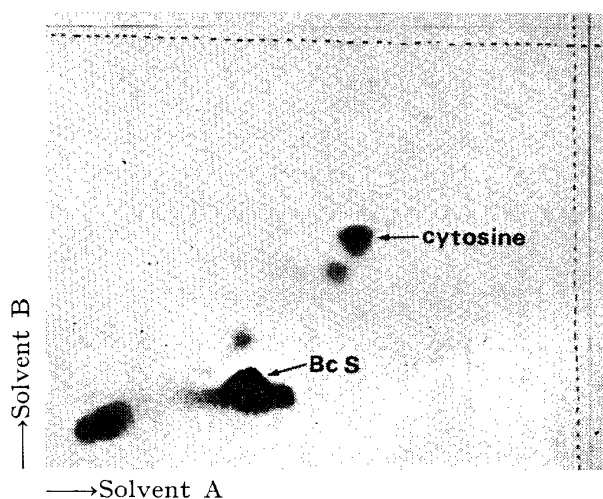


Fig. 2 Thin layer chromatogram of photo-degradation products of blasticidin S.

Solvent A; chloroform: methanol: 17% NH_4OH (2 : 2 : 1).

Solvent B; 1-butanol: acetic acid : H_2O (2 : 1 : 1).

ラス板上に塗布した場合に見いだされるものと同様であった (図 2). イネ葉上における ^{14}C -Bc S の半減期は約 10 日 (8 月下旬, 晴天下) で, 抗菌活性の低下率とほぼ見合うところから, イネ体に付着した Bc S は生体的化学変化よりも光化学作用を受けて分解するものと考えられた. その主要代謝物は, Bc S(*cyt) から得られ, シトシンと完全に一致した. またそれ以外にはサイトマイシンのほか, SC_{13} ⁹⁾, デアミノヒドロキシプラストサイジン $\text{S}^{14)}$ と R_f が一致するものが少量生成した. さらに標識していない Bc S をガラス板上に薄膜状にして太陽光に暴した試料から, セルロース-カラムクロマトによりシトシンおよびサイトマイシンを結晶として得るこ

とができた. このシトシンの生成は, 紫外線照射によりいっそう効率よく起こることから, 太陽光中の紫外線によるものであり, Bc S が 270 nm 近辺に強い UV 吸収を有していることと糖部分に不飽和結合のあることが, 光分解によるシトシンラジカルの生成を容易にしているものと考えられた. しかしポリエン系抗生物質のように, より長波長紫外部に強い UV 吸収をもつ物質と異なり, 太陽光 (290 nm 以下の波長の光は地上に到達しない¹⁵⁾) による Bc S の分解は, それほど速やかなものでなく, 徐々に進行した.

3. 土壌中におけるプラストサイジン S の代謝分解

イネ体に付着した Bc S の大部分が水洗により容易に失われることから, 雨露による流亡と散布時に地上に落下するものと合わせて考慮すると, 土壌が環境中において Bc S の最も集積・残留する場と考えられ, 土壌中での動向がとくに注目された.

種々の土壌をつめた土壌カラムに ^{14}C -Bc S を添加し, 200 mm 以上の降雨量に相当する蒸留水を流したところ, 表 2 に示したように, Bc S はいずれの土壌の場合も土壌カラム中でほとんど移動せず, その表層に留ることが明らかとなった. 土壌からの ^{14}C -Bc S の回収も容易でなく, 高濃度の無標識 Bc S を添加後, アルカリ性アセトン水で強引に溶出しなければならなかったことから, Bc S は土壌表層に強く吸着され, 流下してイネの根圏にまで到達する可能性の小さいこと, したがって根からの吸収移行の起こりえないことを示唆した. 事実, 浸根処理による Bc S の吸収移行が良好であるにもかかわらず, 根部施与によるポットテストでは, Bc S はいもち病防除効果を示さない¹⁶⁾. このことはカスガイシンの根部施与でイネ全身によく移行¹⁷⁾することと対照的

Table 2 Binding of blasticidin S by soil.

No.	Soil sp.				
	KT 1-1 cpm (%)	No 1-1 cpm (%)	M 9-1 cpm (%)	US 8-1 cpm (%)	K 36-1 cpm (%)
1	3,847 (93.9)	3,530 (97.7)	4,612 (97.9)	4,510 (96.3)	3,789 (95.2)
2	59 (1.4)	22 (0.6)	49 (1.0)	61 (1.3)	67 (1.6)
3	64 (1.6)	5 (0.2)	17 (0.4)	30 (0.6)	57 (1.4)
4	36 (0.9)	10 (0.3)	11 (0.2)	25 (0.5)	16 (0.4)
5	33 (0.8)	0 (0)	9 (0.2)	7 (0.1)	7 (0.2)
6	12 (0.3)	7 (0.2)	7 (0.1)	5 (0.1)	10 (0.2)
7	6 (0.2)	2 (0.1)	2 (0)	3 (0.1)	5 (0.1)
8	17 (0.4)	7 (0.2)	0 (0)	13 (0.3)	7 (0.2)
9	6 (0.2)	10 (0.3)	1 (0)	1 (0)	6 (0.2)
10	0 (0)	5 (0.2)	1 (0)	14 (0.3)	11 (0.3)
E	17 (0.4)	5 (0.2)	3 (0.1)	15 (0.3)	3 (0.1)

Table 3 Distribution of radioactivity in the system of soil perfusion.

^{14}C -Bc S	Perfusate dpm (%)	Soil extract dpm (%)	Soil residue dpm (%)
Bc S (*cyt)	3.79×10^3 (0.18)	2.18×10^4 (1.05)	3.63×10^5 (17.5)
Bc S (*met)	1.07×10^3 (0.04)	3.23×10^4 (1.27)	6.56×10^5 (25.9)

^{14}C -Bc S added: Bc S (*cyt); 2.07×10^6 dpm, Bc S (*met); 2.54×10^6 dpm. Soil perfusion: 30 days at 30°C.

である。

上述したように、土壌表層に吸着された Bc S は通常の条件下では水によって溶出されることはないと考えられるが、土壌中で代謝分解を受けて溶出・流下しやすい代謝物を生じる可能性がある。このような土壌中における物質変化の追跡のための有力な手段として還流技法¹⁸⁾があるが、土壌還流による Bc S の代謝をみてみると、表 3 に示すように 30 日後においても還流液中に見いだされる放射能はきわめてわずかであった。また土壌抽出液中の放射能も少量 (1~2%) であったことから、Bc S は土壌中で代謝されないか、あるいは代謝物も土壌に吸着されやすいものと考えられた。したがって添加した放射能のほとんどが土壌中に残留していると予想されたが、還流後の土壌には、Bc S (*cyt) 処理の場合 17.5%、Bc S (*met) の場合 25.9% の放射能しか残存せず、75~80% が消失することが認められた。一方、 ^{14}C -Bc S を処理した土壌から生成する気体成分中の放射能はトルエンに吸収されず、エタノールアミンに選択的にトラップされ、水酸化バリウムと反応させると定量的に $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ を与えることから $^{14}\text{CO}_2$ であることが判明した。この $^{14}\text{CO}_2$ の生成は Bc S (*cyt)、Bc S (*met) のいずれか

らも認められたが、N-メチル基の酸化的脱炭酸よりもむしろシトシン核の開裂が優先的に起こっている傾向を示した。また、系をより好氣的条件下におくことによって顕著にその生成が促進されることが認められた (図 3)。さらに土壌還流において空気の代りに窒素ガスを通気すると $^{14}\text{CO}_2$ の生成が停止することから、土壌中の好氣的生物、とくに土壌中における物質代謝の主要な担い手である微生物の関与が考えられた。ただ ^{14}C -Bc S から $^{14}\text{CO}_2$ の生成に至るまでの中間代謝物は、還流液中にも抽出液にも見いだされず、このことは存在を予想される代謝物も Bc S と同様に土壌に吸着されやすく、むしろそのことによって $^{14}\text{CO}_2$ の生成に至る分解が効率よく起こることを示唆するものと考えられた。

4. 微生物によるブラストサイジン S の代謝

Bc S 代謝能を有する微生物を、水田土壌から分離した微生物および既知微生物保存株中より検索したところ、Bc S の抗菌活性を低下させることのできる数種の微生物が見いだされた (表 4)。しかし、それらはいずれも単独で ^{14}C -Bc S から $^{14}\text{CO}_2$ を生成したり、Bc S を資化することはなく、*Ps. marginalis* と *F. oxysporum* がサイトマイシンを少量生成するにすぎなかった。た

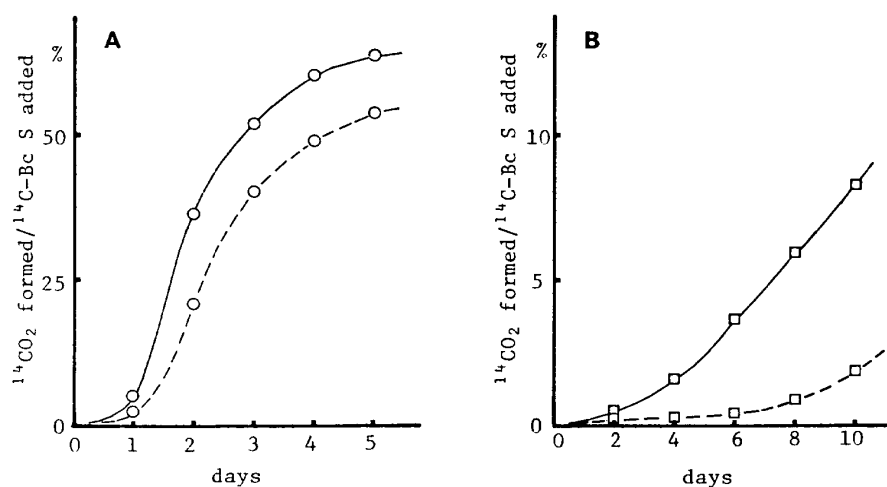


Fig. 3 Liberation of $^{14}\text{CO}_2$ from paddy soil treated with ^{14}C -blasticidin S.

Solid and dotted lines represent $^{14}\text{CO}_2$ liberation from Bc S (*cyt) and Bc S (*met), respectively.

A: Shaking conditions, B: Stationary conditions.

Table 4 Microbial degradation of blasticidin S.

No.	Organisms	Residual activity
0	Control	1,000 $\mu\text{g/ml}$
1	<i>Pseudomonas marginalis</i>	530
2	<i>Ps. ovalis</i> 1002	598
3	<i>Ps. aeruginosa</i>	698
4	<i>Bacterium</i> from soil (1)	690
5	" (2)	700
6	" (3)	720
7	<i>Fusarium oxysporum</i>	650
8	<i>Phytophythora parasitica</i>	690
9	Fungus from soil (1)	50
10	" (2)	630

だ、土壌から単離された糸状菌 (No. 9) は顕著な Bc S の活性低下能を示し、その代謝能は土壌中で分解される過程の様式を示すものと考えられた。同菌による Bc S の主要代謝物は、デアミノヒドロキシプラストサイジン S¹⁴⁾ と同定され、その洗浄菌体を用いてもきわめて効率よく同代謝物を生成した (図 4)。このことは同菌が特殊なスクレオンドである Bc S の核酸塩基変換能 (シトシン核 $\rightarrow$ ウラシル核) を有することを意味した。この微生物は、その菌学的性質から *Aspergillus terreus* に属するものと同定され、Bc S 変換活性を精製純化¹⁹⁾

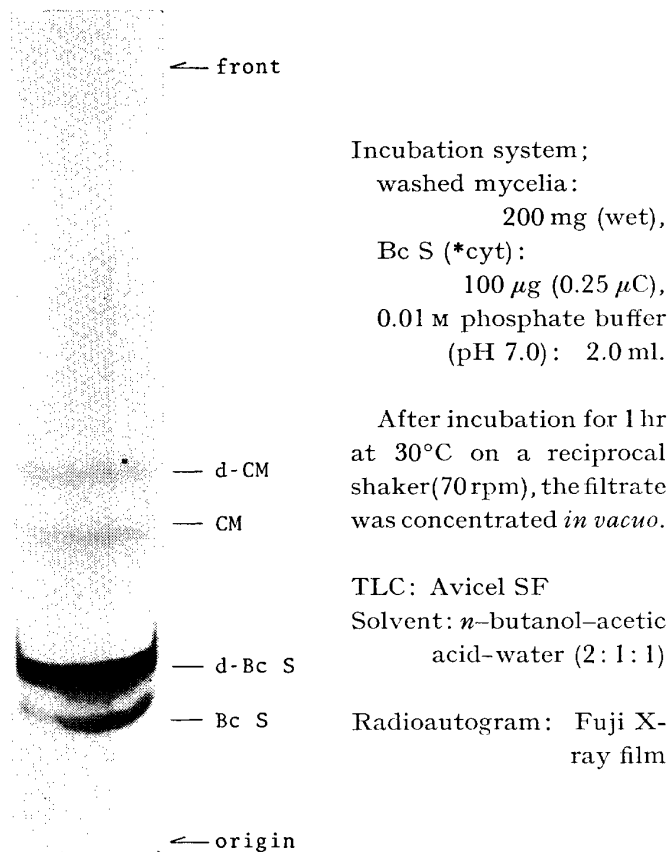


Fig. 4 TLC radioautogram of metabolites of Bc S by a microbe.

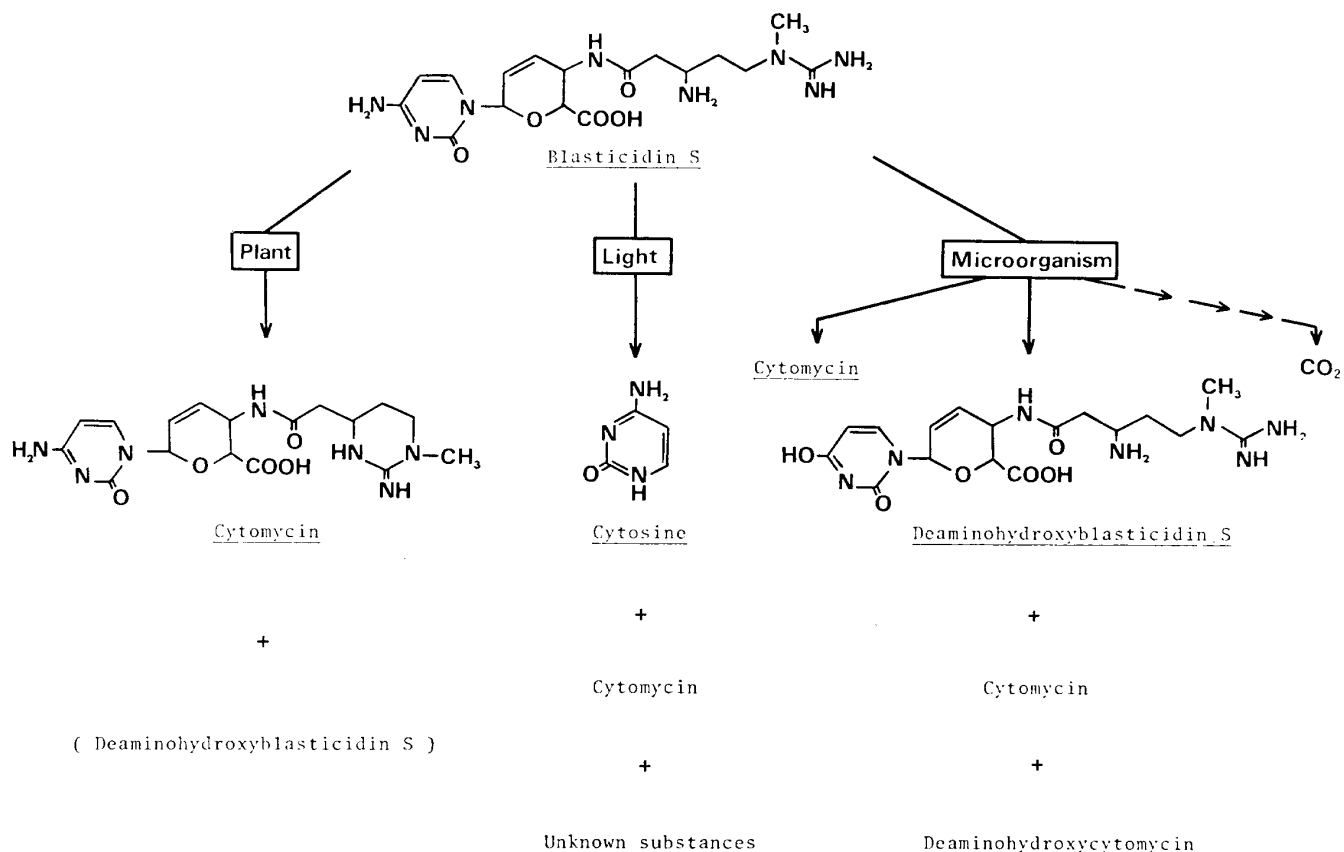


Fig. 5 Proposed degradation pathway of blasticidin S in the environment.

の後、酵素化学的諸性質、基質特異性等の検討の結果、シチジンデアミナーゼに類似した、しかし明瞭にそれと識別される新奇な酵素 (Blasticidin S-deaminase: EC 3.5.4.23) であることが明らかとなった。本酵素は特殊なヌクレオシドにのみ作用する点で興味深い、その生理的意義等についてはまだ不明である。

以上述べてきた Bc S の環境中における挙動と代謝についての考察から、その代謝分解系路を図 5 のように想定した。一般に圃場に散布施与された薬剤は、植物体に浸透移行して生体内代謝を受ける可能性のほか、太陽光による分解、高温・風による揮散消失、雨露による流亡、土壤中での分解等多くの要因による影響を受けるが、これら要因のそれぞれは物質のおかれている状態(場)に対応して影響の度合が当然異なるはずのものである。Bc S は、イネ体表面、およびとくに土壌表層に集積すると考えられ、前者においては光分解を受けて主分解物としてシトシンを生じ、また後者において顕著な炭酸ガスの生成に至ることが示された。土壌微生物による Bc S の代謝物(デアミノヒドロキシプラスサイジン S, サイトマイシン)は抗菌活性がほとんど認められず、土壌中においてもいったんこのような毒性のない物質に変換された後に他の微生物との連関によってさらに代謝・分解されることが考えられる。

Bc S のイネにおける浸透移行性および生体内代謝がいずれも顕著でないことから、残留しやすいと想定される条件下(乳熟期イネの穂部に 20 ppm ^{14}C -Bc S を十分量散布し、温室内で登熟に至らしめた)で、米粒中に残留する全放射能を Bc S と仮定し、その残留・分布をみたものが表 5 である。この表から明らかなように散布した ^{14}C -Bc S の 99% 以上がモミガラ部に存在し、玄米には 0.02~0.04 ppm 残留するにすぎない。また玄米を精白あるいは水洗することによって残留量はさらに 1/5~1/6 に減少することから、その大部分は糠部に存在していたと推定される。したがって本抗生物質は、物質代謝の観点からみて環境中に残留する可能性が小さく、

玄米中における残留もきわめて微量であることから、安全性の高い農薬であると推察された。

メトキシフェノンの代謝分解

メトキシフェノン (3,3'-ジメチル-4-メトキシベンゾフェノン) は初めに述べたように抗生物質アニソマイシンがヒエやメヒシバ等の幼根の伸長を阻害することに注目して、誘導体の構造活性相関の検討や圃場試験の結果から、除草剤として適用可能なものとして選択された化合物であるが、その特徴はイネに対して安全で、水田雑草、とくにタイヌビエに対して白化を伴う殺草効果の高いことである。その選択殺草性の要因として、薬剤の吸収速度と吸収量、および移行性の差が挙げられ、また第一次作用点と考えられるカロテノイド生合成における感受性の差が認められている^{20,21)}。

1. イネ体におけるメトキシフェノンの残留と代謝²²⁾

メトキシフェノンは圃場において雑草発芽前の土壌処理剤として用いると選択性が高まり、より効果的であるとされている²³⁾。そこで、V 葉期のイネを移植して 5 日目のワグネルポットに、カルボニル位を標識した ^{14}C -メトキシフェノン²⁴⁾を湛水処理し、登熟後にイネ体および土壌中の放射能分布を調べた(表 6)。この表で明かなように、イネ体に残留する放射能は少量で、その大部分は根部・茎葉部に存在し、とくに玄米およびモミガラ中の放射能は微量であった。しかもそのほとんどは溶剤抽出されない形で残留し、未変化のメトキシフェノンはまったく検出されなかった。また幼苗を用いて短期間におけるメトキシフェノンの代謝をみると、アセトン-クロロホルム可溶性物質の速やかな減少に伴い不溶性残渣が増加することが認められた。アセトン-クロロホルム層中の主要代謝物はカルボニル基の還元体(3,3'-ジメチル-4-メトキシベンズヒドロール)で、他に 3 位または 3' 位メチル基の酸化体が 4 種、および 4 位の脱メチル体がいずれも少量検出された(図 6; P)。

Table 5 Distribution of residual radioactivity in rice grains.

Spray	Bc S (*met)		Bc S (*cyt)	
	dpm/mg	ppm	dpm/mg	ppm
Unhulled rice	125.4	2.84	135.9	4.54
Hulled rice	1.05	0.024	1.10	0.036
Polished rice	0.19	0.004	—	—
Chaffs	679.9	15.39	711.6	23.75
Washed chaffs	184.3	4.17	—	—
Hulled rice/chaffs (w/w)	5.14		4.87	

2. 土壌中におけるメトキシフェノンの代謝分解²⁵⁾

表6に示したように、¹⁴C-メトキシフェノンを湛水処理した場合、長期間(130日)の後にも土壌中にかなりの放射能(47.9%)が存在する。したがって土壌中における命運がとくに重要視されたので、水田土壌における挙動を2種類の土壌(鴻巣土壌: 洪積土壌, 水戸土壌: 火山灰土壌)を用いて検討したところ、いずれの土壌においてもメトキシフェンは速やかに消失した(半減期; 約10日)。代謝物としてイネにおける場合と同様に、カルボニル位の還元生成物(M1), 3'位メチル基の酸化体(M3, M5), 3位メチルの酸化体(M7)が検出されたが、主要代謝物は4位の脱メチル体(M2: 3,3'-ジメチル-4-ヒドロキシベンゾフェノン)であった(表7)。同代謝物は処理2週間後には鴻巣土壌で70%, 水

戸土壌で43%に達した。その後とくに鴻巣土壌では脱メチル体の減少とともに著しい¹⁴CO₂の生成が認められたが、脱メチル体そのものを鴻巣土壌に処理した場合にもメトキシフェンとまったく同様に、しかもlagのない¹⁴CO₂の生成が認められたので、この¹⁴CO₂の生成、すなわちベンゾフェノン骨格の崩壊は脱メチル体を経て起こると推察された。一方、水戸土壌では、¹⁴CO₂の生成はわずかで、メタノール抽出残渣のアルカリ性アセトン溶出分画(表7; **)の大半も脱メチル体であることから、6週間後でも処理したメトキシフェノンの約50%に当たる放射能が脱メチル体として残留していることが認められた。

次にメトキシフェン代謝能を有する微生物を鴻巣土壌より検索したところ、単離された微生物のうち *Bacil-*

Table 6 Distribution of radiocarbons in rice plants.

	Weight (g)	Recovery (%)				Conc. (ppm) Methoxyphenone	
		Acetone-chloroform	Water soluble	Un-extracted	Total	Equiv.	Recovered
Root	40.0	1.08	0.71	3.08	4.87	9.73	1.26
Shoot & Leaf	98.0	0.86	0.07	2.93	3.86	3.15	0.15
Hull	5.0	0.001	0.001	0.010	0.012	0.19	0
Hulled rice	23.0	0.002	0.001	0.033	0.036	0.13	0
Soil	2,740.0	26.85	0.15	20.87	47.87	1.39	0.58

¹⁴C-Methoxyphenone was treated 5 days after transplanting (submerged application).

The plants were kept in the green house for 130 days and harvested.

Table 7 Metabolism of ¹⁴C-Methoxyphenone in paddy soils under flooded conditions.

Soil	Weeks	Distribution of radiocarbon (%)						
		Methanol extracts				Un-extracted	¹⁴ CO ₂	Total
		Methoxy-phenone	M-1	M-2	Others			
Konosu	1	85.6	2.9	9.6	0.4	2.8	0.5	101.8
	2	13.1	2.4	70.8	5.0*	4.8	4.2	100.3
	4	1.0	t	43.2	6.1	6.1	45.2	100.6
	6	0.9	t	25.5	2.0	15.3**	55.0	98.7
Mito	1	65.9	5.6	4.4	7.4	14.1	t	97.4
	2	16.5	6.6	43.0	5.6*	25.4	0.2	97.3
	4	5.2	t	47.6	5.3	25.9	0.4	84.4
	6	1.8	t	43.1	10.8	30.8**	0.7	87.2

*

Soil	M-3	M-5	M-7	Unknown
Konosu	1.8	0.3	0.1	2.8
Mito	1.5	0.4	0.4	3.3

**

Soil	Alkaline extract	Identified as M-2
Konosu	10.1	6.8
Mito	26.8	18.0

lus に属する一細菌が著しい活性を示し、還元体 (M 1) 以外は水田土壌中の生成物と共通の代謝物を与えた²⁵⁾. とくに本菌は、土壌中の主要代謝物である 3,3'-ジメチル-4-ヒドロキシベンゾフェノン (脱メチル体) の水酸基をリン酸化して水溶性代謝物、O-[2-メチル-4-(3'-メチルベンゾイル) フェニル] フォスフェートを生成することが見いだされた²⁶⁾. このようなフェノール性水酸基の微生物によるリン酸化は初めての知見と思われ、興味深い反応であるが、詳細についてはまだ検討中である.

3. メトキシフェノンの動物における代謝²⁴⁾

すでに述べたように、メトキシフェノンが玄米中に残留する可能性はほとんどないといえるが、経口投与による動物代謝を調べることは安全性評価の上から重要な課題であるので、ラットを用いて吸収排泄、組織内濃度および代謝物等について検討した. その結果、投与した ¹⁴C-メトキシフェノン (500 mg/kg) の約半量はそのまゝの形で糞中に排泄され、また吸収された放射能は急速に

各組織に分布するが、体外への排泄も速やかで特定臓器への貯留はなく、投与 4 日後にはほぼ全放射能 (>99%) が糞尿中に見いだされた. このことはメトキシフェノンの低毒性 (経口亜急性毒性 >4,000 mg/kg) とあいまって体内残留による危険性の少ないことを示唆しているものと思われる.

尿中代謝物は少なくとも 13 種の化合物を与えたが、3,3'-ジメチル-4-ヒドロキシベンゾフェノン、3'-カルボキシ-4-ヒドロキシ-3-メチルベンゾフェノンなどの脱メチル体が 61.4% を占め、3'-カルボキシ-3-ヒドロキシメチル-4-メトキシベンゾフェノンなどの 4 位メトキシ基の脱メチルを受けていない酸化体よりも量的に上回った. 脱メチル体はおもに抱合体として存在すると考えられたが、とくに 3,3'-ジメチル-4-ヒドロキシベンゾフェノンは、メトキシフェノンの投与後まもなく血中に検出され、その後速やかに減少すること、また同物質をメトキシフェノンの代りに経口投与するとまったく同様の

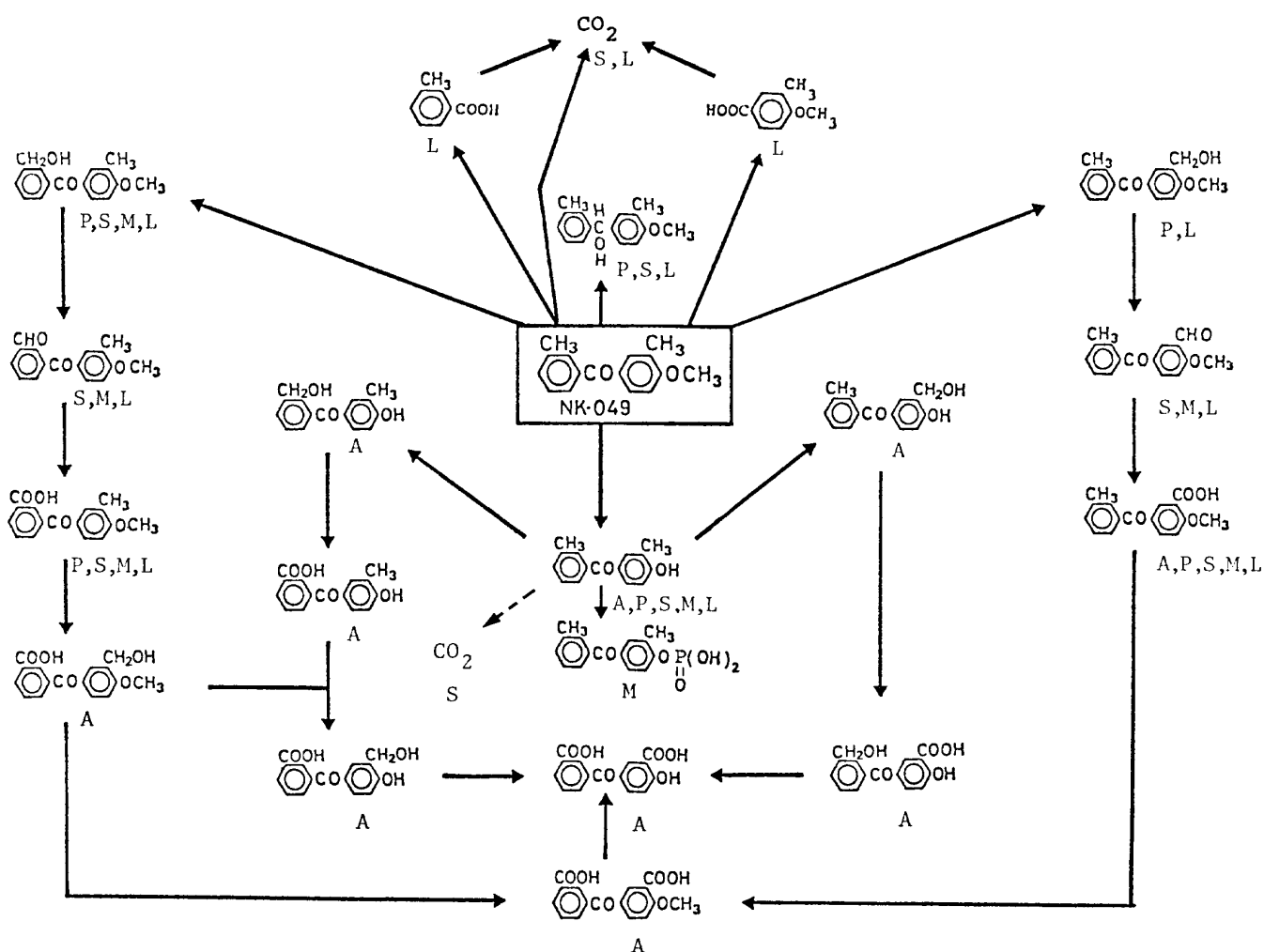


Fig. 6 Proposed degradation pathways of Methoxyphenone.
A: Rats, L: Light, M: Microorganisms, P: Plants, S: Soils.

脱メチル体酸化物を与えることなどから抱合体形成に至る重要な中間代謝物と考えられた。

以上の結果をまとめてメトキシフェノンのイネ (P), 土壌 (S), 土壌微生物 (M), ラット (A) における想定代謝系路を図6に示した。藤井らはメトキシフェノンの光分解 (L) を検討し, カルボニル位での切断が主要な分解過程であることを報告している²⁷⁾。しかし他の生物系では, それぞれ主要代謝物は異なるものの, 4位のメトキシ基における脱メチル化, 3,3'位メチル基の酸化, カルボニル位における還元が共通した主な代謝機構であり, 抱合体をも含めてこれまでとくに毒性の高い代謝産物は見いだされていない。

おわりに

以上ブラストサイジンSとメトキシフェノンの代謝分解について概説したが, 一般に天然物由来の農薬, とくに前者のように化学的合成が困難で, 水溶性物質の場合, その環境中における挙動を調べることは従来の実験手技ではなかなか容易でない。それは代謝物もそのほとんどが水溶性である場合が多く, 他の大量の生体物質からの分離精製がむずかしいばかりでなく, 精製過程における酸, アルカリ処理等によって本来の代謝物と異なった化合物と同定してしまう危険性が伴うからである。もっとも, 同じことは合成農薬の場合でも, 通常の抱合体以外の水溶性代謝物を生じた場合に当てはまるであろう。いずれにしても今後は, これまで以上に解明困難な物質代謝の研究が余儀なくされると思われるが, 新技法の開発とすでに蓄積されてきた諸知見の上に衆智を結集すれば, むしろ新分野の開拓に繋がるものと考えられる。さらに農薬の代謝分野の研究が, たんに“登録のための”あるいは“後始末的”研究に終始せず, 作用機構の研究と連関して人間の安全と環境の保全に真に寄与することを期待したい。

末筆ながら, 本研究を進めるに当たって, 終始ご鞭撻を賜った理化学研究所微生物薬理研究室主任研究員 見里朝正博士に深く感謝いたします。また有益な助言を賜った同研究所の竹内節男博士, ならびに黄耿堂博士はじめ研究室の諸氏に敬意と謝意を表します。一貫して懇切なご指導を賜った米原弘東大名誉教授と, 種々のブラストサイジンS関連化合物を快く分与くださった東大応微研大岳望教授と瀬戸治男博士に心から感謝いたします。土壌の供与とご教示を賜りました名大 鍛塚昭三助教授に深く謝意を表します。また本研究にご協力いただいた科研化学(株), 日本化薬(株)の関係者の方々に感

謝いたします。最後に, 本研究の遂行にさいし, 協同研究された日本化薬(株)の藤井保男氏, 黒済晃氏に深甚の謝意を表し栄誉をわちめたい。

引用文献

- 1) S. Takeuchi, K. Hirayama, K. Ueda, H. Sasaki & H. Yonehara: *J. Antibiot.* **11A**, 1 (1958)
- 2) B. A. Sobin & F. W. Tanner, Jr.: *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 4053 (1954)
- 3) O. Yamada, Y. Kaise, F. Futatsuya, S. Ishida, K. Ito, H. Yamamoto & K. Munakata: *Agric. Biol. Chem.* **36**, 2013 (1972)
- 4) O. Yamada, S. Ishida, F. Futatsuya, K. Ito, H. Yamamoto & K. Munakata: *ibid.* **38**, 2017 (1974)
- 5) I. Yamaguchi, K. Takagi & T. Misato: *ibid.* **36**, 1719 (1972)
- 6) 見里朝正・石井 至・浅川 勝・沖本陽一郎・福永一夫: *日植病報* **24**, 302 (1959)
- 7) T. Hirai & T. Shimomura: *Phytopathology* **55**, 291 (1965)
- 8) N. Tanaka, Y. Sakagami, H. Yamaki & H. Umezawa: *J. Antibiot.* **14A**, 123 (1961)
- 9) N. Ōtake, S. Takeuchi, T. Endo & H. Yonehara: *Agric. Biol. Chem.* **30**, 132 (1966)
- 10) K. T. Huang, T. Misato & H. Asuyama: *J. Antibiot.* **17A**, 65 (1964)
- 11) H. Yamaguchi, C. Yamamoto & N. Tanaka: *J. Biochem.* **57**, 667 (1965)
- 12) 杉本達芳・笠井 勉: *農薬* **20**, 55 (1973)
- 13) H. Seto, I. Yamaguchi, N. Ōtake & H. Yonehara: *Agric. Biol. Chem.* **32**, 1292 (1968)
- 14) H. Seto, N. Ōtake & H. Yonehara: *Agric. Biol. Chem.* **30**, 877 (1966)
- 15) 川村 清: *研究時報* **7**, 209 (1954)
- 16) 石山哲爾・岡本 弘・佐藤克巳・中村 敬・中村勝: *日植病報* **30**, 111 (1965)
- 17) 石山哲爾・佐藤克巳・中村 敬・竹内富雄・梅沢浜夫: *J. Antibiot.* **20B**, 357 (1967)
- 18) J. H. Quastel & P. G. Scholefield: "Methods in Enzymology IV," Academic Press, New York, p. 336, 1957
- 19) I. Yamaguchi, H. Shibata, H. Seto & T. Misato: *J. Antibiot.* **28**, 7 (1975)
- 20) Y. Fujii, T. Kurokawa, I. Yamaguchi & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **3**, 291 (1978)
- 21) Y. Fujii, T. Kurokawa, Y. Inoue, I. Yamaguchi & T. Misato: *ibid.* **2**, 431 (1977)
- 22) Y. Fujii, A. Kurozumi, T. Kurokawa, I. Yamaguchi & T. Misato: *ibid.* **4**, 511 (1979)
- 23) 伊藤憲作・二谷文夫・日比克彦・石田秀戈・山田蔵・宗像 桂: *雑草研究* **18**, 10, 16 (1974)
- 24) Y. Fujii, T. Kurokawa, S. Ishida, I. Yamaguchi & T. Misato: *J. Pesticide Sci.* **1**, 313 (1976)

-
- 25) A. Kurozumi, T. Kurokawa, I. Yamaguchi & T. Misato: *ibid.* **5**, 37 (1980)
- 26) A. Kurozumi, T. Kurokawa, I. Yamaguchi & T. Misato: *ibid.* **3**, 59 (1978)
- 27) Y. Fujii, A. Kurozumi & T. Misato: *ibid.* **4**, 487 (1979)