短 報

Pentachlorophenol, Dinitro-*o*-cresol と
その関連物質の変異原性についてMutagenicity of Pentachlorophenol,
Dinitro-*o*-cresol and Their
Related Compounds

pentachlorophenol(PCP) や dinitro-*o*-cresol (DNOC) は除草剤, 殺菌剤などとして古くから使用されてきたが, 著者らは 25 種の農薬について変異原性テストを試みた際に PCP, DNOC に変異原活性を認めている¹⁾.

quinoline あるいは azo dyes のような多環芳香族化合物においては変異原性と構造の関連性についていくつ報告されている^{2,3)} が, フェノール系化合物に関するこのような報告は見られない。

それゆえ PCP, DNOC に類似するフェノール系化合物について変異原性テストを行い, 構造との関連性を検討した。

実験材料および方法

変異原性テストを行ったフェノール系化合物は 22 種であり Table 1 に示されている。

試料はすべて dimethylsulfoxide (DMSO) に溶解し, それぞれの致死濃度に応じて 5 段階濃度を作成してテストを行った。用いた菌株は *Salmonella typhimurium* TA 100 および TA 98 であり, 方法は Ames 原法⁴⁾ にいくつかの改良が加えられた矢作らの preincubation 法⁵⁾ に準じて行った。なお, 化学物質によっては, 動物肝のミクロゾーム酵素によって代謝されてはじめて活性化され突然変異を引き起こすものが多数知られている⁶⁾ ので, 著者らは phenobarbital (PB) および 5,6-benzoflavone (BF) により誘導された肝ミクロゾーム酵素に NADPH 産生系酵素類を加えた S-9 mix を調製して, これを使用した。S-9 mix の調製には矢作の方法⁵⁾ を用いた。

すなわち試料を 0.1 ml の DMSO に溶かし, これに 0.1 mM のナトリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 ml かまたは S-9 mix 0.5 ml を加え, さらに 0.1 ml の菌懸濁液を加える。この混合液を 37°C で 20 分間振盪しながら preincubation した後, L-histidine 0.1 μ mol と biotin 0.1 μ mol を含む soft agar (45°C) の 2 ml を加えよく混合する。これを agar plate 上に注ぎ, 37°C にて 48 時間 incubation する。結果は plate 上の histidine 非要求株 (His⁺) に変異したコロニー数を数えてコントロール群と比較した。判定は自然突然変異の 2 倍以上の変異コロニー数がみられ, かつ量作用曲線が得ら

Table 1. Mutagenicity of phenol compounds on *Salmonella typhimurium* TA 100 and TA 98.

Chemical name	Concentration μ mol/plate	Number of revertants per plate			
		TA100		TA98	
		-S9mix	+S9mix	-S9mix	+S9mix
<i>o</i> -Aminophenol	5.0	377*	399*	20	51
<i>m</i> -Aminophenol	3.0	168	207	36	54
<i>p</i> -Aminophenol	3.0	297	162	33	43
4-Amino-2,6-dichlorophenol	2.0	144	149	28	41
<i>o</i> -Bromophenol	8.67	171	174	25	49
2-Chloro-6-methylphenol	8.28	148	141	27	46
<i>o</i> -Chlorophenol	9.78	185	181	37	36
<i>o</i> -Cresol	9.68	188	142	36	60
2,4-Dinitro- <i>o</i> -cresol	1.0	157	180	66*	132*
2,4-Dinitrophenol	1.0	167	141	23	38
Gallic acid	1.0	208	153	36	48
Hydroquinone	0.06	167	164	26	58
Hydroxyhydroquinone	0.1	159	170	26	55
<i>o</i> -Nitrophenol	0.1	134	178	28	54
<i>p</i> -Nitrophenol	1.0	196	195	25	40
Pentachlorophenol	0.04	164	162	40	106*
Picramic acid	5.0	3842*	815*	1070*	102*
Picric acid	20.0	191	172	51	155*
Pyrocatechol	1.0	179	209	32	70
Pyrogallol	1.0(0.6) ^a	405*	388*	45	51
Resorcinol	0.5	159	170	29	45
Styphnic acid	10.0	173	164	23	44
DMSO only	-	155	156	26	41

* Number of revertants was more than that of spontaneous revertants $\times$ 2. ^aFigure in parentheses is the value in the presence of the S-9 mix on TA 100.

れるものを陽性とした。

結果および考察

フェノール系化合物 22 種の突然変異原性テストの結果を Table 1 に示した。ここに示した各物質の濃度は, 変異原活性の認められたものは致死効果のみられない最高の活性をもつ濃度を示し, 変異原活性のみられないものでは実験を行った最高濃度を示した。結果の数値は各濃度における TA 100 および TA 98 の S-9 mix を加えない場合と, S-9 mix を加えて代謝活性化を行った場合の 1 プレート上の His⁺ コロニー数である。

このうち変異原活性が認められたフェノール系化合物は, *o*-aminophenol, DNOC, PCP, picramic acid, picric acid, pyrogallol の 6 種であった。そのうち picric acid と picramic acid の量作用曲線を Fig.1 に示した。*o*-aminophenol と pyrogallol は塩基置換型突然変異を示す TA 100 で S-9 mix 添加の有無にかかわらずコントロールの 2~3 倍の His⁺ コロニー数がみられた。PCP, DNOC, picric acid はフレームシフト型突然変異を示す TA 98 で S-9 mix 無添加の場合は 1.5~2 倍の His⁺ 数がみられる程度であったが, S-9 mix 添加では 2~4 倍の His⁺ コロニー数がみられた。picramic acid では TA 100, TA 98 ともに S-9 mix

Fig.1. Mutagenicities of picric acid and picramic acid on *S. thymurium* TA 100 and TA 98 with (○) and without (●) S-9 mix. The ordinate shows total number of His⁺ revertants per plate and the abscissa shows μ moles of the chemical added per plate.

無添加の場合に 30~40 倍の His⁺ コロニー数がみられたが、S-9 mix 添加では 3~5 倍の His⁺ コロニー数がみられた。picramic acid は今回テストされたフェノール系化合物のうちで最も変異原性が強い物質であった。

PCP, DNOC および picric acid は S-9 mix 添加により代謝されて変異原活性を有する物質に変化するものと思われる。そこで picric acid については、S-9 mix と混合して 37°C で incubation すると数時間で黄色から赤褐色に変化し、48 時間後の上澄を paper chromatography にて展開させると picramic acid の R_f ならびに色調と一致するスポットが僅かに認められた。またこの上澄をアミノ基の検出に使われる津田試薬と反応させると陽性を示した。このことより picric acid は S-9 mix を添加することにより、還元代謝産物として picramic acid に変化したために変異原活性が見られたのではなかろうか。PCP, DNOC の代謝については今後検討する予定である。

一方、picramic acid を先述同様に S-9 mix と混合し incubation した後の上澄を paper chromatography で展開すると二つのスポットが得られた。また上澄を津田試薬と反応させると picramic acid の 2 倍の吸光度が得られた。このことから picramic acid は S-9 mix 添加によりさらに還元型の物質に変化するために活性が低下するのではないかと考えられた。

なお、本実験では S-9 mix の濃度を一定にして変異原性テストを行ったが、各物質が要求する至適の S-9 mix 濃度は異なるという報告⁷⁾がみられる。それゆえフェノ

ール系化合物の変異原性を正確に比較するために、各物質の S-9 mix の至適濃度を把握する実験を引き続き行う考えである。

結 論

1) フェノール系化合物のうち OH 基のオルトの位置に NH₂ 基のある *o*-aminophenol と、OH 基のオルトとメタの位置に OH 基のある pyrogallol は、TA 100 で S-9 mix 添加の有無にかかわらずコントロールの 2~3 倍の変異原活性が認められた。

2) フェノール系化合物のうち 2,6 の位置に NO₂ 基、CH₃ 基、Cl 基などを持つ PCP, DNOC, picric acid は TA 98 で S-9 mix 添加の場合に 2~4 倍の変異原活性が認められた。

3) picric acid のオルトの位置の NO₂ 基が NH₂ 基に還元された picramic acid は、TA 100, TA 98 ともに 30~40 倍の強い変異活性が認められたが、S-9 mix 添加の場合は活性が弱まり 3~5 倍であった。

文 献

- 1) Nishimura, N., Nishimura, H. and Oshima, H.: Survey on mutagenicity of pesticides by the *Salmonella*-microsome test, J. Aichi Med. Univ. Assoc., 10: 305-312, 1982.
- 2) Nagao, M., Yahagi, T., Seino, Y., Sugimura, T. and Ito, N.: Mutagenicities of quinoline and its derivatives, Mutat. Res., 42: 335-342, 1977.
- 3) Gatner, R.C. and Nutman, C.A.: Testing of some azo dyes and their reduction products for mutagenicity using *Salmonella typhimurium* TA 1538, Mutat. Res., 44: 9-19, 1977.
- 4) Ames, B.N., McCann, J. and Yamasaki, E.: Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test, Mutat. Res., 31: 347-364, 1975.
- 5) 矢作多貴江: 環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法について, 蛋白質 核酸 酵素, 20: 1178-1189, 1975.
- 6) McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N.: Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test; Assay of 300 chemicals, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 72: 5135-5139, 1975.
- 7) Morimoto, K., Wolff, S. and Koizumi, A.: Induction of sister-chromatid exchanges in human lymphocytes by microsomal activation of benzene metabolites, Mutat. Res., 119: 355-360, 1983.

西村典子, 大島秀彦

愛知医科大学衛生学教室

Noriko NISHIMURA and Hidehiko OSHIMA

Department of Hygiene, Aichi Medical University, Nagakute-cho, Aichi-gun, Aichi Prefecture, 480-11 Japan

昭和58年2月15日受付

通信先: 西村あて, Repint requests to N. Nishimura