農薬の代謝研究におけるRIの利用†

穴 戸 孝

農林省農業技術研究所

114 東京都北区西ヶ原2-1-7

1. はじめに

農薬の代謝は解毒や活性化作用により生体における薬物の消長に関与し、その薬理効果を支配する重要な過程であることから、農薬の作用機構や選択毒性あるいは薬剤抵抗性・耐性の発現機構の解明に欠くことのできない研究分野の一つである。一方、毒性面から見ると、農薬の急性・慢性毒性、発がん性、催奇形性、蓄積性あるいは食品残留等の問題は今日では代謝物を含めてその安全性が考慮されている。さらに、農薬の生態系における変化や、これら物質の自然界における循環過程を明確にすることにより最終的な農薬の安全性が決められる段階にまできており、この点からも農薬の代謝はきわめて重要視されている。

農薬代謝の特色は医薬とは異なり、薬剤が環境中に拡散することからその対象範囲がきわめて広く、大気、土壌、水系等をも含めて生物全般にわたっていることである。また、殺虫・殺菌・殺草性等の効果はきわめて微量で現れるため（殺虫剤を例にとると新合成ピレスロイド NRDC 161の家バエ 1 匹あたりの LD₅₀ 値は 0.0003 μg で、有機リン殺虫剤 parathion の場合は 0.03 μg で、これをキログラム体重あたりに換算してもそれぞれ 0.03 mg と 3 mg に過ぎない）、動物、植物、微生物における農薬の代謝経路とその機構を追求するにあたっては、放射性同位元素の利用が不可欠となってくる。事実、農薬代謝の進展は放射性同位元素の利用技術の進歩にかなりの面で依存していたともいえる。初期における研究は、一部、¹⁴C, ³²S, ³⁶Cl, ²⁰³Hg 等の核種も用いられたが、³²P-標識有機リン殺虫剤の代謝がその主流を占めていた¹⁾。今日では、液体シンチレーションカウンターの普及により ¹⁴C-や ³H-標識体の追跡が容易になったことと、ガスクロマトグラフィや、質量、核磁気共鳴、赤外スペクトル分析等による、高感度、高精度の分析機器との併用によって、殺虫剤をはじめ、殺菌剤や除草剤の諸分野にお

いても代謝研究は急速な発展をとげた。本総説で取り上げた 117 の文献は 2, 3 を除きいずれもアイソトープを使用して実験を行っている。

農薬代謝の知識は過去 30 年にわたり集積され、今日では化学構造とその代謝経路の関係はかなり整理されつつある。農薬は一般に脂溶性化合物であり、動植物あるいは微生物によりまず酸化、還元、加水分解等の変化を受け水溶性化合物へ転換する。さらに、動物と植物においては生体成分と結合し、抱合化され、この抱合体は前者では体外への排泄型で、後者では無毒化後の貯蔵形態である。微生物は通常抱合形態を取らず、その特徴は還元、加水分解能が他生物より著しく高いことと、分子を細分化し、エネルギー源としての利用や芳香族系農薬の酸化的核開裂化を行う点である。本稿では農薬の生体における変化を代謝様式とその機構を中心に述べてみたい。

2. 酸 化

殺虫剤、殺菌剤、除草剤の多くは非極性化合物で、生体においては容易に酸化を受けて水溶性代謝物に変化する。農薬の生体内変化のなかでこの過程が最も重要な位置を占め、とくに動物体における酸化機構について詳細な研究が行われている。脂溶性薬物 (AH) の酸化はチトクローム P-450 を末端酸化酵素とするミクロゾーム電子伝達系により NADPH と分子状酸素の存在下において進行する。この酵素は mixed-function oxidase (mfo)

$\text{NADPH}_2 + \text{AH} + \text{O}_2 \longrightarrow \text{NADP} + \text{AOH} + \text{H}_2\text{O}$
とよばれ、オキシゲナーゼの 1 種で、哺乳動物、鳥、魚の肝臓や昆虫脂肪体、消化管のミクロゾームに広く分布している。mfo は核および側鎖アルキルの水酸化反応以外に O-, N-脱アルキル化、S と O との交換

† Application of Radioisotopes to Studies of Pesticide Metabolism. Takashi SHISHIDO: National Institute of Agricultural Sciences, 2-1-7, Nishigahara, Kita-ku, Tokyo.

反応, チオエーテルの酸化, 脱水素化, さらに, チオリン酸エステル結合の開裂等の諸反応に関与していることが明らかにされている。一方, 植物や微生物では動物とほぼ同じ酸化代謝物が得られるが, その酸化機構についてはあまり知られていない。

2.1 核および側鎖アルキルの水酸化

核, 側鎖アルキルの水酸化は各種生物体においてふつうにみられる変化である。カーバメート系殺虫剤はそのエステル結合が比較的強固なためエステル開裂以外に水酸化反応が主としておきる。carbaryl (I) は動物や mfo により 4 あるいは 5 位が酸化され, それぞれ 4-hydroxy あるいは 5-hydroxy 体になる^{2), 3)}。植物⁴⁾, 微生物⁵⁾においても同様な酸化が見受けられる。5-hydroxy 体は元の carbaryl よりもコリンエステラーゼ阻害力が強いが⁶⁾, 動植物体では抱合の形態をとっている。除草剤 2, 4-D (II) は微生物⁷⁾, 植物⁸⁾によりリング上の 4 位が水酸化されるが, 塩素原子は脱離せ

ず芳香環の隣の位置に移動 (NIH シフト) し, 4-hydroxy-2, 5-D (III), 4-hydroxy-2, 3-D (IV) を生ずる。芳香環の水酸化はリン酸エステル殺菌剤 IBP⁹⁾, edifenphos¹⁰⁾, 除草剤 propham^{11), 12)} で報告されているが, 脂肪族環状化合物でも殺虫剤 carbofuran¹³⁾, 除草剤 siduron¹⁴⁾ のようにフラン環, シクロヘキサン環が水酸化される。これらの水酸化は生物種によって水酸化の位置や生成量に差が見受けられる。

側鎖アルキル基の酸化位置は ω および $\omega-1$ 位で, 場合によっては α 炭素位でおきる。生じたアルコールはさらに酸化されカルボン酸として見出される場合もある。殺虫剤 diazinon (V) はイソプロピル側鎖の第 3 級と第 1 級炭素原子が酸化される¹⁵⁾。殺菌剤 BAS 3191¹⁶⁾ (VI), 除草剤 propham¹²⁾ は動植物, 微生物により側鎖が酸化される。側鎖アルキル基の酸化は通常芳香環水酸化よりおきやすい。

2.2 O-, N-脱アルキル化

O-, N-脱アルキル化の場合も一般の生物により広く見出されている。 α 位の炭素が水酸化され水酸化体を生ずるが, この生成物は不安定な場合が多くアルデヒドを遊離し, それぞれ ROH, RNH₂ となるかあるいはその抱合体の形で捕捉される場合が多い。トリアジ

ン系除草剤 prometon¹⁷⁾ (VII) はラットにおいて O-脱メチル化や N-脱イソプロピル化を受け, すみやかに尿中に排泄される。トリアジン除草剤の殺草選択性は一部植物間におけるこの酸化的 N-脱アルキル化の大小が関与しているといわれる¹⁸⁾。殺菌剤 chloroneb¹⁹⁾ (VIII) や methoxybenzoate²⁰⁾ は土壌微生物により O-脱メチル化を受ける。この酵素は NADH と O₂ を要求する。フェニル尿素系除草剤 monuron は N-hydroxymethyl 中間体を経て monuron のモノ脱メチル体, さらに, ジ脱メチル体に分解する。植物体では N-hydroxymethyl 体がグルコースとの抱合体 (IX) として存在することが確認されている²¹⁾。植物の monuron N-脱アルキル酸化酵素はミクロゾームに分布するが, 基質特異性の範囲はごく狭い。²²⁾。有機リン殺虫剤 dicrotophos (X) はその N, N-dimethylamino グループがつぎつぎと酸化をうけヒドロキシメチルアミノ体, 脱アルキル体を生ずる。生成物はいずれも強力な殺虫力あるいはコリンエステラーゼ阻害力を有す

る²³⁾。

2.3 SとOとの交換反応

チオリン酸エステル殺虫剤(P=S 型)は哺乳動物、昆虫の mfo により活性型のオクソン(P=O 型)に変化する。parathion²⁴⁾は paraoxon に変化すること

によりコリンエステラーゼ阻害度が約1万倍上昇する。従って、通常 P=O 型が真の毒物である。昆虫不妊剤 thio TEPA も P=O に酸化される。また、>C=S の >C=O へ変化する例もある。

2.4 チオエーテルの酸化

チオエーテル基をもつ農薬は酸化的に S-脱アルキル化を受ける場合もあるが、一般に、チオエーテルの硫黄が酸化され sulfoxide(SO), さらに, sulfone(SO₂)に代謝される。浸透性殺虫剤 disulfoton (XI)は動植物体あるいは mfo により活性体 sulfoxide, sulfone 体に変化する²⁵⁾。sulfoxide への酸化はオクソン化より早く進行する。類似構造をもつ phorate, demeton, fenthion も同様な代謝を受ける。phorate を酸化する植物酸化酵素は NADPH や NADH を必要とせず、動物 mfo による酸化とは異なっている²⁶⁾。カーバメート殺虫剤 aldicarb も動植物体で sulfoxide, sulfone に変化し、やはり活性化反応である²⁷⁾。殺菌剤 carboxin²⁸⁾(XII), Denmert²⁹⁾(XIII)は植物体や土壌中で sulfoxide を生成する。carboxin はさらに oxy-carboxin(SO₂ 型)まで一部酸化される。また、チオール型カーバメート除草剤は植物体あるいは哺乳動物 mfo により sulfoxide (XIV)に変化する³⁰⁾。これら酸化型はいずれも殺菌性あるいは殺草性を保持した代謝物である。

2.5 チオリン酸エステル結合の酸化的開裂

parathion の P-O-aryl 結合の開裂は動植物体にお

ける主要分解経路である。この分解は加水分解酵素によってではなく、哺乳動物、昆虫の mfo によって酸化的に開裂を受けることが判明した。すなわち parathion は paraoxon へのオクソン化と併行して、ジエチルチオリン酸とパラニトロフェノールへの分解反応がおきる²⁴⁾。この反応機作については ¹⁸O を使用した

実験から生成した paraoxon の酸素は空気中の ¹⁸O より、一方、ジエチルチオリン酸の酸素は水より由来することが明らかにされ、最初に oxygenated parathion が生成し、この中間体が加水分解を受けチオリン酸エステル結合の開裂が起きると推定されている³¹⁾。diazinon³²⁾, dyfonate³³⁾も同様に変化し、現在では動物体におけるチオリン酸エステル結合の開裂はおもにこの酸化酵素系によると考えられている。リン酸エステル以外にピレスロイド殺虫剤 cis-resmethrin は trans 型と違って加水分解されず、哺乳動物、昆虫の mfo によりカルボキシエステルが開裂するとの報告³⁴⁾もある。

2.6 その他

脂肪族、芳香族の2重結合は酸化されて epoxide を形成する。epoxide は通常不安定で、そのままの形で捕捉された例は少なく、水が付加した diol 体か、まれには GSH が付加した premercapturic acid の形

をとる。殺虫剤 carbaryl のミルク中の主要代謝物は epoxide を経由して生じた diol 体である³⁵⁾。昆虫生長ホルモンアンバランス剤 R20458 (XV)は昆虫、哺乳動物あるいは mfo において 2,3-位の二重結合がエ

ボキシ化される³⁶⁾。また、シクロジエン系殺虫剤 aldrin, heptachlor は mfo によりそのエポキシ体 dieldrin (XVI) や heptachlor epoxide を生ずる^{37,38)}。生成した epoxide はこれら殺虫剤の毒性の本態である。このエポキシ化は生成物が安定なため植物、土壌、微生物においても容易に認められている。

mfo が関与した最近の報告としては γ -BHC より hexachlorocyclohexene (XVII) の生成がある。この脱水素化による二重結合の生成は NADPH と O_2 を必

要とし、SKF 525-A, CO で阻害されるなど典型的な mfo による酸化反応である³⁹⁾。

3. 還元

生物体における農薬のニトロ基やアゾ基の還元は数多く報告されている。ニトロ基を有する殺虫剤 parathion⁴⁰⁾, EPN, 除草剤 trifluralin⁴¹⁾ (XVIII), dinoben, NIP, また、アゾ殺菌剤 fenaminosulf⁴²⁾ (XIX) はそれぞれ対応するアミノ体に還元される。これらの還元は動植物、微生物のいずれにおいても広く認められるが、微生物においてはきわめて重要な代謝経路である。ニトロ化合物はニトロソ、ヒドロキシルアミンを経てアミノ体に還元され、還元酵素は NAD(P)H とフラビンが必要とする⁴³⁾。また、最近肝臓還元酵素によりスルホキシド基(SO)のスルフィド基(-S-)への還元が殺虫剤の酸化活性体 carbophenothion-sulfoxide (XX) で報告されている。

4. 加水分解

4.1 リン酸、カルバミン酸エステル

有機リン殺虫剤のなかで哺乳動物により加水分解を受けるのはホスフェート型に限られ、チオリン酸エステル結合を加水分解する酵素は現在まで見出されていない。哺乳動物の肝臓と血清に分布するアリールエス

テラーゼは paraoxon を加水分解する⁴⁴⁾。この酵素は

Ca イオンを必要とする SH 系酵素で、鳥、魚にも分布する。昆虫にはこれに相当する酵素は存在しない。植物、微生物もリン酸エステル結合を開裂するが、エステラーゼによるものかどうかは不明である。カーバメート殺虫剤も加水分解を受けフェノール、モノメチルアミンと CO_2 に分解する。加水分解の割合はその化学構造と生物種により異なってくる。carbaryl は哺乳動物の血清エステラーゼにより加水分解され、1-naphthol を生成する⁴⁵⁾。しかし、植物、昆虫、カビ⁴⁶⁾では naphthol の生成量はわずかで、酸化的分解が主要代謝経路となる。バクテリア⁴⁶⁾では加水分解物のほうが多い。

4.2 カルボキシエステル

分子内にカルボキシエステルをもつ農薬は一般に環境下において分解消失がすみやかであり、また、生体においても加水分解を受けやすい。低毒性有機リン殺虫剤 malathion (XXI) は哺乳動物のカルボキシルエステラーゼ⁴⁷⁾により容易に加水分解され malathion α -monoacid になる。この活性は哺乳動物や、malathion 抵抗性昆虫において高く、一般の昆虫では低レベルである。高度の選択性をもつピレスロイド殺虫剤の哺乳動物、昆虫における代謝は酸化と加水分解が主要代謝経路で、分子内のエステル結合の分解の難易によって酸化と加水分解のいずれか、あるいは両者が同時におきる。resmethrin⁴⁸⁾ (XXII), tetramethrin⁴⁹⁾, phenothrin⁵⁰⁾ 等の第1級アルコールのエステルは加水分解を受けるが、第2級アルコールのエステルであるピレスリン I, II⁵¹⁾は加水分解されず、この場合は酸化代謝が主要な代謝経路となってくる。ピレスロイド加水分解酵素⁵²⁾は哺乳動物の肝ミクロゾームに分布し、活性は強い。昆虫にも分布するが一般に活性は低い。その基質特異性には立体構造も関連しており、resmethrin の場合(±)-trans 型に強く作用するが、cis 型に対しては活性が低い。従って、アルコール部位の性質や酸部位における trans, cis 立体構造、ならびに生物種によりピレスロイド代謝は異なってくる、その殺虫性と毒性に大きく影響する。その他昆虫生長ホルモンア

ンバランス剤 hydroprene⁵³⁾, 殺ダニ剤 chlorpropylate⁵⁴⁾ と dinobuton⁵⁵⁾ 等はエステル結合が切れやすく, また, これに関与する哺乳動物, 昆虫加水分解酵素も見出されている。

以上述べた加水分解酵素はいずれもリン酸エステル, カーバメート化合物により, 強く阻害を受けるのが共通した特徴で, たとえば, 昆虫 *trans*-resmethrin 分解酵素⁵⁶⁾ は 1-naphthyl-*N*-propylcarbamate により $8.4 \times 10^{-9} M$ の低濃度で 50% 阻害される。

4.3 アミド

アミド系農薬の動植物と微生物による攻撃部位はアミド結合で容易に加水分解を受ける。除草剤 propanil (XXIII) を加水分解するアリールアシルアミダーゼは動植物に広く分布している。この除草剤はイネとヒエとの間で選択的な殺草性を示すが, これはヒエに propanil を分解する酵素が欠如しているためである⁵⁷⁾。また, 低毒性有機リン殺虫剤 dimethoate (XXIV) はアミド結合の開裂が主要代謝経路の一つである⁵⁸⁾。この殺虫剤を分解するアミダーゼ活性は哺乳動物のほうが昆虫に比し著しく高いことが知られている。除草剤 linuron (XXV) より誘導された *Bacillus sphaericus* の酵素^{59, 60)} は置換フェニル尿素除草剤 (linuron, monolinuron, metobromuron) を加水分解する以外に, phenylamide $\text{C}_6\text{H}_5\text{NHCO}$ -構造のアシルアミド農薬 [除草剤 propanil (XXIII), pentanochlor, 殺菌剤 carboxin (XI), mebenil (XXVI)] やフェニルカーバメート除草剤 [propham, chlorpropham (XXVII)] 等も加水分解する。この酵素は単純なアシルアニリド類に最高の活性を示すことから, アニリン部位とカルボキシンググループの間のアミド結合が酵素の攻撃箇所である。従って, この酵素はアリールアシルアミダーゼに分類できよう。これに類似の酵素は *Pseudomonas striata*⁶¹⁾, *Fusarium oxysporum*⁶²⁾ から得られており, 前者は chlorpropham (XXVII) と propanil (XXIII) に, 後者は各種アシルアニリド化合物のみに作用し, その基質特異性の範囲は狭い。

4.4 その他

前述の dieldrin (XVI) と R-20458 (XV) は動物体でそ

のエポキシ環が加水開環し, それぞれ aldrin-diol と R-20458-diol 体に代謝される。dieldrin-hydrase^{63, 64)} は哺乳動物, 昆虫マイクロゾームに存在し, 1, 1, 1-trichloro-2, 3-epoxypropane により強く阻害を受ける。一方, R-20458 に作用する hydrase⁶⁵⁾ は上記阻害剤により阻害されにくい。除草剤 dichlobenil (XXVIII) は土壌微生物により CN 基が加水分解され, おもに, 2, 6-dichlorobenzoic acid まで分解する⁶⁶⁾。一方, 植物, 哺乳動物では核水酸化が進行し, CN 基の加水分解はわずかしか認められない⁶⁷⁾。

5. 抱合

5.1 一般の抱合

脂溶性の農薬は生物体で酸化, 還元, 加水分解等の代謝過程を経て OH, COOH, NH₂, SH 等の極性基が導入され, さらに, これらの官能基は糖, アミノ酸, ペプチド等の生体成分と結合し抱合体を形成する。抱合体の生成にはそれぞれの転移酵素が関与しており, それらの酵素特性や反応機構も明らかにされている。

グルクロン酸抱合, グルコース抱合はごくふつうにみられる抱合様式で, OH, COOH, NH₂, SH をもつ化合物との間でおこる。carbaryl の場合はナフトール環の 4 位 (XXIX) あるいは 5 位の水酸化された代謝物が抱合体を形成する。哺乳動物はグルクロン酸³⁾ と昆虫や植物⁴⁾ ではグルコースと抱合する。アルコールとフェノールからエーテル型の, 酸からエステル型の抱合体を生ずる。また, 除草剤 amiben は植物体で *N*-glucoside⁶⁸⁾ (XXX) を, dimethyldithiocarbamate 殺

菌剤より *S*-glucoside⁶⁹⁾(XXXI)を形成する。バクテリアは時にはフェノール、酸から glucoside を作るといわれる。芳香族フェノール、アミン類は硫酸と抱合し、動物全般に見出されている。carbarylの代謝ではその水酸化体は上記糖との抱合体か、エーテル硫酸³⁾(XXXII)の形で排泄される。また、2,4-dinitro-*o*-cresol 殺虫剤は昆虫体で2位のニトロ基が還元され、生成したアミノ基と硫酸抱合⁷⁰⁾(XXXIII)する。酸として硫酸以外に、リン酸⁷¹⁾と抱合した例も見出されている。OH, SH, NH₂ 基のメチル化あるいは *N*-アセチル化は生物全般に認められるが、副次的な代謝経路である。植物あるいは微生物により *O*-メチル化を受けて除草剤 2,4-D は 2,4-dichloroanisole⁷²⁾ に、PCP は pentachloroanisole (XXXIV)⁷³⁾ に一部代謝される。つぎに、アセチル化の例を示すと、微生物により殺菌剤 2,6-dichloro-4-nitroaniline は還元後⁷⁴⁾(XXXV)に、フェニル尿素系除草剤 metobromuron⁷⁵⁾は加水分解後にそれぞれアニリン誘導体を生成し、ともに *N*-アセチル体となる。また、後述のグルタチオン抱合体はシステイン残基の *N*-アセチル化物 (mercapturic acid) として動物体で排泄を受ける。カルボン酸とアミノ酸との抱合は種特異性が強く、哺乳動物と昆虫ではグリシンが、植物ではアスパラギン酸やグルタミン酸が利用される。殺虫共力剤 piperonal は動物体において酸化され piperonylic acid になり、これがグリシン抱合体 (XXXVI) として排泄される⁷⁶⁾。植物体では、植物生長ホルモン α -naphthalene acetic acid⁷⁷⁾ (XXXVII) や 2,4-D⁷⁸⁾ はアスパラギン酸と抱合する。また、植物のカルス組織培養では 2,4-D はさらにグルタミン酸、アラニン、バリン等とも抱合することが認められている⁷⁹⁾。

5・2 グルタチオン抱合

一般に、抱合反応は極性化合物との間でおきるが、グルタチオン抱合は親油性の化合物との間で認められ、この点農薬を直接解毒するという意味でかなりの重要性をもっている。この抱合はグルタチオン *S*-トランスフェラーゼによって触媒され、有機化学反応論的にみて反応炭素の電子密度がかなり低下している化合物が攻撃の対象となるため、種々の構造をもった化合物において見出される。動物体においてはグルタチオン抱合体は最終的には mercapturic acid の形として排泄される。近年、動物以外に植物においても抱合

体の生成が認められている。図1はグルタチオン抱合を受けるおもな農薬を一括して示したものである。ジメチル系有機リン殺虫剤 (たとえば methyl parathion⁸⁰⁾, diazinon⁸¹⁾, トリアジン系除草剤 (たとえば atrazine⁸²⁾), ジフェニルエーテル系除草剤 fluorodifen⁸³⁾, チオール型カーバメート系除草剤のスルホ

図1 グルタチオン抱合

キシド型^{30,84)}、ネマトーダ防除剤 EDB⁸⁵⁾ 等の薬剤はこの抱合により解毒される。これら殺虫剤と除草剤を分解する各種トランスフェラーゼは哺乳動物、昆虫、植物から分離されている。そして酵素の分布の有無、基質特異性の違い、分解量の差が生物間における薬剤の選択性に深く関連している。殺虫剤、殺菌剤、共力剤として用いられている有機チオシアネート化合物は哺乳動物と昆虫のトランスフェラーゼにより青酸を遊離し、その毒作用を発現する⁸⁶⁾。これは抱合による活性化反応の珍しい例である。

6. 環開裂

芳香環の開裂は水酸化をうけ、*o*-または *p*-ジヒドロキシフェノール化合物に変化した段階で初めておきる。動植物はベンゼン環の開裂能を有するが、異物としての農薬は一般に抱合体の形態で生体における変化は停止する。微生物はこの酸化開裂系が非常によく発達しており、環境下に拡散した農薬とその代謝物の最終的な浄化作用は微生物によって営まれているといっても過言ではない。環開裂の良く研究された例は2,4-D タイプの化合物であり報告も多い。2,4-D を炭素源とする *Pseudomonas* N.C.I.B. 9340による2,4-D の代謝や、この無細胞系による代謝研究から、2,4-D は最初2,4-dichlorophenol に分解し、これが水酸化されて3,5-dichlorocatechol を生じ、ここで環開裂を受け α, γ -dichloromuconic acid に変化し、最終的には炭酸ガスとなる⁸⁷⁾。置換カテコールはジオキシゲナ

ーゼにより酸化開裂するが、開裂箇所(XXXVII)はA, B, C の3か所存在し、開裂位置により異なった代謝物を与える⁸⁸⁾。それぞれの酵素が微生物より分離されている。ベンゼン環以外のヘテロ環の開裂は除草剤 methazole⁸⁹⁾ や、殺菌剤 isothiazolone⁹⁰⁾ で報告されている。この開裂は動植物、微生物で容易におきる。

(XXXVII)

7. 環形成

農薬の生体における変化が数多く明らかにされるにつれて、通常の代謝様式とは異なり、環状化合物を生成する例が知られるようになってきた。そのほとんどが含窒素化合物である。環状代謝物のなかには、古くは TOCP から神経毒の本体であるサリゲニン環状リン酸エステルの生成のように、生理活性あるいは毒性を有する例が見出されており、注意すべき変化の一つであろう。浸透性殺菌剤 thiophanate-methyl は植物体でも benzimidazole 環をもつ活性体 MBC に置換する⁹¹⁾。また、ethylene bisdithiocarbamate 系殺菌剤は環状代謝物の一つに発がん性の ethylene thiourea⁹²⁾を生ずる。つぎに、除草剤では pronamide は哺乳動物⁹³⁾や土壌中⁹⁴⁾で oxazoline 環をもつ代謝物になる。この環形成は滅菌土壌ではほとんど進行しないことから、土壌中では微生物が関与していると考えられる。alachlor はカビにより酸化、加水分解を受ける以外に indol 核を有する代謝物を生成する⁹⁵⁾。また、各種 dinitroaniline 系除草剤は土壌中においてきわめて緩慢に分解し、環状分解物を作ることが明らかにされている。すなわち、dinitramine, trifluralin, fluchloralin より benzimidazol 環を、chlornidine より morpholine 環を、fluchloralin より quinoxaline 環をもつ代謝物を生ずる^{96~98)}(図2)。これら環状化合物は光分解によって生成することも明らかにされているが、土壌中では微生物が関与している。

8. 脱ハロゲン化

分子内へハロゲンの導入は生体における主要な代謝経路である酸化を受けにくくし、また、ハロゲン部位の変化も一部の化合物をのぞいて不活発である。このため、一般に、ハロゲンを含む農薬の生体内変化はゆるやかに進行する。現在、脱ハロゲン化の例は農薬を中心に徐々に集積され、その代謝メカニズムはある程度解明されつつある。

8.1 酸化的脱ハロゲン化

ニトロ基やハロゲン等の電子吸引性置換基をもつ化合物は耐酸化性となる。酸化によるハロゲンと水酸基の置換例はそう多くない。殺虫剤 γ -DHC (XXXVIII) はブタ肝臓、家バエ mfo により水酸化され、塩素イオ

図2 環状代謝物の生成

ンを遊離する⁹⁹⁾。また、前述の2,4-Dの酸化はNIHシフトをおこし、水酸化によって必ずしも塩素イオンを遊離しない場合もある。2-fluorobenzoic acidは*Pseudomonas* sp.によりフッ素イオンを遊離し、カテコールになる¹⁰⁰⁾。この芳香環水酸化は分子状酸素に由来することが明らかにされている。PCPはバクテリアにより4位が水酸化され、さらにO-メチル化を受けるが、その酸素は酸化か、後述の加水分解によるものかは明確でない⁷³⁾。

8・2 還元的脱ハロゲン化

DDTのDDD(XXXIX)への転換がこの代表例としてあげられる。この変化は動物や植物において見出せるが、微生物は活発で、とくに嫌気的条件下で炭素源が存在するとき、反応はすみやかに進行する。この酵素は哺乳動物¹⁰¹⁾、微生物¹⁰²⁾より分離されている。殺菌剤PCBAは微生物の作用により側鎖アルコールの酸化と、4あるいは5位で還元的脱塩素化を受け、2,3,4,6-あるいは2,3,5,6-tetrachlorobenzoic acidに変化する。これらの代謝物はウリ類に著しいホルモン様生育障害をおこすといわれる。

8・3 脱塩素化

γ -BHCは水田土壌¹⁰³⁾で、また、各種微生物¹⁰⁴⁾に

より2原子の塩素が脱離し、2重結合生成下に γ -BTC(XL)や α -および β -BTCとなる。*Pseudomonas putida*はこの脱塩素化にNADを必要としている¹⁰⁵⁾。

8・4 脱塩酸化

DDTの脱塩酸化によるDDEへの変換は最初抵抗性昆虫において発見され¹⁰⁶⁾、その後一般の昆虫や哺乳動物、植物、微生物等においても生成することが認められた。この変化はDDDへの変化とともにDDTの主要な分解経路の一つである。DDEは変化を受けにくく、動物体における半減期はDDTよりはるかに長い。脱塩酸化はDDT脱塩酸化酵素によりGSHの存在下に進行する¹⁰⁷⁾。また、 γ -BHCも脱塩酸化をうけて γ -PCCH(XLI)となる。この代謝物は動物¹⁰⁸⁾、植物、微生物¹⁰⁹⁾において認められ、上記脱塩酸化過程とともにBHCの主要分解経路の一つである。

8・5 加水分解

芳香族のハロゲンは一般に加水分解によって脱離しにくいが、脂肪族の場合は微生物により容易に加水分解を受け、水酸基と置換される。動植物では脂肪族ハロゲン化物の加水分解による脱ハロゲン化は進行しにくく、べつな機構で脱ハロゲン代謝を行うか、分子の

他の箇所を攻撃するのがふつうである。C-F 結合は化学的にはきわめて強固である。しかし、土壌バクテリアはカイガラムシ防除剤 fluoroacetamide⁽¹¹⁰⁾(XLII) や殺そ剤 fluoroacetate⁽¹¹¹⁾ からフッ素イオンを遊離し、水酸基を導入する。この水酸基は水に由来し、上述の酸化による水酸基導入とはその機構をまったく異にする。菌より分離された halidohydrolase は各種ハロゲン化脂肪酸に作用する。ハロゲンの水酸基置換にさいし、Walden 反転がおきるので⁽¹¹²⁾、有機反応機構における 2 分子求核置換反応と類似性を示すものとして

(X=ハロゲン原子)

注目される。ハロゲン化脂肪酸系除草剤 dalapon は哺乳動物、植物ではハロゲン自体変化をうけにくい、土壤微生物により容易に加水分解され、ついで脱塩酸化をうけ、2原子の塩素を失ってピルビン酸となる。この加水分解酵素も分離されている¹¹³⁾。一般にこの系統の除草剤は土壤中ですみやかに消失する。

8・6 グルタチオン抱合

すでに述べたように、EDB⁵⁵⁾や atrazine⁹²⁾(図1) はハロゲンイオンを遊離し、グルタチオン抱合体を生成する。通常、動植物体では活性ハロゲンをもつ脂肪族、芳香族化合物はグルタチオンと抱合する。fluoroacetate は植物では微生物のように C-F 結合が加水分解されず、グルタチオンとの抱合によりフッ素イオンを遊離し、S-carboxymethylglutathione を生成する¹¹⁴⁾。

8・7 その他

近年、ハロゲン原子が動植物、微生物においてメチルチオ (CH_3S) 基と置換される例が殺菌剤 fthalide⁽¹¹⁵⁾ (XLIII) や chlorothalonil⁽¹¹⁶⁾ で見出されている。殺菌剤 pentachloronitrobenzene のニトロ基も動植物、微生物により同様の置換を受けることが報告されている⁽¹¹⁷⁾。この硫黄原子の由来や生成のメカニズムは現在まで明らかにされていない。

9. おわりに

農薬の代謝においては、生物種によってその代謝機構や代謝量にかなりの違いが認められ、また、一部の生物においては特殊な代謝経路が見受けられるけれども、一般的にいて、少なくともその中間の過程までは動植物、微生物による農薬分子の攻撃箇所はほぼ同じであるといえる。今日では化学構造から代謝経路やその生成物の種類まで定性的な予測がある程度可能な段階までできている。しかし、農薬の構造がいっそう複雑化してきている現在、化学構造と生体内変化の基本様式あるいは一般則をより明確にするとともに、代謝過程の生物種による差異について豊富な知見を積み重ねていくことが、今後、よりすぐれた選択性農薬や、より環境汚染の少ない農薬の分子設計につながるであろう。

文 献

- 1) 鍬塚昭三: *Radioisotopes*, **16**, 392 (1967)
- 2) N.C. Leeling, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 281 (1966)
- 3) J.B. Knaak, et al.: *ibid.*, **13**, 537 (1965)
- 4) R.J. Kuhr, et al.: *ibid.*, **15**, 814 (1967)
- 5) J.M. Bollag, et al.: *Nature*, **236**, 177(1972)
- 6) H.W. Dorough: *J. Agric. Food Chem.*, **18**, 1015 (1968)
- 7) J.K. Faulkner, et al.: *Nature*, **203**, 865 (1964)
- 8) E.W. Thomas, et al.: *ibid.*, **204**, 884 (1964)
- 9) C. Tomizawa, et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 294 (1972)
- 10) Y. Uesugi, et al.: *ibid.*, **36**, 313 (1971)
- 11) G.G. Still, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **3**, 87 (1973)
- 12) S.C. Fang, et al.: *ibid.*, **4**, 1 (1974)
- 13) R.L. Metcalf, et al.: *J. Agric. Food Chem.*,

- 16, 300 (1968)
- 14) L.S. Jordan, et al.: *ibid.*, **23**, 286 (1975)
- 15) N.F. Jones, et al.: *ibid.*, **21**, 121 (1973)
- 16) P.R. Wallnfer, et al.: *ibid.*, **20**, 20 (1972)
- 17) J.E. Bakke, et al.: *ibid.*, **21**, 640 (1973)
- 18) R.H. Shimabukuro: *ibid.*, **15**, 557 (1967)
- 19) M.V. Wiese, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **3**, 214 (1973)
- 20) D.D. Raymond, et al.: *ibid.*, **2**, 270 (1972)
- 21) D.S. Frear, et al.: *Phytochem.*, **11**, 1919 (1972)
- 22) D.S. Frear, et al.: *ibid.*, **8**, 2157 (1969)
- 23) R.E. Menzer, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **13**, 102 (1965)
- 24) T. Nakatsugawa, et al.: *Biochem. Pharmacol.*, **16**, 25 (1967)
- 25) R.L. Metcalf, et al.: *J. Econ. Entomol.*, **50**, 338 (1957)
- 26) H.R. Krueger: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **5**, 396 (1975)
- 27) J.B. Knaak, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 573 (1966)
- 28) W.-T. Chin, et al.: *ibid.*, **18**, 709 (1970)
- 29) H. Ohkawa, et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 943 (1976)
- 30) J.E. Casida, et al.: *Science*, **184**, 573 (1974)
- 31) K.A. Ptashne, et al.: *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **179**, 380 (1971)
- 32) T. Shishido, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **2**, 27 (1972)
- 33) J.B. McBain, et al.: *Life Sci.*, **10**, 947(1971)
- 34) K. Ueda, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **5**, 280 (1975)
- 35) H.W. Dorough: *J. Agric. Food Chem.*, **15**, 261 (1967)
- 36) S.S. Gill, et al.: *ibid.*, **22**, 386 (1974)
- 37) C.A. Bache, et al.: *ibid.*, **8**, 408 (1960)
- 38) D. Wong, et al.: *Biochem. Pharmacol.*, **14**, 375 (1965)
- 39) R.W. Chadwick, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **5**, 575 (1975)
- 40) M. Hitchcock, et al.: *Biochem. Pharmacol.*, **16**, 1801 (1967)
- 41) G.W. Probst, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **15**, 592 (1967)
- 42) N.G.K. Karanth, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **6**, 20 (1976)
- 43) T. Suzuki, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 281 (1975)
- 44) W.N. Aldridge: *Biochem. J.*, **53**, 117(1953)
- 45) J.E. Casida, et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **36**, 411 (1959)
- 46) R.K. Sud, et al.: *Arch. Mikrobiol.*, **87**, 353 (1972)
- 47) J.W. Cook, et al.: *J. Ass. Off. Agr. Chem.*, **41**, 407 (1958)
- 48) J. Miyamoto, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1**, 293 (1971)
- 49) J. Miyamoto, et al.: *ibid.*, **3**, 30 (1973)
- 50) J. Miyamoto, et al.: *ibid.*, **4**, 438 (1974)
- 51) M. Elliott, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 300 (1972)
- 52) C.O. Abernathy, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **3**, 300 (1973)
- 53) L.C. Terriere, et al.: *ibid.*, **3**, 96 (1973)
- 54) L.E. St. John, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 644 (1973)
- 55) S.K. Bandal, et al.: *ibid.*, **20**, 1235 (1972)
- 56) L.T. Jao, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **4**, 465 (1974)
- 57) 赤塚尹巳: 農業科学, **1**, 55 (1973)
- 58) T. Uchida, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **12**, 48 (1964)
- 59) G. Engelhardt, et al.: *Appl. Microbiol.*, **22**, 284 (1971)
- 60) G. Engelhardt, et al.: *ibid.*, **26**, 709(1973)
- 61) P.C. Kearney, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **13**, 561 (1965)
- 62) J. Blake, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **5**, 305 (1975)
- 63) M. Slade, et al.: *ibid.*, **5**, 35 (1975)
- 64) A.C.C. Craven, et al.: *ibid.*, **6**, 132 (1976)
- 65) B.D. Hammock, et al.: *ibid.*, **4**, 393 (1974)
- 66) S. Miyazaki, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 365 (1975)
- 67) H.C. Sikka, et al.: *ibid.*, **22**, 230 (1974)
- 68) S.R. Colby: *Science*, **150**, 619 (1965)
- 69) J. Kaslander, et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **52**, 396 (1961)
- 70) T. Kikal, et al.: *Biochem. J.*, **71**, 48(1959)

- 71) A. Binning, et al.: *ibid.*, **103**, 42 (1967)
- 72) M.A. Loose, et al.: *Can. J. Microbiol.*, **13**, 691 (1967)
- 73) 鈴木隆之, 他: 農薬生産技術, **26**, 21 (1971)
- 74) N.K.V. Alfen, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **22**, 221 (1974)
- 75) B.G. Tweedy, et al.: *ibid.*, **18**, 851 (1970)
- 76) E.G. Esaac, et al.: *J. Insect Physiol.*, **14**, 913 (1968)
- 77) W.W. Shindy, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 629 (1973)
- 78) W.A. Andreae, et al.: *Plant Physiol.*, **32**, 566 (1957)
- 79) C.-S. Feung, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 637 (1973)
- 80) J. Fukami, et al.: *J. Econ. Entomol.*, **59**, 1338 (1966)
- 81) T. Shishido, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **2**, 51 (1972)
- 82) G.L. Lamoureux, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **20**, 1004 (1972)
- 83) R.H. Shimabukuro, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **3**, 483 (1973)
- 84) J.E. Casida, et al.: *ibid.*, **5**, 1 (1975)
- 85) E. Nachtomi: *Biochem. Pharmacol.*, **19**, 2853 (1970)
- 86) H. Ohkawa, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **2**, 95 (1972)
- 87) W.C. Evans, et al.: *Biochem. J.*, **122**, 543 (1971)
- 88) R.S. Horvath: *ibid.*, **119**, 871 (1970)
- 89) D.W. Jones, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **2**, 8 (1972)
- 90) S.F. Krzeminski, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 1068 (1975)
- 91) Y. Soeda, et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 931 (1972)
- 92) W.R. Lyman: "Pesticide Terminal Residues," ed. by A.S. Tahori, p.243, Butterworths, London (1971)
- 93) R.Y. Yih, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **19**, 320 (1971)
- 94) J.D. Fisher: *ibid.*, **22**, 606 (1974)
- 95) J.M. Tiedge, et al.: *ibid.*, **23**, 77 (1975)
- 96) T.L. Laanio, et al.: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **3**, 271 (1973)
- 97) T. Golab, et al.: *ibid.*, **5**, 196 (1975)
- 98) P.C. Kearney, et al.: *ibid.*, **6**, 229 (1976)
- 99) G.T. Brooks, et al.: *Life Sci.*, **6**, 1439 (1967)
- 100) G.W.A. Milne, et al.: *J. Biol. Chem.*, **243**, 5374 (1968)
- 101) K.A. Hassall: *Pestic. Biochem. Physiol.*, **1**, 259 (1971)
- 102) A.L. French, et al.: *J. Econ. Entomol.*, **63**, 756 (1970)
- 103) Y. Tsukano, et al.: *Agric. Biol. Chem.*, **36**, 116 (1972)
- 104) C.M. Tu: *Arch. Microbiol.*, **108**, 259 (1976)
- 105) F. Matsumura, et al.: *J. Pesticide Sci.*, **1**, 3 (1976)
- 106) J.G. Sternburg, et al.: *J. Econ. Entomol.*, **46**, 513 (1954)
- 107) H. Lipke, et al.: *J. Biol. Chem.*, **234**, 2123 (1959)
- 108) J.G. Sternberg, et al.: *J. Econ. Entomol.*, **49**, 548 (1956)
- 109) W.N. Yule, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **15**, 1000 (1967)
- 110) 堀内信生: 農化, **35**, 870 (1961)
- 111) P. Goldman: *J. Biol. Chem.*, **240**, 3434 (1965)
- 112) P. Goldman, et al.: *ibid.*, **243**, 428 (1968)
- 113) P.C. Kearney, et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **14**, 29 (1964)
- 114) P.F.V. Ward, et al.: *Biochem. J.*, **130**, 575 (1972)
- 115) 石田正臣, 他: 農薬科学, **3**, 10 (1975)
- 116) 遠藤正造, 他: 日本農薬学会第1回大会講演要旨, 114 (1976)
- 117) E.J. Kuchar, et al.: *J. Agric. Food Chem.*, **17**, 1237 (1969)