

総説

有機リン光学異性体の合成と生理作用

大 川 秀 郎

住友化学工業(株) 農薬研究部
(昭和51年5月24日受理)

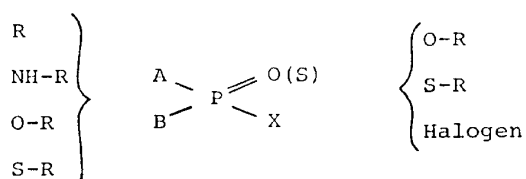
Synthesis and Biological Activity of Optical Isomers of Organophosphorus Esters

Hideo OHKAWA

Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd.,
Takarazuka, Hyogo 665, Japan

はじめに

有機リン化合物は100以上の種類があり年間2億ポンド以上も生産され、殺虫剤、殺線虫剤、殺菌剤、除草剤、あるいは共力剤、昆虫避妊剤、抗ガン剤などとして広範囲の用途に使用されている。それらの化合物の構造もホスフロチオエート、ジチオエート、チオレート、ホスフェート、ホスフォネート、アミデート型など様々であるが、農薬として使用されている化合物の大部分はFig. 1に示した一般式の範囲にはいるだろう。それらの内で



R = alkyl, aryl
Fig. 1

も、殺虫性有機リン酸エステル類が最も詳しく研究されており、その生理作用もよく解明されている¹⁻⁴⁾。すなわち、P=O型の化合物はアセチルコリンエステラーゼ(AchE)をリン酸化することによりその作用を阻害し、神経の刺激伝達を攪乱して昆虫や哺乳動物に急性毒性を示し、ついには死に至らしめる。P=S型の化合物は生体内でmixed function oxidase(mfo)の作用を受けて、P=O型に変換されてその作用を現わす。殺菌性化合物の内には細胞壁の合成を阻害するもの⁵⁾、生体内のSH

基をアルキル化するもの⁶⁾など知られているが、いまだ有機リン殺菌剤に共通の性質を説明できるに至っていない。ある種の除草剤は細胞分裂を阻害するとの報告⁷⁾もあるが、そのみで作用性をすべて説明できるとは思えない。そのほかに、ある種の有機リン共力剤が農薬の加水分解に関与しているエステラーゼ類を阻害することや、P=S型化合物がmfoの阻害剤であることはよく知られている⁴⁾。

一般に、これらの有機リン化合物は哺乳動物体内でmfoによる種々の酸化反応およびP-O-アリル結合の切断、GSH-S-トランスフェラーゼ類によるメチル基やアリル基の転位反応、エステラーゼ類による加水分解を受けてすみやかに代謝され、代謝物は短時間の内に体外に排泄されてしまい蓄積性はないと考えられる^{1,2)}。また、環境下でも植物、微生物、土壌、光などによって加水分解、酸化、還元反応を経て容易に分解され、残留性や生物濃縮性の心配なく使用できる化合物群である^{1,8)}。

一般式に示した有機リン化合物はA, B, Xの3置換基が異なる場合にリン原子が不斉となり、光学異性体の存在が考えられる。また、中には置換基に存在する不斉炭素原子やスルフォキシド基に由来する光学活性体もある。これらの光学活性体は*in vitro*での酵素反応、生物活性、哺乳動物に対する毒性および生体内代謝などにおいて、異性体間に差の見られることが多い。このような立体特異性は、生理活性有機リン化合物の作用機構その他の性質を解明する上で興味ある問題を含んでいる。

ここでは有機リン光学異性体に関する文献を紹介し、最近のこの分野の研究を概観してみた。

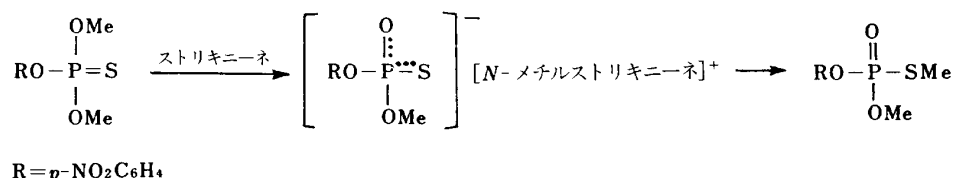


Fig. 4

不斉リン原子に由来する

光学異性体の合成

最初に光学活性リン化合物の分割に成功したのは、Meisenheimer ら (1911 年)⁹⁾ である。彼らは ethylmethylphenylphosphine oxide に α -bromocamphor sulfonic acid を作用させ、生じた塩を分別結晶したのち

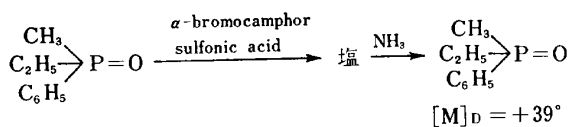


Fig. 2

にアンモニア処理することによって光学活性なホスフィンオキシドを得た。その後、ホスフィンスルフィド、スピロ第4ホスホニウム塩、普通の第4ホスホニウム塩、ホスフィン酸エステルなど光学活性体がつぎつぎと分割されたが、有機リン酸の光学分割はなかなか成功しなかった¹⁰⁾。Aaron ら (1958 年)¹¹⁾ はまずアセトン中で *O*-ethyl ethylphosphonothioic acid とキノンのジアステレオメリック塩をつくり、不溶性塩から (−) 体を得、次に、ブルシンとの塩をつくって不溶性塩から (+) 体を得た。彼らは分割したチオリン酸と 2-(ethylthio)-ethylchloride から、光学活性なホスフォチオレート (Fig. 3) を合成した¹²⁾。それ以来、同様な方法を用いて相当数の光学活性リン酸エステル類が合成されるようになった。

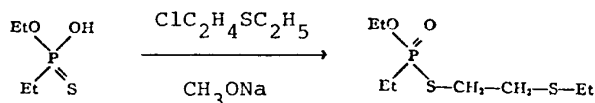


Fig. 3

有機リン酸の光学分割にはキノインやブルシンなどの天然アルカロイド類がよく用いられるが、 α -phenylethylamine も優れた分割剤である。(+) 体と (−) 体の両異性体が入手できるし、しかも天然アルカロイドに比べて安価であり、結晶性のよい塩さえできれば大量の分割には有利である。Wustner と Fukuto¹³⁾ は α -phenylethylamine を用いて *O*-2-butyl hydrogen ethylphosphonothiolate を分割し、*O*-2-butyl S-2-(ethylthio)ethyl ethylphosphonothiolate の光学異性体を合成した。その他の分割方法としては、リン酸メチルエステルとストリ

キニーネを反応させる方法がある¹⁴⁾。Fig. 4 に示すように、メチルエステルの脱メチル化が起こり、*N*-メチルストリキニーネができ、生じたリン酸と塩をつくる。アセトニトリル中では (+) 体の塩が多く生成し、メタノール中では (−) 体の塩が主成分である。おのおのの塩を再結晶により精製したのち、直接メチル化することにより methylparathion の S-メチル異性体の光学活性体を合成した (Fig. 4)。

光学活性なチオリン酸からエステルを合成するには、通常ハロゲン化アルキル (RX, X=I or Br) を用いる。その際に、アルキル基は S 原子と反応してチオレート型のエステルを生ずる¹⁵⁾ (Fig. 5)。

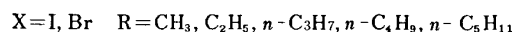
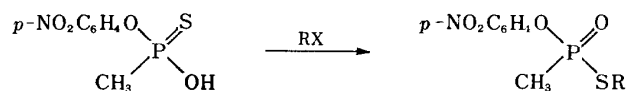


Fig. 5

わりにジアゾメタンでメチル化すると、チオレートとともにわずかながらチオエート (P=S) も生成する。Seiber と Tolkmith¹⁶⁾ は、この方法でホスホロアミドチオレートとチオエートを 10 : 1 の割合で得た (Fig. 6)。

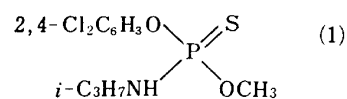
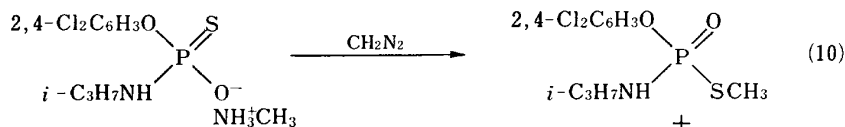


Fig. 6

光学活性の P=S 型化合物を合成するには、もっと一般的な方法がある。チオリン酸を光学分割したあとで五塩化リンで塩素化すると、反転を伴って相当するクロリデートを与える¹⁷⁾ (Fig. 7)。

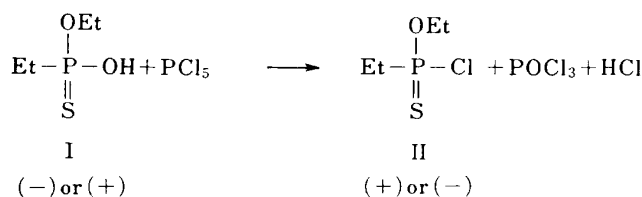


Fig. 7

オールやアミン類を反応させると、相当するジチオエートやアミデートを与える^{18,19)} (Fig. 8). この反応も反転

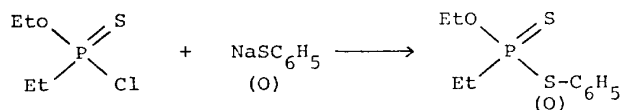


Fig. 8

を伴う。これらの方法によって各種のチオレートやチオエート型のリン酸エステル類を合成できるが、ホスフェートやホスフォネートを同様な方法によって直接合成することは難しい。可能な方法としては、相当する P=S 型化合物を合成したのちに酸化することによって、P=O 型に変換することである。酸化剤としては、*m*-chloroperoxybenzoic acid が優れており、反応はクロロフォルムやジクロルメタン中で定量的に進行する。この反応は立体保持である (Fig. 9). 酸化の際にトリクロロ酢酸などの

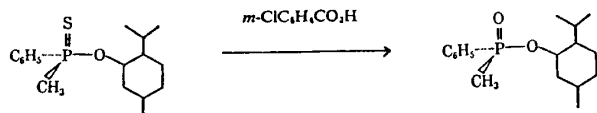


Fig. 9

強い酸が存在すると反転が起こる²⁰⁾. Dyfonate® の過酸による酸化機構は、立体化学的に次のごとく推測される (Fig. 10). すなわち、不斉リン化合物に過酸が求核的に攻撃して 5 価のリン化合物 C を生ずる。この C から

S 原子が除かれると、D, 転位が起こることによって E が生ずる¹⁹⁾. これまで有機リン化合物の立体選択的合成は偶然性が伴うと考えられがちであったが、ここに述べた方法はかなりの一般性を有し、要領よく組み合わせることにより広範囲のリン酸エステル類を立体選択的に合成できると思われる。

不斉炭素原子に由来する光学異性体の合成

リービンググループに存在する不斉炭素に基づく光学活性リン酸エステルの合成例を付記しておきたい。diethyl malathion と diethyl malaoxon は Hassan と Dauterman²¹⁾ によって次のように合成された。L-malic acid からそのエチルエステルを合成し、五臭化リンで処理することにより (+)-diethylbromosuccinate を得た。このブロマイドに O,O-diethyl potassium phosphorodithioate を反応させて (-)-diethyl malathion を得、O,O-diethyl sodium phosphorothiolate との反応で (-)-diethyl malaoxon を得た。L-aspartic acid を亜硝酸と臭化ナトリウムで処理すると (-)-bromosuccinic acid が得られる。これをエチルエステルにしたのちに O,O-diethyl potassium phosphorodithioate と反応させると (+)-diethyl malathion が、O,O-diethyl sodium phosphorothiolate との反応で (+)-diethyl malaoxon が得られる (Fig. 11-I). 筆者ら²²⁾は papthion と papoxon の光学活性体を次のように合成した。D-(-) と L-(+)-mandelic acid をおのおのエチルエステルにし、チオニルブロマイ

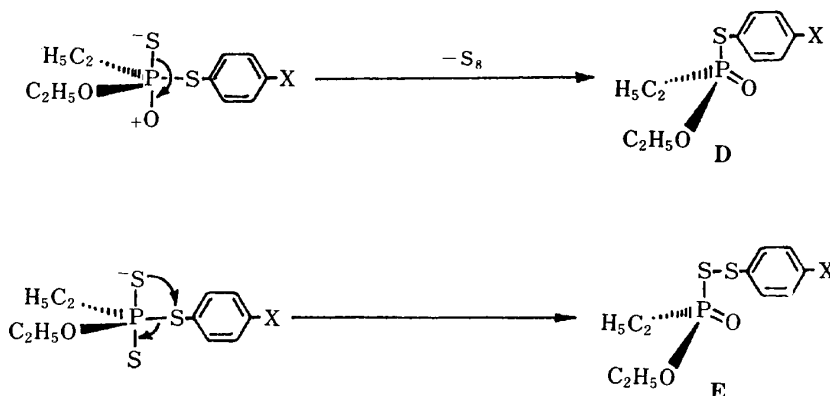
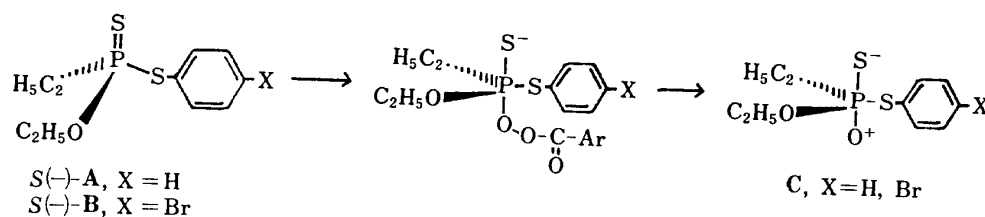


Fig. 10

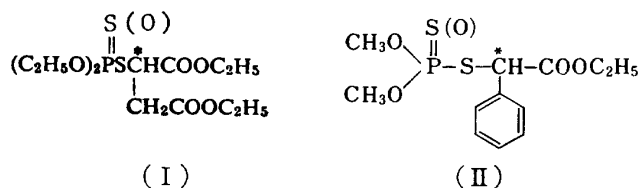


Fig. 11

ドでブロム化する。得られたブロマイドを sodium dimethylphosphorodithioate と反応させると papthion が、また、sodium dimethylphosphorothiolate との反応で papoxon が得られた¹¹⁾。これらの反応過程では、ブロム化とリン酸を結合する段階でおのおの反転が起きる。

光 学 純 度

有機リン光学活性体の旋光度は、測定条件によって変わることがある。たとえば、phosphoroamidithioate (Fig. 12) をベンゼンに溶かし 589 mμ で測定すると -23.4° であったが、メタノール中では 0° であった。メタノール溶液を濃縮して再びベンゼン中で測定すると、元の旋光度を示した。したがってメタノール中でラセミ化したのではなく、おそらく不斉リン原子に直結した NH 基の水素結合性がこの化合物の旋光性や立体配置に強く影響していると考えられる¹⁶⁾。

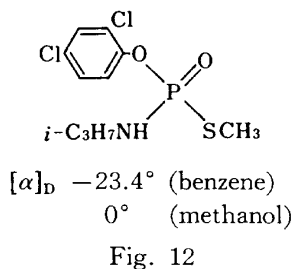


Fig. 12

合成した化合物の化学的純度は、薄層クロマトグラフィーやガスクロマトグラフィーで簡単にチェックできるが、旋光度が小さくしかも標品の得られない化合物の光学純度を測定することは容易でない。比較的良好に用いられるのは、NMR の測定である。化合物 I と II (Fig. 13)

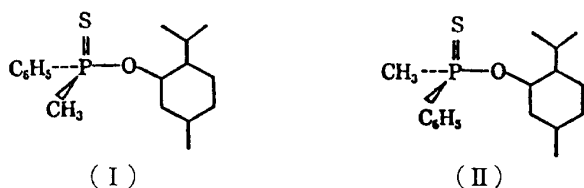


Fig. 13

の場合、P-CH₃ と C-CH₃ はおのおのダブルレットのシグナルを与えるが、Table 1 に示したようにケミカルシフ

Table 1

Compound	δ	
	P-CH ₃ doublet	C-CH ₃ doublet
I	1.87	0.70-1.02
II	1.93	0.40

トに差があることを利用して両異性体の比を測ることができる²⁰⁾。光学活性なシフト試薬を使用した NMR の測定で成功した例もある。O-ethyl O-methyl methylphosphonate (I) (Fig. 14) の NMR を重クロロフォルム中



Fig. 14

で tris-[3-(heptafluoro-*n*-propylhydroxymethylene)-(+)-camphorato] europium (III) の存在下で 60 MHz で測定すると P-O-CH₃ はダブルレットシグナルを示すが、ラセミ体では一対のダブルレットを示しその差は 3~6 Hz である。この差に基づいて両異性体の混合比を測定した結果は、旋光度から推定した値とよく一致した²³⁾。しかし、(S)-O-ethyl O-isopropyl S-methylphosphorothiolate (II) では P-S-CH₃ のシグナルのシフト差が両異性体間で小さく (約 1 Hz), よい結果が得られなかった。特殊な例であるが、異性体間の酵素阻害度の差を利用して光学純度を測定した例もある²⁴⁾。(-)-sarin (Fig. 15) は (+)-sarin に比べて Ach E 阻害度が 4,200 倍も強い。このような両異性体間の酵素阻害度の大きな差に基づき合成品の光学純度を計算したところ、標品の旋光度から求めた純度とよく一致した。

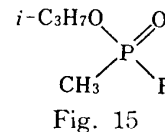


Fig. 15

絶 対 構 造

反応機構を立体化学的に解明するには、化合物の絶対構造を明らかにする必要がある。Allahyari は Dyfonate® ホモログの光学異性体の絶対構造を、X線回折法によって決定した¹⁹⁾。Dyfonate® それ自身は液体であるが、その *p*-ブロモ体 (Fig. 16-A) は結晶 (mp 31.5°C) を与

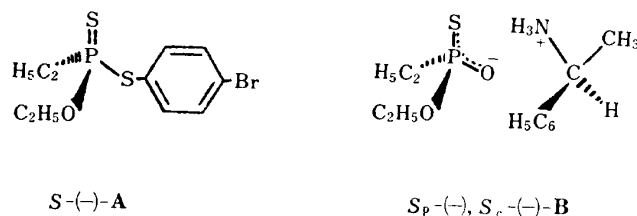
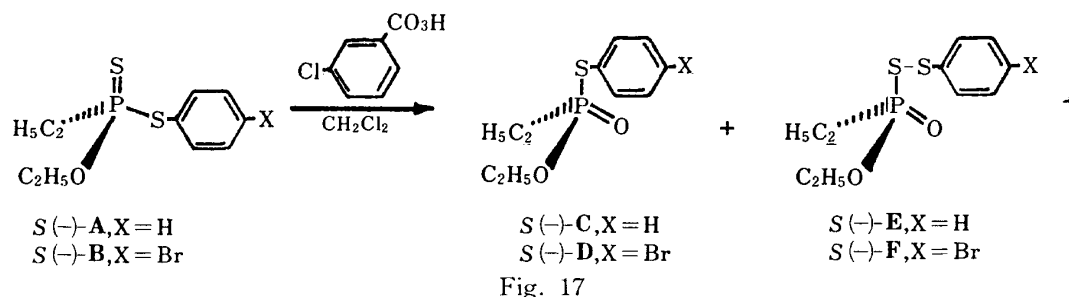


Fig. 16

え、X線回折法による絶対構造の決定が可能であった。また、O-ethyl ethylphosphonothioic acid のアミン塩 (Fig. 16-B) も同様に絶対配置が決められた。彼らはこれらの結果をもとに、Dyfonate® の酸化反応機構を立体化学的に解明しようと試みた。すなわち、Dyfonate®



(Fig. 17-A) とその *p*-ブロモ体の (-) 異性体 (Fig. 17-B) を *m*-chloroperoxybenzoic acid で酸化すると (-) 体の C または D, (-) 体の E または F などが得られた。これら生成物の絶対配置は、既知化合物 Fig. 16 *S_p*-(-)-B に誘導したり, Fig. 16 -*S_p*-(-)-B から生成物を合成することにより, S 配位と決められた。

(注) 私信によれば, 最近, Fukuto らは Dyfonate 光学異性体の *m*-chloroperoxybenzoic acid による oxon 体への酸化が立体保持で進行するという以前とは逆の結果を得ている。

コリンエステラーゼ (ChE) 阻害と殺虫性

酵素が不斉炭素を有する化合物 (基質または阻害剤) との反応において立体特異性を示すことはよく知られており, そのような立体特異性は酵素表面あるいは活性中心の不斉性に由来すると考えられる。神経の刺激伝達に関与しているアセチルコリンエステラーゼ (AChE) は, その本来の基質であるアセチルコリンが光学活性でないにもかかわらず, 光学活性な基質や阻害剤との反応において立体特異性を示す。

Aaron ら¹²⁾は *O*-ethyl *S*-2-(ethylthio)ethyl ethylphosphonothiolate (Fig. 18) の光学異性体を合成して 4 種の ChE 類との反応性を測定した。(-) 体は (+) 体に対して電気ウナギ, 人赤

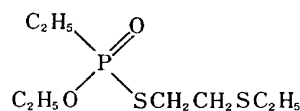


Fig. 18

血, 球子牛赤血球の AChE および馬血清の ChE に対して 10 倍から 20 倍も反応性が高かった。つまり, 4 種の ChE 類は不斉リン原子に由来する有機リン光学異性体との反応において, 明らかな立体特異性を示したのである。Fukuto と Metcalf²⁵⁾ は, 上記光学異性体の昆虫に対する毒性をテストした。(-) 体は (+) 体に対してイエバエに 6 倍, カに 10 倍,

ミツバチに対して 9 倍の強い殺虫力を示した。また, (-) 体はイエバエ頭の AChE 阻害も (+) 体に対して 11 倍ほど強力であり, 殺虫性の結果とよく一致した。

哺乳動物に対する毒性については Hilgetag と Lehman¹⁴⁾ の報告があり, methylparathion の *S*-異性体である *O*-methyl *S*-methyl *O*-4-nitrophenylphosphorothiolate の (-) 体はラットに対して (+) 体よりも 5 倍ほど強い急性毒性を示した。これらの結果から, 有機リン光学異性体と ChE 類との *in vitro* での反応, 昆虫および哺乳動物に対する毒性においてははっきりと立体特異性の存在が証明されたわけである。

Ooms と Boter^{15,26)} は一連の *S*-alkyl *p*-nitrophenyl methylphosphonothiolates に関して, ChE 類の阻害やパラオキソナーゼによる加水分解反応における立体特異性, つまり (-) 体と (+) 体の活性比 ($r_a = (-)$ 体の活性 / (+) 体の活性), にアルキル基の大きさがどのように影響するかを系統的に研究した。さらに, キモトリプシン, トリプシン, アリエステラーゼなどの加水分解酵素についても同様な実験を行なった。使用した酵素類はおのおの一連の光学異性体に対して多少なりとも立体特異性を示し, ラセミ体の活性は両異性体の中間であった (Table 2)。それらの酵素の内, ChE 類は (-) 体で阻

Table 2 Ratios of activity (r_a) of enantiomers of *S*-alkyl *p*-nitrophenyl methylphosphonothiolates, (RS)MeP(O)OC₆H₄NO₂.

ratios of activity (r_a)

Enzyme	R =	CH ₃	C ₂ H ₅	<i>n</i> C ₃ H ₇	<i>n</i> C ₄ H ₉	<i>n</i> C ₅ H ₁₁
Acetylcholinesterase		1.2	13.1	36.4	50.5	29.1
Butyrylcholinesterase		0.66	0.86	2.0	2.9	1.0
Paraoxonase		0.81	0.26	0.19	0.27	0.06
Aliesterase		2.2	0.15	0.52	0.72	0.21
Acetylesterase		8.9	49	42	125	540
Chymotrypsin		0.07	0.29	2.1	2.8	6.9
Trypsin		0.66	1.5	3.0	1.4	2.7

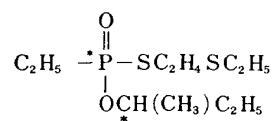
r_a = activity of (-)-isomer / activity of (+)-isomer.

害されやすく、しかも AchE のほうがブチリコリンエステラーゼ (BuChE) よりも大きな立体特異性を示した。AchE の r_a 値は *n*-ブチルホモログで最大 (50) であり、BuChE もやはり *n*-ブチルで最大 (3) であった。パラオキシナーゼも、これら光学異性体の加水分解において大きな立体特異性を示し、 r_a 値は *n*-ペンチルホモログで最大であった。つまり、AchE とは逆に (+) 体が早く水解され、しかもアルキル基が大きくなるほど立体特異性も大きくなる。アセチルエステラーゼは使用した酵素の中で最も著しい立体特異性を示し、 r_a 値はアルキル基が大きくなるにつれて増大した。アリエステラーゼ、キモトリプシン、トリプシンも立体特異性を示したが、アルキル基の大きさによってその効果は変化した。つまり、アリエステラーゼの場合はアルキル基が小さいとき (-) 体が、大きくなると (+) 体の作用が強い。キモトリプシンとトリプシンは逆にアルキル基が小さいとき (+) 体が、大きくなると (-) 体の反応性が高くなる。これらの事実から酵素の種類、有機リン剤のアルキル基の大きさによって示される立体特異性も大きく変化することが明らかであろう。

Wustner と Fukuto¹³⁾ は 2 個の不斉中心 (リン原子とアルキル基の炭素) を持つ *O*-2-butyl S-2-(ethylthio)ethyl ethylphosphonothiolate (demeton アナログ) の光学異性体 4 種を合成し、ChE 類の阻

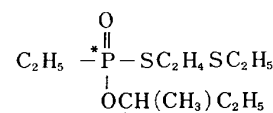
害効果、昆虫やマウスに対する毒性および浸透殺虫性をテストし、生理活性における不斉リン原子と α -炭素原子の役割を推察した。イエバエ頭と子牛赤血球の AchE および馬血清の ChE に対する 4 異性体の阻害効果には、大きな差が見られた。たとえば、イエバエ頭の AchE に対して、4c と 4d では 1,250 倍の差があった (Table 3)。阻害力の差はリンに由来する異性体間で大きく、(-) 体は (+) 体よりも強力であった。 α -炭素の不斉性の効果はリン原子と比べて小さく、阻害力の異性体間の差はわずかであった。また、3 種の ChE に対する 4 異性体の阻害力は 4a>4d>4f>4c の順序であった。つまり、これらの光学活性阻害剤は 3 種の ChE の活性中心と同じ

Table 3 Anticholinesterase properties of 4 and its resolved isomers against housefly head acetylcholinesterase (HFACHe), bovine erythrocyte acetylcholinesterase (BACHe), and horse serum cholinesterase (HSCHe).



No.	Configuration		HFACHe, k_i (95% Cl) $\text{M}^{-1} \text{min}^{-1} \times 10^{-3}$		BACHe, k_i (95% Cl) $\text{M}^{-1} \text{min}^{-1} \times 10^{-3}$		HSCHe, k_i (95% Cl) $\text{M}^{-1} \text{min}^{-1} \times 10^{-3}$	
	α -C	P						
4	Racemic		969	(29)	31.8	(0.9)	5.95	(0.21)
4a	+	-	1,710	(50)	65.3	(2.1)	17.3	(0.9)
4c	+	+	1.35	(0.02)	0.629	(0.020)	0.483	(0.042)
4d	-	-	1,690	(110)	54.5	(2.2)	6.85	(0.30)
4f	-	+	6.62	(0.30)	1.45	(0.07)	1.01	(0.18)

Table 4 Toxicity of the optical isomers of *O*-2-Butyl S-2-(Ethylthio)ethyl ethylphosphonothioate (4) to houseflies (topical, adult, female), mosquito larvae, and white mice (oral).



No.	Configuration		Musca domestica		Culex larvae, LC ₅₀ ppm	Mouse ♀, LD ₅₀ mg/kg
	α -C	P	NAIDM, LD ₅₀ $\mu\text{g/g}$	SC, LD ₅₀ $\mu\text{g/g}$		
4	Racemic		10.8	78	0.65	3.1
4a	+	-	6.7	33	0.25	3.2
4b	+	±	9.4	84	0.66	
4c	+	+	>500	>500	>1	110
4d	-	-	6.9	42	0.15	2.8
4e	-	±	12.1	122	0.57	
4f	-	+	>500	>500	>1	125

ように反応し、しかもおのおのの酵素の立体特異性も類似していると考えられる。一般に昆虫や哺乳動物に対する有機リン剤の毒性は、それらの AchE 阻害力と平行関係にある。4 異性体の内、AchE の強い阻害剤であった 4a と 4d はイエバエとマウスに対する毒性が高く、弱い阻害剤 4c と 4f の毒性は低い。とくに、マウスに対する毒性と AchE 阻害の間にはきわめて良い相関性が見られた (Table 4)。したがって、マウス体内では解毒に関与する代謝や浸透性は両異性体の間でほとんど同じと考えられる。4 異性体の植物浸透殺虫力テストの結果もやはりリン (-) 体が強く、リン (+) 体はほとんど活性を示さなかった。植物体内での移行性などに影響すると

思われる物理化学的性質に関しては異性体間で差はないと考えられるので、リン（－）体の強い作用は AchE の強い阻害力に基づくと思われる。興味あることに、リン（－）体（4a と 4d）の効力はラセミ体よりも約 3 倍も長く持続した。つまり、浸透性殺虫剤としてリン（－）体はラセミ体よりも優れていることになり、今後実用面での研究が期待される。

Wustner と Fukuto²⁷⁾ の研究をもう一つ紹介したい。彼らは絶対構造の解っている 4 光学異性体（リンと炭素に不斉中心ある）(Fig. 19) を合成し、ChE 類の立体特

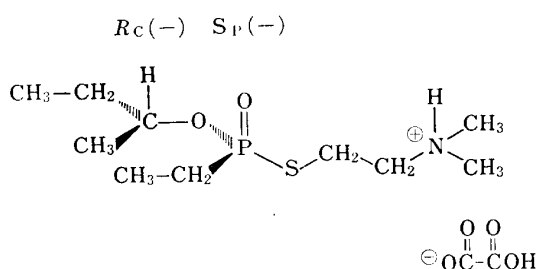


Fig. 19

異性を速度論的に解析した。S_P 配置を持つ異性体は R_P 異性体よりも強い阻害剤であり、子牛赤血球 AchE に対して 1,630 倍、イエバエ頭の AchE に 9,120 倍、馬血清の ChE に 40 倍の差を示した。S_P 異性体の立体化学的特異性は酵素との高い親和性 (k_a) と早いリン酸化反応 (k_p) に起因している。炭素不斉性の阻害効果に及ぼす影響は、リン原子に比べて小さい。いずれにせよ酵素阻害 (k_i) だけでなく酵素との親和性 (k_a) とリン酸化反応 (k_p) も阻害剤の立体化学的性質に影響されることが明らかである。

有機リン酸エステルのリービンググループに存在する炭素の不斉性が生理活性にどの程度影響するかについては、Dauterman ら^{21,28)} の diethyl malathion と diethyl malaoxon (Fig. 11-I) に関する研究がある。diethyl malathion と diethyl malaoxon の（＋）体はマウスとイエバエに対して（－）体よりも約 2 倍ほど強い毒性を示した。また、（＋）-diethyl malaoxon は *in vitro* で（－）体よりも AchE とカルボキシエステラーゼを強く阻害した。したがって、（＋）体の強い毒性は（＋）-diethyl malaoxon による強い AchE の阻害の結果と考えられるが、（＋）-diethyl malaoxon の強いカルボキシエステラーゼ阻害も malathion と malaoxon の水解を抑制することにより（＋）体の毒性を高めていると考えられる。

筆者ら²²⁾ は malathion と同様にリービンググループの α-炭素が不斉である papthion と papoxon (Fig. 11-II) の異性体を合成して種々の昆虫やマウスに対する毒性を

テストした。（＋）-papthion はカ（幼虫、成虫）、ニカメイチュウ（幼虫）、コナガ（幼虫）およびマウスに対して（－）体よりも強い毒性を示した。それとは逆に、イエバエ（成虫）では（＋）体より（－）体のほうが強力であった (Table 5)。これらの結果は *in vitro* における papoxon 異性体の AchE 阻害効果とよく一致した (Table 6)。炭素の不斉性はリン原子と比べると *in vitro* におけ

Table 5 Toxicity of (+)-, (-)- and (±)-papthion to houseflies (adult), mosquitoes (adult, larva), rice stem borers (larva), diamond back moths (larva) and white mice.

Animal	LD ₅₀ (μg/insect or mg/kg ^{a)} or LC ₅₀ (ppm) ^{b)}		
	(+)-Papthion	(-)-Papthion	(±)-Papthion
Housefly			
Lab-em-7-em (♂♀)	0.054	0.028	0.042
WHO (♀)	0.076	0.030	0.051
Mosquito			
Adult	0.0028	0.0069	0.0042
Larva	0.0042 ^{b)}	0.0085 ^{b)}	0.0051 ^{b)}
Rice stem borer	0.022	0.109	0.064
Diamond back moth	37 ^{b)}	66 ^{b)}	40 ^{b)}
Mouse (ip)	105 ^{a)}	290 ^{a)}	152 ^{a)}

Table 6 Anticholinesterase activity of (+)-, (-)- and (±)-papoxon against bovine erythrocyte acetylcholinesterase, housefly head acetylcholinesterase and rice stem borer larva acetylcholinesterase.

Compound	I ₅₀ (M)		
	Bovine erythrocyte	Housefly head	Rice stem borer
(+)-Papoxon	8.4 × 10 ⁻⁹	8.4 × 10 ⁻¹⁰	8.0 × 10 ⁻⁹
(-)-Papoxon	2.5 × 10 ⁻⁸	4.7 × 10 ⁻¹⁰	1.9 × 10 ⁻⁸
(±)-Papoxon	1.5 × 10 ⁻⁸	6.5 × 10 ⁻¹⁰	1.0 × 10 ⁻⁸

る酵素反応および昆虫や哺乳動物に対する毒性にはそれほど大きな影響を及ぼさないかもしれないが、酵素や昆虫の種類を変えると異性体間で微妙な差が見られることから、広範囲の酵素や昆虫に対してテストすることにより、たとえば酵素の活性中心の微細な相異を識別できるかもしれない。また、通常、AchE は数種のアイソザイムから成り立っているので、昆虫の種類によっては生理的に重要なアイソザイムのみを光学異性体によって選択的に阻害できる可能性もあるだろう。

殺 草 性

殺草活性を有する有機リン化合物は数多く知られているが、ここでは良く似た構造を持つ２種のホスホロアミドチオエートの光学異性体の殺草活性について取り上げてみたい。除草剤 DMPA (Fig. 20-I) の不斉リン原子に

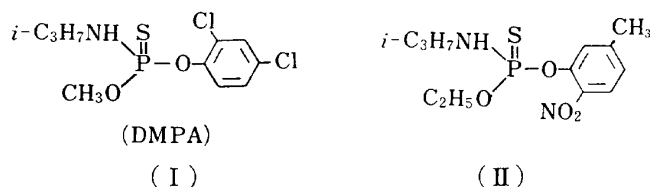


Fig. 20

由来する光学異性体は Seiber と Tolkmith¹⁵⁾ によって合成され、それらの殺草活性は Holmsen²⁹⁾ によってテストされた。fescue に対する生育阻害試験の結果、50% 生育阻害濃度は (－) 体で 1.5 ppm, ラセミ体で 4.0 ppm, (+) 体では 36.5 ppm であった。つまり、(－) 体は (+) 体よりも約 24 倍、ラセミ体より 2.7 倍強力であった。筆者ら¹⁸⁾は *O*-ethyl *O*-2-nitro-5-methylphenyl *N*-isopropyl phosphoroamidothioate (Fig. 20-II) の光学異性体を合成し、殺草活性をテストした。ヒエに対する 50% 生育阻害濃度は (+) 体で 1.07×10^{-7} M, (－) 体で 3.14×10^{-8} M であり、イネに対しては (+) 体が 1.89×10^{-6} M, (－) 体が 5.19×10^{-7} M であった。いずれに対しても、(－) 体のほうが (+) 体よりも 3.4~3.6 倍ほど強く、ラセミ体の活性は両者の中間であった。イネやヒエによる根からの吸収量および植物体内での分解速度に関しては、両異性体間でほとんど差がない³³⁾ことから作用点での感受性の差が考えられるが、現時点ではこれら化合物の作用機構はほとんど解明されていない。

殺菌性

Tolkmith ら^{30,31)}は有機リン光学異性体を合成し、それらの殺菌効果をテストしたが、Fig. 21 に示した化合

物は植物病原菌である *Erysiphe cichoracearum* と *Phytophthora infestans* に対する効力が弱く、光学異性体間の差は認められなかった。しかし、マウスに対する急性毒性に関しては、(+)体が(-)

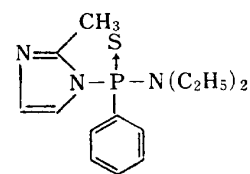


Fig. 21

体やラセミ体に比べて約 2 倍の大きな LD₅₀ 値を示した。これまでに有機リン光学活性体の殺菌効果をテストした例は少ない。今後、種々の化合物について多種の病原菌に対してテストしたり、あるいはテスト方法を工夫することによって立体選択性を証明できるだろう。

代 謝

農薬ではないが抗ガン剤として有名な cyclophosphamide (Fig. 22) は、不斉リン原子を有することから鏡像

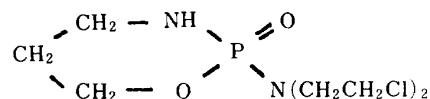


Fig. 22

体の存在が考えられる。Cox ら³²⁾はラセミ体 1 g を 3 人の患者に服用した後 24 時間の尿から、1 人当たり 9.5~17.5 mg の左旋性の cyclophosphamide を得た。その後、彼らは光学異性体を合成した。標品の旋光度から推測すると、患者の尿から得たサンプルは 83~91% の (－) 体を含んでいることになる。合成した異性体の抗ガン作用をマウスの ADJ/PC6 血漿細胞腫瘍に対してテストした結果、(－) 体は (+) 体よりも殺腫瘍細胞作用が強力であった。これらの事実から、cyclophosphamide は人体内で立体選択的に代謝されるとともに、光学異性体間で抗腫瘍作用に差があることが明らかである。

筆者らは先に述べたように有機リン光学異性体 (Fig. 20-II) の殺草性をテストしたが、引き続きそれら光学異性体のウサギ肝臓 mfo による代謝を検討した³³⁾。(+)、(-) およびラセミ体をおのおのウサギ肝マイクロソーム

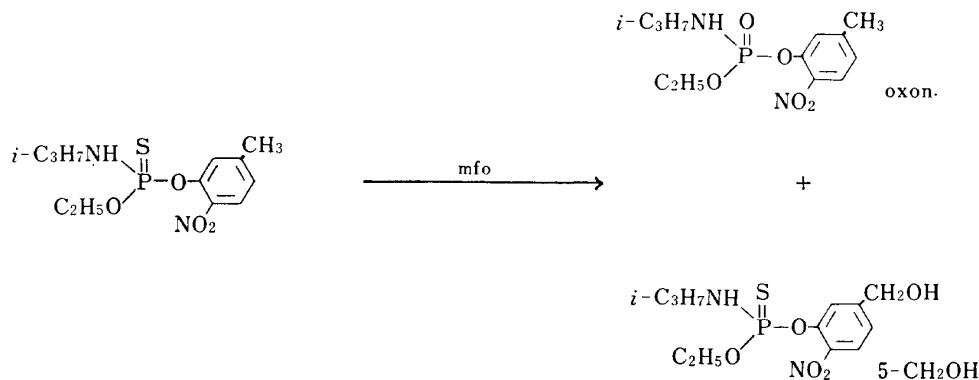


Fig. 23

μ-NADPH系と反応させると種々の代謝物を与えるが、その内の主成分は oxon 体と 5-CH₂OH 体であった (Fig. 23). 両代謝物の生成率は (+) 体で 9.2, 4.4%, (-) 体で 8.3, 5.3%, ラセミ体では 14.9, 5.5% であり、異性体間で差はほとんど認められなかった。この反応条件下で母化合物の残存量は (+) で 8.3, (-) で 9.1, ラセミでは 21% であり、ラセミ体の代謝速度は (+) 体や (-) 体と比べてわずかに遅いと思われる。また、得られた主代謝物 oxon と 5-CH₂OH 体の旋光性は母化合物に支配されており、(+) 体からは (+) の、(-) 体からは (-) の、ラセミ体からはラセミの両代謝物が得られた。また、得られた (+), (-) oxon 体の旋光度は *m*-chloroperoxybenzoic acid による酸化で得た標品とほぼ同じであった。したがって、mfo による P=S の P=O への酸化は立体保持であると推測される。しかし、これらの酸化機構を解明するためには、絶対構造を明らかにする必要がある。oxon 型光学異性体の子牛赤血球 AchE 阻害を測定した結果、(-) oxon 体のほうが (+) 体よりも 7.5 倍ほど強力であった。oxon 体の生成率には差はないが、それらの AchE 阻害体内には立体特異性が見られた。

有機リン剤やカーバメート剤でスルフィド基を持つ化合物は、哺乳動物や微生物の mfo によってスルフォキシドに酸化され、スルフォキシド体のほうがより強力な生理活性を示すことがある^{34,35}。他方、分子にスルフォキシド基が導入されると分子不斉となり、鏡像体の存在が考えられる。スルフィド基を持つ有機リン殺線虫剤 phorate (Fig. 24-I) は線虫、バクテリアおよび菌によ

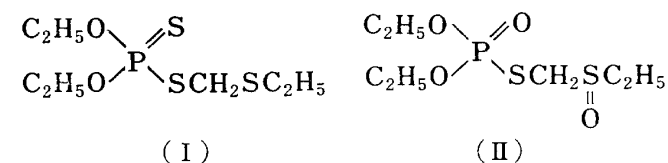


Fig. 24 Phorate (I) and phoratoxon sulphoxide (II).

て酸化的に代謝される。2 種の土壌線虫の内、*Panagrellus redivivus* からは phorate sulfoxide が、*Aphelenchus avenae* からは phoratoxon sulfoxide (Fig. 24-II) が得られ、両代謝物は光学活性であった。また、*Bacillus megaterium* と *Aspergillus niger* も光学活性 (-) な phorate sulfoxide を与えたが、線虫からの代謝物とは旋光度が逆であった³⁶。

これらの事実は哺乳動物だけでなく、線虫やその他の微生物によっても立体選択的に代謝が行なわれ、しかも、選択性は生物種によって異なっていることを示している。

(補) 最近、Lee⁴² らは Dyfonate 光学異性体のマウス

肝 mfo による oxon 体への酸化が立体保持で進行するとの結果を得ている。

おわりに

冒頭に述べたように、有機リン化合物は構造を改変することによって優れた生理活性を有する化合物を見いだすことができ、その作用性はきわめて変化に富んでいる。したがって、今後も有用な化合物を求めて種々のスクリーニングテストで続けられるであろう。しかしながら、ある種の化合物は遅延性神経毒性^{37,38}、催奇形性³⁹、突然変異性⁴⁰、魚に対して背骨曲り症状⁴¹などを発現する恐れもあり、まったくそれらの危険性がないわけではない。有機リン光学異性体に関しては、*in vitro* での酵素反応、生物活性、哺乳動物に対する毒性、生体内代謝などにおいて立体特異性の存在することが示された。今後さらに多くの有機リン光学異性体について広範囲の効力や毒性テストを行なうことによって、より有害作用の少ない化合物を発見できる可能性もあるだろう。

農薬として使用されている化合物の内には Dyfonate®, Salithion®, EPN, Malation, Surecide® など多くの化合物が不斉原子を持っており、鏡像体が存在する。それらは現在ラセミ体として使用されているが、光学活性体に分割することにより効力が増すことは十分考えられる。また、ラセミ体を使用するよりも有用な異性体のみを農薬として使用すれば、環境汚染や有害作用の危険性をより少なくできるだろう。そのためには、有機リン光学異性体の優れた立体選択的合成法や経済的な製法に関する研究の進歩を伴わねばならない。

謝 辞

有機リン光学活性体の研究に種々の助言をしていただきました本論文の発表の機会を与えていただいた住友化学農薬研究部宮本純之主席研究員に深謝いたします。また、本論文を作製するに当たり資料集めなど種々の助力をしていただいた三上信可研究員に感謝いたします。

引用文献

- 1) 宮本純之: 防虫科学 **36**, 135 (1971)
- 2) M. Eto: "Organophosphorus Pesticides; Organic and Biological chemistry," CRC Press, Ohio, 1974
- 3) C. Fest & K.-J. Schmidt: "The Chemistry of Organophosphorus Pesticides," Springer-Verlag, New York, 1973
- 4) J.E. Casida: *Ann. Rev. Biochem.* **42**, 259 (1973)
- 5) K. Kakiki, T. Maeda, H. Abe & T. Misato: *Nippon Nokei Kagaku Kaishi* **43**, 37 (1969)
- 6) M. Eto & H. Ohkawa: "Biochemical Toxicology

- of Insecticides," ed. by R.D. O'Brien & I. Yamamoto, Academic Press Inc., New York, p. 93, 1970
- 7) S. Sumida & M. Ueda: "Mechanism of Pesticide Action," ed. by G.K. Kohn, American Chemical Society, Washington, D.C. p. 156, 1974
 - 8) 上杉康彦, 塚野 豊, 松中昭一, 見里朝正, 宮本純之: 化学総説 No. 2 (生態学の展望), 日本化学会編, 東京大学出版会, p. 57, 1973
 - 9) J. Meisenheimer & L. Lichtenstadt: *Chem. Ber.* **44**, 356 (1911)
 - 10) 向山光昭: "新しい有機合成反応", 広川書店, 東京, p. 21, 1968
 - 11) H.S. Aaron, T.M. Shryne & J.I. Miller: *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 107 (1958)
 - 12) H.S. Aaron, H.O. Michel, B. Witten & J.I. Miller: *J. Am. Chem. Soc.* **80**, 456 (1958)
 - 13) D.A. Wustner & T.R. Fukuto: *J. Agr. Food Chem.* **21**, 756 (1973)
 - 14) G. Hilgetag & G. Lehman: *J. Prakt. Chem* [4] **8**, 224 (1959)
 - 15) A.J.J. Ooms & H.L. Boter: *Biochem. Pharmacol.* **14**, 1839 (1965)
 - 16) J.N. Seiber & H. Tolkmith: *Tetrahedron* **25**, 381 (1969)
 - 17) J. Michalski & M. Mikolajczyk: *Tetrahedron* **22**, 3055 (1966)
 - 18) H. Ohkawa, N. Mikami, A. Mine & J. Miyamoto: *Agr. Biol. Chem.* **39**, 2265 (1975)
 - 19) R. Allahyari: Ph.D. Dissertation, University of California at Riverside, 1975
 - 20) A.W. Herriott: *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 3304 (1971)
 - 21) A. Hassan & W. C. Dauterman: *Biochem. Pharmacol.* **17**, 1431 (1968)
 - 22) H. Ohkawa, N. Mikami, K. Kasamatsu & J. Miyamoto: *Agr. Biol. Chem.* **40**, 1857 (1976)
 - 23) C.R. Hall, T.D. Inch, G.J. Lewis & R.A. Chittenden: *J. Chem. Soc.* **1975**, 720
 - 24) H.L. Boter & C. van Dijk: *Biochem. Pharmacol.* **18**, 2403 (1969)
 - 25) T.R. Fukuto & R.L. Metcalf: *J. Econ. Entomol.* **52**, 739 (1959)
 - 26) H.L. Boter & A.J.J. Ooms: *Biochem. Pharmacol.* **16**, 1563 (1967)
 - 27) D.A. Wustner & T.R. Fukuto: *Pestic. Biochem. Physiol.* **4**, 365 (1974)
 - 28) Y. C. Chiu & W. C. Dauterman: *Biochem. Pharmacol.* **18**, 359 (1969)
 - 29) T.W. Holmsen: *Weed Sci.* **17**, 187 (1969)
 - 30) H. Tolkmith, J.N. Seiber & P.B. Budde: *Science* **158**, 1462 (1967)
 - 31) J.N. Seiber & H. Tolkmith: *Tetrahedron Letters* **34**, 3333 (1967)
 - 32) P.J. Cox, P.B. Farmer, M. Jarman, M. Jones, W.J. Sec & R. Kinas: *Biochem. Pharmacol.* **25**, 993 (1976)
 - 33) H. Ohkawa, N. Mikami & J. Miyamoto: *Agr. Biol. Chem.* **40**, 2125 (1976)
 - 34) R.L. Metcaef, T.R. Fukuto & R.B. March: *J. Econ. Entomol.* **50**, 338 (1957)
 - 35) J.E. Casida, E.C. Kimmel, H. Ohkawa & R. Ohkawa: *Pestic. Biochem. Physiol.* **5**, 1 (1975)
 - 36) G.N.J. LePatourel & D.J. Wright: *Comp. Biochem. Physiol.* **53**, 73 (1976)
 - 37) M.K. Johnson: *Arch. Toxicol.* **34**, 259 (1975)
 - 38) M.T. Abou-Donia & S.H. Preissig: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **35**, 269 (1976)
 - 39) N.H. Proctor, A.D. Moscioni & J.E. Casida: *Biochem. Pharmacol.* **25**, 757 (1976)
 - 40) M.J. Ashwood-Smith, J. Trevino & R. Ring: *Nature* **240**, 418 (1972)
 - 41) 金沢 純: 科学 **46**, 108 (1976)
 - 42) P.W. Lee, R. Allaphari & T.R. Fukuto: *Biochem. Pharmacol.*, submitted