

学会賞受賞論文

(業績賞)

含イオウ有機リン殺虫剤の活性化に関する研究

宮本 徹

東京農業大学農学部農芸化学科

Study on Activation of Organothiophosphorus Insecticides

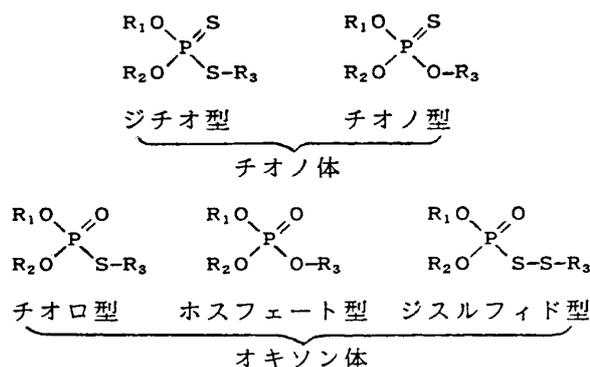
Toru MIYAMOTO

Department of Agricultural Chemistry, Tokyo University of Agriculture,
Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan

Organophosphorus insecticides are one of the largest groups of pesticides and most of them have one or two sulfur directly connected with phosphorus atom. Thiono or thiothiono types of organophosphorus insecticides exert their insecticidal activity by inhibiting acetylcholinesterase (AChE) after activation. This activation is mediated by the mixed function oxidase (mfo), and thus the reaction is regarded as one of the most important ones. Studies on the origin of oxygen incorporated into the phosphinyl disulfide resulted from peracid oxidation indicated that the occurrence of phosphinyl disulfide was direct evidence for the phosphorus oxythionate intermediate as the initial oxidation product of phosphorothiothionate compounds. An analytical procedure was developed to derive the unstable phosphinyl disulfide into the stable *S*-thiomethyl phosphorothiolates. By using this technique, the occurrence of the phosphorus oxythionate intermediate at mfo oxidation became evidenced. Phosphorothionate compounds are often isomerized to the thiole isomers of higher toxicity by heat or light. The occurrence of such isomerization by mfo system was first indicated. *S*-Alkyl phosphorothiolates are insecticidal but do not inhibit AChE *in vitro*. The type of activation was shown to be the production of the unstable sulfoxide which inhibits AChE. Evidences were provided to indicate the involvement of another activated form, the glutathione conjugate of the sulfoxide which inhibits AChE. From a *S*-alkyl phosphorothiothionate, the phosphinyl disulfide was obtained by peracid oxidation, which gave the unstable sulfoxide, then its glutathione conjugate, both being the potential activated forms.

はじめに

有機リン殺虫剤は、ピレスロイド系の殺虫剤とともに、世界で使用される農薬のなかで最も使用頻度の高い薬剤の一つである。その大半がリン原子の周りにイオウ原子を1個または2個もったチオノ体で、これ自身アセチルコリンエステラーゼ (AChE) を阻害せず、生体内であるいは光酸化によりオキシソン体になって AChE を阻害して殺虫力を示す。また、チオノ体化合物は、熱や光によりチオロ型化合物に異性化し毒性が高まる場合が



ある。一方、チオロ型化合物のなかには、オキソン体であるにもかかわらず AChE の阻害活性が弱く、しかも殺虫力が強く、感受性の害虫と同程度に抵抗性の害虫にも殺虫力を示す薬剤がある。

本研究では、これら有機リン殺虫剤の基本的な活性化の機構を明らかにし、新農薬開発の指針と安全性評価の手掛かりを探った。

チオノ体有機リン殺虫剤の代謝変換

Parathion の P-O-aryl のエステル結合の開裂は酵素的あるいは非酵素的な酸化で起こることが、Knaak¹⁾、中津川と Dahm²⁾、Neal³⁾ により報告された。McBain⁴⁾ は、有機リン殺虫剤 fonofos (ジチオ型で $R_1O=Et$, $R_2=Et$, $R_3=C_6H_5$) のラット肝ミクロゾーム酸化酵素系による代謝で、酸化的脱イオウ反応に不安定な phosphorus oxythionate 中間体を仮定し、これを経る反応機構を提唱した。この一連の研究の中 fonofos の過酸化⁵⁾ において、*in vitro* 代謝と同様の生成物のほかに phosphinyl disulfide 化合物^{5,6)} が見つかった。著者は、出発物質であるジチオ型化合物の構造に比べ酸素原子が 1 個だけ多いこのジスルフィド型のオキソン体の生成と仮定の phosphorus oxythionate 中間体との関係を探る目的で、本酸化的脱イオウ反応の機構の解明を試みた。

1. 有機リン剤 DEPD の過酸化⁷⁾

S-(4-Chlorophenyl) diethyl phosphorothiolothionate (DEPD) を塩化メチレン中 3-chloroperbenzoic acid (MCPBA) で酸化したところ、Fig. 1 に示すよう

に、phosphinyl disulfide **II** をオキソン **I** や thioic acid **III**, thiophenol **IV** とともに得た。**III** と **IV** とは見かけ上 DEPD の加水分解物ととれるが、実際は酸化条件下でのみ **I** とともに生成した。また disulfide **II** は、**III** と **IV** を MCPBA で酸化しても得られた。一方、DEPD を ^{18}O で標識した水 (99.5 atom%) の存在下で MCPBA 酸化したところ、disulfide **II** の分子内に ^{18}O が取り込まれた。しかも **II** に取り込まれる ^{18}O の割合は水の量により異なり、多量の水存在下では **II** の P(O) の酸素は 100% 水に由来するが、無水条件下少量の水存在下では、P(O) の酸素は水由来ではなかった。したがって、phosphinyl disulfide **II** の生成には、水の関与する経路と水の関与しないもうひとつの経路とがあると考えざるをえなかった。すなわち、DEPD と **III**, **IV** および **I** をつなぎかつ DEPD と **II** とをつなぐ中間体として、DEPD が酸化された形の phosphorus oxythionate の存在が必然となった。換言すれば、DEPD の過酸化では、まず不安定な反応中間体 phosphorus oxythionate が形成され、この分子内転移により、また水が存在すればこの加水分解物 thioic acid と thiophenol の再酸化によって、phosphinyl disulfide が生成、他方脱イオウによりオキソンが生成するのである。

2. Phosphinyl disulfide の生成意義とジアゾメタン反応⁸⁾

前述の知見は、phosphinyl disulfide の存在が中間体 phosphorus oxythionate の関与を示すことになるということであった。しかし、この disulfide 化合物は、

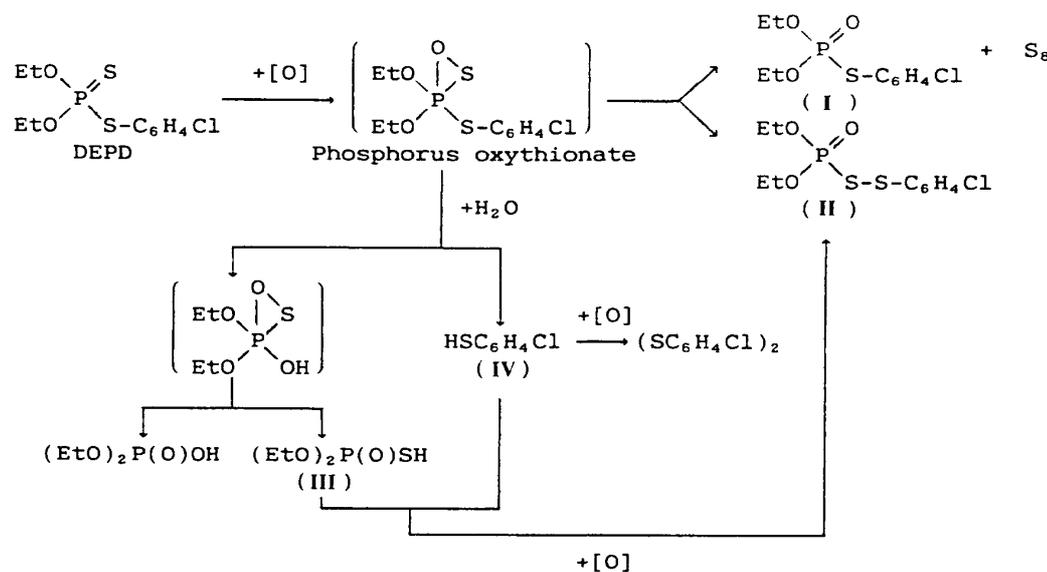


Fig. 1 Proposed metabolic pathway leading to the formation of various products on 3-chloroperbenzoic acid oxidation of $(EtO)_2P(S)SC_6H_4Cl$.

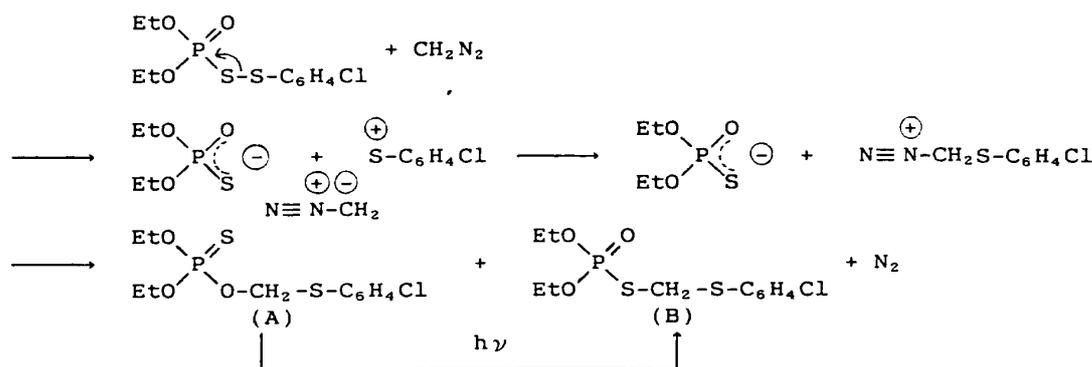


Fig. 2 Proposed mechanism for the reaction of (EtO)₂P(O)SSC₆H₄Cl with CH₂N₂ and isomerization of phosphorothionate A into phosphorothiolate B by UV light.

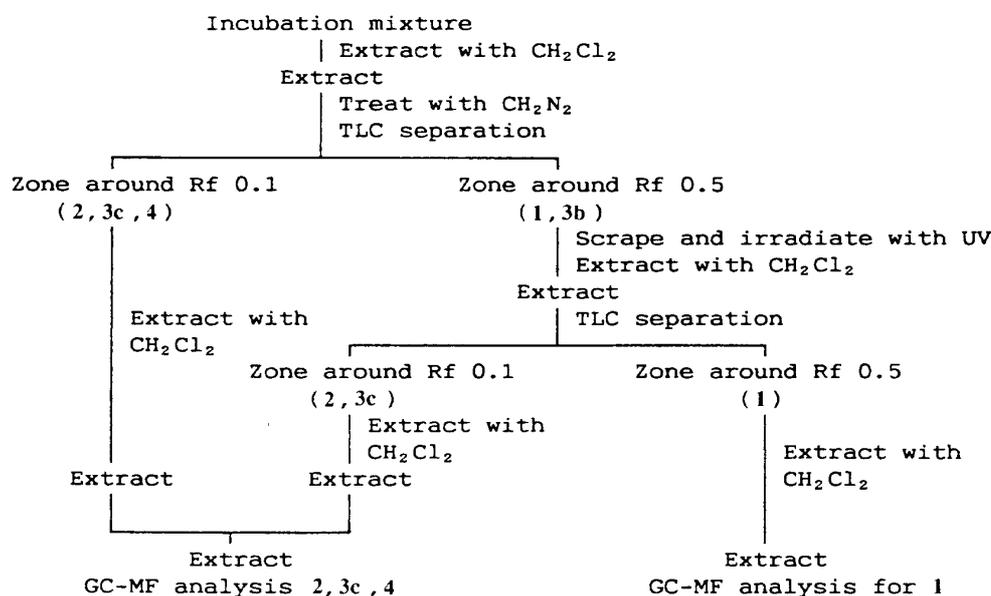


Fig. 3 Analytical procedure for DEPD metabolites.

1, DEPD; **2**, (EtO)₂P(O)SC₆H₄Cl; **3a**, (EtO)₂P(O)SSC₆H₄Cl; **3b**, (EtO)₂P(S)OCH₂SC₆H₄Cl; **3c**, (EtO)₂P(O)SCH₂SC₆H₄Cl; **4**, EtS(EtO)P(O)SC₆H₄Cl; **5a**, EtS(EtO)P(O)OH; **5b**, EtS(EtO)P(O)OMe; **6a**, HO(EtO)P(O)SC₆H₄Cl; **6b**, MeO(EtO)P(O)SC₆H₄Cl.

fonofos や DEPD からは過酸化で見いだされたが、一般には不安定で反応系での生成を検出するのは難しかった。著者は、Fig. 2 に示すように、phosphinyl disulfide がジアゾメタンと容易に反応して 2 つの生成物 A と B を与え、不安定な生成物 A が紫外線 (254 nm) 照射により安定な生成物 B に分子内転移、この変化が半定量的に進むことを見だし、不安定な phosphinyl disulfide を安定な化合物 B に誘導化してガスクロマトグラフィー (GC) により分析することを可能にした。

3. Phosphinyl disulfide の生体系での存在

著者は、¹⁴C 標識ジチオ型有機リン殺虫剤 DAEP⁹⁾ や PAP¹⁰⁾ を用い、phosphorus oxythionate 中間体の関与を示す phosphinyl disulfide の生成を検討した。

MCPBA による化学反応では、この disulfide は検出され、かつジアゾメタンとも容易に反応することが薄層クロマトグラフィー等で認められた。しかし、ラット肝ミクロゾーム酸化酵素系による *in vitro* 酸化では同化合物は検出されず、ガラス板での光分解やマメ科植物葉面、マウスでの代謝分解では、ジアゾメタン処理後の 2 次元薄層クロマトグラフィーにより検索しても、近縁の R_f 値をもつ多くの他の生成物の妨害等により、この disulfide 化合物の生成を特定することはできなかった。そこで著者¹¹⁾ は、DEPD をラット肝ミクロゾームで酸化してジアゾメタンを反応させ、マスフラグメントグラフィー (MF) によりこの disulfide の生成を検討した。MF は、分子が壊れてできる分子イオンや分子固有のフラグ

Table 1 *In vitro* metabolism of *S*-(4-chlorophenyl) diethyl phosphorothiolothionate (DEPD) by rat liver microsome with or without NADPH at 3 kinds of pH conditions.

Chemicals	% of chemicals at pH					
	6.5		7.0		7.5	
	NADPH +	NADPH -	NADPH +	NADPH -	NADPH +	NADPH -
Residual DEP (1)	43.6	79.3	34.3	73.6	33.9	71.5
(EtO) ₂ P(O)SC ₆ H ₄ Cl (2)	19.2	0.46	23.4	0.63	25.5	1.31
(EtO) ₂ P(O)SSC ₆ H ₄ Cl (3a)	0.08	trace	0.08	trace	0.10	trace
EtS(EtO)P(O)SC ₆ H ₄ Cl (4)	0.17	trace	0.12	trace	0.09	trace

メントイオンを追跡するため、分子自身を追跡する GC より分解能・感度ともに数段勝った定量法で、近縁の他物質のみならず生体成分の妨害をもかなり減じることができる。DEPD (3.1×10^{-4} mmol) の水-エタノール (3:2) 溶液 0.4 ml を 20% ラット肝ミクロゾーム 2.0 ml, NADPH (2×10^{-2} mmol) の 0.25 M ショ糖溶液 0.4 ml, 1/15 M リン酸緩衝液 5.2 ml の混合液に加えて、37°C で 30 分インキュベートし、Fig. 3 の手順で抽出・分画して GC-MF により、ジアゾメタン反応生成物 (3c), オキソン (2), 未反応の DEP (1) を分析した。Table 1 に示すように、NADPH 添加区では、無添加区に比較してオキシソンの生成が多く認められ、併せて phosphinyl disulfide (3a) をきわめて少量ながら検出した。しかし、phosphinyl disulfide (3a) は、薄層プレート上暗所で一晚放置すると diethyl phosphoric acid, 4-chlorothiophenol, bis(4-chlorophenyl) disulfide に分解してしまう等、前述のごとく不安定であることを考慮すれば、生体系での phosphinyl disulfide の生成はかなりあったものと思われる。これらの実験証拠は、ジチオ型有機リン殺虫剤の酸化的脱イオウ反応が不安定な phosphorus oxythionate 中間体を経て進むことを明確にしたものである。

生体条件下でのチオノ-チオロ転位

チオノ体は、光や熱によって対応するチオロ型化合物に異性化し、そのあるものは強い AChE 阻害を示すが、生体条件下ではこの変化が進むか否かは知られていなかった。著者¹¹⁾は、Table 1 に示すように、DEPD のラット肝ミクロゾーム酸化で *S*-アルキル異性体 (4) がごく微量生成し、生体系でチオノ-チオロ転位が起こることを初めて見いだした。この化合物 4 は、さらにミクロゾーム酸化を受けると容易に代謝され、化合物 5a, 6a を多く与えた (Table 2)。6a は NADPH を添加しないとほとんど検出されなかったため、5a とは異なり、

Table 2 *In vitro* metabolism of *S*-(4-chlorophenyl) *S*-ethyl ethyl phosphorodithiolate (*S*-ethyl isomer) by rat liver microsome with or without NADPH at pH 7.5.

Chemicals	% of chemicals	
	NADPH +	NADPH -
Residual		
<i>S</i> -ethyl isomer (4)	2.5	74.2
EtS(EtO)P(O)OH (5a)	22.3	16.2
HO(EtO)P(O)SC ₆ H ₄ Cl (6a)	26.2	trace

次章で述べる *S*-アルキル基のイオウ原子の酸化による活性中間体からの代謝物であることがわかった。これらの結果から、本転位反応により生成する *S*-アルキル異性体は前述の phosphinyl disulfide とともに潜在的活性代謝物となりうる可能性を示し、毒性学上の問題点を提起した。

チオロ型有機リン殺虫剤の代謝変換

一般にチオロ型有機リン殺虫剤は AChE を強く阻害するが、なかには methamidophos, profenofos, pyraclofos, prothiophos oxon のように、AChE 阻害は弱いにもかかわらず強い殺虫力を呈するものがある。江藤ら¹²⁾は、1977年、methamidophos を過酸酸化すると AChE を強く阻害する不安定なスルホキシド化合物が生成することをいろいろな化学的証拠により推定、生体系でも同様の活性化が起こることを示唆し、この種の有機リン化合物の反応機構に初めて言及した。Wing ら¹³⁾は、profenofos をミクロゾーム酸化すると、活性体である不安定なスルホキシドを経て、(-)-profenofos は *S*-プロピル基が脱離しながら AChE と結合し、(+)-profenofos は加水分解されて phosphinyloxysulfonate に解毒されることを見いだした。また河野ら¹⁴⁾は、

pyraclofos の過酸化の主生成物は phosphinyloxy-sulfonate で、これ自体 AChE を阻害するが、室温下で放置すると、徐々に AChE 阻害力がさらに大なることを報告した。著者は、抵抗性イエバエの防除に有効な有機リン殺虫剤 prothiophos を用いてこの機構の解明に努めた。

1. Prothiophos のイエバエ AChE 阻害の機構¹⁵⁾

Prothiophos の抵抗性、感受性イエバエに対する LD₅₀ 値の比は 2 にすぎず、prothiophos oxon の AChE 阻害力は、感受性イエバエに対しては一般のオキソン化合物に比べてきわめて低く、抵抗性イエバエに対してはチオノ体のそれと同等でまったく阻害力がなく、prothiophos の殺虫力をオキソン体への活性化だけでは説明できなかった。そこで、prothiophos oxon および S-アルキルオキソン (メチル, エチル, ブチル体) を合成し、感受性、抵抗性イエバエに対する殺虫力と AChE 阻害、過酸化, ラット肝ミクロゾーム-NADPH 系での牛赤血球 AChE 阻害と代謝等を比較し活性化の機構に迫った。

Prothiophos および prothiophos oxon の LD₅₀ 値の薬量感受性、抵抗性イエバエに局所施用し、ノックダウンした虫を集めて *in vivo* AChE 活性を測定した結果、36~58% の阻害率が得られ、供試虫の半数がノ

ックダウンするに要した時間は、prothiophos oxon が感受性、抵抗性イエバエに対しても速かった。これから、prothiophos はまず prothiophos oxon に変化すると思われるが、オキソンは前述したように AChE 阻害力は低く、またこの S-アルキルオキソンも同様に低かった。殺虫力は、感受性と抵抗性のイエバエに対して、prothiophos のほか prothiophos oxon とブチル体が高かった。よって、prothiophos oxon とブチル体は、さらに生体内で何らかの活性化を受けて AChE を阻害するものと推察された。活性化の一手段として、ラット肝ミクロゾームを用い、牛赤血球 AChE への阻害を追跡した。NADPH 無添加ではいずれも阻害は見られないが、添加すると prothiophos oxon とブチル体のみが阻害された。これから、この両者は生体内のミクロゾーム酸化酵素系により活性化されることがわかり、ちょうど殺虫力がオキソン化合物のうちでこの両者だけ高いことと対応していた。次に活性体の構造を検討するにあたり、酸化的に活性化されることから、まずこれらオキソンを過酸化したところ、どのオキソンからも出発物質のほか、Fig. 4 に示した DEHP とこれに相当するアルカンスルホン酸が FPD-GC により検出された (Table 3)。つまり、酸化的に S-アルキル基が脱離したわけで、酸化の部位はイオウ原子しか考えられない。さらに、これらオキソンをラット肝ミクロゾームで酸化したところ、Table 4 に示すように、NADPH 添加区のみよく代謝され、主代謝物はやはり DEHP であった。これは AChE 阻害力のない解毒代謝物である。ところで、DEHP の生成は、過酸化では 25~29% という場合もほぼ等しかったが、ミクロゾーム酸化では、メチル体、エチル体で 63.7%, 62.8% である一方、prothiophos oxon (プロピル体), ブチル体とともに 25.7% と大きく異なった。プロピル体、ブチル体で DEHP の生成が少なかった原因として、活性体の生体成分への結合が考えられた。以上の結果を総合して、

Table 3 Oxidation of prothiophos oxon and S-alkyl homologs with 3-chloroperbenzoic acid.

Chemicals	% of chemicals			
	Alkyl			
	Me	Et	Pr	Bu
Residual				
S-alkyl oxon	13.1	13.5	26.1	22.1
RSO ₂ H	27.7	49.2	38.0	26.4
DEHP	29.0	27.3	25.2	26.7

Table 4 Metabolism of prothiophos oxon and S-alkyl homologs by rat liver microsome with or without NADPH.

Chemicals	% of chemicals								
	Alkyl								
	NADPH	Me		Et		Pr		Bu	
		+	-	+	-	+	-	+	-
Residual S-alkyl oxon	6.2	92.0	9.1	96.1	0.7	95.4	14.1	95.1	
DEHP	63.7	ND	62.8	ND	25.7	ND	25.7	ND	

ND: not detected.

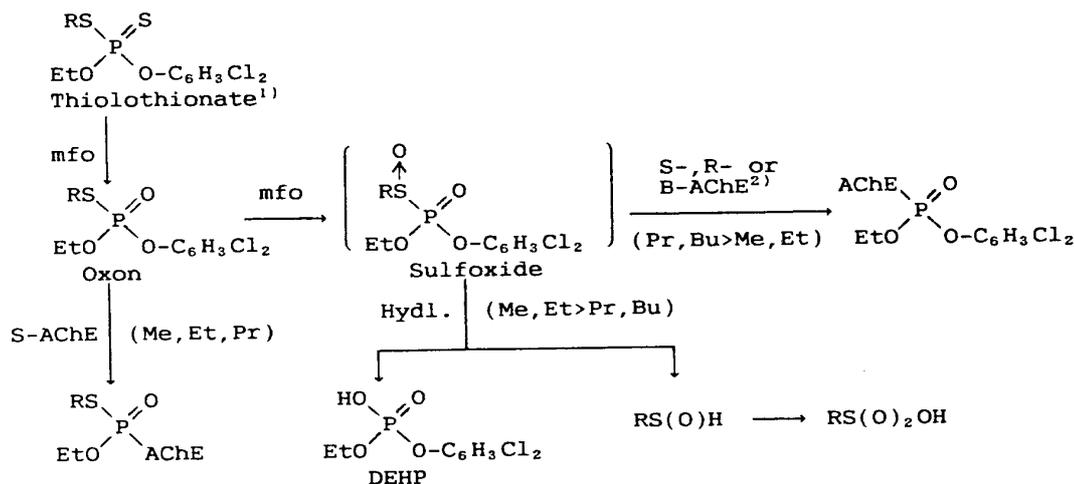


Fig. 4 Activation and detoxication of S-alkyl 2,4-dichlorophenyl ethyl phosphorothioate insecticides.

1) R: $n\text{-C}_3\text{H}_7$, prothiophos. 2) AChE from susceptible, resistant houseflies and bovine erythrocyte.

prothiophos の活性化と解毒，構造と活性相関を Fig. 4のごとく結論した。すなわち，① ジチオ型の prothiophos はマイクロゾーム酸化でオキソンに変化，② メチル，エチル，プロピル体は S-AChE に若干の阻害力をもつ。③ オキソン化合物はさらにマイクロゾーム酸化で，不安定な活性体スルホキシドを生成する。④ 以上の変化は過酸酸化でも起こり，活性体は加水分解して DEHP と RS(O)H を与え，後者はさらに RSO_3H に酸化されるが，活性体の生成と加水分解はアルキル基の影響をあまり受けない。⑤ 生体条件下では，スルホキシド体は，メチル，エチル体の場合，主に加水分解を受けて DEHP を与えるが，プロピル，ブチル体の場合，生体成分との反応がおもに起こり，DEHP の生成は減り，AChE が存在すればこれと反応して阻害する。

2. Prothiophos oxon のグルタチオン抱合体と AChE 阻害¹⁶⁾

各オキシンの殺虫力が感受性と抵抗性間で大差ないことから，生体内では前述のスルホキシド中間体と両者の AChE それぞれとの反応はあまり変わらないことが推察された。しかし，これら一連の研究はすべて *in vitro* 下のもので，生体内ではこの不安定な活性体はいろいろな生体内物質とも容易に反応することが予想できた。著者は，抵抗性発現の原因の一つとなっているグルタチオン S-トランスフェラーゼ (GST) 活性の増大に着目，スルホキシド中間体とグルタチオン (GSH) との反応の有無および生成物の殺虫力の有無を検討した。Prothiophos oxon および前述の S-アルキルオキソンをラット肝マイクロゾーム-サイトソール系中で，④ NADPH，

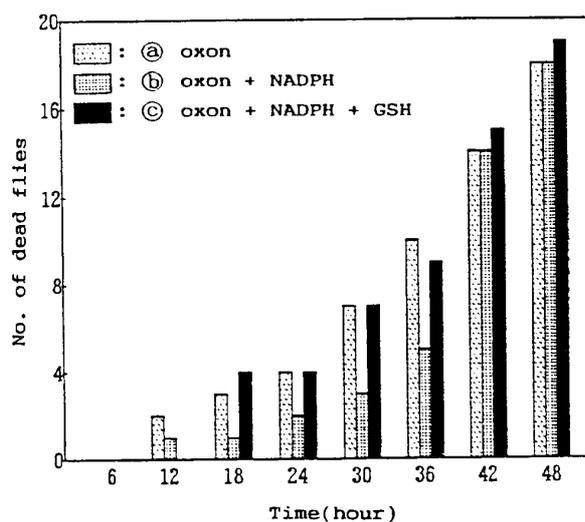


Fig. 5 Insecticidal activity of *in vitro* metabolites of S-methyl homolog by a mixture of rat liver microsome and cytosol against susceptible female houseflies.

GSH 無添加，⑤ NADPH 添加 (スルホキシド生成条件)，⑥ NADPH, GSH 添加の 3 条件下で 37°C ，30 分反応させた。各反応混合物に砂糖を加えて凍結乾燥し，感受性イエバエに給餌して各条件下での餌の殺虫力をみた。各オキシンの用量は，反応後残存するオキソンが生体内に入って殺虫効果を発現するまでにかかりの時間がかかるように各化合物の LD_{50} 値に応じて加減した。48 時間までの殺虫効果の途中経過をみると，メチル体の場合 (Fig. 5)，⑥ では ④ に比べ反応後のメチル体の量が約 1/2 にもかかわらず死虫率はほぼ同じで，殺

虫効果は、メチル体によるだけではないことを示唆した。また③では⑥に比べメチル体の量がほぼ同じにもかかわらず死虫率が高いのは、⑥では中間体スルホキシドが生成しても分解しやすいが、③ではGSHによる安定化した殺虫化合物ができていていることを示唆している。また、Fig. 6に示すように、③からサイトソールを除いた系では死虫率は減少した。他のオキソンでも同様の傾向が見られた。このことは、これら化合物の殺虫効果に、ミクロゾーム-NADPH系による活性中間体スルホキシドのほかに、GST-GSH系が関与する新たな活性中間体の寄与を示唆している。同上の *in vitro* 実験系に、牛赤血球 AChE を添加して反応させたところ、反

応混合物の AChE 阻害は、アルキル基の違いにかかわらず③が高く、またGSHの量が多いほど高かった。GST活性の増大した抵抗性イエバエと感受性イエバエとに上記の反応混合物を与えた場合、④では抵抗性イエバエの死亡開始は感受性イエバエに比べ遅いのに対し、③では抵抗性イエバエの死亡開始は早くなり、長い時間にわたり④より高い死虫率を示した。感受性イエバエでは②③間の差は初期のみであった (Fig. 7)。

ETPC等のチオールカーバメート系除草剤¹⁷⁾は、スルホキシドに酸化されて活性化し除草効果を発揮する一方、このスルホキシドが同時にGSHに抱合化される。本報告のスルホキシド中間体もこれと同様の仕方でGSHに抱合化されるものと考えられる。以上の結果から、これらチオロ型化合物は不安定なスルホキシド中間体を与え、これがAChEを阻害する一方、GST-GSH系により、GSHに抱合化された活性中間体を与え、このものもAChEを阻害して殺虫効果を呈するとの仮説を提示した。現在、別途に、EtOP(O)Cl₂と2,4-dichlorophenolを塩化メチレン中で反応させ、この溶液をGSHの水酸化ナトリウム溶液に室温下で滴下、二層反応し、水層をSEP-PAK C₁₈に通して目的の抱合体を含むであろうフラクションを分画、高速液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS)で各ピークの構造を分析するとともに、分画した各フラクションの濃縮物あるいは目的物に相当するピークをLCで分取して得た濃縮物をイエバエに与えてその殺虫効果を検討している。

3. Prothiophos の過酸化由来の phosphinyl disulfide と AChE 阻害¹⁸⁾

Prothiophos を MCPBA 酸化すると、Fig. 8 に示すように、相当する phosphinyl disulfide (2) がオキ

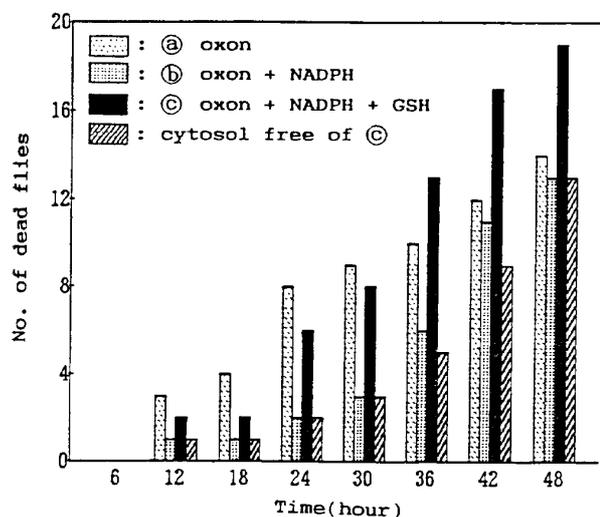


Fig. 6 Insecticidal activity of *in vitro* metabolites of S-methyl homolog by a mixture of rat liver microsome and cytosol against susceptible female houseflies.

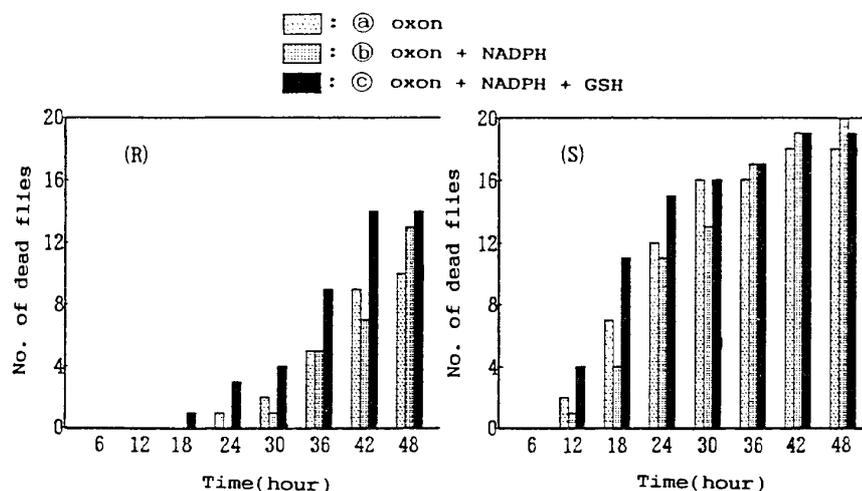


Fig. 7 Insecticidal activity of *in vitro* metabolites of prothiophos oxon by a mixture of rat liver microsome and cytosol against susceptible and resistant female houseflies.

ソン (1) とともに得られた. Disulfide 2 はプロピル基が S-S 結合を介してリン原子と結合しており, これまでのいわゆる脱離基が結合した disulfide 化合物とは異なる. この化合物を室温下で 13 時間紫外線 (254 nm) 照射すると, 容易にエチル体 (3) が生成され, また, 塩化メチレン中で MCPBA 酸化すると, プロピル基がはずれた 2 つの生成物 4 と 5 が得られた. 両反応において, オキソン (1) の生成がマスクロマトグラム上で若干認められたが, 十分な証拠はない. 少なくとも, 化合物 4 は S-S 結合のイオウ原子の酸化と加水分解により生成したと考えられ, 生体内であれば, この酸化中間体が AChE と結合することが推測される. また, エチル体 (3) は潜在的な活性代謝物であることはいうまでもない. これらの事実は prothiophos が抵抗性の害虫にも卓効である理由の一つかもしれない.

ドラッグデザインへの足掛かり

有機リン殺虫剤を感受性, 抵抗性イエバエに対する殺虫効果で大まかに分類すると, ① 殺虫力 (LD₅₀) による抵抗性比が 100 倍以上と大きい, AChE 阻害力 (I₅₀) による抵抗性比が 10~20 倍と小さい, ② 殺虫力による抵抗性比は 10 倍程度であるが, AChE 阻害力による抵抗性比が 100 倍以上と大きい, ③ 殺虫力, AChE 阻害力による抵抗性比がともに 10 倍程度, ④ ③に加えて, 感受性に対する AChE 阻害力が 10⁻⁴~10⁻⁵ M 程度の 4 つに分けられる.

PAP や malathion 等の大部分の有機リン殺虫剤はこの①に属し, 一般に抵抗性害虫に対し一様に殺虫効果を失う. これに対して②~④は抵抗性害虫にも卓効を示すことから, これらの活性化の機構解明は重要である. Prothiophos は④に属し, 前述したように従来とは異

なる活性化の機構をもっていた. また抵抗性害虫にも殺虫力を示すのは, 中間体スルホキシドや phosphinyl disulfide の酸化体が GSH に抱合化されることで説明できるかもしれない. アミドリン酸エステル系の pro-petamphos も④に属するが, 抵抗性害虫にも殺虫力を示す機構についての報告はほとんどない. 著者は, 本薬剤も N-oxide からの GSH 抱合体が一つの活性体ではないかと推論している. ②, ③に該当する有機リン剤は今なおよく使用されている薬剤が多く, 既知の活性化以外にも生体成分との係わりをもつ殺虫機構が存在するかもしれない.

一方, ①に属する薬剤も, 他の化合物と複合して使用することにより, 本来の殺虫力を回復させることが可能である. 著者¹⁹⁾は, マウス肝サイトソール中で, chalcone の誘導体, 2-bromo- や 3-bromo-4'-phenyl-chalcone が GSH を α, β -不飽和ケトンの二重結合に付加して GSH の抱合体を形成し, これが逆に GST の活性を阻害することを見出した. 仮に, 抵抗性イエバエに chalcone を処理して GST 活性を阻害できれば, これらに殺虫活性がない diazinon 等を改めて殺虫剤として利用できる. そこで²⁰⁾, 抵抗性イエバエの腹部に 2-, 3-あるいは 4-chloro-4'-phenylchalcone をそれぞれ 5 μ g 処理, 2 時間後に diazinon 5 mg を一様に塗布した濾紙 (内径 8.5 cm) の上にこのイエバエを放って, 8 時間までの殺虫効果を試験したところ, chalcone を処理しなかったイエバエに比べ, 2-クロル体を処理したイエバエの死亡開始時間は速くなり, 4-クロル体がこれに続き, 生体内で GST が阻害され diazinon の殺虫力が回復することを認めた. 最近, 塩月ら^{21,22)}も, サリゲニン環状リン酸エステル類や殺菌剤 IBP が非酵素的に GSH と作用して生成した S-(2-hydroxybenzyl)gluta-

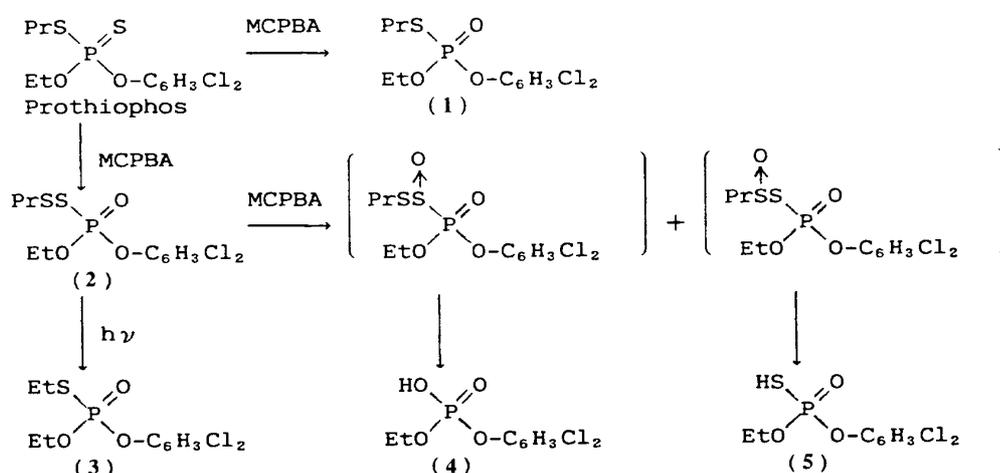


Fig. 8 MCPBA oxidation and further transformation of prothiophos.

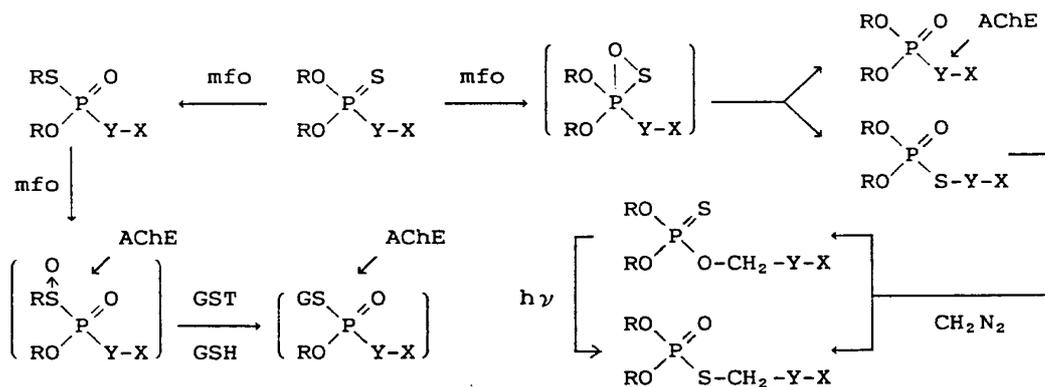


Fig. 9 General scheme for the activation of organothiophosphorus insecticide.

thione に GST 阻害活性を認め、このため、salithion はそれ自身が、malathion や fenitrothion の場合はこれが共力作用を示して、抵抗性害虫に殺虫効果を発揮することを報告している。

農薬の開発は抵抗性発現との戦いであるといつてよい。以上の研究は、有機リン殺虫剤の活性化につき新しい知見をもたらしたとともに、抵抗性発現を抑止するためのドラッグデザインの指針となった。基本的な活性化のパターンを Fig. 9 にまとめる。

本研究は、山本 出教授指導の下、著者の学位論文として開始し、著者が本学に奉職してからは、大学院学生戸枝一喜、木村修一郎両君の学位論文や4年生の卒業論文として展開してきたものである。ここに山本 出教授および研究協力者に深謝する次第である。

引用文献

- 1) J. B. Knaak, M. A. Stahmann & J. E. Casida: *J. Agric. Food Chem.* **10**, 154 (1962)
- 2) T. Nakatsugawa & P. A. Dahm: *Biochem. Pharmacol.* **16**, 25 (1967)
- 3) R. A. Neal: *Biochem. J.* **103**, 183 (1967)
- 4) J. B. McBain, I. Yamamoto & J. E. Casida: *Life Sci.* **10** (II), 947 (1971)
- 5) J. B. McBain, I. Yamamoto & J. E. Casida: *Life Sci.* **10** (II), 1311 (1971)
- 6) D. A. Wustner, J. Desmarhelier & T. R. Fukuto: *Life Sci.* **11** (II), 583 (1972)
- 7) T. Miyamoto & I. Yamamoto: *J. Pesticide Sci.* **2**, 303 (1977)
- 8) T. Miyamoto & I. Yamamoto: *Agric. Biol. Chem.* **44**, 2581 (1980)
- 9) T. Miyamoto & I. Yamamoto: *Agric. Biol. Chem.* **45**, 1991 (1981)
- 10) K. Toeda, T. Miyamoto, S. Kato & I. Yamamoto: *J. Pesticide Sci.* **9**, 305 (1984)
- 11) T. Miyamoto, K. Toeda & I. Yamamoto: *J. Pesticide Sci.* **8**, 613 (1983)
- 12) M. Eto, S. Okabe, Y. Ozoe & K. Maekawa: *Pestic. Biochem. Physiol.* **7**, 367 (1977)
- 13) K. D. Wing, A. H. Glickman & J. E. Casida: *Science* **219**, 63 (1982)
- 14) Y. Kono, Y. Sato & Y. Okada: Abstracts of papers, 5th Int. Congr. Pestic Chem. Kyoto, Japan, 1982, p. IIa-14.
- 15) S. Kimura, K. Toeda, T. Miyamoto & I. Yamamoto: *J. Pesticide Sci.* **9**, 137 (1984)
- 16) 宮本 徹, 山本 出: *農薬誌* **16**, 449 (1991)
- 17) J. E. Casida, R. A. Gray & H. Tilles: *Science* **184**, 573 (1974)
- 18) T. Miyamoto & I. Yamamoto: unpublished
- 19) T. Miyamoto, M. Silva & B. D. Hammock: *Arch. Biochem. Biophys.* **254**, 203 (1987)
- 20) T. Miyamoto & I. Yamamoto: unpublished
- 21) T. Shiotsuki, A. Koiso & M. Eto: *J. Pesticide Sci.* **14**, 337 (1989)
- 22) T. Shiotsuki & M. Eto: *J. Pesticide Sci.* **16**, 673 (1991)

略歴

宮本 徹

生年月日: 1946年9月11日

最終学歴: 東京農業大学大学院農学研究所博士課程

趣味: 音楽, テニス