

氏名	西岡孝明 にし おか たか あき
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第646号
学位授与の日付	昭和51年5月24日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	置換フェニル N-メチルカーバメイト類のアセチルコリンエステラーゼ阻害反応機構に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 中島 稔 教授 廣海啓太郎 教授 深海 浩

論文内容の要旨

カーバメイト系殺虫剤は神経系に存在する酵素アセチルコリンエステラーゼ (AChE) を非可逆的にカルバミル化することにより阻害作用をあらわす。本論文はこの阻害作用がカーバメイト分子のどのような物理化学的性質に支配されているかを調べ、有機化学反応における関係と比較することにより阻害反応機構を明らかにしようとしたものである。

カーバメイト、基質フェニルアセテート、仔牛赤血球 AChE を同時に反応系に加え、基質の加水分解反応によって生じるフェノールの生成速度の減衰による一次反応速度定数の解析から、カーバメイト阻害反応の動力学定数 (酵素・カーバメイト複合体の解離定数 K_d とカルバミル化速度定数 k_2) を測定する方法を確立した。11種類のカーバメイトについて広い濃度範囲にわたって阻害反応定数を測定した結果、カーバメイト濃度が高い場合にはカーバメイト2分子が AChE と結合した ternary complex が形成されることが判明した。これを避けるために低濃度のカーバメイトを用いて反応の測定を行えば、目的とする反応定数を正確に決定できることを証明した。

AChE 阻害反応の有機化学的モデル反応として置換フェニルエステル類のアルカリ加水分解反応を選び、加水分解速度定数 k_{OH} の変化と、ベンゼン環の置換基の物理化学的性質をあらわす直線的自由エネルギー関係定数、すなわち置換基の電子吸引性効果をあらわす σ^+ や σ^- 、オルト置換基の立体効果と近接電子効果をあらわす E_s と F などとの関係について調べた。その結果、いずれのエステルについても置換基の電子的性質やオルト置換基の効果によって支配されており、acetate や dimethylcarbamate では四面体中間体の形成が律速段階であり、methylcarbamate の場合には phenoxide の脱離が律速段階であることがわかった。

53種類の置換 phenyl methylcarbamate による仔牛赤血球 AChE 阻害反応の動力学定数 (K_d と k_2) を測定した結果、阻害の強さ (k_2/K_d) の変化はカーバメイトと AChE と可逆的な結合の強さ ($1/K_d$) によってのみ支配されており、その後のカルバミル化反応の速度 (k_2) はあまり変らなかった。オクタノ

ール/水系の分配係数より求めた疎水性置換基数 π を用いて $1/K_d$ を解析した結果、可逆的な結合には疎水性相互作用が寄与していることを確めた。疎水性相互作用の大きさはオルトやメタ位では 1.40π 、パラ位では 0.30π と、ベンゼン環上の置換位置に依存しており、このことは可逆的複合体の形成の際に置換基の位置に特異的な疎水性相互作用が寄与していることを示唆している。

水素結合供与性溶媒であるクロロホルム/水系における分配係数との比較から、この複合体においてオルト-アルコキシ基、メタ-ニトロ、シアノ、アセチル、ジメチルアミノ基などが置換基の種類や置換位置に関して極めて特異的な水素結合を形成していることがわかった。

阻害反応においてはオルト置換体やパラ-ニトロ、シアノ、メチルスルフェニル体 $1.60\sigma^+$ 、他のメタやパラ置換体 $-1.78\sigma^+$ と、置換基の電子的効果もまた特異的に作用している。以上の結果からいずれのカーバメイトも共通の四面体中間体を経てカルバミル化反応が進行しているものと推定した。化合物の化学結合の強さだけで反応性が支配されているアルカリ加水分解反応とは異なって、AChE 阻害反応では有機化学的な反応性を補うように疎水性相互作用や水素結合が寄与していることを明らかにした。

論文審査の結果の要旨

カーバメイト系殺虫剤は有機リン剤とともに現在使用されている重要な殺虫剤であり、昆虫神経系に存在するアセチルコリンエステラーゼ (AChE) を阻害することによりその殺虫活性をあらわすことはよく知られた事実である。そして阻害の強さはカーバメイトと AChE との結合の強さと、そのつぎの反応段階である酵素活性部位のカルバミル化反応とにより決まることから、これらのおのおのに関連した反応動力学定数の測定は阻害反応機構の解明に極めて重要である。

著者はまず、これまでに報告された反応動力学定数の測定法について詳細な検討を行い、カーバメイトの阻害反応の動力学定数を正確に測定できる新方法を確立した。この方法は広い濃度範囲にわたって同一条件下で測定できることや、実験上の制約がほとんどないことなどの点で勝れた測定法である。

つぎに AChE 阻害反応の有機化学的モデル反応として置換フェニルエステル類のアルカリ加水分解反応を選び、化合物の物理化学的性質と反応性との関係を明らかにし、さらにこれまで困難とされていたオルト置換基効果の統一的な解析に成功している。

また53種類の置換フェニルカーバメイトを用いて、AChE 阻害の強さとカーバメイト分子の物理化学的性質との関連を追究し、種々の有機化学反応と比較検討することにより、カーバメイトの AChE 阻害反応機構について興味ある知見を得ている。

このように本研究は、これまで未解決の問題の多かったカーバメイトの AChE 阻害反応機構について多くの新知見を加えたもので、農薬化学の分野に貢献するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。