農薬科学研究における QSAR の活用

中 川 好 秋*

京都大学大学院農学研究科

(2014年1月6日受理)

Practice of QSAR in pesticide research

Yoshiaki NAKAGAWA

*Graduate School of Agriculture, Kyoto University,
Kitashirakawa Oiwake-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan*

Keywords: classical QSAR, Hansch-Fujita method, chitin synthesis inhibitors, benzoylphenylureas.

はじめに

本稿では、QSAR (Quantitative Structure-activity Relationship) 解析の原点である classical QSAR (Hansch-Fujita) 解析¹⁾を、実際にどのように進めていくかについて、ベンゾイルフェニルウレア (Benzoylphenylurea: BPU) 系殺虫剤を例にとり解説する。原報はすでに学術雑誌に掲載されているので、そちらをも適宜参考にして頂きたい。なお本研究は、Hansch-Fujita 解析法の生みの親であるとともに、筆者の大学院当時の指導教官であった藤田稔夫先生のもので一から始めたもので、初心者にとっては適当な題材であると思う。

1. ベンゾイルフェニルウレア類

BPUは、1972年にオランダのPhilip Duphar社のVan Daalenらによって除草剤の探索中にたまたま見いだされた殺虫性化合物である²⁾。BPU系化合物は、それまでの殺虫剤の作用点 (神経系や呼吸系) とは異なり、代謝系を攻撃することによって成育を制御する。すなわち、表皮の主成分であ

るキチンの生合成を阻害し、幼虫を脱皮不全に導いて致死効果を発現する。しかし、昆虫から調製した無細胞系のキチン合成酵素を阻害せず、未だ真の作用機構は明らかになっていない。筆者は、カリフォルニア大学デービスの (故) 松村文夫先生のもとでBPUのひとつであるdiflubenzuron (図1) の作用点について検討し、ある種のタンパク質のリン酸化とイオンチャネルの関与した輸送系がかかわっていることを提唱した³⁾が、未だ確認されていない⁴⁾。

最初に活性が見いだされたBPUはDu19111 (図1) である。実用的には、土壌蓄積と環境汚染の少ないdiflubenzuron (図1) が農業用殺虫剤として取り上げられた⁵⁾。のちに、石原産業によってdiflubenzuronより活性特性の優れたchlorfluazuron (図1) が発明・開発された⁶⁾。その後も様々な構造展開が行われ、図1に示すように、優れた類縁体が開発され、農業用殺虫剤、殺ダニ剤、また殺シロアリ剤としても実用化にいたっている⁷⁾。また、BPU類以外にも、キチン合成を阻害する剤が報告されている^{8,9)}。

BPU類は図1, 2に示すように、ウレア構造 $[\text{NH}_2\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2]$ の両端の窒素原子がbenzoyl基 (A環) とphenyl基 (B環) で置換された構造を持ち、2個のベンゼン環に様々な置換基を導入して構造修飾することが可能である。図1に示したような種々の化合物の活性に対して、置換基がどのよう

* 〒606-8502 京都市左京区北白川追分町
E-mail: naka@kais.kyoto-u.ac.jp
© 日本農薬学会

図1. 代表的なベンゾイルフェニルウレア類の構造

な役割を果たしているかを解明しようとする QSAR 解析のために、筆者らは A 環置換基を 2,6-F₂ に固定し、B 環に様々な置換基を導入した化合物群 (Series I 化合物)¹⁰⁾、B 環の置換基を 4-Cl に固定し A 環に様々な置換基を導入した化合物群 (Series II 化合物)¹¹⁾ を合成した (図2)。この場合、合成設計において、あらかじめ種々の物理化学的パラメーター間の共直線性ができるだけ小さくなるように置換基を選ぶことが極めて重要である。殺虫活性の評価には、無菌的に人工飼育した稲の害虫ニカメイガ (*Chilo suppressalis*) の第3令幼虫 (ニカメイチュウ) を用い、半数致死量 LD₅₀ (mmol/insect) の対数の逆数値 pLD₅₀ を活性の指標とした^{10,11)}。カイコ (*Bombyx mori*) とハスモンヨトウ幼虫 (*Spodoptera litura*) に対しても殺虫活性 pLD₅₀¹²⁾ を、また必要に応じ、ニカメイチュウの培養表皮系におけるキチン合成阻害活性 pIC₅₀ (IC₅₀: 50% 阻害濃度 M) を解析に用いた^{13,14)}。

ここで、再現性のある活性指標を得ることができる検定系であることが必須条件である。すなわち、ひとつの化合物の活性指標 (ここでは pLD₅₀) が、測定ごとに ±1.0 (1/10, 10 倍) も変化するようでは定量的解析に意味がない。通常は殺虫活性指標の平均値の標準偏差が ±0.3 (1/2, 2 倍) 以内であることが望ましい。われわれの活性測定系では、測定された殺虫活性 pLD₅₀ およびキチン合成阻害活性 pIC₅₀ の値は、ほとんど ±0.3 の範囲におさまる再現性の良好なことが確かめられている。また、殺虫試験においては、しばしば共力剤 (代謝阻害剤) が用いられる。置換体によっては、代謝分解が他の誘導体と比べると速く、それ自身が持っている本来の活性が現れないからである。ただし、代謝阻害剤の薬量をあまり上げすぎると、それ自体が昆虫本来の成長に影響を与えることがあるので、特に成育制御剤などの活性評価ではその処理に注意が必要である。本稿では、代謝阻害剤を用いない場合の活性は pLD₅₀(None) と表記されている。また、酸化代謝阻害剤 piperonyl butoxide (PB) を用いて活性評価 [pLD₅₀(PB)] を行い、場合に応じて加水分解的解毒代謝も考慮し、加水分解代謝阻害剤 DEF (S,S,S-tributylphosphorotriothioate) を共力剤として活性 [pLD₅₀ (DEF)] を測定した。その結果、置換基の構造によっては活性が顕著に上昇し

た¹⁵⁾。理想的には、酸化代謝と加水分解代謝が同時に抑制される条件 [pLD₅₀ (PB+DEF)] が好ましいが、その条件では本来の成育が顕著に抑制されることが判明した。したがって、PB と DEF の併用は避け、それぞれ単剤を使用して活性を測定し、それぞれの値の変動を観察し、解析の結果に対して、代謝による影響ができるだけ少なくなるよう考慮した。

図2. QSAR に用いる置換ベンゾイルフェニルウレア類

2. ニカメイチュウに対する殺虫活性の QSAR

2.1. Series-I 化合物におけるフェニル環 (B 環) 上の置換基効果

まず、ハロゲンや単純なアルキルやアルコキシ基、ニトロ基、シアノ基で置換された化合物を用いてニカメイチュウに対する殺虫活性を測定した。フェニル環 (B 環) 上の *para* 置換基を変えた BPU 類 (Series I: 図2) の活性と置換基定数を表1に挙げた。この表には pLD₅₀ が求められなかった化合物に関し、括弧内に、最大薬量での致死率が記載されている。この情報は重要であり、例えば化合物2において、最大薬量での致死率として 50% に近い値 (45%) が得られている。このことは、LD₅₀ が最大薬量に近いことを示し、得られた QSAR 式の予測性を確認するために用いることができるのである。化合物1と2の殺虫活性を比較する場合に、致死率 (%) の値が求められていないと、無置換体 (1) と F 体 (2) のどちらが高い活性を示すかわからない。この殺虫試験法では、1 濃度あたり 20 匹の幼虫を用いている。場合によっては薬剤の濃度の低いとき濃度に関係なく 1 匹程度は死ぬことがある。それ以上の濃度で、濃度依存的に死ぬ場合は、薬剤による活性発現によるものと考えて良い。CH₃ 体 (6) は、OCH₃ 体 (15) や OC₂H₅ 体 (16) とともに溶解度が不十分のため、処理溶液の濃度を上げることができず pLD₅₀ が求められなかったのである。

表1. フェニル環 $para$ 位に種々の置換基をもつBPU類の殺虫活性と置換基定数

No.	化合物 Y	pLD ₅₀ (mmol/insect)						置換基パラメーター		
		None ^{a)}	PB					π	σ_1	$\Delta B5$
			実測値	計算値 式 (4)	差 ^{b)}	計算値 式 (10)	差 ^{c)}			
1	H	<4.60 (0%)	4.93	4.97	-0.04	5.15	-0.22	0.00	0.00	0.00
2	F	<4.60 (45%)	5.69	5.66	0.03	5.74	-0.05	0.19	0.54	0.35
3	Cl	6.50	6.64	6.29	0.35	6.23	0.41	0.88	0.47	0.80
4	Br	6.51	6.72	6.40	0.32	6.34	0.38	1.02	0.47	0.95
5	I	6.27	6.75	6.50	0.25	6.41	0.34	1.22	0.40	1.15
6	CH ₃		<4.60 (22%)	5.26				0.37	-0.01	1.04
7	C ₂ H ₅		4.83	5.58	-0.75	5.90	-1.07	0.82	-0.01	2.17
8	<i>n</i> -Pr		5.86	6.03	-0.17	6.14	-0.28	1.34	-0.01	2.49
9	<i>i</i> -Pr		6.00	6.06	-0.06	6.15	-0.15	1.30	0.01	2.17
10	<i>n</i> -Bu	<4.60 (45%)	6.46	6.30	0.14	6.50	-0.04	1.86	-0.01	3.54
11	<i>t</i> -Bu	5.24	6.31	6.36	-0.05	6.41	-0.10	1.68	-0.01	2.17
12	<i>n</i> -Hex	5.56	6.75	6.69	0.06	6.71	0.04	2.85	-0.03	4.96
13	<i>n</i> -Hep	5.27	6.77	6.83	-0.06	6.80	-0.03	3.35	-0.04	5.39
14	N=NPh	6.50	6.49	6.67	-0.18	6.57	-0.08	1.94	0.28	3.31
15	OCH ₃		<4.30 (10%)	4.63				-0.26	0.30	2.07
16	OC ₂ H ₅		<4.60 (22%)	5.07				0.14	0.28	2.36
17	OPh		5.97	6.55	-0.58	6.59	-0.62	1.93	0.40	4.89
18	CF ₃	6.70	6.92	6.52	0.40	6.35	0.57	1.32	0.40	1.61
19	NO ₂	<5.08 (0%)	<5.08 (0%)	5.93				0.45	0.67	1.44
20	CN	4.90	5.35	5.50	-0.15	5.45	-0.10	0.06	0.57	0.60
21	OCH ₂ Ph		6.75	6.45	0.30	6.43	0.32	1.35	0.43	2.50
22	OCH ₂ Ph (2-F)		6.74	6.50	0.24	6.48	0.26	1.49	0.43	3.02
23	OCH ₂ Ph (3-F)		6.59	6.50	0.09	6.49	0.10	1.49	0.43	3.01
24	OCH ₂ Ph (4-Cl)		6.53	7.01	-0.48	6.85	-0.32	2.06	0.43	2.50
25	OCH ₂ Ph (2,4-Cl ₂)		6.87	7.25	-0.38	7.05	-0.18	2.77	0.43	3.80
26	OCH ₂ Ph (3-CF ₃)		6.72	6.89	-0.17	6.81	-0.09	2.23	0.43	4.10
27	OCH ₂ Ph (3,4-Me ₂)		7.01	7.11	-0.10	6.95	0.06	2.47	0.43	3.58
28	OCH ₂ Ph (3-NO ₂)		5.63	5.97	-0.34	6.12	-0.49	1.07	0.43	4.13
29	OCH ₂ Ph (2-CN)		<5.05	5.18				0.78	0.43	4.32

^{a)} 空欄：活性未測定. ^{b)} 実測値から式 (4) による計算値を差し引いた値. ^{c)} 実測値から式 (10) による計算値を差し引いた値.

回帰分析を行う前に、殺虫活性データを吟味し、データの変化の様子が置換基の物理化学パラメーターのうちのいずれかの変化の様に類似しているか（直線的に関係しているのか）を定性的に検討する。活性データの変化がいずれかのパラメーターの変化に対応する傾向があれば、そのパラメーターを用いて回帰分析（1次）を行ってみる。また、一つのパラメーターだけでは不十分の場合、1次の回帰式から得られた計算値と実測値との差について、別のパラメーターの変

化との対応を検討する。あるいは、経験を積みめば、同時に2つ（あるいは3つ）のパラメーターを使って解析することも可能になる。計算はコンピューターに頼って行う。有意なQSAR式が得られたら、計算値と実測値とを比較し、もしもその差と類似の変化をするパラメーターがあれば、そのパラメーターを加え回帰分析を繰り返すのである。

もう一度、表1を見て頂きたい。酸化代謝分解の抑制された条件下での無置換体（1）のpLD₅₀（PB）は、B環バラ位

にハロゲンを導入するとF (2), Cl (3), Br (4), I (5) の順序に活性が上昇する。CH₃基 (6) の導入によって活性は低下するが、C₂H₅体 (7) では無置換体 (1) と同程度の活性に戻る。アルキル鎖を*n*-Pr (8), *n*-Bu (10), *n*-Hex (12) と伸ばしていくと活性は顕著に増大するが、*n*-Hep体 (13) において頭打ちとなる。また、電子求引性の置換基CF₃ (18), NO₂ (19), CN (20), の導入により、CF₃体 (18) では活性は顕著に増大する一方、NO₂体 (19) では活性値を求めることができないほど活性は低い。以上の結果から、まず置換基の疎水性が重要なパラメーターであることが予想される。ここでは疎水性置換基定数 π としてモノ置換ベンゼンからではなく、置換アセトアニリドのlog Pから求められた π が用いられている¹⁶⁾。 π の値は求める母核系によって異なるので、BPUのB環部の環境に類似したアニリド系の π が選ばれるのである。また、電子求引性のハロゲン置換体の方が電子供与性のアルキル基より活性を高めることから、電子の効果も重要であり、結果として置換基の疎水性と電子効果が共に活性強度に関与していることがわかる。電子求引性パラメーターとして種々のハメット型定数を検討した結果、ここでは誘起的電子求引性パラメーター σ_1 が最も良好な相関関係を与える電子的パラメーターとして選ばれ、 σ_1 と π を用いて回帰分析が行われた。

まず、共力剤を含まない条件でpLD₅₀値を求めることができた2,6-F₂置換体は9化合物(表1: 3-5, 11-14, 18, 20)であり、パラメーターの数に比べ化合物数が少ない(一つのパラメーターに対して5化合物が一応の基準)。そこで、対応する2,6-Cl₂置換体の7化合物(図2: X=2,6-Cl₂; Y=Cl, Br, I, CF₃, NO₂, *t*-Bu, N=NPh)を加えて解析が行われた。本稿ではこれら化合物の活性は示していない。種々検討の結果、16個の化合物に対して式(1)を導かれた¹⁷⁾。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{None}) = & 2.94(\pm 1.22)\sigma_1 + 2.53(\pm 0.72)\pi \\ & - 0.42(\pm 0.20)\pi^2 - 0.30(\pm 0.34)\Delta B5 \\ & - 0.66(\pm 0.29)I + 3.22(\pm 0.97) \end{aligned} \quad (1)$$

$n=16, s=0.238, r=0.942$

式(1)において、括弧内の数字はそれぞれの係数の95%信頼限界を示している。 n は解析に用いた化合物数、 s は標準偏差、 r は相関係数を表している。相関式のF検定を行って、相関式の有意性を論じることもある。すなわち、式(1)において、 $\Delta B5$ の項の有意性は95%以上ではない(92%)が、式(1)自体はF検定($F_{5,10}=15.817$)で99.9%以上で有意である。式(1)の誘導には、5種のパラメーターが用いられていて、化合物数が基準より少ないが、式(2)の結果と照らし合わせて、妥当な結果と考えられた。すでに述べたように σ_1 は誘起的電子求引性を表すパラメーター、 π は疎水性パラメーター、B5は置換基の幅を表すVerloopの立体パラメーターで、 $\Delta B5$ はそれぞれの置換基の

B5値から水素原子のB5値(1.00)を差し引いた値である。 I はベンゾイル部の置換基が2,6-F₂の場合に0、2,6-Cl₂の場合に1をとる擬変数である。 I 項の係数が -0.66 であることは、2,6-Cl₂体の活性は、B環パラ置換基が対応する2,6-F₂体に比べ約1/5であることを示す($\log 5=0.699$)。なお、式(1)において、電子的効果のうち共鳴効果成分の欠けていることについては後述する。置換基定数(パラメーター)の詳細については、実験技術講座の第1回¹⁸⁾、第3回¹⁹⁾に詳しく書かれているので、参考にしていただきたい。

前に述べたように、生体内で代謝を受けやすい化合物は、通常の条件下で殺虫試験を行っても、本来のLD₅₀値は正確には求められない。そこで、酸化的な解毒代謝の阻害剤であるPBを含む人工飼料を用いて飼育した幼虫を用いて活性を測定した。その結果、かなりの化合物の殺虫活性が大きく上昇し、B環置換基を種々に変化させた2,6-F₂置換体だけでも十分な数の誘導体(24化合物)に対してpLD₅₀(PB)が得られ、式(2)が導かれた。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 1.06(\pm 0.60)\sigma_1 + 1.57(\pm 0.54)\pi \\ & - 0.17(\pm 0.14)\pi^2 - 0.31(\pm 0.16)\Delta B5 \\ & + 4.93(\pm 0.41) \end{aligned} \quad (2)$$

$n=24, s=0.290, r=0.907; \pi_{\text{opt}}=4.62$

式(2)において、解析に用いているパラメーターの数(4個)は多すぎることはない。また、 $\pi_{\text{opt}}=4.62$ はB環置換基に関する最適の疎水性の値を示し、 $1.57\pi - 0.17\pi^2$ から求められる最大値である。ここで、式(1)と(2)を比較してみると、 σ_1 の係数が大きく変化($2.94 \rightarrow 1.06$)していることがわかる。つけ加えられた化合物の中には、疎水性のかなり大きな置換誘導体が含まれるので(疎水性が最大値に近づくにつれ、共直線性が低くなり)、 π および π^2 項はともに大きく変化する。 $\Delta B5$ の係数はほとんど変化していない。これらのことから、代謝阻害剤PBによって酸化代謝が抑制されること、およびそのメカニズムが置換基の電子的性質に大きく依存することが推定できる。

酸化的代謝による活性の減少に関与している物理化学的性質を調べることを目的に、表1のpLD₅₀(PB)を独立変数に用いてpLD₅₀(None)の回帰分析を行い、有意な式(3)が得られた¹⁰⁾。式(3)の相関係数はそれほど高くないが、代謝による活性の低下には、置換基の電子的性質が大きく関与していることが示唆される。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{None}) = & 0.86(\pm 0.37)\text{pLD}_{50}(\text{PB}) + 0.93(\pm 0.67)\sigma \\ & + 0.17(\pm 0.235) \end{aligned} \quad (3)$$

$n=16, s=0.338, r=0.822$

式(3)には、2,6-Cl₂体と式(1)の誘導に用いた化合物が含まれる。式(3)において、pLD₅₀(PB)の係数は1に近く、pLD₅₀(None)の係数とほぼ1対1に対応する。また、

表2. QSAR情報によって意図的に合成された化合物の活性と置換基数

化合物		pLD ₅₀ (PB)			置換基パラメーター		
No.	置換基	実測値	計算値 式 (10)	差 ^{a)}	π	σ_1	$\Delta B5$
30	O(CH ₂) ₂ Ph	6.88	6.36	0.52	1.99	0.28	6.33
31	O(CH ₂) ₂ Ph (4-OCH ₃)	6.10	6.22	-0.12	1.97	0.28	8.12
32	O(CH ₂) ₂ Ph (2-CH ₃)	6.66	6.64	0.02	2.55	0.28	6.33
33	O(CH ₂) ₂ Ph (3-CH ₃)	6.69	6.60	0.09	2.55	0.28	6.79
34	O(CH ₂) ₂ Ph (4-CH ₃)	6.48	6.56	-0.08	2.55	0.28	7.41
35	O(CH ₂) ₂ Ph (2-Cl)	6.41	6.70	-0.29	2.70	0.28	6.33
36	O(CH ₂) ₂ Ph (3-Cl)	6.86	6.65	0.21	2.70	0.28	6.91
37	O(CH ₂) ₂ Ph (4-Cl)	6.78	6.59	0.19	2.70	0.28	7.75
38	O(CH ₂) ₃ Ph	7.08	6.80	0.28	2.50	0.28	3.70
39	O(CH ₂) ₄ Ph	6.70	6.67	0.03	2.96	0.28	7.76
40	Ph	6.89	6.56	0.33	1.96	0.12	2.11
41	Ph (4-Cl)	7.02	6.92	0.10	2.67	0.15	2.11
42	Ph (4-Br)	7.29	6.97	0.32	2.81	0.15	2.11
43	SO ₂ Ph	5.55	5.88	-0.33	0.84	0.56	5.02
44	(E) CH=CHPh	6.78	6.80	-0.02	2.58	0.06	2.38
45	(Z) CH=CHPh	6.46	6.53	-0.07	2.58	0.06	6.07
46	n-Octyl	6.68	6.80	-0.12	4.02	-0.04	6.39
47	n-Dodecyl	6.41	6.30	0.11	6.05	-0.04	9.27
48	O-2Py	5.31	5.46	-0.15	0.41	0.47	4.89
49	O-2Py (5-CF ₃)	6.48	6.31	0.17	1.64	0.51	6.46
50	O-2Py (5-Cl)	6.05	6.12	-0.07	1.36	0.49	6.31
51	O-2Py (5-Br)	6.01	6.23	-0.22	1.55	0.49	6.61
52	O-2Py (5-I)	6.01	6.32	-0.31	1.75	0.49	7.00
53	O-2Py (3,5-Cl ₂)	6.58	6.59	-0.01	2.11	0.51	6.31
54	O-2Py (3,5-Br ₂)	6.52	6.76	-0.24	2.53	0.51	6.61
55	O-2Py (3-CH ₃ , 5-Br)	6.58	6.63	-0.05	2.28	0.48	6.61
56	O-2Py (3-Cl, 5-COOEt)	5.57	6.47	-0.90	2.22	0.52	8.70
57	O-2Py (3-CF ₃ , 5-Cl)	6.80	6.71	0.09	2.34	0.53	6.31
58	O-2Py (3-Cl, 5-CF ₃)	6.88	6.71	0.17	2.37	0.53	6.46

^{a)} 実測値から式 (10) による計算値を差し引いた値。

擬変数項は有意でない。σの係数が正であるので、ベンゼン環の置換基の電子求引性が上昇するほど、酸化的代謝が抑えられ、活性が上昇することがわかる。また、Cl体 (3, diflubenzuron) のpLD₅₀(None)の値は最初の測定ではやや低く現れた (pLD₅₀=6.01) が、殺虫活性の測定を繰り返したところ、表に示したように6.50という値が得られた。したがって、6.01の値は、測定操作の誤りによるものと判明し

た。このように、しばしば、回帰分析の結果が、供試化合物の溶液の濃度調製が不正確であったり、化合物を取り間違えたりするなどの誤操作を指摘することがある。

式 (2) の解析結果から、活性強度のすぐれた化合物のデザインを試みた。まず、最適疎水性に対して4.6と計算された。しかし、表1からも明らかなように、本化合物セットでは、置換基のπ値が4.6を超えるものはなかった。したがっ

て、化合物の疎水性をさらに高めることによって、活性が上昇するものと期待できる。疎水性を高めるための簡単な方法として、アルキル鎖長の延長を考えた。表1からも明らかのように、飽和アルキル鎖が長くなると ΔB_5 の値もそれと平行に大きくなって活性にとっては不利である。 ΔB_5 の値をできるだけ小さく保つと同時に疎水性を高めることが望ましい。一つの方法は、B環のパラ位にphenyl基を導入し、環上にさらに置換基を導入して疎水性を高めることができる。他に、表2に示されているような, benzyloxy基, phenethyloxy基, phenylpropyloxy基などの導入を考え、それらを合成し殺虫活性を測定した。これらの置換基のほとんどは、Clに比べ、 ΔB_5 および σ_1 の値に関して活性上昇にとって必ずしも有利とは言えない。一方、疎水性 π に関しては、Clよりは遥かに高く、最適値も超えていない。中でも、できるだけ ΔB_5 を小さくして疎水性を上げるように意図して合成したphenyl (4-Br) 体 (42) は表2に挙げた化合物の中で最も高い活性を示した。大きな σ_1 と π 値をもつ置換benzyloxy基や置換pyridyloxy基²⁰⁾なども高い活性を示した。また、 ΔB_5 の効果をより明確にするために、幾何異性の存在するstyryl基(–CH=CHPh)の導入を試みた。予想通りE型に比べて ΔB_5 の大きなZ型の活性は低く、置換基の結合軸からの最大幅が活性にとって重要であることが確認された²⁰⁾。

新たに合成した2,6-F₂-benzoyl化合物 [B環para置換基: O(CH₂)₂Ph (30), O(CH₂)₃Ph (38), O(CH₂)₄Ph (39), Ph (40), SO₂Ph (43), CH=CHPh (44, 45), n-octyl (46), n-dodecyl (47), O-2-Py (48) および芳香環がCl, Br, I, CF₃, OMe, Me, COOEtなどで置換されたもの (31–37, 41, 42, 49–58) を含めて、再度QSAR解析を行い、式 (4) が得られた²⁰⁾。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.94(\pm 0.48)\sigma_1 + 1.24(\pm 0.23)\pi \\ & - 0.13(\pm 0.04)\pi^2 - 0.14(\pm 0.05)\Delta B_5 \\ & + 4.97(\pm 0.31) \end{aligned} \quad (4)$$

$n = 53, \quad s = 0.293, \quad r = 0.860; \quad \pi_{\text{opt}} = 4.77$

式 (4) の結果は、 ΔB_5 の係数が若干小さくなったものの、 σ_1 の係数、 π の最適値 (4.77) は式 (2) で得られた値 (4.61) に近く、式 (2) が予測性の高いものであったことを示している。QSAR式の誘導においても一つ注意することは、置換基の変化にともなって同じようなパターンで変化するパラメーターを同時に用いてはいけな。すなわち、合成設計あるいは化合物の選択においてパラメーター間に共直線性 (collinearity) があるような置換基だけを含むような化合物セットの選択は避けなければならない。式 (4) の誘導に用いたパラメーター間の単純相関の値は表3の通りである。

π , ΔB_5 , σ_1 の間の直線性は極めて低い。 π と π^2 の間に π (opt) より小さい π に関しては、必然的にはかなりの直線性

表3. パラメーター間の単相関性

	π	π^2	ΔB_5
π^2	0.836	1.000	
ΔB_5	0.357	0.242	1.000
σ_1	0.135	0.155	0.008

がある。しかし、式 (3), (4) において、 π と π^2 の項はどちらも95%信頼限界内で有意である。さらに殺虫活性を向上するため、疎水性と電子求引性の高い置換基をpara位とともにorthoおよびmeta位へ導入し、多置換化合物のQSAR解析を行うことにした。表4に用いた化合物の置換様式を示した。

まずB環上の置換様式に従って化合物を分類し、表4に示した。6位は無置換で2,3位が同時に置換された化合物 (No. 92–107, 112, 113) の活性は相対的に高く2,6-位が共に置換された化合物 (No. 108–111) の活性は低い傾向にある。これらの化合物はいずれもortho位に置換基をもつ。それぞれのグループごとに特別な立体因子が関与するのかもしれない。そこで、これらの化合物を除いた化合物群 (No. 59–91) と無置換体 (1) についてまず解析が行われて、式 (5) が導かれた²¹⁾。 σ_1 パラメーターはその定義から、置換基の位置ごとに項の係数が変化する。また、立体効果も置換位置依存性がある。したがって、ortho, meta, para置換体ごとに σ_1 とEs項を分けて解析を行った。疎水性 $\Sigma\pi$ パラメーターは相当する多置換アセトアニリドのlog Pから算出したものである¹⁶⁾。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.29(\pm 0.22)\Sigma\pi + 0.63(\pm 0.57)\sigma_1^o \\ & + 0.62(\pm 0.45)\Sigma\sigma_1^m + 0.69(\pm 0.51)\sigma_1^p \\ & - 0.63(\pm 0.29)\Delta B_5^o - 0.43(\pm 0.28)\Delta B_5^m(\text{S}) \\ & - 0.35(\pm 0.15)\Delta B_5^m(\text{L}) + 5.69(\pm 0.49) \end{aligned} \quad (5)$$

$n = 33, \quad s = 0.278, \quad r = 0.831$

ここで、両方のmeta位が、ともに置換された3,5-ジ置換化合物において、2個のmeta置換基はそれぞれの立体的かさ高さによって区別されるものと考え、小さい方をS大きい方をLで表した。一方のmeta位にしか置換基が存在しない場合は、小さい方の“置換基”すなわちHの値は0となる。式 (5) においてortho, meta, para位置置換基の σ_1 係数は0.63, 0.69とほぼ等しく、 $\Delta B_5^m(\text{S})$ と $\Delta B_5^m(\text{L})$ の係数も似通っていることから、3位および5位の置換基効果は、ほぼ共通していることがわかる。したがって全体としての電子効果と立体効果は単純にそれぞれのパラメーターの算術和として表すことができ、解析し直したところ、式 (6) が得られた¹⁶⁾。

表4. 多置換ベンゾイルフェニルウレア類の殺虫活性

化合物						pLD ₅₀ (PB)		
No.	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	実測値	計算値 式 (10)	差 ^{a)}
59	F	H	Cl	H	H	6.48	6.30	0.18
60	Cl	H	Cl	H	H	5.77	5.86	-0.09
61	Br	H	<i>n</i> -Bu	H	H	5.71	5.95	-0.24
62	CF ₃	H	Cl	H	H	5.28	5.24	0.04
63	CH ₃	H	Br	H	H	5.87	5.81	0.06
64	CH ₃	H	<i>n</i> -Bu	H	H	5.87	6.06	-0.19
65	OCH ₃	H	Br	H	H	5.22	5.53	-0.31
66	F	H	H	CF ₃	H	5.92	5.80	0.12
67	Cl	H	H	Cl	H	5.84	5.53	0.31
68	H	Cl	Cl	H	H	6.79	6.72	0.07
69	H	Br	<i>n</i> -Bu	H	H	6.50	6.67	-0.17
70	H	CF ₃	F	H	H	5.98	6.13	-0.15
71	H	CF ₃	Cl	H	H	6.78	6.46	0.32
72	H	OCF ₃	Br	H	H	6.02	5.97	0.05
73	H	CH ₃	Cl	H	H	5.62	6.03	-0.41
74	H	CH ₃	Br	H	H	5.97	6.18	-0.21
75	H	CH ₃	<i>n</i> -Bu	H	H	5.98	6.15	-0.17
76	H	C ₂ H ₅	Br	H	H	5.48	5.93	-0.45
77	H	Cl	H	Cl	H	6.20	6.48	-0.28
78	H	CF ₃	H	CF ₃	H	5.48	5.87	-0.39
79	F	H	F	CF ₃	H	6.20	6.17	0.03
80	F	H	F	OCF ₃	H	5.89	5.78	0.11
81	F	H	Cl	CF ₃	H	6.57	6.54	0.03
82	F	H	Cl	<i>O</i> - <i>i</i> -Pr	H	5.33	5.49	-0.16
83	F	H	Cl	<i>O</i> -allyl	H	5.67	5.45	0.22
84	F	H	Cl	<i>O</i> -propargyl	H	5.73	5.71	0.02
85	F	H	Br	CF ₃	H	6.75	6.61	0.14
86	F	H	Br	OCF ₃	H	6.45	6.14	0.31
87	Cl	H	Cl	CF ₃	H	6.00	6.00	0.00
88	H	Cl	Cl	Cl	H	6.55	6.98	-0.43
89	H	CF ₃	Br	CF ₃	H	6.14	6.34	-0.20
90	H	CH ₃	Br	CH ₃	H	6.29	5.94	0.35
91	H	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	5.46	5.18	0.28

表4. 続き

No.	化合物					pLD ₅₀ (PB)		
	Y ₂	Y ₃	Y ₄	Y ₅	Y ₆	実測値	計算値 式 (10)	差 ^{a)}
92	F	Cl	H	H	H	6.14	6.06	0.08
93	Cl	Cl	H	H	H	6.30	6.32	−0.02
94	CH ₃	Cl	H	H	H	6.03	5.87	0.16
95	CH ₃	CH ₃	H	H	H	4.94	5.11	−0.17
96	F	Cl	Br	H	H	6.87	7.02	−0.15
97	Cl	Cl	Cl	H	H	6.83	7.09	−0.26
98	Cl	CH ₃	Br	H	H	6.29	6.64	−0.35
99	CH ₃	Cl	Br	H	H	6.66	6.73	−0.07
100	F	CF ₃	H	Cl	H	6.48	6.51	−0.03
101	Cl	CF ₃	H	F	H	6.93	6.75	0.18
102	Cl	CF ₃	H	Cl	H	6.94	6.72	0.22
103	Cl	CF ₃	H	Br	H	6.86	6.72	0.14
104	Br	CF ₃	H	Cl	H	6.79	6.78	0.01
105	Br	CF ₃	H	CF ₃	H	5.41	5.59	−0.18
106	Cl	Cl	H	CF ₃	H	5.82	5.85	−0.03
107	Br	Cl	H	Cl	H	6.41	6.02	0.39
108	F	H	Br	H	F	5.62	6.46	−0.84
109	Br	CF ₃	H	H	F	<5.00 (7%)	6.48	
110	CH ₃	H	Br	H	CH ₃	<5.00 (19%)	5.88	
111	Br	CF ₃	Br	H	F	<5.00 (7%)	7.25	
112	F	Cl	F	Cl	H		6.95	−0.22
113	Cl	Cl	Cl	Cl	H		6.83	−0.38

^{a)} 実測値から式 (10) による計算値を差し引いた値.

$$\begin{aligned}
 \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.32(\pm 0.16)\Sigma\pi + 0.68(\pm 0.23)\Sigma\sigma_1 \\
 & - 0.41(\pm 0.12)\Sigma\Delta B5^m - 0.76(\pm 0.25)\Delta B5^o \\
 & - 1.00(\pm 0.76)\pi_{(2)} + 5.68(\pm 0.39) \quad (6) \\
 & n = 33, \quad s = 0.240, \quad r = 0.867
 \end{aligned}$$

式 (6) においては、 $\Delta B5^p$ は有意とはならなかった。また、式 (6) の誘導の過程で、*ortho* 位置置換基に特異的な疎水性パラメーター $\pi_{(2)}$ 項が有意となる。すなわち、*ortho* 位に疎水性置換基が存在すると活性が大きく低下することがわかる。式 (5), (6) において、 $\Sigma\pi$ (置換基の π の和) の自乗項が有意となっていないが、これは解析に用いた化合物の疎水性が比較的低いところに偏って分布していることに起因する。

次に、式 (5) および (6) において除外した化合物の活性を式 (6) によって計算したところ、2,3-位がともに置換された化合物 (2,3-, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,4,5-置換体) のほとんど

どは、それらの計算値が実測値よりも高かった。種々の考察を経て、このことは、式 (6) では式 (4) に含まれるモノオルト置換体では置換基の位置が2位であるとする定義に引きずられ、2位と6位の区別なしに有意となっている立体効果 ($\Delta B5^o$) が、これらの化合物では他の位置の置換基の影響を受け区別することが必要であることを示唆しているとした。そして、図3に示すように、二つの *meta* 置換基の相対的な大きさの違いによって2位と6位が区別されると考えた。すなわち、大きいほうの *meta* 置換基が常に5位にくるようにフェニル側ベンゼン環 (B環) を180度回転した構造をとると仮定した。例えば、2-F-3-Cl-4-Br は4-Br-5-Cl-6-Fとして、2-F-3-CF₃-5-Cl は3-Cl-5-CF₃-6-F体として挙動すると考えた。このような条件を設けてすべての化合物の活性を解析したところ、式 (7) が得られた。

図3. *meta*置換基の相対的大きさによる2位および6位の区別

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 1.02(\pm 0.44)\Sigma\pi - 0.18(\pm 0.12)(\Sigma\pi)^2 \\ & + 0.68(\pm 0.16)\Sigma\sigma_1 - 0.34(\pm 0.09)\Sigma\Delta B5^m \\ & - 0.72(\pm 0.59)\pi_{(2)} - 0.57(\pm 0.18)\Delta B5^{(2)} \\ & + 0.34(\pm 0.22)\Delta B5^{(6)} + 4.93(\pm 0.40) \quad (7) \\ n = 51, \quad s = 0.232, \quad r = 0.908, \quad \pi_{\text{opt}} = 2.83 \end{aligned}$$

式(7)においては、式(6)で用いたパラメーター項に加えて、 $\Sigma\pi$ の自乗項、上記のように定義された6位の置換基の立体パラメーター $\Delta B5^{(6)}$ 項が有意となった。 $\Sigma\pi$ の自乗項の存在に関しては、式(2)と(4)から判断しても妥当であるが、この式から算出される $\Sigma\pi_{\text{opt}}$ の値は2.83で、式(6)で得られた値($\pi_{\text{opt}}=4.77$)に比べるとかなり小さく、最適値の確認にはなお検討が必要である。一方、正の係数をもつ $\Delta B5^{(6)}$ 項は、置換基の幅が広いほど活性が高くなることを表す。オルト置換基の立体効果には特異的な因子が加わっている可能性が予測された。そこで、オルト置換基がメタ置換基と隣り合わせになっている2,3-および5,6-置換体に対して、 $\Delta B5^{(6)}$ の代わりにオルト置換基とメタ置換基の立体パラメーターの積、 $\Delta B5^o \cdot \Delta B5^m$ を用いて解析を行い、式(8)が導かれた²¹⁾。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.97(\pm 0.41)\Sigma\pi - 0.17(\pm 0.11)(\Sigma\pi)^2 \\ & + 0.66(\pm 0.15)\Sigma\sigma_1 - 0.67(\pm 0.15)\Delta B5^{(2)} \\ & - 0.97(\pm 0.59)\pi_{(2)} - 0.38(\pm 0.09)\Delta B5^m \\ & + 0.28(\pm 0.15)^o \Delta B5^o \cdot \Delta B5^m + 5.07(\pm 0.35) \quad (8) \\ n = 51, \quad s = 0.222, \quad r = 0.917; \quad \pi_{\text{opt}} = 2.85 \end{aligned}$$

式(8)は式(7)より良好な相関関係を与え、 $\Delta B5^o \cdot \Delta B5^m$ の項は有意となる。すなわち、 $\Delta B5$ の積の項は、互いに隣接する置換基の一方の効果が他方の効果を積の形で“支え合う”いわゆる *buttressing effect* に基づく“立体促進の効果”²²⁾の存在を示唆する。

式(8)においては、B環*para*位置置換基の項 $\Delta B5^p$ は有意とならなかった。式(2)および(4)では有意であったが、式(18)では寄与は小さく、置換基の種類が多くなるとともに有意性が失われたものと考えられる。最終的に式(4)と式(8)の結果を合わせて解析を行い、式(9)を導いた。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 1.02(\pm 0.16)\Sigma\pi - 0.12(\pm 0.03)(\Sigma\pi)^2 \\ & + 0.57(\pm 0.15)\Sigma\sigma_1 - 0.72(\pm 0.15)\Delta B5^{(2)} \\ & - 1.23(\pm 0.62)\pi_{(2)} + 0.25(\pm 0.16)\Delta B5^o \cdot \Delta B5^m \\ & - 0.50(\pm 0.08)\Sigma\Delta B5^m - 0.09(\pm 0.03)\Delta B5^p \\ & + 5.20(\pm 0.19) \quad (9) \\ n = 103, \quad s = 0.245, \quad r = 0.896, \quad \pi_{\text{opt}} = 4.25 \end{aligned}$$

式(8)に比べると、相関関係は若干低下したが、8個のパラメーターで103個の化合物の活性を説明することができ、最適の疎水性(π_{opt})も4.25で、パラ置換体の解析で得られた値に近い値となった。

最後に、かなり複雑な構造をもった chlorfluazuron 類縁体(114–118)(表5)の活性を測定し、式(9)の妥当性の検証を試みた。図3の定義に従うとNo. 115と116は、それぞれ3,4,6-と4,5-置換と考える必要があるが、そのような置換位

表5. Chlorfluazuron型化合物の活性

No.	Y ₂	Y ₃	Y ₅	Y ₆	pLD ₅₀ (PB)		差 ^{a)}
					実測値	計算値 式(10)	
114	H	Cl	Cl	H	7.13	6.90	0.23
115	Cl	Cl	H	H	6.89	6.57	0.32
116	H	Cl	H	H	6.73	6.79	-0.06
117	CH ₃	H	H	H	6.40	6.07	0.33
118	CH ₃	H	CH ₃	H	6.54	6.14	0.40

^{a)} 実測値から式(10)による計算値を差し引いた値。

図4. 置換pyridyloxy基を $para$ 位にもった多置換化合物の置換位置

表6. 式(10)の誘導に用いたパラメーター間の単相関性

	$\Sigma\pi$	$(\Sigma\pi)^2$	$\Sigma\sigma_1$	$\Sigma\Delta B5^m$	$\Delta B5^p$	$\Delta B5^{(2)}$	$\Delta B5^o \cdot \Delta B5^m$
$(\Sigma\pi)^2$	0.851						
$\Sigma\sigma_1$	0.007	0.020					
$\Sigma\Delta B5^m$	0.002	0.001	0.453				
$\Delta B5^p$	0.266	0.239	0.225	0.321			
$\Delta B5^{(2)}$	0.028	0.023	0.100	0.009	0.048		
$\Delta B5^o \cdot \Delta B5^m$	0.003	0.005	0.182	0.173	0.131	0.006	
$\pi_{(2)}$	0.042	0.027	0.000	0.000	0.003	0.092	0.059

置設定では、これらは式(9)で予測することはできなかった。そこで、図3で示した置換位置の設定を再考察した。表5に示されている5個の化合物において、図3の方式に従うと、小さい方の $meta$ 置換基はHで、これを3位に、また通常の定義による3位の置換基をすべて5位に配置せねばならない。しかし、図4に示した配置の方が、式(9)による計算値とよく一致することがわかった。これは、2-Cl-4-CF₃-Pyridyloxy基が立体的に嵩高いために、5位置換基が配置されるはずの領域まで占有することによるものと推察されよう。図4のように置換位置を設定し、これらpyridyloxy化合物を含めて、最終的に式(10)を得た。

$$\begin{aligned}
 \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 1.01(\pm 0.16)\Sigma\pi - 0.12(\pm 0.03)(\Sigma\pi)^2 \\
 & + 0.59(\pm 0.14)\Sigma\sigma_1 - 0.68(\pm 0.15)\Delta B5^{(2)} \\
 & - 1.27(\pm 0.60)\pi_{(2)} + 0.27(\pm 0.16)\Delta B5^o \cdot \Delta B5^m \\
 & - 0.49(\pm 0.08)\Delta B5^m - 0.07(\pm 0.03)\Delta B5^p \\
 & + 5.15(\pm 0.19) \quad (10) \\
 n = 108, \quad s = 0.250, \quad r = 0.890; \quad \pi_{\text{opt}} = 4.25
 \end{aligned}$$

式(10)において、ベンゼン環に4程度の疎水性をもち誘起的電子求引基の高い置換基が導入されると活性の上昇することがわかる。一方立体パラメーター $\Delta B5$ の係数すべてマイナスであることから活性は、 $ortho$, $meta$, $para$ のすべての位置で嵩高い置換基の導入は不利である。ここで、測定した化合物の中で、3個の化合物4-Et (7), O-2Py (3-Cl, 5-COOEt) (56), 2,6-F₂-4-Br (No. 108)の活性は、式(10)によって予測することはできなかった。化合物56においては加水分解が、化合物108では、2,6-ジ置換様式を含む本化合物に特異的な立体効果の関与が考えられる。化合物

7 (4-Et) 体に関しては、その理由は不明である。最終的なQSAR式(10)で用いられたパラメーター間の共直線性を表6に示す。

以上、フェニル置換体に関しては、モノ置換体である $para$ 体から、多置換体に亘る合計108個の誘導体の活性を8個のパラメーターで解析することができた²¹⁾。

2.2. ベンゾイル側

Diflubenzuron型化合物(図2; Y_n=4-Cl)のベンゾイル側ベンゼン環 $ortho$, $meta$, $para$ 位に置換基(F, Cl, Br, CH₃, NO₂)を導入して活性を調べたが、 $meta$, $para$ 置換体においては活性指標を求めることができなかった。そこで、 $ortho$ 置換体だけを用い、 $ortho$ 位の置換基効果の解析を行った。

表7に示したように、片方の $ortho$ 位にハロゲン、アルキル、アルコキシ、ニトロ、シアノの置換基の導入を行ったが、置換基がCH₃からC₂H₅に、あるいはOCH₃に変わるだけで活性値を求めることができなくなった。OC₂H₅, N(CH₃)₂, i -Pr, Phを導入した化合物においても活性は見いだされなかった。化合物によっては酸化や加水分解代謝を受けやすく活性を評価できない場合があって、共力剤の存在下でのみ活性値が得られることはすでに述べた。表7からわかるように、ベンゾイル側が置換されたBPU類においても、LD₅₀値が得られなかった化合物No. 128, 130, 140の活性は、PB併用下で求めることができた。加水分解代謝阻害剤DEFの併用下では、これら化合物の活性上昇は認められなかった。一方、PB添加条件下でも活性を測定できなかった化合物No. 136は、DEFを用いることによって、活性

表7. ベンゾイル部に様々な置換基をもったBPU類の活性と置換基パラメーター

No.	X ₁	X ₂	pLD ₅₀ ^{a)}			計算値 式 (13)	差 ^{b)}	置換基パラメーター				
			None	DEF	PB			π	Es	σ	σ_1	$\sigma^{\#}$
119	H	H	<5.60 (0%)	<5.60 (0%)	<5.60 (0%)	6.67		0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	F	F	6.50	6.58	6.64	6.45	0.19	-0.39	-0.60	0.12	1.08	1.08
120	Cl	Cl	5.60	5.49	5.69	5.70	-0.01	0.13	-1.88	0.46	0.94	0.94
121	Br	Br	5.36	5.45	5.36	5.62	-0.26	0.36	-2.16	0.46	0.94	0.94
122	CH ₃	CH ₃	5.00	5.09	5.20	5.09	0.11	0.26	-2.22	-0.34	-0.02	-0.02
123	F	Cl	6.34	6.15	6.29	6.06	0.23	-0.15	-1.24	0.29	1.01	1.01
124	OCH ₃	OCH ₃	<5.30 (11%)	<5.30 (6%)	5.79	5.84	-0.05	-0.86	-0.76	-0.54	0.60	0.60
125	NO ₂	CH ₃	4.60	4.81	4.69	4.56	0.13	-0.54	-2.69	0.61	0.66	0.66
126	Cl	CH ₃	5.42	5.60	5.82	5.43	0.39	0.25	-2.05	0.06	0.46	0.46
127	NO ₂	Cl	4.77	4.76	4.63	4.91	-0.28	-0.52	-2.52	1.01	1.14	1.14
128	N(CH ₃) ₂	F	<4.78 (0%)	<4.78 (0%)	5.09	5.50	-0.41	-0.02	-1.90	-0.77	0.71	0.71
129	Br	Cl	5.56	5.37	5.76	5.73	0.03	0.36	-2.02	0.46	0.94	0.94
130	N(CH ₃) ₂	Cl	<4.78 (0%)	<4.78 (5%)	5.33	5.11	0.22	0.21	-2.54	-0.60	0.64	0.64
131	NO ₂	OCH ₃	5.47	5.36	5.36	5.05	0.31	-0.90	-1.96	0.51	0.97	0.97
132	OCH ₃	Cl	5.42	5.39	5.88	5.96	-0.08	-0.05	-1.32	-0.04	0.77	0.77
133	Br	F	5.96	6.07	6.18	6.04	0.14	-0.01	-1.38	0.29	1.01	1.01
134	NO ₂	NO ₂		<5.30 (0%)	<5.30 (0%)	4.29		-0.89	-3.16	1.56	1.34	1.34
135	NO ₂	Br		<5.30 (0%)	<5.30 (0%)	4.90		-0.36	-2.66	1.01	1.14	1.14
136	F	H	<5.30 (5%)	5.63	<5.30 (0%)	6.43		-0.05	-0.30	0.06	0.54	0.06
137	Cl	H	5.90	6.27	6.01	6.04	-0.03	0.00	-0.94	0.23	0.47	0.23
138	Br	H	6.31	6.21	6.06	6.01	0.05	0.13	-1.08	0.23	0.47	0.23
139	I	H	5.68	5.73	5.44	5.85	-0.41	0.29	-1.38	0.18	0.40	0.18
140	NO ₂	H	<4.78 (47%)	5.04	4.99	5.34	-0.35	-0.76	-1.58	0.78	0.67	0.78
141	CH ₃	H	5.85	5.99	5.88	5.80	0.08	0.12	-1.11	-0.17	-0.01	-0.17
142	N(CH ₃) ₂	H		<5.30 (0%)	<5.30 (0%)	5.05		-0.02	-1.60	-0.83	0.17	-0.83
143	C ₂ H ₅	H		<5.60 (0%)	<5.30 (0%)	5.92		0.53	-1.28	-0.15	-0.01	-0.15
144	OCH ₃	H	<5.30 (5%)	<5.30 (0%)	<5.60 (0%)	6.32		0.11	-0.38	-0.27	0.30	-0.27
145	OC ₂ H ₅	H			<5.30 (0%)	6.44		0.50	-0.53	-0.24	0.28	-0.24
146	CF ₃	H		<5.30 (0%)	<5.30 (0%)	5.11		0.04	-2.35	0.54	0.40	0.54
147	CN	H		<5.30 (0%)	<5.30 (0%)	6.31		-0.64	-0.35	0.66	0.57	0.66
148	SCH ₃	H		<5.60 (0%)	<5.60 (0%)	5.86		0.07	-1.09	0.00	0.30	0.00
149	<i>i</i> -Pr	H		<5.60 (0%)	<5.60 (0%)	5.80		0.75	-1.60	-0.15	0.01	-0.15
150	Ph	H		<5.30 (0%)	<5.60 (0%)	5.56		0.90	-2.10	-0.01	0.12	-0.01

^{a)} 空欄：活性未測定. ^{b)} PLD₅₀(PB) から式 (13) による計算値を差し引いた値.

を求めることができ、この化合物は片方の *ortho* 位が立体的に小さな F で置換された化合物で、加水分解代謝を受けやすい構造であると考えた。このことから、無置換体 (No. 119) は、2-F 体 (No. 136) よりさらに加水分解を受けやすい構造で、LD₅₀ 値を求めるに至らなかったと推察された。理想的には PB と DEF を同時に用いて酸化と加水分解代謝を共に抑えて、活性を評価するのが良いが、今回の殺虫試験では、両方の代謝阻害剤を同時に用いることで、昆虫の成長がかなり抑制されることから、どちらか一方の共力剤併用下で活性の測定を行わざるを得なかった¹¹⁾。以上、定性的な解析結果

を念頭において、ジ置換体 15 化合物について QSAR 解析を行った。その結果は式 (11) で表される。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.83(\pm 0.40)E_s^o(\text{L}) + 0.87(\pm 0.53)E_s^o(\text{S}) \\ & + 0.51(\pm 0.41)\pi + 7.18(\pm 0.51) \end{aligned} \quad (11)$$

$n=15, \quad s=0.265, \quad r=0.910$

式 (11) において、 E_s^o は *ortho* 置換 benzamide の加水分解速度から算出された立体パラメーター²³⁾で、 $E_s^o(\text{L})$ は大きい方の置換基、 $E_s^o(\text{S})$ は小さい方の置換基に対するものである。 π は置換ベンズアミドの 1-オクタノール/水系における

表8. パラメーター間の単相関性 (r^2)

	ΣE_s^o	π	$\sigma^{\#}$
π	0.016	1.000	
$\sigma^{\#}$	0.033	0.132	1.000

分配係数 (P) から算出した置換基の疎水性パラメーターである²⁴⁾. 式 (11) において $E_s^o(L)$ と $E_s^o(S)$ の係数がほぼ等しいことから、それらの和を立体パラメーター ΣE_s^o として用いて再度解析を行い、式 (12) を導いた.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.84(\pm 0.24)\Sigma E_s^o + 0.50(\pm 0.36)\pi \\ & + 7.18(\pm 0.48) \end{aligned} \quad (12)$$

$$n = 15, \quad s = 0.253, \quad r = 0.910$$

次に活性の得られた5つの *ortho* モノ置換体を加えて、電子的効果も合わせて再検討したところ、式 (13) が得られた.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}) = & 0.77(\pm 0.21)\Sigma E_s^o + 0.59(\pm 0.33)\pi \\ & + 0.44(\pm 0.36)\sigma^{\#} + 6.67(\pm 0.39) \end{aligned} \quad (13)$$

$$n = 20, \quad s = 0.257, \quad r = 0.895$$

式 (13) において、 $\sigma^{\#}$ は *ortho* ジ置換体に対しては $\Sigma\sigma_1$ を、モノ置換体に対しては σ を用いる複合パラメーターである. すなわち、両 *ortho* 位が置換された場合にベンゼン環はアミド結合面に対して垂直となり、ベンゼン環とカルボニル基との間の共鳴効果が消失し、誘起的電子求引性効果 (σ_1) だけが有意となると考えられる. 式 (13) で用いられているパラメーター ΣE_s^o , π , $\sigma^{\#}$ の相関性は表8の通りで、それらの共直線性は低いことが分かる. 最終的な QSAR 式 (13) において、 OCH_3 体 (144), OEt 体 (145), CN 体 (147) の活性は予測できていないが、置換基 OR に関しては、アミド HN- の間で分子内水素結合が形成され、それが活性低下の原因と考えられている²⁶⁾.

式 (13) の結果から、最も好ましいベンゾイル側置換基として、かさ高さが比較的小さく、疎水性で電子求引性の高い 2-F, 2-Cl, 2,6-F₂, 置換体などが考えられる. 実際、実用されている化合物のベンゾイル側の置換基は大半が 2,6-F₂ 体であるが、perfluron (2-F 体), triflumuron (2-Cl 体) (図1) などもある⁷⁾.

3. その他昆虫に対する殺虫活性の QSAR

以上のように、ニカメイチュウに対する殺虫活性の QSAR を詳細に解説したが、その中で、加水分解代謝阻害剤や酸化代謝阻害剤を用いることによって活性が大きく上昇する化合物のあることを述べた. QSAR 解析より、電子供与性基で置換されている化合物は、酸化されやすく、逆に NO_2 基のような電子求引性の強い置換基で置換された化合物は加水分解

されやすいことが示された. すなわち、ニカメイチュウに対しては、PB 併用下で求めた活性の QSAR 解析を、共力剤のない条件で測定した活性の QSAR 解析を比較すると、電子的パラメーターの寄与が著しく増加することがわかった.

ついで、ニカメイチュウに対する殺虫活性の解析結果を他の昆虫 (幼虫) に関する結果と比較することによって、QSAR における代謝の意義をさらに明確にしようと試みた. カイコとハスモンヨトウに対する活性を PB 併用下で測定し、QSAR 解析を行ったところ、それぞれ式 (14), 式 (15) が得られた¹²⁾.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}; B. \text{mori}) = & -1.25(\pm 0.59)\sigma + 0.76(\pm 0.41)\pi - 0.14(\pm 0.14)\pi^2 \\ & - 0.14(\pm 0.19)\Delta B_5 + 6.12(\pm 0.33) \end{aligned} \quad (14)$$

$$n = 20, \quad s = 0.294, \quad r = 0.834$$

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{PB}; S. \text{litura}) = & 2.51(\pm 0.62)\pi - 0.44(\pm 0.16)\pi^2 \\ & - 0.53(\pm 0.18)\Delta B_5 + 5.12(\pm 0.37) \end{aligned} \quad (15)$$

$$n = 18, \quad s = 0.308, \quad r = 0.923$$

式 (14) (15) からわかるように、カイコでは電子的パラメーターは通常の Hammett- σ で表され、 σ 項の係数がマイナスとなり、ハスモンヨトウでは電子効果は有意とならなかった. カイコに対しては、共力剤を用いない条件で求められた活性 $\text{pLD}_{50}(\text{none})$ の結果は式 (14) の結果とはほとんど変わらなかった. この理由として、カイコは永年にわたって、人工飼育されてきたことによって、異物代謝機能が大きく低下して、本来の電子供与性基が望ましいとする置換基効果が現れていると推察される. 一方、ハスモンヨトウでは、ニカメイチュウほどには酸化代謝能は高くないため、本来の活性におよぼす電子供与性効果と酸化代謝分解を受けにくくする電子求引性効果が丁度相殺されて、電子的効果が有意にならなかったと結論された.

フェニル側置換基効果で、共力剤 PB を用いると、活性に対する電子求引性効果が低下すること、昆虫種間で、電子的効果が様々であることから、酸化代謝と置換基の電子効果の関係に関する貴重な情報が得られることを期待して、*in vitro* で活性を評価した. 通常は、組織や細胞で活性評価を行うと、代謝による解毒を考える必要はないと考えられる. そこで、ニカメイチュウの培養表皮系を用いて、キチン合成阻害活性を定量的に測定する検定系を構築した. 脱皮ホルモンで表皮に脱皮を誘導した後、キチンの前駆体である N-アセチルグルコサミンの ^{14}C 標識体を含む培地でさらに3日間培養して表皮に取り込まれる放射能を測定するという方法である. 先に述べたように、最初は、代謝分解による要因を考える必要はないと考えたが、培養表皮には脂肪体 (昆虫では、酸化代謝にかかわっている) が付着していること、活性測定値が得られるまでに3日間の培養が必要であるので、代謝分解の可能性を考慮することを必要と考えた. 実際、PB

を共力剤として用いるといくつかの化合物で活性が顕著に増大することがわかった. 置換誘導体に対して *in vitro* の活性を, 共力剤を用いない条件と PB 併用下で評価した (表 9). 共力剤を含まない培地で評価した活性 $pIC_{50}(\text{None})$ と PB を培地に添加して求めた活性 $pIC_{50}(\text{PB})$ をそれぞれ解析すると, 式 (16), (17) が得られた¹⁴⁾.

$$pIC_{50}(\text{None}) = 2.13(\pm 0.98)\sigma_1 + 1.28(\pm 0.71)\pi - 0.28(\pm 0.40)\pi^2 + 5.69(\pm 0.43) \quad (16)$$

$n=15, \quad s=0.375, \quad r=0.916$

$$pIC_{50}(\text{PB}) = -0.59(\pm 0.50)\sigma + 1.49(\pm 0.50)\pi - 0.57(\pm 0.27)\pi^2 + 7.19(\pm 0.22) \quad (17)$$

$n=15, \quad s=0.267, \quad r=0.916$

$pIC_{50}(\text{None})$ の QSAR 解析においては, σ_1 が電子効果として有意となり, $pIC_{50}(\text{PB})$ の QSAR では σ が有意となって, 係数は負となった. この結果は各種昆虫に対する殺虫活性における QSAR の結果 [式 (14), (15)] と矛盾しない. すなわち, ニカメイチュウのような害虫では酸化代謝能が高く, PB 併用下でも酸化代謝を完全に抑えることができず, 代謝抑制に対する電子求引効果が正に働く [式 (2), (4)–(10)],

逆に, 代謝能が低下していると考えられるカイコでは, 本質的な活性におよぼす電子効果が現れたと考えられた [式 (17)].

以上, BPU 類の QSAR については, 詳細に検討を行ったが, 最後に残った課題がある. それは, 酸化代謝阻害剤 PB を併用しない条件でニカメイチュウに対して求めた活性 $pLD_{50}(\text{None})$ の解析において, なぜ σ でなくて σ_1 が良好な相関関係を与えるかということである. 酸化反応は一個の電子を失うラジカル生成反応であるので, ラジカル反応における電子効果との関係を調べてみた. すなわち, ラジカル反応における σ 定数 ($\sigma^\cdot$) の値が求められている 12 の置換基 (H, CH₃, F, Cl, Br, I, NO₂, CN, OCH₃, N=NPh, COCH₃, Ph) について σ_1 と $\sigma^\cdot$ との関係について解析したところ相関関係は必ずしも良好とは言えないが, σ_1 は σ と $\sigma^\cdot$ によって式 (18) のように有意に関係づけられた.

$$\sigma_1 = 0.87(\pm 0.45)\sigma - 0.80(\pm 0.67)\sigma^\cdot + 0.263(\pm 0.11) \quad (18)$$

$n=12, \quad s=0.136, \quad r=0.829$

式 (18) の結果から以下のように推論される. 酸化的代謝が完全に抑制されていない場合, B 環置換基の電子効果とし

表 9. 培養表皮系における BPU 類のキチン合成阻害活性と置換基定数

No.	置換基	$pIC_{50}^{a)}$						置換基パラメーター			
		None			PB			π	σ	σ_1	$\sigma^\cdot^{d)}$
		実測値	計算値 式 (16)	差 ^{b)}	実測値	計算値 式 (17)	差 ^{c)}				
1	H	5.19	5.69	-0.50	6.79	7.19	-0.40	0.00	0.00	0.00	0.00
2	F	7.51	7.21	0.30	7.80	7.56	0.24	0.31	0.06	0.54	-0.25
3	Cl	7.69	7.66	0.03	7.72	7.96	-0.24	0.96	0.23	0.47	0.08
4	Br	8.14	7.78	0.36	8.28	8.01	0.27	1.13	0.23	0.47	0.17
5	I	7.88	7.73	0.15	8.20	8.06	0.14	1.30	0.18	0.40	0.16
6	CH ₃	6.48	6.27	0.21	7.86	7.93	-0.07	0.54	-0.17	-0.01	-0.02
7	Et	6.54	6.69	-0.15	8.12	8.21	-0.09	1.04	-0.15	-0.01	
8	<i>n</i> -Pr	7.15	6.91	0.24	8.45	8.24	0.21	1.40	-0.13	-0.01	
10	<i>n</i> -Bu	7.34	7.13	0.22	7.96	7.88	0.08	2.14	-0.16	-0.01	
15	OCH ₃	6.04	6.15	-0.11	7.28	7.15	0.13	-0.13	-0.27	0.30	-0.12
16	OC ₂ H ₅	6.53	6.66	-0.13	7.62	7.75	-0.13	0.32	-0.24	0.28	
19	NO ₂	7.06	7.68	-0.62	7.07	7.33	-0.26	0.50	0.78	0.67	0.27
20	CN	7.28	6.94	0.34	7.27	6.85	0.43	0.03	0.66	0.57	0.34
14	N=NPh	7.16	7.71	-0.55	7.48	7.74	-0.26	1.91	0.39	0.28	0.33
151	CH ₂ CN	5.66	5.45	0.21	6.32	6.36	-0.04	-0.47	0.01	0.20	
40	Ph							1.96	0.01	0.12	0.12
152	COCH ₃							-0.06	0.50	0.30	0.53

^{a)} 空欄: 測定値なし. ^{b)} 実測値 [$pIC_{50}(\text{None})$] から式 (16) による計算値を差し引いた値. ^{c)} 実測値 [$pIC_{50}(\text{PB})$] から式 (17) による計算値を差し引いた値. ^{d)} 空欄: 文献値なし.

て正の σ_1 項は、ラジカル反応的電子求引性 $\sigma^{\cdot}$ の値が負の方向に大きいほど、また、通常の電子誘起効果が大きいほど、大きくなる。すなわち、もともと活性は置換基の電子求引性(σ で表される)の大きいほど高いが、ラジカル生成、すなわち酸化代謝されやすいほど $\sigma^{\cdot}$ パラメーターの変化に応じて低下することがわかる。したがって、酸化代謝による解毒能が高い条件下で求められたニカメイチュウでは電子効果として通常の σ でなく σ_1 が有意になったと考えられる。

BPU類の*in vivo*から*in vitro*の活性に対するQSARの展開の中で得られた情報は、BPU類の標的タンパク質が明らかにされた際には、輸送過程、分子レベルにおける相互作用解明において重要な知見となるであろう。

おわりに

ベンゾイルフェニルウレア類のQSARは、筆者が大学院生であった当時から約10年間に亘って積み上げてきた体験にもとづくものである。QSARの実際は活性指標やパラメーターを単に数値として取り扱うのではなく、その背景として作用の発現に関する有機物理化学機構を明らかにしようとする意義があることを理解いただければ幸甚である。最後になりましたが、本稿を執筆する機会を与えていただいた安藤哲編集委員長に感謝するとともに、本稿執筆にあたり、ご助言を頂戴した藤田稔夫先生にはここから御礼申し上げます。

引用文献

- 1) C. Hansch and T. Fujita: *JACS* **86**, 1616–1626 (1964).
- 2) J. J. van Daalen, J. Meltzer, R. Mulder and K. Wellings: *Naturwissenschaften* **59**, 312–313 (1972).
- 3) 中川好秋：農薬誌 **21**, 460–467 (1996).
- 4) 中川好秋：脱皮と変態の生物学，園部治之，長澤寛道編，東海大学出版会，pp.147–166, 2011.
- 5) K. Wellings, R. Mulder and J. J. van Daalen: *J. Agric. Food Chem.* **21**, 993–998 (1973).
- 6) 芳賀隆弘，土岐忠昭，辻井康弘，西山隆三：農薬誌 **17**, S103–S113 (1992).
- 7) 芳賀隆弘：脱皮と変態の生物学，園部治之，長澤寛道編，東海大学出版会，pp. 211–228, 2011.
- 8) 池田健一，安井通宏，菅野英夫，前川定文：農薬誌 **11**, 287–295 (1986).
- 9) 鈴木純二，石田達也，渋谷一郎，戸田和哉：農薬誌 **25**, 215–223 (2001).
- 10) Y. Nakagawa, K. Kitahara, T. Nishioka, H. Iwamura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **21**, 309–325 (1984).
- 11) Y. Nakagawa, T. Sotomatsu, K. Irie, K. Kitahara, H. Iwamura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **27**, 143–155 (1987).
- 12) Y. Nakagawa, T. Akagi, H. Iwamura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **33**, 144–157 (1989).
- 13) Y. Nakagawa, M. Matsutani, N. Kurihara, K. Nishimura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **42**, 242–247 (1992).
- 14) Y. Nakagawa, M. Matsutani, N. Kurihara, K. Nishimura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **43**, 141–151 (1992).
- 15) Y. Nakagawa, H. Iwamura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **23**, 7–12 (1985).
- 16) Y. Nakagawa, K. Izumi, N. Oikawa, T. Sotomatsu, M. Shigemura and T. Fujita: *Environ. Toxicol. Chem.* **11**, 901–916 (1992).
- 17) 中川好秋：農薬誌 **21**, 363–377 (1996).
- 18) 藤田稔夫：農薬誌 **38**, 2–19 (2013).
- 19) 赤松美紀：農薬誌 **38**, 195–203 (2013).
- 20) Y. Nakagawa, T. Akagi, H. Iwamura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **30**, 67–78 (1988).
- 21) Y. Nakagawa, K. Izumi, N. Oikawa, A. Kurozumi, H. Iwamura and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **40**, 12–26 (1991).
- 22) C. Hansch, C. Grieco, C. Silipo and A. Vittoria: *J. Med. Chem.* **20**, 1420–1435 (1977).
- 23) T. Sotomatsu and T. Fujita: *J. Org. Chem.* **54**, 4443–4448 (1989).
- 24) T. Sotomatsu, M. Shigemura, Y. Murata and T. Fujita: *J. Pharm. Sci.* **82**, 776–781 (1993).
- 25) T. Sotomatsu, Y. Nakagawa and T. Fujita: *Pestic. Biochem. Physiol.* **27**, 156–164 (1987).