学会賞受賞論文

(業績賞)

殺虫剤の代謝および活性発見における
絶対立体化学に関する研究

宮崎 昭雄

大阪府立農林技術センター

Studies on the Absolute Stereochemistry in Metabolism
and Activity Development of Insecticides

Akio MIYAZAKI

Agricultural and Forestry Research Center, Osaka Prefecture, Shakudo, Habikino 583, Japan

はじめに

すべての生物体は本来光学活性成分から構築されているといえる。したがって、農薬をはじめとした生理活性物質が生体内で代謝反応を受ける際に、あるいは活性発現の過程において、生物の分子不斉に基本的に依存しているということが出来る。生理活性物質の多くは光学活性であり、鏡像体間で生理活性が異なる場合が多い。このことに不注意にも気付かなかった例としてサリドマイド (1) を挙げることができる。本化合物は医薬品として実際にはラセミ混合物が使用されていた。1979年、ドイツの Blaschke ら¹⁾はラセミ混合物をキラル HPLC によって (R)-(+)-1 および (S)-(-)-1 に光学分割し

有する化合物は比較的少ない。その理由は従来の農薬創製のためのドラッグデザインが主として官能基（たとえば、リン酸エステル、カーバメート、アミド結合など）を基本構造として組み立てられてきたことに因ると考えられる。本研究は、たとえ分子不斉を有しない農薬であっても代謝分解を受けるとき、あるいは生体内で活性を発現するとき、絶対立体化学の性質が付与されること、および分子不斉を有する農薬においては、いかに両鏡像体間で活性が異なるかを生物有機化学的に追及したものである。本稿ではアキラルな農薬としてフェニトロチオン (2) およびプロパホス (3)、キラルな農薬として環状ジエン化合物クロールデン (4) について行なった研究について概要を述べる。

(S)-(-)-1

(R)-(+)-1

てその生物活性を調べた。その結果、驚いたことには天然のグルタミン酸と同じ絶対構造をもつ (S) 型には催奇性があり、(R) 型にはまったく毒性は認められなかった。また、昆虫に生理活性を示す化合物、たとえば幼若ホルモン (JH) は分子不斉を有しており、一方の鏡像体にはホルモン活性があるが、もう一方の鏡像体には活性がほとんど認められなかった。

ところで、従来の合成農薬をみてみると、分子不斉を

アキラルなフェニトロチオンのキラルなデスメチル
フェニトロチオンへのエナンチオトピック
脱メチル化反応

フェニトロチオン (商品名: スミチオン) (2) は農業害虫をはじめ衛生害虫の防除に広く使用されている有機リン系殺虫剤である。2 は動物・植物のグルタチオン-S-トランスフェラーゼによってデスメチルフェニトロチオン (5) に代謝変換・解毒化されることが知られている。そこで 2 のもつ 2 個の OCH_3 基が生物によって代謝されて得られる 5 が果して光学活性体であるかラセミ化合物であるか、またもし光学活性体であればその絶対立体化学はどうであるかを検討した。

1. デスメチルフェニトロチオンの絶対立体化学

代謝産物デスメチルフェニトロチオン (5) の絶対立体化学は、ラセミ型 5 を光学活性アミンとのジアステレオマー誘導体として光学分割し、両者のプロトン NMR スペクトルを比較検討することによって決定した²⁾。すなわち、ラセミ型 5 を塩素化 (SOCl_2) 後、ピリジン存在下 (S)-(-)- α -フェネチルアミンと反応して生成したジアステレオマー混合物 (6 および 7) をカラムクロマトによる精製を行ない、6, $[\alpha]_D^{25} +13.9^\circ$ および 7, $[\alpha]_D^{25} -69.8^\circ$ を純粋に得た。両ジアステレオマーの NMR スペクトルにおいて特徴的に異なるプロトンシグナルは、 $\delta 3.78(6)$ と $3.53(7)$ に現れる OCH_3 のシグナルであった。この化学シフトの差 ($\Delta 0.25 \text{ ppm}$) は、明らかに (S)-(-)- α -フェネチルアミン部分のベンゼン環のアニソトロピーによるものと考えられる。したがってより高磁場に OCH_3 のシグナルが現れる 7 では空間的に OCH_3 とベンゼン環が同じ側に位置し、より低磁場の 6 では両者は反対側に位置することになる。

ところで、6 や 7 のようなホスホロアミドチオエートの立体配座を考えてみると、下図のように S, P, N, C の 4 原子は同一平面上に存在すると考えることができる。その場合、トランソイド型とシソイド型が可能で

あるが、シソイド型では $\text{P}=\text{S}$ 側の部分とフェネチル基側との大きな立体障害が考えられることから、より安定なコンフォメーションはトランソイド型と考えるのが

妥当である。

次に、トランソイド型コンフォメーションにおいて、(S)-(-)- α -フェネチル基のなかでもっとも小さなメチンプロトンが不斉リン原子に結合した二つの置換基、 OCH_3 と O -フェニル、の間に位置する構造がもっとも立体障害の少ない立体配座と考えることができた。以上の考察に基づいて、6 と 7 をもっとも安定なコンフォメーションとして提出することができた。6 と 7 の立体配座の正しいことはモデル化合物 8 と 9 を合成してプロトン NMR を測定すると、問題の OCH_3 の化学シフトは $\delta 3.76(8)$ と $3.63(9)$ を与え、予想したとおりアミン部分にベンゼン環を有する 9 の OCH_3 は高磁場にシフトしたことからもサポートされた。

光学活性デスメチルフェニトロチオン (5) の絶対構造と旋光性は次のようにして決定された。デスメチルフェニトロチオン (5) からジアステレオマー (6 と 7) への誘導に用いた塩素化とアミデート化反応は、ともに絶対配位の反転を伴う反応であることから、出発物質 5 と反応生成物であるジアステレオマーの絶対構造は結局同じことになる。(±)-5 のプルシン塩の再結晶によって得た光学活性 (+)-5 ($[\alpha]_D^{25} +4.6^\circ$) を塩素化とアミデート化反応に付して生成した (S)-(-)- α -フェネチルアミド誘導体は 6 と完全に一致した。したがって、デスメチルフェニトロチオンの絶対構造と旋光性は (R)_P(+)-5, (S)_P(-)-5 と決定することができた。

2. フェニトロチオンのマウスによるデスメチルフェニトロチオンへのエナンチオトピック脱メチル化反応

2 をマウス (JCL: ICR 系, 雄) の肝臓から調整した粗酵素液を用いて **5** に代謝させた (*in vitro*). また, **2** を同系統のマウスの腹腔内に注射し, 1 週間の尿を集めた (*in vivo*). 酵素反応液および尿から有機溶媒抽出によって得たデスメチルフェニトロチオンを塩素化後, (S)-(-)- α -フェネチルアミンと反応させてジアステレオマー混合物 (**6** および **7**) に導き, HPLC [カラム: ZORBAX SIL, 溶媒: *n*-ヘキサン-酢酸エチル (95:5)] によって両者の組成比を分析した²⁾. その結果の一例を Fig. 1 に示した.

ところで, 代謝産物デスメチルフェニトロチオンの (S)-(-)- α -フェネチルアミド誘導体への化学誘導反応でどの程度のラセミ化が起こっているかを知ることは, この誘導反応物のジアステレオマー比として, 代謝産物の鏡像体比を分析することからみて重要である. そこで前記で合成した光学的に純粋な (*R*)_P-(+)-デスメチルフェニトロチオンを (S)-(-)- α -フェネチルアミド誘導体とし, そのジアステレオマー比を HPLC で分析したところ, 4.2% の **7** を含むこと, すなわち, 84% のラセミ化が起こることが明らかになった.

以上のラセミ化率を実験データに補正したうえで, *in vitro* および *in vivo* 代謝実験によって得られたデス

メチルフェニトロチオンの両鏡像体の生成比を求めると, (*R*)_P 型が (*S*)_P 型より多く生成する立体選択的脱メチル化反応であることが明らかになった (生成比, 68:32 および 65:35).

3. フェニトロチオンの感受性および抵抗性イエバエによる代謝の比較

フェニトロチオンに対して感受性イエバエ (Lab-em-7-em, LD₅₀ 0.12 μ g/g) および抵抗性イエバエ (夢の島 '81 系, LD₅₀ 14 μ g/g) の両系統を用い, [¹⁴C]-CH₃O 標識 **2** を局所施用した. 代謝産物 **5** を含むフラクションを前述の方法でジアステレオマー誘導体とし, シリカゲル TLC [展開溶媒: *n*-ヘキサン-ジエチルエーテル (4:1)] で **6** と **7** を完全分離した後, 各々を液体シンチレータで定量した. その結果, 両系統とも **6** と **7** の生成比には有意な差は認められず, 立体選択的脱メチル化反応は起こらなかった³⁾.

4. キラル HPLC によるデスメチルフェニトロチオンの直接分析

従来, ラセミ型デスメチルフェニトロチオン [(±)-**5**] はそのまま鏡像体比を分析することはできなかった. 最近, 著者らはキラルカラム (TSKgel Enantio-OVM) を用いた HPLC によって (±)-**5** を直接分析することに成功した. そこで **2** を市販のラット肝臓グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (EC 2. 5. 1. 18) で代謝させて得られた **5** を溶媒抽出し, **5** を含むフラクションを上記のキラル HPLC を用いて分析した. その結果を Fig. 2 に示した. このクロマトグラムから代謝によって得られた **5** は両鏡像体を含み, (*R*)_P-(+)-**5** と (*S*)_P-(−)-**5** の比は 58:42 であった. この結果はマ

Fig. 1 HPLC chromatogram of (S)-(-)- α -phenethylamido derivatives of metabolic **5** (*in vitro*).

Peak A: compound **6**, B: compound **7**, column: Zorbax SIL, eluent: hexane-EtOAc (95:5), flow rate: 1.0 ml/min, detector: UV 254 nm.

Fig. 2 Chiral HPLC chromatogram of metabolic desmethylfenitrothion.

Peak A: (*R*)_P-(+)-**5**, B: (*S*)_P-(−)-**5**, column: TSKgel Enantio-OVM, eluent: 20 mM KH₂PO₄ (pH 6.0), flow rate: 1.0 ml/min, detector: UV 254 nm.

ウスによる代謝実験の結果とよく似ていたが、立体選択性は低かった⁴⁾。

アキラルなプロパホスの光学活性プロパホススルホキシドへの不斉代謝反応

プロパホス (商品名: カヤホス) (**3**) は水稻の害虫であるウンカやヨコバイ類の防除薬剤である。3 の分子内には不斉原子は存在しないが、水稻や昆虫の生体内酸化酵素によって分子不斉を有するプロパホススルホキシド (**10**) に変換されることが知られている。代謝されて得られる **10** が光学活性体であるか否かを、また絶対立体化学を明らかにするため、水稻に投与したときの生成物 **10** の光学純度を分析し、代謝反応の立体選択性を検討した。

1. 水稻によるプロパホスのプロパホススルホキシドへの立体選択的代謝反応

ガラスシャーレ (直径 9 cm, 高さ 9 cm) にプロパホス (**3**) 2.5 mg と水稻種子 (品種: 太刀風) 250 粒および蒸留水を加え、25°C, 2 週間発芽・育成させた。合計 22 枚のシャーレから得られた幼植物をアセトン

抽出し、カラムクロマトで分離・精製を行ない、純粋な代謝産物 **10** (13.4 mg) を得た。本代謝産物は正の旋光性 ($[\alpha]_D^{25} +27.2^\circ$) を与える光学活性体であり、水稻による **3** の **10** への代謝は不斉酸化反応であることが明らかになった。その鏡像体比はキラル HPLC [カラム: CHIRALCEL OA, 溶媒: *n*-ヘキサン-2-プロパノール (9:1)] 分析によって 73:27 と決定した (Fig. 3)⁵⁾。

2. 代謝産物 (+)-プロパホススルホキシドの絶対構造

代謝産物 (+)-プロパホススルホキシド [(+)-**10**] の絶対構造は CD を用いて以下のように決定した⁵⁾。キラルなアルキルアリルスルホキシドの CD において、第一コットン効果の符号が正のときそのキラルスルホキシドの絶対構造は (*R*)_s であることが明らかにされている⁶⁾。この絶対構造と CD の関係は本研究が対象とする光学活性プロパホススルホキシドに適用できることから、モデル化合物として絶対構造と CD の関係が既知の (*R*)_s-(+)-methyl-*p*-tolyl sulfoxide [(*R*)_s-(+)-**11**] を合成した。この CD の第一コットン効果は $[\theta]_{241}^{25} +87,500$ を与えた。一方、代謝産物として単離した (+)-**10** は $[\theta]_{242}^{25} +26,100$ と正の第一コットン効果を与えた。したがって、(+)-プロパホススルホキシドの絶対構造を全体として (*R*)_s(+) と決定した。この場合 (+)-プロパホススルホキシドのコットン効果の値が (*R*)_s-(+)-**11** のそれに比較し小さいのは、代謝産物 (+)-プロパホススルホキシドの光学純度が 46 ee% であったことから、光学的に純粋な (+)-プロパホススルホキシドの CD は $[\theta]_{242}^{25} +56,700$ と計算された。

以上の結果から、水稻によるプロパホス (**3**) のプロパホススルホキシド (**10**) への代謝酸化反応は (*R*)_s 型が主生成物であり、(*S*)_s 型も部分的に生成する選択的不斉反応であることが明らかになった。

3. チャバネゴキブリによるプロパホスのエナンチオトピック代謝反応

プロパホス (1 mg) を雄のチャバネゴキブリ (1000 頭) の腹部に局所施用し、90 分後にアセトン抽出した。

Fig. 3 HPLC chromatogram of metabolic **10** (rice seedlings).

Peak A: (*R*)_s-(+)-**10**, B: (*S*)_s-(-)-**10**, column: CHIRALCEL OA, eluent: hexane-2-propanol (9:1), flow rate: 0.5 ml/min, detector: UV 254 nm.

溶媒抽出物をシリカゲル TLC [溶媒: *n*-ヘキサン-アセトン (1:1)] によってプロパホススルホキシド (23 μ g) を得、上記と同様のキラル HPLC 分析した。その結果、(*R*)_s-(+)-**10** と (*S*)_s-(−)-**10** の生成比は 56:44 となり、昆虫体内での酸化反応には立体選択性はあまり大きくなかった⁷⁾。

4. 光学活性プロパホススルホキシドの両鏡像体の殺虫活性

光学活性プロパホススルホキシドの両鏡像体は前述のキラル HPLC を用いた光学分割によって調整した [(+)-**10**: $[\alpha]_D^{25} +61.4^\circ$, (−)-**10**: $[\alpha]_D^{25} -61.4^\circ$]。プロパホスは本来水稻を害するウンカやヨコバイ防除農薬であることから、ツマグロヨコバイを用いて試験した。その結果、プロパホススルホキシドの両鏡像体およびラセミ体間の殺虫活性には有意差はなかった。同様にイエバエに対しても殺虫力に差はなかった。ところが、チャバネゴキブリに対する殺虫試験では両鏡像体間には差があり、(−)-体が (+)-体に比べ 2 倍強いことが明らかとなった。他方同昆虫のアセチルコリンエステラーゼ阻害活性は (+)-体の方が約 3 倍強く、殺虫試験の結果と逆転した⁷⁾。

光学活性環状ジエン殺虫剤の両鏡像体の比較代謝

ところで、ヘブタクロール (**12**) やクロールデイン (**13**) などの環状ジエン化合物はキラルである。これらの薬剤は優れた殺虫力を有しているが、人畜に対する強い毒性から現在では農薬としての使用が禁止されてい

る。これら環状ジエン系殺虫剤はこれまで光学分割されたことはなく、過去においてはラセミ体のまま使用されていた。そこで 10 種類の環状ジエン化合物の両鏡像体を化学合成し、殺虫活性を調べた^{8,9)}。その結果、クロールデインおよびクロールデインエポキシドの両鏡像体間に著しい活性の差があったことから、殺虫活性発現における絶対立体化学について検討した。

1. 光学活性クロールデインおよびクロールデインエポキシドの両鏡像体の合成

ヘキサクロロシクロペンタジエンとシクロペンタジエンを混合して得られた Diels-Alder 反応生成物、ラセミ型クロールデイン [(±)-**4**] を二酸化セレン酸化してラセミ型 1-ハイドロキシクロールデイン [(±)-**14**] に誘導した。ラセミ型 1-ハイドロキシクロールデインの光学分割は 3 β -アセトキシエチエニル酸とのジアステレオマー混合物に誘導し、カラムクロマトによってそれぞれのジアステレオマーに分離した。次いで、エステル結合を LiAlH₄ で還元的に切断して、光学的に純粋な (−)-**14** ($[\alpha]_D^{25} -85.8^\circ$) および (+)-**14** ($[\alpha]_D^{25} +86.4^\circ$) を得た。

(+)-クロールデイン [(+)-**4**, $[\alpha]_D^{25} +35.0^\circ$] は (−)-**14** の接触還元物を無水ピリジン中塩化チオニルで脱水して得た (収率 81%)。同様の反応によって、(−)-**4**

Fig. 4 Synthetic scheme of the enantiomers of chlordene (**4**) and chlordene epoxide (**15**).

($[\alpha]_D -35.8^\circ$) を (+)-**14** から得た (同 85%). さらに, (–)-クロールデンエポキシド [(–)-**15**, $[\alpha]_D -2.5^\circ$] および (+)-**15** ($[\alpha]_D +2.4^\circ$) は, (+)-**4** および (–)-**4** のそれぞれをクロロホルム中 *m*-クロロ過安息香酸酸化によって定量的に得た (Fig. 4)⁸⁾.

2. 光学活性クロールデンおよびクロールデンエポキシドの絶対構造

クロールデン (**4**) およびクロールデンエポキシド (**15**) の光学活性体の絶対構造は出発物質である **14** の両鏡像体を脱塩素, 飽和 3 環性のケトン体に誘導し, CD によって決定した⁸⁾. すなわち, (–)-**14** および (+)-**14** のそれぞれを無水エーテル中過剰の LiAlH_4 で還元し, 続いて接触還元 (H_2 , Pd-C) した. 両生成物を再度 LiAlH_4 還元および接触還元を繰り返すことにより, 塩素原子および二重結合が完全に除去されたテトラヒドロジシクロペンタジエン-1-オールを得, さらにクロム酸酸化して目的とする 3 環性ケトン誘導体 (**16a** および **16b**) を得た.

このようにして得た光学活性 **16a** および **16b** の CD を測定したところ, **16a** は負の分子楕円率 ($[\theta]_{302} -8650$) を, **16b** は正の $[\theta]_{303} +9310$ を与えた. **16a** および **16b** の CD は分子モデルの検討から基本的に 2 環性のシス型ビシクロ [3. 3. 0] オクタノン系に由来すると考えることができ, モデル化合物として文献記載¹⁰⁾ のビシクロ [3. 3. 0] オクタ-1-オンの両鏡像体 (**17a** および **17b**) の CD と比較した. すなわち, **17a**: $[\theta]_{302} -11,520$ および **17b**: $[\theta]_{301} +11,350$ との比較から, **16a** の絶対構造は **17a** に, また **16b** は **17b** に対応させることができ, **16a** および **16b** の絶対構造を上記のように決定することができた. このことからさかのぼって, 1-ハイドロキシクロールデンの両鏡像体の絶対構造を Fig. 4 に示した (–)-**14** および (+)-**14** と結論した. したがって, (–)-**14** および (+)-**14** からラセミ化を伴わない反応によって化学誘導されたクロールデンおよびクロールデンエポキシドの絶対構造は Fig. 4 に示した構造であることを明らかにした.

3. 光学活性クロールデンのチャバネゴキブリによる代謝活性化における立体化学

クロールデン (**4**) およびクロールデンエポキシド (**15**) の両鏡像体間の殺虫活性はチャバネゴキブリを用いて測定した. その結果, 同一の絶対構造を有する (+)-**4** および (–)-**15** には殺虫力があったが, それらの鏡像体にはまったく活性がなかった⁸⁾.

そこで両鏡像体間になぜ殺虫活性の差異が存在するかを解明するため, チャバネゴキブリを用いた代謝実験を行なった¹¹⁾. すなわち, 殺虫力を示した (+)-**4** および (–)-**15** の LD_{50} 値のおよそ 2/3 に相当する薬量 (100 $\mu\text{g/g}$ および 50 $\mu\text{g/g}$) を 1 試料当たり 20 頭のチャバネゴキブリに局所施用した. 施用 24 および 48 時間後に昆虫を溶媒抽出し, カラムクロマトによって精製した後, GC によって代謝産物を分析した. その結果, クロールデン施用昆虫からは代謝産物として, クロールデンエポキシド (**15**), 1-ハイドロキシクロールデン (**14**), 1-ハイドロキシ-2, 3-エポキシクロールデンおよび 1, 2-トランスクロールデンジオールの 4 種類の化合物を検出した (Fig. 5). これら代謝産物のうちクロールデンエポキシドを除く 3 種類の化合物はまったく殺虫活性がないことが報告されていることから, これら 3 種化合物への代謝反応は昆虫体内における解毒反応と結論することができた.

一方, 投与されたクロールデンの両鏡像体間で特徴的に異なる点は (+)-クロールデンエポキシドの生成量であった. すなわち, 殺虫活性を有する (+)-クロールデンを投与されたチャバネゴキブリの生体内で生成したクロールデンエポキシドの量は, 活性のない (–) 体からのエポキシドの生成量の約 7 倍も多かった. 代謝産物としてのクロールデンエポキシドの旋光性は微量なため測定できなかったが, 当然化学反応によって得られるものと同じ (–) 体と考えられる. (+)-クロールデンからチャバネゴキブリ体内で生成したクロールデンエポキシドの量 (24 時間後: 2.27 μg , 48 時間後: 1.13 μg) は, (+)-クロールデンの殺虫活性に相当する投与量の (–)-クロールデンエポキシドを投与したときに, チャバネゴキブリの体内から回収されたエポキシドの量 (24 時間後: 1.76 μg , 48 時間後: 1.31 μg) にほぼ匹敵した. このことから, (+)-クロールデンの示す活性はそれ自体で殺虫活性を示すというよりは, 生体内でエポキシ化されて (–)-クロールデンエポキシドに代謝変換された後に活性を発現する生体内活性化反応の結果と考えることの妥当性が示された.

次に, クロールデンエポキシドを投与した昆虫からは

Fig. 5 Structures of four and three metabolic products obtained from respective (+)-chlordene and (-)-chlordene epoxide.

1-ハイドロキクロールデン (14), 1-ハイドロキシ-2, 3-エポキシクロールデンおよび 1, 2-トランス-クロールデンジオールの 3 種類の化合物が検出された (Fig.5). これらの代謝産物の生成量および投与したクロールデンエポキシドの昆虫体内の残存量は両鏡像体間にほとんど差異がなかった. したがって, クロールデンエポキシドの両鏡像体間の活性の差は代謝とは無関係で, むしろ化合物そのものの絶対構造に起因する活性の差異が要因であると結論できた.

おわりに

本稿ではアキラルな合成殺虫剤でも生体内で代謝を受ける際, また生体内で活性化される際の絶対立体化学について述べてきた. さらにキラルな農薬が殺虫力を発現する際の絶対立体化学の重要性を示した. 本研究は種々

の合成殺虫剤が生物体内で代謝あるいは活性を発現する過程での動的生物有機化学ともいえるべき重要な分野を開拓しつつあり, 生物受容体との接点を含め農薬科学の基礎研究として今後ますます重要となるものと考えられる.

本研究の遂行に当り終始ご懇篤なご指導とご尽力を賜った名古屋大学・丸茂晋吾名誉教授に慎んで感謝を申しあげます. また, 本研究にご協力いただいた大阪府立農林技術センター・中村 隆氏, 瓦谷光男氏に心から感謝いたします. ならびに有益なご助言, ご激励ならびに種々の機器分析をしていただきました山形大学農学部・佐々武史教授, 岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所・服部宏之氏に深謝申しあげます. さらに, 昆虫の代謝試験および殺虫試験にご協力いただいた武田薬品工業

株式会社・坂井道彦博士（現ゼネカ株式会社），名古屋
大学農学部・宮田 正教授に感謝の意を表します。

引用文献

- 1) G. Blaschke, H.P. Kraft & F. Koehler: *Arzneim-Forsch./Drug Res.* **29** (II), 1640 (1979)
- 2) A. Miyazaki, M. Kwaradani, S. Marumo & C. Tomizawa: *J. Pesticide Sci.* **8**, 115 (1983)
- 3) A. Miyazaki: *Kagaku to Seibutsu* **21**, 813 (1983) (in Japanese)
- 4) A. Miyazaki, M. Kwaradani & S. Marumo: *J. Pesticide Sci.* **18**, 131 (1993)
- 5) A. Miyazaki, T. Nakamura & S. Marumo: *J. Pesticide Sci.* **10**, 727 (1985)
- 6) K. Mislow, M. M. Green, P. Laur, J. T. Melillo, T. Simmons & A. L. Ternay, Jr.: *J. Am. Chem. Soc.* **87**, 1958 (1965)
- 7) A. Miyazaki, T. Nakamura & S. Marumo: *Pestic. Biochem. Physiol.* **33**, 11 (1989)
- 8) A. Miyazaki, T. Hotta, S. Marumo & M. Sakai: *J. Agric. Food Chem.* **26**, 975 (1978)
- 9) A. Miyazaki, M. Sakai & S. Marumo: *J. Agric. Food Chem.* **28**, 1310 (1980)
- 10) P. Crabbe: "ORD and CD in Chemistry and Biochemistry," Academic Press, New York, p. 39, 1972
- 11) A. Miyazaki, M. Sakai & S. Marumo: *J. Agric. Food Chem.* **27**, 1403 (1979)