

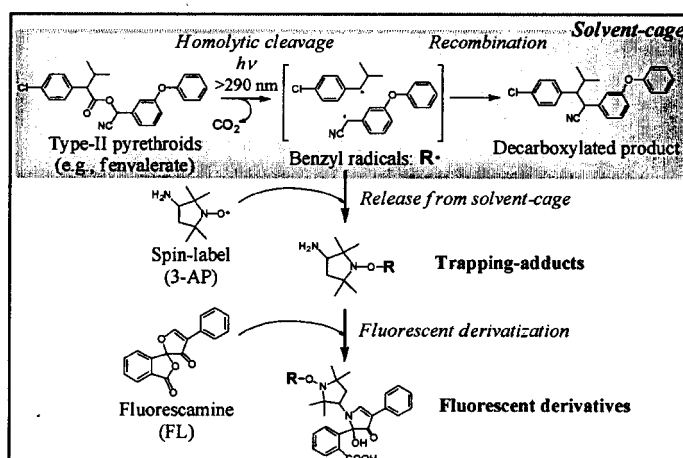
学位論文題名

Spectroscopic Study on Photochemical Reaction
Mechanisms of Synthetic Pyrethroids

(ピレスロイド系農薬の光反応機構に関する分光学的研究)

学位論文内容の要旨

農作物を害虫や雑草から保護し、食糧生産性の向上を目的に使用される農薬は、対象作物の栽培圃場への散布と同時に開放された自然生態系にも分布することから、農薬原体のみならず環境中で生成する代謝分解物を含めた動態評価が、使用農薬の安全性を考える上で重要となる。環境中へ放出された農薬の主要消失要因の一つが太陽光による光分解であることから、太陽光或いはそれに類する人工光照射下での分解挙動に関する研究成果が多く蓄積されてきた。しかし、従来研究の多くは被験農薬の消失速度、微量分解物の構造解析やそれに基づく分解経路の予測に重点が置かれており、農薬の光励起状態や短寿命反応活性種の解析等、詳細な光分解機構に関する知見は少ない。本研究では代表的な殺虫活性成分である合成ピレスロイドの光反応機構に着目し、反応過程に関与する活性種を明確化することで、光分解機構をより精緻に解明することを目的とした。特に、fenvalerate に代表される α -シアノ-3-フェノキシベンジルエステル骨格を有する type-II ピレスロイドの直接光分解過程では、ラジカル開裂を経由する脱炭酸反応が進行することが知られている(図)。光励起後に過渡的に生成する反応活性種を高感度・選択的、且つ簡便に検出できる手法として、ラジカルトラップ法と蛍光誘導化反応を利用した新規なラジカル検出法を確立し、その有用性を検証するとともに、type-II ピレスロイドの時間分解過渡吸収スペクトルを解析することで光脱炭酸反応機構に関わる体系的知見を取得することを目的とした。



本論文は 6 章から構成される。

第 1 章では農薬の光分解性を含む環境中動態研究の意義およびピレスロイドの光分解に関する既存知見をその開発経緯とともに述べ、本研究の特徴であるラジカル捕捉-蛍光検出法の原理、並びにレーザー分光法の農薬への適用について概説した。

第 2 章では、fenvalerate (SMD)の水系での光反応経路の明確化を目的に、その主活性成分である $2S\alpha S$ 体 (esfenvalerate: SMA) の水中光分解挙動をまとめた。SMA を pH 5 緩衝液中に添加し、太陽光に類似のキセノン光を照射した結果、自然光下での換算半減期 7~10 日で速やかに消失し、エステル結合開裂とともに脱炭酸反応が主要に進行することを確認した。脱炭酸生成物 (Dec-fen) はジアステレ

オマー比 1.5~2.1:1 で生成することがわかり、SMA は光励起によるラジカル開裂の後、脱炭酸を経て solvent-cage 内でラジカル対が再結合することを明らかにした。

第3章では、phenothrin (SUM)の土壌表面光分解挙動をまとめた。主活性体である 1*R-trans*-SUM を土壌を用いて作成した薄層上に均一に処理して光照射した結果、暗所コントロール区と比較して SUM の分解は有意に促進され、その消失半減期は約 8.5 日と算出し、主分解経路は菊酸側二重結合部位の酸化、並びにエステル結合の開裂であり、最終的に CO₂ まで無機化されたことから、SUM は環境中で長期に残留することなく速やかに消失することが示された。また、土壌中に分布する有機物の光増感作用により発生した一重項酸素 (¹O₂) が SUM の光分解機構に関与することを明らかにした。

第4章では、2章で論じた SMD の光脱炭酸反応を利用したラジカル捕捉ー蛍光検出法の構築についてまとめた。即ち、前頁スキームに示す通り、光励起後の結合開裂により生成した 2 種のベンジルラジカルをスピラベル (3-amino-2,2,5,5-tetramethyl-1-pyrrolidinyloxy free radical: 3-AP) で捕捉後、1 級アミンの選択的蛍光誘導試薬 (fluorescamine) と反応させ LC-蛍光検出器で検出・定量可能な蛍光誘導体へ変換し、さらに LC-MS でその構造を同定することに成功した。生成した α-シアノフェノキシベンジルラジカルは酸素存在下でも 3-AP に捕捉され、その捕捉効率は溶媒粘性が低下するほど上昇することを示した。また、いずれのラジカル捕捉体も蛍光誘導化反応はほぼ定量的に進行し、その検出限界は蛍光誘導体量として 0.02~0.03 nmol であった。以上の結果、SMD の光脱炭酸反応過程で生成するベンジルラジカルを高感度・選択的、且つ簡便に検出・定量できるラジカル捕捉ー蛍光法を確立でき、本手法によりベンジル位炭素ー酸素結合開裂の進行を明らかとした。

第5章では、前章で確立したラジカル捕捉ー蛍光検出法を 3 種の type-II ピレスロイド (fenpropathrin: DTL, cyphenothrin: GKL, cypermethrin: AGT) へ適用した結果をまとめた。3-AP を含む各ピレスロイド溶液を光照射した結果、いずれもベンジル位炭素ー酸素結合開裂の進行に伴う α-シアノフェノキシベンジルラジカル由来の蛍光誘導体が認められ、その生成量は LC-蛍光定量分析から SMD >> DTL > GKL > AGT であった。次に、3-AP の ESR 信号強度を光照射下で経時的に測定した結果、ラジカル捕捉による 3-AP の消費率は SMD > AGT > DTL > GKL であり、AGT 以外では蛍光強度と良い一致が示された。また、各ピレスロイドの時間分解過渡吸収スペクトルを測定した結果、α-シアノフェノキシベンジルラジカルに由来する吸収帯が観測され、脱気条件下でいずれも時定数 4~10 マイクロ秒で減衰することが確認された。酸素存在下でのスペクトル挙動と比較した結果、この減衰は脱炭酸反応過程におけるラジカル再結合によるものと結論づけ、いずれのピレスロイドも再結合反応速度がほぼ等しいことが明らかとなった。Type-II ピレスロイドの分光学的知見から、光脱炭酸反応収率は生成するラジカル量、即ちラジカル捕捉ー蛍光検出法で得られた蛍光強度を指標に定量することが可能であり、構築したラジカル捕捉ー蛍光法の有用性を示すとともに、ピレスロイドの光反応機構を体系的に考察する知見が得られた。

第6章は総括であり、本研究で得られた知見をまとめ、今後の展望を記した。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	谷 野 圭 持
副 査	教 授	喜多村 昇
副 査	教 授	長谷川 靖 哉
副 査	教 授	及 川 英 秋
副 査	准教授	坪 井 泰 之

学 位 論 文 題 名

Spectroscopic Study on Photochemical Reaction Mechanisms of Synthetic Pyrethroids

(ピレスロイド系農薬の光反応機構に関する分光学的研究)

農作物を害虫や雑草から保護し、食糧生産性の向上を目的に使用される農薬は、対象作物の栽培圃場への散布と同時に開放された自然生態系にも分布することから、農薬原体のみならず環境中で生成する代謝分解物を含めた動態評価が、使用農薬の安全性を考える上で重要となる。環境中へ放出された農薬の主要消失要因の一つが太陽光による光分解であることから、太陽光或いはそれに類する人工光照射下での分解挙動に関する研究成果が多く蓄積されてきた。しかし、従来研究の多くは被験農薬の消失速度、微量分解物の構造解析やそれに基づく分解経路の予測に重点が置かれており、農薬の光励起状態や短寿命反応活性種の解析等、詳細な光分解機構に関する知見は少ない。本研究では代表的な殺虫活性成分である合成ピレスロイドの光反応機構に着目し、反応過程に関与する活性種を明確化することで、光分解機構をより精緻に解明することを目的とした。特に、fenvalerate に代表される α -シアノ-3-フェノキシベンジルエステル骨格を有する type-II ピレスロイドの直接光分解過程では、ラジカル開裂を経由する脱炭酸反応が進行することが知られている。本論文では、光励起後に過渡的に生成する反応活性種を高感度・選択的、且つ簡便に検出できる手法として、ラジカルトラップ法と蛍光誘導化反応を利用した新規なラジカル検出法を確立し、その有用性を検証するとともに、type-II ピレスロイドの時間分解過渡吸収スペクトルを解析することで光脱炭酸反応機構に関わる体系的知見を取得することを目的とした。

第 1 章では農薬の光分解性を含む環境中動態研究の意義およびピレスロイドの光分解に関する既存知見をその開発経緯とともに述べ、本研究の特徴であるラジカル捕捉-蛍光検出法の原理、並びにレーザー分光法の農薬への適用について概説している。

第 2 章では、fenvalerate (SMD) の水系での光反応経路の明確化することを目的とし、その主活性成分である 2S α S 体 (esfenvalerate: SMA) の水中光分解挙動をまとめている。SMA を pH 5 緩衝液中に添加し、太陽光に類似のキセノン光を照射した結果、自然光下での換算半減期 7~10 日で速やかに消失し、エステル結合開裂とともに脱炭酸反応が主に進行することを確認している。また、脱炭酸生成物 (Dec-fen) はジアステレオマー比 1.5~2.1:1 で生成することを明らかにした。

第 3 章では、phenothrin (SUM) の土壌表面光分解挙動をまとめている。主活性体である 1R-trans-SUM を、土壌を用いて作成した薄層上に均一に処理して光照射した結果、暗所コントロールと比較して SUM の分解は有意に促進され、その消失半減期は約 8.5 日であることを示した。主分解経路は菊酸側二重結合部位の酸化、並びにエステル結合の開裂であり、最終的に CO₂ まで無機化される。これらのことから、SUM は環境中で長期に残留することなく速やかに消失することを示した。また、土壌中に分布する有機物の光増感作用により発生した一重項酸素 (1O₂) が SUM の光分解機構に関与することを明らかにしている。

第 4 章では、2 章で論じた SMD の光脱炭酸反応を利用したラジカル捕捉-蛍光検出法の構築についてまとめている。即ち、光励起後の結合開裂により生成する 2 種のベンジルラジカルをスピンラベ

ル (3-amino-2,2,5,5-tetramethyl-1- pyrrolidinyloxy free radical: 3-AP) で捕捉後、1 級アミンの選択的蛍光誘導試薬 (fluorescamine) と反応させ LC-蛍光検出器で検出・定量可能な蛍光誘導体へ変換し、さらに LC-MS でその構造を同定することに成功している。生成した α -シアノフェノキシベンジルラジカルは酸素存在下でも 3-AP に捕捉され、その捕捉効率は溶媒粘性が低下するほど上昇することを示した。また、いずれのラジカル捕捉体も蛍光誘導化反応はほぼ定量的に進行し、その検出限界は蛍光誘導体量として 0.02~0.03 nmol であった。以上の結果、SMD の光脱炭酸反応過程で生成するベンジルラジカルを高感度・選択的、且つ簡便に検出・定量できるラジカル捕捉-蛍光法を確立し、本手法によりベンジル位炭素-酸素結合開裂反応が進行することを明らかにしている。

第 5 章では、前章で確立したラジカル捕捉-蛍光検出法を 3 種の type-II ビレスロイド (fenpropathrin: DTL, cyphenothrin: GKL, cypermethrin: AGT) へ適用した結果をまとめている。3-AP を含む各ビレスロイド溶液を光照射した結果、いずれもベンジル位炭素-酸素結合開裂の進行に伴う α -シアノフェノキシベンジルラジカル由来の蛍光誘導体が認められ、その生成量は LC-蛍光定量分析から SMD $\gg$ DTL $>$ GKL $>$ AGT であった。次に、3-AP の ESR 信号強度を光照射下で経時的に測定した結果、ラジカル捕捉による 3-AP の消費率は SMD $>$ AGT $>$ DTL $>$ GKL であり、AGT 以外では蛍光強度と良い一致を示した。また、各ビレスロイドの時間分解過渡吸収スペクトルを測定した結果、 α -シアノフェノキシベンジルラジカルに由来する吸収帯が観測され、脱気条件下でいずれも時定数 4~10 マイクロ秒で減衰することを確認している。酸素存在下でのスペクトル挙動と比較した結果、この減衰は脱炭酸反応過程におけるラジカル再結合によるものと結論づけ、いずれのビレスロイドも再結合反応速度がほぼ等しいことが明らかにした。Type-II ビレスロイドの分光学的知見から、光脱炭酸反応収率は生成するラジカル量、即ちラジカル捕捉-蛍光検出法で得られた蛍光強度を指標に定量することが可能であり、構築したラジカル捕捉-蛍光法の有用性を示すとともに、ビレスロイドの光反応機構を体系的に考察することに成功している。

第 6 章は総括であり、本研究で得られた知見をまとめ、今後の展望を記している。

以上を要約するに、本論文ではビレスロイド系農薬の光分解反応の解析法を確立するとともに、その動力学的情報を含めて反応機構を解明した。このような研究はビレスロイド系農薬の光反応のみならず、ラジカル中間体を含む化学反応一般の解明に対しても重要な知見を含んでおり、申請者は博士(理学)の学位を授与されるに資格あるものと認める。