



Title	光学活性ピレスロイドの炭素-14標識化に関する研究
Author(s)	金丸, 博
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/2055
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

光学活性ピレスロイドの炭素-14
標識化に関する研究

1986

金 丸 博

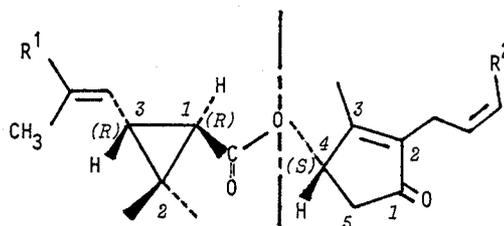
目 次

	〔頁〕
緒 言	1
第 1 部 ビレスロイドの ¹⁴ C 標識化と光学活性体の調製に 関する研究	8
第 1 章 酸成分の ¹⁴ C 標識化	8
第 1 節 3 位置換 2, 2 - ジメチルシクロプロパンカルボン酸類	9
1 - 1 菊酸	11
1 - 2 ジハロビニル菊酸	34
1 - 3 2, 2, 3, 3 - テトラメチルシクロプロパン カルボン酸	45
第 2 節 2 - (4 - クロロフェニル) - 3 - メチル酪酸	48
第 1 部第 1 章に関する実験	61
“ 引用文献	93
第 2 章 アルコール成分の ¹⁴ C 標識化	98
第 1 節 レスロロン類	100
1 - 1 アレスロロン	102
1 - 2 プロパルギルロン	105
第 2 節 3 - フェノキシベンジルアルコール及び α - シアノ - 3 - フェノキシベンジルアルコール	113
第 3 節 N - ヒドロキシメチル - 3, 4, 5, 6 - テトラヒドロフタルイミド	118
第 1 部第 2 章に関する実験	121
“ 引用文献	137

第 3 章	光学活性 [^{14}C] ピレスロイドエステルの合成	140
第 1 部第 3 章に関する実験		148
"	引用文献	189
第 1 部に関するまとめ		190
"	引用文献	193
第 2 部	ガスクロマトグラフ-マススペクトロメータ-コンピュータ システム (GC-MS-CPU) による ^{14}C 標識化合物の比 放射能測定法の開発に関する研究	194
第 1 章	基礎研究	194
第 1 節	測定原理	196
第 2 節	測定精度の改善と自動化	203
第 3 節	再現性と測定限界	210
第 4 節	汎用性	215
第 5 節	他の放射性核種の標識化合物への適用	220
第 2 部第 1 章に関する実験		224
"	引用文献	226
第 2 章	^{14}C 標識化合物の品質評価への利用	228
第 2 部第 2 章に関する実験		237
"	引用文献	242
第 2 部に関するまとめ		243
結 言		245
謝 辞		246

緒 言

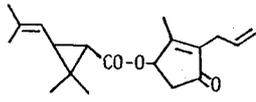
1840年、除虫菊 (pyrethrum flower) に含まれる天然ピレトリン (natural pyrethrins, Fig. 1) に殺虫活性のあることが発見されて以来、ピレトリンは 蠅、蚊等の屋内害虫の駆除に広く使用されてきた。その一方で、より高い選択的殺虫活性や屋外での適当な安定性を有するものを求めて、構造変換や類縁体の合成に関する膨大な研究が行われ、その過程で、数多くの安全で有用な合成ピレスロイド系殺虫剤 (synthetic pyrethroidal insecticides) が開発された。有効なピレスロイドの大多数は、カルボン酸成分とアルコール成分から成るエステルであるが、その構造上の特徴とそれに由来する特性に基づき、二世代に大別されている (Fig. 2)。第一の世代に属するものは、酸成分は天然の菊酸 (chrysanthemic acid) に固定され、アルコール成分が様々に変換された。用いられた



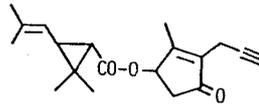
	<u>Acid moiety</u>	<u>Alcohol moiety</u>	<u>Common name</u>
PYRETHRINS I	R ¹ : CH ₃ - (Chrysanthemic acid)	R ² : -CH=CH ₂	Pyrethrin-I
	-----	: -CH ₂ -CH ₃	Jasmolin-I
	-----	: -CH ₃	Cinerin-I
PYRETHRINS II	R ¹ : H ₃ COOC- (Pyrethric acid)	R ² : -CH=CH ₂	Pyrethrin-II
	-----	: -CH ₂ CH ₃	Jasmolin-II
	-----	: -CH ₃	Cinerin-II

Fig. 1 Structures of natural pyrethrin constituents

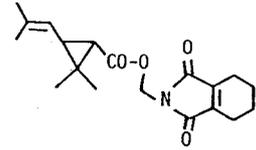
First generation



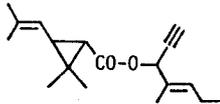
Allethrin



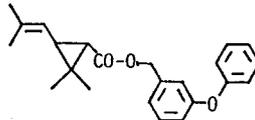
Prallethrin



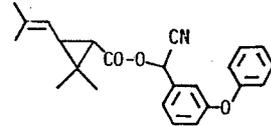
Tetramethrin
(Phthalthrin)



Emperthrin

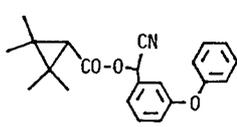


Phenothrin

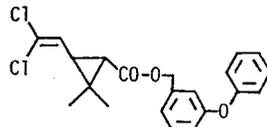


Cyphenothrin

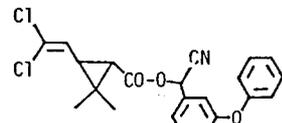
Second generation



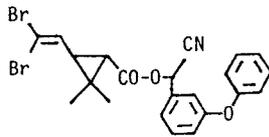
Fenpropathrin



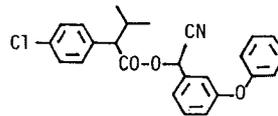
Permethrin



Cypermethrin



Deltamethrin
(Decamethrin)



Fenvalerate

Fig. 2 Synthetic pyrethroidal insecticides

アルコール成分の中で、特に有効であったのは、天然のピレスロロン (pyrethrolone) の2位置換基(ペンター2,4-ジエニル基)をより単純なアリール基やプロパルギル基に変更したレスロロン類 (rethrolones)、フルフリルアルコール

類、N-ヒドロキシメチルテトラヒドロフタルイミド類、ベンジルアルコール類等であった。第一世代の特徴は、酸成分中にジメチルビニル基、アルコール成分中にアリール基、プロパルギル基、フラン環等、光に対して不安定な部分を有することであり、そのために分解しやすく、用途は主に家庭防疫用に限定された。

一方、第二世代のピレスロイドでは酸成分として、菊酸の3位置換基を、ジメチルビニル基からジクロロビニル、ジブromoビニル或いはジアルキル基に改変し、光安定性を高めた2, 2-ジメチルシクロプロパンカルボン酸類、更には芳香環を有する2-フェニルアルカン酸類が用いられた。また、アルコール成分としては、殺虫活性発現に大きな寄与のあることが明らかにされた α -シアノ-3-フェノキシベンジルアルコールが大多数のものに使用された。その結果、第一世代のものに比較して、屋外での安定性(残効性)が格段に改善され、農業用殺虫剤として世界的に広く使用されるに至っている。

ところで、新規な化学物質を実用に供する場合には、その安全性評価(safety assessment)が不可欠であるが、特に医、農業等は人体に直接影響を及ぼすものであるため、これらに関する安全性評価は、極めて厳密でなければならない。農業或いは家庭防疫薬に属する合成ピレスロイド殺虫剤もこの例外ではなく、その安全性評価は厳密を極めなければならないが、そのためには種々の毒性試験と共に、生体内運命や環境条件下における残留、変換等を明らかにするためのトレーサー研究が必要である。種々の哺乳動物、魚貝類、植物、土壌等における代謝研究(metabolic studies)は、安全性評価、特に毒性発現(toxicological manifestation)や解毒(detoxification)の機構解明に非常に有用である。その様な代謝研究では、微量薬物の動態を定量的に把握する必要があることから、 ^{14}C 標識化合物が汎用されているが、これは以下の理由に依る。

(i) ^{14}C 標識体は、殆どの場合、通常の化合物(非標識体)と生体内、環境中で同一挙動をとる。

(ii) ^{14}C の半減期(5730年)が極めて長いため、通常の実験期間において

はその放射能の減衰を考慮する必要がなく、化合物の形態がどの様に變化しても、放射能から正確な物質収支を知ることができる。

- (iii) ^{14}C の放射線(軟 β 線、0.049 ~ 0.156 MeV)は極めて微弱であり、通常の使用量では、生物に対して全く無害である。
- (iv) ^{14}C の微弱な放射能(放射線)を高感度で測定できる液体シンチレーションカウンター(liquid scintillation counter)等の機器が普及した。

ところで、代謝研究用の ^{14}C 標識化合物の合成は、一般に、長く煩雑な合成ルートが必要とする点で天然物の全合成に類似しているが、以下の点で通常の全合成とは趣を異にしている。

- (i) 出発物質が、 K^{14}CN 、 $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ 等の無機物、及び低分子有機物に限定される。
- (ii) 放射性物質であるために、被曝並びに環境汚染の防止という観点から、取り扱い量及び取り扱い方法に関する厳しい制約を受ける。特に、高揮発性物質等を扱う場合には、特殊な手法を必要とする。また、多くの場合、極めて小さいスケールでの合成を行わねばならない。
- (iii) 放射化学的収率(radiochemical yield)が大切であり、出来る限り定量的な反応収率、回収率を実現することが望ましい。従って ^{14}C 標識原料が無機物、或いは単純な低分子化合物であって、反応試剤が大分子量の複雑な有機化合物であるような場合でも、収率の基準は ^{14}C 標識原料にあり、通念的には貴重な反応試剤であっても大過剰使用することがある。
- (iv) 微量薬物の精密な挙動を定量的に把握する目的で使用されるため、化学的並びに放射化学的純度が98%以上のものが必要とされる場合が多い。
- (v) 標識位置に関して、代謝反応と合成法の両面から考察しなければなら

ない。代謝されて脱離する部位を標識化するのは、明らかに不適當であり、一方、代謝的には適切であっても、その調製が極めて困難な標識化合物も非現実的である。

上述の特殊事情に加えて、 ^{14}C 標識ピレスロイドの合成には以下の如き特異性があり、その有機合成的難度を高めている。

(i) 標識位置の多様性

所期のピレスロイドを構成する総ての部分の生体内運命や種々の環境下における残留、変換様式を明らかにする必要から、ピレスロイド分子の様々な部位を独立に ^{14}C 標識化したものが要求される。すなわち、一薬物について、数種の ^{14}C 標識体を合成しなければならない場合が殆どである。

(ii) 高比放射能標識体の要求

比放射能 (specific activity, SA) は、放射性同位元素 (radioisotope, RI) で標識された化合物の一定量当たりの放射能を示し、 ^{14}C 標識化合物では、一般に mCi/mmol , mCi/g 等の単位が使用され、放射能測定値を物質質量に変換するのに用いられる。特にピレスロイドの土壌-微生物-植物系、水-水中生物系における挙動解明のためのトレーサー研究においては、対象薬物の濃度や量は極めて小さく、研究精度を高めるためには、哺乳動物における代謝研究等よりも遙かに高い比放射能を有する ^{14}C 標識体が必要とされる。

(iii) 光学活性体の需要

ピレスロイドは、殆どの場合、その酸及びアルコール成分中に数個の不斉炭素が存在し、多くの光学異性体を有するが、光学異性体相互では殺虫活性や薬理作用が異なる場合が多い。そして、実用に供されるピレスロイド殺虫剤の大多数は数種の光学異性体の混合物であって、最近では、それらの安全性評価を厳密に行うために、含有される総ての異性体

について、個々の生体内運命や環境条件下での挙動（異性化を含む）を明らかにすることが要求される様になってきた。その様な目的で行われるトレーサー研究には、十分に高い光学純度（立体異性体純度）を有する光学活性¹⁴C標識体を使用しなければならない。

本論文第1部では、最近実用に供された、または、近い将来実用に供される予定の多くの合成ピレスロイド殺虫剤について、厳密な安全性評価を行うための数々のトレーサー研究に供することを目的として行った種々の光学活性ピレスロイドの¹⁴C標識化に関する研究について述べる。本研究の主要課題は、前述の特殊事情に基づき、下記の3項目に集約された。

(1) 多様な位置の¹⁴C標識法の確立

(2) 高比放射能¹⁴C標識体の微小スケールでの安全で効率的な合成法の確立

(3) (総ての) 光学異性体の微小スケールでの効率的な調製法の確立

本研究において所期の目的が達成されたことにより、種々のピレスロイドについて、生体内或いは環境条件下における光学異性体間の挙動の差異を解明する比較代謝研究 (comparative metabolic studies) が可能となり、その結果、ピレスロイドの薬理作用や毒性発現、解毒等の機構が明らかにされた。

また、第2部では、ピレスロイドの¹⁴C標識化研究の一環として行ったガスクロマトグラフ-マススペクトロメータ-コンピュータシステム (GC-MS-CPU) による¹⁴C標識化合物の新規な比放射能測定法の開発に関する研究について言及する。ピレスロイドのトレーサー研究においては、投与される¹⁴C標識化合物及びその代謝体の比放射能値の大きさ並びにその測定精度は、トレーサー研究の精度や信頼性を左右する重要な因子である。¹⁴C標識化合物の比放射能は、一般に、重量と放射能を測定して算出されるが、測定したい試料が微量、高揮発性、低純度、混合物、溶液等である場合には、この方法では正確な比放射能を求めることは出来ない。また、化学的消光現象 (chemical quenching) の顕著な試料

では、汎用の液体シンチレーションカウンターでの放射能測定は極めて不正確なものとなる。GC-MS-CPU法に依れば、このような常法では正確な比放射能測定が行えない¹⁴C標識試料についても、実用的な感度及び精度で簡便に比放射能測定を行うことが可能であった。更に、この比放射能測定法は¹⁴C標識化合物の純度や構造、標識様式等を明らかにする品質評価法としても利用可能で、本法を用いることにより、ピレスロイドの¹⁴C標識化において生じた或る深刻な問題が解決出来た。

第1部 ピレスロイドの¹⁴C標識化と

光学活性体の調製に関する研究

第1章 酸成分の¹⁴C標識化

合成ピレスロイドの酸成分は、構造上の特徴に基づき、3位置換2,2-ジメチルシクロプロパンカルボン酸類と2-フェニルアルカン酸類に大別される。前者のグループには菊酸とその改変酸が含まれるが、中でも菊酸の3位側鎖（ジメチルビニル基）がジハロビニル基やジアルキル基に置換されたものは、適当な光安定性を獲得した。そして、菊酸がその分解しやすさを活かされて主に家庭防疫用ピレスロイド（第一世代）の酸成分として使用されているのと対照的に、これらの改変酸は主として農業用ピレスロイド（第二世代）に広く用いられている。一方、近年見出された2-フェニルアルカン酸類、特に2-(4-クロロフェニル)-3-メチル酪酸は、従来の酸成分とは全く異なる様相であるにもかかわらず、ピレスロイドの酸成分として理想的な性質を備えており、第二世代ピレスロイドを代表するフェンバレートの構成成分となっている。

ところで、これらピレスロイドの酸成分に関するトレーサー研究には、これまで菊酸のカルボキシル¹⁾、環1位²⁾、3位側鎖のジメチル³⁾等の炭素、ジクロロビニル菊酸のジクロロメチレン炭素^{4), 5)}、2,2,3,3-テトラメチルシクロプロパンカルボン酸のカルボキシル炭素⁶⁾等の¹⁴C標識体が使用されていたが、何れも比放射能が低く、特に環境条件下における高精度のトレーサー実験には不十分なものであった。また、菊酸とそのジハロビニル類縁体は、環1位及び3位に不斉中心が存在し、合計4種の光学異性体（立体異性体）を有するが、過去のトレーサー研究においては、殆どの場合、全異性体混合物、ラセミ体、または主たる有効成分の標識体を使用されており、前述の近年のニーズに対応した例、すなわち総ての光学異性体について十分に高い比放射能と光学純度を有する種々

の ^{14}C 標識体を調製して、各々の挙動を精密に解明、比較した例は殆ど無かった。そこで、これら3位置換2,2-ジメチルシクロプロパンカルボン酸類のカルボキシル及び環1位の高比放射能 ^{14}C 標識体の合成法とそれらの4種光学異性体の小スケールでの効率的な調製法の開発を行なった。また、菊酸のビニル炭素について、望みの光学活性 ^{14}C 標識体のみが得られる立体選択的標識法を確立した。一方、2-(4-クロロフェニル)-3-メチル酪酸に関しては、 ^{14}C 標識体合成法とその光学活性体調製法を新規に確立した。すなわち、この酸成分について、カルボキシル及びフェニル炭素 ^{14}C 標識体の合成法と有効成分(+)-(2S)体の取得法、並びにピレスロイドエステル(フェンバレレート)での直接分割法を開発した。

第1節 3位置換2,2-ジメチルシクロプロパンカルボン酸類

3位置換2,2-ジメチルシクロプロパンカルボン酸類の ^{14}C の標識化戦略を逆合成的観点から考察した(Fig. 3)。

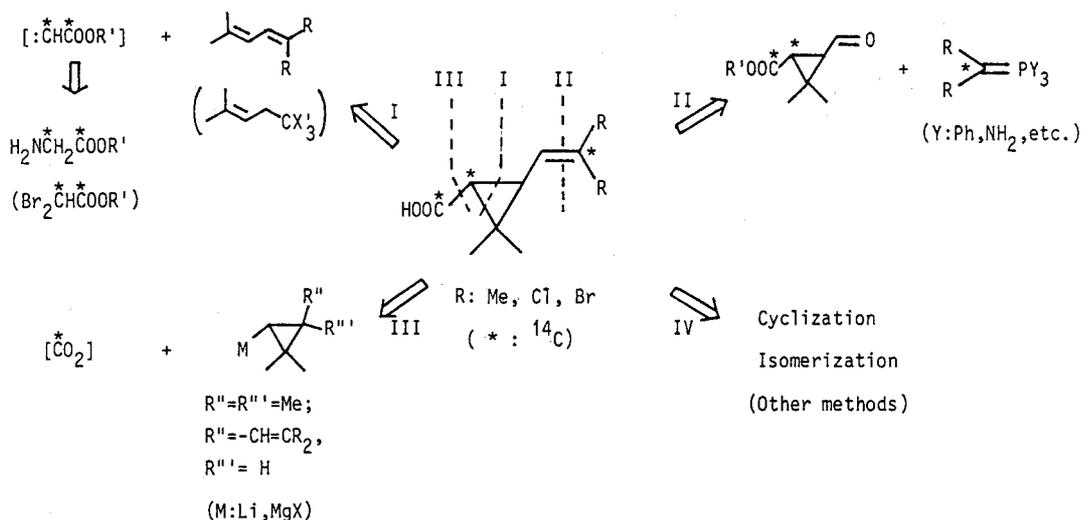


Fig. 3 Retrosynthetic analysis of 3-substituted 2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acids for ^{14}C -labelling

方法Ⅰは、カルベン付加反応を利用した一般的なシクロプロパンカルボン酸類の合成法に基づいたものであり、カルベンの前駆体として〔 ^{14}C 〕グリシンエステル（又はジハロ〔 ^{14}C 〕酢酸エステル）を用いることによりカルボキシル及び環1位炭素の ^{14}C 標識化が可能である。過去の〔 ^{14}C 〕菊酸の合成^{11), 12)}は、殆どこの方法に依っているが、小スケールでの高比放射能体合成に適用するには〔 ^{14}C 〕グリシンの調製法を初めとして種々の改良が必要と考えられた。方法Ⅱは、Wittig 反応により3位ビニル側鎖を形成するものであるが、立体選択的ビニル炭素 ^{14}C 標識法として、或いは3位側鎖のジメチルメチレン部分以外を ^{14}C 標識した菊酸のジハロビニル体への効率的な変換法として採用できると考えられた。方法Ⅲは、放射化学的に1工程でカルボキシル ^{14}C 標識化が達成できる簡便な方法である。しかしながら、3位側鎖（ R'' ）に不飽和結合等の官能基が存在する場合には、標識化の母体となる有機金属化合物の調製は容易ではないと予想された。その他の方法（Ⅳ）として、環化反応や異性化反応を利用した方法^{11), 12)}も考察したが、 ^{14}C 標識法として実用的なものは見出せなかった。

一方、光学活性体の調製法についても考察した。カルボン酸の光学分割法としては、光学活性アミンの塩にしてジアステレオマー化し、これを分別晶析する方法^{13), 14)}が一般的であるが、最近では光学アミン等を使用しない優先晶析法^{15), 16)}も開発されている。しかしながら、高比放射能標識体の場合、種々の制約により微小スケールでの分割を余儀無くされるため、いずれの晶析法によって高い光学純度のものを好収率で得ることは困難である。更に、近年のニーズである全光学異性体の調製を晶析法で達成しようとするれば、各異性体毎に晶析操作を繰り返さねばならず、極めて繁雑となる。そこで、 ^{14}C 標識化した種々の酸成分の光学分割には、H P C L分取法、中でも光学活性カラムを用いた分離法及びジアステレオマーエステル化による分割法を積極的に導入した。

1-1 菊酸

菊酸は天然由来のものであり、現在も、合成ピレスロイド殺虫剤の成分として汎用されている。本項では、光学活性菊酸のカルボキシル、シクロプロピル1位、及びビニル炭素の ^{14}C 標識化について述べる。

(A) カルボキシル炭素の ^{14}C 標識化⁷⁾

(1R)-*cis*-及び(1R)-*trans*-[carboxyl- ^{14}C]chrysanthemic acid (10及び11)の合成ルートを Fig. 4 に示した。菊酸のカルボキシル ^{14}C 標識化は、ジアゾ酢酸エステルから発生させた ^{14}C 標識カルベン中間体のオレフィンへの付加反応を利用する方法 (Fig. 3, 方法 I) により達成した。

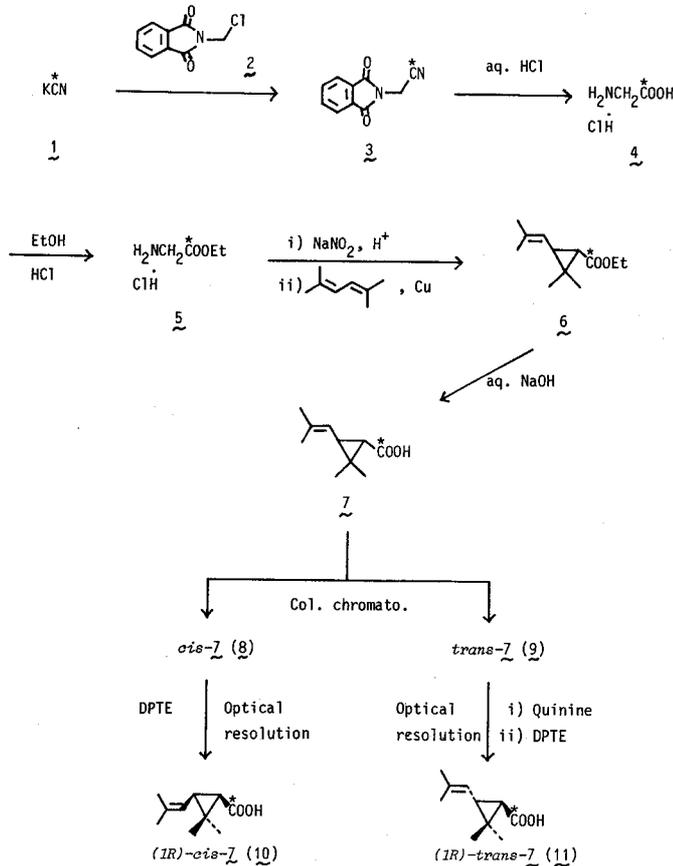


Fig. 4 Syntheses of $(1R)$ -*cis*- and $(1R)$ -*trans*-[carboxyl- ^{14}C]chrysanthemic acids

シクロプロパンカルボン酸類のカルボキシル¹⁴C標識化を、その一般的合成法、すなわち、カルベン中間体のオレフィン類への付加法を用いて達成しようとするれば、カルベンの前駆体として〔1-¹⁴C〕glycinate (12)¹⁵⁾ 或いは dihalo〔1-¹⁴C〕acetate (13)¹⁶⁾ を調製しなければならない (Fig. 5)。

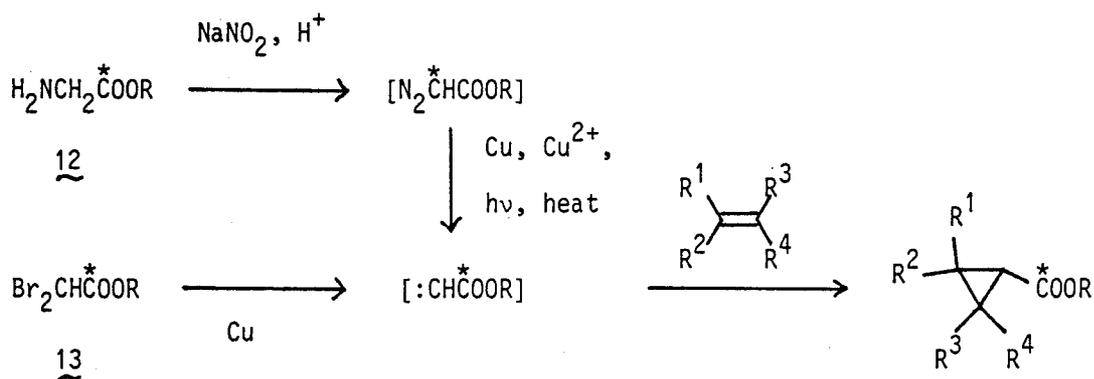


Fig. 5 Methods for the preparation of carbonyl-labelled cyclopropanecarboxylates by carbene addition

12は、Sakami等の方法¹⁷⁾に従い、potassium〔¹⁴C〕cyanideからフルイミド体を経て容易に合成出来ると考えられ、一方、13は、例えば Parr-ot等¹⁸⁾、或いは Honkanen等の方法¹⁹⁾により、barium〔¹⁴C〕carbonateから〔1-¹⁴C〕acetic acid等を経由して合成出来るが、各ルートでの放射化学的収率、及び高揮発性の放射性中間物を取り扱うか否かを考慮し、glycinateのカルボニル標識体(12)を調製することに決定した。すなわち、基本的にはSakami等の方法¹⁷⁾に従い、重要中間物 ethyl〔1-¹⁴C〕-glycinate hydrochloride (5)を以下の様にして合成した。

N-chloromethylphthalimide (2)を、dioxane-methanol中、室温にてpotassium〔¹⁴C〕cyanide (1)でシアノ化し、粗生成物をカラムクロ

マト精製することにより、1基準の放射化学的収率 79% で N - [¹⁴C] - cyanomethylphthalimide (3) を得た。4 は、Bond 等の方法²⁰⁾ に従い、ethanol-dry HCl にてエステル化し (70~80℃)、得られた粗結晶を再沈殿 (ethanol/ether) 及び再結晶 (ethanol) により精製して、収率 96% で、放射化学的並びに化学的純度 99% 以上の ethyl [1 - ¹⁴C] glycinate hydrochloride (5) を得た。1からの通算収率は 63% であった。

d, l - cis, trans - [carbonyl - ¹⁴C] chrysanthemic acid (7) のカルベン付加法による調製は、Nisizawa and Casida の方法¹⁾ に準じた。すなわち、5 を 2, 5 - dimethyl - 2, 4 - hexadiene - 水中、15℃ にて、亜硝酸ナトリウム - 10% 硫酸でジアゾ化し、生成した ethyl diazo [1 - ¹⁴C] - acetate をジエンで抽出、銅触媒の存在下、140℃ にてジエンとのカルベン付加反応を行い、粗生成物をカラムクロマト精製して、放射化学的収率 81% で、cis/trans = 34/66 の立体異性体比を有する ethyl [carbonyl - ¹⁴C] - chrysanthemate (6) を得た。6 は NaOH/aq. ethanol 中にて、還流条件下に加水分解し、定量的に [carboxyl - ¹⁴C] chrysanthemic acid (7) とした。7 の通算収率は 5 より 80%、1 より 50% であった。

次に 7 の立体異性体分離であるが、接種優先晶析²¹⁾、或いは cis 体のみのラクトン化²²⁾ による方法は、小スケールのために低収率となることが予想された。そこで、まず、カラムクロマトにより cis/trans 分離することとし、分離条件を TLC 分析にて検索した (Table 1)。

Table 1 Separation of the geometrical isomers of chrysanthemic acid on silica gel TLC^{*1)}

Entry No.	Solvent systems (v / v)	R _f values ^{*2)}		ΔR _f	Δ(ΔR _f)
		<i>cis</i>	<i>trans</i>		
1	C ₆ H ₆	0.07 (T)	0.04 (T)	0.03	(0.43)
2	Et ₂ O	0.73	0.67	0.06	0.08
3	n-C ₆ H ₁₄ /Et ₂ O (1/1)	0.32 (T)	0.22 (T)	0.10	0.31
4	CHCl ₃	0.13 (T)	0.10 (T)	0.03	0.23
5	CHCl ₃ /MeOH (10/1)	0.50	0.43 (T)	0.07	0.14
6	n-C ₆ H ₁₄ /AcOEt (3/1)	0.32 (T)	0.22 (T)	0.10	0.31
7	AcOPr ⁱ /MeOH (3/1)	0.61	0.56	0.05	0.08
8	10% aq. NH ₃ -sat. AcOEt/ MeOH (3/1)	0.22	0.18	0.04	0.18
9	10% aq. NH ₃ -sat. AcOPr ⁱ / MeOH (2/1)	0.31	0.25	0.06	0.19
10	10% aq. NH ₃ -sat. AcOPr ⁱ / MeOH (3/1)	0.24	0.17	0.07	0.29

*1) Merck Silica Gel 60 F₂₅₄ (thickness 0.25 mm).

*2) T: tailing.

*3) R_f(*cis*) - R_f(*trans*).

*4) ΔR_f/R_f(*cis*).

その結果、分離度 Δ(ΔR_f) の大きさとテーリング傾向の少なさの点において、10% アンモニア水飽和酢酸イソプロピル/メタノール(3/1 v/v) が、TLC 所見上は最良であることが判明した。しかしながら、カラムクロマトグラフィにはやや高極性過ぎて不適當であったので、最初は低極性溶剤にて溶出を開始し、適当な時点で本溶剤による溶出を行った。すなわち、10% アンモニア水飽和酢酸イソプロピルにて作製したシリカゲルカラムの上端に、*cis, trans* - [carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (7)

を同溶媒にてアプライし、まず 10% アンモニア水飽和酢酸イソプロピル/ベンゼン (10/1 V/V) で溶出した。cis 体溶出のピークを過ぎた時点で、溶剤を 10% アンモニア水飽和酢酸イソプロピル/メタノール (10/3 v/v) に変更し、溶出を続けた。cis 体或いは trans 体のみを含むフラクションを集め、濃縮後、塩酸にてフリー化することにより、純度 99% 以上の d, l-cis- 或いは d, l-trans- [carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (8 或いは 9) を得た。7 からの放射化学的収率は、各々 30 及び 57% であった。

cis 体 8 の光学分割は、Matsui 等の方法²³⁾ に準じることとし、予備検討を行った (Table 2)。すなわち、8 を d-1-phenyl-2-p-tolyl-ethylamine (D P T E) の塩とし、acetone より再結晶した (還流下溶解→室温まで放冷)。得られた酸の光学純度は、d-2-octanol のエステルに誘導し、キャピラリー-GC (Silicone DC QF-1 W. C. O. T) にて分析する Murano 法²⁵⁾ に従って決定した。

Table 2 Optical resolution of *cis*-chrysanthemic acid by fractional recrystallization of the DPTE salt

Repeating No.	DPTE salt [g]	Me ₂ CO [ml]	Cooling time [hr]	Yield [%]		Isomeric ratio of the acid obtained (1 <i>R</i>)- <i>cis</i> /(1 <i>S</i>)- <i>cis</i>
				Each	Overall	
1	1.522	9.5	12	56.7	56.7	78.9 / 21.1
2	0.838	6.5	6	60.6	34.4	93.7 / 6.3
3	0.483	4.5	6	65.2	22.4	98.2 / 1.8
4	0.290	3.0	6	58.3	13.1	99.4 / 0.6
5	0.145	2.0	6	57.9	7.6	99.4 / 0.6

上記検討結果に基づき、8 の D P T E 塩 (371mg) を acetone より 3 回再

結晶し、最終的に得られた塩を 5% NaOH にて分解、D P T E をエーテル洗淨により除去後、酸析することにより、(+)-(1 R)-cis-[carbonyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (10) を放射化学的収率 28% (セラミ体 8 基準) で得た。Murano 法²³⁾ によれば、得られた10の(1 R)-cis 体含量は 98.2% であった。なお、10の1からの通算収率は 4% であった。

一方、trans 体 9 の光学分割に関しては、Nishizawa 等の quinine-L P T E 法 (L P T E = ℓ-1-phenyletylamine)¹⁾、D P E A 単独法、Ueda-Toyoura の D P T E 法²⁵⁾ 等を検討した。その結果、

- ① quinine は (-)-(1 S)-trans 体の除去 (取得) に効果的である。
- ② L P E A は分割能力が低い。
- ③ D P T E は、含量 70 ~ 80% 程度の (+)-(1 R)-trans 体を更に光学的に純化するのに極めて有効である。

等が判明した。そこで、quinine-D P T E 法を新たに考案、検討したところ、ラセミ酸より通算収率 20% 以上で R/S > 98/2 の (1 R)-trans 酸が得られるという好結果を得た。

Table 3 Optical resolution of *trans*-chrysanthemic acid by using various optically active amines

Repeating No.	Recrystallization condition				Yield [%]		Isomeric ratio of the acid obtained (<i>1R</i>)- <i>tr.</i> /(<i>1S</i>)- <i>tr.</i>
	Salt	Solvent	Temp.	Time	Each	Overall	
	[g]	[ml]	[°C]	[hr]			
<u>Quinine-LPEA method</u>							
1	Quinine	abs. EtOH			(Cryst.	44.8	18.1 / 81.9)
	1.984	2.3	70 - r.t.	21	Moth.l.	50.7	81.1 / 18.9
2	LPEA	50% EtOH					
	0.595	1.7	60 - r.t.	8	43.8	22.2	85.8 / 14.2
3	0.241	0.7	70 - r.t.	9	55.6	12.3	90.2 / 9.8
<u>LPEA method</u>							
1	LPEA	50% EtOH					
	1.162	3.4	75 - r.t.	28	74.0	74.0	50.8 / 49.2
2	0.840	2.0	75 - r.t.	8	84.4	62.5	51.2 / 48.8
3	0.691	1.6	75 - r.t.	8	82.9	51.8	51.4 / 48.6
4	0.556	1.3	75 - r.t.	8	65.3	33.8	51.8 / 48.2
<u>DPTE method</u>							
1	DPTE	85% MeOH					
	1.542	5.0	refl. - r.t.	2	80.1	80.1	53.6 / 46.4
2		70% MeOH					
	1.194	7.5	refl. - r.t.	2	72.3	57.9	63.6 / 36.4
3	0.838	7.7	refl. - r.t.	2	58.8	34.0	83.0 / 17.0
4	0.469	6.0	refl. - r.t.	2	63.5	21.6	95.6 / 4.4
5	0.271	6.0	refl. - r.t.	2	67.9	14.7	98.7 / 1.3

Quinine-DPTE method

1	Quinine	abs. EtOH		(Cryst.	31.0	10.3 / 89.7)
	1.828	2.0	70 - r.t.	6	Moth.l.	63.0 70.6 / 29.4
2	DPTE	70% MeOH				
	0.920	6.0	refl. - r.t.	2	76.9	48.4 76.2 / 23.8
3	0.666	6.7	refl. - r.t.	2	62.0	30.0 94.8 / 5.2
4	0.396	4.8	refl. - r.t.	2	75.8	22.7 98.9 / 1.1

以上の知見に基づき、trans 酸 9 (310mg) を分割した。すなわち、まず、当量の quinine を用いて (-) - (1 S) - trans 体を結晶部分として除去し、母液より (+) - (1 R) - trans 体に富む酸を放射化学的収率 65% で得た。続いて、これを DPTE 塩とし、3回再結晶することにより、9 から通算収率 21% で (+) - (1 R) - trans - [carboxyl-¹⁴C] - chrysanthemic acid (11) を得た。11 の (1 R) - trans 体含量は 98.6% であった。なお、1 より 11 に至る通算収率は 6% であった。

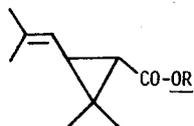
ところで、前述の如き光学活性アミン塩の分別晶析法による光学分割は、数十mg 以下の小スケールでは更に低収率となり、光学純度についても 98% 以上のものを得ることが困難となる。また、近年では、より精密なトレーサー研究を行う必要から、使用する ¹⁴C 標識化合物に対する高比放射能化、高純度化の要求が一段と高まっており、従来の分別晶析法では対処出来なくなりつつある。一方、最近では、菊酸の 4 種光学異性体の総ての ¹⁴C 標識体を用いた比較代謝研究を行う必要が生じており、このような研究に供する標識体を従来の光学分割法で調製しようとするれば、4 種の分別晶析を行わねばならず、極めて非効率的であった。そこで、微小スケールにおいても効率的に 4 種異性体を分割出来る方法を検索した。

最初に、菊酸を l - menthol (LMEN)、d - 1 - phenylethanol (DPEL) 等の光学活性アルコールのエステルに誘導してジアステレオマー化

し、通常の順相 HPLC (シリカゲル) によって 4 異性体を分離することを試みた。しかしながら、結果 (Table 4) は不満足なものであった。すなわち、LMEN エステルについては、4 異性体は分離可能であるものの、長い溶出時間を必要とするために、各ピーク幅が大きくなり、分離は不十分であった。一方、DPEL エステルの場合は、(1R) - cis 体と (1S) - trans 体の分離が不良であった。

Table 4 HPLC separation of four stereoisomers of chrysanthemic acid by derivatization to diastereomeric esters

HPLC condition



Column: μ -Porasil (10 μ m, 4 mm ID x 30 cm)

Mobile phase: n-hexane/ether=100/0.1 (v/v)

Flow rate: LMEN 1.0 ml/min, DPÉL 2.0 ml/min

Temperature: room temp.

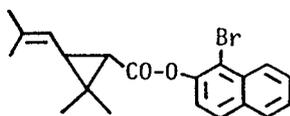
Detector: UV (220 nm)

Optically active alcohol (ROH)	Stereoisomer	Retention time [min]
 LMEN	(1R)-cis	39.3
	(1S)-cis	36.7
	(1R)-trans	45.8
	(1S)-trans	43.2
 DPEL	(1R)-cis	18.8
	(1S)-cis	17.5
	(1R)-trans	24.0
	(1S)-trans	18.8

そこで、次に光学活性 HPLC を適用することを考えた。最近、 $\hat{O}i$ 等²⁶⁾ は、 α -bromo- β -naphthyl chrysanthemate の 4 種光学異性体がパーク

ル型の光学活性カラムである γ -[(R)-N-(3,5-dinitrobenzoyl)-phenylglycyl] aminopropyl silica (Sumipax OA-2000) により分離可能であることを報告した。本法を追試したところ、Table 5 に示した様な好結果を得たので、この光学活性固定相を常法に従って合成し、分取用カラムを製作して、[carboxyl- 14 C] chrysanthemic acid (7) の4種異性体を一度に調製した (Fig. 6)。

Table 5 HPLC separation of four stereoisomers of α -bromo- β -naphthyl chrysanthemate by using a chiral-phase column



HPLC condition

Column: Sumipax OA-2000 (5 μ m, 4 mm ID x 25 cm)
 Mobile phase: n-hexane/1,2-dichloroethane = 20/1 (v/v)
 Flow rate: 0.8 ml/min
 Temperature: room temp.
 Detector: UV (254 nm)

Stereoisomer	Retention time [min]
(1R)-cis	12.2
(1S)-cis	13.4
(1R)-trans	15.1
(1S)-trans	17.4

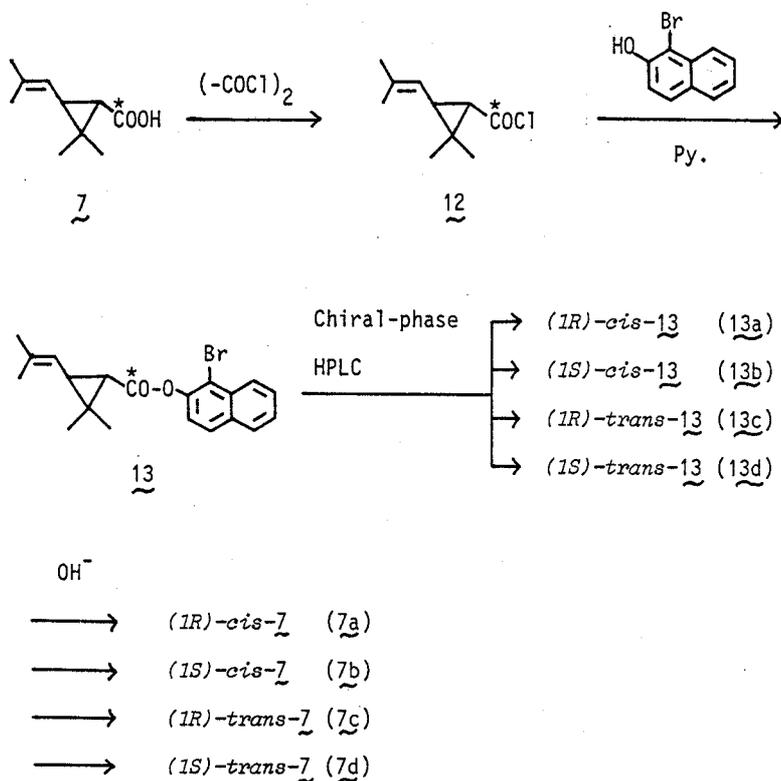


Fig. 6 Preparation of all stereoisomers of [carboxyl-¹⁴C]chrysanthemoyl chloride

すなわち、7に、n-hexane (または n-pentane) 中、室温にて、大過剰の oxalyl chloride を作用させて [carbonyl-¹⁴C] chrysanthemoyl chloride (12) とし、これに α-bromo-β-naphthol を、petroleum benzene-toluene (または benzene) 中、pyridine 共存下、室温にて反応させることにより、定量的に、α-bromo-β-naphthyl d, l-cis, trans-[carbonyl-¹⁴C] chrysanthemate (13) を得た。エステル13は、分取用 O A-2000カラムを用いた HPLCにより、定量的且効率的に4異性体13a-13dに分割し、得られた4種の光学活性エステルの各々を、常法に従って加水分解することにより、何れも 99% 以上の光学純度を有する7の4種異性体(7a-7d)を得た。

(B) シクロプロピル炭素の¹⁴C標識化^{8), 10)}

[1-¹⁴C] Chrysanthemic acid (20) の合成ルートを Fig. 7 に示した。

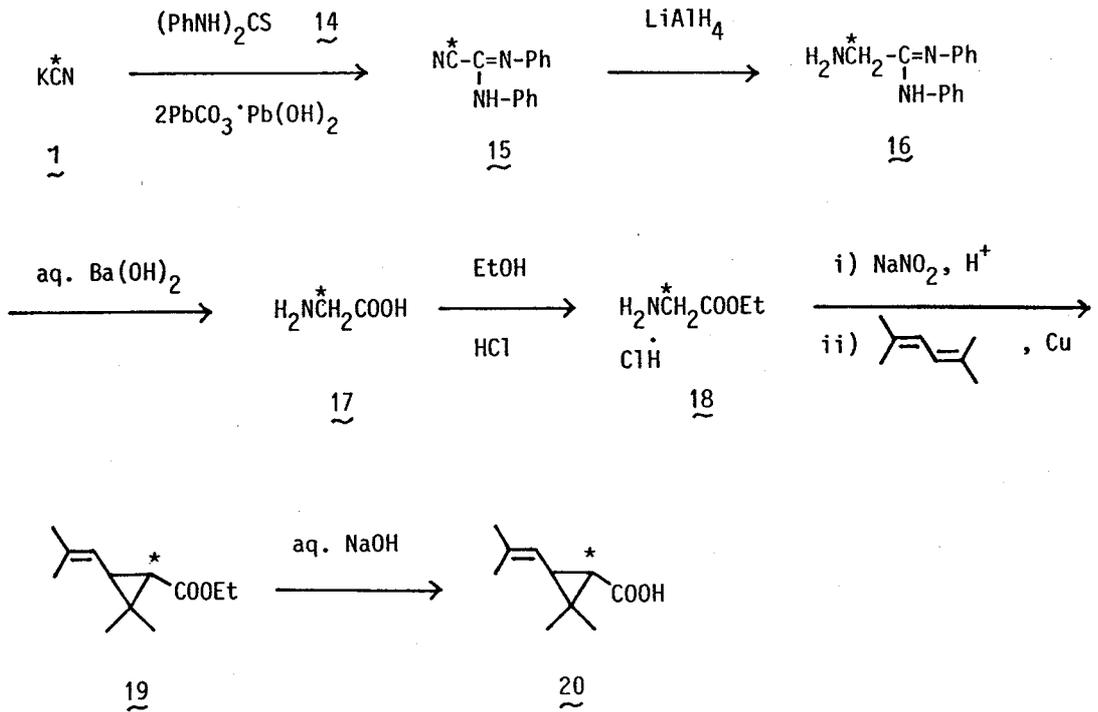
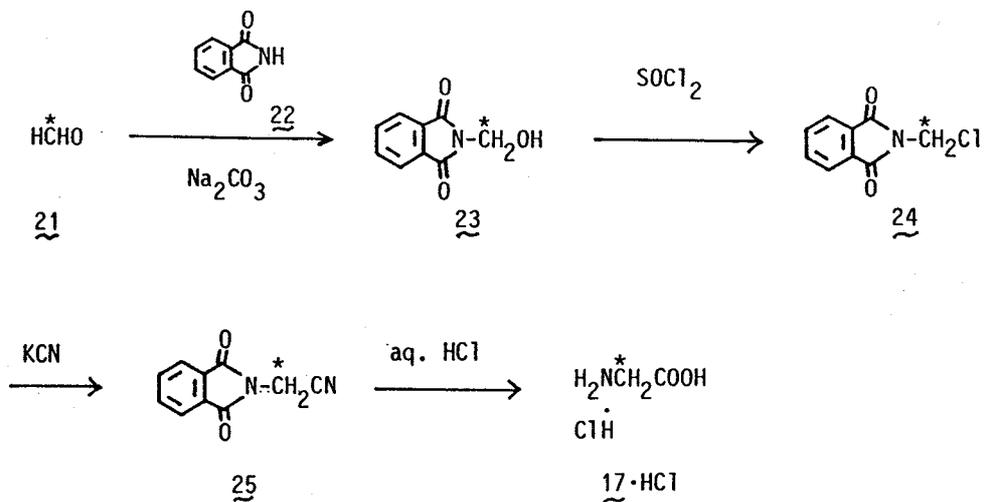


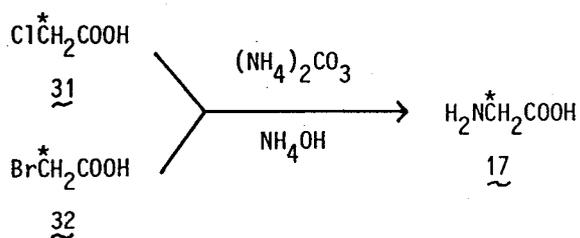
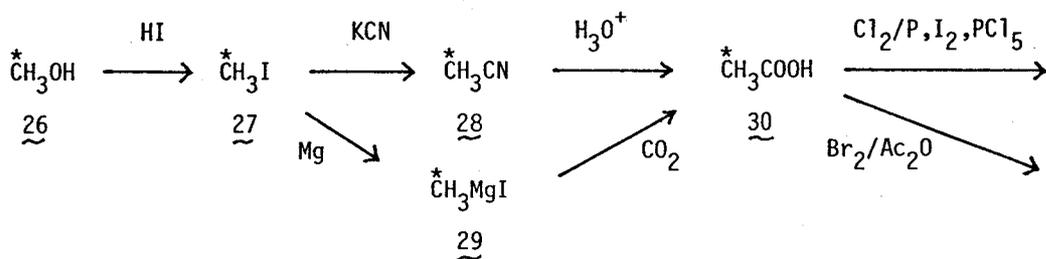
Fig. 7 Synthesis of *d,l*-*cis,trans*-[1-¹⁴C]-chrysanthemic acid

前述のカルボキシル¹⁴C標識体7と同様に、カルベン付加法 (Fig. 3, 方法 I) によって三員環¹⁴C標識体20を得ようとするれば、メチレン炭素を標識したグリシンエステルが必要となる。その前駆体である [2-¹⁴C] glycine (17) の合成法として、Fig. 8 に示した3種の方法を文献調査に基づいて考案、考察した。

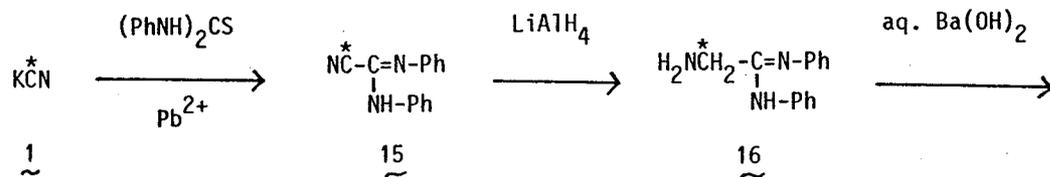
Method 8-1

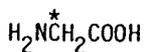


Method 8-2



Method 8-3





17

Fig. 8 Plausible methods for the preparation of [2-¹⁴C]glycine

Cyano [¹⁴C] methyl phthalimide 経由法 (Method 8 - 1)²⁷⁾ と halo-[2 - ¹⁴C] acetic acid 経由法 (Method 8 - 2)²⁸⁾ は、一般的な α - アミノ酸合成法に準拠したものであり、カルボキシル標識法としても利用可能である。一方、[2 - ¹⁴C] acetamide 体を経由する方法 (Method 8 - 3) は、17の調製のみを目的としたもので、過去には非放射性的の¹³C標識体の調製に用いられていた²⁹⁾。文献上、三者の通算収率はどれも 40% 程度と推定されたが、工程数が最少であること、及び揮発性中間物を経由しないことから、acetamide 経由法が最適であると結論した。

1 - [¹⁴C] Cyano N, N' - diphenylformamide (15) は、塩基性炭酸鉛の存在下、1, 3 - diphenyl - 2 - thiourea (14) に potassium [¹⁴C] cyanide (1) を反応 (aq. EtOH 中、60~65℃, 1時間) させることにより、カラムクロマト後の単離収率 60% で得られた。なお、本反応において、塩基性炭酸鉛の過剰使用、及び反応時間の延長 (6時間) は、15の収率を低下させることが、予備検討により明らかにされた。

Ehrensvar 等²⁹⁾ は、ether 還流条件下に formamide 15 を lithium aluminium hydride (LAH) で還元して acetamide 16 を得ているが、本法を追試したところ、40% 前後の低収率であった。そこで、LAH法の反応条件の最適化及び他の適切な還元剤の検索を行った。代表的な結果を Table 7 に示した。

Table 7 Optimization of the reduction of 1-cyano-N,N'-diphenylformamide to 2-amino-N,N'-diphenylacetamide

Entry No.	Reducer	Solvent	Temp. [°C]	Time [min]	Isolated yield of the acetamide [%]
1	LiAlH ₄	Et ₂ O	reflux	120	43
2			r.t.	65	46
3			-20 - -15	25	83
4			-20 - -15	40	71
5	LiAlH ₄ -AlCl ₃ (3/1 mol/mol)	Et ₂ O	r.t.	30	50
6	(1/3 mol/mol)		r.t.	30	15
7	LiAlH ₂ (OEt) ₂	Et ₂ O	r.t.	30	69
8			r.t.	140	45
9			0 - 5	30	70
10	LiAlH ₂ (OBu ^t) ₂	Et ₂ O	r.t.	15	65
11	NaAlH ₂ (OCH ₂ CH ₂ OCH ₃) ₂	Et ₂ O	r.t.	15	55
12			r.t.	120	0
13		C ₆ H ₆	r.t.	50	60
14	NaBH ₄ -CoCl ₂ (17/3 mol/mol)	MeOH	r.t.	60	35

上記検討結果は、以下の知見を与えた。

- (i) LAHを用いた場合の至適条件は、温度 -20~-15℃、時間 ≤30 min (formamide 溶液の滴下時間を含む) である。
- (ii) MAH₂(OR)₂ 型の還元剤 (M=Li, Na) も、LAHとほぼ同等の還元が有する。

(iii) 反応時間の延長は、いずれの還元剤についても、生成した acetamide 体の分解を増大させる。

(iv) Lewis 酸 (AlCl_3) の添加は、所期反応を抑制する。

(v) $\text{NaBH}_4\text{-CoCl}_2$ は、還元速度が遅く、副反応を優先させる。

以上の知見に基づいて、Entry 3 の条件を選択し、formamide 15 の還元を行った。すなわち、LAH を ether 中に懸濁し、これに $-20\sim 15^\circ\text{C}$ にて、15 の ether 溶液を滴下、反応の進捗を TLC 分析にて確認後、直ちに冷含水 ether にて希釈して反応を停止することにより、放射化学的純度 85% の 2-amino-N, N'-diphenyl [$2\text{-}^{14}\text{C}$] acetamide (16) を得た (収率 80%)。

粗16は、10% 水酸化バリウム中にて還流条件下に加水分解し、副生した aniline 等を ether 洗浄にて除去、また、バリウムイオンを硫酸塩として遠心分離した。得られた水溶液を濃縮することにより、粗16より放射化学的収率 77% で [$2\text{-}^{14}\text{C}$] glycine (17) を得た。1からの通算収率は 37% であった。

得られた17を前述のカルボキシル標識体の場合 (Fig. 4) と同様に、エチルエステル化、ジアゾ化、カルベン付加に供し、生成した [^{14}C] 菊酸エステル (19) を加水分解することにより、17から 66% (1より 25%) の放射化学的収率で d, l - cis, trans - [$1\text{-}^{14}\text{C}$] chrysanthemic acid (20) を得た。

カルボン酸20は、前述のカルボキシル標識体 7 の場合 (Fig. 6) と同様に、酸塩化物を経て α -ブromo- β -ナフチルエステルに誘導し、光学活性 HPLC 分取によって4種の光学活性エステルに分割、各エステルを加水分解することにより、光学純度 99% 以上の (1R) - cis -, (1S) - cis -, (1R) - trans - 及び (1S) - trans - [$1\text{-}^{14}\text{C}$] chrysanthemic acid (20a - 20d) を定量的に得た。

(C) ビニル炭素の¹⁴C標識化⁹⁾

(1R)-*cis*-及び(1R)-*trans*-[propenyl-2-¹⁴C]chrysan-
themic acid (38a及び38b)の立体特異的合成ルートをFig. 9に示した。

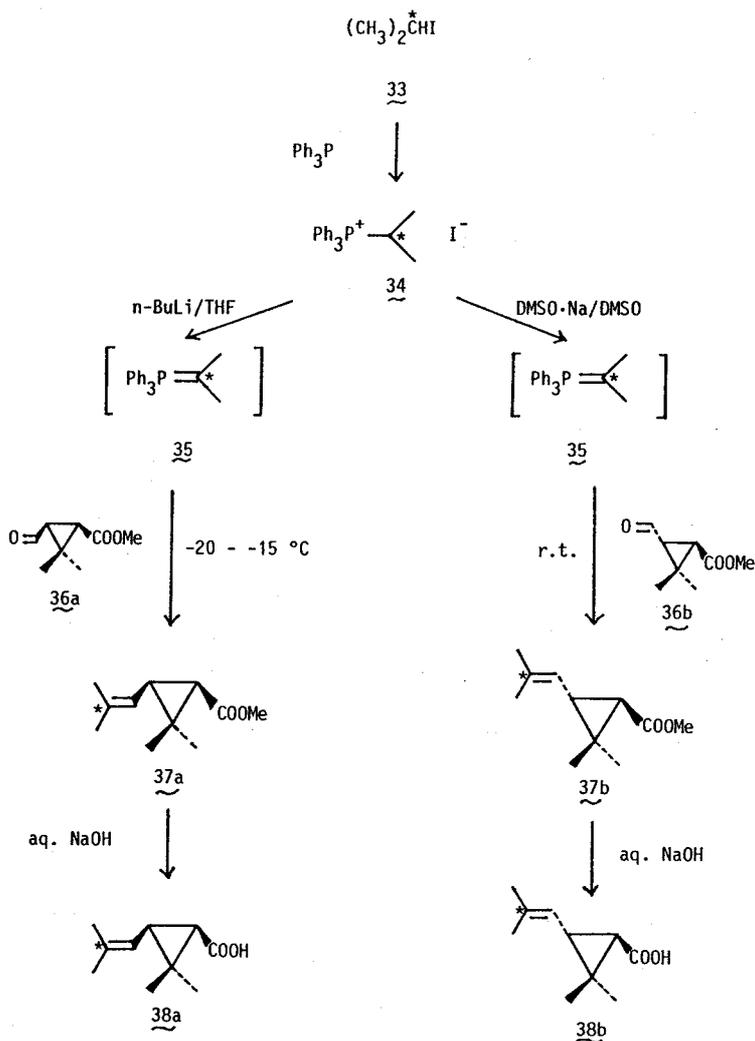


Fig. 9 Stereospecific syntheses of (1R)-*cis*- and
(1R)-*trans*-[propenyl-2-¹⁴C]chrysanthemic acids

前述のカルボキシル或いはシクロプロピル¹⁴C標識体合成の場合 (Fig. 4, Fig. 7) と同様、ビニル¹⁴C標識体の合成についても、カルベン付加による三員環形成反応 (Fig. 3, 方法 I) を利用することは不可能ではないと考えられるが、そうした場合、以下の不利益が予想された。

- (i) 適切な¹⁴C標識オレフィンが必要となるが、その調製は、低沸点 (高揮発性) の放射性中間物を經由することを避けられないため、合成手法上、かなりの困難が予想される。
- (ii) カルベン付加による¹⁴C標識体合成法は、立体選択的、立体特異的でないため、特定の異性体が必要とされる場合にも、不必要な他の異性体の生成が避けられず、従って、標識化後に光学分割を行わねばならない。

一方、Pattenden 等³⁾ は、前掲 Fig. 3 に示した方法 II の逆合成的プランに基づき、Wittig 反応を利用して、(1 R) -trans-菊酸の 3 位オレフィン側鎖の 2 個のメチル炭素の¹⁴C標識化に成功したことを報告している。この方法 II に従えば、菊酸の特定の異性体のビニル¹⁴C標識体のみが随時調製可能となることが期待された。そこで、(1 R) -cis体と (1 R) -trans体について、Fig. 9 に示したプロペニル 2 位¹⁴C標識体合成経路を考案した。

光学活性ホルミルエステル 36 a, 36 b は、非放射性的の光学活性菊酸 38 a ', 38 b ' を出発物質として、Fig. 10 に示したルートに従い、立体特異的に合成した。

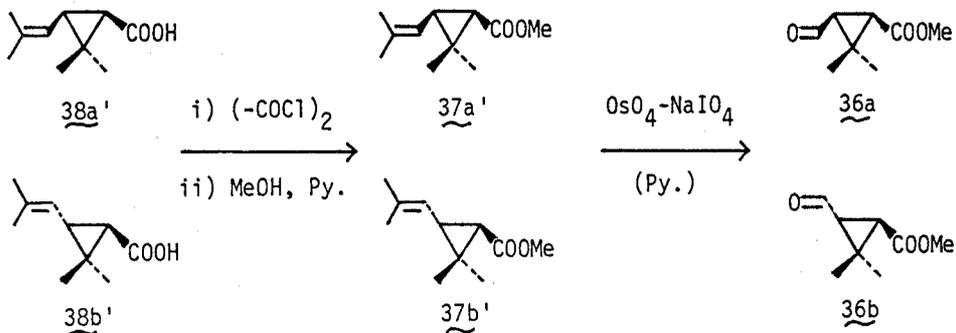


Fig. 10 Syntheses of methyl (1R)-*cis*- and (1R)-*trans*-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylates

すなわち、光学活性菊酸 ($\underline{38a'}$, $\underline{38b'}$) を oxalyl chloride にて酸クロル化 (n-pentane 中、室温、2 時間)、続いて methanol と反応 (ether 中、pyridine 存在下、室温、終夜) して得られたメチルエステル $\underline{37a'}$, $\underline{37b'}$ を、各々、四酸化オスミウム - 過ヨウ素酸ナトリウムによって酸化 (dioxane - 水中、室温、終夜)、常法処理後の粗生成物をカラムクロマト精製して、methyl (1R)-*cis*-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylate ($\underline{36a}$) を通算収率 44% で、また、methyl (1R)-*trans*-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylate ($\underline{36b}$) を通算収率 38% で得た。なお、(1R)-*cis* 体 $\underline{37a'}$ の酸化は、(1R)-*trans* 体と比較して低速度であったので、pyridine を添加し³⁰⁾、30~35℃ に加熱することにより加速した。また、ホルミルエステル $\underline{36a}$, $\underline{36b}$ の単離については、蒸留法^{31), 5)} も試みたが、常法処理後の粗生成物中にわずかに残存した四酸化オスミウムによる分解、着色が顕著であったので、カラムクロマト法に変更した。

(1R)-*trans*-[propenyl-2-¹⁴C] Chrysanthemic acid ($\underline{38b}$) は、Pattenden 等³⁾ の方法を改良して用いることにより、立体特異的に合成した

(Fig. 9)。すなわち、1-methyl [1-¹⁴C] ethyltriphenylphosphonium iodide (34) は、2-iodo [2-¹⁴C] propane (33) を過剰の triphenyl phosphine と、toluene 中、105~115℃ にて反応させることにより、放射化学的収率 78% で合成した。本工程における toluene の使用は、従来の無溶媒法³⁾と比較して、ホスホニウム塩34の生成を阻害することなしに、33の揮散及び未反応 triphenylphosphine の34への噛み込み等を防止するのに有効であった。ホスホニウム塩34は、dimethyl sulfoxide (DMSO) と水素化ナトリウムより調製(80~90℃, 30分間)した dimethyl sodium (当量)によりイリド化(室温, 30分間)して 1-methyl [1-¹⁴C] ethylidene-triphenylphosphorane (35) とし、これとホルミルエステル36bとの反応を室温にて行った(終夜)。常法処理後の粗生成物に含まれた未反応の36bは亜硫酸水素ナトリウム処理により、また、副生した triphenylphosphine oxide は結晶化濾別することにより除去し、34より通算収率 84% で、methyl (1R)-trans-[propenyl-2-¹⁴C] chrysanthemate (37b) を得た。この¹⁴C 標識化エステル37bを、ethanol-水中、水酸化ナトリウムにて加水分解し、酸-アルカリ精製後の酸成分を更にカラムクロマト精製することにより、(1R)-trans-[propenyl-2-¹⁴C] chrysanthemic acid (38b) を収率 75% で得た。33からの通算収率は 49% であった。得られた38bの一部を、酸塩化物を経てα-プロモ-β-ナフチルエステル体とし、前述の光学活性HPLC (Sumipax OA-2000) により異性体比を測定した結果、(1R)-trans 体 99.8% であった。

同様の方法に従って、(1R)-cis-[propenyl-2-¹⁴C] chrysanthemic acid (38a) の合成を試みたところ、Wittig 反応の生成物(¹⁴C 標識メチルエステル)は、cis/trans = 41/59 の混合物であった。この Wittig 反応生成物の立体化学を解明するために、加水分解し、得られた酸をα-プロモ-β-ナフチルエステルに誘導、光学活性HPLC分析したと

ころ、本品は(1R)-cis体と(1R)-trans体より成り、(1S)-cis体及び(1S)-trans体は含まないことが明らかとなった。この事実は、Wittig 反応工程において(1R)-cisホルミルエステル36aの2位炭素上のみで異性化(epimerization)が起きたことを示すものであり、その原因は、イリド化の残存塩基(または水素化ナトリウム)によるホルミル α 水素の引き抜きによってカルバニオンが生成、これが熱異性化を受けたことによると推測された(Fig.11)。

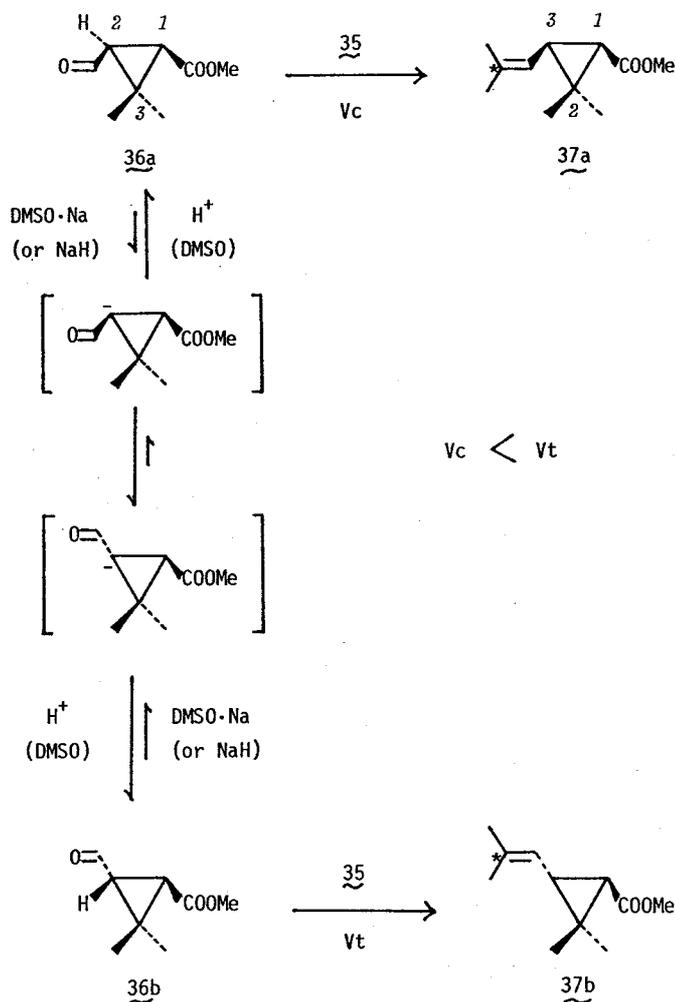


Fig. 11 A plausible mechanism of epimerization of the (1R)-cis formyl ester to the (1R)-trans isomer in the Wittig reaction

この (1R) -cis 体合成における異性化を抑制して収率向上を図るために、Wittig 反応の温度、溶媒及びイリド化用塩基の影響を調査した。代表的な結果を、Table 8 に比較して示した。

Table 8 Effects of temperature, base and solvent on a yield and epimerization in the Wittig reaction of the (1R)-cis formyl ester

Entry No.	Base	Reaction condition			¹⁴ C-Labelled ester (37)	
		Solvent	Temp.[°C]	Time[hr]	Yield[%] ^{*1)}	<i>cis/trans</i> ^{*2)}
1	DMSO·Na	DMSO	r.t.	21	82	41 / 59
2	DMSO·Na	DMSO- THF ^{*3)}	0 - 5, r.t.	1, 20	77	78 / 22
3	DMSO·Na	DMSO- THF ^{*4)}	0 - 5	18	83	90 / 10
4	DMSO·Na	THF	-20 - -15	18	65	100 / 0
5	n-BuLi	THF	-20 - -15	18	80	100 / 0

*1) Radiochemical yields based on the ¹⁴C-labelled phosphonium salt (34).

*2) Ratios of the isomers were determined by RGC (Siponate DS-10).

*3) 3/1 (v/v).

*4) 2/3 (v/v).

Table 8 の結果より、異性化は反応温度の影響を顕著に受けることが明らかとなった。すなわち、trans 体の生成量は、室温条件で 59% (Entry 1), 0~5℃ で 10% (Entry 3) と低温となるに従って減少し、-15~-20℃ では、異性化による trans 体の生成は完全に抑制された (Entry 4, 5)。また、-15~-20℃ の低温では、イリド化のための塩基としては、dimethyl

sodium (DMSO, Na) よりも *n*-butyl lithium (*n*-Bu Li)³¹⁾ が、反応溶媒としては、dimethyl sulfoxide (DMSO) よりも tetrahydrofuran (THF) が適切であった (Entry 4 vs. Entry 5)。

以上の知見に基づき、(1R)-cis 標識体 38a を立体特異的に合成した (Fig. 9)。すなわち、ホスホニウム塩 34 を THF 中にて *n*-Bu Li で処理 (室温、終夜) して調製したホスホラン 35 に、(1R)-cis ホルミルエステル 36a を -20~-15℃ にて終夜反応させ、前述の (1R)-trans 体合成時と同様の後処理、精製を行うことにより、34 より放射化学的収率 83% で methyl (1R)-cis-[propenyl-2-¹⁴C] chrysanthemate (37a) を得た。エステル 37a を加水分解し、粗生成物を酸-アルカリ精製及びカラムクロマト精製に付すことにより、放射化学的収率 69% で (1R)-cis-[propenyl-2-¹⁴C] chrysanthemic acid (38a) を得た。33 よりの通算収率は 45% であった。得られた 38a の光学純度は、その α -プロモ- β -ナフチルエステル体としての光学活性 HPLC 分析所見によれば、(1R)-cis 体 99.6% であった。

なお、上記のホルミル化したメチルエステル 36a, 36b を用いた立体選択的ビニル¹⁴C 標識法と並行して、ホルミル化した光学活性 α -プロモ- β -ナフチルエステルを用いる方法についても検討した。後者は、¹⁴C 標識化エステルの取り扱い易さ、及び光学純度分析の簡便さの点において、前者を凌駕すると期待されたが、検討結果は不満足なものであった。すなわち、重要な非放射性中間物である α -bromo- β -naphthyl (1R)-cis-and (1R)-trans-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylates は、メチルエステル体の場合 (Fig. 10) と同様の方法により、通算収率 85 及び 74% で対応する非放射性の光学活性菊酸より合成出来た。しかしながら、標識化のための Wittig 反応を室温・終夜条件下にて実施したところ、(1

R) -cis 体については目的とする¹⁴C 標識エステル体が全く得られず、一方、(1R) -trans 体の場合も 40% 以下の低収率で Wittig 反応生成物が得られたにとどまった。なお、特に cis 体の場合にエステル開裂等の副反応が優先したことから、この Wittig 反応は、ホルミルエステル体のアルコキシ基の立体的影響を強く受けることが示唆された。

1-2 ジハロビニル菊酸¹⁰⁾

ジクロロビニル菊酸〔3-(2,2-dichloroethyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid〕及びジブロモビニル菊酸〔3-(2,2-dibromoethyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid〕は、菊酸の3位ジメチルビニル側鎖(2-メチル-1-プロペニル基)をジハロビニル基に変換したアナログであるが、この改変によって、菊酸よりも格段に高い光安定性を獲得した。そして、これらの改変酸の発明によって、パーメスリン(permethrin)、サイパーメスリン(cypermethrin)、デルタメスリン(deltamethrin)等の極めて有効な農業用ピレスロイド殺虫剤が誕生した。³²⁾ 本項では、これら2種のジハロビニル菊酸の簡便なカルボキシル及びシクロプロピル炭素の¹⁴C 標識体合成法とそれらの効率的な全光学(立体)異性体調製法の開発について言及する。

(A) ジクロロビニル菊酸

非放射性のジクロロビニル菊酸の大量合成法としては、カルベン付加法³³⁾、³⁴⁾、ハロカルボニル化合物の環化反応³⁵⁾、³⁶⁾等をキー・ステップとする方法が知られている。従って、菊酸の¹⁴C 標識化(1-1・〔A〕、〔B〕)において適用した¹⁴C 標識カルベン中間体の三員環形成反応を利用する方法(Fig. 3, 方法 I)等によって、所期の標識化を達成することも不可能ではないと考えられた。しかしながら、これらの方法を適用してカルボニル或いは

シクロプロピル炭素を ^{14}C 標識化したジクロロビニル菊酸を合成しようとするれば、長く複雑な合成経路、RI標識体合成法として適正化するための種々の改良、副生する異性体等の分離、精製技術の確立等、多くの困難の存在が予想された。また、放射化学的な通算収率も、文献上、特に小スケールの合成では著しく低いものになることが予測された。そこで、Fig. 3に示した逆合成的考え方(方法II)と菊酸について既に確立したカルボニル及びシクロプロピル炭素の ^{14}C 標識技術を活用することにより、ジクロロビニル菊酸の ^{14}C 標識体を合成することを計画した。また、光学活性体の調製に関しては、 ^{14}C 標識菊酸(7, 20)に適用した光学活性HPLCによる分取分割法がジクロロビニル体へも適用可能であると予想されたが、その実施時期については、7或いは20を4異性体に分割してから各々をジクロロビニル体へ誘導するよりも、全異性体混合物のままジクロロビニル体へ誘導した後に4異性体に分割する方が、合成効率と誘導工程における異性化の可能性を考慮すれば、より好ましいことは明らかであった。

Fig. 12には、以上の事を考慮して立案、実施した3-(2, 2-dichloroethenyl)-2, 2-dimethyl [1- ^{14}C] cyclopropanecarboxylic acidの全異性体(42a-42d)の調製経路を示した。なお、 ^{14}C 標識菊酸のカルボキシル部分の保護基としては、光学活性HPLC分取による分割を考慮して、 α -ブromo- β -ナフテル基を使用する方針とした。

すなわち、d, l-cis, trans-[1- ^{14}C] chrysanthemic acid (20) (cis/trans = 2/3)をoxalyl chlorideで酸クロル化し(n-pentane中、室温、1時間)、続いて、pyridine存在下に α -bromo- β -naphtholと縮合(petroleum benzine-toluene中、室温、2時間)することにより、定量的に α -bromo- β -naphthyl [1- ^{14}C] chrysanthemate (39)とした。エステル39を加速剤pyridine³⁰⁾の存在下に、触媒量のosmium tetroxideと過剰のsodium periodateにて酸化(dioxane-水中、50~55℃、1

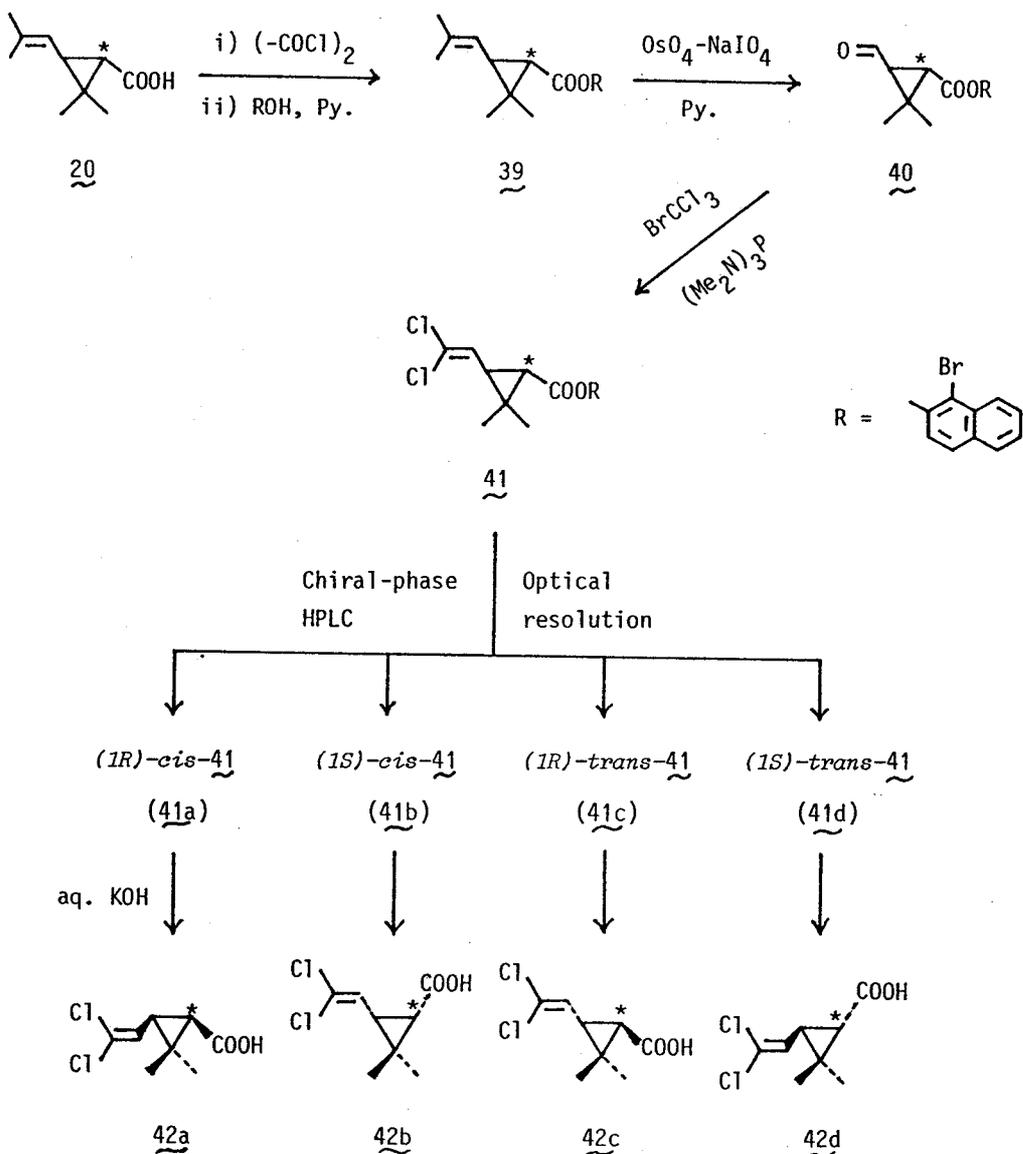


Fig. 12 Preparation of all stereoisomers of 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethyl[1-¹⁴C]cyclopropanecarboxylic acid from [1-¹⁴C]chrysanthemetic acid

時間)することにより、その3位ビニル側鎖をホルミル基に変換し、酸化粗生成物をカラムクロマト精製することにより、重要中間体である α -bromo- β -naphthyl 2-formyl-3,3-dimethyl[1-¹⁴C]cyclopropane-

phoroustriamide (HMP) より調製した dichloromethylenetris (dimethylamino) phosphorane を、 $-20 \sim -10^{\circ}\text{C}$ にて、予め BTCM と共存させておいたアルデヒドと反応させることにより、かなり込み入った環境にあるホルミル基を 85% 程度の好収率でジクロロビニル基に変換することに成功していた。Salmond 法に依れば、ホスホラン調製時に副生するジハロゲノホスフィン体 (または chlorotris (dimethylamino) phosphonium bromide 等のホスホニウム塩) によるクロプロモメチル化反応は完全に抑制され、所期の Wittig 反応のみが選択的に進行するようであった。本法を trans-40 に適用したところ、期待通り、好収率 (74~86%) で目的とするジクロロビニル体を得られた。しかしながら、cis 体 (c-40) については、プロモナフチル基の脱離-環化反応に依るヘミアセタール体の生成等の副反応が優先し、目的とするジクロロビニル体は 10% 以下の低収率でしか得られなかった。そこで、特に cis 体に関する Wittig 反応の収率を改善するために、BTCM、HMP、及びホルミルエステル (c-40) のモル比、反応方法、並びに反応温度について詳細に検討した。その代表的な結果を比較して、Table 9 に示した。

Table 9 Optimization of the Wittig dichlorovinylolation of the *cis* formyl ester (c-40)

Entry No.	Molar ratio			Method *1)	Reaction temp. [$^{\circ}\text{C}$]	Yield of <u>c-41</u> [%] *2)
	<u>c-40</u>	BTCM	HMP			
1	1.0	1.2	2.7	A	$-20 - -15$	6
2	1.0	2.0	5.0	A	$-20 - -15$	5
3	1.0	2.0	3.4	A	$-20 - -15$	18
4	1.0	2.0	3.4	B	$-20 - -15$	67
5	1.0	1.3	2.2	B	$-75 - -70$	56
6	1.0	2.0	3.4	B	$-75 - -70$	99

*1) A: HMP was added to a mixture of the formyl ester (c-40) and BTCM (Salmond's method).

B: The formyl ester was added to the phosphorane prepared from BTCM and HMP.

*2) Isolated yields based on c-40.

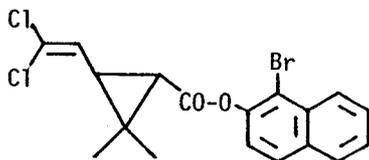
検討の結果、目的とするジクロロビニル化された cis エステル (c-41) の収率は、使用する試薬のモル比、及び反応方法に著しく依存することが明らかとなった。すなわち、HMPの過剰使用 ($HMP/BTCM > 2.0$) は、好ましい結果を与えなかった。反応方法に関しては、BTCMとHMPより予め調製しておいたホスホランにホルミルエステル (c-40) の溶液を滴下して反応させる方法 (Method B) が、Salmond法 (Method A) よりも格段に好収率で目的とするジクロロビニル化物 (c-41) を与えた。これらの事実は、cis ホルミルエステル (c-40) は、その Wittig 反応速度が trans 体 (t-40) と比較してやや遅く、未反応のHMP (またはホスホニウム塩中間体) による分解反応を優先的に受けることを示唆していると考えられた。反応温度は、目的物の収率を左右するもう一つの重要因子であった。すなわち、 $-20 \sim -15^\circ\text{C}$ の条件での結果と比較して $-75 \sim -70^\circ\text{C}$ では、ホスホラン中間体の分解が抑制され、高収率で目的物を与えた。

以上の検討結果に基づき、至適条件 (Entry 6) を cis、trans 混合物のホルミルエステル体 40 に適用して、ジクロロビニル化を行った。すなわち、BTCMとHMPを、dichloromethane 中、 $-75 \sim -70^\circ\text{C}$ にて45分間反応させることによりホスホランを調製、これに 40 の dichloromethane 溶液を、温度を -70°C 付近に保ちながら40分間を要して滴下、同温にて更に30分間攪拌した後、希酸を添加して反応を停止した。その結果、カラムクロマト精製後に、 $\underline{cis/trans} = 33/67$ の α -bromo- β -naphthyl 3-(2, 2-dichloroethenyl)-2, 2-dimethyl [1- ^{14}C] cyclopropanecarb-

oxylate (41) が放射化学的収率 98% で得られた。

上記 Wittig 反応によってジクロロビニル化されたエステル41の光学活性 HPLC法による4種異性体分離を、菊酸の場合 (Table 5) に準じて検討したところ、Table 10 に示した如く、期待通りの好結果を得た。そこで、同様の HPLC分析により、効率的かつ定量的に41を4異性体 (41a - 41d) に分割した。

Table 10 HPLC separation of four stereoisomers of α -bromo- β -naphthyl 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate by using a chiral-phase column



HPLC condition

Column: Sumipax OA-2000 (10 μ m, 4 mm ID x 25 cm)

Mobile phase: n-hexane/1,2-dichloroethane = 20/1 (v/v)

Flow rate: 1.0 ml/min

Temperature: room temp.

Detector: UV (254 nm)

Stereoisomer	Retention time [min]
(1R)-cis	14.1
(1S)-cis	15.7
(1R)-trans	21.3
(1S)-trans	23.2

得られた光学活性エステル (41a - 41d) の各々を、methanol 中にて 15 % 水酸化カリウム水で加水分解し (室温、終夜)、炭酸水素ナトリウム水による分別抽出を用いて α -bromo- β -naphthol とカルボン酸成分を分離することより、高収率で (1R) - cis -, (1S) - cis -, (1R) - trans - and (1S) - trans - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl - [1 - 14 C] cyclopropanecarboxylic acids (42a, 42b, 42c and 42d) を調製した (Table 11)。

Table 11 Optically active 3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethyl-
[1- 14 C]cyclopropanecarboxylic acids

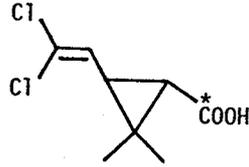
Stereoisomer	Radiochemical yield [%] ^{*1)}	Optical purity [%] ^{*2)}	Optical rotation [α] _D ^{*3)}
(<u>1R</u>)- <u>cis</u> (<u>42a</u>)	9.2	100	+ 28°
(<u>1S</u>)- <u>cis</u> (<u>42b</u>)	9.9	99.7	- 27°
(<u>1R</u>)- <u>trans</u> (<u>42c</u>)	22.5	100	+ 35°
(<u>1S</u>)- <u>trans</u> (<u>42d</u>)	24.3	99.2	- 36°

*1) From [1- 14 C]chrysanthemic acid (20).

*2) Determined by chiral-phase HPLC of the α -bromo- β -naphthyl esters (41a - 41d).

*3) Measured in chloroform (c = 1.0) at 23 °C.

一方、上述と全く同様の手法により、[carboxyl - 14 C] chrysanthemic acid (7) から、3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropane [14 C] carboxylic acid (43) の 4 種異性体 (43a - 43d) を調製した。



43

(B) ジブロモビニル菊酸

シクロプロピル炭素を¹⁴C標識化したジブロモビニル菊酸の調製、及びその4異性体分離も、前述のジブロモビニル菊酸の場合と同様の手法により達成した。(Fig. 14)

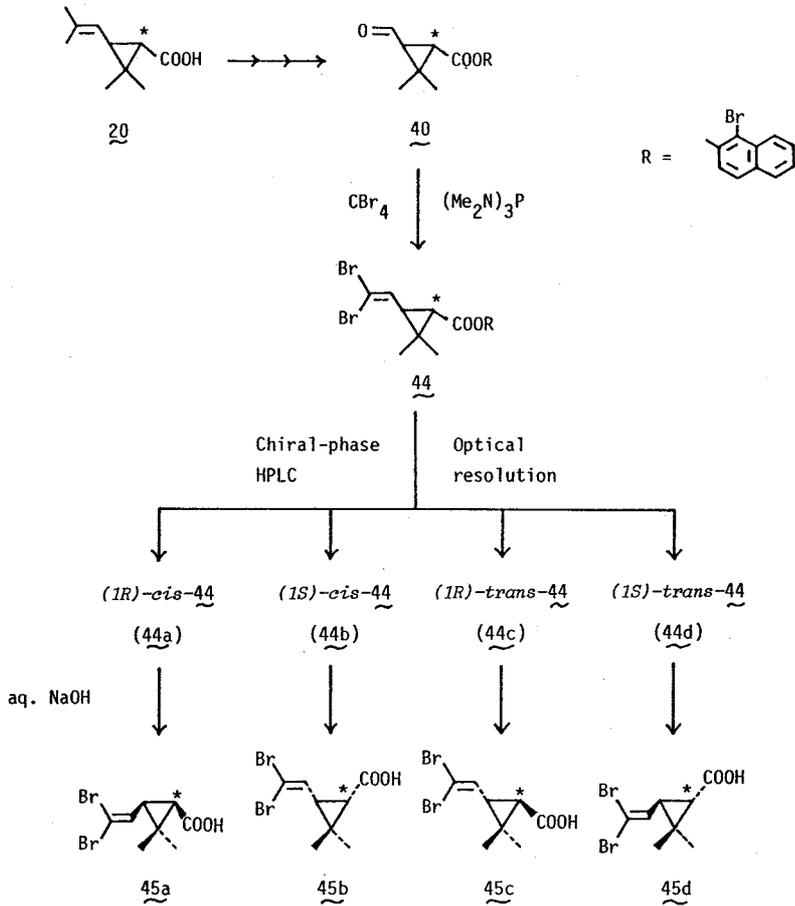
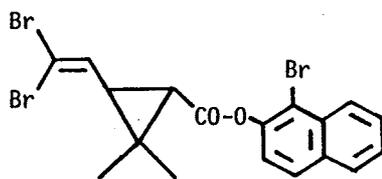


Fig. 14

Preparation of all stereoisomers of 3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethyl[1-¹⁴C]cyclopropanecarboxylic acid

すなわち、 $[1-^{14}\text{C}]$ chrysanthemic acid (20) (cis/trans = 36/64) を酸クロル化 (oxalyl chloride), エステル化 (α -bromo- β -naphthol, pyridine), 酸化 (osmium tetroxide-sodium periodate, pyridine) して得たホルミルエステル40に、carbon tetrabromide と hexamethylphosphorous triamide (HMP) より調製した dibromomethylenetrис(dimethylamino)-phosphorane を $-75\sim-70^\circ\text{C}$ にて作用させることにより、カラムクロマト精製後の収率 99% で α -bromo- β -naphthyl 3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethyl[1- ^{14}C] cyclopropanecarboxylate (44) (cis/trans = 34/66) を得た。ジブロモビニル化されたエステル44の4種異性体は、ジクロロ体41の場合と同一条件の光学活性 HPLC において良好に分離したので (Table 12), 同様の HPLC 分取により、44 を定量的、効果的に、光学純度 99% 以上の4異性体 (44a-44d) に分割した。

Table 12 HPLC separation of four stereoisomers of α -bromo- β -naphthyl 3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate by using a chiral-phase column



HPLC condition

Column: Sumipax OA-2000 (10 μm , 4 mm ID x 25 cm)

Mobile phase: n-hexane/1,2-dichloroethane = 20/1 (v/v)

Flow rate: 1.0 ml/min

Temperature: room temp.

Detector: UV (254 nm)

Stereoisomer	Retention time [min]
(1R)-cis	11.9
(1S)-cis	13.2
(1R)-trans	18.2
(1S)-trans	19.8

光学活性エステル44a - 44dの加水分解に関しては、ジクロロ体(41a - 41d)と同一条件(aq. KOH/MeOH)では脱臭化水素反応によるアセチレン体の副生等が顕著であったので、aq. NaOH/EtOHの条件(室温)に変更し、副反応を抑制した。加水分解後の酸性成分はカラムクロマトに付し、高純度の(1R)-cis-, (1S)-cis-, (1R)-trans- and (1S)-trans-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethyl[1-¹⁴C]-cyclopropanecarboxylic acids (45a, 45b, 45c, and 45d)を好収率で得た。得られた¹⁴C標識ジプロモビニル菊酸の4異性体(45a-45d)の20からの通算収率と光学純度を比較してTable 13に示した。

Table 13 Optically active 3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethyl-[1-¹⁴C]cyclopropanecarboxylic acids

Stereoisomer	Radiochemical yield [%] ^{*1)}	Optical purity [%] ^{*2)}	Optical rotation [α] _D ^{*3)}
(1R)-cis (45a)	11.4	100	+ 16°
(1S)-cis (45b)	11.2	100	- 16°
(1R)-trans (45c)	20.6	99.1	+ 38°
(1S)-trans (45d)	19.3	100	- 41°

*1) From [1-¹⁴C]chrysanthemic acid (20).

*2) Determined by chiral-phase HPLC of the α-bromo-β-naphthyl esters (44a - 44d).

*3) Measured in chloroform (c = 2.0) at 23 °C.

なお、上述の手法は、カルボキシル炭素を ^{14}C 標識した4種の光学活性ジブロモビニル菊酸の調製法にもなり得ることは明らかである。

1-3 2, 2, 3, 3-テトラメチルシクロプロパンカルボン酸

2, 2, 3, 3-テトラメチルシクロプロパンカルボン酸は、菊酸の3位側鎖を改変することによって殺虫活性を損なわずにその光安定性を増大させることを意図した研究の初期に、Matsui 等³⁹⁾によって発明されたもので、現在もテラレスリン (terallethrin), フェンプロパスリン (fenpropathrin) 等の酸成分として用いられている。本項では、この酸成分のカルボキシル及びシクロプロピル炭素の ^{14}C 標識化について述べる。

(A) カルボキシル炭素の ^{14}C 標識化

Fig. 15 に示した如く、2, 2, 3, 3-tetramethylcyclopropane- ^{14}C carboxylic acid (46) の合成に、カルベン付加による三員環形成反応を用いる方法 (Fig. 3, 方法 I) を、菊酸の場合 (1-1 [A]) と同様に適用することは可能であった (通算収率 28%)。

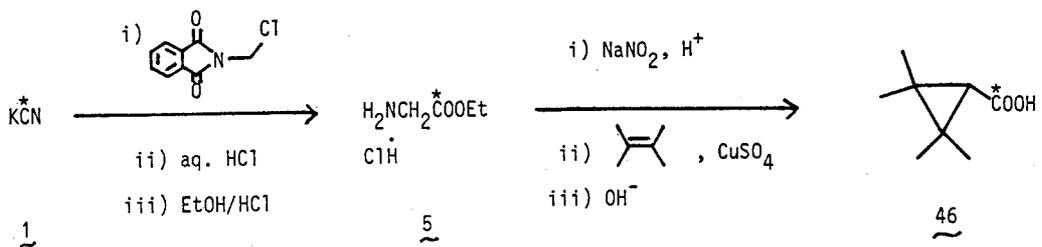


Fig. 15 Synthesis of 2,2,3,3-tetramethylcyclopropane- ^{14}C carboxylic acid by carbene cyclopropanation

一方、Yoshitake 等⁶⁾は、Fig. 3, 方法Ⅲに示した逆合成的戦略に基づいて、より効果的な¹⁴C 標識法を發明した (Fig. 16)。

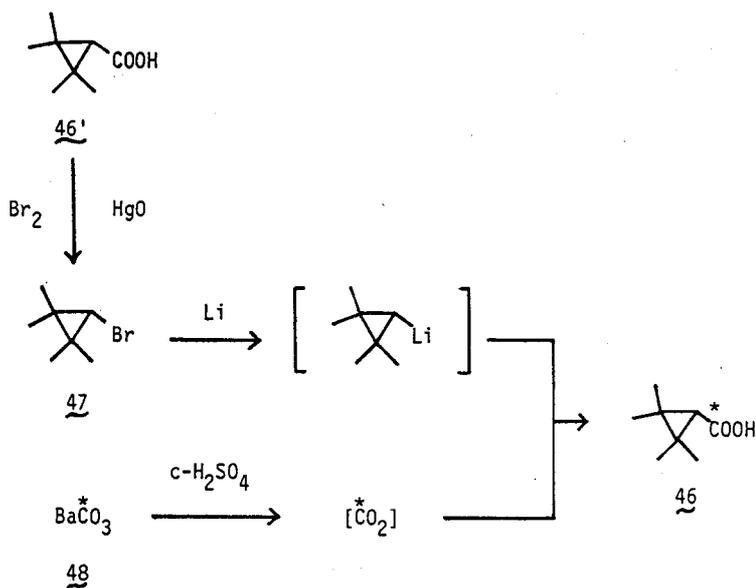


Fig. 16 Synthesis of 2,2,3,3-tetramethylcyclopropane-
[¹⁴C]carboxylic acid by ¹⁴C-carbonation

すなわち、非放射性的のカルボン酸46'より Hans-Dicker 反応（四塩化炭素中、50~60℃、50分間）にてプロモ体47を得（収率 45%）、これをリチオ化後（ether 中、還流条件、70分間）、真空ライン反応装置中にて、barium [¹⁴C] carbonate (48) に濃硫酸を滴下して発生させた [¹⁴C] carbon dioxide と反応させることにより¹⁴C 標識カルボン酸46を得たが、本法は放射化学的に実質 1 工程であり、46の放射化学的収率も48より 82% で、良好であった。この簡便な¹⁴C 標識法の適用が可能となったのは、菊酸と異なりカルボン酸46'が不飽和結合を有さず、プロモ体47の調製が比較的容易であったことに起因する。

(B) シクロプロピル炭素の¹⁴C標識化⁸⁾

菊酸の場合(1-1 [B] Fig. 7)と同様、カルベン付加による三員環形成反応(Fig. 3, 方法I)を用いて、2,2,3,3-tetramethyl [1-¹⁴C]-cyclopropanecarboxylic acid (50) を合成した(Fig. 17)。

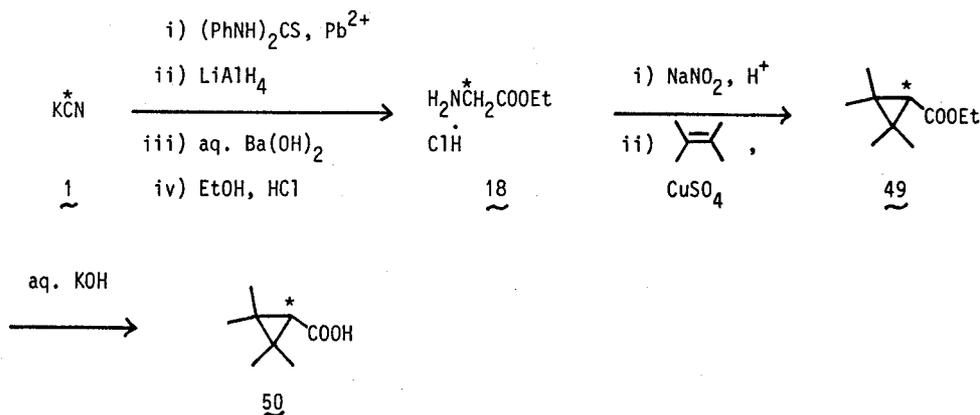


Fig. 17 Synthesis of 2,2,3,3-tetramethyl[1-¹⁴C]cyclopropanecarboxylic acid

すなわち、potassium [¹⁴C] cyanide (1) より4工程を経て調製した ethyl [2-¹⁴C] glycinate hydrochloride (18) (通算収率 31%) を、ジアゾ化(2,3-dimethyl-2-butene-水中、5~10℃、3分間)し、2,3-dimethyl-2-butene と無水硫酸銅触媒下に縮合(75~85℃、40分間)、粗生成物をカラムクロマト精製することにより、放射化学収率 45% で ethyl 2,2,3,3-tetramethyl [1-¹⁴C] cyclopropane carboxylate (49) を得た。エステル49を水酸化カリウム水にて加水分解(methanol 中、還流条件、2時間)して、目的の¹⁴C標識カルボン酸50とした(収率 97%)。50の通算収率は、18より 44% (1より14%)であった。

なお、三員環形成反応の収率(45%)が菊酸の場合(81%)と比較して低くなった原因としては、この場合に使用したオレフィン(2,3-dimethyl-

2-butene) が菊酸の場合 (2, 5-dimethyl-2, 4-hexadine) よりも低沸点であるため、後者の場合 (140℃) ほど高い反応温度が適用できず、そのためにジアゾ中間体のカップリング等の副反応の比率が増大したことが考えられた。

第2節 2-(4-クロロフェニル)-3-メチル酪酸^{41), 42)}

シクロプロパン部分を持たない、所謂、非菊酸系ピレスロイドの酸成分として開発された2-フェニルアルカン酸類の中で、最も有効であったのが2-(4-クロロフェニル)-3-メチル酪酸〔2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyric acid〕⁴³⁾であった。その α -シアノ-3-フェノキシベンジルエステルであるフェンバレレート (fenvalerate)、及び、その酸、アルコール両成分が共にS配置の光学活性体 (fenvalerate A α) は、究めて有効で安全な農業用殺虫剤として、今日、世界的に広く使用されようとしている。本節では、この酸成分のカルボキシル及びフェニル¹⁴C標識体の合成法と有効成分(+)-(2S)体の取得法について述べる。

ところで、2-(4-クロロフェニル)-3-メチル酪酸は、ベンジル炭素を不斉中心として、クロロフェニル、イソプロピル、カルボキシルの3部分から構成されている。従って、Fig. 18に示した様に、逆合成的手法によって導き出される¹⁴C標識化法も3種に大別される。

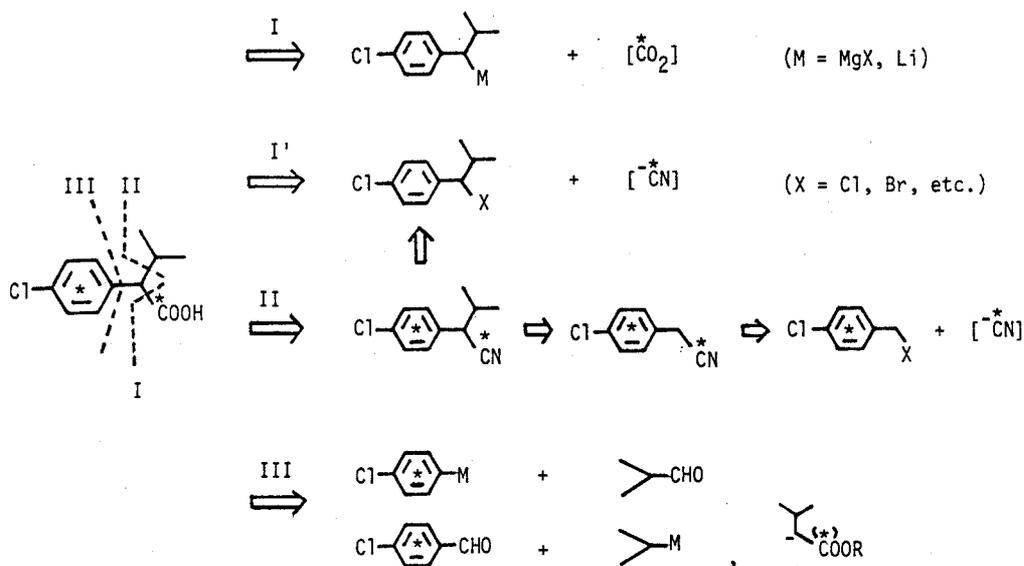


Fig. 18 Retrosynthetic analysis of 2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyric acid for ^{14}C -labelling

方法 I、I' は、カルボキシル基、或いは、その前駆基であるシアノ基を基本骨格に導入するものであり、カルボキシル ^{14}C 標識体の合成に最適と考えられる。方法 II は大量製法⁴³⁾ に基づいたもので、クロロベンジル部分を母核として、逐次修飾していく方法である。本法は、カルボキシル、フェニル、ベンジル- α 炭素等何れの ^{14}C 標識化にも適用可能と考えられるが、カルボキシル標識法としては、前述の方法 I、I' よりはやや効率的ではない。方法 III は、クロロフェニル母核等に総てを備えた置換基を導入しようとするものであり、フェニル ^{14}C 標識体の合成法として有利と考えられる。

以上の考察に基づいて種々実験検討を重ねた結果、方法 I、I'、及び III は実用的標識体調製法とはならないことが明らかとなった。そこで、方法 II に従うことにより、カルボキシル及びフェニル ^{14}C 標識体の合成に成功した。

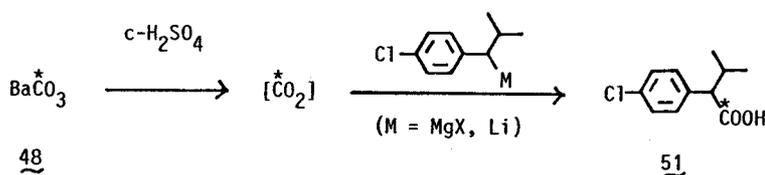
一方、 ^{14}C 標識化した 2-(4-クロロフェニル)-3-メチル酪酸の光学分割に関しては、常法の光学活性アミン塩の分別晶析法により所期の目的((+) - (2S) 体の取得) を達成すると共に、 α -シアノ-3-フェノキシベンジ

ルエステル（フェンバレレート）として、HPLC分取、分割する手法についても確立した。（フェンバレレートのHPLCによる分割法については、第3章で詳述する。）

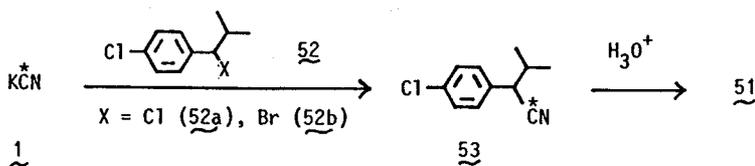
〔A〕 カルボキシル炭素の¹⁴C標識化

Fig. 18 に示した逆合成的戦略（方法 I , I ' , 及び II ）に基づいて、2 - (4 - chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - ¹⁴C] butyric acid (51) の合成ルートとして、以下の 3 種を考案した (Fig. 19) 。

Route A (based on Method I):



Route B (based on Method I'):



Route C (based on Method II):

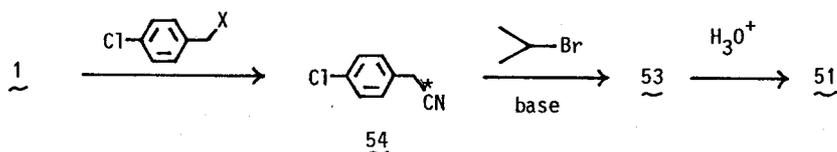


Fig. 19 Plausible synthetic routes to carboxyl-labelled 2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyric acid

各ルートの実験検討は、放射化学的に有利と考えられる順、すなわち、Route A, B, Cの順に行った。

Route A, B において標識化の母体となる 1-(4-chlorophenyl)-2-methylpropyl halides (52a, 52b) は、Fig. 20 に示した方法により合成した。

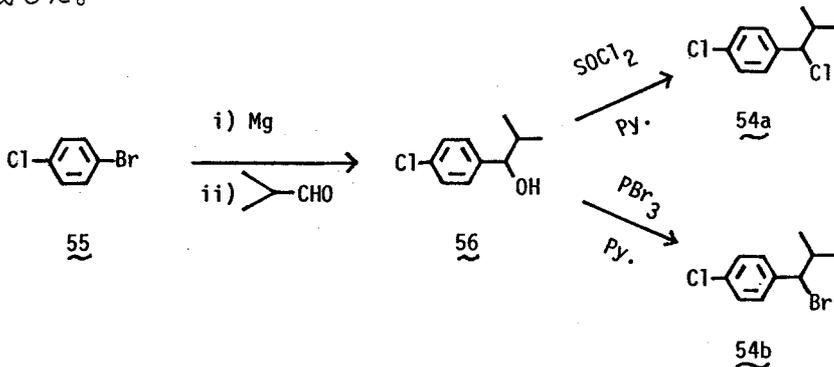


Fig. 20 Syntheses of 1-(4-chlorophenyl)-2-methylpropyl halides

すなわち、*p*-chlorobromobenzene より調製 (ether 中、還流条件、1 時間) した Grignard 試薬に isobutyraldehyde を反応 (還流条件、1 時間) させることにより、収率 91% でアルコール 56 を得た。56 は、thionyl chloride-pyridine にてクロル化 (-5℃, 2 時間; 室温, 2 時間) することにより、定量的に 1-(4-chlorophenyl)-2-methylpropyl chloride (54a) に変換した。一方、56 を tribromophosphine-pyridine にて処理 (-5℃, 2 時間; 室温, 2 時間) することにより、単離収率 42% で 1-(4-chlorophenyl)-2-methylpropyl bromide (54b) を得た。なお、56 のブロム化では、脱水生成物であるスチレン誘導体の副生 (40~50%) が起こり、54b の収率を低下させた。

以上の様にして合成したハロゲン化物 54a, 54b を用いて、Route A 及び B (Fig. 19) を検討した。Route A に関しては、54a 或いは 54b より

調製した Grignard 試薬に、室温にて炭酸ガスを反応させたが、目的とするカルボン酸51は殆ど得られなかった。この原因は、Grignard 試薬が不安定であるためと推測されたが、このことはスチレン体が大量に生成したことから支持された。一方、Route B に関しては、クロル体54aの potassium [^{14}C] cyanide (1) による ^{14}C -シアノ化を、種々の極性溶媒中にて検討したが、低収率であった。1に対し5当量の54aを用いた場合 (dimethyl sulfoxide 中、110~120℃、4時間) に、シアノ体53がある程度実用的な収率 (1基準で 38%) で得られたが、収率的にも純度的にも不満足であった。なお、プロモ体54bのシアノ化は、脱臭化水素反応のために、クロル体54aを用いた場合よりも更に低収率であった。

以上の結果より、Route A 及び B の適用を断念し、Route C を採用することに決定した。本ルートによる (2*S*)-2-(4-chloro-phenyl)-3-methyl [$1-^{14}\text{C}$] butyric acid (57) の合成の概要を Fig. 21 に示した。

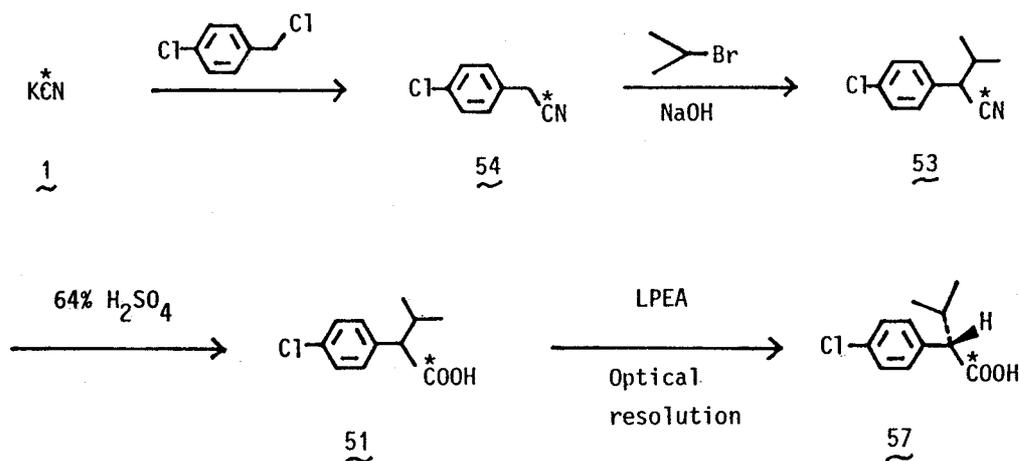


Fig. 21 Synthesis of (2*S*)-2-(4-chlorophenyl)-3-methyl-
[$1-^{14}\text{C}$]butyric acid

p-Chlorobenzyl chloride の¹⁴C-シアノ化による 2-(4-chloro-phenyl) [1-¹⁴C] acetonitrile (54) の合成に関して、種々の条件を検討した。代表的な結果を比較して Table 14 に示した。

Table 14 Optimization of ¹⁴C-cyanation for the synthesis of 2-(4-chlorophenyl)[1-¹⁴C]acetonitrile

Entry No.	Reaction condition*1)			Yield of the nitrile <u>54</u> [%]*3)
	Solvent	Catalyst*2)	Temp. [°C] Time [hr]	
1	H ₂ O	TBAB*4)	90 - 95 3	87
2	H ₂ O	BTAC*5)	90 - 95 3	31
3	C ₆ H ₆ -H ₂ O (1/1 v/v)	BTAC*5)	reflux 3	1
4	CHCl ₃ -H ₂ O (1/1 v/v)	TBAB*4)	reflux 3	41
5	DMF-H ₂ O (1/1 v/v)	-	90 - 95 3	90

*1) KCN (1) 5 mmol, ClC₆H₄CH₂Cl 5 mmol, solvent 10 ml.

*2) 1.0 mol%.

*3) Radiochemical yields based on 1.

*4) Tetra-n-butylammonium bromide.

*5) Benzyltriethylammonium chloride.

検討の結果、dimethylformamide (DMF) - 水中にて均一系でシアノ化を行うのが、最も効率的であることが明らかとなった (Entry 5)。なお、相間移動触媒を用いた二相系反応についても良好な条件 (Entry 1) を見出したが、その場合、有機相としては、炭化水素よりもハロゲン系極性溶媒の方が良好であり、更には、疎水性溶媒無しで有機相は p-chlorobenzyl chloride のみとした場合が最も高収率であった。また、相間移動触媒に関しては、テトラアルキルアンモニウム塩の方が、芳香族アンモニウム塩よりも有効であった。本合成には、小スケールのための不均化による反応阻害の可能性を考慮して、Entry 5 の均一条件を採用し、カラムクロマト精製後の放射化学的収率 80% で 2 - (4-chlorophenyl) [1-¹⁴C] acetonitrile (54) を得た。

得られたニトリル54のベンジル位イソプロピル化については、最初に常法の無水系反応⁴⁴⁾を検討した。すなわち、窒素雰囲気下、無水DMF中にて、54に sodium hydride を作用させてベンジル位をアニオン化し、次いで isopropyl bromide を反応した。その結果、ジイソプロピル化を受けた生成物58が生成し、これと所期のモノイソプロピル化物53との分離が困難であったために、53の単離収率は 60% 以下となった。58の副生原因としては、小スケールのために sodium hydride の当量制御が困難であり、反応終期に増加する53のアニオン化を回避出来なかったことにあると考えられた (Fig. 22)。

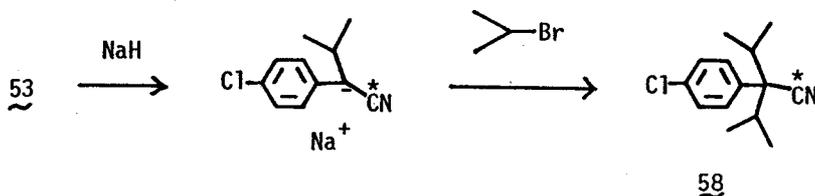


Fig. 22 A plausible mechanism of production of the diisopropylated nitrile

そこで、やや反応速度が小さくてジアルキル化の制御が容易な二相系反応⁴⁵⁾を検討した。すなわち、45% 水酸化ナトリウム水中、相間移動触媒 (benzyltriethylammonium chloride, BTAC) 存在下、50~60℃ にて、過剰 (1.5~2.0 当量) の isopropyl bromide をニトリル $\underline{54}$ と反応させた。その結果、所期のモノイソプロピル体 $\underline{53}$ が好収率で得られ、ジイソプロピル体 $\underline{58}$ は殆ど生成しなかった。一方、非放射性ケトン体 $\underline{59}$ の副生 (約10%) が新たに認められたが、これは生成した $\underline{53}$ がゆっくりとアニオン化され、次いで酸素付加-脱シアノ化反応を受けて生成したものと推測された (Fig. 23)。そこで、本反応を窒素雰囲気下で行うことにより、ケトン体 $\underline{59}$ の生成による $\underline{53}$ の収率低下を抑制した。 $\underline{59}$ はカラムクロマトにより容易に除去され、その結果、単離収率 80% で目的とする 2-(4-chloropenyl)-3-methyl [1-¹⁴C]-butyronitrile ($\underline{53}$) が得られた。

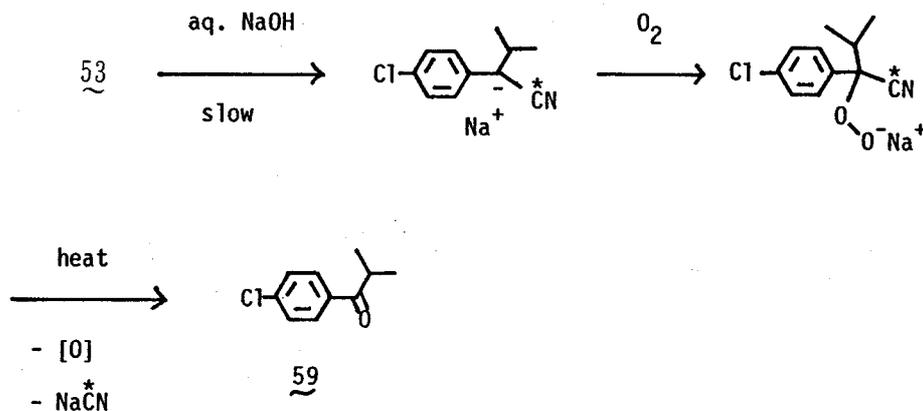


Fig. 23 A plausible mechanism of production of the non-radioactive ketone impurity

イソプロピル化したニトリル53を、64% 硫酸中にて加熱、加水分解 (150 ~ 155℃、8 ½ 時間) することにより、定量的に 2-(4-chlorophenyl)-3-methyl [1-¹⁴C] butyric acid (51) に変換した。この加水分解に関しては、硫酸濃度が 60% 以下では加水分解速度が著しく遅く、また、高濃度の硫酸及び高温条件 (160℃以上) を使用した場合には、分解反応が顕著であった。反応時間は 6 時間以上を必要としたが、これは特にアミド中間体60の加水分解反応速度がニトリル53と同程度かそれ以上に遅かったためであった (Fig. 24)。

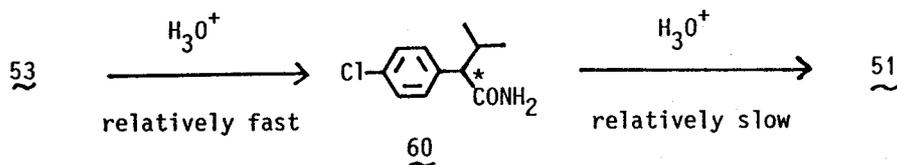


Fig. 24 Hydrolysis of 2-(4-chlorophenyl)-3-methyl [1-¹⁴C]butyronitrile to the acid via the amide intermediate

以上の様にして (Fig. 21)、potassium [¹⁴C] cyanide (1) より通算収率 63% で、カルボニル炭素を¹⁴C 標識したラセミカルボン酸51を合成した。

カルボン酸の光学分割法としては、光学活性アミンの塩としてジアステレオマー化し、分別晶析する方法が一般的であるが、非放射性的51に関して、*l*-1-phenylethylamine (LPEA) が有効であることが知られていた。⁴⁶⁾ そこで、このLPEAを使用して、¹⁴C 標識酸51を小スケール (5 mmol以下) で分割するために、種々の晶析条件を検討した (Table 15)。

Table 15 Optimization of recrystallization condition of the LPEA salt for the optical resolution of 2-(4-chlorophenyl)-3-methylbutyric acid on a small scale

Entry No. *1)	Molar ratio LPEA / <u>51</u>	Recrystallization method *2)	(+)-(2S) Acid obtained (<u>57</u>)		
			Yield [%] *3)	$[\alpha]_D^{25}$ *4)	Optical purity [%] *5) (d / l)
1	0.93	A	26	+ 47.3°	96.9 (98.4/1.6)
2	0.65	A	21	+ 45.7°	93.6 (96.8/3.2)
3	0.65	B	35	+ 43.9°	90.0 (95.0/5.0)
4	0.65	C	24	+ 46.2°	94.6 (97.3/2.7)
5	0.65	C'	25	+ 44.2°	90.6 (95.3/4.7)
6	0.65	D	28	+ 47.2°	96.7 (98.3/1.7)

*1) Entry 1 - 51: 15 mmol; Entry 2 - 6 - 51: 5 mmol.

*2) A: recrystallized twice from 80% isopropanol solution with stirring; B: recrystallized once from 80% ethanol solution with stirring; C: recrystallized from 80% ethanol solution first and from 80% n-butanol solution with stirring [C': without stirring]; D: recrystallized twice from 80% ethanol solution with stirring.

*3) Based on the racemic acid (51); corresponding to radiochemical yields (theoretical yields x 1/2).

*4) Optical rotations were measured in chloroform (c = 0.85 - 1.66) at 25 °C and corrected on the basis of the following equation:

$$[\alpha]_D^{25} = 48.92 - 0.102 \cdot c$$

where $[\alpha]_D^{25} = + 48.3^\circ$ (c = 6.00) for the optically pure (+)-(2S) acid (57)

*5) Based on optical rotations ($[\alpha]_D^{25}$).

その結果、ジアステレオマー塩 (51 · LPEA) の分別晶析溶媒としては 80% ethanol が最適であること、LPEA の使用量は半当量よりやや過剰 (65 mol%) で十分であること、静置条件よりも穏やかな攪拌下に晶析した方が、より高い光学純度を有するものが得られること等が明らかとなった。そこで、Table 15 の至適条件 (Entry 6) に従い、ラセミ酸51をLPEA 塩として 80% ethanol より 2 回再結晶 (還流下溶解、室温まで攪拌下放冷、1 時間)、得られた結晶を希塩酸で分解、ether 抽出することにより、放射化学的収率 30% で光学純度 97% の (+) - (2S) - 2 - (4-chlo-

rophenyl) - 3 - methyl [1 - ^{14}C] butyric acid (57) を得た。通算の放射化学的収率は、1より 19% であった。

一方、上記の晶析における母液より回収された (-) - (2R) 体に富む酸は、40% 水酸化カリウム水中にて加熱 (150~155℃、16時間、収率84%) してラセミ化し、再度分割に供した。

ところで、51の光学分割法として、最近、光学活性 1 - phenyl - 2 - p - tolylethylamine (PTE) (1-1, [A] 参照) を用いた方法や⁴⁷⁾ diethylamine の塩として優先晶析する方法⁶⁾ も報告されたが、いずれも上述の LPEA 法を凌駕するものではないと推測される。

一方、著者は、51の α - シアノ - 3 - フェノキシベンジルエステルであるフェンバレレート (fenvalerate) について、光学活性 HPLC 分取法による 4 異性体分離法、及びその酸またはアルコール部分のみ光学活性なものの効率的なジアステレオマー分離法を確立した。これにより、51の両光学異性体の調製がより容易となった (第3章に詳述)。

(B) フェニル炭素の ^{14}C 標識化

(2S) - 2 - (4 - Chloro [U - $^{14}\text{C}_n$] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (64) の合成経路を Fig. 25 に示した。

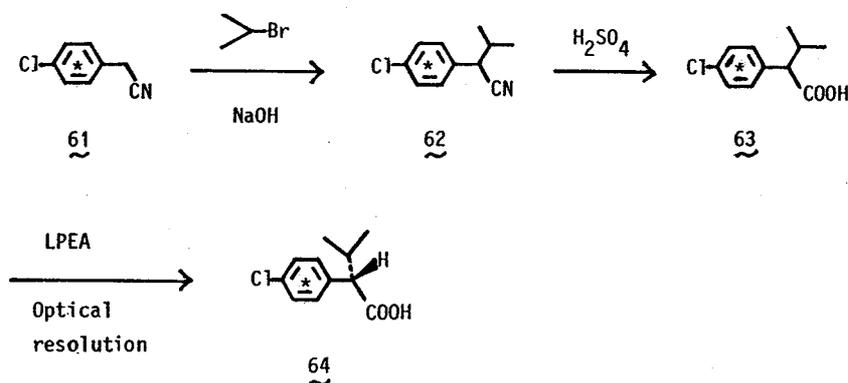


Fig. 25 Synthesis of (2S)-2-(4-chloro[U- $^{14}\text{C}_n$]phenyl)-3-methylbutyric acid

出発物質は、Pichat 等⁴⁸⁾ により、Fig. 26 の経路に従って合成された 2-(4-chloro [U-¹⁴C_n] phenyl) acetonitrile (61) を用いた。

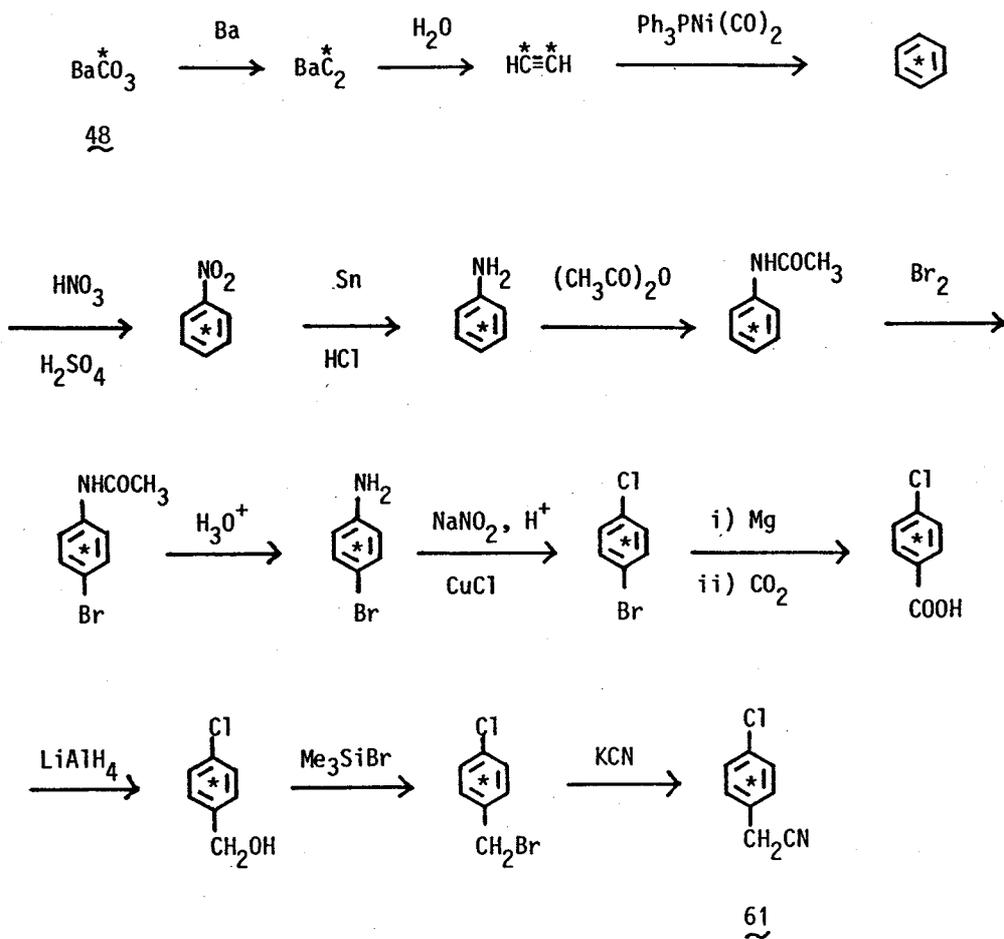


Fig. 26 Synthesis of 2-(4-chloro[U-¹⁴C_n]phenyl)-acetonitrile by Pichat et al.

フェニル炭素¹⁴C標識カルボン酸63及びその光学活性体64の調製 (Fig. 25) は、カルボキシル¹⁴C標識体の場合 (Fig. 21) と全く同一の方法を用いて行った。

すなわち、ニトリル 61 を、窒素雰囲気下、50%水酸化ナトリウム水中、相間移動触媒 B T A C 存在下にて isopropyl bromide (2, 2 当量) でアルキル化し (50~55℃, 6 時間), 粗生成物をカラムクロマト精製することにより、放射化学的収率 68% で 2 - (4 - chloro [U - ¹⁴Cn] phenyl) - 3 - methylbutyronitrile (62) を得た。62 を 64% 硫酸中にて加水分解 (145 ~ 150℃, 7 時間) 後、酸 - アルカリ精製に付すことにより、放射化学的収率 97% で 2 - (4 - chloro [U - ¹⁴Cn] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (63) を得た。ラセミカルボン酸 63 は、L P E A (0.7 当量) の塩とし、80% ethanol より分別晶析 (還流下溶解 → 室温、2 回) することにより光学分割した。最終的に得られた L P E A 塩結晶を 5% 塩酸にて分解後 ether 抽出することにより、放射化学収率 29% (理論量の 58%) で光学純度 98% の (+) - (2 S) - 2 - (4 - chloro [U - ¹⁴Cn] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (64) が得られた。光学活性カルボン酸 64 の放射化学的通算収率は、61 より 19% であった。

第 1 部 第 1 章に関する実験

本研究において使用した主な分析測定機器類は以下の通りである。

1. ラジオ薄層クロマトグラフィ (R T L C)

展開プレート : Silica Gel 60 F₂₅₄ (0.25mm thickness, Merck)

スキャナー : Thin Layer Chromatogram Scanner 101 U (Aloka)

2. ラジオガスクロマトグラフィ (R G C)

ガスクロマトグラフ : Yanaco G-80 または G-180

(F I D, 柳本製作所)

放射能検出器 : R D - 4 Gas-flow G M - counter (Aloka)

カラム : ガラス製 (3 mm I D)

3. ラジオ高速液体クロマトグラフィ (R H P L C)

高速液体クロマトグラフ : Model 6000 Liquid Chromatograph (Waters)

または L C - 3 A (島津製作所)

紫外吸収検出器 : Model 440 Fixed U V - Detector (Waters) または

S P D - 2 A U V - Detector (島津)

放射能検出器 : R L C - 551 Radioanalyzer (Aloka)

カラム : ステンレス製 (4 mm I D)

分析温度 : 室温

4. 放射能測定

液体シンチレーションカウンター : Model Tri-Carb 3375 または 460

(Packard)

液体シンチレーター : Permafluor I (Packard)

5. 重量測定

直示天秤 : Model H - 20 (Mettler)

6. 融点測定 (未補正)

装置: ヤナコ微量融点測定器 (柳本)

7. ^1H -核磁気共鳴吸収スペクトル (NMR) 測定

スペクトロメーター: R-40 (90 MHz) または R-24B (60 MHz)

NMR Spectrometer (日立製作所)

内部標準: tetramethylsilane (TMS)

測定温度: 室温

8. 赤外吸収スペクトル (IR) 測定

スペクトルメーター: Jasco IR-2A (日本分光)

測定温度: 室温

9. ガスクロマトグラフィーマススペクトロメトリー (GC-MS)

ガスクロマトグラフィーマススペクトロメーター: LKB-9000 (島津)

データ処理コンピュータ: PAC-300-DGB (島津)

イオン化: 電子衝撃法 (EI) (エネルギー70 または 12 eV)

10. 旋光度測定

旋光計: DIP 181 Polarimeter (日本分光) または Madel 241 Polarimeter (Perkin-Elmer)

N - [¹⁴C] Cyanomethylphthalimide (3) の合成

Potassium [¹⁴C] cyanide (1) (300 mCi, 25.0 mCi/mmol, 12.0 mmol) の無水 methanol (30 ml) に N-chloromethylphthalimide (2) (2.49 g, 12.3 mmol) の無水 dioxane (2.3 ml) を添加し、室温にて1時間攪拌。溶媒を減圧留去後、残渣に水を加えて希釈し、chloroform 抽出。抽出層を水洗、乾燥 (Na₂SO₄)、減圧留法して粗生成物 (黄色固体) を得、これをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene-methanol 100/0-95/5 v/v) することにより、RTLC 純度 99% の N - [¹⁴C] cyanomethylphthalimide (3) (237 mCi, 1.59 g, 8.53 mmol) を得た。

RTLC : chloroform, R_f 0.14

IR (ν_{max}, cm⁻¹, CHCl₃) : 1610 (aromatic), 1725 & 1775
(imido carbonyl)

NMR (δ, ppm, CDCl₃) : 4.46 (2H, s, -CH₂CN), 7.60
-7.92 (4H, m, aromatic H)

[1 - ¹⁴C] Glycine hydrochloride (4) の合成

N - [¹⁴C] Cyanomethylphthalimide (3) (237 mCi, 1.59 g, 8.53 mmol) を水 (12.6 ml) - 濃塩酸 (11.7 ml) - 酢酸 (10.8 ml) の混液に溶解し、還流条件下に15時間攪拌。反応混合物を減圧乾固した後、acetone 洗浄、濾取、乾燥することにより、RTLC 純度 99% の [1 - ¹⁴C] glycine hydrochloride (195 mCi, 782 mg, 7.01 mmol) を得た。

RTLC : n-butanol / acetic acid / water = 4 / 1 / 1 (v/v/v),
R_f 0.14 ; 70% ethanol, R_f 0.33

Ethyl [1 - ¹⁴C] glycinate hydrochloride (5) の合成

塩化水素ガス導入管を装着した反応容器に [1 - ¹⁴C] glycine hydro -

chloride (4) (195 mCi, 782 mg, 7.01 mmol) と無水 ethanol (32.3 ml) の混合物を仕込み、乾燥した塩化水素ガスを吹き込みつつ、70-80℃にて2時間攪拌。不溶物を熱時濾過にて除去して得られた溶液を10mlまで濃縮、これに、攪拌下、ether (100ml) をゆっくりと滴下して晶析。析出した白色結晶を濾取し、ether 洗浄後、更に ethanol から再結晶することにより、R T L C 純度 99% 以上の ethyl [1-¹⁴C] glycinate hydrochloride (5) (188 mCi, 943 mg, 6.76 mmol) を得た。

R T L C : n-butanol / acetic acid / water = 4 / 1 / 1 (v / v / v), R_f 0.36

I R (ν_{max}, cm⁻¹, nujol) : 1740 (C=O)

N M R (δ, ppm, D M S O - d₆) : 1.26 (3 H, t, J = 7 Hz, -CH₂-CH₃), 3.75 (2 H, s, -N-CH₂-CO-), 4.20 (2 H, g, J = 7 Hz, -CH₂-CH₃), 8.03 (3 H, bS, -NH₃)

Ethyl [carbonyl-¹⁴C] chrysanthemate (6) の合成

Ethyl [1-¹⁴C] glycinate hydrochloride (5) (188 mCi, 943 mg, 6.76 mmol), sodium acetate (7.9 mg), sodium nitrite (698 mg, 10.1 mmol) の水 (3.36 ml) 溶液、及び 2,5-dimethyl-2,4-hexadiene (1.68 ml) の混合物に、15℃にて攪拌下、10% 硫酸 (0.168 ml) を滴下し、同温にて5分間攪拌。静置後、有機層と分離し、水層を 2,5-dimethyl-2,4-hexadiene (2.2 ml × 3) にて抽出。有機層及び抽出層を合わせて無水硫酸ナトリウムのカラムを通し、ethyl diazo [1-¹⁴C] acetate の乾燥溶液を得た。この溶液を、2,5-dimethyl-2,4-hexadiene (2.41 ml) と銅粉 (80.4 mg) の混合物 140℃で攪拌したものに滴下(約5分間)。滴下終了後、140-150℃にて20分間攪拌。冷却後、反応混合物をカラムクロマト精製 (silica gel, petroleum ether-ethyl ether 100/0-90/10 v/v) に付し、主画分を常圧濃縮

することにより、R T L C 純度 99% , G C 上 cis/trans = 34/66 の ethyl [carbonyl-¹⁴C] chrysanthemate (6) (153 mCi, 1.08 g, 5.49 mmol ; 淡黄色オイル) を得た。

R T L C : n - hexane / benzene = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.30

G C : Silicone D C Q F - 1 W C O T (32 m × 0.25 mm I D) , 120 ° C ,

He 0.70 ml / min , R T [min] : 8.2 (cis) and 9.1 (trans)

I R (ν_{max}, cm⁻¹, liquid film) : 1725 (C = O)

d, l - cis , trans - [carbonyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (7) の合成

Ethyl [carbonyl-¹⁴C] chrysanthemate (6) (153 mCi, 1.08 g, 5.49 mmol) の ethanol (5.40 ml) 溶液に水酸化ナトリウム (765 mg, 19.2 mmol) の水 (1.48 ml) 溶液を添加し、還流条件下に2時間攪拌。冷却後、ethanol を減圧留去、残渣を水で希釈後、ether にて洗浄。塩基性水層に濃塩酸を滴下して酸性化後、ether 抽出。抽出液を水、飽和食塩水にて洗浄、乾燥 (Na₂ S O₄) した後、減圧留去することにより、R T L C 純度 99% (cis/trans = 34/66) の [carbonyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (7) (150 mCi, 5.40 mmol) を得た。

R T L C : isopropyl acetate saturated with 10% aq. ammonia /

methanol = 3 / 1 (v / v) , R_f : cis (8) 0.24, trans

(9) 0.17 ; chloroform / methanol = 9 / 1 (v / v) , R_f :

cis (8) 0.57, trans (9) 0.48

[carbonyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (7) の立体異性体分離

cis , trans - [carbonyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (7) (90.0 mCi, 544 mg, 3.24 mmol) をカラムクロマト (Merck Silica Gel 60, 70-230 mesh, 40 cm × 3 mm I D) に付し、最初に isopropyl acetate saturated with 10% aq.

ammonia-benzene (10/1 v/v) で溶出して cis 体を含む画分を得、次に、isopropyl acetate saturated with 10% ag. ammonia-methanol (10/3 v/v) で溶出して trans 体を含む画分を得た。各々の立体異性体のみから成る画分を集めて濃縮、得られたアンモニウム塩残渣に 5% 塩酸を加えて酸性化し、ether 抽出した。各々の ether 抽出液を、水及び飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムにて乾燥、減圧留去することにより、R T L C 所見の立体異性体純度が共に 99% 以上の cis-7 (8) (27.3 mCi, 164 mg, 0.978 mmol) 並びに trans-7 (9) (51.3 mCi, 310 mg, 1.85 mmol) を得た。

N M R (δ , ppm, C D C l₃) :

cis-7 (8) : 1.21 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.25 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.56-2.10 (8 H; 2 s, d and d-d, vinyl methyl H and cyclopropyl H), 5.35 (1 H, d-m, J = 7 Hz, vinyl H), 10.90 (1 H, bs, -C O O H)

trans-7 (9) : 1.11 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.30 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.70 (6 H; bs, vinyl methyl H), 1.87-2.40 (2 H, m, cyclopropyl H), 4.87 (1 H, d-m, J = 7 Hz, vinyl H), 12.40 (1 H, bs, -C O O H)

cis - [carboxyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (8) の光学分割 [(1R) - cis 体 10 の調製]

cis - [carboxyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (8) (23.7 mCi, 164 mg, 0.978 mmol) の acetone (1.0 ml) 溶液に、窒素雰囲気中攪拌下、d-1-phenyl-2-p-tolyethylamine (207 mg, 0.978 mmol) の acetone (0.7 ml) 溶液を滴下、ジアステオマー塩を形成した。還流条件にて、攪拌下、ace-

tone を追加して完溶した後、穏やかに攪拌しながら室温まで放冷（14時間）。析出した白色結晶を濾取、acetone 洗浄した後、同様の手法で更に2回再結晶（放冷晶析6時間）。最終的に得られたアンモニウム塩結晶を5%水酸化ナトリウム（40 ml）中にて分解し、ether 洗浄にて遊離アミンを除去。得られた塩基性水層に濃塩酸を滴下して酸性（pH 1~2）とし、ether 抽出。ether 層を水及び飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥後、減圧留去することにより（1R）-cis-[carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (10) (7.95 mCi, 46 mg, 0.8 mmol, $[\alpha]_D^{25}$ (c=3.28, CHCl₃) +84.7°) を得た。光学活性酸 10 の一部を d-2-octanol のエステルに誘導してGC分析（後述）した結果、10 の光学純度は98.2%であった。

trans - [carboxyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (9) の光学分割 [(1R) - trans 体 11 の調製]

乾燥窒素雰囲気下、trans - [carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (9) (51.3 mCi, 310 mg, 1.85 mmol) の無水 ethanol (1.0 ml) 溶液に quinine (604 mg, 1.87 mmol) を添加、60-70℃ に加熱溶解した後、穏やかに攪拌しながら室温まで放冷して晶析（6時間）。析出した結晶を濾別、ethanol (0.4 ml) 洗浄して得られた濾液を減圧留去。残渣に5%塩酸を加えて分解後、ether 抽出。ether 層を水洗、減圧留去することにより、(1R)体が濃縮されたカルボン酸 (33.5 mCi, 203 mg, 1.21 mmol) を得た。この酸を70% methanol (0.4 ml) に溶解し、窒素雰囲気下、d-1-phenyl-2-p-tolyl-ethylamine (257 mg, 1.21 mmol) の70% methanol (1.1 ml) 溶液を添加。80-85℃ に加熱しながら、生成した塩が完溶するまで70% methanol を添加。完溶後、穏やかな攪拌下に室温まで放冷して晶析（2時間）。得られた結晶を、同様の方法で更に2回再結晶。最終的に得られた結晶を5%水酸化ナトリウム中にて分解し、ether 洗浄。塩基性水層に濃塩酸を滴下して酸析、ether 抽

出。ether 層を水及び飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧留去することにより、(1R)-trans-[carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (11) (10.5 mCi, 64 mg, 0.38 mmol, $[\alpha]_D^{25}$ (c = 4.85, CHCl₃) +26.4°) を得た。11 の一部を d-2-octanol のエステルに誘導、GC 分析 (後述) した結果、その光学純度は 98.6% であった。

光学純度分析のための d-2-octyl [¹⁴C] chrysanthemate の調製

光学活性な [¹⁴C] chrysanthemic acid (10, 11) (1.5 mg), pyridine / toluene (1.0 mg / 50 μ l), thionyl chloride / toluene (4.2 mg / 50 μ l) から成る混合物を、95-100℃ にて20分間振盪した。得られた反応混合物をそのまま下記の GC 分析に供し、4種のジアステレオマーエステルの比を測定した。

GC : カラム Silicone DCQF-1 WCOT (32 m \times 0.25 mm ID),
カラム温度 165℃, キャリヤーガス He 0.7 ml / min ;
RT [min] : (1R)-cis 9.2, (1S)-cis 9.7 ,
(1R)-trans 10.3, (1S)-trans 10.8

なお、天然ピレトリンを加水分解して得られる光学純度 100% の (1R)-trans-chrysanthemic acid を用いることにより、使用した d-2-octanol の光学純度を上記と同様の方法で決定、10, 11 に関する測定結果を補正した。

α -Bromo- β -naphthyl d, l-cis, trans-[carbonyl-¹⁴C]-chrysanthemate (13) の合成

[carboxyl-¹⁴C] Chrysanthemic acid (7) (66.0 mCi, 40.1 mCi / mmol, 1.64 mmol) の無水 n-pentane (5.0 ml) 溶液に oxalyl chloride (1.20 ml, 1.79 g, 14.1 mmol) を添加し、室温にて2時間攪拌、減圧留去すること

により、[carbonyl- ^{14}C] chrysanthemoyl chloride (12) (黄色オイル)を得た。この酸クロリドを無水 benzene (5.0 ml) に溶解、これに α -bromo- β -naphthol (442 mg, 1.98 mmol) 及び無水 pyridine (280 mg, 3.55 mmol) の無水 benzene (5.0 ml) 溶液を添加、室温にて1.5時間攪拌。反応混合物を5% 塩酸にて希釈した後、ether 抽出。ether 層を水、5% 水酸化ナトリウム、水、飽和食塩水等で順次洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥後、減圧留去することにより、R H P L C 及び R T L C 所見上の純度 99% のエステル 13 (65.3 mCi, cis/trans = 36.8/63.2) を得た。

R T L C : benzene, R_f 0.55 ; n-hexane/ethyl acetate = 20/1
(v/v), R_f 0.34

R H P L C : Sumipax O A -2000 (5 μm , 25cm) n-hexane/1,
2-dichloroethane = 20/1 (v/v) 0.8 ml/min,
monitored by UV (254 nm) ; R T [min] : (1 R) -
cis (13 a) 12.2, (1 S) -cis (13 b) 13.4, (1 R) -
trans (13 c) 15.1, (1 S) -trans (13 d) 17.4

N M R (δ , ppm, CDCl_3) :

cis-13 : 1.31 (6 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.71 &
1.74 (6 H, 2 s, vinyl methyl H), 1.99-2.25
(2 H, m, cyclopropyl H), 5.25-5.49 (1 H,
m, vinyl H), 7.09-8.27 (6 H, naphthyl H)

trans-13 : 1.29 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.43
(3 H, s, cyclopropyl methyl (H), 1.78 (6 H,
b s, vinyl methyl H), 2.14-2.39 (2 H, m,
cyclopropyl H), 4.84-5.19 (1 H, m, vinyl
H), 7.14-8.36 (6 H, m, naphthyl H)

光学活性 H P L C による α -bromo- β -naphthyl [carbonyl- 14 C] - chrysanthemate (13) の 4 異性体分離

α -Bromo- β -naphthyl d, l-cis, trans- [carbonyl- 14 C] chrysanthemate (13) (65.3 mCi, 1.63 mmol, 608 mg) を n-hexane/chloroform (1/1 v/v, 7.3 ml) に溶解し、その溶液の 120 μ l (13 10 mg) ずつを分取 H P L C [Sumipax O A-2000 column (10 μ m, 8mm I D \times 25cm \times 2 + 5 μ m, 8mm I D \times 25cm \times 2) ; n-hexane/1.2-dichloroethane/ethanol (500/30/0.3 v/v/v) as the solvent with a flow rate of 4.95 ml/min ; at room temp ; monitored by U V absorbance at 254 μ m] に注入。(1 R)-cis 体 (13 a) (保持時間 21.5 min), (1 S)-cis 体 (13 b) (保持時間 23.5 min), (1 R)-trans 体 (13 c) (保持時間 24.2 min) 及び (1 S)-trans 体 (13 d) (保持時間 27.3 min) の各々を含むフランクションを集め、溶剤を減圧留去することにより、4 種の光学活性エステル 13 a (10.2 mCi, 光学純度 100%)、13 b (11.3 mCi, 光学純度 99.1%)、13 c (19.7 mCi, 光学純度 100%) 及び 13 d (19.0 mCi, 光学純度 99.3%) を得た。

(1 R)-cis-, (1 S)-cis-, (1 R)-trans- and (1 S)-trans- [carboxyl- 14 C] chrysanthemic acids (7 a, 7 b, 7 c and 7 d) の合成

α -Bromo- β -naphthyl (1 R)-cis- [carbonyl- 14 C] chrysanthemate (13 a) (10.2 mCi, 0.254 mmol) の ethanol (1.3 ml) 溶液に 14% 水酸化カリウム (0.54 ml) を添加し、室温にて終夜、更に還流条件下に 2 時間攪拌。冷却後、ethanol を減圧留去、水 (20 ml) にて希釈した後、ether 洗浄。塩基性水層を、濃塩酸で酸性化後、ether 抽出。ether 層を飽和炭酸水素ナトリウム水で逆抽出。得られた炭酸アルカリ抽出層に濃塩酸を注意深く滴下して酸性化し、再度 ether 抽出。ether 抽出層を水、飽和食塩水にて洗浄、

無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 99% の (1 R) -cis- [carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (7 a) (10.0 mCi) を得た。

同様の方法により、(1 S) -cis エステル 13 b (11.3 mCi), (1 R) -trans エステル 13 c (19.7 mCi) 及び (1 S) -trans エステル 13 d (19.0 mCi) を加水分解し、(1 S) -cis 酸 7 b (10.9 mCi), (1 R) -trans 酸 7 c (18.8 mCi) 及び (1 S) -trans 酸 7 d (17.7 mCi) を得た。

1 - [¹⁴C] cyano - N, N' -diphenylformamidine (15) の合成

Potassium [¹⁴C] cyanide (1) (159 mCi, 25.6 mCi/mmol, 6.22 mmol) の水 (1.15 ml) 溶液に 1.3-diphenyl-2-thiourea (14) (1.56 g, 6.83 mmol), 塩基性炭酸鉛 (純度 79%, 2.17 g; 2.21 mmol, Pb²⁺ 6.63 mmol) 及び ethanol (2.86 ml) を添加し、60~65℃ にて1時間攪拌。反応混合物を水 (11.5 ml) で希釈し、氷冷。生成した沈殿を濾取し、冷水にて洗浄後、ethanol (11.5 ml) にて還流条件下に抽出。不溶物を濾別し、熱 ethanol (7 ml × 3) にて洗浄。濾・洗液を合わせて減圧留去し、得られた残渣をカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付すことにより、R T L C 純度 99% の 1 - [¹⁴C] cyano - N, N' -diphenylformamidine (15) (95.5 mCi, 黄色結晶) を得た。

R T L C : benzene, R_f 0.22; chloroform/methanol = 9/1

(v/v) R_f 0.68

I R (ν_{max}, cm⁻¹, CHCl₃) : 1590 (aromatic), 1640 (C=N),

2310 (C≡N)

N M R (δ, ppm, CDCl₃) : 7.00 - 7.40 (11H, m, phenyl H

and -NH)

M S (m/z) : 221 (M⁺), 220 (base peak), 194, 129, 77

2-Amino-N, N'-diphenyl [2-¹⁴C] acetamidine (16) の合成

Lithium aluminium hydride (689 mg, 18.2 mmol) の無水 ether (24 ml) 懸濁液に、1- [¹⁴C] cyano-N, N'-diphenylformamidine (15) (94.8 mCi, 818 mg, 3.69 mmol) の無水 ether (50 ml) 溶液を -20~-15℃ にて 20分間で滴下。同温にて更に 5分間攪拌。-20~-15℃ にて含水 ether を滴下して反応を停止し、水で希釈。不溶分を濾別した後の水層を ether にて抽出。ether 層を無水硫酸ナトリウム上で乾燥した後、減圧留去して、R T L C 純度 85% の 2-amino-N, N'-diphenyl [2-¹⁴C] acetamidine (16) (76.2 mCi, 黄色固体) を得た。本品は精製せずに [2-¹⁴C] glycine 合成工程に供した。

R T L C : chloroform / ethyl acetate / methanol / 28% ammonia =
60 / 30 / 10 / 1 (v / v), R_f 0.60 ; chloroform / methanol
= 9 / 1 (v / v), R_f 0.09

I R (ν_{\max} cm⁻¹, CHCl₃) : 1590 (aromatic), 1635 (C = N),
3310 (-NH₂)

N M R (δ , ppm, CDCl₃) : 3.37 (2 H, s, -CH₂-), 6.55 -
7.33 (10 H, m, phenyl H), 7.45 -
7.55 (1 H, m, -NH-Ph)

M S (m / z) : 225 (M⁺), 224, 195, 133, 104, 93 (base peak), 77

[2-¹⁴C] Glycine (17) の合成

2-Amino-N, N'-diphenyl [2-¹⁴C] acetamidine (16) (76.2 mCi, 671 mg, 2.98 mmol; 純度 85%), 水酸化バリウム 8 水塩 (6.01 g, 19.1 mmol) 及び水 (26.6 ml) の混合物を還流条件下に 5 時間攪拌。冷却後、ether にて洗浄し、副生した aniline 及び未反応の 16 を除去。水層にバリウムイオンと当量の 10% 硫酸を滴下して硫酸バリウムの白色沈殿を形成、これを遠心分

離。得られた水層を活性炭精製に付した後、pH 6~7に保ちつつ減圧濃縮。微黄色残渣を少量の無水 ethanol で洗浄、減圧乾燥することにより、R T L C 純度 99% の [2-¹⁴C] glycine (17) (58.5mCi) を得た。

d, l-cis, trans - [1-¹⁴C] Chrysanthemic acid (20) の合成

前述のカルボキシル ¹⁴C 標識体 7 と同様の方法で合成した。すなわち、[2-¹⁴C] glycine (17) (107 mCi, 22.0 mCi/mmol, 4.86 mmol) を ethanol-塩化水素でエステル化して ethyl [2-¹⁴C] glycinate hydrochloride (18) とし、これを、亜硝酸ナトリウム-硫酸にてジアゾ化後、銅触媒の存在下に 2, 5-dimethyl-2, 4-hexadine と縮合。得られた ethyl [1-¹⁴C]-chrysanthemate (19) を加水分解することにより、R T L C 純度 99% (cis/trans = 40/60) の [1-¹⁴C] chrysanthemic acid (20) (71.0 mCi) を得た。

(1R)-cis-, (1S)-cis-, (1R)-trans- and (1S)-trans-[1-¹⁴C] Chrysanthemic acids (20a, 20b, 20c and 20d) の調製

前述のカルボキシル¹⁴C標識体 7a, 7b, 7c 及び 7d の場合と同一の方法で調製した。すなわち、d, l-cis, trans - [¹⁴C] chrysanthemic acid (20) (19.1 mCi, 22.8 mCi/mmol, 0.838 mmol; cis/trans = 36/64 on R T L C) を oxalyl chloride で酸クロリド化、続いて pyridine 存在下に α -bromo- β -naphthol と縮合して得られたプロモナフチルエステルを光学活性 H P L C (Sumipax O A -2000) による 4 異性体分離に付し、光学分割した。得られた 4 種の光学活性エステルの各々を加水分解することにより、4 種の光学活性酸 20a (3.25mCi, 光学純度 100%), 20b (2.89mCi, 光学純度 100%), 20c (5.37mCi, 光学純度 99.8%), 20d (5.96mCi, 光学純度 99.9%) を得た。

Methyl (1R) -cis-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropane-
carboxylate (36a) の合成

(1R) -cis-chrysanthemic acid (38a') (4.58 g, 27.2 mmol) の無 n-pentane (22 ml) 溶液に oxalyl chloride (9.30 ml, 13.8 g, 109 mmol) を添加し、室温にて2時間攪拌。減圧留去後、無水 n-hexane (10 ml) を加え、再度減圧留去して、oxalyl chloride 及び塩化水素を含まない (1R) -cis-chrysanthemoyl chloride を得た。この酸クロリドを無水 ether (15 ml) に溶解、氷冷下に、無水 methanol (4.40 ml, 3.48 g, 109 mmol) 及び無水 pyridine (7.40 ml, 7.24 g, 91.5 mmol) の無水 ether (15 ml) 溶液をゆっくりと滴下、室温にて終夜攪拌。2% 塩酸 (200 ml) にて希釈し、ether 抽出。ether 層を 5% 水酸化ナトリウム、水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、溶媒を留去して methyl (1R) -cis-chrysanthemate (37a') を得た。本品は、そのまま次の酸化工程に供した。

上記のエステル 37a', 四酸化オスミウム (108 mg, 0.425 mmol), 水 (16.3 ml) 及び dioxane (freshly distilled, 49.0 ml) から成る混合物を1時間攪拌。これに過ヨウ素酸ナトリウム (13.6 g, 63.4 mmol) 添下し、窒素気流下室温にて終夜攪拌。更に、四酸化オスミウム (118 mg, 0.552 mmol), pyridine (1.00 ml, 978 mg, 12.4 mmol) を添加し、30~35℃ にて4時間攪拌。水 (150 ml) にて希釈後、ether 抽出。ether 層を 5% 炭酸ナトリウム、5% チオ硫酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄。無水硫酸ナトリウム上で乾燥後、溶媒を減圧留去。残渣をカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-ether 3/1 v/v) することにより、GC 純度 99% 以上の methyl (1R) -cis-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylate (36a) (1.87 g, 11.9 mmol) を得た。本品は、無水硫酸マグネシウムのカラムを通して乾燥し、Wittig 反応に供した。

GC : 15% Siphonate DS-10 (2 m) on Uniport B (80~100 mesh),

120℃, He 20 ml/min ; RT [min] : cis (36a) 35.6,

trans (36b) 26.6

IR (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1700 (-CHO), 1730 (-COOR)

NMR (δ , ppm, CDCl_3) : 1.28 (3 H, s, cyclopropyl methyl H),

1.55 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.85-2.22 (2 H,

m, cyclopropyl H), 3.70 (3 H, s, -COOCH₃),

9.69 (1 H, d, J = 6 Hz, formyl H)

Methyl (1R) -trans-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylate (36b) の合成

前述と同一の方法により、(1R) -trans-chrysanthemic acid (38b') (6.58 g, 39.1 mmol) を oxalyl chloride による酸クロル化、methanol-pyridine によるエステル化、四酸化オスミウム-過ヨウ素酸ナトリウムによる酸化 (室温, pyridine 無添加) に付して得られた粗生成物をカラムクロマト精製することにより、GC純度 99% 以上の methyl (1R) -trans-2-formyl-3,3-dimethylcyclopropanecarboxylate (36b) (2.32 g, 14.8 mmol) を得た。

IR (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1710 (-CHO), 1730 (-COOR)

NMR (δ , ppm, CDCl_3) : 1.19 & 1.33 (6 H, 2 s, cyclopropyl

methyl H), 2.41-2.51 (2 H, m, cyclopropyl H), 3.67

(3 H, s, -COOCH₃), 9.49-9.60 (1 H, m, formyl H)

1-Methyl [1-¹⁴C] ethyltriphenylphosphonium iodide (34) の合成

2-Iodo [2-¹⁴C] propane (33) (100 mCi, 772 mg, 4.54 mmol ; S. A. 22.0 mCi/mmol) と triphenylphosphine (2.93 g, 9.12 mmol) の無水 tolu-

ene (0.9 ml) 溶液を、105-115℃にて18時間攪拌。冷却後、無水 ether を加え、生成した固体を液中で粉碎、濾取、無水 ether (2 ml × 4) 及び benzene (2 ml) にて洗浄、減圧乾燥することにより、1-methyl [1-¹⁴C] ethyltriphenylphosphonium iodide (34) (77.6 mCi, 1.53 g, 3.55 mmol; 白色結晶を得た。

NMR (δ , ppm, CDCl₃) : 1.35 (6 H, d-d, J = 7 & 19 Hz, P-CH (CH₃)₂), 4.82-5.27 (1 H, m, -CH (CH₃)₂), 7.39-8.14 (15 H, m, phenyl H)

Methyl (1R) - cis - [propenyl - 2 -¹⁴C] chrysanthemate (37a) の合成

乾燥窒素雰囲気下、1-methyl [1-¹⁴C] ethyltriphenylphosphonium iodide (34) (30.1 mCi, 595 mg, 1.38 mmol) の無水 tetrahydrofuran (2.8 ml) 懸濁液に n-butyllithium (88.5 mg, 1.38 mmol) の n-hexane (0.87 ml) 溶液を添加し、室温にて15時間攪拌することにより、1-methyl [1-¹⁴C] ethylidetriphenylphosphorane (35) の溶液を調製した。-20℃に冷却したこのホスラン溶液に、methyl (1R) - cis - 2-formyl - 3, 3-dimethylcyclopropanecarboxylate (36a) の無水 tetrahydrofuran (1.4 ml) 溶液を滴下、-20~-15℃にて18時間攪拌。-20℃にて5%塩酸を添加し、反応を停止した後、ether抽出。ether層を水洗、常圧濃縮して得られた残渣に20%亜硫酸水素ナトリウム (30 ml) を加え、室温にて1時間攪拌、再度ether抽出することにより残存するホルミルエステル 36a を除去。ether抽出液を再度常圧濃縮し、攪拌下、残渣に n-pentane (10 ml) を滴下して triphenylphosphine oxide を晶析、これを濾別。濾液を常圧留去して、RGC純度99%以上の methyl (1R) - cis - [propenyl - 2 -¹⁴C] chrysanthemate (37a) (24.9 mCi, 208 mg, 1.14 mmol) を得た。

RGC : Siphonate DS-10 (2 m) on Umiport B (80~100mesh),
120℃, He 20 ml/min, RT [min] : cis (37a) 9.9 ,
trans (37b) 11.8

IR (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1730 ($>\text{C}=\text{O}$)

NMR (δ , ppm, CDCl_3) : 1.21&1.26 (6H, 2s, cyclopropyl methyl H), 1.72&1.79 (6H, 2s, vinyl methyl H), 1.52-1.72 (1H, m, cyclopropyl H), 1.89-2.22 (1H, m, cyclopropyl H), 3.68 (3H, s, $-\text{COOCH}_3$), 5.46 (1H, d-m, $J=7\text{ Hz}$, vinyl H)

Methyl (1R) -trans - [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemate (37b)

の合成

乾燥窒素雰囲気下、sodium hydride (coated with mineral oil, 含量比 50%, 338 mg; 7.04 mmol) を無水 ether (1 ml \times 2) で洗浄し、乾固。これに無水 dimethyl sulfoxide (7.0 ml) を添加し、80~90℃にて30分間攪拌することにより dimethyl sodium の 1.01M 溶液を調製。この溶液の一部 (1.51 ml, dimethyl sodium 1.52 mmol) を、乾燥窒素気流下の 1-methyl - [1 - ^{14}C] ethyltriphenylphosphonium iodide (34) (30.0 mCi, 593 mg, 1.37 mmol) に添加し、室温にて30分間攪拌して、1-methyl [1 - ^{14}C] ethylidenetriphenylphosphorane (35) の溶液を調製。これに methyl (1R) - trans - 2 - formyl - 3, 3 - dimethylcyclopropanecarboxylate (36b) (275 mg, 1.76 mmol) の無水 dimethyl sulfoxide (1.38 ml) 溶液を添加し、室温にて23時間攪拌。以後、前述の (1R) - cis 体 37a の場合と同様の処理を行うことにより、RGC 純度 99% 以上の methyl (1R) - trans - [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemate (37b) (25.1 mCi) を得た。

IR (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1725 ($>\text{C}=\text{O}$)

NMR (δ , ppm, CDCl_3) : 1.13 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.27 (3 H, s, vinyl methyl H), 1.40 (1 H, d, $J = 6$ Hz, $-\text{CH}-\text{CO}-$), 1.68 (6 H, s, vinyl methyl H), 1.95-2.20 (1 H, m, cyclopropyl H), 3.71 (3 H, s, $-\text{COOCH}_3$), 4.98 (1 H, d-m, $J = 8$ Hz, vinyl H)

(1R) - cis - [propenyl - 2 - ^{14}C] Chrysanthemic acid (38a) の合成

Methyl (1R) - cis - [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemate (37a) (24.9 mCi, 208 mg, 1.14 mmol) の ethanol (4.0 ml) 溶液に水酸化ナトリウム (990 mg, 24.8 mmol) の水 (2.0 ml) を添加し、還流条件下に2時間攪拌。冷却後、水 (100 ml) にて希釈し、ether 洗浄。塩基性水層に濃塩酸を滴下して酸性化後、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥し、減圧留去。残渣をカラムクロマト精製 [silica gel; isopropyl acetate saturated with 10% aq. ammonia-benzene (10/1 v/v) and -methanol (10/1-10/3 v/v)] に付し、主成分を減圧留去して得られたアンモニウム塩残渣に5% 塩酸を加えて、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、ether を減圧留去して、前述のRTLCにおける純度99%以上の(1R) - cis - [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemic acid (38a) (17.2 mCi, 132 mg, 0.786 mmol) を得た。カルボン酸 38a の一部を α -bromo- β -naphthyl ester に誘導して光学活性HPLC分析(後述)した結果、光学純度は99.6%であった。

(1R) - trans - [propenyl - 2 - ^{14}C] Chrysanthemic acid (38b) の合成

前述(1R) - cis エステル 37a と同様の方法により、methyl (1R) - trans - [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemate (37b) (25.1 mCi, 209 mg, 115 mmol) を加水分解、粗生成物をカラムクロマト精製することにより、RT

LC 純度 99% 以上、光学純度 99.8% (後述の HPLC 法) の (1R) - trans - [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemic acid (38b) (18.7 mCi, 144 mg, 0.855 mmol) を得た。

光学純度分析のための α - bromo - β - naphthyl [propenyl - 2 - ^{14}C] - chrysanthemates の調製

光学活性な [propenyl - 2 - ^{14}C] chrysanthemic acid (38a or 38b) (16.8 mg, 0.10 mmol) に oxalyl chloride (34 μl , 50.8 mg, 0.40 mmol) の無水 n - hexane (0.3 ml) 溶液を添加し、室温にて 2 時間攪拌。減圧留去後、無水 benzene (0.5 ml) を加えて再留去することにより、酸クロリドを得た。これを無水 benzene (0.3 ml) に溶解し、 α - bromo - β - naphthol (26.9 mg, 0.12 mmol), 無水 pyridine (16.2 μl , 15.8 mg, 0.20 mmol) の無水 benzene (0.2 ml) 溶液を添加した後、室温にて 2 時間攪拌。2% 塩酸にて希釈後、benzene 抽出。benzene 層を 5% 水酸化ナトリウム及び水にて洗浄後、減圧留去。得られた残渣 (α - bromo - β - naphthyl ester) を chloroform に溶解し、前述の光学活性 HPLC 分析 (Sumipax OA - 2000)。

α - Bromo - β - naphthyl d, l, - cis, trans - 2 - formyl - 3, 3 - dimethyl [1 - ^{14}C] cyclopanecarboxylate (40) の合成

α - Bromo - β - naphthyl [1 - ^{14}C] chrysanthemate (39) (71.0 mCi, 23.9 mCi / mmol, 2.97 mmol) の dioxane - 水 (4 / 1 v / v, 28 ml) 溶液に四酸化オスミウム (10 mg)、過ヨウ素酸ナトリウム (1.49 g, 6.98 mmol) 及び pyridine (2.00 ml) を添加し、窒素気流下、50~55℃ にて一時間攪拌。冷却後、反応混合物を 5% 塩酸 (150 ml) で希釈し、ether 抽出。ether 層を 5% 塩酸、5% 炭酸ナトリウム、5% チオ硫酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して油状粗生成物

を得た。本品をカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) することにより、R T L C 純度 99% の α -bromo- β -naphthyl 2-formyl-3,3-dimethyl [1- 14 C] cyclopanecarboxylate (40) (55.3 mCi) を得た。

R T L C : benzene , R_f 0.12 (cis) and 0.16 (trans) ; n-hexane / ethyl acetate = 20 / 1 (v / v) , R_f 0.11

I R (ν_{max} , cm^{-1} , liquid film) :

cis-40 : 1690 (- C H O) , 1750 (- C O O R)

trans-40 : 1710 (- C H O) , 1755 (- C O O H)

N M R (δ , ppm , $CDCl_3$) :

cis-40 : 1.29 (3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.62

(3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 2.01 (1 H ,

d - d , $J = 6 \text{ \& } 8 \text{ Hz}$, cyclopropyl H) , 2.45

(1 H , d , $J = 8 \text{ Hz}$, cyclopropyl H) , 7.22 - 8.22

(6 H , m , naphthyl H) , 9.75 (1 H , d , $J = 6 \text{ Hz}$, formyl H)

trans-40 : 1.35 (3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.43

(3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 2.51 - 2.85

(2 H , m , cyclopropyl H) , 7.04 - 8.20 (6 H , m , naphthyl H) , 9.55 (1 H , d , $J = 4 \text{ Hz}$, formyl H)

α -Bromo- β -naphthyl d, ℓ , -cis, trans-3-(2,2-dichloro-ethenyl)-2,2-dimethyl [1- 14 C] cyclopropanecarboxylate (41) の合成

乾燥窒素気流下、攪拌した hexamethylphosphorous triamide (1.30 g, 7.96 mmol) の無水 dichloromethane (45 ml) 溶液に、 $-75 \sim -70^\circ C$ (dry ice-acetone 浴中) にて bromotrichloromethane (9.28 mg, 4.68 mmol) の dichloromethane (45 ml) 溶液を35分間を要して滴下、同温にて10分間攪拌するこ

とにより、dichloromethylenetrис (dimethylamino) phospherane の溶液を調製。これに α -bromo- β -naphthyl d, l-cis, trans-2-formyl-3, 3-dimethyl [1-¹⁴C] cyclopanecarboxylate (40) (51.6 mCi, 2.34 mmol) の dichloromethane (45 ml) 溶液を、温度を -75~-70℃ に保ちながら滴下 (約40分間)。滴下終了後、同温にて30分間攪拌し、5% 塩酸を加えて反応停止。有機層を分液、水及び飽和食塩水にて洗浄、乾燥 (Na₂SO₄)、減圧留去して得られた褐色油状残渣をカラムクロマト精製 (silica gel, benzene)。主画分を減圧乾固することにより、R T L C 及び R H P L C 所見上、純度99% (cis/trans = 32.8/67.2) の α -bromo- β -naphthyl 3-(2, 2-dichloroethenyl)-2, 2-dimethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylate (41) (50.7 mCi, 淡黄色結晶) を得た。

R T L C : benzene, R_f 0.58 (cis) and 0.54 (trans); n-hexane / ethyl acetate = 20 / 1 (v / v), R_f 0.28 (cis) and 0.25 (trans)

R H P L C : Sumipax O A - 2000 (10 μ m, 25 cm), n-hexane / 1, 2-dichloroethane = 20 / 1 (v / v) 1.0 ml / min, monitored by U V absorbance at 254nm; R T [min] :
(1 R) - cis (41a) 14.1, (1 S) - cis (41b) 15.7,
(1 R) - trans (41c) 21.3, (1 S) - trans (41d) 23.2

光学活性 H P L C による α -bromo- β -naphthyl d, l, -cis, trans-3-(2, 2-dichloroethenyl)-2, 2-dimethyl [1-¹⁴C]-cyclopropanecarboxylate (41) の4異性体分離

ジクロロビニル化されたエステル 41 (50.7 mCi, 954 mg, 2.30 mmol) を chloroform (2.2 ml) に溶解し、その 70 μ l (41 30 mg) ずつを分取 H P L C [Sumipax O A - 2000 column (10 μ m, 8mm I D \times 50cm \times 2) : n-hex-

ane / 1, 2 - dichloroethane (20 / 1 v / v) as the solvent with a flow rate of 4.0 ml / min ; at room temp. ; monitored by U V absorbance at 254nm) に注入。(1R) - cis 体 (41a) (保持時間 28.7 min), (1S) - cis 体 (41b) (保持時間 32.2 min), (1R) - trans 体 (41c) (保持時間 38.1 min), (1S) - trans 体 (41d) (保持時間 42.9 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去することにより4種の光学活性エステル 41a (6.96 mCi, 光学純度 100%), 41b (6.83 mCi, 光学純度 99.7%), 41c (15.7 mCi, 光学純度 100%), 41d (16.1 mCi, 光額純度 99.2%) を得た。

(1R) - cis -, (1S) - cis -, (1R) - trans - and (1S) - trans - 3 - (2, 2 - Dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl [1 - ¹⁴C] - cyclopropanecarboxylic acid (42 a, 42 b, 42 c and 42 d) の合成

(1R) - cis エステル 41a (6.96mCi, 0.316mmol), 15% 水酸化カリウム (0.56 ml), methanol (1.46 ml) より成る混合物を室温にて終夜攪拌。水にて希釈後、ether 洗浄。塩基性水層を分離、濃塩酸で酸性化、ether 抽出。ether 層を飽和炭酸水素ナトリウム水で逆抽出。得られた炭酸アルカリ水層を注意して酸性化後、再度 ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 98% の (1R) - cis - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (42a) (6.08 mCi) を得た。その旋光度 $[\alpha]_D$ (chloroform, c = 1.00, 23°C) は +28° であった。

同様の方法により、他の3種の光学活性エステル 41b (6.83 mCi), 41c (15.7 mCi), 41d (16.1 mCi) を加水分解、酸 - アルカリ精製して、対応する光学活性カルボン酸 42b (6.57mCi, $[\alpha]_D$ -27°), 42c (14.9mCi, $[\alpha]_D$ +35°), 42d (16.0mCi, $[\alpha]_D$ -36°) を得た。

R T L C : isopropyl acetate saturated with 10% aq. ammonia /
methanal = 3 / 1 (v / v) , R_f 0.28 (cis) and 0.23
(trans) ; chloroform / methanol / acetic acid = 100 / 5
/ 1 (v / v / v) , R_f 0.47 (cis) and 0.43 (trans)

N M R (δ , ppm , $C D C l_3$) :

cis-42 : 1.35 (6 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.84-2.34
(2 H , m , cyclopropyl H) , 6.28 (1 H , d , $J =$
8 Hz , vinyl H) , 10.30 (1 H , bs , - C O O H)

trans-42 : 1.21 (3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.34
(1 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.61 (1 H , d ,
 $J = 6$ Hz , cyclopropyl H) , 2.29 (1 H , d - d ,
 $J = 6$ & 8 Hz , cyclopropyl H) , 5.64 (1 H , d ,
 $J = 8$ Hz , vinyl H) , 10.10 (1 H , bs , - C O O H)

(1 R) - cis - , (1 S) - cis - , (1 R) - trans - and (1 S) -
trans - 3 - (2 , 2 - dichloroethenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropane -
[^{14}C] carboxylic acids (43 a , 43 b , 43 c and 43 d) の合成

前述のシクロプロピル ^{14}C 標識体 42 a , 42 b , 42 c 及び 42 d の場合と同一の方法により調製した。すなわち、d , l - cis , trans - [carboxyl - ^{14}C] - chrysanthemic acid (7) (65.8 mCi , 33.9 mCi / mmol , 1.94 mmol ; cis / trans = 34 / 66 on R T L C) を oxalyl chloride で酸クロル化、 α - bromo - β - naphthol - pyridine でエステル化 (収率 100%) 、四酸化オスミウム - 過ヨウ素ナトリウムで酸化 (収率 82.0%) 、 bromotrichloromethane - hexamethylphosphoroustriamide でジクロロビニル化 (収率 96.1%) して得られたプロモナフテルエステル体 (51.9 mCi) を、光学活性 H P L C 分取によって 4 種類異性体に分割し、各々を加水分解することにより、(1 R) - cis

酸 43a (7.21 mCi, 光学純度 100%), (1S) - cis 酸 43b (6.96 mCi, 光学純度 99.6%), (1R) - trans 酸 43c (14.3 mCi, 光学純度 100%) 及び (1S) - trans 酸 43d (16.5 mCi, 光学純度 99.1%) を得た。

α -Bromo- β -naphthyl d, ℓ -cis, trans-3-(2, 2-dibromoethenyl)-2, 2-dimethyl [1- 14 C] cyclopropanecarboxylate

(44) の合成

乾燥窒素気流下、攪拌した hexamethylphosphoroustriamide (626 mg, 3.84 mmol) の無水 dichloromethane (25 ml) 溶液に、 $-75 \sim -70^\circ\text{C}$ にて、carbon tetrabromide (747 mg, 2.27 mmol) の無水 dichloromethane (25 ml) 溶液を 20 分間を要して滴下、同温にて更に 10 分間攪拌することにより、dibromomethylenetrис(dimethylamino)phosphorane の溶液を調製。これに、 $-75 \sim -70^\circ\text{C}$ にて、 α -bromo- β -naphthyl d, ℓ -cis, trans-2-formyl-3, 3-dimethyl [1- 14 C] cyclopropanecarboxylate (40) (27.2 mCi, 24.0 mCi / mmol, 1.13 mmol ; cis / trans = 36 / 64 on R T L C) の無水 dichloromethane (25 ml) 溶液を 25 分間を要して滴下。同温にて更に 30 分間攪拌した後、5% 塩酸を加えて反応停止。有機層を分液、水及び飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた残渣を、カラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付することにより、R T L C 及び R H P L C 所見上の純度 99% 以上、cis / trans = 34.3 / 65.7 の α -bromo- β -naphthyl 3-(2, 2-dibromomethenyl)-2, 2-dimethyl [1- 14 C] cyclopropanecarboxylate (44) (26.9 mCi, 無色結晶) を得た。

R T L C : benzene , R_f 0.59

R H P L C : Sumipax O A - 2000 (10 μm , 25 cm) , n - hexane / 1, 2 - dichloroethane = 20 / 1 (v / v) 1.0 ml / min ,
monitored by U V absorbance at 254 nm ; R T [min] :

(1 R) - cis (44 a) 11.9, (1 S) - cis (44 b) 13.2
(1 R) - trans (44 c) 18.2, (1 S) - trans (44 d) 19.8

NMR (δ , ppm, CDCl₃) :

cis-44 : 1.37 (6 H, s, cyclopropyl methyl H), 2.07-2.31
(2 H, m, cyclopropyl H), 6.82 (1 H, d, J = 7 Hz,
vinyl H), 7.21-8.36 (6 H, m, naphthyl H)

trans-42 : 1.32 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.43
(3 H, s, cyclopropyl methyl H), 2.03 (1 H, d,
J = 6 Hz, cyclopropyl H), 2.36 (1 H, d-d, J =
6 & 8 Hz, cyclopropyl H), 6.29 (1 H, d, J = 8 Hz,
vinyl H); 7.22-8.33 (6 H, m, naphthyl H)

光学活性 HPLC による α -bromo- β -naphthyl 3-(2, 2-
dibromoethenyl)-2, 2-dimethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylate

(44) の 4 異性体分離

ジビロモビニル化されたエステル 44 (26.9 mCi, 564 mg, 1.12 mmol) の
chloroform (2.8 ml) 溶液を、75 μ l (44 15 mg) を分取 HPLC [Sumipax
OA-2000 column (10 μ m, 8mm ID \times 50 cm \times 2); n-hexane / 1, 2-
dichloroethane (20 / 1 v / v) as the solvent with a flow rate of 4.0
ml/min; monitored by UV absorbance at 254 nm] に注入。(1 R) - cis
体 (44 a) (保持時間 19.8 min), (1 S) - cis 体 (44 b) (保持時間 21.8
min), (1 R) - trans 体 (44 c) (保持時間 28.7 min) 及び (1 S) - trans
体 (44 d) (保持時間 31.8 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去す
ることにより、4 種の光学活性エステル 44 a (4.65 mCi, 光学純度 100%),
44 b (4.02 mCi, 光学純度 100%), 44 c (7.78 mCi, 光学純度 99.1%),
44 d (7.68 mCi, 光学純度 100%) を得た。

(1R) - cis - , (1S) - cis - , (1R) - trans - and (1S) - trans -
3 - (2 , 2 - Dibromoethenyl) - 2 , 2 - dimethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropane-
carboxylic acids (45 a , 45 b , 45 c and 45 d) の合成

(1R) - cis エステル (44a) (4.65 mCi, 0.19 mmol), 35% 水酸化ナトリウム (0.10 ml) 及び ethanol (1.9 ml) から成る混合物を室温にて終夜攪拌。水 (0.9 ml) を添加し、更に5時間攪拌。反応混合物を水にて希釈し、ether 洗浄。塩基性水層を塩酸にて酸性化し、ether 抽出。ether 抽出液を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムにて乾燥、減圧留去して粗カルボン酸を得た。本品をカラムクロマト精製 (silica gel, chloroform - acetone - acetic acid 400 / 40 / 1 v / v / v) に付し、その主画分を減圧乾固することにより、R T L C 純度 99%、旋光度 ($[\alpha]_D$; chloroform, c = 2.00, 23°C) +16° の (1R) - cis - 3 - (2 , 2 - dibromoethenyl) - 2 , 2 - dimethyl - [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (45a) (3.99 mCi) を得た。

同様の方法により、他の3種の光学活性エステル 44b (4.02 mCi), 44c (7.78 mCi), 44d (7.68 mCi) を加水分解、カラムクロマト精製して、対応する光学活性カルボン酸 45b (3.95 mCi, $[\alpha]_D -16^\circ$), 45c (7.24 mCi, $[\alpha]_D +38^\circ$), 45d (6.76 mCi, $[\alpha]_D -41^\circ$) を得た。

R T L C : chloroform / methanol / acetic acid = 100 / 5 / 1
(v / v / v), R_f 0.41 (cis) and 0.36 (trans)

N M R (δ , ppm , C D C l ₃) :

cis - 45 : 1.28 (6 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.89 - 2.13
(2 H , m , cyclopropyl H) , 6.74 (1 H , d , J =
8 Hz , vinyl H) , 9.89 (1 H , bs , - C O O H)

trans - 45 : 1.21 (3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.33
(3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.66 (1 H , d ,
J = 6 Hz , cyclopropyl H) , 2.21 (1 H , d - d , J =

6 & 8 Hz, cyclopropyl H), 6.18 (1 H, d, J = 8 Hz, vinyl H), 8.50 (1 H, bs, -COOH)

Ethyl [2-¹⁴C] glycinate hydrochloride (18) の合成

攪拌した [2-¹⁴C] glycine (17) (58.5 mCi, 255 mg, 2.29 mmol; 25.6 mCi/mmol) と無水 ethanol (45 ml) の混合物に、無水塩化水素ガスを、70~80℃ にて2時間導入。約70℃ にて不溶物を濾別し、濾液を減圧乾固。残渣を ethanol-ether より再結晶して、R T L C 純度 99% の ethyl [2-¹⁴C] glycinate hydrochloride (18) (48.6 mCi, 無色針状晶) を得た。

R T L C : n-butanol/ acetic acid/ water = 4 / 1 / 1

(v / v / v), R_f 0.36

I R (ν_{max}, cm⁻¹, nujol) : 1735 (>C=O), 3080 (-NH₄⁺)

N M R (δ, ppm, D M S O - d₆) : 1.23 (3 H, t, J = 7 Hz, -CH₂-CH₃), 2.40-2.61 (2 H, m, -NH₂), 3.70 (2 H, s, N-CH₂-CO), 4.15 (2 H, q, J = 7 Hz, -CH₂-CH₃)

Ethyl 2, 2, 3, 3-tetramethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylate (49) の合成

攪拌した ethyl [2-¹⁴C] glycinate hydrochloride (18) (48.6 mCi, 265 mg, 1.90 mmol) 及び sodium acetate (2.85 mg) の水 (0.935 ml) 溶液に、5~10℃ にて、亜硝酸ナトリウム (196 mg, 2.84 mmol), 2, 3-dimethyl-2-butene (0.935 ml) 及び 10% 硫酸 (48 μl) を添加し、同温にて3分間攪拌。有機層を分離し、水層を 2, 3-dimethyl-2-butene (1.5 ml × 3) にて抽出。最初の有機層及び抽出液を合わせ、無水硫酸ナトリウムのカラムを通過させることにより、ethyl diazo [2-¹⁴C] acetate の

乾燥溶液を得た。

攪拌した 2, 3-dimethyl-2-butene (1.43 ml) と無水硫酸銅 (19.1 mg) の混合物に、上述の ethyl diazo [2-¹⁴C] acetate の溶液を 75~85 °C にて10分間で滴下。滴下終了後、同温にて更に30分間攪拌。冷却後、反応混合物を水にて希釈し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムにて乾燥、常圧濃縮して得られた油状粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, petroleum ether-ether 95/5 v/v)。主画分を常圧留去することにより、R T L C及びR G C所見上の純度 99% の ethyl 2, 2, 3, 3-tetramethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylate (49) (21.8 mCi) を得た。

R T L C : n-hexane/benzene = 1/1 (v/v), R_f 0.28 ;

chloroform, R_f 0.60

R G C : 10% Bentone 34 (5 m) on Chromosorb W A W D M C S

(100-120 mesh), 135 °C, He 24 ml/min ; R T [min] : 24.0

N M R (δ, ppm, CCl₄) : 1.10-1.32 (16H, 2 s + s + t, J =

7 Hz, 4 cyclopropyl methyl groups + cyclopropyl H +

-CH₂-CH₃), 4.01 (2H, q, -CH₂-CH₃)

2, 2, 3, 3-Tetramethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid

(50) の合成

Ethyl 2, 2, 3, 3-tetramethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylate (49) (21.8 mCi, 145 mg, 0.852 mmol) の methanol (2.4 ml) の溶液に水酸化カリウム (純度 85.5%, 929 mg; 14.2 mmol) の水 (1.4 ml) 溶液を添加し、還流条件下に2時間攪拌。冷却後、水にて希釈し、ether 洗浄。塩基性水層を濃塩酸にて酸性化し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、常圧留去することにより、R T L C純度99% 以上の 2,

2, 3, 3-tetramethyl [1-¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (50)
(21.2mCi) を得た。

R T L C : chloroform/methanol = 9 / 1 (v / v) , R_f 0.51 ;

n - hexane/toluene/acetic acid = 10 / 1 / 1

(v / v / v) , R_f 0.10

2 - (4 - Chlorophenyl) [1 - ¹⁴ C] acetonitrile (54) の合成

Potassium [¹⁴C] cyanide (1) (150 mCi, 531 mg, 8.2 mmol ; 18.4 mCi /mmol) の水 (9 ml) 溶液に p-chlorobenzyl chloride (1.32 g , 8.2 mmol) の dimethylformamide (9 ml) 溶液を添加し、95~100℃ にて3.5時間攪拌。冷却後、水にて希釈し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane - ether 92 / 8 v / v) 。主画分を減圧留去して、R T L C 及び R G C 所見純度 99 % 以上の 2 - (4 - chlorophenyl) [1 - ¹⁴ C] acetonitrile (54) (120 mCi) を得た。

R T L C : n - hexane/ether = 3 / 1 (v / v) , R_f 0.15

R G C : 3 % Silicone O V - 17 (2 m) on Chromosorb W (60 - 80

mesh), 140℃ , He 26 ml/min ; R T [min] : 8.4

I R (ν_{max} , cm⁻¹ , C H C l₃) : 2250 (- C ≡ N) , 1600 (aromatic)

N M R (δ , ppm , C C l₄) : 3.50 (2 H , s , - C H₂ -) , 6.99

(4 H , s , phenyl H)

M S (m / z) : 151 & 153 (M⁺) , 116 (base peak), 89

2 - (4 - Chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - ¹⁴ C] butyronitrile (53) の合成

窒素雰囲気下、2 - (4 - chlorophenyl) [1 - ¹⁴ C] acetonitrile (54) (120 mCi, 987 mg, 6.5 mmol) と isopropyl bromide (1.31 g , 11 mmol) の

混合物に、水酸化ナトリウム (1.88 g) の水 (2.2 ml) 溶液及び benzyltriethylammonium chloride (90mg) を添加し、50~60℃ にて4時間攪拌。更に、isopropyl bromide (0.15 g, 1.3 mmol) 及び benzyltriethylammonium chloride (40 mg) を追加し、同温にて1時間攪拌。反応混合物を水で希釈し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた油状粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-ether 97/3 v/v)。その主成分を減圧留去することにより、R T L C 及び R G C 所見純度 99% 以上の 2-(4-chlorophenyl)-3-methyl [1-¹⁴C] butyronitrile (53) (95.8 mCi) を得た。

R T L C : n-hexane/ether = 5/1 (v/v), R_f 0.27

R G C : 3% Silicone OV-17 (2 m) on Chromosorb W A W

D M C S (60-80 mesh), 140℃, He 26 ml/min ;

R T [min] : 14.7

I R (ν_{\max} , cm⁻¹, CHCl₃) : 2250 (-C≡N)

N M R (δ , ppm, CDCl₃) : 0.95 (3 H, d, J = 3 Hz, -CH₃),
1.05 (3 H, d, J = 3 Hz, -CH₃), 1.80-2.45 (1 H, m,
-CH(CH₃)₂), 3.60 (1 H, d, J = 6 Hz, benzyl methyne
H), 7.10-7.40 (4 H, bs, aromatic H)

M S (m/z) : 193 & 195 (M⁺), 101 & 103 (base peak)

2-(4-Chlorophenyl)-3-methyl [1-¹⁴C] butyric acid (51) の合成

2-(4-Chlorophenyl)-3-methyl [1-¹⁴C] butyronitrile (53) (95.8 mCi, 1.01 g, 5.2 mmol) と 64% 硫酸 (7 ml) の混合物を、150~155℃ にて8.5時間攪拌。冷却後、氷水にて希釈し、ether 抽出。ether 層を5% 水酸化ナトリウムにて逆抽出。塩基性水層に濃塩酸を滴下して酸性化し、再度 ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾

燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 99% の 2 - (4 - chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - 14 C] butyric acid (51) (94.4 mCi, 無色結晶) を得た。

R T L C : chloroform / methanol = 3 / 2 (v / v) , R_f 0.56

I R (ν_{max} , cm^{-1} , nujol) : 1750 (C = O)

N M R (δ , ppm , $CDCl_3$) : 0.70 (3 H , d , $J = 4$ Hz , - C H ₃) ,

1.07 (3 H , d , $J = 4$ Hz , - C H ₃) , 2.00 - 2.54 (1 H , m ,

- C H (C H ₃) ₂) , 3.13 (1 H , d , $J = 8$ Hz , benzyl methyne H) ,

7.25 (4 H , s , phenyl H) , 8.13 (1 H , bs , - C O O H)

M S (m / z) : 212 & 214 (M^+) , 167 & 169 (base peak)

2 - (4 - Chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - 14 C] butyric acid (51) の光学分割 [(+) - (2 S) 体 57 の調製]

(±) - 2 - (4 - Chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - 14 C] butyric acid (51) (94.4 mCi, 1.09 g, 5.1 mmol) の 80% ethanol (8 ml) 溶液に、攪拌下、(-) - 1 - phenylethylamine (400 mg, 3.3 mmol) の 80% ethanol (9 ml) 溶液を滴下し、アンモニウム塩の白色沈殿を形成。還流条件下に 80% ethanol (4.5 ml) を追加して完溶後、穏やかに攪拌しながら室温まで放冷して晶析 (1 時間) 。析出した白色結晶を濾取し、同様の方法で 80% ethanol (20 ml) より再結晶。得られた結晶を 5% 塩酸中に投入して分解し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 99% 以上、 $[\alpha]_D^{25} +47.1^\circ$ ($c = 1.11$, $CHCl_3$) の (+) - (2 S) - 2 - (4 - chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - 14 C] butyric acid (57) (28.3 mCi, 327 mg) を得た。

(+) - (2S) - 2 - (4-Chloro [U-¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (64) の調製

2 - (4-Chloro [U-¹⁴C n] phenyl) acetonitrile (61) (117 mCi, 592 mg, 3.91 mmol ; 29.9 mCi/mmol ; purchased from Commissariat a L' Energie Atomique , France) を出発物質として、前述のカルボキシル¹⁴C 標識体 57 の場合と同様の方法により調製した。すなわち、61 を塩基の存在下にイソプロピル化して 2 - (4-Chloro [U-¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyronitrile (62) (79.8 mCi, 517 mg) を得、62 の一部 (56.9 mCi, 368 mg, 1.90 mmol) を 64% 硫酸中にて加熱、加水分解することにより 2 - (4-chloro [U-¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (63) (55.0 mCi, 391 mg) を得た。このラセミカルボン酸 63 を (-) - 1 - phenylethylamine を用いて光学分割し、R T L C 純度 99% 以上、 $[\alpha]_D^{25} +47.8^\circ$ (c = 1.00, CHCl₃) の (+) - (2S) - 2 - (4-chloro [U-¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (64) (16.0 mCi, 114 mg) を得た。

引用文献

1. Y. Nishizama and J. E. Casida , J. Agr. Food Chem. , 13 , 535 (1965).
2. F. Acree , Jr. , C. C. Roan and F. H. Barbers , J. Econ. Entomol. , 47 , 1066 (1965).
3. L. Crombie , T. Doherty and G. Pattenden , J. Chem. Soc. (C) , 1970 , 1076.
4. M. Elliott , N. F. Janes , D. A. Pulman , L. C. Gaughan , T. Unai and J. E. Casida , J. Agr. Food Chem. , 24 , 270 (1976).
5. I. Nakatsuka , F. Shono and A. Yoshitake , J. Label. Comp. Radiopharm. , 13 , 561 (1977).
6. A. Yoshitake , H. Gomi and I. Nakatsuka , Radioisotopes , 30 , 452 (1981).
7. H. Kanamaru , T. Kamada , A. Yoshitake and I. Nakatsuka , Radioisotopes , 35 , 103 (1986).
8. H. Kanamaru , T. Kamada , A. Yoshitake and I. Nakatsuka , Radioisotopes , 35 , 169 (1986).
9. H. Kanamaru , T. Kamada , A. Yoshitake and I. Nakatuka , Radioisotopes , 35 , 242 (1986).
10. H. Kanamaru , K. Kawahara , M. Okuno , A. Yoshitake and I. Nakatsuka , J. Label. Comp. Radiopharm. , in press (1986).
11. M. Elliott , A. C. S. Symposium Series , 42 (" Synthetic Pyrethroids ") , Amer. Chem. Soc. , Washington D. C. , 1977.
12. M. Elliott and N. F. Janes , Chem. Soc. Rev. , 7 , 473 (1978).

13. (a) H. Yoshioka , J. Syn. Org. Chem. Jpn. , 38 , 1151 (1980).
(b) H. Yoshioka and J. Miyamoto , Kagaku-to-Seibutu , 14 , 427 (1976).
14. (a) H. Yoshioka , et al. , Jpn. Patent 47-30609 (1972).
(b) H. Nohira , D. Terumura and S. Kobe , Agric. Biol. Chem. ,
46 , 1421 (1982).
(c) H. Nohira , D. Terumura , S. Kobe , I. Asakura , A. Miyashite
and T. Ito , Agric. Biol. Chem. , 50 , 675 (1986).
15. V. Dane and E. W. Warnhoff , Org. React. , 18 , 217 (1970).
16. N. Kawabata , M. Naka and S. Yamashita , J. Amer. Chem. Soc. ,
98 , 2676 (1976).
17. W. Sakami , W. E. Evans and S. Gurin , J. Amer. Chem. Soc. , 69 ,
1110 (1947).
18. J. Parrot , J. Hervieu , Y. Ursy and M. Paty , Bull. Soc. Chim. Fr. ,
1063 (1964).
19. E. Honkanen and A. Virtatanen , Act. Chem. Scand. , 15 , 221 (1961).
20. H. W. Bond , J. Biol. Chem. , 175 , 531 (1948).
21. Unpublished observation. Recrystallization from a n-hexane or a
ethyl acetate solution gave the cis isomer (Y. ~15%)
and the trans isomer (Y. ~30%)
22. H. Yoshioka , et al. , Jpn. Patent 47-30669 (1972).
23. M. Matsui , K. Okada and H. Hirai , Jpn. Patent 49-125342 (1974).
24. A. Murano , Agric. Biol. Chem. , 36 , 2203 (1972).
25. (a) K. Ueda , et al. , Jpn. Patent 46-20382 (1971).
(b) A. Toyoura , et al. , Jpn. Patent 48-48449 (1973).
26. N. Ôi , T. Doi , T. Nara and Y. Inada , Jpn. Patent 59-116544
(1984).

27. (a) I. Yamamoto and J. E. Casida , Agric. Biol. Chem. , 32 ,
1382 (1968).
- (b) W. Sakami , W. E. Evans and S. Grin , J. Amer. Chem. Soc. ,
69 , 1110 (1947).
28. (a) B. M. Tolbert and D. M. Hughes , Atomic Energy Commission
Report , U R C L - 705 ; Nuc. Sci. Abstr. , 4 , 5207 (1950).
- (b) F. Kögl , et al. , Ann. , 589 , 1 (1954).
- (c) R. Ostvald , J. Biol. Chem. , 173 , 207 (1948).
- (d) D. Elwyn , et al. , J. Biol. Chem. , 213 , 281 (1955).
29. G. Ehrensward and R. Stjernholm , Acta Chem. Scand. , 3 , 971 (1949).
30. R. Criegee , B. Marchand and H. Wannowius , Ann. , 550 , 99 (1942).
31. U. H. M. Fugerlund and D. R. Idler , J. Amer. Chem. Soc. , 79 ,
6473 (1957).
32. (a) M. Elliott , A. W. Farnham , N. F. Janes , P. H. Needham ,
D. A. Pulman and J. H. Stevenson , Nature , 246 ,
169 (1973) and 248 , 710 (1974).
- (b) M. Elliott and N. F. Janes , Chem. Soc. Rev. , 7 , 473
(1978).
33. (a) J. Farkas , P. Kourim and F. Sorm , Chem. listy , 52 , 688
(1958). ; Coll. Czech. Chem. Comm. , 24 , 2230 (1959).
- (b) P. E. Burt , M. Elliott , A. W. Farnham , N. F. Janes ,
P. H. Nedham and D. A. Pulman , Pestic. Sci. , 5 , 791 (1974).
34. T. Aratani , Jpn. Patent 54-73758 (1979) ; J. Syn. Org. Chem. Jpn. ,
43 , 1134 (1985).
35. (a) K. Kondo , K. Matsui , A. Negishi and Y. Takahatake ,
Jpn. Patent 51-63145 (1976).

- (b) F. Mori , Y. Ohmura , T. Nishida and K. Itoi , Jpn. Patent
51-41324 (1976).
36. H. O. House , " Modern Synthetic Reactions " (2nd Edition) ,
W. A. Benjamin , Jnc. , Menlo Park , California , U. S. A. (1972).
37. R. Rahinovitz and R. Marcus , J. Amer. Chem. Soc. , 84 , 1312 (1962).
38. W. G. Salmond , Tetrahedron Lett. , 1977 , 1239.
39. M. Matsui and T. Kitahara , Agric. Biol. Chem. , 31 , 1143 (1967).
40. A. P. Mesheheryakov and I. E. Dolgii , Bull. Acad. Soc. U.S.S.R. ,
1960 , 864 ; Chem. Abstr. , 54 , 24436 (1960).
41. A. Yoshitake , H. Kanamaru , F. Shono and I. Nakatsuka , J. Label.
Comp. Radiopharm. , 18 , 391 (1981).
42. H. Kanamaru , T. Kamada , Z. Mohri , T. Okamura , I. Nahatsuka and
A. Yoshitake , J. Label. Comp. Radiopharm. , 18 , 1283 (1981).
43. N. Ohno , K. Fujimoto , Y. Ohno , T. Mizutani , M. Hirano ,
N. Itaya , T. Honda and H. Yoshioka , Agric. Biol. Chem. 38 ,
881 (1974) ; Pesti. Sci. , 7 , 241 (1976).
44. Shell Internationale Research Maatschappij B. V. , Neth. Appl. ,
6,408,190 (1965).
45. (a) N. Ohno , T. Umemura and T. Watanabe , Jpn. Patent.
51-63145 (1976).
- (b) J. Dockx , Synthesis , 1973 , 441
46. M. Miyakado , N. Ohno and A. Horiuchi , Jpn. Patent 50-25544
(1975).
47. M. Miyakado , N. Ohno , Y. Okuno , M. Hirano , K. Fujimoto and
H. Yoshioka , Agric Biol. Chem. , 39 , 267 (1975).

48. (a) J. P. Noel and L. Pichat , J. Label. Comp. Radiopharm. , 19 ,
821 (1982).

(b) L. Pichat and C. Barel , Tetrahedron , 1 , 269 (1957).

第2章 アルコール成分の¹⁴C標識化

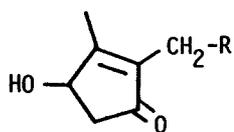
合成ピレスロイドのアルコール成分は、レスロロン類、フルフリルアルコール類、ベンジルアルコール類の3種とこれら以外の特異なものに分類される。レスロロン類 (rethrolones) は、基本骨格3-メチルシクロペンタ-2-エン-4-オール-1-オンの2位に種々の不飽和置換基を導入したものであるが、天然型がペンタ-2, 4-ジエニル基であるのに対し、より単純なアリール基、プロパルギル基を導入したアレスロロン (allethrolone)、プロパルギルロン (propargyllone) 等が発明・開発され、構造的に類似性の高いフルフリルアルコール類と共に家庭防虫用ピレスロイド (第一世代) の主要なアルコール成分として使用されている。一方、ベンジルアルコール類、中でも近年見出された3-フェノキシベンジルアルコールとその α -シアノ体は、高い選択的殺虫活性と適当な光安定性 (残効性) を賦与するアルコール成分として、農業用ピレスロイド (第二世代) に広く用いられている。そして、これらアルコール成分に関する研究・開発の三大主流から離脱した特異なもの代表としては、テトラメスリン (tetramethrin) のアルコール成分N-ヒドロキシメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロフタルイミド等がある。

ところで、過去のアルコール成分の¹⁴C標識化に関しては、合成レスロロンの代表的存在であるアレスロロンについて、3位メチル及び環4位炭素の二重標識^{49), 50)}、アリール側鎖標識⁵¹⁾ 等の例があるが、何れも低収率 (6~15%) で低比放射能体 (1~2 mCi/mmole) を得たに過ぎなかった。特に前者の例では、標識位置が特定されていないためにトレーサー研究で支障を来す可能性があったので、アレスロロンに関して、高比放射能を有する環炭素単一標識体の合成法を新たに開発した。一方、3-フェノキシベンジルアルコールについては、著者等と同時期に、Elliott 等⁴⁾ によってベンジル α 炭素及びフェノキシ炭素の¹⁴C標識化が達成された。しかしながら、フェノキシフェニル炭素については未達であ

ったので、その標識化法を新たに開発した。更に α -シアノ-3-フェノキシベンジルアルコールに関しては、光学活性体調製法も含め、新規な ^{14}C 標識体調製法を確立した。なお、特異なアルコール成分N-ヒドロキシメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロフタルイミドについては、ヒドロシメチル炭素⁵⁰⁾ 或いはイミドカルボニル炭素⁵²⁾ の低比放射能 ^{14}C 標識体合成法が既に報告されていたので、基本的にはこれらに従って高比放射能体を合成した。

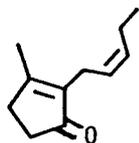
第1節 レスロロン類⁵³⁾

レスロロン類は、Fig. 27 に示した様に、シスジャスモン (*cis*-jasmone) やプロスタグランジ (prostaglandins) 等の重要な天然物と共通の3-オキソシクロペンテン骨格を有することから、それらと共に多大な合成上の興味を集めた⁵⁴⁾。

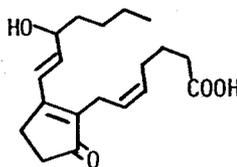


Rethrolones

R = $-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}_2$: pyrethrolone (natural)
 = $-\text{CH}=\text{CH}_2$: allethrolone
 = $-\text{C}\equiv\text{CH}$: propargyllone



cis-Jasmone



Prostaglandin B₂

Fig. 27 Rethrolones and the related natural products

ピレスロイドの分野における合成研究の成果は、アレスロロン及びプロパルギルロンの発明とアレスリン (allethrin) 及びプラレスリン (prallethrin) の開発^{55), 56)} に見ることが出来る。

ところで、レスロロンの基本骨格であるシクロペンテノロン (cyclopentenolones) の調製法としては、大別して、1, 4-ジケトン中間体の環化 (方法 I)、ジオキソシクロペンタン骨格の修飾 (方法 II)、分子内転位反応 (方法

III) の 3 種類が知られていた⁵⁴⁾。従って、その¹⁴C 標識化を目的とした逆合成的分析結果も、上記 3 種の方法の何れかに分類された (Fig. 28)。

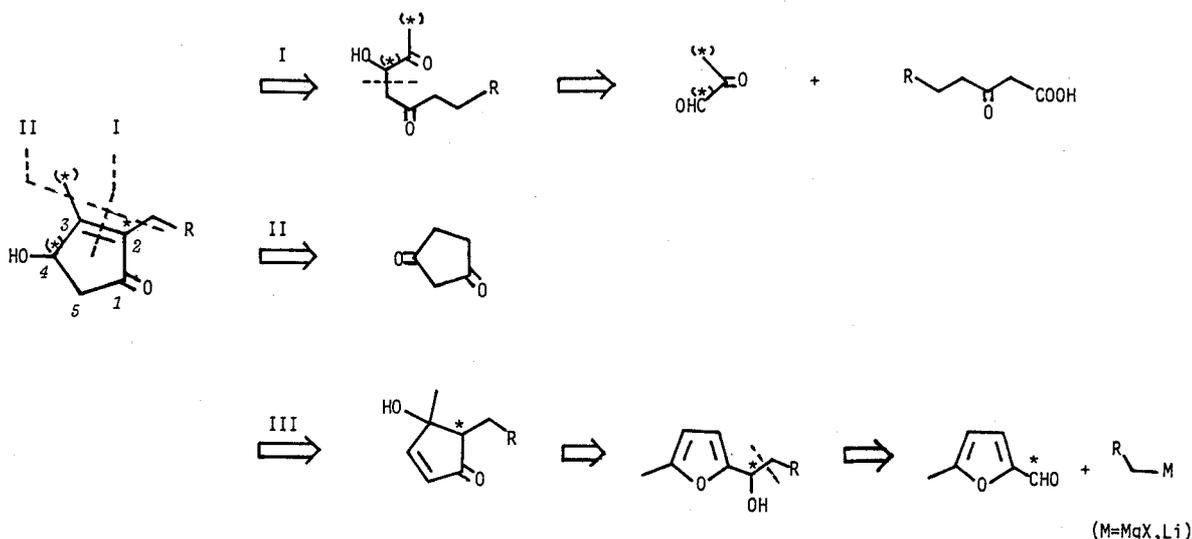


Fig. 28 Retrosynthetic analysis of rethrolones for ¹⁴C-labelling

Yamamoto and Casida⁵⁰⁾ は [1, 3 - ¹⁴C] acetone を出発物質として、方法 I に従い、アレスロロン (R = -CH=CH₂) の 3 位メチル炭素と 4 位環炭素の二重標識体を合成したが、通算の放射化学的収率は 6% と極めて低く、高比放射能体或いは光学活性体を調製するには実用的ではなかった。一方、最近、フルフリルアルコール類が容易に分子内転位してシクロペンタ-2-エン-4-オール-1-オン類となり、これは更にレスロロン骨格に異性化出来ることが報告された。^{57), 58)} この方法を環炭素¹⁴C 標識化に利用しようとするれば、フルフリル基を標識したアルコール体を調製すればよい (方法 III)。そこで、特に¹⁴C の導入が容易と考えられる [α - ¹⁴C] フルフリルアルコール中間体を調製し、レスロロンの環 2 位炭素標識体を効率的に合成することを計画した。

また、光学活性体の調製については、従来のジアステレオマー化分別晶析

法^{59), 60)}では、小スケールのために低収率となることが予想されたので、光学活性 HPLC⁶¹⁾による分取・分割法、及び、酵素による不斉加水分解反応^{62), 63)}を利用した選択的な光学活性体調製法等の導入を図る方針とした。

1-1 アレスロロン

フルフリルアルコールの分子内転位-異性化をキー・ステップとする方法Ⅲ (Fig. 28) に基づいた [2-¹⁴C] allethrolone (2-allyl-3-methyl-[2-¹⁴C] cyclopent-2-en-4-ol-1-one) (69) の合成経路を Fig. 29 に示した。

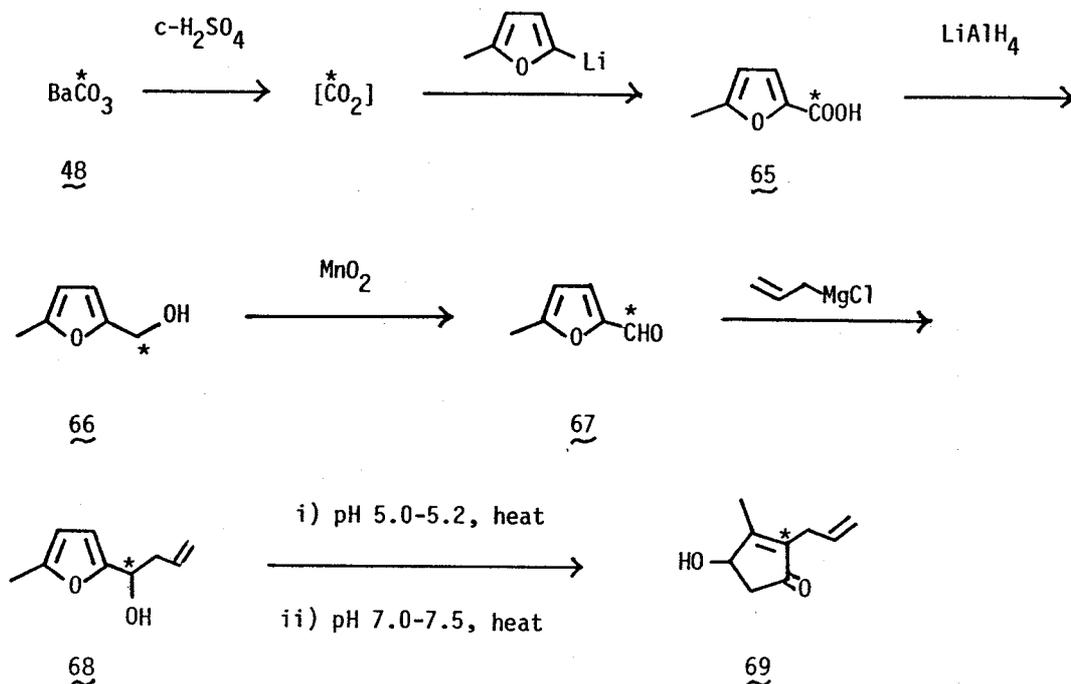


Fig. 29 Synthesis of [2-¹⁴C]allethrolone

重要中間体 1-(5-methyl-2-furyl) [1-¹⁴C] but-3-en-1-ol (68) は以下の様にして合成した。

すなわち、Ramanathan and Levine の方法⁶⁴⁾に従って、2-methylfuran を n-butyllithium で処理 (ether 中、還流条件、3時間) して調製した 2-lithio-5-methylfuran を、barium [¹⁴C] carbonate (48) に濃硫酸を滴下して発生させた carbon-14 dioxide にてカーボネーション (-78℃、30分間) することにより、48より放射化学的収率 88% で 5-methyl-2-[carboxyl-¹⁴C] furoic acid (65) を得た。カルボン酸のアルデヒドへの変換法としては、酸クロリドまたはエステルを sodium bis(2-methoxyethoxy) aluminium hydride で還元する方法⁶⁵⁾ やエチレンイミド体を lithium aluminium hydride (LAH) で還元する方法⁶⁶⁾ が知られているが、これらの直接法を65に適用したところ、目的とするアルデヒド67は極めて低い収率でしか得られなかった。そこで、アルコール体66を経由して、間接的に65を67へ変換しようとした。カルボン酸65は、Divald 等の方法⁶⁶⁾ に従い、LAH還元 (ether 中、還流条件、1時間) して定量的に 5-methyl- $[\alpha$ -¹⁴C] furfuryl alcohol (66) とした。アルコール66は酸性で容易に分解し、また、高親水性であったので、還元後の混合物を氷冷下に加水分解し、不溶分を濾去後、塩析、ether 抽出することにより、66を損失無く得た。アルコール66の酸化に関しては、無水クロム酸-ピリジン法⁶⁷⁾、重クロム酸塩法⁶⁸⁾ 等の汎用法では、目的するアルデヒド67は 20% 以下の収率でしか得られなかった。そこで、適切な酸化剤を求めて種々検討した結果、二酸化マンガンが最適であることを見出した。すなわち、66 を dichloromethane 還流条件下に過剰の二酸化マンガンで酸化することにより、放射化学的収率 97% で 5-methyl [carbonyl-¹⁴C] furfural (67) を得た。このアルデヒド67に、allyl chloride とマクネシウムより調製 (tetrahydrofuran 中、50~60℃、30分間) した Grignard 試薬を作用 (室温、1時間) させること

により、所期のカルピノール68 (放射化学的純度 90%) を定量的に得た。

Piancatelli 等⁵⁷⁾ は、非放射性的のカルピノール68' を塩化亜鉛を用いて分子内転位させてシクロペンテノン体69a' とし、これに塩化アルミニウムを作用させて異性化することによりアレスロロン (69') を得たが、通算収率は 30% 程度と低かった (Fig. 30)。

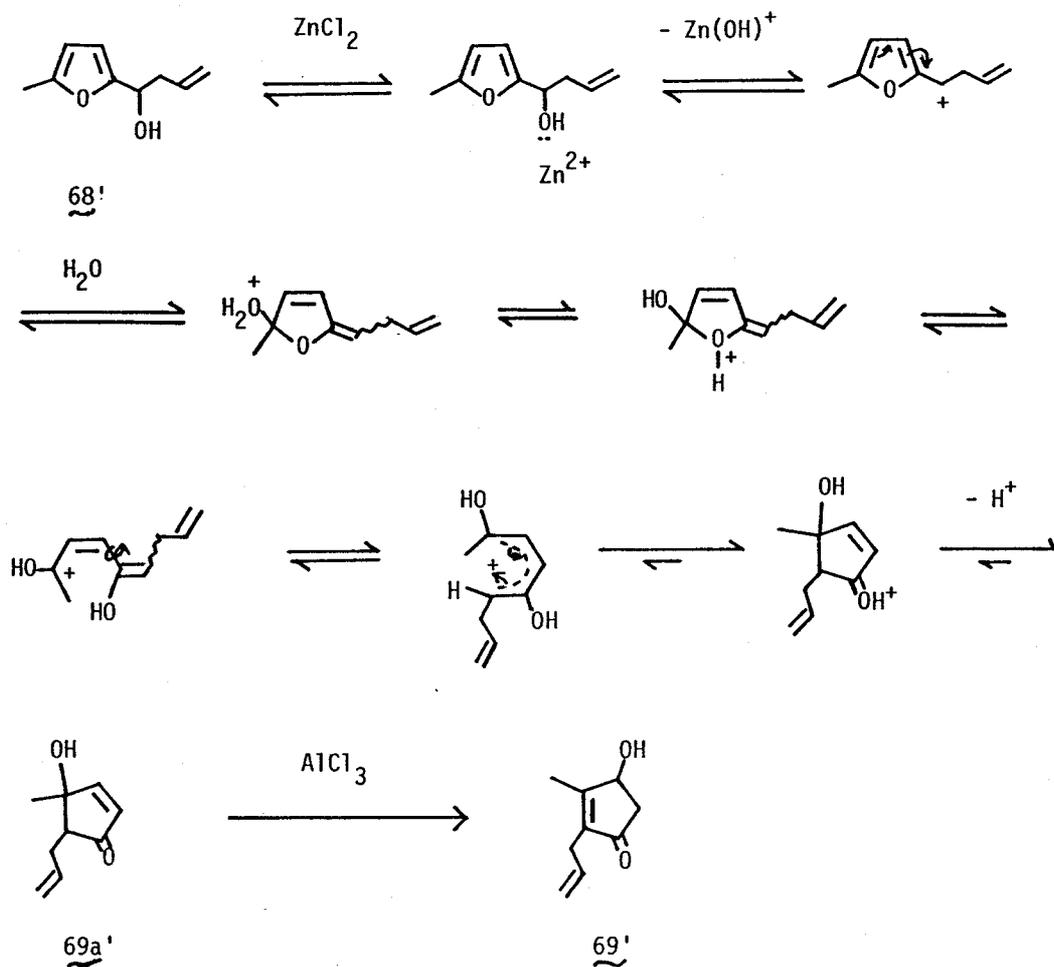


Fig. 30

Synthesis of non-radioactive allethrolone
by Piancatelli et. al.

しかしながら、近年、Saito and Yamachika⁵⁸⁾は、酢酸塩緩衝液を用いて至適条件で分子内転位と異性化を行うことに成功した。予備検討の結果、後者について、pH値を変化させるだけで所期の2種の反応を行うことが出来る one-pot reaction であること、小スケールにおいても好収率を実現出来ること等が明らかとなった。そこで、この酢酸塩緩衝を用いた方法により、¹⁴C標識カルビノール $\underline{68}$ をレスロロン体 $\underline{69}$ に変換した。すなわち、まず、弱酸性 (pH 5.0~5.2) の酢酸ナトリウム水溶液 (濃度 5.3 M) 中にて、加熱下に分子内転位 (還流条件、10時間) を行い、次いで、液性を中性 (pH 7.0~7.5) に調製後加熱、異性化した (還流条件、4時間)。反応後は、塩析、ether 抽出して得た粗生成物をカラムクロマト精製に付し、放射化学収率 49 % で [2-¹⁴C] allethrolone ($\underline{69}$) を得た。通算収率は $\underline{48}$ より 41% であった。

1-2 プロパルギルロン

前述のアレスロロンの場合と同様の方法により、プロパルギルロンの環2位¹⁴C標識化を行った (Fig. 31)。

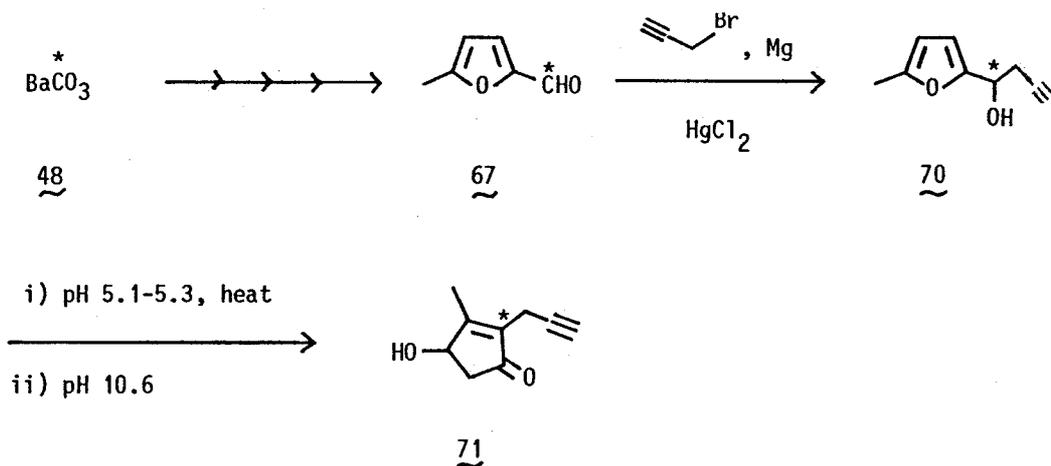


Fig. 31 Synthesis of [2-¹⁴C]propargyllone

上記経路は、Grignard 反応によるカルビノール70の合成、及びそのレスロロン体の変換に関して、アセチレン部分の存在のために、若干の改良が必要であった。

Grignard 反応に関しては、propargyl bromide とマグネシウムより調製した Grignard 試薬をアルデヒド67に作用させる一般的な方法では、目的のカルビノール70は殆ど得られなかった（収率3%）。この原因はアセチレン性プロトンが存在するために、常法では所期の Grignard 試薬が安定に調製出来ないためと推定された。そこで、予めアルデヒド67を propargyl bromide と共存させておいて、触媒存在下に発生させた Grignard 試薬と直ちに反応させるという改良法を検討した。触媒としては、塩化亜鉛、塩化第二水銀等が有効（収率61~98%）であったが、塩化亜鉛は吸湿性が高く、反応の再現性に問題があったので、吸湿性の低い塩化第二水銀を用いることとした。反応溶媒としては、溶解度の点から、etherよりも tetrahydrofuran (THF)の方が良好であったが、本反応の至適温度範囲が 30~25℃ と狭かったので、ether-THF 混合溶媒（3/1 v/v）の穏やかな還流条件を用いることにより、再現性を確保した。

すなわち、マグネシウム片及び触媒量の塩化第二水銀を入れた ether-THF（3/1 v/v）中に、propargyl bromide と67の ether-THF 溶液を穏やかな還流条件下に滴下しつつ反応した（25分間）。所期反応は、滴下終了時に殆ど完結していたので、塩化アンモニウム水を加えて反応を停止、不溶分を濾去後、塩析、ether 抽出することにより、放射化学的純度 80% の 1-(5-methyl-2-furyl)[1-¹⁴C] but-3-yn-1-ol (70) を得た（放射化学的収率 97%）。

カルビノール70の分子内転位-異性化によるレスロロン71への変換は、アレスロロンと同様、酢酸塩緩衝液中にて実施したが、前工程で用いた THF の残留が分子内転位反応の進行を著しく阻害し、70の分解（不溶化）を促進

した。この T H F による反応阻害の防止には、70に含まれる T H F の疎水性溶媒 (n - hexane 等) による共沸留去・置換、酢酸塩緩衝液の増量 (T H F 濃度の低下)、やや酸性側の条件 (pH 4. 8 ~ 5. 1) の適用等の措置が有効であった。また、次の異性化反応の至適条件は、アレソロンの場合 (pH 7. 0 ~ 7. 5、還流条件) とは異なり、弱塩基性 (pH 10. 5 付近)、室温条件であった。しかしながら、pH 12 以上の条件では、アレン体の生成とその分解による収率低下が観察されたので、pH 11 以下の条件を厳守した。すなわち、窒素気流下、カルピノール70を酢酸ナトリウム水溶液 (2. 5 m M、pH 5. 1 at 100 ° C) に懸濁し、pH 5. 1 ~ 5. 3 にて分子内転位反応を行った (還流条件、43 時間)。本工程で副生した不溶物を toluene 洗浄 (室温) にて除去後、リン酸水素二ナトリウムを添加、pH 10. 55 ~ 10. 60 として、転位反応で生成したシクロペンテノロン中間体を異性化した (室温、6 時間)。反応後、中和、塩析、ethyl acetate 抽出して得られた粗生成物をカラムクロマト精製することにより、放射化学的収率 37 % で [2 - ¹⁴ C] propargyllone (71) を得た。通算収率は、barium [¹⁴ C] carbonate (48) より 31 % であった。

ところで、プロパルギルロンのピレスロイドエステル (菊酸エステル) は、当初、ラセミ体ものもの (prallethrin F, 酸成分は (1 R) - cis, trans 体) が開発されてたが、現在では、より高活性の (+) - (S) アルコール成分を有するもの (prallethrin S F) に移行しつつある。⁶³⁾ 従って、その ¹⁴ C 標識体についても、光学活性体を調製する必要が生じてきた。類縁体であるアレソロンの光学分割法は、これまでに良く研究されている。例えば、LaForge 等⁵⁹⁾ は、アレソロンの光学活性菊酸エステルをセミカルバゾン体として、また、Horiuchi⁶⁰⁾ は、アレソロンのフタル酸モノエステルを光学活性アミン塩として、各々、分別晶析することにより、光学分割することに成功している。しかしながら、これらの方法は、何れも誘導化、分

別晶析、及びレスロロン体への再変換を必要とし、繁雑であるために、小スケールでは著しく低収率となることが予想された。そこで、小スケールの¹⁴C標識体調製においても、効率的に分割を行えるHPLC分取法の適用を考えた。

最近、⁶¹⁾ Oi等 は、光学活性HPLCカラム γ - (N - [(R) - 1 - naphthyl) ethylamidocarbonyl] - (S) - valyl) aminopropyl silica (Sumipax OA - 4100) により、レスロロン類の光学異性体比が分析できることを報告した。このカラムを用いて、プロパルギルロンの2種のエナンチオマーの分離を検討したところ、Table 16 に示した好結果を得た。

Table 16 Direct HPLC separation of the enantiomers of propargyllone by using a chiral-phase column

HPLC condition

Column: Sumipax OA-4100 (5 μ m, 25 cm x 4 mm ID)

Mobile phase: n-hexane/1,2-dichloroethane/ethanol = 100/20/1 (v/v/v)

Flow rate: 1.0 ml/min

Temperature: room temp.

Detector: UV (240 nm)

Isomer	Retention time [min]
(+)-(4S)	41.4
(-)-(4R)	44.2

そこで、Sumipax OA-4100 カラム (25cm×20mm ID) を用いた HPLC 分取により、[2-¹⁴C] propargyllone (71) を直接分割し、光学的にはほぼ純品の S 体 (71a) 及び R 体 (71b) を定量的に得た (Fig. 32)。

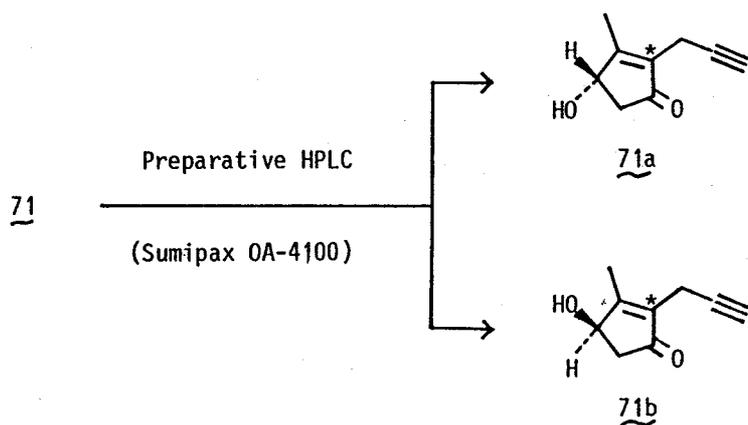


Fig. 32 Direct optical resolution of [2-¹⁴C]-propargyllone by preparative chiral-phase HPLC

一方、Umemura 等⁶³⁾ は、酵素による不斉加水分解反応と環 4 位水酸基の反転反応を併用して、ラセミ体の酢酸エステルから選択的に S 体のみを調製する方法を發明した (Fig. 33)。

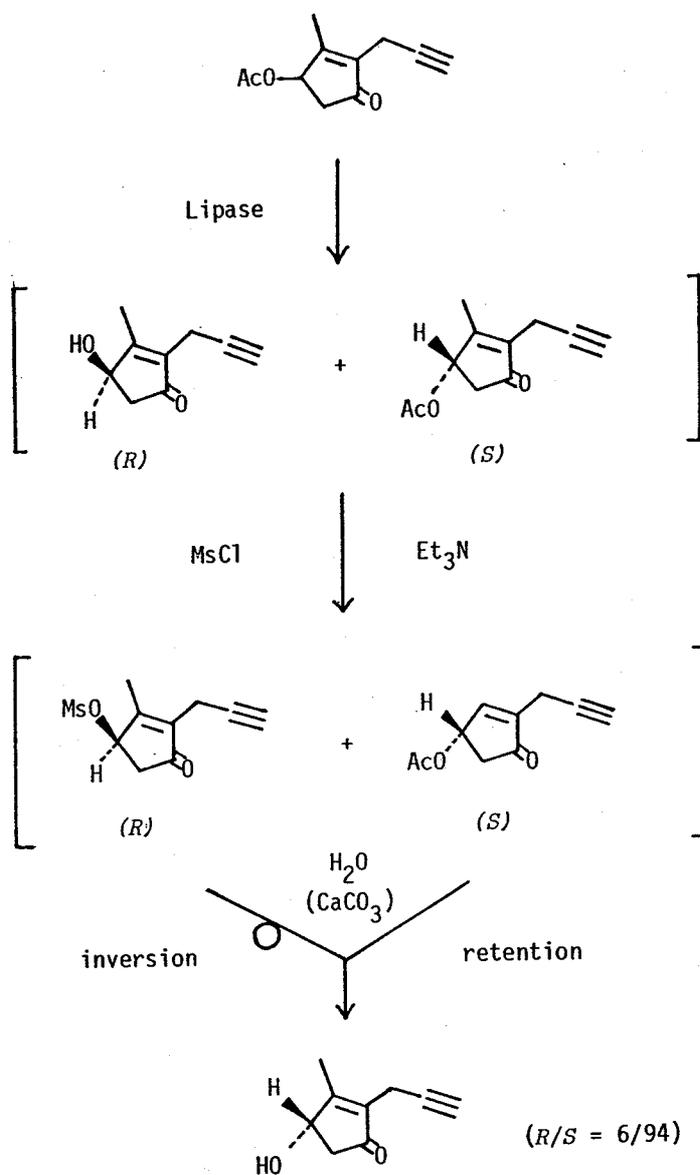


Fig. 33

Preparation of (*4S*)-propargyllone from the racemic acetate by Umemura et al.

この方法を応用して71の光学分割を行った (Fig. 34)。すなわち、ラセミレスロン71を触媒量の硫酸存在下に acetic anhydride と反応 (4-methyl-2-pentanone 中、40℃、1.5時間) することにより、放射化学的収率 92% で酢酸エステル72を得た。72を、リン酸水素二カリウム緩衝液中 (pH 6.0~6.2) にて、lipase によりR体のみを加水分解し (40℃、15時間)、カラムクロマトにてエステルとアルコールを分離することにより、(4S)-[2-¹⁴C] propargyllonyl acetate (72a) を放射化学的収率 44% で、また、(4R)-[2-¹⁴C] propargyllone (71b) (R/S=93.5/6.5) を放射化学的収率 45% で得た。得られたSエステル72aを 2% 硫酸中にて加水分解し (還流条件、2時間)、生成した粗アルコールをカラムクロマト精製することにより、放射化学的収率 92% で(4S)-[2-¹⁴C]-propargyllone (71a) を得た。71aの光学純度は、HPLC (OA-4100) 所見上、99% 以上、通算収率は、ラセミ体71より 36% であった。一方、Rアルコール71b (R/S=93.5/6.5) を、triethylamine 存在下、methanesulfonyl chloride で処理 (4-methyl-2-pentanone 中、0~5℃、4.5時間) して放射化学的収率 87% でスルホン酸エステル73bとし、これ炭酸カルシウム触媒下に加水分解 (還流条件、2時間)、反転させることにより、放射化学的収率 75% でS体71aを得た。この反転法で得られたものは、R/S=17.0/83.0 (HPLC 所見) であったが、前述の光学活性 HPLC 分取法または酵素による不斉加水分解法を適用することにより、これからS体のみを単離することが可能であった。

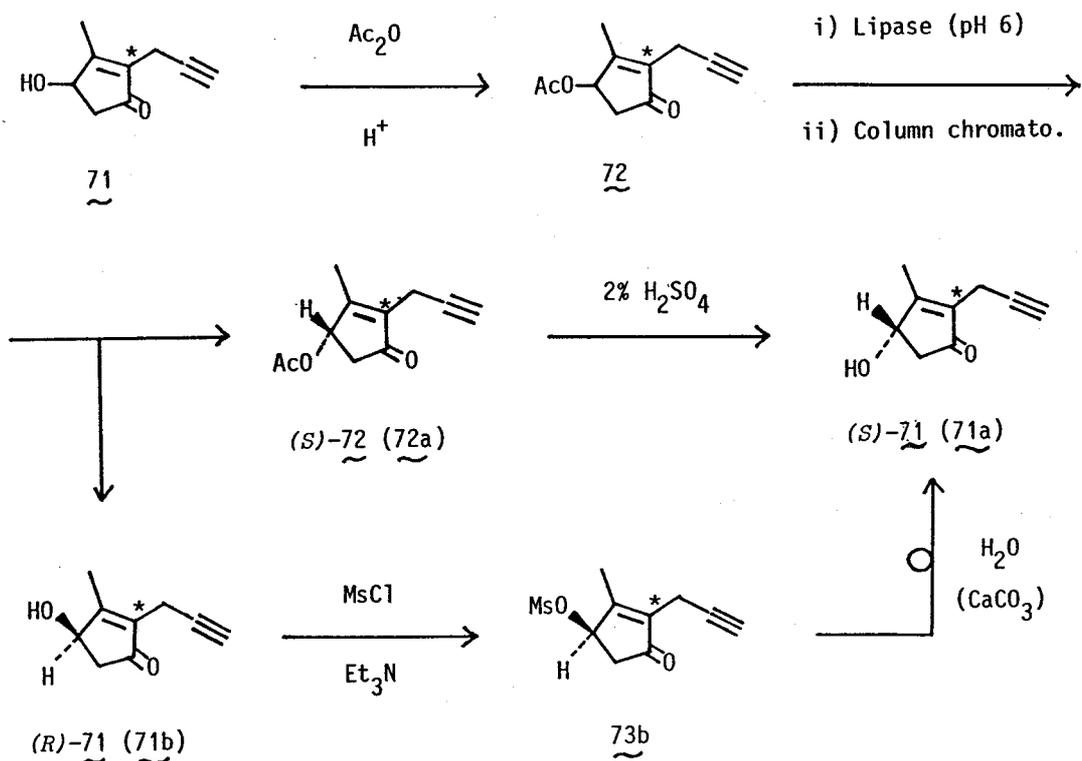


Fig. 34 Stereoselective preparation of (*4S*)-[2-¹⁴C] propargyllone

第2節 3-フェノキシベンジルアルコール及び α -

シアノ-3-フェノキシベンジルアルコール (41), (42), (69)

3-フェノキシベンジルアルコール及びその α -シアノ体は、フルフリルアルコール類のピレスロイドエステルに関する構造活性相関研究の予測に基づいて発明されたアルコール成分で⁷⁰⁾、高い殺虫活性と適当な光安定性(残効性)並びに低い哺乳動物毒性を合成ピレストロイドに賦与した理想的なアルコールであった。ところで、これらのベンジルアルコール類を逆合成的に眺めると、4箇所で切断できる(Fig. 35)。¹⁴C標識化を計画する場合、方法Iはベンジル α 炭素、方法IIはフェノキシ炭素、方法IIIはフェノキシフェニル炭素、方法IVはシアノ炭素の標識法とするのが、放射化学的に最良であることは明らかである。以上の考察に基づき、種々の炭素の¹⁴C標識化を行った。なお、 α -シアノ-3-フェノキシベンジルアルコールの光学分割に関しては、シアンヒドリンであること不安定さを考慮して、ピレスロイドエステルとした後に分割する方針とした(第3章で詳述)。

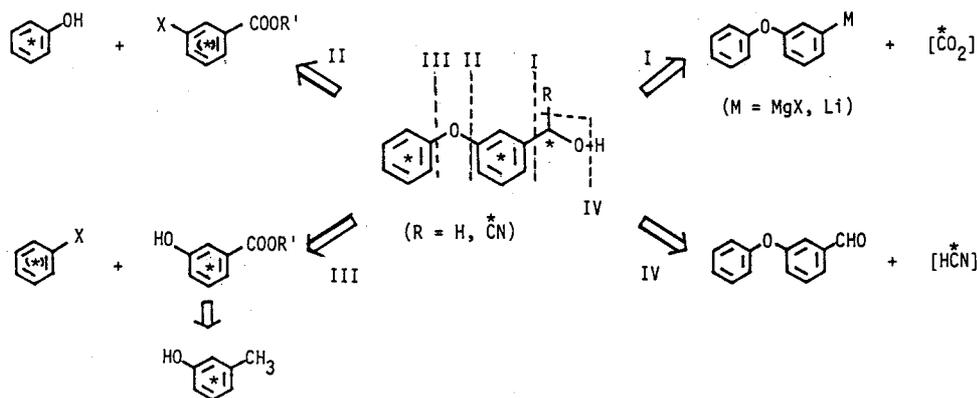


Fig. 35 Retrosynthetic analysis of 3-phenoxybenzyl and α -cyano-3-phenoxybenzyl alcohols

(A) ベンジル炭素の¹⁴C 標識化

方法 I (Fig. 35) に基づく 3-phenoxy [α -¹⁴C] benzyl alcohol (75) 及び α -cyano-3-phenoxy [α -¹⁴C] benzyl alcohol (77) の合成経路を Fig. 36 に示した。

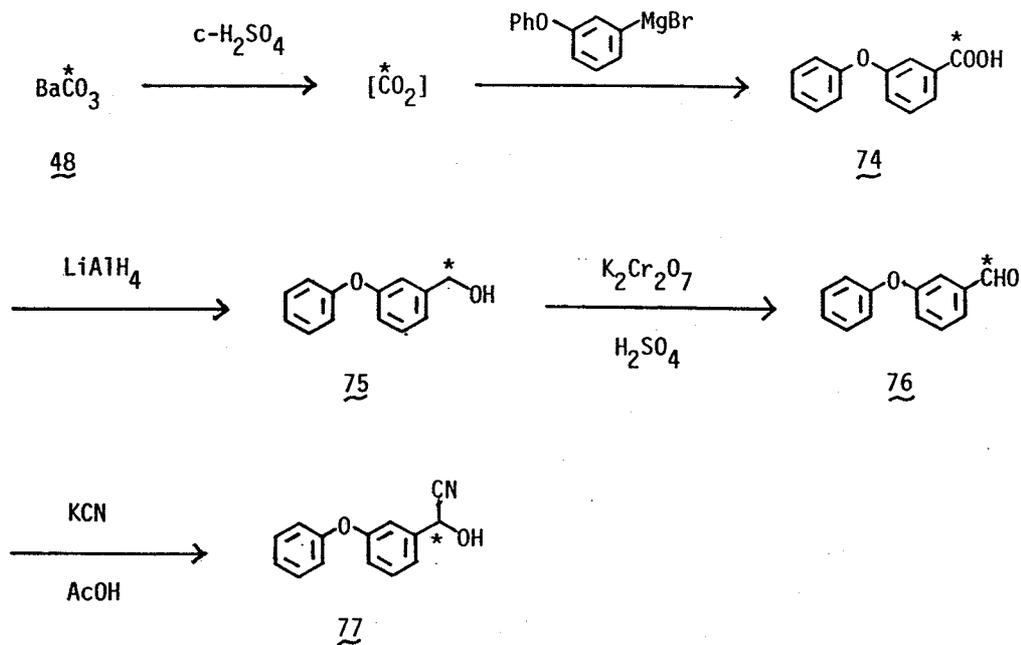


Fig. 36 Syntheses of 3-phenoxy[α -¹⁴C]benzyl alcohol and α -cyano-3-phenoxy[α -¹⁴C]benzyl alcohol

すなわち、3-phenoxyphenyl bromide とマグネシウムより調製 (tetrahydrofuran 中、還流条件、50分間) した Grignard 試薬を、barium [¹⁴C] carbonate (48) に濃硫酸を滴下して発生させた放射性炭酸ガスと反応 (-15℃、1時間) することにより、酸-アルカリ精製後に放射化学的収率 87% で 3-phenoxy [carboxyl-¹⁴C] benzoic acid (74) を得た。カルボン酸 74 は、常法に従い、lithium aluminium hydride にて還元 (ether 中、

- 5 ~ 0 °C、1 時間) することにより、定量的に 3 - phenoxy [α - 14 C] - benzyl alcohol (75) とした (48 からの通算収率 87%)。

アルコール 75 は、更に、アルデヒド 76 を経て α - シアノ体 77 に誘導した。アルデヒドへの酸化に関しては、Yoshitake 等の空気酸化法⁷¹⁾ 及び Pletcher 等の重クロム酸酸化法⁷²⁾ を検討した。その結果、前者は高温・長時間 (dimethylsulfoxide 中、180 °C、13 時間) を要し、収率 70% 程度で目的とするアルデヒドを与えたのに対し、後者では、室温条件下に短時間でアルデヒドへの定量的変換が達成された。そこで、Pletcher 法に従い、アルコール 75 を、dichloromethane - 9 N 硫酸中、相間移動触媒 tetra - n - butylammonium hydrogen sulfate 存在下、重クロム酸カリウムにて酸化 (室温、30 分間) することにより、カラムクロマト精製後に放射化学収率 90% で 3 - phenoxy [carbonyl - 14 C] benzaldehyde (76) を得た。アルデヒド 76 を、シアン化カリウムと酢酸より発生 (95% ethanol 中、0 ~ 5 °C、30 分間) させたシアン化水素にて、触媒量の triethylamine 存在下に処理 (0 ~ 5 °C、1 時間; 室温、2 時間) した後、塩酸酸性条件下に benzene 抽出することにより、定量的に α - cyano - 3 - phenoxy [α - 14 C] benzyl alcohol (77) (放射化学的純度 95%) を得た。得られたシアンヒドリン 77 は、安定剤 p-toluenesulfonic acid を少量添加後、そのまま種々のピレスロイドエステル合成に供した。なお、48 から 77 に至る通算収率は 79% であった。

(B) フェノキシフェニル炭素の 14 C 標識化

方法 III (Fig. 36) に基づく 3 - phenoxy [phenyl - U - 14 Cn] benzyl alcohol (81) 及び α - cyano - 3 - phenoxy [phenyl - U - 14 Cn] benzyl alcohol (83) の合成経路を Fig. 37 に示した。

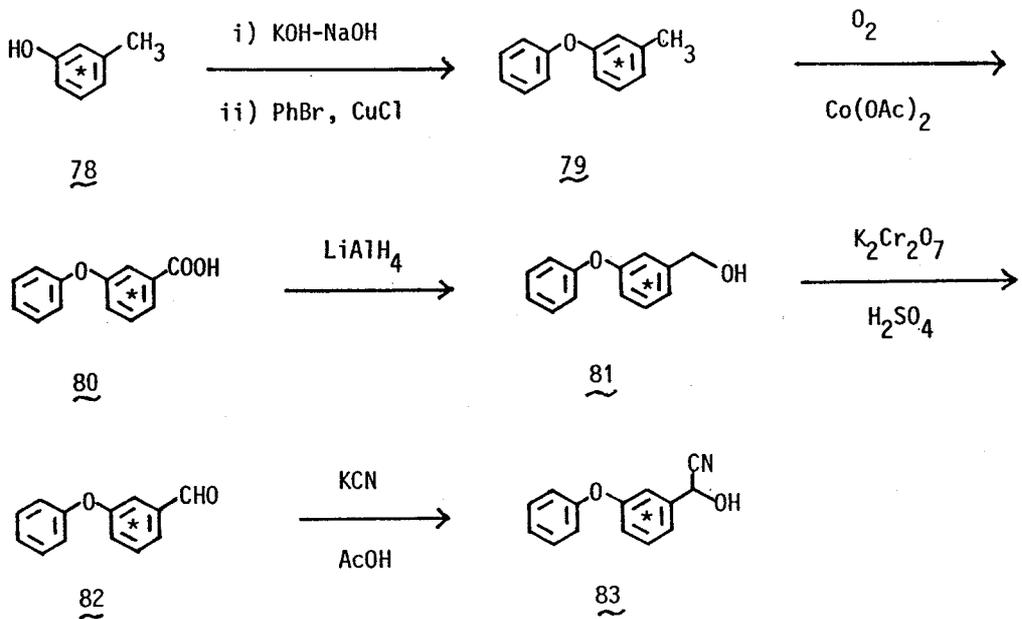


Fig. 37 Syntheses of 3-phenoxy[phenyl-U-¹⁴C_n]benzyl alcohol and α-cyano-3-phenoxy[phenyl-U-¹⁴C_n]benzyl alcohol

3-Phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C_n] toluene (79) は、m - [phenyl - U - ¹⁴C_n] cresol (78) と bromobenzene との Ullmann 反応⁷³⁾ により合成した。すなわち、78 を水酸化カルウム - 水酸化ナトリウム混合物 (1 : 1) と加熱 (benzene 中、還流条件、1 時間)、共沸脱水して調製した塩を、塩化第一銅触媒下に過剰の bromobenzene と反応 (190~210℃、4 時間) することにより、カラムクロマト精製後の放射化学的収率 76% で 79 を得た。次のアリルメチル基をカルボキシル基に変換する反応に関しては、重金属存在下に自動酸化する方法^{74), 75)} が良く知られているが、中でも、コバルト塩存在下の酸素酸化法⁷⁶⁾ は、79 の酸化に非常に有効であった。すなわち、臭化ナトリウム及び酢酸ナトリウムを添加した酢酸 - 無水酢酸 (3 / 2 v / v) 中で、酢酸コバルト触媒下に 79 を酸素ガスで酸化 (100~110℃、3 時間) することにより、放射化学的収率 94% で 3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C_n] -

benzoic acid (80) を得た。

カルボン酸 80 以降の誘導は、前述のベンジル α 炭素 ^{14}C 標識体の場合 (Fig. 36) と同様に行った。すなわち、84 を lithium aluminium hydride にて還元 (ether 中、還流条件、1 時間) して、定量的に 3-phenoxy - [phenyl - U - ^{14}Cn] benzyl alcohol (81) を得た。81 の通算収率は、78 より 70% であった。更に、アルコール 81 を、dichloromethane - 9 N 硫酸中、相間移動触媒 (tetra - n - butylammonium hydrogen sulfate) 存在下、重クロム酸カリウムで処理することにより、カラムクロマト精製後の放射化学的収率 98% で 3-phenoxy [phenyl - U - ^{14}Cn] benzaldehyde (76) を得、これにシアン化水素を付加させることにより、定量的に α -cyano - 3 - phenoxy [phenyl - U - ^{14}Cn] benzyl alcohol (83) とした。所期のシアンヒドリン 83 の通算収率は、78 より 69% であった。

(C) シアノ炭素の ^{14}C 標識化

方法 IV (Fig. 35) に基づく α - [^{14}C] cyano - 3 - phenoxybenzyl alcohol (84) の合成法を Fig. 38 に示した。

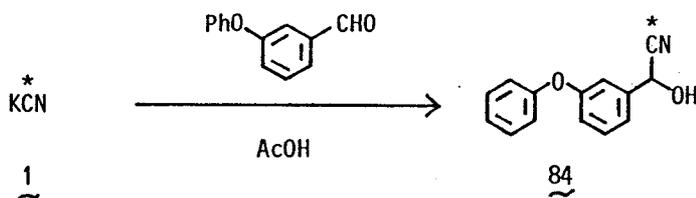


Fig. 38 Synthesis of α - [^{14}C] cyano - 3 - phenoxybenzyl alcohol

すなわち、potassium [^{14}C] cyanide (1) に酢酸 (2 当量) を作用 (95% ethanol 中、0~5℃、30 分間) させて調製した hydrogen [^{14}C] - cyanide を、触媒量 (3 mol %) の triethylamine 存在下に、3-phenoxybenzaldehyde (1.1 当量) と反応 (0~5℃、1 時間; 室温、終夜)、希塩酸にて希釈後、benzene 抽出することにより、放射化学的純度 99% 以上、化学的純度 90% の α - [^{14}C] cyano-3-phenoxybenzyl alcohol (84) を 1 基準の放射化学的収率 97% で得た。

第 3 節 N-ヒドロキシメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロフタルイミド

テトラメスリンのアルコール成分である N-ヒドロキシメチル-3, 4, 5, 6-テトラヒドロフタルイミド⁷⁷⁾ は、ピレスロイドアルコールの構造変換研究の比較的初期に見出された特異な構造を有するアルコールであるが、その構造の一部にレスロロン類との相似性が見られる。ところで、このアルコールの ^{14}C 標識化法としては、2 種の方法が知られていた。Yamamoto and Casida⁵⁰⁾ は、 [^{14}C] formaldehyde による 3, 4, 5, 6-tetrahydrophthalimide のヒドロキシメチル化反応を用いて ^{14}C 標識化を達成した。この方法は簡便性において優れていたが、揮発性の高い [^{14}C] formaldehyde を使用しなければならず、このことは、特に高比放射能体の調製に際して問題となることが予想された。また、代謝反応により標識化部分であるヒドロキシメチル基が脱離する可能性があり、トレーサー実験には骨格部分の標識体の方がより望ましいと考えられた。一方、Hazue 等⁵²⁾ は、Fig. 39 に示したルートにより、低比放射能のイミドカルボニル ^{14}C 標識体の合成を行った。本法によれば、高比放射能 ^{14}C 標識体も高収率かつ安全に合成出来ることが、予備検討の結果より明らかとなったので、基本的には Hazue 法に従い、N-hydroxymethyl-3, 4, 5, 6-tetrahydro [carbonyl- ^{14}C] phthalimide (88) を合成した。

間)してアンモニウム塩とし、単離後、これを窒素気流下にて加熱 (170℃～180℃、1.5時間)することにより脱アンモニア及び脱水し、粗生成物をカラムクロマト精製することにより、放射化学的収率 77% で 3, 4, 5, 6-tetrahydro-[carbonyl-¹⁴C] phthalimide (87)を得た。このイミド87を、触媒量の炭酸ナトリウム存在下に 6% ホルマリン水で処理 (60～65℃、2時間)することにより、放射化学的収率 93% で N-hydroxymethyl-3, 4, 5, 6-tetrahydro-[carbonyl-¹⁴C] phthalimide (88)とした。88の通算収率は、1より 43%であった。

第 1 部 第 2 章に関する実験

5-Methyl-2-[carboxyl-¹⁴C] furoic acid (65) の合成

乾燥窒素雰囲気下、2-methylfuran (862 mg, 10.5 mmol) の無水 ether (15 ml) 溶液に n-butyllithium の n-hexane 溶液 (1.88 M, 5.60 ml, 10.5 mmol) を添加し、還流条件下に 3 時間攪拌して、2-lithio-5-methylfuran の溶液を調製。冷却後、この溶液のはいた反応容器を真空ライン反応装置に取り付け、液体窒素浴上にて内容物を凍結し、ライン内部を真空とした後、barium [¹⁴C] carbonate (48) (157 mCi, 22.1 mCi/mmol, 7.10 mmol) に濃硫酸を滴下して発生させた carbon-14 dioxide をこれに導入、-78℃ (dry ice-acetone 浴上) にて 30 分間攪拌。氷冷下、反応混合物に含水 ether を加えて分解後、希塩酸にて酸性化 (PH 1~2)。食塩にて飽和し、ether 抽出。ether 層を無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 95% の 5-methyl-2-[carboxyl-¹⁴C] furoic acid (65) (13.8 mCi, 黄色針状晶) を得た。

R T L C : benzene / ethyl acetate = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.09

I R (ν_{\max} , cm⁻¹ , nujol) : 1650 (C = O)

N M R (δ , ppm , C D C l₂) : 2.40 (3 H , s , - C H₃) , 6.13

(1 H , d , J = 4 Hz , furyl H) , 7.20 (1 H , d ,

J = 4 Hz , furyl H) , 11.79 (1 H , b s , - C O O H)

5-Methyl [α -¹⁴C] furfuryl alcohol (66) の合成

乾燥窒素雰囲気下、攪拌した 5-Methyl-2-[carboxyl-¹⁴C] furoic acid (65) (138 mCi, 6.24 mmol) の無水 ether (40 ml) 溶液に、lithium aluminium hydride (94.7 mg, 250 mmol) を少量ずつ添加。添加終了後、還流条件下に 1 時間攪拌。冷却後、反応混合物を含水 ether 及び水で分解し、生

成した不溶物を濾別、ether 洗浄。濾洗液 (約 250 ml) を飽和食塩水 (50 ml) で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 及び R G C 所見の純度 99% の 5-methyl [α - 14 C] furfuryl alcohol (66) (139 mCi, 黄色オイル) を得た。

R T L C : benzene / ethyl acetate = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.42

R G C : 5 % Silicone X E - 60 (2 m) on Chromosorb W A W

D M C S (60 ~ 80 mesh) , 80 ° C , He 30 ml / min ; R T

[min] : 10.1

N M R (δ , ppm , $C D C l_3$) : 2.29 (3 H , s , - $C H_3$) , 4.49 (3 H , 2 s , - $C H_2 - O H$) , 5.83 (1 H , d , $J = 3$ Hz , furyl H) , 6.07 (1 H , d , $J = 3$ Hz , furyl H)

5 - Methyl [carbonyl - 14 C] furfural (67) の合成

5 - Methyl [α - 14 C] furfuryl alcohol (66) (135 mCi, 6.09 mmol) の dichloromethane (30 ml) 溶液に二酸化マンガン (2.01 g, 23.1 mmol) を添加し、還流条件下に1時間攪拌。同量の二酸化マンガンを追加し、更に1時間還流。冷却後、不溶物を濾別し、dichloromethane 洗浄。濾液を 5 % 炭酸ナトリウム、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、常圧留去することにより、R T L C 及び R G C 所見上の純度 97% の 5 - methyl [carbonyl - 14 C] furfural (67) (131 mCi) を得た。

R T L C : dichloromethane , R_f 0.41

R G C : 5 % Silicone X E - 60 (2 m) on Chromosorb W A W

D M C S (60 ~ 80 mesh) , 80 ° C , He 30 ml / min ; R T

[min] : 9.3

I R. (ν_{max} , cm^{-1} , nujol) : 1665 (C = O)

N M R (δ , ppm , $C D C l_3$) : 2.38 (3 H , s , - $C H_3$) , 6.20 (1 H ,

d, J = 4 Hz, furyl H), 7.13 (1 H, d, J = 4 Hz, furyl H), 9.41 (1 H, s, -CHO)

1 - (5 - Methyl - 2 - furyl) [1 - ¹⁴C] but - 3 - en - 1 - ol (68) の合成

乾燥窒素雰囲気下、攪拌した無水 tetrahydrofuran (6.5 ml) 中のマグネシウム片 (230 mg, 9.48 mg-atom) を少量のヨウ素で活性化。これに allyl chloride (707 mg, 9.24 mmol) の無水 tetrahydrofuran (6.5 ml) 滴液を、50~55℃ にて15分間を要して滴下、更に 55% にて30分間攪拌することにより、allylmagnesium chloride の溶液を調製。この Grignard 試薬の溶液に 5 - methyl [carbonyl - ¹⁴C] furfural (67) (93.4 mCi, 19.7 mCi / mmol, 4.74 mmol) の無水 tetrahydrofuran (5.0 ml) 溶液を室温にて滴下し、同温にて1時間攪拌。反応混合物を 20% 塩化アンモニウムにて分解し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、RTLC 及び RGC 所見の純度 93% の 1 - (5 - methyl - 2 - furyl) [1 - ¹⁴C] but - 3 - en - 1 - ol (68) (91.7 mCi, 黄色オイル) を得た。

RTLC : ether, R_f 0.56; chloroform, R_f 0.25

RGC : 5% Silicone XE - 60 (2 m) on Chromosorb W A W

DMCS (60~80 mesh), raised from 100℃ up to 200℃ at the rate of 6℃ / min, He 26 ml / min; RT [min] : 9.5

NMR (δ, ppm, CDCl₃) : 2.23 (3 H, s, -CH₃), 2.58 (2 H, d - d, J = 2 & 6 Hz, -CH₂ - CH = CH₂), 4.55 (1 H, t, J = 6 Hz, >CH - OH), 4.84 - 4.94 (1 H, m, vinyl H), 5.02 - 5.24 (1 H, m, vinyl H), 5.40 - 5.80 (1 H, m, vinyl H), 5.80 (1 H, d, J = 3 Hz, furyl H), 6.04 (1 H, d, J = 3 Hz, furyl H)

[2 - ¹⁴C] Allethrolone (69) の合成

1 - (5 - methyl - 2 - furyl) [1 - ¹⁴C] but - 3 - en - 1 - ol (68)
(91.7 mCi, 4.65 mmol) を 5.3 M 酢酸ナトリウム緩衝液 (60 ml) に懸濁、窒
素雰囲気下に 100℃ に加熱、pH 5.0 - 5.2 に調製後、穏やかな還流条件
下に10時間攪拌。(pH 5.0 - 5.2 を常時保持)。続いて pH 7.0 - 7.5 とし、
100℃ にて4時間攪拌。冷却後、反応混合物を食塩で飽和し、ether 抽出。
ether 層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得ら
れた油状粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane - ether
2 / 3 v / v)。その主成分を減圧留去することにより、R T L C 及び R G
C 所見の純度 97% の [2 - ¹⁴C] allethrolone (69) (44.5 mCi) を得た。

R T L C : ether , R_f 0.23 ; chloroform , R_f 0.04

R G C : 5 % Silicone X E - 60 (2 m) on Chromosorb W A W

D M C S (60~80 mesh), raised from 100℃ up to 200℃ at
the rate of 10℃ / min, He 30 ml / min ; R T [min] : 19.5

N M R (δ , ppm , C D C l₃) : 2.08 (3 H , s , - C H₃) , 2.36 (1 H ,
d , J = 3 Hz , cyclopentenyl methylene H) , 2.60 (1 H , d ,
J = 6 Hz , cyclopentenyl methylene H) , 2.90 (2 H , d ,
J = 6 Hz , - C H₂ - C H = C H₂) , 3.97 (1 H , b s ,
- O H) , 4.70 (1 H , m , - C H = C H₂) , 5.37 - 6.06
(1 H , m , > C H = C H₂)

1 - (5 - Methyl - 2 - furyl) [1 - ¹⁴C] but - 3 - yn - 1 - ol (70) の合成

乾燥窒素雰囲気下、攪拌したマグネシウム片 (220 mg, 9.05 mg - atom), 塩
化第二水銀 (触媒量) 及び無水 ether - tetrahydrofuran (3 / 1 v / v ,
4 ml) に、5 - methyl [carbonyl - ¹⁴C] furfural (67) (131 mCi , 22.1
mCi / mmol, 5.92 mmol) 及び propargyl bromide (886 mg, 7.45 mmol) の無

無水 ether-tetrahydrofuran (3/1 v/v, 4 ml) 溶液を穏やかな還流条件を保持しながら25分間を要して滴下。更に、同条件下に10分間攪拌。反応混合物を、氷冷下、20% 塩化アンモニウムで分解し、不溶物をセライト濾過によって除去。濾液に食塩を飽和し、ether 抽出。ether 層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、RTLC及びRGC所見上の純度80%の1-(5-methyl-2-furyl)[1-¹⁴C]but-3-yn-1-ol (70) (127 mCi) を得た。

RTLC: chloroform, R_f 0.16

RGC: 5% Silicone XE-60 (2 m) on Chromosorb W AW

DMCS (60~80 mesh), 110°C, He 30 ml/min; RT

[min]: 8.2

IR (ν_{max} , cm^{-1} , liquid film): 3400 & 3280 (-OH),

2120 (-C≡C)

NMR (δ , ppm, $CDCl_3$): 2.01 (1H, t, $J = 3$ Hz, -C≡

CH), 2.24 (3H, s, -CH₃), 2.66 - 2.86 (3H, m, C≡

C-CH₂- + -OH), 4.72 (1H, t, $J = 7$ Hz, furfuryl-

α -H), 5.84 (1H, d-d, $J = 1$ & 3 Hz, furyl H),

6.09 (1H, d, $J = 3$ Hz, furyl H)

[2-¹⁴C] Propargyllone (71) の合成

窒素気流下、1-(5-methyl-2-furyl)[1-¹⁴C]but-3-yn-1-ol (70) (127 mCi, 5.77 mmol) を 2.5 mM 酢酸ナトリウム緩衝液 (132 ml) に懸濁、100°C に加熱し、pH 5.1-5.3 に調整した後、還流条件下に43時間攪拌。室温まで冷却し、toluene (50 ml) にて洗浄。水層にリン酸水素二カリウム (172 mg, 1.27 mmol) を添加、希水酸化ナトリウム水にて pH 10.55-10.60 に調整後、室温にて6時間攪拌。反応混合物を希塩酸にて中和、

食塩を飽和し、ethyl acetate にて抽出。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥。減圧留去して得られた油状粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, dichloromethane-acetone 92/8 v/v) に付し、R T L C、R G C 及び R H P L C 所見上の純度 99% の [2-¹⁴C] propargyllone (71) (46.4 mCi) を得た。

R T L C : ether , R_f 0.23 ; dichloromethane / acetone = 20 / 1
(v / v) , R_f 0.04

R G C : 3 % Polyphenyl Ether 7 Rings (1 m) on Chromosorb W H P
(80~100 mesh), 140℃, He 30 ml/min ; R T [min] : 19.5

I R (ν_{max}, cm⁻¹, liquid film) : 1695 (C=O), 2120 (C≡C)

N M R (δ, ppm, CDCl₃) : 1.99 (1 H, d, J = 3 Hz, -C≡
C H), 2.22 (3 H, s, -C H₃), 2.40 (1 H, d, J = 3 Hz,
cyclopentenyl methylene H), 2.66 (1 H, d, J = 6 Hz,
cyclopentenyl methylene H), 3.08 (2 H, d, J = 3 Hz,
-C H₂-C≡C H), 3.77 (1 H, b s, -O H),
4.71 (1 H, d - m, J = 6 Hz, >C H - O H)

光学活性 H P L C 分取による [2-¹⁴C] propargyllone (71) の光学分割

(±) - [2-¹⁴C] Propargyllone (71) (46.4 mCi, 2.10 mmol, 315 mg) を n-hexane-ethanol (3/1 v/v, 6.3 ml) に溶解し、100 μl (71) 5.0 mg) ずつを分取 H P L C [Sumipax O A - 4100 column (5 μm, 25cm × 2cm I D) ; n-hexane/chloroform/ethanol (500/50/8 v/v/v) as the solvent with a flow rate of 8.0 ml/min, at room temp., monitored by UV absorbance at 240 nm] に注入。(+) - (4 S) 体 (71a) (保持時間 67.0 min) 及び (-) - (4 R) 体 (71b) (保持時間 81.0 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去することにより、前述の R H P L C

所見での光学純度 99% 以上の 2 種の光学異性体 $\underline{71a}$ (21.1 mCi), $\underline{71b}$ (21.7 mCi) を得た。

[2- ^{14}C] Propargyllonyl acetate (72) の合成

[2- ^{14}C] Propargyllone ($\underline{71}$) (153 mCi, 39.9 mCi/mmol, 3.83 mmol) の methyl isobutyl ketone (1.0 ml) 溶液に acetic anhydride (531 mg, 5.21 mmol) 及び濃硫酸 (2.35 mg) を添加し、40℃ にて1.5時間攪拌。反応混合物を水で希釈し、ether 抽出。ether 層を水で数回洗浄後、飽和食塩水洗浄、無水硫酸ナトリウム乾燥、減圧留去し、R T L C 純度 97% の [2- ^{14}C] - propargyllonyl acetate ($\underline{72}$) (140 mCi) を得た。

R T L C : ether , R_f 0.54

[2- ^{14}C] Propargyllonyl acetate (72) の不斉加水分解による (+) -

(4 S) - [2- ^{14}C] propargyllonyl acetate (72 a) 及び (-) -

(4 R) - [2- ^{14}C] propargyllone (71 b) の取得

(\pm) - [2- ^{14}C] Propargyllonyl acetate ($\underline{72}$) (139 mCi, 3.48 mmol) をリン酸水素二カリウム (419 mg) の水 (15 ml) 溶液に懸濁、5% 水酸化ナトリウムにて pH 6.0-6.2 とした後、lipase (5 mg) を添加し、40℃ で6時間攪拌 (常時 pH 6.0-6.2 を保持)。更に、lipase (5 mg) を追加して室温にて15時間、lipase (5 mg) を再追加後 40℃ にて8.5時間攪拌。反応混合物を食塩にて飽和し、ethyl acetate 抽出。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水流酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して、R T L C 所見上、エステル体 ($\underline{72a}$) / アルコール体 ($\underline{71b}$) = 46/54 の加水分解生成物 (133 mCi) を得た。本品をカラムクロマト (silica gel, ether) に付し、R T L C 純度 99% の (+) - (4 S) - [2- ^{14}C] propargyllonyl acetate ($\underline{72a}$) (60.9 mCi) 及び (-) - (4 R) - [2- ^{14}C] propargyllone ($\underline{71b}$) (63.2 mCi) を

得た。なお、前述の光学活性 R H P L C 分析所見に依れば、71 b の光学純度は 87.0% (R/S = 93.5/6.5) であった。

(+) - (4 S) - [2 - ¹⁴C] Propargyllone (71 a) の合成

(+) - (4 S) - [2 - ¹⁴C] propargyllonyl acetate (72 a) (60.9 mCi, 1.52 mmol) を 2% 硫酸 (15 ml) に懸濁し、還流条件下に 2 時間攪拌。冷却後、食塩を飽和し、ethyl acetate 抽出。有機層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗アルコール体をカラムクロマト精製 (silica gel, ether) することにより、R T L C 及び R H P L C 所見上の純度 98% の (+) - (4 S) - [2 - ¹⁴C] propargyllone (71 a) (55.7 mCi) を得た。本品の光学純度は、光学活性 R H P L C 所見上、99.6% (R/S = 0.2/99.8) であった。

(4 R) - [2 - ¹⁴C] Propargyllonyl methanesulfonate (73 b) の合成

(-) - (4 R) - [2 - ¹⁴C] Propargyllone (71 b) (614 μ Ci, 320 μ Ci/mmol, 1.92 mmol ; R/S = 94.2/5.8) の methyl isobutyl ketone (1.75 ml) 溶液に methanesulfonyl chloride (270 mg, 2.36 mmol) 及び triethylamine (233 mg, 2.30 mmol) を 0 ~ 5 $^{\circ}$ C にて添加し、同温にて 4 時間攪拌。更に、methanesulfonyl chloride (135 mg, 1.18 mmol) 及び triethylamine (116 mg, 1.15 mmol) を追加し、0 ~ 5 $^{\circ}$ C にて 1 時間攪拌。反応混合物を水にて希釈し、ether 抽出。ether 層を 5% 塩酸、水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 97% の (4 R) - [2 - ¹⁴C] propargyllonyl methanesulfonate (73 b) (535 μ Ci, 1.67 mmol) を得た。

R T L C : ether , R_f 0.31

反転加水分解による (+) - (4 S) - [2 -¹⁴C] propargyllone (71 a)

の合成

(4 R) - [2 -¹⁴C] Propargyllonyl methanesulfonate (73 b) (535 μ Ci, 1.67 mmol; $R/S = 94.2/5.8$) の methyl isobutyl ketone (1.5 ml) 溶液に、水 (2.0 ml) 及び炭酸カルシウム (10 mg) を添加し、還流条件下に 2 時間攪拌。冷却後、食塩で飽和し、ether 抽出。ether 層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 及び R H P L C 所見上の純度 80% の (+) - (4 S) - [2 -¹⁴C] propargyllone (71 a) (505 μ Ci) を得た。本品は、光学活性 H P L C 所見上、光学異性体比 $R/S = 17.2/82.8$ (光学純度 65.6%) を有した。

3 -Phenoxy [carboxyl -¹⁴C] benzoic acid (74) の合成

乾燥窒素雰囲気下、攪拌したマグネシウム片 (338 mg, 14.1 mmol) と無水 tetrahydrofuran (12 ml) の混合物に、3 -phenoxyphenyl bromide (3.20 g, 12.9 mmol) の無水 tetrahydrofuran (12 ml) 溶液を、穏やかな還流条件を保ちつつ、15分間を要して滴下。還流条件下に、更に30分間攪拌して、3 -phenoxyphenyl magnesium bromide の溶液を調製。冷却後、この Grignard 試薬の入った反応容器を真空ライン反応装置に接続し、液体窒素温度に冷却して内容を凍結、ライン内部を真空とした後、barium [¹⁴C] carbonate (48) (100 mCi, 337 mg, 1.71 mmol; 58.5 mCi/mmol) に濃硫酸を滴下して発生させた carbon-14 dioxide を導入、-15℃にて1時間攪拌。反応混合物に 20% 塩化アンモニウムを滴下して分解後、5% 塩酸にて酸性として ether 抽出。ether 層を 5% 炭酸ナトリウムで逆抽出。炭酸アルカリ水層に濃塩酸を注意深く滴下して酸性化後、再度 ether 抽出。この ether 層を水、飽和食塩水で洗浄。無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 99% の 3 -phenoxy [carboxyl -¹⁴C] benzoic acid (74) (87.0

mCi, 無色針状晶) を得た。

R T L C : chloroform / methanol = 9 / 1 (v / v) , R_f 0.43

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , CHCl_3) : 1695 (C = O)

3 - Phenoxy [α - ^{14}C] benzyl alcohol (75) の合成

乾燥窒素雰囲気下、攪拌した 3 - phenoxy [carboxyl - ^{14}C] benzoic acid (74) (65.4 mCi, 1.12 mmol) の無水 ether (24 ml) 溶液に、 $-5 \sim 0^\circ\text{C}$ にて、lithium aluminium hydride (240 mg, 6.32 mmol) を少量ずつ添加し、同温にて1時間攪拌。 $-5 \sim 0^\circ\text{C}$ にて反応混合物を氷水及び10% 塩酸で分解し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 及び R G C 所見上の純度 99% 以上の 3 - phenoxy [α - ^{14}C] benzyl alcohol (65.4 mCi, 無色オイル) を得た。

R T L C : chloroform / methanol = 9 / 1 (v / v) , R_f 0.44 ;

ether / n - hexane = 2 / 1 (v / v) , R_f 0.28

R G C : 5 % Silicone X E - 60 (2 m) on Chromosorb W (60 ~ 80 mesh) ,

160 $^\circ\text{C}$, He 32 ml / min ; R T [min] : 23.5

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , CHCl_3) : 3600 - 3000 (- O H) , 1595 (phenyl)

3 - Phenoxy [carboxyl - ^{14}C] benzaldehyde (76) の合成

3 - Phenoxy [α - ^{14}C] benzyl alcohol (75) (65.1 mCi , 29.5 mCi / mmol , 2.21 mmol) の dichloromethane (10.4 ml) 溶液に、重クロム酸カリウム (247 mg, 0.840 mmol) , tetra - n - butylammonium hydrogen sulfate (64 mg) 及び 9 N 硫酸 (10.4 ml) を添加し、室温にて1時間激しく攪拌。反応混合物を水にて希釈し、dichloromethane 抽出。dichloromethane 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗生成物を

カラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付し、R T L C 及び R G C 所見の純度 99% の 3-phenoxy [carboxyl- ^{14}C] benzaldehyde (76) (58.6 mCi) を得た。

R T L C : benzene , R_f 0.36 ; ether / n-hexane = 2 / 1 (v / v) ,
 R_f 0.46 ; n-hexane / ethyl acetate = 4 / 1 (v / v) ,
 R_f 0.33 ; chloroform , R_f 0.33

R G C : ① 5% Silicone X E - 60 (1 m) on Chromosorb W (60~80 mesh), 145℃, He 21 ml/min ; R T [min] : 28.8

② 3% Silicone S E - 52 (1.5 m) on Chromosorb W (60~80 mesh), 150℃, He 40 ml/min ; R T [min] : 11.0

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1690 (C = O)

N M R (δ , ppm , CDCl_3) : 6.84-7.70 (9 H , m , phenyl H) ,
9.85 (1 H , s , - CH O)

M S (m / z) : 198 (M^+ , base peak), 169, 141, 93, 77, 51

α -Cyano-3-phenoxy [α - ^{14}C] benzyl alcohol (77) の合成

Potassium cyanide (263 mg, 4.05 mmol) の 95% ethanol (3.85 ml) 溶液に、acetic acid (419 mg, 6.98 mmol) の 95% ethanol (3.85 ml) 溶液を 0~5℃ にて滴下し、同温にて30分間攪拌。この溶液の一部 (5.42 ml, HCN 2.85 mmol) 及び triethylamine (10.1 μl) を、0~5℃ にて、3-phenoxy [carbonyl- ^{14}C] benzaldehyde (76) (58.6 mCi, 1.99 mmol) の 95% ethanol (1.52 ml) 溶液に添加し、同温にて1時間、更に室温にて2時間攪拌。反応混合物を氷冷下に 5% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を 5% 塩酸で洗浄後、これに安定剤として p-toluenesulfonic acid monohydrate (1.5 mg) を添加、無水硫酸ナトリウム乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 95% の α -cyano-3-phenoxy [α - ^{14}C] benzyl

alcohol (77) (58.6 mCi) を得た。本品は、精製せずに種々のピレスロイドエステル₂の合成に供した。

R T L C : chloroform / methanol = 9 / 1 (v / v) , R_f 0.54 ;

n - hexane / toluene / acetic acid = 10 / 2 / 1 (v / v / v) , R_f 0.04

3 - Phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] toluene (79) の合成

m - [phenyl - U - ¹⁴C n] Cresol (78) (40.5 mCi , 15.9 mCi / mmol , 2.55 mmol) の無水 benzene (10 ml) 溶液に水酸化カリウム (67 mg, 1.20 mmol) 及び水酸化ナトリウム (48 mg, 1.20 mmol) を添加し、還流条件下、塩化反応で生成した水を共沸除去しつつ1時間攪拌。benzene を留去して得られた残渣に phenyl bromide (1.13 g, 7.2 mmol) 及び塩化第一銅 (4mg) を添加し、190~210℃ にて4時間攪拌。冷却後、反応混合物を氷水に投入し、ether 抽出。ether 層を10% 水酸化カリウム、水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた油状粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane) に付し、R T L C 純度 99% の 3 - phenoxy - [phenyl - U - ¹⁴C n] toluene (79) (30.6 mCi) を得た。

R T L C : n - hexane / ether = 20 / 1 (v / v) , R_f 0.54

N M R (δ , ppm , C D C l₃) : 2.29 (3 H , s , - C H₃) ,

6.60 - 7.42 (9 H , m , phenyl H) ,

M S (m / z) : 184 (M⁺ , base peak) , 169 , 141 , 91

3 - Phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzoic acid (80) の合成

3 - Phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] toluene (79) (30.6 mCi, 1.92 mmol), acetic acid (7 ml) , acetic anhydride (5 ml) , cobalt (II) acetate (100 mg) , sodium bromide (45 mg) , 及び sodium acetate (17 mg) の混合

物に酸素を導入しつつ、100-110℃にて3時間攪拌。冷却後、反応混合物を氷水にて希釈し、ether抽出。ether層を数回水洗し、5%炭酸ナトリウムで逆抽出。塩基性水層を濃塩酸にて酸性化し、再度ether抽出。ether層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C純度99%の3-phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] benzoic acid (80) (28.8 mCi) を得た。

R T L C : n-hexane / ethyl acetate = 4 / 1 (v / v) , R_f 0.25

3-Phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] benzyl alcohol (81) 及び α -cyano - 3-Phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] benzyl alcohol (83) の合成

前述のベンジル ^{14}C の標識体 75、77と同様の方法により合成した。すなわち、3-phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] benzoic acid (80) (28.8 mCi, 1.81 mmol) を lithium aluminum hydride で還元することにより、3-phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] benzyl alcohol (81) (28.5 mCi)を得た。本品を二相系重クロム酸酸化することにより、3-phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] - benzaldehyde (82) (28.0 mCi) とし、これに hydrogen cyanide を付加させて定量的に α -cyano - 3-phenoxy [phenyl - U - ^{14}C n] benzyl alcohol (83) (28.0 mCi) を得た。

α - [^{14}C] Cyano - 3-phenoxybenzyl alcohol (84) の合成

Potassium [^{14}C] cyanide (1) (49.5 mCi, 44.6 mCi / mmol, 1.11 mmol) の95% ethanol (1.1 ml) 溶液に、0~5℃にて、acetic acid (123 mg, 205 mmol) の95% ethanol (1.1 ml) 溶液を滴下し、同温にて30分間攪拌。この溶液に、0~5℃にて、3-phenoxybenzaldehyde (238 mg, 1.20 mmol) 及び triethylamine (3.6 mg, 36 μmol) の95% ethanol (1.1 ml) 溶液を添加し、同温にて1時間、更に室温にて終夜攪拌。反応混合物を氷冷した 5

% 塩酸中に投入し、benzene 抽出。benzene 層を 5 % 塩酸にて洗浄し、p-toluenesulfonic acid monohydrate (1 mg) を添加、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 99 % の α -[^{14}C] cyano-3-phenoxybenzyl alcohol (84) (48.1 mCi) を得た。

Cyclohexanol - [1-carboxyl- ^{14}C] - 1, 2-dicarboxylic acid (85) の

合成

0 ~ 5 °C にて攪拌した ethyl cyclohexanone - 2-carboxylate (850 mg, 5.00 mmol) に、potassium [^{14}C] cyanide (1) (100 mCi, 20.0 mCi / mmol, 5.00 mmol) の水 (1.0 ml) 溶液に滴下し、同温にて 3 時間攪拌。これに濃塩酸 (0.65 ml) を添加し、0 ~ 5 °C にて 64 時間放置することにより、シアンヒドリン中間体の溶液を調製。この溶液を還流条件下に 8 時間攪拌し、加水分解。冷却後、反応混合物を水 (10 ml) にて希釈し、食塩にて飽和した後、ether 抽出。ether 層を飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して暗緑色油状の粗生成物を得た。本品に benzene (1 ml) を添加し、非放射性標品の結晶を接種した後、室温にて 30 分間攪拌、晶析。生成した結晶を濾取、n-hexane-benzene (1 / 1 v / v) にて洗浄、減圧乾燥することにより、R T L C 純度 99 % cyclohexanol - [1-carboxyl- ^{14}C] - 1, 2-dicarboxylic acid (85) (68.5 mCi, 707 mg, 3.76 mmol ; 18.2 mCi / mmol ; 微緑色粉末) を得た。

R T L C : n-butanol / acetic acid / water = 4 / 1 / 1 (v / v) ,

R_r 0.59

I R (ν_{max} , cm^{-1} , nujol) : 3550 & 3440 (- O H) , 17.8 (C = O)

N M R (δ , ppm , CF_3COOH) : 1.13 - 2.48 (8 H , m , cyclohexyl methylene H) , 2.90 (1 H , t , J = 6 Hz , $>\text{C}\underline{\text{H}}-\text{COOH}$)

M S (m / z) : 189 ([M + 1] ⁺) , 125 (base peak)

3, 4, 5, 6-Tetrahydro [carbonyl-¹⁴C] phthalic anhydride (86) の合成

窒素気流下、cyclohexanol - [1-carboxyl-¹⁴C] - 1, 2-dicarboxylic acid (85) (67.7 mCi, 3.7 mmol) を 210~230℃ に加熱、攪拌 (35分間)。同温にて減圧下に生成した水を留去し、室温まで冷却。生成した橙色残渣を benzene にて抽出。benzene 抽出液を減圧留去して得た粗生成物を methylcyclohexane (1 ml) に加熱溶解し、標品を接種後、穏やかに攪拌しつつ室温まで放冷 (30分間)。析出した結晶を濾取し、n-hexane-methylcyclohexane (1 / 1 v / v) にて洗浄、減圧乾燥することにより、R T L C 純度 99% の 3, 4, 5, 6-tetrahydro [carbonyl-¹⁴C] phthalic anhydride (86) (59.3 mCi, 黄色結晶) を得た。

R T L C : benzene / methanol = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.62

I R (ν_{\max} , cm⁻¹ , nujol) : 1678, 1770 & 1843 (C = C & C = O)

N M R (δ , ppm , CCl₄) : 1.63 - 2.03 (4 H , m , methylene H) ,
2.13 - 2.58 (4 H , m , allylic methylene H)

M S (m / z) : 152 (M⁺) , 79 (base peak)

3, 4, 5, 6-Tetrahydro [carbonyl-¹⁴C] phthalimide (87) の合成

3, 4, 5, 6-Tetrahydro [carbonyl-¹⁴C] phthalic anhydride (86) (59.3 mCi, 3.26 mmol) と 20% アンモニア水 (3.0 ml) の混合物を 60℃ にて 30分間攪拌。アンモニア水を減圧留去、乾燥して得られたアンモニウム塩残渣を、窒素気流下、170~180℃ に加熱、攪拌 (1.5時間)。冷却後、反応混合物を水にて希釈し、chloroform 抽出。chloroform 層を 5% 炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して、橙色固体を得た。本品をカラムクロマト精製 (silica gel, chloroform and benzene-ethyl acetate (9 / 1 v / v)) することにより、R T L C 純度 99% の 3, 4, 5, 6-tetrahydro [carbonyl-¹⁴C] phthalimide (87)

(43.3 mCi, 無色結晶)を得た。

R T L C : benzene / ethyl acetate = 4 / 1 (v / v) , R_f 0.32

I R (ν_{\max} , cm⁻¹ , nujol) : 1692 , 1723 , 1735 & 1755

(C = C & C = O) , 3240 (N - H)

N M R (δ , ppm , C D C l₃) : 1.50 - 2.04 (4 H , m , methylene H) ,

2.11 - 2.54 (4 H , m , allylic methylene H) ,

7.57 (1 H , bs , >N-H)

M S (m / z) : 151 (M⁺) , 108 (base peak)

N - Hydroxymethyl - 3 , 4 , 5 , 6 - tetrahydro [carbonyl - ¹⁴C] phthalimide

(88) の合成

3 , 4 , 5 , 6 - Tetrahydro [carbonyl - ¹⁴C] phthalimide (87) (43.3 mCi , 2.38 mmol) , 35 % aq. formaldehyde (399 mg , H C H O 4.67 mmol) 、及び炭酸ナトリウム (0.70 mg) の水 (1.92 ml) 溶液から成る混合物を、60 ~ 65 °C にて2時間攪拌。冷却後、反応混合物を水にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去することにより、R T L C 純度 98 % の N - hydroxymethyl - 3 , 4 , 5 , 6 - tetrahydro [carbonyl - ¹⁴C] phthalimide (88) (40.2 mCi) を得た。

R T L C : benzene / ethyl acetate = 4 / 1 (v / v) , R_f 0.18

I R (ν_{\max} , cm⁻¹ , nujol) : 1685 & 1765 (C = C & C = O) ,

3340 (O - H)

N M R (δ , ppm , C D C l₃) : 1.05 - 2.05 (4 H , m , methylene H) ,

2.05 - 2.85 (4 H , m , allylic methylene H) ,

3.86 (1 H , t , J = 7 Hz , N - C H₂ - O H) ,

4.98 (2 H , d , J = 7 Hz , N - C H₂ - O H)

M S (m / z) : 181 (M⁺) , 108 (base peak)

引用文献

49. E. P. Winteringham, A. Harrison and P. M. Bridges, Biochem. J., 61, 359 (1955).
50. I. Yamamoto and J. E. Casida, Agric. Biol. Chem., 32, 1383 (1968).
51. T. Ando and J. E. Casida, J. Agr. Food Chem., 31, 151 (1983).
52. M. Hazue, T. Adachi, J. Miyamoto, K. Ueda and M. Endo, Agric. Biol. Chem., 33, 631 (1969).
53. H. Kanamaru, K. Kawahara, T. Kamada, A. Yoshitake and I. Nakatsuka, J. Label. Comp. Radiopharm., 23, 995 (1986).
54. (a) R. A. Ellison, Synthesis, 1973, 397
(b) I. Dohgane, H. Yamachika and M. Minai, J. Syn. Org. Chem. Jpn., 41, 896 (1983).
55. M. S. Schechter, N. Green and F. B. Laforge, J. Amer. Chem. Soc., 71, 1571 (1949).
56. (a) W. A. Gersdorff and P. G. Piquett, J. Econ. Entomol., 54, 1250 (1961).
(b) Y. Katsuda, Kagaku-to-Seibutsu, 7, 517 (1967).
57. (a) G. Piancatelli, A. Scettri and S. Barhador, Tetrahedron Lett., 1976, 3555
(b) G. Piancatelli and Scettri, Tetrahedron Lett., 1977, 1131
(c) G. Piancatelli, A. Scetti, G. David and M. D'Auria, Tetrahedron, 34, 2775 (1978).
(d) A. Scettri, G. Piancatelli, M. D'Auria and G. David, Tetrahedron, 35, 135 (1979).
(e) G. Piancatelli, Heterocycles, 19, 1735 (1982).

58. K. Saito and H. Yamachika , Jpn. Patent 56-81531 , 161344 and 166144 (1981).
59. F. B. La Forge , N. Green and M. S. Schechter , J. Org. Chem. , 19 , 457 (1954).
60. J. Horiuchi , Jpn. Patent 49-124047 , 49-127952 (1974) and 50-13365 (1975).
61. N. Ôi and H. Kitahara , J. Liq. Chromatogr. , 9 , 511 (1986).
62. (a) T. Oritani and K. Yamashita , Agric. Biol. Chem. , 39 , 89 (1975).
- (b) H. Hirohara and S. Mitsuda , Jpn. Patent 58-31994 (1983).
63. (a) T. Umemura , A. Inoue , S. Mitsuda , A. Higo , H. Hirohara and H. Hirai , " Synposium on Insecticidal Activity in the Pyrethroids " (the 190th ACS National Meeting , Cikago , U.S.A. ; Sept. 9th , 1985).
- (b) T. Umemura , A. Inoue , S. Mitsuda , Jpn. Patent 60-1151 (1965).
64. V. Ramanathan and R. Levine , J. Org. Chem. , 27 , 1216 (1962).
65. J. Vit (Realco Chemical Co.)
66. S. Divald , M. C. Chum and M. M. Joulli , J. Org. Chem. , 41 , 2835 (1976).
67. I. R. Hollum , J. Org. Chem. , 26 , 4814 (1961).
68. (a) D. G. Lee and U. A. Spitzer , J. Org. Chem. , 35 , 3589 (1970).
- (b) D. Pletcher and S. I. D. Tait , Tetrahedron Lett. , 1978 , 1601
69. H. Kanamaru , T. Kamada , A. Yoshitake and I. Nakatsuka , Radioisotopes , 35 , 109 (1986).

70. N. Itaya , N. Matsuo , Y. Okuno and H. Yoshioka , Nippon Nôgeikagaku Kaishi , 57 , 1147 (1983).
71. A. Yoshitake , Y. Makari , K. Kamahara and M. Endo , J. Label. Comp. Radiopharm. , 9 , 537 (1973).
72. D. Pletcher and S. J. D. Tait , Tetrahedron Lett. , 1978 , 1601
73. H. N. Ungrade , Chem. Revs. , 46 , 405 (1946).
74. A. S. Hay , J. M. Eustance and H. S. Blanchard , J. Org. Chem. , 25 , 616 (1960).
75. A. S. Hay and H. S. Blanchard , Canad. J. Chem. , 43 , 1306 (1965).
76. T. Matsuo , N. Itaya and T. Mizutani , Jpn. Patent 49-62438 (1974).
77. T. Kato , Y. Ueda and K. Fujimoto , Agric. Biol. Chem. , 28 , 914 (1964).

第3章 光学活性 (^{14}C) ピレスロイドエステル の合成^{7), 8), 9), 10), 41), 42), 53), 69)}

第1章及び第2章で述べた種々の ^{14}C 標識酸成分及び ^{14}C 標識アルコール成分のピレスロイドエステルへの変換は、主に酸クロリドとアルコールを縮合する常法(方法A)に依った。すなわち、炭化水素系溶媒中にて、酸成分を thionyl chloride または oxalyl chloride で処理(室温 \sim 70 $^{\circ}\text{C}$ 、1 \sim 3時間)して定量的に酸クロリドとし、これを pyridine 存在下にアルコール成分と縮合(室温、2 \sim 15時間)、粗生成物をカラムクロマト精製することにより、種々の部位が ^{14}C 標識された様々なピレスロイドエステルを得た。

α -シアノ-3-フェノキシベンジルエステル類の合成に関しては、他の方法も用いた(Fig. 40)。すなわち、酸部分の標識体については、 ^{14}C 標識カルボン酸と α -cyano-3-phenoxybenzyl bromide を、1, 1, 1-trichloroethane-水中、炭酸カリウム及び相間移動触媒(tetra-n-butylammonium bromide)存在下に縮合(60 \sim 70 $^{\circ}\text{C}$ 、5時間)する方法(方法B)^{78), 79)}を適用し、また、アルコール部分の標識体については、酸クロリドが水に対して安定な場合は、 ^{14}C 標識アルデヒド、酸クロリド、青酸塩を、炭化水素(heptane, toluene 等)-水中、相間移動触媒(benzyltriethylammonium chloride)存在下に、一挙に縮合(-5 $^{\circ}\text{C}$ \sim 室温、2 \sim 8時間)する Francis 反応法(方法C)^{80), 81)}を適用することにより、工程の短縮に成功した。なお、シアノ炭素標識体の場合、及び酸クロリドが水に対して不安定な場合は、無水条件下の常法(方法A)⁴³⁾に依った。

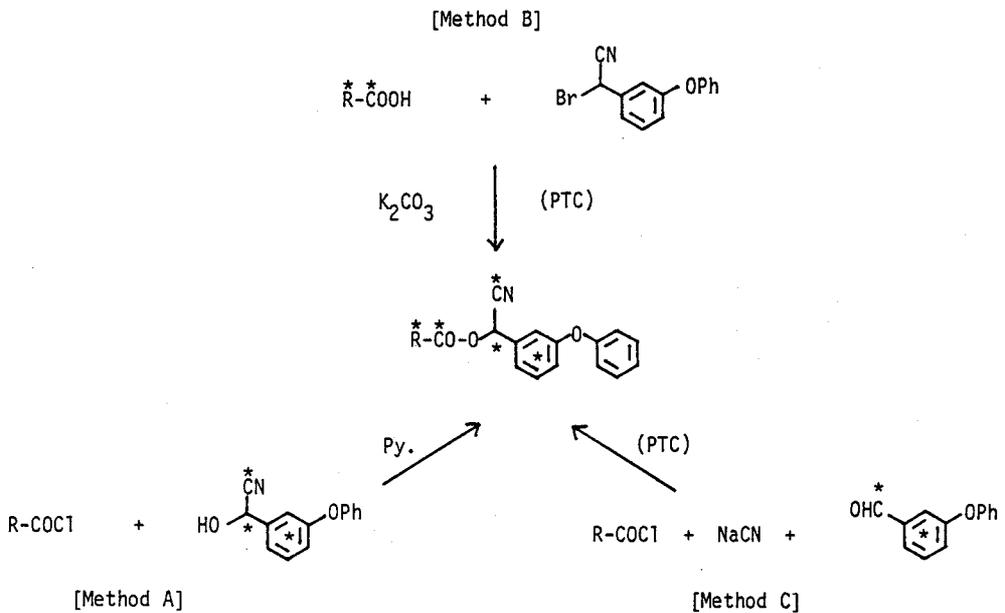


Fig. 40 Three methods for the preparation of various ^{14}C -labelled α -cyano-3-phenoxybenzyl esters

本研究において合成し、安全性評価のための種々のトレーサー研究に供した ^{14}C 標識ピレスロイドをまとめて Table 17 に示した。光学活性体の調製は、各ピレスロイド殺虫剤の開発経緯に従い、主に酸成分に関して行った。すなわち、多くの場合、光学活性酸成分とラセミアルコール成分を縮合することにより、光学活性な ^{14}C 標識ピレスロイドを合成した。

Table 17

 ^{14}C 標識ピロイト一覽

ピロイト	^{14}C 標識位置	比放射能 [mCi/mmol]	光学異性体*1)	エステル化 方法*2)	単離収率 [%]
Allethrin	ester carbonyl	17.9	(1R)- <u>cis</u>	A	76
			(1R)- <u>trans</u>	A	83
	cyclopentenyl-2	19.7	(1R)- <u>cis</u>	A	85
			(1R)- <u>trans</u>	A	81
Prallethrin	ester carbonyl	20.6	(1R)- <u>cis</u>	A	64
			(1R)- <u>trans</u>	A	63
		41.0	(4S),(1R)- <u>cis</u>	A	71
			(4S),(1R)- <u>tr.</u>	A	70
	cyclopentenyl-2	22.0	(1R)- <u>cis</u>	A	67
			(1R)- <u>trans</u>	A	77
		40.1	(4S),(1R)- <u>cis</u>	A	62
			(4S),(1R)- <u>tr.</u>	A	66
Tetramethrin	ester carbonyl	17.9	(1R)- <u>cis</u>	A	69
			(1R)- <u>trans</u>	A	74
	imido carbonyl	18.2	(1R)- <u>cis</u>	A	65
			(1R)- <u>trans</u>	A	61
Empenthrin	carbonyl	17.9	(1R)- <u>cis</u>	A	65
			(1R)- <u>trans</u>	A	72
Phenothrin	carbonyl	41.3	(1R)- <u>cis</u>	A	73
			(1R)- <u>trans</u>	A	69
	benzyl- α	24.4	(1R)- <u>cis</u>	A	79
			(1S)- <u>cis</u>	A	94
			(1R)- <u>trans</u>	A	53
(1S)- <u>trans</u>	A	46			
Cyphenothrin	carbonyl	27.7	(1R)- <u>cis</u>	B	98
			(1R)- <u>trans</u>	B	99
	cyclopropyl-1	22.8	(1R)- <u>cis</u>	N.E.	
			(1S)- <u>cis</u>	N.E.	
			(1R)- <u>trans</u>	N.E.	
			(1S)- <u>trans</u>	N.E.	
	propenyl-2	24.4	(1R)- <u>cis</u>	B	86
			(1R)- <u>trans</u>	B	93
	benzyl- α	29.4	(1R)- <u>cis</u>	A	77
			(1R)- <u>trans</u>	A	87
cyano	44.4	(1R)- <u>cis</u>	A	85	
		(1R)- <u>trans</u>	A	98	
Fenpropathrin	cyclopropyl-1	25.6		B	100
	benzyl- α	24.5		C	94

	phenoxyphenyl(U)	15.7		C	66
Permethrin	cyclopropyl-1	58.0	(1R)-cis	A	85
			(1S)-cis	A	82
			(1R)-trans	A	88
			(1S)-trans	A	79
	phenoxyphenyl(U)	109.0	(1R)-cis	A	88
			(1S)-cis	A	98
			(1R)-trans	A	82
			(1S)-trans	A	76
Cypermethrin	carbonyl	33.9	(1R)-cis	B	93
			(1S)-cis	B	99
			(1R)-trans	B	97
			(1S)-trans	B	93
	cyclopropyl-1	22.0	(1R)-cis	B	92
			(1S)-cis	N.E.	
			(1R)-trans	B	88
			(1S)-trans	N.E.	
	benzyl- α	31.1	(1R)-trans	A	84
			(α R),(1R)-tr.	D	quanti.
	phenoxyphenyl(U)	109.0	(α S),(1R)-tr.	D	quanti.
			(1R)-cis	A	87
			(1S)-cis	A	86
			(1R)-trans	A	83
cyano	28.5	(1S)-trans	A	85	
		(1R)-cis	A	83	
			(1R)-trans	A	75
Deltamethrin	cyclopropyl-1	22.8	(1R)-cis	N.E.	
			(1S)-cis	N.E.	
			(1R)-trans	N.E.	
			(1S)-trans	N.E.	
	benzyl- α	31.2	(1R)-cis	A	82
			(α R),(1R)-cis	D	quanti.
			(α S),(1R)-cis	D	quanti.
Fenvalerate	carbonyl	18.4	A	B	95
		35.7	A α ,A β ,B β ,B β	D	quanti.
	chlorophenyl(U)	29.6	A	B	93
		53.8	α	A	94
		20.8	A α	E	48
		31.6	A α ,A β ,B α ,B β	D	quanti.
	alc. benzyl- α	33.9	A	C	89
		phenoxyphenyl(U)	15.9	A	C
	15.5		A α	E	45
	34.1		A α ,A β ,B α ,B β	D	quanti.
	39.2		A	A	65
		cyano			

*1) Fenvalerate の光学異性体表示は、以下の通り。 A: 酸側 S 配置 ; B: 酸側 R 配置 ; α : アルコール側 S 配置 ; β : アルコール側 R 配置 ($A = A\alpha + A\beta$, $\alpha = A\alpha + B\alpha$)。

*2) ピレストリンエステルの調製法の表示は、以下の通り。

A: ピレストリン共存下に酸クロリドとアルコールを縮合。

B: 炭酸カルウム及び相間移動触媒存在下に加水分解酸と α -シアン-3-フェニルプロピオン酸を縮合。

C: 相間移動触媒存在下に酸クロリド, シアン化ナトリウム, 3-フェニルプロピオン酸の三者を縮合。

D: 光学活性カラム(Sumipax OA-2000 等), 又は通常のシリカカラム(VMC Pack SH-043)を使用し, 自動分取HPLCによって光学異性体を分離。後者のHPLCカラムは, 酸又はアルコール成分のどちらか一方が光学活性であるもののジアステレオマー分離のみに使用。

E: [^{14}C]Fenvalerate A (酸側 S 配置)をトリエチルアミン共存下にエタノール中から再結晶して得られた結晶部分を, 更に再結晶。

N.E.: エステル化せず, 酸成分をトレーサー研究に供給。

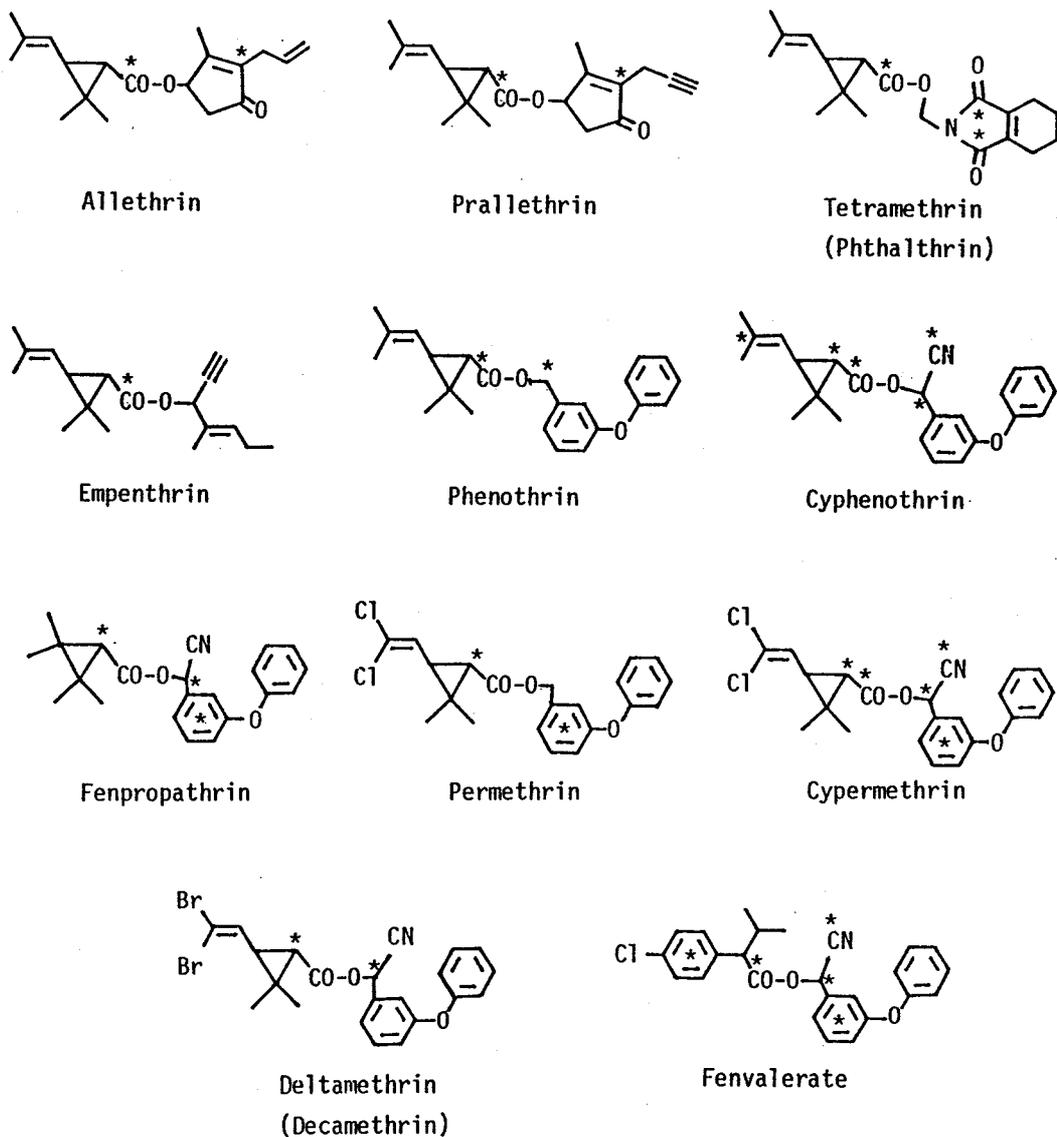


Fig. 41 Structures of ^{14}C -labelled pyrethroids

プラレスリン (prallethrin) に関しては、酸・アルコール両成分光学活性体 (酸側 (1R) -cis 体及び (1R) -trans 体、アルコール側 (4S) 体) をも、光学活性カルボン酸と光学活性アルコールを縮合することにより調製した。

フェンバレレート (fenvalerate) に関しては、酸側 S 配置の A 体、アルコール側 S 配置の α 体、両成分 S 配置の A α 体、及び全ての光学異性体の調製法を確立した。すなわち、A 体は (+) - (2S) - 2 - (4-chlorophenyl) - 3 - methylbutyric acid (第 1 章第 2 節) を用いることにより、また、 α 体は、酵素による不斉加水分解⁸²⁾ を用いて調製した (α S) - α - cyano - 3 - phenoxy - benzyl alcohol を用いることにより合成した。A α 体の調製は、主に Aketa 等の方法^{83), 84)} (方法 E) を用いて行った。すなわち、A 体を methanol に溶解し、-10℃付近にて、triethylamine 存在下アルコール側ベルジル位のエピ化 (epimerization) を溶解部分について行いつつ、A α 体を優先晶析 (-10~0℃、3 日間)、得られた結晶を更に再結晶 (toluene - heptane [9 / 1 v / v]) することにより光学純度 99% 以上の A α 体を放射化学的収率 45~50% で得た。また、A 体或いは α 体は、分取 HPLC (シリカカラム YMC-Pack SH-043, n-hexane / ethyl acetate [500 / 8 v / v]) によって容易にジアステレオマーが分離され、A α 体及び A β 体、或いは、A α 体及び B α 体の純品を与えた。更に、光学活性カラムを用いた HPLC 分取 (Sumipax OA-2000, n-hexane / 1, 1, 1-trichloroethane / isopropanol [500 / 30 / 1.25 v / v / v]) により、定量的且つ効率的に 4 種異性体 (A β 、B α 、A α 及び B β 体) を分離した。この HPLC 分取による光学活性体調製法 (方法 D) は、サイパーメスリン (cypermethrin)、デルタメスリン (deltamethrin) 等、他の α -シアノ-3-フェノキシベンジルエステル類への適用も可能であった。

得られた種々の光学活性 [¹⁴C] ピレスロイドエステルの光学純度 (光学 (立体) 異性体比) の分析に関しては、研究開始当初は旋光度、並びにジアステレオマー化法を用いた。後者については、例えば、菊酸エステル類は、加水分解し、

光学活性アルコール (d-2-octanol) のエステルに誘導した後、キャピラリーカラム (Silicone DC QF-1 W. C. O. T., 32 m × 0.25 mm I D) を用いて GC 分析²⁴⁾ することにより、酸成分の立体異性体比を測定した。フェンバレート (A α) は、l-menthol 存在下、濃塩酸にて処理 (toluene-濃塩酸中、80~85℃、3時間) してそのシアノ基をl-メントキシカルボニル基に変換することによってジアステレオマー化し、4種異性体の比を HPLC (μ -Porasil, n-hexane/ethyl acetate [500/7 v/v]) により測定した⁸⁵⁾。一方、近年における光学活性 HPLC カラムの発展^{86), 87)} は目覚ましく、中でも Pirkle 等⁸⁸⁾ によって発明され、 $\widehat{O}i$ 等²⁶⁾ によって開発、用途拡大された光学活性固定相カラム γ -[(R)-N-(3,5-dinitrobenzoyl) phenylglycyl]-aminopropyl silica (Sumipax OA-2000) は、種々のピレスロイドの光学異性体を直接分離・分析することを可能とした。本研究において調製された光学活性な¹⁴C 標識ピレスロイドの大多数についても、この Sumipax OA-2000 を用いた radio-HPLC 分析により、正確な光学異性体比を直接測定することが可能であった (実験の部参照)。

第 1 部 第 3 章に関する実験

(1 R) - cis - [ester carbonyl - ^{14}C] Allethrin (1 - Oxo - 2 - allyl - 3 - methyl - cyclopent - 2 - en - 4 - yl (1 R) - cis - 3 - (2 - methyl - 1 - propenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropane [^{14}C] carboxylate, allthronyl (1 R) - cis - [carbonyl - ^{14}C] chrysanthemate) の合成

(1 R) - cis - [carboxyl - ^{14}C] Chrysanthemic acid (10) (6.36 mCi, 17.9 mCi / mmol, 0.355 mmol ; 光学純度 98.2 %) 及び thionyl chlorid (66 mg, 0.55 mmol) の無水 benzene (1.0 ml) 溶液を 60~70℃ にて 3 時間攪拌後、減圧留去して (1 R) - cis - [carbonyl - ^{14}C] chrysanthemoyl chloride を得た。乾燥窒素雰囲気下、この酸クロリドを無水 toluene (1.0 ml) に溶解、これに allethrolone (71 mg, 0.43 mmol) 及び pyridine (41 mg, 0.52 mmol) の無水 toluene (70 μl) 溶液を添加し、60~65℃ にて 2 時間攪拌。冷却後、反応混合物を 10 % 塩酸で希釈し、benzene 抽出。benzene 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane - ether 95 / 5 v / v) することにより、R T L C 及び R G C 所見上、放射化学的並びに化学的純度 99 % 以上、光学純度 98.0 % の (1 R) - cis - [ester carbonyl - ^{14}C] - allethrin (3.85 mCi, $[\alpha]_D^{25} + 34.4^\circ$ (c = 3.28, CHCl_3)) を得た。

R T L C : n - hexane / ether = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.44 ;

chloroform, R_f 0.31

R G C : ① 2 % D E G S (2.25 m) on Chromosorb W (60~80 mesh),
180℃, He 30 ml / min ; R T [min] : 19.2

② 2 % Silicone D C Q F - 1 (2 m) on Chromosorb

W (60~80 mesh), 150℃, He 28 ml / min ; R T [min] :

cis 15.9, trans 17.4

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , CHCl_3) : 1715 (C = O)

N M R (δ , ppm, CDCl_3) : 1.25 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.28 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.62-1.82 (1 H, m, cyclopropyl H), 1.68 (3 H, s, C = C (CH_3)₂), 1.74 (3 H, s, C = C (CH_3)₂), 1.93-2.14 (1 H, m, cyclopropyl H), 2.03 (3 H, s, cyclopentenyl methyl H), 2.32 (1 H, m, cyclopentenyl methylene H), 2.75 (1 H, d, J = 4 Hz, cyclopentenyl methylene H), 2.97 (2 H, d, J = 4 Hz, - CH_2 -CH = CH_2), 5.00 (2 H, m, - CH_2 -CH = CH_2), 5.34 (1 H, d-m, J = 5 Hz, (CH_3)₂C = CH -), 5.56-6.00 (2 H, m, -O- $\dot{\text{C}}\text{H}$ - & - CH_2 -CH = CH_2)

M S (m/z) : 302 (M⁺), 123 (base peak)

(1R) -trans- [ester carbonyl-¹⁴C] Allethrin の合成

上述の (1R) -cis 体の場合と同様の方法により、(1R) -trans- [carboxy-¹⁴C] chrysanthemic acid (11) (6.01 mCi, 17.9 mCi/mmol, 0.336 mmol; 光学純度 98.6%) を、酸クロリドを経て allethrolone と縮合、粗生成物をカラムクロマト精製し、RTLC 及び RGC 所見上の純度 99% 以上、光学純度 98.6% の (1R) -trans [ester carbonyl-¹⁴C] allethrin (4.96 mCi, $[\alpha]_D^{25} -5.9^\circ$ (c = 2.38, CHCl_3)) を得た。

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , CHCl_3) : 1715 (C = O)

N M R (δ , ppm, CDCl_3) : 1.15 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.25 & 1.28 (3 H, 2 s, cyclopropyl methyl H), 1.40 (1 H, m, cyclopropyl H), 1.72 (6 H, s, C = C (CH_3)₂), 2.03 (3 H, s, cyclopentenyl methyl H),

2.11 (1 H, d, J = 4 Hz, cyclopropyl H), 2.35 (1 H, d - d, J = 2 & 4 Hz, cyclopentenyl methylene H), 2.77 (1 H, d - d, J = 1 & 4 Hz, cyclopentenyl methylene H) 4.80~5.28 (3 H, m, (CH₃)₂C = CH - & - CH₂ - CH = CH₂), 5.54 - 6.07 (2 H, m, - O - C[∘]H - & - CH₂ - CH = CH₂)

M S (m / z) : 302 (M⁺) , 123 (base peak)

(1R) - cis - [cyclopentenyl - 2 - ¹⁴C] Allethrin の合成

(1R) - cis - Chrysanthemic acid (1.52 g, 9.06 mmol; 光学純度 99.9 %) の無水 benzene (30.5 ml) 溶液に thionyl chloride (1.39 g, 11.7 mmol) を添加し、60 ~ 70℃ にて 3 時間攪拌、冷却後、溶媒等を減圧留去することにより、黄色油状の (1R) - cis - chrysanthemoyl chloride を得た。この酸クロリドを無水 toluene (15.1 ml) に溶解し、その一部 (4.60 ml, 酸クロリド 2.76 mmol) を [2 - ¹⁴C] allethrolone (69) (16.5 mCi, 19.7 mCi / mmol, 0.838 mmol) の無水 benzene (1.5 ml) 溶液と混合し、無水 pyridine (214 mg, 2.70 mmol) を添加後、60 ~ 65℃ にて 1 時間攪拌。冷却後、反応混合物を 5 % 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を 2 % アンモニア、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた黄色油状の粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane - ether 92 / 8 v / v) に付し、RTLC 及び RGC 所見上の純度 99 % 以上の (1R) - cis - [cyclopentenyl - 2 - ¹⁴C] allethrin (14.1 mCi) を得た。

(1R) - trans - [cyclopentenyl - 2 - ¹⁴C] Allethrin の合成

上述の (1R) - cis 体の場合と同様の方法により、[2 - ¹⁴C] allethrolone (69) (16.9 mCi, 19.7 mCi / mmol, 0.858 mmol) を (1R) - trans -

chrysanthemic acid (光学純度 98.9%) から調製した酸クロリドと縮合。粗生成物をカラムクロマト精製して、R T L C 及び R G C 所見純度 99% 以上の (1 R) - trans - [cyclopentenyl - 2 - ¹⁴C] allethrin (13.7 mCi) を得た。

(1 R) - cis - [ester carbonyl - ¹⁴C] Prallethrin (1 - Oxo - 2 - propargyl - 3 - methylcyclopent - 2 - en - 4 - yl 3 - (2 - methyl - 1 - propenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropane [¹⁴C] carboxylate, propargyllonyl (1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] chrysanthemate) の合成

(1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] chrysanthemic acid (10) (9.28 mCi, 20.6 mCi / mmol, 0.450 mmol) の n - hexane (3.5 ml) 溶液に oxalyl chloride (1.16 g, 9.14 mmol) 添加、室温にて30分間攪拌した後、減圧留去して、酸クロリドを得た。これを無水 toluene (0.5 ml) に溶解し、propargyllone (73.9 mg, 0.492 mmol) 及び pyridine (55.0 mg, 0.695 mmol) の無水 toluene (0.5 ml) 溶液を添加して、室温にて4時間攪拌。反応混合物を 5% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を 2% アンモニア、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた粗エステルを遮光下にてカラムクロマト精製 (silica gel, dichloromethane) することにより、R T L C、R G C 及び R H P L C 所見上の純度 99%、光学純度 98.2% の (1 R) - cis - [ester carbonyl - ¹⁴C] prallethrin (5.95 mCi) を得た。

R T L C : dichloromethane / acetone = 50 / 1 (v / v) , R_f 0.21 ;
n - hexane / ethyl acetate = 10 / 1 (v / v) , R_f 0.18 ;
benzene / ether = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.65

R G C : ① 5% Silicone OV - 101 (3 m) on Chromosorb W A W
D M C S (60 ~ 80 mesh) , 180℃ , He 90 ml / min ;
R T [min] : cis 25.5 , trans 26.7

② 5 % Silicone S E - 30 (1.1 m) on Chromosorb W
(60 ~ 80 mesh) , 170 ° C , He 30 ml / min ; R T [min] :
cis 12.9, trans 13.3

R H P L C : ① Lichrosorb R P - 18 (10 μ m , 30 cm) , ethanol / water
= 7 / 3 (v / v) 1.0 ml / min , monitored by
U V absorbance at 240 nm ; R T [min] : cis 18.8,
trans 21.7

② Sumipax O A - 2000 (5 μ m , 25 cm) , n - hexane / 1 ,
2 - dichloroethane / isopropanol = 500 / 30 / 0.1
(v / v / v) 1.0 ml / min , monitored by U V
absorbance at 240 nm ; R T [min] : (1 R) - cis
36.3, (1 R) - trans 39.3

N M R (δ , ppm , C D C l ₃) : 1.22 (3 H , s , cyclopropyl methyl
H) , 1.26 (3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.70
(3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.70 (3 H , s ,
C = C (C H ₃) ₂) , 1.76 (3 H , s , C = C (C H ₃) ₂) ,
1.86 - 2.02 (2 H , m , cyclopropyl H) , 2.15 (3 H ,
bs , cyclopentenyl methyl H) , 2.34 (1 H , t ,
J = 2 Hz , - C H ₂ - C ≡ C H) , 2.79 (1 H , d - d ,
J = 2 & 6 Hz , cyclopentenyl methylene H) , 3.15 (2 H ,
d , J = 2 Hz , - C H ₂ - C ≡ C H) , 5.31 (1 H , d - m ,
J = 7 Hz , vinyl H) , 5.67 (1 H , d - m , J = 7 Hz ,
C O - O - C H)

(1 R) - trans - [ester carbonyl - ¹⁴ C] Prallethrin の合成

上述の (1 R) - cis 体の場合と同様の方法により (1 R) - trans -

[carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (11) (15.9 mCi, 20.6 mCi/mmol, 0.772 mmol) を酸クロリドを経て propargyllone (光学純度 99.6%) と縮合、粗生成物をカラムクロマト精製して、(1R)-cis-[ester carbonyl-¹⁴C] prallethrin (9.88 mCi) を得た。

NMR (δ , ppm, CDCl₃) : 1.15 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.31 & 1.33 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.71 (6 H, s, C=C(CH₃)₂), 1.9-2.04 (2 H, m, cyclopropyl H), 2.14 (3 H, bs, cyclopentenyl methyl H), 2.34 (1 H, d-d, J = 2 & 6 Hz, -CH₂-C≡CH), 2.80 (1 H, d-d, J = 3 & 7 Hz, cyclopentenyl methylene H), 3.14 (2 H, d, J = 2 Hz, -CH₂-C≡CH), 4.86 (1 H, d-m, J = 7 Hz, vinyl H), 5.64 (1 H, t-m, J = 7 Hz, CO-O-CH)

(4S), (1R)-cis-[ester carbonyl-¹⁴C] Prallethrin ((4S)-propargyllonyl (1R)-cis-[carbonyl-¹⁴C] chrysanthemate) の合成

前述の方法に従い、(1R)-cis-[carbonyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (7a) (11.9 mCi, 41.3 mCi/mmol, 0.289 mmol; 光学純度 100%) を酸クロリドを経て (+)-(4S)-propargyllone (光学純度 99.6%) と縮合、粗生成物をカラムクロマト精製して、(4S), (1R)-cis-[ester carbonyl-¹⁴C] prallethrin (8.46 mCi) を得た。

(4S), (1R)-trans-[ester carbonyl-¹⁴C] Prallethrin の合成

上述の(4S), (1R)-cis 体の場合と同様の方法により、(1R)-trans-[carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (7c) (22.0 mCi, 41.3 mCi/mmol, 0.533 mmol; 光学純度 100%) から(4S), (1R)-trans-

[ester carbonyl- ^{14}C] prallethrin (15.3 mCi) を調製した。

(1R) - cis - [cyclopentenyl - 2 - ^{14}C] Prallethrin の合成

(1R) - cis - Chrysanthemic acid (439 mg, 2.59 mmol ; 光学純度 99.9 %) の n-pentane (10 ml) 溶液に oxalyl chloride (2.97 g, 23.4 mmol) を添加し、室温にて1時間攪拌、減圧留去、更に無水 petroleum benzine (10 ml) を加えて再留去して (1R) - cis - chrysanthemoyl chloride を得た。この酸クロリドを無水 toluene (2.0 ml) に溶解し、その一部 (1.0 ml, 酸クロリド 1.30 mmol) を [2 - ^{14}C] propargyllone (71) (13.2 mCi, 22.0 mCi / mmol, 0.599 mmol) の無水 benzene (1.0 ml) 溶液と混合、無水 pyridine (103 mg, 1.30 mmol) を添加し、窒素雰囲気下、室温にて1時間攪拌。反応混合物を 5 % 塩酸にて希釈後、benzene 抽出。benzene 層を 2 % アンモニア、水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルを遮光下にてカラムクロマト精製 (silica gel, dichloromethane)。主成分を減圧留去することにより、純度 99 % の (1R) - cis - [cyclopentenyl - 2 - ^{14}C] prallethrin (8.89 mCi) を得た。

(1R) - trans - [cyclopentenyl - 2 - ^{14}C] Prallethrin の合成

上述の (1R) - cis 体の場合と同様にして、[2 - ^{14}C] propargyllone (71) (13.2 mCi, 22.0 mCi / mmol, 0.559 mmol) を (1R) - trans - chrysanthemic acid (光学純度 98.9 %) の酸クロリドと縮合、粗生成物をカラムクロマト精製して、(1R) - trans - [cyclopentenyl - 2 - ^{14}C] - prallethrin (10.2 mCi) を得た。

(4S), (1R) - cis - [cyclopentenyl - 2 - ^{14}C] Prallethrin の合成

前述の方法に従い、(+)- (4S) - [2 - ^{14}C] propargyllone (71a)

13.3 mCi, 40.1 mCi/mmol, 0.331 mmol; 光学純度 99.6%) を (1R) -cis- chrysanthemic acid (光学純度 99.5%) の酸クロリドと縮合、粗生成物をカラムクロマト精製することにより、(4S), (1R) -cis- [cyclopentenyl - 2 -¹⁴C] prallethrin (8.19 mCi) を得た。

(4S), (1R) -trans- [cyclopentenyl - 2 -¹⁴C] Prallethrin の合成

上述の (4S), (1R) -cis 体の場合と同様にして、(+)-(4S) - [2 -¹⁴C] propargyllone (71a) (13.3 mCi, 40.1 mCi/mmol, 0.331 mmol; 光学純度 99.6%) と (1R) -trans- chrysanthemic acid (光学純度 99.2%) より (4S), (1R) -trans- [cyclopentenyl - 2 -¹⁴C] prallethrin (8.75 mCi) を得た。

(1R) -cis- [ester carbonyl -¹⁴C] Tetramethrin ((1, 3, 4, 5, 6, 7 -hexahydro - 1, 3 -dioxo - 2H - isoindol - 2 -yl) methyl (1R) -cis - 3 - (2 -methylpropen - 1 -yl) - 2, 2 -dimethyl - cyclopropane [¹⁴C] carboxylate; 3, 4, 5, 6 -tetrahydrophthalimido - methyl (1R) -cis - [carbonyl -¹⁴C] chrysanthemate) の合成

(1R) -cis- [carboxyl -¹⁴C] Chrysanthemic acid (10) (6.85 mCi, 17.9 mCi/mmol, 0.383 mmol; 光学純度 98.2%) に thionyl chloride (60mg, 0.50 mmol) の無水 benzene (1.0 ml) 溶液を添加し、65~70℃ にて3時間攪拌。冷却後、溶媒等を減圧留去して酸クロリドを得た。乾燥窒素雰囲気下、この酸クロリドを無水 toluene (1.0 ml) に溶解、N -hydroxymethyl - 3, 4, 5, 6 -tetrahydrophthalimide (72 mg, 0.39 mmol) 及び pyridine (31 mg, 0.39 mmol) を添加し、室温にて3時間攪拌。反応混合物を 10% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を飽和炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムにて乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラ

ムクロマト精製(silica gel, chloroform and n-hexane-ether (85/15 v/v))。主画分を減圧留去することにより、R T L C及びR G C所見上の純度 99% 以上の (1 R) -cis- [ester carbonyl-¹⁴C] tetramethrin (4.75 mCi, $[\alpha]_D^{25} +9.2^\circ$ (c = 4.45, CHCl₃)) を得た。

R T L C : benzene/methanol = 50 / 1 (v/v), R_f 0.33 ;
benzene/ether/chloroform/acetic acid/ethanol/
water = 40 / 10 / 5 / 5 / 1 (v/v, upper layer),
R_f 0.53 ; n-hexane/ether = 1 / 1 (v/v), R_f 0.35

R G C : ① 2% DEGS (1.5 m) on Chromosorb W A W (60~80 mesh), 218 °C, He 40 ml/min ; R T [min] : 10.4

② 2% Silicne DCQF-1 (2 m) on Chromosorb W A W (60~80 mesh), 195 °C, He 27 ml/min ; R T [min] :
cis 10.7, trans 12.1

N M R (δ , ppm, CDCl₃) ; 1.15 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.20 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.53-1.98 (12 H, m, vinyl methyl H, cyclohexenyl methylene H and cyclopropyl H), 2.30-2.44 (4 H, m, cyclohexenyl methylene H), 5.30 (1 H, d-m, J = 8 Hz, vinyl H), 5.45 (2 H, d, J = 1 Hz, O-CH₂-N)

(1 R) -trans- [ester carbonyl-¹⁴C] Tetramethrin の合成

上述の (1 R) -cis 体の場合と同様の方法に従い、(1 R) -trans- [carboxyl-¹⁴C] chrysanthemic acid (11) (7.15 mCi, 17.9 mCi/mmol, 0.399 mmol ; 光学純度 98.6%) より (1 R) -trans- [ester carbonyl-¹⁴C] tetramethrin (5.26 mCi, $[\alpha]_D^{25} -24.0^\circ$ (c = 4.50, CHCl₃)) を合成した。

NMR (δ , ppm, CDCl_3); 1.08 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.63–1.86 (11H, m, vinyl methyl H, cyclohexenyl methylene H and cyclopropyl H), 2.05 (1 H, d-d, $J = 5 \text{ \& } 8 \text{ Hz}$, cyclopropyl H), 4.83 (1 H, d-m, $J = 8 \text{ Hz}$, vinyl H), 5.48, (2 H, d, $J = 3 \text{ Hz}$, O- CH_2 -N)

(1R)-cis-[imidocarbonyl- ^{14}C] Tetramethrin の合成

(1R)-cis-Chrysanthemic acid (156 mg, 0.930 mmol; 光学純度 99.9%) の無水 benzene 溶液に thionyl chloride (144 mg, 1.21 mmol) を添加し、60~70℃ にて3時間攪拌。冷却後、溶媒等を減圧留去して酸クロリドを得た。これを無水 toluene (1.0 ml) に溶解し、N-hydroxymethyl-3, 4, 5, 6-tetrahydro [carbonyl- ^{14}C] phthalimide (88) (15.8 mCi, 18.2 mCi/mmol, 0.868 mmol) の無水 toluene (2.0 ml) 溶液と混合、pyridine (81.6mg, 1.02 mmol) を添加後、乾燥窒素雰囲気下、室温にて3時間攪拌。更に、pyridine (10.0 mg, 0.12 mmol) を追加し、同温にて30分間攪拌。反応混合物を10% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を飽和炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, chloroform) に付すことにより、RTLC及びRGC所見純度 99% 以上の(1R)-cis-[imidocarbonyl- ^{14}C] tetramethrin (10.2 mCi) を得た。

(1R)-trans [imidocarbonyl- ^{14}C] Tetramethrin の合成

上述の(1R)-cis 体の場合と同様の方法により、N-hydroxymethyl-3, 4, 5, 6-tetrahydro [carbonyl- ^{14}C] phthalimide (88) (16.5 mCi, 18.2 mCi/mmol, 0.907 mmol) を(1R)-trans-chrysanthemic acid (光学純度 98.9%) の酸クロリドと縮合、粗生成物をカラムクロマト精製して、(1

R) - trans - [imidocarbonyl - ^{14}C] tetramethrin (10.0 mCi) を得た。

(1 R) - cis - [carbonyl - ^{14}C] Empenthrin (1 - ethynyl - 2 - methyl - 2 - pentenyl (1 R) - cis - [carbonyl - ^{14}C] chrysanthemate) の合成

(1 R) - cis - [carboxyl - ^{14}C] Chrysanthemic acid (10) (2.77 mCi, 17.9 mCi/mmol, 0.155 mmol; 光学純度 98.2%) に thionyl chloride (29 mg, 0.24 mmol) の無水 benzene (0.53 ml) 溶液を添加し、60~70℃ にて3時間攪拌。冷却後、溶媒等を減圧留去して酸クロリドを得た。乾燥窒素雰囲気下、この酸クロリドを無水 toluene (0.26 ml) に溶解、1 - ethynyl - 2 - methyl - 2 - pentenol (22 mg, 0.19 mmol) 及び pyridine (18 mg, 0.22 mmol) を添加して、室温にて2時間攪拌。反応混合物を5% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を飽和炭酸水素ナトリウム水、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、酸化防止剤 (2, 6 - di - t - butyl - 4 - methylphenol, BHT) 添加後、減圧留去して得られた粗エステルを遮光下にカラムクロマト精製 (silica gel, benzene)。主成分を減圧留去することにより、RTLC 及び RGC 所見上の純度 99% の (1 R) - cis - [carbonyl - ^{14}C] empenthrin (1.79 mCi) を得た。

RTLC : benzene , R_f 0.56 ; n - hexane / ether = 1 / 1 (v / v) ,
 R_f 0.59 ; chloroform , R_f 0.58

RGC : ① 2% DEGS (2.25 m) on Chromosorb W AW DMCS
(60~80 mesh), 127℃, He 40 ml/min ; RT [min] : 12.9
② Silicone DC QF - 1 WCOT (20 m × 0.3 mm ID) ,
130℃, He 1.0 ml/min ; RT [min] : cis 18.5 & 19.3
trans 20.0 & 21.6

(1 R) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] Empenthrin の合成

上述の (1 R) - cis 体の場合と同様の方法により、(1 R) - trans - [carboxyl - ¹⁴C] chrysanthemic acid (11) (5.32 mCi, 17.9 mCi / mmol, 0.298 mmol) から (1 R) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] empenthrin (3.83 mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] Phenothrin ((3 - phenoxyphenyl) methyl (1 R) - cis - 3 - (2 - methyl - 1 - propenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopane - [¹⁴C] carboxylate, 3 - phenoxybenzyl (1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] - chrysanthemate) の合成

(1 R) - cis - [carboxyl - ¹⁴C] Chrysanthemic acid (7_a) (8.30 mCi, 41.3 mCi / mmol, 0.201 mmol; 光学純度 100%) の無水 n - hexane (1.4 ml) 溶液に oxalyl chloride (504 mg, 3.97 mmol) を添加し、室温にて1時間攪拌。減圧留去して (1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] chrysanthemoyl chloride を得た。乾燥窒素雰囲気下、この酸クロリドを無水 toluene (0.7 ml) に溶解、3 - phenoxybenzyl alcohol (48.2 mg, 0.214 mmol) 及び pyridine (19.1 mg, 0.241 mmol) の無水 toluene (0.4 ml) 溶液を追加し、同温にて2.5時間攪拌。反応混合物を水にて希釈し、ether 抽出。ether 層を 5% 炭酸ナトリウム、水、5% 塩酸、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane - benzene 1 / 1 v / v) することにより、R T L C、R G C 及び R H P L C 所見上の純度 99% 以上の (1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] - phenothrin (6.04 mCi) を得た。

R T L C : benzene , R_r 0.51 (cis) & 0.48 (trans) ; n - hexane / tetrahydrofuran = 3 / 1 (v / v) , R_r 0.48 ;
dichloromethane, R_r 0.60

RGC : 10% Silicone DC QF-1 (5 m) on Chromosorb WAW
(60~80 mesh), 210 °C, He 65 ml/min ; RT [min] : cis
15.1, trans 16.6

RHPLC : Sumipax OA-2000 (5 μm, 50cm), n-hexane / 1,
2-dichloroethane = 500 / 1 (v/v) 0.6 ml/min,
monitored by UV absorbance at 230nm ; RT [min] :
(1R) - cis 52.7, (1S) - cis 57.4,
(1R) - trans 61.9, (1S) - trans 65.6

NMR (δ , ppm, CDCl₃) : 1.20 (3 H, s, cyclopropyl methyl
H), 1.25 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.15 -
1.92 (8 H, m, vinyl methyl H, and cyclopropyl H),
5.16 (2 H, s, benzyl methylene H), 5.36 (1 H, d-m,
J = 8 Hz, vinyl H), 6.78 - 7.45 (9 H, m, phenyl H),
MS (m/z) : 350 (M⁺), 251, 183, 123 (base peak), 81

(1R) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] Phenothrin の合成

上述の (1R) - cis 体の場合と同様の方法により、(1R) - trans -
[carbonyl - ¹⁴C] chrysanthemic acid (7c) (9.83mCi, 41.3mCi/mmol,
0.238 mmol ; 光学純度 100%) から (1R) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] -
phenothrin (6.78 mCi) を合成した。

NMR (δ , ppm, CDCl₃) : 1.14 (3 H, s, cyclopropyl methyl
H), 1.26 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.43 - 1.63
(1 H, m, cyclopropyl H), 1.71 (6 H, s, vinyl methyl
H), 2.06 (1 H, d-d, J = 5 & 8 Hz, cyclopropyl H),
4.90 (1 H, d-m, J = 8 Hz, vinyl H), 5.10 (2 H, s,
benzyl methylene H), 6.86 - 7.49 (9 H, m, phenyl H)

MS (m/z) : 350 (M⁺), 251, 183, 123 (base peak), 81

(1R) - cis - [benzyl - α - ¹⁴C] Phenothrin の合成

(1R) - cis - Chrysanthemic acid (187 mg, 1.12 mmol ; 光学純度 99.9 %) の無水 n - hexane (7.3 ml) 溶液に oxalyl chloride (2.74 g, 21.6 mmol) を添加し、室温にて30分間攪拌、減圧留去して酸クロリドを得た。この酸クロリドの無水 toluene (1.1 ml) 溶液及び無水 pyridine (133 mg, 1.68 mmol) を 3 - phenoxy [α - ¹⁴C] benzyl alcohol (75) (13.0 mCi, 24.4 mCi /mmol, 0.533 mmol) の無水 toluene (2.9 ml) 溶液に添加し、乾燥窒素雰囲気下、室温にて3時間攪拌。反応混合物を 5 % 塩酸にて希釈し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付すことにより、RTLC、RGC及びRHPL所見上の純度 99 % 以上の (1R) - cis - [benzyl - α - ¹⁴C] phenothrin (10.3 mCi) を得た。

(1S) - cis - [benzyl - α - ¹⁴C] Phenothrin の合成

上述の方法に従い、3 - phenoxy [α - ¹⁴C] benzyl alcohol (75) (15.0 mCi, 24.4 mCi /mmol, 0.615 mmol) と (1S) - cis - chrysanthemic acid (光学純度 100 %) より、(1S) - cis - [benzyl - α - ¹⁴C] phenothrin (14.1 mCi) を合成した。

(1R) - trans - [benzyl - α - ¹⁴C] Phenothrin の合成

前述の方法に従い、3 - phenoxy [α - ¹⁴C] benzyl alcohol (75) (24.0 mCi, 24.4 mCi /mmol, 0.984 mmol) と (1R) - trans - chrysanthemic acid (光学純度 99.3 %) より、(1R) - trans - [benzyl - α - ¹⁴C] phenothrin (12.7mCi) を合成した。

(1 S) - trans - [benzyl - α - 14 C] Phenothrin の合成

前述の方法に従い、3-phenoxy [α - 14 C] benzyl alcohol (75) (25.0 mCi, 24.4 mCi/mmol, 1.02 mmol) と (1 S) - trans - chrysanthemic acid (光学純度 99.2%) より、(1 S) - trans - [benzyl - α - 14 C] phenothrin (11.4mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [carbonyl - 14 C] Cyphenothrin (α - cyano - 3 - phenoxybenzyl (1 R) - cis - [carbonyl - 14 C] Chrysanthemate) の合成

(1 R) - cis - [carboxyl - 14 C] chrysanthemic acid (10) (4.81 mCi, 27.8 mCi/mmol, 0.173 mmol; 光学純度 98.2%) と α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide (50 mg, 0.17 mmol) の 1, 1, 1 - trichloroethane (0.74 ml) 溶液に、炭酸カリウム (12 mg, 0.086 mmol) と tetra - n - butylammonium bromide (5 mg, 0.02 mmol) の水 (0.49 ml) 溶液を添加し、70℃にて5時間攪拌。冷却後、水にて希釈し、1, 1, 1 - trichloroethane で抽出。有機層を2% アンモニア、水、5% 塩酸、水飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silca gel, n - hexane - benzene 3 / 1 v / v)。主成分を減圧留去することにより、RTLC、RGC及びRHPLC所見上の純上 99% 以上の (1 R) - cis - [carbonyl - 14 C] cyphenothrin (4.70 mCi) を得た。

RTLC : n - hexane / ether = 1 / 1 (v / v) , R_f 0.54 ;

benzene , R_f 0.39 ; chloroform , R_f 0.58

RGC : ① 3% Silicone OV - 101 (1 m) on Uniport HP

(100~120 mesh), 190 °C , He 27 ml / min ; RT [min] :

cis 33.5 , trans 35.5

②Silicone DC QF - 1 WCOT (34 m × 0.25mm I D) ,

185 °C , He 0.97 ml / min ; RT [min] : cis 184.6 &

191.2, trans 202.7 & 211.4

R H P L C : Sumipax O A - 2000 (5 μ m , 25cm) , n - hexane / 1 ,
2 - dichloroethane = 20 / 1 (v / v) 0.8 ml / min ,
monitored by U V absorbance at 254nm ; R T [min] :
(1 R) - cis 21.0 & 21.5 , (1 S) - cis 22.3 ,
(1 R) - trans 22.9 & 24.4 , (1 S) - trans 22.3 & 26.4

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1485 & 1590 (phenyl) ,
1750 (C = O) , 2370 (C \equiv N)

N M R (δ , ppm , CDCl_3) : 1.17 - 1.24 (6 H , m , cyclopropyl
methyl H) , 1.61 - 2.13 (8 H , m , - CH = C (CH_3)₂
+ cyclopropyl H) , 5.24 (1 H , d - m , J = 7 Hz ,
vinyl H) , 6.29 & 6.32 (1 H , diastereomeric 2 s ,
benzyl methyne H) , 6.85 - 7.47 (9 H , m , phenyl H)

(1 R) - trans - [carbonyl - ^{14}C] Cyphenothrin の合成

上述の方法に従い、(1 R) - trans - [carboxyl - ^{14}C] chrysanthemic
acid (11) (8.00 mCi , 27.8 mCi / mmol , 0.288 mmol ; 光学純度 98.6%) と
 α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide より (1 R) - trans - [carbonyl -
 ^{14}C] cyphenothrin (7.89 mCi) を合成した。

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1490 & 1590 (phenyl) ,
1745 (C = O) , 2370 (C \equiv N)

N M R (δ , ppm , CDCl_3) : 1.03 - 1.24 (6 H , m , cyclopropyl
methyl H) , 1.37 (1 H , d , J = 6 Hz , cyclopropyl H) ,
1.63 (6 H , bs , - CH = C (CH_3)₂) , 2.05 (1 H ,
d - d , J = 6 & 7 Hz , cyclopropyl H) , 4.80 (1 H ,
d - m , J = 7 Hz , vinyl H) , 6.28 (1 H , s , benzyl

methyne α H), 6.77-7.44 (9 H, m, phenyl H)

(1 R) - cis - [propenyl - 2 - 14 C] Cyphenothrin の合成

前述の方法に従い、(1 R) - cis - [propenyl - 2 - 14 C] chrysanthemic acid (38a) (10.0 mCi, 24.4 mCi/mmol, 0.410 mmol; 光学純度 99.6%) と α -cyano-3-phenoxybenzyl bromide より、(1 R) - cis - [propenyl - 2 - 14 C] cyphenothrin (8.62 mCi) を合成した。

(1 R) - trans - [propenyl - 2 - 14 C] Cyphenothrin の合成

前述の方法に従い、(1 R) - trans - [propenyl - 2 - 14 C] chrysanthemic acid (38b) (9.25 mCi, 24.4 mCi/mmol, 0.410 mmol; 光学純度 99.8%) と α -cyano-3-phenoxybenzyl bromide より、(1 R) - trans - [propenyl - 2 - 14 C] cyphenothrin (8.60 mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [benzyl - α - 14 C] Cyphenothrin の合成

(1 R) - cis - Chrysanthemic acid (600 mg, 3.57 mmol; 光学純度 99.8%) の無水 benzene (17.7 ml) 溶液に oxalyl chloride (677 mg, 5.33 mmol) を添加し、65~70℃にて3時間攪拌。冷却後、溶媒等を減圧留去して、(1 R) - cis - chrysanthemoyl chloride を得た。これを無水 toluene (3.5 ml) に溶解し、エステル化工程に供した。

α -Cyano-3-phenoxy [α - 14 C] benzyl alcohol (77) (29.7 mCi, 29.4 mCi/mmol, 1.01 mmol) を、無水 benzene (10 ml) と共沸留去 (40℃/70 mmHg) して乾燥後、無水 toluene (7.1 ml) に溶解。乾燥窒素雰囲気下、この溶液に上述の酸クロリド溶液及び無水 pyridine (85.1 mg, 1.08 mmol) を 0~5℃にて添加し、同温にて30分間室温にて1時間、更に pyridine (68.5 mg, 0.865 mmol) を追加して1.5時間攪拌。反応混合物を 5% 塩酸にて希釈し、

benzene 抽出。benzene 層を水、2% アンモニア、水、2% 塩酸、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた油状粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付し、純度 99% 以上の (1R) -cis- [benzyl- α - 14 C] cyphenothrin (22.8 mCi) を得た。

(1R) -trans- [benzyl- α - 14 C] Cyphenothrin の合成

上述の方法に従い、 α -cyano-3-phenoxy [α - 14 C] benzyl alcohol (77) (29.7 mCi, 29.4 mCi/mmol, 1.01 mmol) を (1R) -trans-chrysanthemic acid (光学純度 98.9%) から調製した酸クロリドと縮合、粗生成物をカラムクロマト精製することにより、(1R) -trans- [benzyl- α - 14 C] cyphenothrin (25.8 mCi) を得た。

(1R) -cis- [cyano- 14 C] Cyphenothrin の合成

前述のベンジル 14 C標識体の場合と同様の方法に従い、 α - [14 C] cyano-3-phenoxybenzyl alcohol (84) (24.0 mCi, 44.4 mCi/mmol, 0.541 mmol) と (1R) -cis-chrysanthemic acid (光学純度 99.9%) の酸クロリドを縮合、粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-ether 9/1 v/v) して、純度 99% 以上の (1R) -cis- [cyano- 14 C] cyphenothrin (23.4 mCi) を合成した。

(1R) -trans- [cyano- 14 C] Cyphenothrin の合成

上述の方法に従い、 α - [14 C] cyano-3-phenoxybenzyl alcohol (84) (24.0 mCi, 44.4 mCi/mmol, 0.541 mmol) と (1R) -trans-chrysanthemic acid (光学純度 98.9%) より、(1R) -trans-[cyano- 14 C] cyphenothrin (23.4 mCi) を合成した。

[cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] Fenpropathrin (α - cyano - 3 - phenoxybenzyl

2, 2, 3, 3 - tetramethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylate) の合成

2, 2, 3, 3 - Tetramethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (50) (16.1 mCi, 25.6 mCi / mmol, 0.628 mmol) 及び α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide (220 mg, 0.764 mmol) の toluene (1.0 ml) 溶液に、炭酸カリウム (57 mg, 0.41 mmol) 及び tetra - n - butyl ammonium bromide (28 mg, 0.087 mmol) の水 (0.5 ml) 溶液を添加し、70 ~ 80℃ にて3時間攪拌。冷却後、反応混合物を水にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica ge, n - hexane - ether 97 / 3 v / v) することにより、R T L C、R G C 及び R H P L C 所見上の純度 99% 以上の [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] fenpropathrin (16.1 mCi) を得た。

R T L C : benzene, R_f 0.41; n - hexane / ether = 1 / 1 (v / v),
R_f 0.55; chloroform, R_f 0.64

R G C : 5% Silicone S E - 30 (1.6 m) on Chromosorb W
(60~80 mesh), held at 150℃ for 16 min and raised up to
220℃ at the rate of 32℃ / min, He 40 ml / min ;

R T [min] : 29.2

R H P L C : Lichrosorb R P - 18 (10 μ m, 30cm), ethanol / water
= 3 / 2 (v / v) 1.0 ml / min, monitored by U V
absorbance at 254nm ; R T [min] : 28.8

I R (ν_{max} cm⁻¹, C H C l₃) : 1590 (phenyl), 1730 (C = O),
2410 (C ≡ N)

N M R (δ, ppm, C D C l₃) : 1.32 - 1.41 (13H, 2 s + s,
cyclopropyl methyl H + cyclopropyl H), 6.38 (1H, s,
benzyl methyne H), 6.92 - 7.59 (9H, m, phenyl H)

[benzyl- α - 14 C] Fenprothrin の合成

2, 2, 3, 3-Tetramethylcyclopropanecarboxylic acid (2.03 g, 14.3 mmol) の無水 benzene (15.9 ml) を溶液に thionyl chloride (7.81 g, 65.6 mmol) を添加し、還流条件下に 1 時間攪拌。冷却後、溶媒等を減圧留去して 2, 2, 3, 3-tetramethylcyclopropanecarbonyl chloride を得た。この酸クロリドを toluene (1.4 ml) に溶解し、3-phenoxy [carbonyl- 14 C] - benzaldehyde (76) (50.0 mCi, 24.5 mCi/mmol, 2.04 mmol) の toluene (3.5 ml) 溶液、sodium cyanide (900 mg, 18.4 mmol) の水 (1.7 ml) 溶液、及び benzyltriethylammonium chloride (86.6 mg) から成る混合物に、攪拌下、 -5°C にて滴下、同温にて 2 時間激しく攪拌。反応混合物を水にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-ether (98/2 v/v) and benzene) に付し、純度 99% 以上の [benzyl- α - 14 C] fenprothrin (47.0 mCi) を得た。

[phenoxyphenyl-U- 14 C n] Fenprothrin の合成

上述のベンジル- α - 14 C 標識体の場合と同様の方法により、3-phenoxy-[phenyl-U- 14 C n] benzaldehyde (82) (13.3 mCi, 15.7 mCi/mmol, 0.849 mmol) を 2, 2, 3, 3-tetramethylcyclopropanecarbonyl chloride 及び sodium cyanide と縮合、粗生成物をカラムクロマト精製して、[phenoxyphenyl-U- 14 C n] fenprothrin (8.75 mCi) を得た。

(1R)-cis-[cyclopropyl-1- 14 C] Permethrin (3-phenoxybenzyl

(1R)-cis-3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethyl-

[1- 14 C] cyclopropanecarboxylate) の合成

(1R)-cis-3-(2,2-Dichloroethenyl)-2,2-dimethyl [1-

^{14}C] cyclopropanecarboxylic acid (42a) (4.80 mCi, 58.0 mCi/mmol, 0.0828 mmol; 光学純度 100%) の無水 *n*-hexane (1.2 ml) 溶液に oxalyl chloride (132 mg, 1.04 mmol) を添加し、室温にて 2 時間攪拌、減圧留去して酸クロリドを得た。乾燥窒素雰囲気下、この酸クロリドを無水 benzene (0.8 ml) に溶解、3-phenoxybenzyl alcohol (25 mg, 0.13 mmol) 及び pyridine (17 mg, 0.22 mmol) の無水 benzene (1.2 ml) 溶液を添加後、室温にて 2.5 時間攪拌。反応混合物を 5% 塩酸にて希釈し、ether 抽出。ether 層を 5% 炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付し、R T L C 及び R H P L C 所見上の純度 99% 以上の (1R) - cis - [cyclopropyl - 1 - ^{14}C] permethrin (4.08 mCi) を得た。

R T L C : benzene , R_f 0.54 ; *n*-hexane / ether = 5 / 1 (v / v) ,
 R_f 0.45

R H P L C : ① Lichrosorb S I - 60 (5 μm , 30cm) , *n*-hexane / ethyl acetate = 500 / 8 (v / v) 1.0 ml / min , monitored by U V absorbance at 254nm ; R T [min] : cis 8.9 ,
trans 12.6

② Sumipax O A - 2000 (5 μm , 25cm) , *n*-hexane / 1 , 2 - dichloroethane / ethanol = 500 / 30 / 0.5 (v / v / v) 1.0 ml / min , monitored by U V absorbance at 254 nm ; R T [min] : cis 6.5 , trans 8.2

I R (ν_{max} , cm^{-1} , CHCl_3) : 1720 (C = O) , 1590 (phenyl)

N M R (δ , ppm , CDCl_3) : 1.20 (6 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.85 - 2.11 (2 H , m , cyclopropyl H) , 5.08 (2 H , s , benzyl methylene H) , 6.30 (1 H , d - d , $J = 1 \text{ \& } 7 \text{ Hz}$, vinyl H) , 6.84 - 7.36 (9 H , m , phenyl H)

(1 S) - cis - [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] Permethrin の合成

上述の方法に従い、(1 S) - cis - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (42 b) (5.12 mCi, 58.0 mCi / mmol, 0.0883 mmol ; 光学純度 99.7%) と 3 - phenoxybenzyl alcohol より、(1 S) - cis - [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] permethrin (4.20 mCi) を合成した。

(1 R) - trans - [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] Permethrin の合成

前述の方法に従い、(1 R) - trans - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (42 c) (11.8 mCi, 58.0 mCi / mmol, 0.203 mmol ; 光学純度 100%) と 3 - phenoxybenzyl alcohol より、(1 R) - trans - [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] permethrin (10.4 mCi) を合成した。

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , CHCl_3) : 1710 (C = O), 1590 (phenyl)

N M R (δ , ppm, CDCl_3) : 1.18 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.29 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.62 (1 H, d, $J = 5$ Hz, cyclopropyl H), 2.25 (1 H, d - d, $J = 5$ & 9 Hz, cyclopropyl H), 5.11 (2 H, s, benzyl methylene H), 5.62 (1 H, d, $J = 9$ Hz, vinyl H), 6.87 - 7.42 (9 H, m, phenyl H)

(1 S) - trans - [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] Permethrin の合成

前述の方法に従い、(1 S) - trans - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl [1 - ¹⁴C] cyclopropanecarboxylic acid (42 d) (12.6 mCi, 58.0 mCi / mmol, 0.217 mmol ; 光学純度 99.5%) と 3 - phenoxybenzyl

alcohol より、(1 S) - trans - [cyclopropyl - 1 - ¹⁴C] permethrin (9.95 mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Permethrin の合成

(1 R) - cis - 3 - (2, 2 - Dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethyl - cyclopanecarboxylic acid (100 mg, 0.478 mmol; 光学純度 99.8%) の無水水 n - hexane (2.0 ml) 溶液に、oxalyl chloride (595 mg, 4.69 mmol) を添加し、室温にて2.5時間攪拌。溶媒等を減圧留去して、(1 R) - cis - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropanecarbonyl chloride を得た。乾燥窒素雰囲気下、この酸クロリドの無水 benzene (1.0 ml) 溶液、及び無水 pyridine (47.5 mg, 0.600 mmol) の無水 benzene (0.6 ml) 溶液を、3 - phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (81) (25.2 mCi, 109 mCi /mmol, 0.231 mmol) の無水 benzene (8.0 ml) 溶液に添加し、室温にて2時間攪拌。反応混合物を 5% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を水、5% 水酸化ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付ることにより、R T L C 及び R H P L C 所見上の純度 99% 以上の (1 R) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] permethrin 22.3 mCi) を得た。

(1 S) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Permethrin の合成

上述の方法に従い、3 - phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (81) (25.0 mCi, 109 mCi /mmol, 0.229 mmol) と (1 S) - cis - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.8%) より、(1 S) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] permethrin (24.4 mCi) を合成した。

(1 R) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Permethrin の合成

前述の方法に従い、3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (81) (25.2 mCi, 109 mCi/mmol, 0.231 mmol) と (1 R) - trans - 3 - (2, 2-dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.9%) より、(1 R) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] permethrin (20.6 mCi) を合成した。

(1 S) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Permethrin の合成

前述の方法に従い、3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (81) (25.0 mCi, 0.229 mmol) と (1 S) - trans - 3 - (2, 2-dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 98.7%) より、(1 S) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] permethrin (19.0 mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] Cypermethrin (α -cyano-3-phenoxybenzyl 3 - (2, 2-dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropane [¹⁴C] - carboxylate) の合成

(1 R) - cis - 3 - (2, 2-Dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropane [¹⁴C] carboxylic acid (43a) (8.65 mCi, 33.9mCi/mmol, 0.255 mmol; 光学純度 100%) 及び α -cyano-3-phenoxybenzyl bromide (73.5 mg, 0.255 mmol) の 1, 1, 1-trichloroethane (1.1 ml) 溶液に、炭酸カリウム (17.6 mg, 0.128 mmol) の水 (0.7 ml) 溶液及び tetra-n-butyl-ammonium bromide (8.0 mg, 0.026 mmol) を添加し、70℃ にて4時間攪拌。冷却後、反応混合物を 2% 塩酸にて希釈し、chloroform 抽出。chloroform 層を水、5% 炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (sili-

ca gel, benzene)することにより、R T L C、R G C及びR H P L C所見上の純度 99% 以上の (1 R) - cis - [carbonyl - ^{14}C] cypermethrin (8.65 mCi) を得た。

R T L C : benzene , R_f 0.49 (cis) and 0.43 (trans) ; n - hexane / ether = 5 / 1 (v / v) , R_f 0.30 (cis) and 0.28 (trans)

R G C : 10% Silicone S E - 30 (1 m) on Chromosorb W (60~80 mesh), 230℃ , He 40 ml / min ; R T [min] : cis 12.9, trans 13.0

R H P L C : ①Lichrosorb S I - 60 (5 μ m , 30cm) , n - hexane / ethyl acetate = 500 / 8 (v / v) 1.0 ml / min , monitored by U V absorbance at 254 nm ; R T [min] : cis 16.0 & 18.8 , trans 20.3 & 23.2

②Sumipax O A - 2000 (5 μ m , 25cm) , n - hexane / 1, 2 - dichloroethane / ethanol = 500 / 30 / 0.15 (v / v) 1.0 ml / min , monitored by U V absorbance 254nm ; R T [min] : (1 R) - cis 16.6 & 20.5 , (1 S) - cis 16.5 & 21.2 , (1 R) - trans 19.4 & 24.1 , (1 S) - trans 19.6 & 25.2

N M R (δ , ppm , CDCl_3) : 1.22 & 1.28 (3 H , diastereomeric 2 s , cyclopropyl methyl H) , 1.33 (3 H , s , cyclopropyl methyl H) , 1.93 (1 H , d , $J = 5$ Hz , cyclopropyl H) , 2.16 (1 H , d - d , $J = 5$ & 8 Hz , cyclopropyl H) , 6.18 (1 H , d , $J = 1$ & 8 Hz , vinyl H) , 6.33 & 6.38 (1 H , diastereomeric 2 s , benzyl methyne H) , 7.01 - 7.46 (9 H , m , phenyl H)

(1 S) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] Cypermethrin の合成

上述の方法に従い、(1 S) - cis - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropane [¹⁴C] carboxylic acid (43b) (13.5 mCi, 33.9 mCi / mmol, 0.398 mmol ; 光学純度 99.7%) と α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide より、(1 S) - cis - [carbonyl - ¹⁴C] cypermethrin (13.3 mCi) を合成した。

(1 R) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] Cypermethrin の合成

前述の方法に従い、(1 R) - trans - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropane [¹⁴C] carboxylic acid (43c) (19.8 mCi, 33.9 mCi / mmol, 0.584 mmol ; 光学純度 100%) と α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide より、(1 R) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] cypermethrin (19.2 mCi) を合成した。

NMR (δ, ppm, CDCl₃) : 1.20 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.31 (3 H, s, cyclopropyl methyl H), 1.63 (1 H, d, J = 5 Hz, cyclopropyl H), 2.25 (1 H, d - d, J = 5 & 8 Hz, cyclopropyl H), 5.52 (1 H, d, J = 8 Hz, vinyl H), 6.28 (1 H, s, benzyl methyne H), 6.86 - 7.38 (9 H, m, phenyl H)

(1 S) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] Cypermethrin の合成

前述の方法に従い、(1 S) - trans - 3 - (2, 2 - dichloroethenyl) - 2, 2 - dimethylcyclopropane [¹⁴C] carboxylic acid (43d) (22.2 mCi, 33.9 mCi / mmol, 0.655 mmol ; 光学純度 99.2%) と α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide より、(1 S) - trans - [carbonyl - ¹⁴C] cypermethrin (20.6 mCi) を合成した。

(1R)-cis-[cyclopropyl-1-¹⁴C] Cypermethrin の合成

前述のカルボニル¹⁴C標識体の場合と同様の方法に従い、(1R)-cis-3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethyl[1-¹⁴C]cyclopropanecarboxylic acid (42a) (2.97 mCi, 22.0 mCi/mmol, 0.135 mmol; 光学純度 98.5%) と α-cyano-3-phenoxybenzyl bromide を、炭酸カリウム及び相間移動触媒存在下に縮合。常法処理後に得られた黄色油状の粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-ether 97/3 v/v) することにより、(1R)-cis-[cyclopropyl-1-¹⁴C] cypermethrin (2.58 mCi) を得た。

(1R)-trans-[cyclopropyl-1-¹⁴C] Cypermethrin の合成

上述の方法に従い、(1R)-trans-3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethyl[1-¹⁴C]cyclopropanecarboxylic acid (42c) (5.59 mCi, 22.0 mCi/mmol, 0.154 mmol; 光学純度 99.0%) と α-cyano-3-phenoxybenzyl bromide より、(1R)-trans-[cyclopropyl-1-¹⁴C]-cypermethrin (4.92 mCi) を合成した。

(1R)-trans-[benzyl-α-¹⁴C] Cypermethrin の合成

(1R)-trans-3-(2,2-dichloroethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (433 mg, 2.07 mmol; 光学純度 99.9%) の無水 n-pentane (6.9 ml) 溶液に oxalyl chloride (2.53 g, 19.9 mmol) を添加、室温にて1.5時間攪拌後、減圧留去、更に無水 n-hexane (7.0 ml) を加えて再留去して、酸クロリドを得た。本品を無水 toluene (2.0 ml) に溶解し、α-cyano-3-phenoxy[α-¹⁴C]benzyl alcohol (77) (23.9 mCi, 31.1 mCi/mmol, 0.768 mmol) の無水 toluene (1.4 ml) 溶液と混合。これに無水 pyridine (79.1 mg, 1.00 mmol) の無水 toluene (1.0 ml) 溶液を添加し、室

温にし3.5時間攪拌。反応混合物を5%塩酸にて希釈し、ether抽出。ether層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付し、純度99%以上の(1R)-trans-[benzyl- α -¹⁴C] cypermethrin (20.1 mCi)を得た。

光学活性 HPLC 分取による (1R)-trans-[benzyl- α -¹⁴C]-
cypermethrin の光学分割 ((α R), (1R)-trans 体及び (α S),
(1R)-trans 体の調製)

(1R)-trans-[benzyl- α -¹⁴C] Cypermethrin (20.1 mCi, 0.646 mmol, 269 mg) の chloroform (1.0 ml) 溶液を、40 μ l ([¹⁴C] cypermethrin 10.8 mg) ずつ、分取 HPLC [Sumipax OA-2000 column (10 μ m, 8mm ID \times 50cm) ; n-hexane / 1, 2-dichloroethane / isopropanol (500 / 30 / 0.5 v / v / v) as the solvent with a flow rate of 5.0 ml / min ; at room temp. ; monitored by UV absorbance at 254 nm] に注入。 α R 体 (保持時間 28.0 min) 及び α S 体 (保持時間 33.0 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去して、光学活性 R HPLC 所見上、光学純度 99.9% の (α R), (1R)-trans-[benzyl- α -¹⁴C] cypermethrin (10.3 mCi) 及び、光学純度 99.8% の (α S), (1R)-trans-[benzyl- α -¹⁴C] cypermethrin (9.54 mCi) を得た。

R HPLC : ① Sumipax OA-2000 (5 μ m, 25cm) , n-hexane / 1, 2-dichloroethane / isopropanol (500 / 30 / 0.5 v / v / v) 1.0 ml / min , monitored by UV absorbance at 254 nm ; RT [min] : (α R) , (1R)-trans 20.0 ; (α S) , (1R)-trans 27.0

② μ -Porasil (10 μ m, 30cm), n-hexane/ethyl acetate = 500/7 (v/v) 1.0 ml/min, monitored by UV absorbance at 254nm; RT [min]: (α R), (1R) -trans 18.6; (α S), (1R) -trans 20.5
[α] 25_D (c = 2.00, CHCl₃): (α R), (1R) -trans -20°; (α S), (1R) -trans -8°

IR (ν_{max} , cm⁻¹, liquid film): 1735 (C=O, both isomers)

NMR (δ , ppm, CDCl₃):

(α R), (1R) -trans - [¹⁴C] cypermethrin

1.15 (3H, s, cyclopropyl methyl H), 1.26 (3H, s, cyclopropyl methyl H), 1.63 (1H, d, J = 5 Hz, cyclopropyl H), 2.25 (1H, d-d, J = 5 & 8 Hz, cyclopropyl H), 5.52 (1H, d, J = 8 Hz, vinyl H), 6.27 (1H, s, benzyl methyne H), 6.82-7.40 (9H, m, phenyl H)

(α S), (1R) -trans - [¹⁴C] cypermethrin

1.16 (3H, s, cyclopropyl methyl H), 1.21 (3H, s, cyclopropyl methyl H), 1.63 (1H, d, J = 5 Hz, cyclopropyl H), 2.26 (1H, d-d, J = 5 & 8 Hz, cyclopropyl H), 5.53 (1H, d, J = 8 Hz, vinyl H), 6.30 (1H, s, benzyl methyl H), 6.85-7.40 (9H, m, phenyl H)

MS (m/z): 407 & 405 (M⁺), 165 & 163 (base peak)

(both isomers)

(1R) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Cypermethrin の合成

前述のベンジル- α -¹⁴C 標識体の場合と同様の方法に従い、 α -cyano-3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (83) (28.6 mCi, 109 mCi/mmol, 0.262 mmol) を、(1R) - cis - 3 - (2, 2-dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.8%) から調製した酸クロリドと縮合、得られた粗エステルをカラムクロマト精製することにより、純度 99% 以上の (1R) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] - cypermethrin (24.9 mCi) を得た。

(1S) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Cypermethrin の合成

上述の方法に従い、 α -cyano-3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (83) (28.6 mCi, 109 mCi/mmol, 0.262 mmol) と (1S) - cis - 3 - (2, 2-dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.8%) より、(1S) - cis - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] - cypermethrin (24.7 mCi) を合成した。

(1R) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Cypermethrin の合成

前述の方法に従い、 α -cyano-3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (83) (28.6 mCi, 109 mCi/mmol, 0.262 mmol) と (1R) - trans - 3 - (2, 2-dichloroethenyl) - 2, 2-dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.9%) より、(1R) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] cypermethrin (23.6 mCi) を合成した。

(1S) - trans - [phenoxyphenyl - U - ¹⁴C n] Cypermethrin の合成

前述の方法に従い、 α -cyano-3-phenoxy [phenyl - U - ¹⁴C n] benzyl alcohol (83) (28.6 mCi, 109 mCi/mmol, 0.262 mmol) と (1S) - trans -

3 - (2 , 2 - dichloroethenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 98.7%) より、 (1 S) - trans - [phenoxyphenyl - U - ^{14}C n] cypermethrin (24.2 mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [cyano - ^{14}C] Cypermethrin の合成

前述のベンジル或いはフェノキシフェニル ^{14}C 標識体の場合と同様の方法に従い、 α - [^{14}C] cyano - 3 - phenoxybenzyl alcohol (84) (8.44 mCi, 28.5 mCi / mmol, 0.296 mmol) を (1 R) - cis - 3 - (2 , 2 - dichloroethenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.8%) から調製した酸クロリドと縮合、得られた粗エステルをカラムクロマト精製することにより、(1 R) - cis - [cyano - ^{14}C] cypermethrin (7.00 mCi) を得た。

(1 R) - trans - [cyano - ^{14}C] Cypermethrin の合成

上述の方法に従い、 α - [^{14}C] cyano - 3 - phenoxybenzyl alcohol (84) (8.44 mCi, 28.5 mCi / mmol, 0.296 mmol) と (1 R) - trans - 3 - (2 , 2 - dichloroethenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropanecarboxylic acid (光学純度 99.9%) より、(1 R) - trans - [cyano - ^{14}C] cypermethrin (6.33 mCi) を合成した。

(1 R) - cis - [benzyl - α - ^{14}C] Deltamethrin (α - cyano - 3 - phenoxy [α - ^{14}C] benzyl (1 R) - cis - 3 - (2 , 2 - dibromoethenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropanecarboxylate) の合成

(1 R) - cis - 3 - (2 , 2 - Dibromoethenyl) - 2 , 2 - dimethylcyclopropanecarboxylic acid (445 mg, 1.49 mmol ; 光学純度 100%) の無水 n - pentane (6.0 ml) 溶液に oxalyl chloride (1.82 g, 14.3 mmol) を添加し、室温にて1.5時間攪拌。過剰の oxalyl chloride、副生した塩化水素等を溶媒

と共に減圧留去し、更に、残渣に無水 benzene (3 ml × 2) を加えて再留去することにより、(1R)-cis-3-(2,2-dibromoethenyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarbonyl chloride を得た。この酸クロリドを無水 toluene (2.0 ml) に溶解し、benzene 共沸脱水 (45℃/100 mmHg) にて乾燥した α-cyano-3-phenoxy [α-¹⁴C] benzyl alcohol (77) (47.1 mCi, 31.2 mCi/mmol, 1.51 mmol) の無水 toluene (1.0 ml) 溶液と混合、無水 pyridine (158 mg, 2.00 mmol) の無水 toluene (2.0 ml) 溶液を添加後、乾燥窒素雰囲気下、室温にて2時間攪拌。反応混合物を5% 塩酸にて希釈し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) に付し、RTLC及びRHPLC所見上の純度 99% の(1R)-cis-[benzyl-α-¹⁴C] deltamethrin (38.7 mCi) を得た。

RTLC: benzene, R_f 0.56; n-hexane/ether = 5/1

(v/v), R_f 0.36

RHPLC: ①Lichrosorb SI-60 (5 μm, 30cm), n-hexane/

ethyl acetate = 100/1 (v/v) 1.0 ml/min,

monitored by UV absorbance at 254 nm; RT

[min]: 26.9 [(αR), (1R)-cis] and 31.5

[(αS), (1R)-cis]

②Sumipax OA-2000 (5 μm, 25cm), n-hexane/

1,2-dichloroethane/isopropanol (500/30/0.5

v/v/v) 1.0 ml/min, monitored by UV

absorbance at 254 nm; RT [min]: 20.4 [(αR),

(1R)-cis] and 28.1 [(αS), (1R)-cis]

NMR (δ, ppm, CDCl₃): 1.17 (3H, s, cyclopropyl methyl

H), 1.23 (3H, s, cyclopropyl methyl H),

1.85-2.16 (2 H , m , cyclopropyl H) , 6.35 (1 H , s , benzyl methyne H) , 6.66 (1 H , d , J = 8 Hz , vinyl H) , 6.82-7.46 (9 H , m , phenyl H)

光学活性 H P L C 分取による (1 R) - cis - [benzyl - α - 14 C]

deltamethrin の光学分割 ((α R) , (1 R) - cis 体及び (α S) ,

(1 R) - cis 体の調製)

(1 R) - cis - [benzyl - α - 14 C] Deltamethrin (38.7 mCi , 1.24 mmol, 629 mg) の chloroform (6.3 ml) 溶液を、160 μ l ([14 C] deltamethrin 16 mg) ずつ、分取 H P L C [Sumipax O A - 2000 column (5 μ m, 25 cm \times 2 cm I D) ; n - hexane / 1 , 2 - dichloroethane / ethanol (500 / 30 / 0.15 v / v / v) as the solvent with a flow rate of 16 ml / min ; at room temp. ; monitored by U V absorbance at 254 nm] に注入。 α R 体 (保持時間 27.8 min) 及び α S 体 (保持時間 38.4 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去することにより、(α R) , (1 R) - cis - [benzyl - α - 14 C] deltamethrin (19.8 mCi , 光学純度 99.0%) 及び (α S) , (1 R) - cis - [benzyl - α - 14 C] deltamethrin (18.5 mCi, 光学純度 99.8%) を得た。

[carbonyl - 14 C] Fenvalerate A (α - cyano - 3 - phenoxybenzyl (2 S) -

2 - (4 - chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - 14 C] butyrate の合成

(2 S) - 2 - (4 - Chlorophenyl) - 3 - methyl [1 - 14 C] butyric acid (57) (28.3 mCi , 18.4 mCi / mmol , 1.54 mmol ; 光学純度 97%) 及び α - cyano - 3 - phenoxybenzyl bromide (450 mg, 1.56 mmol) の 1 , 1 , 1 - trichloroethane (6.0 ml) 溶液に、炭酸カリウム (115 mg, 0.832 mmol) 及び tetra - n - butylammonium bromide (68 mg, 0.22 mmol) の水 (4.0 ml)

溶液を添加し、60~65℃にて5時間攪拌。冷却後、反応混合物を水にて希釈し、1, 1, 1-trichloroethaneで抽出。有機層を5%炭酸カリウム、5%塩酸、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製(silica gel, n-hexane-ether 65/35 v/v)に付すことにより、RTLC、RGC及びRHPLC所見上の純度99%以上、 $[\alpha]_D^{25} -9.33$ ($c=1.46$, CHCl_3)の[carbonyl- ^{14}C] fenvalerate A (26.9 mCi)を得た。

RTLC: benzene, R_f 0.38; n-hexane/ether = 2/1
(v/v), R_f 0.45; chloroform/methanol = 9/1
(v/v), R_f 0.78

RGC: 10% Silicone DC QF-1 (3 m) on chromosorb WAW
DMCS (60~80 mesh), 245℃, He 100 ml/min;
RT [min]: 22.2 (A β , B α) and 24.6 (A α , B β)

IR (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film): 2300 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1745 ($\text{C}=\text{O}$)

NMR (δ , ppm, CDCl_3): 0.68 & 0.70 (3H, each d, $J=6$ Hz,
-CH(CH_3)₂), 0.94 & 1.04 (3H, each d, $J=6$ Hz,
-CH(CH_3)₂), 1.95-2.55 (1H, m, -CH(CH_3)₂),
3.21 (1H, d, $J=10$ Hz, $\text{CH}-\text{CO}-\text{O}$), 6.29 & 6.32
(1H, each s, -CH(CN)-O), 6.86-7.60 (13H,
m, phenyl H)

MS (m/z): 419 & 421 (M^+), 225, 208, 181, 167 & 169
(base peak), 152 & 154, 125 & 127, 77

[chlorophenyl-U- ^{14}C n] Fenvalerate A の合成

上述のカルボニル ^{14}C 標識体の場合と同様の方法に従い、(2S)-2-(4-chloro[U- ^{14}C n]phenyl)-3-methylbutyric acid (64)

(16.0 mCi, 29.6 mCi / mmol, 0.541 mmol ; 光学純度 98 %) を、炭酸カリウム及び相間移動触媒存在下に α -cyano-3-phenoxybenzyl bromide と縮合、得られた粗エステルをカラムクロマト精製して、[chlorophenyl - U - 14 C n] - fenvalerate A (14.9 mCi) を得た。

[alcoholic benzyl - α - 14 C] Fenvalerate A の合成

3-Phenoxy [α - 14 C] benzaldehyde (76) (30.5 mCi, 33.9 mCi / mmol, 0.899 mmol) 及び (+) - (2S) - 2 - (4-chlorophenyl) - 3-methylbutanoyl chloride (374 mg, 1.62 mmol ; [α] $^{\text{D}}$ +53.0 (c = 5.80, CHCl₃) の n-heptane (10 ml) 溶液に、sodium cyanide (98 mg, 2.0 mmol) 及び benzyltriethylammonium chloride (8.0 mg, 0.037 mmol) の水 (4 ml) 溶液を添加し、室温にて16時間攪拌。更に酸クロリド (230 mg, 0.995 mmol) 及び青酸塩 (74 mg, 1.5 mmol) を追加し、室温にて8時間攪拌。反応混合物を水にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を 5% 炭酸ナトリウム、5% 亜硫酸水素ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-ether 9 / 1 v / v) に付し、純度 99% 以上、[α] $^{\text{D}}$ -9.34° (c = 1.45, CHCl₃) の [alcoholic benzyl - α - 14 C] fenvalerate A (27.1 mCi) を得た。

[phenoxyphenyl - U - 14 C n] Fenvalerate A の合成

上述のアルコール側ベンジル - α - 14 C 標識体の場合と同様の方法に従い、3-phenoxy [phenyl - U - 14 C n] benzaldehyde (82) (28.0 mCi, 15.9 mCi / mmol, 1.76 mmol) と (+) - (2S) - 2 - (4-chlorophenyl) - 3-methylbutanoyl chloride 及び sodium cyanide を、相間移動触媒存在下に縮合 (n-heptane-toluene-水 (5 / 2 / 3 v / v / v) 中)、粗生成

物をカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-benzene 1 / 1 v / v) することにより、純度 99% 以上の [phenoxyphenyl - U - 14 C n] fenvalerate A (26.4 mCi) を得た。

[cyano - 14 C] Fenvalerate A の合成

α - [14 C] Cyano - 3 - phenoxybenzyl alcohol (84) (40.0 mCi, 39.2 mCi /mmol, 1.02 mmol) の無水 toluene (3 ml) 溶液に、-5 ~ 0 °C にて、(+)- (2S) - 2 - (4-chlorophenyl) - 3 - methylbutanoyl chloride (364 mg, 1.57 mmol) 及び pyridine (293 mg, 3.71 mmol) の無水 toluene (12 ml) 溶液を滴下し、室温にて終夜攪拌。反応混合物を 5% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を 5% 水酸化ナトリウム、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, n-hexane-benzene 3 / 1 v / v) に付し、純度 99% 以上、 $[\alpha]_D^{25} -9.30$ (C=1.40, CHCl₃) の [cyano - 14 C] fenvalerate A (25.9 mCi) を得た。

エピ化晶析法による [chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate A α ((α S) - α - cyano - 3 - phenoxybenzyl (2 S) - 2 - (4 - chloro [U - 14 C n] - phenyl) - 3 - methylbutyrate) の調製

[chlorophenyl - U - 14 C n] Fenvalerate A (14.9 mCi, 20.9 mCi /mmol, 0.714 mmol ; 酸側光学純度 98.7%) の methanol (1.0 ml) 溶液に triethylamine (9.0 mg, 0.089 mmol) を添加し、-10 °C に冷却後非放射性 A α 体の結晶を接種し、-10 ~ 0 °C にて 6 時間攪拌。更に、同温にて 65 時間静置して晶析。生成した結晶を濾取、これを n-heptane-toluene (9 / 1 v / v, 0.43 ml) に溶解し、非放射性 A α 体の結晶を接種した後、室温にて終夜静置して再結晶することにより、後述の l - menthyl 誘導体の R H P L C 分析所

見による光学純度 99.9% の [chlorophenyl - U - ^{14}C n] fenvalerate A α (7.12 mCi, 143 mg, 20.8 mCi/mmol; $[\alpha]_D^{25} - 12.0^\circ$ (c = 1.00, CHCl_3); mp. 61~62 $^\circ\text{C}$) を得た。

ℓ -Menthyl ester への誘導化による [chlorophenyl - U - ^{14}C n]-fenvalerate A α の光学純度分析

[chlorophenyl - U - ^{14}C n] Fenvalerate A α (1.0 mg, 2.4 μmol) の toluene (0.1 ml) 溶液に ℓ -menthol (100mg) 及び濃塩酸 (0.4 ml) を添加し、反応容器を密封後、80~85 $^\circ\text{C}$ にて3時間振盪することにより、[^{14}C] - fenvalerate のシアノ基を加水分解-メンチルエステル化。冷却後、benzene (0.5 ml) を加えて振盪。有機層を分液し、10% 炭酸ナトリウム (0.4 ml)、1 N 塩酸 (2.0 ml)、水 (3 ml \times 2) 等で順次洗浄、無水硫酸ナトリウム (0.5 g) で乾燥、減圧濃縮して得られた ℓ -menthylated [^{14}C] fenvalerate ((α S) - α - (ℓ -menthoxycarbonyl) - 3-phenoxybenzyl (2S) - 2 - (4-chloro [U - ^{14}C n] phenyl - 3-methyl butyrate) の溶液を、下記の R H P L C に注入、分析。

なお、光学純度 100% の非放射性 A α 体を用いて、上記の誘導化反応において、アルコール側の α 位のエピ化生成物 (A β 体) が 0.6% 生成することを確認し、R H P L C の分析結果を補正した。

R H P L C : μ -Porasil (10 μm , 30cm), n-hexane/ethyl acetate = 500/7 (v/v) 0.9 ml/min, monitored by UV absorbance at 254nm ; R T [min] : A β 12.4, B β 13.3, B α 14.8, A α 16.8

エピ化晶析法による [phenoxyphenyl - U - ^{14}C n] fenvalerate A α の調製

前述のクロロフェニル ^{14}C 標識体の場合と同様の方法に従い、[phenoxy-

phenyl - U - ^{14}C n] fenvalerate A (26.4 mCi, 697 mg, 1.66 mmol, 15.9 mCi/mmol) を triethylamine 存在下にエピ化晶析し、得られた結晶を更に再結晶することにより、l-menthyl 誘導体の R H P L C 所見における光学純度 99.9% の [phenoxyphenyl - U - ^{14}C n] fenvalerate A α (11.8 mCi, 318 mg, 15.5 mCi/mmol; $[\alpha]_D^{25}$ -12.1 (c = 1.50, CHCl_3); m p 61 ~ 62 $^{\circ}\text{C}$) を得た。

[chlorophenyl - U - ^{14}C n] Fenvalerate α (α S) - α - cyano - 3 - phenoxybenzyl 2 - (4 - chloro [U - ^{14}C n] phenyl) - 3 - methylbutyrate) の合成

2 - (4 - Chloro [U - ^{14}C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (63) (89.1 mCi, 53.8 mCi/mmol, 1.66 mmol) を dimethylformamide (500 ppm) を含む無水 benzene (3.0 ml, dimethylformamide 1.5 μl) に溶解し、oxalyl chloride (419 mg, 3.30 mmol) を添加後室温にて 2.5 時間攪拌、減圧留去して、黄色油状の 2 - (4 - chloro [U - ^{14}C n] phenyl) - 3 - methylbutanoyl chloride を得た。この酸クロリドに (α S) - α - cyano - 3 - phenoxy - benzyl alcohol (420 mg, 1.87 mmol; 光学純度 98.0% ($\underline{\text{R}} / \underline{\text{S}}$ = 1.0 / 99.0) の toluene (2.6 ml) 溶液及び無水 pyridine (144 mg, 1.82 mmol) を添加し、室温にて 3 時間攪拌。反応混合物を 5% 塩酸にて希釈し、benzene 抽出。benzene 層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去して得られた粗エステルをカラムクロマト精製 (silica gel, benzene) することにより、R T L C 純度 99% 以上、下記 R H P L C 所見におけるアルコール側光学純度 94.8% ($\alpha \underline{\text{R}} / \alpha \underline{\text{S}}$ = 2.6 / 97.4) の [chlorophenyl - U - ^{14}C n] - fenvalerate α (84.0 mCi) を得た。

R H P L C : ① Lichrosorb S I - 60 (5 μm , 30 cm), n - hexane / ethyl acetate = 500 / 8 (v / v) 1.0 ml / min ,

monitored by UV absorbance at 254 nm ; RT [min]
24.4 (B α , A β) and 28.0 (A α , B β)

②Sumipax O A -2000 (5 μ m , 25cm) , n -hexane / 1 ,
2 -dichloroethane / isopropanol (500 / 30 / 1 v / v /
V) 1.0 ml / min , monitored by UV absorbance at
254 nm ; RT [min] : A β 19.2 , B α 20.5 , A α
23.2 , B β 24.9 (α = A α + B α , β = A β + B β)

H P L C分取による [chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate A の光学分割
(ジアステレオマー A β / A α の分離)

[chlorophenyl - U - 14 C n] Fenvalerate A (4.10 mCi, 20.8 mCi/mmol,
0.197 mmol, 82.8 mg) の chloroform (0.30 ml) 溶液を、150 μ l ([14 C] -
fenvalerate 41 mg) ずつ、分取 H P L C [Y M C Pack S H - 0 4 3 column
(silica, 15 μ m , 25 cm \times 2 cm I D) ; n -hexane / ethyl acetate (500 / 8
v / v) as the solvent with a flow rate of 9.9 ml / min ; at room temp.
; monitored by UV absorbance at 254 nm] に注入。A β 体 (保持時間 38.5
min) 及び A α 体 (保持時間 44.2 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧
留去することにより、[chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate A β (1.93
mCi, 純度 100%) 及び [chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate A α (1.97
mCi, 純度 99.1%) を得た。

H P L C分取による [chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate α の光学分割
(ジアステレオマー B α / A α の分離)

上述の A 体の場合と同一条件の分取 H P L C に、[chlorophenyl - U -
 14 C n] fenvalerate α (84.0 mCi, 53.8 mCi/mmol, 1.56 mmol, 656 mg) の
benzene / n -hexane / chloroform (2 / 2 / 1 v / v / v , 1.0ml) 溶液を、

115 μ l ([14 C] fenvalerate 75 mg) ずつ注入。B α 体 (保持時間 38.5 min) 及び A α 体 (保持時間 44.2 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去して、[chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate B α (38.9 mCi, 純度 100%) 及び [chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate A α (37.1 mCi, 純度 99.2%) を得た。

光学活性 H P L C 分取による [carbonyl - 14 C] fenvalerate の
光学分割 (4 異性体 A β / B α / A α / B β の分離)

[carbonyl - 14 C] Fenvalerate (44.2 mCi, 35.7 mCi / mmol, 1.24 mmol, 520 mg) を chloroform (3.13 ml) に溶解し、その溶液 30 μ l ([14 C] - fenvalerate 5.0 mg) ずつを分取 H P L C [Sumipax O A - 2000 column (5 μ m, 8mm I D \times 25 cm \times 4) ; n - hexane / 1, 2 - dichloroethane / isopropanol (500 / 30 / 1.25 v / v / v) as the solvent with a flow rate of 5.0 ml / min ; at room temp. ; monitored by U V absorbance at 254 nm] に注入。A β 体 (保持時間 42.4 min)、B α 体 (保持時間 44.4 min)、A α 体 (保持時間 49.0 min) 及び B β 体 (保持時間 52.2 min) の各々を含む画分を集め、溶媒を減圧留去することにより、4 種の光学活性 [carbonyl - 14 C] - fenvalerate A β (9.55 mCi, 光学純度 100%), B α (10.3 mCi, 光学純度 99.0%), A α (8.84 mCi, 光学純度 100%) 及び B β (9.72 mCi, 光学純度 98.9%) を得た。なお、各異性体の光学純度は、前述の光学活性 H P L C 分析により決定した。

光学活性 H P L C 分取による [chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate の
光学分割

上述のカルボニル 14 C 標識体の場合と同一の光学活性 H P L C 分取により、[chlorophenyl - U - 14 C n] fenvalerate (7.44 mCi, 31.6 mCi / mmol,

0.235 mmol, 98.9 mg) を4異性体に分割し、A β 体(1.64 mCi, 光学純度100%)、B α 体(1.61 mCi, 光学純度99.2%)、A α 体(1.41 mCi, 光学純度100%)及びB β 体(1.49 mCi, 光学純度99.6%)を得た。

光学活性HPLC分取による〔phenoxyphenyl-U-¹⁴Cn〕fenvalerateの

光学分割

前述のカルボニル¹⁴C標識体の場合と同一条件の光学活性HPLC分取により、〔phenoxyphenyl-U-¹⁴Cn〕fenvalerate (16.5 mCi, 34.1 mCi/mmol, 0.484 mmol, 203 mg) を4異性体に分割し、A β 体(3.75 mCi, 光学純度99.7%)、B α 体(3.71 mCi, 光学純度99.3%)、A α 体(2.98 mCi, 光学純度100%)及びB β 体(3.29 mCi, 光学純度99.1%)を得た。

引用文献

78. N. Ohno , Y. Ume and K. Tsushima , Jpn. Patent 51-43740 (1976).
79. D. A. Wood , Ger. Offen. 2,651,341 (1977).
80. F. Francis and O. C. M. Davis , J. Chem. Soc. , 95 , 1403 (1909).
81. R. A. Sheldon , P. Beep , D. A. Wood and R. F. Mason , Ger. Offen
2,708,590 (1977) ; Jpn. Patent 52-105148 (1977).
82. H. Hirohara and S. Mitsuda , Jpn. Patent 58-94389 , 212790 (1983).
83. K. Aketa , Y. Suzuki , N. Ohno and T. Kato , Ger. Offen.
2,830,031 (1979).
84. (a) N. Ohno , et al. , Jpn. Patent 54-16444 (1979).
(b) K. Aketa , et al. , Jpn. Patent 54-55546 (1979).
85. M. Horiba , H. Kitahara , K. Takahashi , S. Yamamoto and A. Murano,
Agric. Biol. Chem. , 44 , 1197 (1980).
86. J. Lig. Chromatogr. , 9 (2 & 3) : Special Issue on Optical
Resolution by Liquid Chromatography (1986).
87. K. Yamagishi and Y. Toga , J. Syn. Org. Chem. Jpn. , 44 ,
476 (1986).
88. W. H. Pirkle and I. M. Finn , J. Org. Chem. , 46 , 2935 (1981).

第 1 部に関するまとめ

第 1 部では、種々の有用な合成ピレスロイドに関して、酸、アルコール両成分の様々な部位の ^{14}C 標識化法、並びに効率的な光学活性体調製法の確立に成功したことを述べた。

すなわち、第 1 章の酸成分の標識化に関する研究により、菊酸、ジハロビニル菊酸類、2, 2, 3, 3 - テトラメチルシクロプロパンカルボン酸等の 3 位置換 2, 2 - ジメチルシクロプロパンカルボン酸類について、カルボキシル及びシクロプロピル 1 位炭素 ^{14}C 標識体合成法と、光学活性 HPLC 分取法による効率的な全立体異性調製法等を確立した。また、菊酸のビニル側鎖 2 位 ^{14}C 標識体の立体特異的合成も達成した。更に、非菊酸型酸成分の代表である 2 - (4 - クロロフェニル) - 3 - メチル酪酸について、カルボキシル及びフェニル炭素 ^{14}C 標識体合成法とそれ等の光学分割法を確立した。

一方、第 2 章のアルコール成分の ^{14}C 標識化に関する研究では、アレソロロン、プロパルギルロン等天然型レスロロン類のオキソシクロペンテニル環 2 位炭素 ^{14}C 標識体の合成に成功すると共に、 ^{14}C プロパルギルロンについて、光学活性 HPLC 分取による直接分割法、酵素による不斉加水分解を利用した選択的な S 体取得法等を確立した。更に、非天然型アルコール成分の代表である 3 - フェノキシベンジルアルコールとその α -シアノ体について、ベンジル α 炭素、フェノキシフェニル炭素、シアノ炭素等の ^{14}C 標識化法を確立した。また、特異なアルコール成分 N - ヒドロキシメチル - 3, 4, 5, 6 - テトラヒドロフタルイミドの高比放射能カルボニル ^{14}C 標識体も合成した。

第 3 章の光学活性 ^{14}C ピレスロイドエステルに関する研究では、主に酸成分光学活性体を、酸クロリドとアルコールの縮合、カルボン酸とハロゲン化物の縮合、Francis 反応の 3 種の方法の何れかによって調製した。プラレスリン、サイパーメスリン、デルタメスリン、フェンバレレートに関しては、光学活

性体同士の縮合、酸側活性体のエピ化晶析またはHPLCによるジアステレオマー分離、光学活性HPLCによる全光学異性体分離等の方法の何れかによって、両成分光学活性¹⁴C標識体を調製することに成功した。

すなわち、第1部のピレスロイドの¹⁴C標識化と光学活性体の調製に関する研究の結果、11種の有力なピレスロイドについて91種の¹⁴C標識体を調製することができた (Table 17 及び Fig. 41)。調製した標識体の大多数は、20mCi/mmol以上という従来のももの10倍前後かそれ以上の高い比放射能を有するものであり、更に、98~100%の高い光学純度を有する光学活性体であった。また、放射化学的並びに化学的純度については、何れも98%以上 (大多数は99%以上)に高めた。

その結果、各ピレスロイドに関して、より正確で精密なトレーサー研究が可能となり、各々の生体内運命や環境下における挙動が定量的且詳細に解明された⁸⁹⁾。例えば、ラット、マウス、イヌ等の哺乳動物に種々の部位を¹⁴C標識したピレスロイドを経口投与した場合、容易に腸管から吸収されて体内に広く分布したが、程度に多少の差はあっても共通に、良く知られた酵素系によるエステル結合の解裂、酸側並びにアルコール側の様々な部位の酸化 (水酸化、カルボキシル化) とこれらに続く各種の抱合体形成を経て速やかに代謝され、ほぼ完全に排泄された。また、シアノ基は、動物体内で主としてチオシアナートに変換され、皮膚表面や体毛へ運ばれて除々に体内から消失した。経皮的に与えられたピレスロイドも同様に代謝されたが、皮膚からの吸収は比較的緩やかであった。一方、¹⁴C標識ピレスロイドを植物に施用した場合、施用部位に留まって植物体内に殆ど移行しないこと、根部を通して土壌から植物体内に吸い上げられる現象は無いこと等が明らかとなった。また、ピレスロイドは、植物体内においても、基本的には哺乳動物体内で認められたと類似した加水分解や酸化によって代謝され、代謝産物のいくつかはオリゴ糖と抱合体を形成した。但し、シアノ基については、動物体内とは異なり大部分が有機酸やアミノ酸の構成成分に変換された。光分解に関しては、

酸化反応が特に第一世代ピレスロイドでは主であること、その他の分解反応として、異性化、脱カルボキシル化、脱ハロゲン化等の光に特異的な反応が存在すること等が確認された。土壌中のピレスロイドは、微生物によって分解されて最終的には完全に無機化したが、その速度は好气的条件の方が速やかであった。なお、ピレスロイドは全般に水溶性が極めて低く、土壌への吸着が速やか且強固で、水による溶脱は殆ど認められなかった。このことは、ピレスロイドの水棲生物に対する影響を防止するのに役立つと考えられた。なお、ピレスロイドは、高い脂溶性にも係わらず、魚類の体内で良く代謝されることも明らかにされた。

以上の ^{14}C 標識ピレスロイドを用いたトレーサー研究の成果は、垂急性及び慢性毒性、変異原性、催奇性、生殖性等に関する他の多くの動物実験によって得られた知見と総合され、ピレスロイドが極めて低毒性であり、ヒトに対して十分な安全性を確保できる化合物であること、低施用量であることと相俟って、各環境条件下で速やかに代謝、分解して環境中に長く残留せず、非標的生物には殆ど影響を及ぼさないこと等の安全性評価の結論を導き出した。

また、光学異性体相互の比較代謝研究を可能にしたことにより、ピレスロイドの薬理作用、毒性発現及び解毒等の機構解明に大きく寄与した。例えば、ラット、マウス等の体内では、フェンバレレート⁹⁰⁾の4種異性体中 $\text{B}\alpha$ 体のみが選択的にコレステロールエステルに変換されて残留し、これが肉芽腫形成 (granuloma formation) の原因となり得ることが、各異性体の ^{14}C 標識体を用いた代謝研究結果の比較により明らかにされ、フェンバレレートの安全性が再評価された^{90), 91)}。なお、フェンバレレートについては、現在、4種の異性体の中で最も殺虫効力が高く最少の施用量で所期の目的が達成され、しかもより安全な $\text{A}\alpha$ 体が、開発されて実用に供されている。

引用文献

89. See , for example , J. Miyamoto , et al. , Pure and Applied Chemistry , 53 , 1967 (1981).
90. H. Kaneko , M. Matsuo and J. Miyamoto , Toxicol. Appl. Pharmacol. , 83 , 148 (1986).
91. J. Miyamoto , H. Kaneko and Y. Okuno , Xenobiotic Conjugation Chemistry (ACS Symposium Series 299) , 268 (1986).

第2部 ガスクロマトグラフ-マススペクトロメータ -コンピュータシステム (GC-MS-CPU) による¹⁴C標識化合物の比放射能測定法の開発に 関する研究

第1章 基礎研究 92)

今日、医学、薬学、農学、生化学等の分野では、¹⁴C標識化合物を用いたトレーサー研究が隆勢を極めているが、それに伴い、使用する標識化合物の放射能 (radioactivity)、比放射能 (specific activity)、純度、安定性等品質管理に関する諸問題の解決は、一段と重要性を増してきている。中でも、安全性評価のためのトレーサー研究、すなわち、薬物の生体内運命や環境条件下における挙動を解明しようとする研究においては、¹⁴C標識薬物を用いて、超微量物質の代謝様式や移行状態を定量的に把握することが行われるが、その際、対象部位から観測される放射能と実験に用いた¹⁴C標識化合物の比放射能より、その部位の代謝量や移行量を算出することを頻繁に行う必要があり、従って、特に使用された¹⁴C標識化合物の比放射能の正確さは、所期のトレーサー研究の精度を左右する重要因子となっている。

ところで、¹⁴C標識化合物の比放射能は、通常、その放射能と対応する重量を測定して算出されるが (放射能-重量法、radioactivity-weight method, RW法)、この通常の方法では正確な比放射能を決定できない場合が少なからずある。例えば、¹⁴C標識試料が微量であるとか、揮発性や昇華性が高いとか、十分に高純度でなく、不純物や溶媒、水分等を含んでいると言った場合には、正確な重量測定が困難である。また、その放射能測定についても、最も汎用されている液体シンチレーションカウンター (liquid scintillation counter, LSC) による方法では、化学的消光現象 (chemical quenching) の顕著な化合物等の放射能測

定精度は著しく低下することが知られている。このような場合の代替法としては、UV吸収やHPLC、GC等により物質質量（重量）を推算する方法、完全燃焼することによりガス（ $^{14}\text{CO}_2$ ）化し、これをアミン溶液等に吸収させて放射能測定を行う方法、通常のRW法で測定可能な化合物へ誘導する方法等があるが、何れも間接的であり、繁雑且つ不正確となることは否めない。そこで、試料が微量、高揮発性、低純度、溶液状態、混合物等である場合にも、簡便で正確な比放射能を測定できる手法の開発を企画した。

上述の一般的なRW法とは全く異なった ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法として、そのマススペクトルに基づく方法があった。1973年、Goldstein and Rainy^{9,3)}は、比較的高比放射能の ^{14}C 標識プリン類（purines）及びピリミジン類（pyrimidines）について、直接導入法（direct-inlet method）でマススペクトルを測定し、その相対ピーク強度より比放射能を算出、結果をRW法による値と比較した。しかしながら、この方法は測定精度や簡便性、汎用性等に問題があった。そこで、このマススペクトル法の欠点を改善し、更に通常のRW法では測定不可能な試料の比放射能測定をも可能にすべく、ガスクロマトグラフ-マススペクトロメータ-コンピュータシステム（gas chromatograph - mass spectrometer - computer system, GC - MS - CPU）を導入した。

本章では、GC - MS - CPUによる ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法に関する基礎研究、すなわち、測定原理に対する考察、測定精度の改善と自動化、再現性と測定限界の確認、汎用性、他核種標識化合物への応用の可能性等について述べる。

第1節 測定原理

^{14}C 標識化合物は、その調製法から明らかな様に、分子内のある特定の n 個の炭素が ^{14}C になった放射性分子 ($^{14}\text{C}_n$ 標識分子, $n = 1, 2, \dots$) とそうでない通常の分子 (未標識分子、 $^{14}\text{C}_0$ 標識分子 ($n = 0$)) との混合物である。例えば、[aryl methyl- ^{14}C] fenitrothion (89)⁹⁴⁾ は、未標識 ($^{14}\text{C}_0$ 標識) 分子と $^{14}\text{C}_1$ 標識分子の混合物であり、一方、[phenyl-U- $^{14}\text{C}_n$] fenitrothion (90) は未標識 ($^{14}\text{C}_0$ 標識) 分子と最高 6 種の $^{14}\text{C}_n$ 標識分子 ($n = 1, 2, \dots, 6$) の集合体と見ることができる (Fig. 42)。

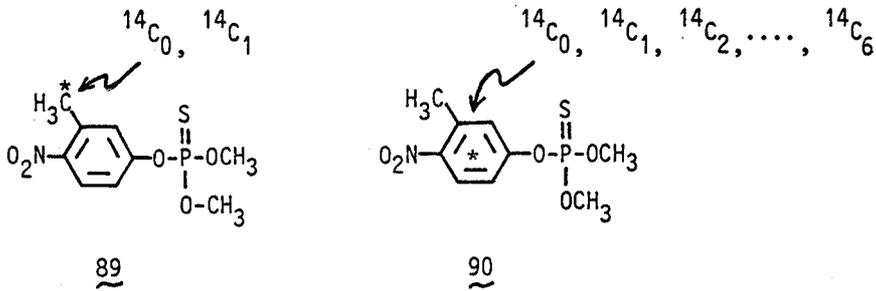


Fig. 42 Structures of [aryl methyl- ^{14}C]- and [phenyl-U- $^{14}\text{C}_n$]-fenitrothions

従って、単位 ^{14}C 当たりの放射能 (carrier-free ^{14}C の比放射能) が一定 (62.4 mCi/mg-atom, 2.31 G Bg /mg-atom) であることから、 ^{14}C 標識化合物としての比放射能は、 $^{14}\text{C}_n$ 標識分子 ($n = 0, 1, 2, \dots$) の存在比 (モル比) で決定されることになる。

ところで、 ^2H (D) や ^{13}C 等安定同位元素の標識化合物に関する分野では、

マスペクトルに基づく各標識分子の存在比算出法は良く研究されており⁹⁵⁾、更に、その算出原理は、放射性¹⁴C標識化合物にも適用可能であることが、Goldstein 等⁹³⁾によって示された。すなわち、¹⁴C_m標識化合物（以下、mは最大標識数を示す）のマスペクトルにおいては、標識部位を含んだある特定のフラグメントイオン（例えば分子イオン）は、¹⁴Cと¹²C、或いは¹⁴C_nと¹⁴C_{n+1}の質量差のために、未標識分子由来及び各¹⁴C_n標識分子（n = 1, 2, …… m）由来のピーク群の総てが、2質量単位（mass units）だけずれて加算された結果のピーク群（fragmentation ion-cluster）（例えば分子イオン群）として出現する。未標識分子由来のものに限らず、総ての¹⁴C_n標識分子由来のフラグメントイオンが各々のピーク群を形成するのは、²Hや¹³C等の天然の安定同位元素（stable isotopes, S I.）が各々の分子中に存在するためであるが、マスペクトルの測定に際して、放射性同位元素（radioisotopes, R I）、及びS Iを含むか否かによってフラグメンテーション速度に著しい差違が生ずる現象（同位体効果、isotope effect）は殆ど見られないので、特定のフラグメントイオンに対するピーク群〔M + 2n〕⁺（n = 0, 1, 2, …… m）の各ピークの強度比は、そのまま分子量M + 2nを有する各分子の存在比（モル比）に対応するとして差支え無い。従って、¹⁴C_m標識化合物中の各¹⁴C_n標識分子のうち最小質量数（最大存在量）のもの、すなわち、未標識分子の場合はM, ¹⁴C₁標識分子の場合はM + 2, ……¹⁴C_m標識分子の場合はM + 2mの質量数のものの存在比は、以下に示す如く、¹⁴C標識化合物のマスペクトルの相対ピーク強度（relative peak intensity）より、天然S I由来のP + 2n寄与を考慮しながら算出できる。S IのP + 2n寄与は、分子式に基づいて算出することも可能であるが、繁雑であるため、非標識標品（unlabelled standard）のマスペクトルに基づく測定値を採用することとした。

ところで、¹⁴Cが分子内に入っても、炭素以外のS Iの存在比は変動しないし、炭素についても、その天然S I存在比（¹³C / ¹²C = 1.08 / 100）から考

えて、 ^{13}C を2個以上含む分子の存在比は究めて小さく、S I比の変動は無視できる。従って、前述の最小質量数（最大存在比）を有する、すなわち、分子内に ^2H , ^{13}C , ^{18}O 等のS Iを含まない各 $^{14}\text{C}_n$ 標識分子の存在比は、分子内にそれらのS Iを含む各 $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比と一致する。換言すると、最小質量数のものばかりのピーク群 $M + 2n$ シリーズ ($n = 0, 1, 2, \dots, m$) の各相対ピーク強度から、S I含有分子の寄与を差し引いて求められた $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比は、 $^{14}\text{C}_m$ 標識化合物中の全分子に関する $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比と同一と見なせる。そこで、以下に具体例を示し、 $^{14}\text{C}_m$ 標識化合物の $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比の算出法とその比放射能値への変換について説明する。

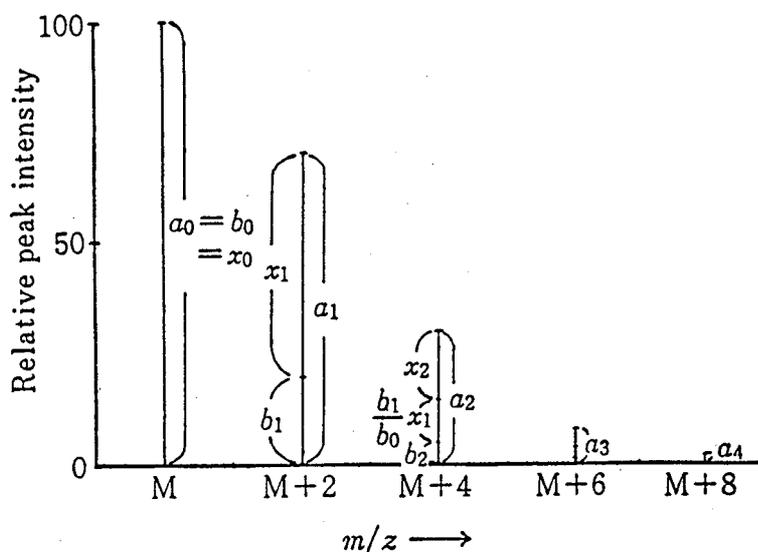


Fig. 43 Mass peaks corresponding to a fragmentation ion-cluster in a mass spectrum of a certain $^{14}\text{C}_2$ -labelled compound

$^{14}\text{C}_2$ 標識化合物、すなわち、 $^{14}\text{C}_0$ 、 $^{14}\text{C}_1$ 、及び $^{14}\text{C}_2$ 標識分子から成る化合物のマススペクトル中の、ある特定のフラグメントイオン（例えば分子イオン）のピーク群（fragmentation ion-cluster）における $m/z = M + 2n$ ($n = 0, 1, 2, \dots$) のシリーズを模式的に Fig. 43に示した。図中では、標識化合物のスペクトルにおける質量数 $M + 2n$ の相対ピーク強度を a_n 、非標識標品のスペクトルにおける質量数 $M + 2n$ の相対ピーク強度を b_n 、 $^{14}\text{C}_n$ 標識分子のみに由来する相対ピーク強度を x_n とした。質量数 M のピーク（強度 a_0 ）は、 $^{14}\text{C}_0$ 標識（未標識）分子のみに由来することは明らかであるから、 $a_0 = b_0 = x_0$ として規格化することができる。質量数 $M + 2$ のピーク（強度 a_1 ）は、 $^{14}\text{C}_1$ 標識分子由来のピーク（強度 x_1 ）と $^{14}\text{C}_0$ 標識分子中の天然 S I を含むもの由来のピーク（強度 b_1 ）が加算されたもの、すなわち、 $a_1 = x_1 + b_1$ と考えられる。質量数 $M + 4$ のピーク（強度 a_2 ）は、 $^{14}\text{C}_2$ 標識分子由来のピーク（強度 x_2 ）と $^{14}\text{C}_1$ 標識分子中の天然 S I を含むもの由来のピーク（強度 $x_1 \times \frac{b_1}{b_1}$ ）及び $^{14}\text{C}_0$ 標識分子中のより多くの S I を含むものに由来するピーク（強度 b_2 ）の3種が加算されたもの、すなわち、 $a_2 = x_2 + \frac{b_1}{b_1} x_1 + b_2$ と考えられる。質量数 $M + 6$ 以降のピークについても、全く同様の解釈ができる。なお、例えば、質量数 $M + 2$ のピーク中の $^{14}\text{C}_1$ 標識分子由来の強度（強度 x_1 ）と質量数 $M + 4$ のピーク中の $^{14}\text{C}_1$ 標識分子で天然 S I を含むもの由来の強度（ $\frac{b_1}{b_0} x_1$ ）の比が、非標識品のスペクトルにおける質量数 M のピーク強度と質量数 $M + 2$ のピーク強度比と一致することは、前述の議論より明らかである。以上の事から、 $^{14}\text{C}_2$ 標識化合物の各 $^{14}\text{C}_n$ 標識分子のみに由来する強度（ x_n ）に関して、以下の関係式が成立する。

$$x_0 = a_0 = b_0 \quad (= 100 : \text{規格化})$$

$$x_1 = a_1 - \frac{b_1}{b_0} x_0 \quad (\because b_0 = x_0)$$

$$x_2 = a_2 - \frac{b_1}{b_0} x_1 - \frac{b_2}{b_0} x_0 \quad (\because b_0 = x_0)$$

更に、前述した様に、相対ピーク強度比は分子数比、すなわち、モル比と直接対応しているので、一般に $^{14}\text{C}_m$ 標識化合物 (m は最大標識数) における各 $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比 (x_n) は、以下の式で示される。

$$\begin{aligned} x_n &= a_n - \frac{b_1}{b_0} x_{n-1} - \frac{b_2}{b_0} x_{n-2} - \dots - \frac{b_n}{b_0} x_0 \\ &= a_n - \sum_{k=1}^n \left(\frac{b_k}{b_0} x_{n-k} \right) \end{aligned} \quad \text{Eq. 1}$$

where x_n = the relative abundance of $^{14}\text{C}_n$ - labelled molecules in the $^{14}\text{C}_m$ - labelled compound
 a_n = the relative intensity of the peak originating from the $^{14}\text{C}_m$ - labelled compound
 b_n = the relative intensity of the peak originating from the unlabelled standard
 $n = 0, 1, 2, \dots, m$
 $x_0 = a_0 = b_0 (=100)$

一方、 $^{14}\text{C}_m$ 標識化合物の全モル数を Y 、総放射能を X とすると、carrier-free ^{14}C の比放射能が 62.4mCi/mg-atom (2.31 GBq/mg-atom) であることから、

$$\begin{aligned} Y &= C \times (x_0 + x_1 + x_2 + \dots + x_m) \\ &= C \sum_{n=0}^m x_n \quad [\text{mmol}] \\ \text{where } C &= \text{a constant} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
X &= 62.4 \times 0 \times C x_0 + 62.4 \times 1 \times C x_1 + 62.4 \times 2 \times C x_2 \\
&\quad + \cdots \cdots + 62.4 \times m \times C x_m \\
&= C \times 62.4 \times \sum_{n=0}^m n x_n \quad [\text{mCi}] \\
&\quad (\text{or } C \times 2.31 \times \sum_{n=0}^m n x_n \quad [\text{G Bg}])
\end{aligned}$$

という関係が成立することは明らかであるから、その比放射能 (specific activity, SA) は以下の式で与えられる。

$$\begin{aligned}
SA &= \frac{X}{Y} = 62.4 \times \frac{\sum_{n=0}^m n x_n}{\sum_{n=0}^m x_n} \quad [\text{mCi/mmole}] && \text{Eq. 2} \\
&\quad (\text{or } 2.31 \times \frac{\sum_{n=0}^m n x_n}{\sum_{n=0}^m x_n} \quad [\text{G Bg/mmole}])
\end{aligned}$$

すなわち、 ^{14}C 標識化合物の比放射能 (SA) は、 ^{14}C 標識分子存在比 (x_n) の標識数 (n) についての加重平均 ($\sum_{n=0}^m n x_n / \sum_{n=0}^m x_n$) に carrier-free ^{14}C の比放射能を乗じることにより与えられる。

実例として、[aryl methyl- ^{14}C] fenitrothion (89) (RW法のSA 6.5 mCi/mmole) についてのマススペクトル法 (GC-MS法) によるSA算過程を Table 18 に示した。

Table 18 Specific activity measurement of [aryl methyl-¹⁴C]fenitrothion by mass spectrometry

Molecular ion m/z		277	279	281	283
Compound		(M ⁺)	([M+2] ⁺)	([M+4] ⁺)	([M+6] ⁺)
¹⁴ C-Labelled (89)		a ₀ = 100	a ₁ = 17.8	a ₂ = 0.7	a ₃ = 0
Unlabelled		b ₀ = 100	b ₁ = 6.1	b ₂ = 0	b ₃ = 0
Calculation of x _n	x ₁	$17.8 - \frac{6.1}{100} \times 100$ $= 11.7$			
	x ₂	$0.7 - \frac{6.1}{100} \times 11.7$ $- 0 = 0$			
Relative abundance of ¹⁴ C _n -labelled mol. (x _n)		x ₀ = 100	x ₁ = 11.7	x ₂ = 0	(x ₃ = 0)

$$\therefore \text{SA [mCi/mmol]} = 62.4 \times \frac{0 \times 100 + 1 \times 11.7 + 2 \times 0}{100 + 11.7 + 0}$$

$$= 6.53$$

第2節 測定精度の改善と自動化

^{14}C 標識化合物の比放射能は、そのマススペクトル及び非標識標品のマススペクトルのある同一フラグメントイオン（例えば、分子イオン）に関するピーク群（ $m/z = M + 2n$ のシリーズ）の相対ピーク強度を用い、前節で述べた原理（Eq. 1, 2）に基づいて算出することができるが、直接導入法で測定した単一のマススペクトルを使用した場合、スペクトルの測定誤差のために、得られる比放射能値の精度が低くなることは明らかである。また、標識体存在比及び比放射能の算出手計算を行った場合、特に多重 ^{14}C 標識化合物について、繁雑で長時間を必要とする。そこで、GC-MS-CPUを用いることにより、スペクトルの多回測定、平均化による精度の向上と比放射能算出の自動化を達成しようとした。Fig. 44 には、GC-MS-CPU法による比放射能測定手順の概要を示した。

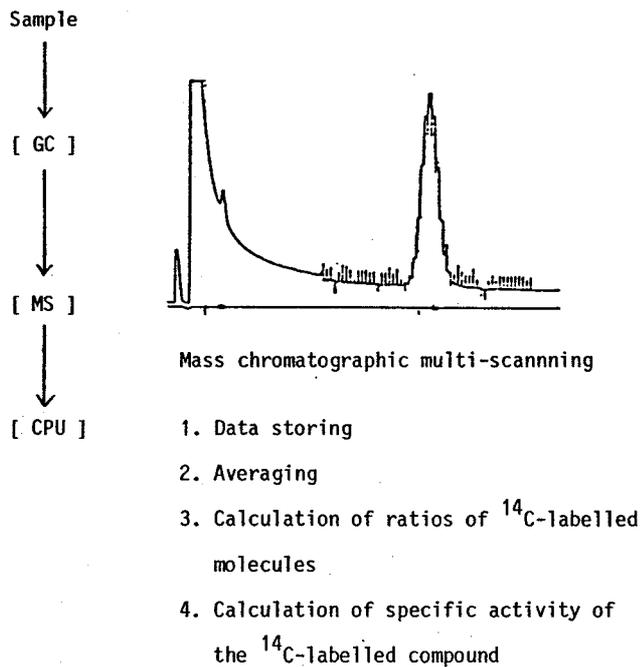
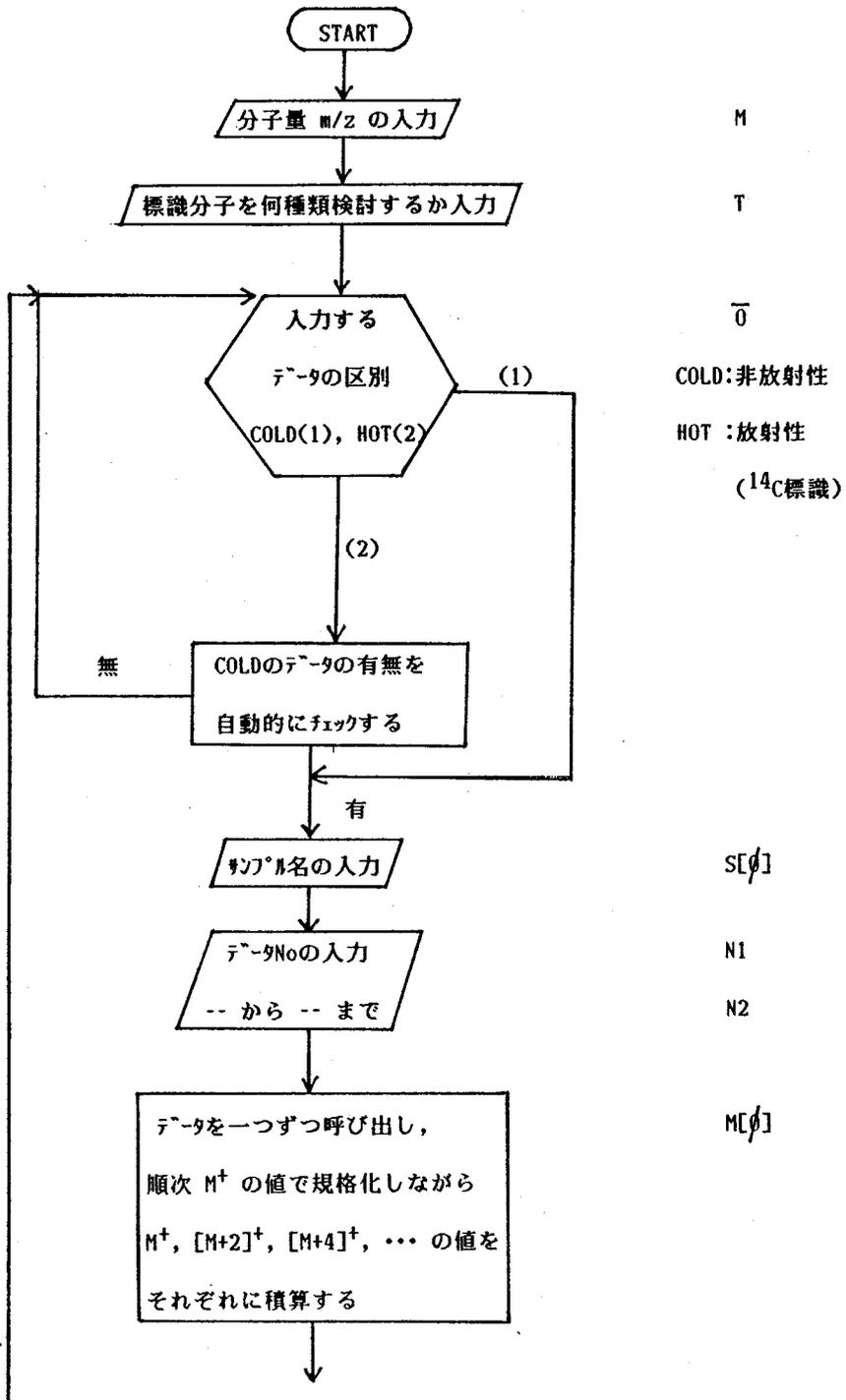


Fig. 44 Specific activity measurement by GC-MS-CPU method

すなわち、GC 溶出した¹⁴C 標識化合物或いは非標識標品のピークについて、マスクロマトグラフィー的手法⁹⁶⁾ でマススペクトルを10回前後測定し、データを保存、平均化した後、特定フラグメントイオン（例えば分子イオン）に関する各々の平均化された相対ピーク強度 (a_n , b_n) を取り出して各¹⁴Cn 標識分子存在比 (x_n) を Eq. 1 により算出、更に Eq. 2 によって x_n より比放射能 (SA) を求めた。スペクトルの平均化 (a_n , b_n の平均値の算出) x_n 及び SA の算出は、Fig. 45 に示したフローチャートに従って作成した CPU プログラム (Table 19) を使用することにより完全自動化を達成した。なお、GC-MS を使用したことにより、直接導入法によるスペクトル測定で時々観察される様な不純物によるスペクトルの汚染は完全に回避され、また、平均化したスペクトルを用いたことにより、単一のスペクトルを使用した Goldstein 等⁹³⁾ の場合よりも、比放射能測定精度を向上させることに成功した。



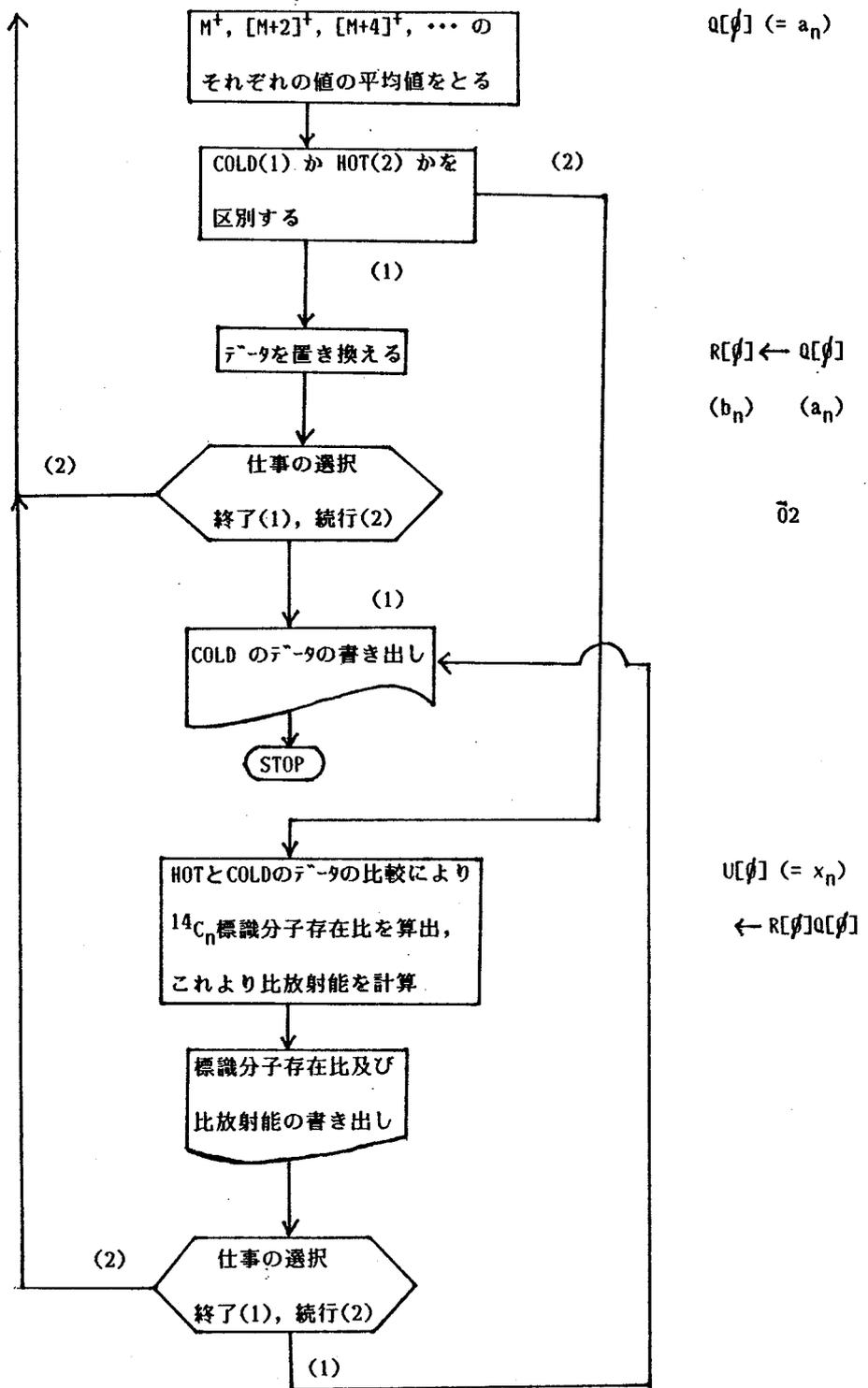


Fig. 45

$^{14}C_n$ 標識分子存在比及び比放射能算出のためのフローチャート

Table 19

CPU program for calculation of the relative abundance of
 $^{14}\text{C}_n$ -labelled molecules and the specific activity of a
 $^{14}\text{C}_m$ -labelled compound

```

LIST
LABELL ( 4) * C14 LABELLED MOLECULES CALCULATION *
10  REM  *** C14 LABELLED MOLECULES % CALCULATION ***
20  DIM  SC20],OC500],EC500]
30  DIM  AC8],BL7],CL6]
40  PRINT " MOLECULAR WEIGHT  M/E=";
50  INPUT M & PRINT          ( m/z )
60  PRINT " CALCULATE LABELLED MOLECULE NO.=";
70  INPUT T & PRINT
80  DIM  NCT],NCT],UCT],OCT+1],RCT+1]
90  FOR  L=0 TO T+1
100  LET  QCL]=0,RCL]=0
110  NEXT L
120  PRINT & PRINT
130  PRINT " *** DATA SELECT ***"
140  PRINT "COLD DATA (1) OR HOT DATA (2)";
150  INPUT O & PRINT
160  IF  O=1 THEN GOTO 190
170  IF  R00]>100 THEN PRINT "COLD DATA IS NOTHING " & GOTO 120
180  PRINT "SAMPLE NAME=";
190  CALL CRE; -1,SC0],15
200  PRINT
210  FOR  K=0 TO 500
220  LET  DCK]=0,ECK]=0
230  NEXT K
240  PRINT " ** DATA NUMBER INPUT **"
250  PRINT " DATA FROM=";
260  INPUT N1 & PRINT
270  PRINT " DATA TO=";
280  INPUT N2 & PRINT
290  REM  ** DATA TREATMENT **
300  FOR  L=0 TO T
310  LET  MCL]=0,NCL]=0,UCL]=0
320  NEXT L
330  FOR  N=N1 TO N2
340  CALL DRE; N,AC0],BC0],CC0]
350  LET  P=CC0]
360  CALL DING; N,OC0],EC0],P3,1
370  LET  P1=INT(P*5/6)
380  FOR  I=P1 TO P
390  LET  E=INT(ECI]/10)
400  IF  E=N THEN LET  J=I
410  NEXT I
420  LET  Q=DCJ]
430  FOR  I=J TO P
440  FOR  L=0 TO T

```

```

450 LET E=INT(CEID/10)
460 IF E<N+L*2 THEN GOTO 480
470 LET NCLJ=NCLJ+CEID/D*100,NCLJ=NCLJ+1
480 NEXT L
490 NEXT I
500 NEXT H
510 FOR L=0 TO T
520 IF NCLJ=0 THEN GOTO 540
530 LET QCLJ=NCLJ/NCLJ
540 NEXT L
550 IF Q<>1 THEN GOTO 750
560 FOR L=0 TO T
570 LET RCLJ=QCLJ
580 NEXT L
590 PRINT
600 FOR L=0 TO T+1
610 LET QCLJ=0
620 NEXT L
630 PRINT " ** JOB SELECT **"
640 PRINT " FINISH (1) OR CONTINUE (2)";
650 INPUT Q2 & PRINT
660 IF Q2=2 THEN GOTO 120
670 CALL CCL; 0
680 PRINT & PRINT

690 PRINT " RESULT (COLO DATA) "
700 PRINT
710 FOR L=0 TO T
720 PRINT L;"=";RCLJ
730 NEXT L
740 STOP
750 FOR L=0 TO T
760 IF QCLJ<0 THEN LET QCLJ=0
770 LET UCLJ=QCLJ,U=UCLJ
780 FOR U=L+1 TO T
790 LET QCVJ=QCVJ-U#RCV-LJ/RCVJ
800 NEXT U
810 NEXT L
820 CALL CCL; 0
830 PRINT " RESULT "
840 PRINT
850 PRINT " SAMPLE NAME=";
860 CALL CWR; -1,SE0J
870 PRINT & PRINT
880 LET X=0,Y=0
890 FOR L=0 TO T
900 LET X=X+L#UCLJ,Y=Y+UCLJ
910 PRINT L;"HYOSHIKITAI=";UCLJ
920 NEXT L
930 PRINT " SPECIFIC ACTIVITY=";62.4*X/Y
940 PRINT
950 FOR L=0 TO T+1
960 LET QCLJ=0
970 NEXT L
980 PRINT " ** JOB SELECT **"
990 PRINT " FINISH (1) OR CONTINUE (2)";
1000 INPUT Q3 & PRINT
1010 IF Q3=2 THEN GOTO 120
1020 GOTO 680

```

Table 20

¹⁴C_m標識化合物の¹⁴C_n標識分子存在比 (x_n → U (n)) の計算
内容 (m = 6 の場合)

標識体	Cold 標準 R(0) (b _n)	Hot Q(0) (a _n)	1 回目の計算 L=0 V=1~6 U(0)(x ₀)	2 回目の計算 L=1 V=2~6 U(1)(x ₁)	3 回目の計算 L=2 V=3~6 U(2)(x ₂)	4 回目の計算 L=3 V=4~6 U(3)(x ₃)	5 回目の計算 L=4 V=5~6 U(4)(x ₄)	6 回目の計算 L=5 V=6 U(5)(x ₅)	7 回目の計算 L=6 V=U(6)(x ₆)
0	R(0)	Q(0)	U(0)				(U (n)) に結果をストックしている)		
1	R(1)	Q(1)	$Q_1(1) - U(0) \frac{R(1)}{R(0)}$	U(1)					
2	R(2)	Q(2)	$Q_2(2) - U(0) \frac{R(2)}{R(0)}$	$Q_2(2)$ $Q_1(2) - U(1) \frac{R(1)}{R(0)}$	U(2)				
3	R(3)	Q(3)	$Q_3(3) - U(0) \frac{R(3)}{R(0)}$	$Q_3(3)$ $Q_1(3) - U(1) \frac{R(1)}{R(0)}$ $Q_2(3) - U(2) \frac{R(2)}{R(0)}$	$Q_3(3)$ $Q_2(3) - U(2) \frac{R(1)}{R(0)}$	U(3)			
4	R(4)	Q(4)	$Q_4(4) - U(0) \frac{R(4)}{R(0)}$	$Q_4(4)$ $Q_1(4) - U(1) \frac{R(1)}{R(0)}$ $Q_2(4) - U(2) \frac{R(2)}{R(0)}$	$Q_4(4)$ $Q_2(4) - U(2) \frac{R(1)}{R(0)}$	$Q_4(4)$ $Q_3(4) - U(3) \frac{R(1)}{R(0)}$	U(4)		
5	R(5)	Q(5)	$Q_5(5) - U(0) \frac{R(5)}{R(0)}$	$Q_5(5)$ $Q_1(5) - U(1) \frac{R(1)}{R(0)}$ $Q_2(5) - U(2) \frac{R(2)}{R(0)}$ $Q_3(5) - U(3) \frac{R(3)}{R(0)}$	$Q_5(5)$ $Q_2(5) - U(2) \frac{R(1)}{R(0)}$	$Q_5(5)$ $Q_3(5) - U(3) \frac{R(1)}{R(0)}$	$Q_5(5)$ $Q_4(5) - U(4) \frac{R(1)}{R(0)}$	U(5)	
6	R(6)	Q(6)	$Q_6(6) - U(0) \frac{R(6)}{R(0)}$	$Q_6(6)$ $Q_1(6) - U(1) \frac{R(1)}{R(0)}$ $Q_2(6) - U(2) \frac{R(2)}{R(0)}$ $Q_3(6) - U(3) \frac{R(3)}{R(0)}$ $Q_4(6) - U(4) \frac{R(4)}{R(0)}$	$Q_6(6)$ $Q_2(6) - U(2) \frac{R(1)}{R(0)}$	$Q_6(6)$ $Q_3(6) - U(3) \frac{R(1)}{R(0)}$	$Q_6(6)$ $Q_4(6) - U(4) \frac{R(1)}{R(0)}$	$Q_6(6)$ $Q_5(6) - U(5) \frac{R(1)}{R(0)}$	U(6)

```

750 FOR L = 0 TOT
760 Q(L) < 0 THEN LET Q(L) = 0
770 LET (L) - Q(L), U = U(L)
780 FOR V=L+0 TOT
790 LET Q(V) = Q(V) - U*Q(V) - L] / RL'
800 NEXT V
810 NEXT L

```

プログラムの該当部分

第3節 再現性と測定限界

単一標識化合物の例として [aryl methyl-¹⁴C] fenitrothion (89) を、また、多重標識化合物の例として [phenyl-U-¹⁴Cn] fenitrothion (90) を用い、GC-MS-CPUによる比放射能測定法の再現性を調査した。各々に関する結果を Table 21, Table 22 に示した。

Table 21 Reproducibility of measuring the specific activity
of [aryl methyl-¹⁴C_n] fenitrothion ^{*1)}

No.	Relative abundance of ¹⁴ Cn-labelled molecules (x _n) ^{*2)}				Specific activity [mCi/mmol]
	x ₀	x ₁	x ₂	x ₃	
1	100	45.1	0	0	19.5
2	100	45.3	0	0	19.5
3	100	44.1	0	0	19.1
4	100	44.3	0	0	19.2
5	100	44.9	0	0	19.4
Mean ± S. D.					19.3 ± 0.18
(C. V. [%])					(0.93)

* 1) The specific activity measured by RW method was 20.6mCi/mmol.

* 2) Molecular ion was used for the measurement.

Table 22 Reproducibility of measuring the specific activity
of [phenyl-U-¹⁴Cn] fenitrothion ^{*1)}

No.	Relative abundance of ¹⁴ Cn-labelled molecules (x _n) ^{*2)}				Specific activity
	x ₀	x ₁	x ₂	x ₃	

	X ₀	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	[mCi/mmol]
1	100	0	0	0	0.7	2.4	3.7	21.7
2	100	0	0	0	0.7	2.3	3.8	21.4
3	100	0	0	0	0.8	2.4	3.7	21.6
4	100	0	0	0	0.7	2.1	3.7	20.9
5	100	0	0	0	0.7	2.3	3.6	21.1
Mean								21.3
± S. D.								±0.33
(C. V. [%])								(1.6)

* 1) The specific activity measured by RW method was 20.4 mCi/mmol.

* 2) Molecular ion was used for the measurement.

各々、約 20 mCi/mmol の比放射能を有する試料に関して、5回測定の平均値と変動係数 (C. V.) を求めたところ、単一標識体⁸⁹について 19.3 ± 0.18 mCi/mmol (C. V. 0.93%)、多重標識体⁹⁰について 21.3 ± 0.33 mCi/mmol (C. V. 1.6%) という結果を得た。これ等の結果より、GC-M S-CPU法が高い再現性を有する実用的な比放射能測定法であることが確認された。なお、GC-M S-CPU法の測定値と定法 (RW法、1回測定) の値との間に 5% 程度の差違が認められたが、これはある程度予想された結果であった。なぜなら、特に高比放射能体の場合、RW法では、通常、放射能測定の際に数回の希釈操作が必要であり、また、重量測定は 10~100 mg 程度の範囲で行われるため、純度や測定条件の影響を受け易く、結果として得られる比放射能値に 5% 程度の変動を生ずることは止むを得ないためである。一方、GC-M S-CPU法では、変動係数が 2% 以下であり、その測定原理から考えて、20 mCi/mmol 程度以上の高比放射能体の場合に

はR W法より信頼性の高い測定値を与えるものと推測された。

ところで、多重標識体 $\underline{90}$ の $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比 (Table 22, x_n) は、より多重側 ($^{14}\text{C}_{4-6}$) に片寄っており、 $^{14}\text{C}_{1-3}$ 標識分子は事実上存在しないことを示している。これは、合成の初期において極めて高い比放射能を有する出発物質または中間物が使用されたことを示唆するものである。Goldstein 等⁹³⁾ は、“uniformly $^{14}\text{C}_n$ -labelled” adenine ([U- $^{14}\text{C}_n$] - adenine) について、高多重度の $^{14}\text{C}_{3-5}$ 標識分子から成っているという同様の測定結果を得ている。これ等の事実は、マススペクトルに基づく比放射能測定法が、単に比放射能値だけでなく、標識様式や適用された合成法等に関する有用な情報をも同時に与えることを示している。従って、この特徴とGCの高い分離能を活かしたならば、GC-MS-CPU法は、 ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法としてのみならず、その品質評価法としても利用可能であると考えられた (第2章に詳述)。

次に、 $\underline{89}$ 及び $\underline{90}$ の各々について、比放射能の異なる3種の試料を用意し、GC-MS-CPU法の測定下限界 (感度) を調査した。結果を Table 23 及び Table 24 に示した。

Table 23 Sensitivity of measuring the specific activity of [aryl methyl- ^{14}C] fenitrothion^{*1)}

No.	Specific activity [mCi/mmole] ^{*2)}		
	Sample A	Sample B	Sample C
1	5.1	1.16	0.47
2	5.2	0.92	0.42
3	5.2	0.92	0.54
4	5.0	0.92	0.43
Mean	5.1	0.98	0.47

±S. D.	±0.15	±0.11	±0.054
(C. V. [%])	(2.9)	(11.0)	(11.5)

* 1) The specific activities measured by RW method were as follows : 5.2mCi/mmol for Sample A , 1.0mCi/mmol for Sample B , 0.51 mCi/mmol for Sample C .

* 2) Molecular ion was used for the measurement.

Table 24 Sensitivity of measuring the specific activity of [phenyl - U - ¹⁴Cn] fenitrothion^{*1)}

	Specific activity [mCi/mmol] ^{*2)}		
	Sample D	Sample E	Sample F
1	5.7	1.2	0.54
2	5.6	1.1	0.55
3	5.6	1.1	0.48
4	5.7	1.1	0.53
5	5.5	1.1	0.53
Mean	5.6	1.1	0.53
±S. D.	±0.078	±0.058	±0.027
(C. V. [%])	(1.4)	(5.3)	(5.1)

* 1) The specific activities measured by RW method were as follows : 5.1 mCi/mmol for Sample D , 1.0 mCi/mmol for Sample E , 0.51 mCi/mmol for Sample F .

* 2) Molecular ion was used for the measurement.

単一標識体⁸⁹の場合 (Table 23)、比放射能 (S. A.) が約 5 mCi/mmol の Sample A に関しては、変動係数 (C. V.) が 2.9% で、良好な測定結

果が得られたが、S. A. ~ 1 mCi/mmol の Sample B, 及び S. A. ~ 0.5 mCi/mmol の Sample C に関しては、C. V. $> 10\%$ となり、測定精度が若干低下した。一方、多重標識体 90 の場合 (Table 24)、S. A. ~ 5 mCi/mmol の Sample D, S. A. ~ 1 mCi/mmol の Sample E, S. A. ~ 0.5 mCi/mmol の Sample F, の何れについても、C. V. $\leq 5\%$ という良好な測定結果であった。これは、前述した様に、 90 がより多重側に片寄った標識様式を有するため、 $n = 4, 5, 6$ 等の $^{14}\text{C}_n$ 標識分子存在比 (x_n) の算出に使用するフラグメントイオンピークが、 $n = 0$ の未標識分子由来で天然 S I が存在することによって、形成されたところのピーク群と良く分離して出現し、それ等の出現強度変動の影響を殆ど受けなためと考えられた。しかしながら、多重標識体の中には ^{14}C 、標識分子側に片寄った低多重度の標識様式を有するものも存在し (第2章参照)、その測定精度は単一標識体の場合 (Table 23) と同等となることが推定されるため、GC - MS - CPU法の全般的な測定下限界は 1 mCi/mmol (37 M Bq/mmol) と結論した。

第4節 汎用性

種々の¹⁴C標識化合物の比放射能をGC-MS-CPU法により測定した結果を、常法(RW法)の測定値と比較してTable 25に示した。

Table 25 Measurement of specific activities of various ¹⁴C-labelled compounds

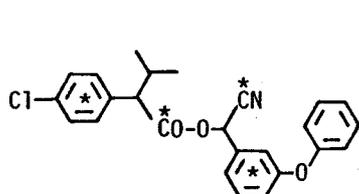
Labelled compound	Labelled position	Fragment ion used	Specific activity [mCi/mmol]	
			GC-MS-CPU ^{*1)}	RW ^{*2)}
			S. A. ± S. D. (C. V. [%])	S. A.
^{41), 42)} Fenvalerate	carbonyl- ¹⁴ C ₁	M ⁺	19.3 ± 0.31 (1.6)	20.6
	cyano- ¹⁴ C ₁	M ⁺	15.7 ± 0.39 (1.6)	15.4
	chlorophenyl- ¹⁴ C _n	M ⁺	21.5 ± 0.75 (2.5)	20.8
	phenoxyphenyl- ¹⁴ C _n	M ⁺	17.9 ± 0.70 (3.9)	16.8
⁹⁷⁾ Melinamide	benzy- ¹⁴ C ₁	M ⁺	3.1 ± 0.04 (1.3)	3.3
⁹⁸⁾ Ciproqnazone	4- ¹⁴ C ₁	M ⁺	7.1 ± 0.01 (0.1)	6.9
⁹⁹⁾ Nimetazepam	2- ¹⁴ C ₁	M ⁺	7.6 ± 0.07 (0.9)	8.0
¹⁰⁰⁾ Fludiazepam	2- ¹⁴ C ₁	M ⁺	5.7 ± 0.22 (3.8)	6.0
¹⁰¹⁾ BHT	aryl methyl- ¹⁴ C ₁	M ⁺	2.9 ± 0.09 (3.1)	3.0
	phenyl- ¹⁴ C _n	M ⁺	3.0 ± 0.10 (3.2)	3.0
^{41), 42)} CPMB	carbonyl- ¹⁴ C ₁	M ⁺	19.4 ± 0.50 (2.5)	18.4
	phenyl- ¹⁴ C _n	M ⁺	32.3 ± 0.80 (2.5)	31.5
¹⁰²⁾ DCAN	phenyl- ¹⁴ C _n	M ⁺	31.5 ± 0.42 (1.3)	28.0
⁹⁷⁾ MBA	benzyl-α- ¹⁴ C ₁	[M-1] ⁺	3.1 ± 0.04 (1.9)	2.9
¹⁰²⁾ m-Cresol	phenyl- ¹⁴ C _n	M ⁺	21.6 ± 0.19 (0.9)	20.4 ^{*3)}

m - Bromophenol ⁽¹⁰²⁾ phenyl - ¹⁴C_n M⁺ 12.3 0.08(0.6) 11.8 ⁽³⁾

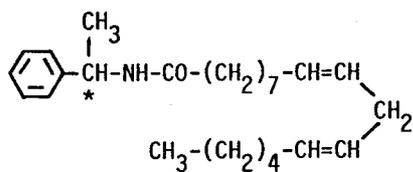
* 1) measured three times and averaged.

* 2) measured once.

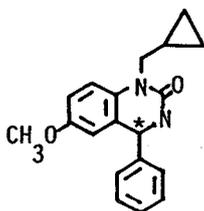
* 3) measured as non - volatile derivatives.



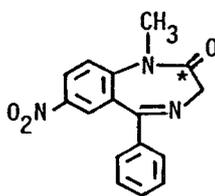
Fenvalerate



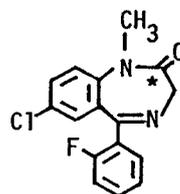
Melinamide



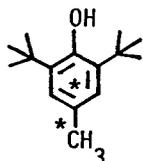
Ciproquazone



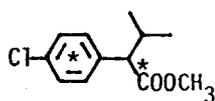
Nimetazepam



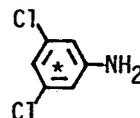
Fludiazepam



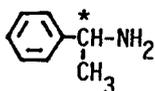
BHT



CPMB



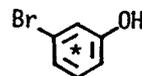
DCAN



MBA



m-Cresol



m-Bromophenol

Fig. 46 Structures of ¹⁴C-labelled compounds in Table 25

Table 25 の結果より、種々の¹⁴C 標識化合物の比放射能が、GC-MS-CPU法によって C. V. < 4% という高精度で測定できることが明らかとなった。また、測定値は常法 (RW法) の値と良く一致しており (相関係数 0.994)、GC-MS-CPU法の測定結果が十分に信頼性の高いものであることを確認した。

更に、実際の測定操作等に関して、次の様な長所があることが明らかとなった。第一の長所は、m-[phenyl-U-¹⁴Cn] cresol や m-bromo [U-¹⁴Cn] phenol の様な高揮発性で RW法では比放射能測定が困難な化合物についても、不揮発性化合物へ誘導するといった繁雑な手段を採ることなしに、高精度で比放射能が測定できることであった。第二の長所は、測定に必要な試料量が 5 μg 程度の極めて微量であることであった。第三の長所は、測定に必要な操作が、GC-MS-CPUに溶液状態の試料を注入することだけであるという簡便性であった。

また、フェンバレレート (fenvalerate)、フルジアゼパム (fludiazepam)、CPMB、DCAN、m-ブロモフェノール等、塩素や臭素を含むものの¹⁴C 標識体、すなわち、質量数が 2 だけ大きい天然安定同位元素が高い存在比 (³⁵Cl/³⁷Cl = 100/32.5、⁷⁹Br/⁸¹Br = 100/98.0) で含まれる様な試料についても、高精度の比放射能測定値が得られたことにより、GC-MS-CPU法の適用範囲は飛躍的に拡大されることとなった。

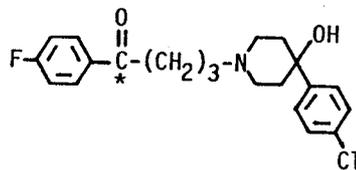
Table 25 に示した¹⁴C 標識化合物の殆どは、マススペクトルにおいて、ベースピークの 10% 程度かそれ以上の相対強度の分子イオンピーク (質量数 M のピーク) を発現したので、分子イオン群 (M + 2n シリーズ) を使用して比放射能を決定したが、正確な比放射能を求めるためには、この程度のピーク強度は必要と考えられた。もちろん高比放射能体で¹⁴C 標識分子の存在比が高い試料については、算出に使用するピーク群中の最大ピークがベースピーク相対強度 5% 前後で出現しても十分な精度で比放射能が決定で

きると推測された。

[benzyl- α - ^{14}C] MBA の場合、分子イオン (M^+) が出現しなかったが、幸運にも、脱水素イオン ($[M-1]^+$) が相対強度 7% で出現し、 $m/z = M-1+2n$ のピーク群を使用して比放射能を決定することができた。また、[phenyl-U- $^{14}\text{C}_n$] CPMB に関しては、分子イオンのシリーズ ($m/z = M+2n$) と $[M-42]^+$ イオンのシリーズ ($m/z = M-42+2n$) の各々を使用して決定した 2 種の比放射能値は良く一致し、何れも C. V. < 4% であった。この様に、分子イオン以外の ^{14}C 標識部位を含む適当なフラグメントイオンピーク群を用いても比放射能は測定できるが、一般に、質量数の小さいフラグメントイオンは、より大きい質量数のものの二次フラグメンテーションの影響を受けたり、近接した質量数の異なるフラグメントイオン群が重なり合ったりする可能性が高い。従って、殆どの場合、その様な可能性の無い分子イオン群 ($m/z = M+2n$) に注目して比放射能を算出するのが最良である。

以上に述べてきた様に、GC-MS-CPU による ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法は、十分に実用的な精度と汎用性を有するが、[carbonyl- ^{14}C] - haloperidol (91) の例 (Table 26) の如く、GC 上で不安定であったり、良好なマススペクトルを与えない化合物への適用はできないことは明らかである。

Table 26 Measurement of specific activity of [carbonyl- ^{14}C] haloperidol



91

Fragment ion used	Specific activity [mCi/mmol]	
	G C - M S - C P U method ^{*1)} S. A. ± S. D. (C. V. [%])	R W method ^{*2)} S. A.
M ⁺	16.8 ± 4.34 (26.3)	13.4
[M - 18] ⁺	9.2 ± 0.39 (4.2)	

* 1) measured three times and averaged.

* 2) measured once.

第5節 他の放射性核種の標識化合物への適用

GC-MS-CPUによる比放射能測定法が、原理的には他の放射性核種の標識化合物への適用可能であることは容易に推測できる。例えば、 ^3H 標識化合物を例にとると、carrier-free ^3H が1mg-atom 当たり 28.9 Ci (1.07 TBq) の放射能を有することから、 ^{14}C 標識化合物に関する Eq. 2 と同様の式 (Eq. 3) が成立する。

$$^3\text{H} - \text{S. A.} = 28.9 \times \left(\frac{\sum_{n=0}^m n x_n}{\sum_{n=0}^m x_n} \right) \text{ [Ci/mmole]}$$

$$\left(\text{or} = 1.07 \times \left(\frac{\sum_{n=0}^m n x_n}{\sum_{n=0}^m x_n} \right) \text{ [TBq/mmole]} \right)$$

Eq. 3

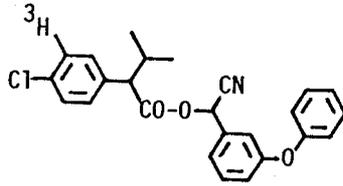
where $^3\text{H} - \text{S. A.}$ = specific activity of a ^3H -labelled compound

x_n = relative abundance of ^3H -labelled molecules in the labelled compound

$n = 0, 1, 2, \dots, m$

^3H 標識分子存在比 (x_n) は、 ^{14}C 標識化合物の場合と同様の原理に基づいて、 ^3H 標識化合物とその非標識標品のマススペクトルの同一フラグメントイオン (例えば分子イオン) に関するピーク群の相対強度を用いて算出できることは明らかである (第1節参照)。例として、[chlorophenyl-3- ^3H] fenvalerate (92) の場合を Table 27 に示した。

Table 27 Specific activity measurement of [chlorophenyl-3- ^3H] fenvalerate



92

Molecular ion Compound		419 (M ⁺)	421 ([M + 2] ⁺)	423 ([M + 4] ⁺)
³ H - Labelled (92)		a ₀ = 100	a ₁ = 153.7	a ₂ = 58.6
Unlabelled		b ₀ = 100	b ₁ = 37.2	b ₂ = 1.5
Calculation	x ₁		$153.7 - \frac{37.2}{100} \times 100$ $= 116.5$	
	x ₂			$58.6 - \frac{37.2}{100} \times 116.5$ $- \frac{1.5}{100} \times 100$ $= 1.3$
Rel. abn. of ¹⁴ Cn - labelled mol (x _n)		x ₀ = 100	x ₁ = 116.5	x ₂ = 1.3

すなわち、³H₂標識分子 (x₂) まで存在すると仮定すると、Eq. 3より
比放射能は、

$$\begin{aligned}
 {}^3\text{H} - \text{S. A.} &= 28.9 \times \frac{0 \times 100 \times 1 \times 116.5 + 2 \times 1.3}{100 + 116.5 + 1.3} \\
 &= 15.7 \text{ Ci/mmole}
 \end{aligned}$$

となる。しかしながら、92の合成法より、 ${}^3\text{H}_2$ 標識分子は存在しない（すなわち、 $x_2 = 0$ である）可能性が高く、従って、 ${}^3\text{H}_1$ 標識分子までを考慮した下記の比放射能が真の値に近いと考えられる。

$$\begin{aligned}
 {}^3\text{H} - \text{S. A.} &= 28.9 \times \frac{0 \times 100 + 1 \times 116.5}{100 + 116.5} \\
 &= 15.6 \text{ Ci/mmole}
 \end{aligned}$$

一方、 ${}^3\text{H}$ 標識化合物は、通常、10 Ci/mmole (10,000 mCi/mmole) 程度の高比放射能を有し、0.1mg 以下の超微量しか取り扱わないので、常法（放射能-重量法、RW法）で比放射能を測定することは不可能である。そこで、重量測定の代わりに、紫外吸収スペクトルにより物質量を推定する方法（UV法）がよく用いられる。91の放射能-UV法（RU法）による測定値は16.5 Ci/mmoleであり、GC-MS-CPU法による測定値（15.6 mCi/mmole）との差は5%（ $\pm 2.5\%$ ）程度であった。UV法による物質量の推算においては、通常、5%程度の誤差は避けられないことを考えると、GC-MS-CPU法は、RU法と同程度かそれ以上の精度を有する ${}^3\text{H}$ 標識化合物の比放射能測定法であると言える。

ところで、 ${}^3\text{H}$ 標識体は、 ${}^{14}\text{C}$ 標識体と異なり、RI（ ${}^3\text{H}$ ）が分子骨格に組み込まれていないため、特に芳香環やビニル炭素等に結合したもの以外の ${}^3\text{H}$ は容易に脱離反応やSI（ ${}^1\text{H}$ ）との交換反応を受ける。また ${}^3\text{H}$ の半減期（12.35年）が比較的短いこともあって、一般に不安定である。従って、GC-MS-CPUによる比放射能測定に際しても、十分な注意を要する。 ${}^{35}\text{S}$ 、 ${}^{32}\text{P}$ 、 ${}^{36}\text{Cl}$ 、 ${}^{125}\text{I}$ 等（半減期は各々、87.4日、14.3日、 3.01×10^5 年、

60.0日) 他の放射性核種の標識化合物についても、原理的にはGC-MS-CPU法で比放射能を測定することは可能であるが、同様の理由により、実際の測定に際しては、各々のケースについて、標識核種及び化合物形態を十分考慮し、適切なマススペクトル測定法を選択することが必要と考えられる¹⁰⁴⁾。

第2部 第1章に関する実験

GC - MS - CPU法による比放射能測定

(1)測定機器

GC - MS : LKB - 9000 gas chromatograph - mass spectrometer
(島津製作所)

データ処理 : PAC - 300 - DGB computed date system
(島津製作所)

(2)GC条件

¹⁴ C 標識化合物	GC条件 *1)
fenitrothion	5% Apiezon GL (1 m), 180℃
fenvalerate	3% Silicone OV - 101 (1 m), 250℃
melinamide	2% PEG - HT (1 m), 230℃
ciproquazone	3% Silicone SE - 30 (2 m), 280℃
nimetazepam	3% Silicone SE - 30 (2 m), 270℃
BHT *2)	5% Silicone OV - 17 (1 m), 130℃
CPMB *3)	3% Silicone OV - 101 (1 m), 110℃
DCAN *4)	20% Silicone SE - 30 (1 m), 150℃
MBA *5)	3% Silicone SE - 30 (2 m), 100℃
<u>m</u> - cresol	15% Carnaba Wax (1 m), 110℃
<u>m</u> - bromophenol	15% Carnaba Wax (1 m), 165℃

* 1) glass column (3mm I D) , carrier ges He 30ml / min

* 2) 2 , 6 - di - t - butyl - 4 - methylphenol (so-called tert-butyrated hydroxytoulene)

* 3) methyl 2 - (4 - chlorophenyl) - 3 - methylbutyrate

* 4) 3, 5 - dichloroaniline

* 5) α - methylbenzylamine (1 - phenylethylamine)

(3)測定方法

^{14}C 標識化合物またはその非放射性標品を適当な溶媒に適切な濃度で溶解し、所期物質約 $5\ \mu\text{g}$ に相当する溶液をGC部に注入。溶出したものについて、マススペクトルを10回程度測定し、データをCPUに集積。第2部第1章第2節に述べた手法に従い、スペクトルの平均相対ピーク強度を用いて、 ^{14}C 標識体存在比及び比放射能を自動算出。

放射能 - 重量法 (RW法) による比放射能測定

(1)測定機器

重量 : 上皿電子天秤 H-20 (Mettler Ins. A.G.)

測定下限 0.01mg , 標準誤差 $\pm 0.02\text{mg}$

放射能 : 液体シンチレーションカウンター TRI-CARB 460

(Packard Ins. Co., Inc.)

測定時間 5min , 変動係数 (C.V.) $< 0.3\%$

(2)測定方法

重量測定した ^{14}C 標識化合物 (10~100mg) を適当な溶媒 (50.0 ml) に溶解。その溶液の一部を分取し、放射能測定に適した濃度 ($2\sim 20\ \mu\text{g}/\text{ml}$; $0.1\sim 1\ \mu\text{Ci}/\text{ml}$, $10^5\sim 10^6\text{dpm}/\text{ml}$) となる様に、同一溶媒にて希釈。希釈液の一部 (100 μl 程度) をシンチレーター (Permafluor I, Packard) と混合し、放射能 (壊変数) を測定。この測定値と希釈率より ^{14}C 標識化合物の総放射能を算出。総放射能と重量 (モル数) より比放射能を計算。

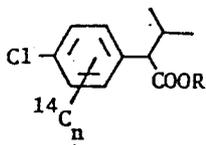
引用文献

92. H. Kanamaru , R. Takai , M. Horiba , I. Nakatsuka and A. Yoshtake , Radioisotopes , 34 , 67 & 194 (1985).
93. G. Goldstein and W. T. Rainy , J. Label. Comp. Radiopharm. , 9 , 805 (1973).
94. A. Yoshtake , K. Kawahara , T. Kamada and M. Endo , J. Label. Comp. Radiopharm. , 13 , 323 (1977).
95. See , for example , W. E. Buddenbaum , et al. , Proceedings of the First International Conference on Stable Isotopes in Chemistry , Biology and Medicine , P. 261 , Argonne , U.S.A. (1973).
96. R. A. Hites and K. Biemann , Anal. Chem. , 42 , 855 (1970).
97. H. Gomi , I. Nakatsuka and A. Yoshitake , Radioisotopes , 29 , 443 (1980).
98. A. Yoshitake , Y. Makari , K. Kawahara and M. Endo , J. Label. Comp. Radiopharm. , 9 , 537 (1973).
99. A. Yoshitake , Y. Makari , M. Endo , J. Label. Comp. Radiopharm. , 8 , 615 (1972).
100. I. Nakatsuka , K. Kawahara , T. Kamada , F. Shono and A. Yoshitake , J. Label. Comp. Radiopharm. , 13 , 453 (1977).
101. A. Yoshitake , F. Shono and I. Nakatsuka , Radioisotopes , 28 , 1283 (1981).
102. Purchased from Amersham International plc (Amersham , England).
103. I. Nakatsuka , K. Kwahara , T. Kamada and A. Yoshitake , J. Label. Comp. Radiopharm. , 14 , 133 (1978).

104. See , for example , (a) W. D. Lehman and F. M. Kasperson ,
J. Label. Comp. Radiopharm. , 21 , 455 (1984). (b) H. -R.
Schulten and W. D. Lehmann , Biomed. Mass Spec. , 7 , 468 (1980).
(c) L. J. Altman , B. E. O'Brien , S. K. Gupta and H. -R.
Schulten , Carbohyd. Res. , 87 , 189 (1980).

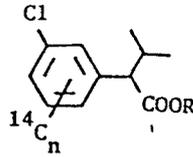
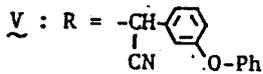
第 2 章 ^{14}C 標識化合物の品質評価への利用 (105)

前章では、GC-MS-CPU法が、 ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法として実用的な精度と簡便性を有することを述べた。本法は、更に、所期の ^{14}C 標識化合物の標識様式や純度等に関する情報をも同時に与えるという注目すべき特徴を併せ持っていた。前章第1節に述べた様に、GC-MS-CPU法の比放射能測定原理は、通常の放射能-重量法(RW法)のそれとは全く異なっている。すなわち、GC-MS-CPU法の場合、 ^{14}C 標識化合物とその非標識標品の良好なマススペクトルが測定できるだけで十分であった。従って、比放射能を測定しようとする試料が混合物であっても、GC-MS-CPU法では、単離することなしに、GCの高い分離能を利用して所期成分のみの良好なマススペクトルを測定し、その正確な比放射能を知ることが可能と考えられた。本章では、この特徴を活かし、GC-MS-CPUによる比放射能測定法を ^{14}C 標識化合物の品質評価法として利用した例について述べる。すなわち、世界的に広く使用されている農業用ピレスロイド殺虫剤フェンバレレート(fenvalerate)の代謝研究を行う目的で、その酸側フェニル ^{14}C 標識体Vの調製を試みた際(Fig. 47)、酸成分である2-(P-chloro[U- ^{14}Cn]phenyl)-3-methylbutyric acid(P-[U- ^{14}Cn]CPBA)(I)の合成において深刻な問題が生じたが、この問題をGC-MS-CPU法を用いて見事に解決できたことを例にとり、本法が、 ^{14}C 標識化合物の比放射能測定だけでなく、その純度検定や不純物の構造、比放射能の確認等にも有効であることを実証する。なお、本章の事例においては、更に、GC-MS-CPUによる測定結果に基づいて、所期の ^{14}C 標識化合物の調製法に対する評価をも行い得た。以下に、その詳細について述べる。



I : R = H (63)

III : R = CH₃



II : R = H

IV : R = CH₃

Fig. 47 Structures of 2-(*p*-chloro[U-¹⁴C_n]phenyl)-3-methylbutyric acid (I) and related compounds

所謂 2 - (p - chloro [U - ¹⁴C_n] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (p - [¹⁴C_n] CPBA) (I) の合成経路を Fig. 48 に示した (第 1 部第 1 章第 2 節参照)。

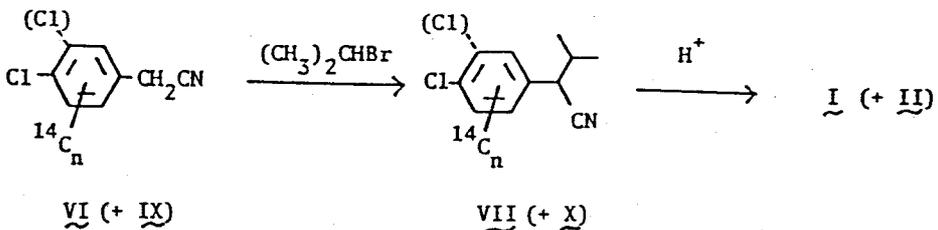


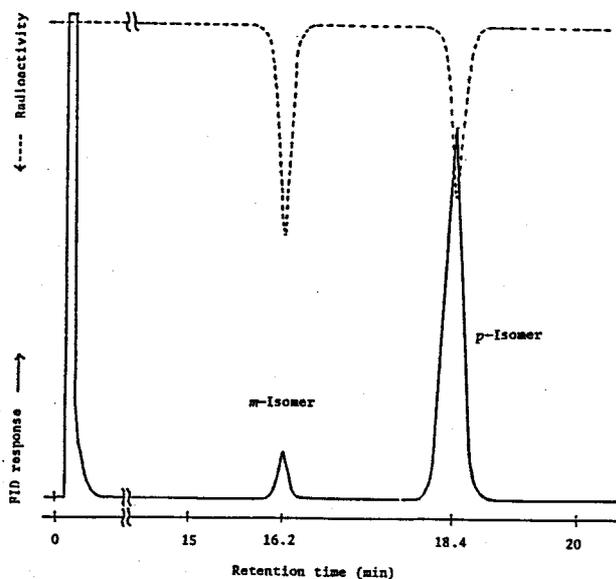
Fig. 48 Synthesis of so-called 2-(*p*-chloro[U-¹⁴C_n]phenyl)-3-methylbutyric acid

出発物質としては、あるメーカーより購入した所謂 P-chloro [U- ^{14}Cn]-phenylacetonitrile (VI) を使用した。まず、購入した VI に非放射製の P-chlorophenylacetonitrile を加えて希釈し、比放射能を 15.7 mCi/mmol に調製した。これをアルカリ水溶液中にて、相間移動触媒 (benzyltriethylammonium chloride) 存在下、isopropyl bromide と反応、得られた粗生成物をカラムクロマト精製することにより、所謂 2-(P-chloro [U- ^{14}Cn]-phenyl)-3-methylbutyronitrile (VII) を得た。Radio-thin layer chromatography (RTLC) 及び radio-gas chromatography (RGC) によれば、VII は 99% 以上の放射化学的並びに化学的純度を有すると考えられ、また、その比放射能は出発原料 VI のそれ (15.7 mCi/mmol) と良く一致していた。次に、得られたニトリル VII を 64% 硫酸にて加水分解、酸-アルカリ精製することにより、VI からの通算収率 60% で所謂 P- [^{14}Cn] CPBA (I) を得た。

この様にして調製した P- [^{14}Cn] CPBA (I) と考えられるカルボン酸は、RTLC 所見上、放射化学的、化学的に 98% 以上の純度を有するかに思われた。また、通常の放射能-重量法 (RW法) で測定した I の比放射能は、出発物質 VI 及び中間体 VII のそれ等と良く一致していた。これ等の事実から、得られた I は、次工程に供するのに十分な高純度を有していると考えられた。しかしながら、I の NMR 分析を行い、得られたスペクトルを非放射製標品のものと同様に比較したところ、 δ [ppm] 7.20~7.40 の芳香環水素領域に僅かな異常が認められた。すなわち、標品では鋭い一重線 (sharp singlet) であるのに対し、 ^{14}C 標識体 I では、一重線の裾に小さな肩のあるシグナル (split pattern) が観察された。この結果から、得られた所謂 P- [^{14}Cn] CPBA (I) には、上述の RTLC 分析では検出されない未知の不純物が少量含まれていると推測された。

そこで、この P- [^{14}Cn] CPBA (I) の純度を正確に決定するために、

これをRGC分析の容易と考えられるメチルエステル体(III)に変換した。すなわち、Iを過剰の diazomethane で処理することにより、定量的に中性生成物を得た。この生成物は、数種のRTL C分析で単品と見なされ、IR分析においてエステルカルボニル基の吸収 (1735 cm^{-1}) が観察された。このエステル体を、2% Apiezon Lカラムを用いてRGC分析したところ、保持時間 18.4 及び 16.2 min を有する比放射能の異なる2種の放射製物質の混合物であることが明らかとなった (Fig. 49)。RGCクロマトグラム上の両者の存在比は、化学的に 89 : 11、放射化学的に 44 : 56 であった。



Analytical condition

Column: 2% Apiezon L on Chromosorb W (glass column, 3 m
x 3 mm ID)

Col. temp.: 130 °C

Carrier gas: He 30 ml/min

Inj. temp.: 250 °C

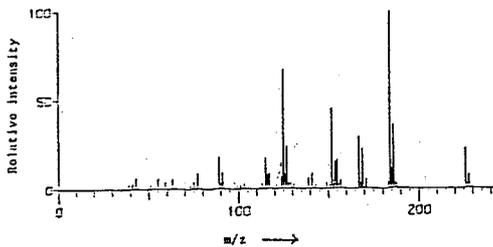
Detectors: FID & gas-flow GM counter (n-propane)

Fig. 49

Radio-gas chromatogram of methyl 2-(*p/m*-chloro[$U-^{14}\text{C}_n$]-phenyl)-3-methylbutyrates (III/IV)

前述（第1章）した様に、GC-MS-CPU法によれば、2種の成分を単離することなしに、各々の比放射能と構造を明らかにできると期待されたので、この混合物をGC-MS-CPU分析に供した。

GC保持時間 18.4min の成分は、マススペクトルにおいて、 m/z 226 から始まる分子イオン群 (molecular ion cluster) を発現した (Fig. 50 (a))。 m/z 226 のピークは、この ^{14}C 標識成分中の未標識分子が組成式 $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{O}_2\text{Cl}$ を有することを示し、更に、マスフラグメンテーション様式及びGC保持時間が、別途合成したその非標識標品と完全に一致したことより、この成分は所期の methyl 2-(p-chloro [U- $^{14}\text{C}_n$] phenyl) - 3-methylbutyrate (III) であると断定した。



(a) p-Isomer (III)

Mass spectral condition

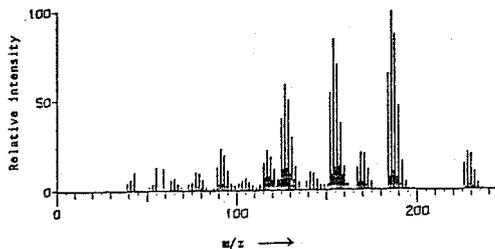
Electron energy: 70 eV

Chamber temp.: 250 °C

Trap curr.: 60 μA

Accel. pot.: 3.5 kV

Slit: 0.20/0.15 mm



(b) m-Isomer (IV)

Mass chromatographic condition

Interval: 5.5 sec

Mass range: m/z 10 - 300

Fig. 50 Mass spectra of methyl 2-(p-chloro[U- $^{14}\text{C}_n$]phenyl)-3-methylbutyrate (III) (a) and methyl 2-(m-chloro[U- $^{14}\text{C}_n$]phenyl)-3-methylbutyrate (IV) (b)

一方、GC保持時間 16.2 min を有する成分も、同様に、 m/z 226 より始まる分子イオン群を示した (Fig. 50 (b)) ことから、この成分はⅢと同一の組成式を有する芳香環塩素置換異性体ではないかと考えられた。このことは、両成分のマススペクトルの詳細な比較結果からも明らかであった。すなわち、両者のフラグメンテーション様式は同一であったが、 m/z 152 と m/z 125 に現れたフラグメントイオンの相対強度が明らかに逆転していた。この ^{14}C 標識成分の構造についても、フラグメンテーション様式並びにGC保持時間に関して、別途合成した非標識標品との比較を行うことにより、methyl 2 - (m-chloro [U - $^{14}\text{C}_n$] phenyl) - 3 - methylbutyrate (m-Isomer) (Ⅳ) であることを決定した。

更に、Table 28 には、GC-MS-CPU法で測定した両成分(Ⅲ, Ⅳ)の比放射能を示した。P-Isomer (Ⅲ)の比放射能は 7.69 mCi/mmol と比較的低い値であったのに対し、m-Isomer (Ⅳ)は極めて高い比放射能 82.8 mCi/mmol を有していた。なお、マススペクトル測定時に全イオンモニター (total ion monitor) で測定した両成分の比と各々の比放射能値を用いて算出した所期のP-Isomer (Ⅲ)の含量比は、化学的に 90%、放射化学的に 45% であって、前述のRGC分析結果と良く一致していた。

Table 28 Measurement of specific activities of methyl 2 - (P-chloro [U - $^{14}\text{C}_n$] phenyl) - 3 - methylbutyrate (Ⅲ) and methyl 2 - (m-chloro [U - $^{14}\text{C}_n$] phenyl) - 3 - methylbutyrate (Ⅳ) by GC-MS-CPU

Compound	Relative abundance of $^{14}\text{C}_n$ -labelled molecules (x_n) ^{*1)}						Specific Activity ^{*2)} [mCi/mmol]
	x_0	x_1	x_2	x_3	x_4	x_5	
<u>P</u> -Isomer (Ⅲ)	100	4.5	2.6	0.6	0.4	-	7.69

<u>m</u> -Isomer (IV)	100	118.5	89.8	40.7	12.4	2.2	-	82.8
-----------------------	-----	-------	------	------	------	-----	---	------

* 1) Molecular ions were used for the measurement. See

Fig. 43.

$$x_n = a_n - \sum_{k=0}^n \frac{b_k}{b_0} x_{n-k} \quad (n = 1, 2, \dots, 6)$$

where x_n = the relative intensity of the peak originating from ^{14}Cn -labelled molecules.

a_n = the relative intensity of the peak originating from the ^{14}C -labelled compound.

b_n = the relative intensity of the peak originating from the unlabelled standard.

$$x_0 = a_0 = b_0 = 100 \quad (\text{normalization})$$

$$* 2) \text{ Specific activity } [\text{mCi}/\text{mmol}] = 62.4 \times \left(\frac{\sum_{n=0}^6 n x_n}{\sum_{n=0}^6 x_n} \right)$$

以上に述べてきた結果を総合すると、Fig. 48 のルートに従って合成した所謂 P- [^{14}Cn] CPBA (I) は、2 - (m-chloro [^{14}Cn] phenyl) - 3 - methylbutyric acid (m- [^{14}Cn] CPBA) (II) を化学的に 10%、放射化学的に 55% 程度含むものであったという結論に至る。I の合成において適用した反応操作 (Fig. 48) に関しては、塩素の芳香環置換異性体が生成する可能性の無いことは標品合成等で実証されており、従って、高比放射能を有するメタ異性体 II の由来は、出発物質 VI の調製に求めるべきであると考えられた。

そこで、出発物質である所謂 P-chloro [^{14}Cn] phenylacetonitrile (VI) の合成法をメーカーに問い合わせたところ、今回使用した VI は、P-dichloro [^{14}Cn] benzene (VIII) を原料として Kametani 等の方法¹⁰⁶⁾ により合成されたことが明らかであった (Fig. 51)。

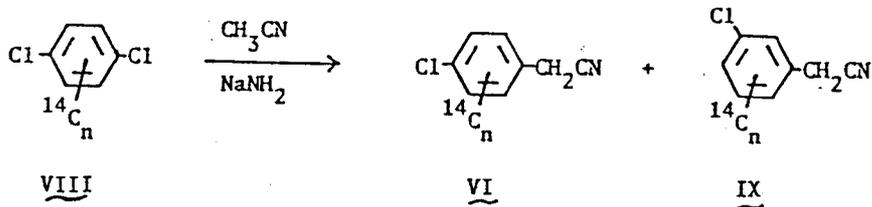
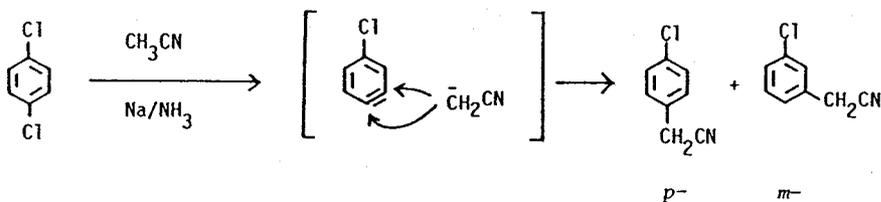


Fig. 51 Synthesis of so-called *p*-chloro[U-¹⁴C_n]-phenylacetonitrile by Kametani's method

Kametani 等は、sodium amide 存在下に P-dichlorobenzene を acetonitrile と反応させた場合、シアノメチル化が塩素結合部位でのみ進行して P-chlorophenylacetonitrile が生成し、メタ異性体は生成しないという報告を行っていた。しかし、本反応はベンザイン中間体を経由して進行すると考えられ、従って、シアノメチルアニオンの攻撃はパラ位だけでなくメタ位にも起こり得る可能性があった。そこで、Kametani 等と同一条件下に本反応を数回実施し、生成物を詳細に調査した (Table 29)。その結果、P-dichlorobenzene のこのシアノメチル化反応では、P-及び m-chlorophenylacetonitrile の約 1 : 1 混合物が主に生成することが明らかとなった。なお、両者は、NMR 分析において酷似したスペクトルを示し、唯、芳香環水素領域の吸収に関して、パラ体が鋭い一重線 (sharp singlet) を示したのに対し、メタ体では裾が少しだけ広がった一重線 (broad singlet, splitted) となるという僅かな相違が観察されたのみであったが、IR 分析及び GC 分析 (Siponate DS-10) おける標品との比較により、両者の構造上の相違が確認された。

Table 29 Ratios of P/m-chlorophenylacetonitriles produced by benzyne reaction



Run	<u>P</u> -	/	<u>m</u> -	* 1)
1	44	/	56	
2	55	/	45	
3	51	/	49	

* 1) determined by G C analysis

以上の事実は、所謂 P - [^{14}Cn] CPBA (I) に混入していた m - [^{14}Cn] CPBA (II) が、P-dichloro [$^{\text{U-}}^{14}\text{Cn}$] benzene (VIII) のベンザイン中間体経由のシアノメチル化によって調製された P/m-chloro [$^{\text{U-}}^{14}\text{Cn}$] phenylacetoneitriles (VI/IX) 中のメタ体由来のものであり、所謂パラ体 VI に適用された分析法が不適切で、メタ体 IX を検出し得なかったことに混入原因があったことを示している。また、メーカーにおいて、約 80 mCi/mmol の比放射能を有する VIII を使用して所謂 VI を合成、その生成物に非放射性の P-chlorophenylacetoneitrile を添加して比放射能を調節することが行われており、この事実は、所期値 (15.7 mCi/mmol) よりもかなり低い比放射能 (7.69 mCi/mmol) の P - [^{14}Cn] CPBA (I) の中に、非常に高い比放射能 (82.8 mCi/mmol) を有する m - [^{14}Cn] CPBA (II) が、化学的に 10% 程度 (放射化学的には約 $\frac{1}{2}$) 混在したという G C - M S - C P U による分析結果を良く説明するものであった。

本章で述べた G C - M S - C P U 法の応用例は、本法が、単に、混合物状態の ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法として有用であることを示したばかりでなく、単離操作無しにその純度や含まれる不純物の構造等に関する情報をも同時に与えたということから、 ^{14}C 標識化合物の品質評価法としても利用可能であることを実証したと言える。換言すれば、本章の例は、G C - M S - C P U 法が、標識化合物の合成研究やそれを用いたトレーサー研究において発生する様々な問題を解決するのに有効な一手段となり得ることを示している。

第 2 部 第 2 章に関する実験

2 - (p / m - Chloro [U - ¹⁴ C n] phenyl) - 3 - methylbutyronitriles

(VII / X) の合成

窒素雰囲気下、p / m-chloro [U - ¹⁴ C n] phenylacetoneitriles (VI / IX ; Commissariat a L ' Energie Atomique (France) より購入した so-called p-chloro [U - ¹⁴ C n] phenylacetoneitrile) (116 mCi, 1.12 g, 7.41 mmol ; 15.7 mCi / mmol), isopropyl bromide (1.40 g, 11.4 mmol), benzyltriethylammonium chloride (40 mg, 0.19 mmol) 及び 44% 水酸化ナトリウム (2.5 ml) より成る混合物を、55℃ にて 3 時間攪拌。benzyltriethylammonium chloride (50 mg, 0.20 mmol) を追加し、同温にて更に 3 時間攪拌。冷却後、反応混合物を水 (30 ml) にて希釈し、ether 抽出。ether 層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウム上で乾燥、減圧留去して得られた粗生成物をカラムクロマト精製 (silica gel, n - hexane - ether 97 / 3 V / V) に付し、R T L C 及び R G C 所見の純度 98% の 2 - (p / m-chloro [U - ¹⁴ C n] - phenyl) - 3 - methylbutyronitriles (VII / X) (85.5 mCi, 1.04 g) を得た。

R T L C : n - hexane / ether = 5 / 1 (v / v) , R_r 0.29

R G C : 2% Silicone O V - 17 (1.5 m) on Chromosorb W

(60 ~ 80 mesh) , 130℃ , He 32 ml / min ; R T [min] : 6.4

2 - (p / m - Chloro [U - ¹⁴ C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acids

(p / m - [¹⁴ C] C P B A) (I / II) の合成

2 - (p / m-Chloro [U - ¹⁴ C n] phenyl) - 3 - methylbutyronitriles (VII / X) (85.5 mCi, 1.04 g, 5.45 mmol) と 64% 硫酸 (2.5 ml) の混合物を、還流条件下にて 7 時間攪拌。冷却後、反応混合物を水にて希釈し、ether 抽出。ether 層を 5% 水酸化ナトリウムにて逆抽出。塩基性水層に濃塩酸を滴下

して酸性化後、ether にて再抽出。ether 層を水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧留去してR T L C純度 98% の 2 - (p / m - chloro [U - ¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acids (I / II) (69.9 mCi, 946 mg, 4.45 mmol ; 15.7 mCi / mmol) を得た。

R T L C : chloroform / methanol = 3 / 2 (v / v) , R_r 0.51

Methyl 2 - (p / m - Chloro [U - ¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyrates (III / IV) の合成

2 - (p / m - Chloro [U - ¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyric acids (I / II) (4.55 mCi, 61.6 mg, 0.29 mmol) に diazomethane の ether 溶液 (0.3 M, 5.0 ml) を添加し、室温にて3時間攪拌。反応混合物を ether にて希釈し、5% 炭酸ナトリウム、水、飽和食塩水にて順次洗浄。無水硫酸ナトリウム上で乾燥後、溶媒を減圧留去することにより、methyl 2 - (p / m - chloro [U - ¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyrates (III / IV) (4.54 mCi) 得た。

R G C : 2% Apiezon L (3 m) on Chromosorb (60 ~ 80 mesh) ,
180 ° C , He 30 ml / min ; R T [min] : 18.4 (III) and
16.2 (IV)

I R : (ν_{max} , cm⁻¹ , liquid film) : 1735 (C = O)

Methyl 2 - (p / m - Chloro [U - ¹⁴C n] phenyl) - 3 - methylbutyrates (III / IV) の G C - M S - C P U 分析

(1) ガスクロマトグラフィ

カラム : 2% Apiezon L (2 m) on Chromosorb W (60 ~ 80 mesh)

カラム温度 : raised from 100 ° C up to 200 ° C at the rate of 4 ° C / min

キャリアーガス : He 30 ml / min

注入口温度：250℃

セパレーター温度：250℃

(2) マススペクトロメトリー

衝撃電子エネルギー：70 eV

チャンバー温度：250℃

トラップ電流：60 μ A

加速電位差：3.5 kV

スリット幅：0.20 / 0.15 mm

掃引速度：8

感度：5

(3) マスクロマトグラフィ

間隔：5.5 sec

オフセット時間：14 min

停止時間：17 min

掃引質量範囲：m / z 10 - 300

Kametani 法による p / m - chlorophenylacetonitriles の合成

乾燥窒素雰囲気下、 -78°C (dry ice-acetone 浴中) にて攪拌した液体アンモニア (30 ml) に金属ナトリウム (1.44 g, 62.6 mg-atom) を溶解、これに塩化第二鉄 (10 mg, 0.062 mmol) を添加し、同温にて3時間攪拌。この混合物に、 -78°C にて acetonitrile (1.32 g, 32.2 mmol) を3分間で滴下し、5分間攪拌。p-dichlorobenzene (1.51 g, 10.3 mmol) を添加し、 -78°C にて4時間攪拌。反応混合物に塩化アンモニウム (3.20 g, 59.8 mmol) を添加後、室温まで昇温し、アンモニアを揮散。反応混合物を水 (10 ml) 及び ethanol (5 ml) にて希釈し、Celite 濾過。濾液を benzene 抽出。benzene 層を 10% 塩酸、水、飽和食塩水にて洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥、減圧

留去することにより黄色油状の粗 p/m-chlorophenylacetonitriles を得た。本品は、以下の G C 分析に供し、その位置異性体比を決定した。

G C : 15% Siphonate D S - 10 (5 m) on Uniport B (80 ~ 100 mesh),
165 °C , He 40 ml / min ; R T [min] : o - 13.3 , m - 21.8 ,
p - 24.4

非標識標品の調製

I 及び III の非放射性標品である 2 - (p - chlorophenyl) - 3 - methylbutyric acid とその methyl ester は、前述の方法に従い、p - chlorophenylacetonitrile (Aldrich) より合成した。II 及び IV の非放射性標品である 2 - (m - chlorophenyl) - 3 - methylbutyric acid とその methyl ester についても、同様に、m - chlorophenylacetonitrile (Aldrich) より合成した。各々の構造は、以下に示した I R、N M R、M S により確認した。

2 - (p - chlorophenyl) - 3 - methylbutyric acid :

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , nujol) : 1705 (C = O)

N M R (δ , ppm , CDCl_3) : 0.67 (3 H , d , J = 6 Hz ,

- C H (C H₃)₂) , 1.03 (3 H , d , J = 6 Hz , - C H (C H₃)₂) ,

2.08 - 2.47 (1 H , m , - C H (C H₃)₂) , 3.08 (1 H , d ,

J = 10 Hz , benzyl methyne H) , 7.23 (4 H , s , phenyl H) ,

11.06 (1 H , bs , - C O O H)

M S (m / z) : 212 & 214 (M⁺) , 170 & 172 (base peak) ,

152 & 154

Methyl 2 - (p - chlorophenyl) - 3 - methylbutyrate :

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1735 (C = O)

M S (m / z) : 226 & 228 (M⁺) , 184 & 186 (base peak) ,

167 & 169 , 152 & 154 , 125 & 127

2 - (m-Chlorophenyl) - 3 - methylbutyric acid :

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , nujol) : 1705 (C = O)

N M R (δ , ppm, CDCl_3) : 0.70 (3 H, d, $J = 6 \text{ Hz}$,

- $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.05 (3 H, d, $J = 6 \text{ Hz}$, - $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$),

2.05 - 2.49 (1 H, m, - $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 3.08 (1 H, d,

$J = 10 \text{ Hz}$, benzyl methyne H), 7.00 - 7.40 (4 H, m,

phenyl H), 10.07 (1 H, bs, - COOH)

Methyl 2 - (m-chlorophenyl) - 3 - methylbutyrate :

I R (ν_{\max} , cm^{-1} , liquid film) : 1735 (C = O)

M S (m/z) : 226 & 228 (M^+), 184 & 186 (base peak),

167 & 169, 152 & 154, 125 & 127

引 用 文 献

105. H. Kanamaru , I. Nakatsuka and A. Yoshitake , Radioisotopes ,
34 , 401 (1985).
106. T. Kametani , K. Ogasawara , T. Terui , K. Yamaki and K. Fukumoto ,
Chem. Pharm. Bull. , 16 , 1584 (1968).

第 2 部に関するまとめ

ガスクロマトグラフ-マススペクトロメーターコンピュータシステム (GC-MS-CPU) による ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法を開発した。その原理は、放射能と重量を測定して算出する常法とは全く異なり、 ^{14}C 標識化合物のマススペクトル中の標識位置を含んだある特定のフラグメントイオンクラスター (例えば分子イオン群中の $m/z = M + 2n$ ($n = 0, 1, 2, \dots$)) を、その非標識標品のスペクトル中の同一フラグメントイオンクラスターと比較することにより標識化合物の ^{14}C 標識分子存在比を算出、これを比放射能値に変換するというものであった。測定精度を向上させるために、GC-MSにおいて、スペクトルのガスクロマトグラフィ的多回測定を行い、平均化した相対ピーク強度を計算に使用した。スペクトルの平均化、 ^{14}C 標識分子存在比及び比放射能の算出は、独自のCPUプログラムを作成して用いることにより自動化した。GC-MS-CPU法を、農業、医薬、化成品等の広範な ^{14}C 標識化合物に適した結果、比放射能 1 mCi/mmole (37 MBq/mmole) 以上の試料について変動係数 (C. V.) 4% 以下という実用的な感度、精度を有する比放射能測定法であることが明らかとなった。また、本法は、必要試料量が微量 ($5\text{ }\mu\text{g}$ 程度) であること、高揮発性及び昇華性物質への適用が可能であること、測定が簡便であること等の点において、優れた方法であることが実証された。更に、本法によって、 ^{14}C 標識様式や適用された調製法に関する情報を得ることも可能であった。

一方、第二世代ピレスロイドの代表的存在であるフェンバレレート¹の酸成分のフェニル炭素 ^{14}C 標識体合成の際に混入してきた高比放射能の不純物について、GC-MS-CPU法を適用して、その構造、比放射能及び由来を解明、更に標識体調製法の評価をも行うことができた。このことは、本法が、混合物状態の ^{14}C 標識化合物の比放射能測定法として有用であることを実証すると共に、純度検定や不純物の構造解明、比放射能測定をも同時に行える優れた ^{14}C 標識化合物

品質評価法となり得ることを明らかにした。

結 言

本研究により、広範なピレスロイドについて、様々な部位の ^{14}C 標識化法及び簡便な光学活性 ^{14}C 標識体調製法が確立された。本研究において調製された ^{14}C 標識ピレスロイドは、従来のもものよりもはるかに高い比放射能と98%以上の放射化学的並びに化学的純度を有するものであった。また、多くのピレスロイドについて、98%以上の光学純度を有する光学活性 ^{14}C 標識体が調製された。これ等の研究成果は、種々の有効なピレスロイドの生体内運命や環境条件下における挙動を精密に解明するトレーサー研究を可能とし、それ等の厳密な安全性評価に多大な貢献をした。更に、フェンバレレート等に関して、総ての ^{14}C 標識異性体を調製したことは、異性体相互の比較代謝研究を推進し、その薬理作用、毒性発現、解毒等の機構解明に大いに寄与することとなった。

また、 ^{14}C 標識化合物の重要な固有値である比放射能を、GC-MS-CPUを用いて、高精度且つ簡便に測定する方法を開発した。本法は、通常放射能-重量法では測定不可能な微量混合物、溶液、高揮発性等の性状を有する試料の比放射能測定をも可能とし、 ^{14}C 標識化合物の調製において生じた問題の解決に大いに役立った。

以上の本研究の成果は、単にピレスロイドの分野にとどまらず、農芸化学、薬学、医学、生化学等他分野においても広く活用される価値のあるものと考えられる。

謝 辞

本研究にあたり、終始御懇篤な御指導と御鞭撻を賜りました大阪大学基礎工学部村橋俊一教授に衷心より御礼申し上げます。また、御親切な御助言と御指導を賜りました大阪大学基礎工学部近松啓明教授並びに畑田耕一教授に厚く御礼申し上げます。更に、数々の御助言、御鞭撻を戴きました住友化学工業株式会社宝塚総合研究所主席研究員吉武彬博士、主任研究員中塚巖博士に心より御礼申し上げます。また、本研究の一部に御協力下さいました当研究所の高井良三主任研究員、三宅邦男副主任研究員、奥野正美副主任研究員、庄野文章副主任研究員、川原一夫研究員、鎌田健研究員、西岡和彦研究員、小森廣志研究員、住友製薬株式会社研究所の毛利善一主任研究員、安田妙子研究員の各氏に深く感謝致します。

なお、本研究の機会を与えて下さり、御鞭撻を戴きました住友化学工業株式会社理事・宝塚総合研究所所長宮本純之博士、同研究所小池聖児主席研究員に厚く御礼申し上げます。