

# Struktur-Reaktivitäts-Beziehungen und verzögerte Neurotoxizität organischer Phosphor-Verbindungen

Structure-Reactivity Relationships and Delayed  
Neurotoxicity of Organophosphorus Compounds

Hans-Georg Reinhardt

Zentralinstitut für Biochemie und Biophysik  
der Freien Universität Berlin

(Z. Naturforsch. **31 c**, 479–480 [1976]; eingegangen  
am 7. April 1976)

Delayed Neurotoxicity, Organophosphates, Alkaline  
Hydrolysis, Structure-Reactivity-Relationships

A correlation has been found between the reactivity in the alkaline hydrolysis reaction of a new series of organophosphates and their ability or disability to produce the clinical manifestation of delayed neurotoxicity in hen. At a dose of 1000 mg/kg only compounds exceeding a lower limit of reactivity (about  $6 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) are active.

Organische Phosphor-Verbindungen \* lassen sich nach zwei auffälligen biologischen Wirkungen, der innerhalb von Minuten eintretenden Hemmung cholinergischer Mechanismen und der verzögerten Neurotoxizität, in vier Gruppen einteilen (Tab. I). Unter

Tab. I. Klassifizierung charakteristischer Organophosphate.

Gruppe	verzögert cholin- erge neuro- toxische Wirkung	Beispiele
1	—	Trimethylphosphat, Triphenylphosphat, Diäthylphosphorylchlorid
2	+	Diäthyl-4-nitrophenyl- thionophosphat (Parathion), Dimethyl-dichlorvinyl- phosphat (Dichlorvos)
3	—	Di-(2-chloräthyl)-3-chlor- 4-methyl-cumarin-7-yl- phosphat (Haloxon)
4	+	Diisopropylphosphoryl- fluorid (DFP), Äthyl-4-nitrophenyl- äthylphosphonat (Armin)

+ aktiv, — inaktiv.

\* Die folgenden Untersuchungen sollen auf die sog. Organophosphate beschränkt bleiben, auf Ester, Amide, Halogenide und Anhydride von Phosphor-, Phosphon- und Phosphinsäuren sowie ihre Thiono-Analogen.

Sonderdruckanforderungen an Hans-Georg Reinhardt,  
Zentralinstitut für Biochemie und Biophysik, Limonen-  
straße 7, D-1000 Berlin 45.

verzögerter Neurotoxizität wird die Ausbildung für das Vergiftungsbild typischer Lähmungserscheinungen an den Extremitäten des Menschen und bestimmter Versuchstierarten, vorzugsweise des Huhnes, ca. 8–14 Tage nach Applikation des Stoffes verstanden<sup>1</sup>. Eine theoretische Grundlage für die Zuordnung zu den vier Gruppen gibt es bisher nicht.

Die Zugehörigkeit zu diesen Gruppen kann u. a. durch enzymatische Umsetzungen an der Ausgangsverbindung im Organismus verändert werden. So ist z. B. im Falle des nicht cholinerg wirkenden Tri-2-kresylphosphats (TOCP) bewiesen, daß es nach enzymatischer Oxydation in einen zyklischen Phosphorsäureester der Gruppe 4 umgewandelt wird<sup>2</sup>. Das TOCP wird für zwei Massenvergiftungen mit Symptomen der verzögerten Neurotoxizität (1930 in den USA und 1959 in Marokko, zusammen ca. 25000 Vergiftete) verantwortlich gemacht<sup>3, 4</sup>.

Die biochemische Ursache für die cholinerge Wirkung der Organophosphate, die Hemmung der Acetylcholinesterase, wurde innerhalb eines Jahrzehntes nach Beschreibung von Vergiftungssymptomen in der Literatur aufgeklärt<sup>5</sup>. Die molekularen Mechanismen, die zur Auslösung neurotoxischer Symptome führen, sind dagegen noch unbekannt.

Es erscheint berechtigt, die Reaktivität der Organophosphate mit dieser biologischen Wirkung zu korrelieren und dabei den Einfluß der Elektrophilie des Phosphoratoms auf die neurotoxische Aktivität der Organophosphate zu untersuchen, da seit langem

Tab. II. Geschwindigkeitskonstanten und Neurotoxizität substituierter Triarylphosphate,  $[\text{OH}^-] = 0,1 \text{ N}$ ,  $25,0^\circ \text{C}$ .

Substituent X (s. Abb. 1)	$10^3 \cdot k_2$ [ $\text{M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ]	Neuro- toxizität
4-NO <sub>2</sub>	113	+
4-CN	77,0	+
3-NO <sub>2</sub>	72,2	+
3,5-Di-Cl	67,0	+
3-CN	56,3	—
4-COCH <sub>3</sub>	37,3	— a
3-CF <sub>3</sub>	30,8	—
3-Cl	23,3	—
3-COCH <sub>3</sub>	23,4	—
4-Cl	19,1	—
4-F	12,9	—
3,4-H <sub>2</sub> (Triphenylphosphat)	8,25	— b

+ aktiv, — inaktiv.

a Diese Verbindung wurde schon als inaktiv beschrieben: M. Eto, M. Abe u. H. Takahara, Agr. Biol. Chem. **35**, 929 [1971].

b Diese Verbindung wurde schon als inaktiv beschrieben: M. I. Smith, E. Elvove u. W. H. Frazier, Publ. Hlth. Rep. (Wash.) **45**, 2509 [1930].



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition “no derivative works”). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

angenommen wird, daß der erste Schritt der komplexen Reaktionssequenz, die zu den Lähmungserscheinungen führt, in der Bildung einer kovalenten Bindung zwischen einer nukleophilen Stelle in einem noch unbekannten Protein des Zentralnervensystems mit esterhydrolysierender Aktivität und dem Phosphoratom besteht<sup>6</sup>. Die Wahl der alkalischen Hydrolyse als Modellreaktion lag also nahe.

Im folgenden ist eine Reihe bisher zum größeren Teil noch nicht beschriebener substituierter Triarylphosphate zusammengestellt. Bei der Auswahl der Substituenten wurde auf Alkylgruppen enthaltende verzichtet, deren enzymatische Oxydation zusätzliche Probleme hätte aufwerfen können. Für die Verbindungen dieser Reihe wurden die Geschwindigkeitskonstanten 2. Ordnung der alkalischen Hydrolyse bestimmt, aus Löslichkeitsgründen in einem 2:1-Gemisch aus 0,15 N KOH und Acetonitril (Tab. II).

Die Auswertung der kinetischen Daten erfolgte nach der Hammett-Methode, die schon bei zahlreichen reaktionsmechanistischen Fragestellungen in Chemie und Biochemie zur Lösung beigetragen hat. Die  $\sigma$ -Werte für die Substituenten 4-NO<sub>2</sub>, 4-CN und 4-COCH<sub>3</sub> wurden einer Arbeit von van Hooijdonk und Ginjaar über die alkalische Hydrolyse substituierter Diäthylphenylphosphate<sup>7</sup> entnommen, die übrigen entstammen der Monographie von Hammett<sup>8</sup>. Der  $\rho$ -Wert beträgt +1,23 (Abb. 1). In Tab. II und Abb. 1 wurde den kinetischen Daten der an Hühnern nach einmaliger Gabe von 1000 mg/kg und einer Beobachtungszeit von mindestens 28 Tagen inspektorisch erhobene neurotoxische Befund<sup>9</sup> gegenübergestellt. Offensichtlich sind die vier neurotoxischen Verbindungen dieser Reihe die in der Modellreaktion reaktivsten, möglicherweise gibt es einen Schwellenwert für  $\sigma$  und damit eine Schwellenreaktivität.

Es eröffnet sich somit die Möglichkeit, auf der Grundlage von Struktur-Reaktivitäts-Beziehungen

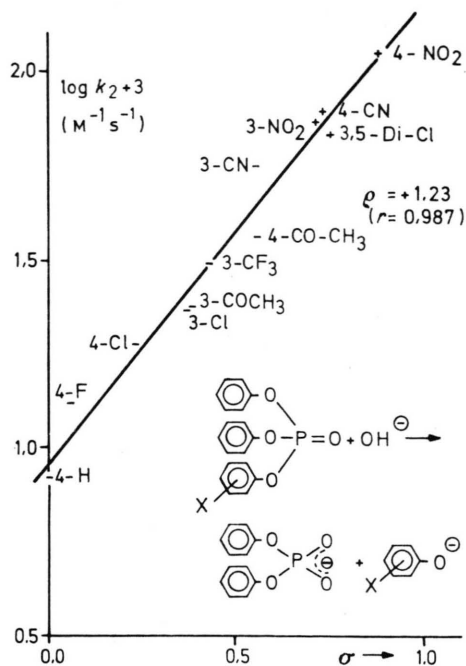


Abb. 1. Hammett-Analyse der Daten der Tab. II,  $\sigma = \sigma$ -Wert nach Hammett,  $k_2$  = Geschwindigkeitskonstante 2. Ordnung, + neurotoxisch aktiv, - neurotoxisch inaktiv.

vom Hammett-Typ das neurotoxische Potential prinzipiell beliebiger Organophosphate bei einer bestimmten vorgegebenen Dosis zu beurteilen, wobei zu beachten ist, daß derartige Berechnungen nur für Verbindungen gelten, die in der beurteilten Form phosphorylieren. Toxikologische Untersuchungen z. B. an insektiziden Vertretern dieser Substanzklasse könnten damit sehr erleichtert werden.

Für anregende Diskussionen danke ich den Professoren Dr. E. Riedel und Dr. E.-R. Lochmann.

<sup>1</sup> D. R. Davies, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Ergänzungswerk, Bd. XV (G. B. Koelle, ed.), p. 860, Berlin 1963.

<sup>2</sup> J. E. Casida, M. Eto u. R. L. Baron, Nature **191**, 1396 [1961].

<sup>3</sup> M. I. Smith u. E. Elvove, Publ. Hlth. Rep. (Wash.) **45**, 1703 [1930].

<sup>4</sup> H. V. Smith u. J. M. K. Spalding, Lancet **277**, 1019 [1959].

<sup>5</sup> B. Holmstedt, Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Ergänzungswerk, Bd. XV (G. B. Koelle, ed.), p. 428, Berlin 1963.

<sup>6</sup> W. N. Aldridge u. E. Reiner, Enzyme Inhibitors as Substrates, p. 215, Amsterdam 1972.

<sup>7</sup> C. van Hooijdonk u. L. Ginjaar, Rec. Trav. Chim. **86**, 449 [1967].

<sup>8</sup> L. P. Hammett, Physikalische organische Chemie, p. 353, Weinheim 1973.

<sup>9</sup> D. R. Davies, P. Holland u. M. J. Rumens, Biochem. Pharmacol. **15**, 1783 [1966].