

称号及び氏名 博士（農学）桐山和久

学位授与の日付 平成 17 年 3 月 10 日

論文名 「ネオニコチノイド系殺虫剤の構造活性相関と作用機構」

論文審査委員 主査 教授 西村 勁一郎

副査 教授 切畑 光統

副査 教授 林 英雄

論文要旨

第 1 章 緒論

近年、農薬は社会悪の根元であるかのように言われる場合がある。しかし、食糧問題を抱える地域が多くあることや今後の人口増加に対処し、安定した量の食糧を供給するためには農薬の使用は有用な手段の一つであると考えられる。殺虫剤、とりわけネオニコチノイド系殺虫剤は、昆虫に対する高い選択性と哺乳類や魚類に対する毒性が低いなどの特徴を持った農業用殺虫剤として、現在世界各国で広く使用されている。これらの殺虫剤のうちのある種の化合物の作用機構については、放射線リガンドを用いた結合実験と、昆虫の神経標本を用いた電気生理学的実験により、ニコチンと同様に昆虫神経のシナプス後膜上のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) に作用し、神経伝達を攪乱することが既に明らかにされている。

本研究では、ネオニコチノイド系殺虫剤の殺虫活性発現に必要な化学構造と、摘出神経標本における各種生理活性の役割について総合的な検討を加えることを目的として、活性分子の部分構造の変換に伴う生理活性の変化についての検討、および定量的構造活性相関解析を行った。

第 2 章 イミダクロプリド関連ニトロメチレン系化合物と *N*-アルキル誘導体の殺虫活性と神経活性

本章では、代表的なネオニコチノイド系殺虫剤である imidacloprid の NNO_2 基を CHNO_2 基に変換した化合物をとりあげた。そのイミダゾリジン環 3 位の窒素原子上に、さまざまなアルキル基等を導入した化合物のワモンゴキブリに対する殺虫活性、および作用点部位での生理活性と考えられる、本昆虫種の腹部中枢神経索に対する神経活性（興奮活性と遮断活性）を測定した。そして、構造の変換に伴う両生理活性における強さの変化を調べた。また、両活性間の関係を、化合物の疎水性を考慮に入れて最

小二乗法を用いて定量的に解析した。

殺虫試験はゴキブリ雄成虫の腹部への注射により行い、薬物のみの場合と、代謝阻害剤であるピペロニルブトキシド (PB) と NIA16388 (NIA) を併用した時の最小致死薬量を求めた。神経活性は、ゴキブリの腹部第 6 神経節を含む中枢神経索を用いて測定した。本章で用いた化合物は、神経標本に対して興奮の誘導と伝導遮断という 2 相性の効果を引き起こしたため、神経索における自発性放電頻度をある一定値に増加させる濃度と遮断する濃度を求めて、それぞれの活性値を決定した。

殺虫活性と両神経活性との相関関係を定量的に解析した結果、殺虫活性にとっては、神経興奮活性よりも神経遮断活性の方が有意なパラメータであることが分かり、殺虫効果における神経遮断効果の優位性を初めて明らかにすることができた。ネオニコチノイド系化合物の神経遮断効果は、nAChR におけるアゴニスト作用から引き起こされた脱感作が要因と考えられた。

第 3 章 アセタミプリド関連化合物の殺虫活性と神経遮断活性

本章では、imidacloprid のイミダゾリジン環を開環した acetamiprid をとりあげた。その *N*-CH₃ 部分の CH₃ 基、もしくは末端の CH₃ 基部分を種々のアルキル基等に変換した化合物の、ワモンゴキブリとイエバエに対する殺虫活性と神経遮断活性を測定した。そして、構造変換に伴うそれぞれの生理活性の強さの変化と、生理活性間の相関関係について定量的に解析した。イエバエに対する殺虫試験は胸背部への注射により行い、殺虫活性は PB と NIA を併用した場合の 50% 効果濃度より求めた。

ゴキブリに対する殺虫活性と神経遮断活性との相関関係を定量的に解析した結果、疎水性の効果を別途考慮することにより、両活性間に有意な関係があることを見出した。2 種類の共力剤 (PB と NIA) を併用した場合、ワモンゴキブリとイエバエに対する殺虫活性間には、近似的に良好な直線関係があった。このことは、同様の共力剤条件と投与方法を用いた場合には、両昆虫種における殺虫活性は、直接、作用点での効果を反映したためと考えられた。いずれの生理活性においても、上述した両方の CH₃ 基を他のアルキル基等に変換することによっても活性の大きさは低下し、その程度は末端 CH₃ 基における方が著しく、置換基が嵩高くなるほど著しかった。このことは、前章のニトロメチレン系化合物の 3 位の窒素原子のアルキル化による生理活性値の低下と併せて考えると、acetamiprid 末端の CH₃ 基部分が受容体との結合に深い関わりを持つと推察された。

第 4 章 1-[1-(6-Chloro-3-pyridyl)ethyl]-2-nitroiminoimidazolidine 両鏡像異性体の殺虫活性と神経遮断活性およびニコチン性アセチルコリン受容体との

結合活性

本章では、imidaclopridのピリジン環とイミダゾリジン環を結合するメチレン鎖にCH₃基側鎖を導入した化合物 (Me-IMI) の光学異性体を取りあげた。これらの化合物のイエバエやワモンゴキブリに対する殺虫活性と神経遮断活性およびイエバエ頭部膜画分に対する結合活性について検討した。

両殺虫活性においては、(R)-と(S)-体間で活性差は認められなかった。神経遮断活性における鏡像異性間での差は明らかで、(S)-Me-IMIの方が(R)-Me-IMIより10倍以上高かった。また、イエバエ頭部膜画分に対する結合活性試験を、膜画分への[³H]imidacloprid ([³H]IMI) の特異的結合を50%阻害する化合物濃度として求めた結合活性においてもS体の方が高活性で、両異性体間で約5倍の差があった。両異性体間で殺虫活性においては差が認められなかったのは、昆虫体内で不斉炭素の持つ特徴の消去、例えばラセミ化が起こっているのかもしれないが、その機構は不明である。

第5章 ジノテフラン類縁体のワモンゴキブリに対する殺虫活性および神経活性

本章では、新規な構造をもつネオニコチノイド dinotefuran とその類縁体を取りあげた。供試化合物の構造と各種生理活性の関係についての検討、および殺虫活性と神経活性の関係については各化合物の疎水性を考慮に入れた場合の定量的な相関関係の解析を行った。

本化合物群も他のネオニコチノイドと同じく、昆虫に痙攣を伴う麻痺症状をもたらした。神経活性においても従来のネオニコチノイドと同様に、興奮の誘起と遮断の2相性の効果を示した。本章でとりあげた化合物群は第2章での結果と同じく、殺虫活性との定量的な解析では、興奮遮断活性の方が興奮誘起活性よりも有意なパラメータであることが分かった。このことから、dinotefuran 類縁体は神経における興奮伝達の遮断作用により殺虫活性をもたらすと推定した。

第6章 ジノテフラン類縁体のイエバエに対する殺虫活性とニコチン性アセチルコリン受容体との結合活性

本章では、dinotefuran類縁体のイエバエに対する殺虫活性と、イエバエ頭部膜画分に対する結合活性を測定し、構造とそれぞれの活性の関係、および両生理活性間関係を定量的に解析した。その結果、イエバエ頭部膜画分における[³H]IMIの結合を阻害する活性(結合活性)が高くなるほど、殺虫活性も高くなる傾向が認められた。Dinotefuranの作用様式について検討した結果、imidaclopridをはじめとするネオニコチノイド系殺虫と同様に、nAChRに作用することが分かった。

第7章 総論

本研究では、ネオニコチノイドとして最初に開発された imidacloprid 分子を大きく 3 つの部分構造に分け、それぞれの構造変換に伴う殺虫活性の大きさの変化について種々の知見を得た。また、本研究で用いた殺虫性化合物は、ワモンゴキブリから抽出した神経標本に対して興奮の誘起と遮断の 2 相性を示すことを見出した。そして、殺虫効果においてはこれら 2 種類の活性のうち神経遮断効果が興奮誘起効果よりも優位であることを明らかにした。最近開発された新規殺虫剤 dinotefuran の作用機構は、従来のネオニコチノイド系殺虫剤と同様に nAChR に作用し、神経伝達の遮断作用をもたらすことによって殺虫効果を発現することを明らかにした。

本研究ではネオニコチノイド系殺虫剤の構造活性相関および作用機構に関してさまざまな新しい知見を得た。このような知見は今後の新規殺虫剤の創製に大きく寄与するものと考えられる。

審査結果の要旨

地球規模で考えた場合の爆発的な人口増加に対応して、食糧を確保するためにいろいろな対策を講じなければならない。農薬の使用も有用な手段の一つである。しかし農薬をそのような農業用資材として用いるためには、選択性が高く、かつ環境負荷につながらない安全性の高いものでなければならない。最近開発されたネオニコチノイド系殺虫剤は、昆虫に対して高い選択性を持ち、残留性が極度に低いことなどのすぐれた特徴を持っている。ネオニコチノイド系殺虫剤として最初に開発されたイミダクロプリド (IMI) は、昆虫神経シナプス後膜上のニコチン性アセチルコリン受容体 (nAChR) に作用し、その神経伝達を攪乱することによって殺虫効果を示すことがすでに明らかにされている。

本論文では、ネオニコチノイド系化合物が各種生理活性を発現するための構造上の条件を統一的に解明するために、IMI 分子を 1) 芳香環部分、2) 複素環部分、および、3) これら 2 種類の環状部分の架橋部分という、3 つの部分構造に分けた。そしてそれぞれの部分構造について系統的に変換された化合物についての構造活性相関と、各種昆虫に由来する神経標本を用いた、これら化合物の作用機構の解明を目的として行った。

第 1 章では、食糧の確保という観点から農薬は重要な意義があることと、農薬科学研究において行わなければならない課題について論じた。本研究では殺虫試験、放射性リガンドを用いた結合試験について述べた。

第 2 章と第 3 章では、上記の 1) についての構造条件を保持した化合物を扱った。

第2章では、IMIの構造条件2)の基本骨格を保持したまま、複素環3位の窒素原子にさまざまなアルキル基等を導入した化合物を、第3章ではこの複素環を開環したアセタミプリド系化合物を取り上げた。これらの部分構造のうち特に末端部分に嵩高い置換基を導入することは、生理活性の発現にとって不利になることを見いだした。摘出神経標本に対しては、興奮の誘導と伝導遮断という2相性の効果を引き起こすことを示した。さらに、殺虫活性と両神経活性についての定量的解析から、殺虫活性にとっては神経遮断活性の方が興奮誘起活性よりも有意な神経パラメータであり、殺虫効果における神経遮断効果の優位性を明らかにした。

第4章では、IMIにおける2種類の環状部分を結合するメチレン鎖にメチル基側鎖を導入した光学異性体を取り上げた。殺虫活性においては、両異性体間で活性差はほとんど認められなかったが、神経遮断および結合活性においては明らかな差が見られた。このことは、昆虫体内で不斉炭素の持つ構造的な特徴の消去が生じていることを推察させる結果であった。

第5章および第6章では、IMIの芳香環を脂環状に、複素環を開環状に変換した新規なジノフランとその類縁体に検討した。本系統の化合物においても従来のネオニコチノイド系化合物と同様に、神経興奮の誘起と遮断の2相性の効果を示した。殺虫活性と神経活性における相関関係の解析では、第2章における結果と同じく、興奮遮断活性の方が他方よりも有意な神経パラメータであることを明らかにした。イェバエ頭部膜画分に対する結合活性を測定して構造活性相関について論じるとともに、殺虫活性と結合活性との関係について定量的解析を行った。その結果、結合活性が高くなるほど殺虫活性も高くなることが判明した。ジノテフランの神経標本に対する結合様式について解析し、IMIと同様に、本化合物もnAChRに選択的に結合することを明らかにした。第7章では本研究で得た結果を総括した。

本論文では新規な化合物を含む種々のネオニコチノイド系化合物は、神経膜に存在するnAChRと結合したあと興奮の誘起と伝導遮断を引き起こし、両者のうち特に伝導遮断効果が殺虫効果の発現に重要な役割を持つことを明らかにした。これらの知見は、ネオニコチノイド系殺虫剤ばかりでなく、より広い意味での殺虫剤、さらには各種生物制御化合物の創製に大きく寄与するものと期待できる。これまで系統的な研究がなされていなかったために不明であったネオニコチノイド系化合物の構造活性相関、および各種生活活性間の定量的解析から得た本研究の成果には大きなものがある。よって本論文の審査ならびに学力確認の結果と併せて、博士(農学)の学位を授与することを適当と認める。