

綜 説

Chemistry of Ecdyson. Ichiro TOMIDA (Pesticide Research Institute, Kyoto University, Kyoto).
Botyu-Kagaku, 31, 48, 1966. エクチゾンの化学 (富田一郎・京都大学農学部農薬研究施設)

はじめに

昆虫はいわゆる変態を行なって生長するのであるが、その変態、すなわち幼虫の種々の時期における脱皮、蛹化、羽化の過程はよく知られているように、多くのホルモンによって支配されている。それはまず脳神経分泌細胞で作られた前胸腺刺激ホルモンが前胸腺に作用し、それによってこの腺が活発になって本来の脱皮ホルモンであるエクチゾン (Ecdyson) が生産される。これはアラタ体から出る幼若ホルモンと一緒にあって幼虫のつぎの段階への脱皮を起すのであるが、蛹化および羽化の段階では、幼若ホルモンは作用せず、脱皮ホルモンだけで作用する。

これらの各種の昆虫ホルモンについては、それぞれ化学的に抽出分離する研究が進められているが、そのうち最も研究の進んでいるものはエクチゾンである。これは「前胸腺ホルモン」、「脱皮ホルモン」、「変態ホルモン」、「生長ホルモン」、あるいは「分化ホルモン」とも呼ばれている。すでに1954年結晶として単離せられていたが、最近になって始めてその化学構造式が立体構造も含めて決定せられた。以下それについてまとめてみる。

生物テスト

前胸腺ホルモンの抽出については最初 Becker と Plagge¹⁾ が行なった。彼らはある生物テスト法を發展せしめたが、その後 Karlson²⁾ はこれを改良し、*Calliphora*-Test (クローリバエ試験) として定量的に取り扱えるようにした。

クローリバエ蛆の蛹化直前にあるものを前から1/3の所で木綿糸で縛る。24時間経って前1/3が蛹化したものだけをテストに用いる。蛹化した部分を切りはなし、切り口から正確に 0.01 ml の被験物質の水溶液を胴体に注射する。そして24~30時間内にこの体の残存部分が蛹化 (褐色化し、クテクラで固くなる) したとき、これは陽性の反応であるという。*Calliphora* 単位 (=C. E.) (クローリバエ単位) とはテスト動物の 50~70% に蛹化を惹き起こすような物質の量をもって定義する。

エクチゾンの抽出分離

Karlson³⁾ は最初クローリバエの蛹を原料としたが、1947年以來はカイコの蛹を原料とした。1954年彼らは

上記の生物テスト法を頼りとして、500 kg のカイコの蛹を用いて抽出分離を行ない、ホルモン性物質として 25 mg の結晶性物質 (C. E. = 0.0075%) をえた。昆虫ホルモンが結晶としてえられたのはこれが最初であり、これは実に $20 \cdot 10^6$ 倍も濃縮したことになる。

その後再び 1963年⁴⁾ にいたり、抽出法を改良して1トンの乾燥蛹から抽出を行なった。まず原料をメタノール、ついでブタノールで抽出し、抽出物を石油エーテル/水とに分配し、活性物質を水溶液側にもたらし。これを濃縮してえられる残分をアルミナによるクロマトグラフ、向流分配、ついで再びアルミナによるクロマトグラフに付し、再び向流分配をくり返して、最後に 250 mg の粗結晶 (融点 160~166°, C. E. = 10~9%) をえた。

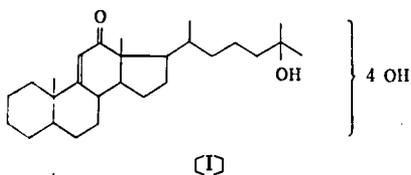
初期のエクチゾンの化学構造研究

エクチゾンの構造決定は、物質が少量であるため、最初 X-線解析法で解決しようとしたが、適当な重い元素を含有した誘導体に導くことが困難であった。分子量は X-線法により、単位胞の大きさと比重から 462 と認められたが、この値は質量分析法でも支持され、分子式は $C_{27}H_{44}O_6$ が正しい式となった。スペクトルその他のデータから、ケトン基とそれに共役した1つの二重結合が分子中に存在せねばならないということから、飽和の基本式の骨格の組成は $C_{27}H_{48}$ となり、エクチゾンはステロイド骨格をもっていると想像された。

Karlson⁴⁾ は当時手もとにあった 200 mg のエクチゾンを用いてその構造を化学的に解決しようとした。まず脱水素を行なって Cyclopentanophenanthren をえようとしたが、本来この反応は収量が非常に少ないため多量の物質を犠牲にせねばならない。彼らは 30 mg をそれにあて、かろうじて芳香族炭化水素の留分をうる事ができた。これは薄層クロマトグラフで分離した。紫外線吸収スペクトルからいってナフタリン誘導体に属するものとフェナンスレン誘導体に属するものとえられたが、特に後者の留分は標準物質とペーパークロマトグラフ法で比較して、この留分に Methylcyclopentanophenanthren と 3,3-Dimethylcyclopentanophenanthren が証明された。このようにして古典的方法でもエクチゾンのステロイド性が確定されたが、これはエクチゾンの化学研究において重要な

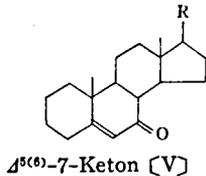
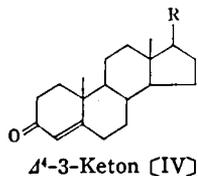
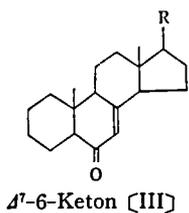
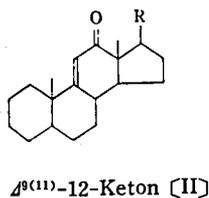
成果であった。

エクテゾンには官能基として二重結合と共役したケトン基および5個の水酸基がある。紫外、赤外、核磁気共鳴スペクトルのデータから当時多少の確実性をもっていえたことは、ケトン基はC₁₂の位置にあり、二重結合はC₉とC₁₁との間にあるということであった。水酸基の1個はおそらくC₂₅にある。このようにしてエクテゾンの暫定的部分構造式は次のようであるとされた。



エクテゾン類縁物質との比較研究⁵⁾

エクテゾンの核磁気共鳴スペクトルによると、ケトン基に対してα位に、二重結合についた水素原子が1個あるはずである(6.18 ppm)。一方赤外線吸収スペクトルのC=O吸収バンドの位置(1650/cm)からは5員環ケトンではないことが示される。以上のスペクトルのデータから不飽和ケトンの位置の可能性としては次の4式が考えられる。



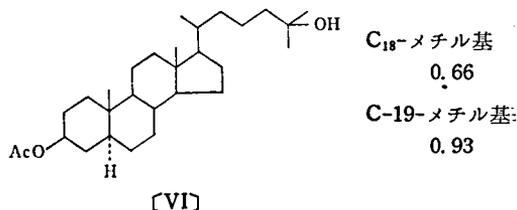
エクテゾンを塩酸で処理すると、後にも述べるように2個の転移生成物、すなわち共役および非共役ジエノンが得られる。またエクテゾンのスペクトルによると、ケトン基と二重結合とは同一平面上になければならぬ。以上のことから始めは〔I〕式のように、おそらく $\Delta^{9(11)}$ -12-Ketonであろうと考えられたのであるが、類縁物質のスペクトルを比較してみると別の結果がえられた。

a) 核磁気共鳴スペクトル (NMR)

$\Delta^{9(11)}$ -12-Keton の場合のように両方の angular の

メチル基の間にケトン基がはさまれているときには、NMR においてメチル基のシグナルの位置にかなりの影響があるはずであろう。こういう考えから彼らは一連の化合物を合成し、種々の α 、 β -不飽和ケトン基の NMR を測定して比較検討した。

その結果判ったことは、1) C₁₈とC₁₉のおおののメチル基のシグナルは、その間にケトン基があるため、それぞれ0.29 ppm および0.19 ppm だけ高磁場の方に移行しており、これはA、B環の結合の仕方には無関係である。2) エクテゾンで予想したような、側鎖にOH基をもつ物質〔VI〕[3- β -Acetoxycholestan-(5 α)-ol-(25)]のNMRでは、C₁₈-メチル基のシグナルは0.66, C₁₉-メチル基では0.93 ppm であった。



したがってこれらの値に $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton 基の存在によってひき起こされる ppm の増加値を加算してみると、C₁₈に対しては0.66+0.29=0.95 ppm となる。これに相当するエクテゾンでのシグナルは0.74 ppm でそれよりも少ない。したがって $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton 構造は除外される。OH基が影響するとしても、それは高磁場への移行を与えるはずである。

他の3つの可能な構造についても、同様におおのの平均化学シフトの値を上記モデル物質〔VI〕のデータに加算してゆくと、 Δ^7 -6-Keton〔III〕に対しては0.53 ppm, Δ^4 -3-Keton〔IV〕に対しては0.66 ppm および $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton〔V〕に対しては0.66 ppm となり、どの値もエクテゾンそれ自身の測定値(0.74 ppm)よりも低い。

NMR からはっきりいえることは、側鎖の端のメチル基についてである。すなわちイソプロピルアルコール群を側鎖にもつ種々の類縁化合物を合成し、その両メチル基のシグナルを比較したところ、いずれもエクテゾンの場合とよく一致した。シグナルの位置は第3級OHによって条件づけられていることがわかる。

b) 赤外および紫外吸収スペクトル

エクテゾンの赤外線吸収スペクトルを注意してとると、C=C二重結合の吸収を1625/cmに認めることができる。種々の類縁物質について α 、 β -不飽和ケトン類のC=C二重結合の吸収を比較してみると、 $\Delta^{9(11)}$ -12-Keton の二重結合ではいずれもエクテゾンのそれよりもずっと低波数(1600~1605/cm)にある。したがっ

てエクテゾンはこの型のケトンではないことになる。赤外の C=O の吸収位置は OH 基により影響されることが多く、ケトン基の位置については特異的ではない。同様に他の型のケトンについても、この二重結合の伸縮振動の位置に関して比較を行なうと、 Δ^4 -3-Keton や $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton 型のものではエクテゾンのそれとひどく相異しているが、 Δ^7 -6-Keton の誘導体ではよく一致した。

紫外線吸収スペクトルの最大吸収波長については、 $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton 型 ($\lambda_{max}=235\sim 237 m\mu$) では一般にエクテゾンのそれ ($\lambda_{max}=242 m\mu$; $\epsilon=12, 200$) よりも低く、 Δ^4 -3-Keton 型のものではその吸収係数 ($\epsilon=16, 900$) が高過ぎる。したがってエクテゾンには Δ^7 -6-Keton 型 ($\lambda_{max}=245\sim 244 m\mu$; $\epsilon=13, 500\sim 13, 920$) が最もあたりそうである。

c) 呈色反応の比較⁹⁾

ケドステロイドは *m*-Dinitrobenzol と化合して紫色を呈する (Zimmermann 反応)。種々の類縁物質について行なったところ、3-Keton では隣の C₂ あるいは C₄ の所に 2 個のプロトンがあれば、飽和でも不飽和でも呈色反応は陽性であるが、ただ 1 個のプロトンでは、たとえおのおの 1 個ずつのプロトンがあっても、もはや反応は陰性である。また 12-, 6-, 7-および 1-Keton などは、他の部分の構造にもよるが、多くは陰性であり、グリコール基をもったステロイドも陰性である。

2,4-Dinitrophenylhydrazin と反応しないものは 11-Keton であるが、12-Keton も立体的理由から反応しない。また 1-Keton 類もテストした限りでは Hydrason を作らない。しかし隣接ジオール基をもったものは陽性である。

Triphenyl tetrazolium chlorid (TTC) では一般に分子中の還元基がわかる。-CO-CH(OH)-基をもつものはいずれも陽性である。

エクテゾンそのものは Zimmermann 反応は陽性である。したがって 2 位に置換した Δ^4 -3-Keton ではない。もし 2 位に 1 個の OH 基をもち、しかも Δ^4 -3-Keton 系ならば TTC 反応は陽性でなければならぬが、エクテゾンには還元力は認められない。

2,4-Dinitrophenylhydrazon とはゆっくりとしか反応せず、加温してはじめて反応するということから、 Δ^4 -3-Keton ではなく、6-あるいは 7-Keton の可能性が考えられる。

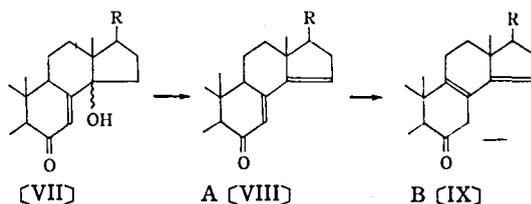
したがって今やエクテゾンにとって問題になるのは Δ^7 -6-および $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton である。エクテゾンの乾留脱水生成物は Zimmermann 反応は陽性であるが、紫外線吸収スペクトルで飽和ケトンを示しているから、脱水によって 6-あるいは 7-Keton に加えて新たに他のケトン基が生じたに違いない。

エクテゾン分子の反応⁹⁾

エクテゾンについて今までわかったことは、C₂₇ のステロイドでコレステリン側鎖を持ち、 α, β -不飽和ケトンで 5 個の水酸基をもつ。そして Δ^7 -6- あるいは $\Delta^{5(6)}$ -7-Keton で、1 個の OH は C₂₅ に、もう 1 個の OH は、後述のように生成的理由から C₃ にあると考えられる。これらの結果は数多くのモデル物質の物理化学的性質の比較によってえられたものであるが、官能基の位置についてはエクテゾン自身の化学反応によらねばならない。物質の量が極めて微量のためマイクロ実験しか行なわれなかったが、特に酸による転移生成物の研究は重要であった。

前に記したようにエクテゾンを酸で処理し、生成物をクロマトグラフで分けると 2 種の物質 A, B がえられる。スペクトルのデータから A は共役ジエノン、B は非共役ジエノンであり、質量分析によるといずれも 2 分子脱水して生じたものである。また A \rightarrow B の転移も可能である。1 分子の水は C₂₅ の第 3 級 OH の脱水により、他の 1 分子の水は環内の OH の脱水によるもので、後者の脱水の場合生ずる二重結合が、A の場合は既存のジエノンに共役であり、これは不安定で非共役ジエノン B に転移すると考えられる。一方エクテゾンは激しい条件で加圧下に接触還元しても、1 モルの水素を吸収するだけで、しかもスペクトルデータからみると、エノン系は飽和されていない。モデル物質でみると、このように不飽和ケトンの還元され難いものは Δ^7 -6-Keton 型のものにだけみられる。

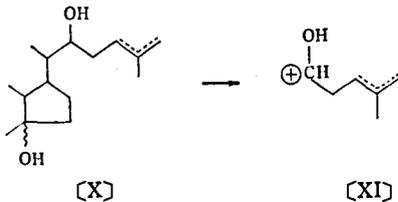
以上の実験結果および他の比較物質のデータから考えると、A は [VIII] の構造であり、これは二重結合が転移して非共役の IX となり、この際 B 環の張力がなくなって安定化するものと考えられる。したがって出発物質の第 2 の OH は VII のように Δ^4 でなければなら



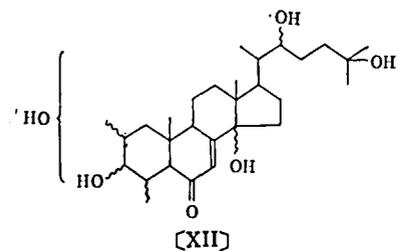
ぬ。この位置の OH は α, β にかかわらず不安定であることはよく知られたことで、接触還元するときこの OH だけが還元されるものと考えられる。この OH の位置は C₅ とも考えられようが、エクテゾンの接触還元の前後の紫外線吸収スペクトルの差に対する影響から考えて C₁₄ でなければならぬ。

C₂₂ の OH は質量分析の結果から推定された。エク

チゾンは燃焼分析および X-線による分子量測定からは一義的に $C_{27}H_{44}O_8$ (464) と定められたが、質量分析では、普通のイオン化条件ではすでに 1 分子脱水された質量数 446 のイオンから出始める。さらに第 2, 3 の脱水によって生じた物質のピーク、それにおのおのから質量数 15 だけ少ない分解物のピークが見られるが、第 4 級 C に結合したメチル基が容易に解裂することによるものであろう。最も強いピークは質量数 99 と 81 のピークであって、両者の差は 1 分子脱水に相当する。後者に対しては C_8H_8 、前者に対しては $C_8H_{11}O$ 、そしてこれらは 1 個の二重結合、あるいは 1 個の環をもっておらねばならぬ。ステロイドでは C_6 部分は A, B あるいは C 環からは不可能であるから、この分解物はもっぱら側鎖から由来したものと考えられる。そしてこれは次式のように C_{20} と C_{22} との間の切断によって生じたと考えるのが一番妥当である。



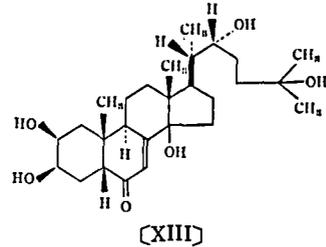
一方天然ステロイドはすべて C_3 の位置に酸素官能基をもっているから、エクチゾンもここに OH 基をもっていると考えてよからう。過剰酸化の結果では少なくとも 1 個のグリコール基をもつから、もう 1 個の OH は C_2 か C_4 位である。そして A 環の構造はエクチゾンの乾留生成物の Zimmermann-Test 陽性とも矛盾しない。したがってエクチゾンに対しては、まだすべての部分において完全ではないが、式 XII が考えられる。



X-線解析による構造研究^{4,8)}

以上記した化学的な構造研究とは独立に、Hoppe と Huber によりエクチゾン結晶の X-線による構造解析が行なわれた。その際彼らは重元素を含まぬ、そのままのエクチゾンの結晶を用いて研究した。その結果によると構造的特徴はすべて同じであり、それどころか

OH 基の位置と立体配座、炭素骨格の立体配座をも明らかにすることができた。彼らの研究によるとエクチゾンは 2 β , 3 β , 14 α , 22 β F, 25-Pentahydroxy-5 β -cholesten-(7)-on-(6) [XIII] である。



エクチゾンの生合成

よく知られているように昆虫はステリン核を生合成することはできない。しかしそれにもかかわらずステリンは昆虫にとって必須栄養分である。Clark と Bloch⁹⁾ (1959) の見解にしたがえば、ステロールは昆虫体内において 2 つの役割を果たしている。すなわち、代謝されるものと体構成成分になるものがあり、ステロールの種類によって分れて作用することができる。したがってエクチゾンはこれらステロールのある種のものから生合成されるのではないかということは当然予想されたことである。

実際エクチゾンが昆虫体内でコレステリンから生合成されることは Karlson と Hoffmeister¹⁰⁾ によって実験的に証明された。蛹化直前の、比較的多量のエクチゾンを含んでいると考えられるクロルリバエの幼虫 (5 \cdot 10⁻⁶g/匹) 1,000 匹に対し、高放射能活性の [H^3]-コレステリン (25 mC) 50 mg を 1 l に懸濁した液を注射し、36 時間後に殺して、以下既述の方法にしたがってエクチゾンの留分を分画濃縮し、最後の精製段階ではペーパークロマトグラフを利用し、エクチゾンと同じ R_F 値の所に 3.6 mg の抽出物をえた。これに普通のエクチゾン数 mg を加えて再抽出、比放射能の測定を行ない、0.97 \cdot 10³ カウント/分/mg をえた。この値は小さいが、上記のようにほんの一部のコレステリンだけがエクチゾンに変化されると考えればこの結果も満足以理解できる。このことによりエクチゾンがステロイドであるという化学的研究の結果が支持され、Clark らの見解をも証明したことになる。

結 び

永年の研究の結果、昆虫ホルモンの 1 つ、変態ホルモンについて、ついにその構造が完全に決定されたことは、ともかく特筆すべきことであろう。得られる物質の量が極めて少量のため構造研究の困難であったこ

とはいうまでもない。この構造研究においても、古典的な有機化学的手法の他に、X-線解析による構造研究も行なわれ、それらが同じ結果に達した。特にOH基の位置と立体構造の最後の決め手はむしろ後者の方であった。あとは合成による構造の確認が残されている。そしてその成功は学問的にのみならず、実際的な面においても今後多くの興味ある問題を提出し、昆虫ホルモン学の大きな発展の土台となることであろう。合成の成功が待望される。

文 献

1) E. Becker u. E. Plagge : *Biol. Zbl.* 59, 326 (1939).
 2) P. Karlson u. G. Hanser : *Z. Naturforsch.* 7b, 80 (1952).
 3) A. Butenandt u. P. Karlson : *Z. Naturforsch.* 9b, 389 (1954).

4) P. Karlson, H. Hoffmeister, W. Hoppe u. R. Huber : *Liebig's Ann. Chem.*, 662, 1 (1963).
 5) H. Hoffmeister, C. Ruber, H. H. Keller, H. Schairer u. P. Karlson : *Chem. Ber.* 98, 2361 (1965).
 6) H. Hoffmeister u. C. Ruber : *Chem. Ber.* 98, 2376 (1965).
 7) P. Karlson, H. Hoffmeister, H. Hummel, P. Hocks u. G. Spitteller : *Chem. Ber.* 98, 2394 (1965).
 8) W. Hoppe u. R. Huber : *Chem. Ber.* 98, 2353, 2403 (1965).
 9) A. I. Clark u. K. Bloch : *J. biol. Chemistry.* 234, 2583 (1959).
 10) P. Karlson u. H. Hoffmeister : *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 331, 298 (1963).

抄 録

珪素含有カーバメート殺虫剤

Silicon-Containing Carbamate Insecticides.
 R. L. METCALF and T. R. FUKUTO, *J. econ. Entom.* 58, 1151, 1965.

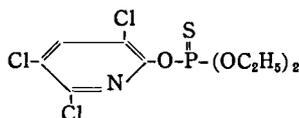
DDT やディールドリンのような塩化炭化水素は持続性があり、動物体内に残ったり、ミルクに移るのでその影響が注目されている。生体内で速かに分解される殺虫剤が要望され、その一つとして有機珪素化合物が合成された。供試化合物は *o*-, *m*-, *p*-trimethylsilylphenyl *N*-methylcarbamates で、イエバエおよびアカイエカ幼・成虫に対して殺虫試験を行なった。*m*-異性体は最も効力が強く、特にアカイエカ幼虫に対しては LC_{50} 0.25 ppm, 成虫には LC_{50} $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ であった。イエバエに対しては単独では LD_{50} $>500 \mu\text{g}/\text{g}$, ピペロニールブトキサイド混用では $17 \mu\text{g}/\text{g}$ であった。

(石井象二郎)

新殺虫剤 Dursban

Laboratory tests with Dursban Insecticide.
 E. E. KENAGA, W. K. WHITNEY, J. L. HARDY and A. E. DORY, *J. econ. Entom.* 58, 1043, 1965.

Dursban は Dow 社で開発した有機リン殺虫剤で次の構造である。本殺虫剤はイエバエ、ゴキブリ類貯穀



害虫類、アブラムシ、ハダニ、カ、各種りん翅目幼虫など広範囲の昆虫に効力があり、残効が長い。酸・アルカリに対してもかなり安定である。

(石井象二郎)

昭和41年2月25日 印刷 昭和41年2月28日 発行

防虫科学 第31巻-I 定価 ¥ 500.

個人会員年1000円 団体会員年2000円 外国会員年U.S.\$6

主 幹 武居三吉 編集者 石井象二郎
 京都市左京区北白川 京都大学農学部

発行所 財団法人 防虫科学研究所
 京都市左京区吉田本町 京都大学内
 (板替口庵・京都 5899)

印刷所 昭 和 印 刷
 京都市下京区猪熊通七条下ル