

Résumé

The synergistic effect of various synthetic synergists on 1-naphthyl *N*-methylcarbamate (Sevin) were evaluated by the knock down and lethal reaction of larvae of the common house mosquito, *Culex pipiens pallens* by means of petri dish method. Sevin-synergist ratio in synergized emulsion were on the whole 1:8, and the degree of synergism was calculated from median knock down time or median lethal concentration by probit method.

All synergists tested were synergistic on knock down of the insect, and the degrees of synergism of piperonyl butoxide, sulfoxide, MGK-F5026, safroxan and *n*-propyl isome were 1.61, 1.61,

1.46, 1.31 and 1.30, respectively. The synergistic effect of various synthetic synergists on knock down effectiveness of Sevin against the insect were same degree as in the case of pyrethrins, and higher than that of barthrin or dimethrin.

All synergists tested were synergistic on lethal effectiveness of Sevin against the insect and the degrees of synergism of *n*-propyl isome, sulfoxide, safroxan, piperonyl butoxide and MGK-F5026 were 4.92, 4.28, 3.49, 3.31 and 1.69, respectively. In general, the combination of Sevin with various synthetic synergists shows higher order of synergism on lethal effectiveness than the similar combination of pyrethroids such as pyrethrins, allethrin, barthrin or dimethrin.

抄 録

昆虫ホルモンの化学と生化学

Chemie und Biochemie der Insectenhormone.

P. Karlson. *Angew. Chem.* 75, 257 (1963)

昆虫においては高等動物にみられるような第二性徴を表わす性ホルモンに相当するものはないが、特に変態過程に作用するホルモンが昆虫ホルモンとして知られている。もっともよく研究されているのは変態ホルモンのエクチゾン(Ecdyson)であって、最近の研究によるとそれは $C_{27}H_{48}O_6$ の式をもつステロイド系の物質である。これは染色体に影響を及ぼすことがその作用機作の基礎となっていると考えられる。他のホルモン類似物質、フェロモンは特に高い生物活性をもっており数分子の作用でも特徴ある生物反応を示す。

昆虫変態のホルモン支配

昆虫はいわゆる変態を行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、羽化の過程は多くのホルモンによって支配されている。それはまず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次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なくてもよい。脱皮ホルモンだけで作用する。

前胸腺ホルモンはまた、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、などと

も言われるが、ここではエクチゾンと呼ぶ。アラタ体のホルモンは、幼若ホルモン、(ジュベニルホルモン)あるいは、ネオテニン、とも呼ぶ。さらに前胸腺刺激ホルモンは、脳ホルモン、とも呼ばれている。若い幼虫からアラタ体を取り去ると、すでに次の脱皮が蛹化—あるいは不完全変態のときは羽化—ということになる。アラタ体を埋めこむと、生長した幼虫はもう一度脱皮して幼虫となる。蛹の場合もまた蛹となる。

脳ホルモン

脳がホルモン腺として役立つということはすでに比較的古くから研究されているが、その有効物質の抽出はやっと最近になって行われた。小林等はカイコの脳のエーテル抽出物があるホルモン作用をもつことをみとめ、それから活性のある結晶性の物質を単離したが、それはコレステリンであると同定した。しかしコレステリンは以前すでにカイコから単離されたものであり、それはとくに比較的多量に蛹にふくまれている。このことは普通の意味のホルモンであるということと相反している。もし彼等の単離したコレステリンが極く少量の高度に活性なホルモンを不純物としてふくんでいるのでなければ、おそらくコレステリンが他の作用物質、すなわちエクチゾンに変化されると解釈せねばならないであろう。昆虫はコレステリンあるいは他のステロイドを必須栄養分としてとり、体内ではsqualenの段階で破壊されて生合成されない。ホルモンは元来有機体自身によって作られるはずのものである。

Schneidermann は昆虫組織のリポイド抽出物中に脳ホルモン活性および幼若ホルモン活性のあることを見出したが、これを濃縮することは行わなかった。

一方市川等は反対に水溶性の抽出物中に活性を見出したが、まだ純粋の物質の単離には至っていない。同じく Gersch も水溶性部分から脳ホルモン活性物質をえたが、その化学的研究は十分には進んでいない。

脳ホルモンの生理活性は前胸腺の刺激ということである。

エクチゾンの化学

前胸腺ホルモン物質の抽出については最初 Becker と Plagge が行った。彼らはある生物テスト法を發展せしめたが、著者等はこれを改良し、Calliphora-Test (クロルリバエ試験) として定量的に扱えるようにした。

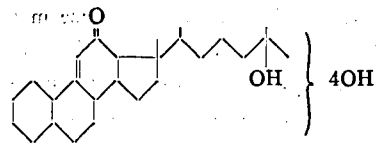
この方法を頼りにして著者等は1954年前胸腺ホルモンを純粋に結晶の形として単離した。その際 $20 \cdot 10^6$ 倍も濃縮することが必要であった。すなわち 500kg の蛹から結晶性ホルモンとして 25mg をえた。

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へ導くことが困難であった。分子量は種々の方法で測定したが、最終的には質量分析の助けで決定せられ、分子式は $C_{27}H_{44}O_6$ が正しい式となった。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。

1960年の秋著者等は新しいやり方によって全部で約 200mg 以上のエクチゾンをえたが、これ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いため多量の物質を犠牲にせねばならない。著者等の場合わずかに 30mg をそれにあてることができたが、辛うじて芳香族炭化水素の溜分をうることができた。これは薄層クロマトグラフで分離した。このものは紫外線吸収スペクトルでは Naphthalin 誘導体であるが、この他に Phenanthren のスペクトルをもつ溜分も単離せられた。標準物質とペーパークロマトグラフ法で比較してこの溜分に Methyl-cyclopentanophenanthren および 3,3-Dimethyl-cyclopentanophenanthren 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せられた。

官能基としてエクチゾンには二重結合と共役したケトン基および5つの水酸基がある。紫外、赤外、核磁気共鳴から多少の確実性をもっていることは、ケト

ン基は12の位置にあり、二重結合は C_9 と C_{11} との間にあるということである。水酸基の1つはおそらく側鎖の C_{25} にある。このようにしてエクチゾンの暫定的部分構造式は次のようであることがわかる。



他の水酸基の位置についてはまだわかっていない。それよりも上記の式をさらに決定的にする必要がある。

エクチゾンの生合成について

エクチゾンの生合成についてはまだ知られていないが、おそらくコレステリンから作られるのであろう。実際昆虫はステリン核を合成することができない。しかしコレステリンがエクチゾンに変化することの実験的証明は今行われつつある。

ステリンが昆虫にとって必須栄養分であるという事から上述のように「脳ホルモン」がコレステリンと同一ではないかということが考えられたが、摂取されたコレステリンの極く少量だけがエクチゾンに変化され、大部分は細胞内で哺乳動物細胞におけると同じような機能を果しているということが考えられる。同様の考え方はカツオブシムシにおいてコレステリンは95%まではシトステリンで代用されるがコレステリンのある最少量は必要であって、シトステリンあるいは類似ステロイドでは代用されないことを確めた。

脳ホルモンがエクチゾンの生合成前駆物質であるともみなされた。これに対する2,3の実験的支持もあり、小林等のいうコレステリンが脳ホルモンとしての生理的作用をもつという見解も理解されるが、何れにせよこのような物質はホルモンとはみなされないであろう。

多くの昆虫はシトステリンおよびスチグマスチリンをコレステリンに変化することができる。化学的にいって個々の methyl あるいは ethyl 基を分解することはステロイド分子へのOHの導入よりもずっと理解しがたいものであるが、生体内ではこれが可能なのである。

染色体に対するエクチゾンの影響

エクチゾンの生理作用として非常に興味あることはこれが遺伝物質に対して直接影響をもっているということである。すなわちそれはゲンの一定の位置を活性化する。この発見はホルモンの作用について一般的見

解をうるのに重要である。昆虫には一定の大きな巨大染色体をもっているものがあり、これを用いて正確に研究すると、感応して活性になると“puffs”（膨潤）し、それが顕微鏡的に観察されるのである。そして放射性同位元素を用いた実験で膨潤した帯にはリボ核酸の合成されるということが証明された。

著者らはエクチゾンが遺伝子座において“puffing”現象を起すということを見出した。この作用は非常に速かに起るもので、注射後15～30分で唾液腺プレパラートで遺伝子座の変化を顕微鏡で観察することができる。その上反応は非常に鋭敏であって極く少量のエクチゾン（1/1000 *Calliphora* 単位、あるいはそれ以下 10^{-6} mg）で十分である。

この効果はどんな意味をもっているか。有機体の多くの特徴は遺伝的に決められるものであるが、それに属するものとしては昆虫では幼虫、成虫の色、および形の特徴があり、また多くの場合脱皮の数などがある。この特徴の情報は染色体の中にあって、しかもそれは成育のある一定の段階においてのみ機能を発揮する。一定の発育段階にみちびくホルモンがその時点において必要となる遺伝的情報をある程度ひき出すということは非常に意味のあることのようにみえる。生化学的にもまた細胞核に関するホルモンの作用はよく理解される。今日デノキシリボ核酸（DNS）はタンパクの生合成において重要な機能を果していることは知られているが、それはタンパクのアミノ酸配列順序に関する情報をになっている。最近このことは多くの例によって示されている。DNSの鎖には特別のリボ核酸（RNS）が形成されるが、これはいわゆる情報—あるいは鋳型 RNS（メッセンジャー RNA）であって、リボゾームと結合しており、そこでタンパク合成があらわられているのである。

ホルモンが一定のタンパク（酵素タンパクも含めて）の合成を刺激するということは多くのホルモンについて知られている。ホルモンがどのようにしてタンパク合成の機構の中にいりこんでゆくかについてはいろいろ

ろと考えられる。もしそれが一定のタンパク質の合成を刺激するのであれば、情報がさらに与えられるようなある1つの場所において作用するにちがいない。もっとも簡単な考え方はそのホルモンが特別の RNS の合成をあらわすという考え方であり、これは puffs の形成のとき観察されたことである。

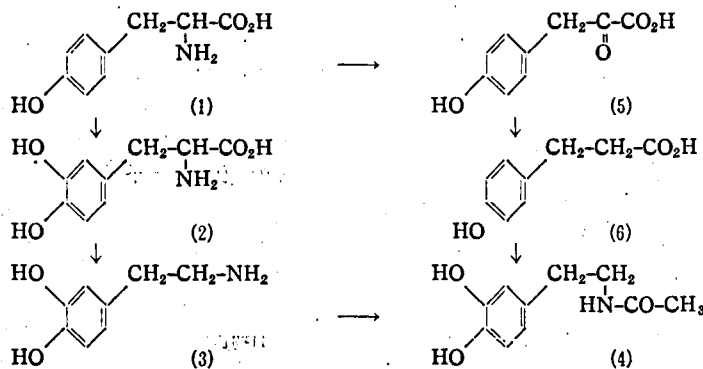
エクチゾンと昆虫のチロシン代謝

エクチゾンはまた一定の酵素活性を刺激する。このことはクロルリバエ（*Calliphora erythrocephara*）の例で示することができる。このクロルリバエ試験（*Calliphora-Test*）というのはホルモンがハエの幼虫のくびった部分を蛹化することに基づいている。この際暗褐色の色素のクチクラ層が生ずるのであるが、これは蛹の時代の保護の役目を果すのである。この外皮は最後の幼虫クチクラからある化学的過程によって生じてくるのであって、それは皮の製造の時のキノン様によく似ている。Phenoloxylase の作用で O-Chinon を生ずるが、それはクチクラのタンパクを網状化する。この経過の全体を硬化（Sklerotisieren）という。

この硬化という現象は比較的簡単で、しかもホルモン支配の形態遺伝学的反応でそれを生化学的に理解できる例であるから、トレーサー法で基礎過程を研究した。まずクチクラにはチロシン代謝物がとりこまれる。そしてチロシンおよび Dihydroxy-phenylalanin（Dopa）はいずれも硬化キノンの前駆物であることがわかった。しかしヒドロキノンはとりこまれない。

硬化物質は N-Acetyldopamin と考えられているが、その代謝系路は次のようである。

チロシン(1)は酸化されて Dopa(2)となり、ついでこれは脱炭酸される。Dopa-decarboxylase は最近高度に精製された形で単離された。Dopamin(3) はすぐに Acetyl-CoA の作用でアセチル化され、生成した N-Acetyldopamin(4) がクチクラの中で酸化されてキノンになり、このキノンはタンパク質と反応するが、そ



の機構はわかってはいない。N-Acetyldopamin の一部はおそらく Glykosid へ転化するためこの反応の系外に出されると考えられる。昆虫は哺乳動物とはちがってフェノールなどを Glykosid に変えることができる。なおチロシンには別の代謝系路があって p-Hydroxyphenyl-brenztranbensäure(5) をへて、p-Hydroxyphenyl-propionsäure になる系路がある。そしてさらに複雑な変化をへて種々のものになるのである。

エクチゾンの作用機作について次の様な発見が重要である。エクチゾンを注射すると Decarboxylase 活性が高くなる。このことは新しい酵素タンパクが生成されることを意味し、エクチゾンが酵素生成の原因になる遺伝子座に作用すると考えられるのである。

チロシン代謝にはエクチゾンで支配されるもう1つの酵素がある。すなわち Phenoloxylase 複合体の活性化酵素である。Horowitz および Fling によるとハエの Phenol-oxylase はまず Proenzym として不活性な形で存在しており、これは Aktivator-enzym の働きによってはじめて活性のある Phenoloxylase に変化される。硬化の場合のエクチゾンの作用と考えあわせて、著者等は Phenoloxylase 系に対するホルモンの影響を研究した結果 Aktivator-enzym はホルモンによって支配されるということがわかった。輪状腺(ホルモン分泌器官)を破壊すると活性は減少する。しかしエクチゾンを注射するとカーブは再び急激に上昇する。著者等はこの効果は酵素タンパクが新しく形成されるためと考え、その原因はホルモンが一定のゲンに対して影響を与えるためであると考えている。

要するにクロルリバエ幼虫の蛹形成はホルモン作用を生化学的に研究したよい例である。それはチロシン代謝の方向変換に帰せられるのであって、新しい反応生成物として N-Acetyldopamin が生じ、これはクチクラ中あるいは表皮細胞の中で Chinon に酸化される。これはただちにクチクラタンパクと一種のキノン様形の形で反応する。代謝の方向変換に 2,3 の酵素が新しく合成されるためであり、おそらくエクチゾンは一定の遺伝子座の活性化に作用するのである。そしてそれによってタンパク合成が進行するのである。

幼若ホルモン

生化学的研究の結果(1936~1940)アラタ体に内分泌機作のあることがわかったが、ホルモン作用物質を抽出しようとする研究は長い間成功しなかった。しかし Williams がセクロピア蛾(雄)の背中に幼若ホルモンが沢山ふくまれていること、および有用なテスト器官としてセクロピアの休眠蛹を利用できることを見出し、以来、このものを濃縮単離しようとする研究が進め

られた。しかし今の所高度に濃縮された抽出物がえられたという詳しい報告はない。したがって幼若ホルモンの化学的性質については何もわかっていない。ただ Schmialek はゴミムシダマシの糞が幼若ホルモン作用をもっていることに着目して実験を行い、その抽出物中に Farnesol および Farnesal のあることを見出し、これがある種の幼若ホルモンの作用をもっていることを見出した。天然の幼若ホルモンが Farnesol あるいはその誘導体と同一のものであるか否かについてはわかっていないが、ともかくセスキテルペンがある程度「合鍵」であり、偶然生物活性をもっているということが考えられる。

他の昆虫ホルモン

昆虫にはなお 2,3 のホルモンがある。まだ純粋な形では単離されていないけれども比較的良好に研究されたものにカイコ蛾の休眠ホルモンがある。このものの有効物質の抽出は 1953 年長谷川が報告している。これは胚が卵の中で発達することを決定する作用をもっている。もっと興味あることは内発性周期もまだ物質によって条件づけられるということである。コバネゴキブリは昼と夜の周期性をもっていて、口中は動かないでかくれているが、夜になると動きまわられる。この長さは日照時間が変わっても保たれている。神経組織を移植することによって試験動物に新しい周期性を与えることができる。同じことは抽出物を注射することによってもできる。

もう一つのホルモンは一定の器官(腸、マルピギー氏管、心臓の血管等)の運動を活動化せしめるもので、このものもまた一定の神経組織で作られる。そしてそれに対して Aminophenol の性質をもった物質が証明せられた。同じようなホルモンとして色素胞に作用するホルモンがある。しかしこのものの化学的性質については何もわかっていないし、えられる物質もわずかである。

フェロモン

Karlson および Lüscher は或種の個体間の伝達を媒介する物質をフェロモンと定義し、本来のホルモンと区別した。したがってフェロモンは本来の表題からはずれるものであるが、昆虫についてはよく研究されているので例を 2,3 挙げる。

フェロモンの最もよく知られた例は蛾の性誘引物質である。それは雌の生殖器で生産され、非常にかけはなれた距離においても作用して雄をひきつけるものである。最初に結晶としてえられたフェロモンはカイコガの誘引物質であって、Butenandt およびその協同研究者により研究されたものであり、Bombykol と名づ

けられた。50万匹以上の雌から約 10mg えられたにすぎない。それは一種のアルコールであって、10-trans-12-cis-Hexadecadien-1-ol である。これはすでに数分子の濃度でも雄の触角に作用して誘引作用を起す。性誘引物質以外にフェロモンに属するものとしては、ミツバチの女王蜂物質 $\Delta^2,9$ -Oxa-decen-1-säure とか、アリ、シロアリ、ミツバチの道しるべ物質 (Spurmarkierungsstoff) がある。 (富田 一郎)

ワモンゴキブリの性誘引物質の単離と構造決定

Isolation and Identification of the Sex Attractant of the American Cockroach.

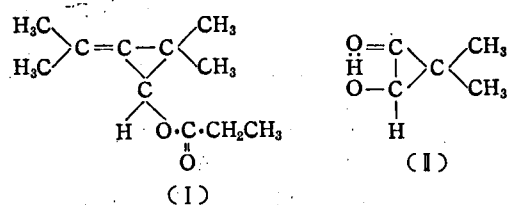
Martin Jacobson, Morton Beroza and Robert T. Yamamoto. *Science*, 139, 48 (1963)

未交尾の雌ワモンゴキブリ *Periplaneta americana* (L.) は雄に対して強い興奮と特徴のある翅を上げる運動を引き起す誘引物質を出す。Wharton 等 [Science, 137, 1062 (1962)] は多くの雌の成虫が這い廻った紙から 28 μ g の純粋の性誘引物質を得たが構造を決定するに至らなかった。

著者等は他の方法でより純粋な活性物質を多量に得ることが出来た。多数の未交尾の雌成虫を入れた金属容器中を通した空気を少量の 0.1%-HCl を入れドライアイスで冷却したフラスコ中に導き凝縮させる。ここで得られた凝縮液を hexane で抽出、濃縮して黄色の半固体物質を得た。これを珪酸でクロマトグラフし、10% の ether を含む hexane で溶出する部分に活性の高い黄色油状物質が得られる。これを更に水蒸気蒸溜して純粋の誘引物質を得た。ここで得た純粋の物質 12.2mg は約 10,000 匹の雌虫から 9 ヶ月間搾取した量に相当し、特有の香気をもった油状物質で、 10^{-14} μ g 以下で雄に反応を起させる。

この物質はガスクロマトグラフで単一ピークを示し、元素分析値は $C_{11}H_{18}O_2$ に相当し、旋光度は持たず、紫外部に吸収を示さない。赤外吸収スペクトルによると ester であり、isopropylidene 基を持つことが判る。2.2mg の誘引物質を PtO_2 で水添すると 1.1mole の水素を吸収し不活性の油状物質を生ずる。この物質の IR は isopropylidene 基の消失と isopropyl 基の生成を示す。誘引物質は hydrogenolytic chromatography により ethane と 2,2,4-trimethylpentane を生ずる。N.m.r. スペクトル (60mc/sec) は 75.5cy/sec に 6proton, 140.5cy/sec に 1proton の吸収を示す。2.2mg の飽和化合物を alkali 加水分解すると、当量 182 を示し 1.5mg の液体第二級 alcohol と propionic acid を生ずる。4mg の誘引物質を periodate-perma-

nganate 試薬で酸化すると propionic acid, acetone 及び 2.2mg の中性物質 (他のデータから II と考えられる) を得る。この中性物質を更に periodic acid で酸化すると dimethylmalonic acid を生ずる。以上のデータから誘引物質の構造は I であると結論された*。



I の構造はこの dihydro- 化合物を次の方法で合成して確認している。即ち 2,4-dimethyl-2-pentene と diazoacetate から 2,2-dimethyl-3-isopropylcyclopropanecarboxylic acid を合成し四酢酸鉛とヨウ素で 2,2-dimethyl-1-iodo-3-isopropylcyclopropane とし silver propionate を作用させ dihydro-I を得た。 (杉田 利夫)

ホタルの発光物質 luciferin の構造と合成

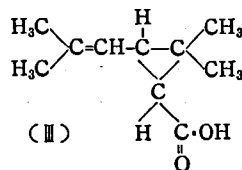
The Structure and Synthesis of Firefly Luciferin.

E. H. White, F. McCappa and G. F. Field
J. Am. Chem. Soc., 85, 337 (1963)

種々の生体発光 bioluminescence の研究はこれ迄永年にわたって行われてきたが、一般に生体発光は酵素 luciferase の作用により酸化されやすい物質 luciferin と酸素の反応によって生ずることが明らかにされている。著者はアメリカホタル *Photinus pyralis* の luciferin の構造を決定し、又その合成に成功した。

ホタルの luciferin は精製することが困難で、非常に少量しか得られないため (本研究では全部で僅か 30mg の物質が使用できた) 元素分析は一つの例外以外は行わなかった**。

* 訳者註。この構造がピレトリンの構造、即ち第一菊酸 (III) の ester と非常に良く似ているのは興味あることである。



** 前報で luciferin に対して $C_{13}H_{12}N_2O_3S_2$ の分子式が得られているがこれは結果的には間違いで $C_{11}H_{18}N_2O_3S_2$ であった。