

モデル生物カイコを用いた殺虫活性物質の高感度検出法の開発 及び殺虫活性を指標とした誘導体の合成

感染制御科学専攻 創薬科学履修コース 細胞制御科学

DI-21004 近藤 直純

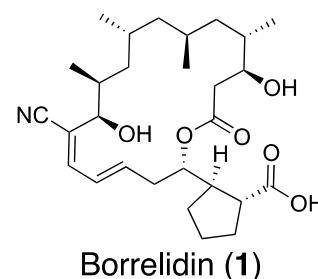
・カイコ初齢幼虫を用いた天然殺虫活性物質の高感度検出法の開発

同一系統の殺虫剤を連続使用することで起こる農業害虫の殺虫剤耐性化が深刻な問題となっている。殺虫剤耐性化を回避する戦略として、作用機序が異なる殺虫剤のローテーションが推奨されており、農業害虫に有効な新規作用の殺虫剤開発が求められている。農業害虫の中ではチョウ目昆虫の殺虫剤耐性化が最も多く、難防除害虫に指定されるコナガ・オオタバコガ・ハスモンヨトウ等のガ類害虫に対し有効な新規作用の殺虫剤開発は急務である¹⁾。しかし、ハスモンヨトウを用いた殺虫剤候補化合物探索の先行研究においては、スクリーニングのヒット率が低く、antimycin 類や concanamycin 類のようなフリークエントヒット化合物が頻出するため、有望な殺虫剤候補化合物を見出すことは困難であった。この原因として、ガ類害虫は複合要因により殺虫剤感受性が著しく低く、スクリーニングサンプルに含まれる微量な殺虫活性成分を検出できないために殺虫剤探索を困難にしていると考えられる。

本研究では、上記の課題を解決するため、ガ類昆虫のモデル生物であるカイコが他のガ類害虫と比較して殺虫剤感受性が高いことに着目した²⁾。殺虫剤感受性が高いカイコを用いることで、ガ類害虫に対する殺虫剤候補としての潜在的価値を有する化合物を探索できると考えた。そこで、ガ類害虫に有効な新規作用の殺虫剤を開発するための研究基盤を構築することを目的に、カイコ初齢幼虫を用いた高感度殺虫活性試験系（カイコ試験系）を新たに開発し、ガ類害虫の殺虫剤探索モデルとしての有用性を検証した。作用機序や標的害虫種が異なる殺虫剤 26 物質を用いてカイコとハスモンヨトウに対する殺虫活性を比較した結果、カイコはハスモンヨトウと比較して最大で約 300 倍もの高い薬剤感受性を示した。一方で、ガ類害虫に効果がない殺虫剤ではカイコとハスモンヨトウのどちらも正常に生育した。すなわち、カイコはハスモンヨトウなどのガ類害虫と殺虫剤選択性が相関することがわかった。この結果から、カイコ試験系において殺虫活性を示す化合物は、ガ類害虫に対する殺虫剤候補化合物としての潜在性を有すると考えた。次に、カイコ試験系を用いて新規作用の殺虫剤候補化合物を見出すため、微生物由来の生物活性物質を多数収録した大村天然化合物ライブラリーから 724 物質を用いてスクリーニングを行った。その結果、殺虫剤としての開発実績がない作用機序として、threonyl-tRNA 合成酵素阻害活性を示す天然化合物 borrelidin (1) がカイコに対して強い殺虫活性を示し、難防除ガ類害虫（コナガ・オオタバコガ・ハスモンヨトウ）に対して潜在的な殺虫活性を示すことが明らかとなった。これらの結果から、カイコ試験系を通じてガ類害虫に有効な新規作用の殺虫剤候補化合物を見出す事は可能だと示唆された (Kondo *et al.*, *ACS Agric. Sci. Technol.* **2023**, 3, 278–286.)。

・ Threonyl-tRNA 合成酵素阻害剤 borrelidin の殺虫活性を指標とした誘導体合成

前項において、殺虫剤としての開発実績がない threonyl-tRNA 合成酵素阻害活性を示す殺虫剤候補化合物 borrelidin (**1**) を見出した。天然物 **1** は抗細菌、抗真菌、抗マラリア、抗血管新生、除草活性と様々な生物に対し阻害活性を示すことが知られている。よって、**1** を創農薬リード化合物とするためには、ガ類害虫に対する殺虫活性を増強し、広範な生物種に対する生物活性を減弱させることが求められる。天然物 **1** の誘導体



合成において、砂塚らの先行研究では、クリックケミストリーを利用した誘導体合成によって、抗マラリア活性の約 30 倍の増強、およびヒト細胞毒性の約 80 倍の低減を達成している³⁾。この成功例を参考に、**1** の殺虫活性および選択毒性の向上を目的とした誘導体の合成研究を実施した。

天然物 **1** の殺虫活性における構造活性相関を明らかにするため、水酸基やジエン部位、ニトリル基、カルボン酸部位を誘導化し、殺虫活性における **1** の構造活性相関を検証した。その結果、カルボン酸部位の修飾は殺虫活性に許容された。そこで、先行研究を参考にカルボン酸部位のプロパルギル化に続くクリックケミストリーを介した誘導体合成に着手した。クリックケミストリーの基質とするプロパルギル体については、殺虫活性に適した誘導体を選択するため、プロパルギルエステル、プロパルギルアミドエステル、プロパルギルチオエステルをそれぞれ合成し、殺虫活性を比較した。その結果、プロパルギルチオエステルは殺虫活性を比較的に維持することがわかった。この結果から、プロパルギルチオエステル誘導体を、クリックケミストリーを利用した誘導体合成の基質として選択した。

各種アジド試薬を用いた CuAAC 反応により、トリアゾールチオエステル型誘導体 15 化合物を合成し、殺虫活性を評価した。合成したトリアゾール誘導体 15 物質の中で、triazole benzoic acid **9d** および triazole uridine **9o** はカイコに対し ED₁₀₀ = 3 ppm と、**1** と同等の殺虫活性を示した。そこで、誘導体 **9d** および **9o** を用い、難防除ガ類害虫ハスモンヨトウに対する殺虫活性、ならびにヒトがん細胞 (A549 株、MDA-MB-453 株) に対する毒性を測定した。その結果、**9d** は **1** と同等のガ類害虫に対する殺虫活性を示しながら、細胞毒性が約 7–20 倍減弱することが明らかになった。これらの結果は、新規作用の殺虫剤候補化合物 borrelidin (**1**) の殺虫活性の向上と、さらなる選択性向上に貢献する成果だと考えている (Kondo *et al.*, *ACS Agric. Sci. Technol.* **2023**, 3, 648–656.)。

以上の成果から、本研究ではガ類害虫に有効な殺虫活性候補化合物の高感度検出系としてのカイコ試験の有用性を実証し、borrelidin (**1**) の殺虫活性の維持および選択性向上に寄与する知見を得ることが出来た。