

氏名(国籍)	バナアグ アレクシー (フィリピン)		
学位の種類	博士(農学)		
学位記番号	博乙第1,492号		
学位授与年月日	平成11年3月25日		
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当		
学位論文題目	BIOLOGICAL AND CHEMICAL STUDIES OF TOXIC PLANT CONSTITUENTS FROM <i>DIOSCOREA HISPIDA</i> SCHLUSSEL FOR REGULATING INSECT PESTS (害虫制御のための <i>Dioscorea hispida</i> Schlusssel に含まれる有毒成分の生物学的及び化学的研究)		
主査	筑波大学教授	農学博士	正野俊夫
副査	筑波大学教授	農学博士	金井幸雄
副査	筑波大学教授	農学博士	鈴木隆久
副査	筑波大学助教授	農学博士	本田洋

論文の内容の要旨

近代農業における有機合成殺虫剤の発達とそれらの使用に伴う諸問題と総合的害虫防除における殺虫剤の有効利用の点から、近年では天然生理活性物質の利用が注目されている。特に昆虫の行動や生理に影響を及ぼす熱帯植物の持つ多様な二次成分の利用が考えられ、多くの植物成分の害虫制御物質としての効果が評価されつつある。*Dioscorea hispida* Schlusssel (ミツバドコロ) は熱帯アジアに分布するヤマノイモ科に属し、救荒植物として利用されるが、その塊根部は有毒である。フィリピンではこの塊根部の磨碎汁に石灰と石鹼を加えた混合物が農業害虫の防除に伝統的に用いられてきたが、その有効成分と昆虫に対する生理作用の詳細についてはこれまで全く知られていない。本研究では同植物の害虫駆除の効果に着目してその作用特性を解明し、有効成分の単離・同定を行うとともに活性成分の作用機構を検討して以下の結果を得た。

アブラナ科の主要害虫であるコナガ幼虫に対する摂食阻害活性の有無をキャベツ葉を用いた生物試験法により確認し、*D. hispida* の塊根部のメタノール抽出物中の活性画分を追跡した。メタノール抽出物中のエーテル可溶部と水溶性部の両者に阻害活性が認められた。水溶性部では塩基性画分に阻害活性が存在し、この画分中の活性成分の分離精製を行った結果、二種類のアルカロイド(A, B)が単離された。アルカロイドAとBはいずれも50 $\mu\text{g/ml}$ 以上の濃度でコナガ幼虫の摂食を強く阻害した。また両者の天然混合比混合物はさらに低い濃度である25 $\mu\text{g/ml}$ でも摂食阻害活性を示した。さらに両アルカロイドで処理された餌を連続的に与えられたコナガ幼虫では、単独では摂食阻害活性を示さない濃度において幼虫の発育にともなう体重増加を抑制するとともに発育の遅延をもたらした。同様の効果は両アルカロイドを植物体に吸収させた試験においても観察された。同アルカロイドはコナガ幼虫および蛹に対しても強い殺虫活性も示し、半致死濃度(LC₅₀)アルカロイドAで25.6 $\mu\text{g/ml}$ 、アルカロイドBで31.9 $\mu\text{g/ml}$ であった。これらのアルカロイドの構造はMS, IR, ¹H NMR, ¹³C NMR, C-H COSYの分析結果および既知物質の各スペクトルデータとの比較からいずれもイソキヌクリジンアルカロイド類のdioscorineとdioscorine N-oxideと同定された。

一方、エーテル可溶部の摂食阻害活性成分はベンゼンによりシリカゲルカラムから溶出された。さらに成分を分取TLC法で分画した結果、これらの分画のうちの3画分には発育阻害活性と殺虫活性も認められ、殺虫活性のLC₅₀値はそれぞれ12.5 $\mu\text{g/ml}$ 、56.7 $\mu\text{g/ml}$ 、80.3 $\mu\text{g/ml}$ であった。またいずれも前述のアルカロイドと混合したときには単独の場合よりも低い濃度で幼虫の摂食を有意に阻害した。これらの3画分をGC-MS, MS,

IR, ^1H NMR および ^{13}C NMR で分析した結果, Fr. 11の主成分はフタル酸エステル, Fr. 12の主成分は脂肪酸エステルと推定され, さらにFr. 13の主成分はメチル化物およびそのピロリジン誘導体化物についての各種スペクトル分析から (9Z, 14Z) -octadecadienioc acid と同定された。

分離同定された2種類のアルカロイドと神経作用性殺虫剤である nicotine, dichlorvos および cartap をアワヨトウ幼虫に注射し, それらに対する中毒症状を比較した。Nicotine と dichlorvos による中毒症状は痙攣を伴う体筋肉の収縮であったのに対して, dioscorine と dioscorine *N*-oxide を注射された幼虫は cartap と同様に痙攣後に体筋肉が弛緩して死亡した。Cartap は神経興奮を抑制するので, dioscorine と dioscorine *N*-oxide は神経系を抑制的に阻害すると考察された。

以上の結果から, *D. hispida* の塊根の昆虫に対する毒性はアルカロイド成分の dioscorine, dioscorine *N*-oxide と不飽和脂肪酸である (9Z, 14Z) -octadecadienioc acid によるものであることが明らかにされ, dioscorine あるいは dioscorine *N*-oxide の中毒機構が神経系への抑制阻害であることが示された。さらに *D. hispida* の昆虫に対する毒性が全く構造の異なる複数の有毒物質に起因することは, 化学生態学的に同植物が昆虫を含む植食性動物に対するより効果的な化学的防衛手段を発達させていると考えられた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は熱帯アジアで農業害虫防除に伝統的に用いられてきた野生ヤマノイモ *Dioscorea hispida* Schlusel (ミツバドコロ) の効果に着目してその作用特性を解明し, 有効成分の単離・同定を行うとともに, 活性成分の作用機構を検討することを目的に行われた。アブラナ科の主要害虫であるコナガ幼虫に対する摂食阻害試験により, 同植物塊根部の水溶性部とエーテル可溶部の両者に摂食阻害活性があることを発見し, 前者から二種類のアルカロイド, dioscorine と dioscorine *N*-oxide, さらに後者から不飽和脂肪酸である (9Z, 14Z) -octadecadienioc acid を活性成分として同定した。これらの化合物はいずれも既知物質であったが, その生理活性について昆虫に対する摂食阻害, 発育阻害あるいは殺虫活性の存在を明らかにしたことは新しい発見である。また上記二種のアルカロイド成分の神経系への作用機作が, 従来は乳動物における毒性から考えられていたものとは異なることを示唆したことも評価される。

以上, 野生ヤマノイモ (ミツバドコロ) の昆虫に対する生理阻害活性の特徴を解析し, 有毒成分を分析化学的に明らかにしたことは, 本植物を用いた伝統的な害虫防除の科学的理解を可能にするばかりでなく, 天然物を利用した今後の害虫防除技術の発展において基礎ならびに応用の両面から高く評価される。

よって, 著者は博士 (農学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。