

学会受賞論文

(奨励賞)

昆虫脱皮阻害剤の定量的構造活性相関

中 川 好 秋

京都大学農学部農芸化学教室

Quantitative Structure-Activity Relationships of Molting Inhibitors

Yoshiaki NAKAGAWA

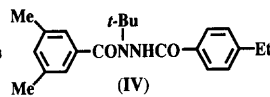
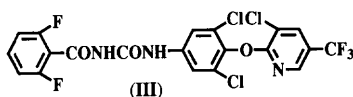
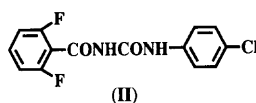
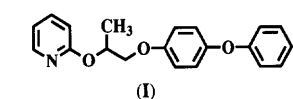
Department of Agricultural Chemistry, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-01, Japan

はじめに

とくに戦後の50年にわたり、さまざまな有機合成殺虫剤が、衛生害虫の駆除と食糧の安定供給に果たしてきた貢献は、きわめて大きいといえるだろう。そして、今後も合成殺虫剤が公衆衛生面および農業生産面において、引き続き重要な役割を果たすであろうことはいうまでもない。しかし一方で、ある種の殺虫剤が、人畜にとって有害であっただけでなく、深刻な環境破壊をもたらしたことも事実であり、現在では、新しい殺虫剤が実用されるためには高い安全性を確保するように要求されている。このような状況で、哺乳類には存在しないで、昆虫に特有な生理現象である脱皮・変態を制御する昆虫成育制御物質 (Insect Growth Regulator, IGR) が、安全性の高さから注目を集めている。IGRは、大きく昆虫幼若ホルモン類縁体、キチン合成阻害剤、脱皮ホルモン類縁体に分類され、これまでに、ピリプロキシフェン (I)、ジフルベンズロン (II)、クロルフルアズロン (III)、テブフェノジド (IV) などの化合物が、農業用殺虫剤として実用化されている。なかでも、ジフルベンズロン、クロルフルアズロンに代表されるベンゾイルフェニルウレア (BPU) 類、テブフェノジドに代表されるジベンゾイルヒドラジン (DBH) 類は、それぞれ、低薬量で昆虫のキチン生合成や、ホルモンバランスを攪乱することによって脱皮を阻害する、安全性の高い理想的な殺虫剤である。

BPU類とDBH類は、互いに作用機構は異なるが、いずれも脱皮に伴う新しい表皮の形成を阻害するので、表皮の主成分であるキチンの生合成や、新しい表皮の肥厚成長を指標として活性強度を測定することができる。筆者らは、キチン合成阻害剤のBPU骨格と、脱皮ホルモン類縁体のDBH骨格に、種々の物理化学的性質をもつ置換基の導入された多数の化合物を合成し、種々の昆虫に対する殺虫活性、および幼虫から得られた培養表皮系を用いて *in vitro* の活性を評価した。続いて、それぞれの活性の強度変化を、分子および置換基の物理化学的パラメーターを用いて定量的に [定量的構造活性相関 (Quantitative Structure-Activity Relationship): QSAR] 解析し、投与部位から標的部位へ到達するまでの輸送過程、およびその過程で受ける代謝分解機構にかかわる因子を含め、高い活性強度の発現に要求される分子構造上の条件に関し、置換基効果の観点から解明を試みた。本稿では、これら一連の研究成果について概説する。

まず、本題に入る前に QSAR 解析について簡単に説明する。一般に、生理活性物質の構造の変化に基づく活性強度の変化には、分子あるいは置換基の立体的な形状、疎水性、および電子状態などの物理化学的性質の変化が同時に関与している。したがって、変化する複数個の性質のそれぞれが、どの程度の重要性をもって活性強度の変化に関与しているかを知るためには、それぞれの物理化学的性質に対応する自由エネルギー関係パラメーターと、回帰分析法を用い、活性強度変化を各パラメーター項の和にて表現できるような定量的方法を用いることが望ましい。種々の系列化合物について、分子構造と生物活性強度との関係を定量的に解析する手法のなかで、1964年に発表された Hansch-Fujita 法¹⁾は、解析結果の物理化学的意義が明確で、現在で



も広く利用されている。

Hansch-Fujita 法では、生理活性強度の変化を支配するもっとも重要な構造上の要因は、疎水性、電子構造、立体構造であると考えられている。たとえば、芳香環上の置換基が変化することによってもたらされる活性強度の変化は、置換基の物理化学的性質によって支配され、(1)式に示した置換基定数項の一次結合で表される。

$$\log (1/C) = a\pi (+b\pi^2) + c\sigma + dS (+eS^2) + \text{const.} \dots \quad (1)$$

C は EC_{50} (50% 有効濃度), I_{50} (50% 阻害濃度), LD_{50} (50% 致死薬量) などのように、ある基準の応答を示すために要求される化合物の濃度 (あるいは薬量) で、通常、濃度 (あるいは薬量)-応答関係より求められる。 π は 1-オクタノール/水系における分配係数 P から、(2)式によって定義される置換基 X に対する疎水性パラメーターである²⁾。

$$\pi = \log P_X - \log P_H \quad (2)$$

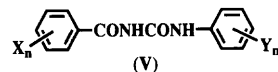
(2) 式において X, H はそれぞれ、置換体と無置換体とを示す。分子全体の疎水性を取り扱う場合は、(1) 式において π の代わりに $\log P$ が用いられる。 σ は Hammett 定数で置換基 X の電子求引性を表す電子的パラメーターであるが、 σ の代わりに他の電子的パラメーターが必要に応じて用いられる。 S は立体的かさ高さを表すパラメーターで、置換酢酸エチルエステルの酸加水分解反応速度定数、および、それと置換基の平均 van der Waals 半径との関係から評価された Taft-Kutter-Hansch の E_s ³⁾、置換基の形状をもとに算出された Verloop の STERIMOL パラメーター (B_5, L)⁴⁾ や、Bondi の方法によって求められた置換基の van der Waals 体積 (V_w)⁵⁾ などが条件に応じて用いられる。電子的 (σ)、疎水的パラメーター (π) が水素原子を基準としていることから、立体パラメーター (E_s) も水素原子に対する値を基準にとることが多い。定義により置換基のかさ高さが増大するほど、 E_s は負の方向に大きくなる。同様に他の立体パラメーターにおいても、水素原子に対する値を差し引き、 $\Delta L, \Delta B_5, \Delta V_w$ として解析に用いることが望ましい。疎水性や立体的かさ高さに最適値の存在する場合は、それぞれの二乗項 (π^2, S^2) を付け加えることが要求される。(1) 式における a, b, c, d, e は、生理活性の変化がそれぞれの性質の変化に対して、どの程度の感受性をもつかを表す係数で、最小二乗法による回帰分析の結果求められる。当然ながら、 π^2, S^2 項の係数 b, e は、有意の場合、負の値をとるはずである。得られた解析結果は、優れた活性をもつ化合物のデザインのみならず、分子下レベルにおける生理活性物質の作用機構の解明にも適用できる。

ベンゾイルフェニルウレア類

BPU 系殺虫剤 (V) は、1972 年 Philips-Duphar 社において除草剤の開発途中において偶然に発見されたもので、最初に殺虫活性の見いだされた化合物は、Du-19111 (V: $X_n = 2,6\text{-Cl}_2, Y_n = 3,4\text{-Cl}_2$) であった⁶⁾。この化合物は、二種の除草剤 dichlobenil と diuron の構造が“縮合”した形態をしているが、除草活性は示さなかった。しかし、この化合物に曝露された幼虫が、脱皮の途中で死ぬことが観察され、その後の研究で、BPU 類 (V) は昆虫の表皮構成成分であるキチンの生合成を阻害するものであることが明らかにされた⁷⁾。

二つのベンゼン環上の置換基の効果が検討され、得られたジフルベンズロン (II) は、Du-19111 に比べてオオモンシロチョウ (*Pieris brassicae*) の幼虫に対して 30 倍高い活性を示す⁸⁻¹⁰⁾。また、ジフルベンズロンは土壌中における残留性も低い¹⁰⁾ことから、初めて実用殺虫剤として登録された。さらに置換基の修飾が試みられ、クロルフルアズロン (III) やテフルベンズロン (V: $X_n = 2,6\text{-F}_2, Y_n = 2,4\text{-F}_2, 3,5\text{-Cl}_2$) などが登場するに至った。

筆者らは、BPU 類 (V) のベンゾイル部、フェニル部に種々の置換基を有する化合物を合成し、イネの鱗翅目害虫であるニカメイチュウ (*Chilo suppressalis*) に対する殺虫活性を測定した¹¹⁻¹⁵⁾。また、ニカメイチュウの培養表皮系¹⁶⁾を用いて、BPU 類による新しい表皮の形態学的肥厚阻害活性^{11,16,17)}、および、*N*-アセチルグルコサミンの新しい培養表皮系への取込みの程度からキチン合成阻害活性^{18,19)}を測定し、活性強度の変化に及ぼす置換基効果の QSAR 解析を行なった。また、活性に及ぼす代謝阻害剤の共力効果についても検討を加えるとともに、カイコ (*Bombyx mori*)、ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) など、他の鱗翅目昆虫に対する殺虫活性についての解析^{13,20)}も行なって、種々の側面から、活性強度の変化における置換基の物理化学的意義を明らかにした。



1. 殺虫活性に及ぼす置換基効果の解析

1) ベンゾイル部ベンゼン環上の置換基効果

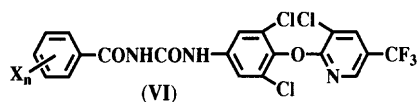
ベンゾイル部のオルト位にさまざまな置換基を導入した化合物 (V: $X_n = 2\text{-X}$ および $2,6\text{-X}_2, Y_n = 4\text{-Cl}$) の、ニカメイチュウに対する殺虫活性を、ジメチルスルフォキシド (DMSO) 溶液として、腹部背板上、局所施用法により測定した。この際、酸化的代謝をできるだけ抑制するため、piperonyl butoxide (PB) を併用した。殺虫活性に対する置換基効果を解析したところ、(3)式の結果が得られた¹³⁾。ここに用いられた化合物で、 2-X 置換体では、 X はハロゲン、Me, NO_2 , $2,6\text{-X}_2$ 置換体では、 X はハロゲン、 CH_3 , NO_2 , NMe_2 ,

OMeである.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{PB}) &= 0.59 \pi + 0.44 \sigma^* \\ &\quad + 0.77 \Sigma E_s^o + 6.67 \quad (3) \\ n &= 20, s = 0.257, r = 0.895 \end{aligned}$$

(3) 式において, E_s^o は外松・藤田によってオルト置換ベンズアミドの酸加水分解速度定数から決定された, オルト置換基に対する立体パラメーターで²¹⁾, ベンゼン環上のオルト置換基の立体効果を実験的に表現する. さきにも示した Taft-Kutter-Hansch の E_s が, オルト置換基の立体パラメーター³⁾として用いられる場合も多いが, 外松・藤田によって定義された E_s^o は, NO_2 , Ph など平面的な π 結合置換基に関しても, 実験的に評価が可能である. Σ は 2,6-ジ置換体に対して, 二つの置換基の E_s^o パラメーター値の和を用いたことを表している. σ^* は 2-置換体に対しては Hammett の σ , 2,6-ジ置換体に対しては, Charton によって定義された誘起効果に基づく電子求引性パラメーター σ_I ²²⁾ の和をとる“複合的”電子的パラメーターである. すなわち, 2,6-ジ置換体では, ベンゾイル-ベンゼン環とアミド平面が互いに垂直に近い角度をとるため²³⁾, 共役に基づく電子求引性の効果が現れないことを意味していると考えられる. (3) 式の結果から, ベンゾイル部オルト置換基の物理化学的性質として, 疎水性および電子求引性が高いほど殺虫活性は高いこと, E_s 項の符号が正であることから, 立体的にかさ高いオルト置換基は活性にとって不利であることがわかる. 2,6- F_2 置換は, かさ高さが低く, しかも誘起的電子求引性と疎水性がともに高いという条件を, 同時に満足するオルト置換基の組合せであることが了解される. ベンゾイル部のメタおよびパラ位に置換基を導入すると活性が劇的に低下し, 筆者らの用いた検定系では活性を求めることができず, QSAR 解析を行なうことはできなかった.

芳賀らはベンゾイル部のオルト位のみならず, メタおよびパラ位のそれぞれに各種置換基を導入したクロルフルアズロン類縁化合物 (VI) のハスモンヨトウに対する殺虫活性を, 代謝阻害剤を併用しない条件 (None) で測定し, (4) 式の結果を導いた²⁴⁾.



$$\begin{aligned} \text{pLC}_{90}(\text{Spodoptera}; \text{None}) &= 0.23 E_s^{\text{ortho}} + 3.15 E_s^{\text{meta}} + 2.42 E_s^{\text{para}} \\ &\quad + 0.36 I + 0.59 \quad (4) \\ n &= 14, s = 0.597, r = 0.931 \end{aligned}$$

(4) 式における E_s は Taft-Kutter-Hansch の立体パラメーター³⁾, I は置換基の数を示す擬変数である. (4) 式では, 解析された化合物の数 (14 個) に比べてパラメーター

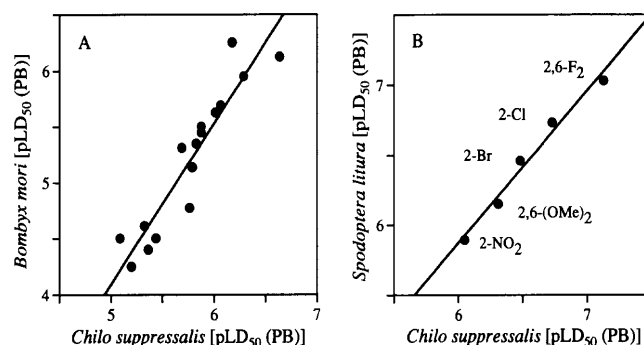


Fig. 1 Relationships between larvicidal activities.

(A) *Chilo suppressalis* vs. *Bombyx mori*, (B) *C. suppressalis* vs. *Spodoptera litura* (Reproduced with permission from Academic Press, Inc.).

の数が多すぎるので, 統計的に問題点は残っているが²⁵⁾, オルト位の置換基の立体的かさ高さが活性にとって不利であるという結果は, ニカメイチュウに対して得られた解析結果 [(3) 式] と一致している. また, E_s^{meta} および E_s^{para} の係数が E_s^{ortho} のそれに比べて非常に大きく, メタおよびパラ位に置換基を導入することは, 活性にとってきわめて不利であることを示している.

また, ジフルベンズロン類縁体 (V: $Y_n = 4\text{-Cl}$) およびクロルフルアズロン類縁体 (VI) のカイコ, ハスモンヨトウに対する殺虫活性を, 同様に局所施用法にて測定し, ニカメイチュウに対する殺虫活性と比較したところ, ベンゾイル部置換基の効果は 3 種の昆虫の間でほとんど変わらないことが明らかになった (Fig. 1)^{13, 20)}.

2) フェニル部ベンゼン環上の置換基効果

ベンゾイル部の置換様式を 2,6- F_2 に固定し, フェニル部のパラ位に水素, ハロゲン, 直鎖あるいは分枝アルキル ($\text{C}_1\text{-C}_7$), $\text{N}=\text{NPh}$, CN , CF_3 , OPh , 置換ベンジルオキシ (置換基: ハロゲン, H , Me , NO_2 , CN) などの置換基が導入された, 24 個のベンゾイルフェニルウレア類縁体 (V: $X_n = 2, 6\text{-F}_2$, $Y_n = 4\text{-Y}$) のニカメイチュウに対する殺虫活性を測定した^{11, 12, 14, 15)}. 活性に及ぼす置換基効果を解析したところ, 共力剤 PB を併用しない場合 (None), 併用した場合, それぞれについて (5) および (6) 式の結果が導かれた^{11, 14)}. ただし, PB を併用しない場合, 活性の測定が正確にできるほどに, 高い活性を示す化合物の数が少なかったので, (5) 式には 2,6- Cl_2 体 (V: $X_n = 2, 6\text{-Cl}_2$, $Y_n = 4\text{-Y}$) を含む.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{None}) &= 2.94 \sigma_I + 2.53 \pi - 0.42 \pi^2 \\ &\quad - 0.30 \Delta B_5 - 0.66 I + 3.22 \quad (5) \\ n &= 16, s = 0.237, r = 0.943, F_{5, 10} = 16.0 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{PB}) &= 1.06 \sigma_I + 1.57 \pi - 0.17 \pi^2 \\ &\quad - 0.31 \Delta B_5 + 4.93 \quad (6) \\ n &= 24, s = 0.290, r = 0.907, F_{4, 19} = 22.1 \end{aligned}$$

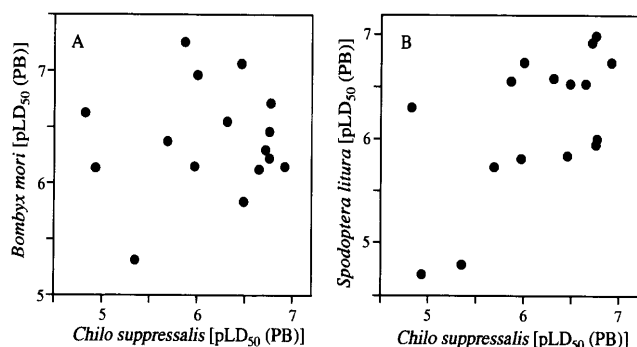


Fig. 2 Relationships between larvicidal activities.

(A) *Chilo suppressalis* vs. *Bombyx mori*, (B) *C. suppressalis* vs. *Spodoptera litura*.

(5)式において、 I は2,6- Cl_2 化合物に関しては1,2,6- F_2 化合物については0の値をとる擬変数であって、係数が -0.66 であるということは、フェニル部が同一のとき、2,6- F_2 化合物の活性は対応する2,6- Cl_2 化合物に比べ4倍高いことを示している。(5)および(6)式の結果は、共力剤の併用の如何にかかわらず、殺虫活性はフェニル部置換基の誘起的電子求引性、および疎水性(最適値が存在する)が高くなるほど上昇すること、逆に、置換基の結合軸方向からの最大幅(B_5)が大きいほど、活性にとって不利であることを示している。そこで、誘起的電子求引性が比較的高く、立体的に横幅の狭く、かつ適度の疎水性をもつと考えられるフェニル基、フェニルプロピルオキシ基、およびパラ置換フェニル基(置換基: H, Cl, Br)を有する化合物を合成し、殺虫活性を測定したところ、予想どおりの高活性を示した。また、(5)式と(6)式を比較すると、PBを併用することによって、 σ_I 項の係数が大きく減少している。この現象は後で詳しく説明するように、電子求引性置換基を導入することによって、化合物の酸化的代謝分解が抑制されることを示唆している。

さきに述べたように、ベンゾイル部の置換基効果は、ニカメイチュウ、カイコ、ハスモンヨトウの間でほとんど変化しないが、フェニル部の置換基の効果は、Fig. 2のプロットがいずれも規則的でないことから明らかなように、3種の昆虫間で大きく異なる²⁰⁾。

第4齢のカイコに対する殺虫活性の解析を行なったところ、酸化的代謝阻害剤(PB)を用いた場合、加水分解代謝阻害剤(DEF)を用いた場合、およびいずれの代謝阻害剤を用いない場合(None)の、それぞれについて(7)、(8)および(9)式の結果が得られた²⁰⁾。

$$\text{pLD}_{50}(\text{Bombyx}; \text{PB}) = -1.25 \sigma + 0.76 \pi - 0.14 \pi^2 - 0.14 \Delta B_5 + 6.12 \quad (7)$$

$$n=20, s=0.294, r=0.834, F=8.54$$

$$\text{pLD}_{50}(\text{Bombyx}; \text{DEF}) = -1.35 \sigma + 1.09 \pi - 0.17 \pi^2 - 0.23 \Delta B_5 + 5.61 \quad (8)$$

$$n=19, s=0.333, r=0.861, F=10.05$$

$$\text{pLD}_{50}(\text{Bombyx}; \text{None}) = -1.38 \sigma + 0.80 \pi - 0.18 \pi^2 - 0.09 \Delta B_5 + 5.80 \quad (9)$$

$$n=19, s=0.176, r=0.943, F=28.13$$

なお、(7)、(8)、(9)式に含まれている化合物のフェニル部置換基は、水素、ハロゲン、直鎖あるいは分枝アルキル(C_1 – C_7)、 $\text{N}=\text{NPh}$ 、 CN 、 CF_3 、 OPh 、4- Cl ベンジルオキシの範囲のもので、(6)式に含まれている化合物の置換基の種類とはほとんど変わらない。まず、(7)、(8)および(9)式を比較してわかることは、定数項を含め、各項が代謝阻害剤併用の影響をあまり受けないことである。すなわち、長い年月の間、異物に接することなく“飼育”され続けてきたカイコにおいて、異物代謝能は著しく低下したものと考えられる。電子求引性パラメーター項の係数は、ニカメイチュウに対する殺虫活性における解析結果[(5)、(6)式]と異なり、PBおよびDEFの併用の有無に関係なくほぼ一定で、その係数は負である。しかも、電子的パラメーターとしては、誘起的電子効果定数 σ_I より、共鳴効果を含む本来の電子効果定数 σ を用いるほうが良好な結果を与えた。

第5齢ハスモンヨトウ幼虫に対する殺虫活性(PB併用)における置換基効果は、置換基がハロゲン、 C_1 から C_7 の直鎖および分枝アルキル、 CN 、 NO_2 など比較的簡単な場合、(10)式で表された²⁰⁾。

$$\text{pLD}_{50}(\text{Spodoptera}; \text{PB}) = 2.51 \pi - 0.44 \pi^2 - 0.53 \Delta B_5 + 5.12 \quad (10)$$

$$n=18, s=0.308, r=0.923, F_{3,14}=26.8$$

(10)式は、 B_5 で表される置換基の最大横幅が大きくなると活性が低下すること、および疎水性には最適値の存在する点で、ニカメイチュウやカイコで得られた結果と同様であったが、用いられた置換基の範囲内では、電子的効果は活性の変化にとって有意な因子とはならなかった。

さらに、置換フェニル(置換基: H, Cl, Br)、置換ベンジルオキシ(置換基: ハロゲン, Me, NO_2 , CF_3)や置換ピリジルオキシ(置換基: ハロゲン, H, CF_3 , NO_2 , Me, COOEt)などのかなり複雑な構造の置換基をもつ誘導体も含めて解析を行なったところ、(11)式の結果が得られた²⁰⁾。

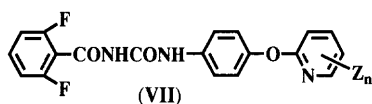
$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Spodoptera}; \text{PB}) &= 2.59 \pi - 0.39 \pi^2 - 0.61 \Delta B_5 \\ &\quad - 1.27 I(\text{BO}) + 1.72 I(\text{PO}) + 5.04 \end{aligned} \quad (11)$$

$$n=39, s=0.384, r=0.919, F_{5,33}=35.6$$

(11)式において、 $I(\text{BO})$ 、 $I(\text{PO})$ はそれぞれ、置換ベンジルオキシ、置換ピリジルオキシを4位の置換基Yとする化合物に対して1をとる擬変数である。 $I(\text{BO})$ 、 $I(\text{PO})$ 以外のパラメーター項に関しては、(10)式の結果と矛盾しないものであった。これらの擬変数の物理化学的な意味につ

いては明確ではないが、ベンジルオキシ基がフェニル部のパラ位に導入されると、活性が1/20に低下し、ピリジリオキシ基の導入によって50倍上昇することがわかる。すなわち、ハスモンヨトウに対する殺虫活性の上昇にとって、ピリジリオキシ基が非常に有効であることを示している。

芳賀らによって代謝阻害剤を併用せず、経口投与方法で求められたクロルフルアズロン類縁体 (VII: Z_n =ハロゲン, CF_3 , NO_2 , Me, $COOEt$ など) のハスモンヨトウに対する殺虫活性²⁴⁾と、われわれがPB共存下、局所施用法によって求めた殺虫活性との関係は (12) 式で表される²⁰⁾。



$$\begin{aligned} \text{pLC}_{90}(\text{Spodoptera}; \text{None}) \\ = 0.81 \text{ pLD}_{50}(\text{Spodoptera}; \text{PB}) \\ + 8.69 \sigma_I - 4.84 \quad (12) \\ n=12, s=0.353, r=0.934, F=30.9 \end{aligned}$$

(12) 式の結果は、投与方法に違いはあるけれども、置換基の電子求引性 (σ_I) が高いほど、PB を用いないで (None) 求めた殺虫活性は、PB 共存下で求めた活性に比べて高く、電子求引性置換基の導入は化合物の酸化代謝を抑制することを示している。このことは、ニカメイチュウに対して得られた (5) および (6) 式の結果と矛盾しない。

BPU 類の QSAR 解析に関する最初の報告は、さきに述べた Philips-Duphar 社の Verloop & Ferrell によるもので、オオモンシロチョウ (*Pieris brassicae*) の第3齢幼虫に対する殺虫活性の解析結果は (13) 式で表される¹⁰⁾。

$$\begin{aligned} \text{pEC}_{50}(\text{Pieris}; \text{None}) \\ = 0.95 \pi + 1.99 \sigma - 0.34 L^{\text{para}} - 0.24 B_4^{\text{para}} \\ - 1.30 L^{\text{meta}} + 1.40 D_1 - 0.61 D_2 + 3.38 \quad (13) \\ n=70, s=0.535, r=0.892, F_{7,62}=34.37 \end{aligned}$$

(13) 式において、 L , B_4 はさきにも述べた STERIMOL パラメーターで、それぞれ、結合軸に沿った長さ、結合軸に対して垂直方向の幅を表している²⁶⁾ (ここでは、 B_5 の代わりにほぼ同様の意味をもつ B_4 が用いられている⁴⁾)。オオモンシロチョウに対する殺虫活性は、フェニル部の置換基の疎水性および電子求引性が高いほど、また立体的にはメタおよびパラ位置換基の結合軸方向への長さが短いことや、メタ位置換基の幅の狭いことが、活性にとって有効であることが示された。 D_1 はベンゾイル部が2,6- F_2 の化合物に対し、 D_2 はフェニル部の $-CONH-$ がメチル化された $-CON(Me)-$ に対し、それぞれ1をとる擬変数である。

また、Yu & Kuhr はタネバエ (*Hylemya platura* MEIGEN) の孵化後3日目の幼虫に対するBPU類の殺虫活性をPBの存在下で測定しているが²⁷⁾、彼らのデータのうち、パ

ラ置換フェニル体 (V : $X_n=2,6-F_2$ および $2,6-Cl_2$; $Y_n=H$, Me, Et, F, Cl, CF_3 , NO_2) について、電子的パラメーターとして σ_I を用いて解析を行なったところ、次の回帰式が得られた。

$$\begin{aligned} \text{pLC}_{50}(\text{Hylemya}; \text{PB}) &= 2.33 \sigma_I + 0.77 \Sigma \pi \\ &\quad - 1.31 I + 2.83 \quad (14) \\ n=13, s=0.267, r=0.972, F_{3,9}=51.39 \end{aligned}$$

(14) 式において、 I はベンゾイル部の置換基が2,6- Cl_2 である場合に1, 2,6- F_2 である場合に0をとる擬変数で、この系では、2,6- F_2 体は対応する2,6- Cl_2 体と比べて活性が約20倍高いことを示している。 $\Sigma \pi$ は、ベンゾイル部とフェニル部の置換基の疎水性パラメーターの和を表し、化合物全体としての疎水性が高いほど、殺虫活性の上昇することがわかる。この結果は、ニカメイチュウに対して得られた結果とよく一致しているが、(14) 式ではPB併用下で活性を測定しているにもかかわらず、 σ_I の係数が2.3とかなり高く、この昆虫では、酸化的代謝能がニカメイチュウにおけるよりも高いことが示唆された。

以上は、フェニル部のパラ位にのみ置換基をもつ化合物に関する解析結果を論じたが、さきにも述べたように、強力な殺虫活性を示すものとして、パラ位のみならず、オルト、メタ位にも置換基を有するクロルフルアズロン (III) やテフルベンズロン (V : $X_n=2,6-F_2$; $Y_n=2,4-F_2-3,5-Cl_2$) がある。そこで、オルト、メタ位置換基の効果についても知見を得るため、(6) 式で用いたパラ位置換体に、オルトおよびメタ位置換体、さらに多置換体も含め108個の化合物についてニカメイチュウに対する殺虫活性を求め、解析を行なって、(15) 式の結果を導いた¹⁵⁾。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{PB}) \\ = 0.59 \Sigma \sigma_I + 1.01 \Sigma \pi - 0.12 (\Sigma \pi)^2 - 1.27 \pi^{\text{ortho}} \\ - 0.68 \Delta B_5^{\text{ortho}} + 0.27 \Delta B_5^{\text{ortho}} \times \Delta B_5^{\text{meta}} \\ - 0.49 \Sigma \Delta B_5^{\text{meta}} - 0.07 \Delta B_5^{\text{para}} + 5.15 \quad (15) \\ n=108, s=0.250, r=0.890, F_{8,99}=47.2 \end{aligned}$$

(15) 式に含まれる化合物としては、これまでに述べてきたパラ置換体に加えて、ハロゲン、Me, Et, CF_3 などの置換基がさまざまな位置に導入されたジ (2,3-, 2,4-, 2,5-, 3,4-, 3,5-)、トリ (2,3,4-, 2,3,5-, 2,4,5-, 3,4,5-)、2,3,4,5-テトラ置換体を含んでいる。(15) 式において、 Σ は置換基が複数個存在する場合に、それぞれの置換基に関する値の和を用いることを示している。ただし、 $\Sigma \pi$ は、数多くの多置換ベンゼンの $\log P$ 値から導いた経験則²⁸⁾に従って算出した。また、位置特異的な効果については、それぞれのパラメーターに対して、その位置を上付の文字で表示した。(15) 式の結果は、フェニル部の置換基の誘起効果に基づく電子求引性 ($\Sigma \sigma_I$) が高いほど、殺虫活性の高くなることを示し、

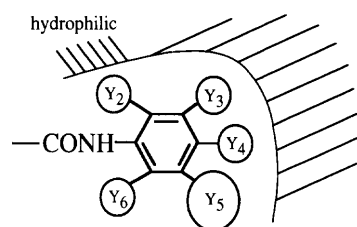


Fig. 3 The mode of interactions with the possible receptor wall around the phenyl moiety (Reproduced with permission from Academic Press, Inc.).

パラ置換体で得られた (6) 式の結果と矛盾しないものである。疎水性に関して二乗項が有意であることは、疎水性に最適の値が存在することを示し、薬剤の輸送過程にかかわる効果を表していると考えられる。このように薬物の輸送過程にとって重要な疎水性項を分離しても、位置特異的な疎水性 (π^{ortho}) の項が有意に現れ、これは輸送過程とは別に、化合物と受容体との間のオルト位置特異的な相互作用の存在を意味している。符号が負であることは、受容体側に親水性の部位が存在し、その部分がフェニル部のオルト置換基と対応することを示唆している (Fig. 3)。

2-, 3-, 4-位に立体的かさ高さの大きな置換基を導入すると活性の低下することは明らかであるが、係数の大きさから、2- および 3-位における負の立体効果は 4-位のそれに比べて非常に大きく、2- および 3-位に大きな置換基を導入することが活性の著しい低下につながることを示している。さらに、 $\Delta B_5^{ortho} \times \Delta B_5^{meta}$ 項はオルト置換基とメタ置換基が隣接して同時に導入されると、 ΔB_5 の大きさが大きくなるほど、メタ置換基が負の立体効果の小さいパラ置換基の占有する領域に押しやられ、負の立体効果の減少することを示唆している。また、メタ置換基は、相対的な大きさによって二つのメタ位置を区別していることも明らかになった。すなわち、2,3,5-三置換体において、3位の置換基が5位置置換基よりかさ高い場合には、3位の置換基は5位の置換体として、すなわち、むしろ相当する 3,5,6-三置換体として、位置特異的な置換基効果を表すことになる。また、パラ位がピリジルオキシのように、立体的に大きなグループで置換された場合には、5位の周辺の領域を占有するかのように振る舞い、3位と5位が識別されることも明らかとなった。このように、多置換体における複雑な置換基効果が、100個を超す多様な系列化合物において解析されたことは、分子レベルでの受容体との相互作用についての情報が、かなり確度の高いものであることを示す。

以上、ニカメイチュウ、カイコ、ハスモンヨトウに対する殺虫活性に関する置換基効果を定量的に解析した結果、ベンゾイル部においては3種の昆虫間でほぼ変化はなく、オルト置換基の疎水性および電子求引性が高く、立体的かさ高さの小さいことが活性にとって好ましいことが明らかとなった。一方、フェニル部における置換基効果は、3種の

昆虫間で大きく異なり、そのおもな原因は、電子効果の差によるものであることがわかった。カイコに対する殺虫活性は、共力剤である PB や DEF の併用条件下においてもそれほど変化しなかった。さきにも述べたとおり、カイコが異物代謝能のきわめて低い昆虫であるため、共鳴効果と誘起効果とをともに含む本質的な電子効果が、負の σ 項 (電子供与性基が有利) として現れたものと考えられる。これに対して、ニカメイガ、オオモンシロチョウ、タネバエの幼虫などでは、異物代謝能が高いと考えられ、誘起的電子求引性の置換基が活性にとって有効である。すなわち、高い殺虫活性にとって、本質的には電子供与性基が好ましいが、酸化代謝分解を抑制するという面では、誘起的電子求引性基が好ましいものと推察される。さらに、酸化的代謝阻害剤の併用条件下でも、酸化的代謝が完全には抑制されないことが、(6)、(14)、(15)式における正の σ 項の有意性から示唆される。酸化代謝能が高いと考えられるハスモンヨトウに対する殺虫活性では、電子的効果のパラメーター項が有意でなかったことは、酸化代謝分解を抑制する電子求引性効果と、活性にとって本来要求される電子供与性効果とが、ちょうど相殺されたことが原因であろう。このことに関しては、培養表皮系に対する活性の QSAR 解析の項においてさらに詳細に述べる。

2. ニカメイチュウ培養表皮系における活性

無菌飼育したニカメイチュウの表皮を切り取り、脱皮ホルモンで24時間培養した後、ホルモンを含まない培地に移すと古い培養表皮の内側に新しい表皮が形成される。ホルモン処理を行なった培養表皮を、キチン合成阻害剤を含む培地でさらに培養を続けると、新しい表皮は時間とともに成長するが、その肥厚成長は薬剤濃度に応じて抑制され、薬剤濃度と一定時間後の厚さとの関係から表皮形成阻害活性 (pl_{50}) を定量的に求めることができる^{11,16,17}。また、薬剤とともに、キチンの前駆体である *N*-アセチルグルコサミンの標識体を含む培地で培養すると、薬剤濃度の上昇に伴い、放射能の取込み量が減少し、取込み量と濃度との関係から、キチン合成阻害活性 (pl_{50}) を定量的に求めることができる^{18,19}。

BPU 類の殺虫活性と表皮の肥厚成長阻害活性間には直接の関係は認められないが、分子全体の疎水性 $\log P$ を別途に考慮することによって、(16)式に示すように両活性は、ほぼ1対1に関係づけられた¹³。

$$\begin{aligned} pLD_{50}(PB) &= 0.90 pl_{50}(PB) + 2.31 \log P \\ &\quad - 0.19 (\log P)^2 - 6.73 \quad (16) \\ n &= 46, s = 0.333, r = 0.864, F_{3,42} = 41.3 \end{aligned}$$

(16)式に含まれる化合物は、(3)式の解析に用いたベンゾイル部置換体と、フェニル部のパラ位に比較的簡単な置換基(ハロゲン、 C_1 - C_7 の直鎖あるいは分枝アルキル、 NO_2 、

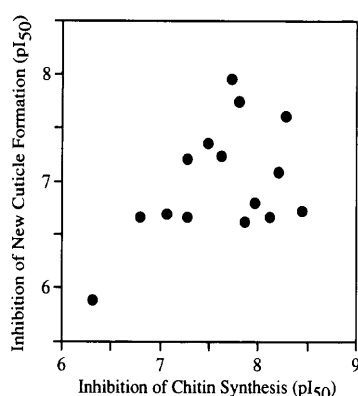


Fig. 4 Relationship between inhibitions of new cuticle formation and chitin synthesis.

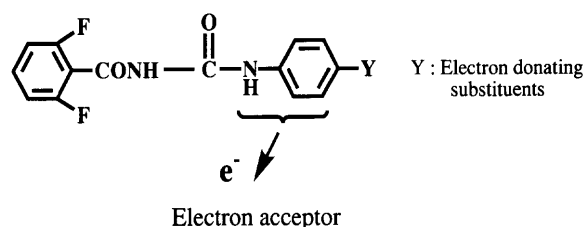


Fig. 5 The substituent effects on the oxidative metabolism of BPU.

CN, CF_3 , $\text{N}=\text{NPh}$, OPh など) を有する 2,6- F_2 および 2,6- Cl_2 類縁体である。pLD₅₀ と pI₅₀ とが 1 対 1 に対応することは、少なくとも用いた化合物の範囲内では、殺虫活性発現が表皮の形成阻害に基づくものであることを示すとともに、殺虫活性測定時の投与部位から標的部位までの輸送過程が化合物の疎水性によって決定され、輸送の過程に対しては最適の疎水性が存在することを示している。

殺虫活性と、培養表皮系を用いて求められたキチン合成阻害活性との関係に関しても、Fig. 4 に示すように直接的な直線関係は認められなかった。また、(16) 式と同様に疎水性因子の分離だけを考慮することによっても、活性間の関係を明らかにすることはできなかった。いまだパラメータ化することのできない因子の関与が残されているとみられるべきであろう²⁹⁻³¹⁾。

さらに、電子求引性置換基は、化合物が酸化代謝分解を受けるのを抑制するのに役立つものであることを示した。このことをより詳細に検討するため、培養表皮系における *N*-アセチルグルコサミンの取込み阻害活性を、PB の存在下、および非存在下で測定し、置換基効果の解析を行なってそれぞれ次のような結果を導いた¹⁹⁾。なお、(17) および (18) 式に含まれている化合物には水素、ハロゲン、 C_1 - C_4 の直鎖アルキル、OMe, OEt, CH_2CN , $\text{N}=\text{NPh}$ などの置換基が導入されている。

$$\text{pI}_{50}(\text{None}) = 2.13 \sigma_I + 1.28 \pi - 0.28 \pi^2 + 5.69 \quad (17)$$

$$n = 15, s = 0.375, r = 0.916, F_{3,11} = 19.2$$

$$\text{pI}_{50}(\text{PB}) = -0.59 \sigma + 1.49 \pi - 0.57 \pi^2 + 7.19 \quad (18)$$

$$n = 15, s = 0.267, r = 0.916, F_{3,11} = 19.1$$

これらの結果からも明らかなように、*in vitro* においては、PB を用いて酸化代謝を抑制した場合、活性に及ぼす電子効果は正から負へ変化し、活性にとって好ましい置換基の本質的な効果は電子供与性であることがわかった。(17) 式では誘起的電子効果項(σ_I)が有意であるのに反し、(18)

式では共鳴的電子効果をも含む置換基本来の電子効果を表す σ 項が有意となっており、同時に項の符号が逆転している。(18) 式における負の σ 項は (7), (8), (9) 式のカイコに対する殺虫活性における負の σ 項で表される電子効果(電子供与性効果)²⁰⁾と矛盾しない。

これらの結果から、フェニル部における代謝解毒反応に対する置換基の効果として、Fig. 5 に示したメカニズムが考えられる。すなわち、酸化反応の本質は、基質からの電子放出であり、フェニル部ベンゼン環に電子供与性の置換基が導入されると酸化を受けやすくなる。一般に、ベンゼン環における酸化は、ベンゼン環のヒドロキシ化によって行なわれることが知られていて、実際ジフルベンズロンの代謝実験から、フェニル部ベンゼン環がヒドロキシ化された代謝物質が単離されている^{32,33)}。

生体内での酸化は、チトクローム P450 によって加速されるフリーラジカル反応で、水素ラジカルあるいは原子上の電子(odd electron)が、酵素などの電子受容体によって引き抜かれる過程が critical であると考えられている³⁴⁾。したがって、酸化代謝反応に及ぼす置換基の電子の効果に対しては、ラジカル反応における置換基の電子的パラメーター(σ^*)³⁵⁾を用いて解析できるはずである。殺虫活性に対する解析式において、正の σ_I 項が有意である場合、PB の共存という条件においても、酸化代謝が完全に抑制されず、かなりの酸化機構が残存していると考えられることはさきにも述べた。フリーラジカル反応において中間体の安定化に及ぼす置換基パラメーターとしての σ^* 値は、数種のラジカル反応系について求められているが、そのなかで、Fisher & Meierhoefer によって定義された σ^* が QSAR 解析結果をもっとも合理的に説明することがわかった。Fisher らの σ^* は Fig. 6 に示した 4-置換 3-シアノトルエンの NBS による臭素化反応速度定数より定義されたパラメーターである。

σ^* の値が求められている 12 種の置換基 (F, Cl, Br, I,

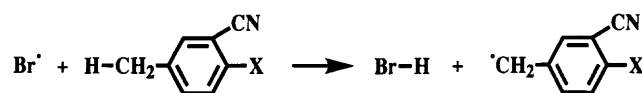


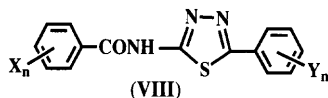
Fig. 6 NBS bromination of 4-substituted 3-CN-toluenes.

NO₂, CN, H, Me, OMe, N=NPh, Ac, Ph) について, σ_I と σ との間には (19) 式で示す関係が存在する¹⁹⁾.

$$\sigma_I = 0.87 \sigma - 0.80 \sigma' + 0.26 \quad (19)$$

$$n = 12, s = 0.136, r = 0.829, F_{2,9} = 9.9$$

(19) 式からも明らかなように, σ_I は σ と σ' との一次結合で表され, 殺虫活性の QSAR における正の σ_I 項は, 少なくともラジカル反応機構で経過する酸化的代謝反応を抑制する程度が大きく, σ' が負の方向に大きい置換基の効果と, 本来の σ で表される電子求引性が大きいほど電子放出を抑制することとを表現するものといえよう. BPU の類縁化合物であり, 同じような脱皮阻害活性を示すチアジアゾール類 (VIII) についても, ニカメイチュウ培養表皮系を用いて測定された *N*-アセチルグルコサミンの取込み阻害に対する QSAR 解析の結果, 酸化的代謝機構の関与について同様の結論が導かれている³⁶⁾.



酸化代謝以外に加水分解代謝を考慮する必要があるが, 殺虫活性において NO₂ や CN のような強い電子求引性の置換基が導入された場合に, 加水分解代謝阻害剤 DEF の効果が若干現れるに過ぎず, フェニル部においては, 酸化代謝に比べ, 加水分解代謝はそれほど置換基の影響を受けない. また, 培養表皮系においては, DEF の併用によってわずかに活性は上昇したが, 活性の上昇はフェニル部置換基の変化にほとんど依存しなかった. したがって, むしろベンゾイル部のアミド結合の加水分解反応が 2,6-F₂ 置換によって促進されることを, DEF が抑制することによるものと考えerのうが妥当である.

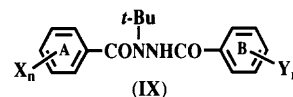
以上, ニカメイチュウ培養表皮系に対する *in vitro* 活性および種々の昆虫間に対する殺虫活性に関する QSAR 解析の結果を相互に比較検討することによって, BPU 類のフェニル部の置換基の示す電子的効果の本質と, 代謝過程における置換基の役割について価値の高い知見を得ることができた.

ジベンゾイルヒドラジン類

DBH 類は, 1988 年 Rohm and Haas 社において発見されたもので^{37,38)}, のちに脱皮ホルモンのアゴニストであること³⁹⁾, 過剰に存在すると未熟脱皮を誘導し殺虫活性を示すことが明らかにされた⁴⁰⁾. DBH 類は, ステロイド骨格をもたず, エクダイソンとは構造上の特長は一見まったく異なるにもかかわらず, エクダイソンと同様の脱皮ホルモン活性を示す.

1. ニカメイチュウに対する殺虫活性における置換基効果

ベンゼン環にさまざまな置換基を有する一連の DBH 類 (IX) を合成し, 腹部背板上に DMSO 溶液として局所施用する方法に従って, これらの化合物のニカメイチュウに対する殺虫活性を測定した. *t*-Bu 基に近いほうのベンゼン環を A 環, 遠いほうを B 環と呼ぶことにする.



まず, B 環側を無置換とし, A 環側 (X_n) にさまざまな置換基 (F, Cl, Br, I, NO₂, CF₃, CN, alkyl (C₁-C₄), OCH₃, Ph など) を有するオルト (9 個), メタ (9 個), パラ (8 個) の一置換体, 主として F, Cl と CH₃ を置換基とする 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4-, 3,5-ジ置換体 (15 個), 2,3,4-, 2,3,5-トリ置換体 (3 個), 2,3,4,5-F₄ 体および無置換体を含む合計 46 個の化合物の殺虫活性について, 置換基効果を解析し, (20) 式の結果を得た⁴¹⁾.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{PB}) = & 0.88 \Sigma \pi + 1.50 \Sigma \sigma_I^{\text{ortho}} \\ & - 0.33 \Sigma \Delta V_w^{\text{meta}} - 0.82 \Delta V_w^{\text{para}} \\ & - 2.50 I_{2,6} - 0.94 I_{2,3,5} + 5.95 \quad (20) \\ n = & 46, s = 0.337, r = 0.904, F_{6,39} = 29.03 \end{aligned}$$

(20) 式において $\Sigma \pi$ は, 相当する多置換ベンズアミド類の log *P* より評価された置換基の疎水性パラメータ^{28,42)}, σ_I^{ortho} はオルト位置置換基の誘起的電子パラメータ, ΔV_w^{meta} および ΔV_w^{para} はそれぞれ水素原子を基準にとったメタおよびパラ位置置換体の van der Waals 体積⁵⁾を示す. $I_{2,6}$ は 2,6-置換体に対して 1 を, $I_{2,3,5}$ は 2,3-および 2,5-置換体に対して 1, 2,3,5-および 2,3,4,5-置換体に対して 2 を与える擬変数である.

A 環側の置換基を 2-Cl に固定して, B 環 (Y_n) にハロゲン, CF₃, NO₂, alkyl (C₁-C₄), Ph, OMe, CN などの導入されたオルト (7 個), メタ (9 個), パラ (13 個) 位モノ置換体, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 3,4-, および 3,5-Cl₂ 体, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 3,4- および 3,5-Me₂ 体, 2,6-F₂ 体, 2-F-6-Cl 体, 2-Br-5-OMe 体, 3-Me-4-*n*-Pr 体, および無置換体の合計 44 個の化合物の殺虫活性について同様に解析を行なったところ, (21) 式が得られた⁴³⁾.

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{PB}) = & 0.72 \Sigma \pi - 0.74 \Sigma \Delta L^{\text{ortho}} \\ & - 0.87 \Sigma \Delta V_w^{\text{meta}} - 0.49 \Delta L^{\text{para}} \\ & + 6.65 \quad (21) \\ n = & 44, s = 0.284, r = 0.896, F_{4,39} = 39.50 \end{aligned}$$

$\Sigma \pi$ は, (20) 式に用いられたのと同様, 相当する多置換ベンズアミド類の log *P* 値から評価されたものである^{28,42)}. ΔL^{ortho} および ΔL^{para} は, それぞれ水素原子を基準

にした置換基の長さを示す STERIMOL パラメーターである⁴⁾。(20),(21)式において、疎水性パラメーター項の係数の大きさが近いので、分子全体の疎水性パラメーター ($\log P$)を用いて、両系列の化合物をまとめて解析を実行したところ、89個の化合物(無置換体は共通)について、(22)式の結果が導かれた⁴³⁾。

$$\begin{aligned} \text{pLD}_{50}(\text{Chilo}; \text{PB}) &= 0.79 \log P + 1.41 \sum \sigma_I^{\text{ortho}(A)} - 0.28 \sum \Delta V_w^{\text{meta}(A)} \\ &\quad - 0.75 \Delta V_w^{\text{para}(A)} - 2.40 I_{2,6(A)} - 0.90 I_{2,3,5(A)} \\ &\quad - 0.79 \sum \Delta L^{\text{ortho}(B)} - 0.94 \sum \Delta V_w^{\text{meta}(B)} \\ &\quad - 0.55 \Delta L^{\text{para}(B)} + 4.00 \quad (22) \\ n &= 89, s = 0.313, r = 0.898, F_{9,79} = 36.48 \end{aligned}$$

括弧内の A, B は、それぞれ X_n, Y_n で置換された A 環および B 環を表し、それぞれのベンゼン環上の置換基に対応するパラメーターを表している。すなわち、分子全体の疎水性が高く、A 環上のオルト位に誘起的電子求引性の高い置換基が導入されることが、高い活性強度にとって好ましい。一方、負の立体パラメーター ΔV_w および ΔL の項は、A 環においてはメタ、パラ位、B 環においてはいずれの位置においても、水素より体積の大きい、あるいは長い置換基の導入が活性にとって不利であることを示している。擬変数項の物理化学的な意義は明確ではないが、A 環側の両オルト位置が置換された場合、物理化学的パラメーター項からの寄与のほかに、活性が 1/250 に低下すること、2,3-,あるいは 2,5-位が置換された多置換体では 1/8 に、さらに、2,3,5-の位置が置換された場合は 1/80 に低下することを意味している。以上の結果、ほとんどすべての置換位置で立体障害が観察され、殺虫活性を引き上げるためには、各置換位置における置換基の大きさを考慮しながら分子全体の疎水性を上昇させなければならない。現実的には、実用化されているテブフェノジド (IV) がこの条件をほぼ満たしているといえる。

2. 脱皮ホルモン様活性における置換基効果

p. 368, 2 で述べたニカメイチュウ培養表皮系を用いて、脱皮ホルモン活性物質の *in vitro* における活性評価法を開発した⁴⁴⁾。すなわち、表皮をまず各種濃度のそれぞれの化合物を含む培地で 24 時間培養し、*N*-acetyl-[¹⁴C]glucosamine を含む培地に移して一定時間培養を行ない、薬剤濃度に応じて表皮に取り込まれる放射能の上昇における濃度-応答曲線から中央有効濃度 (EC_{50}) を求め、その逆対数を活性の指標とした。処理濃度が高すぎると、むしろ取り込まれる放射能の上昇は抑制される。

脱皮ホルモン活性を定量的に求める *in vitro* の系として、Fristrom & Yund はエクダイソン類縁体の活性をショウジョウバエの成虫原基を用いて測定している⁴⁵⁾。彼らの測定した 5 種のエクダイソン類縁体の活性を、ニカメイ

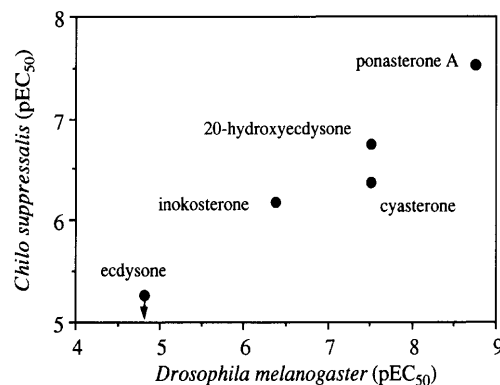


Fig. 7 Relationship between *in vitro* activities against *Chilo* integument fragments and *Drosophila* imaginal discs (Reproduced with permission from Elsevier Science, Inc.).

チュウの培養表皮系で求めた活性と比較すると Fig. 7 の直線関係が認められ⁴⁶⁾、*N*-acetyl-[¹⁴C]glucosamine の培養表皮への取込みの促進を指標にしたニカメイチュウ培養表皮系は、脱皮ホルモン活性を定量的に評価する *in vitro* の系として有効であることがわかる。

DBH 類の殺虫活性においては、PB 併用の効果が若干現れた⁴¹⁾ので、*in vitro* の脱皮ホルモン活性についても、いくつかの化合物について PB の効果を検討したが、活性の上昇は認められなかった⁴⁷⁾。A 環部、B 環部にさまざまな置換基を含むモノ置換体について、培養表皮系においてホルモン活性を求め、殺虫活性との関係を調べたところ、Fig. 8 の直線が得られた。したがって、殺虫活性の発現機構は未熟脱皮を促進する脱皮ホルモン活性に関係することが明らかとなった。

また、脱皮ホルモン活性に関する置換基効果の定量的解析は、(23)式で示される⁴⁷⁾。

$$\begin{aligned} \text{pEC}_{50}(\text{None}) &= 0.98 \log P + 2.89 \sum \sigma_I^{\text{ortho}(A)} - 0.78 \sigma_{o,m,p}^0 \\ &\quad - 0.59 \Delta V_w^{\text{ortho}(A)} - 0.46 \Delta V_w^{\text{meta}(A)} \\ &\quad - 1.06 \Delta V_w^{\text{para}(A)} - 1.00 \Delta V_w^{\text{ortho}(B)} \\ &\quad - 1.25 \Delta V_w^{\text{meta}(B)} - 0.85 \Delta V_w^{\text{para}(B)} + 4.38 \quad (23) \\ n &= 37, s = 0.288, r = 0.934, F_{9,27} = 20.43 \end{aligned}$$

(23)式は、殺虫活性に関する (22)式と類似している。相違点は負の σ^0 項で示される A 環部の電子供与性効果 ($\sigma_{o,m,p}^0$) とオルト置換基の負の立体効果が有意となった点である。すなわち、すべての置換位置で置換基の導入は活性にとって立体的には不利であること、A 環側では電子供与性基が好ましいことも明らかになった。(23)式の解析に用いられた化合物は、A 環上に置換基が一個導入されているだけなので、多置換体の殺虫活性の解析に必要であった擬変数項は現れない。 σ^0 は、Hammett の σ 定数に若干含まれている置換基と官能基との直接的共鳴効果の無視される場合に用いられるものである。

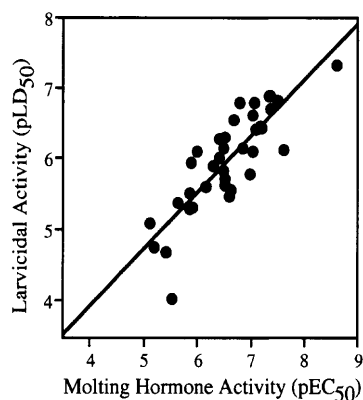


Fig. 8 Relationship between larvicidal and molting hormone activities against *Chilo suppressalis*.

3. 脱皮ホルモン様活性におけるエクダイソン類縁体との統一構造活性相関

ショウジョウバエの Kc-Cell から得られたセルフリー系におけるエクダイソンの結合実験から, DBH 類はステロイド型のエクダイソン類と拮抗することが明らかにされている³⁹⁾. ニカメイチュウ培養表皮系でエクダイソン類および DBH 類の脱皮ホルモン様活性を評価することができたので, これら 2 系列の化合物の活性を, 統一的に, かつ定量的に解析することを試みた. 従来の Hansch-Fujita 法¹⁾では, 化学構造上の特徴が大きく異なる化合物群の QSAR 解析は困難であったが, 1988 年に Cramer らによって始められた Comparative Molecular Field Analysis (CoMFA)⁴⁸⁾を用いることによって, 統一的な解析が可能となった.

CoMFA 法について簡略に述べると, 3 次元空間で構造上の特徴を異にする化合物群の立体構造をもっとも“合理的”に重ね合わせ, 重ね合わせた分子を 3 次元空間に固定する. そして, それぞれの分子と格子点との間の静電的および立体的相互作用ポテンシャルを計算し, 多くの格子点におけるこれら相互作用ポテンシャルの値が, 活性強度とどのような定量的関係にあるかを解析する方法である. 分子内の部分構造あるいは置換基の疎水性に基づく疎水性相互作用エネルギーについては, いまだ問題が残されており, 分子全体の疎水性 ($\log P$) を独立変数として計算に用いることが多い. CoMFA 法におけるもっとも重要な過程の一つは立体構造の重ね合わせである. DBH 類については RH-5849 (IX: $X_n=Y_n=H$), およびその A 環の片方のオルト位が塩素で置換された 2-Cl 体 (IX: $X_n=2-Cl, Y_n=H$) の X 線結晶回折データ, エクダイソン類については文献に記載された 20-ヒドロキシエクダイソンの X-線結晶回折データの座標⁴⁹⁾を基礎として, 分子モデリングシステムである SYBYL (Ver. 6.0) を使い, それぞれ初期分子座標を構築し, 半経験的分子軌道法 PM3 によってコンフォメーションの最適化を行なった. 以上のようにして最適化された最安定構造の RH-5849, 2-Cl 体 (IX: $X_n=2-Cl, Y_n=H$),

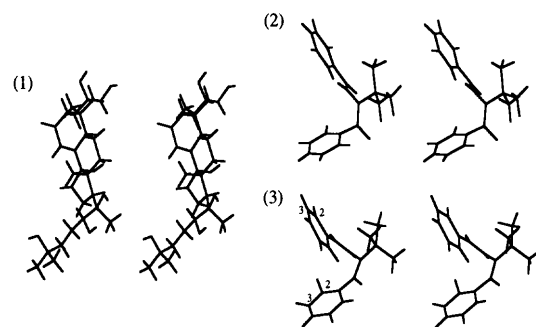


Fig. 9 X-ray structures of reference compounds.

(1) 20-Hydroxyecdysone, (2) RH-5849 (IX: $X_n=Y_n=H$), (3) IX: $X_n=2-Cl, Y_n=H$ (Reproduced with the permission of American Chemical Society).

および 20-ヒドロキシエクダイソンの立体構造は Fig. 9 に示すとおりである. その他の DBH 置換誘導体およびエクダイソンの類縁体については, これらのコンフォメーションを参考にした初期構造をもとに同様な最適化を行なった.

このような最安定コンフォメーションを有する構造を, 一定の基準により, もっとも重なり合う程度が“良好”になるように重ね合わせる. DBH 類相互間では, 二つのベンゼン環の架橋部分 C-CON-NCO-C を, エクダイソン類相互間についてはステロール環 (五つの類縁体で共通) とアルキル側鎖の共通部分を重ね合わせた. DBH 類とエクダイソン類を重ね合わせる場合, それぞれの立体構造における折れ曲がり構造部分に着目して, Fig. 10 に示す 2 通りの方法 (Superimposition-A, B) を用いた. Fig. 10 において矢印で関係付けられた両系統の化合物内の規準原子ができるだけ近接するように, Fig. 11 に示されているように重ね合わせを行なった. また, ステロールの B 環のカルボニル基を DBH 類の一方のカルボニル基に, B 環上の α, β -不飽和結合の 2 個の sp^2 炭素を, DBH 類のヒドラジの 2 個の N 原子に, さらに, ステロールの 14 位の OH 酸素を DBH 類の *t*-Bu 基

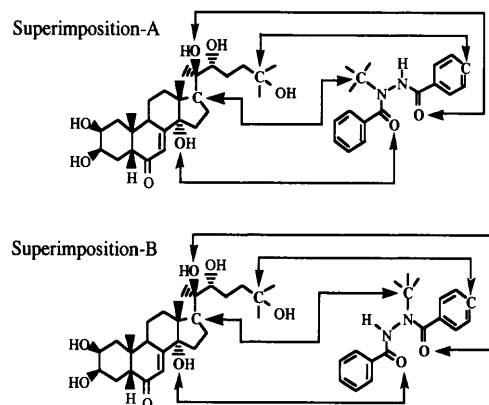
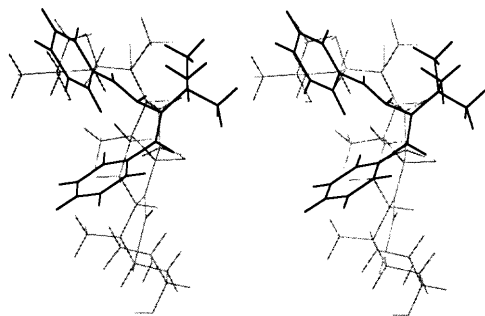


Fig. 10 Superimpositions between 20-hydroxyecdysone and RH-5849 referring to three-dimensional bending structures (Reproduced with the permission of American Chemical Society).

Superimposition-A



Superimposition-B

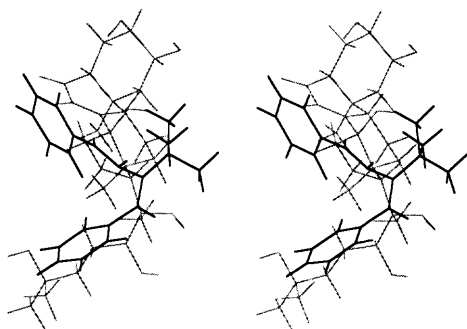


Fig. 11 Stereoviews for superimpositions A and B between RH-5849 and 20-hydroxyecdysone (Reproduced with the permission of American Chemical Society).

に近いカルボニル基の酸素に対応させ、対応する原子間の距離がもっとも接近するよう重ね合せ位置を決定する Superimposition-C (Figs. 12, 13) についても検討を加えた。このようにして重ね合せた後、 $\log P$ を分子全体の疎水性のパラメーターとして考慮し、CoMFA 解析を行なった⁵⁰⁾。

3通りのCoMFA解析の結果から、立体構造の折れ曲がりに着目して重ね合せた Superimposition-A および B が、Superimposition-C に比べて良好な 3次元 QSAR 解析結果を与えたが、Superimposition-A および B の間にそれほど大きな違いは認められず、どちらの重ね合せが妥当であるかについては明確にはならなかった。そこで、DBH 骨格のいずれか一方のベンゼン環をアルキル鎖 (C_4-C_6) で置き換えた二系列の化合物を合成し、脱皮ホルモン様活性を測定

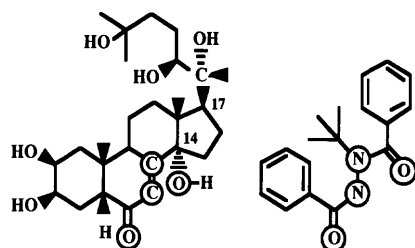


Fig. 12 Two dimensional similarity between 20-hydroxyecdysone and RH-5849 and the reference atoms circled for superimposition-C (Reproduced with the permission of American Chemical Society).

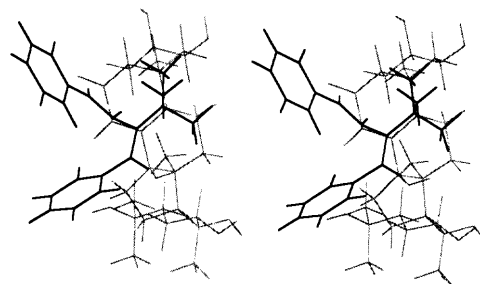
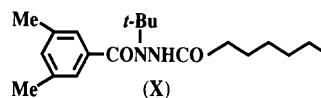


Fig. 13 Stereoviews for superimposition-C between RH-5849 and 20-hydroxyecdysone (Reproduced with the permission of American Chemical Society).

した。その結果、B-環部分をアルキル鎖で置き換えた誘導体の活性は、A-環部分をアルキル鎖で置き換えたものに比べて約 1000 倍高い活性を示した。なかでも、テブフェノジド (IV) の B 環部を C_6 の直鎖アルキルで置換した化合物 (X) の脱皮ホルモン活性は、テブフェノジドの約 1/3 であるが、20-ヒドロシエクダイソンの約 20 倍であった。すなわち、DBH 類の B 環部はアルキル鎖で置換が可能であり、ステロイド型エクダイソン類縁体の 17 位の脂肪族側鎖と対応することがわかった⁵¹⁾。



おわりに

以上、定量的構造活性相関解析によって、脱皮阻害剤であるベンゾイルフェニルウレア類およびジベンゾイルヒドラジン類の生物活性における置換基効果を、個体および組織レベルで比較し、活性の発現にとって有意な物理化学的因子と構造上の条件を明らかにするとともに、活性発現過程のみならず代謝過程における置換基の物理化学的意義、化合物の輸送を支配している分子全体の、および位置特異的な疎水効果について新しい知見を得ることができた。また、3次元定量的構造活性相関の一つである CoMFA 法によって、ステロイド型のエクダイソン分子中に、DBH 類分子の活性発現部位に対応する部分構造の存在することを明らかにした。

昆虫脱皮阻害剤だけでなく、他の多くの生理活性物質の系列において定量的構造活性相関解析が行なわれてきたが、最近では、Hansch-Fujita 法は確立された方法論と考えられ、問題点は CoMFA 法などの 3次元 QSAR 法に改良を加え、いかに巧みに活用するかに向けられているかのようなのである。とはいえ、いまだ多くの生理活性物質系列において、Hansch-Fujita 法の適用可能な例の存在し続けることは確実であり、本稿で示した実例と同様に、分子(下)レベルの作用機構および優れた活性プロファイルを示す系列化合物のデザインに貴重な指針を与えることが期待される。

本研究を行なうにあたり終始ご指導、ご助言を賜った京都大学名誉教授 藤田稔夫先生には、心から感謝の意を表します。研究者として第一歩を踏み出すにあたりご助言、ご指導いただきました京都大学名誉教授 中島 稔先生、京都府立大学名誉教授 野田万次郎先生に、留学中にご指導を受けたカリフォルニア大学デービス校の松村文夫教授と Bruce D. Hammock 教授にお礼申し上げます。また、終始ご支援、ご助言をいただいた京都大学名誉教授 栗原紀夫先生、上野民夫教授、岩村 倅教授、北原克彦博士、西村勤一郎博士、西岡孝明博士、内田又左衛門博士、深見治一博士、赤松美紀博士に深謝致します。石原産業、住友化学工業、武田薬品工業、田辺製薬、日本化薬、日本農薬株式会社には、供試昆虫や中間体などの提供を受けましたことに対し、お礼申し上げます。最後になりましたが、本研究を行なうにあたりご協力をいただいた、児玉 亨、神崎 浩、西村 淳、外松朋子、入江一浩、長谷川隆昭、赤木俊夫、木村 隆、木下勝敏、泉 恵一、松谷道子、及川信宏、曾家義博、中井克己、高橋良一、清水文一、服部一成の各氏をはじめとする、京都大学農学部生物調節化学（元農薬化学）研究室の皆さまに感謝致しますとともに、今回の受賞の栄誉を分かち合いたいと思います。

引用文献

- 1) C. Hansch & T. Fujita : *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 1616 (1964)
- 2) T. Fujita, J. Iwasa & C. Hansch : *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 5175 (1964)
- 3) E. Kutter & C. Hansch : *J. Med. Chem.* **12**, 647 (1969)
- 4) A. Verloop : "Pesticide Chemistry, Human Welfare and the Environment," ed. by J. Miyamoto & P. C. Kearney, Vol. 1, Pergamon, Oxford, pp. 339-344, 1983
- 5) A. Bondi : *J. Phys. Chem.* **68**, 441 (1964)
- 6) J. J. van Daalen, J. Meltzer, R. Mulder & K. Wellinga : *Naturwissenschaften* **59**, 312 (1972)
- 7) L. C. Post & W. R. Vincent : *Naturwissenschaften* **60**, 431 (1973)
- 8) K. Wellinga, R. Mulder & J. J. van Daalen : *J. Agric. Food Chem.* **21**, 348 (1973)
- 9) K. Wellinga, R. Mulder & J. J. van Daalen : *J. Agric. Food Chem.* **21**, 993 (1973)
- 10) A. Verloop & C. D. Ferrell : "Pesticide Chemistry in the 20th Century: ACS Symposium Series 37," ed. by J. R. Plimmer, Am. Chem. Soc., Washington, D.C., pp. 237-270, 1977
- 11) Y. Nakagawa, K. Kitahara, T. Nishioka, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **21**, 309 (1984)
- 12) Y. Nakagawa, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **23**, 7 (1985)
- 13) Y. Nakagawa, T. Sotomatsu, K. Irie, K. Kitahara, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **27**, 143 (1987)
- 14) Y. Nakagawa, T. Akagi, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **30**, 67 (1988)
- 15) Y. Nakagawa, K. Izumi, N. Oikawa, A. Kurozumi, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **40**, 12 (1991)
- 16) T. Nishioka, T. Fujita & M. Nakajima : *J. Pesticide Sci.* **4**, 367 (1979)
- 17) K. Kitahara, Y. Nakagawa, T. Nishioka & T. Fujita : *Agric. Biol. Chem.* **47**, 1583 (1983)
- 18) Y. Nakagawa, M. Matsutani, N. Kurihara, K. Nishimura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **42**, 242 (1992)
- 19) Y. Nakagawa, M. Matsutani, N. Kurihara, K. Nishimura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **43**, 141 (1992)
- 20) Y. Nakagawa, T. Akagi, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **33**, 144 (1989)
- 21) T. Sotomatsu & T. Fujita : *J. Org. Chem.* **54**, 4443 (1989)
- 22) M. Charton : *Prog. Phys. Org. Chem.* **13**, 119 (1981)
- 23) T. Sotomatsu, Y. Nakagawa & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **27**, 156 (1987)
- 24) 芳賀隆弘・土岐忠昭・小柳 徹・西山隆三 : 農薬誌 **10**, 217 (1985)
- 25) J. G. Topliss & R. J. Costello : *J. Med. Chem.* **15**, 1066 (1972)
- 26) A. Verloop, W. Hoogenstraaten & J. Tipker : "Drug Design," ed. by E. J. Arience, Vol. 3, Academic Press, New York, pp. 165-207, 1976
- 27) C.-C. Yu & R. J. Kuhr : *J. Agric. Food Chem.* **24**, 134 (1976)
- 28) Y. Nakagawa, K. Izumi, N. Oikawa, T. Sotomatsu, M. Shigemura & T. Fujita : *Environ. Toxicol. Chem.* **11**, 901 (1992)
- 29) Y. Nakagawa & F. Matsumura : *Comp. Biochem. Physiol.* **106C**, 705 (1993)
- 30) Y. Nakagawa, F. Matsumura & Y. Hashino : *Comp. Biochem. Physiol.* **106C**, 711 (1993)
- 31) Y. Nakagawa & F. Matsumura : *Insect Biochem. Mol. Biol.* **24**, 1009 (1994)
- 32) G. W. Ivie : *J. Agric. Food Chem.* **26**, 81 (1978)
- 33) S. C. Chang & J. B. Stokes : *J. Econ. Entomol.* **72**, 15 (1979)
- 34) R. E. White & M. J. Coon : *Annu. Rev. Biochem.* **49**, 315 (1980)
- 35) T. H. Fisher & A. W. Meierhoefer : *J. Org. Chem.* **43**, 224 (1978)
- 36) Y. Nakagawa, K. Nishimura, K. Izumi, K. Kinoshita, T. Kimura, N. Kurihara & T. Fujita : *J. Pesticide Sci.* **21**, 195 (1996)
- 37) H. E. Aller & J. R. Ramsay : Proc.; Brighton Crop Prot. Conf. Pests Dis., p. 511, 1988.
- 38) A. C.-T. Hsu : "Synthesis and Chemistry of Agrochemicals II : ACS Symposium Series 443," ed. by D. R. Baker, J. G. Fenyes & W. K. Moberg, Am. Chem. Soc., Washington, D.C., pp. 478-490, 1991
- 39) K. D. Wing : *Science* **241**, 467 (1988)
- 40) K. D. Wing, R. A. Slawewski & G. R. Carlson : *Science* **241**, 470 (1988)
- 41) N. Oikawa, Y. Nakagawa, K. Nishimura, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Sci.* **41**, 139 (1994)
- 42) T. Sotomatsu, M. Shigemura, Y. Murata & T. Fujita : *J. Pharm. Sci.* **82**, 776 (1993)
- 43) N. Oikawa, Y. Nakagawa, K. Nishimura, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **48**, 135 (1994)
- 44) N. Oikawa, Y. Nakagawa, Y. Soya, K. Nishimura, N. Kurihara, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **47**, 165 (1993)
- 45) J. W. Fristrom & M. A. Yund : "Invertebrate Tissue Culture Research Application," ed. by K. Maramorosch, Academic Press, New York, pp. 161-178, 1976
- 46) Y. Nakagawa, K. Nishimura, N. Oikawa, N. Kurihara & T. Ueno : *Steroids* **60**, 401 (1995)
- 47) Y. Nakagawa, Y. Soya, K. Nakai, N. Oikawa, K. Nishimura, N. Kurihara, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Sci.* **43**, 339 (1995)
- 48) R. D. Cramer, D. E. Patterson & J. D. Bunce : *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5959 (1988)

- 49) R. Huber & W. Hoppe: *Chem. Ber.* **98**, 2403 (1965)
 50) Y. Nakagawa, B. Shimizu, N. Oikawa, M. Akamatsu, K. Nishimura, N. Kurihara, T. Ueno & T. Fujita: "Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry: ACS Symposium Series 606," ed. by C. Hansch & T. Fujita, Am. Chem. Soc., Washington, D.C., pp. 288-301, 1995
 51) 中川好秋・服部一成・清水文一・栗原紀夫・上野民夫: 日

本農薬学会第21回大会講演要旨集, p. 50, 1996

略歴

中川好秋

生年月日: 1955年11月26日

最終学歴: 京都大学農学部農学研究科修士課程修了

趣味: スポーツ (とくにスキー), クッキング

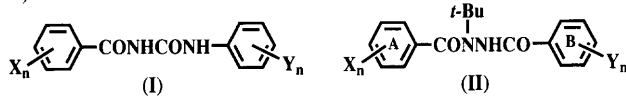
Society Awards 1996

(on high prospectiveness)

Quantitative Structure-Activity Relationships of Molting Inhibitors

INTRODUCTION

Compounds which inhibit the insect metamorphosis including molting are well known as the insect growth regulators (IGRs), which are thought to be safe to mammals. IGRs are broadly classified into juvenile hormone mimics, chitin synthesis inhibitors, and molting hormone mimics, among which pyriproxyfen, diflubenzuron, chlorfluazuron, tebufenozide, and some others have been commercialized. Diflubenzuron and chlorfluazuron belong to the benzoylphenylureas (BPU, I), and tebufenozide to the dibenzoylhydrazines (DBH, II).



Even though the exact mode of action differs between BPU and DBH analogs, both series of compounds affect the integument growth by regulating the chitin synthesis. Thus, we developed systems using cultured integumental fragments from rice stem borers (*Chilo suppressalis*) to measure the *in vitro* activities of chitin synthesis inhibitors¹⁾ and molting hormone mimics.²⁾ We synthesized a number of BPU³⁻⁶⁾ and DBH analogs^{7,8)} having various substituents on the benzene rings and measured the *in vitro* activities^{9,10)} as well as the larvicidal activity against *C. suppressalis*,³⁻⁶⁾ silkworms, *Bombyx mori*,¹¹⁾ and common cutworms, *Spodoptera litura*.¹¹⁾ The quantitative analyses of the substituent effects on the activity in terms of the Hansch-Fujita method¹²⁾ disclosed the physicochemical properties of compounds and substituents determining not only the intrinsic activity, but also factors participating in the transport and metabolic process. This article is an abbreviated review of the quantitative structure-activity (QSAR) studies of BPU and DBH.

QSAR FOR BENZOYLPHENYLUREAS

The effects of substituents in the benzoyl moiety on the larvicidal activity against *C. suppressalis* was quantitatively analyzed showing that the higher the total hydrophobicity, the higher the electron withdrawal from the side chain, and the lower the total steric bulkiness of *ortho* substituents, the higher is the activity.⁴⁾ We also examined QSAR for the larvicidal activity against *B. mori* and *S. litura*, and found that they are similar to that for *C. suppressalis*.¹¹⁾

The QSAR result for the effects of *para*-substituents in the phenyl moiety showed that the larvicidal activity against *C. suppressalis* is enhanced with the introduction of electron withdrawing and hydrophobic substituents, but decreased with the introduction of broad groups.^{3,5)} For the expanded set of compounds, in which not only mono-*ortho*, -*meta* and -*para* substituted, but also a variety of multisubstituted compounds are included, a similar QSAR result was obtained along with the position-specific steric and hydrophobic effects for *ortho*- and *meta*-substituents.⁶⁾

In the course of the QSAR study for the phenyl substituent effects on the larvicidal activity, we found that the contribution of the electronic effect to the activity variations changes significantly between conditions with and without synergists against *C. suppressalis*. The value of the regression coefficient of the electronic parameter term in QSAR correlation equations with and without piperonyl butoxide (PB) was 1.06 and 2.94, respectively, as shown in Table 1.⁹⁾ Differing from the QSAR results obtained for the benzoyl substituent effects,¹¹⁾ the phenyl substituent effects on the larvicidal activity against *C. suppressalis* are not similar to those against *B. mori* and *S. litura*. The electronic parameter term in QSAR equations for the larvicidal activity against *C.*

Table 1 Comparison of electronic parameter terms in the QSAR equations derived for the larvicidal activity against *Chilo suppressalis*, *Bombyx mori*, and *Spodoptera litura*.

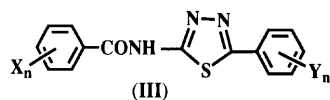
Insect species	None	With PB	With DEF ^{a)}
<i>C. suppressalis</i>	2.94 σ_I	1.06 σ_I	nd ^{b)}
<i>B. mori</i>	-1.38 σ	-1.25 σ	-1.35 σ
<i>S. litura</i>	nd ^{b)}	0	nd ^{b)}

a) DEF: *S, S, S*-tributylphosphorotrithioate.

b) Not determined.

suppressalis, *B. mori* and *S. litura* under various synergistic conditions were summarized in Table 1.¹¹⁾ For the activity against *B. mori*, the regression coefficient of the electronic parameter term is stable irrespective of the synergistic conditions, and the regular electronic parameter σ instead of σ_I gave the significant results. The electronic effect was insignificant in the QSAR for the larvicidal activity with PB against *S. litura*.¹¹⁾ These results suggest that the electron withdrawing substituents play a role to suppress the oxidative metabolism in the phenyl moiety, and the electron donating groups are favorable to the intrinsic activity.

To ascertain the above suggestions, we examined the substituent effects on the *in vitro* activity, in terms of the inhibition of the incorporation of *N*-acetylglucosamine, the precursor of chitin, into the cultured integumental fragments, with and without PB.⁹⁾ The QSAR result for the activity without PB showed that the electron-withdrawing ability in terms of the inductive σ_I is favorable to the activity. With PB, however, the sign of the electronic term was reversed and the regular Hammett σ worked much better than σ_I . Under conditions with *S, S, S*-tributylphosphorotrithioate (DEF), the pI_{50} value did not vary significantly suggesting that hydrolytic metabolic mechanism is not important even for compounds with strongly electron-withdrawing substituents.⁹⁾ Similar results were founds in the QSAR for the phenylthiadiazolylbenzamides (III).¹³⁾



QSAR FOR DIBENZOYLHYDRAZINES

The larvicidal activity against *C. suppressalis*^{7,8)} and the *in vitro* molting hormonal activity in terms of the stimulation of *N*-acetylglucosamine incorporation into the cultured integument¹⁰⁾ were measured for a number of DBHs (II). PB and DEF scarcely synergized both *in vivo* and *in vitro* activities.^{7,10)} The larvicidal activity was correlated with the *in vitro* activity as shown in Fig. 1, indicating that the substituent effects on the activity are similar between *in vivo* and *in vitro* activities against *C. suppressalis*.¹⁰⁾ The stimulation of the immature molting seems to be closely related to the larvicidal activity of

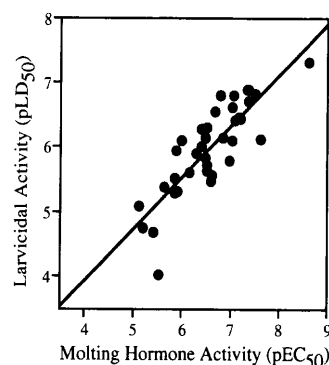


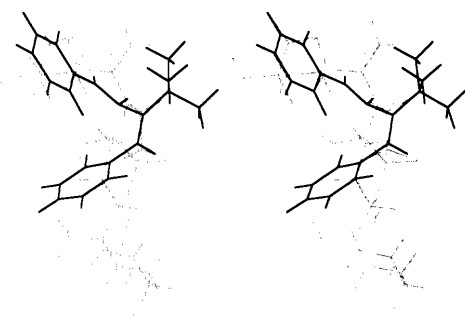
Fig. 1 Relationship between larvicidal and molting hormone activities against *Chilo suppressalis*.

DBHs.

The effects of substituents on the two benzene rings were quantitatively analyzed to indicate that the activity is increased with an increase in the molecular hydrophobicity as well as by introducing the electron donating groups into the A-ring with some electron withdrawing effect of *ortho* substituents.¹⁰⁾ As far as the steric effects is concerned separately, however, the introduction of substituents at any position is unfavorable to the activity.

Even though there is a large difference between DBH and ecdysone structures, it has been shown that DBH analogs are bound to the ecdysone binding site.¹⁴⁾ Thus, we sought for the three-dimensional structural similarity between these two series of compounds. There is a

Superimposition-A



Superimposition-B

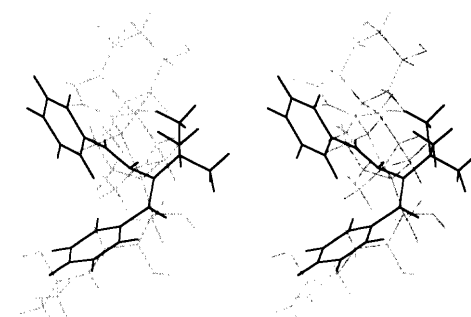
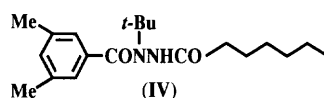


Fig. 2 Stereoviews for superimpositions A and B between RH-5849 and 20-hydroxyecdysone (Reproduced with the permission of American Chemical Society).

similarity in three-dimensional structures of unsubstituted dibenzoylhydrazine (RH-5849) and 20-hydroxyecdysone as shown in Fig. 2, in which two structures were superimposed on the basis of their bending geometry in two different manners, A and B.¹⁵⁾

After superimposing 37 DBHs¹⁰⁾ and 5 ecdysone analogs¹⁶⁾ according to the MLS (minimum least squares) procedure, for distances between some selected atoms in RH-5849 and their counterpart atoms in other DBH analogs as well as in ecdysones, similar to those indicated in Fig. 2, we quantitatively analyzed the *in vitro* activity using comparative molecular field analysis (CoMFA).¹⁷⁾ Even though a slightly better result was obtained with the procedure of the superimposition-B, there is no distinct difference between superimpositions-A and B,¹⁵⁾ as far as the DBH analogs presently used are concerned.

To determine which superimposition procedure is more probable, we synthesized compounds in which either A- or B-ring of tebufenozide (II: $X_n=3,5\text{-Me}_2$, $Y_n=4\text{-Et}$) is replaced with short alkyl chains ($C_4\text{-}C_6$), and measured their *in vitro* activity. Compounds in which the B-ring moiety is replaced were about 1000 times more active than the other. Thus, we could suggest that the B-ring moiety of DBH compounds corresponds to the alkyl side chain of 20-hydroxyecdysone. Among compounds synthesized, IV was 20 times more active than 20-hydroxyecdysone, but less active than tebufenozide in terms of the *in vitro* activity.¹⁸⁾



REFERENCES

- 1) Y. Nakagawa, M. Matsutani, N. Kurihara, K. Nishimura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **42**, 242 (1992)
- 2) N. Oikawa, Y. Nakagawa, Y. Soya, K. Nishimura, N. Kurihara, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **47**, 165 (1993)
- 3) Y. Nakagawa, K. Kitahara, T. Nishioka, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **21**, 309 (1984)
- 4) Y. Nakagawa, T. Sotomatsu, K. Irie, K. Kitahara, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **27**, 143 (1987)
- 5) Y. Nakagawa, T. Akagi, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **30**, 67 (1988)
- 6) Y. Nakagawa, K. Izumi, N. Oikawa, A. Kurozumi, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **40**, 12 (1991)
- 7) N. Oikawa, Y. Nakagawa, K. Nishimura, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Sci.* **41**, 139 (1994)
- 8) N. Oikawa, Y. Nakagawa, K. Nishimura, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **48**, 135 (1994)
- 9) Y. Nakagawa, M. Matsutani, N. Kurihara, K. Nishimura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **43**, 141 (1992)
- 10) Y. Nakagawa, Y. Soya, K. Nakai, N. Oikawa, K. Nishimura, N. Kurihara, T. Ueno & T. Fujita : *Pestic. Sci.* **43**, 339 (1995)
- 11) Y. Nakagawa, T. Akagi, H. Iwamura & T. Fujita : *Pestic. Biochem. Physiol.* **33**, 144 (1989)
- 12) C. Hansch & T. Fujita : *J. Am. Chem. Soc.* **86**, 1616 (1964)
- 13) Y. Nakagawa, K. Nishimura, K. Izumi, K. Kinoshita, T. Kimura, N. Kurihara & T. Fujita : *J. Pesticide Sci.* **21**, 195 (1996)
- 14) K. D. Wing : *Science*, **241**, 467 (1988)
- 15) Y. Nakagawa, B. Shimizu, N. Oikawa, M. Akamatsu, K. Nishimura, N. Kurihara, T. Ueno & T. Fujita : "Classical and Three-Dimensional QSAR in Agrochemistry: ACS Symposium Series 606," ed. by C. Hansch & T. Fujita, Am. Chem. Soc., Washington, D.C., pp. 288-301, 1995
- 16) Y. Nakagawa, K. Nishimura, N. Oikawa, N. Kurihara & T. Ueno : *Steroids* **60**, 401 (1995)
- 17) R. D. Cramer, D. E. Patterson & J. D. Bunce : *J. Am. Chem. Soc.* **110**, 5959 (1988)
- 18) Y. Nakagawa, K. Hattori, B. Shimizu, N. Kurihara & T. Ueno : Abstr.; 21th Annu. Meet. Pestic. Sci. Soc. Jpn., A116, 1996 (in Japanese)