

数種のグアニジン塩及びその誘導体の伝染性軟化病に対する発病抑制効果

誌名	日本蠶絲學雜誌
ISSN	00372455
巻/号	553
掲載ページ	p. 202-204
発行年月	1986年6月

数種のグアニジン塩及びその誘導体の伝染性軟化病 に対する発病抑制効果*

宮島成寿¹⁾・川瀬茂実²⁾

1) 愛知県長久手町・愛知県農業総合試験場 (〒 480-11)

2) 名古屋市千種区・名古屋大学農学部 (〒 464)

(1985年12月6日 受領)

SHIGETOSHI MIYAJIMA¹⁾ and SHIGEMI KAWASE²⁾: Inhibitory effects of several guanidine salts and derivatives on the incidence of infectious flacherie in the silkworm, *Bombyx mori*

In previous papers, we reported that guanidine hydrochloride has an inhibitory effect on the incidence of infectious flacherie in the silkworm, *Bombyx mori*. In this paper, several salts of guanidine and derivatives were tested for their inhibitory effects on the disease. Of these chemicals, guanidine carbonate, guanidine nitrate, guanidine phosphate and guanidine sulfamate reduced the incidence of infectious flacherie in the same way as guanidine hydrochloride did. On the other hand, sulfaguanidine, dodecylguanidine acetate and octylguanidine acetate, which do not dissociate into guanidyle radicals, failed to reduce it. When guanidine carbonate was heated at 200°C for 1 hour to decompose the guanidyle radicals, it lost its inhibitory effect on the virus.

From these results, it is suggested that the antiviral activity of several guanidine salts on the infectious flacherie virus is associated with the guanidyle radical. (¹⁾ Aichi-ken Agricultural Research Center, Nagakute, Aichi 480-11; ²⁾ Faculty of Agriculture, Nagoya University, Nagoya 464)

カイロ伝染性軟化病の発病に対して、グアニジン塩酸塩 (GH) が顕著な抑制効果を有することはすでに報告したので、今回は GH 以外のグアニジン塩及びグアニジン誘導体について検討した。その結果、グアニジル基に解離する塩 (グアニジン炭酸塩, 同硝酸塩, 同磷酸塩, 同スルファミン酸塩) では抑制効果が認められたが、解離しないグアニジン誘導体 (スルファグアニジン, ドデシルグアニジン酢酸塩, オクチルグアニジン酢酸塩) では抑制効果が認められなかった。また、グアニジン炭酸塩のグアニジル基を熱処理で分解すると、発病抑制効果は消失した。

これらの結果から、伝染性軟化病ウイルスに対するグアニジンの抗ウイルス効果は、薬剤の化学構造の面からグアニジル基が活性の中心をなしていると推定される。

著者らは、さきにグアニジン塩酸塩が伝染性軟化病の発病に対して抑制効果を有することを明らかにした (川瀬・宮島, 1982; 宮島・川瀬, 1983; 宮島

ら, 1983)。今回は数種のグアニジン塩及びその誘導体による本病の発病抑制効果を検討し、2, 3の新知見を得たので報告する。

本文に入るに先立ち、種々のグアニジン塩及びその誘導体を供与され、また貴重な助言を与えられた日本カーパイド工業(株)横山忠夫氏ならびに三和ケミカル(株)渡辺守雄氏に謝意を表する。

* 伝染性軟化病に対するグアニジンの発病抑制効果についてIV。本研究の一部は文部省科学研究費総合研究(A)課題番号58360033(代表者 川瀬茂実)によって行われた。

材料と方法

供試したグアニジン塩及びグアニジン誘導体は、グアニジル基 $\text{NH}_2 \cdot \text{C}(\text{:NH}) \cdot \text{NH}_2$ に解離するものとして、グアニジン塩酸塩（高純度の製品と工業用の製品）、同炭酸塩、同磷酸塩、同スルファミン酸塩を、また同基に解離しないグアニジン誘導体としては、スルファグアニジン、ドデシルグアニジン酢酸塩及びオクテルグアニジン酢酸塩である。これらの供試濃度はいずれも $100 \mu\text{g/ml}$ で、蒸留水に溶解して用いたが、不溶の薬剤はエタノールで溶解した後、蒸留水を加えて1%エタノールになるよう調整した。

伝染性軟化病ウイルス（以下 IFV と略、いわゆる坂城株）は名古屋大学農学部養蚕学教室で継代したものを、接種液は IFV による病蚕の10%磨砕ろ液の 8,000rpm, 20分間遠心上清を10倍に稀釈して原液とした。桑葉の裏面に10倍に段階稀釈した IFV 液を塗布、表面には各薬液を散布して蚕児に給与した。なお、 $-\log \text{ED}_{50}$ 値は Behrens-Kärber 法によって求めた。

グアニジンによる伝染性軟化病の発病抑制効果がグアニジル基によるものかどうかを確認するためにグアニジン炭酸塩を熱処理し、グアニジル基を分解したものを供試した。すなわち、熱処理としてはグアニジル基の分解条件を超える 200°C 、1時間乾熱後、0.1%の水溶液に調整して更にオートクレーブで、 110°C 、1時間の処理をした。この処理によるグアニジル基の分解は、ガスクロマトグラフィーによる予備実験により確認された。なお、使用に当たってはこれを10倍に稀釈し、最終濃度を 0.01% とした。

結果

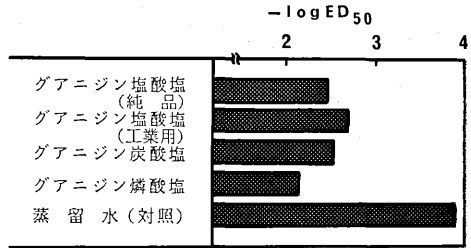
1. 数種のグアニジン塩及びグアニジン誘導体による抑制効果

グアニジンのうち、グアニジル基に解離するグアニジン塩酸塩（高純度の製品と工業用の製品）、同炭酸塩及び同磷酸塩を3齢起蚕に IFV 接種と同時に投与し、その後も連続投与した結果を第1図に示す。

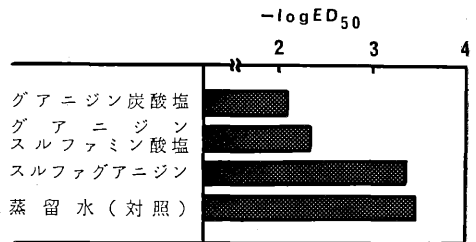
この図より明らかなように、上記のいずれの塩を投与した場合にも発病抑制効果が認められ、塩酸塩

が純品であっても工業用であってもその効果は同程度であった。

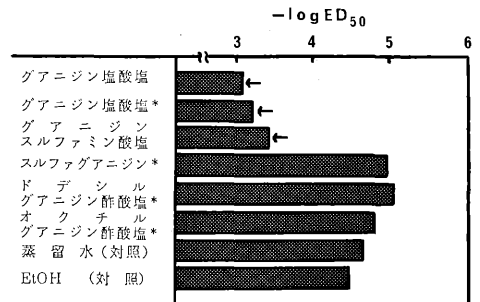
つぎに、グアニジン炭酸塩と同じくグアニジル基に解離するグアニジンスルファミン酸塩及びグアニジル基に解離しないスルファグアニジンを、IFV を接種した3齢起蚕より投与した結果は第2図のよう



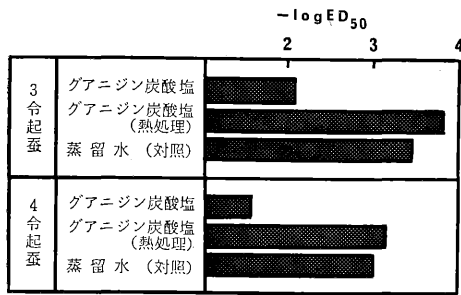
第1図 各種グアニジンによる発病抑制効果 (その1)
注. 供試蚕品種: 春嶺×鐘月; 時期: 1984年6月8日~6月21日; 伝染性軟化病ウイルス接種: 3齢起蚕.



第2図 各種グアニジンによる発病抑制効果 (その2)
注. 供試蚕品種: 春嶺×鐘月; 時期: 1984年6月15日~6月26日; 伝染性軟化病ウイルス接種: 3齢起蚕.



第3図 各種グアニジンによる発病抑制効果 (その3)
注. 供試蚕品種: 錦秋×鐘和; 時期: 1984年9月28日~10月10日; 伝染性軟化病ウイルス接種: 3齢起蚕; EtOH: 1%エタノール; *印: 1%エタノールに溶解; 矢印: 発病率がそれ以下を示す.



第4図 熱処理したグアニジン炭酸塩の抑制効果
注. 供試蚕品種: 春嶺×鐘月; 時期: 1984年6月15日~6月26日 (4龄起蚕よりの試験区は1984年6月22日~7月3日); 伝染性軟化病ウイルス接種は3龄起蚕又は4龄起蚕.

になった。

すなわち, グアニジン炭酸塩とグアニジンスルファミン酸塩には発病抑制効果が認められたが, グアニジル基に解離しないスルファグアニジンには抑制効果は認められなかった。この結果より, 発病抑制効果にはグアニジル基の関与が考えられたので, つぎにスルファグアニジンに加えてグアニジル基に解離しないドデシルグアニジン酢酸塩及びオクチルグアニジン酢酸塩についても発病抑制効果を検討した第3図)。

第3図より明らかなように, グアニジル基に解離するグアニジン塩酸塩と同スルファミン酸塩については, 第1図及び第2図の結果と同様発病抑制効果があったが, 同基に解離しないスルファグアニジン, ドデシルグアニジン酢酸塩及びオクチルグアニジン酢酸塩は抑制効果を示さなかった。

2. 熱処理したグアニジンの抑制効果

グアニジル基が解離して存在する条件が伝染性軟化病の発病抑制に関与する可能性が強まったので, 抑制効果を有するグアニジン炭酸塩と熱処理によりグアニジル基を分解したものについての抑制効果を調査した (第4図)。

この結果より, 3龄起蚕あるいは4龄起蚕のいずれにIFVを接種した場合にも, グアニジン炭酸塩には発病抑制効果が認められ, 熱処理した場合には抑制効果が認められなかった。

考 察

これまでの結果から, 伝染性軟化病ウイルスに対するグアニジン塩及びグアニジン誘導体の抗ウイル

ス効果は, 薬剤の化学構造の面から, グアニジル基が活性の中心をなしている可能性が推定される。

グアニジンのウイルス阻害の機構については, 感染細胞の膜へのコリシンのとりこみに干渉すること (Penman and Summers, 1965), 成熟過程における阻害 (Jacobson and Baltimore, 1968) 及びカプシド蛋白質の形成阻害 (Yin, 1977) などが知られている。しかし, その主な効果はウイルス RNA の合成阻害にあるといわれ (Huang and Baltimore, 1970; Koschel and Wecker, 1971; Caliguiri and Tamm, 1973), また, 最近, グアニジンによる *in vitro* でのポリオウイルス RNA の複製阻止効果が報告されている (Terschak, 1982)。

今回のIFVに対するグアニジンの抑制効果がウイルス増殖のどの過程で効いているのか明らかでないが, IFV接種後少なくとも42時間後からグアニジンを連続投与しても効果が認められない (川瀬・宮島, 1982) ことから考えると, 感染の比較的初期に特にRNA合成を阻害している可能性が強いように思われる。また, オートラジオグラフィーを用いた研究によっても, それを支持する結果が得られつつある (宮島・川瀬, 未発表)。

文 献

- CALIGUIRI, L. A. and TAMM I. (1973) : In "Selective Inhibitors of Viral Function" (CARTER, W. ed.), CRC Press, Cleveland.
- HUANG, A. S. and BALTIMORE D. (1970) : J. Mol. Biol., **47**, 275-291.
- JACOBSON, M. F. and BALTIMORE D. (1968) : J. Mol. Biol., **33**, 369-378.
- 川瀬茂実・宮島成寿 (1982) : 日蚕雑, **51**, 341-345.
- KOSCHEL, K. and WECKER, E. (1971) : Z. Naturforsch., **B26**, 940-944.
- 宮島成寿・川瀬茂実 (1983) : 日蚕雑, **52**, 352, 357-358.
- 宮島成寿・鷲田純彦・川瀬茂実 (1983) : 日蚕雑, **52**, 390-393.
- PENMAN, S. and SUMMERS D. (1965) : Virology, **27**, 614-620.
- TERSCHAK, D. R. (1982) : J. Virol., **41**, 313-318.
- YIN, F. H. (1977) : Virology, **82**, 299-307.