総 説

[*Nippon Nôgeikagaku Kaishi* Vol. 53, No. 7, R71~R76, 1979]

日本における農薬用抗生物質の研究†

米 原 弘

(東京大学応用微生物研究所)

日本は農薬専用の抗生物質を開発生産している世界で唯一の国である。なぜこのようなことができたかを考えてみると、わが国の農業形態に大いに関わり合いがあるように思われる。わが国の農業は集約された稲作中心で、高い収量を挙げている。これは品種改良、土壌改良、肥料投与とさまざまな手段の贈であるが、農薬の役割も見逃すことはできない。稲の病害の主なものイモチ病であり、これに次いで白葉枯病、紋枯病などがあり、いずれも病原菌による感染で発病する。イモチ病は *Piricularia oryzae* によるもので、これに対する農薬として当時日本では有機水銀剤が多用されていた。有機水銀剤は低濃度で各種植物病原菌に有用であったが、その多用は国民保健上問題があるとして、これに代わる新農薬の登場が待望されていた。

Blasticidin S⁽¹⁻⁸⁾

当時われわれは東京大学農学部農芸化学科において、新抗生物質を求めて大々のスクリーニングを開始していた。そこに農林省農業技術研究所農薬科より、イモチ菌もスクリーニングに加えたいと共同研究を申し込まれ

た。そこで、われわれが分離した放線菌のうち、抗カビ性を示す 560 株を農技研に送り、グリーンハウスで育成した種苗を仕立て、これにイモチ菌を接種したものに、放線菌の培養液を振りかけてイモチ病防除の効果を判定した。繰り返し実験の結果、不安定なポリエン抗生物質等が除かれて、antimycin A, blastmycin, blasticidin の三者が残った。

Antimycin A と blastmycin は同属体に属する抗生物質の混合体で、その化学構造とお互いの関係は図のように決定した。

Antimycin A 群の抗生物質は *in vitro* で *P. oryzae* の生育を 0.05 mcg/ml で抑え、大変有効と思われたが、*in vivo* では 100~200 ppm を散布しないと十分な防除効果が得られなかった。しかも非常に強力な魚毒性があり、滋賀県水産試験場の調査によると、0.1 mcg/l、すなわち百億分の 1 の低濃度でも、鮎の稚魚を殺すという猛毒性があるということで、水田に散布する抗イモチ剤として不適当ということになり開発を放棄した。

Blasticidin は *Streptomyces griseochromogenes* と命名した放線菌の培養液から分離された。初め、同菌の菌

Antimycin A-Blastmycin Group Antibiotics

		R	R'	
Blastmycin complex	{		-H	Deisovalerylblastmycin
			-COCH(CH ₃) ₂	
		<i>n</i> -C ₄ H ₉ -	-COCH ₂ CH ₂ CH ₃	
			-COCH(CH ₃)CH ₂ CH ₃	
			-COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	Antimycin A ₃ , Blastmycin
Antimycin A complex	{		-COCH(CH ₃) ₂	
		<i>n</i> -C ₆ H ₁₃ -	-COCH(CH ₃)CH ₂ CH ₂	
			-COCH ₂ CH(CH ₃) ₂	Antimycin A ₁

† Studies on Pesticide Antibiotics in Japan.

Hiroshi YONEHARA (Institute of Applied Microbiology, The University of Tokyo, Tokyo 113)

体から抽出した blasticidin A が得られた。Blasticidin A も、*in vitro* でイモチ病に非常に有効であったが、*in vivo* では 100~200 ppm を撒かないと十分な効果が挙げられなかった。その上、blasticidin A は紫外線に不安定で、日光直射下で薬効が続かなかった。

S. griseochromogenes の培養液が大変よく効いたのに、その菌体から得た blasticidin があまり効かないので、さらに培養液中の有効成分を精査して blasticidin S を発見した。グリーンハウスでのイモチ病防除試験で blasticidin S は下表のような成績を示し、有機水銀剤と同等またはそれ以上の有効性を示している。

Therapeutic Effect of Blasticidin S against Rice Blast Disease

Fungicides	(conc. mcg/ ml)	Average of blast spots per pots		Chlo- rosis	
		Sprayed 4 days before inocula- tion (pre- ventive effect)	Sprayed 1 day after inocula- tion (ther- apeutic effect)		
Blasticidin S	{	2	96	19.3	—
		5	64	3.7	—
		10	100	1.5	—
		20	76	0.2	±
		50	42	0	+
		100	11	0	++
		200	10	0	+++
Phenyl mercuric Acetate (per Hg)	10	48	10.0	—	
	20	28	7.8	—	
Control		86	76.3	—	

Each pot contained 10 plants having 4 leaves.

この blasticidin S は大量生産にも成功したので、その試料を用いて、全国の農事試験場の協力を得て、大々的な実用化試験を行い、実用されることになった。

Blasticidin S は $C_{17}H_{26}O_5N_8$ の分子式をもつ水溶性塩基性の抗生物質で、大量培養液から陽イオン交換樹脂によって容易に精製される。その化学構造はわれわれにより苦心の後、図のように決定された。

Blasticidin S は 5~10 ppm の散布で、有機水銀剤 10~20 ppm に相当する効果を示し、とくに感染後の治療効果がよいことが注目される。ここに世界で初めての農薬用抗生物質が出現したのである。抗生物質が農薬として使用しえ、経済的にも成り立ちうることを示し、この後における日本での各種農薬用抗生物質開発の指標と

Blasticidin S

なりえたことは、同抗生物質の開発に終始関係した者として、大きな誇りを感じている。

Detoxin⁽⁹⁻¹³⁾

Blasticidin S はこのように実用化されたのであるが、実用してみると意外な副作用が指摘された。それは散布濃度が高くなると薬害を生ずること、とくに畦に植えてある大豆等に薬害がひどいということ、人間の眼を刺激する作用のあることであった。

この状況を打開するためわれわれは、積極的に blasticidin S の化学的または微生物的変換を試みた。しかし、薬害が減れば、薬効も下がるという具合で成功しなかった。微生物的変換の実験中、ある放線菌の培養液が、検定菌である *Bacillus cereus* に対する blasticidin S の薬効に拮抗することを認めた。しかも面白いことに、この培養液は blasticidin S の *P. oryzae* に対する薬効には拮抗しないのである。よってわれわれは、この物質を blasticidin S の選択的拮抗物質 detoxin と命名した。プレート上で blasticidin S と detoxin を含ませた濾紙を直交させて検定すると、下図のような阻止像が得られる。

Detoxin は類似の構造を有する 20 種ほどの物質の混合物である。Blasticidin S 200 mcg/ml をインゲンに撒くと枯れてしまう。これに detoxin 混合物 50 mcg を加えると、インゲンは正常に育成する。この混合物はイモチ病に対しては効果を低下させることはない。また、detoxin を加えると眼に対する刺激も低下する。非常に都合のよい解毒剤が見つかったものである。

Detoxin は非常に多数の類縁体の混合物であるので一つずつを純粋に分離することは大仕事であった。まず主成分である detoxin D₁ を分離し、その構造を決定した。その構造を基にして、CMR, PMR を比較しながら微量成分の detoxin 類の構造を決めていった。それらの構造は下図に示すとおりである。

Kasugamycin^(14~20)

Blasticidin S に続く、抗イモチ剤として微生物化学研究所の梅沢らによって kasugamycin が発表された。これは、*Streptomyces kasugaensis* という菌の培養液から抽出された。この場合も培養液をイモチ菌を接種した稲苗に直接散布して有効培養液を選択していった。この培養液は普通の寒天平板 (pH 7) ではイモチ菌に阻止像を作らなかったが、寒天平板の pH を 4~4.5 とすると阻止円が生じ、検定することができ、抽出精製を行うことができた。Kasugamycin は 20 mcg/ml で、イモチ病に有機水銀剤と同程度の効力を示す。動植物には何らの薬害を示さない。この点が有利で、大量生産にも成功し、blasticidin S 以上に大量に使用されている。

Kasugamycin の化学構造は梅沢らにより図のごとく決定されており、その全合成も中島ら (京大)、および、梅沢ら (慶大) によって行われた。

Cellocidin^(21~24)

イモチ病に次ぐ、稲の細菌病に白葉枯病がある。これは *Xanthomonas oryzae* により発病するもので、九州、四国地方に多発していたが、だんだん北上して東北地方でも発生することがある。白葉枯病は温室内で自由に発生させられないので、病原菌である *X. oryzae* を対象

として、有効物質のスクリーニングを行った。放線菌の培養液のほか、既知抗生物質を含めて試験した。その結果、培養液から laurusin と命名した。X. oryzae に有効な物質を取り、その化学構造を次のように決定した。

Laurusin は *in vitro* では *X. oryzae* によく効いたが、*in vivo* で散布すると、非常に薬害が強く植物を枯らしたので実用化はできなかった。

既知抗生物質の中では cellocidin が *X. oryzae* に有効であることを発見した。Cellocidin は理化学研究所の鈴木らが BCG 菌に有効なものとし、その構造を決定していたものである。

構造が簡単なので大量に安価に合成することができ、これを圃場で試験したところ 100~200 ppm の濃度で有効であり、経済的にも成り立つことがわかって市販されている。しかし、これ以上の濃度で使用すると薬害を生ずることがあり、抗白葉枯病剤として決定的なものではない。

Polyoxin^(25~39)

稲の第三の病害は紋枯病である。理化学研究所の鈴木らは、稲苗の紋枯病を接種したものに、放線菌の培養液を振りかける方法を用いて、*Streptomyces cacaoi* var. *asoensis* の培養液から紋枯病に有効な polyoxin を分離した。

Polyoxin は 13 種類から成る同族体で、鈴木らは一々これを単離して、その構造を決定した。置換基の差によ

り抗菌スペクトルにも差があり, polyoxin D, E, F はとくに紋枯病に有効であり, polyoxin B はとくに果樹の黒斑病に有効で, 現在では果樹の病害に用いられる量が多い。

Validamycin^(40~52)

武田薬品では抗紋枯病抗生物質をやはり培養液の振りかけ法によって, *Streptomyces hygroscopicus* var. *limoneus* の培養法より, 有効物質 validamycin を発見した。

Validamycin は, 初め普通の検定平板では阻止円が現れなかったが, *in vivo* で紋枯病に有効なことから, 苦心して検定法を検討した結果, 重層法の平板を作り, 検定できるようになったという。Validamycin には A~F の 5 種類があり, A が主成分でその構造は図に示す

とおりである。現在では抗紋枯病剤としては最も多く売られている。

Mildiomyacin^(53,54)

武田薬品では, 各種植物のウドン粉病に有効な物質として, *Streptomyces rimofaciens* B-98891 の培養液から, mildiomyacin を単離した。その化学構造は図に示すとおりであるが, blasticidin S との類似が注目される。

おわりに

日本で開発され実用化されている農薬用抗生物質について紹介した。その中でおわかりのように, スクリーニングに際し, 振りかけ法を用いて成功した例の多いことである。*in vivo* で散布して有効でなければ役に立たないわけであるから, この方法は理に合っていると思う。

農業の世界には難治といわれるウイルス病, サビ病等が残っている。これらに対し有効な物質を求めて, 今後とも努力してゆきたい。

- (1) S. Takeuchi, K. Hirayama, K. Ueda, H. Sakai and H. Yonehara: *J. Antibiot.*, **11A**, 1~5 (1958).
- (2) T. Misato, I. Ishii, M. Asakawa, Y. Okimoto and K. Fukunaga: *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **24**, 302~306(1959).
- (3) N. Ōtake, S. Takeuchi, T. Endo and H. Yonehara: *Agric. Biol. Chem.*, **30**, 132~141(1966).
- (4) H. Yonehara and N. Ōtake: *Tetrahedron Lett.*, 3785~3791 (1966).
- (5) H. Seto, I. Yamaguchi, N. Ōtake and H. Yonehara: *Tetrahedron Lett.*, 3793~3799 (1966).
- (6) H. Seto, I. Yamaguchi, N. Ōtake and H. Yonehara: *Agric. Biol. Chem.*, **32**, 1292~

- 1298 (1968).
- (7) T. Misato, I. Ishii, M. Asakawa, Y. Okimoto and K. Fukunaga : *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **26**, 19~24 (1961).
 - (8) T. Misato, Y. Okimoto, I. Ishii, M. Asakawa and K. Fukunaga : *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **26**, 25~30 (1961).
 - (9) H. Yonehara, H. Seto, A. Shimazu, S. Aizawa, T. Hidaka, K. Kakinuma and N. Ōtake : *Agric. Biol. Chem.*, **37**, 2771 (1973).
 - (10) K. Kakinuma, N. Ōtake and H. Yonehara : *Tetrahedron Lett.*, 2509 (1972).
 - (11) N. Ōtake, K. Furihata, K. Kakinuma and H. Yonehara : *J. Antibiot.*, **27**, 484 (1974).
 - (12) T. Ogita, N. Ōtake, K. Kakinuma and H. Yonehara : *Agric. Biol. Chem.*, **42**, 3003 (1978).
 - (13) T. Ogita, N. Ōtake and H. Yonehara : "Peptide Chemistry," Protein Research Foundation, Osaka, 1978, p. 99.
 - (14) H. Umezawa, Y. Okami, T. Hashimoto, Y. Suhara, M. Hamada and T. Takeuchi : *J. Antibiot.*, **18**, 101~108 (1965).
 - (15) Y. Suhara, K. Maeda and H. Umezawa : *Tetrahedron Lett.*, 1239~1244 (1966).
 - (16) Y. Suhara, F. Sasaki, K. Maeda, H. Umezawa and M. Ohono : *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 6559~6560 (1968).
 - (17) T. Ikekawa, H. Umezawa and Y. Iitaka : *J. Antibiot.*, **19**, 49~50 (1966).
 - (18) M. Nakajima, H. Shibata, K. Kitahara, S. Takahashi and A. Hasegawa : *Tetrahedron Lett.*, 2271~2274 (1968).
 - (19) T. Ishiyama, I. Hara, M. Matsuoka, K. Saito, S. Shimada, R. Izawa, T. Hashimoto, M. Hamada, Y. Okami, T. Takeuchi and H. Umezawa : *J. Antibiot.*, **18**, 115~119 (1965).
 - (20) N. Tanaka, H. Yamaguchi and H. Umezawa : *J. Biochem.*, **60**, 429~434 (1966).
 - (21) S. Suzuki and K. Ōkuma : *J. Antibiot.*, **11**, 84~86 (1958).
 - (22) S. Suzuki, G. Nakamura, K. Ōkuma and Y. Tomiyama : *J. Antibiot.*, **11**, 81~83 (1958).
 - (23) Y. Okimoto and T. Misato : *Ann. phytopath. Soc. Japan*, **28**, 209~215 (1963).
 - (24) Y. Okimoto and T. Misato : *Ann. phytopath. Soc. Japan*, **28**, 250~257 (1963).
 - (25) S. Suzuki, K. Isono, J. Nagatsu, T. Mizutani, Y. Kawashima and T. Mizuno : *J. Antibiot.*, **18A**, 131 (1965).
 - (26) K. Isono, J. Nagatsu, Y. Kawashima and S. Suzuki : *Agric. Biol. Chem.*, **29**, 848~854 (1965).
 - (27) K. Isono and S. Suzuki : *Tetrahedron Lett.*, 1131~1137 (1968).
 - (28) S. Sasaki, N. Ohta, J. Eguchi, Y. Furukawa, T. Akashiba, T. Tsuchiyama and S. Suzuki : *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **34**, 272~279 (1968).
 - (29) A. Endo and T. Misato : *Biochem Biophys. Res. Commun.*, **37**, 718~722 (1968).
 - (30) N. Ohta, K. Kakiki and T. Misato : *Agric. Biol. Chem.*, **34**, 1224~1234 (1970).
 - (31) M. Hori, K. Kakiki and T. Misato : *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 691~698 (1974).
 - (32) K. Isono, K. Asahi and S. Suzuki : *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, 7490~7505 (1969).
 - (33) K. Isono and S. Suzuki : *Tetrahedron Lett.*, 203~208 (1968).
 - (34) K. Asahi, T. Sakurai, K. Isono and S. Suzuki : *Agric. Biol. Chem.*, **32**, 1046~1047 (1968).
 - (35) H. Kuzuhara, H. Ohrui and S. Emoto : *Tetrahedron Lett.*, 5055~5058 (1973).
 - (36) J. Eguchi, S. Sasaki, N. Ohta, T. Akashiba, T. Tsuchiyama and S. Suzuki : *Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **34**, 280~288 (1968).
 - (37) S. Sasaki, N. Ohta, I. Yamaguchi, S. Kuroda and T. Misato : *J. Agric. Chem. Soc. Japan*, **42**, 633~638 (1968).
 - (38) S. Suzuki, K. Isono, J. Nagatsu, Y. Kawashima, J. Nagatsu, K. Yamagata, K. Sakai and K. Hashimoto : *Agric. Biol. Chem.*, **30**, 817~819 (1966).
 - (39) K. Isono, J. Nagatsu, K. Kobinata, K. Sakai and S. Suzuki : *Agric. Biol. Chem.*, **31**, 190~199 (1967).
 - (40) T. Iwasa, H. Yamamoto and M. Shibata : *J. Antibiot.*, **23**, 595~602 (1970).
 - (41) T. Iwasa, E. Higashide, H. Yamamoto and M. Shibata : *J. Antibiot.*, **24**, 107~113 (1971).
 - (42) T. Iwasa, Y. Kameda, M. Asai, S. Horii and K. Mizuno : *J. Antibiot.*, **24**, 119~123 (1971).
 - (43) S. Horii and Y. Kameda : *J. Chem. Soc. Commun.*, 747~748 (1972).
 - (44) S. Hosokawa, S. Ogiwara and Y. Murata : *J. Takeda Res. Lab.*, 119~131 (1974).
 - (45) S. Horii, T. Iwasa and Y. Kameda : *J. Antibiot.*, **24**, 57~58 (1971).
 - (46) S. Horii, T. Iwasa, E. Mizuta and Y. Kameda : *J. Antibiot.*, **24**, 59~63 (1971).
 - (47) K. Kamiya, Y. Wada, S. Horii and M. Nishikawa : *J. Antibiot.*, **24**, 317~318 (1971).
 - (48) O. Wakae and K. Matsura : Proc. Ist. Intersectional Congress of IAMS (Science Council of Japan), **3**, 620~627 (1974).

- (49) T. Iwasa, E. Higashide and M. Shibata : *J. Antibiot.*, **24**, 114~118 (1971).
- (50) O. Wakae and K. Matsuura : Abstr. 2nd International Congress of Pathology, No. 129 (1971) U. S. A.
- (51) Y. Kameda and S. Horii : *J. Chem. Soc. Commun.*, 746~747 (1972).
- (52) Y. Kameda and K. Yamamoto : *Abstr. Ann. Phytopath. Soc. Japan*, **36**, 356 (1970).
- (53) S. Harada and T. Kishi : *J. Antibiot.*, **31**, 519~524 (1978).
- (54) S. Harada, E. Mizuta and T. Kishi : *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, 4895~4897 (1978).
-