

ストロビルリン系殺菌剤の開発経緯と作用機構

うえ すぎ やす ひこ
上 杉 康 彦

はじめに

技術開発の歴史には発明・発見,あるいは手法の改善などにより画期的な進歩が見られることがある。植物防疫の分野で最近発展が著しいストロビルリン系殺菌剤の開発はそのような例の一つとも考えられよう。その特徴の一つは,天然の抗菌性物質をモデルとして合成展開した結果,優秀な薬剤が次々と開発されつつあることである。これは殺虫剤分野における合成ピレスロイド剤の開発に匹敵する現象であり,農業用殺菌剤の分野では今までになかったことである。

もう一つの特徴は,この系統の薬剤が呼吸によるエネルギー生成の一つの過程を阻害するのであるが,人畜に対する毒性は十分に低いことで,呼吸の過程は種々の生物間での共通点が多いからその阻害剤から低毒性の薬剤が開発され難いであろうという懸念を覆したことであろう。このことについては,オキシカルボキシン,メプロニル,フルトラニル,チフルザミド,フラメトピルなどアリールカルボキシアニリド系の殺菌剤がやはり呼吸の生化学的過程の一段階を阻害するのに低毒性であって,しかも担子菌に選択的に効果が高い事実もすでに明らかになっており,呼吸阻害剤に選択性は求め難いとする考え方は改められるべきことがさらに確かめられたことになる。

I ストロビルリン系剤開発の経緯

はじめに述べたように,この系統の薬剤はストロビルリン(strobilurin),オウデマンシン(oudemansin)などメトキシアクリル酸エステル(methoxyacrylate)の基本化学構造を持つ天然抗菌性物質群をモデルとして合成展開して開発された殺菌剤であるが,最初にこの系統の物質ストロビルリンAが菌の生産物として報告されたのが1965年のことであるから,かなりの年月をかけて研究されて開発にこぎ着けた薬剤群といえる。

これらの化合物の基本化学構造は図-1のとおりであるが,ストロビルリン類は $X=OCH_3$ または OCH_2OH ,

$Y=CH$, Rには1-メチル-1-アルケニル構造の大きな側鎖を持ち,現在までに16種類が同定されている。オウデマンシン類はXとYがストロビルリンと同様,Rは1-メチル-2-メトキシアクリル型の構造の側鎖で,現在までに4種類が同定されている。これらのほかにYの部分に大きな側鎖を持つメリチアゾール(melithiazol)やYに側鎖を持ちXがアミドとなったミクソチアゾール(myxothiazol)などの天然抗菌物質群も見いだされていて,それら多数の天然抗菌物質群に関する知見が今回の新規合成薬剤開発の基礎となっているのである。

これらの天然抗菌物質の多くは担子菌類が生産するものであるが,中には子囊菌あるいはバクテリアが生産するものもある。いずれも二次代謝産物と思われ,それら物質の生物学的な意義には様々な推測ができるのであるが,生物間の拮抗現象にかかわっていたとの推測が有力である。しかし,生産菌自体の生育に影響を与えなかったのか否か,影響を与えなかったとしたらどのようなメカニズムがあったのだろうか,など解明されていない点も多く残されている。

これらの天然抗菌物質群が新規農業用殺菌剤のモデルとして注目され始めたのは1980年以降で,この群の天然物質のいくつかは,二,三の農薬メーカーで試験されたほか,ストロビルリンEが*Alternaria*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Penicillium*, *Phoma*など,オウデマンシンXが*Alternaria*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Ustilago*など,それぞれ植物病原菌またはそれに近縁の菌に抗菌力を持つことが発表されている。1988年の京都における国際植物病理学会議のポスターセッションで,ドイツのカイザーラウテルン大学のANKEらがストロビルリン類およびオウデマンシン類の抗菌力について発表した際には,一般からは大きな注目を集めることは

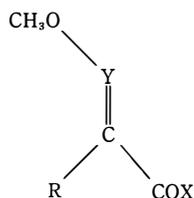


図-1 ストロビルリン系物質の基本化学構造

Details of Development and Mode of Action Serobilurin-
derivd Fungicides. By Yasuhiko UESUGI

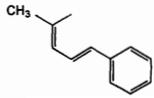
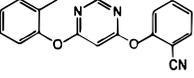
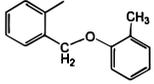
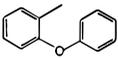
(キーワード:ストロビルリン, クレソキシムメチル, アゾキシ
ストロピン, メトミノストロピン, 作用機構)

なかったものの、一部の農薬メーカーからは熱い視線を浴びていたのである。その後これに注目する農薬メーカーが増加して、現在では世界で30社以上が何らかの形で農薬探索の指標としていていると思われる。

ストロビルリン系の化合物を農薬として用いる場合に問題となるのは化学的な不安定性で、天然物をそのまま用いることは経済性ととも、光分解など環境中での速やかな分解が大きな隘路となった。そのため、合成展開によってその欠点の克服が試みられ、アゾキシストロビン (azoxystrobin) とクレソキシムメチル (kresoxim-methyl) が開発されたのである。これらの化学構造を天然物ストロビルリン A と対比して表-1 に示した。表中のメトミノストロビン (metominostrobin) の合成展開はストロビルリンとは別の発想から出発したとのことであるが、展開途中からストロビルリン系剤と共通の化学構造にたどり着いたので、ストロビルリン研究の情報が大いに役に立ったに違いない。

ここで、筆者のようなオールドタイマーにとって興味深いことは、図-1 に示した基本構造が半世紀前に欧米の殺菌剤研究者によって「 $\alpha\beta$ 不飽和ケトン」と呼ばれた化学構造をとっていることである。有機合成殺菌剤開発研究の黎明期にジクロンなどのキノン類やジノカップなどクロトンエステルなど「 $\alpha\beta$ 不飽和ケトン」構造を持つ化合物がしばしば高い抗菌活性を持つことが提唱されていた。ストロビルリン系剤はまさにその延長上に、天然物化学と有機合成化学の大きな発展によってもたらされた成果と見ることもできるのではないだろうか。

表-1 ストロビルリン A とストロビルリン系殺菌剤の化学構造基本骨格(図-1)への置換基の比較。

化合物名	X	Y	R
Strobilurin A	OCH ₃	CH	
Azoxystrobin	OCH ₃	CH	
Kresoxim-methyl	OCH ₃	N	
Metominostrobin	NHCH ₃	N	

II 呼吸の仕組みとその阻害

1 低毒性呼吸阻害剤の開発

ストロビルリン系化合物の抗菌活性のメカニズムが、呼吸過程の阻害であることは、すでに、天然物を研究している段階で判明していた。ここで多くの人が懸念するのは、呼吸阻害剤は毒性も高いのではないかとという点であろう。確かに、古来から呼吸阻害剤として知られるシアン化物や一酸化炭素は呼吸の生化学的過程であるシトクロム系の阻害剤であって強い毒性を持っている。しかし、これらの簡単な化学構造を持つ阻害剤はシトクロム系を阻害するとともに、シトクロムと類似の構成成分を持つ色素素ヘモグロビンにも結合してその酸素運搬能力を阻害する。そしてよく考察すると、酸素運搬阻害作用のほうのはるかに毒性への影響が大きいように思われる。シアン中毒症状を意味するチアノーゼとは、まさに、酸素運搬阻害の症状なのである。このことが呼吸阻害剤に対する恐怖を異常に大きくしたように思われる。血液の酸素運搬を阻害せずに、もう一方の呼吸の生化学的過程のみを選択的に阻害できれば、低毒性の薬剤を開発できる可能性が考えられ、それを実証したのがストロビルリン系剤の開発のように思われる。

2 呼吸の仕組み

さて、ここで呼吸の生化学的過程を概観してみよう。呼吸とは生物がエネルギー源となる食物からエネルギーを取り出す営みであるから、蒸気機関車が石炭を焚いて走る営みと類似している。両者の大きな違いは、蒸気機関車の場合には石炭を焚くと同時にそのエネルギーを使ってしまうのであるが、生物が食物からエネルギーを取り出す場合はそれをすぐには使わずに、いつでも使えるような状態として備蓄しておく仕組みがある点である。エネルギー備蓄の状態とは、ATP と呼ばれる物質など高エネルギー結合を含む物質の生成と備蓄をいうが、生物は必要に応じてその物質を分解してエネルギーとするのである。

図-2 に呼吸の仕組みを概観した。エネルギー源である糖などは解糖系と呼ばれる過程で無酸素的に分解されてその間少量の ATP を生成する。嫌気性生物はこの仕組みでエネルギーを取得するが、必ずしも効率的なエネルギー取得方法ではない。好気性生物は酸素を使ってもっと効率的にエネルギーを取り出す。それには糖の分解物をさらに酸化的に分解して最終的には炭酸ガスとするが、その過程が TCA サイクル (クエン酸回路あるいはクレブス・サイクルなどとも呼ばれる) である。ここを循環する間に徐々に酸化されていくが、ここでも酸素

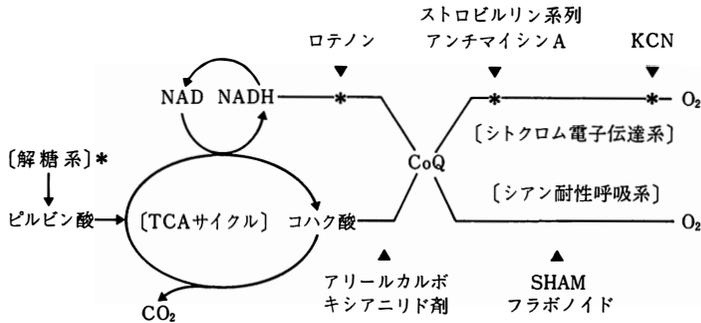


図-2 呼吸によるエネルギー生成の仕組みと阻害剤の作用点 (▲▼)
*は ATP 生成部位, CoQ は補酵素 Q (ユビキノン).

が直接酸化反応に使われるわけではなく、NAD という物質が NADH となって糖分解物である有機酸が脱水素 (酸化) されていき炭酸ガスを発生する。生成した NADH は補酵素 Q とシトクロム系の酵素群を通ずる何段階かの反応で酸素と間接的に反応するが、その過程の 3 箇所 ATP が生成する。TCA サイクルのメンバーである有機酸のうちのコハク酸のみは NAD でなく補酵素 Q によって直接脱水素されるので、シトクロム系の 2 箇所 ATP が生成することになる。

3 既往の農業の作用点

以上に述べた呼吸の生化学的プロセスのうち、アリアルカルボキシアニリド系殺菌剤の作用点はコハク酸脱水素酵素系の阻害である。この系統の殺菌剤が担子菌類に特異的に抗菌力を現すのは興味深い、実は、菌の酵素系を抽出して供試した実験では、これら殺菌剤は子囊菌の酵素系にも高い阻害活性を示す。しかし、子囊菌に対する抗菌活性は高くは現れない。つまり、この作用点は子囊菌にとって致死要因とはなり難いと思われる。致死要因となるか否かが分類学的に区分されるのは興味深い、そのメカニズムは解明されていない。一つの可能性としては、子囊菌ではコハク酸脱水素系を補償する何らかのメカニズムがあるのかもしれない。たとえば、TCA サイクルのその部分をバイパスするグリオキシル酸回路がその補償回路かもしれない。その他の可能性としては、解毒など薬剤代謝や薬剤の菌体への浸透移行が菌によって異なるのかもしれない。

呼吸の生化学的阻害のもう一つの作用点として、ロテノンの作用点である NADH の脱水素系が挙げられる。この酵素系が阻害されると NAD が供給されず、TCA サイクルが回らないことになる。この作用点についても興味深い事実がある。パン酵母はこの阻害剤で生育阻害を受けないが、トルラ酵母は生育阻害を受けやすいとの記載が「生化学辞典」(東京化学同人)「ロテノン」の

項目に見られる。この辞典によると、パン酵母はこの作用点での生理機能そのものを持たないから生育阻害を受けないとのことであるが、酵素阻害剤が生育阻害を現さない多くの例を経験してきた筆者には必ずしも納得できる説明ではない。多分、パン酵母ではこの作用点が致死要因とはなり難いと広く解釈すべきなのであろう。

HOLLINGWORTH ら (1994) によると、最近開発されている窒素環構造を持つ親油性の殺菌剤の作用点はこの NADH 脱水素酵素系とのことである。興味深いのは、これらの殺菌剤そのもの、あるいはその類縁体がうどんこ病やさび病に防除活性を持つ事実である。したがって、新規殺菌剤開発の標的作用点としても有望と思われる。この作用点が致死要因となるか否かについてのメカニズムは未解明なのであるが、この作用点についてはビタミン K がバイパスとなることが知られているので、そのような補償回路の存否が阻害剤の選択性を支配しているのかもしれない。全くの私見であるが、この作用点阻害剤に弱い生物は虫であるにせよ菌であるにせよ、分類学的よりは生態的に好気性で表面寄生性であることが共通点であり、そのような生物には NADH 脱水素酵素系の補償回路は不要であって欠如しているためにその作用点の阻害剤に弱いと推定できる。一方、ビタミン K は納豆菌、腸内細菌など半嫌気性の生物が生産する例がよく見られ、そのような半嫌気性生物 (上述のパン酵母も半嫌気性) で NADH 脱水素阻害剤が効きにくい傾向と符号するようにも思われる。無論、この作用点阻害剤の選択性メカニズムについてはその他の可能性も大いに考えられ、今後の興味ある研究課題であらう。

4 ストロビルリン系剤の作用点

さて、最後になったが、本題のストロビルリン系剤の作用点であるシトクロム電子伝達系であるが、ここは通常 4 段階の連鎖状の酵素系で空気中の酸素の酸化能力を補酵素 Q を通じて TCA サイクルに伝えている。その

過程の2箇所(ATPを生成し、好気的な呼吸には重要な過程である。KCNなどシアン化合物はこの過程の末端(気体酸素側)に近い過程を阻害し、アンチマイシンAは補酵素Qに近い過程を阻害することが知られている。ストロビルリン系剤はアンチマイシン作用点に近似する箇所を阻害することが明らかとなった。

シトクロム系の呼吸鎖についてはバイパスのあることが以前から知られていて、平常は働いていないがシトクロム呼吸鎖の阻害によって誘導されるので、シアン耐性呼吸系などと呼ばれていた。高等植物体内ではシアン配糖体がしばしば生成するためにシアン耐性呼吸はむしろ普遍的で、よく研究されており、それに寄生する植物病原菌の一部についてもその存在が報告されていた。ストロビルリン系の薬剤についても最近興味ある研究成果が得られている。イネいもち病防除剤メトミノストロビンは、いもち病菌にシアン耐性呼吸を誘導するために室内試験では抗菌力はさほど高くは現れないが、イネに施用するとイネ体に含まれるフラボノイド類がシアン耐性呼吸系を阻害するために高い病害防除力を発揮することである(KUME et al., 1997)。つまり、ストロビルリン剤とフラボノイドとが抗菌協力作用を現すのである。

シアン耐性呼吸系を構成する酵素系は一般に抗酸化作用を持つ物質で阻害されるが、フラボノイド類もその性質を持っているとの報告は、以前からイネの病害抵抗性関連物質として提唱されていたポリフェノール類との関連を考えると興味深い。ポリフェノールはフラボノイドそのもの、または関連の深い物質群で、抗酸化作用を持つ。停止型のイネいもち病斑周辺の褐色部はポリフェノールの酸化生成物であり、イネのいもち病抵抗性の証とされてきた。しかしポリフェノール自体の抗菌力はさほど高くはないことがわかり、また、それ以外に多くのファイトアレキシンが同定されるに及んで、病害抵抗性関連物質としてのポリフェノールの影は薄くなっていた。しかし、植物体内にシアン配糖体があればポリフェノールは協力的に高い抗菌力を発揮して植物の病害抵抗性に寄与することになる。無論これは単なる仮説に過ぎないが、もしそうならば、ストロビルリン系剤はシアン配糖体など天然のシトクロム阻害物質の作用を補強して、ポリフェノールに病害抵抗性を発揮させる薬剤と考えられることになる。

イネいもち病菌で研究されたこの興味ある成果は、他

の作物病害ではどうなっているのであろうか、興味もたれる。菌のシアン耐性呼吸系誘導の有無はストロビルリン系剤とシアン耐性呼吸系阻害剤との抗菌協力作用の有無で調べることができるので実験したところ、灰色かび病菌はじめ多くの植物病原糸状菌で多かれ少なかれシアン耐性呼吸の誘導が観察されたが、酵母や細菌では誘導が見られなかった(HAYASHI et al., 1996)。植物病原糸状菌に見られるこの特徴的な性質は、菌の植物への寄生性との関連が示唆されて興味深い。

III ストロビルリン系殺菌剤の応用

ストロビルリン系殺菌剤は既往剤とは異なった新規の作用機構で効果を現すから、薬剤耐性問題への有力な対策となるだろう。最近登録されたこの系統の3剤は基本的には類似の広い病害防除有効範囲を持っているが、それぞれ得意の適用範囲があることは興味深い。

クレソキシムメチルとアゾキシストロビンは果樹と野菜の諸病害に有効であって適用範囲はかなり重複するが、どちらかというところは蒸気圧が比較的高く、圃場で気体による再拡散が行われるため、うどんこ病やさび病の防除に有利と思われる。一方、後者は浸透移行性が優れているのでべと病などの防除に有利と思われ、イネ紋枯病にまで効果を現す。メトミノストロビンも同様の有効範囲を持っていると思われるが、イネいもち病防除を対象に開発されている。

おわりに

新しい系統の殺菌剤が新しい経緯を辿^{など}って開発されたことは有意義であったと痛感される。それは圃場での有用性で実証されるのであるが、開発経緯と作用機構を復習すると、将来への教訓と指針についても示唆される点が多い。私見を交えた仮説も述べたが、一般に流布している学説や理論に、ここで遭遇した個々の具体例を当てはめて考え、学説や理論で未検討な部分を想像したもので、今後検討される必要があろう。

引用文献

- 1) HAYASHI, K. et al. (1996): J. Pesticide Sci. 21: 399~403.
- 2) HOLLINGWORTH, R. M. et al. (1994): Biochem. Soc. Transactions 22: 230~233.
- 3) KUME, R. et al. (1997): Ann. Phytopath. Soc. Jpn. 63: 110~112.