

リレー連載

## 農薬を変えた農薬～開発ものがたり・日本の創薬力～ (6)

## 殺菌剤チオファネートメチル

日本曹達株式会社 研究開発本部小田原研究所 佐野 慎亮 (さの しんすけ)

## はじめに

殺菌剤チオファネートメチルが昭和46年(1971年)に販売されてから、今年で44年目を迎えるが、本剤の開発コードがNF-44であることに何かの因縁を感じる。さらに研究初期の化合物が合成され、スクリーニングによる評価研究が始まってから50年が過ぎた現在、当時の研究や開発事情をよく知っている方々の多くは鬼籍に入られた。本稿は当時の社内報告書や生物評価を牽引されていた安田康博士へのインタビューなどを参考に、あまり知られていない開発までのエピソードを中心に、本剤の特長や農業現場における国内外の普及状況や今後の役割等についても簡単にふれ、これからの農薬開発についても言及したい。

## I 大磯の研究施設

神奈川県大磯町に生物研究所が設立されたのは昭和34年であり、その10年後に本剤の前身にあたるチオファネート、さらに2年後に本剤が開発された。本研究所には5億円が投じられ、当時としては最先端の生物評価

研究施設であり、昭和37年に皇室の義宮殿下がご視察された(図-1～3)。

ところで、研究所の立地場所として、なぜ大磯が選ばれたかについては、「今後の農薬は国内の水稲だけでなく世界的な視野に立つべきであり、ブドウやカンキツの病害虫が重要である」という東大の服部静夫教授の意見に従い、カンキツの北限を調査した結果、交通の便がよく人材交流が容易な大磯が選ばれたという。その後、研究所は増設を重ね、昭和42年には日本で初めて「薬剤の安全性についても、人畜をはじめ自然環境に対し、将



図-2 義宮殿下のご視察風景



図-1 生物科学研究所



図-3 研究室のご視察

来とも悪影響を及ぼさないための万全の研究を行う」ことを目的に薬品安全性研究所が設立され、昭和45年に生物研究所と併合して生物科学研究所と改称した。

## II 選択毒性の研究

昭和30年代は農薬に対する安全性や環境問題に関する論議が急速に高まってきた時期である。レイチェル・カーソンの名著「沈黙の春」は、マラリア病を激減させたDDTや生物への蓄積等に関する最近の批判はあるものの、生物多様性の重要性を訴えた啓発書として現在読んでも色褪せていない。当時の農薬は非選択的な作用で効果を示す重金属や塩素系が大半を占め、殺菌剤分野では有機水銀剤や有機ヒ素剤、殺虫剤分野ではDDT等の有機塩素剤やパラチオン等の有機リン剤、除草剤分野ではPCP等が広く使用されていた。このような社会情勢のため、農薬メーカーの各社は「低毒化」を目標にして新農薬の開発を行っていたが、日本曹達の合成陣は重金属を含まず、さらに非塩素系の化合物に重点を置き、生物陣はそれら新規化合物による医薬と農薬の開発をめざし「選択毒性」をキーワードにして探索研究を行っていた。そして、初期のスクリーニングにおいては農薬としての殺菌剤、殺虫剤、除草剤、抗菌試験、各種ポット試験だけでなく、医薬を目指した動物実験による抗腫瘍性、水虫薬の試験等、および安全性の観点から急性毒性や皮膚刺激試験等がほぼ同時期に実施されていた。これら一連の研究成果は「選択毒性の研究」として薬学会で発表されているが、最初の大きな成果は農薬のチオファネートではなく、水虫薬ナフチオメートであり、昭和41年に実を結んだ。おそらく、選択毒性に注目し、多種多様な生物活性を同時かつ短期間に実施することで、現在からすれば非常に少ない合成化合物数ながら効率的な構造活性相関が得られ、無駄のない合成展開が可能になったと想像する。なお、最初に開発されたエチル基置換のチオファネートを兄とするなら、メチル基置換されたチオファネートメチルは弟分と称されているが、実は両者の合成系統、すなわち合成目的は異なり、チオファネートメチルは水虫薬ナフチオメートの分身のような存在であったと考えられる。なぜなら、この原稿を書いていて気が付いたのであるが、THIOPHANATEにMを加えたTHIOPHANATE-MはNAPHTHIOMATEと完全にアナグラムになっているからである。

## III 化合物の合成と生物評価

当時、化合物は富山県高岡の工場内で合成されていた。神奈川県大磯まで遠路運ばれてきたものを評価し、

その結果は隔月で会議が行われ合成展開に活かされていた。現在に比べて生物評価を行う研究要員数も合成化合物の数も格段に少なかったが、遠路はるばる高岡から大磯に来た合成担当者は形式ばった会議を抜け出し、実際の生物担当者と「最近作ったあの化合物をどう思う？」とああでもない、こうでもない議論することを好んだという。

このようにして合成された化合物は二文字のアルファベットと4桁の数字でFA-1234, FG-5678, VA-22, FS-1625のように表記されていた。最初の二文字が研究対象の生物分野や合成者の頭文字等の組合せであり、続く4桁の数字が合成順の通し番号である。例えばVA-22は抗ウイルス剤を指向して合成された22番目の化合物であるが、実はこの化合物こそがチオファネートである。一方、その2年後に水虫薬ナフチオメート(FS-0386)から派生したFS-1625という化合物は、果樹園芸農薬としての殺菌剤を指向した化合物であり、これがチオファネートメチルであった。

これから、小田原研究所に保管され、研究室の棚の奥に積まれていた殺菌剤の月報を久しぶりに取り出し、その内容を辿りながらチオファネートメチル発見から開発までの経緯を紹介したい。前述のように大磯の生物研究所は水稻農薬ではなく、果樹園芸農薬を目指して設立されたにもかかわらず、数年間は大学や試験場で評価系が確立されていた水稻病害を中心にした殺菌剤の評価が行われ、中国農業試験場でイネいもち病や紋枯病の研修を受けていたことが月報に記載されている。対照剤は非選択的な殺菌剤やプラストサイジンSのようなイネいもち病の特効薬であり、一般的な抗菌試験やポット試験でこれらに優る化合物はなかなか見いだされなかったのは当然であった。さらに、「イネいもち病は湿度と温度に敏感であり、手持ちの接種箱ではスクリーニングを円滑に行い難い」というように施設面の問題もあって、生物評価自体も安定しない時期が続いていた。その結果、昭和35～40年までの数年間は新規の有望殺菌剤が見出せず、しかも水稻病害中心の評価であったため、本社からは業を煮やされ、昭和40年6月に「殺菌剤の研究は果樹園芸病害の評価にシフトせよ」とのチャレンジ目標というより必達目標の指示が下った。早速、抗菌試験に用いていた病原菌の種類が見直され、柑橘やリンゴ病害をはじめ、キュウリ炭疽病やトマト萎凋病等の新たなポット試験評価の検討が開始された。

## IV チオファネートの発見と評価

しばらくして、生体内における硫黄の挙動に興味を持

たれ、抗ウイルス剤を目指した含硫黄化合物誘導体の合成が始まった。また、殺菌剤の評価系も見直され、着々と様々な評価系が構築されつつあり、昭和41年3月に果樹園芸病害6種類の病原菌を取り入れた抗菌試験にVA系の26化合物が供試された。すべての菌種に対し10ppmでも菌糸生育阻害が全く認められない中、唯一VA-22だけがイネいもち病菌の胞子発芽試験でそれだけでなく1ppmと書かれていたに過ぎない。翌月、研究要員が倍増されたこともあり、まずは手慣れたイネいもち病のポット試験が数百化合物評価され、7月の試験では12化合物がイネいもち病に対して予防活性を示し、VA-22には治療効果も認められたことから注目された。そして、9月には圃場の自然感染で防除効果が期待される有望な35化合物の一つとして選抜され、約240坪の畑苗代を用いたイネいもち病のベッド試験が実施された。

しかし、「台風の影響で塩害や風害があり、明らかに無効な化合物を除き、一応調査してみたが対照剤と無処理の差異がなく効果不明」との判定された数化合物の一つに加えられただけで、その後、しばらくの間VA-22の名前は月報に登場しない。

翌年の昭和42年4月に殺菌剤の評価責任者が異動し、研究者のさらなる増員があったことから、5月にイネいもち病に治療効果があった薬剤の一斉見直しが行われた。VA-22の名前も復活したが、当時の一つの判断基準で注目されていたナシ黒星病菌の胞子発芽試験で「VA-22にはその効果は認めがたい、発芽形態でも無処理と比べて差異は認められなかった」という記載があり、さらに38種類の病原菌を用いた抗菌試験では、対照の保護剤が50ppmで大半の病原菌に効果を示したのに対し、「VA-22は500ppmでようやく18種の菌に効果を示したのみである」という嘆きのコメントが残されている。

一方、同時期に各種園芸病害のポット試験が実施されるようになり、キュウリ炭疽病、うどんこ病、トマトつる割病等に効果が認められたことから、VA-22は抗菌活性と相関しないのではないかということが言われ始め、自社試験だけでなく外部供試番号NF-35として、国内外の試験場や販社に圃場試験を依頼することになった。今振り返れば、抗ウイルス剤用に合成された26化合物の一つがVA-22であり、イネいもち病に対して治療効果を示したが、ベッド試験は台風襲来で評価できず、抗菌活性は弱い複数の園芸病害にポット活性を示したというだけで外部供試が実施できた幸せな時代であった。

## V テンサイ褐斑病に対する効果

チオファネートの商品名「トップジン」のトップは甜

菜の地上部を指す言葉であるが、テンサイ褐斑病に対する効果が判明したのは、北海道の日本てん菜振興会による試験結果であった。当時は「日本てん菜振興会法」が制定され、甜菜の栽培は当時の国策として多額の補助金が付き、作付面積は5万haを超える中、収量増加を目指した品種改良が進み、優良品種の認定が試験場で行われていた時期であった。特に収量に大きく影響するテンサイ褐斑病に対する耐病性も重要な課題であったが、当時使われていた有機スズ剤は治療性がなく、薬害を示したことから代替剤が求められていた。抗菌試験が弱くポット試験も行われていないVA-22はほとんど期待もされていなかったので、生物評価担当者は藁にもすがる気持ちで10番目に選んだという。このとき、VA-22が選ばれず、日本てん菜振興会で試験されなかったら、トップジンがこの世に生まれなかった可能性が高い。NF-35、すなわちチオファネートはテンサイ褐斑病に卓効を示したことから、耐病性よりも増収性に優る品種が認定会議で採用されるきっかけになった。てん菜振興会の試験報告を受け、道内各試験場の連絡試験にも組み入れられ、当時使われていた有機スズ剤には認められない治療性があり、薬害も認められないことから、製糖メーカーからは大きな期待が寄せられた。昭和44年5月に商品名「トップジン」として登録され、北海道の推奨農薬としてスタートすることができたのは、てん菜振興会の研究所で行われた試験のお蔭である。因みに、テンサイ褐斑病の大規模な圃場試験が道内各地で実施され、実用性が確認された昭和43年は、蝦夷が北海道に改めてから100年目の北海道百年祭の年であり、北海道で初めて製糖メーカーが設立したのは弊社の創立年と同じ1920年である。

## VI チオファネートメチルの開発

チオファネートがNF-35として外部供試が開始された後、昭和42年8月にFS-1625の番号で月報に登場したのがチオファネートメチルである。分子量が小さい分、移行性などの特性に優れることが次第に判明し、昭和43年からNF-44として外部供試されることになった。特にイタリアで試験されたリングうどんこ病試験において、併発した黒星病に対してもNF-44が卓効を示しているという報告を受けた本剤の開発担当者が現地へ赴き、狂喜乱舞してワインで祝杯を挙げたことは想像に難くない。この結果を受け、大磯の研究所設立当初の目論見通り、果樹病害防除剤としての市場が一挙に広がり、かなり強気に国内外同時開発の計画が推進されることになった。そして、国内では重要病害とは考えていなかった灰色かび病に関しても、ブドウ灰色かび病に高い効果

を示し、テンサイ褐斑病と類縁菌のバナナのシガトカ病でも優れた効果が確認され、海外開発は一気に促進することになった。特にコムギ眼紋病に対して優れた効果を示し、麦用の茎葉散布殺菌剤として昭和50年代の麦分野市場形成の先駆となった。

当時も現在も欧米メジャーが優位を占める農薬市場において、日本独自の農薬を欧米に持ち込むことには多くの困難を伴う。前述のように、大磯の研究所では安全性評価体制の整備強化に留意し、長期にわたる各種毒性試験および多種類の作物についての残留分析研究を精力的に行い、研究開発陣の総力を結集していた。そして、チオファネートメチルは難問とされる米国環境保護庁(EPA)の農薬登録を昭和48年に国産農薬の第1号として取得し、さらに国際食品規格委員会の農薬残留規準の設定をクリアし海外輸出の拡大につなげることができた。昭和46年に農薬登録を取得した当時は、日本のみで果樹野菜にてんさい、桑、たばこを加えた11作物19病害であったが、44年後の平成27年現在には、世界中に登録が広がり、登録国は約90か国、作物と病害の数は樹木類のような類登録があるため正確な数字は出せないが、約90作物・180病害以上に登録が広がった。

## VII チオファネートメチルの作用機構

前述のように、VA-22は有機イオウの挙動が、生物活性にどのような影響を表すかに興味を抱き、植物RNAウイルスを含めて核酸合成の代謝調節系との相互作用を期待して合成された含硫黄化合物誘導体である。衆知のように、チオファネートメチルは植物表面上あるいは菌体代謝等によって、この有機イオウを持たないMBCを生成し、殺菌活性の多くにはこのMBCが部分的あるいは全般的な役割を果たしている。また、MBCの作用点は糸状菌のチューブリンであるが、コルヒチンとは異なり、βタブチューブリンとは結合せず、植物チューブリンとの親和性が低いため、毒性や薬害がなく、「選択毒性」に優れている。

キュウリ炭疽病菌を接種し、チオファネートメチルを処理した植物の表皮を観察すると、「胞子は発芽して附着器の形成は認められたが、その後の侵入菌糸の伸長や蔓延は全く観察されなかった。」という記載と顕微鏡観察した綺麗な手書きの図が昭和46年の月報に書かれているので、当時の青焼き原稿の汚れもそのまま掲載する(図-4)。

また、最近の汚れのない写真であるがチューブリンをGFPラベルしたアカパンカビの菌糸に、チオファネートメチル処理後の蛍光写真を示す。30分後ではまだチ

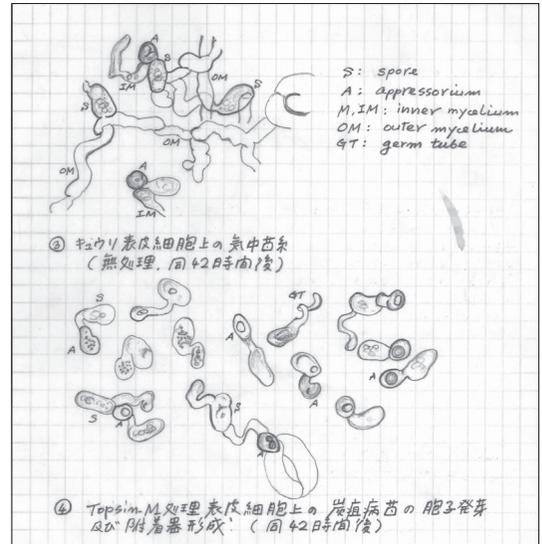


図-4 キュウリ炭疽病菌の胞子発芽と附着器

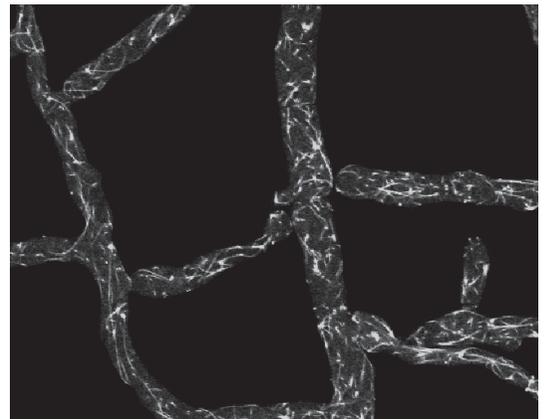


図-5 チオファネートメチル処理30分後

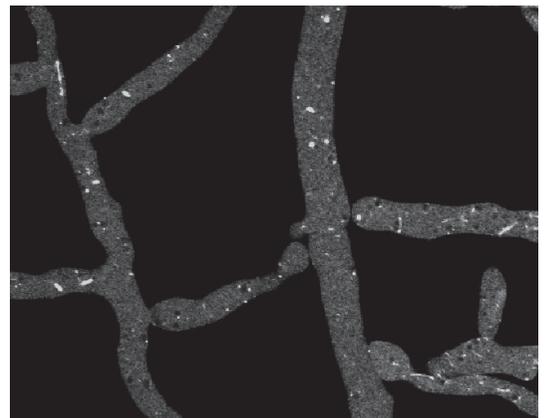


図-6 チオファネートメチル処理60分後

ユーブリンが糸状に見えるが(図-5)、60分後になるとバラバラの顆粒状になるのが観察できる(図-6)。

一方、MBCとは異なり、有機イオウを持つチオファネートメチル自体にも様々な生理活性が知られ、本剤による植物葉のリボゾームRNA合成の初期促進やクロロフィル保持作用などの知見は興味深い。イネの5葉期苗を用いた試験では1mMでカイネチン1ppm処理と同等のクロロフィル保持作用を示し、インゲン茎の切口に塗布すると、切口直下の細胞分裂を促進させ、切口部の面積が小さくなることが報告されている。また、本剤は不完全菌や子嚢菌に優れた活性を示すが、各種さび病などの担子菌類や疫病やべと病等の卵菌類に対して効果を示さない。例外的に担子菌によるイネ紋枯病に効果を示し、卵菌類に近縁のツボカビ門、*Olpidium*属菌が媒介するウイルス病のレタスピッグバイン病にも効果がある。イネ紋枯病菌を用いた呼吸阻害試験では25ppmで36%の呼吸阻害を示していることから、比較的高い濃度ではMBCとは異なる様々な生理活性を示すと考えられる。本剤は植物に対する選択性が極めて高く、リンゴ腐らん病に対する治癒効果などを併せて考えると、植物の病害に対する生体防御反応や正常な生理状態を維持させることを暗示させる。

### VIII これからの農薬開発

医薬開発に比べて、農薬開発は容易だと言われているが、本当だろうか。医薬は感染症を除けば、人間という1種類の生物だけが対象であり、阻害や促進の効果は30%あれば十分である。また、医薬は環境生物への影響を危惧する必要はなく、環境からの影響もほとんど気にする必要がない。研究者数も研究費用もおおむね10倍～100倍であり、医薬は病気を治す善いものというイメージが一般的である。

一方、農薬は何百何千という病原菌、害虫、雑草が対象であり、防除効果は80%以上が求められ、30%では役に立たない。また、農薬は環境生物への影響を十分に配慮する必要があり、雨風や太陽光等の環境の影響を強く受ける。研究者数も研究費用もおおむね医薬の1/10～1/100であり、農薬は悪者のように嫌われている。

このような、過酷な条件の中で新しい農薬の開発は年々厳しくなっていることは明らかであり、今後、44年間にどれほどの新農薬が開発できるかという予想は難しいが、研究の方向性はいくつか挙げられる。

まず、「選択毒性」は必須である。逆説的だが、作用点は単一ではなく、複数が望ましい。しかし、保護剤にしか成り得ないSH阻害作用は既存剤で十分である。混合剤と処理方法を含む製剤研究には今まで以上の注力が必要である。さらに単剤による高い効果を追求するだけでなく、50%程度の効果でもよいから、これらを複数組合せる努力が必要と考える。いずれも、チオファネートメチルの開発に関係することなので、まさに温故知新である。

### おわりに

本稿の執筆依頼が来たとき、いまさらチオファネートメチルの開発について語ることもないというのが本音であったが、50年前に書かれた月報を読み返すと驚きの連続であった。このような機会を与えていただいたことに心より感謝したい。また、チオファネートメチルの生物評価研究を牽引され、現在の殺菌剤研究の基盤を作られ、当時の研究状況をお聞かせいただいた安田康博士に心よりお礼申し上げる。

最後に生物科学研究所の初代所長である野口照久博士と安全性研究を指導された小坂璋吾博士のご冥福をお祈りする。