

究や代謝・残留に関する研究はますます重要性を増すものと考えられる。さらに H. Geissbüler が特別講演で予測したように、今後、作物および病虫学の生化学と分子生物学が急速に進展すれば、コンピュータ等の利用による合理的な農薬デザインのアプローチもより可能となり、効率的な作物保護が期待できると考えられる。

除草剤を中心とした研究の動向

若林 攻

三菱化成総合研究所

VI ICPC (Ottawa) において発表された除草剤に関する研究報告は symposium lectures を含めて 190 件に及び、全報告数の約 1/4 に達する。筆者は IV ICPC (Zürich, 1978) 以来 3 回連続して、この会議に出席してきたが、この会議の連続的發展を除草剤の研究発表に関して（とくに筆者の専門分野である農薬分子設計およびその周辺領域について）考察を加えると、次のことがいえるかもしれない。

1) 分子設計に関しては、化学構造の乱雑さの時代から合理的考察を加える整頓の時代に移行しつつある。

2) 超有効除草剤の分子設計に当たっては、その薬剤が作用点において示すであろう挙動についてもあらかじめ想定しておく必要がある。

3) QSAR とか computer graphics などの使用による分子設計も正確性を増しつつある。

4) 最近話題となっている除草剤抵抗性育種はあくまでも technology であり、これの基になる作用機構とか植物代謝など biosciences 研究の正確性が求められてきた。この項は除草剤解毒剤 (antidotes or safeners) の研究についても同じ。

5) 簡便・安全・安価で、しかも現在の GLC や HPLC 法に比べ高感度 (10^{-20} M) を期待できる酵素反応で検量する ELISA 分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay) は残留農薬の分析に留まらず、今まで同系統化合物群中の (isotope labelled) 代表有効化合物を用いた結果で議論されてきた農薬の浸透移行性の研究に使用され、農薬分子設計に新しい情報を大量に提供するだろう。

以下に今回の VI ICPC (Ottawa) で論ぜられた除草剤関係の話題を 1. 除草剤分子設計に関する最近の話題、2. 除草剤・植物生長調節剤に関する研究報告 topics として総括する（詳細については、東京農業大学総合研究所研究会・農薬部会セミナー集 (1), 1985~1986 を参照

していただきたい)。

1. 除草剤分子設計に関する最近の話題

1) Photosynthetic inhibitors と新除草剤分子設計に関する話題

広義に解釈して、光要求性除草剤などもこれに含めて議論された。除草剤の targets として以前より photosynthetic electron transport system (PET 系) の阻害は議論されてきたところである。この阻害は Hill 反応阻害として検討されてきたが、現在ではこの系には四つの除草剤 targets があると考えられている。このうち energy 伝達の阻害に係わるものは動物の系とも関係するので好ましくないとされる (図 1)。Atrazine や diuron など数多くの光合成阻害除草剤の作用点である PS II-plastoqui-

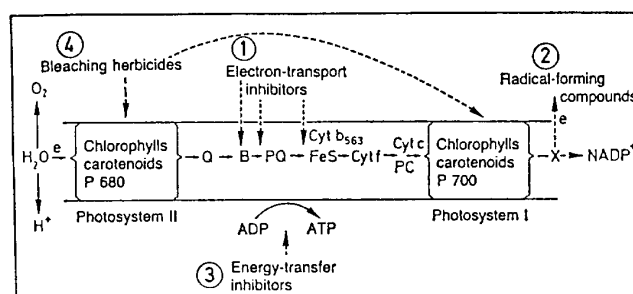


図 1 PET 阻害除草剤の targets
(P. Böger, 1983)

Asn	Ile	Val	Ala	Ala	His	Gly	Tyr	Phe	Gly
AAT	ATC	GTA	GCC	GCT	CAT	GGT	TAT	TTT	GGC
Atrazine Resistant									
Arg	Leu	Ile	Phe	Gln	Tyr	Ala	Gly	Phe	Asn
CGA	TTG	ATC	TTC	CAA	TAT	GCT	GGT	TTT	AAc
Asn	Ser	Arg	Ser	Leu	His	Phe	Phe	Leu	Ala
AAC	TCT	CGT	TCG	TTA	CAC	TTC	TTC	CTA	GCT
Ala	Trp	Pro	Val	Val	Gly	Ile	Trp	Phe	Thr
GCT	TGG	CCT	GTA	GTA	GGT	ATC	TGG	TTT	ACC
Ala	Leu	Gly	Ile	Ser	Thr	MET	Ala	Phe	Asn
GCT	TTA	GGT	ATT	AGC	ACT	ATG	GCT	TTC	AAc
Leu	Asn	Gly	Phe	Asn	Phe	Asn	Gln	Ser	Val
CTA	AAT	GGT	TTC	AAT	TTC	AAC	CAA	TCT	GTA
Val	Asp	Ser	Gln	Gly	Arg	Val	Ile	Asn	Thr
GTT	GAC	AGT	CAG	GGT	CGT	GTA	ATT	AAC	ACT
Trp	Ala	Asp	Ile	Ile	Asn	Arg	Ala	Asn	Leu
TGG	GCT	GAT	ATC	ATC	AAC	CGT	GCT	AAC	CTT
Gly	MET	Glu	Val	MET					
GGT	ATG	GAA	GTT	ATG					

(*Amaranthus hybridus*, Valine → isoleucine)
(Tobacco, Spinach, Maize & Soybean ---- Valine)

図 2 B-Protein の一次構造
(C.J. Arntzen, 1983)

none oxidoreductase (もしくは B-protein) の一次構造はすでに解明されており、三次構造の解明された光合成細菌の反応中心 protein との対比検討によって新しい強力な阻害剤の分子設計が開始されている (図 1, 2). Paraquat などラジカル生成剤もこれら targets の一つを攻撃するが、動植物間の選択毒性に問題を残す. 光合成系の色素類の生合成阻害とか、クロロプラスト膜の酸化的破壊を作用機構とするいわゆる bleaching herbicides は植物固有の機能を阻害するので、副作用のない化合物を設計できれば期待がもてる. すでにこの部分を target とする除草剤 (diphenyl ethers とか cyclic imides) は多数知られており、これらをモデルに種々な阻害剤がデザインされている. このようにして設計された阻害剤 (除草剤) が目標 target を阻害しているかどうかの確認も重要である. そのため、阻害箇所を明確に決めるための実験系も考案されている (図 3). なお、B-protein は atrazine 抵抗性育種の target enzymes の一つとなっている.

2) Amino acid biosynthesis inhibitors と新除草剤分子設計

V ICPC (Kyoto) で話題となった超低薬量で有効な sulfonylurea 除草剤は acetolactate synthase (ALS) を阻害する branched amino acids (valine, leucine, isoleucine) 生合成阻害剤であることが確認された. 2年後には、同じ酵素を阻害する imidazolinone 系除草剤も登場し、現在この酵素は除草剤分子設計の重要な targets の一つとなっている. これら薬剤の酵素阻害型式にはまだ議論の余地はあるが、拮抗阻害を想定して分子設計された *N*-phthalylvaline anilide が新しい殺草性阻害剤としてこれらに加わった (図 4, 表 1, 2). Sulfonylureas については抵抗性育種研究がすでに開始されており、タバコでは 50 ppm でも薬害を起こさない植物体が遺伝子操作によって得られている.

Glyphosate は 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) を阻害する aromatic amino acids 生合成阻害剤であるが、作用機構は複雑でこの酵素の阻害だけでは説明できないところがある.

Phosphinothricin を活性本体とする glufosinate (D,L-phosphinothricin) および bialaphos は glutamine synthetase (GS) を阻害する. この酵素系は光合成系近傍にあり、したがって殺草作用発現は glyphosate より速い. Bialaphos は抗生物質であり、生産も醗酵法による. Glutamate-glutamine cycle に関係するもう一つの重要酵素である glutamine-ketoglutarate aminotransferase (GOGAT) を阻害する除草剤はまだ登場していないが、この酵素の阻害は植物生長に GS 阻害よりも大きな影響を与

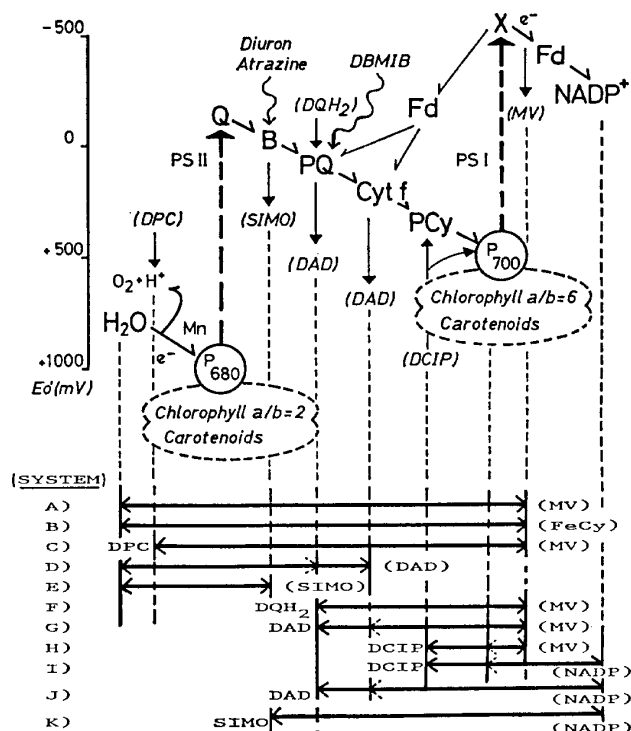


図 3 PET 系の分別阻害実験系
(K. Wakabayashi, 1984)

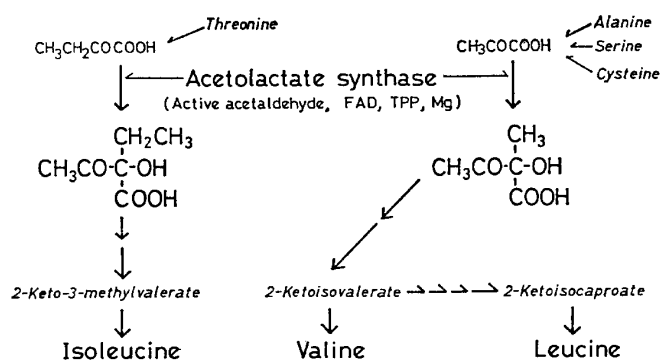


図 4 Branched amino acid の生合成系
(K. Wakabayashi, 1985)

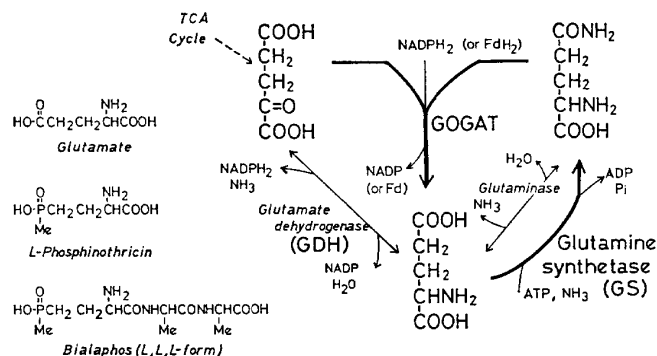


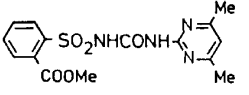
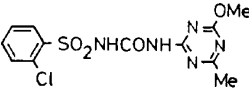
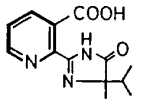
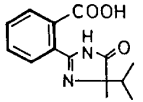
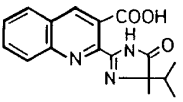
図 5 GS を阻害する除草剤
(K. Wakabayashi, 1985)

表1 アミノ酸生合成を阻害する除草剤

Herbicides	Inhibited pathway	Target enzyme
Aminotriazol	Histidine	Imidazole-glycerol phosphate dehydratase (IGPD)
Glyphosate	Aromatic amino acids	5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS)
Phosphinothricin	Glutamine	Glutamine synthetase (GS)
Glufosinate	Glutamine	Glutamine synthetase (GS)
Bialaphos	Glutamine	Glutamine synthetase (GS)
Sulfometuron methyl	Branched amino acids	Acetolactate synthase (ALS)
Chlorsulfuron	Branched	Acetolactate synthase (ALS)
Imazapyr	Branched	Acetolactate synthase (ALS)
Imazaquin	Branched	Acetolactate synthase (ALS)

(K. Wakabayashi, 1985)

表2 ALSを阻害する除草剤

Herbicide	Structure	Apparent K_i M (source)
Sulfometuron methyl		6.0×10^{-8} (bacteria) 1.1×10^{-7} (yeast) 1.6×10^{-8} (pea)
Chlorsulfuron		7.0×10^{-9} (tobacco) 2.1×10^{-8} (pea)
Imazapyr		1.2×10^{-5} (maize)
AC 222,164		1.7×10^{-6} (maize)
Imazaquin		3.4×10^{-6} (maize)

(R. A. La Rossa ら, 1984; D. L. Shaner ら, 1984)

えると考えられており、除草剤分子設計の新しい target として期待されている (図5)。

2. 除草剤・植物生長調節剤に関する研究報告 topics

1) 合成と分子設計に関する話題

立体選択的合成法に関するものに、brassinolide の合成 (M. Aburatani ら), 2-aryloxypropionate 系除草剤の殺草性 isomer である (*R*)-enantiomers の合成 (fluazifop-butyl, haloxyfop-butyl (F. Lanzendörfer ら), quizalofop-ethyl (G. Sakata ら), fenoxaprop-ethyl (R. Hande ら)), fluazifop-butyl の (*S*)-isomer を微生物 (*Rhodococcus* sp.) を使用して除草活性の高い (*R*)-isomer に異性化する方法 (D. W. Bewick ら), および禾本科雑草に選択的に殺草力を現わす (*R,R*)-*N*-(2,3-epoxypropyl)-*N*-(α -methylbenzyl)-2,4,6-trimethylbenzenesulfonamide の合成 (K. Yoneyama ら) の報告があった。

Imidazolinone 系除草剤は sulfonylurea 除草剤と同様、酵素 ALS を阻害する。この酵素は branched アミノ酸生合成の初期行程を触媒するが、sulfonylurea はこの酵素を非拮抗的に阻害し、imidazolinone は部分的に非拮抗阻害する。したがって、imidazolinone は ALS の拮抗阻害剤の性質を多分に持ち合わせると考えることができるので、新しい各種の阻害剤 (除草剤 prototype) を branched アミノ誘導体として分子設計できる可能性がある。Imazapyr や imazaquin の分子設計はこうした考えで行なわれた (M. Ros)。同様な考え方で、valine の *N*-phthalyl anilide 誘導体が設計されたが、この化合物も高い ALS 阻害活性 (I_{50} 2.3 μ M; imazaquin I_{50} 0.8 μ M) を示した (J. L. Huppatz & J. E. Casida)。また sulfonylurea をモデルとした誘導体 ethyl 5-[3-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)ureidosulfonyl]-1-methylpyrazole-4-carboxylate の除草活性が報告 (S. Yamamoto ら) されたが、この除草活性も ALS 阻害に基づくものと考えてよいだろう。

植物の glutathione 抱合を妨害することで、*s*-triazine 除草剤の共力剤ともなりうる除草剤 tridiphane [2-(3,5-dichlorophenyl)-2-(2,2,2-trichloroethyl)oxirane] およびその関連化合物の殺草作用と共力作用を検討したところ、 α -(chloromethyl)- α -(2,2,2-trichloroethyl)-3,5-dichlorobenzenemethanol (**I**), 4,4,4-trichloro-2-(3,5-dichlorophenyl)butane-1,2-diol の methyl sulfonate (**II**), *p*-toluenesulfonate (**III**) など proepoxides に強い殺草作用が検出されたが、共力作用の確認できたのは tridiphane と化合物 (**III**) のみであった (L. D. Markley ら)。

2) 天然物由来の除草剤および prototype に関する話題

除草剤またはその関連分野に関する報告には、単性花キュウリへの absinic acid の影響 (M. Okii ら), 殺草性抗生物質 bialaphos の作用特性 (K. Tachibana ら) およ

び biotechnology を用いた醗酵法による製造法の確立 (S. Imai ら), bialaphos を産生する同じ放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* からの殺草性代謝物 nigericin と geldanamycin (ただし, これらは既知物質) (A. R. Putman & R. M. Heisey) に関する報告があった。

3) 構造性相関 (structure-activity relationship; SAR) に関する話題

V ICPC (Kyoto, 1982) では Main Topic 2 (Chemical Structure and Biological Activity) として大きくとりあげられたこの命題は, 今回の VI ICPC (Ottawa) では Main Topic 1 (Synthesis of Pesticides and Bioregulators) のうちの Sub Topic 1C (Structure-Activity Relationship) として取りまとめられた。報告も前回の 90 余件 (ただし, 前回の V ICPC においては QSAR methods や translocation に関わる報告 30 件を含む) に比べ, 今回は 49 件であり多少減少したようである。しかし, 農薬研究に当たって構造活性相関法の利用は以前に比べると, 酵素レベルでの解析, intact レベルでの解析を問わずより効率的に種々の研究者によって実施されるようになってきている。除草剤・植調剤に関わる報告は 20 件であった。Session の後, Böger, Fujita, Magee が中心になって行なった workshop discussion も盛況であった。

除草剤研究における QSAR 法の利用に関して, metamitron, 3-[4-(4-methylphenethoxy)phenyl]-1-methoxy-1-methylurea, bromobutide の分子設計に果たした QSAR (Hansch 法) の役割 (T. Fujita) および s-triazine 系除草剤の pattern 認識法による QSAR 解析に PLS algorithm を応用した SIMCA (soft independent modelling of class analogy) 法が有用であり, s-triazines のミジノコに対する毒性がこの SIMCA-PLS package を使用して予測できることが報告された (M. L. Tosato ら)。

(1) 光合成阻害および光要性除草剤の構造活性相関

PET 系の阻害剤のうち, とくに Photosystem II (PS-II) の阻害剤には有用な除草剤 (anilides, phenylureas, carbamates, triazines など) が多い。前記 4 種の除草剤の PS-II 阻害と構造について QSAR 解析を行なったところ, 4 種の除草剤が共通の作用点を攻撃し, 除草剤と作用点との立体的相互作用で PS-II 阻害が生じるのであろうという予測ができた (H. Iwamura ら)。新除草剤 cyanoacrylates の PS-II 阻害と構造の関係が解析された。Ethoxyethyl 3-decylamino-2-cyanoacrylate (**I**, pI_{50} 7.3) および ethoxyethyl 3-(α -methylbenzyl)amino-2-cyanoacrylate (**II-S**, pI_{50} 7.1; **II-R**, pI_{50} 4.8) が PS-II を最も強力に阻害する。Amino 置換基には高級 alkyl 基, aralkyl 基のついたものがよく, またエステル残基はセロソ

ルブ型のものがよいという。化合物 **II** の場合には立体構造が阻害活性に影響を与え, S-enantiomer は R-enantiomer より 200 倍も強力である。幾何異性体の効果については報告がなかった (J. L. Huppatz & J. N. Phillips)。PS-II 阻害剤と考えられている benzazin 系化合物の SAR が紹介された。解析された化合物のうち, 5-fluoro-2-phenyl-4H-3,1-benzoxazine (BAS-516H) と 5-chloro-2-(3-trifluoromethyl)-4H-3,1-benzoxazine が最適な除草活性を示した (G. Hamprecht & B. Wuerzer)。光要性除草剤の作用機構については, ①カロチノイド生合成阻害, ②クロロフィル生合成阻害, ③光合成膜の酸化的破壊作用が認められている。カロチノイド生合成阻害に関しては, 多くの場合その阻害作用は phytoene desaturase の阻害によって起こっている。この酵素を阻害する化合物群 m-phenoxybenzamides, o-phenoxy nicotinamides および phenylpyridazinones の QSAR が紹介された (G. Sandmann)。③ および ③ に関しては oxadiazon や chlorophthalim など cyclic imide herbicides のクロロフィル生合成阻害と構造 (T. Teraoka & K. Wakabayashi), S-23142 (N-(4-chloro-2-fluoro-5-propargyloxyphenyl)-3,4,5,6-tetrahydrophthalimide) の酸化的作用機構 (R. Sato) などの報告がある。5-Phenoxy および 5-pyridyloxy 置換 2-nitrophenyl-phosphonates および -phosphinates の除草活性に関して SAR を行なったところ, phosphonate は phosphinate よりよく, phenoxy は pyridyloxy よりよく, 最高活性は 5-(2-chloro-4-trifluoromethylphenoxy)-2-nitrophenyl dimethylphosphonate で得られた。この活性は acifluorfen-ethyl より強力であったが, 選択除草活性では劣った (L. Maier ら)。

(2) アミノ酸生合成阻害除草剤の構造活性相関

ALS 阻害除草剤 imazapyr 系化合物の intact 植物への有効性を指標とした QSAR が報告された。Pyridine 環の 5 位, 6 位の置換が π と B_4 によって規定されることがわかった (D. W. Ladner & B. Cross)。Valine 誘導体として分子設計された新しい ALS 阻害剤 N-phthalyl branched amino acid anilides の SAR によると, valine 誘導体の ALS 阻害は強力で, α -aminobutyric acid, isoleucine, phenylalanine がこれに次ぐが, leucine 誘導体には阻害作用がない (J. L. Huppatz & J. E. Casida)。GS 阻害剤である phosphinothricin の racemic 混合物は除草剤 glufosinate であるが, この除草剤を lead として各種化合物を合成し SAR を行なったところ, N-acyl 誘導体, esters, amides, hydantoins, peptides などに有効化合物が集中した (L. Williams & H. Kuhne)。

(3) 植調剤の構造活性相関

N-(4-Pyridyl)-*N'*-phenylurea の *N*-oxide 化合物は cytokinin 作用を示すが, pyridine 環 2 位の置換基効果を QSAR 法で解析した結果, 2 位置換基は [small, lipophilic and electronegative] なる性質のものがよいことがわかった (R. N. Henrie & C. M. Green). そのほか, purine cytokinins の絶対配位と効果 (S. Nishikawa ら), absinetic acid 類縁体の SAR (S. C. Chen & J. M. MacTaggart), 3-(or 4-)alkylphenoxyacetic acid 系化合物の auxin 作用に関する SAR (N. Shindo ら) などがある.

4) 作用機構研究に関する話題

(1) 除草剤作用機構研究の進歩

新しい除草剤が新しい重要な殺草性 targets を示したばかりでなく, 従来の除草剤の作用機構研究も大きく進展している. とくに, 次の三つの作用機構研究の進展は著しい (C. Fedtke & A. Trebst; workshop discussion).

① GS または ALS を阻害する除草剤の作用機構

Glufosinate および bialaphos は GS を殺草活性のための target enzyme とする. 異なる構造をもつ sulfonylureas, imidazolinones, L-valine-*N*-phthalyl anilide 除草剤が ALS 阻害を殺草作用のための第 1 次作用とする. Glufosinate と bialaphos の場合は, それらの活用本体が phosphinothricin であり容易に理解できる. また, imidazolinones と L-valine-*N*-phthalyl anilide については, その部分構造中に valine が入っていることでそれらの ALS 阻害 pattern (拮抗と非拮抗の中間) をある程度理解できる. これに対し, sulfonylureas の ALS 阻害は完全な非拮抗型である. 新しい ALS 阻害剤の分子設計に当たっては, このあたりに留意する必要があるであろう.

② PS-II herbicide binding sites に対する理解

Atrazine 抵抗性植物の NDA 解析によってその一次構造が決定された B-protein (もしくは Q_B -protein) は triazines, diuron, ioxynil, bromacil などいまま Hill 反応阻害剤として分類されてきた化合物の target である. B-Protein に対する上記除草剤の作用点は少しずつ違うというような事実も最近の研究で解明されている. また, この B-protein を target enzyme とする抵抗性育種研究も着々と成果をあげつつある. 細菌の光合成系の反応中心 protein が最近 X 線解析されたので, これをモデルに B-protein の三次構造を想定し, 新しい阻害剤の分子設計に役立てようという動きもみられる.

③ Graminicides の研究と antidotes の開発

Sulfonylureas とか atrazine など強力な除草剤に抵抗性の作物を遺伝子操作などいわゆる biotechnology の力を

かりて育種しようとする最新の試みのほかに, 除草剤の解毒剤 (antidotes or safeners) でもってこれに当たろうとする試みが従来から行なわれている. いくつかの禾本科雑草に有効な除草剤のなかには, 脂質合成や mfo 酵素を強力に阻害するものがあることが最近判明した. この結果をこれら除草剤に対する antidotes 開発に利用しようとする試みが始まっている.

(2) PET 阻害除草剤に関する話題

CME-127 (2-chloro-6-nitro-3-phenoxyaniline) の PET 阻害実験の報告があった. Water→FeCy 系で I_{50} 7.24×10^{-6} M, water → *p*-benzoquinone 系では no inhibition, TMQH₂ → MV で I_{50} 4.5×10^{-6} M の阻害であった. また, ¹⁴C-atrazine を用いて B-protein との結合を調べたが, 多少の影響はあるものの PET 阻害を説明するには不十分であった. したがって, CME-127 の PET 阻害は plastoquinone-pool より後にあるのであろう (W. Rühle ら). 新しい PET 阻害剤である ethoxyethyl 3-(α -methylbenzyl)amino-2-cyanoacrylate の PET 阻害を atrazine 抵抗性および感受性の *Brassica* のクロロプラストを用いて調べたところ, 殺草活性の大きい *S*-enantiomer は atrazine 感受性 *Brassica* に抵抗性のものに比べ 70 倍の PET 阻害を起こした. この事実はこの化合物が B-protein を攻撃することを示していると考えられる (J. N. Phillips & J. L. Huppatz). Paraquat を対照として, 除草活性のある heteropentalene 系化合物の PS-I 系への影響が調べられた. エンドウのクロロプラスト中での O₂ の取り込み, superoxide の生成が調べられたが, paraquat の場合にみられる O₂ 取り込み阻害はこの化合物群ではみられなかった. おそらく, PS-I 電子受容体との affinity に差があるためと考えられる. QSAR 解析では, 分配係数の小さいものほど作用が速い (J. R. Bowyer ら). Tetrabromo-1,4-benzoquinone は dinoseb や diuron の N₃-化合物が結合するハウレン草クロロプラスト中の 41KD の protein に結合するという (W. Oettmeier ら). EPTC の PET 系への影響についての報告がある. EPTC 無処理の小麦クロロプラスト中で EPTC は PET 系にまったく影響を与えないが, 生育期に EPTC を処理した小麦のクロロプラスト中では water → DCIP で 5 倍, water → FeCy 系で 3 倍の電子伝達促進効果を現わす. EPTC が NADPH の集積を促す効果をもつためかもしれない (R. E. Wilkinson). PET 系阻害除草剤抵抗性植物に関する報告が 2 件あった. 一つは paraquat 抵抗性 *Conyza* についてであり, superoxide dismutase 活性が 60%, glutathione reductase 活性が 200%, ascorbate peroxidase 活性が 150% 上昇してい

る。Superoxide dismutase や ascorbate peroxidase は金属を含む酵素であるので、この植物を使って実験した結果、diethyl dithiocarbamate などの除キレート剤が O_2^- ラジカル等を発生させる除草剤の synergist となることがわかった (J. Gressel & Y. Shaaltiel). Atrazine と metribuzin に抵抗性禾本科雑草が 3 種 (*Phalaris* sp., *Alopecurus* sp., *Lolium* sp.) 検出された。Urea 除草剤の methabenzthiazuron に交叉抵抗性を示すが、diuron, chlortoluron には交差しない。PET 系についての検討によると、抵抗性の原因は $Q_A \rightarrow Q_B$ 行程にあるらしい。これら抵抗性雑草は作物への除草剤抵抗性遺伝子の提供に使えるかもしれない (M. Schonfeld ら)。

(3) 光要求性除草剤に関する話題

Cyclic imide 除草剤の oxadiazon, chlorophthalim およびその関連化合物について、緑藻類 (*Scenedesmus*) と高等植物 (タバコ、イネおよびヒエ) を使用した作用機構研究が紹介された。いずれの植物に対しても、これら除草剤はクロロフィル (およびクロロプラスト中のチクローム) の生合成を阻害し、カロチノイド生合成系およびクロロプラスト膜の酸化的破壊作用にはほとんど影響を与えなかった。また、クロロフィル生合成中間体である 5-aminolevulinic acid (ALA) による阻害回復作用が認められ、ALA-dehydratase がこれらの化合物によって阻害されないことも判明した。これらの事実から、上記の除草剤の殺草作用は同除草剤が (glutamate $\rightarrow$ ALA) 行程でクロロフィル生合成を阻害することによって起こると報告された (T. Teraoka & K. Wakabayashi)。同じ cyclic imide 系除草剤の S-23142 (構造は前に記した) もまた光と O_2 の存在下で殺草活性を発現する。キュウリを使用した実験で ethane の生成、malonyl dialdehyde の生成の増大が認められた。このことから、細胞膜およびクロロプラスト膜が S-23142 による脂質酸化によって質的低下の影響を受け、これが殺草メカニズムになるとした。この現象は acifluorfen-ethyl の作用発現に似ている (R. Sato ら)。Bleaching 除草剤 dimethazone の作用機構が *Scenedesmus* とホウレン草を用いて検討された。*Scenedesmus* では 10^{-5} M レベルでカロチノイドおよびクロロフィルの低下がみられた。ホウレン草の cell-free 系でメバロン酸からカロチンに至るテルペノイド生合成系の酵素阻害を検討したところ、この除草剤はメバロン酸からの geranyl pyrophosphate, farnesyl pyrophosphate, geranylgeranyl pyrophosphate 生成を強力に阻害した。おそらく、これらの生成を触媒する prenyltransferases の阻害が作用機構になるのであろう (G. Sandmann & P. Böger)。

(4) アミノ酸生合成阻害除草剤に関する話題

Glyphosate の作用機構については shikimate 経路中の酵素 EPSPS の阻害が知られているが、これだけで glyphosate の植物に対する反応を説明できないようである。たとえば、glyphosate はタバコや大豆の組織培養条件下で auxin 作用を打消し、感受性に差のある植物間で生長 IAA と代謝物に差があることがわかった (T. T. Lee & A. N. Starratt)。Imidazolinone 除草剤は ALS 阻害剤である。除草剤に不感受性の mutant ALS に対しては除草剤はアミノ酸含量に変化を与えないが、感受性の ALS の除草剤による阻害はアミノ酸含量によって大きな影響を受ける。ALS と除草剤の binding は sulfonyleureas と同様に可逆的である (D. L. Shaner ら)。

(5) 脂質代謝阻害除草剤に関する話題

トウモロコシ根端を用いた実験で、sethoxydim は thymidine の DNA への、glucose の細胞壁への、また酢酸の脂質への取り込みを徐々に阻害する。Phosphatidic acid や phosphatidyl inositol など極性のある脂質の減少は、他の脂質の減少に比べて速い (K. Ishihara ら)。Sethoxydim はトウモロコシ幼植物の脂質中への前駆体の取り込みを阻害する。クロロプラスト中での *de novo* 脂肪酸生合成は 10^{-6} M 以下の濃度で阻害される (R. J. Burgstahler ら)。このような事実に基づいて両演者とも、sethoxydim の作用機構は脂質合成阻害と膜脂質生成阻害にあると報告した。

5) その他の注目すべき話題

筆者の専門とする分子設計という立場から、農薬の植物による吸収・移行、動植物による代謝、環境中での残留・分解、毒性の問題、除草剤解毒剤・抵抗性育種などについて VI ICPC (Ottawa) で集録した情報は、紙面の都合上ここで報告できないので、ぜひ東京農業大学総合研究所・農薬部会セミナー集 (1), 1985~1986 を参照していただきたい。しかし、GLC や HPLC に比べ簡便・安全・安価で、より高感度が期待できる可能性をもつ免疫検定法 (immunoassay) の農薬分野への応用については最後に少々触れておきたい。

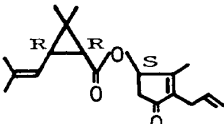
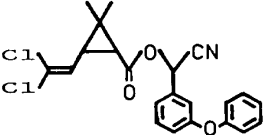
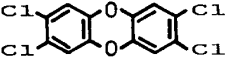
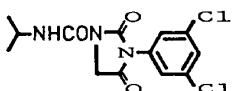
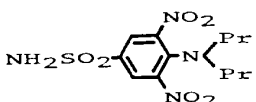
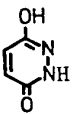
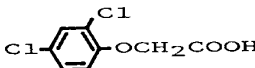
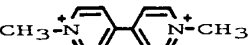
(1) 免疫検定法 (immunoassay) とその農業科学への応用

抗原抗体反応の高い特異性と検出感度を利用して、抗原 (この場合農薬) を同定・定量しようという新しい (微量) 分析法である。この方法による検出感度は ng~pg (10^{-9} ~ 10^{-12} g) のオーダーで非常に高く、酵素反応で検量する ELISA 法に至っては 10^{-20} M まで定量できる可能性がある。この分析法を実施するに当たっては、まず抗体を得なければならないが、抗生物質などを除いて一

般に低分子の農薬などは抗原になりにくいので、適当なタンパク質に結合させて免疫する必要がある。このように直接抗原になりにくい物質を hapten と称するが、でき上った抗体は hapten にも感応する。免疫マウスなどの抗体産生細胞(B細胞)から得られる混合抗体から目的農薬に感応するモノクローナル抗体を選別するのが次の工程である。この際、細胞融合法により抗体産生細胞と骨髓種細胞などを融合させてクローニングすると、目的とする抗体を産生する単一クローンの細胞を分離でき、モノクローナル抗体を容易に得ることができる。分析の

実施に当たっては、抗原抗体反応を放射性同位体の助けで抗原を検量する RIA (radioimmunoassay), 蛍光物質で標識・検量する FIA (fluoroimmunoassay), あるいはさらに感度の高い酵素反応を検量に利用する ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法が用いられる。放射性廃棄物の心配のないこと、高感度が期待できることなどから、とくに ELISA の適用が進められている (S. J. Gee ら; M. Vanderlaan & J. van Emon; R. O. Mumma). VI ICPC (Ottawa) で報告されたこれまでの検討結果を表 3 に記しておく。ELISA 法は作物・土壌

表 3 VI ICPC (Ottawa) で報告された ELISA 法

Pesticides	Structures	Analyses	References
S-Bioallethrin (Insecticide)		Residue in milk (ELISA: 0.0016~1.6 nmol) (RIA: 0.5~10 nmol)	J. van Emon, <i>et al.</i> , 5C-01
Cypermethrin (Insecticide)		Environmental monitoring (Antibodis: from 3-phenoxybenzoic acid, and dichlorovinyl-cyclopropane- carboxylic acid)	N. J. Wraith, <i>et al.</i> , 5C-10
Dioxin		Soil analysis	M. Vanderlaan, <i>et al.</i> , 5C-02
Iprodione (Fungicide)		Residue in foods (Horseradish peroxidase)	W. H. Newsome & P. G. Collins, 5C-14
Oryzalin (Herbicide)		Herbicide management	A. H. Kuniyuki & S. Mc- Carthy, 5C-11
MH (PGR)		Residue in potatoes & tobacco (Antibody from mice)	R. O. Harrison, <i>et al.</i> , 5C-12
2,4-D (Herbicide) also dieldrin and OP insecticides		Residues (Limit: 2.5 ng) (Enzyme ^{a)})	B. S. Ferguson, 5C-09
Paraquat (Herbicide) also dioxin and ivermectin		Residues	M. Vanderlaan & J. van Emon, SS2-04
BT-Toxin Insecticide Fungicide Herbicide(including PGR)		Residues (Enzyme ^{b)})	R. O. Mumma & J. Brady, 5C-16

^{a)} Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH).

^{b)} Horseradish peroxidase, alkaline phosphatase, and G6PDH.

中などの微量残留農薬の分析法として用いられるにとどまらず、光学異性体などを分別定量できる一方、上手に組み合わせることによって系統化合物全体を分析できる可能性がある、いままで同系統化合物群中の代表有

効化合物数点（多くの場合1点）の放射性同位元素標識体を用いた結果で議論されてきた農薬の浸透移行性の研究あるいは代謝研究その他に活用され、農薬の分子設計に新しい大量の情報を提供することになるであろう。

製剤と施用技術に関して

東京農工大学農学部 佐藤仁彦

第6回国際農薬化学会議は、1986年8月10～15日、カナダ、オタワで開催された。本学会国際学術交流基金の援助により出席する機会を得たので Main Topic 4 Progress and Development in Formulation Chemistry and Technology の概要を記す。

「製剤と施用技術」に関する発表はシンポジウム4題、ポスター65題の合計69題であり、4回（1978、スイス、チューリッヒ）の43題、5回（1982、京都）の54題にくらべ着実に増加しており、この分野にかかわる研究開発の必要性の高揚がうかがえる。

シンポジウムは最終日の午前、E会場で開催された。

H. J. Niessen (Bayer, FRG): Physical test methods for the formulation development and quality standards

高い品質の農薬製剤の開発および品質制御における諸性質の測定には物理的パラメータの規格化が望まれており、製剤の製造工程のみならず使用者の利便をも考慮し、単純で短時間に測定できるパラメータの設定が必要である。測定方法としては、現在使用されている優れた機器を駆使するとともに、自動化、効率化を図ることが必然となっている。

辻 孝三 (住友化学): Controlled release formulation

有効成分自身の寿命は短いものでも放出制御製剤化により、通常の製剤の欠点を克服できる。本製剤の利点としては作用点における有効期間の延長、散布薬量の減少、散布間隔の延長、環境汚染の回避などがあげられる。製剤の方法はおもに有効成分と高分子との相互作用の利用である。高分子媒体中の拡散性、高分子化農薬、多孔性物質、包接化合物、吸着性物質などが利用されている。

J. Maybank (Saskatchewan Research Council, Canada): Pesticide application technologies

ここ約20年の間に有効成分の製剤化に関する研究は多いが、施用技術の改良に関する研究は少ない。噴霧パターンを改良すべく扇形ノズルの改善に努力したが、これらにも技術的に検討を要する点があり、新しい施用技術（散布機）が開発されつつある。最も有効な範囲の噴霧粒径が得られるように設計された controlled droplet applicators (CDA) および有効成分と水とを別々に貯え

ておき、散布する際に薬液を調整するように設計された controlled solution applicators (CSA) である。

R. W. Magin & J. M. Deming (Monsanto, USA): Optimizing biological performance through formulation

生物活性を高くするには、有効成分の物理的、化学的、生物的挙動を的確に利用しうるように工夫されたきめ細かな製剤化が要求される。このような製剤は微量の有効成分を所定時間以内に作用点で最大限活用させうる。しかしながら、商品化されたものはほとんどない。最近の製剤技術では、安価な基剤の使用、カプセル化農薬の開発などと進歩し、補助剤添加による活性増強もみられる。

ポスター発表（G会場）およびワークショップ（WまたはX会場）は12～14日の3日間にわたり、4 Subtopicに分かれてそれぞれ行なわれた。

4A/B (12日午前): Physical and Chemical Properties/Analysis of Active Ingredients and Formulations

有効成分および製剤の物理化学性と分析方法に関する研究成果18題の発表があった。懸濁製剤 (suspension concentrates, フロアブル剤、ゾル剤ともいう。以下 SC 剤と略記する) をテーマにした発表（6題）が目立った。

4C (12日午後): Influence of Formulation on Biological Activity

製剤による生物活性の増大に関する研究成果16題の発表があった。界面活性剤の効果、放出制御剤などと並んで、本間・有本（理研）の重炭酸ナトリウム剤が安全性の面からも注目され、地元紙 “The Citizen Ottawa” の記者が取材に訪れた。14日同紙科学欄に Japanese pesticide researchers enlist baking soda in bug battle という見出しの記事となって掲載され、安全性を重視する地元の人々に紹介された。

4D (13日午前): Recent Development in Formulation Technology

製剤技術の披露の場であり、16題の発表のうち、わが国から、辻ら（住友化学）、千葉・米山（北興化学）、矢浪ら（三井東圧）、和田・小山（日本特殊農薬）、和田ら（同）の5題の発表があり、他の先進国よりも多かった。わが国でも製剤技術の重要性が認識されている証拠であろう。また、テーマ別では SC 剤関連が5題あった。

4E (14日午前): Recent Developments of Apparatus