玉川大学農学部研究教育紀要　第 10 号：5–12（2025）
Bulletin of the College of Agriculture, Tamagawa University, 10, 5–12（2025）

【研究報告】

糸状菌 F8203 株が生産する抗真菌物質の単離および構造決定

大塚みゆき[1,2]・矢野考汰[1]・高見澤花[1]

要　約

植物病原糸状菌の形態変化を指標としたスクリーニングによって，イネごま葉枯病菌 *Cochliobolus miyabeanus* に形態異常を引き起こす糸状菌 F8203 株を見出した．本菌株が生産する活性物質を各種クロマトグラフィーで精製し，単離を試みた．その結果，本活性物質は分子式 $C_{38}H_{60}O_9$ の化合物であり，各種 NMR スペクトルから長鎖脂肪側鎖を有する α–ピロン配糖体であることが示された．この化合物の平面構造は S 39163/F-I に一致しているが，絶対立体配置は不明である．本化合物はバクテリア（*Bacillus subtilis*，*Staphylococcus aureus*，*Micrococcus luteus*，*Escherichia coli*）には活性を示さないが，イネごま葉枯病菌には強い活性を示し，胞子に作用させると発芽した菌糸の膨潤を引き起こし，菌糸伸長を阻害する．また，出芽酵母，分裂酵母に対する活性は確認できなかったが，二形性真菌である *Candida* 属酵母に対しては活性を示し，sub-MIC では形態変化を引き起こすことを示した．

キーワード：抗真菌抗生物質，ピロン配糖体，植物病害防除剤

緒言

現代の農業において農薬はなくてはならない存在であるが，無農薬・減農薬と謳われる農産物をより“安全”とみなし，選択する消費者が一定数いることも事実である．これは過去におこった合成農薬の誤った使用による健康被害や環境汚染からくる，農薬に対する根強い負のイメージによるところが大きいと考えられる．しかし，現在では厳しい基準が設けられ，安全性が確認された多様な農薬が開発・使用されており，安定した食料生産に貢献している．

天然物とは生物が代謝によって合成する化合物の総称であり，多様な生物活性を示すものが存在する．それらの活性を利用して，天然物あるいは天然物を模倣した化合物を基に様々な農薬が開発されてきた．特に微生物が生産する抗生物質（ポリオキシンやカスガマイシン，バリダマイシンなど）は，農業用抗生物質として重要な位置を占めている．天然物由来農薬の利点は，生分解性と選択性が期待できることである．生物が作り出す天然物は複雑な構造をもつものが多く，それぞれが異なる作用機構で働き，生物によって有効性が大きく異なるため，病害虫や病原菌に的を絞った農薬開発が可能となる．また生物が代謝によって合成した化合物であるため，環境中の生物の代謝によって容易に分解されることも期待できる．これによって環境中への残留や生態系への影響を最小限に抑えられる．加えてその天然物が微生物由来であれば，安価に大量供給できる発酵生産が可能となる．そのため微生物由来新規活性物質の発見は，新しい農薬開発のために重要である．

以上のような背景から，筆者らは微生物代謝産物を探索源とした植物病原糸状菌の形態変化を指標としたスクリーニングを行い，糸状菌 F8203 株を見出した．本研究ではこの F8203 株から抗真菌物質を単離し，その構造を明らかにした．また，本化合物の活性を評価し，すでに報告されている類縁化合物と活性を比較し，その構造活性相関について考察する．

[1] 玉川大学農学部生産農学科　東京都町田市玉川学園 6–1–1
[2] 玉川大学学術研究所菌学応用研究センター　東京都町田市玉川学園 6–1–1
責任著者：大塚みゆき　motsuka@agr.tamagawa.ac.jp

材料と方法

使用菌株

糸状菌F8203株は玉川学園敷地内で採取した土壌から分離された糸状菌株で，玉川大学学術研究所菌学応用研究センターで保存されていたものを用いた．

活性評価に用いた細菌および酵母は独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジーセンターから入手した．活性評価に用いた糸状菌*Aspergillus fumigatus* F8775，*Aspergillus niger* F6897は玉川大学学術研究所菌学応用研究センターで，イネごま葉枯病菌*Colletotrichum destructivum*，コマツナ炭疽病菌*Cochliobolus miyabeanus*は当研究室で保存されていたものを用いた．

F8203株由来抗真菌物質の精製

F8203株を27℃で7日間培養したポテトデキストロース寒天（PDA）平板培地（日水製薬）から寒天片3片（Φ 6 mm）をくり抜き，5 mLのST solution（0.9% NaCl，5 ppm Tween80）に懸濁した．この懸濁液全量を麦培地（押し麦10 g，YTP溶液：0.2%酵母エキス（日本製薬），0.1%酒石酸ナトリウム，0.1%リン酸二水素カリウム10 mL）に加え接種し，28℃で2週間静置培養した．培養物に1−ブタノールを20 mL加え1時間振とうし，抽出した．抽出物から固形物を除き，溶媒を留去したものに100 mg/mLとなるようにメタノールを加えよく懸濁した後，固形物を除きメタノール可溶画分を調製した．メタノール可溶画分を濃縮乾固したものを粗抽出物とした．

粗抽出物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー（シリカゲル60N，関東化学）に供試し，クロロホルム：メタノール＝9：1の混合溶媒で洗浄後，クロロホルム：メタノール＝8：2の混合溶媒で溶出した．活性画分を集め，続いてODSカラムクロマトグラフィー（ODS-AM 120-S50，ワイエムシイ）に供試し，86%メタノール水溶液で溶出した．得られた画分をHPLCで分析し，目的の化合物のみを含む画分を集め濃縮した．この精製物をさらにSephadex LH20カラムクロマトグラフィーに供試し，メタノールで溶出し精製した．

機器分析

LC-DAD分析には，フォトダイオードアレイ検出器を備えたHPLC prominence（島津）を使用した．カラムにTSKgel ODS-80Ts（4.6×150 mm, 東ソー）を使用し，0.1%ギ酸を添加した50～95%メタノール水溶液でグラジエント溶出した．

LC-MS分析には，Acquity UPLC（日本ウォーターズ）に接続したSynapt HDMS（日本ウォーターズ）を使用した．カラムにBEH C18（2.1×50 mm，1.7 μm，日本ウォーターズ）を使用し，カラム温度40℃，流速0.20 mL/min，0.1%ギ酸を添加した80～95%メタノール水溶液でグラジエント溶出して分離した試料をESIでイオン化し，陽イオンモードまたは陰イオンモードでMSスペクトルを測定した．

UV-Vis吸収スペクトルの測定には紫外可視光分光光度計UV-1700（島津製作所）を使用した．試料の15.2 μmol/L（0.01 mg/mL）メタノール溶液を調製し，光路長10 mmのセルを使用した．

旋光度の測定には旋光度計P-2200（日本分光）を使用した．光路長50 mmのセルを使用し，ナトリウム光源（589 nm）で試料（10 mg/mLメタノール溶液）の旋光度を20回測定した．

核磁気共鳴スペクトルはJNM-ECP400（日本電子）を使用し，測定した．

活性評価

細菌に対する活性評価：ディスク拡散法

Bacillus subtilis NBRC13719，*Escherichia coli* NBRC102203，*Micrococcus luteus* NBRC3333，*Staphylococcus aureus* NBRC100910の培養と検定プレートの調製にはベネット培地（0.1%酵母エキス，0.1%カツオエキス（極東製薬），0.2%ハイポリペプトン（日本製薬），1.0%グルコース，寒天，pH7.0）を使用した．OD_{660}値が約0.5になるように調製した被検菌培養液または*B. subtilis*の芽胞懸濁液を1%添加した上層培地（1.0%寒天）を下層培地（1.3%寒天）に重層し，検定プレートを調製した．その上に試料溶液を染み込ませたペーパーディスクを置き，30℃で一晩培養後，阻止円の形成を観察した．

酵母および糸状菌に対する活性評価：マイクロダイリューション法

最小発育阻止濃度（MIC）の決定は，CLSIの試験法（M27法）を参考にマイクロダイリューション法で行なった（Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008）．また糸状菌のマイクロダイリューション法では，八鍬らの報告も併せて参考にした（八鍬ほか，2022）．

Candidia albicans NBRC1594（YM平板培地（1%グルコース，0.5%ハイポリペプトン，0.3%酵母エキス，0.3%

マルトエキス（ナカライテスク），1.5％寒天），35℃），*Candida krusei* NBRC1395（YM 平板培地，35℃），*Candida tropicalis* NBRC1400（YM 平板培地，35℃），*Saccharomyces cerevisiae* NBRC10149（YPAD 平板培地（2％グルコース，1％ハイポリペプトン，1％酵母エキス，40 mg/L アデニン塩酸塩，1.5％寒天），30℃），*Schizosaccharomyces pombe* NBRC 1628（PDA 平板培地，27℃）を48時間培養し，形成したコロニーをOD_{530}値が0.1～1.0となるように生理食塩水（0.85％ NaCl水溶液）に懸濁した．この懸濁液を*Sch. pombe*はサブローマルトース培地（4％マルトース，1％ハイポリペプトン，pH5.6）で，その他の酵母はMOPS-RPMI培地（RPMI-1640（富士フィルム和光）27 mL，1.65 M MOPS（同仁化学）3 mL）で50～100倍に希釈した．

PDA斜面培地で35℃，48時間培養した*Aspergillus fumigatus* F8775，*Aspergillus niger* F6897を，OD_{530}値が0.1程度になるように生理食塩水で懸濁し，この懸濁液をMOPS-RPMI培地で50倍に希釈した．

表1　化合物Aの^{1}Hおよび^{13}C NMRスペクトルの帰属

position	δ_C[a]（ppm）	δ_H[b]（ppm）	position	δ_C[a]（ppm）	δ_H[b]（ppm）
1	167.1		9”	38.7	1.50（m）
2	100.2		10”	37.0	1.88（m），2.47（m）
3	170.9		11”	126.7	5.55（m）
4	101.1	6.10（s）	12”	137.9	6.04（d，J＝15.6 Hz）
5	172.0		13”	133.3	
1’	75.6	4.49（d，J＝10.0 Hz）	14”	138.2	5.06（d，J＝9.2 Hz）
2’	73.5	4.01（t，J＝9.4 Hz）	15”	31.2	2.64（m）
3’	74.1	3.65（m）	16”	46.2	1.08（m），1.28（m）
4’	36.5	1.55（m），1.95（m）	17”	33.5	1.23－1.28（m）
5’	78.4	3.58（m）	18”	31.3	1.13（m），1.33（m）
6’	65.7	3.57（s）	19”	11.8	0.86（t，J＝5.6 Hz）
1”	45.4		20”	23.1	1.17（s）
2”	78.3	4.33（d，J＝7.2 Hz）	21”	20.4	1.23（s）
3”	125.8	5.55（m）	22”	13.1	1.78（d，J＝1.2 Hz）
4”	139.4	6.30（d，J＝16.0 Hz）	23”	18.8	1.03（d，J＝7.2 Hz）
5”	133.9		24”	16.5	0.81（d，J＝6.8 Hz）
6”	135.8	5.55（m）	25”	13.1	1.74（d，J＝1.2 Hz）
7”	36.7	2.76（m）	26”	22.2	0.94（d，J＝6.8 Hz）
8”	80.3	3.20（dd，J＝4.0，7.6 Hz）	27”	19.6	0.84（d，J＝6.4 Hz）

[a] 100 MHz，[b] 400 MHz in methanol-d_4

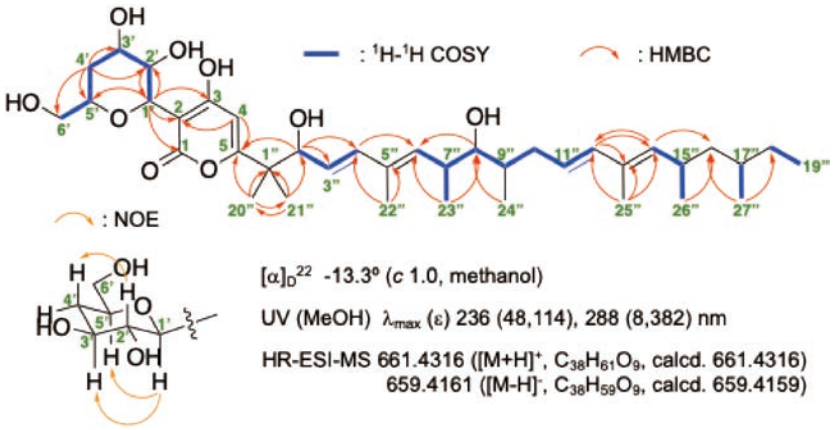


図1　化合物Aで観測された^{1}H－^{1}H COSY，HMBC相関およびNOE

試料およびアンホテリシンB（AMPH-B）のDMSO溶液を調製し，この溶液を使用培地（MOPS-RPMI培地およびサブローマルトース培地）で希釈した（2倍希釈系列）．96ウェルプレートの各ウェルに，試料またはAMPH-Bの希釈液100 μL，調製した菌液100 μLを添加し，35℃で静置培養した．48時間後にOD_{530}を測定しMICを決定した．

糸状菌胞子に対する活性評価：胞子発芽試験

PDA斜面培地で1～2週間培養したイネごま葉枯病菌*Colletotrichum destructivum*，コマツナ炭疽病菌*Cochliobolus miyabeanus*，*A. niger*，*A. fumigatus*に0.2％酵母エキス／0.1％グリセロール溶液を加え懸濁し，G1−ガラスフィルターでろ過後，胞子濃度を適切に調整したものを胞子懸濁液とした．*Coll. destructivum*胞子懸濁液には，50 μg/mLとなるようにトマトクチン水解物（Osman et al., 1995）を加え使用した．スライドガラスに試料3 μLを滴下後風乾し，その上に被検菌胞子懸濁液3 μLを滴下し，27℃で一晩培養した．培養した被検菌胞子を顕微鏡で観察し，活性を評価した．

結果と考察

F8203株由来抗真菌物質の単離・精製

糸状菌F8203株の培養物抽出物は，イネごま葉枯病菌胞子に対して強い菌糸伸長阻害活性を示した．そこで，この活性を指標に活性物質の単離・精製を行った．精製した活性画分をLC-DADおよびLC-MSで分析したところ，同様のUV吸収スペクトル（λ_{max}＝289 nm）を示す二つのピークが確認され，MSスペクトルで観測されたイオンの質量電荷比からこの二つのピークは，分子式$C_{37}H_{58}O_9$（*m/z* 645.4016 ([M-H]$^-$)，$C_{37}H_{57}O_9$，計算値645.4003）の化合物（化合物B）と，分子式$C_{38}H_{60}O_9$（*m/z* 659.4161 ([M-H]$^-$)，$C_{38}H_{59}O_9$，計算値659.4159）の化合物（化合物A）であると推定された．クロマトグラムから化合物Bの量はごくわずかであると判断されたため，化合物Bの単離を断念し，主要な化合物Aの単離を試みた．クロマトグラフィーを繰り返し，化合物Aのみを含む画分を集め高純度の化合物A 53 mgを得た．

化合物Aの構造決定

化合物AのUV-Vis吸収スペクトルを測定したところ，236 nm（ε＝48,114 L/(mol・cm)）と288 nm（ε＝8,382 L/(mol・cm)）に吸収極大が観測された．また旋光度を測定したところ，比旋光度は［α］$_D$＝−13.3°（22℃，*c* 1.0，メタノール）であった．

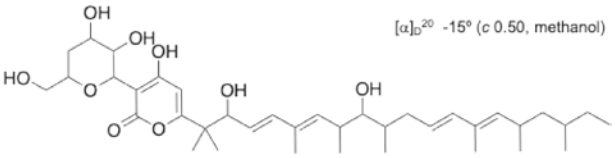


図2　S 39163/F-Iの構造

さらに各種NMRスペクトルから，化合物Aは長鎖脂肪側鎖を有するα−ピロン配糖体であることが示された（表1，図1）．1'位と3'位および5'位，2'位と4'位の水素間でNOEが観測されたことから，糖部分は4−デオキシグルコースのβ配糖体であり，比旋光度の値からD体であると推定される．一方で，長鎖脂肪側鎖上の複数の不斉点の立体配置は不明である．

化合物Aと同一の平面構造を持つ化合物としてS 39163/F-Iが報告されている（図2）（Tscherter et al., 1988）．S 39163/F-Iの比旋光度は［α］$_D$＝−15°（20℃，*c* 0.50，メタノール）であり，化合物Aと同等の値であることから，化合物AとS 39163/F-Iは同一の化合物であると考えられる．一方で，側鎖に複数の不斉点がありその配置が決定されていないこと，S 39163/F-Iのスペクトルは文献に記載されているものの詳細な値が示されておらずデータの比較が難しいことから，疑問の余地を残している．

化合物Aの活性評価

S 39163/F-Iは*Microsphaeropsis*属糸状菌から単離された化合物で，*Candida*属真菌や*Aspergillus*属糸状菌に抗菌活性を示すことが報告されている（Tscherter et al., 1988）．そこで化合物Aについても同様に活性を評価し，S 39163/F-Iと比較することにした．

まずディスク拡散法で化合物Aの細菌への活性を確認したが，グラム陽性細菌（*B. subtilis*，*M. luteus*，*S. aureus*），グラム陰性細菌（*E. coli*）に対する活性は確認されなかった．続いてマイクロダイリューション法で真核微生物に対する活性を確認したところ，出芽酵母と分裂酵母には活性を示さなかったのに対し，*Candida*属真菌および*Aspergillus*属糸状菌に対する抗菌活性が確認された．MICの値を報告されているS 39163/F-IのMICと比較したところ*Aspergillus*属の値には差が見られたが，*Candida*属の値は同程度であるため，化合物AとS 39163/F-Iは同一の化合物である可能性が高い（表2）．*Aspergillus*属のMICに差がみられたのは，使用した菌株

の違いによるものと考えられる．

化合物Aは細菌および出芽酵母，分裂酵母には活性を示さないが，糸状菌と*Candida*属真菌に活性を示すという特徴的な抗菌スペクトルを示した．また化合物Aは，イネごま葉枯病菌*Cochl. miyabeanus*およびコマツナ炭疽病菌*Coll. destructivum*の胞子にsub-MICで作用させると，発芽した菌糸の膨潤を引き起こし（図3A，B），二形性真菌である*Candida*属真菌に対しては，sub-MICで形態変化を引き起こすことを確認した（図3C–F）．以上の結果から，本化合物は真菌の菌糸の形態形成になんらかの影響を及ぼす可能性が考えられる．

表2　化合物AとS 39163/F-Iの抗真菌活性の比較

マイクロダイリューション法で求めたMIC（*Coll. destructivum*および*Cochl. miyabeanus*のMICのみ胞子発芽試験で求めた）

Species	MIC（μg/mL）	
	化合物A	S 39163/F-I[h]
Candida albicans	12.5[a]	12.5
Candida krusei	6.25[b]	6.25
Candida tropicalis	6.25－12.5[c]	6.25
Saccharomyces cerevisiae	＞100[d]	nd
Shizosaccharomyces pombe	＞100[e]	nd
Aspergillus fumigatus	12.5[f]	1.56
Aspergillus niger	12.5[g]	1.56
Colletotrichum destructivum	6.25－12.5	nd
Cochliobolus miyabeanus	6.25	nd

nd: no data，[a]NBRC1594，[b]NBRC1395，[c]NBRC1400，[d]NBRC10149，[e]NBRC1628，[f]F8775，[g]F6897，[h]菌株についての記載なし（Tscherter et al., 1988）．

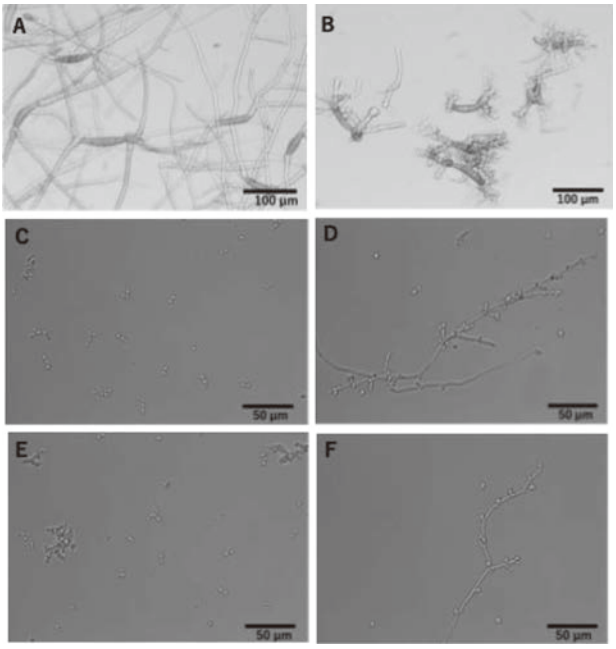


図3　sub-MICの化合物Aを作用させた真菌

A：*Cochl. miyabeanus* (control)，B：化合物A（3.2 μg/mL）を作用させた*Cochl. miyabeanus*，C：*C. albicans* (control)，D：化合物A（3.2 μg/mL）を作用させた*C. albicans*，E：*C. tropicalis* (control)，F：化合物A（3.2 μg/mL）を作用させた*C. tropicalis*

化合物Aと類縁体の比較

化合物A（**1**）のような長鎖脂肪鎖が置換したピロン配糖体が，いくつか報告されている．Dactylfungin類（Xaio et al., 1993），fusapyrone類（Evidente et al., 1994; Hiramatsu et al., 2006），YM-202204（Nagai et al., 2002）である（図4）．これらの化合物はすべて真菌類に何らかの活性を示すことが報告されているが，抗菌活性スペクトルは異なっている（表3）．Dactylfungin A（**3**）およびB（**4**）は糸状菌*Dactylaria parvispora* D500より単離された化合物であり，dactylfungin Aは化合物Aの側鎖部分がより長い脂肪鎖（炭素数30）に置換された化合物で，dactylfungin Bはdactylfungin Aのγ–ピロン体である．このように類似の構造を持つ化合物ではあるが，真菌類に対する抗菌スペクトルは化合物Aとは異なっており，dactylfungin Bは*Candida albicans*に活性は示さず，分裂酵母や出芽酵母に活性を示す．*Fusarium* sp. FH-146が生産するfusapyrone類はdactylfungin類より短い脂肪鎖（炭素数23）を有するが，dactylfungin類と同様に

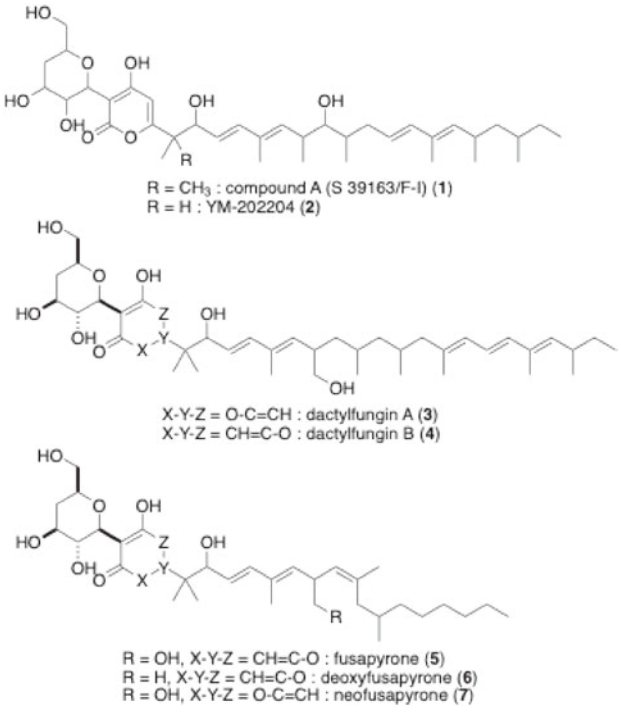


図4　化合物Aおよびその類縁体の構造

表3　化合物A（1）と類縁体の抗真菌活性比較

compound	IC_{80}（μg/mL）	MIC（μg/mL）				
	YM-202204	compound A	neofusapyrone	fusapyrone	deoxyfusapyrone	dactylfungin B
	2	**1**	**7**	**5**	**6**	**4**
pyrone type	α	α	α	γ	γ	γ
side chain	C26	C27	C23	C23	C23	C30
$[\alpha]_D$	−16°	−13.3°	−23.6°	−22.9°	−23.3°	−23.4°
Aspergillus clavatus			6.25[a]	25[a]	3.12[a]	
Aspergillus fumigatus	12.5[b]	12.5[c]				
Aspergillus niger		12.5[d]		6.2 − 12.5[e]		
Candida albicans	6.25[f]	12.5[g]	＞100[h]	＞100[h]	＞100[h]	100[i]
Candida krusei		6.25[j]				
Candida tropicalis		6.25 − 12.5[k]				
Cochliobolus miyabeanus		6.25				
Colletotrichum destructivum		6.25 − 12.5				
Cryptococcus neoformans	1.56[l]					6.2[m]
Saccharomyces cerevisiae	1.56[n]	＞100[o]				6.2[p]
Shizosaccharomyces pombe		＞100[q]				3.1[r]

使用菌株；[a]F318a，[b]TIMM1776，[c]F8775，[d]F6897，[e]ITEM7098，[f]ATCC10231，[g]NBRC1594，[h]ATCC2019，[i]M9001，[j]NBRC1395，[k]NBRC1400，[l]TIMM0362，[m]M9010，[n]YFC805，[o]NBRC10149，[p]SHY3，[q]NBRC1628，[r]M9025
YM-202204のIC_{80}（Nagai et al., 2002），fusapyrone類（Hiramatsu et al., 2006）およびdactylfungin B（Xaio et al., 1993）のMICは文献より引用した．

γ−ピロン体であるfusapyrone（**5**）とα−ピロン体であるneofusapyrone（**7**），およびfusapyroneの側鎖部分の水酸基のデオキシ体であるdeoxyfusapyrone（**6**）が報告されている．構造的な違いにもかかわらずfusapyrone類の真菌類に対する活性には大きな違いが見られない．また，*Phoma* sp. Q60596から単離されたYM-202204は化合物Aに近い構造をしているが，側鎖部分のメチル基が欠如しており，化合物Aが活性を示さない出芽酵母への活性が報告されている．

これらの類縁体はすべて4−デオキシグルコースの配糖体であり，比旋光度の符号も一致していることから，糖部分の構造はすべて共通していると考えられる．その場合，これらの化合物の構造的な違いはピロン環部分（α−ピロンまたはγ−ピロン）と長鎖脂肪鎖の構造（長さ）であるが，fusapyrone類ではα−ピロン体（**7**）とγ−ピロン体（**5**）で真菌類に対する活性に大きな違いが見られないことから，長鎖脂肪鎖の構造（長さ）が抗真菌活性に大きく影響していると考えられる．

これらの化合物の作用機構についての報告はないが，YM-202204については抗真菌活性の他にGPIアンカー型タンパク質生合成阻害活性が報告されている（Nagai et al., 2002）．グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）はタンパク質を細胞膜につなぎとめる役割をする糖脂質であり，GPIによって修飾されたタンパク質はGPIアンカー型タンパク質と呼ばれている．酵母など真菌では，細胞壁に局在するタンパク質もGPIアンカー型であり，真菌細胞壁の主要な構成成分の一つである．そのためGPIアンカー型タンパク質生合成経路は，選択的な抗真菌剤の作用標的となり得ると考えられる（地神，2008）．さらに置換した長鎖脂肪側鎖の長さで真菌に対する選択性をコントロールできるのであれば，これらの化合物群は魅力的な抗真菌剤開発のリード化合物となり得る．実際にマイコトキシンを生産する糸状菌の防除のために，*Aspergillus*属糸状菌に活性を示し酵母には活性を示さないfusapyrone（**5**）の，ワイン用ブドウへの施用が試みられている（Favilla et al., 2008）．

これらの化合物は，ポリケタイド合成酵素（PKS）によって合成された炭素鎖の末端が環化した後，配糖体化されて生合成されると考えられる．すでにfusapyrone類の生合成遺伝子として，繰り返し型のI型PKS遺伝子がクローニングされている（Atanasoff-Kardjalieff et al., 2021）．そのため，他の類縁体についても生合成遺伝子が明らかになりその詳細な機能が解明されれば，遺伝子改変による様々な脂肪側鎖を有する類縁体の創出が可能

となり，選択的な抗真菌剤の開発につながることが期待される．

謝辞

旋光度の測定にご協力いただいた東京工業大学理学院化学系准教授（現 神奈川大学生命化学部教授）工藤史貴先生に厚く御礼申し上げます．

文献

Atanasoff-Kardjalieff, A. K., Lünne, F., Kalinina, S., Strauss, J., Humpf, H. U. and Studt, L. 2021. Biosynthesis of fusapyrone depends on the H3K9 methyltransferase, FmKmt1, in *Fusarium mangiferae*. Frontiers in Fungal Biology 2. doi: 10.3389/ffunb.2021.671796.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard - second edition. M27-A2 22(15).

Evidente, A., Conti, L., Altomare, C., Bottalico, A., Sindona, G., Segre, A. L. and Logrieco, A. 1994. Fusapyrone and deoxyfusapyrone, two antifungal α-pyrones from *Fusarium semitectum*. Natural Toxins 2: 4–13.

Favilla, M., Pascale, M., Ricelli, A., Evidente, A., Amalfitano, C. and Altomare, C. 2008. Inhibition of species of the *Aspergillus* section *Nigri* and ochratoxin A production in grapes by fusapyrone. Applied and Environmental Microbiology 74(7): 2248–2253.

Hiramatsu, F., Miyajima, T., Murayama, T., Takahashi, K., Koseki, T. and Shiono, Y. 2006. Isolation and structure elucidation of neofusapyrone from a marine-derived *Fusarium* species, and structural revision of fusapyrone and deoxyfusapyrone. The Journal of Antibiotics 59(11): 704–709.

地神芳文．2008．GPIアンカー型タンパク質の生合成経路―抗真菌剤および抗ガン剤の潜在的作用標的部位―．日本医薬真菌学会雑誌 49(4)：253–262.

Nagai, K., Kamigiri, K., Matsumoto, H., Kawano, Y., Yamaoka, M., Shimoi, H., Watanabe, M. and Suzuki, K. 2002. YM-202204, a new antifungal antibiotic produced by marine fungus *Phoma* sp. The Journal of Antibiotics 55(12): 1036–1041.

Osman, S. F., Gerard, H. C., Fett, W. F., Moreau, R. A. and Dudley, R. L. 1995. Method for the production and characterization of tomato cutin oligomers. Journal of Agricultural and Food Chemistry 43(8): 2134–2137.

Tscherter, H., Hofmann, H., Ewald, R. and Dreyfuss, M. M. 1988. Antibiotic lactone compound. United States Patent 4753959.

Xaio, J.-Z., Kumazawa, S., Yoshikawa, N., Mikawa T. and Sato, Y. 1993. Dactylfungins, novel antifungal antibiotics produced by *Dactylaria parvispora*. The Journal of Antibiotics 46(1): 48–55.

八鍬佑貴，鳴海菜月，佐藤勇樹，佐伯理知，韮澤慎也，藤谷好弘，高橋聡．2022．北海道における*Aspergillus*属に対する抗真菌薬のMIC，MEC分布～自家製キットプレートおよび市販酵母様真菌薬剤感受性キットを用いた検討．日本化学療法学会雑誌 70(4)：351–358.

Isolation and Characterization of Antifungal Compound from Filamentous Fungal Strain F8203

Miyuki Otsuka[1,2], Kota Yano[1], Hana Takamisawa[1]

Abstract

Through a morphology-based screening approach targeting phytopathogenic filamentous fungi, we identified the fungal strain F8203, which induces morphological abnormalities in *Cochliobolus miyabeanus*, the causal agent of brown spot disease in rice. The bioactive compound produced by this strain was purified and isolated using various chromatographic techniques. Structural analysis revealed that the compound has the molecular formula $C_{38}H_{60}O_9$ and is an α-pyrone glycoside with a long fatty side chain, as determined by comprehensive NMR spectroscopy. The planar structure of this compound was found to be identical to that of S 39163/F-I, although its absolute stereochemistry remains undetermined. While the compound exhibits no activity against bacterial species (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*) or against budding and fission yeasts, it demonstrated potent activity against *Cochl. miyabeanus*, causing swelling of germinated hyphae and inhibiting hyphal elongation. Furthermore, the compound showed activity against dimorphic fungi of the genus *Candida*, inducing morphological changes at sub-MIC.

Keywords: antifungal antibiotic, pyrone glycoside, plant disease control agents

[1] Department of Agri-Production Sciences, College of Agriculture, Tamagawa University, 6−1−1 Tamagawagakuen, Machida, Tokyo, 194−8610, Japan

[2] Mycology & Metabolic Diversity Research Center, Research Institute, Tamagawa University, 6−1−1 Tamagawagakuen, Machida, Tokyo, 194−8610, Japan