

the center of attention in medical societies.

특별강연초록(Ⅲ)

Table. Estimation of screening object.

Object of screening	Social-necessity	Market-ability	Technical-possibility
Antibacterial Gram positive	++	++	+++
Gram negative	++	++	+
Broad spectrum	+	++	+
Tuberculosis	++	+	+
Antifungal Dermatophile	+	+	++
Deep saprophyte	+	+	++
Anticancer Leucocytosis	++	+	++
Other cancer	++	++	+
Anti plant disease	++	+	+
Feed additive	+	+	++
Veterinary (esp. anticoccidium)	++	++	+

· 新代謝拮抗物質 plumbemycin

A 및 B에 관한 研究 ·

朴 富 吉

江原大學校 農化學科

代謝拮抗物質에 의한 微生物의 生育阻害는 그 試驗系에 代謝物質을 添加하므로써 回復되는 것이며 最少檢定培地에 대한 代謝阻害에 代謝物質, 例로 amino酸, 核酸등을 添加해서 阻害回復을 screening 하므로써 그들 物質(amino酸 核酸等)의 代謝에 拮抗하는 새로운 化合物을 發見할수가 있다. 이러한 見地에서 放線菌이 生産하는 새로운 amino 酸代謝拮抗物質이 探索을 目的으로하여 screening한 結果 土壤에서 새로이 分離한 *Streptomyces* 1株의 培養液중에 L-threonine에만 拮抗作用을 나타내는 물질의 存在를 確認하고 類似構造를 갖는 2種의 tripeptide型 代謝拮抗物質의 單離에 성공하였으며 이들을 plumbemycin A 및 B라고 명명하였다.

이하 plumbemycin A와 B에 관해 生産菌株의 screening 및 固定 單離精製와 化學構造決定, 그의 生物學的性質에 관해 그 要約을 기술하고자 한다.

1. 代謝拮抗物質生産菌의 screening

各地의 土壤에서 分離한 放線菌 約 2500株를 振盪法으로 培養한 후 그 培養液을 檢定試料로 해서 paper disc 寒天平板法에 의해 試驗菌 *Escherichia coli*, *Pseudomonas ovalis*에 對해 bioassay를 하였다. 檢定培地는 Stephenson-Whetham 最少培地(S-W培地)로 하였으며 對照培地로 S-W 培地에 polypeptone, yeast extract를 加하였다. 結果 S-W培地에만 抗菌活性을 나타내는 菌株 172株를 얻고 다시금 amino酸에 對한 拮抗作用 有無를 시험한 結果 L-threonine에만 拮抗作用을 나타내는 한 菌株를 얻었다.

2. 生産菌의 分類同定

生産菌株에 대해 形態學的, 生理學的 諸性質을 檢討한 結果이 菌은 *Streptomyces*屬의 Gray series에 屬하였다.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 第8版, ISP 報告等에서 檢討하고, 4種의 類緣菌과 比較檢討한 結果 本菌을 新菌種으로 認定하였으며 *Streptomyces plumbeus* n. sp., SAKAI et PARK 이라 命名하였다.

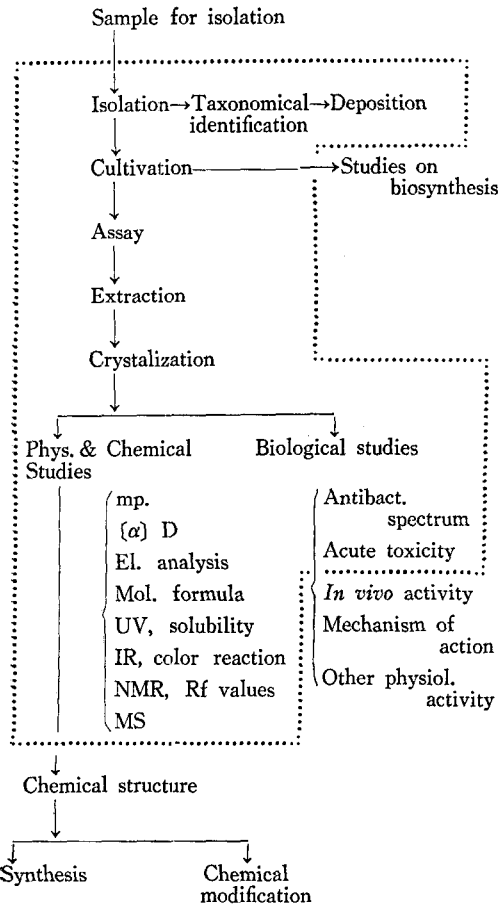


Figure. Scheme of screening process.

Data in broken line are necessary for patent application.

### 3. Plumbemycins의 生産과 抽出精製 및 理化學 的性質

1) 培養: *Streptomyces plumbeus*의 斜面培養에서 1次로 種培地, 2次로 jar fermentor, 3次로 tank 培養으로 옮겨 大量 培養하였다. 최적조건은 30°C, 65~70時間 通氣 攪拌培養이었다.

2) 抽精製培: 培養液을 pH 2.0에서 活性炭에 吸着시키고 70% methanol 抽出 후 Dowex 50×4, Dowex 1×4 등의 ion chromatography에 의해서 plumbemycin A (PA)와 plumbemycin B (PB)를 單一 物質까지 分離精製하였다.

3) 性質: PA는 mp, 172~175°C, 분자식 C<sub>2</sub>H<sub>20</sub>N<sub>3</sub>O<sub>9</sub>P, 滴定當量 400(理論值, 408)의 白色粉末로 水에 可溶이며 有機溶媒에 不溶이었다. 呈色反應, UV, IR등에서 peptide임을 시사하였다. PB는 mp, 218~220°C, 분자식 C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>P<sub>1</sub> 滴定當量 405(理論值, 407)의 無色針狀 結晶으로 다른 性質은 PA와 거의 같았다.

### 4. Plumbemycins의 化學構造

1) 構成 amino酸의 同定: 呈色反應과 赤外吸收(1650 cm<sup>-1</sup>) 등에서 peptide임을 시사하였으므로 PA 및 PB를 鹽酸 加水分解에 의해 構成 amino酸으로 分離하고 paper chromatography, amino 酸分析機등에 의해서 2個의 基지 amino酸(Ala, Asp)과 1個의 未知 amino酸을 확인하였으며 未知 amino酸의 化學構造는 理化學的 性質, IR, <sup>1</sup>H-NMR, spectrum, C<sup>13</sup>-NMR spectrum등의 解釋에 의해 Fig. 1에 나타낸 바와같이 D-2-amino-5-phosphono-3-cis-pentenoic acid (APPA)로 決定하였다.

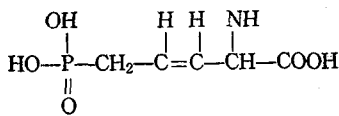


Fig. 1 Structure of APPA

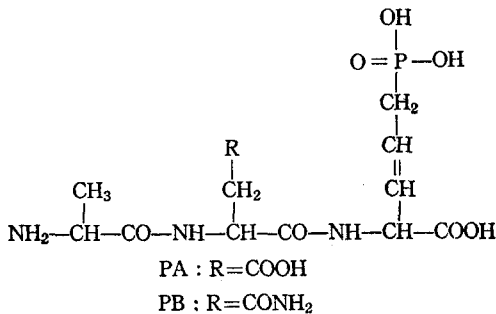


Fig. 2 Structure of emycins

2) PA 및 PB의 構造決定: PA와 PB의 N-末端

및 C-末端은 各各 DNP-法, hydrazine分解法에 의해 決定하였으며 PA, PB의 元素分析, ion 交換樹脂(Dowex 50×2, H<sup>+</sup>型)上에서의 거동, 化學的 分枝反應, <sup>1</sup>H-NMR spectrum, C<sup>13</sup>-NMR spectrum등의 解釋에 의해서 Fig. 2에 나타낸 바와같이 그 化學構造는 PA가 L-Ala-L-Asp-D-APPA, PB는 L-Ala-L-Asn-D-APPA로 決定하였다.

### 5. PA 및 PB의 生物學的性質

이들은 모두 合成培地위에서 細菌에 대해서는 抗菌活性을 나타내나 酵母, 곰팡이 등에 대해서는 活性을 나타내지 않았다.

細菌에는 Gram 陽性菌보다 Gram 陰性菌 특히 *Pseudomonas*에 대한 抗菌力이 強하였다.

또한 plumbemycins은 L-threonine에 의해 拮抗당 하였으며 水素添加에 의한 APPA의 二重結合을 破壞시켜도 失活되었다.

Mouse에 대한 LD<sub>50</sub>(i. v.)는 >500 mg/kg이었다.

### 특별강연초록 (IV)

#### 농작물 병충해 방제와 미생물의 이용

#### 朴元稷

고려대학교 농과대학

농약사용량은 매년 증가하여 지난 5년간 농약 사용량은 약 3 배로 증가되었고 연간 수입액도 계속 늘어나고 있는 반면에 경지 면적과 농가 수입은 매우 완만한 증가를 보이고 있으며 농약사용비용의 증가로 농산물 생산소득은 감소하고 있는 실정이다.

더욱이 계속적인 농약사용으로 resurgence, replacement, resistance등의 작용으로 농약사용량 보다는 농산물해충의 피해는 더 크다.

결과적으로 익충을 더 많이 제거하여 그 결과로 자연의 생태학적 균형을 깨뜨렸기 때문이다. 따라서 이러한 농약의 사용방법으로는 농약 소비량만을 축진하게 될 것이다.

또한 지하의 에너지원은 2010년경에는 거의 고갈된다는 예측을 생각하면 앞으로의 농약 생산비는 지금보다 더욱 높아져서 현재와 같은 농약의 이용은 한계점에 도달하게 될 것이다.

지금부터 그 대비책으로 농약 살포를 검토하여 자연적인 생태학적 균형을 되찾기 시작하여 자연적인 천적, 유용미생물 등을 연구하여 생물학적 방제법을 강구함으로써 농약을 최소한으로 사용하