

新殺菌剤リンバー®の開発

農業化学品研究所 森 達 哉
今 井 正 芳
小 栗 幸 男
生物環境科学研究所 磯 部 直 彦
アグロ事業部開発部 谷 亨
基礎化学品研究所 葉 賀 徹

Limber® A New Fungicide

Agricultural Chemicals Research Laboratory
Tatsuya MORI
Masayoshi IMAI
Yukio OGURI
Environmental Health Science Laboratory
Naohiko ISOBE
Plant Protection Division-Domestic
Toru TANI
Basic Chemicals Research Laboratory
Toru HAGA

Limber® [(RS)-5-chloro-N-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide] is a new rice sheath blight fungicide containing "furametpyr" as an active ingredient developed by Sumitomo Chemical Co., Ltd. Since 1989, under the code number S-658, the biological performance of Limber® in the control of rice sheath blight has been examined through intensive laboratory and field trials.

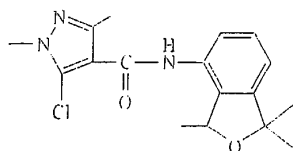
Limber® shows excellent control against rice sheath blight by foliar application with wettable powder and dust formulations and submerged application with granule formulation.

Limber® has been registered in October 1996 as a rice sheath blight fungicide in Japan.

はじめに

リンバー®は、当社が開発した新規化合物フラメトピルを含有する新しいタイプのイネ紋枯病防除剤である(第1図)。

第1図 フラメトピルの化学構造



商品名：リンバー (Limber)

一般名：フラメトピル (Furametpyr)

試験名：S-658, S-82658

化学名：(RS)-5-chloro-N-(1,3-dihydro-1,1,3-trimethylisobenzofuran-4-yl)-1,3-dimethylpyrazole-4-carboxamide

分子式：C₁₇H₂₀N₃O₂Cl

分子量：333.82

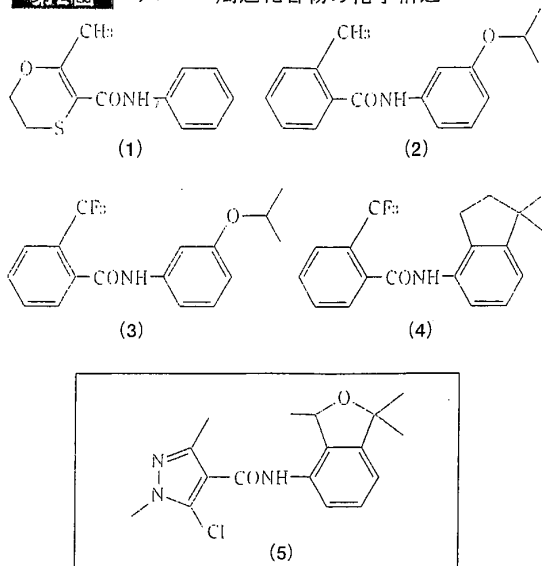
イネ紋枯病は、わが国ではいもち病に次ぐ水稲の重要病害で毎年各地で発生し大きな被害をもたらしている。いもち病防除に於いては、各種の殺菌剤が開発され茎葉散布施用や水面施用で高い防除効果をあげている。特に、水面施用型のいもち病防除剤は、農家の省力的な防除体系の確立に寄与してきた。

しかるに、紋枯病防除では茎葉散布剤が殆どで、一部水面処理剤もあるものの満足できる防除効果が得られているとは言い難く、省力的に利用可能な水面施用防除剤が求められていた。

この様な状況下で、当社は水面施用でも高い防除効果を有する紋枯病防除剤としてリンバー®を選抜し、1989年より日本植物防疫協会委託試験を通じて実用性評価を精力的に進めるとともに安全性試験、環境評価試験、工業的製法等に関する検討も実施した。その結果、1996年10月にイネ紋枯病防除用殺菌剤として日本における農薬登録を取得し販売が開始された。

ここではリンバー®の研究の背景と経緯、構造活性

第2図 リンバー周辺化合物の化学構造



相関、作用特性、作用機構、圃場評価、製剤、安全性、動植物代謝、環境挙動などについて紹介する。

スクリーニング研究の経緯

1. 研究の背景と着想

カルボン酸アミド系殺菌剤に関する研究は古くから行われていたが、農薬としての研究が本格化したのは、1966年にSchmering¹⁾らにより担子菌に対して抗菌活性を示す化合物(1)が紹介された頃からである。

その後、この(1)をリード化合物とした構造改変が精力的になされ、緻密な構造活性相関研究の結果、イネ紋枯病等に対し選択的に高活性を示す化合物として1980年代になってクミアイ化学がメプロニル(2)²⁾を、日本農薬がフルトラニル(3)³⁾を相次いで実用化した。これらのうち(3)は、イネ紋枯病に対し粒剤による水面処理においても防除効果を示す点で注目された。

当時、水田分野における薬剤の処理形態は、省力化というニーズにマッチした粒剤への移行が着実に進行していた。稲作分野では、既に最重要病害であるいもち病に対しては強力な活性を有する粒剤が開発され、紋枯病に対しても粒剤のニーズが高まるものと予想された。このような観点からすれば、フルトラニルは紋枯病剤の粒剤化への道を切り開いたとは言えるものの、効力的には更に改良の余地があるものと考えられた。

一方、住友化学ではメプロニルやフルトラニルのアミン部分の3位のイソプロポキシ基のコンホメーションを固定化し、レセプターへのフィットを容易に

することにより活性の強化を図ろうというアイデアに基づくドラッグデザインが既に種々行われ、1,1-ジメチルインドニルアミン誘導体である(4)がイネ紋枯病に対し茎葉処理においてフルトラニルを凌駕する活性を有することが確認されていた。しかし、(4)は水面処理においては十分な活性を示さなかった。

このような状況下、我々は(4)の構造に着目し、粉剤による茎葉処理のみならず、粒剤による水面処理においても卓効を示す新規なイネ紋枯病剤の創製を目指し、スクリーニング研究に着手した。

我々は、この(4)に高い浸透移行性を付与すべく、酸部分、アミン部分を各種複素環へと構造改変した化合物を種々合成し、ヘテロ原子の導入と化合物の浸透移行性の関係について詳細な検討を行った。その結果、酸部分として4-ピラゾールカルボン酸を、アミン部分として2-オキサインドニルアミンを有する一連のアミド化合物が、イネ紋枯病に対して、茎葉処理ばかりでなく水面処理においても高活性を示すことを見出した⁵⁾。

さらに、酸部分、アミン部分各置換基についての構造活性相関を検討することにより、以下の2点を明らかにした⁶⁾。

- ①酸部分ピラゾール環上の3位の置換基はメチル基程度の大きさが最適であり、5位の置換基は電子吸引性基(特に塩素原子)が適している。
- ②アミン部分オキサインドニル環上の1,3位の置換基はいずれもメチル基程度の大きさが必要かつ最適である。

の2点を明らかにした⁶⁾。

以上の知見を基に、粒剤による水面施用で最も良好な防除効果を有する化合物としてリンバー®(S-82658、S-658、フラメトピル)(5)が選抜された(第2図)。

病害防除作用

1. 抗菌活性

第1表に示すようにリンバー®は、担子菌亜門に属する菌群の多くに優れた抗菌活性を示す。特に、Rhizoctonia属菌(本菌群は、不完全時代をRhizoctoniaと総称し、完全時代の発見により随時担子菌類に分類される。)やCorticium属菌による植物病害に対して優れた防除効果を示す。

2. 作用機作

一般的に生物は、呼吸により炭水化物から生体エネルギーを創製し、生体内の各種生化学反応に使用している。その生体エネルギーの創製は、ミトコンドリアに存在する電子伝達系を利用して行われている。リンバー®の作用機作を解明するために、イネ紋枯病菌から

第1表 リンバーの抗菌活性

供試菌	病名	ED50値(ppm)
Mastigomycotina ベん毛菌 亜門		
<i>Phytophthora infestans</i>	ジャガイモ疫病	53
<i>Pythium debaryanum</i>	苗立枯病	> 100
Zygomycotina 接合菌 亜門		
<i>Rhizopus oryzae</i>	住苗立枯病	> 100
Ascomycotina 子のう菌 亜門		
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	イネごま葉枯病	> 100
<i>Gibberella fujikuroi</i>	イネばか苗病	> 100
Basidiomycotina 担子菌 亜門		
<i>Ceratobasidium gramineum</i>	オオムギ株腐病	0.70
<i>Typhula incarnata</i>	ムギ雪腐褐色小粒	1.6
<i>Corticium rolfsii</i>	白絹病	0.097
<i>Corticium salmonicolor</i>	リンゴ赤衣病	0.55
<i>Tyromyces palustris</i>		0.09
Deuteromycotina 不完全菌 亜門		> 100
<i>Alternaria kikuchiana</i>	ナシ黒斑病	> 100
<i>Botrytis cinerea</i>	灰色かび病	> 100
<i>Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici</i>	トマト萎ちょう病	> 100
<i>Magnaporthe salvinii var. sigmoidea</i>	イネ小粒菌核病	> 100
<i>Pyricularia oryzae</i>	イネいもち病	37
<i>Sclerotium hydrophilum</i>	イネ球状菌核病	0.083
<i>Sclerotium fumigatum</i>	イネ灰色菌核病	0.15
<i>Sclerotium oryzae-sativae</i>	イネ褐色菌核病	0.52
<i>Rhizoctonia solani</i> AG-1 (IA)	イネ紋枯病	0.14
AG-2-1 (II)	アブラナ科低温系	0.45
AG-2-2 (IIIB)	イ紋枯病系	0.55
AG-3 (IV)	ジャガイモ低温系	1.0
AG-4 (IIIA)	苗立枯病系	0.10
AG-5		0.80
<i>Rhizoctonia zeae</i>	イネ褐色小粒菌核病	0.33
<i>Rhizoctonia oryzae</i>	イネ赤色菌核病	0.51

第2表 リンバーのイネ紋枯病菌ミトコンドリアにおける呼吸阻害作用

フラメトピル濃度 (μ M)	阻害率 (%) ^a	
	コハク酸 ^b	NADH
1	75.8	— ^c
10	92.6	11.1

a: コハク酸またはNADHを基質とした酸素消費速度より、阻害率 (%) を求めた。

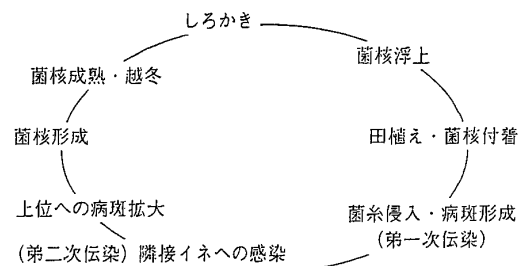
b: コハク酸もしくはNADHを基質とした場合、無処理の酸素消費速度は、それぞれ13および87nmolO₂/min/mgであった。

c: 無試験

調整したミトコンドリアを用いて阻害作用を調べた結果、リンバー®は電子伝達系の中でNADHを基質とする電子伝達系には影響を与えず、コハク酸を基質とした電子伝達系 (Complex II) を強く阻害する (第2表) ことが判明した。

このことよりリンバー®は、Complex IIの働きを阻害することで、コハク酸を構成成分とするTCA回路に影響を与え、エネルギー生産、各種生体成分の原料

第3図 イネ紋枯病菌の伝染環



低下を起こすと推定される。このような作用機作によりイネ紋枯病などの担子菌類に対して高い抗菌活性を示すと考えられる。

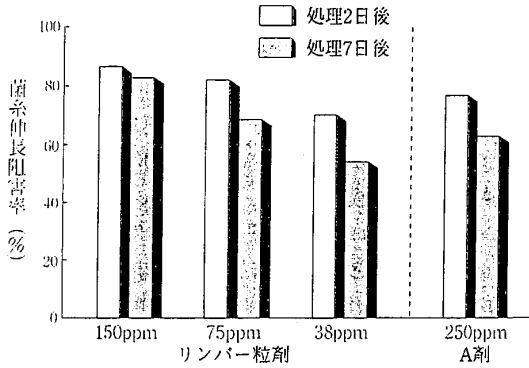
3. 作用特性

イネ紋枯病はイネの葉鞘や葉にだ円形ないし菱形の病斑を作る病気で、わが国ではいもち病に次ぐ重要な病害となっている。本病はイネの分けつ期頃から成熟期まで長期間にわたって発生し、特に生育後半が高温、多湿になる年には発病が激しく、倒伏や減収をもたらす。イネ紋枯病は、糸状菌の一種である紋枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) によって引き起こされる植物病害で、生育に最適条件である温度 (28~30℃)、湿度 (95%以上) の環境では菌糸の伸長が早く、イネに侵入して2日後には病斑を形成する。本病害は、第3図に記載の様に、前年にできた菌核が伝染源となり、しらかきの時に水面に浮上した菌核が葉鞘部に付着し感染を開始する。これを第一次伝染と言い、こうして出来た病斑から菌糸を伸展して隣接するイネに伝染 (水平進展) し、さらにイネの生育とともに上位の葉鞘に伝染 (垂直進展) し大きな被害をもたらす。この第一伝染以降の発病進展を第二次伝染という。秋には、病斑付近に菌核を形成し、脱落して土壤中で越冬し、翌年の感染源になる¹³⁾。

以下に紋枯病菌の各生育ステージおよび伝染環のなかで、リンバー®がどのように作用するかを述べる。

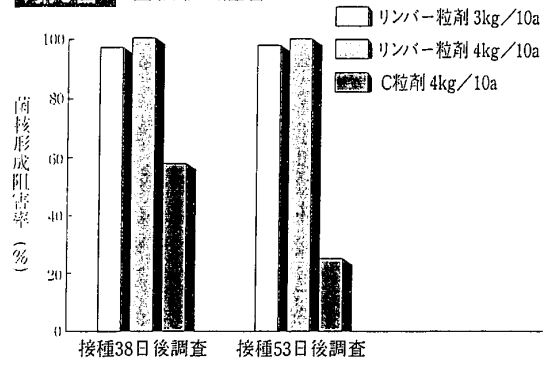
菌核が発芽し感染する過程に於いて、リンバー®は菌核発芽を10ppmで約80%阻害し、その後の菌糸生育を1ppmで約80%阻害する。このことから優れた第一次伝染阻害作用が期待出来る。また、イネに感染・侵入した後の紋枯病菌に対しても各種の作用を示す。ポット栽培のイネに紋枯病菌を接種して病斑を形成後リンバー®を散布して、その2日または7日後に病斑を切り取りリンバー®を含まない素寒天培地上で菌糸を伸長させた。その結果、リンバー®散布区の病斑組織からは菌糸伸長が強く抑制されるとともに、伸長した菌糸でも異常分岐・膨潤の形態異常が認められた。また、リンバー®を散布し、2日または7日後にその病斑を切り取り、リンバー®を処理していない

第4図 菌糸伸長阻害



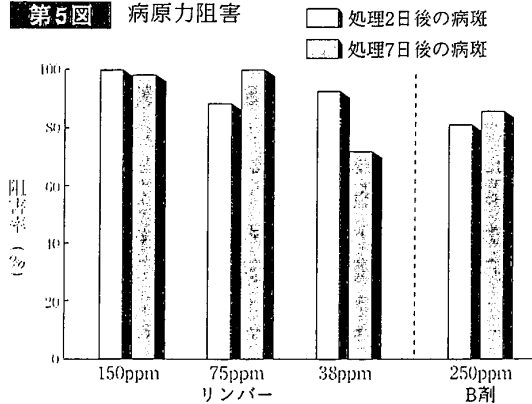
試験方法：ポット栽培したイネに紋枯病菌を接種して病斑形成後リンバーを散布し、その2、7日後に病斑を切り取り葉寒天培地上で菌糸を伸長させた。

第6図 菌核形成阻害



試験方法：紋枯病菌をイネに接種し、病斑形成後(接種8日後)に薬剤を処理。接種38日後および53日後に菌核形成数を調査した(ポット試験)。

第5図 病原力阻害



試験方法：病斑部にリンバーを散布し、2、7日後に病斑を切り取り別のイネに接種して病斑高を測定した。(ポット試験)

イネに接種した結果、その病斑組織中の菌糸による感染はほとんど認められなかった(第4図、第5図)。このように、リンバー®はすでに形成された病斑組織に存在する菌糸の病原力を失活させ、第二次伝染をも阻止する力を有することが判明した。

菌核形成過程における作用を調べるため、紋枯病菌をイネに接種し、病斑を形成させた後、リンバー粒剤を水面施用して接種38日後および53日後に菌核の形成数を調査した。その結果、第6図に示すように1.5%粒剤の3kgおよび4kg処理でいずれも90%以上の強い菌核形成阻害を示し、その効果は50日以上経過しても持続していた。

これまでの結果をまとめると、リンバー®の防除作用点は主として菌核から発芽した菌糸の生育抑制による第一次感染の阻害と既成病斑からの菌糸発生阻害および病原力の失活による第二次感染阻害によるものと考えられる。加えて、菌核形成が強く阻害されること

第3表 リンバーの作用点

伝染環上での作用点	リンバーの各作用点
一次伝染阻害	菌糸伸長阻害・菌核発芽阻害・侵入菌糸塊形成阻害
二次伝染阻害	病斑組織中の菌の病原力低下・菌糸活性阻害
次年度の発病減少	菌核形成阻害

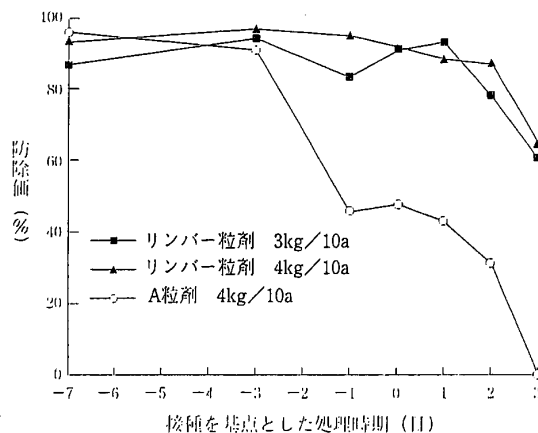
から翌年の発病抑制についても期待することができる。(第3表)。

4. リンバー®の実用性と開発

リンバー®は、1989年より日本植物防疫協会の委託試験を通じて本格的実用性評価を開始するとともに、関係試験機関などのご協力で各種の実用性について検討を行ってきた。ここでは、実際の使用場面でのリンバー®の特徴について、水面施用粒剤を取り上げて説明する。

第7図は、リンバー®粒剤を紋枯病菌の接種7日前

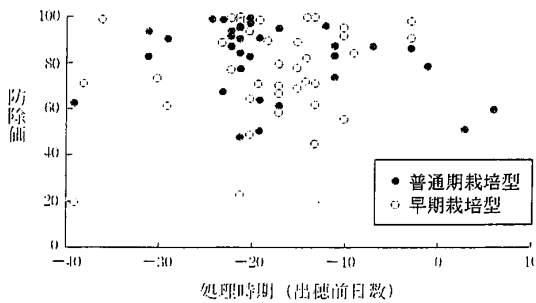
第7図 侵入防止作用・進展阻害作用の強さ



(予防的処理)から接種3日後(治療的処理)まで薬剤の処理日を変えることで防除効果に与える影響を調べた。その結果、製剤量で3kgおよび4kg/10aの水面施用では予防的処理から治療的処理のすべての処理区で安定した防除効果を示し、市販剤であるA剤が治療的処理では効力が低下するのと比較して優れた特性を示した。このことは、リンバー®は、処理時期がやや遅れ、発病が確認されてから処理しても病害防除効果を期待出来ることを示している。

また、リンバー®剤は圃場の土質の違い、漏水程度、温度条件などの環境要因による影響が少なく、安定した効果を示すことが確認されている。

第8図 散布時期と防除効果の関係



1989年～1994年の日本植物防疫協会委託試験成績からリンバー®剤の散布時期と防除効果の関係を図示した。

第4図 使用量間の効力比較

(1991年から1992年の全委託試験の総括)

薬剤名	処理量	平均使用回数	試験例数	平均防除価
リンバー® 粒剤	4kg/10a	1	10	82.6
	3kg/10a	1	10	77.6
リンバー® 粒剤	3kg/10a	1	16	75.5
対照散布剤 (粉剤、粒剤DL)	4kg/10a (粒剤は3kg3例を含む)	1.06	18	69.5

対照散布剤：モンセレン (1.5% DL)、モンカット (1.5% DL, 7% G)、バリダシン (0.3% DL)

第5表 既存散布剤とリンバー®剤4kg/10aの効力比較

(1989年から1993年の全委託試験の総括)

薬剤名	処理量	平均使用回数	試験例数	平均防除価
リンバー® 粒剤	4kg/10a	1	22	82.4
対照散布剤 粉剤	4kg/10a			
フロアブル 液剤	120-180 l/10a (500-1500倍)	1.35	23	80.6

対照散布剤：モンセレン (1.5% DL, 20% FL)、モンカット (1.5% DL, 20% FL)、バリダシン (0.3% DL, 3% L)

リンバー®の実用的な処理時期については、1989年から1994年までの日本植物防疫協会委託試験の結果(第8図)において、おおむね出穂1ヶ月前から出穂期の処理で安定した効果が得られており、この時期が適期と考えられる。更に早期に処理しても実用効果が期待出来ると思われるが、試験例が少なく、今後の検討が必要と思われる。

これまで得られた委託試験の結果、リンバー®剤は3kg/10a施用と4kg/10a施用との間に大きな効力差はなく、また市販の茎葉及び水面施用剤と比較し効力が劣ることもなかった。(第4表、第5表)

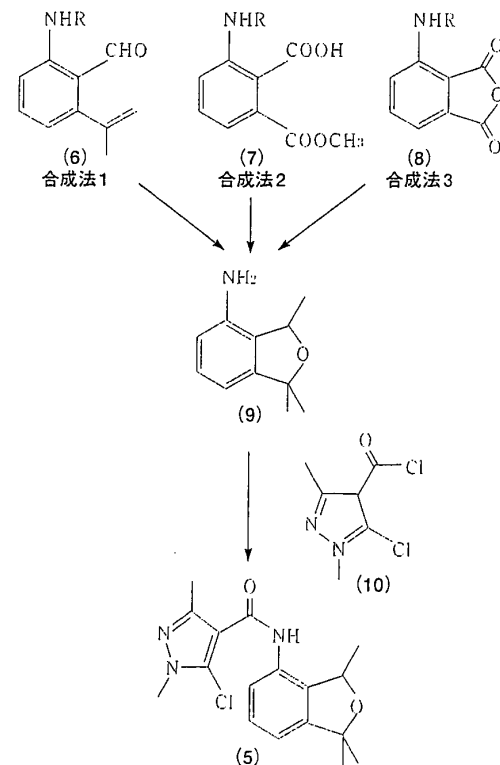
また、茎葉散布剤としても同様に評価され0.5% DL粉剤、15%水和剤とも既存の紋枯防除剤と同等以上の優れた防除効果を示している。

製法

フラメトピル原体はアミドの一種であって、アミン(9)と酸クロリド(10)との反応により製造されるが、アミン(9)はイソベンゾフラン骨格を有する化合物であり、種々の化合物から合成されるが、その代表的なものを第9図に示した。

即ち、2-アミノベンズアルデヒド誘導体(6)にメチル基を導入した後環化する方法や、3-アミノフタル酸

第9図 リンバー®の製造法



誘導体 (7), (8) に三個のメチル基を導入し環化する方法である。

これら各種方法、アミド化について精力的に検討を行い、高収率高純度のフラメトピルを得るプロセスを確立した。

物性および製剤

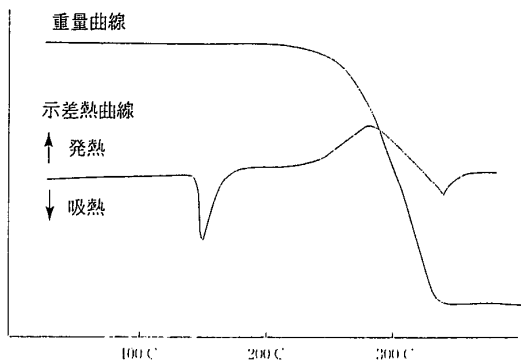
1. 物理化学的性質

主な物理化学的性質を第6表に示す。フラメトピル原体は融点約150.2℃、比重1.30の無臭白色結晶性粉末である。蒸気圧は20℃で 1.5×10^{-8} mmHgとかなり低い。溶解性に関しては、極性の溶媒に対しては比較的良好に溶けるが、芳香族系炭化水素、脂肪族系炭化水素類には概して溶けにくい。また、水に対する溶解度は25℃で225mg/Lである。空気雰囲気中での示差熱分析 (DTA) ダイアグラムを第10図に示す。150℃付近に結晶の融解に伴う吸熱ピークが見られ、220℃付近から300℃にかけて分解による

第6表 フラメトピル原体の主な物理化学的性質

(1) 外観	白色粉末
(2) 融点	150.2℃ (日局法)
(3) 比重	1.30 (23℃, 空気比較式比重計)
(4) 蒸気圧	1.5×10^{-8} mmHg (20℃, GC法) 3.5×10^{-8} mmHg (25℃, 〃)
(5) 溶解度	水 225mg/L (25℃, EPA法CG-1500) n-ヘキサン 1g/L (20℃) キシレン 30 メタノール 134 イソプロパノール 36 アセトン 109 シクロヘキサノン 204 酢酸エチル 64 クロロホルム 467 アセトニトリル 58
(6) 分配係数 (オクタノール/水)	log P = 2.36 (25℃, OECD No. 107法)

第10図 フラメトピル原体のDTAダイアグラム



第7表 フラメトピル原体の熱安定性

保存条件	含量%	(分解率%)
初期値	94.0	
室温	6ヶ月	94.3 (—)
	1年	93.8 (0.2)
40℃	1ヶ月	94.2 (—)
	3ヶ月	94.8 (—)
	6ヶ月	94.7 (—)
50℃	1ヶ月	94.5 (—)
60℃	1ヶ月	93.3 (0.7)

第8表 フラメトピル原体の担体中での安定性

担体	フラメトピル含量% (分解率%)		
	冷保存	40℃, 1ヶ月	50℃, 1ヶ月
ホワイトカーボン	0.88	0.82 (7)	0.86 (2)
珪藻土	0.97	0.60 (38)	0.58 (40)
クレー	0.97	0.86 (11)	0.84 (13)
タルク	0.98	0.90 (8)	0.84 (14)
ベントナイト	0.96	0.95 (1)	0.94 (2)
炭酸カルシウム	0.97	0.12 (88)	0.10 (90)

第9表 フラメトピル原体の光安定性

条件	分解率 (%)
暗条件	0
太陽光	2Hr 35
	8Hr 53
	12Hr 63

天候：晴れ、21～24.5℃

と考えられる発熱ピークが認められる。また、重量減少は190℃付近から始まり、250℃を超えると急激に減量する。

2. 安定性

フラメトピル原体は安定で40℃で6ヶ月あるいは60℃で1ヶ月保存後もほとんど分解は認められない(第7表)。pHが3～11の水中(100ppm溶液、30℃、暗条件)でも安定であり、14日後の分解率はほぼ2%以下である。フラメトピル原体の各種担体中での安定性を第8表に示す。ホワイトカーボン、タルク、ベントナイト中で安定であるが、炭酸カルシウム中では非常に不安定である。

フラメトピル原体は太陽光により比較的速やかに分解する(第9表)。

3. 製剤

日本で農薬登録されている製剤は、単剤としてリンバー粒剤(フラメトピル 1.5%)、リンバー粉剤DL

第10表 リンバー粒剤の代表物性 (試験例)

項目	物性
外観	淡灰色細粒
見掛け比重	0.91 (公定法)
粒度	300～1700 μ m
pH	7.6 (公定法)
安定性	40℃、3ヶ月の虐待保存後も有効成分はほとんど分解しない。 また、その他の物性もほとんど変化しない。

第11表 リンバー水和剤の代表物性 (試験例)

項目	物性
外観	類白色水和性粉末
見掛け比重	0.38
粉末度	99.7% (公定法)
懸垂率	99.2% (公定法)
水和性	1分8秒 (公定法)
安定性	40℃、3ヶ月の虐待保存後も有効成分はほとんど分解しない。 また、その他の物性もほとんど変化しない。

(フラメトピル 0.5%) およびリンバー水和剤 (フラメトピル 15%) があり、いもち剤との混合剤としてオリゼマトリンバー粒剤 (プロベナゾール 8%、フラメトピル 1.5%) およびコラトプリンバー粒剤 (ピロキロン 5%、フラメトピル 1.5%) がある。また、リンバー1キロ粒剤 (フラメトピル 4.5%) も近く農薬登録される予定である。

第10表にリンバー粒剤の代表的物性を、また、第11表にリンバー水和剤の代表的物性を示す。

両製剤ともに極めて良好な物性および安定性を示している。使用に際しては、各粒剤およびリンバー粉剤DLはそのまま散布されるが、リンバー水和剤は1500～3000倍の水に希釈して散布される。

毒性・代謝・残留

1. 哺乳動物毒性

(1) 急性毒性、刺激性および皮膚感作性

フラメトピル原体の急性経口、経皮および吸入毒性はいずれも比較的弱く (第12表)、経口投与および吸入曝露時には呼吸不規則、自発運動減少、失調性歩行、尿失禁等の軽微な中毒症状が認められた。経皮投与時には、症状発現は認められなかった。製剤の急性毒性は弱く、1.5%粒剤および0.5%粉剤では何ら毒性徴候は認められず、15%水和剤では高用量で原体と同様の症状が認められたが一過性であった (第12表)。

第12表 フラメトピル原体および製剤の急性毒性

剤型	投与経路	LD ₅₀ 値 (mg/kg)				試験機関 (報告年)
		ラット (SD)		マウス (ICR)		
		♂	♀	♂	♀	
原体	経口	640	590	660	730	住友化学(1992)
	経皮	>2000	>2000	—	—	住友化学(1992)
	吸入*	>5440	>5440	—	—	住友化学(1993)
1.5%粒剤	経口	>5000	>5000	>5000	>5000	ボゾリサーチ(1994)
	経皮	>2000	>2000	—	—	ボゾリサーチ(1994)
0.5%粉剤	経口	>5000	>5000	>5000	>5000	ボゾリサーチ(1994)
	経皮	>2000	>2000	—	—	ボゾリサーチ(1994)
15%水和剤	経口	>5000	>5000	5670	5490	ボゾリサーチ(1994)
	経皮	>2000	>2000	—	—	ボゾリサーチ(1994)

* : LC₅₀値 (mg/m³、4時間全身曝露)、— : 実施せず

フラメトピル原体は、ウサギの眼に対して軽度の刺激性を示したが、皮膚に対しては刺激性を示さなかった (住友化学、1991)。1.5%粒剤、0.5%粉剤および15%水和剤は、眼には軽度の刺激性を示したが、皮膚に対しては刺激性を示さなかった (ボゾリサーチ、1994)。

モルモットを用いたMaximization法による皮膚感作性試験で原体は弱い陽性を示したが (住友化学、1994)、Buehler法では陰性であり (住友化学、1991)、1.5%粒剤、0.5%粉剤および15%水和剤も陰性であった (ボゾリサーチ、1994)。

(2) 一般薬理

マウス、ラット、モルモット、ウサギおよびイヌを用いて、一般症状および行動、中枢神経系、自律神経系および平滑筋、呼吸・循環器系、消化器系、体性神経系、水および電解質、および血液におよぼすフラメトピル原体の影響を調べた。自発運動の抑制、麻酔増強作用、抗痙攣作用、鎮痛作用、体温降下作用、腸管輸送能抑制作用および脳液において徐波の発現等を示すことから、フラメトピルは中枢神経抑制作用を有し、また水および電解質代謝に対して弱い作用を持つと考えられた (住友化学、1992)。

(3) 亜急性毒性、慢性毒性、発癌性

イヌ、ラットおよびマウスを用いて亜急性毒性、慢性毒性・発癌性試験を行った (第13表)。

イヌの13週間経口投与試験では、摂餌量の軽度な減少、体重増加抑制および肝臓に対する影響、即ち、肝臓重量の高値、瀰漫性の肝細胞腫大、滑面小胞体の増生、アルカリ性ホスファターゼ活性値の上昇等が認められた (住友化学、1993)。52週間経口投与試験では、これらに加えて、高用量投与群に肝細胞の巣状壊死あるいは線維化、血小板数の増加、活性化

第13表 フラメトピルの亜急性毒性、慢性毒性・発癌性試験

動物種 (系統)	投 与			無影響量 (mg/kg/日)
	期間	方法	量	
イヌ (ビーグル)	13週	カプセル	0.5, 5, 50 (mg/kg/日)	0.5
	52週	カプセル	0.5, 1.5, 5, 50 (mg/kg/日)	1.5
ラット (SD)	13週	混餌	100, 3000, 6000, 12000 (ppm)	100 ppm ♂:6.0, ♀:6.7
	104週	混餌	♂: 20, 2000, 4000 (ppm) ♀: 20, 1000, 2000 (ppm)	20 ppm ♂:0.7, ♀:0.9
マウス (CD-1)	13週	混餌	♂: 100, 1000, 2000, 4000 (ppm) ♀: 100, 2000, 4000, 8000 (ppm)	100 ppm ♂:12.3, ♀:15.2
	78週	混餌	100, 1500, 3000 (ppm)	100 ppm ♂:10.6, ♀:12.3

部分トロンボプラスチン時間の延長、およびアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ活性値の上昇、腎臓重量の高値等が認められた(住友化学、1994)。

ラットの13週間混餌投与毒性試験では、高用量で摂餌量減少、体重増加抑制、網赤血球数・総蛋白・リン脂質・総コレステロールの増加、肝臓重量の増加および肝細胞の小葉中心性の肝細胞肥大等、主に肝臓に対する影響が認められた(住友化学、1992)。104週間混餌投与による慢性毒性・発癌性試験では、これらに加えて腎臓の軽微な変化が認められたが、発癌性は認められなかった(住友化学、1994)。

マウスの13週間混餌投与毒性試験では、赤血球数、血色素量およびヘマトクリット値の減少、アルブミンの減少、トリグリセライドの増加、肝臓重量の増加および腎臓重量の減少、肝細胞肥大および脂肪沈着による肝細胞内空胞形成等が認められた(住友

化学、1992)。78週間混餌投与による発癌性試験では、肝臓重量の増加、小葉中心性の肝細胞肥大および肝細胞小増殖巣の増加等が認められたが、発癌性は認められなかった(住友化学、1994)。

以上の様に、フラメトピルの高用量を経口投与した動物において、主に肝臓に対する影響が認められた。発癌性はないものと判断された。

(4) 生殖・発生毒性

ラットおよびウサギで、母獣に対して体重増加抑制および摂餌抑制が認められた用量においても、胚・仔致死作用および催奇形性は認められなかった(第14表)(住友化学、1992)。

ラットを用いた繁殖性試験では、高用量投与群の仔動物でF1およびF2哺育仔の体重低値、着床数の低値に伴ったF2産仔数の低下が認められた。しかし、他の繁殖パラメータに影響はなかった(第14表)(残留農薬研究所、1994)。

(5) 変異原性

第15表に示す試験を実施した。復帰変異(エームズ)試験(住友化学、1992)、DNA修復試験(Rec Assay)(住友化学、1991)、不定期DNA合成(UDS)試験(住友化学、1991)はいずれも陰性であり、遺伝子突然変異性およびDNA損傷性はないと判定した。

In vitro染色体異常試験(住友化学、1992)は陽性であった。また、マウス小核試験(住友化学、1992)において、最大耐量(600mg/kg)を経口投与した雄にのみ、染色体切断物質によって誘発される小核

第14表 フラメトピルの生殖・発生毒性試験

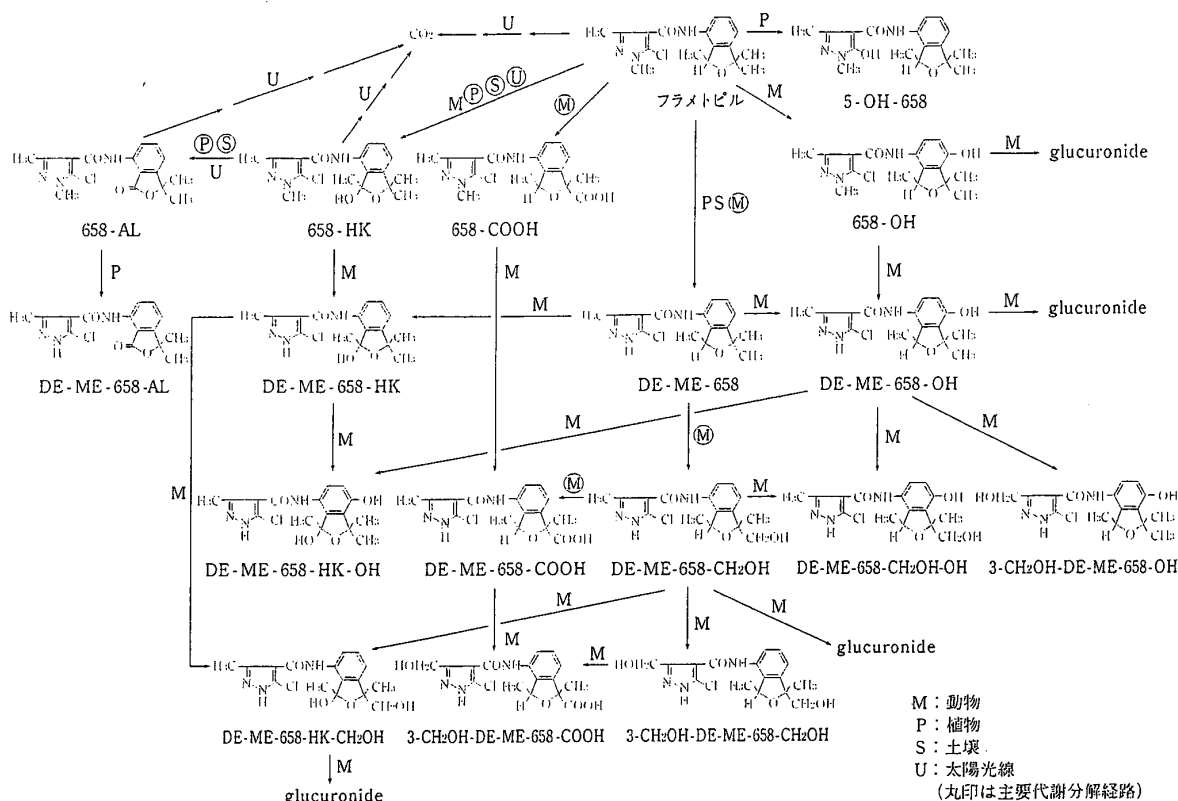
試験種	動物種 (系統)	投 与			無影響量 (mg/kg/日)
		期間	経路	量	
催奇形性	ラット (SD)	器官形成期: 妊娠6日~15日	経口	20, 60, 200 mg/kg/日	母獣: 20 胎仔: 20 催奇形性なし
	ウサギ (JW-NIBS)	器官形成期: 妊娠7日~19日	経口	10, 30, 100 mg/kg/日	母獣: 30 胎仔: 100 催奇形性なし
繁殖性	ラット (SD)	F0世代: 交配前10週間 からF1仔離乳時まで。 F1世代: F1親動物離乳 時からF2仔離乳時まで。	混餌	100, 1000 mg/kg/日	無影響量が 得られず。
		F0世代: 交配前10週間 からF1仔離乳時まで。 F1世代: F1親動物離乳 時からF2仔離乳時まで。	混餌	10, 30, 100 mg/kg/日	親: 30 ppm ♂2.05, ♀2.44 親の繁殖能: 100 ppm ♂6.82, ♀7.96 仔: 100 ppm F1: ♂6.82, ♀8.03 F2: ♂8.49, ♀10.13

第15表 フラメトピルの変異原性試験

試験名	試験系	試験条件	結果
復帰変異 (エームズ)	サルモネラ菌5株 (TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538)および 大腸菌WP2uvrA株	156~5000 μg/プレート S9 Mix 存在下、非存在下	陰性
染色体異常 (in vitro)	チャイニーズハムスター肺 由来培養細胞 (CHL/IU)	6.25~800 μg/ml S9 Mix 存在下、非存在下	陽性
小核	雌雄マウス (骨髄細胞)	150, 300, 600 mg/kg 経口投与	陽*
染色体異常 (in vivo)	雄マウス (骨髄細胞)	600 mg/kg 経口投与	陰性
小核	雌雄マウス (骨髄細胞)	100, 1500, 3000 ppm 13週間混餌投与	陰性
不定期 DNA合成 (UDS)	雄ラット (肝細胞)	113, 225, 450 mg/kg 単回経口投与	陰性
DNA修復 (Rec assay)	枯草菌 M45 株/H17株	200~6400 μg/ディスク S9 Mix 存在下、非存在下	陰性

*: 雄の最高用量で「大きな小核」出現頻度が僅かに増加。

第11図 フラメトピルの代謝分解経路



とは異なり赤血球の直径の1/4以上の大きさを有する「大きな小核」の発現頻度が僅かに増加した。「大きな小核」の誘発は、細胞分裂阻害作用に基づくものであり、閾値の設定できる作用であると考えられた。*in vivo*染色体異常試験(住友化学, 1994)では、小核が出現する用量で染色体異常(構造異常)は誘発されなかった。また、発癌性試験の最高投与量である3000 ppmの13週間混餌投与によっても小核の誘発は認められなかった(住友化学, 1994)。

以上の結果から、フラメトピルは、*in vitro*染色体異常試験で陽性、小核試験で最大耐量を投与したマウスの雄に細胞分裂阻害作用に基づく「大きな小核」を僅かに増加させたが、*in vivo*染色体異常誘発性を持たず、遺伝子突然変異性、DNA損傷性もなかったことから、遺伝子に対する直接作用はないと結論した。

2. 動物・植物代謝

(1) 哺乳動物における代謝

¹⁴C標識フラメトピルを雌雄ラットに経口投与すると、¹⁴Cは投与量(1および200~300 mg/kg)・性を問わず、投与後7日間に主として尿中および胆汁経路で糞中にほぼ完全に排泄された¹⁾。肝臓、腎臓および血液中の¹⁴C濃度は、低用量群では投与後0.5

時間目、高用量群では投与後24時間目に最高となり、以後半減期4~7時間で減少し投与後7日目に残留する¹⁴C濃度は低かった。主要な代謝反応は1) *N*-脱メチル化、2) ピラゾール環3位メチル基の酸化、3) イソベンゾフラン環1位メチル基の酸化、4) イソベンゾフラン環3位の水酸化、および6) 以上の反応で生じたアルコールまたはフェノール性水酸基のグルクロン酸抱合であった(第11図)。これらの代謝反応には投与量による差や性差は認められなかった。

マウスにおいても投与量(1および450 mg/kg)・性を問わず¹⁴Cは速やかかつほぼ完全に糞および尿中に排泄され、投与後7日目の各種臓器組織に残留する¹⁴C濃度は低く、主要な代謝反応はラットと同様であった。

以上のように、経口投与したフラメトピルは速やかに代謝された後尿および糞中に排泄され、特定の臓器・組織への残留性・蓄積性はなかった。

(2) 植物における代謝

¹⁴C標識フラメトピルを稲の穂、葉部および土壌に処理すると、稲体において哺乳動物と同様にイソベンゾフラン環3位の水酸化、ついで酸化的脱メチル化をうけて代謝された。その他の代謝反応として、ピラ

ゾリル環の1位の脱メチル化、5位が酸化的脱クロル化も僅かながら認められた。

3. 環境挙動および残留

(1) 光分解

蒸留水および河川水に¹⁴C標識フラメトピルを添加すると、光照射条件において分解が促進され、また蒸留水より河川水において速く分解した。土壌表面においても光照射条件において分解が促進した。水中および土壌表面とも光照射条件下においては、植物体と同じ分解物が検出された。土壌表面では、僅かではあるが¹⁴CO₂にまで無機化された。

(2) 土壌中における代謝

¹⁴C標識フラメトピルを水田および畑地土壌に処理して25℃暗条件下で保存すると、両条件下ともイソベンゾフラン環3位の水酸化、ついで酸化的脱メチル化をうけて分解した。フラメトピルは水田土壌より畑地土壌において速く分解した。また、土壌中の分解微生物としては、糸状菌フザリウム属およびペニシリウム属が同定された。

(3) 土壌移動性

土壌カラムの上部に¹⁴C標識フラメトピルを処理して、日本における地下水への年間浸透水量の1.5倍量の蒸留水を5週間にわたって流したところ、大部分は土壌上層部にとどまり、溶出液には¹⁴Cは検出されなかった。また、土壌に吸着されたフラメトピルは経時的に脱着されにくくなった。

(4) 土壌残留

実際の水田(4ヶ所)にフラメトピル粒剤を60g有効成分/10aの割合で2回散布すると、最高残留値は0.45ppm～1.72ppmであり、消失半減期は13日～138日であった。

(5) 作物残留

フラメトピル粒剤60g有効成分/10aの割合で2回散

布した時の玄米中のフラメトピル最高残留値は、0.10ppmであった。また、稲わら中の最高残留値は、1.17ppmであった。

4. 非標的生物に対する影響

フラメトピルの非標的生物に対する試験結果を第16表に示す。

(1) 水生生物に対する影響

水生生物に対するフラメトピル原体の急性毒性は、コイおよびミジンコに対するLC₅₀は1.65ppm(48hr)および10ppm(3hr)以上であった。また、フラメトピル粒剤を実際の水田に60g有効成分/10aおよびモデル水田に120g有効成分/10aを散布し、コイに対する影響を観察したところ、いずれの場合にも異常は認められなかった。

(2) 有用生物に対する毒性

蚕の3令幼虫をフラメトピル15%水和剤400ppm(有効成分濃度)溶液を用い、虫体浸漬法および食葉浸漬法にて3日間観察したところ、いずれも死亡率は0%で影響は認められなかった。

(3) ミツバチに対する毒性

セイヨウミツバチ働き蜂成虫にフラメトピル原体を局所処理したところ、20μg/beeでも影響を及ぼさなかった。

以上より、フラメトピルの毒性は比較的弱く、長期にわたって摂取したとしても発癌性、催奇形性および繁殖性など次世代への悪影響はないと考えられる。環境中での挙動および非標的生物に対する影響の弱さから、環境に対する影響は少なく、實際上安全な使用が可能であると考えられる。フラメトピル原体の毒性・代謝・環境試験は、イヌ、ラットおよびマウスの慢性毒性・発癌性試験から動植物・土壌における代謝分解、非標的生物に対する毒性に至るまで、ほぼ全てを当社生物環境科学研究所内で実施した。当研究所の能力をフルに発揮し、スムーズに本化合物の安全性が評価できた。

第16表 フラメトピルの非標的生物に対する影響

被験生物・試験	結果
コイ 急性毒性(25℃)	48hr LC ₅₀ = 1.65 ppm
ミジンコ 急性毒性(20℃)	3hr LC ₅₀ > 10 ppm
蚕 毒性	死虫率(3日後)
虫体浸漬法 (有効成分濃度 = 400 ppm)	死虫率(3日後) 0%
食用浸漬法 (有効成分濃度 = 400 ppm)	死虫率(3日後) 0%
ミツバチ 急性毒性	48hr LC ₅₀ => 20μg/bee

引用文献

- 1) B. V. Schmering & M. Kulka : Science 152, 659 (1966)
- 2) S. Kawada, A. Sakamoto & I. Shimazaki : J. Pesticide Sci., 10, 315 (1985)
- 3) F. Araki & K. Yabutani : J. Pesticide sci., 18,

- S69 (1993)
- 4) T. Ohsumi, K. Tsushima, K. Maeda, S. Inoue & N. Itaya : J. Pesticide sci., 14, 229 (1989)
 - 5) 氏家 敬 : 農薬時報 (臨時増刊) 第477号 p11-14
 - 6) 小栗 幸男 : Agrochememicals Japan 1997 No.70 p15-16
 - 7) リンバー普及会 : リンバー® 技術資料
 - 8) 吉野 浩美, 冨ヶ原 祥隆, 金子 秀雄, 中塚 巖, 山田 宏彦 : 日本農薬学会第21回大会講演要旨集 (1996)
 - 9) 大住 忠司, 森 達哉, 西田 寿美雄, 岸田 博, 小栗 幸男, 板谷 信重 : 第21回日本農薬学会大会講演要旨集 p103 (1996)
 - 10) 高野 仁孝, 玉置 昌宏, 小栗 幸男, 大住 忠司 : 第21回日本農薬学会大会講演要旨集 p104 (1996)
 - 11) 松永 礼, 高野 仁孝, 藤村 真, 小栗 幸男 : 第21回日本農薬学会大会講演要旨集 p105 (1996)
 - 12) 井上 雅夫, 小川 雅男, 玉置 昌宏, 大坪 敏朗 : 第21回日本農薬学会大会講演要旨集 p111 (1996)
 - 13) 掘 眞雄 : イネ紋枯病—発生・防除の理論と実際— 日本植物防疫協会 (1991)
 - 14) 森 達哉, 大住 忠司, 中村 茂雄, 前田 清人 : 特開平 1-230569 号公報
 - 15) 森 達哉, 大住 忠司, 中村 茂雄, 前田 清人 : 特開平 1-230579 号公報
 - 16) 森 達哉, 大住 忠司, 西田 寿美雄, 中村 茂雄, 前田 清人, 高野 仁孝 : 特開平 2-40374 号公報
 - 17) 森 達哉, 大住 忠司, 西田 寿美雄, 中村 茂雄, 前田 清人, 高野 仁孝 : 特開平 2-40384 号公報
 - 18) 森 達哉, 大住 忠司, 西田 寿美雄, 中村 茂雄, 前田 清人, 高野 仁孝 : 特開平 2-131481 号公報
 - 19) 森 達哉, 大住 忠司, 西田 寿美雄, 中村 茂雄, 前田 清人, 高野 仁孝 : 特開平 2-152977 号公報
 - 20) 森 達哉, 大住 忠司 : 特開平 2-85257 号公報
 - 21) 森 達哉, 大住 忠司, 西田 寿美雄, 中村 茂雄, 前田 清人, 高野 仁孝 : 特開平 2-131477 号公報
 - 22) 宮田 宣嘉, 嘉悦 厚, 段々 英則, 古川 良夫 : 特開平 4-120059 号公報
 - 23) 嘉悦 厚, 宮田 宣嘉, 大高 健, 大住 忠司, 段々 英則 : 特開平 4-182460 号公報
 - 24) 宮田 宣嘉, 嘉悦 厚, 大高 健, 大住 忠司, 段々 英則 : 特開平 4-182477 号公報
 - 25) 嘉悦 厚, 宮田 宣嘉, 大高 健, 大住 忠司, 段々 英則 : 特開平 4-182478 号公報
 - 26) 伊美 勝治, 増本 勝久, 村田 哲雄 : 特開平 5-1038 号公報
 - 27) 葉賀 徹, 杉原 輝一, 田中 慎 : 特開平 6-32783 号公報
 - 28) 葉賀 徹, 田中 慎 : 特開平 7-10845 号公報
 - 29) 葉賀 徹, 田中 慎 : 特開平 7-70076 号公報
 - 30) 大塚 晋, 嘉悦 厚, 眞柄 治, 竹村 晋, 山田 好美 : 特開平 7-112977 号公報
 - 31) 高垣 東平, 葉賀 徹, 田中 慎 : 特開平 8-12635 号公報
 - 32) 高野 仁孝, 水口 敦雄 : 特開平 3-284601 号公報
 - 33) 高野 仁孝, 水口 敦雄 : 特開平 3-284602 号公報
 - 34) 高野 仁孝, 水口 敦雄 : 特開平 3-284603 号公報
 - 35) 水口 敦雄, 高野 仁孝 : 特開平 4-257506 号公報
 - 36) 小栗 幸男 : 特開平 7-330516 号公報
 - 37) 菱川 洋子, 伊藤 高明 : 特開平 5-310512 号公報
 - 38) 小川 雅男, 大坪 敏朗, 津田 重典, 水口 敦雄, 高野 仁孝 : 特開平 3-264503 号公報
 - 39) 小川 雅男, 眞部 幸夫, 大坪 敏朗, 津田 重典 : 特開平 5-000903 号公報
 - 40) 小川 雅男, 大坪 敏朗, 津田 重典 : 特開平 5-155711 号公報
 - 41) 小川 雅男, 井上 雅夫, 曳地 康史, 大坪 敏朗 : 特開平 6-092805 号公報
 - 42) 小川 雅男, 川端 郁子, 田上 学, 大坪 敏朗, 津田 重典 : 特開平 6-072804 号公報
 - 43) 小川 雅男, 井上 雅夫, 大坪 敏朗 : 特開平 7-179302 号公報

PROFILE



森 達哉
Tatsuya Mori
農業化学品研究所
主任研究員



磯部 直彦
Naohiko Isobe
生物環境科学研究所
主席研究員, 薬学博士



今井 正芳
Masayoshi Imai
農業化学品研究所
グループマネージャー



谷 亨
Toru Tani
アグロ事業部開発部
主任部員



小栗 幸男
Yukio Oguri
農業化学品研究所
主席研究員



葉賀 徹
Toru Haga
基礎化学品研究所
主席研究員

