

新規殺菌剤フェンピラザミンの研究開発

住友化学株式会社

健康・農業関連事業研究所

木村 教 男

橋 爪 雅 也*1

柳 澤 和 幸

基礎化学品研究所

石 田 一

有機合成研究所

三 浦 正 哉*2

生物環境科学研究所

森 本 隆 史

於 勢 佳 子

Research and Development of a Novel Fungicide ‘Fenpyrazamine’

Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Health & Crop Sciences Research Laboratory

Norio KIMURA

Masaya HASHIZUME

Kazuyuki YANAGISAWA

Basic Chemicals Research Laboratory

Hajime ISHIDA

Organic Synthesis Research Laboratory

Masaya MIURA

Environmental Health Science Laboratory

Takashi MORIMOTO

Keiko OSE

Fenpyrazamine is a novel fungicide with an aminopyrazolinone structure developed by Sumitomo Chemical Co., Ltd. Fenpyrazamine has good fungicidal properties, such as high antifungal activity, preventive efficacy, trans-laminar ability, inhibition activity in lesion development, long lasting activity and short pre-harvest intervals (PHIs). Fenpyrazamine also shows safer profiles for human health and the environment. Formulated products, PROLECTUS® and PIXIO®DF, have been registered since 2012. PROLECTUS® was first launched in Italy in 2012, and PIXIO®DF was launched in Japan in 2014.

はじめに

世界の農業において、果樹や蔬菜の実を侵す、灰色かび病 (*Botrytis cinerea*) や菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*) は、農作物の収量や商品性を著しく低下させるため、重要な防除対象の一つとされている。

灰色かび病等の防除剤としては、現在までにベノミルなど多くの殺菌剤が開発されてきた。しかし、特に

灰色かび病菌は、ライフサイクルが短く、かつ胞子を多数産生することから、薬剤耐性菌が出現しやすい病原菌として広く認知されている¹⁾。そのため、灰色かび病防除剤市場では、常に新規剤が期待されている。

フェンピラザミンは、当社が独自に発明、開発した新規殺菌剤であり、特に果樹・蔬菜の灰色かび病、菌核病、灰星病に高い防除効果を示す。化学構造の点では、既存農薬には前例のない、アミノピラゾリノン骨格を有している (Fig. 1)。また、フェンピラザミンと同じ作用点を有する殺菌剤は、Bayer CropScience社のフェンヘキサミド1剤のみである。

*1 現所属：生活環境事業部

*2 現所属：大分工場

当社は、2012年4月に韓国でフェンピラザミンの農薬登録を取得して以降、EUにおいても農薬登録を取得し、商品名「PROLECTUS®」として、2012年10月にイタリアで世界に先駆けて上市した。その後、2013年にスイス、オーストリア、日本、チリ、アメリカで農薬登録を取得し、韓国やチリでは、同年上市した。日本では、2014年1月に、商品名「ピクシオ®DF」として上市した。さらに、EU各国、オーストラリア等での農薬登録・上市を予定している。本稿では、フェンピラザミンの発明の経緯、効力、製造法、物理化学的性質、製剤、哺乳動物や環境に対する安全性について報告する。

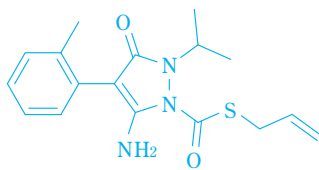


Fig. 1 Chemical structure of fenpyrazamine

創製の経緯

1. 母核探索および化合物Bの発見

当社では生物活性を有する新規母核の探索手法の一つとして、自社オリジナル骨格の改変とともに、外部から導入した特徴的な化学構造を有する化合物に対する生物活性の検定も合わせて実施していた。

外部からの導入化合物の中に、コムギうどんこ病に対して病害抑制効果が認められ、特徴的な化学構造を有するものが見出された。そこで、ベンゼン環上に置換基を導入し、生物活性がどのように変化するかを検討したところ、興味あることに、ベンゼン環上のortho位に窒素原子を導入することにより、灰色かび病に対する病害抑制効果を付与できることが判明した（化合物A）。次世代灰色かび病防除剤を探索していた我々にとってこの発見は極めて重要な知見であり、本骨格を基本母核として広範囲な周辺化合物の合成と生物活性の検定を行った結果、以下のような灰色かび病抑制効果に関する構造活性相関の概要が明らかとなった（Fig. 2）。

- ベンゼン環上のortho位への置換基導入が、高い病害抑制効果発現に重要であること
- ピラゾリノン環のケトン構造が高い病害抑制効果発現に重要であること
- ピラゾリノン環1位、2位の窒素原子に分岐した炭素を含む鎖状構造の炭化水素基が結合していることが高い病害抑制効果発現に重要であること

- ピラゾリノン環5位にアミノ基（NH₂）が結合していることが、高い病害抑制効果発現に重要であること

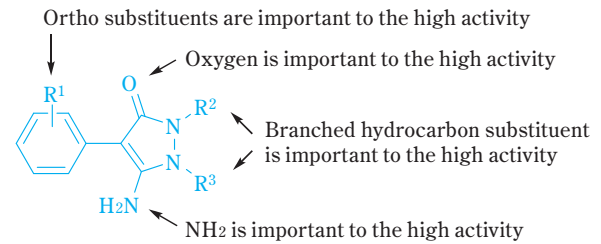


Fig. 2 Structure-activity relationship of aminopyrazolinone derivatives

生物活性の向上を目標に合成した数百の化合物の生物活性を評価した結果、高い活性を示す化合物B（Fig. 3）を見いだすに至った²⁾。

2. 化合物Cの発見

本系統のさらなる構造改変と最適化を検討する過程で、ピラゾリノン環の1位の窒素原子に結合している分枝の炭化水素鎖R³を、エステル構造を有する-C(=O)OCH₃基に変換すると、灰色かび病抑制効果がより向上することが見出された。また、チオールエステル構造を有する-C(=O)SCH₃基にすることで、さらにその効果が向上することが判明した³⁾。そこで、ピラゾリノン環1位、2位の窒素原子に結合する置換基（R², R³）とベンゼン環の置換基R¹の組み合わせを再検討し、種々の化合物を評価したところ、競合剤を明確に凌駕する灰色かび病抑制効果を有する化合物C（Fig. 3）を選抜するに至った。化合物Cは、当時、効果のベンチマークと考えていた他社剤と比較しても、同等、もしくはそれ以上の灰色かび病抑制効果を有していることが判明し、生物効果面からは開発に値する化合物と判断された。

しかしながら、化合物Cは土壤中で分解されにくく、改善することが望ましかった。

3. フェンピラザミンの発見

土壤中における難分解性を改善するために、さらに本系統化合物の置換基改変を進めるとともに、簡易の土壤残留評価を並行して実施した。その結果、ベンゼン環のortho位にメチル基を有し、ピラゾリノン環1位の窒素原子に結合するチオールエステルの末端部分に不飽和炭素鎖であるアリル基を導入したフェンピラザミンを見出すことに成功した。

フェンピラザミンは化合物Cとほぼ同等の灰色かび病抑制効果を有しながら、土壤中で速やかに分解する。

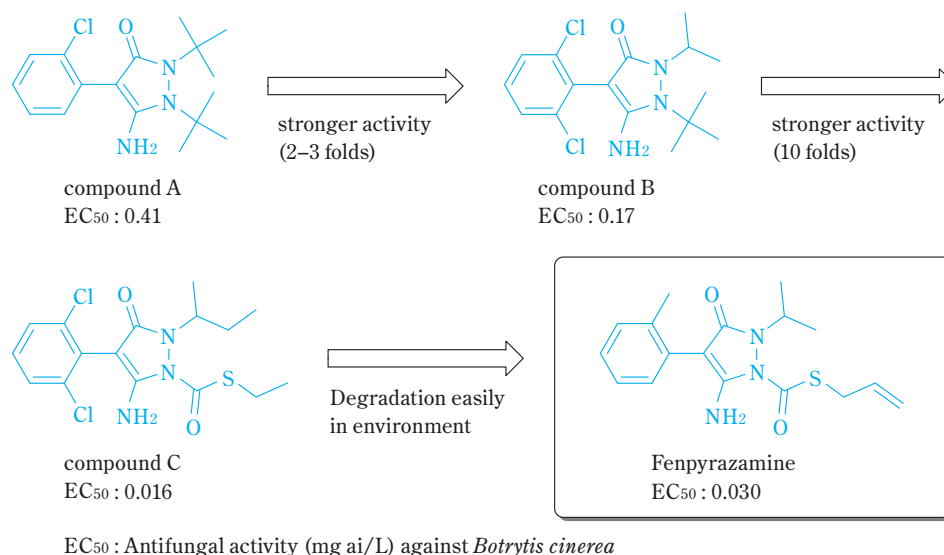


Fig. 3 Discovery of fenpyrazamine

更に、種々の開発クライテリアを総合的に勘案した結果、最終的にフェンピラザミンを開発化合物として選抜するに至った (Fig. 3)。

製造法

フェンピラザミンはメイン骨格であるピラゾール環上の2つの窒素原子上にアリルチオカルボニル基およびイソプロピル基を有している。この製造法においては、Fig. 4のようにピラゾール環に先にイソプロピル基を導入する方法、先にアリルチオカルボニル基を導入する方法が考えられるが、精力的に検討を行い、ピラゾー

ル環の2つの窒素原子上に位置選択的に置換基を導入することができる工業的製造法を確立した。

生物効果

1. 抗菌スペクトル

フェンピラザミンは灰色かび病菌や菌核病菌などの、農業上重要な防除対象の病害を引き起こす *Botrytis* 属 (灰色かび病菌等)、*Sclerotinia* 属 (菌核病菌等) 等の Sclerotiniaceae 科の菌種に高い抗菌活性を示した (Table 1)⁴⁾。

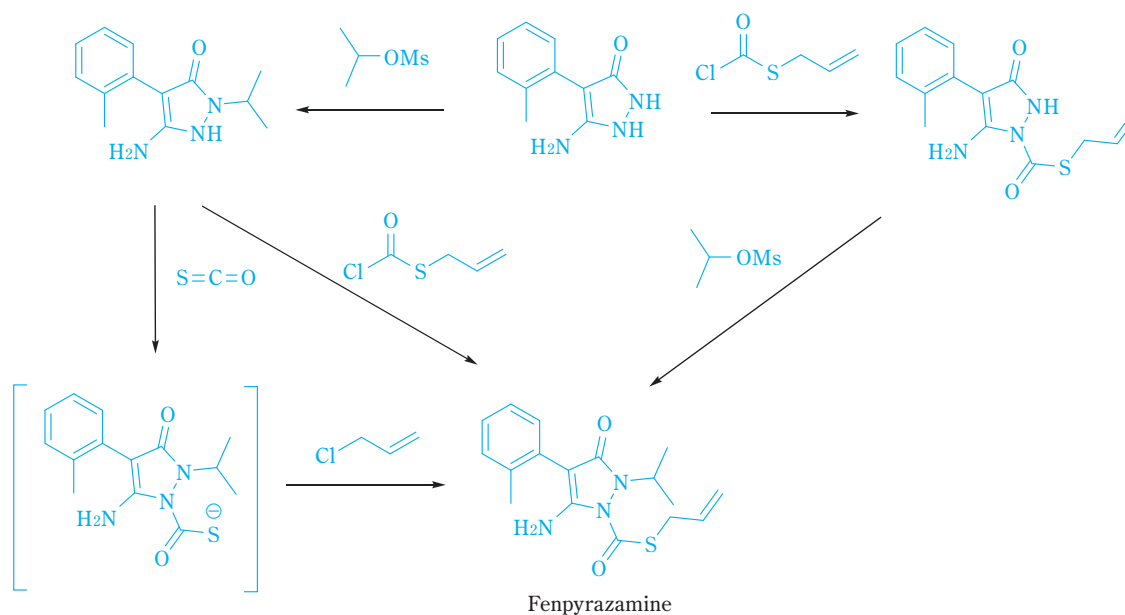


Fig. 4 Synthesis route of fenpyrazamine

Table 1 Antifungal activity of fenpyrazamine

Fungal species	EC ₅₀ (mg ai/L)	EC ₉₀ (mg ai/L)
<i>Botrytis cinerea</i>	0.030	0.14
<i>Botrytis allii</i>	0.030	0.67
<i>Botrytis tulipae</i>	0.030	0.67
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	0.11	0.47
<i>Sclerotinia minor</i>	0.049	0.25
<i>Sclerotinia triformis</i>	0.012	0.041
<i>Monilinia laxa</i>	0.020	0.15
<i>Monilinia fructigena</i>	0.048	0.31
<i>Monilinia fructicola</i>	0.079	0.58
<i>Magnaporthe grisea</i>	> 5	> 5
<i>Septoria tritici</i>	> 5	> 5
<i>Pythium aphanidermatum</i>	> 5	> 5
<i>Rhizoctonia solani</i>	> 5	> 5
<i>Rhizopus oryzae</i>	> 5	> 5

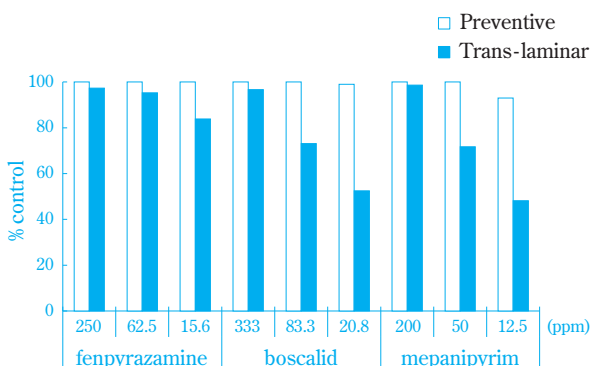
2. 作用特性

(1) 予防効果

フェンピラザミンは室内予防試験において、キュウリ灰色かび病に対して、日本国内の登録濃度 (250ppm) の1/16の低濃度でも、防除価100の高い効果を有していた (Fig. 5)。

(2) 浸達性

フェンピラザミンは浸達試験 (葉裏に薬剤処理し、葉表に病原菌を接種する試験) において、キュウリ灰色かび病に対して、日本国内の登録濃度 (250ppm) の1/16の低濃度でも、防除価80以上の高い効果を有していた (Fig. 5)。この結果は、フェンピラザミンは処理後速やかに植物体内に吸収され、未処理部位にも移行することを示している。本性質を有することは、実用



Preventive: *Botrytis cinerea* was inoculated one day after fungicide application

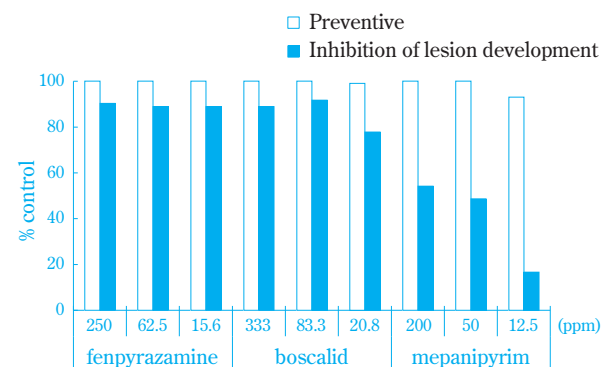
Trans-laminar: *Botrytis cinerea* was inoculated on adaxial side of leaves one day after fungicide application on abaxial side of leaves

Fig. 5 Trans-laminar ability of fenpyrazamine

場面において、多少の散布むらがあっても、防除効果が期待できることを示唆している。

(3) 病斑進展阻止効果

フェンピラザミンは病斑進展阻止効果試験 (病原菌の感染後、薬剤処理する試験) において、キュウリ灰色かび病に対して、日本国内の登録濃度 (250ppm) の1/16の低濃度でも、防除価80以上の高い効果を有していた (Fig. 6)。この結果は、フェンピラザミンは、病原菌の感染初期であれば、その発病を抑制できることを示している。本性質を有することは、野菜等の実用場面において、初発後に本剤を処理しても、高い防除効果が期待できることを示唆している。



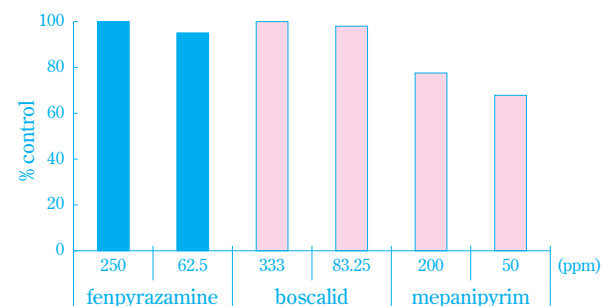
Preventive: *Botrytis cinerea* was inoculated one day after fungicide application

Inhibition of lesion development: *Botrytis cinerea* was inoculated one day before fungicide application

Fig. 6 Fenpyrazamine-mediated inhibition of lesion development

(4) 残効

フェンピラザミンは室内14日間残効試験において、キュウリ灰色かび病に対して、日本国内の登録濃度 (250ppm) の1/4の低濃度でも、防除価90以上の高い効果を有していた (Fig. 7)。

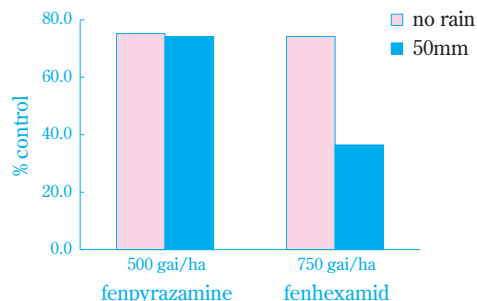


Long lasting: *Botrytis cinerea* was inoculated 14 days after fungicide application

Fig. 7 Long lasting activity of fenpyrazamine

(5) 耐雨性

フェンピラザミンは、ブドウ灰色かび病耐雨性評価試験において、散布2時間後に合計50mm (25mm/時間) の人工降雨を実施した条件においても、防除価75以上の高い効果を示した (Fig. 8)。



Rainfall: artificial rainfall was conducted 2 hours after fungicide application
 Inoculation: *Botrytis cinerea* was inoculated one day after fungicide application

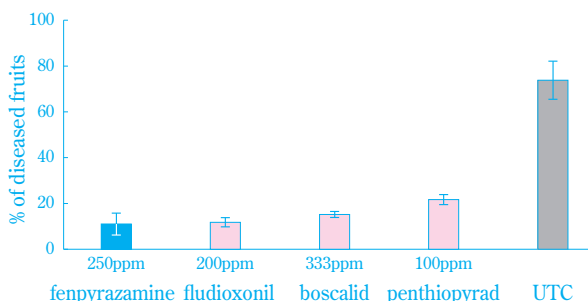
Fig. 8 Rainfastness of fenpyrazamine on grape

以上の、作用特性試験結果から、フェンピラザミンは、実用場面において、高い防除効果を有することが期待された⁵⁾。以下に、実用性評価試験の例を示す。

3. 実用性評価

(1) ナス灰色かび病 (日本)

フェンピラザミンは、散布前に発病果が認められた若干散布開始遅れの治療的な条件でかつ、無処理の発病果率 (%) が70%強の甚発生条件のナス灰色かび病の圃場試験において、高い防除効果を示した (Fig. 9)。フェンピラザミンはナス灰色かび病防除において、高い実用性を有していると思われた⁵⁾。

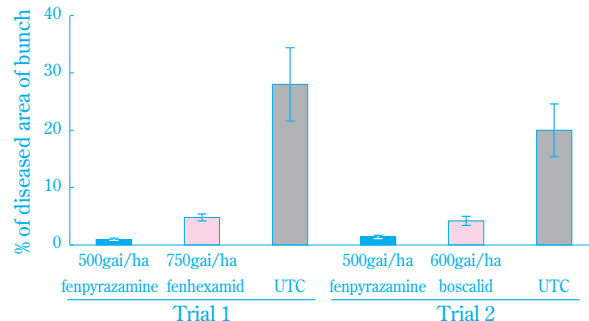


Location: Hyogo prefecture, Japan
 Inoculation: One week before 1st application (Curative condition)
 Application: 7 days interval application from December 16th to January 31th.
 Final assessment: 7 days after final application, February 7th
 Error bar: Standard deviation

Fig. 9 Efficacy of fenpyrazamine against gray mold on eggplant

(2) ブドウ灰色かび病 (イタリア)

フェンピラザミンは、複数の実用化試験において、高い防除効果を示した (Fig. 10)。フェンピラザミンはブドウ灰色かび病防除において、高い実用性を有していると思われた⁶⁾。



Location: Trani, Italy
 Application No: Twice
 Application timing:
 Trial 1 Bunch touching completed and beginning of ripening
 Trial 2 Flowering and beginning of ripening
 Final assessment: Harvest, % diseased area of bunches (100 bunches/plot, 4 plots / treatment)
 Error bar: Standard deviation

Fig. 10 Efficacy of fenpyrazamine against gray mold on grape

作用機作

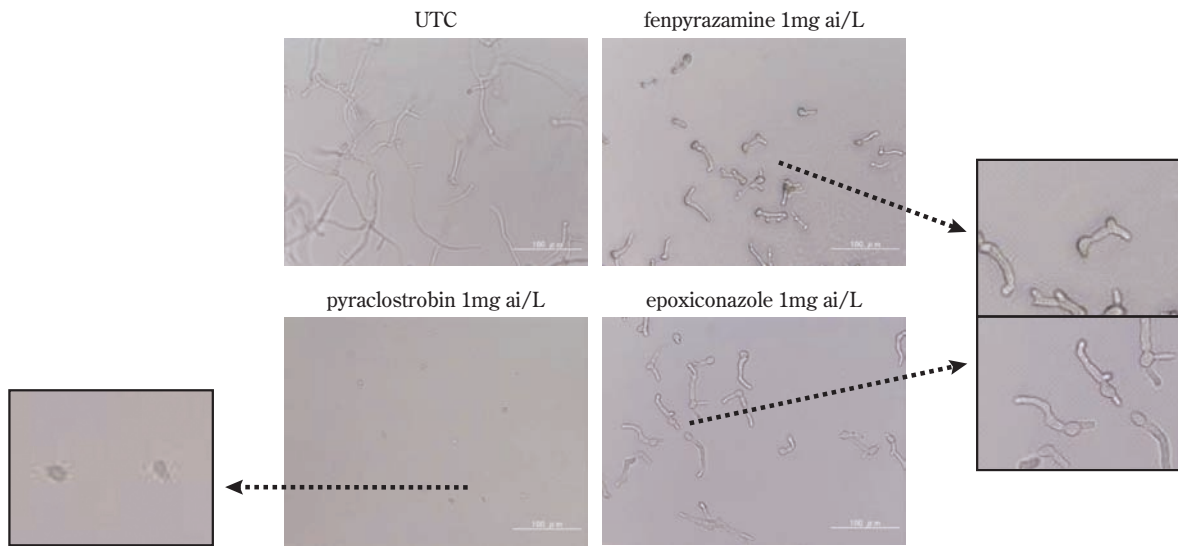
1. 胞子発芽管の伸長阻害と形態変化

フェンピラザミンを0.1~1 mg ai/L含有するPDA培地に、灰色かび病菌胞子を接種し、18°Cで、18時間培養した後に、顕微鏡下で発芽管の生育を観察した。その結果、フェンピラザミンは、胞子発芽は阻害しないが、発芽後の発芽管伸長を著しく阻害しかつ (Table 2)、発芽管の膨潤を引き起こした。なお、この膨潤は、比較対照剤として用いた、エルゴステロール生合成阻害剤 (以下、EBI剤と略す) のエポキシコナゾールに類似の形態変化であった (Fig. 11)。この結果から、フェンピラザミンがEBI剤と同様に生

Table 2 Fenpyrazamine-mediated inhibition of germ tube elongation of *Botrytis cinerea*

	fenpyrazamine		
Conc. (mg ai/L)	0.5	0.2	0.1
% inhibition	92.4*	86.3	75.5

UTC: 174.6 μm
 *: % of inhibition of germ tube elongation
 Medium: PDA, incubation temp. 18°C
 Incubation time: 18 hours



Medium: PDA, Incubation temp.18°C, Incubation time: 18 hours

Fig. 11 Morphological change of germ tube of *Botrytis cinerea* induced by fenpyrazamine

体膜構造の変化に関与する作用機作を有することが推察された²⁾。

2. メタボロミクス解析

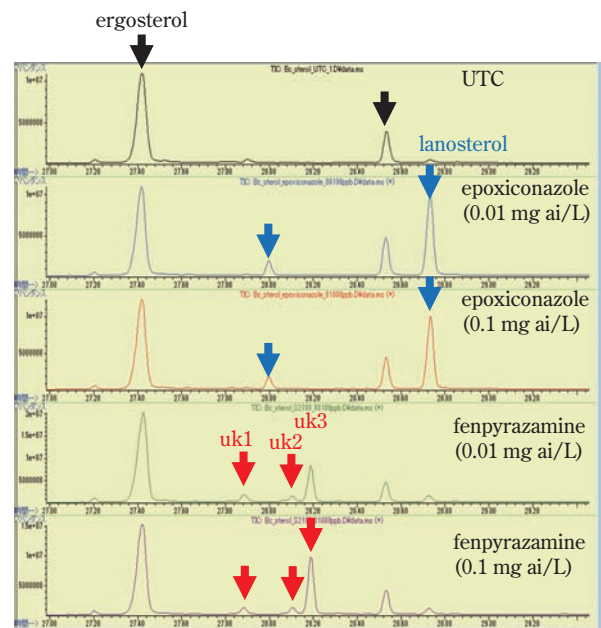
フェンピラザミンを処理した病原菌胞子と無処理の病原菌胞子のメタボロミクス解析が検討された。その結果、フェンピラザミンが、生体膜成分の一つである、エルゴステロール生合成系に作用している可能性が示唆された⁷⁾。

3. 中間体ステロールの異常蓄積の解析

発芽管の形態変化およびメタボロミクス解析より、フェンピラザミンがエルゴステロール生合成系に作用している可能性が示唆された。そこで、フェンピラザミンとEBI剤のエポキシコナゾールを用いて、薬剤処理した灰色かび病菌におけるステロール類の蓄積パターンを比較した。その結果、フェンピラザミンを処理した灰色かび病菌において、エルゴステロール以外の中間体の異常蓄積が認められた。また、中間体の異常蓄積のパターンは、エポキシコナゾールのそれとは異なった (Fig. 12)。この結果は、フェンピラザミンはエルゴステロール生合成系に作用するが、エポキシコナゾールとは異なる作用点であることを示唆している。

4. 蓄積ステロール類の同定

ガスクロマトグラフィーで検出された異常蓄積のステロールuk1、uk2とuk3の同定を、GC/MSを用いて検討した。その結果、uk1の同定には至らなかったが、uk2はfecosterone、uk3は4-methylfecosteroneと同定された (Fig. 13)。3位のケトンがある中間体の蓄積が



Incubation temp: 18°C, Incubation time: 6 hours

Fig. 12 Analysis of sterols accumulation pattern in unsaponifiable lipids of *Botrytis cinerea* incubated in presence of fungicide with gas-chromatography

認められたことから、フェンピラザミンは、エルゴステロール生合成系の3-keto reductaseに作用している可能性が強く示唆された。

5. 灰色かび病菌の3-keto reductaseの阻害活性

当社と大日本住友製薬(株)の共同研究において、組み換え体酵母を用いた3-keto reductaseの精製系とその精

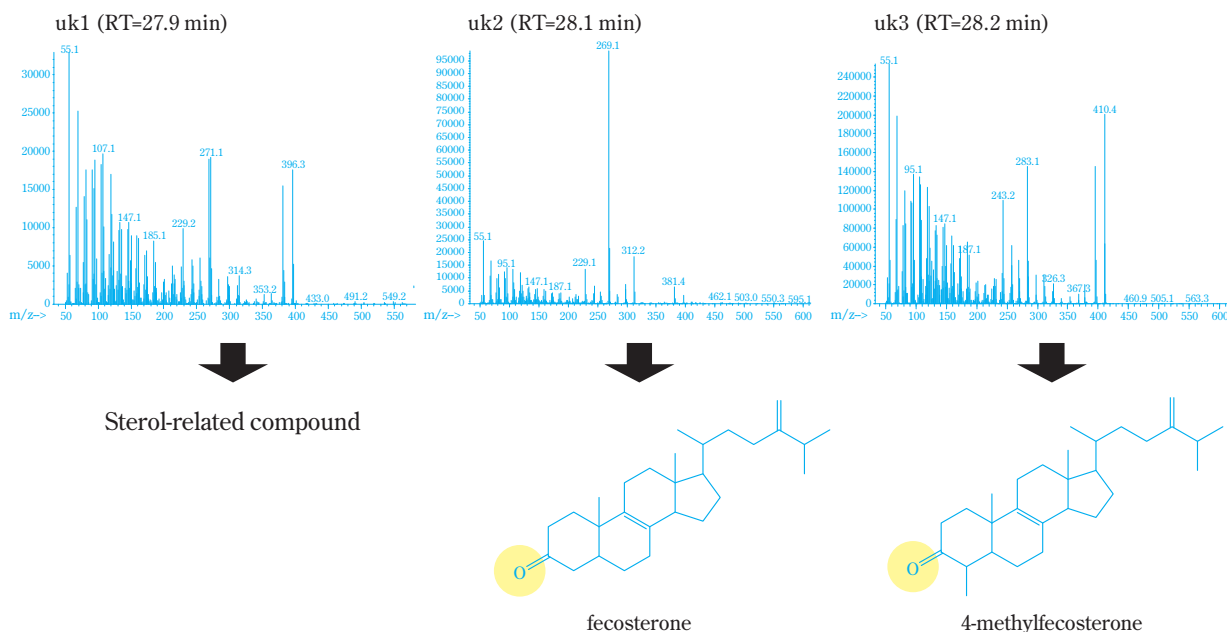
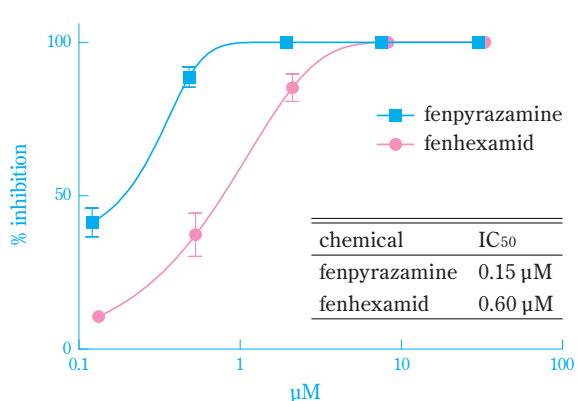


Fig. 13 Identification of accumulated unknown sterols (uk1, uk2 and uk3) of *Botrytis cinerea* incubated in presence of fenpyrazamine with GS / MS



Enzyme: 20 μg/ml 3-keto reductase
 Substrate: 2 μM Zymosterone
 Incubation time: 2 hours
 Incubation temp: 18°C

Fig. 14 Inhibitory activity against 3-keto reductase from *Botrytis cinerea* with fenpyrazamine or fenhexamid

製3-keto reductaseを用いた*in vitro*の酵素阻害評価系が確立された⁷⁾。その系を用いてフェンピラザミンおよび3-keto reductase阻害剤と推察されている比較対照剤フェンヘキサミドの酵素阻害活性を評価したところ、両化合物ともに、3-keto reductaseを直接阻害することが明らかとなった (Fig. 14)。また、各々の薬剤の酵素阻害活性は、フェンヘキサミドのIC₅₀値が0.60μMであるのに対して、フェンピラザミンのIC₅₀値は、0.15μMであった。以上の結果より、フェンピラザミンの作用

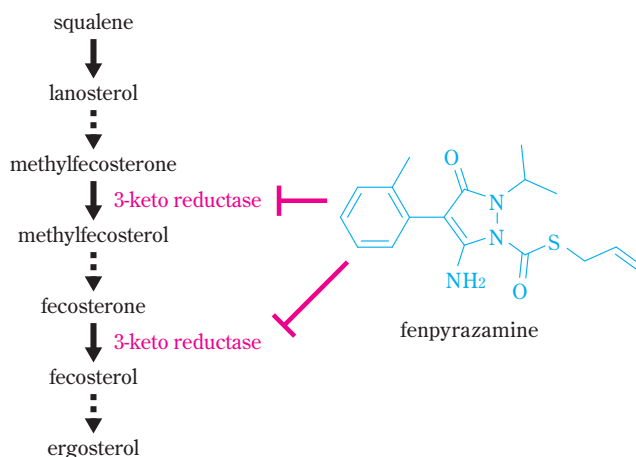


Fig. 15 Target enzyme of fenpyrazamine in the pathway of ergosterol biosynthesis

点は、エルゴステロール生合成系の3-keto reductaseであることが明らかとなった⁷⁾ (Fig. 15)。

物性および製剤

1. 物性

フェンピラザミン原体の物理化学的性質をTable 3に示した。フェンピラザミン原体は白色の結晶性粉末である。蒸気圧は25°Cで2.89×10⁻⁸ Pa、分配係数log Powは3.52である。水に対する溶解度は20.4 mg/Lであり、酢酸エチル、アセトン等の有機溶媒には比較的良く溶ける。

Table 3 Physical and chemical properties of fenpyrazamine

Common Name (ISO)	fenpyrazamine
Chemical Name (IUPAC)	S-allyl 5-amino-2,3-dihydro-2-isopropyl-3-oxo-4-(<i>o</i> -tolyl)pyrazole-1-carbothioate
CAS RN	473798-59-3
Molecular Formula	C ₁₇ H ₂₁ N ₃ O ₂ S
Molecular Weight	331.43
Physical Form	Solid (Ta)
Color	White (Ta)
Odor	Slight
Density	1.262 g/mL (20°C)
Melting Point	116.4°C
Vapor Pressure	2.89 × 10 ⁻⁸ Pa (25°C)
Solubility	Water : 20.4 mg/L (20°C) Hexane : 902 mg/L (20°C) Toluene : 113 g/L (20°C) Ethyl acetate : > 250 g/L (20°C) Acetone : > 250 g/L (20°C) Methanol : > 250 g/L (20°C)
Octanol-water partition coefficient (logPow)	3.52

2. 製剤

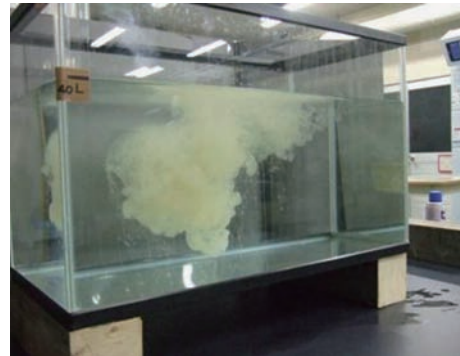
日本では核果樹・野菜分野向けに開発が進み、取り扱いが良い顆粒水和剤であるピクシオ®DF（フェンピラザミン：50%）として2013年7月に登録、2014年1月に上市された。本剤は現在国内で問題となっている、各種薬剤に耐性を示す灰色かび病菌に対しても高い効果を発揮することが特徴であり、灰色かび病に対するローテーション防除の主要薬剤として活用が期待できる剤である。海外においては、2012年にイタリアで世界に先駆けて上市されている。また、オーストラリアなどに向けては40%フロアブル剤を、早期上市を目指し開発中である。

ピクシオ®DFの処方設計におけるポイントは生物効力と使用性すなわち優れた水への希釈性の両立であった。スクリーニング評価の結果、特定の界面活性剤の添加が生物効果の向上に効果的であることが分かった。一方で、この界面活性剤の添加により、泡立ち性や水分散性に改善が必要となったが、組成や製造法を各種検討し、上述の両性能を満足する製剤処方を見出すに至った。

また、40%フロアブル剤の開発においては、最適な界面活性剤、増粘剤を選択することで、良好な分散性と貯蔵安定性を示す製剤処方を見出すことができた。**Table 4**、**Fig. 16**にピクシオ®DFの代表的な製剤物性を示す。本剤の物性並びに貯蔵物性は極めて良好で安定である。

Table 4 Physical and chemical properties of PIXIO®DF

Items	Typical value
Appearance	Brown micro granule (Visual observation)
Apparent density	0.64g/mL
pH	6.9
Suspensibility	96.9%
Stability	No decomposition of fenpyrazamine was observed after storage of 40°C 3 months

**Fig. 16** Dispersibility of PIXIO®DF in water several tens of seconds after treatment

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

フェンピラザミン原体および50%水和剤の急性経口、経皮、吸入毒性試験において、高用量でも死亡あるいは重篤な毒性症状の発現はなく、急性毒性はいずれも弱かった。フェンピラザミン原体および50%水和剤の目に対する刺激性は、ごく軽度から軽度に分類される弱いものであった。皮膚に対する刺激性は、フェンピラザミン原体では認められず、50%水和剤では軽度で

Table 5 Acute toxicity summary of fenpyrazamine

Test type	fenpyrazamine	fenpyrazamine 50%WG
Rat acute oral (LD ₅₀)	>2000mg/kg	>2000mg/kg
Rat acute dermal (LD ₅₀)	>2000mg/kg	>2000mg/kg
Rat inhalation (LC ₅₀)	>4840mg/m ³ of air (4-hour, nose only exposure)	>1974mg/m ³ of air (4-hour, nose only exposure)
Eye irritation (Rabbit)	Minimally irritant	Mild irritant
Skin irritation (Rabbit)	Non-irritant	Mild irritant
Skin sensitization (Guinea pig)	Mild sensitizer	Non-sensitizer

あった。フェンピラザミン原体はMaximization法で弱い皮膚感作性を示したが、50%水和剤はBuehler法で陰性であった (Table 5)。

(2) 亜急性、慢性毒性および発癌性

ラット、イヌ、マウスを用いた亜急性、慢性毒性および発癌性試験の結果 (Table 6)、フェンピラザミン原体を反復投与すると、体重の増加抑制および貧血を認め、毒性影響は主に肝臓および甲状腺に認められた。肝臓では、臓器重量の増加および小葉中心性肝細胞肥大を認め、それに伴う甲状腺濾胞細胞肥大も観察された。しかしながら、これらの変化は、いずれもフェンピラザミン投与による薬物代謝酵素誘導に関連した適応性変化であり、毒性学的意義のないものと考えられた。ラットおよびマウスにおいて、発癌性は認められなかった。

(3) 生殖・発生毒性

ラットおよびウサギを用いた催奇形性試験では、胎児に対して催奇形性は認められなかった。ラットを用いた2世代繁殖性試験では、着床数の低下、着床後の死亡数の増加、分娩児数の減少および出生児の死亡率の増加が認められたが、これらはいずれも母動物の一般毒性学的影響に関連した二次的な影響と考えられた (Table 7)。

(4) 神経毒性および免疫毒性

ラットを用いた急性神経毒性試験および亜急性神経毒性試験では、いずれも特異的な神経毒性作用は認められなかった。また、ラットを用いた免疫毒性試験において、免疫機能に対する影響は認められなかった (Table 8)。

Table 6 Subacute and chronic toxicity summary of fenpyrazamine

Species	Administration route and duration	Dose	NOAEL (mg/kg/day)
Rat	Dermal, 28 days	100, 300, 1000 mg/kg/day	Male: 1000 Female: 1000
Rat	Oral (in diet), 13 weeks	300, 600, 1000, 3000 ppm	Male: 64.0 (1000ppm) Female: 68.6 (1000ppm)
Rat	Oral (in diet), 24 months	100, 300, 1200, 2400 ppm	Male: 12.7 (300ppm) Female: 15.6 (300ppm) No carcinogenicity
Dog	Oral (in capsule), 13 weeks	25, 50, 150 mg/kg/day	Male: 25 Female: 50
Dog	Oral (in capsule), 12 months	5, 25, 100 mg/kg/day	Male: 25 Female: 100
Mouse	Oral (in diet), 18 months	Male: 100, 1500, 3000 ppm Female: 100, 2000, 4000 ppm	Male: 176 (1500ppm) Female: 283 (2000ppm) No carcinogenicity

Table 7 Developmental and reproductive toxicity summary of fenpyrazamine

Study	Species	Administration route and duration	Dose	NOAEL (mg/kg/day)
Developmental toxicity	Rat	Oral (gavage)	30, 125, 500 mg/kg/day	Maternal 30
		Days 6-20 of gestation		Fetal 125
	Rabbit	Oral (gavage)	30, 50, 90 mg/kg/day	Maternal 30
		Days 6-27 of gestation		Fetal 90
Two-generation reproductive toxicity	Rat	Oral (in diet)	400, 1000, 3000 ppm	Systemic Male; 27.4 (400ppm) Female; 32.0 (400ppm)
				Parental Reproductive Male; 68.6 (1000ppm) Female; 79.9 (1000ppm)
				Offsprings Systemic 32.0 (400ppm)

Table 8 Neurotoxicity and immunotoxicity summary of fenpyrazamine

Study	Species	Administration route and duration	Dose	NOAEL (mg/kg/day)
Neurotoxicity	Rat	Acute oral (gavage)	80, 400, 2000 mg/kg/day	Male & Female: >2000
	Rat	Oral (in diet), 13 weeks	500, 1200, 3000 ppm	Male: >223.6 (3000ppm) Female: >248.4 (3000ppm)
Immunotoxicity	Rat (female)	Oral (in diet), 4 weeks	500, 1500, 4000 ppm	>392 (4000ppm)

(5) 遺伝毒性

ネズミチフス菌および大腸菌を用いた復帰突然変異試験、チャイニーズハムスター肺由来CHL細胞を用いた染色体異常試験およびV79細胞を用いた遺伝子突然変異試験、マウス小核試験を実施した結果、いずれも陰性であった (Table 9)。

Table 9 Mutagenicity summary of fenpyrazamine

Study	Study design	Results
Reverse mutation (Ames test)	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100, TA1535 and TA1537	Negative
	<i>E. coli</i> WP2uvrA -/+S9 mix: 156 - 5000 µg/plate	
Gene mutation	Chinese hamster V79 -/+S9 mix: 10 - 100 µg/mL	Negative
<i>In vitro</i> chromosomal aberration	Chinese hamster CHL/IU -/+S9 mix: 22.5 - 160 µg/mL	Negative
Micronucleus	CD-1 mice 500, 1000, 2000 mg/kg	Negative

2. 動物・植物代謝

(1) 動物における代謝

¹⁴Cで標識したフェンピラザミンをラットに経口投与したところ、速やかに体内に吸収されて全身に分布した。その後、速やかに代謝されて主に尿中に排泄された。経口投与時の吸収率は90%以上と推定され、組織への残留性・蓄積性はなかった。

フェンピラザミンの主要な代謝反応は、親化合物のプロペニルスルファニルカルボニル基の脱離であった。その他にメチル基の水酸化、イソプロピル基の脱離、およびピラゾール環の水酸化がみられた。また、生成した代謝物のグルクロン酸または硫酸抱合化も認められた⁸⁾。

(2) 植物における代謝

¹⁴C標識体を用いて3種類の異なる作物（ぶどう、レタスおよびなたね）で代謝試験を行ったところ、いずれの作物においてもフェンピラザミンは、チオカーバ

メート結合の開裂とそれに続くピラゾリル基4位の水酸化により代謝された。

3. 環境挙動および残留

(1) 水中における分解

¹⁴C標識体を用いた加水分解試験で、フェンピラザミンはpH 4および7の緩衝液中では安定であり、pH 9の緩衝液中ではチオカーバメート結合の開裂とそれに続くピラゾリル基4位の水酸化により分解され、その半減期は11~24日 (20~25°C) であった。また、¹⁴C-フェンピラザミンの緩衝液 (pH 7) および自然水 (pH 6.9~7.2) 中での分解は光照射により著しく促進され、光分解半減期 (東京における春の太陽光換算値) は、それぞれ5.2~5.5日および11.8~12.0日であり、チオカーバメート結合の開裂とそれに続くピラゾール環の開裂により分解された。

(2) 土壌中における代謝

¹⁴Cで標識したフェンピラザミンは好氣的土壌中において半減期 (25°C) 62~63日で減少し、チオカーバメート結合の開裂とそれに続くピラゾリル基4位の水酸化を経て、最終的には二酸化炭素まで無機化されるか、土壌に強固に吸着された。また、土壌表面上での分解は光照射により促進されず、その光分解半減期 (20°C) は74~80日であった。

(3) 土壌残留

茨城および山梨の畑地圃場にフェンピラザミン50%水和剤の800倍希釈液を300 L/10aの割合で7日間隔で計3回散布したところ、最高残留濃度は5.03~8.78 mg/kgであり、消失半減期は30~31日であった。

(4) 土壌移行性

フロイントリッヒ吸着等温式をもとに求めたフェンピラザミンの有機炭素含有量で補正した吸着係数 $K_{Foc(ads)}$ および脱着係数 $K_{Foc(des)}$ は112~731および133~954であった。

(5) 作物残留

フェンピラザミン50%水和剤を2000倍希釈し、200~

300 L/10 aの割合で、きゅうり、なす、いちご、トマトおよびミニトマトに7日間隔で4回処理したところ、平均残留濃度の最高値は0.28~3.04 ppmであった。同希釈液を300~700 L/10 aの割合で、温州みかん、なつみかん、ぶどう、かぼすおよびすだちに7日間隔で3回処理したところ、平均残留濃度の最高値は0.02~6.52 ppmであった。

(6) 後作物残留

フェンピラザミン50%水和剤の2000倍希釈液を300 L/10 aの割合で、7日間隔で4回処理したトマト施設栽培圃場の後作物としてかぶおよびピーマンを栽培したところ、フェンピラザミンの残留濃度は両作物においていずれも定量限界 (0.01 ppm) 未満であった。

4. 非標的生物に対する影響

水産動植物、ミツバチ、蚕、天敵昆虫等および鳥類における試験結果をTable 10に要約した。

(1) 水産動植物に対する影響

フェンピラザミン原体のコイ、オオミジンコおよび淡水緑藻の急性毒性値 (LC₅₀/EC₅₀) は、それぞれ6.0、5.5および>0.92 mg/Lであった。また、フェンピラザミン50%水和剤での各毒性値はそれぞれ13、6.0および1.5 mg/Lであった。これらの値は実施用から予想される環境水中の濃度よりも充分に高く、フェンピラザミンの水産動植物に及ぼす影響は低いと考えられる。

(2) ミツバチ、蚕および天敵昆虫等に対する影響

フェンピラザミン原体のセイヨウミツバチにおける

経口投与および接触投与での急性毒性値 (LD₅₀) はいずれも>100 µg/頭であった。フェンピラザミン50%水和剤の蚕における経口投与での死虫率は0%で、発育に対しても影響は認められなかった。天敵昆虫に関しては、コレマンアブラバチ、タイリクヒメハナカメムシおよびミヤコカブリダニの接触投与での死虫率は6.0~7.6%であった。これらのことから、実施用場面でのフェンピラザミンのミツバチ、蚕および天敵昆虫等に及ぼす影響は低いと考えられる。

(3) 鳥類に対する影響

フェンピラザミン原体のコリンウズラにおける急性毒性は弱く経口投与でのLD₅₀値は>2000 mg/kgであった。このことから、実施用でのフェンピラザミンの鳥類に及ぼす影響は低いと考えられる。

以上より、フェンピラザミンは哺乳動物に対する急性毒性は低く、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ものと考えられる。また、環境中での挙動、非標的生物に対する影響評価に基づいて安全な使用が可能であると考えられる。

国内登録内容

フェンピラザミンの日本での登録内容は、Table 11の通りである。本剤はいずれの作物にも、収穫前日まで使用可能である。今後は、メロン菌核病 (申請済)、スイカ菌核病 (申請済)、ピーマン菌核病、イチゴ菌核病等の適用拡大も予定している。

Table 10 Ecotoxicological summary of fenpyrazamine on non-target organisms

Test substance	Test organisms	Test species	Test type	Results
fenpyrazamine	Aquatic organisms	Carp	Acute (96 hrs)	LC ₅₀ = 6.0 mg/L
		<i>Daphnia magna</i>	Acute (48 hrs)	EC ₅₀ = 5.5 mg/L
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Acute (72 hrs)	ErC ₅₀ > 0.92 mg/L
	Honeybee	<i>Apis mellifera</i>	Acute oral (48 hrs)	LD ₅₀ > 100 µg/bee
		<i>Apis mellifera</i>	Acute contact (72 hrs)	LD ₅₀ > 100 µg/bee
	Bird	Bobwhite quail	Acute oral	LD ₅₀ > 2000 mg/kg
fenpyrazamine 50%WG	Aquatic organisms	Carp	Acute (96 hrs)	LC ₅₀ = 13 mg/L
		<i>Daphnia magna</i>	Acute (48 hrs)	EC ₅₀ = 6.0 mg/L
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	Acute (72 hrs)	ErC ₅₀ = 1.5 mg/L
	Silkworm	<i>Bombyx mori</i>	Acute oral (7 days)	mortality 0% (at 175 g a.i./ha)
	Natural enemy	<i>Aphidius colemani</i> (adult)	Acute contact (7 days)	mortality 7.6% (at 100 mg a.i./L)
		<i>Orius strigicollis</i> (adult)	Acute contact (7 days)	mortality 6.8% (at 100 mg a.i./L)
		<i>Amblyseius californicus</i> (adult)	Acute contact (7 days)	mortality 6.0% (at 100 mg a.i./L)

Table 11 Domestic registration of fenpyrazamine (PIXIO®DF)

Target Crops	Target disease	Dilution rate	Spray volume	PHIs	Maximum number of applications	Application method
Citrus	Gray mold	2000	200-700 L/10a	One day	3	Spray
Grape						
Strawberry						
Cucumber	Gray mold	2000	100-300 L/10a	One day	4	Spray
Tomato						
Mini tomato	Sclerotinia rot					
Eggplant						

おわりに

フェンピラザミンは、灰色かび病等に対して、高い予防効果のみならず、優れた浸透性、治療効果、残効性を有し、実用場面においても、高い防除効果を発揮する。従って、灰色かび病等の防除の基幹剤になりうると考える。しかしながら、前述したように、特に、灰色かび病菌は耐性菌の出現しやすい病害であるため、フェンピラザミンの連用は避け、他の作用点を有する剤との併用による防除体系の中で使用するのが望ましい。

灰色かび病の防除に関しては、果樹、特にEU等のぶどうのように、スケジュール散布される場合と日本等の野菜のように、若干発病を認めてから散布される場合があるが、いずれも、防除体系の最初の剤の役割が重要である。従って、灰色かび病等の特効薬であるフェンピラザミンは、防除体系の最初に使用するのが望ましいと考える。

今後は、防除体系の中でのフェンピラザミンの効果事例を積み重ねることで、普及推進を図っていく必要があると考える。

謝辞

フェンピラザミンの開発に当たっては、一般社団法人日本植物防疫協会、各都道府県の独立行政法人および植物防疫協会、大学などの試験研究機関の方々により実用性評価試験や多くのご助言をいただいたことに深く感謝するとともに、今後も引き続きご指導とご鞭撻をお願い申し上げます。

引用文献

- 1) P. Leroux, R. Fritz, D. Debieu, C. Albertini, C. Lanen, J. Bach, M. Gredt and F. Chapeland, *Pest Manag. Sci.*, **58**, 876 (2002).
- 2) 住友化学(株), 日本特許3780541 (2006).
- 3) 住友化学(株), 日本特許4395912 (2010).
- 4) 田中 創一, 木村 教男, 日本植物病理学会報, **78** (3), 242 (2012).
- 5) 田中 創一, 木村 教男, 石川 亮, 日本植物病理学会報, **79** (3), 198 (2013).
- 6) M. Pizzi, A. Cavotto, S. Tanaka and N. Kimura, *Atti delle giornate fitopatologiche*, **2**, Clueb Editore, 207 (2012).
- 7) 岩橋 福松, 千代 直樹, 関 典昭, 田中 創一, 日本植物病理学会報, **79** (3), 198 (2013).
- 8) 永堀 博久, 竹内 逸人, 十亀 祥久, 日本農薬学会第38回大会講演要旨集 (2013), p.142.



木村 教男
Norio KIMURA

住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主席研究員



三浦 正哉
Masaya MIURA

住友化学株式会社
有機合成研究所
(現職：大分工場 副課長)



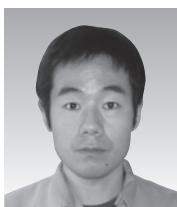
橋爪 雅也
Masaya HASHIZUME

住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
(現職：生活環境事業部 主席部員)



森本 隆史
Takashi MORIMOTO

住友化学株式会社
生物環境科学研究所
主任研究員



柳澤 和幸
Kazuyuki YANAGISAWA

住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主任研究員



於勢 佳子
Keiko OSE

住友化学株式会社
生物環境科学研究所
主席研究員



石田 一
Hajime ISHIDA

住友化学株式会社
基礎化学品研究所
主席研究員