

新規殺菌剤ピリダクロメチルの研究開発



住友化学株式会社

健康・農業関連事業研究所

倉 橋 真
松 崎 雄 一
真 鍋 明 夫^{*1}
川 村 真 人^{*2}
岩 橋 福 松
山 根 三 慶

生物環境科学研究所

松 山 良 子
半 田 木 綿 子

Discovery and Development of Pyridachlometyl

Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Health & Crop Sciences Research Laboratory

Makoto KURAHASHI
Yuichi MATSUZAKI
Akio MANABE
Masato KAWAMURA
Fukumatsu IWAHASHI
Mitsuyoshi YAMANE

Environmental Health Science Laboratory

Ryoko MATSUYAMA
Yuko HANDA

Pyridachlometyl is a novel fungicide active ingredient that binds fungal tubulin and exhibits antifungal activity based on the modulation of fungal microtubule dynamics. Owing to a binding site that is distinct from that of the existing tubulin polymerization inhibitors, pyridachlometyl shows no cross-resistance to carbendazim and other fungicides (*e.g.*, DMI, QoI, and SDHI). Pyridachlometyl exhibits broad-spectrum antifungal activity, showing high efficacy against the sugar beet leaf spot, soybean purple stain, and powdery mildew, which affects various vegetable crops in field trials. In Japan, registration of ‘FUSEKI flowable’ as the first product of pyridachlometyl is expected by 2023.

はじめに

農作物を効率的、安定的に生産するためには農業用殺菌剤の使用が欠かせないが、ひとたび特定の殺菌剤の耐性菌が蔓延すると、当該剤が十分な防除効果を示さなくなるだけでなく、同じ作用機作である他剤も効果が低くなり（交差耐性）、減収や品質低下を招く恐れがあるため、耐性菌の蔓延リスクを低下させることが重要である。そのためには、農薬の適正な使用方法を守ったうえで、同じ作用機作の薬剤を連用せず、異なる作用機作や多作用点の薬剤とのローテーションで使用する、作用機作が異なる

複数の有効成分の混合剤を使用することなどが推奨されている。

近年、世界の殺菌剤市場は、DMI（demethylation inhibitors）剤、QoI（quinone outside inhibitors）剤、SDHI（succinate dehydrogenase inhibitors）剤の3グループで大半が占められている。これらグループの薬剤は高活性かつ広スペクトラムであるものが多く、その汎用性の高さゆえに広く普及しているものと考えられる。一方で、種々の作物の病原菌でこれらグループの耐性菌が蔓延し問題となっている。例えば、日本ではテンサイ褐斑病菌のベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌、カスガマイシン耐性菌が確認された中で、DMI剤、続いてQoI剤が登場し基幹剤となったが、現在では両グループともに耐性菌の発生が拡大しており、新規な作用機作の薬剤が求められている¹⁾。

*1 本誌発行時には退職

*2 現所属：大分工場

ピリダクロメチルは、当社が開発した全く新しい化合物グループに分類される殺菌剤である (Fig. 1)。本化合物は糸状菌のチューブリンに結合して殺菌作用を示す。ピリダクロメチルの結合部位は既存のチューブリン重合阻害剤とは異なるため交差耐性を示さず、また、各種既存の作用機作グループの耐性菌にも有効である。

国内において、ピリダクロメチルを含有する最初の農薬として、フセキフロアブル (35.0% [w/w] ピリダクロメチル水和剤) が2023年に農薬登録される見込みである。

本稿ではピリダクロメチルの発明の経緯、製造法、生物効果、作用機作、製剤、哺乳類や環境に対する安全性について報告する。

発明の経緯

ピリダクロメチル発見の経緯を化学構造の変換をたどる形でFig. 2にまとめた。

われわれはまず、Fig. 2に示されるユニークな化学構造を有するCompound 1が幅広い病害に殺菌活性を示す²⁾ことに着目した。当時、Compound 1は従来の殺菌剤 (植物病害防除剤) とは全く異なる構造を有し、当社での評価により主要殺菌剤と交差耐性を示さないことも確認されていた。そこで、このCompound 1

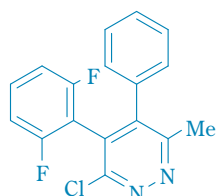


Fig. 1 Chemical structure of pyridachlometyl

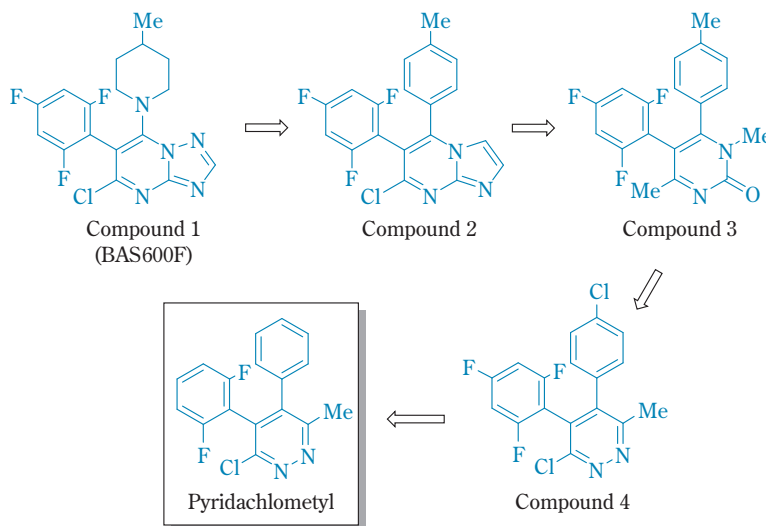


Fig. 2 Invention pathway of pyridachlometyl

をリードとして大幅な構造改変を行うことにより、新規な作用機作を有する広スペクトル殺菌剤を創製できるのではないかと考え、構造変換研究を開始した。

まず、本新規系統化合物のファーマコフォア (薬理活性発現に必須の部分構造を表す概念) を特定するため、Compound 2³⁾を合成した。Compound 2は、Compound 1の中央部分の縮合ヘテロ環を[1,2,4]トリアゾロ[1,5-*a*]ピリミジン環からイミダゾ[1,2-*a*]ピリミジン環に、かつ、4-メチルピペリジン-1-イル基を4-メチルフェニル基に変換した化合物である。Compound 2はCompound 1とほぼ同等の殺菌活性を示した。このことなどから、活性発現には、縮合ヘテロ環の窒素原子の2個 (Fig. 2において下方部分に示される2個) が必要であり、この部分が、植物病原菌の標的部位タンパク質アミノ酸に対して水素結合受容体として相互作用し、2個のフェニル基部分と共にファーマコフォアを構成するという作業仮説をたてた。

次に、この仮説が正しいならば、縮合複素環は必ずしも必要ではないと考え、Compound 2を当社独自の新たなリードとし、過去の当社の知見を応用して、単環性のヘテロ環である2(1*H*)-ピリミジン環を有するCompound 3⁴⁾をデザインし、合成した。Compound 3は実質的に同様な殺菌活性を示したが、その活性レベルは対象病害の種類によってはやや劣った。Compound 3ではピリミジン環の酸素原子がCompound 2の窒素原子と同じ役割を果たしていると考えられる。

そこで、Compound 3の酸素原子を窒素原子に戻し、隣り合った2個の窒素原子を有する単環性のヘテロ環であるピリダジン環を有するCompound 4⁵⁾を新たにデザインし、合成した。その結果、Compound 4はCompound 3より活性レベルが向上し、実圃場においても良好な防除効果を示すことも確認した。

Compound 4を新たなリードとし、ピリダジン環を有する化合物を中心に、種々の周辺化合物の構造と殺菌活性や哺乳動物に対する安全性の関係を検討した結果、最終的に化学構造を簡略化したピリダクロメチル⁵⁾⁻⁸⁾を、開発候補化合物として選択した。

製造法

ピリダクロメチルは、2,6-ジフルオロフェニル基を有するピリダジン誘導体である。ピリダクロメチルの製法としては、2,6-ジフルオロフェニル基を有する前駆体からピリダジノン中間体を経てピリダクロメチルに誘導する方法、Grignard試薬のカップリング反応によりピリダジノン骨格に直接2,6-ジフルオロフェ

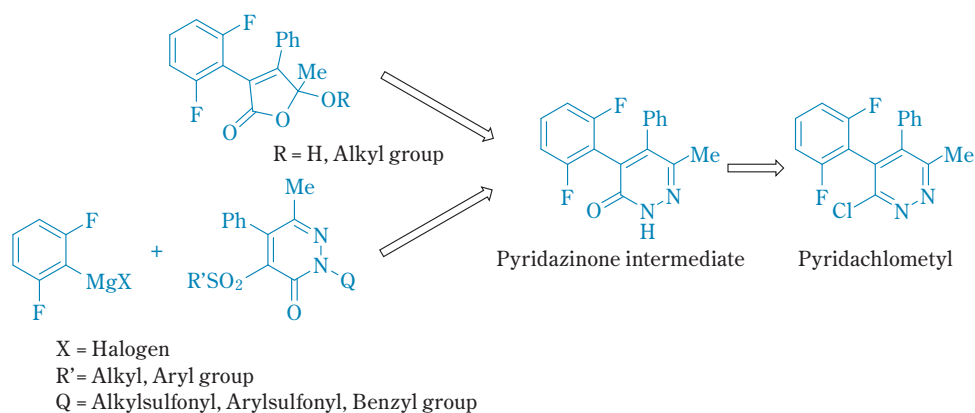


Fig. 3 Synthesis route of pyridachlometyl

Table 1 Pyridachlometyl antifungal spectrum

Kingdom	Division	Class	Species	EC ₅₀ (ppm)
Fungi	Ascomycota	Dothideomycetes	<i>Zymoseptoria tritici</i>	0.056
			<i>Fulvia fulva</i>	0.034
			<i>Cercospora beticola</i>	0.17
			<i>Cercospora kikuchii</i>	0.047
			<i>Alternaria solani</i>	0.22
			<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	0.21
			<i>Venturia inaequalis</i>	0.040
		Sordariomycetes	<i>Pyricularia oryzae</i>	0.055
			<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	0.023
			<i>Colletotrichum acutatum</i>	1.2
			<i>Microdochium nivale</i>	0.075
		Leotiomycetes	<i>Fusarium graminearum</i>	1.4
			<i>Botrytis cinerea</i>	0.059
			<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1.7
			<i>Claviceps homoeocarpa</i>	0.038
		Eurotiomycetes	<i>Penicillium digitatum</i>	1.4
			<i>Penicillium expansum</i>	2.4
	Basidiomycota	Agaricomycetes	<i>Rhizoctonia solani</i> (AG4)	0.66
			<i>Athelia rolfsii</i>	0.40
		Ustilaginomycetes	<i>Ustilago maydis</i>	0.12
Stramenopiles		Oomycetes	<i>Phytophthora infestans</i>	> 10
			<i>Pythium ultimum</i>	> 10

ニル基を導入する方法などが挙げられる (Fig. 3)。われわれは精力的に検討を重ね、効率的にピリダクロメチルを得ることができる工業的製造法を確立するに至った。

生物効果

1. 抗菌スペクトラム

ピリダクロメチルは、さまざまな作物病原糸状菌に殺菌活性を示す。例えば、人工培地を用いた抗菌試験において、トマト葉かび病菌 (*Fluvia fulva*) やダイズ紫斑病菌 (*Cercospora kikuchii*)、コムギ紅色雪腐病菌 (*Microdochium nivale*) などに対して高い抗菌活性を示した (Table 1)。

2. 既存剤との交差耐性

テンサイ褐斑病菌 (*Cercospora beticola*) の圃場分離株を用いて、ピリダクロメチルと主要な既存剤との交差耐性の有無を確認した。北海道の圃場分離株 67 株について、ピリダクロメチル、カルベンダジム (ベノミル、チオファネートメチル等の活性本体、チューブリン重合阻害剤)、ジフェノコナゾール (DMI)、トリフロキシストロビン (QoI) の抗菌試験を実施し、各薬剤の感受性を調べた。カルベンダジムおよびトリフロキシストロビンの感受性分布は、ふたつのピーク、すなわち EC_{50} 値が 2 ppm 以上で耐性株と考えられる群と、 EC_{50} 値がそれよりも小さい感受性株と考えられる群に分かれた。また、ジフェノコナゾールの感受性は菌株間差が大きく、かつ EC_{50} 値が 2 ppm 以上で耐性株と考えられる株が存在した。これらに対し、ピリダクロメチルの感受性は EC_{50} 値が 0.02 ppm–0.2 ppm

の範囲に明瞭なピークをもつ一峰性の分布を示した。以上から、ピリダクロメチルは、カルベンダジム、ジフェノコナゾール、トリフロキシストロビンそれぞれの耐性株を含む菌株群に対して一定の活性を示し、これらの薬剤と交差耐性を示さないことが確認された (Fig. 4、Table 2)。また、DMI 耐性菌および QoI 耐性菌存在下の圃場試験において、ピリダクロメチルは高い防除効果を示した (Fig. 5)。

3. 作用特性

温室内でのテンサイ褐斑病ポット試験^{*3}により、ピリダクロメチルの作用特性を調べた。以下に代表的な試験例を示す。

(1) 予防効果

ピリダクロメチルのテンサイ褐斑病に対する予防

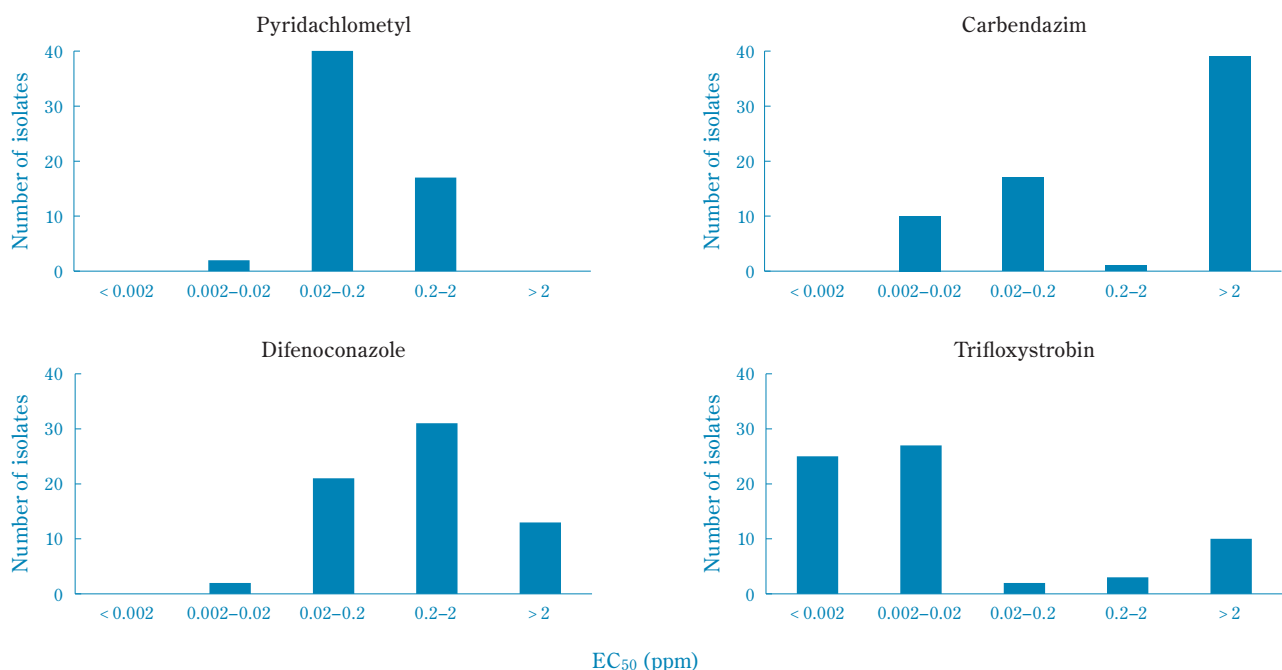


Fig. 4 Histograms of the EC_{50} values of *C. beticola* isolates for pyridachlometyl, carbendazim, difenoconazole, and trifloxystrobin

A total of 67 isolates obtained from sugar beet fields in Hokkaido were tested by microtiter plate assay and the corresponding EC_{50} values (ppm) were calculated for the 4 fungicides.

Table 2 Fungicide sensitivity of *C. beticola* isolates obtained from Hokkaido fields

	EC_{50} (ppm)			
	Pyridachlometyl	Carbendazim	Difenoconazole	Trifloxystrobin
Strain 1	0.0291	0.0482	0.0217	0.0017
Strain 2	0.0398	1.362	0.0079	0.0007
Strain 3	0.0305	> 2.0	1.727	0.0017
Strain 4	0.0978	0.0885	0.0193	> 2.0

*3 テンサイ褐斑病ポット試験：ポット試験では、テンサイをプラスチックポット (500 mL) で4、5枚の本葉が展開するまで栽培し供試した。薬剤処理は、スプレーを用いて所定濃度の供試薬剤をテンサイ葉に噴霧した。病原菌の接種は、テンサイ褐斑病菌の分生子懸濁液 (1×10^4 個分生子/mL) を調整し、スプレーを用いてテンサイ葉に噴霧した。

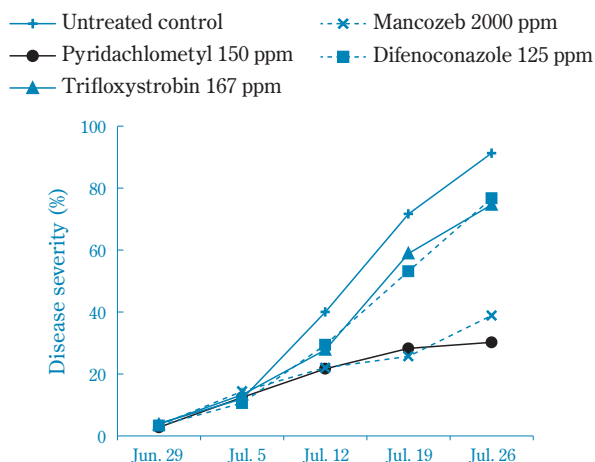


Fig. 5 Performance of pyridachlometyl against the cercospora leaf spot on sugar beet in a field in which the efficacy of difenoconazole and trifloxystrobin are drastically reduced

Treatment dates: 29th June and 7th and 16th July, Spray volume: 1000 L/ha

効果を調べた結果、200 ppmで防除価97、133 ppmで防除価98となり、北海道でのテンサイ褐斑病防除における基幹剤であるマンゼブと同等の高い効果を示した (Fig. 6)。

(2) 病斑進展阻止効果

テンサイ褐斑病菌を感染させたテンサイポット苗にピリダクロメチルを処理し、テンサイ褐斑病の発病を調べた結果、200 ppmで防除価41、133 ppmで防除価39となり、保護剤（予防的効果が主体）であるマンゼブと同程度の病斑進展阻止効果を示した (Fig. 6)。

(3) 残効性

ピリダクロメチルは、17日間の残効試験において、テンサイ褐斑病に対し200 ppmで防除価86、133 ppmで防除価79となり、マンゼブと同等の高い効果を示した (Fig. 7)。

(4) 耐雨性

ピリダクロメチルは、散布1時間後に合計100 mm (20 mm/時間) の人工降雨処理を実施した条件において、テンサイ褐斑病に対し200 ppmで防除価98、133 ppmで防除価88となり、マンゼブに勝る高い効果を示した (Fig. 8)。

(5) 浸達性

ピリダクロメチルは浸達性試験（葉の背軸側に薬剤処理し、向軸側に病原菌を接種する試験）において、テンサイ褐斑病に対して200 ppmで防除価95、133 ppmで防除価92となり、マンゼブよりも高い効果を示した

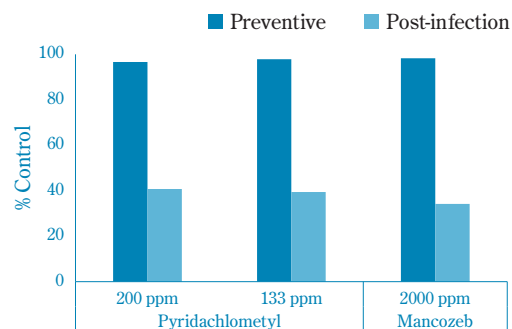


Fig. 6 Preventive and post-infection efficacy on sugar beet seedlings of pyridachlometyl against the cercospora leaf spot
Fungicides were applied 3 days before the *C. beticola* inoculation (preventive) or 2 days post inoculation (post-infection).
Disease severity in the untreated control: 67% (preventive) and 32% (post-infection).

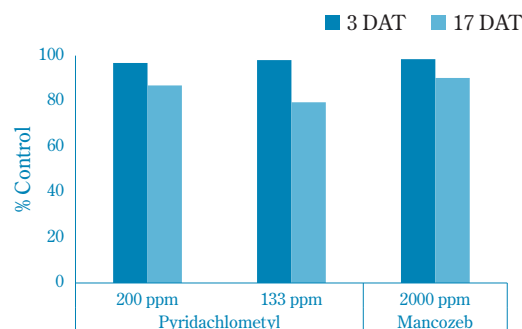


Fig. 7 Long-lasting efficacy of pyridachlometyl against the cercospora leaf spot
Inoculation: test plants were inoculated with conidial suspensions of *C. beticola* 3 days or 17 days after the fungicide treatment (DAT).

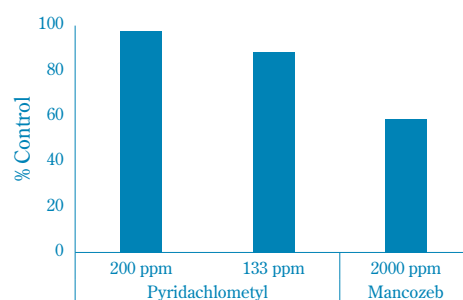


Fig. 8 Rainfastness of pyridachlometyl in the cercospora leaf spot control
Tested plants received artificial rainfall (100 mm/5 hours) 1 hour after the fungicide application.
Inoculation: tested plants were inoculated with a conidial suspension of *C. beticola* 3 days after the artificial rainfall.

(Fig. 9)。この結果は、ピリダクロメチルは処理後植物体内に吸収され、未処理面にも移行することを示唆している。

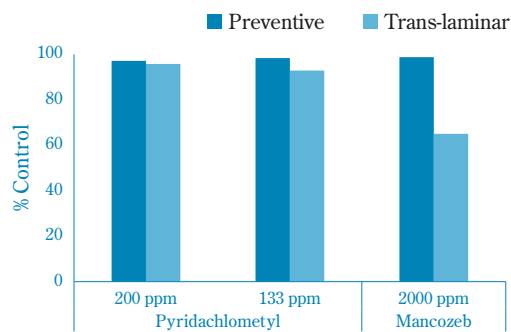


Fig. 9 Translaminar activity of pyridachlometyl against the cercospora leaf spot

Preventive treatment: tested plants were inoculated with a conidial suspension of *C. beticola* on the adaxial side of the leaves 3 days after the fungicide application on the same side.

Trans-laminar treatment: tested plants were inoculated on the adaxial side of the leaves 3 day after the fungicide application on the abaxial side.

(6) 分生子形成阻害効果

ピリダクロメチルをテンサイ褐斑病の分生子形成が未熟な病斑に処理した後に、病斑上に形成された分生子を計数したところ、対無処理比の分生子形成阻害率が200 ppmで97%、133 ppmで92%となり、マンゼブよりも高い分生子形成阻害効果を示した (Fig. 10)。

4. 実用性

(1) テンサイ褐斑病に対する実用性

日本では、テンサイは北海道で約55000 ha作付けされており (2022年度、農水省)、最重要病害はテンサイ褐斑病である。テンサイ褐斑病は栽培期間を通じて発生するため、1シーズンで殺菌剤が5回程度散布される。前述のとおりテンサイ褐斑病菌 (*C. beticola*) のベンズイミダゾール系殺菌剤耐性菌、カスガマイシン耐性菌、DMI耐性菌、およびQoI耐性菌の発生がそれぞれ拡大しており、新規作用の薬剤が求められている。ピリダクロメチルは、圃場での実用性試験においてテンサイ褐斑病に対し高い防除効果を示したことから、本病害に対し高い実用性を有すると考えられる (Fig. 11)。

(2) ダイズ紫斑病に対する実用性

テンサイ褐斑病菌と同様に、近年国内のダイズ紫斑病菌 (*Cercospora kikuchii*) においてQoI剤の耐性が検出され問題となっている⁹⁾⁻¹¹⁾。紫斑病はダイズの子実表面に濃い紫色の病斑を生じ品質を著しく低下させるほか、種子伝染により次代への感染源となるため、本病害の防除には特に効果の高い薬剤が求められる。ピリダクロメチルは、圃場での実用性試験においてダ

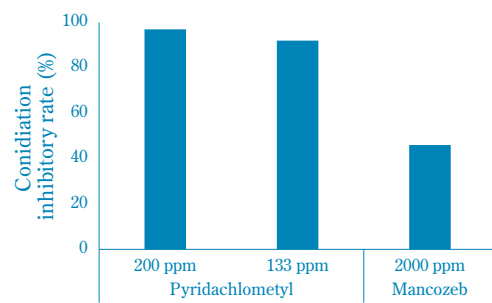


Fig. 10 Conidiation-inhibitory action of pyridachlometyl against *C. beticola* on the lesions

Fungicides were applied 11 days post inoculation. The number of conidia in the untreated control was 2426 conidia/cm² per lesions.

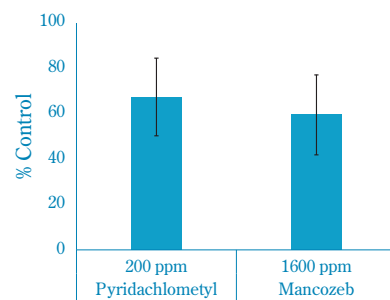


Fig. 11 Efficacy of pyridachlometyl against sugar beet cercospora leaf spot in field trials

A total of 7 field trials were conducted in 2016–2022 in Japan.

Bars represent the mean values; error bars represent the 95% CI

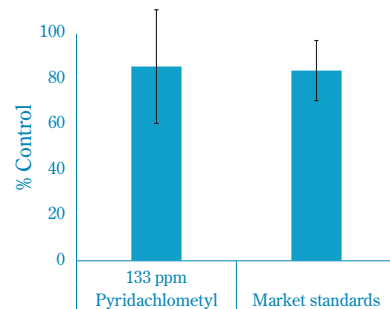


Fig. 12 Efficacy of pyridachlometyl against soybean purple stain in field trials

A total of 6 field trials were conducted in 2015–2016 in Japan.

Market standards: imibenconazole 100 ppm, 2 trials; azoxystrobin 100 ppm, 2 trials; thiophanate-methyl + diethofencarb 525 + 125 ppm, 2 trials

Bars represent the mean values; error bars represent the 95% CI

イズ紫斑病に対し高い防除効果を示し、本病害に対し高い実用性を有すると考えられる (Fig. 12)。

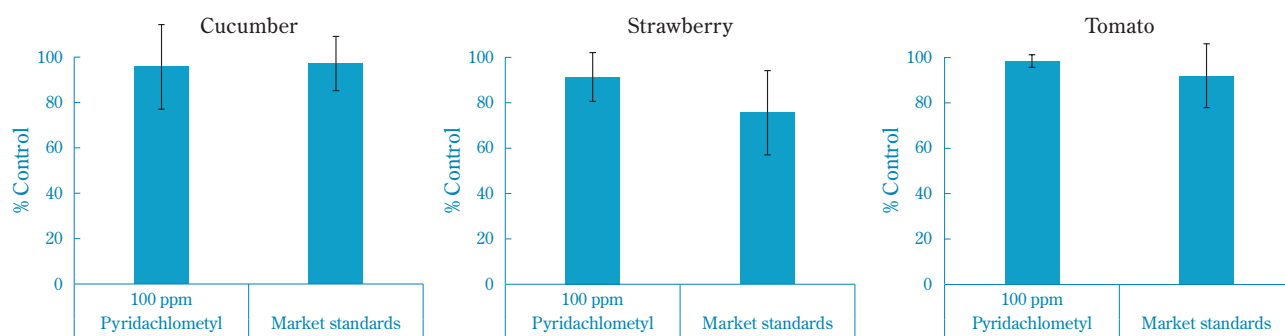


Fig. 13 Efficacy of pyridachlometyl against the powdery mildew of cucumber, strawberry, and tomato in field trials
A total of 7 field trials were conducted for each of the three crops in 2015–2016 in Japan.

Market standards: quinomethionate 125 ppm, 4 trials, and 83 ppm, 2 trials; chlorothalonil 400 ppm, 1 trial (cucumber only); triflumizole 100 ppm, 3 trials; DBEDC 400 ppm, 4 trials (strawberry only); penthiopyrad 100 ppm, 1 trial; DBEDC 400 ppm, 2 trials; potassium hydrogen carbonate 100 ppm, 4 trials (tomato only)

Bars represent the mean values; error bars represent the 95% CI

(3) 各種うどんこ病に対する実用性

うどんこ病菌は野菜類をはじめ多くの作物に感染し、被害をもたらす。また、すでにQoI、DMIをはじめ各種殺菌剤に対して耐性を示すうどんこ病菌が検出されており、耐性菌発達リスクが高い病原菌としても知られている^{12)–14)}。ピリダクロメチルは各種作物のうどんこ病に対し高い防除効果を示す。例えば、キュウリ、トマト、イチゴのうどんこ病に対する圃場（ハウス）試験により、ピリダクロメチルは高い実用性を示すことが確認されている（Fig. 13）。

作用機作

1. ピリダクロメチル処理下のコムギ葉枯病菌の表現型

コムギ葉枯病菌（*Zymoseptoria tritici*）の分生子（酵母状細胞）にピリダクロメチルを処理し、ピリダクロメチルが増殖過程の分生子に与える表現型変化の確認を行った。その結果、処理24時間後の分生子は、両末端側の膨潤を伴う特徴的な表現型を示した。この表現型はチューブリン重合阻害剤として知られるカルベンダジムやベノミル処理時に認められるものと類似していたことから、ピリダクロメチルの作用機作はチューブリンの動態に関わるものであることが推察された。

2. 室内耐性変異株の作出と抵抗性変異点の同定

コムギ葉枯病菌の野生株にUV照射による突然変異誘発処理を行い、ピリダクロメチルもしくはカルベンダジムを含有するポテトデキストロース寒天培地（PDA培地）で生育する室内耐性変異株の選抜を行い、それぞれの化合物に対する耐性変異株を取得した。取得した耐性変異株を用いた交差耐性試験を行ったところ、ピリダクロメチルとカルベンダジムの間で交差耐性を示す例は認められず、ピリダクロメチル

とカルベンダジムは異なる交差耐性グループに属すると考えられた。

取得した耐性変異株の遺伝子解析の結果、カルベンダジム耐性株では全ての株でβチューブリンの遺伝子に変異が確認された（Q134K, E198A/D/E, F200Y）。一方、ピリダクロメチル耐性株では一部の株でβチューブリンの変異が確認され（N219K, Y222N/S）、残りの株ではαチューブリンが変異していることが確認された（P325H/S/T）。これらの変異体のシーケンス解析とチューブリンヘテロ複合体のX線結晶構造のホモロジーモデリングおよびドッキングシミュレーション解析から、カルベンダジムの結合部位がβチューブリンの内部領域であるのに対し、ピリダクロメチルの結合部位はαチューブリンとβチューブリンが複合体を形成する際の界面付近であると考えられた（Fig. 14）。なお、ピリダクロメチル耐性変異体で変異していたβチューブリンのY222はピリダジン環とのπ-πスタッキングやピリダジン環の窒素原子と水素結合を形成しており、αチューブリンのP325は、ピリダクロメチルのピリダジン環との疎水性相互作用、および4-フェニル環上のフッ素原子との相互作用に関与していることが示唆され、これらのアミノ酸残基の変異によって変異株はピリダクロメチル耐性を獲得していると考えられた（Fig. 14）。

3. 糸状菌由来のチューブリンを用いた結合試験

変異点情報とドッキングシミュレーション解析の結果を検証するため、コムギ葉枯病菌のチューブリンを用いた化合物の結合試験を検討した。コムギ葉枯病菌由来のチューブリンに対し、安定同位体標識したカルベンダジム（ $[^{13}\text{C}, ^2\text{H}_3]$ -carbendazim）を処理した後、非標識体のカルベンダジムもしくはピリダクロメチルを用いた競合試験を行ったところ、カルベンダジム処理区では安定同位体標識カルベンダ

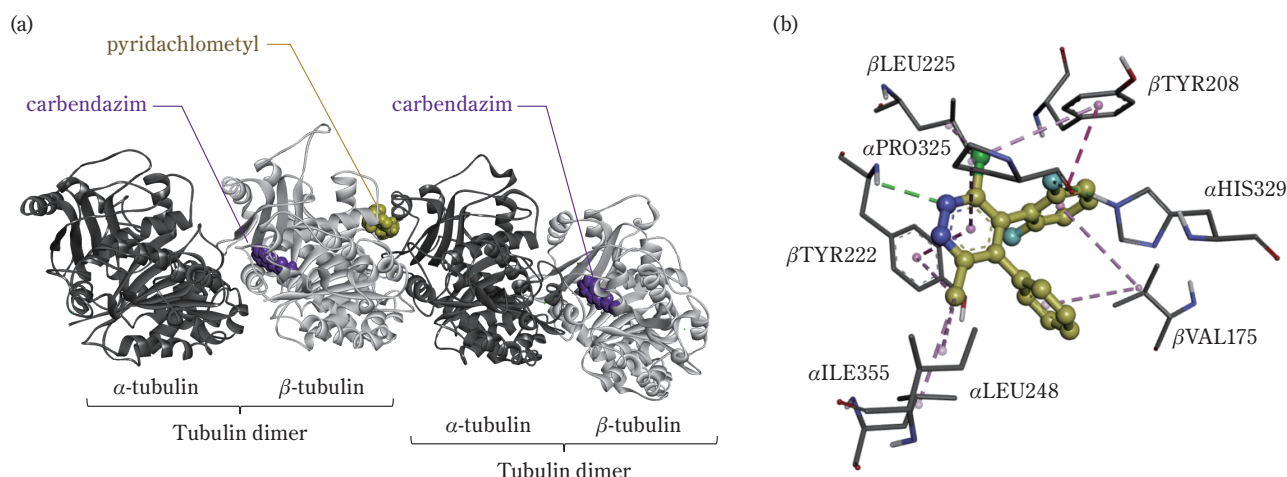


Fig. 14 Homology model of *Z. tritici* tubulin based on the X-rays of *Bos taurus*, *Sus barbatus*, and *Gallus gallus* (PDB, 5NJH, and 5C1A1) with the locations of substitutions leading to resistance against pyridachlometyl and carbendazim highlighted in yellow and violet, respectively

(a) Overall view of the tubulin dimer unit with putative binding sites of pyridachlometyl and carbendazim.
(b) Close-up view of the putative binding site of pyridachlometyl.

ジムの検出量の有意な減少が確認されたが、ピリダクロメチル処理区では安定同位体標識カルベンダジムの検出量が減少せず、競合効果が確認されなかった。以上から、前述の室内耐性変異株の遺伝子解析やドッキングシミュレーション解析から予測された通り、ピリダクロメチルとカルベンダジムのチューブリンへの結合部位が異なることが確認された（投稿準備中）。

以上の結果より、ピリダクロメチルは病原性糸状菌のチューブリンに結合し、その動態を変動させることにより殺菌作用を示すと考えられる。また、ピリダクロメチルは、既存のカルベンダジム等のチューブリン重合阻害剤とは異なる部位に結合することから、これらの化合物と本質的に交差耐性を示さないと考えられる。これは前出の圃場から分離されたカルベンダジム耐性菌を用いた交差耐性試験結果においても実証されている。なお、構造と結合部位から、ピリダクロメチルはチューブリン脱重合阻害/重合促進作用を有すると想定されるが、この証明にはさらなる検証が必要であり、本稿時点ではFRAC (Fungicide Resistance Action Committee) のコードリストに tubulin dynamics modulator (FRAC code 53) として登録されている¹⁵⁾。

製剤

ピリダクロメチルを含む製剤は日本国内に向けた開発が進んでおり、フセキフロアブル（35% [w/w] ピリダクロメチル水和剤）として、2023年に農業登録取得を予定している。本製剤は主にテンサイおよびダイズをターゲットとしているが、果菜類やコムギ向けの混



Fig. 15 Dispersion behavior of FUSEKI flowable in water

合剤も開発を進めているところである。

代表製剤としてフセキフロアブルについて述べる。本製剤の処方検討では、当社がこれまでに培った処方設計に関する知見を参照し、副資材の組み合わせおよびその配合量について最適化を行った。その結果、薬効や薬害、ユーザーの取り扱い性、安全性に優れた処方の確立に至った。ユーザーの取り扱い性について、Fig. 15に示した本製剤を水に添加した際の様子から、水希釈時の分散性が良好であることが分かる。加えて本製剤は、従来のフロアブル剤と同じく泡立ちの抑制や容器排出性にも優れた設計となっている。

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

ピリダクロメチル原体および35%水和剤（35% SC）のLD₅₀値は、経口および経皮投与ではラットで2000 mg/kg体重を上回り、中毒症状は認められなかった。ピリダ

クロメチル原体の吸入曝露でも何ら中毒症状は認められず、LC₅₀値は5450 mg/m³を上回った。ピリダクロメチル原体の皮膚および眼に対する刺激性はごく軽度であり、眼では洗眼効果が認められた。35%水和剤の皮膚および眼に対する刺激性は認められなかった。皮膚感作性試験についてピリダクロメチル原体はMaximization法で陽性、35%水和剤はBuehler法で陰性であった (Table 3)。

(2) 亜急性、慢性毒性および発がん性

ラット、イヌ、マウスを用いた亜急性、慢性毒性および発がん性試験の結果、ピリダクロメチル原体を反復投与すると、体重の増加抑制および摂餌量低下が認められ、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肝細胞肥大が認められ、それに伴う甲状腺濾胞上皮細胞肥大も観察された。

発がん性試験では、ラットにおいて甲状腺濾胞細胞腺腫/濾胞細胞癌が、マウスにおいて肝細胞腺腫/肝細胞癌の発生頻度増加が認められた。肝臓および甲状腺に対するピリダクロメチルの作用機序検討試験により、肝臓への影響は核内受容体を介する医薬品フェノバルビタールに類似した薬物代謝酵素誘導型の作用機序によるものと考えられた。甲状腺への影響は、

甲状腺ホルモン合成への直接影響ではなく、肝酵素誘導型の甲状腺発がんの作用機序によるものと考えられた。同作用機序を有する医薬品の既知見情報等からいずれの発がんについてもヒトへの外挿性はない変化であり、ヒトの発がん性を示唆するものではないと考えられた (Table 4)。

(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、繁殖能および哺育能^{はいく}に影響は認められなかった (Table 5)。

(4) 神経毒性

ピリダクロメチル原体は急性毒性試験、亜急性、慢性毒性試験および発がん性試験において、神経毒性を示唆する所見は認められなかった。

(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は陰性であった。チャイニーズハムスター肺由来CHL/IU細胞を用いた染色体異常試験は陽性であったが、マウスを用いた小核試験を実施した結果、陰性であった (Table 6)。

Table 3 Acute toxicity results for pyridachlometyl

Test type	Pyridachlometyl	Pyridachlometyl 35%SC
Rat acute oral (LD ₅₀)	> 2000 mg/kg	> 2000 mg/kg
Rat acute dermal (LD ₅₀)	> 2000 mg/kg	> 2000 mg/kg
Rat inhalation (LC ₅₀)	> 5450 mg/m ³ of air (4h, nose only exposure)	—
Eye irritation (Rabbit)	Minimally irritant	Non-irritant
Skin irritation (Rabbit)	Minimally irritant	Non-irritant
Skin sensitization (Guinea pig)	Sensitizer	Non-sensitizer

Table 4 Subacute and chronic toxicity results for pyridachlometyl

Species	Administration route and duration	Dose	NOAEL (mg/kg/d)
Dog	Oral (in capsule), 13 weeks	100, 300, 1000 mg/kg/d	Male: 100 Female: 100
Dog	Oral (in capsule), 12 months	10, 50, 300 mg/kg/d	Male: 10 Female: 10
Rat	Oral (in diet), 13 weeks	1000, 5000, 20000 ppm	Male: 291 (5000 ppm) Female: 351 (5000 ppm)
Rat	Oral (in diet), 24 months	200, 2000, 10000, 20000 ppm	Male: 8 (200 ppm) Female: 10 (200 ppm) No carcinogenicity
Mouse	Oral (in diet), 13 weeks	1500, 3500, 7000 ppm	Male: 517 (3500 ppm) Female: 650 (3500 ppm)
Mouse	Oral (in diet), 18 months	700, 2000, 7000 ppm	Male: 83 (700 ppm) Female: 317 (2000 ppm) No carcinogenicity

Table 5 Developmental and reproductive toxicity results for pyridachlometyl

Study	Species	Administration route and duration	Dose	NOAEL (mg/kg/d)	
Developmental toxicity	Rat	Oral (gavage)	250, 500, 1000 mg/kg/d	Maternal	1000
		Days 6–19 of gestation		Fetal	1000
	Rabbit	Oral (gavage)	250, 500, 1000 mg/kg/d	Maternal	250
		Days 6–28 of gestation		Fetal	1000
Two-generation reproductive toxicity	Rat	Oral (in diet)	600, 4000, 20000 ppm	Parental	Male: 218 (4000 ppm) Female: 329 (4000 ppm)
				Offspring	Male: 267 (4000 ppm) Female: 362 (4000 ppm)
				Reproductive	Male: 1145 (20000 ppm) Female: 1697 (20000 ppm)

Table 6 Mutagenicity results for pyridachlometyl

Study	Study design	Results
Reverse mutation (Ames test)	<i>S. typhimurium</i> : TA98, TA100, TA1535 and TA1537 <i>E. coli</i> : WP2uvrA -/ +S9 mix: 156–5000 µg/plate	Negative
<i>In vitro</i> chromosomal aberration	Chinese hamster CHL/IU -S9 mix (6 h): 0.938–7.50 µg/mL +S9 mix (6 h): 30.0–50.0 µg/mL	Positive
Bone marrow 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標識体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糞中に排泄された。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。ピリダクロメチルの主要な代謝反応は、ピリダジン環6位のメチル基の水酸化とそれに続くカルボン酸体の生成または水酸基のグルクロン酸抱合、クロル基のグルタチオンによる置換およびさらなる代謝によるシステイン抱合体、チオール体あるいはメルカプツール酸抱合体などの生成であった。

(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（コムギ、トマト、テンサイ）で代謝試験を実施したところ、いずれの作物においてもピリダクロメチルの代謝経路は同様で、ピリダジン環の6位のメチル基の水酸化に続く抱合化であった。

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、ピリダクロメチルはpH 4、7および9の緩衝液中で安定であり、その半減期（25℃）は1年以上と推定された。また、光

照射下におけるピリダクロメチルの光分解半減期（東京春における春の太陽光換算値）は緩衝液（pH 7）中では47.6～52.7日であった。

(2) 土壌中における代謝

¹⁴C標識体を用いたピリダクロメチルの好氣的土壌中動態試験では消失半減期（20℃）273～1450日で減少し、代謝経路はピリダジン環の6位のメチル基の水酸化とそれに続くカルボン酸体の生成、最終的に土壌に強固に吸着するか二酸化炭素へと無機化されと考えられた。また、土壌表面上ではその半減期（20℃）は光照射区および暗対照区でそれぞれ133日および333日であった。

(3) 土壌残留

茨城および高知の畑地圃場にピリダクロメチル35%水和剤の1000倍希釈液を300 L/10 aの割合で1回散布したところ、最高残留濃度は0.65～1.14 mg/kgであり、消失半減期は33.6～48.8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ピリダクロメチルの有機炭素含量で補正した吸着係数 $K_{\text{Foc(ads)}}$ および脱着係数 $K_{\text{Foc(des)}}$ は1521～3446および1811～5364であった。

(5) 作物残留

ピリダクロメチル35%水和剤を2000倍希釈し、100～139 L/10 aの割合で、コムギおよびオオムギに2回処理したところ、残留濃度はいずれも定量限界未満(< 0.01 mg/kg)であった。同希釈液を180～200 L/10 aの割合で、テンサイに7日間隔で3回処理したところ、残留濃度はいずれも定量限界未満(< 0.01 mg/kg)であった。同製剤を3000倍希釈し、177-192 L/10 aの割合で、ダイズに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0.09 mg/kgであった。また同希釈液を153～300 L/10 aの割合で、ミニトマト、ピーマン、ナス、キュウリ、スイカ、メロン、イチゴに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定量限界未満(< 0.01 mg/kg)～1.64 mg/kgであった。

4. 非標的生物に対する影響

水産動植物、ミツバチおよび鳥類における試験結果をTable 7に要約した。

(1) 水産動植物に対する影響

ピリダクロメチル原体のコイ、オオミジンコおよび淡水緑藻の急性毒性値(LC₅₀/EC₅₀/ErC₅₀)は、それぞれ> 0.70、0.50および> 0.68 mg/Lであった。また、ピリダクロメチル35%水和剤のコイ、オオミジンコおよび淡水緑藻の急性毒性値(LC₅₀/EC₅₀/ErC₅₀)は、それぞれ68、0.57および47 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十分に高く、ピリダクロメチルの水産動植物に及ぼす影響は低いと考えられた。

(2) ミツバチに対する影響

ピリダクロメチル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は弱くLD₅₀値はそれぞれ> 23.8および> 100 μg/頭であった。このことから、実施用でのピリダクロメチルのミツバチに及ぼす影響は低いと考えられた。

(3) 鳥類に対する影響

ピリダクロメチル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、実施用でのピリダクロメチルの鳥類に及ぼす影響は低いと考えられた。

以上より、ピリダクロメチル原体および35%水和剤の哺乳動物に対する急性毒性は極めて弱く、長期にわたってピリダクロメチル原体を摂取したとしても発がん性・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た。また、環境中での挙動および非標的生物に対する影響評価から、登録した使用方法に従えば、環境への影響は低いと考えられた。

おわりに

ピリダクロメチルは、広い防除スペクトラムを有し、作物への薬害リスク、毒性リスクが低く、ミツバチなどの非標的生物への影響も小さいことから、さまざまな作物栽培場面での活用が期待される。また、新しい作用機作の薬剤として既存剤の耐性菌にも有効であり、耐性菌蔓延により使用できる殺菌剤が限られている場合などにも、各種作用機作に対する耐性菌リスクマネジメントのツールとして有用と考えられる。同時に、本剤にとっても耐性菌の発達を遅らせ、できるだけ長く活用できるよう、ピリダクロメチルの連用を避け、作用機作の異なる殺菌剤との混合、または併用による防除体系の中で使用されるよう普及を推進する。

謝辞

ピリダクロメチルの開発に当たり、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きました。

Table 7 Ecotoxicological results for pyridachlometyl on non-target organisms

Test substance	Test species	Test type	Results
Pyridachlometyl	Aquatic organisms	<i>Cyprinus carpio</i> Acute (96 h)	LC ₅₀ > 0.70 mg/L
		<i>Daphnia magna</i> Acute (48 h)	EC ₅₀ = 0.50 mg/L
		Green alga ^{*1} Acute (72 h)	ErC ₅₀ > 0.68 mg/L
	Honeybee	<i>Apis mellifera</i> Acute oral (48 h)	LD ₅₀ > 23.8 μg/bee
		<i>Apis mellifera</i> Acute contact (48 h)	LD ₅₀ > 100 μg/bee
	Bird	<i>Colinus virginianus</i> Acute oral	LD ₅₀ > 2000 mg/kg
Pyridachlometyl 35%SC	Aquatic organisms	<i>Cyprinus carpio</i> Acute (96 h)	LC ₅₀ = 68 mg/L
		<i>Daphnia magna</i> Acute (48 h)	EC ₅₀ = 0.57 mg/L
		Green alga ^{*1} Acute (72 h)	ErC ₅₀ = 47 mg/L

*1: *Raphidocelis subcapitata* (formerly known as *Pseudokirchneriella subcapitata*)

深く感謝するとともに、引き続きご指導とご鞭撻^{べんたつ}をお願い申し上げます。

引用文献

- 1) 栢森 美如, 植物防疫, 73(8), 478 (2019).
- 2) American Cyanamid Company, WO 98/46607 A1 (1998).
- 3) 住友化学(株), WO 03/089433 A1 (2003).
- 4) 住友化学(株), JP 2005-154419 A (2005).
- 5) 住友化学(株), WO 2005/121104 A1 (2005).
- 6) 住友化学(株), WO 2012/020774 A1 (2012).
- 7) Y. Matsuzaki *et al.*, Pest Manag. Sci., 76(4), 1393 (2020).
- 8) A. Manabe *et al.*, Bioorg. Med. Chem., 88-89(6), 117332 (2023).
- 9) 佐々木 陽菜 ほか, 北日本病害虫研報, 71, 195 (2020).
- 10) 宮野 法近, 第31回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集, 38 (2022).
- 11) 渡辺 恭平, 第31回殺菌剤耐性菌研究会シンポジウム講演要旨集, 46 (2022).
- 12) 武田 敏幸, 内田 景子, 植物防疫, 61(8), 410 (2007).
- 13) H. Ishii *et al.*, Phytopathology, 91(12), 1166 (2001).
- 14) T. Miyamoto *et al.*, Eur. J. Plant Pathol., 156, 953 (2020).
- 15) FRAC (Fungicide Resistance Action Committee), "FRAC Code List 2022", https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2022-final.pdf?sfvrsn=b6024e9a_2 (参照2023/3/8).

PROFILE



倉橋 真
Makoto KURAHASHI
住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主任研究員



岩橋 福松
Fukumatsu IWAHASHI
住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主席研究員
博士（農学）



松崎 雄一
Yuichi MATSUZAKI
住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主席研究員
博士（農学）



山根 三慶
Mitsuyoshi YAMANE
住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
研究員



真鍋 明夫
Akio MANABE
住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主席研究員 博士（農学）
(本誌発行時には退職)



松山 良子
Ryoko MATSUYAMA
住友化学株式会社
生物環境科学研究所
主席研究員



川村 真人
Masato KAWAMURA
住友化学株式会社
健康・農業関連事業研究所
主席研究員 博士（工学）
(現所属：大分工場)



半田 木綿子
Yuko HANDA
住友化学株式会社
生物環境科学研究所
主席研究員