

学会賞受賞論文

(業績賞)

殺菌剤ペンシクロンの開発

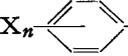
山田保雄, 斎藤純一, 高瀬 巖

日本特殊農薬製造株式会社農薬研究所

Development of a New Fungicide, Pencycuron

Yasuo YAMADA, Junichi SAITO and Iwao TAKASE

*Agricultural Chemicals Institute, Nihon Tokushu Noyaku Seizo K.K.,
Toyoda, Hino 191, Japan*

Pencycuron (1-(4-chlorobenzyl)-1-cyclopentyl-3-phenylurea) is a new fungicide specifically active against *Rhizoctonia solani* causing a number of important plant diseases such as sheath blight of rice, black scurf of potato and seedlings damping-off of various crops. In the course of screening trials of benzylurea derivatives originally intended to search for herbicidal candidates, some compounds turned out to be fungicidal to rice sheath blight, and this fact led us to study further on the structure-activity relationships. In the general formula of X_n --CH₂(R)NC(Y)N(R¹)R², a para substitution of the benzyl moiety was indispensable to a potent activity, and halogens especially the chlorine substitution provided the highest activity. The alkyl moiety should be bulky with 3 to 6 carbons in total and branched at the first carbon having not more than two carbon chains. *sec*-Butyl and cyclopentyl group were most active. R¹ should be a non-substituted phenyl group. Any substituents either electron-withdrawing or electron-donating on benzene ring acted only against the activity. R² should be hydrogen and any other substituents could not contribute to an elevation of the activity. Although urea (Y=O) was more active than thiourea (Y=S) in general, the same tendency in the activity relations was shown with both types. The activity of pencycuron was extremely selective even among the group of *R. solani*. Most of the important groups as crop pathogen were highly sensitive but some others were tolerant. Pencycuron is essentially a contact fungicide and non-systemic. The majority of the applied substance in plant was localized at the treated zone and was mostly retained as the parent form. The GLC profiles of metabolites derived from both isolates of *R. solani* sensitive and non-sensitive to pencycuron were not much different and no metabolite exceeding the amount of pencycuron could be found. The characteristic of pencycuron in disease control should be due to an excellent prevention against infection with a remarkable long-lasting efficacy. The highly selective activity to *R. solani* with very low potential to non-target organisms may serve for a high degree of safety to users, less hazard to the environment and favourable compatibility with many kinds of crop.

はじめに

ペンシクロンはベンジル尿素を基本構造にもつ新規の合成殺菌剤で、イネ紋枯病をはじめジャガイモ黒あざ病、テンサイ葉腐病、根腐病や各種作物の苗立枯病等を起因する *Rhizoctonia solani* に選択的に特異的効力を発

揮する。

当社では1970年代初め、除草活性化合物の探索を意図して当時除草剤としては文献未記載であったベンジル尿素系化合物の合成に着手しスクリーニングを続けたところ、除草活性においては見るべき化合物を発見できなかった反面、1-benzyl-1-alkyl-3-phenylurea の構造活性

相関において、ベンジル基への置換の種類と位置、アルキル基の種類の変換によって特異的に *R. solani* に対する殺菌活性が現われることを見いだした¹⁻³⁾。

R. solani (完全時代: *Thanatephorus cucumeris*) は種々の重要作物病害を起こすが、とくにイネ紋枯病は日本をはじめ世界の主要稲作国の多くでもち病に次ぐ第2の病害として防除の必要性があり、有機ヒ素剤、抗生物質剤に加えて新しい防除剤の出現が期待されていた。また畑作物のリゾクトニア病防除には PCNB 等が広く用いられてきたが、将来的展望から十分でなく新薬剤の開発が望まれていた。著者らはこのような状況をふまえ、前記の骨格を基本にさらに構造変換をすすめ、約1500個の合成化合物の中から、病害防除効果、各種の安全性、さらには経済性の見地から最もすぐれた性質をもつものとしてペンシクロンを選抜し年次計画に従っての開発過程へと発展させるに至った。

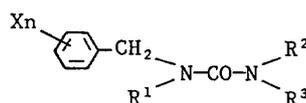
国内では1977年から各試験研究機関の協力を得て実用性の評価を始め、1985年に農業登録を認可されて上市し、海外では西ドイツバイエル社の試験機構を通じ国内とほぼ同時に世界各地で評価試験が実施され、ヨーロッパではジャガイモや花卉類に、アジアではイネ紋枯病を対象に、わが国に先立って実用化されている。

合成、スクリーニングの経緯

1. 研究の端緒

前述のように当初除草活性を期待してベンジル尿素系化合物の合成に着手したが、フェニル尿素系除草剤に近似した構造の化合物も含めすべてに除草活性を見いだせなかった。一方、Table 1 に示した置換ベンジル尿素化合物において、X がパラ位のクロル、R² がフェニル基の場合、R¹ を炭素数1から3のアルキル基で変換するとイソプロピル体 **12** がイネ紋枯病に対しかなり高い

Table 1 Substituted benzylurea derivatives and their efficacy against sheath blight on rice.



Compd.	X _n	R ¹	R ²	R ³	Infection degree (0-3) ^{a)}
					500 ppm
1	H	H	H	H	3
2	H	CH ₃		H	3
3	H	<i>i</i> -C ₃ H ₇		H	3
4	4-Cl	H	H	H	3
5	4-Cl	H	CH ₃	CH ₃	3
6	4-Cl	<i>i</i> -C ₃ H ₇	CH ₃	H	3
7	4-Cl	<i>i</i> -C ₃ H ₇	<i>i</i> -C ₃ H ₇	H	3
8	4-Cl	<i>i</i> -C ₃ H ₇		H	3
9	4-Cl	CH ₃		H	3
10	4-Cl	C ₂ H ₅		H	3
11	4-Cl	C ₃ H ₇		H	3
12	4-Cl	<i>i</i> -C ₃ H ₇		H	0
13		-CH ₂ -NH-C ₃ H ₇ - <i>i</i>			3
14		-CH ₂ -NH-C ₃ H ₇ - <i>i</i>			3

^{a)} Infection degree; 0: No infection, 1: Infected less than 10%, 2: Infected in ranges of 10-50%, 3: Infected more than 50%.

活性を示した。しかし周囲の近縁化合物にはほとんど活性がないことから再度のスクリーニングで **12** の活性を確かめ、原料の 2 級アミン類 **13**, **14** に活性のないことを確認してから **12** をリード化合物としてイネ紋枯病を対象に、抗リゾクトニア剤の追求を開始した。

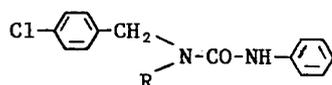
紋枯病に対する効力評価は鉢栽培のイネへの成分濃度 125~500 ppm 液の茎葉散布と 20 時間後の培養菌体接種による通常の予防効果の判定により行なった。Table 1~6 に示した感染度の基準は次のとおりである。0: 感染なし, 1: 10% 以下の感染, 2: 10~50% の感染, 3: 50% 以上の感染。

2. 構造活性相関

リード化合物 **12** のアルキル基の直鎖または枝分れについて詳細に調べた結果を Table 2 に示した。直鎖のア

ルキル基には活性がなく、イソブチル **16** など、*N* に結合するつけ根の炭素が枝分れしていないものも活性なく、また *tert*-ブチル **18** に活性の見られないことから、つけ根の炭素が 2 級であることが必須であり、さらに 1-メチルブチル **19** に活性のないことから、活性を示す R の直鎖部分の炭素数は 3 を越えないものであることが示唆された。シクロアルキル基についても同様のことがいえ、つけ根の炭素から両側に 2 炭素ずつ延びたとみなされるシクロペンチル基 **25** の活性が最も高く、シクロペンチル基にアルキルが置換した **26**, **27** や炭素の増えたシクロヘキシル **28** などの活性は明らかに低かった。しかし、ノルボルナン-2-イル **29**, 2-シクロペンテニル **30** や 2-シクロヘキセニル **31** にはかなりの活性が認められた。

Table 2 1-(4-Chlorobenzyl)-3-phenyl-1-alkylurea derivatives and their efficacy against sheath blight on rice.



Compd.	R	Infection degree (0-3) ^{a)}		
		500	250	125 ppm
12	<i>i</i> -C ₃ H ₇	0	1	2
15	C ₄ H ₉	3		
16	<i>i</i> -C ₄ H ₉	3		
17	<i>s</i> -C ₄ H ₉	0	0	0
18	<i>t</i> -C ₄ H ₉	3		
19	1-(CH ₃)-C ₄ H ₈	3		
20	1,2-(CH ₃) ₂ -C ₃ H ₅	1	2	
21	1,2,2-(CH ₃) ₃ -C ₃ H ₄	1	2	
22	1-(C ₂ H ₅)-C ₃ H ₆	1	2	
23	1-(C ₂ H ₅)-2-(CH ₃)-C ₃ H ₅	2		
24		3		
25		0	0	0
26		1	2	
27		1	2	
28		2		
29		0.5	1	1
30		0	0	1
31		0	0	1

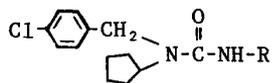
^{a)} Refer to Table 1.

Table 3 で示されるように、フェニル基をアルキル基に変換すると、それが直鎖または枝分れいずれの場合も活性は低下し、一定の傾向は見られなかった。

ベンジル基の置換 (Table 4) についてはパラ位の置換に重要な意味があり、アルキル基ではメチル **46** に活性が見られるがエチル **47**、イソプロピル **48** になると急激に活性はなくなった。電子吸引性基の中ではハロゲンの活性が高く、その順序は Cl **25** > Br **53** であり、同じ傾向が、シクロペンチル基をイソプロピル基、*sec*-ブチル基に変えた化合物でも認められ、Cl > Br > F > I の順で活性低下が見られた。クロル置換の数を増加したり、強い電子吸引基 NO₂ **56**、CN **57** で置換すると活性は著しく低下した。ベンジル基の α -位の置換では、メチルやエチルの置換よりもイソプロピル **60** で活性が残っていたのは興味があるが、無置換に比べて活性は劣り、継続検討するのに値しなかった。

フェニル基に置換が入ると、それが電子吸引性であれ、電子供与性であれ、活性は低下した。ただしヒドロキシ基、メトキシ基では、メタ位の置換でかなりの活性が残っていた (Table 5)。フェニル基のついた窒素にさらに置換基を入れた場合も活性は低下したが、アシル置換、カルバモイル置換と同じくメチル置換でもかなりの活性

Table 3 1-(4-Chlorobenzyl)-1-cyclopentyl-3-alkylurea derivatives and their efficacy against sheath blight on rice.



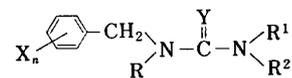
Compd.	R	Infection degree (0-3) ^{a)}	
		500 ppm	
32	H	3	
33	CH ₃	3	
34	C ₂ H ₅	3	
35	C ₃ H ₇	2	
36	<i>i</i> -C ₃ H ₇	3	
37	C ₄ H ₉	1.5	
38	<i>s</i> -C ₄ H ₉	1	
39	C ₅ H ₁₁	3	
40		1	
41		2	
42	-CH ₂ - 	3	

^{a)} Refer to Table 1.

が残っていたのは予想外であった。

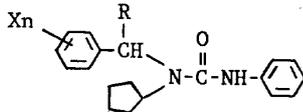
チオ尿素型の化合物 (Table 6) は尿素型に比べて一般に活性はわずかに低下したが、フェニル基、ベンジル基の置換、アルキル基の種類と活性との相関傾向は尿素型化合物とまったく同様であった。

以上を総合的に概括すると、次の一般式において下記のように要約できる。



(1)パラ位の置換ベンジル基が活性発現に必須で、ハロゲンとくにクロル置換体の効力が最も高い。(2)*N*に置換するアルキル基Rは、炭素数3から6で、1位の炭素が枝分れしてある程度のかさ高さをもつことが必要で、具体的には *sec*-ブチル基さらにはシクロペンチル基がとくに高い活性を現わす。(3)R¹は無置換フェニル基がよく、置換基がつくとその電子吸引性もしくは電子

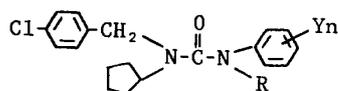
Table 4 1-Substituted benzyl-1-pentyl-3-phenylurea derivatives and their efficacy against sheath blight on rice.



Compd.	X _n	R	Infection degree (0-3) ^{a)}		
			500	250	125 ppm
43	H	H	3		
44	2-CH ₃	H	3		
45	3-CH ₃	H	3		
46	4-CH ₃	H	0.5	2	
47	4-C ₂ H ₅	H	3		
48	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	H	3		
49	3,4-(CH ₃) ₂	H	3		
50	4-OCH ₃	H	3		
51	3-CF ₃	H	3		
52	2-Cl	H	3		
25	4-Cl	H	0	0	0
53	4-Br	H	0	1	2
54	2,4-Cl ₂	H	3		
55	3,4-Cl ₂	H	3		
56	4-NO ₂	H	1	2	
57	4-CN	H	1	3	
58	4-Cl	CH ₃	3		
59	4-Cl	C ₂ H ₅	3		
60	4-Cl	<i>i</i> -C ₃ H ₇	2		

^{a)} Refer to Table 1.

Table 5 1-(4-Chlorobenzyl)-1-cyclopentyl-3-substituted phenylurea derivatives and their efficacy against sheath blight on rice.



Compd.	Y _n	R	Infection degree (0-3) ^{a)}		
			500	250	125 ppm
61	2-CH ₃	H	2		
62	3-CH ₃	H	3		
63	4-CH ₃	H	2		
64	4- <i>i</i> -C ₃ H ₇	H	3		
65	3,4-(CH ₃) ₂	H	3		
66	2-Cl	H	3		
67	3-Cl	H	3		
68	4-Cl	H	3		
69	4-Br	H	3		
70	2,5-Cl ₂	H	3		
71	3,4-Cl ₂	H	3		
72	3-OH	H	0.5	2	
73	3-OCH ₃	H	0.5	2	
74	3-OC ₂ H ₅	H	3		
75	4-OH	H	2		
76	4-OCH ₃	H	3		
77	4-SCH ₃	H	3		
78	4-NO ₂	H	3		
25	H	H	0	0	0
79	H	CH ₃	1	1	2
80	H		2		
81	H		1		

^{a)} Refer to Table 1.

供与性にかかわらず活性は低下する。R²はHがよく、置換による活性改善は見られない。(4)YはOまたはSのいずれでもよいが、一般に尿素型化合物の活性がチオ尿素型化合物のそれにまさる。

3. ペンシクロンの選択

前述のように構造活性相関を調査した結果、構造変換によって特異的に活性を現わすための基本的構造が明らかになり、最終的にはリゾクトニア病に最も高く安定した効力をもつペンシクロン **25** が発見されたが^{4,5)}、その1年前にはすでに高活性をもつ1-(4-chlorobenzyl)-1-*sec*-butyl-3-phenylurea **17** をとりあげ、圃場試験でイネ紋枯病にきわめて満足できる効力があることを確認してい

た⁶⁾。しかし各種の作物に対する直接散布では何らの異常発生がないにもかかわらず、子苗立枯病防除を目的とした土壌施用で薬害を誘発する事例のあることがわかり、さらに追跡試験を続けた結果、土壌中での微生物分解による化合物 1-*sec*-butyl-3-phenylurea に基因することが判明し⁷⁾、この事実から、**17** で処理された稲わらを経由しての二次薬害発生の危険性をも予測しなければならず開発を中止した。この時点ではすでにペンシクロン **25** の基礎活性は当該化合物中最も高いことが確認されており、さらに圃場試験で半量の施用量でも **17** の効力にまさり、残効性、耐候性で著しく安定であること、また **17** の土壌施用で見られた薬害発生の徴候もまったくなく、その他各種作物に対する親和性、温血動物に対する毒性、環境生物への影響など性能面で高く評価される化合物であることが判明した^{8,9)}。製造面においても、この系統の化合物に共通して十分に実用性のあることが確認され、ペンシクロンが選抜されて本格的開発行程に移されるに至った。

ペンシクロンの合成法

この系統の化合物は一般的には置換ベンジルクロライドに2倍 mol 以上のアルキルアミンを反応させ、低沸点の過剰アルキルアミンを留去し、これに置換フェニルイソシアネートを作用させて合成する。ペンシクロンの場合は、当初シクロペンチルアミンが入手困難であったため、シクロペンタノンにヒドロキシルアミンを作用させて、オキシムを合成し、これを各種の還元剤を用いて還元して合成した¹⁰⁻¹²⁾。2 mol のシクロペンチルアミンに反応を促進させるために1 mol の20% NaOH 水溶液を加えて混合し¹³⁾、これに1 mol の *p*-クロロベンジルクロライドを60°Cで4時間かけて滴下反応させ、さらに2時間60°Cに保ち反応を完結する。次に反応液を60~120°Cで濃縮し、過剰のシクロペンチルアミンを水溶液として回収後、残渣に水150 ml、トルエン200 mlを加えて30分間攪拌後静置する。トルエン層を分離、さらに水200 mlで水洗後分取したトルエン層を脱水を兼ねて濃縮し、ついで減圧蒸留する。収率93%、bp 109~110°C (0.2 mmHg)。

得られた *p*-クロロベンジルシクロペンチルアミン1 mol をトルエン1 l に溶かし、40°C に保ちながらフェニルイソシアネート1 mol を5時間かけて滴下する。滴下が進むにつれて、目的とする化合物の結晶が析出してくる。滴下終了後さらに2時間40°C に攪拌を続け、次に反応混合物を外部から冷却して20°C とし、濾過乾燥する。収率95%、mp 129~134°C。

Table 6 Substituted benzylthiourea derivatives and their efficacy against sheath blight on rice.

Compd.	X _n	R ¹	R ²	Infection degree (0-3) ^{a)}		
				500	250	125 ppm
82	H	<i>s</i> -C ₄ H ₉		3		
83	H	<i>s</i> -C ₄ H ₉		3		
84	4-Cl	CH ₃		3		
85	4-Cl	C ₂ H ₅		3		
86	4-Cl	<i>i</i> -C ₃ H ₇		0	1.5	3
87	4-CH ₃	<i>s</i> -C ₄ H ₉		3		
88	4-F	<i>s</i> -C ₄ H ₉		1.5	3	
89	4-Cl	<i>s</i> -C ₄ H ₉		0	0	2
90	4-Cl	<i>s</i> -C ₄ H ₉		3		
91	4-Br	<i>s</i> -C ₄ H ₉		0.5	1	3
92	4-I	<i>s</i> -C ₄ H ₉		2		
93	3,4-Cl ₂	<i>s</i> -C ₄ H ₉		3		
94	4-Cl		CH ₃	3		
95	4-Cl		C ₂ H ₅	3		
96	4-Cl			1.5	3	
97	4-Cl			0	0	1
98				3		

^{a)} Refer to Table 1.

生物活性作用

1. 選択性

ペンシクロンの抗菌スペクトラムを寒天平板希釈法で検定したところ、*R. solani* に選択的に高い活性を示し、他の供試した糸状菌、細菌では、100 ppm の濃度でもほとんどそれらの生育に影響を受けないものが多かった

(Table 7).

Rhizoctonia は大別して、その完全時代が *Thanatephorus* に属し多核菌糸体をもつ *R. solani*、同じく多核菌糸体であるが完全時代は *Waitea* で *R. oryzae* に代表されるもの、および完全時代が *Ceratobasidium* で2核菌糸体をもつ2核 *Rhizoctonia* といわれるものに分けられる^{14,15)}。また *R. solani* の系統については、培養型、生

Table 7 Antimicrobial spectrum of pencycuron on PSA.

Pathogen	Mycelial growth ^{a)}		
	1	10	100 ppm
Phycomycetes			
<i>Phythium</i> sp.	###	###	###
<i>Phytophthora parasitica</i>	###	###	###
<i>Rhizopus nigricans</i>	###	###	###
Ascomycetes			
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	###	###	###
<i>Cochliobolus miyabeanus</i>	###	##	++
<i>Diaporthe citri</i>	###	###	###
<i>Gibberella fujikuroi</i>	###	###	###
<i>Glomerella cingulata</i>	###	###	###
<i>Monilinia fructicola</i>	###	++	++
<i>Pyrenophora graminea</i>	###	###	##
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	###	###	##
Basidiomycetes			
<i>Corticium rolfsii</i>	###	##	##
<i>Helicobasidium mompa</i>	###	###	###
<i>Typhula incarnata</i>	###	##	++
Fungi Imperfecti			
<i>Alternaria mali</i>	###	###	##
<i>Aspergillus niger</i>	###	###	###
<i>Botrytis cinerea</i>	###	##	##
<i>Fusarium oxysporum</i>	###	###	###
<i>Pyricularia oryzae</i>	###	###	##
<i>Rhizoctonia solani</i>	—	—	—
<i>Sclerotium oryzae-sativae</i>	###	###	##
<i>Verticillium</i> sp.	###	###	###
Bacteria			
<i>Erwinia carotovora</i>	###	###	###
<i>Pseudomonas syringae</i>	###	###	###
<i>Xanthomonas campestris</i>	###	###	###

^{a)} Mycelial growth: ### Normal growth to the same extent as untreated control, ++ 50% in radial growth as compared with untreated control, — No growth.

態系菌系融合群などによる類別が行なわれ、現在わが国には八つの菌系融合群があるとされている¹⁴⁻¹⁹⁾。ペンシクロンのこれら各種の *Rhizoctonia* に対する抗菌力を寒天平板希釈法で調べた結果、Table 8 に見るように、*R. solani* 菌系融合群 (AG) のうち、AG-1 から AG-3 までのすべての供試菌株、AG-4 に属する 3 菌株のうちの 2 菌株、AG-BI から供試された 1 菌株の菌系発育に対する最少阻止濃度 (MIC) は 0.1~2.0 ppm の範囲内にあり、これらの菌株はペンシクロンに高い感受性を示した。反面、AG-4 の 1 菌株と AG-5 のすべての供試菌株

Table 8 Minimum inhibitory concentration (MIC) of pencycuron on the growth of *Rhizoctonia* species by anastomosis grouping.

Species-strain	Source	MIC (ppm)	Sensitivity ^{a)}	
<i>R. solani</i> (multinucleate: <i>Thanatephorus</i>)				
AG-1	G-423	Rice	1.6	S
	R-1-2-1	Acacia	0.1	S
	Rh-277	—	1.6	S
	HS-T	Rice	0.4	S
	HS-K	Rice	0.1	S
	HS-N	Rice	0.4	S
AG-2-1	C-121	Mat grass	0.4	S
	BN-1	—	1.6	S
	Rh-249	—	<1.0	S
AG-2-2	C-116	Mat grass	<5.0	S
	BV-30	S-beet	0.4	S
	Rh-385	—	<1.0	S
	I	Mat grass	0.4	S
AG-3	C-565	Potato	0.4	S
	Pf-59	—	<5.0	S
AG-4	Rh-131	—	>500	T
	R-C	Rice	0.4	S
	A	Egg-plant	<1.0	S
AG-5	SH-1	Soil	>500	T
	SH-19	Soil	>500	T
	SH-35	Soil	>500	T
	ST-8	Potato	>500	T
	Rh-168	—	>500	T
	C-27	—	>500	T
	Rh-429	—	>500	T
AG-BI	BI	—	<1	S
<i>R. oryzae</i> (multinucleate: <i>Waitea</i>)				
	RO-23	Rice	>1000	T
<i>R. sp.</i> (binucleate: <i>Ceratobasidium</i>)				
	Rh-310	—	>500	T

^{a)} S: Sensitive, T: Tolerant.

の MIC は 500 ppm 以上であり、*R. oryzae* や 2 核の *Rhizoctonia* と同様にペンシクロンに非感受性であった。このようにペンシクロンの抗菌活性は著しく選択的で、*R. solani* の中でも、植物病原として重要なほとんどの菌系の感受性は高いが、部分的に非感受性菌系の存在することがわかった。

2. 作用機作

ペンシクロンの *R. solani* 菌系に対する作用機作につ

いて、感受性 (AG-1) と非感受性 (AG-5) の2種類の菌株を用い主に脂質分画への影響に焦点をあて実験したが、脂肪酸やエルゴステロール生合成に対する直接的な作用を肯定する知見は得られなかった。しかしながら総脂質分画から TLC 展開される複合糖質のうち、トレハロースが感受性菌株では著しく減少していることが判明した²⁰⁾(Table 9)。

ペンシクロンは前述のように、*R. solani* の菌糸伸長を低濃度で強く抑制する作用を有するが、ペンシクロンに接触して起きるイネ紋枯病菌糸の形態異常はエルゴステロール生合成阻害剤のトリアジメホンやキチン阻害剤のポリオキシンで起きる異常と違うもので、作用機作の異なることを示唆している^{8,9)}。

ペンシクロンはイネ体表面で非常に安定で処理部位に

Table 9 Effect of pencycuron on trehalose content in *R. solani*.

Isolate	20 ppm/ 24 hr	Dry weight (mg)	Trehalose ^{a)}
C-423 (AG-1)	Cont.	60.3	2229
	Treat.	8.2	6
SH-1 (AG-5)	Cont.	41.0	151
	Treat.	30.5	191

a) Calculated directly from the Integrator of GLC.

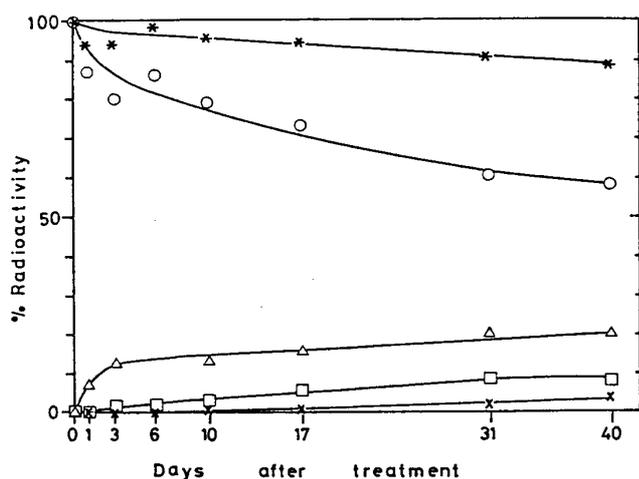


Fig. 1 Absorption and translocation of radiocarbon on the rice leaves treated with ¹⁴C-pencycuron.

*: Total radiocarbon, O: Surface residue, Δ: Treated zone, □: Upper part than treated zone, X: Lower part than treated zone. Average of duplicate analyses.

親化合物のまま多く局在する。¹⁴C-ペンシクロンを用いてイネ体における動態を定量的に調べると Fig. 1 に見られるように、葉表面から徐々に組織内に浸透し、処理 10 日、31 日後にはわずかながら上方移行が認められたが大部分は処理部に保持されていた。またイネ体での代謝はほとんど進まず親化合物がつねに 70% 以上を占めた。また水耕液や田面水処理により根部からの吸収移行性を検討した実験においても、上部移行性はほとんどなく、水耕栽培では取り込まれたペンシクロンの 85% が根部に、田面水施用では 21 日後に葉鞘、葉身部から 6.9% のペンシクロンが検出されたが、その大部分は地際部に存在した^{21,22)}。*R. solani* 菌体での代謝を GLC で見ると、やはり目立った代謝物は観察されず、無処理区から見いだせなかった含 N ピークは、わずかにシクロペンチル基 3 位およびフェニル基 4 位の各水酸化物であったが²⁰⁾、これらには明らかな抗菌活性は認められない。以上の知見、ならびにペンシクロンの抗菌力はきわめて低濃度から菌体への直接的接触で発揮される事実などから、その活性は親化合物自体に由来すると推察される。

3. イネ紋枯病防除効力

紋枯病の第一次感染は前作イネ体上に形成された菌核がイネ株の水際葉鞘に付着後発芽し、新しく伸びた菌糸が葉鞘組織に侵入して起こり、一次病斑を形成する。さらにこの病斑から菌糸が進展して組織に侵入して二次病斑を形成し、この過程を繰り返して病勢が進む。このような本病の発生生態から、防除薬剤に要求される性質は、強い感染防止効力があって、それが本病の長い発生期間にわたりできるだけ長期間持続することで、安定した残効性が得られれば紋枯病の上位進展を阻止できるものと考えられる。

1) 感染防止効力とその持続性

1/5000 a ポットで栽培した幼穂形成期のイネ (品種: コシヒカリ) に薬剤散布し、その後供試イネを 3 グループに分け、第 1 グループは野外の自然条件下、第 2 ~ 3 グループはガラス室とそれぞれ異なる条件下に保持した。第 3 グループのイネには、薬剤処理後、2 日、4 日および 7 日目の 3 回、人工降雨処理 (各 10 mm/min) を施した。薬剤処理後、経時的に 30 日目まで、所定日数ごとにイネ茎を株元から採取して紋枯病菌を接種し、温室に保った大型試験管の中で 5 日間発病進展させた後感染割合を比較し、その結果を Fig. 2 と 3 に示した。

ペンシクロンの感染防止効力は、液剤、粉剤ともに著しく安定で、約 1 か月におよぶ長期間にわたり十分な効果を持続し、さらにこの効力の安定性は降雨処理によってもほとんど影響されず、野外とガラス室内との環境条

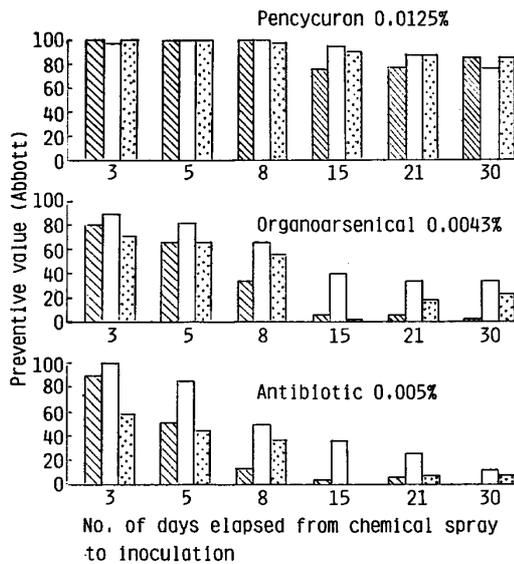


Fig. 2 Comparative persistence of preventive efficacy to sheath blight infection under different weathering condition.

▨ Open air, □ Glass house, ▤ Artificial rainfalls in glass house.

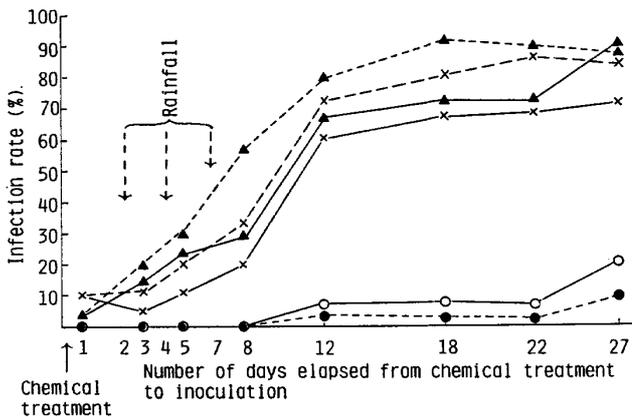


Fig. 3 Effect of rainfall on persistence of pencycuron dust in the glass-house.

Pencycuron 1.5 DP: No Rain ○—○, Rain ●—●, Organoarsenical 0.4 DP: No Rain ×—×, Rain ×—×, Antibiotic 0.3 DP: No Rain ▲—▲, Rain ▲—▲.

件の差による変動もきわめて少ないものであった。

2) 上位進展阻止効力

上位葉葉鞘への病勢進展を阻止する殺菌剤の効力として、(A)既成病斑からの菌糸で繰り返される新感染の阻止、すなわち上位葉鞘に対する予防効果と、(B)既成病斑に直接作用して菌糸の伸長を阻止する狭義の治療効果が考えられる。この二つの作用を区別して評価するため下記の試験を行なった。

Table 10 Effect of inhibition of upward development of sheath blight on rice.

Chemical	Rate a.i.	Upward development ^{a)}	
		Treat. (A) ^{b)} (%)	Treat. (B) ^{c)} (%)
Pencycuron Spray	0.0125%	0	22.9
Pencycuron Dust	0.6 kg/ha	0	4.6
Antibiotic Spray	0.005%	10.5	0
Antibiotic Dust	0.12 kg/ha	15.1	0

^{a)} Upward development %

$$= \frac{\text{new infection degree in treatment} \times 100}{\text{new infection degree in control}}$$

^{b)} Treat. (A): treatment of upper part not infested with disease.

^{c)} Treat. (B): treatment of base part infested with primary lesions.

1/5000 a ポットに栽培した穂ばらみ期のイネ (品種: コシヒカリ) の株元にあらかじめ人工接種で病斑を形成させ、(A)病斑形成部はポリエチレン膜で覆い、地上高 20 cm 以上の未感染上位葉葉鞘にのみ薬剤処理をする、(B)上位葉葉鞘を被覆して、株元の病斑形成部にのみ薬剤処理をする、の二通りの方法で施用し、数時間後、イネ株全体をプラスチック製シリンダーで覆うことにより株内湿度を高め、27~33°C に 7 日間保って病斑の上位進展を促した。薬剤処理後に起きた病斑の上位進展を調査した結果は Table 10 のとおりである。

ペンシクロンの紋枯病上位進展阻止効果は、抗生物質剤のそれとは対照的で、既成病斑に対する直接効力よりむしろ、既成病斑から発生する伸長菌糸により起きる二次感染に対する防止効力によるところが大きいものと思われる。

4. 土壌病害防除効力

1) 子苗立枯病

R. solani による各種作物の苗立枯病に対する効果を知るため、大麦培地に 10 日間培養した AG-4(IIIA) の菌株を接種した保菌土壌で、キュウリを用いて圃場試験を行なった結果を Table 11 に示した。

高密度の汚染土壌において、ペンシクロンの 0.5~1.0 g/m² 投与で高い防除効果が得られることがわかるが、表層約 10 cm の土壌と混和することが十分な効果を得るために必要と考えられた。また種子処理では、種子重

Table 11 Effect of pencycuron on the control of damping-off of cucumber caused by *R. solani*.

Chemical	Application		Emergence (%)	Damping-off ^{b)} (%)	Survivors ^{c)} (%)
	Method ^{a)}	Rate a.i. (g/m ²)			
Pencycuron	MIS	0.5	70.0	1.4	69.0
	MIS	1.0	85.7	0.8	85.0
PCNB	MIS	2.0	69.7	8.6	63.7
Pencycuron	GIE	0.5	95.0	1.1	94.0
	GIE	1.0	93.0	0.8	92.3
	GIS	1.0	52.7	0	52.7
Benomyl	GIS	1.0	32.0	7.2	29.7
Untreated	—	—	12.0	27.5	8.7

a) MIS: Row ridge treatment by dry mixing in 10 cm deep before seeding, GIE: Row ridge treatment by drenching (3 l/m²) and incorporation in 10 cm deep before seeding, GIS: Row ridge treatment by drenching (3 l/m²) soon after seeding.

b) Based on the number of diseased seedlings per total emergence.

c) Based on the number of healthy survivors per sown seeds after 30 days of seeding.

Table 12 Effect of pencycuron on the control of black scurf of potatoes by seed-tuber treatment.

Chemical	Application		Infected tubers ^{b)} (%)
	Method ^{a)}	Rate a.i.	
Pencycuron	TRB	4.5 g/dt	5.8
	TRB	9.0 g/dt	5.4
Pencycuron	TAU	0.5%	38.0
	TAU	1.0%	20.0
Antibiotic	TRB	1.5 g/dt	32.7
Untreated	—	—	59.0

a) TRB: Dry dressing, TAU: Soaking for 10 min.

b) Harvested tubers were evaluated after 84 days of storage in room of 65% relative humidity at 20°C.

1 kg に対しペンシクロン 0.5~1.5 g の粉衣で高い効果が得られる。ただし、*Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* 等による立枯れにはまったく効力をもたないので、一般的にはそれらに有効な薬剤との混用が勧められる。

2) ジャガイモ黒あざ病

本病に対する薬剤防除は、種芋消毒が一般的であるが、菌核で汚染された罹病種芋を使用した圃場試験の結果は Table 12 のとおりである。

ペンシクロンによる浸漬または粉衣処理で高い防除効果が見られたが、土壌汚染の著しい圃場では土壌処理との併用でより高い効果を期待できる。

代謝・分解および残留

非標識体ペンシクロンに加え、フェニル基、シクロペンチル基やカルボニル基の ¹⁴C 標識体、重水素標識体を用いた (1)植物体における代謝と残留、(2)土壌、光、水での分解、(3)動物における生体内運命などの研究結果から、Fig. 4 に示したようにペンシクロンの代謝、分解の経路図を推定した。

イネ茎葉では塗布処理 10 日後、¹⁴C の大部分は葉表面のエーテルリンス液から回収されたが、40 日経つと、イネ葉の表面に 57%、内部に 30% の分布となり、葉組織内に浸透していた (Fig. 1)。リンス液や有機溶媒可溶画分の主成分はペンシクロン (I) そのままであった。検出された代謝物は約 10 種類あり、それぞれシクロペンチル基、ベンジル基が脱離した (II) と (IV) のほかに、シクロペンチル基の 3 位が水酸化された (VI) およびその配糖体が同定されたが、いずれも単独で 1% を越えるものはなかった。

土壌での半減期は標識位置による差は見られず、湛水下水田土壌で 42 日 (沖積土) と 64 日 (火山灰土) であり、畑地条件では水田条件より分解が早く約 20 日であった。土壌中の分解物は尿素の結合が開裂したアミン (XVI) やそのホルミル体 (XV) が主であり、ほかに尿素骨格の置換基が脱離した (II), (III), (IV) や脱塩素体 (XXI) が同定されたが、最終的に二酸化炭素まで分解された。そして時間の経過とともに結合性残留物が増加した²³⁾。

水溶液や土壌表面に存在するペンシクロンは太陽光の

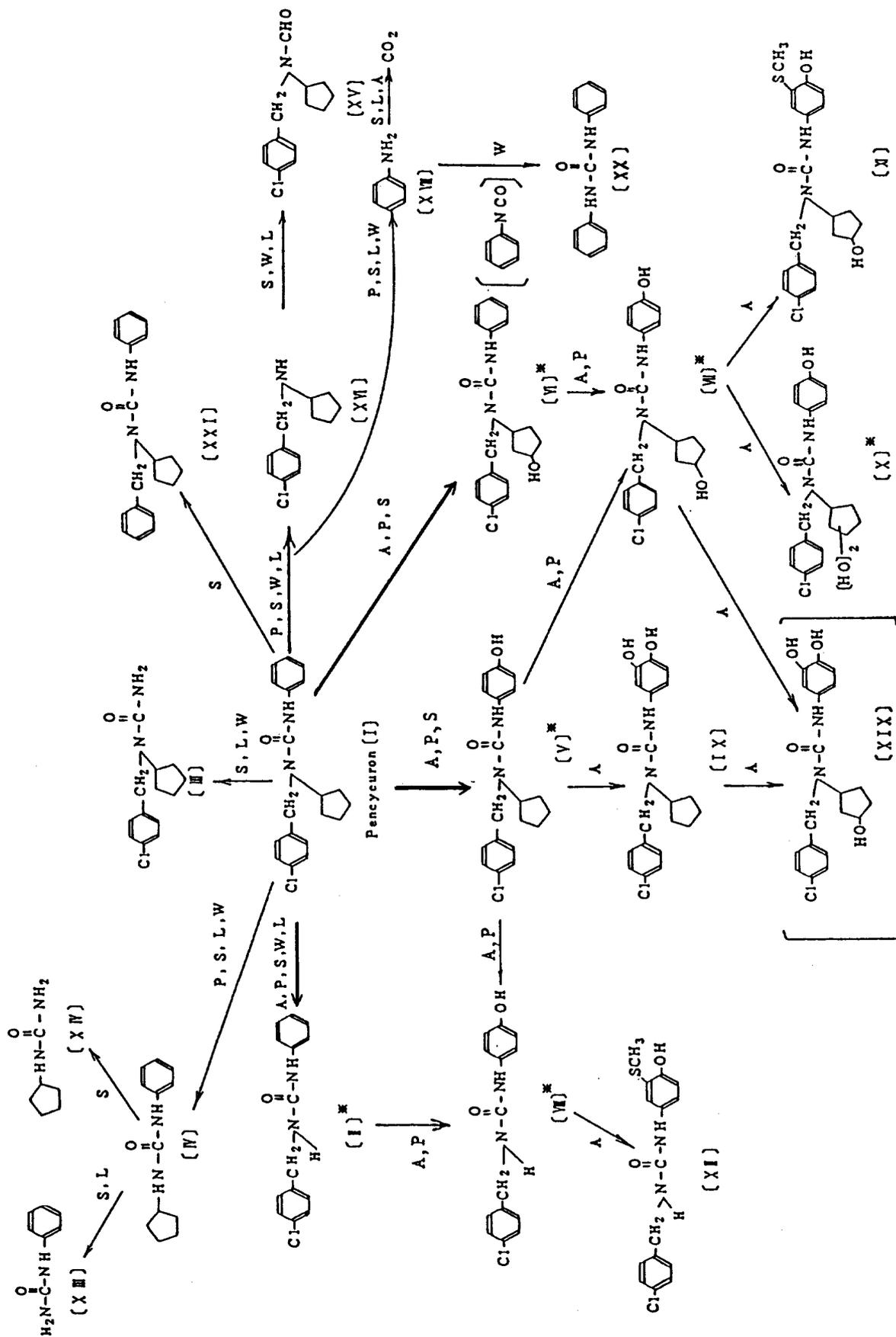


Fig. 4 Proposed degradative and metabolic pathways of pencycuron in animals, plants, soils, water and light.

A: Animals, P: Plants, S: Soils, W: Water, L: Light.

照射で速やかに分解され、水溶液では水溶性 ^{14}C と $^{14}\text{CO}_2$ 、土壌では結合 ^{14}C が徐々に増加した²⁴⁾。

ペンシクロンを動物（ラット、マウス、乳牛、ウサギ、ヤギ）に経口、腹腔内および静注投与したとき、速やかに小腸より吸収されて全身に分布するが、呼吸排泄はわずかであり、主に糞尿（糞>尿）からほぼ完全に排泄された。吸収・分布や排泄パターンは動物種間や性別による差はなく、組織中の ^{14}C は投与後3時間で最高となり、時間とともに減少して、特定臓器への蓄積は認められなかった。

親化合物のほかに、主代謝物として環の水酸化された (V), (VI), (VII), (VIII) が主に抱合体として見いだされたことから、動物の代謝経路は (1)フェニル基の水酸化、(2)シクロペンチル基の水酸化、(3)シクロペンチル基の脱離、(4)ジオール体、トリオール体の生成であり、投与方法や動物種間による代謝の大きな相違点はなかった²⁵⁻²⁷⁾。なお、主要代謝物の急性毒性はいずれも親化合物と同程度であり低かった²⁷⁾。

作物残留に関して、米では検出されるペンシクロンは籾殻上に局在し、玄米での残留量は低く、最大値は 0.08 ppm (4回散布, 22日後) であり、多くの分析例では 0.05 ppm 以下であった²⁸⁾。ペンシクロンが最大に残留するイネわら 3 kg を乳牛に7日間連続投与して経過観察をした結果、生乳よりペンシクロンは検出されず、また乳牛への影響のないことが判明した²⁹⁾。ジャガイモ、トマト、キュウリ、ナスに登録条件で使用された場合、収穫物中の残留量はいずれも検出限界 (0.01 ppm) 以下であり、テンサイ (根) では 0.2 ppm 以下にすぎなかった²⁸⁾。

おわりに

ここに、その開発試験研究の経緯と結果の概要を述べたペンシクロンは、化学的にも生物学的にも特異的な化合物で、*Rhizoctonia solani* にきわめて選択的に高い抗菌作用をもつ接触型の殺菌剤である。*R. solani* 以外の生物体にはほとんど有意の活性を示さず、動物、植物、微生物を含めて非標的生物相に対する安全性にすぐれた薬剤と考えられる^{30,31)}。

当初に記述したように、ペンシクロン発見に至る過程は、多分に偶然性に支配されたものであった。その作用機作の詳細については、なお今後の研究成果を待たなければならないが、このような構造上特異的で、生物的に高い選択活性を示す化合物の生理生化学的解析、あるいは微細構造からのアプローチ等を通して、薬物・病原菌間相互作用を解明することにより、今後の新殺菌剤創製の分

子設計に示唆を与えることができることを期待したい。

ペンシクロンの開発、上市に当たっては、社内各担当部門の長期間にわたるたゆまぬ努力があり、また西ドイツバイエル社の多大の協力のもとに世界的市場の展望も開けた。社外では日本植物防疫協会をはじめ、国公立試験研究諸機関のご指導とご支援をいただいた。関係各位に、ここに記して感謝の意を表するものであります。

引用文献

- 1) 山田保雄・斎藤純一・田村達雄・倉橋良雄 (日本特殊農薬): 特公昭 52-24104 (1977)
- 2) 山田保雄・斎藤純一・田村達雄・倉橋良雄 (日本特殊農薬): 特公昭 52-17095 (1977)
- 3) 山田保雄・斎藤純一・田村達雄・倉橋良雄 (日本特殊農薬): 特公昭 56-16144 (1981)
- 4) Y. Yamada, J. Saito, T. Tamura & Y. Kurahashi: U. S. Pat. No. 4127673 (1978)
- 5) 山田保雄・斎藤純一・田村達雄・倉橋良雄 (日本特殊農薬): 特公昭 55-50014 (1980)
- 6) 山田保雄, ほか: 未発表
- 7) 倉橋良雄, ほか: 未発表
- 8) Y. Yamada: *Jpn. Pestic. Inf.* **48**, 16 (1986)
- 9) 山田保雄: 農薬研究 **33** (1), 74 (1986)
- 10) J. Wislicenus & W. H. Hentzschel: *Liebigs Ann. Chem.* **275**, 325 (1893)
- 11) D. R. Smith, M. Maienthal & J. Tipton: *J. Org. Chem.* **17**, 294 (1952)
- 12) W. Heckel & R. Gupta: *Chem. Ber.* **89**, 1694 (1956)
- 13) 浅見柳三: 工化 **62**, 1374 (1959)
- 14) 鬼木正臣: 植物防疫 **35**, 132 (1981)
- 15) 生越 明: 北海道畑作物の土壤病害, 宇井格生監修, 刊行会, pp. 323-331, 1983
- 16) J. R. Parmeter, Jr., R. T. Sherwood & W. D. Platt: *Phytopathology* **59**, 1270 (1969)
- 17) 渡辺文吉郎・松田 明: 植物防疫 **25**, 389 (1971)
- 18) A. Ogoshi: *Rev. Plant Prot. Res.* **8**, 93 (1975)
- 19) 生越 明: 農技研報 **C30**, 1 (1976)
- 20) 上山功夫, ほか: 未発表
- 21) 黒河内伸・高瀬 巖・山口 勇・見里朝正: 農薬学会第7回大会講演要旨集, No. 208, 1982
- 22) 黒河内伸・高瀬 巖・山口 勇・見里朝正: 農薬誌 **12**, 435 (1987)
- 23) 坂元 寿・高瀬 巖・山口 勇・見里朝正: 農薬学会第8回大会講演要旨集, No. 318, 1983
- 24) 坂元 寿・高瀬 巖・山口 勇・見里朝正: 農薬学会第9回大会講演要旨集, B115, 1984
- 25) 小山寛史・小堀逸郎・星野敏明・高瀬 巖: 農薬学会第8回大会講演要旨集, p. 13, 1983
- 26) 星野敏明・小山寛史・高瀬 巖: 農薬学会第8回大会講演要旨集, p. 14, 1983
- 27) I. Ueyama, S. Kuroguchi, I. Kobori, T. Hoshino,

- Y. Ishii & I. Takase: *J. Agric. Food Chem.* **30**, 1061 (1982)
- 28) 高瀬 巖: 未発表
- 29) 新木康夫, ほか: 未発表
- 30) Y. Yamada, Y. Kurahashi, O. Katsumata & H. Sawada: Abstr. 11th ICPP Manila, p. 100, 1987
- 31) 日本特殊農薬製造(株) 技術部: 農薬誌 **13**, 163 (1988)

略歴

山田保雄

生年月日: 1931年8月14日

最終学歴: 岐阜大学農学部農学科

趣 味: 写生, 音楽鑑賞

斎藤純一

生年月日: 1933年12月10日

最終学歴: 東京大学農学部農芸化学科

趣 味: 山歩き, 音楽鑑賞

高瀬 巖

生年月日: 1937年3月8日

最終学歴: 鹿児島大学農学部農芸化学科

趣 味: テニス