

学会賞受賞論文

(業績賞)

殺線虫剤ホスチアゼートの開発

小柳 徹, 今井 修*, 吉田 潔充*

石原産業株式会社中央研究所

*石原産業株式会社バイオサイエンス営業企画本部

Development of a New Nematicide, Fosthiazate

Tohru KOYANAGI, Osamu IMAI* and Kiyomitsu YOSHIDA**

*Central Research Institute, Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.,
Nishi-shibukawa, Kusatsu, Shiga 525-0025, Japan***Biosciences Business Headquarters, Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.,
Nishi-shibukawa, Kusatsu, Shiga 525-0025, Japan****Biosciences Business Headquarters, Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd.,
Fujimi, Chiyoda-ku, Tokyo 102-0071, Japan*

はじめに

ホスチアゼート (Fosthiazate) は、石原産業(株)によって開発された有機リン酸アミド系殺線虫剤である。

植物寄生性線虫には、約 2000 種の存在が確認されており、多くの作物に被害を与えることが知られている。殺線虫剤は、くん蒸剤と、非くん蒸剤 (接触剤) とに大別され、くん蒸剤による防除が多くの場面で実施されてきたが、近年環境問題の高まりから、くん蒸剤として使用されている化合物が①オゾン層破壊②地下水汚染③土壌微生物への悪影響等の問題点を抱えていることが指摘され、一部の化合物の使用制限が提案されている。

一方、非くん蒸剤として Table 1 に示すような薬剤が、接触剤の形で使用されてきたが、哺乳動物に対する急性毒性値が高いものが多く、さらにくん蒸剤と比較して、効果の安定性で劣るという問題点を有しており、新たな薬剤の出現が求められていた。

このような状況下で、われわれは 1983 年から新しい非くん蒸型殺線虫剤の創製をめざして、生物活性の評価システムを構築し、スクリーニングを開始した。当時合成されてきた有機リン酸アミド誘導体に殺線虫活性を見出したことから、多数の類縁体を合成して構造の最適化を行ない、ホスチアゼート (IKI-1145) を選抜した。

1986 年から、国公立試験研究機関において本化合物の委託試験を実施し、1992 年 4 月に登録認可となった。海外に

おいても、既に十数ヶ国で登録が認可されるなど、世界的に開発が進められている薬剤である。

開発の経緯

弊社中央研究所では、新規生理活性物質の合成デザインに際して、ピリジン環の導入を重要テーマとして取り上げてきており、フルアジホップブチル(除草剤)、クロルフルアズロン(昆虫成長調節剤)等の薬剤が開発されてきた。

殺線虫剤の開発プロジェクトがスタートした当時、一連の *N*-ピリジルリン酸アミド誘導体 (Fig. 1, 1) を合成したところ、(2) が、最強の殺虫及び殺ダニ活性を示したが、殺線虫活性に関しては弱いものであった。

殺線虫剤のような土壌処理剤の場合、基本的な殺虫活性と共に、薬剤が土壌中で効率的に溶出、拡散するために最適の疎水性を持たねばならないと考えられる。

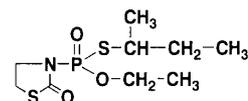
そこで、ピリジン環の持つ電子吸引的な性質は、そのまま生かし、分子の疎水性を変化させる目的で、複素環の窒素原子がリン原子に直結した (3) のタイプの化合物について広範な合成を展開した。本タイプの化合物は、一般に強い殺線虫活性を示したが、安全性、経済性等を総合的に判断した結果、1,3-チアゾリジン-2-オンが結合したホスチアゼート (4) を選抜した¹⁾。ホスチアゼートの構造と物理化学的性質とを Fig. 2 に示す。

Table 1 Conventional contact nematicides.

		LD ₅₀ (rat) mg/kg
phenamiphos		5.3
ethoprophos		62
oxamyl		5.4
carbofuran		8~14
aldicarb		0.95

Chemical name : (*RS*)-*S*-*sec*-butyl *O*-ethyl 2-oxo-1,3-thiazolidin-3-ylphosphonothioate

Structural formula :



Molecular formula : C₉H₁₈NO₃PS₂

Molecular weight : 283.35

Physical appearance : Pale yellow liquid

Boiling point : 198°C/0.5 mmHg

Vapor pressure : 5.6 × 10⁻⁴ pa (25°C)

Solubility (20°C) : 9.85g/1000 ml water

Partition coefficient : log *P* = 1.752

Fig. 2 Chemical structure and physicochemical properties of fosthiazate.

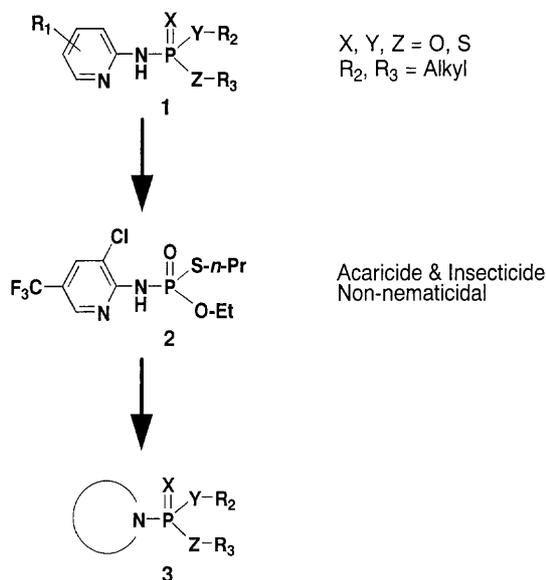


Fig. 1 Background of the invention.

化学構造と生物活性

殺虫活性に及ぼす複素環の効果をも Table 2 に示した。同じ置換基パターンで比較すると五員環化合物(5)に比べて、六員環化合物(6)は、明らかに活性が劣った。

ピリジン環の効果に似せて、窒素原子の電子密度を減少させるために導入した α 位のカルボニル (CO) 基の効果は、活性を上げる場合 (4, 5, 9, 11) と、活性が著しく低下する場合 (12, 13, 14, 15) とがあり、必ずしも一義的に説明できない。

ここで、複素環自身の酸解離定数 (p*K*_a) を求めて殺虫活性と照らし合わせてみると最大の活性を与える p*K*_a 値は、12 付近であり、それより大きくなっても小さくなっても活性は減少することがわかる (Table 3)。この現象は① p*K*_a

Table 2 Activities of *N*-[ethoxy(*sec*-butylthio)phosphinoyl]-heterocycles.

Compd.	X	Activity		
		Mite ^{a)}	Aphid ^{a)}	Nematode ^{b)}
5		A	A	A
6		C	C	C
7		D	D	C
8		D	C	C
4		A	A	A
9		C	B	A
10		B	C	D
11		A	A	A
12		C	C	D
13		D	D	D
14		D	D	D
15		D	D	D

a) A: over 90% mortality below 50 ppm

B: over 90% mortality at 50-200 ppm

C: over 90% mortality at 200-800 ppm

D: not pesticidal or below 90% mortality at 800 ppm

b) A: 0 to 25% of roots galled below 1 kg a.i./ha

B: 0 to 25% of roots galled below 1-4 kg a.i./ha

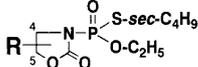
C: 0 to 25% of roots galled below 4-8 kg a.i./ha

D: not nematocidal or more than 25% of roots galled at 8 kg a.i./ha

Table 3 Relationship between pK_a of the parent heterocycles and activities of their *N*-phosphinoyl derivatives.

Heterocycle	pK_a^a	Compd.	Activity		
			Mite	Aphid	Nematode
	25.0	7	D	D	C
	11.8	5	A	A	A
	11.6	4	A	A	A
	10.5	12	C	C	D
	9.6	14	D	D	D

a) pK_a was experimentally obtained by the titration methodTable 4 Activities of 3-[ethoxy(*sec*-butylthio)phosphinoyl]-1,3-oxazolidin-2-ones.



Compd.	R	Activity		
		Mite	Aphid	Nematode
5	H	A	A	A
16	4-CH ₃	A	A	A
17	4-C ₂ H ₅	A	A	A
18	4- <i>n</i> -C ₄ H ₉	C	D	B
19	4-OCH ₃	B	B	A
20	4-CO ₂ CH ₃	C	D	D
21	5-CH ₃	A	A	A
22	5- <i>tert</i> -C ₄ H ₉	B	C	C
23	5-CH ₃ SO ₂	C	C	C
24	5-CN	C	D	C
25	4,5-(CH ₃) ₂	A	B	A

値が20付近と大きい場合、複素環自身の持つ電子吸引力は減少してホスフィノイル結合は、活性化されないし、② pK_a 値が10以下と小さすぎても、複素環の強い電子吸引力により、化合物が不安定化するためであると、解釈することができる。

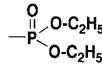
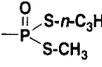
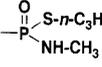
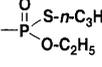
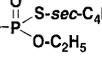
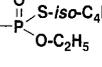
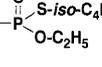
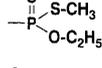
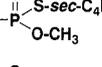
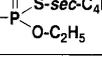
Table 4に、殺虫活性に及ぼす複素環上の置換基効果を、1,3-オキサゾリン-2-オン誘導体についてまとめた。

電子供与性のアルキル基の置換したもの(16, 17, 25)が電子吸引力性基(CH₃SO₂, CN)の置換したもの(23, 24)より活性が高くなっており、ホスフィノイル結合の活性化の程度が、微妙に活性を左右していることが推察される。

Table 5に、ホスフィノイル基の構造の、活性に及ぼす効果についてまとめたが、アルコキシ(アルキルチオ)ホスフィノイル基以外は、ほとんど活性を示さないことがわか

Table 5 Activities of 3-phosphinoyl-1,3-oxazolidin-2-ones.



Compd.	Y	Activity		
		Mite	Aphid	Nematode
26		D	D	D
27		D	D	D
28		C	C	D
29		A	A	B
5		A	A	A
30		A	A	B
31		C	C	C
32		C	C	D
34		C	C	D
35		C	C	D

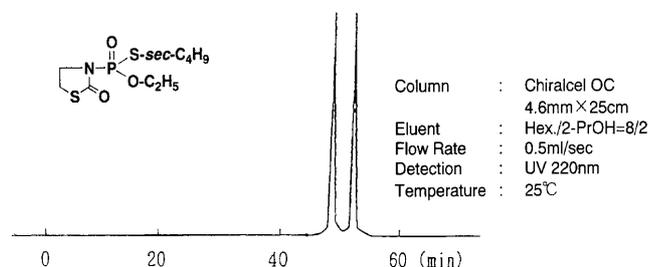


Fig. 3 Chromatograms and separation conditions for the optical isomers of fosthiazate.

る。

アルコキシとしては、エトキシがよく、アルキルチオとしては *n*-プロピルチオ, *sec*-ブチルチオ, *iso*-ブチルチオが置換した化合物が高い基本活性を示したが、線虫に対する残効性の面では、*sec*-ブチルチオがもっとも優れていた。

また、アルコキシ(アルキルチオ)ホスフィノイル基のリン原子は、不斉原子であり Fig. 3に示すように光学異性体分離 HPLC カラムを使用して分割することが出来る。各々の光学異性体の生物活性に関しては(6. 光学異性体の生物活性)で説明する。

複素環及びホスフィノイル基のそれぞれに、活性面から構造の最適化を行なった結果、Table 6に示す三化合物が選

Table 6 Acute toxicities of *N*-[ethoxy(*sec*-butylthio)-phosphinoyl]heterocycles to mice.

Compd.	X	LD ₅₀ , mg/kg
5		<30
11		39
4		127

抜されたが、1,3-オキサゾリジン-2-オン (5) や、3-メチルヒダントイン (11) 置換体は、マウスに対して高い急性毒性値を示したことから、最終的に、1,3-チアゾリジン-2-オン置換体 (4) が開発化合物として選抜された。(4) の毒性が低下した理由として、環内のチオールエステル結合が、(5) のエステル結合や (11) のイミド結合より、哺乳動物体内で、より容易に加水分解を受け無毒化されるためではないかと考えられる。

ホスチアゼートの生物活性と作用

1. 防除スペクトルと適用害虫

ホスチアゼートは、既存の有機リン剤と同様に、広汎な害虫種に対し活性を示し (Table 7)、特に線虫類やハダニ類に対する低処理薬量での高い防除活性は、本化合物の特徴的な活性と考えられた。

とりわけ、ホスチアゼートは、実使用場面で各種植物寄生線虫類に対し、他の非くん蒸型 (接触型) 殺線虫剤と同程度の防除活性を示し、国内では果菜類、根菜類、芋類、

果実類及び花卉類に寄生するネコブセンチュウ類、ネグサレセンチュウ類及びシストセンチュウ類を対象に、2~4 kg a.i./ha の薬量で使用されている。また、ホスチアゼートは、良好な浸透移行性を有し、線虫防除目的に土壤処理をした場合に、各種作物生育初期の茎葉部のハダニ類、アブラムシ類、オンシツコナジラミ及びミナミキイロアザミウマに対して良好な防除活性があり、実用化されている。

更に、ホスチアゼートは、一般に土壤害虫として分類される甲虫類、ハエ類の幼虫やネグダニ類及びナメクジ・ウスカワマイマイ等の柄眼目動物に対する活性も有し、近年問題視される既存有機リン剤に対し感受性低下した系統のロビンネダニに対しても、対感受性系統と同等の防除活性を示すことも確認された²⁾。

2. 殺線虫特性

一般に、有機リン剤やカーバメート剤の接触型殺線虫剤は、土壤水を介して線虫に接触することにより、殺線虫効果を発揮するすることが知られている³⁻⁵⁾が、ホスチアゼートもサツマイモネコブセンチュウ (*M. incognita*) の各発育ステージに対し、低薬量で様々な効果を示すことが確認され (Table 8)、これらが、総合的に作用して優れた線虫防除活性を発揮していると考察された⁶⁾。

2.1. 2期幼虫の運動性阻害

各種殺線虫剤の所定濃度水溶液中に、さつまいも根部から雌成虫を取り出し、産卵・孵化させたサツマイモネコブセンチュウの2期幼虫を放虫すると、いずれの薬剤でも同様に2期幼虫の運動性阻害は確認されたが、ホスチアゼートは、対照のフェナミホスやオキサミルに比べ、速効的に作用した⁶⁾。また、薬剤処理により運動性が阻害された2期幼虫を遠心洗浄し、蒸留水中に戻したところ、ホスチアゼートの低濃度短時間浸漬処理区 (1ppm, 3日間) では運動性

Table 7 Pesticidal spectrum of fosthiazate.

Species	Evaluation*	Method of application
<i>Meloidogyne incognita</i>	◎	Soil treatment
<i>Heterodera glycines</i>	◎	Soil treatment
<i>Pratylenchus penetrans</i>	◎	Soil treatment
<i>Incilaria bilineata</i>	△	Chinese cabbage leaf dip
<i>Acusta depecta siebolodiana</i>	△	Chinese cabbage leaf dip
<i>Tetranychus urticae</i>	△	Bean leaf dip
<i>Panonychus citri</i>	△	Orange leaf dip
<i>Rhizoglyphus robini</i>	○	Soil treatment
<i>Thrips palmi</i>	○	Eggplant leaf dip
<i>Nilaparvata lugens</i>	○	Rice seedling dip
<i>Myzus persicae</i>	○	Eggplant leaf dip
<i>Plutella xylostella</i>	○	Cabbage leaf dip
<i>Anomala cuprea</i>	○	Soil treatment
<i>Callosobruchus chinensis</i>	○	Dry film contact
<i>Hylemya antiqua</i>	△	Soil treatment
<i>Musca domestica</i>	△	Filter paper dip

*Evaluation: ◎, excellent; ○, good; △, poor; ×, failure.

Table 8 Effects of fosthiazate on the life cycle of the *Meloidogyne incognita*.

	Stage	Activity	Rank*
Effect on nematode in soil: (Contact action)	Egg	Inhibition of larval emergence from egg sac	++
	2nd stage larva	Inhibition of mobility	+++
		Nematostatic	+++
		Nematicidal	++~+++
	Female adult	Inhibition of invasion	+++
	Female adult	Inhibition of fecundity	+~++
Effect on nematode in root: (Systemic action)	2nd stage larva	Inhibition of invasion	+++
		Inhibition of development	++
	Female adult	Inhibition of fecundity	+

*Rank of effects: +++, very high; ++, high; +, low; -, none.

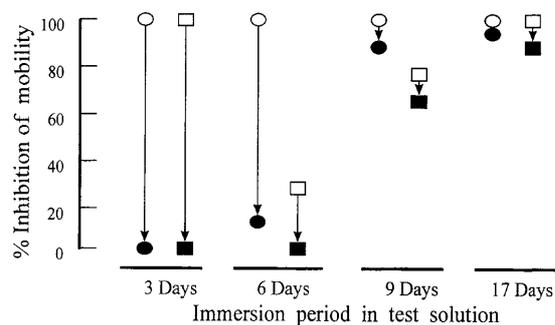


Fig. 4 Inhibition and reversion of the mobility on 2nd stage larvae of *M. incognita* by fosthiazate (1 ppm) and oxamyl (1 ppm).

○: Fosthiazate, % Inhibition of mobility of larvae in test solution. ●: Fosthiazate, % Inhibition of mobility of larvae with distilled water at 24 hr after washing the chemical out of their body. □: Oxamyl, % Inhibition of mobility of larvae in test solution. ■: Oxamyl, % Inhibition of mobility of larvae with distilled water at 24 hr after washing the chemical out of their body.

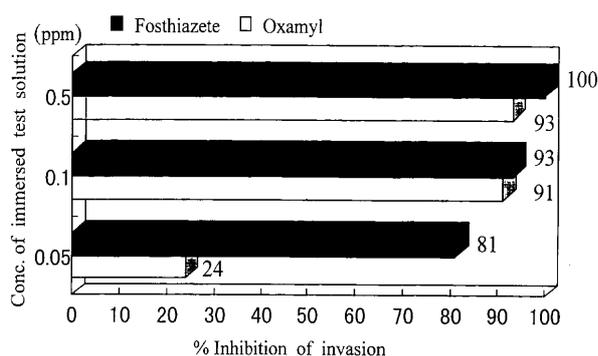


Fig. 5 Effect of fosthiazate on the invasion of 2nd stage larvae of *M. incognita* into tomato root.

Second stage larvae immersed for 24 hr in test solutions were inoculated in the soil around the tomato root system.

は回復したが、低濃度長時間浸漬処理 (1ppm, 9日間) では運動性の回復は見られなかった。この結果から、ホスチアゼートは、線虫に対する接触濃度と接触時間により、制

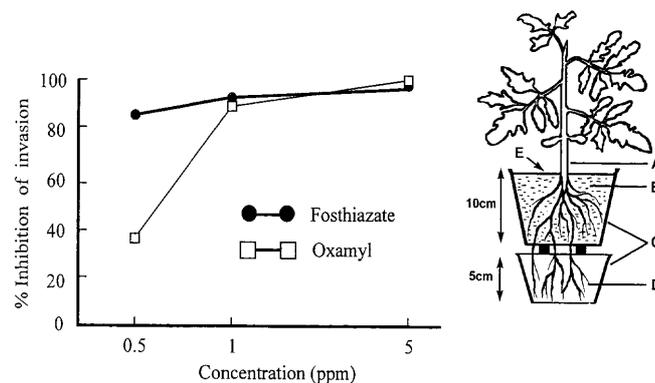


Fig. 6 Inhibition of nematodes invading into tomato roots by the systemic action of fosthiazate.

A part of roots of tomato seedling planted in a pot was dipped in each test solution of fosthiazate or oxamyl. After the application, 2nd stage larvae of *M. incognita* were inoculated to the soil and the number of nematodes was counted at 2 weeks after the inoculation. A: tomato seedling, B: vermiculite, C: plastic cup, D: test solution, E: inoculation of *M. incognita*.

線虫 (nematostatic) 作用や殺線虫 (nematicidal) 作用を示すと考察された (Fig. 4)。この土壤中に存在する線虫への直接的な作用は、土壤中の線虫密度を低下させるとともに、線虫の植物体根系への到達・侵入を阻害し、被害を軽減する上で重要と考えられる。

2.2. 2期幼虫の根部侵入阻害

上述の運動性阻害を示す最低濃度以下のホスチアゼート水溶液中 (0.05 ppm) に24時間放置した (運動性のある) サツマイモネコブセンチュウは、トマト根部への侵入性が80%以上阻害された (Fig. 5)。これは、土壤中に処理されたホスチアゼートに降雨や灌水による希釈や、更に処理時の分布の不均一等が発生した場合でも、安定した線虫防除活性を維持する上で、大きく貢献しているものと考察された。

また、ホスチアゼートの良好な浸透移行性は、実用薬量処理により、植物根系中の均一分布をもたらし、根系への侵入阻害作用を示すことも確認された (Fig. 6)。

2.3. 根系中での発育阻害（殺線虫）作用

トマト苗根系にサツマイモネコブセンチュウの2期幼虫を2日間侵入させた後に、ホスチアゼート水溶液（5 ppm）を灌注処理したところ、センチュウは全て根系内で死亡した（Table 9）。この治療効果的な作用は、D-D等のくん蒸剤にない特性の一つとして挙げる事ができ、寄生苗持ち込み等による線虫害の防除に有効と考えられた。また、本特性は、作物生育期間中の線虫防除の可能性を示唆し、果菜類の半年余に及ぶ長期の作型での後半の線虫被害防除への適用も実用化の検討がなされている。

2.4. その他の線虫防除作用

その他、Table 8に示すようなホスチアゼートの雌成虫の産卵阻止作用や2期幼虫遊出阻害作用も確認された^{6,7)}。

3. ホスチアゼートの作用機構

ホスチアゼートは、他の有機リン系殺虫剤と同様に昆虫及び線虫のアセチルコリンエステラーゼ（AChE）活性を阻害することが確認され、それによる神経刺激の伝達攪乱が、昆虫や線虫を死に至らしめると考察された⁸⁾。ただし、ホスチアゼートの *in vitro* における AChE 阻害活性が極めて低いのに対し、*in vivo* では高い AChE 阻害活性を示すことも確認された（Table 10）。この結果からイソフェンホスなどのリン酸アミドの作用メカニズム⁹⁾と同様に、ホスチアゼートが昆虫や線虫体内の酸化酵素により活性化され、高

い AChE 阻害活性を呈し、殺線虫・殺虫活性が発現するものと考えられた。

4. ホスチアゼートの土壌処理適性

一般に、ある化合物が土壌処理剤として本来の活性を発揮するには、土壌環境中で好適な特性を有することが要求される。ホスチアゼートの土壌処理剤として具備している特性に関し検討を行った。

その結果、ホスチアゼートの土壌中半減期は、沖積砂壤土で23日であり、土壌吸着性を示す Koc 値は25~100と垂直移動は比較的小さいと考えられた。従って、実用処理薬量が15 cmの深度で混和処理された土壌層では、ホスチアゼートの対線虫 LC₉₀値と考えられる土壌中有効成分濃度0.5~1 ppmが理論的に約1ヶ月間維持されると推察されたが、これは処理土壌の分析や、常に新たな線虫個体群が接種される条件下での残効性評価試験でも証明された（Fig. 7）。

また、ホスチアゼートの殺線虫効果に及ぼす土壌環境要因の影響も、極めて小さいことが明らかとなった。土質に関しては、砂土比率と殺線虫活性に比例関係の傾向が僅かに認められたものの、埴壤土でも対照剤を上回る優れた防除活性を示した（Table 11）。また、各土壌 pH（5.5~8.6）条件でも効果変動はほとんどないことが示された（Fig. 8）。更に、各土壌温度条件下でもホスチアゼートの残効性は影響を受けず、安定した長期の残効を示した（Fig. 9）。

以上のように、ホスチアゼートは、土壌処理剤としての好適な特性を具備しており、その高い基本活性とあいまって、優れた殺線虫剤としての特性を発揮するものと考えられた。

Table 9 Effect on 2nd stage larvae invading into tomato roots.

	% Inhibition of growth		
	5	1	0.5
Fosthiazate	100	17	0
Oxamyl	67	0	0

Tomato seedling were transplanted into each pot (1/5000 a) filled with uncontaminated soil, and inoculated with 2nd instar larvae of *M. incognita*. Each test solution of nematicides was applied into each pot at 2 days after the infection. At 18 days after the application, the growth stages of nematodes invading into roots of seedlings were observed by the staining method.

Table 10 Inhibition of acetylcholinesterase activity on *B. exilopilis*.

Inhibitor	I ₅₀ (M)	
	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
Fosthiazate	2.72 × 10 ⁻⁵	4.74 × 10 ⁻⁶
Fenamiphos	3.32 × 10 ⁻⁵	1.18 × 10 ⁻⁶
Oxamyl	5.43 × 10 ⁻⁷	1.18 × 10 ⁻⁴
Methomyl	1.20 × 10 ⁻⁶	2.87 × 10 ⁻³

Substrate: Acetylthiocholine.

Staining: Wright and Awan method, *Nematologica* **22**, 326 (1976).

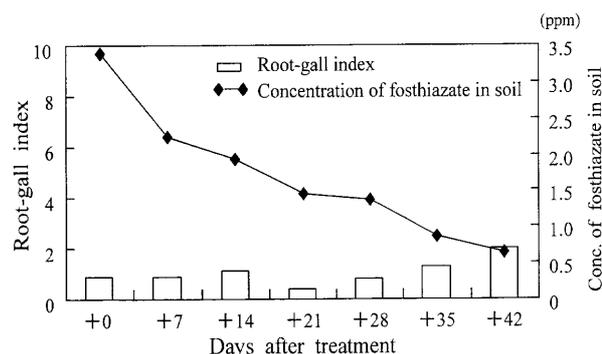


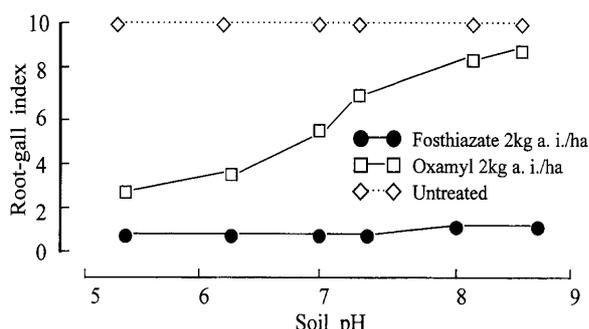
Fig. 7 Residual activity of fosthiazate on *M. incognita*.

Uncontaminated soil was put in each pot (1/5000 a) in 15 cm depth. Fosthiazate granule was applied (4 kg a.i./ha) and incorporated into the soil uniformly. The treated soil in each pot was kept in greenhouse, and infected with *M. incognita* by incorporating the contaminated soil at each days after the application. Just after the inoculation of nematodes, 4 tomato seedlings were transplanted. The root-gall index was assessed at 3 weeks after the transplanting.

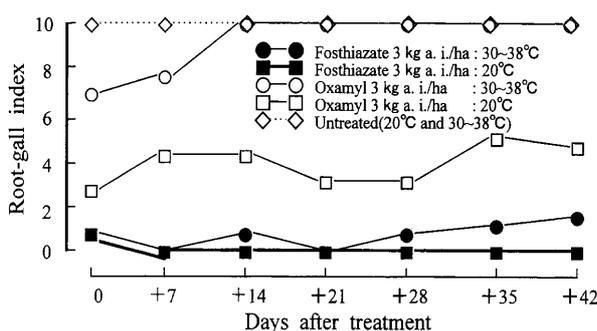
Table 11 Influence of the soil type diversity to the nematicidal effect of fosthiazate on *M. incognita*.

	Dosage (kg a.i./ha)	% Root-gall			
		Sandy loam	Loam	Silty loam	Silty clay loam
Fosthiazate	3	0	0	3	0
	2	0	0	3	10
Oxamyl	3	3	7	30	27
	2	7	13	27	43
Untreated		53	57	47	60

Each type soil was inoculated with *M. incognita* by incorporating the contaminated soil and filled in a pot (1/5000 a), and then fosthiazate granule was applied and incorporated into the soil uniformly. Just after the application, tomato seedlings were transplanted. And their root-galls were assessed at 20 days after the transplanting.

Fig. 8 Influence of the soil pH value to the control efficacies of nematocides on *M. incognita*.

The soil was prepared at each soil pH value. Each soil was inoculated with *M. incognita* by incorporating the contaminated soil and filled in a pot (1/5000 a), and then fosthiazate granule was applied and incorporated into the soil uniformly. Just after the application, tomato seedlings were transplanted. And their root-gall index was assessed at 20 days after the transplanting.

Fig. 9 Influence of soil temperature to the residual activities of nematocides against *M. incognita*.

Uncontaminated soil was filled in each pot in 15 cm depth. Nematicide granule was applied and incorporated into the soil uniformly. The treated soil was kept at two different soil temperature conditions (30–38°C and 20°C) in greenhouse. Each treated soil was inoculated with *M. incognita* by incorporating the contaminated soil. Tomato seedlings were transplanted and incubated at the same temperature condition as before the transplanting. And root-gall of tomato seedling was assessed at 3 weeks after the transplanting.

Table 12 Toxicities of the chiral isomers of fosthiazate.

	Isomer		
	(+)	(-)	(+)/(-)
AchE inhibition <i>in vitro</i>			
Housefly head ^{a)}	>10 ⁻³	>10 ⁻³	
Toxicity to pests			
Housefly adults ^{b)}	1.945	0.108	18.0
Two-spotted spider mite ^{c)}	>800	35.7	>22.4
Green peach aphid ^{d)}	53.7	13.2	4.06
Root-knot nematode ^{e)}	2.339	0.079	29.6

^{a)}I₅₀ (M), ^{b)}μg/adult, ^{c)}LC₅₀, ppm, ^{d)}LC₉₀, ppm, ^{e)}EC₅₀, ppm.

5. ホスチアゼートの浸透移行性

ホスチアゼートの優れた浸透移行性は、その高い水溶解度(9.58 g/l, 20°C)に起因し、本剤の殺線虫・殺虫特性に大きく貢献していると考察された。この浸透移行性は、根部⇒茎葉部ばかりでなく、茎葉部⇒根部の移行もあり、1000 ppm濃度水溶液のトマト苗茎葉散布処理により、サツマイモネコブセンチュウによる加害を抑制することも確認された¹⁰⁾。

6. 光学異性体の生物活性

ホスチアゼートは、化学構造中に2個の不斉原子があり、通常、4種光学異性体の等量混合物として存在する。光学異性体分離 HPLC カラムで分割されるリン原子を不斉中心とした一体と+体の生物活性は、*in vitro* のアセチルコリンエステラーゼ阻害活性は低く、異性体間に差は認められないのに対し、虫に投与すると一体が+体に比較して約20倍程度の強い活性を示した (Table 12)。

ホスチアゼートの安全性

1. 哺乳動物に対する毒性

ホスチアゼート原体及び1%粒剤の基本的な毒性情報を Table 13 に示した。ホスチアゼートは、原体の急性経口毒性が劇物区分、更には、1%粒剤が普通物区分であり、既存の接触型殺線虫剤の大半が原体毒性：毒物、製剤毒性：劇物である中で、安全性が高いことは、大きな特徴と考えら

Table 13 Toxicological properties of fosthiazate.

Item	Animal	TGAI	1% granule
Acute oral (LD ₅₀)	Mouse	♂ 104, ♀ 91	♂ ♀ > 5000 (mg/kg)
	Rat	♂ 73, ♀ 57	♂ > 5000 (mg/kg) ♀ 4000-5000 (mg/kg)
Acute dermal (LD ₅₀)	Rat	♂ 2396, ♀ 861	♂ ♀ > 2000 (mg/kg)
Acute inhalation (LC ₅₀)	Rat	♂ 0.832, ♀ 0.558	♂ ♀ > 2.63 (mg/l)
Acute delayed neurotoxicity	Hen	Negative	
Eye irritation	Rabbit	Irritant	Slight
Skin irritation	Rabbit	Non-irritant	Non-irritant
Acute toxicity to aquatic organisms of technical.			
Carp: LC ₅₀ (48 hr) 208 mg/l			
<i>Daphnia magna</i> (1st instar): LC ₅₀ (48 hr) 2.17 mg/l			

れる。

2. 有用生物, 環境生物に対する影響

原体の魚毒性は A 類相当に区分され, 実使用場面では, カイコやミツバチ等の訪花昆虫, 及び, テントウムシ等の天敵にはほとんど影響のないことが確認された¹¹⁾. 更に, 土壤微生物への悪影響はほとんどなく, 線虫捕捉菌パストリアとの併用も可能であることが確認された. また, しばしば, 土壌くん蒸型殺線虫剤等で問題視される土壌有機質の微生物分解阻害問題もないと考えられた. また, ミミズに対する高い安全性も確認されている.

おわりに

近年, 作物栽培における植物寄生性線虫とその被害の認識は高まりつつある. しかし, 未だ的確な防除がなされずに減収に繋がる事例も多く, 世界の線虫被害 (減収) は年間数十億ドルと見積られ, 21 世紀の課題とされる膨張する世界人口の食糧需給確保の上で, 他の病虫害防除とともに, 線虫防除の重要性は増大していくものと考えられる.

しかし, 一方で, 世論は 21 世紀を環境の世紀とし, 大気・水系等の環境保全が声高に叫ばれ, 病虫害防除資材の規制が強まりつつある.

この現状下, ①線虫被害実態を見極め, ②その被害程度 (土壌中の線虫密度), 作物・作型に適合した様々な防除技術を組み合わせることにより, ③被害を許容水準まで引き下げることを目的とする, 環境のバランスを維持した, 効果的な防除体系の早期確立が望まれている. ホスチアゼートは, 本稿で概説したように, その防除体系に受容され得る線虫防除特性・人畜安全性・環境安全性を有しており, その中核となり得るとも考えられる.

今後は, 作物・作型毎に適合したホスチアゼートを中心とする総合的な線虫防除技術確立を目指し, その普及により農業生産現場での線虫被害・防除の関心を高め, 世界の環境保全型農業実現と食糧増産に貢献できるよう, 更に精進していく所存である.

最後にホスチアゼートの開発上市に当たり, ご指導とご支援を賜りました日本植物防疫協会ならびに各試験機関の諸先生方に, 厚くお礼申し上げます. また, 本剤は, 著者らの研究のみならず, 石原産業の研究・開発・生産・営業関係者の多大な努力の成果として製品化できたものであり, ここに深く感謝致します.

引用文献

- 1) T. Koyanagi, H. Okada, O. Imai, T. Toki & T. Haga: *J. Pesticide Sci.* **22**, 187 (1977)
- 2) 森田雅之・吉田潔充・今井修・土岐忠昭: 関西病虫害研究会報, p. 115, 1988
- 3) A. Hough & I. J. Thomason: *J. Nematol.* **7**, 221 (1975)
- 4) R. W. Mcleod & G. T. Khair: *Ann. Appl. Biol.* **79**, 329 (1975)
- 5) 近藤栄造・石橋信義: 日本線虫研究会誌 **14**, 8 (1984)
- 6) 今井修・吉田潔充・土岐忠昭: 日本応用動物昆虫学会第 33 回大会講演要旨集, p. 240, 1990
- 7) 佐野善一: 九病虫研究会報 **41**, 88 (1995)
- 8) C. H. Opperman & S. Cang: *J. Nematol.* **22**, 481 (1990)
- 9) M. Ueji & C. Tomizawa: *J. Pesticide Sci.* **9**, 675 (1984)
- 10) 今井修・土岐忠昭・吉田潔充, 森田雅之: 日本応用動物昆虫学会第 32 回大会講演要旨集, p. 142, 1989
- 11) 橘川通洋: 農薬時報 **421**, 11 (1993)

略歴

小柳 徹

生年月日: 1948 年 1 月 15 日

最終学歴: 京都大学大学院理学研究科博士過程 (化学専攻)

趣味: 読書, 散歩

今井 修

生年月日: 1953 年 2 月 9 日

最終学歴: 滋賀県立草津高等学校

趣味: ゴルフ

吉田 潔充

生年月日: 1958 年 5 月 19 日

最終学歴: 名古屋大学農学部農学科

趣味: 料理, テレビ観賞

Society Awards 1997

(prominent achievement)

Development of a New Nematicide, Fosthiazate

INTRODUCTION

Fosthiazate (**6**) is a new nematicide developed by Ishihara Sangyo Kaisha, Ltd. (Fig. 1). From among a variety of *N*-phosphinoyl heterocycles synthesized and evaluated for nematicidal activity, fosthiazate was selected for development on the basis of efficacy, safety and economic advantage.

In 1992, fosthiazate was registered and marketed in Japan, and is widely used for the control of various nematodes.

This paper describes a short history of its discovery, biological properties and safety.

DISCOVERY OF FOSTHIAZATE

Volatile soil fumigants have been dominantly used for the control of nematodes. However, the use of this type of agents is being regulated in the near future, owing to the disadvantageous points such as ozone depletion, groundwater pollution and harmful effects to microorganisms in the soil. Thus at the present time, develop-

ment of new nematicides is an important goal.

When the screening of nematicides was started in our laboratory, a variety of *N*-pyridyl phosphoramidate derivatives (**1**) had been synthesized in search of versatile agrochemicals (Fig. 2). A 3-chloro-5-trifluoromethylpyridyl compound (**2**) showed the highest miticidal and insecticidal activity, but it exhibited only a weak nematicidal activity.

Activity of nematicides is thought to depend on the degree of the soil adsorption, which is closely related to the hydrophobicity of the chemicals. In order to find the molecule with an appropriate hydrophobicity for exhibiting high nematicidal activity, we started to synthesize another type of phosphoramidates (**3**), where an electron-deficient nitrogen atom in the heterocycle is directly bonded to phosphorus atom.

In these *N*-phosphinoyl heterocycles, pK_a of the parent heterocycle was an important factor controlling the nematicidal activity, and only the limited number of heterocycles with proper pK_a values (about 12) were favorable (Table 1).

However, oxazolidin-2-one (**4**) and 3-methylhydantoin (**5**) derivatives possessed high mammalian toxicities. Decreased toxicity of 1,3-thiazolidin-2-one (**6**) derivative (fosthiazate) may be due to the reactive thioester linkage compared with the ester (**4**) or the imide (**5**) linkage, since the carbonyl-sulfur bond of **6** may be more easily hydrolyzed in the metabolic system.

CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES

Common name: Fosthiazate

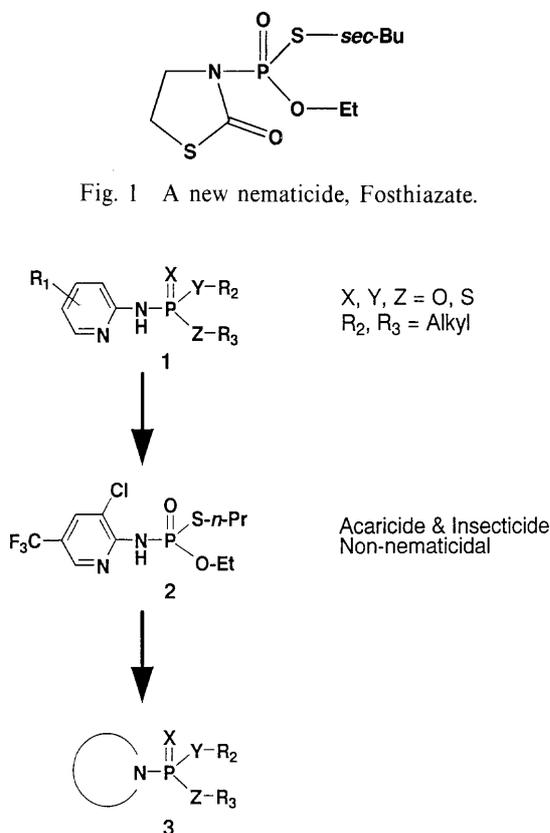
Chemical name: (*RS*)-*S*-*sec*-butyl *O*-ethyl 2-oxo-1,3-thiazolidin-3-ylphosphonothioate

Fig. 2 Background of the invention.

Table 1 Acute toxicities of *N*-[ethoxy(*sec*-butylthio)phosphinoyl]heterocycles to mice.

Compd.	X	LD ₅₀ , mg/kg
4		<30
5		39
6		127

Table 2 Toxicological properties of fosthiazate.

Item	Animal	TGAI	1% granule
Acute oral (LD ₅₀)	Mouse	♂ 104, ♀ 91	♂ ♀ >5000 (mg/kg)
	Rat	♂ 73, ♀ 57	♂ >5000 (mg/kg) ♀ 4000-5000 (mg/kg)
Acute dermal (LD ₅₀)	Rat	♂ 2396, ♀ 861	♂ ♀ >2000 (mg/kg)
Acute inhalation (LC ₅₀)	Rat	♂ 0.832, ♀ 0.558	♂ ♀ >2.63 (mg/l)
Acute delayed neurotoxicity	Hen	Negative	
Eye irritation	Rabbit	Irritant	Slight
Skin irritation	Rabbit	Non-irritant	Non-irritant
Acute toxicity to aquatic organisms of technical.			
Carp: LC ₅₀ (48 hr) 208 mg/l			
<i>Daphnia magna</i> (1st instar): LC ₅₀ (48 hr) 2.17 mg/l			

Molecular formula: C₉H₁₈NO₃PS₂

Boiling point: 198°C/0.5 mmHg

Vapor pressure: 5.6 × 10⁻⁴ pa (25°C)

Solubility (20°C): 9.85 g/1000 ml water

Partition coefficient: log *P* = 1.752

BIOLOGICAL ACTIVITY

Fosthiazate exhibits excellent activity against a wide range of plant parasitic nematodes including root knot nematodes (*e.g. Meloidogyne* spp.), cyst nematodes (*e.g. Heterodera* spp.) and root lesion nematodes (*e.g. Pratylenchus* spp.) at the rate of 2-4 kg a.i./ha.

Furthermore, as suggested by relatively low log *P* value, it is also characterized by a marked systemic action against various species of insects and mites on the foliar part. Thus, it becomes possible to eliminate above-ground pests and underground nematodes simultaneously by soil application.

The mode of action of fosthiazate is the inhibition of acetylcholinesterase in target pests. Against the second stage larvae of plant parasitic nematodes, excellent

nematicidal and nematostatic activities are shown, inhibiting the movement in the soil and the invasion into the root.

The nematicidal activity of fosthiazate is hardly influenced by the nature of the physical and the chemical character of the soil (pH, temperature, moisture content, ratio of the organic colloids *etc.*). It also possesses moderately long residual effects, preventing young plants from being attacked by nematodes until the harvest time comes.

SAFETY

The toxicological data of fosthiazate are summarized in Table 2. From the results of acute oral toxicity studies on mice and rats, fosthiazate is regarded to be a fairly less toxic agent, compared with conventional contact nematicides. It showed low toxicity to fish and beneficial insects. It did not exert bad influences on microorganisms and earthworms in the soil. Thus, fosthiazate is considered to have a minimal impact on its environment.