学会賞受賞論文

(業績賞)

殺菌剤フルスルファミドの開発

吉 成 正 親, 久保田 豊, 稲見 俊 一, 藤 田 高*

三井東圧化学株式会社総合研究所ライフサイエンス研究所農業科学研究部

*三井東圧化学株式会社精密化学品事業部農薬市場開発部

Development of a New Fungicide, Flusulfamide

Masachika YOSHINARI, Yutaka KUBOTA, Shunichi INAMI and Takashi FUJITA*

*Agricultural Science Research Department, Life Science Laboratory, Central Research Institute,
Mitsui Toatsu Chemicals, Inc., Togo, Mobara 297, Japan*

**Crop Protection Market Development Department, Fine Chemicals Division, Mitsui Toatsu Chemicals, Inc.,
Chiyoda-ku, Tokyo 100, Japan*

はじめに

フルスルファミドは三井東圧化学(株)によって開発されたスルホンアミド系土壌殺菌剤であり、変形菌の一種の *Plasmodiophora brassicae* によって引き起こされるアブラナ科野菜根こぶ病等に対して優れた防除効果を示す。

根こぶ病は亜寒帯から熱帯に至る広い温度域に定着し、世界の多くの地域と同様日本においても、現在では北海道から九州に至る広い地域で被害をもたらしている。また、本病害は土壌伝染性であり、一度発生すると急速に汚染が拡大すると共に、土壌中で棲息期間の長い耐久体(休眠孢子)を形成する病原菌によるため、なかなか消滅せず防除困難な病害の一つとなっている。

本剤の開発開始当時は、おもに PCNB (ペンタクロロントロベンゼン) が根こぶ病防除に使用されていた。しかし PCNB は、10 a 当たり 6~8 kg の非常に高い原体施用量のため、環境への影響が懸念されていた。また、菌汚染の顕著な地域での効果不足等から代替剤が望まれていた。

一方、根こぶ病が難防除病害として大きな問題となっていたにもかかわらず、当時本病害を目的とした薬剤の開発はメーカーの間であまり活発ではなかった。問題の解決は本分野の殺菌剤 PCNB を供給している当社の責務であると位置づけ、鋭意根こぶ病防除剤の開発に取り組んだ。

当社は 1975 年頃より当時前例のなかった根こぶ病剤のスクリーニング法の検討から開始し、同時に過去の合成化合物の見直しを行ない、そのなかからスルホンアミド系化合物に根こぶ病防除活性があることを発見した。これを基

本骨格とし類縁化合物の集中合成を展開し、最終的に PCNB の約 100 倍の活性を有するフルスルファミドを見出した。

フルスルファミド 0.3% 粉剤(商品名:ネビジン)は 1992 年 11 月に国内における農薬登録を取得し、翌年の上市以後、順調に売上を伸ばしてきている。

研究の経緯

1. 根こぶ病剤スクリーニング法の確立

当時、根こぶ病に対する化合物の生物評価法についてはそれまで報告された例はほとんどなく、スクリーニング法の検討から着手した。

根こぶ病菌は生きた細胞内でのみ増殖できる絶対寄生菌であるため人工培養できず、常時大量の接種源を供給しがたいこと、また発病までに長期間を要し、薬剤検定のサイクルが長いということ、さらに根こぶの形状度合いからの効果判別には熟練を要すること等の種々の問題があった。

しかし、鋭意検討を重ねた結果、コマツナが「接種源確保」および「検定植物」として最適であることを見出し、その後の薬剤検定はスムーズに流れるようになった。以下にコマツナの利点について述べる。

1) 休眠孢子で充満している大量の根こぶ(罹病根)を -20°C にて保存し、必要に応じて罹病根を解凍後、ミキサーにて磨砕し、遠心分離とろ過を繰り返して休眠孢子を得、これを土壌に均一に混和することで汚染土を常時必要量得られる。コマツナ使用の場合、単位面積当たりの罹病根の収量が多く、比較的速く罹病根が得られること、また

キャベツやハクサイ等の罹病根とは異なり根部全体がこぶ状になり、無駄な組織を除去する必要がないこと、さらに罹病根自体の組織が柔らかいため、ミキサーで容易に磨砕できること等、「接種源」としての利点がある。

2) コマツナの根こぶはキャベツやハクサイ、ブロッコリー、カリフラワー等の根こぶに比べ成熟までの栽培期間が短く、効果の判別も比較的しやすい。さらに、単位面積当たりの栽培株数を増やせるために、限られたスペースで反復数を増やせ、精度の高い試験結果が得られる。

3) 根こぶ病は、使用する根こぶ病菌の種類（レース）により作物間で発病の有無を生じることがある。コマツナは各地で分離した種々のレースの菌により発病することがわかり、そのため、各地域の他作物の根こぶ病菌に対する薬剤の効果を代表して判別することができる。

以上のように、コマツナを使用することにより、最小限の労力とスペースで、また通年温室内で、短期間に多くの化合物の防除活性を把握することが可能となった。

2. リード骨格の探索と化合物の選抜

根こぶ病防除剤を開発するにあたり、当初もう一つの課題があった。リード骨格を既存合成化合物に求めても、天然の生理活性物質に求めても、根こぶ病分野の場合、効果を示す手がかりとなる化合物はほとんどなかった。

そこで、当社で過去に合成した化合物のなかから、病原菌の種類を問わず、殺菌活性を示した化合物を選抜し、前述の根こぶ病スクリーニング系に供試した。その結果、この系で選抜された化合物群にはスルホンアミド構造をもつという共通点があることを見出した。

以後この骨格をリード骨格として類縁化合物の集中合成を開始した。1980年のことである。1982年にPCNBの10倍以上の活性という初期目標をクリアする化合物群が合成された。その後PCNBの50倍以上の活性を有する化合物を選抜したが、さらなる活性評価や各種薬害試験に加え、環境影響を含めた各種の安全性評価試験を積み重ね、最終的にPCNBの約100倍の基礎活性を示すフルスルファミド (Fig. 1) を選抜した。

名称および物理化学的性状

一般名：フルスルファミド (flusulfamide)

商品名：ネビジン粉剤

試験名：MTF-651

化学名：2', 4-Dichloro- α, α, α -trifluoro-4'-nitro-*m*-toluenesulfonanilide

分子式：C₁₃H₇Cl₂F₃N₂O₄S

分子量：415.18

外 観：淡黄色結晶性粉末

比 重：1.739 (23°C)

融 点：170~171.5°C

Fig. 1 Structure of flusulfamide.

Fig. 2 Synthetic route of benzenesulfonanilide derivatives.

蒸気圧： 5.93×10^{-9} mmHg (25°C)

水溶解度：2.9 ppm (25°C)

化学構造と防除活性

スルホンアミド系化合物をリード骨格とし、類縁化合物を合成、評価するなかで、スルホニル基およびアミノ基側共に核に置換されたフェニルの場合に限り、根こぶ病防除活性を示しやすく、他の芳香環あるいはアルキル等では活性がないかきわめて弱いことがわかった。ここでは、ベンゼンスルホン酸アニリド類の検討結果¹⁾について報告する。

ベンゼンスルホン酸アニリド類は、Fig. 2の経路に従い、塩基の存在下、ベンゼンスルホン酸クロリド類とアニリン類とを反応させることにより合成した^{2,3)}。

1. アニリン環上の置換基の影響

供試した化合物のうち、おもな化合物の物理的性質および根こぶ病防除活性を Tables 1, 2 に記載した。化合物はアニリン環上の置換基により、三グループにまとめられる。

まず最初に、ニトロ基を含有するアニリン環の効果を調べたが、アニリン環上のニトロ基の位置が非常に重要であることがわかった。すなわち、Table 1 に示したように、2位に置換基を有する4-ニトロアニリン類はほとんどが活性を示した。一般に、アニリン環上の2位にフッ素原子または塩素原子を導入したもの (6, 10, 14, 15) は、メチル基導入のもの (1, 3, 5) より活性が高く、2位にハロゲン原子を有するこれらの4-ニトロアニリン類は、ベンゼンスルホン酸側の環上の置換基が3-トリフルオロメチル基かつ4-塩素原子のもの、または3-トリフルオロメチル基のもの場合に最高活性を示した。2-クロロ-4-ニトロアニリン類の6位に1塩素原子を導入したもの (16~18) は、モノクロロニトロアニリン誘導体 (7, 9, 12) に比較し、大きな活性の差は認められなかった。

第二に、ニトロ基をアニリン環上の他の位置に導入した場合について検討した。表には示していないが、すべからく活性は消失した。

第三に、アニリン環上の4-ニトロ基を他の電子吸引基で

Table 1 Nitroanilides and their clubroot control activity; aniline derivatives substituted with nitro group at 4-position.

Compd. No.	Substituent						mp (°C)	Activity rate ^{a)} (kg a.i./ha)		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆		0.5	2	4
1	H	NO ₂	CH ₃	H	CH ₃	H	195-197.5		0	0
2	H	CN	H	H	CH ₃	H	173-175		0	0
3	H	CF ₃	H	H	CH ₃	H	131-132	0	4	4
4	Cl	H	H	CF ₃	CH ₃	H	151.5-153	0	4	4
5	H	CF ₃	Cl	H	CH ₃	H	215-219	1	4	4
6	H	CF ₃	H	H	F	H	137-138	4	4	4
7	H	H	H	H	Cl	H	162.5-163.5		0	4
8	H	NO ₂	H	H	Cl	H	179-180		1	3
9	H	H	Cl	H	Cl	H	167-167.5		4	4
10	H	CF ₃	H	H	Cl	H	120-123	4	4	4
11	H	CN	H	H	Cl	H	177-180		0	0
12	CH ₃	H	H	NO ₂	Cl	H	227-229	0	4	4
13	Cl	H	H	CF ₃	Cl	H	156-158	2	4	4
14	H	CF ₃	Cl	H	Cl	H	167-169	4	4	4
15	H	NO ₂	CH ₃	H	Cl	H	175-177	1	4	4
16	H	H	H	H	Cl	Cl	156-157		0	4
17	CH ₃	H	H	NO ₂	Cl	Cl	186-187.5	1	4	4
18	H	H	Cl	H	Cl	Cl	139-141	0	4	4
19	H	NO ₂	CH ₃	H	Cl	NO ₂	145.5-147		0	0

^{a)} Activity rate: 0, 0-25; 1, 26-50; 2, 51-70; 3, 71-90; 4, 91-100% control of disease incidence.

Table 2 Anilides and their clubroot control activity; aniline derivatives of no substitution with nitro groups.

Compd. No.	Substituent							mp (°C)	Activity rate ^{a)} (kg a.i./ha)		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₈		0.5	2	4
20	H	CF ₃	H	H	H	CF ₃	H	81-83			0
21	H	Cl	Cl	H	H	CF ₃	H	114-115	0	1	4
22	H	CF ₃	H	H	Cl	CF ₃	H	92-93	4	4	4
23	Cl	H	H	CF ₃	Cl	CF ₃	H	122-123	4	4	4
24	H	Cl	Cl	H	Cl	CF ₃	H	126-127	2	4	4
25	H	CF ₃	Cl	H	Cl	CF ₃	H	125-129	1	4	4
26	H	H	Cl	H	Cl	CF ₃	H	91-92	1	4	4
27	H	CN	H	H	Cl	CF ₃	H	94-96		0	2
28	H	CF ₃	H	H	Cl	H	CF ₃	128.5-130	0	4	4
29	H	CF ₃	H	H	H	CN	H	149-151			0
30	H	Cl	Cl	H	H	CN	H	165-166			0
31	H	CF ₃	H	H	Cl	CN	H	136.5-138	0	2	4
32	H	CF ₃	H	H	H	CO ₂ CH ₃	H	200-202			0
33	H	CF ₃	H	H	H	CO ₂ C ₂ H ₅	H	143-145		0	0
34	H	CF ₃	H	H	H	CO ₂ C ₃ H ₇	H	147-150		0	0
35	H	H	Cl	H	Cl	CO ₂ C ₂ H ₅	H	102.5-103.5			0
36	H	CF ₃	H	H	Cl	CO ₂ CH ₃	H	Oil			0
37	H	Cl	Cl	H	Cl	CO ₂ CH ₃	H	130.5-132.5			0
38	H	CF ₃	H	H	Cl	CON(CH ₃) ₂	H	149-152			0
39	H	Cl	Cl	H	Cl	CON(CH ₃) ₂	H	190-192			0

^{a)} See Table 1.

置換した場合を Table 2 に示した。一般に、アニリン環上にトリフルオロメチル基を導入すると活性は高く、とくに 4-ニトロアニリンの場合と同様に 2 位に塩素原子をあわせもつ場合に顕著であった。しかし、2 位に置換基をもたない 4-トリフルオロメチルアニリン類 (20, 21) は、活性が消失した。アニリン環上で 2-クロロ-4-トリフルオロメチル基を有するこれらの化合物の活性は、後述のベンゼンスルホン酸側の置換基に強く影響された。

アニリン側の 4 位にシアノ基を導入すると活性は低下し (29~31), アルコキシカルボニル基, ジメチルアミノカルボニル基のような電子吸引基を導入したものでは効果がなかった (35~39)。

2. ベンゼンスルホン酸環上の置換基効果

根こぶ病防除活性は、アニリン環だけでなく、ベンゼンスルホン酸環上の置換基による影響も大きい。

化合物が 2-クロロ-4-ニトロアニリン部を有する場合、ベンゼンスルホン酸環上に種々の置換基を有するものがその電子的性質や数に関係なく活性を示した。3 位にトリフルオロメチル基を有するもの (10) は活性が高いが 4 位または 6 位に塩素原子を導入しても活性に著しい変化はなかった (13, 14)。類似の現象は 2-メチル-4-ニトロアニリン部 (3~5) および 2-クロロ-4-トリフルオロメチルアニリン部 (22, 23, 25) の場合にも得られた。ベンゼンスルホン酸側の 2 または 4 位にメチル基を導入した場合、そのトリフルオロメチル基をニトロ基に変えると活性はわずかに低下した (12, 15, 17)。しかし、3-ニトロ体でメチル基のないもの (8) はその 3-トリフルオロメチル体 (10) に比べてはるかに効果が低下した。3 位に電子吸引性のシアノ基を導入すると全体として活性は低下した (2, 11, 27)。

ベンゼンスルホン酸側が高活性を示す 3-トリフルオロメチル体または 3,4-ジクロロ体でも、アニリン環の 4 位にシアノ基を導入したもの (30), アルコキシカルボニル基 (32~34, 36, 37), ジメチルアミノカルボニル基 (38, 39) のような他の電子吸引性の置換基を有する場合には活性を示さなかった。また、アニリン環に 2-クロロ基がなく 4-トリフルオロメチル基のみの場合にも活性は低下した。

これらの研究をベースに、われわれは最終的にフルスルファミド (14) を根こぶ病防除剤として選抜した。

フルスルファミドの生物活性

1. アブラナ科野菜根こぶ病に対する防除特性

フルスルファミドの根こぶ病に対する基本的活性に関しては、1988 年に京都で行なわれた第 5 回国際植物病理会議にて報告した⁴⁾。

土壌伝染性の根こぶ病を薬剤により防除する際に考慮すべき点は数多い。少なからず薬剤の効果は土壌条件により変動するからである。たとえば、根こぶ病防除の場合は土

性、土壌中の病原菌密度、病原菌のレース、pH、石灰施用、水分、有機物含量等により影響を受ける。フルスルファミドの場合、これらの条件のなかで土性、土壌中の病原菌密度においては、薬量を低下させた場合に効果変動に比較的影響が認められた。土壌中の病原菌密度の影響を Fig. 3 に、土壌の種類の影響を Fig. 4 に示した。従来の PCNB に比較すれば、きわめて低薬量で安定な効果を示した。

次に、人為的な効果変動要因として、薬剤処理後の播種または移植までの期間が考えられるが、Fig. 5 に示したようにフルスルファミドは顕著な残効を示した。

殺菌剤の場合、病原菌の薬剤耐性が話題に登場することが多い。根こぶ病菌は絶対寄生菌であり、根の内部だけで

Fig. 3 Spore density—Efficacy of flusulfamide against clubroot.

Soil type: clay loam (Chigasaki soil). Tested plants: komatsuna plants (non-heading mustard group of crucifers). Each percentages of diseased plants in untreated pots: 10⁴ and 10⁵–10⁷ spore densities/ml dry soil, 63.5 and 100%, respectively.

Fig. 4 Soil type—Efficacy of flusulfamide against clubroot. Each soil was inoculated with 10⁶ spores/ml dry soil. Tested plants: komatsuna plants. The percentages of diseased plants in untreated pots were 100% or near 100% in all kinds of soils.

Fig. 5 Residual efficacy of flusulfamide against clubroot disease.

Soil: humic volcanic ash soil. Tested plants: komatsuna plants. Inoculation: 5×10^6 spores/ml dry soil. Application method: soil incorporation after inoculation. Precipitation: 20 ml/week, once a week after chemical application. The percentages of diseased plants in untreated pots were 100% or near 100% in all pot trials. Each protective value was calculated by disease severity based on Williams' method.⁵⁾

Fig. 6 Possibility of chemical tolerance to flusulfamide in the clubroot pathogens selected by successive application of flusulfamide.

Soil type: sandy soil. Tested plant: komatsuna plants. Selection method: Each selected inoculum was isolated from clubbed roots through successive pot trials with flusulfamide (0.3% dust) incorporation at 0.15–0.075 kg a.i./ha each time. Inoculation: 10^6 spores/ml dry soil each time. Application: 0.6 kg a.i./ha after inoculation each time. The percentages of diseased plants in untreated pots were 100% or near 100% in all pot trials. Protective value: see Fig. 5.

Table 3 Field trial of flusulfamide (0.3% dust) against clubroot in Chinese cabbage.

Chemical	Dosage (kg a.i./ha)	Diseased plant (%)	Disease severity
Flusulfamide (0.3% dust)	0.6	18.6	5.9
	0.9	7.0	3.5
PCNB (20% dust)	40	50.7	18.9
	80	45.5	13.1
Untreated	—	72.8	29.4

Soil type: loam (humic volcanic ash soil). Place: Tsumagoi, Gunma Pref. Application method: soil incorporation.

増殖し、浸透性のない本剤にとっては接触機会が少なく、耐性菌出現の可能性は低いと考えられる。しかし、土壌中での淘汰の可能性も残るため、本剤のポット試験による耐性出現の有無を検討した。Fig. 6に示したように、20回の

Table 4 Field trial of flusulfamide (0.3% dust) against clubroot in turnip.

Chemical	Dosage (kg a.i./ha)	Disease severity	Fresh weight of roots ^{a)}
Flusulfamide (0.3% dust)	0.9	12.5	51.7
PCNB (20% dust)	60	21.9	26.1
Untreated	—	100	0.0 ^{b)}

^{a)} Marketable roots (g/stock). ^{b)} All unmarketable.

Soil type: clay loam. Place: Chigasaki, Kanagawa Pref. Application method: soil incorporation.

Table 5 Antimicrobial activity of flusulfamide against other plant pathogens *in vitro*.

Fungi and Actinomycetes	Concentration (ppm)				
	100	20	10	2	0.4
<i>Pyricularia oryzae</i>	77	34 ^{a)}	—	—	—
<i>Botrytis cinerea</i>	92	92	91	84	48
<i>Alternaria mali</i>	79	81	66	37	22
<i>Phytophthora infestans</i>	75	10	—	—	—
<i>Pythium debaryanum</i>	79	68	—	—	—
<i>Pythium aphanidermatum</i>	94	68	91	84	67
<i>Pythium paroeandrum</i>	78	67	—	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	69	67	57	44	21
f. sp. <i>cucumerinum</i>	—	—	—	—	—
<i>Fusarium oxysporum</i>	69	61	70	61	44
f. sp. <i>lycopersici</i>	—	—	—	—	—
<i>Rhizoctonia solani</i> 3A	57	70	43	22	10
<i>Pellicularia sasakii</i>	80	44	32	11	10
<i>Verticillium albo-atrum</i>	38	—	—	—	—
<i>Aphanomyces cochlioides</i>	100	—	—	—	—
<i>Streptomyces scabies</i>	100	—	100	100	20

Bacteria	Concentration (ppm)				
	100	50	10	5	1
<i>Corynebacterium michiganense</i>	0 ^{b)}	0	0	0	1
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	0	2	3	3	3
<i>Erwinia carotovora</i>	2	3	3	3	3
<i>Pseudomonas solanacearum</i>	3	3	3	3	3
<i>Xanthomonas campestris</i>	3	3	3	3	3

^{a)} Figures indicate percentages of mycelial growth inhibition.

^{b)} Growth evaluation: 0 (nil), 1 (slight), 2 (moderate), 3 (equal growth to untreated).

淘汰の結果からは、本剤に対する根こぶ病菌の耐性獲得の可能性は低いものと考えられた。

以上ポット試験での効果について述べてきたが、圃場においても PCNB に比較し、低薬量で安定な効果を示した (Tables 3, 4)。

2. 根こぶ病菌に対する作用機作

根こぶ病菌の生活環は土壌中、寄主植物の根毛、根部皮

Table 6 Toxicological properties of flusulfamide.

Item	Animal	Result (LD ₅₀ , NOEL)
Acute oral	Rats	♂ 180, ♀ 132 (mg/kg)
	Mice	♂ 245, ♀ 254 (mg/kg)
dermal	Rats	♂ ♀ >2000 (mg/kg)
inhalation	Rats	♂ ♀ 470 (mg/m ³)
Dermal irritation	Rabbits	No irritant
Eye irritation	Rabbits	Slightly irritant
Dermal sensitization	Guinea pigs	Negative
Chronic gavage	Rats	♂ 0.104, ♀ 0.132 (mg/kg/day)
	Mice	♂ 1.999, ♀ 1.985 (mg/kg/day)
	Dogs	♂ 0.246, ♀ 0.260 (mg/kg/day)
	Monkeys	♂ ♀ 1.5 (mg/kg/day)
Carcinogenicity gavage	Rats and mice	No carcinogenic
Reproduction gavage	Rats	No effect
Teratology oral	Rats and rabbits	No effect
Mutagenicity		
DNA repair test (Rec-assay)		Negative
Gene mutation (Ames test)		Negative
Chromosome aberration test (<i>in vitro</i>)		Negative

層細胞内の三つに大別される。フルスルファミドはこのなかで、土壤中の休眠孢子自体に強く作用し、最初の段階である根毛感染（第1次感染）を強く阻害することが確認されている⁶⁾。

3. 他の植物病原微生物に対する活性

寒天平板希釈法による抗菌活性について Table 5 に示した。フルスルファミドは他の土壤伝染性の *Streptomyces scabies*, *Corynebacterium michiganense*, *Aphanomyces cohlloides*, *Pythium aphanidermatum* にも活性を示し、これらによる病害に対する防除剤の可能性もある。

安 全 性

フルスルファミドの安全性に関しては、1993 年の農業時報⁷⁾で報告しており、ここでは概要について報告する。

1. 人畜毒性

フルスルファミド原体の各種実験動物に対する毒性試験の結果の要約を Table 6 に示した。原体は劇物であるが、0.3% 粉剤は、普通物である。眼に対しては若干刺激性があるものの、慢性毒性、発癌性、繁殖性、催奇形性、変異原性、一般薬理試験等から、毒性的に問題はなかった。

2. 有用生物等に対する影響

原体の魚類に対する毒性はコイ、ニジマスにおいて強く C ランクに分類され、またウズラの急性経口毒性の LD₅₀ 値が 66 mg/kg で比較的強かった。

他の生物に対する影響として、ミジンコに対する毒性は弱く、蚤、ミツバチ、ミミズに対しては影響はなかった。

さらに、フルスルファミド 0.3% 粉剤の実用濃度における連用試験の結果から、土壤中の糸状菌、放線菌、細菌、色素耐性細菌、耐熱細菌、根粒菌の各微生物数に対する本剤

の影響は認められなかった⁸⁾。

3. 残留性および環境中での挙動

フルスルファミドの登録保留基準は野菜 0.1 ppm と設定されているが、作物残留試験の結果、残留性はほとんどないことが確認されている。

また、土性の異なる数種の試験土壌を用いた畑状態の圃場および容器内の土壤残留試験での半減期は、26～196 日の範囲であった。

環境中での挙動を標識位置の異なる 2 種の ¹⁴C-フルスルファミドを用い試験した結果、植物栽培用人工光による土壤表面光分解での半減期は 1 日であり、水中光分解の半減期は 1.5 時間と短かった。また、土壤中での分解性は、滅菌土壌ではほぼ完全に抑えられることから、土壤微生物の関与が大きいと考えられた。土壤カラムを用いた試験から、本剤の移行性はほとんどないことが確認され、また、土壌への大量施用においては大気への揮散性がないという結果が得られている。

以上の結果、本剤は土壤処理剤として使用されることから、安全性については問題ないと考えられる。

お わ り に

日本での根こぶ病防除剤の市場は、製品ベースで年間 4500～5000 トンといわれている。ネビジン粉剤は上市後平成 5 年農業年度(初年度)1300 トン、平成 6 年度 2700 トン、平成 7 年度 3700 トンと順調に売上を伸ばしてきている。

一方海外での圃場試験の結果においても、フルスルファミドは根こぶ病に対して、もっとも活性の強い化合物であることが実証されてきている。現在、根こぶ病を対象に韓国、台湾、インドネシア、タイ等の東南アジアおよび英国、

仏国、東欧にて展開中であり、良好な結果を得ている。

キャベツ等が集約栽培されるようになってから久しい。アブラナ科野菜を連作すると、5～6年目から根こぶ病が目につくようになる。集約栽培をせざるを得ない日本で、安定的に生鮮野菜を供給するためには、適正な農薬使用に頼らざるを得ないのが現状である。

フルスルファミドがその一翼を担えるよう、開発にあたっては安全性の面で十分過ぎるほどの検討を加えてきたつもりである。われわれは、さらに次の化合物を求め努力を重ねているが、世の中に受け入れられる、より安全な化合物を目指し、開発を進めていく所存である。

最後に、フルスルファミドの開発上市にあたり、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対して、この場をお借りして深くお礼申し上げます。

引用文献

- 1) H. Shimotori, H. Yanagida, Y. Enomoto, K. Igarashi, M. Yoshinari & M. Umemoto : *J. Pesticide Sci.* **21**, 31 (1996)
- 2) T. Yoshimoto, M. Umemoto, K. Igarashi, U. Kubota, H. Yamazaki, Y. Enomoto & H. Yanagida (Mitsui Toatsu Chemicals Inc.) : Jpn. Tokkyo Koho JP 6-27113 (1994)
- 3) T. Yoshimoto, M. Umemoto, K. Igarashi, U. Kubota, H. Yamazaki, Y. Enomoto & H. Yanagida (Mitsui Toatsu

Chemicals Inc.) : Jpn. Tokkyo Koho JP 6-55707 (1994)

- 4) S. Inami, T. Kijima, H. Yanagida & Y. Enomoto : Proc. ; 5th Int. Congr. Plant Pathol., Kyoto, p. 326, 1988
- 5) P. H. Williams : *Phytopathology* **56**, 624 (1966)
- 6) S. Tanaka, K. Katsumoto, Y. Nishi & H. Yanagida : Proc. ; 5th Int. Congr. Plant Pathol., Kyoto, p. 326, 1988
- 7) 小川三郎 : 農薬時報 (臨時増刊) **421**号, 17 (1993)
- 8) 稲見俊一・宮崎清男・下鳥 均・柳田弘久 : 日本農薬学会第18回大会講演要旨集, 東京, p. 122, 1993

Society Awards 1997

(on prominent achievement)

Development of a New Fungicide, Flusulfamide

INTRODUCTION

Flusulfamide belongs to a new family of the soil fungicide, and was discovered by Mitsui Toatsu Chemicals, Inc. in 1986.

Flusulfamide shows an excellent efficacy against the clubroot disease of Brassicaceae crops caused by *Plasmodiophora brassicae*, and shows high antimicrobial activities against some other plant pathogens.

Recently, as Brassicaceae crops are more widely cultivated than before, this disease occurs all over the world from subfrigid zones (Canada, Norway *etc.*) to the tropics (Mexico, Indonesia *etc.*).

In Japan, this disease occurs widely. Especially in centralized producing areas with successive cropping, the destructive injury can be seen.

The outstanding properties of Flusulfamide enables growers to get a successful measure in controlling this disease.

DISCOVERY OF FLUSULFAMIDE

P. brassicae is an obligate and obtains its nutrients by penetrating the living plant root. Therefore it cannot be cultured in a medium. Accordingly it is difficult to evaluate chemicals for controlling clubroot disease. And so we had first of all to find out evaluation method. We developed a new screening method for evaluation against the disease. The method is the one using komatsuna plant (*Brassica campestris* L.) as the crop for both examination and the source of inoculum.

A large number of compounds synthesized in the past were examined by this method. Consequently, we discovered strong controlling activity in benzenesulfonanilide derivatives which had been synthesized with a view to search herbicide.

Thereafter, we concentrated on optimization of both the kind and the position of substituents on both benzenesulfonyl moiety and aniline moiety.¹⁾ The struc-

Fig. 1 Structure of flusulfamide.

tural requirements of compound to show the activity against clubroot disease were summarized as follows: 1) The position of the nitro group substituent at the aniline ring was very important, namely most of the 4-nitroaniline derivatives with a substituent at 2-position had efficacy. 2) The introduction of the nitro group into another position of the aniline ring, however, resulted in a loss of the activity. 3) Generally, the introduction of the fluorine or chlorine atom at the 2-position of the aniline ring possessed a higher activity, and the 4-nitroaniline derivatives with halogen atoms at 2-position had the highest activity when the substituents of benzenesulfonyl ring were 3-trifluoromethyl group and 4-chlorine atom, or 3-trifluoromethyl group.

Considering these results and the various safety factors, flusulfamide was finally selected as the most appropriate compound (Fig. 1).

CHEMICAL AND PHYSICAL PROPERTIES

Common name: Flusulfamide

Commercial name: Nebijin®

Experimental name: MTF-651

Chemical name: 2',4-Dichloro- α, α, α -trifluoro-4'-nitro-*m*-toluenesulfonanilide

Molecular formula: $C_{13}H_7Cl_2F_3N_2O_4S$

Molecular weight: 415.18

Appearance: White yellowish crystal powder

Specific gravity: 1.739 (23°C)

Melting point: 170.0–171.5°C

Vapour pressure: 5.93×10^{-9} mmHg (25°C)

Solubility (25°C): 2.9 mg/1000 ml distilled water

BIOLOGICAL ACTIVITIES

Biological activities of flusulfamide were almost reported at 5th International Congress of Plant Pathology in Kyoto in 1988.²⁾

Soil incorporation treatments by broadcast of flusulfamide 0.3% dust gave excellent protection against clubroot disease, superior to PCNB 20% dust, in field trial (Table 1). And the fundamental efficacy of flusulfamide was more steady at 0.6 kg a.i./ha than PCNB at 40 kg a.i./ha in pot trials which were made with four kinds of soils (sandy soil, humic volcanic ash soil, clay loam, clay heavy soil).

And the same was the result of pot trials which were made with four grades (10^4 – 10^7 resting spores/ml dry soil) of inoculum density of *P. brassicae*. Furthermore, flusulfamide was superior to PCNB by far on residual efficacy. In addition it was suggested by successive

application pot trials of flusulfamide that there was no possibility of the acquisition of chemical tolerance to flusulfamide in clubroot pathogens.

On the other hand, it was suggested by Antimicrobial activity that flusulfamide had a potential to control some other soil-borne plant disease caused by *Pythium aphanidermatum*, *Aphanomyces cochlioides*, *Streptomyces scabies*, *Corynebacterium michiganense*.

On the other hand, flusulfamide was well tolerated to a wide range of crops, such as Chinese cabbage, cabbage, cauliflower, broccoli, turnip, nozawana, sugar beet, barley, wheat, rye, tomato, egg plant, cucumber, spinach, rice plant, soybean, within the 600 kg/ha soil incorporation of 0.3% dust formulation which was twice as much as practical dose.

MODE OF ACTION

Flusulfamide strongly inhibits the germination of resting spores, the earliest stage of life cycle of clubroot pathogen. Consequently root hair infections by the pathogen result in failure.³⁾

SAFETY

Toxicity of flusulfamide on mammal are summarized in Table 2. From the result of acute toxicity studies using rats and mice, flusulfamide was considered to be

Table 1 Field trial of flusulfamide (0.3% dust) against clubroot in Chinese cabbage.

Chemical	Dosage (kg a.i./ha)	Diseased plant (%)	Disease severity
Flusulfamide	0.6	18.6	5.9
(0.3% dust)	0.9	7.0	3.5
PCNB	40	50.7	18.9
(20% dust)	80	45.5	13.1
Untreated	—	72.8	29.4

Soil type: loam (humic volcanic ash soil). Place: Tsumagoi, Gunma Pref. Application method: soil incorporation.

Table 2 Toxicological properties of flusulfamide.

Item	Animal	Result (LD ₅₀)
Acute oral	Rats	♂ 180, ♀ 132 (mg/kg)
	Mice	♂ 245, ♀ 254 (mg/kg)
dermal	Rats	♂ ♀ > 2000 (mg/kg)
inhalation	Rats	♂ ♀ 470 (mg/m ³)
Skin irritation	Rabbits	No irritant
Eye irritation	Rabbits	Slightly irritant
Skin sensitization	Guinea pigs	Negative
Reproduction	Rats	No effect
Teratology	Rats, rabbits	No effect
Carcinogenicity	Rats, mice	No carcinogenic
Mutagenicity	<i>In vitro</i>	Negative

relatively high toxic compound. But flusulfamide did not show mutagenic, teratogenic, reproductive and oncogenic effects.

The metabolism studies were carried out with two types of ^{14}C -labeled flusulfamide. The translocation tests from soil to plant were studied, using cabbage and turnip, and there was almost no translocation. The residues in various kinds of soil of flusulfamide were 26–196 days on half life. In rats, oral single administered flusulfamide was absorbed rapidly, and was excreted more than 90% into feces within 5 days. The accumulation of flusulfamide in a 7-days oral repeated dose to rats, was almost no observed.

Flusulfamide is used as soil treatment fungicide. Thus, flusulfamide is considered to be safe, and has a minimal impact on the environment.

REFERENCES

- 1) H. Shimotori, H. Yanagida, Y. Enomoto, K. Igarashi, M. Yoshinari & M. Umemoto : *J. Pesticide Sci.* **21**, 31 (1996)
- 2) S. Inami, T. Kijima, H. Yanagida & Y. Enomoto : Proc. ; 5th Int. Congr. Plant Pathol., Kyoto, p. 326, 1988
- 3) S. Tanaka, K. Katsumoto, Y. Nishi & H. Yanagida : Proc. ; 5th Int. Congr. Plant Pathol., Kyoto, p. 326, 1988