

学位論文全文に代わる要約 Extended Summary in Lieu of Dissertation

氏名： 木村 幸
Name

学位論文題目： 新規殺菌剤フルチアニルの創製と生物学的、形態学および毒性学的研究
Title of Dissertation

学位論文要約：
Dissertation Summary

緒言

うどんこ病菌は幅広い作物種に甚大な被害を与える重要病害の一つであり、FRAC (Fungicide resistance action committee) の病原菌リスクリストにおいて耐性菌発生リスクが高い病原菌に分類されている。現在、農業現場で使用されている殺菌剤においてキュウリうどんこ病菌、麦類うどんこ病菌といったうどんこ病菌は薬剤耐性菌が数多く報告されている。同じ系統の剤を使い続けることで耐性菌個体が選抜され耐性菌集団が広がるとされているが、異なる系統の薬剤を組み合わせたローテーション防除や混合剤の使用は特定の剤による病原菌の淘汰圧を下げ、耐性菌発達の予防および耐性菌マネジメントに有効とされている。そのため常に新規作用機構を有する殺菌剤が求められている。フルチアニル (Fig. 1) はこのような要望に応えるべく、OATアグリオ株式会社が創製・開発したシアノメチレンチアゾリジン環を有する既存化合物にはないユニークな構造のうどんこ病専用の殺菌剤である。

本剤は各種うどんこ病菌に対してきわめて低薬量で達効を示すことから、本剤の作用特性を明らかにするとともに、本剤の作用機構を明らかにすべく、うどんこ病菌の形態に及ぼす影響について詳細な解析を行った。さらに、フルチアニルのうどんこ病菌の遺伝子発現に対する影響についても検討した。また、本剤が登録・上市されるために必要とされる各種の安全性試験を実施し、フルチアニルの毒性学的諸性質を明らかにした。

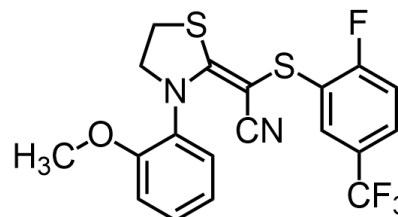


Fig. 1. Chemical structure of flutianil

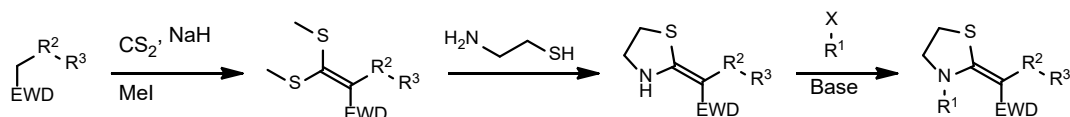
第1章 フルチアニルの創製

殺菌剤の創製に関して、社内化合物ライブラリー並びにユニークな骨格を持つ外部の化合物ライブラリーを導入し、ランダムスクリーニング法により新規リード化合物の探索を行った。その結果、チアゾリジン骨格を有する化合物がキュウリうどんこ病菌に対して比較的高い活性を示した。既存の殺菌剤にはない骨格であり新規作用機構を有する可能性が期待されたため、この化合物をリード化合物として合成展開を行った。

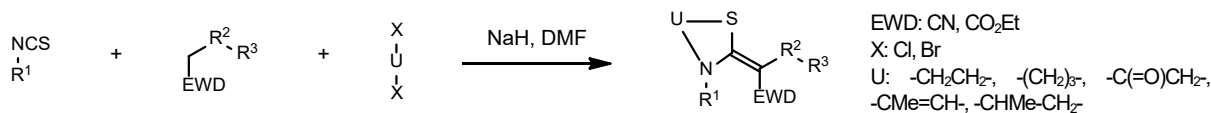
一般的合成方法をFig. 2に示した。窒素原子上の置換基R¹がアルキル基、ベンジル基の場合はスキーム1に従って合成した。一方、対応するイソチオシアナート化合物が容易に入手、または合成できるものは、スキーム2に従って合成した。

初期の合成展開では、まず殺菌活性の発現に必須となる構造の確認を行った。Fig. 3に示したチアゾリジン骨格を有するリード化合物をA部～E部の5つのパーツに分けて、様々な化合物を合成した。キュウリうどんこ病菌に対する殺菌活性を指標にしたところ、A部はフェニルまたはシクロヘキシルの場合に高い活性を示し、B部はフェニルのみ、C部はエチレン (チアゾリジン環)、D部はシアノ基、E部はチオエーテルの場合にそれぞれ高い活性を示した。以上より、リード化合物の構造そのものが最適であることが示された。

(様式 5) (Style5)



Scheme 1



Scheme 2

Fig. 2. Synthesis pathways of flutianil derivatives.

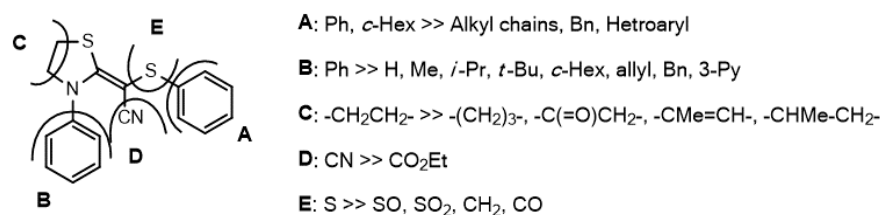


Fig. 3. Structure-activity relationship design

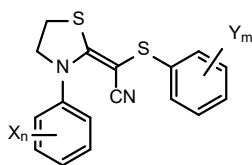
次に、*N*-phenyl (X_n , Table 1) 部分の置換パターンについて、キュウリうどんこ病菌に対する活性を指標に検討した。その結果、2位にクロロ基を導入した場合にのみ活性を示した (1a, EC₅₀ = 19.1 mg/L)。*S*-Phenyl (Y_m , Table 2) 部位の置換パターンについては、2,5位にクロロ基をそれぞれ導入した場合、キュウリうどんこ病菌に対する活性が大幅に向上した (EC₅₀ = 0.1 mg/L)。*S*-Phenyl部位に関しては、モノ置換体ではメタ位やパラ位よりもオルト位にクロロ基を導入した化合物2aに高い活性が認められ、さらに5位にクロロ基を導入した化合物2fに大幅な活性の上昇が認められた。以上より、 X_n は2位の置換パターンが、 Y_m は2,5位の置換パターンがキュウリうどんこ病菌に対する活性を向上させることが示された (2f)。続いて、最適な置換基の検討を行った。 X_n は2位、 Y_m は2,5-位に固定し、各種置換基を導入し、キュウリうどんこ病菌またはコムギうどんこ病菌に対する活性を検討した。その結果、 X_n = 2-OMe, Y_m = 2-F, 5-CF₃がキュウリうどんこ病菌またはコムギうどんこ病菌に対して最も高い活性を示した (4e, Table 3)。この構造を持つ化合物に関して、各種圃場試験などのさらなる検討を重ね、最終的にフルチアニル(*Z*)-2-[2-fluoro-5-(trifluoromethyl)phenylthio]-2-[3-(2-methoxyphenyl)-1,3-thiazolidin-2-ylidene]acetonitrileの開発に至った。

Table 1. *N*-Phenyl moiety modified compounds and their antifungal activity against *P. xanthii*.

Compound No.	X_n	mp (°C)	Activity EC ₅₀ (mg/L) <i>P. xanthii</i>
1a	2-Cl	118-110	19.1
1b	3-Cl	118-120	>200
1c	4-Cl	146-147	>200
1d	2,3-diCl	182-184	>200
1e	2,4-diCl	154-156	>200
1f	2,5-diCl	125-126	>200
1g	2,6-diCl	192-194	>200
1h	2,4-diCl	163-165	>200
1i	3,5-diCl	147-149	>200
1j	2,4,6-triCl	203-205	>200

Table 2. *S*-Phenyl moiety modified compounds and their antifungal activity against *P. xanthii*.

Compound No.	Y_m	mp (°C)	Activity EC ₅₀ (mg/L) <i>P. xanthii</i>
2a	2-Cl	96-99	6.6
2b	3-Cl	108-110	14.4
2c	4-Cl	105-107	>200
2d	2,3-diCl	172-175	70.0
2e	2,4-diCl	172-173	>200
2f	2,5-diCl	192-193	0.5
2g	2,6-diCl	182-183	>200
2h	3,4-diCl	amorphous	>200
2i	3,5-diCl	149-150	31.1

Table 3. Fungicidal activity of cyano-methylene thiazolidine derivatives against *Podosphaera xanthii* and *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*.

Compound No.	X _n	Y _m	mp (°C)	Activity EC ₅₀ (mg/L)	
				<i>P. xanthii</i>	<i>B. graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>
lead compound	H	H	157-158	35.4	>200
3a	H	2,5-diF	149-150	>200	>200
3b	H	2,5-diBr	192-195	>200	>200
3c	H	2,5-diMe	148-150	9.5	140.9
3d	H	2-Me-5-Cl	168-169	1.8	>200
3e	H	2-Cl-5-Me	179-180	20.2	>200
3f	H	2-Cl-5-OMe	148-149	>200	>200
3g	H	2,5-diOMe	134-136	39.0	167.5
3h	H	2-Me-5-F	150-151	230.7	>200
3i	H	2-F-5-Me	149-150	11.3	>200
3j	H	2-OMe-5-Me	175-177	>200	>200
3k	H	2-OMe-5-Cl	178-180	>200	>200
3l	H	2-OMe-5-F	178-180	>200	>200
3m	H	2-Me-5-Br	178-179	>200	>200
3n	H	2-Me-5- <i>t</i> -Bu	118-119	4.9	>200
3o	H	2-Me-5-CF ₃	148-150	1.3	32.4
3p	H	2-OMe-5-CF ₃	181-183	>200	>200
3q	H	2-Cl-5-CF ₃	160-161	8.2	54.9
3r	H	2-F-5-CF ₃	157-158	0.8	1.3
4a	2-F	2-F-5-CF ₃	185-186	1.0	>200
4b	2-Cl	2-F-5-CF ₃	165-166	0.8	>200
4c	2-Me	2-F-5-CF ₃	160-161	0.4	>200
4d	2-Et	2-F-5-CF ₃	153-154	>200	>200
4e	2-OMe	2-F-5-CF ₃	172-173	0.2	1.2
4f	2-OEt	2-F-5-CF ₃	146-147	>200	>200
4g	2-CN	2-F-5-CF ₃	185-186	5.5	>200
4h	2-CF ₃	2-F-5-CF ₃	174-175	1.6	>200
4i	2-OCF ₃	2-F-5-CF ₃	149-150	11.1	>200
4j	2-CO ₂ Me	2-F-5-CF ₃	167-168	>200	>200
4k	2-SMe	2-F-5-CF ₃	167-170	1.2	>200
4l	2-SOMe	2-F-5-CF ₃	199-201	>200	>200
4m	2-SO ₂ Me	2-F-5-CF ₃	154-155	>200	>200
4n	2-NO ₂	2-F-5-CF ₃	183-184	>200	>200
4o	2-NMe ₂	2-F-5-CF ₃	172-173	7.9	>200

第2章 フルチアニルの作用特性に関する研究

フルチアニルは各種植物病原糸状菌および植物病原細菌に対して*in vitro*ではほとんど活性を示さなかった。対照的に、本剤は10 mg/Lの低濃度で、キュウリうどんこ病菌 (*Podosphaera xanthii*), ナスうどんこ病菌 (*Sphaerotheca fuliginea*), ブドウうどんこ病菌 (*Erysiphe necator*) およびコムギうどんこ病菌 (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) 等の各種作物うどんこ病菌に対して高い防除効果を示し、うどんこ病菌特異的なスペクトラムを有することが示された (Table 4)。さらに、フルチアニルはキュウリうどんこ病菌を用いたポット試験において10 mg/Lと極めて低濃度で、優れた残効性、浸達性および耐雨性を示すことが明らかとなった。また、治療効果にも優れており、病原菌接種14日後の薬剤散布において、新たな分生子形成および病斑の拡大を抑制した。EUでのブドウうどんこ病菌、日本でのキュウリうどんこ病菌およびイチゴうどんこ病菌に対する薬剤感受性試験において、フルチアニルは既存の殺菌剤とは交差耐性を示さないことを明らかにした。

Table 4. Efficacy of flutianil against various fungal species inducing powdery mildew in pot test.

Crop	Fungal species	Control value ^{c)}					
		500 ^{a)}	200	10	1	0.1	0.01
Cucumber	<i>Podosphaera xanthii</i>	100	100	100	100	100	50
Eggplant	<i>Sphaerotheca fuliginea</i>	NT ^{b)}	NT	100	100	NT	NT
Grape	<i>Erysiphe necator</i>	NT	NT	100	100	100	NT
Wheat	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>tritici</i>	100	100	100	NT	NT	NT
Barley	<i>Blumeria graminis</i> f. sp. <i>hordei</i>	100	100	100	NT	NT	NT

^{a)} Concentration of flutianil (mg/L)

^{b)} NT: Not Tested

^{c)} n=3

第3章 フルチアニルのうどんこ病菌の形態への影響に関する研究

フルチアニルのうどんこ病菌に対する作用部位を明らかにする目的で、光学顕微鏡、走査型および透過型電子顕微鏡などを用いて形態学的解析を行った。まず、光学顕微鏡を用いてオオムギうどんこ病菌 (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (Bgh)) の感染初期におけるフルチアニルの作用を検討した。オオムギうどんこ病菌の一連の感染プロセス (Fig. 4) において、フルチアニルは吸器の形成を阻害した (Table 5)。次いで、フルチアニルと既存殺菌剤のオオムギうどんこ病菌の感染初期における阻害パターンの比較を行った。Table 5に示したように、フルチアニルの阻害パターンはトリフルミゾール、アゾキシストロビン、トルフェンピラド、キノキシフェン、ベノミル、キノキサリン系およびメトラフェノンの阻害パターンとは明らかに異なっていた。例えば、トリフルミゾールは付着器形成と吸器形成を阻害した。トルフェンピラドは付着器発芽管発芽と吸器形成を阻害した。また、キノキシフェンは第一次発芽管発芽、付着器発芽管発芽、付着器形成および付着器突起形成を強く阻害した。これに対し、フルチアニルの阻害パターンはシフルフェナミドの阻害パターンと類似しており、両殺菌剤とも吸器形成のみを阻害した。そこで、フルチアニルおよびシフルフェナミドのオオムギうどんこ病菌の吸器形成阻害後の菌の発達への影響について比較した (Fig. 5)。吸器形成後に0.1 Mのグルコースを加え、24時間後の薬剤処理区と無処理区における二次菌糸の長さを測定した。無処理およびシフルフェナミド処理区におけるグルコースの有無による二次菌糸伸長率の割合は、それぞれ1.5および1.7倍高くなっており、同等の伸長率であった。t検定を用いた統計学的解析により無処理区またはシフルフェナミド処理区においてはグルコース添加と無添加において二次菌糸の長さに有意差が見られた。一方で、フルチアニルの伸長率はわずか1.2倍であり、グルコース添加と無添加における二次菌糸の長さに有意差は認められなかった。以上より、フルチアニルは吸器の形成だけでなく宿主からのグルコースの吸収も阻害することで、二次菌糸の伸長を抑制した。

(様式 5) (Style5)

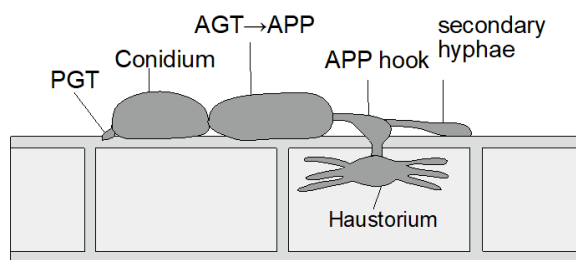


Fig. 4. Schematic diagram of the early infection process of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in barley plant tissues.

PGT, Primary Germ Tube; AGT, Appressorial Germ Tube; APP, Appressorium

Table 5. Comparison of *in vivo* inhibitory effect on *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (*Bgh*) between flutianil and existing fungicides at 10 mg/L.

Compound	Conidium bursting	PGT germination	AGT germination	APP formation	APP hook formation	Haustorium formation
Flutianil	–	–	–	–	–	++
Triflumizole	–	–	–	++	–	+
Azoxystrobin	++	++				
Tolfenpyrad	–	–	+			++
Quinoxifen	–	++	++	++	++	
Benomyl	–	–	–	++	++	++
Chinomethionat	–	++	++	++	++	
Cyflufenamid	–	–	–	–	–	++
Metrafenone	–	–	–	++	++	

+ ~ ++: inhibited, –: not inhibited, blank: Additional microscopic analysis of *Bgh* was unable to conduct because fungal development was not observed. PGT, Primary Germ Tube; AGT, Appressorial Germ Tube; APP, Appressorium

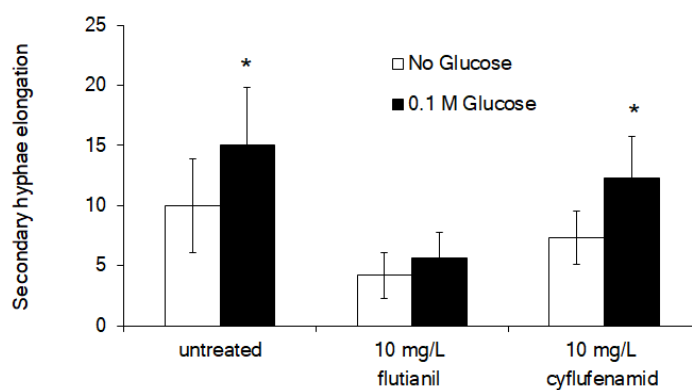


Fig. 5. Effects of flutianil and cyflufenamid on secondary hyphal elongation with the addition of 0.1 M glucose in *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*.

続いて、オオムギうどんこ病菌の感染後期、すなわち吸器が形成され分生子の形成および遊離が盛んな時期におけるフルチアニルの影響について精査した。フルチアニル処理により、鎖状の分生子は形成されずチューブ状に奇形化した様子が観察された (Fig. 6)。

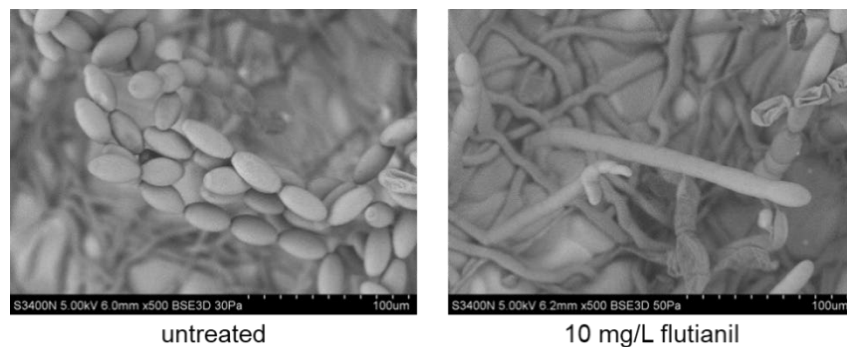


Fig. 6. Cryo-SEM observation of conidiophores of *P. xanthii* with treatment of 10 mg/L flutianil. In the treated control, conidiophores were produced as a chain of conidia separated by regularly septa. In contrast the conidiophores were tubular in flutianil-treated *P. xanthii*.

次に、透過型電子顕微鏡を用いてフルチアニルのオオムギうどんこ病菌の細胞小器官への影響を観察した。吸器体 (Haustorial body, HB), 吸器細胞壁 (Haustorial cell wall, HCW), 吸器外マトリックス (Extra-haustorial matrix EHMa) および吸器膜 (Extra-haustorial membrane, EHMe) などの器官の構成を理解しやすくするために、無処理区及びフルチアニルを処理した吸器の器官の模式図をFig. 7に示した。細胞質は吸器細胞膜と吸器細胞壁に囲まれており、吸器とローブ (Haustorial lobe, HL) は吸器外マトリックスによって吸器膜から分断される様子が観察される (Fig. 7A)。フルチアニル処理において吸器細胞における、細胞小器官に顕著な変化は認められなかったが、吸器の吸器外マトリックス部位および吸器細胞壁の顕著な不明瞭化が引き起こされた。すなわち吸器外マトリックスは無処理区ではグレーの電子密度が高い領域であったのに対し (Fig 8, panel A, C, E), フルチアニル処理により電子密度は低くなり白っぽい領域が観察された (Fig. 8, panel B, D, F)。吸器細胞壁においては無処理区では吸器体と細胞外マトリックスに囲まれた白い領域が観察されたが、フルチアニル処理によって吸器細胞壁の不明瞭化を引き起こした。

オオムギうどんこ病菌の菌糸に対しては、フルチアニル処理により菌糸の細胞壁の不明瞭化を引き起こしたが (資料未記載), 細胞小器官に対しては顕著な変化はもたらさなかった。

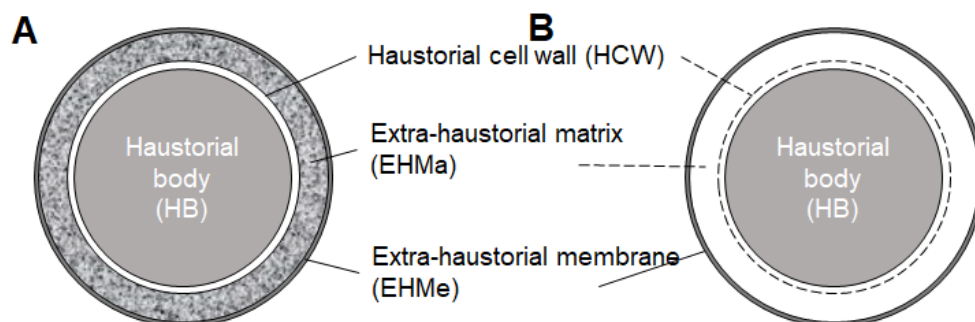


Fig. 7. Schematic diagram of untreated haustoria (A) and flutianil-treated (B) sections.

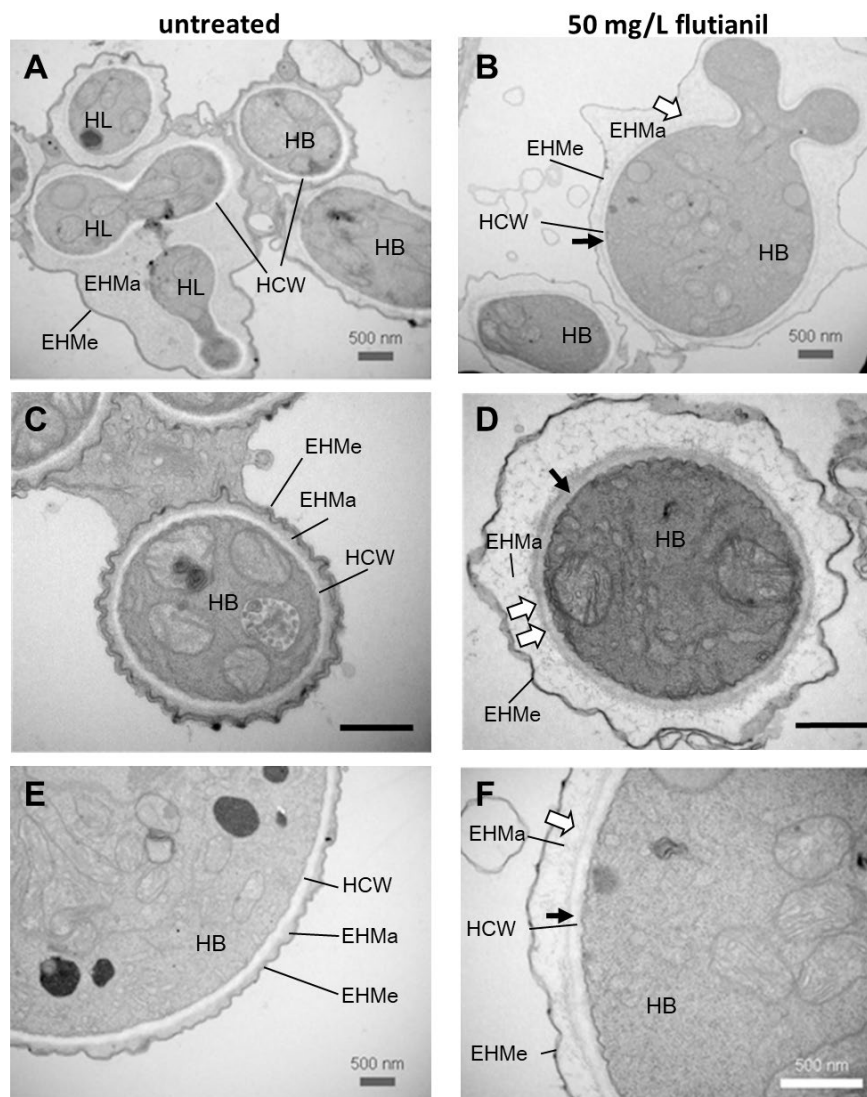


Fig. 8. Transmission electron micrographs of haustoria of *Bgh* in barley epidermal cells and a schematic of a section of haustoria (A, C, and E) Haustoria of *Bgh* without flutianil treatment. (B, D, and F) flutianil-treated haustoria showing the shrinkage or no development of the extra-haustorial matrix. Bars, 500 nm. Organ abbreviations: HB, haustorial body; HL, haustorial lobe; EHMe, extra-haustorial membrane; EHMa, extra-haustoria matrix; HCW, haustorial cell wall. The electron density of the matrix region of the EHMa of flutianil-treated *Bgh* was lower than that of the untreated control (as indicated by white arrows). The HCW became obscured after treatment with flutianil (as indicated by black arrows).

第4章 フルチアニルのうどんこ病菌の遺伝子発現への影響に関する研究

フルチアニルの作用部位の特定に資するために、RNA-seqを用いてオオムギうどんこ病菌の遺伝子発現の網羅的解析を行ったところ、フルチアニルはオオムギうどんこ病菌においてコンスタントに発現している遺伝子群への影響を殆ど示さなかった。フルチアニル処理により上方制御または下方制御される遺伝子群のうち、主に吸器細胞で発現する3種類の糖輸送体遺伝子 (bgh00499, bgh00500, bgh00501) が同定された (Table 6)。これらの遺伝子は主に吸器細胞で発現されるが、これまでの形態学的な観察と併せてフルチアニルがこれら遺伝子の発現に影響を与えたことは興味深い。なお、本研究ではフルチアニルに対する明確な機能を持つ他の遺伝子は特定できなかった。さらに、RNA-seq解析では、宿主表面に寄生したオオムギうどんこ病菌の着生組織を用いているが、RNA-seq解析の結果、メトラフェノンやシフルフェナミドと異なり、フルチアニル処理はオオムギうどんこ病菌の着生組織の遺伝子発現にはほとんど影響を与えないことが明らかになり、フルチアニルの主な標的は着生組織ではなく、吸器組織である可能性が示された。フルチアニルの吸器における作用点解明の為に、吸器を含む組織または吸器単独の組織を用いたRNA-seq解析が必要である。なお、フルチアニルと既存

殺菌剤のメトラフェノンまたはシフルフェナミドの遺伝子発現プロファイルにはほとんど類似性がなく、フルチアニルの作用機構が他の既存殺菌剤とは全く異なることが示された。

以上のRNA-seqによる網羅的な遺伝子発現解析からも、フルチアニルの主な作用部位は吸器の機能阻害である可能性を示唆していた。

Table 6. UP- and down-regulated genes specifically in response to flutianil treatment (<0.7, and 2-fold or greater difference)

Gene ID ^a	Description ^b	WT (FPKM)	FL/WT	CY/WT	MT/WT
bgh00499	CELP0012 (sugar transporter)	59.5	4.112	1.788	1.582
bgh00500	sugar transporter (major facilitator superfamily)	110.1	2.31	1.793	1.474
bgh00501	sugar transporter (major facilitator superfamily)/ MFS glucose transporter	135.8	2.282	1.89	1.518
bgh00059	Chi1/extracellular endochitinase	10.8	2.987	1.361	1.138
bgh06353	conserved hypothetical protein/Sialidase superfamily/BNR/Asp-box repeat protein	161.3	2.473	1.448	1.072
bgh04412	endonuclease/reverse transcriptase	6.2	2.443	1.197	1.497
bghG001399 000001001	hypothetical protein	0.2	2.155	1.211	1.424
bgh01106	putative leucine Rich Repeat domain-containing protein	53.5	2.013	1.168	0.995
bgh05200	blue light-inducible protein Bli-3	2.3	0.66	1.051	0.955
bgh00522	protein BCP1	37.4	0.67	1.004	1.217

Red: high up-regulated (a change of > 3-fold), Orange: medium up-regulated (a change of > 2-fold), Yellow: low up-regulated (a change of > 1.5-fold), Blue: down-regulated (a change of < 0.7-fold).

^a Gene identification numbers retrieved via www.blugen.org/

第5章 フルチアニルの毒性学的研究

フルチアニルのように人為的に合成された化合物は自然界には存在しない未知の物質である。これらの物質を農薬として使用するためには、実際に処理する農作物への安全性、農薬を使う環境への安全性、農薬の使用者への安全性、食品を摂取する人への安全性、以上の安全性の確保が求められる。これらの安全性を確保するために広範囲にわたる毒性試験が実施される。農薬は国によって規制があり、その規制当局に各種試験成績を提出し評価される。規制の要件を満たした農薬のみ流通、販売、使用を許可する「登録」が与えられる。

人および家畜に対する危険性を評価するために必要なデータは、様々な急性、亜急性、慢性毒性試験、変異原性および農薬代謝を評価する試験から得られる。急性毒性試験には、急性経口毒性、急性経皮毒性、急性吸入毒性、眼一次刺激性、皮膚一次刺激性および皮膚感作試験がある。通常、これらのデータは農薬の毒性特性の評価の最初のステップであり、短期間に農薬に暴露された結果として生じる可能性のある健康被害に関する情報を提供するデータとなる。亜急性毒性試験は慢性毒性試験を実施するにあたり、被験物質の用量設定および標的臓器の検討を目的としている。続いて長い潜伏期間および累積的な影響について調べるためにイヌ、ラットおよびマウスなどの哺乳動物を用いた各種慢性毒性試験を実施した。

フルチアニルの急性毒性試験についてラットに対する急性傾向並びに経皮毒性試験を行ったが、毒性は極めて低く、経口毒性は雌雄ともに LD₅₀ の値は 5000 mg/kg 以上、経皮毒性について雌雄とも

(様式 5) (Style5)

に 5000 mg/kg 以上を示した。また吸入毒性試験については雌雄ともに LC₅₀ の値が 5.17 mg/L 以上であり高い値を示した。皮膚刺激性及び感作性は認められなかった。また遺伝毒性も陰性であった (Table 7)。ラットおよびマウスに対する 90 日間の亜急性毒性試験およびラットに対する亜急性経皮毒性試験では毒性は認められなかった。28 日間の亜急性吸入毒性試験では 1 mg/L 暴露で雌雄ともに肺細葉中心性の炎症が認められ、NOAEL (No observed adverse effect level, 無毒性量) は 0.1 mg/L であった。ビーグル犬に対する 1 年間の慢性毒性試験、ラットに対する 2 年間の慢性毒性/発がん性併合試験、マウスに対する 18 か月の発がん性試験では毒性は認められなかった。ラットに対する 2 世代繁殖毒性試験では最高用量の 2000 ppm の雌雄で肝臓の比重量が増加したが、児動物に毒性はなく、2000 ppm で雌雄親児ともに毒性は認められなかった。ラットまたはウサギに対する発生毒性試験では母児ともに毒性は認められなかった (Table 8)。各種試験で得られた NOAEL から 2 年間慢性毒性/発がん性併合試験の NOAEL 249 mg/kg bw/day を根拠として安全係数 100 で除した 2.4 mg/kg bw/day を許容一日摂取量 (ADI) と設定した。この値は既存農薬の中でも高いものであり、フルチアニルの人畜に対する高い安全性が示された。

Table 7. Summary of the acute toxicity studies

Administration route	Animal	LD ₅₀ (mg/kg bw)		Observed symptoms
		Male	Female	
Oral	Wistar rat 5 mals and 5 females	>5000	>5000	Neither symptom nor death
Dermal	Wistar rat 5 males and 5 females	>5000	>5000	Neither symptom nor death
		LC ₅₀ (mg/L)		
Inhalation	Wistar rat 5 males and 5 females	>5.17	>5.17	Staining of the head, stained fur, staining of nose and back, unkempt fur, abnormal phonation. No death
eye irritation	Rabbit			Slightly irritation
skin irritation	Rabbit			No irritation
skin sensitization	Guinea pig			Negative
Mutagenicity				Negative

Table 8. Summary of subchronic and chronic toxicity studies

Study	Administration route	Animal	Results
90-day subchronic	Oral	Rat	No toxicity
90-day subchronic	Oral	Mice	No toxicity
28-day subchronic	Dermal	Rat	No toxicity
28-day subchronic	Inhalation	Rat	NOAEL = 0.1 mg/L
1-year chronic	Oral	Dog	No toxicity
2-year combined chronic/carcinogenicity	Oral	Rat	No toxicity
18-month carcinogenicity	Oral	Mice	No toxicity
2-generation reproductive	Oral	Rat	No toxicity
Developmental	Oral	Rat	No toxicity
Developmental	Oral	Rabbit	No toxicity

結論

創薬研究から新規骨格シアノメチレンチアゾリジン環を有するフルチアニルを創製した。フルチアニルのスペクトラムはうどんこ病菌特異的であり、極めて低薬量で達効を示した。予防および治療効果、浸達性、耐雨性および残効性に優れていた。作用機構はオオムギうどんこ病菌に対する形態学的解析および RNA-seq を用いた網羅的な遺伝子発現解析により、うどんこ病菌の吸器の機能阻害である可能性が示された。各種毒性試験によりフルチアニルは低毒性であり、発がん性、生殖毒性、変異原性は認められず安全性が高い薬剤であることが示された。今現在、世界各国で農薬登録が進められており、世界の農業現場に貢献する剤として使われている。