

ヘキサフルオロイソプロピル基を有する置換基を利用した
新規殺ダニ剤ピフルブミドの創出

2019年3月

奈良先端科学技術大学院大学
物質創成科学研究科

古谷 敬

目次

略語集	．．． 4
第一章 緒言	
1-1 農作物需要の高まりとその対策	．．． 6
1-2 農薬	．．． 7
1-3 新規農薬の必要性と求められる性能	．．． 7
1-4 新剤農薬創出のアプローチ	．．． 10
1-5 新規農薬創出におけるフッ素ケミストリーの利用状況	．．． 11
1-6 ヘプタフルオロイソプロピル基の利用	．．． 16
1-7 本研究の目的	．．． 19
1-8 参考文献	．．． 21
第二章 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系骨格 へのヘキサフルオロイソプロピル部位を有する置換基の導入	
2-1 序論	．．． 24
2-2 カルボキサミド系化合物へのヘプタフルオロイソプロピ ル基、ヘキサフルオロイソプロピル基の導入 (新規殺ダニ剤のリード化合物創出)	．．． 27
2-3 殺ダニ活性発現の考察	．．． 29
2-4 合成法	．．． 31
2-5 小括	．．． 32
2-6 実験の部	．．． 33
2-7 参考文献	．．． 38
第三章 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害する既存のカルボキサミド 化合物の化学構造を参考とした酸部位の最適化	
3-1 序論	．．． 40
3-2 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系殺 菌剤の酸部位の導入	．．． 40
3-3 ピラゾール置換基の精査	．．． 43
3-4 その他のヘテロ環の検討	．．． 44
3-5 合成法	．．． 44
3-6 小括	．．． 46
3-7 実験の部	．．． 46

3-8	参考文献	・・・ 50
第四章	ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害する既存のカルボキサミド化合物の化学構造を参考としたアニリド部位の最適化	
4-1	序論	・・・ 51
4-2	アニリノ2'位の変換	・・・ 51
4-3	アニリノ3'位の変換	・・・ 52
4-4	アニリノ4'位の変換	・・・ 53
4-5	合成法	・・・ 55
4-6	小括	・・・ 58
4-7	実験の部	・・・ 65
4-8	参考文献	・・・ 69
第五章	既存殺ダニ剤の化学構造を参考としたアミド部位の最適化 (ピフルブミドの創出)	
5-1	序論	・・・ 71
5-2	既存のプロペスティサイドのハダニ剤の構造を参考にしたアミド部位への置換基の導入	・・・ 73
5-3	アシル基の最適化	・・・ 76
5-4	ミカンハダニに対する効果	・・・ 77
5-5	降雨による活性への影響確認	・・・ 78
5-6	ハダニホモジネートによるピフルブミドの代謝とハダニ由来ミトコンドリア画分における複合体Ⅱに対する効果	・・・ 79
5-7	合成法	・・・ 82
5-8	小括	・・・ 83
5-9	実験の部	・・・ 83
5-10	参考文献	・・・ 89
第六章	ピフルブミドの生物活性	
6-1	序論	・・・ 92
6-2	ピフルブミドの野外採取系統に対する効果	・・・ 92
6-3	ピフルブミドの野外圃場試験結果	・・・ 93
6-4	ピフルブミドの殺虫・殺ダニスペクトル、殺菌スペクトル	・・・ 95
6-5	ピフルブミドの有用昆虫、天敵、非標的害虫に対する影響および安全性試験結果	・・・ 97

6-6	小括	・・・	98
6-7	実験の部	・・・	99
6-8	参考文献	・・・	101
第七章	結論	・・・	103
	謝辞	・・・	106
	研究業績リスト	・・・	107

略語表

Chemistry

Ac	acetyl
Boc	<i>tert</i> -butoxycarbonyl
Bu	butyl
cLogP	calculated logarithm of partition coefficient P, hydrophobicity partition coefficient
DEAEA	2-diethylaminoethylamine
DMA	<i>N, N</i> -dimethylacetamide
DMF	<i>N, N</i> -dimethylformamide
DMSO	dimethylsulfoxide
EDTA	ethylenediamine tetraacetic acid
Et	ethyl
EtOH	ethanol
EtOAc	ethyl acetate
Hex	hexyl
<i>i</i> -	<i>iso</i> -
LogP	logarithm of partition coefficient P, hydrophobicity partition coefficient
<i>m</i> -CPBA	<i>m</i> -chloroperbenzoic acid
Me	methyl
MeOH	methanol
MTBE	methyl <i>tert</i> -butyl ether
<i>n</i> -	normal
Pen	pentyl
Ph	phenyl
Pr	propyl
rt	room temperature
<i>t</i> -	<i>tert</i> -
THF	tetrahydrofuran
TLC	thin-layer chromatography

Biology

ADI	Acceptable daily intake
IPM	Integrated Pest Management

EC ₅₀	50% effective concentration
EC ₇₅	75% effective concentration
EC ₉₀	90% effective concentration
LC ₅₀	50% lethal concentration
LC ₃₀	30% lethal concentration
NADH	nicotinamide adenine dinucleotide hydrate
NOEC	No Observed Effect Concentration
NOEL	No observable effect level
NT	Not tested
PSA	Potato Scurose Agar

Analysis

IR	infrared spectroscopy
MS	mass spectroscopy
NMR	nuclear magnetic resonance
UV	ultra violet

Formulation

EC	emulsifiable concentrate
SC	suspension concentrate

第一章 緒言

1-1 農作物需要の高まりとその対策

国際連合の発表によると、2017年に世界人口は76億人を超え、2050年には98億人近くに達すると予測されており(Fig.1-1)¹、食料増産の為に農作物の生産量を今後さらに増やす必要に迫られている。また、農作物は我々が直接食物として摂取するほかに、畜産物飼料や産業用原料といった利用も行われており、加えて近年では、バイオエネルギーとして燃料用途まで利用方法が拡大している。このような人口増および農作物利用方法の拡大にともなって、今後も農作物の需要増は続くものとみられ、我々は農作物のさらなる増産の必要性に直面している。

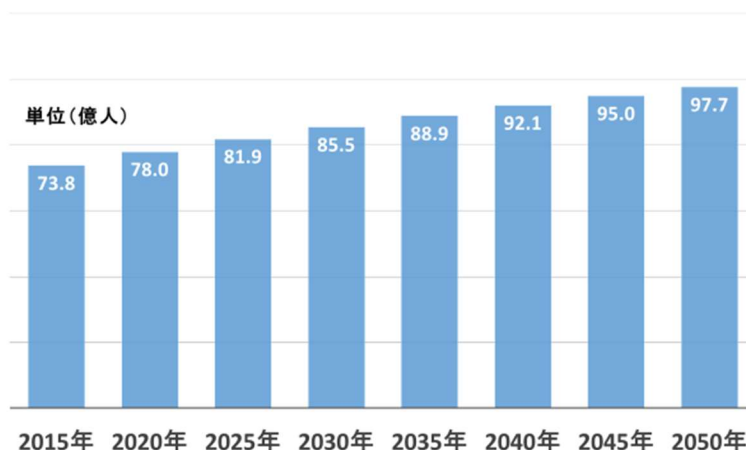


Fig. 1-1. 世界人口の見通し

農作物増産の手段としては耕地面積拡大と生産性向上の2つの方法が挙げられる。ただし、耕地面積をさらに増やすという方法は、気候条件等から耕作可能な農地は限られている点、さらなる耕地面積の増加は森林破壊等の地球環境保全の観点から適切な方法ではない²。また、現在耕地として利用している土地についても砂漠化、土壌流亡、土壌劣化、都市化などの進行により、今後は耕地面積の減少リスクも考えなければならない状況にあるのが実情である³。よって、農作物増産は限られた農地で高収率に農作物を生産するというのが現実的な解決法であり、これまでも単位面積当たりの収量を増加することを目指してさまざまな取り組みが精力的に行われてきた。とりわけ作物保護を担う農薬は農作物の増産、安定供給において重要な役割を果たしてきた。

1-2 農薬

農薬は農薬取締法において「農作物（樹木及び農林産物を含む）を害する菌、線虫、ダニ、昆虫、ネズミその他の動植物又はウイルス（以下「病虫害」と総称する。）の防除に用いられる殺菌剤、殺虫剤その他の薬剤（その薬剤を原料又は材料として使用した資材で当該防除に用いられるもののうち政令で定めるものを含む。）及び農作物等の生理機能の増進又は抑制に用いられる植物成長調整剤、発芽抑制剤その他の薬剤」と規定されているが⁴、病虫害には例示された菌、昆虫などの他に雑草も含まれることから、農薬は「農林作物を害するウイルス、菌、雑草、線虫、ダニ、昆虫、ネズミおよびその他を防除する薬剤並びに農林作物の生理機能の増進または抑制に用いられる植物調整剤などの総称」と定義することができる⁵。

さらに有害生物の防除に使用する天敵類も生物農薬として含まれ、農薬という言葉は時代の推移に伴って極めて広義に解釈して使用されている⁶。

また、農薬に一応対応する英語はPesticidesであるが、pestは人ならびに人に有用な生物に有害な生物を指し、cideはラテン語のkillerを意味するcidaに由来する。しかし農薬には殺さずしてpestを防除するもの、作物の生育促進、抑制、抵抗性増進をもたらすものもある。このような機能を持つものに、農薬というイメージを超えた名称として「アグロバイオレギュレーター」という言葉を提唱する研究者もいる⁷。

以上、狭義・広義があるものの、農薬は「害虫、病害、雑草から農林作物を守るものである」と定義することができ⁸、農作物生産において作物保護の観点から欠かせない存在である。農薬を使用しない場合の減収率を確認する実験において、農薬を使用しない場合の減収率は日本の例では減収率は20～100%、アメリカの例では24～100%という結果が報告されており⁹、これらのデータからも、農薬が近代農業において高収率な農作物生産の一端を担っていることが明らかである。

1-3 新規農薬の必要性と求められる性能

これまでに多くの農薬が開発され、それら薬剤が農業生産を支えてきたが、将来的には既存の農薬だけでは農作物の安定生産を維持することはできない。その理由は、同じ農薬を使い続けると病虫害・雑草は抵抗性や耐性を発達させ、既存の農薬が効果を示さなくなるからである。

病虫害・雑草が薬剤に対して抵抗性を発達させると農業生産に重大な影響を及ぼすため、それらを予防するために様々な取り組みがおこなわれている。

そのひとつが薬剤のローテーション散布である。これは薬剤を作用性・構造などから分類し、これを基に異なる作用性の薬剤をローテーション散布することにより同一薬剤による淘汰圧を下げ、抵抗性の発達を遅延させるという考え方である。これらの課題にとりくむため殺虫剤、殺菌剤、除草剤の各分野においてそれぞれ殺虫剤抵抗性対策委員会（IRAC、1984年創設）¹⁰、殺菌剤耐性菌対策委員会（FRAC、1981年創設）¹¹、除草剤抵抗性対策委員会（HRAC、1989年創設）¹²が抵抗性や耐性の対応を行い、有効な農薬をできるだけ長く温存させる取り組みがなされている。しかし、既存剤のローテーション散布だけでは抵抗性発達を遅らせることについては一定の効果が期待できるものの限界がある。

また、近年の作物生産における大きな流れとして、遺伝子組み換え作物（GM作物）を用いた栽培体系が挙げられる^{13,14}。代表的なものとして1990年代から市場に投入された除草剤耐性作物が挙げられるが、GM作物を用いることによりこれまで作物雑草間の選択性の問題から利用できなかった除草剤を使用出来るようになった。しかし、これらのGM作物を用いた防除体系において実際に雑草の防除に用いられているのはまぎれもなく除草剤であるため、引き続き抵抗性と無縁ではない。代表的なGM作物であるグリフォサート耐性作物を用いた防除体系においてグリフォサートを連用したために周辺の雑草へ本剤に対する抵抗性を発達させた例が示す通り、近年、GM作物防除体系で用いられる除草剤への抵抗性が顕在化している¹⁵。このように、GM作物の利用は農作物の安定的な生産や農薬量の低減においては利点があるものの、一方で抵抗性の発達を進めている側面もある。その対策として作物 - 雑草間の選択性のある除草剤とのコンビネーションあるいは複数の除草剤に耐性を持つGM作物や新たな種類の遺伝子組み換え作物と除草剤の組み合わせが実施されているが、いずれの場合も具体的に実施された解決策の根幹はグリフォサート以外の除草剤との混用である。

除草剤分野のほかに殺虫剤分野でも既に実用化されたGM作物がある。チョウ目害虫が食べると死亡するタンパク質を作る土壤微生物（*Bacillus thuringiensis*:Bt）が存在するが、このタンパク質の生合成に対応する遺伝子を農作物に導入したものがBt作物であり、トウモロコシ、ワタ、ジャガイモ等の分野で実用化されている。ただし、害虫防除効果は一部の害虫に限られ、完全に殺虫剤による防除がなくなるわけではない。さらに、Bt作物に対しても既に抵抗性を発達させた害虫が報告されており、抵抗性害虫の拡大リスクを抑えるために、アメリカにおいてはBt作物だけを栽培するのは禁止され、Bt作物を栽培する際は必ず周辺の一定地域にnon-Bt作物を栽培する事が義務付けられている¹⁶。

このように、抵抗性への対策として、薬剤ローテーションなどを通じて既存薬剤の有効性の最大、最長化対策が取られているが、依然として既存農薬への抵抗

性という我々の生存を脅かす脅威から我々が解放された訳ではなく、引き続き、抵抗性の抜本的対処には既存剤と交差抵抗性の関係に無い新規農薬の創出が強く望まれている¹⁶。

農薬は法律上その農作物を保護するものという役割と定義されているが、農薬に求められている性能は作物保護だけではなく高い安全性も求められている。初期の有機リン系化合物等では温血動物に対する毒性の問題を抱えていたが、現在の農薬には温血動物への高い安全性が求められ、現在使用されている農薬には毒劇物に該当しないものも多い。また、哺乳類の他、魚類を初めとした水生生物などに対する高い安全性も求められている。

加えて、近年、Integrated Pest Management (IPM) (総合的病害虫・雑草管理) という観点が注目されている。国連食糧農業機関 (FAO) の定義によると IPM とは「農作物に対する有害生物制御に応用可能な全ての技術を精緻に考慮し、それらの発生増加を抑制する適切な方法を総合的に組み合わせ、農薬やその他の防除対策の実施は経済的に正当なレベルに保ちつつ、人や環境へのリスクを軽減または最小限に抑えること」を意味する¹⁷。農業生態系攪乱の可能性をより少なくし、有害生物の発生を抑える自然界の仕組みをうまく活かすことにより健全な農作物を育てることが重要視されており、ミツバチなどの有用昆虫に影響がなく、害虫を捕食するテントウムシやカブリダニなどの天敵を併用することにより農薬投下量も減らし、環境負荷を減らすことが出来ることから、新規農薬には IPM への適合性も重要視されている (Fig.1-2)。

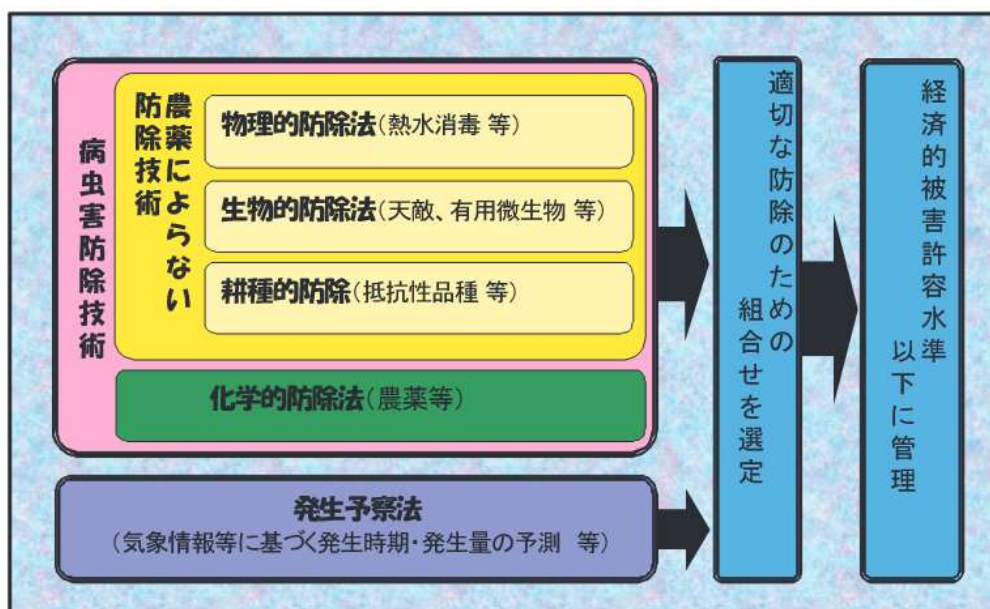


Fig. 1-2. 病虫害の総合的管理技術の概念図¹⁷

さらに、環境中での分解性も重要な要素である。ジクロロジフェニルトリクロロエタン（DDT）の様な難分解性化合物は、現在では残留性有機汚染物質農薬（POPs 農薬）として使用が禁じられており、現代の農薬において環境分解性は必須となっている。

加えて、農薬においては農作物を安価に生産することが求められているため、経済性も重要なポイントである。

以上、新規な農薬には、効果面では、既存の農薬との非交差であること、安全性面では低毒性・高選択的で環境分解性を有すること、さらにこれに加えて経済性があることが求められており、要求性能は年を追う毎に高くなっている。

1-4 新規農薬創出のアプローチ

新規農薬を見出すためのステージは、リード化合物を見つけるまでの探索ステージ、リード化合物を最適化するステージ、開発の最終ステージの3つに大分され、このうち、新規農薬を見出す作業は前半の2つのステージが該当する（Fig.1-3）。

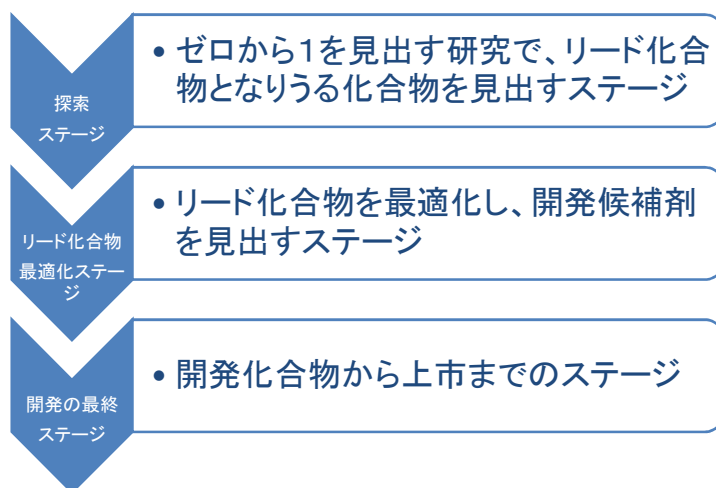


Fig. 1-3. 農薬の研究開発ステージ ¹⁸

新規農薬創出のアプローチは医薬品の開発と同様、まずリードとなる母核化合物をみつけだすことから始まる。なお、最初に見出された化合物をリード化合物あるいはヒット化合物と言うこともあり、各研究機関によって化合物の位置

づけが異なる上に、さらに細分化されたステージを設定しているところもあり、ステージ管理の取り扱い方はさまざまではあるが、ここではリード化合物としてとり扱う。

母核化合物を見つける手法としては、①既存剤の周辺化合物を中心にしたアナログ合成、②コンビナトリアルケミストリーの手法を駆使したランダム合成、③天然物の誘導化、④生物学的な作用点情報に基づいた分子設計を行うバイオリショナルな手法、などがあげられる¹⁸。これまでにさまざまな取り組みがなされているが、実際にはこれらを組みあわせて研究が進められている。

リード化合物が選抜されるとその化学構造をモデルに数多くの誘導体を合成し、構造と活性の関係を解析しながらさらなる分子設計を行うが、その過程で効果や安全性の面から、最適な構造を備えた開発候補剤が導かれる (Fig. 1-4)¹⁹。

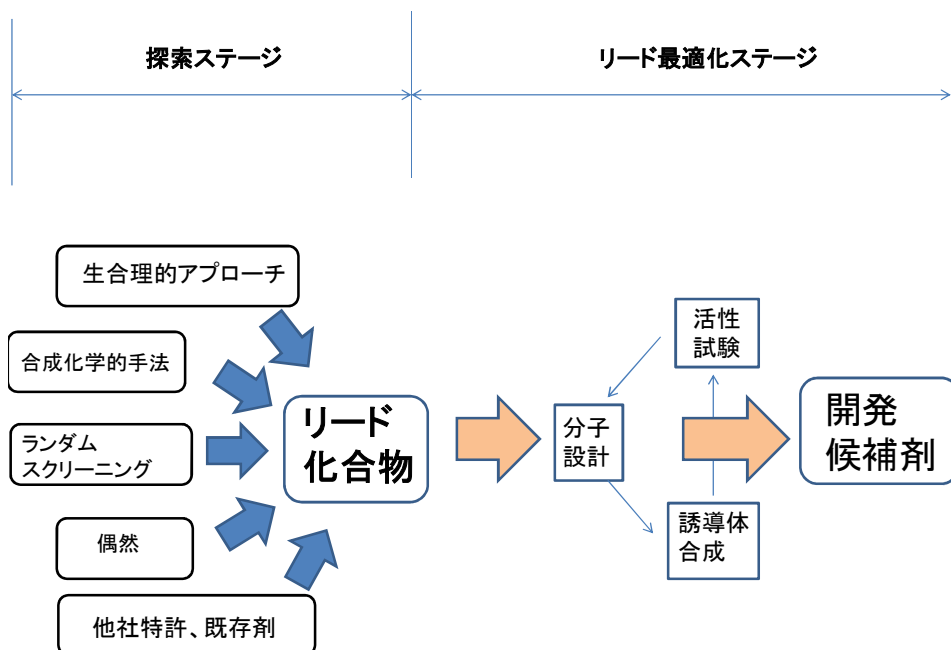


Fig. 1-4. 新薬発見の流れ¹⁹

1-5 新規農薬創出におけるフッ素ケミストリーの利用状況

新規農薬に求められる性能はますます高くなっており、リード化合物が見出されて以降の検討すべき課題は年々増加傾向にある。それら課題を解決すべく、リード化合物の構造改変を行っていくわけであるが、近年その解決策として創薬の場面でよく利用されているのがフッ素原子の導入を中心とした構造改変である。

化学農薬におけるフッ素原子導入の意義は大まかに以下の4つにまとめるこ

とができ²⁰、これらの効果が組み合わされることにより複雑な生理活性を生じると考えられている。

① 脂溶性増大

芳香環上のフッ素原子やトリフルオロメチル基は一般的には脂溶性基として働き、組織、膜への浸透性・透過性を高める。

② Mimic 効果（擬似効果）

フッ素原子は水素原子と van der Waals 半径が似通っており、そのため生物が水素原子と識別できずに取り込む。

③ ブロック効果

取り込まれた含フッ素農薬が代謝を受ける際、フッ素原子で置換された部位で C-F 結合エネルギーの高さのため代謝阻害を起こす。

④ 極性効果

生体系に取り込まれた含フッ素農薬は、フッ素原子の電気陰性度の大きさのため活性部位に電気的な影響を与える。

含フッ素系農薬の歴史は古く、はじめて登場したのは 1960 年に登場した除草剤のトリフルラリン (Fig.1-5) である^{21,22}。

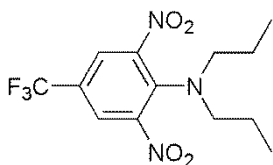


Fig. 1-5. トリフルラリン

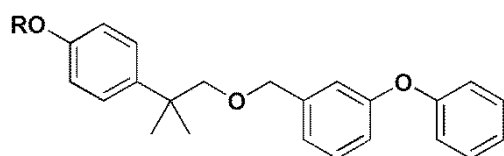
当初は農薬市場における含フッ素農薬の比率（金額ベース）は低く、1970 年代はわずか 3%であったが、80 年代には 10%、90 年代には 28%と徐々に増え、2000 年代には 55%に達し、現在の農薬にはフッ素化学は欠かせないものとなっている (Table 1-1)²³。フッ素を含む農薬の分野別の比率は最初にフッ素農薬が開発された除草剤・薬害軽減剤で最も高く 54%であり、殺虫・殺ダニ剤が 26%と続き、殺菌剤が最も少ない 19%である。ただし、この比率は農薬の各分野の市場規模の比率とほぼ等しいことから、フッ素原子の利用が各分野で同じように用いられていることを示す数字と見ることもできる²⁴。

Table. 1-1. 含フッ素農薬の比率

年代	比率
1970 - 1979	3%
1980 - 1989	10%
1990 - 1999	28%
2000 - 2009	55%

以下にトリフルラリン以降、現在までに開発されたフッ素含有農薬の例を紹介する。

殺ダニ剤ハロフェンプロックスの開発においては殺虫剤エトフェンプロックスのエトキシ基を OCF_2Br に変換することにより殺ダニ活性が200倍向上したが、これについては①脂溶性増大と③ブロック効果(ダニ体内の代謝解毒の抑制)の2つが原因ではないかと推察されている(Fig.1-6)²⁵。



R=Et エトフェンプロックス

R= OCF_2Br ハロフェンプロックス

Fig. 1-6. エトフェンプロックスとハロフェンプロックス

また、殺虫剤シフルトリンにおいては、ベンゼン環4位にフッ素を導入されているが、このフッ素原子は害虫の生体内での代謝を阻害する役割を果たしていると考えられている。また、フッ素の代わりに塩素や臭素では殺虫活性が低下することから、②の Mimic 効果と③のブロック効果が働いたものと考えられている(Fig. 1-7)²⁶。

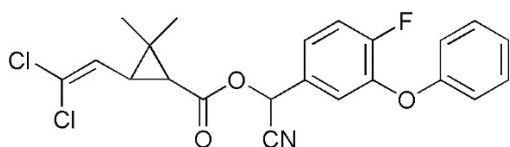


Fig. 1-7. シフルトリン

④の極性効果の利用例としては、スルホニルウレア系除草剤のフラザスルフ

ロンが挙げられる。スルホニルウレア系除草剤はアリール部分、ブリッジ部分、ヘテロ環部分からなる構造を持つ化合物群であり、極めて高い除草活性を示す骨格である (Fig. 1-8)。クロロスルフロンの上市以降、現在でも注目を浴びている系統であるが、初期に開発された剤は土壌分解が遅く、キャリーオーバーに伴う後作作物への薬害という課題があった。フラザスルフロンにおいてはトリフルオロメチルをアリール位へ導入することによりその電子求引性を利用し、またピリジン環との組み合わせることによって、ブリッジ部位の分解に起因する化合物 **1a**、**1b** への分解性を付与することにより、課題であった土壌分解性の改善に成功している (Scheme 1-1) ²⁷。

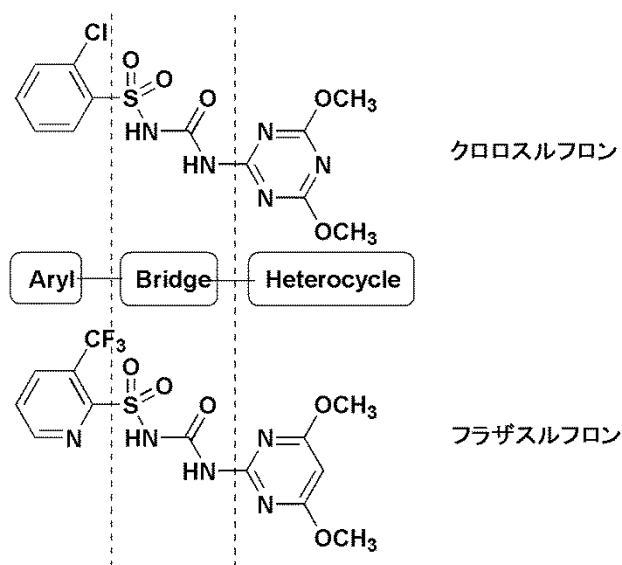
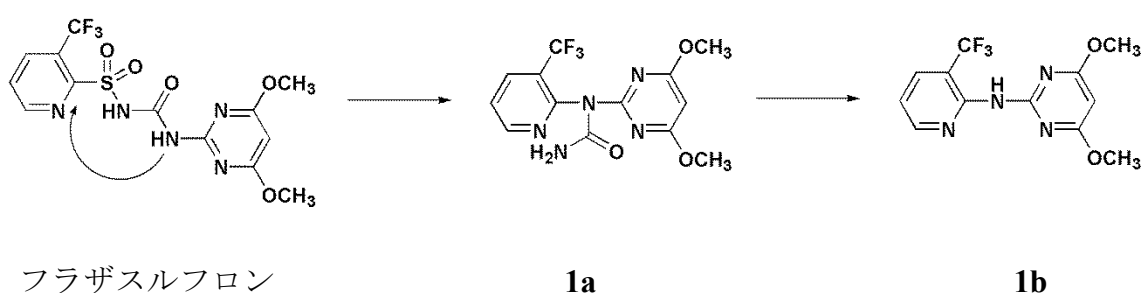


Fig. 1-8. クロロスルフロン、フラザスルフロン

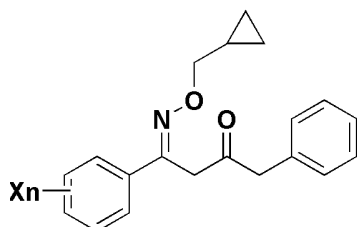


Scheme 1-1. フラザスルフロンの代謝経路

上記 4 つ以外の特長としてフッ素原子を増やすと融点が下がる傾向にある。これは分子間力が弱くなることが原因である。最初に登場したトリフルラリンは蒸気圧が高く、これもトリフルオロメチル基が揮発性に大きく寄与しているものと思われる ²⁸。

また、殺菌剤分野においてはうどんこ病菌のような植物表面に寄生する菌に効果的に作用させるために、葉面に均一に薬剤が届くベーパーアクションのある剤が好まれる。シフルフェナミドの探索研究時においては、2,3,6-トリクロロ体 **2a** ではベーパーアクションがみられないが、一部の置換基をフッ素またはトリフルオロメチル基に変換した **2b**、**2c** において揮散性が確認され、最終的にベンゼン環置換基として2,3-F₂,6-CF₃基を導入することで良好なベーパーアクション(蒸気圧 3.54×10⁻⁵ Pa(20 °C)を有する殺菌剤シフルフェナミドの創出に成功している (Table 1-2)²⁹。

Table 1-2. シフルフェナミドおよびその類縁体のキュウリうどんこ病に対する予防効果



No.	Xn	EC ₇₅ (ppm)	Vapor phase activity
2a	2,3,6-Cl ₃	0.2	none
2b	2-F-3-Cl-6-CF ₃	0.2	moderate
2c	2-Cl, 3-F-6-CF ₃	0.8	moderate
シフルフェナミド	2,3-F ₂ ,6-CF ₃	0.2	good

また、それ以外にも衛生害虫防除分野においてはピレスロイド系化合物において2,3,5,6-テトラフルオロベンジルアルコール誘導体が高い蒸気圧を示すことを見出し、その後の展開により従来の蚊取線香のような電気や熱を必要とせず、常温で屋内外問わず利用できる常温蒸散性を備えたメトフルトリン(蒸気圧 1.96×10⁻³ Pa (25 °C))が開発されている (Fig. 1-9)^{30,31}。

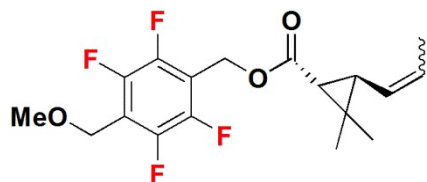


Fig. 1-9. メトフルトリン

このようにフッ素原子の使用が近年増加しているが、上述のような広くフッ素の有用性が認識されたこととフッ素合成化学の進歩が主な理由としてあげら

れる。特にリード化合物の最適化においては母核の構造を大きく変化させることなく化合物の特性を変化させることのできるフッ素含有置換基の効果は絶大であり、活性向上、スペクトル拡大、選択性向上、毒性軽減等の数多くの課題を解決する手法として利用されてきている。

当初はベンゼン環の置換基としての使用が中心であったが、近年は上述のフラザスルフロンをはじめとしてフッ素含有ヘテロ環が多数報告されるようになってきている (Fig. 1-10)²⁷。

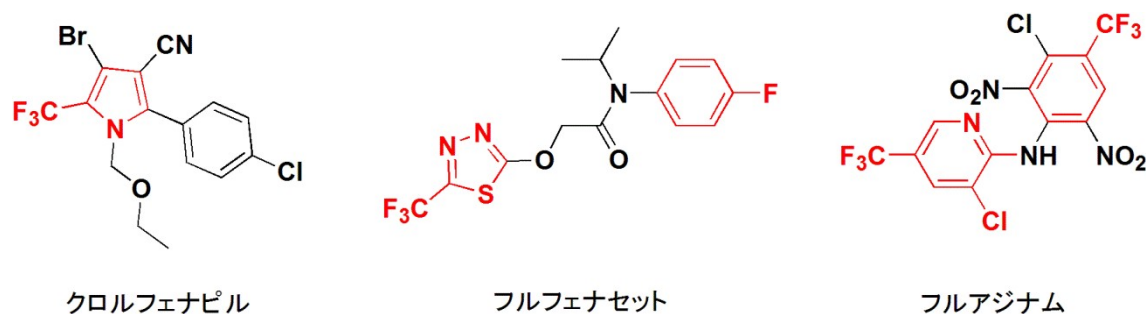


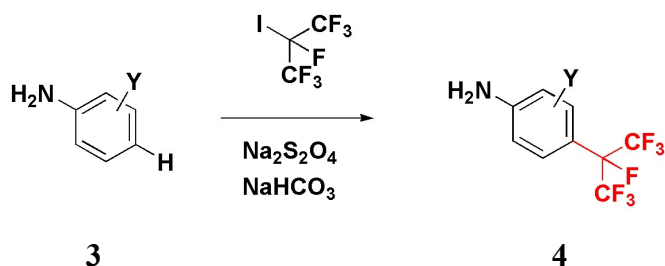
Fig. 1-10. フッ素含有ヘテロ環を持つ農薬

以上のとおり、フッ素含有置換基の導入に関しては非常に多くの導入例と成功例があるが、上市されている含フッ素化合物に導入されている置換基の多くはフッ素原子やトリフルオロメチル基をはじめとするフルオロメチル基である。また探索段階においても多くは水素原子あるいはハロゲン原子をフッ素原子またはトリフルオロメチル基に変換するケースがほとんどであり、利用方法も母核化合物発見後の最適化工程 (リードオプティマイゼーション) で利用されることが多く、探索研究初期のリードジェネレーションの段階で利用されることは少ないのが現状である。利用されているフッ素置換基が限定的である状況下においても多数のフッ素含有農薬が見出されていることから、これまでと異なるフルオロアルキル基を活用すれば創薬機会の更なる拡大が図れるものと期待される。

1-6 ヘプタフルオロイソプロピル基の利用

1990 年後半になり、農薬探索合成分野において、新たなフルオロアルキル基としてヘプタフルオロイソプロピル基が登場した³²。ヘプタフルオロイソプロピル基は非常に脂溶性の高いフルオロアルキル基であり、導入により大幅な物性変化が期待できる置換基である。なかでも、ヘプタフルオロイソプロピル基が 4 位に置換されたアニリン誘導体 **4** は、該当する 4 位無置換アニリン誘導体 **3** か

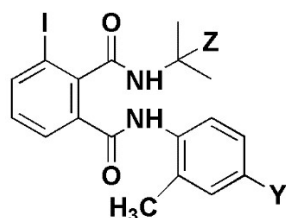
ら2層系でラジカル反応を利用することにより、1工程で合成できることから探索合成上非常に有用な中間体であり (Scheme 1-2)³³、これまでにフルベンジアミド³⁴やピリフルキナゾン³⁵の探索合成で利用された。



Scheme 1-2. ヘプタフルオロイソプロピル基を有したアニリンの合成法

殺虫剤フルベンジアミドの探索においては、4 位置換基 Y の最適化にヘプタフルオロイソプロピル基が用いられている。ハスモンヨトウに対してメチル体 **5a** やメトキシ体 **5b** は低活性であったが、脂溶性基を導入したトリフルオロメトキシ体 **5c** やトリフルオロメチル体 **5d** では高活性を示し、さらに脂溶性の高いヘプタフルオロイソプロピル基を導入した **5e** はより高い活性を示し、本剤の創出につながった³⁴ (Table 1-3)。

Table 1-3. フルベンジアミドおよびその類縁体のハスモンヨトウに対する効果

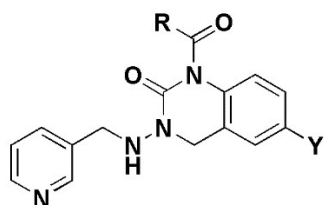


No.	Y	Z	LC ₅₀ (ppm)
5a	CH ₃	H	>500
5b	OCH ₃	H	30-100
5c	OCF ₃	H	1-3
5d	CF ₃	H	3
5e	CF(CF ₃) ₂	H	0.3-1
フルベンジアミド	CF(CF ₃) ₂	CH ₂ SO ₂ CH ₃	0.03-1

また昆虫行動制御剤ピリフルキナゾン³⁵の創出においても、オンシツコナジラミ活性向上にヘプタフルオロイソプロピル基が寄与している。Y が無置換であるプロトタイプ **6a**³⁶ではオンシツコナジラミに対し十分な活性を示さなかったが、Y に脂溶性基を導入した **6b**、**6c**、**6d** はいずれも活性が向上し、さらに脂

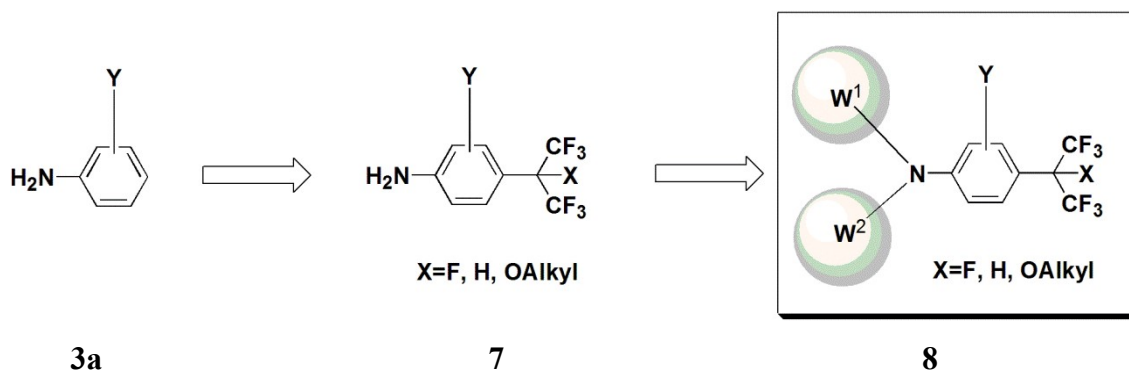
溶性の高いヘプタフルオロイソプロピル体 **6e** はより高い活性を示し、アシル基 R の最適化を経て本剤の創出につながった³⁵ (Table 1-4)。

Table 1-4. ピリフルキナゾンおよびその誘導体のオンシツコナジラミに対する効果³⁴



No.	Y	R	オンシツコナジラミ EC ₉₀ (ppm)
6a (R-768)	H	Et	30
6b	OCHF ₂	Et	3-10
6c	OCF ₃	Et	1-3
6d	CF ₃	Et	10
6e	CF(CF ₃) ₂	Et	0.1-0.3
ピリフルキナゾン	CF(CF ₃) ₂	CH ₃	0.1-0.3

また、ヘプタフルオロイソプロピル基は1つの炭素原子に2つのトリフルオロロメチル基とフッ素原子が結合した構造を有するが、そのフッ素原子は反応性に富むことから各種反応による誘導化が可能であり³⁷、本部分の構造改変により、物理化学面、特に脂溶性に関して微調整をおこなうことも可能であることが特徴である (Scheme 1-3)。フルベンジアミドやピリフルキナゾンの探索研究時にはヘプタフルオロイソプロピル基の利用に限られていたが、類縁体を利用することによりさらなる創薬機会の拡大が期待できる。

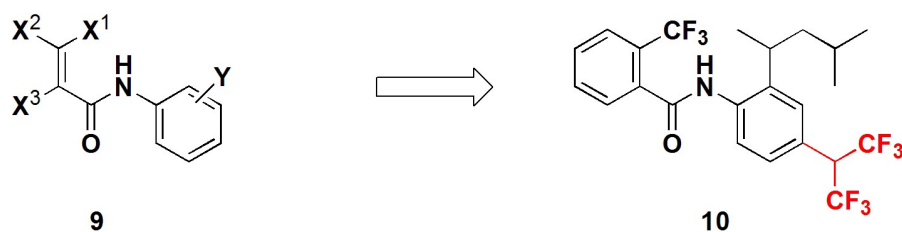


Scheme 1-3. ヘキサフルオロイソプロピル基を有するアニリン**7**を利用した合成展開

1-7 本研究の目的

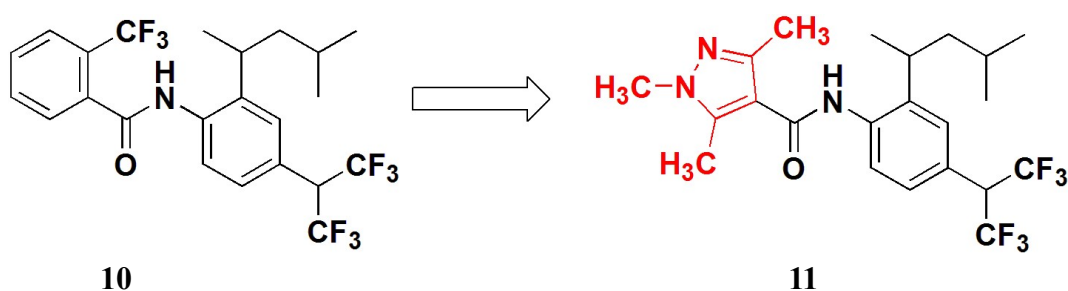
本研究はヘキサフルオロイソプロピル基を有する置換基を利用した新規農薬探索に関する。

第二章では、ミトコンドリア複合体 II を阻害することにより殺菌活性を有することが古くから知られている既存のカルボキサミド骨格 **9** へヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁置換基を導入する展開をおこない、その合成展開の過程でヘキサフルオロイソプロピル基を導入した化合物 **10** が果樹、蔬菜、茶、綿など多くの作物に寄生する重要害虫であるハダニに対し活性を示したことについて述べる (Scheme 1-4)。



Scheme 1-4. リード化合物 **10** の創出

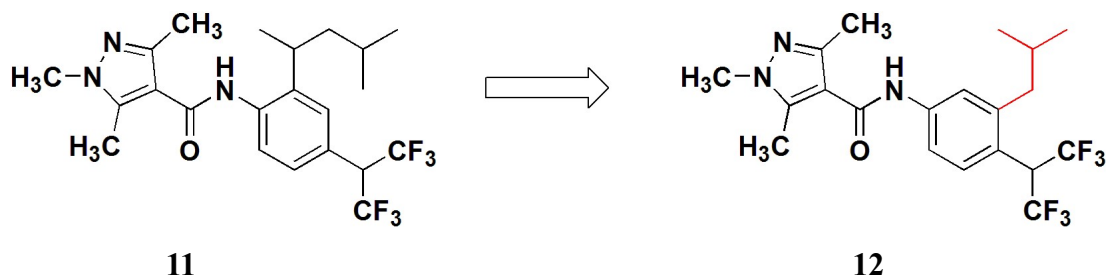
第三章では、第二章で見出された殺ダニ活性を有するリード化合物 **10** から既存のカルボキサミド系殺菌剤の化学構造を参考とし、酸部位の最適化をおこなうことにより、より高活性な 1,3,5-トリメチルピラゾール体 **11** の創出に成功したことを述べる (Scheme 1-5)。



Scheme 1-5. 化合物 **11** の創出

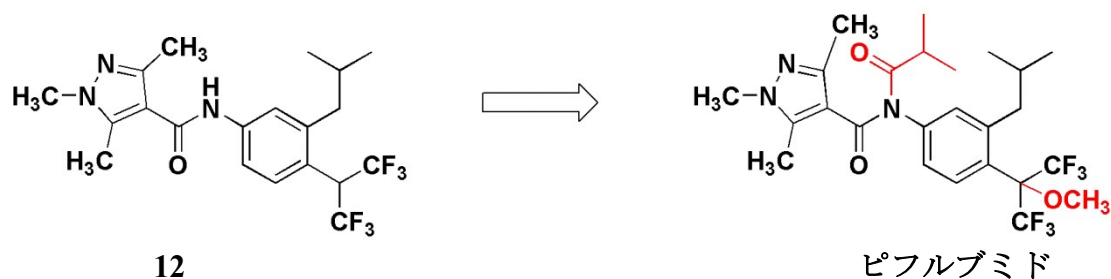
第四章では、第三章で見出された 1,3,5-トリメチルピラゾール体 **11** から既存のカルボキサミド系殺菌剤の化学構造を参考とし、アニリノ部位の改変による

リード最適化をおこない、化合物 **11** と活性が同等レベルでより簡便に合成可能な 3'-イソブチル体 **12** の創出に成功したことを述べる (Scheme 1-6)。



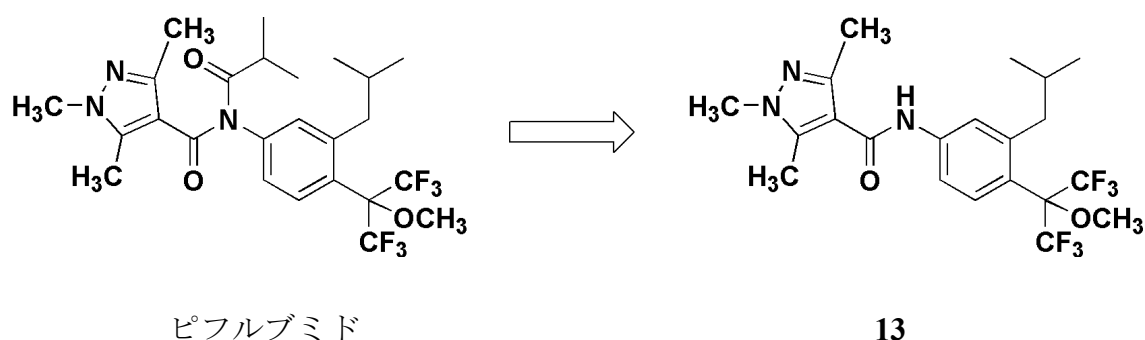
Scheme 1-6. 化合物 **12** の創出

第五章では、第四章で見出された 3'-イソブチル体 **12** のアミド基の窒素原子に、置換基を導入することによってさらなる活性向上を図り、その後の 4'位のヘキサフルオロイソプロピル基誘導体の変換により、ナミハダニおよびミカンハダニに卓効を示し、また降雨による活性への影響が小さいピフルブミドが見出されたことを述べる (Scheme 1-7)。



Scheme 1-7. ピフルブミドの創出

加えて、本剤がプロペステイサイドであり、脱イソブチリル体である **13** はハダニのミトコンドリア複合体 II を阻害すること、およびその阻害活性はハダニ由来のミトコンドリア画分に特異的であったことについても述べる (Scheme 1-8)。



Scheme 1-8. ピフルブミドのハダニでの代謝

第六章では、ピフルブミドの生物性能について触れ、ピフルブミドは既存剤に対し抵抗性を発達させた個体群に対しても高い効果を示し、また、圃場試験においてナミハダニ、ミカンハダニに対し既存剤と同等以上の効果を示したことを紹介する。また、ピフルブミドはハダニ特異的に殺虫活性を示し、有用昆虫や非標的昆虫にも影響が小さく、各種の安全性試験においても特に問題となる影響は見られなかったことも述べる。

第七章では、結論として、ヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁置換基を利用した合成展開により実用的な殺ダニ剤であるピフルブミドを見出せたことから、これらフルオロアルキル基類は、探索合成研究におけるさまざまな探索ステージにおいて利用できる極めて有用な置換基であることを述べる。

1-8 参考文献

1. United Nations Population Divison World Population Prospects: The 2017 Revision.
2. Integrating Science and Technology into Development Policies, An International Perspective (OECD Publishing) 87.
3. 環境倫理入門 地球緩環境と科学技術の未来を考えるために. 近畿化学協会 科学教育研究会編著. **2012**, 化学同人.
4. 農薬取締法第1条の2.
5. 新農薬学概論. 本田博, 赤塚尹巳, 佐藤仁彦, 近内誠登著. **1993**, 朝倉書店.
6. 農薬化学. 石崎寛著. **1991**, 養賢堂.
7. 農薬からアグロバイオレギュレーターへの展開—病害虫雑草制御の現状と紹介—. 山本出監. **2009**, シーエムシー出版.
8. よくわかる農薬問題一問一答. 藤原邦達, 本谷勲. **1989**, 合同出版.
9. 農薬の基礎知識 詳細 (農林水産省).

- http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_tisiki/tisiki.html#kiso1_2
10. IRAC ホームページ <http://www.irac-online.org/about/irac/>
 11. FRAC ホームページ <http://www.frac.info/>
 12. HRAC ホームページ <http://www.hracglobal.com/>
 13. 世界の遺伝子組換え農作物栽培状況 (2014) , 農林水産省.
http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/zyoukyou/pdf/saibai_joukyou_2014.pdf
 14. 「遺伝子組み換え農作物」を知るために ステップアップ編. 農林水産省 (2008).
 15. International Survey of Herbicide Resistant ホームページ.
<http://www.weedscience.org/>
 16. GMO 情報 : Bt ワタに抵抗性発達 対策は緩衝帯と複数トキシン品種.
農業と環境 **2008**, No. 96, 独立行政法人 農業環境技術研究所.
<http://www.niaes.affrc.go.jp/magazine/096/mgzn09609.html>
 17. 農林水産開発研究レポート No.12, 病虫害の総合的管理技術－化学農薬だけに依存しない病虫害の防除－.
http://www.s.affrc.go.jp/docs/report/report12/no12_p1.htm
 18. 農薬産業技術の系統化調査 (技術の系統化調査報告第 18 集). 大田博樹. 15-17 国立科学博物館 (2013).
 19. 次世代の農薬開発 - ニューナノテクノロジーによる探索と創製. 阿部浩, 桑野栄一, 児玉治, 鈴木義勝, 藤村真編. **2003**, 44-45, ソフトサイエンス社.
 20. 続医薬品開発・臨時増刊「フッ素薬学」基礎と実験. 小林義郎, 熊懷稜丸, 田口武雄編. **1994**, p11-20, 廣川書店.
 21. 90 年代のフッ素系生理活性物質開発と応用. 石川延男監. **1990**, 153-191, シーエムシー出版.
 22. 有機フッ素化学の新展開 : 応用編～有機フッ素化合物(医薬、農薬、液晶)の産業利用について. 第 7 回フッ素化学講習会「フッ素化学の基礎と応用」**2018**, 29-38, (独)日本学術振興会フッ素化学第 155 委員会.
 23. フッ素化学入門 2010 基礎と応用の最前線. (独)日本学術振興会フッ素化学第 155 委員会編. **2010**, 510, 三共出版.
 24. The unique role of fluorine in the design of active ingredients for modern crop protection. P. Jeschke. *Chem. Biol. Chem.* **2004**, 5, 570-589.
 25. Comparison of acaricidal, insecticidal, and nerve activities of halfenprox (MTI-732) and related compounds. K. Nishimura, H. Okimoto, T. Ueno, S. Shiraishi, K. Kodaka, K. Tomoda. *J. Pestic. Sci.* **1996**, 21, 311.

26. フッ素系化合物の合成と機能. 石川延男監. **1987**, 320-329, シーエムシー出版.
27. 農薬デザインとCF₃-ピリジン. 芳賀隆弘. 第20回農薬デザイン研究会 **2004**.
28. 農薬学. 佐藤仁彦, 宮本徹編. **2003**, 1-4, 朝倉書店.
29. 殺菌剤シフルフェナミドの開発. 佐野楨亮, 笠原勇, 山中誉. 日本農薬学会誌 **2007**, 32(2), 151-156.
30. <http://www.chemuseum.com/professional/report/11/index.html>.
31. 新規ピレスロイド系殺虫剤メトフルトリンの開発. 石渡多賀男. 月刊ファインケミカル **2007**, 36, 35-44, シーエムシー出版.
32. Phthalamide derivatives, or salt thereof agrohorticultural insecticide, and method for using the same. M. Tohnishi, H. Nakao, E. Kohno, T. Nishida, T. Furuya, T. Shimizu, K. Sakata, S. Fujioka and A. Seo. *Eur. Pat. Appl.* EP 1006107 (2000).
33. アニリン誘導体及びその製造方法. 大西正展, 好浦昭彦, 河野栄司, 津幡健治. 日本公開特許公報 2001-122836 (2001).
34. a) Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous insect pests. M. Tohnishi, H. Nakao, T. Furuya, A. Seo, H. Kodama, K. Tsubata, S. Fujioka, H. Kodama, T. Hirooka and T. Nishimatsu. *J. Pestic. Sci.* **2005**, 30, 354-360. b) 新規殺虫剤フルベンジアミドの創製. 遠西正範. 月刊ファインケミカル **2007**, 36, 58-66, シーエムシー出版.
35. 農薬の動向と研究開発 新規昆虫行動制御剤ピリフルキナゾンの創製. 上原正浩. 月刊ファインケミカル **2015**, 44, 23-30, シーエムシー出版.
36. Synthesis and insecticidal activity of 3-aminoquinazolinone derivatives. M. Uehara, T. Shimizu, S. Fujioka, M. Kimura, K. Tsubata and A. Seo. *Pestic. Sci.* 55, 359-362 (1999).
37. Substituted aromatic amide derivative, intermediate thereof, agrohorticultural insecticide containing thereof and method for the use thereof. M. Goto, M. Yamaguchi, H. Harayama, H. Nakao, T. Furuya, M. Tohnishi, M. Morimoto and S. Fujioka. *Pct. Int. Appl.* WO2002/94765 (2002).

第二章 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系骨格へのヘキサフルオロ基を有する置換基の導入

2-1 序論

2-1-1) ミトコンドリア複合体を阻害する農薬

ミトコンドリアは生命維持に必須の生物界共通のエネルギー源である ATP の多くを産出する重要な細胞内小器官である。ミトコンドリアの内膜には 5 つの酵素複合体 (I、II、III、IV、V) が存在している (Fig. 2-1)。複合体 I は NADH 脱水素酵素複合体とも呼ばれ、電子伝達系の中でも最も大きい複合体であり、複合体 III と IV とともに電子伝達によって駆動される H⁺ポンプとしても働いている。複合体 II はコハク酸脱水素酵素複合体とも呼ばれる。複合体 III はシトクローム b-c 複合体とも呼ばれ、複合体 I と複合体 II より電子が供給され還元されたユビキノンからシトクローム c へ電子を伝達する。複合体 IV はシトクローム酸化酵素複合体とも呼ばれシトクローム c から電子を受け取り最終の電子受容体である酸素へ電子を渡して水を生成し、その際に水素が膜間スペースへ移動する。この膜間スペースに移動した水素イオンが、ATP 合成酵素複合体とも呼ばれる複合体 V を経由して再びマトリックス側に戻ってくることによって蓄えられたエネルギーを利用して ADP とリン酸により ATP が生合成される¹⁾。

電子伝達系の流れを阻害すれば生物は生命現象を維持できなくなるため、農薬分野において各複合体の阻害剤の研究が精力的に行われており、これまでに多くの各複合体の阻害剤が報告されている。

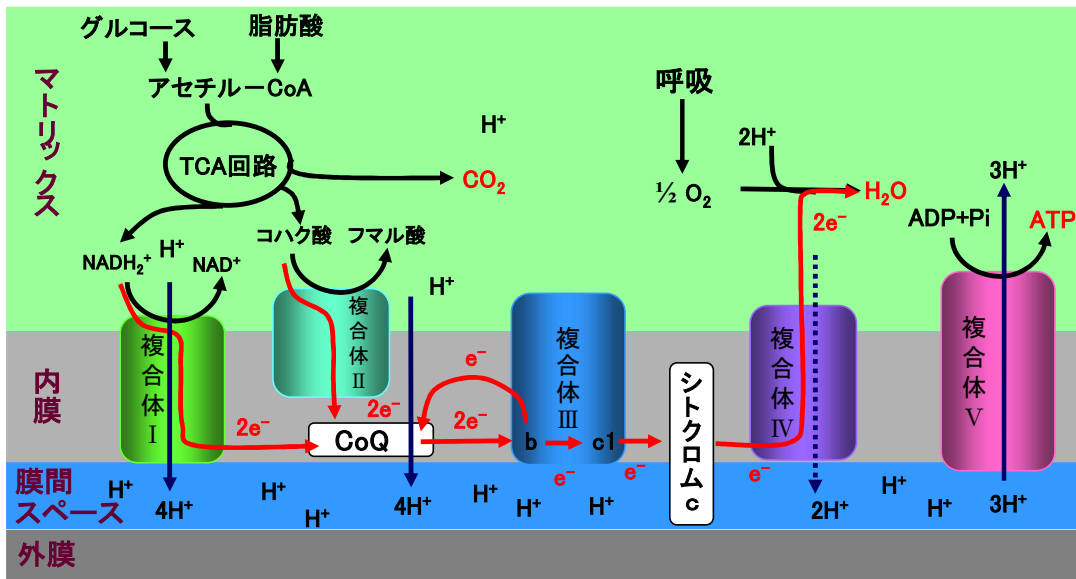


Fig. 2-1. ミトコンドリア内膜の酵素複合体

2-1-2) ミトコンドリア複合体IIを阻害するカルボキサミド化合物

電子伝達系ミトコンドリア複合体の阻害を示す合成農薬の中で、複合体IIを阻害するカルボキサミド系化合物は最も歴史が古い化合物群である。本系統の農業用殺菌剤としての利用は1966年のカルボキシンの上市に始まり、その後、オキシカルボキシン、フェンフラム、ベノダニル、メプロニル²、フルトラニル³などのイネ紋枯病菌を含む担子菌類に優れた効果を示す剤が相次いで見出された⁴。上記の第一世代のカルボキサミド系殺菌剤は、担子菌類への効果に限られていたが、担子菌類への効果を高めた第二世代のフラメトピル、チフルザミドにおいて、高濃度では黒星病やうどんこ病などの子囊菌類に対する効果が新たに発現した (Fig. 2-2)⁴。

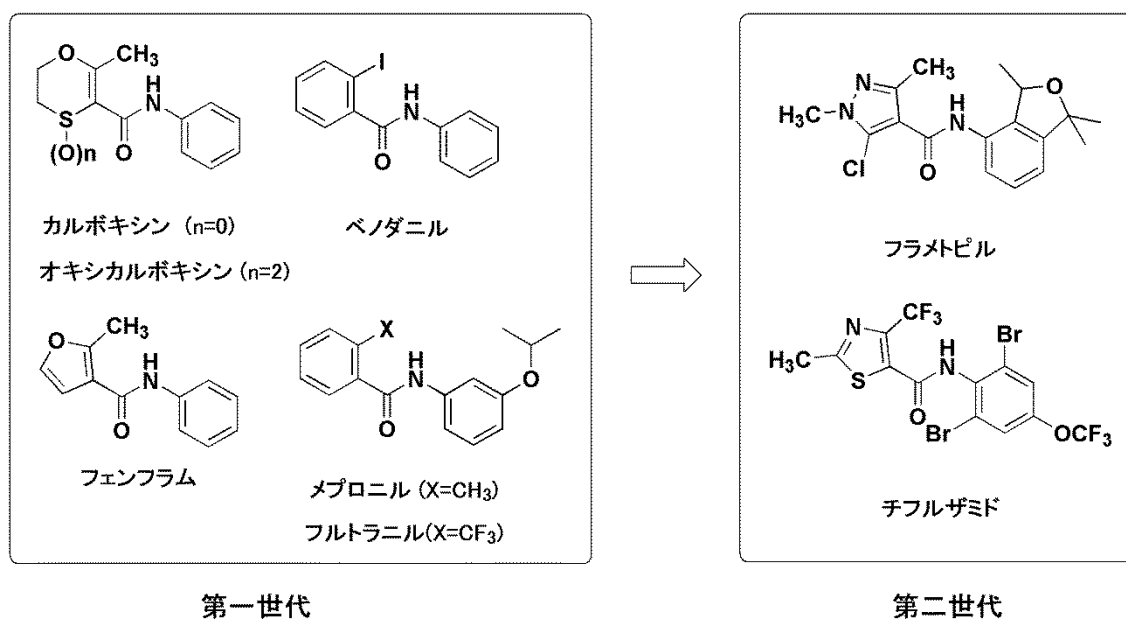


Fig. 2-2. カルボキサミド系殺菌剤の変遷

その後、第三世代の剤として、最初に子囊菌類への実用的な効果を示す剤としてアニリド2'位に4-クロロフェニル基を有するボスカリドが登場した。その後、三井東圧化学(株)(現:三井化学アグロ(株))よりアニリド2'位に分岐した側鎖を有することを特長とするカルボキサミド **14** が従来の固定観念を覆し、担子菌類の高い効果を維持しながら、子囊菌類や不完全菌類に対して幅広い殺菌スペクトルを示すことが報告された⁵。以後の合成展開によりベンゼン環部位をチオフェンに変換したペンチオピラドが見出された (Fig. 2-3)。これら知見を端緒として、その後多くの企業で研究がすすめられ、これまでに多くの剤が開発されているが、いもち病、または疫病、べと病などの卵菌病に対して実用的な効果を示す剤は見出されていない^{6,7}。

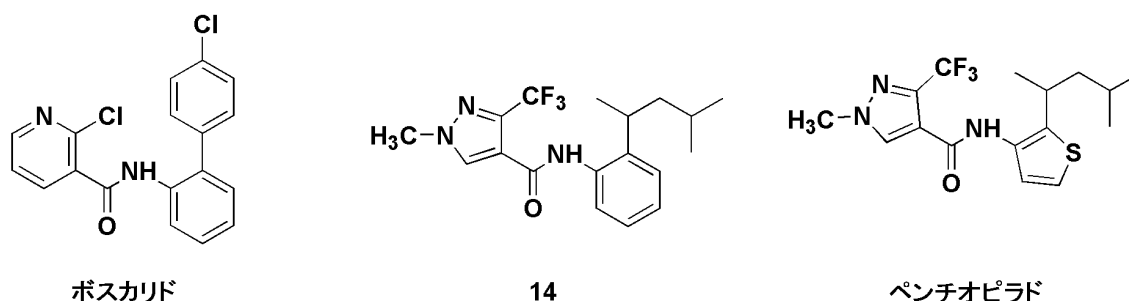


Fig. 2-3. オルト位に置換基を有する第三世代のカルボキサミド系殺菌剤

2-2 カルボキサミド系化合物へのヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁体の導入（新規殺ダニ剤のリード化合物創出）

2'位に1,3-ジメチルブチル基を有する新規な構造と生物活性に注目し、さらなるワイドスペクトルを有する化合物を見出すことを目的としてミトコンドリア複合体IIの阻害を有するカルボキサミド系殺菌剤へヘキサフルオロイソプロピルおよびその誘導体を導入する展開をおこなうこととした。

ペンチオピラドとそのプロトタイプである化合物**14**は同レベルの殺菌活性を有していることから⁶、ヘキサフルオロイソプロピル基およびその誘導体の導入が容易なアニリド体**14**の周辺展開を開始することとした。

化合物**14**を包含する公開特許公報を解析したところ、酸部位はヘテロ環に限定されており、さらにアニリノ4'位へ置換基を導入された化合物については具体的な実施例は開示されておらず、また、特許の請求の範囲にも含まれていないことがわかった (Fig. 2-4)⁵。

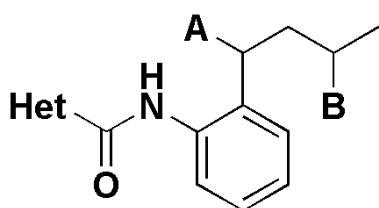


Fig. 2-4. アニリド**14**を包含する特許の一般式

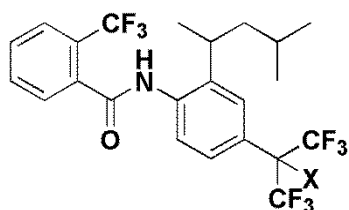
実施例にある化合物のすべてがアニリド4'位は無置換であり、また、これまでに上市されているカルボキサミド系殺菌剤の4'位は無置換のものがほとんどである。しかしながら、チフルザミド⁸の様に4'位にトリフルオロメトキシ基を有している例もあることから、4'位に脂溶性の高い置換基を導入しても高活性を示す可能性があるものと思われた。そこで、酸部をフルトラニルのカルボン酸に変換することとし、新規アニリド**15**をデザイン・合成し、生物評価をおこなった。

ヘプタフルオロイソプロピル基を導入した化合物**15**は殺菌活性を示したものの、特許化合物**14**に比べて活性が低下した (Table 2-1)。

このヘプタフルオロイソプロピル体**15**の殺菌活性低下の原因はヘプタフルオロイソプロピル基導入によってもたらされた大幅な脂溶性増大に起因するものと考えられた。そこで、脂溶性低減を目的として、ハロアロキシル基のフッ素原子数を減らすことを検討することとし、**15**のベンジル位のフッ素原子を水素原子

に変換したヘキサフルオロイソプロピル体 **10** を合成した。しかし、期待した殺菌活性に大きな改善は見られなかった (Table 2-1)。

Table 2-1. 生物試験(殺菌剤)の結果 (50 ppm)



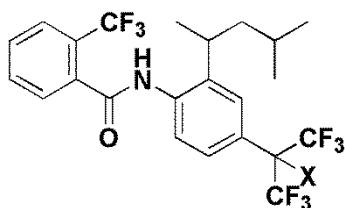
化合物	X	リンゴ 黒星病	キュウリ 灰色かび 病	オオムギ うどんこ 病	イネ 紋枯病	イネ いもち 病
14	-	10	8	10	10	7
15	F	8	0	2	4	4
10	H	10	0	3	-	-

判定基準： 0：防除価 9%以下、1：防除価 10~19%、2：防除価 20~29%、
3：防除価 30~39%、4：防除価 40~49%、5：防除価 50~59%、
6：防除価 60~69%、7：防除価 70~79%、8：防除価 80~89%、
9：防除価 90~99%、10：防除価 100%

ミトコンドリア複合体の阻害剤において、90年代よりフェンピロキシメートやピリダベン等の殺ダニ剤が報告されている⁹。また、これまでに開発されたヘプタフルオロイソプロピル基が導入されたフルベンジアミドやピリフルキナズンはいずれも殺虫剤である。

このような背景から、殺菌活性の評価と並行して、殺虫活性の評価もおこなうこととした。その結果、ヘキサフルオロイソプロピル体 **10** が 500 ppm の処理濃度においてナミハダニの幼虫に対して効果を示すことが判明した (Table 2-2)。

Table 2-2. ナミハダニに対する試験結果 (500 ppm)



化合物	X	ナミハダニ幼虫活性
15	F	E
10	H	A

判定基準：E（死虫率 50%未満）、D（死虫率 50%以上、80%未満）、C（死虫率 80%以上、90%未満）、B（死虫率 90%以上、100%未満）、A（死虫率 100%）

殺ダニ剤の市場規模は 8.3 億ドル (2013 年)¹⁰ と大きくないものの、ダニ類は世界のあらゆる地域で果樹、蔬菜、茶、花卉、および綿などの農作物に寄生し、収量や品質に影響を及ぼすことから重要な防除対象害虫である。加えてハダニはライフサイクルが 2 週間程度と短く、また繁殖力が強いため、薬剤に対する抵抗性の発達が極めて早く、他分野と比較しても新規剤の要望が高い分野でもある¹¹。殺ダニ活性は当初の目的の生物活性ではなかったが、ヘキサフルオロイソプロピル体 **10** は殺ダニ剤として新規な骨格であることから、探索ターゲットを殺菌剤から殺ダニ剤に変更して研究をすすめることとした。

2-3 殺ダニ活性発現に関する考察

ミトコンドリア複合体 II の阻害剤ではこれまで報告例はないものの、他のミトコンドリア複合体の阻害剤においては同一系統から殺ダニ剤と殺菌剤が創出された例が知られており、複合体 I の阻害剤では、殺ダニ剤ピリミジフェンの展開から殺菌剤ジフルメトリムが、複合体 III の阻害剤ではストロビルリン系殺菌剤であるクレソキシムメチルの展開から殺ダニ剤フルアクリピリムが開発されている (Fig. 2-5)¹²。

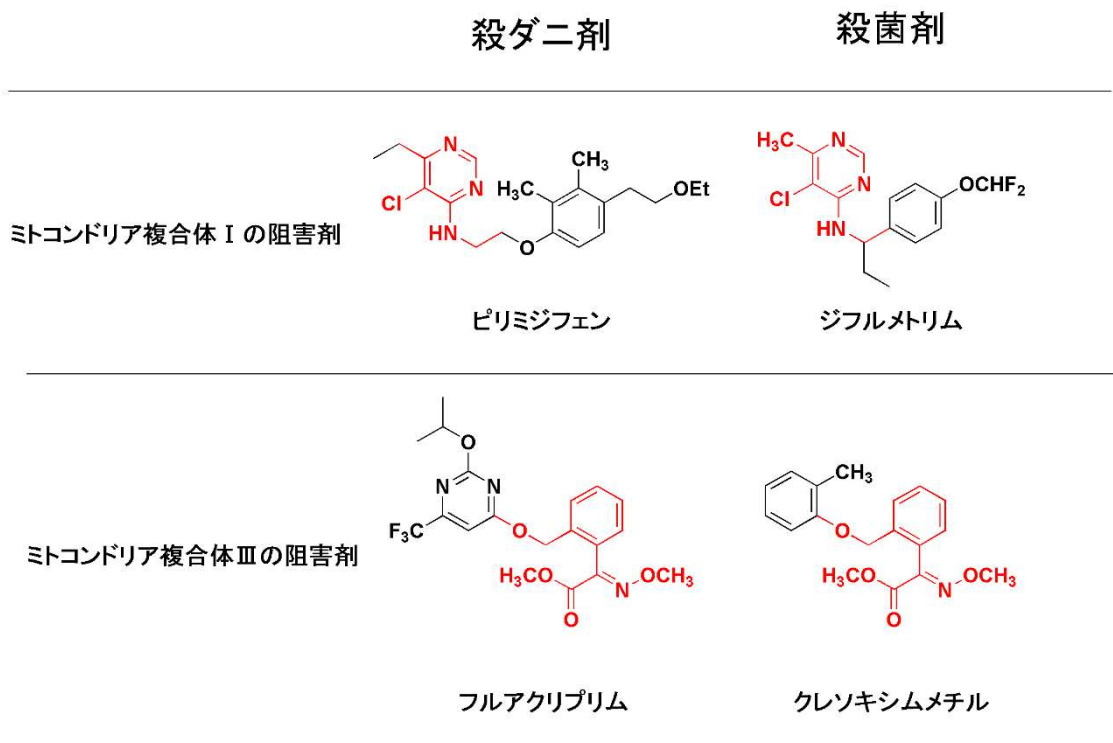


Fig. 2-5. ミトコンドリア複合体 I、および複合体 III を阻害する類似構造を有する殺菌剤と殺ダニ剤

これまでミトコンドリア複合体 II を阻害することにより殺ダニ活性を示すカルボキサミド系化合物の報告例はなかったが、化合物 **10** はヘキサフルオロイソプロピル基を除き、ミトコンドリア複合体 II を阻害するカルボキサミド系殺菌剤 **9** と化学構造が類似していることから (Fig. 2-6)、化合物 **10** の殺ダニ活性は前述のカルボキサミド系殺菌剤と同じく、ミトコンドリア複合体 II を阻害することによって発現したのではないかと考えられた。

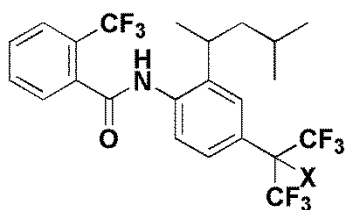


Fig. 2-6. カルボキサミド系殺菌剤の一般構造 **9** と化合物 **10**

次に、化合物 **10** と **14** ならびに **15** の clogP を Table 2-3 に示すが、殺ダニ活性

を示したヘキサフルオロイソプロピル体 **10** の cLogP 値は 5.87 と 4'位無置換体 **14** の 2.94 に比べて高い cLogP 値を有している。殺ダニ活性発現は 4'位へのヘキサフルオロイソプロピル基導入による大幅な脂溶性付与によってもたらされたと考えられる。一方、**10** よりもさらに高い cLogP 値を有するヘプタフルオロイソプロピル体 **15** は殺ダニ活性を示さなかったことから、殺ダニ活性発現には 4'位への置換基導入による適度な脂溶性付与が重要であることが示唆された。

Table 2-3. 化合物 **14,15** および **10** のナミハダニ活性と clogP

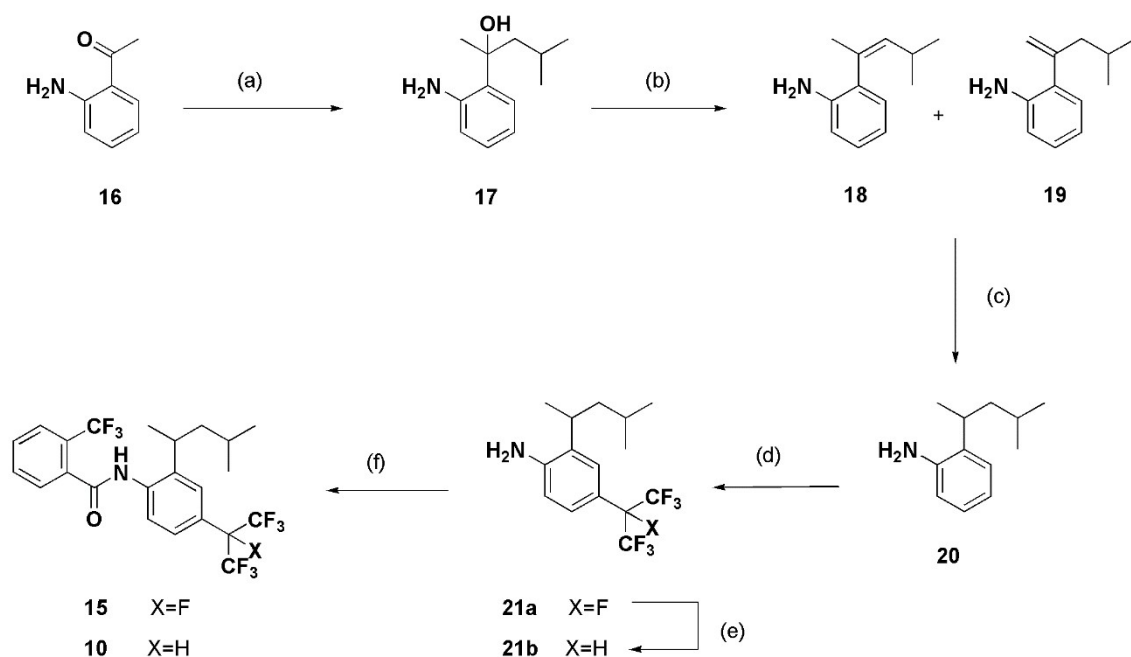


化合物	X	ナミハダニ幼虫活性 (500ppm)	clog P
14	-	E	2.94
15	F	E	6.34
10	H	A	5.87

判定基準：E（死虫率 50%未満）、D（死虫率 50%以上、80%未満）、C（死虫率 80%以上、90%未満）、B（死虫率 90%以上、100%未満）、A（死虫率 100%）

2-4 合成法

2-アミノアセトフェノン(**16**)をイソブチルマグネシウムブロミドと反応させ、アミノアルコール体 **17** を得、その後脱水、オレフィンへの水素添加をおこない、2-(1, 3-ジメチルブチル)アニリン(**20**)を合成した¹³。その後、ヘプタフルオロイソプロピル化によりヘプタフルオロイソプロピルアニリン **21a** を得た。ペンタフルオロイソプロピル体 **21a** のベンジル位のフッ素原子を還元反応により水素に置きかえることにより、ヘキサフルオロイソプロピル体 **21b** を得た。これらのアニリン類を 2-トリフルオロメチルベンゾイルクロリドと反応させることにより、アニリド **15** および **10** を合成した(Scheme 2-1)。



Reagents and conditions: (a) *i*-BuMgBr / THF (b) *p*-TsOH · H₂O / Toluene, reflux (c) H₂, 5%Pd/C/ EtOH (d) (CF₃)₂C=O, Na₂S₂O₄, NaHCO₃, *n*-Bu₄NHSO₄ / MTBE-H₂O, r.t., 3h (68%) (e) LiAlH₄/ THF, reflux, 3h (98%) (f) 2-CF₃PhCOCl, Et₃N / THF, r.t., 3h (32-61%) .

Scheme 2-1. ベンゼンカルボキサニリド体 **15** および **10** の合成法

2-5 小括

新規農薬創出を目指してミトコンドリア複合体Ⅱの阻害剤であるカルボキサミド系化合物へヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁置換基の導入を行った。アニリノ4'位にヘプタフルオロイソプロピル基を導入した**15**を合成したところ、殺菌活性が大幅に低下した。そこで、脂溶性低減のためにベンジル位のフッ素原子を還元反応条件で水素原子に変換したヘキサフルオロイソプロピル体**10**を合成したところ、殺菌活性は改善されなかったものの、同時に実施した殺虫活性の評価試験において、これまで報告例のない新規な殺ダニ活性が見出された。

ミトコンドリア複合体Ⅱにおいてはこれまで報告例はないものの、他のミトコンドリア複合体Ⅰ、およびⅢの阻害剤では、殺ダニ剤と殺菌剤が同系統の構造から開発されていること、および殺ダニ活性を示した化合物**10**とミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系殺菌剤との構造類似性から、今回の殺ダニ活性についてはこれまで未検討であった4'位へのヘキサフルオロイソプロ

ピル基の導入によりカルボキサミド系化合物から新規な殺ダニ活性が見いだされたのではないかと推察した。

2-6 実験の部

Chemistry

市販の試薬は記載のある場合を除いて精製せずそのまま使用した。シリカゲルカラムは wakogel C-300 を用いるか、あるいは精製装置 purif- α 2 (Shoko Science 社製)を用いて精製した。

^1H NMR と ^{13}C NMR スペクトルは Bruker Avance III 400 MHz NMR spectrometer を用いた。測定に使用した溶媒は文中に記載の溶媒を用いて 23 °C で測定した。

オクタノール/水分配係数(LogPo/w)はフラスコ振とう法によって求めた。

UV スペクトルの測定はダブルビーム紫外可視分光光度計 U-3000 (株式会社日立製作所) を用いた。

IR 測定は Nicolet iS 10 FT-IR (ThermoFisher Scientific 社)を用い、KBr 錠剤法にて測定した。

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**21a**)^{14, 15}

文献記載の方法によって得られた 2-(1,3-ジメチルブチル)アニリン(**20**)⁹ 600 mg (3.4 mmol)を MTBE-H₂O の 1 : 1 の混合液 12 ml に溶解し、ヘプタフルオロイソプロピルヨージド 1 g (3.4 mmol)、*n*-Bu₄NHSO₄ 115 mg (0.34 mmol)、炭酸水素ナトリウム 284 mg (3.4 mmol) を順次加え、Na₂S₂O₄ 574 mg (3.4 mmol)を徐々に加えた後、室温で 2 時間攪拌した。反応液を MTBE (30 ml)で希釈し、2N 塩酸 20 ml で 2 回洗浄後、水 20 ml、飽和重層水 20 ml、飽和食塩水 20 ml で洗浄した。芒硝乾燥後、減圧濃縮を行い、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより **21a** 791 mg をオイル状化合物として得た。(収率 68%)

物性 : ^1H -NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.26 (s, 1H), 7.20 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 6.71 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 4.00-3.80 (br, 2H), 2.79 (m, 1H), 1.65-1.48 (m, 2H), 1.47-1.33 (m, 1H), 1.25-1.18 (m, 3H), 0.90 (dd, *J*=6.3 Hz, *J*=8.1 Hz, 6H)

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**21b**)¹⁴

水素化リチウムアルミニウム 2.0 g (52.7 mmol)を THF 60 ml に懸濁させ、2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**21a**) 14.0 g (40.5 mmol)を滴下し、3 時間加熱還流した。氷冷下、反応液に水を少量ずつ加え、その後 10 分間攪拌した。硫酸マグネシウムを加え、さらに 10 分間攪拌した。反応液をセライトろ過し、ろ液を減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより、**21b** 13.0 g を得た。(収率 98%)

物性：¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.07 (s, 1H), 7.04 (d, 1H), *J*=8.4 Hz), 6.69 (d, 1H, *J*=8.4 Hz), 3.91 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 1.60-1.30 (m, 3H), 1.30-1.15 (m, 3H), 0.89 (t, *J*= 6.6 Hz, 6H)

2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]-2-(トリフルオロメチル)ベンズアニリド(**15**)

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**21a**) 345 mg (1.0 mmol)およびトリエチルアミン 101 mg (1.0 mmol)を THF 10 ml に溶解し、2-トリフルオロメチルベンゾイルクロリド 232 mg (1.0 mmol)を氷冷下に加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈後水洗した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより 2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]-2-(トリフルオロメチル)ベンズアニリド(**15**) 165 mg をペーストとして得た (収率 32%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.11 (d, *J*=9.3 Hz, 1H), 7.83 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.71-7.58 (m, 3H), 7.53-7.47 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 2.93 (m, 1H), 1.68-1.40 (m, 3H), 1.30-1.20 (m, 3H), 0.82 (q, *J*=6.0 Hz, 6H)

屈折率

1.4725 (25.2 °C)

2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]-2-(トリフルオロメチル)ベンズアニリド(**15**)

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**21a**) 345 mg (1.0 mmol)およびトリエチルアミン 101 mg (1.0 mmol)を THF 10 ml に溶解し、2-トリフルオロメチルベンゾイルクロリド 232 mg (1.0 mmol)を氷冷下に加え、室温で 2 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈後水洗した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより 2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]-2-(トリフルオロメチル)

ル)ベンズアニリド(**15**) 165 mg をペーストとして得た (収率 32%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.11 (d, *J*=9.3 Hz, 1H), 7.83 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.71-7.58 (m, 3H), 7.53-7.47 (m, 2H), 7.38 (s, 1H), 2.93 (m, 1H), 1.68-1.40 (m, 3H), 1.30-1.20 (m, 3H), 0.82 (q, *J*=6.0 Hz, 6H)

屈折率

1.4725 (25.2 °C)

2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]-2-(トリフルオロメチル)ベンズアニリド(**10**)

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**21b**) 480 mg (1.5 mmol)およびトリエチルアミン 170 mg (1.7 mmol)を THF 10 ml に溶解し、2-トリフルオロメチルベンゾイルクロリド 310 mg (1.5 mmol)を氷冷下に加え、室温で2時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈後水洗した。無水硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより 2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]-2-(トリフルオロメチル)ベンズアニリド(**10**) 450 mg (61%)をペーストとして得た。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.97 (d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.77 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 7.68-7.55 (m, 3H), 7.38 (s, 1H), 7.35-7.27 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 2.94 (m, 1H), 1.57-1.35 (m, 3H), 1.21 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.83 (d, *J*=6.0 Hz, 3H), 0.80 (d, *J*=6.0 Hz, 3H)

屈折率

1.4770 (20.1 °C)

Formulation

生物試験をおこなう製剤は以下の重量部で均一に溶解して乳剤を調製し、生物試験に供した。

試験化合物	10 部
キシレン	70 部
N-メチルピロリドン	10 部
ポリオキシエチレンノニルフェニルエーテル	5 部
アルキルベンゼンスルホン酸カルシウム	5 部

Biology

1) リンゴ黒星病防除効果試験

ポットで育成したリンゴ苗木（品種：王林）に化合物を上記の製剤方法に従って調製した 10%乳剤を水で所定量に希釈して（有効成分濃度 50 ppm、散布薬量 50 ml に調整）茎葉散布した。散布翌日に PSA 培地（蔗糖 20 g、寒天 15 g、ジャガイモ 200 g の煎汁 1000 ml、pH 7）で培養して得られたリンゴ黒星病（*Venturia inaequalis*）の孢子懸濁液を噴霧接種し、20 °C の多湿条件下で保持した。接種 14 日後に下記基準に従って防除価を求め、下記の判定基準に従って、防除効果を判定した。

防除価 (%) = $100 \times (\text{無処理区の病斑直径} - \text{処理区の病斑直径}) / \text{無処理区の病斑直径}$

判定基準

- 0：防除価 9%以下
- 1：防除価 10～19%
- 2：防除価 20～29%
- 3：防除価 30～39%
- 4：防除価 40～49%
- 5：防除価 50～59%
- 6：防除価 60～69%
- 7：防除価 70～79%
- 8：防除価 80～89%
- 9：防除価 90～99%
- 10：防除価 100%

2) キュウリ灰色かび病防除効果試験

直径 9 cm のポットで育苗した 1 葉期のキュウリ（品種：四葉）に化合物を上記製剤方法に従って調製した 10%乳剤を水で所定量に希釈して茎葉散布した。散布翌日に PSA 培地で培養して得られたキュウリ灰色かび病菌 (*Botrytis cinerea*) の孢子懸濁液を直径 6 mm のペーパーディスクに含浸させてキュウリ子葉に着床接種し、20 °C 多湿条件下で保持した。接種後 7 日後にリンゴ黒星病で用いた判定基準に従って防除効果を判定した。

3) オオムギうどんこ病防除効果試験

直径 6 cm のポットで育苗した 1 葉期のオオムギ（品種：関東 6 号）にうどんこ病 (*Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*) の孢子をふりかけて接種し、1 日後に化合物を上記製剤方法に従って調製した 10%乳剤を水で所定量に希釈したものを散布し、25 °C の恒温室に静地した。接種 1 週間後にその病斑面積を調査し、無処理区と対比してリンゴ黒星病で用いた判定基準で防除効果を判定した。

4) イネ紋枯病防除効果試験

ポットで栽培した 10 葉期のイネ（品種：金南風）に化合物を上記製剤方法に従って調製した 10%乳剤を水で所定量に希釈したものを茎葉散布した。風乾後、イネの株元にイネ紋枯病菌 (*Rhizoctonia solani*) の菌核を接種し、25°C 多湿条件下に 7 日間置き十分に発病させた。接種部位からの病斑高を計測し、下記式で防除価を算出し、リンゴ黒星病で用いた判定基準で防除効果を判定した。

$$\text{防除価(\%)} = [(\text{無処理区の病斑高} - \text{処理区の病斑高}) \div \text{無処理区の病斑高}] \times 100$$

5) イネいもち病に対する防除効果試験

ポットで栽培した 7 葉期のイネ（品種：金南風）に、化合物を上記製剤方法に従って調製した 10%乳剤を水で所定量に希釈したものを茎葉散布した。処理当日、風乾後にいもち病菌 (*Pyricularia oryzae*) の孢子懸濁液を噴霧接種した。接種後、20 °C 多湿条件下に 7 日間置いた後、病斑数を調査し、防除価を算出した。

6) ナミハダニに対する殺ダニ活性評価試験

ナミハダニ (*Tetranychus urticae* Koch) は日本農薬株式会社総合研究所（大阪府河内長野市）にて 30 年以上飼育されているものを用い、餌としてインゲン葉 (*Phaseolus vulgaris* L.) を用いて、25±1 °C、60-70% R.H. and 16L:8D photoperiod 下で飼育した。インゲン葉で直径 2 cm のリーフディスクを作成し、湿潤ろ紙上に置き、そこへナミハダニの雌成虫を接種した後、上記製剤方法に従って評価化合物の 10%乳剤を調製し、水で希釈して薬剤濃度を 500 ppm とした薬液 50 ml を均一に散布し、散布後 25 °C の恒温室に静置した。薬剤処理 2 日後に死亡虫数を調査し、成虫を除去した。産下卵から孵化してきた幼虫について、薬剤処理 9 日後に生存虫を計数した。それらの値から下記の判定基準に従って成虫活性、殺幼虫活性を判定した。試験は 2 連制で行った。

$$\text{補正死虫率(\%)} = 100 \times (\text{無処理区生存虫数} - \text{処理区生存虫数}) / \text{無処理区生存虫数}$$

判定基準：E（死虫率 50%未満）、D（死虫率 50%以上、80%未満）、C（死虫率 80%以上、90%未満）、B（死虫率 90%以上、100%未満）、A（死虫率 100%）

2-7 参考文献

1. 農薬開発の動向 - 生物制御科学への展開 - . 山本出監. **2003**, 35-39, シーエムシー出版.
2. a) 殺菌剤メプロニルの開発. 川田晴郷, 坂本彬, 嶋崎功. 日本農薬学会誌 **1985**, 10, 315-324. b) Mechanism of action and selectivity of a fungicide, Mepronil. T. Shimizu, T. Nakao, Y. Suda and H. Abe. *J. Pestic. Sci.* **1992**, 17, 39-46.
3. 浸透性殺菌剤フルトラニルの開発. 荒木不二夫, 藪谷邦宏. 日本農薬学会誌 **1993**, 18, S69 - S77.
4. ベンズアニリド系殺菌剤の変遷 - carboxin そして mepronil, flutolanil から penthiopyrad, boscalid へ - . 汲田泉. 月刊ファインケミカル **2006**, 35(7), 25-35, シーエムシー出版.
5. 置換カルボン酸アニリド誘導体およびこれを有効成分とする植物病害防除剤. 吉川幸宏, 富谷完治, 戸村直文, 勝田裕之, 高橋完, 稲見俊一, 柳瀬勇次, 貴志淳郎, 川島秀雄 (三井東圧化学). 日本公開特許公報 平 10-310577 (1998).
6. a) 新規殺菌剤ペンチオピラドの研究開発. 柳瀬勇次, 勝田裕之, 富谷完治, 榎本幹, 坂本修. 日本農薬学会誌 **2013**, 38(2), 120-129. b) 新規殺菌剤ペンチオピラドの創製. 勝田裕之, 吉川幸宏. 月刊ファインケミカル **2013**, 42(3), 28-36, シーエムシー出版.
7. 農薬の創製研究の動向 - 安全で環境に優しい農薬開発の展開 - . 梅津憲治監. **2018**, 71-77, シーエムシー出版.
8. Thiazole carboxanilide fungicides: A new structure-activity relationship for succinate dehydrogenase inhibitors. W. G. Philips and J. M. Rejda-Heath. *Pestic. Sci.* **1993**, 38, 1-7.
9. 農薬からアグロバイオレギュレーターへの展開. 山本出監. **2009**, 101-110, シーエムシー出版.
10. The economic importance of acaricides in the control of phytophagous mites and an update on recent acaricide mode of action research. Van Leeuwen T, Tirry L, Yamamoto A., Nauen R. and Dermauw W. *Pestic Biochem Physiol.* **2015**, 121, 12-21.
11. ハダニの薬剤抵抗性. 刑部正博, 上杉龍士. 日本農薬学会誌 **2009**, 34(3), 207-214.
12. Modern Crop Protection Compound Volume 2. W. Krämer and U. Schirmer, ed. **2007**, 457-495, Wiley-vch.
13. 置換カルボン酸アニリド誘導体およびこれを有効成分とする農園芸用殺菌

剤. 吉川幸宏, 富谷完治, 勝田裕之, 高橋完, 稲見俊一, 柳瀬勇次, 川島秀雄.
日本公開特許公報 1998-251240 (1998).

14. Substituted anilide derivatives, intermediates thereof, agricultural and horticultural chemicals, and their usage. T. Furuya, M. Yamaguchi, M. Tohnishi, A. Seo, M. Morimoto, T. Takemoto and S. Fujioka. *Pct. Int. Appl.* WO2002/96882 (2002).
15. アニリン誘導体及びその製造方法. 大西正展, 好浦昭彦, 河野英司, 津幡健治. 日本公開特許公報 2001-122836 (2001).

第三章 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害する既存のカルボキサミド化合物の化学構造を参考とした酸部位の最適化

3-1 序論

第二章において、ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害することにより殺菌活性を示すことが古くから知られているカルボキサミド系化合物の骨格にヘキサフルオロイソプロピル基を導入した化合物 **10** が殺ダニ活性を示すことを述べた。活性向上を目指し、化合物 **10** の構造を酸部位、アニリノ部位、アミド部位の部分構造に分けて、それぞれの部位を最適化することとした (Fig. 3-1)。

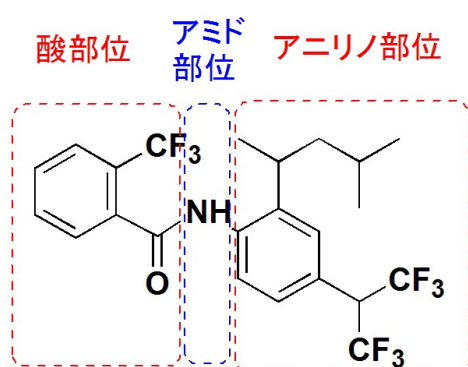


Fig. 3-1. 化合物 **10**

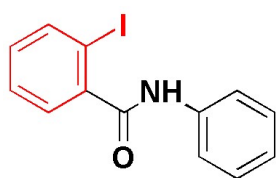
前述のカルボキサミド系殺菌剤との化学構造的類似性から、化合物 **10** の殺ダニ活性はミトコンドリアの複合体Ⅱの阻害によるものではないかと推察した。対象病害虫がダニと病原菌の違いはあるものの、同じミトコンドリアの複合体Ⅱを阻害するのであれば、活性発現に必要なとされる構造には高い相同性があることが予想される。そこで上記の仮説のもと、ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害する既存の殺菌剤の化学構造を参考に酸部位の合成展開を行うこととした。

3-2 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系殺菌剤の酸部位の導入

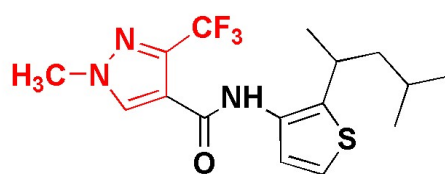
酸部位としてこれまで報告されているミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するアニリド系化合物を参考に合成展開したところ、ベノダニルのカルボン酸部で用いられている 2-ヨード安息香酸を導入した化合物 **22** がより高い活性を示した。しかし、**10** と同様に成虫に活性を示さず、幼虫のみに効果を示した。ハダニは Fig. 3-3 に示したようなライフサイクルを持つため¹、限られたステージのみの活性しか有しない剤では生き残りが多くなり、ハダニの密度低下までに時間を

要することになる。そのためハダニ剤についてはすべての生育ステージで効果を示すこと、特に成虫に対する効果を有することが強く望まれる。そこで、成虫活性付与とさらなる基本活性向上を目指してベンゼン環以外の環の検討を行うこととした。

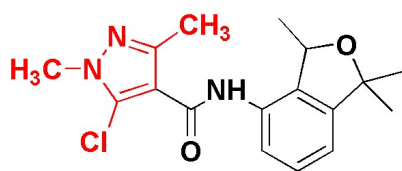
カルボキサミド系殺菌剤においては、Fig. 3-2 に示したようなピラゾール環を酸部位に有した剤が多数報告されていることから、これらを参考に検討することとした。ペンチオピラドの酸部位を導入した化合物 **23a** は殺成虫活性を示さなかったものの、ベンゼン環体と同様に殺幼虫活性を示したことから、ピラゾール体に期待がもたれた。次にフラメトピルやペンフルフェンの酸部位を導入した **23b** および **23c** を合成したところ、幼虫と成虫いずれに対しても 5 ppm レベルで殺ダニ活性を示し、幼虫に対して 500 ppm で活性を示した **23a** の 100 倍以上活性が向上した (Table 3-1)。



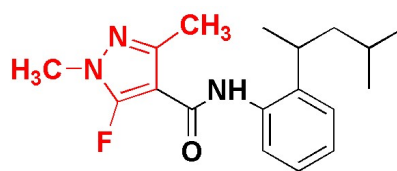
ベノダニル



ペンチオピラド



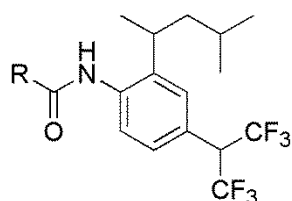
フラメトピル



ペンフルフェン

Fig. 3-2. ミトコンドリア複合体 II を阻害する殺菌剤-1

Table 3-1. 酸部位 R の殺ダニ活性に与える影響



化合物	R	濃度 (ppm)	ハダニ 殺幼虫活性	ハダニ 殺成虫活性
10		500	A	E
		50	E	E
		5	E	E
22		500	A	E
		50	A	E
		5	E	E
23a		500	A	E
		50	E	E
		5	E	E
23b		500	A	A
		50	A	A
		5	A	A
23c		500	A	A
		50	A	A
		5	B	A

判定基準 : E (死中率 50%未満)、D (死虫率 50%以上、70%未満)、C (死虫率 70%以上、90%未満)、B (死虫率 90%以上、100%未満)、A (死虫率 100%)



Fig. 3-3. ハダニのライフサイクル¹

3-3 ピラゾール環置換基の精査

フラメトピルの酸部位を導入した 5-クロロ-1,3-ジメチルピラゾール体 **23b** が高い活性を示したことから、次にピラゾールの各置換基の精査をおこなうこととした。

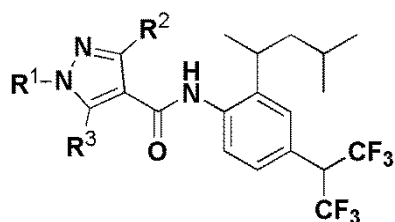
まず **23b** のピラゾールの 3 位(R^2)を変換したところ、エチル体 **23d**、クロロ体 **23e** はいずれも LC_{50} 値が 30 ppm 以上となり、メチル体 **23b** に比べて活性が低下した。また無置換体 **23f** においては LC_{50} 値が 300 ppm 以上となって大幅に活性が低下し、 R^2 の置換基としてはメチル基が最も良い結果を示した(Table 3-2)。

次にピラゾール 5 位(R^3)を検討したところ、無置換体 **23h** はクロロ体 **23b** に比べて活性が低下したが、逆にメチル体 **11** はクロロ体よりも 3~10 倍活性が高かった。

最後にピラゾール 1 位(R^1)を検討したが、炭素鎖を伸長した *n*-プロピル体 **23i** においてはメチル体より活性が低下した。

以上の結果、いずれの置換位置においてもメチル基が最も好ましく、より嵩高い置換基の導入や無置換体は活性が低下することが分かった (Table 3-2)。

Table 3-2. ピラゾール環置換基 R¹, R², R³ の殺ダニ活性に与える影響

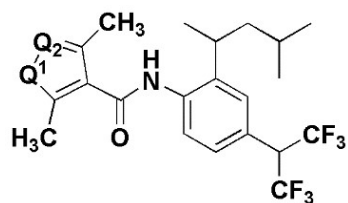


化合物	R ¹	R ²	R ³	LC ₅₀ (ppm)
23b	CH ₃	CH ₃	Cl	30
23d	CH ₃	Et	Cl	30-100
23e	CH ₃	Cl	Cl	100-300
23f	CH ₃	H	CH ₃	>300
23g	CH ₃	Cl	CH ₃	300
23h	CH ₃	CH ₃	H	100-300
11	CH ₃	CH ₃	CH ₃	3-10
23i	<i>n</i> -Pr	CH ₃	CH ₃	10-30

3-4 その他のヘテロ環の検討

ピラゾール体において高い活性が確認できたことから、高活性を示した **11** の類似のヘテロ環を検討したが、イソキサゾール体 **24** は高濃度でも殺ダニ活性を示さなかった。この結果から、ピラゾール環上の窒素原子も活性発現に必要であることが明らかとなった (Table 3-3)。

Table 3-3. ピラゾール環の窒素原子の殺ダニ活性に与える影響

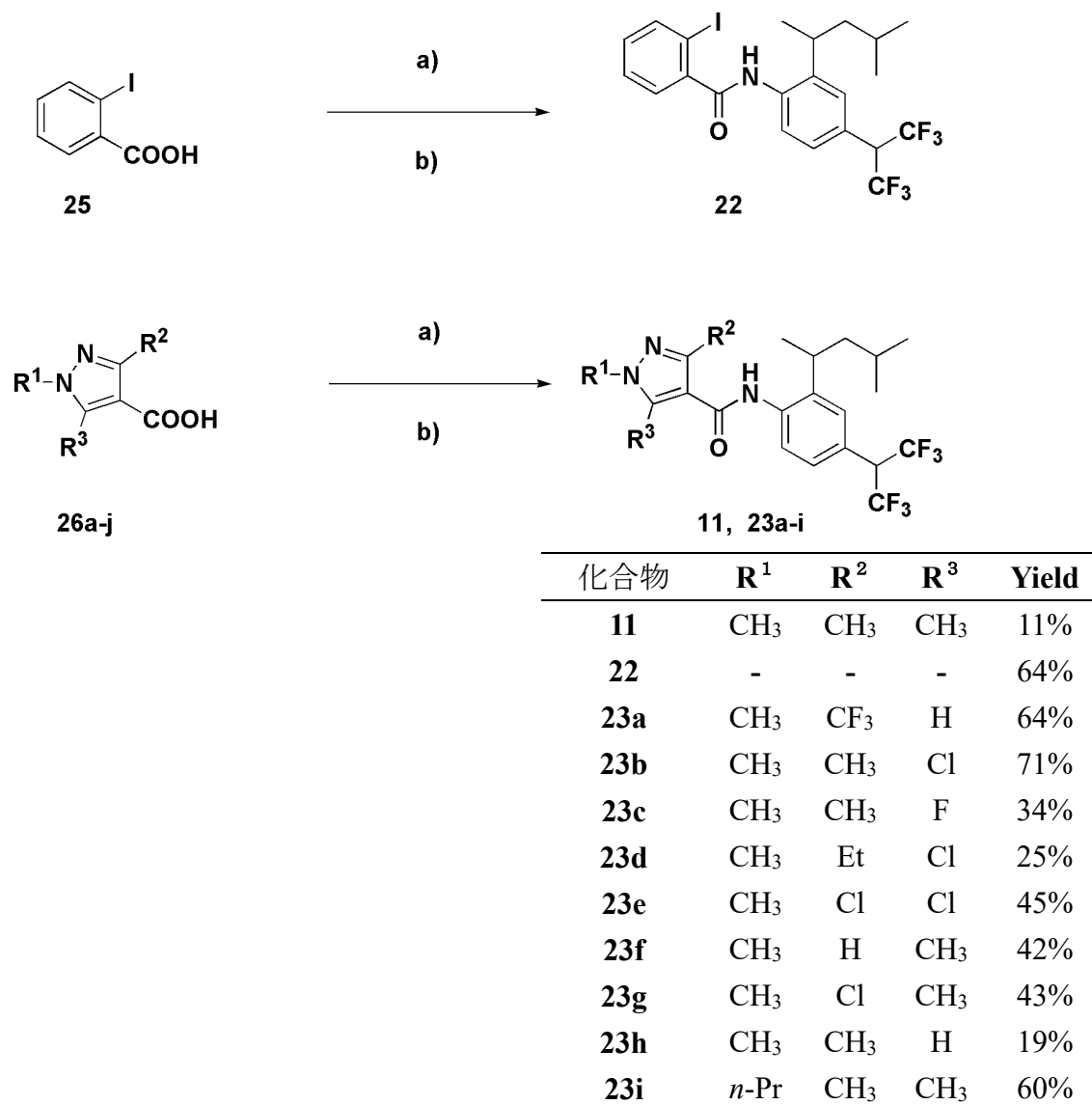


化合物	Q ¹	Q ²	LC ₅₀ (ppm)
11	N CH ₃	N	3-10
24	O	N	>300

3-5 合成法

ベンズアニリド **22**、ピラゾールカルボキサニリド **11** および **23a-i** については、

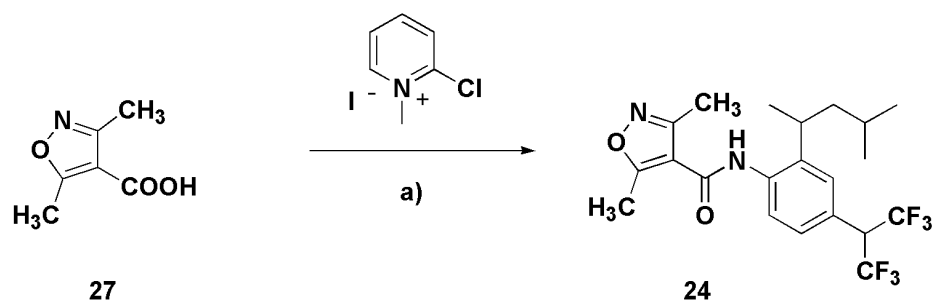
第 2 章の Scheme 2-1 と同様の下記合成法にて合成した (Scheme 3-2)。



Reagents and conditions: (a) SOCl₂/ Toluene, DMF (cat.) reflux (b) **21b**, Et₃N / THF, r.t.

Scheme 3-2. カルボキサニリド体 **11**, **22**, **23a-i** の合成法

イソキサゾール体 **24** については、縮合剤を用いたアミド化により目的化合物を合成した (Scheme 3-3)。



Reagents and conditions: (a) **21b**, Et₃N/ THF, r.t→reflux, 16%.

Scheme 3-3. イソキサゾール体 **24** の合成法

3-6 小括

既存のミトコンドリア複合体 II を阻害するカルボキサミド系殺菌剤の構造を参考にリード化合物 **10** の最適化をおこなうこととし、酸部位の改変を行った。その結果、フラメトピルの酸部位を持つ 5-クロロ-1,3-ジメチルピラゾール体 **23b** がナミハダニの幼虫だけでなく成虫に対しても高い活性を示した。その後、ピラゾール環の置換基の精査を行い、より高活性な 1,3,5-トリメチルピラゾール体 **11** を見出した。

3-7 実験の部

Chemistry

1,3,5-トリメチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**11**)

カルボン酸として 1,3,5-トリメチルピラゾール-4-カルボン酸 (**26j**)² を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した。(収率 11%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.94 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 7.32-7.20 (m, 3H), 4.06 (m, 1H), 3.73 (s, 3H), 2.93 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 1.57 (m, 2H), 1.40-1.10 (m, 7H), 0.84 (t, *J*=7.2 Hz, 6H)

2'-(1,3-ジメチルブチル)-2-ヨード-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ベンズアニリド(**22**)

カルボン酸として、2-ヨード安息香酸 (**25**) を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で **22** を合成した (収率 64%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.07 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.90 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.52 (d, *J*=6.3 Hz, 1H), 7.48 (t, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.40-7.20 (m, 3H), 7.18 (dt, *J*=1.2 Hz, 7.8 Hz), 4.06 (m, 1H), 3.00 (m, 1H), 1.60-1.40 (m, 3H), 1.24 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.84 (dd, *J*=6.3 Hz, 10.8 Hz, 6H)

1-メチル-2'-(1,3 ジメチルブチル)-3-トリフルオロメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23a**)³

カルボン酸として、3-トリフルオロメチル-1-メチルピラゾール-4-カルボン酸 (**26a**) を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で **23a** を合成した (収率 64%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.07 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.91 (m, 1H), 7.66 (s, 1H), 7.30-7.22 (m, 2H), 4.04 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 2.95 (m, 1H), 1.70-1.40 (m, 3H), 1.19 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.83 (d, *J*=6.0 Hz, 6H)

融点 : 102-104 °C

5-クロロ - 1,3-ジメチル-2'-(1,3 ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23b**)³

カルボン酸として、5-クロロ - 1,3-ジメチル - 4-ピラゾールカルボン酸(**26b**)^{4,5} を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で **23b** を合成した (収率 71%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.00 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.29-7.25 (m, 1H), 4.04 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.03 (q, *J*=7.0 Hz, 1H), 2.52 (s, 3H), 1.70-1.43 (m, 3H), 1.23 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.85 (d, *J*=6.6 Hz, 6H)

融点 : 146-147 °C

5-フルオロ - 1,3-ジメチル-2'-(1,3 ジメチルブチル) - 4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23c**)

カルボン酸として、5-フルオロ - 1,3 - ジメチル - 4 - ピラゾールカルボン酸 (**26c**) を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で **23c** を合成した (収率 34%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.02 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.27-7.25 (m, 2H), 4.03 (m, 1H), 3.76 (d, *J*=0.8 Hz, 3H), 2.96 (q, *J*=6.8 Hz, 1H), 2.51 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 1.69-1.43 (m, 3H), 1.24 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.85 (m, 6H)

屈折率 1.4974 (22.8 °C)

5-クロロ-3-エチル-1-メチル-2'-(1,3ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23d**)³

カルボン酸として、5-クロロ-3-エチル-1-メチル-4-ピラゾールカルボン酸(**26d**)⁵を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した (収率 25%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.98 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.30-7.21 (m, 2H), 4.04 (m, 1H), 3.87 (s, 3H), 3.10-2.80 (m, 3H), 1.63-1.40 (m, 3H), 1.33-1.18 (m, 6H), 0.84 (d, *J*=6.0 Hz, 6H)

3,5-ジクロロ-1-メチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23e**)³

カルボン酸として 3,5-ジクロロ-1-メチルピラゾール-4-カルボン酸(**26e**)⁶を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した (収率 45%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.12 (s, 1H), 8.02 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.29-7.23 (m, 2H), 4.09 (m, 1H), 3.88 (s, 3H), 3.04 (m, 1H), 1.60-1.40 (m, 3H), 1.23-1.20 (m, 3H), 0.84 (m, 6H)

1,5-ジメチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23f**)

カルボン酸として 1,5-ジメチルピラゾール-4-カルボン酸(**26f**)⁷を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した (収率 42%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.91 (d, *J*=8.1 Hz), 7.80 (s, 1H), 7.43 (s, 1H), 7.32-7.20 (m, 2H), 4.06 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 2.97 (dd, *J*=6.9 Hz, 13.6 Hz, 3H), 2.60 (s, 3H), 1.60-1.35 (m, 3H), 1.26 (m, 3H), 0.90 (d, *J*=5.8 Hz, 6H)

3-クロロ-1,5-ジメチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23g**)

カルボン酸として 3-クロロ-1,5-ジメチルピラゾール-4-カルボン酸(**26g**)を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した (収率 43%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.27 (s, 1H), 7.98 (d, *J*=8.2 Hz, 1H), 7.30-7.21 (m, 2H), 4.04 (m, 1H), 3.79 (s, 3H), 3.07 (m, 1H), 2.62 (s, 3H), 1.67-1.40 (m, 3H), 1.22 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 0.84 (d, *J*=5.8 Hz, 6H)

1,3-ジメチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**23h**)

カルボン酸として 1,3-ジメチルピラゾール-4-カルボン酸 (**26h**)⁷を使用する以

外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した。(収率 19%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.04 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.40 (s, 1H), 7.28-7.25 (m, 2H), 7.14 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 6.43 (m, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.98 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 1.60-1.38 (m, 3H), 1.24 (t, *J*=4.0 Hz, 3H), 0.86 (dd, *J*=2.4 Hz, 6.4 Hz, 6H)

3,5-ジメチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-1-*n*-プロピル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド (**23i**)

カルボン酸として 3,5-ジメチル-1-*n*-プロピルピラゾール-4-カルボン酸 (**26i**) を使用する以外は、化合物 **10** と同様の方法で合成した(収率 60%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.95 (d, *J*=9.1 Hz, 1H), 7.33-7.17 (m, 3H), 4.03 (m, 1H), 3.99(t, *J*=7.3 Hz, 2H), 2.94 (m, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 1.84 (m, 4H), 1.70-1.40 (m, 3H), 1.30-1.20 (m, 3H), 0.94 (t, *J*=7.3 Hz, 3H), 0.84 (d, *J*=5.8 Hz, 6H)

3,5-ジメチル-2'-(1,3-ジメチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル] イソキサゾール-4-カルボキサニリド (**24**)

3,5-ジメチルイソキサゾール-4-カルボン酸 (**27**)⁸141 mg (1.0 mmol)、2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**21b**) 327 mg (1.0 mmol)、2-クロロ-1-メチルピリジニウムヨード 255 mg (1.0 mmol) およびトリエチルアミン 303 mg (3.0 mmol) を THF 10 ml に加え、6 時間還流した。反応液を酢酸エチルで希釈し、水洗した。硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、少量のヘキサンとジエチルエーテルで洗浄し、目的化合物 70 mg を得た。(収率 16%)。

¹H-NMR[400MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.85 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.31-7.20 (m, 3H), 4.06 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 2.67 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 1.60-1.40 (m, 3H), 1.22 (t, *J*=6.3 Hz, 3H), 0.85 (br, 6H)

5-フルオロ-1,3-ジメチル-4-ピラゾールカルボン酸 (**26c**)

5-クロロ-1,3-ジメチル-4-ピラゾールアルデヒド⁹ 1 g (6.31 mmol) を DMSO 10 ml に溶解し、フッ化セシウム 1.92 g (12.6 mmol) を加え、140 °C で 3 時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈し、4 回水洗した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、5-フルオロ-1,3-ジメチル-4-ピラゾールアルデヒド 166 mg を得た。これを、水酸化カリウム 8 mg を含む水 30 ml に溶解し、そこへ過マンガン酸カリウム 202 mg を氷冷下少しずつ加え、室温で 30 分間攪拌後、50 °C で 5 時間攪拌した。反

応液をセライトろ過し、ろ液に 1 N 塩酸を加えて酸性にした後、析出した結晶をろ取し、乾燥させることにより目的化合物 155 mg を結晶として得た(収率 16%, 2 工程)。

¹H-NMR[400 MHz, d-DMSO, δ 値 (ppm)]

12.52 (br, 1H), 3.63 (d, *J*=1.6 Hz, 3H), 2.25 (s, 3H)

3-8 参考文献

1. ハダニの生活環と薬剤の作用性. 続医薬品の開発第 18 巻, 農薬の開発 IV, 1994, p714, 矢島治明監. 廣川書店.
2. ピラゾール誘導体および殺菌剤. J. L. Huppatz. 日本公開特許公報 昭 52-87168 (1977).
3. Substituted anilide derivatives, intermediates thereof, agricultural and horticultural chemicals, and their usage. T. Furuya, M. Yamaguchi, M. Tohnishi, A. Seo, M. Morimoto, T. Takemoto and S. Fujioka. *Pct. Int. Appl.* WO2002/96882 (2002).
4. 新規ピラゾール誘導体、その製造法およびそれらを含む農園芸用殺菌剤. 下鳥均, 石井勉, 山崎秀雄, 鋤塚敏昭, 柳瀬勇次, 田中良典 (三井東圧化学). 日本公開特許公報 昭 63-45264 (1989).
5. 置換ピラゾール 4-カルボン酸の製造法. 宮田宣嘉, 嘉悦厚, 段々英則, 古川良夫 (住友化学). 日本公開特許公報 平 4-120059 (1993).
6. ピラゾール誘導体およびその製法. 佐藤敏明, 森本勝之, 山本進 (日産化学工業). 日本公開特許公報 特開昭 62-4271 (1987).
7. Systemic fungicides. The synthesis of certain pyrazole analogues of carboxin. J. L. Huppatz. *Aust. J. Chem.* **36**, 135-147 (1983).
8. 第 4 版実験化学講座 24, 有機合成 VI ヘテロ元素・典型金属元素化合物. 日本化学会編. p524-525, **1993**, 丸善.
9. 殺ダニ剤フェンピロキシメートの開発. 浜口洋, 梶原治, 加藤稔. 日本農薬学会誌 **20**, 203-212 (1995).

第四章 ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害する既存のカルボキサミド化合物の化学構造を参考としたアニリド部位の最適化

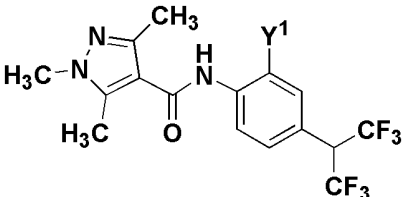
4-1 序論

第三章において、ミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系殺菌剤との化学構造の類似性に着目し、既存のカルボキサミド系殺菌剤の化学構造を参考に化合物 **10** の酸部位の変換を行った結果、高活性なトリメチルピラゾール体 **11** を見出したことを述べた。アニリド部位についても酸部位と同様に既存のカルボキサミド系殺菌剤の化学構造を参考に合成展開を行うこととした。

4-2 アニリノ 2'位の変換

アニリド 2'位の側鎖 (Y¹) の検討を行ったところ、イソブチル体 **28a** は 300 ppm の処理濃度でも活性を示さなかったが、主鎖部分が 4 炭素以上の置換基を有する **28b**, **28c**, **28d** および **11** は 300 ppm の処理濃度で殺ダニ活性を示した。特に、ペンチオピラドやペンフルフェン (Fig. 4-1) の側鎖と同じ置換基を有する 1, 3-ジメチルブチル体 **11** が最も良い結果を示した。この結果から殺ダニ活性を有する化合物のアニリド部位の側鎖についても酸部位の置換基と同様にミトコンドリア複合体Ⅱを阻害するカルボキサミド系殺菌剤と類似した構造活性相関を示すことが示唆された (Table 4-1)。

Table 4-1. アニリノ部位の側鎖 Y¹ の殺ダニ活性に与える影響



化合物	Y ¹	LC ₅₀ (ppm)
28a	<i>i</i> -Bu	>300
28b	<i>n</i> -Bu	100-300
28c	CH ₂ CH ₂ CH(CH ₃) ₂	100-300
28d	CH(CH ₃)CH ₂ CH ₂ CH ₃	100-300
11	CH(CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	3-10

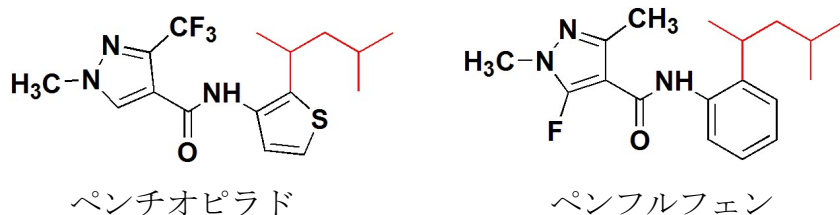


Fig. 4-1. オルト位に側鎖を有するミトコンドリア複合体 II を阻害する殺菌剤

4-3 アニリノ 3'位の変換

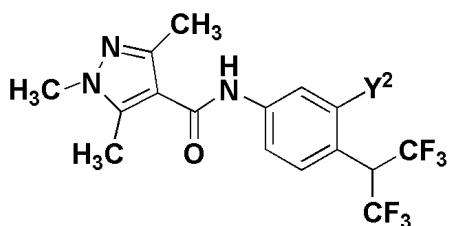
ミトコンドリア複合体 II を阻害するカルボキサミド系殺菌剤では前述の 2'位に側鎖を有する化合物の他に、メプロニルやフルトラニルのようにアニリノ 3'位に側鎖が導入された化合物も知られている(Fig. 4-2)^{1,2}。そこで、3'位への置換基導入の検討もおこなうこととした。



Fig. 4-2. メタ位に側鎖を有するミトコンドリア複合体 II を阻害する殺菌剤

フルトラニルやメプロニルで用いられている 3'-イソプロピロキシ基を導入した化合物 **29a** を合成したところ、 LC_{50} は 30-100 ppm と活性レベルは中程度であったが期待したとおり殺ダニ活性が見られた。2'-アルキル体が高活性を示していることや、メプロニルやフルトラニルの探索において、3'-アルキル基も高い殺菌活性を示すことが報告されていることから^{1,2}、次に、酸素原子を炭素原子に置き換えた 3'-イソブチル体 **12** およびその類縁体(**29b**, **29c**)を合成した。評価の結果、**12** は 2'-(1,3-ジメチルブチル)体 **11** と同等レベルの殺ダニ活性を示すことが分かった。ヘテロ原子を介さないアルキル鎖の方が殺ダニ活性に好ましい構造であるという違いはあるものの、3'位の置換基の側鎖の分岐については、カルボキサミド殺菌剤で用いられている置換基と同様の分岐を持つ化合物が最も高い殺ダニ活性を示し、側鎖部分についても酸部位と同様に殺菌活性と殺ダニ活性を示す化合物の構造に高い類似性が見られた (Table 4-2)。

Table 4-2 アニリノ部位の側鎖(Y²)の殺ダニ活性に与える影響



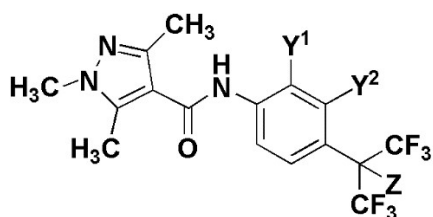
化合物	Y ²	LC ₅₀ (ppm)
29a	OCH(CH ₃) ₂	30-100
29b	<i>n</i> -Pr	30-100
12	<i>i</i> -Bu	3-10
29c	<i>n</i> -Pen	10-30

4-4 アニリノ4'位の置換

高活性を示した 2'-(1,3-ジメチルブチル)体 **11** および 3'-イソブチル体 **12** について 4'位の検討をおこなった。まず、高い殺ダニ活性が認められたヘキサフルオロイソプロピル類縁体の展開をおこなった (Table 4-3)。ヘキサフルオロイソプロピル基のベンジル位 (Z) の効果を確認したところ、2'-(1,3-ジメチルブチル)体および 3'-イソブチル体のいずれもベンジル位がフッ素原子の場合は大幅に活性が低下することが分かった (**30d, 30e**)。一方、ベンジル位にアルコキシ基を導入した化合物においては高活性を示すことが分かった(**30a~c**)。特に低級アルコキシ体が高活性を示した。

この結果から、殺ダニ活性発現にはアニリノ 4'位への脂溶性基の導入が必要であるが、ヘプタフルオロイソプロピル基導入体では脂溶性が高すぎ、物性として望ましくなく、ベンジル位に水素原子や、メトキシ基が導入されたヘプタフルオロイソプロピル基導入体よりもやや脂溶性が低い化合物が望ましいのではないかと考えられた。

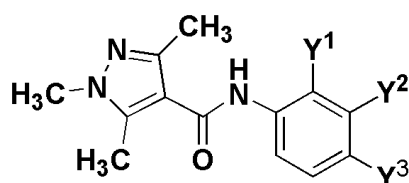
Table 4-3. アニリン 4'位のヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁体の殺ダニ活性に与える影響



化合物	Y ¹	Y ²	Z	LC ₅₀ (ppm)
11	CH(CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	H	3-10
12	H	<i>i</i> -Bu	H	3-10
30a	CH(CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	OCH ₃	3-10
13	H	<i>i</i> -Bu	OCH ₃	10-30
30b	CH(CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	OEt	10-30
30c	H	<i>i</i> -Bu	OEt	30-100
30d	CH(CH ₃)CH ₂ CH(CH ₃) ₂	H	F	100-300
30e	H	<i>i</i> -Bu	F	>300

ヘキサフルオロイソプロピル基類縁体以外の置換基の検討結果を以下に示すが、無置換体 **31a**、ヨード体 **31b**、ニトロ体 **31c** では殺ダニ活性を示さなかったことから、殺ダニ活性はヘキサフルオロイソプロピル導入体とその誘導体に特異的な活性であることが分かった (Table 4-4)。

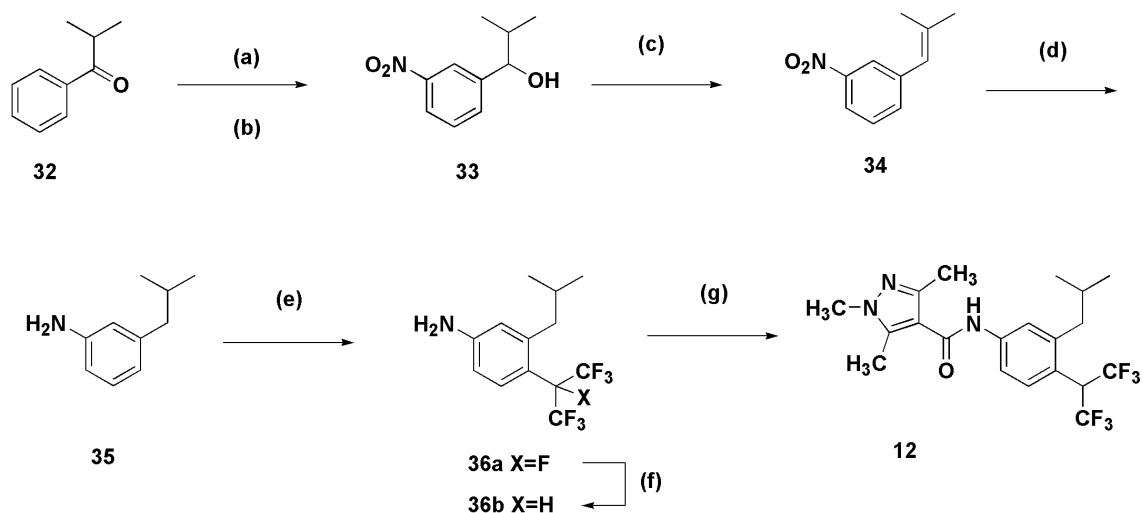
Table 4-4. アニリン 4'位の殺ダニ活性に与える影響



化合物	Y ¹	Y ²	Y ³	LC ₅₀ (ppm)
31a	H	<i>i</i> -Bu	H	>300
31b	H	<i>i</i> -Bu	I	>300
31c	H	<i>i</i> -Bu	NO ₂	>300

以上のとおり、側鎖が 2'位に置換されている化合物と 3'位に置換された化合物はいずれも高い活性を示したが、2-(1,3-ジメチル)ブチル体は不斉炭素を有するのに対し、3-イソブチル体は不斉炭素を有しない。さらに、Scheme 4-1 に示すとおり、3-イソブチルアニリン(**35**)は安価なイソブチロフェノン(**32**)を出発原料

として化合物 **33**³ 経由で合成できることから、工業的な優位性を考慮して、更なる合成展開については3-イソブチル体 **12** の周辺を中心に最適化を行うこととした。

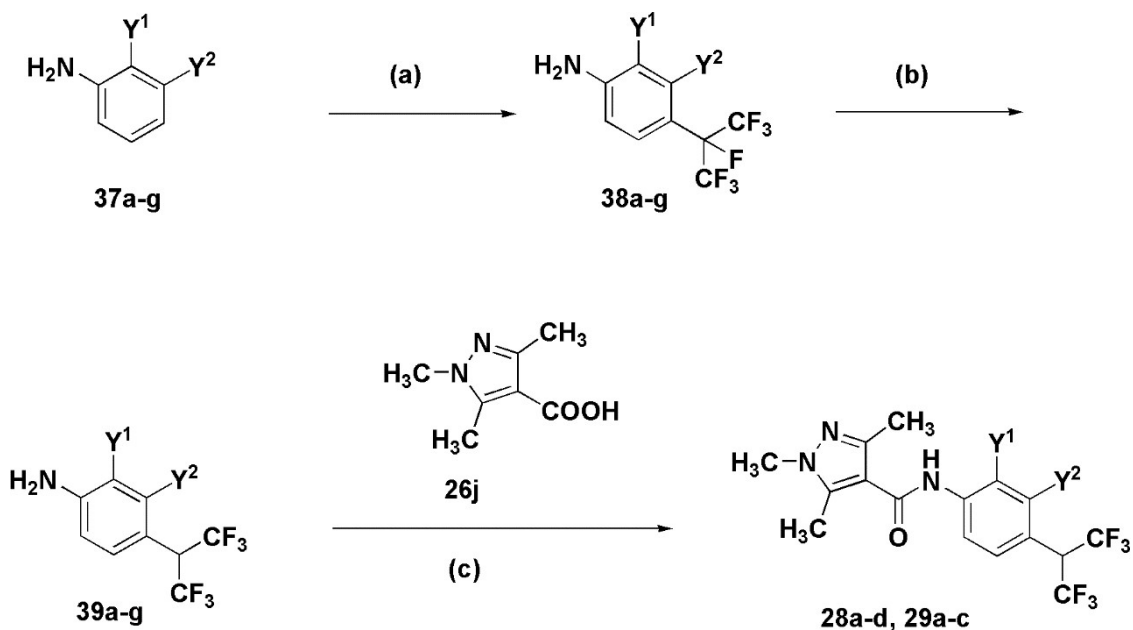


Reagents and conditions: (a) HNO₃, H₂SO₄, 5-10 °C (99%) (b) NaBH₄/ MeOH, r.t. 1h (100%) (c) p-TsOH/ Toluene, reflux (51%) (d) H₂, Pd/C, EtOH, overnight (100%) (e) (CF₃)₂CFI, Na₂S₂O₄, K₂CO₃ / EtOAc-H₂O, r.t., 4h (67%) (f) NaBH₄/ DMSO, 60 °C, 3h (99%) (g) 1, 3, 5-trimethylpyrazole-4-carbonylchloride, Et₃N / THF, r.t., 3h (57%).

Scheme 4-1. カルボキサニリド **12** の合成法

4-5 合成法

化合物 **28a~d**, **29a~c** については、Scheme 3-2 と同様の下記合成法にて合成した (Scheme 4-2)。

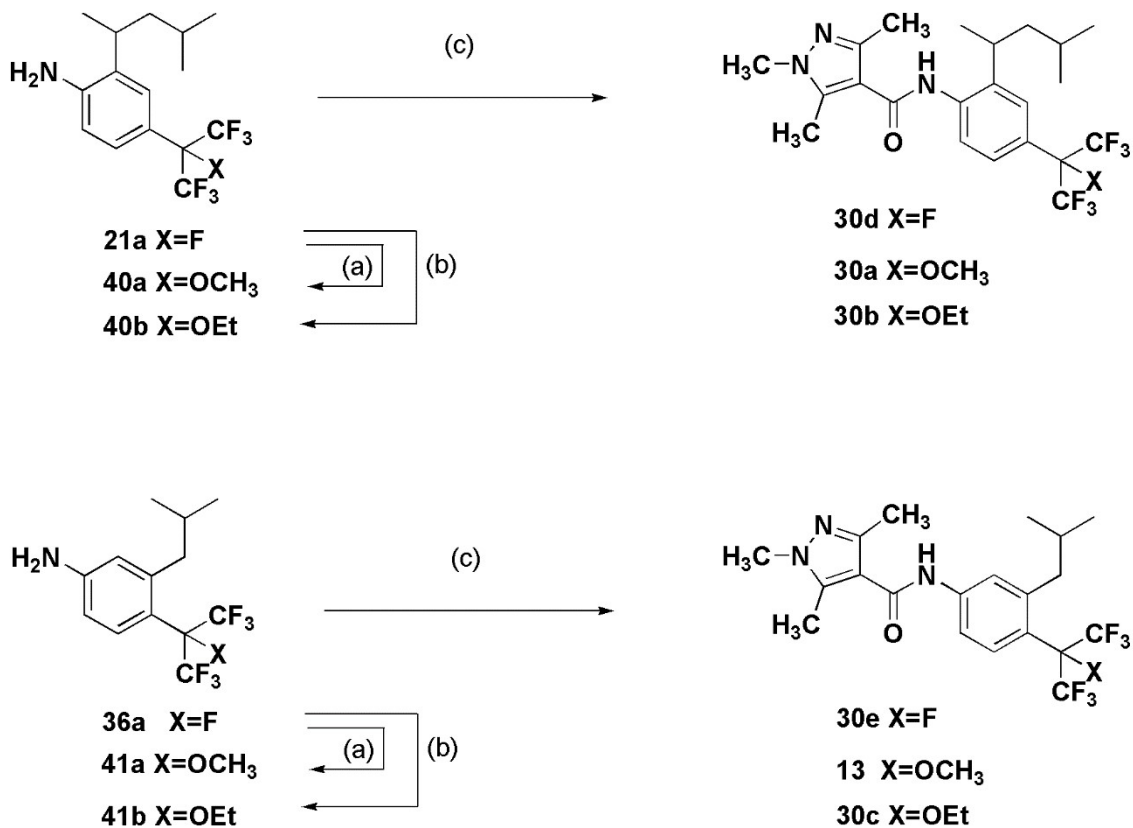


37-39	Y ¹	Y ²
a	<i>i</i> -Bu	H
b	<i>n</i> -Bu	H
c	$\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$	H
d	$\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$	H
e	H	$\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$
f	H	<i>n</i> -Pr
g	H	<i>n</i> -Pen

Reagents and conditions: (a) $\text{ICF}(\text{CF}_3)_2$, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, $n\text{-Bu}_4\text{NHSO}_4$, NaHCO_3 / $t\text{-BuOMe-H}_2\text{O}$, rt. (60-99%) (b) NaBH_4 / DMSO , 60°C (51-99%) (c) (i) SOCl_2 / Toluene, DMF(cat.), reflux (ii) Et_3N / THF, rt. (15-54%, 2steps).

Scheme 4-2. カルボキサニリド体 28a~d, 29a~c の合成法

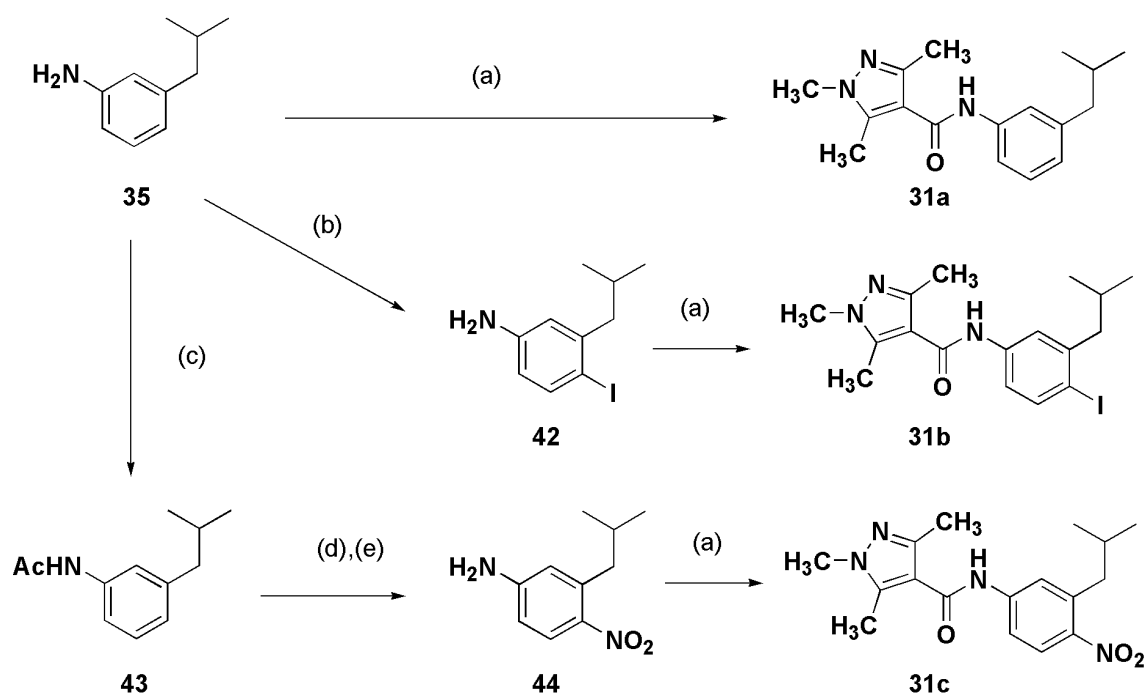
フルオロアルキル基部位にアルコキシ基を導入したカルボキサミド体 13, 30a-e は Scheme 4-3 に示した方法により合成した。



Reagents and conditions: (a) 28%NaOCH₃-CH₃OH, reflux, 3h (79-87%) (b) 21%NaOEt-EtOH, reflux (100%) (c) 1,3,5-trimethylpyrazole-4-carbonylchloride, Et₃N / THF, r.t., 3h (15-79%).

Scheme 4-3. カルボキサニリド体 **13**, **30a-e** の合成法

4' 位にフルオロアルキル基部位以外の置換基を導入したカルボキサニリド体 **31a-c** はアニリン **35**、または **35** から誘導した **42** や **44** をアミド化することにより合成した (Scheme 4-4)。



Reagents and conditions: (a) 1,3,5-trimethylpyrazole-4-carbonylchloride, Et₃N / THF, r.t., 3h (45-60%) (b) I₂, H₂O₂aq (74%) (c) AcCl, Et₃N / THF, r.t. (62%) (d) HNO₃, 5 °C, 1h (e) 6N-HCl_{aq}, 100 °C, 2h (72%, 2steps).

Scheme 4-4. カルボキサニリド体 31a-c の合成法

4-6 小括

既存のミトコンドリア複合体IIを阻害するカルボキサミド系殺菌剤の構造を参考に第三章で見出された化合物 **11** のアニリノ部位の置換基の改変を行った。

2'位の置換基としてはペンチオピラドやペンフルフェンで用いられている 1,3-ジメチルブチル基が最も良い活性を示し、3'位の置換基についても、フルトラニルやメプロニルで用いられている 3'-イソプロピロキシ基と同じ分岐構造を持つ 3'-イソブチル体が最も良い活性を示した。側鎖の構造活性相関についてはカルボキサミド系殺菌剤と同様の傾向が認められた。

また、殺ダニ活性発現に大きな影響を与えた 4'位については、ヘキサフルオロイソプロピル基の他にベンジル位にメトキシ基が導入された化合物が高活性を示したが、アルコキシの炭素数が大きくなると活性が低下した。また、その他の置換基も検討したが殺ダニ活性は認められなかった。

4-7 実験の部

Chemistry

3-イソブチルアニリン (35) ^{4,5}

文献記載の方法³にてイソブチロフェノン(32)より合成した α - (1-メチルエチル) - 3 - ニトロベンゼンメタノール (33) 11.0 g (56.3 mmol) をトルエン 300 ml に溶解し、p-トルエンスルホン酸一水和物 4.0 g (20.8 mmol) を加え、ディーンスターク使用下 2 時間加熱還流した。反応液を酢酸エチルで希釈し、飽和重曹水、食塩水で順次洗浄し、硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーにて精製し、オレフィン体 34 5.07 g を得た(収率 51%)。

このオレフィン体 34 3.4 g (19.2 mmol) をエタノール 140 ml に溶解し、5%パラジウムカーボン 300 mg を加え、水素雰囲気下、4 気圧で一晩激しく攪拌した。触媒をセライトろ過により除去後、減圧濃縮し、3-イソブチルアニリン (35) を定量的に得た。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]
7.05 (t, $J=7.6$ Hz, 1H), 6.56 (d, $J=7.2$ Hz, 1H), 6.52 (m, 1H), 6.49 (m, 1H), 3.58 (br, 2H), 2.38 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.84 (m, 1H), 0.90 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

3-イソブチル-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン (36a)

3-イソブチルアニリン(35) 14.9 g (0.1 mol) をターシャリーブチルメチルエーテル-水 (1:1) 混合溶媒 300 ml に希釈し、ヘプタフルオロイソプロピルヨージド 29.6 g (0.1 mol)、テトラブチルアンモニウムハイドロゲンサルフェート 3.4 g (10 mmol)、炭酸水素ナトリウム 8.4 g (0.1 mol)、亜ジチオン酸ナトリウム 17 g (0.1 mol) を順次加え、室温で一晩攪拌した。反応液をヘキサンで希釈し、3 規定塩酸で 2 回洗浄し、重曹水、飽和食塩水で洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、残渣をシリカゲルクロマトグラフィー (ヘキサン: 酢酸エチル) にて精製し、目的物 36a 14.9 g を得た (収率 47%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]
7.23 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.54 (dt, $J=2.4$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 6.51 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 3.90 (bs, 2H), 2.55 (dd, $J=5.6$ Hz, 6.8 Hz, 2H), 1.84 (m, 1H), 0.91 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

3-イソブチル-4- (2,2,2-トリフルオロ-1-トリフルオロメチルエチル) アニリン (36b)

3-イソブチル-4-[1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル) エチル] アニリン(**36a**) 874 mg (3 mmol)を DMSO 20 ml に溶解し、水素化ホウ素ナトリウム 340 mg (9 mmol)を少しずつ加え、60 °Cで3時間攪拌した。放冷後、反応液に氷を加え、その後、酢酸を滴下した。反応液を酢酸エチルで希釈後、4回水洗し、減圧濃縮後、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーにて精製し、目的化合物を得た(収率 99%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.30 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.57 (dd, *J*=6.0 Hz, *J*=2.4 Hz, 1H), 6.50 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 4.28 (m, 1H), 3.74 (s, 2H), 2.41 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 1.78 (m, 1H), 0.91 (d, *J*=6.8 Hz, 6H)

3'-イソブチル - 1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**12**)

3-イソブチル-4-(2, 2, 2-トリフルオロ-1-トリフルオロメチルエチル) アニリン (**36b**) 279 mg (1.0 mmol)、トリエチルアミン 303 mg (3.0 mmol)を THF 10 ml に溶解し、1,3,5-トリメチルピラゾール-4-カルボン酸クロリド 259 mg (1.5 mmol) を加え、3時間加熱還流した。反応液を酢酸エチルで希釈し、重曹水、食塩水で順次洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮を行い、残渣をシリカゲルクロマトグラフィーにて精製し、化合物 **12** 250 mg を結晶として得た (収率 57%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.56 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.52 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.41 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 4.40 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.56-2.45 (m, 2H), 1.85 (m, 1H), 0.96 (d, *J*=6.8 Hz, 6H)

3-イソブチル-4-[1-メトキシ-2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル) エチル] アニリン) (**41a**)

3-イソブチル-4-[1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル) エチル] アニリン(**36a**) 1.6 g (5.0 mmol) を 28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液 (9.6 g) に溶解し、3時間加熱攪拌した。反応液を減圧濃縮後に、反応液を氷水中に注ぎ、塩酸で中和後、酢酸エチルにて抽出し、水洗した。硫酸マグネシウムを用いて乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより目的物 **41a** 1.31 g を得た (収率 79%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.25 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.71 (d, *J*=2.8 Hz, 1H), 6.54 (dd, *J*=2.8 Hz, 8.8 Hz, 1H), 3.78 (bs, 2H), 3.43 (s, 3H), 2.81 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.13 (m, 1H), 0.92 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**13**)

アニリンとして 3-イソブチル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル] アニリン(**41a**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 79%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.74 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.47 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.41 (dd, $J=2.4$ Hz, 8.8 Hz, 1H), 7.34 (s, 1H), 3.75 (s, 3H), 3.47 (s, 3H), 2.92 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.51 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 2.22 (m, 1H), 0.94 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

融点 : 189-190 °C

2-イソブチル-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-2-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**38a**)

アニリンとして 2-イソブチルアニリン(**37a**)⁶を用いる以外は化合物 **36a** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 64%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.23 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 6.71 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 3.85 (s, 2H), 2.39 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.92 (m, 1H), 0.95 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

2-イソブチル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**39a**)

3-イソブチル-4-[1,2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**36a**)のかわりに、2-イソブチル-4-[1,2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**38a**)を用いる以外は化合物 **36b** の合成法と同様の方法にて化合物を合成した (収率 99%)。

物性 : $^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.05 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.67 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 3.96-3.70 (m, 3H), 2.37 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.91 (m, 1H), 0.91 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

1,3,5-トリメチル-2'-(1-メチルプロピル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**28a**)

アニリンとして 2-イソブチル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39a**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 49%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

8.15 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.32-7.26 (m, 2H), 7.21 (s, 1H), 4.03 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.54

(s, 3H), 2.52 (s, 3H), 1.86 (m, 1H), 0.95 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

2'-ブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**28b**)

2-*n*-ブチル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39b**)⁵を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 50%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.16 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.30-7.20 (m, 3H), 4.00 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.63 (t, $J=7.8$ Hz, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 1.60 (m, 2H), 1.41 (m, 2H), 0.90-0.85 (m, 3H)

2-(3-メチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**38c**)

3-イソブチルアニリン(**35**)の代わりに 2-(3-メチルブチル)アニリン(**37c**)⁷を用いる以外は化合物 **36a** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 84%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.30-7.15 (m, 3H), 6.71 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 3.87 (s, 2H), 2.49 (m, 2H), 1.62 (m, 1H), 1.50 (m, 2H), 0.97 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

2-(3-メチルブチル)-4-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39c**)

3-イソブチル-4-[1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**36a**)のかわりに、2-(3-メチルブチル)-4-[1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**38c**)を用いる以外は化合物 **36b** と同様の方法にて化合物を合成した(収率 75%)。

物性 : ¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.05 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.04 (s, 1H), 6.69 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 3.90 (m, 1H), 2.48 (m, 2H), 1.64 (m, 1H), 1.53-1.45 (m, 2H), 0.97 (d, $J=6.4$ Hz, 3H)

1,3,5-トリメチル-2'-(2-メチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**28c**)

アニリンとして 2-(3-メチルブチル)-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39c**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 15%)。

¹¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.14 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.35-7.22 (m, 3H), 4.01 (m, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.62 (m, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 1.75-1.45 (m, 3H), 0.95 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

2-(1-メチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**38d**)

3-イソブチルアニリン(**35**)の代わりに 2-(1-メチルブチル) アニリン(**37d**)⁷を用いる以外は化合物 **36a** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 82%)。

物性 : ¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.26 (s, 1H), 7.20 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.71 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 3.90 (br, 2H), 2.72 (m, 1H), 1.70-1.40 (m, 2H), 1.38-1.15 (m, 5H), 0.90 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)

2-(1-メチルブチル)-4-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39d**)

3-イソブチル-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**36a**)の代わりに、2-(1-メチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**37d**)を用いる以外は化合物 **36b** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 84%)。

物性 : ¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.06 (s, 1H), 7.04 (d, *J*=8.7 Hz, 2H), 6.67 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 3.91 (m, 1H), 3.82-3.70 (br, 2H), 2.71 (m, 1H), 1.70-1.50 (m, 2H), 1.40-1.20 (m, 5H), 0.90 (t, *J*=7.2 Hz, 3H)

1,3,5-トリメチル-2'-(1-メチルブチル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**28d**)

アニリンとして 2-(1-メチルブチル)-4-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39d**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 49%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.94 (d, *J*=8.9 Hz, 1H), 7.31-7.20 (m, 3H), 4.07 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.86 (m, 1H), 2.49 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 1.70-1.45 (m, 2H), 1.30-1.10(m, 5H), 0.84 (d, *J*=7.2 Hz, 3H)

3-イソプロピロキシ-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**38e**)

3-イソブチルアニリン(**35**)の代わりに 3-イソプロピロキシアニリン(**37e**)を用いる以外は化合物 **36a** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 99%)。

物性 : ¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.25 (s, 1H), 7.20 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.20 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 6.70 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 3.94 (br, 2H), 2.78 (m, 1H), 1.00-0.80 (m, 6H)

3-イソプロピロキシ-4- [2, 2, 2-トリフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン) (**39e**)

3-イソブチル-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン) (**36a**)のかわりに、3-イソプロピロキシ-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン(**38e**) を用いる以外は化合物 **36b** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 93%)。

物性 : $^1\text{H-NMR}$ [400MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.25 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.30-6.18 (m, 2H), 4.83 (m, 1H), 4.53 (m, 1H), 3.90-3.70 (br, 2H), 1.35-1.21 (m, 6H).

3'-(1-メチルエトキシ)-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**29a**)

アニリンとして 3-(1-メチルエトキシ)-4- [2, 2, 2-トリフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン(**39e**) を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 28%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.76 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 7.44 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 6.77 (dd, $J=2.1$ Hz, $J=8.4$ Hz, 1H), 4.95 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 1.36 (d, $J=6.0$ Hz, 6H)

融点 : 162 - 163 °C

3-プロピル-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン) (**38f**)⁸

3-イソブチルアニリン(**35**)の代わりに 3-*n*-プロピルアニリン(**37f**) を用いる以外は化合物 **36a** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 70%)。

物性 : $^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.22 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.58-6.50 (m, 1H), 4.00-3.70 (br, 2H), 2.65 (m, 2H), 1.59 (m, 2H), 0.97 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)

3-プロピル-4- [2, 2, 2-トリフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン) (**39f**)

3-イソブチル-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン) (**36a**)のかわりに、3-プロピル-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1- (トリフルオロメチル) エチル] アニリン(**38f**) を用いる以外は化合物 **36b** の合成法と同様の方法にて化合物を合成した (収率 51%)。

物性 : $^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.30 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.59-6.57 (m, 1H), 4.00-3.70 (br, 2H), 2.52 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 1.58 (m, 2H), 0.99 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)

1,3,5-トリメチル-3'-プロピル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**29b**)

アニリンとして 3-プロピル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39f**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 54%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.63 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.52 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.38 (dd, $J=2.4$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 7.38 (dd, $J=2.4$ Hz, 8.4 Hz, 1H), 7.29 (s, 1H), 4.39 (m, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.64 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 1.63 (m, 2H), 1.02 (t, $J=7.2$ Hz, 3H)

3-ペンチル-4-[1,2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン) (**38g**)

3-イソブチルアニリン(**35**)の代わりに 3-*n*-ペンチルアニリン(**37g**)⁷を用いる以外は化合物 **36a** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 60%)。

物性: $^1\text{H-NMR}$ [400MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.22 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.55 (s, 1H), 6.58-6.49 (m, 2H), 3.83 (brs, 2H), 2.66 (m, 2H), 1.56 (m, 2H), 1.34 (m, 4H), 0.90 (t, $J=6.8$ Hz, 3H)

3-ペンチル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン) (**39g**)

3-イソブチル-4-[1,2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**36a**)のかわりに、3-ペンチル-4-[1,2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**38g**)を用いる以外は化合物 **36b** の合成法と同様の方法にて化合物を合成した (収率 97%)。

物性: $^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.30 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.59-6.50 (m, 2H), 4.28 (m, 1H), 4.03 (br, 2H), 2.53 (t, $J=8.0$ Hz, 2H), 1.54 (m, 2H), 1.38-1.30 (m, 4H), 0.90 (t, $J=6.8$ Hz, 3H)

1,3,5-トリメチル 3'-ペンチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**29c**)

アニリンとして 3-ペンチル-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**39g**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成し

た (収率 54%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.69-7.62 (m, 2H), 7.50 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.43 (dd, *J*=8.8 Hz, 2.0 Hz), 4.41 (m, 1H), 3.72 (s, 3H), 2.64 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.47 (s, 3H), 2.46 (s, 3H), 1.59 (m, 2H), 1.37 (m, 4H), 0.91 (t, *J*=6.8 Hz, 3H)

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1-メトキシ-2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**40a**)

3-イソブチル-4-[1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**36a**) のかわりに、2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1, 2, 2, 2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**21a**)⁵を用いる以外は化合物 **36b** と同様の方法にて化合物を合成した (収率 87%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.26 (s, 1H), 7.15 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 6.70 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 3.95-3.80 (bs, 2H), 3.43(s, 3H), 2.79(m, 1H), 1.62-1.50 (m, 2H), 1.37 (m, 1H), 1.30-1.15 (m, 3H), 0.91 (t, *J*=6.6 Hz, 6H)

2'-(1, 3-ジメチルブチル)-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**30a**)

アニリンとして 2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[2, 2, 2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**40a**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 41%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.02 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.44 (s, 1H), 7.44-7.38 (m, 1H), 7.30 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 3.47 (s, 3H), 2.98 (m, 1H), 2.54 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 1.62-1.40 (m, 3H), 1.23 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.84 (d, *J*=8.7 Hz, 6H)

2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1-エトキシ-2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン (**40b**)

28%ナトリウムメトキシドメタノール溶液のかわりに 21%ナトリウムエトキシドエタノール溶液を用いる以外は、化合物 **40a** と同様の方法で化合物を合成した。(収率 100%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.25 (d, *J*=2.7 Hz, 1H), 7.16 (d, *J*=8.7 Hz, 1H), 6.69 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 3.98-3.67 (br, 2H), 3.64-3.55 (m, 2H), 2.80 (m, 1H), 1.60-1.20 (m, 9H), 0.89 (t, *J*=6.6 Hz, 6H)

2'-(1, 3-ジメチルブチル) - 1,3,5-トリメチル-4'-[1-エトキシ-2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**30b**)

アニリンとして 2-(1, 3-ジメチルブチル)-4- [1-エトキシ-2, 2, 2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**40b**) を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 24%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.92 (d, *J*=8.1 Hz, 1H), 7.30-7.20 (m, 3H), 4.05 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 2.93 (m, 2H), 2.48 (s, 3H), 1.60-1.35 (m, 6H), 1.30-1.15 (m, 3H), 0.82 (d, *J*=5.8 Hz, 6H)

3'-イソブチル - 1,3,5 - トリメチル - 4' - [1-エトキシ-2,2,2-トリフルオロ - 1 - (トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4 - カルボキサニリド(**30c**)

アニリンとして 3 - イソブチル - 4 - [1 - エトキシ - 2, 2, 2 - トリフルオロ - 1 - (トリフルオロメチル)エチル] アニリン(**41b**)⁸を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 60%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.71 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.47 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.37 (dd, *J*=8.4 Hz, 2.4 Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 3.62 (q, *J*=8.4 Hz, 1H), 2.94 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.23 (m, 1H), 1.33 (t, *J*=6.8 Hz, 1H), 0.94 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

2' - (1, 3 - ジメチルブチル) - 1,3,5 - トリメチル - 4 - [1,2,2,2 - テトラフルオロ - 1 - (トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4 - カルボキサニリド(**30d**)

アニリンとして 2-(1,3-ジメチルブチル)-4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]アニリン(**21a**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 15%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.08 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.45 (d, *J*=9.2 Hz, 1H), 7.33 (s, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.96 (m, 1H), 2.53 (s, 3H), 2.51 (s, 3H), 1.65-1.40 (m, 3H), 1.26 (d, *J*=7.2 Hz, 3H), 0.84 (d, *J*=6.0 Hz, 6H)

3'-イソブチル - 1,3,5-トリメチル-4'-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**30e**)

アニリンとして 3-イソブチル-4- [1, 2, 2, 2-テトラフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル] アニリン(**36a**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 45%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.61 (s, 1H), 7.58 (dt, *J*=8.8 Hz, 4.0 Hz, 1H), 7.49-7.42 (m, 2H), 3.74 (s, 3H), 2.67 (m,

2H), 2.49 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 1.87 (m, 1H), 0.93 (d, $J=6.0$ Hz, 6H)

3'-イソブチル-1,3,5-トリメチルピラゾール-4-カルボキサニリド(**31a**)

アニリンとして 3-イソブチルアニリン(**35**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 45%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.38 (s, 1H), 7.36 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 7.25 (t, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 3.76 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 2.50 (s, 3H), 2.48 (d, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.89 (m, 1H), 0.91 ($J=6.6$ Hz, 6H)

4-ヨード-3-イソブチルアニリン(**42**)

文献記載の反応条件を参考に合成した¹¹。3-イソブチルアニリン(**35**) 750 mg (5 mmol) を水 25 ml に溶解し、30%過酸化水素水 560 mg (5 mmol)、ヨウ素 700 mg を加え室温で一晩攪拌した。酢酸エチルで抽出後、チオ硫酸ナトリウム水溶液、重曹水、食塩水の順で洗浄した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製することにより目的物 **42** 1.02 g をオイルとして得た (収率 74%)。

4'-ヨード-3'-イソブチル-1,3,5-トリメチルピラゾール-4-カルボキサニリド(**31b**)

アニリンとして 4-ヨード-3-イソブチルアニリン(**42**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 60%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.75 (dd, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.41 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.15 (dd, $J=8.4$ Hz, 2.4 Hz, 1H), 3.75 (s, 3H), 2.59 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.49 (s, 3H), 1.99 (m, 1H), 0.96 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

3-イソブチルアセトアニリド(**43**)

3-イソブチルアニリン(**35**) 8.0 g (24.3 mmol)をTHF 100 mlに溶解し、トリエチルアミン 3.7 g (36.6 mmol) を加えた後、アセリルクロリド 3.9 g (49.7 mmol) を加え室温で1時間攪拌した。反応液を酢酸エチルで希釈し、水洗した。硫酸マグネシウムで洗浄後、減圧濃縮し、得られた粗結晶をヘキサンので洗浄し、目的化合物 6.0 gを結晶として得た (収率 62%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.33 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.28 (s, 1H), 7.21 (t, $J=8.0$ Hz, 1H), 6.89 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 2.45 (d, $J=7.2$ Hz, 2H), 2.17(s, 3H), 1.86 (m, 1H), 0.89 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

3-イソブチル - 4-ニトロアニリン(**44**)

3-イソブチルアセトアニリド(**43**) 1.91 g (10 mmol)を硫酸に溶解し、硝酸を加えて一時間反応した。反応後、氷水中に注いだ後、酢酸エチルで抽出し、有機層を2回水洗した。硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、3-イソブチル-4-ニトロアセトアニリド 2.1 gを得た。これを6N塩酸 30 mlに溶解し、100 °Cで1時間攪拌した。放冷後、酢酸エチルで洗浄後に水層に炭酸カリウムを加えて、塩基性にした後に酢酸エチルで抽出して、水洗した。硫酸マグネシウムで乾燥後減圧濃縮し、目的化合物 **44** 1.4 gを得た (収率 72%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.96 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.49 (dd, *J*=2.8 Hz, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.41 (d, *J*=2.8 Hz, 1H), 4.27 (brs, 2H), 2.81 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 1.91 (m, 1H), 0.93 (d, *J*= 6.8 Hz, 6H)

3' - イソブチル - 1,3,5 - トリメチル - 4' - ニトロピラゾール - 4 - カルボキサニリド(**31c**)

アニリンとして 3-イソブチル-4'-ニトロアニリン(**44**)を使用する以外は、化合物 **12** と同様の方法で合成した (収率 60%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.99 (d, *J*=9.6 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.53 (dd, *J*=2.4 Hz, 7.2 Hz, 1H), 7.43 (s, 1H), 3.77 (s, 3H), 2.87 (d, *J*=7.2 Hz, 2H), 2.54 (s, 3H), 2.52 (s, 3H), 1.95 (m, 1H), 0.94 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

4 - 8 参考文献

1. a) 殺菌剤メプロニルの開発. 川田晴郷, 坂本彬, 嶋崎功. 日本農薬学会誌 **1985**, 10, 315-324. b) Mechanism of action and selectivity of a fungicide, Mepronil. T. Shimizu, T. Nakao, Y. Suda and H. Abe. *J. Pestic. Sci.* **1992**, 17, 39-46.
2. 浸透性殺菌剤フルトラニルの開発. 荒木不二夫, 藪谷邦宏. 日本農薬学会誌 **1993**, 18, S69 - S77.
3. 1-フェニル - 5-置換 1H-1,2,4-トリアゾール-3-カルボン酸アミド誘導体、その製造方法及び殺菌剤. 渡辺武雄, 最勝寺俊英, 志田隆文 (呉羽化学工業株式会社). 日本公開特許公報 平 5-271202 (1994).
4. Biphenylsulfonamide Endothelin Antagonists: Structure-Activity Relationships of a Series of Mono- and Disubstituted Analogues and Pharmacology of the Orally Active Endothelin Antagonist 2'-Amino-*N*-(3, 4-dimethyl-5-isoxazolyl)-4'-

- (2-methylpropyl)[1, 1'-biphenyl]-2-sulfonamide (BMS-187308). N. Murugesan, Z. Gu, P. D. Stein, S. Bisaha, S. Spergel, R. Girotra, V. G. Lee, J. Lloyd, Raj N. Misra, J. Schmidt, A. Mathur, L. Stratton, Y. F. Kelly, E. Bird, T. Waldron, E. C.-K. Liu, R. Zhang, H. Lee, R. Serafino, B. Abboa-Offei, P. Mathers, M. Giancarli, A. Ann Seymour, M. L. Webb, S. Moreland, J. C. Barrish, and J. T. Hunt. *J. Med. Chem.* **1998**, 41 (26), 5198–5218.
5. Indole derivatives. S. Okada, K. Sawada, N. Kayakiri, Y. Saitoh, H. Tanaka, M. Hashimoto. *Eur. Pat. Appl.* EP0458207A2 (1992).
 6. 6員環アミド化合物およびその用途. 飯田哲也, 三谷育生, 中川祐一, 田中正浩 (日本たばこ産業株式会社). *PCT Int. Appl.* WO2008/123469 (2008).
 7. 置換カルボン酸アニリド誘導体およびこれを有効成分とする植物病害防除剤. 吉川幸宏, 富谷完治, 戸村直文, 勝田裕之, 高橋完, 稲見俊一, 柳瀬勇次, 貴志淳郎, 川島秀雄 (三井東圧化学). 日本公開特許公報平 10-310577 (1998).
 8. Substituted pyrazinecarboxylic acid anilide derivatives or salts thereof, intermediates of the same, pesticides for agricultural and horticultural use, and usage thereof. T. Furuya, K. Machiya, A. Suwa and S. Fujioka. *PCT Int. Appl.* WO2005/115994 (2005).
 9. Effective and selective iodofunctionalisation of organic molecules in water using the iodine-hydrogen peroxide tandem. M. Jereb, M. Zupan and S. Stavber. *Chem. Commun.* **2004**, 2614-2615.

第五章 既存殺ダニ剤の化学構造を参考としたアミド部位の最適化（ピフルブミドの創出）

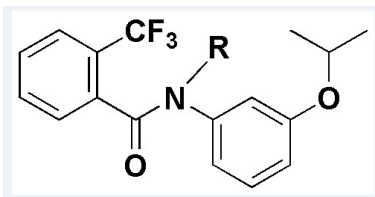
5-1 序論

第三章、第四章において、ミトコンドリア複合体IIを阻害するカルボキサミド系殺菌剤との化学構造的類似性に着目し、酸部位およびアニリド部位について合成展開をおこなってきた。本章ではこれまで未検討であった、アミド部位の探索を行うこととした。

5-1-1) ミトコンドリア複合体IIを阻害するカルボキサミド系殺菌剤におけるアミド基の窒素原子への置換基の導入

カルボキサニリド構造を有するミトコンドリア複合体IIの阻害する殺菌剤分野においてはアミド基の窒素原子への置換基導入が古くから検討がおこなわれているが、窒素原子への置換基導入は殺菌活性を低下させることが報告されている¹。メプロニルやフルトラニルの研究過程においても様々な置換基の検討が行われたが、いずれも置換基を導入すると活性が低下することからアミドについては無置換の2級アミドであることが必須であると結論づけられている^{2,3} (Table 5-1)。

Table 5-1. フルトラニルのアミドの窒素原子への置換基が殺菌活性に与える影響³



The chemical structure shows a benzene ring with a trifluoromethyl group (CF₃) at the 2-position and a carbonyl group (C=O) at the 1-position. The carbonyl group is part of an amide linkage (-N-R) to another benzene ring. This second benzene ring has an isopropoxy group (-O-CH(CH₃)₂) at the 4-position. The R group is defined in the table below.

化合物	R	紋枯れ病に対する防除価%(12.5ppm)
フルトラニル	H	100
45a	COCH ₃	98
45b	CO- <i>n</i> -Pr	65
45c	CO- <i>n</i> -Bu	61
45d	CO- <i>n</i> -Hex	68
45e	COPh	42

それ以後はアミド基への置換基導入検討事例の報告はほとんどなく、これまで殺菌剤として開発されたカルボキサニリド骨格を有するミトコンドリア複合体Ⅱの阻害剤においては、アミドの窒素原子に置換基が導入された化合物は存在しないのが現状である (Fig. 5-1) ⁴。

したがって、酸部位やアニリド部位の展開で参考としたカルボキサニリド系殺菌剤における構造活性相関の知見をアミド部に反映するのは困難であることから、別の観点で合成展開できないか検討することとした。

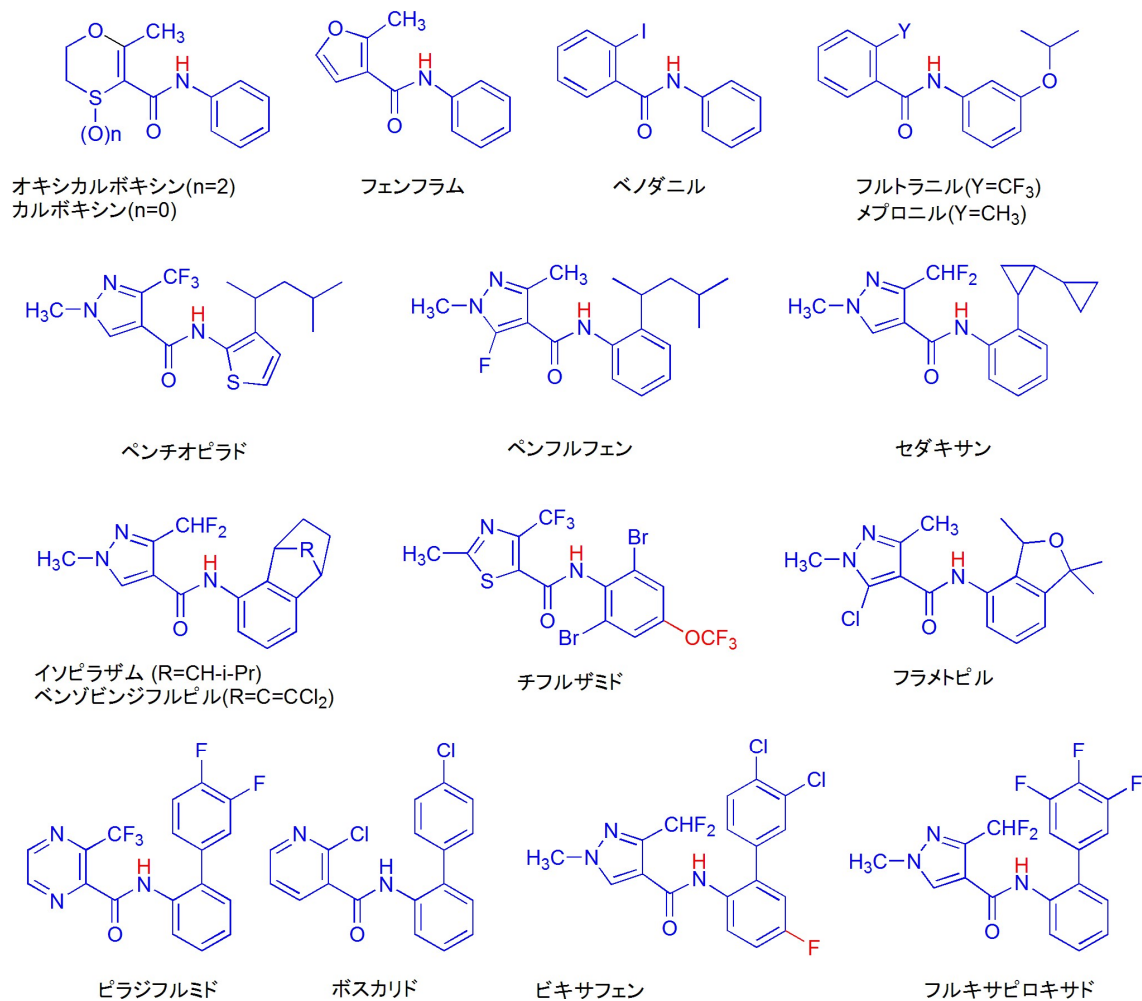


Fig. 5-1. カルボキサニリド構造を有するミトコンドリア複合体Ⅱを阻害する殺菌剤

5-1-2) 殺ダニ剤分野のプロペスティサイド

農薬分野においては医薬分野と同様に、活性向上等を目的として活性本体である化合物を修飾する手法が広く利用されており、これまでに多くのプロペスティサイドが創出されている ⁵。殺ダニ剤分野においても、クロルフェナピル ⁶

やアセキノシル⁷などのプロペスティサイド体である殺ダニ剤が既に開発されている。クロルフェナピルではピロール 1 位の窒素原子の保護基としてエトキシメチル基が、アセキノシルでは水酸基の保護基としてアセチル基が利用されており、それらの保護基は生体内で脱保護されて活性本体となり殺ダニ活性を発現することが報告されている (Fig.5-2)。

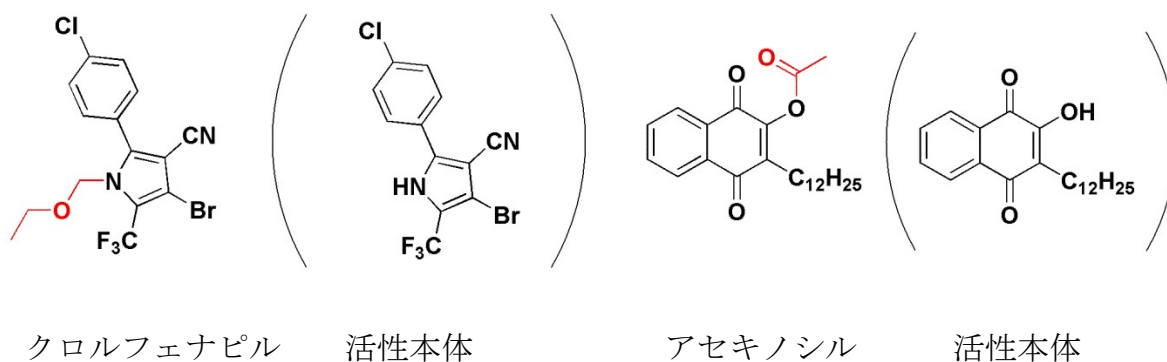


Fig. 5-2. プロペスティサイド構造を持つ殺ダニ剤とそれらの活性本体

ミトコンドリア複合体 II を阻害するカルボキサミド系殺菌剤との化学構造的類似性に注目すると、アミド基の改変は検討価値が低いように思われるが、既にいくつかのプロペスティサイドな殺ダニ剤が開発されていることや、病原菌とハダニで代謝能の相違を考慮すると、代謝分解が期待できる保護基を導入すれば活性向上する可能性はあると思われた。なかでも、実際に活性本体の保護基として殺ダニ剤に利用されている置換基は、ハダニ虫体内で同じような代謝を受ける可能性が高いと考え、アミド部位への置換基導入を行うこととした。

5-2 既存のプロペスティサイドのハダニ剤の構造を参考にしたアミド部位への置換基の導入

5-2-1) アルコキシアルキル基の導入

プロペスティサイドであることが知られている既存の殺ダニ剤の知見に倣い、化合物 **12** のアミド基の窒素原子にそれら殺ダニ剤の活性本体の保護基として用いられている置換基を導入した。

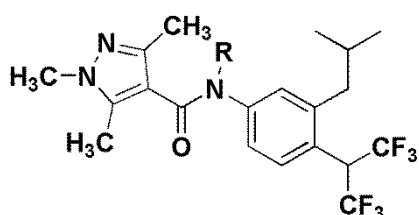
まず、クロルフェナピルの活性本体の保護基として用いられているエトキシメチル基をアミド基の窒素原子に導入した **46a** を合成したところ、無置換体 **12** と同等レベルの殺ダニ活性を示した。

次に、その他のアルコキシアルキル基や置換アルコキシアルキル基の導入体

についても検討したが、立体的に嵩高くなるにつれ徐々に活性が低下した (Table 5-2)。置換基が大きくなるにつれて代謝がより困難になり、活性が低下したものと考えられた。

アルコキシアルキル基および置換アルコキシアルキル基の導入により活性向上には至らなかったものの、アミド基の窒素原子に置換基を導入しても活性が維持されたことから、殺菌剤の場合と異なり、殺ダニ剤分野では本部位の変換による活性向上の可能性はあると考えられた。

Table 5-2. アミド窒素原子への置換基導入の殺ダニ活性に与える影響

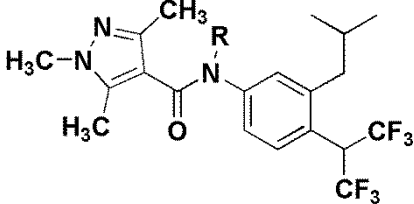


化合物	R	LC ₅₀ (ppm)
12	H	3-10
46a	CH ₂ OEt	3-10
46b	CH ₂ OCH ₂ CH ₂ OCH ₃	30-100
46c	CH ₂ OCH ₂ Ph	100-300
46d	CH ₂ O(CH ₂) ₇ CH ₃	>300

5-2-2) アセチル基の導入とジアシルアニリン誘導体の分解性

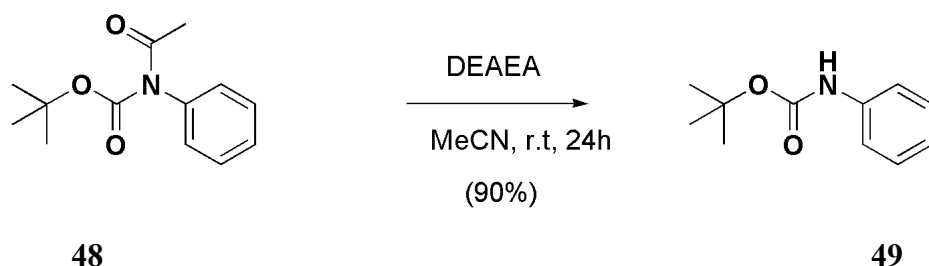
次にアセキノシルの活性本体の保護基として用いられているアセチル基を導入した化合物 **47a** を合成した。同じアセチル基を有しているものの、アセキノシルのような加水分解が容易なエステル結合と異なり化合物 **47a** はアミド結合であることから、加水分解を受けにくい構造と考えられた。そのため、アセチル基については保護基の効果は期待できないと思われたが、実際に殺ダニ活性を評価したところ、アセチル体 **47a** は無置換体 **12** を凌ぐ高い殺ダニ活性を示した (Table 5-3)。

Table 5-3. アミド窒素原子へのアセチル基導入の殺ダニ活性に与える影響



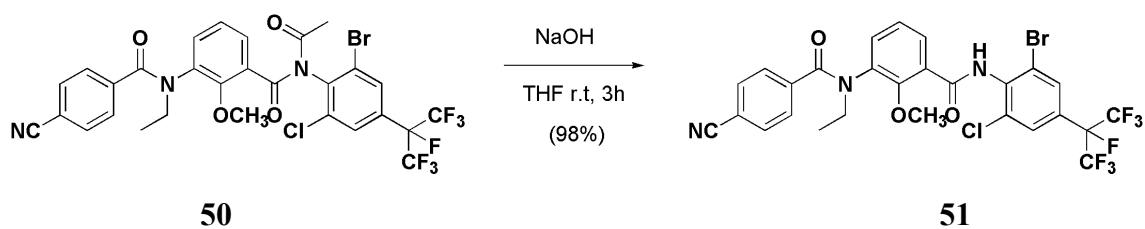
化合物	R	LC ₅₀ (ppm)
12	H	3-10
47a	COCH ₃	1-3

アミド構造は比較的安定な構造であり、アミド結合を分解するには通常、強酸性条件または強い塩基性条件で加温することが必要とされる⁸。ただし、アミドの窒素原子の置換基によってはその状況は変化することが知られており、例えば、アミド基の窒素原子が Boc 基で保護された化合物 **48** のアセチル基は Boc 基の求電子性と立体効果によりアミドの結合が弱まり、比較的温和な条件でも加水分解により選択的に脱アセチル化が進行し化合物 **49** になることが報告されている (Scheme 5-1)⁹。



Scheme 5-1. Boc 保護体 **48** における温和な脱アセチル化

実際に、化合物 **47a** のような芳香族カルボニル基とアセチル基が置換した非対称なジアシルアニリン化合物の選択的脱アセチル化の報告例もある^{10, 11}。アミド基は水酸基の脱保護で用いられるような温和な条件では通常加水分解されないが、イミド体である化合物 **50** は選択的にアセチル基が脱保護されモノアシル体 **51** となる¹⁰ (Scheme 5-2)。また、この選択的脱保護については、立体的要因によるものと考えられ、より嵩高くないアシル基であるアセチル基が優先して脱保護を受けたものと考えられる。



Scheme 5-2. イミド体 **50** における温和な条件化での脱アセチル化¹⁰

これら文献情報の結果から、化合物 **47a** のアセチル基は比較的脱保護しやすく、同様に比較的容易に代謝される可能性が考えられ、アセチル体 **47a** はプロペスティサイドであり、脱アセチル化した化合物が活性本体ではないかと考えられた。アシル化によりハダニ虫体内への吸収性が向上し、さらに、ハダニ虫体内で脱アシル化されて産生する化合物 **12** の虫体内濃度が増加したことが活性向上の要因と考えられた (Fig. 5-3)。

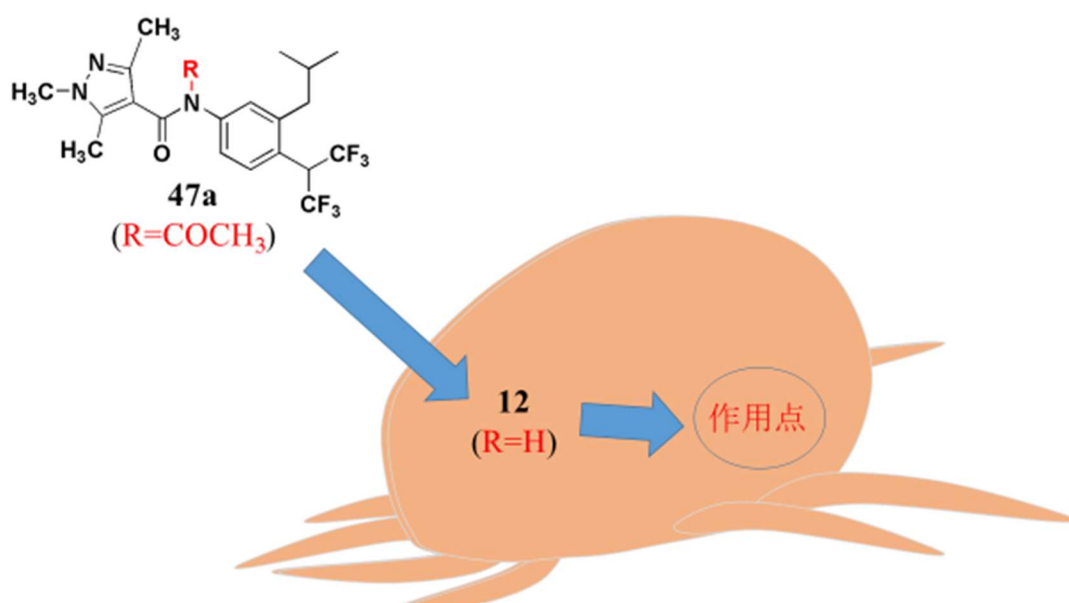


Fig. 5-3. 化合物 **47a** の脱ダニ活性発現の推定経路

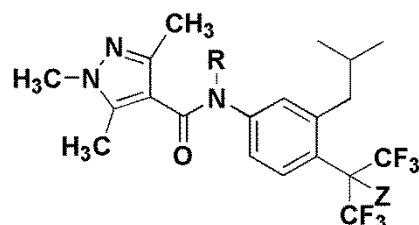
5-3 アシル基の最適化

アセチル基の導入により活性が向上したことから、アセチル基以外のアシル基の検討を行うこととした。その結果、プロピオニル基やイソブチリル基の様な他の低級アルキルカルボニル基を導入した化合物においても高活性を示すこ

とがわかった(化合物 **47b**, **47c**)。さらに置換基を大きくした 3,3-ジメチルブチリル体 **47d** やベンゾイル体 **47e** は高活性を示すものの、無置換体 **12** と同等レベルの活性であった。アシル基を導入した化合物がプロペステイサイドであるという仮説をもとに考えると、置換基が大きくなるにつれ、立体的嵩高さから徐々にアシル基の脱離が困難になることで、活性本体への代謝を受けにくくなり、活性が低下したのではないかと考えた。

また、最適化を目的に 4' 位のヘキサフルオロイソプロピル基を変換した化合物を検討したところ、C(OCH₃)(CF₃)₂ を有したアシル体 **47f-j** においても CH(CF₃)₂ 体と同等の活性を示すことが分かった (Table 5-4)。

Table 5-4. アミド窒素原子へのアシル基導入の殺ダニ活性に与える影響



化合物	Z	R	LC ₅₀ (ppm)
12	H	H	3-10
47a	H	COCH ₃	1-3
47b	H	COEt	1-3
47c	H	CO- <i>i</i> -Pr	1-3
47d	H	COCH ₂ C(CH ₃) ₃	3-10
47e	H	COPh	3-10
13	OCH ₃	H	10-30
47f	OCH ₃	COCH ₃	1-3
47g	OCH ₃	COEt	1-3
47h	OCH ₃	CO- <i>i</i> -Pr	1-3
47i	OCH ₃	COCH ₂ C(CH ₃) ₃	3-10
47j	OCH ₃	COPh	3-10

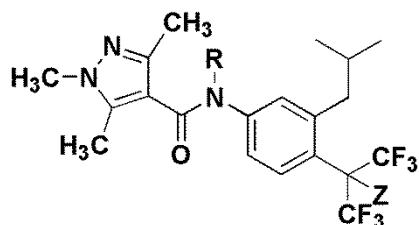
5-4 ミカンハダニに対する効果

作物生産においてはナミハダニ (*Tetranychus urticae*) とならんで重要なハダニ類として、ミカンハダニ (*Panonychus Citri*) も知られており、新規ハダニ剤については本種に対する効果の確認も重要である¹²。そこで、ナミハダニに対し卓効を示した 6 化合物 (**47a-c**, **47f-h**) についてミカンハダニに対する効果を確認

することとした。

その結果、評価した化合物はいずれも高い活性を示したが、その中でも、化合物 **47a**, **47f**, **47g** および **47h** が特に高い活性を示した (Table 5-5)。

Table 5-5. ミカンハダニに対する効果



化合物	Z	R	LC ₅₀ (ppm)
47a	H	COCH ₃	1-3
47b	H	COEt	3-10
47c	H	CO- <i>i</i> -Pr	3-10
47f	OCH ₃	COCH ₃	1-3
47g	OCH ₃	COEt	1-3
47h	OCH ₃	CO- <i>i</i> -Pr	1-3

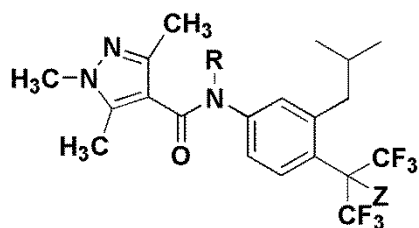
5-5 降雨による活性への影響確認

実際の作物生産は野外で行われることが多く、ハダニ剤の効果は太陽光による分解や降雨による流亡など、様々な環境要因の影響を受ける¹³。このため、ナミハダニとミカンハダニに対し卓効を示した4化合物 (**47a**, **47f**, **47g**, **47h**) について降雨による影響の確認を行った。

その結果、降雨後の活性は **47a** < **47f** < **47g** < **47h** の順で高かった (Table 5-6)。同レベルの殺ダニ活性を示す化合物の中で、cLogP 値が高い化合物ほど降雨後の活性が維持される傾向にあった。水溶性の低い化合物ほど降雨後でも葉面に残存する化合物量が多くなり、物性面での差が効果に反映されたものと考えられる。

以上の結果を基に、ナミハダニおよびミカンハダニに対し高い活性を示し、且つ降雨による活性への影響が小さい **47h** (ピフルブミド) を開発剤として選抜した。

Table 5-6. 各化合物のミカンハダニ活性に対する降雨の影響および cLogP 値



化合物	Z	R	供試濃度 (ppm)	防除価 (%) (無降雨)	防除価 (%) (1 時間降雨 10mm/h)	cLogP
47a	H	COCH ₃	50	100	49	3.77
			25	/	/	
			13	/	/	
47f	OCH ₃	COCH ₃	50	100	100	3.99
			25	100	13	
			13	100	0	
47g	OCH ₃	COEt	50	100	100	4.52
			25	100	47	
			13	100	0	
47h (ピフル ブミド)	OCH ₃	CO- <i>i</i> -Pr	50	100	100	4.83
			25	100	100	
			13	100	100	

5-6 ハダニホモジネートによるピフルブミドの代謝とハダニ由来ミトコンドリア画分における複合体 II 阻害活性

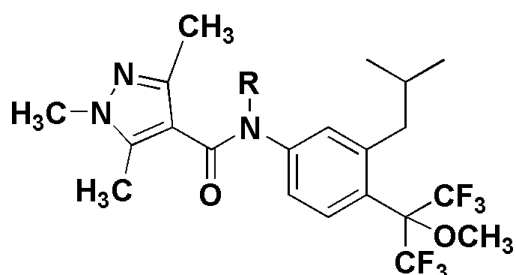
アミド部位へのアシル基導入により活性が向上したこと、および CH(CF₃)₂ 体 **12** よりも効果が 3 倍劣る C(OCH₃)(CF₃)₂ 体 **13** のアシル基修飾体が高活性を示したことから、アシル誘導体がプロペスティサイドでないかということが強く示唆された。

そこでまず、ピフルブミドの水中安定性を確認した。その結果、Scheme 5-2 の反応で用いられたような強塩基性条件下でなくても、中性条件や弱塩基性条件 (pH 9) のような温和な条件下においても加水分解が進行することが分かった (Table 5-7)。

Table 5-7. ピフルブミドの水中安定性（7日後）

測定条件	残存率
pH 7	90%
pH 9	63%

次に、ハダニホモジネートによるピフルブミドの代謝とハダニ由来ミトコンドリア画分における複合体II阻害活性を確認した。ナミハダニのホモジネートにピフルブミドを添加し、その後の化合物量の経過をモニタリングした結果、添加直後からピフルブミドは経時的に減少する一方、イソブチリル基が脱離した**13**が徐々に生成すること、および、ナミハダニ虫体から調製したミトコンドリア画分において、化合物**13**は低濃度で複合体II阻害を示すが、ピフルブミドは1000 nMの濃度でも顕著な阻害を示さないことが明らかとなった(Table 5-8)。この結果から、当初の予想のとおり活性本体はアミド部位が無置換の**13**であり、ピフルブミドはプロペステイサイドであると推察された。

Table 5-8. ナミハダニ由来のミトコンドリア複合体IIに対する阻害活性

化合物	R	阻害活性 (IC ₅₀)
ピフルブミド	CO- <i>i</i> -Pr	> 1000 nM
13	H	25 nM

また、活性本体である化合物**13**を直接ハダニに処理した場合よりもピフルブミドを処理した方がハダニの体内への化合物の取り込み量が多いことも確認されていることから¹²、活性向上の理由は、プロペステイサイド化によりハダニ虫体内への透過性が向上し、取り込まれた化合物が虫体内で**13**へと代謝されることにより、結果としてハダニ虫体内における活性本体**13**の濃度が増加したことが原因ではないかと考えられた (Fig. 5-4)。

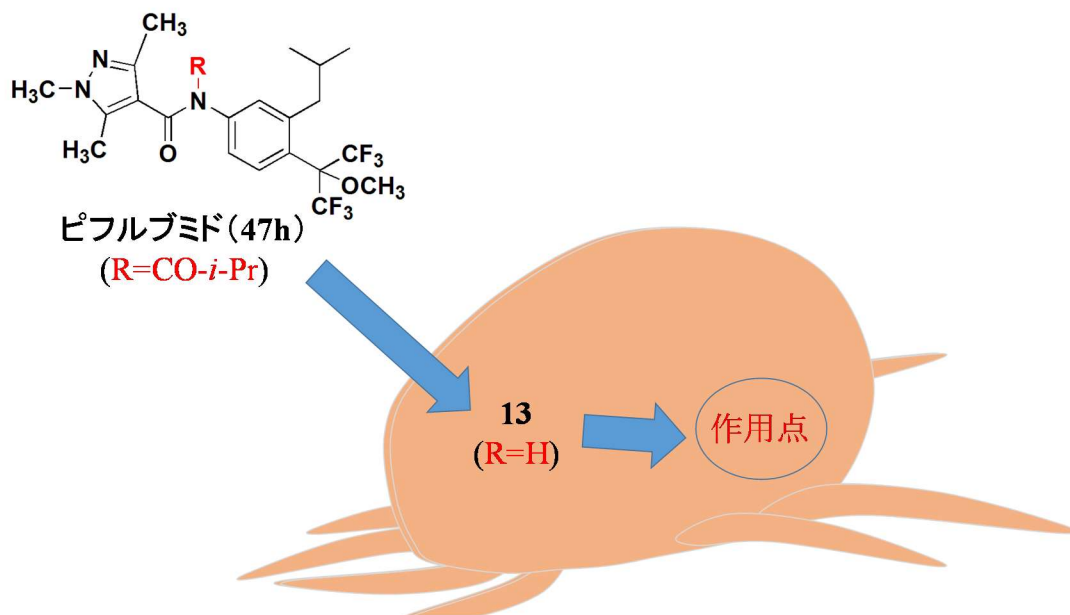
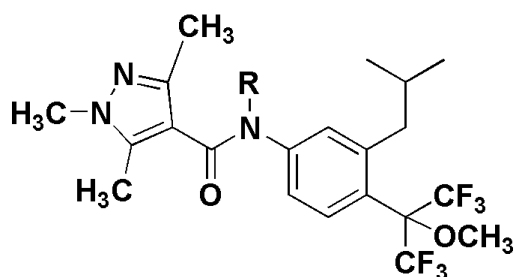


Fig. 5-4. ピフルブミドの殺ダニ活性発現の推定メカニズム

化合物 **13** とピフルブミドの物理化学性を確認したところ、化合物 **13** は水溶解度が非常に低い化合物であるが、イソブチリル基が導入されたピフルブミドは、LogP が高くなるとともに、水溶解度が向上していることがわかった (Table 5-9)。これらの水溶性と脂溶性の増大という物理化学面の変化がハダニ体内への吸収性の向上に寄与したものと考えられる。

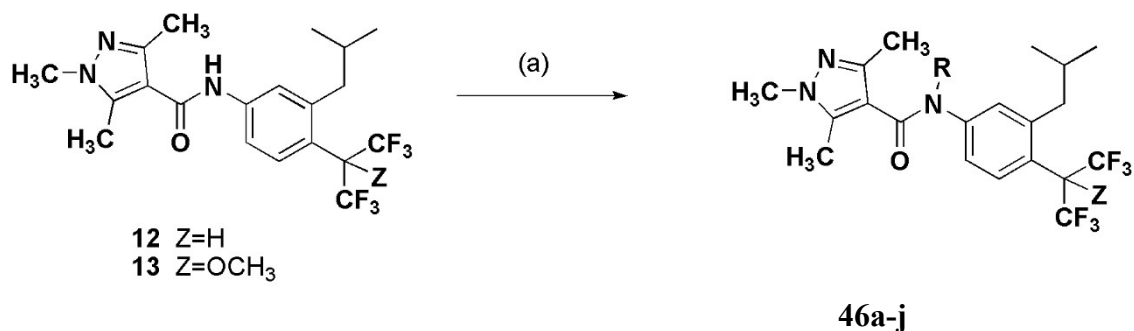
Table 5-9. ピフルブミドと化合物 13 の LogP と水溶解度



化合物	R	LogP	水溶解度 (ppm)
13	H	5.02	0.0123
ピフルブミド	CO- <i>i</i> -Pr	5.34	0.27

5-7 合成法

(置換)アルコキシアルキル体 **46a-d** は塩基存在下、アミド体 **12** に(置換)アルコキシアルキルハライドを反応させることにより合成し、アシル体 **47a-j** は塩基存在下、アミド体 **12** または **13** と各種のアシルハライドを反応させることにより合成した (Scheme 5-3)



化合物	R	Z	Yield
46a	CH ₂ OEt	H	56%
46b	CH ₂ O(CH ₂) ₂ OCH ₃	H	70%
46c	CH ₂ OCH ₂ Ph	H	63%
46d	CH ₂ O(CH ₂) ₇ CH ₃	H	63%
47a	COCH ₃	H	28%
47b	COEt	H	35%
47c	CO- <i>i</i> -Pr	H	60%
47d	COCH ₂ C(CH ₃) ₃	H	66%
47e	COPh	H	90%
47f	COCH ₃	OCH ₃	55%
47g	COEt	OCH ₃	50%
47h	CO- <i>i</i> -Pr	OCH ₃	68%
47i	COCH ₂ C(CH ₃) ₃	OCH ₃	40%
47j	COPh	OCH ₃	98%

Reagents and Conditions: (a) ClR or Ac₂O, NaH /THF, rt.

Scheme 5-3. *N*-置換ピラゾールカルボキサニリド(**46a-d**, **47a-j**)体の合成法

5-8 小括

プロペスティサイドであることが知られている既存の殺ダニ剤の構造を参考にアミド部位の窒素原子にハダニ虫体内における代謝が期待できる置換基の導入をおこなった。クロルフェナピルに利用されているエトキシメチル基を導入した **46a** において無置換体と同等の活性が認められた。次に、アセキノシルの活性本体の保護基として用いられているアセチル基を導入したところ、アセチル体 **47a** は、無置換体 **12** を凌ぐ活性を示した。高活性を示したアセチル基導入体の周辺展開を進めたところ、プロピオニル基やイソブチリル基のような低級アルキルカルボニル基を導入した化合物においてもナミハダニに対する殺ダニ活性が向上することが明らかとなった。また、それらの化合物はナミハダニだけでなく、ミカンハダニにも高い効果を有することが明らかとなった。

ナミハダニおよびミカンハダニに卓効を示した4化合物 (**47a**, **47f**, **47g**, **47h**) についてさらなる検討を行い、4化合物の中で cLogP 値が最も高い **47h** が降雨による影響を受けにくいことが明らかとなった。このことから、**47h**, すなわちピフルブミドを最終的に新規ハダニ剤とし選抜した。

作用点レベルでの検討結果およびホモジネートによる代謝検討の結果から、当初予想した通りピフルブミドはプロペスティサイドであり、その高い殺ダニ活性については、ハダニ虫体内への透過性向上が要因と推察した。

また、ピフルブミドのハダニ虫体内への吸収性は **13** よりも高いという結果からも、プロペスティサイド化による吸収性の向上が活性向上の要因と思われた。化合物の物理化学性を確認したところ、化合物 **13** と比較してピフルブミドは脂溶性と水溶性が増大しており、これらの物理化学的性質の変化がハダニ虫体内への透過性向上に好ましい影響を与えたものと思われた。

5-9 実験の部

Chemistry

N-エトキシメチル-3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**46a**)

60%水素化ナトリウム 38 mg (0.96 mmol) を THF 10 ml に懸濁し、化合物 **12** 278 mg (0.64 mmol) の THF 溶液 2 ml を加え、室温で 30 分攪拌後、エトキシメチルクロリド 90 mg (0.96 mmol) の THF 溶液 2 ml を加え、2 時間攪拌した。反応液を希塩酸中に注ぎこみ、酢酸エチルに抽出し、水洗した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精

製し、目的化合物 **46a** 176 mg (56%)を得た。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.45 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J=2.0$ Hz, $J=8.8$ Hz, 1H), 6.80 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 5.30 (s, 2H), 4.33 (m, 1H), 3.67 (q, $J=2.8$ Hz, 1H), 3.57 (s, 3H), 2.40 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 1.62 (m, 1H), 1.24 (t, $J=6.4$ Hz, 3H), 0.78 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

3'-イソブチル-N-メトキシエトキシメチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**46b**)

エトキシメチルクロリドをメトキシエトキシクロリドに置き換える以外は化合物 **46a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 70%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.44 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J=2.4$ Hz, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.91 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 5.37 (s, 2H), 4.33 (m, 1H), 3.80 (m, 2H), 3.8-3.56 (m, 2H), 3.57 (s, 3H), 3.38 (s, 3H), 2.40 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.63 (m, 1H), 0.78 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

N-ベンジルオキシメチル-3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**46c**)

エトキシメチルクロリドをベンジルオキシメチルクロリドに置き換える以外は化合物 **46a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 63%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.44 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.38-7.26 (m, 5H), 7.20(dd, $J=2.8$ Hz, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.87 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 5.39 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 4.33 (m, 1H), 3.56 (s, 3H), 2.39 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.05 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.61 (m, 1H), 0.77 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-N-オクチルオキシメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**46d**)

エトキシメチルクロリドをオクチルオキシメチルクロリドに置き換える以外は化合物 **46a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 63%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.44 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.21 (dd, $J=2.4$ Hz, $J=8.4$ Hz, 1H), 6.90 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 5.45(s, 2H), 4.33 (m, 1H), 3.62-3.57 (m, 2H), 3.57 (s, 3H), 2.40 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.06 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.65-1.57 (m, 2H), 1.40-1.20 (m, 10H), 0.88 (t, $J=6.8$ Hz, 3H), 0.78 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

N-アセチル - 3'-イソブチル - 1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**47a**)

60%水素化ナトリウム 38 mg (0.96 mmol) を THF 10 ml に懸濁し、化合物 **12** 278 mg (0.64 mmol) の THF 溶液を加え、室温で 30 分攪拌後、アセチルクロリド 75 mg (0.96 mmol) の THF 溶液 2 ml を加え、2 時間攪拌した。反応液を希塩酸中に注ぎこみ、酢酸エチルに抽出し、水洗した。硫酸マグネシウムで乾燥後、減圧濃縮し、得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、目的化合物 85 mg (28%) を得た。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.55 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.15 (dd, *J*=2.0 Hz, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.98 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 4.38 (m, 1H), 3.67 (s, 3H), 2.49 (d, *J*=7.2 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.72 (m, 1H), 0.85 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

屈折率 1.5021 (22.5°C)

3'-イソブチル - 1,3,5-トリメチル-*N*-プロピオニル - 4' - [2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**47b**)

アセチルクロリドをプロピオニルクロリドに置き換える以外は化合物 **47a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 35%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.56 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.0 Hz, 1H), 6.99 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 4.39 (m, 1H), 3.68 (s, 3H), 2.54 (t, *J*=7.4 Hz, 2H), 2.51 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.36 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 1.73 (m, 1H), 1.19 (t, *J*=7.2 Hz, 3H), 0.86 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

3'-イソブチル - *N*-イソブチリル - 1,3,5-トリメチル-4' - [2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド(**47c**)

アセチルクロリドをイソ酪酸クロリドに置き換える以外は化合物 **47a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 60%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.52 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.09 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.4 Hz, 1H), 6.92 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 4.37 (m, 1H), 3.65 (s, 3H), 3.02 (m, 1H), 2.50 (d, *J*=12.4 Hz, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.25 (s, 3H), 1.70 (m, 1H), 1.24 (d, *J*=6.4 Hz, 6H), 0.82 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

3'-イソブチル - 1,3,5-トリメチル-*N*-(3,3-ジメチルブチリル)-4' - [2,2,2-トリフルオロ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド (**47d**)

アセチルクロリドを 3,3-ジメチルブチリルクロリドに置き換える以外は化合

物 **47a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 66%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.54 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.14 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.4 Hz, 1H), 6.90 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 4.36 (m, 1H), 3.66 (s, 3H), 2.51 (s, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.70 (m, 1H), 1.10 (s, 6H), 1.09 (s, 6H), 1.06 (s, 3H), 0.82 (d, *J*=6.8 Hz, 6H)

N-ベンゾイル-3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**47e**)

アセチルクロリドをベンゾイルクロリドに置き換える以外は化合物 **47a** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 90%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.64 (dd, *J*=1.2 Hz, 8.4 Hz, 2H), 7.56 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.43 (m, 1H), 7.33 (t, *J*=7.6 Hz, 2H), 7.14 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.8 Hz, 1H), 6.95 (d, *J*=2.4 Hz, *J*=8.8 Hz, 1H), 4.37 (m, 1H), 3.63 (s, 3H), 2.46 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 2.34 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.65 (m, 1H), 0.78 (d, *J*=6.8 Hz, 6H)

N-アセチル-3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**47f**)

3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**13**) 500 mg (1.07 mmol) を THF 10 ml に溶解し、60%水素化ナトリウム 60 mg (1.5 mmol) を加えて、15 分間室温で攪拌した。そこへ無水酢酸 170 mg (92 mmol) を加え、3 時間攪拌した。反応液を酢酸エチル 100 ml で希釈し、水洗 (50 ml) 後、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、**47f** 300 mg を得た (収率 55%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.50 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.17 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.13 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.8 Hz, 1H), 3.68 (s, 3H), 3.46 (s, 3H), 2.88 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.01 (m, 1H), 0.80 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

3'-イソブチル-*N*-プロピオニル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**47g**)

無水酢酸をプロピオニルクロリドに置き換える以外は **47f** の製造方法と同様の方法で合成した (収率 50%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

7.50 (d, *J*=8.4 Hz, 1H), 7.18 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.12 (dd, *J*=2.4 Hz, 8.8 Hz, 1H), 3.68 (s,

3H), 3.46 (s, 3H), 2.89 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 2.55 (dd, $J=7.2$ Hz, 14.8 Hz, 2H), 2.37 (s, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.02 (m, 1H), 1.21 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 0.81 (d, $J=6.8$ Hz, 6H)

3'-イソブチル - *N*-イソブチリル - 1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール - 4-カルボキサニリド (ピフルブミド, **47h**)

3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**13**) 33.5 g (72 mmol) を THF 35 ml に溶解し、60%水素化ナトリウム 3.6 g (90 mmol)を加えて、15 分間室温で攪拌した。そこへイソ酪酸クロリド 9.8 g (92 mmol)を加え、3 時間攪拌した。反応液を酢酸エチル 400 ml で希釈し、水洗 (200 ml) 後、有機層を硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮した。得られた残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、ピフルブミド (26 g、収率 68%) を得た。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.47 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 7.10 (d, $J=2.4$ Hz, 1H), 7.07 (dd, $J=2.4$ Hz, 8.7 Hz, 1H), 3.66 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 3.03 (sept, $J=6.7$ Hz, 1H), 2.86 (d, $J=7.6$ Hz, 1H), 2.36 (s, 3H), 2.24 (s, 3H), 2.01-1.91 (m, 1H), 1.26 (d, $J=6.7$ Hz, 6H), 0.77 (d, $J=6.6$ Hz, 6H)

$^{13}\text{C-NMR}$ [400MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

11.12, 13.57, 19.76, 22.03, 28.59, 35.41, 36.02, 39.49, 54.44, 85.37, 114.39, 122.66, 124.47, 125.00, 129.71, 130.22, 139.90, 143.45, 143.95, 148.50, 168.75, 180.77

マススペクトル : m/z 535

I R (cm^{-1}) K B r 錠剤法 : 1452、1493、1601、2849、2923、3026、3060、3082

水溶解度: 0.27 mg/L (20 °C)

LogPow: 5.34 (25 °C)

融点: 86 °C

3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-*N*-(3,3-ジメチルブチリル)-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ - 1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニド (**47i**)

イソ酪酸クロリドを 3,3-ジメチルブチリルクロリドに置き換える以外はピフルブミドの製造方法と同様の方法で合成した (収率 40%)。

$^1\text{H-NMR}$ [400 MHz, CDCl_3 , δ 値 (ppm)]

7.49 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 7.13-7.08 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 3.67 (s, 3H), 3.45 (s, 3H), 2.87 (d, $J=8.0$ Hz, 1H), 2.52 (s, 2H), 2.35 (s, 3H), 1.95 (m, 1H), 1.10 (s, 6H), 1.07 (s, 3H), 0.77 (d, $J=6.4$ Hz, 6H)

N-ベンゾイル-3'-イソブチル-1,3,5-トリメチル-4'-[2,2,2-トリフルオロ-1-メトキシ-1-(トリフルオロメチル)エチル]ピラゾール-4-カルボキサニリド(**47j**)

イソ酪酸クロリドをベンゾイルクロリドに置き換える以外はピフルブミドの製造方法と同様の方法で合成した (収率 98%)。

¹H-NMR[400 MHz, CDCl₃, δ 値 (ppm)]

8.11 (d, *J*=7.2 Hz, 1H), 7.67-7.40 (m, 3H), 7.34 (t, *J*=7.2 Hz, 2H), 7.15 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.11 (dd, *J*=2.4 Hz, *J*=8.8 Hz, 1H), 3.64 (s, 3H), 3.46 (s, 3H), 2.86 (d, *J*=7.6 Hz, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.92 (m, 1H), 0.74 (d, *J*=6.4 Hz, 6H)

ピフルブミドの pH 別水中安定性試験

日電理科硝子(株)製のねじ口瓶 (SV-10) に各緩衝液を 5 ml 入れ、ピフルブミドのアセトニトリル溶液を添加した後、最終アセトニトリル濃度が 1%、ピフルブミド濃度が 0.2 ppm となるよう試験溶液を調製し、7 日間恒温室に静置後、上記瓶に 5 ml のアセトニトリルを加えて抽出し、測定をおこなった。

Biology

1) 供試害虫

ナミハダニ (*Tetranychus urticae* Koch) とミカンハダニ (*Panonychus citri*) を用いて生物試験を行った。個体群としては日本農薬株式会社総合研究所 (大阪府河内長野市) にて 30 年以上飼育されているものを用いた。餌としてインゲン葉 (*Phaseolus vulgaris* L.) あるいは シトラスフルーツ (*Rutaceae*) をそれぞれ用いた。25±1 °C、60-70% R.H. and 16L:8D photoperiod 下で飼育した。

2) Leaf disk assay

インゲン葉あるいはカンキツ葉 (*Citrus unshu* Marcovich) で直径 20 mm のリーフディスクを作成し、湿潤濾紙上に置き、そこへ雌成虫 10 頭を接種した。化合物を有効成分とする薬剤を所定濃度にマイリノー (0.01%) を含む水で希釈した薬液 50 ml をターンテーブル上で均一に散布し、風乾後 25 °C の恒温室に静置した。薬剤処理 2 日後に成虫の死亡虫数を調査し、死虫率を算出した。試験は 2 連制で行った。

3) 降雨による影響の確認試験

湿潤濾紙上に、かんきつ葉 (品種: 興津早生、完全展開葉) から作成した径 20 mm のリーフディスクを葉表が上になるように 4 枚のせた。手動散布機を用い、所定濃度の薬液 (マイリノー 0.01%) を散布した。24 時間後、人工降雨装置で 10

mm/h の雨に 60 分間曝露した。風乾後、各リーフディスクに 4 頭ずつミカンハダニ (*Panonychus citri*, 雌成虫 (日本農薬飼育感受性個体群)) を接種した。死虫率の調査は 2 日後に行った。試験は 2 連制で行った。

4) ミトコンドリア画分の調製

ナミハダニ由来のミトコンドリア画分は以下に記す元場らの方法¹³に従い調製した。

氷上の 0.25 M スクロース、0.1 mM EDTA, 1mM dithiothreitol (DTT)、および 0.1% 牛血清アルブミン (BSA) を含む 3 mM Tris-HCl バッファー (pH 7.4) 中でハダニを軽く摩砕し、1000 g で 10 分間遠心した。得られた沈殿を同様の組成のバッファー中でテフロンホモジナイザーを用いホモジナイズした。ホモジネートを 1000 g で 10 分間遠心し、得られた上清を 10000 g で 15 分遠心した。得られた沈殿物を DTT および BSA フリーのバッファーで 2 回洗浄した。最終的に得られたミトコンドリア画分は使用するまで、-80 °C で保存した。

ハスモンヨトウ、ルリキンバエ、ラット肝、ニジマス肝からのミトコンドリア画分は既報に従い調製した^{13, 14, 15}。

5) ミトコンドリア複合体 II 活性の測定

ミトコンドリア複合体 II 内における電子伝達活性は、コハク酸を電子供与体とし、共役する 2, 6-ジクロロフェノールインドフェノール (DCIP) の環元量を測定することで決定した。0.25 M スクロース、1 mM MgCl₂、2 mM KCN、5 μM アンチマイシン A、50 μM デシルユビキノン、および 50 μM DCIP を含む 50 mM リン酸カリウムバッファー (pH 7.4) を反応液として使用した。2 mL の反応液に適量のミトコンドリア懸濁液と化合物のエタノール溶液 2 μL を加え、25°C で 5 分間インキュベートした。二重阻害剤滴定曲線解析においては、2 化合物の溶液を混合してサンプルとした。終濃度 10 mM となるようにコハク酸ナトリウム溶液を加えることで反応を開始させた。速度論的解析においては、所定濃度のコハク酸溶液を用いた。DCIP の環元量は U-2910UV-Vis spectrophotometer (Hitachi High-Technologies Corp., Tokyo, Japan) を用い、600 nm における吸光度減少を測定することで決定した

5-10 参考文献

1. P. ten Haken and C. L. Dunn. Proc. 6th Br. Insectc. Fungic. Conf. Vol. 2, 453 (1971).
2. a) 殺菌剤メプロニルの開発. 川田晴郷, 坂本彬, 嶋崎功. 日本農薬学会誌

- 1985, 10, 315-324. b) Mechanism of action and selectivity of a fungicide, Mepronil. T. Shimizu, T. Nakao, Y. Suda and H. Abe. *J. Pestic. Sci.* **1992**, 17, 39-46.
3. 浸透性殺菌剤フルトラニルの開発. 荒木不二夫, 藪谷邦宏. 日本農薬学会誌 **1993**, 18, S69 - S77.
 4. 農薬の創製研究の動向 - 安全で環境に優しい農薬開発の展開 -. 梅津憲治監. **2018**, 71-77, シーエムシー出版.
 5. Propesticides and their use as agrochemicals. P. Jeschke. *Pest. Man. Sci.* **2016**, 72, 210-225.
 6. Acaricide mode of action. M. A Dekeyser. *Pest. Man. Sci.* **2005**, 61, 103-110.
 7. ナフトキノンを原料とする新規農薬の製造プロセスの開発. 菅沼弘之. 有機合成化学協会誌 **2001**, 59, 23-32.
 8. Greene's Protective Groups in Organic Chemistry fourth edition. P. G. M. Wuts, T. W. Greene. **2007**, 776, John Wiley& Sons.
 9. Removal of Formyl, Acetyl, and Benzoyl Groups from Amides with conversion into the corresponding t-Butyl carbamates. L. Grehn, K. Gunnarsson and U. Ragnarsson. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1317-1318.
 10. Process for the preparation of amide from hindered anilines containing a perhaloalkyl group. H. Smith, T. Pitterna, O. Franz Hueter, A. Edmunds, A. Stoller, P. Joseph, M. Jung. *PCT Int. Appl.* WO2014/161850 (2014).
 11. Insecticidal compounds. T. Pitterna, A. Stoller, A. Edmunds, *PCT Int. Appl.* WO2015/97094 (2015).
 12. 続医薬品の開発 第18巻 農薬の開発IV 741-753, 矢島治明監. 741-753, **1994**, 廣川書店.
 13. Spirodicofen and spiromesifen. R. Nauen, T. Bretschneider, A. Elbert, R. Fischer and R. Tiemann. *Pesticide Outlook* December **2003**, 243-245.
 14. 新規殺ダニ剤ピフルブミドに関する研究(第8報)-ハダニにおける代謝と作用機構に関する考察-. 中野元文, 相澤研介, 乾寛, 村田洋平, 古谷敬, 坂田和之. 日本農薬学会第42回講演要旨集 115, (2017).
 15. Quantative analyses of the uncoupling activity of substituted phenols with mitochondria from flight muscles of house flies. H. Miyoshi and T. Fujita. *Biochimica et Biophysica acta-Bioenergetics* **1988**, 935(3), 312-21.
 16. Effect of a new acaricide, fenpyroximate, on energy metabolism and mitochondrial morphology in adult female tehranychus urticae (two-spotted spider mite) . K. Motoba, T. Suzuki and M. Uchida. *Pesticide biochemistry and physiology* **1992**, 43, 37-44.
 17. Mitochondrial of maize weevil: Sitophilus Zemais (M.): Isolation, respiratory

function and morphology of adult maize weevil mitochondria. H. Nakakita. *Applied entomology and zoology* **1976**, 11(3), 229-38.

第六章 ピフルブミドの生物活性

6-1 序論

第五章において、プロペステイサイドであることが報告されている既存の殺ダニ剤を意識した展開により、アミド基の改変を行うことによって、さらなる活性向上を図り、ピフルブミド (**47h**) を見出すことに成功した。

本章では本剤の実用性を確認するため生物活性についてさらに詳細に検討をおこなった。

6-2 ピフルブミドの野外採集系統に対する効果

新規の殺ダニ剤に必要な性能の一つに既存剤に対し抵抗性を発達させた野外の個体群に対しても高い効果を示すことがある。そこで、主要産地各地から採集した個体群に対する開発化合物ピフルブミドの効果の確認を行った。

その結果、ピフルブミドはフェンピロキシメート、アセキノシル、ビフェナゼート、エトキサゾール、ミルベメクチン等に対し抵抗性を発達させた個体群に対しても、感受性個体群における活性と同等レベルの活性を示した (Table 6-1)。

Table 6-1. Acaricidal activity of pyflubumide and the conventional acaricides against the field populations of *T. urticae* and *P. citri* collected from major crop-producing fields in Japan (2008-2009).

供試種	ハダニ採取地	LC ₅₀ (ppm)					
		ピフルブミド	フェンピロキシメート	アセキノシル	ビフェナゼート	エトキサゾール	ミルベメクチン
ナミハダニ	青森県板柳町	0.86	> 50	> 150	40-200	> 50	> 10
	長野県須坂市	2.3	> 50	> 150	> 200	> 50	2-10
	熊本県熊本市	0.52	> 50	> 150	40-200	> 50	> 10
	日農感受性系統	1.2	0.32	3.3	2.4	0.036	0.44
ミカンハダニ	和歌山県和歌山市	5.0	> 50	150	> 200	NT*	> 10
	愛媛県伊予市	1.7	> 50	> 150	> 200	NT	2-10
	佐賀県唐津市	1.5	> 50	> 150	> 200	NT	2-10
	日農感受性系統	1.3	8.6	8.9	15	NT	0.059

* : Not Treated

6-3 ピフルブミドの野外圃場試験結果

次に開発剤として選抜したピフルブミドの実際の栽培体系における防除剤としての実用性を判断するために、実際の圃場にて効果を確認することとした。

ナミハダニに対する効果試験では、50 ppm の処理濃度では、21 日後まで高い効果を示し、さらに 100 ppm の処理濃度では 27 日後まで高い防除効率を示し、対照剤として用いたミルベメクチンやアセキノシルの各剤の実用濃度における効果に優れた (Table 6-2)。

Table 6-2. ナミハダニに対する効果

供試 化合物	剤型	濃度 ppm	寄生雌成虫数／50 葉					防除効率				
			処 理 前	6 日 後	13 日 後	21 日 後	27 日 後	6 日 後	13 日 後	21 日 後	27 日 後	
ピフルブミド	SC	20% 100	180	0	2	6	23	100	100	100	99	
ピフルブミド	SC	20% 50	13	0	1	9	82	100	99	97	79	
ミルベメ クチン	EC	1%	10	30	0	5	42	157	100	98	93	79
アセキノシル	SC	15%	150	6	1	11	36	100	94	82	64	25
無処理				22	62	178	255	233				

ミカンハダニに対する効果試験では、ピフルブミドは 50 ppm～100 ppm の処理濃度において高い防除効率を示し、対照剤として用いたアセキノシル、スピロジクロフェンの各剤における実用濃度での効果と同等の効果を示した (Table 6-3)。

以上の通り、主要なハダニ種であるナミハダニ、ミカンハダニに対してピフルブミドは既存ハダニ剤と同等以上の防除効果を示すことが明らかとなった。

Table 6-3. ミカンハダニに対する効果

供試化合物	剤型	濃度 ppm	寄生雌成虫数/100葉					防除効率	
			処 理 前	7 日 後	14 日 後	21 日 後	28 日 後	14 日 後	28 日 後
ピフルブミド	20% SC	100	344	0	0	0	0	100	100
ピフルブミド	20% SC	75	324	0	1	0	7	100	99
ピフルブミド	20% SC	50	210	0	7	0	0	99	99
アセキノシル	15% SC	150	134	0	1	1	5	100	99
スピロ ジクロフェン	30% SC	75	118	5	0	0	0	98	99
無処理			135	198	110	59	157	0	0

6-4 ピフルブミドの殺虫・殺ダニスペクトル、殺菌スペクトル

ピフルブミドの殺虫・殺ダニスペクトルを確認したところ、ナミハダニ、ミカンハダニと同様に、ハダニ目に属する害虫であるカンザワハダニに対しても高い活性を示すことが明らかとなった。一方、チョウ目、カメムシ目害虫には効果を示さず、ピフルブミドはハダニ目害虫に特異的に効果を示すことがわかった (Table 6-4)。

Table 6-4. ピフルブミドの殺虫スペクトル

目名	一般名	LC ₅₀ (ppm)
ダニ目	ナミハダニ	1.2
	ミカンハダニ	1.3
	カンザワハダニ	1.9
チョウ目	コナガ	>500
	ハスモンヨトウ	>500
カメムシ目	トビイロウンカ	>500
	モモアカアブラムシ	>500

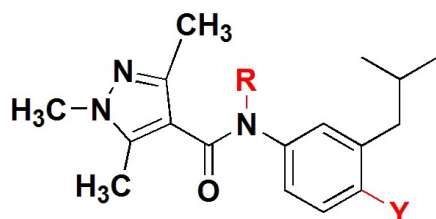
次に、殺菌活性の評価結果を Table 6-5 に示す。ピフルブミドは殺菌活性を有する骨格から見出された化合物であるが、殺菌活性は認められなかった。また、脱アシル体である **13** についても同様であった。

Table 6-5. ピフルブミドの殺菌スペクトル

病害名	EC ₈₀ (ppm)	
	13	ピフルブミド
リンゴ黒星病	>200	>200
キュウリ灰色かび病	>200	>200
オオムギうどんこ病	>200	>200
イネ紋枯病	>200	>200

一方、C(CF₃)₂OCH₃ 基を含まない化合物 **31a** は殺ダニ活性を示さない一方、イネ紋枯病に対し活性を示した。この結果もまた、アニリノ 4'位への C(CF₃)₂OCH₃ 基の導入が、殺菌活性から殺ダニ活性へのスペクトルシフトと密接に関係していることを示唆している (Table 6-6)。

Table 6-6. ピフルブミド類縁体の殺ダニおよび殺菌スペクトル



化合物	R	Y	ナミ ハダニ LC ₅₀ *	リンゴ 黒星病 EC ₈₀ *	キュウ リ灰色 かび病 EC ₈₀ *	オオム ギうどん こ病 EC ₈₀ *	イネ 紋枯病 EC ₈₀ *
ピフル ブミド	CO- <i>i</i> -Pr	C(OCH ₃) (CF ₃) ₂	1-3	>200	>200	>200	>500
13	H	C(OCH ₃) (CF ₃) ₂	10-30	>200	>200	>200	>500
31a	H	H	>500	>200	>200	>200	20-50

* : 単位は全て ppm

6-5 ピフルブミドの有用昆虫、天敵、非標的害虫に対する影響および安全性試験結果

参考として、別途評価した内容であるが、ピフルブミドは、カイコ類、ミツバチなどの有用昆虫、捕食性ダニ、クモなどの天敵に影響の少ない剤であり IPM に適した剤であることが明らかとなった¹ (Table 6-7)。また、Table 6-8 に示したように、急性毒性や刺激性などの評価において特に問題となる影響は認められず¹、長期毒性評価においても同様に特に問題となる影響は認められなかった。その結果、0.0073 mg/kg 体重/日の一日摂取許容量 (ADI) が設定された²。

また、ピフルブミドおよび脱アシル体 **13** は、Table 6-9 に示す通り、ハダニ以外の生物種から調製したミトコンドリア画分に対しては、ほとんど複合体 II 阻害活性を示さなかった³。この作用点レベルでのハダニに対する高い特異性は、ピフルブミドのハダニに対する選択的効果と非標的生物における低毒性の要因と考えられる。

Table 6-7. ピフルブミドの有用昆虫、非標的害虫に対する影響

対象種	LC ₃₀ (ppm)
カイコガ	>100
セイヨウミツバチ	>200
マメコバチ	>100
チリカブリダニ	>200
ミヤコカブリダニ	>100
スワルスキーカブリダニ	>200
ピメハダニカブリケシハネカクシ	>100
ナミテントウ	>100
シヨクガタマバエ	>200
アオムシコマユバチ	>200
オンシツツヤコバチ	>100
タイリクヒメハナカメムシ	>200
キクヅキコモリグモ	>200

Table 6-8. ピフルブミドの安全性

ラット急性毒性（経口及び経皮）	LD ₅₀	>2000 mg / kg（雄・雌）
変異原性（Ames Test）		陰性
ウサギ眼刺激性		無刺激物
ウサギ皮膚刺激性		無刺激物
マウス皮膚感作性		陰性
鳥類（ウズラ）急性経口毒性 NOEL		2250 mg / kg（雄・雌）
魚類（コイ）急性毒性 NOEC		0.35 mg / L

Table 6-9. 各種生物種由来のミトコンドリア画分におけるピフルブミドおよび化合物 **13** の複合体 II 阻害活性³

供試種	IC ₅₀	
	13	ピフルブミド
ラット	>1 μM	>1 μM
ニジマス	>10 μM	>10 μM
ハスモンヨトウ	>10 μM	NT
ルリキンバエ	>10 μM	NT
ナミハダニ	0.028 μM	>1 μM

6-6 小括

ピフルブミドは既存のハダニ剤に対し抵抗性を発達させた個体群に対しても高い効果を示し、また、圃場試験においてもナミハダニおよびミカンハダニに対して既存剤と同等以上の防除効果を示した。

ピフルブミドおよび **13** の殺虫・殺ダニスペクトルを確認したところ、ピフルブミドはダニ目以外の害虫種には活性を示さないことがわかった。殺菌活性についても確認したが、ピフルブミドおよび活性本体である化合物 **13** は殺菌活性を示さなかった。さらに化合物 **13** から 4' 位の C(OCH₃)(CF₃)₂ 基を除いた化合物 **31a** では殺ダニ活性が消失する一方、殺菌活性が認められた。この結果は、ピフルブミドにおいては 4' 位の C(OCH₃)(CF₃)₂ 基が殺菌活性から殺ダニ活性へのスペクトルシフトに極めて大きな役割を果たしていることを示唆した。

その他、各種の有用昆虫や非標的生物に対する毒性試験では問題となる影響は認められず、また安全性面でも同様に特に問題となる影響は認められなかった。

ピフルブミドの作用点レベルにおける高い選択性は、本剤のハダニに対する選択的な活性と非標的生物に対する高い安全性についての要因の一つでないか

と考えられた。

6-7 実験の部

Formulation

生物試験をおこなったピフルブミドのフロアブル剤は以下に示す重量部で均一に混合することにより調整した。

20%フロアブル剤

ピフルブミド	20 部
ソルポール 3105(東邦化学工業製)	5 部
プロピレングリコール	5 部
ロドポール 23(ソルベイ日華社製)	2 部
水	68 部

Biology

1) 供試害虫

感受性検定に用いた野外個体群のナミハダニとミカンハダニは 2008 年から 2009 年にかけて日本の主要産地から採集したものであり、日本農薬株式会社総合研究所(大阪府河内長野市)で3世代にわたって累代飼育後に用いた。カンザワハダニ(*Tetranychus Kanzawai Kishida*)は2008年に静岡県掛川市で採集した個体群を採集後直接供試した。コナガ、ハスモンヨトウ、トビイロウンカおよびモモアカアブラムシについては日本農薬株式会社総合研究所(大阪府河内長野市)で10年以上にわたって累代飼育している系統を用いた。

2) 圃場における防除効果 ナミハダニに対する試験方法

試験場所：青森県北津軽郡板柳町 日本農薬(株)津軽りんご試験地

処理日時：2007年8月2日

試験樹：リンゴ(品種：きたぐれなし・王林/3年生)

供試薬剤：ピフルブミド水和剤、対照薬剤は市販のミルベメクチン乳剤(三井化学アグロ株式会社 コロマイト®乳剤)およびアセキノシル水和剤(アグロカネショウ株式会社 カネマイト®フロアブル)を用いた。

試験方法：薬剤を展着剤(マイリノー®)を0.01%加えた水道水で所定濃度に希

積し、動力噴霧機でリンゴ樹に十分に散布した (2L/樹)。調査は処理前および処理後 7、13、21、27 日に行い、1 樹から 50 葉をランダムに抽出し、寄生雌成虫数を計数した。

また、防除効率は下記の式 1 (日植防 II 式)⁴を用いて算出した。

(式 1)

$$(1 - Cb \sum_{i=1}^n Tai / Tb \sum_{i=1}^n Cai) \times 100$$

n : 処理後の調査回数

Cb : 無処理区の処理前虫数

Ca_i : 無処理区の処理後 i 回目調査の虫数

Tb : 処理区の処理前虫数

Ta_i : 処理区の処理後 i 回目調査の虫数

3) 圃場における防除効果 ミカンハダニに対する試験方法

試験場所：大阪府河内長野市小山田町

日本農薬 (株) 総合研究所 第 2 果樹園

処理日時：2007 年 7 月 24 日

試験樹：かんきつ (品種：青島温州、10-15 年生、樹高 2.5 m)

供試薬剤：ピフルブミド水和剤、対照薬剤は市販のアセキノシル水和剤 (アグロ カネショウ株式会社 カネマイト®フロアブル) およびスピロジクロフェン水和剤 (バイエルクロップサイエンス株式会社 ダニエモン®フロアブル) を用いた。

試験方法：薬剤を水道水で所定濃度に希釈し、動力噴霧機でカンキツ樹に十分に散布した (5L/樹)。調査は処理前および処理後 7、14、21、28 日に行い、1 樹から 100 葉をランダムに抽出し、寄生雌成虫数を計数した。防除効率はナミハダニの場合と同様の方法で算出した。

4) カンザワハダニに対する殺ダニ活性評価試験

インゲン葉から直径 2 cm のリーフディスクを作成し、湿潤ろ紙上に置き、そこへ上記のカンザワハダニの雌成虫を 10 頭接種した。ピフルブミド水和剤を展着剤 (マイリノー®) を 0.01% 加えた水道水で所定濃度の薬液 (100, 30, 10, 3, 1, 0.3, 0.1 ppm) に希釈し、リーフディスク上のハダニに手動散布装置 (梅谷鉄工所製) を用い 1 m×1 m あたり 50 mL 散布して薬剤処理を行った。その後

25℃の恒温室に整置した。薬剤処理2日後に死亡虫数を調査した。試験は2連制で行った。

5) コナガに対する殺虫活性試験

ハクサイ実生にコナガ (*Plutella xylostella*) の成虫を10頭放飼して産卵させ、放飼2日後に産下卵の付いたハクサイ実生を得た。これをピフルブミド水和剤を500 ppmに希釈した薬液に約30秒間浸漬し、風乾後に25℃の恒温室に静置した。薬剤浸漬6日後に孵化幼虫数を調査した。試験は3連制で行った。

6) ハスモンヨトウに対する殺虫活性試験

ピフルブミド水和剤を500 ppmに希釈した薬液に、カンラン葉片を約30秒間浸漬し、風乾後に直径9 cmのプラスチックシャーレに入れ、ハスモンヨトウ (*Spodoptera litura*) 2令幼虫を10頭接種した後、25℃の恒温室内に静置した。接種8日後に生存、死亡虫数を調査した。試験は3連制で行った。

7) トビイロウンカに対する殺虫活性試験

ピフルブミド水和剤を500 ppmに希釈した薬液にイネ実生を約30秒間浸漬し、風乾後ガラス試験管に入れ、トビイロウンカ (*Nilaparvata lugens*) 3令幼虫を10頭接種し綿栓をした後、25℃の恒温室内に静置した。接種8日後に生存、死亡虫数を調査した。試験は2連制で行った。

8) モモアカアブラムシ (*Myzus persicae*) に対する防除価試験

直径8 cm、高さ8 cmのプラスチックポットにハクサイを植えてモモアカアブラムシを繁殖させ、それぞれのポットの寄生虫数を調査した。ピフルブミド水和剤を500 ppmの薬液に希釈し、ハクサイの茎葉に散布して風乾後、ポットを温室に保管し、薬剤散布後6日目にそれぞれのハクサイに寄生しているモモアカアブラムシの寄生虫数を調査した。

6-8) 参考文献

1. 独立行政法人農林水産消費安全技術センター (FAMIC) ピフルブミド農薬抄録 <https://www.acis.famic.go.jp/syouroku/pyflubumide/index.htm>
2. 食品安全委員会ピフルブミド評価書.
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20130612158>
3. Mode of action of novel acaricide pyflubumide: effects on the mitochondrial respiratory chain. M. Nakano, N. Yasokawa, A. Suwa, S. Fujioka, Takashi Furuya

and Kazuyuki Sakata. *J. Pestic. Sci.* **2015**, 40, 19-24.

4. 日本植物防疫協会ホームページ.

<http://www.jppa.or.jp/test/data/ringmusi.pdf>

第七章 結論

第一章において、農薬は安定した農作物の生産に不可欠な存在であり、近年は要求性能が高くなり創薬の難度が上がっていることと、様々な農薬探索における課題克服する手段としてフッ素の利用が進み、フッ素を含有する農薬の開発が相次いでいるものの、そのほとんどがフルオロ基、あるいはトリフルオロメチル基を含む化合物に限定されていることから、新規なフルオロアルキル基の利用検討の価値が高まっていることを紹介した。

そのような中、1990年代後半より、大幅に脂溶性を増大することが可能なヘプタフルオロイソプロピル基が有用な置換基として登場し、フルベンジアミドやピリフルキナゾンといった殺虫剤の部分構造として実用化された。1つの炭素に2つのトリフルオロメチル基とフッ素原子が結合した構造を有するヘプタフルオロイソプロピル基は大幅に脂溶性を増大することが出来るだけでなく、炭素に結合したフッ素原子は反応性に富み、還元反応、置換反応によって容易に構造変換が可能であり、物性調整も可能であることから、探索合成研究の様々なステージに利用できるものと考え、今回、ヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁体を利用した農薬探索研究をおこなったことを述べた。

第二章ではミトコンドリア複合体IIを阻害することにより殺菌活性を示すことが古くから知られているカルボキサミド系化合物の中で、オルト位に1,3-ジメチルブチル基が導入された化合物は幅広い殺菌スペクトルを示すことから、その構造に着目し、アニリノ4'位にヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁置換基を導入する展開をおこなった。この展開においてヘキサフルオロイソプロピル基を導入した化合物**10**が殺ダニ活性を示すことを見出したことを紹介した。

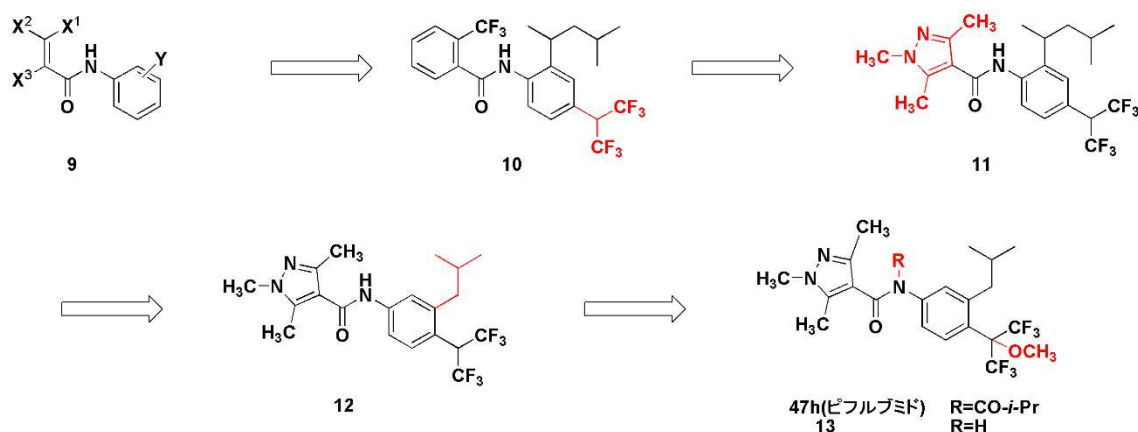
また、ヘキサフルオロイソプロピル基導入に伴う殺ダニ活性の発現については、導入体の適度な脂溶性が殺ダニ活性発現に望ましい物性であったことが主要因でないかと考察した。

第三章では、第二章で見出された殺ダニ活性を有するリード化合物**10**から既存のカルボキサミド系殺菌剤の化学構造を参考とした酸部位の変換による最適化をおこなった。フラメトピルの酸部位を有した5-クロロ-1,3-ジメチルピラゾール誘導体が高活性を示したことから、その後、ピラゾール環の各置換基の精査をおこない、その結果、より高活性な1,3,5-トリメチルピラゾール体**11**の創出に成功したことを述べた。

第四章では、第三章と同様に既存のカルボキサニリド系殺菌剤の化学構造を参考としてアニリノ側鎖の変換をおこなった。2'位ではペンチオピラドやペンフルフェンと同じ側鎖を有する化合物が最も高い活性を示した。上述のカルボキサミド系殺菌剤においてはメプロニルやフルトラニルの様に3'位に側鎖を有した化合物もあることから、次に3'位の検討をおこなった。その結果、メプロニルやフルトラニルと同じ側鎖である3'-イソプロピロキシ体において殺ダニ活性が認められ、さらなる合成展開により3'-イソプロピロキシ基と同様の側鎖分岐構造を有した3'-イソブチル体 **12** において **11** と同等レベルの高い殺ダニ活性を示すことがわかった。**12** は比較的安価な原料から誘導可能な3-イソブチルアニリンより合成できることから、以後は **12** の周辺について合成展開することとした。

第五章ではプロペステイサイドであることが知られている既存の殺ダニ剤の構造を参考にアミド基の修飾を行い、第四章で見出された高活性化合物 **12** のアミド基の窒素原子にハダニ虫体内における代謝が期待できる置換基を導入する展開を行う中で、低級アルキルカルボニルを導入した化合物でさらなる活性向上が認められることを見出した。またそれらの化合物はナミハダニのみならずミカンハダニにも高い効果を示すことを見出した。最適化の最終段階においては、ヘキサフルオロイソプロピル基のトリフルオロメチル基に挟まれた部位を改変し、降雨による活性変動の小さい **47h** (ピフルブミド) が見出された。また、ピフルブミドはハダニ虫体内で代謝により脱イソブチリル化し、ハダニミトコンドリア複合体 II を阻害する **13** となることから、殺ダニ活性向上はプロペステイサイド化によってもたらされたことが明らかとなった (Scheme 7-1)。

第六章ではピフルブミドの生物性能について触れ、ピフルブミドは既存剤に対し抵抗性を発達させた個体群に対しても高い効果を示し、また、圃場試験においてナミハダニ、ミカンハダニに対し既存剤と同等以上の防除効果を示すことを述べた。ピフルブミドはハダニ特異的に活性を示し、探索開始の契機であった殺菌活性は認められなかった。また有用昆虫や非標的昆虫にも影響が小さく、各種の安全性試験においても特に問題となる影響は見られなかった。



Scheme 7-1 ピフルブミド創出までの流れ

ヘキサフルオロイソプロピル基を有する置換基は大幅に脂溶性を付与できるだけでなく、2つのトリフルオロメチル基に隣接する炭素部位の置換基変換により微細な物性調節も可能であることが特徴である。本研究においては殺菌活性を示すことが古くから知られているカルボキサミド骨格にヘキサフルオロイソプロピル基およびその類縁置換基を導入することによって、これまで報告例のなかった新規な殺ダニ活性を見出すことに成功した。また、化合物の最適化工程においてはヘキサフルオロイソプロピル基にメトキシ基を導入した化合物においても高い活性が維持されることを見出し、結果、1-メトキシ-2, 2, 2-トリフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル基という従来の農薬には見られない新規なフルオロアルキル基を有する殺ダニ剤ピフルブミドの創出に成功した。

以上のとおり、ヘキサフルオロイソプロピル基は探索初期から探索後期の最適化までさまざまな探索ステージにおいて利用可能な有用性の高い置換基であり、この置換基を用いることによって、圃場試験でも優れた防除効果を示すピフルブミドを見出した。

ヘキサフルオロイソプロピル基を有する置換基を用いた研究が、農薬分野にとどまらず、医薬や動物薬分野における創薬探索研究等、今後さまざまな分野において利用されることを期待したい。

謝辞

本研究を学位論文にまとめるにあたり、多くのご支援とご指導を賜りました奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 物質創成科学領域 垣内喜代三 教授に深甚なる謝意を表します。

また、本研究の審査をお引き受けいただき、多くの有益なご助言を賜りました奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 物質創成科学領域 上久保裕生 教授、荒谷直樹 准教授、谷本裕樹 助教に深く感謝いたします。

殺ダニ剤ピフルブミドの共同研究者の日本農薬株式会社 藤岡伸佑様、諏訪明之様、八十川伯朗様、森本雅之様、中野元文様、町谷幸三博士、山口実様、松崎義広様、稲垣勝裕様、菅野秀夫様に感謝いたします。

また、ピフルブミドの作用機構研究においてご協力頂きました京都大学大学院農学研究科の三芳秀人教授に深く感謝いたします。

最後に本論文を作成するにあたり理解をしてくれた家族に感謝いたします。

研究業績リスト

学位論文の主たる部分を公表した論文

(題目、全著者名、公表時期、雑誌名、巻、ページ)

- (1) “Synthesis and biological activity of a novel acaricide, pyflubumide.”
Takashi Furuya, Akiyuki Suwa, Motofumi Nakano, Shinsuke Fujioka,
Noriaki Yasokawa and Kozo Machiya;
J. Pestic. Sci., **2015**, 40, 38-43 (2015).
- (2) “Development of a novel acaricide, pyflubumide.”
Takashi Furuya, Kozo Machiya, Shinsuke Fujioka, Motofumi Nakano and
Katsuhiko Inagaki;
J. Pestic. Sci., **2017**, 42, 1-5 (2017).

参考論文

(題目、全著者名、公表時期、雑誌名、巻、ページ)

- (1) “Synthesis and biological activity of a novel fungicide, pyraziflumid.”
Masatsugu Oda, **Takashi Furuya**, Yukio Morishita, Yoshihiro Matsuzaki,
Motohiro Hasebe and Nobutaka Kuroki;
J. Pestic. Sci., **2017**, 42, 151-157.
- (2) “Mode of action of novel acaricide pyflubumide: effects on the mitochondrial
respiratory chain.”
Motofumi Nakano, Noriaki Yasokawa, Akiyuki Suwa, Shinsuke Fujioka, **Takashi
Furuya** and Kazuyuki Sakata;
J. Pestic. Sci., **2015**, 40, 19-24.
- (3) “Flubendiamide, a novel insecticide highly active against lepidopterous insect
pests.”
Masanori Tohnishi, Hayami Nakao, **Takashi Furuya**, Akira Seo, Hiroki Kodama,
Kenji Tsubata, Shinsuke Fujioka, Hiroshi Kodama, Takashi Hirooka and
Tetsuyoshi Nishimatsu;
J. Pestic. Sci., **2005**, 30, 354-360.
- (4) “Preparation of versatile intermediates for ether-linked 5a-carba oligosaccharides.”
Seiichi Ogawa, Keisuke Hirai, Masatsugu Ohno, **Takashi Furuya**, Shin-ichi
Sasaki and Hidetoshi Tsunoda;

Liebigs Ann. Chem., **1996**, 673-677 (1996).

- (5) “Synthesis of methyl 5a’-carbamaltoses linked by imino, ether and sulfide bridges and unsaturated derivatives thereof.”
Hidetoshi Tsunoda, Shin-ichi Sasaki, **Takashi Furuya** and Seiichiro Ogawa;
Liebigs Ann. Chem., **1996**, 159-165 (1996).
- (6) “Synthesis of β -D-GlcNAc-(1 \rightarrow 2)-5a-carba- α -D-Man p- (1 \rightarrow 6)- β -D-Glcp-O(CH₂)₇CH₃: a reactive acceptor analog for N-acetylglucosaminyltransferase-V.”
Seiichiro Ogawa, **Takashi Furuya**, Hidetoshi Tsunoda, Ole Hindsgaul, Katja Stangier and Monica M. Palcic;
Carbohydr. Res., **1995**, 271, 197-205 (1995).

学会発表

- (1) 「新規殺菌剤ピラジフルミドに関する研究」
織田雅次、**古谷敬**、森下幸生、松崎義広、長谷部元宏、黒木信孝、重成俊彦、
第 33 回農薬デザイン研究会、2018 年 11 月、ホテルアンビア松風閣、静岡。
- (2) “Pyraziflumid as a novel SDHI fungicide: SARs and synthetic methods.”
Masatsugu Oda, **Takashi Furuya**, Yukio Morishita, Yoshihiro Matsuzaki, Motohiro Hasebe, Nobutaka Kuroki,
The 256th ACS National Meeting、AGRO346、2018 年 8 月、ボストン、米国。
- (3) 「殺ダニ剤ピフルブミドの開発」
古谷敬、町谷幸三、藤岡伸佑、中野元文、稲垣勝裕、
日本農薬学会第 42 回大会、2017 年 3 月、愛媛大学。
- (4) 「新規殺ダニ剤ピフルブミドに関する研究(第 8 報)-ハダニにおける代謝と作用機構に関する考察-」
中野元文、相澤研介、乾寛、村田洋平、**古谷敬**、坂田和之、
日本農薬学会第 42 回大会、B303、2017 年 3 月、愛媛大学。
- (5) 「新規殺菌剤 NNF-0721 に関する研究 (第 1 報) - 合成と生物活性 - 」
織田雅次、**古谷敬**、森下幸生、松崎義広、長谷部元宏、黒木信孝、
日本農薬学会第 41 回大会、C307、2016 年 3 月、島根大学。

- (6) 「新規殺ダニ剤ピフルブミド (NNI-0711) に関する研究 (第 5 報) -動物代謝-」
泰永涼子、吉實隆志、正木隆男、古谷敬、元場一彦、井上和美、
日本農薬学会第 40 回大会、D311、2015 年 3 月、玉川大学。
- (7) “Synthesis and biological activity of a novel acaricide, pyflubumide.”
Takashi Furuya, Kozo Machiya, Akiyuki Suwa, Shinsuke Fujioka, Noriaki
Yasokawa and Motofumi Nakano,
The 248th ACS National Meeting、AGRO449、2014 年 8 月、サンフランシスコ、米国。
- (8) “Mode of Action of Novel Acaricide Pyflubumide, Effects on the Respiratory
Electron Transport Chain”
Motofumi Nakano, Noriaki Yasokawa, Akiyuki Suwa, Shinsuke Fujioka and
Takashi Furuya:
The 248th ACS National Meeting、2014 年 8 月、サンフランシスコ、米国。
- (9) 「新規殺虫剤フルベンジアミドの開発」
古谷敬、
日本化学会近畿支部研究最前線講演会 2014、2014 年 5 月、神戸大学。
- (10) 「新規殺ダニ剤ピフルブミド (NNI-0711) に関する研究 (第 4 報) -環境中にお
ける分解性-」 浜坂康貴、米村崇、田中恒之、高橋良典、古谷敬、正木隆男、
元場一彦
日本農薬学会第 39 回大会、D311、2014 年 3 月、京都大学。
- (11) 「新規殺ダニ剤ピフルブミドの創製」
古谷敬、
第 28 回農薬デザイン研究会、講演 4、2013 年 11 月、メルパルク京都。
- (12) 「新規殺ダニ剤 NNI-0711 に関する研究 (第 3 報) -ハダニ類に対する作用特
性-」
藤岡伸祐、中野元文、古谷敬、
第 56 回日本応用動物昆虫学会、G216、2012 年 3 月、近畿大学。
- (13) 「新規殺ダニ剤 NNI-0711 に関する研究 (第 2 報) -呼吸鎖電子伝達系に対す
る作用-」

中野元文、八十川伯朗、諏訪明之、井澤憲満、藤岡伸祐、古谷敬、
日本農薬学会第 37 回大会、A305、2012 年 3 月、岡山大学。

- (14) 「新規殺ダニ剤 NNI-0711 に関する研究 (第 1 報) -合成と生物活性-」
古谷敬、町谷幸三、八十川伯朗、諏訪明之、中野元文、藤岡伸祐、
日本農薬学会第 37 回大会、A304、2012 年 3 月、岡山大学。
- (15) 「新規殺虫剤フルベンジアミド (フェニックス®) の創製」
中尾勇美、遠西正範、古谷敬、瀬尾明、児玉浩宜、津幡健治、藤岡伸祐、
児玉洋、西松哲義、廣岡卓、
第 22 回農薬デザイン研究会、講演 6、2007 年 4 月、東京農工大学。
- (16) “Novel class insecticide, flubendiamide: Synthesis and biological activity “,
Masanori Tohnishi, Hayami Nakao, Takashi Furuya, Akira Seo, Hiroki Kodama,
Kenji Tsubata, Hiroshi Kodama, Takashi Hirooka, Tetsuyoshi Nishimatsu:
The 230th ACS National Meeting, 2005 年 8 月、ワシントン D. C.、米国。
- (17) 「新規殺虫剤フルベンジアミド (フェニックス®) に関する研究 (第 1 報
合成と生物活性)」
遠西正範、中尾勇美、古谷敬、瀬尾明、児玉浩宜、津幡健治、藤岡伸祐、
児玉洋、西松哲義、廣岡卓、
日本農薬学会第 30 回大会、C103、2005 年 3 月、明治大学。
- (18) 「イミノ、エーテル、スルフィド結合を含む擬似マルトースの合成」
古谷敬、角田秀俊、小川誠一郎、
日本化学会第 67 春季年会、4E138、1994 年 3 月、青山学院大学。

特許

- (1) “Anthoranilate compound, salt thereof, horticultural fungicide containing said
compound, and a method for use thereof.”
Takashi Furuya, Atsushi Okada, Hiroto Harayama, Yutaka Abe, Naoto Shimizu,
Eiji Yasukouchi, Yutaka Kato,
PCT Int. Appl. WO2016/182021 (2016).
- (2) “Fused heterocyclic compound or salt thereof, agricultural and horticultural
insecticide containing fused heterocyclic compound, and method for using

agricultural and horticultural insecticide.”

Ikki Yonemura, Kosuke Fukatsu, **Takashi Furuya** and Akiyuki Suwa;

PCT Int. Appl. WO2014/142292 (2014).

- (3) “Lubricant composition having excellent antioxidant properties.”
Yukio Tatsumi, Masato Namiki, Masashi Iino, Yuki Sugiura and **Takashi Furuya**;
PCT Int. Appl. WO2009/075259 (2009).
- (4) “Substituted pyrazolecarboxanilide derivative or salt thereof, agricultural or horticultural chemical, and method of using the same.”
Kozo Machiya, Yoshihiro Matsuzaki, **Takashi Furuya**, Akiyuki Suwa,
Noriaki Yasokawa and Shinsuke Fujioka;
PCT Int. Appl. WO2008/053991 (2008).
- (5) “Substituted pyridinecarboxanilide derivative or salt thereof, and agricultural or horticultural agent, and use thereof.”
Takashi Furuya, Hideo Kanno, Akiyuki Suwa, Noriaki Yasokawa and
Shinsuke Fujioka;
PCT Int. Appl. WO2008/044713 (2008).
- (6) “Pyrazinecarboxamide derivatives and plant disease controlling agents containing the same.”
Masatsugu Oda, **Takashi Furuya**, Motohiro Hasebe and Nobutaka Kuroki;
PCT Int. Appl. WO2007/072999 (2007).
- (7) “Pyrazinecarboxamide derivative and plant disease-controlling agent comprising the same.”
Masatsugu Oda, **Takashi Furuya**, Motohiro Hasebe, Nobutaka Kuroki and
Kazuhiko Kikutake;
PCT Int. Appl. WO2007/125749 (2007).
- (8) “Substituted pyrazolecarboxylic acid anilide derivative or salt thereof, intermediate thereof, agent for agricultural and horticultural use, and thereof.”
Takashi Furuya, Hideo Kanno, Kozo Machiya, Akiyuki Suwa, Noriaki Yasokawa
and Shinsuke Fujioka;
PCT Int. Appl. WO2007/020986 (2007).

- (9) “Substituted pyrazinecarboxylic acid anilide derivatives or salts thereof, intermediates of the same, pesticides for agricultural and horticultural use, and usage thereof.”
Takashi Furuya, Kozo Machiya, Akiyuki Suwa and Shinsuke Fujioka;
PCT Int. Appl. WO2005/115994 (2005).
- (10) “Substituted heterocyclic amide derivatives, intermediates thereof, agricultural and horticultural chemicals and their usage.”
Akira Seo, **Takashi Furuya**, Kozo Machiya, Masayuki Morimoto and Shinsuke Fujioka;
PCT Int. Appl. WO2004/074252 (2004).
- (11) “Substituted anilide derivatives, intermediates thereof, agricultural and horticultural chemicals, and their usage.”
Takashi Furuya, Minoru Yamaguchi, Masanori Tohnishi, Akira Seo, Masayuki Morimoto, Tsuyoshi Takemoto and Shinsuke Fujioka;
Pct. Int. Appl. WO2002/96882 (2002).
- (12) “Substituted aromatic amide derivative, intermediate thereof, agrohorticultural insecticide containing thereof and method for the use thereof.”
Makoto Goto, Minoru Yamaguchi, Hiroto Harayama, Hayami Nakao, **Takashi Furuya**, Masanori Tohnishi, Masayuki Morimoto and Shinsuke Fujioka;
Pct. Int. Appl. WO2002/94765 (2002).
- (13) “Aromatic diamide derivatives chemicals for agricultural or horticultural use and the usage thereof.”
Masanori Tohnishi, Eiji Kohno, Hayami Nakano, Takeki Nishida, **Takashi Furuya**, Toshiaki Shimizu, Akira Seo, Kazuyuki Sakata and Shinsuke Fujioka;
Pct. Int. Appl. WO2001/046124 (2001).
- (14) “Aromatic diamide derivatives or salts thereof, agricultural/horticultural chemicals and method of using the same.”
Masanori Tohnishi, Hayami Nakao, Eiji Kohno, Takeki Nishida, **Takashi Furuya**, Toshiaki Shimizu, Akira Seo, Kazuyuki Sakata, Shinsuke Fujioka and Hideo Kanno;

Pct. Int. Appl. WO2001/021576 (2001).

- (15) “Phthalamide derivatives, intermediates in the production thereof, and agricultural/horticultural insecticides and method of using the same.”
Kozo Machiya, Kazuyoshi Endoh, **Takashi Furuya**, Hayami Nakao, Makoto Gotoh, Eiji Kohno, Masanori Tohnishi, Kazuyuki Sakata, Masayuki, Morimoto and Akira Seo;
Pct. Int. Appl. WO2001/002354 (2001).
- (16) “Heterocyclic dicarboxylic acid derivatives, agricultural/horticultural insecticides and method of using the same.”
Takeshi. Katsuhira, **Takashi Furuya**, Makoto Gotoh, Masanori Tohnishi, Hideo Takaishi, Kazuyuki Sakata, Masayuki Morimoto and Akira Seo;
Pct. Int. Appl. WO2001/000575 (2001).
- (17) “Benzamide derivatives, insecticides for agricultural and horticultural use and usage thereof.”
Takashi Furuya, Eiji Kohno, Masanori Tohnishi, Kazuyuki Sakata, Masayuki Morimoto and Akira Seo;
Pct. Int. Appl. WO2001/000599 (2001).
- (18) “Phthalamide derivatives, or salt thereof agrohorticultural insecticide, and method for using the same.”
Masanori Tohnishi, Hayami Nakao, Eiji Kohno, Takeki Nishida, **Takashi Furuya**, Toshiaki Shimizu, Kazuyuki Sakata, Shinsuke Fujioka and Akira Seo;
Eur. Pat. Appl. EP 1006107 (2000).