

the receiver is heated in a oil bath at 140~45°, and is kept at this temperature for about 7 to 8 hours. After this extraction, the solution in extractor is transferred to separating funnel and the nitromethane layer is separated to the receiver, and after washing the extractor and then kerosene layer in separating funnel with small amount of nitromethane (5~10 cc), this nitromethane is also added to the receiver. The side tube of receiver is opened, fixed to Liebig's cooler, and then nitromethane in receiver is distilled off sufficiently under reduced pressure. After weighing the residuum, it is diluted just to 10) cc with methanol. After shaking well this receiver, each 5 cc of this solution is transferred by pipet to Erlenmeyer's flask and diluted with 13 cc of methanol. Both this solution and 1 N methanolic potassium hydroxide solution are warmed at 40° in a thermostat. Then adding 2 cc of latter standard solution to former by means of pipet, the mixture is shaken well and replaced in the thermostat in which temperature is controlled at 4)±1°. After 40 minutes exactly, the reaction is stopped by the addition of mixture of 5 cc of 2 N nitric acid and 62 cc of distilled water. The content of free chlorine in this solution is titrated by Volhard procedure shown in previous paper.

In case of 5% DDT spray, per cent of p,p'-DDT is calculated from the following equation:

per cent of p,p'-DDT =

$$\left\{ \frac{(5-n) \times 35.46 - 26.7}{73.3} \right\} \times \frac{(5-n) \times 177.3 - 133.5}{73.3}$$

where n is cc of N/10 thiocyanate solution.

During extraction small amount of kerosene is transferred in receiver by nitromethane, but only 0.1 to 0.2g of kerosene is contained in each titrating flask, so such amount does not affect on the dehydrochlorination reaction as shown in Table 2. Relation between extraction rate and time of 5% p,p'-DDT spray at 140~45° is shown in table 3 and Fig. 3. So it is necessary to continue the extraction for more than 6 hours at this temperature.

Thus the contents of p,p'-DDT in 5% kerosene solution prepared by mixtures of pure p,p'-DDT and o,p'-DDT were determined under the above condition, and the results are shown in Table 4. Moreover, contents of p,p'-DDT in 5% DDT sprays prepared by several technical DDT were also determined by our procedure. In Table 5, the values of the second column are the contents of p,p'-DDT in technical DDT by the method of previous paper, and the theoretical contents of p,p'-DDT in 5% DDT sprays calculated from the values of the second column are shown in the third column. The results by the above procedure for these sprays are shown in the 5th column. The values of the 8th column are the data which were determined by the official method of Department of Welfare of Japan.

Above all experiments were performed by using 5% DDT sprays, but in case of various contents DDT sprays this procedure may be applicable with some modification.

## 綜 説

Mechanism of intoxication of Nicotine insecticides. I. Problems of insect toxicology, II. Seiroku SAKAI *Botyu Kagaku* 16:51, 1951

### 9. ニコチン剤の毒作用機構 I 昆虫毒物学の諸問題 II. 酒井清六

#### 緒 論

ニコチン剤は除虫菊、デリス等の植物性起源殺虫剤と共に、新有機合成殺虫剤の出現に拘らず、農薬として重要な地位を占めている。ニコチンの代用薬はドイツの Schrader (73) によつて TEPP, HETP が

発見された。しかし、この TEPP 等の有機含磷殺虫剤は優秀な代用薬であるが、人体及び高等動物に対する毒性、加水分解等の点で尚検討しなければならない問題が残っている。

煙草のアルカロイド中、農薬として主要なものは

Nicotine と Anabasine である。Nicotine の毒作用機構は Martin (45) Shepard (74A), 三坂 (46), Weed (85), Metcalf (46) 等によつて綜説されてあり、この綜説の有益な資料となつた。昆虫に対する毒作用に就いて、McIndoo (53) 等により第1次的毒作用は神経毒であることが指摘されたが、未だ不明な点が多い。高等動物に対する作用機構は昆虫の場合より明瞭な点が多く、毒作用機構の又薬理学的研究の進め方は十分に昆虫毒物学的手法の範となる。その毒作用は中枢神経系の神経球特にシナプスに作用し、呼吸及び循環系統の中中枢神経を興奮麻痺させることが致死の第1次的原因とされている。この場合でも未だ未だ色々不明の問題を含んで居り、今後病理組織学的、描写実験的、或いは生化学的に研究しなければならない。殺虫剤の研究は定量毒物学的研究のみに、又は生化学的研究のみに偏してはならない。作用機構の研究には常にこの両面があることを忘れてはならない。この点で高等動物に対する Nicotine の研究、殊に岡本 (57) によつてなされた研究はこの考え方を充分理解させてくれる。

### I. 昆虫に対する毒作用機構

#### 1. Nicotine 及びその誘導体の定量毒物学的研究

Nicotine の毒作用を理解するためには、その誘導体の有効度を理解しなければならない。Nicotine と Anabasine との化学構造の僅かの相違は殺虫力に顯著な変化を与えている。Anabasine は Nicotine の1誘導体で北アフリカ、ロシア、アルメニア等で栽培される *Anabasis aphylla* の葉や莖に存在するアルカロイドであり、化学的に levobeta-pyridyl-alpha-piperidine である。又南西米國カリフォルニアに野生する *Nicotiana glauca* にも多少含有されている。ソ連政府は硫酸 Anabasine として産し、硫酸 Nicotine の市場を凌駕しようとしている。Garman (20) はギシギシアブラ *Aphis rumicis* に対し、硫酸 Anabasine が硫酸 Nicotine より5倍有効であることを示し、その後 (21) その無翅胎生雌虫の液剤散布で、Anabasine は MLD (50%致死濃度) で Nicotine の1/3 なることを見出した。Richardson et al. (65) はこのアブラムシに対し、Anabasine が Nicotine より10倍有効であると報じた。しかし、Campbell et al. (8) はアカイエカ *Culex pipiens* の幼虫の浸漬試験の結果、Nicotine が MLD の点で2.6倍有毒で、Methyl-Anabasine としては4.8倍有毒なことを決定した。levo-beta Nicotine が dextro 型より約5倍有毒なことは光学活性体の見地から興味あることである。尤も Normicotine の場合では、levo 型は dextro 型よりずつと効果がない。一番強力な毒力は含窒素核の結合する位置に關聯があ

り、天然のアルカロイドに見られる 3,2 即ち beta-alpha 位に結合するものが最も有毒で、Anabasine の様に2つの窒素を有する6角が2個結合したものは Nicotine の様に6角の核に5核を結合させた組合せよりずつと有効である。

Craig & Richardson (14) はギシギシアブラの無翅胎生雌虫に対する散布の結果、levo-Nicotine の MLD が 0.04g/100ml であるのに対し、dl-Nicotine は 0.12 であることを認めた。ニコチンは beta-pyrrolidine-alpha-N-methyl pyrrolidine であるが、その pyrrolidine の N の methyl 基の存在は毒力にさほど重要でなく methyl 基のない Normicotine や Anabasine の方が有毒である。Richardson & Hansberry (65) も同様な結果を得ている。Richardson & Shepard (68) は一連の pyridine 及び pyrrolidine 誘導体をギシギシアブラに散布し、拡張剤として 0.3% の魚油ソーダ石鹼を添加した。その MLD の点では、Nicotine 0.0003%, Metanicotine 0.003%, Nicotyrine 0.004%, beta-pyridylethyl-N-ethyl-amine 0.3%, beta-pyridyl-n-butyl-N-methyl-amine 0.5%以上、b-phenyl-n-butyl-N-methyl-amine 0.5% で Nicotine が最も有毒なことを認めた。Tattersfield & Gimingham (80) は同様にこのアブラムシに対し散布した結果、piperidine は pyridine よりずつと有毒であり、pyrrolidine は pyrrole より有効であることを認め、Nicotine の pyridine 核の beta 位に pyrrolidine が結合していることに意義があると指摘した。Macht & Davis (43) によれば、Nicotine, Normicotine の何れの場合も alpha 位に pyrrolidine 核があると、一般に毒力が弱くなり pyrrolidine 核に methyl 基が存在すると動物に対して選択性を持つ様になる。これは Craig & Richardson (14) の主張とは異つて居る。Richardson & Hansberry (65) は alpha 位に pyrrolidine があると、ギシギシアブラにあまり有効でないことを指摘し、Smith et al. (78) も pyridyl piperidin 誘導体に就いても同様な結果を報告した。

Craig (13) 及び Craig & Richardson (14) は alpha 位置換の N-methyl pyrrolidine に対するギシギシアブラの毒力と解離恒数との間に直接の相関を認めたが、Craig (12), Kirchner (38) はロクモストモドキの1種 *Tribolium confusum* 及びシミの1種 *Thermobia domestica* との場合には、Nicotine 誘導体との間に相関を認めることが出来なかつた。Nicotine の化学構造の1部である pyridine は conine, atropine 及び cocaine の様な毒物学的に見て興味あるアルカロイドの代表的な化学構造を持つて

いる。pyridine は化学的に Benzen の  $=CH-$  が 1 個の窒素原子と置換したに過ぎないが、Benzen の様に水に不溶性でない。Tattersfield & Gimmingham (80) は benzyl 基の置換が pyridine の毒力に非常に影響することを報告した。Alpha, Beta 及び Gamma benzyl pyridine 誘導体は La Forge (40) によつて作られ、Richardson & Shepard (68) によつてギンギシアブラに就いて試験された結果、alpha 化合物は最も有毒で Metanicotine より効果があつた。

pyridine 誘導体の研究は又 dipyriddy 油類の研究によつて発展した。Richardson & Smith (69, 70) は粗油が純化された dipyriddy 油より有毒なことを見出し、Smith et al. (78) は alpha-beta 化合物が最も有毒であると報告した。完全に水素添加された 2,3 の dipiperidyl 誘導体は Smith (77) によつて作られたが、この場合には alpha-beta dipiperidyl の毒力の様には言えなかつた。1 核のみを水素添加した dipyriddy 誘導体の場合、alpha-beta 化合物と beta-alpha 化合物とは互にその物理性も毒力も異つている。この系列の中で最も有毒なものは alpha-beta 及び beta-alpha pyridyl piperidine で、そのうちでも、Nicotine の配位の様に beta-alpha の組合せの方が有毒であつた。Smith et al. (73) はこのうちの beta-pyridyl-alpha-piperidine を合成し、Nicotine と同等な殺虫力のあることを認め、Neonicotine と名付けた。これは Anabesine と同じ化合物であるが、天然の Anabesine は左旋性 *levo* であるが合成の Neonicotine は光学的不活性である。村川 (62) によれば、合成に際し、pyridine の beta 位のみを piperidine を結合させることは困難であり、合成品は他の位置に結合した化合物も混存していることと光学不活性体なることから、Neonicotine の殺虫力は Anabesine に劣ると考えた。Smith et al. も光学不活性体 (Neonicotine) は活性体 (Anabesine) より効果がないことを認めている。Hansberry (28) はモドリソ蛾 *Carpocapsa pomonella* に対し、31 種類の酸性及び金属性の Nicotine 塩の消化中毒剤としての試験をした。その結果、laurate, oleate, stearate, naphthenate の様な水溶性塩は効果なく、reineckate, silico-tungstate, cuprocyanide, copperferro-cyanide の様な不溶性塩は非常に有効であつた。しかし、Hansberry & Norton (31) は接触剤として試験した。その結果、laurate, oleate, linoleate, naphthenate が有効で、silico-tungstate と reineckate 等はあまり効果がなかつた。

結局、Nicotine 及びこれらの誘導体の毒力は、Metcalf (40) によれば、1). Nicotine 自体の毒力、2). 分子の酸基の毒力、3). 化合物の濕潤性に関連す

る毒力の増加、4). 添加及び協力作用によつて影響されると考えられる。

Nicotine に関連した化合物は Nornicotine (Australia 産のナス科植物の 1 種 *Duboisia hopwoodii* に含有)、Nicotimine, Nicotyrine, Nicotelline, Nicotoine Anabesine, n-Methylanabesine, iso-Nicotine, Metanicotine がある。Nornicotine は Nicotine の  $CH_3$  基を欠いているに過ぎない。Richardson et al. (65) はギンギシアブラの無超胎生雌虫の MLD を mg で示すと *levo-beta-Nicotine* 40mg, *dl-beta-Nicotine* 96mg, *dl-alpha-Nicotine* 1406mg, *dl-beta-Nornicotine* 45mg, *dl-alpha-Nornicotine* 1514mg, Anabesine 5mg. で Anabesine が最も効果があつた。しかし Sieglar & Bowen (75) はモドリソ蛾の試験の結果、Nicotine は Anabesine や Nornicotine より遙かに有効なことを認めた。

Bottger & Bowen (6) は数種のメニキ昆虫に対する Anabesine, Nornicotine, Nicotine の毒力を比較した結果、Anabesine はマメヒゲナガアブラ *Macrosiphum pisi*, ニセダイコンアブラ *Rhopalosiphum pseudobrassicae* アカダニ類に最も有効で、Nornicotine と Nicotine とは略同様な毒力であつた。しかし Nicotine はジュウジナガカメの 1 種 *Lygaeus reclusatus* に対して最も有効であつた。メイガの 1 種 *Phlyctoenia ferrugalis* アカダニの 1 種 *Tetranychus telarius* に対して、この 3 化合物の毒力は同様な結果であつた。

殺虫剤として使用される Nicotine は殆んど硫酸 Nicotine の形態であるが、遊離アルカロイドの遊離 Nicotine と比較して見ることは毒物学的に興味がある。DeOng (17) はアブラムシに対する液剤散布や熏蒸の場合の遊離 Nicotine と硫酸 Nicotine との毒力は溶液の水素イオン濃度 pH の増加によつて促進されることを見出した。Guercio (20) はカイコ *Bombyx mori* に Nicotine 単用、Nicotine にアルカリ物質添加、酸性物質添加をした夫々の水溶液の実験をした結果、酸性液が最も効果がなかつた。Moore (41) は遊離 Nicotine の効果は石鹼の添加で 50 % も増加することを認めた。この様な関係は昆虫以外の動物、Nicotine 以外のアルカロイドに就いても見られた。Crane (15) はザウリムシの 1 種 *Paramecium caudatum* に対するアルカロイドの毒力が塩類の解離恒数によつて変ることを認めた。

昆虫の Nicotine に於けるこの idea は Richardson & Shepard (67) によつてなされた。両氏は pH を漸次増加させた一連の溶液をアカイエカ *C. pipiens* の幼虫に浸漬した。その結果、pH が増加する程、解

離しない Nicotine が多く、毒作用の速度は pH と共に増加した。換言すれば解離しない Nicotine の濃度に正比例的に毒力が増加することを見出した。1897 年頃 Overton によれば、Ammonia、種々の Amines、多くのアルカロイドは解離しない塩は容易に細胞内に侵入するが、解離塩類は細胞内に侵入しないことを認めている。この事実からも、pH 2.4 の硫酸 Nicotine は殆んど解離しているので、蚊の幼虫には効果が劣つた。Moore & Row (51) は 2mg の塩基性 Nicotine が 10mg の塩酸 Nicotine と同等の毒力があることを認めた。Levine & Richardson (41) はカリウム塩類を Nicotine に添加するとワモンゴキブリ *Periplaneta americana* の麻痺作用に対して協合作用を有することを見た。即ち Nicotine のみの注射では麻痺作用を起す最少濃度は 0.001% であるが、0.1M の塩化加里を添加すると 0.0001% Nicotine で起した。Misaka (45) は二化螟虫 *Chilo simplex* の卵に対する Nicotine の作用機構を研究し、各種の pH 2.12~7.74 の 10 段階の硫酸 Nicotine の稀釈液を調製した結果、塩基性液は胚子發育の進んだ卵に有効で、初期のものに効果が無く、酸性液は胚子發育の進んだ卵には効果がなく、初期の卵に効果があることを見出し、塩基性液は酸性液より蒸発量及び蒸発速度を大にする結果であろうと推論した。Apple (2) はイエバエ *Musca domestica* の卵に 1N の食塩溶液添加及び 1N の塩化カルシウム添加の Nicotine を処理し MLD を求めた結果、Nicotine のみでは 0.517%、食塩添加液では 0.405%、塩化カルシウム添加液では 1.273% であり、食塩添加液が最も有効であつた。

pH の問題、添加剤の問題、Nicotine が塩類になつているか又は遊離 Nicotine であるかの根本的な解釈は昆虫に対する透過性の問題になるのであろう。

昆虫の中では、カイコは Nicotine に対し非常に弱い。又新有機合成殺虫剤と比較した時、Nicotine は多くの昆虫に対して中間の効果を持つ。(Metcalfe (46))

#### 昆虫に対する Nicotine の侵入過程

Guercio (26)、McIndoo (53) 等によれば、Nicotine は瓦斯態では気門を通じて気管系に侵入し、撒布液は気管に侵入しないが、その Nicotine 蒸気が気管壁を侵して凝集し、昆虫の生活器官を侵害すると論じた。McIndoo (53) は Nicotine を蜜に混じて蜜蜂に喰わせ、その毒作用を研究した。Nicotine が少量な時は不完全な麻痺を起し、蜜蜂の運動は多少不活潑になる。しかし新鮮な空気が食物を与えると恢復した。稍多量の Nicotine を与えると、脚や翅の運動が不遂になるが、その状態は一部分に留まる。しかし全部の運動が麻痺すると恢復不能になり、痙攣を起して

斃死する。燐モリブデン酸で、この被毒昆虫内の Nicotine を追究すると、撒布液として使用した Nicotine は気管から Nicotine 蒸気として体内に侵入した。McIndoo は毒剤として Nicotine を作用させると、昆虫体内の組織に容易に分布することを認め、Nicotine の作用は運動神経麻痺で、その麻痺は神経に沿つて腹部より胸部に進み、最後に腦を侵すのだらうと推論した。他の薬剤に就いても Shafer (74) は昆虫に対する硫化水素吸収の組織学的研究を行い、撒布液が蒸気の形態で気門に侵入するが、液体では侵入しないことを認め、McIndoo も Nicotine が表皮を通過して侵入しないと報じた。しかし体壁を通して侵入する証拠は色々の薬剤に就いて知られている。Crozier (16) の atropine、Nicotine の注射、Campbell (7) のカイコに対する砒素剤はその例であろう。Richardson et al. (66)、Glover & Richardson (25) は McIndoo (53) の結果に反して、Nicotine が直接昆虫の表皮に侵入することを証明した。ワモンゴキブリ、ヤガの 1 種 *Heliothis obsoleta* の幼虫やバツタの 1 種 *Melanoplus femur-rubrum* を使用し、気門に触れない方法で、翅、脚、脂肪体、消食管、腹神経索及び haemolymph から燐モリブデン酸法により定量的に Nicotine を回収し、Nicotine が翅、脚や体壁から容易に侵入することを認めた。ワモンゴキブリでは、Nicotine 瓦斯の MLD は体重当り 1.2mg であり、表皮中の Nicotine 回収量は筋肉、脂肪体、消食管及び神経索の Nicotine の合計量と略々等しかつた。即ち、表皮は昆虫体内に侵入する Nicotine を一時集めて、体内の各部位に運搬する貯藏庫の役割を演ずるのであろう。Richardson (64) は種々の pH の水溶液を作り、ワモンゴキブリに対する Nicotine の侵入率を比較した。pH 9.3 (4% Nicotine が解離) の 0.05 M の Nicotine は 16 分間の浸漬試験で、殆んど 100% 死亡率であつたが、pH 2.8% (99.9% 解離) の水溶液では、17% の死亡率で昆虫の 83% が浸漬後も正常であつた。Richardson は Nicotine に対する昆虫の感受性の相違は主に体内に侵入する Nicotine 量に比例すると推測し、緩漫に侵入した場合には、Nicotine がある程度解毒されると推測した。ゴキブリの表皮からの侵入は水溶液の場合より瓦斯態で急速に表皮に侵入吸収される様である。即ち 0.27 mg/L の瓦斯態の Nicotine の濃度では、ゴキブリは 1 分間に体重 1g 当り 3.3 microgram を吸収し、水 1l 当り 324 mg の濃度 (空気濃度の 1200 倍) では 1 分間に 1.8 microgram を吸収したに過ぎないと報告した。Moore & Graham (50) は昆虫の気管系に侵入する液剤の性能を調査し、石鹼液は侵入するが saponin, gelatine 及び casein は気管に侵入しな

いと報告した。Wilcoxon & Hartzell (89) はスズメガの1種 *Phlegethontius quinquemaculata* の幼虫が生存中は侵入するが、斃死すると侵入しないことを見出し、Nicotine の拡張剤の spreading coefficient が関係することを認めた。拡張剤に関する Misaka (48) の研究によれば、Glycerine 5%, アラビアゴム 1%, 膠 1% を夫々添加した硫酸 Nicotine 液 (Nicotine 含有量 0.32%, 0.05%) を二化螟虫の5階級の胚子発育期間の卵に塗る、毎分 0.5 l の空気を通じて、1週間卵を 27°C に保つて殺卵率を調査した結果、ニコチン含有量 0.05% で、硫酸と Nicotine との混合比 1:1、アラビアゴム 1% の薬液は 100% 殺卵した。この方法で Nicotine の遊離を抑制し、致死量以上の Nicotine 瓦斯を胚子発育の後期に至るまで、漸次放出することを知り、後期胚子発育の卵の気管、神経に Nicotine 瓦斯が侵入すると推測した。O' Kane et al. (58) はゴミムシ *Tenebrio molitor* の幼虫とワモンゴキブリの体の各部位に少量の Nicotine 原液を滴下した結果、Nicotine が薄い表皮の部分から速かに侵入することを指摘し、表皮の角質化した部分に滴下するより角質化してない部分に処理した方が早く毒作用を表わすことを認めた。又ゴミムシの触角の先端に 95% Nicotine を 30 秒間浸漬し、4分以内に著しい毒作用の徴候を認めた。Portier (61) はタテハチヨウの1種 *Vanessa atalanta* とジャノメチヨウの1種 *Satys actea* の触角に Nicotine 溶液を浸漬し、Nicotine が触角神経と気管に侵入し、激しい痙攣を起して、中枢神経球に作用することを見出した。Metcalf (46) の綜説によれば、Wigglesworth (87, 88) はサシガメ *Rhodnius prolixus* の epicuticle の外層の cement 及び wax 層が表面活性剤のすりへらしの作用などによつて、破裂したり、不定位になつたりする。その結

果 Nicotine の感受性を増加し、Nicotine が表皮に侵入し易くなると報告した。その仔虫のコツプ状の背面に 2% の Nicotine を作用すると 6 時間で影響が認められ、24 時間で虚脱はしないが激しい影響が観察された。更に殺虫剤を施剤する前に、alumina で軽く背面を磨くと、20 分以内に虚脱状態になつた。同様に、2% Nicotine に paraffin 油を加えると、2 日経つても影響がなかつた。しかし、2% Nicotine に polyethylene glycol の acetyl ether を加えると、24 時間以内に死んだ。これらの資料から、Nicotine や Rotenone 及び多くの接触殺虫剤の表皮に侵入する性質は少くとも、部分的には、表皮表面のリポイドの性質によつて異なると考えた。

Wigglesworth (88), Beament (5) は更に研究を発展させ、種々の昆虫のリポイドを研究した。Beament (5) の研究は第 1 表に掲げた。その性質が昆虫によつて変化に富んでいることが窺われる。Beament (5) はハバチの1種 *Nematus ribesii* が種々殺虫剤や乾燥に対して抵抗力がないのは比較的薄い層を持つためだと指摘した。結局 Nicotine は昆虫体の表皮の薄層、気管から侵入する様で、今後 Wigglesworth (88) の行つた表皮リポイドの研究法、McIndoo (53) の様な生化学的手法を概念的に取り入れることは毒作用の速度、種類特異性 Species-specificity 等の定量毒物学的研究や作用機構を研究する礎石とならう。

昆虫に対する Nicotine の作用部位

McIndoo (53) はその Nicotine の作用に関する廣範な研究の中で Nicotine に被害された蜜蜂を次の様に分けた。1. 麻痺 stupfaction 2. 後肢、翅、前中肢の順序で起る麻痺、3. よろめき歩き 4. 後退 5. 舌、触角及び大腿の麻痺 6. 跗節、触角、腹部の間歇的な痙攣の 6 段階に分け、Nicotine は神経索の運動麻

第1表 表皮の Epicuticle の性質 (Beament (5)による)

種	類	waxの厚さ (μ)	$\frac{\text{waxの厚さ}}{\text{脱殻の厚さ}} \times 100$	大略の wax の融点	waxの臨界温度*
<i>Rhodnius prolixus</i>	サシガメの1種の5齢虫	0.5	3.8	60.5	61.0
<i>Tenebrio molitor</i>	ゴミムシ <i>Tenebrio molitor</i> の大型幼虫	0.20	2.6	57-59	57.1
<i>Calliphora erythrocephala</i>	ケロリバエの蛹	0.18	5.8	50-55	54
〃	同上 Pupaarium	0.27	0.55	未決定	41.5
<i>Nematus ribesii</i>	ハバチの1種の終齢幼虫	0.095	1.65	36-42	39.3
<i>Pieris brassicae</i> ( <i>P. rapae</i> )	モンシロチョウの幼虫	0.33	4.5	57	46.2
〃	蛹	0.4	2.4	白色 67 黄色 >100	66.4
<i>Blatta orientalis</i>	コバネゴキブリ	0.6	—	液 体	40.0

\* 厚さ 1.0 μ の wax が 1 時間に 1 cm<sup>2</sup> 当り 5mg 透過し得る温度

痺を起すと推論した。その後 McIndoo (54) は数種の昆虫に Nicotine を特殊な注射器で注射して Nicotine の典型的な作用を報告した。

注射装置は最小薬量 0.00124 cc を 4% 以下の誤差で 27 番線の 3cm の注射針で昆虫体内に注射出来る。供試昆虫はキンバエ *Lucilia sericata* の幼、成虫、イエバエ科の 1 種 *Phormia regina*, クロルリバエ *Calliphora erythrocephala*, 鱗翅目の幼虫ではオビカレハの 1 種 *Malacosoma americana*, コドリン蛾、カイコ、ハスモンヨトウの 1 種 *Prodenia eridania* を用い、Nicotine 及び硫酸 Nicotine の稀釈濃度は 4.0% から 0.031% までの 11 段階を設け、対照区には蒸留水を使用した。ハエは♂ 10, ♀ 10 宛を使用し、腹部の第 2 環節と第 3 環節との間の側面左側 (背面と腹面との中間) に第 2 環節の深さだけ注射器を挿入し、15 秒間に薬剤を序々に体内に入れた。鱗翅目の場合には、末端から数えて第 4 番目と第 5 番目の環節に 1 分間の時間をかけて注射した。この結果、昆虫の種類、性別、齢期、純 Nicotine と硫酸 Nicotine 等によつて Nicotine に対する感受性に差異があつた。昆虫の種類と性別との感受性の差異は Nicotine に弱いものから述べれば次の様である。キンバエの♂, ♀, コドリン蛾, クロルリバエ♂, ♀, カイコ, *P. eridania*, 1 番抵抗力のあるものは *P. regina* の幼虫であつた。キンバエの♂は *Phormia* の幼虫より 9 倍も感受性があり、一般に、鱗翅目昆虫の感受性は雙翅目昆虫の約半分であつた。2% 及び 3% Nicotine に対する昆虫の感受性は注射したハエの齢期によつて異なり、第 1 日から第 4 乃至 5 日に向つて抵抗性を増し、再び第 14 日のハエに向つて抵抗性が減少する。14 日目のハエは 5 日目のハエの約 8 倍の感受性を持ち、*Phormia* の♂は同じ生育期間の♀よりずっと Nicotine に弱かつた。遊離 Nicotine の溶液は同じ%の硫酸 Nicotine より 23 乃至 26 倍も有毒であり、同じ毒力にするためには、0.25% 硫酸 Nicotine に 0.1% の NaOH を添加する必要があつた。

齢期の進んだ *Phormia* は若い *Phormia* より早く麻痺し、麻痺は長く続いた。

蜜蜂に対する Nicotine の毒作用の徴候は McIndoo (53) によつて 6 段階に分けられたが、この実験では、*Phormia* の成虫は注射後約 1 秒で、活潑になり、短時間のうちに口吻を伸長し、その後口吻を縮めて斃死する。斃死はこの口吻の伸縮によつて確認することが出来る。幼虫に注射した場合、心筋の搏動に影響は見られなかつた。*Malacosoma* は注射後 5 秒で痙攣し始め、30 秒後には完全に麻痺した。カイコは糞や粘液を出し、コドリン蛾も痙攣した。

McIndoo は更に Hockenyos & Lilly (36) が行

つた様に注射部位によつて Nicotine 毒作用速度が如何に変化するかどうかを吟味した。羽化後 13 日目の 10 匹の *Phormia* の♀と 9 日目の 30 匹の♂に 0.25% Nicotine 溶液を 1.24 mm<sup>3</sup> 量第 2 及び第 3 腹環節の間の腹側正中線、背側正中線、左側中間線に注射した。その結果、腹神経球に最も近い腹側正中線の注射の効果は背側正中線の約 2 倍で、注射部位による毒力は腹神経球に近づく程促進された。この様に体内に注射することは外部から施劑する場合に比較して色々の外因を除くことが出来る。Hockenyos & Lilly (36) もスズメガの 1 種 *Celerio lineata* の幼虫の麻痺の速度は頭部に向つて Nicotine の毒力が増すことを見出した。Hockenyos & Lilly は特殊な注射器 (AB-D) に 40% 硫酸 Nicotine の稀釈水溶液を入れ、胸部第 2 環節の背側正中線に 0.05 cc 注射した。この場合、心筋や背脈管を害したものは実験から除いた。対照区として用いた 0.1 cc 蒸留水の注射をした幼虫は正常の個体と変りなかつた。稀釈濃度は 5 倍から 1000 倍液まで設け、体重 1g 当り 0.01 cc 注射し、1 区 10 匹宛使用し、浸漬試験の結果とも比較した。その結果、小型の個体は大型の個体より抵抗力があつたが、Trevan (81) の指摘した様に体重に対して抵抗力は必ずしも比例しなかつた。一定の硫酸 Nicotine 稀釈溶液を注射した時の麻痺速度は頭部からの距離に比例している。これは幼虫の筋調整中枢が頭部に存在するからであらうと報告した。

Nicotine によつて侵害された昆虫の組織の病理組織的变化はあまり研究されてない。

McIndoo (53) は Nicotine によつて侵害された蜜蜂の神経系の組織的变化を調べたが、その変化を観察出来なかつた。その後 Hartzell & Wilcoxon (32), Richards (62), Richards & Cutkomp (63) によつて研究された。Hartzell & Wilcoxon (32) はゴミムシ *Tenebrio molitor* の幼虫の除虫劑による病理組織的变化の対照薬として Nicotine を研究した。その結果、toluidine blue 染色では、Nicotine 処理幼虫の食道下神経球に Tigrolysis やその他の組織的变化を認めなかつた。

Misaka (47, 48) は殺卵作用から Nicotine の作用部位を追究しようとした。Nicotine が殺卵作用を有することは古くから知られている。ここで暫く横道にそれて殺卵作用を記すことにする。De Sellen は 1916 年にコドリン蛾の卵に殺卵力のあることを発見した。その後 Lovett (42) はオビカレハの 1 種 *Malacosoma plivialis* 及びコドリン蛾の卵に硫酸 Nicotine 石鹼合剤を使用し、殺卵率の優れていることを認めた。McIndoo et al. (55) は前者程ではなかつた。矢後：野口 (90) はナシノヒメシクイ *Graph-*

*olitha molesta*, モンシロチヨウ *Pieris rapae*, 二化螟虫, ダイコンサルハムシ *Phaedon brassicae*, モモンシクタイガ *Carposina sasakii* 等の卵に殺卵作用があることを認め、Headlee et al. (34) もコドリソウ蛾に有効な殺卵剤なることを報じた。

又、Peterson (60) もアブラムシの殺卵剤として有効なことを報じ、Richardson & Shepard (67) も pH 値とアカイエカ *Culex pipiens* の殺卵率を研究し、Hey & Steer (35) はハバチの1種 *Hoplocampa testudinea* の卵に殺卵剤として働くことを報告した。其他多くの研究があるが成績はまちまちである。

さて Misaka (47) は二化螟虫の卵を用い、殺卵作用から Nicotine の作用機構を研究した。

二化螟虫は 27°C 恒温で 5.5 日乃至 6 日間で孵化する。胚子發育は 5 段階に分けられ、その各段階に 444 倍から 4040 倍までの 6 稀釈液を作用させた。5 段階の第 1 期は産下されてから 24 時間、第 2 期は 24 時間から 43 時間まで、第 3 期は 43 時間から 72 時間、第 4 期は 72 時間から 96 時間、第 5 期は 96 時間から孵化までである。

実験は稀釈液を卵に塗つた区と瓦斯態の Nicotine の区に分け、瓦斯態の Nicotine は 0.2536 mg/L から 0.0093 mg/L までの 7 瓦斯濃度で 24 時間燻蒸をした。液剤の場合は、稀薄な 4040 倍液のものでも、第 4 期及び 5 期に作用させたものは完全に殺卵され、第 1 期から第 3 期のものでも、24 時間乃至 43 時間孵化が正常のものより遅れた。2020 倍以上の稀釈液では、何れも完全に殺卵されたが、胚子は施剤後直ちに斃死せず、發育が略完成した第 5 期に斃死し、發育期間も正常のものに比し、48 時間乃至 120 時間遅延した。

瓦斯態の Nicotine は液剤程でないが、0.2536 mg/L の Nicotine を第 1 期の卵に燻蒸したものを除き、何れも發育は 24 時間乃至 43 時間遅延して孵化した。0.2536 mg/L の Nicotine は第 2 期以後に燻蒸したものは何れも斃死した。故に硫酸 Nicotine の殺卵作用は一方では濃度に關係すると共に、胚子發育の施剤の時期で異なる。發育段階の進んだものがよく殺卵された事案及び濃厚な藥劑でも施剤後すぐに殺卵されず、胚子發育の最後の段階で斃死することから、螟卵胚子が神経系、気管系の完備しない發育の初期では Nicotine に対する感受性が弱く、其の發育が進み、神経系、気管系の機能が開始したと看做される發育後期に及んで初めて毒作用を受けて斃死すると推論し、Nicotine が充分毒力を有する濃度でも、胚子發育特に神経・気管の発達如何によつてその作用点を欠く場合が生ずる。従つて、卵の初期は Nicotine に対して抵抗性があると言うより感受性が少ないと考えることが至当であると結論した。その後 Misaka (48) は硫酸

Nicotine が強力な殺卵力を持つに拘らず、野外の結果は必ずしも良好でなかつた原因を調査するために、硫酸 Nicotine を卵の表面に塗り、空気をその上に流通させて実験した。実験は 27°C 恒温水槽中で行い、圧縮空気を U 字管に導き、1 分間、約 4.5 l 宛流通させ、更に水槽中の蛇管を通り、硝子瓶中の水を經て濕氣とさせ、更にブリキ箱に導き、最後に螟卵の入つた中間の肥大した硝子管に導いた。螟卵の表面には予め pH 2.12~7.74 の範圍の 10 段階の調製硫酸 Nicotine を塗つた。硫酸 Nicotine は硫酸と Nicotine の混合比を変えて調製した。0.032% Nicotine の施剤卵上に空気を流通させて卵表面から遊離した Nicotine 瓦斯を除いた。その結果、流通空気の量が多い程 (毎分 4.5 l)、殺卵率の低下を認めた。又胚子發育の進んだもの程、死に易かつた。この事案から卵表面から遊離する Nicotine が流通空気によつて流失し、その結果 Nicotine の量と殺卵作用との間に密接な關係があることが肯かれた。更に pH 値を変じ、添加剤を加えて Nicotine 瓦斯の胚子發育に及ぼす影響を研究した結果、前述の様に後期卵の気管神経系の形成と關係あるばかりでなく、後期卵になるに従つて、呼吸作用も旺盛になり、Nicotine 瓦斯吸入量が増し、神経麻痺を起すと推論した。又 Nicotine 含有量が 3% より濃い稀釈液を使用した時、卵は黄褐色になり、著しく縮小して皺を生ずるが 3% 以下の稀薄な液では死卵も標準卵と變らなかつた。従つて 3% 以上の濃い藥液を使用した場合は Nicotine 瓦斯吸入による神経麻痺だけでなく、藥劑が卵の中にも浸透して毒作用を呈するのであろうと推論した。

描寫實驗的研究は生化学的研究と共に作用機構解明の 2 つの重要な方法である。Hurtzel (37) は致死量以下の Nicotine をチャパネゴキブリ *Blattella germanica* に施剤し、独自の機械的描寫実験を行つた。(方法は防虫科学 15:193-4 参照) 栗鼠籠法の結果は Pyrethrins の様に Nicotine は活動性を促進せず、改良昆虫曲線法では、ある程度、刺戟的効果があつたが、Pyrethrins 程でなく、その曲線は低い振幅であつた。Leg Jerk 法では Pyrethrins の様な賦活作用は認められなかつた。

#### 循環系に対する作用

Nicotine の毒作用部位を研究する一手段として昆虫の背脈管を取上げ、背脈管の自動能を描寫實驗的に研究し、背脈管に対する影響からその支配神経に及ぼす毒作用を推測する手法が行われた。これは技術的に神経系を直接研究するより容易ないことにもよる。Yeager & Gahan (92) はワモンゴキブリの成虫とハスモンヨトウの 1 種 *P. eridania* の幼虫に種々の Nicotine 液を作用させ、摘出心臓の機械曲線を研究し

た。実験は1. 摘出心臓を Wax の皿の上に置き、Nicotine 溶液を漸次滴下して、その收縮率をストップウォッチで読取する方法と 2. 一定濃度の Nicotine を溶かした生理的食塩水の中に摘出心臓を浸漬する方法即ち摘出心臓を移転させる方法で行つた。昆虫の解剖は先ず頭を切り下してから開始し、操作完了まで15分乃至30分を要した。生理的食塩水の処方食塩9.82g、塩化加里 0.77g 塩化カルシウム 0.5g を蒸溜水 1 l に溶かしたものである。Nicotine と生理的食塩水との pH は同じにし、pH 6.8 乃至 7.8 に保つた。Nicotine 濃度は 0.005%~10% の範囲を用いた。移転法に於いて、生理的食塩水から Nicotine+食塩水に移動させるとき、摘出心臓は機械刺戟により最初搏動の抑圧作用が起つたがすぐ刺戟作用が認められた。

收縮率は5回の平均値である。概して低濃度のときは搏動の刺戟作用が見られ、濃厚な薬液では、抑圧作用の後、刺戟作用が起り、その後心臓は麻痺した。收縮率に及ぼす感受性は *Prodenia* よりゴキブリの方が強かつた。従つてゴキブリは低濃度の Nicotine 溶液にもよく反応し、心筋の刺戟、抑圧の両作用が認められた。又刺戟作用と抑圧作用とは可逆的なものであつた。ゴキブリの心臓は收縮期杜絶 systolic standstill を齎らし、*Prodenia* の方は完全な拡張期杜絶 diastolic standstill が局所的な拡張期杜絶を起した。一般に、ゴキブリの心臓の搏動は著しく收縮したが、*Prodenia* の搏動では認められなかつた。又ゴキブリの心臓は微動の繊維様運動 fibrillation like activity を齎らした。この様な收縮の相違は両昆虫の神経及び心筋の相違によるか、固有の神経球細胞を持つか否かによつて起るのであらうと推論した。心臓固有の神経球細胞を持つか否かは心臓の毒作用に重要な意義がある。Carlson (9) はカブトガニの幼生 *Limulus* に対する Nicotine の作用を研究し、心臓の神経球組織及び筋肉織を別々に摘出し、Nicotine を作用させた。その結果、Nicotine 作用は神経と筋肉とによつて夫々違ふことを認め、心臓に及ぼす Nicotine の第1次的毒作用は心臓固有の神経組織を侵し心筋や起動神経組織には作用しないと結論した。昆虫の心臓部及び背脈管の固有神経組織に関する研究はあまりないが、2,3 のものが知られている。Alexandrowicz (1) はワモンゴキブリとチャバネゴキブリの心臓部の神経支配を組織学的に研究し、側面背脈管神経 Nervi cardiaci laterales 中に神経球を見出した。Zawarzin (97) はルリホシヤンマ *Aeschna juncea* の仔虫の背脈管の神経支配を研究し、固有の神経組織を記載したが、固有神経球細胞を発見出来なかつた。Döguel (18) は蚊の1種 *Corethra plumicornis* のぼうぶらの心臓部に Wagner 氏梨様体 birnförmige Körper 又は

神経細胞かを認めたが、梨様体から派出する神経纖維は認められなかつた。この神経の性質は不明瞭のままであつた。その後 Walling (83) はこの梨様体は神経系に属するものでないと考えた。

Kuwana (30) はカイコの背脈管を研究し、その支配神経球も神経球細胞も見出せなかつた。Maloeuf (44) はギンヤンマの1種 *Anax junius* の幼虫の側面背脈管神経に神経球細胞を追突出来なかつた。この様に昆虫に依つて心臓部又は背脈管を支配する神経組織が違つている。これがゴキブリと *Prodenia* の心臓の Nicotine に対する抵抗性の相違の原因であると推測したが、Nicotine が脊椎動物の心臓、神経に作用する機構が複雑なことから見て昆虫に対するこの問題は今後の課題である。心臓の固有神経球細胞存否の問題と共に毒物学的に興味ある問題は心臓部が拡張期杜絶をするか、それとも收縮期杜絶をするかである。これは背脈管の伸縮、搏動に關聯する翼筋に原因がある。Yeager & Gahan (94) は更にこの問題を検討した。Weber (84) によれば、翼筋は心臓の拡張期に直接働いている。ゴキブリと *Prodenia* との杜絶期の相違は心筋纖維の性質の違いより寧ろ翼筋の性質に原因するのであらう。

*Prodenia* の收縮期杜絶は假りにその翼筋が Nicotine によつて伸長するとしたら、拡張期に杜絶するだろう。Federighi (19) は環形動物の1種 *Nereis virens* の週期蠕動的な背脈管は平滑筋纖維を有することを報じ、これに Nicotine を作用させると拡張期杜絶を起した。Zilwa (93) によれば、Nicotine は直接又は間接的に平滑筋の伸長を阻害する。Barry (4) の蛙の研究では、組織に Nicotine が不足すると收縮期杜絶をすることを報じた。この事から *Prodenia* が拡張期杜絶を齎したのは或いは翼筋に十分な Nicotine が作用したからとも推測された。

*Prodenia* の摘出心臓と *Prodenia* の幼虫体そのものに同濃度の Nicotine 滴下又は注射した場合、摘出心臓の方が抵抗力があり、搏動をそのまま継続したが、幼虫体の方は完全に麻痺した。

心臓部は昆虫体組織の最も生活力のある部位なのであらう。Shafer (74) は毒物に殺した昆虫の生命の最終の可視的指示部位は背脈管であるとも言つている。Walling (83) はバツタに種々の瓦斯剤を作用させ、呼吸活動は背脈管活動より早く減退することを観察した。

Yeager & Gahan (94) はゴキブリの心臓の繊維様運動を認め、又背脈管搏動の逆流を観察した。しかしこの逆流は Nicotine の作用とは考えられない。それは薬剤を処理しない背脈管にも認められるからである。横山 (96) はカイコの背脈管の逆流が酸素供給、温度変

化、adrenalin の供給などの要因で起り、結局、背脈管の一方と他方との自動能の増加や減退によつて起ることを証明した。Gerould (24) は摘出操作を行わないカイコでさえ、背脈管の酸素の供給を変えると逆流した。摘出心臓でも同様な結果であつた。これらの実験から、逆流の原因は Nicotine にあるのではなく、酸素供給の変異が原因であろうと推論した。その後 Yeager (91) はワモンゴキブリについて精密な機械曲線を描写した。摘出心臓操作によつて Nicotine がその振幅と收縮率とに影響することを認めた。心臓は弛緩的な拡張期杜絶を起し、時々收縮期を齎した。Nicotine 被害作用 Nicotinization が深部に侵入しない時は、新鮮な生理的食塩水で摘出心臓を洗滌すると、搏動は再び回復した。Hamilton (27) はバツタの 1 種 *Melanoplus differentialis* の摘出心臓の機械曲線を研究した。薬剤は純 Nicotine を用いた。0.01% の濃度では、收縮の消失は起らなかつたが、0.1% の濃度では、心臓部を除いた背脈管全域が麻痺し、翼筋の反応も減少した。濃厚な 1.0% Nicotine 茶液では、心臓は停止し、翼筋は麻痺した。然しこの麻痺背脈管を生理的食塩水で反復洗滌すると、麻痺後 5 時間を経過したものでも再び搏動を回復した。心臓部に直接 Nicotine を滴下すると搏動率を低下した。更に翼筋の反応によつて搏動率は不規則となり、翼筋を切り離すと振幅を増した。林 (33) はマツカレハ *Dendrolimus spectabilis* 幼虫の背脈管に対する電氣的曲線を描写した。マツカレハ幼虫の背脈管はカイコと同様に固有神経球細胞を持たない。

Nicotine, Pyrethrin I, Rotenone は何れも心筋に対し麻酔剤の 1 種とも看做される作用を呈し、その電氣曲線を吟味すると何れも特有な作用を表わした。1% Nicotine では毒作用は弱く、2% では瞬間的に作用し、收縮高は正常の約 1/5 以下に縮小した。滴下後 2 乃至 3 分で搏動は極めて微弱となり、Yeager (91), Hamilton (27) とは反対に、生理的食塩水で洗滌してもあまり搏動は回復しなかつた。3% Nicotine では 1 分内外で搏動は停止し、4% では 30 秒、4.2% では 15 秒で停止した。Nicotine の作用を Pyrethrin I や Rotenone と比較すると、Pyrethrin I は急激に心筋に作用し、收縮性を低下させるが、自動能には影響が少なく、筋張力を多少低減させた。Rotenone は急激に筋張力を著しく低下し、心筋の收縮性を減少させた。又速かに自動能を侵害し、刺激物質の形成又は相対的不応期に於ける恢復曲線を変化させ、そのため、心筋の搏動週期待に拡張期を延長させた。これに反して Nicotine は筋張力を急激に旺んにし、刺激作用を有した。自動能に対する作用は遅く、漸次刺激性及び興奮性に影響を及ぼし、正常の搏動でない

限外收縮期や補償拡張期が認められた。生理的食塩水に移換すると收縮率はある程度回復したが、波型は不規則で正常には戻らなかつた。Yeager & Munson (94) は *P. eridania* の体液に及ぼす Nicotin の作用を研究した。Nicotine 瓦斯に昆虫を曝らしても正常の血球には変化が起らなかつたが、長期間、曝らすと血球に異常の空胞を生ずることを報告した。又 Barbers (3) は *P. eridania* を 24 時間飽和 Nicotine 蒸気に曝らしたが、体液の pH 6.65 には影響がなかつた。しかし、この体液 100 ml 当りに 7.15 mg の Nicotine を化学分析により定量した。

Yeager et al. (93) は Nicotine に対するワモンゴキブリの解毒機構を研究し、墨を含んだ hemocyte と生体染色の塩基性 trypan blue で染めた pericardial nephrocyte とを夫々ゴキブリに注射し、体重 kg. 当り 0.55 mg の Nicotine 水溶液を施射し、注射した昆虫と無処理の昆虫の抵抗力を比較した。その結果 hemocyte 区の方は Nicotine に対する感受性を増し、弱くなつたが、nephrocyte の方は影響がなかつた。

昆虫の nephrocyte と hemocyte との 2 細胞群は脊椎動物の reticulo-endothelial system の機能と似ていると考えた。

Coon (10.11) は螢光性指示薬を用いてワモンゴキブリの心臓の搏動と体液の循環とを研究した。ワモンゴキブリの尾毛部に sodium fluoresceinate を注射し、Nicotine の被害作用を観察した結果、附屬器官が麻痺し、心臓の搏動は不規則に低下し、体液の循環が妨害されたことを報告した。この様に、Nicotine 背脈管系に作用し、その搏動を変化させ、低濃度では刺激作用を有し、高濃度では麻痺させ、長時間作用させると搏動数は減少し血球は空胞化する。又支配神経の構成によつて作用は異なり、固有神経球の存在は重要な意義がある。Nicotine は背脈管の翼筋にも作用し、翼筋の伸縮によつて收縮期杜絶か拡張期杜絶かを齎らし、背脈管に限外收縮期や補償拡張期の様な不規則な搏動週期を起させる。

#### 神経系に対する作用

Nicotine の毒作用は第 1 次的に昆虫の中樞神経系の神経球特にシナプスに作用するが、未だ殺虫機構は明瞭でない点が多い。

Roeder & Roeder (71) はワモンゴキブリの摘出腹神経索の電氣的活動性を移動鏡オシログラフを用い、Nicotine や他薬剤の影響を研究した。高濃度の Nicotine 及び eserine は始め促進作用があり、その後活動性を減少させた。1 × 10<sup>-5</sup> M の Nicotine 溶液を摘出標本に注入すると、活動性を増し、正常に比し振幅に於いて 2 乃至 3 倍の記録波が促進した。1 × 10<sup>-4</sup>

M の Nicotine では、突然急激に活動性を増し、正常の結果の7乃至10倍の振幅を示した。1×10<sup>-3</sup> M では、濃厚な溶液のため、完全に麻痺し、不活動になるが、新鮮な生理的食塩水で洗滌すれば、活動性は再び回復した。Nicotine は eserine よりも神経刺激伝達に強力な妨害作用を持ち、閉塞的な影響を持っている。

Yeager & Munson (95) は DDT の研究に關聯して、ワモンゴキブリの体の色々の場所に Nicotine 溶液を注射する実験を行つた。体から切り離した脚や心臓を予め焼いたゴキブリの脚に Nicotine を注射したが、全然影響がなかつた。しかしこの様な処理をしない正常のゴキブリの神経球や心臓を焼いたゴキブリの神経球や脚の神経球に Nicotine を注射すると、夫々の脚は激しい震動を生じた。しかし、Nicotine 注入の脚を体から切り離すと、震動は停つた。この実験から、Yeager & Munson は Nicotine が單一神経球に作用して、激しい震動を生ずるが、起動繊維 motor fiber は興奮させないと結論した。更に両者は cauterize したゴキブリの眼球にピンホールで Nicotine を注入し、全体に激しい震動を生ずることを見た。しかし頭部を切り離すと、この震動は頸から後方に向つて漸次反応がうすれていつた。DDT では斬首によつて Nicotine の様に反応をなくすことは出来なかつたと報告した。

Welsh & Gordon (86) はワモンゴキブリ及び甲殻類の1種の神経索に対する除虫菊、p-dichlor-benzen, naphthalene, Nicotine, DDT 及び DDT 誘導体などの電気曲線を研究した。これらの化合物は高い分配係数を持つている。この様な物質は神経索に典型的な Multiplication を起し、單一の電気刺激は多くの刺激の導火線となり Multiplication となる。その作用は高い分配係数を持つ物質の作用によつて、先づ神経索の lipoid 層の表面に物理的変化を起すことに原因して居り、はじめの作用の化学的なものでないことを指摘した。この様な神経索の lipoid surface に対する物理的な妨害作用が色々毒作用の原因となり、第2次的に複雑な反応を呈する結果となるのである。従つて分配係数は薬剤の毒作用に重要な意義を持つこととなる。即ち lipoid/水の溶解率の比の高いもの程、表面的影響は大きくなる。しかしこの Welsh & Gordon の考えは尙検討の余地がある。Norton (56) によれば、Nicotine は必ずしも高い分配係数を持つとは考えられない。油/水の溶解率の比では、温度 25°C で、5% Nicotine は魚油に対して 1.27, corn 油では 1.09, olive 油では 1.1, peanut 油では 1.01 であり、これに対し、37°C で、5% DDT は Van Oettingen & Sharpless (82) の olive 油の結果と

Gavaudan & Poussel (23) の水の結果から算出すると Nicotine の L.I. に対し 999.0 になり、Nicotine に対し非常に大きな値になるからである。

これらの結果から Nicotine は昆虫の中樞神経系の神経球の Synapsis に第1義的に作用し、低濃度では刺激作用を有し、高濃度では抑圧作用を持つて麻痺を生じ、起動神経繊維や myoneural junction には殆んど作用しないと結論される。尙最近神経系の choline-esterase 系酵素を中心とした神経刺激伝達妨害機構が研究され、Richards & Cutkomp (63) や Gause & Smaragdova (22) 等によつて研究されているが第 II 報で論じ、更に第 II 報では昆虫に対する Anabasine の毒作用機構、高等動物に対する Nicotine 剤の毒作用機構を綜説する。擧筆に際し、Metcalf (40) の綜説が最も有益な資料となつたことを明記する。御懇篤な御指導と御校閲の勞を執られた内田俊郎教授、並びに文献を貸与された三坂和成博士、御支援を賜つた農林省農薬検査所長上遠章技官、黒沢三樹男技官及び東天山崎輝男助教授、石井敏夫氏その他の諸氏に厚く御禮申上げる。

#### 文 献

- (1) Alexandrowicz : J. Compar. Neurolog., **41**, 201 (1926)
- (2) Apple, J. : J. Econ. Ent. **34**, 84 (1941)
- (3) Babers, F. : J. Agr. Res. **63**, 189 (1941)
- (4) Barry, D.T. : Lancet, **193**, 759 (1917)
- (5) Beament, J. : J. Exp. Biol. **21**, 115 (1946)
- (6) Bottger, G. & C. Bowen : U.S.D.A. Bur. Ent. E-710 (1946)
- (7) Campbell, F. L. : J. Econ. Ent. **23**, 257 (1930)
- (8) —, W. N. Sullivan & C.R. Smith : J. Econ. Ent. **26**, 500 (1933)
- (9) Carlson, A. J. : Amer. J. Physiol. **17**, 177 (1936)
- (10) Coon, B. F. : Ohio state Univ. Absts of Doctoral Dissert. **40**, 29 (1943)
- (11) — : J. Econ. Ent. **37**, 785 (1944)
- (12) Craig, L.C. : Iowa State Coll. J. Sci. **5**, 327 (1931)
- (13) — : J. Amer. Chem. Soc. **55**, 2543 (1933)
- (14) —, & C.H. Richardson : Iowa state Coll. J. Sci. **7**, 477 (1933)
- (15) Crane, M.M. : J. Pharmacol. & Exp. Therap. **18**, 319 (1921)
- (16) Crozier, W.T. : Biol. Bull. **43**, 238 (1922)
- (17) de Ong, E.R. : J. Econ. Ent. **16**, 486 (1923)
- (18) Dogiel, J. : Mém. Acad. Imp. Sci. Saint Petersburg ser. 7, **24** (10), 37 (1877)
- (19) Federighi, H. : J. Exp. Zool. **50**, 257 (1928)
- (20) Garman, P. : Conn. Agr. Exp. Sta. Bull. **349**, 433 (1933)
- (21) — : ibid. **368**, 238 (1935)
- (22) Gause, G. & N. Smaragdova : Physiol. Zool. **12**, 238 (1939)

- (23) Gavaudan, P. & H. Poussel: *Comp. rend.* **224**, 683 (1947) (24) Gerould, J.H.: *Science*, **73**, 323 (1931) (25) Glover, L. & C. Richardson: *Iowa state Coll. J. Sci.* **10**, 249 (1936) (26) Guercio, G. del: *Nuove Relaz. R. Staz. Ent. Agr. Firenze, ser. 1*, **3**, 124 (1900) (27) Hamilton, H.: *J. Cellular & Comp. Physiol.* **13**, 91 (1939) (28) Hansberry, R.: *J. Econ. Ent.* **35**, 915 (1942) (29) —, W. Middlekauf & L. Norton: *J. Econ. Ent.* **33**, 511 (1940) (30) —, & L. Norton: *J. Econ. Ent.* **33**, 734 (1940) (31) — & —: *J. Econ. Ent.* **34**, 89 (1941) (32) Hartzell, A. & F. Wilcoxon: *Travaux Ve Congr. Internat. d'Ent. 1932*, 289 (1933) (Wilcoxon & Hartzell: *Contr. Boyce Thomp. Inst.* **5**, 115) (33) 林, 泉: *応用動物学雑誌*, **9**, 184 (1937) (34) Headlee, T. J., J. M. Ginsburg & R. S. Filmer: *J. Econ. Ent.* **23**, 45 (1930) (35) Hey, G. L. & W. Steer: *Ann. Rep. East Malling Res. Sta.*, 197 (1933) (36) Hockenyos, G. & J. Lilly: *J. Econ. Ent.* **25**, 253 (1932) (37) Hutzell, J. M.: *ibid.* **35**, 929 (1942) (38) Kirchner, J.: *Iowa State Coll. J. Sci.* **14**, 53 (1909) (39) Kuwana, Z.: *Bull. Imp. Sericult. Expt. Sta.* **8**, 109 (1932) (40) La Forge, F. B.: *J. Amer. Chem. Soc.* **50**, 2484 (1928) (41) Levine, N. & C. Richardson: *J. Econ. Ent.* **27**, 1170 (1934) (42) Lovett, A. L.: *ibid.* **10**, 333 (1917) (43) Macht, D. I. & M. E. Davis: *J. Pharmacol. & Exp. Therap.* **50**, 93 (1934) (44) Maloeuf, N. S. R.: *Ann. Ent. Soc. Amer.* **28**, 332 (1935) (45) Martin, H.: *The scientific principles of plant protection with special reference to chemical control.* E. Arnold & CO., London (1936) (46) 三坂和英: *昆虫*, **6**, 136 (1932) (47) Misaka, K.: *Bull. Imp. Agr. Exp. Sta. Japan*, **3**, 225 (1932) (48) —: *J. Imp. Agr. Exp. Sta. Japan*, **3**, 239 (1933) (49) Moore, W.: *J. Econ. Ent.* **11**, 443 (1918) (50) — & S. A. Graham: *J. Agr. Res.* **10**, 47 (1917) (51) Moore, B. & R. Row: *J. Physiol.* **22**, 273 (1898) (52) 村川重郎: *農薬の化学とその応用* 潮倉書店 (1941) (53) McIndoo, N. E.: *J. Agr. Res.* **7**, 89 (1916) (54) —: *ibid.* **55**, 909 (1937) (55) —, F. L. Simanton, H. K. Planke & R. J. Fiske: *U. S. D. A. Bull.* **938**, (1921) (56) Norton, L.: *Ind. Eng. Chem.* **33**, 812 (1941) (57) 岡本武美: *日新医学* **16**, 1835, 1893, (1927), **17**, 4-7, 594 (1928) (58) O' Kane, W. C., G. L. Walker, H. G. Guy & O. J. Smith: *New Hampshire Agr. Exp. Sta. Tech. Bull.* **54**, 23pp. (1933) (59) 尾上哲之助 & 三坂和英: *昆虫*, **6**, 30 (1933) (60) Peterson, A. L.: *J. Econ. Ent.* **10**, 556 (1917) (61) Portier, P.: *Comp. rend. Soc. Biol.* **105**, 367 (1930) (62) Richards, A.: *J. N. Y. Ent. Soc.* **51**, 55 (1943) (63) —, & L. Cutkomp: *J. Cellular Comp. Physiol.* **26**, 57 (1945) (64) Richardson, C.: *J. Econ. Ent.* **38**, 710 (1945) (65) Richardson, C. H., L. C. Craig & T. R. Hansberry: *J. Econ. Ent.* **29**, 870 (1936) (66) —, L. Glover & L. Elisor: *Science* **80**, 76 (1934) (67) —, & H. Shepard: *J. Agr. Res.* **41**, 337 (1930) (68) —, & —: *ibid.* **40**, 1007 (1930) (69) —, & L. R. Smith: *U. S. D. A. Bull.* **1160**, 16pp (1923) (70) —, & —: *J. Agr. Res.* **33**, 597 (1926) (71) Roeder, K. & S. Roeder: *J. Cellular Comp. Physiol.* **14**, 1 (1939) (72) 酒井清六: *防虫科学*, **15**, 189, 230 (1950) (73) Schrader, G.: *German Patent.* 720, 577 (1942) (74) Shafer, G. D.: *Mich. Agr. Col. Tech. Bull.* **11**, 65pp. (1911) (74A) Shepard, H. H.: *The chemistry and toxicology of insecticides*, Burgess Publ. Co., Minneapolis. (1939) (75) Siegler, E. & C. Bowen: *J. Econ. Ent.* **39**, 673 (1946) (76) Simanton, W. & A. Miller: *J. Econ. Ent.* **30**, 917 (1937) (77) Smith, C. R.: *J. Amer. Chem. Soc.* **50**, 1936 (1928) (78) —, C. H. Richardson & H. H. Shepard: *J. Econ. Ent.* **23**, 863 (1930) (79) Starr, D. & C. H. Richardson: *J. Econ. Ent.* **29**, 214 (1936) (80) Tattersfield, F. & C. T. Gimmingham: *Ann. Appl. Biol.* **14**, 217 (1927) (81) Trevan, J. W.: *Proc. Roy. Soc. (Lond.) (B)* **101**, 485 (1927) (82) Van Oettingen & Sharpless: *J. Pharmacol. & Exp. Therap.* **88**, 400 (1946) (83) Walling, L. V.: *Kans. Univ. Sci. Bull.* **4**, 337 (1903) (84) Weber, H.: *Lehrbuch der Entomologie*, 726pp. Jena (1933) (85) Weed, A.: *Soap & Sanit. Chem.* **19**, 117, 119, 121 (1943) (86) Welsh, J. & H. Gordon: *J. Cellular & Comp. Physiol.* **30**, 147 (1947) (87) Wigglesworth, V. B.: *Nature*, **153**, 493 (1944) (88) —: *J. Exp. Biol.* **21**, 97 (1945) (89) Wilcoxon, F. & A. Hartzell: *Contr. Boyce Thomp. Inst.* **3**, 1 (1931) (90) 矢後正俊 & 野口徳三: *静岡農試報告* (1925) (91) Yeager, J. F.: *J. Agr. Res.*

56, 267 (1938) (92) —, & J. B. Gahan : J. Agr. Res. 55, 1 (1937) (93) —, E. McGovern, S. Munson & E. Mayer : Ann. Ent. Soc. Amer. 35, 23 (1942) (94) — & S. Munson : J. Agr. Res. 64, 397 (1942) (95) — & — :

Science, 102, 305 (1945) (96) 横山忠雄 : 蚕糸試験報告 8, 46 (1932) (97) Zawarzin, A. : Ztschr. Wiss. Zool. 97, 481 (1911) (93) Zilwa, L. A. : J. Physiol. 27, 20 (1901)

### Bliss's Method for the Calculation of the Dosage-mortality Curve

Tatsuro KONO, *Botyu-Kagaku* 16: 62, 1951.

## 10. Bliss のプロビット法による薬量死亡率曲線の計算 河野達郎

### はじめに

殺虫剤の効力をできるだけ客観的に正確にするにはどうすればよいか。これはまさしく生物試験 (Biological assay) それ自体に課せられた問題にはかならないが、そこには大きくわけて3つの課題がふくまれている。それは試験方法の技術にかんする問題、有効度表示の問題、および実験結果の分析と計算にかんする問題であつて、もとよりこれらをともにあわせて考えてこそその目的が達成される可能性がある。いかにすぐれた試験技術を取り入れてもそこからえられた結果がよく分析され正しい理論的基礎にうらづけられた方法によつてその有効度が表現されるのでなければその眞価も充分にみとめることはできない。ここに解説をこころみようとする方法はまさに後者の問題を目的としたものであつてなかも殺虫剤の効力をいかに表示するかという問題とは、まったく無関係でないまでも一応きりはなされていることをはじめにおことわりしておく。

殺虫試験の方法には薬剤や昆虫の種類によつていろいろの方法があるがそれらの試験結果としてえられた資料をみると結局薬量と死亡率の関係としてとり上げられる場合がきわめて多い。もつともここで薬量というのは必ずしも実際の薬の容量とか重量、濃度などをのみさして言つていのではない。たとえば濃度を一定にしてそれを作用させる時間をかえて試験した場合などに、この時間をもつて薬量の函数として取扱つたときもこれにふくめられたからである。ところでわれわれがもとめようとする薬剤の効力はほとんどこうしてえられた薬量と死亡率の関係をもととして評価されておるのであつて、たとえば殺虫剤の効力の平均的な意味をもつた中央致死薬量 median lethal dose——略して LD-50, MLD などと呼ばれ死亡率 50% をもたらす薬量をもつて示される——とか実用的意義をもつと考えられている LD-95 あるいは LD-99 などのような代表値、あるいは大沢、長沢<sup>(1)</sup>の提案したいろいろの有効度の指標はいずれもこの薬量—死亡率曲線に基礎をおいてはじめてみちびきだされるものである。ところでこのようなかんげいの数量的とりあつかいをいか

にするかという問題については当然のことながら薬理学の領域において早くよりとりあげられ、その分析や計算の方法などについておおくの研究がなされてきた。したがつてそれらの方法の多くはそのまま殺虫剤試験の場合にもみちびきいられる必然性をもつていた。なかでも薬量—死亡率曲線の分析をめぐる研究は短時日のあいだにいちじるしい進展をみ、ここにとりあげようとする Bliss<sup>(2)(3)(4)</sup> のプロビット変換による分析の方法などはその理論的基礎においてもまた数学的嚴密さの點においてもきわめてすぐれたものでありその業績はたかく評価されている。最近わかくににおいてもこの方法が殺虫試験結果の分析、計算にひろく応用されつつあるので、こうした方面の研究にたずさわらる方々の要請もあり、あえてここにその方法の概要を紹介してみることにした。いうならばこの解説の意図するところはこの方法の理論的説明というよりはむしろ分析、計算の手續の技術的な面を具体的な例をもつて示すことにあるのであつて、だれもがすぐに適用できることを目的とした。したがつて説明のたらないところも少なくないがとくに理論的な説明をのぞむ方は大沢及び長沢<sup>(1)</sup>、乃至は大沢<sup>(5)</sup>の論文など参照されることをおすすめしたい。

### 理論のあらまし

この方法を解説するにあつてまずこれがどのよりにしてうまれてきたか、それがよつてたつ理論的基礎をある程度あきらかにしておくことはこの方法をより深く理解するために役だつと思つのでかんたんにのべてみよう。

いまある殺虫剤について、その薬量をいろいろにかえてある種の昆虫がそれぞれどんな割合で死亡するかをしらべてみる。そうしてその結果を、薬量を横軸にとつて図示してみると一般にそれは第1図にみられるような関係になるだろう。すなわちある薬量で、はじめて死亡が起りその死亡率の増加の程度は最初は徐々であるがしだいにその増加割合を増しやがてまたその増加率はゆるやかとなりついに100%の死亡率に達するといつた S 字形の曲線——いわゆる Sigmoid curve でしめされるかんげいがみられる場合が多い。こ