

**Toxicological Studies on a New Pyrethroid: Kikuthrin (part II). Studies on Insecticide VI.** Michio NAKANISHI, Yuji HAMADA, Katsuhiko IZAKI. (Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd., Yoshitomi-cho Fukuoka, Japan) Received July 3, 1970, *Botyunkagaku* 35, 113, 1970.

15. キクスリンの毒性研究(そのII) 殺虫剤に関する研究 第6報<sup>1)</sup> 中西美智夫, 浜田佑二, 伊崎勝弘(吉富製薬株式会社研究所, 吉富町, 福岡県) 45. 7. 3 受理

ICR-JCL マウスと Wistar-King ラットを用いて, Kikuthrin の催奇形性について検討した。

Kikuthrin 5000, 1000 あるいは 250mg/kg/day を妊娠7日から12日までマウスへ皮下投与した。

この化合物は 5000 あるいは 1000mg/kg の投与で胎仔の死亡率を増加させ, 胎仔の体重を減少させた。5000mg/kg の投与は育成仔に死亡を起させ母獣に興奮を起させた。Kikuthrin はマウスの胎仔に著明な催奇形性を有していなかった。

Kikuthrin 5000, 1000 あるいは 250mg/kg/day を妊娠9日から14日までラットへ皮下投与した。

この化合物は 5000, 1000 あるいは 250mg/kg の投与で妊娠ラットおよび胎仔の発育を抑制させたが育成仔の発達には影響を与えなかった。Kikuthrin のラット胎仔に対する催奇形性は認められなかった。

Kikuthrin は当研究所<sup>2)</sup>において開発されたあたらしい殺虫剤である。殺虫剤においてもその応用によっては人が連続的に接触する可能性が多い事実から慢性毒性あるいは妊婦に対する毒性などが注目される。慢性毒性については報告<sup>3)</sup>したので今回妊婦に対する毒性の一端として本化合物をマウスまたはラットの妊娠母獣に投与したときの母獣に対する影響, 胎仔および分娩仔の分化と発育に対する影響について検討した。

#### 実験材料および方法

##### 1. 使用動物

13週令以上の成熟 ICR-JCL マウス(日本クレア供給)および同 Wistar-King ラット(船橋農場供給)を用いた。なお雌性動物の場合には, すべて未経産動物を使用した。

妊娠動物を用いる実験では, 雌雄動物を一夜同居させて交配し, 翌朝マウスでは膈腔を, ラットでは膈脂肪中に精子が確認された動物を, この日を妊娠0日として使用した。

動物はすべて温度  $24 \pm 1^\circ$ , 相対湿度  $55 \pm 5\%$  の室内で, 固型飼料(マウス用: 日本クレア製, ラット用: 船橋農場製)および水を自由に摂取させ飼育した。

##### 2. 被検化合物

Kikuthrin を原液のまま使用した。

ただし, Kikuthrin は Proparthrins の工業用規格品(純度92%以上)に 2,6-di-*tert*-butyl-4-methylphenol 1% を添加したもの。

また, 一般名 Proparthrins の化学名は, 2-methyl-5-(2-propynyl)-3-furyl methyl 2,2-dimethyl-3-(2-methyl-propenyl)-cyclopropane carboxylate。

##### 3. 雌性動物に対する10日間投与毒性試験

マウスでは1群6匹, ラットでは1群を4匹とした。被検化合物は 10000, 2500mg/kg の2群として, 1日1回10日間毎日皮下投与した。投与期間中は動物の体重および動作を観察計測し, 投与終了後剖検した。

##### 4. 妊娠マウスに対する被検化合物の投与

妊娠マウスを1群21匹とし, Kikuthrin 5000, 1000, 250mg/kg 群および対照群の4群として, 妊娠7日から12日まで, 1日1回毎日一定の時刻に6回皮下投与した。対照群には生理食塩水を投与した。妊娠5日から毎日体重および動作を観察計測し, 妊娠18日に各群の16匹をエーテル麻酔下に殺し, 胎仔に対する影響を検査した。残りの5匹については, 自然分娩による母獣および育成仔の観察に使用した。

##### 5. 妊娠ラットに対する被検化合物の投与

妊娠ラットを1群21匹とし, Kikuthrin 5000, 1000, 250mg/kg および対照群の4群として, 妊娠9日から14日まで, 1日1回毎日一定の時刻に6回皮下投与した。対照群には生理食塩水を投与した。妊娠7日から毎日体重および動作を観察計測し, 妊娠20日に各群の16匹をエーテル麻酔下に殺し, 胎仔に対する影響を検査した。

残りの5匹については, 自然分娩による母獣および育成仔の観察に使用した。

##### 6. 胎仔に対する作用

妊娠マウスおよびラットに被検化合物を投与後, 一定の日に前述の方法で殺し開腹後, 子宮を切開し総着床数, 生存および死亡数をかぞえ, 生存胎仔については体重を計測し, 性別や外形異常を検査し, 母獣15匹分の胎仔は純エタノールで固定後, Dawson 法<sup>3)</sup>によ

り alizarin-S 染色をおこない、骨格異常の有無を実体顕微鏡下に検査した。着床不明の子宮については Salewski の方法<sup>4)</sup>により着床の有無を識別し、結果を総着床数に算入した。

また母獣 1 匹分の胎仔は Bouin 固定後、Wilson の方法<sup>5)</sup>により 2~3mm の厚さに頭部は口から後頭部に向う面に直角の方向(縦断)に、体く部は体軸と直角の方向(横断)に切断し、弱拡大で切断面の主要臓器の形態を鏡検した。

#### 7. 育成仔に対する作用

前 4 および 5 項で得られたマウスおよびラットの自然分娩による新生仔は、母獣により離乳期まで育成させ、その間母獣については授乳状態を観察した。また仔については毎週体重を計測し、運動異常の有無や、発育状態について観察した。哺乳期間中の母仔獣の飼料および水摂取量は 1 母仔群ごとに合算し計測した。

離乳期に達してから、仔の運動異常および外形異常の有無を再検査後、母獣と仔をエーテル麻酔下に殺し開腹し、主要臓器の形態などの異常の有無を肉眼的に検査し、母獣では子宮総着床数を 6 項と同様に Salewski 法によりしらべ、この結果を総着床数に算入した。

母獣 1 匹分の仔については横臥位および腹位の X 線写真〔日本ソフテックス、Softex Type (MB)〕を撮影し、骨格異常の有無を検査した。

## 実験結果

### 1. 雌性動物に対する10日間投与と毒性

Table 1. Lethality of oral administration of Kikuthrin for 10 days in adult female mice and rats.

Dose (mg/kg/day)	Mice	Rats
10,000	0/6	0/4
2,500	0/6	0/4

Kikuthrin の 10000 および 2500mg/kg の投与によりマウスおよびラットに死亡はみられなかった。症状としてマウスでは 10000 および 2500mg/kg 群でラットでは 10000mg/kg 群で軽度の興奮がみられ、マウスの 10000mg/kg 群では体重減少がみられた。投与部位は二投与群とも脱毛し、剖検により薬物の残存と臍瘍を認めたが、内臓に肉眼的異常を認めなかった。

### 2. 妊娠母獣に対する被検化合物の影響

Kikuthrin 投与による母獣の体重増加率はラットでは 5000mg/kg 群で減少し、ラットの 250mg/kg 群とマウスの 1000mg/kg 群は有意差を認めなかったが、やや低値を示した。症状としてマウスでは 5000mg/kg でわずかな興奮を認めたがラットではみられず、マウスおよびラットの他の群でも Kikuthrin の投与

Table 2. Effects of oral administration of Kikuthrin on mouse and rat fetuses.

Animals	Dose (mg/kg/day)	Number of litters	Total numbers (Litter size)	Fetuses		
				Dead (%)	Malformed (%)	Body weight (g)
Mouse	5000	16	213 (13.3)	36* (16.9)	3 <sup>a)</sup> (1.7)	1.29 ± 0.02
	1000	16	202 (12.6)	28* (13.9)	3 <sup>b)</sup> (1.7)	1.24* ± 0.03
	250	16	204 (12.8)	22 (10.8)	1 <sup>c)</sup> (0.6)	1.37 ± 0.03
	Cont.	16	216 (13.5)	18 (8.3)	2 <sup>d)</sup> (1.0)	1.33 ± 0.02
Rat	5000	16	210* (13.1)	15 (7.1)	0 (0)	3.05* ± 0.07
	1000	16	197 (12.3)	10* (5.1)	0 (0)	3.22* ± 0.06
	250	16	177 (11.1)	23 (13.0)	0 (0)	3.26* ± 0.04
	Cont.	16	192 (12.0)	20 (10.4)	0 (0)	3.44 ± 0.04

\* : Significant at 5% level.

a) : Kinky tail (1) and club foot (2).

c) : Club foot (1).

b) : Cleft palate (1) and club foot (2).

d) : Cleft palate (1) and kinky tail (1).

によって発現したと考えられる症状はみられなかった。5000mg/kg 群の皮下投与部位はマウス、ラットとも薬物の残存と膿瘍がみられた。

3. 胎仔に対する影響

マウス：死亡数の増加を 1000, 5000mg/kg 群に、体重の減少を 1000mg/kg 群に認めたが 250mg/kg 群は対照群との間に差を認めなかった。Kikuthrin 投与群では内外反足、口蓋裂、尾屈曲の異常がみられ、対照群では口蓋裂、尾屈曲の異常がみられたが有意差はみられず、また性比においても差は認められなかった。骨格検査において対照群および Kikuthrin 投与群に第2頸椎不対称、頸肋骨、胸骨核形成遅延、胸骨核変異、胸椎異常、肋骨癒合、腰椎異常などの諸所見が観察されたがいずれも対照群との間に差を認めなかった。しかし 250mg/kg 群の胸骨副核形成と 250, 5000 mg/kg 群の第14肋骨形成は対照群に比較し有意に増加した。Bouin 固定による主要臓器の形態に異常はみられなかった。

ラット：5000mg/kg 群では総着床数の増加がみられ、1000mg/kg 群では死亡数の減少がみられた。胎仔体重は Kikuthrin 投与の全群に抑制がみられ、投与量との相関もみられた。胎仔の外形異常は観察されなかった。

骨格検査において頸椎数不足、胸椎異常、第13肋骨短小、第14肋骨形成などの諸所見が観察されたがいずれも対照群との間に差を認めなかった。ただ胸骨核形成遅延数は 1000 および 5000mg/kg 群で有意に増加した。

Bouin 固定による主要臓器の形態に異常はみられなかった。

4. 育成仔に対する影響

マウス：5000mg/kg 群の生存数は分娩後 0 日で98

匹、7 日で19匹、14日および21日で 6 匹でありほとんどが 1 週間以内に死亡した。1000mg/kg 群で生存数は有意差を認めず、250mg/kg 群では有意に減少した。哺乳期の体重、運動状態は対照群と差は認められず、離乳期の仔の剖検により水腎症が対照群と 250mg/kg 群に各 4 例、1000mg/kg 群に 1 例それぞれ認められたが奇形は認められなかった。

また仔の X 線写真による観察でも異常は認められなかった。

ラット：Kikuthrin 投与群の生存数、体重、運動状態に差はみられなかった。ただ 250mg/kg 群の仔は離乳期まで全例生育した。またこの群の体重の増加率がやや少ない傾向にあった。離乳期の仔の剖検により異常はみられず、また X 線写真による観察でも異常は認められなかった。

マウス、ラットともに哺乳期の母獣の動作状態、および 1 母仔群ごとに合算し計測された飼料および水の摂取量に異常はみられず、離乳期に達して仔と同時に剖検した母獣にも異常は認められなかった。

考察と総括

妊娠動物に対する投与量を決定するため、雌性動物に対する10日間投与による毒性実験をおこなった。マウスでは 10000mg/kg 群で体重減少と興奮がみられ、2500mg/kg 群で興奮は弱まり、体重減少は認められなかった。

ラットでは 10000mg/kg 群でみられた興奮は 2500 mg/kg でみられなかった。そこで大量をマウス、ラットともに 5000mg/kg とした。次に Kikuthrin 0.4% を含む蚊取線香の殺虫効果は Allethrin 0.6% を含む効果に相当し、Kikuthrin 0.4% は 1 本の線香 (約 15g) 中に約 60mg 含まれていることになる。そこで

Table 3. Effects of oral administration of Kikuthrin on mouse and rat offspring.

Animals	Dose (mg/kg/day)	Number of litters	Offspring							
			Total numbers	Number of live offspring (days)		Body weight (days)				Malformed
				0	21	0	7	14	21	
Mouse	5000	10	99 <sup>a)</sup>	98	6*	1.40	3.38	5.83	9.85	0
	1000	5	68	63	56	1.44	3.33	5.38	7.99	0
	250	5	68	64	39*	1.49	3.56	6.69	10.27	0
	Cont.	5	52	49	45	1.55	3.64	6.01	9.22	0
Rat	5000	5	58	52	50	5.12	11.74	21.75	35.02	0
	1000	5	54	52	49	5.26	12.61	23.04	36.48	0
	250	5	59	59*	59	4.99	11.29	21.87	30.98	0
	Cont.	5	61	55	53	5.21	12.04	23.08	35.08	0

\* : Significant at 5% level.  
a) : Death of a litter size was excluded.

マウス、ラットともこの量の約4倍に相当する250mgを少量としてkg当りで投与した。少量と大量との間に差があることからさらに中間量を設定し1000mg/kgとした。

Kikuthrin 5000mg/kgの妊娠母獣に対する皮下投与はマウス、ラットに投与部位の障害がみられ、ラットに体重増加率の軽度減少、マウスに軽度の興奮がみられた。

1000および250mg/kg群でのマウス、ラットの体重増加率の減少や興奮などの作用は軽減または消失した。

ラット5000mg/kg群の総着床数に増加が認められたが、着床現象は被検化合物の投与開始以前に完了することが知られており<sup>7)</sup>、着床数の増加は本被検化合物の影響を検討する上からは除外されよう。

マウス250mg/kg群の胸骨副核形成、ラット1000mg/kg群の胎仔死亡数およびラット育成仔250mg/kg群の分娩後0日の生存数などに差を認めたが、投与量との相関がみられないことからKikuthrinの影響とはいえない。

Kikuthrin 5000, 1000mg/kgの投与はマウス胎仔に対し死亡数を増加させ、5000および250mg/kg群は育成仔マウスを死亡させたが、ラットの胎仔および育成仔にこれらの変化はみられなかった。マウス1000mg/kg群とラットの全群に胎仔体重の減少がみられ、マウス5000mg/kg群は胎仔体重の減少傾向がみられた。またラット1000, 5000mg/kg群では胸骨核形成遅延がみられることから発育遅延の作用が考えられる。しかし分娩後の発育はよく離乳期までの観察で対照群との間に差を認めなかった。

外形検査ではマウスにおいて、尾屈曲、口蓋裂などがみられたが有意差はなく、内外反足が増加傾向にみられたが差は認められなかった。ラットにおいて異常は観察されなかった。マウスにみられたこれらの変化は育成試験では観察されなかった。

骨格検査ではマウスに第14肋骨形成数の増加がみられたが、ラットにはみられなかった。

以上を総括するとマウスでは胎仔の死亡数を増加させ、育成仔を死亡させた。また母獣の体重増加率の軽度減少や胎仔体重の減少がみられた。しかし外形および骨格異常が高頻度に認められなかったことからKikuthrinはマウスに対し問題とすべき催奇形作用はないものと考えられる。ラットでは母獣の体重増加率の減少や胎仔体重の減少および胸骨核形成遅延などが

みられたことから発育遅延作用が考えられる。しかし死亡や外形および骨格異常が高頻度にみられなかったことから本被検化合物はラットに対して催奇形作用はないものと考えられる。

謝辞 終りにあたり、本研究に終始協力した本研究所の諸氏に感謝する。

## 文 献

- 1) 中西美智夫, 向井俊彦, 竹内雅也, 枝長正修: 防虫科学. 35, 103 (1970).
- 2) 中西美智夫, 向井俊彦: 特許公報. 昭45—7069.
- 3) Dawson, A. B.: *Stain Technol.*, 1, 123 (1926).
- 4) Salewski, E.: *Naunyn-schmiedebergs Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, 247, 367 (1964).
- 5) Wilson, J. G.: *Teratology*, 262, Chicago Univ. Press (1965).
- 6) 中西美智夫, 津田 厚, 安部宏三, 稻村修司, 向井俊彦: 防虫科学. 35, 91 (1970).
- 7) 村上氏広: “出産前の医学” 医学書院1968, p. 191.

## Summary

The teratogenic effects of Kikuthrin were investigated with ICR-JCL mice and Wister-King rats.

Kikuthrin was subcutaneously given to mice at a dose of 5000, 1000 or 250mg/kg/day from day 7 to day 12 of pregnancy. The compound, at a dose of 5000 or 1000mg/kg, caused an increase in the mortality of fetuses, and a decrease in the body weight of fetuses. The compound, administered at a dose of 5000mg/kg, caused a death of offspring and an excitement of pregnant rats. Kikuthrin did not display any marked teratogenic influence on fetuses of the mouse.

Kikuthrin was subcutaneously given to rats at a dose of 5000, 1000 or 250mg/kg/day from day 9 to day 14 of pregnancy. The compound, administered at a dose of 5000, 1000 or 250mg/kg, caused a decrease in the growth rate of pregnant rats and fetuses, and produce the delay in the development of fetuses, but did not show any influence on the development of offspring. There was no evidence that Kikuthrin had any teratogenic activities in fetuses of the rat.