

Pharmacological Studies on a New Pyrethroid: Kikuthrin. Studies on Insecticide VII. Michio NAKANISHI, Tadao OKADA, Shigetoshi SHUTO, Nobuharu YAMAGUCHI. (Research Laboratories, Yoshitomi Pharmaceutical Industries, Ltd., Yoshitomi-cho, Fukuoka, Japan) Received July 3, 1970, *Botyu-Kagaku* 35, 117, 1970.

16. 新規 Pyrethroid; Kikuthrin の一般薬理作用 殺虫剤に関する研究 第7報¹⁾ 中西美智夫, 岡田忠夫, 首藤重利, 山口展舜 (吉富製薬株式会社研究所 吉富町, 福岡県) 45. 7. 3 受理

強い殺虫効力を有する新しい Pyrethroid, Kikuthrin の実験動物における薬理活性を対照化合物として Allethrin を用いて検討した。

Kikuthrin の中枢神経系, 呼吸循環系およびその他に対する薬理活性は Allethrin の活性よりも一般的に低いことがわかった。

Kikuthrin は Allethrin よりも哺乳動物に対して低毒性を有する新しい強力な殺虫剤であることが期待される。

新しい低毒性殺虫剤の開発を目的として一連の三重結合基置換フラン誘導体の研究中に開発された新規 Pyrethroid: Kikuthrin の一般薬理作用を Allethrin を対照化合物として検討した。

実験材料および方法

被検化合物と被検液調整法

Kikuthrin: 工業用規格品, Proparathrin²⁾;

純度 92% 以上, B. H. T. 1% 添加

Allethrin: 住友化学工業株式会社製

純度 90%

両化合物ともに各実験法に応じて下記のように被検液を調整し実験に使用した。すなわち, 自発運動, 麻酔増強作用, ウサギ呼吸血圧, 摘出心房, 摘出横隔神経筋標本, および腸管輸送能に関する実験では 1% tween 80 溶液; イヌ呼吸血圧および耳介血管灌流に関する実験では 0.25% carboxymethyl cellulose (CMC) 溶液; 自発脳波に関する実験では polyethylene glycol 200 溶液を, それぞれ使用して被検化合物を溶解あるいは懸濁して被検液とした。

実験に使用した機器

機 器 名	製 作 所 名 (型式)
周波数分析装置	日本光電 (MAF-4B)
電気血圧計	日本光電 (MP-4T)
Pulse-rate Tachometer	日本光電 (RT-2)
ペン書きオシロ	日本光電 (RM-150)
グ ラ フ	
圧 歪 計	日本光電 (SB-1T)
滴 数 計	夏目製作所
脳 波 計	(Universal Pulse Counter)
	日本光電 (ME-132B)

1. 自発運動におよぼす影響

体重 20~25g の雄性 dd 系マウスを 1 群 5 匹として, 20×40×20 (巾×奥行×高さ) cm の木箱内に群居させ, その運動量を photocell 法³⁾によって計数した。被検化合物を腹腔内に投与し, 40分後から20分間の運動量を測定した。結果は各群の遮光回数で示した。

2. 自発脳波におよぼす影響

体重 3~4kg の雄性ウサギを無麻酔下に四肢を固定し, 気管カニューレを挿入した後, 人工呼吸 (58 回/分) をおこない, gallamine triethiodide を i. v. 投与して不動化した後, 脳定位固定装置に固定した。手術創部には mepivacaine を用い, 局所麻酔をおこなった。皮質電極は真鍮のネジを用いた。(極間距離 3mm)。深部電極はステンレススチール製の同じ電極 (ポリウレタン樹脂塗料で絶縁, 外径 0.5mm, 極間距離 0.5mm) を Sawyer⁴⁾ の坐標図に基づいて刺入し, 双極で脳波を誘導した。不関電極は鼻骨におき, 同時に心電図 (第Ⅱ誘導) も記録した。

皮質電極の部位は運動領 (A:6, L:5, および L:2) と知覚領 (P:2, L:4, および L:7) とした。深部電極の部位は, 背側海馬 (P:3, L:4, V:5), 扁桃核 (A:2, L:6, V:-6) および中脳毛様体 (P:8, L:2.5, V:-2) とした。

また皮質運動領と海馬の脳波を周波数分析装置によって, δ (2~4c/s), θ (4~8c/s), γ (8~13c/s), β_1 (13~20c/s), β_2 (20~30c/s) の 5 帯域について周波数分析をおこない, 10秒間の積分値を脳波と同時に記録した。

被検化合物はあらかじめ大腿静脈に挿入されたポリエチレン細管を介して少量から段階的に倍量を追加投与した。なお液量は 1 回に 0.5~1ml (160mg/kg の場合に限り 2ml) とし, 徐々に (2~3min/injection) 注入した。

3. 麻酔増強作用

体重 20~25g の雄性 dd 系マウス 1 群 6 匹として 1% tween 80 溶液に懸濁された被検化合物を腹腔内に投与、30 分後に 0.5% methyl cellulose 液に懸濁した Hexobarbital を 50mg/kg i. p. に投与した。

Hexobarbital 投与後、15 および 30 分の 2 回正方向反射の有無を調べ、2 回とも反射の見られない場合、そのマウスの麻酔率を 100% として各マウスの麻酔率を求め、各群で平均麻酔率を算出し、被検化合物の投与量と平均麻酔率から Litchfield-Wilcoxon 法によって 50% 増強作用量 (PD₅₀) を求めた。

4. 呼吸、血圧、心拍数および心電図におよぼす影響

1) ウサギを用いた実験

体重 2.0~3.0kg の雄性ウサギを urethane (1.5~2.0kg s.c.) で麻酔後、背位に固定し、総頸動脈圧を測定した。

2) イヌを用いた実験

体重 10kg 前後の雄性雑種犬を secobarbital sodium (30~35mg/kg i. v.) で麻酔後、背位に固定し、総頸動脈圧または大腿動脈圧を電気血圧計により、心拍数は脈波より pulse-rate tachometer により、呼吸運動は自製の電気容量変換型呼吸計によって測定した。

心電図は四肢誘導を行ない、計測には主として、第Ⅱ誘導を使用した。これら諸現象はいずれもペン書きオシログラフ上に同時記録した。被検化合物は股静脈内にあらかじめ挿入したポリエチレン管を介して投与した。

5. 摘出心房運動におよぼす影響

体重 200g 前後の雄性モルモットを用いて、Magnus 法に従い、浴温を 32° とし 95% O₂, 5% CO₂ 混合ガスで飽和した Tyrode 液を栄養液として、被検化合物の摘出心房運動に対する影響をしらべた。

収縮力の測定には、圧歪計を、拍動数の測定には Pulse-rate tachometer をそれぞれに使用し、ペン書きオシログラフ上に記録した。なお標本に対する負荷は約 0.5g とした⁵⁾。

6. 摘出耳殻血管におよぼす影響

体重 3.0kg 前後の雄性ウサギの頸動脈を切断し、瀉血致死せしめた後、耳殻を切断し、耳殻の中心動脈にカニューレを挿入し、noradrenalin 10⁻⁷g/ml を含有する Locke 液を灌流圧 40cm (水柱)、室温で灌流し、静脈断端からの流出量を滴数計によって、滴数として測定し、キモグラフ上に記録した。灌流量は流出滴数が 35~40 滴/min. になるように調整した。被検化合物は、カニューレ直前のゴム管内に注入し、投与被検液量は 0.1ml とした。

7. 摘出横隔膜神経筋標本におよぼす影響

Bülbring の方法⁶⁾に従って体重 200g 前後の雄性 Wistar ラットの摘出横隔膜神経筋標本を作製し、50ml の浴槽中で栄養液は glucose 2 倍量を含む Tyrode 液を使用した。浴温は 37° とし、純酸素ガスを通じた。刺激は矩形波の直接刺激 (0.05 cps, 0.5~1.0 msec, 30~50V) および間接刺激 (0.05 cps, 0.5~1.0 msec, 3~10V) を 10 秒毎に交互に加え、横隔膜の収縮を等張ハーベルをかいしてキモグラフ上にペン記録した。

8. 腸管輸送能におよぼす影響

Janssen の方法⁷⁾を一部変更して用いた。すなわち 18 時間絶食した実験使用直前の体重が 16~20g の雌性 dd 系マウスを 1 群 6 匹以上使用し被検化合物を経口または腹腔内投与し 30 分後に 1% tween 80 溶液 10w/v % に懸濁した薬用炭末 (日局) 液を 1 匹当たり 0.3ml を経口投与した。20 分後絞殺開腹し、直ちにその消化管を胃幽門部から虫様突起まで注意深く取り出し、平面に自然にのぼし、その全長に対する炭末先端の到達距離の割合から輸送率 (%) を求めた。

実 験 結 果

1. 自発運動におよぼす影響 (Table 1)

過去 2 年間の対照群マウスの運動量は 20 分間で 251 ± 56 (遮光回数 ± 標準偏差; 240 群, 1200 匹) であった。

Kikuthrin は 20mg/kg i. p. 以下の投与量によっては変化は認められず、40, 80mg/kg で抑制作用が見られるがさらに 160mg/kg 以上で振せんを伴った興奮が認められた。

Allethrin は 40mg/kg i. p. で振せんを伴った興奮が認められ、80mg/kg で死亡した。

Table 1. Effects of pyrethroids on the locomotor activity in mice. The activity was counted by a photometer.

Dose mg/kg i. p.	20	40	80	160	320
Compound					
Kikuthrin	207	57	58	357*	251*
Allethrin	224	169*			
Control	251 ± 56 (mean ± S. D.)				

* : Slight excitation with tremor.

2. 自発脳波におよぼす影響 (Fig. 1, Fig. 2)

Kikuthrin は 20mg/kg i. v. までの投与によってほとんど変化は認められなかった。40mg/kg の投与によって 5 例中 2 例の脳波の全誘導に β 波の増強が、数分から十数分間発現した。80mg/kg の投与により、5 例中 1 例は投与直後に死亡し、他の 4 例のうち 2 例に、β 波の増強が見られた。160mg/kg では 4 例中 1 例が

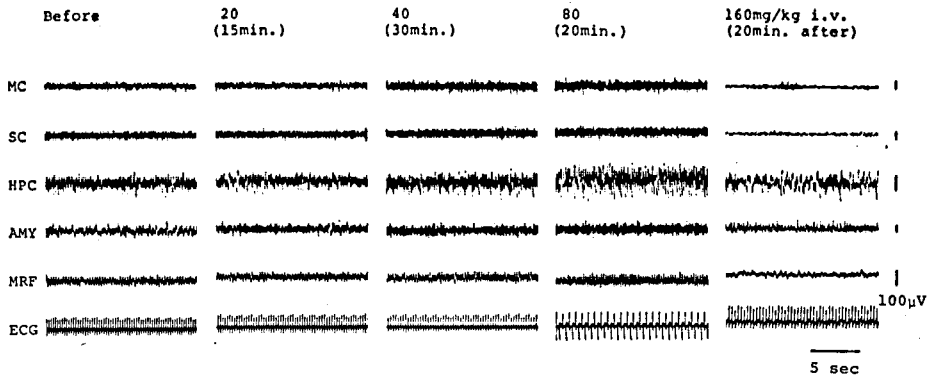


Fig. 1. Effect of Kikuthrin on the spontaneous EEG in a rabbit (3.5kg♂).

MC : Motor cortex. SC : Sensory cortex.
 HPC : Hippocampus. AMY : Amygdala.
 MRF : Mesencephalic reticular formation.
 ECG : Electrocardiograph.

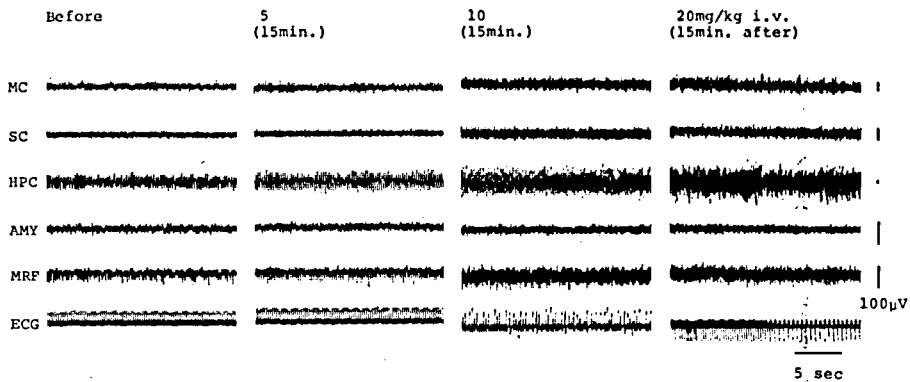


Fig. 2. Effect of Allethrin on the spontaneous EEG in a rabbit (3.1kg♂).

Table 2. Effects on the circulatory and respiratory responses in anesthetized rabbits.

Compound	Dose mg/kg i. v.	Blood pressure decrease (%)	Pulse rate decrease (%)	Respiration
Kikuthrin (n=3)	2.5	0	~	~
	5	0	~	↑
	10	2.4	~	~
	25	14.4	3.1	↑
	50	15.0	2.8	↑↑
	100	28.4	14.7	↑↑
Allethrin (n=2)	1	0	~	—
	2.5	4.4	~	~
	5	10.2	~	↑
	10	7.5	2.9	↑
	25	21.9	5.7	↑↑
	50	25.4	10.2	↑↑
	100	39.6	16.3	↑↑

— : No change.

↑ : Excitation (slight).

~ : No significant change.

↑↑ : Excitation (mild).

投与直後に死亡し他の3例では80mg/kg投与時とはほぼ同様な変化が観察され、1~2時間後に全例死亡した。

Allethrinでは5mg/kg i.v.以下の投与でほとんど変化は認められず、わずかにarousal patternが増強される傾向が認められた。

10mg/kgの投与により、投与後5分以内に全誘導に β 波が優勢に発現し、しだいに増強されて30分後にはもっとも顕著となり、seizure様patternが見られた例もあった。この量では全例に不整脈の発現が認められた。これらの現象が回復したのち20mg/kg追加投与したところ、さらに著明なseizure様patternを示し、3例中1例が投与後50分で死亡した。他の2例では40mg/kgの追加投与によって投与中および投与直後に死亡した。

3. 麻酔増強作用

KikuthrinおよびAllethrinの PD_{50} 値はともに約15mg/kg i.p.であった。

4. 呼吸血圧心拍数および心電図におよぼす影響

1) ウサギを用いた実験 (Table 2, Fig. 3)

Kikuthrin 5.0mg/kg i.v.以下の投与量ではほとんど作用は認められず、10~25mg/kgでは軽度の血圧下降および心拍数減少が認められ、50mg/kg以上では血圧下降、心拍数減少が認められた。50mg/kgでは3例中1例に血圧上昇が認められた。また呼吸では25mg/kg以上で亢進が認められ30ないし60分以上の持続を示した。100mg/kgで3例中1例に前肢の歩行様運動ならびに軽度の四肢の間代性けいれんが認めら

れた。

2) イヌを用いた実験 (Fig. 4)

KikuthrinならびにAllethrinの25mg/kg以下の投与によっては特記すべき作用は認められなかった。Kikuthrin 50mg/kg投与では血圧心拍数にほとんど変化は認められず、呼吸は投与直後から頻度が増加し、振巾は低下した。振巾の低下は次第に回復し次いで増大した。この増大は1時間以上持続した。しかし血圧、心拍数にはほとんど変動は認められなかった。

Allethrinの50mg/kg投与例では投与後5~7分に激しい全身性の間代性けいれんが誘発され同時に血圧、心拍数は下降(145→115mmHg)する例が多くみられた。この血圧下降は20~30分で回復し、心拍数の減少は一過性で回復後徐々に増加した。けいれんが発現してから30分後にsecobarbital sodium 40mg/body i.v.を追加投与したところけいれんは軽度には減弱したがさらに持続した。心電図第Ⅱ誘導について両被検化合物を1,10および50mg/kg投与した時のP高、QRS、P-R、QT、R-R各間隔を計測し解析をおこなったが投与前にくらべてほとんど変化は認められず伝導障害と認められる変化は観察されなかった。なお、両被検化合物とも50mg/kg投与まで死亡例は認められなかった。

5. 摘出心房運動におよぼす影響 (Fig. 5)

KikuthrinおよびAllethrinはともに 10^{-8} g/mlの濃度では心房に対してほとんど影響を与えなかったが、 10^{-4} g/mlでは収縮力および拍動数の増加が認められ

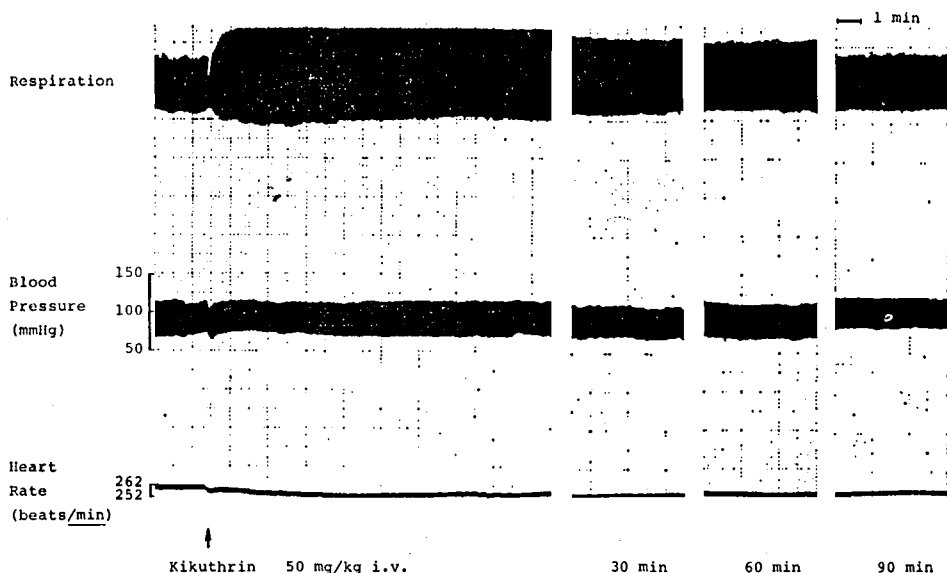


Fig. 3. Effects of Kikuthrin on respiration, blood pressure and heart rate in anesthetized rabbit.

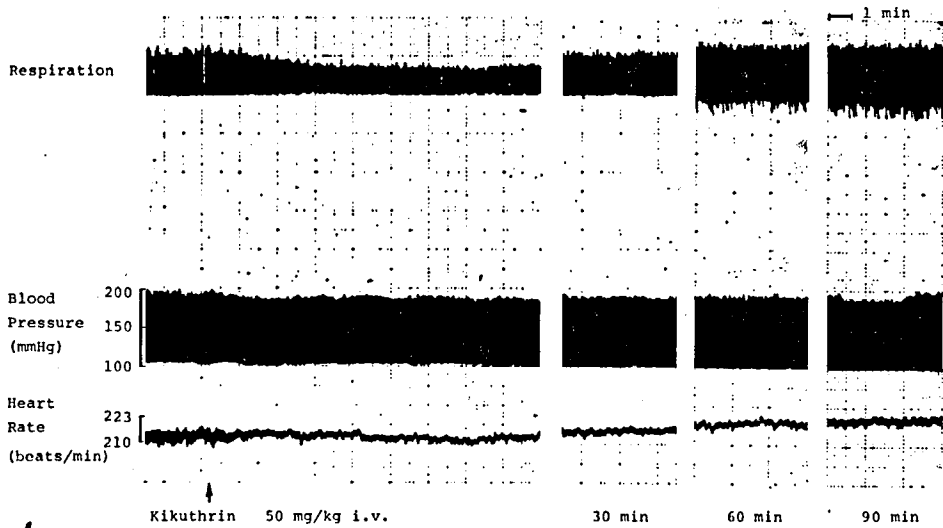


Fig. 4 Effects of Kikuthrin on respiration, blood pressure and heart rate in anesthetized dog

Fig. 4. Effects of Kikuthrin on respiration, blood pressure and heart rate in anesthetized dog.

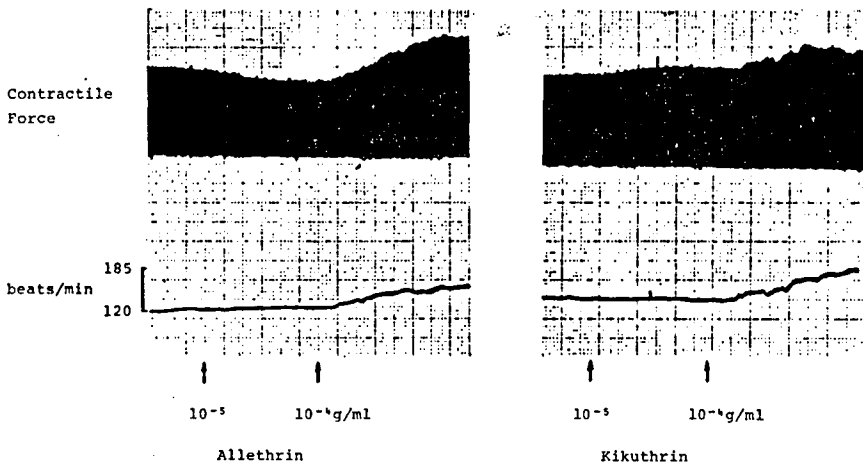


Fig. 5. Effects of Kikuthrin and Allethrin on the guinea pig atrium preparation.

た。Adrenalineおよびacetylcholineともに 10^{-7} g/mlでの心房運動におよぼす促進ならびに抑制作用はKikuthrin 10^{-6} g/mlの前処置によって影響されなかった。

6. 摘出耳殻血管におよぼす影響

KikuthrinおよびAllethrinはともに 10^{-2} g/mlの高濃度で軽度耳殻血管灌流液量の増加を示す傾向が認められた。これ以下の濃度(10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} g/ml)では液量は減少する傾向がみられた。しかし本標本では被検化合物を含まない溶媒0.25% CMC溶液のみを投

与した場合でもわずかな流出量の減少が認められたため本化合物の低濃度での収縮性作用は明らかではない。

7. 摘出横隔膜神経筋標本におよぼす影響

(Fig. 6, 7, 8)

Kikuthrin 10^{-6} g/mlによってほとんど変化は認められなかった。 10^{-7} g/mlでは2例中1例に被検液適用3分後より収縮がみられたがのちに回復した。 3×10^{-7} g/mlでは3例中1例に持続的な収縮がみられたが他の2例では不変であった。 10^{-6} g/mlでは全例で収縮が持続し筋全体収縮位となり直接および間接の電

気刺激に対する反応は軽度であった。 3×10^{-6} および 10^{-5} g/ml ではともに強く筋は攣縮し直接および間接刺激は抑制された。

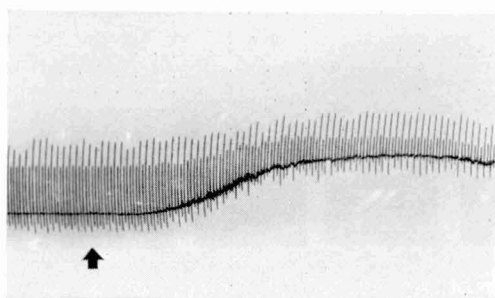


Fig. 6. Effect of Kikuthrin (10^{-6} g/ml) on phrenic nerve-diaphragm preparation of a rat.

The high and low amplitudes indicate the contractions of diaphragma stimulated with indirect and direct shocks respectively.

Allethrin 3×10^{-7} g/ml 以下ではほとんど変化は認められなかったが、 10^{-6} g/ml では5例中1例に攣縮がみられ、この例では間接刺激がわずかに増強されたが、他の4例では変化は認められなかった。 3×10^{-6} g/ml では4例中2例に攣縮がみられ、そのうち1例に間接刺激増強が認められた。 10^{-5} g/ml では全例で筋は強く攣縮し、間接刺激は一過性に増強後抑制された。

Kikuthrin および Allethrin の反応は標本の洗浄によっても消失することは認められなかった。 Fig. 8 に本実験条件での eserine 1.2×10^{-8} g/ml の作用を示した。

8. 腸管輸送能におよぼす影響 (Table 3)

Kikuthrin および Allethrin は腹腔内投与によ

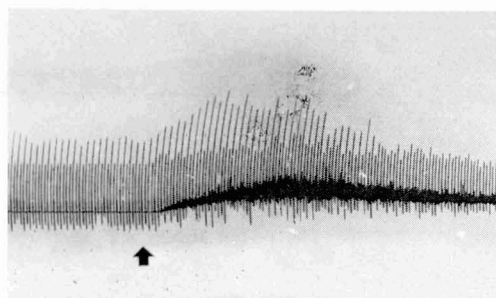


Fig. 7. Effect of Allethrin (10^{-5} g/ml) on phrenic nerve-diaphragm preparation of a rat.

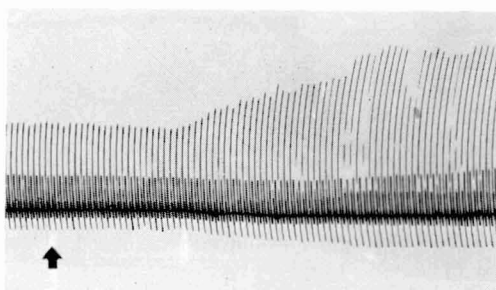


Fig. 8. Effect of Eserine (1.2×10^{-8} g/ml) on phrenic nerve-diaphragm preparation of a rat.

て、腸管輸送率に対する著明な影響は認められなかった。経口投与では Kikuthrin の 160 mg/kg 以上で輸送率の増加が認められた。 Allethrin では 160 mg/kg で増加 ($p < 0.05$) が認められたが、 320 mg/kg では有意の差は認められなかった。

また本実験で Kikuthrin 投与群には死亡例は認められなかったが、 Allethrin 群では 160 mg/kg p. o.

Table 3. Effect on intestinal motility of mice.

Compound	route	Rate of propulsive motility (%)					
		Dose mg/kg					
		20	40	80	160	320	640
Kikuthrin	i. p.	56.0 (6)	44.5 (6)	31.8 (6)	30.0 (6)	42.0 (6)	
	p. o.	51.1 (12)	46.1 (18)	42.9 (24)	68.6* (24)	67.2* (24)	86.6 (18)
Allethrin	i. p.	56.4 (6)	40.1 (6)				
	p. o.	53.3 (12)	49.1 (12)	53.6 (18)	60.7* (18)	50.6 (12)	
Control (solvent)	i. p.			45.2			
	p. o.			47.5			

* : $p < 0.05$

()_±: Number of animals.

で 2/18, 320mg/kg p. o. で 5/12 の死亡が認められた。

考 察

新しい合成 Pyrethroid として当研究所で合成された Kikuthrin がすぐれた殺虫効果を有することについてはすでに報告したが¹⁾, Kikuthrin の一般薬理作用について検討した。

Kikuthrin は 20mg/kg i. p. 以下の投与量では自発運動に対して著変は認められないが, 160mg/kg i. p. 以上では運動は亢進し, 振せんをともなうことが認められた。しかし Allethrin では 40mg/kg ではほぼ同様の症状を発現し, 80mg/kg では死亡が認められた。ウサギの自発脳波についても Allethrin では 10mg/kg i. v. で顕著な β 波の発現が認められたが, Kikuthrin は 40mg/kg 以上の投与時において認められたに過ぎない。Hexobarbital の麻酔増強効果については, Kikuthrin および Allethrin の両化合物でほとんど差は認められなかった。

麻酔ウサギおよびイスに両化合物を 100 あるいは 50mg/kg i. v. 投与したとき, ともに死亡例は認められず, イスでは最高投与量の 50mg/kg で軽微な変化しか認められなかった。ウサギでは両化合物とも高投与量で血圧の低下, 心拍数の減少, および呼吸のやや持続的な亢進が認められた。Allethrin は Kikuthrin にくらべていずれも反応は強く発現した。

また心電図第Ⅱ誘導を用いての解析によっても, 両化合物とも実験投与量の範囲では伝導障害と認むべき変化は認められなかった。摘出心房標本による実験では両被検化合物とも 10^{-6} g/ml までほとんど影響をおよぼさなかった。また adrenaline および acetylcholine の ino- あるいは chronotropic 作用に対して同濃度では影響を与えなかった。ウサギ摘出耳殻灌流実験においても著明な変化は認められなかった。摘出横隔膜神経筋標本を用いた実験では Kikuthrin は 3×10^{-6} g/ml 以上の濃度では筋の収縮が認められたが, 間接および直接刺激に対する標本の収縮反応には影響をおよぼさず, eserine における同標本に対する作用とは異なっ

た態度を示し, 収縮作用が神経筋接合部ではなく, 筋に対する直接作用であろうと考えられる。

Allethrin も Kikuthrin とほぼ同じ反応を示した。

腸管輸送能に対する Kikuthrin の作用は 160mg/kg の経口投与によって促進が認められたが, 同量の腹腔内投与によっては認められないことから本効果は消化管内の被検化合物による物理化学的な影響と考えられる。

以上の実験成績から Kikuthrin は Allethrin より安全な殺虫剤であろうと考えられる。

謝辞 本研究に終始協力した吉富製薬研究所の諸氏に感謝する。

文 献

- 1) 中西美智夫, 浜田佑二, 伊崎勝弘: 防虫科学, 35, 113 (1970).
- 2) 中西美智夫, 向井俊彦: 特許公報, 昭45—7069.
- 3) Dews, P. B.: *Brit. J. Pharmacol.*, 8, 46 (1953).
- 4) Sawyer, C. H.: *J. Comp. Neurol.*, 161, 801 (1954).
- 5) Varma, D. R.: *J. Pharma. Pharmacol.*, 19, 557 (1967).
- 6) Bülbring, E.: *Brit. J. Pharmacol.*, 1, 38 (1946).
- 7) Janssen, P. A.: *J. Pharm. Pharmacol.*, 9, 381 (1957).

Summary

The pharmacological activity of Kikuthrin, a new derivative of chrysanthemic acid having potent insecticidal activity, was studied in comparison with Allethrin as a standard compound.

Pharmacological activities of Kikuthrin on the central nervous system, respiratory and circulatory system, and others were lower in general than these of Allethrin.

Kikuthrin was expected as a new potent insecticide with lower toxicity to mammalian than Allethrin.