

Studies on the Joint Action in Insecticide, III. On the Synergistic Action of Safrol Derivatives for Pyrethrins to Knock-down and Mortality against the Adult of the Common Housefly (*Musca domestica* L.). Hiromi NAKAYAMA (Takei Laboratory, Institute for Chemical Research, Kyoto University and the Nippon Koryo Research Laboratories, Kobe.) Received Nov. 25, 1950. *Botyū Kagaku* 15: 223, 1950 (with English résumé 230.).

36. 殺虫剤の連合作用に関する研究 (第三報) 家蠅の仰転及び致死に対する Safrol 誘導体の Pyrethrins 協力効果について 中山弘美

(京都大学化学研究室武居研究室及び日本香料薬品株式会社研究部 神戸). *

前報¹⁾に於ける殺虫試験の結果、Safrol 誘導体が Pyrethrins に対する協力効果を持つ事を知り、其の結果 methylenedioxyphenyl 基が協力効果に対して必須条件であると共に側鎖の二重結合及び ketone 基も亦協力効果に対して何等かの影響を持つものでは無いかと推論した。此の間の関係を更に確認する爲に methylenedioxyphenyl 基を持つ所の簡単な Safrol 誘導体及び夫等と化学構造上極めて類似して居るが methylenedioxy の開裂して居るもの及び其の他の構造上興味ある化合物等について家蠅 (*Musca domestica*, L.) を用いてその仰転 (knock-down) 及び致死 (mortality) に対する協力作用を研究して methylenedioxy 基が協力効果に対し重要な要素である事を確認したので報告する。

実 験

実験材料:

供試昆虫: 実験に供した家蠅 (*Musca domestica* L.) は京大化研武居研究室に於て既に長年飼育し数十世代の累代飼育を経て型態学的にも又生理学的にも略々一様の遺伝性質を持つ一系統であるが飼育は夏時の飼育に際して雑種混入を防ぐ意味と又材料的に任意に大量飼育可能の目的を以て豆腐粕を用いて飼育した。飼育方法は豆腐粕薬片及び木材粉を重量比として大約 20:1:2 の割合で均一に混ぜ約 2% の酵母を混入し内径 14cm 高さ 19cm の硝子製ボットに入れ之に家蠅の卵を採入して飼育し、羽化した成虫は小麦粉の糊を与へて飼育し羽化後 4~5 日目の健全な個体のみにて試験した。

Table 1

No.	Substance	Chemical structure	m. p. C°	b. p. C°
A	Safrol		11	233
B	Isosafrol		18	245-247
C	Dihydrosafrol		—	228
D	Piperonal		37	236
E	Piperonyl alcohol		57	—
F	Eugenol		—	254
G	Isoeugenol		34	261
H	Dihydroeugenol Dihydrochavibetol		—	249-250

I	Protocatachuic aldehyde		154	—
J	Velatorium aldehyde		32	281
K	Vanillin		83.5	—
L	Anetol		22.5—23	234—235
M	Cinnamic aldehyde		—7.5	252
N	Cinnamic acid		135	—
O	Cumarine		107	—
P	Terpineol		—	209—212
Q	Borneol-ethylester		—	204—204.5
R	Safgenol		—	284—285

供試薬剤：供試薬は Table 1 に示す通りである。

上記 Table 1 の化合物と 94% 酒精（石油変性）抽出 Pyrethrins 0.229% 液から Table 2 の如き組成の供試薬剤を調整した。

Table 2
mg/100g 94% ethanol

No.	Pyrethrins	Substance—
1	0	400
2	20	100
3	30	100
4	40	0
5	20	200
6	40	100
7	30	200
8	40	200
9	40	400
10	100	0

実際の試験に際しては正確且つ迅速に行ふ爲上記 Table 2 の供試薬剤の中 2, 3, 5, 7 は生物試験を省略した。

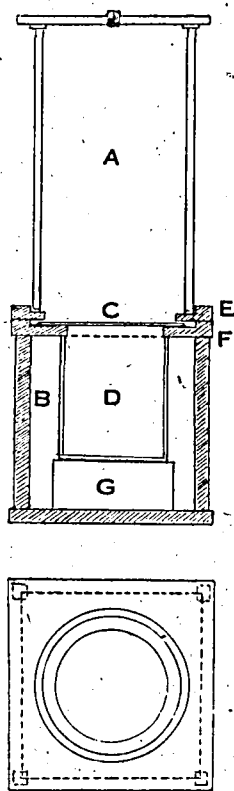
試験装置：Campbell 考案の Turn table 法を改良して Fig. 1 の様な装置を使用した。此の装置によれば仰転率と致死率とが併行的に調べられる。(A) は内径 20.5cm, 高さ 43.5cm, 内容約 16.8 l の肉厚硝子製円筒でその上部には同じくガラス製で中央に径 2cm の孔を有する円板があり、円筒と円板の間にはゴム製パッキングを挟んでおく。(B) の斜線部は木製の架台でその上部は共に円形に切抜かれた (E) 板と (F) 板とから成つて居り、(E) 板上にガラス円筒 (A) をのせ (E) 板と (F) 板との間には (C) の硝子板が差込まれて居り引出し自在となつて居る。(D) は金網製の蓋をした径 14cm, 高さ 19cm のポットで (G) の支へにより架台に密着せられて居る。

* 本研究に対し武居先生の御指導と御鞭撻及び京大化研武居研究室各位の御援助を得た。茲に記して衷心から謝意を表す。

試験方法:

先づ (D) のポット内に家蠅成虫 25 匹を入れ金網蓋をして定位に支へ (C) の硝子板を差込んで置き円筒上部の孔からビベットに取った供試薬剤 1cc を約 20 ポンドの加圧下に噴霧機で円筒内に噴霧し孔に栓をする。噴霧開始後 30 秒経過後大粒の霧滴を落下せしめた後 (C) の硝子板を引出して供試虫を噴霧に曝す。硝子板を引抜いてから 2 分後より 10 分迄 1 分毎にポット内の仰臥せる蠅の数を読む。10 分経過後ポットを外し供試虫を予め食餌用棚を入れ上部に金網製蓋を附した径約 9.5cm 高さ 4.5 cm の硝子製 Shale 中に移す。約 30° の恒温室に約 1 晝夜放置後その致死数を読み致死率を求める。各供試薬の各々の薬剤について 4 回乃至それ以上即ち約 100~200 匹の供試虫を用い

Fig 1
Apparatus for
Insecticidal Tests



て試験した。

前記試験方法により得られた仰臥率と時間との関係を表示すると Table 3 の様になる。無処理区と control 区 (94% ethanol 石油変性) は何れも各供試虫数 100 匹、仰臥虫数各 0 匹であつた。尚試験は家蠅の飼育の関係から供試薬を I, II 及び III (Table 3) に分つて行ひ各回毎に Pyrethrins 対照区を併行して行ひ試験を正確にした。

Table 3 の実験結果の正確な比較を容易ならしめる爲に probit 單位に依る時間仰臥率曲線 (T-K 曲線) 一次変換の操作を施してその回帰方程式 $Y = a + b(X - \bar{x})$ 及びそれに附随する 2, 3 の数値を求めると Table 4 の様である。

Table 4 に示す回帰方程式及び X^2 test の値により実験結果の比較並びに正確さを判断出来るものであるが methylenedioxy を持つ Piperonal (D) 及び methylenedioxy の開裂して居る Vanillin (K) を例に取り縦軸に仰臥率の Probit を取り横軸に時間の対数を取つて図示すると Fig. 2, 3 の様になる。此の図によつて methylenedioxy group を持つ化合物は顯著なる仰臥協力効果を持つ事か理解出来る。

尚 Table 4 の回帰方程式より此等の化合物の仰臥協力効果の有無、強弱の程度を正確に知る爲中央致仰臥時間より中央当量を求めると Table 5 の様になる。

Table 5 の表中※印のものは何れも顯著な致仰臥効果を持つものであり何れも Pyrethrin 対照区 (10) の効果と同等乃至それ以上の効力を持つものであるが

Table 3
Knock-down % of Common Housefly

Substance	Reagent	No. of Indivi- duals	Knock-down % for minutes							
			2	3	4	5	6	7	8	10
I										
	4	100	0	3	14	24	39	45	53	62
	10	0	2	22	39	65	73	81	83	89
A	1	190	0	0	2	3	6	10	13	19
	6	100	2	13	24	36	51	62	66	75
	8	100	1	14	41	52	68	75	83	92
	9	100	4	24	41	63	71	73	88	92
B	1	100	0	1	2	4	7	9	12	25
	6	200	1.5	15.5	28.5	47.0	59.0	71.5	78.5	85.5
	8	200	1.0	6.0	23.5	45.0	61.5	77.5	82.0	91.0
	9	100	4	15	43	70	76	88	92	98
C	1	100	0	0	1	2	3	6	8	16
	6	125	0.8	6.4	13.6	25.6	47.2	55.2	63.2	75.2
	8	143	1.40	14.48	39.16	62.24	74.13	83.92	90.21	93.01
	9	234	1.47	12.75	35.78	57.35	73.53	80.88	87.25	94.12

D	1	100	0	0	0	0	0	1	2	3
	6	206	1.46	10.68	28.16	40.29	52.43	61.65	72.82	80.09
	8	148	4.73	18.24	33.78	45.27	56.76	65.54	71.62	84.46
	9	152	9.87	28.29	44.08	59.21	68.42	77.63	78.95	86.84

II

	4	100	0	10	27	39	53	67	77	81
	10	100	16	51	75	83	91	92	97	100
F	6	100	0	7	21	39	59	65	70	84
	8	176	4.55	14.77	30.68	48.30	63.07	69.32	71.59	79.55
	9	152	0.66	9.21	33.55	53.29	63.82	76.31	77.63	90.13
G	6	148	0.68	4.05	22.29	45.27	56.03	64.19	70.95	85.81
	8	100	2	10	34	54	68	77	80	86
	9	98	5.10	16.32	33.66	55.08	64.26	66.30	72.42	83.64
H	6	150	0	9.33	22.66	39.33	50.00	58.66	70.00	82.00
	8	141	3.54	17.73	37.58	50.35	69.70	78.01	82.97	87.23
	9	229	2.62	18.14	40.17	56.77	65.50	76.00	82.10	87.77
J	6	100	0	7	27	49	60	72	80	87
	8	100	0	7	23	40	54	68	73	80
	9	300	3.67	18.33	36.00	50.67	60.00	66.67	72.67	82.67
K	6	100	0	7	24	40	53	61	72	80
	8	123	0.81	8.04	30.89	49.59	57.89	65.04	75.61	84.55
	9	143	1.40	11.88	27.97	46.15	60.84	72.72	75.52	81.12
R	6	100	1	13	36	52	65	69	80	88
	8	124	3.2	13.6	32.0	49.6	61.6	67.2	78.4	89.6
	9	149	0	4.77	14.76	38.25	53.01	68.00	73.33	82.66

III

	4	100	3	8	20	35	42	52	93	74
	10	100	18	42	68	77	88	93	94	96
E	6	200	4.5	12.0	23.5	36.5	44.5	54.5	62.0	72.0
	9	175	4.57	26.29	46.86	61.71	71.43	78.86	83.42	87.43
I	6	100	0	15	33	45	53	64	74	83
	9	100	1	16	32	47	53	64	67	76
L	6	138	0.72	6.52	23.19	39.85	54.35	59.42	73.91	83.33
	9	196	6.12	20.41	38.78	55.61	65.31	71.43	75.53	81.63
M	6	251	7.17	22.71	42.23	56.18	64.14	71.31	75.30	86.45
	9	251	17.13	48.81	61.75	70.12	76.10	80.08	83.67	92.03
N	6	125	3.2	12.0	28.8	45.6	56.0	69.6	80.5	82.8
	9	229	2.62	17.03	37.55	51.09	57.21	64.63	71.62	82.10
O	6	125	3.2	19.2	36.8	52.8	61.6	67.2	72.8	83.2
	9	150	6.00	20.66	38.66	48.66	62.66	70.00	75.33	80.66
P	6	100	1	6	23	36	51	58	70	84
	9	257	4.23	18.29	45.91	58.75	68.48	77.04	80.16	86.38

Q	6	174	1.72	14.37	30.46	47.13	60.35	68.97	77.01	79.89
	9	200	2.5	18.5	42.5	58.70	70.0	78.5	88.5	89.0

Table 4 Summary of data of experiments for various substances

Substance	Reagent	No. of Individuals	Regression equation	Degree of freedom(n)	Probabilities in X^2 test
I					
A	4	100	$Y=4.6691+3.8892(X-0.8018)$	5	0.49556
	10	100	$Y=5.2200+4.5081(X-0.7104)$	6	0.37131
	1	100	$Y=3.7457+3.1371(X-0.8710)$	4	0.98240
	6	100	$Y=4.8934+3.6730(X-0.7607)$	6	0.02756
	8	100	$Y=5.1637+4.8346(X-0.7271)$	6	0.74434
B	9	100	$Y=5.1992+4.3304(X-0.7007)$	6	0.73033
	1	190	$Y=3.7200+3.2869(X-0.8425)$	5	0.96169
	6	200	$Y=5.0638+4.3334(X-0.7409)$	6	0.04517
	8	200	$Y=5.0765+5.5782(X-0.7444)$	6	0.81848
	9	100	$Y=5.2503+5.6120(X-0.6805)$	6	0.14742
C	1	100	$Y=3.5277+4.0414(X-0.8729)$	4	0.97634
	6	125	$Y=4.7878+4.5583(X-0.7799)$	6	0.99084
	8	143	$Y=5.2756+5.1957(X-0.7111)$	6	0.56656
	9	204	$Y=5.2134+5.3260(X-0.7169)$	6	0.73516
D	6	206	$Y=4.9576+4.1038(X-0.7569)$	6	0.40930
	8	148	$Y=5.0071+3.6520(X-0.7337)$	6	0.93925
	9	152	$Y=5.1935+3.4451(X-0.7034)$	6	0.92777
II					
F	4	100	$Y=5.0754+4.2711(X-0.7746)$	5	0.70693
	10	100	$Y=5.5228+4.0683(X-0.6017)$	5	0.02373
	6	100	$Y=5.0210+3.4614(X-0.7756)$	6	0.92102
	8	176	$Y=5.0243+3.7394(X-0.7353)$	6	0.26629
	9	152	$Y=5.1200+4.9850(X-0.7399)$	6	0.09252
G	6	148	$Y=4.9544+4.9856(X-0.7576)$	6	0.06731
	8	100	$Y=5.1213+4.6760(X-0.7310)$	6	0.22829
	9	93	$Y=5.0295+3.7305(X-0.7227)$	6	0.55800
H	6	150	$Y=4.9720+4.1937(X-0.7617)$	5	0.98933
	8	141	$Y=5.1363+4.3504(X-0.7175)$	6	0.60130
	9	229	$Y=5.1474+4.2933(X-0.7180)$	6	0.14540
J	6	100	$Y=5.1517+4.9866(X-0.7735)$	5	0.97489
	8	100	$Y=5.0493+4.7661(X-0.7718)$	5	0.92155
	9	300	$Y=5.0096+3.6699(X-0.7255)$	6	0.06691
K	6	100	$Y=5.0132+4.2824(X-0.7734)$	6	0.86616
	8	123	$Y=5.0859+4.4135(X-0.7612)$	6	0.29088
	9	143	$Y=5.0329+4.3766(X-0.7485)$	6	0.05591

R	6	100	$Y=5.1371+4.5180(X-0.7425)$	6	0.35470
	8	124	$Y=5.0634+4.3404(X-0.7325)$	6	0.93226
	9	149	$Y=4.9925+5.1610(X-0.7768)$	5	0.22444
II					
	4	100	$Y=4.7880+3.7677(X-0.7666)$	6	0.99120
	10	100	$Y=5.5037+4.1363(X-0.6354)$	6	0.93222
E	6	200	$Y=4.7830+3.3390(X-0.7506)$	6	0.99769
	9	175	$Y=5.1730+4.0039(X-0.6929)$	6	0.09209
I	6	100	$Y=5.0724+3.6734(X-0.7603)$	5	0.96710
	9	100	$Y=4.9265+3.8694(X-0.7443)$	6	0.53277
L	6	138	$Y=4.9188+4.7181(X-0.7561)$	6	0.72815
	9	196	$Y=5.0810+3.5575(X-0.7155)$	6	0.45698
M	6	251	$Y=5.1179+3.4816(X-0.7134)$	6	0.63372
	9	251	$Y=5.3748+3.0719(X-0.6657)$	6	0.03846
N	6	125	$Y=5.0362+4.2625(X-0.7431)$	6	0.80741
	9	229	$Y=5.0144+3.6936(X-0.7338)$	6	0.02765
O	6	125	$Y=5.0060+3.7730(X-0.7184)$	6	0.44304
	9	150	$Y=5.0520+3.4869(X-0.7216)$	6	0.77539
P	6	100	$Y=5.1647+4.0252(X-0.7117)$	6	0.05563
	9	257	$Y=5.2037+5.0161(X-0.7117)$	6	0.90625
Q	6	174	$Y=5.0235+4.3213(X-0.7353)$	6	0.01533
	9	200	$Y=5.1419+4.5653(X-0.7015)$	6	0.23011

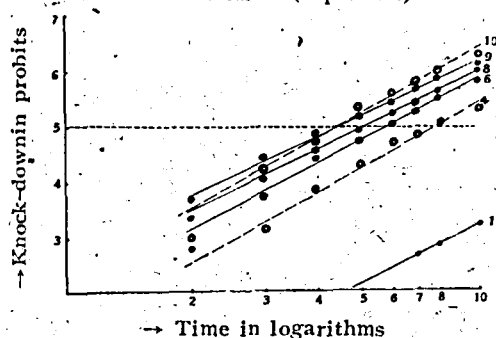
Table 5 Median equivalent of various substances

I				II				III			
Substance	Reagent	Median lethal time	Median equivalent	Substance	Reagent	Median lethal time	Median equivalent	Substance	Reagent	Median lethal time	Median equivalent
A	4	7.707	1.000	F	4	5.927	1.000	E	4	6.733	1.000
	10	4.587	0.595		10	3.024	0.510		10	3.254	4.833
	6	6.141	0.797		6	5.874	0.991		6	4.451	0.661
	8	4.935	0.640		8	5.355	0.903		9	6.540	0.971
B	9	4.967	*0.644	G	9	5.197	0.877	I	6	5.803	0.863
	6	5.300	0.688		6	5.887	0.993		9	5.798	0.861
	8	5.379	0.698		8	5.219	0.880		6	5.933	0.881
	9	4.323	*0.561		9	4.401	0.743		9	4.937	0.733
C	6	6.714	0.871	H	6	5.860	0.989	M	6	4.781	0.710
	8	4.551	*0.591		8	4.855	0.819		9	3.734	*0.563
	9	4.696	*0.645		9	4.827	0.814		6	5.312	0.789
	6	5.850	0.759		6	5.350	0.903		9	5.381	0.789
D	8	5.392	0.700	J	8	5.768	0.973	O	6	5.534	0.822
	9	4.438	*0.576		9	5.284	0.892		9	5.466	0.812
					6	5.592	0.943		6	6.095	0.890
					8	5.516	0.931		9	4.689	0.696
				K	9	5.503	0.929	P	6	6.095	0.890
									9	4.689	0.696
								Q	6	5.371	0.798

	R	6	5.155	0.870		9	4.682	0.695
		8	5.222	0.881				
		9	60.01	1.012				

Fig. 2

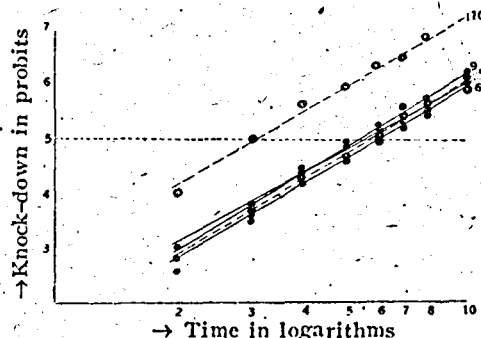
Knock-down curve (Piperonal)



此處に methylenedioxy group 以外の例外として Cumarin が効果を持つ事は構造上理解出来ると共に興味ある問題である。

Fig. 3

Knock-down curve (Vanillin)



仰臥効果と共に殺虫効果も亦併行的に行つたものであるがその結果は Table 6 の様である。

Table 6 の致死率に於ても大体仰臥率と同様の結果

Table 6 Mortality of Housefly against various Synergist

I				I				II			
Substance	Reagent	No. of Individuals	Mortality	Substance	Reagent	No. of Individuals	Mortality	Substance	Reagent	No. of Individuals	Mortality
A	4	100	55.00	F	4	100	50.00	E	4	74	35.14
	10	100	83.00		10	100	81.00		10	72	83.33
	1	100	19.00		6	100	41.00		6	77	61.04
	6	100	64.00		8	100	48.00		9	71	76.06
	8	100	64.00		9	125	66.40		6	48	52.83
B	9	100	75.00	G	6	147	59.18	I	9	75	57.33
	1	100	32.00		8	110	50.91		6	50	58.00
	6	102	54.90		9	122	49.18		9	121	51.24
C	8	176	64.77	H	6	100	41.00	M	6	78	56.41
	9	100	75.00		8	122	37.70		9	107	50.47
	1	100	18.00		9	179	60.34		6	23	65.21
	6	78	52.56		6	125	42.40		9	99	41.41
D	8	98	65.31	J	8	130	26.15	O	6	47	53.19
	9	162	72.37		9	200	53.00		9	46	53.95
	1	98	8.16		6	60	46.66		6	96	48.96
	6	124	62.90		8	123	56.91		9	124	40.73
	8	123	65.04		9	126	51.59	Q	6	101	40.59
	9	100	67.00	R	6	66	68.19		9	124	42.74
					8	124	45.97				
					9	125	57.60				

が見られる。而し此の Table 6 に於ては仰臥率に於て顕著な効果の見られた Cumarin が致死率に於ては methylenedioxy を持つものに比して遙かに劣るものである事が分る。

結 論

以上家蠅に対する仰臥並びに致死に対する試験を行つた結果化学構造上極めて類似した乍らも methylenedioxy を持つものゝみが顕著な協力効果を示す事は第

二報⁽¹⁾にも述べた様に methylenedioxyphenyl 基が協力剤として必須条件である事を確認出来た。本報に於ては側鎖の問題には触れ得なかつたが側鎖に ketone 基を持つものは更に優れた協力効果を持つであらう事は前報の実験からも推論される次第である。Cumarin が致仰眠効果を示し乍ら致死効果に於て劣る事も研究上何等かの示唆を持つものとして更に遂行して行きたいと思ふ。此の結論を更に検討せんがために目下側鎖の全くない methylenedioxy benzene (Brenzcatechin methyleneather), Ethylendioxybenzen (Brenzcatechin ethyleneather), 3,4-Methylene-dioxy toluene 等も合成しつゝある。

文 献

- 1) 中山弘美: 本誌, 15 (1950) 171.

Résumé

In previous paper the author had studied the synergistic effect of piperonylidene acetophenon, etc. with pyrethrins and had reported that methylenedioxy group has effect upon synergistic action with pyrethrins. In order to estimate the synergistic effect more exactly, the author used 18 substances (Table 1). And their synergistic effect with pyrethrins was studied in both knock-down and mortality (*Musca domestica* L.). As the insecticidal test the modified

turntable method (Fig. 1) was used that was able to study both knock-down activity and mortality. The preparing method of testing reagents is shown in Table 2. Twenty-five houseflies were holded in pot (D) and 1 cc of each testing reagents was sprayed into glass cylinder (A). And after 30 seconds the glass plate (C) was drawn off, then from 2 to 10 minutes the knock-down houseflies accounted every 1 minutes (Table 3; Fig. 2 and 3). After 10 minutes the houseflies were taken out from pot and after 1 day mortality was accounted (Table 6). The same tests were repeated over 4 times.

Based on the theoretical principal of the linear transformation of time-mortality curve developed by Bliss, the equation for regression line was calculated (Table 4). The values of X^2 indicate the agreement between the observations and the computed curves. To show the comparative effectiveness exactly, the median knock-down time was calculated (Table 5). From these results it may be understood that safrol derivatives have synergistic effect with pyrethrins in both knock-down and mortality.

綜 説

Mechanism of intoxication of pyrethrum insecticides-II, Problems of insect toxicology, I. Seiroku SAKAI, *Botyu kagaku* 15: 230, 1950.

37. 除虫菊剤の毒作用機構II. 昆虫毒物学の諸問題I. 酒井清六

電磁氣的描写研究

林 (34) はマツケムシ *Dendrolimus spectabilis* 終齢幼虫の背脈管に及ぼす Pyrethrin I, Rotenone, Nicotine, 弗素化合物の影響に就いて研究し、正常時の心筋の週期的収縮と薬剤のそれとを比較した。Pyrethrin I の濃度は 0.057%~0.0011% の 5 濃度を用い、その結果 0.05% の Linger 溶液では 20 個体平均 26 分で背脈管の致死を観察した。0.034% を作用させた場合は前濃度と同様に注入後直ちに収縮高を減少したが頻度には殆んど変化なく、収縮高は 40 分内外で最小となり、後再び恢復した。0.011%, 0.0057% では、夫々平均 2 時間内外、1 時間半内外で恢復し、0.0011% では作用後直ちに収縮高を減ずるが 8 分内外で恢復した。Pyrethrin I は濃度 0.035% 内外では一度低下した収縮高を恢復させるが、0.05~0.06

% になると作用を停止致死することを観察した。

Pyrethrin I, Rotenone, Nicotine は何れも心筋に対して痙攣的作用を呈するが、曲線を吟味すると夫々特異な薬理作用を示し、Pyrethrin I は急激に心筋に強く作用し、収縮性を低下させるが自働能には影響少なく、筋張力を多少低減させた。これは Rotenone の早期に自働能を犯し搏動週期特に休憩期を延長させることや Nicotine の様に筋張力を急激に高め限外収縮と補償休憩期が現はれる様な作用と異つてゐることを指摘した。その後林 (35) はマツケムシ終齢幼虫の体長 8.5cm 内外のものを用いて、更に神経組織に及ぼす Pyrethrin I の作用を研究した。終齢幼虫を腹位に Paraffin 板上に固定し、小刀で正中線に沿つて切開し、消食管を頭部より肛門部に向つて完全に切取り、胸腹部臓器を丁寧に取り除いた後、胸部