

Derleme

İyon Kanallarını Hedef Alan İsektisitler

Insecticides Targeting Ion Channels

Dilek KUMARGAL¹, Ülkü ÇÖMELEKOĞLU², Ali AŞKIN¹

¹Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, Mersin

Özet

İsektisitler, başta tarım olmak üzere birçok alanda yaygın olarak kullanılan böcek öldürücü kimyasal maddelerdir. İsektisitlerin böcekler üzerine etkileri çeşitli mekanizmalar ile olabilmektedir. Hücrede yaşamsal öneme sahip olan iyonların hücreye giriş-çıkışını kontrol etmede görev alan iyon kanalları, hücre zarına yerleşmiş olan transmembran proteinler olup, isektisitlerin böceklerdeki öldürücü etkisi için özgül bölgeleri oluştururlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar isektisitlerin etki ettikleri fizyolojik yolların memelilerde de benzer olabileceğini ve insan sağlığını tehdit edebileceğini göstermektedir. Bu derlemede, hücre zarındaki iyon kanallarını hedef alan isektisitler ve etki mekanizmaları incelenmiştir.

Anahtar Sözcükler: isektisitler; voltaj kapılı sodyum kanalları; klor kanalları; nikotinik asetilkolin reseptörleri; ryanodin reseptörleri

Abstract

Insecticides are chemical substances that have been widely used against insects in many areas, particularly in agriculture. Insecticides show their effect on insects with different modes of actions. Ion channels which control input and output of vital ions to the cell, are transmembrane proteins located in the cell membrane and form the specific sites for the killing effects of insecticides on insects. Recent studies have shown that the modes of action of insecticides could be similar to the physiological pathways in mammals and insecticides can threaten human health. In this review, the insecticides targeted to ion channels in the cell membrane and mechanisms of their action were examined.

Keywords: insecticides; ion channels; voltage gated sodium channels; chloride channels; nicotinic acetylcholine receptors; ryanodine receptors

Mersin Üniv Sağlık Bilim Derg, 2012;5(2):7-13

Geliş tarihi : 28.01.2013

Kabul tarihi : 01.04.2013

Yazışma adresi : Arş. Gör. Dilek KUMARGAL, Mersin Üniversitesi
Biyoloji Bölümü, Çiftlikköy Kampüsü, 33342-Mersin

Tel : 324 3610001/4597

Faks : 324 3610046

E-posta : dkumargal@yahoo.com

Giriş

Günümüzde, biyolojik kökenli doğal ürünlerden elde edilen veya yapay kökenli olan çok çeşitli ticari insektisit ülkemizde ve dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır. Zararlı böcekleri etkisiz hale getirmek için kullanılan insektisitlerin canlı organizmalar üzerine olan etkileri bilim dünyasının önemli bir araştırma konusudur. Son yıllarda moleküler biyoloji, biyokimya ve fizyoloji alanında yapılan çalışmalar, insektisitlerin canlı organizmada hangi hedef moleküller üzerine etki ettiklerine ilişkin bilgi birikiminin artmasını sağlamıştır (1).

Insektisitlerin hedef bölgeleri organizmada toksik etkilerini ortaya çıkarabilecekleri özgül biyokimyasal veya fizyolojik bölgelerdir (2). Dünya çapında yaygın olarak kullanılan ve hücre zarındaki iyon kanallarını hedef alan insektisitlerin genel olarak voltaj kapılı sodyum kanalları, gama-aminobütirik asit ve glutamat kapılı klor kanalları, nikotinik asetilkolin reseptörleri ve son yıllarda yapılan çalışmalara göre riyanodin reseptörleri üzerinde etkili olabildikleri bildirilmiştir (1-

5). Insektisitlerin iyon kanalları üzerine olan etkileri temel olarak üç bölümde sınıflandırılabilir: (i) iyon kanalı üzerine agonist etki (uyarılma), (ii) iyon kanalı üzerine antagonist etki (inhibisyon) ve (iii) iyon kanal modülasyonu (iyon kanallarının açılıp kapanma kinetiklerinin değiştirilmesi) (Tablo 1). Özellikle sinir sistemindeki iyon kanalları üzerine etki eden insektisitler, nöroeksitator veya nöroinhibitör özellikte olabilmektedir. Nöroeksitatorların tüm organizma düzeyinde araştırılan davranışsal etkileri hiperaktivite, sarsılma ve paraliz olabilmekteyken; nöroinhibisyonun sonuçları hareketsizlik ve zayıf paralizdir. Nöroeksitatorların etkileri hızlı oluşurken, nöroinhibitörlerin etkileri daha yavaş ortaya çıkar (1,2).

Voltaj kısıkaçı (*clamp*), akım kısıkaçı ve yama kısıkaçı gibi ileri yöntemlerin kullanıldığı gelişmiş elektrofizyolojik deneyler, radyoligant bağlanma, iyon akımı çalışmaları ve son yıllarda yapılan yabancı tür ve mutant iyon kanal alt ünitelerinin moleküler klonlanması ve işlevsel ekspresyonu ile ilgili çalışmaları içeren deneysel yaklaşımlar insektisitlerin, etki biçimlerini anlamamıza yardımcı olmaktadır (2).

Tablo 1. Yaygın kullanılan insektisitlerin hedef bölgeleri olan iyon kanalları ve etki biçimleri (2 no'lu kaynaktan düzenlenerek alınmıştır)

Hüresel Hedef Bölge	İnsektisit Sınıfı	Hedef Bölge Üzerine Etki Biçimi
Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları	DDT ve analogları Piretrin/Piretroit Dihidropirazol Oksadiazin	Kanalın kapanma kinetiğinin değişmesi Kanalın kapanma kinetiğinin değişmesi Antagonist etki Antagonist etki
GABA Kapılı Klor Kanalları	Siklodien Poliklorosikloalkan Fenilpirozol Avermektin	Antagonist etki Antagonist etki Antagonist etki Antagonist etki Agonist etki
Glutamat Kapılı Klor Kanalları	Avermektin Milbemisin Fenilpirozol	Agonist etki Agonist etki Antagonist etki
Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri	Nikotin / Neonikotinoit Spinosat* Nereistoksin / Nereistoksin benzeri bileşikler	Agonist etki Agonist etki Antagonist etki
Riyanodin Reseptörleri	Antranilik diamiit	Agonist etki

* GABA kapılı klor kanallarına da etkili olduğu bildirilmiştir.

Voltaj Kapılı Sodyum Kanalları

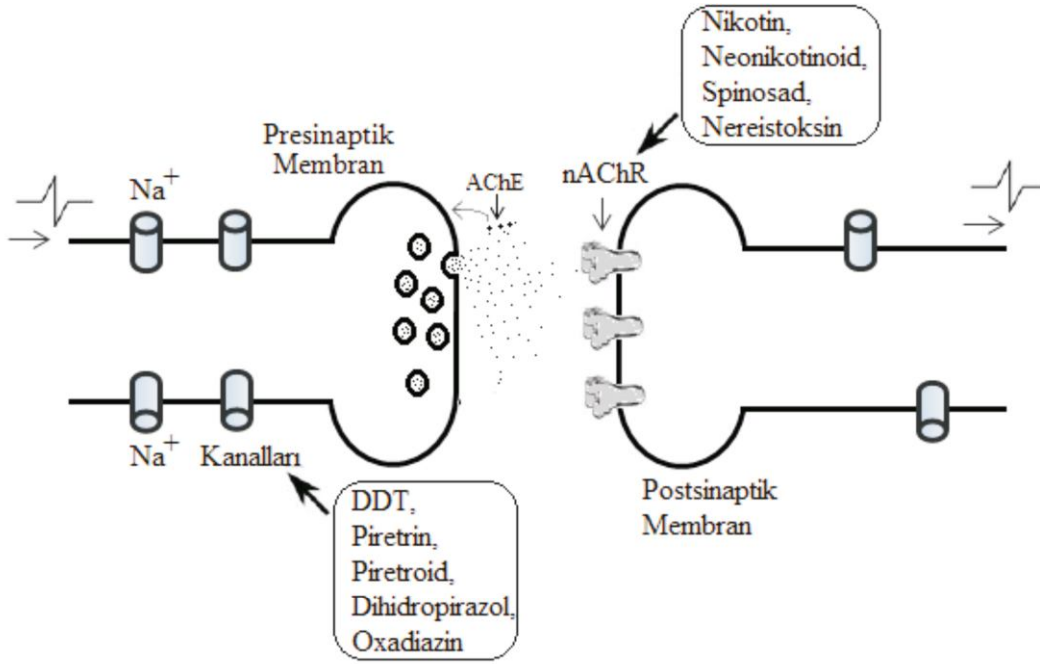
Voltaj kapılı sodyum kanalları uyarılabilir hücrelerde reseptör potansiyeli ve aksiyon potansiyeli oluşumundan sorumlu olan iyon kanallarıdır (2). Omurgalı sodyum kanalları birkaç milisaniye içerisinde açılarak zar depolarizasyonunu sağlarlar (etkinleşme), hemen sonrasında depolarizasyon sürse bile kapanarak etkisiz hale gelirler. Hepsisi yaklaşık 240-280 kDa

molekül ağırlığında olan α -alt ünitesine sahip glikoproteinlerdir. Beyindeki sodyum kanalları ayrıca yaklaşık 30 kDa ağırlığında $\beta 1$, $\beta 2$ ve $\beta 3$ polipeptit alt ünitesine sahiptir (1,3,6). Alfa alt ünitesi dört homolog ve birbirini izleyen *domain*lerden (I-IV) oluşmuştur. Bu dört *domain*in ortasında, hücre zarının depolarize olmasıyla sodyum iyonunun hücre içirisine girişine aracılık eden, merkezi bir delik (*pore*) bulunur. Her bir *domain* altı transmembran birime sahiptir (S1-S6). S4

birimi kanalın voltaja duyarlılığını oluşturan birimi olarak bilinmektedir (1). Çok sayıda biyolojik kökenli ve yapay toksin, sodyum kanallarının farklı bölgelerini etkileyerek işlevselliğini değiştirir (Şekil 1).

Dikloro difenil trikloroethan (DDT) ve analogları, doğal piretrinler, yapay piretroitler, dihidropirazoller ve oksadiazinleri içeren insektisitler sodyum kanalları üzerine etki ederler (1,2). Piretroidler, *Chrysanthemum cinerariaefolium* çiçeğinde bulunan ve doğal insektisit olan piretrinlerin yapay analoglarıdır (7). Piretroidler tip I (örneğin tetrametrin) ve tip II (örneğin deltametrin)

olarak sınıflandırılırlar. Tip II piretroitler, tip I piretroitlerden α -siyano-meta-fenoksibenzil grubunun varlığı nedeniyle ayrılmıştır (8). Tip I piretroidler memelilerde sarsılma, hipereksitasyon, kas koordinasyon bozukluğu, konvülsiyon ve paralizasyon neden olurken, tip II piretroidler koreoatetoz, salivasyon, istemsiz hareketler ve konvülsiyona neden olur (1). Ortaya çıkardıkları belirtilerin farklılığına karşın her iki türdeki piretroidlerin, ilk hedef bölgeleri sodyum kanallarıdır (4).



Şekil 1. Kolinergic sinaptaki iyon kanallarını hedef alan insektisitler. AChE; asetilkolinesteraz, nAChR; nikotinik asetilkolin reseptörü (1 no'lu kaynaktan düzenlenerek alınmıştır.)

Voltaj kıskacı çalışmaları, deltametrin gibi piretroidlerin; sodyum kanal etkisizleşmesini inhibe ederek, sodyum akımının uzamasına neden olduğunu göstermiştir (9). Ayrıca yapılan çalışmalar piretroidlerin, sodyum kanallarının etkinleşme kapılarının hem açılmasını hem de kapanmasını normale göre yavaşlatarak depolarizasyon süresini uzattığını göstermektedir. Normal koşullarda voltaj kapılı sodyum kanalları birkaç milisaniye açılır ve kanalın etkisizleşme durumuna geçmesi ile kapanır. Piretroitlerin varlığında (tetrametrin gibi) kanalın açılması uzun bir gecikmeyle olur ve sonrasında kanal birkaç saniye için açık kalır (1). Öte yandan DDT ve piretrinler de piretroitler gibi sodyum kanal kapılarının açılıp kapanma kinetiklerinin değişmesine neden olurlar. Piretroitlerin etkilerine benzer biçimde, DDT ve piretrinler sodyum kanallarının

daha düşük eşik değerde etkinleşmelerini veya normal durumlarda oluşan etkisizleşmenin gecikmesini sağlayarak etki ederler. Sonuç olarak nöronlarda uzun süren sodyum akımı ile nöronal işlevselliğin bozulması ve aşırı nöroeksitasyon oluşmaktadır. Sodyum kanal işlevinin moleküler mekanizması hakkında son zamanlarda yapılan çalışmalar göstermektedir ki; DDT, piretrin ve piretroit insektisitler gerçek agonist olarak etki etmekten daha çok kanalın allosterik modülasyonu boyunca kapılanma kinetiklerini değiştirerek etkilerini gösterirler (2).

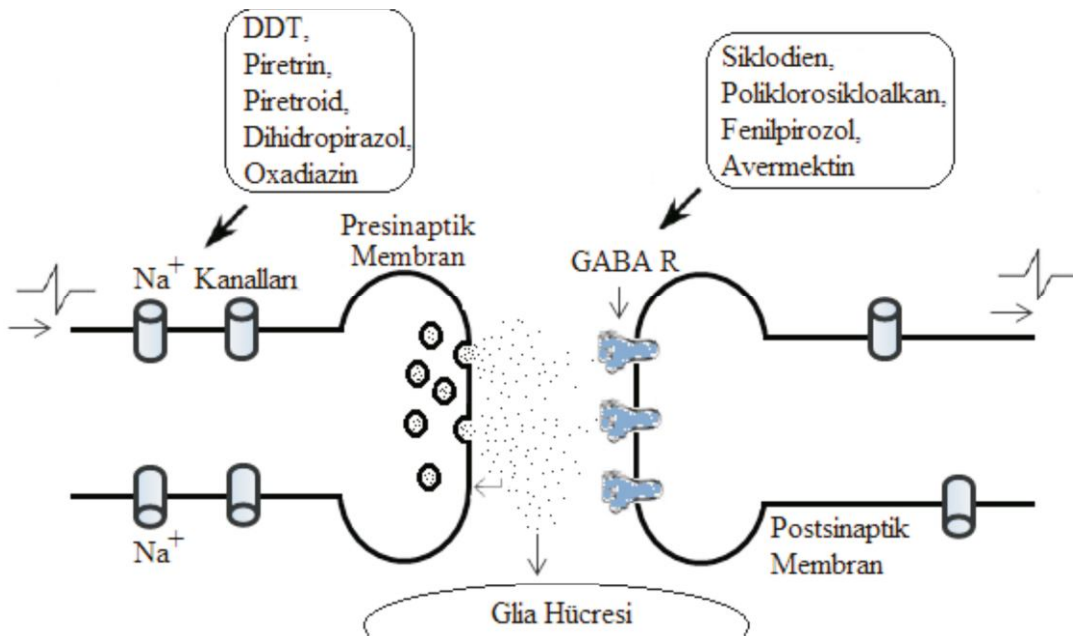
Bir başka insektisit sınıfı olan dihidropirozoller, sodyum kanal antagonisti olarak etki ederler. Nöronal düzeyde dihidropirozol toksisitesi, sodyum akımı blokajının bir sonucu olarak ortaya çıkar ve organizmanın felce uğramasına neden olur (2).

Dihidropirozoller, sodyum kanallarına bağlanıp onları etkisizleşme durumunda stabilize ederek hücredeki sodyum akımını engellerler(1,10). Bu etki, yukarıda anlatılan sodyum kanal toksinlerinin kapılanma kinetiklerini değiştirme etkisinden oldukça farklıdır. Bu sonuç dihidropirozollerin, sodyum kanalları üzerine etkisinin doğrudan kanal deliği üzerinden olduğunu göstermektedir(2).

Oksadiazinler, sodyum kanal blokleri olarak görev yapan en yeni insektisit sınıfıdır (1). Oksadiazinler, voltaj kapılı sodyum kanallarına bağlanan anestetik maddelerle aynı bölge üzerinden etkileşime girerler (11). Araştırmalar oksadiazinlerin, dihidropirozoller gibi voltaja duyarlı olarak sodyum kanallarını bloke ettiklerini göstermiştir. Oksadiazinlerin etkileri yapay piretroitler, doğal piretrinler ve DDT'den oldukça farklı olarak ortaya çıkar. Bloke edici bu etki mekanizmaları daha çok dihidropirozol insektisitlerinkine benzemektedir(1).

Gama-Aminobütirik Asit ve Glutamat Kapılı Klor Kanalları

İyonotropik gama-aminobütirik asit (GABA) ve glutamat kapılı klor kanalları, sinir sistemi ve sinir kas kavşağında inhibitör sinaptik iletme aracılık ederler. Hem GABA hem de glutamat reseptörleri klor iyonlarına geçiren ligant kapılı iyon kanal ailesine ait iyonotropik reseptörlerdir. Yapılarında liganın bağlandığı bir hücre dışı N-terminal bölge bulunduran pentamerik proteinlerdir. Bu beş alt ünitenin her biri, dört transmembran *domain* (M1-M4) ve M3 ile M4 arasında bulunan fosforilasyon bölgesini taşıyan geniş bir hücre içi zincire sahiptir (1). Transmitterlerin (GABA, glutamat), klor kanallarına bağlanması kanalın etkinleşmesini ve hücre içerisine klor iyonunun akışını başlatır. Böylece zar potansiyeli hiperpolarize duruma geçer ve hücre zarının direnci düşer (12). Bu kanalları aktive eden insektisitler sinir sisteminde nöroeksitasyon veya nöroinhibisyon oluştururlar (Şekil 2) (2).



Şekil 2. GABAerjik sinaptaki iyon kanallarını hedef alan insektisitler. GABA R; gama-aminobütirik asit reseptörü (1 no'lu kaynaktan düzenlenerek alınmıştır.)

Siklodienler ve poliklorosikloalkanlar gibi önceki insektisitlere ek olarak yeni fenilpirozoller, GABA kapılı klor kanallarını inhibe ederek etki gösterirler. Bu durumda klor kanallarının etkisizleştirilmesi ile nöroinhibitör klor akımının bloke edilmesi ve sonuç olarak nöroeksitasyon gerçekleşir (2). Böcekleri hedef alan bu GABA antagonisti olan insektisitlerin, memelilerdeki davranışsal etkileri hiperaktivite, hipereksitabilite ve konvülsiyondur (12). Öte yandan, GABA kapılı klor kanallarını etkileyen bir başka insektisit sınıfı avermektinlerdir. Avermektinler, GABA

kapılı klor kanallarını etkinleştirme özelliğine sahiptirler. Sinir hücrelerinde hücre içerisine klor iyon akışını artırarak sinirsel iletimin engellenmesine, paralize ve sonuç olarak ölüme neden olurlar (11).

İyonotropik glutamat reseptörlerinin bir alt grubu olan glutamat kapılı klor kanalları, yalnızca omurgasızların sinir ve kas hücre zarında yer almakla birlikte; memelilerdeki glisin reseptörüne oldukça benzerlik gösterirler (1,13-15). Glutamat kapılı klor kanallarına etki eden insektisitlerin başında avermektin ve milbemisin insektisitleri yer almaktadır (2).

Avermektinlerin öncül maddeleri ilk olarak, *Streptomyces avermitilis* adlı bakterinin fermantasyon ürünü olarak izole edilmiştir. Günümüzde, bu öncül maddelerin yarı yapay olanları ticari olarak üretilip piyasaya sunulan avermektin grubu insektisitlerdir. Avermektin ve milbemisin insektisit ailesinin ilk hedef bölgesi glutamat kapılı klor kanallarıdır (14,16). Yapılan çalışmalar avermektin grubu insektisitlerin, glisin reseptörü üzerine de etki ettiğini; ancak insektisitlerin glisinin reseptörüne bağlanma bölgelerinin glutamat kapılı klor kanallarından farklı olabileceğini göstermektedir (17,18). Avermektin ve milbemisin insektisitler agonist olarak etki ederek nöronlar içerisinde klor iyon akışını artırır. Hücre zarında artan klor akımları pozitif yüklü uyarının bozulmasına ve hücre içi hiperpolarizasyon ile nöroinhibisyona neden olur (2). Son yıllarda yapılan çalışmalar, fenilpirazol insektisit grubundan olan fipronilin yalnızca GABA kapılı klor kanallarına değil; aynı zamanda glutamat kapılı klor kanallarını da bloke ederek antagonist etki ortaya çıkardığını göstermiştir (1).

Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

Nikotinik asetilkolin reseptörleri böcekler ve memelilerin sinir sisteminde bulunan temel uyarıcı iyonotropik reseptörlerdir. Memelilerde ayrıca sinir kas kavşağında kas hücre zarı üzerinde bol miktarda bulunurlar (1). Nikotinik asetilkolin reseptörleri beş homolog polipeptit alt üniteden oluşur. Bu beş polipeptit alt ünite aynı dizilime sahip olup, her bir alt ünite dört transmembran zincirinden (M1-M4) oluşmaktadır. Reseptörün hücre dışına yerleşen, uzun N-terminal bölümü uyarıcı özellikteki bir nörotransmitter olan asetilkolinin bağlanma bölgesidir. Reseptöre asetilkolinin bağlanmasıyla birlikte, nikotinik asetilkolin reseptörünün merkezinde yer alan iyon kanalından, katyon iyon akışı (özellikle Na⁺ ve K⁺ iyonları) gerçekleşir (19). Böylece sinaps sonrası sinir veya kas hücre zarı depolarize olurken aksiyon potansiyelinin oluşumu tetiklenmiş olur.

Nikotinik asetilkolin reseptörleri, neonikotinoit/kloronikotiniil, spinosat/spinosoit, nereistoksin ve nereistoksin benzeri insektisitler gibi geniş yelpazede kullanılan insektisitlerin hedef bölgesidir (Şekil 1). Neonikotinoitler, sigaranın etken maddesi olması dışında tarım alanlarında da doğal bir insektisit olarak kullanılan nikotine yapısal benzerlik gösteren ve ortak etki biçimleri olan yapay insektisitleri kapsamaktadır (20-22). Spinosat ise *Saccharopolyspora spinosa* bakterisinden elde edilen doğal bir insektisittir (23). Spinosat tetrasiklik makrolit yapısında olan spinosin A (%85) ve spinosin D (%15) bileşiklerinin karışımından oluşmaktadır (24). Spinosadın yapay türeği olarak spinosoit insektisitler üretilmiştir (1). Hem nikotin ve neonikotinoit, hem de spinosat ve türeği olan insektisitler, sinir sistemindeki nikotinik asetilkolin reseptörlerine bağlanıp agonist gibi etki ederek nöroeksitasyon yaratırlar (2). Benzer etkiye sahip

olmalarına karşın nikotin ve neonikotinoitler ile spinosat ve türevlerinin nikotinik asetilkolin reseptörlerindeki farklı bölgeler üzerinden etki ettikleri bilinmektedir (11,25). Bu iki tür insektisitinin ilk toksik belirtisi, nikotinik asetilkolin reseptörü üzerine gösterdikleri agonist etki ile ortaya çıkan nöroeksitasyon iken; öte yandan uzun süren nöroinhibitör etkileri de gösterilmiştir. Ayrıca, spinosat bir başka ligant kapılı iyon kanallarından GABA reseptörü üzerine de etkili olabilmektedir (1,2,26) ancak reseptör üzerine spinosadın ayrıntılı etki mekanizması henüz açıklık kazanmamıştır.

Nereistoksinin ve nereistoksin benzeri insektisitlerin (kartap, bensultap, tiyosiklam), nikotinik asetilkolin reseptörü üzerine etkileri neonikotinoit ve spinosat insektisitlerden farklıdır. Nereistoksin, bir deniz solucanı olan *Lumbriconereis heteropoda*'dan izole edilen nörotoksik bir maddedir (1). Nereistoksin benzeri insektisitler ise, doğal bir toksin olan nereistoksinin yapısından köken alan yapay insektisitlerdir (1). Yapılan çalışmalar nereistoksin ve yapay analoglarının, omurgalı nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerine kanal blokleri olarak görev yaparak inhibitör nörotoksisite oluşturduğuna göstermiştir (1,27-29).

Riyanodin Reseptörleri

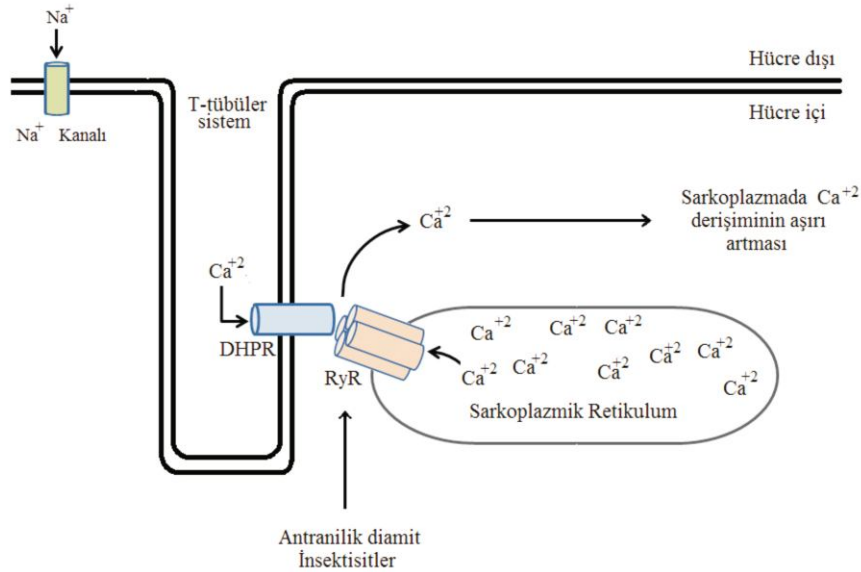
Riyanodin reseptörleri, kaskontraksiyonu için kritik öneme sahip olan, hücre içi kalsiyum depolarından kalsiyumun salıverilmesini düzenleyen, voltaja duyarlı olmayan kalsiyum kanallarıdır. Bir bitki türü olan *Ryania speciosa*'dan izole edilen ve doğal bir insektisit olan riyanodin maddesine duyarlılığı nedeniyle, bu reseptörlere riyanodin reseptörleri denmiştir (30). Riyanodin reseptörleri yalnızca kas hücrelerinde değil, nöronlarda, ekzokrin bezi hücrelerinde, epitel hücrelerde ve lenfositlerde olmak üzere birçok hücrede bulunurlar (31). Riyanodin reseptörleri, hücrelerde nörotransmitter salıverilmesini, hormon salgılanması, lenfositlerin etkinleşmesi ve yumurta hücrelerinin fertilizasyonu gibi hücresel olaylarda, hücre içi serbest kalsiyum derişiminin düzenlenmesinde temelrol oynarlar (32).

Riyanodin reseptörleri, kalp ve iskelet kası hücre zarlarında, t-tübül ile sarkoplazmik retikulum zarlarında, yaklaşık 12 nm'lik aralık kalmasını sağlayan bir köprü ayağı yapısındadır (33). Riyanodin reseptörleri bilinen en büyük iyon kanallarıdır. Dört parçalı yaprak şeklinde homotetramer sitoplazmik bir bölüme (34,35), sitoplazmik bölümden sarkoplazmik retikulum lümenine uzanan kısa bir transmembran parçaya sahiptir (36). Homotetramer yapı, her biri yaklaşık 5000 amino asitten oluşan, simetrik dört alt üniteden oluşur (32).

Antranilikdiamit insektisitler, hedef bölgesi riyanodin reseptörleri olan ilk insektisit grubudur (37). Radyoligant bağlanma çalışmaları bu bileşiklerin, riyanodin reseptörlerinde riyanodin molekülünden farklı bir bölgeye bağlandığını göstermiştir (5). Antranilikdiamit bileşiklerinin riyanodin reseptörlerini aktive

etmeleri ile hücre içi kalsiyum depolarından sitoplazmaya doğru düzensiz kalsiyum akışının oluşması sonucunda, depolarda kalsiyumun azalmasına,

sitoplazmada kalsiyum derişiminin artmasına, kas kontraksiyonuna ve kas paralizine neden olur (Şekil 3) (38,39). Sonuç olarak, hücre zarında bulunan ve sinyal



Şekil 3. Çizgili kasta t-tubuler sistem ve antranilikdiamit insektisitlerin ryanodin reseptörlerini aktive etmeleri sonucunda sitoplazmadaki kalsiyum derişiminin aşırı artması. RyR; ryanodin reseptörü, DHPR; dihidropiridin reseptörü

iletiminde görev alan iyon kanalları birçok insektisit grubunun ilk hedef bölgesi olarak karşımıza çıkmaktadır. Yapılan araştırmalar iyon kanalları üzerine etkili olan insektisitlerin etki mekanizmalarının farklı olabileceğini ve canlıların yaşamsal fonksiyonlarını tehdit edebileceğini göstermektedir. İsektisit çeşitliliğinin fazla olması ve her geçen gün yeni insektisit gruplarının piyasaya sürülmesi insektisitlerin yalnızca böcekler üzerine değil, insanlar üzerine de olabilecek muhtemel etkilerinin araştırılmasının önemini ortaya koymaktadır.

Kaynaklar

1. Raymond-Delpech V, Matsuda K, Sattelle BM, Rauh JJ, Sattelle DB. Ion channels: molecular targets of neuroactive insecticides. *Invert Neurosci* 2005;5(3-4):119-33.
2. Scharf ME. Neurological effects of insecticides. In: Pimental D Eds.; *Encyclopedia of Pest Management*, New York, Marcel-Dekker, 2003:1-5.
3. Zlotkin E. The insect voltage-gated sodium channel as target of insecticides. *Annu Rev Entomol* 1999;44 (1):429-55.
4. Narahashi T. Neuroreceptors and ion channels as the basis for drug action: past, present, and future. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 2000;294 (1):1-26.
5. Cordova D, Benner EA, Sacher MD, Rauh JJ, Sopa JS, Lahm GP, Selby TP, Stevenson TM, Flexner L, Gutteridge S, Rhoades DF, Wu L, Smith RM, Tao Y. Anthranilic diamides: A new class of insecticides with a novel mode of action, ryanodine receptor activation. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 2006;84(3):196-214.
6. Morgan K, Stevens EB, Shah B, Cox PJ, Dixon AK, Lee K, Pinnock RD, Hughes J, Richardson PJ, Mizuguchi K, Jackson AP. β_3 : an additional auxiliary subunit of the voltage-sensitive sodium channel that modulates channel gating with distinct kinetics. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(5):2308-13.
7. Hitmi A, Coudret A, Barthelemy C. The production of pyrethrins by plant cells and tissue cultures of *Chrysanthemum cinerariaefolium* and *Tagetes* species. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2000;35(5):317-37.
8. Sattelle DB, Yamamoto D. Molecular targets of pyrethroid insecticides. *Adv Insect Physiol* 1988;20(1):147-213.
9. Laufer J, Pelhate M, Sattelle DB. Actions of pyrethroid insecticides on insect axonal sodium channels. *Pest Sci* 1985;16(6):651-61.
10. Salgado VL. Slow voltage-dependant block of sodium channels in crayfish nerve by dihydropyrazole insecticides. *Mol Pharmacol* 1992;41(1):120-6.
11. Nauen R, Bretschneider T. New modes of action of insecticides. *Pesticide Outlook* 2002;13(6):241-5.

12. Bloomquist JR. Chloride channels as tools for developing selective insecticides. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 2003;54(4):145–56.
13. Cleland TA. Inhibitory glutamate receptor channels. *Mol Neurobiol* 1996;13(2):97-136.
14. Cully DF, Wilkinson H, Vassilatis DK, Etter A, Arena JP. Molecular biology and electrophysiology of glutamate-gated chloride channels of invertebrates. *Parasitol* 1996;113(S1):S191-S200.
15. Wolstenholme AJ. Glutamate-gated chloride channels. *The Journal Of Biological Chemistry* 2012;287(48):40232-8.
16. Dent JA, Smith MN, Vassilatis DK, Avery L. The genetics of ivermectin resistance in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97(6):2674-9.
17. Shan Q, Haddrill JL, Lynch JW. Ivermectin, an unconventional agonist of the glycine receptor chloride channel. *The Journal of Biological Chemistry* 200;276(16):12556-64.
18. Lynagh T, Webb TI, Dixon CL, Cromer BA, Lynch JW. Molecular determinants of ivermectin sensitivity at the glycine receptor chloride channel. *The Journal of Biological Chemistry* 2011;286(51):43913-24.
19. Karlin A. Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nature Rev Neuroscience* 2002;3(2):102-14.
20. Casida JE, Quistad GB. Golden age of insecticide research: past, present and future. *Annu Rev Entomol* 1998;43(1):1-16.
21. Copping LG, Menn JJ. Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag Sci* 2000;56(8):651-76.
22. Tomizawa W, Yamamoto I. Structure-activity relationships of nicotinoids and imidacloprid analogs. *J Pestic Sci* 1993;18(1):91-8.
23. Bret BL, Larson LL, Schoonover JR, Sparks TC, Thompson GD. Biological properties of spinosad. *Down Earth* 1997;52(1):6-13.
24. Sparks TC, Kirst HA, Mynderse JS, Thompson GD, Turner JR, Jantz O, Hertlein MB, Larson LL, Baker PJ, Broughton MC. Chemistry and biology of the spinosyns: components of spinosad (Tracer), the first entry into Dow Elanco's naturalyte class of insect control products. In: Dugger P, Richter D Eds., Proceedings of the 1996 Beltwide Cotton Production Conference, Memphis, National Cotton Council of America, 1996:692-6.
25. Copping LG, Menn JJ. Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag Sci* 2000;56(8):651-76.
26. Watson GB. Actions of insecticidal spinosyns on caminobutyric acid responses from small-diameter cockroachneurons. *PestBiochemPhysiol*2001;71(1):208.
27. Millar NS, Denholm I. Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invert Neuroscience* 2007;7(1):53-66.
28. Nagata K, Iwanaga Y, Shono T, Narahashi T. Modulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptor channel by imidacloprid and cartap. *Pest Biochem Physiol* 1997;59(2):119-28.
29. Lee SL, Tomizawa M, Casida JE. Neristoxin and cartap neurotoxicity attributable to direct block of the insect nicotinic receptor/channel. *J Agric Food Chem* 2003;51(9):2646-52.
30. Lahm GP, Cordova D, Barry JD. New and selective ryanodine receptor activators for insect control. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2009;17(12):4127-33.
31. Lanner JT, Georgiou DK, Joshi AD, Hamilton SL. Ryanodine receptors: structure, expression, molecular details, and function in calcium release. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010;2(11):1-21.
32. Capes EM, Loaiza R, Valdivia HH. Ryanodine receptors. *Skeletal Muscle* 2011;1(5):1-13.
33. Franzini-Armstrong C, Protasi F, Ramesh V. Comparative ultrastructure of Ca²⁺ release units in skeletal and cardiac muscle. *Ann N Y Acad Sci* 1998;853:20-30.
34. Inui M, Saito A, Fleischer S. Purification of the ryanodine receptor and identity with feet structures of junctional terminal cisternae of sarcoplasmic reticulum from fast skeletal muscle. *J Biol Chem* 1987;262(4):1740-7.
35. Wagenknecht T, Grassucci R, Frank J, Saito A, Inui M, Fleischer S. Three dimensional architecture of the calcium channel/foot structure of sarcoplasmic reticulum. *Nature* 1989;338(6211):167-70.
36. Serysheva II. Structural insights into excitation-contraction coupling by electron cryomicroscopy. *Biochemistry (Mosc)* 2004;69(11):1226-32.
37. Lahm, GP, Myers BJ, Selby TP, Stevenson TM. PCT Int. Appl. 2001070671, 2001. *Chem Abstr* 2001;135:272754.
38. Dekeyser MA. Acaricide mode of action. *Pest Manag Sci* 2005;61(2):103–10.
39. Bloomquist JR. Ion channels as targets for insecticides. *Annu Rev Entomol* 1996;41:163–90.