

- 5) Tsumuki, H., T. Saito, T. Miyata and K. Iyatom: Biochemical toxicology of insecticides. (Ed. R. D. O'Brien et I. Yamamoto) Academic Press Inc., New York, 65 (1970).
- 6) 岡武栄三郎, 児玉泰, 信友浩一, 占部倫子, 石西伸: 日衛誌, 27, 111 (1972).

Summary

^{32}P - and 3,6-pyridazine- ^{14}C -pyridafenthion were administrated orally to mouse and rat, and the excretion in the urine at regular interval after treatment and the radioactivity of the feces and various organs at 24 hours after treatment were investigated. In all cases, more than 70% of administrated dose was excreted in the urine as decomposed products as in the case of fenitrothion.

When the animals were fed for a 3 weeks

period with unlabeled pyridafenthion at level of 100 ppm on a dairy matter and water, the rate of excretion of ^{32}P - and ^{14}C -pyridafenthion was not changed as in the case of ^{32}P -fenitrothion.

The greater part of administrated insecticide was excreted in the urine as water soluble substances. The main metabolites were phenyl maleic hydrazide and desethyl-pyridafenthion-oxon in the case of rat, and were phenyl maleic hydrazide and its glucuronide in the case of mouse, respectively.

Therefore, the main breakdown position of pyridafenthion in mouse and rat was the cleavage of P-O-aryl bond.

^{14}C -Phenyl maleic hydrazide and ^{32}P -O, O-diethyl phosphorothioic acid were excreted simultaneously and rapidly.

Metabolism of NS 2662 in the Mouse. Tadashi MIYATA and Tetsuo SAIRO (Laboratory of Applied Entomology and Nematology, Faculty of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya, Japan.) Received January 23, 1972. *Botyu-Kagaku*, 38, 81, 1973 (with English Summary 86)

12. マウスにおける NS 2662 の代謝¹⁾ 宮田 正, 斎藤哲夫 (名古屋大学農学部害虫学教室, 名古屋市千種区不老町) 48. 1. 23 受理

^{32}P -NS 2662 をマウスに経口投与し, 尿, 糞への排出速度, マウス全体およびマウス肝臓, 脳における代謝をしらべた。

1) マウスに経口投与した ^{32}P -NS 2662, ^{32}P -DMVP, ^{32}P -trichlorfon および ^{32}P -dichlorvos はともに投与12時間後には投与量の70~80%が体外に排出された。 ^{32}P -NS 2662 および ^{32}P -trichlorfon を経口投与し, マウス全体による代謝をしらべたところ, 両薬剤ともワモンゴキブリの場合に比べ一層急激に代謝され, それぞれの生物学的半減期は ^{32}P -NS 2662 では約90分, ^{32}P -trichlorfon では約80分であった。

2) 尿中およびマウス全体の分解物は, NS 2662 では大部分 dimethyl phosphoric acid と phosphoric acid であったが, trichlorfon の場合では前記2化合物の他 desmethyl-dichlorvos と monomethyl phosphoric acid も認められた。

3) マウスにおける NS 2662 の低毒性の原因の一つとして, マウスにおいて NS 2662 が急激に代謝, 排出されるためと考えられた。またマウスにおける NS 2662 の主要な代謝経路は P-C 結合の開裂と考えられた。

NS 2662 (O, O-dimethyl 2, 2-dichloro-1-hydroxyethyl phosphonate) をマウスに経口投与したところ, 有機リン剤中毒特有の激しい興奮, けいれん症状を示さず, まひ状態を呈し死亡し, その毒性も対照にもち

いた trichlorfon より更に低かった。しかし, NS 2662の脱塩酸物質 DMVP (O, O-dimethyl 2-mono-chlorovinyl phosphate) を経口投与したマウスでは激しい興奮, けいれん症状を示し, 死亡し, 毒性も高かった¹⁾。

¹⁾ 本研究の一部は昭和46年度文部省科学研究費の援助を受けた。

Trichlorfon の低毒性について, DuBois and Cot-

ter²⁾はその原因の一つは哺乳類において trichlorfon の分解が速いことによると報告している。Robbins *et al.*³⁾は乳牛において trichlorfon の重要な解毒代謝経路は P-C 結合の開裂ではないと報告しているが、Arthur and Casida⁴⁾は、哺乳動物における trichlorfon の代謝経路は P-C 結合の開裂であり、これが低毒性の原因であるとしており解毒代謝の一致した見解はない。

本研究では NS 2662 のマウスでの低毒性の原因を明らかにするため、対照に ³²P-trichlorfon をもちい、³²P-NS 2662 をマウスに経口投与し、尿、糞への排出速度、マウス全体およびマウス脳、肝臓における代謝についてしらべた。

本文に入るに先だち、いろいろご指導ご援助いただいた弥富喜三名古屋大学名誉教授、岡山大学農業生物研究所兼久勝夫助教、農林省農事試験場虫害第二研究室室長西沢務農林技官、名古屋大学農学部本多八郎文部技官の方々に感謝の意を表す。

材料および方法

供試動物：実験にもちいたマウスは、日本クレア株式会社より入手した ICR-JCL 系の雄で、水と CE-2 型固型飼料（日本配合飼料株式会社製）を与えて飼育した。

供試薬剤：³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon は Acree *et al.*⁵⁾の方法に準じ ³²P-dimethyl phosphite と dichloroacetaldehyde または chloral とを縮合させて得たものであり、実験開始時両薬剤の放射能強度は Aloka-薄窓ガスフロー自動測定装置をもちいて測定した時に、³²P-NS 2662 は 1,300 c. p. m./ γ 、³²P-trichlorfon は 1,700 c. p. m./ γ であった。³²P-DMVP および ³²P-dichlorvos は Barthel *et al.*⁶⁾の方法に準じ、それぞれ ³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon から脱塩酸反応により合成した。これら放射性化合物については、Metcalf *et al.*⁷⁾の方法に準じペーパークロマトグラフィーにより純度をしらべたところ、いずれも95%以上であった。

マウス尿、糞への ³²P-NS 2662, ³²P-DMVP, ³²P-trichlorfon および ³²P-dichlorvos の排出：³²P-NS 2662, ³²P-DMVP, ³²P-trichlorfon および ³²P-dichlorvos はそれぞれ非放射性的な薬剤で稀釈し、マウス1頭あたり、それぞれ60mg, 6.2mg, 6.2mg および 8.34 mg を 0.2 ml のプロピレングリコールに溶かし、胃ゾンデにより強制投与を行なった。その後マウスを1頭ずつ代謝ケージに入れ、水と固型飼料を与え、一定時間毎に尿と糞を回収した。尿はその10%、糞は全部を放射能測定用試料皿にとり、2%カ性ソーダのアルコール液2~3滴を滴下し、赤外線ランプ下で乾燥さ

せた。糞については300°Cに1時間おき灰化した。これら試料は Aloka-薄窓ガスフロー自動測定装置で常法により放射能を測定し、薬量に換算した。³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon を投与したマウスの尿については、投与24時間後までに回収したものを合し、等量のクロロホルムで5回抽出した後、さらに80%アルコールで3回抽出を行なった。これら抽出物の一定量を放射能測定用試料皿にとり、さきと同様に操作し、放射能を測定した。これらの抽出物は宮田ら⁸⁾と同様に操作し、未分解物については Metcalf *et al.*⁷⁾の方法に準じ、分解物については Plapp and Casida⁹⁾の方法に準じペーパークロマトグラフィーを行なった。展開後ろ紙をよく風乾させ、Aloka-4 π 低バックグラウンドペーパークロマトグラム自動測定装置により放射能を測定した。

マウス全体における ³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon の代謝：³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon をマウスにさきと同様に経口投与し、代謝ケージに入れた。一定時間毎にマウスを取り出し、液体窒素中で凍結し、-20°C に保存した。糞は-20°C に、尿は4°C に保存した。その後マウスを糞とともに小型ミンチにかけ、その一部をとり少量のクロロホルムと水でまさいした。この中に4°C で保存しておいた尿を同じ割合になるように加え、前項と同様に操作し、未分解物、分解物、組織結合物に分離した。

マウス脳、肝臓における ³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon の代謝：³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon を前項と同様にマウスに経口投与し、一定時間毎にマウスを解剖し、脳と肝臓を摘出し、前項と同様に操作し、未分解物、分解物、組織結合物に分離した。

以上実験はすべて3回反復を行なった。

結果および考察

マウスに経口投与した ³²P-NS 2662, ³²P-DMVP, ³²P-trichlorfon および ³²P-dichlorvos は第1図のごとく投与後ともに急速に代謝され、12時間後には投与量の70~80%が体外に排出されていた。排出されたものの80%以上は尿中に存在していた。尿中に排出されたものの大部分は分解物で、未分解物は数%以下であった。糞においても大部分が分解物であり、未分解物は数%以下であった¹⁰⁾。

³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon を経口投与したマウス全体における未分解物、分解物、組織結合物の割合を示せば第2図のごとくである。第1図の結果からも予想されたごとく、両薬剤とも急激に代謝され、未分解物は1時間後、4時間後には NS 2662 では約60%、25%であり、trichlorfon では約55%、25%で

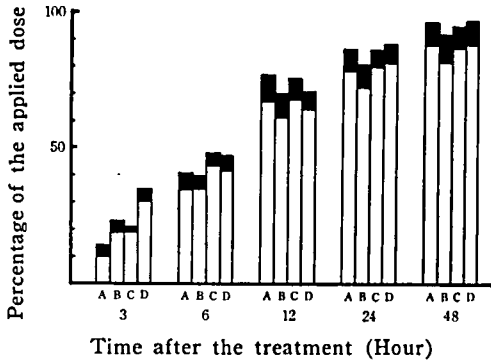


Fig. 1. The excretion rates to the urine and feces of NS 2662, DMVP, trichlorfon and dichlorvos applied orally to the mouse.

A: NS 2662 □ : Urine
 B: DMVP ■ : Feces
 C: Trichlorfon
 D: Dichlorvos

あった。

DuBois and Cotter²⁾ はラットに trichlorfon を投与し、血清中の trichlorfon の量をしらべ、150mg/kg の薬量を投与したラットでは、60分後にほとんど消失していたことから、この急激な解毒がラットにおける低毒性の一原因であるとした。

宮田ら³⁾ は、³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon のワモンゴキブリにおける代謝をしらべ、両薬剤ともワモンゴキブリ体内で急速に代謝されると報告してい

るが、マウス体内ではワモンゴキブリに比べ一層急速に代謝され、それぞれの生物学的半減期は ³²P-NS 2662 は約90分、³²P-trichlorfon では約80分であった。

³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon を投与したマウス脳および肝臓におけるこれら両薬剤の未分解物、分解物および組織結合物の薬量を第1表に示した。脳における未分解物薬量の消長は両薬剤とも同様の傾向を示し、投与15~30分後に最大値を示した。NS 2662 では脳中の分解物薬量も時間とともに減少したが、trichlorfon ではほとんど変化が認められなかった。肝臓は多くの薬物の解毒組織と考えられているが、肝臓における未分解物量は、投与15~30分後まではかなり多かったが、60分以後は急激に減少した。一方分解物の薬量は投与4時間後の範囲内では、未分解物量に比べ少なかった。また肝臓では脳に比べ、結合物の占める割合が大きかった。

脳および肝臓に存在する未分解物の薬量と、各組織の水分含量とから、マウス脳および肝臓における未分解物の薬剤濃度を求め第3図に示した。NS 2662 と trichlorfon では全般に NS 2662 の方が高濃度に薬剤が存在していた。投与15~30分後には NS 2662 では 10^{-3} M、trichlorfon では 10^{-4} M 程度存在していた薬量も、急激に代謝され4時間後には脳では NS 2662 は 4.5×10^{-6} M、trichlorfon では 1.9×10^{-6} M に減少していた。第2図の結果と比べ、当然のことながら肝臓における代謝はマウス全体の代謝よりかなり先行していると考えられる。

尿中における ³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon

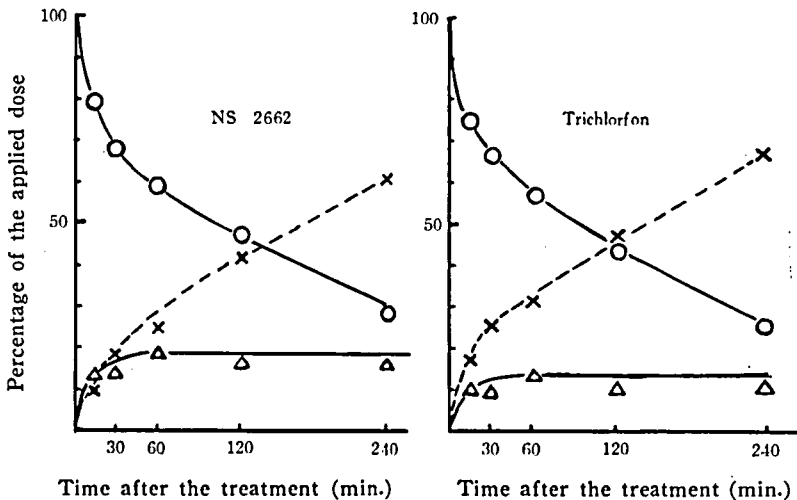


Fig. 2. Metabolism of ³²P-NS 2662 and ³²P-trichlorfon in the mouse whole body.

○—○ Chloroform extracts, ×---× Water extracts
 △—△ Tissue conjugates

Table 1. Amount of metabolites of NS 2662 and trichlorfon in the mouse brain and liver. (γ /tissue g)

Time after the treatment (min.)	Brain			Liver		
	Chloroform extracts	Water extracts	Tissue conjugates	Chloroform extracts	Water extracts	Tissue conjugates
	NS 2662					
15	58.4	68.1	66.2	790	775	271
30	75.7	44.6	1.22	423	492	52.0
60	15.7	32.2	1.57	36.2	449	55.1
120	9.9	34.2	0.76	46.8	496	83.1
240	3.2	10.2	0.53	10.2	185	42.5
	Trichlorfon					
15	28.2	4.0	0.11	188	335	42.2
30	26.3	6.44	0.68	104	375	37.7
60	7.58	4.14	0.48	28.9	260	30.9
120	4.14	5.76	0.21	16.7	118	25.9
240	1.61	6.66	0.41	6.4	198	43.4

Values are calculated as NS 2662 or trichlorfon from the radioactivity.

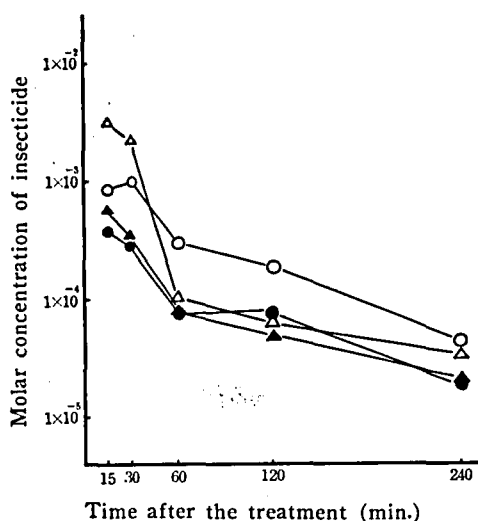


Fig. 3. Concentration of chloroform extracts in the mouse brain and liver.

- NS 2662-brain
- △—△ NS 2662-liver
- Trichlorfon-brain
- ▲—▲ Trichlorfon-liver

の未分解物について Metcalf *et al.*¹⁰⁾の方法に準じ、ペーパークロマトグラフィーで成分の分離を行なったところ、未分解物の大部分は脱塩酸物質で、投与したものの NS 2662 または trichlorfon は存在量の 3% 以下であった。しかし、これは NS 2662 および

trichlorfon がその脱塩酸物質として尿中に排出されたものか、NS 2662 および trichlorfon として排出されたものが、その後脱塩酸物質に変化したものかどうかは不明である。

マウス全体における未分解物を同様にペーパークロマトグラフィーで成分の分離を行なったところ、尿の場合とは逆に大部分が NS 2662 および trichlorfon で、未分解物中に占める脱塩酸物質の割合は 0.5% 以下であった。

マウス脳における未分解物については大部分 (80~90%) が NS 2662 または trichlorfon で、それらの脱塩酸物質は 10~20% であった。

水溶性分解物については、Plapp and Casida⁹⁾の方法によりペーパークロマトグラフィーを行ない、第 2 表に示した。尿中およびマウス全体の分解物は、NS 2662 では大部分 dimethyl phosphoric acid と phosphoric acid であったが、trichlorfon を投与したマウス尿からは前記 2 化合物の他 desmethyl-dichlorvos と monomethyl phosphoric acid もかなり認められた。

Hassan *et al.*¹¹⁾ はラットにおける trichlorfon の解毒について研究し、投与 48 時間後で投与量の 75~85% が尿中に排出され、その代謝物は 60~70% が dimethyl phosphoric acid, 20~30% が monomethyl phosphoric acid であると報告している。また宮田・斎藤¹⁰⁾は ³²P-NS 2662 および ³²P-trichlorfon をラットに投与し、尿中の代謝物をしらべ、NS 2662 では約 59% が dimethyl phosphoric acid, 27% が phos-

Table 2. Percentage of water extracts of NS 2662 and trichlorfon in the urine, whole body, brain and liver of the mouse.

Water extracts	Time after the treatment (hour)						
	Urine 24	Whole body		Brain		Liver	
		0.5	4	0.5	4	0.5	4
NS 2662							
H ₃ PO ₄	21.3	20.2	23.1	34.4	35.5	77.3	21.3
<chem>CCOP(=O)(O)O</chem>	4.9	10.1	4.3	5.4	4.4	1.6	9.3
<chem>CCOP(=O)(O)C=C</chem>	7.6	11.1	10.8	2.8	6.4	5.1	17.5
<chem>CCOP(=O)(O)C(=O)O</chem>	61.8	42.4	52.7	29.9	28.3	16.4	28.4
<chem>CCOP(=O)(O)C(Cl)C(Cl)C</chem>	3.3	6.1	5.4	24.0	17.6	0.2	12.7
Unknown	1.1	10.1	3.6	2.3	7.8	0.1	10.0
Trichlorfon							
H ₃ PO ₄	51.3	22.4	20.9	15.6	57.2	38.7	46.0
<chem>CCOP(=O)(O)O</chem>	14.4	14.3	17.8	6.4	5.1	2.8	13.2
<chem>CCOP(=O)(O)C=C(Cl)C</chem>	15.4	20.8	9.9	12.4	5.4	10.0	17.0
<chem>CCOP(=O)(O)C(=O)O</chem>	18.6	34.6	47.4	47.8	24.6	45.1	21.5
<chem>CCOP(=O)(O)C(Cl)C(Cl)C</chem>	0.3	4.3	4.0	7.9	4.4	6.4	2.1
Unknown	0	3.6	0	9.6	3.5	0	0.2

phoric acid であり, trichlorfon では約60%が dimethyl phosphoric acid, 22%が phosphoric acid, 17%が desmethyl-dichlorvos であったと報告している。

マウス脳においては, 第2表に示すように NS 2662 では phosphoric acid, dimethyl phosphoric acid および desmethyl-NS 2662, trichlorfon では dimethyl phosphoric acid, phosphoric acid および desmethyl-dichlorvos が主要分解物であった。

マウス肝臓については, NS 2662の分解物は主として phosphoric acid, dimethyl phosphoric acid であり, trichlorfon では主として phosphoric acid, dimethyl phosphoric acid であった。

Hodgson and Casida¹²⁾ は哺乳動物の組織酵素液と血漿による dichlorvos の酵素的分解をしらべ, dichlorvos の濃度が $2 \times 10^{-2}M$, $5 \times 10^{-4}M$ の時, P-

O-methyl および P-O-vinyl 結合の開裂の割合はそれぞれ4.5 : 95.5および31.9 : 68.1であったと報告している。

NS 2662のマウスにおける低毒性の原因の一つは, DuBois and Cotter²⁾ が trichlorfon について述べていると同じく, 急激に代謝, 排出されるためと考えられる。またマウスにおける NS 2662 の主要な代謝経路は Arthur and Casida⁴⁾, Hassan *et al.*¹¹⁾ が trichlorfon で述べていると同じく P-C 結合の開裂と思われる。

文 献

- 1) 宮田 正, 斎藤哲夫: 防虫科学, 33, 13 (1968).
- 2) DuBois, K. P. and G. J. Cotter: *A. M. A. Arch. Ind. Health.*, 11, 53 (1955).
- 3) Robbins, W. E., T. L. Hopkins and G. W. Eddy:

- J. Econ. Ent.*, 49, 801 (1956).
- 4) Arthur, B. W. and J. E. Casida: *J. Agr. Food Chem.*, 5, 186 (1957).
- 5) Acree, F. Jr., F. H. Barbers and N. Mitlin: *J. Econ. Ent.*, 49, 808 (1956).
- 6) Barthel, W. F., B. H. Alexander, P. A. Giang and S. A. Hall: *J. Amer. Chem. Soc.*, 77, 2424 (1955).
- 7) Metcalf, R. L., T. R. Fukuto and R. B. March: *J. Econ. Ent.*, 52, 44 (1959).
- 8) 宮田 正, 弥富喜三, 斎藤哲夫, 森川修: 応動昆, 12, 211 (1968).
- 9) Plapp, F. W. and J. E. Casida: *Anal. Chem.*, 30, 1622 (1958).
- 10) 宮田 正, 斎藤哲夫: 関西病虫害研究会報, 10, 122 (1968).
- 11) Hassan, A., S. M. A. D. Zayed and S. Hashish: *Biochem. Pharmacol.*, 14, 1692 (1965).
- 12) Hodgson, E. and J. E. Casida: *J. Agr. Food Chem.*, 10, 208 (1962).

Summary

After the oral application of ^{32}P -NS 2662 to

the mouse, the rate of excretion to the urine and feces, and the metabolism in the whole body, the brain and the liver were examined.

1) ^{32}P -NS 2662, ^{32}P -DMVP, ^{32}P -trichlorfon and ^{32}P -dichlorvos were orally applied to the mouse: about 70 to 80% of the applied dose was excreted from the mouse at 12 hours after the treatment. ^{32}P -NS 2662 and ^{32}P -trichlorfon orally applied were metabolized more rapidly in the mouse than in the American cockroach, and their biological half lives were about 90 min. for ^{32}P -NS 2662 and about 80 min. for ^{32}P -trichlorfon.

2) Metabolites in the urine and the whole body were mainly dimethyl phosphoric acid and phosphoric acid for NS 2662, and besides the above two compounds desmethyl-dichlorvos and monomethyl phosphoric acid for trichlorfon.

3) It is proposed that rapid degradation and excretion of NS 2662 in the mouse is one of the factors in the low toxicity to the mouse. The main metabolic pathway of NS 2662 in the mouse was thought to be the cleavage of its P-C bond.

Cholinesterase Inhibition and Change of Acetylcholine Content of the Brain in NS 2662 Poisoned Mouse. Tadashi Miyata, Tetsuo Saito and Kisabu Iyatomi* (Laboratory of Applied Entomology and Nematology, Faculty of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya) Received February 20, 1973. *Botyu-Kagaku*, 38, 86, 1973. (with English Summary 91)

13. NS 2662 中毒マウスのコリンエステラーゼ阻害と脳内アセチルコリン含量の変化

宮田 正, 斎藤哲夫, 弥富喜三*(名古屋大学農学部書虫学教室, 名古屋市千種区不老町) 48. 2. 20 受理

NS 2662をマウスに経口投与し, ChE 阻害作用および脳内 Ach 含量の変化をしらべた。

1) NS 2662を投与したマウスにおいては, 投与30~60分後の脳および血球の ChE は trichlorfon を投与した場合と同様70~80%が阻害されていた。

2) NS 2662中毒マウスにおいては, 他の有機リン殺虫剤で中毒したマウスと同様, 脳内 Ach 含量が増加した。

3) NS 2662中毒マウスの中毒症状は他の有機リン殺虫剤のそれとは異なっているが, 少なくとも脳では ChE が阻害され, その結果 Ach が蓄積し, 興奮状態にあると考えられる。

NS 2662はワモンゴキブリに対しては有機リン殺虫剤による中毒の典型的症状を示し, その時神経のコリンエステラーゼ (ChE) が著しく阻害され ChE 阻害剤として作用していると考えられた¹⁾が, NS 2662 を経口投与したマウスは有機リン殺虫剤中毒にあらわれる激しい興奮, けいれん症状を示さず, まひ状態になり死亡した。しかし, NS 2662 の脱塩酸物質の

DMVP で中毒したマウスは有機リン殺虫剤特有の中毒症状を示した²⁾。

有機リン殺虫剤は一般に, 神経伝達物質であるアセチルコリン (Ach) を分解する ChE を阻害するために, 体内に Ach が蓄積し正常な神経伝達を行なうことができず, 異常興奮やけいれんを起し, 動物や昆虫を死に至らしめると考えられている。

本研究では, NS 2662中毒マウスの特異的な中毒機

* 現在: 名古屋市千種区朝岡町3-85