

Metabolism of Continuous Three Weeks Administered ^{14}C -Pyridafenthion, *O, O*-Diethyl-*O*-(3-oxo-2-phenyl-2H-pyridazine-6-yl) Phosphorothioate, in Mouse. Takatoshi UDAGAWA*, Tadashi MIYATA and Tetsuo SAITO (Laboratory of Applied Entomology and Nematology, Faculty of Agriculture, Nagoya University, Chikusa, Nagoya, Japan.) Received October 8, 1973. *Botyu-Kagaku*, 39, 15, 1974.

4. 3週間連続投与した ^{14}C -pyridafenthion, *O, O*-diethyl-*O*-(3-oxo-2-phenyl-2H-pyridazine-6-yl) phosphorothioate, のマウスにおける代謝 宇田川隆敏*, 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. 10. 8 受理

マウスに ^{14}C -pyridafenthion (20mg/kg) を3週間にわたり金属製胃ゾンデにより経口的に連続投与し, 尿, 糞への排出の割合, 各臓器での蓄積を1回投与の場合と比較した. 連続投与により尿, 糞への薬剤の排出割合は影響されず, 投与終了後の尿, 糞への排出割合についても1回投与の場合と比べ違いは認められなかった. 投与終了後の各臓器における蓄積も1回投与と比べ差がなく, ^{14}C -pyridafenthion は殆んどが尿中に水溶性代謝物として速やかに排出されるものと考えられた.

また, 連続投与したマウスの尿中代謝物をしらべたところ, 連続投与1日後と21日後では代謝物の存在割合に変化が認められたが, マウスの令の違いによる影響ではないかと考えられた.

前報¹⁾において, pyridafenthion, *O, O*-diethyl-*O*-(3-oxo-2-phenyl-2H-pyridazine-6-yl) phosphorothioate をマウスやラットに経口投与すると, 24時間後には尿, 糞中に投与量の80%以上が排出され, 体内での残留は極めて少なく, さらにマウスにおける主要な尿中代謝物は phenyl maleic hydrazide およびその glucuronide であることを報告した.

そこで, 本報では ^{14}C 標識 pyridafenthion をマウスに3週間連続投与し, 各臓器での蓄積および投与を終了してからの各臓器での薬剤の動向を検討した. また, 尿中に排出された代謝物が連続投与により変化するかなかを検討することにより, pyridafenthion の動物への影響をしらべた.

材料および方法

^{14}C -Pyridafenthion は三井東圧化学株式会社で合成されたもので, pyridazine 環の3, 6の位置に ^{14}C で標識したもので, 比放射能は1.116 mCi/g, 化学的純度は98%以上のものである. マウスは日本クレア株式会社より購入した ICR-JCL 系統の雄で, 購入時(4週令)の体重は16~18gであり, 実験開始時(5週令)の体重は24~26.5gであった.

マウスは1回投与区と連続投与区の2グループに分け, まず, 連続投与区について非放射性および放射性 pyridafenthion を1:1に混合し, propylene glycol に適当濃度に溶かし, 1頭あたり20mg/kg あて金属性胃ゾンデをつけた小型注射器で3週間, 胃内に毎日経口投与し, 代謝ケージに入れ, 尿および糞を毎日採

取した. 一方, 1回投与区のマウスはそのまま代謝ケージ内で投与の日まで飼育し, 連続投与の最終日に同様に経口投与した. マウスは投与終了24時間, 72時間, 120時間後に各区2頭ずつ解剖し, 各種臓器を摘出し, 中西ら²⁾の方法に準じて, 3倍量の水を加えて作製したホモジネート0.1mlをSoluene 350 (Packard 社製) 1.0mlで溶解した後, PPO 3g, DMPOPOP 0.1g, toluene 1lのシンチレーター10mlを加えてPackard TRI-CARB 2311型液体シンチレーションスペクトロメーターにより放射能を測定した. 尿はロータリエバポレーター(35°C)で濃縮後methanolで定容にし, その一定量をバイアルにとりBray (1960)³⁾のカクテル(PPO 4g, DMPOPOP 0.2g, naphthalene 60g, ethylene glycol 20ml, methanol 100ml, dioxane 1l)を10ml加え, 先と同様に放射能を測定した. 糞は乳鉢内でまきし, methanol抽出後定容とし, 一定量をバイアルにとり尿と同様にして測定した.

尿中代謝物については, 連続投与区の投与後1, 6, 11, 16, 21日に採取した尿を濃縮後, 薄層クロマトグラフィー(以下TLCと略記)およびペーパークロマトグラフィー(以下PCと略記)をおこなった¹⁾. TLCにおける展開溶媒はchloroform: methanol (9:1, V/V), *n*-butanol: formic acid: water (6:1:2, V/V), PCにおける展開溶媒はacetonitrile: ammonia: water (40:1:9, V/V), isopropyl alcohol: ammonia (3:1, V/V)をもちいた. 展開後のTLCはX-線フィルムをもちいてradioautogram作製後, 黒化部および透明部を分けながらいていねいにかきとり, バイアルに入れ, toluene シンチレーターを加え先と

* 現在; 三井東圧化学株式会社農材研究所
神奈川県茅ヶ崎市西久保500

同様液体シンチレーションスペクトロメーターで測定した。一方、PCは十分乾燥後、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測定し、代謝物の量的関係を明らかにした。

実験はすべて3回繰返した。また供試動物は各区3頭ずつ使用した。

結果および考察

マウスに ^{14}C -pyridafenthion (20mg/kg)を3週間連続投与あるいは1回投与した場合、尿、糞中に排出される薬剤の割合を示せば第1図のごとくである。3週間にわたる連続投与においても、薬剤の尿、糞への排出割合には変化が認められなかった。また連続投与終了後の薬剤の尿、糞への排出についても、1回投与の場合と殆んど変化はなく、100 ppmのpyridafenthionを餌と水に加え、3週間の連続投与の影響をしらべた場合¹⁾と同様な結果であった。

また投与終了24, 72, 120時間後の各臓器に存在する薬量は第1表に示すごとくであり、消化器と肝臓に比較的多くの薬量が認められたが、いずれの臓器においても薬剤の残留は少なく、連続投与区と1回投与区での違いは認められなかった。投与終了24時間後のマウスの体重は、連続投与区では31~33gであり、1回投与区では32~34.5gであり、連続投与区では3週間にわたって金属製胃ゾンデをつけた小型注射器により薬剤を経口投与されたことを考えれば、マウスの体重

について両区で違いはないと考えられる。

そこで、連続投与により、尿中の代謝物がどのように変化するかをみるため、連続投与1, 6, 11, 16, 21日後の尿中代謝物をしらべ、第2表に示した。Pyridafenthionは全期間を通じて1%程度認められたが、desethyl pyridafenthion-oxonは14.0から22.3%へと増加しphenyl maleic hydrazideは17.3から9.1%へと減少した。

Hollingworth (1970)⁴⁾はmethyl parathionおよびfenitrothionを、宇田川ら(1973)¹¹⁾はpyridafenthionをマウスに与え、投与薬量の多少が代謝にどう影響するかをしらべ、投与薬量が多い場合にはP-O-alkyl結合の開裂が増加し、P-O-aryl結合の開裂が減少すると報告している。そこで尿中代謝物について、desethyl pyridafenthion, desethyl pyridafenthion-oxonの合計と、phenyl maleic hydrazideとそれのglucuronideとの合計との比を比較してみると、1日後の3:7から21日後には4:6となりP-O-aryl結合の開裂される割合の減少が認められた。しかし、マウスに ^{14}C -pyridafenthion (20mg/kg)を1回経口投与した時の尿中代謝物の同様な比は4:6であったこと¹⁾を考えると、マウスの令の違いが代謝物の差を生じさせたのではないかと考えられ、3週間連続投与による代謝機能への影響は少ないと考えられる。

以上本実験結果からpyridafenthionを3週間連続投与した場合、1回投与と同様体内への蓄積は少なく、

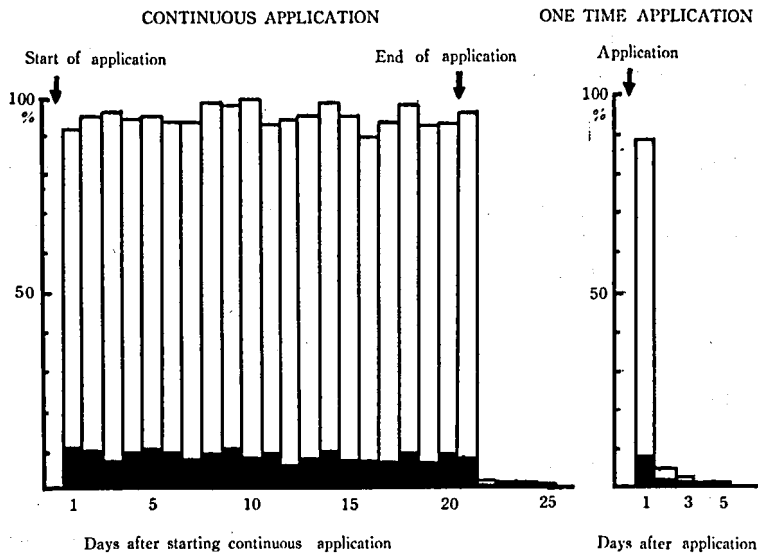


Fig. 1. The excretion rates to the urine and feces of ^{14}C -pyridafenthion (20mg/kg) applied orally to the mouse for a continuous three weeks period or one time. (Values are expressed as percentage to the dose applied one time.)

□ Urine ■ Feces

Table 1. Metabolism of ^{14}C -pyridafenthion in the mouse after finishing application of ^{14}C -pyridafenthion (20mg/kg) for a continuous three weeks period or one time.

Organs	Continuous application			One time application		
	Time after finishing application (Hr)			Time after application (Hr)		
	24	72	120	24	72	120
Brain	0.025	0.019	0.013	0.023	0.018	0.012
Heart	0.024	0.018	0.013	0.025	0.018	0.013
Lung	0.044	0.024	0.018	0.035	0.021	0.012
Kidney	0.101	0.057	0.035	0.104	0.051	0.029
Liver	0.357	0.196	0.073	0.401	0.131	0.067
Gut	0.922	0.417	0.207	1.212	0.308	0.194
Spermary	0.075	0.033	0.017	0.056	0.023	0.015
Spleen	0.016	0.015	0.011	0.019	0.011	0.007
Pancreas	0.010	0.008	0.005	0.009	0.006	0.005
Fat ^{a)}	0.103	0.040	0.021	0.090	0.032	0.018
Muscle ^{a)}	0.154	0.109	0.033	0.141	0.087	0.026
Blood ^{b)}	0.332	0.270	0.231	0.268	0.214	0.197
Others	2.728	1.327	0.772	2.899	0.926	0.654

Values are calculated as pyridafenthion from the radioactivity and are expressed as pyridafenthion γ /organ.

^{a)} Values are expressed as pyridafenthion γ /g tissue.

^{b)} Values are expressed as pyridafenthion γ /ml blood.

Table 2. Percentage of metabolites in the urine of the mouse applied with ^{14}C -pyridafenthion continuously for a three weeks period.

Metabolites	Days after starting continuous application				
	1	6	11	16	21
Pyridafenthion	0.8	0.9	1.0	0.9	1.1
Desethyl pyridafenthion	15.1	15.4	14.1	17.3	17.8
Desethyl pyridafenthion-oxon	14.0	17.8	20.8	19.7	22.3
Phenyl maleic hydrazide	17.3	13.7	12.6	11.6	9.1
Glucuronide of phenyl maleic hydrazide	52.8	52.2	51.5	50.5	49.7

殆んどが尿中に水溶性代謝物として速やかに排出されるものと考えられる。しかし, Tsumuki *et al.* (1970)⁴⁾ は, 連続投与により体内蓄積が認められない場合でも cholinesterase や ali-esterase の活性が低下している場合があると報告しており, pyridafenthion についても更に詳細な研究が必要と考える。

文 献

- 1) 宇田川隆敏, 斎藤哲夫, 宮田 正: 防虫科学, 38, 75 (1973).
- 2) 中西美智夫, 加藤安之, 古田哲弥, 有馬徳行: 薬学雑誌, 91, 1042 (1971).
- 3) Bray, G. A.: *Anal. Biochem.*, 1, 279 (1960).

- 4) Hollingworth, R. M.: *Biochemical Toxicology of Insecticides*. (Ed. R. D. O'Brien and I. Yamamoto) Academic Press Inc., New York, 1970, p. 75.
- 5) Tsumuki, H., T. Saito, T. Miyata and K. Iyatomi: *Biochemical Toxicology of Insecticides*. (Ed. R. D. O'Brien and I. Yamamoto) Academic Press Inc., New York, 1970, p. 65.

Summary

^{14}C -Pyridafenthion, *O, O*-diethyl-*O*-(3-oxo-2-phenyl-2H-pyridazine-6-yl) phosphorothioate, (20 mg/kg) was orally applied to the mouse for a

three weeks period, and the excretion of ^{14}C -pyridafenthion to the urine and feces and the accumulation in internal organs were compared with those of the mouse applied with ^{14}C -pyridafenthion (20mg/kg) once. The rate of excretion of the insecticide to the urine and feces was not affected by the continuous application. There were no differences in the rate of excretion of the insecticide to the urine and feces and the accumulation in internal organs after finishing

application of the insecticide, and it was thought that ^{14}C -pyridafenthion applied to the mouse was rapidly excreted to the urine as water soluble metabolites. The metabolites of the insecticides administered continuously were investigated in the urine. The composition of the metabolites was slightly varied between urine samples collected at one day and 21 days after starting continuous administration, which maybe due to the age difference of the mouse.

Thermal Decomposition of Bis-(*O*, *O*-dimethyl-thiono-phosphoryl) Disulfide. Katsuzo KAMOSHITA and Yoshihiko NISHIZAWA (Research Department, Pesticides Division, Sumitomo Chemical Co., Ltd., Takarazuka, Hyogo) Received Oct. 30, 1973. *Botyu-Kagaku*, 39, 18, 1973.

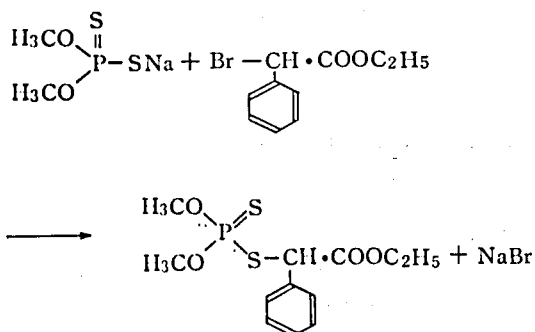
5. ビス-(0,0-ジメチル-チオノ-ホスホリル) ジスルフィドの熱分解反応について

鴨下克三，西沢吉彦（住友化学工業株式会社 農薬事業部，兵庫県宝塚市高司） 48. 10. 30 受理

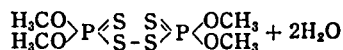
Bis-(*O,O*-dimethyl-thiono-phosphoryl) disulfide を加熱した場合、80°C では分解しないが100°C では徐々に分解が始まり、170°C で急激な発熱分解を示す。水が共存する場合、分解温度は低下し、80°C で分解し、100°C で急激な発熱分解を示す。水の共存下における反応を断熱的に行なうと、この発熱分解は85°C から開始する。分解ガスの組成から水共存下での反応は加水分解反応であることが示唆される。

Ethyl (*O, O*-dimethyl) dithiophosphoryl 1-phenylacetate (common name : phenthiato), one of the insecticidal phosphates, can be synthesized by the reaction between sodium *O, O*-dimethylphosphorothioate and ethyl 1, 1-bromophenylacetate.¹⁾

converted to water-insoluble bis-(*O,O*-dimethylthiono-phosphoryl) disulfide by reacting with hydrogen peroxide under acidic conditions.^{2,3)}



Usually, this reaction is run with the use of excess sodium *O,O*-dimethylphosphorothioate. At the end of the reaction, unreacted sodium *O,O*-dimethylphosphorothioate is removed by washing with water. The sodium *O,O*-dimethylphosphorothioate in the waste water can be



It is possible by this method to remove sodium *O,O*-dimethylphosphorothioate from the waste water, but when the isolated crude wet bis-(*O,O*-dimethyl-thiono-phosphoryl) disulfide is left at about 50-60°C for 3 hours, exothermal decomposition occurs with evolution of gaseous mixture containing hydrogen sulfide. The properties of bis-(*O,O*-dialkyl-thiono-phosphoryl) disulfide, in particular, thermal stabilities, have not been sufficiently studied. This paper describes the nature of the thermal decomposition of bis-(*O,O*-dimethyl-thiono-phosphoryl) disulfide (herein after abbreviated as the disulfide) in the presence and absence of water.