ピペロニルブトキシサイドのラットにおける吸収, 分布, 排泄

(昭和 57 年 12 月 23 日受理)

木村 良平* 出口 一美* 村田 敏郎*

Absorption Distribution and Excretion of Piperonyl Butoxide in Rats

Ryohei KIMURA, Hitomi DEGUCHI and Toshiro MURATA

(Shizuoka College of Pharmacy: 2-2-1, Oshika, Shizuoka, Japan)

The tissue distribution and excretion of an insecticide synergist, piperonyl butoxide (PB), after oral and intravenous administration in male rats were investigated by the use of gas chromatography. After the oral administration of PB (250 mg/kg), 2.35% of the dose was excreted in feces, whereas none was detected in the 48 hr urine. Maximum plasma concentration of PB was attained 5 hr after the administration, and the PB concentrations in brain, testis, liver and adipose tissue were higher than the plasma concentration at that time. Some PB remained in the plasma but none remained in the liver, brain and kidney 24 hr after the administration; however, the accumulation of PB in the adipose tissue was remarkable and PB was observed even after 96 hr.

After the intravenous administration of PB (250 mg/kg), PB concentrations in the tissues were higher than those after the oral administration except in the liver, and the amount of PB in the lung was very large, being much higher than that in the adipose tissue.

(Received December 23, 1982)

Key words: ピペロニルブトキシサイド piperonyl butoxide; 吸収 absorption; 組織内分布 tissue distribution; 排泄 excretion; 経口投与 oral administration; ガスクロマトグラフィー gas chromatography; 脂肪組織 adipose tissue

ピレトリンなどの殺虫剤の共力剤で、食品添加物として使用が認められるピペロニルブトキシサイド (PB) の、は乳動物における生体内動態を検索する目的で実験を行った。

PB のは乳動物における代謝に関しては、Casida ら¹⁾, Kamienski ら²⁾, Fishbein ら³⁾ の報告があり、特に Kamienski ら²⁾ によって、ラット、マウスにおける PB の主代謝経路としてメチレンジオキシフェニル部分が開裂し、メチレン炭素が炭酸ガスとして呼気中に排泄されることが明らかにされている。また、Fishbein ら⁴⁾ によって、放射性 PB をラットに投与し、一定時間後に臓器内放射能を測定した結果が報告されているが、未変化体の定量は肺についてのみしか行われていない。そこで、著者らは PB をラットに経口投与し、各臓器、尿及び糞

中の未変化体の定量を経時的に行った。また、静脈内投与も合わせて行い、Fishbein ら⁴⁾ の結果と比較考察した。

実験方法

1. 実験材料

PB は東京化成工業(株)製を用いた。この PB は、一色ら⁵⁾ の方法により精製した PB を基準にして純度を測定したところ、96.2% であった。

2. 実験動物

Std: Wistar 系雄性ラット (静岡県実験動物農協, 体重約 200 g を用い、飼料 (オリエンタル酵母, MF), 水を自由に摂取させ、24±2° の室内で飼育した。

3. PB の定量

ガスクロマトグラフィーにより行った。装置は柳本 G-1800F 型 (検出器: FID) を使用した。ガスクロマト

* 静岡薬科大学: 静岡市小鹿 2-2-1

Table 1. Gas Chromatographic Conditions for Analysis of PB

Column	Silicone GESE-30	Silicone OV-1
	1.5% on Chromosorb W (AW-DMCS) 60-80 mesh 3.0 mm I.D.×1.0 m, glass	2.0% on Chromosorb W (AW-DMCS) 60-80 mesh 3.0 mm I.D.×1.0 m, glass
Column temp.	190°C	190°C
Injection temp.	225°C	225°C
Detector temp.	225°C	225°C
Carrier gas (N ₂) flow rate (ml/min)	64	45

Fig. 1. Calibration curve of piperonyl butoxide (PB)

グラフィーの条件を Table 1 に示す。この条件で PB の Rt 値は GESE-30 カラムの場合 7.6 分, OV-1 カラムの場合 7.0 分であった。PB の検量線を Fig. 1 に示す。PB の量とピークの高さとの間に良好な直線関係が得られた。試料中の PB の検出限界は 0.1 $\mu\text{g/g}$ であった。

4. PB の投与及びガスクロマトグラフィー試料の調製

PB をコーンオイルに溶解 (50 mg/ml) し、一夜絶食したラットに 250 mg/kg の割合で経口投与した。静脈内投与は PB を溶剤に溶解することなく大腿静脈に 250 mg/kg の割合で注入した。PB の投与後、ラットに飼料及び水を自由に摂取させた。

所定時間後に軽くエーテル麻酔し、心臓より採血し、直ちに断頭瀉血し、各臓器、組織を摘出した。血漿、臓器、組織、尿及び糞のガスクロマトグラフィー試料の調製はつぎのように行った。

4.1 血 漿

血漿 1.0 ml にクロロホルム 5.0 ml を加え十分振とうした。3,500 rpm で遠沈後、クロロホルム層より一定量を取り、無水硫酸ナトリウムで脱水し、30° 以下で減圧乾固し、これに 200 μl のアセトンを加え、ガスクロマトグラフィー試料とした。この内、5 μl をガスクロマトグラフに注入した。

4.2 脂肪組織

精巢に付随する脂肪体より約 1 g を摘出し、これに 5 倍量のメタノールを加え、ホモジナイズし、3,500 rpm で 10 分間遠沈後、メタノール層より一定量を取り、30° 以下で減圧乾固し、これにクロロホルム 5.0 ml、0.1 N 水酸化ナトリウム溶液 2.0 ml を加え十分に振とうした。3,500 rpm で 10 分間遠沈後、クロロホルム層より一定量を取り、以下血漿の場合と同様な処理をした。

4.3 その他の臓器

摘出した臓器に、その 1 g 当り 2 ml の 0.1 N 水酸化ナトリウム溶液を加えてホモジナイズし、さらに臓器 1 g 当り 5.0 ml のクロロホルムを加えて十分ホモジナイズした。3,500 rpm で 10 分間遠沈後、クロロホルム層より一定量を取り、以下血漿の場合と同様な処理をした。

4.4 尿、糞

尿、糞は PB 投与後 24 時間毎に代謝ケージを用いて採

Table 2. Recovery of PB from Biological Materials

Material	Amount added (μg)	Recovery (%) ^{a)}
Plasma	10	100.5±0.72 (4)
Brain	10	105.4±5.11 (3)
Kidney	10	110.4±5.59 (3)
Testis	10	104.1±2.20 (3)
Liver	10	104.3±3.79 (3)
Lung	10	115.8±4.00 (3)
Heart	10	98.2±2.86 (3)
Spleen	10	111.1±2.53 (3)
Adipose tissue	10	59.8±2.62 (3)
	5	54.5±2.37 (3)
Urine	25	100.1±1.00 (3)
	10	102.8±1.06 (3)
	5	102.3±4.00 (2)
Feces	100	95.8±0.71 (3)

^{a)} Mean±s.e.

Numbers in parentheses are the number of experiments.

PB was added into 1 ml of plasma or 1 g of each tissue.

Table 3. Urinary and Fecal Excretion of PB in Rats after Oral Administration of PB (250 mg/kg)

	Cumulative amount (% of dose) ^{a)}		
	Time after dose (hr)		
	24	48	72
Urine	N.D. ^{b)}	N.D.	N.D.
Feces	2.24±0.49	2.35±0.25	2.35±0.25

a) Mean±s.e. for three rats

b) Not detected

取し、尿受器を 50% 温メタノールで洗い、洗液を尿と合した。この洗液を含む尿の一定量 (約 4 ml) について 30° 以下で減圧下メタノール分を留去した後、血漿の場合と同様にクロロホルム抽出を行った。糞はその全量を同重量の精製水とともにホモジナイズし、糞 1 g あたり 5.0 ml のクロロホルムを加えてホモジナイズし、3,500 rpm で 10 分間遠沈し、クロロホルム層より一定量を取り、以下血漿の場合と同様に処理した。ただし、加えるアセトンの量は 2.0 ml とした。

以上の操作条件で、メタノール、クロロホルムの留去の際の PB の損失は認められなかった。

各臓器、組織、尿及び糞に一定量の PB を添加し、その回収率を求めた結果を Table 2 に示す。各臓器、組織及び糞中の PB 量は回収率で補正した。

実験結果

1. 尿、糞中への PB の排泄

PB を経口投与後、尿、糞中の未変化体の量を測定し

Fig. 2. Concentrations of PB in plasma, brain and kidney of rats after oral administration of PB (250 mg/kg) —□—, brain; —○—, plasma; —△—, kidney

た結果を Table 3 に示す。尿中には、いずれの時間にも PB は検出されなかった。糞中には投与後 48 時間までに投与した PB の 2.35% が検出され、それ以後 PB の排泄は認められなかった。

2. 経口投与後の PB の臓器内濃度

PB を経口投与し、経時的に主たる臓器内の PB 濃度を測定した (Figs. 2, 3). PB の血漿中濃度は 5 時間後に最高となり、24 時間後にはごくわずか (0.2 ± 0.09 $\mu\text{g/ml}$) に認められるのみとなった。腎臓内 PB 濃度は血漿中濃度とほぼ同じ推移をたどり、脳及び肝臓内濃度

Fig. 3. Concentrations of PB in plasma, liver and adipose tissue of rats after oral administration of PB (250 mg/kg)

—●—, adipose tissue; —▲—, liver; —○—, plasma

Table 4. Tissue Concentration of PB in Rats at 5 hr after Oral and Intravenous Administration of PB (250 mg/kg)

Tissue	PB concentration ($\mu\text{g/g}$ or ml) ^{a)}	
	Oral	Intravenous
Plasma	6.8 $\pm$ 0.43	10.2 $\pm$ 0.17
Brain	23.0 $\pm$ 6.96	86.7 $\pm$ 13.0
Kidney	7.1 $\pm$ 0.77	—
Testis	19.3 $\pm$ 1.29	—
Liver	32.8 $\pm$ 8.32	12.3 $\pm$ 2.84
Lung	8.9 $\pm$ 5.94	7617 $\pm$ 615.0
Heart	8.3 $\pm$ 2.8	—
Spleen	4.0 $\pm$ 0.31	—
Adipose tissue	201.0 $\pm$ 85.3	861.0 $\pm$ 115.6

^{a)} mean $\pm$ s.e. for 3 rats

The PB concentration in tissue was corrected for the recovery on the extraction.

は血漿中濃度より高いが24時間後には検出されなくなった。一方、脂肪組織内 PB 濃度は著しく高く、5 時間後にもなお増加し、12 時間後に最高値 (802 $\pm$ 113.7 $\mu\text{g/g}$) を示した。その後、一次反応速度的に PB 濃度は減少 (Fig. 3, 消失半減期 11.40 時間) し、96 時間後にも 4.2 $\pm$ 2.21 $\mu\text{g/g}$ の濃度で存在した。

血漿中濃度が最高となった投与後 5 時間における、各臓器内 PB 濃度を Table 4 に示す。腎臓、肺、心臓内 PB 濃度は、血漿中濃度とほぼ同レベルであったが、脳、精巣、肝臓及び脂肪組織内の PB 濃度は、血漿中濃度よりも高い値を示した。

肺中の PB 濃度については、さらに 8, 12 時間に 3 例ずつ測定したが、それぞれ 7.0 $\pm$ 3.58, 4.1 $\pm$ 0.05 $\mu\text{g/g}$ で、同時間の血漿中濃度よりやや高い程度であった。

3. 静脈内投与後の PB の臓器内濃度

経口投与の場合と同量の PB を静脈内投与し、5 時間後の臓器内 PB 濃度を測定した結果を Table 4 に示す。肝臓を除いて、測定した臓器のいずれも経口投与した場合より高い値を示したが、特に肺中の PB 濃度は著しく高く、脂肪組織内濃度の約 9 倍であった。

PB を静脈内投与すると、投与直後から呼吸困難となり、この症状は 5 時間後の屠殺まで続き、開腹してみると肺の全域にわたり出血が認められた。

考 察

PB の経口投与後、糞中の未変化体の量はわずかで、消化管からの PB の未変化体の吸収は良いことが考えられる。

血漿中 PB 濃度は経口投与後徐々に増加し、5 時間後に最高となった。一方、この時間における脂肪組織内濃度は血漿中濃度の約 30 倍で、その後さらに増加し、12 時間後に最高となった。また、血漿、脳、肝臓及び腎臓内

の PB がほとんど消失した 24 時間後でも、脂肪組織内濃度は 348 $\pm$ 42.4 $\mu\text{g/g}$ で、この組織が未変化体の貯蔵組織となっていることが明らかとなった。

Fishbein ら⁴⁾ は、¹⁴C でラベルした PB を溶剤に溶解することなくラットに静脈内投与 (50 $\mu\text{l}/300\text{ g}$) し、投与後 7.6~7.9 時間の臓器内放射能を測定し、脂肪組織に放射能が高いことを報告している。また同程度の放射能を肺に認め、薄層クロマトグラフィーにより、肺の放射能のほとんど (96~98%) が未変化体に基づくものであると述べ、このことから彼らは PB を長時間吸入することや、接触することによる危険を強調している。本実験においても、彼らの投与方法に従い、PB (250 mg/kg) を溶剤に溶解せずに静脈内投与した結果、5 時間後に肺に極めて高濃度の PB が認められた。一方、経口投与の場合、5, 8, 12 時間後の肺の未変化体濃度は、血漿中濃度と同レベルか、やや高い程度であった。PB を静脈内投与した場合に認められた症状並びに肺の所見を合わせて考えると、静脈内投与された PB はまず肺に入り、一時に多量の PB が毛細血管を通過するため、呼吸困難、出血をもたらしたものと考えられる。PB を経口投与した場合にはこのような症状は認められないことから、水に難溶な PB を一時に直接血管内に注入することが原因していると考えられる。ヒトの体内に入る可能性のあるのは主として消化管からであり、ラットに静脈内投与した場合のように肺の PB 濃度が異常に高まることは無いと思われる。

経口投与の場合、肝臓内未変化体濃度は静脈内投与の場合より高く、吸収経路から考えて当然のことと考えられる。

脳内 PB 濃度は血漿中濃度より高く、投与後 5 時間では経口投与の場合約 3.4 倍、静脈内投与の場合約 8.5 倍であった。

脂肪組織を除いて各臓器からの PB の消失は比較的速度やかで、24 時間後にはほとんど認められなくなった。一方、尿中には PB の排泄は認められなかったことより、PB の体内からの速やかな消失は PB 自身の排泄に基づくのではなく、PB の代謝が速やかに行われることによるものと考えられる。

要 約

1. PB のほ乳動物における生体内動態を検索する目的で実験を行った。
2. ガスクロマトグラフィーにより、ラット臓器、組織、尿及び糞中の PB を再現性良く定量できた。
3. PB のラット経口投与後、未変化体の尿中への排泄は認められず、一方、糞中排泄は投与量の 2.35% であった。
4. PB の経口投与により、肝臓、脳、精巣、及び脂肪組織内の PB 濃度は血漿中濃度より高い値を示した。特に、PB は脂肪組織に蓄積することが認められ、経口

投与の場合, 96時間後も検出された。

5. 脂肪組織を除き, 経口投与後24時間には測定した臓器に PB はほとんど認められなかった。

6. PB を静脈内投与した場合, 測定した臓器, 組織内濃度は, 肝臓の他は経口投与の場合に比べて高い値を示した。特に肺内濃度は著しく高く, 経口投与の場合と異った。

文 献

- 1) Casida, J. E., Engel, J. L., Essac, E. G., Kamienski, F. X., Kuwatsuka, S.: *Science* **153**,

1130 (1966).

- 2) Kamienski, F. X., Casida, J. E.: *Biochem. Pharmacol.* **19**, 91 (1970).
- 3) Fishbein, L., Fawkes, J., Falk, H. L., Thompson, S.: *J. Chromatogr.* **27**, 153 (1967).
- 4) Fishbein, L., Falk, H. L., Fawkes, J., Jordan, S., Corbett, B.: *ibid.* **41**, 61 (1969).
- 5) 一色賢司, 津村周作, 渡辺忠雄: *食衛誌*. **19**, 311 (1978).