

방사성 추적자에 의한 솔잎혹파리 방제용 살충제 phosphamidon의 소나무 수간이동 구명 : II. 소나무 체내에서의 대사

이재구 · 이형래* · 경기성

충북대학교 농과대학 농화학과 *충북대학교 농과대학 농생물학과

초록 : 솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye) 방제용으로 소나무의 수간에 주입된 침투성 살충제 phosphamidon(2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate)의 대사를 구명하기 위하여 [vinyl, carbonyl-¹⁴C]phosphamidon을 약 10년생 소나무의 수간에 주사하고 그 솔잎 추출액을 autoradiography한 결과 phosphamidon은 소나무 체내에서 신속히 분해됨을 알 수 있었다. 솔잎의 phosphate buffer 추출액 중에서 phosphamidon은 주대사산물인 α -chloroacetoacetic acid diethylamide를 비롯하여 α -chloroacetoacetic acid ethylamide, 3-hydroxy-N,N-diethylbutanamide, acetoacetamide, 그리고 trimethyl phosphate 등의 대사산물을 생성하였으며, 이 대사작용은 소나무 체내에서도 유사하리라 추정된다. 또한 주 대사경로는 구조식중 P-O-vinyl 결합의 가수분해와 관련있는 것으로 보인다(1993년 10월 7일 접수, 1993년 11월 15일 수리).

Phosphamidon(2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate)은 cholinesterase 저해제인 유기인계의 침투성 살충제¹⁾로서 화학적으로는 약 73 : 27 비율의 Z와 E형의 이성체가 존재하며, 이 중 Z형 phosphamidon과 식물체 중에서 형성되는 대사산물인 N-desethylphosphamidon의 Z형 이성체가 높은 생물학적 활성을 갖는 것으로 알려졌다.²⁻³⁾ 우리 나라 산림의 주수종인 소나무에 치명적인 피해를 주고 있는 솔잎혹파리(*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye)의 방제를 위한 여러 학자들의 다각적인 연구 결과 phosphamidon의 수간주사법이 환경에 대한 부작용이 적고 안전성과 확실성이 높은 방법으로 평가되어 현재는 주로 이 방법을 이용하고 있다.²⁾

이 약제의 대사경로 및 대사산물에 관한 연구는 외국의 경우 몇몇 연구자³⁻⁹⁾들에 의해 소나무가 아닌 다른 작물에 대하여 연구되었지만 솔잎혹파리 방제를 위해 소나무에 수간주사했을 경우의 대사에 관한 연구는 거의 없다. 또한 국내의 몇몇 연구자들^{2,10-13)}이 phosphamidon의 수간주사에 의한 솔잎혹파리의 방제효과와 소나무 중 약제의 이행분포 및 약효 지속기간을 생물학적인 방법으로 평가하여 보고한 바는 있으나 소나무 중 대사경로와 대사산물에 관한 연구는 전무한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 방사성 동위원소로 표지된 [¹⁴C]phosphamidon과 gas chromatograph(GC) 및 GC-mass spectrometry(GC-MS)를 이용하여 솔잎혹파리 방제를 위해 관행법에 따라 소나무에 수간주사된 phosphamidon의 대사경로를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

공시화합물

표지화합물은 그 구조 중 vinyl과 carbonyl기에 ¹⁴C로 표지된 [vinyl, carbonyl-¹⁴C]phosphamidon(비방사능: 185 MBq/mmmole)을 Ciba-Geigy사(Switzerland)에서 분양받아 사용하였으며, 비표지화합물은 시판 중인 Dimecron(phosphamidon, isopropyl alcohol에 녹아 있는 50% 액제)을 사용하였다. 한편 GC 분석용 표준화합물로는 시판용 Dimecron을 정제하여 사용하였다. 즉 상기 Dimecron을 Florisil column상에서 methanol로 용출하고 그 용출액을 농축한 다음 dichloromethane과 적당량의 활성탄을 넣고 약 45°C에서 1시간 동안 환류한 후 흡인여과하고 그 여액을 농축한 다음 소량의 dichloromethane에 재용해하고 상부에 무수 sodium sulfate를 넣은 Florisil column에 옮겨 dichloromethane으로 용출하는

방법으로 정제하였다.

공시 수종

공시수종으로는 각지별레 방제를 위하여 동계처리(12월 초)한 10년생 해송(Japanese black pine, *Pinus thunbergii* Parl.)과 솔잎혹파리 방제용으로 하계(7월 초)에 처리한 약 10년생의 적송(Korean red pine, *Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)을 사용하였다.

약제의 수간주사

Phosphamidon의 수간주사량, 처리 방법 및 시기는 일반적인 관행법에 준하였으며, 해송의 경우는 1990년 12월 10일에, 적송의 경우는 1990년 7월 5일에 공시목의 지상 5 cm 부위에 동력천공기(직경 1 cm)를 이용하여 수간축을 중심으로 45° 각도로 약 5 cm 깊이의 구멍을 뚫고 비표지 phosphamidon 2 ml에 [¹⁴C]phosphamidon을 넣어 혼합한 후 수간주사하였으며, 주입 후 구멍을 비닐 테이프 봉하였다. 이 때 주입된 량은 해송과 적송 모두 표지화합물은 5.170 MBq이며, 표지화합물과 비표지화합물을 합한 phosphamidon의 총량은 1.008 g이었다.

시료 채취

시료 채취 부위는 지상으로부터 1, 2, 3, 4단, 그리고 top으로 정한 후 각 단별로 고정 조사부위를 표시하고 해당일에 각 단으로부터 일정 부위의 솔잎을 4~5 g씩 채취하였다.

솔잎의 phosphate buffer 추출액에 의한 phosphamidon의 분해

Phosphamidon을 함유하지 않은 대조구 솔잎시료 20 g과 0.2 M phosphate buffer(pH 7.0) 150 ml을 Waring blender에 넣고 고속에서 2분간 마쇄한 후 gauze로 1차 여과하고 Whatman No. 1 여과지를 이용하여 흡인여과하였다. 이 여액에 100 ppm과 200 ppm의 비표지 phosphamidon을 처리하고 37°C의 incubator 내에서 배양하면서 6, 12 시간 및 1, 3, 5일 후의 시료를 추출하여 분석하였다. 시료의 추출은 배양이 끝난 시료를 8,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상정액에 100 ml의 포화식염수와 500 ml의 증류수를 넣고 200 ml의 chloroform으로 3회 분배추출하여 chloroform층을 합한 후 30°C에서 감압농축하여 GC 분석을 행하였다.

시료의 추출

1) Methanol에 의한 추출

시료 약 5 g에 15 ml의 methanol을 넣고 Ultra Turrax

(IKA-Labortechnik, Staufen, Germany)로 마쇄추출하여 감압여과하는 방법으로 3회 추출하였다. 이 여액을 분액여두에 옮기고 120 ml의 포화식염수와 60 ml의 dichloromethane을 가하여 2분간 진탕한 다음 dichloromethane층을 회수하는 방법으로 3회 추출하였으며, 이 추출액을 무수 sodium sulfate로 탈수하고 농축하여 TLC/autoradiography를 행하였다.

2) Chloroform에 의한 추출

시료 약 20 g과 150 ml의 chloroform을 Waring blender에 넣고 고속에서 2분간 마쇄추출한 후 Whatman No. 1 여과지를 이용하여 흡인여과하고 잔사량 30 ml의 chloroform으로 씻었다. 이 여액을 감압농축기를 이용하여 농축한 다음 20 ml의 n-hexane을 넣고 약 5 ml 정도까지 농축하는 방법⁴⁾을 3회 반복한 후 증류수 30 ml을 넣어 n-hexane이 완전히 제거될 때까지 농축하였다. 이것을 분액여두에 옮기고 20 ml의 증류수로 flask를 씻어 합한 후 15 ml의 n-hexane으로 분배하고 n-hexane층을 버렸다. 여기에 50 ml의 포화식염수를 넣고 100 ml의 chloroform으로 분배추출한 후 chloroform을 용출용매로 한 silica gel column chromatography로 정제하여 GC 분석을 행하였다.

Thin-layer chromatography(TLC)와 autoradiography

[¹⁴C]Phosphamidon의 대사산물 확인을 위하여 TLC와 autoradiography를 행하였다. TLC에는 silica gel 60 F₂₅₄(20×20 cm, 0.2 mm, E. Merck, Germany)를 사

Table 1. GC conditions for the analysis of phosphamidon and its metabolites

Model	HP 5890 A Series II, Hewlett Packard Co.(U.S.A.)
Column	Glass capillary column, HP-FFAP(Cross-linked, 50 m×0.32 mm×0.32 μm film thickness)
Detector	Nitrogen Phosphorus Detector (NPD)
Temperature	Column : 190°C Injector : 200°C Detector : 230°C
Flow rate	Carrier (N ₂) : 2 ml/min. Make-up gas (N ₂): 28 ml/min. H ₂ : 3 ml/min. Air : 100 ml/min. Split vent : 28 ml/min. Septum purge : 3 ml/min.

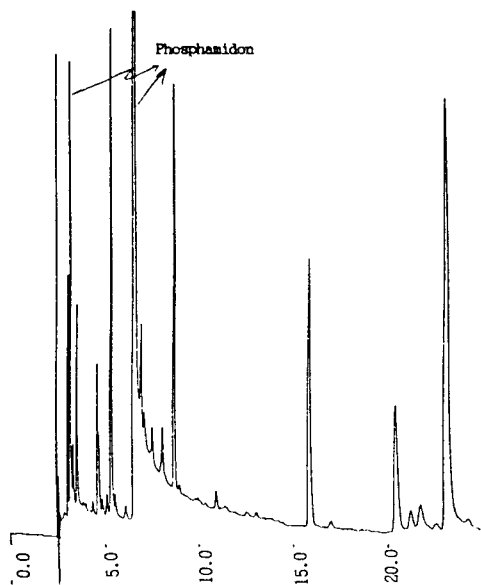


Fig. 1. Gas chromatogram of phosphamidon and its metabolites in the phosphate buffer (pH=7) extract of pine tree needles. Detector: NPD

용하였으며, 전개용매로는 petroleum ether-toluene-methanol(10 : 10 : 15, v/v/v) 혼합액을 사용하였다. Autoradiography에 사용된 film은 Fuji X-ray film, medical(Fuji Photo Film Co., Ltd, Japan, 20.3×25.4 cm), 현상액으로는 X-DOL(X-ray film developer, Poohung Photo-Chemical Co., LTD, Korea), 그리고 정착액으로는 X-FIX (Poohung Photo-Chemical Co., Ltd, Korea)를 사용하였다.

GC와 GC-MS 분석

비표지 phosphamidon 표준화합물 분석과 그 분해산물의 확인에는 GC와 GC-MS를 이용하였으며, 그 GC 분석조건은 다음 Table 1에서 보는 바와 같다. 또한 분석에 사용된 GC/MS는 Hewlett Packard 5985 B이고, 70 eV에서 electron impact로 ionization하였다.

결과 및 고찰

솔잎의 phosphate buffer 추출액에 의한 phosphami-

Table 2. Metabolites of phosphamidon in the phosphate buffer extract of pine tree needles, as identified by GC-MS

Designation	Chemical name	Structural formula	Molecular ion (M ⁺)	Fragment
A	Trimethyl phosphate	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{O} - \text{P} - \text{O} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3\text{O} \end{array}$	140	110 (M ⁺ -CH ₂ O) 95 (M ⁺ -CH ₂), CH ₃) 79 (M ⁺ -CH ₂), OCH ₃) 43 (C ₃ H ₇ ⁺)
B	Acetoacetamide	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{NH}_2 \end{array}$	101	100 (M ⁺ -I) 72 (M ⁺ -CHO) 56 (H ₃ CC(=O)-CH [•]) 44 (-C(=O)-NH ₂) 43 (H ₃ C-C≡O ⁺)
C	3-Hydroxy- <i>NN</i> -diethylbutanamide	$\begin{array}{c} \text{OH} \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2 \end{array}$	159	144 (M ⁺ -CH ₃) 101 (M ⁺ -C ₂ H ₅ , C ₂ H ₅) 100 (M ⁺ -C ₂ H ₅ , C ₂ H ₅ , H) 72 (M ⁺ -N(N(C ₂ H ₅) ₂), CH ₃) 44 (CH ₃ CHO)
D	α-Chloroacetoacetic acid ethylamide	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{Cl} \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{CH} - \text{C} - \text{N} - \text{C}_2\text{H}_5 \\ \quad \quad \quad \quad \\ \quad \quad \quad \quad \text{H} \end{array}$	163	128 (M ⁺ -Cl) 100 (M ⁺ -Cl, C ₂ H ₄) 72 (M ⁺)=C-NHC ₂ H ₅) 43 (CH ₃ -C≡O ⁺)
E	α-Chloroacetoacetic acid diethylamide	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{Cl} \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{CH} - \text{C} - \text{N} - (\text{C}_2\text{H}_5)_2 \end{array}$	191	156 (M ⁺ -Cl) 114 (M ⁺ -Cl, CH ₂ C=O) 100 (⁺ O≡CN(C ₂ H ₅) ₂) 72 (-C(=O)-NHC ₂ H ₅) 43 (CH ₃ -C≡O ⁺)

don의 분해 솔잎의 phosphate buffer 추출액(pH 7.0) 중 phosphamidon의 분해 양상은 배양 시간과 처리 농도에 관계없이 신속히 분해되어 Fig. 1의 chromatogram에서 보는 바와 같이 처리 후 6시간에도 다수의 대사산물이 생성되었다. Anliker와 Beriger³⁾가 인용한 California Chemical Co.의 보고서¹⁴⁾에 따르면 수용액의 pH가 4와 7 및 10에서 phosphamidon의 반감기는 23°C에서 배양하였을 경우는 각각 74, 13.8, 2.2일이었으며, 45°C에서는 각각 6.6일, 2.1일, 3.3시간 이었다는 보고를 감안해 볼 때 pH 7.0의 phosphate buffer에 처리 후 37°C에서 배양한 본 실험 조건에서도 분해가 신속하게 진행된 것으로 보인다. 또한 phosphate buffer(pH 7) 용액과 솔잎의 phosphate buffer 추출액(pH 7.0) 중에서도 phosphamidon의 분해 양상은 큰 차이가 없었는데 이는 phosphamidon이 약산성 용액에서는 매우 안정하지만 알칼리

용액에서는 매우 불안정하며 특히 pH 7에서도 불안정하기 때문으로 보인다.

GC와 GC-MS에 의한 phosphamidon의 대사산물과 대사경로 구명

Phosphamidon의 phosphate buffer 솔잎 추출액과 소

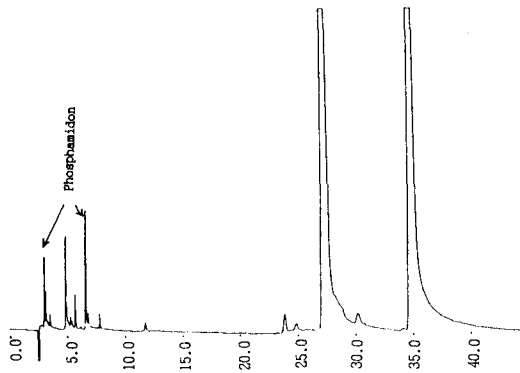


Fig. 2. Gas chromatogram of the extract of pine tree needles at 19 days after implanting with phosphamidon. Detector: NPD

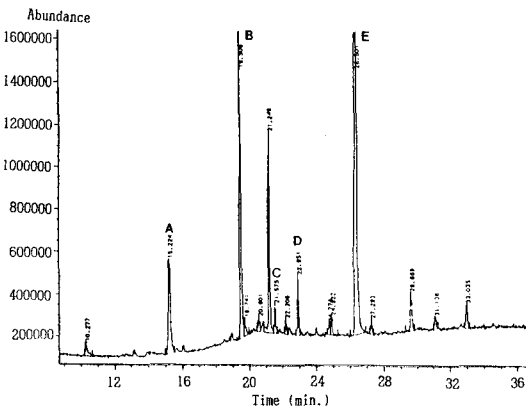


Fig. 3. Total ion chromatogram of the extract of pine tree needles. Detector: FID

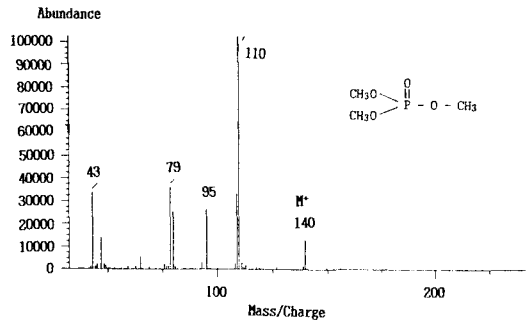


Fig. 4. Mass spectrum of phosphamidon metabolite A, trimethyl phosphate, formed by the phosphate buffer (pH=7) extract of pine tree needles.

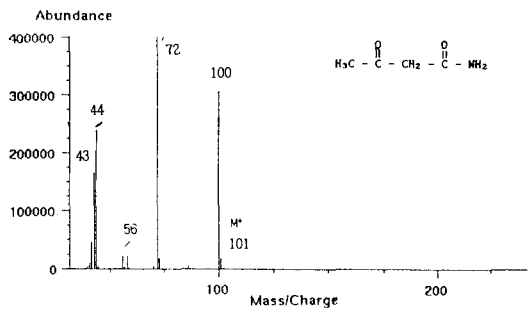


Fig. 5. Mass spectrum of phosphamidon metabolite B, acetoacetamide, formed by the phosphate buffer (pH=7) extract of pine tree needles.

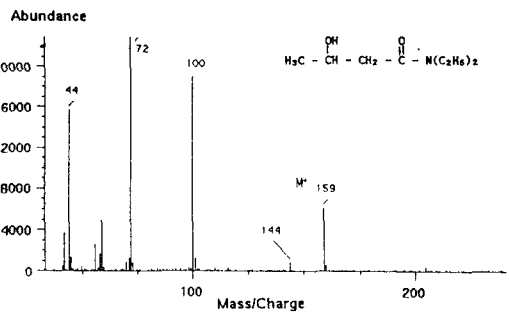


Fig. 6. Mass spectrum of phosphamidon metabolite C, 3-hydroxy-N,N-diethylbutanamide, formed by the phosphate buffer (pH=7) extract of pine tree needles.

나무 중의 대사를 구명하기 위하여 GC-NPD로 분석한 GC chromatogram은 각각 Table 1과 2에서 보는 바와 같이 다수의 대사산물을 생성한 것으로 판단되어 GC-MS 분석을 행하였으며, 그 결과는 Fig. 3에서 보는 바와 같다. Fig. 4에서 peak A의 mass spectrum을 보면 molecular ion (M^+)은 m/z 140이며(Table 2 참조), 그 fragmentation pattern으로 보아 trimethyl phosphate로 추정되며, library search 결과와도 완전히 일치한다. 이 대사산물이 소나무에 의한 대사산물인지 아니면 GC 분석 도중 열에 의하여 화학적으로 생성된 artefact인지는 현재 단계에서는 불분명하다. Bull 등⁵⁾에 의하면 ^{14}C 이 중 표지 phosphamidon과 ^{32}P 표지 phosphamidon을 유리된 목화잎과 alfalfa 가지(sprig)에 영양액으로부터 흡수시켰을 때 dimethyl phosphate가 처리 2일 내에 생성된 주분해산물이라 하였으며, 이것으로 보아 P-O-vinyl 결합의 가수분

해가 phosphamidon 분해의 주된 경로라 하였다. 그러나 본 실험에서는 dimethyl phosphate의 mass spectrum은 발견할 수 없었다. 아마도 phosphamidon으로부터 생성된 dimethyl phosphate가 소나무 조직내에서 다시 methylation되어 trimethyl phosphate를 생성할 가능성을 배제할 수는 없을 것이다. Peak B의 M^+ 은 m/z 101이며 fragmentation pattern으로 보아 acetacetamide로 추정된다(Fig. 5 및 Table 2 참조). Peak C의 M^+ 은 m/z 159, base peak는 m/z 72이며, fragmentation pattern으로 보아 3-hydroxy-*N,N*-diethylbutanamide로 추정하였다(Fig. 6 및 Table 2 참조). Peak D의 M^+ 은 m/z 163이며, fragment m/z 128은 M^+-Cl , m/z 100은 M^+-Cl , C_2H_4 , 그리고 m/z 72는 $^+O=C-NHC_2H_5$, m/z 43은 $H_3C-C=O^+$ 에 해당되며, 그 fragmentation pattern으로 보아 α -chloroacetoacetic acid ethylamide로 추정하였다(Fig. 7

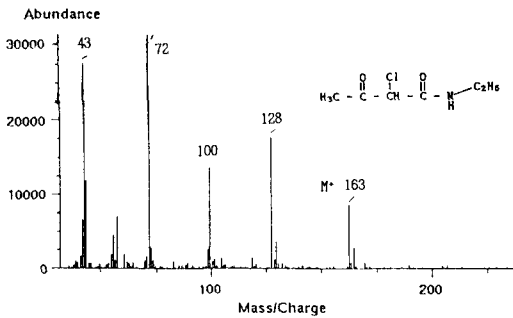


Fig. 7. Mass spectrum of phosphamidon metabolite D, α -chloroacetoacetic acid ethylamide, formed by the phosphate buffer (pH=7) extract of pine tree needles.

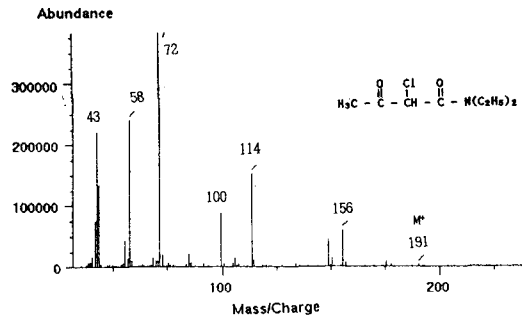


Fig. 8. Mass spectrum of phosphamidon metabolite E, α -chloroacetoacetic acid diethylamide, formed by the phosphate buffer (pH=7) extract of pine tree needles.

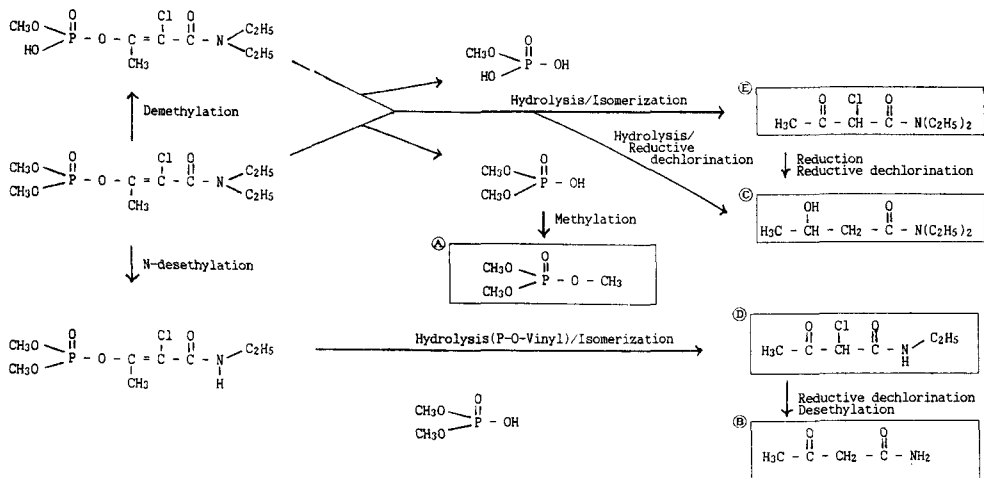


Fig. 9. Proposed pathway of degradation of phosphamidon in pine tree extract.

및 Table 2 참조). Peak E의 M⁺은 m/z 191이며 그 fragment 중 m/z 156은 M⁺-Cl이며, fragment m/z 100은 ⁺O=C-N(C₂H₅)₂, m/z 72는 ⁺O=C-NHC₂H₅, m/z 43은 H₃C-C=O⁺에 해당된다(Fig. 8 참조). 이와 같은 fragmentation pattern으로 보아 본 대사산물은 α-chloroacetoacetic acid diethylamide로 추정하였다. Anliker 등⁹⁾은 phosphamidon을 다량 살포한 french bean(*Phaseolus vulgaris*)의 잎으로부터 주대사산물로 2-chloro-2-ethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate(*N*-desethyl phosphamidon)의 *Z*와 *E* 혼합물을 검출하였다 하며, 두 개의 부차적인 대사산물로 α-chloroacetoacetic acid diethylamide와 α-chloroacetoacetic acid ethylamide를 검출하였다고 보고하였다. Fig. 3에서 peak A, B, C, D, E 이외의 다른 peak들의 질량은 추정할 수 없었고 모화합물인 phosphamidon의 mass spectrum은 발견할 수 없었다. 또한 Fig. 3에 제시된 chromatogram의 상대적 크기로 판단할 때 소나무에서 주된 대사산물은 phosphamidon의 구조식 중 P-O-vinyl 결합의 가수분해에 의하여 형성된 α-chloroacetoacetic acid diethylamide임을 알 수 있다. 또한 Fig. 3에서 α-chloroacetoacetic acid ethylamide에 해당하는 peak D의 상대적 크기로 보아 Anliker 등⁹⁾이 french bean에서의 주대사산물로 보고한 *N*-desethyl phosphamidon을 형성하는 경로가 소나무의 경우

에는 minor pathway임을 알 수 있다. 위에서 확인된 대사산물들의 mass spectrum의 특징과 구조식 등은 Table 2에 요약하였으며, phosphamidon의 솔잎 추출액 중에서의 대사경로는 Fig. 9에 나타내었다.

Autoradiography에 의한 phosphamidon 대사산물 확인

적송과 해송에 수간주사된 phosphamidon의 대사산물은 Fig. 10과 11에 제시한 autoradiogram에서 보는 바와 같이 처리 후 시일이 경과함에 따라 모화합물인 phosphamidon은 감소하고 그 대사산물은 증가하였으며, 적송에서보다 해송에서 모화합물의 분해가 현저히 빨랐다. 또한 GC-MS에 의한 소나무 중 phosphamidon의 분해 산물은 α-chloroacetoacetic acid diethylamide를 비롯하여 수종의 대사산물이 확인되었으나 TLC로는 이들이 분리되지 않아 각각의 대사산물을 autoradiogram상에서는 확인할 수 없었다.

감사의 글

이 논문은 1991년도 교육부지원 한국학술진흥재단의 지방대학육성과제 학술연구조성비에 의하여 연구되었으며, [¹⁴C]phosphamidon을 분양해 준 Ciba-Geigy사에

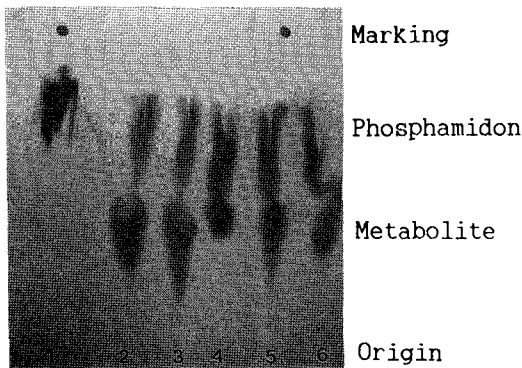


Fig. 10. Autoradiogram of the extracts of pine needles containing [vinyl, carbonyl-¹⁴C]phosphamidon implanted into the pine trees against pine leaf gall midges (Korean red pine, July, 1990). TLC developing solvent: Petroleum ether-toluene-methanol (10 : 10 : 15, v/v/v).
 1, Phosphamidon standard;
 2, Korean red pine, 3 days after treatment;
 3, Korean red pine, 7 days after treatment;
 4, Korean red pine, 15 days after treatment;
 5, Korean red pine, 30 days after treatment;
 6, Korean red pine, 60 days after treatment.

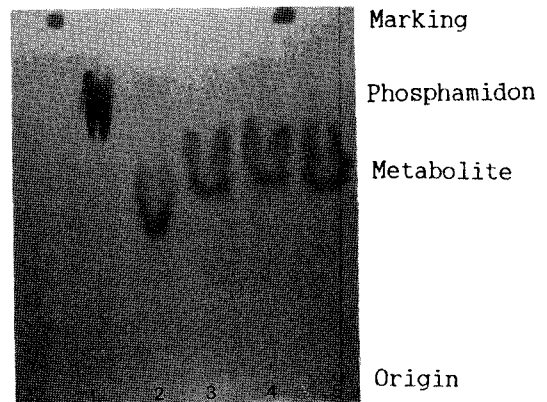


Fig. 11. Autoradiogram of the extracts of pine needles containing [vinyl, carbonyl-¹⁴C]phosphamidon implanted into the pine trees against pine leaf gall midges (Japanese black pine, December, 1990). TLC developing solvent: Petroleum ether-toluene-methanol (10 : 10 : 15, v/v/v).
 1, Phosphamidon standard;
 2, Japanese black pine, 7 days after treatment;
 3, Japanese black pine, 15 days after treatment;
 4, Japanese black pine, 30 days after treatment;
 5, Japanese black pine, 60 days after treatment.

사의를 표합니다.

참 고 문 헌

1. The Pesticide Manual, 9th Edition, C. R. Worthing (ed.), The British Crop Protection Council, p. 679 (1991)
2. 박철하: 시험연구보고서, 충북임업시험장, p. 1(1991)
3. Anliker, R. and Beriger, E.: Residue Reviews, 37 : 1 (1971)
4. Westlake, W. E., Ittig, M., Ott, D. E. and Gunther, F. A.: J. Agric. Food Chem., 21(5) : 846(1973)
5. Bull, D. L., Lindquist, D. A. and Grabbe, R. R.: J. Econ. Entomol., 60(2) : 332(1967)
6. Menzer, R. E. and Ditman, L. P.: J. Agric. Food Chem., 11(2) : 170(1963)
7. Menzer, R. E. and Ditman, L. P.: J. Econ. Entomol., 56(1) : 88(1963)
8. Varty, J. W. and Yule, W. N.: Bull. Environ. Contam. Toxicol., 15(3) : 257(1976)
9. Anliker, R., Beriger, E., Geiger, M. and Schmid, K.: Helv. Chim. Acta, 44 : 1622(1961)
10. 박기남: 임업시험장연구보고, 14 : 119(1967)
11. 최병희: 임업시험장연구보고, 658(1977)
12. 최승윤, 박형만, 정부근: 한국식물보호학회지, 21(4), 191(1982)
13. 산림청 임업시험장: 솔잎혹파리 연구백서, p. 8(1985)
14. California Chemical Co.: Rate of Hydrolysis of Phosphamidon, unpublished report(1961)

Elucidation of the translocation of phosphamidon used for the control of pine leaf gall midges (*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye) in the trunks of pine trees by means of a radiotracer. Part II. Metabolism in pine trees

Jae Koo Lee, Hyung Rae Lee*, and Kee Sung Kyung (Departments of Agricultural Chemistry and *Agricultural Biology, Chung Buk National University, Cheong Ju, Korea)

Abstract : In order to elucidate the metabolism of the systemic insecticide, phosphamidon (2-chloro-2-diethylcarbamoyl-1-methylvinyl dimethyl phosphate), treated to pine trees against pine leaf gall midges (*Thecodiplosis japonensis* Uchida et Inouye), [vinyl, carbonyl-¹⁴C] phosphamidon was implanted into the trunks of 10-year-old Korean red pine (*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.) and Japanese black pine (*Pinus thunbergii* Parl.), respectively. This chemical was degraded very quickly in pine trees after implanting, as confirmed by TLC/autoradiography of the extracts of pine needles. Phosphamidon metabolites in phosphate buffer extracts of pine needles include the major metabolite, α -chloroacetoacetic acid diethyl-amide, α -chloroacetoacetic acid ethylamide, 3-hydroxy-*N,N*-diethylbutanamide, acetamide, and trimethyl phosphate. The metabolism within pine trees is expected to be similar to this. Based on these findings, it is believed that the major pathway leading to the metabolites would be related to the P-O-vinyl hydrolysis of the chemical structure.