

氰戊菊酯对脘硫磷毒物代谢动力学的影响

顾 兵¹, 王心如¹, 何凤生²

(1. 南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 210029; 2. 中国预防医学科学院劳动卫生与职业病防治研究所, 北京 100050)

摘要: 目的 探讨在混配农药中氰戊菊酯对脘硫磷毒物代谢动力学的影响。方法 SD 大鼠 ig 66mg·kg⁻¹ 等毒配比的脘硫磷与氰戊菊酯的混配农药, 采用正相高效液相色谱法, 测定血清和脑组织匀浆中的脘硫磷。结果 血清毒物浓度-时间曲线符合一级吸收-一室开放模型, 脘硫磷的代谢动力学参数为 $k_a=4.33h^{-1}$, $k_e=0.07h^{-1}$, $t_p=1.41h$, 与等毒单药脘硫磷染毒 ($k_a=1.87h^{-1}$, $k_e=0.47h^{-1}$, $t_p=1.26h$) 相比, 氰戊菊酯明显增加脘硫磷的吸收速率, 延长消除相半衰期, 使机体对脘硫磷的代谢降解速率减慢。结论 氰戊菊酯能竞争性结合体内有限的毒物代谢酶, 从而增加脘硫磷毒效应。

关键词: 脘硫磷; 氰戊菊酯; 色谱法; 高效液相; 毒物代谢动力学

中图分类号: O623. 627; R994. 1 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)01-0001-03

Effect of fenvalerate on the toxicokinetics of phoxim

GU Bing¹, WANG Xin-nu¹, HE Feng-sheng²

(1. School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China; 2. Institute of Occupational Medicine, Chinese Academy of Preventive Medicine, Beijing 100050, China)

Abstracts: **Objective** To make an inquiry about the effect of fenvalerate on the toxicokinetics of phoxim, in order to lending more scientific data in the control of mixed pesticide poisoning. **Methods** The biological samples were extracted with ethyl acetate, then concentrated, volume calibrated and directly injected into intake valve of a high performance liquid chromatography (HPLC) with a obverse phase chromatographic column of Lichrosorb Si 60 and a mobile phase of tetrahydrofuran-petroleum ether (1.4:98.6 v/v) for determination of phoxim content in serum and brain homogenate. Thereby, the toxicokinetic profile of phoxim administrated orally in rats was illustrated. **Results** After 66 mg·kg⁻¹ (about 1/5 LD₅₀ dose) orally administration of the mixed pesticides (phoxim:fenvalerate=10.5:1, m/m), the concentration-time curve of serum toxins was well fitted to the one-compartment open model with 1st order absorption. Toxicokinetic parameters calculated from this model, were $k_a=4.33h^{-1}$, $k_e=0.07h^{-1}$, $t_p=1.41h$. As comparing with that exposed to single drug, the absorption rate of phoxim was significantly increased and the half-life time of elimination phase was delayed, suggesting that fenvalerate might slow the metabolic degeneration of phoxim. **Conclusion** The toxic effect of phoxim would be increased. Because of the competitive conjugation with limited metabolic enzymes between phoxim and fenvalerate, the toxicity of phoxim would increase by the combined administration of fenvalerate.

Key words: Phoxim; Fenvalerate; Chromatography, high performance liquid (HPLC); Toxicokinetics

近些年, 在国内杀虫剂品种中混配剂型为数较多, 有机磷与拟除虫菊酯的二元混配是其主要类型^[1]。脘硫磷和氰戊菊酯分别是国内常用的有机磷和拟除虫菊酯农药, 在农业上常将这两种农药配成混剂使用^[2,3]。国内学者王心如等报道脘硫磷和氰戊菊酯的混配制剂有协同或相加作用^[4]。单剂之间的比例与混配农药的增效倍数有密切关系。农业上常用的辛。

氰乳油混剂中, 脘硫磷和氰戊菊酯的质量配比均为 10.5:1, 接近等毒性配比。本实验采用这种混配比例, 可避免单个农药毒性相差悬殊时, 会有优势单药的掩盖作用, 从而对混配农药联合作用特征的评价。本文比较了混配农药及等毒脘硫磷单药分别经口染毒大鼠后的脘硫磷代谢动力学过程, 旨在揭示氰戊菊酯对脘硫磷毒物代谢动力学的影响, 并探讨造成这种情况的原因, 为阐明在辛·氰混配农药的联合作用中, 脘硫磷在哺乳动物体内的代谢规律及毒作用机制提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

收稿日期: 2000-08-23; 修回日期: 2000-10-20

基金项目: “九五”国家医学科技攻关项目 (96-906-04-11); 江苏省卫生厅科技发展项目 (H97-16)

作者简介: 顾兵 (1971-), 男, 江苏省启东市人, 讲师, 医学硕士, 主要从事毒物联合作用及其代谢动力学研究。

脘硫磷原药, 纯度 87.6%, 氰戊菊酯原药, 纯度 92.16%, 均由南京保丰农药厂提供; 脘硫磷标准品, 纯度 99.0%, 天津农药总厂生产; 氰戊菊酯标准品, 纯度 98.40%, α/β 为 1.12, 购自上海中西药业股份有限公司; 其他试剂均为分析纯和色谱纯; 食用色拉油, 市售品。

1.2 仪器与色谱条件

Waters 高效液相色谱仪, Lichrosorb Si 60 (5 μ m) 4.6mm $\times$ 200mm 色谱柱, SiO₂ (10 μ m) 保护柱, XHF-1 型高速分散器, 流动相为四氢呋喃-石油醚 (1.4 : 98.6, v/v), 经超声脱气 15min, 置冰浴中恒温后启动色谱仪, 流速 2.0ml/min, 检测波长 234nm^[3]。

1.3 色谱方法基本参数

以空白血清和脑组织匀浆为参照, 脘硫磷峰和氰戊菊酯的 α 、 β 峰的保留时间分别在 7.2min 和 9.8、11.4min, 且有较好的峰形。样品中的内源性物质不干扰对脘硫磷的分析^[6]。线性范围 0.023 ~ 2.233mg $\cdot$ L⁻¹。最低限量是 0.023mg $\cdot$ L⁻¹。每批次样品测定开始前和结束后, 制备标准曲线。取 0.023、0.233、2.327mg $\cdot$ L⁻¹脘硫磷进行血清方法回收率试验, 回收率分别为 95.65%、99.57%、96.69% ($n=5$)。日内精密度分别为 8.70%、10.12%、12.27%, 日间精密度分别为 16.00%、14.35%、10.98%。同样取上述 3 个浓度的脘硫磷进行脑组织方法回收率试验, 回收率分别为 95.65%、96.14%、102.62% ($n=5$)。

1.4 动物分组

Sprague-Dawley 大鼠, 体质量 180 ~ 220g, 江苏省实验动物中心生产。适应饲养环境一周后, 按体质量随机分组, 每组 8 只, 雌雄各半, 染毒组染毒前 6h 停食不停水, 以 10.5 : 1 质量配比混配农药脘硫磷与氰戊菊酯, 原药用色拉油稀释, ig 66mg $\cdot$ kg⁻¹ 剂量 (折合 1/5 LD₅₀), 对照组给予色拉油。

1.5 样品制备

实验动物分别在灌胃给药后 0.25、0.5、1、2、3、4、6、8、10、12、24、36h 麻醉后整点采血。同时取完整脑组织, 称质量, 放入 4ml 预冷生理盐水中, 即刻高速分散器上匀浆, 低温离心, 上清液和血清置 -20 $^{\circ}$ C 保存。血清 1.0ml 或脑组织匀浆 2.0ml, 加入乙酸乙酯 4ml, 涡旋萃取, 离心 15min, 轻轻吸取上层有机相转移至另一尖底刻度离心管, 在 37 $^{\circ}$ C 水浴中用氮气流吹干。残余物临测前用 200 μ l 流动相溶解, 取 20 μ l 进样分析。

1.6 数据处理

血清和脑组织中的脘硫磷浓度均取该时间点整组动物的平均值, 用中国数学药理学会编制的 3P97 (新版) 程序进行模型选择, 根据 F 值检验和 AIC 值选择房室数和权重, 并计算相应的代谢动力学参数。

2 结果

给大鼠 ig 混配农药 66mg $\cdot$ kg⁻¹ 后, 体内血药浓度经时过程符合一级吸收-一室开放模型, 脑组织药物浓度-时间资料符合一级吸收-二室开放模型, 有关代谢动力学参数见表 1、表 2。用脘硫磷和氰戊菊酯混配剂染毒 10min, 大鼠出现兴奋、抓口鼻、打斗, 30min 后出汗, 1h 出现流涎、抽搐, 5h 后有 3 只动物出现死亡。

Tab 1 Toxicokinetic parameters of phoxim in rat serum following ig mixed pesticides and single phoxim

Parameter	Unit	Value	
		mixed pesticides	single phoxim
ka	h ⁻¹	4.33	1.87
ke	h ⁻¹	0.07	0.47
t _{1/2(ka)}	h	0.15	0.37
t _{1/2(ke)}	h	10.63	1.47
Tp	h	1.41	1.26
Cmax	mg $\cdot$ L ⁻¹	0.33	1.90
Cl/f (s)	L $\cdot$ (kg $\cdot$ h) ⁻¹	12.14	42.97
V/f (c)	L $\cdot$ kg ⁻¹	186.16	90.91

Tab 2 Toxicokinetic parameters of phoxim in rat brain following ig 66 mg/kg mixed pesticides

Parameter	Unit	Value
ka	h ⁻¹	0.13
Lag time	h	0.06
t _{1/2α}	h	0.14
t _{1/2β}	h	10.91
t _{1/2ka}	h ⁻¹	5.29
Tp	h	6.00
Cmax	mg $\cdot$ L ⁻¹	0.16
Cl/f (s)	L $\cdot$ (kg $\cdot$ h) ⁻¹	14.50
V/f (c)	L $\cdot$ kg ⁻¹	32.39

3 讨论

生产环境往往是多种化学物质共存, 研究化学物质的联合作用一直是毒理学工作者所关注的课题^[7]。但至今国内外在这方面的研究未形成统一体系。一些研究表明, 拟除虫菊酯类在哺乳类动物体内主要经过肝脏微粒体混合功能氧化酶 (MFO) 和经分布在组织中的酯酶水解而降解^[8]。有机磷和拟除虫菊酯都为 MFO 氧化的底物。已知多数有机磷和拟除虫菊酯农药进入体内主要经肝脏微粒体细胞色素 P-450 代谢。P-450 对有机磷杀虫剂的催化代谢具有多样性、连续性及具有增毒和解毒、酶诱导和抑制两重性^[9]。当

两者同时存在时, 有机磷能以选择底物抑制的过程, 竞争性抑制拟除虫菊酯在体内的代谢, 而增加其毒效应。有机磷作为酯酶抑制剂时, 能抑制拟除虫菊酯酯酶水解作用, 表现为增效剂。无论对昆虫还是哺乳类动物均有增毒作用。

混配农药中肟硫磷的代谢动力学参数为 $k_a = 4.33h^{-1}$, $k_e = 0.07h^{-1}$, $t_p = 1.41h$, $t_{1/2(k_a)} = 0.15h$, $t_{1/2(k_e)} = 10.63h$ 。与单药肟硫磷染毒相比^[9], 氰戊菊酯明显增加肟硫磷的吸收速率, 延长消除相半衰期, 使机体对肟硫磷的代谢降解速率减慢。据报道^[10], 有机磷类农药所涉及的酶系主要有细胞色素 P-450 酶系、黄素酶系、磷酸三酯水解酶系、羧酸酯酶系、谷胱甘肽转移酶系等。而拟除虫菊酯农药代谢涉及的酶系主要有细胞色素 P-450 酶系、羧酸酯酶系等。据此推测, 肟硫磷与氰戊菊酯联合作用时, 肟硫磷代谢消除速率减慢是由于催化代谢肟硫磷的某些酶系活性受到抑制或丧失, 而氰戊菊酯则是这些酶系的抑制剂。氰戊菊酯能竞争结合体内有限的毒物代谢酶, 从而使肟硫磷水解减少。

有机磷类农药能抑制体内乙酰胆碱酯酶, 导致乙酰胆碱蓄积在胆碱能神经效应器接点, 拟除虫菊酯类农药能延缓 Na^+ 离子通道关闭, 两种农药都是作用于机体的神经系统^[11]。从本次实验观察, 两种农药等毒复配后, 其毒作用表现是两种农药单剂各自毒作用

表现的综合。另外, 混剂染毒的动物出现死亡的时间要比单剂早 5~6 个小时。

参考文献:

- [1] 杨东仁, 何凤生, 付桂平. 我国农药使用品种现状分析 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1998, 16 (6): 348-350.
- [2] 宁黔冀, 尚稚珍. 混配杀虫剂对美洲大蠊初孵若虫增效作用的研究 [J]. 农药, 1997, 36 (3): 14-15.
- [3] 江山, 韩熹莱, 张文吉, 等. 辛硫磷对氰戊菊酯在抗性家蝇体内的增效机制 [J]. 植物保护学报, 1993, 20 (4): 352-362.
- [4] 王心如, 何冬宁, 石云, 等. 有机磷类与拟除虫菊酯类农药的急性联合毒性 [J]. 中国公共卫生, 2000, 16 (3): 206-207.
- [5] 杨春龙, 王鸣华, 陈道文, 等. 20% 辛氰乳油的高效液相色谱分析 [J]. 农药, 1995, 34 (6): 21-22.
- [6] 顾兵, 王心如, 何凤生. 肟硫磷的毒物代谢动力学和毒效学 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2000, 14 (5): 364-368.
- [7] 童建, 冯致英. 环境化合物的联合作用 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1994. 1-27.
- [8] Houston DH. Metabolic fate of synthetic pyrethroid insecticides in mammals [J]. Progress in drug metabolism, 1979, 3: 244-255.
- [9] Patricia E Levi, Robert M Hollingworth, Ernest Hodgson. Differences in oxidative dearylation and desulfuration of fenitrothion by cytochrome P450 isozymes and in the subsequent inhibition of monooxygenase activity [J]. Pestic Biochem physiol, 1988, 32 (3): 224-231.
- [10] 冷欣夫, 唐振华, 王荫长. 杀虫药剂分子毒理学及昆虫抗药性 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [11] 石年, 李涛, 刘毓谷. 我国对拟除虫菊酯类农药神经毒理学研究概况 [J]. 卫生毒理学杂志, 1992, 13 (4): 278-281.