

# 石杉碱甲对急性水胺硫磷和辛硫磷中毒时 AChE活力的影响

刘黎, 谢广云, 王健, 赵文锦, 孙金秀

(中国疾病预防控制中心职业卫生与中毒控制所, 北京 100050)

**摘要:** 目的 观察石杉碱甲(哈伯因, HupA)对水胺硫磷和辛硫磷急性染毒小鼠的 AChE活力的影响。方法 实验小鼠随机分为 HupA干预组和未干预组, 所有小鼠均经口给予一定剂量水胺硫磷或辛硫磷, 干预组小鼠于染毒前 2 h经口给予 HupA, 而后定时测定染毒后全血、红细胞和脑组织的 AChE活力值。结果 无论是水胺硫磷还是辛硫磷染毒, HupA干预组的全血、红细胞及脑组织 AChE活力均高于同时点的未干预组。结论 HupA可以对抗水胺硫磷和辛硫磷对 AChE活性的抑制作用, 提示 HupA可能具有预防和治疗水胺硫磷和辛硫磷中毒的作用。

**关键词:** 石杉碱甲(哈伯因); AChE; 水胺硫磷; 辛硫磷

**中图分类号:** R595.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2011)02-0092-03

Effect of Huperzine A on AChE activity in blood of rats during acute isocarbophos or phoxim poisoning in mice

LIU Li, XIE Guangyun, WANG Jian, ZHAO Wenjin, SUN Jinxiu

(National Institute of Occupational Health and Poison Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China)

**Abstract:** Objective To research the effect of Huperzine A (HupA) on blood AChE during acute isocarbophos or phoxim poisoning in mice. Methods The mice were randomly divided into HupA-treated groups and non-treated groups. All the mice were orally administered with isocarbophos or phoxim. HupA was administered by gavage 2 h before pesticides exposure, and then the AChE activity in blood, red blood cell and brain tissue were periodically detected. Results All the AChE activities in whole blood, red blood cell and brain tissue of HupA-treated group were significantly higher than that in non-treated group. Conclusion HupA might have some antagonistic effect on AChE inhibition caused by isocarbophos or phoxim, suggesting that HupA may have some prevention and treatment effect on acute organophosphorus poisoning.

**Key words:** Huperzine A (HupA); acetylcholinesterase (AChE); isocarbophos; phoxim

HupA (Huperzine A) 系我国学者从石杉属植物千层塔 (*Huperzia serrata*) 中分离到的一种生物碱, 是一种外周和中枢系统的高效可逆的胆碱酯酶抑制剂, 且对 AChE 有特异的选择性抑制作用<sup>[1,2]</sup>, 在我国被用于治疗老年痴呆症<sup>[3]</sup>。近年来国外科学家发现 HupA 对剧毒有机磷神经毒剂中毒具有预防作用, 能降低有机磷神经毒剂中毒的死亡率, 在减轻中毒症状和保护中枢神经系统方面具有良好的效果<sup>[4-7]</sup>。国内的有机磷中毒都是有机磷农药, HupA 对有机磷农药中毒是否具有应用价值, 报道较少。

辛硫磷和水胺硫磷同属有机磷农药类, 水胺硫磷分子结构中含有甲烷氧基, 为国内合成的广谱性高毒有机磷杀虫、杀螨剂。辛硫磷分子结构中含有双乙烷基, 是一种高效、低毒、杀虫谱广、击倒力强、残留

期短、使用较广、用量较大的杀虫剂, 中毒事件的发生率比较高。本实验以这两种结构、毒性不同的农药急性中毒模型, 采用一次性预防给药方式, 研究 HupA 对有机磷农药急性中毒的预防作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂及配制

质量浓度为 68% 的水胺硫磷由河北威远生物化学有限公司提供, 质量浓度为 40% 的辛硫磷乳油由江苏宝灵化工股份有限公司提供; 吐温 80 由广州南方玻化公司进口分装。取适量水胺硫磷, 加入适量的吐温 80 充分搅拌混匀使之与农药充分接触, 再加入蒸馏水配制成所需浓度的乳化混悬液备用。取适量辛硫磷, 加花生油溶解, 充分搅拌混匀并定容, 配制成所需浓度的溶液。二硫二硝基苯甲酸 (DTNB)、碘化硫代乙酰胆碱均由 Sigma 公司生产, 水杨酸毒扁豆碱由 Baker 化学品公司生产, HupA 片剂 (50 μg/

片)由河南竹林众生制药股份有限公司提供,将片剂研磨,加入适量蒸馏水配制成混悬液备用。

## 1.2 实验动物

雄性昆明小鼠,体重 18~22 g,军科院实验动物中心提供[许可证号:SCXK-(军)2002-001]。

## 1.3 方法

### 1.3.1 HuPA干预下急性水胺硫磷中毒小鼠 AChE

活力的时效变化 血 AChE测定:20只小鼠(已禁食 12 h)随机分为 2组,每组 10只。HuPA预防干预组经口给予 HuPA (0.5 mg/kg),2 h后经口一次性水胺硫磷染毒 (1/2 LD<sub>50</sub>, 7.35 mg/kg),灌胃量为 0.1 ml/10 g;未干预组经口一次性水胺硫磷染毒(剂量同治疗组)。各组于染毒前及染毒后 0.5、1、2、4、8、12和 24 h经断尾用微量采血管采 10 μl 全血,测全血和红细胞 AChE活力。脑 AChE测定:108只小鼠(已禁食 12 h)随机分为 18组,每组 6只。9组为 HuPA干预组,9组为未干预组,染毒剂量及时间与上同,各组于染毒前及染毒后 0.5、1、2、4、8、12、24和 48 h断头取脑组织 0.3~0.5 g 用于测定脑组织中不同时间点的 AChE活力。

### 1.3.2 HuPA对急性辛硫磷中毒小鼠 AChE活力时

效变化的影响 血 AChE测定:20只小鼠(已禁食 12 h)随机分为 2组,每组 10只。HuPA干预组经口给予 HuPA (0.5 mg/kg),2 h后经口一次性辛硫磷染毒 (1/2 LD<sub>50</sub>, 851.25 mg/kg),灌胃量为 0.1 ml/10 g;未干预组全部经口一次性辛硫磷染毒(剂量同治疗组)。各组于染毒前及染毒后 0.5、1、2、4、8、12和 24 h经断尾用微量采血管采 10 μl 全血,测全血和红细胞 AChE活力。脑 AChE测定:108只小鼠(已禁食 12 h)随机分为 18组,每组 6只。9组为 HuPA干预组,9组为未干预组,染毒剂量及时间与上同,各组于染毒前及染毒后 0.5、1、2、4、8、12、24和 48 h断头取脑组织 0.3~0.5 g 用于测定脑组织中不同时间点的 AChE活力。

1.3.3 脑组织处理 取脑后用生理盐水冲洗后称重,将 0.3~0.5 g 的脑组织放于匀浆器中,加入 10 倍体积冰冷的 0.9%生理盐水,匀浆后 3 000 r/min 离心 10 min 取 0.2 ml 上清液测定脑组织 AChE活力值。

1.3.4 AChE测定方法 AChE活力测定方法采用改良的 Ellman 分光光度法<sup>[4]</sup>。全血 AChE活力值表示为每毫升全血每分钟产生硫代胆碱的量(U/ml)。红细胞 AChE活力值为全血和血清 AChE活力值的差值。脑组织 AChE活力值表示为每克脑组织每分钟产

生硫代胆碱的量(U/g brain)。

1.3.5 统计学处理 应用 SPSS 软件进行统计分析。干预组与非干预组 AChE活力值的比较采用 t 检验。

## 2 结果

### 2.1 HuPA对急性水胺硫磷中毒小鼠 AChE活力的影响

全血 AChE活力:未干预组动物染毒后全血 AChE活力持续降低,在 0.5 h 内下降幅度最大,12 h 达最低点,被抑制 85%,后慢慢恢复。而给予 HuPA 后染毒相同剂量的水胺硫磷组,虽然 AChE活力也下降,但持续高于未干预组,差异有统计学意义,至 24 h 逐渐相近(见图 1)。

红细胞 AChE活力:未干预组染毒后红细胞 AChE活力变化趋势与全血相似,12 h 达最低点,被抑制 80%,后逐渐恢复。在 0.5、1、2、12 h 这几个时点 HuPA 治疗组的 AChE活力高于未干预组,差异有统计学意义(见图 2)。

脑组织 AChE活力:两组脑组织 AChE活力染毒后均逐渐降低,未干预组染毒后 0.5 h 被抑制了 80%左右, HuPA 干预组被抑制了 50%,直到 4 h 两组都降到最低点,后开始回升,48 h 恢复到对照组水平。在 0.5、1、2、4、8 h 5 个时点两组的 AChE活力值差异具有统计学意义, HuPA 干预组的活力值高于水胺硫磷染毒组(见图 3)。

### 2.2 HuPA对急性辛硫磷中毒小鼠 AChE活力的影响

全血 AChE活力变化:两组的全血 AChE活力值在染毒后 0.5 h 下降幅度最大,未干预组被抑制了 76%, HuPA 干预组被抑制了 63%,后继续缓慢下降,至 24 h 达最低点,未干预组被抑制了 88%, HuPA 干预组被抑制了 86%。0.5、1、2、4、24 h 这 5 个时点差异有统计学意义(P<0.01),12 h 两组的 AChE活力值差异具有统计学意义(P<0.05), HuPA 干预组的活力值高于未干预组(见图 1)。

红细胞 AChE活力变化:两组的红细胞 AChE活力值在 0.5、1、2、4、8 h 5 个时点差异也有统计学意义,两组 AChE活力最大都被抑制了 80%左右, HuPA 干预组的活力值高于未干预组(见图 2)。

脑组织 AChE活力变化:染毒后两组的脑 AChE活力都逐渐降低, HuPA 干预组高于未干预组,在 0.5、1、2、4、8、12 h 这 6 个时点两组的 AChE活力值差异有统计学意义(见图 3)。

## 3 讨论

无论是水胺硫磷还是辛硫磷染毒,在染毒后的前

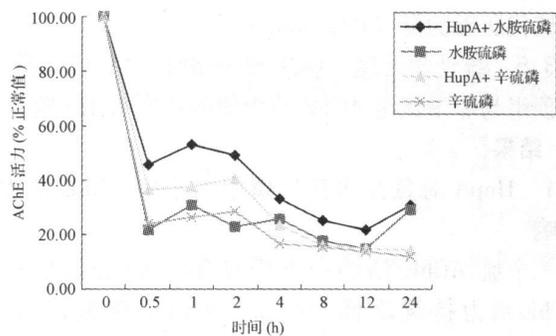


图1 HupA对急性水胺硫磷和辛硫磷中毒小鼠全血AChE活力的影响

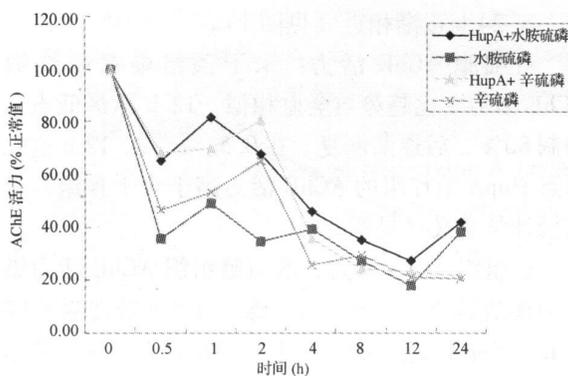


图2 HupA对急性水胺硫磷和辛硫磷中毒小鼠红细胞AChE活力的影响

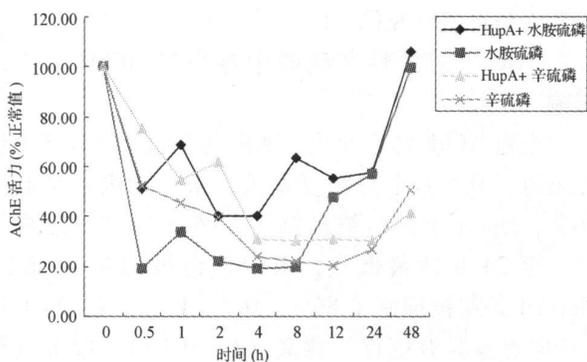


图3 HupA对急性水胺硫磷和辛硫磷中毒小鼠脑组织AChE活力的影响

期, HupA干预组的全血、红细胞及脑组织 AChE活力均高于未干预组, 显示出 HupA对 AChE的保护性抑制作用的动力学过程。预先给予 HupA后, HupA可逆性地与血清中的 ACh结合, 从而短暂保护其不与有

机磷发生结合, 随后再释放出 AChE 提高 AChE的浓度。值得注意的是脑组织 AChE活力, HupA干预组脑组织 AChE活力高于未干预组, 这说明 HupA能透过血脑屏障, 不仅能保护血液中 AChE 而且也能有效保护脑组织 AChE免受有机磷的不可逆性磷酸化作用。但从两组有机磷农药染毒后 AChE活力的变化趋势可以看出它们之间的区别: 水胺硫磷染毒后全血 AChE活力 12 h降到最低点, 后慢慢恢复, 脑 AChE活力在 4 h降到最低点, 48 h恢复正常; 而辛硫磷染毒后全血活力 24 h降到最低点, 脑 AChE活力在 12 h降到最低点, 48 h才恢复到 50%左右。这说明辛硫磷抑制 AChE活力的时间更长, 恢复得比被水胺硫磷抑制的 AChE活力慢, 而长时间的抑制会导致 AChE更易老化。从 HupA的效果来看, HupA对水胺硫磷中毒的预防效果要优于对辛硫磷的预防效果<sup>[8]</sup>, 这可能与辛硫磷抑制的 AChE恢复较慢有关。

参考文献:

- [1] Ye JW, Cai JX, Wang LM, et al. Improving effects of Huperzine A on spatial working memory in aged monkeys and young adults monkeys with experimental cognitive impairment [J]. J Pharmacol Exp Ther 1999; 288: 814-819
- [2] Ye JW, Shang YZ, Wang ZM, et al. Huperzine A ameliorates the impaired memory of aged rat in the Morris water maze performance [J]. Acta Pharmacol Sin 2002; 24: 65-69
- [3] 范伟女. 石杉碱甲联合尼莫地平治疗轻中度血管性痴呆的临床观察 [J]. 心脑血管病防治, 2009; 9(3): 693-695
- [4] Gunwald J, Raveh L, Doctor P, et al. Huperzine A as a pretreatment candidate drug against nerve agent toxicity [J]. Life Sci 1994; 54: 991-997
- [5] Ashiani Y, Grundwald J, Alkaiki D, et al. Studies with Huperzine A a new candidate in the research of prophylaxis against nerve agent [J]. Proceedings of Medical Defence Bioscience Review 1996; 105-110
- [6] Lallement G, Veiret J, Masqueliez M, et al. Efficacy of huperzine in preventing soman induced seizures: neuropharmacological changes and lethality [J]. Fund Clin Pharmacol 1997; 11: 387-394
- [7] Tonduli L, Testolier G, Masqueliez C, et al. Effects of huperzine used as pretreatment against soman induced seizures [J]. Neuro Toxicology 2001; 22: 29-37
- [8] 刘黎, 谢广云, 王健, 等. 哈伯因对急性水胺硫磷和辛硫磷中毒的预防作用比较 [J]. 中国工业医学杂志, 2006; 19(4): 193-195

欢迎订阅、投稿、发布广告