

丁酮肟及酰胺磷定对大鼠血液中梭曼消除的影响

应翔宇, 阮金秀

(北京毒物药物研究所, 北京 100850)

摘要: 采用电鳐胆碱酯酶抑制法测定大鼠血液中梭曼残留浓度, 考察了丁酮肟(DAM)及酰胺磷定(HI-6)对大鼠血液中梭曼消除的影响。结果表明, 415 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 梭曼(5 LD₅₀)iv 后 3 min, DAM 预处理有加速梭曼在大鼠血液中消除的趋势, 使血中梭曼浓度由(86 ± 22) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 下降到(53 ± 9) $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 这可能与 DAM 加速了大鼠体内主要解毒器官中磷酰化羧酸酯酶(CaE)的脱磷酰化速率有关, 使有限的酶分子结合了更多的梭曼。相比之下, HI-6 预处理则对大鼠血液中梭曼浓度没有明显影响。提示在大鼠体内, CaE 对梭曼的解毒作用比胆碱酯酶更为重要。
关键词: 梭曼; 羧酸酯酶; 胆碱酯酶; 重活化剂; 丁酮肟; 酰胺磷定; 代谢解毒; 药物

中图分类号: R969.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-300X(2001)01-0065-03

啮齿类动物对梭曼有很强的内源性解毒能力。低毒性的 R(+)梭曼可以很快被水解酶水解解毒; 而对高毒性的 R(-)梭曼, 水解酶的作用则很弱, 主要靠酯酶的结合作用特别是与羧酸酯酶(carboxylesterase, CaE), 胆碱酯酶(cholinesterase, ChE)按 1:1 的比例共价结合而解毒^[1-3]。酶与梭曼结合后所形成的磷酰化酶如能及时去磷酰化, 就有可能使有限的酶分子结合更多的梭曼, 并减少毒剂到达靶器官的量, 从而起到较好的抗毒作用。为证明这一点, 作者以 CaE 重活化剂丁酮肟(diacetylmonoxime, DAM)及 ChE 重活化剂酰胺磷定(pyramidoxime, HI-6)为工具药, 考察了它们对大鼠体内梭曼解毒作用的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

DAM 北京化学试剂公司生产。HI-6, 梭曼(R(+):R(-))均由北京毒物药物研究所提供。Model 550 酶标仪为美国 BIO-RAD 公司产品, 3p87 药代动力学数据处理程序由中国数学会药理分会编制。

1.2 动物分组及给药方法

Wistar 大鼠, ♀, 180 ~ 220 g, 由军事医学科学院实验动物中心提供。实验动物于实验前 12 h 禁食, 自由饮水。

将大鼠随机分为梭曼对照组, DAM + 梭曼组, HI-6 + 梭曼组。DAM + 梭曼组 200 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ DAM ip, 1 h 后梭曼 415 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (5 LD₅₀)iv。HI-6 + 梭曼组 20 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ HI-6 ip^[5], 20 min 后梭曼 415 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ iv。

1.3 大鼠血液中梭曼残留浓度的测定

大鼠按 415 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 梭曼尾静脉注射后, 于不同时间分别从眼球取血 50 μL , 并立即加入 18 μL 高氯酸(1 mol·L⁻¹)终止梭曼与血液中解毒酶继续反应, 充分混匀后(10 100 × g) - 4℃离心 2.5 min, 上清液用生理盐水按 1:85(V/V)稀释后, 取出 10 μL , 外加电鳐 AChE, 孵温 10 min 后, 按羟胺法^[4]测定酶活性, 根据梭曼对电鳐 AChE 抑制程度换算成血中梭曼残留浓度。

1.4 统计学处理

用“SAS”统计软件中的“单因素方差分析(ANOVA)”及具有两因素重复测量的统计学方法处理数据。

2 结果

从图 1 结果可知, 在梭曼中毒后 3 min 内, DAM 对大鼠血液中梭曼残留浓度没有显著影响, 但在后续时间点中如 3 ~ 10 min, 却显著降低了血液中的梭曼残留浓度。相比之下, HI-6 在梭曼中毒后 0.25 ~ 10 min 内, 对大鼠血液中的梭曼消除没有明显影

收稿日期 2000-04-26 接受日期 2000-08-09

作者简介: 应翔宇(1970-), 男, 吉林省长春市人, 助理研究员, 博士, 主要从事神经药理及毒理学研究; 阮金秀(1936-), 男, 福建省仙游人, 教授, 博士生导师, 主要从事药理学研究。

响。

3 讨论

CaE 作为内源性有机磷清除剂,因其活性位点数量大,易被梭曼磷酰化而不易“老化”,故在梭曼解毒中发挥了重要作用^[5]。大鼠、豚鼠和小鼠在一段时间内用亚致死剂量梭曼多次中毒后,梭曼的 LD₅₀ 值均有不同程度的提高,而且耐受剂量随中毒间隔的延长而加大,提示耐受性的增强与 CaE 的自发性重活化作用有一定的关系,在两次中毒之间, CaE 的活性已有所恢复,使得下次中毒时,已有足够量的 CaE 能与有机磷化合物结合,从而有效阻止了游离梭曼到达靶部位^[6]。已经知道,大鼠血浆中梭曼磷酰化 CaE 的自发性重活化速度较慢(体内、外半重活化时间分别为 8.4、2.7 h)^[7]。而 DAM 则对 CaE 的重活化效果较好,0.3 mmol·L⁻¹ DAM 2 h 就可以完全重活化被多种有机磷化合物甚至是梭曼抑制的 CaE^[8],但 DAM 能否因此而提高体内 CaE 的解毒效能,并没有得到验证。我们通过观察大鼠血液中梭曼残留浓度的变化,初步显示在梭曼靶前解毒(指梭曼在进入机体之后并在到达靶器官之前机体对其解毒作用)中, DAM 没有加速消除梭曼的作用,但 DAM 却加速了体内梭曼的后续消除,这可能与加速了解毒器官中 CaE 的重活化速率有关。

HI-6 对大鼠血液中游离梭曼的消除没有明显的影响。HI-6 在体外对梭曼中毒 AChE 有比较强的重活化作用,但在体内的重活化作用比较弱,且没有重活化 CaE 作用^[9],因而不足以影响血液中梭曼的消除过程。

上述 DAM 及 HI-6 的实验结果进一步说明了在大鼠体内, CaE 对梭曼的解毒作用比胆碱酯酶更为重要。

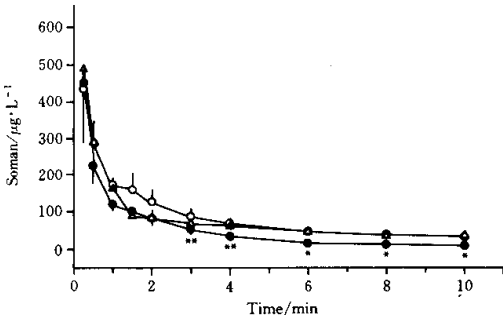


Fig 1. Concentration-time curves of soman in rat blood. (○) soman(415 μg·kg⁻¹ iv)(●) pretreatment with DAM(200 mg·kg⁻¹ ip) 1 h before soman injection, (△) pretreated with HI-6(20 mg·kg⁻¹ ip) 20 min before soman injection. $\bar{x} \pm s$, n = 5 - 9. * P < 0.05, ** P < 0.01, compared with soman control.

梭曼浓度-时间数据拟合结果表明(表 1),梭曼 iv 后,其在大鼠血液中的消除符合二室开放模型。进入体内的梭曼,通过水解酶的水解作用,与蛋白质特别是与血液及肺脏中 CaE 的结合作用,向外周组织中分布等因素的影响,故表现出快速的分布相(α相),但随着解毒酶的逐步饱和,梭曼的消除呈下降趋势,因而出现了缓慢的 β 消除相。DAM 能明显加速梭曼在大鼠血液中的消除,如使 AUC_(0.25-10 min) 由 (773 ± 89) μg·min·L⁻¹ 下降到 (476 ± 46) μg·min·L⁻¹; HI-6 则对梭曼在大鼠血液中的动力学参数基本没有影响。

Tab 1. Toxicokinetic parameters of soman in rat blood

Parameter	Soman	DAM + soman	HI-6 + soman
V _d /L·kg ⁻¹	0.70 ± 0.17	0.92 ± 0.51	0.60 ± 0.06
t _{1/2α} /min	0.57 ± 0.19	0.55 ± 0.34	0.47 ± 0.23
t _{1/2β} /min	6.5 ± 1.9	5.9 ± 3.9	8.4 ± 1.9
AUC _(0.25-10 min) /μg·min·L ⁻¹	773 ± 89	476 ± 46**	647 ± 176
Cl _(s) /L·kg ⁻¹ ·min ⁻¹	0.32 ± 0.09	0.61 ± 0.11**	0.32 ± 0.11

The treatments were the same as described in Fig 1. $\bar{x} \pm s$, n = 5 - 9. ** P < 0.01, compared with soman control(415 μg·kg⁻¹ iv).

4 参考文献:

- [1] De Jong LPA, Duk CV, Berhiteo D, Benschop HP. Hydrolysis and binding of a toxic stereoisomer of soman in plasma and tissue homogenates from rat, guinea pig and marmoset, and in human plasma [J]. *Biochem Pharmacol*, 1993, **46**(8):1413-1419.
- [2] Maxwell DM. The specificity of carboxylesterase protection against the toxicity of organophosphorus compounds [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1992, **114**(2):306-312.
- [3] Nordgren I, Lundgren G, Puu G, Karlen B, Holmstedt B. Distribution and elimination of the stereoisomers of soman and their effect on brain acetylcholin [J]. *Fund Appl Toxicol*, 1985, **5**(6 Pt 2):S252-S259.
- [4] 李凤珍, 孙曼霁. 微量羟胺比色法测量胆碱酯酶活性 [J]. *军事医学科学院院刊*, 1986, **10**(3):211-214.
- [5] Maxwell DM, Lenz DE, Groff WA, Kaminskii A, Froehlich H. The effects of blood flow and detoxification *in vivo* cholinesterase inhibition by soman in rat [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1987, **88**(1):66-76.
- [6] Sterri SH, Lyngaas S, Fonnum F. Toxicity of soman after repetitive injection of sublethal doses in rat [J]. *Acta Pharmacol Toxicol*, 1980, **46**(1):1-7.
- [7] Milan J, Melita K, Matej M. Interaction of organophosphorus compounds with carboxylesterase in the rat [J]. *Arch Toxicol*, 1996, **70**(7):444-450.
- [8] Maxwell DM, Lieske CN, Brecht KM. Oxime-induced reactivation of carboxylesterase inhibited by organophosphorus compound [J]. *Chem Res Toxicol*, 1994, **7**(3):428-433.
- [9] Sterri SH, Valdal G, Lyngaas S, Odden S, Sorensen DM, Fonnum F. The mechanism of soman detoxification in perfused rat liver [J]. *Biochem Pharmacol*, 1983, **32**(12):1941-1943.

Effects of diacetylmonoxime and HI-6 on soman clearance from blood in rats

YING Xiang-Yu, RUAN Jin-Xiu

(Beijing Institute of Pharmacology and Toxicology, Beijing 100850, China)

Abstract The effects of both carboxylesterase reactivator, diacetylmonoxime (DAM) and cholinesterase reactivator, HI-6 on the disappearance of soman from blood in rats intoxicated with soman ($415 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 5LD_{50} , *iv*) were studied using electric-eel acetylcholinesterase-based microassay. In rats pretreated with DAM the soman concentration was significantly reduced during 3-10 min, which might be partly due to its reactivation of carboxylesterase in detoxifying organs, and thereby increased efficacy of endogenous detoxify-

ing enzymes. By contrast, HI-6 had negligible effects on soman clearance from blood in rats. It suggests that carboxylesterase is more important than cholinesterase in soman detoxification in rats.

Key words: soman; carboxylesterase; cholinesterase; reactivator; diacetylmonoxime; pyramidoxime; metabolic detoxication, drug

(本文编辑 石涛)