

◆ 研究与开发 ◆

烯肟菌酯原药对大鼠急性吸入毒性

吴宗澄

(沈阳化工研究院有限公司 安全评价中心, 沈阳 110021)

摘要:为测定烯肟菌酯原药对大鼠的急性吸入毒性 LC_{50} 值,确定毒性分级,参照OECD化学品测试导则,以SD大鼠为试验动物,对烯肟菌酯原药进行急性吸入毒性试验。结果显示,烯肟菌酯原药对雄、雌大鼠急性吸入毒性 LC_{50} 值(4 h)分别为2 760 mg/m^3 、3 208 mg/m^3 。根据全球化学品统一分类与标签制度(GHS)急性吸入毒性分级标准,烯肟菌酯原药急性吸入毒性为4级,结合大鼠急性经口与急性经皮数据,判定烯肟菌酯为低毒农药。

关键词:烯肟菌酯原药;大鼠;急性吸入毒性; LC_{50} 值

中图分类号:TQ 450.2⁺⁶¹; TQ 455.4⁺⁹ 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2018.04.005

Acute Inhalation Toxicity Test of Enoxastrobin TC on Rat

Wu Zong-cheng

(Safety Evaluation Center of Shenyang Research Institute of Chemical Industry Ltd., Shenyang 110021, China)

Abstract: To determine the acute inhalation toxicity LC_{50} and study the classification of enoxastrobin TC on rat, an acute inhalation experiment was carried out according to the OECD chemical test guidelines. The results showed that the acute inhalation LC_{50} values (4 h) of enoxastrobin TC on male and female rats were 2 760 mg/m^3 and 3 208 mg/m^3 . According to GHS classification criteria for acute inhalation toxicity, enoxastrobin TC should be classified as category 4. In combination with the acute oral LD_{50} and acute percutaneous LD_{50} , it was found enoxastrobin TC had low toxicity.

Key words: enoxastrobin TC; rat; acute inhalation toxicity; LC_{50}

烯肟菌酯是沈阳化工研究院自主研制的新型杀菌剂,属于甲氧基丙烯酸酯类杀菌剂。其化学名称为2-[[[3-(4-氯苯基)-1-甲基-2-烯丙基-1-亚氨基]氧基]甲基]- α -(甲氧基亚甲基)苯乙酸甲酯^[1]。烯肟菌酯杀菌谱广、活性高,具有预防及治疗作用,对由鞭毛菌引起的多种植物病害有良好的防治效果。其与氟吗啉和霜脲氰无交互抗性,且与环境有良好的相容性,符合高效、低毒,环境友好的新农药发展方向^[1-2]。烯肟菌酯原药目前报道的毒性有:大鼠急性经口 LD_{50} 值为1 470 mg/kg (雄性)、1 080 mg/kg (雌性);大鼠急性经皮 LD_{50} 值 $>2 000 mg/kg$ (雄、雌)^[3-4]。目前尚未见有关烯肟菌酯原药吸入毒性的报道。本研究通过对SD大鼠的急性吸入毒性试验来测定烯肟菌酯原药的急性吸入毒性,了解其经呼吸道进入动物机体后对呼吸道及全身的损伤和危害程度,为烯肟菌酯的

毒理学安全评价提供资料。

1 材料与方 法

1.1 受试物与仪器

烯肟菌酯原药为淡黄色固体,质量分数90%,由沈阳化工研究院有限公司提供。

所用仪器有:HOPE-MED 8052H粉尘类口鼻多浓度式染毒设备,购自天津开发区合普工贸有限公司;赛多利斯BS124S电子天平,购自杭州汇尔仪器设备有限公司;行星式高能球磨机,购自德国莱驰公司;TY-08C智能个体粉尘取样机,购自盐城天悦仪器仪表有限公司;3321药物气溶胶粒径谱仪系统,购自美国TSI公司。

1.2 动物来源与饲养环境

SPF级SD大鼠40只,雌雄各半,由北京维通利华

实验动物技术有限公司提供(许可证号SCXK(京)2017-0011)。引入动物后进行适应检查,适应期每笼2只大鼠,适应时间至少5 d,引入当天进行健康检查,并称量体重。饲料为灭菌全价营养粉料,自由饮水,动物房温度为20.13~23.82℃,湿度为40.75%~69.89%,光周期自动控制,明暗各12 h/d。

1.3 试验方法

1.3.1 剂量设计

参照经济合作与发展组织(OECD)化学品测试导则《急性吸入毒性试验:急性毒性分类法》要求及预试验结果,试验设计4个剂量组,分别为5 000, 2 000, 1 000, 500 mg/m³。根据大鼠体重采用随机分组法分为4组,每组10只大鼠,雌雄各半。分组时组内大鼠的体重应控制在平均体重的20%之内。

1.3.2 供试品的配制

5 000, 2 000, 1 000 mg/m³这3个剂量组,供试品用行星式球磨机直接研磨成粉末后用于粉尘气溶胶发生。500 mg/m³剂量组,供试品与气相白炭黑(白色粉末,沈阳化工研究院有限公司生产)按质量比90:10混合研磨,发生气溶胶。

1.3.3 染毒途径及方法

使用HOPE-MED 8052H粉尘类口鼻多浓度移动式染毒柜,雌雄大鼠各20只,随机分成4个剂量组,每个剂量组雌雄大鼠各5只。将动物分别放入固定器内,将固定器安装到染毒柜上,然后密封染毒柜,定量进样的供试品同空调过滤的压缩空气(0.04 m³)吸入室内混合,设置进样速度和混合气体流量,通过柜顶部的喷头连续向柜内发生气溶胶,通过柜底部连接的尾气吸收过滤装置进行尾气吸收。动物给药前先对染毒柜内质量浓度进行调试,2次连续检测染毒柜内质量浓度波动小于20%,进行正式试验,动物暴露染毒时间为4 h。

1.3.4 给药暴露参数检测

染毒过程中对动物呼吸带供试品实际质量浓度和粒径分布进行分析,对进气流量、染毒柜温度、相对湿度、氧气浓度进行检测。

质量浓度测量:采样前称量滤膜重量为 m_1 ,采样结束后称量滤膜重量为 m_2 ,采样质量 $m=m_2-m_1$,则气溶

胶质量浓度为 $C(\text{mg}/\text{m}^3)=\text{采样质量}(m)/\text{采样体积}(V)$ 。

粒径测定:使用药物气溶胶粒径谱仪(3321)进行粒径测定,主要测定粒子质量中值空气动力学直径(MMAD)及粒子空气动力学几何标准差(GSD)。

1.3.5 动物观察与体重称量

染毒期间尽可能观察固定器中动物的反应,记录染毒动物的临床表现和体征。动物从固定器上取下时进行观察,以后每天观察1次,连续观察14 d。

分别在分组时、给药前称量动物体重,并在给药后第2, 4, 8天及以后每周和观察期结束时称量存活动物体重,试验期间记录死亡和濒死动物体重。

1.3.6 病理学检查

试验期末对全部存活动物采用CO₂进行麻醉,放血后进行大体解剖。解剖时对动物进行全面仔细的肉眼观察,特别关注对肺部及上呼吸道的刺激及局部毒性反应,同时检查颅腔、胸腔、腹腔、各个天然孔道及其内容物,详细记录每只动物的大体解剖结果。

1.3.7 数据处理和结果分析

分别统计各组动物的数目、症状、死亡、存活、大体解剖及组织病理学检查的各类病变发生频率,计算不同组及不同性别动物上述各项的发生率及不同时间的体重均值和标准差。根据供试品浓度和动物死亡率,使用SPSS软件,采用概率单位回归法计算急性吸入LC₅₀值。根据LC₅₀的值,按照GHS标准(见表1)对供试品进行急性毒性分类。

表1 GHS 急性吸入毒性分类标准

| 类别 | LC ₅₀ 值/(mg·L ⁻¹) |
|-----|--|
| 第1级 | 0 < LC ₅₀ 值 ≤ 0.05 |
| 第2级 | 0.05 < LC ₅₀ 值 ≤ 0.5 |
| 第3级 | 0.5 < LC ₅₀ 值 ≤ 1.0 |
| 第4级 | 1.0 < LC ₅₀ 值 ≤ 5.0 |
| 第5级 | 相当于经口或经皮LD ₅₀ 值2 000~5 000 mg/kg体重的剂量 |

2 试验结果

2.1 实际浓度与粒径分布

暴露染毒期间染毒柜气溶胶实际质量浓度和粒径分布测量结果见表2。4个剂量组实际质量浓度分别为5 059, 2 080, 1 040, 508 mg/m³。

表2 质量浓度和粒径分布结果

| 序号 | 质量浓度/(mg·m ⁻³) | 质量浓度测定值/(mg·m ⁻³) | | | | 平均值±SD | MMAD/μm | GSD |
|----|----------------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|----------|---------|------|
| | | 第1天 | 第2天 | 第3天 | 第4天 | | | |
| 1 | 5 000 | 5 078 | 5 016 | 5 116 | 5 024 | 5 059±47 | 2.69 | 2.08 |
| 2 | 2 000 | 2 120 | 2 080 | 2 100 | 2 020 | 2 080±43 | 2.65 | 2.09 |
| 3 | 1 000 | 1 080 | 1 000 | 1 020 | 1 060 | 1 040±37 | 2.98 | 2.00 |
| 4 | 500 | 510 | 518 | 505 | 500 | 508±8 | 2.90 | 2.03 |

所有剂量组气溶胶的MMAD值在2~3 μm 之间,GSD值在2~3之间。

2.2 染毒期间染毒柜内参数检测

染毒期间对进气流量、染毒柜温度、相对湿度、氧气浓度进行检测,检测结果见表3。

表3 染毒期间染毒柜参数

| 质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) | 进气量/ ($\text{m}^3\cdot\text{h}^{-1}$) | 温度/ $^{\circ}\text{C}$ | 湿度/ % | 氧气体积分数/ % |
|--|--|---------------------------|----------|--------------|
| 5 000 | 0.80 | 20.4 | 48.9 | 20.9 |
| 2 000 | 0.72 | 20.9 | 49.2 | 21.0 |
| 1 000 | 0.70 | 19.8 | 50.3 | 20.5 |
| 500 | 0.61 | 20.0 | 50.0 | 20.7 |

2.3 症状观察

当试验剂量为5 000 mg/m^3 时,雄、雌大鼠试验期间死亡率均为80%,20%的大鼠给药后出现会阴

污秽、少动、被毛蓬松和呼吸啰音等症状。雄大鼠药后第4天症状消失;雌大鼠会阴污秽、被毛蓬松和少动等症状药后第3天消失,呼吸啰音第5天消失。当剂量为2 000 mg/m^3 时,雄、雌大鼠均在给药后第2天出现死亡情况,其中雄鼠死亡率为40%,雌鼠死亡率为20%;各有60%和80%的雄、雌大鼠出现会阴污秽和少动等症状,第3天症状消失。当剂量为1 000 mg/m^3 时,雄、雌大鼠均无死亡;20%的雄大鼠出现被毛蓬松,40%的雌大鼠出现少动和会阴污秽症状,药后第3天症状消失,其余正常;当剂量为500 mg/m^3 时,大鼠给药后未出现死亡,也无其它症状。具体观察结果见表4。

2.4 体重称量结果

给药后第2天所有存活动物的体重都降低,其5 000 mg/m^3 剂量组存活大鼠体重于第8天恢复正常。体重称量结果见表5。

表4 染毒后大鼠症状

| 质量浓度/ ($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) | 性别 | 大鼠数/个 | 死亡数/个 | | 死亡率/% | 其它症状 | 发生率/% |
|--|----|-------|-------|-----|-------|-------------------|-------|
| | | | 第1天 | 第2天 | | | |
| 5 000 | 雄 | 5 | 4 | 0 | 80 | 少动、被毛蓬松、会阴污秽、呼吸啰音 | 20 |
| | 雌 | 5 | 4 | 0 | 80 | 少动、被毛蓬松、会阴污秽、呼吸啰音 | 20 |
| 2 000 | 雄 | 5 | 0 | 2 | 40 | 少动、会阴污秽 | 60 |
| | 雌 | 5 | 0 | 1 | 20 | 少动、会阴污秽 | 80 |
| 1 000 | 雄 | 5 | 0 | 0 | 0 | 被毛蓬松 | 20 |
| | 雌 | 5 | 0 | 0 | 0 | 少动、会阴污秽 | 40 |
| 500 | 雄 | 5 | 0 | 0 | 0 | 未见异常 | 100 |
| | 雌 | 5 | 0 | 0 | 0 | 未见异常 | 100 |

注:各剂量组药后第3天起大鼠未出现死亡。

表5 体重称量结果

| 质量浓度/($\text{mg}\cdot\text{m}^{-3}$) | 性别 | 给药前 | 第2天 | 第4天 | 第8天 | 第15天 |
|--|----|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 5 000 | 雄 | 245.20 \pm 22.75 | 240.43 \pm 30.70 | 231.32 \pm 30.98 | 247.20 \pm 39.80 | 262.16 \pm 49.14 |
| | 雌 | 237.11 \pm 30.15 | 231.45 \pm 14.68 | 231.66 \pm 28.64 | 243.45 \pm 20.11 | 250.87 \pm 36.75 |
| 2 000 | 雄 | 265.60 \pm 40.16 | 260.76 \pm 13.75 | 271.14 \pm 29.94 | 306.58 \pm 40.11 | 339.74 \pm 20.76 |
| | 雌 | 227.50 \pm 8.19 | 219.84 \pm 5.07 | 233.09 \pm 4.73 | 247.65 \pm 24.56 | 256.96 \pm 34.65 |
| 1 000 | 雄 | 308.15 \pm 24.23 | 300.09 \pm 8.49 | 305.71 \pm 4.75 | 319.43 \pm 10.04 | 356.47 \pm 4.89 |
| | 雌 | 225.22 \pm 13.03 | 200.04 \pm 14.80 | 210.77 \pm 3.75 | 224.35 \pm 8.31 | 233.75 \pm 10.60 |
| 500 | 雄 | 314.98 \pm 18.32 | 310.29 \pm 6.49 | 319.02 \pm 8.41 | 340.49 \pm 5.49 | 373.09 \pm 8.89 |
| | 雌 | 230.16 \pm 6.21 | 227.36 \pm 10.01 | 238.06 \pm 16.70 | 247.25 \pm 6.29 | 260.56 \pm 31.21 |

2.5 解剖与组织学观察结果

5 000, 2 000 mg/m^3 剂量组大鼠死亡解剖发现,肝脏呈暗红色,肺部出现红斑;大体解剖发现肺脏有大面积红色斑点,且大鼠组织出现淤点症状。1 000, 500 mg/m^3 剂量组动物有3例肝脏呈暗红色,其它解剖未见异常。

3 结论与讨论

根据烯酞菌酯质量浓度和动物死亡率,使用SPSS19.0软件,采用概率单位法计算急性吸入LC₅₀值。雄大鼠急性吸入LC₅₀值为2 760 mg/m^3 ,雌大鼠为

(下转第23页)

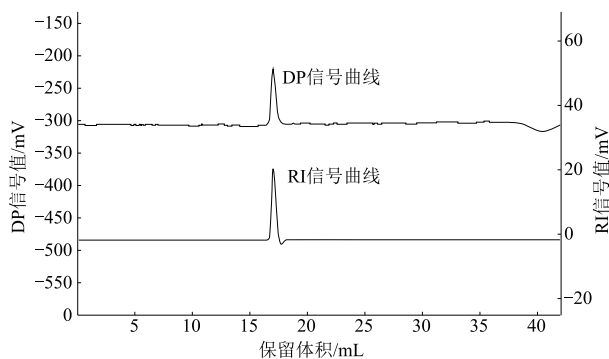


图1 流动相的 GPC 谱图

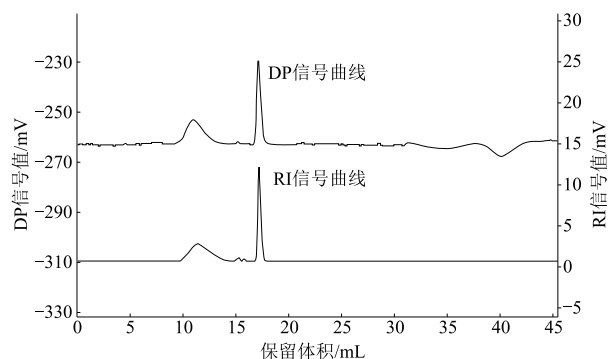


图2 聚羧酸盐分散剂 GPC 谱图

绘制聚乙二醇校正曲线。通过校正曲线,计算得到数均相对分子质量 M_n 为24 234,重均相对分子质量 M_w 为40 359,分布 M_w/M_n 为1.665。

3 结论

目前聚羧酸盐分散剂相对分子质量的测定难

度较大。采用凝胶渗透色谱法测定聚羧酸盐分散剂GY-D1256相对分子质量,难点在于选择合适的流动相将样品峰分离。选用体积比75:25的甲醇+水(含38.6 mmol/L NaCl和10.0 mmol/L NaH_2PO_4)缓冲溶液(pH=6.0)作为流动相,流速为0.5 mL/min,溶解时间为1 h,可得到聚羧酸盐分散剂GY-D1256的GPC谱图。通过校正曲线,得到GY-D1256的数均相对分子质量 M_n (24 234),重均相对分子质量 M_w (40 359),分布 M_w/M_n 为1.665。聚羧酸盐分散剂GY-D1256相对分子质量的测定可以为农药助剂新产品的开发提供一定的科学依据。

参考文献

- [1] 董学亮,杨睿,朱鸿飞,等.聚羧酸系列分散剂在农药水分散剂(WDG)中的应用[J].河南科学,2015,33(2):175-178.
- [2] 刘勤冬.几种聚羧酸盐分散剂在50%烯酰吗啉WDG中的应用评价[J].安徽化工,2014,9(3):22-24.
- [3] 湛凡更,李静,张旭峰.凝胶渗透色谱法测定木素磺酸盐相对分子质量分布[J].分析化学,2001,29(11):1363.
- [4] 韩敏.工业有机木质素的分子量及其分布的测定[J].中国建材,2013(4):94-95.
- [5] 谢梦婷,黄晓兰,罗辉泰,等.超高效凝胶色谱法测定聚乙二醇衍生物的分子量及其分布[J].分析测试学报,2017,36(11):1312-1317.

(责任编辑:顾林玲)

(上接第20页)

3 208 mg/m³。根据烯肟菌酯对大鼠急性经口LD₅₀值、大鼠急性经皮LD₅₀值,同时根据GHS标准,对烯肟菌酯进行急性毒性分级。烯肟菌酯原药急性吸入毒性为4级,属于低毒农药。

随着农业发展水平的提高,我国创制农药越来越多,农药的安全性问题也越来越受关注。烯肟菌酯杀菌活性高,杀菌谱广,与环境相容性好,具有较好的市场开发潜力^[5-6]。关于烯肟菌酯的急性吸入毒性尚未见报道,本试验通过对SD大鼠的急性吸入毒性试验来测定烯肟菌酯原药急性吸入毒性。结果表明,烯肟菌酯低毒,若制成有效喷雾药剂,不仅提高了药物的吸收速度,而且避免其它给药途径带来的不良影响,极大提升了用药的安全性。

参考文献

- [1] 孙克,吴鸿飞,张弘,等.烯肟菌酯高效体的合成与杀虫活性[J].

现代农药,2013,12(1):17-19;25.

- [2] 王斌,赵杰,司乃国,等.烯肟菌酯与丙硫菌唑混配在防治禾谷类作物病害上的应用[J].农药,2017,56(3):231-234.
- [3] 李肇丽,蔡磊明,赵玉艳,等.3种新型农药对赤眼蜂的急性毒性和安全性评价[J].农药,2009,48(6):435-436.
- [4] 佚名.沈阳化工研究院 烯肟菌酯——我国农药工业由仿制到创制的典范[J].科技成果纵横,2008(3):12.
- [5] Tu S, Xie Y Q, Gui S Z, et al. Synthesis and Fungicidal Activities of Novel Benzothioephene-substituted Oxime Ether Strobilurins [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2014, 24 (9): 2173-2176.
- [6] Xie Y Q, Huang Z L, Yan H D, et al. Design, Synthesis, and Biological Activity of Oxime Ether Strobilurin Derivatives Containing Indole Moiety as Novel Fungicide [J]. Chemical Biology & Drug Design, 2015, 85 (6): 743-755.

(责任编辑:顾林玲)