

## 氟咯草酮生物毒性的研究现状

刘诗宏<sup>1</sup>, 石劲敏<sup>2</sup>, 张素慧<sup>2</sup>, 唐黎明<sup>2</sup>, 周志俊<sup>1</sup>

**摘要:** 氟咯草酮(FLC)是一种吡咯酮类芽前施用的选择性除草剂,主要施用于谷物、向日葵、土豆等庄稼中,以防治多种阔叶类杂草和部分禾本科杂草。同类除草剂还有达草灭、氟啶酮、氟吡酰草胺等。2010年欧洲食品安全局(EFSA)发表了危险度评估报告,本文重点介绍该评估报告中的最新信息及近几年FLC生物毒性研究进展。

**关键词:** 氟咯草酮; 毒性; 代谢; 农药; 综述

**Research Status of Biototoxicity Caused by Flurochloridone** LIU Shi-hong<sup>1</sup>, SHI Jing-min<sup>2</sup>, ZHANG Suhui<sup>2</sup>, TANG Li-ming<sup>2</sup>, ZHOU Zhi-jun<sup>1</sup> (1.Ministry of Education Key Laboratory of Public Health Security/School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2.Department of Pharmacology and Toxicology, Shanghai Institute for Food and Drug Control, Shanghai 201203, China). Address correspondence to ZHOU Zhi-jun, E-mail: zjzhou@shmu.edu.cn • The authors declare they have no actual or potential competing financial interests.

**Abstract:** Flurochloridone (FLC) is a kind of pyrrolidone selective pre-emergence herbicide, mainly applied to corns, sunflowers, and potatoes to prevent and control broadleaf and gramineous weeds. Similar herbicides include norflurazon, fluridone, diflufenican, and so on. In 2010, the European Food Safety Authority (EFSA) published a risk assessment report on FLC. This paper focused on the latest information of the risk assessment report and the research progress on FLC biological toxicity in recent years.

**Key Words:** flurochloridone; toxicity; metabolism; pesticide; review

氟咯草酮(flurochloridone, FLC),化学名称为(3RS, 4RS, 3RS, 4RS)-3-氯-4-氯甲基-1-( $\alpha, \alpha$ -三氟间甲基)-2-吡咯烷酮,分子式 $C_{12}H_{10}Cl_2F_3NO$ ,相对分子量312.1, CAS号61213-25-0,其结构式见图1。FLC在20℃水中溶解度为28 mg/L,易溶于丙酮、氯苯、二甲苯等有机溶剂<sup>[1]</sup>。

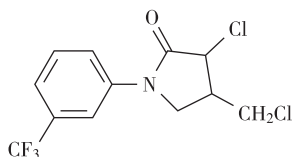


图1 氟咯草酮化学结构式

FLC是一种吡咯酮类芽前施用的选择性除草剂,可通过根茎吸收后干扰叶绿素、类胡萝卜素合成和脱落酸代谢,使叶子褪色,主要施用于谷物、向日

葵、土豆等庄稼中,防治多种阔叶类杂草和部分禾本科杂草。同类除草剂还有达草灭、氟啶酮、氟吡酰草胺等<sup>[2]</sup>。国内已有企业申请获批临时登记生产这一农药。该原药为棕色固体,包含同分异构体(1RS, 2RS)(*trans*)与(1RS, 2SR)(*cis*),其比例为3:1<sup>[3]</sup>。本课题组在2010年综述了FLC的毒理学研究结果<sup>[4]</sup>,同年欧洲食品安全局(EFSA)发表了危险度评估报告<sup>[3]</sup>,本文重点介绍该评估报告及近几年FLC毒性的研究情况。

### 1 欧洲食品安全局报告

#### 1.1 一般毒性

FLC对鸟类、鱼类、水生无脊椎动物和水生植物有中等急性毒性,对藻类的急性毒性较高<sup>[3]</sup>。小鼠经皮、经口、经呼吸道染毒引起的急性毒性较低,对眼睛、皮肤无刺激,但皮肤对此较敏感。对于大鼠、狗和兔子,FLC的靶器官可能还包括心脏、大血管等造血系统<sup>[3]</sup>。一份两年研究报告显示,雄性大鼠经口慢性毒性的无可见有害作用剂量(NOEL)为3.9 mg/(kg·d),雌性大鼠为19.3 mg/(kg·d),分类属于R62(可能损害生育能力)和R61(可能对胎仔造成伤害)。根据这些研究数据,将FLC短期毒性的NOEL定为20.0 mg/(kg·d),观察

DOI: 10.13213/j.cnki.jeom.2015.14795

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号: 81373040)

[作者简介] 刘诗宏(1990—),女,硕士生;研究方向:卫生毒理学;

E-mail: 13211020060@fudan.edu.cn

[通信作者] 周志俊, E-mail: zjzhou@shmu.edu.cn

[作者单位] 1.复旦大学公共卫生学院,教育部公共卫生安全重点实验室,上海 200032; 2.上海市食品药品检验所药理毒理室,上海 201203

到的有害作用最小剂量(LOAEL)为25.0mg/(kg·d)<sup>[3]</sup>。

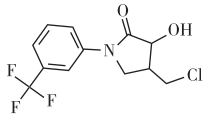
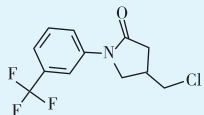
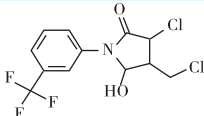
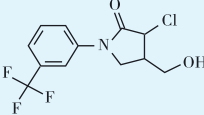
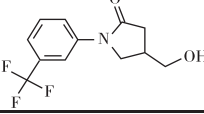
1.2 特殊毒性

FLC对啮齿类动物无基因毒性、致癌性和神经毒性。FLC被认为是一种潜在内分泌干扰物,但没有确切资料能够证明。对于雄性大鼠、小鼠、狗、兔子和猴子,FLC的靶器官为睾丸和附睾,大鼠更敏感。一项长期暴露评估显示,FLC对大鼠生殖系统NOAEL的毒性为28.6mg/(kg·d)。高剂量FLC会导致睾丸萎缩、精子异常增多、精子数变少,支持细胞空泡化,血清卵泡刺激素升高,生殖功能下降。

1.3 代谢特点

据EFSA报告,大鼠经口染毒42~90h超过90%的药物被吸收,72~90h原药在组织中残留少,肝、肾、附睾和血液里残留相对较多。FLC在体内代谢广泛,仅有1.5%原型药物被排出,尿、粪、血浆中可检测出大量未知组分。大鼠染毒72h内,超过97%的FLC被排出,尿液排出占38%~47%,粪便排出占49%~58%。兔子染毒96h内,87%~91% FLC被排出,尿液排出占62%~67%,粪便排出占22%~24%。大鼠尿液中有3种代谢物是乙酰半胱氨酸结合物,兔子尿液中可检测到4种乙酰半胱氨酸结合的代谢物,体外试验检测到3种氧化代谢物。目前检测出的5种FLC代谢物,见表1<sup>[3]</sup>。

表1 FLC已知代谢物

| 编码/名称                                    | 结构式                                                                                 |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| R406639<br>3-羟基-4-氯甲基                    |  |
| R42819                                   |  |
| 5-hydroxy-4-chloromethyl<br>3-羟基-4-氯甲基   |  |
| 4-dechloro-4-hydroxymethyl<br>4-去氯-4-羟甲基 |  |
| M8                                       |  |

2 新近研究

2.1 动物实验

本课题组开展的对雄性SD大鼠进行28d的经口

染毒发现<sup>[5]</sup>,750mg/kg染毒组睾丸重量、脏器系数、附睾重量和马尾附睾精子计数均明显下降;50mg/kg、750mg/kg染毒组睾丸曲细精管生精上皮发生退行性改变,支持细胞空泡化,生精细胞脱落;所有染毒组超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、谷胱甘肽还原酶(GSH-GR)和谷胱甘肽-S-转移酶(GSH-ST)出现不同程度的活力下降。提示FLC可诱导睾丸组织产生氧化应激,损伤睾丸组织结构的完整性,从而破坏生精环境。

2.2 体外动物细胞试验

Nikoloff等<sup>[6]</sup>对FLC及其两种制剂Twin Gold Pack<sup>®</sup>和Rainbow<sup>®</sup>的细胞毒性及基因毒性进行了研究。中国仓鼠卵巢细胞(CHO-K1)经0.25~15.00μg/mL浓度24h连续染毒后发现,FLC、Twin Gold Pack<sup>®</sup>及Rainbow<sup>®</sup>对细胞增殖率的影响与浓度相关,相关系数分别为-0.91、-0.98、-0.97。各浓度Rainbow<sup>®</sup>都可降低有丝分裂指数,FLC和Twin Gold Pack<sup>®</sup>只有在15.00μg/mL浓度时才会影响有丝分裂。高剂量组的化合物均可影响线粒体活性。FLC和Twin Gold Pack<sup>®</sup>可明显增加姐妹染色单体交换率,各浓度影响效果差异并不明显,这与除草剂阿特拉津在基因毒性方面的表现相似。作者认为由于FLC导致大鼠睾丸支持细胞空泡化、引起激素调节紊乱的现象也与阿特拉津相似,推测FLC可能与阿特拉津一样有内分泌干扰作用。

Nikoloff等<sup>[7]</sup>在胞质分裂阻滞微核试验(CBMN-cyt)中发现FLC和Rainbow<sup>®</sup>不能引起微核,Twin Gold Pack<sup>®</sup>仅在5μg/mL浓度时增加微核率。高浓度的Twin Gold Pack<sup>®</sup>和Rainbow<sup>®</sup>能改变核分裂指数并增加细胞死亡。各浓度FLC都不会对细胞存活率产生影响,15μg/mL的Twin Gold Pack<sup>®</sup>和Rainbow<sup>®</sup>会使细胞存活率下降35%。3种化合物都不会增加核质桥出现的频率。1~15μg/mL FLC和5μg/mL Twin Gold Pack<sup>®</sup>染毒组的细胞出现核芽,高剂量Twin Gold Pack<sup>®</sup>和Rainbow<sup>®</sup>可引起细胞形态变化但不导致核芽出现。他们发现相比微核试验,彗星试验可以更灵敏地检测低浓度FLC导致的早期DNA链断裂,FLC和Rainbow<sup>®</sup>更容易对基因产生影响。

以人肝细胞(HepG2)为研究对象时<sup>[8]</sup>,溶酶体试验结果显示,FLC对溶酶体活性没有影响,2.5~15.0μg/mL浓度范围内Twin Gold Pack<sup>®</sup>比Rainbow<sup>®</sup>有更强的细胞毒性。三者都可引起HepG2细胞凋亡、细胞周期延迟、有丝分裂活动变化和细胞生长抑制。CBMN-cyt试验显

示 FLC 和 Rainbow® 都不能引起微核, 5.0 µg/mL 的 Twin Gold Pack® 只能增加微核产生率。单细胞凝胶电泳试验(SCGE)显示各浓度 FLC、Twin Gold Pack®、Rainbow® 都会导致基因损伤。作者分析 SCGE 和 CBMN-cyt 试验结果不同可能是因为所检测的 DNA 改变类型不同, 前者检测可修复的 DNA 早期病变, 后者检测不可修复的病变。之前有实验发现 SCGE 能更灵敏地评估 DNA 损伤, 本试验结果与之相符<sup>[9]</sup>。SCGE 试验中 15.0 µg/mL 的 3 种化合物引起的 DNA 损伤比 5.0 µg/mL 浓度时造成的损伤低, 可能是因为 HepG2 通过 SOS 机制修复了严重损伤的细胞。这与 Rodriguez-Ferreiro 等<sup>[10]</sup>对抗除虫剂替硝唑在人淋巴细胞的试验结果推测类似。也有可能是 FLC 通过活性氧物质产生可修复的染色体畸变效应, 这与某些褪色除草剂如杀草强有相似的基因毒性作用。

Nikoloff 等<sup>[11]</sup>将蟾蜍外周血红细胞在 0.74、1.48、2.22 mg/mL 浓度的 Twin Gold Pack® 和 Rainbow® 中分别暴露 48、96 h<sup>[11]</sup>, Twin Gold Pack® 组对微核率没有影响, 0.74 mg/mL Rainbow® 的 48 h 暴露组微核率明显增高。作者推测 Rainbow® 有 DNA 损伤作用, 在高剂量下细胞毒性更强。SCGE 试验中, 细胞暴露于两种化合物 96 h 后基因损伤指数(GDI)均明显增加。相同浓度下, SCGE 试验可比微核试验更灵敏地检测化合物导致的 DNA 早期损伤。

实验者应用相同细胞评价 FLC 两种制剂在实验室条件下的急性致死和亚致死效应<sup>[11]</sup>: 细胞 96 h 暴露于 Twin Gold Pack® 的半致死浓度(LC<sub>50</sub>)为 2.96 mg/L, 96 h 暴露于 Rainbow® 的 LC<sub>50</sub> 为 2.85 mg/L。根据联合国标准<sup>[12]</sup>, 两种制剂的急性致死毒性均为毒性化合物(二类)。在 1/4 致死效应检测浓度时, 化合物有明显的亚致死效应。

利用大鼠原代 Sertoli-生精细胞共培养体系, FLC 在 10<sup>-8</sup>、10<sup>-7</sup> 和 10<sup>-6</sup> mol/L 浓度时染毒发现, FLC 可降低原代 Sertoli 细胞紧密连接重要组成蛋白封闭蛋白(Occludin)与闭锁小环蛋白-1(ZO-1)含量, 下调 Occludin、ZO-1、转铁蛋白(transferrin, Tf)和抑制素 B(inhibin B, INHB)基因表达水平, 并对原代 Sertoli 细胞产生毒作用<sup>[13]</sup>。

### 2.3 植物细胞试验

Kaya 等<sup>[14]</sup>发现, FLC 的两种制剂可以使蚕豆叶片细胞发生早期凋亡, FLC 对细胞凋亡的影响较小, Twin Gold Pack® 抑制细胞生长作用更明显。FLC 作用于洋葱的根分生细胞时会干扰细胞周期<sup>[15]</sup>, 最明显

的异常情况有: 染色体多极化, 多倍体, 落后染色体, 以及染色体粘连、断裂, 碎片, 染色体桥以及微核的出现。与哺乳动物细胞相比, FLC 对植物细胞的诱变性更强, 细胞周期异常和细胞抑制率多 3~4 倍。

### 3 结语

FLC 进入市场已 20 多年, 由于其急性毒性低、除草效果好、对作物安全等特点, 在欧美国家广泛应用。目前 FLC 多数信息来源于 EFSA 报告, 而近几年一些试验研究结果与报告中的信息不尽相同。在今后的研究中, 需要研制出生物材料中 FLC 快速准确的检测方法, 以继续研究确证 FLC 在生物体内的代谢过程、组织分布; 需要探究引起睾丸毒性的作用机制。条件允许, 应该对可能有高水平接触的工人进行系统观察, 以识别其是否有潜在危害。

·作者声明本文无实际或潜在的利益冲突。

### 参考文献

- [1] 杨剑波, 庞怀林, 黄超群. 氟咯草酮的合成研究[J]. 精细化工中间体, 2005, 33(4): 24-27.
- [2] Liu M Y, Shi D Q. Design, Synthesis, and Herbicidal Activities of 3-Aryl-4-substituted-5-[3-(trifluoromethyl)phenoxy]-1, 2, 4-triazoles[J]. J Heterocycl Chem, 2014, 51(S1): E335-E339.
- [3] European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance flurochloridone[J]. EFSA J, 2010, 8(12): 1869-1935.
- [4] 徐蕾蕊, 周志俊. 氟咯草酮毒理学研究进展[J]. 中国公共卫生, 2010, 26(增): 111-112.
- [5] 徐蕾蕊, 赵乾魁, 姜丹, 等. 氟络草酮染毒对成年大鼠睾丸的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2014, 32(7): 516-520.
- [6] Nikoloff N, Soloneski S, Larramendy M L. Genotoxic and cytotoxic evaluation of the herbicide flurochloridone on Chinese hamster ovary(CHO-K1) cells[J]. Toxicol In Vitro, 2012, 26(1): 157-163.
- [7] Nikoloff N, Larramendy M L, Soloneski S. Comparative evaluation in vitro of the herbicide flurochloridone by cytokinesis-block micronucleus cytome and comet assays[J]. Environ Toxicol, 2014, 29(8): 884-892.
- [8] Nikoloff N, Larramendy M L, Soloneski S. Assessment of DNA damage, cytotoxicity, and apoptosis in human hepatoma (HepG2) cells after flurochloridone herbicide exposure[J].

(下转第 996 页)

能性,即各妊娠期或30~90 d期间与BP的相关性是否在一定程度上受到这30~90 d期间未测因素的混杂影响。当然,所有使用妊娠期或30~90 d时间(而非空间)分辨污染平均值得研究中都存在这一顾虑,因为研究时间<365 d但与季度重叠。今后在我们的研究中建立时空分辨NO<sub>x</sub>模型,将有助于我们进一步理清季节在污染与BP的相关性中的作用。

本研究的优点在于仔细测量了新生儿BP和若干胎儿期预测因子和潜在混杂因子。尽管如此,本研究仍有一些缺陷。在中心位置测量相关暴露,可能使暴露估计值的准确性下降。然而,估计值并没有反映出这一点,因为用BC时空估计值得出的妊娠晚期BC与BP相关性弱于用BC时间估计值得出的相关性。地区BC可能比各住宅区BC更能反映暴露情况,因为参与者当天可能并不在家。相对而言,妊娠晚期时空PM<sub>2.5</sub>估计值与BP的相关性比中心位置所测PM与BP的相关性更强、更准确。即便卫星PM<sub>2.5</sub>估计值是基于10 km、非特定住宅区的空间分辨率。10×10 km空间分辨率以及缺失时空PM<sub>2.5</sub>估计值是本研究的局限性之一。但所缺失的数据不可能与暴露和/或结局变量相关,因此可能只是降低准确性。虽然我们校正了季节,但一些季节性的因素仍可能混杂于90 d和各妊娠期空气污染物估计值的效应。研究纳入的参与者和排除的参与者在母亲人种和教育水平方面有差异。如果空气污染物和BP之间的相关性在未纳入本研究的人群中存在差异,那么这就可能导致选择偏倚。尽管可能性微乎其微,但我们不能完全排除这一可能性。最后,我们的

研究中包括健康的新生儿,因此上述结果不能外推至非健康的新生儿,包括早产儿。

循环系统的变化在生命最初的若干小时和几小时内影响很显著;出生时部分心血管指标可能代表瞬态反应,另一部分可能代表长期的影响。新生儿BP与之后在婴儿期、儿童期和成年期所测BP的意义不同。从婴儿期开始,他们的BP一直维持在稳定水平,这意味着婴儿BP较高,则成年期他们BP也较高(Chen和Wang, 2008)。有关新生儿BP对今后心血管疾病或高血压患病风险的影响的文献并不多(de Swiet等, 1980; Higgins等, 1980; Levine等, 1978; Schachter等, 1979; Zinner等, 1985)。就我们所知,尚无评估新生儿BP与今后心血管健康相关性的随访研究。

## 6 结论

本研究从独特的视角了解产前污染物暴露和新生儿BP。总之,我们发现妊娠晚期胎儿暴露于BC(少量)和PM<sub>2.5</sub>与新生儿BP较高相关,而妊娠晚期O<sub>3</sub>暴露与BP较低相关。今后的随访将阐明这些相关性是否在儿童期仍然存在。

翻译:汪源、何蓉;审校:金泰虞

## 参考文献(略)

本文原文刊登于EHP杂志,需要者务必引用英文原文,详见 van Rossem L, Rifas-Shiman SL, Melly SJ, et al. Prenatal air pollution exposure and newborn blood pressure. Environ Health Perspect, 2015, 123(4): 353-359.

本文原文及参考文献请浏览<http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1307419>

(编辑:汪源;校对:张晶)

(上接第989页)

Food Chem Toxicol, 2014, 65: 233-241.

[9] Severin I, Dumont C, Jondeau-Cabaton A, et al. Genotoxic activities of the food contaminant 5-hydroxymethylfurfural using different in vitro bioassays[J]. Toxicol Lett, 2010, 192(2): 189-194.

[10] Rodriguez-Ferreiro G, Cancino-Badias L, Prieto-Gonzalez E, et al. Tinidazol: unadrogantimicrobiana con actividad genotóxica[J]. Rev Cubana Invest Biomed, 2001, 20(1): 54-58.

[11] Nikoloff N, Natale GS, Marino D, et al. Flurochloridone-based herbicides induced genotoxicity effects on Rhinella arenarum tadpoles (Anura: Bufonidae)[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2014, 100: 275-281.

[12] UN. Peligros para el medio ambiente[J]. Naciones Unidas

Parte, 2011(4): 229-258.

[13] 徐蕊蕊,常秀丽,周志俊.氟络草酮对原代Sertoli细胞的毒作用[N].中国毒理学会第四届中青年学者科技论坛论文集, 2014: 71-72.

[14] Kaya A, Yigit E. Interactions among glutathione transferase, glutathione reductase activity and glutathione contents in leaves of Vicia faba L. subjected to flurochloridone[J]. Fresen Environ Bull, 2012, 21(6): 1635-1640.

[15] Yuzbasioglu D, Unal F, Sancak C, et al. Cytological effects of the herbicide racer "flurochloridone" on Allium cepa[J]. Caryologia, 2003, 56(1): 97-105.

(收稿日期: 2015-01-30)

(英文编辑:汪源;编辑:张晶;校对:郑轻舟)