

# 三甲基氯化锡在 SD 大鼠体内的吸收、分布、排泄研究

武昕<sup>1</sup>, 谢玉璇<sup>2</sup>, 李颖超<sup>1</sup>, 睢罡<sup>2</sup>, 戎伟丰<sup>2</sup>, 赖关朝<sup>2</sup>, 唐小江<sup>1</sup>

(1. 广东省医学实验动物中心, 广东 佛山 528248; 2. 广东省职业病防治院, 广东 广州 510300)

**摘要:** 目的 探讨三甲基氯化锡 (TMT) 的吸收、分布、排泄规律。方法 取 SD 大鼠 108 只, 雌雄各半, 随机分为 18 组, 每组雌雄各 3 只。第 1 组为空白对照组, 生理盐水灌胃后立即眼眶采血, 第 2~18 组灌胃给予 TMT 10 mg/kg, 分别在染毒后 10min、20min、30 min、1h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h、3 d、6 d、9 d、12 d、28 d、90 d 共 17 个时间点经眼眶采血并采集主要脏器。另取 SD 大鼠 10 只, 灌胃给予 TMT 10 mg/kg, 收集染毒前连续 12 h 及染毒后第 1、2、3、6、9、12、18、28、40、55、70、90 天共 13 个时间段连续 24 h 的尿液。用 GC-MS 测定血液、组织、尿液中 TMT 的含量, 用 3P87 软件计算毒代参数。结果 (1) 吸收: 大鼠灌胃 TMT 后, 全血和血浆半吸收期分别为 0.16 h 和 0.21 h; 清除率分别为  $1.77 \times 10^{-4} \text{ L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$  和  $0.03 \text{ L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$ ; 消除半减期分别为 15 d 和 10 d。(2) 分布: 灌胃后 10 min 组织中即可检测到 TMT, 6 h 达到峰值; 红细胞中 TMT 浓度远高于各主要脏器, 且红细胞 > 脾 > 肝 > 肾 > 心。TMT 在组织中消除半减期为 10 d, RBC 达 16.53 d。(3) 排泄: TMT 经尿液排泄较缓慢, 尿 TMT 第 6 天最高, 第 90 天仍可检测到 TMT。结论 大鼠灌胃给予 TMT 染毒后, TMT 可被快速吸收, 迅速分布在红细胞内, 可通过血脑屏障进入脑, 缓慢经尿排出。

**关键词:** 三甲基氯化锡; 吸收; 分布; 排泄

中图分类号: R994.6 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2013)06-0409-03

## The absorption, distribution and excretion of TMT in SD rats

WU Xin\*, XIE Yu-xuan, LI Ying-chao, SUI Gang, RONG Wei-feng, LAI Guan-chao, TANG Xiao-jiang

(\* : Guangdong Provincial Medical Laboratory Animal Center, Foshan 528248, China)

**Abstract: Objective** To study the metabolic pattern of trimethyltin chloride (TMT) in rats, including absorption, distribution and excretion. **Methods** SD rats (54 females and 54 males) were divided into 18 groups randomly (3 males and 3 females for each group). The 1st group was control group, their blood samples were immediately taken from orbital vein plexus after intraperitoneal (ip) injection of normal saline. The other 17 groups were ip given TMT 10 mg/kg, the blood samples were collected at 10 min, 20 min, 30 min, 1 h, 2 h, 3 h, 4 h, 6 h, 8 h, 12 h, 24 h and 3 d, 6 d, 9 d, 12 d, 28 d, 90 d later after injection respectively from orbital vein plexus; the main organs were also taken at the same time. In another test, 5 female and 5 male rats were given TMT 10 mg/kg orally, and collected the 24 h urine samples before (-12-0 h) and after (1, 2, 3, 6, 9, 12, 18, 28, 40, 55, 70 and 90 d respectively after intragastric administration) exposure. The TMT level in blood, organs and urine was detected by GC-MS. The toxicokinetic parameters were calculated using Software 3P87. **Results** (1) Absorption: The half absorption time were 0.16 h and 0.21 h, the clearance rate were  $1.77 \times 10^{-4} \text{ L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$  and  $0.03 \text{ L}/(\text{kg} \cdot \text{h})$  and the elimination half-life of TMT were 15 days and 10 days in blood and plasma respectively. (2) Distribution: 10 min after intragastric administration, TMT might be detected in tissues, in 6 h the peak-values could be reached. The order of TMT concentrations from the higher to lower was erythrocytes > spleen > liver > kidney > heart; the elimination half-life in tissues was 10 d, while in erythrocytes it could reached 16.53 d. (3) Elimination: TMT excreted in urine but quite slow and relatively constant. The peak level of urinary TMT corrected by creatinine was at the 6th day, and at 28th day after exposure, it still could be detected (about 1/8 of peak level). The TMT could still be detected in urine on the 90 th day. **Conclusion** The results suggested that TMT could be rapidly absorbed after intragastric administration and quickly distributed in red cell of rats, which might entered into brain through blood-brain barrier and be excreted through urine very slowly.

**Key words:** trimethyltin chloride (TMT); absorption; distribution; excretion

近年来, 有大量三甲基氯化锡 (trimethyltin

chloride, TMT) 的研究<sup>[1-4]</sup>, 但 TMT 的代谢文献甚少<sup>[5,6]</sup>, 未见 TMT 的毒物代谢动力学研究。本文用 SD 大鼠对 TMT 的吸收、分布、排泄进行了探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SD 大鼠, SPF 级, 广东省医学实验动物中心。

收稿日期: 2013-05-06; 修回日期: 2013-07-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30771786, 30972458); 广东省自然科学基金 (s2012020011009)

作者简介: 武昕 (1984—), 女, 硕士, 主要从事毒性评价及中毒机制研究。

通讯作者: 唐小江, 博士, 主任医师, 博士生导师, 主要从事毒理学、实验动物与转化医学研究, E-mail: river4@126.com。

饲养条件为广东省职业卫生检验中心实验动物设施，粤检证字 2008C041 号。

### 1.2 实验试剂和仪器

三甲基氯化锡 (TMT, 纯度 99%, Sigma, 批号: 12501CE)。四乙基硼酸钠 (纯度 >98%, 美国 IL 公司)。肝素钠、生理盐水、正己烷、乙腈、乙酸、乙酸钠 (均为分析纯, 广州化学试剂厂)。试剂配制: 乙酸钠-乙酸缓冲液 (pH = 3.9, 0.5 g 乙酸钠 + 1.2 ml 乙酸至 100 ml 生理盐水); 1% 的四乙基硼酸钠用去离子水溶解。离心机 (Beckman)、漩涡混匀器、内切式匀浆机 (XHF-D)、气相色谱-质谱联用仪 (Agilent 7890/5973 GC-MS)、全自动生化仪 (日立 7080)。

### 1.3 吸收与分布试验

(1) SD 大鼠 108 只, 雌雄各半, 随机分为 18 组, 每组雌雄各 3 只。第 1 组为空白对照组, 第 2 ~ 18 组为实验染毒组, 动物染毒前隔夜禁食、不禁水, TMT 10mg/kg, 10 ml/kg 给药量一次灌胃染毒。分别在染毒后 10 min、20 min、30 min、1 h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、12 h、24 h、3 d、6 d、9 d、12 d、28 d、90 d, 17 个时间点眼眶静脉丛采血约 3 ml (肝素钠抗凝), 第 1 组生理盐水灌胃后立即采血。采血后股动脉放血。摘取心、肝、脾、肺、肾、脑、肌肉、脂肪、子宫、卵巢、睾丸、精囊组织, 生理盐水洗净, 滤纸吸干, 冻存于 -40℃。(2) 全血、红细胞前处理: ① 全血/红细胞 0.5 ml; ② 2 ml 乙酸钠-乙酸缓冲液, 7 ml 乙腈, 密封后充分振荡混匀 5 min, 以充分沉淀蛋白; ③ 5000 r/min 离心 5 min, 取上清加 200 μl 1% 的四乙基硼酸钠衍生剂和 1 ml 正己烷; ④ 涡旋混匀器 1000 Hz、振荡 5 min, 静置分层后取上层有机相, GC-MS 进样 1.0 μl, 测定 TMT 浓度值。血浆前处理: 0.5 ml 血浆、2 ml 缓冲液、200 ml 衍

生剂、1 ml 正己烷, 涡旋混匀, 离心, 取上层测定 TMT。组织前处理: 缓冲液 (1:9) 制成 10% 的匀浆液, 取 2 ml 匀浆液加 9 ml 乙腈, 余步骤同全血前处理。(3) 色谱条件: 色谱柱为 DB-5MS 弹性毛细管石英柱 (60 m × 0.32 mm × 1.0 μm); 汽化室温度为 250℃; 柱温: 初温 50℃, 保持 3 min, 以 20℃/min 升到 200℃; 5:1 分流进样; 载气流量: 2.0 ml/min。GC/MS 质谱条件: 离子源温度为 230℃; Scan 模式: 质量范围 50 ~ 450 amu; SIM 模式: 定量用 165 m/z, 确认用 179、163、151 m/z。用药物代谢动力学软件 3P87 进行曲线拟合, 计算 TMT 灌胃染毒途径的各毒物代谢动力学参数值。

### 1.4 排泄

SD 大鼠 10 只, 雌雄各半。TMT 10 mg/kg, 10 ml/kg 体重一次灌胃染毒, 个体代谢笼喂养。收集每只大鼠染毒前 12 h 及染毒后 1 d、2 d、3 d、6 d、9 d、12 d、18 d、28 d、40 d、55 d、70 d、90 d 共 13 个时间段的尿液, 并记录尿量。当天测定尿肌酐值。吸取 5 ml 尿样, 加 5 ml 缓冲液, 摇匀后加 200 μl 衍生剂和 1 ml 正己烷, 涡旋混匀, 离心, 取上层有机相测定 TMT 浓度值。

## 2 结果

### 2.1 吸收

以时间为横坐标, TMT 浓度 (μg/ml) 为纵坐标作浓度-时间变化曲线, 由图 1 可见: (1) 全血 TMT 快速上升且长期存留, 20 min 接近峰值 99.75 μg/ml, 之后保持高峰, 9 d 才有下降, 90 d 仍残留 1.78 μg/ml。(2) RBC 中 TMT 变化与全血接近, 20 min 峰值为 204.34 μg/ml。(3) 血浆 2 h 接近峰值 0.99 mg/ml, 持续至 12 h 开始下降, 90 d 已检不出。(4) RBC 中 TMT 各时点约为全血的 2 倍, 而血浆 TMT 极低, 峰浓度仅为全血的 1/100。

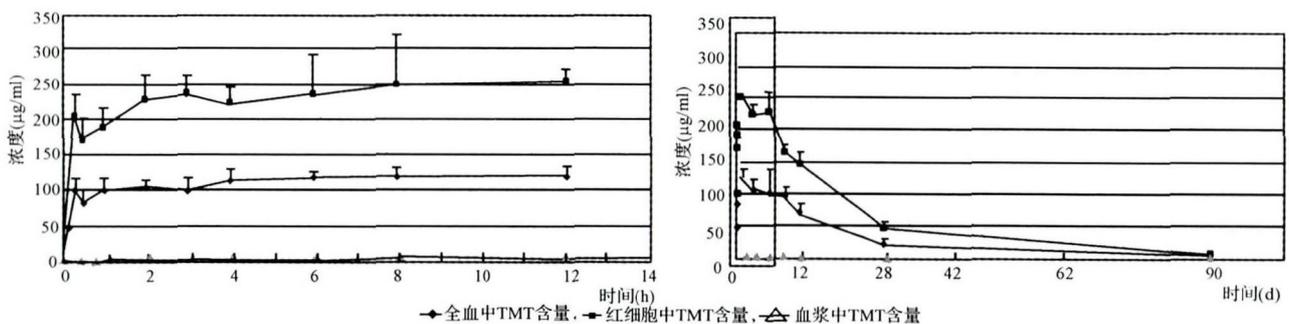


图 1 大鼠灌胃 TMT 后血液成分中的时间-浓度曲线 (n = 6)

### 2.2 TMT 毒代动力学

使用 3P87 代谢动力学分析软件对全血和血浆中

TMT 均值进行数据处理, 获得 TMT 大鼠单次经口染毒途径的代谢动力学参数。一室开放模型权重为  $1/c^2$

的情况下, 曲线拟合优度值 (goodness of fit) 0.17, AIC (Akaike's information criterion) 为 -8.43, 根据 Akaike 信息数据法的 AIC 最小原则, TMT 单次灌胃大鼠体内的代谢可按一室模型一级动力学拟合。结果显示: (1) 吸收快, 全血和血浆达峰时间分别为 1.78 h 和 2.10 h, 峰浓度分别为 111.67  $\mu\text{g}/\text{ml}$  和 0.99  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , 半吸收期分别为 0.16 h 和 0.21 h; (2) 清除慢, 全血和血浆消除速率常数分别为  $1.98 \times 10^{-3}/\text{h}$  和  $2.95 \times 10^{-3}/\text{h}$ , 清除率分别为  $1.77 \times 10^{-4} \text{L}/\text{h}$  和 0.03 L/h; (3) TMT 极少存在于血浆, 全血和血浆曲线下面积 AUC 为 56 448.67  $\mu\text{g}/(\text{ml} \cdot \text{h})$  和 337.21  $\mu\text{g}/(\text{ml} \cdot \text{h})$ , 全血约为血浆的 167 倍。(4) 血浆消除快, 全血 TMT 消除半减期 349.15 h, 约 15 d; 而血浆 234.69 h, 约 10 d。

### 2.3 分布

GC-MS 测定 10 min、30 min、6 h、12 d、28 d 这 5 组的 RBC 和主要组织中 TMT 的含量 ( $\mu\text{g}/\text{g}$ ), TMT 的衰减方式按直线估算其在各组织中的半衰期。结果显示: (1) 吸收快, 10 min 即可检测到, 30 min 接近峰值, 6 h 达到最高; (2) 消除慢, 12 d 才降至峰值的一半, 28 d 尚可测到。(3) TMT 含量脾 > 肝 > 肾 > 心, 脑、肌肉、脂肪、生殖系统较低。(4) RBC 中 TMT 远远大于其余组织。(5) RBC 半衰期最长约 16.53 d; 脑中次之, 约 14.13 d。

### 2.4 排泄

尿液 TMT 浓度 ( $\text{g}/\text{mol Cr}$ ) = 用尿肌酐校正的 TMT 值, 24 h TMT 总排出量 ( $\mu\text{g}$ ) = TMT 浓度  $\times$  24 h 尿量。结果: (1) 排泄慢, 6 d 最高 ( $1.27 \pm 0.89$ )  $\text{g}/\text{mol Cr}$ , 28 d 降至峰值的 1/8, 为 ( $0.16 \pm 0.06$ )  $\text{g}/\text{mol Cr}$ , 90 d 仍可测出, 为 ( $0.02 \pm 0.01$ )  $\text{g}/\text{mol Cr}$ 。(2) TMT 经尿液每天的排泄量较恒定, 1~40 d 每天的 24 h 总排出量均在 9~14  $\mu\text{g}$  之间, 波动不明显, 直至 55 d 排泄量才有所减少。(3) 1~90 d 经尿液的总排出量约为 0.68 mg, 排泄率约为 34%。

### 3 讨论

Lipscomb 等人<sup>[5]</sup>用<sup>14</sup>C 标记的 TMT 染毒怀孕大鼠, 显示 TMT 在血液中的半衰期为 12~15 d。这与本研所得全血中 TMT 消除半减期约 15 d 的结果基本相一致。Doctor<sup>[6]</sup>等人用 TMT 注射小鼠证明 TMT 在血、肝、肾、肺、睾丸中 1 h 达峰值, 而这与本研究 TMT 灌胃大鼠后 6 h 达到最高峰的结论有所不同; 该研究还显示, 16 h 后组织中毒物浓度肝 > 睾丸 > 肾 > 肺 > 脑 > 骨骼肌 > 脂肪, 与本研究 RBC > 脾 > 肝 > 肾 > 心 > 睾丸 > 脑 > 骨骼肌 > 脂肪的结论基本一

致, 只有睾丸的差距较大; 考虑可能与大小鼠动物种类和给药途径不同有关。

本研究显示 TMT 在 RBC 中浓度最高, 组织中以脾脏最高, 这与红细胞是 TMT 的主要富集部位, 而红细胞又在脾脏内被破坏有关。与 TMT 蓄积毒性试验中脾脏弥漫性纤维化, 骨髓中成纤维母细胞增生<sup>[7]</sup>等明显的病理表现有关。可以认为脾脏是 TMT 的一个重要的蓄积部位和靶器官。

TMT 迅速进入 RBC 中, 各个时间的 RBC 中 TMT 浓度均约为全血 TMT 的 2 倍。血浆 TMT 浓度极小, 约为全血 TMT 的 1/200。基本可以证明 TMT 可能以某种方式快速而稳定地进入红细胞内, RBC 为 TMT 进入大鼠体内后的分布和蓄积部位。这验证了 Rose 等人的猜测<sup>[8]</sup>: TMT 在体内的分布和蓄积部位, 可能是由于 TMT 结合到红细胞上。Brown 等<sup>[9]</sup>用 TMT 注射 Wistar 大鼠也发现, 血液中 TMT 的含量高达染毒量的 70%, 可能与血红蛋白结合而存在。本研究提示 TMT 主要在红细胞内富集, 所以我们认为在 TMT 临床中毒急救治疗时, 透析的效果不佳, 但采取输血置换红细胞治疗是一个值得探讨的技术。TMT 在大鼠红细胞中高度集中, 与在人血液中分布是否一致, 需要对临床中毒病人的血液各成分中 TMT 含量进一步测定才能确证。

### 参考文献:

- [1] 唐小江, 黄明, 李斌, 等. 国内外三甲基氯化锡中毒事故分析 [J]. 中国工业医学杂志, 2010, 23 (5): 352-356.
- [2] 唐小江, 夏丽华, 赖关朝, 等. 10 起三甲基氯化锡中毒事故及 56 例患者的血钾分析 [J]. 中国职业医学, 2004, 31 (1): 11-14.
- [3] Tang X, Yang X, Lai G, et al. Mechanism underlying hypokalemia induced by trimethyltin chloride: inhibition of  $\text{H}^+/\text{K}^+$ -ATPase in renal intercalated cells [J]. Toxicology, 2010, 271: 45-50.
- [4] Tang X, Wu X, Amber M, et al. Toxicity of trimethyltin and dimethyltin in rats and mice [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2013, 90 (5): 626-633.
- [5] Lipscomb J C, Paule M G, Slikker W, et al. The disposition of <sup>14</sup>C-trimethyltin in the pregnant rat and fetus [J]. Neurotoxicology and Teratology, 1989, 11 (2): 185-191.
- [6] Doctor S V, Sultatos L G, Murphy S D, et al. Distribution of trimethyltin in various tissues of the male mouse [J]. Toxicol Lett, 1983, 17 (1-2): 43-48.
- [7] 睢昱, 武昕, 唐小江, 等. 三甲基氯化锡的大鼠及小鼠蓄积毒性实验研究 [J]. 中国职业医学, 2010, 37 (3): 181-186.
- [8] Rose M, Aldridge W. The interaction of triethyltin with components of animal tissues [J]. Biochem J, 1968, 106: 821-828.
- [9] Brown A W, Aldridge W N, Street B W, et al. The behavioral and neuropathologic sequelae of intoxication by trimethyltin compounds in the rat [J]. Am J Pathol, 1979, 97 (1): 59-82.