

testicular interstitium: Implications of G-protein-coupled estrogen receptor (GPER) and estrogen-related receptor (ERR) in the regulation of mouse testicular interstitial cells [J]. *Protoplasma*, 2019, 256 (2): 393-408.

- [7] 季宇彬, 蒋晖, 郎朗, 等. 甲苯二异氰酸酯致小鼠睾丸脂质过氧化损伤及标志酶活力的变化 [J]. 毒理学杂志, 2005, 19 (3): 225-226.

- [8] 曹碗君. PA1 在小鼠睾丸发育阶段的表达及其在支持细胞中的功能研究 [D]. 西安: 中国人民解放军空军军医大学, 2018.

- [9] Lee KH, Lee WY, Kim DH, *et al.* Vitrified canine testicular cells allow the formation of spermatogonial stem cells and seminiferous tubules following their xenotransplantation into nude mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6 (2): 21919.

(收稿日期: 2020-02-22)

1,1'-二羟基-5,5'-联四唑二羟胺盐对大鼠的致畸性研究

Study on teratogenicity of 1,1'-dihydroxy-5,5'-tetrazolidine-diamine salt in rats

樊朋¹, 刘志永¹, 赵阳阳¹, 崔雪琴¹, 杨朝¹, 高俊宏¹, 王少纯²

(1. 兵器工业卫生研究所, 陕西 西安 710065; 2. 陕西省人民医院)

摘要: 选取 150 只 SPF 级 SD 大鼠, 雌性 100 只、雄性 50 只进行致畸试验, 雌、雄大鼠按 1:1 比例合笼, 试验分为阳性对照组 (阿司匹林 260 mg/kg)、溶剂对照组 (4% 淀粉溶液) 和 1,1'-二羟基-5,5'-联四唑二羟胺盐 (HATO) 3 个染毒剂量 (15.60、31.25、62.50 mg/kg) 组。结果显示, 与溶剂对照组比较, 阳性对照组活胎数、吸收胎数、胎盘重量、子宫连窝重量、胎仔体重、身长和肛门生殖结节间距差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 表明试验系统稳定可靠。低、中、高染毒剂量组的内脏畸形率分别为 1.98%、0.78%、2.78%, 骨骼畸形率分别为 3.96%、3.91%、9.26%。

关键词: 1,1'-二羟基-5,5'-联四唑二羟胺盐 (HATO); 致畸; 胎鼠

中图分类号: R994.6 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2020)04-0325-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zgggyx.2020.04.012

1,1'-二羟基-5,5'-联四唑二羟胺盐 (HATO) 是一种高能不敏感含能材料, 2011 年由西安近代化学研究所设计合成。HATO 具有较好的加工性能, 不加粘结剂同样具有成型性^[1]。HATO 的晶体密度为 1.879 g/cm³, 真空安定性较好^[2]。化学品的潜在致畸性会对生产活动的工作人员产生不可预估的安全风险, 但目前国内尚未查阅到与 HATO 毒性相关的研究资料, 因此本研究拟通过 HATO 对孕鼠的母体毒性及引起胎鼠畸形的可能性实验, 为评价其生殖毒性提供科学依据。

基金项目: 国家“十三五”预研项目 (编号: YY10301)

作者简介: 樊朋 (1988—) 男, 硕士, 助理工程师, 主要从事毒理学研究。

通信作者: 高俊宏, 高级工程师, E-mail: gaoxing2285@126.com

1 材料与方法

1.1 主要仪器与试剂 JJ2000 型电子天平 (常熟市双杰测试仪器厂), AW220 型电子天平 (日本岛津公司), 游标卡尺 (哈尔滨量具集团有限责任公司), SZ760 型体视显微镜 (重庆奥特光学仪器有限责任公司)。4% 淀粉溶液, 乙酰水杨酸 (阿司匹林, AR), 布恩氏液, 无水乙醇, 1% 茜素红应用液, 丙三醇 (甘油, CP), HATO 由西安近代化学研究所提供。

1.2 实验动物 选择 SPF 级健康 SD 大鼠雌性 100 只 (未曾交配)、雄性 50 只, 13 周龄。实验动物质量合格证号: 61002000000861、61002000000860。实验动物及饲料垫料均由空军军医大学实验动物中心提供, 生产许可证号: SCXK (陕) 2014—002; 实验中的垫料经高压蒸汽灭菌, 使用许可证号: SYCK (陕) 2016—005。动物房温度 20~26 ℃, 相对湿度 40%~70%, 人工照明, 12 h 明暗交替, 自由饮水。

1.3 方法 按照《化学品测试方法 健康效应卷》(第二版)^[3] 进行操作和评价。本试验通过本单位实验动物伦理委员会批准。

1.3.1 剂量及分组处理 将 SD 大鼠分为 5 组, 分别为阳性对照组、溶剂对照组及低、中、高剂量染毒组。阳性对照组给予 260 mg/kg 乙酰水杨酸 (阿司匹林); 溶剂对照组给予同体积的 4% 淀粉溶液; 结合 HATO 亚急性经口毒性实验结果, 本试验 3 个染毒组分别给予 15.60、31.25、62.50 mg/kg 的 HATO 混悬液。

性成熟 SD 雌、雄大鼠按 1:1 合笼后, 每天早晨观察阴栓, 检出阴栓即认为交配成功, 当日计为受孕第 0 天。如果 5 d 内未交配, 更换雄鼠。将孕鼠按体重随机分到各组, 称重、编号, 每组孕鼠 16 只。

1.3.2 染毒及孕鼠解剖检查 于动物受孕第 5~19 天,采用经口灌胃方式进行染毒,灌胃体积 1.0 ml/100 g。每 3 d 称量 1 次动物体重和饲料剩余量,每日观察并记录动物的临床症状,包括死亡、相关行为改变以及所有明显的毒性效应。第 20 天脱颈椎处死动物,剖腹取出胎鼠。称量子宫连窝重、胎盘重量,计数黄体数、活胎数、死胎数及吸收胎数,并测量每只胎鼠的体重、身长、尾长及肛门生殖结节间距。

每窝 1/2 活胎鼠浸入布恩氏液中,7 d 后做内脏切片检查,用水冲去固定液,将孕鼠置于蜡板上,观察脑、眼、鼻、舌等部位,然后自腹中线剪开胸腔、腹腔,依次检查各脏器的位置及发育情况。

1.3.3 胎鼠骨骼标本制作与检查 将另外 1/2 活胎鼠放入无水乙醇中固定 5 d,直至胎仔皮肤出现褶皱,将固定好的胎仔放入 1% KOH 溶液中软化 2 d,直至能够清晰看到胎仔幽门,将软化后的胎仔放入 1% 茜素红应用液中染色 3 d,至头骨染成紫红色,染色过程中轻微摇晃,使每只胎仔染色均匀,中间更换 1 次染液,待骨骼染成紫红色后,将胎仔放入 50% 甘油中脱色 3 d,至软组织基本褪色,此时可进行骨骼畸形检查,之后置于甘油中保存。检查时将标本放入平皿中,体视显微镜整体观察,然后逐步检查头骨、肋骨、胸骨、脊椎及四肢骨发育及畸形情况。

1.4 统计分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,定量资料统计描述采用 $\bar{x}\pm s$,组间比较采用方差

分析;分类资料统计描述采用率或构成比,组间比较采用卡方检验;两两比较采用 LSD 法。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 交配 5 d,80 只雌鼠交配成功,实际解剖孕鼠 76 只,在整个染毒期间各组孕鼠未见明显毒性症状。与溶剂对照组比较,阳性对照组孕鼠第 20 天体重和增重均显著降低 ($P<0.01$),但各染毒剂量组的孕鼠增重差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 各组孕鼠体重变化情况 ($\bar{x}\pm s$) g				
组别	n	第 0 天	第 20 天	增重
溶剂对照组	16	283.3 ± 24.8	446.0 ± 52.0	162.7 ± 41.6
阳性对照组	16	278.6 ± 16.5	379.6 ± 49.5**	101.0 ± 50.7**
低剂量染毒组	16	288.3 ± 28.0	441.4 ± 52.5	153.1 ± 51.5
中剂量染毒组	16	283.3 ± 30.2	466.2 ± 42.7	182.9 ± 39.2
高剂量染毒组	16	285.9 ± 25.0	437.5 ± 57.2	151.6 ± 51.5

注: **,与溶剂对照组比较, $P<0.01$ 。

2.2 生殖能力情况 与溶剂对照组比较,各剂量染毒组在黄体数、活胎数、死胎数、吸收胎数、胎盘重和子宫连窝重差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 各组孕鼠受孕情况 ($\bar{x}\pm s$)							
组别	实际孕鼠数	黄体数	活胎数	死胎数	吸收胎数	胎盘重 (g)	子宫连窝重 (g)
溶剂对照组	16	16.8 ± 4.0	14.4 ± 4.6	0.1 ± 0.3	0	9.2 ± 2.7	90.5 ± 26.7
阳性对照组	16	16.6 ± 3.1	5.7 ± 5.9**	1.2 ± 3.8	7.1 ± 6.4**	3.6 ± 3.8**	35.6 ± 37.5**
低剂量染毒组	14	17.2 ± 3.0	14.4 ± 3.1	0.0 ± 0.0	0.3 ± 0.8	9.1 ± 1.5	96.3 ± 18.7
中剂量染毒组	16	17.4 ± 2.5	16.0 ± 1.9	0.1 ± 0.3	0.1 ± 0.3	10.3 ± 1.6	101.3 ± 12.1
高剂量染毒组	14	17.1 ± 2.2	15.4 ± 2.0	0	0.1 ± 0.4	10.3 ± 1.6	96.0 ± 11.4

注: **,与溶剂对照组比较, $P<0.01$ 。

2.3 生长发育情况 与溶剂对照组比较,高、中剂量染毒组胎鼠的体重、身长、尾长、肛门生殖结节间距差异均无统计学意义 ($P>0.05$),而低剂量染毒组胎鼠体重、身长与溶剂对照组比较显著增加,差异有统计学意义 ($P<0.01$),但无毒理学意义。见表 3。

2.4 内脏及骨骼畸形情况 各剂量染毒组有 1~3 只胎鼠出现内脏畸形,且畸形类型均为上颌裂。溶剂对照组有 7 只胎鼠发现骨骼畸形,畸形类型为胸骨缺失;各剂量染毒组有 4~10 只胎鼠出现骨骼畸形,畸形类型为胸骨缺失和枕骨形态异常。见表 4。

表 3 胎鼠生长发育情况 ($\bar{x}\pm s$)					
组别	胎鼠数	体重 (g)	身长 (cm)	尾长 (cm)	肛门生殖结节间距 (cm)
溶剂对照组	230	4.01 ± 0.67	3.81 ± 0.31	1.39 ± 0.12	0.26 ± 0.10
阳性对照组	91	3.39 ± 1.34**	3.51 ± 0.71**	1.42 ± 0.34	0.24 ± 0.07*
低剂量染毒组	202	4.36 ± 0.72**	4.06 ± 0.38**	1.42 ± 0.13	0.29 ± 0.10
中剂量染毒组	256	4.02 ± 0.42	3.89 ± 0.36	1.42 ± 0.13	0.29 ± 0.10
高剂量染毒组	216	4.02 ± 0.37	3.95 ± 0.26	1.41 ± 0.26	0.28 ± 0.15

注: *,与溶剂对照组比较, $P<0.05$; **,与溶剂对照组比较, $P<0.01$ 。

表4 胎鼠内脏及骨骼畸形情况

组别	胎鼠数	内脏畸形数 (%)	骨骼畸形数 (%)
溶剂对照组	115	0	7 (6.09)
阳性对照组	46	8 (17.39)	20 (43.48)
低剂量染毒组	101	2 (1.98)	4 (3.96)
中剂量染毒组	128	1 (0.78)	5 (3.91)
高剂量染毒组	108	3 (2.78)	10 (9.26)

3 小 结

本研究 HATO 致畸试验阳性对照组使用常见致畸药物阿司匹林, 结果与文献报道基本一致^[4], 说明本试验系统稳定可靠。与溶剂对照组比较, HATO 各剂量组孕鼠未见明显毒性作用, 胎仔各项生长发育指标、内脏和骨骼均未见明显致畸效应。由致畸指数 (雌性动物 LD_{50} /最小致畸剂量) 可得出受试物有无

母体或胚胎毒性、致畸性, 本试验无法求得最小致畸剂量, 未得出致畸指数, 故仅是检测了孕鼠接触 HATO 引起胎仔畸形的可能性, 望能为更深入的研究提供参考。

参考文献

- [1] 葛忠学, 毕福强. 高能不敏感含能材料—HATO [J]. 含能材料, 2014, 22 (4): 434-435.
- [2] 霍欢, 轩春雷, 毕福强, 等. 不敏感含能化合物合成最新研究进展 [J]. 火炸药学报, 2019, 42 (1): 6-16.
- [3] 环境保护部化学品登记中心. 化学品测试方法 健康效应卷 [M]. 2 版. 北京: 中国环境科学出版社, 2013: 112-120.
- [4] 王鸿, 高俊宏, 刘志永, 等. 3,4-双(4'-氨基呋喃基-3')氧化呋喃大鼠致畸实验研究 [J]. 中国工业医学杂志, 2016, 29 (1): 58-60.

(收稿日期: 2019-07-11; 修回日期: 2019-10-10)

大鼠急性经口 1,1-二氨基-2,2-二硝基乙烯的毒代动力学研究

Study on acute toxicokinetics of 1,1-diamino-2,2-dinitroethylene by oral in rats

高永超, 齐文娟, 赵琼, 樊朋, 杨朝, 郭旺旺, 刘志永, 高俊宏

(兵器工业卫生研究所生物效应与毒理研究室, 陕西 西安 710065)

摘要: 建立大鼠血液中 1,1-二氨基-2,2-二硝基乙烯 (FOX-7) 的检测方法, 将 30 只健康 SPF 级 SD 大鼠随机分为空白对照组、200 和 500 mg/kg FOX-7 染毒组, 每组 10 只。采用一次性经口灌胃方式染毒, 染毒容量为 1 ml/100 g。于染毒后第 0.5、1、2、4、8、12、24 h 对大鼠进行眼眶后静脉丛采血, 使用紫外可见分光光度计检测血中 FOX-7 浓度。使用 Phoenix WinNonlin 6.1 软件进行血药浓度-时间数据分析与毒代参数计算。大鼠单次灌胃 FOX-7 200 和 500 mg/kg 后, 药-时曲线下面积 $AUC_{(0-24)}$ 分别为 $(27.01 \pm 1.94) \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{L})$ 和 $(29.26 \pm 3.31) \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{L})$, $AUC_{(0-\infty)}$ 分别为 $(42.01 \pm 2.18) \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{L})$ 和 $(41.51 \pm 3.66) \mu\text{g}/(\text{h} \cdot \text{L})$; 达峰浓度 $C_{\max}$ 分别为 $(1.82 \pm 0.12) \mu\text{g}/\text{ml}$ 和 $(2.33 \pm 0.20) \mu\text{g}/\text{ml}$, 达峰时间 $t_{\max}$ 为 2 h; 半衰期 $t_{1/2}$ 分别为 $(10.83 \pm 2.77) \text{h}$ 和 $(8.66 \pm 3.01) \text{h}$ 。本研究为 FOX-7 毒代动力学模型的完善提供了科学依据。

关键词: 1,1-二氨基-2,2-二硝基乙烯 (FOX-7); 毒代动力学; 大鼠

中图分类号: R994.6 文献标识码: B

文章编号: 1002-221X (2020)04-0327-03

DOI: 10.13631/j.cnki.zggyyx.2020.04.013

基金项目: 国家“十三五”预研项目 (YY40302)

作者简介: 高永超 (1987—), 男, 工程师, 从事生物效应与毒理学研究。

通信作者: 高俊宏, 高级工程师, E-mail: gaoping2285@126.com

1,1-二氨基-2,2-二硝基乙烯 (FOX-7) 是第三代新型不敏感含能材料的代表之一, 于 1998 年首次合成^[1]。FOX-7 具有较高的热性能和反应性能, 在炸药、固体推进剂以及发射药领域具有广阔的应用前景。FOX-7 在常温下会发生酸碱、水解反应, 虽大部分衍生物依旧保持着硝基烯胺结构, 但周围基团的变化可导致衍生物性质的巨大差异。人体摄入 FOX-7 后, 在胃酸作用下分解产生多种 FOX-7 的衍生物, 其毒性数据尚未完全了解。本课题前期的研究结果显示, FOX-7 对大鼠和小鼠急性经口 LD_{50} 分别为 995.63 mg/kg 和 696.44 mg/kg^[2]。本研究将进一步探讨血液中 FOX-7 的检测方法及其在大鼠中的毒代动力学参数。

1 材料与方法

选择健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 30 只, 体重 $(240 \pm 20) \text{g}$, 由北京华阜康生物科技股份有限公司提供, 实验动物质量合格证号: SCXK (京) 2014-0004。饲养于 SPF 级实验动物屏障内, 实验动物使用许可证号: SYXK (陕) 2016-005, 温度 $(23 \pm 3)^\circ\text{C}$, 相对湿度 45%~65%, 12 h 明暗交替, 喂食灭菌全价营养颗粒饲料 [江苏省协同医药生物工程有限责任公司,