

Т.О. Яструб, к.м.н., В.В. Кірсенко, к.м.н.

ВПЛИВ ОРГАНІЧНИХ РОЗЧИННИКІВ НА ВЕЛИЧИНУ ГРАНИЧНО ДОПУСТИМОГО РІВНЯ ДІАЗИНОНУ НА ШКІРІ

Інститут медицини праці АМН України

Серед інсектицидних препаратів-генериків, ресинтез яких впродовж багатьох років ведеться фірмами країн, що розвиваються, діазинон займає одне з провідних місць.

Діазинон (95% технічний продукт) — О,О-діетил О-2-ізопропіл-6-метилпіримідин-4-іл фосфорогіат (IUPAC) — рідина із слабким специфічним запахом без кольору або злегка коричневого кольору; густина 1,11 г/см³; температура кипіння +83-84 °С (0,0002 мм рт.ст.), +125 °С (1 мм рт.ст.); тиск пару 120 мПа (25°С); розчинність у воді 40-60 мг/л (20°С) — повністю сумісні з більшістю органічних розчинників. Стабільний до гідролізу при рН 5-11. Коефіцієнт розподілу в системі "октанол-вода": Log P = 3,3.

Основний механізм токсичної дії діазинону, як і більшості фосфорорганічних пестицидів, полягає у пригніченні активності ферменту холінестерази. Потенційної канцерогенної та мутагенної активності не виявлено; токсичний вплив на репродуктивну функцію та розвиток не є лімітуючими критеріями в токсикологічній характеристиці діазинону.

Згідно "Гігієнічної класифікації пестицидів за ступенем небезпечності" [1], діазинон відноситься до 2-го класу небезпечності (лімітуючий критерій шкідливості — інгалаційна токсичність, ЛК₅₀ > 2150 мг/м³). За параметрами гострої пероральної (ЛД₅₀ = 285 мг/кг) та шкірно-резорбтивної (ЛД₅₀ = 900 мг/кг) токсичності діазинон відноситься до помірно-небезпечних сполук — 3 клас небезпечності [2-4]. Діазинон не подразнює шкіру, слабо подразнює слизову оболонку очей, не має сенсibilізуючих властивостей.

Висока ефективність і надійність, відносна простота синтезу і помірна ринкова вартість сприяли державній

реєстрації препаратів на основі цього інсектициду як засобу проти комах-шкідників (хлібної жукеліці, клопа черепашки, блішок, різних родин довгоносиків) на цукровому буряку, пшениці, ячменю, горосі, капусті та ін. Реєстраторами препаратів на основі діазинону є такі відомі фірми, як "Сингента" (Швейцарія), "Ніппон Каяку Ко., Лтд" (Японія), "Мактешим Кемікал Воркс Лтд" (Ізраїль), а також і менш відомі — фірми КНР: "Чайна Кемікал Індастріал і Рісеч Ко., Лтд", "Нанжінг №1 Пестисайд Факторі оф Ред Сан Груп Ко., Лтд.", "Санрайз Кемікалз Ко., Лтд".

Оцінка ризику несприятливої дії пестицидів для працюючих, яка є обов'язковим елементом реєстраційної процедури в Україні, вимагає знання токсикологічних характеристик препарату, зокрема — інгалаційної і шкірно-резорбтивної токсичності. Інформаційний супровід препаратів-генериків дуже рідко містить необхідну повноту токсикологічних даних, що не дозволяє співвіднести характеристики оригінальних діючих речовин і генериків. Крім того, відсутність сертифікату якості ФАО унеможливорює визначити шкідливі домішки, які є чи не найважливішим свідченням різниці між генериком і оригінальною діючою речовиною. Так, за даними технічного звіту IUPAC [5], залежно від технології синтезу і умов зберігання у складі діазинону разом з неідентифікованими домішками неминуче присутні тетраетил-пірофосфати - тетраетил-пірофосфат (О,О-ТЕПФ), монотіопірофосфат (О,S-ТЕПФ, монотепф) і дітіотетраетил-пірофосфат (S,S-ТЕПФ, сульфотепф), що є потенційними інгібіторами холінестерази і характеризуються високою токсичністю. Наприклад, антихолінестеразна ак-

тивність монотепфа в 14000 разів вища, ніж діазинону, а токсичність сульфотепфа і монотепфа вища за початкову речовину у 300 і 2500 разів, відповідно.

Як відомо, шкірно-резорбтивна дія хімічної речовини обумовлена власне притаманній їй токсичності та здатністю проникати крізь шкіру, що у великій мірі залежить від фізико-хімічних властивостей речовини, інтегрованим виразом яких у відношенні до проникнення крізь шкіру є коефіцієнт проникнення. На процес проникнення також впливають інші чинники, зокрема, розчинник, у якому речовина нанесена на шкіру, і концентрація його в розчині. Загалом, коефіцієнт проникнення є показником, в якому віддзеркалюються впливи різноманітних властивостей хімічної речовини і її розчинів (природа розчинника, концентрація і т.і.), які опосередковано впливають на шкірно-резорбтивну токсичність.

Нещодавно у наукових розробках Інституту медицини праці АМН України обговорювалось питання щодо використання коефіцієнту проникнення крізь шкіру у визначенні гранично допустимих рівнів забруднення шкіри пестицидами (ГДР_{з.ш.}) [6]. Суть цього підходу полягає у так званому зворотному (реверсному) розрахунку ГДР_{з.ш.} із допустимого рівня впливу пестицидів на працюючих (ДРВПП) та коефіцієнту проникнення пестицидів із водних розчинів, який визначається за рівнянням регресії, виведеним на основі двох дескрипторів - молекулярної маси та емпіричного коефіцієнту розподілу в системі "октанол-вода" [7].

Разом з тим, при визначенні ГДР_{з.ш.} бажано знати коефіцієнти проникнення крізь шкіру розчину діючої речовини пестициду у конкретному розчиннику. Це особливо важливо для препаратів-генериків, зокрема для діазинону, до складу препаративних форм якого входять органічні розчинники з різними фізико-хімічними властивостями. Природно, що безпека крізьшкірного впливу розчинів суттєво залежить від розчинника пестициду.

Мета даної роботи полягала у вивченні впливу органічних розчинників на коефіцієнт проникнення діазинону крізь шкіру та величину ГДР_{з.ш.}, який використовується у визначенні ступеню ризику потенційної шкідливої дії цього пести-

циду на здоров'я працюючих шляхом порівняння ГДР_{з.ш.} з фактичною на шкірною експозиційною дозою.

Матеріали і методи

Об'єкт досліджень — ізольований клаптик шкіри лабораторних тварин (шурів); інсектицид діазинон — речовина шкірно-резорбтивної дії.

Проникнення діазинону крізь шкіру вивчали методом *in vitro* з використанням дифузійних камер, заповнених розчином фосфатного буферу (рН=7,3). Об'єм приймальної частини камери (рецепторна фаза), яка імітувала (за водневим показником) внутрішнє середовище організму, становила ~ 15 см³. Площа контакту розчину пестициду із шкірою — 4,9 см². Ізольовану шкіру отримували з попередньо депільованої області спини шурів, яких потім під ефірним наркозом знеживлювали шляхом декапітації. З ізольованого шмату шкіри видаляли гіподерму шляхом зіскоблювання; внутрішню поверхню готових зразків шкіри, вміщених у дифузійні камери, омивали розчином фосфатного буферу протягом 24 годин.

В експерименті вивчали проникнення крізь шкіру: а) технічного діазинону (ступінь чистоти 95%); б) його розчинів в органічних розчинниках — ацетоні, ксилолі, гексані, диметилформаміді та ізопропіловому спирті; в) препаративної форми "Діазин ЕС, к.е." виробництва фірми "Nanjing No. 1 Pesticide Factory of Red Sun Groupe Co., Ltd." (КНР), до складу якого входить 60% діазинону, розчинник ксилол (30%) та емульгатор "2201". Вибір органічних розчинників був здебільше довільним і водночас спрямованим на типові випадки використання органічних розчинників у формуляціях препаративних форм пестицидів.

На шкіру наносили по 0,5 мл технічного діазинону *per se*, 50% розчину в органічних розчинниках; препаративної форми *per se*. Концентрації діазинону на шкірі, враховуючи його густину 1,11 г/см³, мали значення: діазинону технічного — 1110000 мкг/мл; у розчинах органічних розчинників — 555000 мкг/мл; у препаративній формі — 666000 мкг/мл. Дані концентрації забезпечили дози діазинону на шкірі: у розчинах органічних розчинників — 277000 мкг, у препара-

тивній формі — 333000 мкг, діазинону технічного — 555000 мкг.

Режим роботи камер — стаціонарний із взяттям елюату (рецепторна фаза) для аналізу в інтервали часу, задані умовами досліду, та зі зміною всього об'єму рецепторної фази по закінченні експерименту.

Час відбору проб елюату (в годинах від початку експерименту): 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 24; 30; 48; 72 — для діазинону технічного та в органічних розчинниках; 1; 4; 6; 24; 30; 48 — із препаративної форми.

Визначення абсорбованої кількості діазинону проводили спектрофотометричним методом (спектрофотометр СФ-26) в ультрафіолетовому спектрі поглинання з довжиною хвилі 270 нм.

Приріст поглиненої дози (ΔD_n) діазинону визначали за формулою:

$$\Delta D_n = \Delta C_n \times V, \quad (1)$$

де: ΔC_n — приріст концентрації діазинону за конкретний проміжок часу експозиції (мг/мл); V — об'єм дифузійної камери (мл).

Загальна кількість діазинону ($Q_{\text{заг}}$), що пройшла крізь шкіру за весь період експерименту, це сума визначеного в конкретні проміжки часу досліджуваного діазинону.

Значення величини потоку проникнення діазинону крізь шкіру за певний проміжок часу визначали за формулою:

$$J_n = Q_{\text{заг}} : S : t, \quad (2)$$

де: J — потік пенетранта крізь шкіру (мг/см²×год); S — контактна площа поверхні шкіри ($S = 4,9$ см²); t — час експозиції (год).

Коефіцієнт проникнення визначали за формулою:

$$K_p = J : C, \quad (3)$$

де: K_p — коефіцієнт проникнення (см/год); C — концентрація нанесеного на шкіру розчину діазинону (мкг/мл).

Загальний (за весь період експерименту) відсоток абсорбованої крізь шкіру дози діазинону розраховували за формулою:

$$Q_{\text{abs}} = Q_{\text{заг}} \times 100\% : Q_0, \quad (4)$$

де: $Q_{\text{заг}}$ — абсорбована крізь шкіру доза діазинону (мкг); Q_0 — нанесена на шкіру доза діазинону (мкг).

Результати експериментальних досліджень піддані статистичній обробці з використанням критерію Ст'юдента.

Результати та обговорення

Результати експериментальних досліджень з проникнення діазинону крізь ізольований епідерміс білих шурів із органічних розчинників представлені на рис. 1 у вигляді адитивних кривих, що відображують кількість речовини, що пройшла крізь шкіру при даній концентрації за конкретний проміжок часу досліджу. Аналіз адитивних кривих показує, що найбільша кількість діазинону проникає крізь шкіру при нанесенні препаративної форми (60% діазинону у розчині ксилолу з емульгатором). Що стосується всіх інших розчинників, то одержані дані вказують про відносно близькі значення кількості пестициду, яка проникла крізь шкіру. Про це свідчать також і розраховані відсот-

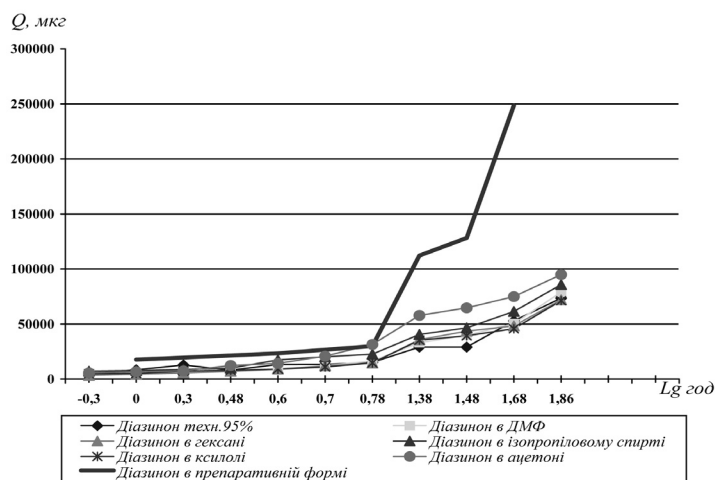


Рис. 1. Адитивні криві проникнення діазинону крізь ізольований епідерміс шурів

ки абсорбованої кількості пестициду (рис. 2). Так, за 48 год із препаративної форми крізь шкіру пройшло більш 80% кількості діазинону; із розчинів в органічних розчинниках — в межах 20 -30%. Найменша кількість пестициду надійшла крізь шкіру після нанесення *per se* діазинону технічного (95%).

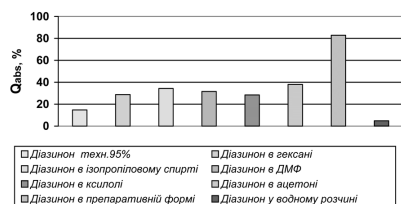


Рис. 2. Абсорбована крізь шкіру доза діазинону із різних розчинів

Адитивні криві дозволили розрахувати коефіцієнти проникнення діазинону з органічних розчинів (табл. 1).

Коефіцієнти проникнення (Кр, см/год) діазинону крізь шкіру, розраховані на основі експериментальних даних

Нанесений на шкіру розчин	Кр, $X \pm S_x$	% від контролю
Діазинон технічний (умовний контроль)	$0,00064 \pm 0,00014$	— (n = 12)
Діазинон в гексані	$0,00076 \pm 0,00023$	> 18,8; t = 0,45 (n = 12)
Діазинон в ізопропіловому спирті	$0,00115 \pm 0,00047$	> 79,7; t = 1,04 (n = 12)
Діазинон в диметилформаміді	$0,00101 \pm 0,00034$	> 57,8; t = 1,0 (n = 12)
Діазинон в ксилолі	$0,00079 \pm 0,00032$	> 23,4; t = 0,4 (n = 12)
Діазинон в ацетоні	$0,00140 \pm 0,00038$	> 118,8; t = 1,88 (n = 12)
Діазинон в препаративній формі	$0,00318 \pm 0,00096^*$	> 396,9; t = 2,62 (n = 6)

Примітки: 1. n — кількість визначень; 2. * — розбіжності з контролем вірогідні (p < 0,05).

Як видно з наведених даних, за впливом на коефіцієнт проникнення розчинники можуть бути розміщені наступним чином (у порядку зменшення): препаративна форма > ацетон > ізопропіловий спирт > диметилформамід > ксилол > гексан > діазинон технічний. Аналіз результатів експериментальних досліджень (табл.1), дозволив встановити тенденцію до зростання коефіцієнту проникнення діазинону із всіх випробуваних розчинів у порівнянні з коефіцієнтом проникнення діазинону технічного. Так, збільшення коефіцієнту проник-

нення діазинону з препаративної форми (майже на 400%) виявилось статистично вірогідним у порівнянні з умовним контролем. Суттєве збільшення коефіцієнту проникнення спостерігалось також із розчину діазинону в ацетоні (приблизно на 120%), ізопропіловому спирті (майже на 80%), диметилформаміді (майже на 60%), проте дані зміни не були статистично вірогідними.

На перший погляд викликає подив, що вплив на коефіцієнт проникнення суміші розчинників препаративної форми препарату "Діазин ЕС, к.е." суттєво відрізняється від розчину діазинону в ксилолі, хоча в обох випадках вміст діазинону і ксилолу в нанесеному на шкіру розчині був приблизно однаковий (60% діазинону і 30% ксилолу у препаративній формі і, відповідно, 50% і 50% — у модельних розчинах). Різниця полягає у тому, що у препараті "Діазин ЕС, к.е." присутній емульгатор, який,

Таблиця 1

запізнєння" дає поглиблене уявлення про вплив органічних розчинників на процес проникнення. При цьому більший вплив на коефіцієнт проникнення справляють жиророзчинні неполярні розчинники — гексан і ксилол у порівнянні з амфіфільними і полярними — ацетоном, диметилформамідом і ізопропіловим спиртом. Але це не є предметом обговорення даної статті. Більше значення має вплив органічних розчинників на величину $ГДР_{з.ш.}$, а з нею — на оцінку ступеню ризику крізьшкірної дії діазинону при його застосуванні. За алгоритмом [6], використовуючи наведені у табл. 1 коефіцієнти проникнення, були розраховані $ГДР_{з.ш.}$ діазинону, нанесеного на шкіру в різних розчинниках і у складі препаративної форми "Діазин ЕС, к.е." (табл. 2).

Таблиця 2

Величини гранично допустимого рівня ($ГДР_{з.ш.}$) діазинону на шкірі, визначені з використанням коефіцієнтів проникнення

Нанесений на шкіру розчин	$ГДР_{з.ш.}$, мг/кг
Діазинон технічний	0,36
Діазинон в гексані	0,31
Діазинон в ізопропіловому спирті	0,20
Діазинон в диметилформаміді	0,23
Діазинон в ксилолі	0,29
Діазинон в ацетоні	0,17
Діазинон в препаративній формі	0,07

Дані цієї таблиці по суті є похідними від величин коефіцієнтів проникнення, відображають різні величини $ГДР_{з.ш.}$ діазинону в залежності від нанесеного на шкіру розчинника. Так, величина $ГДР_{з.ш.}$ діазинону технічного відрізняється від найменшого значення $ГДР_{з.ш.}$ препарату "Діазин ЕС, к.е." у 5 разів, від розчину в ацетоні — у 2 рази. При цьому, вплив органічних розчинників на величини $ГДР_{з.ш.}$ дуже сильний: навіть незначна різниця між значеннями $ГДР_{з.ш.}$ діазинону технічного і у розчині ацетону в кінцевому рахунку означає підвищення ступеню ризику на 100%.

З урахуванням одержаних даних, $ГДР_{з.ш.}$ препарату "Діазин ЕС, к.е." становитиме 4,9 мг/людину, а діазинону *per se* — 25,2 мг/людину.

За проведенними нами гігієнічними дослідженнями умов безпечного застосування препарату "Діазин ЕС, к.е." на посівах цукрового буряку з нормою витрати 2 л/га, однократно з використанням штангового обприскувача, на шкірна експозиційна доза, розрахована за [7], склала 1,042 мг/людину. За таких умов ступінь ризику кризьшкірної дії діазинону з препаративної форми "Діазин ЕС, к.е." за [6] становитиме 0,21; при розрахунках за [7] ризик кризьшкірної дії діазинону складає 0,75.

Отримані за [6] результати виглядають більш реалістично, ніж розрахунки за [7]: припустити, що за умов гострої шкірно-резорбтивної токсичності препарату "Діазин ЕС, к.е." більше 2000 мг/кг і діазинону технічного — 900 мг/кг на шкірна експозиційна доза 1,042 мг/людину наблизитиметься до критичної позначки дуже важко з міркувань простої логіки.

З наведених у табл. 2 даних витікає ще одне положення. Мова йде про великі розбіжності між коефіцієнтами проникнення діазинону в органічних розчинниках і препаративній формі, яка у даному разі

відрізняється від досліджуваних розчинів тільки наявністю поверхнево-активної речовини (ПАР) — емульгатора "2201". Не вдаючись у природу цієї речовини (вона складає комерційну таємницю), можна припустити, що саме ПАР є причиною прискорення проникнення діазинону кризь шкіру у порівнянні з органічними розчинниками. Цей досить відомий із літератури факт має велике значення в контексті обговорюваного питання: препаративні форми сучасних пестицидів, особливо концентрати емульсій, водно-емульсійні концентрати, масляні суспензії, всі без винятку містять ПАР. Як видно з наведеного прикладу, ПАР суттєво прискорює процес проникнення, що в кінцевому рахунку може привести до підвищення шкірно-резорбтивної токсичності. Тому розрахунки ризику при забрудненні шкіри пестицидами тільки за діючою речовиною *per se* і навіть з урахуванням впливу органічних розчинників ще не створюють повного уявлення про небезпеку, яку несуть інгредієнти препаративної форми, і, в першу чергу, ПАР.

Висновки

1. Експериментально встановлені значення коефіцієнтів проникнення діазинону кризь шкіру шурів із органічних розчинників та препаративної форми свідчать про різну швидкість його надходження до організму в залежності від застосованого розчину. Найбільша швидкість надходження діазинону кризь шкіру спостерігається із препаративної форми "Діазин ЕС, к.е.", де поряд з органічним розчинником використовується ПАР-емульгатор "2201".
2. За впливом на проникнення діазинону кризь шкіру органічні розчинники розподіляються у напрямку зменшення: препаративна форма > ацетон > ізопропіловий спирт > диметилформамід > ксилол > гексан > діазинон технічний.
3. Препаративні форми пестицидів за рахунок вмісту в них органічних розчинників і поверхнево-активних речовин, роблять певний внесок у процес проникнення діючої речовини і, внаслідок цього, у її шкірно-резорбтивну дію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності.- ДСанПіН 8.8.1.002-98.- К., 1998. — С.4—8.
2. (RTECS) Register of Toxic Effects of Chemical Substances / Canadian Centre for Occupational Health and Safety, 1999.
3. Мельников Н.Н. Химия и технология пестицидов. — М.: Химия, 1974.- 768 с.
4. Каган Ю.С. Общая токсикология пестицидов.-К.: Здоров'я, 1981. — 176 с.
5. Ambrus A., Hamilton D.J., Kuiper H.A. and Racke K.D. Significance of Impurities in the Safety Evaluation of Crop Protection Products (IUPAC Technical Report) // Pure Appl. Chem. — 2003. — 75 (7).— P. 937—973.
6. Кундієв Ю.І., Кірсенко В.В., Яструб Т.О. Визначення гранично допустимих рівнів забруднення шкіри пестицидами з використанням коефіцієнту проникнення//Совр. пробл. токсикол. — 2007. — №2.— С.45—49.
7. Cronin M.T.D., Dearden J.C., Moss G.P., Murray-Dickson G. Investigation of the mechanism of flux across human skin in vitro by quantitative structure-permeability relationships//Eur.J.Pharm.Sci.- 1999. — 7. — P.325—330.
8. J.R. Lundein, D. Westphal, H. Kieczka, et.al. Uniform principles for safeguarding the health of applicators of plant protection products (Uniform principles for operator protection); Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt for Landund Fortwirtschaft. — Berlin-Dahlem, 1992. — N°277. — P. 60—112.

Т.А. Яструб, В.В. Кірсенко

ВЛИЯНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ РАСТВОРИТЕЛЕЙ НА ВЕЛИЧИНУ ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОГО УРОВНЯ ДИАЗИНОНА НА КОЖЕ

Показано, что влияние органических растворителей на проницаемость диазинона через кожу может быть представлено в направлении уменьшения коэффициентов следующим образом: препаративная форма > ацетон > изопропиловый спирт > диметилформамид > ксилол > гексан > диазинон технический. Различия в увеличении значений коэффициентов по сравнению с условным контролем (диазинон технический *per se*) составили от 20% (гексан) до почти 400% (препаративная форма). Предельно допустимый уровень загрязнения кожи диазиноном в этих растворителях уменьшился по сравнению с условным контролем от 1,2 (гексан) до 5 (препаративная форма) раз. Обсуждается вопрос о величине риска чрескожных воздействий диазинона в зависимости от нанесенных на кожу действующего вещества *per se* или препаративной формы препарата "Діазин ЕС, к.е." фирмы "Nanjing No. 1 Pesticide Factory of Red Sun Groupe Co., Ltd." (КНР). Сделан вывод о необходимости определения коэффициента проницаемости пестицидов и использовании этого показателя в оценке риска для применяемой препаративной формы, а не действующего вещества *per se*.

T.O. Yastrub, V.V. Kirsenko

EFFECT OF ORGANIC SOLVENTS ON VALUE OF MAXIMUM PERMISSIBLE LEVEL OF DIAZINON ON SKIN

Influence of organic solvents is investigated on the values of coefficient of permeability through the skin of diazinon. It is showed that influence of organic solvents on permeability can be presented in the direction of diminishing of coefficients in such kind: formulation > acetone > isopropyl alcohol > dimethylformamide > xylene > hexane > diazinon *per se* > water. Distinctions in the increase of values of coefficients permeability as compared to the control (diazinon *per se*) made from 20% (hexane) to almost 400% (formulation). Accordingly with it, maximum possible level of contamination of skin by a diazinon in these solvents diminished as compared to the control in 1,2 (hexane) to 5 (formulation) times. A question discusses about of risk of percutaneous absorption of diazinon depending on inflicted on the skin active substance *per se* or formulation "Diazine of ES, e.c." of "Nanjing No. 1 Pesticide Factory of Red Sun Groupe Co., Ltd." (China). Conclusion is drawn about the necessity of determination of coefficient permeability of pesticides and use of this index in the estimation of risk for the applied formulation but not active substance *per se*.