

*Medicinska edukacija/  
Medical education*

TOKSIKOLOŠKI PRIKAZ  
ORGANOFOSFORNOG JEDINJENJA  
MALATIONA

TOXICOLOGICAL REVIEW OF  
ORGANOPHOSPHORUS COMPOUND  
MALATHION

Correspondence to:

Dipl. Hem. **Maja Vujović**,  
Medicinski fakultet, Katedra za  
Farmaciju, Toksikologija, Univerzitet u  
Nišu  
18000 Niš, Srbija  
E-mail: majavujovic1@gmail.com

Maja Vujović<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Medicinski fakultet, Katedra za Farmaciju, Toksikologija, Univerzitet u  
Nišu, Srbija, <sup>2</sup>Zavod za sudsku medicinu, Toksikološka laboratorija, Niš,  
Srbija

*Ključne reči*

organofosforni insekticidi, malation,  
toksikologija

*Key words*

organophosphate insecticides, malathion,  
toxicology

*Sažetak*

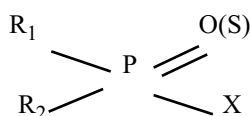
Cilj rada je teorijski prikaz organofosfornog jedinjenja malationa sa aspekta toksikologije. Malation je organofosforni insekticid slabe toksičnosti. Svrstava se u nesistemske insekticide sa širokim spektrom delovanja. U poljoprivredi se široko primenjuje za uništavanje insekata na voću i povrću, kao i za zaprašivanje komaraca, muva, bubašvaba, vaši i životinjskih parazita. Prema stepenu toksičnosti pripada III grupi pesticida. Malation se može uneti u organizam inhalacijom, ingestijom i preko intaktne kože. Vrlo brzo se resorbuje i metabolički aktivira pomoću enzima citohrom P450 u toksičniji malaokson. Tosično dejstvo ispoljava inhibicijom enzima acetilholinesteraze i nagomilavanjem acetilholina, koji stimuliše muskarinske i nikotinske receptore. Primarno se izlučuje urinom i nema svojstvo akumulacije. Uzročnik je akutnih, hroničnih, akcidentalnih i suicidalnih trovanja. Najveći broj akutnih trovanja malationom zabeležen je kod dece i radnika u proizvodnji pesticida. Rizik za opštu populaciju, uz primenu opštih mera bezbednosti, nije veliki jer se malation u spoljašnjoj sredini relativno brzo razlaže u netoksične proizvode.

*UVOD*

Organofosforni insekticidi (OP) predstavljaju grupu pesticida koji se široko primenjuju u poljoprivredi. Koriste se za suzbijanje i kontrolu širenja insekata. Hemijski su slični nervnim bojnim otrovima, ali ispoljavaju slabiju toksičnost (Slika 1). Zbog složenije hemijske strukture i prisustva većih funkcionalnih grupa, često zahtevaju metaboličku aktivaciju kako bi ispoljili svoje toksično antiholinergičko dejstvo. OP insekticidi sporije deluju, razgrađuju se brzo u ljudskom organizmu i spoljašnjoj sredini. Najznačajnije grupe OP insekticida su:

1. estri tionofosforne (fosfortioati-jedan atom S),
2. tiolofosforne, fosforne (fosfati-nemaju atom S),
3. ditiofosforne (fosforditioati-dva atoma S),
4. pirofosforne i fosforaste (fosfonat- nemaju atom S)

kiseline.



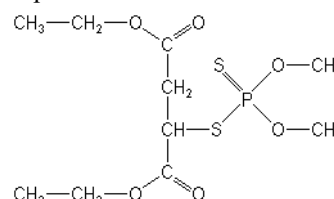
R<sub>1</sub>/ R<sub>2</sub> = Alkil, Aril, O-Alkil, S- Alkil, NH<sub>2</sub>, NHAcil, itd.

X = acil radikal tj. *odlazeća grupa*, (Cl, F, CN, aromatična, alifatična ili heterociklična grupa)

*Slika 1. Opšta formula organofosfornih insekticida*

Većina OP insekticida je rastvorna u vodi i lako isparljiva na običnoj temperaturi. U manjoj meri se rastvoraju u mastima. Većina je jako toksična i pripada I i II grupi pesticida dok malation pripada III grupu. Rizik za opštu populaciju, uz primenu opštih mera bezbednosti, nije veliki jer se većina ovih jedinjenja u spoljašnjoj sredini relativno brzo razlaže u netoksične proizvode.

**Malation** je izraziti predstavnik organofosfornih insekticida (Slika 2). Predstavlja nesistemske insekticid, širokog spektra delovanja. Jedan je od prvo sintetisanih organofosfornih insekticida (1950.god). Prvi put je registrovan za upotrebu 1956. godine u SAD od strane *United States Department of Agriculture (USDA)*, a danas je pod regulativom *United States Environmental Protection Agency (EPA, 2006)*. Koristi se za kontrolu štetnih insekata na voću i povrću, kao i za zaprašivanje komaraca, muva, bubašvaba, vaši i životinjskih parazita.



*Slika 2. Strukturna formula malationa*

### Putevi unošenja i apsorpcija

Malation se može uneti u organizam inhalacijom, ingestijom, i preko intaktne kože. U profesionalnim uslovima dominantni su inhalacija i transkutani put unošenja i apsorpcije, što je posebno važno budući da se na ovaj način, u prvom prolazu zaobilazi jetrena barijera. Za opštu populaciju glavni putevi unošenja malationa su ingestija i koža, a u znatno malom procentu inhalacija.

Nakon oralne ekspozicije u organizmu se vrlo brzo resorbuje. Malation se takođe i brzo resorbuje preko kože, gde procenat resorbovane doze zavisi od količine i strane sa koje je izvršena ekspozicija. Malation se najbrže resorbuje inhalacijom u vidu para i aerosola (1).

### Distribucija

Organofosforni insekticidi se distribuiraju u organizmu različito, zavisno od stepena lipofilnosti i afiniteta prema pojedinim tkivima. Po pravilu se ne akumuliraju u organizmu i eliminišu se za 24 h. Lipofilna jedinjenja ispoljavaju veći afinitet prema nervnom sistemu.

Dvonedeljna studija na pacovima, bazirana na praćenju promene težine organa, pokazala je da su ciljni organi malationa jetra i bubrezi (EPA, 2005).

### Metabolizam

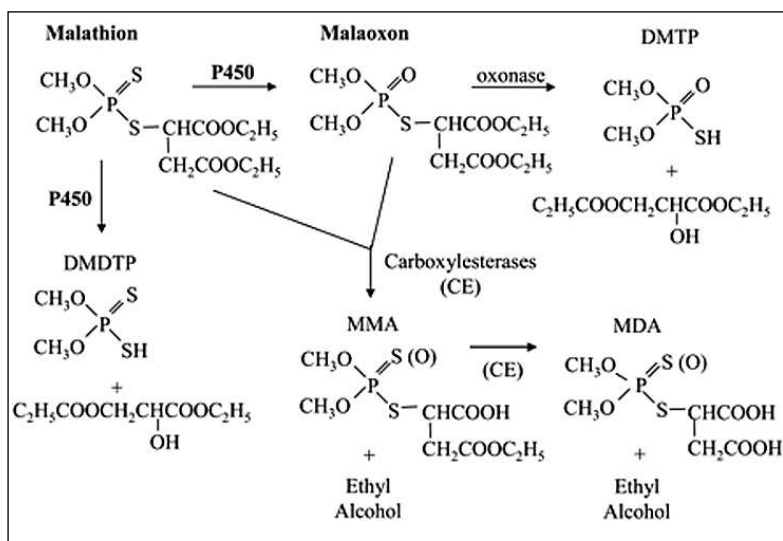
Nekoliko familija metaboličkih enzima (*citohrom P450 monoooksigenaze* (CYPs) i *flavin monoooksigenaze* (FMOs), hidrolaza), sa širokim spektrom specifičnosti prema substratu, je uključeno u metabolizam organofosfornih pesticida.

U najvećem broju slučajeva metabolički procesi predstavljaju procese detoksikacije. Međutim, postoje i slučajevi gde kroz fazu I ili fazu II metabolizma nastaju reaktivniji metaboliti nego analogno jedinjenje. Ovo je naročito izraženo kod OP, kada se pri konvertovanju P=S grupa u P=O grupu povećava toksičnost OP. U svakom slučaju metabolički procesi koji povećavaju rastvorljivost OP jedinjenja u vodi, dovode do znatnog smanjenja njegovog biološkog poluživota i bržeg izlučivanja, pa samim tim i smanjenja toksičnosti (2).

Sve reakcije biotransformacije OP insekticida mogu se uopšteno podeliti u dve grupe; *aktivacione* i *deaktivacione* procese posredovane određenim enzimskim sistemima.

Na slici 3. prikazani su metabolički putevi aktivacije i deaktivacije malationa u jetri. U procesu deaktivacije učestvuju enzimi karboksijesteraze koje katalizuju brzu reakciju degradacije malationa do malation monokarboksilne kiseline (MMA) i malation dikarboksilne kiseline (MDA). Ova reakcija je u kompeticiji sa aktivacionom reakcijom malationa, oksidativnom desulfuracijom pomoću enzima citohrom P450 oksidaze, pri čemu nastaje malaokson-fosfati triestar malationa. Formirani malaokson se u daljim reakcijama može deaktivirati pomoću karboksijesteraza u MMA ili oksonaza u dimetilditiofosfat (DMDTP). Glavni put u metabolizmu malationa predstavlja reakcija biaktivacije posredstvom citohrom P450 oksidaze i stvaranje toksičnijeg metabolite malaoksona (3). Da bi malation ispoljio svoje toksične efekte neophodna je njegova bioaktivacija posredstvom jetrenih enzima. Nagrađeni aktivni metabolit-malaok-

son je oko 22 puta toksičniji od početnog malationa pri oralnoj ekspoziciji, i oko 33 puta pri svim ostalim oblicima, bilo akutnih ili hroničnih kratkih i srednjih ekspozicija (4).



Slika 3. Putevi metaboličke aktivacije malationa. DMTP, dimetiltiofosfat; DMDTP, dimetilditiofosfat; MMA, malation monokarboksilna kiselina; MDA, malation dikarboksilna kiselina.

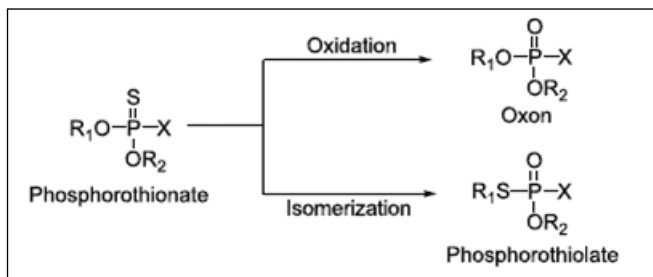
Interakcija organofosfornih estara i enzima je kompleksna i može se istovremeno vršiti na raznim funkcionalnim grupama u molekulu otrova što se može videti i na slici 3. Samo jedna od tih reakcija predstavlja reakciju aktivacije otrova iz netoksičnog u toksični oblik, a to je reakcija oksidativne desulfuracije kojom se sumpor vezan dvogubom vezom za fosfor zamenjuje kiseonikom pri čemu nastaje okson, snažni inhibitor holinesteraze. Reakcija aktivacije vrši se pod uticajem citohrom P450 oksidaze i kod insekata i kod sisara. Sve ostale reakcije, u kojima učestvuje enzim citohrom P450 oksidaza, oksonaze i sistem glutationa, mogu se svrstati u reakcije detoksikacije (5).

Brojne nečistoće, koje se mogu naći u komercijalnim proizvodima ili mogu nastati dugim stajanjem preparata, predstavljaju jake inhibitore karboksijesteraza i znatno mogu u metaboličkim procesima uticati na povećanje količine formiranog malaoksona (3). Najpoznatija nečistoća je izomalation, koja je prisutna u niskim koncentracijama a može nastati u procesu proizvodnje ili izomerizacijom malationa usled nepropisnog, dužeg čuvanja na svetlosti ili visokim temperaturama (EPA, 2009).

Reakcija izomerizacije malationa (fosforotioat), pri čemu nastaje izomalation (fosfortiolat) je manje zastupljena od reakcije oksidativne desulfuracije malationa u oksone, a dešavaju se simultano (Slika 4) (6). Izomalation je znatno toksičniji od malationa i predstavlja jak inhibitor AChE, jer pokazuje veći afinitet prema enzimu. Proces izomerizacije formira novi centar asimetrije na fosforu koji daje mogućnost formiranja četiri stereoizomera, koji se međusobno razlikuju po reaktivnosti prema AChE i toksičnosti (7-13).

### Eliminacija

U studijama metabolizma malationa kod pacova, pri oralnom unosu, malation je primarno bio izlučen preko urina (80-90%) u prvih 24 h nakon ekspozicije. Nepromenjeni malation je predstavljao primarnu reziduu u urinu (EPA, 2006).



**Slika 4.** Konverzija fosforotijonata u oksone ili fosforotiolate

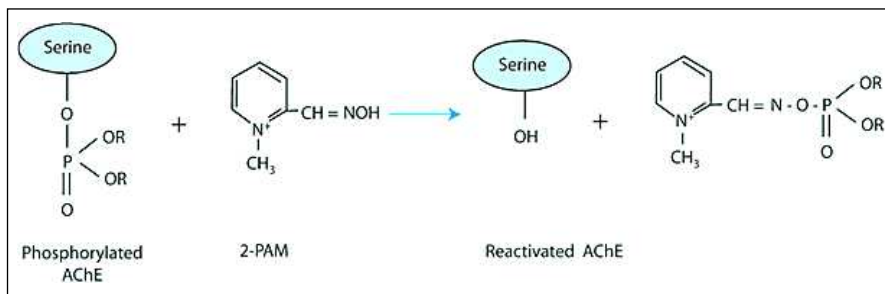
Malation je detektovan i u majčinom mleku, ali studije su pokazale da ne postoji korelacija između ekspozicije i neželjenih efekata kod odojčeta (14).

**Mehanizam toksičnog delovanja malationa**

Toksični efekti malationa su posledica indirektno inaktivacije (posle transformacije u jetri) ili, ređe, direktne inaktivacije ili smanjene aktivnosti acetilholinesteraze (AChE), koja normalno hidrolizuje acetilholin (ACh) stvoren u sinaptičkim membranama nervnog sistema.

Nakupljanje acetilholina na taj način u početku stimuliše muskarinske i nikotinske receptore (hiperaktivnost funkcija), a kasnije onemogućava prenos impulsa u svim acetilholinskim sinapsama i dovodi do paralize. Interakcija AChE (i drugih esteraza) sa inhibitorima tipa OP predstavlja dozna i vremenski zavisnu reakciju koja se odvija u nekoliko faza (5, 15).

Spontana reaktivacija fosforilisane AChE može se intenzivno ubrzati u prisustvu nukleofilnih jedinjenja kao što su oksimi (pralidoksim i drugi) što predstavlja značajan segment savremene terapije trovanja OP (Slika 5).



**Slika 5.** Reaktivacija OP pralidoksimom (2-PAM).

Stepen reaktivacije koju omogućavaju oksimi zavisi od hemijskog oblika fosforilisane AChE i od strukture, koncentracije i dužine boravka oksima u blizini aktivnog centra AChE. Oksimi su, međutim, neefikasni ako dođe do poslednje faze u fosforilaciji AChE odnosno reakcije „starenja“ koja se definiše kao vremenski zavisna transformacija u kojoj se gubi jedan radikal koji je vezan za fosfor posle čega nastaje stabilan kompleks enzima i inhibitora. Reakcija starenja isključivo zavisi od hemijske strukture inhibitora i obično se dešava za nekoliko minuta (5).

**Toksični efekti na ljude i životinje**

Malation se svrstava u grupu umereno toksičnih pesticida. Akutna toksičnost malationa zavisi od čistoće preparata i načina unošenja u organizam.

Kod oralnog unosa, akutna LD<sub>50</sub> za pacova iznosi 5400 mg/kg za mužjake i 5700 mg/kg za ženke, za miševe od 400 - 4000 mg/kg i za zečeve od 1000 - 12,500 mg/kg (EPA, 2006)(16, 17).

Malation pokazuje razliku u toksičnosti kod polova pacova i ljudi. Razlike koje postoje kod polova u metabolizmu, deponovanju i ekskreciji, ukazuju na veću osetljivost ženki u odnosu na mužjake pacova. Kod ljudi minimalna letalna doza je oko tri puta veća kod muškaraca nego kod žena.

Najveći broj akutnog trovanja pesticidima zabeležen je kod dece i radnika u proizvodnji pesticida.

Mnoge studije na volonterima, koji su oralno uzimali malation u malim dozama, u periodu od mesec i više dana, pokazale su da nije došlo do značajnog smanjenja holinesterazne aktivnosti. Ipak treba naglasiti da kod hronične ekspozicije, efekti malationa na ljudsko zdravlje i oklinu zavise od količine prisutnog malationa, dužine i frekvencije ekspozicije, ali i zdravstvenog stanja osobe i uslova života. (18, 19).

**Simptomi trovanja malationom i lečenje**

Pri ekspoziciji malationom toksični efekti se ostvaruju na svim holinergičkim receptorima uključujući muskarinske, nikotinske i receptore CNS-a. Znaci i simptomi trovanja zavise od vrste inhibiranog enzima i njegove osetljivosti, od položaja sinapse, količine malaoksona koji je dospao do sinapse i puta unošenja malationa (15,18).

Kod trovanja ljudi OP insekticidima medicinski tretman uključuje nespecifične, opšte (dekontaminaciju i suportivni tretman) i specifične mere sa atropinom, oksimima (pralidoksim, trimedoksim, obidoksim i HI-6) i diazepamom (20-22).

**Analitika malationa i njegovih metabolita**

Za analitičko određivanje malationa i njegovih metabolita koriste se dve vrste analiza:

**Direktna analiza.** Detekcija, identifikacija i kvantifikacija malationa i njegovih metabolita pomoću različitih tehnika: gasna hromatografija sa NP-detektorom (GC/NPD), gasna hromatografija sa masenim detektorom (GC/MS), tečna hromatografija sa diode-array detektorom (HPLC/DAD), tankoslojna hromatografija (TLC), imunohromatografske metode, itd.

Određivanje se može vršiti u različitim uzorcima: vazduh, voda, zemljište, hrana i biološki materijal (krv, serum, urin, želudačni sadržaj, lavat,

tkiva organa, itd.).

Za određivanje nivoa ekspozicije, jako je važna analiza malationa i njegovi metabolti u uzorku urina, gde se mogu detektovati i do nekoliko dana nakon ekspozicije. Prisutni metabolti u urinu ne moraju samo da ukazuju na akutnu izloženost toksičnim dozama malationom, već i mogućnost njihovog unosa u organizam preko hrane, vode, vazduha i sl. u dužem periodu. Praćenje njihove koncentracije može jasno indikovati prisustvo hroničnog trovanja niskim dozama malationom. Određivanje nepromenjenih OP jedinjenja ili njihovih metabolita u biološkom materijalu služi kao biološki marker ekspozicije.

**Indirektna analiza.** Spektrofotometrijsko određivanje nivoa holinesteraze u krvi, serumu i dr. uzorcima (15,18).

## ZAKLJUČAK

Malation je organofosforni insekticid slabe toksičnosti. Svrstava se u nesistemički insekticide sa širokim spektrom delovanja. U poljoprivredi se široko primenjuje za uništavanje insekata na voću i povrću, kao i za zaprašivanje komaraca, muva, bubašvaba, vaši i životinjskih parazita. Prema stepenu toksičnosti pripada III grupi pesticida. Malation se može uneti u organizam inhalacijom, ingestijom i preko intaktno-kože. Vrlo brzo se resorbuje i metabolički aktivira pomo-

ću enzima citohrom P450 u toksičniji malaokson. Toksično dejstvo ispoljava inhibicijom enzima acetilholinesteraze i nagomilavanjem acetilholina, koji stimuliše muskarinske i nikotinske receptore. Primarno se izlučuje urinom i nema svojstvo akumulacije. Uzročnik je akutnih, hroničnih, akcidentalnih i suicidalnih trovanja. Najveći broj akutnih trovanja malationom zabeležen je kod dece i radnika u proizvodnji pesticida. Rizik za opštu populaciju, uz primenu opštih mera bezbednosti, nije veliki jer se malation u spoljašnjoj sredini relativno brzo razlaže u netoksične proizvode.

## Abstract

The aim of this paper is a theoretical review of malathion as an organophosphorus compound from the toxicological aspect. Malathion is low toxicity organophosphorus insecticide. It belongs to the non-systemic insecticide with broad spectrum activity. In agriculture, it is widely used for insect control in fruit and vegetables, as well as in spraying of mosquitoes, flies, cockroaches, lice and animal parasites. According to the degree of toxicity, it belongs to the third group of pesticides. Malathion can enter the body by inhalation, ingestion and through intact skin. It is absorbed very quickly and metabolically activated by cytochrome P450 enzymes in toxic malaokson. Toxic effect is exhibited by inhibition of enzyme acetilholinesteraze and accumulation of acetylcholine, which stimulates muscarinic and nicotinic receptors. It is primarily excreted in the urine and does not have accumulation properties. It is the cause of the acute, chronic, accidental and suicidal poisoning. The largest number of acute malathion poisoning were in children and workers in the production of pesticides. The risk for the general population, with the use of general security measures, is not great due to malathion high half-life environmental degradation rate.

## LITERATURA

- Maibach HI, Feldman RJ, Milby TH, Serat WF. Regional variation in percutaneous penetration in man. *Arch Environ Health*. 1971; 23:208-11.
- Gupta PK, WHO/FAO Guidelines for Cholinesterase-Inhibiting Pesticide Residues in Food. In: Gupta, R.C. (Ed.), *Toxicology of Organophosphorus and Carbamate Compounds*, Elsevier, 2006. p. 643-54.
- Buratti FM, D'Aniello A., Volpe M, Meneguz A, Testai E. Malathion Bioactivation in the Human Liver: the Contribution of Different Cytochrome P450 Isoforms. *Drug Metab Dispos*. 2005; 33:295-302.
- Reigart JR, Roberts, JR. *Organophosphate Insecticides. Recognition and Management of Pesticide Poisonings*, 5th ed.; U.S. Environmental Protection Agency, Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances, Office of Pesticide Programs, U.S. Government Printing Office: Washington, DC, 1999; 34-47.
- Jokanović M. Tokični efekti pesticida, U: *Toksikologija*. Elit-Medica, Beograd, 2010. str. 207-41.
- Thompson CM, Ryu SM, Berkman CE. Consequence of phosphorus stereochemistry upon the postinhibitory reaction-kinetics of acetylcholinesterase poisoned by phosphorothiolates. *J Am Chem Soc*. 1992; 114:10710-15.
- Berkman CE, Ryu S, Quinn DA, Thompson CM. Kinetics of the postinhibitory reactions of acetylcholinesterase poisoned by chiral isomalathion: a surprising nonreactivation induced by the RP stereoisomers. *Chem Res Toxicol*. 1993; 6:28-32.
- Berkman CE, Quinn DA, Thompson CM. Interaction of acetylcholinesterase with the enantiomers of malaokson and isomalathion. *Chem Res Toxicol*. 1993; 6:724-30.
- Doorn JA, Gage DA, Schall M, Talley TT, Thompson C M, Richardson RJ. Inhibition of acetylcholinesterase by (1S, 3S)-isomalathion proceeds with loss of thiomethyl: kinetic and mass spectral evidence for an unexpected primary leaving group. *Chem Res Toxicol*. 2000; 13:1313-20.
- Doorn JA, Schall M, Gage DA, Talley TT, Thompson CM, Richardson RJ. Identification of butyrylcholinesterase adducts after inhibition with isomalathion using mass spectrometry: difference in mechanism between (1R) - and (1S)-stereoisomers. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001a; 176:73-80.
- Doorn JA, Talley TT, Thompson CM, Richardson RJ. Probing the active sites of butyrylcholinesterase and cholesterol esterase with isomalathion: conserved stereoselective inactivation of serine hydrolases structurally related to acetylcholinesterase. *Chem Res Toxicol*. 2001b; 14:807-13.
- Jianmongkol S, Berkman C., Thompson CM, Richardson RJ. Relative potencies of the four stereoisomers of isomalathion for inhibition of hen brain acetylcholinesterase and neurotoxic esterase in vitro. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1996; 139:342-8.
- Jianmongkol S, Marable BR, Berkman CE, Talley TT, Thompson CM, Richardson RJ. Kinetic evidence for different mechanisms of acetylcholinesterase inhibition by (1R) - and (1S)-stereoisomers of isomalathion. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1999; 155:43-53.
- Sanghi R, Pillai MK, Jayalekshmi TR, Nair A. Organochlorine and organophosphorus pesticide residues in breast milk from Bhopal, Madhya Pradesh, India, *Hum Exp Toxicol*. 2003; 22(2):73-6.
- Đorđević M, Antunović M, Rusić B, Denić K, Đorđević S. Dijagnostički značaj određivanja aktivnosti holinesteraze. *MD-Medical data*. 2014; 6(2):143-6.
- Kamrin MA. *Pesticide Profiles: Toxicity, Environmental Impact, and Fate*, Lewis Publishers, New York, 1997. p. 191-5.
- Gallo MA and Lawryk NJ. *Organic phosphorus pesticides*. In *Handbook of Pesticide Toxicology*. Hayes, W. J., Jr. and Laws, E. R., Jr., Eds. Academic Press, Inc.: San Diego, 1991. p. 917-1123.
- Toxicological Profile for Malathion*; U.S. Department of Health and Human Services, Agency for Toxic Substances and Disease Registry: Atlanta, 2008.
- Moeller HC and Rider JA. Plasma and red blood cell cholinesterase activity as indications of the threshold of incipient toxicity of ethyl-p-nitrophenyl thionobenzenephosphonate (EPN) and malathion in human beings. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1962; 4:123-30.
- Jokanović M. Medical treatment of acute poisoning with organophosphorus and carbamate pesticides. *Toxicol Lett*. 2009; 190:10-115.
- Jokanović M, Stojilković MP. Current understanding of the application of pyridinium oximes as cholinesterase reactivators in treatment of organophosphate poisoning. *Eur J Pharmacol*. 2006; 553:10-17.
- Jokanović M, Prostran M. Pyridinium oximes as cholinesterase reactivators. Structure-activity relationship and efficacy in the treatment of poisoning with organophosphorus compounds. *Curr Med Chem*. 2009; 16:2177-88.