



国家科学技术学术著作出版基金资助出版

光活化农药

LIGHT-ACTIVATED PESTICIDES

© 徐汉虹 田永清 编著



化学工业出版社

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

光 活 化 农 药

徐汉虹 田永清 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书是第一本对光活化农药进行深入探讨的专著,对近年来光活化农药的研究进行了全面总结。内容包括光活化农药的相关基础、发展历史,光敏毒素的结构和来源,光活化农药的作用机理和活性,有害生物对光活化农药的抗性,光活化农药的应用及研究方法等,重点介绍了光敏毒素的结构、来源,光活化农药的作用机理及活性。

本书可供农药、植保、生物、生态等领域的工程技术人员、科研人员和管理员参考,也可作为光化学、生物学、植物学、药学等专业学生的辅助教材。

图书在版编目(CIP)数据

光活化农药/徐汉虹,田永清编著. —北京:化学工业出版社, 2008. 3
ISBN 978-7-122-02290-5

I. 光… II. ①徐…②田… III. 光-活化-农药-研究
IV. TQ453

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 027919 号

责任编辑:刘兴春

文字编辑:焦欣渝

责任校对:李 林

装帧设计:朝圣设计

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印 刷:北京永鑫印刷有限责任公司

装 订:三河市前程装订厂

720mm×1000mm 1/16 印张10¼ 彩插1 字数193千字

2008年6月北京第1版第1次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:40.00元

版权所有 违者必究

前 言

农药是现代农业不可缺少的重要生产资料。世界面临的环境问题促使人们发展环境和谐型农药。光活化农药巧妙利用无所不在的自然因子——光和氧成倍提高药效，同时促进自身的降解、避免残留，其明显的环保优势引起了全世界的广泛关注。我们在赵善欢院士的指导下，从 1989 年开始光活化农药的研究，取得了明显的进展。随着相关研究工作的积累，4 年前我们专门为研究生开设了光活化农药课程，经过对研究进行总结，也由于教学的需要，使我们萌生了编写此书的想法。

农药由不稳定的天然产品（鱼藤酮、除虫菊素等）到稳定的化学合成农药（DDT、666 等），发展到今天与环境和谐的光活化农药（ α -三联噻吩等），昭示了农药的发展方向。我国加入世界贸易组织（WTO）后，发达国家以大幅度提高农药残留限量标准的方式形成了新的贸易“技术壁垒”；人们生活由温饱型向小康型过渡，对农产品安全提出了更高的要求，这些都促使国家实施食品安全工程，禁用高毒高残留农药，光活化农药就是在这样的时代需求下呼唤出来的。近年来，光活化农药被越来越多的人接受、欣赏，越来越多的人走进这一领域。光活化农药正走向生产应用，显示出广阔的发展前景。

作者于 2001 年曾出版《杀虫植物与植物性杀虫剂》，该书第一章简要介绍了植物源光活化杀虫毒素，本书是对光活化农药的系统著述。光活化农药涉及多个学科，本书有机融合了光学、光生物学、光化学、昆虫学和农药学等相关学科的知识，其中光生物学部分主要参考 Smith K. C. 编的《The Science of Photobiology》（second edition, Plenum Press, 1989）和《光生物学》（史密斯 K. C. 编，沈恂等译，科学出版社，1984）。本书是我国第一本介绍光活化农药的专著，简单回顾了光活化农药的发展历史，介绍了光活化农药的由来和性质，光活化农药的理论意义及研究方法，光活化农药的结构类型、生物活性、作用机理，从昆虫的行为、体征和生理三方面介绍了昆虫对光活化农药的防御机制，以光活化农药对非靶标生物和环境的安全性展望了光活化农药的应用前景。

本书的读者对象为从事植物保护研究和推广的人员，新农药创制工作者，农林和化工院校相关专业师生，以及昆虫学、农药学、光生物学、环境保护学和生态学的相关研究和管理工作者。

本书得以编写和正式出版，特别感谢在近 20 年研究中下述项目的资助：国

国家自然科学基金——青藏高原杀虫植物资源调查、活性筛选与有效成分研究（编号：39300087）；国家自然科学基金——聚乙炔类杀虫剂的人工合成与毒理学研究（编号：39320005）；国家自然科学基金——光敏化合物防治农业害虫的毒理学研究（编号：39870437）；广东省自然科学基金重点项目——氨基甲酸多炔苯基酯类光活化杀虫剂的研究（编号：036837）；科技部农业科技成果转化项目——噻吩类光活化杀虫剂的中间试验与区域试验（编号：03EFN214400190）；广东省自然科学基金——植物光活化杀虫剂的资源调查、毒理与应用研究（编号：960429）；高等学校博士学科点专项科研基金——万寿菊甲醇抽提物活性成分的分离、鉴定及活性跟踪测定（编号：970501）；广东省“千百十”人才培养基金——植物光活化杀虫剂的毒理药效影响因子研究（1997—1998）；中华农业科教基金人才基金资助项目——光敏化合物防治重要农业害虫的毒理学研究（98-03-B-06）；教育部高等学校骨干教师资助计划——植物源光活化农药的毒理研究（2000—2002）等。

很多同事和学生博士后工作期间或攻读研究生学位期间参与了这一工作，丰富了本书的内容，他们是乐海洋、万树青、王新国、蒋志胜、侯学文、胡林、田永清、吴仁海、王玉健、任永霞、宋德寿、廖绍裕、欧阳勇等。

中国科学院华南植物园魏孝义研究员、中国农业大学高希武教授、浙江大学朱国念教授、华中农业大学王沫教授、东北农业大学向文胜教授、河北省农业科学院植物保护研究所潘文亮研究员等对研究工作和书稿撰写给予了深切关心和大力支持。

在此感谢国家科学技术学术著作出版基金给予该书出版的基金支持。

光活化农药涉及的学科广泛，我们的学术水平和知识结构有限，欢迎读者指正本书的不足，以促进光活化农药的发展。

徐汉虹
2008年1月

目 录

第 1 章 光活化农药的相关基础	1
1.1 光对农药的影响	1
1.2 光化学反应	2
1.3 光活化农药的光生物学基础	4
1.3.1 光和活性氧对细胞的效应	4
1.3.2 昼夜节律和生物光感受	13
1.3.3 生物发光	14
1.3.4 自然界的光敏疾病和光敏现象	15
1.3.5 生物系统的光氧化	16
1.3.6 光对人体的效应	21
参考文献	27
第 2 章 光活化农药的发展简史	30
2.1 农药发展简史	30
2.1.1 天然农药时代	30
2.1.2 无机农药时代	31
2.1.3 有机农药时代	31
2.2 由不稳定到稳定——农药的合成思路	32
2.3 稳定导致的残留——合成农药的缺陷	34
2.4 光活化农药发展简史	35
2.5 光活化农药出现的历史必然性及其意义	37
2.5.1 光活化农药顺应了农药的发展趋势	37
2.5.2 光活化农药的意义	38
参考文献	40
第 3 章 光敏毒素的结构和来源	42
3.1 天然源光敏毒素	42
3.1.1 植物源光敏毒素	42
3.1.2 微生物源光敏毒素	58
3.1.3 低等生物中的光敏毒素	58
3.2 合成的光敏毒素	60
3.2.1 仿生合成的光敏毒素	60
3.2.2 染料类光敏毒素	67
参考文献	67
第 4 章 光活化农药的作用机理和生物活性	72
4.1 光活化农药的作用机理	72
4.1.1 基态与激发态	72
4.1.2 单线态与三线态	73

4.1.3	光敏化合物的光化学基本过程	73
4.1.4	光活化农药的毒杀机理	75
4.1.5	光活化农药的多重作用机制	76
4.2	光活化农药对有害生物生理生化的影响	82
4.2.1	中毒症状	82
4.2.2	对昆虫生理的影响	83
4.3	光敏毒素的生物活性	97
4.3.1	多炔类和噻吩类的活性	97
4.3.2	呋喃香豆素类的活性	123
4.3.3	扩展醌类的活性	124
4.3.4	生物碱的活性	125
4.3.5	咕吨染料的活性	126
参考文献		127
第5章	昆虫对光敏毒素的抗性	133
5.1	行为抗性	133
5.2	体征抗性	134
5.3	生理抗性	135
5.3.1	抗氧化剂	135
5.3.2	代谢和排泄	137
参考文献		139
第6章	光活化农药的应用	141
6.1	光活化农药的应用概况和田间应用的困难	141
6.2	使光活化农药应用于田间的新剂型	142
6.3	光活化农药的安全性	145
6.3.1	光活化农药对非靶标生物的安全性	145
6.3.2	光活化农药对环境的安全性	148
6.4	光活化农药的应用前景	148
参考文献		149
第7章	光活化农药的研究方法	151
7.1	光活化农药的生物活性测定	151
7.1.1	杀虫活性测定	151
7.1.2	除草、杀菌活性测定	152
7.1.3	细胞毒杀活性测定	153
7.2	植物源光敏毒素的提取分离方法	154
7.2.1	硅胶柱色谱法	154
7.2.2	凝胶柱色谱法	156
7.2.3	硅胶薄层制备法	156
7.3	活性氧的测定	156
7.3.1	化学发光法	156
7.3.2	紫外-可见分光光度法	158
7.3.3	荧光分析法	159
7.3.4	电子自旋共振法	160
参考文献		161

第 1 章 光活化农药的相关基础

1.1 光对农药的影响

农药对光的反应有多种，有些农药对光稳定，如 DDT、六六六，这些农药易长时间残留在环境中；另一些农药见光易分解，如辛硫磷、鱼藤酮，这些农药一般没有理想的持效期。还有一些农药发挥活性时需要光的参与，一种情况是前体农药，如杀螨隆本身不具备杀虫活性，在紫外光照射下分解为碳化二亚胺，这种产物能阻碍害虫体内神经细胞中线粒体的功能，影响其呼吸作用和能量传递，使害虫僵死；另一种情况是作用于杂草光合作用的除草剂，如敌草隆、扑草净、西玛津、敌稗、调节磷等光合作用抑制剂，抑制了杂草将光能转变为化学能的光合磷酸化作用，以及 NADP^+ 的还原和 CO_2 的固定、同化等过程，阻止了光合作用的正常进行，使杂草饥饿而死，这些药剂必须在有光条件下植物进行光合作用时才能起到除草作用；还有一种情况是农药发挥活性时以光为激发因子，这类农药称为光活化农药。

光活化农药是一类新型农药，它区别于其他农药的显著特征是在避光环境中的活性很低或没有活性，而在接受光照后活性成倍提高。光之所以能够提高农药的活性，是因为光具有能量。在农药发挥活性的生化反应中，光贡献出了本身的能量，起到了“活化”的作用。但并非任何波长的光都可以活化农药，农药活性分子的分子结构、理化性质、有害生物的生物特性等因素决定了能够活化农药的光只能限于一定波长范围。总结光活化农药的研究成果，可以发现与光活化农药密切相关的是近紫外-可见光部分，尤其是近紫外光。从电磁波谱看（表 1-1），近紫外-可见光部分只占了电磁辐射谱的很小一部分。

表 1-1 电磁辐射谱

波 段	波 长	波 段	波 长
γ 射线	$10^{-4} \sim 10^{-1} \text{nm}$	可见光	$400 \sim 800 \text{nm}$
X 射线	$10^{-2} \sim 10 \text{nm}$	红外	$0.8 \sim 1000 \mu\text{m}$
真空紫外	$10 \sim 200 \text{nm}$	微波	$0.1 \sim 100 \text{cm}$
紫外	$200 \sim 400 \text{nm}$		

太阳是个炽热的大火球，表面温度可达 6000K，它以辐射的方式把巨大

的能量传送到地球，是地球的能量来源。入射到地球表面的阳光是理想的平行光束，入射到地球大气层外界的阳光总强度用太阳常数表示。太阳常数指的是：在与光传播方向垂直的平面上单位面积接受到光的总量，其平均值为 1368 W/m^2 。

太阳的高温炽热气体以电磁辐射的形式放射出能量。太阳辐射是电磁辐射的一部分，波长范围在 $0.15 \sim 4 \mu\text{m}$ 之间，分为三个主要区域：紫外光区、红外光区和介于二者之间的可见光区。太阳辐射的能量主要分布在可见光区和红外区，其中红外区约占总能量的 48.3%，可见光区约占 43%，紫外区约占 8.7%。在波长 480nm 处太阳辐射达到最高值，约为 $12.6 \text{ J}/(\text{cm}^2 \cdot \text{min})$ 以上。由于地表和大气层的吸收和反射，波长小于 290nm 的太阳辐射不能到达地面，而 $800 \sim 2000 \text{ nm}$ 的长波辐射则几乎都被水分子和二氧化碳所吸收，只有 $300 \sim 800 \text{ nm}$ 的近紫外光和可见光能透过大气到达地面，这部分约占太阳光总能量的 41%。

光的波长越长，它的能量就越低。从已有的文献来看，与光活化农药有关的波段大多位于 $300 \sim 650 \text{ nm}$ ，即位于近紫外光-橙光之间（表 1-2），很少达到 700nm。由于发生光化学反应需要较高的能量， $300 \sim 400 \text{ nm}$ 的紫外光是研究得最多的。

表 1-2 紫外-可见光谱

波长/nm	颜 色	能量/(kcal/mol)	波长/nm	颜 色	能量/(kcal/mol)
200	不可见紫外	143	470	蓝	60
250	不可见紫外	114	530	绿	54
300	不可见紫外	102	580	黄	49
380	可见紫外边缘	76	620	橙	46
400	紫	72	700	红	41

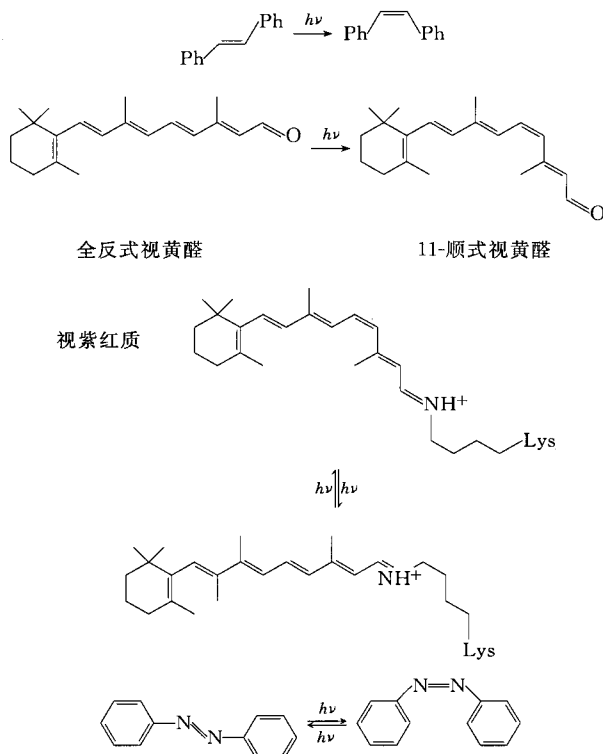
1.2 光化学反应

分子吸收光子将使该分子上升到激发态，激发态分子在能量降低过程中会发生一系列化学反应。与其他化学反应不同的是，光化学反应总是与具有激发态电子的分子有关。有时一个稳定的或不易变化的产物是光化学反应的直接结果，即从激发态到最终产物的过程中没有任何中间产物，这样的反应叫做协同光化学反应。大多数光化学反应会出现高反应活性的中间产物（如自由基、离子或其他不稳定的产物），这些中间产物通过一些继发反应生成最终产物，有时正是这些中间产物的反应产物导致了严重的生物反应。为了便于分析处理，把从吸收光能开始到形成稳定最终产物的化学过程称为总的光化学反应。在总

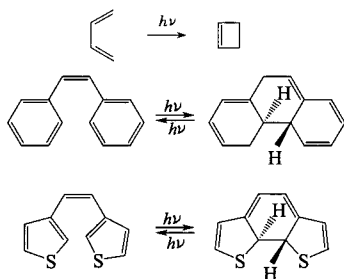
的光化学反应中，与激发态分子有关的，即光化学反应本身，称为原初光反应或原初光化学过程。

有机分子不同的总光反应类型很多，但是为有机分子所共有的原初光反应过程的类型并不多，这里只介绍原初光反应。常见的原初光反应有八种（史密斯，1984；姜月顺等，2005）。

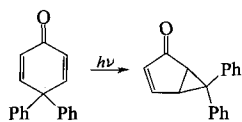
(1) 顺反异构化



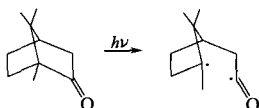
(2) 电循环型键重排



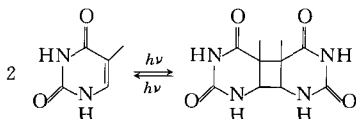
(3) Σ 型键重排



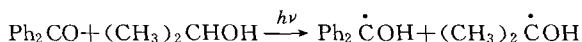
(4) 简单的均裂键劈开 (一个单键裂开为两个自由基)



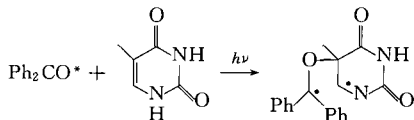
(5) 环加成和逆环加成 (两个组分加成形成一个环, 或一个环劈开为两个组分)



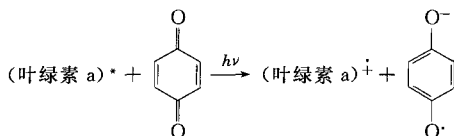
(6) 抽氢



(7) 两步加成为不饱和系统中的第一步



(8) 电子传递



1.3 光活化农药的光生物学基础

1.3.1 光和活性氧对细胞的效应

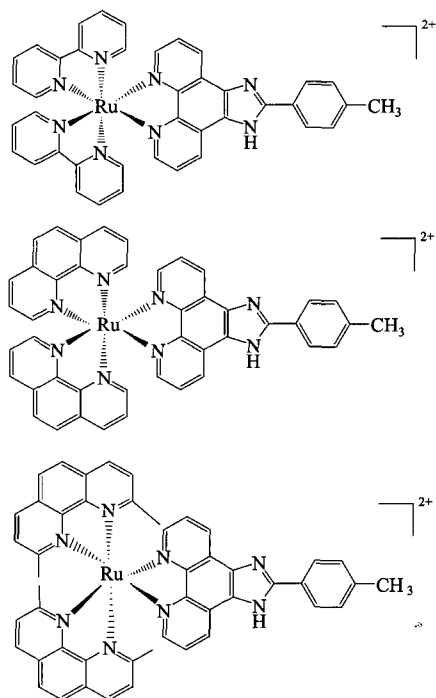
1.3.1.1 光对核酸的效应

(1) 光对脱氧核糖的效应

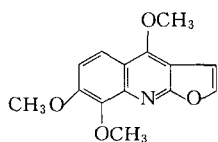
在光能作用下, 脱氧核糖会产生种种破坏。如果 5-溴尿嘧啶取代 DNA 中的胸腺嘧啶, 会增加细胞对光的敏感性, 光作用于 5-溴尿嘧啶后会使它脱溴, 并产生一个尿嘧啶自由基。在无别的氢供体时, 它会从附近的脱氧核糖夺取一个氢原子, 最后使 DNA 断链。在有光敏剂二苯甲酮存在时也会有断链效应, 在

313nm 光激发下该敏化剂从水中抽出氢原子并产生羟自由基，羟自由基攻击 DNA 使之断链。

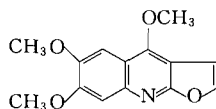
徐宏等 (2005) 报道了钌 (II) 多吡啶配合物对 pBR322DNA 的光断裂作用，在光能作用下激发态的钌 (II) 多吡啶配合物生成单线态氧，将鸟嘌呤碱基氧化而导致 DNA 断裂。钌 (II) 多吡啶配合物光断裂 DNA 的能力与配合物和 DNA 相互作用的结合模式和结合强度有关，该研究对于遗传工程中的化学核酸酶以及以 DNA 为靶标的药物设计有重要的意义。该研究所用的钌 (II) 多吡啶配合物结构如下：



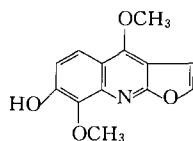
Hanawa(2003) 和 Hanawa 等 (2004) 报道，茵芋碱 (skimmianine)、香草木碱 (香草木宁, kokusaginine)、去甲茵芋碱 (haplopine) 和芸香碱 (flindersine) 对金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 有光活化毒杀活性，前三种化合物能结合 DNA。



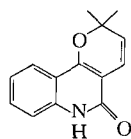
茵芋碱 (skimmianine)



香草木碱 (kokusaginine)



去甲茵芋碱 (haplopine)



芸香碱 (flindersine)

(2) 光对嘌呤的效应

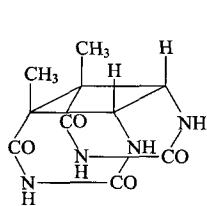
嘌呤容易与其他有机化合物发生光化学反应，嘌呤比嘧啶的光化学反应活性更强，嘌呤吸收的光能会传给嘧啶或 DNA 的糖-磷酸主链，从而发生化学变化。

(3) 形成嘧啶水合物

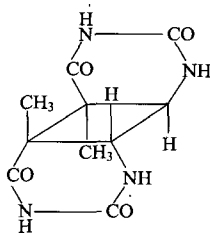
在紫外光照射下，单链 DNA 能形成嘧啶水合物。在 DNA 的复制和转录期间可能有短的单链区，在这些区域嘧啶水合物的形成具有重要的生物学意义，因为它可能引发突变。

(4) 形成胸腺嘧啶、胞嘧啶和尿嘧啶的环丁烷型二聚体

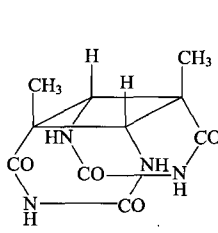
用 254nm 光照射胸腺嘧啶的水溶液，胸腺嘧啶便形成二聚体，两个胸腺嘧啶分子通过各自的 5 位和 6 位碳原子互相连接，在两个胸腺嘧啶分子之间形成一个四碳环，即环丁烷。环丁烷型胸腺嘧啶二聚体的结构如下：



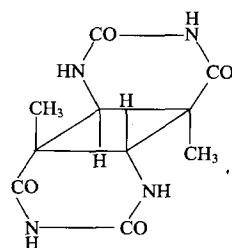
(内消旋)
顺-顺



(右旋, 左旋)
反-顺



(右旋, 左旋)
顺-反



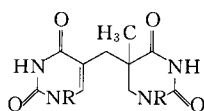
(内消旋)
反-反

环丁烷型胸腺嘧啶二聚体的形成和单体化与波长有关。280nm 光有利于二聚体形成，240nm 光有利于单体形成。这是由于胸腺嘧啶和它的二聚体的吸收谱不同，以及在形成二聚体和裂解二聚体的量子产率上的差异造成的。

此外，还有五种环丁烷型的天然嘧啶的二聚体，分别是尿嘧啶二聚体、胞嘧啶二聚体、尿嘧啶-胸腺嘧啶、胞嘧啶-胸腺嘧啶、尿嘧啶-胞嘧啶。如果 DNA 中的胞嘧啶二聚体脱氨基形成尿嘧啶二聚体，此二聚体被光复合酶在原位劈开后，由于尿嘧啶是与腺嘌呤配对而不是与鸟嘌呤配对，就会导致突变。

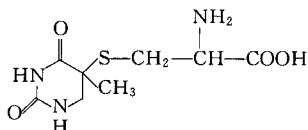
(5) 嘧啶的其他光化学反应

真菌孢子经 254nm 光照后, 会产生“孢子光产物”——5-胸腺嘧啶酰-5,6-二氢胸腺嘧啶。在孢子萌发期间, 孢子光产物的产率很低, 而环丁烷型二聚体的产率增加, 同时对紫外线致死的敏感性增强。环丁烷型嘧啶二聚体杀死细胞的效率比孢子光产物杀死孢子的效率高约 11 倍, 故孢子光产物比环丁烷型二聚体更能被有效地修复。



孢子光产物

在光照下, 嘧啶的 5,6-双键能与醇及半胱氨酸发生光加成反应。半胱氨酸加到 5 位上形成一个稳定的加成物: 5-S-半胱氨酰-6-氢胸腺嘧啶。



5-S-半胱氨酰-6-氢胸腺嘧啶

(6) DNA 与蛋白质的交联

在紫外光照射下, DNA 能与蛋白质通过光化学反应发生交联。如胸腺嘧啶能够与半胱氨酸、精氨酸、赖氨酸、酪氨酸、色氨酸和胱氨酸加成, 尿嘧啶能与甘氨酸、丝氨酸、半胱氨酸、胱氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、精氨酸、组氨酸、色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸加成。

1.3.1.2 光对氨基酸和蛋白质的效应

(1) 氨基酸的光化学敏感性

要发生光化学反应就必须吸收光能, 故对于在光生物学中通常使用的波长 (大于 240nm) 不吸收的那些氨基酸 (如脂肪族氨基酸), 在此波长下就不会发生光化学反应。如果吸收的光能以热能形式散失或以荧光、磷光形式散失, 光化学反应也不会发生。

化合物在特定波长下发生光化学反应的敏感性与摩尔消光系数 ϵ 和量子产率 ϕ 有关。摩尔消光系数是该化合物吸收特定波长光的概率的一个量度, 而量子产率是吸收的光发生光化学反应的概率, 这两个数的积是该化合物的光化学敏感度的量度。表 1-3 列出了蛋白质中最重要的发色团在 254nm 处这些参数的值。从表 1-3 可以看出, 发生光化学反应的可能性是: 胱氨酸 > 色氨酸 > 苯丙氨酸 > 酪氨酸 > 肽键 > 组氨酸。

表 1-3 254nm 处氨基酸的光化学反应敏感性 (Smith, 1989)

氨基酸	摩尔消光系数 ϵ	量子产率 ϕ	$\epsilon \times \phi$	氨基酸	摩尔消光系数 ϵ	量子产率 ϕ	$\epsilon \times \phi$
胱氨酸	270	0.13	35.1	酪氨酸	320	0.002	0.6
色氨酸	2870	0.004	11.5	肽键	0.2	0.05	0.01
苯丙氨酸	140	0.013	1.8	组氨酸	0.24	<0.03	<0.0072

(2) 蛋白质的光化学反应

蛋白质受到光照时, 能形成不同分子量的产物, 溶解度发生变化, 对热的敏感性增加。酶在接受光照后最易发生的反应就是钝化, 钝化的敏感程度同样可以用摩尔消光系数 ϵ 与量子产率 ϕ 的积来预测。

1.3.1.3 光敏毒素和活性氧对细胞的效应

光敏毒素在光的激发下形成激发态。激发态的光敏化合物使三线态氧 ($^3\text{O}_2$) 被激发形成单线态氧 ($^1\text{O}_2$), 单线态氧 ($^1\text{O}_2$) 能与机体内的生物大分子 (如蛋白质、脂质和核酸等) 进行反应, 引起氧化损伤, 同时形成的脂氢过氧化物 LOOH 以及 $\cdot\text{OH}$, 使蛋白质氧化生成蛋白氢过氧化物 PrOOH, 通过均裂和一系列自由基反应生成 $\text{LOO}\cdot$ 、 $\text{LO}\cdot$ 、 $\text{PrOO}\cdot$ 、 $\text{PrO}\cdot$ 等活性氧, 进而对生物机体产生一系列有害作用 (孙存普等, 1999; 陈媛等, 2002)。

低水平的活性氧能影响细胞增殖, 却不破坏膜的完整性和生理功能 (Gelman 等, 1999)。高水平的活性氧对细胞的损伤途径主要有以下几种: ①攻击细胞生物膜磷脂中的不饱和脂肪酸引发自由基链式反应, 使生物膜脂质过氧化, 进一步形成脂氢过氧化物, 影响细胞代谢, 甚至导致细胞死亡; ②与蛋白质分子相互作用, 导致蛋白质分子中的电子发生迁移、巯基被破坏、蛋白质交联、结构和功能受损, 使酶分子失活 (胡野等, 2002; Chatterjee 等, 1997); ③与 DNA 分子中嘌呤碱基、嘧啶碱基及脱氧核糖作用, 造成 DNA 分子单链或双链断裂、碱基缺失和 DNA 交联; ④影响细胞信号转导, 引发细胞凋亡或坏死。但活性氧的寿命很短, 扩散距离也很短, 例如单线态氧 ($^1\text{O}_2$) 在细胞中的扩散距离小于 $0.07\mu\text{m}$, 因此活性氧对细胞的损伤取决于光敏毒素在细胞中的定位 (Sabine 等, 1997)。

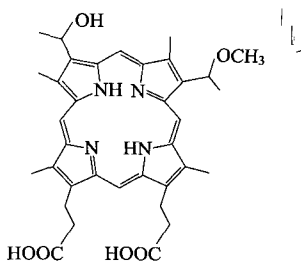
(1) 对细胞内抗氧化物质和氧化型物质水平的影响

细胞内抗氧化物质主要有维生素 E、还原型谷胱甘肽 (GSH)、抗氧化酶系, 如超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、谷胱甘肽转硫酶 (GST)、辅酶 Q 等。它们可以分为两类: 一类防止过氧化反应的开始; 另一类减缓过氧化链式反应的速率。

还原型谷胱甘肽是广泛存在于细胞内的小分子三肽化合物, 是细胞内最丰富的低分子巯基化合物, 能清除自由基、脂质过氧化物 (林秀梅等, 2004), 参与

细胞内氨基酸转运、糖代谢和 DNA 合成调节，在拮抗外源性毒物、调节机体免疫功能、维持细胞蛋白质结构和功能、抑制细胞凋亡（宋玉果等，1999）、保护细胞免受氧化攻击（侯敢等，2002）过程中起关键作用。同时它还是细胞解毒酶系谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）和谷胱甘肽还原酶（GR）的底物（Rizzardini 等，2003）。在许多细胞生化反应过程中，它以还原型（GSH）、氧化型（GSSG）以及混合二硫化物（如 GSS-蛋白质）等形式发挥作用，特别对维持细胞和细胞器膜结构的完整性具有重要作用（王捍东等，2000）。

王玉健（2007）研究发现：激发态的 α -三联噻吩（ α -terthienyl, α -T）和血卟啉甲醚（hematoporphyrin monomethyl ether, HMME）能导致斜纹夜蛾卵巢细胞内 GSH 含量下降，并随着药剂浓度的升高，还原型 GSH 水平呈明显递减趋势，表明光敏毒素使细胞的抗氧化损伤能力减弱。



血卟啉甲醚（hematoporphyrin monomethyl ether, HMME）

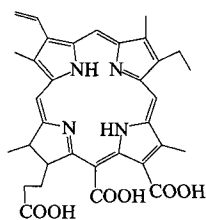
Andrew 等（1995）研究发现， H_2O_2 诱导的细胞凋亡过程中细胞内 GSH 消耗量增大。GSH 消耗量增大则降低细胞保护自身免受外源氧化物损伤的能力。5mmol/L 的乙二醛在产生活性氧导致细胞毒作用的同时，GSH 含量降低（Shangari 等，2004）。

活性氧（reactive oxygen species, ROS）能导致细胞膜不饱和脂肪酸过氧化，进而生成自由基、氢过氧化物、羰基化合物等产物。而氢过氧化物分解时能产生毒性更大的烷氧自由基（ $RO\cdot$ ）、过氧自由基（ $ROO\cdot$ ）、羟自由基和一些活泼的醛类。丙二醛（MDA）就是脂质过氧化的终产物之一，它通过初级、次级产物裂解形成，在低 pH 值和高温度下，可与 TBA 反应生成一种粉红色生色团，从而在 535nm 波长下检测（庞战军等，2000）。王玉健（2007）等利用此法检测了 α -T 和血卟啉甲醚光照处理后胞内 MDA 含量的变化，结果发现处理后胞内 MDA 含量明显升高，且 MDA 的生成量与药剂浓度呈正相关。

（2）对细胞蛋白质的影响

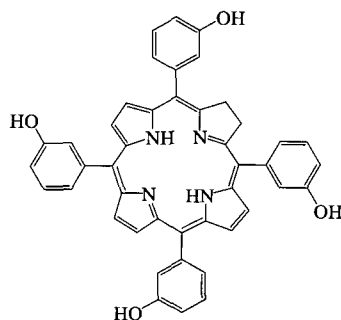
Bose 等（2006）研究了二氢卟吩 P6 对牛血清白蛋白的氧化损伤，结果发现：①蛋白特征荧光淬灭与光照时间及二氢卟吩 P6 的浓度呈线性相关；②蛋白

质羰基化合物和蛋白质氢过氧化物的含量随反应程度加深而增加；③TCA 可溶性氨基的生成无明显增加；④二氢卟吩 P6、孟加拉玫瑰红和核黄素处理后牛血清白蛋白出现非特异性降解片段，且不能为甲酸钠（100mmol/L）和甘露醇（25mmol/L）抑制，却能为叠氮化钠（2mmol/L）所抑制。试验中还发现，当溶剂由 H₂O 改为 D₂O 时，蛋白质羰基化合物的生成量增加了近 90%。这些结果表明，二氢卟吩 P6 光活化处理牛血清白蛋白后，蛋白特征荧光淬灭，蛋白质羰基化合物和蛋白质氢过氧化物的含量升高，且出现蛋白质降解。



二氢卟吩 P6 (chlorin P6)

光敏毒素可与蛋白质结合。Sasnouski 等（2005）研究了第二代光动力治疗药物 Foscan[®]与膜蛋白、脂蛋白之间的相互作用，结果发现 Foscan[®]在白蛋白溶液中的降解动态与蛋白质含量和反应温度密切相关，二聚体的降解速率常数为 $k_1 = (2.30 \pm 0.15) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ ，多聚体的降解速率常数随白蛋白质浓度不同，其值为 $(0.55 \pm 0.04) \times 10^{-3} \sim (0.17 \pm 0.02) \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 。当温度由 15℃ 升高至 37℃ 时，降解速率也明显增快。凝胶过滤色谱发现，Foscan[®]的聚合体在膜蛋白溶液中多呈非结合状态，单体多呈结合状态。光敏毒素与膜蛋白结合后将会有助于光敏毒素的转运、分布和光活化效率提高（Kessel 等，1987；Kongshaug，1992；Kongshaug 等，1989）。



temoporfin (商品名为 Foscan[®])

光敏毒素还可以使蛋白质分子间交联，形成 Tyr-Tyr(双酪氨酸)键，导致蛋白质结构和功能受损。目前双酪氨酸已成为氧化应激的生物标记物。Shen 等