

混合有机化合物定量 结构-活性相关研究

林志芬 著



科学出版社
www.sciencep.com

内 容 简 介

本书基于真实环境中有机污染物往往以混合物形式存在的事实,借鉴单一化合物定量结构-活性相关(QSAR)的研究方法,首次从化学角度提出并测定了一些混合化合物的理化参数(如混合物分配系数、混合物氢键效应和混合物酶活性抑制参数等);改进了发光菌生物毒性的测试方法,测定了一系列不同组成不同比例的混合有机化合物的毒性;成功地建立了不仅能定性判断各混合体系的联合作用而且能定量预测出其联合毒性的 M-QSAR 模型;同时还探讨了各类型单一有机化合物及不同联合方式的混合物对发光菌的联合毒作用机制。这些混合物毒性的定量化研究和 M-QSAR 模型的建立不仅为真实环境中混合有机物的风险评价提供了可靠依据,而且具有很好的应用价值。

本书可供从事环境科学、化学化工、药物和医学研究的科研人员和相关管理工作读者阅读参考。

图书在版编目(CIP)数据

混合有机化合物定量结构-活性相关研究/林志芬著. —北京:科学出版社, 2005

ISBN 7-03-015486-X

I.混… II.林… III.混合—有机化合物—研究 IV.O624

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 044780 号

责任编辑:钟如松/封面设计:董丽华 王旭涛

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

韶关二九〇研究所地图彩印厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2005 年 5 月第 1 版 开本:787×1092 1/16

2005 年 5 月第 1 次印刷 印张:9

印数 1—500 字数:200000

定价:28.00 元

前 言

近 40 年来, 人们对单一污染物的理化性质与环境行为进行了相当详细的研究, 并取得了许多相应的成果。然而, 在全球化学污染的今天, 人们强烈地意识到生物体常常更多地、也更普遍地同时暴露于多组分污染物存在的复杂体系中, 很少仅受到单个化学污染物的作用。混合物进入环境后, 它们对环境中的生物和人类的危害与单一化合物的危害是否有所不同, 是增加还是减少? 能否仍采用现有的单一化学物的卫生标准进行混合物的环境危险性评价? 能否根据单一化合物在环境中的迁移、转化等行为推测混合化合物的环境行为? 如何根据现有的单一化合物的资料, 评价混合化合物对生态系统的结构和功能的影响? 等等。为了回答这一系列急需回答的问题, 近年来国内外已相继开展了混合物联合毒性的研究, 但这些工作大都还只停留在联合毒性效应定性评价阶段(如判断加成、拮抗、协同等), 一直尚未完全解决混合物联合毒性这个难题, 有关专家呼吁混合物联合毒性必须向定量化方向深入研究。

针对联合毒性定量化研究处于缓慢渐进而形势又急需快速发展的这种矛盾状况, 我们率先开展了这方面的研究工作, 主要是抓住了联合毒性从定性评价阶段向定量化方向深入的关键因素——混合化合物联合作用机制, 揭示了混合物的组成及各化合物的结构与联合毒性大小的相关关系, 提出了一些混合物的定量结构-活性相关(M-QSAR)模型, 尝试回答了上述一系列问题。为了推动这一研究的进一步开展, 特将我们近 5 年的研究工作汇编成册, 介绍给有关读者, 希望起到抛砖引玉的作用。

本书共分 4 篇 8 章, 各篇内容自成体系又相互联系, 分别从混合物的理化参数、混合物的联合生物毒性、混合物的定量结构-活性相关(M-QSAR)模型和混合物的联合毒性作用机制 4 个方面展开讨论。它

是一本以描述混合化合物的环境行为为主线索,以探讨混合物的组成及各化合物的结构与其联合毒性大小的相关关系为主要研究内容,以揭示混合物作用下生物毒性效应发生变化为研究重点的多学科交叉的研究成果论著。

本书的工作得到南京大学环境学院王连生教授、于红霞教授和中国科学院南海海洋研究所殷克东研究员的悉心指导,也获得了中国科学院知识创新工程重要方向项目(ZKCX2-SW-212)、国家自然科学基金、广东省自然科学基金以及中国科学院南海海洋研究所领域前沿启动项目基金在经费上的支持,研究生杜建伟和董丽华参与了本书的部分文字校订工作,在此一并致以衷心的感谢。由于作者水平有限,书中内容难免有不妥之处,敬请读者指正。

林志芬

2005年1月

目 录

前言	(i)
----------	-------

绪 论

第 1 节 混合化合物联合作用的研究	(1)
第 2 节 混合有机化合物定量结构-活性相关 (M-QSAR) 的研究	(6)
第 3 节 混合化合物联合作用的毒性机制研究	(16)
第 4 节 发光细菌的生理特性及其在环境科学中的应用	(17)
参考文献	(22)

第 1 篇 混合物理化参数

第 1 章 混合有机化合物分配参数的测定和估算	(26)
第 1 节 单一有机化合物的 C ₁₈ Empore™ 膜/水分配系数的测定	(26)
第 2 节 混合有机化合物 C ₁₈ Empore™ 膜/水分配系数的测定及其分配规律的研究	(31)
第 3 节 碎片常数法估算混合有机化合物的 C ₁₈ Empore™ 膜/水分配系数	(36)
参考文献	(45)
第 2 章 混合有机化合物总氢键效应的估算	(48)
参考文献	(53)
第 3 章 混合有机化合物酶活性抑制参数 [<i>I</i> _{50M} , TU _I] 的测定	(55)
参考文献	(59)

第 2 篇 混合物联合毒性

第 4 章 混合有机化合物的发光菌生物毒性试验方法的研究	(60)
第 1 节 发光菌生物毒性测试方法的改进	(60)
第 2 节 混合有机化合物生物毒性试验方法的研究	(64)
参考文献	(68)

第 3 篇 混合物定量结构-活性相关 (M-QSAR)

第 5 章 单一有机化合物毒性作用类型的判别	(70)
参考文献	(74)
第 6 章 混合有机化合物定量结构-活性相关 (M-QSAR) 的研究	(75)

第 1 节	非极性麻醉型混合有机化合物定量结构-活性相关(M-QSAR)的研究.....	(75)
第 2 节	极性麻醉型混合有机化合物定量结构-活性相关(M-QSAR)的研究	(81)
第 3 节	反应性混合有机化合物定量结构-活性相关(M-QSAR)的研究	(88)
第 4 节	含羟丙基环糊精的混合有机化合物定量结构-活性相关(M-QSAR)的研究	(91)
参考文献		(94)

第 4 篇 混合物联合毒性机制

第 7 章	混合有机化合物联合作用类型的判别	(96)
参考文献		(101)
第 8 章	混合有机化合物联合毒性机制的研究	(102)
第 1 节	单一有机化合物发光菌生物毒性作用机制的研究	(102)
第 2 节	相加作用的联合毒性机制的研究	(107)
第 3 节	协同作用的联合毒性机制的研究	(111)
第 4 节	含环糊精的混合有机化合物拮抗作用的联合毒性机制研究	(127)
参考文献		(133)

绪 论

第 1 节 混合化合物联合作用研究

1.1 混合化合物联合作用研究的重要意义

随着化学工业的不断发展,新的化学品不断问世,化学品的种类已经达到了数百万种。化学品的生产和利用极大地推动了人类社会的繁荣和发展,如农药的生产和使用大大提高了粮食、蔬菜等人类生活必需品的产量,医药能治愈人类的疾病,染料使人类生活的世界多姿多彩等等。但是人工合成的许多化合物具有较强的毒性,对人类及其生活的环境有较大的危害性。因此,近 40 年来,人们对单一污染物的理化性质与环境行为进行了相当详细的研究,并取得了许多相应的成果,为污染治理和环境保护提供了大量基础资料和科学依据。然而,随着科学和经济的发展,人们对生存环境质量的要求越来越高,强烈地意识到在全球化学污染的今天,生物体常常更多地、也更普遍地同时暴露于多组分污染物存在的复杂体系中,很少仅受单个化学污染物的作用,污染多具有伴生性和综合性的特点。例如,污泥的土地利用可导致与该土壤相关的植物和动物的复合污染,据 Garcia 等(1979)报道,在矿区土壤上施用污泥,其结果是该土壤上生长的谷类植物组织中积累了 7 种重金属。产生于工业企业的废水,因其生产产品和工厂性质的不同,也往往有不同类型的多种化学污染物的存在。例如,印染纺织厂废水中常常同时含有 Cr^{6+} 和酚类物质;皮毛制品厂污水中除了含有 Cr^{6+} 外,硫化物的含量及其污染作用也不容忽视。同时,大气混合污染的问题也日益严峻,在英国伦敦发生的多次烟雾事件,其实是大气污染物 SO_2 和烟尘(悬浮颗粒物)复合污染所致。在同一生物体中也可能存在多个化学污染物,据 Newton(1990)报道,塘鹅蛋中同时存在着汞和有机氯农药等多种污染物,这些污染物在活的鹅蛋中要发生各种相互作用,影响鹅蛋的存活率,并通过它们对新一代幼仔产生联合作用,甚至影响到下一代生命的质量。总之,在我们日常生活和生产环境内,混合化合物的复合污染普遍存在,污染物几乎都是以混合物的形式存在。那么,混合物进入环境后,它们对环境中的生物和人类的危害与单一化合物的危害是否有所不同,是增加还是减少?能否仍采用现有的单一化学物的卫生标准进行混合物的环境危险性评价?又能否根据单一化合物在环境中的迁移、转化等行为推测混合化合物的环境行为?如何根据现有的单一化合物的资料,评价混合化合物对生态系统的结构和功能的影响?等等。这些问题的回答归根到底都取决于真实环境中各单一化合物之间是否产生联合作用、如何产生联合作用的研究。

多年以来,动物实验和人类流行病学调查都已证实化合物联合毒性的存在。如

在工业生产中，化学工人及油漆工人同时接触多种有机溶剂，会导致更明显的行为改变和周围神经传导速度降低；农业生产中常使用不同的混配农药，如马拉硫磷与三邻甲酚磷酸酯等，从而使毒性增强；在日常生活中，吸烟、饮酒和药物的使用常常与同时存在的外源性化合物联合作用于人体，引起各种类型的中毒、致敏、致畸和致癌效应。由此可见，多种化合物共存对生物体将产生联合作用，采用现有的对单一化学物的卫生标准进行联合作用的评价往往不能客观反映出污染物共存时对人类危害程度。

因此，环境中混合污染物的联合作用问题引起人们愈来愈高度的重视。20 世纪 70 年代末，美国海岸警备队(U.S.Coast Guard)就曾要求美国国家科学院(U.S.National Academy of Sciences, NAS)提供能够准确预测不同工作环境中多种职业性危害因素联合作用的评价方法，但在当时条件下，美国国家科学院既不能满足海岸警备队的这一要求，又没有给予这一问题必要的重视。直到 1988 年，美国国家科学院才发现这一问题的重要性，对多种化学污染物联合毒性的评价进行探讨，并提出了一些有关实验和采样方法的建议。在同一年，美国环境保护局(EPA)在前几年研究工作的基础上，发表了作为正式评价化学污染物联合作用的技术文件。在 20 世纪 80 年代中，世界上一些国家也曾围绕环境有害因素联合作用这一专题举行过一系列不同规模的学术会议。世界卫生组织(WHO)于 1980 年召开了关于工作环境中多危害接触的联合作用的讨论会。1986 年，WHO 的一个专家委员会在日内瓦讨论了致癌物联合作用的评价问题。同一年，美国统计学会(Statistical Association)和 EPA 联合举办了预测多种化学毒物统计方法的会议。1987 年，EPA 又召开了预测混合化学物毒性作用的国际会议。1988 年，荷兰国家卫生部也主办了有关这一问题的讨论会。

总之，长期以来，多化合物对机体的联合作用越来越受到人们的重视，但它一直是个尚未完全解决的难题。这一方面是由于新化学产品产生的速率不断加快，已大大超过了现有的评价速度和处理能力。据世界展望研究所估计，现在人类已经合成的日用化学品已达 70000 种之多，而且还在以每年 500—1000 种的速度增长。已知常见的化学物至少有 12000 种，假定其中约有 2.5% 可发生两两联合作用，则配对后可有 $N(N-1)/2=180$ 万组，对如此巨大的配对数量——进行研究显然是难以实现的；另一方面是因为联合毒性的复杂性和多变性，因此在理论研究和实际工作中仍然存在着某些根本性的限制因素。可以说，对于环境化合物联合毒作用的研究，目前还是处于缓慢渐进而形势又要求急需快速发展的一种矛盾状态。随着生活和生产实践的不断发 展，进行混合化合物联合作用的研究，建立一套能有效地预测混合物联合作用的方法，将在理论和应用两方面具有越来越重要的实际价值。

1.2 混合化合物联合作用研究的方法

1.2.1 混合化合物联合作用的类型

早在 1939 年，Bliss 在“毒物联合使用时的毒性(Toxicity of poisons applied jointly)”一文中最早提到化学毒物之间存在“拮抗作用、独立作用、相加作用和协同作用”这些术语。目前也有相当多的文献采用相加(addition)、超相加(supra-addition)和亚相加(infra-addition)的分类方法。相加是指其效应为两者分别作用时的总和(1

+1=2)。超相加即加强，反映两个相加的因素中有一个是活跃的 ($0+1=3$)，或两个都是活跃的 ($1+1=3$)。亚相加即拮抗，指联合效应小于各化学物单独效应之和。

有的学者提出，按照联合作用的性质和程度可以进行再分类。加强作用可再分为单向加强、双向加强和反应加强。拮抗作用可再分为单向拮抗、双向拮抗和反应拮抗。单向是指一种无活性化学物质影响另一种活性化学物质的效应，双向则是指两种活性化学物质之间相互影响对方的效应。在相加作用中，又可再分为剂量相加和反应相加。

当前较为公认和普遍采用的方法认为，当多种有害因素危害机体时，可发生独立、相加、协同和拮抗四类作用。

1) 独立作用 (Independent effect)

各单一化学物质对机体作用的途径、方式、部位及其机理均不相同，联合作用于某机体时，在机体内的作用互不影响。但常出现在一种有毒物质的作用后使机体的抵抗力下降，而使另一种毒物再作用时毒性明显增强。如观察的毒性指标是死亡率，则联合作用的毒性是由某一化学物质作用后存活的动物再受另一种物质的毒性作用的结果。如二种毒物作用的死亡率分别为 D_1 和 D_2 ，则联合作用的死亡率为 $D = D_1 + D_2(1 - D_1)$ ，或 $D = 1 - (1 - D_1)(1 - D_2)$ 。但是混合物的毒性仍比单项物质的毒性大。因为一种毒物可降低机体对另一种毒物的抵抗力，以 LC_{50} 为毒性指标时，混合物的毒性为死亡率的相加而不是剂量的相加。

2) 相加作用 (Addition)

多种化学物质联合作用时所产生的毒性为各单一物质产生毒性的总和。这种联合作用的各化学物质的化学结构比较接近，或属于同系物，它们作用于机体的同一部位或组织的毒性作用近似，作用机理也类似，如按一定比例用一种化学物质代替另一种化学物质，其混合物的毒性不改变。如丙烯腈与乙腈、稻瘟净与乐果等，如以死亡率为指标，二种毒物毒性作用的死亡率分别为 D_1 和 D_2 ，则联合作用的死亡率为 $D = D_1 + D_2$ 。

3) 协同作用 (Synergistic effect)

多种化学物质联合作用的毒性大于各单一物质毒性的总和。如稻瘟净与马拉硫磷、臭氧与硫酸气溶胶，以死亡率为毒性指标，二种毒物毒性作用的死亡率分别为 D_1 和 D_2 ，则联合作用的死亡率为 $D > (D_1 + D_2)$ 。这又可解释为一种物质的毒性被另一种物质所增强。如有些致癌作用很弱的物质，引起动物肿瘤的潜伏期很长，甚至超过某动物的自然寿命。若这种弱致癌物质遇到一个具有协同作用的致癌物质共同作用时，便可缩短该弱致癌物质引起肿瘤的潜伏期而显示其致癌作用。

4) 拮抗作用 (Antagonistic effect)

两种或两种以上化学物质同时作用于生物体，联合作用的毒性小于单个化学物毒性的总和。如二氯甲烷与乙醇、铁和锰等，以死亡率为毒性指标，二种毒物毒性作用的死亡率分别为 D_1 和 D_2 ，则联合作用的死亡率为 $D < (D_1 + D_2)$ 。正是这种拮抗作用，使得某些严重的汞污染区，因有硒的存在而使汞对人体未能形成严重的影响，同样的道理，在某些严重的氟污染区内，没有发生生物体有严重氟中毒现象，

其原因可能是在该地区的铅、硼等元素与氟共存。

应当指出的是,分类术语通常是描述实际效应与预期效果之间的关系,而效应的性质往往与所暴露的剂量有关。在一个剂量水平上出现的某种联合作用,在另一剂量水平上不一定能见到。因此,无论是在实验中还是在流行病学调查中,必须设定和说明发生联合作用的具体条件。例如,在一种 Dorset 绵羊模型中,当血液内乙醇的浓度为 1%—5%时,可以加强亚硝酸胺和 α -萘酚等化学物质的血液毒性;当血液内乙醇的浓度为 0.1%—0.5%时,却出现拮抗作用。许多致癌物的联合作用,在低剂量时多为相加作用,在高剂量时则为加强作用。此外,在目前情况下,分类及其亚分类尚未能在危害评价和实际管理工作中得到全面的应用。尽管如此,现行的分类方法及术语等概念,对进一步研究多化学物联合作用的理论和防治工作仍然显得极为重要和必需。

1.2.2 混合化合物联合作用的研究方法

混合化合物联合作用的研究一般是通过对生态系统中多个化学污染物质之间相互作用的剂量-效应关系加以量化,并上升到理论水平,建立混合化合物联合作用的指标体系,应用理论模式/模型揭示或反映混合污染物与生态系统相互作用的机理和规律,这是一个相当复杂的问题。目前,有关的资料还非常缺乏,在此仅对一些重要的指标体系和理论模型的研究加以介绍。

1) 混合化合物联合毒性指标

联合毒性指标目前主要包括毒性单位 (TU)、加和指数 (AI)、混合毒性指数 (MTI)、半致死剂量指数 (ILD₅₀) 和相似参数 (λ) 等模式。

(1) 毒性单位 (TU)

1965 年 Sprague 和 Ramsay 通过 Cu-Zn 之间交互作用对大西洋大麻哈鱼幼体生长发育的影响进行了研究,提出了毒性单位这一概念。1975 年 Anderson 和 Webbe 对这一概念进行了修正、完善和发展。其定义式如下

$$TU_i = \frac{C_i}{IC_{50i}} \quad (0-1)$$

式中, C_i 为化合物 i 的浓度; IC_{50i} 为化合物 i 的 IC_{50} 或 LC_{50} 。

根据这一基本概念,人们进行了大量生物试验,研究结果表明,若 $TU=1$ (定义 $TU = \sum TU_i$), 那么化学污染物 i 之间呈相加作用; 若 $TU > TU_0$ (定义 $TU_0 = \frac{TU}{\max(TU_i)}$), 化学污染物 i 之间呈拮抗作用; 若 $TU < 1$, 化学污染物 i 之间呈协同作用; 若 $TU = TU_0$, 化学污染物 i 之间为独立作用; 若 $TU_0 > TU > 1$, 化学污染物 i 之间呈部分加和作用。

(2) 加和指数 (AI)

早在 1961 年, Lloyd 在定量 Cu 和 Zn 对虹鳟鱼的联合效应时就使用了这一概念。1977 年, Making 对此概念进行了系统的阐述。同年, Muska 和 Webbe 在研究 Cu-Ni 的联合效应时, 采用其浓度相加模型预测了网纹花鲤鱼 (Guppy) 的致死和亚致死反应。这一概念的基本定义如下

$$\begin{aligned} \text{若} \quad M &= 1, & AI &= M - 1 \\ M &< 1, & AI &= 1/M - 1 \\ M &> 1, & AI &= M - 1 \end{aligned} \quad (0-2)$$

式中, $M = \sum TU_i$ 。

如果实验表明, $AI = 0$, 那么 i 个化学污染物质之间呈相加作用; $AI > 0$, i 个化学污染物质之间呈拮抗作用; $AI < 0$, i 个化学污染物质之间呈协同作用。

(3) 混合毒性指数 (MTI)

1981 年, 德国学者 Könemann 首先提出“混合毒性指数”这一概念。他认为, 对于毒性相等的一些化合物的混合体系, MTI 定义为

$$MTI = \frac{\lg M_0 - \lg M}{\lg M_0} \quad (0-3)$$

式中, $M = \sum TU_i$, $M_0 = \frac{M}{\max(TU_i)}$

同时, 他提出了相应的混合毒性衡量尺度为:

① $MTI < 0$, 污染物之间呈拮抗作用。

② $MTI = 0$, 污染物之间呈独立作用。

③ $0 < MTI < 1$, 污染物之间呈部分相加作用。

④ $MTI = 1$, 污染物之间发生浓度相加作用。

⑤ $MTI > 1$, 污染物之间发生超加和作用或协同作用, 即混合体系中一个或若干个组分的毒性有加强的作用。

Hermens(1984)等应用这一概念对有机化合物的混合体系进行了较系统的研究, 结果发现, 3 个苯胺系列的混合体系 ($n=6$ 、11 和 17) 对网纹花鲤鱼的毒性效应为浓度相加模式, 其 MTI 值分别为 0.95、0.96 和 0.97; 14 个不同类型的化合物对月鳉鱼 (*Daphnia magna*) 的联合效应也是一种相加机制, 其 MTI 值为 0.95。但是他们还发现, 含有 5—50 个化学污染物的混合体系对月鳉鱼的毒性却不呈相加作用, 其 MTI 值的范围为 0.7—1.05。他们又采用了 50 个非反应性有机化合物进行混合, 结果再次发现其对网纹花鲤鱼的联合效应仍呈相加作用模式, 其 MTI 值相应为 0.9—1.1。Broderius 和 Kahl(1985)对呆子鲤科小鱼的联合效应进行了研究, 结果发现 21 个化合物之间的联合毒性呈相加作用, 其 MTI 值范围为 0.932—1.200。Wolf 等 (1988) 也报道了与上述相类似的研究结果, 他指出 25 个化合物的混合体系对月鳉鱼的毒性是一种相加模式, 其 MTI 值范围为 0.921—0.988。混合毒性指数对于“混合化合物联合毒性”的评价是一个非常有用的参数。

(4) 半致死剂量指数 (ILD₅₀)

还有一种评价“联合毒性作用”的比较可靠的方法是通过半致死剂量的预测值和实测值进行比较, 来判断生态系统中一个以上的化学污染物质的相互作用类型。其具体程序包括以下 5 个环节。

① 分别测定两种化学污染物质 A 和 B 的半致死剂量 (LD₅₀)。

② 将化学污染物质 A 和 B 按等毒性比例进行混合。例如, A 的 LD₅₀ 为 100 mg/kg, B 的 LD₅₀ 为 500mg/kg, 则混合物中 A 与 B 等毒性的重量比应为 1:5。

③ 测定 A、B 混合物的半致死剂量 LD₅₀。

④ 按下列公式求出混合物的预期 LD₅₀:

$$\frac{1}{\text{混合物预期LD}_{50}} = \frac{a}{\text{A的LD}_{50}} + \frac{b}{\text{B的LD}_{50}} + \cdots + \frac{n}{\text{N的LD}_{50}} \quad (0-4)$$

式中, $a, b, \dots, n$ 分别为化学污染物质 A, B, $\dots$, N 在混合物中所占的重量比例, $a + b + \dots + n = 1$ 。

⑤根据混合物的预期 LD_{50} 值与实测 LD_{50} 值两者的比值来判断联合作用的类型。目前, 主要有以下两种判断标准:

a. Smyth H.F.认为, 若比值 < 0.40 , 表明化学污染物之间呈拮抗作用; 若比值 = $0.40—2.7$, 为加和作用; 若比值 > 2.70 , 为协同作用。

b. Keplinger M.L.则认为, 若比值 < 0.57 , 表明化学污染物之间呈拮抗作用; 若比值为 $0.57—1.75$, 为加和作用; 若比值 > 1.75 , 为协同作用。

(5)相似参数 (λ)

1989 年, Christense 和 Chen 在分析混合化合物的联合毒性时提出了相似参数 λ , 用于表征混合体系中各单一化合物毒性贡献值的相似程度, 其公式如下:

$$\sum_{i=1}^m (\text{TU}_i)^{(1/\lambda)} = 1 \quad (0-5)$$

同时, 他指出若 $\lambda = 1$, 表明化学污染物之间呈相加作用; 若 $\lambda > 1$, 表明化学污染物之间呈协同作用; 若 $1 > \lambda > 0$, 表明化学污染物之间呈拮抗作用。

Prakash 等(1996)应用这一概念, 对含有正辛醇的二元混合有机体系进行了较为系统的研究。结果发现, 含正辛醇和环己酮的混合体系对微生物 Polybac 的毒性效应为浓度相加模式, 其 λ 值为 1.06; 含正辛醇和氯苯的混合体系的联合毒性效应为协同作用, 其 λ 值为 1.33; 含正辛醇和四氯乙烯的混合体系的联合毒性效应为拮抗作用, 其 λ 值为 0.21。

2) 混合化合物联合作用的理论模型

目前, 在环境科学和生态学研究中, 混合污染物联合作用的理论模型主要包括回归法模型、离子冲量模型、组分相乘与半效应模型、定量结构-活性相关模型、复合污染指标模型、污染程度综合指标模型、等效线图模型、耐量多边形模型等。下面重点介绍定量结构-活性相关模型, 其它理论模型请参阅有关专著。

第2节 混合有机化合物 定量结构-活性相关(M-QSAR)的研究

1.1 单一有机化合物定量结构-活性相关的研究

1.1.1 单一有机化合物定量结构-活性相关的研究意义

“定量结构-活性相关”最早是由药学家 Hansch 和 Fujita 于 1964 年提出来的, 它是指化学品的分子结构与其生物活性之间的内在定量关系。生物活性通常是指污染物对水生生物的毒性;理化性质主要是指描述有机污染物在环境中迁移、转化、分布

等性质的参数,例如,有机污染物的溶解度、正辛醇/水分配系数,以及描述有机污染物在水相/土壤或沉积物/生物相/气相间分配、酸解、水解、光解、生物降解等性质的参数。分子结构通常用结构描述符来定量表征,分子的理化性质参数如溶解度、正辛醇/水分配系数等也可用于表征化合物的分子结构特征。数学方法是获得定量结构-活性相关关系的桥梁。

QSAR 是污染防治的理论基础,是可持续发展的技术前提。在全球化学污染日益严重的今天,世界各国都面临资源与环境问题的严峻挑战,越来越多的国家已经认识到传统发展战略的局限性,开始走可持续发展的道路,其中“污染防治”是至关重要的,而生态风险评价是污染防治工作的第一步。进行有机污染物的生态风险评价,必须知道污染物的生物毒性与迁移、转化等方面的基本数据,实验室工作是获得数据的一个重要部分。然而,面对环境中大量存在的化学品,完全依靠实验完成积累数据并进行生态风险评价,显然是不可能的,而且在时间上是永远滞后的。进入 20 世纪 70 年代以来,具有强大预测功能的 QSAR 方法已被应用于环境毒理学研究中,并得到了空前的发展,为有机污染物的生态风险评价提供了一个重要的、必不可少的手段。可以说, QSAR 的理论研究具有重要的理论价值和实际意义。

1.1.2 单一有机化合物定量结构-活性相关的研究方法

有机污染物的 QSAR 研究通常包括以下 4 个环节:(1)分子结构参数的获取;(2)分子结构参数的选择;(3)模型的建立;(4)模型的解释、验证和应用。这 4 个环节缺一不可,构成了有机污染物 QSAR 研究的全过程。但在不同的研究中,其侧重点有所不同。

获取分子结构参数是 QSAR 研究的前提。有些分子结构参数主要通过实验手段获取,如正辛醇/水分配系数(K_{ow})、水溶解度(S_w)、熔点、沸点、Hammett 常数、Taft 常数、溶剂化变色参数等。通过实验手段获得的参数,其优点在于理化意义明确,但获取这些参数往往需要花费大量的人力、物力和财力;另外,一些分子结构参数也可通过模拟计算的方法得到,如分子连接性指数(MCIs)、分子表面积(MSA)、分子量(MW)、分子体积和量子化学参数等。由于计算机科学的飞速发展,参数的估算更加精确、更易获得。但另一方面,计算的结构参数往往比较复杂、难以取舍、难以掌握,甚至有些参数的理化意义不够明确。

在结构参数的获取方面通常有两种方法:一种是借助于经验,根据分子的结构特征和物理化学反应机理来选择;另一种是借助于模型,该方法是 QSAR 研究的传统方法,首先运用经验选择参数,建立模型样板,然后根据模型挑选所需的分子结构参数。一旦选取了合适的分子结构描述符,便可通过数学方法建立 QSAR 方程。通常在采用第 1 种方法积累了大量经验和案例之后,提出一个关于有机污染物 QSAR 研究的综合模型,并不断完善、发展,指导分子结构参数的选择。

QSAR 研究的第 3 个环节是构建分子结构描述符与其生物活性/理化性质之间的定量关系,即模型的建立。这种模型通常以回归方程的形式表示,有时则没有一个直观的表达式,例如,采用人工神经网络方法建立的模型就是如此。通常采用各种数理统计方法建立 QSAR 模型,这些统计方法同时也是化学计量学研究经常用到的

方法。在建立了 QSAR 模型后,用模型中未包括的化合物或采用“交叉验证”方法来检验模型。所谓“交叉验证”,就是先从模型中删除一部分化合物,然后对剩余的化合物建立模型,预测被剔除化合物的活性/理化性质,重复此操作,直到能够保证所研究的化合物都被随机删除数次,判断模型的稳健性和预测能力。只有“稳健”的模型可用来解释有机污染物的毒性机理、揭示有机污染物在环境中迁移、转化机制等,也可用来预测与被研究化合物同系列的其它化合物的生物活性和理化性质。

1.1.3 表征单一有机污染物环境行为的常用参数

1) 正辛醇/水分配系数 (K_{ow})

正辛醇/水分配系数 (K_{ow}) 是研究有机污染物环境归趋时的一个重要参数。根据平衡分配模型 (Equilibrium Partition Models), K_{ow} 是指有机化合物在正辛醇相和水相之间达到分配平衡时,该化合物在两相中的浓度比值

$$K_{ow} = \frac{C_o}{C_w} \quad (0-6)$$

式中, C_o 和 C_w 分别为分配平衡时有机物在正辛醇相和水相中的浓度。

正辛醇是一种长链脂肪醇,其结构与生物体内的碳水化合物、脂肪类似,因此,在医药学和环境科学中,它常用于模拟有机污染物在生物相与水相间的分配。 $\lg K_{ow}$ 作为一种分子亲脂性或疏水性的度量参数,可用于表征化合物分子向生物细胞内的传输、分配能力,与有机污染物的生物富集因子 (BCF)、土壤吸附常数 (K_{oc})、溶解度 (S)、生物毒性等均具有很好的相关性。

正辛醇/水分配系数 (K_{ow}) 可以通过直接测定或估算得到。估算方法有 QSPR 法、活度系数法、基团贡献法等,其中最常见的是 Hansch-Leo 碎片法(1979),其基本原理是:

$$\lg K_{ow} = \sum f + F \quad (0-7)$$

式中,碎片常数 (f) 和结构因子 (F) 可查表得到,估算方法参阅文献。

直接测定 K_{ow} 的方法有摇瓶法、反向高效液相色谱法和产生柱法等。摇瓶法测定分配系数中存在有机物在水相中易形成胶体颗粒、挥发、吸附等缺点;而反向高效液相色谱法需要大量的参考物,参考物的 K_{ow} 测定值要求准确;产生柱法在一定程度上克服了前两种方法的缺点,但是测定步骤多、到达平衡时间较长。

2) 水溶解度 (S_w)

化合物的水溶解度是指化合物在水溶液中的分散特性,通常用化合物在水中的饱和浓度表示。在影响有机污染物迁移和归宿的各种因素中,水溶解度是一个重要的因素。具有较高溶解度的物质能迅速为水循环所分散,水生生物对这些物质的吸附系数也较低,同样,有机物在水中的溶解能力也影响其降解途径,如光解、水解、生物降解等。

有机化合物水溶解度的测定方法有摇瓶法、产生柱法和反向高效液相色谱法 (dynamic couple-column high performance liquid chromatography, DCCHPLC),也可用正辛醇/水分配系数 (K_{ow}) 等理化参数、分子连接性指数等结构参数、熔点焓法和 UNIFAC 法预测化合物的水溶解度。

3) 土壤/沉积物吸附系数(K_{oc} , K_{om})

有机污染物在土壤/沉积物与水之间的分配情况可用分配系数(K_p)定量描述:

$$K_p = \frac{C_s}{C_w} \quad (0-8)$$

式中, C_s 和 C_w 分别表示有机物在土壤/沉积物和水中的达到平衡时的浓度。

众多研究者的研究表明, K_p 与土壤/沉积物中的有机质含量成正比。为了在类型各异、组分复杂的土壤/沉积物之间找到表征分配行为的常数, 引入标化分配系数 (K_{oc})

$$K_{oc} = \frac{K_p}{X_{oc}} \quad (0-9)$$

式中, X_{oc} 表示土壤/沉积物中有机碳的含量。

K_p 和 K_{oc} 对于评价化合物在土壤/沉积物中的迁移和归宿具有重要意义。化合物在土壤(沉积物)/水之间分配的程度不仅影响化合物的迁移速率, 还影响其挥发、光解、生物降解等过程。

化合物的 K_{oc} 可通过测定直接获得, 也可根据化合物的正辛醇/水分配系数(K_{ow})、水溶解度(S_w)和生物富集因子(BCF)等理化参数以及已有的 QSPR 模型来估算。

4) 生物富集因子(BCF)

生物富集是指生物从周围环境蓄积某种元素或某些物质, 使其在机体内浓度超过周围环境中浓度的现象, 它是有机污染物在环境中迁移转化的主要过程之一, 可用生物富集因子(BCF)表示:

$$BCF = \frac{C_b}{C_e} \quad (0-10)$$

式中, C_b 表示分配平衡时有机污染物在生物机体中的浓度, C_e 表示分配平衡时有机污染物在环境中的浓度。

生物富集因子的获得一般是测定平衡时有机污染物在生物体内的浓度和水相浓度, 二者之比求出 BCF; 进行生物富集和释放实验, 测定生物体内和水相浓度随时间的变化关系, 求出富集速率常数和释放速率常数, 其缺点是分析步骤繁琐、费时。

生物富集因子与以下因素有关: (1) 化学物质的可降解性、脂溶性或水溶性, 一般不易降解的、脂溶性高的物质 BCF 高; (2) 受试生物的种属、大小、性别、器官、发育阶段等; (3) 环境条件如温度、盐度、水硬度、pH、含氧量、光照等。

5) 毒性参数及实验方法

在有机污染物的生态风险评价和 QSAR 研究中, 毒性指标通常可分为亚细胞水平、细胞水平、个体水平、群落水平等不同的层次。通常个体水平和细胞水平的指标较多, 如对藻类的生长抑制毒性、致死毒性、生殖毒性, 对鱼类的急性毒性、慢性毒性, 对鸟类的致死毒性、繁殖毒性, 对蚯蚓的急性毒性, 对种子发芽和根伸长的抑制和对陆生植物的毒性等。在毒理学实验中, 由于生物个体间存在着性别、年龄、体重、健康状况等诸多差异, 需要对实验结果进行统计处理, 求出能反映毒性大小的指标参数。

在毒理学研究中, 常用的毒性指标可分为两类, 一类是计量指标, 它是用测量

值度量毒性强弱的差异；另一类是计数指标，这类指标只有“有或无”的差别，没有性质和强度的差别。计数指标主要用于群体研究，得到的测定值是非连续的，通常以一个群体中某效应出现的概率表示，常用于生态毒理和生态风险评价研究中。

以死亡率作为毒性指标进行剂量-反应关系研究，是多数毒理学研究的起点。所谓剂量-反应关系，是指某种外来化合物的剂量与出现某种效应的个体在整个群体中所占比例的关系。与此相区别的是剂量-效应关系，所谓剂量-效应关系是指某种外来化合物的剂量与在个体中引起某种效应强度（计量指标）改变的关系。

剂量-（反应）效应关系可用剂量-（反应）效应关系曲线来表示，剂量-（反应）效应曲线通常有 3 种形式（图 1）：（1）直线关系，在这种关系中，剂量改变与效应强度或反应率成正比，这种关系总体来讲是少见的（线 a）；（2）对数曲线关系，是一条先锐后钝的曲线，若将剂量取对数值，可转换成直线（线 c）；（3）S 状曲线，当群体中的全部个体对某一个化合物的敏感性变异呈对称正态频数分布时，剂量与反应率关系呈 S 状曲线（线 b）。如果将效应强度或反应率用概率单位表示，剂量用对数表示，S 型曲线也可变成直线。这些基本关系是计算毒性统计值的基础。

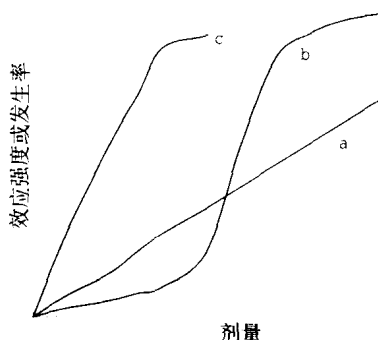


图 0-1 剂量-反应曲线的 3 种类型

在环境生态毒理学中，用半数有效量表示毒物的毒性大小。半数有效量是指实验生物有 50% 出现阳性结果时所需毒物的剂量。如果以实验生物的死亡率表示，该指标相应为半数致死量（ LD_{50} ）。若用空气或水体中有机污染物的浓度表示剂量，毒性指标相应则为半数致死浓度（ LC_{50} ）。之所以用半数有效量表示毒性的大小，是因为在 50% 反应发生率或效应强度附近，剂量的变化引起反应发生率或效应强度的变动比较骤急，曲线呈陡直形式，因而这种毒性指标比较灵敏。

毒性数据一般可根据概率单位法、寇氏法、Trimmed Spearman-Kärber 法、图解法和极大似然估计法等得到。具体方法可参阅有关文献。

1.1.4 单一有机化合物 QSAR 中常用的分子结构描述符

在有机污染物的 QSAR 研究中，分子结构描述符（结构参数）的获取是首要的工作。常用的分子结构描述符有 Hammett 的电性参数（ s ）、Taft 立体效应参数（ E_s ）、溶剂化变色参数、量子化学参数、分子连接性指数、分子表面积、分子体积等。此外，正辛醇/水分配系数这个反映分配性质的理化参数亦常作为结构描述符应用于 QSAR 研究中。这里重点介绍溶剂化变色参数，其余参数详见有关文献。

溶剂化变色参数包括 p^* 、 a_m 和 β_m ，是 Kamlet 等人采用溶剂化变色比较法 (Solvatochromic Comparison Method) 得到的溶剂化变色参数，用于表征溶液中溶质分子与溶剂分子的相互作用。它们最初是根据溶剂对某一化合物的紫外/可见光谱最大吸收波长的溶剂效应而导出的。

p^* 是化合物的偶极性-极化性大小的量度，规定环己烷的 $p^* = 0$ 、二甲亚砜的 $p^* = 1$ ； a_m 是化合物在溶质-溶剂相互作用中提供质子 (HBD) 能力的量度，反映一个化合物与其它化合物形成氢键时提供质子或接受电子对的能力； β_m 是化合物在溶质-溶剂相互作用中时接受质子 (HBA) 能力的量度，反映一个化合物与其它化合物形成氢键时接受质子或提供电子对的能力。如果一个化合物与另一个化合物形成氢键时既可以提供质子又可以接受质子，则称该化合物为两性氢键化合物 (Amphihydrogen Bonding Compounds)，这样的化合物常以自缔合形式存在。下标 m 的意义是：对于两性氢键化合物， a_m 和 β_m 的取值相应于两性氢键化合物作为非缔合体的单体溶质。Kamlet 等人规定甲醇的 a 为 1、六甲基磷酰胺 $[(CH_3)_2N]_3PO_4$ 的 $\beta = 1$ 。

溶剂化变色参数主要由紫外/可见光谱、红外光谱、核磁共振谱、高效液相色谱等实验手段测得，对一些简单的化合物虽能估算，但对于结构复杂的化合物，其溶剂化变色参数难以获得。由于量子化学参数具有容易获得、精确、物理意义明确等优点，因而 Wilson 等人应用量子化学参数成功地预测溶剂化变色参数，这些参数在线性溶解能相关模型 (LSER) 和理论线性溶解能相关模型 (TLSE) 中得到了极为广泛的应用。

1.1.5 单一有机化合物 QSAR 模型回顾

在 QSAR 研究中，最基本的模型是线性自由能相关模型 (LFER) 以及由此衍生出的 Hansch 模型，常用的线性溶剂化能相关模型 (LSER) 和理论线性溶解能相关模型 (TLSE) 也是线性自由能相关模型的一种表现方式。另一个经常得到应用的模型是 Free-Wilson 模型。

1) Hansch 模型

Hansch 模型的基础是 Hammett 发展的线性自由能关系，该关系是从两个反应系列的标准反应自由能或活化自由能之间总结出来的经验规律，这两个反应系列必须满足在反应结构或反应条件上具有相同的差异。两个系列 A 和 B 最基本的线性自由能关系以下式表示：

$$\lg K_i^B = m \lg K_i^A + C \quad (0-11)$$

式中， K 为平衡常数或速率常数； m 为系数； C 为常数。

Hansch 等认为取代基引起化合物分子物理性质的变化主要有三种，即电性、立体性和疏水性，因此假设：取代基对分子生物活性的影响是由上述某些或全部物理性质的变化引起的，并且取代基对生物效应 (以 $1/C$ 表示) 的电性效应、立体效应及疏水效应是彼此独立并可加的。在此基础之上，Hansch 等提出如下方程：

$$\lg \frac{1}{C} = k_1 (\lg K_{ow}) + k_2 s + k_3 E_s + k_4 \quad (0-12)$$