

用QSAR法研究有机磷农药对海洋扁藻的构效关系*

邹立 李永祺

(青岛海洋大学海洋生命学院 青岛 266003)

摘要 1997年3月,利用QSAR构效关系分析方法和计算模拟手段,对中国沿海地区常用的11种有机磷农药对海洋亚心形扁藻的半数抑制浓度进行研究。建立有机磷农药对海洋扁藻致毒效应的QSAR模型: $\lg(1/EC_{50}) = 0.193 \lg P - 0.08(\lg P)^2 + 1.10\sigma_3 + 0.292 {}^1X - 0.164(n = 11, S = 20, R = 0.9606)$; $\lg(1/EC_{50}) = 0.191 \lg P - 0.09(\lg P)^2 + 1.09\sigma_3 + 0.291 {}^1X - 0.144(n = 11, S = 30, R = 0.9606)$ 。模型分析表明,有机磷农药的毒性大小主要受亲脂性、电子密度和立体结构的影响,也是多个因素综合作用的结果。一般说来,有机磷农药亲脂性越强,电子密度越大,立体结构越复杂,对扁藻的致毒效应越大。所建模型不仅相关性较高,而且依此模型估算的 EC_{50} 预测值与实验值基本相符。说明QSAR分析可以引入到海洋环境毒理领域,作为评价和预测某些有机污染物对海洋生物伤害性的有效方法之一。研究还发现,模型的系数和常数除与物种有关外,是与环境因子-盐度等有关的函数,可以由阐述定量结构-活性相关性扩展到阐述定量环境-结构-活性相关性。

关键词 QSAR 有机磷农药 扁藻 结构 半数抑制浓度

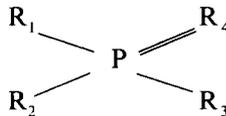
学科分类号 X171

有机磷农药是沿海地区的主要污染物之一,有关其对海洋微藻的致毒研究相对较少,尚未见到其在海洋环境中构效关系研究的报道。有机磷农药种类繁多,且海洋作用机制复杂多变,对有机磷农药的致毒效应进行一一测试,既耗费大量人力和物力,客观上又是不可能的。为此将QSAR(Quantitative Structure-Activity Relationship)方法(Blum *et al*, 1990; Hermans, 1995; hipnick, 1985, 1993)应用到有机磷农药与海洋微藻的构效关系研究中,寻找其与生物活性间的定量结构-活性相关关系,定量评价和预测其对亚心形扁藻的伤害性,从构效关系上阐述有机磷农药对亚心形扁藻的致毒机理。

1 有机磷农药和生物活性

1.1 有机磷农药

选用我国沿海地区经常使用的11种有机磷农药。有机磷农药的基本结构为



* 国家攀登计划B资助项目, PDB-6-7-1号。邹立,女,出生于1969年10月,博士研究生, E-mail:zhangj@lib.oqu.edu.cn

收稿日期: 1997-06-18, 收修改稿日期: 1998-09-10

R_1 、 R_2 、 R_3 分别为脂肪族、芳香族及其衍生物等取代基, R_4 为氧或硫(农业部农药检定所, 1991)。选用3种与生物活性相关的物化参数: 有机磷农药在正辛醇-水中分配系数的对数($\lg P$)、取代基常数(σ)和一阶分子连接性指数(1X)分别表征分布效应、电子效应和立体效应。(表1)。

表1 11种有机磷农药的物化参数

Tab.1 The physical and chemical constants of the 11 organic phosphorus pesticides

农药	$\lg p$	$(\lg p)^2$	σ_1	σ_2	σ_3	σ_m	σ_1	1X
久效磷	-3.22	10.37	0.66	0.66	0.89	0.320	2.21	3.775
敌敌畏	-0.38	0.14	0.66	0.66	0.973	0.424	2.293	3.275
速丙磷	1.75	3.06	0.645	0.408	0.49	0.129	1.543	5.337
丙溴磷	3.32	11.02	0.645	0.408	0.75	0.198	1.803	6.758
氧乐果	-3.20	10.24	0.66	0.66	1.02	0.444	2.34	3.143
甲胺磷	1.03	1.06	0.66	0.40	0.42	0.111	1.48	1.622
水胺硫磷	2.16	4.67	0.66	0.40	0.566	0.149	1.626	5.294
甲基异柳磷	2.83	8.01	0.66	0.27	0.715	0.127	1.645	6.703
甲基对硫磷	3.11	9.67	0.66	0.66	1.268	0.552	2.588	4.161
对硫磷	3.81	14.52	0.645	0.645	1.268	0.528	2.558	5.336
辛硫磷	0.42	0.18	0.645	0.645	2.17	0.903	3.46	5.762

注: 有机磷农药在正辛醇-水中的分配系数的对数($\lg P$)的计算采用 Leo 碎片常数法(莱曼, 1991)。

$$\lg P = \sum a f \quad (1)$$

f 为分子中各种基团的疏水碎片常数; a 为基团(碎片)出现的次数。

有机磷农药取代基常数(σ)的计算(莱曼, 1991): 设与 R_1 、 R_2 和 R_3 对应的取代基常数分别为 σ_1 、 σ_2 和 σ_3 , 并设 $\sigma_i \sum \sigma_i = \sigma_1 + \sigma_2 + \sigma_3$, $\sigma_m = \prod \sigma_i = \sigma_1 \times \sigma_2 \times \sigma_3$, 均为表征电子效应的物化参数。

有机磷农药一阶分子连接性指数(1X)(王连生等, 1992):

$${}^1X = \sum (\delta_i \delta_j)^{-1/2} \quad (2)$$

δ_i 、 δ_j 为相邻原子 i 和 j 的简单连接性值。

1.2 生物活性

11种有机磷农药对亚心形扁藻 *Platymonas* 的生物活性见邹立(1997)¹⁾。

2 构效关系的建立

拟合分析是在 $S = 20$ 和 $S = 30$ 条件下分别进行的, 对严重影响相关系数的实验数据经分析后舍弃。

2.1 分布效应参数与 EC_{50} 的 QSAR 分析

化合物在正辛醇-水中分配系数的对数与各种生物活性, 如药效、毒性、生物浓缩等有明显相关性, 与不同类型化合物在各种体系中的吸收、分配和排泄有密切关系。

$\lg P$ 与生物活性(EC_{50})的一元线性 QSAR 分析:

1) 邹立, 1997. QSARs在有机磷农药结构与其对海洋微藻致毒效应相关分析中的应用. 青岛海洋大学硕士研究生毕业论文

$$\lg P(1 / EC_{50}) = 0.2871 \lg P + 1.36 \quad (n = 10, S = 20, r = 0.9527) \quad (3)$$

$$\lg P(1 / EC_{50}) = 0.2841 \lg P + 1.30 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.9443) \quad (4)$$

$\lg P$ 与 EC_{50} 的一元非线性 QSAR 分析:

$$\lg(1 / EC_{50}) = 0.2851 \lg P + 0.008 (\lg P)^2 + 1.30 \quad (n = 10, S = 20, r = 0.9541) \quad (5)$$

$$\lg(1 / EC_{50}) = 0.2921 \lg P + 0.002 (\lg P)^2 + 1.34 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.9505) \quad (6)$$

非线性分析模式的相关系数较高,证明作为衡量有机磷农药结构性质的分配系数与有机磷农药对亚心形扁藻的生物活性是密切相关的。辛硫磷由于较高的电子效应,不在此回归分析之内。 $\lg P$ 与 EC_{50} 的非线性分析所得模式的相关系数要高于线性分析,说明增加 $(\lg P)^2$ 后,分析结果更为精确。

2.2 电子效应参数与 EC_{50} 的 QSAR 分析

综合三个取代基团 R_1 , R_2 和 R_3 的取代基常数,将参数 $\sigma_i = \sum \sigma_i$ 与 EC_{50} 进行一元线性回归

$$\lg(1 / EC_{50}) = 0.825 \sigma_i + 0.300 \quad (n = 10, S = 20, r = 0.5084) \quad (7)$$

$$\lg(1 / EC_{50}) = 0.824 \sigma_i + 0.245 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.5103) \quad (8)$$

将参数 $\sigma_m = \prod \sigma_i$ 与 EC_{50} 进行一元线性回归

$$\lg(1 / EC_{50}) = 2.13 \sigma_m + 1.32 \quad (n = 10, S = 20, r = 0.5400) \quad (9)$$

$$\lg(1 / EC_{50}) = 2.14 \sigma_m + 1.26 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.5458) \quad (10)$$

以 σ_m 和 σ_i 与 EC_{50} 相关分析所得模式的相关系数都不是很高,从结构上推测 R_3 基团的不同是产生有机磷农药毒性差别的主要原因之一,如久效磷和敌敌畏、速丙磷和丙溴磷、乙基对硫磷和辛硫磷,结构的差别都只在 R_3 基团上,所以单独进行 σ_3 与 EC_{50} 的 QSAR 分析

$$\lg(1 / EC_{50}) = 1.26 \sigma_3 + 0.85 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.6411) \quad (11)$$

$$\lg(1 / EC_{50}) = 1.24 \sigma_3 + 0.81 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.6372) \quad (12)$$

所得模式的相关系数高于式 (7) — (10) 的相关系数,与推测相符。分析原因有二:一是作为 11 种有机磷农药结构主要区别于 R_3 基团,该基团是致毒效应的主要功能团,在构效关系中起着比预期大得多的作用;二是以 σ_3 与 σ_1 和 σ_2 相加或相乘为参数在一定程度上掩盖了 R_3 基团的作用,如果增加 σ_3 在 σ_m 和 σ_i 中的权数,可能会得到更满意的结果。这一工作有待进一步研究。氧乐果的电子参数较高,但毒性较弱,不在回归分析之内,推测可能由于不具有苯环这一官能团所致。

2.3 立体效应参数与 EC_{50} 的 QSAR 分析

一阶分子连接性指数 1X 包含有分子长度、分枝、环和杂原子类型及数目等结构特征信息,这是一个拓扑指数,完全依赖于化合物本身组成的一个指数。

一阶分子连接性指数 (1X) 与 EC_{50} 的 QSAR 分析方程为:

$$\lg(1 / EC_{50}) = 0.36^1X + 0.05 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.7547) \quad (13)$$

$$\lg(1 / EC_{50}) = 0.35^1X + 0.05 \quad (n = 10, S = 30, r = 0.7320) \quad (14)$$

从式 (13) 和 (14) 分析得,有机磷农药一阶分子连接性指数 1X 与有机磷农药对扁藻的致毒效应呈正相关,即组成、结构相似的有机磷农药,分子长度越长,分枝越多,环和杂原子类型及数目越为复杂,一阶分子连接性指数越大,其生物活性越大,毒性越强。辛硫磷

由于其较大的电子效应导致极高的毒性,不在此回归分析之内。

2.4 三种物化参数分别与 EC_{50} 的 QSAR 分析

由上述三种物化参数分别对 EC_{50} 进行相关分析的结果说明,三种表征结构特性的参数在有机磷农药的生物效应中贡献程度不同,其中正辛醇-水中分配系数的对数作为最经典的一个衡量参数,在回归分析中呈现较高的相关性,一阶分子连接性指数次之,取代基常数最差。

三种有机磷农药结构参数在分别与半抑制浓度的 QSAR 相关分析中,均有一种结构参数出现较大差异,因影响回归结果而被舍弃: $\lg P-EC_{50}$ 的 QSAR 分析和 $^1X-EC_{50}$ 的 QSAR 分析为辛硫磷, $\sigma-EC_{50}$ 的 QSAR 分析为氧乐果。推测:由于影响活性的因素较多,有机磷农药的生物活性不能完全由单一结构参数表征的单一结构性质决定;同时说明使用单一结构参数建立的 QSAR 模型存在一定缺陷。

2.5 三种物化参数共同与 EC_{50} 的 QSAR 分析

将三种结构参数 $\lg P$, σ_3 和 1X 共同拟合

$$\lg(1/EC_{50}) = 0.193\lg P - 0.08(\lg P)^2 + 1.10\sigma_3 + 0.292^1X - 0.164$$

$$(n = 11, S = 30, R = 0.9606) \quad (15)$$

$$\lg(1/EC_{50}) = 0.191\lg P - 0.09(\lg P)^2 + 1.09\sigma_3 + 0.291^1X - 0.144$$

$$(n = 11, S = 30, R = 0.9606) \quad (16)$$

所建方程具有较好的相关性,且复相关指数均比单一参数与 EC_{50} 相关分析的相关指数更接近于 1,说明有机磷农药的生物活性是由多个结构特征共同决定的结果,而不是任何单一结构特性决定的。

有机磷农药对扁藻的 $\lg(1/EC_{50})$ 实验值和依式(15)和式(16)计算的预测值列于表 2,可见预测值与实验值基本相符。方程较成功地反映出有机磷农药对海洋亚心形扁藻毒性效构的相关关系,可以作为简易的模型对已知和未知的有机磷农药的活性进行预测和评价。

表2 11种有机磷农药对扁藻 $\lg(1/EC_{50})$ 的实验值与预测值

Tab.2 The experimental and calculate $\lg(1/EC_{50})$ of 11 organic phosphorus pesticides to the *Platymonas*

有机磷 农药	S=20		S=30		有机磷 农药	S=20		S=30	
	实验值	预测值	实验值	预测值		实验值	预测值	实验值	预测值
久效磷	0.47	0.45	0.38	0.37	水胺硫磷	2.03	2.04	1.98	2.00
敌敌畏	1.02	1.78	1.10	1.78	甲基异柳磷	2.34	2.47	2.09	2.40
速丙磷	2.30	2.02	2.38	2.00	甲基对硫磷	2.20	2.26	2.03	2.16
丙溴磷	2.38	2.38	2.34	2.27	对硫磷	2.28	2.34	2.24	2.20
氧乐果	0.54	0.42	0.44	0.34	辛硫磷	4.24	3.98	4.20	3.95
甲胺磷	1.23	0.88	1.18	0.89					

2.6 QSAR 模型系数意义

将不同盐度下两个模式(15)和(16)的系数进行回归分析

$$\beta_{30} = 0.987\beta_{20} - 0.003 \quad (r = 0.9998) \quad (17)$$

β_{30} 为式(15)的系数和常数项; β_{20} 为式(16)的系数和常数项。所得相关性非常好。由

于本实验在只有盐度一个环境变化因子,其他因子在一定的条件下完成,可以推测,导致两个模式系数差异的原因是盐度的改变,即盐度是影响模型系数的条件因子之一。从而可以进一步推测模式的系数和常数,除与物种有关外,还是与环境因子有关的函数。

3 结语

3.1 有机磷农药分子 $\lg P$ 越大,极性越小,亲脂性越强,越易溶于正辛醇而不易溶于水,从而越容易侵害细胞的膜质结构,对整个细胞的毒性效应越强,说明该种有机磷农药毒性越强。

3.2 取代基常数表征电子效应和有机磷农药在水环境中的平衡密切相关,该常数与 EC_{50} 的 QSAR 分析反映电子密度分布对有机磷农药毒性的影响。从式(11)和式(12)得知,取代基常数与有机磷农药对扁藻的致毒效应呈正相关,即电子密度较大的有机磷农药毒性大。

3.3 在 11 种有机磷农药毒性强弱的比较中发现,毒性强度位于前 7 位的都有苯环结构,而且苯环与其取代基团形成的离域 π 键越大越稳固,其毒性越强。如辛硫磷的苯环上有 $-CN$ 基,是强吸电子基团,使辛硫磷的苯环结构较其他有机磷农药最为稳定,其毒性最强;丙溴磷苯环上的 $-Cl$ 和 $-Br$ 取代基也是吸电子基团,起到稳定苯环的作用,所以丙溴磷的毒性位于前茅,但弱于辛硫磷;水胺硫磷苯环上的取代基为 $-COOCH(CH_3)_2$, 是供电子基团,使苯环结构活跃,故水胺硫磷的毒性排在第 7 位。

3.4 辛硫磷毒性远强于其他 10 种农药,其 EC_{50} 与其他 10 种农药相差两个甚至四个数量级(表 2)。如何解释辛硫磷的特异性致毒作用呢? 首先辛硫磷有电子密度较高的苯环结构,苯环上的 $-CN$ 基是强吸电子基团, σ 值较正,使苯环的电子密度大大增强,更加趋于稳定;其次氰化物在类脂中的溶解度较大,容易伤害细胞的脂膜结构;再次氰基是非常强的亲核基团,容易进攻碳原子,与碳原子结合发生亲核反应,改变膜及其他细胞器的结构与功能;此外,辛硫磷水解后产生剧毒的单氰化物,与细胞内的氧化酶(如细胞色素氧化酶)结合,阻碍氧化还原反应的正常进行。

3.5 三种结构参数中,分布效应,即有机磷农药的 $\lg P$ 越大,亲脂性越强,疏水性越强,致毒作用越大;电子效应,即电子密度的影响,相同的组成,电子密度越大,表现出的致毒作用越强;立体结构效应,在组成、结构相似的前提下,分子越长,分枝越多,类型越为复杂的有机磷农药的致毒作用越强。总之,有机磷农药的毒性大小主要受亲脂性、电子密度和立体结构的影响,是多个因素综合作用的结果。一般说来,有机磷农药亲脂性越强,电子密度越大,立体结构越复杂,对扁藻的致毒效应越大。

3.6 由式(17)分析推知, QSARs 不仅可以用于传统的定量结构-活性相关分析,还可以扩展到集环境因素于其中的定量环境-结构-活性相关分析,在环境毒理领域,尤其在复杂多变的海洋环境毒理领域具有更为广泛的应用前景;条件所限,本实验仅使用 11 种有机磷农药,1 种海洋微藻和盐度这一环境因子,更为深入细致的工作还需要进一步探索和研究。

参 考 文 献

- 王连生,支正良,1992. 分子连接性与分子结构-活性. 北京:中国环境科学出版社,12-23
农业部农药检定所主编,1991. 新编农药手册. 北京:农业出版社,8-89
莱曼 W J 著,1982. 许志宏等译,1991. 化学性质估算方法手册:有机化合物的环境性质. 北京:科学出版社,

32—457

Blum D J W, Speece R E, 1990. Determining chemical toxicity to aquatic species (the use of QSARs and surrogate organisms). *Environ Sci Technol*, 24(3):284—293

Hermens J, 1995. Prediction of environmental toxicity based on structure-activity relationships mechanistic information. *Science of the Total Environment*, 171(1—3):235—242

Lipnick R L, 1985. Research Needs in Developing Structure Activity Relationships. In: Bahner R C, Hansen D J ed. *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Eighth Symposium*. Philadelphia: ASTM Special Technical Publication, 78—82

Lipnick R L, 1993. Baseline Toxicity QSAR Models: A Means to Assess Mechanism of Toxicity for Aquatic Organisms and Mammals. In: Bahner R C, Hansen D J ed. *Aquatic Toxicology and Hazard Assessment: Eighth Symposium*. Philadelphia: ASTM Special Technical Publication, 610—619

APPLICATIONS OF QSAR TO THE STRUCTURES AND TOXICITIES OF 11 ORGANIC PHOSPHORUS PESTICIDES FOR MARINE *PLATYMONAS*

ZOU Li, LI Yong-qi

(College of Marine Life Science, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

Abstract Interrelationships between the structures of 11 organic phosphorus pesticides which are often used in the coastal area of China, and the half effective concentrations of marine *Platymonas*, were studied by the methods of QSAR and computer analysis in October, 1996. The result can be summarised by $\lg(1/EC_{50}) = 0.193\lg P - 0.08(\lg P)^2 + 1.10\sigma_3 + 0.292^1X - 0.164$ ($n = 11, S = 20, R = 0.9606$), and $\lg(1/EC_{50}) = 0.191\lg P - 0.09(\lg P)^2 + 1.09\sigma_3 + 0.291^1X - 0.144$ ($n = 11, S = 30, R = 0.9606$), where S is salt content and R is coefficient. An analysis on the basis of the model shows that the toxicities of organic phosphorus pesticides are controlled by the close ability to ester, electron density and space structure, they are also affected by other factors. A large partition coefficient ($\lg P$), is associated with strong off-water abilities, a large substituent constant (σ) expressing the electronic effect and a complicated molecular connectivity (1X); these have a serious poisonous effect.

The QSAR analysis can be applied to the marine environment toxicity field, and be used as an effective method for the assessment and forecasting of the hazard abilities of some contaminate organic compounds for marine cultures. The coefficients and constants from the models are associated with environmental factors, such as the salt content and algae species; therefore, the QSAR method can be used not only for the analysis of quantitative structure-activity relationship, but also for the analysis of quantitative environmental-structure-activity relationship (QESAR).

Key words QSAR Organic phosphorus pesticide *Platymonas* Structure Half effective concentration

Subject classification number X171