

三种氨基甲酸酯类农药化合物对 DNA 的潜在损伤作用

孙 英¹, 张立金¹, 闵顺耕¹, 李国学²

(1. 中国农业大学理学院, 北京 100094; 2. 中国农业大学资源环境学院, 北京 100094)

摘 要:应用紫外光谱法研究了 3 种氨基甲酸酯类农药对 DNA 的损伤作用。结果显示,这 3 种氨基甲酸酯类农药能够引起 ct DNA 的紫外吸收光谱发生发射波长以及吸收强度的变化,从而说明 3 种氨基甲酸酯类农药能够与 ct DNA 进行作用。即意味着 3 种氨基甲酸酯类农药进入生物有机体后有可能通过形成 DNA 加合物的形式而进一步导致基因突变,最终对生物体的 DNA 产生化学损伤。

关键词:氨基甲酸酯;紫外光谱;DNA 加合物

中图分类号:S481.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1672 – 2043(2004)03 – 0464 – 03

The Potential Trauma of Three Kinds of Carbamate Pesticides to DNA

SUN Ying¹, ZHANG Li-jin¹, MIN Shun-geng¹, LI Guo-xue²

(1. College of Science, China Agricultural University, Beijing 100094, China; 2. College of Resource and Environment, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

Abstract: DNA is the main germplasm of most organisms. The characters of organisms are just the expression of it. And it also takes charge of the passing of biologic information to assure the stability of the biologic races. So it will be of importance to keep DNA to be steady, which can maintain some continuity among races. However, some chemical compounds or their metabolic products in the environment, being electrophilic, inclined to bind to the lone – pair electrons of the bases of DNA to produce DNA adducts. And it is well known that DNA adducts is the prelude of gene mutation, which means that DNA adducts can result in the changes of the information of DNA if the repairing of the organism can not resume the changes. So DNA adducts can be used to forecast the biologic safeties of the chemical compounds used. Some experiments have shown that the chemical compounds can react with DNA outside, and if that can happen in the bodies of the organism itself, it can predigest the tests to save a lot of times, manpower and material resources. Pesticides usually used to control the pest for a good harvest may lead to some leftovers, which may be transferred to the organism by the means of ecosystem. So the leftovers may have the chance of binding to the DNA to form the DNA adducts, which will be dangerous to the animals and human being. The biologic activities of three kinds of pesticides, diethofencarb, carbaryl and carbofuran were tested. They all assumed white colors, had different solubilities with $26.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, $40 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ and $700 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and according to their activities, they belonged to bactericide, pesticide and pesticide, respectively. Using UV spectrum, the effects of the three kinds of carbamate pesticides on DNA was studied. The carbamate pesticides changed the positions and intensions of absorbing peaks, which implied that they could bind to ct DNA to produce DNA adducts. The carbamate pesticides might result in the gene mutation and bring the chemical trauma to the DNA of the organisms through producing DNA adducts.

Keywords: carbamate; UV; DNA adducts

收稿日期: 2003 – 10 – 31

基金项目:北京市重大自然科学基金项目(No. 8000001)

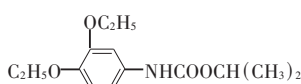
作者简介:孙 英(1967—),女,副教授,主要从事环境分析化学与生态毒理研究。

联 系 人:李国学, E – mail: ligx@ cau. edu. cn

一些性质比较稳定的农药由于难以降解可能通过生态系统的流动进入动植物体内而引起严重的农药残留问题;另外,一些农药虽然并非十分稳定,但对高等动物可能具有异常的生理效应。当这些农药残留物进入生物体内而富集到一定程度时就会产生生物毒性^[1]。为了监测生物体内环境污染物(或其代谢物)的生物毒性,可以利用污染物与其作用靶标而形成的生物标志物来评价环境化学物质的生物毒性。这种方法在国际上日益受到广泛的重视,也是当前的一个研究热点^[2]。

其中 DNA 加合物因为能够反映化学致癌物与 DNA 的作用而可以用作生物标志物来评价和预测化学物的潜在致癌性。开展以离体 DNA 为作用靶标的 DNA 加合物的研究具有很大优势:一方面这种方法具有操作简便、耗费低、周期短的特点;另一方面,因为所有的靶标酶和受体蛋白质都是从 DNA 经转录、翻译等过程产生的,所以 DNA 应该是最基本的作用靶标^[3]。而且事实证明在体内与 DNA 发生作用的药物都能在一定程度上在体外与 DNA 发生作用^[4]。

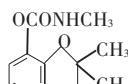
邵华等通过紫外光谱法对混配农药与 DNA 加合作用进行了研究,试验结果证明所研究的农药对小牛胸腺 DNA 的吸收光谱存在影响,从而证明这些农药化合物有可能具有诱变作用^[5]。本文通过 3 种氨基甲酸酯类农药化合物分别与离体的 ct DNA 进行作用,观察它们之间的作用。3 种氨基甲酸酯类农药分别为乙霉威、甲萘威以及克百威,其分子结构分别如下:



乙霉威



甲萘威



克百威

1 试验部分

1.1 仪器与试剂

普析通用仪器公司 Tu-1901 紫外分光光度计, 雷磁 PHS-3 型酸度计。

小牛胸腺 DNA (calf thymus DNA, ct DNA) 购自百泰生物科技有限责任公司, 配成溶液的浓度为 $250 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 其纯度 $A_{260}/A_{280} = 1.99$, 浓度用 260 nm 处的吸光度进行确定 ($\varepsilon = 6600 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), 配好后保存于 4°C 的冰箱中备用; 乙霉威、甲萘威与克百威 (均由中国农业大学农业部农产品质检中心提供, 纯度大于 95%) 溶液的浓度分别配为 20、10 与 5

$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 缓冲溶液由 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Tris 以及 $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 EDTA 组成, 并加入一定量的盐酸以调节溶液的 $\text{pH} = 7.00$; 其他所用的试剂都为分析纯, 实验用水都为二次蒸馏水。

1.2 实验方法

向数只 10 mL 的比色管中各加入一定体积的 mL Tris-EDTA 缓冲溶液以及 ct DNA 溶液, 然后分 3 组, 每组再分别依次加入不同体积的乙霉威溶液, 甲萘威溶液以及克百威溶液, 最后用水定容至刻度线, 测定其紫外吸收值。

2 结果与讨论

一般而言, 化合物与 DNA 如果存在相互作用就必然会在吸收光谱中有所反映。因为具有双螺旋结构的 DNA 分子中由于含有芳香性碱基与磷酸生色团而在 260 nm 左右存在一强烈的吸收, 而 DNA 的碱基是许多药物与 DNA 作用的作用位点, 所以如果药物与 DNA 结合后应该会造成上述特征吸收峰的变化^[6]。3 种农药对 ctDNA 的紫外光谱的影响见图 1~图 3。

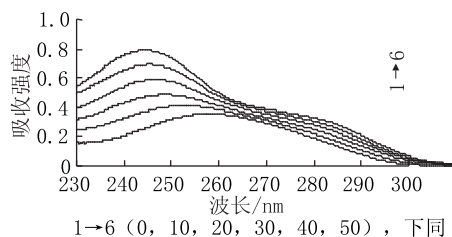


图 1 乙霉威对 ct DNA 紫外光谱的影响

Figure 1 The effect of diethofencarb on the UV spectrum of ct DNA

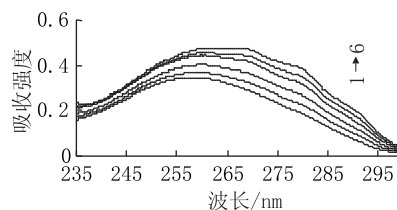


图 2 甲萘威对 ct DNA 紫外光谱的影响

Figure 2 The effect of carbaryl on the UV spectrum of ct DNA

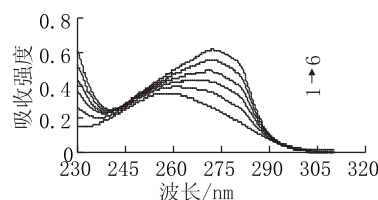


图 3 克百威对 ct DNA 紫外光谱的影响

Figure 3 The effect of carbofuran on the UV spectrum of ct DNA

从上述 3 个光谱图中可以发现,随着药物的逐渐增多,ct DNA 的紫外吸收都出现了增色效应。这种增色效应是由于嵌入剂与核酸相互作用时可嵌入核酸双螺旋结构中,因为嵌入剂可在 2 个碱基对之间滑动,从而降低核酸分子的链环数。而链环数的多少又关系到核酸的超螺旋程度,使得超螺旋的紧密结构变成较为松弛的状态。天然的双螺旋 ct DNA 由于碱基的堆积效应而光吸收率较低;变性成单链后,光吸收率增加^[7]。

随着乙霉威浓度的增加,ct DNA 在 260 nm 的峰发生紫移,这种现象文献中也有记载^[8]。而后两者随着药物浓度的增加,它们的吸收光谱都出现了红移现象。根据 E. C. Long 理论,红移现象应该是物质与 ct DNA 发生嵌插作用的标志,也就是氨基甲酸酯类农药分子可能嵌插进 ct DNA 的碱基对之中,加合到 ct DNA 的亲核位点,引起具有紫外吸收官能团的改变^[9]。

3 结论

应用水溶液中离体 ct DNA 的试管试验,可以认定 3 种氨基甲酸酯类农药分子均可通过嵌插入 ct DNA 的螺旋双链而作用于 ct DNA 的加合位点,从而预示着 3 种氨基甲酸酯类农药有可能对于 ct DNA 产生诱变作用^[10,11]。但是只有当加合物在复制和转录过程中得以表达时才会导致细胞恶性转化。因此 DNA 加合物的形成并不一定导致突变,突变并不一定导致癌变^[12]。而且也应该考虑到这个离体实验与生物活体实验还可能存在一定的差距,因此对于 DNA 加

合物在生物体内的表达过程还有待于进行研究。

参考文献:

- [1] 张宗炳. 杀虫药剂的分子毒理学[M]. 北京:农业出版社,1987. 1.
- [2] 刘淑芬,金祖亮. 生物检测标志物和分析方法[J]. 环境化学, 1997,16(2): 163 - 166.
- [3] 陈业高,张 燕. 以 DNA 为作用靶追踪分离天然植物药活性成分[J]. 中国现代应用药学杂志,2002,19(1):1 - 3.
- [4] 叶 勇,胡继明,曾云鹏. 抗癌金属络合物与脱氧核糖核酸作用的谱学研究比较[J]. 分析化学, 2000,28(7):798 - 804.
- [5] 邵 华,师以康. 紫外光谱法测定混配农药的 DNA 加合作用[J]. 中国公共卫生,2003, 19(1):81 - 82.
- [6] 叶 勇,胡继明,尹新强. D - 氨基葡萄糖甘氨酸混配金属配合物与 DNA 作用的光谱研究[J]. 分析测试学报,2000,19(1):38 - 41.
- [7] 陈 勇,李元宗,常文保,等. 核酸分子嵌入剂[J]. 分析科学学报, 1994,10(1):67 - 74.
- [8] 卢继新,张贵珠,王月梅. 金属离子存在下 5 - 氟尿嘧啶与脱氧核糖核酸、血清白蛋白的相互作用[J]. 分析化学,2001,29(2): 192 - 194.
- [9] Kumar C V, Emma H. Asuncion. DNA Binding Studies and Site Selective Fluorescence Sensitization of an Anthryl Probe [J]. *J Am Chem Soc*, 1993, 115:8547 - 8553.
- [10] Loechler E L. The Role of Adducts Site - specific Mutagenesis In Understanding How Carcinogen - DNA Adducts Cause Mutations; Perspective, Prospects and Problems[J]. *Carcinogenesis*, 1996, 17:895 - 902.
- [11] Solomon J J, Singh U S, Segal A. In Vitro Reaction of 2 - cyanoethylene Oxide With Thymus DNA[J]. *Chem Biol Interactions*, 1993, 11:234 - 267.
- [12] 谭明家. DNA 加合物诱导基因突变的研究进展[J]. 国外医学卫生学分册, 1996, 27(6):266 - 270.