

酚类污染物对氧化磷酸化毒性效应的研究进展

黄高峰, 徐挺* (同济大学环境科学与工程学院, 上海 200092)

摘要 综述不同酚类污染物对氧化磷酸化的毒性效应, 总结不同酚类污染物对氧化磷酸化的毒性作用机制, 同时就目前酚类污染物的氧化磷酸化毒性效应的研究存在的问题和不足进行探讨, 以期为此类污染物的相关毒性研究提供参考。

关键词 酚类污染物; 氧化磷酸化; 解偶联剂; 糖酵解

中图分类号 X171.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)08-0031-05

Research Progress on Toxic Effects of Phenolic Pollutants on Oxidative Phosphorylation

HUANG Gao-feng, XU Ting (College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092)

Abstract The toxic effects of different phenolic pollutants on oxidative phosphorylation and their toxicity mechanism were reviewed in this paper. At the same time, the problems and shortcomings in the study of toxic effects of oxidative phosphorylation of phenolic pollutants were discussed to provide reference for studying related toxicity of phenolic pollutants.

Key words Phenolic pollutants; Oxidative phosphorylation; Uncoupler; Glycolysis

能量是生命活动的基本动力来源, 用以满足生命体生存、繁衍和进化等各种需要。生物体产能主要通过 2 种途径: 氧化磷酸化 (OXPHOS) 和糖酵解 (Glycolysis), 其中真核细胞的绝大部分能量依赖于线粒体氧化磷酸化作用的供给。氧化磷酸化是指在有氧条件下, 线粒体利用生物氧化过程中释放的自由能, 促使二磷酸腺苷 (ADP) 与无机磷酸盐结合生成三磷酸腺苷 (ATP) 的过程^[1-2]。内源性物质或环境污染物对于生物体氧化磷酸化的干扰作用, 将影响细胞的正常产能, 其后果轻则表现出肌无力、低血压、发烧和心绞痛等病理现象; 重则有生命危险。而细胞若在有氧状态下功能方式由氧化磷酸化切换为糖酵解, 则可能成为细胞癌变的重要发生条件 (Warburg 效应)^[3]。在发育阶段, 由于整个发育过程的高度动态性, 污染物甚至可能通过影响能量供给而改变细胞行为, 最终造成发育程序的紊乱, 导致严重的发育效应。

传统上, 部分酚类污染物一直被认为是典型的氧化磷酸化解偶联剂, 如五氯酚 (PCP) 和二硝基苯酚 (DNP) 等。然而近年来的研究逐步发现, 酚类污染物的作用类型并不仅限于氧化磷酸化的解偶联, 涉及的酚类物质种类也不断增加。为此, 分析多种酚类污染物对生物体氧化磷酸化过程的影响, 及其可能的作用机制, 深入理解环境污染物对生物能量代谢过程的关键扰动及其后果, 并为今后进一步研究污染物氧化磷酸化干扰作用提供思路。

1 氧化磷酸化干扰作用的一般机制

氧化磷酸化由电子传递链和 ATP 合酶两部分偶联而成。呼吸链主要包含四大复合体: NADH 脱氢酶 (复合体 I)、琥珀酸脱氢酶 (复合体 II)、细胞色素 c 还原酶 (复合体 III) 和细胞色素 c 氧化酶 (复合体 IV)。其中, 复合体 I、III、IV 是质子泵, 可以将呼吸链产生的氢离子从线粒体基质侧泵送至线粒体内膜间隙侧, 在线粒体内膜两侧会形成氢离子浓度差 (质

子梯度)。而质子梯度又可驱动 ATP 合酶 (复合体 V) 利用 ADP 与无机磷酸盐结合生成 ATP, 从而实现氧化与磷酸化的偶联^[4-9]。

对氧化磷酸化造成影响的化合物大致可分为 2 类: 氧化磷酸化抑制剂和氧化磷酸化解偶联剂。两者的区别在于氧化磷酸化抑制剂可对电子传递链或 ADP 磷酸化产生抑制作用; 而氧化磷酸化解偶联剂可以使氧化与磷酸化解偶联, 虽然氧化部分照常进行, 但不能生成 ATP, 使呼吸链中电子传递产生的能量不能用于 ADP 的磷酸化, 只能以热的形式散发, 亦解除氧化和磷酸化的偶联。

1.1 氧化磷酸化抑制

1.1.1 呼吸链抑制。在线粒体呼吸链的 4 种复合体中, 复合体 I 最易遭受攻击。目前, 已知有超过 60 种物质可以抑制复合体 I 的活性, 包括杀虫剂、防腐剂、酚类污染物等^[10-13]。这些复合体 I 抑制剂结构上均具有一种类似于泛醌的结构: 循环结构的头部和疏水性的尾部^[10]。复合体 III 是呼吸链中第 2 个质子泵, von Jagow 等^[14]根据作用部位的不同, 总结 4 类主要的复合体 III 抑制剂: 对苯二酚拮抗剂类、十一烷基羟基醌类、抗霉素类和锌离子。复合体 IV 是电子传递链末端的酶, 具有质子泵的作用, 同时可通过血红素中铁原子的氧化还原变化, 把电子传递给还原的氧形成水。Nicholls 等^[15]将复合体 IV 抑制剂分为 4 类: ①血红素抑制剂, 例如叠氮化物、氰化物和硫化物等; ②氧竞争性抑制剂, 例如一氧化碳和一氧化氮等; ③细胞色素 c 竞争性抑制剂; ④非竞争性抑制剂, 例如磷酸盐离子和碱性条件等。

1.1.2 磷酸化抑制。ATP 合酶又称为复合体 V, 作用是将 ADP 和无机磷酸盐合成 ATP。已知有很多霉菌可以抑制 ATP 合酶的活性, 典型的有金轮菌素、奥萨霉素、杀黑星菌素和寡霉素等。这些霉菌的作用机制是其可以结合到 ATP 合酶的 F1 或者 FO 亚族上, 从而阻止氢离子的传导^[2]。除了霉菌类, 还有许多其他物质同样可以抑制 ATP 合酶的活性, 如黄酮类^[16]、百草枯^[17]、DDT^[18]、乙烯雌酚^[19]、有机锡^[20-21]等。

1.2 氧化磷酸化解偶联 氧化磷酸化解偶联的作用类型分

基金项目 国家自然科学基金 (21577104)。
作者简介 黄高峰 (1991—), 男, 江苏无锡人, 硕士研究生, 研究方向: 生态毒理学。* 通讯作者, 研究员, 博士后, 从事生态毒理学研究。

收稿日期 2017-12-25

为化学解偶联和解偶联蛋白(UCP)。UCP是一种线粒体内膜蛋白,包含UCP1-5共5种亚型^[22-25],可以消除线粒体内膜两侧的跨膜质子浓度差,阻碍ATP的正常产生。关于UCP的解偶联机理,目前有脂肪酸质子载体和质子通道2种模型^[26]。前者由Skulachev^[27]和Garlid等^[28]提出,他们认为UCP可以催化脂肪酸阴离子,在线粒体膜电位的驱动下,脂肪酸阴离子进入线粒体内膜侧后,从内膜侧携带氢离子,穿过线粒体膜转运至线粒体基质侧。后者则由Winkler等^[29]提出,其指出UCP可直接转运质子,以转位方式将其运送至UCP内部通道中的质子受体上,最后运送至基质。

化学解偶联剂主要由亲脂性弱酸构成,其作用机制为:解偶联剂的阴离子态与线粒体内膜中的氢离子形成非解离的中性形态,携带原本无法通过内膜的氢离子进入线粒体基质侧,解离释放氢离子重新成为阴离子态后,借助电势差返回线粒体内膜间隙侧,如此循环往复,部分抵消质子梯度,抑制ATP的形成^[30]。该类解偶联剂的最典型代表即为取代酚类^[31-33]。离子载体则是另一大类型解偶联剂^[34],但解偶联活性通常弱于亲脂性弱酸。典型的离子载体型解偶联剂有缬氨霉素、Cu(OP)₂和tris-S-C4(5)等^[35-36]。尽管化学解偶联过程目前仍是研究关注的主要方向,笔者推测,可能存在污染物通过诱导UCP而间接影响氧化磷酸化的途径。

2 典型酚类污染物对氧化磷酸化的影响

2.1 氯酚类污染物

氯酚类化合物是一类由氯原子取代苯酚苯环上氢原子所形成的化合物。由于氯酚的化学性质稳定,具有显著的杀菌效果,广泛用于农药、纺织印染、造纸印刷、医疗等行业及木材、皮革制品、食品等产品的杀菌消毒和防腐;故而在环境中分布广泛,是典型的有机卤代污染物。除致癌、致畸、致突变的“三致”作用外^[37],氯酚类污染物最受关注的毒性效应是其对氧化磷酸化过程的影响。传统观点认为,氯酚的氧化磷酸化毒性机制主要为解偶联作用,其具有携带氢离子跨膜运输的能力,可以消除质子梯度,影响ATP的合成^[38-40]。Fernandez等^[41]采用Vero细胞(非洲绿猴肾细胞)作为受试对象,利用荧光显微镜法和透射电子显微镜法研究五氯酚(PCP)对哺乳动物细胞内部结构的影响。结果表明PCP可以破坏细胞线粒体结构,干扰线粒体的膜电位;其机制被认为是PCP形成某种异二聚体,该异二聚体可以将氢离子携带穿过细胞膜,干扰质子梯度,最终对氧化磷酸化造成影响。Gravance等^[42]通过荧光标记法研究PCP对大鼠精子线粒体的影响,发现大鼠精子线粒体膜电位在暴露后出现显著变化,根据线粒体是氧化磷酸化的发生部位,推断氧化磷酸化过程亦将受到PCP暴露的干扰。Aschmann等^[43]研究PCP、2,3,4,5-四氯酚、2,4,5-三氯酚、2,4-二氯酚和对氯酚对Sprague-Dawley大鼠肝细胞的毒性作用。结果发现,这5种氯酚均能显著降低大鼠肝细胞内的ATP浓度,推测ATP浓度减少是由于5种氯酚干扰大鼠肝细胞的氧化磷酸化过程而造成的。Narasimhan等^[44]研究对氯酚、3,5-二氯酚、2,3,5-三氯酚、2,3,4,5-四氯酚和PCP对Sprague-Dawley大鼠线粒体的影响。利用液相氧电极测定分离

提出的大鼠线粒体的态III呼吸和态IV呼吸,发现PCP、2,3,4,5-四氯酚、2,3,5-三氯酚在浓度大于1.33 μmol/L时,可以抑制ADP磷酸化和态IV呼吸,并表现出明显的解偶联作用。同时,这5种氯酚均能引起线粒体肿胀。

Xu等^[45-46]观察PCP早期暴露对Tuebingen品系斑马鱼胚胎的发育程序的影响,发现PCP对胚胎氧化磷酸化的影响源自斑马鱼原肠期和体节期(8-24 hpf),造成复合体I-V中大量同工酶编码基因的表达抑制。与之相对应的是,氧化磷酸化的替代过程糖酵解的参加基因多数出现显著的表达上调。由于糖酵解过程有利于细胞增殖,这可能是原肠期内PCP造成斑马鱼胚胎发育延迟的重要机制。相似的结果也出现在蛋白组学研究中,Carvalho等^[47]发现经PCP暴露后,毛霉菌DSM 16513体内部分与糖酵解过程相关的酶的活性呈上调状态,如丙酮酸脱氢酶、果糖二磷酸醛缩酶和3-磷酸甘油醛脱氢酶等。上述现象均可能是由PCP干扰线粒体功能、影响氧化磷酸化进程所导致。

2.2 硝基酚类污染物

与PCP相似,硝基取代酚类也是极具代表性的线粒体毒性物质,其中2,4-二硝基苯酚(DNP)、4-对硝基苯酚(4-NP)和三氟甲硝酚(TFM)等化合物受关注较多,普遍认为是典型的氧化磷酸化解偶联剂。其中,DNP对氧化磷酸化的毒性作用机制主要可能有2种:转运氢离子透过线粒体细胞膜,从而改变质子梯度,进一步对氧化磷酸化造成影响^[48];阻止无机磷酸盐进入线粒体内,减少生成的高能磷酸键的数量,从而进一步影响氧化磷酸化^[49-50]。Bestman等^[51]从ATP浓度、乳酸脱氢酶LDH活性、基因表达、呼吸作用等方面,系统地研究DNP对斑马鱼线粒体的影响。结果发现,DNP染毒致使斑马鱼体内的ATP浓度降低;LDH活性出现短期的升高;细胞耗氧率增加;与活性氧物质生成相关的部分基因如*pgc1a*、*nrf2*、*hif1a*等的表达水平出现波动,且多数呈抑制趋势。研究者进一步分析认为,由于DNP对氧化磷酸化过程的干扰作用,使斑马鱼体内的ATP含量降低。此时,细胞会选择激发替代产能途径——糖酵解,用以维持体内正常的ATP水平。这样DNP就产生与PCP类似的效应。Lam等^[52]利用基因芯片技术,主要从转录组水平研究4-NP对斑马鱼肝脏的毒性效应。经4-NP暴露后,基因表达谱中最突出的变化就是与氧化磷酸化和电子传递链相关的基因呈上调趋势,并诱导后续的氧化应激、肿瘤抑制通路、DNA损伤和细胞凋亡等一系列生物学变化。结果显示4-NP对斑马鱼氧化磷酸化确实可产生干扰,但并不常见的抑制作用。三氟甲硝酚(TFM)的结构和化学特性与DNP相类似,因此同样具有氧化磷酸化解偶联作用^[53]。Birceanu等^[54]研究TFM和2,4-DNP对七鳃鳗*Petromyzon marinus*和虹鳟鱼*Oncorhynchus mykiss*的毒性效应。结果表明,TFM能够降低ATP的合成量,同时TFM和2,4-DNP均能刺激态IV呼吸,而对态III呼吸未造成影响。TFM还能影响线粒体的跨膜电位(TMP),七鳃鳗的线粒体TMP降低22%,虹鳟鱼的线粒体TMP降低28%。表明TFM是一种质子载体,可以消除质子梯度,从而影响ATP合成。

2.3 双酚类污染物 双酚类化合物是指 2 个羟苯基由一个或多个碳原子相连的一类化合物,是聚合材料和橡胶工业的重要原料,主要用于人类日常生活所常见的奶瓶、食品包装和塑料制品等^[55-57]。由于对双酚类物质的研究主要集中于致癌性、内分泌干扰活性等高关注度风险上,致使其在氧化磷酸化方面影响的报道相对较少,且基本集中于代表性物质双酚 A(BPA)。Berekotoglu 等^[58]采用基因芯片和定量 PCR 方法,研究酵母菌 BY4742 经 BPA 染毒后的转录组变化情况。结果发现,在 BPA 暴露后呈下调状态的富集性术语中,显著性最高的为跨膜转运和线粒体组织两项术语。由于其中的 *TIM18*、*TIM22*、*PAM18* 和 *IMP2* 等基因参与线粒体内膜的组成和物质转运,该结果意味着 BPA 可能同样对氧化磷酸化过程具有潜在的干扰作用。Jiang 等^[59]研究 BPA 对新生 Wistar 大鼠心脏线粒体功能的影响,发现即使是 50 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ (EPA 参考剂量)的 BPA 暴露,也将导致琥珀酸脱氢酶(复合体 II)的酶活性和基因表达量有所降低,线粒体的膜电位并相应减少;同时,部分氧化磷酸化相关基因及其编码蛋白的表达量也发生不同程度的下调。研究者据此认为在传统观点安全的剂量下,BPA 也可对仔鼠心脏线粒体造成损伤,影响能量代谢和 ATP 生成作用。

2.4 羟基化多溴联苯醚 羟基化多溴联苯醚(OH-PBDEs)是溴代阻燃剂多溴联苯醚的自然代谢产物^[60-62],并被普遍认为毒性作用强于其母体。虽然神经行为毒性和甲状腺干扰效应仍是目前 OH-PBDEs 毒性的研究重点,但 OH-PBDEs 影响氧化磷酸化的研究也已逐步展开。Van Boxtel 等^[63]以 PAC2 细胞(斑马鱼胚胎成纤维细胞)为模型,研究 6-OH-BDE47 在转录组水平的生物效应,发现 6-OH-BDE47 可以改变斑马鱼体内与质子传递和糖类代谢(包括能量代谢)相关基因的表达,同时使斑马鱼的线粒体膜电位降低;而 BDE47 母体和甲氧基化的 BDE47 均无此效应。进一步研究发现,6-OH-BDE47 可能通过抑制复合体 II 从而影响电子传递链,从而实现氧化磷酸化过程的干扰。Legradi 等^[64]研究 17 种 OH-PBDEs 对斑马鱼胚胎的毒性效应,发现所有测试的 OH-PBDEs 均可导致剂量依赖性的胚胎发育延迟。该效应在斑马鱼发育的前 24 h 内尤其明显,并伴随胚胎耗氧率的增加,暗示其可能与氧化磷酸化过程相关。Legradi 等^[65]研究 18 种 OH-PBDEs 对小鼠心脏和 PAC2 细胞(斑马鱼胚胎成纤维细胞)氧化磷酸化的干扰作用,选择线粒体呼吸作用、线粒体膜电位、LDH 活性以及 ATP 浓度等多项指标综合考量。结果表明,测试的 18 种 OH-PBDEs 均会干扰氧化磷酸化,且作用机制有所区别。6-OH-BDE47 和 3'-OH-BDE154 通过抑制电子传递链影响氧化磷酸化,5-OH-BDE47 和 6-OH-BDE90 等通过驱质子梯度影响氧化磷酸化,其余如 6-OH-BDE85 等则是通过上述 2 种途径共同影响氧化磷酸化。研究者还发现尽管具体机制各异,但当多种 OH-PBDEs 混合暴露时,将产生显著的协同作用。

3 总结与展望

酚类污染物对于氧化磷酸化过程的干扰并不仅仅限于

解偶联作用,很多时候也具备氧化磷酸化抑制剂的特征。例如,多种酚类化合物均在一定剂量下,表现出对复合体 I-V 的活性和基因表达的显著影响。4-NP 暴露导致斑马鱼电子传递链相关的部分基因上调,意味着污染物对氧化磷酸化过程的影响甚至可能不仅限于传统的解偶联和抑制作用^[52]。线粒体膜电位总体而言是灵敏度较高的一项指标,且可呈现一定的剂量-效应关系,但在个别暴露剂量极高的研究中并未显示效应,则反映出解偶联作用可能具有某些仍然未知的发生条件。

氧化磷酸化解偶联剂和抑制剂的称谓大约形成于 20 世纪五六十年代,尽管迅速得到学术界的普遍承认,但这些概念同时也局限了对氧化磷酸化干扰作用的认识;随着学科的发展,蛋白和分子水平的效应逐渐成为生物科学关注的中心,人们对于内源物和外源污染物在不同生物学层面效应的认识程度大大加深,将传统定义强行套入现今的研究中也愈发不适宜。如 Legradi 等^[65]将线粒体膜电位降低且耗氧率增加定义为解偶联作用,线粒体膜电位降低且耗氧率降低定义为呼吸链抑制作用。但事实上这种两分式的定义难免有武断之嫌。基于目前已有的研究成果判断,多数酚类污染物均可呈现解偶联和抑制作用(同时或不同时),甚至可能在一定条件下表现为刺激作用。

考虑到氧化磷酸化过程的特点及其在生物体代谢体系中的特殊作用,当前仅从能量角度出发的思路似乎难以全面理解污染物对氧化磷酸化的干扰后果。以氧化磷酸化的核心产物 ATP 为例,ATP 通常作为能量物质看待,然而事实上 ATP 不仅是细胞信号分子,也是一种神经递质。还有与氧化磷酸化关系密切的细胞 pH、活性氧物质等,虽然表面上看仅是基础指标的变化,但其涉及的潜在影响却范围极广。同时,伴随着五氯酚、硝基酚等酚类污染物对氧化磷酸化过程的干扰效应,细胞的糖酵解作用均出现异常激活。这种激活很可能出自细胞供能不足的代偿。通过对多项高通量研究结果的归纳分析,发现糖酵解变化甚至可能是生物体在环境污染胁迫下的一种普遍现象^[66-68]。糖酵解与氧化磷酸化的重要区别除 ATP 产能外,还有剩余大量未完全代谢的碳源(主要以乳酸、丙酮酸等形式),这些碳源物将进一步参与到更多的代谢过程,并为细胞增殖提供充足的物质基础^[69]。氧化磷酸化过程的受限将有可能促使细胞倾向选择不断增殖的策略,最终导致细胞癌变等一系列严重后果。因此,将氧化磷酸化干扰作用与细胞行为、细胞内环境等方面的变化进行关联,有望对污染物毒性机制有更加深入的认识。

综上所述,关于酚类污染物对氧化磷酸化过程的干扰作用及其可能导致的生物学后果,仍存在许多尚待揭示的科学问题。特别是多溴联苯醚代谢产物 OH-PBDEs 干扰作用的发现,使得笔者开始意识到,威胁氧化磷酸化过程的不仅有酚类污染物本身,更可能包含那些在生物代谢过程中形成含酚羟基中间产物的污染物。如果该假设成立,考虑到羟基化正是生物体相 I 代谢的重要反应,环境污染对于生物体能量代谢干扰应当引起学术界更多的关注。

参考文献

- [1] KADENBACH B. Intrinsic and extrinsic uncoupling of oxidative phosphorylation[J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,2003,1604(2):77-94.
- [2] WALLACE K B, STARKOV A A. Mitochondrial targets of drug toxicity[J]. Annual review of pharmacology and toxicology,2000,40:353-388.
- [3] JOSE C, BELLANCE N, ROSSIGNOL R. Choosing between glycolysis and oxidative phosphorylation: A tumor's dilemma? [J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,2011,1807(6):552-561.
- [4] ABRAHAMS J P, LESLIE A G W, LUTTER R, et al. Structure at 2.8-Å resolution of F1-ATPase from bovine heart-mitochondria[J]. *Nature*,1994,370(6491):621-628.
- [5] BIANCHET M A, HULLIEN J, PEDERSEN P L, et al. The 2.8-Å structure of rat liver F1-ATPase: Configuration of a critical intermediate in ATP synthesis/hydrolysis[J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America,1998,95(19):11065-11070.
- [6] FILLINGAME R H. Coupling H⁺ transport and ATP synthesis in F1F0-ATP synthases: Glimpses of interacting parts in a dynamic molecular machine[J]. *Journal of experimental biology*,1997,200(2):217-224.
- [7] JUNGE W, LILL H, ENGELBRECHT S. ATP synthase: An electrochemical transducer with rotary mechanics [J]. *Trends in biochemical sciences*,1997,22(11):420-423.
- [8] STOCK D, LESLIE A G W, WALKER J E. Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase[J]. *Science*,1999,286(5445):1700-1705.
- [9] DIMROTH P. Operation of the F₀ motor of the ATP synthase[J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,2000,1458(2/3):374-386.
- [10] ESPOSTI M D. Inhibitors of NADH-ubiquinone reductase: An overview [J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,1998,1364(2):222-235.
- [11] MIYOSHI H, OHSHIMA M, SHIMADA H, et al. Essential structural factors of annonaceous acetogenins as potent inhibitors of mitochondrial complex I[J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,1998,1365(3):443-452.
- [12] MIYOSHI H. Structure-activity relationships of some complex I inhibitors [J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,1998,1364(2):236-244.
- [13] LUMMEN P. Complex I inhibitors as insecticides and acaricides[J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,1998,1364(2):287-296.
- [14] VON JAGOW G, LINK T A. Use of specific inhibitors on the mitochondrial bc1-complex[J]. *Methods in enzymology*,1986,126:253-271.
- [15] NICHOLLS P, CHANCE B. *Cytochrome c oxidase*. Molecular mechanisms of oxygen activation[M]. Oxford: Elsevier Science,1974:479-534.
- [16] BOHMONT C, AARONSON L M, MANN K, et al. Inhibition of mitochondrial NADH oxidase, succinoxidase, and ATPase by naturally occurring flavonoids[J]. *Journal of natural products*,1987,50(3):427-433.
- [17] PALMEIRA C M, MORENO A J, MADEIRA V M C. Mitochondrial bioenergetics is affected by the herbicide paraquat [J]. *Biochimica et biophysica acta-bioenergetics*,1995,1229(2):187-192.
- [18] MORENO A J M, MADEIRA V M C. Mitochondrial bioenergetics as affected by DDT[J]. *Biochimica et biophysica acta*,1991,1060(2):166-174.
- [19] MCENERY M W, PEDERSEN P L. Diethylstilbestrol: A novel F₀-directed probe of the mitochondrial proton ATPase[J]. *Journal of biological chemistry*,1986,261(4):1745-1752.
- [20] LINNETT P E, BEECHER R B. Inhibitors of the ATP synthetase system [J]. *Methods in enzymology*,1979,55:472-518.
- [21] SNOEIJ N J, PENNINKS A H, SEINEN W. Biological-activity of organotin compounds: An overview[J]. *Environmental research*,1987,44(2):335-353.
- [22] ROLFE D F S, BRAND M D. The physiological significance of mitochondrial proton leak in animal cells and tissues[J]. *Bioscience reports*,1997,17(1):9-16.
- [23] FLEURY C, NEVEROVA M, COLLINS S, et al. Uncoupling protein-2: A novel gene linked to obesity and hyperinsulinemia [J]. *Nature genetics*,1997,15(3):269-272.
- [24] GIMENO R E, DEMBSKI M, WENG X, et al. Cloning and characterization of an uncoupling protein homolog: A potential molecular mediator of human thermogenesis[J]. *Diabetes*,1997,46(5):900-906.
- [25] AFFOURTIT C, CRICHTON P G, PARKER N, et al. Novel uncoupling proteins[J]. Novartis foundation symposium,2007,287:70-80.
- [26] GARLID K D, JABUREK M, JEZEK P. The mechanism of proton transport mediated by mitochondrial uncoupling proteins[J]. *FEBS Letters*,1998,438(1/2):10-14.
- [27] SKULACHEV V P. Fatty-acid circuit as a physiological mechanism of uncoupling of oxidative-phosphorylation [J]. *FEBS Letters*,1991,294(3):158-162.
- [28] GARLID K D, OROSZ D E, MODRIANSKY M, et al. On the mechanism of fatty acid-induced proton transport by mitochondrial uncoupling protein [J]. *Journal of biological chemistry*,1996,271(5):2615-2620.
- [29] WINKLER E, KLINGENBERG M. Effect of fatty-acids on H⁺ transport activity of the reconstituted uncoupling protein [J]. *Journal of biological chemistry*,1994,269(4):2508-2515.
- [30] OZAKI S, KANO K, SHIRAI O. Electrochemical elucidation on the mechanism of uncoupling caused by hydrophobic weak acids [J]. *Physical chemistry chemical physics*,2008,10(30):4449-4455.
- [31] BARTLETT J, BRUNNER M, GOUGH K. Deliberate poisoning with dinitrophenol (DNP): An unlicensed weight loss pill [J]. *Emergency medicine journal*,2010,27(2):159-160.
- [32] MIYOSHI H, FUJITA T. Quantitative-analyses of the uncoupling activity of substituted phenols with mitochondria from flight muscles of house-flies [J]. *Biochimica et biophysica acta*,1988,935(3):312-321.
- [33] MIYOSHI H, TSUJISHITA H, TOKUTAKE N, et al. Quantitative-analysis of uncoupling activity of substituted phenols with a physicochemical substituent and molecular-parameters [J]. *Biochimica et biophysica acta*,1990,1016(1):99-106.
- [34] MOHAMMAD G, KOWLURU R A. Matrix metalloproteinase-2 in the development of diabetic retinopathy and mitochondrial dysfunction[J]. *Laboratory investigation*,2010,90(9):1365-1372.
- [35] YAMADA A, YAMAMOTO T, YAMAZAKI N, et al. Differential permeabilization effects of Ca²⁺ and valinomycin on the inner and outer mitochondrial membranes as revealed by proteomics analysis of proteins released from mitochondria[J]. *Molecular & cellular proteomics*,2009,8(6):1265-1277.
- [36] SHINOHARA Y, BANDO S, KORA S, et al. Cationic uncouplers of oxidative phosphorylation are inducers of mitochondrial permeability transition [J]. *FEBS Letters*,1998,428(1/2):89-92.
- [37] COOPER G S, JONES S. Pentachlorophenol and cancer risk: Focusing the lens on specific chlorophenols and contaminants [J]. *Environmental health perspectives*,2008,116(8):1001-1008.
- [38] TERADA H. The interaction of highly-active uncouplers with mitochondria [J]. *Biochimica et biophysica acta*,1981,639(3/4):225-242.
- [39] FINKELSTEIN A. Weak-acid uncouplers of oxidative phosphorylation. Mechanism of action on thin lipid membranes [J]. *Biochimica et biophysica acta*,1970,205(1):1-6.
- [40] MCCOLLISTER D D, LOCKWOOD D T, ROWE V K. Toxicologic information of 2,4,5-trichlorophenol[J]. *Toxicology and applied pharmacology*,1961,3:63-70.
- [41] FERNANDEZ FREIRE P, LABRADOR V, MARTIN J M P, et al. Cytotoxic effects in mammalian vero cells exposed to pentachlorophenol[J]. *Toxicology*,2005,210(1):37-44.
- [42] GRAVANCE C G, GARNER D L, MILLER M G, et al. Flow cytometric assessment of changes in rat sperm mitochondrial function after treatment with pentachlorophenol [J]. *Toxicology in vitro*,2003,17(3):253-257.
- [43] ASCHMANN C, STORK T, WASSERMANN O. Short-term effects of chlorophenols on the function and viability of primary cultured rat hepatocytes [J]. *Archives of toxicology*,1989,63(2):121-126.
- [44] NARASIMHAN T R, MAYURA K, CLEMENT B A, et al. Effects of chlorinated phenols on rat embryonic and hepatic mitochondrial oxidative-phosphorylation[J]. *Environmental toxicology and chemistry*,1992,11(6):805-814.
- [45] XU T, ZHAO J, HU P, et al. Pentachlorophenol exposure causes Warburg-like effects in zebrafish embryos at gastrulation stage[J]. *Toxicology and applied pharmacology*,2014,277(2):183-191.
- [46] XU T, ZHAO J, XU Z F, et al. The developmental effects of pentachlorophenol on zebrafish embryos during segmentation: A systematic view[J]. *Scientific reports*,2016,6:25929.
- [47] CARVALHO M B, MARTINS J, MEDEIROS J, et al. The response of murine plumbus to pentachlorophenol: A toxicoproteomics study[J]. *Journal of proteomics*,2013,78:159-171.
- [48] LOU P H, HANSEN B S, OLSEN P H, et al. Mitochondrial uncouplers with an extraordinary dynamic range[J]. *Biochemical journal*,2007,407(1):129-140.

- [49] ROGNSTAD R, KATZ J. The effect of 2,4-dinitrophenol on adipose-tissue metabolism[J]. The biochemical journal, 1969, 111(4): 431-444.
- [50] ISSEKUTZ B. Effect of propranolol in dinitrophenol poisoning[J]. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1984, 272(2): 310-319.
- [51] BESTMAN J E, STACKLEY K D, RAHN J J, et al. The cellular and molecular progression of mitochondrial dysfunction induced by 2,4-dinitrophenol in developing zebrafish embryos[J]. Differentiation, 2015, 89(3/4): 51-69.
- [52] LAM S H, UNG C Y, HLAING M M, et al. Molecular insights into 4-nitrophenol-induced hepatotoxicity in zebrafish: Transcriptomic, histological and targeted gene expression analyses[J]. Biochimica et biophysica acta-general subjects 2013, 1830(10): 4778-4789.
- [53] HUBERT T D. Environmental fate and effects of the lampricide TFM: A review[J]. Journal of great lakes research, 2003, 29(1): 456-474.
- [54] BIRCEANU O, MCCLELLAND G B, WANG Y S, et al. The lampricide 3-trifluoromethyl-4-nitrophenol (TFM) uncouples mitochondrial oxidative phosphorylation in both sea lamprey (*Petromyzon marinus*) and TFM-tolerant rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Comparative biochemistry and physiology C-toxicology & pharmacology, 2011, 153(3): 342-349.
- [55] DELFOSSE V, GRIMALDI M, PONS J L, et al. Structural and mechanistic insights into bisphenols action provide guidelines for risk assessment and discovery of bisphenol a substitutes [J]. Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America, 2012, 109(37): 14930-14935.
- [56] GEENS T, AERTS D, BERTHOT C, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A [J]. Food and chemical toxicology, 2012, 50(10): 3725-3740.
- [57] HUANG Y Q, WONG C K C, ZHENG J S, et al. Bisphenol a (BPA) in China: A review of sources, environmental levels, and potential human health impacts[J]. Environment international, 2012, 42: 91-99.
- [58] BERKETOGLU C, ARGA K Y, ERASLAN S, et al. Analysis of transcriptional profiles of saccharomyces cerevisiae exposed to bisphenol A [J]. Current genetics, 2017, 63(2): 253-274.
- [59] JIANG Y, LIU J, LI Y, et al. Prenatal exposure to bisphenol a at the reference dose impairs mitochondria in the heart of neonatal rats[J]. Journal of applied toxicology, 2014, 34(9): 1012-1022.
- [60] MALMBERG T, ATHANASIADOU M, MARSH G, et al. Identification of hydroxylated polybrominated diphenyl ether metabolites in blood plasma from polybrominated diphenyl ether exposed rats[J]. Environmental science & technology, 2005, 39(14): 5342-5348.
- [61] HAKK H, HUWE J K, MURPHY K, et al. Metabolism of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in Chickens [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2010, 58(15): 8757-8762.
- [62] MALMVARN A, ZEBUHR Y, KAUTSKY L, et al. Hydroxylated and methoxylated polybrominated diphenyl ethers and polybrominated dibenzo-p-dioxins in red alga and cyanobacteria living in the Baltic Sea [J]. Chemosphere, 2008, 72(6): 910-916.
- [63] VAN BOXTEL A L, KAMSTRA J H, CENIJN P H, et al. Microarray analysis reveals a mechanism of phenolic polybrominated diphenylether toxicity in zebrafish [J]. Environmental science & technology, 2008, 42(5): 1773-1779.
- [64] LEGRADI J, VAN POMEREN M, DAHLBERG A K, et al. Effects of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers in developing zebrafish are indicative of disruption of oxidative phosphorylation [J]. International journal of molecular sciences, 2017, 18(5): 970.
- [65] LEGRADI J, DAHLBERG A K, CENIJN P, et al. Disruption of oxidative phosphorylation (OXPHOS) by hydroxylated polybrominated diphenyl ethers (OH-PBDEs) present in the marine environment [J]. Environmental science & technology, 2014, 48(24): 14703-14711.
- [66] HAGENAARS A, KNAPEN D, MEYER I J, et al. Toxicity evaluation of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in the liver of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Aquatic toxicology, 2008, 88(3): 155-163.
- [67] MAZZIO E, SOLIMAN K F A. Whole genome expression profile in neuroblastoma cells exposed 1-methyl-4-phenylpyridine [J]. Neurotoxicology, 2012, 33(5): 1156-1169.
- [68] PUJOLAR J M, MILAN M, MARINO I A M, et al. Detecting genome-wide gene transcription profiles associated with high pollution burden in the critically endangered European eel [J]. Aquatic toxicology, 2013, 132: 157-164.
- [69] VANDER HEIDEN M G, CANTLEY L C, THOMPSON C B. Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation [J]. Science, 2009, 324(5930): 1029-1033.

(上接第 14 页)

3 结论

以佳木斯地区引种的薰衣草的茎叶为试验材料,探究其含有的各成分的化学结构、含量以及抗菌活性。GC-MS 检测数据分析显示,薰衣草的茎叶提取的精油中大多数有效成分具有抑菌作用。试验表明,薰衣草的茎叶提取物对植物的 6 种病原真菌存在显著的抗菌效果。虽然薰衣草的茎叶提取物与百菌清和丁香酚的抑菌效果存在差异,但可以解释为薰衣草茎叶的提取物仅有一部分活性成分发挥作用,因此,其最小抑菌浓度比其他 2 种药物更低。故薰衣草的茎叶提取物中的抗菌活性成分被分离和纯化后将展现出更强的抗菌能力,并为筛选高效的植物病原菌抗菌剂替代高毒、易残留的农药奠定基础 and 合理利用薰衣草资源提供科学的理论依据。

参考文献

- [1] 赵鑫,鲍其冷,王改香. 薰衣草精油成分分析及其抗菌和抗氧化活性研究[J]. 日用化学品科学, 2013, 36(4): 32-34.

- [2] GÜLÇİN I, ŞAT I G, BEYDEMİR S, et al. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.) [J]. Food chemistry, 2004, 87(3): 393-400.
- [3] GAVANJI S, MOHAMMADI E, LARKI B, et al. Antimicrobial and cytotoxic evaluation of some herbal essential oils in comparison with common antibiotics in bioassay condition [J]. Integrative medicine research, 2014, 3(3): 142-152.
- [4] MANTOVANI A L L, VIEIRA G P G, CUNHA W R, et al. Chemical composition, antischistosomal and cytotoxic effects of the essential oil of *Lavandula angustifolia* grown in Southeastern Brazil [J]. Revista brasileira de farmacognosia, 2013, 23(6): 877-884.
- [5] 万传星,朱丽莉,刘文杰. 薰衣草精油化学成分及抗菌活性研究(英文) [J]. 塔里木大学学报, 2008(2): 40-43.
- [6] 刘婷,匡文波,王婷,等. 水蒸气蒸馏和超临界萃取薰衣草精油抗氧化作用研究[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(12): 3035-3037.
- [7] 李紫薇,贾风勤,居尔艾特提拜克,等. 超声波辅助提取狭叶薰衣草总黄酮的研究[J]. 伊犁师范学院学报, 2012(3): 53-56.
- [8] YOHALEM D, PASSEY T. Amendment of soils with fresh and post-extraction lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula × intermedia*) reduce inoculum of *Verticillium dahliae* and inhibit wilt in strawberry [J]. Applied soil ecology, 2011, 49: 187-196.

科技论文写作规范——引言

扼要地概述研究工作的目的、范围、相关领域的前人工作和知识空白、理论基础和分析、研究设想、研究方法和实验设计、预期结果和意义等。一般文字不宜太长,不需做详尽的文献综述。在最后引出文章的目的及试验设计等。“引言”两字省略。