

# 芳香族化合物大鼠经口 LD<sub>50</sub>预测模型的研究

金一和<sup>1</sup>, 孙鹏<sup>2</sup>, 伏志夫<sup>3</sup>

(1. 中国医科大学公共卫生学院, 辽宁 沈阳 110001; 2. 中国医科大学 82 期七年制 辽宁 沈阳 110001; 3. 大连市疾病预防控制中心, 辽宁 大连 116027)

**摘要:** 目的 通过芳香族化合物分子结构与大鼠经口 LD<sub>50</sub>间的定量构效关系研究, 建立 LD<sub>50</sub>预测系统。方法 采用逐步回归统计分析方法, 在对 91 种芳香族化合物进行电化学、热力学及 3D 结构学等参数与大鼠经口 LD<sub>50</sub>间的构效关系研究基础上, 建立 LD<sub>50</sub>预测模型, 并探讨预测准确性。结果 该预测模型对高毒性化合物的预测准确度为 100%、中毒性为 80%、微毒性为 61.5%, 低毒性化合物的预测准确度较差仅为 24.6%, 总预测准确度为 63.2%。大鼠经口 LD<sub>50</sub>预测值和实测值之间呈正相关系数 ( $r=0.65$ ,  $P<0.05$ )。结论 计算机毒性预测系统是化合物安全性评价工作中的有效的辅助方法。

**关键词:** 芳香族化合物; 定量构效关系; LD<sub>50</sub>; 大鼠

中图分类号: R136.3.2; O212.4 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2001)05-0268-03

## Study on the oral LD<sub>50</sub> prediction model of aromatic chemicals in rats

JIN Yi-he<sup>1</sup>, SUN Peng<sup>2</sup>, FU Zhi-fu<sup>3</sup>

(1. College of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China; 2. China Medical University 82K Seven year system class, Shenyang 110001, China; 3. Dalian Center of Disease Control, Dalian 116027, China)

**Abstract:** **Objective** To establish the LD<sub>50</sub> prediction system by the study of the Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) between the molecular structure of aromatic chemicals and the oral LD<sub>50</sub> of rats. **Methods** The stepwise regression statistical methods was used to obtain the QSAR between the electronic, thermodynamic, three dimension characteristic descriptors of 91 kinds of aromatic chemicals and their oral LD<sub>50</sub> of rat, to establish LD<sub>50</sub> prediction model; the prediction accuracy was also discussed in the paper. **Results** The prediction accuracy of this prediction model for extremely toxic, very toxic and practically nontoxic chemicals is 100%, 80% and 61.5% respectively, and for slightly toxic chemicals is relatively lower 24.6%. The correlation coefficient between LD<sub>50</sub> predicted value and experimental value is 0.65 ( $P<0.05$ ). **Conclusion** The computer toxic prediction system is an effective assistant method on chemicals security evaluation.

**Key words:** Aromatic chemicals; Quantitative Structure-Activity Relationships; LD<sub>50</sub>; Rat

全世界范围内, 人们经常使用或接触的化学物质约有 8 万余种, 并且平均每年又合成 1 000 多种新化合物。根据动物实验和现场流行病学调查的安全评价经典方法, 已经不能适应化学物研究开发周期, 使大量化学物未经任何安全性评价就投入生产和使用, 经常引起严重的卫生学问题。

1964 年 Hansh 等人首次探讨了化合物分子疏水参数和药物活性间的相关关系<sup>[1]</sup>。化合物结构与生物活性间的定量构效关系 (Quantitative Structure-Activity Relationships, 简称 QSAR) 研究方法, 有 Free-Wilson 分析<sup>[2]</sup>, 量子化学方法<sup>[3]</sup>, 拓扑编码方法<sup>[4]</sup>, 分子场比较法<sup>[5]</sup>等方法。QSAR 在新药开发和化合物毒性评

价领域, 具有广阔的应用前景。

本文利用计算机分子模拟技术, 取得芳香族化合物定量 3D 结构特征参数, 克服以往根据部分结构参数或经验参数进行 QSAR 研究的缺陷, 进行大鼠经口 LD<sub>50</sub>的 QSAR 研究, 建立预测模型。

### 1 材料与方法

#### 1.1 化合物

研究对象为苯胺类、硝基苯、卤代苯、烷基苯等以单苯环为母结构的芳香族化合物, 共计 91 种。

#### 1.2 毒性资料来源

芳香族化合物大鼠经口 LD<sub>50</sub>资料来源于美国工业卫生协会 (ACGIH)、美国环保局 (EPA)、日本产业医学协会及德国劳动卫生协会等机构历年公开发表的资料。

#### 1.3 化合物分子定量结构参数

收稿日期: 2001-04-16; 修回日期: 2001-06-12

作者简介: 金一和 (1959-), 男, 辽宁沈阳人, 医学博士, 副教授, 从事环境卫生学和卫生毒理学教学和科研工作。

将芳香族化合物分子平面结构逐一输入 Cerius2 (molecular simulation. Inc) 程序中。三维成像后, 进行分子能量最小化 (minimization), 并计算此时的每个分子定量结构参数 (见表 1)。

表 1 本实验采用的 3D 分子结构特征性参数

类别	参 数
电学	极化能 (ApoI), 偶极矩 (DipoI), 非局限性能量 (Sr), 最高被占轨道系数 (HOMO), 最低空轨道系数 (LOMO)
三维结构	表面积 (Area), 主惯性矩 (PMI), 分子体积 (Vm), 分子量 (MV), 可旋转键数 (Rotbonds)
热力学	总能量 (Energy), 水溶解热 (FH <sub>2</sub> O), 辛醇溶解热 (Foct), 分配系数 (LogP), 摩尔折射率 (MR)

### 1.4 QSAR 研究方法

本研究把大鼠经口 Log LD<sub>50</sub> 作为因变量, 芳香族化合物的 15 个 3D 结构参数作为自变量。采用 SPSS (8.0 版) 统计分析软件中的多元线性逐步回归分析 (Linear Regression Stepwise Analysis) 方法, 先确定芳香族化合物 3D 结构参数与大鼠经口 Log LD<sub>50</sub> 间的定量构效关系, 建立 LD<sub>50</sub> 预测模型。根据 WHO 化合物急性毒性分级标准<sup>[9]</sup>, 把芳香族化合物大鼠经口 LD<sub>50</sub> 实测值和预测值进行分级处理, 并探讨预测结果的准确性。

### 2 结果

通过多元线性逐步回归分析, 芳香族化合物的 15 个 3D 结构参数中, PMI、Energy、FH<sub>2</sub>O 和 APOL 等 4 个参数被选入预测模型 (表 2)。被选中的参数值回代预测模型得出的 Log LD<sub>50</sub> 预测值与实际值间的相关系数为 0.652, 具有极显著的统计学意义 ( $P < 0.001$ , 见图 1)。

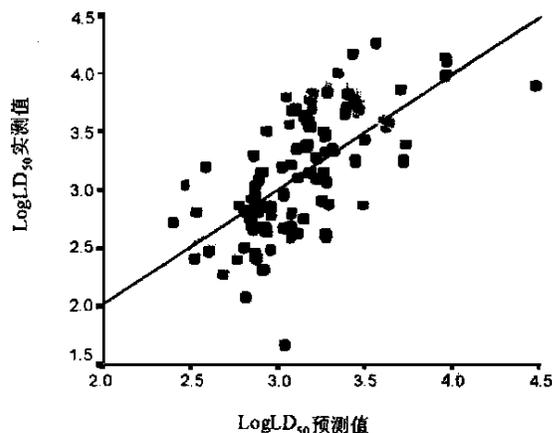
表 2 芳香族化合物 3D 结构参数与大鼠经口 Log LD<sub>50</sub> 间的逐步回归分析结果

	coefficient (B)	t	Sig. level (p)	R	Estimate Std. Error
Constant	3.421	12.927	0.000		
PMI	0.005246	5.101	0.000	0.516	0.4573
Energy	-0.002381	-4.315	0.000	0.547	0.4494
FH <sub>2</sub> O	0.03225	4.154	0.000	0.627	0.4206
APOL	-0.0001389	-2.196	0.031	0.652	0.4117

注: 芳香族化合物的大鼠经口 Log LD<sub>50</sub> 预测模型为:

$$\text{Log LD}_{50} (\text{mg/kg}) = 3.421 + 0.005246\text{PMI} - 0.002381\text{Energy} + 0.03225\text{FH}_2\text{O} - 0.0001389\text{APOL}$$

芳香族化合物的大鼠经口 LD<sub>50</sub> 预测值和实测值的毒性分级分布表明, 该预测模型对高毒性化合物的预



$$r = 0.652, n = 91, P < 0.001$$

图 1 91 种芳香族化合物的大鼠 LD<sub>50</sub> 预测值和实测值间的相关关系

测准确度为 100%、中毒性为 80%、微毒性为 61.5%, 低毒性化合物的预测准确度为 24.6% (见表 3)。为了保证安全目的把低毒性化合物预测为中毒性就认为判定预测正确, 则低毒性化合物预测准确度上升至 63.2%, 总体平均准确度为 71.2%。

表 3 91 种芳香族化合物大鼠经口 LD<sub>50</sub> 实测值和预测值分布

毒性分级	预测等级				准确度 (%)
	高毒	中毒	低毒	微毒	
高毒	1	0	0	0	100.0
中毒	0	16	4	0	80.0
低毒	17	22	14	4	24.6
微毒	2	0	3	8	61.5

注: WHO 急性毒性分级标准: 高毒  $50 > \text{LD}_{50} > 1 \text{ mg/kg}$ , 中毒  $500 > \text{LD}_{50} > 50 \text{ mg/kg}$ , 低毒  $5000 > \text{LD}_{50} > 500 \text{ mg/kg}$ , 微毒  $\text{LD}_{50} > 5000 \text{ mg/kg}$ 。

### 3 讨论

LD<sub>50</sub> 是评价化学物绝对毒性大小的最常用指标, 它反映受试动物群体中大多数动物感受性的平均水平, 具有较高的重现性和稳定性<sup>[9]</sup>。

有机化合物最常见的毒性机制是非反应性毒作用, 毒性大小与靶器官中的毒物浓度直接相关<sup>[7]</sup>, 并且与其从水相至生物相间的转运能力以及与靶分子间的相互作用密切相关<sup>[8]</sup>。因此, 许多化合物毒性的定量构效关系研究中, 常用脂/水分配系数 (Log P)<sup>[9, 10]</sup>。但是, 在本研究中 Log P 没有被选入预测模型, 其原因可能是毒性反应受化合物分子结构的多重影响, 如分子电学特性、结构学特征和热力学特性等。这些因素又决定化学物在体内的代谢和活化

过程<sup>[1]</sup>。因此, QSAR 研究中应尽量采用反映化合物分子 3D 结构参数, 才能提高预测精度。

芳香族化合物的大鼠经口 LD<sub>50</sub>与分子主惯性矩和水溶解热呈负相关, 与总能量和极化能具有正相关关系, 表明化合物分子的结构对称性、疏水效应、分子极性和化学活性, 联合影响化合物的生物膜穿透能力、与生物大分子间的反应和体内生化代谢过程, 最终表现为毒性大小。

本预测模型对低毒性芳香族化合物的 LD<sub>50</sub>预测结果准确性差(见表 3)。其原因可能是与本研究采用的化合物毒性分级剂量范围大, 而低毒类芳香族化合物毒性多数属于低毒和微毒分级临界值有关。如果缩小毒性分级剂量范围基础上导出的预测模型, 有可能提高低毒类芳香族化合物的 LD<sub>50</sub>预测准确度。

利用 QSAR 原理预测化合物毒性已经被人们认为是进行安全性评价的重要补助手段。但是由于此学科尚处于探讨阶段, 还无法反映化合物与受体或酶之间的特异性作用及微观动态变化, 只能根据同源化合物的构效关系规律, 预测同系物的某些生物活性。虽然, 目前还不能用 QSAR 方法完全代替毒理学动物实验, 但它不失为一种极具发展前途的安全性评价方法, 值得我们继续深入地开展工作。

参考文献:

[1] 茆挺, 徐丽娟. 定量结构活性关系在遗传毒理学中的应用及其进

(上接第 267 页) 吞噬杀菌等生理过程, 脂质过氧化都起着重要作用。已有研究报道氯化汞是较强的脂质过氧化诱导剂<sup>[3]</sup>, 本研究也证明了这一点, 推测氯化汞诱发的脂质过氧化增强可能是氯化汞中毒机制之一。

钙、铁、锌、铜等必需微量元素在体内具有重要的生理作用, 许多疾病均表现有上述金属浓度异常<sup>[4]</sup>。正常细胞内游离钙浓度较低, 但组织损伤时往往会引起细胞外钙内流<sup>[5~7]</sup>, 使细胞内钙浓度升高。本研究结果显示氯化汞引起小鼠肾脏钙浓度显著升高, 可达正常对照值的 3~4 倍, 与血清 Cr 和 BUN 及肾脏 LPO 值升高呈正相关。有文献报道, 正常机体中各种金属元素之间处于平衡状态, 但在金属中毒时常会使金属元素之间失去平衡<sup>[8]</sup>。本实验观察到注射氯化汞后也引起了小鼠肾脏中铁、锌、铜含量的明显升高, 推测这可能是氯化汞引起小鼠肾脏毒性的另一重要因素。

展 [J]. 卫生毒理学杂志, 1994, 8 (4): 271-274.

[2] ECETOC Structure-Activity Relationships in Toxicology and Ecotoxicology [Z]. An Assessment European Chemical Industry Ecology & Toxicology Center Monograph No. 8. Brussels; 1986. 24 February.

[3] Hatch FT, Colvin ME. Quantitative Structure-Activity (QSAR) Relationships of Mutagenic aromatic and heterocyclic amines [J]. Mutation Research, 1997, 376, 87-96.

[4] 彭绩, 宋瑞琨, 林琼芳, 等. 信息理论指数及其在有机磷农药毒性预测研究中的应用 [J]. 环境科学方法, 1996, 16 (3): 12-14.

[5] Briens F, Bureau R, Rault S, et al. Applicability of CoMFA in Ecotoxicology: A Critical Study on Chbropenols [J]. Ecotoxicology And Environmental Safety, 1995, 31, 37-38.

[6] 张桥. 卫生毒理学基础 [M]. 第 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 84.

[7] Veith GD, Call DJ, Brooke LT. Structure-Toxicity Relationships for the Fathead Minnow, *Pimephales promelas*; Narcotic industrial chemicals [J]. Canad J Fish Aquatic Sci, 1983, 40: 743-748.

[8] Chen J, Wang L, Lu G, et al. Quantitative Structure-Activity Relationships Studies of Selected Heterocyclic Nitrogen Compounds [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 58: 372-379.

[9] Chen JW, Liao YY, Zhao YH, et al. Quantitative Structure-Activity Relationships and mixture toxicity studies of heterocyclic Nitrogen compounds [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1996, 57: 77-83.

[10] Schultz TW, Bryant SE, Lin DT. Structure-toxicity relationships for Tetrahymena: aliphatic aldehydes [J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1994, 52: 279-285.

[11] King-Thom G, Leonid K, Alexanderk, et al. Review of mutagenicity of monocyclic aromatic amines: quantitative Structure-Activity Relationships [J]. Mutation Research, 1997, 387: 1-16.

参考文献:

[1] Uchiyama M and Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissue by thiobarbituric acid test [J]. Anal Biochem, 1978, 86: 271.

[2] Lowry OH, Rosebriugh NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with the folinphenol reagent [J]. J Biochem, 1952, 193: 233.

[3] 朱砂, 郑波, 杨茵, 等. 氯化汞的肝细胞毒性与脂质过氧化 [J]. 同济医科大学学报, 1993, 22 (6): 2-4.

[4] 和田攻. 微量元素的研究现状 [J]. 国外医学卫生学分册, 1991, (4): 238-240.

[5] Xie JM, Funakoshi T, Shimada H, et al. Effects of chelating agents on testicular toxicity in mice by acute exposure to nickel [J]. Toxicology, 1995, 103: 147.

[6] Xie JM, Funakoshi T, Shimada H, et al. Comparative effects of chelating agents on pulmonary toxicity of systemic nickel in mice [J]. J Appl Toxicol, 1996, 16: 317.

[7] 谢吉民, 胡继岳. 新型螯合剂对镍致小鼠肝脏毒性的影响 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 1997, 15 (6): 325.

[8] 连祥霖. 钼对汞毒性的保护作用 [J]. 工业卫生与职业病, 1995, 21 (3): 149-150.