有机污染物的混合毒性 QSAR 模型及其机制研究进展

王婷^①, 林志芬^{①②*}, 田大勇^③, 王大力^①, 孔令云^①, 仇雁翎^④

① 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室, 上海 200092;

② 区域环境质量协同创新中心, 北京 100084;

③ 安阳工学院化学与环境工程学院, 安阳 455000;

④ 同济大学, 上海市化学品分析、风险评估与控制重点实验室, 上海 200092

* 联系人, E-mail: lzhifen@tongji.edu.cn

2014-12-22 收稿, 2015-01-23 接受, 2015-03-17 网络版发表

国家自然科学基金(201177092, 21377096, U1404217)、同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室自主研究(重点)项目(PCRRY11003)、同济大学英才(攀登)计划(0400219287)和上海市科学技术委员会(14DZ2261100)资助

摘要 环境有机污染物的联合暴露是一条普遍规律. 化合物定量结构与活性相关研究(quantitative structure-activity relationship, QSAR)模型是研究有机污染物毒性的重要方法. 本文以有机污染物的混合毒性及其机制研究为主线, 将化合物按照毒性作用方式分为3类: 非极性麻醉型、极性麻醉型和反应性化合物, 并概述了3类化合物基于毒性作用机制的混合毒性QSAR模型. 简单综述了非极性麻醉型化合物混合毒性的定量预测方法, 发现非极性麻醉型化合物的毒性预测方法最为简单, 仅由混合体系的总疏水性决定, 可通过统一的QSAR模型预测; 概述了极性麻醉型化合物混合毒性的定量预测方法, 指出极性麻醉型化合物的混合毒性由混合体系总疏水性和氢键效应共同决定; 重点解析了反应性化合物的混合毒性QSAR模型, 发现由于反应性化合物作用机制较为复杂, 目前仍缺乏统一的混合毒性定量预测方法. 进一步从混合物组分、化合物之间相互作用和化合物与靶蛋白的相互作用3方面入手, 综述了反应性化合物混合毒性QSAR模型的最新研究进展. 最后指出, 采用基因组学和代谢组学等更为先进的实验手段进一步揭示化合物的分子生物学机制, 进而建立更为通用的有机污染物混合毒性预测方法是今后发展的方向.

关键词

混合毒性
毒性作用方式
毒性机制
疏水性
氢键

环境有机污染物的联合暴露是一条普遍规律. 然而, 当前环境质量标准的制定和生态风险评价通常以单一毒性数据为依据, 对联合毒性效应构成的潜在危害未予充分考虑. 因此, 对有机污染物的混合毒性效应研究具有重要的理论价值和实际意义, 有利于推动环境质量标准制定和提高生态风险评价的科学性和合理性.

化合物定量结构与活性相关研究(quantitative structure-activity relationship, QSAR)模型是预测有机污染物毒性的重要方法. QSAR是以模型的方式表征出有

机物的物理化学性质、环境行为和生态毒理学参数, 以及与其分子结构之间存在内在联系. 起初, QSAR是定量药物设计领域常见的一种理论化学方法, 后被学者广泛应用于环境毒理学领域, 建立了不同测试生物、不同实验终点的单一毒性QSAR模型^[1~3]. 近年来, 研究者基于单一化合物的QSAR模型, 按照化合物毒性作用方式将化合物分为非极性麻醉型、极性麻醉型和反应性化合物, 分别提出了相应混合QSAR模型. 对于非极性麻醉型化合物和极性麻醉型化合物, 在单一化合物理化参数(正辛醇/水分配系数 K_{ow} 、

引用格式: 王婷, 林志芬, 田大勇, 等. 有机污染物的混合毒性 QSAR 模型及其机制研究进展. 科学通报, 2015, 60: 1771–1780

Wang T, Lin Z F, Tian D Y, et al. QSAR models and their corresponding toxicity mechanism for mixture toxicity of organic pollutants (in Chinese). Chin Sci Bull, 2015, 60: 1771–1780, doi: 10.1360/N972014-01380

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N972014-01380>

氢键效应(α^H , β^H)等)基础上,研究者提出了一些混合化合物的理化参数(如混合物分配系数 K_{MD} , 混合物氢键效应(A^{MH} , B^{MH})和混合物酶活性抑制参数(I_{50M})等),并采用这些混合物理化参数对相应混合污染物进行了QSAR的系列研究,建立了统一的QSAR模型^[4-11],推动了混合污染物QSAR的进一步发展.然而对于反应性化合物,由于混合物组分的多样性、组分之间化学反应的不确定性以及化合物目标靶蛋白识别的复杂性等,目前尚未建立统一的QSAR模型.

本文以有机污染物的混合毒性及其机制研究为主线,将化合物按照毒性作用方式分为3类:非极性麻醉型、极性麻醉型和反应性化合物,并概述了3类化合物基于毒性作用机制的混合毒性QSAR定量预测方法的研究进展.指出目前混合毒性QSAR预测模型研究存在的问题,展望了有机污染物混合毒性及其机制的研究方向.

1 非极性麻醉型化合物混合毒性QSAR模型及毒性作用机制

非极性麻醉型化合物,也称为惰性化合物,是指在急性毒性作用时不与特定生物体受体发生相互作用的化合物.这种化合物产生毒性完全依赖于其疏水性,称之为基本毒性^[12].因此,非极性麻醉型化合物毒性的预测仅采用其疏水性参数预测即可.

目前,有很多参数用以表征化合物的疏水性,如正辛醇-水分配系数($\log K_{ow}$)、 C_{18} -膜/水分配系数($\log K_{SD}$)、油水分配系数($\log P$)等,并建立了相应的单一QSAR模型^[9,13].但是应用到混合物混合毒性预测领域的只有 $\log K_{ow}$ 和 $\log K_{SD}$ 2个参数,它们的混合疏水性参数分别为混合辛醇水分配系数($\log K_{owmix}$)和混合 C_{18} -膜/水分配系数($\log K_{MD}$).采用这2个参数,研究者建立了一系列麻醉型混合物毒性预测QSAR模型^[9,14].

1.1 基于 $\log K_{owmix}$ 的非极性麻醉型化合物混合毒性预测模型

$\log K_{ow}$ 是最经典的表征化合物疏水性的参数,大量研究采用该参数建立了相应的QSAR模型预测不同生物、不同测试终点的毒性^[15].Wang等人^[16]研究了15种烷醇对明亮发光杆菌的15 min发光抑制,构建了基于正辛醇/水分配系数 $\lg K_{ow}$ 的单一QSAR模型(其

中 EC_{50} 表示半数效应浓度):

$$\log(1/EC_{50}) = 1.128 \log K_{ow} - 2.242, \\ n = 15, r^2 = 0.990. \quad (1)$$

本文引用方程中用以评价方程质量的参数包括: n (样品数), r (相关系数), P (回归方程的显著性), F (F 值检验回归是否有效), SD 和 SE (标准偏差).

基于拉乌尔定律(理想溶液的蒸汽压等于单一化合物的蒸汽压乘以化合物的摩尔分数),Altenburger等人^[13]提出 $\log K_{owmix}$ 计算方法:

$$\log K_{owmix} = \sum [x_i (K_{ow})_i], \quad (2)$$

其中, $(K_{ow})_i$ 为化合物 i 的辛醇水分配系数, x_i 为化合物 i 在混合物中的摩尔分数.

在此基础上,Altenburger等人^[13]还提出了混合毒性计算的QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = a \log K_{owmix} + b. \quad (3)$$

采用Altenburger等人^[13]提出的方法,Wang等人^[16]建立了15种烷基醇对明亮发光杆菌的急性毒性QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 1.094 \log K_{owmix} - 2.150, \\ n = 45, r^2 = 0.991. \quad (4)$$

Huang等人^[17]建立了取代醇对蝌蚪的混合毒性QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 0.876 \log K_{owmix} + 1.445, \\ n = 23, r^2 = 0.88, SE = 0.089, F = 160, P < 0.000001. \quad (5)$$

以上采用 $\log K_{owmix}$ 表征非极性麻醉型化合物疏水性建立的QSAR模型具有很好的相关性,证明 $\log K_{owmix}$ 是表征非极性麻醉型化合物疏水性和预测其毒性的有效参数.

1.2 基于 $\log K_{MD}$ 的非极性麻醉型化合物混合毒性预测模型

$\log K_{SD}$ 由Verhaar等人^[18,19]根据 C_{18} 反相液相色谱容量因子和 K_{ow} 的线性关系,提出 $\log K_{SD}$ 与 K_{ow} 的关系:

$$\log K_{SD} = 0.995 \log K_{owmix} + 0.70, \\ n = 18, r^2 = 0.93, SE = 0.24. \quad (6)$$

Wang等人^[20]采用 $\log K_{SD}$ 可预测单一全氟羧酸对发光菌的急性毒性:

$$\log(1/EC_{50}) = 0.0991 \log K'_{SD} + 0.70, \\ n = 12, r^2 = 0.964, SD = 0.06818, F = 294.535, P = 0.000. \quad (7)$$

之后,为了研究环境中混合污染物的疏水性, K_{SD} 扩展到混合领域.计算方法如下:

$$K_{MD} = \frac{W}{V} \times \frac{\sum_{i=1}^n \frac{Q_{water,i}^0}{1 + \frac{W}{VK_{SDi}}}}{\sum_{i=1}^n Q_{water,i}^0 - \sum_{i=1}^n \frac{Q_{water,i}^0}{1 + \frac{W}{VK_{SDi}}}}, \quad (8)$$

其中, K_{MD} 为混合物 C_{18} -膜/水分配系数, W 为溶液的体积, V 为疏水相的体积, $Q_{water,i}^0$ 为化合物 i 在水中的初始浓度.

Zeng等人^[14]采用 $\log K_{MD}$ 建立了混合卤代苯对湛江叉鞭金藻的毒性预测QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 0.836 \log K_{MD} - 0.311, \\ n = 49, r^2 = 0.879, SE = 0.124, F = 341.239, P < 0.001. \quad (9)$$

Lin等人^[9]则利用该参数建立了混合卤代苯对明亮发光杆菌的毒性预测QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 0.928 \log K_{MD} + 0.224, \\ n = 74, r^2 = 0.953, SE = 0.130, F = 1461.932, P < 0.0001. \quad (10)$$

Lin等人^[4]还采用该参数建立了海洋有机污染物对明亮发光杆菌的混合毒性预测QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 0.820 \log K_{MD} + 1.62, \\ n = 50, r^2 = 0.874, SE = 0.111, F = 333.075, P < 0.001. \quad (11)$$

Wang等人^[20]采用该参数建立了全氟羧酸对明亮发光杆菌混合毒性预测的QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 0.100 \log K'_{MD} + 3.924, \\ n = 17, r^2 = 0.941, SD = 0.068, F = 255.457, P = 0.000. \quad (12)$$

以上研究表明,采用 $\log K_{MD}$ 表征非极性麻醉型化合物的疏水性,也可成功预测其混合毒性.证明 $\log K_{MD}$ 是表征非极性麻醉型化合物疏水性和预测其毒性的有效参数.

综上所述,无论对于单一毒性还是混合毒性,非极性麻醉型化合物的毒性仅与疏水性相关,采用疏水性参数即可成功预测非极性麻醉型化合物的毒性.

2 极性麻醉型化合物混合毒性QSAR模型及毒性作用机制

极性麻醉型化合物毒性略高于麻醉型化合物的

基本毒性,但远低于反应型毒性.从化学结构上来看,这些化合物往往具有一些氢键供体酸度,如酚类和苯胺类化合物^[21].因此,其毒性由疏水性和氢键作用共同决定.

其中,疏水性参数计算方法在前文已描述.氢键作用最常用的定量参数是由Feng等人^[22]提出的Lewis酸(A)和碱(B):

$$A = \log K_{bw} - \log K_{cw}, \quad (13)$$

$$B = \log K_{chw} - \log K_{tw}, \quad (14)$$

其中, K_{bw} 为正丁醚/水分配系数, K_{cw} 为环己烷/水分配系数, K_{chw} 为氯仿/水分配系数, K_{tw} 为四氯化碳/水分配系数.

Lin等人^[23]借鉴了 $\log K_{MD}$ 的计算方法,得出了式(13)和(14)中 K_{bw} , K_{cw} , K_{chw} , K_{tw} 的混合分配系数计算方法,进而提出了混合氢键效应的定量表征方法:

$$A^{MH} = \log K_{mbw} - \log K_{mcw}, \quad (15)$$

$$B^{MH} = \log K_{mchw} - \log K_{mtw}, \quad (16)$$

其中, A^{MH} , B^{MH} 为混合物的总氢键效应, K_{mbw} 为混合正丁醚/水分配系数, K_{mcw} 为混合环己烷/水分配系数, K_{mchw} 为混合氯仿/水分配系数, K_{mtw} 为混合四氯化碳/水分配系数.

Lin等人^[23]采用 $\log K_{MD}$ 表征混合物的疏水性,采用式 A^{MH} , B^{MH} 表征混合物的氢键效应,成功建立QSAR模型预测了极性麻醉型化合物的混合毒性:

$$\log(1/EC_{50mix}) = 1.085 + 0.830 \log K_{MD} + 0.525 A^{MH} \\ + 2.71 \times 10^{-3} B^{MH}, \\ n = 84, r^2 = 0.948, SE = 0.167, F = 490.673, P = 0.000. \quad (17)$$

式(17)具有很好的相关性($r^2 = 0.948$),表明极性麻醉型化合物的混合毒性由疏水性和氢键作用共同决定,采用疏水性参数和氢键表征参数可以预测极性麻醉型化合物的混合毒性.

3 反应性化合物混合毒性QSAR模型及毒性作用机制

反应性化合物具有特定的化学结构,可以与生物分子发生相互作用或体内的化学反应(例如,环氧化合物可与生物体内缩氨酸半胱氨酸残基上的巯基反应);或者它们进入体内后被代谢成毒性更强的物质,导致其毒性远高于基本毒性.

目前,已有相关研究建立了一些反应性化合物的QSAR模型.Wang等人^[24]研究了取代苯甲醛对明

亮杆菌的联合毒性,用量子化学参数生成焓(HOF)、分子量(M_w)、最负原子电荷(q^-)、核排斥能(CCR)构建了22种取代苯甲醛单一QSAR预测模型:

$$\begin{aligned}\log(1/EC_{50}) = & 0.0015 \times \text{HOF} + 0.0093 \times M_w - 45.33q^- \\ & - 0.0037 \times \text{CCR} - 20.634, \\ n = & 22, r^2 = 0.903.\end{aligned}\quad (18)$$

Huang等人^[25]研究腈化合物对月牙藻的毒性发现,以溶解氧消耗为测定终点时比以生长抑制为终点时更为灵敏,2种测定终点分别构建单一QSAR模型如下:

$$\begin{aligned}\log(1/EC_{50}) = & 1.51 + 0.0056 \log K_{ow} - 52.14E_{\text{lomo}}, \\ n = & 10, r^2 = 0.92 (\text{以溶解氧消耗为测定终点});\end{aligned}\quad (19)$$

$$\begin{aligned}\log(1/EC_{50}) = & 1.65 + 0.19 \log K_{ow} - 47.20E_{\text{lomo}}, \\ n = & 9, r^2 = 0.92 (\text{以生长抑制为终点}).\end{aligned}\quad (20)$$

由以上QSAR模型可知,对于反应性化合物来说,仅用疏水性参数难以描述其毒性变化,其毒性机制更多的与其反应性有关.由于反应性化合物与生物分子结合的反应机制千差万别,因此,对反应性化合物要按不同机制分类构建QSAR模型.

对于单一反应性化合物,其与生物分子结合的机制千差万别,明确每种结合机制并选取适合的参数加以描述,是解决单一反应性化合物毒性预测的有效途径.对于反应性混合物,其混合毒性受到混合物组分、组分浓度比例及组分之间的化学反应影响,混合毒性机制复杂.对于无相互作用的混合体系,其混合毒性作用取决于各组分自身单一毒性,其混合毒性作用机制也是单个组分毒性机制的相加;对于有相互作用的混合体系(协同或者拮抗效应),混合毒性取决于相互作用的结果.因此,必须明晰单一反应性化合物的毒性作用机制,了解组分、组分比例和化学反应对混合物混合毒性的影响并找到量化表征参数是建立合适QSAR模型的有效方法.

3.1 组分对混合毒性的影响

组分对混合毒性的影响不仅与混合物组分数目相关,还与组分性质和各组分浓度(毒性比)相关.

(i) 组分数目对混合毒性的影响. 组分数目的增加导致化合物间相互作用减弱,毒性趋近于加和毒性. Warne和Hawker^[26]研究了麻醉型混合物的混合毒性效应,提出的一个漏斗假设理论指出,对于麻醉型化合物,组分数目的增加将导致化合物间相互作用减弱,并提出组分数目大于8时,联合作用方式为

相加.这种随着组分数目增加、联合毒性减弱的效应机制可以看作是溶解和稀释作用所致. Tian等人^[27]研究反应性混合物(腈类和醛类化合物)的联合效应时也发现了相似趋势.如图1所示,对于联合作用方式为拮抗和协同的混合物(图1(a)~(c)),随着组分数目的增加,反应型混合体系的联合效应减弱,最终表现为加和效应.对于联合作用方式为相加的混合物(图1(d)),随着组分数目的增加,混合体系的联合作用方式仍为相加.也就是说,协同或拮抗作用主要发生在组分数目较少的混合物体系中.随着组分数目的增加,协同或拮抗效应发生的可能性逐渐减小.但是Tian等人^[27]指出,与麻醉型混合物不同,对于不同反应型混合体系,要想获得一个统一的临界组分数目(当混合物中组分数目大于此临界数目时,混合物呈现加和效应)非常困难.这是因为混合物的联合毒性效应不仅与组分数目有关,而且与关键组分和毒性比有关.

(ii) 关键组分对混合毒性的影响. 在混合体系中,当新增加组分能和体系中原有的某一组分产生较强联合效应时,混合体系的联合毒性效应将会增强,这些能产生较强联合毒性效应的组分是决定多元混合体系联合毒性效应的关键组分.这些关键组分对多元混合体系联合毒性效应的贡献大于其他组分对混合体系联合毒性效应的贡献.组分相对较少的多元混合体系的联合毒性效应强弱接近其中关键组分的联合毒性效应.

图2列出了在等毒性比混合物中关键组分对联合毒性的影响^[27].图2中的实线表示不包含甲醛的混合体系,用实线绘制的9元和10元混合体系表示在8元混合体系中依次加入对氯苯甲醛和对二甲胺基苯甲醛;用虚线表示的9元和10元混合体系是在同一个8元体系中加入甲醛和丁醛构成.从图2可以看出,由于甲醛的加入,联合毒性效应变得更强而不是减弱.该研究结果表明,关键组分对混合体系联合毒性效应有决定性影响.

(iii) 化合物毒性比对混合毒性的影响. 毒性比指一个混合体系中单一组分的浓度表示为 EC_{50} 倍数时它们倍数的比值.混合毒性效应随着毒性比从等毒性向非等毒性比偏移,混合毒性效应趋近于加和效应. Lin等人^[28]提出顶点假设解释了毒性比对腈醛二元混合体系联合毒性效应的影响(图3).当二元混合体系组成为等毒性比时,联合效应最强;随着毒性

图1 (网络版彩色)组分数目对多元等毒性比混合体系联合毒性效应的影响

Figure 1 (Color online) The influence of number of components on joint effects for multicomponents mixtures at equitoxic ratios

图2 (网络版彩色)关键组分对多元等毒性比混合体系联合毒性效应的影响

Figure 2 (Color online) Influence of component properties on the joint effects of multicomponent mixtures

比向非毒性比偏移时, 联合效应减弱, 最终趋向于加和效应。

此后, Tian等人^[27]研究了腈醛多元混合体系联合效应随毒性比的变化(图4)。从图4可以看出, 对于多元混合体系来说, 等毒性比时, 联合效应最强, 随着毒性比向非等毒性比偏移, 联合效应减弱, 最终趋向

图3 顶点假设示意图

Figure 3 Outline of the climax hypothesis

加和效应, 这与顶点假设结果一致。此研究证明, 顶点假设不仅适用于二元混合体系, 也适用于多元混合体系。

此外, Li等人^[29]提出“钓鱼假说”解释多元非等毒性比腈醛混合体系联合毒性效应变化规律(图5), 指出腈醛混合体系联合毒性效应取决于化合物的浓度和

图4 (网络版彩色)毒性比对3元、4元和5元混合体系联合毒性效应的影响

Figure 4 (Color online) Joint effects of quaternary, ternary and quinary mixtures at non-equitoxic and equitoxic ratios

腈醛反应能力大小, 腈醛多元混合物总的联合毒性效应介于相应的二元组分混合物联合毒性效应之间。

综上所述, 组分对于联合毒性的影响体现在3个方面: 组分数目、组分性质(关键组分)和组分的毒性

比(浓度)。总的来说, 在新增加的组分不与现有组分产生更强联合毒性效应的情况下, 随着组分数目的增加, 联合毒性效应趋近于加和。相反, 如果所增加的组分能够与现有组分发生较强的联合毒性效应,

图5 (网络版彩色)“钓鱼假说”示意图

Figure 5 (Color online) Outline of the fishing hypothesis

且这种效应大大强于现有组分间的联合毒性效应,那么混合体系的联合毒性效应将随着新组分的增加而增强.

3.2 化合物之间相互作用对混合毒性的影响

(i) 化学反应对混合毒性的影响. 对于混合物组分之间产生化学反应的混合毒性,组分之间的反应性差异决定了联合效应的大小. Lin等人^[7]研究了腈醛化合物对明亮发光杆菌的联合效应. 其中,腈醛混合体系的胞内化学反应可以分为2步(图6): (1) 腈化合物在胞内水解酶作用下释放氰离子; (2) 氰离子与醛化合物发生胞内反应生成氰醇碳负离子中间体.

采用取代基Hammett常数(σ_p)来描述醛化合物的毒性,用氰基相连的碳原子电荷来描述腈化物的毒性贡献,其联合毒性效应(TU)的QSAR模型如下:

$$TU_{sum}^{1:1} = 0.367 - 0.811 \times \sigma_p - 6.704 C^*, \\ n=40, r^2=0.868. \quad (21)$$

基于该QSAR模型,该研究组发现,腈醛混合物的联合毒性效应与醛化合物和腈水解产物的反应性差异有关,反应性差异越大,协同效应越强.

(ii) 化合物的碰撞机率对混合毒性的影响. 化合物的碰撞机率也是影响混合毒性的重要因素. Tian

图6 (网络版彩色)腈醛化合物胞内化学反应示意图

Figure 6 (Color online) Outline of chemical reaction of cyanogenic chemicals and aldehydes chemicals

等人^[30]研究非等毒性比腈醛化合物联合毒性效应的机制时,采用原子电荷(C^*)和取代基常数(σ_p)分别描述组分的反应性贡献,用组分的百分浓度 $C_A/\sum C_i$ 和 $C_B/\sum C_i$ 分别描述腈化合物和醛化合物的表观浓度比,得到预测 TU_{sum} 的定量模型:

$$TU_{sum} = -0.231 - 7.40 \times C^* \\ \times \lg \frac{C_A}{\sum C_i} - 0.459 \times (1 + \sigma_p) \times \lg \frac{C_B}{\sum C_i}. \\ n=13, r^2=0.976. \quad (22)$$

并指出,腈醛系数比k:

$$k = \frac{C^* \times \lg \frac{C_A}{\sum C_i} \text{的系数}}{(1 + \sigma_p) \times \lg \frac{C_B}{\sum C_i} \text{的系数}}$$

与腈醛化合物的摩尔体积比相关. 表明腈醛混合体系的联合毒性效应与组分的摩尔体积比有关. 因此,摩尔体积可以看作表征分子碰撞机会的有效分子结构描述符.

(iii) 化合物原子电荷对混合毒性的影响. 传统化学反应理论认为,化学反应的本质是旧化学键的断裂和新化学键的形成,而化学键的断裂和形成又与化合物关键原子电荷有着本质联系. 这揭示了关键原子电荷与联合毒性效应的关系,进而了解本质机制是解释混合毒性的重要方法.

Tian等人^[31]研究了腈醛混合体系的胞内化学反应,反应过程如图6所示. 采用腈化合物上与氰基相连的碳链碳原子电荷($C_{\text{cyanogenic toxicant}}$)描述混合物中腈化合物的反应性,羰基上氧原子电荷可以用来描述醛化合物的反应活性($O_{\text{aldehyde toxicant}}$). 据此建立了基于关键原子电荷的混合物联合效应的QSAR模型,从而证明腈醛化合物关键原子电荷决定腈醛联合毒性效应的本质机制:

$$TU_{sum}^{1:1} = -27.6 \times O_{\text{aldehyde toxicant}} - 5.22 \times C_{\text{cyanogenic toxicant}} - 6.97, \\ n=76, r^2=0.887, SE=0.195, F=140, P<0.001, q^2_{\text{Loo}}=0.748. \quad (23)$$

3.3 化合物与靶蛋白的相互作用

(i) 化合物与目标靶蛋白的相互作用. 从化合物毒性过程来看,化合物的毒性由3部分组成:化合物跨膜过程、化合物之间的相互作用和化合物与目标靶蛋白的相互作用. 对于化合物之间无相互作用的化合物,毒性仅由化合物跨膜过程和化合物与目标

靶蛋白的相互作用决定. 对于这类混合物, 采用适当参数表征跨膜过程以及化合物与目标靶蛋白的相互作用即可建立统一的QSAR模型.

Yao等人^[32]采用 $\log K_{\text{owmix}}$ 表征混合物的跨膜过程, 结合能 E_{binding} 表征化合物与靶蛋白的相互作用, 分别研究了作用于同一蛋白同一位点、同一蛋白不同位点和不同蛋白的混合物. 结果表明, 这3种混合物可用统一的QSAR模型预测混合毒性:

$$\log(1/EC_{50}) = x_1 E_{\text{binding}1} + x_2 E_{\text{binding}2} + x_3 \log K_{\text{owmix}} + a, \quad (24)$$

其中 x_1, x_2, x_3, a 为方程回归参数. 该模型从化合物毒性过程出发, 揭示了混合物毒性作用机制.

(ii) 急性毒性与慢性毒性靶蛋白的差异. 急性毒性和慢性毒性之间因为化合物暴露时间的不同, 其目标靶蛋白也有所不同. 因此, 了解化合物急性和慢性毒性作用过程的不同, 确定急性和慢性毒性作用的靶蛋白对于建立混合物毒性预测QSAR模型至关重要. Zou等人^[33]研究了磺胺类抗生素及其增效剂对明亮发光杆菌的急性 and 慢性毒性实验, 发现急性与慢性毒性的差异主要因为作用靶蛋白的差异. 在急性毒性中, 磺胺类抗生素及其增效剂的靶蛋白是荧光素酶(Luc), 而在慢性毒性中, 磺胺类抗生素的作用蛋白是二氢叶酸合成酶(Dhps), 增效剂的作用蛋白是二氢叶酸还原酶(Dhfr).

依据作用靶蛋白的不同, Zou等人^[33]分别建立了混合急性毒性和慢性毒性的QSAR模型. 其中, 磺胺类抗生素(sulfonamide antibiotics, SAs)进入细胞能力采用 pK_a 来表征, 与受体荧光素酶(Luc)的结合作用可采用 $E_{\text{binding}}^{\text{Luc-SA}}$ 来表示, 采用 $E_{\text{binding}}^{\text{Luc-TMP}}$ 来表征磺胺类抗生素增效剂TMP与Luc的结合, 与受体Dhps的结合作用可采用 $E_{\text{binding}}^{\text{Dhps-SA}}$ 来表示, 采用 $E_{\text{binding}}^{\text{Dhfr-TMP}}$ 来表征磺胺类抗生素增效剂TMP与Dhfr的结合, 分别得到了急慢性毒性QSAR模型:

$$\log(1/EC_{50}^{15m}) = 2.318 + 0.118 \times pK_a + 0.027 \times \frac{C_i^{\text{SA}}}{\sum C_i} \times E_{\text{binding}}^{\text{Luc-SA}} - 0.001 \times \frac{C_i^{\text{TMP}}}{\sum C_i} \times E_{\text{binding}}^{\text{Luc-TMP}}, \quad (25)$$

$n=7, r^2=0.954, SE=0.028, F=20.659, P=0.017$ (急性毒性);

$$\log(1/EC_{50}^{24h}) = 4.033 - 0.102 \times pK_a - 0.027 \times \frac{C_i^{\text{SA}}}{\sum C_i} \times E_{\text{binding}}^{\text{Dhps-SA}} - 0.056 \times \frac{C_i^{\text{TMP}}}{\sum C_i} \times E_{\text{binding}}^{\text{Dhfr-TMP}}, \quad (26)$$

$n=7, r^2=0.965, SE=0.107, F=27.552, P=0.011$ (慢性毒性).

此外, Zou等人^[33]还发现, 急性联合毒性及慢性联合毒性测试体系中各受体结合能前的拟合系数并不一致. 式(25)和(26)中采用 $C_i^{\text{SA}}/\sum C_i$ 表征抗生素单一组分在混合体系中的表观浓度, 而 $C_i^{\text{TMP}}/\sum C_i$ 的系数表征在联合毒性体系中抗生素与受体结合的有效浓度. 研究发现, 在急性联合毒性中, 急性联合毒性体系中磺胺与TMP的表观浓度比值($C_{\text{ac}}^{\text{SA}}/\sum C_{\text{ac}}^{\text{TMP}}$)为2.25~54.00, 而其有效浓度比值仅为0.08~2.00, 表明在毒性结合的有效浓度上, 磺胺与受体的结合较多; 在慢性联合毒性体系中, SAs与TMP的表观浓度比值($C_{\text{ac}}^{\text{SA}}/\sum C_{\text{ac}}^{\text{TMP}}$)为1.02~15.59, 而其有效浓度比值为2.08~33.33, 表明磺胺及TMP与其受体的结合相当. 因此, 抗生素与受体结合的有效浓度差异也是导致其在急性-慢性联合毒性差异的原因之一.

4 研究问题和展望

混合毒性及其机制的研究还处于起步阶段, 存在以下一些问题:

(1) 从混合毒性实验所采用的模式生物方面来说, 混合毒性研究中多采用明亮发光杆菌等低等生物为模式生物进行研究, 对于其他模式生物, 如小鼠、斑马鱼等营养级别稍高的模式生物, 其毒性机制及联合毒性效应是否适用仍未知.

(2) 从混合毒性表征手段方面来说, 目前混合毒性QSAR预测模型中采用的测试终点多为致死率等宏观指标, 缺乏更准确的微观实验手段.

针对以上这些问题, 后续的研究工作应该包括: 以高等生物为模式生物, 建立一个从低等生物混合毒性向高等生物混合毒性外推的模型; 采用基因组学和代谢组学方法, 从微观水平来进一步揭示反应型化合物混合毒性的分子生物学机制, 建立更为通用的预测多元混合非等毒性比混合毒性效应的QSAR模型.

参考文献

- 1 Kaiser K L E. The use of neural networks in QSARs for acute aquatic toxicological endpoints. *J Mol Struc Theochem*, 2003, 622: 85–95
- 2 Moridani M Y, Galati G, O'Brien P J. Comparative quantitative structure toxicity relationships for flavonoids evaluated in isolated rat hepatocytes and HeLa tumor cells. *Chem Biol Interact*, 2002, 139: 251–264
- 3 Russom C L, Bradbury S P, Broderius S J, et al. Predicting modes of toxic action from chemical structure: Acute toxicity in the fathead minnow (*Pimephales promelas*). *Environ Toxicol Chem*, 1997, 16: 948–967
- 4 Lin Z, Yu H, Wei D, et al. Prediction of mixture toxicity with its total hydrophobicity. *Chemosphere*, 2002, 46: 305–310
- 5 Lin Z, Yu H, Gao S, et al. Development of the fragment constant method for estimating the partition coefficients of nonionic organic mixtures. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2001, 41: 255–260
- 6 Lin Z, Yin K, Shi P, et al. Development of QSARs for predicting the joint effects between cyanogenic toxicants and aldehydes. *Chem Res Toxicol*, 2003, 16: 1365–1371
- 7 Lin Z, Wei D, Wang X, et al. Chemical-chemical interaction between cyanogenic toxicants and aldehydes: A mechanism-based QSAR approach to assess toxicological joint effects. *SAR QSAR Environ Res*, 2004, 15: 127–138
- 8 Lin Z, Wang L, Shi P, et al. Development of a fragment constant method for estimating the mixture toxicity. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2004, 46: 1–7
- 9 Lin Z, Shi P, Gao S, et al. Use of partition coefficients to predict mixture toxicity. *Water Res*, 2003, 37: 2223–2227
- 10 Lin Z, Niu X, Wu C, et al. Prediction of the toxicological joint effects between cyanogenic toxicants and aldehydes to *Photobacterium phosphoreum*. *QSAR Comb Sci*, 2005, 24: 354–363
- 11 Lin Z, Kong D, Zhong P, et al. Influence of hydroxypropylcyclodextrins on the toxicity of mixtures. *Chemosphere*, 2005, 58: 1301–1306
- 12 van Leeuwen C J, van Der Zandt P T J, Aldenberg T, et al. Application of QSARs, extrapolation and equilibrium partitioning in aquatic effects assessment. I. Narcotic industrial pollutants. *Environ Toxicol Chem*, 1992, 11: 267–282
- 13 Altenburger R, Nendza M, Schüürmann G. Mixture toxicity and its modeling by quantitative structure-activity relationships. *Environ Toxicol Chem*, 2003, 22: 1900–1915
- 14 Zeng M, Lin Z, Yin D, et al. QSAR for predicting joint toxicity of halogenated benzenes to *Dicrateria zhanjiangensis*. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2008, 81: 525–530
- 15 Wayne S T, Wyatt N L, Lin D T. Structure-toxicity relationships for nonpolar narcotics: A comparison of data from the tetrahymena, photobacterium and pimephales systems. *Bull Environ Contam Toxicol*, 1990, 44: 67–72
- 16 Wang B, Yu G, Zhang Z L, et al. Quantitative structure-activity relationship and prediction of mixture toxicity of alkanols. *Chin Sci Bull*, 2006, 51: 2717–2723
- 17 Huang H, Wang X, Shao Y, et al. QSAR for prediction of joint toxicity of substituted phenols to tadpoles (*Rana japonica*). *Bull Environ Contam Toxicol*, 2003, 71: 1124–1130
- 18 Verhaar H J M, Van Leeuwen C J, Bol J, et al. Application of QSARs in risk management of existing chemicals. *SAR QSAR Environ Res*, 1994, 2: 39–58
- 19 Verhaar H J M, Busser F J, Hermens J L. Surrogate parameter for the baseline toxicity content of contaminated water: Simulating the bio-concentration of mixtures of pollutants and counting molecules. *Environ Sci Technol*, 1995, 29: 726–734
- 20 Wang T, Lin Z, Yin D, et al. Hydrophobicity-dependent QSARs to predict the toxicity of perfluorinated carboxylic acids and their mixtures. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2011, 32: 259–265
- 21 Veith G D, Broderius S J. Rules for distinguishing toxicants that cause type I and type II narcosis syndromes. *Environ Health Perspect*, 1990, 87: 207–211
- 22 Feng L, Han S, Zhao Y, et al. Quantification and application of Lewis acidity and Basicity of benzene and its derivatives. *Toxicol Environ Chem*, 1996, 53: 119–126
- 23 Lin Z, Zhong P, Yin K, et al. Quantification of joint effect for hydrogen bond and development of QSARs for predicting mixture toxicity. *Chemosphere*, 2003, 52: 1199–1208
- 24 Wang B, Yu G, Hu H, et al. Quantitative structure-activity relationships and mixture toxicity of substituted benzaldehydes to photobacterium phosphoreum. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2007, 78: 503–509
- 25 Huang C P, Wang Y J, Chen C Y. Toxicity and quantitative structure-activity relationships of nitriles based on *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Ecotox Environ Safe*, 2007, 67: 439–446
- 26 Warne M S J, Hawker D W. The number of components in a mixture determines whether synergistic and antagonistic or additive toxicity predominate: The funnel hypothesis. *Ecotox Environ Safe*, 1995, 31: 23–28

- 27 Tian D, Lin Z, Yu J, et al. Influence factors of multicomponent mixtures containing reactive chemicals and their joint effects. *Chemosphere*, 2012, 88: 994–1000
- 28 Lin Z, Ping Z, Kong D, et al. The ratios of individual chemicals in a mixture determine the degree of joint effect: The climax hypothesis. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2005, 49: 1–8
- 29 Li W, Tian D, Lin Z, et al. Study on the variation rules of the joint effects for multicomponent mixtures containing cyanogenic toxicants and aldehydes based on the transition state theory. *J Hazard Mater*, 2014, 267: 98–108
- 30 Tian D, Lin Z, Zhou X, et al. The underlying toxicological mechanism of chemical mixtures: A case study on mixture toxicity of cyanogenic toxicants and aldehydes to *Photobacterium phosphoreum*. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 272: 551–558
- 31 Tian D, Lin Z, Yin D, et al. Atomic charges of individual reactive chemicals in binary mixtures determine their joint effects: An example of cyanogenic toxicants and aldehydes. *Environ Toxicol Chem*, 2012, 31: 270–278
- 32 Yao Z, Lin Z, Wang T, et al. Using molecular docking-based binding energy to predict toxicity of binary mixture with different binding sites. *Chemosphere*, 2013, 92: 1169–1176
- 33 Zou X, Lin Z, Deng Z, et al. The joint effects of sulfonamides and their potentiator on *Photobacterium phosphoreum*: Differences between the acute and chronic mixture toxicity mechanisms. *Chemosphere*, 2012, 86: 30–35

QSAR models and their corresponding toxicity mechanism for mixture toxicity of organic pollutants

WANG Ting¹, LIN ZhiFen^{1,2}, TIAN DaYong³, WANG DaLi¹, KONG LingYun¹ & QIU YanLing⁴

¹ State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Tongji University, Shanghai 200092, China;

² Collaborative Innovation Center for Regional Environmental Quality, Beijing 100084, China;

³ College of Chemical and Environmental Engineering, Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, China;

⁴ Shanghai Key Laboratory of Chemical Analysis, Risk Assessment and Control, Tongji University, Shanghai 200092, China

Environmental contaminants are frequently encountered as mixtures rather than single chemicals. However, current environmental quality standards and ecological risk assessments are mainly based on single toxicities, and pay little attention to the potential hazards of mixture exposure. The study of mixture toxicity is therefore not only of theoretical value, but also of deep practical significance. This review mainly focuses on quantitative structure-activity relationship (QSAR) models for mixture toxicities of organic pollutants and the corresponding toxicity mechanisms. The organic pollutants are classified as non-polar narcosis chemicals, polar narcosis chemicals, and reactive chemicals, according to their modes of action. QSAR models of the three types of chemical are described based on their toxicity mechanisms respectively. QSAR models of non-polar narcosis chemicals are described. The QSAR models of the mixture toxicities of non-polar narcosis chemicals are the simplest. The toxicity only depends on the total hydrophobicity of the mixture and can be predicted using a uniform model. QSAR models for polar narcosis chemicals are summarized. The toxicities of narcosis chemicals are determined not only by the total hydrophobicity but also by hydrogen-bonding effects. QSAR models for reactive chemicals are described in detail. There is no uniform model, because the toxicity mechanisms of the reactive chemicals are complicated. However, three aspects of the latest research on quantitative prediction methods for toxicities of mixtures containing reactive chemicals are summarized: the factors affecting multicomponent mixtures containing reactive chemicals; the interactions among the single chemicals in the mixture; and the interactions between the chemicals and the target protein. It is pointed out that identifying the molecular biological mechanisms of chemicals using advanced experimental methods (such as genomics and metabolomics) and formulating a common prediction model based on these mechanisms should be the direction of future developments.

mixture toxicity, mode of action, toxicity mechanism, hydrophobicity, hydrogen bond

doi: 10.1360/N972014-01380