

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20190515001

李敏, 殷茂娇, 朱娟娟, 等. 卤代肉桂酸对羊角月牙藻的急性毒性及 3D-QSAR 研究[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(4): 175-182

Li M, Yin M J, Zhu J J, et al. Acute toxicity and 3D-QSAR studies on halogenated cinnamic acids to microalga *Selenastrum capricornutum* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(4): 175-182 (in Chinese)

卤代肉桂酸对羊角月牙藻的急性毒性及 3D-QSAR 研究

李敏^{1,2}, 殷茂娇¹, 朱娟娟^{1,2}, 马海军^{1,2,*}

1. 北方民族大学生物科学与工程学院, 银川 750021

2. 宁夏葡萄与葡萄酒技术创新中心, 银川 750021

收稿日期: 2019-05-15 录用日期: 2019-07-04

摘要: 卤代肉桂酸类化合物广泛用于医药、化妆品和除草剂等生产制造, 随着使用量的增加, 其生态环境健康风险逐渐受到关注。为揭示该类化合物的毒性特征, 选择 14 种卤代肉桂酸作为研究对象, 考察了它们对羊角月牙藻的急性毒性效应, 并应用三维定量构效相关技术(3D-QSAR)探讨化合物分子结构特征对毒性效应的影响。结果表明, 14 种卤代肉桂酸类化合物对羊角月牙藻急性毒性的 72 h 半数效应浓度(72 h-EC₅₀) 值在 45.88 ~ 83.72 mg·L⁻¹ 范围内, 其中 4-氯肉桂酸、4-溴肉桂酸等表现出较高毒性效应。3D-QSAR 结果表明, 该类化合物分子结构的立体场、静电场和疏水场特性对其毒性效应影响显著, 在苯环结构上引入体积较大、电负性较弱及疏水性较强的取代基, 将导致毒性升高。以上结果将为科学评价卤代肉桂酸类化合物潜在环境健康风险提供基础数据支撑。

关键词: 卤代肉桂酸; 羊角月牙藻; 急性毒性; 定量构效相关

文章编号: 1673-5897(2019)4-175-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Acute Toxicity and 3D-QSAR Studies on Halogenated Cinnamic Acids to Microalga *Selenastrum capricornutum*

Li Min^{1,2}, Yin Maojiao¹, Zhu Juanjuan^{1,2}, Ma Haijun^{1,2,*}

1. College of Biological Science and Engineering, Beifang University of Nationalities, Yinchuan 750021, China

2. Ningxia Grape & Wine Innovation Center, Yinchuan 750021, China

Received 15 May 2019 accepted 4 July 2019

Abstract: Halogenated cinnamic acids (HCAs) are widely used in pharmaceuticals, cosmetics and herbicides. With their increasing utilization, the eco-environmental risk of HCAs becomes of considerable concern. 14 HCAs were selected as targets, and their acute toxicity to the microalga *Selenastrum capricornutum* was tested. The contribution of related substituents was achieved using three-dimension quantitative structure-activity relationship (3D-QSAR). The results revealed that the 72 h-EC₅₀ values of 14 HCAs ranged from 45.88 to 83.72 mg·L⁻¹, and the toxicity of 4-chloro/bromo cinnamic acid was high. 3D-QSAR results indicated that steric, electrostatic and hydrophobic effects were determinants for the acute toxicity of the HCAs. Introducing groups with large volumes, positive charges and hydrophobic properties would lead to an increase of acute toxicity. The present results provide support for

基金项目: 环境化学与生态毒理学国家重点实验室开放基金(KF2018-07)

作者简介: 李敏(1987-), 女, 博士, 研究方向为有机化合物生物降解转化及环境效应, E-mail: bkdlimin@126.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: mahaijun04ren@126.com

evaluation of potential environmental risks of HCAs.

Keywords: halogenated cinnamic acids; *Selenastrum capricornutum*; acute toxicity; quantitative structure-activity relationship

卤代芳烃类化合物由于富含 C—F、C—Cl 和 C—Br 等高能化学键及一至数个芳香环,分子结构稳定,在土壤、水体等介质中很难依靠自然自净过程降解去除;近年来该类化合物在环境中广泛分布、持久存在,并具有潜在的生物毒性风险,因此引起了巨大关注^[1-2]。卤代肉桂酸是一类卤代芳烃类化合物,广泛应用于电子、医药、化妆品和除草剂等的生产。随着使用量的增加,其进入环境所带来的潜在生态环境健康风险不容忽视。但是,目前环境科学领域对卤代肉桂酸类化合物的环境效应,包括环境残留水平、环境迁移转化行为、生态毒理效应和生物降解性能等相关研究十分匮乏,亟待填补^[3-6]。

由于污染物种类繁多,对每一个化合物采用实验手段进行毒性测试是难以实现的。定量结构-活性相关研究(quantitative structure-activity relationship, QSAR)为此类问题的解决提供了一个有效途径,其旨在对部分有机化合物的生物毒性数据与结构参数进行统计建模,进而预测其他结构类似化合物的生物毒性;研究结果可为环境中有机污染物的风险评价、揭示致毒机制等提供理论参考^[7-8],是当今药物化学、环境化学及计算机化学等领域的一个前沿课题^[9-10]。

羊角月牙藻(*Selenastrum capricornutum*)是淡水水体中的常见藻类,对污染胁迫十分敏感,常作为经典水生毒理学受试生物应用于污染物和化学品的毒理研究^[11]。因此,本文考察常见 14 种卤代肉桂酸化合物对羊角月牙藻的生长抑制作用,并利用 3D-QSAR 中比较分子场分析法(comparative molecular field analysis, CoMFA)和比较分子相似性指数法(comparative molecular similarity index analysis, CoMSIA),揭示该类化合物分子结构与其毒性效应之间的内在关系,为卤代肉桂酸类化合物生态环境健康风险评估提供基础数据支撑。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 实验材料

羊角月牙藻购自中国科学院武汉水生生物研究所淡水藻种库,二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)、14 种卤代肉桂酸类化合物(种类见表 1)购自阿拉丁试剂(中国,上海)。实验所用试剂均为分析纯。

1.2 藻种培养及急性毒性测试

藻种培养基选择 BG11(Blue-Green Medium)人工培养液。羊角月牙藻藻种转到 BG11 人工培养液后,放入温度为(25±1)℃、光暗比为 12 h : 12 h、光强为 2 000 lux、转速为 150 r·min⁻¹的立式光照摇床培养箱中扩大培养,隔 96 h 移种一次,反复 3~5 次,使藻类达到同步生长阶段,以此作为实验藻种。

准确称取卤代肉桂酸化合物 100 mg(0.10 g,称量范围 0.095~0.105 g),用 DMSO 溶解并定容至 10 mL 容量瓶,获得 10 mg·mL⁻¹高浓度母液。取少量对数生长期的藻种用培养基稀释后,获得初始藻液密度约为 10⁴个·mL⁻¹的试验藻液。取试验藻液 50 mL 于 250 mL 锥形瓶中,分别加入一定体积 10 mg·mL⁻¹卤代肉桂酸高浓度母液,每个化合物在 0~100 mg·L⁻¹浓度范围内按一定间隔获得 5~7 个浓度梯度;同时设立 DMSO 溶剂对照组,每个处理 3 个平行。培养条件与藻种的扩大培养条件一致。采用显微镜下血球计数板计数方法建立羊角月牙藻细胞密度(个·mL⁻¹)与藻液光密度 OD₆₈₀ 之间的相关关系。分别于 0、24、48 和 72 h 测定各样品 OD₆₈₀ 值,换算成藻液细胞密度后,根据公式(1)计算抑制率^[12-13]。

$$\text{抑制率}(\%) = (1 - N/N_0) \times 100\% \quad (1)$$

式中: N 为样品处理组细胞数, N_0 为空白对照细胞数。

在获得不同浓度卤代肉桂酸对藻生长抑制率的基础上,采用概率单位回归法计算各化合物对羊角月牙藻的 72 h-EC₅₀ 值。

1.3 三维定量构效关系建模

定量构效关系建模分析中,生物活性数值采用以摩尔浓度单位计的 EC₅₀(μmol·L⁻¹)数值,具体见表 1。利用 CoMFA 和 CoMSIA 方法进行 3D-QSAR 分析,所有操作均采用 SYBYL7.0 软件各模块完成。化合物分子结构优化使用 Tripos 力场,分子电荷采用 Gasteiger-Huckel 电荷,能量最小化计算过程中,将 Max. Iterations 增加到 1 000, Gradient 减低至 0.005, Color Option 设为 Force。采用 4-氯肉桂酸为模板,使用 Align Database 方法将所有分子进行叠合。其叠合效果如图 1 所示。统计学分析采用偏最小二乘(partial least squares analysis, PLS)方法建模

型,采用去一法(leave-one-out, LOO)进行交叉验证。

2 结果与分析(Results and analysis)

2.1 卤代肉桂酸对羊角月牙藻毒性的剂量效应

14种卤代肉桂酸类化合物对羊角月牙藻的生长毒性作用测定结果如表1所示,结果显示,在0~100 mg·L⁻¹浓度范围内上述化合物均对羊角月牙藻产生明显的毒性效应,且浓度越大,毒性越强。其中,4-氯、4-溴肉桂酸对羊角月牙藻的毒性最强,其72 h-EC₅₀值分别为45.88和49.79 mg·L⁻¹,2,4-二氟肉桂酸对羊角月牙藻的毒性最弱。

本次研究囊括的化合物,以肉桂酸为母核结构,苯环上不同取代位点和不同取代基类型(卤素原子种类)构成了分子结构的多样性,各化合物对羊角月牙藻的生长抑制效应也表现出一定差异。因此,采用CoMFA及CoMSIA方法对卤代肉桂酸抑制羊角月牙藻生长的毒性效应与分子结构之间的内在关联进行系统科学的分析。

2.2 卤代肉桂酸对羊角月牙藻毒性的定量构效关系

2.2.1 CoMFA及CoMSIA建模统计学分析

经多次尝试,构建最优的CoMFA模型统计学参数如表2所示。CoMFA模型的交叉验证相关系数 Q^2 为0.804,最佳主成分数为3,表明获得的模型具有良好的自身一致性;在95%置信度水平进行非交互验证,得到模型的相关系数 R^2 为0.942,标准偏差SEE为18.54, F 值为54.54,以上参数表明所建模型具有良好的拟合能力和预测能力^[4],模型对14种化合物的实验值和预测值的关系见图2(a),线性拟合相关系数为0.9692。立体场与静电场的贡献值分别为63.3%和36.7%,说明卤代肉桂酸化合物分子立体场和静电场特性均对毒性大小产生影响,其中立体场贡献更大。

考虑到分子的立体特性与其疏水特性联系密切,且卤代肉桂酸化合物结构中存在羟基、羧基等多种氢键供体和受体官能团,分子氢键供体和受体特性对生物毒性效应的影响值得探究。因此,本研究进一步采用CoMSIA方法进行定量构效关系建模分析。获得的CoMSIA I及CoMSIA II模型统计学参数如表2所示。

CoMSIA I模型的交叉验证相关系数 Q^2 为0.668,最佳主成分数为5;非交互验证得到模型的相关系数 R^2 为0.969,标准偏差SEE为15.25, F 值为49.74,静电场、疏水场、立体场、氢键供体及受体场均有贡献,其中前两者起主要作用;计算发现,

若仅考虑静电场和疏水场,建立的CoMSIA II模型 Q^2 和 F 值略有下降,分别为0.655和30.07,但 R^2 提高至0.990,静电场与疏水场的贡献值分别为62.2%和37.8%,CoMSIA II模型实验值和预测值的关系见图2(b),线性拟合相关系数为0.9685。

2.2.2 CoMFA及CoMSIA三维等高图分析

CoMFA模型三维等高图如图3所示,其非常直观地显示出分子结构立体性质和静电性质对毒性大小的影响。其中,在立体场中,绿色表示增大基团体积会导致毒性增强,黄色表示减小基团体积会导致毒性增强;在静电场中,红色表示增加带负电基团会导致毒性增强,蓝色表示增加带正电基团会导致毒性增强。

在CoMFA模型的立体场中,苯环上3、4号位点附近出现大面积的绿色色块,代表在上述位置存在大体积取代基会增强卤代肉桂酸化合物对羊角月牙藻的毒性效应。对比3-氯肉桂酸和3-溴肉桂酸72 h-EC₅₀值发现,随着3位取代卤素原子体积的增加,其对羊角月牙藻的毒性作用增强。4-氟、4-氯和4-溴肉桂酸3种化合物对羊角月牙藻的毒性效应,同样随着卤素原子半径的增大而增强;此外,2-氟肉桂酸与4-溴-2-氟肉桂酸、4-氟肉桂酸与4-三氟甲基肉桂酸,这2组化合物均表现出随着4位取代基体积增大,毒性作用增强的趋势。上述实验结果与CoMFA立体场等势图显示的结果完全一致。

在CoMFA模型的静电场中,苯环母核上覆盖了大面积的蓝色色块,代表苯环上取代基电负性越小,化合物对羊角月牙藻的毒性越大。卤素原子电负性排序为F>Cl>Br,4-氟、4-氯和4-溴肉桂酸3种化合物毒性作用随着卤素原子电负性降低而增强;2-氟与2-氯肉桂酸、3-氯与3-溴肉桂酸2组化合物同样符合上述规律。

CoMSIA II模型三维等高图如图4所示。图4(a)与图3(b)结果相比,重点强调苯环2、3号位点取代基电负性越小,化合物毒性效应越强。CoMSIA II模型疏水场如图4(b)所示。在疏水场中,黄色表示增加疏水性基团导致毒性增大,白色表示增加亲水性基团导致毒性增大。苯环母核3、4和6号位点附近覆盖了大面积的黄色色块,表明在上述位点增加疏水性取代基会导致卤代肉桂酸毒性增强。卤素是常见的憎水基团,实验数据表明,在肉桂酸分子中引入卤素,尤其是氯或者溴,将增加化合物对羊角月牙藻的毒性。

表1 卤代肉桂酸对羊角月牙藻毒性的实验值与模型分析值
Table 1 The experimental and model-predicted values of halogenated cinnamic acids on the growth of *Selenastrum capricornutum*

序号 No.	名称 Names	CAS	结构 Structures	72 h-EC ₅₀ (mg·L ⁻¹)	72 h-EC ₅₀ of CoMFA			72 h-EC ₅₀ of CoMSIA II	
					/(μmol·L ⁻¹)				
					实验值 Exp.	模型值 Pred.	残差 Res.	模型值 Pred.	残差 Res.
1	肉桂酸 Cinnamic acid (CA)	140-10-3		55.70±1.72	375.94	353.09	22.85	349.27	26.67
2	2-氟肉桂酸 2-FluoroCA	451-69-4		67.41±3.35	405.72	416.75	-11.03	419.73	-14.01
3	4-氟肉桂酸 4-FluoroCA	459-32-5		62.01±2.32	373.22	385.14	-11.92	380.19	-6.97
4	2-氯肉桂酸 2-ChloroCA	3752-25-8		58.37±1.25	319.66	323.45	-3.79	319.93	-0.27
5	3-氯肉桂酸 3-ChloroCA	1866-38-2		55.04±2.43	301.42	321.43	-20.01	317.60	-16.18
6	4-氯肉桂酸 4-ChloroCA	1615-02-7		45.88±4.08	251.26	274.24	-22.98	273.33	-22.07
7	3-溴肉桂酸 3-BromoCA	32826-978		66.94±0.99	294.82	284.81	10.01	287.35	7.47
8	4-溴肉桂酸 4-BromoCA	1200-07-3		49.79±1.93	219.29	226.67	-7.38	214.94	4.35
9	2,4-二氟肉桂酸 2,4-DifluoroCA	94977-52-3		83.72±3.11	454.65	448.12	6.53	450.54	4.11
10	2,5-二氟肉桂酸 2,5-DifluoroCA	112898-33-6		69.02±0.99	374.82	372.07	2.75	375.31	-0.49
11	3,4-二氟肉桂酸 3,4-DifluoroCA	112897-97-9		73.42±3.33	398.72	392.97	5.75	394.36	4.36
12	4-溴-2-氟肉桂酸 4-Bromo-2-fluoroCA	149947-19-3		71.71±0.13	292.63	289.48	3.15	286.55	6.08
13	2,6-二氯肉桂酸 2,6-DichloroCA	5345-89-1		83.20±0.68	383.32	383.97	-0.65	378.66	4.66
14	4-三氟甲基肉桂酸 4-TrifluoromethylCA	16642-92-5		58.39±2.09	270.12	271.41	-1.29	266.82	3.3

注: CoMFA 表示比较分子场分析法, CoMSIA 表示比较分子相似性指数法。

Note: CoMFA stands for comparative molecular field analysis; CoMSIA stands for comparative molecular similarity index analysis; Exp. stands for experimental values; Pred. stands for predicted values; Res. stands for residual values.

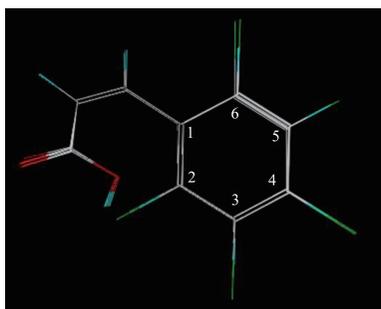


图 1 14 种卤代肉桂酸类化合物分子叠合图

Fig. 1 Molecular overlap diagram of 14 halogenated cinnamic acids

3 讨论 (Discussion)

卤代苯酚、卤代苯甲酸等化合物与卤代肉桂酸在结构上具有一定类似性, 已有研究发现, 苯甲酸和单卤代苯甲酸对羊角月牙藻的 48-h EC_{50} 分别为 83.29、13.48 ~ 83.11 $mg \cdot L^{-1}$, 即在苯环结构上增加卤素原子取代基, 将导致该类化合物对羊角月牙藻的毒性增强^[15]; 苯酚、一氯代苯酚和多氯代苯酚对羊角月牙藻的 72 h- EC_{50} 分别为 197、11.5 ~ 51.8 和 2.10 ~ 16.1 $mg \cdot L^{-1}$, 表明随着苯环上氯原子数量的增多, 该类化合物的毒性效应呈较显著的增加趋势^[16]。本研究结果显

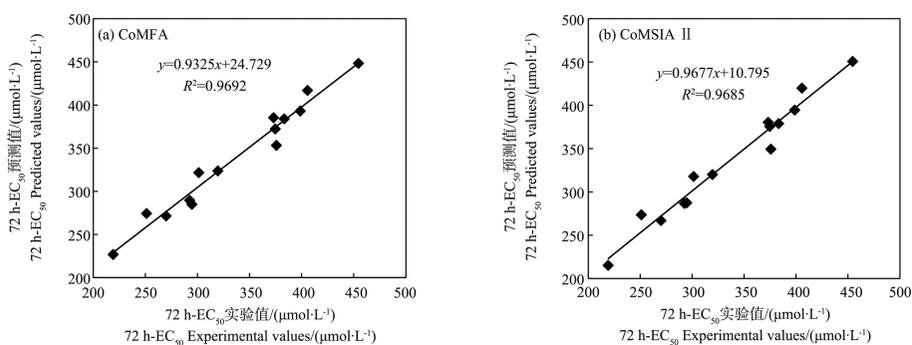


图 2 生物毒性预测值与实验值关系图

Fig. 2 The relation schema of biological toxicity between predicted values and experimental values

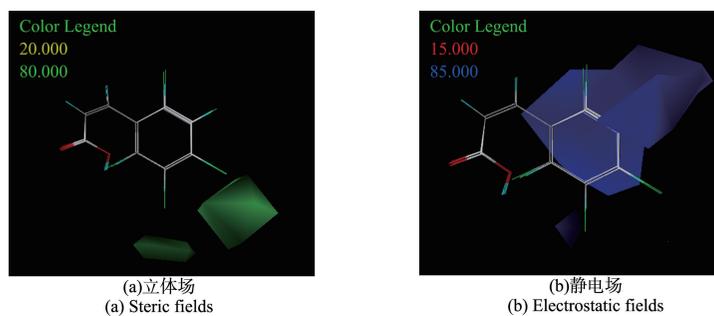


图 3 CoMFA 模型三维等势图

Fig. 3 Contour maps of CoMFA model

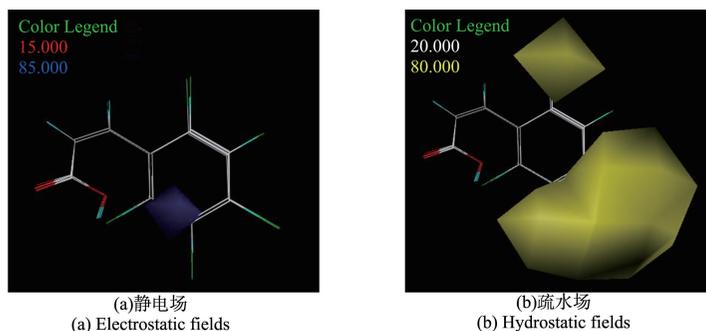


图 4 CoMSIA II 模型三维等势图

Fig. 4 Contour maps of CoMSIA II model

表2 模型的偏最小二乘法分析结果
Table 2 Partial least squares (PLS) results of the models in this study

参数 Index	Q^2	R^2	SEE	F	N	贡献值/% Contribution/%				
						立体场 Steric	静电场 Electrostatic	疏水场 Hydrostatic	氢键供体场 Donor	氢键受体场 Acceptor
CoMFA	0.804	0.942	18.54	54.54	3	63.3	36.7			
CoMSIA I	0.668	0.969	15.25	49.74	5	2.1	49.6	47.2	0.1	1.0
CoMSIA II	0.655	0.990	14.02	30.07	5		62.2	37.8		

示,肉桂酸和卤代肉桂酸对羊角月牙藻的 72 h-EC₅₀ 分别为 55.70、45.88 ~ 83.72 mg·L⁻¹, 毒性大小与类似污染物基本处在同一水平,但苯环上增加卤素原子取代基后并未导致毒性显著增强。参照国标藻类生长抑制试验中农药对藻类毒性等级划分标准^[17], 卤代肉桂酸类化合物对羊角月牙藻的毒性属于低毒范围(72 h-EC₅₀>3.0 mg·L⁻¹)。目前,还没有相关文献报道卤代肉桂酸类化合物在自然环境中的分布情况及残留水平,但从其对羊角月牙藻的低毒性效应来看,其对水环境中浮游藻类生长的危害较小。但是该结论仅限于 72 h 的实验结果,其长期毒性试验、其他毒性效应及风险评估还需进一步研究和完善。

本研究采用 3D-QSAR 方法定量分析卤代肉桂酸对羊角月牙藻的毒性效应,获得 CoMFA 模型 $Q^2=0.804$, $R^2=0.942$; CoMSIA II 模型的 $Q^2=0.655$, $R^2=0.990$ 。其中,分子结构中静电场、立体场和疏水场对毒性效应的影响较大。利用 CoMFA 和 CoMSIA 模型的等高图可以在一定程度上探讨化合物的致毒机制^[18-19]。分子水平的致毒作用机制一般分为特异型和非特异型两大类;其中,特异型指化合物分子结构中存在反应性的取代基团,容易同酶、蛋白质等生物受体分子发生生物化学反应;而非特异型机制指结构类似的分子能够产生性质类似的生物反应,且反应过程对特殊化学结构的依赖较弱,主要控制因素为化学分子在生物体和水相的分配比例,即分子的疏水性^[20-23]。一般而言,分子的疏水性与立体场存在较大联系。本研究 CoMFA 与 CoMSIA II 模型中,立体场和疏水场贡献率分别占比 63.3% 和 37.8%,提示卤代肉桂酸类化合物致毒作用中非特异型反应占较大比重。众多有机化合物对羊角月牙藻急性毒性的 QSAR 研究表明,分子的疏水特性是表征化合物毒性大小的重要参数^[24-25],本研究结果与之一致。本研究也尝试应用 CoMSIA 方法将分子的氢键供体和受体性质纳入考察范围,发现上

述 2 种参数对构效关系贡献值非常小,进一步提示非特异型反应占比较大。然而,不论是 CoMFA 还是 CoMSIA II 模型,静电场均有较大贡献,分别占比 36.7% 和 62.2%,据此推测在暴露过程中藻体与卤代肉桂酸分子之间可能存在电子转移。此外,卤代肉桂酸类化合物苯环 1 号位上具有共同的取代基丙烯酸,其对化合物毒性的作用不容忽视;由于本研究考察的 14 种化合物在苯环 1 号位上无差别,因此丙烯酸基的作用无法探究,有待进一步揭示。

综上所述,通过对 14 种卤代肉桂酸类化合物的羊角月牙藻急性毒性检测和定量构效关系研究,发现该类化合物具有一定的急性毒性效应,72 h-EC₅₀ 值在几十 mg·L⁻¹ 水平,其若长期排放或大量残留则可能导致一定生态环境风险。将该类化合物对羊角月牙藻的毒性值分别与 CoMFA 和 CoMSIA 值进行 PLS 分析,获得了稳健可靠的 3D-QSAR 模型;定量构效关系表明分子结构立体场、疏水场和静电场性质对毒性效应影响显著,在分子苯环结构上引入体积较大、电负性较小及疏水性较强的取代基,将导致毒性升高。

致谢:感谢中国科学院生态环境研究中心杜宇国和魏东斌研究员研究团队给予 SYBYL 软件平台的支持和在建模过程中的指导帮助!

通讯作者简介:马海军(1972-),男,植物生理学博士,副教授,主要研究方向为植物生理电物理学检测,发表学术论文 20 余篇。

参考文献 (References):

- [1] 朱本占, 谢琳娜, 沈忱, 等. 卤代芳烃化学发光的结构效应、分子机制及其应用[J]. 化学进展, 2017, 29(9): 32-44
Zhu B Z, Xie L N, Shen C, et al. Chemiluminescence generation from haloaromatic pollutants: Structure-activity relationship, molecular mechanism and potential applica-

- tion [J]. *Progress in Chemistry*, 2017, 29(9): 32-44 (in Chinese)
- [2] 唐才明. 新型卤代有机污染物及多环芳烃代谢物的准靶向定性分析[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016: 1-6
Tang C M. Quasi-targeted qualitative analysis of novel halogenated organic pollutants and hydroxylation-related metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2016: 1-6 (in Chinese)
- [3] Hasan S A, Ferreira M I M, Koetsier M J, et al. Complete biodegradation of 4-fluorocinnamic acid by a consortium comprising *Arthrobacter* sp. strain G1 and *Ralstonia* sp. strain H1 [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2012, 23(1): 117-125
- [4] Amorim C L, Ferreira A C S, Carvalho M F, et al. Mineralization of 4-fluorocinnamic acid by a *Rhodococcus* strain [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(4):1893-1905
- [5] 马云, 吴立飞, 陈连升, 等. 对氟肉桂酸降解菌株 HZW-3 的分离鉴定和初步特性研究[J]. *浙江工业大学学报*, 2013, 41(5): 478-481
Ma Y, Wu L F, Chen L S, et al. Isolation and characterization of a 4-fluorocinnamic acid-degrading bacterial strain HZW-3 [J]. *Journal of Zhejiang University of Technology*, 2013, 41(5): 478-481 (in Chinese)
- [6] 吴媛. 光合细菌降解废水中对氟肉桂酸的研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2015: 15-16
Wu Y. Study on degradation of containing 4-fluorocinnamic acid wastewater by photosynthetic bacteria [D]. Hangzhou: Zhejiang University of Technology, 2015: 15-16(in Chinese)
- [7] Li M, Wei D, Zhao H, et al. Genotoxicity of quinolones: Substituents contribution and transformation products QSAR evaluation using 2D and 3D models [J]. *Chemosphere*, 2014, 95: 220-226
- [8] 魏东斌, 赵慧敏, 杜宇国. 二苯甲酮类紫外防晒剂发光菌急性毒性及 QSAR 研究[J]. *生态毒理学报*, 2017, 12(3): 234-242
Wei D B, Zhao H M, Du Y G. Acute toxicity and QSAR studies on benzophenone-type UV-filters to photobacterium [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(3): 234-242 (in Chinese)
- [9] 杨征军. 卤代多环芳烃类有机污染物的 QSPR/QSRR 研究[D]. 湘潭: 湖南科技大学, 2007: 10-14
Yang Z J. Study the QSPR/QSRR for the organic pollutants halogenated polycyclic aromatic hydrocarbons [D]. Xiangtan: Hunan University of Science and Technology, 2007: 10-14 (in Chinese)
- [10] 马舒颖. 化合物安全风险评估的 QSAR/QSPR 研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2015: 13-15
Ma S Y. Studies of QSAR/QSPR for the risk assessment of chemicals [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2015: 13-15 (in Chinese)
- [11] 杜丽娜, 曹宇, 穆玉峰, 等. 羊角月牙藻在制药废水毒性评价中的应用[J]. *环境科学研究*, 2014, 27(12): 1525-1531
Du L N, Cao Y, Mu Y F, et al. Application of *Selenastrum capricornutum* in a pharmaceutical wastewater toxicity assessment [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2014, 27(12): 1525-1531 (in Chinese)
- [12] 巩宁, 邵魁双, 梁长华, 等. 两种粒径氧化镍纳米颗粒对小球藻(*Chlorella vulgaris*)的生物毒性[J]. *海洋环境科学*, 2011, 30(4): 457-460
Gong N, Shao K S, Liang C H, et al. Biototoxicity of two size nickel oxide nanoparticles on *Chlorella vulgaris* [J]. *Marine Environmental Science*, 2011, 30(4): 457-460 (in Chinese)
- [13] 刘建新, 杜青平, 陈展明, 等. 纳米氧化锌对羊角月牙藻毒性效应及其在藻细胞内外的分布[J]. *生态毒理学报*, 2016, 11(5): 103-110
Liu J X, Du Q P, Chen Z M, et al. Toxicities of ZnO nanoparticles on *Selenastrum capricornutum* and its distributions in intra and extra cells [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2016, 11(5): 103-110 (in Chinese)
- [14] Kitchell J F. Consumer regulation of nutrient cycling [J]. *Bioscience*, 1979, 29: 28-34
- [15] Lee P Y, Chen C Y. Toxicity and quantitative structure-activity relationships of benzoic acids to *Pseudokirchneriella subcapitata* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 165: 156-161
- [16] Aruoja V, Sihtmäe M, Dubourguier H C, et al. Toxicity of 58 substituted anilines and phenols to algae *Pseudokirchneriella subcapitata* and bacteria *Vibrio fischeri*. Comparison with published data and QSARs [J]. *Chemosphere*, 2011, 84: 1310-1320
- [17] 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中华人民共和国国家标准化委员会. GB/T 31270.14. 化学农药环境安全评价试验准则, 第 14 部分: 藻类生长抑制试验[S]. 北京: 中华人民共和国质量监督检验检疫总局, 中华人民共和国国家标准化委员会, 2014
General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 31270.14. Test guidelines on environmental safety assessment for chemical pesticides—Part 14: Alga growth inhibition test [S]. Beijing: General Administration

- of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Standardization Administration of the People's Republic of China, 2014 (in Chinese)
- [18] Fan D, Liu J, Wang L, et al. Development of quantitative structure-activity relationship models for predicting chronic toxicity of substituted benzenes to *Daphnia magna* [J]. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, 2016, 96(5): 664-670
- [19] Salahinejad M, Ghasemi J B. 3D-QSAR studies on the toxicity of substituted benzenes to *Tetrahymena pyriformis*: CoMFA, CoMSIA and VolSurf approaches [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 105: 128-134
- [20] Blum D J W, Speece R E. Determining chemical toxicity to aquatic species [J]. Environmental Science & Technology, 1990, 24(3): 284-293
- [21] Jaworska J S, Schultz T W. Mechanism-based comparisons of acute toxicities elicited by industrial organic chemicals in procaryotic and eucaryotic systems [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 1994, 29(2): 200-213
- [22] 籍国东, 袁星. 应用次最低空轨道能研究硝基芳烃的生物活性[J]. 环境科学, 1999, 24(2): 68-70
- Ji G D, Yuan X. The study on biological activities of nitroaromatic compound using quantum chemistry descriptor of next lowest unoccupied molecular orbital [J]. Environmental Science, 1999, 24(2): 68-70 (in Chinese)
- [23] 徐满, 张爱茜, 韩朔睽, 等. 取代硝基苯类化合物的3D-QSAR研究[J]. 科学通报, 2001, 46(19): 1614-1618
- Xu M, Zhang A Q, Han S K, et al. Study of 3D-QSAR on the substituted nitrobenzene compounds [J]. Chinese Science Bulletin, 2001, 46(19): 1614-1618 (in Chinese)
- [24] Fu L, Li J J, Wang Y, et al. Evaluation of toxicity data to green algae and relationship with hydrophobicity [J]. Chemosphere, 2015, 120: 16-22
- [25] Li J J, Tai H W, Yu Y, et al. Comparison of toxicity of class-based organic chemicals to algae and fish based on discrimination of excess toxicity from baseline level [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2015, 40(1): 292-299 ◆