

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20190701001

唐自强, 冯长君. 取代苯酚类化合物抑藻活性的 CoMFA 模型[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(4): 192-196

Tang Z Q, Feng C J. CoMFA model for inhibitory activity of chlorinated phenolic compounds to *Dunaliella salina* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2019, 14(4): 192-196 (in Chinese)

取代苯酚类化合物抑藻活性的 CoMFA 模型

唐自强^{1,2}, 冯长君^{1,*}

1. 徐州工程学院化学化工学院, 徐州 221018

2. 徐州技师学院, 徐州 221151

收稿日期: 2019-07-01 录用日期: 2019-09-05

摘要: 基于比较分子力场分析(CoMFA)方法建立 20 种取代苯酚类化合物抑藻活性(pI)的三维定量构效关系(3D-QSAR)。训练集中 16 个化合物用于建立预测模型, 测试集 5 个化合物(含模板分子)作为模型验证。已建立的 CoMFA 模型的交叉验证系数(Q^2)、非交叉验证系数(R^2)分别为 0.915、0.963, 说明所建模型具有较强的稳定性和良好的预测能力。该模型中立体场、静电场贡献率依次为 48.4%、51.6%, 表明影响抑藻活性(pI)的主要因素是取代基的电荷分布, 其次是取代基的疏水性和空间位阻。

关键词: 氯酚类化合物; 杜氏盐藻; 抑藻活性; 比较分子力场分析; 三维定量构效关系

文章编号: 1673-5897(2019)4-192-05 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

CoMFA Model for Inhibitory Activity of Chlorinated Phenolic Compounds to *Dunaliella salina*

Tang Ziqiang^{1,2}, Feng Changjun^{1,*}

1. School of Chemistry and Chemical Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou 221018, China

2. Xuzhou Technical Institute, Xuzhou 221151, China

Received 1 July 2019 accepted 5 September 2019

Abstract: On the basis of the comparative molecular field analysis (CoMFA) method, we established three dimensional quantitative relationships (3D-QSAR) between the molecular structures and their inhibitory effects on algae activity (pI) of twenty chlorinated phenolic compounds. The predicting models were built using sixteen compounds in the training set, and those were verified by using the test set of five compounds (containing template molecule). The coefficients of the cross-validation (Q^2) and non cross-validation (R^2) for CoMFA model were 0.915 and 0.963, respectively. The results showed that the stability of the model was strong and its predictability was good. The contributions of the steric and electrostatic fields in the model were 48.4% and 51.6%, respectively. It shows that the main factor to impact on pI was the charge distributions of substituted groups, followed by hydrophobic factor and steric hindrance of substituted groups.

Keywords: chlorinated phenolic compound; *Dunaliella salina*; inhibitory algae activity; comparative molecular field analysis; three dimensional quantitative structure-activity relationship

基金项目: 结构化学国家重点实验室开放基金(2016028)

作者简介: 唐自强(1963-), 男, 学士, 教授, 研究方向为物质构效学, E-mail: tzq63@163.com

* 通讯作者(Corresponding author), E-mail: fengcj@xzit.edu.cn

取代苯酚类化合物是有机工业中重要的一类物质,但大多都有毒性。其中邻氯苯酚等4种酚类化合物被美国环境保护局列为优先控制的有机污染物,7种取代苯酚化合物被确定为中国优先控制的有机污染物^[1]。因此,取代苯酚类化合物的生物毒性预测引起人们的关注。研究表明,定量结构-活性关系(quantitative structure-activity relationship, QSAR)^[2-11]在预测化合物生物毒性方面已成为化学、环境等学科的一个重要领域。徐文国等^[12]采用量化方法研究氯代苯酚类化合物对发光菌毒性;刘够生等^[13]采用量化及连接性指数方法研究氯代苯酚类化合物对发光菌毒性;罗一帆和许旋^[14]以量化方法研究氯代苯酚类化合物对鱼类毒性;廖立敏等^[15]以新的结构描述符关联氯代苯酚类化合物对海洋中的杜氏盐藻(*Dunaliella salina*)的抑制活性;Serge等^[16]以量化方法研究了有机化学品对绿藻的生物毒性。上述研究都取得良好结果,但都局限于2D-QSAR研究。本文以3D-QSAR方法^[17-20]研究氯代苯酚类化

合物对海洋中的杜氏盐藻的抑制活性(pI)^[15],以揭示影响抑制活性的微观结构因素,探讨其发挥生物毒性作用的分子机理。

1 数据来源(Data source)

20个氯代苯酚类化合物对海洋中的杜氏盐藻(96 h)的半数抑制浓度以“ IC_{50} ”表示。考虑化学平衡常数与平衡浓度为对数关系,故令:

$$pI = -\lg(IC_{50}) \quad (1)$$

pI 值来源于文献[15]。氯代苯酚类分子的具体结构及 pI 数据见表1。

2 建模方法(Modeling method)

本文3D-QSAR分析及建立CoMFA模型均使用Tripos公司最新版本Sybyl2.1.1分子模拟软件完成,使用的模块包括SYBYL、Sketch、Minimize、Database-alignment以及CoMFA的QSAR方法等,各项参数除特别指明外均采用缺省值。

表1 氯代苯酚类分子的结构与抑藻活性(pI)

Table 1 The structures and inhibitory effect on algae activity (pI) of chlorinated phenolic compounds

No.	氯代苯酚	Chlorinated phenolic compounds	pI_{exp} ^[15]	pI_{cal}
1	苯酚	Phenol	-0.30	-0.237
2	2-氯苯酚	2-Chlorophenol	0.31	-0.029
3	3-氯苯酚	3-Chlorophenol	0.49	0.562
4	4-氯苯酚	4-Chlorophenol	0.63	0.647
5	2,3-二氯苯酚	2,3-Dichlorophenol	0.88	0.917
6*	2,4-二氯苯酚	2,4-Dichlorophenol	1.14	0.872
7	2,5-二氯苯酚	2,5-Dichlorophenol	0.95	0.895
8	2,6-二氯苯酚	2,6-Dichlorophenol	0.25	0.204
9*	3,4-二氯苯酚	3,4-Dichlorophenol	1.35	1.414
10	3,5-二氯苯酚	3,5-Dichlorophenol	1.39	1.491
11	2,3,4-三氯苯酚	2,3,4-Trichlorophenol	1.65	1.655
12	2,3,5-三氯苯酚	2,3,5-Trichlorophenol	1.69	1.682
13*	2,3,6-三氯苯酚	2,3,6-Trichlorophenol	0.58	0.898
14	2,4,6-三氯苯酚	2,4,6-Trichlorophenol	0.67	1.014
15	2,4,5-三氯苯酚	2,4,5-Trichlorophenol	1.73	1.635
16	3,4,5-三氯苯酚	3,4,5-Trichlorophenol	2.15	2.203
17	2,3,4,5-四氯苯酚	2,3,4,5-Tetrachlorophenol	2.41	2.437
18	2,3,4,6-四氯苯酚	2,3,4,6-Tetrachlorophenol	1.85	1.881
19*	2,3,5,6-四氯苯酚	2,3,5,6-Tetrachlorophenol	1.90	1.923
20*	五氯苯酚	Pentachlorophenol	2.91	2.623

注:* 表示测试集。

Note: * indicates test set.

2.1 化合物低能构象的确定及分子叠合

分子活性构象的确定是建立有效 3D-QSAR 模型的首要前提之一。通常采用分子的最低能量构象代替药效活性构象。使用 Sybylx2.1.1 软件中的 Sketch molecule 模块先构建 20 个氯代苯酚类分子的初始三维结构,再通过 Minimize 模块,选取 Tripos 力场,加 Gasteiger-Huckel 电荷,将最大迭代次数 (Max. Iterations) 定为 1 000,将 Gradient 降低到 0.005;最后将 Powell 能量梯度法的收敛梯度设为 $0.21 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{nm}^{-1}$ 。以此完成所有氯代苯酚类分子的分子力学优化,并以此最低能量构象作为分子叠合的生物活性构象。

随机选取分子 6、9、13、19 和 20 为测试集 (Test set),其中 20 号为模板分子,为表 1 中带“*”的分子;余下 16 个分子作为训练集 (Training set),亦含 20 号模板分子。在 CoMFA 研究中,所谓模板分子是指总体上生物活性最强的分子。常用的是基于公共骨架的叠合方法,即保证所有分子取向的一致性,使分子间相互重叠时的均方根偏差最小。本文以五氯苯酚分子中的公共骨架,运用 Align database 模块分别对训练集、测试集进行叠合。训练集的叠合图如下(测试集的叠合图与图 1 相同,故予以省略)。

2.2 CoMFA 模型的建立

用训练集的叠合数据库建立 CoMFA 模型。采用 Tripos 标准力场,对叠合分子周围每个网格点上的立体场 (steric, St) 及静电场 (electrostatic, El) 予以计算,场能阈值 (Cut off 值) 设为 $125.5 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$,其余各项参数均为系统默认值。在进行偏最小二乘法 (partial least squares, PLS) 进行分析时,首先采用逐一剔除法 (leave-one-out, LOO) 予以交叉验证,以获交叉验证系数 (Q^2) 和最佳主成分数 (N)。即以统计指标 Q^2 衡量模型的预测能力, $Q^2 > 0.5$ 的模型,才具有 95% 的可信度^[21],所含机会相关的可能性小于 5%。另外,将模型中的化合物数 (m) 与变量数 (N) 之比称为“样变比”,以“ Sv ”表示。 Sv 定义式为:

$$Sv = m/N \quad (2)$$

只有满足 $Sv \geq 5$ 的模型,才可能具有统计意义、稳健性及较低或然性^[22]。样变比通过非交叉验证进行回归分析,得到非交叉验证判定系数 (R^2)、统计方差比 (F)。最后采用 View CoMFA 模块,以三维等势图直观反映立体场和静电场对化合物 pI 的贡献,至此完成 3D-QSAR 模型。

3 结果与讨论 (Results and discussion)

3.1 CoMFA 的 3D-QSAR 模型

训练集的 CoMFA 模型如下所述。(1) 交叉验证部分: $Q^2 = 0.915 > 0.5$,以及最佳主成分数 $N=2$, $Sv = m/N=8 > 5$,这表明模型具有很好的预测能力与稳健性。(2) 非交叉验证部分: $R^2 = 0.963 > 0.8$,显示良好拟合性;在 95% 显著水平下,训练集 CoMFA 模型的 F 临界值为 $F_{0.05}(2,13)=3.88$ 。该模型的 $F=169.137$,远大于 3.88,表明模型的因变量与自变量密切相关,具有统计学稳定性。利用训练集的 3D-QSAR 模型对测试集中分子的 pI 进行预测,以检验其预测能力。测试集的 pI 预测值见表 1,与相应实验值基本吻合,表明模型确实具有良好的预测能力。另外,将表 1 中的实验值与预测值关联:

$$pI_{\text{exp}} = 1.003pI_{\text{cal}} - 0.006 \quad (3)$$

该模型的 $R^2 = 0.958$,与训练集的 $R^2 = 0.963$ 非常接近,表明训练集 CoMFA 模型的稳健性与良好的预测能力。

3.2 CoMFA 等势图

图 2 给出了以训练集中抑藻活性最高的分子 20 为模板的 CoMFA 模型的三维等势图,分子周围不同颜色的块状图表示氯酚类化合物的分子中取代基的立体场和静电场对抑藻活性的影响。图 2(a) 为取代基的立体作用分布图,其中绿色表示在该区域增大取代基体积有利于提高化合物的抑藻活性,黄色区域表示减小立体位阻可提高抑藻活性。值得注意的是,仅有一小块黄色区域在苯环的 3、4 位之间,且被绿色包裹;可以忽略其对抑藻活性的影响。由立体场的空间分布可知,在苯环的 3、4 和 5 的 3 个位置上引入体积较大基团,有助于氯酚类化合物抑藻活性的提高。如在 6 个三氯取代苯酚的同分异构体中,16 号化合物 (3,4,5-三氯苯酚) 的抑藻活性最大, $pI = 2.15$ 。又如在 3 个四氯取代苯酚的同分异构体中,17 号化合物 (2,3,4,5-四氯苯酚) 的抑藻活性最大, $pI = 2.41$ 。因为这 2 个分子的 3、4 和 5 的 3 个位置上均有体积较大基团氯原子存在。

图 2(b) 为化合物周围的静电场分布,蓝色表示在该区域增大基团正电性有利于化合物活性的提高,然仅有一小块蓝色区域在苯环的 1、2 位之间,故可以忽略其对抑藻活性的影响。红色区域表示引入带负电荷的基团对化合物活性有利。由静电场的空间分布可知,在整个苯环的 3、4 和 5 的 3 个位置上都被大片红色区域覆盖,说明在这些位置上引入负

电性基团,有助于提高氯酚类化合物的抑藻活性。因此,在三氯酚中,16号化合物的抑藻活性最大。而在四氯酚中,17号化合物的抑藻活性最大。因为这2个分子的3、4和5的3个位置上均有负电基团氯原子存在。

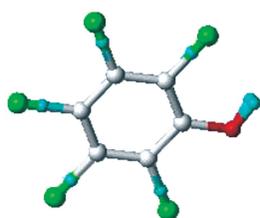


图1 训练集的叠合图

Fig. 1 3D view of all the aligned molecules in training set

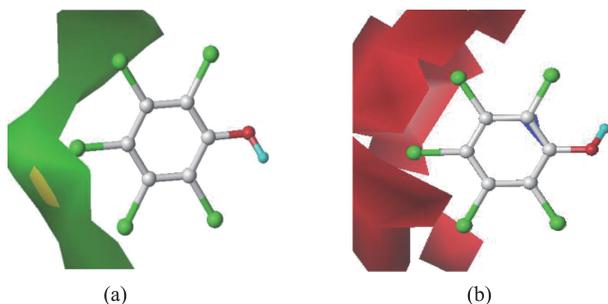


图2 比较分子力场分析(CoMFA)模型的等势图

注:(a)立体场,(b)静电场。

Fig. 2 The comparative molecular field analysis (CoMFA) contour maps

Note: (a) steric field; (b) electrostatic field.

训练集的3D-QSAR模型给出的立体场和静电场对 pI_i 的贡献分别为48.4%和51.6%,显示立体作用稍弱于静电作用。立体场一般对应空间位阻及疏水作用,静电场主要为氢键及配位作用。文献[15]报道:含氯苯酚类化合物对杜氏盐藻产生毒性可能分为两步,一是化合物穿过细胞膜进入生物体内,此与化合物的疏水性正相关;二是化合物进入细胞内作为电子给与体或氢键受体而与生物体内的靶标发生作用。因此,苯环上的取代基Cl越多,其疏水性越强,相应毒性越大。但对三氯、四氯酚的同分异构体,之所以16、17号毒性最强,是因为其他同分异构体包含空间位阻,导致毒性降低。进入细胞后,酚羟基与靶标形成氢键,3、4和5位上的负电基团氯原子与靶标的配位及弱氢键作用,使化合物发挥更强的致毒作用。由此可见,本文研究结果与文献[15]

结论较为一致。与文献[15]比较,本文具有2点创新:一是化合物透过细胞膜的能力不仅与分子疏水性有关,还与氯原子所处位置即空间位阻有关;二是进入细胞后的致毒作用,除了酚羟基与靶标形成氢键外,还与3、4和5位上的负电基团氯原子与靶标的配位及弱氢键密切相关。

综上所述:(1)采用CoMFA方法研究氯代苯酚类化合物对杜氏盐藻抑藻活性的三维定量构效关系,获得合理、可信及良好预测性的3D-QSAR模型: $N=2$, $Sv=8$, $Q^2=0.915$, $R^2=0.963$, $F=169.137$ 。

(2)所建CoMFA模型三维等势图较好地解释了训练集分子抑藻活性的差异,主要表现在苯环的3、4和5位上键合体积较大的负电基团氯原子,利于抑藻活性增强。

参考文献(References):

- [1] 孙也之, 闫心丽, 李佐静, 等. 用QSTR模型预测苯酚类化合物大鼠经口的急性毒性[J]. 数理医药学杂志, 2008, 17(5): 513-516
Sun Y Z, Yan X L, Li Z J, et al. Prediction of acute oral toxicity of phenolic compounds in rats by QSTR model [J]. Journal of Mathematical Medicine, 2008, 17(5): 513-516 (in Chinese)
- [2] Wang C, Feng C J. QSAR study of the action strength of D_{OM} of phenyl-isopropyl-amine dopes using MLR and BP-ANN [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2017, 36: 1720-1728
- [3] Wang C, Feng C J. QSAR studies on the inhibitory activity of levofloxacin-thiadiazole HDACi conjugates to histone deacetylases [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2018, 37: 1679-1688
- [4] Tong J B, Wang Y, Lei S, et al. 3D-QSAR and docking studies of 1,3,4-thiazolidinone derivatives using R-group search and surflex-dock [J]. Chinese Journal of Structural Chemistry, 2019, 38(3): 464-475
- [5] 郑珊珊, 李田田, 王晶, 等. 芳香族化合物与水合电子水相反应速率常数的QSAR模型研究[J]. 环境化学, 2019, 38(5): 1005-1013
Zheng S S, Li T T, Wang J, et al. QSAR models for predicting the aqueous reaction rate constants of aromatic compounds with hydrated electrons [J]. Environmental Chemistry, 2019, 38(5): 1005-1013 (in Chinese)
- [6] Ding K K, Kong X T, Wang J P, et al. Side chains of parabens modulate antiandrogenic activity: *In vitro* and molecular docking studies [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 51: 6452-6460

- [7] Qu R J, Liu H X, Feng M B, et al. Investigation on intramolecular hydrogen bond and some thermodynamic properties of polyhydroxylated anthraquinones [J]. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 2012, 57(9): 2442-2455
- [8] Qu R J, Liu J Q, Li C G, et al. Experimental and theoretical insights into the photochemical decomposition of environmentally persistent perfluorocarboxylic acids [J]. *Water Research*, 2016, 104: 34-43
- [9] Yang F, Wang M, Wang Z Y. Sorption behavior of 17 phthalic acid esters on three soils: Effects of pH and dissolved organic matter, sorption coefficient measurement and QSPR study [J]. *Chemosphere*, 2013, 93: 82-89
- [10] 冯长君. 取代三唑-噻二唑类化合物生物活性的 QSAR 研究[J]. 徐州工程学院: 自然科学版, 2018, 33(4): 39-44
Feng C J. QSAR study on the biological activity of substituted triazol-thiadiazoles derivatives [J]. *Journal of Xuzhou Institute of Technology: Natural Sciences Edition*, 2018, 33(4): 39-44 (in Chinese)
- [11] 冯长君. 吡啶酰氨磺酰胺衍生物杀菌活性的理论研究[J]. 徐州工程学院: 自然科学版, 2017, 32(3): 23-27
Feng C J. Theoretical study on the antifungal activity of pyridine carboxamide cyclohexyl sulfonamides to *Rhizoctonia cerealis* [J]. *Journal of Xuzhou Institute of Technology: Natural Sciences Edition*, 2017, 32(3): 23-27 (in Chinese)
- [12] 徐文国, 王丹, 朱丽, 等. 氯代苯酚类化合物毒性的构效关系研究[J]. 内蒙古工业大学学报, 2005, 24(2): 102-104
Xu W G, Wang D, Zhu L, et al. QSAR of the toxicity of substituted chloro-phenols and their structure [J]. *Journal of Inner Mongolia University of Technology*, 2005, 24(2): 102-104 (in Chinese)
- [13] 刘够生, 宋兴福, 于建国, 等. 氯代苯酚类衍生物对水生物发光细菌的定量结构-活性关系研究[J]. 江西师范大学学报: 自然科学版, 2001, 25(4): 313-316
Liu G S, Song X F, Yu J G, et al. Quantitative structure-activity relationships of substituted chloro-phenols toxicity for microtox [J]. *Journal of Jiangxi Normal University: Natural Sciences Edition*, 2001, 25(4): 313-316 (in Chinese)
- [14] 罗一帆, 许旋. 氯代苯酚化合物对鱼类毒性的构效关系[J]. 卫生研究, 2001, 30(1): 72-74
Luo Y F, Xu X. Study on the quantitative structure toxicity relations of chlorophenols in some aquatic species [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2001, 30(1): 72-74 (in Chinese)
- [15] 廖立敏, 李建凤, 雷光东. 含氯苯酚类化合物结构表征与毒性预测[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(6): 266-272
Liao L M, Li J F, Lei G D. Structural characterization and toxicity prediction of chlorinated phenolic compounds [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(6): 266-272 (in Chinese)
- [16] Serge B, Yang X Y, Ma G C, et al. Developing predictive models for toxicity of organic chemicals to green algae based on mode of action [J]. *Chemosphere*, 2018, 190: 463-470
- [17] 唐自强, 杨伟华, 堵锡华, 等. 硝基芳烃类含能材料撞击钝度的比较分子力场分析[J]. 化学研究与应用, 2017, 29(8): 1211-1215
Tang Z Q, Yang W H, Du X H, et al. Study on the impact dullness of the polynitroaromatic explosives based on the CoMFA analysis [J]. *Chemical Research and Application*, 2017, 29(8): 1211-1215 (in Chinese)
- [18] 冯长君. 苯磺酰脲类化合物除草活性的 CoMFA 模型[J]. 徐州工程学院: 自然科学版, 2019, 34(2): 21-25
Feng C J. QSAR studies on the biological activity of substituted triazolo-benzothiazole derivatives [J]. *Journal of Xuzhou Institute of Technology: Natural Sciences Edition*, 2019, 34(2): 21-25 (in Chinese)
- [19] Babu S, Sohn H, Madhavan T. Computational analysis of CRTh2 receptor antagonist: Aligand-based CoMFA and CoMSIA approach [J]. *Computational Biology and Chemistry*, 2015, 56(1): 109-121
- [20] Wang J L, Li L, Hu M B, et al. In silico drug design of inhibitor of nuclear factor kappa B kinase subunit beta inhibitors from 2-acylamino-3-aminothienopyridines based on quantitative structure-activity relationships and molecular docking [J]. *Computational Biology and Chemistry*, 2019, 78(1): 297-305
- [21] Dixit A, Kashaw S K, Gaur S, et al. Development of CoMFA, advance CoMFA and CoMSIA models in pyrroloquinazolines as thrombin receptor antagonist [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2004, 12(13): 3591-3598
- [22] 刘东, 章文军, 许禄. 手性羟酸和氨基酸类化合物的构效关系研究[J]. 化学学报, 2009, 67(2): 145-150
Liu D, Zhang W J, Xu L. Quantitative structure-activity/property relationships for chiral hydroxy acids and amino acids [J]. *Acta Chimica Sinica*, 2009, 67(2): 145-150 (in Chinese)