

取代联苯的定量结构活性相关及联合毒性研究

王斌, 赵劲松, 郁亚娟, 王晓栋, 王连生*

(南京大学环境学院污染控制与资源化国家重点实验室, 南京 210093)

摘要: 测定了 18 种取代联苯对大型蚤 (*Daphnia magna*) 24h 的单一毒性 (24h EC_{50}) 及其混合物联合毒性. 对单一毒性进行了定量结构活性相关 (QSAR) 分析, 建立了辛醇-水分配系数 ($\lg K_{ow}$) 模型, 理论线性溶剂化能相关 (TLSE) 模型及量子化学参数模型, 表明量子化学参数模型能很好地预测取代联苯的单一毒性. 混合物联合毒性研究表明, 取代联苯的联合毒性机制为浓度相加效应, 并且根据浓度相加预测了混合物半数抑制浓度 ($EC_{50\text{mix}}$), 预测值与实验值非常吻合.

关键词: 联苯; 大型蚤; 定量结构活性相关; 联合毒性; 浓度相加

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)03-0089-05

Quantitative Structure Activity Relationships and Joint Toxicity of Substituted Biphenyls

WANG Bin, ZHAO Jin-song, YU Ya-juan, WANG Xiaodong, WANG Liansheng

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The single toxicities (24h EC_{50}) and mixture toxicities of 18 substituted biphenyls to *Daphnia magna* were tested. Quantitative structure-activity relationships (QSARs) were developed from the single toxicities. Octanol-water partition coefficient ($\lg K_{ow}$) model, theoretical linear solvation energy relationship (TLSE) model and quantum chemistry parameter model were built for these compounds. It was found that the quantum chemistry parameter model had a good predictive capability. The study of mixture toxicities of substituted biphenyls showed that the joint toxicity mechanism was concentration addition. Half effective concentrations of mixtures ($EC_{50\text{mix}}$) were predicted according to concentration addition. The predicted and observed values coincided rather well.

Key words: biphenyl; *Daphnia magna*; QSAR; joint toxicity; concentration addition

取代联苯化合物通常作为液晶材料合成的中间体. 随着液晶材料的广泛应用, 对取代联苯进行环境风险评价很有必要. 然而目前对这类化合物环境行为的研究却鲜有报道.

环境中的生物体常常暴露于多组分污染物共存的混合体系, 而非简单的单一体系. 因此不光要研究单一化合物的生物毒性, 建立一套有效评价和预测混合物联合作用的方法和标准对于有机物的风险管理具有重要的实用价值.

预测混合物的毒性效应需要合理地假设混合物毒性和单一化合物毒性之间的关系. 通常有 2 个概念可用来预测化合物的联合毒性, 即浓度相加和独立作用^[1]. 目前, 已有大量研究表明浓度相加的概念对于作用机理相似化合物组成的混合物的联合毒性具有很强的预测能力^[2-5]. 用浓度相加来预测混合物联合毒性需要知道单一化合物毒性数据. 但是, 对于大量的环境污染物, 单一化合物毒性数据及其作用机理的信息仍然相当缺乏^[3], 因此, 近年来一些联合毒性研究借助 QSAR 来进行单一化合物毒性的预测和作用机理的揭示, 将作用机理相似的化合物归类^[6-8]. 因此, 可以将 QSAR 模型和浓度相

加的概念结合起来预测相似化合物的联合毒性.

本文测定了 18 种取代联苯对大型蚤的急性毒性, 进行了 QSAR 分析, 建立了辛醇-水分配系数模型、理论线性溶剂化能相关 (TLSE) 模型和量子化学参数模型. 对取代联苯的联合毒性进行测定, 并根据浓度相加效应预测了化合物的联合毒性.

1 材料和方法

1.1 受试化合物

测定的 18 种取代苯化合物 (见表 1) 中, 4-溴联苯和 4,4'-二溴联苯由南京大学化学化工学院提供, 其余由山东烟台万润精细化工有限公司提供, 纯度均大于 99%.

1.2 单一毒性实验

在 25 °C ± 1 °C 条件下, 每天光照 (用日光灯模拟自然光) 16h, 用新鲜绿藻喂养大型蚤, 大型蚤进行孤

收稿日期: 2003-07-14; 修订日期: 2003-09-22

基金项目: 国家自然科学基金项目 (20177008); 国家“863”高科技项目 (2001 AA640601-4); 欧盟国际合作项目 (ICA4-CT-2001-10039)

作者简介: 王斌 (1979-), 男, 硕士研究生, 主要从事环境有机物 QSAR 及联合毒性研究.

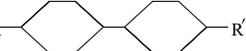
* 通讯联系人

雌生殖.实验前 24h,挑选个体大、怀卵多、游泳能力强的第 3 代母蚤,吸出精养,喂以新鲜绿藻,取 6~18h 的幼蚤用于实验,实验采用静态实验系统.实验前 24h 用丙酮配制成样品储备液,实验溶液用水稀释至 25 mL,丙酮浓度小于推荐浓度(0.5 ml/L).每个化合物按等对数浓度设置多个浓度组,每个浓度组设 3 个平行试验,并设对照组(等浓度丙酮溶液);随机吸取 10 只健康幼蚤移入盛有对照组和不同浓度溶液的 25 mL 具塞玻璃比色管中.实验在 25 °C ± 1 °C 条件下进行,试验时间为 24h,不喂食、不换水.观察 24h 后幼蚤受抑制的数量,可以反复转动容器,15s 内幼蚤活动不超过本身长度即为停止活动.用 SPSS10.0 统计分析软件的 probit 分析方法计算半数抑制浓度 EC₅₀.

表 1 取代联苯的结构及其对大型蚤毒性¹⁾

Table 1 Structures and toxicities of substituted biphenyls to *Daphnia magna*

No.	R	R'	EC ₅₀ / μmol·L ⁻¹	-lgEC ₅₀ ²⁾
1	H	H	13.183	1.880
2	CH ₃ CH ₂	CN	2.050	2.688
3	C ₄ H ₉	CN	0.510	3.292
4	C ₅ H ₁₁	CN	0.598	3.224
5	CH ₃ CH ₂	H	3.747	2.426
6	C ₄ H ₉	H	1.155	2.937
7	C ₅ H ₁₁	H	0.646	3.190
8	Br	H	2.797	2.553
9	Br	Br	1.580	2.801
10	CH ₃ C(O)	H	23.225	1.634
11	C ₃ H ₇ C(O)	H	4.752	2.323
12	C ₄ H ₉ C(O)	H	6.885	2.162
13	CH ₃ CH ₂ O	CN	6.575	2.182
14	C ₃ H ₇ O	CN	3.540	2.451
15	C ₄ H ₉ O	CN	0.692	3.160
16	C ₅ H ₁₁ O	CN	0.482	3.317
17	OH	CN	14.353	1.843
18	OH	I	2.144	2.669

1) 取代联苯的结构式为 

2) EC₅₀以 mmol·L⁻¹为单位时的计算值

1.3 联合毒性实验

设置不同化合物的多种组合,根据各单一化合物的 EC₅₀值,按一定的毒性单位比(化合物组合及浓度配比见表 5)进行一系列浓度的混合物体系对大型蚤急性毒性实验,实验方法与单一毒性的测定相同.用 SPSS10.0 统计分析软件的 probit 分析方法计算混合物半数抑制浓度实验值 EC_{50 mix,exp}.

1.4 描述符计算

用美国 EPA 的 Kowwin v1.66 计算 lg K_{ow}.

用 MOPAC2000 中的半经验量子化学计算方法——AM1 法计算量子化学参数,优化分子结构后计算分子量(M_w)、极化率(α)、分子体积(V_m)、分子最低未占轨道能(E_{lumo})、分子最高占据轨道能(E_{homo})、分子总能量(TE)、电子能量(EE)、核核排斥能(CCR)、介电能(DE)、偶极矩(μ)、离子化势(IP)、生成热(HOF)、氢原子最大正电荷(q_{H⁺})、最负原子净电荷(q⁻)、最正原子净电荷(q⁺)。

应用 AM1 理论计算的量子化学参数,进一步计算得到 TLSE 模型的 6 个描述符 V_{mc}[= V_m/100]、π* [= α/V_m]、ε_β [= 0.01 (E_{lumo}(H₂O) - E_{homo})]、ε_d [= 0.01 (E_{lumo} - E_{homo}(H₂O))]、q⁻、q_{H⁺}。

1.5 联合毒性预测

在水生生物毒性研究中,对于结构和作用机理相似的有机物组成的混合物,通常用浓度相加来评价混合有机物的联合效应^[2-4].浓度相加通常用下式表示^[2-5]:

$$TU = \sum_{i=1}^n TU_i = \sum_{i=1}^n \frac{c_i}{EC x_i} = 1$$

式中, n 是混合物中化合物的成分数, EC x_i 为单一化合物 i 引起 x% 效应的浓度, c_i 为引起 x% 效应的混合物中化合物 i 的浓度.每个分数(c_i/EC x_i)表示混合物中化合物 i 的相对浓度,通常称为毒性单位(TU_i).如果引起 x% 效应的混合物中各个化合物的毒性单位和(TU)等于 1,那么混合物就是浓度相加效应。

本文中化合物结构及作用机理相似,根据浓度相加效应来预测混合物的联合毒性.如果混合物组成确定,就可以知道混合物中各成分浓度占总浓度的分数,则可以根据下式预测化合物的联合毒性^[2-5]:

$$EC x_{mix} = \left| \sum_{i=1}^n \frac{p_i}{EC x_i} \right|^{-1}$$

其中, EC x_{mix} 为引起 x% 效应的混合物预测总浓度, p_i 为混合物中化合物 i 的浓度占总浓度的分数.本文预测的是引起 50% 效应时的混合物总浓度 EC_{50 mix}.

1.6 QSAR 分析和数据处理

使用 SPSS10.0 统计分析软件,在 95% 置信区间内,对毒性数据 -lgEC₅₀ 和各参数进行线性回归分析;构建方程的质量用经自由度校正的相关系数的平方(r^{2_{adj}})、标准偏差(SD)、F 检验值和 F 值的置信水平 p 来度量。

2 结果讨论

2.1 单一毒性

18 种取代联苯对大型蚤的毒性数据见表 1。-lgEC₅₀对 lg K_{ow} 回归得到辛醇-水分配系数模型(表 2 中方程 1); -lgEC₅₀对 V_{mc}、π*、ε_β、ε_α、q⁻、

qH⁺逐步回归得到 TLSEr 模型(表 2 中方程 2); -lgEC₅₀对 M_w、α、E_{lu mo}、E_{homo}、TE、EE、CCR、DE、μ、IP、HOF、qH⁺、q⁻、q⁺这 14 个量子化学参数逐步回归,得到量子化学参数模型(表 2 中方程 3)。本文中只列出进入各回归模型的各参数数值,见表 3。

表 2 取代联苯对大型蚤急性毒性的 QSAR 模型

Table 2 QSAR models of the toxicities of substituted biphenyls to *Daphnia magna*

No.	方程(n=18)	r _{adj} ²	SD	F	p
1	-lgEC ₅₀ = 0.500lg K _{ow} + 0.241	0.698	0.290	40.306	< 0.001
2	-lgEC ₅₀ = 1.713 V _{mc} + 2.744q ⁻ + 0.657	0.779	0.248	30.987	< 0.001
3	-lgEC ₅₀ = 2.937 × 10 ⁻² α + 2.570DE + 4.885 qH ⁺ - 0.833	0.876	0.186	40.946	< 0.001

表 3 进入各 QSAR 模型的参数

Table 3 Parameters selected into QSAR models

No.	lg K _{ow}	进入 TLSEr 模型的参数		进入量子化学参数模型的参数		
		V _{mc}	q ⁻	α	DE	qH ⁺
1	3.760	1.111	-0.162	106.905	-0.459	0.170
2	4.340	1.525	-0.228	146.478	-0.660	0.184
3	5.320	1.760	-0.233	166.351	-0.677	0.185
4	5.820	1.885	-0.233	172.331	-0.675	0.184
5	4.800	1.330	-0.230	129.674	-0.523	0.173
6	5.780	1.948	-0.234	144.491	-0.483	0.182
7	6.270	1.702	-0.233	154.667	-0.520	0.172
8	4.650	1.339	-0.216	124.222	-0.523	0.184
9	5.540	1.524	-0.210	138.442	-0.540	0.185
10	3.440	1.360	-0.481	134.375	-0.969	0.184
11	4.420	1.591	-0.464	151.904	-0.926	0.183
12	4.910	1.712	-0.464	160.400	-0.934	0.183
13	3.880	1.585	-0.287	155.366	-0.888	0.186
14	4.370	1.697	-0.292	166.938	-0.890	0.185
15	4.860	1.824	-0.282	172.929	-0.879	0.186
16	5.350	1.944	-0.282	181.425	-0.886	0.186
17	2.820	1.335	-0.333	136.614	-1.009	0.307
18	4.440	1.529	-0.333	133.442	-0.832	0.306

表 4 模型[方程(2)和方程(3)]拟合结果

Table 4 Models [Eq.(2) and Eq.(3)] fitting results

参数	系数		标准偏差		t 值		p	
	方程 2	方程 3	方程 2	方程 3	方程 2	方程 3	方程 2	方程 3
常数	0.657	-0.833	0.444	0.473	1.479	-1.763	0.160	0.100
V _{mc}	1.713		0.254		6.741		< 0.001	
q ⁻	2.744		0.642		4.276		0.001	
α		2.937 × 10 ⁻²		0.003		10.387		< 0.001
DE		2.570		0.310		8.304		< 0.001
qH ⁺		4.885		1.351		3.616		0.003

3 个模型中,量子化学参数模型(表 2 中方程 3)明显优于辛醇-水分配系数模型和 TLSEr 模型,

从辛醇-水分配系数模型(表 2 中方程 1)看, -lgEC₅₀与 lg K_{ow}相关性较好(r_{adj}² = 0.698),可见受试的取代联苯基本上是非反应性有机物,其毒性机制以麻醉机制为主,毒性大小主要取决于它们从水相迁移到生物相的难易程度以及与生物体靶部位发生色散作用(疏水作用)的能力,但 r_{adj}²并不是非常大,说明还有其他作用的影响。

TLSEr 模型(表 2 中方程 2)优于辛醇-水分配系数模型,TLSEr 模型表明化合物的毒性与分子体积(V_{mc})、最负原子净电荷(q⁻)相关性显著。从显著性检验各回归参数的 t 值(见表 4)看,色散力因子分子体积 V_{mc}是化合物毒性最重要的影响因素,分子体积 V_{mc}越大,需要在溶剂中形成的窝穴越大,为克服溶剂间的内聚作用所需的能量也越大,当化合物在水相和脂肪相中分配时,化合物倾向于进入到分子内聚力较小的脂肪相中去。因此,分子体积越大,化合物越倾向于进入脂肪含量较高的生物体内,则此化合物的毒性也越大。最负原子净电荷 q⁻表示分子的静电碱性,表明氢键作用对化合物毒性也有一定的贡献。

因为量子化学参数模型用足够多量子化学参数来建立与毒性数据的关系,这些量子化学参数能全面反

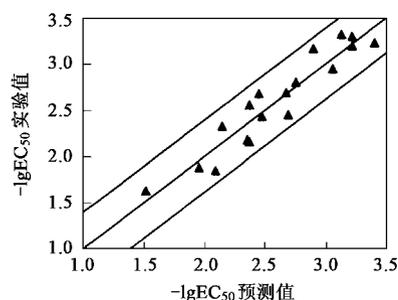


图 1 -lgEC₅₀实验值对方程(3)
(量子化学参数模型)预测值散点的关系

Fig.1 Plot of observed versus predicted -lgEC₅₀ of

Eq.(3) (quantum chemistry parameter model)

映化合物的结构性质,故模型的应用最成功,模型预测能力也很强(见图1).模型表明毒性与极化率(α)、介电能(DE)、氢原子最大正电荷(q_{H^+})显著相关,从显著性检验各回归参数的 t 值(见表4)看,极化率(α)是化合物毒性最重要的影响因素,极化率是与分子体积相关的参数(α 与 V_{mc} 之间的 Pearson 相关系数为 0.876),它反映了分子的非反应性

表 5 混合物联合毒性实验值与预测值

Table 5 Observed and predicted joint toxicities of mixtures

No.	混合物组合	毒性单位比	TU($\pm \sigma$)	EC _{50 mix, exp} / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	EC _{50 mix, pre} / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$
1		2:1	1.21(± 0.14)	11.435	9.472
2	1号:2号	1:1	0.88(± 0.08)	6.713	7.617
3		1:1	0.87(± 0.06)	5.024	5.761
4		2:1	1.32(± 0.12)	2.313	1.752
5	2号:6号	1:1	1.12(± 0.04)	1.801	1.603
6		1:2	1.12(± 0.10)	1.629	1.453
7		2:1	0.83(± 0.06)	8.017	9.606
8	8号:10号	1:1	1.13(± 0.09)	14.657	13.011
9		1:2	0.87(± 0.12)	14.345	16.416
10		2:1	0.78(± 0.08)	4.116	5.246
11	15号:17号	1:1	0.85(± 0.07)	6.375	7.523
12		1:2	0.80(± 0.07)	7.868	9.800
13		2:1:1	1.17(± 0.10)	8.847	7.580
14	1号:6号:8号	1:1:1	0.90(± 0.07)	5.126	5.712
15		1:1:2	0.83(± 0.09)	4.128	4.983
16		2:1:1	1.11(± 0.11)	11.572	10.420
17	2号:10号:17号	1:1:1	1.12(± 0.10)	14.784	13.209
18		1:1:2	1.14(± 0.07)	15.342	13.495
19		1:2:1:1	1.23(± 0.14)	6.926	5.652
20	2号:6号:10号:15号	1:1:1:1	1.20(± 0.13)	8.135	6.781
21		1:1:2:1	1.23(± 0.11)	12.427	10.070
22		1:2:1:1:1	1.08(± 0.11)	10.359	9.610
23	1号:2号:8号:10号:17号	1:1:1:1:1	0.97(± 0.12)	10.764	11.122
24		1:1:1:2:1	0.94(± 0.06)	12.371	13.139
25		1:2:1:1:1:1	0.82(± 0.05)	5.269	6.450
26	1号:2号:6号:8号:10号:15号	1:1:1:1:1:1	1.17(± 0.13)	8.383	7.184
27		1:1:1:1:2:1	1.08(± 0.08)	10.214	9.475
28		1:1:2:1:1:1:1	1.18(± 0.07)	8.629	7.326
29	1号:2号:6号:8号:10号:15号:17号	1:1:1:1:1:1:1	0.87(± 0.09)	7.166	8.208
30		1:1:1:1:2:1:1	1.24(± 0.13)	12.554	10.085

色散作用,极化率越大,毒性越大.方程(3)中的氢原子最大正电荷(q_{H^+})与方程(2)中最负原子净电荷(q^-)的相关性很好(Pearson 相关系数为 0.932),表明 q_{H^+} 越大(即静电酸性越大), q^- 越正(即静电碱性越小),毒性越大,可见此类化合物的是作为氢键供体对生物体产生毒性作用的.介电能(DE)的进入表明电性作用也是化合物致毒的一个影响因素.

2.2 混合毒性

混合毒性研究中为了减少实验量,先将化合物分类.本文中研究的取代联苯都是 4,4' 位取代,18 个致毒的化合物中,有一些之间仅是 $-\text{CH}_2-$ 数目不同,本文中将仅是 $-\text{CH}_2-$ 数目不同的化合物归为同一类;对于其他化合物,8 号和 9 号都是溴取代,归为一类;17 号、18 号都有羟基取代,归为一类.从每一类中随机选取一个化合物,1 号、2 号、6 号、8 号、10 号、15 号、17 号来进行混合毒性研究.测得混合物对大型蚤的 $\text{EC}_{50 \text{ mix, exp}}$ (见表 5).表 5 中 $\text{EC}_{50 \text{ mix, pre}}$ 是根据浓度相加作用预测的混合物半数抑制浓度.

由 TU 值(0.78 ~ 1.32)可知,取代联苯的联合毒性基本表现为浓度相加效应,实验测定的混合物半数抑制浓度($EC_{50\text{mix,exp}}$)与根据联合毒性相加效应预测的混合物半数抑制浓度($EC_{50\text{mix,pre}}$)的相关关系如下:

$$\lg EC_{50\text{mix,exp}} = 0.961 \lg EC_{50\text{mix,pre}} + 0.043 \quad (4)$$

$$n = 30, r_{\text{adj}}^2 = 0.925, SD = 0.071,$$

$$F = 359.419, p < 0.001$$

由方程(4)和图(2)可见,预测值与实验值吻合较好,根据浓度相加效应能够很好地预测取代联苯的联合毒性.

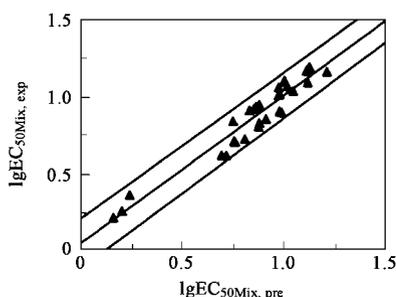


图2 $\lg EC_{50\text{mix}}$ 实验值对预测值散点的关系

Fig.2 Plot of observed versus predicted $\lg EC_{50\text{mix}}$

Hermens 等^[9,10]和 Nirmalakhandan 等^[11]的研究表明,由疏水性引起的非特殊毒性(基本毒性)化合物的联合毒性表现为浓度相加效应;Chen 等^[12]对杂环氮化物对大型蚤的联合毒性的研究也表明,作用机制相似的非反应性化合物的联合毒性表现为浓度相加效应.浓度相加效应已成功地应用于结构及作用机制相似的化合物的毒性预测^[2~4].本文中的取代联苯的结构、毒性机理相似,属于非反应性化合物,无论是二元混合物,还是多元混合物,其联合毒性都可以用浓度相加效应预测.

3 结论

(1)取代联苯是非反应性化合物,在3个模型中,对其毒性影响最大的3个参数 $\lg K_{ow}$ 、分子体积(V_{mc})、极化率(α)都反映了化合物的非反应性色散作用在化合物致毒作用中占主导地位.3个模型中,量子化学参数模型能够很好地预测化合物的单一毒性.

(2)浓度相加的概念可以成功地预测结构和作

用机理相似的非反应性化合物的联合毒性.

(3)对于无单一毒性数据的此类化合物组成的混合物联合毒性,可以用量子化学模型预测化合物单一毒性,再根据浓度相加效应预测混合物的联合毒性.

参考文献:

- [1] Boedeker W, Altenburger R, Faust M, Grimme L H. Synopsis of Concepts and Models for the Quantitative Analysis of Combination Effects: from Biometrics to Ecotoxicology[J]. Arch. Complex Environ. Stud., 1992, 4 (3): 45 ~ 53.
- [2] Backhaus T, Scholze M, Grimme L H. The Single Substance and Mixture Toxicity of Quinolines to the Bioluminescent Bacterium *Vibrio fischeri*[J]. Aquat. Toxicol., 2000, 49: 49 ~ 61.
- [3] Faust M, Altenburger R, Backhaus T. Predicting the Joint Algal Toxicity of Multi-component triazine Mixtures at Low-effect Concentrations of Individual Toxicants[J]. Aquat. Toxicol., 2001, 21: 13 ~ 32.
- [4] Altenburger R, Backhaus T, Boedeker W. Predictability of the Toxicity of Multiple Chemical Mixtures to *Vibrio fischeri*: Mixtures Composed of Similarly Acting Chemicals Environ[J]. Toxicol. Chem., 2000, 19(9): 2341 ~ 2347.
- [5] Backhaus T, Altenburger R, Boedeker W. Predictability of the Toxicity of A Multiple Mixture of Dissimilarly Acting Chemicals to *Vibrio fischeri*[J]. Environ. Toxicol. Chem., 2000, 19(9): 2348 ~ 2356.
- [6] Xu S, Nirmalakhandan N. Use of QSAR models in predicting joint effects in multi-component mixtures of mixtures of organic chemicals[J]. Wat. Res., 1998, 32(8): 2391 ~ 2399.
- [7] Altenburger R, Nendza M, Schüttormann G. Mixture Toxicity and its Modeling by Quantitative Structure-Activity Relationships [J]. Environ. Contam. Toxicol., 2003, 22(8): 1900 ~ 1915.
- [8] Nirmalakhandan N, Arulgnanendran V, Mohsin M, et al. Toxicity of Mixtures of Organic Chemicals to Microorganisms[J]. Wat. Res., 1994, 28(3): 543 ~ 551.
- [9] Hermens J, Leeuwangh P. Joint Toxicity of Mixtures of 18 and 24 Chemicals to the guppy (*Poecilia reticulata*)[J]. Ecotoxicol. Environ. Saf., 1982, 6: 302 ~ 310.
- [10] Hermens J, Busser F, Leeuwangh P, et al. Quantitative Structure-Activity Relationships and Mixture Toxicity of Organic Chemicals in *Photobacterium phosphoreum*: the Microtox Test [J]. Ecotoxicol. Environ. Saf., 1985, 9: 17 ~ 25.
- [11] Nirmalakhandan N, Xu S, Trevizo C, et al. Additivity in Microbial Toxicity of Nonuniform Mixtures of Organic Chemicals. Ecotoxicol[J]. Environ. Saf., 1997, 37: 97 ~ 102.
- [12] Chen J W, Liao Y Y, Zhao Y H, et al. Quantitative Structure-Activity Relationship and Mixture Toxicity Studies of Heterocyclic Nitrogen Compounds. Bull[J]. Environ. Contam. Toxicol., 1996, 57: 77 ~ 83.