

## 음용수의 염소살균부산물(DBPs)인 염화지방족화합물의 QSAR 독성예측치에 대한 열역학적 분자표현자의 역할(II)

김재현\* · 조진남

\*동덕여자대학교 자연과학대학 보건관리학과  
동덕여자대학교 정보과학대학 데이터정보학과

## Screening of QSAR Descriptors for Genotoxicity Prediction of Drinking Water Disinfection Byproducts (DBPs), Chlorinated Aliphatic Compounds-The Role of Thermodynamic factors

Jae Hyoun Kim\* and Jinnam Jo

\*Department of Health Science, School of Natural Science, Dongduk Women's University  
Department of Data Information, School of Information Science, Dongduk Women's University

(Received October 23, 2001 / Accepted December 10, 2001)

**ABSTRACT :** The predictive screening of various molecular descriptors for predicting carcinogenic, mutagenic, teratogenic and alkylation activity of chlorinated disinfection byproducts (DBPs) has been investigated for the application of quantitative structure-activity relationships (QSAR). The toxicity index for 29 compounds were computed by the PASS program and active values were employed in this study. Studies show that different descriptors account for the model equation of each genotoxic endpoint, and that thermodynamic descriptors significantly played a major role on prediction of endpoints of chlorinated aliphatic compounds.

**Keywords :** DBP, QSAR, genotoxic, thermodynamic, descriptor

### 서 론

음용수의 효과적인 살균제는 사람에게 해로운 역치 이하로 미생물의 농도를 감소시켜 주며 상수도배급 시스템을 통하여 재성장을 막아주기도 한다. 공통적인 살균제에는 chlorine, chlorine dioxide, 및 monochloramine 등이 있으며 이러한 화학물질은 유기물과 반응하여 trihalomethanes (THM), haloacetic acids, haloacetonitriles, haloketones, chlorite, and chlorate (Shin *et al.*, 1999) 등의 부산물 (DBPs)을 발생시킨다. 이에 따라서 정수산업계는 DBP 물질에 대한 독성치외에도 여러 가지의 전강의 영향을 의무적으로 평가해야만 한다. 우리가 마시는 음용수에 대한 살균법의 공중보건학적인 잇점은 알려졌지만 이러한 방법은 발암물질이나 그밖의 유해한 독성을 일으키는 문제점을 안고 있다 (Morris *et al.*, 1992; King *et al.*, 2000; Nieuwehuijsen *et al.*, 2000).

Quantitative structure-activity relationships (QSAR) 방법

은 분자들의 구조적 혹은 물리화학적 성질을 생물학적 반응 성과 연계하는 방법이다. 이러한 물리화학적 분자표현자들은 hydrophobicity, topology, electronic properties 및 steric effects 등이 있으며 QSAR model은 독성의 효과나 정도를 예측하는 약의 제조과정이나 환경유해성평가에 많이 쓰이고 있다 (Barratt, 1995; Polloth and Mangelsdorf, 1997; Klopman and Rosenkranz, 1994).

지방족 염소계화합물에 대한 발암성이나 변이원성을 예측하기 위하여 QSAR 방법에 대한 결과가 발표되고 있으나 분자표현자가 매우 다른 패턴을 나타내고 있다. 양자역학의 화학적 분자표현자를 이용하여 80여종의 지방족 염소계 물질에 대한 QSAR 연구가 실행되었으며 (Sixt and Bruggemann, 1995), molar refractivity나 전자효과인 LUMO와의 상관관계를 보여 주었고 (Cebelli *et al.*, 1992), 또한 molecular volume이 분자들의 용해도를 설명하는 데 가장 중요한 핵심 분자표현자로 밝혀졌다 (Huibers and Katritzky, 1998). 일단 기에 치환된 mono- 및 dihalogenated alkane에 대한 일차적인 QSBR (quantitative structure biodegradability relationship)

\*To whom correspondence should be addressed

model에서는 hydrophobicity(logP), steric(MW), and electronic(LUMO, total energy, heat of formation)의 분자표현자들이 중요하였다(Damborsky, 1996). 또한 염소계 지방족화합물의 반응계수와 활성화에너지는 음의 상관관계가 있다는 것이 제시되었다(Verhaar *et al.*, 1996). 그러나 10종의 염소계 지방족 화합물들에 대한 분자표현자와 예측치의 상관관계가 전혀 없다는 결론도 얻었다(Rorije *et al.*, 1997). S9 mix. 존재하에 실험된 비변이원성 예측치는 lipophilicity(logP), electron donor ability(charge), longest carbon-chlorine(LBC-Cl) bond length, steric parameters(molar refractivity 및 LBC-Cl), 그리고 electronic parameters(LUMO; indicating electrophilicity)등의 분자표현자와 밀접한 관련이 있는 것으로 밝혀졌다(Tafazoli *et al.*, 1998).

Genotoxic endpoint에 대한 일부의 궁정적인 QSAR 연구 결과에도 불구하고 단순한 구조를 가진 염소계 지방족 화합물에 대한 독성치와 분자표현자의 상관관계는 아직 뚜렷이 밝혀지지 않고 데이터가 서로 다르게 나타나고 있다. 일차적인 방법으로 12개의 분자표현자를 이용하여 QSAR 예측모델을 연구한 결과 열역학적인 변수가 작용한다는 사실을 발견하였다(Kim *et al.*, 2001). 그러한 점에서 이 연구 논문에서는 다음의 두 가지 목적을 가지고 연구를 수행하려고 한다. 첫째, QSAR연구에서는 많은 분자표현자들이 사용되므로 어느표현자가 사용되는지의 여부를 미리 알려주는 사전 스크리닝방법을 이용하면 화학적인 구조특성을 조기에 밝힐 수가 있으며 그 결과를 토대로 각각의 독성에 쓰이는 치환기(steric) 및 열역학적인(thermodynamic) 분자표현자를 중점적인 지문(fingerprint)으로 사용하여 짧은 시간에 적절한 표현자를 결정할 수 있게 된다. 둘째, 각각의 endpoint에 대한 독성의 전체적인 스펙트럼을 알아보기 위함이다. 화합물들의 endpoint와 분자구조의 특성 및 그에 따른 패턴을 연관시켜 분자구조에 따른 상호적인 특성을 파악함을 목적으로 연구한다.

## 연구방법

본 연구에서는 29개의 염소계 지방족화합물을 대표화합물로 선정하였으며 대표적인 분자표현자인 hydrophobicity(logP), steric(MW, IX), and electronic(LUMO, total energy, heat of formation)의 값을 일차적으로 최소한의 숫자로 선정하였다. 독성값은 컴퓨터 프로그램인 ISIS/DRAW(MDL Information Systems, Inc.)를 사용하여 구조를 그린 다음 PASS프로그램(Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences)에 연결하여 발암성(carcinogenicity), 변이원성(mutagenicity), 태아기형성(teratogenicity) 및 알킬화(alkylation)의 독성치 값을 각각

얻었다. 분자표현자의 값은 컴퓨터 프로그램을 사용하여 나온 수치를 그대로 적용하였으며 독성값은 로그값을 취하여 사용하였다. 모든 표현자들은 Molpro software (Chem3D Pro Inc.)를 이용하여 계산하였으며 HOMO 및 LUMO 에너지는 Winmopac 3.0(Fujitsu Limited) 소프트웨어를 사용하여 계산하였다. 분자표현자의 이름은 표 1에 나타나 있으며 데이터에 대한 결과분석(표 2)은 Windows용 SAS(SAS Institute Inc.) 통계프로그램을 이용하여 stepwise 회귀분석을 하였다.

## 연구결과

1차적인 스크리닝방법에서 이용된 분자표현자를 사용하여 QSAR예측을 하였으나 매우낮은 상관관계 값이 나타났으며, 특히 teratogenicity의 값이 boiling point값에 의존한다는 것이 밝혀졌다(Kim *et al.*, 2001). 이에 따라 입체적 및 열역학적인 분자표현자들을 첨가하여 실제로 상관계수값이 증가되는지를 알아보기 위하여 기준의 독립변수에 Kappa shape index(2nd-order), 3-D Wiener number, enthalpy of fusion (KJ/mole), molar refractivity, heat of vaporization(103 cal/mol), MVE(molar vaporization energy), heat capacity (J.mole.K)를 첨가하여 표현자들의 상관계수값을 계산하는데 이용하였다(표 1).

다음의 표 2는 단계적 회귀분석에 의하여 얻어진 선형회귀방정식 추정모델이다.

표 3은 SAS package 프로그램을 이용하여 독립변수와 비독립변수에 대한 Pearson 상관계수값을 나타낸 것이다. Embryotoxicity, Carcinogenicity, Teratogenicity 및 Alkylation

표 1. QSAR연구에 사용된 분자표현자

X1 : LogP (logKow)
X2 : HF-energy (Hartree-Fock method)
X3 : valence connectivity index (2nd-order)
X4 : surface area
X5 : dipole moment
X6 : HOMO energy
X7 : LUMO energy
X8 : solubility
X9 : BP (boiling point)
X10 : VP (vapor pressure)
X11 : Number of Cl
X12 : MW (molecular weight)
X13 : Kappa shape index (2nd-order)
X14 : 3-D Wiener number
X15 : enthalpy of fusion (KJ/mole)
X16 : MR (Molar Refractivity)
X17 : heat of vaporization (103cal/mol)
X18 : MVE (molar vaporization energy)
X19 : Heat capacity (JmoleK)

**표 2. 독성치와 분자표현자의 QSAR 모델방정식**

1. Embryotoxicity	
Embryotoxicity ( $\log X$ ) = $1.803 + 0.019$ (Number of CI) (0.0001) (0.056)	
$R^2 = 0.1287$	
2. Carcinogenicity ( $\log X$ )	
Carcinogenicity ( $\log X$ ) = $1.722 - 0.00002$ (HF-energy) (0.0001) (0.013)	
- $0.6793$ (solubility) + $0.0023$ (BP) + $0.0001$ (VP) (0.052) (0.104) (0.005)	
- $0.0042$ (MW) - $0.058$ (Kappa shape index 2) + $0.014$ (MVE) (0.0018) (0.014) (0.010)	
$R^2 = 0.6355$	
3. Mutagenicity ( $\log X$ )	
Mutagenicity ( $\log X$ ) = $0.948 - 0.00002$ (HF-energy) (0.0002) (0.084)	
+ $0.0049$ (surface area) + $0.00011$ (VP) (0.028) (0.006)	
- $0.0051$ (MW) + $0.0206$ (MVE) (0.0007) (0.0006)	
$R^2 = 0.5359$	
4. Teratogenicity ( $\log X$ )	
Teratogenicity ( $\log X$ ) = $2.090 + 0.000038$ (HF-energy) (0.0001) (0.0053)	
+ $0.0023$ (BP) + $0.1067$ (number of CI) - $0.0274$ (MR) (0.065) (0.001) (0.0060)	
$R^2 = 0.5581$	
5. Alkylation ( $\log X$ )	
Alkylation( $\log X$ ) = $-3.376 - 7.843$ (HOMO) + $3.846$ (LUMO) (0.004) (0.006) (0.0804)	
+ $0.271$ (enthalpy of fusion) - $0.056$ (MVE) (0.0002) (0.0137)	
$R^2 = 0.5551$	

\*( )은 위의 수치에 대한 p-value이며,  $\log X$ 는 각각의 독성값에 log를 취한 값이다.

대한 결정계수( $R^2$ )는 29개의 화합물을 사용했을 경우, 각각 0.1287, 0.0808, 0.3023 및 0.1083으로 계산되었으나(Kim et al., 2001) 열역학적 분자표현자의 첨가시 0.1287, 0.6355, 0.5359, 0.5581 그리고 0.5551로 크게 증가되었다(표 2). 표의 endpoint 예측모델의 방정식에서는 각기 서로 다른 표현자가 사용되었으며 열역학적인 분자표현자가 공통적으로 쓰이고 있음을 확인할 수 있다.

## 결 론

열역학적인 분자표현자들은 Embryotoxicity에서는 중요하지 않았으나 나머지 Mutagenicity, Teratogenicity 및 Alkylation에서는 열역학적인 에너지값이 공통적으로 이용되었으며, 그로 인하여 결정계수 값이 매우 증가되었다. Embryotoxicity에서는 염소수(number of CI)에 의하여 독성이 결정되었으며, Carcinogenicity에서는 HF-energy, solubility, boiling point(bp), vapor pressure, MW, Kappa shape

**표 3. SAS를 이용한 29개 화합물에 대한 Pearson 상관계수표**

	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5
X1	0.19145	-0.02539	-0.04941	0.34126	-0.01179
X2	-0.09211	-0.28432	-0.18979	0.22617	-0.0670
X3	0.18485	-0.06523	-0.18659	0.40459	0.03153
X4	0.25471	0.13796	0.13926	0.33675	0.22650
X5	-0.16127	-0.19009	-0.09786	0.06318	0.00599
X6	0.08257	0.26301	0.24617	-0.33580	-0.20975
X7	-0.03110	-0.02304	0.19384	-0.02298	0.14160
X8	0.02895	0.02063	0.01739	0.09745	0.05549
X9	0.30201	0.24863	0.17418	0.34737	0.32903
X10	0.03562	0.07392	0.08410	0.02614	-0.20471
X11	0.35878	0.19558	0.00337	0.49220	0.17232
X12	0.30616	0.13921	-0.01524	0.45660	0.19894
X13	-0.15910	0.05860	0.21438	-0.25000	0.43761
X14	-0.15927	-0.10982	0.17028	-0.18404	0.12065
X15	0.20551	0.25946	0.25288	0.16352	0.47721
X16	0.24705	0.21295	0.16400	0.20724	0.21339
X17	0.27521	0.26659	0.19248	0.30610	0.37213
X18	0.34548	0.38373	0.29148	0.23338	0.30969
X19	0.16797	0.21186	0.28015	0.02093	0.20317

index(2nd-order) 그리고 MVE(molar vaporization energy)의 입체 및 열역학적인 표현자로 밝혀졌다. Teratogenicity의 독성은 HF-energy, BP, number of Cl 그리고 입체적인 매개변수인 molar refractivity으로부터 상관성을 찾을 수 있었다. 예측한대로 alkylation에서는 HOMO 및 LUMO에너지, enthalpy of fusion 및 molar vaporization energy값이 적용되었다.

위의 연구결과로 다음의 결론을 얻을 수 있었다.

(1) 염소계 지방족 화합물에서는 열역학적인 분자표현자가 중요한 상관인자로 밝혀졌으며 더 많은 열역학적 및 다양한 표현자들을 사용하여 결정계수를 높일 수 있는 가능성을 확인하였다.

(2) 각각의 분자표현자가 독성에 따라 다르게 적용된다는 사실을 알 수 있었다.

(3) alkene화합물을 제외한 alkane만을 이용한 QSAR연구에서는 더욱 더 큰 결정계수를 얻을 수 있다는 연구결과(Kim et al., 2001)에 비추어 향후과제에서는 alkene을 제외한 데이터를 이용하면 증가된 결정계수를 얻을 수 있을 것이다.

## 참고문헌

- Barratt, M.D., Castell, J.V., Chamberlain, M., Combes, R.D., Dearden, J.C., Fentem, J.H., Gerner, I., Giuliano, A., Gray, T.J.B., Livingstone, D.J., Provan, W.M., Rutten, F.A.J.J.L., Verhaar, H.J.M. and Zbinden, P. (1995): The integrated use of alternative approaches for predicting toxic hazard. ATLA, 23, 410-429.  
Blaha, L., Damborsky, J. and Nemec M. (1998): QSAR for acute

- toxicity of saturated and unsaturated halogenated aliphatic compounds. *Chemosphere*, **36**, 1345-1365.
- Boorman, G.A., Dellarco, V., Dunnick, J.K., Chapin, R.E., Hunter, S., Hauchman, F., Gardner, H., Cox, M., and Sills, R.C. (1999): Drinking water disinfection byproducts: review and approach to toxicity evaluation. *Environ. Health Perspect.*, **107**(Suppl. 1), 207-217.
- Bull, R.J., and Kopfler, F.C. (1991): Health Effects of Disinfectants and Disinfection By-products. Prepared for the American Water Works Association Research Foundation, Denver, Colo. U.S.A.
- Crebelli, R., Andreoli, C., Carese, A., Conti, G., Conti, L., Cotta Ramusino, M. and Benigni, R. (1992): The induction of mitotic chromosome malsegregation in *Aspergillus nidulans*. Quantitative structure activity relationship (QSAR) analysis with chlorinated aliphatic hydrocarbons. *Mutat. Res.*, **266**(2), 117-34.
- Cronin, M.T.D. and Schultz, T.W. (2001): Development of quantitative structure-activity relationships for the toxicity of aromatic compounds to *Tetrahymena pyriformis*: comparative assessment of the methodologies. *Chem. Res. Toxicol.*, **14**, 1284-1295.
- Damborsky, J. (1996): A Mechanistic Approach to deriving quantitative structure-activity relationship models for microbial degradation of organic compounds. *SAR and QSAR in Environ. Res.*, **5**, 27-36.
- Debnath, A.K., Lopez de Compadre, R.L., Shusterman, A.J. and Hansch, C. (1992): Quantitative structure-activity relationship investigation of the role of hydrophobicity in regulating mutagenicity in the Ames test: 2. Mutagenicity of aromatic and heteroaromatic nitro compounds in *Salmonella Typhimurium TA100*. *Environ. Mol. Mutagen.*, **19**(1), 53-70.
- Debnath, A.K. and Hansch, C. (1993): Mechanistic interpretation of the genotoxicity of nitrofurans (antibacterial agents) using quantitative structure-activity relationships (QSAR) and comparative molecular field analysis (CoMFA). *J. Med. Chem.*, **36**, 1007-1016.
- Debnath, A.K., Shuster, A.J., Lopez de Compadre, R.L. and Hansch, C. (1994): The importance of the hydrophobicity interaction in the mutagenicity of organic compounds. *Mutat. Res.*, **305**, 63-72.
- Ford, T.E. (1999): Microbiological Safety of Drinking Water: United States and Global Perspectives. *Environ. Health Perspect.*, **107**(Suppl. 1), 191-206.
- Huibers, P.D.T. and Katritzky, A.R. (1998): Correlation of the aqueous solubility of hydrocarbons and halogenated hydrocarbons with molecular structure. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, **38**, 283-292.
- Kim, J.H., Jo, J.N., Jin, B.S., Lee, D.S., Kim, K.T. and Om, A.S. (2001): Primary screening of QSAR molecular descriptors for genotoxicity prediction of drinking water disinfection byproducts (DBPs), chlorinated aliphatic compounds. *Korean J. Environ. Mutagens Carcinogens* (submitted).
- King W, Dodds L, Allen A. (2000): Relation between stillbirth and specific chlorination by-products in public water supplies. *Environ Health Perspect* 2000; **108**, 883-886.
- Klopman, G. and Rosenkranz, H.S. (1994): International commission for protection against environmental mutagens and carcinogens. approaches to SAR in carcinogenesis and mutagenesis. Prediction of carcinogenicity/mutagenicity using MULTICASE. *Mutat. Res.*, **305**(1), 33-46.
- Morris, R.D., Audet, A.M., Angelillo, I.F., Chalmers, T.C. and Mossteller, F. (1992): Chlorination, Chlorination By-products, and Cancer: A Meta-analysis. *Am. J. Pub. Health.*, **82**(7), 955-963.
- Nieuwehuijsen, M.J., Toledoano, M.B., Eaton, N.E., Fawell, J., Elliott, P. (2000): Chlorine disinfection by-products in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *J. Occup. Environ. Med.* 134-142.
- Pollo, C. and Mangelsdorf, I. (1997): Commentary on the application of (Q)SAR to the toxicological evaluation of existing chemicals. *Chemosphere*, **35**(11), 2525-42.
- Purdy, R. (1996): A mechanism-mediated model for carcinogenicity: model content and prediction of the outcome of rodent carcinogenicity bioassays currently being conducted on 25 organic chemicals. *Environ. Health Perspect.*, **104**(Suppl. 5): 1085-94.
- Rorije, E., L., Eriksson, H.J., Verboom, H.J.M., Verhaar, J.L.M., Hermens, and Peijnenburg, W.J.G.M. (1997): Predicting reductive transformation rates of halogenated aliphatic compounds using different QSAR approaches. *Environ. Sci. Poll. Res.*, **4**, 47-54.
- Shin, D., Chung, Y., Choi, Y., Kim, J., Park, Y. and Kum, H. (1999): Assessment of disinfection by-products in drinking water in Korea. *J. Expo. Anal. Environ. Epidemiol.*, **9**(3), 192-9.
- Sixt, S., Altschuh, J. and Bruggemann, R. (1995): Quantitative structure-toxicity relationships for 80 chlorinated compounds using quantum chemical descriptors. *Chemosphere*, **30**, 2397-2414.
- Smith, C.J., Hansch, C. and Morton, M.J. (1997): QSAR treatment of multiple toxicities: the mutagenicity and cytotoxicity of quinolines. *Mutat. Res.*, **379**(2), 167-75.
- Symons, J.M. (2001): The Early History of Disinfection By-Products: A Personal Chronicle, *Environ. Engineer*, **37**(Part I), 20-26.
- Tafazoli, M., Baeten, A., Geerlings, P. and Kirsch-Volders, M. (1998): In vitro mutagenicity and genotoxicity study of a number of short-chain chlorinated hydrocarbons using the micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis technique (Comet assay) in human lymphocytes: a structure-activity relationship (QSAR) analysis of the genotoxic and cytotoxic potential. *Mutagenesis*, **13**(2), 115-26.
- Tuppurainen, K. (1999): Frontier orbital energies, hydrophobicity and steric factors as physical QSAR descriptors of molecular mutagenicity. A review with a case study: MX compounds. *Chemosphere*, **38**(13), 3015-30.
- Verhaar, H.J.M., Rorije, E., Borkent, H., Seinen, W., and Hermens, J.L.M. (1996): Modelling the nucleophilic reactivity of small organochlorine electrophiles. A mechanistically-based Quantitative Structure-Activity Relationship. *Environ. Toxicol. Chem.*, **15**, 1011-1018.