赵嵩山,张嘉伟,张 政,等.五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白相互作用研究 [J]. 中国环境科学, 2026,46(3):1638-1645.
Zhao S S, Zhang J W, Zhang Z, et al. Study on the interaction of pentachlorothiophenol with Chinese rare minnow transthyretin [J]. China Environmental Science, 2026,46(3):1638-1645.

五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白相互作用研究

赵嵩山,张嘉伟,张 政,刘会会,杨先海* (南京理工大学环境与生物工程学院,江苏 南京 210094)

摘要：以五氯苯硫酚(PCTP)和稀有鮈鲫(*Gobiocypris rarus*)运甲状腺素蛋白为研究对象,测定了五氯苯硫酚与该蛋白的亲和力数据,辨析了五氯苯硫酚与该蛋白的分子识别机制,结合本研究及文献中关于有机新污染物与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白间的干扰效应数据,构建了可预测苯硫酚等新污染物潜在稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白干扰效应的二元分类预测模型.结果表明:五氯苯硫酚的水溶解度值为(0.636 ± 0.0871) mg/L (25 ℃);五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白结合的相对结合势(logRP)值为(0.0200 ± 0.0533),表明其属于具有目标蛋白高结合能力的新污染物;五氯苯硫酚与蛋白间主要存在卤氢键、卤键、疏水相互作用等非键相互作用;成功构建了三个最优二元分类模型(即 k-最邻近模型、随机森林模型、决策树模型),三个模型预测准确性(*Q*)等统计参数值均为 1,说明模型具有较好的预测能力;基于最优预测模型,更新了运甲状腺素蛋白干扰物识别工具"TTR Profiler",使该工具相关预测模型应用域涵盖了苯硫酚类物质.

关键词：五氯苯硫酚；内分泌干扰效应；稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白；作用机制；预测模型
中图分类号：X131 **文献标识码**：A **文章编号**：1000-6923(2026)03-1638-08

Study on the interaction of pentachlorothiophenol with Chinese rare minnow transthyretin. ZHAO Song-shan, ZHANG Jia-wei, ZHANG Zheng, LIU Hui-hui, YANG Xian-hai* (School of Environmental and Biological Engineering, Nanjing University of Science and Technology, Nanjing 210094, China). *China Environmental Science*, 2026,46(3)：1638~1645

Abstract：In this study, the pentachlorothiophenol (PCTP) and Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) transthyretin were selected as the objects of study. We determined the potential binding affinity data of pentachlorothiophenol on Chinese rare minnow transthyretin, revealed the underlying molecular recognition mechanism between pentachlorothiophenol and the protein, and derived the binary classification models for distinguishing whether a given substance was a potential Chinese rare minnow transthyretin disruptor or not by using the Chinese rare minnow transthyretin disrupting data measured in this study and previous studies. The experimental results indicated that the observed water solubility value of pentachlorothiophenol was (0.636 ± 0.0871) mg/L (25℃). The relative competing potency of pentachlorothiophenol with 3,3',5,5'-Tetraiodo-L-thyronine (T_4) binding to Chinese rare minnow transthyretin (logRP) was (0.0200 ± 0.0533), implying that pentachlorothiophenol was a high potency Chinese rare minnow transthyretin disruptor. The molecular simulation results documented that the binding interaction between pentachlorothiophenol and Chinese rare minnow transthyretin was controlled by the halogen hydrogen bond, halogen bond, and hydrophobic interactions. In the modelling, three optimum binary classification models (i.e. k nearest neighbour model, random forest model, decision tree model) were successfully developed. The statistical parameters (e.g. predictive accuracy (*Q*)) values of those optimum models were 1, highlighting that those optimum models had great classification performance. Finally, the tool named "TTR Profiler" that used to identify potential transthyretin disruptors was updated by integrating the newly developed optimum models, which means that the application domain of the related models in the new tool covered the thiophenols.

Key words: pentachlorothiophenol; endocrine disrupting effects; Chinese rare minnow transthyretin; mechanism of action; predictive model

五氯苯硫酚(PCTP)等苯硫酚类物质可用于多种工业生产过程[1],其国内的年生产和使用量为数千吨[2];此外,五氯苯硫酚还是广泛使用的杀菌剂-五氯硝基苯的代谢物之一[3].研究表明,五氯苯硫酚可在多种环境介质、及产品中检出[4-6].例如,通过分析瑞士日内瓦湖湖水和沉积物样品中五氯苯硫酚的赋存情况,发现五氯苯硫酚可在全部 30 个湖水样品(浓度 193.7~225.2ng/L)和部分沉积物样品(最高浓度为 6.8ng/kg)中检出[4];针对涵盖农产品、畜牧产品、水产品等类型的 870 种食品类样品进行了五氯

收稿日期：2025-07-31
基金项目：国家自然科学基金资助项目(22176097);中央高校基本科研业务费专项资金项目(30923011032)
* 责任作者, 副教授, xhyang@njust.edu.cn

苯硫酚含量检测,发现五氯苯硫酚在食品样品中广泛存在,最高检出浓度为 13.63ng/g[5].

五氯苯硫酚潜在的健康和环境毒理效应研究较少[6-9],但已有毒理学研究证明,五氯苯硫酚具有较强的健康和生态危害.目前,我国、美国等化学品管理部门已将五氯苯硫酚列为优先控制化学品[10-12].但健康和生态毒理学数据的严重缺乏,制约了化学品管理部门对其开展进一步风险评估等管控行动,因而针对五氯苯硫酚开展系统毒理学研究具有重要意义.

当前,探究五氯苯硫酚是否具有潜在内分泌干扰效应的研究还较少.前期,本团队研究了五氯苯硫酚与人运甲状腺素蛋白(hTTR)的相互作用[7]、易忠胜等研究了其与人甲状腺结合球蛋白(hTBG)的相互作用[8].研究结果显示,五氯苯硫酚对人运甲状腺素蛋白、人甲状腺结合球蛋白均表现较强干扰活性,说明五氯苯硫酚可能会通过干扰人甲状腺素体内转运等途径引发潜在内分泌干扰效应.考虑到化学物质与不同生物相同内分泌靶标间的相互作用存在物种差异性[13-14],有必要进一步开展研究以阐明五氯苯硫酚是否能干扰鱼甲状腺素转运蛋白等非人类内分泌靶标.本文以稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白为研究对象,测定五氯苯硫酚与该蛋白的亲和能力数据及探究其分子识别机制;构建涵盖苯硫酚类新污染物的稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白干扰效应预测模型/工具.为扩展预测模型适用范围,测定另外 3 个物质与目标蛋白的亲和力数据,物质包括 2,4,6−三氯苯硫酚 (2,4,6−TCTP)、3,5−二氯−4−羟基苯腈 (3,5−DC−4−HO−BN)、3,5−二碘−4−羟基苯腈 (3,5−DI−4−HO−BN).

1　材料与方法

1.1　药品试剂

五氯苯硫酚(纯度 98%,CAS 号 133−49−3)购于北京百灵威科技有限公司.2,4,6−三氯苯硫酚源于 Fluorchem Ltd (纯度≥95%,CAS 号 24207−66−7).3,5−二氯−4−羟基苯腈(纯度 98%, CAS 号 1891−95−8)和 3,5−二碘−4−羟基苯腈(纯度 95%, CAS 号 1689−83−4)均来自上海毕得医药.3,3’,5,5’−*L*−四碘甲状腺原氨酸(T_4)(纯度 98.0%,CAS 号 51−48−9)、荧光探针 8−苯胺基−1−萘磺酸胺(ANSA)(纯度≥95.0%,CAS 号 28836−03−5)分别购于上海百灵威化学技术有限公司、梯希爱(上海)化成工业发展有限公司.重组稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白由本团队在前期研究中表达纯化[14].模型化合物分子结构如图 1 所示.

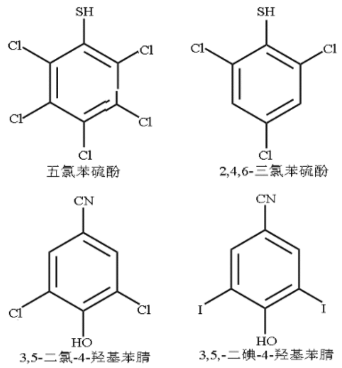


图 1　模型化合物分子结构示意

Fig.1　Molecular structure of model compounds

1.2　五氯苯硫酚溶解度测定

称取 0.0141g 五氯苯硫酚,采用甲醇定容至 50mL,获得 1mmol/L 的五氯苯硫酚储备液.基于储备液,配置浓度分别为 0.01,0.0075,0.005,0.0025,0.001mmol/L(即 2.824,2.118,1.412,0.706,0.2824mg/L)的五氯苯硫酚溶液.分别取 10mL 各浓度组溶液,氮吹至尽干,然后加入 500 μL 甲醇洗涤定容,微孔滤膜过滤后使用高效液相色谱(安捷伦 1260Infinity II)测定.高效液相色谱关键条件为:C18 色谱柱[5μm, 4.6mm×250mm],流动相为甲醇−水体系(80:20(*V*/*V*)),流速为 1.0mL/min,每种化合物的最大吸收波长用二极管阵列检测器扫描确定,进样量为 10μL.

将适量化合物置于盛 250mL 蒸馏水的蓝口瓶中,放入振荡器中恒温振荡((25±0.5)℃).然后,分别在 12,24,36,48,60h 取 5mL 水样并过滤,氮吹吹干后,加入甲醇溶解,使用高效液相色谱测定.根据标准曲线计算五氯苯硫酚在水中的溶解度.

1.3　竞争结合试验

以 8−苯胺基−1−萘磺酸胺为荧光探针,采用荧光竞争结合试验测定 3,3’,5,5’−*L*−四碘甲状腺原氨酸、4 种模型化合物与稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白的相互作用.该方法已成功应用于测定有机新污染物与人、稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白的亲和力,测定方法详见本团队前期研究[14-16].测试仪器为荧光分光光度计(970CRT,上海仪电分析仪器有限公司).采用 Origin 2021(Northampton, MA, USA)中 log−logistic 方法对

物质浓度和相对荧光强度进行非线性拟合,以获取半数抑制浓度(IC_{50})和相应标准差,结果以半数抑制浓度值±相应标准差表示.

1.4 分子模拟

本团队采用自测的稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白氨基酸序列和同源建模方法,已成功构建了该蛋白3D结构,并验证了其可靠性[14].基于该蛋白3D结构,使用分子对接方法(Autodock 软件[17]),获取了五氯苯硫酚在蛋白结合空腔中可能的活性构象.然后通过AMBER 2019(http://ambermd.org)软件[18],进行了5ns的分子动力学模拟,相关模型参数设置同本团队前期相关研究[14,16].基于获取的构象,分析了典型非键相互作用(离子对、氢键、卤键、疏水作用等)形成情况.使用Discovery Studio客户端(v17.2.0.16349 (Dassault Systèmes Biovia Co.))进行可视化,同时使用LigPlot + (v2.2.8)软件分析疏水相互作用[19].

1.5 预测模型构建与表征

总结了Zhao等[14]和Li等[15]关于有机新污染物对稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白的干扰效应数据,结合本研究测定的4种物质相关数据,合计得到61种新污染物干扰效应数据(表 1).表中定量效应值为基于3,3',5,5'-*L*-四碘甲状腺原氨酸(T_4)的相对结合势(logRP)值,其计算公式为:

$$\log \mathrm{RP} = \log \frac{\mathrm{IC_{50}}(\text{参比物})}{\mathrm{IC_{50}}(\text{污染物})} \quad (1)$$

式中:IC_{50}(参比物)和 IC_{50}(污染物)分别为参比物(3,3',5,5'-*L*-四碘甲状腺原氨酸)和污染物的半数抑制浓度.表 1 中定性数据表示为活性物质(A)和非活性物质(I),其中非活性物质(I)是指在测定浓度范围内其荧光强度变化小于 20%的物质.活性物质(A)是指能计算半数抑制浓度值或在测定浓度范围内其荧光强度变化大于20%的物质.

采用开源的 PaDEL Descriptors 软件计算一维和二维描述符,以及 Pubchem 分子指纹描述符[20].建模前,对计算的描述符进行了预处理,方法如下:去除常数描述符,去除含缺失值的描述符,或去除相关系数大于 0.95 的描述符[21],最后合计得到 969 个描述符.建模时,使用 Python 3.9 中 StandardScaler 模块对描述符进行标准化.最优预测变量采用向前逐步选择法(forward stepwise approach)进行筛选.

根据新污染物与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白亲和力数据,采用以下机器学习算法构建二元分类模型:k-最近邻、逻辑回归、支持向量机、决策树、随机森林和梯度提升决策树.机器学习分析使用Python 3.9中的scikit-learn模块进行[22].使用灵敏度(S_n)、特异性(S_p)、预测准确度(Q)、马修斯相关系数(MCC)、受试者工作特性(ROC)图来评估分类模型性能[23].建模中进行5折交叉验证.采用Grid搜索方法进行模型超参数优化.

使用基于欧几里得距离和杠杆值的方法表征二元分类模型的应用域(AD),该方法详见 Li 等[15]研究.

表 1 污染物基础信息及其对稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白干扰效应数据

Table 1 Basic information of compounds and their Chinese rare minnow transthyretin disrupting data

序号	物质名称	CAS 号	SMILES 码	效应值*
1	3,3',5-三碘-L-甲腺原氨酸	006893-02-3	NC(Cc2cc(I)c(Oc1ccc(O)c(I)c1)c(I)c2)C(O)=O	A(0.0946)
2	3,3',5,5'-四碘-L-甲腺原氨酸	000051-48-9	O=C(O)C(N)CC1=CC(I)=C(OC2=CC(I)=C(C(I)=C2)O)C(I)=C1	A(0)
3	N-(1,3-二甲基丁基)-N'-苯基对苯二胺	000793-24-8	CC(C)CC(C)Nc1ccc(cc1)Nc2ccccc2	I
4	2-((4-甲基戊-2-基)氨基)-5-(苯基氨基)环己-2,5-二烯-1,4-二酮	2754428-18-5	O=C2C=C(NC(C)CC(C)C)C(=O)C=C2(Nc1ccccc1)	I
5	2-氨基苯并噻唑	000136-95-8	NC(=Nc(c1ccc2)c2)S1	I
6	2-羟基苯并噻唑	000934-34-9	O=C(Nc(c1ccc2)c2)S1	I
7	1,3-二苯胍	000102-06-7	N=C(Nc(cccc1)c1)Nc(cccc2)c2	I
8	1,3-二苯脲	000102-07-8	O=C(Nc(cccc1)c1)Nc(cccc2)c2	I
9	4-羟基二苯胺	000122-37-2	c1ccc(cc1)Nc2ccc(cc2)O	I
10	2,4,6-三[双(甲氧基甲基)氨基]-1,3,5-三嗪	003089-11-0	O(CN(c(nc(nc1N(COC)COC)N(COC)COC)n1)COC)C	I
11	3,5-二碘-2-羟基苯醛	002631-77-8	C(=O)c1c(O)c(I)cc(c1)I	A(-0.558)
12	2,6-二溴-1.4-苯醌	019643-45-9	O=C1C(=CC(=O)C=C1Br)Br	A(-0.285)
13	2,6-二氯-1.4-苯醌	000697-91-6	O=C1C(=CC(=O)C=C1Cl)Cl	A(-0.308)

续表 1

序号	物质名称	CAS 号	SMILES 码	效应值*
14	溴氯酚蓝	002553-71-1	O=S1(=O)OC(c2c1cccc2)(c1cc(Br)c(c(c1)Cl)O)c1cc(Br)c(c(c1)Cl)O	A(-2.16)
15	2-溴-6-氯-4-硝基苯酚	020294-55-7	N(=O)(=O)c1cc(Br)c(c(c1)Cl)O	A(0.399)
16	2,5-二溴-1.4-苯醌	001633-14-3	C1=C(C(=O)C=C(C1=O)Br)Br	A(-0.211)
17	2,6-二碘-4-硝基苯酚	000305-85-1	C1=C(C=C(C(=C1I)O)I)[N+](=O)[O-]	A(0.675)
18	3,5-二碘-4-羟基苯甲醛	001948-40-9	C1=C(C=C(C(=C1I)O)I)C=O	A(-0.0213)
19	四氯苯醌	000118-75-2	C1(=C(C(=O)C(=C(C1=O)Cl)Cl)Cl)Cl	A(0.272)
20	3-甲基-2-硝基苯酚	004920-77-8	CC1=C(C(=CC=C1)O)[N+](=O)[O-]	A(-2.59)
21	2,6-二氯双酚 A	014151-65-6	C(C)(C)(c1cc(Cl)c(c(c1)Cl)O)c1ccc(cc1)O	A(-0.29)
22	N-亚硝基二苯胺	000086-30-6	C1=CC=C(C=C1)N(C2=CC=CC=C2)N=O	I
23	4-溴-2,6-二叔丁基苯酚	001139-52-2	CC(C)(C)C1=CC(=CC(=C1O)C(C)(C)C)Br	I
24	4-正壬基酚	000104-40-5	CCCCCCCCCC1=CC=CC=C1O	A(-1.33)
25	全氟已基乙基磺酸	027619-97-2	C(CS(=O)(=O)O)C(C(C(C(C(C(F)(F)F)(F)F)(F)F)(F)F)(F)F)(F)F	A(-2.1)
26	氟吡呋喃酮	951659-40-8	C1C(=CC(=O)O1)N(CC2=CN=C(C=C2)Cl)CC(F)F	I
27	吡虫啉	105827-78-9	C1CN(C(=N1)N[N+](=O)[O-])CC2=CN=C(C=C2)Cl	I
28	尼泊金甲酯	000099-76-3	COC(=O)C1=CC=C(C=C1)O	I
29	三氯卡班	000101-20-2	C1=CC(=CC=C1NC(=O)NC2=CC(=C(C=C2)Cl)Cl)Cl	I
30	邻苯二甲酸丁苄酯	000085-68-7	CCCCOC(=O)C1=CC=CC=C1C(=O)OCC2=CC=CC=C2	I
31	三氯生	003380-34-5	C1=CC(=C(C=C1Cl)O)OC2=C(C=C(C=C2)Cl)Cl	A(-0.363)
32	2,4,6-三氯苯酚	000088-06-2	Oc1c(cc(cc1Cl)Cl)Cl	A(-0.0475)
33	2,4,6-三溴苯酚	000118-79-6	Oc1c(cc(cc1Br)Br)Br	A(0.244)
34	2,4,6-三碘苯酚	000609-23-4	Oc1c(cc(cc1I)I)I	A(0.442)
35	2,6-二溴-4-氯苯酚	005324-13-0	Brc1cc(Cl)cc(Br)c1O	A(0.123)
36	2,6-二溴-4-硝基苯酚	000099-28-5	N(=O)(=O)c1cc(c(O)c(Br)c1)Br	A(0.414)
37	3,5-二溴-4-羟基苯甲醛	002973-77-5	O=Cc1cc(Br)c(O)c(Br)c1	A(-0.277)
38	3,5-二氯水杨酸	000320-72-9	O=C(O)c1c(O)c(cc(Cl)c1)Cl	A(-0.972)
39	3-溴-5-氯水杨酸	004068-58-0	O=C(O)c1c(O)c(Br)cc(Cl)c1	A(-0.928)
40	3,5-二溴水杨酸	003147-55-5	O=C(O)c1c(O)c(cc(Br)c1)Br	A(-0.8)
41	3,5-二溴-4-羟基苯甲酸	003337-62-0	O=C(O)c1cc(c(O)c(Br)c1)Br	A(-2.38)
42	2,6-二溴-4-甲基苯酚	002432-14-6	Oc1c(Br)cc(C)cc1Br	A(-0.54)
43	3,5-二溴-4-羟基苯乙酮	002887-72-1	Oc1c(Br)cc(C(=O)C)cc1Br	A(0.0322)
44	3,5-二溴-4-羟基苯腈	001689-84-5	Oc1c(Br)cc(C#N)cc1Br	A(0.133)
45	2,6-二溴-4-氨基苯酚	000609-21-2	Oc1c(cc(N)cc1Br)Br	A(-1.13)
46	3,5-二溴-4-羟基三氟甲苯	035852-57-4	C(F)(F)(F)c1cc(Br)c(O)c(Br)c1	A(0.405)
47	3,5-二溴-4-羟基苯甲酸甲酯	041727-47-3	Oc1c(Br)cc(C(=O)OC)cc1Br	A(0.288)
48	2,3,5-三碘苯甲酸	000088-82-4	c1c(cc(c(c1C(=O)O)I)I)I	A(-1.72)
49	3,5-二溴磺胺酸钠盐	078824-10-9	c1c(c(c(cc1S(O)(O)O)Br)N)Br	A(-2.42)
50	N-亚硝基二乙胺	000055-18-5	N(CC)([NH+]O)CC	I
51	二溴乙腈	003252-43-5	C(C#N)(Br)Br	I
52	二氯乙酸	000079-43-6	C(=O)(C(Cl)Cl)O	I
53	2-溴乙酰胺	000683-57-8	C(=O)(CBr)N	I
54	一溴二氯甲烷	000075-27-4	C(Cl)(Cl)Br	I
55	二氯乙醛水合物	016086-14-9	C(C(Cl)Cl)(O)O	I
56	邻苯二甲酸二乙酯	000084-66-2	c1(c(cccc1)C(=O)OCC)C(=O)OCC	I
57	磷酸三(2-氯乙基)酯	000115-96-8	O=P(OCCCl)(OCCCl)OCCCl	I
58	2,4,6-三氯苯硫酚	024207-66-7	c1(c(c(cc(c1)Cl)Cl)S)Cl	A(-1.17)
59	五氯苯硫酚	000133-49-3	c1(c(c(c(c(c1Cl)Cl)Cl)Cl)S)Cl	A(0.0200)
60	3,5-二氯-4-羟基苯腈	001891-95-8	C1=C(C=C(C(=C1Cl)O)Cl)C#N	A(-1.58)
61	3,5-二碘-4-羟基苯腈	001689-83-4	C1=C(C=C(C(=C1I)O)I)C#N	A(-0.0907)

注:*A和I分别为活性物质和非活性物质;括号内数字为化合物相对结合势(logRP)值.

2　结果与讨论

2.1　五氯苯硫酚水溶解度测定结果

根据五氯苯硫酚标准曲线,得到峰面积(A)与五氯苯硫酚浓度(C,mg/L)的关系为:A=(10.7±0.590)　C+(1.47±1.02) (R^2=0.991).测定结果显示,五氯苯硫酚在水中的溶解在 48h 内基本达到平衡.根据标准曲线计算出五氯苯硫酚的溶解度为(0.636±0.0871)　mg/L(即

2.25×10^{-6}mol/L). 美国环保署计算毒理学平台(CompTox Chemicals Dashboard v2.5.3, https://comptox.epa.gov/dashboard/chemical/properties/DTXSID3044540)列出的五氯苯硫酚水溶解度预测值介于 6.17×10^{-8}~1.10×10^{-5}mol/L 之间,均值为 3.85×10^{-6}mol/L,说明本研究测定值与前期预测值具有一致性.

2.2 五氯苯硫酚与目标蛋白亲和力测试结果

3,3',5,5'-*L*-四碘甲状腺原氨酸、模型化合物与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白相互作用的相对荧光强度结果如图 2 所示.五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白结合的半数抑制浓度(IC_{50})为(403±38.0) nmol/L.而 3,3',5,5'-*L*-四碘甲状腺原氨酸的 IC_{50} 值为(422±33.1) nmol/L.按式 1 计算得到的五氯苯硫酚 logRP 值为(0.0200±0.0533).

根据结合能力分类标准(即 logRP≥−1.26 为高结合能力;−2.26≤logRP<−1.26 为中等结合能力)[24],五氯苯硫酚属于具有稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白高结合能力的污染物.五氯苯硫酚 logRP 值接近零,说明五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白的亲和力与甲状腺素 T_4 相当((403±38.0) nmol/L vs (422±33.1) nmol/L),这意味着进入体内的五氯苯硫酚能够将甲状腺素 T_4 从运甲状腺素蛋白结合位点竞争置换出来,进而影响生物体对甲状腺素 T_4 的体内转运.研究结果说明五氯苯硫酚可能会通过干扰稀有鮈鲫甲状腺素体内转运等途径引发潜在内分泌干扰效应.前期研究结果显示,五氯苯硫酚与人运甲状腺素蛋白相互作用的 logRP 值为(0.133±0.0393),也属于高结合能力干扰物.相关体外试验结果说明,五氯苯硫酚对稀有鮈鲫和人运甲状腺素蛋白均具有高干扰潜力,需要进一步开展深入体内试验研究以揭示五氯苯硫酚对生物体潜在的内分泌干扰效应.

本研究选定的另外 3 种物质,即 2,4,6-三氯苯硫酚、3,5-二氯-4-羟基苯腈、3,5-二碘-4-羟基苯腈的 IC_{50} 分别为(6208±868),(16215±3867),(520±129) nmol/L,其对应相对结合势(logRP)值分别为(−1.17±0.0696)、(−1.58±0.109)、(−0.0907± 0.113).从上述结合能力分类标准看,2,4,6-三氯苯硫酚和 3,5-二碘-4-羟基苯腈也属于具有稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白高结合能力的污染物,而 3,5-二氯-4-羟基苯腈属于具有该蛋白中等结合能力的污染物.

测试结果表明,五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白的亲和力强于 2,4,6-三氯苯硫酚,说明对于分子结构类似的物质,其与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白的亲和力与分子中卤素原子数量相关;3,5-二碘-4-羟基苯腈与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白的亲和力强于 3,5-二氯-4-羟基苯腈,说明对于分子结构类似的物质,其与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白的亲和力与分子中卤素原子类型相关,具体而言碘取代强于氯取代.有机污染物与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白结合呈现的上述规律,和污染物与人运甲状腺素蛋白间作用的规律类似[25].

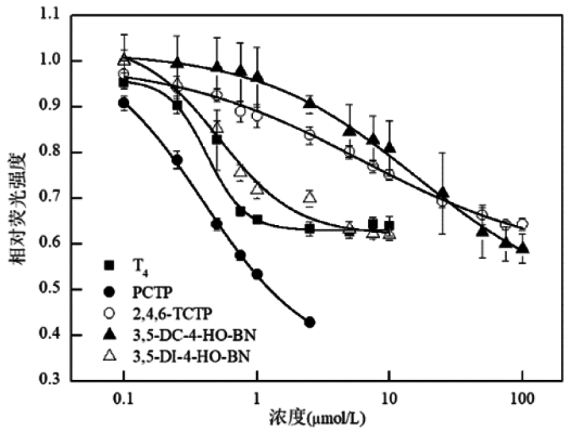


图 2 模型化合物的荧光竞争曲线

Fig.2 Fluorescence displacement curve of model compounds

蛋白浓度和荧光探针浓度分别为 0.5,50μmol/L,误差线代表 3 次平行试验的标准偏差

2.3 五氯苯硫酚与目标蛋白作用机制

理论上污染物可与内分泌靶标形成离子对、氢键、卤键、疏水等相互作用[26].根据分子模拟获取的稳定构象,分析了五氯苯硫酚与稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白形成相关非键相互作用的情况.分析结果表明,五氯苯硫酚未与蛋白形成离子对相互作用;五氯苯硫酚与蛋白氨基酸残基形成了氢键,总氢键的占有率为 15%.理论上五氯苯硫酚可与蛋白形成两种氢键类型,即硫氢键和卤氢键.统计分析发现,五氯苯硫酚与蛋白氨基酸残基仅形成了 15%的卤氢键,未形成硫氢键,表明卤氢键是主要的氢键相互作用.此外,五氯苯硫酚与蛋白氨基酸残基形成的卤键比例为 22%,且卤键的形成率高于氢键的形成率,表明卤键在结合过程中发挥更大的作用.形成卤氢键和卤键等方向性非键相互作用,可能是导致五氯苯硫酚的可电离基团(即-SH)指向结合口袋入口方向(即 15 号赖氨酸残基(Lys 15 和 Lys 15')方向)的原因(图 3(a)).从图 3(b)还可以看出,五氯苯硫酚还可与蛋白

形成疏水相互作用.

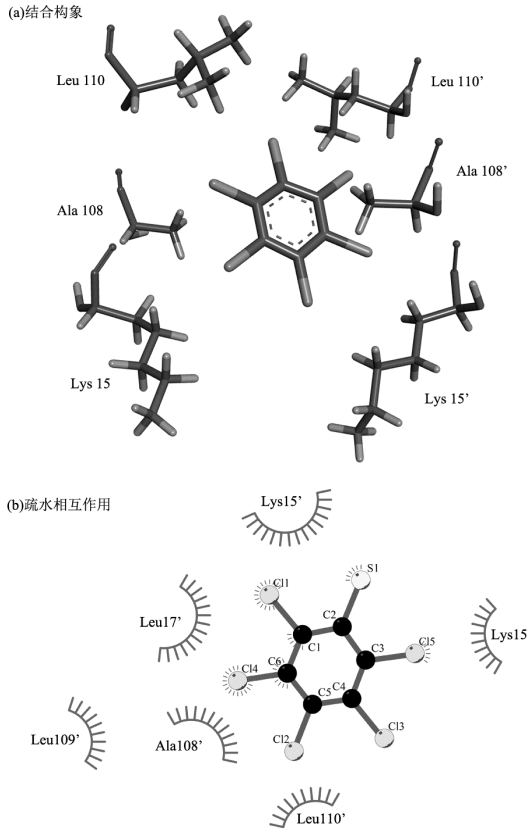


图 3　五氯苯硫酚在稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白配体结合域中的结合构象和疏水相互作用

Fig.3　Binding mode of pentachlorothiophenol at the ligand binding domain of Chinese rare minnow transthyretin and hydrophobic interaction

2.4　预测模型构建与表征结果

在所用 7 种机器学习算法中(k−最近邻、逻辑回归、支持向量机、决策树、随机森林和梯度提升决策树),仅 k−最邻近、随机森林、决策树 3 种算法可得到系列二元分类模型.在获得的系列模型中,根据模型训练集和验证集敏感性(S_n)、特异性(S_p)、准确性(Q)、马修斯相关系数(MCC)、ROC 曲线下面积(AUC)、5 折交叉验证参数数值,确定数值最大的模型为最优模型.经过比较,得到 3 个最优分类模型,分别为基于 k−最邻近、随机森林、决策树算法的模型.最优模型最佳超参数列于表 2. k−最邻近和随机森林最优分类模型,均含有 1 个预测变量;而决策树最优分类模型含有 2 个预测变量.3 个最优分类模型的敏感性、特异性、预测准确性等参数均为 1(表 2),说明模型具有较好预测能力.

应用域表征结果显示,k−最邻近模型、随机森林模型、决策树模型的欧几里德距离和杠杆值阈值分别为 0.531 和 0.0647、0.613 和 0.0682、1.07 和 0.497. k−最邻近模型验证集中有一个物质(全氟己基乙基磺酸)处于欧几里德距离和杠杆值阈值外,属于该模型应用域外物质,但是模型仍能正确区分其为潜在稀有鮈鲫运甲状腺素蛋白干扰物,说明模型具有较好的延展性;随机森林模型和决策树模型无应用域外物质.图 4 显示了决策树模型的应用域表征结果.

表 2　最优二元分类模型的统计参数

Table 2　Statistical parameters of the optimal binary classification models

模型	数据集	描述符	n	S_n	S_p	Q	MCC	AUC	Mean
k−最邻近模型	训练集	ETA_EtaP_B_RC	45	1	1	1	1	1	0.978
	验证集		16	1	1	1	1	1	−
随机森林模型	训练集	JGT	45	1	1	1	1	1	0.889
	验证集		16	1	1	1	1	1	−
决策树模型	训练集	ETA_EtaP_B_RC, SM1_Dze	45	1	1	1	1	1	0.933
	验证集		16	1	1	1	1	1	−

注: k−最邻近模型关键超参数: algorithm = auto, n_neighbors = 3, p = 1, weights = distance; 随机森林模型关键超参数: criterion = gini; class_weight= balanced; max_depth = 3; max_features = auto; min_samples_leaf = 1; min_samples_split = 2; n_estimators = 200; random_state = 38; 决策树模型关键超参数: criterion = gini; splitter = best; class_weight = balanced; max_depth = 3; min_samples_leaf = 1; min_samples_split = 2; random_state = 38; ETA_EtaP_B_RC是与分子大小相关分支指数(2D描述符);JGT是分子总体拓扑电荷指数(2D自相关描述符); SM1_Dze是Sanderson电负性加权的基于1级谱矩计算的Barysz距离矩阵(2D自相关描述符);n是训练和验证集中化合物数量;S_n是敏感性; S_p是特异性; Q是准确性; MCC是马修斯相关系数; AUC是ROC曲线下面积; Mean是5折交叉验证参数.

3 个最优模型共含有 3 个预测变量:即 ETA_EtaP_B_RC(k−最邻近模型、决策树模型)、JGT(随机森林模型)、SM1_Dze(决策树模型). ETA_EtaP_B_RC 是与分子大小相关的分支指数(2D 描述符),

表征了分子总体的分支程度[27].从 SHAP 值看,ETA_EtaP_ B_RC 与干扰效应存在正相关关系,也即分子分支程度越大,干扰效应越强.从现有 61 个模型化合物看,ETA_EtaP_B_RC 值大于 0.03103 的 41 个物质中,37 个物质(90.2%)对蛋白具有干扰活性;而在其值小于 0.03103 的 20 个物质中,19 个物质(95%)对蛋白无干扰活性.化合物的疏水性一般与分子大小呈正相关,因而 ETA_EtaP_B_RC 可表征物质与蛋白间的疏水相互作用,该机制与分子模拟结果相对应.

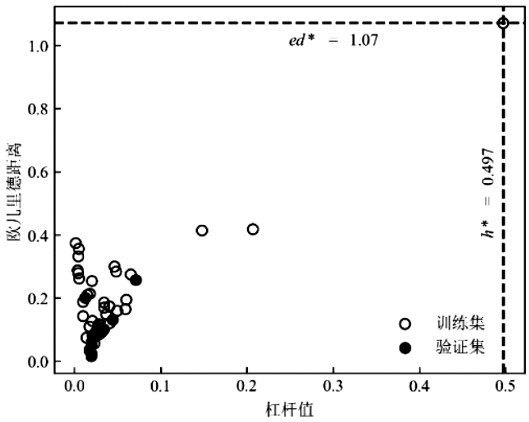


图 4 决策树模型应用域表征结果示意

Fig.4 Application domain of decision tree models

JGT 是分子总体拓扑电荷指数(2D 自相关描述符),从该参数的定义看,是基于分子拓扑图的邻接矩阵和倒数平方距离矩阵来描述两个原子之间的电荷转移,其最终还是描述了分子的分支程度[28].从 SHAP 值看,JGT 也与干扰效应存在正相关关系.在 39 个 JGT 值大于 0.5395 的物质中,有 36 个物质(92.3%)对蛋白具有干扰活性;而在其值小于 0.5395 的 22 个物质中,20 个物质(90.9%)对蛋白无干扰活性.

SM1_Dze 是 Sanderson 电负性加权的基于 1 级谱矩计算的 Barysz 距离矩阵(2D 自相关描述符),反应了分子电负性对毒性的影响.从 SHAP 值看,SM1_Dze 与干扰效应存在一定的正相关关系.

2.5 预测工具更新

在前期研究中,本团队已基于构建的有机污染物对稀有鮈鯽(*Gobiocypris rarus*)、海瑶(*Leucoraja erinacea*)、海鲷(*Sparus aurata*)、人运甲状腺素蛋白干扰效应预测模型,开发了能高通量预测上述靶标干扰效应的预测工具–“TTR Profiler” (v1.0)[15].在本研究中,新测定了五氯苯硫酚等新污染物对稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白的干扰效应数据,并构建了新的预测模型.为使该工具能够覆盖苯硫酚类新污染物,本研究对“TTR Profiler”进行了更新,将新开发的相关模型集成到了该工具中.用户可采用该工具高通量地筛选识别潜在运甲状腺素蛋白干扰物.相关模型工具可有效支撑我国开展潜在有毒有害新污染筛查工作[29].

3 结论

3.1 五氯苯硫酚的相对结合势(logRP)为(0.0200 ± 0.0533),表明其属于具有稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白高结合能力的新污染物.

3.2 稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白干扰物预测模型的敏感性、特异性、预测准确性等参数均为 1,说明模型具有较好预测能力;构建了稀有鮈鯽运甲状腺素蛋白干扰物高通量预测工具,其可辅助用于筛选识别潜在运甲状腺素蛋白干扰物.

参考文献:

[1] Dar T, Altarawneh M, Dlugogorski B Z. Quantum chemical study on formation of PCDT/TA from 2−chlorothiophenol precursor [J]. Environmental Science & Technology, 2013,47(19):11040−11047.

[2] 生态环境部办公厅,工业和信息化部办公厅,卫生健康委办公厅.关于征求《优先控制化学品名录(第二批)(征求意见稿)》意见的通知[EB/OL]. https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk06/202005/t20200507_778051.html. 2020−05−07/2025−07−22.
General Office of the Ministry of Ecology and Environment, General Office of the Ministry of Industry and Information Technology, General Office of the National Health Commission. Notice on the release of "list of priority control chemicals (second batch)" for Public Comments [EB/OL]. http://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk06/202005/t20200507 _778051.html. 2020−05−07/2025−07−22.

[3] Tas D O, Pavlostathis S G. Occurrence, toxicity, and biotransformation of pentachloronitrobenzene and chloroanilines [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2014,44(5):473−518.

[4] Samanipour S. Overlooked persistent and bioaccumulative pollutants in Lake Geneva: their measurement, occurrence, and concentration distribution in the water column and sediments [D]. Lausanne: Switzerland: Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL), 2015https://infoscience.epfl.ch/entities/publication/0a649ac5−b9ad−47d6−981c−70cb6fb38409.2025−06−28

[5] Park J, Akinboye A J, Lee J G. Development of an analytical method involving thiol methylation for the analysis of pentachlorothiophenol in food using gas chromatography−tandem mass spectrometry [J]. Food Chemistry: X, 2025,25:102175.

[6] Park J, Kim J, Lee J G. PCTP: Toxicity, persistence, and safety considerations for potential contamination [J]. Food Science and Preservation, 2024,31(5):700−708.

[7] Yang X, Ou W, Zhao S, et al. Human transthyretin binding affinity of halogenated thiophenols and halogenated phenols: an *in vitro* and *in silico* study [J]. Chemosphere, 2021,280:130627.

[8] Chen Y, Liang W, Huang M, et al. Exploring the mechanism of interaction between TBG and halogenated thiophenols: Insights from fluorescence analysis and molecular simulation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024,261(Pt 2):129645.

[9] National Center for Biotechnology Information. Pubchem compound summary for CID 8620, pentachlorothiophenol [EB/OL]. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Pentachlorothiophenol, 2025-07-10.

[10] Howard P H, Muir D C. Identifying new persistent and bioaccumulative organics among chemicals in commerce [J]. Environmental Science & Technology, 2010,44(7):2277-2285.

[11] 生态环境部,工业和信息化部,国家卫生健康委员会.关于发布《优先控制化学品名录(第二批)》的公告 [EB/OL]. https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk01/202011/t20201102_805937.html.2020-11-02/2025-07-22.

Ministry of Ecology and Environment, Ministry of Industry and Information Technology, National Health Commission. Announcement on the release of "list of priority control chemicals (second batch)" [EB/OL]. https://www.mee.gov.cn/xxgk2018/xxgk/xxgk01/202011/t20201102_805937.html. 2020-11-02/2025-07-22.

[12] EPA. Pentachlorothiophenol (PCTP), regulation of persistent, bioaccumulative, and toxic chemicals under TSCA section 6(h); Final Rule. Federal Register (86FR 911, January 6, 2021) (FRL-10018-89) [EB/OL]. https://www.federalregister.gov/documents/2021/01/06/2020-28689/pentachlorothiophenol-pctp-regulation-of-persistent-bioaccumulative-and-toxic-chemicals-under-tsca, 2025-07-10.

[13] Zhang J, Grundström C, Brännström K, et al. Interspecies variation between fish and human transthyretins in their binding of thyroid-disrupting chemicals [J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52(20):11865-11874.

[14] Zhao S, Yang X, Liu H, et al. Potential disrupting effects of wastewater-derived disinfection byproducts on Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) transthyretin: an *in vitro* and *in silico* study [J]. Environmental Science & Technology, 2023,57(8):3228-3237.

[15] Li X Q, Liu H H, Zhao S S, et al. Binding interaction of typical emerging contaminants on *Gobiocypris rarus* transthyretin: an *in vitro* and *in silico* study [J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2024,18(11):135.

[16] Yang X, Ou W, Xi Y, et al. Emerging polar phenolic disinfection byproducts are high-affinity human transthyretin disruptors: an *in vitro* and *in silico* study [J]. Environmental Science & Technology, 2019,53(12):7019-7028.

[17] Trott O, Olson A J. Software news and update AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading [J]. Journal of Computational Chemistry, 2010,31(2):455-461.

[18] Case D A, Ben-Shalom I Y, Brozell S R, et al. AMBER 2019 software [Z]. San Francisco, U.S.A.: University of California, 2019.

[19] Laskowski R A, Swindells M B. LigPlot+: Multiple ligand–protein interaction diagrams for drug discovery [J]. Journal of Chemical Information and Modeling, 2011,51(10):2778-2786.

[20] Yap C W. PaDEL-descriptor: An open source software to calculate molecular descriptors and fingerprints [J]. Journal of Computational Chemistry, 2011,32(7):1466-1474.

[21] Yang X H, Yang Y, Watson P, et al. Development of quantitative structure property relationship models and tool for predicting the soil adsorption coefficient ($\log K_{OC}$) [J]. Environmental Pollution, 2025, 368:125703.

[22] Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, et al. Scikit-learn: Machine learning in python [J]. Journal of Machine Learning Research, 2011, 12(85):2825-3830.

[23] 莫俊超,姚洪伟,曹　峰.机器学习预测有机化学品对稀有鮈鲃急性毒性 [J]. 中国环境科学, 2024,44(8):4661-4673.

Mo JC, Yao HW, Cao F. Prediction of acute toxicity of organic chemicals on rare minnow using machine learning [J]. China Environmental Science, 2024,44(8):4661-4673.

[24] Hamers T, Kamstra JH, Sonneveld E, et al. *In vitro* profiling of the endocrine-disrupting potency of brominated flame retardants [J]. Toxicological Sciences, 2006,92(1):157-173.

[25] Yang X H, Liu H H, Chen J W. (Q)SAR models on transthyretin disrupting effects of chemicals (Chapter 29) [C]//QSAR in safety evaluation and risk assessment. Academic Press, 2023:389-408.

[26] Yang X H, Liu H H, Kusko R. Molecular modeling method applications: probing the mechanism of endocrine disruptor action [C]//Advances in computational toxicology. Challenges and advances in computational chemistry and physics, vol 30. Springer, Cham., 2019:315-335.

[27] Ray S, Mondal S, Ray S D. et al. Role of antioxidants on docetaxel-induced *in vitro* lipid peroxidation using malondialdehyde as model marker: an experimental and *in silico* approach [J]. Medicinal Chemistry Research, 2014,23:4436-4446.

[28] Liu W Q, Lu H X, Cao C Z, et al. An improved quantitative structure property relationship model for predicting thermal conductivity of liquid aliphatic alcohols [J]. Journal of Chemical and Engineering Data, 2018,63(12):4735-4740.

[29] 毕　军,黄怡宁,刘苗苗,等.防控环境健康风险助推美丽中国建设 [J]. 中国环境科学, 2025,45(6):3441-3450.

Bi J, Huang Y N, Liu M M, et al. Controlling and preventing environmental health risks to accelerate the 'Beautiful China' Initiative [J]. China Environmental Science, 2025,45(6):3441-3450.

作者简介：赵嵩山(1994-),男,甘肃省武威市人,南京理工大学硕士研究生,主要研究方向为环境毒理学.发表论文 2 篇.sszhao@njust.edu.cn.