

알킬페놀 화합물의 HeLa cell (HL-60)의 세포독성에 대한 QSAR 연구

김 명 길, 김 재 현*.*

경기도 보건환경연구원, *동덕여자대학교 자연과학대학 보건관리학과

QSAR Study for Cytotoxicity of Alkylphenols on HeLa Cell

Kim, Myung-Gill and Kim Jae-Hyoun*.*

Gyeonggido institute of Health & Environment, Suwon 440-290, Korea

*Department of Health Science, Dongduk Women's University, Seoul 136-714, Korea

ABSTRACT

The purpose of the present study was to perform experiments of cytotoxicity using HeLa cell and to evaluate the possibility that QSAR is applicable to the cytotoxicity of alkylphenols. Higher toxicities were found in four alkylphenols in the following order: 4-n-Nonylphenol > 4-tert-Octylphenol > 4-n-Octylphenol > 4-n-Heptylphenol. Whereas other alkylphenols were apparently less toxic. By using Percent Hydrophilic Surface Area (PHSA) quantitative structure-activity relationships (QSARs) models were developed: Cytotoxicity (%) = $90.14089 - 4.72224 \text{ PHSA}$ ($R^2 = 0.2046$, $\alpha = 0.0265$). It is concluded that some of the obtained data are useful to determine whether QSAR methods can be of general use in predicting that until further work is undertaken to develop QSARs for a much wider range of homologous series of alkylphenol compounds.

Key words : Alkylphenols, QSAR, HeLa cell, Cytotoxicity, Percent Hydrophilic Surface Area

서 론

알킬페놀 화합물의 용도로써, Nonylphenol ethoxylate는 산업용 세제, 페인트, 농약, 에멀전 고분자, 섬유 산업, 금속 마감재 등으로 사용되고 플라스틱 첨가제로는 2-Octylphenol, 4-Nonylphenol, 4-n-Octylphenol 등이 사용되고 수지 원료 또는 중간체, 산화방지제로는 4-Propylphenol, 4-sec-Butylphenol, 4-n-Butylphenol, 2-tert-Butylphenol, 3, 4-

Butylphenol, 4-tert-Pentylphenol, 4-tert-Octylphenol이 사용되고 있다(Soto *et al.*, 1991; Krishnam *et al.*, 1993; Korach *et al.*, 1996). 그러나 이런 폭 넓은 사용에 비해 지금까지 특별한 규제나 대책이 마련되어 있지 않고 환경오염의 실태나 인체 노출에 관한 정보도 거의 없는 상황이다. Alkylphenols ethoxylate의 세계 시장의 80% 정도가 Nonylphenol ethoxylate이고 주로 세제로 사용되는데 이는 친수성인 ethoxy기와 소수성인 alkyl기의 특성을 이용한 것이다.

그 중 알킬페놀 화합물은 난분해성 물질로 특히 Penta에서 Nonylphenol까지의 분자 형태는 세계

* To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-2-940-4484, E-mail: kjhyon@dongduk.ac.kr

야생생물보호기금(WWF)이 지정한 내분비계 장애 물질로 의심되고 있다.

그 중 화학물질의 분자구조와 생물학적 활성, 즉 독성과의 관계를 측정하는 구조-활성과의 정량적 상관관계(Quantitative Structure Activity Relationships, QSAR) 분석방법은 분자 또는 이온의 물리적 또는 화학적 특성의 실험치를 모르는 상황에서도 분자 또는 이온의 물리적 또는 화학적 특성과 반응결과를 예견할 수 있다는 사실 때문에 특정 화학물질의 어떤 현상을 설명하고자 할 때 구조적인 특성에 대한 독성을 간접적으로 예측하는 방법으로 현재 널리 이용되고 있다(Seydel, 1985).

QSAR는 화학구조에 대한 특성을 나타내는 표현자(descriptor)와 화합물의 생리 활성값과의 관계를 통계적으로 모델화하는 방법이다(Katritzky *et al.*, 1995). 즉, 분자의 변화에 대한 결과로 생물학적 반응이 변화한다는 사실로부터 분자의 구조변화에 대응하는 생물학적 반응의 변화사이에서 정량적인 해석을 하는 통계적 분석법으로 QSAR의 상업적 모델링 프로그램을 사용하여 모델링을 실시하며 독성데이터를 비교 분석한다. QSAR에 영향을 미치는 화학물질의 분자표현자로는 분자량, 증기압, 끓는점, 물에 대한 용해도, octanol-water partition coefficient (Kow), 생물농축계수(bio-concentration/bioaccumulation factors, BCF/BAF), 헨리상수(Henry's law constant), 생물학적 혹은 비생물학적인 분해속도상수(가수분해, 광화학적 분해 등) 등을 들 수 있다(김진주, 1989). 이들은 대개 분자간의 상호작용이나 구조의 입체적 장애, 구조의 구성요소, 구조의 유사성 등을 표현한다. 이러한 표현자 중에서 활성의 유무에 따라 상관성을 지니는 분자표현자를 선택하여 모델을 세움으로써, 생리활성을 평가하지 않은 다양한 구조에 대하여 활성을 예측해 볼 수 있다.

현재까지 여러 종류의 세포독성에 대한 많은 실험들이 시도되었으며 화합물의 생물체에 대한 생물학적 그리고 물리화학적인 특성에 의한 독성 메커니즘이 발표되었으며(Muckter, 2003), *in vitro* assay에서는 오염물질에 의한 작용양태들이 시험법의 민감도 및 오염물질의 종류에 따라 달라진다는 것을 설명하였다(Nendza *et al.*, 1995). 최근까지 페놀계 화합물들에 대한 독성의 메커니즘을 QSAR로 연결시키는 연구들이 시도되어 왔다. HL-60 세포

에 대한 페놀류의 독성실험치에 대한 QSAR의 연구 결과 치환기의 위치에 따라 세포독성이 달라지며 라디칼 형성(radical formation)과 소수성(hydrophobicity)가 관련성이 있는 것으로 나타났다(Selassie *et al.*, 1998). 31개의 페놀계 화합물의 rat hepatocytes에 대한 세포독성을 연구하여 LD(50) 값에 대한 분자표현자와의 상관관계를 도출하였으며(Moridani *et al.*, 2003), thiophenoxy 라디칼(radical)의 형성과 phenoxy radical의 형성반응을 관찰하여 이 라디칼이 세포독성에 관여한다는 사실을 발표하였다(Hansch *et al.*, 2000; Verma *et al.*, 2003). 13개의 페놀류의 항산화제를 가지고 세포독성에 대한 QSAR을 연구한 결과 산화메카니즘(oxidation)과 지용성(lipophilicity)이 leukemia cell (HL-60) 주로 작용하고 있는 것을 연구하였다(Sergedienne *et al.*, 1999). 또한 염소계 페놀류의 경우에는 QSAR을 이용하여 지용성과 화학적 삼투압에 근거한 uncoupling action의 분자 메카니즘과 일치한다고 밝혔다(Argese *et al.*, 1999). Eugenol 화합물의 경우에는 페녹실 라디칼, 지용성 및 후속물질인 quinonemethide의 안정성에 의하여 결정이 된다고 하였다(Fusisawa *et al.*, 2002).

이에 본 연구에서는 알킬페놀 화합물에 대한 위험성 평가를 위해서 HeLa cell을 이용한 *in vitro* 실험(시험관내 시험)을 실시하여 물질에 따른 세포독성에 미치는 정도를 알아보고 그 결과를 바탕으로 알킬페놀 화합물의 분자표현자와의 상관관계를 파악하여 분자표현자 중 어떤 물리화학적 인자가 세포독성의 생태학적 독성과 커다란 상관관계를 가지는지 알아보하고자 한다. 그리고 그 분자표현자를 통해 알킬페놀 화합물의 생물학적 기능과 생리학적 성질을 이해하고자 하며 QSAR 연구를 통해 연구방법을 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 시약

Dimethylsulfoxide (DMSO), 물 등 일반적으로 실험에 사용된 화학물질들은 Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였고 2, 2'-Thiobis(4-tert-Octylphenol) (97%), 3, 5-Di-tert-Butylphenol (99%), 3-tert-Butylphenol (99%), 2, 6-Di-

tert-Butyl-phenol (98%), 4-sec-Butylphenol (96%), 4-tert-Butylphenol (99%), 2-sec-Butyl-phenol (98%), 2-tert-Butylphenol (99%), 2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4, 6-Di-tert-Pentylphenol (98%), 2-Cyclopentylphenol (95%), 4-Cyclopentylphenol (95%), 2, 6-Diisopropylphenol (97%), 2-Propylphenol (98%), 4-Propylphenol (99%), 2-Isopropylphenol (98%), 3-Isopropylphenol (97%), 4-Isopropylphenol (98%), 4-tert-Pentylphenol (99%) 등 알킬페놀 화합물은 Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, WI, U.S.A.)에서 구입하였다. 4-n-Pentylphenol (99.5%), 4-n-Hexylphenol (99.9%), 4-n-Heptylphenol (99.6%), 4-n-Octylphenol (98.3%), 4-tert-Octylphenol (97.6%), 4-n-Nonylphenol (99.8%)은 Wako. Co. (Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다.

2. 표준물질 제조

24개의 알킬페놀 화합물을 Dimethyl-sulfoxide (DMSO)와 물의 5:5 (v/v) 비율의 용매로 녹여 표준물질(10^{-2} M)을 만든 후 이를 물을 이용하여 희석한 후 10^{-10} M의 농도로 조제하여 실험하였다.

3. 세포주

세포주는 ATCC#: CCL 2인 자궁경부암세포주인 HeLa cell을 이용하였다. HeLa cell은 15 mM HEPES와 5% FBS이 첨가된 RPMI 1640(gibco BRL) 배지를 가하여 5% CO₂, 37°C 배양기에서 순차적으로 계대 배양하였다.

4. 세포독성실험

세포독성 실험은 CytoTox 96 Non-Radioactive Cytotoxicity Assay kit G170 (Promega Corp., Madison, WI, U.S.A)를 사용하였으며 세포독성에 의해 세포 파쇄시 방출되는 lactate dehydrogenase (LDH)를 96 microwell plate 상에 효율적으로 검출하기 위해 15 mM HEPES (N-2-hydroxyethyl-piperazine-N'-2-ethanesulfonic acid)와 5% FBS (fetal bovine serum gibco BRL, Grand Island, NY, USA)이 첨가된 RPMI 1640 (Gibco BRL) 배지를 사용하여 kit의 실험방법에 따라 실험하였다. 96 microwell plate에

각 well당 세포현탁액(10^5 cell/ml)을 90 μ l씩 가하여 분주한 후 정제된 알킬페놀 화합물(10^{-10} M)을 10 μ l를 첨가하고 5% CO₂ 배양기를 사용하여 37°C에서 4시간동안 배양하였다. 각 cell의 LDH 최대 방출량 측정 대조군에는 배양 3시간 15분 경과 후 kit의 lysis-용액 10 μ l를 첨가하고 반응 완료후 각 시료들을 Eppendorf tube에 수거하고 250 \times g에서 5분간 원심 분리한 후 상층액 50 μ l씩을 96 microwell plate에 옮겨 반응에 사용하였다. Kit의 50 μ l 반응기질 용액을 혼합한 후 알루미늄 호일로 덮어 빛을 차단하고 30분 동안 실온에서 반응시켰다. 50 μ l pH 2.3 반응 정지액으로 반응을 중단시키고 ELISA reader를 사용하여 490 nm에서 흡광도를 측정하고 순수배지만의 흡광도 값을 음성 대조군으로 하여 세포독성을 측정하였다.

5. 통계 처리

본 연구의 자료는 SAS (statistical analysis system) package (ver 8.01)를 이용하였고 실험결과와 평균과 표준편차를 산출하였다. 알킬페놀 화합물에 대한 세포독성 실험 결과와 20개의 분자 표현자들과의 상관관계를 Pearson's correlation coefficient로

Table 1. Molecular descriptors and their abbreviation

분자표현자 (molecular descriptor)	약어
1. Molecular weight	MW
2. Density	D
3. Surface area	SA
4. Molar volume	MV
5. Water solubility	WS
6. Hydrogen bond acceptor	HBA
7. Hydrogen bond donor	HBD
8. Percent polar surface area	PPSA
9. Enthalpy of formation	EF
10. Gibbs energy of formation	GE
11. Hydrogen bond number	HBN
12. Highest occupied molecular orbital energy	HOMO
13. Lowest unoccupied molecular orbital energy	LUMO
14. Dipole moments	DM
15. Valence connectivity index 4	VC
16. Molar vaporization energy	MVE
17. Molar refractivity	MR
18. Van der waal's volume	VDWV
19. Log P	Log P
20. Percent hydrophilic surface area	PHSA

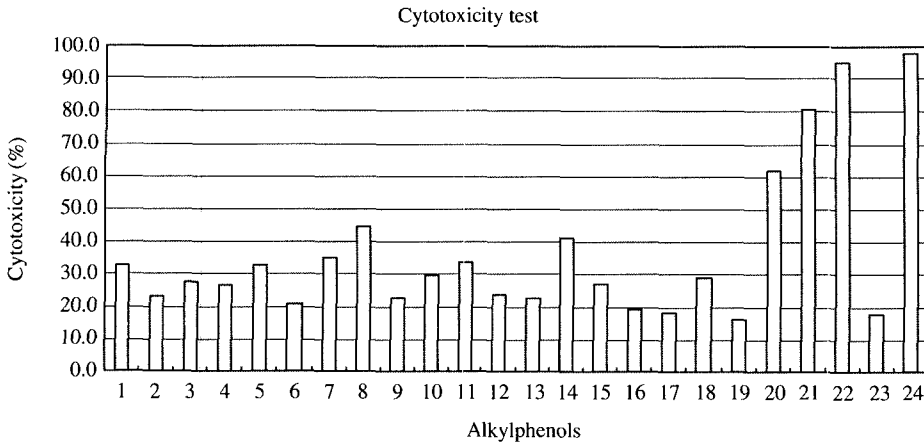


Fig. 1. Results of cytotoxicity test of alkylphenols (APs): 1. 2-Propylphenol 2. 4-Propylphenol 3. 2-Isopropylphenol 4. 3-Isopropylphenol 5. 4-Isopropylphenol 6. 2,6-Diisopropylphenol 7. 2-sec-Butylphenol 8. 4-sec-Butylphenol 9. 2-tert-Butylphenol 10. 3-tert-Butylphenol 11. 4-tert-Butylphenol 12. 2,6-Di-tert-Butylphenol 13. 3,5-Di-tert-Butylphenol 14. 2-Cyclopentylphenol 15. 4-Cyclopentylphenol 16. 4-n-Pentylphenol 17. 4-tert-Pentylphenol 18. 2-(2H-Benzotriazol-2-yl)-4,6-Di-tert-Pentylphenol 19. 4-n-Hexylphenol 20. 4-n-Heptylphenol 21. 4-n-Octylphenol 22. 4-tert-Octylphenol 23. 2,2'-Thiobis(4-tert-Octylphenol) 24. 4-n-Nonylphenol.

비교하였으며, 이를 토대로 가장 상관관계가 높은 변수를 가지고 단계적 다중 회귀분석 (stepwise multiple regression analysis)으로 공식을 유도하였고 상관관계 분석과 회귀분석은 모두 $p < 0.05$ 수준에서 검정, 통계처리 하였다. Table 1은 본 연구에서 사용한 분자표현자의 목록이다.

결과 및 고찰

24개의 알킬페놀 화합물이 자궁경부암 세포주인 HeLa cell에 대하여 나타내는 세포독성을 측정하기 위하여 CytoTox 96 Non-Radioactive Cyto-toxicity Assay kit G170 (Promega Corp., Madison, WI, U.S.A)을 사용하였으며 다음의 식에 의해 세포독성의 값을 구하였다.

$$\text{Cytotoxicity (\%)} = \left[\frac{(\text{실험군} - \text{음성대조군})}{(\text{LDH 최대 방출량 측정대조군} - \text{음성대조군})} \right] \times 100$$

세포독성 실험 결과는 Figure 1에서 보여주는 결과와 같다. HeLa cell에 24개의 알킬페놀 화합물을 10^{-10} M 농도로 투여하여 50% 이상의 세포성장 억제제를 나타낸 알킬페놀 화합물은 4-n-Heptylphenol,

4-n-Octylphenol, 4-tert-Octylphenol, 4-n-Nonylphenol 등이었다. 세부적으로 살펴보면, 4-n-Nonylphenol $98.13 \pm 1.18\%$, 4-tert-Octylphenol $95.17 \pm 2.15\%$, 4-n-Octylphenol $80.75 \pm 0.41\%$, 4-n-Heptylphenol $61.80 \pm 2.88\%$ 의 세포성장 억제율을 나타내었다. 이 중 4-n-Nonylphenol이 HeLa cell에 대한 세포독성이 가장 크게 나타났고 4-tert-Octylphenol, 4-n-Octylphenol, 4-n-Heptylphenol의 순으로 크게 나타났다. 반면에 4-n-Hexylphenol, 2,2'-Thiobis(4-tert-Octylphenol), 4-tert-Pentylphenol, 4-n-Pentylphenol 등은 20% 이하의 낮은 세포독성을 나타냈다. 4-n-Nonylphenol, 4-n-Octylphenol, 4-tert-Octylphenol 들은 다른 알킬페놀 화합물보다 높은 세포독성을 보였다. 이는 페놀고리의 para- 위치에 탄소수가 8~9개인 알킬기가 있을 때 높은 독성을 나타내는 것을 알 수 있었다. 즉, 알킬기의 소수성이 증가할수록 높은 독성을 나타낼을 의미한다. 이들은 내분비계 장애물질로 알려져 있다. 4-Octylphenol 중에서도 tertiary- 구조인 4-tert-Octylphenol이 normal- 구조인 4-n-Octylphenol보다 높은 세포독성을 보였다. 즉, tertiary alkyl chain이 normal alkyl chain보다 높은 독성을 나타낸다는 것을 의미한다. 광승준 등 (2000)의 알킬페놀 화합물의 에스트로젠성 활성화에 대한

검색, 구조-활성 상관관계 조사 및 각 실험법간의 감도를 비교하기 위한 *in vitro* 실험 및 *in vivo* 실험에서 알킬페놀 화합물이 양성대조물질인 17 β -stradiol 과 유사한 경향을 나타내며 4-Pentylphenol, Nonylphenol, 4-Phenylphenol, 4-tert-Octylphenol 등이 에스트로젠성을 가지고 있다는 것을 확인하였다. 즉, 알킬치환기의 탄소수가 증가할수록 에스트로겐의 활성이 높아지는 경향을 나타냈다.

결 론

본 연구에서는 HeLa cell # CCL 2를 이용하여 24개의 알킬페놀 화합물에 대해 세포독성 (*in vitro*) 실험을 실시하였다. 그 결과에서는 4-n-Nonylphenol의 세포독성이 가장 크게 나타났고 그 다음에 4-tert-Octylphenol, 4-n-Octylphenol, 4-n-Heptylphenol의 순으로 크게 나타났으며 특히 n-Octyl 치환기 보다는 tert-Octyl 치환기가 독성을 더 크게 나타냈다. 이는 ph(O-H)의 homolytic bond dissociation energy의 변화에 따라서 세포독성의 크기가 비례한다는 사실과 일치하고 있다 (Fusisawa *et al.*, 2002). 본 실험에서는 알킬기가 화학적으로 안정한 구조인 para 위치에 있을 때 높은 독성을 나타내는 것을 알 수 있었으며 이는 알킬기의 소수성이 증가할수록 높은 독성을 나타냄을 의미한다. 최근에 쥐의 hepatocyte를 이용한 페놀류의 독성을 시험하여 QSTR로 분석한 결과 이에 관여하는 주요인자는 친유성 (lipophilicity)과 이온화 (ionization)이며 세포독성이 비례적으로 증가하였다 (Moridani *et al.*, 2003). 이들의 연구 결과에 의하면 t-butylphenol의 이성체들의 세포독성의 증가는 3-t-butylphenol < 4-t-butylphenol < 2-t-butylphenol의 순서로 나타나 같은 이성질체라고 하더라도 ortho- 및 para- 위치보다 meta- 위치에 알킬기를 가지고 있는 화합물이 세포독성이 더 큰 것으로 관찰되었다.

알킬페놀 화합물의 세포독성 실험 결과를 가지고 분자표현자와 비교하여 이들 중 어떤 인자가 세포독성을 일으키는데 중요한 인자로 작용하는지를 파악하였다. 세포독성 실험 결과와 물리화학적 특성과의 상관성 분석 결과를 통해 다른 변수보다 높은 상관성을 나타내는 변수로 Percent polar surface area (PPSA), Density (D), Surface area (SA),

Table 2. Pearson's correlation coefficients between cytotoxicity test and molecular descriptors (n = 24)

No.	Molecular Descriptors	Cytotoxicity(%)	
		Coeffient	p value
X1	MW	0.0415	0.8473
X2	D	-0.3127	0.1368
X3	SA	0.1458	0.4966
X4	MV	0.1256	0.5587
X5	WS	-0.2462	0.2461
X6	HBA	-0.1603	0.4543
X7	HBD	-0.1362	0.5258
X8	PPSA	-0.4435	0.0300
X9	EF	-0.1534	0.4742
X10	GE	0.1701	0.4267
X11	HBN	-0.2591	0.2215
X12	HOMO	-0.1510	0.4812
X13	LUMO	0.0688	0.7495
X14	DM	-0.2733	0.1962
X15	VC	0.0571	0.7910
X16	MVE	0.0017	0.9937
X17	MR	0.0598	0.7815
X18	VDWV	0.1703	0.4263
X19	LOGP	0.1055	0.6236
X20	PHSA	-0.4524	0.0265

Molar volume (MV), Enthalpy of formation (EF), Van der waal's volume (VDWV), LogP, Volume (VOL) 등이 상관관계를 나타냈으며, 특히 Percent polar surface area는 여러 가지 독성 실험의 결과와 상대적으로 높은 상관성을 보였다 (Table 2).

세포독성 실험의 결과를 바탕으로 피어슨 상관 계수 (Pearson's correlation coefficient)를 표준상관 계수와 유의수준 $\alpha = 0.05$ 에서 유의하게 나타나는 변수들은 Percent Polar Surface Area (PPSA)와 Percent Hydrophilic Surface Area (PHSA)이었으며 음의 방향으로 유의하게 나타났다. PPSA의 경우에는 p의 값이 0.0300수준에서 -0.4435 (γ)의 상관계수의 값을 가지며, PHSA에서는 각각 $\gamma = -0.4524$ ($p = 0.0265$)로 세포독성과의 상관성을 보이고 있다 (Table 2). 세포독성 실험의 결과를 가지고 유의수준 $\alpha = 0.05$ 에서 신뢰할 수 있는 변수들을 선택해서 단계적 다중회귀분석 (stepwise multiple regression analysis) 을 수행하여 다음의 식 (1)을 얻었다.

$$\text{Cytotoxicity} = 90.14089 - 4.72224 \text{ PHSA} \quad (R^2 = 0.2046, \alpha = 0.0265) \quad (1)$$

위의 식 (1)은 세포독성과 Percent Hydrophilic Surface Area (PHSA)이 음의 상관관계를 가진다는 것을 보여주고 있다. 즉, 세포독성은 PHSA가 증가하면 반비례적으로 증가하는 경향을 나타냈으며 결정계수의 값이 0.2046으로 설명력이 매우 낮다는 것을 알 수 있었다. 이는 잉어의 자연세포 파괴의 활성 및 비특이적인 면역반응에 대한 페놀과 이중페놀(pyrocatechol)과 hydroquinone의 영향에 대한 연구에서도 bnezonic nucleus의 두 번째 수산기 그룹의 크기와 위치가 화합물의 독성에 영향을 미치는 것과 유사하게 나타났다(Taysse *et al.*, 1995). 그러나 분자표현자과 세포독성사이에는 결정계수가 0.2052로 상관성을 보여 설명력이 매우 낮은 것을 알 수 있었다.

결론적으로 본 실험에서 얻은 HeLa cell에 대한 독성자료에서는 예상한 바와 같이 알킬기의 탄소 수가 많은 4-n-Nonyl-phenol의 세포독성이 가장 크게 나타났고 그 다음에 4-tert-Octylphenol, 4-n-Octylphenol, 4-n-Heptylphenol의 순으로 크게 나타났으며 n-Octyl 치환기 보다는 tert-Octyl 치환기가 독성을 더 크게 나타냈다. 알킬기가 화학적으로 안정한 구조인 para위치에 있을 때 높은 독성을 나타내는 것을 알 수 있었으며 이는 알킬기의 소수성이 증가할수록 높은 독성을 나타냄을 의미한다. 또한 실험결과를 이용하여 24개 알킬페놀에 대한 QSAR 모델방정식을 유도하였으나 실험치에 대한 분자 표현자의 상관성이 매우 낮아 대표성이 있는 모델 방정식을 유도할 수가 없었다. 그러나 분자 표현자 중에서는 특히 Percent polar surface area는 여러 가지 독성 실험의 결과와 높은 상관성을 보였으며 그에 대한 단계적 다중회귀분석(stepwise multiple regression analysis)를 실시하여 모델 방정식을 구하였다. 따라서 많은 문헌에서 고찰된 homolytic dissociation energy, radical formation 혹은 ionization의 분자표현자들이 관여되지 않은 관계로 시험된 페놀에 대한 이 실험 치와 위의 3가지 분자표현자 및 새로운 분자표현자를 QSAR에 적용시키는 연구가 필요하다고 사료된다.

참 고 문 헌

- 충북대 약학 대학원. 1989.
- Argese E, Bettiol C, Giurin G and Miana P. Quantitative structure-activity relationships for the toxicity of chlorophenols to mammalian submitochondrial particles, *Chemosphere* 1999; 38(10): 2281-2292.
- Fujisawa S, Atsumi T, Kadoma Y and Sakagami H. Antioxidant and prooxidant action of eugenol-related compounds and their cytotoxicity, *Toxicology* 2002; 177(1): 39-54.
- Hansch C, McKarns SC, Smith CJ and Doolittle DJ. Comparative QSAR evidence for a free-radical mechanism of phenol-induced toxicity, *Chem. Biol. Interact.* 2000; 127(1): 61-72.
- Katritzky AR, Lobanov V and Karelson M. QSPR: The Correlation and Quantitative Prediction of Chemical and Physical Properties from Structure, *Chem. Soc. Revs.* 1995; 24: 279-287.
- Korach KS, Davis VL, Curtis SW and Bocchinfuso WP. In *Endocrine Toxicology* (edited by Thomas JA, Colby HD Eds), Taylor a. Francis, London 1996; 181-213.
- Krishnam AV, Starbis P, Permuth SF, Tokes L and Feldman D. Bisphenol A : An estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving, *Endocrinology* 1993; 132: 2279-2286.
- Muckter H. What is toxicology and how does toxicity occur?, *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.*, 2003; 17(1): 5-27.
- Moridani MY, Siraki A and O'Brien PJ. Quantitative structure toxicity relationships for phenols in isolated rat hepatocytes, *Chem. Biol. Interact.* 2003; 145(2): 213-223.
- Selassie CD, DeSoyza TV, Rosario M, Gao H and Hansch C. Phenol toxicity in leukemia cells: a radical process? *Chem. Biol. Interact.* 1998; 113(3): 175-190.
- Sergediene E, Jonsson K, Szymusiak H, Tyrakowska B, Rietjens IM and Cenas N. Prooxidant toxicity of polyphenolic antioxidants to HL-60 cells: description of quantitative structure-activity relationships, *FEBS Lett.*, 1999; 462(3): 392-396.
- Soto AM, Justicia H, Wray JW and Sonnenschein C. p-Nonylphenol: an estrogenic xenobiotic released from "modified" polystyrene, *Environ. Health Perspect.* 1991; 92: 167-173.
- Verma RP, Kapur S, Barberena O, Shusterman A, Hansch CH and Selassie CD. Synthesis, cytotoxicity, and QSAR analysis of X-thiophenols in rapidly dividing cells, *Chem. Res. Toxicol.* 2003; 16(3): 276-284.