

· 研究进展 ·

## 基于计算毒理学的遗传毒性评价研究进展

兰洁<sup>1,2</sup>, 王雪<sup>1</sup>, 黄芝瑛<sup>2</sup>, 汪祺<sup>1</sup>, 文海若<sup>1\*</sup> (1. 中国食品药品检定研究院, 北京 100176; 2. 中山大学药学院, 广州 510006)

**摘要:** 计算毒理学是一种使用计算方法分析、模拟、可视化或预测化学品毒性的毒性评估方法, 在时间、成本和动物福利方面具有明显优势。近年来, 使用计算工具预测遗传毒性正受到监管机构更多的关注, ICH M7指南表明在药品监管中认可应用(Q) SAR模型预测药物杂质的Ames致突变性。本文讨论了经典的遗传毒性计算评估方法及其原理, 总结目前常用的遗传毒性评价模型及模型的构建现状, 回顾计算毒理学在药物杂质、纳米材料和化妆品成分的遗传毒性评价中的应用, 旨在为评价遗传毒性的计算模型的构建和优化提供一定参考, 进一步促进计算毒理学在国家遗传毒性监管中的应用。

**关键词:** 计算毒理学; 遗传毒性评价; (Q) SAR模型; 交叉参照法; Ames试验

中图分类号: R95 文献标识码: A 文章编号: 1002-7777(2022)10-1203-07

doi:10.16153/j.1002-7777.2022.10.013

### Research Progress of Genotoxicity Assessment Based on Computational Toxicology

Lan Jie<sup>1,2</sup>, Wang Xue<sup>1</sup>, Huang Zhiying<sup>2</sup>, Wang Qi<sup>1</sup>, Wen Hairuo<sup>1\*</sup> (1. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100176, China; 2. School of Pharmacy, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510006, China)

**Abstract:** Computational toxicology, a toxicity assessment method that uses computational methods to analyze, simulate, visualize or predict the toxicity of chemicals, has obvious advantages in time, cost and animal welfare. In recent years, the use of computational tools to predict genotoxicity is gaining more attention from the regulatory agencies, the ICH M7 guideline indicates that (Q) SAR predictions for the Ames mutagenicity of drug impurities can be used for drug regulatory purposes. On this basis, the classical genotoxicity computational evaluation methods and their principles were discussed, the status of commonly used genotoxicity evaluation models and the model building was summarized, and the application of computational toxicology in genotoxicity assessment of drug impurities, nanomaterials and cosmetic components was reviewed in this paper, in order to provide references for the development and optimization of computational models for evaluating genotoxicity and promote the application of computational toxicology in national genotoxicity regulation.

**Keywords:** computational toxicology; genotoxicity assessment; the (quantitative) structure-activity relationship models; read-across; the Ames test

基金项目: 国家“重大新药创制”科技重大专项(编号 2018ZX09201017)

作者简介: 兰洁 Tel: 18391573041; E-mail: jielanjane98@163.com

通信作者: 文海若 Tel: 13901298669; E-mail: sansan8251@sina.com

根据世界卫生组织2021年发布的全球癌症数据,我国2020年新发癌症总数约为457万例,因癌症死亡的人数约为300万人,癌症已成为威胁人类生命的主要原因之一。目前,超过1.97亿种化学物质被列入化学物质登记册(Chemical Abstracts Service Registry, CAS Registry),而且这个数字正以每天增加数以千计的新物质的速度在增长,其中一些化学物质,如亚硝胺类化合物、黄曲霉毒素、多环芳香烃类、杂环胺类化合物等都可能对人类造成致癌性。基因突变是癌症发生与发展的重要物质基础,已证实的具有致癌性的物质70%有致突变性。遗传毒性评价为食品、化妆品、药品和医疗器械上市前非常重要的安全性评价研究内容,可对受试物的致突变性和致癌性风险作出早期预测,从而降低相关接触人群的患癌风险。

遗传毒性试验是一类基于有害结局路径(Adverse Outcome Pathway, AOP)的试验方法,检测终点包括基因突变、染色体损伤和DNA损伤等。受试物的遗传毒性风险,通常需要根据一系列组合试验(通常基于细菌、细胞或啮齿类动物的试验系统)的结果进行综合判断。其中,细菌回复突变试验(The Ames Test)、小鼠淋巴瘤细胞tk基因突变试验(The Mouse Lymphoma Assay, MLA)、体外染色体畸变试验等需要进行细致的菌株和细胞管理工作,试验流程较为复杂,对试验人员的技术水平要求较高。而基于生物标志物的高通量检测方法,如流式微核试验、Pig-a基因突变试验等所需要的试剂盒或抗体价格不菲。此外,使用动物开展的试验,如小鼠骨髓微核试验、大鼠体内彗星试验等不符合动物福利发展趋势。上述试验均较为耗时耗力,不适宜早期海量化合物筛选。

计算毒理学可模拟体外和体内毒性测试,以最大限度地减少试验动物的使用,符合动物试验的替代、减少和改进(3Rs)原则,同时节省试验的成本和时间,并完善现有化合物的毒性预测和安全性评估信息。使用定性(量)结构-活性关系[The (Quantitative) Structure-Activity Relationships, (Q) SAR]和交叉参照法(Read-across)等计算方法预测遗传毒性正受到各监管机构的支持。鉴于计算毒理学的快速发展和其在遗传毒性监管中的广泛应用,本文将对基于计算毒理学的遗传毒性评价研究进行综述。

## 1 计算毒理学的发展

计算毒理学是基于生物、化学、物理和计算科学等领域的知识和技术,从化学品的分子结构预测其毒性,并根据已知毒性的类似化合物的性质推断未知化合物毒性风险的新兴学科。因计算毒理学研究主要通过计算模型进行,而计算机芯片由硅材料(Silicon)制成,故其通常也被称为“in silico毒理学”。计算毒理学模型包括了基于毒理学数据集开发的模型,研究分子间相互作用的分子建模,应用结构和效应关系的预测模型和交叉参照法毒性预测模型。

自1963年Corwin Hansch创立定量构效关系学科以来,计算毒理学蓬勃发展<sup>[1]</sup>。于2006年12月18日起生效的《关于化学品注册、评估、许可和限制规定》是第一个正式接受使用计算方法来评估化学品危害和风险的法规<sup>[2]</sup>。自2014年以来,随着国际人用药品技术要求协调委员会(The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use, ICH) M7指南的发布,美国食品药品监督管理局(Food and Drug Administration, FDA)、日本医药品医疗器械综合机构(Pharmaceuticals and Medical Devices Agency, PMDA)、欧洲药品管理局(European Medicines Agency, EMA)和我国国家药品监督管理局(National Medical Products Administration, NMPA)等药品监管机构均允许使用计算方法预测Ames试验结果来初步评估药物杂质的潜在致突变性<sup>[3-5]</sup>。此外,《有毒物质控制法案》(Toxic Substances Control Act, TSCA)将统计预测模型和专家审查作为整体毒性评估的一部分<sup>[6]</sup>。Kathleen等的量化结果显示,对国际化学协会理事会(International Chemical Council Association, ICCA)和经济合作与发展组织(Organization for Economic Co-operation and Development, OECD)共同参与的化学品合作评估项目中的261种化学品的危险级别进行评估时,科学合理地使用交叉参照法和计算毒理学模型来预测化学品的危险级别,减少了108500~142500只啮齿动物的使用,节省成本5400万~6750万美元<sup>[7]</sup>。

## 2 遗传毒性评价中常用的计算毒理学方法

### 2.1 (Q) SAR模型

#### 2.1.1 (Q) SAR模型的定义及分类

(Q) SAR是一个将物理和化学参数(电

子、分子结构和疏水性)联系在一起的数学模型,可对生物活性进行定量测量。该方法自创建后进行了多次改进,如Cramer等人提出了比较分子场分析(Comparative Molecular Field Analysis, COMFA),建立三维空间内的疏水场、静电场和立体场分布等与药物活性的回归方程<sup>[8]</sup>。Roberto引入可以提供分子表面积、体积和原子分布等三维结构信息的WHIM分子描述符<sup>[9]</sup>。

(Q) SAR模型包括基于已知警示结构的结构-活性关系(Structure-Activity Relationships, SAR)模型(基于专家规则的模型)和基于机器学习算法或回归分析的定量结构-活性关系[(Q) SAR]模型(基于统计的模型)。基于专家规则的模型模拟在某一特定领域拥有专业知识和经验的人的判断和行为,主要由两个部分组成,即包含理解和解决问题所需的经验知识库和包含决策过程的推理机制。第一个也是最经典的基于专家的毒理学预测软件为Derek Nexus,可对包括遗传毒性、致癌性等在内的59个毒理学预测终点进行评价,该方法可形成从“合理的”到“模棱两可的”,再到“否定的”等不同推理级别供用户参考。常用的商用专家系统包括Meteor、LeadScope Genetox Expert Alerts、Hazard Expert、Lhasa Limited公司的Derek Nexus等,也包括Toxtree等基于简单规则的免费软件。基于统计的模型通过构建算法将遗传毒理学试验研究中发现的结果为阳性或阴性的化合物数据集与化合物的一系列描述符联系起来, Sarah Nexus是Lhasa Limited公司与FDA合作开发的机器学习算法,从Ames突变试验数据出发构建统计模型。此外, Leadscope Genetox Statistical (Q) SAR、Multi CASE, Inc.的CASE Ultra、Sci (Q) SAR和Top Kat都是常用的基于统计的(Q) SAR模型软件。

专家系统特别之处在于可解释自身推理,并证明决策过程的合理性。警示结构(Alert Structure)是化合物或其代谢产物中某些具有毒性的结构片段,基于警示结构判断结构-活性关系并预测化合物的遗传毒性已经有30多年的历史。然而,化合物警示结构之外的部分也可能会削弱警示结构的毒性,警示结构的集合及相应的干扰因素通常被编码在称为“基于专家规则的系统模型”中。基于统计的模型可快速构建并验证庞大而多样化的数据集,但因所用的算法和描述符不同,结果可能

存在较大差异,增加了监管的难度。相比之下,基于专家规则的模型可在阳性预测的情况下提供具体的机制解释,故两者通常结合使用。Joseph等人的研究表明,对于Hansen Ames基准数据集,结合使用SciQSAR和Toxtree使预测结果的假阴性率分别从SciQSAR的17%和Toxtree的20%降低到联合预测的7%,敏感性从SciQSAR的83%和Toxtree的80%增加到联合预测的93%<sup>[10]</sup>。

### 2.1.2 (Q) SAR模型的验证原则

参考OECD提出的验证原则,有效的(Q) SAR模型应满足以下5点:(1)明确的终点;(2)明确的算法(构成模型基础的数学模型);(3)定义的适用范围(有效范围);(4)拟合优度、稳健性和预测性能的合适度量;(5)基于明确的化学生物学作用机制。内部验证适合验证模型的质量和拟合优度,但对新数据集的可预测率不高,外部验证确保了所开发的(Q) SAR模型在预测未测试分子方面的可预测性和适用性。为计算每个模型的敏感性、特异性、准确性、阳性预测值和阴性预测值等统计参数,构建了用于遗传毒性预测结果(阳性和阴性)的混淆矩阵,受试者工作特征(Receiver Operating Characteristic, ROC)曲线是用于评估每个程序性能的直观说明,ROC越高则模型的性能越好。监管中倾向于使用具有高灵敏度、高阴性预测值和广泛覆盖范围的(Q) SAR模型。

### 2.1.3 基于Ames试验、染色体畸变试验和微核试验的(Q) SAR模型

Ames试验是评估药物及其杂质致突变性的“金标准”,试验结果在不同实验室间的重复性已达到0.80~0.85,预测致突变性的大多数计算工具都是使用Ames试验生成的数据构建的<sup>[11]</sup>。当应用计算工具在公共数据集中预测Ames致突变性时,灵敏度为0.72(Admet Predictor, Simulations Plus Inc.)~0.96(CD/Percepta, Advanced Chemistry Development Inc.),特异性为0.65(ToxTree)~0.86(Leadscope Model Applier, Leadscope Inc.)<sup>[12]</sup>。欧洲食品安全管理局(European Food Safety Authority, EFSA)的一个项目选择了Ames试验、哺乳动物骨髓染色体畸变试验、哺乳动物红细胞微核试验、体外哺乳动物染色体畸变试验和体外哺乳动物细胞基因突变试验来评估(Q) SAR模型的预测能力,结果表明对于Ames测试所有(Q) SAR

模型的预测都有统计学意义,灵敏度在46%~71%之间,特异度在66%~98%之间,平均准确率为80%<sup>[13]</sup>。

多年来,人们致力于(Q)SAR的Ames试验研究,对于具有较少背景数据或研究基础的毒性终点如染色体损伤的研究较少。但近年来对于(Q)SAR的染色体畸变和微核试验的研究逐渐获得一些关注。染色体畸变有两种作用机制,包括了直接或间接DNA链断裂引起的染色体结构畸变和破坏正常染色体分离引起的数量畸变。计算模型在识别直接破坏DNA从而导致染色体畸变的化合物方面优于间接导致染色体畸变的化合物。FDA和CDER使用MC4PC软件结合中国仓鼠肺成纤维细胞(Chinese Hamster Lung, CHL)、中国仓鼠卵巢细胞(Chinese Hamsters Ovary, CHO)和人体淋巴细胞(Human Lymphocyte, HL)的体外染色体畸变数据集开发了4种(Q)SAR模型,对CHL、CHO和HL数据集的特异度分别为58.2%、65.2%和67.3%,敏感度分别为69.4%、48.4%和50.7%。Takeshi等人使用致癌性和遗传毒性试验(Carcinogenicity and Genotoxicity Experience, CGX)数据集比较了Derek, AWorks和MCase的三个模型对于染色体畸变的预测性能,结果表明MCase在体外染色体畸变预测中表现出较好的性能<sup>[14]</sup>。体内微核(Micronucleus, MN)试验的大多数公开的数据来源于小鼠骨髓、外周血研究或大鼠骨髓,但数据的适用范围有限,现有的预测微核的(Q)SAR模型不多,且更适合于在早期药物开发中进行筛查,不适于药物毒性的监管。Jae Wook等人构建了一个新的预测微核的模型,模型的灵敏度高达74%、阴性预测值高达86%、特异性高达77%,并用该模型进行亚硝基脲的体内微核测定,检测结果为阳性<sup>[15]</sup>。

## 2.2 交叉参照法

在美国、加拿大、澳大利亚和欧盟的化学品监管中均有交叉参照法的运用。在我国,交叉参照法在化学品管理中的监管应用正在不断发展中,但仍存在很多局限性。2019年5月28日,中国毒理学会工业毒理专业委员会化学风险评估专业组组织了《交叉参照:原则、案例研究及其在中国潜在的监管应用》研讨会,以促进交叉参照法在中国化学品监管中的规范应用<sup>[16]</sup>。

将某些机制、毒性作用方式或结构相似,或

遵循某个规则的物质归为一“组”,或一“类”,可通过在组内插入其他参考物质,利用“组”内各参考物质的现有数据,通过交互参照的方式,预测其他物质缺失的毒理性质,从而填补数据空白。化学结构的相似性意味着生物活性的相似性是该方法的基本假设,对相似性的评估是该方法的基础,目标和类似物之间的相似性必须满足以下条件:

(A)存在共同的官能团;(B)属于共同的化学类别(如醛、环氧化物、酯);(C)同一化学类别的物质具有相似范围的碳原子数;(D)处于同一基本分子骨架中双键的相同位置;(E)在同一类别物质中逐渐增加的链长导致物化性质(如沸点)的规律性改变;(F)具有物理化学参数的相似值;(G)存在共同的前体或分解产物。

运用交叉参照法需经过决策背景,数据差距分析,总体相似性原理,模拟识别,模拟评估,数据间隙填充和不确定度评估7个关键的步骤。OECD QSAR Toolbox由OECD和欧洲化学品管理局(The European Chemicals Agency, ECHA)开发并实施,是毒性监管中使用最广泛的计算工具之一,其主要步骤是物质鉴定,结构特征和潜在毒性相互作用机制的鉴定,识别具有相同结构特征和机制的化学品(即建立一个类别)。此外,CAESAR(VEGA)、Derek Nexus、MultiCASE、OASIS TIMES、Leadscope和Chem Tunes Studio等软件可运行整个交叉参照过程并输出结果。

由于化学空间的应用域(Applicability Domain, AD)不同,每个模型在应用于广泛的不同类别化学品时都会有一定的局限性,此时可联合多种(Q)SAR模型并结合交叉参照法进行评估,如VEGA中的CAESAR致突变性模型是一种级联集成模型,由机器学习支持向量机(Support Vector Machine, SVM)算法和基于结构警报的专家算法组成<sup>[17]</sup>。来自不同模型的数据可使用证据权重(Weight-of-evidence, WOE)法进行解释,为毒理学危害的评估提供更可靠的结果,如Azadi等人收集了16种非涂层金属氧化物纳米材料的彗星试验遗传毒性数据,使用最佳专业判断方法(The Best Professional Judgment Method, BPJ)作为定性的WOE方法来获得可用于计算建模的可靠数据,开发了评估金属氧化物纳米材料遗传毒性的模型<sup>[18]</sup>。

### 2.3 分子对接

遗传毒性产生的原因是外源性因素与遗传物质的相互作用引起核酸或其组分改变,因此遗传毒理学评价的主要目的是评价外源性因素与DNA特定的相互作用。基于DNA的结构,开展一系列有毒分子与DNA相互作用的研究,获得两者结合方式、位点的信息,将有利于从分子水平上了解其作用于DNA的毒性机理,并为遗传毒性的评价提供更精准的方法。分子对接技术利用特定的计算软件,结合分子动力学、量子力学等研究,对两个分子的结合过程进行模拟,以得到结合方式、活性结合位点、相互作用力、空间构象改变、结合能量的改变等相关信息<sup>[19]</sup>。近年来,分子对接技术也越来越多地应用于小分子物质与DNA相互作用的研究中,经典的软件为Autodock,此外,还有Dock6和Glide等。陈义磊利用Discover Studio Cdocker和CHARMM (Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics) 模块对苯并芘及其代谢物与DNA进行分子对接,发现其可嵌入DNA螺旋的小沟区域,与区域中的碱基接触形成复合物,并由此造成DNA的链损伤或复制过程中的碱基错配<sup>[20]</sup>。Aliyu Muhammad等人通过分子对接计算研究发现2,5-己二酮能够通过强疏水作用 ( $-3.3296 \text{ Kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ ;  $KI=0.9944$ ) 导致以DNA片段化为特征的DNA损伤<sup>[21]</sup>。

## 3 计算毒理学在遗传毒性评价中的应用

### 3.1 计算毒理学在药物杂质遗传毒性评价中的应用

对于药物杂质遗传毒性的风险评价,以ICH M7指南为例,药物杂质最终可以归为5个类别之一。首先根据已有的遗传毒性试验资料查阅杂质是否有致突变性、致癌性,相应地将杂质归为第1类具有致癌潜力的致突变物、第2类具有未知致癌潜力的致突变物或第5类不具有致突变性和致癌性的杂质。如果缺少试验数据,则应使用基于专家规则和基于统计的两种互补的(Q)SAR方法对杂质以细菌突变性为预测终点进行计算毒理学评估:当两类互补的计算机评价模型均给出了致突变性阴性的结果时,该杂质属于第5类;当两类软件中任意一类预测为致突变性时,杂质归为第3类;对于杂质与活性药物成分(Active Pharmaceutical Ingredient, API)或相关物质存在相同警示结构,在API或相关物质致突变性为阴性的前提下,杂质归为第4类<sup>[22]</sup>。祝清芬等人采用基于专家规则的

Derek和基于统计的Sarah系统,对左羟丙哌嗪的3个杂质右羟丙哌嗪、苯基哌嗪、缩水甘油进行遗传毒性评价和分类,发现右羟丙哌嗪和苯基哌嗪的两个软件预测结果均为阴性,归为第5类,缩水甘油的两个软件预测结果均为阳性,归为第1类。同时对羟苯磺酸钙及其杂质I(氢醌)进行遗传毒性评价和分类,发现氢醌的Derek预测结果为阴性, Sarah预测结果为阳性,归为第1类<sup>[23]</sup>。Rachel等人使用Derek和Sarah对69个含有氨基甲酸酯的化合物进行评估,25种试验结果表明为致突变性的化合物中有24种被两个系统中的至少一个检测为阳性,38种试验结果表明为无致突变性的化合物中有37种被评估为阴性,这证明了两个系统可较好地实现ICH M7中对药物杂质的分类<sup>[24]</sup>。

### 3.2 计算毒理学在纳米材料遗传毒性评价中的应用

纳米材料进入体内后可能通过氧化应激等作用机制诱发染色体或DNA的断裂。Mamta等人研究提示氧化锌纳米颗粒可对A. cepa根细胞产生遗传毒性, Nana等人发现纳米银颗粒可导致原代小鼠睾丸细胞的DNA损伤<sup>[25]</sup>。定量结构-纳米毒性关系(Quantitative Structure Nanotoxicity Relationships, QSNR),也可称为Nano-QSAR,是一种预测纳米物质毒性的QSAR模型,它使用纳米材料特定的描述符如尺寸、形状、表面积、溶解度、生物分布、生物利用度和表面电荷等进行毒性预测。由于纳米材料由有机、金属、金属氧化物、二氧化硅或碳基纳米颗粒组成,因此,汇编同类纳米材料的数据集目前仍存在困难,纳米材料毒性试验数据和分子描述符的不足阻碍了其计算模型的开发,但可使用不需要大数据集支撑的交叉参照方法对纳米材料的遗传毒性进行计算机预测。Toropova等基于多壁碳纳米管的Ames试验数据,利用蒙特卡罗法计算出最优描述符,从而建立了一种预测碳纳米管遗传毒性的模型<sup>[26]</sup>。Natalia Sizochenko等使用监督分类算法和自组织映射法(Self Organizing Maps, SOM)两种组合的方法所组成的交叉参照法评估了Ames和彗星试验中49种硅和金属氧化物纳米材料的遗传毒性,发现体外彗星试验比Ames试验更适用于纳米材料的遗传毒性的快速筛选<sup>[27]</sup>。

### 3.3 计算毒理学在化妆品成分遗传毒性评价中的应用

随着化妆品市场逐年扩大,新化妆品的毒性

试验需求也不断增长。但自2004年起, 欧盟禁止对化妆品进行动物试验, 因此, 在化妆品的安全性评估方面仍需大力开发和验证非动物试验的测试方法。化妆品成分测试及其安全性评估指南明确建议使用例如(Q) SAR建模、化学类别、分组和交叉参考等计算机方法评估化妆品成分的安全性<sup>[28]</sup>。肉桂醛不仅可用作香精或香料, 还可用于牙膏、口香糖等口腔护理产品; 羟基香茅醛可用于发胶、香水和护肤品等化妆品, Priyanka等人使用计算工具ProTox-II预测出肉桂醛和羟基香茅醛均具有致突变性, 与已有的试验结果相符<sup>[29]</sup>。植物提取物被广泛用作化妆品成分, 然而这些天然产物通常是复杂的化学混合物, Giuseppa等人结合了来自VEGA v.1.1.4、T.E.S.T. v. 4.2.1、OECD QSAR Toolbox v. 4.2和IRFMN Group平台的共10个计算机模型来评估约18000个用作化妆品成分的植物提取物的Ames试验结果, 大多数(14894个)被归类为无致突变性, 其中65%的结果置信度较高<sup>[30]</sup>。

#### 4 展望

计算毒理学在整合毒理组学试验数据的基础上, 可构建多水平、多尺度的预测模型, 减少了动物使用, 节约了时间和成本, 在新药筛选、新药合成和新药安全评价环节均有应用。随着“组学”技术在化合物毒性中的研究和计算能力、人工智能和生命信息学的发展, 计算毒理学的研究会迎来新的机遇, 今后可能会结合体外方法和计算方法来预测化合物毒性, 从而逐渐取代一些经典的体内测试。致癌性风险与致突变性高度相关, 伴随大量创新药及仿制药的出现, 亟需加强和优化遗传毒性评价的监督管理工作, 相信未来将逐步生成更高质量的遗传毒性数据库, 构建预测效力更好的计算模型, 并制定更加透明的计算毒理学运用协议和指南, 以促进计算毒理学在遗传毒性评价中的进一步发展和应用, 从而保障人民用药安全。

#### 参考文献:

- [1] Hansch C, Fujita T. P- $\sigma$ - $\pi$  Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1964, 86(8): 1616-1626.
- [2] EC (European Commission). Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006 concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH), Establishing a European Chemicals Agency, Amending Directive 1999/45/EC and Repealing Council Regulation (EEC) No 793/93 and Commission Regulation (EC) No 1488/94 as well as Council Directive 76/769/EEC and Commission Directives 91/155/EEC, 93/67/EEC, 93/105/EC and 2000/21/EC[EB/OL]. (2006-12-30) [2022-03-10]. <https://www.legislation.gov.uk/eur/2006/1907/contents#.html>.
- [3] ICH. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use[S]. 2008.
- [4] ICH. ICH M7 Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk (R1) [S]. 2017.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 527-30.
- [6] EPA U. TSCA New Chemicals Program (NCP) Chemical Categories[EB/OL]. (2010-08) [2022-03-10]. [https://19january2021snapshot.epa.gov/sites/static/files/2014-10/documents/ncp\\_chemical\\_categories\\_august\\_2010\\_version\\_0.pdf](https://19january2021snapshot.epa.gov/sites/static/files/2014-10/documents/ncp_chemical_categories_august_2010_version_0.pdf).html.
- [7] Stanton K, Kruszewski FH. Quantifying the Benefits of Using Read-across and in Silico Techniques to Fulfill Hazard Data Requirements for Chemical Categories[J]. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2016, 81: 250-259.
- [8] Cramer RD, Bunce JD. The DYLOMS Method: Initial Results from a Comparative Study of Approaches to 3D QSAR. In *QSAR in Drug Design and Toxicology*[J]. Elsevier, 1987, 10: 3-12.
- [9] Todeschini R, Lasagni M, Marengo E. New Molecular Descriptors for 2D and 3D Structures. Theory[J]. *Journal of Chemometrics*, 1994, 8: 263-272.
- [10] Contrera, Joseph F. Validation of Toxtree and SciQSAR in Silico Predictive Software Using a Publicly Available Benchmark Mutagenicity Database and Their Applicability for the Qualification of Impurities in Pharmaceuticals.[J]. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2013, 67(2): 285-293.

- [11] Piegorsch WW, Zeiger E. Measuring Intra-Assay Agreement for the Ames Salmonella Assay[J]. Springer Berlin Heidelberg, 1991: 35-41.
- [12] Bakhtyari NG, Raitano G, Benfenati E, et al. Comparison of in Silico Models for Prediction of Mutagenicity[J]. Journal of Environmental Science & Healthpart, 2013, 31 (1-4): 45-66.
- [13] Benigni R, Serafimova R, Morte JMP, et al. Evaluation of the Applicability of Existing (Q) SAR Models for Predicting the Genotoxicity of Pesticides and Similarity Analysis Related with Genotoxicity of Pesticides for Facilitating of Grouping and Read Across: An EFSA Funded Project[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2020, 114: 104658.
- [14] Morita T, Shigeta Y, Kawamura T, et al. In Silico Prediction of Chromosome Damage: Comparison of Three (Q) SAR models[J]. Mutagenesis, 2019, 34 (1): 91-100.
- [15] Yoo JW, Kruhlak NL, Landry C, et al. Development of Improved QSAR Models for Predicting the Outcome of the In Vivo Micronucleus Genetic Toxicity Assay[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2020, 113: 104620.
- [16] Gao R, Guan N, Huang M, et al. Read-across: Principle, Case Study and Its Potential Regulatory Application in China[J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2020, 116: 104728.
- [17] Gini FG. An Open Source Multistep Model to Predict Mutagenicity from Statistical Analysis and Relevant Structural Alerts[J]. Chemistry Central Journal, 2010, 4 (1): 1-6.
- [18] Azadi G, Nazanin G, Natalia S, et al. Genotoxicity Induced by Metal Oxide Nanoparticles: A Weight of Evidence Study and Effect of Particle Surface and Electronic Properties[J]. Nanotoxicology, 2018, 12: 1-17.
- [19] Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20 (18): 4331.
- [20] 陈义磊. 苯并芘生成途径的理论计算及与DNA分子对接研究[D]. 昆明: 云南大学, 2014.
- [21] Muhammad A, Arthur DE, Babangida S, et al. Modulatory Role of Rutin on 2, 5-hexanedione-induced Chromosomal and DNA Damage in Rats: Validation of Computational Predictions[J]. Drug and Chemical Toxicology, 2020, 43 (2): 113-126.
- [22] Teasdale A. ICH M7: Assessment and Control of DNA Reactive (Mutagenic) Impurities in Pharmaceuticals to Limit Potential Carcinogenic Risk[J]. ICH Quality Guidelines: An Implementation Guide, 2017, 24 (5): 667-699.
- [23] 祝清芬, 魏霞, 耿雪, 等. 左羟丙哌嗪和羟苯磺酸钙中 2 个 1 类杂质的遗传毒性 (Q) SAR 评价及质控限度评估[J]. 药物分析杂志, 2018, 38 (2): 354-358.
- [24] Hemingway R, Fowkes A, Williams RV. Carbamates and ICH M7 Classification: Making Use of Expert Knowledge[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2017, 86: 392-401.
- [25] Asare N, Instanes C, Sandberg WJ, et al. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Silver Nanoparticles in Testicular Cells[J]. Toxicology, 2012, 291 (1-3): 65-72.
- [26] Toropova AP, Toropov AA, Rallo R, et al. Nano-QSAR: Genotoxicity of Multi-Walled Carbon Nanotubes[J]. International Journal of Environmental Research, 2016, 10 (1): 59-64.
- [27] Sizochenko N, Syzochenko M, Fjodorova N, et al. Evaluating Genotoxicity of Metal Oxide Nanoparticles: Application of Advanced Supervised and Unsupervised Machine Learning Techniques[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 185 (12): 109733.
- [28] SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety). SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation 10th Revision[S]. 2018.
- [29] Banerjee P, Ulker OC. Combinative Ex Vivo Studies and In Silico Models ProTox-II for Investigating the Toxicity of Chemicals Used Mainly in Cosmetic Products[J]. Toxicol Mech Methods, 2022, 32 (7): 542-548.
- [30] Raitano G, Roncaglioni A, Manganaro A, et al. Integrating in Silico Models for the Prediction of Mutagenicity (Ames test) of Botanical Ingredients of Cosmetics[J]. Computational Toxicology, 2019, 12: 100108.

(收稿日期 2022年4月1日 编辑 李亚微)