

Alkyl-3,4-dihydroxybenzoate와 N-Alkyl-3,4-dihydroxybenzamide 유도체의 피부 감작성에 관한 홀로그래피적인 정량적 구조와 독성과의 관계(HQSTR)

성 낙 도* · 정 훈 성* · 김 상 진†

†대전보건대학 화장품학과, *충남대학교 농업생명과학대학 응용생물화학부
(2005년 3월 2일 접수, 2005년 3월 11일 채택)

Holographic Quantitative Structure-Toxicity Relationships on the Skin Sensitization of Alkyl-3,4-dihydroxybenzoate and N-Alkyl-3,4-dihydroxybenzamide Derivatives

Nack-Do Sung*, Hoon-Sung Jung*, and Sang-Jin Kim†

Department of Cosmetic Science, Daejeon Health Sciences College, 77-3, Gayang 2-dong, Dong-gu, Daejeon 300-711, Korea

*Division of Applied Biological and Chemistry, College of Agriculture and Life Science, Chungnam National University

(Received March 2, 2005; Accepted March 11, 2005)

요 약: 일련의 alkyl-3,4-dihydroxybenzoate (A)와 N-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide (B) 유도체들의 치환기(R1 및 R2) 변화에 따른 피부 감작성과의 관계를 HQSTR 방법으로 분석하였다. 유도된 피부 감작성에 관한 HQSTR 모델은 매우 양호한 예측성 (cross-validated r_{cv}^2 , $q^2 = 0.744$)과 적합성(non-cross-validated, $r_{ncv}^2 = 0.978$)을 나타내었다. 이들 두 화합물은 멜라닌 생성 저해 활성이 클수록 피부 감작성이 낮은 반비례적인 경향을 보였으며 R1-치환기 사슬 중 C1 ~ C3 원자 부분은 피부 감작성에 기여하지 않는 경향을 나타내었다. 따라서 ester (A)는 amide (B)보다 피부 감작성이 낮으나(A < B) 멜라닌 생성 저해 활성이 큰(A > B) 특징을 나타내므로 미백제의 활성 성분으로서 매우 이상적인 화합물임을 알았다.

Abstract: Holographic quantitative structure-toxicity relationships (HQSTR) of alkyl-3,4-dihydroxybenzoate (A) and N-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide (B) derivatives were analyzed and discussed. The HQSTR model X for the skin sensitivity showed the best predictability based on the cross-validated r_{cv}^2 ($q^2 = 0.744$), non cross-validated, and conventional coefficient ($r_{ncv}^2 = 0.978$). The relationships between melanogenesis inhibitory activities and skin sensitization of compounds have a tendency to a reciprocal proportion. Therefore, the more higher melanogenesis inhibitory activities of compounds were, the more lower skin sensitization of compounds became. The side chain, C1 ~ C3 part of R1-substituents in (A) and (B) did not exhibit any contribution to skin sensitization. Particularly, it reveals that the skin sensitization of ester (A) were slightly lower (A < B) than that of amide (B) and melanogenesis inhibitory activities of (A) were slightly higher (A > B) than that of (B). It is founded that the alkyl-3,4-dihydroxybenzoate derivatives (A) were an ideal compound as an ingredient of whitening agents.

Keywords: holographic QSTR analyses, skin sensitization, whitening agent. Alkyl-3,4-dihydroxybenzoate and N-Alkyl-3,4-dihydroxybenzamide derivatives.

1. 서 론

화장품에 사용되는 원료나 혼합물은 수많은 불특정 사람들의 피부와 접촉을 하게 되는바 이 물질들의 안전성

을 입증하기 위해서는 독성, 1차 피부자극, 안점막 또는 기타 점막자극, 피부 감작성(skin sensitization), 광독성, 광감작성 및 인체 사용시험 등을 하여야 한다[1]. 이 시험들 중 피부 감작성 시험은 반복투여 된 성분들이 체내에서 항원으로 작용하여 세포성 면역(지연형 알레르기)을 나타낼 수 있기 때문에[2] 화장품용 원료에서는 반드시

† 주 저자 (e-mail: kimsj@hit.ac.kr)

시험을 하여야 하는데 보통 2개월 이상의 기간과 동물시험에 이은 인체에 대한 시험 등으로 많은 시간과 고액의 경비가 소요된다. 또한 신규원료를 탐색할 경우에는 더 많은 시간과 경비가 요구되어, 안정성 확인을 위한 보다 신속하고 효율적인 탐색 방법을 필요로 하고 있다.

전보[3]에서는 홀로그램(H) QSAR 방법으로 alkyl-3,4-dihydroxybenzoate와 *N*-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide 유도체들의 멜라닌생성 저해활성과 관계를 보고한 바 있다. 본 연구에서는 전보[3]에 이어서 alkyl-3,4-dihydroxybenzoate와 *N*-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide 유도체들의 치환기(R1 및 R2) 변화와 피부 감작성 사이의 관계를 홀로그램(H) QSTR[4] 방법으로 분석하고[5,6] 검토하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 피부 감작성의 계산

피부 감작성을 예측[7]하고 평가(정확도 85%이상)하기 위해 health design Inc. (HDI)에서 개발한 TOPKAT 프로그램(Ver. 6.2)을 이용하여[8] alkyl-3,4-dihydroxybenzoate (A = 1 ~ 19)와 *N*-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide (B = 20 ~ 35) 유도체들의 피부 감작성에 대한 판별분석[9] 결과인 판별점수(D.S.: Discriminante score)[10]와 확률을 계산하고[11] 이를 정량화[12]하였다. 여기에서 표현자(descriptor)는 분자의 성질을 의미하며 D.S.는 감작성 검정 대상 분자중의 특정 골격부분이 감작성에 기여하거나(+) 기여하지 않는(-) 표현자들의 합이므로 감작을 발현시키는 척도로 응용할 수 있다. 감작을 발현할 확률 기준은 다르나 양(+)의 값이 증가할수록 감작을 나타낼 수 있는 확률이 증가하는 경향을 나타낸다.

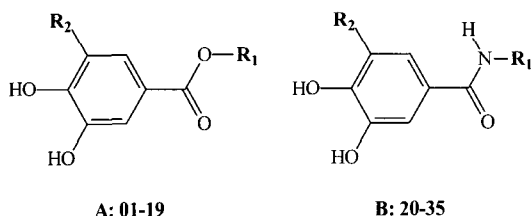


Figure 1. General structures of alkyl-3,4-dihydroxybenzoate (A) and *N*-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide (B) derivatives as substrate molecules.

2.2. 기질 분자의 모델링

분자 모델링과 PLS (partial least square) 계산은 Tripos사의 Sybyl (Ver. 6.91) 분자모델링 프로그램(Tripos Inc.)을 사용하였다[13].

피부 감작성 값은 기질 분자인 alkyl-3,4-dihydroxybenzoate (A)와 *N*-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide (B) 유도

Table 1. Calculated Skin Sensitization Values (D.S.), Predicted Values (Pred.) by HQSTR Model and Their Deviations (Dev.) for Training Set

No.	R1	R2	D.S. ^{a)}	Pred. ^{b)}	Dev. ^{c)}
01	H	OCH ₃	8.90	8.69	0.21
02	CH ₃	OCH ₃	8.72	8.47	0.25
03	C ₃ H ₇	OCH ₃	2.20	2.05	0.15
05	CH ₃	OC ₂ H ₅	1.62	1.64	-0.02
06	CH ₃	OC ₃ H ₇	1.09	1.07	0.02
07	CH ₃	OC ₄ H ₉	1.02	-1.29	-0.27
08	CH ₃	Iso-butoxy	-0.19	-0.31	0.12
09	CH ₃	Benzoyloxy	10.88	11.84	-0.96
10	CH ₃	OH	12.26	12.34	-0.08
11	Isopropyl	OH	21.89	21.49	0.40
13	Isopropyl	H	10.75	11.60	-0.85
14	C ₃ H ₇	H	-4.57	-3.94	-0.63
15	C ₄ H ₉	H	-4.46	-3.47	-0.99
16	C ₆ H ₁₃	H	-4.24	-3.98	-0.26
17	C ₈ H ₁₇	H	-4.09	-3.92	-0.17
18 ^{d)}	C ₁₀ H ₂₃	H	1.94	0.89	1.05
19	C ₆ H ₅	H	10.56	9.77	0.79
20	C ₂ H ₅	OCH ₃	7.53	7.20	0.33
21	C ₃ H ₇	OCH ₃	6.85	5.77	1.08
22	C ₄ H ₉	OCH ₃	6.77	6.96	-0.19
23	C ₅ H ₁₁	OCH ₃	6.83	7.42	-0.59
24	C ₆ H ₁₃	OCH ₃	6.89	7.35	-0.46
25	C ₇ H ₁₅	OCH ₃	6.95	7.39	-0.44
26	C ₈ H ₁₇	OCH ₃	6.98	7.37	-0.39
28 ^{e)}	C ₄ H ₉	OCH ₃	19.02	19.45	-0.43
29	OH	OCH ₃	16.35	15.86	0.49
31	C ₃ H ₆ OH	OCH ₃	8.37	7.96	0.41
33	C ₃ H ₆ -C ₆ H ₅	OCH ₃	7.50	7.11	0.39
34	C ₆ H ₄ - <i>p</i> -OH	OCH ₃	11.09	11.44	-0.35
35	C ₆ H ₄ - <i>m</i> -OH	OCH ₃	12.42	12.63	-0.21
Ave. ^{f)}					0.21

^{a)} Discriminant score of sensitization: Sum of the products in the descriptor contribution table, calculated from Topkat program

^{b)} predicted values by HQSTR model XI

^{c)} difference of D.S. values and predicted (pred.) values

^{d)} R1=3,7-dimethyloctanyl group

^{e)} 1-methylpropyl group

^{f)} average residual of training set.

체(Figure 1)의 공통부분인 *C*-phenyl 고리상 meta-위치에 치환된 R2-치환기와 그리고 carbonyl 탄소원자의 산소와 질소 원자에 R1-치환기가 각각 치환된 35개 화합물들에 대하여 계산된 피부 감작성값(D.S.)을 사용하였다[11].

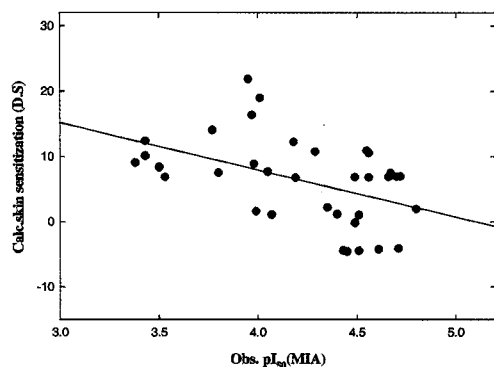


Figure 2. Relationship between observed melanogenesis inhibitory activity (MIA) and skin sensitization (DS).

전보[3]에서와 같이 이들 화합물 중, 30개 화합물을 training set로 설정하여 HQSTR 모델을 유도하였고 나머지 5개 화합물은 test set로 선정하여 예측성을 평가하였다. HQSTR은 홀로그램 중의 분자 조각들을 암호화한 다음에 생물 활성(독성)과의 상관성을 계산하는 것으로[4] 모델의 유도 과정은 전보[3]와 같다. 즉, 분자조각을 2 ~ 10 범위로 하고 그 홀로그램 길이(hologram lengths)가 257 bin에서 가장 양호한 예측성과 상관성을 갖는지를 확인한 다음에 같은 조건에서 가장 좋은 HQSTR 모델을 탐색하였다[14]. 분자 조각 중에 포함된 정보는 원자/결합 및 키랄성(chirality) 등으로 이 정보들이 홀로그램을 생성하는데 사용된다. 결과적으로 QSTR 모델의 질(quality)은 예측성($q^2 > 0.50$)과 저해활성과의 상관성($0.90 > r^2$)에 의하여 결정된다. HQSTR 결과는 최종 PLS 분석 결과들에 의하여 색깔로 암호화 된 분자 조각들을 기여도(contribution map)로 나타내었다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 기질분자의 피부 감작성

일련의 기질 유도체(A 및 B)들의 피부 감작성 값(D.S.)과 training set로부터 유도된 HQSTR 모델에 의한 예측 값(Pred.) 및 두 값의 차이(Dev.)를 Table 1에 정리하였다. (A)에서 R1이 CH₃ 등으로 치환되어 있을 경우, R2-치환기가 클수록 피부 감작성이 증가하는 경향을 나타내었는데 특히, R1 = isopropyl 치환체(**11**: Pred.DS = 21.49 및 **13**: Pred.DS = 11.60)들은 상대적으로 매우 큰 감작성을 나타내었다. 반면에 R2가 비치환체(H)일 경우, R1-치환기의 탄소사슬이 증가(14 ~ 17)하여도 감작성에는 큰 영향이 없었다. (B)에서는 R1-치환기가 결가지가 있거나 (**28**: Pred. DS = 19.45) hydroxyl group일 경우, 그리고 phenyl 치환체(**34**: Pred.DS = 11.44 및 **35**: Pred. DS = 12.63)일 경우에는 다른 치환체와 다르게 매우 큰 감작성

Table 2. The HQSTR Analyses for the Influence of Various Fragment Sizes on the Key Statistical Parameters.

Models	F.size	Length	$r^2_{cv.}$ (q^2)	SE _{cv.} ^{a)}	$r^2_{ncv.}$	SE _{ncv.} ^{a)}	NC ^{b)}
I	2~5	83	0.519	5.056	0.907	2.227	5
II	3~6	257	0.456	5.377	0.889	2.435	5
III	4~7	257	0.513	5.088	0.931	1.920	5
IV	5~8 ^{c)}	257	0.607	4.569	0.938	1.809	5
V	6~9	401	0.595	4.550	0.918	2.040	4
VI	7~10	151	0.487	5.222	0.898	2.328	5

^{a)} Standard error estimate: in case of cross-validated (cv.) and non crossvalidated (ncv.)
^{b)} optimum number of component.
^{c)} The best fragment size.

Table 3. HQSTR Analyses for Various Fragment Distinctions on the Key Statistical Parameters Using Fragment Size Default (5~8)

Models	Distinctions	Best Length	$r^2_{cv.}$ (q^2)	SE _{cv.} ^{a)}	$r^2_{ncv.}$	SE _{ncv.} ^{a)}	NC ^{b)}
VII	Atom/bond ^{c)}	353	0.547	4.907	0.970	1.265	5
IV	Connectivity	257	0.607	4.569	0.938	1.809	5
VIII	Hydrogen	353	0.546	4.912	0.913	2.152	5
IX	Connectivity -Hydrogen	53	0.666	4.214	0.953	1.583	5
X ^{d)}	Chirality ^{e)}	59	0.744	3.692	0.978	1.083	5

^{a)} Standard error estimate: in case of cross-validated (cv.) and non cross-validated (ncv.)
^{b)} optimum number of component.
^{c)} In all case, the atoms and bonds flags are turned on.
^{d)} The best model
^{e)} This option is used by combining with all distinctions.

을 나타내는 경향을 보였다. 대상 화합물들 중 피부 감작성이 가장 높은 화합물은 **11**(R1 = isopropyl, R2 = OH: DS. = 21.89)이었고 가장 낮은 화합물은 **14**(R1 = C₃H₇, R2 = H: DS: -4.57)이었다. 또한, 멜라닌 생성 저해 활성 값(obs.pI₅₀) [3]과 피부 감작성과의 관계(Figure 2)를 비교하여 본 결과 이들 간에는 반비례적인 경향 즉, 멜라닌 생성 저해활성이 클수록 피부 감작성이 낮은 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다.

3.2. 분자 조각과 특징의 영향

분자들의 구조 변화에 따른 피부 감작성과의 관계를 분석하기 위하여 분자 조각의 크기(fragment size)가 2~10으로 변화함에 따른 HQSTR 모델(I ~ VI)을 유도하여 Table 2에 정리하였다.

분자 조각의 크기가 5 ~ 8일 경우에 best length는 257 그리고 적정 조성의 수가 5인 조건에서 crossvalidated

Table 4. Calculated Skin Sensitization (Calc.), Predicted Values (Pred.) by HQSTR Model X and Their Deviations (Dev.) for Test Set

No	Substituents		DS.		
	R ₁	R ₂	Calc.	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
04	CH ₂ CHC(CH ₃) ₂	OCH ₃	3.17	4.33	-0.16
12	C ₂ H ₅	H	-2.42	-2.31	-0.11
27	CH(CH ₃) ₂	OCH ₃	4.06	4.58	-0.42
30	C ₂ H ₄ OH	OCH ₃	18.04	18.58	-0.54
32	C ₂ H ₄ -C ₆ H ₅	OCH ₃	9.88	10.42	-0.54
Test.Ave ^{c)}					-0.35

^{a)} Predicted values

^{b)} difference of calculated (Calc. p₅₀) values and predicted (Pred. p₅₀) values

^{c)} average residual of test set.

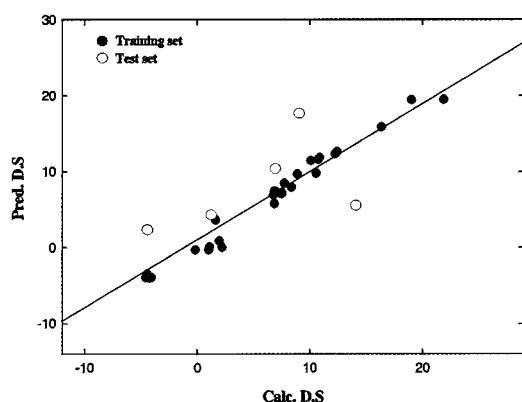


Figure 3. Relationships between observed values (obs.) and actual prediction values (pred.) against skin sensitization (DS.) by HQSTR methodology. (Pred.D.S = 0.978 D.S + 0.145, n = 30, s = 0.991, F = 1243.930, r² = 0.978, q² = 0.974).

r²_{cv.} 즉, q² = 0.607(SE_{cv.}: 4.569) 그리고 non cross-validated r²_{ncv.} = 0.938(SE_{ncv.}: 1.809)으로 가장 양호한 통계 값을 나타내었다. 이 같은 결과에 따라, 분자 조각 크기가 5 ~ 8일 때의 조건에서 분자 조각의 특징을 탐색하여 유도된 모델(VII~X)을 Table 3에 요약하였다.

이 중에서 모델 X의 경우, 분자 조각 특성이 connectivity-hydrogen과 조합된 chirality 조건에서 best length가 59이고 주성분 수가 5일때 cross-validated r²_{cv.} 즉, q² = 0.744(SE_{cv.}: 3.692) 그리고 non cross-validated r²_{ncv.} = 0.978(SE_{ncv.}: 1.083)으로 가장 양호한 통계 값을 나타내었다. 이 모델의 예측성을 검토하기 위하여 test set에 대한 관측 값(Obs.)과 모델로 예측한 값(Pred.) 그리고 이들 두 값의 차이 값(Dev.)을 Table 4에 요약하였다. Training set에 대하여 관측된 피부 감작성 값(Obs.)과 유도된 모델 X에 의한 예측값(Pred.)과의 관계(Figure 3)

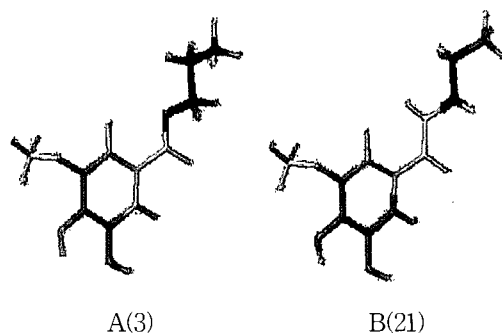


Figure 4. Atomic contributions to melanogenesis inhibitory activities: R₁ = C₃H₇ & R₂ = CH₃O substituted ester, A(3) (Pred.DS = 4.33) and amide, B(21) (Pred.DS = 3.53) are shown in capped sticks. Green color denotes the greatest contribution to the binding affinity while red signifies least contribution and gray color signifies average contribution.

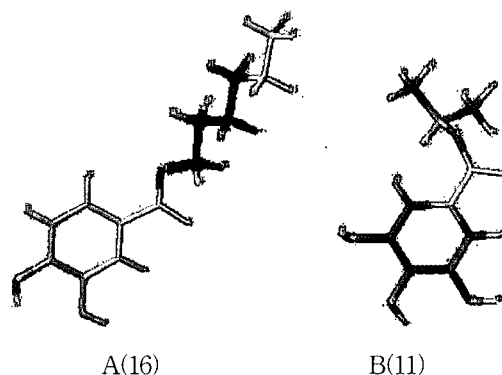


Figure 5. Atomic contributions to melanogenesis inhibitory activities: Ester (R₁ = C₆H₁₃ & R₂ = H), A(16) (Pred. DS = 4.85) and amide (R₁ = C₂H₄OH & R₂ = CH₃O), B(11) (Pred. DS = 3.38) are shown in capped sticks.

로부터(Pred. DS = 0.978 DS. + 0.145, n = 30, s = 0.991, F = 1243.930, r² = 0.978, q² = 0.974) 양호한 직선성의 비례관계를 나타내는 것으로 보아 예측성과 통계 모델로서의 적합성이 매우 좋음을 시사하고 있다.

한편, 예측성을 검토하기 위하여 Table 4에는 모델을 유도하는데 사용하지 않은 test set에 대한 예측 값(Pred. DS)과 모델 X에 의한 계산 값(DS) 그리고 이들 두 값의 차이(Dev.)를 정리하였다. 차이 값이 작은 값(Ave. = 0.21)을 나타내므로 유도된 모델이 예측성이 양호한 모델임을 잘 설명하고 있다. 이와 같이 HQSTR 모델 X는 홀로그람 길이에 기초하여 표준편차(SE_{cv.})를 최소화하거나 가장 높은 예측도(q²)를 탐색하여 높은 피부 감작성과 멜라닌 생성 저해 활성을 나타내는 분자를 설계할 수 있다.

3.3. 높은 감작성 분자의 조건

기질분자(A 및 B)에 관한 기여 정도를 시각적으로 분석하기 위하여 최종 PLS 분석 결과를 등고도(contribution map)로 나타내었다. 먼저, 동일한 치환기가 결합된 ester (A)와 amide (B)의 감작성을 비교하기 위하여 한 예로, R1 및 R2-치환기가 동일한(R1 = C₃H₇ 및 R2 = OCH₃) A (3) 및 B (21) 분자에 대한 기여도를 Figure 4에 제시하였다. 기여도에서 붉은색(red) 부분은 감작성에 매우 기여하지 않는 부분이고 노란색(yellow) 부분은 약간 기여하지 않는 부분임을 뜻한다. 그리고 푸른색(green) 부분은 매우 기여하는 부분이며 회색(gray) 부분은 평균적인 기여 정도를 나타낸다.

3(A: DS=2.20)에서는 phenyl 고리상 C2 및 C6 원자 그리고 21(B: DS=6.85)에서는 C2 원자 부분만이 중간 정도의 저해활성을 나타내는 부분(gray)인 반면에 R1-치환기 부분에서 (A)는 n-propoxy group 그리고 (B)는 n-propyl group 만이 감작성에 저해하는(red) 부분임을 나타내므로 (A)가 (B)보다 감작성에 기여하는 정도가 작다(A < B) 사실을 DS 수치상에서 뿐만 아니라, 기여도 상에서도 잘 설명하고 있다. 전반적으로 (A)에 있어서는 대부분 R1-치환기의 산소원자를 포함한 인접 C1 ~ C3 원자부분이 감작성에 기여하지 않았다(red). 그러나 phenyl group 또는 C4 ~ C6 원자 부분은 중간 정도를(gray) 나타내었다. (B)에서도 (A)와 비슷한 경향이었으나 다른 점은 결사슬이 길더라도 감작성에 기여하지 않고 중간 정도의 경향을 나타내었다. 특히, R1=hydroxyl group인 경우(30 및 31), 분자 전체가 멜라닌 생성 저해활성에 기여하지 않는 경향이었으나 피부 감작성에는 기여하는(green) 경향을 보였으므로 (B)의 R1 = hydroxyl 치환체는 바람직하지 않음을 잘 설명하고 있다. 또한, 가장 낮은 저해활성을 나타낸 (16) (Pred. DS = -3.98)과 상대적으로 가장 피부 감작성이 큰 (11) (Pred. DS = 19.49)을 대상으로 한 기여도를 Figure 5에 나타내어 비교하였다. 이들 기여도로부터 (16)의 경우에는 앞서 언급한 바와 같이 R1-치환기의 탄소사슬 중 C3 ~ C4 원자의 다리 걸친 결합 부분이 피부 감작성에 기여하지 않는(red) 양상이었다. 그러나 (11)과 같이 결사슬의 부피가 클 경우에는 phenyl 고리와 결사슬 모두 피부 감작성에 기여하는 경향을 나타내었으며 R2-치환기의 영향은 작았다. 이상과 같은 검토 결과에 따라서 피부 감작성은 (A)가 (B)보다 작았으며(A < B) 두 화합물 모두 R1-치환기의 C1 ~ C3 원자 부분이 감작성에 기여하지 않는 경향이였다. 반면에 멜라닌 생성 저해활성은 (A)가 (B)보다 기여하는 정도가 컸으며(A > B) R2-치환기보다 R1-치환기의 영향이 크게 기여하는(R1 > R2) 경향이였다[3]. 따라서 (A)가 (B)보다 피부 감작성이 작고 멜라닌 생성 저해 활성이 크기 때문에 미백제의 유효한

성분으로서 매우 이상적인 활성 화합물임을 알았다.

다음 연구로는 alkyl-3,4dihydroxybenzoate (A)와 N-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide (B) 유도체들의 구조 변화에 따른 멜라닌 생성 저해 활성과의 관계를 비교 분자장 분석(CoMFA) 및 비교 분자 유사성 지수분석(CoMSIA) 등, 3D-QSAR 방법으로 분석하여 보고하고자 한다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단(KOSEF) 우수연구센터(ERC) 지원 연구비(No. R11-2002-100-03002-2)에 의하여 이루어진 것으로 지원에 감사드립니다.

참고 문헌

1. 식품의약품안전청 고시 제2001-60호, 기능성화장품 등의 심사에 관한 규정 제2장 제4조 (2001).
2. US patent no. 6,036,349 issued. March 14, (2000).
3. N. D. Sung, H. S. Jung, and S. J. Kim, Holographic quantitative structure-activity relationship analyses on the melanogenesis inhibitory activities of alkyl-3,4-dihydroxybenzoate and N-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide derivatives. *J. Soc. Cosmet. Scientists Korea*, **30**(4), 491 (2004).
4. C. Hansch and A. Leo, Exploring QSAR, Fundamentals and applications in chemistry and biology, Ch. 9, ACS Professional References Book, ACS. Washington, DC. (1995).
5. T. W. Heritage and D. R. Lewis, In rational drug design: Novel methodology and practical applications: Molecular hologram QSAR. Ch. 4, Parrill, A. L. and Reddy, M. R. (eds.) ACS Symposium Series 719, American Chemical Society. Washington, DC. (1999).
6. V. K. Gombar, K. Enslein, and D. A. Reid, Computer-assisted toxicity assessment: criteria for acceptance, Network science corporation (1996).
7. Health Design Inc., 183 E. Main Street Rochester, NY 14604, <http://www.netsci.org>
8. W. G. Landis and M. H. Yu, Introduction to environmental toxicology: Impacts of chemicals upon ecological systems. Ch. 5. 102, Lewis Publishers, London (1995).
9. L. B. Kier and L. H. Hall, Connectivity in structure-activity analysis, Ch. 6. 173, Research studies press Ltd. Letchworth, England (1986).

10. L. B. Kier and L. H. Hall, Connectivity in structure-activity analyses, Ch. 6, 173, Research Studies Press Ltd. Letchworth, England (1991).
11. S. J. Kim, Comparative molecular field analysis (CoMFA) on the melanogenesis inhibitory activity of alkyl-3,4-dihydroxybenzoate and *N*-alkyl-3,4-dihydroxybenzamide derivatives, Thesis of Ph.D degree. graduate school of Paichai university, Daejeon, Korea (2002).
12. M. J. Prival, Evaluation of the TOPAKT system for predicting the carcinogenicity of chemicals. Environ. Mol. Mutagen **37**(1), 55 (2001).
13. Tripos Associates, Inc., 1699 S. Hanley Road, Suite 303, St. Louis, MO. 63144-2913, U.S.A., <http://www.tripos.com/Bookshelf/qsar/>.
14. S. Wold, C. Albano, W. J. Dunn, U. Edlund, K. Esbensen, P. Geladi, S. Hellberg, E. Johansson, W. Lindberg and M. Sjostrom, In chemometrics: mathematics and statistics in chemistry multivariate data analysis in chemistry, B. R. Kowalski (ed.), Reidel, Dordrecht, Netherlands. 17 (1984).