

头孢类抗生素定量结构-活性关系的密度泛函研究

孙钦超, 冯大诚

(山东大学化学与化工学院, 济南 250100)

摘要 用量子化学密度泛函方法 B3LYP 对 9 种头孢类抗生素的电子结构进行了理论计算, 并对它们进行了定量构效关系研究. 建立了头孢类抗生素分子的结构-活性数学模型: 头孢类抗生素的抑菌活性与 Q_{C8} , Q_{C7} 以及偶极距 (Dipole) 呈正相关关系.

关键词 头孢类抗生素; 量子化学; 密度泛函方法; 定量构效关系

中图分类号 O641 **文献标识码** A **文章编号** 0251-0790(2007)04-0696-04

β -内酰胺类抗生素一直是临床上用于治疗因细菌感染而引起疾病的主要药物. 但由于长期用药, 致使出现众多耐药菌株. 许多青霉素和头孢菌素等 β -内酰胺类抗生素药物的杀菌能力受到抑制. 为了抑制耐药菌株, 人们相继合成了青霉素衍生物和头孢菌素衍生物. 其中头孢类抗生素对于产生青霉素酶的金黄色葡萄球菌具有药效, 且可用于对青霉素有迟发过敏反应患者, 故在临床上应用得十分广泛. 对于 β -内酰胺类抗生素的结构-活性关系的相关研究已有报道^[1~7]. 在对构效关系的研究中, 由量子化学计算得到的数据, 如分子的几何参数、能级和电荷分布等往往作为重要的结构描述符. 由于用 QSAR 方法研究的体系大多比较复杂, 而且研究的分子个数众多, 这些数据一般都是用半经验量子化学方法计算得到的. 然而, 半经验量子化学计算所得到的结果往往不可靠^[8].

本文用密度泛函方法, 计算了 9 种头孢类抗生素分子的三维结构, 得到了头孢类抗生素分子的结构信息. 在此基础上用遗传算法及偏最小二乘法对 9 种头孢类抗生素对抑制可产生 β -内酰胺酶的肺炎克雷伯菌的抑菌活性与其量子化学参数之间进行定量构效关系 (QSAR) 研究, 得到了头孢类抗生素的结构-活性数学模型. 为合成具有抑制耐药菌株能力的新头孢类抗生素提供理论参考.

1 理论研究方法

首先用半经验量子化学计算方法 PM3 对 9 种头孢类抗生素的分子结构 (表 1) 进行初步的三维结构优化, 找出低能量的构象. 然后用密度泛函 B3LYP/3-21G* 方法对上述结构再次进行优化. 在 B3LYP/6-31G* 水平上进行了能量单点计算和自然键轨道 (NBO) 计算, 得到头孢类抗生素分子上各原子的自然电荷数 (Q)、分子偶极矩 (Dipole)、最高占据分子轨道能 (E_{HOMO}), 最低未占据分子轨道能 (E_{LUMO}) 等量子化学参数. 本文的计算使用 Gaussian 98 程序^[9].

用 MIC_{50} 表征抗生素的抑菌活性. MIC_{50} 为抗生素的最低抑菌浓度, 其值越小表征抗生素的抑菌能力越强, 抗生素的活性越高. 文献 [10~12] 报道的 MIC_{50} 的数据有一定的误差. 本文采用的 MIC_{50} 数据为文献 [10] 报道的 9 种头孢类抗生素对于可产生 β -内酰胺酶的肺炎克雷伯菌的抑菌活性.

采用 Materials studio 软件包中的遗传算法分析, 对由量子化学计算得到的能量和结构参数进行提取和压缩, 得到了一组最优的参数组合. 因选取的样本数目偏少, 为确保得到的数学模型具有较高的可信赖程度, 本文又采用了偏最小二乘法对由遗传算法得到的最优量子化学参数组合与头孢类抗生素的抑菌活性之间的关系进行再分析. 因为在偏最小二乘法中采用的是潜变量, 其数学基础为主成分分

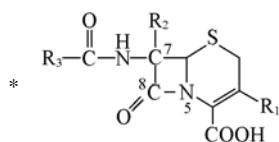
收稿日期: 2006-08-07.

基金项目: 国家自然科学基金 (批准号: 20373034) 和教育部博士点基金资助.

联系人简介: 冯大诚 (1947 年出生), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事量子化学研究. E-mail: fdc@sdu.edu.cn

Table 1 Structures of 9 kinds of cephalosporin derivatives and numbering system *

Compd.	R ₁	R ₂	R ₃	Compd.	R ₁	R ₂	R ₃
1		-OCH ₃	NCCH ₂ SCH ₂ -	6		H	
2		H		7		H	
3	-CH ₂ OCOCH ₃	H		8		-OCH ₃	
4		H		9		H	
5	-CH ₂ OCONH ₂	-OCH ₃					



析, 潜变量的个数一般少于自变量的个数. 这样可以降低所得模型发生过拟合的风险, 由此得到头孢类抗生素的结构-活性数学模型.

2 计算结果与讨论

计算所得到的部分结构几何参数、能级和原子电荷列于表 2. 为了进行比较, 将用半经验方法 PM3 计算所得到的相应参数也列于表 2. 由表 2 可见, 两种方法所得到的结构几何参数差别并不很大, 而分子轨道能级和原子电荷差别很大, 而在 QSAR 研究中后两类参数恰恰用得最多. 如果原子电荷等参数与实验数据不对应, 则只能以较为精确、近似程度较少的方法为准.

Table 2 Atomic charges of β -Lactam ring, structures and energies of cephalosporin derivatives

Method	Compd.	$R_{C-N}/$ nm	$R_{C-C}/$ nm	$E_{HOMO}/$ eV	$E_{LUMO}/$ eV	$\Delta E/eV$	Dipole/ debye	Q_{C8}	Q_{C7}	Q_O	Q_{N5}	Q_{R_2}	Q_{R_3}
DFT	1	0.1412	0.1577	-6.03	-1.79	-4.24	7.67	0.719	0.387	-0.546	-0.468	-0.240	-0.0214
	2	0.1427	0.1580	-5.58	-1.79	-3.80	3.61	0.723	-0.139	-0.544	-0.473	0.275	-0.0126
	3	0.1437	0.1577	-5.61	-1.82	-3.78	5.48	0.722	-0.137	-0.535	-0.480	0.275	-0.0098
	4	0.1424	0.1580	-6.19	-1.81	-4.38	5.09	0.719	-0.143	-0.532	-0.468	0.279	-0.0475
	5	0.1417	0.1579	-6.08	-1.46	-4.62	1.48	0.722	0.387	-0.543	-0.480	-0.243	-0.0228
	6	0.1426	0.1588	-5.25	-2.76	2.49	12.45	0.729	-0.144	-0.516	-0.467	0.276	-0.0303
	7	0.1427	0.1579	-6.09	-1.97	-4.11	4.98	0.722	-0.139	-0.548	-0.473	0.275	-0.0174
	8	0.1419	0.1577	-6.16	-1.90	-4.26	7.34	0.723	0.387	-0.538	-0.477	0.239	-0.0196
	9	0.1437	0.1586	-4.91	-1.53	3.38	10.86	0.728	-0.144	-0.508	-0.468	0.270	-0.0183
PM3	1	0.1469	0.1575	-9.45	-1.22	-8.23	1.31	0.303	0.109	-0.247	-0.013	-0.038	-0.002
	2	0.1475	0.1551	-9.33	-1.13	-8.20	1.75	0.304	-0.170	-0.270	-0.019	0.196	-0.053
	3	0.1474	0.1551	-9.37	-0.96	-8.41	2.45	0.304	-0.171	-0.271	-0.020	0.196	-0.053
	4	0.1470	0.1552	-9.46	-1.50	-7.96	0.22	0.300	-0.180	-0.269	-0.008	0.203	-0.005
	5	0.1465	0.1576	-9.46	-0.69	-8.77	1.17	0.302	0.111	-0.266	-0.012	-0.042	0.043
	6	0.1477	0.1556	-8.78	-2.19	-6.59	1.93	0.305	-0.183	-0.233	0.015	0.187	-0.047
	7	0.1476	0.1550	-9.29	-1.15	-8.14	2.75	0.304	-0.151	-0.276	-0.022	0.1967	0.034
	8	0.1468	0.1576	-9.40	-1.19	-8.21	1.22	0.305	0.111	-0.255	-0.012	-0.040	-0.012
	9	0.1471	0.1559	-8.51	-0.78	-7.73	2.06	0.304	-0.185	-0.244	0.023	0.184	-0.062

β -内酰胺类抗生素的抑菌活性反应发生在 β -内酰胺环上, β -内酰胺环为反应的活性中心.在反应中丝氨酸残基(Ser-OH)作用于 β -内酰胺环上羰基中的C和N,使 β -内酰胺环上的酰胺键断开^[8,13].因为 β -内酰胺环为反应的活性中心,故可以推测 β -内酰胺环上各原子的电荷分布情况与抗生素分子的抑菌活性有密切的关系.因此,下列能量和结构参数可能与样本的抑菌活性有较大的相关性: β -内酰胺环上各原子的自然电荷数(Q_{C8} , Q_{C7} , Q_{N5} , Q_O)、分子偶极矩(Dipole)、最高占据分子轨道能(E_{HOMO})、最低未占据分子轨道能(E_{LUMO})、HOMO与LUMO之间的能量差(ΔE)、 β -内酰胺环上的酰胺键的键长 R_{C8-N} 、与酰胺键相邻的碳碳键长 R_{C8-C7} 以及取代基 R_2 和 R_3 上各原子电荷之和 Q_{R2} 和 Q_{R3} .

取上述12个量子化学参数作为自变量,以抗生素的抑菌活性为因变量作QSAR研究.在12个参量中依次选取 n 个参量,每次都有 C_{12}^n 种参量组合,用遗传算法筛选出与抗生素的抑菌活性具有最优相关性的参数组合.对于 $n=2\sim 7$,每次分析中相关系数较高的2组参量组合列于表3.

Table 3 Results of genetic function approximation

Compd.	Best variable-aggregate		R^2	(CV) R^2	Compd.	Best variable-aggregate		R^2	(CV) R^2
2	Q_{C7}	Dipole	0.948	0.874	5	Q_{C8} Q_{C7} Dipole Q_O C—N	0.998	0.979	
2	Q_{C7}	Q_{C8}	0.889	0.810	5	Q_{C8} Q_{C7} Dipole Q_{R3} E_{HOMO}	0.998	0.968	
3	Q_{C8}	Q_{C7} Dipole	0.994	0.982	6	Q_{C8} Q_{C7} Dipole Q_{R3} E_{HOMO} C—C	0.998	0.943	
3	ΔE	Q_{C7} Dipole	0.970	0.883	6	Q_{C8} Q_{C7} Dipole Q_O C—N C—C	0.998	0.975	
4	Q_{C8}	Q_{C7} Dipole Q_{R3}	0.997	0.978	7	Q_{C8} Q_{C7} Dipole ΔE E_{HOMO} E_{LUMO} C—N	0.999	0.774	
4	Q_{C8}	Q_{C7} Dipole C—C	0.996	0.977	7	Q_{C8} Q_{C7} Dipole Q_O Q_{N5} ΔE Q_{R2}	0.999	0.406	

本文采用相关系数 R^2 、决定系数(CV) R^2 和 F 检验来衡量所得到的回归模型的质量. F 检验在 $\alpha=0.05$ 水平上进行.表3所列的参数组合中除含两个参量的组合(Q_{C8} , Q_{C7})的相关系数 $R^2=0.889$ 略小于0.9外,其它的参量组合的相关系数 R^2 均在0.9以上.表明由这些参量组合得到的回归方程中自变量和因变量的线性相关性较好,即这些参量与头孢类抗生素的抑菌活性有较好的线性相关.由表3可知,相关系数 R^2 、决定系数(CV) R^2 与参量的数目之间具有一定的随动性,并表现出一定的随动规律:随着自变量数目的增加,相关系数 R^2 的值有增大.但是当 $n=3$,取 Q_{C8} , Q_{C7} 和Dipole 3个组合, R^2 的值达到0.994,接近于1.同时当参量数目大于3时,随着参量数目的增加,决定系数(CV) R^2 的值降低.这表明,当 $n>3$ 时,增加回归方程中自变量和因变量的线性相关性,是以增加回归方程的过拟合风险,降低回归方程对未知样本的预测能力为代价的.

由上述分析可知,在表3中所有可能的三参数组合中,含有量子化学参数(Q_{C8} , Q_{C7} , Dipole)的组合,具有对未知样本最好的预测能力.该参数组合包含了对预测头孢类抗生素的抑菌活性所需要的主要信息,在剔除其它参量时并未丢失这些信息.因此选择含有量子化学参数(Q_{C8} , Q_{C7} , Dipole)的组合为最优参数组合.

以遗传算法分析中得到的最优参数组合(Q_{C8} , Q_{C7} , Dipole)作为自变量,以抗生素的抑菌活性作为因变量,进行偏最小二乘法再分析.在进行偏最小二乘法分析时采用抽一的交叉验证法,即每次选取 $n-1$ 个样本进行回归分析,剩余的一种样本被预测,每种样本均被预测一次.这样可以检测出所得到的结构-活性模型对未知样本的预测能力.

偏最小二乘法分析所得到的三参量结构-活性模型如下:

$$-\lg MIC_{50} = 91.01 \times Q_{C8} + 4.04 \times Q_{C7} + 0.14 \times \text{Dipole} - 68.09$$

$$R^2 = 0.994, (CV)R^2 = 0.988$$

模型的预测值、实验值和残差列于表4.由表4可知,预测值与实验值有良好的相关性.

Table 4 Predict residual and experiment data of $-\lg MIC_{50}$

Compd.	Experiment	Predicted	Residual	Compd.	Experiment	Predicted	Residual	Compd.	Experiment	Predicted	Residual
1	0.0000	-0.0329	0.0329	4	-2.7092	-2.5623	-0.1469	7	-2.1072	-2.2622	0.1550
2	-2.4082	-2.3421	-0.0660	5	-0.6021	-0.5794	-0.0226	8	0.3010	0.3130	-0.0120
3	-2.1072	-2.1990	0.0918	6	-0.6021	-0.5572	-0.0449	9	-0.9031	-0.9157	0.0126

由分析所得到的结构-活性模型可知:头孢类抗生素对于产生 β -内酰胺酶的耐药菌株的抑菌活性

与 Q_{C8} , Q_{C7} 和 Dipole 呈现正相关性.

β -内酰胺类抗生素与合成细菌细胞壁所必需的转肽酶和羧肽酶的作用为 β -内酰胺类抗生素与酶中的丝氨酸的不可逆结合. 这个反应就是酶催化的 β -内酰胺类化合物的水解反应. 实验和理论都证明, 酶催化的 β -内酰胺类化合物水解的机理^[8] 有分步反应和协同反应两种机理. 在分步反应机理中, 丝氨酸残基中 OH 基的 O 和 H 两个原子分别进攻 β -内酰胺环上的 C8 和 O, 形成中间络合物, 然后中间络合物中的 O 原子把刚刚得到的 H 经由适当的途径再转移到 N5 上, 使 β -内酰胺环上的 C—N 键断裂, 从而打开 β -内酰胺环; 协同机理则是丝氨酸残基中 OH 基的 O 和 H 两个原子分别进攻 β -内酰胺环上的 C8 和 N5, 直接使 C—N 键断裂, 打开 β -内酰胺环. 分步反应和协同反应两种机理是竞争的, 但无论是分步反应机理还是协同反应机理, 决定反应速率的步骤均为丝氨酸中的 O 进攻 β -内酰胺环上的 C8, 因此 C8 所带的正电荷越多, 水解反应就越容易进行. 这样, 采用活性模型所得到的 Q_{C8} 与抗生素的抑菌活性呈正相关, 而且在回归方程中 Q_{C8} 的系数最大. 值得注意的是, 本文的回归过程仅仅从量子化学从头计算所得到反应物的参数和实验得到的抑菌活性出发, 并未涉及其反应过程. 这从另一个独立的方面验证了前人提出的 β -内酰胺类化合物水解开环机理的正确性.

参 考 文 献

- [1] Nguyen-Cong V. , Rode B. M. . J. Chem. Inf. Comput. Sci. [J], 1996, **36**(1): 114—117
- [2] Donald B. B. , Charles E. , Joseph M. I. , *et al.* . J. Med. Chem. [J], 1987, **30**: 528—536
- [3] Adriano M. , Aldo T. . J. Med. Chem. [J], 1989, **32**: 2450—2460
- [4] Epperson J. D. , Ming L. J. . Biochemistry [J], 2000, **39**: 4037—4045
- [5] Stjepan K. , Susan E. D. , Janice L. . J. Med. Chem. [J], 1985, **28**(12): 1886—1896
- [6] Heinze-Krauss I. , Angehrn P. , Guerry P. , *et al.* . J. Med. Chem. [J], 1996, **39**(9): 1864—1871
- [7] HAO Li-Fen(郝丽芬), ZHOU Lu(周鲁), LI Gang(李刚). West China J. Pharmaceutical Science(华西药理学杂志)[J], 2005, **20**: 91—95
- [8] Page M. I. . Acc. Chem. Res. [J], 1984, **17**: 144—151
- [9] Frisch M. J. , Trucks G. W. , Schlegel H. B. , *et al.* . Gaussian 98, Revision A.9[CP], Pittsburgh PA: Gaussian Inc. , 1998
- [10] XU Ying-Chun(徐英春), XIE Xiu-Li(谢秀丽), ZHANG Xiao-Jiang(张小江), *et al.* . Chinese J. Nosocomiology(中华医院感染学杂志)[J], 2004, **14**(7): 727—730
- [11] YU Hua(喻华), LIU Hua(刘华), JIAN Qi-Zheng(蹇启政), *et al.* . Jiangxi J. Medical Laboratory Science(江西医学检验)[J], 2003, **21**(5): 333—336
- [12] ZHANG Ruan-Zhang(张阮章), WANG Sha-Yan(王沙燕), LU Yue-Mei(卢月梅), *et al.* . Practical Preventive Medicine(实用预防医学)[J], 2004, **11**(6): 1142—1144
- [13] He Mao-Xia, Feng Da-Cheng, Yu Ling-Juan, *et al.* . Chem. Res. Chinese Universities[J], 2006, **22**(1): 94—98

DFT Study and Quantitative Structure-activity Relationship for Cephalosporin Derivatives

SUN Qin-Chao, FENG Da-Cheng*

(College of Chemistry and Chemical Engineering, Shandong University, Jinan 250100, China)

Abstract The molecular structures of nine kinds of cephalosporin derivatives were optimized by using density functional theory (DFT) B3LYP method of quantum chemistry, and the quantitative structure-activity relationship of these cephalosporin derivatives was systematically studied. The structure-activity model of cephalosporin derivatives was found: Q_{C8} , Q_{C7} , dipole had positive correlation on the activities of cephalosporin derivatives.

Keywords Cephalosporin derivative; Quantum chemistry; Density functional method; Quantitative Structure-activity relationship (QSAR)

(Ed. : D, I)