

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017.01.2016053102

梁丽营, 曾鸿鹄, 龙茜, 等. 基于群体感应抑制剂与磺胺对大肠杆菌联合毒性效应的 QSAR 模型建立[J]. 环境化学, 2017, 36(1): 92-99.  
LIANG Liying, ZENG Honghu, LONG Xi, et al. Establishment of a QSAR model based on the joint effects of quorum sensing inhibitors and sulfonamides on *Escherichia Coli*[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(1): 92-99.

## 基于群体感应抑制剂与磺胺对大肠杆菌 联合毒性效应的 QSAR 模型建立\*

梁丽营<sup>1,2</sup> 曾鸿鹄<sup>1</sup> 龙茜<sup>2</sup> 孙昊宇<sup>2</sup> 林志芬<sup>2</sup> 莫凌云<sup>1\*\*</sup>

(1. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 桂林, 541004;

2. 污染控制与资源化研究国家重点实验室, 同济大学环境科学与工程学院, 上海, 200092)

**摘 要** 以大肠杆菌为模式生物, 分别测定了 7 种磺胺(SAs, 分别为磺胺二甲基嘧啶(SCP)、磺胺吡啶(SPY)、磺胺甲恶唑(SMX)、周效磺胺(SDX)、磺胺喹恶磷(SQ)、磺胺对甲氧嘧啶(SM)、磺胺甲氧哒嗪(SMP)), 及 3 种群体感应抑制剂(QSIs, 分别为 3-甲基-2-(5H)-呋喃酮(MF)、N-乙基吡咯烷酮(VP)、(R)-3-吡咯烷醇(HPL))的单一毒性和联合毒性, 并且采用分子对接技术建立了 QSIs 与 SAs 对大肠杆菌联合毒性的 QSAR 模型. 结果表明其联合毒性效应表现为拮抗和相加作用; 同时, 基于 SAs 和 QSIs 分别与它们的目标靶蛋白二氢叶酸合成酶(DHP<sub>s</sub>)与大肠杆菌家族蛋白(SdiA)之间相互作用的结合能( $E_{\text{binding}}$ )和混合物的辛醇-水分配系数  $K_{\text{ow(mix)}}$  构建了 SAs 和 QSIs 对大肠杆菌的二元联合毒性的 QSAR 模型, 具有较好的相关性( $R^2$  为 0.901). 该模型经过验证, 具有良好的预测能力(预测值与实测值的  $R^2$  为 0.913), 研究可为今后抗生素与群体感应抑制剂的环境联合生态风险评价以及毒性预测提供一定的理论依据和技术支持.

**关键词** 群体感应抑制剂, 磺胺类抗生素, 大肠杆菌, 联合毒性.

## Establishment of a QSAR model based on the joint effects of quorum sensing inhibitors and sulfonamides on *Escherichia Coli*

LIANG Liying<sup>1,2</sup> ZENG Honghu<sup>1</sup> LONG Xi<sup>2</sup> SUN Haoyu<sup>2</sup> LIN Zhifen<sup>2</sup> MO Lingyun<sup>1\*\*</sup>

(1. College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin, 541004, China;

2. State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai, 200092, China)

**Abstract:** Single and combined toxicity of seven sulfonamides (SAs) and three quorum sensing inhibitors (QSIs) were measured on the model organism *E. coli*. The results showed that their joint toxic actions were antagonism and addition. In addition, molecular docking was used to calculate the  $E_{\text{binding}}$  value by stimulating the interactions of SAs and QSIs with Dihydro folate synthase (DHPs) and *E. coli* fami protein SdiA. Based on the  $E_{\text{binding}}$  value and the octanol-water partition coefficient  $K_{\text{ow(mix)}}$ , the QSAR model of joint effects of SAs and QSIs was established with a good correlation ( $R^2 = 0.901$ ). The work can provide a theoretical basis and technical support on the ecological risk

2016 年 5 月 31 日收稿 (Received: May 31, 2016).

\* 同济大学污染控制与资源化研究国家重点实验室自主研究(重点)项目(PCRRY11003), 国家自然科学基金(21377096, 21577105)和同济大学英才(攀登)计划(0400219287)资助.

**Supported by** the Foundation of the State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, China (PCRRY11003), the National Natural Science Foundation of China (21377096, 21577105), the "Climbing" Program of Tongji University (0400219287).

\*\* 通讯联系人, Tel: 18677319385, E-mail: molingyun123@126.com

**Corresponding author:** Tel: 18677319385, E-mail: molingyun123@126.com

assessment and prediction of joint effects of SAs and QSIs.

**Keywords:** quorum sensing inhibitor, sulfonamide antibiotics, *Escherichia Coli*, combined toxicity.

近年来随着抗生素(SAs)无节制的滥用,大多数病原细菌产生了抗性基因<sup>[1-4]</sup>从而表现出了抗药性,导致抗菌效果不佳.针对抗生素产生抗性基因所带来的环境问题,有研究者研究开发了群体感应抑制剂(QSIs)作为抗生素的替代品.QSIs可以产生使高丝氨酸内酯类化合物(AHL)灭活的AHL降解酶,使病原菌群体感应(QS)系统不能启动它所调控的基因;或者产生病原菌信号分子的类似物与信号分子的受体蛋白竞争性结合,从而阻断病原QS系统,进而达到抗菌的效果<sup>[5]</sup>.近年来,有人建议QSIs与抗生素联合用药,以达到更好的抗菌效果,那就意味着这两者将有环境共存的可能性,因此有必要进一步开展他们的联合毒性研究.

关于抗生素与QSIs的联合毒性,本课题组前期已经开展了部分工作.主要研究了3类QSIs(呋喃酮类、吡咯酮类和吡咯类化合物)与SAs的联合急性慢性毒性,发现虽然它们对吡咯酮类、吡咯类化合物的急性联合毒性既有相加,又有协同和拮抗<sup>[6]</sup>.但是它们对大肠杆菌的24 h慢性毒性更多表现为拮抗作用,认为可能是由于SAs促进了*E. coli*体内的SdiA蛋白的表达,致使后者与QSIs结合,减少其生物有效剂量,从而导致拮抗效应的产生<sup>[7]</sup>.但是这些研究仅仅定性讨论了毒性机制,并且数据较少,目前仍然缺乏对联合毒性的定量分析研究.

定量结构活性相关(QSAR)模型,主要应用理论计算方法和统计学方法研究有机化合物的各项物理化学性质和生物活性与其结构之间的定量关系<sup>[8]</sup>.目前,它已经成功地应用于化合物联合毒性的预测,发展了关于各项理化参数<sup>[9-13]</sup>的模型,特别是近年来提出了采用 $E_{\text{binding}}$ 表征化合物与靶蛋白相互作用的模型.Deng<sup>[14]</sup>采用 $E_{\text{binding}}$ 构建了SAs对明亮发光杆菌两个靶蛋白DHPS和LuxR的QSAR模型( $R^2$ 分别等于0.785和0.760),分析了磺胺对明亮发光杆菌的慢性联合毒性,并探讨解释了homesis低促高抑的毒性机理.Zou<sup>[15]</sup>建立的基于 $E_{\text{binding}}$ 的SAs和磺胺增效剂(TMP)对费氏弧菌的QSAR模型( $R^2 = 0.818$ ),交互验证的 $Q^2_{\text{(CUM)}}$ 为0.797,两者之差小于0.3<sup>[16]</sup>,表明模型具有良好的拟合度和稳健性.

本研究以经典模式生物大肠杆菌作为受试生物,选取7种SAs(SCP、SPY、SMX、SDX、SQ、SM、SMP)与3种QSIs(MF、VP、HPL)作为研究对象,探讨了QSIs与SAs联合毒性效应,引入 $E_{\text{binding}}$ 和混合物的辛醇-水分配系数 $K_{\text{ow(mix)}}$ <sup>[17]</sup>,建立一个预测QSIs与SAs联合毒性的QSAR模型,以期为QSIs与抗生素联合使用的环境生态风险评价工作以及毒性预测提供一定的研究基础.

## 1 材料与方法(Materials and methods)

### 1.1 试剂与生物

SAs:磺胺二甲基嘧啶(SCP)、磺胺吡啶(SPY)、磺胺甲恶唑(SMX)、周效磺胺(SDX)、磺胺喹恶磷(SQ)、磺胺对甲氧嘧啶(SM)、磺胺甲氧哒嗪(SMP).QSIs:3-甲基-2-(5H)-呋喃酮(MF)、N-乙基吡咯烷酮(VP)、(*R*)-3-吡咯烷醇(HPL).SAs和QSIs均购自Sigma-Aldrich化学制品有限公司(St.Louis,MO,USA)公司,纯度均为分析纯以上.试剂详细信息如表1所示.本实验模式生物*Escherichia coli*(MG1655),购自Biovector Science实验室.

### 1.2 培养基及菌液的配制

#### (1)培养基配制

分别称取10.0 g氯化钠,25.0 g蛋白胨,12.5 g酵母膏溶于1000 mL蒸馏水中,加热至溶液澄清透明,然后用NaOH或HCl调pH值为 $7.0 \pm 0.2$ ,分装于250 mL锥形瓶中,用配套硅胶塞和牛皮纸包裹并用绳扎紧.在121 °C高压灭菌20 min,冷却后储存于4 °C冰箱中保存.

#### (2)工作菌液配制

取出细菌培养至第三代的斜面培养基,以接种环挑取一接种环大小的菌种接入含5 mL液体培养基的小锥形瓶中,37 °C恒温振荡培养6 h至对数生长期即为摇瓶菌液.取处于对数生长期摇瓶菌液加入到1% NaCl溶液中,使得细菌密度达 $1000 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右,在磁力搅拌40 min后用于毒性测定.

表 1 试剂信息一览表  
Table 1 Reagent information

序号 No.	中文名称 Chinese name	英文名称 English name	分子结构式 Molecular structure	简称 Abbreviation	CAS
1	磺胺二甲基嘧啶	Sulfachloropyridazine		SCP	80-32-0
2	磺胺吡啶	Sulfapyridine		SPY	144-83-2
3	磺胺甲恶唑	Sulfamethoxazole		SMX	723-46-6
4	周效磺胺	Sulfadoxine		SDX	2447-57-6
5	磺胺喹恶磷	Sulfaquinoxaline		SQ	59-40-5
6	磺胺对甲氧嘧啶	Sulfamer		SM	651-06-9
7	磺胺甲氧吡嗪	Sulfamethoxypyridazine		SMP	80-35-3
8	3-甲基-2-(5H)-呋喃酮	3-Methyl-2(5H)-furanone		MF	22122-36-7
9	N-乙 烯 基 吡 咯 烷 酮	N-Vinyl-2-pyrrolidone		VP	88-12-0
10	(R)-3-吡咯烷醇	(R)-3-Hydroxypyrrolidine		HPL	2799-21-5

### 1.3 毒性试验

取待测化合物用适量二甲基亚砷(DMSO)配制成浓度较高的标准溶液,实验时用 1% NaCl 稀释成等对数梯度系列,加入 96 孔酶标板中,每孔共加入 200  $\mu$ L 含有化合物、培养基及工作菌液的混合物,空白组以 1% 的 NaCl 代替化合物的部分,最后将体系在 37  $^{\circ}$ C 下振荡培养 12 h.采用全波长酶标仪测定波

长 600 nm 下体系的 OD 值.以上样品每次至少设置 12 个浓度梯度,3 组平行,平行样的标准偏差不得大于 10%.抑制率及  $TU_{50}$  值计算如下式:

$$\text{Inhibition (Y)} = \frac{OD_0 - OD}{OD_0} \times 100\% \quad (1)$$

$$TU_{50} = \frac{C_A}{EC_{50A}} + \frac{C_B}{EC_{50B}} \quad (2)$$

其中, $OD_0$ 为 *E. coli* 在无染毒作用下的空白 OD 平均值,式中 OD 为药物作用下细菌的 OD 平均值. $C_A$  和  $C_B$  是混合体系半数抑制效应时单一污染物(A、B)在混合体系中的摩尔浓度( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ); $EC_{50A}$  和  $EC_{50B}$  分别是污染物单一污染时的半数效应浓度.

#### 1.4 数据处理

使用 SPSS 16.0 software (SPSS) 统计分析软件进行数据的拟合分析,利用相关系数( $R^2$ )、标准误差(SE)、Fisher value( $F$ )及显著性水平( $P$ )对拟合的模型分析.采用 Adobe illustrator CS5 及 Origin 8.0 绘图.

#### 1.5 分子对接及 $E_{\text{binding}}$ 的计算

根据化合物已有致毒机制研究,从 PDB protein data bank (<http://www.pdb.org>) 获取各类化合物的目标靶蛋白三级结构.目标靶蛋白 DHPS 与 SdiA 的 PDB 序号分别是 IAJ0 与 4LFU.

使用 Accelrys 公司的 Discovery Studio (v3.1) 内置 CDOKER 方法进行分子对接,采用 CDOKER interaction energy ( $E_{\text{binding}}$ ) 作为评价参数<sup>[18]</sup>,最大负值即为最稳定对接构象.

#### 1.6 $K_{\text{ow(mix)}}$ 的计算

$K_{\text{ow(mix)}}$  的计算方法<sup>[17]</sup>如公式(3)所示:

$$\lg K_{\text{ow(mix)}} = \lg \left\{ \sum_{i=1}^n x_i (K_{\text{ow}})_i \right\} \quad (3)$$

式中, $K_{\text{ow(mix)}}$  为混合物辛醇-水分配系数, $n$  是混合物中的化合物成分数, $x_i$  为混合物中化合物  $i$  的摩尔分数, $(K_{\text{ow}})_i$  为化合物  $i$  的辛醇-水分配系数.

#### 1.7 QSAR 模型的构建

根据分子对接分别计算得到 QSIs 和 SAs 和目标靶蛋白之间相互作用的  $E_{\text{binding}}$  值,建立基于  $E_{\text{binding}}$  和  $K_{\text{ow(mix)}}$  的 QSAR 模型.

## 2 结果与讨论 (Results and discussion)

### 2.1 QSIs 与 SAs 对大肠杆菌的单一毒性

QSIs 与 SAs 对大肠杆菌的单一毒性数据如表 2 和图 1 所示.

表 2 QSIs 与 SAs 对大肠杆菌的单一毒性数据  
Table 2 The single toxicity of QSIs and SAs on *E. coli*

序号 No.	简称 Abbreviation	<sup>b</sup> RMW/ ( $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$EC_{50}$ / ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	$E_{\text{binding}}$ / ( $\text{kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ )	$K_{\text{ow}}^a$
1	SCP	284.72	$2.09 \times 10^{-6}$	-35.800	0.31
2	SPY	249.29	$9.33 \times 10^{-6}$	-29.346	0.53
3	SMX	253.28	$2.45 \times 10^{-7}$	-28.347	0.48
4	SDX	310.33	$5.89 \times 10^{-6}$	-35.780	0.24
5	SMP	280.3	$3.09 \times 10^{-6}$	-31.703	0.20
6	SM	280.3	$5.13 \times 10^{-6}$	-36.079	0.26
7	SQ	300.34	$1.95 \times 10^{-6}$	-34.475	0.84
8	MF	98.1	$3.09 \times 10^{-2}$	-18.604	0.03
9	VP	111.14	$5.75 \times 10^{-2}$	-21.344	0.25
10	HPL	87.12	$1.35 \times 10^{-2}$	-18.183	0.92

注:<sup>a</sup> $K_{\text{ow}}$  表征该化合物穿过细胞膜的能力,数据来源于软件 EPIWEB 4.0.  $K_{\text{ow}}$  characterize the ability of the compound across the cell membrane, data from the software EPIWEB 4.0; <sup>b</sup>RMW 表征化合物的摩尔质量. RMW characterize the molar mass of the compound

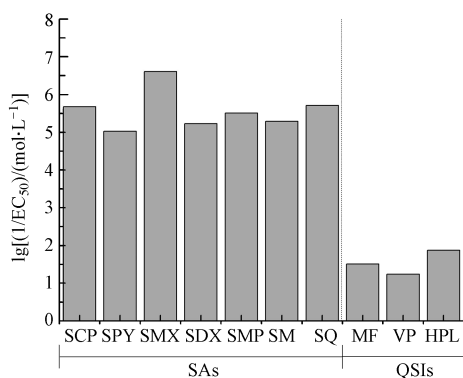


图1 QSIs与SAs对大肠杆菌的单一毒性比较

Fig.1 Comparisons of the single toxicity of QSIs and SAs on *E. coli*

从图1可以看出,SAs的毒性皆大于QSIs,利用 $EC_{50}$ 表征的毒性大小顺序为:SMX > SQ > SCP > SMP > SM > SDX > SPY > HPL > MF > VP.在SAs类化合物中,SPY的毒性是最小的,其 $EC_{50}$ 为 $9.33 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;SMX的毒性是最大的,其 $EC_{50}$ 为 $2.45 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .在QSIs中,VP的毒性是最小的,其 $EC_{50}$ 为 $5.75 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;HPL的毒性是最大的, $EC_{50}$ 为 $1.35 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

## 2.2 QSIs与SAs对大肠杆菌的联合毒性

7种SAs与3种QSIs的二元等毒性比混合毒性实验结果如表3所示.从表3中可以看到,QSIs与SAs的联合毒性实验结果表现为相加作用的有9组, $TU_{50}$ 值在0.87—1.14之间,表现为拮抗作用的共有11组, $TU_{50}$ 值在1.25—1.88之间.MF与6种SAs的联合毒性效应表现为拮抗与相加作用,VP与7种SAs多表现为相加作用,HPL与7种SAs几乎表现为拮抗作用.已有的研究表明<sup>[14]</sup>,低浓度的SAs能够促进发光菌的LuxR蛋白表达.大肠杆菌的SdiA是LuxR的家族蛋白<sup>[7]</sup>,已有研究表是<sup>[19]</sup>SAs能促进大肠杆菌的SdiA蛋白表达.在SAs与QSIs的共同作用下,QSIs与AHL竞争结合SdiA,而SAs促进SdiA蛋白的生成,QSIs与SdiA结合更多,从而消耗大量的QSIs,因此表现出拮抗作用.SAs与QSIs联合作用出现相加效应,这是因为SAs对靶蛋白DHPS抑制二氢叶酸生成的作用大于其对SdiA的促进作用,此时SAs主要表现对DHPS活性抑制作用,即两类化合物各自作用于相应靶蛋白,从而表现为相加作用.SAs与QSIs联合作用,具体的穿膜过程及与对应靶蛋白结合的过程如图2所示.

## 2.3 基于分子对接的二元联合毒性QSAR模型的构建

众所周知,化合物对生物体的毒性效应可采用两个部分表征:一个是化合物从胞外到胞内的跨膜能力;另一个是化合物进入胞内后,与目标靶蛋白的结合作用.对于单一的化合物,跨膜能力往往是采用参数 $K_{ow}$ <sup>[19]</sup>表征.类似的,研究者们<sup>[17, 20]</sup>采用 $K_{ow(mix)}$ 表征混合物的跨膜作用.而近年来,化合物与目标靶蛋白的结合作用 $E_{binding}$ 值被成功地运用于QSAR模型的构建,可以预测化合物的毒性,还扩展到了运用模型解释毒性机理<sup>[21-22]</sup>.因此本文引入 $K_{ow(mix)}$ 来描述化合物的穿膜过程,选择SAs与QSIs和目标靶蛋白之间相互作用的结合能 $E_{binding}$ 值作为表征参数,与测得的毒性数据 $\lg(1/EC_{50(mix)})$ 值利用SPSS软件进行回归分析,建立的QSAR模型如下:

$$-\lg EC_{50(mix)} = 4.322 - 19.026 \left( \frac{C_A}{C_A + C_B} \right) \times E_{bindingA} + 0.159 \left( \frac{C_B}{C_A + C_B} \right) \times E_{bindingB} + 0.150 K_{ow(mix)}$$

$$(n = 20, R^2 = 0.901, R_{adj}^2 = 0.882, SE = 0.112, F = 48.372, P = 0.000) \quad (4)$$

式中, $C_A$ 为SAs的单一 $EC_{50}$ , $C_B$ 为QSIs的单一 $EC_{50}$ , $E_{bindingA}$ 为SAs与DHPS的结合能, $E_{bindingB}$ 为QSIs与SdiA的结合能, $K_{ow(mix)}$ 为SAs与QSIs的混合辛醇-水分配系数.

相关系数 $R^2$ 与自由度调整后的 $R_{adj}^2$ 是表征模型方程拟合优度的重要指标<sup>[23]</sup>, $R^2$ 与 $R_{adj}^2$ 值越大,表明模型方程的拟合度越好.方程的 $R^2$ 为0.901, $R_{adj}^2$ 为0.882,可见方程的拟合优度是较好的,说明SAs与QSIs的联合毒性与 $E_{binding}$ 值和 $K_{ow(mix)}$ 之间具有较好的相关性.



表 3 SAs 与 QSIs 对大肠杆菌的联合毒性数据

Table 3 The combined toxicity of SAs and QSIs on *E. coli*

序号 No.	A	B	$C_A/$ ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$C_B/$ ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$EC_{50\text{mix}}/$ ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$\lg(1/EC_{50\text{mix}})$	$TU_{50}$	毒性效应 Toxicity effect	${}^a\lg K_{ow(\text{mix})}$
1	SCP	MF	$2.09\times 10^{-6}$	$3.09\times 10^{-2}$	$1.28\times 10^{-2}$	1.89	1.51	拮抗	1.96
2	SCP	VP	$2.09\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	$6.68\times 10^{-2}$	1.18	1.34	拮抗	2.06
3	SCP	HPL	$2.09\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	$1.01\times 10^{-2}$	2.00	1.86	拮抗	2.23
4	SPY	MF	$9.33\times 10^{-6}$	$3.09\times 10^{-2}$	$1.41\times 10^{-2}$	1.85	1.39	拮抗	2.19
5	SPY	VP	$9.33\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	$5.41\times 10^{-2}$	1.27	1.25	拮抗	2.25
6	SPY	HPL	$9.33\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	$5.59\times 10^{-3}$	2.25	0.87	相加	2.36
7	SMX	MF	$2.45\times 10^{-7}$	$3.09\times 10^{-2}$	$3.31\times 10^{-2}$	1.48	1.27	拮抗	2.15
8	SMX	VP	$2.45\times 10^{-7}$	$5.75\times 10^{-2}$	$4.69\times 10^{-2}$	1.33	1.1	相加	2.22
9	SMX	HPL	$2.45\times 10^{-7}$	$1.35\times 10^{-2}$	$1.22\times 10^{-2}$	1.91	1.88	拮抗	2.34
10	SDX	MF	$5.89\times 10^{-6}$	$3.09\times 10^{-2}$	$1.80\times 10^{-2}$	1.74	1.06	相加	1.85
11	SDX	VP	$5.89\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	$4.11\times 10^{-2}$	1.39	0.93	相加	1.98
12	SDX	HPL	$5.89\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	$1.02\times 10^{-2}$	1.99	1.51	拮抗	2.17
13	SMP	MF	$3.09\times 10^{-6}$	$3.09\times 10^{-2}$	$1.51\times 10^{-2}$	1.82	1.1	相加	1.78
14	SMP	VP	$3.09\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	$5.40\times 10^{-2}$	1.27	0.99	相加	1.93
15	SMP	HPL	$3.09\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	$1.08\times 10^{-2}$	1.97	1.28	拮抗	2.14
16	SM	MF	$5.13\times 10^{-6}$	$3.09\times 10^{-2}$	$1.80\times 10^{-2}$	1.74	1.03	相加	1.89
17	SM	VP	$5.13\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	$5.03\times 10^{-2}$	1.30	1.08	相加	2.01
18	SM	HPL	$5.13\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	$1.16\times 10^{-2}$	1.94	1.65	拮抗	2.19
19	SQ	VP	$1.95\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	$5.71\times 10^{-2}$	1.24	1.14	相加	2.43
20	SQ	HPL	$1.95\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	$1.29\times 10^{-2}$	1.89	1.49	拮抗	2.50

注:  ${}^a K_{ow(\text{mix})}$  计算方法参考公式(3).  $K_{ow(\text{mix})}$  calculated with reference to equation (3).

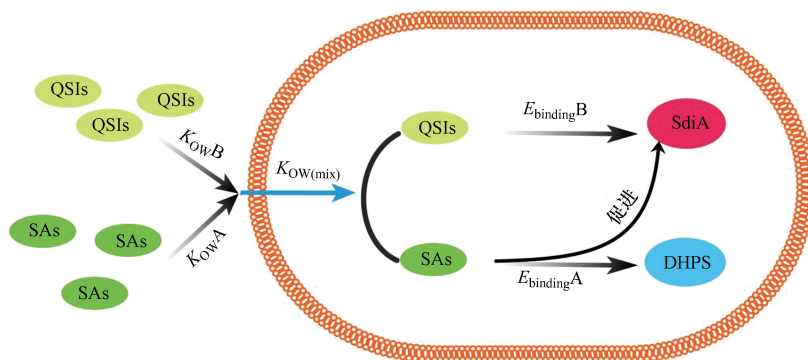


图 2 QSIs 与 SAs 联合作用机理假说图

Fig.2 Hypothesized mechanism for the combined toxicity between QSIs and SAs

## 2.4 模型的预测

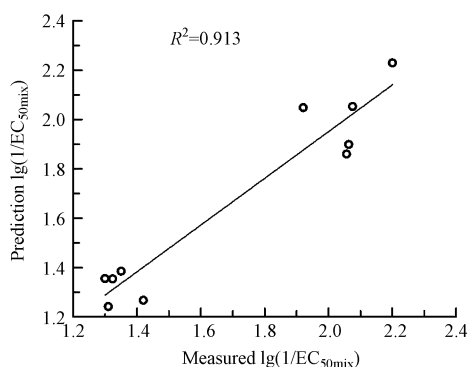
由所建立的 QSAR 模型对 10 组联合毒性数据进行预测,预测值及残差的结果见表 4.从表 4 可见,预测值与实验值非常吻合,残差值相对较小.

利用 QSAR 模型方程(4)对 10 组联合毒性数据进行预测,并对预测值进行拟合,结果见图 3.预测值与测定值具有较好的相关性( $R^2 = 0.913$ ,  $SE = 0.096$ ,  $F = 91.159$ ,  $P = 0.000$ )表明模型具有良好的预测能力,可用于相关混合物联合毒性的预测.

表 4 二元联合毒性数据的实验值与预测值

Table 4 Experimental and predicted values of binary mixture toxicity

序号 No.	A	B	$C_A/$ ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$C_B/$ ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$E_{\text{bindingA}}$	$E_{\text{bindingB}}$	$K_{\text{owA}}$	$K_{\text{owB}}$	实测 $\lg(1/\text{EC}_{50\text{mix}})$	预测 $\lg(1/\text{EC}_{50\text{mix}})$	残差 Residuals
1	SSZ	VP	$4.68\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	-35.18	-21.34	1.03	0.25	1.32	1.36	-0.03
2	SSZ	HPL	$4.68\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	-35.18	-18.18	1.03	0.92	1.92	2.05	-0.13
3	SMZ	VP	$8.32\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	-36.43	-21.34	0.76	0.25	1.35	1.39	-0.04
4	SMZ	HPL	$8.32\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	-36.43	-18.18	0.76	0.92	2.20	2.23	-0.03
5	SMM	VP	$1.95\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	-39.68	-21.34	0.20	0.25	1.31	1.24	0.07
6	SMM	HPL	$1.95\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	-39.68	-18.18	0.20	0.92	2.06	1.86	0.20
7	SD	VP	$3.02\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	-31.55	-21.34	0.34	0.25	1.42	1.27	0.15
8	SD	HPL	$3.02\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	-31.55	-18.18	0.34	0.92	2.06	1.90	0.17
9	SMR	VP	$4.37\times 10^{-6}$	$5.75\times 10^{-2}$	-38.64	-21.34	1.03	0.25	1.30	1.36	-0.06
10	SMR	HPL	$4.37\times 10^{-6}$	$1.35\times 10^{-2}$	-38.64	-18.18	1.03	0.92	2.08	2.05	0.02

图 3 由模型计算的  $\lg(1/\text{EC}_{50\text{mix}})$  值和实验  $\lg(1/\text{EC}_{50\text{mix}})$  值的相关图Fig.3 Correlation curve of toxicity values calculated by the model  $\lg(1/\text{EC}_{50\text{mix}})$  and experimental  $\lg(1/\text{EC}_{50\text{mix}})$ 

### 3 结论 (Conclusion)

(1) SAs 与 QSIs 对大肠杆菌的单一毒性与  $E_{\text{binding}}$  值具有很好的相关性, SAs 的  $E_{\text{binding}}$  值比 QSIs 小, 毒性比 QSIs 大.

(2) SAs 与 QSIs 对大肠杆菌的二元混合毒性表现为拮抗作用, 主要是 SAs 会促进 SdiA 蛋白表达, 从而消耗大量 QSIs, 导致联合效应表现为拮抗. 出现相加作用, 是由于 SAs 对靶蛋白 DHPS 的作用大于其对 SdiA 的刺激作用, 此时 SAs 主要表现为对 DHPS 的作用, 即两类化合物分别作用于各自相应的靶蛋白, 从而表现为相加作用.

(3) 基于  $E_{\text{binding}}$  值和  $K_{\text{ow(mix)}}$  值构建的 SAs 与 QSIs 对大肠杆菌的二元联合毒性 QSAR 模型具有较好的相关性, QSAR 模型的  $R^2$  达到了 0.901. 通过验证, 模型具有良好的预测能力, 模型的预测值与实测值的  $R^2$  为 0.913.

#### 参考文献 (References)

- [1] ARIAS C A, MURRAY B E. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century—A clinical super-challenge [J]. New England Journal of Medicine, 2009, 360(5): 439-443.
- [2] 沈群辉, 冀秀玲, 傅淑珺, 等. 黄浦江水域抗生素及抗性基因污染初步研究 [J]. 生态环境学报, 2012, 21(10): 1717-1723.  
SHEN Q H, JI X L, FU S J, et al. Preliminary studies on the pollution levels of antibiotic and antibiotic resistance genes in Huangpu River, China [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2012, 21(10): 1717-1723 (in Chinese).
- [3] 何基兵, 胡安谊, 陈猛, 等. 九龙江河口及厦门污水处理设施抗生素抗性基因污染分析 [J]. 微生物学通报, 2012, 39(5): 683-695.

- HE J B, HU A Y, CHEN M, et al. Studies on the pollution levels of antibiotic resistance genes in Jiulong River estuary and wastewater treatment plants in Xiamen[J]. *Microbiology China*, 2012, 39(5): 683-695 (in Chinese).
- [ 4 ] 乔敏, 吴楠. 土壤环境中四环素类抗生素残留及抗性基因污染的研究进展[J]. *生态毒理学报*, 2010, 5(5): 618-627.
- QIAO M, WU N. Tetracycline residues and tetracycline resistance gene pollution in soil: A review[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(5): 618-627 (in Chinese).
- [ 5 ] 郭嘉亮, 陈卫民. 细菌群体感应信号分子与抑制剂研究进展[J]. *生命科学*, 2007, 2(2): 224-232.
- GUO J L, CHEN W M. Bacterial sensing signal molecule inhibitor group and progress[J]. *Life Sciences*, 2007, 2(2): 224-232 (in Chinese).
- [ 6 ] 安情情, 姚志峰, 顾宇菲, 等. 磺胺类抗生素与群体感应抑制剂对发光菌的联合毒性及其机制初探[J]. *环境化学*, 2014, 33(12): 2068-2075.
- AN Q Q, YAO Z F, GU Y F, et al. Joint effects and mechanisms of binary toxicity of sulfa antibiotics and quorum sensing inhibitors to *Vibrio fischeri*[J]. *Environment Chemistry*, 2014, 33(12): 2068-2075 (in Chinese).
- [ 7 ] 刘灿, 葛鸿铭, 龙茜, 等. 磺胺与群感抑制剂对大肠杆菌的联合毒性机制初探[J]. *环境化学*, 2015, 34(10): 1854-1859.
- LIU C, GE H M, LONG X, et al. A preliminary investigation on the mechanism of binary mixture toxicity containing sulfonamides and quorum sensing inhibitors on *Escherichia coli*[J]. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(10): 1854-1859 (in Chinese).
- [ 8 ] 张栩嘉. 应用结构分类方法研究有机污染物种间毒性作用机理[D]. 吉林: 东北师范大学博士学位论文, 2013: 2-6.
- ZHANG S J. Interspecies mechanisms study of toxic action for organic pollutants using structure classification method[D]. Jilin: Northeast Normal University PhD Thesis, 2013: 2-6 (in Chinese).
- [ 9 ] 刘够生, 宋兴福, 于建国, 等. 氯代苯酚类衍生物对水生物发光细菌的定量结构-活性关系研究[J]. *江西师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 25(4): 313-316.
- LIU G S, SONG X F, YU J G, et al. Quantitative structure-activity relationships of substituted chloro-phenols' toxicity for microtox. *Jiangxi Normal University (Natural Science)*, 2001, 25(4): 313-316 (in Chinese).
- [ 10 ] 崔世海, 杨静, 刘树深, 等. 基于分子电性距离矢量预测有机污染物的生物富集因子[J]. *中国科学(B辑: 化学)*, 2007, 37(3): 248-253.
- CUI S H, YANG J, LIU S S, et al. Prediction organic pollutants based on molecular electronegativity distance vector BCF[J]. *Science in China (Series B: Chemistry)*, 2007, 37(3): 248-253 (in Chinese).
- [ 11 ] 秦红, 陈景文, 王莹, 等. 有机污染物生物富集因子定量预测模型的建立与评价[J]. *科学通报*, 2009, 54(1): 27-32.
- QIN H, CHEN J W, WANG Y, et al. Development and assessment of quantitative structure-activity relationship models for bioconcentration factors of organic pollutants[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2009, 54(1): 27-32 (in Chinese).
- [ 12 ] 葛燕丽, 张兵, 程瑾, 等. 芳基磺胺类  $\gamma$ -分泌酶抑制剂的三维定量构效关系研究[J]. *计算机与应用化学*, 2010, 27(4): 475-479.
- GE Y L, ZHANG B, CHENG J, et al. Study on 3D-QSAR of arylsulfonamides as  $\gamma$ -secretase inhibitors[J]. *Computers and Applied Chemistry*, 2010, 27(4): 475-479 (in Chinese).
- [ 13 ] 焦龙. 多氯联苯正辛醇-水分配系数的定量构效关系[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2011, 41(4): 623-627.
- JIAO L. QSPR study on *n*-octanol-water partition coefficient of polychlorinated biphenyls[J]. *Journal of Northwest University (Natural Science Edition)*, 2011, 41(4): 623-627 (in Chinese).
- [ 14 ] DENG Z Q, LIN Z F, ZOU X M, et al. Model of hormesis and its toxicity mechanism based on quorum sensing: a case study on the toxicity of sulfonamides to photobacterium phosphoreum[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(14): 7746-7754.
- [ 15 ] ZOU X M, ZHOU X H, LIN Z F, et al. A docking-based receptor library of antibiotics and its novel application in predicting chronic mixture toxicity for environmental risk assessment[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2013, 185(6): 4513-4527.
- [ 16 ] GOLBRAIKH A, TROPSHA A. Beware of q2! [J]. *J Mol Graph Model*, 2002, 20(4): 269-276.
- [ 17 ] 王斌, 余刚, 张祖麟, 等. 烷基醇化合物的定量结构活性相关及联合毒性预测[J]. *科学通报*, 2006, 51(13): 1513-1518.
- WANG B, YU G, ZHANG Z L, et al. Quantitative structure activity alkyl alcohol compound and related joint toxicity prediction[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2006, 51(13): 1513-1518 (in Chinese).
- [ 18 ] WU G S, ROBERTSON D H, BROOKS C L, et al. Detailed analysis of grid-based molecular docking: a case study of CDOCKER—A CHARMM-based MD docking algorithm[J]. *Journal of Computational Chemistry*, 2003, 24(13): 1549-1562.
- [ 19 ] SUN H Y, GE H M, ZHENG M, et al. Mechanism underlying time-dependent cross-phenomenon between concentration-response curves and concentration addition curves: A case study of sulfonamides-erythromycin mixture on *Escherichia Coli*[J]. *Scientific Reports*, 2016: 1-10.
- [ 20 ] KÖNEMANN H. Quantitative structure-activity relationships in fish toxicity studies Part 1: Relationship for 50 industrial pollutants[J]. *Toxicology*, 1981, 19(3): 209-221.
- [ 21 ] LIN Z F, YU H X, WEI D B, et al. Prediction of mixture toxicity with its total hydrophobicity[J]. *Chemosphere*, 2002, 46(2): 305-310.
- [ 22 ] ZENG M, LIN Z F, YIN D Q, et al. QSAR for predicting joint toxicity of halogenated benzenes to dicroteria zhanjiangensis[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 81(6): 525-530.
- [ 23 ] ZARFL C, MATTHIES M, KLASMEIER J. A mechanistical model for the uptake of sulfonamides by bacteria[J]. *Chemosphere*, 2008, 70(5): 753-760.
- [ 24 ] 陈景文, 李雪花, 于海瀛, 等. 面向毒害有机物生态风险评价的(Q)SAR 技术: 进展与展望[J]. *中国科学(B辑: 化学)*, 2008, 38(6): 461-474.
- CHEN J W, LI X H, YU H Y, et al. Ecological risk assessment for toxic organic compounds (Q) SAR technology: Progress and prospects [J]. *Science in China (Series B: Chemistry)*, 2008, 38(6): 461-474 (in Chinese).