

• 研究论文 •

分子模拟技术研究 17 种磺胺类药物与抗体亲和力构效关系

王战辉 丁双阳 张素霞 沈建忠*
(中国农业大学动物医学院 国家兽药残留基准实验室 北京 100094)

摘要 应用量子力学 AM1 方法对 17 种磺胺类药物(Sulfonamides, SAs)进行分子构型优化, 得到了 SAs 的最低能量结构, 并计算了 SAs 分子的重要构型参数(键长、键角和两面角)、电性参数(R 基团和重要原子的电量)和物化参数(水合能、Log *P* 值等). 通过比较 SAs 各个分子理化性质的差异, 讨论了 SAs 与 4 株磺胺二甲基嘧啶(Sulfamethazine, SM₂)多克隆抗体之间的构效关系, 结果显示水合能和 Log *P* 在 SM₂ 抗体-抗原(SAs)构效关系中发挥重要作用, 分子的空间结构和电子特性的作用有限.

关键词 磺胺类药物; 多克隆抗体; 分子模拟; 量子化学; 构效关系

Structure-Activity Relationship of 17 Sulfonamides Binding to Antibody by Molecular Modeling Technique

WANG, Zhan-Hui DING, Shuang-Yang ZHANG, Su-Xia SHEN, Jian-Zhong*
(National Reference Laboratory for Veterinary Drug Residues, College of Veterinary Medicine,
China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract The geometries of seventeen sulfonamide molecules were optimized using a quantum chemistry AM1 method and the minimum conformations of these molecules obtained. Some important parameters including conformational properties (bond length, bond angle and dihedral), electronic parameters (the electric amount of R group and other important atoms) and physico-chemical parameters (hydration energy, Log *P* values), were calculated to compare the difference among the 17 sulfonamides and subsequently the recognition between four polyclonal antibodies to sulfamethazine and sulfonamides structurally related analogs was discussed. The results show that the hydration energy and Log *P* values have the most important role in the structure-activity relationship between the antibody and sulfonamides, whereas, the conformational and electronic parameters exert limited influence on the relationship.

Keywords sulfonamide; polyclonal antibody; molecular modeling; quantum chemistry; structure-activity relationship

药物的化学结构与生物活性的关系(构效关系, Structure activity relationship, SAR), 是药物化学和分子药理学研究的基本问题. 药物分子与受体等蛋白质大分子结合的过程, 与免疫识别中药物与抗体蛋白质分子的结合类似, 都具有竞争性、特异性、饱和性和可逆性等特点. 既然药物分子的化学结构影响其活性, 对待测药

物抗原进行化学计算获得描述一类药物分子的电性、立体、疏水和量化等参数进行比较, 不仅可以获得影响抗原抗体结合的主要因素, 科学地解释了免疫分析方法对待测药物类似物的亲和力变化, 而且可以应用现代数理统计理论建立一类药物与相应抗体的定量构效关系(Quantitative structure activity relationship, QSAR), 从而

* E-mail: sjz@cau.edu.cn; Tel.: 010-62732803; Fax: 010-62731032

Received March 20, 2008; revised June 24, 2008; accepted August 14, 2008.

国家自然科学基金重点基金(No. 30830082)、北京市优秀博士论文基金(No. YB20081001902)和中国农业大学启动基金(No. 2007024)资助项目.

根据获得的构效方程精确预测未知待测药物的亲和力和特异性^[1]. 目前一般以实验方法测定抗体对药物抗原的亲和力和特异性, 但是实验方法不仅工作量大, 而且不需要, 实际上也不可能鉴定抗体对所有同类药物的亲和力和特异性^[2], 因此建立一种能够在计算机上实现评价抗体亲和力和特异性的理论模型是解决这一问题的有效途径. 最近国外学者应用分子力学 MM2 力场研究了喹诺酮类药物^[3]、磺胺类药物(Sulfonamides, SAs)^[4,5]、利尿磺胺^[6]和伏马菌素类^[7]与相应抗体的构效关系, 理论预测了抗体亲和力和特异性, 国内尚未开展此方面的研究. 在前期工作中, 我们应用荧光偏振免疫分析方法探讨了 17 种 SAs (图 1)对 4 株磺胺二甲基嘧啶(Slfamethazine, SM₂)多克隆抗体的构效关系^[8], 本文以量子力学半经验 AM1 方法计算 SAs 的各种重要参数, 从分子水平进一步研究了 SAs 分子与抗体之间的构效关系.

1 计算方法

Gaussian view3.7 构建 17 种 SAs 的初始三维结构, 应用 Gaussian 03 半经验量子力学 AM1 方法进行构象优化, 计算中除特别指出外, 所用参数均为缺省值, 最终得到 17 种 SAs 能量最低时的稳定构象. 应用 HyperchemPro7.5 读取优化之后 SAs 的主要立体结构参数如两面角 C—S—N(1)—R, N(4)—C—C—C, S—C—C—C, C—C—S—N(1), C—S—N—H(1), N(1)—R, S 原子和两个 O 原子的夹角 O—S—O 以及 S—C 和 S—N(1)的键长; SAs 主要原子和 R 基团的电荷以及最高占据轨道(HOMO)和最低未占据轨道(LUMO)的能量差 ΔE_{H-L} ; SAs 的主要理化参数如范德华表面积(Van der Waals surface)、体积(Volume)、水合能(Hydration energy)、分子量(Molecular Mass)和油水分配系数(Log P)值等. 活性数据、半数抑制量 IC₅₀ (ng·mL⁻¹)和交叉反应率采集于荧光偏振免疫分析检测 SM₂ 研究^[8](表 1).

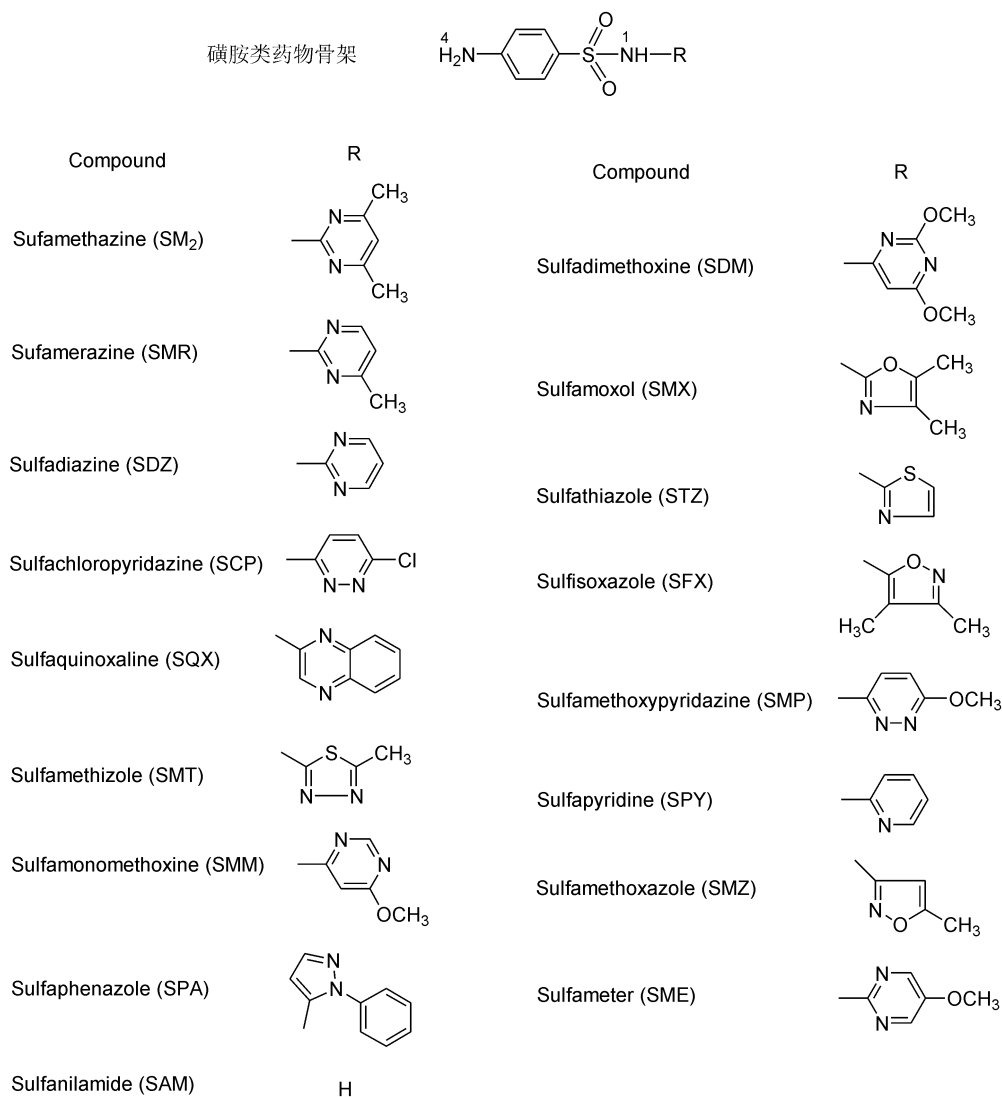


图 1 磺胺类药物化学结构

Figure 1 The structures of sulfonamides

表 1 磺胺类药物在 $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时对 4 株多克隆抗体的相对亲和力

Table 1 Relative affinity to sulfonamides of four antibodies at $100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ of sulfonamides

Drug	No. 1 antibody	No. 2 antibody	No. 3 antibody	No. 5 antibody
SM ₂	100	100	100	100
SMR	88	89	97	95
SMX	96	92	88	91
SDM	73	70	75	76
SDZ	60	63	75	70
STZ	58	50	59	59
SCP	57	56	42	59
SFX	55	49	52	54
SQX	53	43	34	58
SMP	50	46	51	55
SMT	49	45	43	53
SPY	45	39	59	49
SMM	45	42	45	56
SMZ	41	41	40	45
SPA	30	25	22	34
SME	28	26	27	27
SAM	13	9	5	11

17 种 SAs 分别为: 磺胺二甲基嘧啶(Sulfamethazine, SM₂)、磺胺甲基嘧啶(Sulfamerazine, SMR)、磺胺嘧啶(Sulphadiazine, SDZ)、磺胺二甲氧嘧啶(Sulfadimethoxine, SDM)、磺胺甲氧吡嗪(Sulfamethoxyypyridazine, SMP)、磺胺氯吡嗪(Sulfachloropyridazine, SCP)、磺胺二甲基恶唑(Sulfamoxol, SMX)、磺胺间甲氧基嘧啶(Sulphamonomethoxine, SMM)、磺胺对甲氧基嘧啶(Sulfamerimeter, SME)、磺胺喹恶啉(Sulfaquinoxaline, SQX)、磺胺噻唑(Sulfathiazole, STZ)、磺胺甲基恶唑(Sulfamethoxazole, SMZ)、磺胺甲基噻唑(Sulfamethizole, SMT)、磺胺吡啶(Sulfapyridine, SPY)、磺胺异恶唑(Sulfisoxazole, SFX)、氨苯磺胺(Sulfanilamide, SAM)、磺胺吡唑(Sulfaphenazole, SPA)。

2 计算结果

2.1 磺胺类药物的空间构型

17 种 SAs 最低能量的几何构型见图 2。从图 2 中可见, N(4)原子、S 原子和相邻苯环均在一个平面。本研究中的所有 SAs 分子(SAM 除外)R 基团均为杂环, N(1)原子均与相邻的杂环处在同一水平面。说明 SAs 分子上的主要原子(不包括两个 O 原子和 H 原子)分别处于两个平面上, R 基团的异构对这两个平面上主要原子的共平面性影响不大, 但是缺失 R 杂环对抗体的结合 SAs 能力影

响较大, 如 SAM 与半抗原 SM₂, 其相对亲和力分别为 100% 和 <13%。

为了更精确地描述 SAs 的空间构型, 测量了 SAs 主要的两面角、键角和键长(表 2)。可见抗体对两面角 C—S—N(1)—R 在 180°左右的 SAs 的相对亲和力都比较大, 而 SAM, SMZ, SPA, SCP, SMP 和 SMM 的两面角 C—S—N(1)—R 与 SM₂ 的两面角 C—S—N(1)—R 相差较大, 抗体对这 6 个 SAs 药物的相对亲和力都较低, 说明两面角 C—S—N(1)—R 对抗体的相对亲和力有较大影响。两面角 N(4)—C—C—C 表示的是 N(4)原子与苯环的共平面, 所有 SAs 药物的最大偏差不超过 4°, 说明该两面角对抗体识别抗原的作用较小。两面角 S—C—C—C 表示 S 原子与相邻苯环共平面, 所有 SAs 药物的最大偏差不超过 3°。两面角 N—R 表示 N(1)原子与 R 基团共平面性, 所有 SAs 药物的最大偏差不超过 1°。两面角 C—C—S—N(1)表示 R 基团与苯环之间的夹角, 均在 90°左右, 即这两个平面互相垂直。而 S 原子与两个 O 原子之间的夹角也在 117°左右, S—N 之间的键长和 S—C 之间的键长同样没有太大的差异。R 基团的变化仅对两面角 C—S—N(1)—R 有较大的影响, 对 SAs 的其它部分影响不大, 说明 SAs (SAM 除外)都具有相似的几何构型, SM₂ 抗体对 SAs 表现出不同的亲和力, 影响抗体与 SAs 构效关系的主要构型因素是 R 基团的异构和 R 基团与氨苯磺胺的苯环的平面性。

2.2 磺胺类药物的理化性质

根据相对亲和力的不同, 可以将所有的 SAs 分为 3 组, 第一组包括 SM₂, SMR 和 SMX, 其相对亲和力均在 90% 以上, 从表 3 可知, 这 3 种 SAs 的各项参数除了表面积(近似)和分子体积, SMR, SMX 与 SM₂ 相差较大外, 其它均很接近。考虑到抗体对 SMR 和 SMX 的相对亲和力很高, 所以这两项参数可能对抗体结合抗原的能力影响甚微。第二组包括 11 种 SAs, 抗体对它们的相对亲和力处在中等水平 73%~41%。表 3 显示这组 SAs 中大多数药物的水合能远大于半抗原 SM₂ 的水合能, 而且第二组中 SAs 的 Log P 数值与半抗原 SM₂ 的 Log P 值差距也很明显, 其中 SQX 和 SCP 比 SM₂ 大许多, 而其它则比 SM₂ 小许多。例外的是 SPY 的 Log P 和水合能与 SM₂ 很接近的, 但是抗体对 SPY 的相对亲和力却比较小, 这可能与其它因素如表面积(网格)和分子体积有关。另外参见图 2 可以发现, SPY 的吡啶环上缺少取代基, 而且两面角 C—S—N(1)—R 与 SM₂ 相比小了 5°, 所以可能是 SPY 几何构型的变化也降低了 SM₂ 抗体对其的结合能力。SM₂ 抗体对第三组的 SAs (SPA, SME 和 SAM)亲和力最弱也可以从 Log P 和水合能进行解释。所以通过 SAs 的理化性质可知, Log P 和水合能在 SM₂ 抗体与 SAs

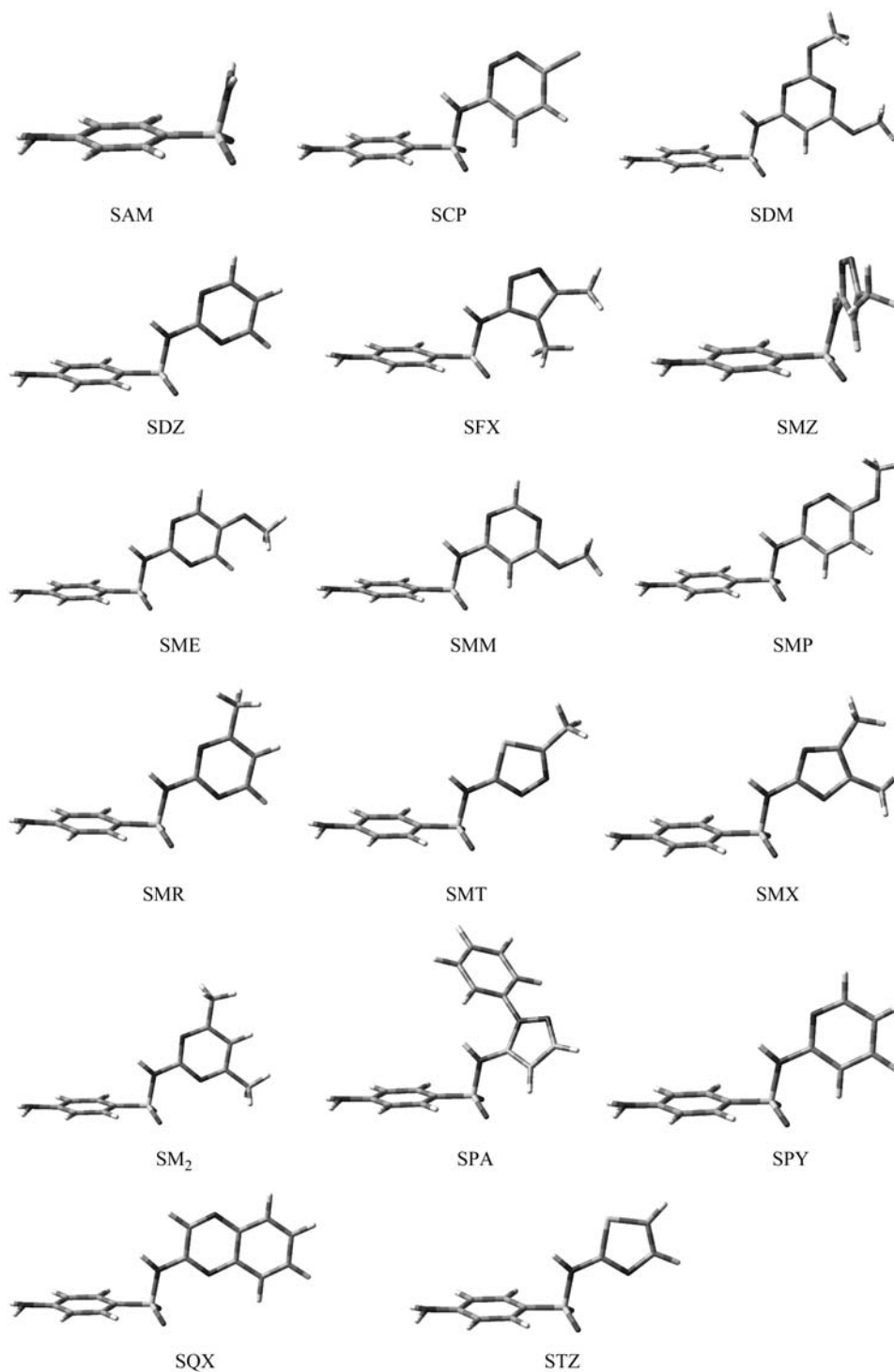


图2 磺胺类药物最低能量构象

氧, 红色; 氮, 蓝色; 氢, 白色; 氟, 黄色; 碳, 灰色

Figure 2 Models of the minimum energy conformations of the sulfonamides

The elements are represented in the following manner: oxygen, red; nitrogen, blue; hydrogen, white; fluorine, yellow; and carbon, off white

的构效关系中发挥主导作用.

2.3 磺胺类药物的电子特性

静电作用可能在抗原与抗体的非共价键结合中发挥重要作用, 尤其是 R 基团的电量, 可能是影响抗原-抗体接近的直接因素. 但是通过比较 17 种 SAs 的 R 基

团电量表明, 绝大多数的 SAs 的 R 基团的电量在 $0e$ 附近, 只有 SPA 和 SAM 的电量远大于其它 SAs 分别为 0.5 和 $0.2e$, 而另外两种 SPY 和 SDM 的电量在 $0.1e$, 这可能是造成抗体对 SPA, SAM 和 SPY 识别力降低的另一个因素(表 4). 因为 SAs 分子为中性, 既然 SAs 的 R 基

表 2 磺胺类药物优化结构的二面角(°)、键长(nm)和键角(°)
Table 2 Dihedral (°), bond length (nm) and bond angel (°) of optimized sulfonamides

Drug	C—S—N(1)—R	N(4)—C—C—C	S—C—C—C	C—C—S—N(1)	O—S—O	C—S—N(1)—H	C—S—N(1)	N—R	
SM ₂	-179.93	176.83	177.90	-91.30	117.61	0.04	1.676	1.661	-179.98
SMR	179.87	176.90	177.89	-91.23	117.67	-0.20	1.675	1.662	-179.87
SMX	179.45	177.58	177.84	-91.31	116.83	-0.53	1.664	1.665	-179.89
SDM	171.92	177.73	177.95	-90.245	115.82	-10.75	1.661	1.658	-179.59
SDZ	-179.93	176.95	177.87	-91.19	117.68	0.06	1.674	1.664	-180.00
STZ	179.97	176.87	177.84	-91.39	117.68	-0.02	1.675	1.663	-179.99
SCP	163.15	178.35	178.58	-88.76	115.53	-20.40	1.656	1.658	-180.00
SFX	-179.94	178.02	179.92	-91.21	115.80	0.037	1.659	1.661	179.45
SQX	179.98	176.90	177.87	-91.33	117.60	-0.04	1.675	1.662	-180.00
SMP	167.41	177.74	178.05	-88.93	115.38	-18.46	1.661	1.650	-179.88
SMT	179.81	177.07	177.74	-91.39	118.01	-0.18	1.671	1.670	-179.79
SPY	174.48	177.38	177.95	-90.28	115.27	-7.98	1.664	1.648	-179.76
SMM	169.64	177.65	177.92	-89.87	115.84	-13.47	1.662	1.657	-179.53
SMZ	83.35	177.53	178.62	-92.15	117.10	-93.63	1.660	1.648	-179.41
SPA	158.95	177.08	177.95	-87.58	116.19	-25.60	1.667	1.651	-179.87
SME	179.95	176.90	177.92	-91.39	117.48	-0.04	1.674	1.660	-179.79
SAM	90.77	-176.40	-178.89	-90.89	117.42	-90.71	1.674	1.605	—

表 3 磺胺类药物理化参数
Table 3 Some physical and chemical indexes of sulfonamides

Drug	Volume/ (bohr ³ •mol ⁻¹)	Hydration energy (kJ•mol ⁻¹)	Log P	Refractivity	Diameter/ nm	Polarizability	Molecular weight	Surface area/nm ²	
								Approx	Grid
SM ₂	795	-63.12	1.73	62.85	10.45	26.86	278	525	496
SMR	740	-67.05	1.54	57.92	10.45	25.02	264	506	471
SMX	755	-68.01	1.83	62.74	9.89	25.27	267	471	479
SDM	844	-86.99	1.27	77.90	10.52	28.67	310	644	528
SDZ	686	-71.39	1.36	52.99	10.46	23.19	250	487	439
STZ	671	-70.39	0.20	63.14	10.02	23.42	255	499	431
SCP	727	-88.28	3.02	72.64	10.35	25.66	285	610	458
SFX	734	-76.87	1.03	63.86	9.97	25.39	267	471	457
SQX	817	-89.58	2.99	79.97	12.69	29.91	300	639	507
SMP	761	-84.14	1.33	68.33	10.39	26.20	280	571	480
SMT	712	-74.11	1.70	66.39	10.03	25.21	270	498	452
SPY	695	-68.76	1.69	65.86	10.50	24.44	249	507	440
SMM	763	-81.47	1.13	67.32	10.50	26.20	280	559	476
SMZ	689	-81.30	1.10	58.92	7.93	23.43	253	497	435
SPA	867	-75.28	2.66	80.94	9.84	31.97	314	601	531
SME	763	-80.26	1.11	59.45	10.45	25.66	280	565	480
SAM	491	-60.15	-0.03	44.03	6.46	15.07	172	379	324

团电荷总量基本相似, 那么其共有氨基磺胺部分的电荷也应该类似, 即 R 基团的改变没有明显改变 SAs 共有基团的电量。

根据分子轨道理论, 前线轨道(HOMO 和 LUMO)以及与之相邻的分子轨道对生物的活性影响较大。但在抗体和药物的结合与药物与受体(或酶)的结合不尽相似,

在生物体内有许多细胞因子参加药物与受体的结合, 这些因子会改变受体的空间构象或电子特性, 使药物更好地与受体结合。但是在本研究中, 抗体与药物的结合完全在体外缓冲液中进行, 缓冲液不存在任何其它活性因子, 所以抗体与药物的结合并不涉及电子之间的转移, 前线轨道的影响力并不存在。如图 3 所示, 即使是

表4 磺胺类药物量子化学参数
Table 4 Some quantum chemical indexes of sulfonamides

Drug	N(4)	S	O ^a	N(1)	E _{HOMO} /e	E _{LUMO} /e	ΔE _{H-L} ^b /e	R
SM ₂	-0.362	2.891	-1.848	-0.787	-0.338	-0.017	0.321	-0.019
SMR	-0.363	2.891	-1.846	-0.784	-0.339	-0.018	0.321	-0.016
SMX	-0.368	2.889	-1.846	-0.781	-0.318	-0.026	0.292	-0.048
SDM	-0.370	2.880	-1.863	-0.801	-0.343	-0.025	0.318	0.106
SDZ	-0.363	2.890	-1.846	-0.801	-0.340	-0.019	0.321	-0.027
STZ	-0.361	2.885	-1.838	-0.776	-0.331	-0.023	0.308	-0.025
SCP	-0.373	2.880	-1.840	-0.795	-0.345	-0.031	0.314	-0.004
SFX	-0.371	2.886	-1.860	-0.781	-0.329	-0.030	0.299	-0.032
SQX	-0.362	2.885	-1.843	-0.793	-0.333	-0.021	0.312	0.079
SMP	-0.370	2.881	-1.878	-0.804	-0.331	-0.025	0.306	0.019
SMT	-0.363	2.884	-1.828	-0.765	-0.344	-0.029	0.315	-0.049
SPY	-0.368	2.880	-1.875	-0.813	-0.335	-0.022	0.313	0.132
SMM	-0.369	2.879	-1.863	-0.803	-0.345	-0.026	0.319	0.003
SMZ	-0.370	2.876	-1.863	-0.788	-0.340	-0.023	0.317	0.001
SPA	-0.363	2.883	-1.846	-0.800	-0.329	-0.024	0.305	0.503
SME	-0.363	2.891	-1.850	-0.785	-0.331	-0.018	0.313	0.075
SAM	-0.357	2.876	-1.886	-0.953	-0.336	-0.012	0.324	0.214

^a Sum of two oxygen atom electron, ^b ΔE_{H-L} = E_{LUMO} - E_{HOMO}.

抗体亲和力相差较大的 SAs, 如 SM₂, SAM, SME 和 SPA, 它们的 LUMO 和 HOMO 的主要成分是由 SAs 的共有部分磺酰氨基贡献(深红色和绿色部分), R 基团几乎没有贡献, 所以 R 基团的改变同样不会改变 LUMO 和 HOMO 的能量, 从另一个侧面可以证明, SM₂ 多抗与 SAs 的结合前线轨道发挥的作用很小, 也证明抗体与 SAs 结合过程中不存在电子转移现象.

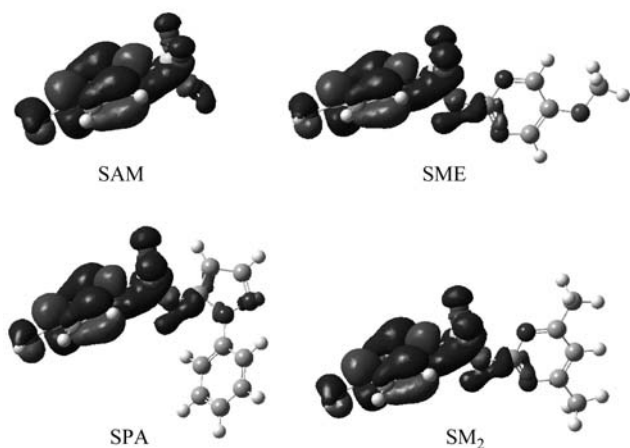


图3 磺胺类药物最低未占据轨道(LUMO)和最高占据轨道(HOMO)

Figure 3 The LUMO and HOMO of sulfonamides

3 讨论

计算机技术在免疫分析中的应用刚刚起步, 鲜见文献报道. 目前其应用主要集中在计算药物小分子的最低

能量构象和静电等势面. 大多数的工作由 Stanker 研究小组完成, 他们应用同一种模式研究了包括 SAs^[4,5]、喹诺酮类^[3]、黄曲霉毒素类^[9]、呋喃苯胺酸^[6]和伏马菌素^[7]等小分子与其对应抗体的交叉反应率(构效关系). 研究的抗体类型主要是单克隆抗体, 目的是从三维角度来解释由二维平面结构不能合理解释的特殊交叉反应现象. 即通过比较一类药物分子的三维结构和静电分布的不同, 粗略地判断药物分子的哪个基团在药物与抗体之间的结合发挥主导作用, 基本停留在定性的眼观解释, 没有详细的数据和精确的计算模型支持, 具有似是而非的特点, 不能称为一种严格研究方法. 也有研究人员, 通过研究半抗原的三维结构, 指导半抗原的设计和改造, 为制备出理想的抗体选择合适的半抗原提供理论支持, 如抗球虫类药物尼卡巴嗪^[10]和农药三氯苯酚^[11].

我们通过类比药物与受体、药物与抗体之间结合作用的类似性, 结合现代计算化学的研究进展, 研究了 SAs 与 SM₂ 多抗之间的构效关系, 突破了定性方式. 首先对 17 种 SAs 分子进行了量子力学计算, 得出所有分子的最低能量构型, 大多数 SAs 的整个分子的构型呈“L”型, 即 R 基团与氨基磺胺平面垂直. 通过提取多种几何构型数据发现, 大多数的 SAs 的两面角 C—S—N(1)—R 的角度为 180°, 两面角 C—S—N(1)—R 是保持 SAs 空间构型最重要的两面角, 是 SAs 分子中柔性最好的部分, 它的改变可以直接影响到整个分子的空间结构. 所有的 SAs 分子中只有 SCP, SMP, SMZ, SAM 和 SPA 的两面角 C—S—N(1)—R 不是平面结构. SMZ

夹角最小(83.35°). 但是其 R 基团并不是偏向氨基磺胺基团, 而是偏向一侧, 尽管这种空间取向能使 SMZ 的 R 基团靠近载体蛋白(直径为 7.93), 但是并不能屏蔽 R 基团的免疫原性. 而且从分子的直径来看, 所有分子的直径相差不大, 只有几种比较特殊的 SAs 的直径原小于 SM₂ 的直径, 而抗体对它们的亲和力也比较小. SCP 的两面角 C—S—N(1)—R 为 163.15°, 直径为 10.35. 同样 R 基团的改变除了几种 SAs 如 SAM 和 SCP 之外, 绝大多数 SAs 对氨基磺胺的总电量影响也很小. 所以 R 基团的改变无论对整个分子的构型还是电荷分布影响都不大.

水合能和 Log P 值在 SMR 和 SMR 抗体与 SAs 结合过程中发挥重要的作用. 水合能是表示离子与水结合时释放出的能量. 因为 SAs 是两性离子, 所以其正负离子可以与水结合成水合离子, 释放出能量即水合能. 水合能较大的物质易溶于水, 而水合能较小的物质则难溶于水. 结果显示 SAs 分子的水合能越小则抗体对其的亲和力越强. 这是因为 SAs 越容易与水分子形成水合离子, 则与抗体结合的机会就越少, 抗体与之结合的能力就越小. 分配系数 Log P 所表示的是整个分子的疏水性量度, 即化合物的亲水性, Log P 越小, 亲水性越大, 化合物的极性越大, 对同源物的疏水性进行比较时, 可将分子的不同结构部分的疏水贡献视作恒定值, 考察各个取代基的相对疏水作用, 这对于解析药物分析局部疏水作用以及预测未知化合物都具有重要意义. 可见 SAs 分子的 Log P 值较大时, 抗体对 SAs 的亲和力较好, 这是因为药物疏水性越大, 则在溶液中水分子产生对 SAs 的排斥作用也越大, 疏水力迫使 SAs 分子更加接近于抗体蛋白, 所以亲和性比较高.

氢键在抗体与抗原的结合过程中也同样发挥重要作用, R 基团上与 N(1)相连 C 原子伯位的杂原子为氢键供电中心, 可与抗体蛋白上的氨基酸对应的氢键受体中心形成氢键. 在此位置与 SMR N(1)原子电量相近的 SAs 表现出较高的活性.

但是分子计算的方法并不能完全解释所有观察到的实验结果, 如 SM₂ 多抗对 SMP 和 SCP 的亲和力. 它们的分子构型(两面角 C—S—N(1)—R), Log P、水合能

和杂环原子的电量与 SM₂ 和 SMR 相差都比较大, 但是抗体对它们的亲和力并不是最低, 相反与其它以上数据更接近于半抗原(SM₂ 和 SMR)的 SAs 相比还表现出较高的亲和力, 这可能有其它未知的因素发挥作用. 另外, 在抗体的制备过程中, 几乎所有的研究者都注意到即使是同一种免疫原免疫同种类型的动物, 获得抗体的特性都存在差异. 构思严密的半抗原设计可以通过大规模的动物免疫得到理想的抗体, 但是抗体之间的差异不可避免. 但是从统计学角度来说, 所有抗体的性质服从正态分布, 所以如果获得抗体亲和力的结果不符合理论分析, 是可以理解的.

致谢 感谢中国农业大学理学院杨新玲教授和开振鹏博士在化学计算方面的指导.

References

- 1 Beier, R. C.; Stanker, L. H. *Recent Res. Dev. Agric. Food Chem.* **2000**, *4*, 59.
- 2 Galve, R.; Camps, F.; Sanchez-Baeza, F.; Marco, M. P. *Anal. Chem.* **2000**, *72*, 2237.
- 3 Holtzapple, C. K.; Buckley, S. A.; Stanker, L. H. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 1984.
- 4 Muldoon, M. T.; Font, I. A.; Beier, R. C.; Holtzapple, C. K.; Young, C. R.; Stanker, L. H. *Food Agric. Immunol.* **1999**, *11*, 117.
- 5 Muldoon, M. T.; Holtzapple, C. K.; Deshpande, S. S.; Beier, R. C.; Stanker, L. H. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48*, 537.
- 6 Carlin, R. J.; Kamps-Holtzapple, C.; Stanker, L. H. *Mol. Immunol.* **1994**, *31*, 153.
- 7 Beier, R. C.; Elissalde, M. H.; Stanker, L. H. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1995**, *54*, 479.
- 8 Wang, Z.-H.; Zhang, S.-X.; Ding, S.-Y.; Shen, J.-Z. *Chem. J. Chin. Univ.* **2008**, *29*, 1107 (in Chinese). (王战辉, 张素霞, 丁双阳, 沈建忠, 高等学校化学学报, **2008**, *29*, 1107.)
- 9 Holtzapple, C. K.; Carlin, R. J.; Rose, B. G.; Kubena, L. F.; Stanker, L. H. *Mol. Immunol.* **1996**, *33*, 939.
- 10 Beier, R. C.; Ripley, L. H.; Young, C. R.; Kaiser, C. M. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49*, 4542.
- 11 Galve, R.; Nichkova, M.; Camps, F.; Sanchez-Baeza, F.; Marco, M. P. *Anal. Chem.* **2002**, *74*, 468.

(A0803202 ZHAO, C. H.; DONG, H. Z.)