

青霉素6 β -侧酰胺与抗菌活性关系的量子化学计算

李在威、杨 频 (山西大学分子科学研究所, 太原 030006)

提要 分子轨道方法计算表明6 β -侧酰胺基对于青霉素 β -内酰胺水解反应性和抗菌活性有重要的增强作用。侧酰胺取向角为110°左右为最佳药效构象, 但不是最稳定构象, 计算结果与实验事实吻合。6 β -侧酰胺基的影响是一种邻近效应, 是亲核基团同时与两个酰胺基成键的结果。

关键词 青霉素; 分子轨道计算; 结构-活性关系; 侧链构象; 邻近效应

活性较高的青霉素或头孢菌素以及最近发现的单环 β -内酰胺抗生素一般在6(7) β 位有取代的酰胺侧链。青霉素分子中主核 β -内酰胺环是一个刚性骨架, 仅侧链有转动自由度, 故青霉素分子的构象变化主要指6 β -侧链的构象变化, 侧链上不同R取代基对活性的影响过去被注意得较多, 而距 β -内酰胺环最近的6 β -酰胺基本身对活性的影响则很少被注意到。事

实上6 β -侧酰胺对于 β -内酰胺的化学反应性和抗菌活性影响很大因而涉及到新药的设计和改造。本文用分子轨道理论研究6 β -酰胺基与抗菌活性的关系, 并探讨其机理。

方法和模型

采用CNDO/2量子化学计算方法⁽¹⁾, 在TQ-16机上计算青霉素分子结构和本文计算模型分子见图1, A为无侧链单环 β -内酰胺, B为有6 β -侧链酰胺基取代的 β -内酰胺, 青霉素的6 β -取代基在B中相应为2 β -取代基。A和B的主核 β -内酰胺结构数据均采用青霉素G的x射线晶体衍射数据⁽²⁾, 其余部分采用Pople的标准键长、键角⁽³⁾。模型B中, 设侧酰胺平面可以绕C₂-N₆键自由旋转, 侧酰胺平面N₆H₁₁C₁₂与平面N₆C₂N₁₀所成二面角为 ϕ , 称侧酰胺取向角。

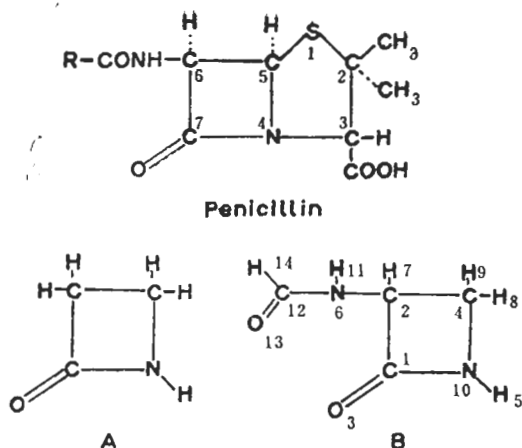


Fig 1. Penicillin and the models used in calculations of quantum chemistry.

四面体活化过渡态 青霉素-蛋白受体作用机理中最重要的反应之一是由酶活性中心的丝氨酸-OH进攻 β -内酰胺环上的羰基碳原子^(4,5)即A和B中的C₁。一般认为亲核基团-OH与 β -内酰胺生成四面体过渡态⁽⁶⁾。本文对A和B均计算了两种四面体过渡态,即OH⁻分别从 β 面和 α 面进攻 β -内酰胺环,分别称为 β 过渡态和 α 过渡态。设生成过渡态时,OH⁻的氧原子距C₁原子为1.5Å⁽⁶⁾。活化能基本上等于过渡态总能量与基态总能量之差。在所有计算结果中, β 过渡态的活化能均大大低于 α 过渡态,故本文主要讨论 β 过渡态的结果。两种过渡态示意图见图2。

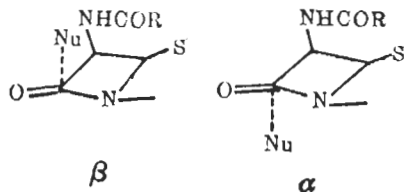


Fig 2. β and α tetrahedral transition states.

结果和讨论

6 β -侧酰胺基与青霉素的反应性和抗菌活性 对A和B过渡态的计算表明,当B的侧酰胺平面绕C₂-N₆轴任意旋转时,其过渡态的活化能总是低于A的活化能。A与B的活化能差

在6-43 kcal/mol之间。根据动力学理论,A和B的反应速度之比: $\ln k_A/k_B = (E_B - E_A)/RT$ 式中 k 是速度常数,E是活化能。当 $E_A - E_B = 6$ kcal/mol时,B比A的反应速度大约要快 5×10^3 倍,这与动力学实验测定值 10^3 一致⁽⁷⁾。表明6 β -侧酰胺的存在显著增强青霉素的水解反应性和抗菌活性,因而是药物改造和设计不可忽略的因素之一。

6 β -侧酰胺立体构象对青霉素反应性和抗菌活性影响 表1列出了化合物B及其与OH⁻反应过渡态总能量、活化能同侧酰胺取向角 ϕ 的关系。

Tab 1. Relation between ϕ and activation energies (atom unit) in B.

$\phi(^{\circ})$	Model B Total energies	Transition state Total energies	Activation energies
70	-83.1639	-100.5804	0.0755
90	-83.0682	-100.5246	0.0353
110	-83.0797	-100.5655	0.0062
120	-83.1272	-100.5755	0.0437
140	-83.1444	-100.5876	0.0488
180	-83.1587	-100.5908	0.0599

Calculated value of total energy of OH⁻ is -17.4920(atom unit)

一些具有不同6 β -侧酰胺取向角 ϕ 的青霉素及其抑制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus* Rosenbach)的活性⁽⁸⁾见表2。

Tab 2. Relation between 6 β -amido orientation angle ϕ and antibacterial (*Staphylococcus aureus*) activity MIC of penicillins.

Penicillins	$\phi(^{\circ})$ ⁽⁹⁾	Activity ⁽⁸⁾ MIC, $\mu\text{g/ml}$
Methicillin	189	2.50
Oxacillin	174	0.41
Cloxacilin	125	0.34
Flucloxacillin	102	0.31
Dicloxacillin	118	0.28

这些青霉素均为结构类似的耐葡萄球菌青霉素酶的半合成青霉素,其结构差别主要在于6 β -侧酰胺基的取向不同⁽⁹⁾。

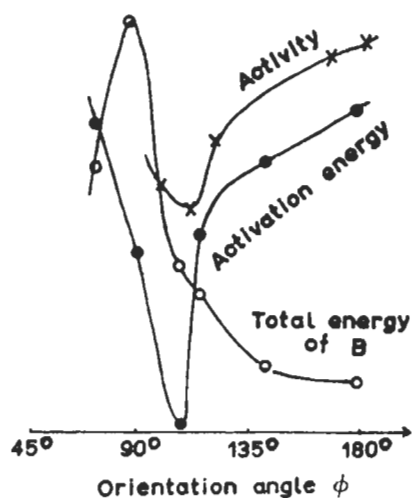


Fig 3. Schematic drawing of relation between ϕ and activation energy, total energy in B and antibacterial activity of penicillins.

ϕ 角与活化能、总能量及抗菌活性的关系示意于图3。

由上可以看到, β -内酰胺与 OH^- 进行亲核反应的活化能随 6β -酰胺取向角 ϕ 变化而变化很大, 如 ϕ 角在 70° 和 110° 的活化能相差达 43 kcal/mol , 因而亲核反应的速度受 ϕ 角影响很大。有意义的是活化能在 ϕ 角取 110° 左右达最低点, 为 3.9 kcal/mol 左右。这样低的活化能意味着对于 6β -侧酰胺基来说, $\phi = 110^\circ$ 可能是最佳药效构象。而且从表2和图3可以看到, 由理论计算得到的活化能- ϕ 角曲线与由实验得到的活性- ϕ 角曲线相当一致。这表明在新的 β -内酰胺抗生素的分子结构设计中, 需要考虑到 6β -侧酰胺的构象角 ϕ , 而 6β -侧酰胺链上的取代基 R 的大小和结构, 是调节 ϕ 角的主要因素。

青霉素的药效构象和最稳定构象 由图3看到, 活性较高即活化能较低的构象, 其分子总能量却处于较高值的区域。这表明药物分子的最稳定构象不一定是最佳药效构象, 甚至可能不是药效构象。这一点值得量子药理学家注意, 因为他们据以计算的分子结构数据大多来自晶体构象即最稳定构象。

Tab 3. Activation energy differences (atom unit) between α and β transition states of A and B.

Calculated molecules	Direction of attack	Transition state total energies	Activation energy differences between α and β state	
A	β	-66.4567	0.1020	
	α	-66.3547		
B	$\phi = 180$	β	-100.5908	0.0864
		α	-100.5044	
	$\phi = 90$	β	-100.5249	0.1015
		α	-100.4234	
	$\phi = 70$	β	-100.5804	0.0500
		α	-100.5304	

亲核试剂的进攻方向 对化合物 A 和 B 的 β 和 α 两种过渡态计算表明(表3), β 过渡态活化能总是比 α 过渡态低可观的数值(约 $31\text{--}64 \text{ kcal/mol}$)。因此从动力学上来说, 亲核基团进攻 β -内酰胺环的 β 面的机会比进攻 α 面的机会要大得多。亲核基团进攻的这种方向选择性来自两方面的贡献: 首先是 β -内酰胺环本身结构的贡献(约 64 kcal/mol), 其次是 6β -取代基酰胺的构象贡献(约 32 kcal/mol)。图3中抗菌活性曲线和活化能曲线中出现的相当深的波谷也暗示 β -内酰胺环的 β 面是最容易受到亲核进攻的方向。

6β -酰胺基的邻近效应机理 仔细考察 $\phi = 110^\circ$ 时过渡态分子成键轨道中各原子轨道的贡献(用 LCAO-MO 系数表示, 已约简到小数点后二位, 见表4), 可以清楚看出, 亲核基团 OH^- 的氧原子同时与 β -内酰胺及 6β -侧酰胺组成能量较低的成键轨道, 从而产生额外的电子离域能, 降低了亲核反应的活化能。这可能是 6β -侧酰胺对青霉素分子亲核反应及抗菌活性产生重要影响的根本原因。

可以把这种影响看成是一种邻近效应, 即一个酰胺基对其邻近的另一个酰胺的亲核反应具有一种协同催化作用。由于青霉素是一类肽衍生物, 可以预料, 在多肽及蛋白的水解过程

Tab 4. Molecular orbitals and energies in B ($\phi = 110^\circ$).

Energies (atom unit)	Large LCAO-MO Coefficients
-2.0481	$-0.42(C_{12} 2s) - 0.44(C_2 2s) - 0.37(N_6 2s) - 0.28(N_{10} 2s)$ $-0.16(C_{12} 2s) - 0.29(O_{15} 2s)$
-1.4322	$-0.23(C_1 2s) - 0.35(O_{15} 2s)$
-1.1624	$+0.13(C_1 2s) + 0.18(C_1 2p_x) - 0.17(N_6 2s) - 0.29(N_6 2p_y)$ $+0.19(N_{10} 2s) + 0.41(C_{12} 2s) - 0.17(C_{12} 2p_y) + 0.47(O_{13} 2s)$ $-0.23(O_{15} 2s)$
-0.9781	$+0.19(C_1 2p_x) + 0.21(N_6 2s) + 0.22(N_{10} 2s) - 0.17(C_{12} 2s)$ $+0.20((C_{12} 2p_y) - 0.28(O_{13} 2s) - 0.25(O_{15} 2s)$
-0.9088	$-0.15(C_{12} 2p_y) + 0.18(C_{12} 2p_x) + 0.27(O_{13} 2s) + 0.34(O_{15} 2s)$
-0.6902	$-0.32(N_6 2s) + 0.20(C_{12} 2p_y) - 0.23(O_{13} 2s) + 0.31(O_{15} 2s)$
-0.6113	$-0.43(N_6 2p_x) - 0.33(C_{12} 2p_x) + 0.20(O_{15} 2p_x)$
-0.2871	$+0.16(C_1 2p_x) + 0.43(O_3 2p_x) - 0.43(O_{15} 2p_x)$
-0.1896	$-0.14(C_1 2p_y) - 0.20(C_1 2p_x) + 0.52(O_{15} 2p_y) + 0.32(O_{15} 2p_x)$
-0.1663	$-0.24(C_1 2p_x) + 0.35(O_{15} 2p_x)$
-0.1558	$+0.19(N_6 2p_x) - 0.35(C_{12} 2p_x) - 0.44(O_{13} 2p_x) - 0.53(O_{15} 2p_x)$ $-0.42(O_{15} 2p_y)$
-0.0668	$+0.39(N_6 2p_x) - 0.16(C_{12} 2p_x) - 0.57(O_{13} 2p_x) + 0.42(O_{15} 2p_x)$ $+0.31(O_{15} 2p_y)$
-0.0027	$-0.77(O_3 2p_x) - 0.47(O_{15} 2p_x)$ (HOMO)

中也可能存在同样的效应。

此外,由表4可以看到过渡态的最高充满轨道(HOMO)主要由 $O_3 2p_x$ 和 $O_{15} 2p_x$ 所组成。这种很不稳定的反键轨道结合极易转变为稳定的酯键,并伴随着 C_1-N_{10} 键的打开(图4),正好完成了亲核反应。这表明过渡态模型是比较接近实际情况的,并再次提示当 $\phi = 110^\circ$ 时很可能是青霉素分子的药效构象。

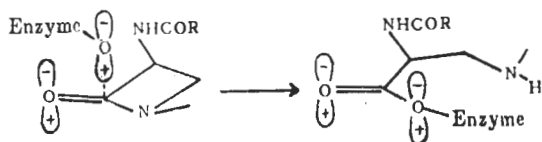


Fig 4. Transformation of the highest occupied molecular orbital from β transition state to an ester bond when penicillins react with enzyme-ser-OH in the active center.

参 考 文 献

- 1 王治中、李向东. 半经验分子轨道理论与实践. 第1版. 北京: 科学出版社, 1981: 231-66
- 2 Pitt GJ. A refinement of the crystal structure

of potassium benzylpenicillin. *Acta Cryst* 1952; 5: 770

- 3 Pople JA, Beveridge DL. *Approximate molecular orbital theory*. 1st ed. NY: McGraw-Hill, 1970: 131-3
- 4 Waxman DJ, Strominger JL. Penicillin-binding proteins and the mechanism of action of β -lactam antibiotics. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 825
- 5 李在威、杨 频. 青霉素结合蛋白的结构功能与 β -内酰胺抗生素作用机理研究进展. *生物化学与生物物理进展* 1986; (4): 22
- 6 Boyd DB, Hermann RB, Presti DE, Marsh MM. Electronic structure of cephalosporins and penicillins: 4, modeling acylation by the β -lactam ring. *J Med Chem* 1975; 18: 408
- 7 Proctor P, Gensmantel NP, Page MI. The chemical reactivity of penicillins and other β -lactam antibiotics. *J Chem Soc Perkin Trans II* 1982; 1185
- 8 戴自英. 实用抗菌素学. 第1版. 上海: 上海人民出版社, 1977: 16-7
- 9 Blanpain PC, Nagy JB, Laurent GH, Durat FV. A multifaceted approach to the study of the side-chain conformation in β -lactamase-resistant penicillins. *J Med Chem* 1980; 23: 1283

Calculations of quantum chemistry for the relationship between 6 β -amido and antibacterial activity in penicillins

LI Zai-Wei, YANG Pin

(*Institute of Molecular Science, Shanxi University, Taiyuan 030006*)

ABSTRACT The calculations by CNDO/2 procedure of molecular orbital theory indicated that the substituted 6 β -amido in penicillins markedly enhanced the hydrolysis reactivity and antibacterial activity of β -lactam and influenced on the direction of nucleophilic attack upon β -lactam.

The conformation in which orientation angle of the 6 β -amido equals to 110° was the best pharmacophoric one but not stable.

The calculated results consisted with previous experiments. This influence is an approximation effect and results from the forming of bonding between nucleophile and two proximate amides simultaneously.

KEY WORDS penicillins; molecular orbital calculations; structure-activity relationship; conformation of side-chain; approximation effect