

NGHIÊN CỨU CƠ CHẾ PHẢN ỨNG AXYL HÓA GIỮA MÔ HÌNH TƯƠNG TỰ NITROCEFİN VỚI PBP2A BẰNG PHƯƠNG PHÁP HÓA HỌC LƯỢNG TỬ

Nguyễn Họa Mi*, Trần Thị Kim Phượng, Nguyễn Thị Ngọc Hồng,
Phạm Trọng Lâm, Phạm Quang Trung

Trung tâm Ứng dụng Tin học Trong Hóa học, Khoa Hóa học
Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Đến Tòa soạn 30-12-2015; chấp nhận đăng 19-02-2016

Abstract

As shown in our previous reports, nitrocefın has much better strength than methicillin to inhibit PBP2a enzyme of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in acylation reaction. In this study we focus on the inhibition mechanism of nitrocefın-like structures as well as modified nitrocefın (NC1') in acylation reactions with the PBP2a in order to find the structures with improved inhibition strengths. NC1' have the six member-ring β -lactam structure as in nitrocefın (NC1), and the substituent group in NC1' is simple. QM calculations are performed at the B3LYP/6-31G* level. The results show that the barrier energy for the acylation reaction of NC1' is lower than that of MC1 in the reaction with PBP2a. The mechanism of the reaction is discussed in details in this report.

Keywords. Inhibit, PBP2a, β -lactam, nitrocefın, methicillin.

1. MỞ ĐẦU

Staphylococcus aureus (SA) hay còn gọi là vi khuẩn tụ cầu vàng - một loại vi khuẩn gây bệnh và là nguyên nhân phổ biến của bệnh nhiễm trùng tụ cầu khuẩn [1-4]. Tuy vậy SA không ngừng tiến hóa biến đổi kháng thuốc kháng sinh beta-lactam như là methicillin. Hiện nay đã xuất hiện chủng MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) kháng tất cả các loại kháng sinh beta-lactam mạnh nhất, yêu cầu có thuốc mới điều trị hiệu quả chủng kháng thuốc này là rất cấp bách. Theo các công trình đã công bố của các tác giả Lim và Strynadka [1], MRSA có chứa enzym PBP2a xúc tác xây thành tế bào có liên kết cộng hóa trị rất chặt chẽ với β -lactam nhưng ngay ở nồng độ β -lactam gây chết người hoạt động xây thành tế bào vẫn diễn ra và vi khuẩn không bị tiêu diệt. Nghiên cứu cơ chế kháng thuốc là việc làm cần thiết trong việc tìm kiếm các thuốc kháng sinh mới thụ động MRSA hiệu quả hơn. Trong các công trình trước đây của chúng tôi [2-4]... chi tiết của cơ chế tương tác cộng hóa trị giữa methicillin và nitrocefın với PBP2a đã được tính toán và công bố. Trong đó sự khác nhau trong cơ chế và khả năng ức chế PBP2a của Nitrocefın so với Methicillin là do một số nguyên nhân sau:

a) Sự khác biệt góc căng của vòng bốn cạnh

trong MC1 so với NC1, cụ thể là sức căng vòng 4 cạnh của NC1 lớn hơn MC1 khiến cho liên kết N-C của vòng 4 cạnh trong β -lactam của NC1 được phân tách dễ dàng hơn.

b) Cấu trúc trạng thái trung gian (Int') của NC1 là rất ổn định do các electron π liên hợp, phản ứng axyl hóa giữa NC1 với PBP2a được bền hóa cộng hưởng lớn hơn.

Do những đặc điểm khác biệt về cấu trúc trên dẫn đến tính chất tốt hơn của Nitrocefın trong phản ứng axyl hóa PBP2a. Trong bài báo này chúng tôi thay đổi cấu trúc của Nitrocefın bằng cách giữ nguyên cấu trúc là vòng 4 cạnh và vòng 6 cạnh, nhóm thế được thay bằng nhóm thế đơn giản hơn (hình 5). Việc làm này nhằm tìm kiếm một chất có khả năng phản ứng cộng hóa trị với PBP2a tốt hơn Methicillin và khẳng định ưu điểm từ khác biệt cấu trúc vòng 6 cạnh so với vòng 5 cạnh trong cấu trúc của NC1' bằng các phương pháp tính toán lý thuyết.

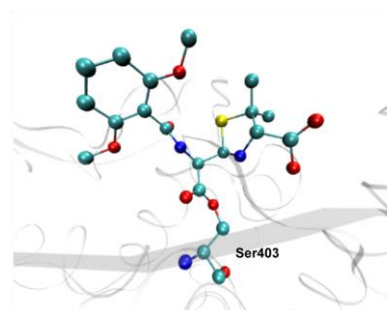
2. PHƯƠNG PHÁP TÍNH

Nghiên cứu cơ chế phản ứng giữa NC1' với mô hình PBP2a bằng các phương pháp cơ học lượng tử, các tính toán được thực hiện trong pha khí trên hệ thống tính toán hiệu năng cao của Đại học Kyoto. Về mặt lý thuyết, quá trình hình thành và phá vỡ liên

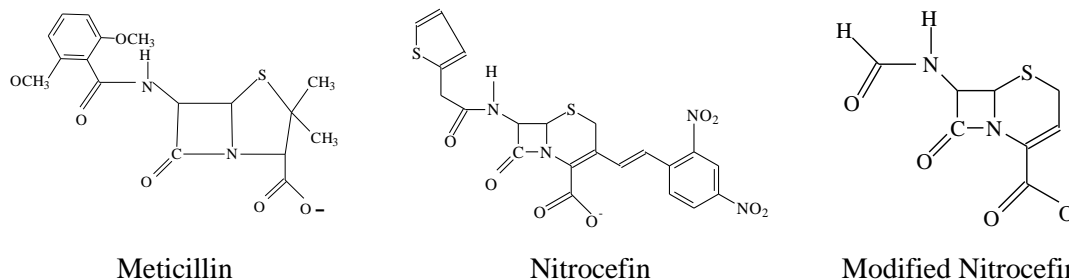
kết trong vòng lactam của phản ứng axyl hóa giữa Methicillin (MC1), Nitrocefim (NC1), Modified Nitrocefim (hình 2) và mô hình PBP2a được thực hiện ở mức B3LYP/6-31G* cho vùng QM. Để tìm bề mặt thế năng của phản ứng, các tính toán quét hồi phục được thực hiện bằng cách cố định một khoảng cách xác định có thể được giả định như là một tọa độ phản ứng trong khi tối ưu hóa tất cả các tọa độ khác. Sau đó, tối ưu hóa hình học đầy đủ được thực hiện cho các trạng thái trung gian hoặc các trạng thái chuyển tiếp. Tính toán năng lượng điểm không - được thực hiện.

Một cấu trúc tinh thể của PBP2a (PDB mã là 1MWU) đã được sử dụng như một điểm khởi đầu của nghiên cứu [1], chỉ có chuỗi A của enzym được giữ lại. Hình 1 chỉ ra cấu trúc tâm hoạt động của phức axyl giữa phối tử MC1 và PBP2a, tương ứng với sản phẩm của phản ứng. Trong tệp PDB, Ser403

và phối tử MC1 được xác định như là một axit amin đơn với số thứ tự là 403. Axit amin này được chia thành hai axit amin riêng biệt. Ser403 được xây dựng thành mô hình CH₃OH trong tính toán lượng tử (*Quantum mechanics QM*).



Hình 1: Cấu trúc X-ray phức axyl hóa PBP2a với MC1 (mã trong PDB là 1MWU)



Meticillin

Nitrocefim

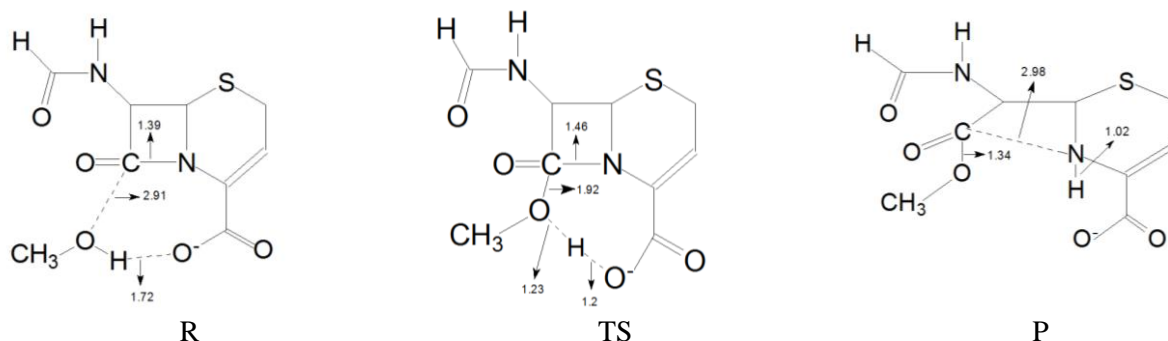
Modified Nitrocefim

Hình 2: Các cơ chất MC1, NC1 và Modified Nitrocefim (NC1')

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Các tính toán chúng tôi giả thiết tiến trình phản ứng NC1' với CH₃OH xảy ra theo một bước. Liên kết C-O được hình thành kéo theo đồng thời với quá trình Hidro chuyển từ nhóm (OH) của Ser403 sang N của vòng 4 cạnh và sự phân cắt N-C của vòng 4 cạnh cũng xảy ra. Cơ chế của phản ứng NC1' là

tương tự như MC1 ở một số khía cạnh, nhưng cũng có những điểm khác nhau. Ngay trong bước đầu tiên của phản ứng giữa NC1' và mô hình Ser403, liên kết C-O được hình thành tuy nhiên liên kết N-C trong vòng bốn cạnh dễ dàng bị phá vỡ. Proton được chuyển từ nhóm (OH) của Ser403 tới nguyên tử nitơ để tạo thành sản phẩm cuối cùng (P) trong phản ứng NC1'.



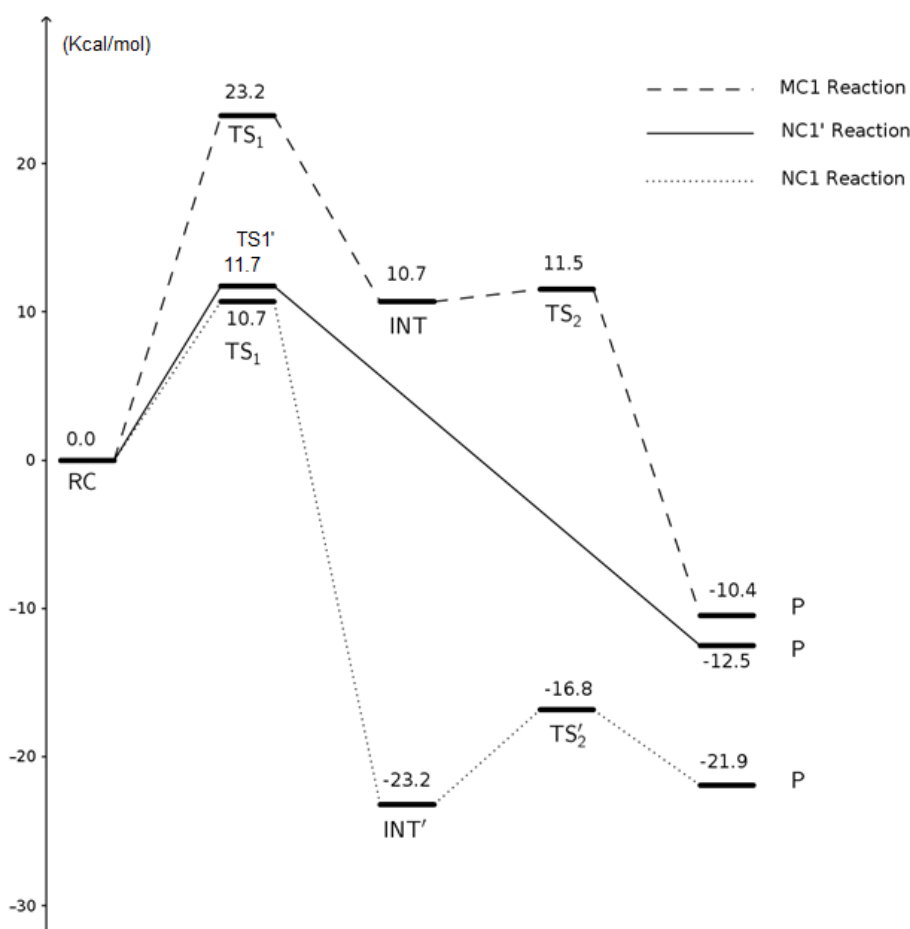
Hình 3: Các cấu hình tối ưu (các khoảng cách liên kết đơn vị là Å) trong phản ứng của NC1' với PBP2a trong mô hình QM tâm hoạt hóa

Theo các công trình [2-4], sự khác biệt cơ bản giữa MC1 và NC1 trong phản ứng với PBP2a là ở

hàng rào năng lượng của phản ứng hình thành liên kết C-O (C của vòng 4 cạnh của β -lactam và O của

Ser403 của PBP2a). Trong đó phản ứng của tác nhân MC1 cao hơn đối với tác nhân NC1 là 12,5 kcal/mol. Trong các nghiên cứu trên chỉ ra hàng rào năng lượng trong phản ứng của tác nhân MC1 cao hơn NC1 là do vòng 6 cạnh trong NC1 là mấu chốt của việc giảm hàng rào thế năng ở bước phản ứng axyl đầu tiên hình thành liên kết C-O. Kết quả của nghiên cứu này hình 4 chỉ ra hàng rào năng lượng trong phản ứng của tác nhân MC1 cao hơn NC1' là 11,5

kcal/mol. Như vậy vòng 6 cạnh được giữ lại trong NC1' đã đóng góp vào việc giảm hàng rào thế năng ở bước phản ứng axyl đầu tiên là hình thành liên kết C-O với PBP2a [5]. Hàng rào của mô hình tác nhân NC1' ở bước này thấp hơn nhiều so với MC1. Như vậy, trong thiết kế các β -lactam mới để tăng tốc độ trong phản ứng axyl hóa với PBP2a cần lưu ý đến cấu trúc vòng 6 cạnh trong đó đã làm giảm đáng kể tốc độ phản ứng.



Hình 4: Đường năng lượng phản ứng của các mô hình vùng QM

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu các phản ứng axyl hóa của các phối tử MC1 và NC1' với enzyme PBP2a chỉ ra rằng cơ chế của quá trình axyl hóa của tác nhân NC1' là khác so với của MC1 là do hàng rào thế năng bước đầu tiên của phối tử MC1 cao hơn NC1', sau bước đầu tiên vòng 4 cạnh của NC1' đã bị phá vỡ đến sản phẩm cuối. Như vậy NC1' đã cải thiện đáng kể khả năng phản ứng axyl hóa. Như vậy để cải thiện hoạt tính ức chế của MC1 đây là một mục tiêu mà khi thiết kế cấu trúc nên tập trung vào. Bước axyl hóa cải thiện hàng rào hoạt hóa cho phản ứng axyl hóa giữa β -lactam và Ser403 cần được hạ xuống. Về bản chất, yếu tố quyết định chìa khóa của chiều cao hàng

rào là sự căng vòng và hiệu ứng cộng hưởng [4]. Các khía cạnh này có thể không được kiểm tra với các phương pháp gắn kết thông thường. Thay vào đó, việc sử dụng các phương pháp cơ học lượng tử là cần thiết, và chúng tôi tin rằng đây sẽ là cách thiết kế các loại thuốc hỗ trợ bằng máy tính trong tương lai.

Lời cảm ơn. Tác giả chân thành cảm ơn giáo sư Keiji Morokuma, Đại học Kyoto đã cho sử dụng phần mềm và máy tính hiệu năng cao để thực hiện các tính toán trong bài báo này. Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ phát triển khoa học và công nghệ quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 104.06-2013.68.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lim D., Strynadka N. C. J. *Structural Basis for the β -Lactam Resistance of PBP2a from Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus*, Nature Struct. Biol., **9**, 870-876 (2002).
2. Nguyễn Hòa Mi, Dang Ung Van. *Study on The Mechanism for the Reaction of PBP2a with β -lactam Inhibitors by ONIOM Method*, Vietnam Journal of Chemistry, **48(4B)**, 538-543 (2010).
3. Nguyễn Hòa Mi, Đặng Ứng Vận. *Tính toán năng lượng tự do gắn kết nitrocefim và metixilin lên các cấu trúc khác nhau của PBP2a*, Tạp chí Hóa học, **49(2ABC)**, 467-471 (2011).
4. H. M. Nguyen, H. Hajime, U. V. Dang, K. Morokuma. *Computational Studies of Bacterial Resistance to β -Lactam Antibiotics: Mechanism of Covalent Inhibition of the Penicillin-Binding Protein 2a (PBP2a)*, J. Chem. Inf. Model, 51, DOI: 10.1021/ci2004175, 3226-3234 (2011).
5. Fuda C., Heseck D., Lee M., Heilmayer W., Novak R., Vakulenko S. B., Mobashery S. *Mechanistic Basis for the Action of New Cephalosporin Antibiotics Effective Against Methicillin- and Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus*, J. Biol. Chem., **281**, 10035-10041 (2006).
6. Frank D. N., Feazel L. M., Bessesen M. T., Price C. S., Janoff E. N., Pace N. R. *The Human Nasal Microbiota and Staphylococcus aureus Carriage*, PLoS One, **5**, e10598 (2010).
7. Wertheim H. F. L., Melles D. C., Vos M. C., van Leeuwen W., van Belkum A., Verbrugh H. A., Nouwen J. L. *The Role of Nasal Carriage in Staphylococcus Aureus Infections*, Lancet Infect. Dis, **5**, 751-762 (2005).
8. Zhao G., Meier T. I., Hoskins J., McAllister K. A. *Identification and Characterization of the Penicillin-Binding Protein 2a of Streptococcus pneumoniae and its Possible Role in Resistance to β -Lactam Antibiotics*, Antimicrob. Agents Chemother, **44**, 1745-1748 (2000).
9. Graves-Woodward K., Pratt R. F. *Reaction of Soluble Penicillin-Binding Protein 2a of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus with β -Lactams and Acyclic Substrates: Kinetics in Homogeneous Solution*, Biochem. J., **332**, 755-761 (1998).

Liên hệ: Nguyễn Hòa Mi

Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học tự nhiên
Đại học Quốc gia Hà Nội
Số 19, Lê Thánh Tông, Hoàn Kiếm, Hà Nội
E-mail: minguyenhoa@gmail.com.