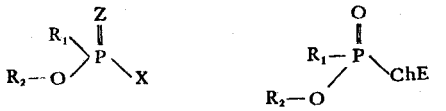
有机磷酸酯结构与中毒乙酰胆碱酯酶老化速度关系的分子轨道理论分析

吴 加 金

(军事医学科学院基础医学研究所)

关于梭曼及其他有机磷酸酯中毒的乙酰胆碱酯酶（AChE）的老化问题已有许多研究[1,2,3,5]。也提出几种关于老化机制的解释[4,5,6]。有机磷毒剂结构通式及中毒酶表示在图1。为了讨论方便，把梭曼和沙林各原子给以标号如图2。



有机磷毒剂　　中毒酶

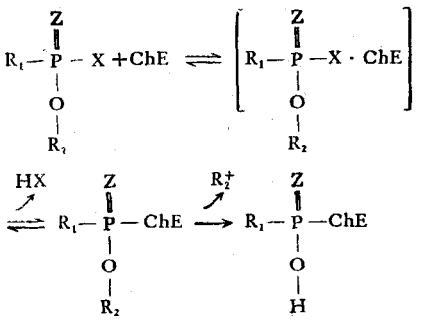
图 1　有机磷毒剂结构通式及中毒酶

R_1 和 R_2 表示烷基，Z 为O或S

X 为离开基团，如——$SCH_2CH_2N(C_2H_5)_2$

ACHE 表示乙酰胆碱酯酶。

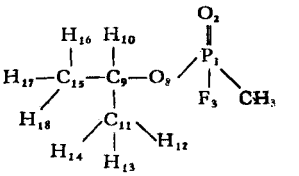
所谓中毒酶的老化是中毒酶从可以重活化状态过渡到不能重活化状态，其实质是脱烷基的过程。反应过程如下：



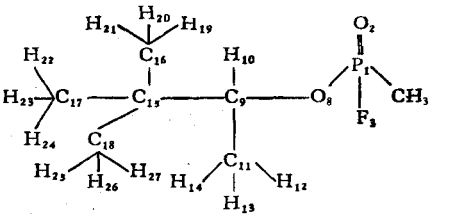
有机磷酸酯中毒引起乙酰胆碱酯酶的老化，其速度随毒剂结构不同而变化，即随烷氧基基团的大小及取代位置不同而变化，如表1所示。其变化规律可归纳如下：

1. 中毒酶的老化速度与α碳（如图2中C_9）上的取代情况有关。如表1中，代号 G_1、G_2、G_3、G_4、G_5 分子其α碳的氢被一个甲基取代，这些分子中毒酶老化速度比α碳的氢没有被取代的 G_9，G_{10}，G_{11}，G_{12} 分子快。

2. G_{15} 的三个氢分别被甲基取代时，其中毒酶的老化速度为：三个氢全被取代的 G_1 快于二个氢被取代 G_2，G_2 快于一个被取代的 G_3，G_3 快于没有被取代的 G_5。



沙林



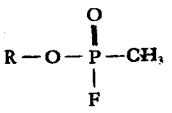
梭曼

图 2　沙林、梭曼烷基各原子标号

3. C_{15} 的三个氢被其他形式取代时，其中毒酶的老化速度和完全没有被取代的沙林相近如 G_4 和 G_8。

由此可见有机磷中毒酶的老化速度与有机磷毒剂的结构之间的变化规律有关。因此有必要进一步探讨与这种"老化速度"有关的是毒剂分子的那些物理、化学参数，并如何根据这些参数理解老化现象。然而这些物理化学参数是间接的，还不能代表中毒酶上有机磷残基的物化参数的变化。为此我们利用分子轨道理论计算

表 1 梭曼及其同系物中毒酶的老化速度数据[13]



代号	R 基 团	自动恢复(2)	老化速度(1)	半老化期(小时)
G_1	$CH_3-C(CH_3)_2-CH(CH_3)-$（梭曼）	−	++	<0.04
G_2	$CH_3-CH(CH_3)-CH(CH_3)-$		+	0.2
G_3	$CH_3-CH_2-CH(CH_3)-$		+	0.47
G_4	$CH_3-CH_2-CH_2-CH(CH_3)-$		+	0.60
G_5	$CH_3-CH(CH_3)-$（沙林）		+	12
G_6	$CH_3-C(CH_3)_2-$		+	…
G_7	$H-CH(CH_3)-$		+	60
G_8	$CH_3-CH(CH_3)-CH_2-CH(CH_3)-$		+	…
G_9	$CH_3-CH(CH_3)-CH(CH_3)-CH_2-$	+	−	…
G_{10}	$CH_3-CH_2-CH_2-CH_2-$	+	−	60
G_{11}	$CH_3-CH(CH_3)-CH_2-$	+	−	60
G_{12}	$CH_3-C(CH_3)_2-CH_2-$	+	−	60

注：(1) "++"表示老化迅速，"+"有老化，"−"老化极慢。
(2) 自动恢复栏中"+"表示能自动恢复，"−"表示不能自动恢复。

方法研究这系列有机磷毒剂分子，现将研究结果介绍如下：

一、计算方法和分子结构参数的选择

分子轨道理论计算方法很多，由于毒剂分子属于中等大小分子，选择 CNDO/2 分子轨道理论的计算方法并在 DJS-8 和 DJS-6 计算机上计算[10,11]。由于梭曼及其他有机磷酸酯的分子构象是空间展开类型，用分子轨道理论研究计算分子各种参数时，最好选用最优势空间构象的分子结构参数。如键长，键角，二面角等可根据实际测量，或通过计算求其能量最低的分子构象数据。因没有实测值，我们计算时参考相近的实验结构参数[7,8,9]，再对部分二面角作部分改变，从中选出分子能量较低即较稳定的空间构象，力求计算接近最优势分子构象。

二、计算结果和讨论

由于梭曼及其同系物的膦酰化 AChE 的老化是烷基脱落过程，并且烷基脱落的速度即老化速度与烷基大小及取代位置有关，因此对梭曼及其同系毒剂分子的分子轨道计算中，侧重分析与老化速度有关的一些参数。

1. 酯氧键键能即 O_8—C_9 键键能 多数研究者认为膦酰化 AChE 的烷基脱落是 O_8—C_9 键或称酯氧键的断裂形成正碳离子。按照这个观点，毒剂结构变化对中毒酶老化速度的影响应反映在 O_8—C_9 键键能上。因为键能是反映两原子成键稳定的程度。键能低于正常值的键易于断裂。

根据分子轨道理论的 SCF 方程，分子总能量中任何两原子之间的能量代表这两原子之间的键能。按照刘靖疆[10]等的研究结果，单键 EAB ≃ −1，当 |EAB| < 1，表示此单键受削弱，当 |EAB| > 1，表示此单键被增强，对于双键和三键，EAB ≃ −1.7 和 −2.3。

按照上面讨论，对表 1 所列有机磷毒剂分子分别计算 O_8—C_9 键键能，结果列于表 2。可以看出，当 α 碳上的一个氢原子被甲基取代后，O_8—C_9 键键能被削弱，也就是说 G_7、G_9、G_{10}、G_{11}、G_{12} 这五个分子其 α 碳的二个氢都没有被取代，因此削弱不明显，O_8—C_9 键键能为 0.99。

分子 G_1、G_2、G_3、G_4、G_5、G_6、G_8他们的α碳上的一个氢被甲基取代，故其键能被明显削弱，其 O_8—C_9 键键能约为 0.97。这两组分子相比，键能被削弱约 0.020。将这些数据和老化速度相比较，不难看出，凡 O_8—C_9 键被削弱，就有老化现象，如 G_1、G_2、G_3、G_4、G_5、G_6、G_8 等毒剂中毒的酶都有老化现象，而 G_9、G_{10}、G_{11}、G_{12}，他们的 O_8—C_9 键几乎没有被削弱，故其中毒酶的老化极慢(或无老化)。把 G_1 和 G_{12} 作比较，G_1 的α碳的一个氢被甲基取代，G_{12} 的α碳的氢没有被取代，但 G_1 的中毒酶老化极迅速且无自动恢复，而 G_{12} 中毒酶却老化极慢(或无老化)且能自动恢复，由此可见α碳原子的氢被甲基取代后，削弱了 O_8—C_9 键键能。这是影响有机磷毒剂中毒的 AChE 老化速度的重要因素之一。同样结论也可在分子 G_4 和 G_{10}、G_2 和 G_{11} 得出。这些都说明 O_8—C_9 键键能大小对有机磷中毒的 AChE 的老化速度有重要影响。

表 2 各分子烷氧键键能

分子代号	烷氧键键能 (Au)	老化速度
G_1	−0.9771	++
G_2	−0.9767	+
G_3	−0.9765	+
G_4	−0.9714	+
G_5	−0.9760	+
G_6	−0.9574	+
G_7	−0.9907	+
G_8	−0.9718	+
G_9	−0.9920	+
G_{10}	−0.9937	−
G_{11}	−0.9959	−
G_{12}	−0.9955	−

2. 供电子能力 有机磷毒剂中毒AChE老化的过程可能由于被 AChE 自身的某些酸性基团所催化，在形成氢键时产生电子云转移，因此表现出供电子特性。衡量供电子能力有两个指标，第一是电荷密度分布状态及最高已占轨道能量。原子总电荷为负，说明它是亲核中心，HOMO 能量越高表示供电子能力越强。关于梭曼及其同系化合物各分子的 HOMO 能量及 O_8 上总电荷列于表 3。

表 3 各分子的 HOMO 能量超离域度和烷氧上总电荷

分子代号	HOMO 能量 (千卡/克分子)	超离域度 S_n	烷氧总电荷 (电子电荷)
G_1	−304.599	−8.3873	−0.1985
G_2	−307.445	−8.3912	−0.1942
G_3	−317.999	−8.404	−0.1945
G_4	−308.753	−8.3824	−0.1792
G_5	−322.616	−8.3686	−0.1940
G_6	−307.48	−8.4936	−0.1827
G_7	−304.70	−8.3685	−0.1776
G_8	−335.352	−8.2112	−0.1763
G_9	−311.586	−8.3035	−0.1741
G_{10}	−324.060	−8.2946	−0.1837
G_{11}	−325.253	−8.3239	−0.1840
G_{12}	−322.292	−8.2915	−0.1891

表 3 中的 G_1、G_2、G_3、G_5 四个分子其α碳构形一样，比较其 HOMO 能量可看出，随着 G_{15} 上的三个氢被取代个数的增加，HOMO 能量升高，如梭曼 (G_1) 的 HOMO 为 −304.599 千卡/克分子，比沙林的 HOMO 能量 −322.616 千卡/克分子高约 18 千卡/克分子。即前者的供电子能力大于后者。表 3 中，分子 G_1 和 G_{12}，G_2 和 G_{11}，G_4 和 G_{10} 其结构差别仅是α碳被取代的不同，比较它们的 HOMO 能量，可发现 G_1、G_2、G_4 的 HOMO 能量比 G_{12}，G_{11}，G_{10} 都高约 17 千卡/克分子。这也说明 G_1、G_2、G_4 的供电子能力比 G_{12}、G_{11}、G_{10} 大。促使 O—C 键受酶的催化更易于断裂，从而导致老化速度加快。理论计算也符合实验老化速度变化的规律。因此供电子能力可能也是老化速度不同的原因之一。从结构角度看，α碳及 C_{15} 原子上的氢被甲基取代的不同，能引起分子供电子能力变化。

第二个衡量原子亲核性的指标是原子的超离域性 S_n。表 3 所列 O_8 的超离域度 S_n 值没有明显规律，可能此指标受构象影响较大之故。

3. 分子电荷的极化分布 造成梭曼及其同系毒剂中毒的 AChE 老化速度不同，还有一个因素是分子极化性质。

如果把计算所求得的梭曼及其同系物整个分子的电荷分布从 O_8—C_9 键之间分开，把烷基部分净电荷总和的结果列于表 4，整体讲梭曼等分子的烷基部分略带正电性，膦酸酯部分

带负电性，形成极化性质的电荷分布。正电性的烷基和胆碱脂酶的阴离子部位之间的静电作用可能是促使烷基从磷酰化酶脱落的一种外部力量。如果把 C_9 及其相应取代甲基从整个烷基中划去，把其余剩下部分烷基计算它的总的电荷，所得结果也列于表 4。由表 4 可见，这部分烷基的电荷也略带正电性，其所带正电荷随 C_{15} 取代的甲基数目呈有规律变化；即 G_1 正电性大些，G_2 及 G_3 略小，G_5 更小，其他分子只要部分烷基结构类似于 G_1、G_2、G_3 等，其部分烷基电荷数值大小也类似，如同 G_1 和 G_{12} 的部分烷基大小。因此这个部分烷基总的净电荷都为 0.024—0.025 左右。G_2 和 G_{11} 的部分烷基总电荷也几乎都为 0.02 左右。这种净电荷的差别及它和酶的阴离子相互作用，可能导致 O_8—C_9 键断裂的静电力的差别，进而导致老化速度不同。结果在 α 碳取代相同条件下，如 G_1、G_2、G_3、G_5 这些分子，其 O—C 键键能几乎相同，但其部分烷基总的净电荷有差别。从部分烷基所带电性及其和乙酰胆碱脂酶阴离子的相互静电作用看，梭曼的部分烷基或酶的阴离子部位的静电作用比沙林强。这可能是导致梭曼中毒酶的脱烷基速度比沙林中毒酶快的又一原因。其他分子也可类推。

表 4　各分子烷基总电荷

分子代号	烷基总电荷	部分烷基总电荷
G_1	0.1928	0.0257
G_2	0.1962	0.0201
G_3	0.1944	0.0142
G_4	0.1896	0.0059
G_5	0.1914	0.0056
G_6	0.2095	—
G_7	0.1712	0.0067
G_8	0.1869	0.0166
G_9	0.1773	0.0233
G_{10}	0.1760	0.0154
G_{11}	0.1804	0.0189
G_{12}	0.1791	0.0242

综上所述，可以得出这样的结论，即烷氧键键能的削弱，烷氧原子供电子能力的增强及烷基部分和酶阴离子部分相互作用，可能是有机磷中毒酶老化速度加速的重要因素。这是一种综合因素。但如果从实验得出老化速度与结构关系作比较，可能前面二因素更重要。因为从烷氧键键能及供电子特性有明显差别的分子 G_1 和 G_{12}，G_4 和 G_{10}，G_2 和 G_{11}，其中毒酶老化速度的差别远比烷基部分正电性有差别的 G_1 和 G_5 中毒老化速度大得多。

以上研究影响老化速度问题仅限于毒剂分子本身的内在因素，至于膦酰化酶本身及其环境因素、空间构象因素也极重要。

本文是由周廷冲教授建议并参加讨论，肖美珍、孙曼霁同志提供部分文献资料，工作上还得到王世椿教授的支持，在此表示感谢。

参 考 文 献

[1] Oosterhann. R. A. et al.: *Proc. 4th intl. Congr. Biochem. Vienna, Abst. Section*, 4612, 38, 1958.

[2] Berends, F. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 34, 576, 1959.

[3] Jansj, H. S. et al.: *Proc. 5th Intl. Congr. Biochem. Moscow Symp.*, 1, 45, 1961.

[4] Fuhuto, T. R.: *Neurotoxicology of Insecticides and Pheromones* (Ed. by Toshio Narahashi) 277, 1978.

[5] Boskovic, B. et al.: *Biochemical pharmacology*, 17, 1738, 1968.

[6] Man-Chi sun et al.: *Eur. J. Biochem.*, 100, 527, 1979.

[7] Marlin, D. H. et al.: *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 8(3) 619, 1979.

[8] Collomon, J. H. et al.: *Structure Data of Free Polyatomic Molecules*, 7, 201, 1976.

[9] Кагинин, А. Е.: Журнал Струятуной химий, том. 16 (6)1041, 1975.

[10] 刘靖疆等：《分子轨道理论中成键情况的描写——键级函数》(内部资料)。

[11] 迟翰林：《在 DJS-8 机上 CNDO/2 的程序设计》(内部通信)。

[12] Beery, W. K. et al.: *Biochem. J.*, 100, 572, 1966.

[本文于 1981 年 4 月 20 日收到]