

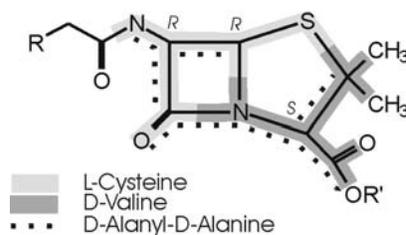
# Kapitel 5

## Penicillinderivate

### 5.1 Motivation

Obwohl es im Bereich der Antibiotika inzwischen eine ganze Reihe sehr unterschiedlicher Wirkstoffklassen gibt, spielen die Penicilline noch immer eine herausragende Rolle. Entdeckt wurden sie 1929 von A. Fleming [99], der dafür 1945 zusammen mit H. W. Florey und E. B. Chain mit dem Nobelpreis für Physiologie und Medizin ausgezeichnet wurde.

Das Grundgerüst der Penicilline besteht aus einem bicyklischen Dipeptid aus Cystein und Valin, der sog. 6-Aminopenicillansäure. Sie enthalten einen Thiazolidinring, der mit einem viergliedrigen  $\beta$ -Lactamring kondensiert ist. In Abbildung 5.1 ist das Penicillingrundgerüst dargestellt, dabei sind die einzelnen Aminosäuren hervorgehoben. Zusätzlich ist zu erkennen, daß das Dipeptid D-Alanyl-D-alanin ebenfalls in den Penicillinen als Strukturfragment enthalten ist.



**Abbildung 5.1:** Grundgerüst der Penicilline

Wie auch die anderen Vertreter der Substanzklasse der  $\beta$ -Lactam-Antibiotika sind Penicilline bakterizid, indem sie den Aufbau der bakteriellen Zellwand verhindern. Diese

besteht im wesentlichen aus einem einzigen Makromolekül, dem Murein (oder Peptidoglycan). Dieses ist aus linearen Polysaccharidketten aufgebaut, die durch kurze Peptide quervernetzt sind. Der Wirkungsmechanismus der Penicilline und der anderen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika basiert auf der Hemmung der D-Alanin-Transpeptidase. Dieses Enzym verknüpft im letzten Schritt der Mureinsynthese Pentapeptide, die terminale D-Alanyl-D-alanin-Reste enthalten, mit Glycin-Resten des Glycans, unter Abspaltung eines Moleküls D-Alanin, was die Quervernetzung des Mureins zur Folge hat. Aufgrund der strukturellen Ähnlichkeit der Penicilline zu D-Alanyl-D-alanin (Abbildung 5.1) wirken sie als Substratanaloga. Durch Öffnung des  $\beta$ -Lactamrings binden sie irreversibel an das aktive Zentrum der D-Alanin-Transpeptidase, wodurch diese ihre katalytische Aktivität verliert, die bakterielle Zellwandsynthese verhindert wird und das Bakterium abstirbt [100, 101].

Die Penicillin- bzw.  $\beta$ -Lactamantibiotikaresistenz beruht in den meisten Fällen auf einem sehr ähnlichen Mechanismus. Resistente Bakterienstämme besitzen die sog.  $\beta$ -Lactamasen, die wie die D-Alanin-Transpeptidasen zur Gruppe der penicillinbindenden Proteine (PBP) gehören. Wie diese besitzen sie ebenfalls ein Serin im aktiven Zentrum, dessen Hydroxylgruppe die aktive C–N-Bindung im  $\beta$ -Lactam hydrolysieren kann. Diese Bindung ist jedoch nicht stark und wird in einem weiteren Schritt durch freies Wasser hydrolysiert, wobei einerseits das Enzym zurückgebildet wird und aus dem  $\beta$ -Lactam eine  $\beta$ -Aminosäure entsteht. Diese hat keinen Einfluß mehr auf die bakterielle Zellwandsynthese und ist somit als Antibiotikum wirkungslos.

Struktur-Aktivitäts-Beziehungen an Penicillinen und anderen  $\beta$ -Lactamantibiotika ergaben bisher kein widerspruchsfreies Modell. Eine weitverbreitete These besagt, daß die bakterizide Aktivität mit der Bindungsstärke der Peptidbindung im  $\beta$ -Lactamring korreliert. Besitzt diese Bindung hauptsächlich Einfachbindungscharakter und ist dementsprechend das Stickstoffatom pyramidal substituiert ( $sp^3$ -hybridisiert), ist diese Bindung relativ schwach und wird leicht hydrolysiert. Besitzt sie mehr Doppelbindungscharakter und ist das Stickstoffatom eher planar ( $sp^2$ -hybridisiert), ist diese Bindung stärker. Sie wird dann nicht so leicht hydrolysiert und die Verbindung zeigt geringere bakterizide Aktivität [102]. Andere Arbeiten jedoch bringen die Aktivität in Zusammenhang mit der Konformation des Thiazolidinrings und der Stellung der Estergruppe (axial oder äquatorial). Jedoch widersprechen sich dabei die Autoren [103, 104], es gibt für beide Konformationen Beispiele.

Für die experimentelle Ladungsdichtestudie wurden die beiden Penicillinderivate Penamocillin und Penamocillin-1 $\beta$ -sulfoxid (Abbildung 5.2) ausgesucht, da es sich hierbei um ein aktives und ein inaktives Antibiotikum handelt, die sich nur dadurch unterscheiden, daß der Schwefel in der inaktiven Verbindung oxidiert ist.

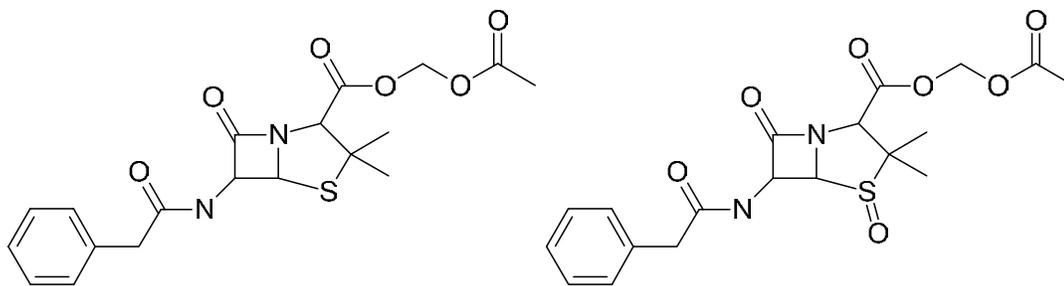


Abbildung 5.2: Penicillin und Penicillin-1 $\beta$ -sulfoxid

Labischinski et al. [105] versuchten, die sehr unterschiedliche Aktivität dieser beiden Moleküle hinsichtlich ihrer Struktur im Kristall zu erklären. Es zeigte sich, daß aufgrund der sehr ähnlichen Bindungslängen der Peptidbindung im  $\beta$ -Lactamring deren Bindungsstärke keinen wesentlichen Einfluß auf die Reaktivität haben kann. Sie führen deshalb die Reaktivität auf die unterschiedliche Konformation des Thiazolidinrings zurück, was jedoch den Ergebnissen aus anderen Studien widerspricht [103, 104]. Da eine experimentelle Ladungsdichtestudie über rein geometrische Betrachtungen hinausgeht und eine quantitative Beschreibung der Elektronendichte im Kristall ermöglicht, erschienen diese beiden Verbindungen als ideale Kandidaten für eine solche Untersuchung.

## 5.2 Kristallpräparation & Messungen

Die beiden Penicillinderivate wurden von Dr. W. Gruszecki synthetisiert [106] und kristallisiert. Mit Hilfe von Filmaufnahmen und Profilschans an einem Vierkreisdiffraktometer wurden Kristalle guter Qualität ausgewählt. Die Messungen erfolgten am Meßplatz F1 am HASYLAB/DESY in Hamburg (Kapitel 2.7 und Tabelle 2.1) mit Wellenlängen von 0.5606 Å bzw. 0.5503 Å bei 100 K. Bei einer ersten Messung an Penicillin [107] mit einer kleineren Wellenlänge zeigte es sich, daß eine ganze Reihe von Reflexen niedriger Beugungsordnung durch den Primärstrahlfänger verdeckt wurden und daß sehr starke Reflexe den dynamischen Bereich der CCD-Kamera überschritten und deshalb falsch bzw. nicht beobachtet werden konnten. Aus diesem Grund wurde die Meßstrategie um eine weitere Kamerastellung ( $2\theta = 0^\circ$ ) mit vergrößertem Kristall-Detektor-Abstand erweitert. Zusätzlich wurde der sehr intensive Primärstrahl der Synchrotronquelle bei der Penicillinmessung mit 3 cm Aluminium und bei der Messung des Penicillin-1 $\beta$ -sulfoxid mit 1 cm Aluminium geschwächt. Die Messung des Sulfoxids erfolgte während eines sog. 2-Bunchbetriebes im HASYLAB, bei dem die

Primärstrahlenergie geringer als im Normalbetrieb ist. Die Meßstrategien der beiden Messungen wurden mit dem Programm ASTRO [26] geplant und finden sich in den Tabellen A.16 und A.17 auf den Seiten 122 und 122. Statistiken über die Vollständigkeit der beiden Datensätze sind in den Tabellen A.18 und A.19 zusammengefaßt. Die Messung wurde mit Hilfe des Programms SMART [26] durchgeführt und die Integration der Reflexe erfolgte mit dem Programm SAINT [26]. Aufgrund des sehr kleinen Absorptionskoeffizienten wurde keine Absorptionskorrektur durchgeführt. Effekte der anomalen Dispersion sind für organische Verbindungen, wie die Penicilline bei diesen kurzen Wellenlängen vernachlässigbar. Aus diesem Grund wurde bei der anschließenden Skalierung und Mittelung der Datensätze mit SORTAV [32] auch über die Friedel-Paare gemittelt, um die Redundanz zu erhöhen. Die durchschnittliche Redundanz der Daten betrug bezogen auf den gesamten Datensatz in beiden Fällen ungefähr drei. Die wichtigsten kristallographischen Daten sind in den Tabellen 5.1 und 5.2 zusammengefaßt.

### 5.3 Strukturen

Die Strukturen der beiden Antibiotika wurden erstmals von Labischinski et al. [105] beschrieben und werden durch diese Studie bestätigt. Die Strukturlösung erfolgte mit dem Programm SHELXS [77], sphärische Verfeinerungen wurden mit SHELXL [78] durchgeführt.

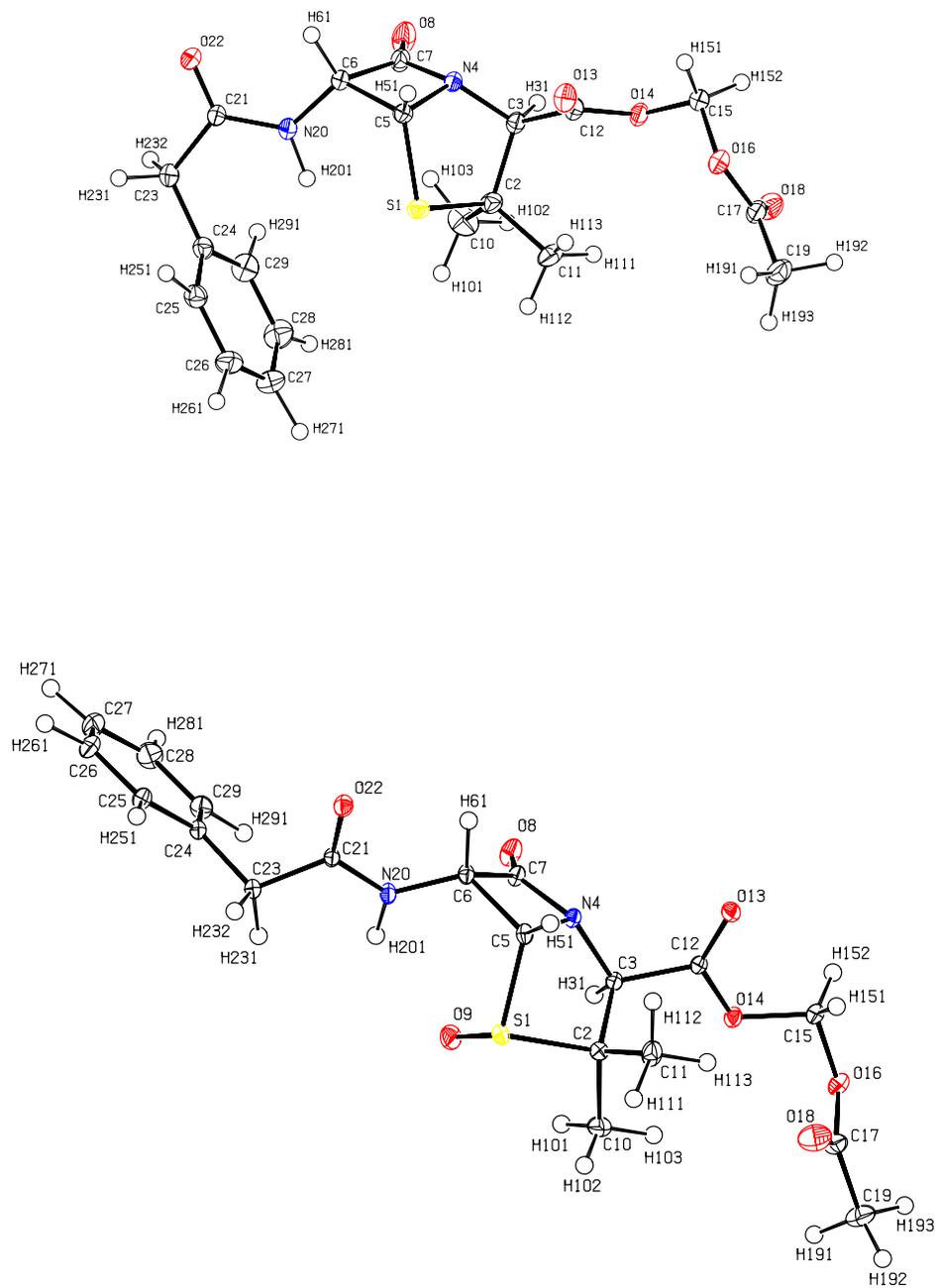
Obwohl sich beide Moleküle rein chemisch nur durch die Oxidation am Schwefel unterscheiden, sind die Konformationen im Kristall doch recht verschieden. Abbildung 5.3 zeigt ORTEP-Bilder und die in dieser Arbeit verwendeten Numerierungsschemata der beiden Verbindungen. Neben der zu erwartenden Flexibilität der Benzyl- und Estergruppen ist auch die Konformation des Thiazolidin-Fünfrings sehr unterschiedlich. In beiden Fällen handelt es sich um *envelope*-Konformationen. Im Penamecillin sind die Atome S1, C2, N4 und C5 fast coplanar (durchschnittliche Abweichung 0.01 Å), wobei C3 um 0.47 Å aus dieser Ebene herausragt (*out-of-plane*), während im inaktiven Sulfoxid die Atome C2, C3, N4 und C5 coplanar sind (durchschnittliche Abweichung 0.02 Å) und S1 als *out-of-plane*-Atom 0.89 Å von der Ringebene entfernt ist [105]. Bezüglich des Thiazolidinrings steht die Estergruppe des Penamecillins axial und im Sulfoxid äquatorial. Die  $\beta$ -Lactamringe der beiden Verbindungen sind fast planar und unterscheiden sich nur unwesentlich, der Torsionswinkel C5–C6–C7–N4 ist in beiden Verbindungen klein ( $-8.03(4)^\circ$  bzw.  $-10.04(4)^\circ$ ) und auch die Amidbindungen C7–N4 im  $\beta$ -Lactamring ähneln sich sehr mit 1.3829(9) Å im Penamecillin bzw. 1.3956(8) Å im Sulfoxid. In den Tabellen A.22 bis A.27 auf den Seiten 126 bis 131 sind die Bindungslängen, -winkel und

Summenformel	$C_{19}H_{22}N_2O_6S$
Formelmasse [ $g \cdot mol^{-1}$ ]	406.46
Kristallsystem	Monoklin
Raumgruppe	$P2_1$ (Nr. 4)
Z	2
Meßtemperatur [K]	100 (1)
Gitterkonstanten:	
$a$ [Å]	12.830(3)
$b$ [Å]	7.937(2)
$c$ [Å]	10.017(2)
$\alpha = \gamma$ [°]	90.0
$\beta$ [°]	104.67(3)
$V$ [Å <sup>3</sup> ]	986.7(4)
Dichte [ $g \cdot cm^{-3}$ ]	1.368
$F(000)$	428
Absorptionskoeffizient $\mu$ [ $mm^{-1}$ ]	0.11
Kristallgröße [mm]	$0.30 \times 0.25 \times 0.25$
Wellenlänge $\lambda$ [Å]	0.5606
max. $2\theta$ [°]	87.48
$(\sin \theta / \lambda)_{max}$ [Å <sup>-1</sup> ]	1.23
Grenzreflexe (nach Mittelung)	$-31 \leq h \leq 30, 0 \leq k \leq 19, 0 \leq l \leq 24$
Anzahl gemessener Reflexe	51081
davon symmetrieunabhängig	13926
davon mit $F_o > 2.5 \sigma (F_o)$	11991
Vollständigkeit	86.5 %
$R_{int}$	0.036

**Tabelle 5.1:** Experimentelle Daten der Penamecillinmessung

Summenformel	$C_{19}H_{22}N_2O_7S$
Formelmasse [ $g \cdot mol^{-1}$ ]	422.46
Kristallsystem	Monoklin
Raumgruppe	$C2$ (Nr. 5)
Z	4
Meßtemperatur [K]	100 (1)
Gitterkonstanten:	
$a$ [Å]	23.887(5)
$b$ [Å]	7.6533(15)
$c$ [Å]	12.435(3)
$\alpha = \gamma$ [°]	90.0
$\beta$ [°]	118.36(3)
$V$ [Å <sup>3</sup> ]	2000.4(9)
Dichte [ $g \cdot cm^{-3}$ ]	1.403
$F(000)$	888
Absorptionskoeffizient $\mu$ [ $mm^{-1}$ ]	0.11
Kristallgröße [mm]	$0.32 \times 0.25 \times 0.20$
Wellenlänge $\lambda$ [Å]	0.5503
max. $2\theta$ [°]	86.20
$(\sin \theta / \lambda)_{max}$ [Å <sup>-1</sup> ]	1.24
Grenzreflexe (nach Mittelung)	$-59 \leq h \leq 51, 0 \leq k \leq 18, 0 \leq l \leq 30$
Anzahl gemessener Reflexe	65555
davon symmetrieunabhängig	16133
davon mit $F_o > 2.5 \sigma(F_o)$	12688
Vollständigkeit	96.9 %
$R_{int}$	0.050

**Tabelle 5.2:** Experimentelle Daten der Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxidmessung



**Abbildung 5.3:** ORTEP-Abbildungen (50% Wahrscheinlichkeit) und Nummerierungsschemata von Penamycinin (oben) und Penamycinin-1 $\beta$ -sulfoxid (unten)

Torsionswinkel der beiden Strukturen zusammengefaßt.

## 5.4 Multipolverfeinerungen

Ausgehend vom sphärischen Modell aus der SHELXL-Verfeinerung wurden Multipolverfeinerungen mit dem Programm XDLSM aus dem XD-Programmpaket [28] durchgeführt. Da sich die beiden Moleküle nur durch den zusätzlichen Sauerstoff (O9) am Schwefel unterscheiden, ist es naheliegend, das gleiche Multipolmodell, also gleiche lokale Koordinatensysteme und Symmetrien und gleiche *chemical constraints* anzuwenden. So wurden *chemical constraints* für die Carbonyl-Sauerstoffe O8, O13, O18 und O22, die Ester-Sauerstoffe O14 und O16, die  $sp^3$ -hybridisierten Kohlenstoffatome C2, C15 und C23, die Methyl-Kohlenstoffe C10, C11 und C19 und die Kohlenstoffe C25-C29 im Phenylring eingeführt. Die Wasserstoffe, die nach jedem Verfeinerungsschritt entlang ihres Bindungsvektors auf idealisierte Neutronenabstände [49] geschoben wurden, erhielten folgende *chemical constraints*: die Multipolparameter der Wasserstoffe an tertiären Kohlenstoffen H31, H51 und H61, die Methylwasserstoffatome H101, H102, H103, H111, H112, H113, H191, H192, und H193, die Methylenwasserstoffe H151, H152, H231 und H232 und die Phenylwasserstoffe H251, H261, H271, H281 und H291 wurden jeweils zusammen verfeinert. Für alle Sauerstoffatome, außer O9 des Sulfoxids, und die Kohlenstoffe C2, C12, C15, C21 und C23 wurde eine lokale Spiegelsymmetrie eingeführt. Die Methylkohlenstoffe gehorchen einer dreizähligen Symmetrie und für die Kohlenstoffe des Phenylrings wurden nur Multipolfunktionen mit  $mm2$ -Symmetrie verfeinert. Für alle Nicht-Wasserstoffatome wurden Multipole bis zu den Hexadekapolen, für Wasserstoffe neben den Monopolen zusätzlich bindungsgerichtete Dipole zur Beschreibung der Deformation der Valenzelektronendichte benutzt. Alle Multipolparameter der Nicht-Wasserstoffatome ( $P > 2\sigma(P)$ ) sind in den Tabellen A.20 und A.21 auf den Seiten 124 und 125 zusammengefaßt.

Nach der Verfeinerung des Skalierungsfaktors und einer sphärischen Verfeinerung wurden schrittweise die Multipolparameter eingeführt. Da die Restelektronendichten vor allem im Bereich des Schwefelatoms sehr hoch waren, wurden die aus der Verfeinerung theoretischer Strukturparameter von Thioprolin erhaltenen  $\kappa'_l$ -Parameter (Tabelle 4.2) für das Schwefelatom benutzt. Diese Parameter in Verbindung mit einer  $\kappa$ -Verfeinerung brachten eine signifikante Verbesserung in den Rest- und Deformationselektronendichten (Kapitel 5.6 und 5.7), was diesen KRMM-Ansatz für den Schwefel rechtfertigt. Für die weiteren Nicht-Wasserstoffatome wurden die  $\kappa'_l$ -Parameter nicht verfeinert und auf dem Standardwert von 1.0 belassen. Für die Wasserstoffatome wurden die  $\kappa$ - und  $\kappa'_l$ -Parameter auf den für Multipolstudien üblichen Wert von 1.2 fixiert [108]. In Tabelle 5.3

sind die Gütefaktoren der Multipolverfeinerungen zusammengefaßt.

	Penamecillin	Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid
$\sin \theta / \lambda_{max}$ [ $\text{\AA}^{-1}$ ]	1.23	1.24
R(F) [%]	2.48	2.64
$R_w$ (F) [%]	2.55	2.81
GoF	1.20	0.87

**Tabelle 5.3:** Gütefaktoren der Penamecillin-Multipolverfeinerungen

Die Verfeinerungen beider Datensätze erfolgten gegen  $F$ -Werte mit  $I > 2.5\sigma(I)$ . Als Gewichtungsschema wurde jeweils  $w = \sigma^{-2}(I)$  benutzt. Der Hirshfeld-Test ist für beide Modelle erfüllt, keine Werte sind  $> 0.0010 \text{ \AA}^2$ . In beiden Fällen zeigt die Bindung C(2)–S(1) mit  $0.0009 \text{ \AA}^2$  für das Penamecillin bzw.  $0.0010 \text{ \AA}^2$  im Sulfoxid den höchsten Wert.

## 5.5 Quantenchemische Rechnungen

Zum Vergleich der experimentellen Elektronendichten wurden mehrere quantenchemische Rechnungen durchgeführt. Geometrieoptimierungen ausgehend von der experimentellen Geometrie oder von Konformationen, die durch Kraftfeldrechnungen minimiert wurden, zeigten Konvergenzprobleme. Aufgrund der hohen Flexibilität in den Seitengruppen der Moleküle führten sie nicht zu Geometrien minimaler Energie, sondern zeigten in der Analyse der Frequenzen negative bzw. imaginäre Eigenwerte, was für Übergangszustände spricht. Deshalb werden im folgenden nur Ergebnisse von *single-point* Rechnungen in der experimentellen Geometrie aus den Multipolverfeinerungen diskutiert.

Aus früheren Studien an der Aminosäure L-Glutamin [87] und weiteren Aminosäuren [86] war bekannt, daß für eine möglichst gute Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie sehr hohe Basissätze und die Berücksichtigung der Elektronenkorrelation mittels Dichtefunktionaltheorie nötig ist. Deshalb wurden *single-point* Rechnungen mit dem Programm GAUSSIAN98 [36] mit den Basissätzen 6-311++G(3df,3pd) und 6-311++G(d,p) unter Verwendung des B3LYP-Funktional [109, 110] durchgeführt. Da der Wert der Laplacefunktion für die Bindung S(1)–O(9) im Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid einen sehr hohen positiven Wert zeigte, erfolgte für diese Verbindung noch zusätzlich eine Hartree-Fock Rechnung auf 6-311++G(3df,3pd) Niveau. Zur Analyse der theoretischen Elektronendichten wurde das Programm AIMPAC [42] verwendet. Zum Ver-

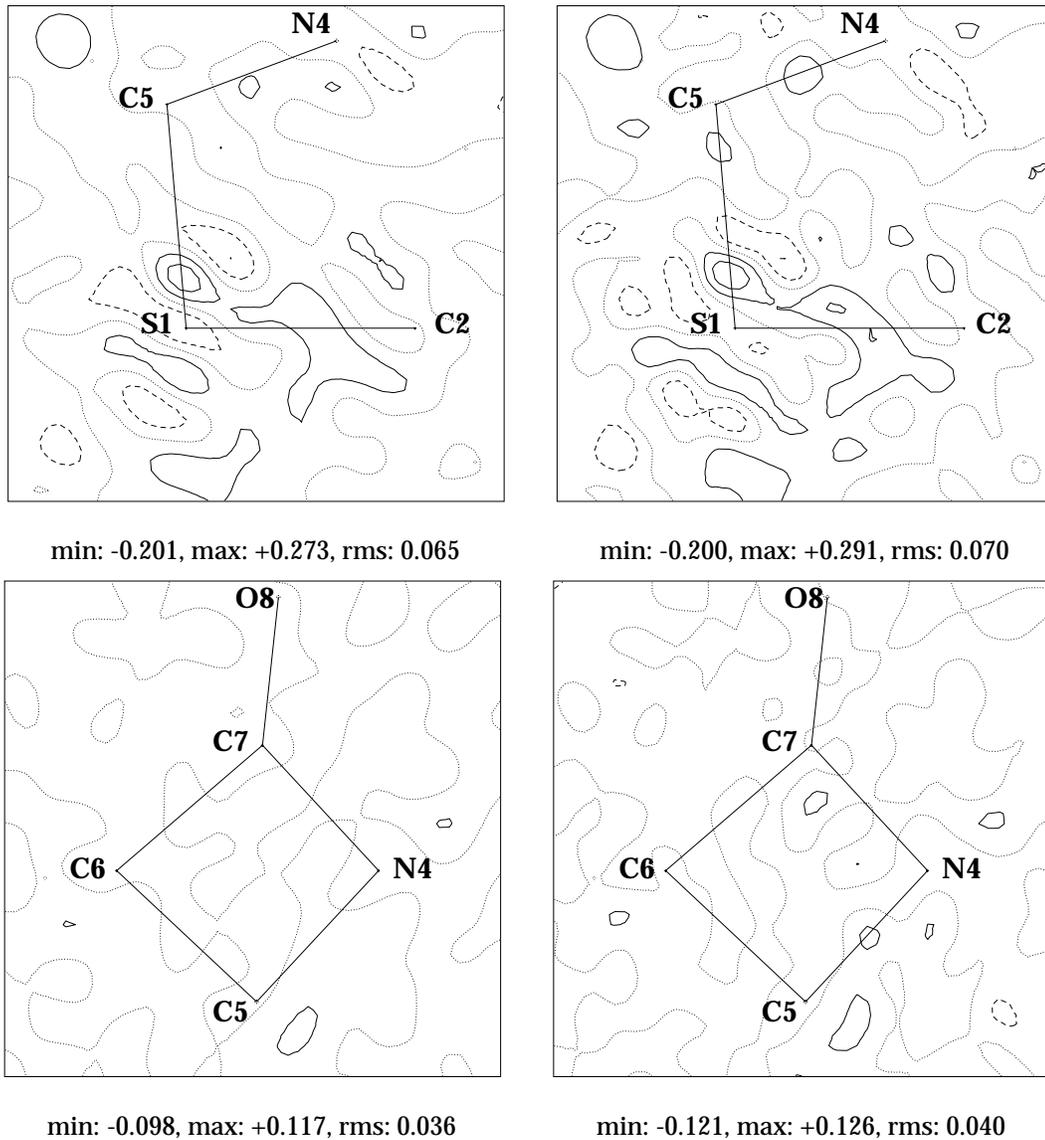
gleich der experimentellen elektrostatischen Potentiale wurden diese ausgehend von den B3LYP/6-311G++(d,p) Wellenfunktionen berechnet und anschließend mit dem Programm XDGRAPH [28] visualisiert.

## 5.6 Restelektronendichte

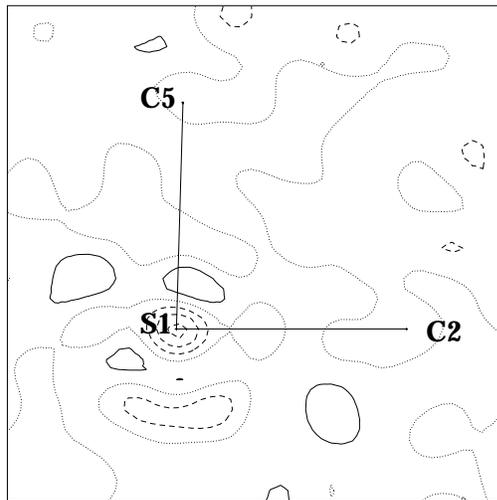
In den Abbildungen 5.4 und 5.5 sind Restelektronendichten der Ebenen S1–C2–C5 und C6–N4–C7 für die beiden untersuchten Verbindungen dargestellt. Es fällt auf, daß sowohl im Penamecillin, als auch im Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid in der Umgebung des Schwefelatoms große Restdichten auftreten. Auffällig hierbei ist das Maximum in Richtung der Bindung S1–C5 im Valenzbereich des Schwefels, wobei dieses im Penamecillin stärker ausgeprägt ist als im Sulfoxid. Im Gegensatz zu den Verfeinerungen der experimentellen Datensätze von Thioprolin, wo die Begrenzung des Datensatzes auf  $\sin \theta / \lambda \leq 1.0 \text{ \AA}^{-1}$  Verringerungen in den Restelektronendichte brachten, zeigt sich dieser Effekt bei den beiden Penicillinderivaten nur unwesentlich. Im Sulfoxid tritt im Bereich der Atomposition des Schwefels sogar ein zusätzliches Minimum bei Einführung des Auflösungslimits auf.

Ein Grund, warum die Restdichten für die Penicillindatensätze höher sind als bei den beiden experimentellen Thioprolindatensätzen (Abbildung 4.5) ist die für organische Moleküle dieser Größe typische, schlechtere Kristallqualität und die damit verbundene geringere Streukraft. Der fehlende Referenzdetektor am Meßplatz F1, an dem beide Penicillinmessungen durchgeführt wurden ist ein weiterer Grund für das höhere experimentelle Rauschen. Die Korrektur des Abfalls der Synchrotronstrahlung über die Gesamtintensität der einzelnen Meßbilder ist sicherlich eine gute Methode Referenzwerte zu ermitteln, kann aber deren direkte Messung nicht ersetzen. Ein Vergleich der beiden Datensätze zeigt, daß für den Sulfoxiddatensatz insgesamt 21% der Reflexe unbeobachtet sind ( $F_o \leq 2.5\sigma(F_o)$ ), im Gegensatz zu 14% beim Penamecillin. Die rms-Werte, die die mittlere Abweichung der Modelldichte von den experimentellen Daten wiedergeben, deuten ebenfalls darauf hin, daß der Penamecillindatensatz der bessere der beiden Penicillindatensätze ist.

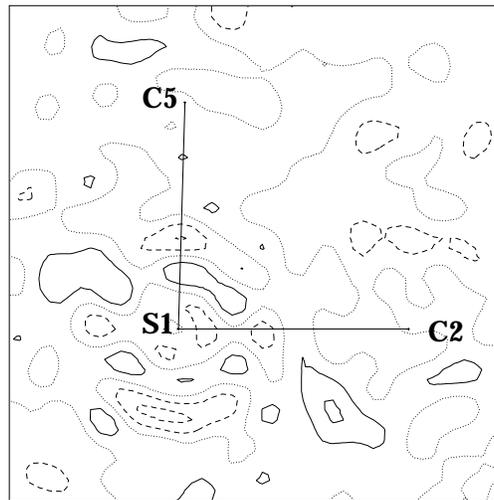
Im Gegensatz zu den Restelektronendichtekarten des Thioprolins sind die Konturabstände in den Abbildungen 5.4 und 5.5 mit  $0.1 \text{ e\AA}^{-3}$  weiter gewählt, um einen Vergleich zu anderen Studien an größeren organischen Molekülen, bei denen Restelektronendichten bis zu  $\pm 0.5 \text{ e\AA}^{-3}$  auftreten [73, 111], zu vereinfachen. Dieser Vergleich zeigt, daß die bei den Penicillinen gefundenen Restelektronendichten zwar hoch, aber durchaus akzeptabel sind.



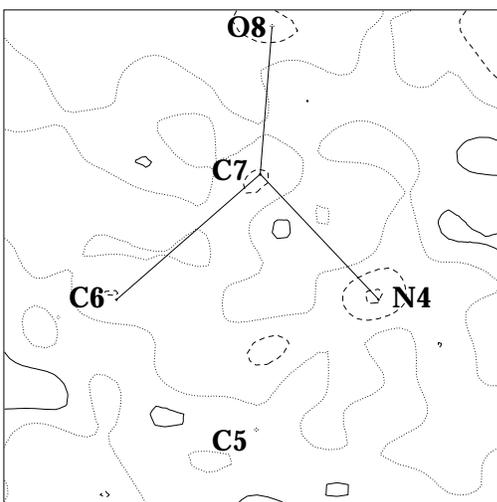
**Abbildung 5.4:** Restelektronendichten in den Ebenen S1–C1–C5 (oben) und C6–N4–C7 (unten) von Penicillin, links  $\sin \theta / \lambda \leq 1.0 \text{ \AA}^{-1}$ , rechts gesamter Datensatz. Gepunktete Linien stellen die Nulllinien, durchgezogene Linien positive Konturen, gestrichelte Linien negative Konturen dar. Konturlinien im Abstand von  $0.1 \text{ e\AA}^{-3}$ . Werte für min, max, rms beziehen sich auf das Minimum, Maximum und Durchschnitt der Restelektronendichte in dieser Ebene in  $[\text{e\AA}^{-3}]$ .



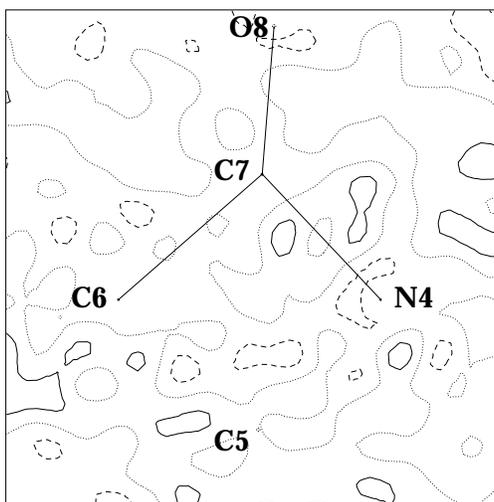
min: -0.336, max: +0.186, rms: 0.059



min: -0.226, max: +0.219, rms: 0.066



min: -0.212, max: +0.164, rms: 0.055

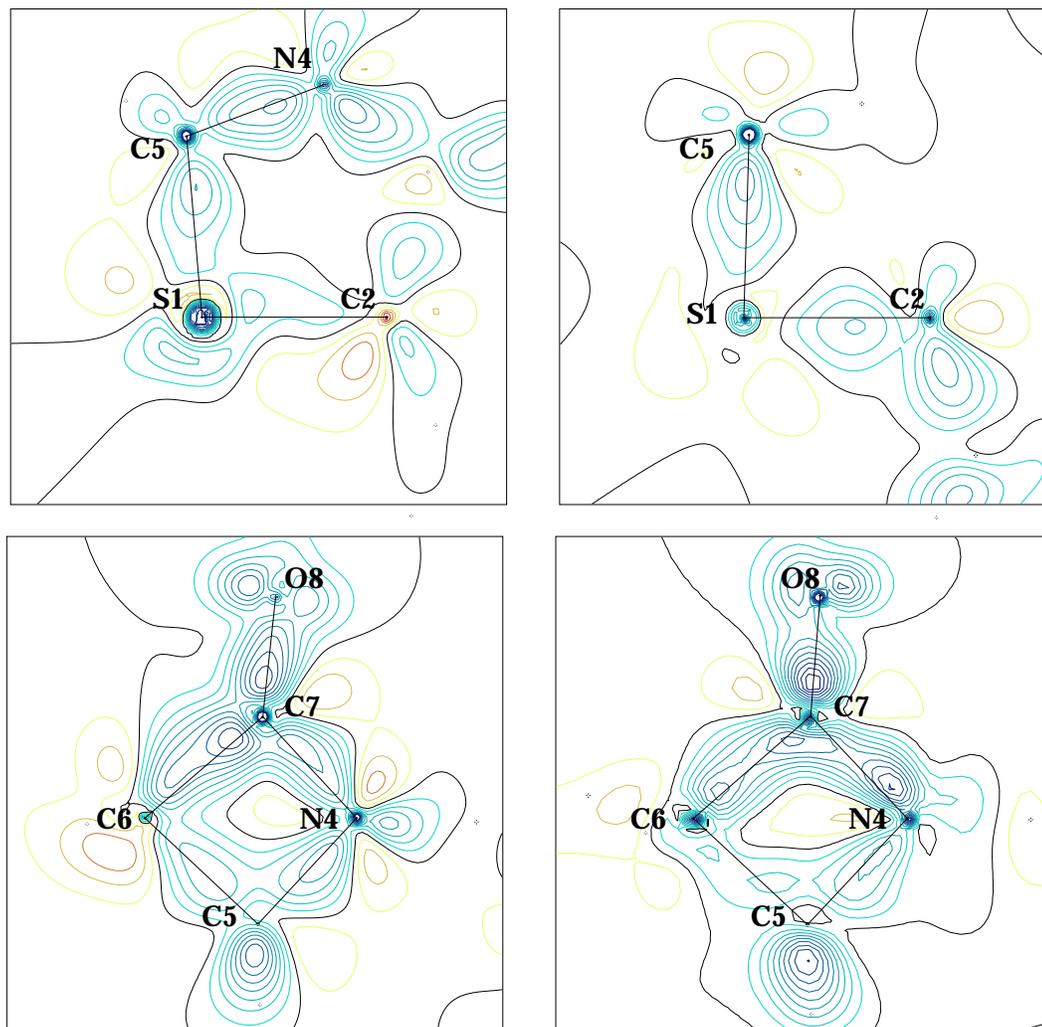


min: -0.199, max: +0.160, rms: 0.060

**Abbildung 5.5:** Restelextronendichten in den Ebenen S1–C1–C5 (oben) und C6–N4–C7 (unten) von Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid, links  $\sin \theta/\lambda \leq 1.0 \text{ \AA}^{-1}$ , rechts gesamter Datensatz. Gepunktete Linien stellen die Nulllinien, durchgezogene Linien positive Konturen, gestrichelte Linien negative Konturen dar. Konturlinien im Abstand von  $0.1 \text{ e\AA}^{-3}$ . Werte für min, max, rms beziehen sich auf das Minimum, Maximum und Durchschnitt der Restelextronendichte in dieser Ebene in  $[\text{e\AA}^{-3}]$ .

## 5.7 Deformationselektronendichte

In Abbildung 5.6 sind Deformationselektronendichten dargestellt. Es handelt sich hierbei um die gleichen Ebenen (S1–C2–C5 und C6–N4–C7), für die in den Abbildungen 5.4 und 5.5 auch Restelektronendichten gezeigt werden.



**Abbildung 5.6:** Deformationselektronendichten in den Ebenen S1–C1–C5 (oben) und C(6)–N(4)–C(7) (unten) von Penamecillin (links) und Penamecillin-1β-sulfoxid (rechts). Schwarze Linien stellen die Nulllinien, grüne Linien positive Konturen, gelbe Linien negative Konturen dar. Konturlinien im Abstand von 0.1 eÅ<sup>-3</sup>.

Es zeigen sich in beiden Molekülen die erwarteten freien Elektronenpaare am O8. Zu-

sätzlich erkennt man im Penamecillin am Schwefel ein freies Elektronenpaar, während aufgrund der Oxidation am Schwefel beim Sulfoxid in dieser Ebene keines vorhanden ist.

Die beiden Deformationselektronendichten der Ebene C6–N4–C7 zeigen, daß die Bindungsmaxima aufgrund der Ringspannung leicht nach außen verschoben sind. Die extrem kleinen Bindungswinkel zwischen  $84^\circ$  und  $94^\circ$  im  $\beta$ -Lactamring führen zu diesen gebogenen Bindungen.

## 5.8 Topologische Analyse

### 5.8.1 Kritische Punkte der Elektronendichte

Einer der entscheidenden Schritte im Wirkungsmechanismus der Penicilline stellt die Öffnung des  $\beta$ -Lactamringes durch einen nukleophilen Angriff auf das Kohlenstoffatom C7 dar. Dieser erfolgt meist durch ein Serin des penicillinbindenden Proteins unter Spaltung der Amidbindung C7–N4 [100]. Da sich die Bindungslängen dieser Bindung im aktiven Penamecillin und im inaktiven Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid mit 1.3829(8) Å und 1.3955(7) Å nur unwesentlich unterscheiden, wurde eine quantitative Analyse der Topologie dieser Bindungen, basierend auf der AIM-Theorie [13], durchgeführt.

In Tabelle 5.4 sind die topologischen Parameter für diese  $\beta$ -Lactambindungen aus den beiden Multipolmodellen, denen aus theoretischen Rechnungen an den beiden Penicillinderivaten gegenübergestellt.

Bei Betrachtung der Elektronendichte am bindungskritischen Punkt zeigt sich, daß sowohl im aktiven als auch im inaktiven Antibiotikum die  $\beta$ -Lactambindungen fast identische Werte besitzen. Die Bindungsstärke steht somit nicht im Zusammenhang mit den unterschiedlichen Aktivitäten der beiden Penicilline.

Zusätzlich liegt eine ausgezeichnete Übereinstimmung zwischen den experimentellen und theoretischen Werten der Elektronendichte für beide Bindungen vor. Die Laplacefunktion ist für diese Bindung im Experiment etwas zu hoch. Dies wird allgemein für polare Bindungen beobachtet und läßt sich mit der Unflexibilität des Multipolmodells erklären [10]. Die Elliptizitäten zeigen jeweils eine deutliche Abweichung der Elektronendichte am bindungskritischen Punkt (BCP) von einer zylindrischen Symmetrie an, was für einen gewissen Doppelbindungscharakter der Bindung spricht, aber auch mit dem gespannten  $\beta$ -Lactam Ringsystem und den daraus resultierenden leicht gebogenen Bindungen zusammenhängt. Experimentelle Studien an gespannten Kohlenstoffringsystemen ergaben für Bindungen zwischen  $sp^3$ -hybridisierten Kohlenstoff-

Bindung	Bindungslänge [Å]	$\nabla^2\rho$ [ $e\text{Å}^{-5}$ ]	$\rho$ [ $e\text{Å}^{-3}$ ]	$\epsilon$
Penamecillin				
Multipol	1.3829(8)	-17.2(2)	2.20(5)	0.21
B3LYP/6-311++G(d,p)		-21.4	2.10	0.10
B3LYP/6-311++G(3df,3pd)		-23.8	2.15	0.14
Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid				
Multipol	1.3955(7)	-16.5(3)	2.20(6)	0.25
B3LYP/6-311++G(d,p)		-20.7	2.05	0.10
B3LYP/6-311++G(3df,3pd)		-22.9	2.10	0.14
HF/6-311++G(3df,3dp)		-27.9	2.16	0.06

**Tabelle 5.4:** Vergleich der Elektronendichte, der Laplacefunktion und der Elliptizität am bindungskritischen Punkt der reaktiven  $\beta$ -Lactambindung C7–O8 der beiden Penicillinderivate aus den Multipolmodellen und theoretischen Rechnungen.

atomen ebenfalls erhöhte Elliptizitäten [112, 113].

Da beide Moleküle eine weitere Amid- bzw. Peptidbindung enthalten, sind in Tabelle 5.5 neben den Werten für die Bindungen C7–N4 und C21–N20, topologische Parameter für weitere Peptidbindungen aus Di- und Oligopeptiden zusammengefaßt. Die ersten beiden Vergleichswerte sind Mittelwerte. Bei der Multipolstudie an Cyclo-(D,L-Pro)<sub>2</sub>–(L-Ala)<sub>4</sub> Monohydrat [114] wurde dieser aus den sechs Peptidbindungen des cyclischen Hexapeptids berechnet. Die Mittelung in der Arbeit von Pichon-Pesme et al. [115] erfolgte über insgesamt 17 Peptidbindungen der Moleküle Glycyl-L-asparaginsäure und Tyrosyl-glycyl-glycin [115], Triglycin [116], Leucyl-enkephalin [117], N-Acetyl-L-tryptophan [118], N-Acetyl- $\alpha$ ,  $\beta$ -dehydrophenylalanin-methylamid [119], N-Acetyl-L-tyrosinethylester [120] und Glycyl-L-threonin [121]. Zusätzlich zeigt die Tabelle die Werte für Glycyl-L-threonin [122], N-Acetyl-L-cystein [123] und DL-Alanyl-methionin [72].

Die Amidbindung im  $\beta$ -Lactamring ist keine typische Peptidbindung. Was sich schon im verlängerten Bindungsabstand und der Abweichung von der Planarität der Stickstoffumgebung zeigt, kann hier durch die Analyse der Elektronendichte am bindungskritischen Punkt quantitativ wiedergegeben werden. Der Wert der Laplacefunktion als Maß für die Ladungsakkumulation am BCP ist ebenfalls für die Bindung C7–N4 in beiden Molekülen vom Betrag her geringer als für die anderen typischen Peptidbindungen. Die Elliptizitäten unterscheiden sich deutlich von Null, zeigen also für alle Bindungen Doppelbindungscharakter. In den beiden Penicillinderivaten sind diese für die

Bindung	Bindungslänge [Å]	$\nabla^2\rho$ [ $e\text{Å}^{-5}$ ]	$\rho$ [ $e\text{Å}^{-3}$ ]	$\epsilon$
Penamecillin				
C7–N4	1.3829(8)	-17.2(2)	2.20(5)	0.21
C21–N20	1.3542(6)	-23.0(2)	2.34(5)	0.14
Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid				
C7–N4	1.3955(7)	-16.5(3)	2.20(6)	0.25
C21–N20	1.3587(6)	-23.2(3)	2.42(6)	0.15
Cyclo-(D,L-Pro) <sub>2</sub> -(L-Ala) <sub>4</sub> Monohydrat [114]				
	1.345(10)	-23.7(21)	2.45(3)	0.19(5)
Mittelwert aus [115]	1.338(5)	-23.4(32)	2.4(1)	0.21(8)
Glycyl-L-threonin [122]	1.3403(3)	-19.3(1)	2.33(3)	0.44
N-Acetyl-L-cystein [123]	1.3402(4)	-30.1(2)	2.46(4)	0.24
DL-Alanyl-methionin [72]	1.3381(5)	-21.8	2.32	0.21

**Tabelle 5.5:** Vergleich der topologischen Parameter der Peptidbindungen mit denen aus anderen experimentellen Ladungsdichtestudien. Für die Mittelwerte sind in Klammern die Standardabweichungen ohne Berücksichtigung der experimentellen Fehler gegeben. Weitere Erläuterungen zu den Mittelwerten finden sich im Text.

Amidbindung im  $\beta$ -Lactamring größer als in der Peptidbindung C21–N20. In diesem Fall deutet dies jedoch nicht auf einen höheren Doppelbindungscharakter der C7–N4 Bindung hin, sondern kann auf einen zusätzlichen asphärischen Beitrag aufgrund des gespannten Ringsystems zurückgeführt werden. Die Streuung der Elliptizitäten ist jedoch recht groß. Die im Programm XD berechneten Standardabweichungen unterschätzen die Fehler der Werte aus der topologischen Analyse. In einer Abschätzung geben Espinosa et al. [97] den Fehler für die Elektronendichte mit  $0.05 e\text{Å}^{-3}$  und Standardabweichungen von 10% für die zweiten Ableitungen der Elektronendichte an. Aus diesem Grund sollte man gerade bei der Interpretation von Elliptizitäten vorsichtig sein und die Information daraus nicht überinterpretieren.

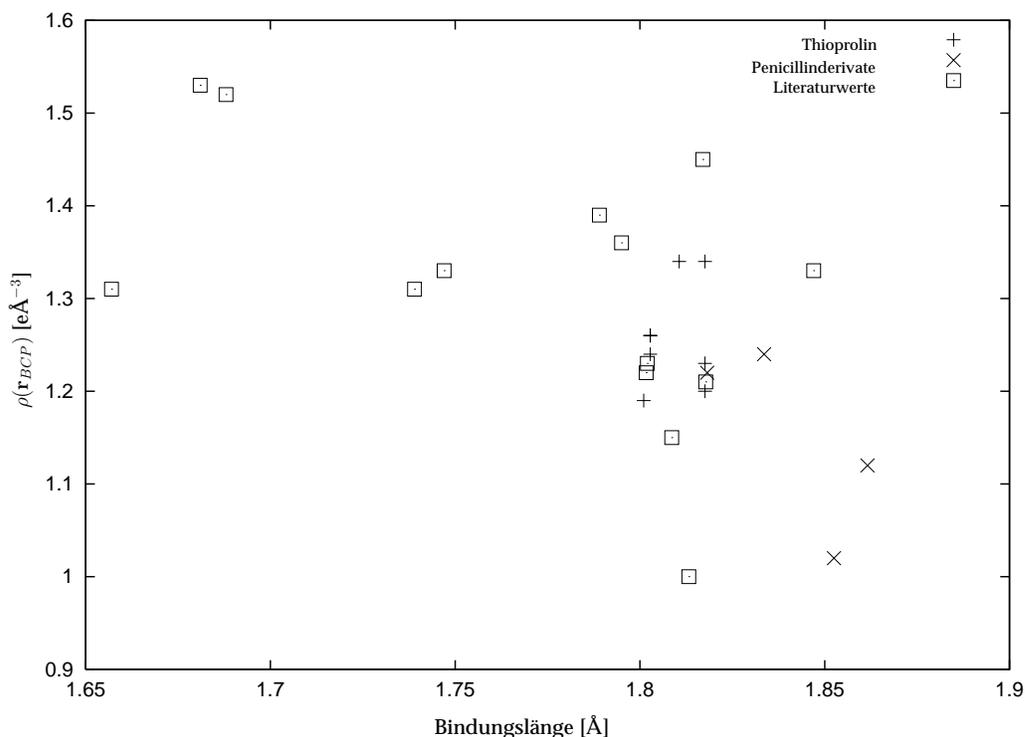
Wie schon in Kapitel 4 erläutert, gibt es aufgrund der diffusen Elektronendichte des Schwefels Probleme bei der Multipolverfeinerung von schwefelhaltigen Verbindungen. Auch bei den beiden Penicillinderivaten zeigen sich relativ hohe Restelektronendichten (Kapitel 5.6). In Tabelle 5.6 sind die topologischen Parameter der Schwefel-Kohlenstoffbindungen denen aller momentan verfügbaren experimentellen Studien gegenübergestellt.

Es ergibt sich kein einheitliches Bild. Die Bindungslängen variieren über einen Bereich von 1.657 Å bis 1.862 Å. Es findet sich jedoch keine Korrelation zwischen der Bindungs-

Bindung	Bindungslänge [Å]	$\rho$ [ $e\text{Å}^{-3}$ ]	$\nabla^2\rho$ [ $e\text{Å}^{-5}$ ]
Thioprolin S1-C1			
X15	1.8010(2)	1.19(3)	-3.6(1)
X120	1.8028(2)	1.26(1)	-5.4(1)
PHF	1.8028(2)	1.26(1)	-4.8(1)
DFT	1.8028(2)	1.24(1)	-5.9(1)
Thioprolin S1-C4			
X15	1.8106(3)	1.34(2)	-5.2(1)
X120	1.8176(2)	1.34(1)	-6.9(1)
PHF	1.8176(2)	1.23(1)	-4.5(1)
DFT	1.8176(2)	1.20(1)	-4.8(1)
Penamocillin			
S1-C2	1.8525(6)	1.03(1)	-0.9(1)
S1-C5	1.8182(6)	1.21(1)	-3.7(1)
Penamocillin-1 $\beta$ -sulfoxid			
S1-C2	1.8616(6)	1.18(2)	-5.9(1)
S1-C5	1.8336(7)	1.24(3)	-4.6(1)
N-Acetyl-L-cystein [123]			
C( $sp^3$ )-S	1.8132(4)	1.00(3)	-1.7(6)
L-Cystin [124]			
C( $sp^3$ )-S	1.8178(7)	1.21	-5.68
DL-Alanyl-methionin [72]			
C( $sp^3$ )-S	1.8086(6)	1.15	-4.9
C( $sp^3$ )-S	1.8017(6)	1.22	-4.7
BTDMTTF-TCNQ [70]			
C( $sp^2$ )-S	1.747	1.33	-2.39
C( $sp^3$ )-S	1.739	1.31	-3.10
Diaryl((alkoxy)acyloxy)spiro- $\lambda^4$ sulfan [125]			
C( $ar$ )-S	1.795(3)	1.36	-2.60
C( $ar$ )-S	1.789(3)	1.39	-2.00
3,3,6,6-Tetramethyl-S-tetrathian [71]			
C( $sp^3$ )-S	1.847(1)	1.33(3)	-6.82(8)
p-(Methylthio)phenylnitronyl nitroxid [85]			
C( $ar$ )-S	1.657	1.31	-7.11
C( $sp^3$ )-S	1.802	1.23	-5.42
Thioacetamid [126]			
C( $sp^2$ )-S	1.681(3)	1.53	-6.16
C( $sp^2$ )-S	1.688(2)	1.52	-7.80
Methandi(triimido)sulfonsäure {CH <sub>2</sub> [S(NtBu) <sub>2</sub> (NHtBu) <sub>2</sub> ] [127]			
C( $sp^3$ )-S	1.817	1.45(2)	-8.01(4)

**Tabelle 5.6:** Vergleich der topologischen Parametern der C-S-Bindungen mit anderen experimentellen Ladungsdichtestudien.

länge und dem Wert der Elektronendichte am bindungskritischen Punkt, wie dies z.B. für unterschiedliche Kohlenstoff-Kohlenstoffbindungen der Fall ist (Kapitel 6.7 und [16]). Um dies besser zu veranschaulichen, sind in Abbildung 5.7 diese beiden Parameter gegeneinander aufgetragen. Die kürzeste Bindung besitzt einen Wert, den man auch für um 0.15 Å längere Bindungen findet und auch die längste Bindung besitzt einen relativ geringen, aber nicht den kleinsten Wert der Elektronendichte. Betrachtet man den Bereich mit Bindungslängen um 1.81 Å, so variiert der Wert der Elektronendichte enorm, von  $1.00 \text{ eÅ}^{-3}$  bis  $1.45 \text{ eÅ}^{-3}$ . Ob diese Unterschiede auf Unzulänglichkeiten der Multipolverfeinerungen, auf Probleme in den experimentellen Datensätzen oder auf tatsächliche physikalische Effekte basieren, bleibt offen. Aber unter Berücksichtigung der in den Publikationen beschriebenen Probleme bei der Verfeinerung und/oder den dort gezeigten hohen Restelextronendichten, liegt der Schluß nahe, daß es sich hierbei um Probleme in den Datensätzen und einer gewissen Unflexibilität des Hansen-Coppens-Multipolformalismus handelt.



**Abbildung 5.7:** Elektronendichte  $\rho(r_{BCP}) [\text{eÅ}^{-3}]$  gegen Bindungsabstand [Å] für unterschiedliche C-S-Bindungen.

In Tabelle 5.7 sind die topologischen Parametern der Penicillinderivate und der ihnen zugrundeliegenden Aminosäuren Valin und Cystein (vgl. Abbildung 5.1) gegenübergestellt.

Bindung	Penamecillin	Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid	DL-Valin	N-Acetyl-L-cystein
S1-C5	1.21(3)	1.24(3)	–	1.00(3)
C5-C6	1.56(4)	1.37(5)	–	1.63(3)
C6-N20	2.00(5)	1.73(5)	–	1.75(3)
C6-C7	1.76(4)	1.69(4)	–	1.73(3)
C7-C8	3.06(7)	3.18(87)	–	2.41(4)
C3-N4	1.94(5)	1.82(5)	1.66(2)	–
C2-C3	1.47(4)	1.48(5)	1.66(2)	–
C2-C10	1.58(3)	1.75(3)	1.66(2)	–
C2-C11	1.57(1)	1.71(1)	1.63(2)	–
C3-C12	1.93(4)	1.61(4)	1.76(2)	–

**Tabelle 5.7:** Vergleich der Elektronendichte am bindungskritischen Punkt [ $\text{e}\text{\AA}^{-3}$ ] der Penicilline zu den ihnen zugrundeliegenden Aminosäuren Valin [8] und Cystein [123].

Es zeigt sich, daß selbst für die beiden Penicilline die Werte der Elektronendichte sehr stark streuen. Im Bereich des Atoms C6 deuten schon die Deformationselektronendichten für das Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid (Abbildung 5.6) auf gewisse Probleme im Multipolmodell hin. Außerdem kann ein gewisser Einfluß des zusätzlichen Sauerstoffatoms im Sulfoxid auf die Elektronendichte der benachbarten Bindungen nicht ausgeschlossen werden.

Die veränderte lokale Umgebung und die zusätzlichen Bindungen zwischen den beiden Aminosäuren zu einem bizyklischen Ringsystem führt zu Änderungen nicht nur in der Bindungsgeometrie, sondern auch in den topologischen Parametern. Die einzigen Gruppen mit vergleichbarer chemischer Umgebung sind die beiden Methylgruppen des Valins, die sich am Thiazolidinring in den Penicillinen wiederfinden. Baders AIM-Theorie liefert Hinweise auf eine Übertragbarkeit von atomaren und bindungstopologischen Eigenschaften. Diese läßt sich jedoch nur auf die aus der Chemie bekannten funktionellen Gruppen, wie z.B. die planare Peptidbindung (vgl. Tabelle 5.5), anwenden, da die lokale Umgebung der Atome großen Einfluß auf die Parameter der Topologie der Elektronendichte besitzen.

### 5.8.2 Laplacefunktion

In der Abbildung 5.8 ist für beide Penicillinderivate die Laplacefunktion als sog. *volume rendering* dargestellt. Im Gegensatz zu Isooberflächen, bei denen jeweils nur ein

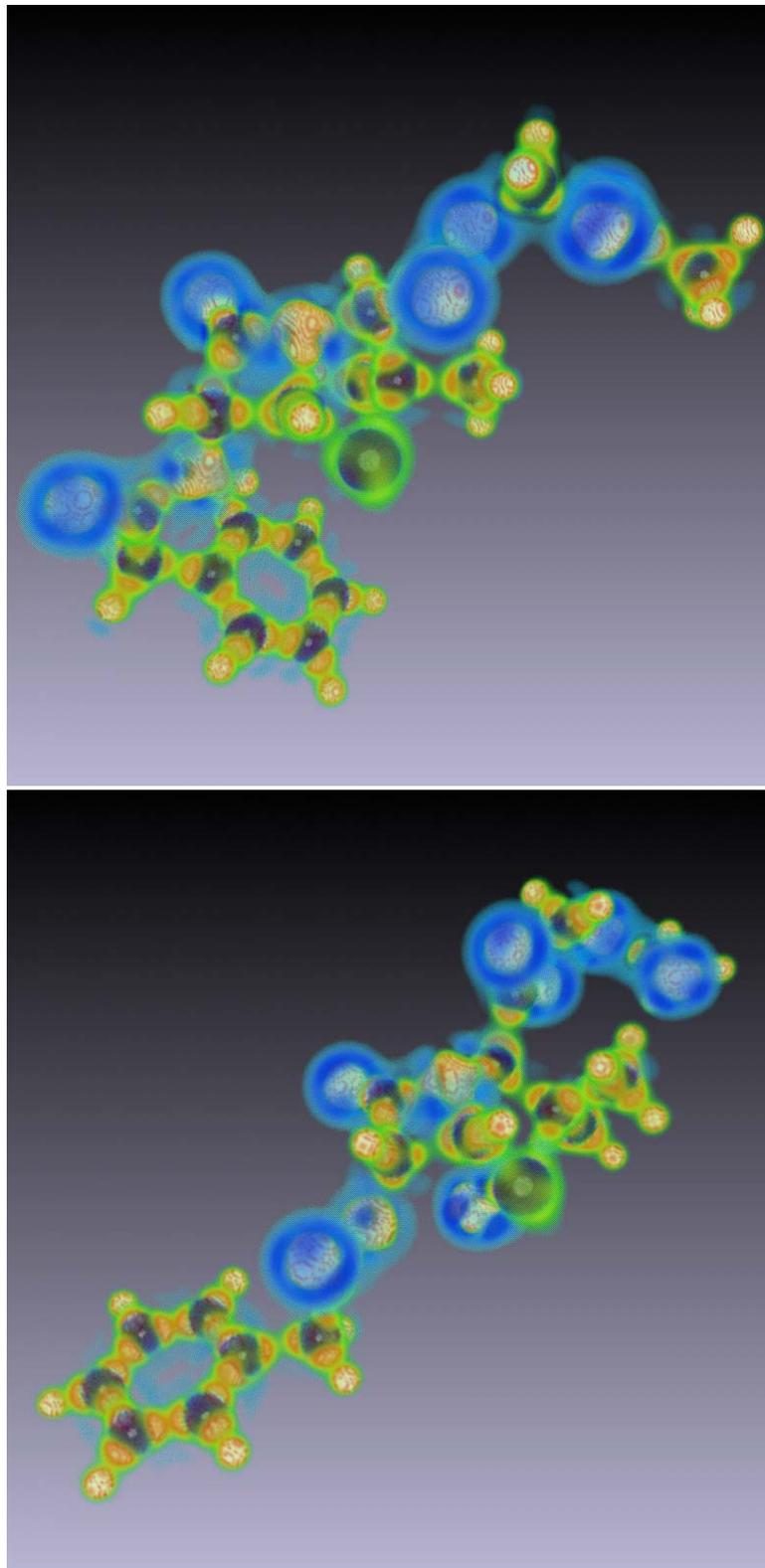
Wert einer Funktion graphisch durch eine Oberfläche dargestellt werden kann, bietet das *volume rendering* die Möglichkeit Funktionsverläufe zu visualisieren. Unterschiedliche Farben repräsentieren unterschiedliche Werte der zugrundeliegenden Funktion. Ein weiterer Vorteil ist, daß die Flächen transparent dargestellt werden, es also möglich ist, auch Einzelheiten zu studieren, die sonst verdeckt sein würden.

In dieser Arbeit werden solche Abbildungen erstmals für Resultate aus experimentellen Ladungsdichtestudien gezeigt. Bislang war dies nur für Ergebnisse theoretischer Rechnungen möglich [128]. Der große Vorteil solcher Darstellungen ist, daß man direkt am Bildschirm die Moleküle in Echtzeit rotieren, Farbverläufe manipulieren und auch durch Vergrößerung Einzelheiten bestimmter Bereiche studieren kann. Die gezeigten Abbildungen wurden mit dem Programm AMIRA [129] hergestellt, das vom Konrad-Zuse-Institut Berlin zur Verfügung gestellt wurde.

In den Abbildungen sind Werte der Laplacefunktion zwischen  $-25 \text{ e}\text{\AA}^{-5}$  und  $+25 \text{ e}\text{\AA}^{-5}$  dargestellt, wobei der Nulldurchlauf ausgeblendet wurde. Positive Werte sind in Blautönen codiert, wobei die Werte von dunkel nach hell abnehmen. Für den negativen Bereich wurde der Farbverlauf so gewählt, daß von kleinen Beträgen hin zu größeren, sich die Farben von grün, orange und rot bis hin zu weiß verändern.

Beide Moleküle sind so angeordnet, daß sowohl der  $\beta$ -Lactam-, als auch der Phenylring zu erkennen sind. Auffällig sind die negativen Bereiche der Laplacefunktion in direkter Umgebung zu den Kernen (weiß) und in den Bindungen (rot), dort ist die Ladung konzentriert. Außerdem bilden sich um die elektronegativen Sauerstoffatome blaue Halos, die Bereiche lokaler Ladungsverringerung anzeigen. Das Bild um den Schwefel ist für beide Moleküle, wie auch für das Thioprolin (Abbildungen nicht gezeigt) sehr diffus. Sowohl im Bereich der Bindungen, als auch im Bereich der VSCC (*valence shell charge concentration*), also dort wo Maxima die Elektronenpaare anzeigen sollten, finden sich nur sehr flache Bereiche von lokaler Ladungsakkumulation. Suchalgorithmen finden zwar lokale Maxima der Laplacefunktion, doch diese stimmen weder in ihrer Zahl, noch in ihrer Geometrie mit den Vorhersagen der VSEPR-Theorie überein. Sie liegen nicht wie erwartet in Richtung der gebundenen Nachbaratome und auch nicht in den von der VSEPR-Theorie vorhergesagten Regionen der freien Elektronenpaare.

Die hier gezeigte *volume rendering* Abbildung kann leider nur einen kleinen Eindruck der Laplacefunktion bieten. Das Programm AMIRA erlaubt es, ein solches Bild am Bildschirm in Echtzeit zu drehen, zu vergrößern oder die Farbcodierung zu ändern. Es ist somit möglich, in kurzer Zeit ein qualitatives dreidimensionales Bild einer Funktion zu erhalten.



**Abbildung 5.8:** *Volume rendering* der Laplacefunktion von Penamycin (oben) und Penamycin-1 $\beta$ -sulfoxid (unten). Erläuterungen zur Farbcodierung finden sich im Text.

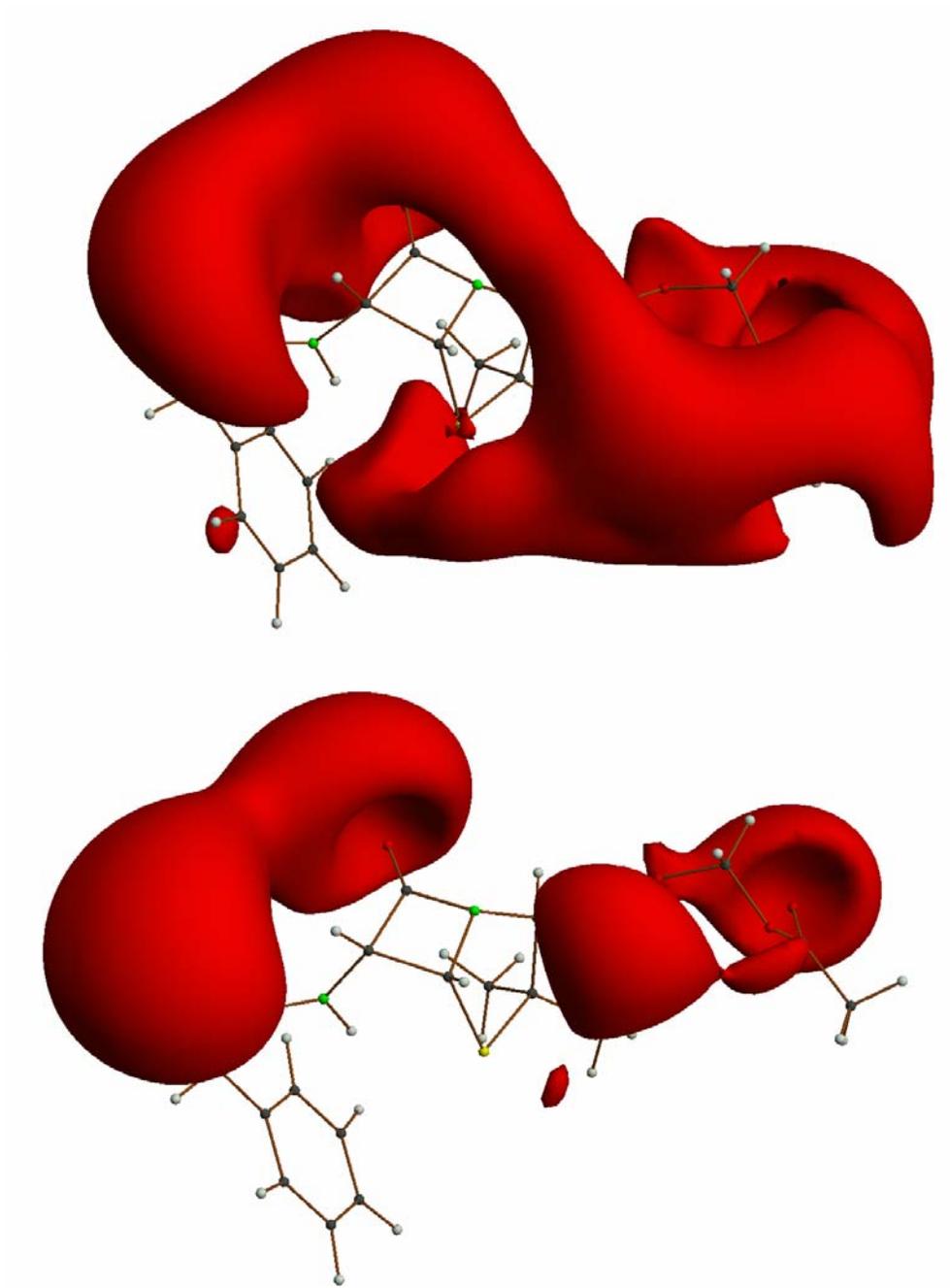
## 5.9 Elektrostatische Potentiale

Das elektrostatische Potential zeigt Regionen an, an denen eine positive Testladung angezogen (negatives Potential) bzw. abgestoßen wird (positives Potential). In den Abbildungen 5.9 und 5.10 sind Isooberflächen der negativen Potentiale für die beiden untersuchten Verbindungen gezeigt. Dabei werden jeweils die elektrostatischen Potentiale aus dem Multipolmodell denen aus quantenchemischen Rechnungen gegenübergestellt. Es zeigt sich, daß die Unterschiede zwischen Experiment und Theorie nicht allzu groß sind, jedoch insbesondere im Fall des aktiven Penicillinderivats ist der Bereich des negativen Potentials über einen größeren Bereich ausgedehnt. Dies läßt sich auf die Tatsache zurückführen, daß die experimentellen Potentiale für Moleküle berechnet wurden, die implizit Informationen über die Nachbarmoleküle im Kristall beinhalten, während die theoretischen Potentiale sich auf isolierte Moleküle ohne solche Wechselwirkungen beziehen.

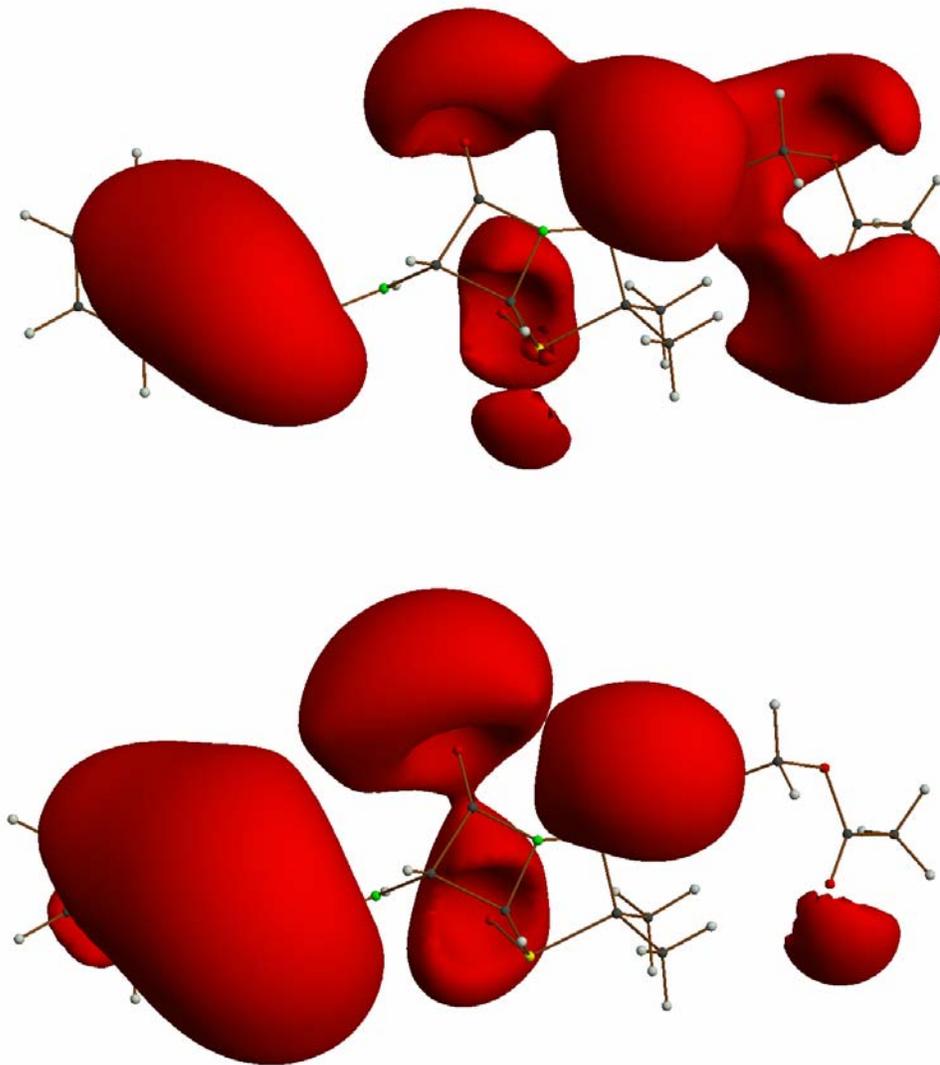
Der Vergleich der beiden Penicillinderivate führt zu folgendem Schluß. Das negative elektrostatische Potential für das aktive Antibiotikum verhindert einen nukleophilen Angriff auf das Carbonyl-Kohlenstoffatom im  $\beta$ -Lactamring von überhalb der beiden kondensierten Ringe. Nur von unten ist dieses Atom in dem für die Wirksamkeit entscheidenden Schritt frei zugänglich. In der inaktiven Verbindung jedoch ist genau diese Seite durch das zusätzliche negative elektrostatische Potential, das hauptsächlich auf den Sulfoxid-Sauerstoff zurückzuführen ist, blockiert. Wenn man davon ausgeht, daß die Penicilline im aktiven Zentrum der D-Alanin-Transpeptidase nur in einer bestimmten räumlichen Anordnung des Penicillingrundgerüsts vorliegen können, so kann nur im Fall der aktiven Verbindung eine erfolgreiche Reaktion mit dem Enzym erfolgen.

## 5.10 Diskussion

Es ist gelungen, mit dieser Ladungsdichtestudie einen neuen Aspekt des Wirkmechanismus der Penicilline zu untersuchen, der mit den bislang zur Verfügung stehenden, experimentellen Methoden nicht zugänglich war. Das negative elektrostatische Potential zeigt, daß in der aktiven Verbindung ein nukleophiler Angriff auf das Carbonyl-Kohlenstoffatom nur von der Unterseite des Ringsystems erfolgen kann, da die Oberseite durch ein negatives Potential blockiert ist. In der inaktiven Verbindung jedoch ist diese Seite des Moleküls blockiert, ein potentiell Nukleophil wird dadurch abgestoßen und kann sich deshalb dem Carbonyl-Kohlenstoff nicht nähern. Die theoretisch berechneten elektrostatischen Potentiale deuten ebenfalls auf diesen Sachverhalt hin, auch wenn insbesondere in der aktiven Substanz dies nicht ganz so ausgeprägt ist. Die



**Abbildung 5.9:** Elektrostatistische Potentiale von Penamycin (Isooberflächen mit  $V_{EP} = -0.05e\text{\AA}^{-1}$ ). Multipolmodell oben, B3LYP/6-311++G\*\* unten.



**Abbildung 5.10:** Elektrostatische Potentiale von Penamecillin-1 $\beta$ -sulfoxid (Isooberflächen mit  $V_{EP} = -0.05e\text{\AA}^{-1}$ ). Multipolmodell oben, B3LYP/6-311++G\*\* unten.

theoretischen Rechnungen basieren jedoch auf Elektronendichten der isolierten Moleküle und nicht, wie im experimentellen Fall auf Moleküle, die die Wechselwirkungen zu Nachbarmolekülen im Kristallfeld mit einschließen. Somit kann das experimentelle elektrostatische Potential eher die physiologische Umgebung wiedergeben, als dies eine quantenchemische Rechnung kann.

Die Analyse der Elektronendichte am bindungskritischen Punkt zeigt keine Unterschiede in der Bindungsstärke der beiden Amidbindungen, die im Wirkungsmechanismus der Penicilline geöffnet wird. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Labischinski et al. [105] überein, die ihre Analyse auf rein geometrische Betrachtungen gegründet haben. Somit hängt die Wirksamkeit nicht mit dieser Bindungsstärke zusammen. Natürlich läßt sich aus der Studie an nur zwei Antibiotikamolekülen kein kompletter neuer Mechanismus ableiten. Trotzdem sollten diese Ergebnisse einen Anstoß zur Untersuchung weiterer Penicillinderivate geben.

Beide experimentellen Datensätze zeigen gewisse Schwächen, was besonders in der Deformationsdichte des inaktiven Penicillinderivats und in den etwas hohen Restelektronendichten zum Ausdruck kommt, auch wenn diese im Bereich von anderen Multipolstudien an Schwefelverbindungen liegen. Die Einführung der  $\kappa'_l$ -Parameter aus der Modellstudie an Thioprolin (Kapitel 4) verbesserte das Modell in der Umgebung des Schwefels, auch wenn noch immer die Übereinstimmung zwischen der Modell-dichte und der Dichte aus den experimentellen Strukturparametern Schwächen offenbart. Die Übersicht über die topologischen Parameter aller bislang experimentell bestimmten Kohlenstoff-Schwefelbindungen (Tabelle 5.6) verdeutlicht, daß es bislang noch nicht gelungen ist, ein einheitliches Bild dieser Bindungen auf Basis des Multipolmodells zu finden.

Der Grund für die Schwächen in den experimentellen Elektronendichten der beiden Penicillinderivate ist nicht einer einzigen Ursache zuzuordnen. Vielmehr scheint es, daß gerade das Zusammenspiel einer ganzen Reihe unterschiedlichster Faktoren dafür verantwortlich ist. Die Kristallqualität von organischen Molekülen dieser Größe ist im allgemeinen schlechter als die kleinerer Verbindungen, was zu einer großen Anzahl unbeobachteter Reflexe führt. Während inzwischen die Verfeinerungen an kleinen organischen Molekülen mit Atomen der ersten beiden Perioden nur noch wenige Probleme bereiten, zeigt es sich im Fall der Penicilline, daß gerade das bicyklische Ring-system mit dem gespannten  $\beta$ -Lactamring gewisse Probleme bei der Modellierung der experimentellen Elektronendichte bereitet. Der Schwefel, als Teil des Thiazolidinrings, ist neben Chlor und Phosphor eines der Elemente, die in Ladungsdichtestudien nur schwer zu modellieren sind. Eine weitere mögliche Ursache liegt in der Messung. Erste Synchrotron Datensätze, bei denen bezüglich der Meßstrategie auf die Erfahrungen

von Messungen an Aminosäuren zurückgegriffen wurde, führten zu keinen erfolgreichen Multipolverfeinerungen. Eine genauere Analyse zeigte, daß besonders im Bereich der kleinsten Beugungsordnungen die Datensätze unvollständig waren. Deshalb wurde bei den nachfolgenden, hier diskutierten Messungen besonderer Wert auf diese Reflexe gelegt. Wegen der größeren Anzahl von Kernelektronen im Schwefel gab es mehrere extrem starke Reflexe, die den dynamischen Bereich der CCD-Kamera überschritten. Aufgrund der größeren Gitterkonstanten wurden einige Reflexe vom Primärstrahlfänger verdeckt. Gerade diese Reflexe enthalten jedoch die meisten Informationen über die Valenzelektronendichte. Die Schwächung des Primärstrahls mit Aluminium und die Vergrößerung des Detektorabstands ermöglichte es zwar, fast alle *low-order* Reflexe zu messen, führte jedoch zu großen Skalierungsproblemen.

Aufgrund dieser Probleme erschien es deshalb nicht angebracht, die quantitative topologische Analyse über die Interpretation der Elektronendichte hinaus auf die Laplacefunktion zu erweitern, da die zweite Ableitung selbst geringe Ungenauigkeiten im Modell sogar noch verstärkt. Das elektrostatische Potential jedoch wird über eine Integration über die Elektronendichte (Gleichung 3.10) berechnet und glättet somit die Funktion, wodurch kleinere Abweichungen von der tatsächlichen Elektronendichte nur von untergeordneter Bedeutung sind. Deshalb erscheint es gerechtfertigt, über die Interpretation dieser Größe ein Modell für die unterschiedliche Wirksamkeit der beiden Penicillinderivate vorzuschlagen.