آذرخش و ایرانی/جلد سوم، شماره اول، سال 1399

بررسی نظری شیمی گزینی آنزیم استیلن هیدراتاز

مرضیه آذرخش و مهدی ایرانی*

گروه شیمی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، کدپستی: ۶۶۱۷۷-۱۵۱۷۵

(تاریخ دریافت: 1397/12/20 تاریخ پذیرش: 1398/12/5)

در این پژوهش، از نظریه تابعی چگالی برای بررسی شیمی‌گزینی آنزیم استیلن هیدراتاز در واکنش آبدارکردن 3-بوتین-2-ال، پروپارژیل الکل و پروپن استفاده شده است. ابتدا، بر اساس ساختار بلوری آنزیم، یک الگوی بزرگ از جایگاه فعال آن ساخته شد. ساختار نقاط ایستا در طول مسیر واکنش، بهینه شده و نیمرخ انرژی واکنش به دست آمد. نتایج نشان می‌دهد که برای 3-بوتین-2-ال انرژی اتصال 16/1 کیلوکالری‌برمول بالاتر و محصول ایجاد شده 17/4 کیلوکالری‌برمول پایدارتر از محصول سوبسترای طبیعی این آنزیم (استیلن) است. به طور مشابه، برای پروپارژیل الکل نیز انرژی اتصال 10/7 کیلوکالری‌برمول بالاتر از سوبسترای استیلن است. پروپارژیل الکل در مرحله سوم واکنش خود به خود به یک حد واسط بسیار پایدار رسیده و واکنش آن متوقف می‌شود. این نتایج نشان می‌دهند که 3-بوتین-2-ال و پروپارژیل الکل به عنوان بازدارنده رقابتی برای آنزیم استیلن هیدراتاز عمل می‌کنند. نتایج محاسبه‌ها برای واکنش پروپن نشان داد که اتصال این ترکیب بسیار گرماگیرتر از استیلن، 3-بوتین-2-ال و پروپارژیل الکل است (30/3 کیلوکالری برمول). همچنین مرحله بعدی واکنش نیز انرژی بالایی لازم دارد. در نتیجه پروپن نمی‌تواند سوبسترای مناسبی برای استیلن هیدراتاز باشد.

کلید واژه: استیلن هیدراتاز، آنزیم، شیمی‌گزینی، روش کلاستر، نظریه تابعی چگالی

مقدمه

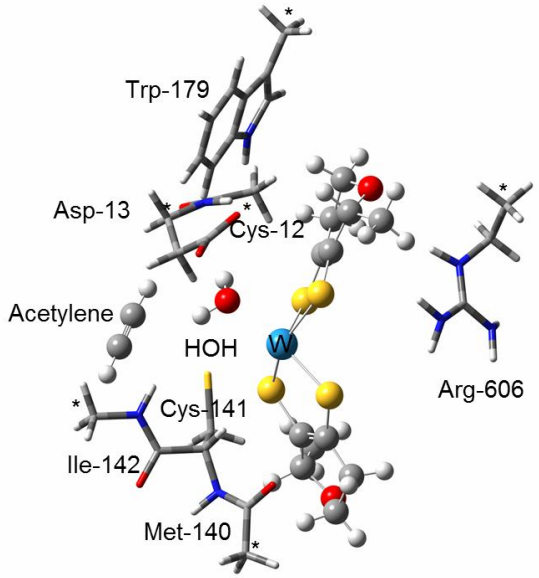
آنزیم‌ها گروهی از پروتئین‌ها هستند که انجام واکنش‌های زیست-شیمیایی و سرعت بخشیدن به آن‌ها را بر عهده دارند. آن‌ها در مورد نوع سوبسترا و واکنشی که انجام می‌دهند، بسیار اختصاصی عمل کرده و واکنش‌ها را با پایدارکردن حالت‌های گذار کاتالیز می‌کنند. ساختار بیشتر آنزیم‌ها منحصرا از آمینواسید ساخته شده است. اما برخی از آن‌ها برای انجام فعالیت کاتالیستی خود وابسته به حضور مولکول‌های کوچکی به نام هم‌عامل هستند که ماهیت غیر آمینواسیدی دارند. قسمتی از آنزیم که محل انجام فعالیت کاتالیستی آنزیم است، جایگاه فعال یا مرکز فعال آنزیم نام دارد. جایگاه فعال آنزیم اغلب 20-10 درصد از حجم کل آنزیم را شامل می‌شود [1] و به صورت یک ساختار سه بعدی از همه آمینواسیدهایی است که به صورت مستقیم در شکست و تشکیل پیوند شرکت می‌کنند. در بعضی موارد جایگاه فعال آنزیم شامل یک یا چند هم‌عامل می‌باشد. بازدارنده‌های آنزیمی عوامل مولکولی هستند که با واکنش سوبسترا تداخل پیدا کرده و واکنش‌های آنزیمی را متوقف یا آهسته می‌کنند. این مولکول‌ها در جایگاه فعال به آنزیم متصل شده و فعالیت آن را مهار می‌کنند. برخی بازدارنده‌های آنزیمی داروهایی هستند که برای اهداف درمانی به کار می‌روند.

آنزیم مورد مطالعه در این کار، استیلن‌هیدراتاز است که تبدیل استیلن به استالدهید را کاتالیز می‌کند [4-2]. پیوند سه‌گانه استیلن غنی از الکترون است و به دلیل حلالیت آن در آب، به عنوان سوبسترای مناسب برای استیلن هیدراتاز در ریزسازواره‌ها (میکروارگانیسم‌ها) عمل می‌کند [5]. محصول استالدهید تولیدشده توسط استیلن‌هیدراتاز، به وسیله آنزیم دیگری به نام آلدهید دهیدروژناز، برای تولید استیل کوآنزیم A مورد استفاده قرار می‌گیرد. سپس این کوآنزیم، توسط فسفات استیل ترانسفراز برای تولید استیل فسفات استفاده می‌شود. این محصول به نوبه خود با ADP واکنش داده و تولید ATP می‌کند [8-6]. از انرژی آخرین واکنش برای رشد باکتری‌های هوازی خاص استفاده می‌شود. به طور خلاصه، استیلن منبع مهم کربن و انرژی را برای رشد این باکتری‌ها فراهم می‌کند.

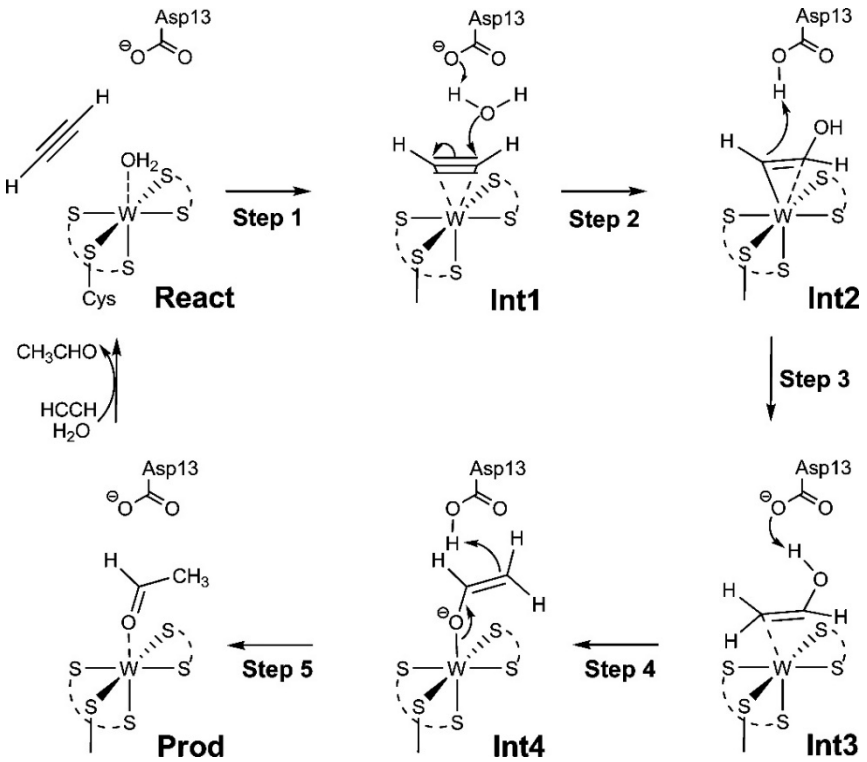
در ساختار بلوری گزارش شده از آنزیم استیلن هیدراتاز، یون تنگستن مکان فعال با عدد کوردیناسیون 6، به دو هم‌عامل پیترین (pterin)، یک مولکول آب و یک باقیمانده سیستئین (Cys-141) متصل شده‌است [9]. آمینواسید مهم در جایگاه فعال این آنزیم، Asp-13 است. این آمینواسید به شکل یونی فعال بوده و به عنوان یک باز در واکنش کاتالیستی آنزیم شرکت می‌کند. Asp-13 یک پیوند هیدروژنی با مولکول آب کوردینه شده به تنگستن برقرار می‌کند [9]. اهمیت بالای این آمینواسید در واکنش کاتالیستی آنزیم استیلن هیدراتاز با مطالعه‌های جهش‌زایی تایید شده‌است [10]. شکل 1 ساختار بهینه‌شده جایگاه فعال آنزیم استیلن هیدراتاز به همراه سوبسترای استیلن را نشان می‌دهد.

سازوکار واکنش کاتالیستی آنزیم استیلن هیدراتاز توسط لیائو و همکارانش به تفصیل مورد بررسی قرار گرفته است [11]. ایشان با استفاده از یک الگوی بزرگ از جایگاه فعال و با استفاده از نظریه تابعی چگالی الکترونی، یک سازوکار پنج مرحله‌ای را برای واکنش این آنزیم پیشنهاد دادند (طرحواره 1). در این سازوکار، Asp-13 و فلز تنگستن نقش‌های اصلی را بر عهده دارند. Asp-13 برای فعال سازی یک مولکول آب (آب هسته دوست: این مولکول در شکل 1، نزدیک فلز تنگستن نشان داده شده است) و انتقال پروتون، و تنگستن برای اتصال و فعال‌سازی استیلن و همچنین پایداری حالت‌های واسط و گذار ضروری است. با توجه به سازوکار پیشنهادی در طرح واره 1، در مرحله اول واکنش، ابتدا سوبسترای مورد نظر (استیلن یا مولکول‌های مشابه) متصل شده به آنزیم (حالت مواداولیه: React)، جایگزین مولکول آب متصل به تنگستن شده و تولید حد واسط اول (Int1) را می‌کند. این مرحله 5/4 کیلوکالری‌برمول گرماده است. در مرحله دوم، مولکول آب جدا شده از تنگستن، یک حمله نوکلئوفیلی روی استیلن متصل به تنگستن انجام داده و همزمان یکی از پروتون‌های آب به Asp-13 منتقل می‌شود. محصول این مرحله یک آنیون وینیل (Int2) می‌باشد. سد انرژی این مرحله نسبت به Int1، 16/9 کیلوکالری‌برمول می‌باشد. مرحله سوم، شامل یک انتقال

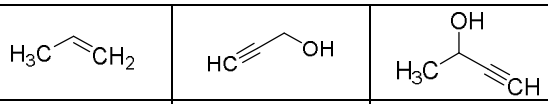
ایمیل نویسنده مسئول: m.irani@uok.ac.ir



شکل 1. ساختار بهینه‌شده جایگاه فعال آنزیم استیلن هیدراتاز به همراه سوبسترای استیلن.



طرح واره 1. سازوکار پیشنهادی برای واکنش کاتالیستی استیلن هیدراتاز توسط لیائو و همکارانش [11].

		
(ج)	(ب)	(الف)

طرح واره 2. (الف) 3-بوتین-2-ال، (ب) پروپارژیل الکل و (پ) پروپن.

پروتون از Asp-13 پروتون‌دار شده به اتم کربن آنیون وینیل است. محصول این مرحله یک وینیل الکل (Int3) است. این مرحله با سد انرژی 23/0 کیلوکالری‌برمول نسبت به Int1، مرحله تعیین کننده سرعت واکنش کاتالیستی آبدارکردن استیلن است. برای تکمیل واکنش وینیل الکل، فقط نیاز دارد به استالدهید تبدیل شود. در مرحله‌ی چهارم یک پروتون از سوبسترای آب دار شده به Asp-13 منتقل و حد واسط چهارم (Int4) تشکیل می‌شود. در مرحله ی آخر، پروتون منتقل‌شده به Asp-13، به سوبسترا برگشت داده‌شده و محصول واکنش (Prod) تشکیل می‌شود. دو مرحله آخر دارای سد انرژی پایین می‌باشند. همچنین لیائو و همکارانش نشان دادند زمانی که آمینواسید Asp-13 به صورت یونی باشد، واکنش بهتر انجام خواهد شد و نیمرخ انرژی مناسبی بدست می‌آید [11].

بر اساس سازوکار پنج مرحله‌ای پیشنهادی، در سال 2011 هیمو و لیائو، واکنش آبدارکردن را بر روی سه سوبسترای دیگر (پروپین، اتیلن و استونیتریل) مورد بررسی قراردادند [12]. طی این بررسی مشخص شد که این سه ترکیب توسط آنزیم استیلن‌هیدراتاز واکنش آبدارکردن را انجام نمی‌دهند. محاسبه‌های ایشان نشان داد که مرحله اول واکنش پروپین (مرحله تعویض لیگاند)، به اندازه 5/3 کیلوکالری‌برمول گرماده‌تر از واکنش استیلن است. بنابراین، اتصال پروپین به تنگستن بهتر از استیلن است. همچنین انرژی دو مرحله بعدی، یعنی زمانی که مولکول آب حمله‌هسته‌دوستی روی پروپین انجام می‌دهد و همچنین مرحله پروتون‌دار شدن سوبسترا خیلی بالا می‌باشد و بعد از این مرحله، یک حد واسط بسیار پایدار تشکیل می‌شود. بنابراین، نتیجه‌گیری شد که پروپین به عنوان مهارکننده رقابتی آنزیم استیلن هیدراتاز بوده و دو مرحله آخر واکنش یعنی مرحله توتومری شدن مطالعه نشد. محاسبه‌های این گروه برای واکنش اتیلن نشان داد که اتصال اتیلن به تنگستن 6 کیلوکالری‌برمول انرژی‌گیرتر از اتصال استیلن است. همچنین مرحله حمله نوکلئوفیلی آب، سد انرژی فعال‌سازی بالایی دارد. به این ترتیب، مشخص شد که اتیلن نمی‌تواند سوبسترای مناسبی برای آنزیم استیلن هیدراتاز باشد. از طرفی، اتصال استونیتریل به تنگستن به میزان 13/0 کیلوکالری‌برمول گرماگیرتر از اتصال استیلن است، و همچنین سد انرژی فعال‌سازی کلی 3/0 کیلوکالری‌برمول بالاتر است [12].

در این پژوهش، به منظور پیداکردن گونه‌های شیمیایی مناسب برای تبدیل توسط آنزیم استیلن هیدراتاز یا بازدارنده‌های رقابتی مناسب، واکنش آبدارکردن بر روی سه ترکیب 3-بوتین-2-ال، پروپارژیل الکل و پروپین مورد بررسی قرار گرفته‌است. ساختار این ترکیب‌ها در طرح واره نشان داده شده‌است. این سه ترکیب از نظر ساختاری بسیار شبیه سوبسترای طبیعی این آنزیم (استیلن) می‌باشند. بنابراین ممکن است که استیلن هیدراتاز بتواند این ترکیب‌ها را مانند استیلن آبدار کند یا برعکس، این ترکیب‌ها خاصیت بازدارندگی داشته و آنزیم را غیر فعال کنند.

روش محاسبه‌ها و الگوسازی

روش محاسبه‌ها

تمام محاسبه‌های این پژوهش با استفاده از برنامه گوسین 09 [13] انجام شده‌است. بهینه‌سازی ساختار نقاط ایستا در مسیر واکنش با تابع هیبریدی B3LYP [14,15] انجام شد. برای اتم‌های کربن، اکسیژن، نیتروژن و گوگرد از مجموعه پایه 6-31g* و برای اتم تنگستن از مجموعه پایهLANL2TZ استفاده شد [16]. محاسبه‌های بهینه‌سازی تمام ساختارها از جمله حالت‌های گذار بر اساس الگوریتم برنی، گنجاندهشده در نرم‌افزار گوسین انجام‌شد [17]. حضور بیش از 100 اتم در الگوها باعث افزایش زمان محاسبه‌ها می‌شود. از این‌رو محاسبه‌های پرهزینه‌ای، مانند IRC روی حالت‌های گذار پیداشده، انجام نشد. لازم به ذکر است که استفاده از روش‌های دیگر مانند QST2 برای شناسایی حالت‌های گذار در واکنش‌های آنزیمی، به علت استفاده از مختصات اضافه برای ثابت نگه داشتن اتم‌های انتهایی آمینواسیدها امکان‌پذیر نیست. اثرات محیط با سطح نظری به کار گرفته‌شده برای مرحله بهینه‌سازی هندسی، با انجام محاسبه‌های تک نقطه بر روی ساختارهای بهینه‌شده و با استفاده از روش مدل پیوستار قطبش‌پذیر رسانا (CPCM) محاسبه شده‌است [18]. در این محاسبه‌ها، ثابت دی‌الکتریک برابر 4 در نظر گرفته‌شد که یک مقدار استاندارد برای محیط اطراف پروتئین می‌باشد [19]. برای در نظر گرفتن اثرات محیط آنزیم، از سایر روش‌های پیوستار مانند COSMO یا SMD نیز در کارهای مشابه استفاده شده‌است [22–20]. در محاسبه‌های آنزیمی برتری نسبی برای هیچکدام از روش‌های پیوستار گزارش نشده‌است. مهم ثابت دی الکتریک 4 است که باید برای این روش‌ها استفاده شود [19]. محاسبه های فرکانس برای تأیید نقاط ایستا و تعیین انرژی نقطه‌ی صفر ارتعاشی انجام‌شد. در محاسبه‌های فرکانس برای تأیید نقاط ایستا روی سطح انرژی پتانسیل، باید یک فرکانس مجازی برای حالت‌های گذار به دست آید و هیچ فرکانس مجازی برای کمینه‌ها وجود نداشته‌باشد. جهت جلوگیری از حرکت‌های غیر معمول گروه‌های مختلف در طول بهینه‌سازی هندسی، تعدادی از اتم‌ها در موقعیت بلوری خود ثابت نگه داشته‌شده‌اند. این امر باعث ایجاد مقادیر بسیار کوچک فرکانس مجازی می‌شود. این مقادیر روی انرژی واکنش و سدهای انرژی تاثیری نخواهد داشت. انرژی ساختاری گزارش شده در این کار با تصحیح انرژی نقطه صفر، تصحیح گرمایی و بخش الکترونی انرژی حلال بر روی انرژی الکترونی مولکول محاسبه شده‌است.

الگوی جایگاه فعال آنزیم

آنزیم‌ها مولکول‌های بزرگی شامل چند هزار اتم می‌باشند و از این‌رو انجام محاسبه‌های مکانیک کوانتومی مبتنی بر نظریه تابعی چگالی بر روی کل ساختار یک آنزیم به دلیل ساختار پیچیده و بسیار بزرگ آن‌ها امکان‌پذیر نمی‌باشد. از آنجا که تنها بخش کوچکی از آنزیم (جایگاه فعال) در چرخه واکنش به صورت فعال شرکت می‌کند، بنابراین محاسبه‌ها بر روی یک مدل انتخابی از جایگاه فعال انجام می‌شود [19]. این روش که الگوسازی کوانتوم کلاستر نام دارد، به طور گسترده برای مطالعه واکنش‌های آنزیمی متعدد به‌کار رفته‌است [26-23]. بخش حذف‌شده از آنزیم با در نظر گرفتن آن به صورت محیط پیوستار با ثابت دی الکتریک 4 تا حدودی جبران می‌شود. در پژوهش حاضر، از یک الگوی بزرگ از جایگاه فعال آنزیم استیلن هیدراتاز براساس ساختاربلوری آن با کد 2E7Z استفاده شده‌است [9]. در این الگو، آمینواسیدهای مهم و مجاور جایگاه فعال استیلن هیدراتاز در آن لحاظ شده‌است. اگر الگوی جایگاه فعال به

اندازه کافی بزرگ انتخاب شود، آمینواسیدهای مجاور در سازوکار واکنش تاثیری نخواهند داشت، ولی انرژی واکنش بسته به اندازه الگو تغییر خواهدکرد [27]. الگوی به‌کار رفته همانند الگوی استفاده‌شده توسط لیائو و همکارانش است [11 و 12]. این الگو از دو لایه تشکیل‌شده که شامل یک یون تنگستن مرکزی و لیگاندهای لایه اول شامل دو هم‌عامل پیترین، آمینواسیدهای Met-140، Cys-141و Ile-142 و یک مولکول آب و لایه دوم شامل زنجیره اصلی Cys-12، Asp-13، Trp-179 و Arg-606 است. آمینواسید مهم لایه دوم، Asp-13 است و به صورت یونی در الگو استفاده شده‌است. الگوی ساخته‌شده با سوبسترای استیلن شامل 112 اتم و بار کلی 1- است. در شکل 1، ساختار بهینه‌شده جایگاه فعال آنزیم به همراه سوبسترای استیلن نشان داده شده‌است (ساختار بهینه شده جایگاه فعال آنزیم به همراه سه ترکیب دیگر در شکل پ1 فایل پیوست آمده‌است). جهت جلوگیری از حرکت‌های مصنوعی در طول فرآیند بهینه‌سازی هندسی، اتم‌های انتهایی آمینواسیدها در جایگاه فعال ثابت نگه داشته‌شد. ثابت نگه‌داشتن بعضی از اتم‌ها در روش کلاستر برای الگوسازی جایگاه فعال آنزیم، اولین بار توسط سی‌بان معرفی شد و امروزه به صورت گسترده به کار گرفته می‌شود [28]. اتم‌های ثابت‌شده با علامت ستاره در شکل 1 و شکل پ1 مشخص شده‌اند.

نتایج و بحث

در این پژوهش، شیمی‌گزینی آنزیم استیلن‌هیدراتاز برای آبدار کردن سه ترکیب 3-بوتین-2-ال، پروپارژیل الکل و پروپن با استفاده از نظریه تابعی چگالی بر اساس سازوکار پیشنهادی در طرح واره 1 بررسی می‌شود. به این منظور، نیمرخ انرژی واکنش‌های این سه ترکیب محاسبه و با نیمرخ انرژی محاسبه شده توسط لیائو و همکارانش [11] برای آبدارکردن سوبسترای طبیعی این آنزیم (استیلن) مقایسه می‌شوند.

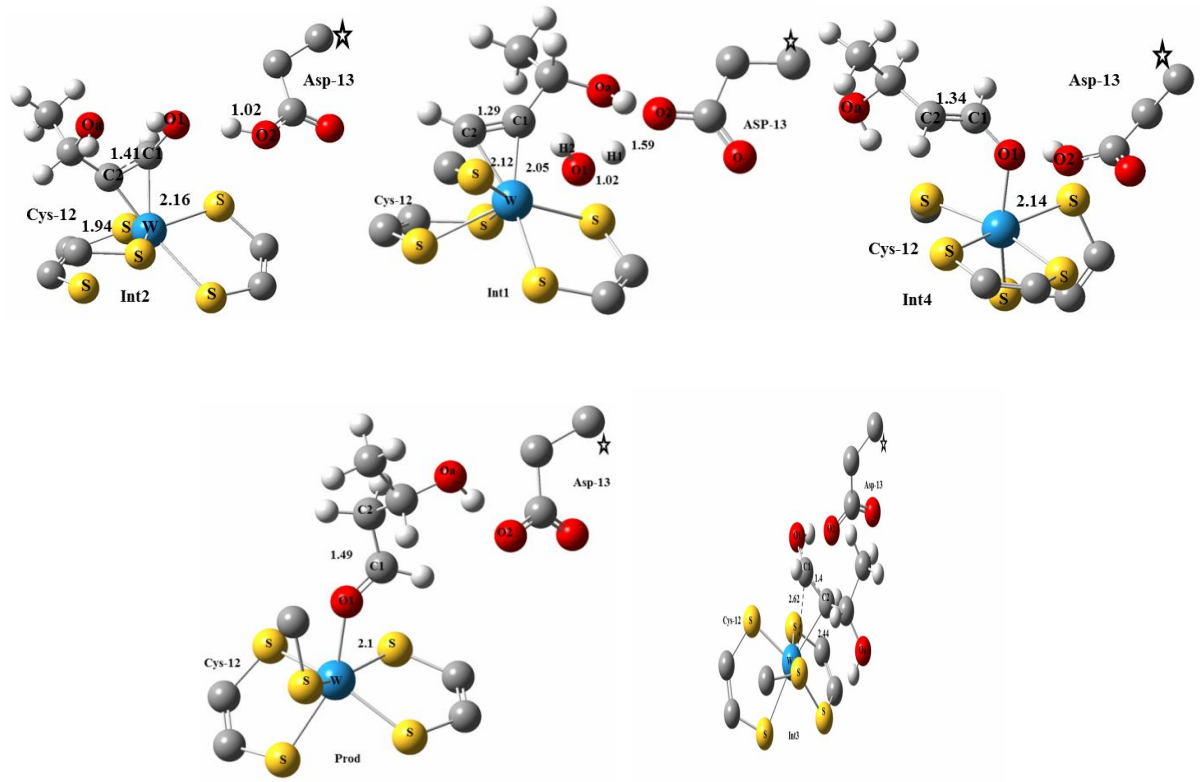
آبدار کردن 3-بوتین-2-ال

تمام مراحل سازوکار نشان داده‌شده در طرح‌واره 1 برای ترکیب 3-بوتین-2-ال با استفاده از نظریه تابعی چگالی انجام و ساختار نقاط ایستا در طول مسیر واکنش (React، Int1، Int2، Int3، Int4 و Prod: نام‌گذاری این نقاط در طرح‌واره 1 انجام شده‌است) بهینه و انرژی آنها محاسبه شد. این ساختارها در شکل نشان داده‌شده‌اند. همچنین، نیمرخ انرژی واکنش محاسبه و در شکل با نیمرخ انرژی سوبسترای استیلن مقایسه شد. نتایج نشان می‌دهد که در آبدارکردن، 3-بوتین-2-ال با هندسه مشابه استیلن به آنزیم متصل می‌شود. در این حالت، فاصله اتم‌های C1 و C2 (نامگذاری اتم‌ها در شکل 2 انجام شده است) از تنگستن به ترتیب به 2/05 و 2/10 آنگستروم می‌باشد و پیوند C1-C2 نسبت به حالت React بلندتر شده و از 1/21 آنگستروم به 1/29 آنگستروم در Int1 رسیده‌است (برای سوبسترای استیلن نیز فواصل مشابهی مشاهده می‌شود. فواصل اتمی مهم برای تمام ترکیب‌ها در طول واکنش در فایل پیوست فهرست شده‌است). با این حال، انرژی تعویض لیگاند برای 3-بوتین-2-ال بسیار متفاوت از استیلن است (مرحله اول واکنش سوبسترای 3-بوتین-2-ال 10/7 کیلوکالری بر مول انرژی لازم دارد. این در حالی است که این مرحله برای سوبسترای استیلن به اندازه 5/4 کیلوکالری بر مول گرماده است). می‌توان بیان کرد که مقدار بالای انرژی مرحله اول واکنش برای 3-بوتین-2-ال، از ساختار فضایی این ترکیب ناشی می‌شود. این ترکیب به دلیل داشتن یک گروه (CH_3-CH_2-) و یک هیدروکسید اضافی نسبت به استیلن، ازدحام فضایی ایجاد کرده و اتصال آن به تنگستن به انرژی بیشتری نیاز دارد، درنتیجه کمپلکس ضعیف‌تری را با اتم تنگستن نسبت به استیلن ایجاد می‌کند.

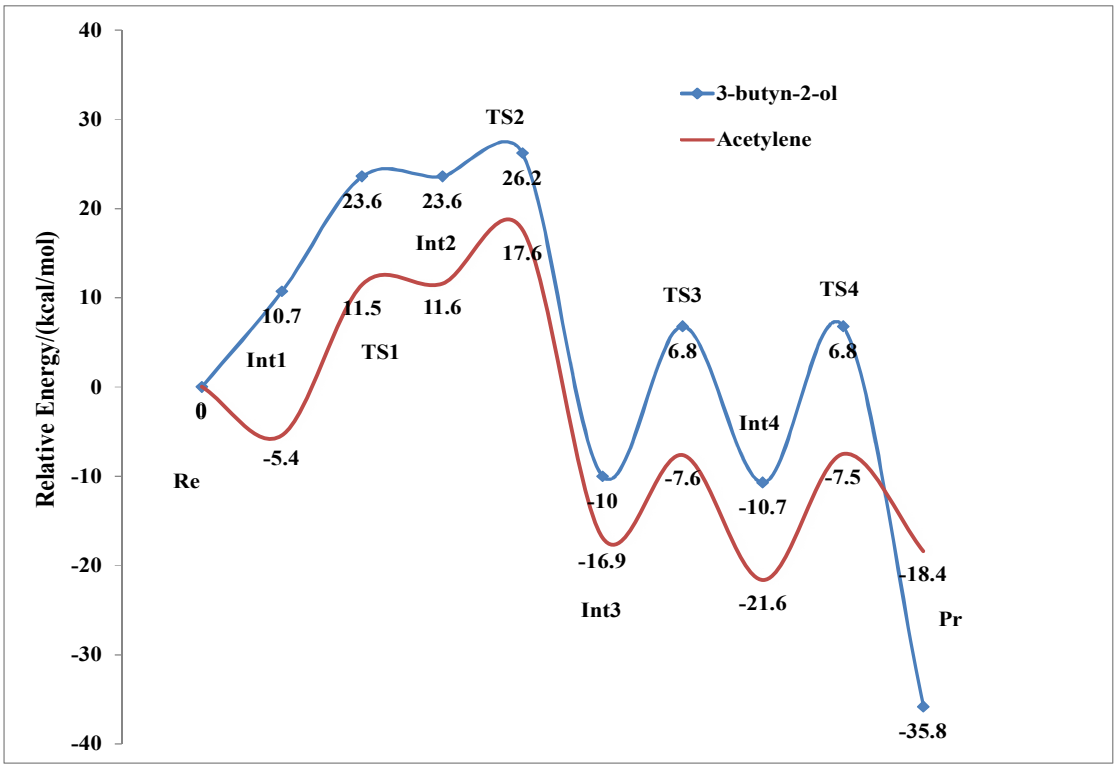
محصول مرحله حمله هسته‌دوستی مولکول آب (Int2) نسبت به Int1، 12/9 کیلوکالری برمول انرژی بیشتری دارد. انرژی این حد واسط نیز نسبت به حد واسط معادل در سوبسترای استیلن 10/0 کیلوکالری برمول بالاتر است (23/6 در مقایسه با 11/6 کیلوکالری بر مول). همان‌طور که در شکل نشان داده شده‌است، مرحله سوم واکنش منجر به حد واسط پایدار Int3 می‌شود. این حد واسط به اندازه 10/0 کیلوکالری‌برمول از حالت React پایدارتر و نسبت به حد واسط معادل استیلن 6/9 کیلوکالری‌برمول ناپایدارتر است. حالت گذار بین Int2 و Int3، با انرژی 26/2 کیلوکالری‌برمول بالاترین انرژی را در بین نقاط ایستا در شکل دارد. دو مرحله بعدی با حالت‌های گذار با انرژی مشابه (6/8 کیلوکالری‌برمول) مطلوب‌تر از سه مرحله اول هستند ولی محصول نهایی بسیار پایدارتر از مواد اولیه (35/8 کیلوکالری‌برمول) و همچنین محصول نهایی سوبسترای استیلن (به اندازه 17/4 کیلوکالری‌برمول) می‌باشد. سد انرژی کل فعال‌سازی برای آبدارکردن ترکیب 3-بوتین-2-ال در حدود۲۶/۲ کیلوکالری بر مول می‌باشد. در حالی‌که سد انرژی کل فعال‌سازی آبدارکردن سوبسترای استیلن، 23/0 کیلوکالری بر مول می‌باشد. این مقایسه نشان می‌دهد که 3-بوتین-2-ال می‌تواند واکنش آبدارکردن را کامل کند. ولی از آنجایی که محصول نهایی به شدت پایدار است (به اندازه 35/8 کیلوکالری‌برمول)، نمی‌تواند از آنزیم جدا شود. به طور خلاصه، نتایج نشان می‌دهد که 3-بوتین-2-ال به عنوان بازدارنده رقابتی برای استیلن هیدراتاز عمل می‌کند. نتیجه به دست‌آمده در توافق با نتیجه تجربی به دست‌آمده برای ترکیب‌های مشابه 3-بوتین-2-ال است. مکن‌استوک و همکارانش نشان دادند که ترکیب‌های استیلن منوکربوکسیلات و استیلن دی‌کربوکسیلات به عنوان بازدارنده رقابتی برای آنزیم استیلن هیدراتاز عمل می‌کنند [3].

آبدارکردن پروپارژیل الکل

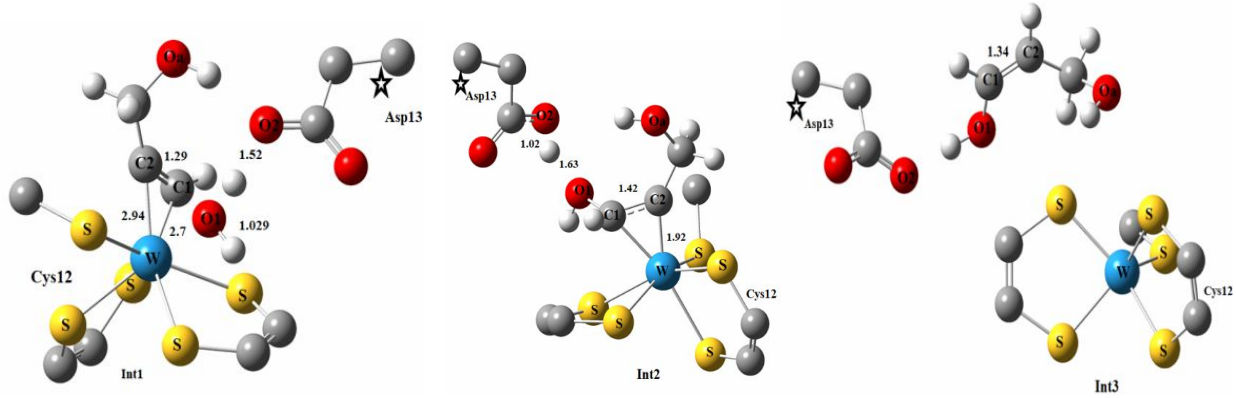
ساختار نقاط ایستا در طول مسیر واکنش برای آبدارکردن ترکیب پروپارژیل الکل با آنزیم استیلن هیدراتاز در شکل و نیمرخ انرژی واکنش آن در شکل نشان داده‌شده‌اند. نتیجه‌های محاسبه‌ها نشان می‌دهد که مرحله اول واکنش (جابجایی مولکول سوبسترا با مولکول آب)، 5/3 کیلوکالری برمول نسبت به React گرماگیر است. این مرحله نسبت به سوبسترای 3-بوتین-2-ال مطلوب‌تر ولی نسبت به استیلن انرژی گیرتر است. با توجه به ساختار این دو ترکیب، این امر طبیعی به نظر می‌رسد. همان‌طور که در طرح‌واره ۲ نشان داده شده‌است، این ترکیب از نظر ساختاری شبیه 3-بوتین-2-ال است با این تفاوت که پروپارژیل الکل یک گروه متیل کمتر دارد. گروه متیل کمتر باعث ازدحام فضایی کمتر و در نتیجه انرژی کمتر برای اتصال این ترکیب به آنزیم می‌شود. محصول مرحله اول (Int1)، به راحتی بعد از عبور از TS1 به Int2 می‌رسد که تقریبا هم انرژی با Int1 است. ولی مرحله سوم واکنش برای این



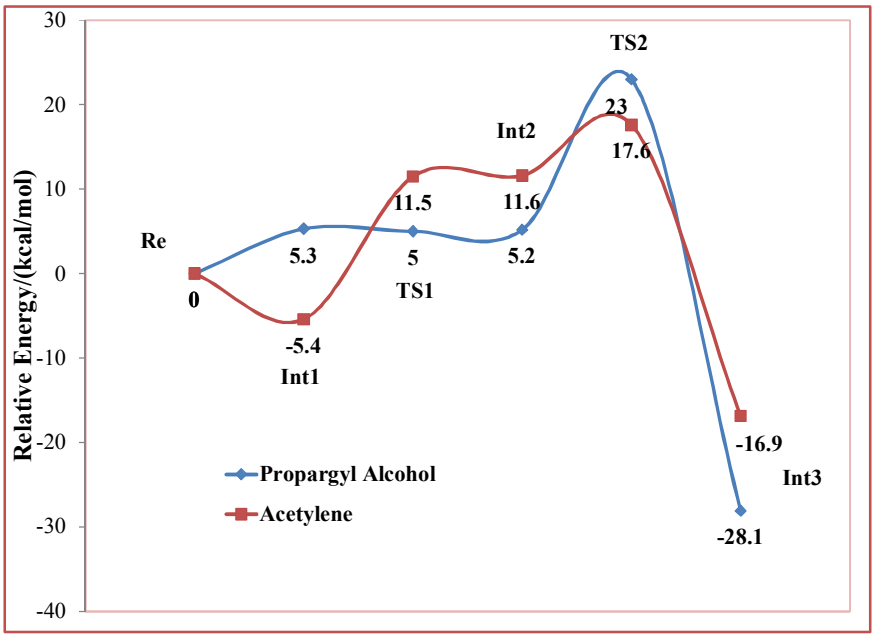
شکل 2. ساختارهای بهینه شده از Int1 تا محصول مربوط به سوبسترای 3-بوتین-2-ال. برای سادگی و وضوح شکل‌ها، گروه‌های اضافی نشان داده نشده‌اند. فاصله‌های نشان داده شده بر حسب انگستروم می‌باشند.



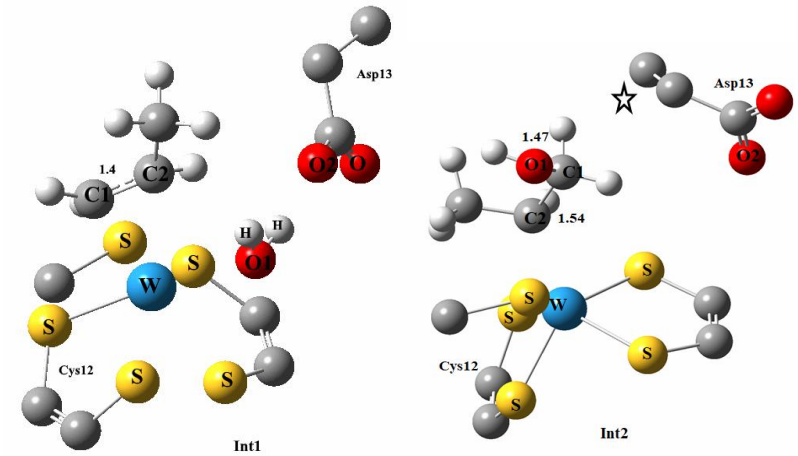
شکل 3. نمودار انرژی پتانسیل برای سوبسترای 3-بوتین-2-ال در مقایسه با استیلن.



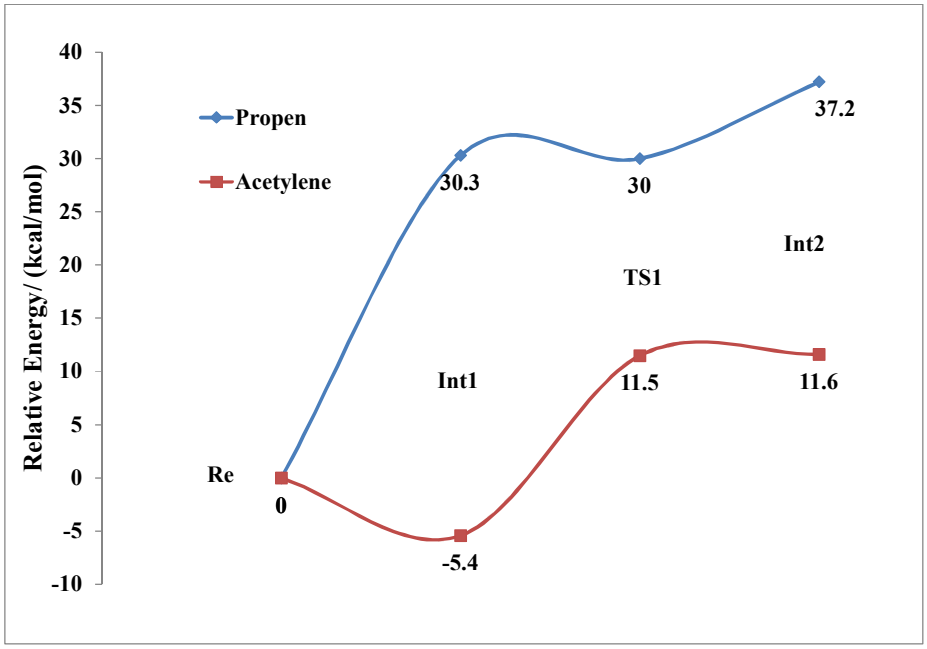
شکل 4. ساختارهای بهینه شده از Int1 تا محصول مربوط به پروپارژیل الکل. برای سادگی و وضوح شکل‌ها، گروه‌های اضافی نشان داده نشده‌اند. فاصله‌های نشان داده شده بر حسب انگستروم می‌باشند.



شکل 5. نمودار انرژی پتانسیل برای سوبسترای پروپارژیل الکل در مقایسه با استیلن.



شکل 6. ساختارهای بهینه شده (Int1 و Int2) مربوط به سوبسترای پروپن. برای سادگی و وضوح شکل‌ها، گروه‌های اضافی نشان داده نشده‌اند. فاصله‌های نشان داده شده بر حسب انگستروم می‌باشند.



شکل 7. نمودار انرژی پتانسیل برای سوبسترای پروپن در مقایسه با استیلن.

سوبسترا، دارای سد انرژی نسبتا بالا (17/8 کیلوکالری برمول) می‌باشد. سوبسترای پروپارژیل الکل بعد از عبور از مرحله سوم به یک حد واسط بسیار پایدار که یک وینیل الکل می‌باشد (Int3)، می‌رسد. این حد واسط، 28/1 کیلوکالری برمول پایدارتر از React است. برای این سوبسترا، واکنش کامل نشده و در مرحله سوم Int3 متوقف می‌شود. در کارهای نظری پیشین نیز نتیجه یکسانی برای ترکیب مشابه پروپین که آن هم مانند پروپارژیل الکل یک پیوند سه گانه دارد، به دست آمده است [12].

آبدارکردن پروپن

ساختار نقاط ایستا در طول مسیر واکنش برای ترکیب پروپن در شکل و نیمرخ انرژی واکنش در شکل نشان داده‌شده‌اند. محاسبه‌های انجام‌شده بر روی سازوکار سوبسترای پروپن نشان داد که مرحله تعویض لیگاند برای این ترکیب بسیار گرماگیرتر از واکنش استیلن، 3-بوتین-2-ال و پروپارژیل الکل است (30/3 کیلوکالری برمول). برخلاف این سه ترکیب که با چهار الکترون در اوربیتال π خود با یک اوربیتال خالی d از تنگستن برهمکنش دارند، پروپن فقط با دو الکترون در اوربیتال π خود با یک اوربیتال خالی d از تنگستن برهمکنش دارد. همچنین اوربیتال d پر شده تنگستن، دو الکترون را به صورت برگشتی به اوربیتال π* پروپن می‌دهد. این امر باعث ناپایدارتر شدن اوربیتال π* پروپن می‌شود.

مجموعه این عوامل باعث نامطلوب‌تر شدن مرحله‌های هسته‌دوستی بعدی واکنش می‌شوند. چنان‌که نتیجه‌ها نشان می‌دهند، مرحله حمله نوکلئوفیلی مولکول آب نیز نسبتا گرماگیر است (9/6 کیلوکالری برمول) و Int2 به اندازه 37/2 کیلوکالری برمول بالاتر از React قرار دارد. این انرژی‌های بالا نشان می‌دهند که پروپن نمی‌تواند سوبسترای مناسبی برای آنزیم استیلن هیدراتاز باشد و با آن واکنش نمی‌دهد. نتیجه به دست‌آمده در توافق با نتیجه تجربی به دست آمده برای اتیلن که یک ترکیب مشابه پروپن است، می‌باشد. روزنر و همکارانش نشان دادند که استیلن هیدراتاز هیچ فعالیتی در مقابل اتیلن از خود نشان نمی‌دهد [2]. این نتیجه با نتیجه‌های نظری به دست‌آمده توسط هیمو و همکارانش برای اتیلن نیز سازگاری دارد. آنها نشان دادند که اتیلن نیز به دلیل داشتن سد انرژی فعال‌سازی بالا، سوبسترای مناسبی برای آنزیم استلین هیدارتاز نیست و واکنش آن مانند پروپن در مرحله Int2 متوقف می‌شود [12].

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، سازوکار کاتالیستی آبدارکردن با آنزیم استیلن هیدراتاز مربوط به باکتری استلنیکوز، بر روی سه ترکیب پروپارژیل الکل، پروپن و 3-بوتین-2-ال مورد مطالعه قرارگرفت. برای 3-بوتین-2-ال، انرژی اتصال 16/1 کیلوکالری‌برمول بالاتر و محصول ایجاد شده 17/4 کیلوکالری‌برمول پایدارتر از محصول سوبسترای استیلن است. به طور مشابه برای پروپارژیل الکل نیز انرژی اتصال 10/7 کیلوکالری‌برمول بالاتر از سوبسترای استیلن است. پروپارژیل الکل در مرحله سوم واکنش خود، به یک حد واسط بسیار پایدار رسیده و واکنش آن متوقف می‌شود. این نتیجه‌ها نشان می‌دهند که 3-بوتین-2-ال و پروپارژیل الکل به عنوان بازدارنده رقابتی برای آنزیم استیلن هیدراتاز عمل می‌کنند.

نتیجه‌های محاسبه‌ها برای واکنش پروپن نشان داد که انرژی اتصال این ترکیب بسیار گرماگیرتر از استیلن، 3-بوتین-2-ال و پروپارژیل الکل است (30/3 کیلوکالری برمول). همچنین مرحله بعدی هسته دوستی نیز انرژی بالایی لازم دارد. در نتیجه، پروپن نمی‌تواند سوبسترا یا بازدارنده مناسبی برای استیلن هیدراتاز باشد.

سپاسگزاري

بدین وسیله از حمایت‌های مالی معاونت آموزشی و پژوهشی دانشگاه کردستان در انجام این پژوهش سپاسگزاري می‌شود.

پیوست

پیوست‌ها شامل ساختار بهینه‌شده جایگاه فعال، فاصله‌های اتمی مهم و بار اتم‌ها برای ترکیب‌های مورد مطالعه می‌باشد.

مراجع

1) T. Bugg, Introduction to Enzyme and Coenzyme Chemistry, Blackwell Pub, 2004.
2) B.M. Rosner, B. Schink, J. Bacteriol. 177 (1995), 5767.
3) R. U. Meckenstock, R. Krieger, S. Ensign, P.M.H. Kroneck, B. Schink, Eur. J. Biochem. 264 (1999) 176.
4) B. Schink, Arch. Microbiol. 142 (1985) 295.
5) S. Antony, C.A. Bayse, Organometallics 28 (2009) 4938.
6) D.K. Fox, S. Roseman, J. Biol. Chem. (1986).
7) E.R. Stadtman, J. Biol. Chem. 527 (1952).
8) H. Buschhorn, P. Durre, G. Gottschalk, Arch. Microbiol. 158 (1992) 132.
9) G.B. Seiffert, G.M. Ullmann, A. Messerschmidt, B. Schink, P.M.H. Kroneck, O. Einsle, Proc. Natl. Acad. Sci. 104 (2007) 3073.
10) F. Tenbrink, B. Schink, P.M.H. Kroneck, J. Bacteriol. 193 (2011) 1229.
11) R.-Z. Liao, J.-G. Yu, F. Himo, Proc. Natl. Acad. Sci. 107 (2010) 22523.
12) R Z. Liao, F. Himo, ACS Catal. 1 (2011) 937.
13) D.J. Frisch, M.J. Trucks, G.W. Schlegel, H.B. Scuseria, G.E. Robb, M.A. Cheeseman, J.R. Scalmani, G. Barone, V. Mennucci, B. Petersson, G.A. Nakatsuji, H. Caricato, M. Li, X. Hratchian, H.P. Izmaylov, A.F. Bloino, J. Zheng, G. Sonnenb, Gaussian, Inc. Wallingford CT., 2009.
14) A.D. Becke, Phys. Rev. A 38 (1988) 3098.
15) C. Lee, W. Yang, R.G. Parr, Phys. Rev. B 37 (1988) 785.
16) L.E. Roy, P.J. Hay, R.L. Martin, J. Chem. Theor. Comput. 4 (2008) 1029.
17) X. Li, M. J. Frisch, J. Chem. Theor. Comput. 2 (2006) 835.
18) V.B. and M. Cossi, V. Barone, M. Cossi, J. Phys. Chem. A. 102 (1998) 1995.
19) P.E.M. Siegbahn, F. Himo, Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Mol. Sci. 1 (2011) 323.
20) F. Himo, P.E.M. Siegbahn, J. Am. Chem. Soc. 123 (2001) 10280.
21) X. Sheng, F. Himo, ACS Catal. 1733 (2017).
22) X. Sheng, M.E.S. Lind, F. Himo, FEBS J. 282 (2015) 4703.
23) M. Kazemi, X. Sheng, W. Kroutil, F. Himo, ACS Catal. 8 (2018) 10698.
24) S. Jafari, N. Kazemi, U. Ryde, M. Irani, Inorg. Chem. 57 (2018) 4944.
25) H. Daver, B. Das, E. Nordlander, F. Himo, Inorg. Chem. 55 (2016) 1872.
26) S. Jafari, U. Ryde, M. Irani, J. Mol. Catal. B: Enzym. 131 (2016) 18.
27) L. Hu, J. Eliasson, J. Heimdal, U. Ryde, J. Phys. Chem. A 113 (2009) 11793.
28) P.E.M. Siegbahn, Chem. Phys. Chem. 12 (2011) 3274.
29) a) G. Vasilevski, Blug. J. Plant Physiol. 29 (2003) 179; b) V. Khakyzadeh, R. Luque, M.A. Zolfigol, H. Rezaei Vahidian, H. Salehzadeh, V. Moradi, A.R. Soleymani, A.R. Moosavi-Zare, K. Xu, RSC Adv. 5 (2015) 3917.
30) F. Dhawi, J.M. AL-Khayri, E. Hassan, Res. J. Agricul. Biol. Sci. 5 (2009) 161.
31) A. Aladjadjiyan, J. Central Eur. Agricul. 8 (2007) 369.
32) N.Y. Su, Y.-H. Wu, C.-Y. Mar, Cement Concrete Res. 30 (2000) 599.
33) E. Kordyum, M. Sobol, A. Kalinina, N. Bogatin, A. Kondrachuk, Adv. Space Res. 39 (2007) 1210.
34) Journal of Magnetism and Magnetic Materials 209 (2000) 71-74 Magnetic Water Treatment J.M.D. Coey*, Stephen Cass Physics Department, Trinity College, Dublin 2, Ireland.
35) K.-T. Chang, C.-I. Weng, J. Appl. Phys. 100 (2006) 043917.
36) M. Bakherad, F. Moosavi, R. Doosti, A. Keivanloo, M. Gholizadeh, New J. Chem. 42 (2018) 4559.