بررسی نظری مکانیسم کاتالیستی و مهار آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام با متالوبتالاکتامازها در حلال‌ها و دماهای مختلف با استفاده از محاسبات مکانیک کوانتومی

مینا غیاثی*، بهاره نوحی؛ دانشگاه الزهرا، دانشکده علوم
منصور زاهدی؛ دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم، گروه شیمی

چکیده

رایج‌ترین و مهم‌ترین مکانیسم دفاعی باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است. این داروها از طریق هیدرولیز و شکست حلقهٔ ۴-عضوی پیوند بتالاکتام، طی مکانیسمی دومرحله‌ای، شامل حملهٔ نوکلئوفیلی یون هیدروکسید پل و پروتونه شدن گروه آمین، غیرفعال می‌شوند. طی این واکنش یون‌های فلزی نقش مهمی را در فرآیند کاتالیستی ایفا می‌کنند. البته با وجود پژوهش‌های متعدد، هنوز مکانیسم عمل‌کرد این آنزیم‌ها نامشخص و بازدارنده مناسب برای آن‌ها گزارش نشده است. نظریهٔ تابعی چگالی (DFT) با استفاده از روش B3LYP و سری‌های پایه 6-31G، 6-31G* و 6-311G**، برای محاسبه جزئیات ساختار و انرژی الکترونی واکنش کاتالیستی بخش فعال آنزیم CcrA از خانوادهٔ آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MβLs)، آنتی‌بیوتیک بتالاکتام پنی‌سیلین و کمپلکس‌های تشکیل شده شامل ES، ETS_1 ، INT_1، INT_2، ETS_2 و EP به‌ترتیب، به‌کار گرفته شده است. هم‌چنین توابع ترمودینامیکی نظیر، آنتالپی استاندارد (ΔH^o)، آنتروپی استاندارد (ΔS^o) و انرژی آزاد گیبس استاندارد (ΔG^o) واکنش، برای ETS_1، ETS_2 و برای کل واکنش، در دماهای ۲۵ °C، ۳۱ °C، ۳۷ °C و ۴۰ °C و فشار ۱ اتمسفر، بررسی شد. در همهٔ محاسبه‌ها اثر حلال با روش PCM برای حلال‌های آب، اتانول، محیط پروتئینی، نیترومتان و تتراکلرید کربن در نظر گرفته شده است. در نهایت این واکنش طی یک فرآیند گرمازا و خودبه خودی، به پایداری می‌رسد و مرحلهٔ اول مکانیسم واکنش، یعنی حملهٔ نوکلئوفیلی، مرحلهٔ تعیین‌کننده سرعت است.

مقدمه

عفونت‌های باکتریایی، از علل اصلی مرگ و میر زودرس در جهان است [۱]، [۲]. براساس گزارش‌های سازمان سلامت جهانی (WHO)، در سال ۲۰۰۲، تقریباً ۱۵ میلیون از مرگ و میرهای جهان، ناشی از بیماری‌های عفونت باکتریایی بوده است [۱]. به‌دنبال راهی برای مبارزه با بیماری‌های ناشی از عفونت‌های باکتریایی، فلمینگ در سال ۱۹۲۸با کشف پنی‌سیلین، آنتی‌بیوتیک‌ها را به جهان معرفی کرد [۳]، [٤]، [٥].

واژه‌های کلیدی: آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MβLs)، آنزیمCcrA، پنی‌سیلین، توابع ترمودینامیکی، محاسبات QM.

دریافت ۹۲/۹/۱۱ پذیرش ۹۳/٤/۳

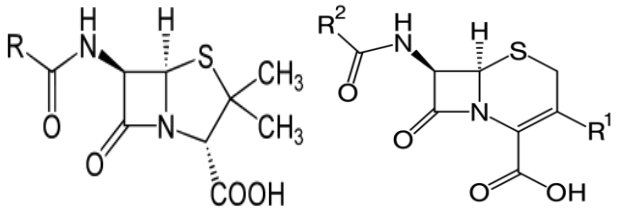
*نویسنده مسئول ghiasi@alzahra.ac.ir

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

فلمینگ به‌طور اتفاقی متوجه اثر ضدباکتریایی مادهٔ مترشحه از قارچ پنی‌سیلیوم نوتاتوم شد [۵]، [٦] وهاوارد فلوری این ماده را تخلیص کرد و با تجویز آن موفق به درمان عفونت‌ها شد [۶. در نهایت پنی‌سیلین، برای اولین بار در سال ۱۹۴۲ استفاده شد [۱]. اکثر آنتی‌بیوتیک‌ها، محصول طبیعی حاصل از باکتری‌ها و قارچ‌ها و دیگر آنتی‌بیوتیک‌ها حاصل از سنتزهای تجربی هستند [۱]، [۴] که سبب از بین بردن باکتری‌ها یا کند کردن رشد آن‌ها می‌شوند [۱].

آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام

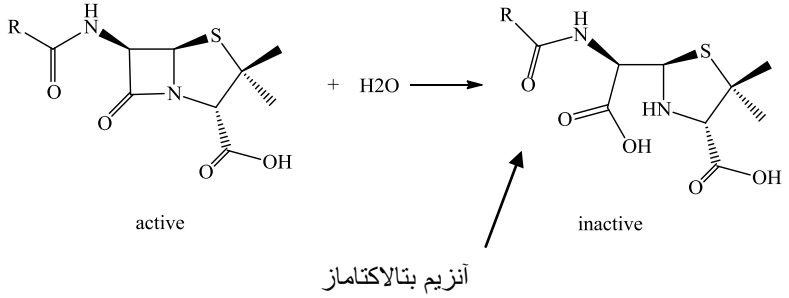
آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام که در درمان بیماری‌های باکتریایی به‌کار می‌روند، بیش از ۵۰ درصد آنتی‌بیوتیک‌ها [۱] و قسمت عمده‌ای از داروهای شیمیایی را تشکیل می‌دهند [۷]، [۸/]، [۹]. دسترسی آسان به ساختار این ترکیبات، سمیت ناچیز، کارآمدی و اثر زیاد سبب کاربرد گستردهٔ آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام در پزشکی شده است [۴]، [۷]. این دسته از آنتی‌بیوتیک‌ها شامل دو خانواده پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها هستند [٤]، [۷] که به‌ترتیب از اسیدهای ۶- آمینوپنی سیلانیک (6APA) و ۷- آمینوسفالوسپورانیک مشتق شده‌اند [۷]. شاخصه اصلی در آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، وجود حلقهٔ چهار عضوی بتالاکتام است [۱۰]. در شکل ۱، هستهٔ مرکزی ساختار خانواده پنی‌سیلین‌ها و سفالوسپورین‌ها نشان داده شده است:



شکل ۱. هستهٔ مرکزی ساختار خانواده پنی‌سیلین‌ها (سمت چپ) و سفالوسپورین‌ها (سمت راست) [۱]، [۴]

آنزیم‌های بتالاکتاماز

رایج‌ترین و مهم‌ترین مکانیسم دفاعی باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام، تولید بتالاکتاماز ها است که از طریق هیدرولیز و شکست حلقهٔ ۴-عضوی پیوند بتالاکتام، طبق شکل ۲، آن‌ها را غیرفعال می‌کنند [۱۱]، [۱۲]، [۱۳]، [۱٤]، [۱۵].



شکل ۲. مکانیسم اثر آنزیم‌های بتالاکتاماز بر خانواده پنی‌سیلین‌ها [۱۶]

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

بتالاکتامازها، به چهار دستهٔ A، B، C و D تقسیم می‌شوند [۱۷]-[۲۲]. آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز (MβLs) از دستهٔ B، نیاز به یون‌های فلزی در بخش فعال آنزیم دارند [۲۳]، [۲٤]، [۲۵]. این یون‌های فلزی عبارت‌اند از: Zn^{2+}، Cd^{2+}، Co^{2+} و Mn^{2+} [۲۶]، [۲۷]. متالوبتالاکتامازها، براساس دنبالهٔ رشته‌هایشان، به سه دستهٔ اصلی، B1، B2 و B3 طبقه‌بندی می‌شوند [۱۷]-[۲۲]، [۲۸]. گروه B1 و B3 می‌توانند به یک یا دو یون فلزی متصل شوند، در حالی‌که گروه B2 معمولاً به یونی فلزی متصل می‌شود [۲۹]-[۳۱]. هریک از این آنزیم‌ها، اگر حاوی یک فلز باشند دارای ساختار چهاروجهی و اگر دارای دو فلز باشند یکی از آن‌ها دارای ساختار چهاروجهی و دیگری دارای ساختار دوهرمی مثلثی خواهند بود [۲۱]، [۳۲].

نقش فلز روی در آنزیم‌ها

از میان یون‌های فلزی مذکور، یون روی اهمیت بیش‌تری دارد، زیرا فلز روی به‌عنوان یک کوفاکتور مورد نیاز در یک سوم از همهٔ پروتئین‌ها و یک کوفاکتور آنزیم از هر شش طبقهٔ عمدهٔ آنزیم‌ها پیش‌بینی شده است [۳۳]، [۳٤]، [۳۵]. روی در پروتئین‌های حاوی فلزات نقش‌های زیستی حیاتی را در همه اندام‌ها ایفا می‌کند و همچنین به‌عنوان هدفی در تهیهٔ بسیاری از داروها به آن توجه شده است [۳۶]، زیرا روی، بعد از آهن، دومین فلز فراوان در بدن انسان است [۳۵]، [۳۷].

روی اغلب با اتصال به لیگاندهای، سولفور از سیستئین، نیتروژن از هیستیدین، اکسیژن از آسپارتات و یا ترکیبی از همهٔ این لیگاندها، آرایش چهاروجهی نامنظم و یا دو هرمی مثلثی را به‌خود می‌گیرد [۳۵]. یون فلز روی، در مکانیسم‌های کاتالیستی، به‌عنوان اسید لوئیس عمل می‌کند [۳۵]،[۳۸].

مکانیسم اثر آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام

با وجود بررسی‌های تجربی گسترده و پژوهش‌های نظری و محاسباتی که روی آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز انجام شده است، ولی مکانیسم اثر آن‌ها به‌طور دقیق مشخص نیست، به‌همین منظور با انجام محاسبات گوناگون، مکانیسم‌های پیشنهادی از اثر آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام ارائه شده است.

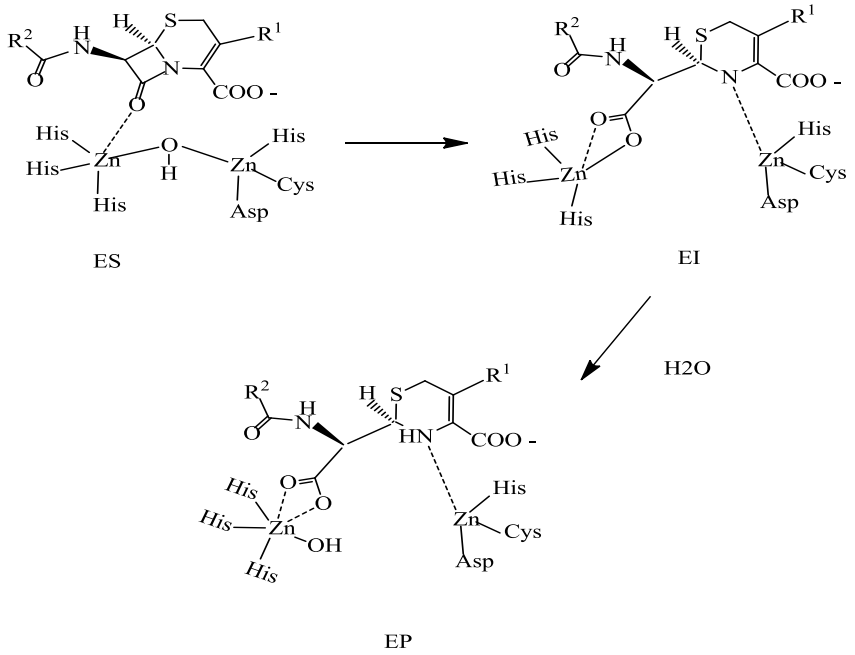
طبق معادلهٔ وانگ، رابطهٔ ۱، مکانیسم سینتیکی عمل آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز بر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام بدین‌صورت است [۳۹]-[۴۲]:

$$E + S \leftrightarrow ES \rightarrow EI \rightarrow EP \leftrightarrow E + P \qquad (۱)$$

که در این معادله، E نمایانگر آنزیم، S سوبسترا، P محصول، ES کمپلکس اولیه میان آنزیم و سوبسترا، EI کمپلکس حدواسط و EP کمپلکس آنزیم و محصول است.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

به‌غیر از مرحلهٔ اول و چهارم، که شامل برخورد آنزیم و سوبسترا و جدا شدن آنزیم از محصول است، این مکانیسم شامل دو قسمت اصلی، حملهٔ نوکلئوفیلی گروه هیدروکسید پل به سوبسترا و پروتونه شدن گروه آمین، در مراحل دوم و سوم است [٤٣]، [۴۴] که طی تبدیل کمپلکس ES به EI و نهایتاً EP رخ می‌دهد (شکل ۳).

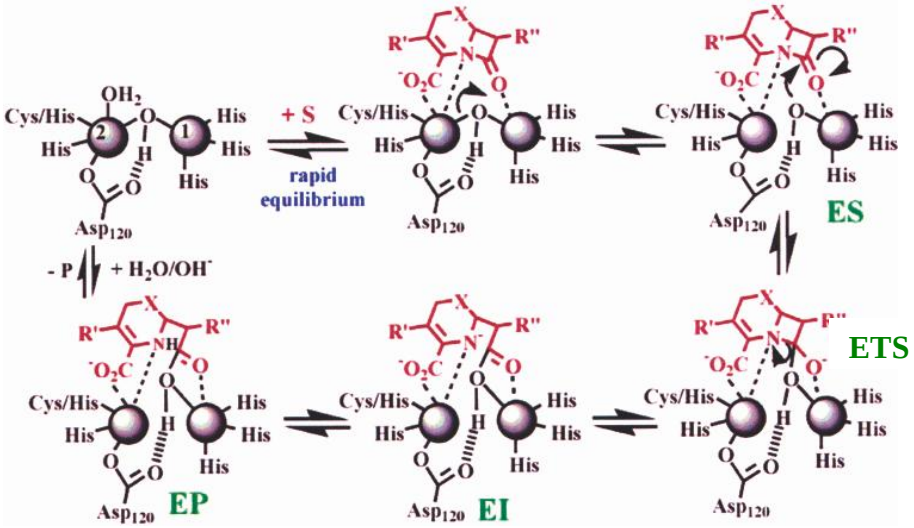


شکل ۳. ساختار شیمیایی کمپلکس‌های تشکیل شده بین یک آنزیم متالوبتالاکتاماز و سفالوسپورین‌ها در مراحل، حمله نوکلئوفیلی گروه هیدروکسید پل به سوبسترا و پروتونه شدن گروه آمین [۴۵]

در نگاهی دقیق‌تر به جزئیات مسیر انجام واکنش، مکانیسمی طبق شکل ۴ ارائه شده است. با خروج گروه آب از آنزیم E و ایجاد جای‌گاه فعال و خالی برای سوبسترا S، تعادلی سریع حاصل از اتصال سوبسترا به آنزیم رخ می‌دهد، سپس گروه هیدروکسید پل، همراه با یون Zn_1^{2+}، به کربن، کربونیل حلقهٔ بتالاکتام حمله می‌کند و تشکیل کمپلکس ES را می‌دهد. در این مسیر گروه آسپارتیک، نقش بسیار مؤثری برای ایجاد این حمله را فراهم می‌کند [٤٣]، [۴۶]، همچنین اتصال لیگاند آب به یون Zn_1^{2+}، سبب فعال‌تر شدن گروه هیدروکسیدی، برای حملهٔ نوکلئوفیلی به گروه کربونیل بتالاکتام می‌شود [٤٧]، [۴۸]. سپس الکترون‌های حاصل از فعال کردن پیوند بتالاکتام روی دو اتم اکسیژن و نیتروژن پخش می‌شوند و ترکیب ناپایدار ETS شکل می‌گیرد، در این مرحله یون Zn_2^{2+} به‌عنوان کاتالیست الکتروفیلی سبب پایداری بار منفی ایجاد شده روی اتم نیتروژن درگیر در حلقهٔ بتالاکتام بعد از شکست پیوند C-N، می‌شود [٤٦]، [۴۷] و کمپلکس EI را تشکیل می‌دهد. حال کمپلکس EI با وجود بار منفی ایجاد شده گروه آمین، ظرفیت پذیرش پروتون را دارد و با قبول پروتون، کمپلکس EP تشکیل می‌شود [٤٣]، [۴۶]. چنان‌که پیش‌تر ذکر شد، آنزیم‌ها در این واکنش نقش کاتالیزور را ایفا می‌کنند، زیرا شکست پیوند C-N آمیدی تحت شرایط خنثی، فرآیندی بسیار کند است، به‌گونه‌ای که با سد انرژی بیش از

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

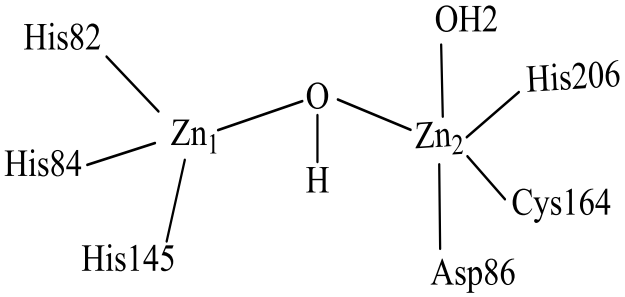
kcal/mol ۵۰ مواجه می‌شود [۴۵]، ولی با وجود این آنزیم‌ها، واکنش به‌دلیل وجود گروه آسپارتیک و دو یون Zn^{2+}، سرعت می‌گیرد، از این‌رو آنزیم با دریافت مجدد گروه آب و خارج کردن سوبسترا، محصول P، یعنی آنتی‌بیوتیک هیدرولیز شده را تشکیل می‌دهد.



شکل ۴. مکانیسم پیشنهادی برای هیدرولیز آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام (سفالوسپورین‌ها) توسط آنزیم‌های متالوبتالاکتاماز [۴۳]، [۴۶]

مواد و روش‌ها

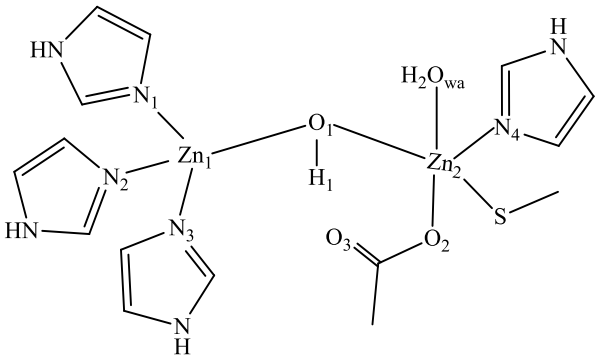
آنزیم CcrA، آنزیم دوهسته‌ای متعلق به گروه B1 متالوبتالاکتامازها است. بخش فعال این آنزیم شامل دو یون روی است که یکی از آن‌ها (Zn_1) به چهار لیگاند، که شامل سه هیستیدین، His82، His84، His145و یک یون هیدروکسید پل (Wat1) با آرایش چهاروجهی نامنظم و یون روی دیگر (Zn_2) با ساختار دوهرمی مثلثی، به پنج لیگاند، آسپارتات (Asp86)، سیستئین (Cys164)، هیستیدین (His206)، آب‌محوری (Wat2) و یون هیدروکسید پل (Wat1)، مطابق شکل ۵، متصل است [٤٥]، [۴۹].



شکل ۵. ساختار شیمیایی آنزیم CcrA

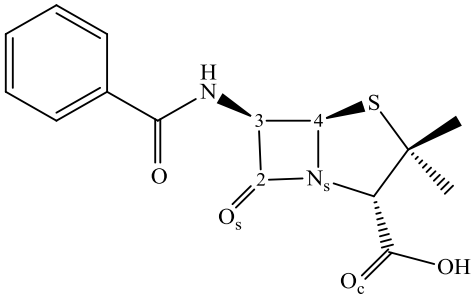
البته در این پژوهش، به‌دلیل محدودیت‌های سیستم محاسباتی، از مدل آنزیم CcrA، با ساختار شیمیایی مطابق شکل ۶ استفاده شد.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]



شکل ۶. ساختار شیمیایی مدل آنزیم CcrA

همچنین آنتی‌بیوتیک بتالاکتام بررسی شده در این پژوهش، پنی‌سیلین است که ساختار شیمیایی مطابق شکل ۷ دارد.



شکل ۷. ساختار شیمیایی پنی‌سیلین

در این بررسی‌ها، تمامی محاسبه‌ها با استفاده از برنامهٔ گوسین ۲۰۰۳ [۵۰] انجام شده است.

ساختارهای هندسی، مدل آنزیم CcrA، آنتی‌بیوتیک بتالاکتام پنی‌سیلین و کمپلکس‌های تشکیل شده بین آن‌ها، که شامل، حدواسط و حالت گذار است، به‌طور کامل، با استفاده از توابع (B3LYP) [۵۱]روش‌های محاسباتی نظریهٔ تابعی چگالی (DFT) [۵۲]، در سه سطح پایه، 6-31G، 6-31G* و6-311G** و بدون اعمال شرط تقارنی بهینه‌سازی شده‌اند .

توابع ترمودینامیکی ΔE^o، ΔH^o، ΔS^o و ΔG^o، برای واکنش کلی و همچنین برای تشکیل حالت‌های گذار، در شرایط دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر، با استفاده از محاسبات فرکانس و طبق روابط ۲ الی ۵ [۵۳]، [۵۴] محاسبه شدند.

$$H(X) = E_0 + ZPE + E_{trans} + E_{rot} + E_{vib} + RT \quad (۲)$$

$$\Delta H^o = (H^\circ_{product}) - (H^\circ_{reactant}) \quad (۳)$$

$$\Delta S^o = (S^\circ_{product}) - (S^\circ_{reactant}) \quad (۴)$$

$$\Delta G^o = \Delta H^o - T\Delta S^o \quad (۵)$$

در این روابط، E_0 انرژی الکترونی پایه، ZPE انرژی نقطه صفر، E_{trans} انرژی انتقالی، E_{rot} انرژی چرخشی، E_{vib} انرژی ارتعاشی، ΔH^o تغییر آنتالپی استاندارد، ΔS^o تغییر آنتروپی استاندارد و ΔG^o تغییر انرژی گیبس استاندارد واکنش، هستند.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

همچنین، برای تأیید پایدارترین ساختار برای همهٔ ترکیبات، از دستور STABLE استفاده شد.

برای یافتن نقاط کمینه محلی، دستور FREQ به‌کار برده شد و مشاهده فرکانس‌های حقیقی تأییدی بر آن‌ها بود.

از دستورهای SCAN و QST3 برای یافتن حالت‌های گذار استفاده و برای تأیید آن‌ها دستورهای IRC و FREQ به‌کار برده شدند.

در نهایت، از آن‌جاکه میانگین دمای طبیعی بدن انسان $^{\circ}$C ۳۷ است و آنزیم‌ها در محدودهٔ دمای معینی فعالیت دارند ($^{\circ}$C ۲۵ الی $^{\circ}$C ۳۷) و در دماهای بالاتر از بین می‌روند [۶]، اثرات تغییر دما، علاوه بر دمای $^{\circ}$C ۲۵، با استفاده از دستور FREQ =READISO برای دماهای $^{\circ}$C ۳۱، $^{\circ}$C ۳۷ و دمای تب $^{\circ}$C ۴۰ اعمال شد.

همچنین اثرات حلال با استفاده از مدل PCM [۵۵]، برای حلال‌های مختلف، با اعمال ضرایب دی‌الکتریک، آب (ϵ = ۷۸/۹) [۲۹]، محیط پروتئینی (ϵ = ۵) [۲۹]، نیترومتان (ϵ = ۴۰) [۵۶] و اتانول (ϵ = ۲۴/۵۵)، برای شبیه‌سازی هرچه بیش‌تر شرایط بیولوژیکی بدن انسان، در نظر گرفته شده است. برای تأیید محاسبات حاصل از فاز گازی، حلال غیرقطبی تترا کلرید کربن (ϵ = ۲/۲۳) نیز به‌کار گرفته شد.

نتایج و بحث

بهینه‌سازی ساختار هندسی آنزیم CcrA و پنی‌سیلین

مدل آنزیم CcrA (شکل ۶)، و پنی‌سیلین (شکل ۷)، با استفاده از روش (B3LYP) و در سه سطح پایه 6-31G، 6-31G* و 6-311G** و بدون اعمال شرط تقارنی، بهینه‌سازی شده‌اند. نتایج مربوط به جزئیات ساختاری حاصل از بهینه‌سازی مدل آنزیم CcrA و پنی‌سیلین به‌ترتیب در جدول‌های ۱ و۲ ارائه شده است. از مقایسه بین داده‌های تجربی حاصل از اشعه X آنزیم و نتایج حاصل از محاسبات، با توجه به مقادیر انحراف استاندارد گزارش شده، می‌توان دریافت که نتایج در دو سطح 6-31G و6-311G** شبیه‌تر به داده‌های تجربی هستند، از این‌رو برای انجام محاسبات واکنش کلی از سطح پایه 6-31G که هزینه‌های محاسباتی کم‌تری را دربر دارد، استفاده می‌شود.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

جدول ۱. اطلاعات مربوط به جزئیات ساختاری مدل آنزیم CcrA

اتم‌های متصل	سری‌های پایه			
طول پیوندی (Å)	6-31G	6-31G*	6-311G**	تجربی
Zn1-O1	۱/۹۴	۱/۹۱	۱/۹۱	۱/۹۰
Zn1-N1	۲/۰۱	۲/۰۲	۲/۰۲	۲/۰۰
Zn1-N2	۲/۰۴	۲/۰۵	۲/۰۷	۲/۱۰
Zn1-N3	۲/۰۲	۲/۰۳	۲/۰۵	۲/۰۰
Zn2-O1	۲/۰۳	۲/۰۲	۲/۰۴	۲/۱۰
Zn2-O2	۱/۹۸	۱/۹۶	۱/۹۷	۲/۱۰
Zn2-Owa	۳/۲۳	۳/۳۳	۳/۳۳	۲/۳۰
Zn2-S	۲/۳۴	۲/۲۹	۲/۲۸	۲/۳۰
Zn2-N4	۲/۰۲	۲/۰۵	۲/۰۵	۲/۱۰
انحراف استاندارد	۰/۹۹	۱/۰۶	۱/۰۵	
زاویه پیوندی (°)				
Zn1-O1-Zn2	۱۲۷/۲۲	۱۲۳/۰۴	۱۲۵/۴۷	۱۲۵/۱۰
O1-Zn2-O2	۹۹/۹۲	۱۰۲/۷۹	۱۰۱/۱۱	۱۰۰/۲۰
O1-Zn2-Owa	۵۶/۴۵	۵۷/۲۶	۵۵/۳۷	۵۷/۰۰
انحراف استاندارد	۲/۲۱	۳/۳۲	۱/۹۰	
زاویه دووجهی (°)				
Zn1-O1-Zn2-O2	۸۸/۵۲	۸۱/۰۳	۸۹/۷۱	۸۸/۹۰
Zn1-O1-Zn2-Owa	-۱۰۷/۵۰	-۱۱۳/۷۸	-۱۰۷/۷۳	-۱۰۷/۵۰
Zn1-O1-Zn2-S	-۴۶/۶۱	-۵۴/۲۹	-۴۶/۳۳	-۴۷/۳۰
Zn1-O1-Zn2-N4	-۱۶۷/۸۲	-۱۷۵/۲۷	-۱۶۸/۳۳	-۱۶۷/۲۰
انحراف استاندارد	۱/۰۰	۱۴/۶۸	۱/۷۱	

جدول ۲. اطلاعات مربوط به جزئیات ساختاری پنی‌سیلین

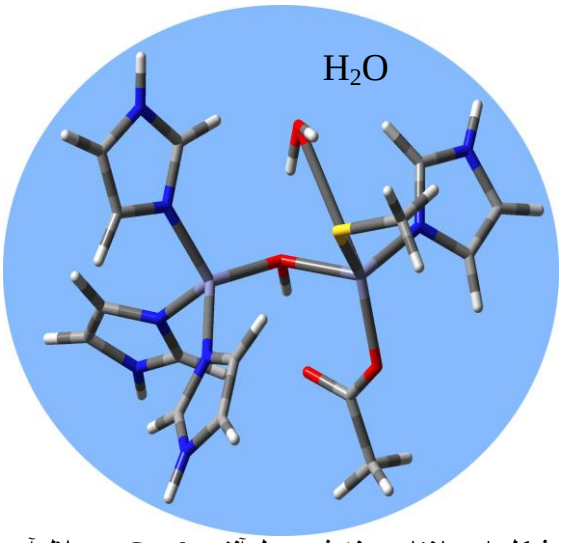
اتم‌های متصل	سری‌های پایه		
طول پیوندی(Å)	6-31G	6-31G*	6-311G**
Os-C2	۱/۲۳	۱/۲۰	۱/۲۰
C2-C3	۱/۵۶	۱/۵۵	۱/۵۵
C3-C4	۱/۵۷	۱/۵۷	۱/۵۷
C4-N5	۱/۴۷	۱/۴۷	۱/۴۷
Ns-C2	۱/۴۱	۱/۴۰	۱/۴۰
زاویه پیوندی (°)			
Os-C2-C3	۱۳۷/۲۲	۱۳۶/۷۹	۱۳۶/۶۶
C2-C3-C4	۸۴/۷۲	۸۳/۹۸	۸۴/۰۵
C3-C4-Ns	۸۸/۳۶	۸۸/۵۶	۸۸/۴۲
Ns-C2-Os	۱۳۱/۳۵	۱۳۱/۶	۱۳۱/۳۸
زاویه دووجهی (°)			
Os-C2-Ns-C4	-۱۶۵/۱۲	-۱۶۱/۳۱	-۱۶۱/۱۲
Os-C2-C3-C4	۱۶۵/۲۲	۱۶۱/۴۹	۱۶۱/۳۳
C2-C3-C4-Ns	۹/۰۶	۱۱/۶۸	۱۱/۶۵

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

پایداری در حلال آب

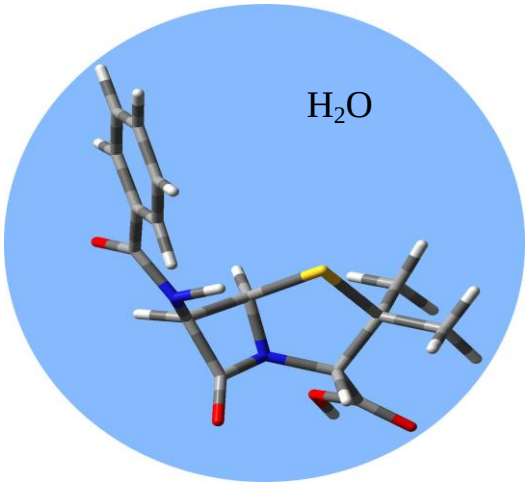
از میان حلال‌های ذکر شده، آب اهمیت بیش‌تری دارد. در این قسمت به بررسی نتایج حاصل از بهینه‌سازی مجدد مدل آنزیم CcrA و پنی‌سیلین در حلال آب پرداخته می‌شود.

در شکل ۸ ساختار بهینه شده مدل آنزیم CcrA، در سطح پایه 6-311G** و در حلال آب مشاهده می‌شود. نتایج حاصل از بهینه‌سازی مجدد آنزیم CcrA، از فاز گازی به فاز حلال آب، حاکی از آن است که انرژی آنزیم به‌مقدار ۵۶/۴۷ kcal/mol پایدارتر می‌شود. این میزان پایداری با توجه به مقدار گشتاور دو قطبی، ۸/۴۵ دبای، قابل انتظار است.



شکل ۸. ساختار بهینه شده مدل آنزیم CcrA در حلال آب

در شکل ۹ ساختار بهینه شده پنی‌سیلین در سطح پایه 6-311G** و در حلال آب مشاهده می‌شود. نتایج حاصل از بهینه‌سازی مجدد پنی‌سیلین از فاز گازی به فاز حلال آب، حاکی از آن است که انرژی پنی‌سیلین به مقدار ۱۲/۵۵ kcal/mol با گشتاور دو قطبی ۳/۴۵ دبای پایدارتر می‌شود.



شکل ۹. ساختار بهینه شده پنی‌سیلین در حلال آب

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

محاسبات توابع ترمودینامیکی واکنش کلی کمپلس آنزیم CcrA با پنی‌سیلین

توابع ترمودینامیکی واکنش کلی کمپلس مدل آنزیم CcrA با پنی‌سیلین طبق مسیرهای نشان داده شده در شکل ۱۰ و با استفاده از روابط ۲ الی ۵ محاسبه شده‌اند و نتایج آن‌ها در جدول ۳ ذکر شده است.

با توجه به نتایج جدول ۳ می‌توان دریافت که واکنش هیدرولیز و شکست حلقه بتالاکتام پنی‌سیلین طی یک فرآیند گرمازا و خودبه‌خودی انجام می‌شود.

جدول ۳. توابع ترمودینامیکی واکنش کلی کمپلس آنزیم CcrA با پنی‌سیلین بر حسب kcal/mol.

توابع ترمودینامیکی	سری‌های پایه		
	6-31G	6-31G*	6-311G**
ΔU_{rxn} (kcal/mol)	-۱۶/۸۶	-۱۲/۴۰	-۱۰/۲۰
ΔH_{rxn} (kcal/mol)	-۱۷/۴۵	-۱۲/۹۹	-۱۰/۷۹
ΔS_{rxn} (cal/mol)	-۳۵/۲۸	-۳۴/۹۶	-۳۴/۷۴
ΔG_{rxn} (kcal/mol)	-۶/۹۳	-۲/۵۷	-۰/۴۳

محاسبات توابع ترمودینامیکی مکانیسم واکنش کمپلس آنزیم CcrA با پنی‌سیلین

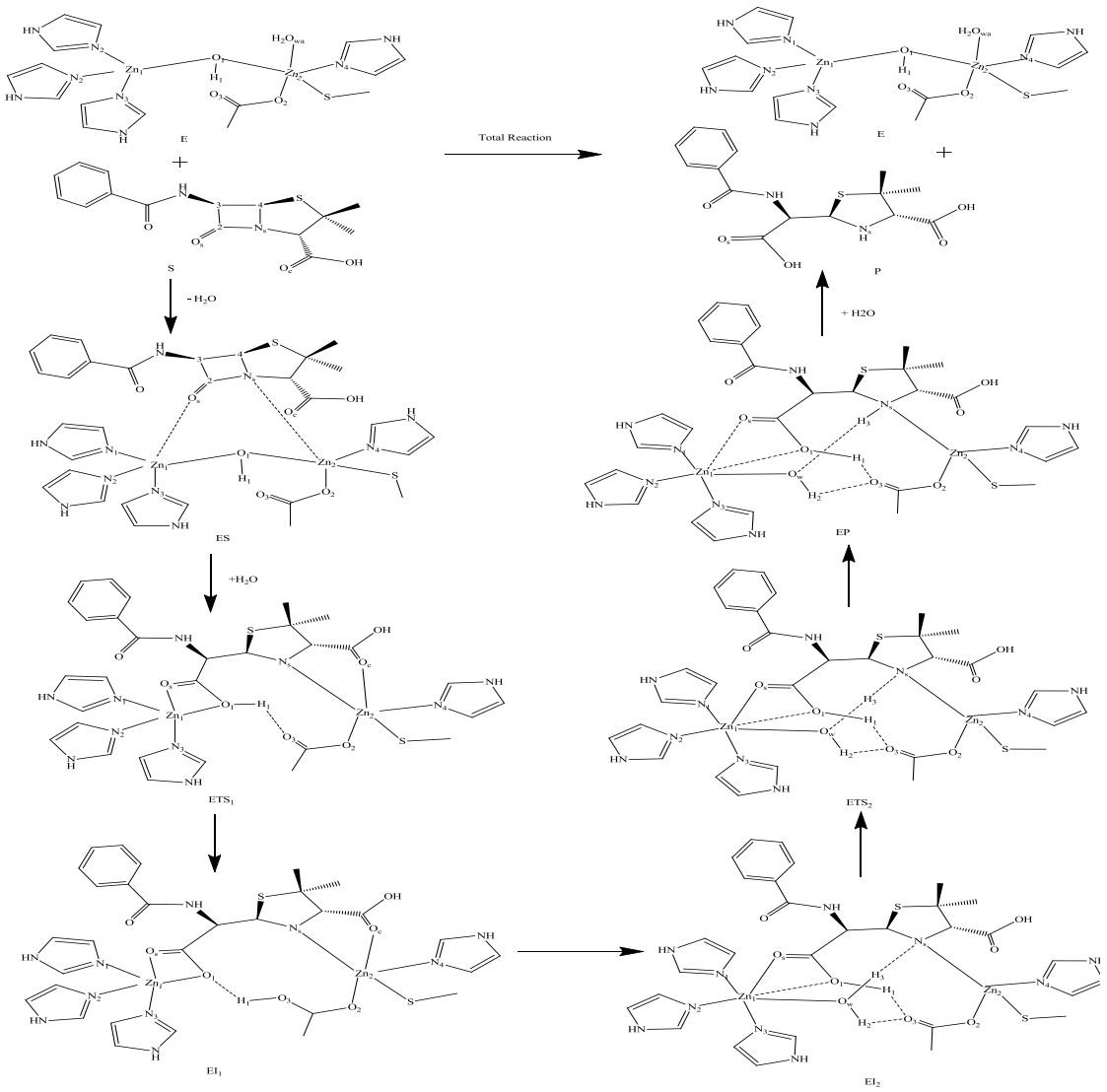
در جدول ۴ نتایج حاصل از محاسبات توابع ترمودینامیکی مسیر واکنش کمپلکس مدل آنزیم CcrA با پنی‌سیلین، طبق شکل ۱۰ ارائه شده است. با استفاده از روش (B3LYP) و در سطح پایه 6-31G و بدون اعمال شرط تقارنی ابتدا بهینه‌سازی و در نهایت توابع ترمودینامیکی با استفاده از روابط ۲ الی ۵ استخراج شده‌اند. جزئیات ساختاری کمپلکس‌های بین آنزیم CcrA با پنی‌سیلین، که به‌ترتیب شامل کمپلکس ES، ETS1، EI1، EI2، ETS2 و EP است، در جدول ۵ ارائه شده است.

با توجه به مقادیر جدول ۴ که $\Delta U^{\#}_1$ = ۶/۵۰ kcal/mol و $\Delta U^{\#}_2$ = ۴/۹۰ kcal/mol هستند، مرحلهٔ تعیین کننده سرعت، مسیر اول واکنش، یعنی حمله نوکلئوفیلی گروه هیدروکسید پل به سوبسترا است.

جدول ۴. توابع ترمودینامیکی مسیر واکنش کمپلس آنزیم CcrA با پنی‌سیلین بر حسب kcal/mol

توابع ترمودینامیکی	
$\Delta U^{\#}_{۱}$	۶/۵۰
$\Delta H^{\#}_{۱}$	۶/۵۰
$\Delta S^{\#}_{۱}$	-۰/۰۲
$\Delta G^{\#}_{۱}$	۱۲/۴۶
$\Delta U^{\#}_{۲}$	۴/۹۰
$\Delta H^{\#}_{۳}$	۴/۹۰
$\Delta S^{\#}_{۲}$	-۰/۰۱
$\Delta G^{\#}_{۲}$	۷/۸۸

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]



شکل ۱۰. مسیر واکنش کمپلس مدل آنزیم CcrA با پنی‌سیلین

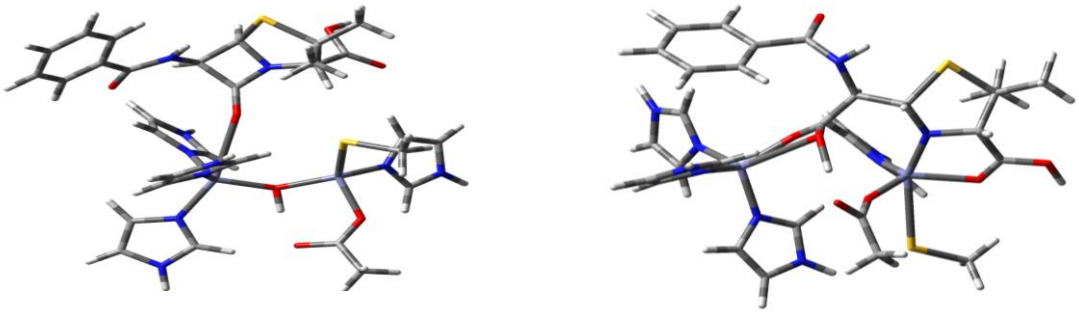
جدول ۵. اطلاعات مربوط به جزئیات ساختاری کمپلکس‌های مابین آنزیم CcrA با پنی‌سیلین

طول پیوندی (Å)	ES	ETS1	EI1	EI2	ETS2	EP
Zn1-O1	۱/۹۵	۲/۱۵	۲/۶۲	۲/۹۵	۲/۳۱	۳/۲۰
Zn2-O1	۲/۰۰	۳/۱۰	۴/۰۰	-	-	-
Os-Zn1	۲/۶۸	۲/۲۳	۲/۱۲	۲/۶۳	۲/۴۷	۲/۷۸
Ns-Zn2	۴/۹۱	۲/۵۶	۲/۰۰	۲/۰۱	۲/۲۰	۲/۳۱
H1-O3	۱/۷۵	۱/۶۲	۱/۰۰	۱/۶۷	۱/۸۲	۱/۷۳
H1-O1	-	-	۱/۶۰	-	-	-
Oc-Zn2	-	-	۲/۴۰	-	-	-
Zn1-Ow	-	-	-	۲/۰۰	۱/۹۵	۱/۹۱
H2-O3	-	-	-	۱/۶۰	۱/۶۷	۲/۰۱
H3-Ns	-	-	-	۲/۶۲	۱/۹۷	-
H3-Ow	-	-	-	۱/۱۲	۱/۶۷	۲/۰۰

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

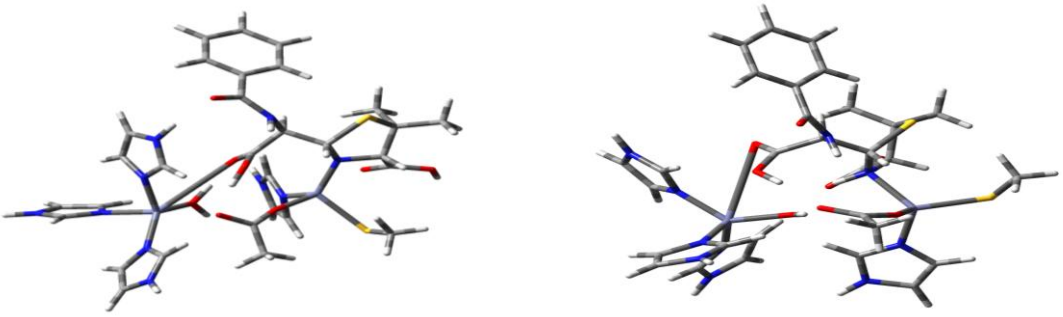
نمایش ساختارهای بهینه شده کمپلکس‌های تشکیل شده مابین آنزیم CcrA با پنی‌سیلین

در شکل‌های ۱۱ الی ۱۳ ساختارهای بهینه شده کمپلکس‌های تشکیل شده مابین آنزیم CcrA با پنی‌سیلین ارائه شده است



شکل ۱۱. ساختار بهینه شده کمپلکس ES (سمت چپ) و ETS_1 (سمت راست)

شکل ۱۲. ساختار بهینه شده کمپلکس EI_1 (سمت چپ) و EI_2 (سمت راست)

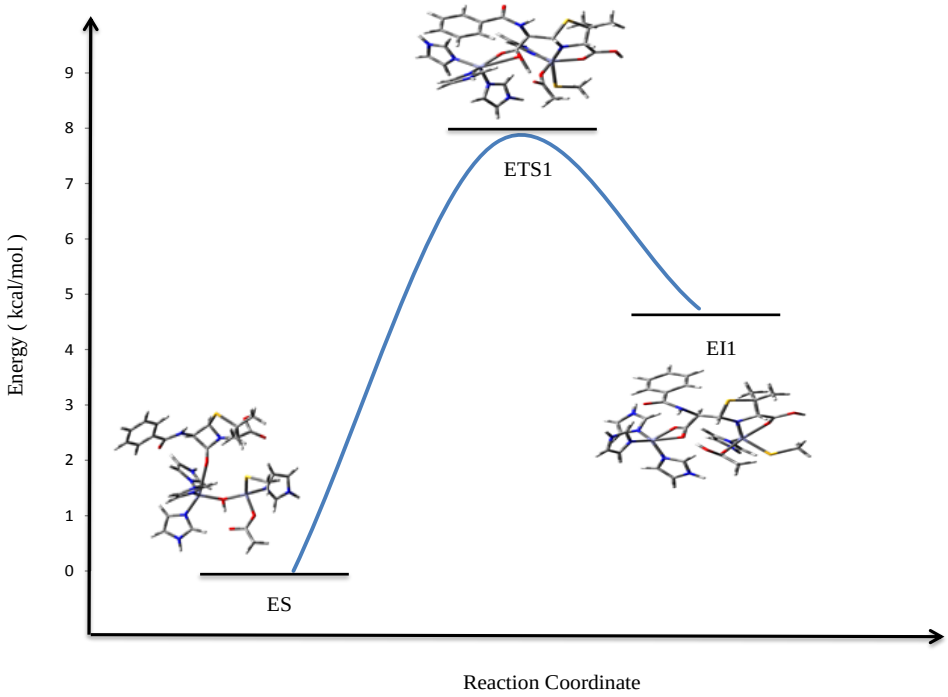


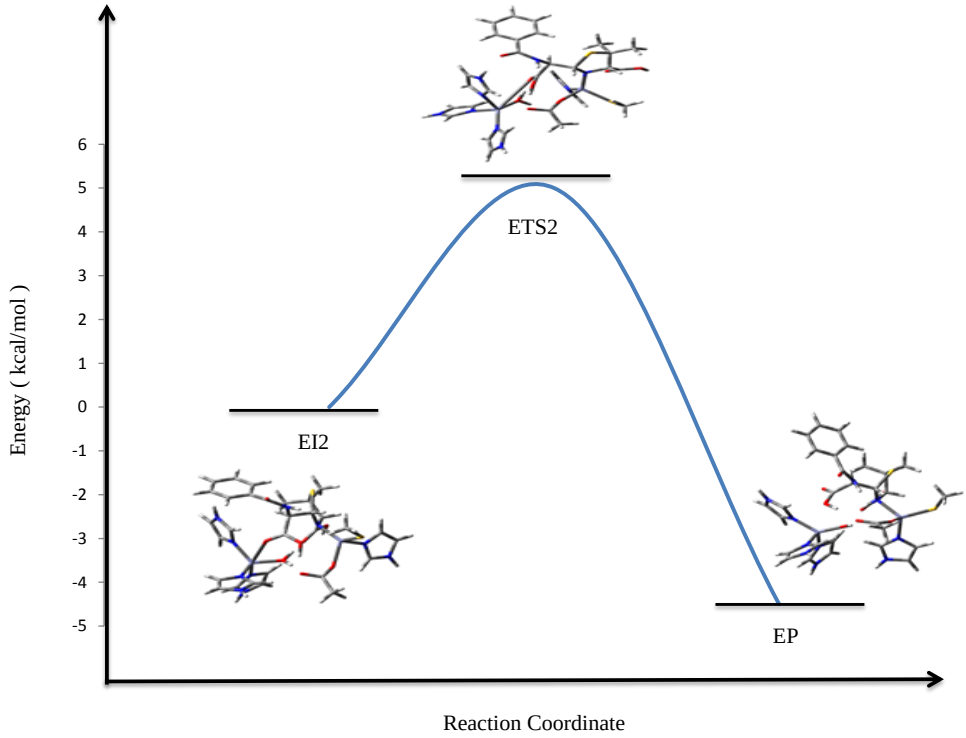
شکل ۱۳. ساختار بهینه شده کمپلکس ETS_2 (سمت چپ) و EP (سمت راست)

نمودارهای انرژی پتانسیل

شکل ۱۴ نماینگر نمودارهای انرژی پتانسیل مراحل انجام واکنش است، به گونه ای که به ترتیب نمودار اول نشان دهنده مسیر اول واکنش، یعنی حمله نوکلئوفیلی گروه هیدروکسید پل به سوبسترا و نمودار دوم نشان دهنده مسیر دوم واکنش یعنی پروتونه شدن گروه آمین می باشند.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]





شکل ۱۴. نمودارهای انرژی پتانسیل کمپلس مدل آنزیم CcrA با پنی‌سیلین مسیر اول واکنش، حمله نوکلئوفیلی گروه هیدروکسید پل به سوبسترا (نمودار اول) و مسیر دوم واکنش، پروتونه شدن گروه آمین (نمودار دوم) هستند

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

بررسی اثر حلال

در جدول ۶ نتایج حاصل از اثرات حلال بر توابع ترمودینامیکی واکنش کلی آنزیم CcrA با پنی‌سیلین نشان داده شده است. با توجه به این نتایج می‌توان به این نکات اشاره کرد:

۱. با توجه به منفی بودن مقادیر ΔH_{rxn} و ΔG_{rxn}، واکنش هیدرولیز و شکست حلقه بتالاکتام پنی‌سیلین، چه در فاز گازی و چه در حلال‌های ذکر شده، طی یک فرآیند گرمازا و خودبه‌خودی، انجام می‌شود.

۲. تغییرات توابع ترمودینامیکی، دوبه‌دو، در فاز گازی و حلال تتراکلرید کربن، آب و اتانول، محیط پروتئینی و نیترومتان به یک‌دیگر نزدیک هستند.

۳. نسبت تغییرات انرژی آزاد گیبس واکنش، در حلال‌های ذکر شده بدین‌صورت است:

ΔG_{rxn} آب > ΔG_{rxn} اتانول > ΔG_{rxn} محیط پروتئینی > ΔG_{rxn} نیترومتان > ΔG_{rxn} تتراکلریدکربن > ΔG_{rxn} گاز

که این نسبت تغییرات مربوط به برهم کنش بیش‌تر مواد اولیه (آنزیم و آنتی‌بیوتیک بتالاکتام با قطبیت بالا) با حلال‌های قطبی، نظیر آب است.

جدول ۶- توابع ترمودینامیکی واکنش کلی آنزیم CcrA با پنی‌سیلین در حلال‌های مختلف بر حسب kcal/mol

توابع ترمودینامیکی	گاز	آب	اتانول	محیط پروتئینی	نیترومتان	تتراکلرید کربن
ΔU_{rxn} (kcal/mol)	-۱۶/۸۶	-۱۲/۸۰	-۱۲/۹۶	-۱۳/۲۵	-۱۳/۴۸	-۱۴/۹۹
ΔH_{rxn} (kcal/mol)	-۱۷/۴۵	-۱۳/۳۹	-۱۳/۵۵	-۱۳/۸۴	-۱۴/۰۷	-۱۵/۵۸
ΔS_{rxn} (cal/mol)	-۳۵/۲۸	-۳۵/۲۸	-۳۵/۲۸	-۳۵/۲۸	-۳۵/۲۸	-۳۵/۲۸
ΔG_{rxn} (kcal/mol)	-۶/۹۳	-۲/۸۷	-۳/۰۳	-۳/۳۲	-۳/۵۵	-۵/۰۶

بررسی اثر دما

در جدول ۷ نتایج حاصل از اثرات تغییر دما بر توابع ترمودینامیکی واکنش کلی آنزیم CcrA با پنی‌سیلین نشان داده شده است. با توجه به این نتایج می توان به این نکات اشاره کرد:

۱. با توجه به منفی بودن مقادیر ΔH_{rxn} و ΔG_{rxn}، واکنش هیدرولیز و شکست حلقه بتالاکتام پنی‌سیلین در تمامی دماهای ذکر شده طی فرآیندی گرمازا و خودبه‌خودی انجام می‌شود.

۲. تغییرات آنتروپی طی انجام این واکنش با تغییرات دما تغییر می‌یابند، که تأیید کننده وابستگی آنتروپی به دما است.

۳. با توجه به نتایج حاصل از محاسبات فرکانس در دماهای ذکر شده، تغییرات دما بر مقادیر انرژی‌های چرخشی، ارتعاشی و انتقالی، اثر به‌سزایی دارد و صرف جابه‌جایی ترازهای انرژی شان می‌شود، این مقادیر در جدول ذکر نشده‌اند بلکه نتایج حاصل از اعمال آن‌ها طبق روابط ۲ الی ۵ مشاهده می‌شود. نکتهٔ قابل توجه آن است که با افزایش دما، تغییری در ترازهای الکترونی رخ نمی‌دهد و این حاکی از فواصل زیاد مابین ترازهای الکترونی است.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

جدول ۷. توابع ترمودینامیکی واکنش کلی آنزیم CcrA با پنی‌سیلین در دماهای مختلف kcal/mol

توابع ترمودینامیکی	۲۵ °C	۳۱ °C	۳۷ °C	۴۰ °C
ΔU_{rxn} (kcal/mol)	-۱۶/۸۶	-۱۶/۱۴	-۱۶/۱۳	-۱۶/۱۲
ΔH_{rxn} (kcal/mol)	-۱۷/۴۵	-۱۶/۷۳	-۱۶/۷۲	-۱۶/۷۱
ΔS_{rxn} (cal/mol)	-۳۵/۲۸	-۳۴/۹۵	-۳۴/۹۷	-۳۴/۹۷
ΔG_{rxn} (kcal/mol)	-۶/۹۳	-۶/۱۰	-۵/۸۷	-۵/۷۶

نتیجه‌گیری

آنزیم‌های بتالاکتاماز طی واکنشی کاتالیزوری، حلقه ۴-عضوی آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام را هیدرولیز کرده و این داروها را غیرفعال می‌کنند. در این پژوهش با استفاده از محاسبات مکانیک کوانتومی، مکانیسم واکنش آنزیم CcrA از خانوادهٔ متالوبتالاکتامازها (MβLs) و آنتی‌بیوتیک بتالاکتام پنی‌سیلین بررسی می‌شود. این واکنش، هم از دیدگاه ترمودینامیکی وهم از دیدگاه سینتیکی که شامل دو مرحله، حملهٔ نوکلئوفیلی گروه هیدروکسید پل به سوبسترا و پروتونه شدن گروه آمین است، بررسی شد. طی این مکانیسم، یون‌های روی نقش مهمی را در فرآیند کاتالیستی ایفا می‌کنند، به گونه‌ای که اتصال لیگاند آب به یون Zn_1^{2+}، سبب فعال‌تر شدن گروه هیدروکسیدی، برای حمله نوکلئوفیلی به گروه کربونیل آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام می‌شود، در حالی‌که Zn_2^{2+} به‌عنوان کاتالیست الکتروفیلی سبب پایداری بار منفی ایجاد شده روی اتم نیتروژن درگیر در حلقهٔ بتالاکتام، بعد از شکست پیوند C-N، می شود. مکانیسم واکنش میان آنزیم CcrA و پنی‌سیلین، به‌ترتیب با عبور از کمپلکس‌های ES، ETS_1، EI_1، EI_2، ETS_2 و EP انجام می‌شود. نتایج استخراج شده از محاسبات توابع ترمودینامیکی، حاکی از آن است که، مرحلهٔ اول مکانیسم واکنش، یعنی حملهٔ نوکلئوفیلی به گروه کربونیل آنتی‌بیوتیک بتالاکتام، مرحلهٔ تعیین کنندهٔ سرعت است و واکنش کلی، هم در فاز گازی و هم در حلال‌های مختلف ذکر شده، طی فرآیندی گرمازا و خودبه‌خودی، به پایداری می‌رسد. همین نتایج در بررسی اثرات حاصل از تغییر دما نیز مشاهده شد.

قدردانی

نویسندگان سپاسگزاری خود را از حمایت مالی شورای پژوهشی دانشگاه الزهرا (س) و پشتیبانی فنی مرکز محاسبات شیمی دانشگاه شهید بهشتی، اذعان می‌دارند.

منابع

1. G. Periyannan, "Characterization of metallo-β-lactamase L1 from stenotrophomonas maltophilia", Miami University, Oxford, Ohio (2004).

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

2. N. J. Cosper, D. L. Bienvenue, J. E. Shokes, D. M. Gilner, T. Tsukamoto, R. A. Scott, R. C. Holz, "Fighting Antibiotic Resistance The dapE-encoded N-succinyl-L, L-Diaminopimelic Acid Desuccinylase from Haemophilus influenzae is a Dinuclear Metallohydrolase", Science Highlight, 287 (2005) 68-74.

3. J. Garrity, "Characterization of L1, The metallo-β-lactamase from stenotrophomonas maltophilia", Miami University, Oxford, Ohio (2004).

4. Z. Hu, "Kinetic and Spectroscopic Studies of L1, the Metallo-β-Lactamase from Stenotrophomonas maltophilia", Miami University, Oxford, Ohio (2008).

5. H. Zhang, Q. Hao, "Crystal structure of NDM-1 reveals a common β-lactam hydrolysis mechanism", The FASEB Journal, 25 (2011) 2574-2582.

6. www.wikipedia.org

7. T. Viswanatha, L. Marrone, V. Goodfellow, G. Dmitrienko, "Assays for β- Lactamase Activity and Inhibition", Methods Mol. Med., 142 (2008) 239-260.

8. N. O. Concha, B. A. Rasmussen, K. Bush, O. Herzberg, "Crystal structure of the wide-spectrum binuclear zinc β-lactamase from Bacteroides fragilis", Structure, 4 (1996) 823-836.

9. B. F. Gherma, S. D. Goldberg, V. W. Cornish, R. A. Friesner, "Mixed Quantum mechanical/molecular mechanical [QM/MM] study of the deacylation reaction in penicillin binding protein [PBP] versus in a class C β-Lactamase", J. Am. Chem. Soc., 126 (2004) 7652-7664.

10. M. L. Page, A. Badarau, "The Mechanisms of Catalysis by Metallo-β-Lactamases", Bioinorg Chem Appl., 38 (2008) 71-78.

11. Y. Kim, C. Tesar, J. Mire, R. Jedrzejczak, A. Binkowski, G. Babnigg, J. Sacchettini, A. Joachimiak, "Structure of Apo- and Monometalated Forms of NDM-1-A Highly Potent Carbapenem-Hydrolyzing Metallo-β-Lactamase", PLOS ONE, 6 (2011) 1-12.

12. H. Leiros, P. Borra, B. Brandsdal, K. Edvardsen, J. Spencer, T. Walsh, Ø. Samuelsen, "Crystal Structure of the Mobile Metallo-β-Lactamase AIM-1 from Pseudomonas aeruginosa: Insights into Antibiotic Binding and the Role of Gln157", Antimicrob. Agents Chemother., 56 (2012) 4341-4353.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

13. N. Diaz, T. L. Sordo, K.M. Merz, D. Suarez, "Insights into the Acylation Mechanism of Class A β-Lactamases from Molecular Dynamics Simulations of the TEM-1 Enzyme Complexed with Benzylpenicillin", J. Am. Chem. Soc. 125 (2003) 672-684.
14. K. Bush, G. A. Jacoby, "Updated Functional Classification of β-Lactamases", Antimicrob. Agents Chemother., 54 (2010) 969-976.
15. B. H. Normark, S. Normark, "Evolution and spread of antibiotic resistance", Journal of Internal Medicine, 252 (2002) 91-106.
16. A. Tamilselvi, M. Nethaji, G. Mugesh, "Antibiotic Resistance: Mono-and Dinuclear Zinc Complexes as Metallo-β-Lactamase Mimics", Chem. Eur. J., 12 (2006) 7797-7806.
17. M. W. Crowder, T. R. Walsh, L. Banovic, M. Pettit, J. Spencer, "Overexpression, purification, and characterization of the cloned metallo-β-lactamase L1 from Stenotrophomonas maltophilia", Antimicrob. Agents Chemother., 42 (1998) 921-926.
18. I. C. Materon, T. Palzkill, "Identification of residues critical for metallo-β-lactamase function by codon randomization and selection", Protein Sci. 10 (2001) 2556-2565.
19. J. H. Toney, J. G. Moloughney, "Metallo-β-Lactamase inhibitors: Promise for the future?", Curr Opin Investig Drugs., 8 (2004) 823-826.
20. N. Sharma, J. H. Toney, P. M. D. Fitzgerald, "Expression, purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of Aeromonas hydrophilia metallo-β-lactamase", Acta Cryst., 61 (2005) 180-182.
21. F. Simona, A. Magistrato, M. D. Peraro, A. Cavalli, A. J. Vila, P. Carloni, "Common mechanistic features among metallo-β-Lactamases: a computational study of Aeromonas hydrophila CphA enzyme", J. Biol. Chem., 284 (2009) 28164-28171.
22. M. J. Hawk, R. M. Breece, C. E. Hajdin, K. M. Bender, Z. Hu, A.L. Costello, B. Bennett, D. L. Tierney, M. W. Crowder, "Differential binding of Co(II) and Zn(II) to metallo-β-Lactamases Bla2 from Bacillus anthracis", J. Am. Chem. Soc., 131 (2009) 10753-10762.
23. Z. Li, B. A. Rasmussen, O. Herzberg, "Structural consequences of the active site substitution Cys181 Ser in metallo-β-Lactamase from Bacteroides fragilis", Protein Sci., 8 (1999) 249-252.
24. L. LI, M. F. Tioni, A.J. Vila, "Metal content and localization during turnover in B. cereus metallo-β-lactamase", J. Am. Chem. Soc., 130 (2008) 15842-15851.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

25. M. Vanhove, M. Zakhem, B. Devreese, N. Franceschini, C. Anne, C. Bebrone, G. Amicosante, G. M. Rossolini, J. Van Beeumen, J. M. Frère, M. Galleni, "Role of Cys221 and Asn116 in the zinc-binding sites of the Aeromonas hydrophila metallo-β-lactamase", Cell. Mol. Life Sci., 60 (2003) 2501-2509.

26. A. Badarau, A. Llinas, A. P. laws, C. Damblon, M. I. Page, "Inhibitors of metallo-β-lactamase generated from β-lactam antibiotics, Biochemistry", 44 (2005) 8578-8589.

27. A. Badarau, C. Damblon, M. L. Page, "The activity of the dinuclear cobalt-β-lactamase from Bacillus cereus in catalysing the hydrolysis of β-lactams", Biochem, J., 401 (2007) 197-203.

28. A. Queenan, K. Bush, "Carbapenemases: the Versatile β-Lactamases", Clinical Microbiology Reviews, 20 (2007) 440-458.

29. S. R. Schlesinger, M. J. Lahousse, T. O. Foster, S. Kim, "Metallo-β-Lactamases and Aptamer-Based Inhibition", Pharmaceuticals 4 (2011) 419-428.

30. R. Rasia, A. Vila, "Structural Determinants of Substrate Binding to Bacillus cereus Metallo-β-lactamase", J. Biol. Chem., 279 (2004) 26046-26051.

31. J. M. González, F. J. Medrano Martín, A. L. Costello, D. L. Tierney, A. J. Vila, "The Zn2 position in metallo-β-lactamases is critical for activity: a study on chimeric metal sites on a conserved protein scaffold", J. Mol. Biol, 373 (2007) 1141-1156.

32. N. Laraki, N. Franceschini, G. M. Rossolini, P. Santucci, C. Meunier, E. Pauw, G. Amicosante, J. M. Frere, M. Galleni, "Biochemical characterization of the Pseudomonas aeruginosa 101/1477 metallo-beta-lactamase IMP-1 produced by Escherichia coli", Antimicrob, Agents Chemother, 43 (1999) 902-906.

33. Z. Hu, G. Periyannan, B. Bennett, M. W. Crowder, "Role of the Zn1 and Zn2 sites in Metallo-β-Lactamase L1", J. Am. Chem. Soc., 130 (2008) 14207-14216.

34. G. Parkin, "Synthetic Analogues Relevant to the Structure and Function of Zinc Enzymes", Chem. Rev., 104 (2004) 699-767.

35. K. A. McCall, C. Huang, C. A. Fierke, "Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes", J. Nutr., 130 (2000) 1437S-1446S.

36. Z. Hu, G. R. Periyannan, and M. W. Crowder, "Folding strategy to prepare Co-substituted metallo-β-lactamas L1", Anal Biochem., 378 (2008) 177-183.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

37. K. Patel, A. Kumar, S. Durani, "Analysis of the structural consensus of the zinc coordination centers of metalloprotein structures", Biochim Biophys Acta., 1774 (2007) 1247-1253.

38. A. Tamilselvi, G. Mugesh, "Zinc and antibiotic resistance: metallo-β-lactamases and their synthetic analogues", J. Biol. Inorg. Chem., 13 (2008) 1039-1053.

39. Z. Wang, W. Fast, S. J. Benkovic, "On the Mechanism of the Bacteroides fragilis Metallo-β-Lactamase", Biochemistry, 38 (1999) 10013-10023.

40. Z. Wang, S. J. Benkovic, "Purification, Characterization and Kinetic Studies of a SolubleBacteroides fragilis Metallo-β-lactamase That Provides Multiple Antibiotic Resistance", Biol. Chem. 273 (1998) 22402-22408.

41. Z. Wang, W. Fast, S. J. Benkovic, "Direct Observation of an Enzyme-Bound Intermediate in the Catalytic Cycle of the Metallo-β-lactamase from Bacteroides fragilis", J. Am. Chem. Soc. 120 (1998) 10788-10789.

42. A. M. Simm, E. J. Loveridge, J. Crosby, M. B. Avison, T. R. Walsh, P. M. Bennett, "Bulgecin A: a novel inhibitor of binuclear metallo-β-lactamases", Biochem. J. 387 (2005) 585-590.

43. M. D. Peraro, A. J. Vila, P. Carloni, M. L. Klein, "Role of zinc content on the catalytic efficiency of B1 metallo-β-lactamases", J. Am. Chem. Soc. 129 (2007) 2808-2816.

44. P. Oelschlaeger, S. L. Mayo, J. Pleiss, "Impact of remote mutations on metallo-β-lactamase substrate specificity: implications for the evolution of antibiotic resistance", Protein Sci. 14 (2005) 765-774.

45. H. Park, E. N. Brothers, K. M. Merz, "Hybrid QM/MM and DFT Investigations of the Catalytic Mechanism and Inhibition of the Dinuclear Zinc Metallo-β-Lactamase CcrA from Bacteroides fragilis", J. Am. Chem. Soc., 127 (2005) 4232-4241.

46. M. W. Crowder, J. Spencer, A. J. Vila, "Metallo-β-lactamases: Novel weaponry for antibiotic resistance in becteria", Acc. Chem. Res. 39 (2006) 721-728.

47. D. Xu, H. Guo, Q. Cui, "Antibiotic Deactivation by a Dizinc β-Lactamase: Mechanistic Insights from QM/MM and DFT Studies", J. AM. Chem. Soc., 129 (2007) 10814-10822.

48. A. Carfi, S. Pares, E. Duee, M. Galleni, C. Duez, J. M. Frere, O. Dideberg, "The 3-D structure of a zinc metallo-β-Lactamase from Bacillus cereus reveals a new type of protein fold", The EMBO Journal, 14 (1995) 4914-4921.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]

49. Y. Yang, D. Keeney, X. Tang, N. Canfield, B. A. Rasmussen, "Kinetic Properties and Metal Content of the Metallo-β-lactamase CcrA Harboring Selective Amino Acid Substitutions", J. Biol. Chem., 274 (1999) 15706 -15711.

50. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, V. G. Zakrzewski, J. A. Montgomery, R. E. Stratmann, J. C. Burant, S. Dapprich, J. M. Millam, A. D. Daniels, K. N. Kudin, M. C. Strain, O. Farkas, J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, R. Cammi, B. Mennucci, C. Pomelli, C. Adamo, S. Clifford, J. Ochterski, G. A. Petersson, P. Y. Ayala, Q. Cui, K. Morokuma, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. Cioslowski, J. V. Ortiz, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, C. Gonzalez, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, M. Head-Gordon, E. S. Replogle J. A. Pople, Gaussian 2003, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA (2003).

51. A. D. Beck, "Density-Functional Thermochemistry, III. The Role of Exact Exchange", J. Chem. Phys., 98 (1993) 5648-5652.

52. R. G. Parr, W. Yang, "Density-functional theory of atoms and molecules", Oxford Univ. Press: Oxford (1989).

53. M. Navarrete, C. Rangel, J. C. Corchado, "Espinosa-Garcia J, Trapping of the OH radical by α-Tocopherical: A theoretical study", J. Phys. Chem. A., 109 (2005) 4777-4784.

54. H. Y. Zhang, H. F. Ji, "S-H proton dissociation enthalpies of thiophenolic cation radicals: a DFT study", J. Mol. Struct: Theochem., 663 (2003) 167-174.

55. J. Tomasi, V. Barone, M. Cossi, "Geometry optimization of molecular structures in solution by the polarizable continuum model", J. Comp. Chem. 19 (1998) 404-417.

56. A. Bottoni, C. Lanza, G. Miscione, D. Spinelli, "New Model for a Theoretical Density Functional Theory Investigation of the Mechanism of the Carbonic Anhydrase How Does the Internal Bicarbonate Rearrangement Occur?", J. Am. Chem. Soc., 126 (2004) 1542-1550.

[Downloaded from isharat.khu.ac.ir on 2026-10-28]