

Dynamik und Kinetik

Zeitabhängige Prozesse jenseits des Gleichgewichts

11. Homogene Katalyse und Enzymkinetik

PD Dr. Till Biskup

Physikalische Chemie

Universität des Saarlandes

Wintersemester 2020/21





- Ein Katalysator beschleunigt eine chemische Reaktion, ohne selbst dabei chemisch verändert zu werden.
- Katalysatoren senken die Aktivierungsenergie einer Reaktion, ändern aber nicht die Lage des chemischen Gleichgewichts.
- Katalyse ist von entscheidender wirtschaftlicher Bedeutung. Ca. 90% aller großtechnischen Reaktionen sind katalysiert.
- Ein wesentlicher Aspekt der katalytischen Effizienz von Enzymen ist die Stabilisierung des Übergangszustands der Reaktion.
- Die unterschiedlichen Modi der Enzymhemmung lassen sich anhand der Lineweaver-Burk-Auftragung unterscheiden.

- 1 Geschwindigkeit chemischer Reaktionen: makroskopisches Bild
 - Reaktionsgeschwindigkeit und Geschwindigkeitsgesetze
 - Gleichgewichtsnäherung und Temperaturabhängigkeit
 - formale Kinetik komplizierterer Reaktionen
 - Reaktionsmechanismen
- 2 Reaktionsdynamik: mikroskopisches Bild
 - Stoßtheorie
 - Theorie des Übergangszustandes
- 3 Reaktionen in kondensierter Phase
 - Kinetik von Reaktionen in Lösung
 - Kinetik heterogener Reaktionen
- 4 **Katalyse**
 - homogene Katalyse und Enzymkinetik
 - heterogene Katalyse

Katalyse

Homogene Katalyse in Lösung

Homogene Katalyse in der Gasphase

Enzymkinetik

? Frage

Welche *mechanistischen* Wege gibt es, um chemische Reaktionen zu beschleunigen? Welche Limitationen weisen die jeweiligen Wege auf?

- ▶ Temperaturerhöhung
 - in Lösung begrenzt zwischen Schmelz- und Siedepunkt
 - sonst spätestens bei Zerstörung der Reaktanten/Produkte
- ▶ alternative Reaktionen
 - durch Zugabe von Reaktanten für Zwischenstufen
 - mögliche Reaktionswege/-mechanismen müssen bekannt sein
- ▶ Katalyse
 - ggf. hochspezifisch und mit großem Effekt
 - geeigneter Katalysator muss gefunden werden

? Frage

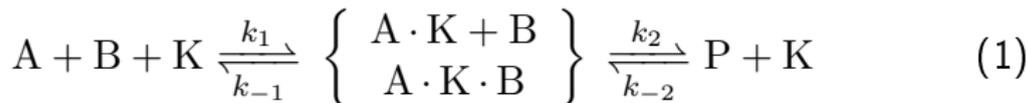
Welche (nichttriviale) Grundvoraussetzung muss gegeben sein, damit eine chemische Reaktion überhaupt spontan ablaufen *kann*?
Was bedeutet das für eine Reaktionskoordinate?

- ▶ Thermodynamische Voraussetzung: $\Delta G^\ominus < 0$
 - gefragt war nach spontan ablaufenden Reaktionen ...
- ▶ Reaktionskoordinate
 - potentielle Energie der Produkte liegt unterhalb der potentiellen Energie der Edukte
 - Aktivierungsbarriere ist davon unbeeinflusst

Katalysator

Stoff, der die Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion beschleunigt, ohne selbst dabei (netto) verbraucht zu werden

allgemeines Schema einer katalysierten Reaktion



A, B – Edukte, P – Produkt, K – Katalysator

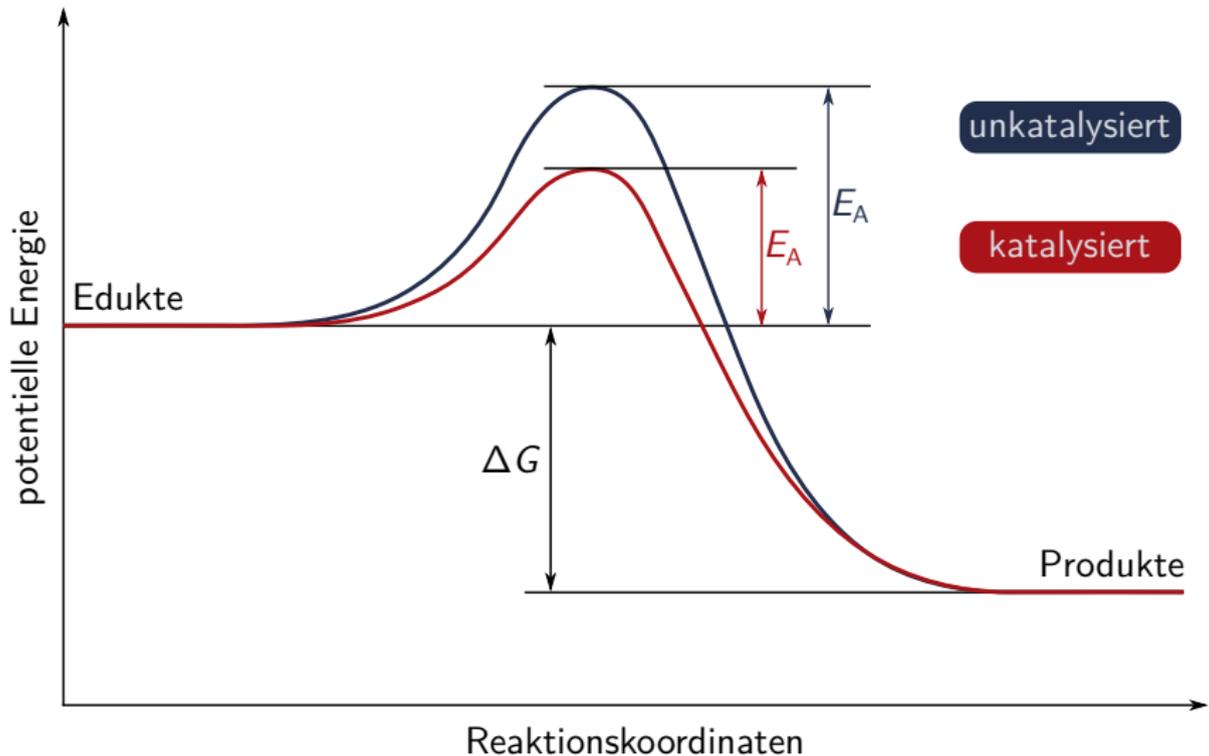
 Katalysator interagiert i.d.R. mit mindestens einem Edukt

Wie funktioniert Katalyse?

- ▶ Absenken der notwendigen Aktivierungsenergie für eine Reaktion
- ▶ kein Unterschied in ΔG
- ▶ Erinnerung: Thermodynamik definiert die Grenzen des Möglichen, Kinetik bestimmt die Geschwindigkeit eines Vorgangs
- ▶ Verringerung von E_A auf unterschiedlichem Weg möglich: alternativer Reaktionsweg, Stabilisierung des Übergangszustands

Wichtig

Ein Katalysator beeinflusst lediglich die Reaktionsgeschwindigkeit, ändert aber nichts an der freien Reaktionsenthalpie ΔG^\ominus oder der thermodynamischen Lage des Gleichgewichtes einer Reaktion.



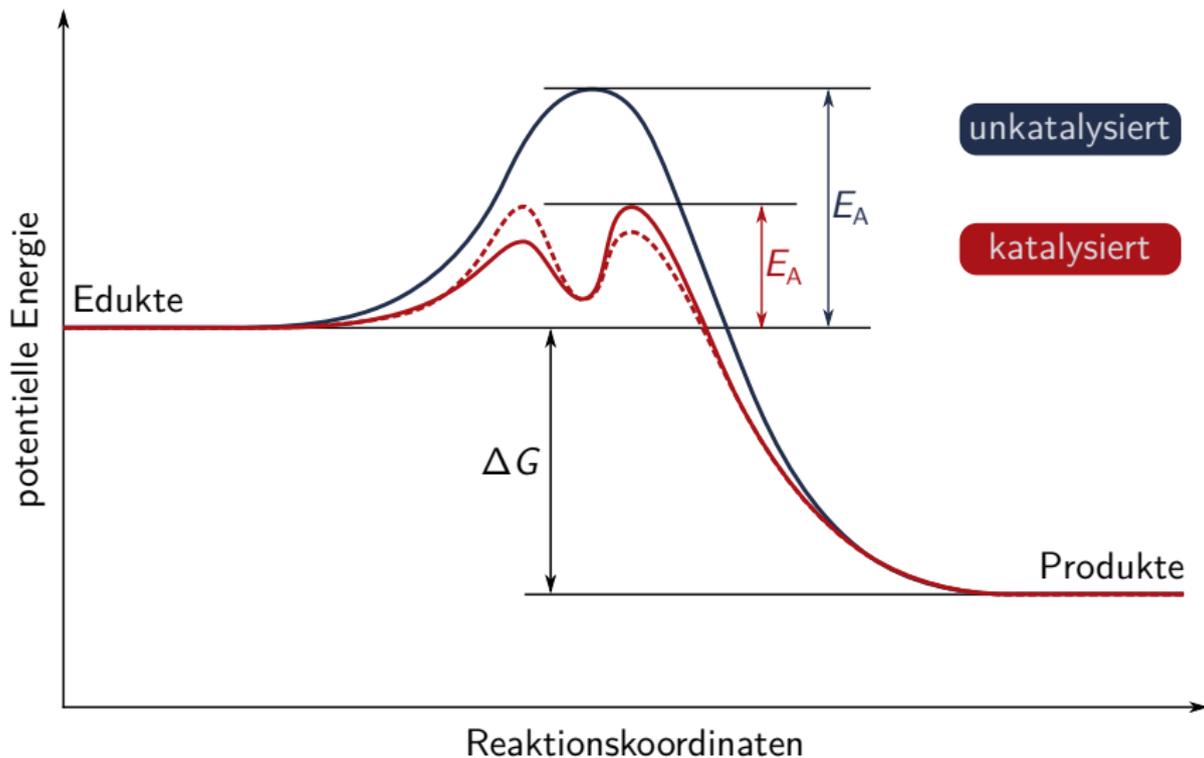
Frage

Was ist das Problem an der vereinfachten Darstellung zweier Reaktionskoordinaten für eine unkatalysierte und katalysierte Reaktion, die sich nur in der Höhe der Aktivierungsenergie unterscheiden? Wie müsste der Verlauf der potentiellen Energie für die katalysierte Reaktion korrekter aussehen?

- ▶ Meist Zwischenprodukt aus Katalysator und Reaktant(en)
- ▶ entsprechend zwei (niedrigere) Aktivierungsbarrieren
- ☛ relative Größe der beiden Aktivierungsenergien entscheidet über den Mechanismus

Katalyse

Ein genauerer Blick auf die Reaktionskoordinaten



homogene Katalyse

Reaktanten und Katalysator liegen in der gleichen Phase vor; typischerweise ist die Phase Gas oder Lösung.

heterogene Katalyse

Reaktanten und Katalysator liegen in unterschiedlichen Phasen vor; meist handelt es sich um Gasphase oder Lösung für die Reaktanten in Zusammenhang mit Festkörper-Katalysatoren.

 heterogene Katalyse Thema der nächsten Vorlesung

Selektivität

- ▶ weiterer Vorteil des Einsatzes von Katalysatoren
- ▶ Ausbeute von Produkten lässt sich steuern
- ▶ enantioselektive Katalyse ist möglich
- ☛ Katalysatoren nicht nur zur Beschleunigung von Reaktionen

Wichtig

Die *Selektivität* eines Katalysators beruht darauf, dass unterschiedliche Reaktionswege unterschiedlich stark beschleunigt werden. Das steht *nicht* im Widerspruch dazu, dass ein Katalysator das chemische Gleichgewicht nicht beeinflussen kann.

Katalyse

Homogene Katalyse in Lösung

Homogene Katalyse in der Gasphase

Enzymkinetik

Frage

Was ist die Relevanz homogener Katalyse in Lösung? Was sind ihre Vorteile, was ihre Nachteile? Was sind mögliche Alternativen?

- ▶ Relevanz
 - Die meisten Reaktionen finden in Lösung statt.
- ▶ Vor- und Nachteile
 - homogene Katalyse meist spezifischer als heterogene Katalyse
 - Trennung von Produkt und Katalysator schwierig
- ▶ Alternativen
 - heterogene Katalyse (ggf. Immobilisierung des Katalysators)
 - enzymatische Katalyse (als Spezialfall)

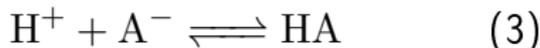
Beispiele für homogene Katalyse in Lösung

- ▶ Säure-Katalyse
- ▶ Base-Katalyse
- ☛ relevant für viele Reaktionen in der Organik

Generelles Schema

- ▶ vorgelagertes Gleichgewicht
- ▶ Reaktion vom Intermediat zum Produkt
- ☛ Fallunterscheidung, je nachdem welche Teilreaktion dominiert
- ☛ spezifische bzw. allgemeine Säure-/Base-Katalyse

Allgemeines Schema der Säure-Katalyse



X – Reaktant, A – Säure, P – Produkt

- ☛ Säure taucht in Nettoreaktionsgleichung nicht auf (wie erwartet für einen Katalysator)

In wässriger Phase zusätzliches Gleichgewicht



Fallunterscheidung

- ▶ $k_2 \ll k_1$ und $k_2 \ll k_{-1}$
 - zweite Teilreaktion geschwindigkeitsbestimmend
 - **spezifische Säure-Katalyse**
 - Reaktionsgeschwindigkeit hängt nur von $[\text{H}_3\text{O}^+]$ ab

- ▶ $k_2 \gg k_{-1}$ und $k_2 \gg k_1$
 - erste Teilreaktion (Dissoziation der Säure) geschwindigkeitsbestimmend
 - **allgemeine Säure-Katalyse**
 - Reaktionsgeschwindigkeit hängt von $[\text{HA}_i]$ ab

☞ gilt analog für die Base-Katalyse

Fall 1: Spezifische Säure-Katalyse (zweiter Schritt dominiert)



$$v = k_2[\text{XH}^+] \quad (6)$$

Substituieren von $[\text{XH}^+]$ aus der Gleichung für K_{XH^+} :

$$K_{\text{XH}^+} = \frac{[\text{X}][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{XH}^+][\text{H}_2\text{O}]} \quad [\text{XH}^+] = \frac{[\text{X}][\text{H}_3\text{O}^+]}{K_{\text{XH}^+}[\text{H}_2\text{O}]} \quad (7)$$

$$v = \frac{k_2}{K_{\text{XH}^+}[\text{H}_2\text{O}]}[\text{X}][\text{H}_3\text{O}^+] \quad (8)$$

Vereinfachung durch Einführung der Konstante k_{H^+}

$$k_{\text{H}^+} = \frac{k_2}{K_{\text{XH}^+}[\text{H}_2\text{O}]} \quad (9)$$

$$v = \frac{k_2}{K_{\text{XH}^+}[\text{H}_2\text{O}]} [\text{X}][\text{H}_3\text{O}^+] = k_{\text{H}^+} [\text{H}_3\text{O}^+][\text{X}] \quad (10)$$

- ☛ Reaktion erster Ordnung bzgl. $[\text{H}_3\text{O}^+]$ und $[\text{X}]$
- ☛ entscheidend ist $[\text{H}_3\text{O}^+]$, unabhängig seiner Herkunft

Fall 2: Allgemeine Säure-Katalyse (erster Schritt dominiert)



$$v = k_1[\text{HA}][\text{X}] \quad (11)$$

Mehrere Säuren: je eigene Geschwindigkeitskonstante der Dissoziation

$$k_1[\text{HA}] = \sum_i k_{\text{HA}_i}[\text{HA}_i] \quad (12)$$

Entsprechend gilt für die Reaktionsgeschwindigkeit:

$$v = \sum_i (k_{\text{HA}_i}[\text{HA}_i]) [\text{X}] \quad (13)$$

Praxis

- ▶ spezifische und allgemeine Säure-Katalyse oft parallel
- ▶ führt zu allgemeinem Geschwindigkeitsgesetz

Allgemeines Geschwindigkeitsgesetz

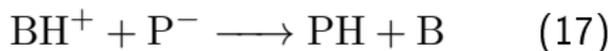
$$v = k_{\text{kat}}[\text{X}] \quad (14)$$

$$k_{\text{kat}} = k_0 + k_{\text{H}^+}[\text{H}_3\text{O}^+] + \sum_i k_{\text{HA}_i}[\text{HA}_i] \quad (15)$$

- ▶ k_0 berücksichtigt die Wirkung des Wassers
- ▶ experimentelle Bestimmung der einzelnen Konstanten
 - Kinetik ohne Säurezusatz messen (k_0)
 - anschließend Pufferlösungen identischer $[\text{H}_3\text{O}^+]$ (gleicher pH-Wert) aber unterschiedlicher $[\text{HA}_i]$

Base-Katalyse lässt sich analog zur Säure-Katalyse diskutieren, mit Unterscheidung zwischen spezifischer und allgemeiner Base-Katalyse.

Allgemeines Schema



X – Reaktant, B – Base, P – Produkt

Zusätzlich in wässriger Lösung



Katalyse

Homogene Katalyse in Lösung

Homogene Katalyse in der Gasphase

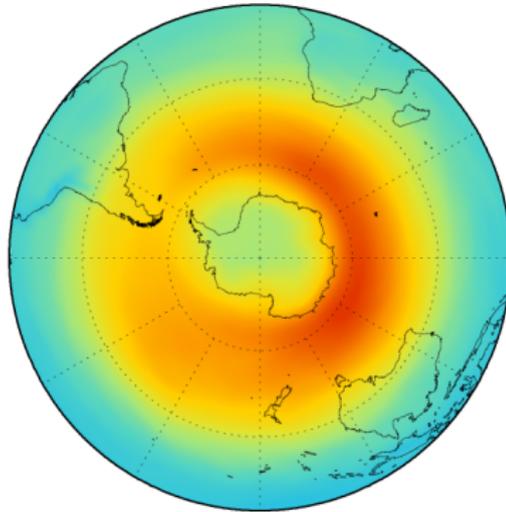
Enzymkinetik

Homogene Katalyse in der Gasphase

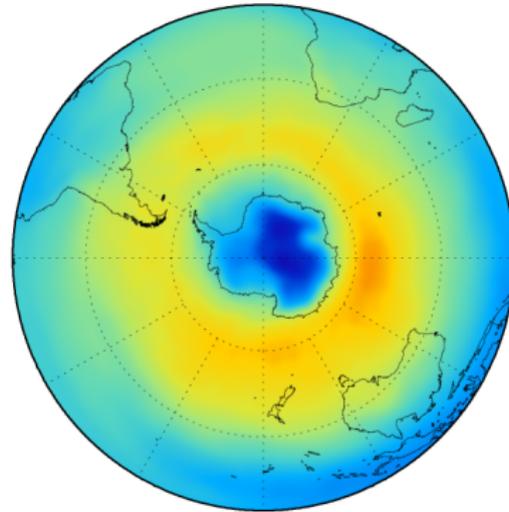
Ein Beispiel mit dramatischen Auswirkungen



Südliche Hemisphäre 1979



Südliche Hemisphäre 2007



Wikipedia/San Jose, GNU FDL/CC-By-SA 3.0

Zeitleiste

1970 Crutzen: Rolle von NO und NO₂ für den Ozonabbau

1974 Molina und Rowland, Cicerone und Stolarski:
Rolle von FCKW für den Ozonabbau

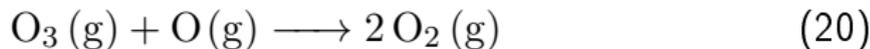
1987 Inkrafttreten des Montreal-Protokolls

1995 Nobelpreis für Chemie an Crutzen, Molina und Rowland

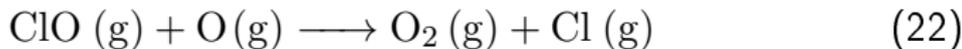
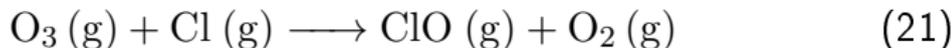
2006 bisher größte Ausdehnung des Ozonlochs
über der Antarktis

- ☛ Montreal-Abkommen erstes internationales Klimaabkommen, mit Vorbildwirkung für Folgeabkommen
- ☛ Relevanz für die „Nachgeborenen“:
Ozonloch erst in der zweiten Hälfte des Jahrhunderts geschlossen

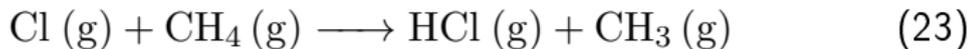
natürlich vorkommende Reaktion in der Stratosphäre:



In Gegenwart von Chloratomen zwei weitere Reaktionen:



Chloratome in der Stratosphäre meist fest gebunden:



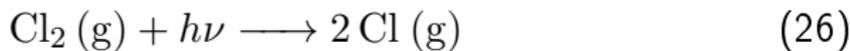
HCl (g) und ClONO₂ (g) meist ziemlich unreaktiv

Reaktion zwischen HCl (g) und $\text{ClONO}_2 \text{ (g)}$ an der Oberfläche polarer stratosphärischer Wolken:



- ☛ Fall *heterogener* Katalyse
- ☛ tritt im antarktischen Frühjahr auf (Wolkenbildung)

Chlorid wird durch Sonneneinstrahlung photolytisch gespalten:



- ☛ Chlor/Halogene in der Stratosphäre extrem langlebig
- ☛ Problem für Jahrzehnte

“ *[The] wanton disregard for science and the large-scale embrace of conspiratorial nonsense—often driven by political figures and partisan media—undermined the ability of responsible national and global leaders to protect the security of their citizens.*

– 2021 Doomsday Clock Statement

**IT IS 100 SECONDS
TO MIDNIGHT**



Katalyse

Homogene Katalyse in Lösung

Homogene Katalyse in der Gasphase

Enzymkinetik

Frage

Was ist die Relevanz enzymatisch katalysierter Reaktionen?
Oder: Warum sollte man sich damit als ChemikerIn befassen?

Welche (wichtige) enzymkatalysierte Reaktion ist Ihnen allen aus dem Alltag vertraut?

einige Bedeutungen enzymatischer Katalyse

- ▶ milde Bedingungen
- ▶ hohe Spezifität und Selektivität
- ▶ komplexe Reaktionen katalysierbar

“ I think that enzymes are molecules that are complementary in structure to the activated complexes of the reactions that they catalyse, that is, to the molecular configuration that is intermediate between the reacting substances and the products of reactions for these catalysed processes. The attraction of the enzyme molecule for the activated complex would thus lead to a decrease in its energy, and hence to a decrease in the energy of activation of the reaction, and to an increase in the rate of the reaction.

– Linus Pauling

- ☛ sehr vorausschauend (1948!) und zutreffend
- ☛ erste Protein-Kristallstruktur erst 1958

Grundlage der Selektivität und Spezifität von Enzymen

- ▶ räumliche Struktur passt zum Substrat bzw. zum Übergangszustand der Reaktion
 - Schlüssel-Schloss vs. *induced fit*
- ▶ Enzyme ändern (zumindest zu einem gewissen Grad) ihre räumliche Struktur während der Katalyse.
 - prominente Beispiele: ATPase, Membrankanäle
- ▶ einzelne Aminosäurereste im aktiven Zentrum wirken direkt an der katalysierten Reaktion mit
 - Stabilisierung
 - Elektronen- oder Protonenübertragung
 - kovalente Bindungen

☛ Nachfolgend Fokus auf der *Kinetik* der Enzymkatalyse

Experimenteller Befund zu Beginn des 20. Jahrhunderts

- ▶ Wenn die Substratkonzentration viel höher ist als die des Enzyms, ist die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion unabhängig von der Substratkonzentration
- ☛ Reaktion *nullter* Ordnung bzgl. des Substrates

Frage

Wie lässt sich dieser Befund erklären?

Wie müsste ein entsprechendes Reaktionsschema aussehen?

Vorschlag von Michaelis und Menten

Reaktion mit vorgelagertem Gleichgewicht:



E – Enzym, S – Substrat, P – Produkt, ES – Enzym-Substrat-Komplex

Fallunterscheidung

- ▶ Gleichgewicht schnell gegenüber Reaktion zum Produkt
- ▶ Reaktion zum Produkt schnell gegenüber Gleichgewicht
- ☛ Für hohe Substratkonzentration [S] dominiert k_2 und die Reaktionsgeschwindigkeit wird unabhängig von [S]

Reaktionsgeschwindigkeit (Geschwindigkeit der Produktbildung)

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (28)$$

Beziehung für [ES]

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \quad (29)$$

☞ nur mit zusätzlichen Annahmen lösbar

 Frage

Welche Annahme kennen Sie, die sich hier einsetzen lässt?

Bodensteinsche Quasistationaritätsbedingung

$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} \approx 0 \quad (30)$$

Anwendung im vorliegenden Fall

$$0 = k_1[\text{E}][\text{S}] - k_{-1}[\text{ES}] - k_2[\text{ES}] \quad (31)$$

$$k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}] = k_1[\text{E}][\text{S}] \quad (32)$$

$$(k_{-1} + k_2)[\text{ES}] = k_1[\text{E}][\text{S}] \quad (33)$$

$$[\text{ES}] = \frac{k_1}{k_{-1} + k_2}[\text{E}][\text{S}] \quad (34)$$

Voraussetzung für praktische Nutzbarkeit

- ▶ kinetische Gleichungen müssen als Funktionen experimentell zugänglicher Größen formuliert sein

Problem

- ▶ $[ES]$ und $[E]$ beide experimentell nicht zugänglich

Lösung

Gesamt-Enzymkonzentration $[E]_{\text{tot}}$:

$$[E]_{\text{tot}} = [E] + [ES] \quad (35)$$

- ☛ experimentell vergleichsweise einfach bestimmbar
- ☛ Einsetzen in obige Beziehung für $[ES]$

Erhaltungsbedingung der Enzymkonzentration

$$[\mathbf{E}]_{\text{tot}} = [\mathbf{E}] + [\mathbf{ES}] \quad [\mathbf{E}] = [\mathbf{E}]_{\text{tot}} - [\mathbf{ES}] \quad (36)$$

Einsetzen in Beziehung für [ES]

$$k_1[\mathbf{E}][\mathbf{S}] - k_{-1}[\mathbf{ES}] - k_2[\mathbf{ES}] = 0 \quad (37)$$

$$k_1([\mathbf{E}]_{\text{tot}} - [\mathbf{ES}])[\mathbf{S}] = k_{-1}[\mathbf{ES}] + k_2[\mathbf{ES}] \quad (38)$$

$$k_1[\mathbf{E}]_{\text{tot}}[\mathbf{S}] - k_1[\mathbf{ES}][\mathbf{S}] = k_{-1}[\mathbf{ES}] + k_2[\mathbf{ES}] \quad (39)$$

$$k_1[\mathbf{E}]_{\text{tot}}[\mathbf{S}] = k_{-1}[\mathbf{ES}] + k_2[\mathbf{ES}] + k_1[\mathbf{ES}][\mathbf{S}] \quad (40)$$

$$k_1[\mathbf{E}]_{\text{tot}}[\mathbf{S}] = [\mathbf{ES}](k_{-1} + k_2 + k_1[\mathbf{S}]) \quad (41)$$

$$[\mathbf{ES}] = \frac{k_1[\mathbf{E}]_{\text{tot}}[\mathbf{S}]}{k_{-1} + k_2 + k_1[\mathbf{S}]} \quad (42)$$

Bisheriges Ergebnis

$$[\text{ES}] = \frac{k_1[\text{E}]_{\text{tot}}[\text{S}]}{k_{-1} + k_2 + k_1[\text{S}]}$$

Vereinfachung durch Zusammenfassung der Ratenkonstanten

$$[\text{ES}] = \frac{k_1[\text{E}]_{\text{tot}}[\text{S}]}{k_1 \left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [\text{S}] \right)} = \frac{[\text{E}]_{\text{tot}}[\text{S}]}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + [\text{S}]} \quad (43)$$

$$[\text{ES}] = \frac{[\text{E}]_{\text{tot}}[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]} \quad K_M = \left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \right) \quad (44)$$

K_M – Michaelis-Konstante

Anfangsgeschwindigkeit v_0 der Reaktion

- ▶ Funktion der experimentell bestimmbaren Größen $[E]_{\text{tot}}$ und $[S]$

$$v_0 = \left(\frac{d[P]}{dt} \right)_{t=0} = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_{\text{tot}}[S]}{K_M + [S]} \quad (45)$$

Praxis

- ▶ Geschwindigkeit, bevor ca. 10% von S in P umgewandelt wurden
- ☞ minimiert den Einfluss zusätzlicher Faktoren
 - reversible Reaktionen
 - Hemmung des Enzyms durch das Produkt
 - fortschreitende Inaktivierung des Enzyms

Maximalgeschwindigkeit der enzymatischen Reaktion

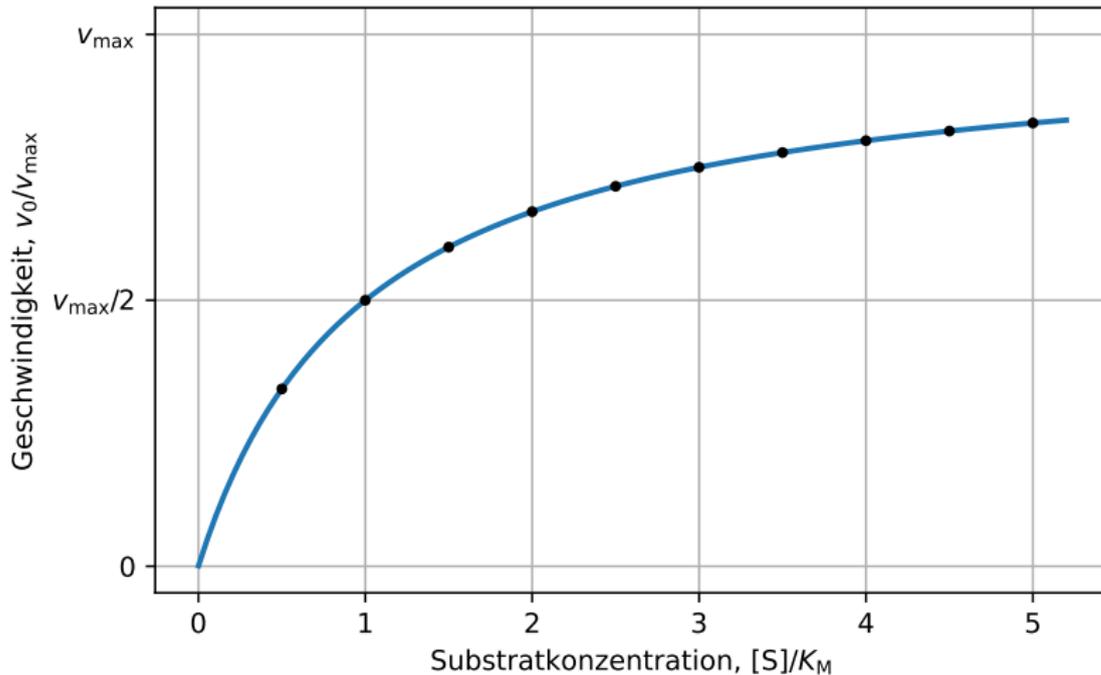
$$v_{\max} = k_2[\text{E}]_{\text{tot}} \quad (46)$$

- ▶ hohe Substratkonzentration [S]
- ▶ alle Enzyme mit Substrat besetzt („gesättigt“)

Michaelis-Menten-Gleichung

$$v_0 = \frac{v_{\max}[\text{S}]}{K_M + [\text{S}]} \quad (47)$$

- ☛ durch Kombination der Gleichungen für v_0 und v_{\max}



Bedeutung der Michaelis-Konstante K_M

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} = \frac{k_{-1}}{k_1} + \frac{k_2}{k_1} = K_S + \frac{k_2}{k_1} \quad (48)$$

K_S – Dissoziationskonstante des Michaelis-Komplexes

Fall: $k_2 \ll k_{-1}$

▶ K_S dominiert

☛ K_M Maß für die Affinität eines Enzyms zu seinem Substrat

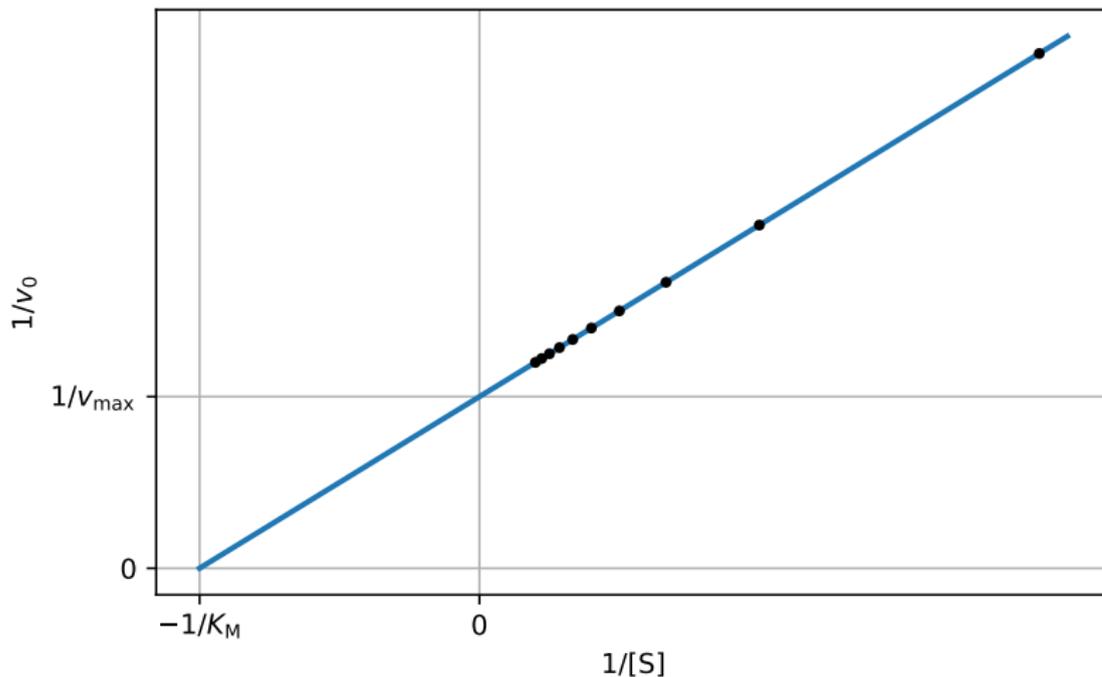
Hinweis

Je kleiner die Dissoziationskonstante, desto höher die Affinität.

Analyse kinetischer Daten

- ▶ Michaelis-Menten-Gleichung liefert einen nichtlinearen Zusammenhang
- ▶ v_{\max} experimentell schwer zu bestimmen (bedarf sehr hoher Substratkonzentrationen)
- ☛ Abhilfe: doppelt-reziproke Auftragung (**Lineweaver-Burk-Diagramm**)

$$\frac{1}{v_0} = \frac{1}{v_{\max}} + \left(\frac{K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} \quad (49)$$

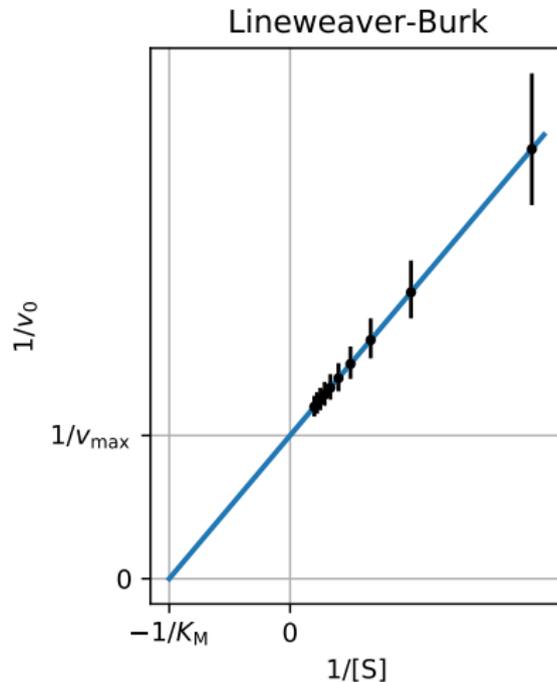
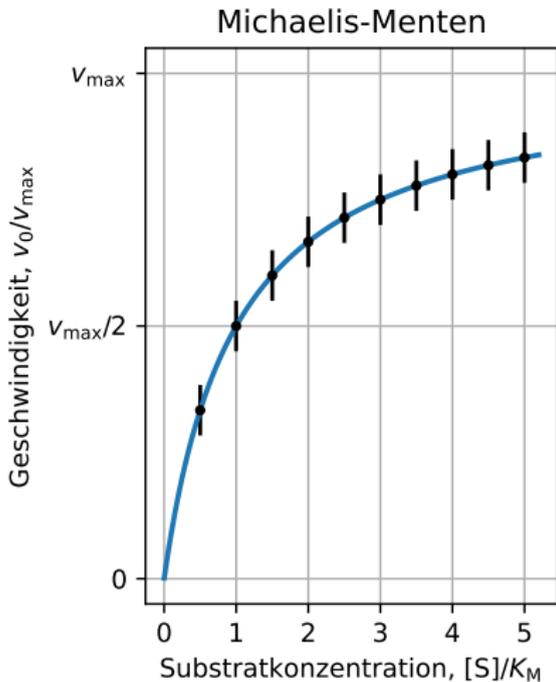


Probleme von Lineweaver-Burk-Diagrammen

- ▶ viele Messungen für relativ große Substratkonzentrationen, konzentrieren sich deshalb in der Auftragung nahe des Ursprungs
- ▶ Fehler in v_0 umso stärker gewichtet, je kleiner v_0 ist. Entsprechend schlecht wird die Güte der linearen Regression und damit die Genauigkeit der Bestimmung von K_M .

Konsequenz

- ▶ Lineare Regression sollte *nicht* zur Extraktion der Parameter K_M und v_{\max} verwendet werden
- ▶ stattdessen nichtlineare Regression der ursprünglichen Gleichung
- ☛ Darstellung nach Lineweaver-Burk aber hilfreich zur Aufklärung bzw. Unterscheidung von Mechanismen der Enzymhemmung



Fehler jeweils $\pm 0.05 v_{\max}$

Wechselzahl

Zahl der Katalysezyklen pro aktivem Zentrum und Zeitintervall

$$k_{\text{kat}} = \frac{v_{\text{max}}}{[\text{E}]_{\text{tot}}} \quad (50)$$

Für Enzyme, die der Michaelis-Menten-Kinetik folgen, gilt: $k_{\text{kat}} = k_2$

Für $[\text{S}] \ll K_M$ gilt $[\text{E}] \approx [\text{E}]_{\text{tot}}$ und damit:

$$v_0 \approx \frac{k_2}{K_M} [\text{E}]_{\text{tot}} [\text{S}] \approx \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} [\text{E}]_{\text{tot}} [\text{S}] \quad \eta = \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} \quad (51)$$

 η ist ein Maß für die katalytische Effizienz eines Enzyms

Frage

Was bestimmt die maximale Geschwindigkeit enzymatischer Reaktionen? Wie lässt sie sich formal berechnen?

Annahme: $k_2 \gg k_{-1}$

$$\eta = \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2} \approx k_1 \quad (52)$$

- ☛ Bildung von [ES] ratenbestimmend
- ☛ diffusionskontrolliert (!)

Diffusionskonstanten in wässriger Lösung

$$k_{\text{diff}} \approx 10^8 - 10^9 \text{ mol l}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

- Enzyme mit $\eta \approx k_{\text{diff}}$ am theoretischen Limit der Effizienz
- Beispiele: Katalase, Acetylcholinesterase

Konzeptionelles Problem

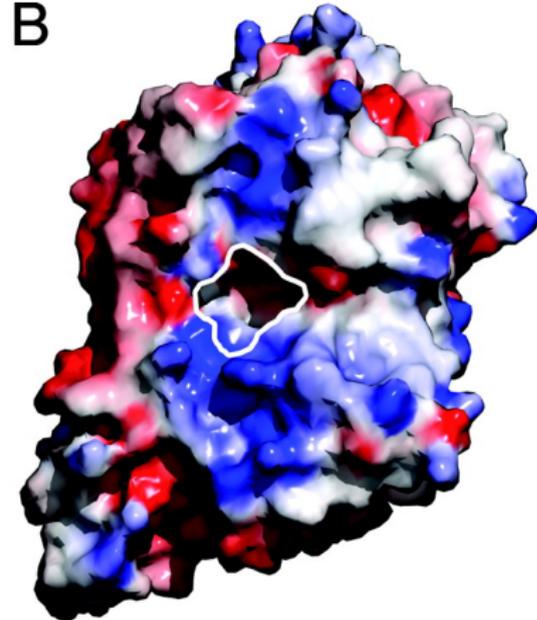
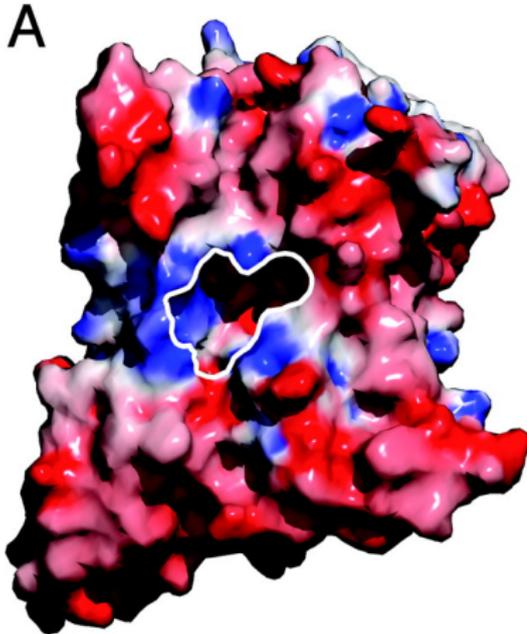
- ▶ aktives Zentrum nur sehr kleiner Teil der Enzymoberfläche
- ▶ trotzdem manche enzymatischen Katalysen diffusionskontrolliert

Mögliche Erklärung

- ▶ polare Seitengruppen auf der Enzymoberfläche
- ▶ leiten das Substrat elektrostatisch zum aktiven Zentrum

Katalytische Effizienz von Enzymen

Mögliche Erklärung für die hohe Effizienz



A – Cryptochrom; B – Photolyase; rot: negativ; blau: positiv

Deisenhofer *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(2004):12142–12147

Einige Mechanismen der Enzymhemmung

- ▶ kompetitive Hemmung
 - Konkurrenz um das aktive Zentrum
 - ▶ unkompetitive Hemmung
 - Inhibitor bindet selektiv an den Enzym-Substrat-Komplex
 - ▶ nichtkompetitive Hemmung
 - Inhibitor bindet an freies Enzym und Enzym-Substrat-Komplex
- 👉 lassen sich im Lineweaver-Burk-Diagramm unterscheiden

Einschränkung

- ▶ gelten streng nur im Kontext der Michaelis-Menten-Kinetik
- ▶ Enzym-Inaktivierung ist davon unabhängig

kompetitive Hemmung

Der Inhibitor konkurriert mit dem eigentlichen Substrat um das Enzym und bindet reversibel an dessen aktives Zentrum. Der Inhibitor reduziert also die Konzentration freien Enzyms.

Formales Reaktionsschema



Gleichgewichtskonstante der kompetitiven Hemmung

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} \quad (55)$$

- Ziel: v_0 als Funktion messbarer Größen: $[E]_{\text{tot}}$, $[S]$, $[I]$

Erhaltungsbedingung der Enzymkonzentration

$$[E]_{\text{tot}} = [E] + [EI] + [ES] \quad (56)$$

- Beziehung für $[EI]$ durch Umstellen der Beziehung für K_I
- Beziehung für $[ES]$ bekannt (s.o.)
- Beziehung für $[E]$ aus Quasistationarität

Quasistationarität

$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} = k_1[\text{E}][\text{S}] - k_{-1}[\text{ES}] - k_2[\text{ES}] \approx 0$$

Umstellen nach [E]

$$k_1[\text{E}][\text{S}] = k_{-1}[\text{ES}] + k_2[\text{ES}] = (k_{-1} + k_2)[\text{ES}] \quad (57)$$

$$[\text{E}] = \underbrace{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1}}_{K_M} \frac{[\text{ES}]}{[\text{S}]} \quad (58)$$

$$[\text{E}] = \frac{K_M[\text{ES}]}{[\text{S}]} \quad (59)$$

Beziehung für [EI]

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} \qquad [E] = \frac{K_M[ES]}{[S]} \qquad (60)$$

$$[EI] = \frac{[E][I]}{K_I} = \frac{K_M[ES][I]}{[S]K_I} \qquad (61)$$

Einsetzen in Erhaltungsbedingung:

$$[E]_{\text{tot}} = [E] + [EI] + [ES] \qquad (62)$$

$$[E]_{\text{tot}} = \frac{K_M}{[S]}[ES] + \frac{K_M}{[S]} \frac{[I]}{K_I}[ES] + [ES] \qquad (63)$$

$$[E]_{\text{tot}} = [ES] \left\{ \frac{K_M}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) + 1 \right\} \qquad (64)$$

Umstellen nach [ES]

$$[E]_{\text{tot}} = [ES] \left\{ \frac{K_M}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) + 1 \right\} \quad (65)$$

$$[ES] = \frac{[E]_{\text{tot}} [S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) + [S]} \quad (66)$$

Einsetzen in das Geschwindigkeitsgesetz

$$v_0 = k_2 [ES] = \frac{k_2 [E]_{\text{tot}} [S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) + [S]} \quad (67)$$

☛ Funktion messbarer Größen: $[E]_{\text{tot}}$, $[S]$, $[I]$

Vereinfachungen

$$\alpha = \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) \qquad v_{\max} = k_2[E]_{\text{tot}} \qquad (68)$$

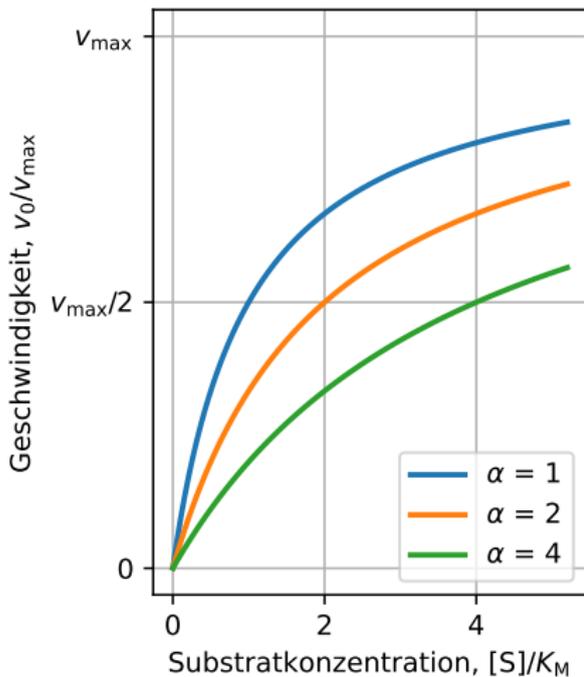
Geschwindigkeitsgesetz (Michaelis-Menten)

$$v_0 = \frac{v_{\max}[S]}{\alpha K_M + [S]} \qquad (69)$$

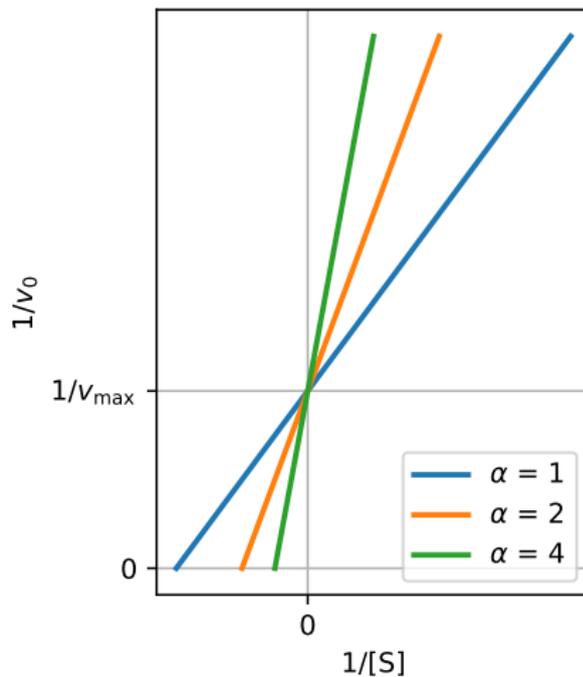
Doppelt-reziproke Auftragung (Lineweaver-Burk)

$$\frac{1}{v_0} = \left(\frac{\alpha K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{v_{\max}} \qquad (70)$$

Michaelis-Menten



Lineweaver-Burk



unkompetitive Hemmung

Der Inhibitor bindet direkt an den Enzym-Substrat-Komplex, aber nicht an das freie Enzym. v_{\max} wird entsprechend reduziert. Der Inhibitor muss dem Substrat *nicht* ähneln.

Formales Reaktionsschema



Gleichgewichtskonstante der Hemmung

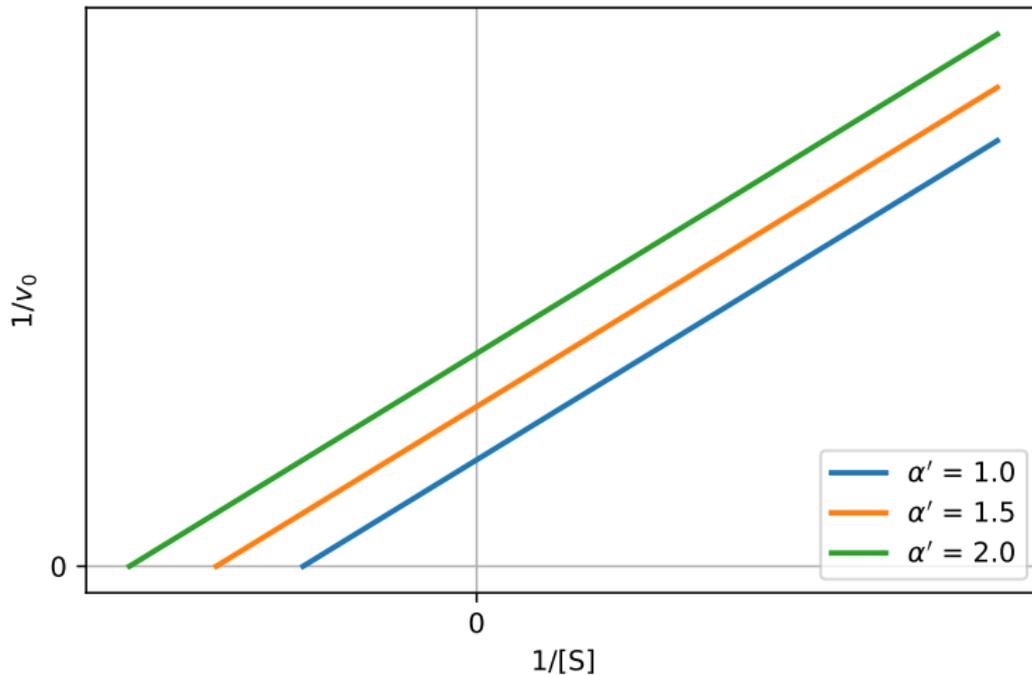
$$K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]} \quad (73)$$

Geschwindigkeitsgesetz (Michaelis-Menten)

$$v_0 = \frac{v_{\max}[S]}{K_M + \alpha'[S]} \quad \alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I} \quad (74)$$

Doppelt-reziproke Auftragung (Lineweaver-Burk)

$$\frac{1}{v_0} = \left(\frac{K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{v_{\max}} \quad (75)$$



nichtkompetitive Hemmung

Der Inhibitor bindet sowohl an das freie Enzym als auch an den Enzym-Substrat-Komplex.

Formales Reaktionsschema



Gleichgewichtskonstanten der Hemmung

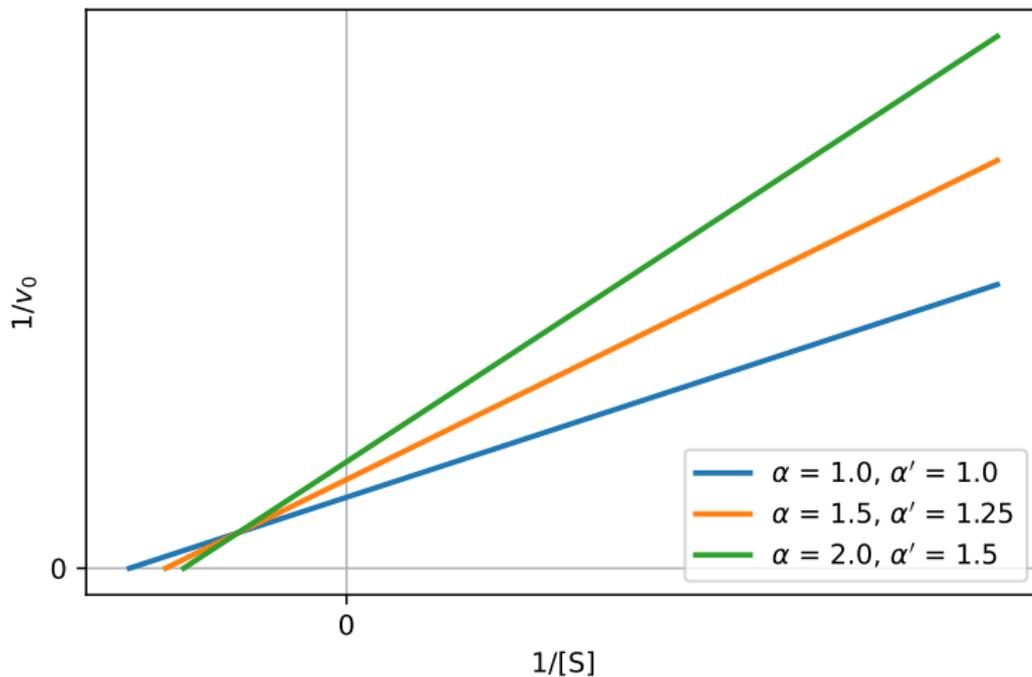
$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]} \qquad K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]} \qquad (79)$$

Geschwindigkeitsgesetz (Michaelis-Menten)

$$v_0 = \frac{v_{\max}[S]}{\alpha K_M + \alpha'[S]} \qquad \alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \qquad \alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I} \qquad (80)$$

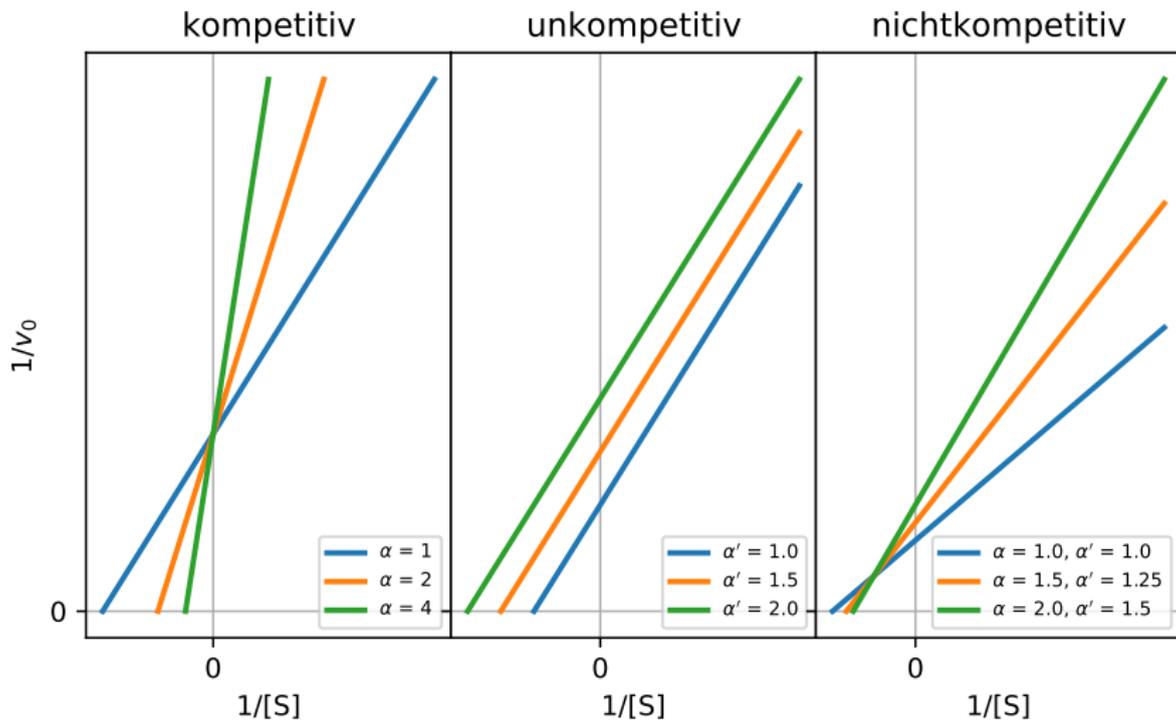
Doppelt-reziproke Auftragung (Lineweaver-Burk)

$$\frac{1}{v_0} = \left(\frac{\alpha K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{v_{\max}} \qquad (81)$$



Mechanismen der Enzymhemmung

Vergleich der Mechanismen in der Lineweaver-Burk-Auftragung



Frage

Was ist die große Bedeutung der Enzymhemmung?

Wo werden Enzym-Inhibitoren u.a. real eingesetzt?

Welche Erkenntnisse lassen sich aus der kompetitiven Hemmung ziehen?

- ▶ Bedeutung und Einsatz der Enzymhemmung
 - hochselektive Medikamente zur Ausschaltung bestimmter Enzyme
 - deutlich verträglicher als Stoffwechselhemmer
- ▶ Erkenntnisse aus der kompetitiven Hemmung
 - Hinweise auf Struktur des Übergangszustandes
 - Inhibitor bindet i.d.R. umso stärker, je ähnlicher er dem Übergangszustand ist



- Ein Katalysator beschleunigt eine chemische Reaktion, ohne selbst dabei chemisch verändert zu werden.
- Katalysatoren senken die Aktivierungsenergie einer Reaktion, ändern aber nicht die Lage des chemischen Gleichgewichts.
- Katalyse ist von entscheidender wirtschaftlicher Bedeutung. Ca. 90% aller großtechnischen Reaktionen sind katalysiert.
- Ein wesentlicher Aspekt der katalytischen Effizienz von Enzymen ist die Stabilisierung des Übergangszustands der Reaktion.
- Die unterschiedlichen Modi der Enzymhemmung lassen sich anhand der Lineweaver-Burk-Auftragung unterscheiden.