

Химические основы биологических процессов

***Эффективность и
специфичность
ферментативного катализа***

Тишков Владимир Иванович

zamdekana07@gmail.com

к. 210 кафедры химической энзимологии

Москва - Баку - 2023

КАТАЛИЗ

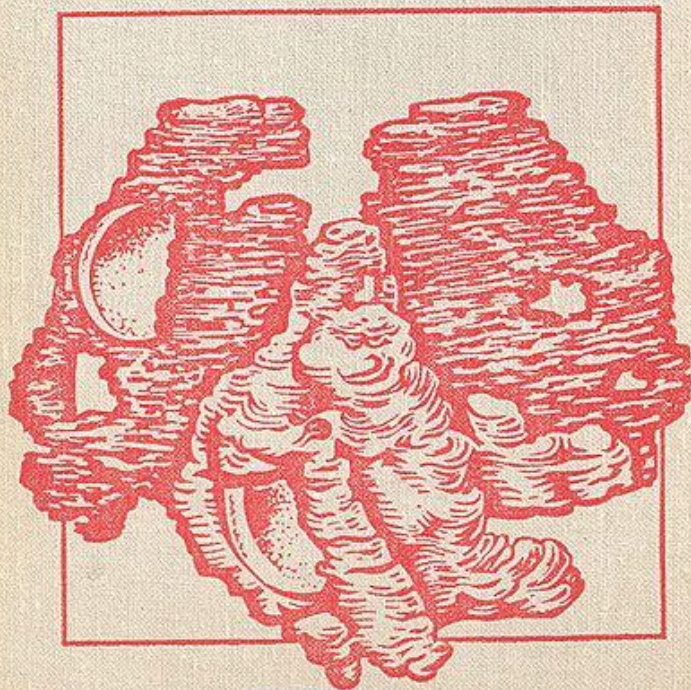
Катализатор **не влияет** на **константу равновесия** реакции, поскольку ускоряет как **ПРЯМУЮ**, так и **ОБРАТНУЮ** реакцию.



4-е изд. - М.: "Химия", 1991 - 448 с.

О.М.ПОЛТОРАК·Е.С.ЧУХРАЙ

ФИЗИКО-
ХИМИЧЕСКИЕ
ОСНОВЫ
ФЕРМЕНТАТИВНОГО
КАТАЛИЗА

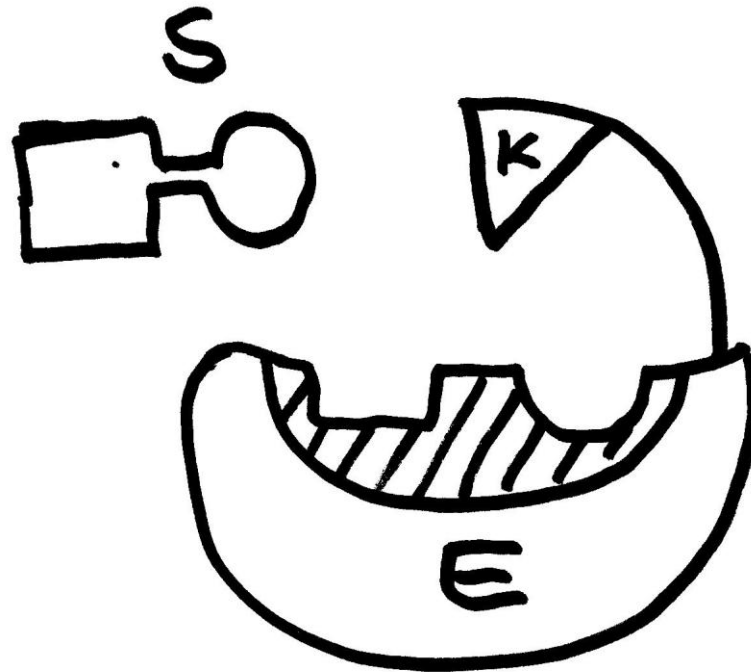


ОЛЕСЬ ПОЛТОРАК,
ЕЛЕНА ЧУХРАЙ

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
ОСНОВЫ
ФЕРМЕНТАТИВНОГО
КАТАЛИЗА

Специфичность и эффективность ферментативного катализа

- Активный центр фермента:
1) каталитический и сорбционный подцентры



Эффективность ферментативного катализа

- Физико-химические причины ускорения ферментативных реакций.

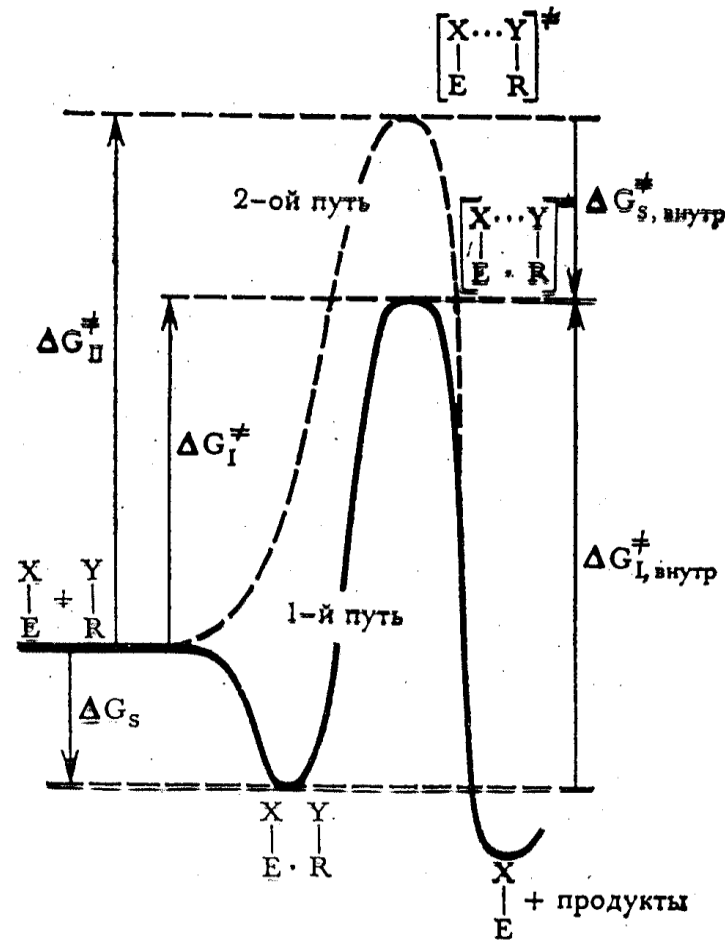
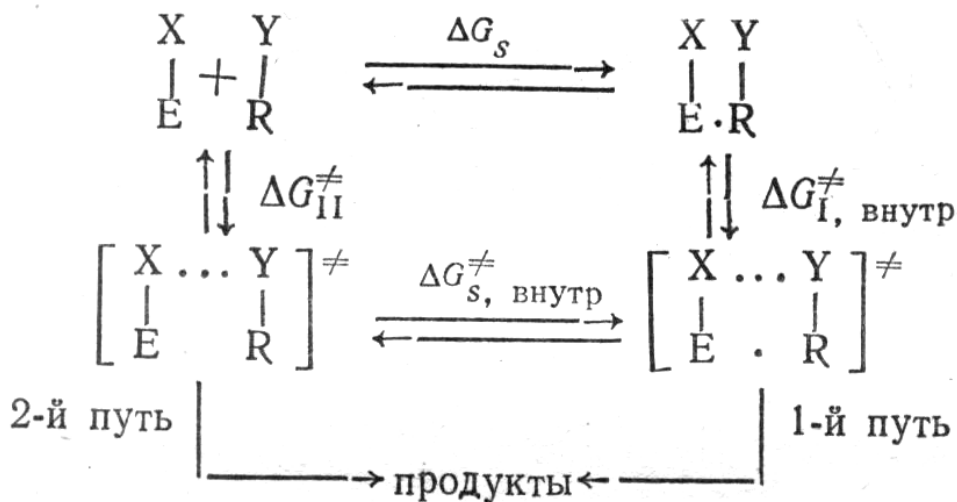


Диаграмма изменений стандартной свободной энергии по координате реакции:

1-й путь — для процесса (2.1); 2-й путь — для (2.2); направление стрелок определяет знак величины свободной энергии (вверх — положительный, вниз — отрицательный)

МЕХАНИЗМЫ КАТАЛИЗА

По типу катализатора

1. Гомогенный катализ
2. Гетерогенный катализ

По химической и физической природе действия

1. Активация за счет взаимодействия с катализатором
2. Кислотно-основной (электрофильно-нуклеофильный)
3. Сближение и ориентация
4. Эффект среды

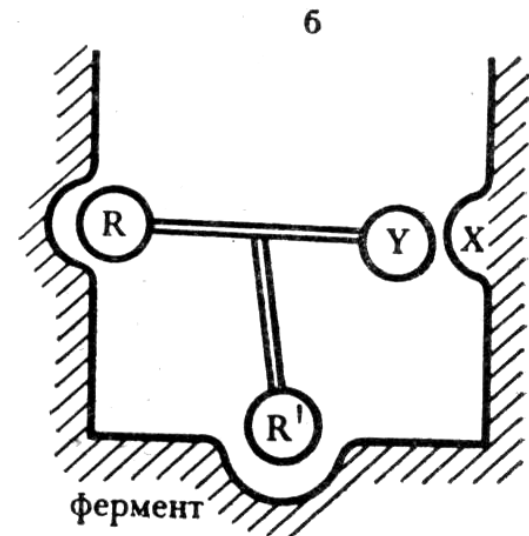
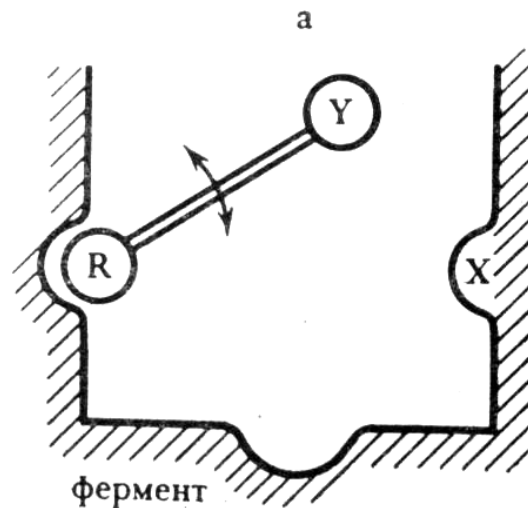
Эффективность ферментативного катализа

- ФАКТОРЫ (ЭФФЕКТЫ) УСКОРЕНИЯ ХИМИЧЕСКИХ (ФЕРМЕНТАТИВНЫХ) РЕАКЦИЙ

I - СБЛИЖЕНИЕ (КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ)

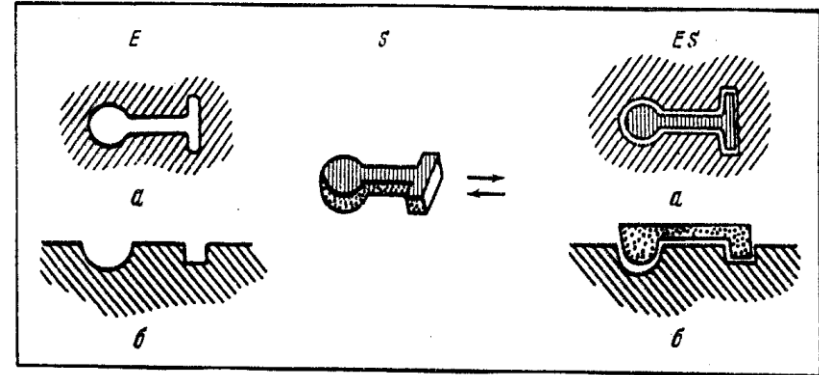
II - ОРИЕНТАЦИЯ

III - ЭФФЕКТЫ СРЕДЫ

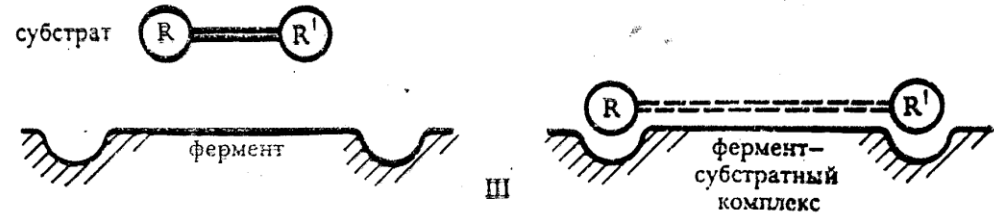


Теории ферментативного катализа

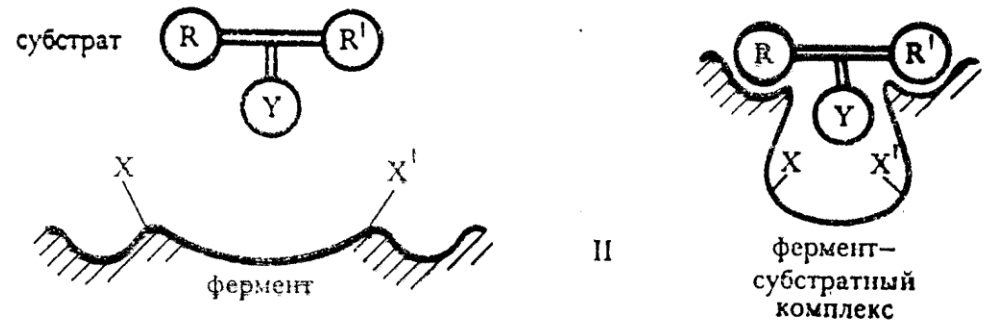
- Концепция «ключ-замок» (Э. Фишер)



- Теория напряжения (дыбы) (Р. Ламри, В. Дженкс).



- Теория индуцированного соответствия. (Д. Кошланд)



Ориентация и сближение

Достигается за счет связывания субстратов в активном центре

Процесс термодинамически выгодный за счет использования энергии взаимодействия субстрата с аминокислотными остатками фермента

Эффект среды

При связывании субстрата в активном центре возможно создание его окружения с определенными свойствами

- 1. Снижение диэлектрической проницаемости усиливает электростатические взаимодействия**
(ускорение реакции переноса гидрид-иона от субстрата к окисленным формам коферментов (NAD(P)⁺) и кофакторов (FAD, FMN)).
- 2. Введение полярной (заряженной) группы рядом с кислотой и основанием изменяет величину рК**
(позволяет иметь в активном центре две одинаковые группы в разном состоянии ионизации – карбоксилы в активном центре лизоцима и других карбогидраз)

КИСЛОТНО-ОСНОВНОЙ КАТАЛИЗ

- **СПЕЦИФИЧЕСКИЙ КИСЛОТНЫЙ** (H_3O^+)
- **ОБЩИЙ КИСЛОТНЫЙ** (доноры протона, кислоты Бренстеда)
- **ЭЛЕКТРОФИЛЬНЫЙ** (акцепторы электронной пары, кислоты Льюиса)
- **СПЕЦИФИЧЕСКИЙ ОСНОВНОЙ** (OH^-)
- **ОБЩИЙ ОСНОВНОЙ** (акцепторы протона, основания Бренстеда)
- **НУКЛЕОФИЛЬНЫЙ** (доноры электронной пары, основания Льюиса)

СПЕЦИФИЧЕСКИЙ КАТАЛИЗ

Специфический катализ – катализ ионами H^+ и OH^-

Часто наблюдается в классическом катализе и не реализуется в ферментативном

.

Общий кислотно-основной катализ

Катализ кислотами и основаниями

В качестве активных групп могут выступать группы боковых радикалов, а также кислород карбонила и азот амида основной цепи.

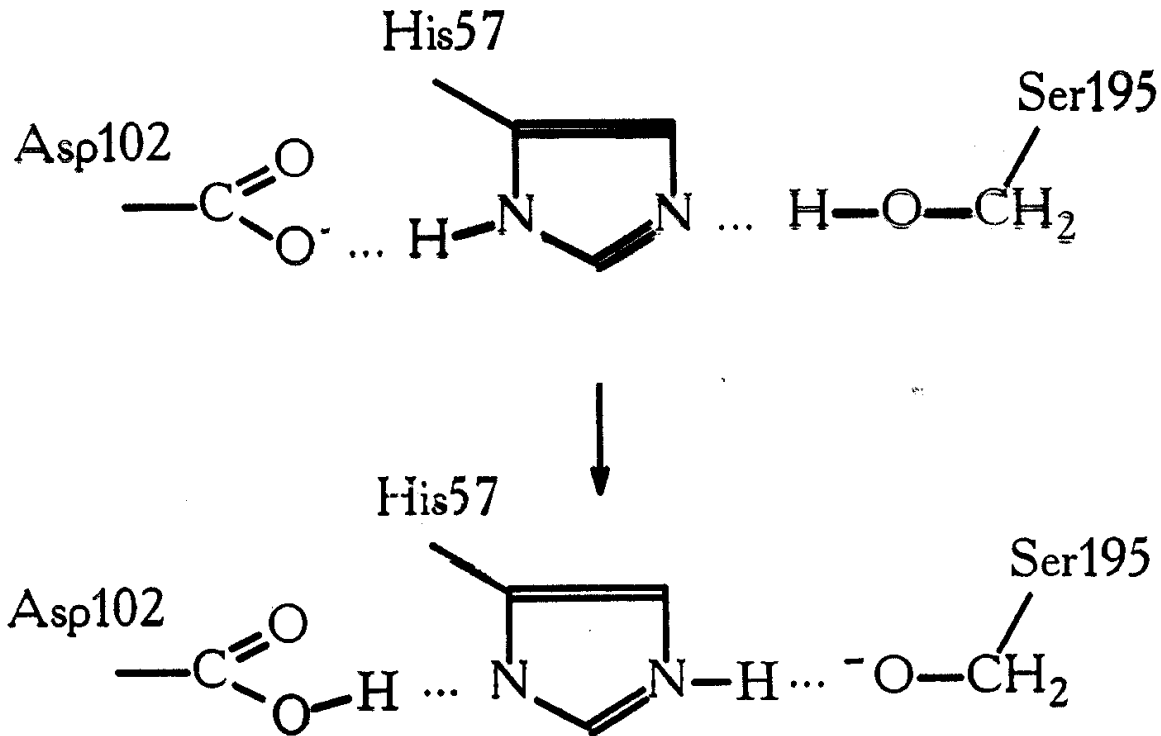
Общий кислотно-основной катализ в механизме действия ферментов

- Прототропные группы ферментов

Аминокислотный остаток в молекуле белка	кислотная форма	основная форма	pK _a
N-Концевой	$\alpha\text{-NH}_3^+$	$\alpha\text{-NH}_2$	7,8
C-Концевой	$\alpha\text{-CO}_2\text{H}$	$\alpha\text{-CO}_2^-$	3,8
Аспарагиновая кислота	} $\beta,\gamma\text{-CO}_2\text{H}$	} $\beta,\gamma\text{-CO}_2^-$	4,4
Глутаминовая кислота			4,6
Гистидин	Ион имидазолия	Имидазол	7,0
Цистеин	-SH	-S^-	8,7
Тирозин	$\text{-C}_6\text{H}_4\text{OH}$	$\text{-C}_6\text{H}_4\text{O}^-$	9,6
Лизин	$\epsilon\text{-NH}_3^+$	$\epsilon\text{-NH}_2$	10,4
Серин	} $\beta\text{-OH}$	} $\beta\text{-O}^-$!3
Треонин			
Аргинин	$\text{-NH(C=NH}_2\text{)NH}_2^+$	-NH(C=NH)NH_2	12,5
Пептид	$\text{R-CO-NHR}'$	$\text{R-CO-N-R}'$	14,8

Общий кислотно-основной катализ в механизме действия ферментов

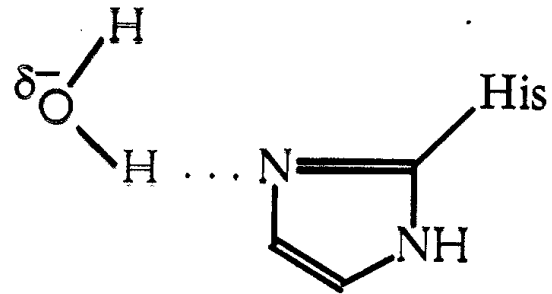
- Прототропные группы ферментов



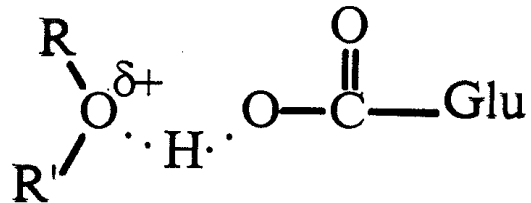
Увеличение реакционной способности в 10^6 раз

Общий кислотно-основной катализ в механизме действия ферментов

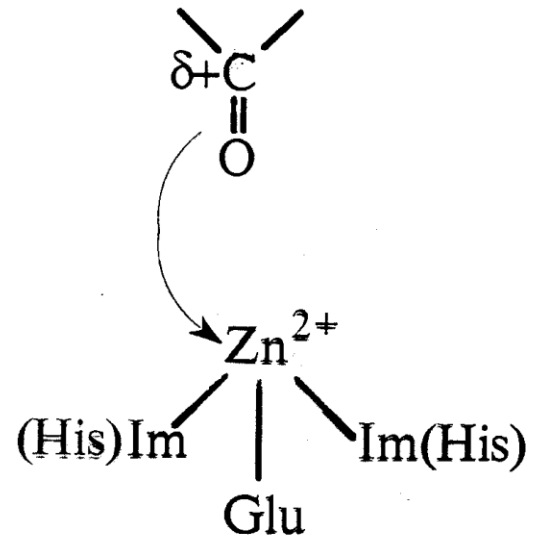
Общий основной катализ



Общий кислотный катализ



Электрофильный катализ



ПРИЧИНА ВЫСОКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

В случае ферментативного
катализа возможна

ОДНОВРЕМЕННАЯ

реализация

СРАЗУ НЕСКОЛЬКИХ типов и
механизмов катализа

Э. Фёршт

СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

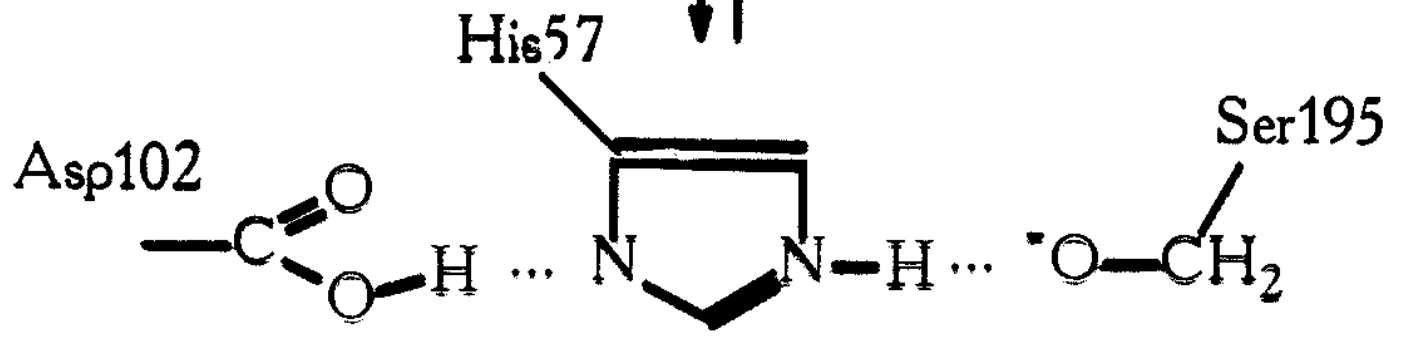
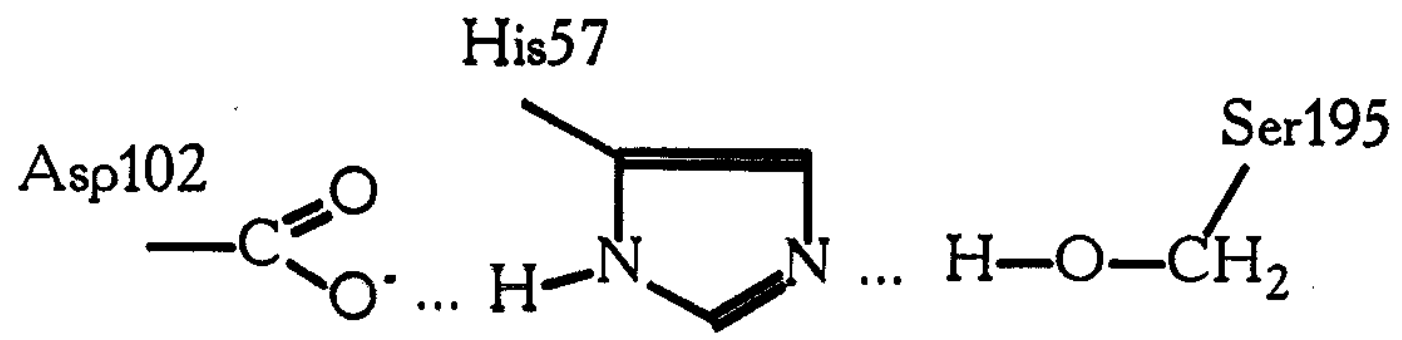
Перевод с английского
канд. хим. наук Ю. Б. Гребенщикова

под редакцией
д-ра хим. наук Б. И. Курганова

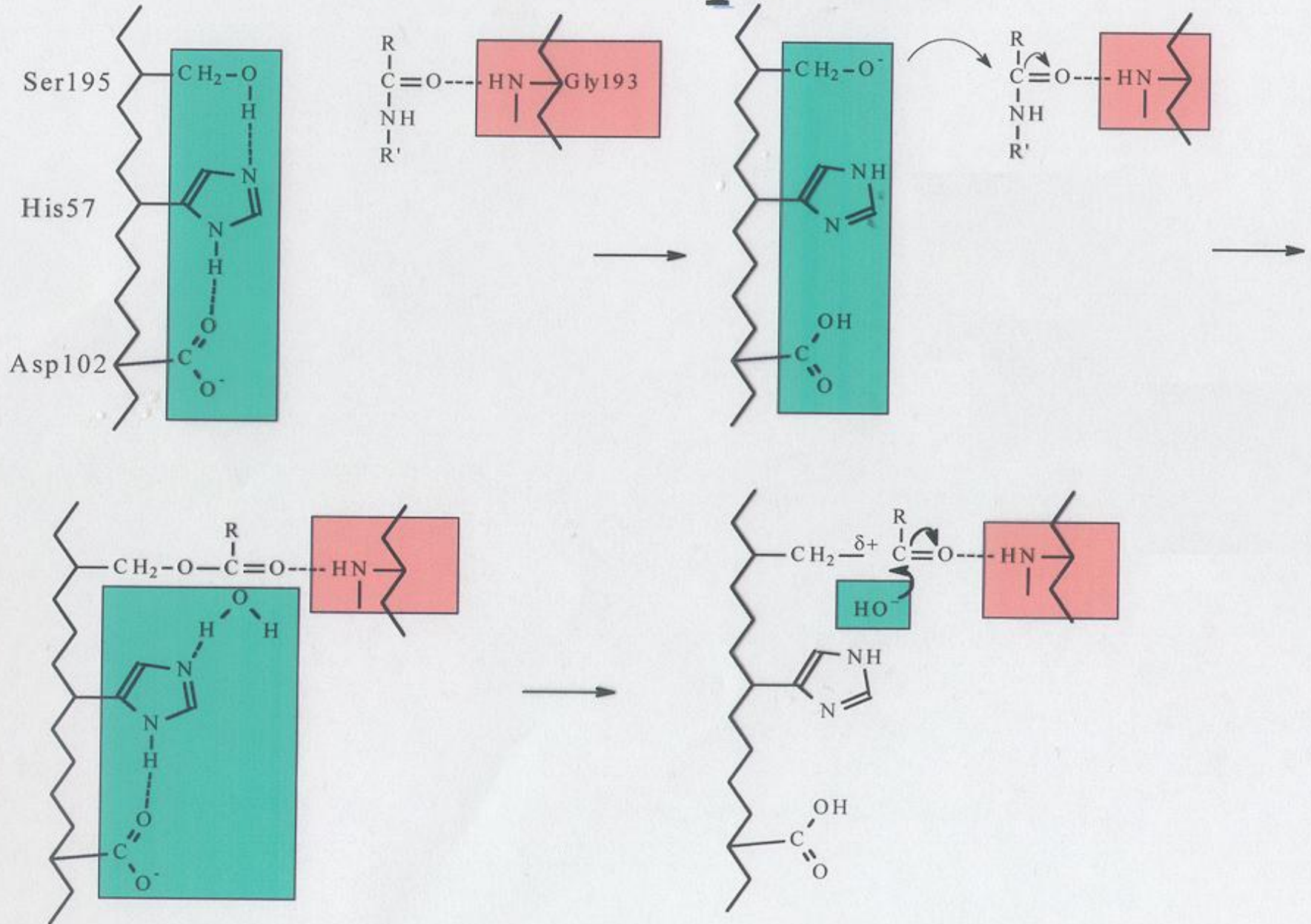
Best wishes
Anselm

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
Москва 1980

***Молекулярные механизмы
действия ферментов:
гидролазы.***

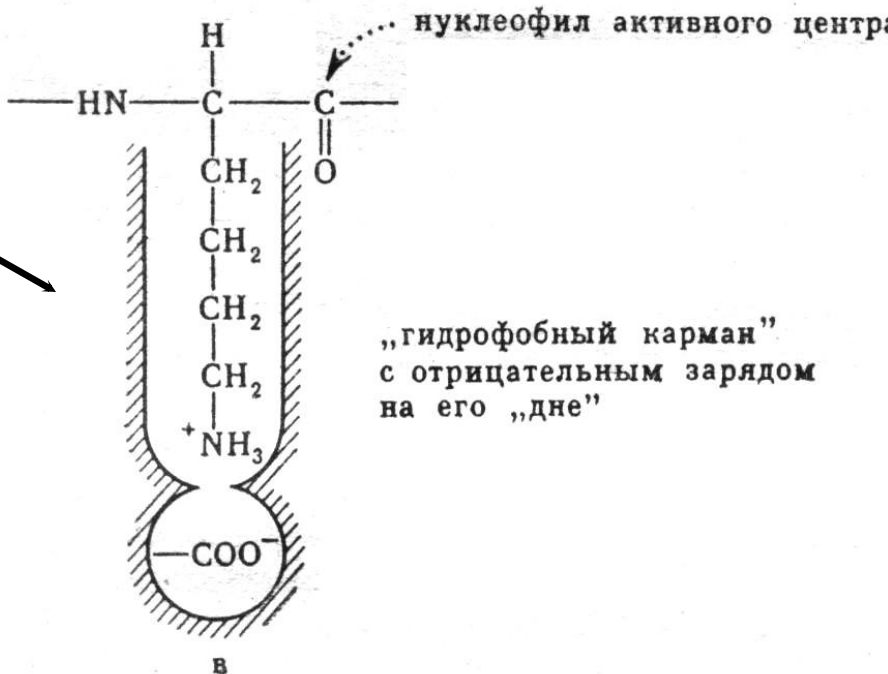
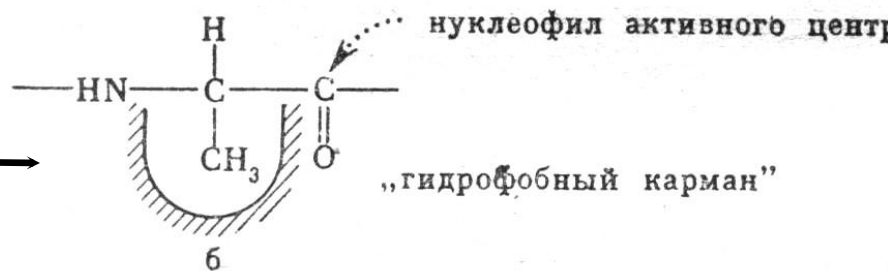
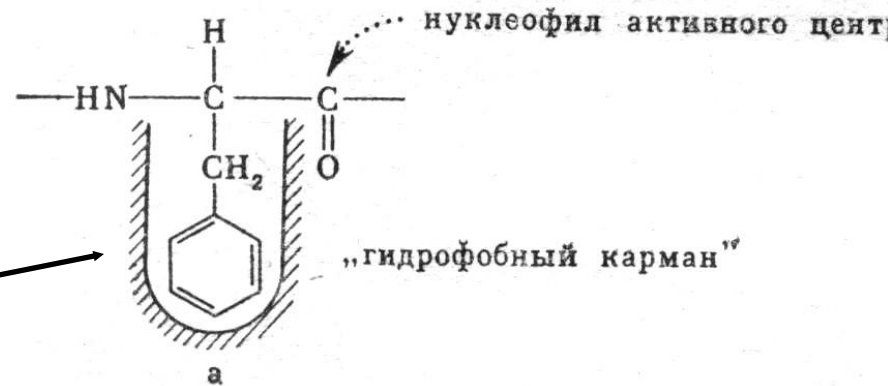


α -ХИМОТРИПСИН



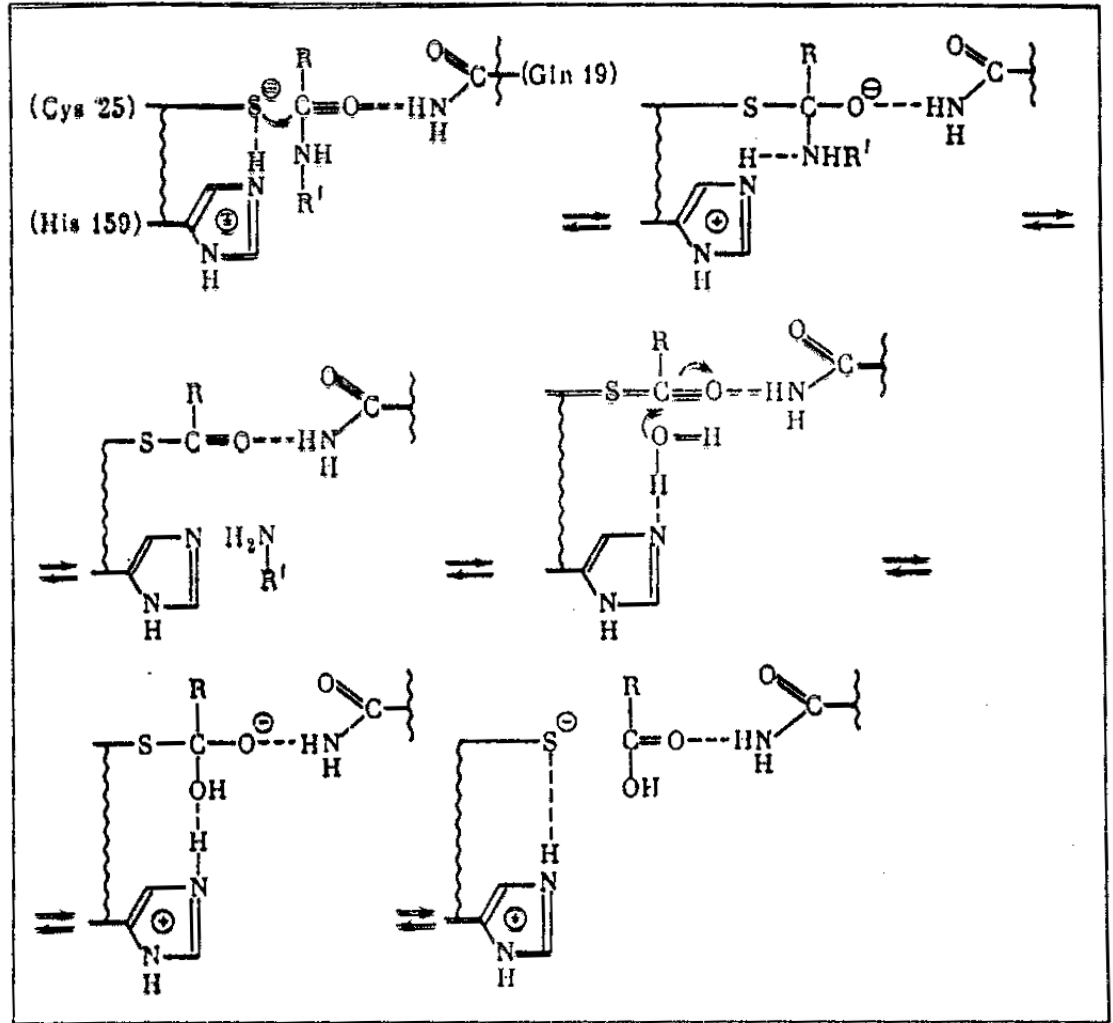
Активные центры сериновых протеаз

- Химотрипсин
- Эластаза
- Трипсин

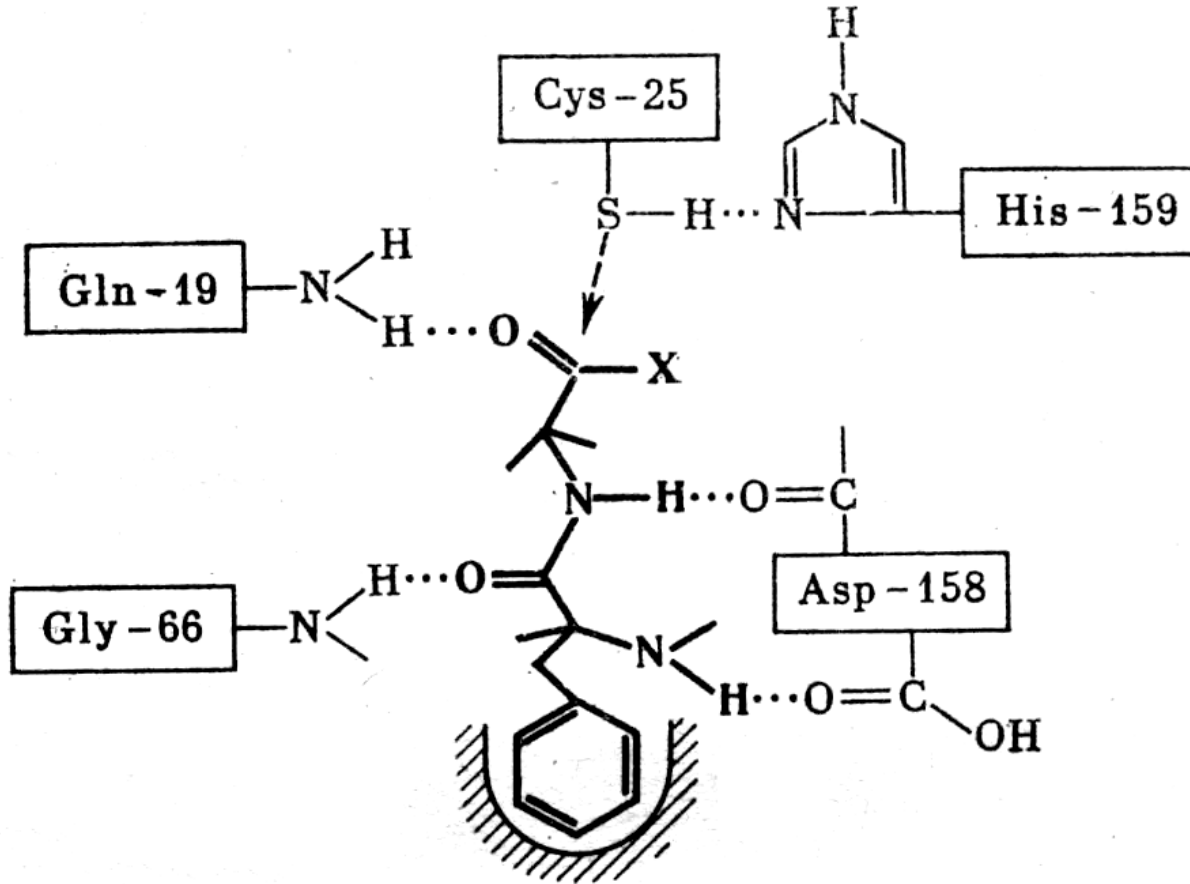


Папаин

- Увеличение нуклеофильности SH-группы цистеина (воды) и реакционной способности карбонильной группы

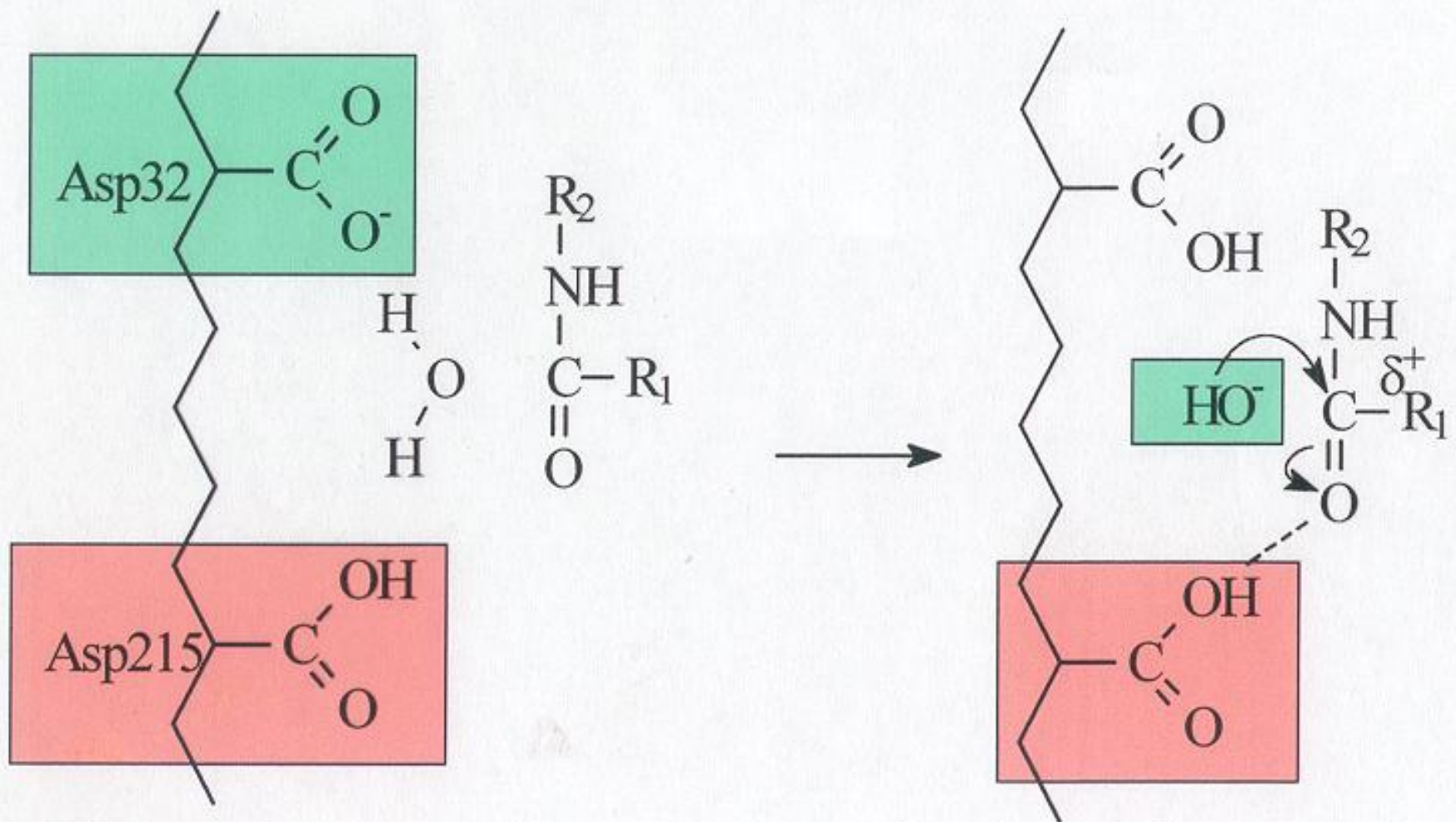


Папаин

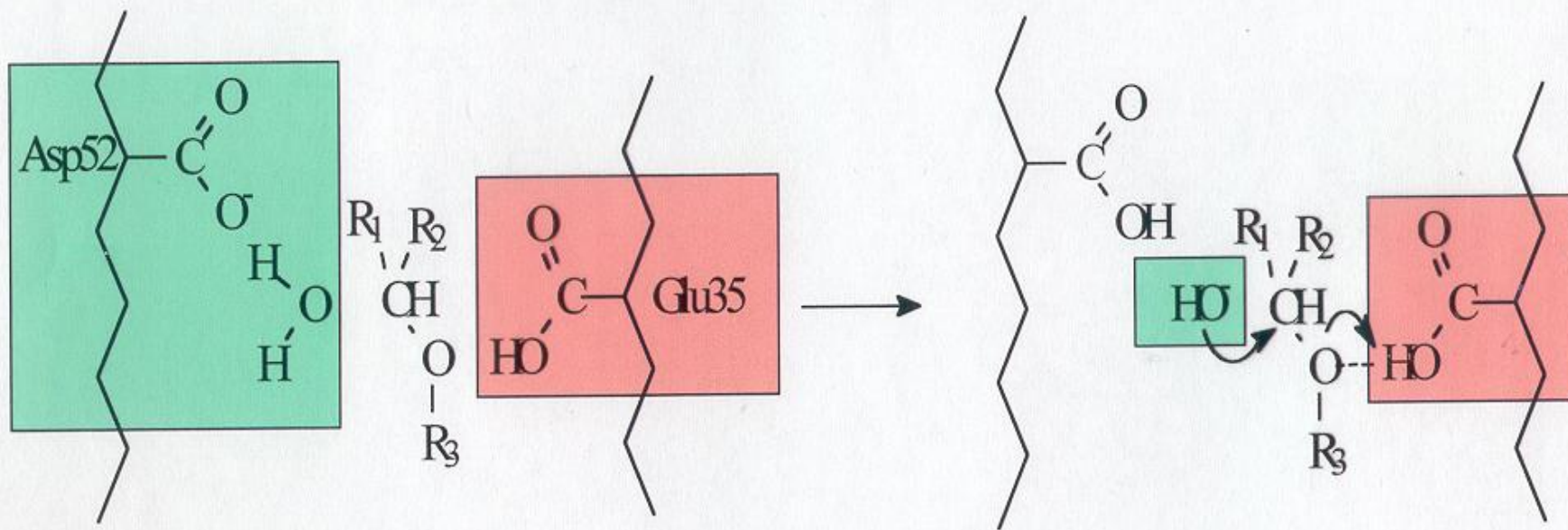


гидрофобная
область
активного центра

Пепсин

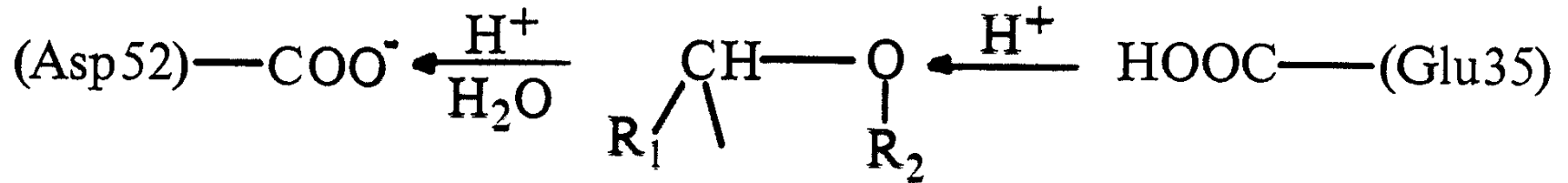


Лизоцим



Лизоцим

Цепь переноса заряда



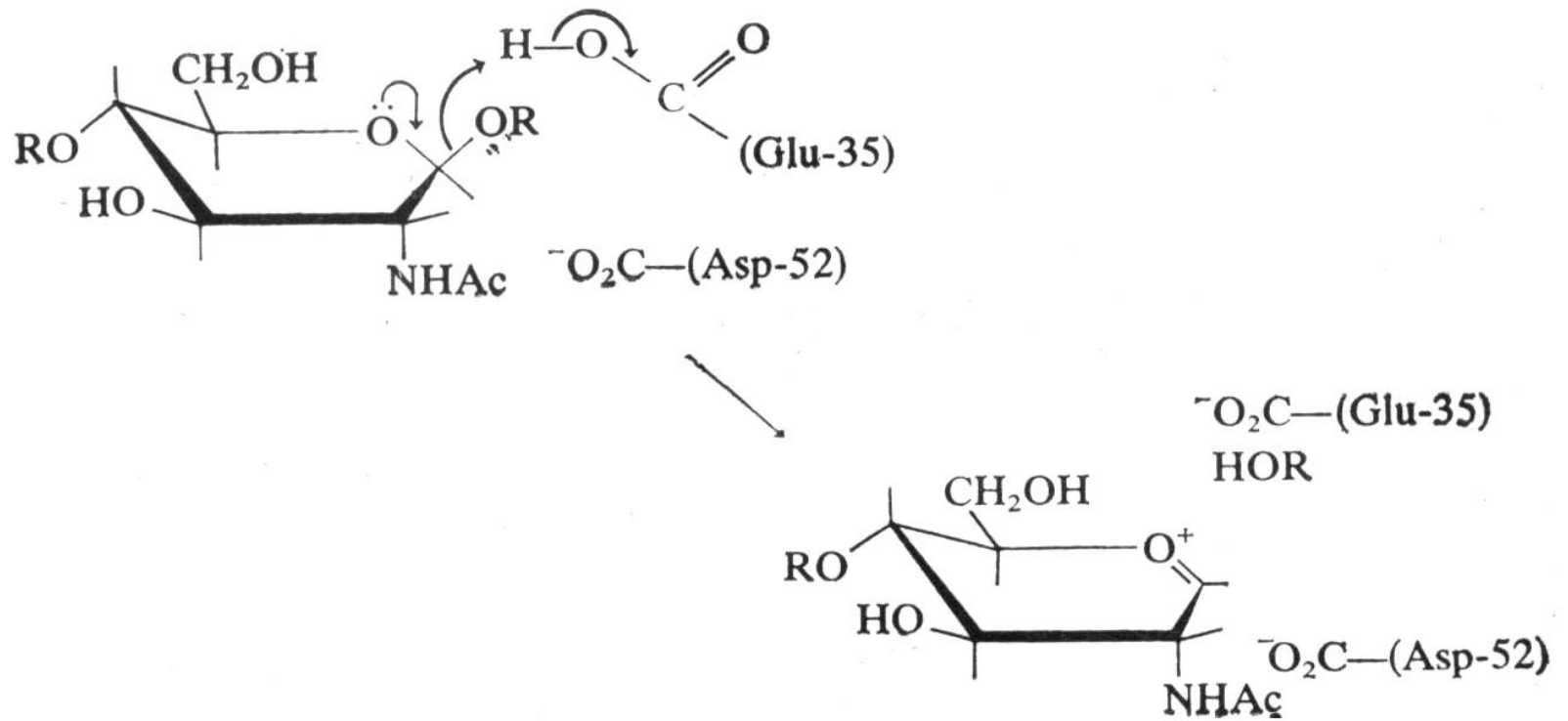
Общий основной катализ

Общий кислотный катализ

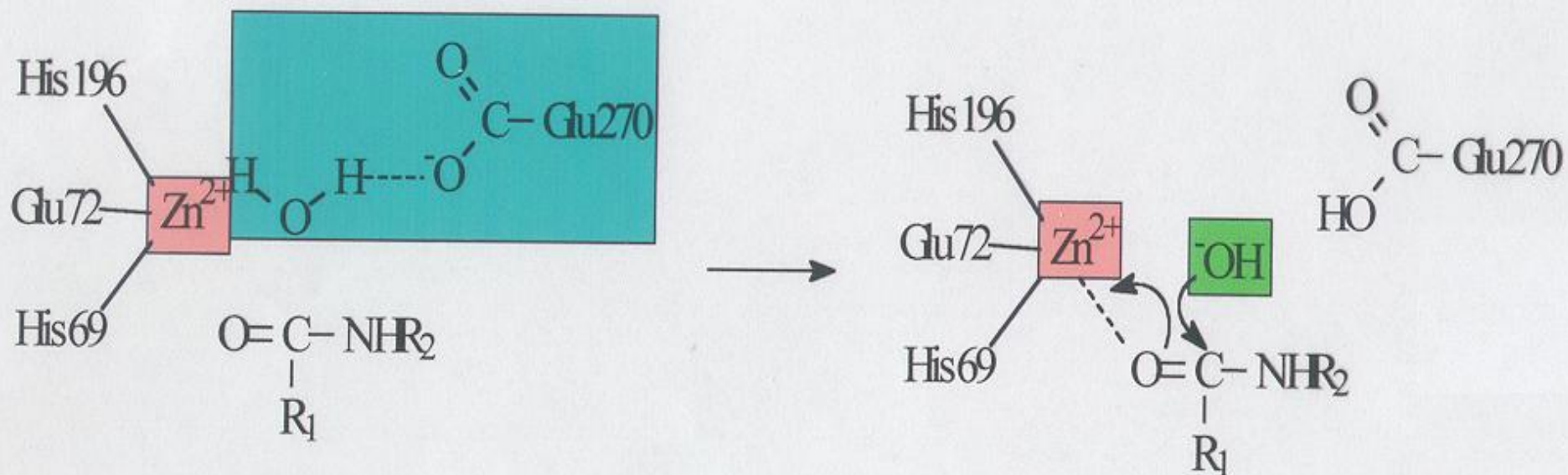
Продукты



ЛИЗОЦИМ

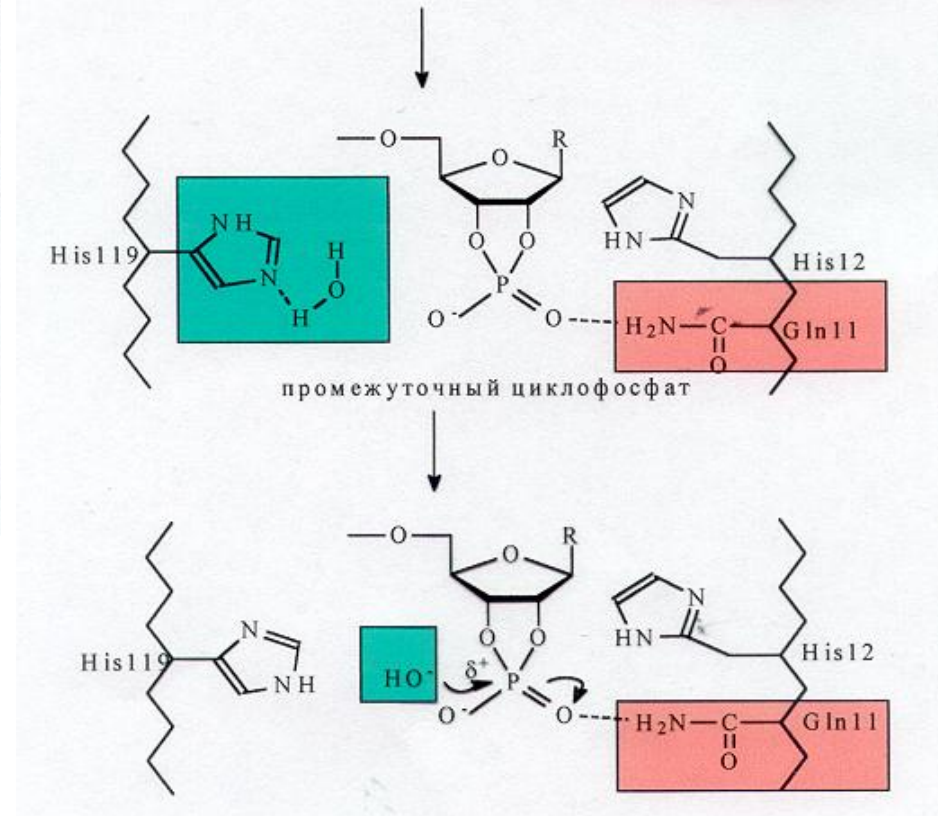
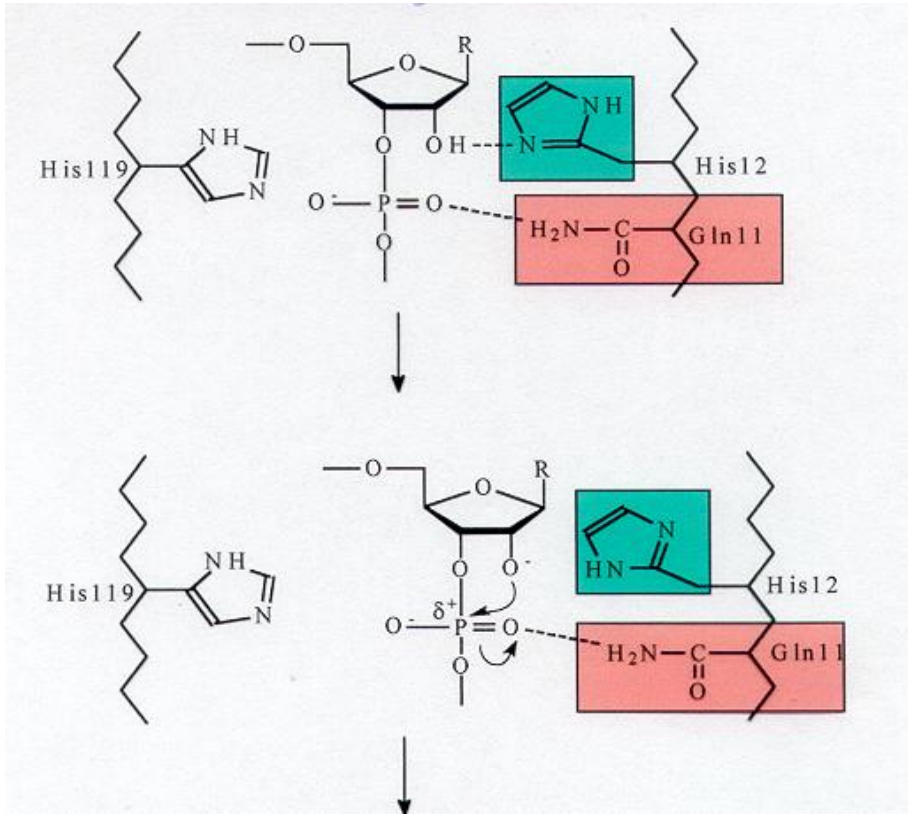


Карбоксипептидаза

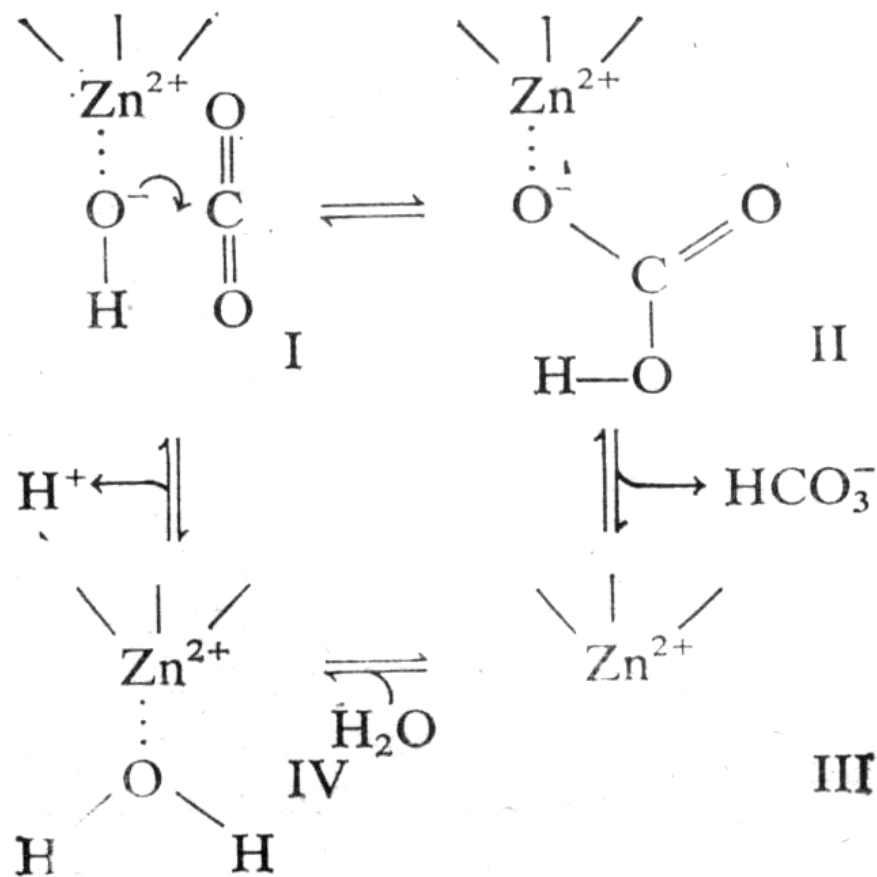


Экзо-пептидаза – отщепляет аминокислотные остатки с С-конца аминокислотной последовательности

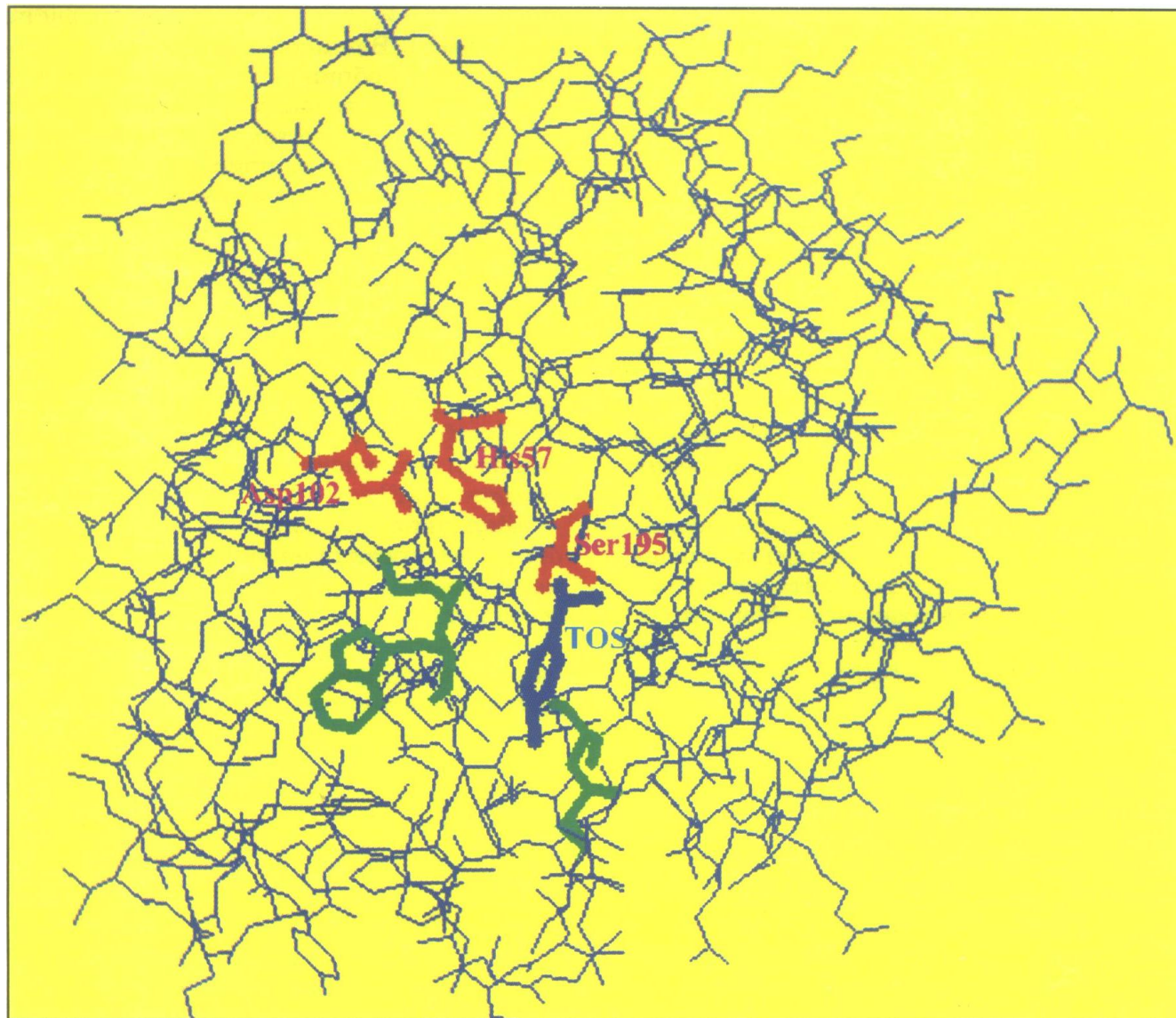
Рибонуклеаза



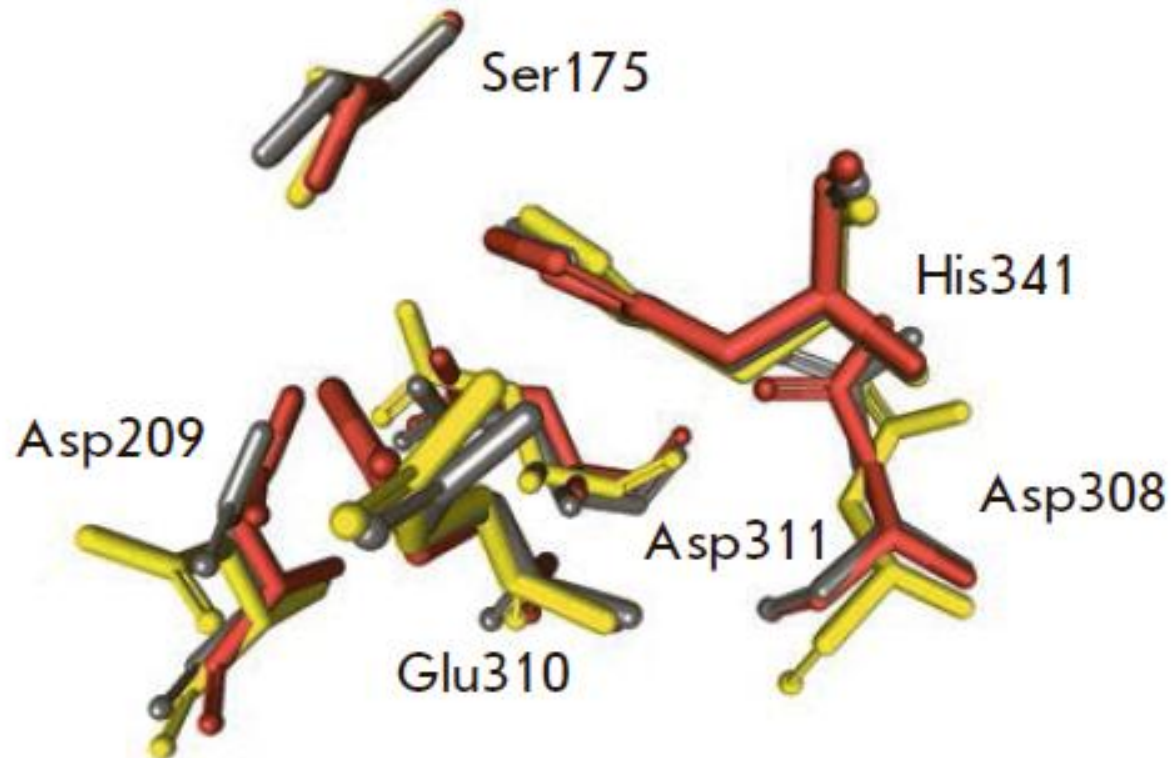
Механизм действия карбоангидразы



Молекула химотрипсина по данным рентгеноструктурного анализа



Гидролаза эфиров D-аминокислот



Ориентации остатков каталитической триады и карбоксилатных групп, участвующих во взаимодействии с α -аминогруппой субстрата

ПРИЧИНА ВЫСОКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

В случае ферментативного
катализа возможна

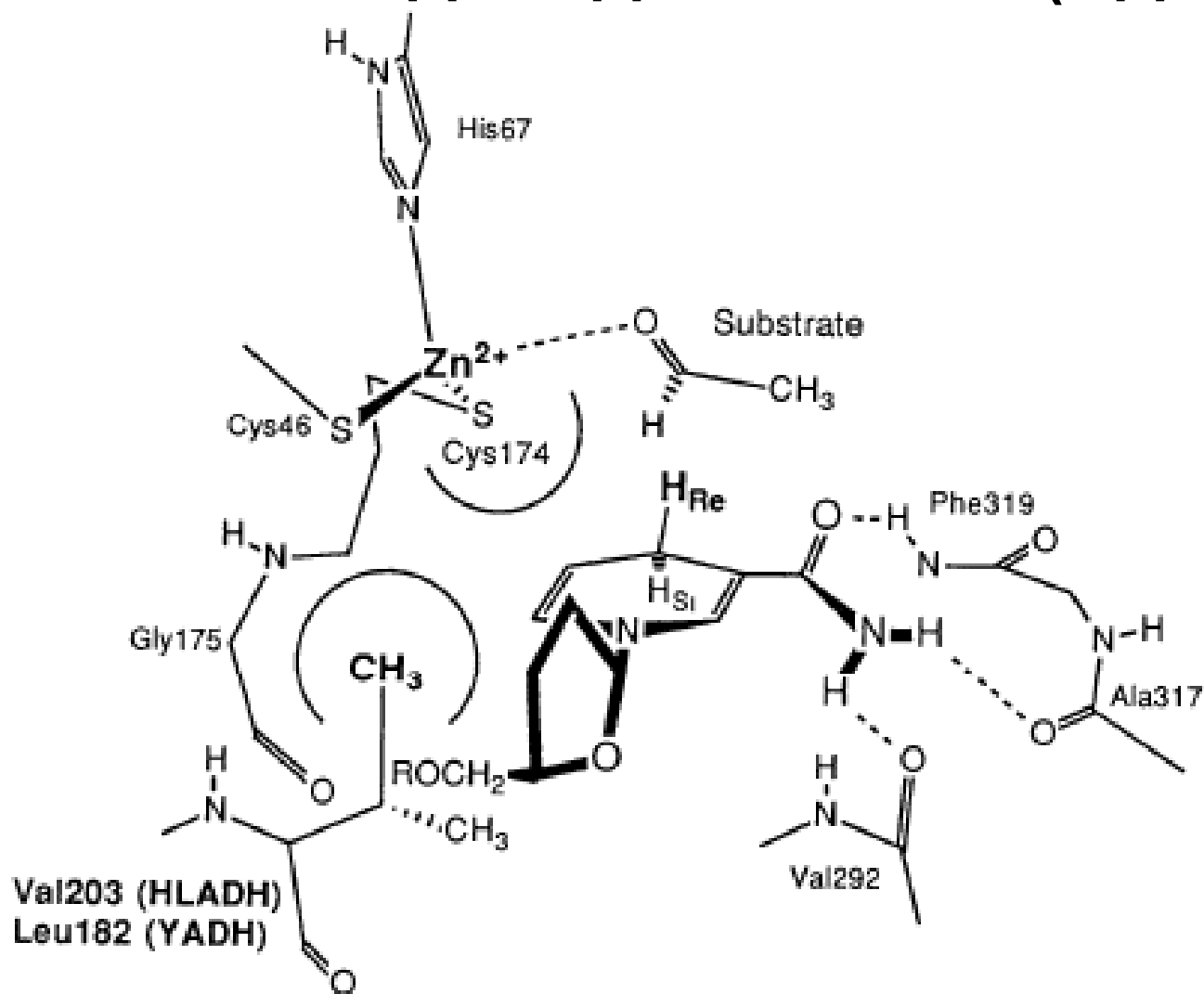
ОДНОВРЕМЕННАЯ

реализация

СРАЗУ НЕСКОЛЬКИХ типов и
механизмов катализа

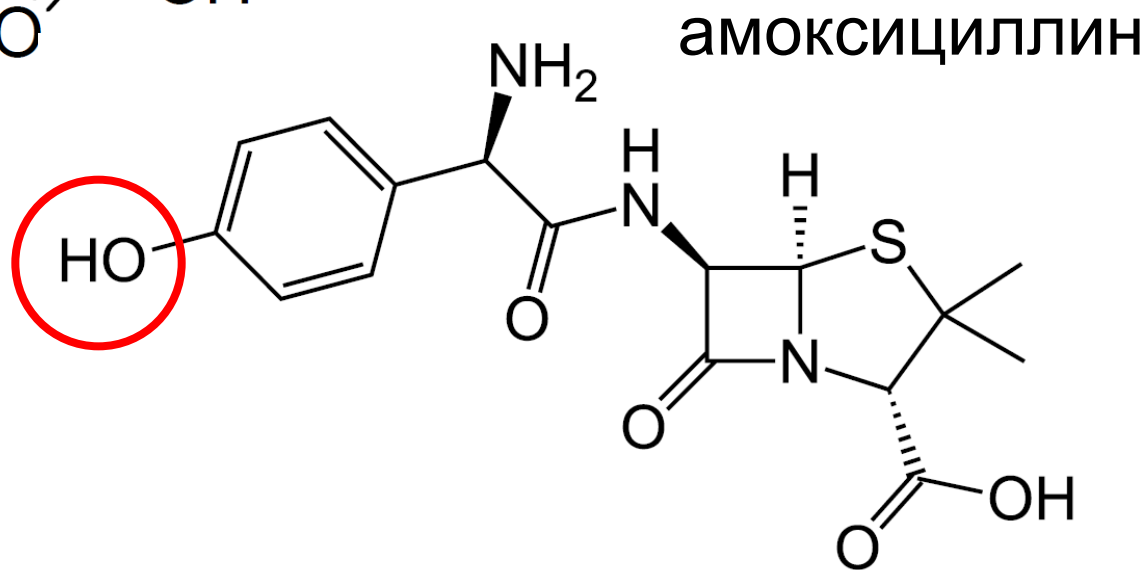
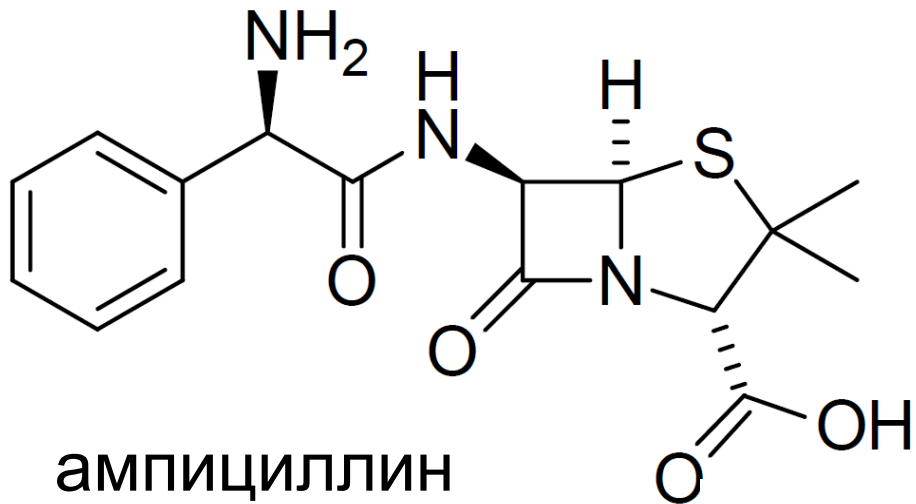
Одновременная реализация разных типов и механизмов катализа в активном центре фермента.

АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗА (АДГ)



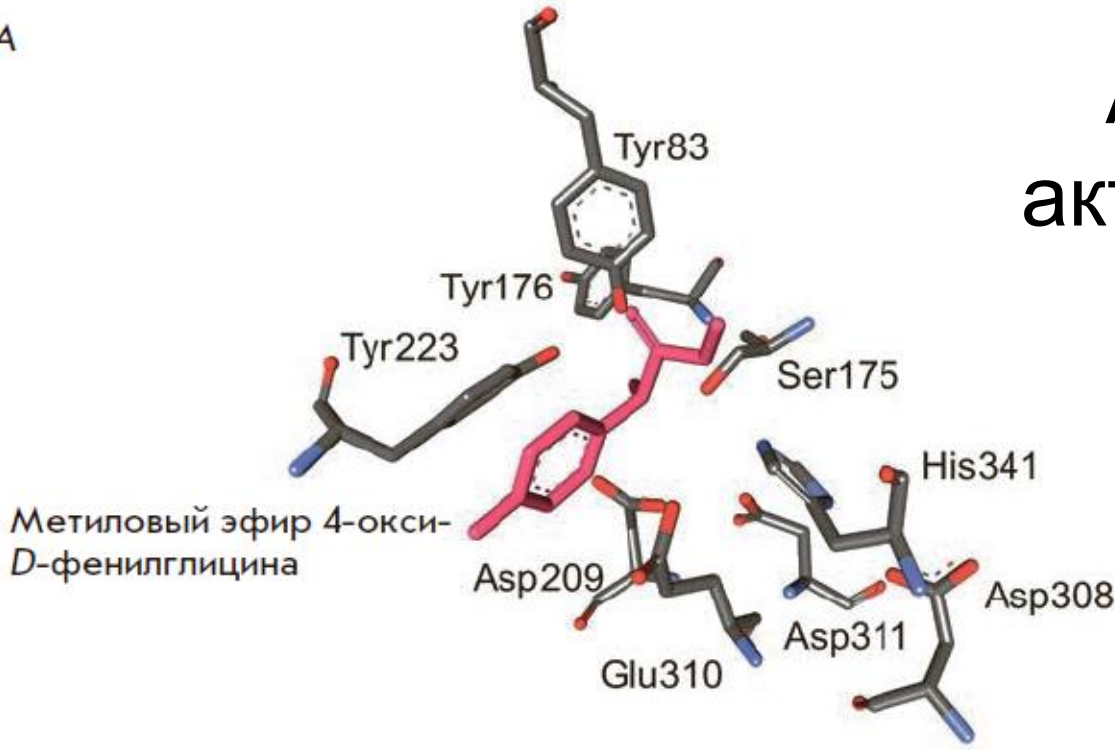
СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

Субстратная специфичность ферментов. Пенициллинацилаза *E.coli*

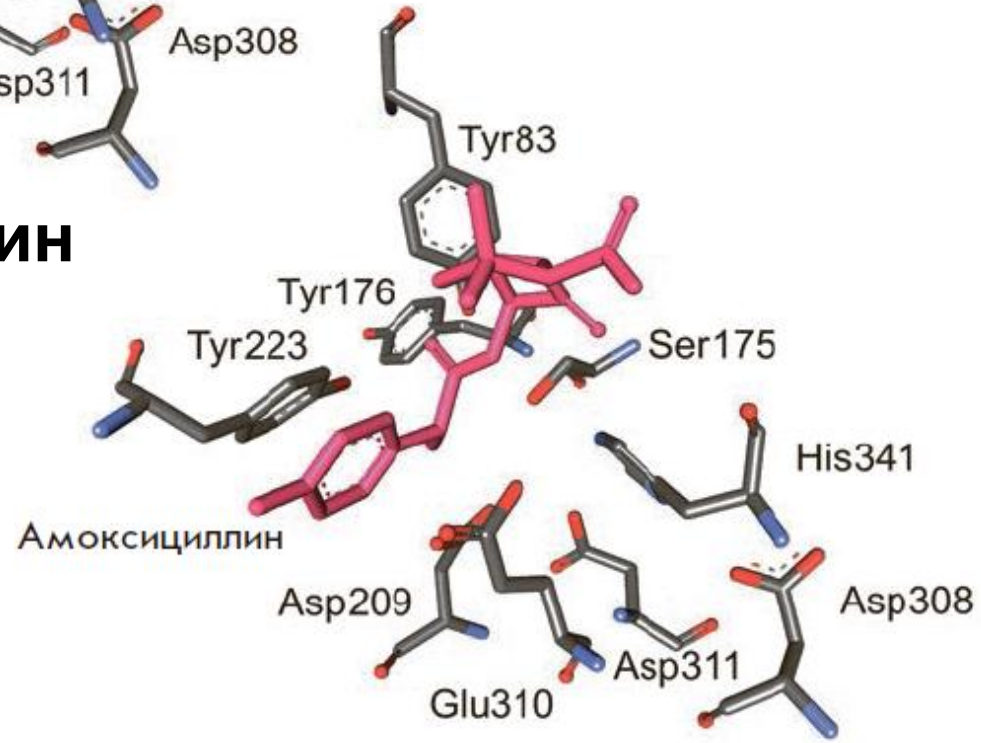


A

АЕН структура активного центра с субстратом и продуктом

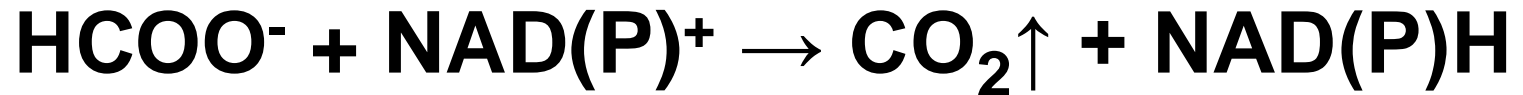


АЕН - *D*-оксифенилглицин



АЕН - Амоксициллин

Субстратная специфичность ферментов. Формиатдегидрогеназа (ФДГ)



- Фермент использует в качестве субстрата только формиат-ион. ФДГ бактерий могут окислять полутииоформиат HCOS^- , но не тииоформиат HCSS^- . ФДГ эукариот катализируют реакцию только с формиатом

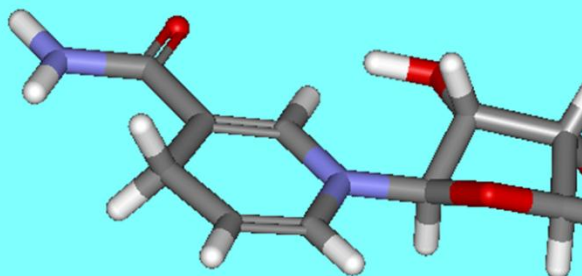
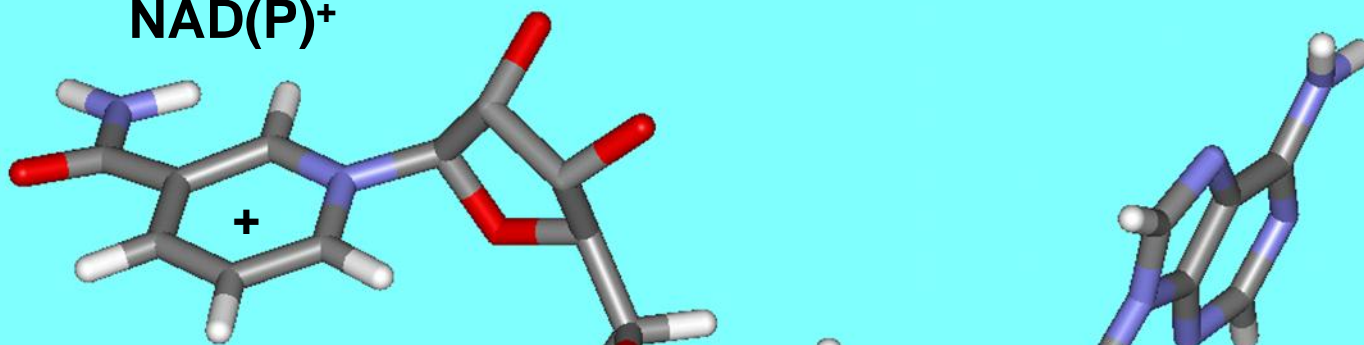
Субстратная специфичность ферментов. NAD^+ и NADP^+

Никотинамидадениндинуклеотид (фосфат)

NAD(P)^+ - окисленная форма

NAD(P)H – восстановленная форма

NAD(P)^+



NAD(P)H

2'-фосфатная группа

Коферментная специфичность формиатдегидрогеназ из бактерий и дрожжей

Source	wtFDH $\frac{k_{\text{cat}}^{\text{NADP}^+}}{K_m^{\text{NADP}^+}} / \frac{k_{\text{cat}}^{\text{NAD}^+}}{K_m^{\text{NAD}^+}}$	mutFDH $\frac{k_{\text{cat}}^{\text{NADP}^+}}{K_m^{\text{NADP}^+}} / \frac{k_{\text{cat}}^{\text{NAD}^+}}{K_m^{\text{NAD}^+}}$	Change of specificity, fold
<i>S.cerevisiae</i>*	$<3.3 \cdot 10^{-10}$	2.3	$7 \cdot 10^9$
<i>C.methylica</i>**	$4 \cdot 10^{-6}$	0.0024	600
<i>Pseudomonas</i>* sp.101	$4.2 \cdot 10^{-4}$	3.5	800

*Serov, A.E., Popova, A.S., Fedorchuk, V.V., and Tishkov, V.I. 2002, Biochem. J., 367, 841-847

**Gul-Karaguler, N., Sessions, R.B., Clarke, A.R., and Holbrook, J. 2001, Biotechnol. Lett., 23, 283.

СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ

Стереоселективность ферментов.

The Nobel Prize in Chemistry 2001

BACK ▶▶

The prize is being awarded to



William S.
Knowles



Ryoji
Noyori



K. Barry
Sharpless

Photos: PRB

This year's Nobel Prize in Chemistry is about molecules that exist in two forms that are mirror images of each other. Often it is important to produce only one of these forms because the molecules, despite being so similar, have quite different functions, in our cells, for example.

The Royal Swedish Academy of Sciences has decided to award the Nobel Prize in Chemistry for 2001 for the development of catalytic asymmetric synthesis, with one half jointly to William S. Knowles and Ryoji Noyori "for their work on chirally catalysed hydrogenation reactions" and the other half to K. Barry Sharpless "for his work on chirally catalysed oxidation reactions".

Right or Left?

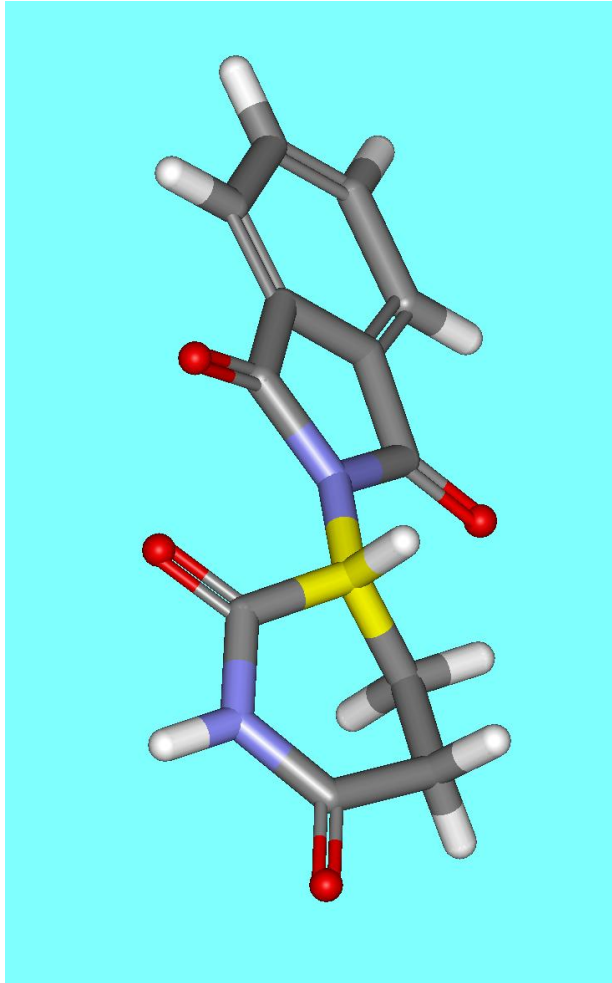
Contents:

| **Introduction** | Nature is chiral | What is catalytic asymmetric synthesis? | How does a chiral molecule function? | Chemistry becomes three-dimensional | Pioneering work | General hydrogenations | Chirally catalysed oxidations | Further reading | Credits |

Based on materials from the 2001 Nobel Poster for Chemistry

Web Adapted Version of the Nobel Poster from the Royal Swedish Academy of Sciences

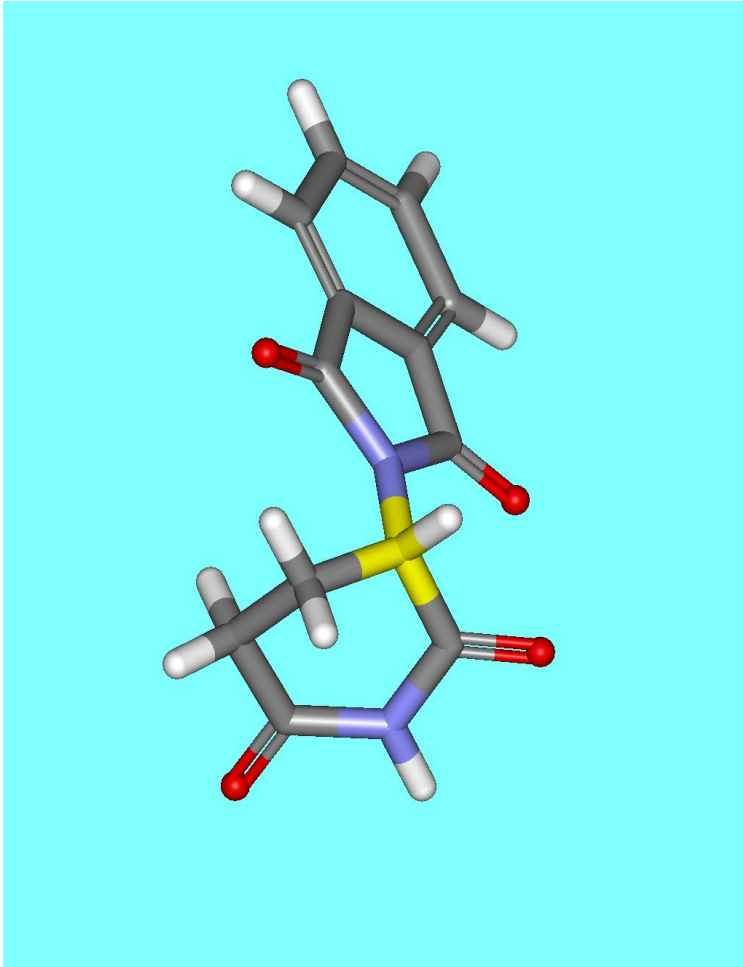
R-THALIDOMIDE



- The R-enantiomer has hypnotic effects, with sedative and sleep-inducing effects experienced by many women.



S-THALIDOMIDE



- The teratogenic effects of the S-enantiomer often lead to malformation of the fetus.

Stereoselective Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Anti-Asthma Agents

Majid Vakily, Reza Mehvar, and Dion Brocks

Ann Pharmacother 2002;36:693-701.

OBJECTIVE: To review the previously published studies on pharmacokinetics and pharmacodynamics of chiral drugs used in the treatment of asthma.

DATA SOURCES: Primary and review articles were identified with a MEDLINE search (1980–May 2001) and through secondary sources.

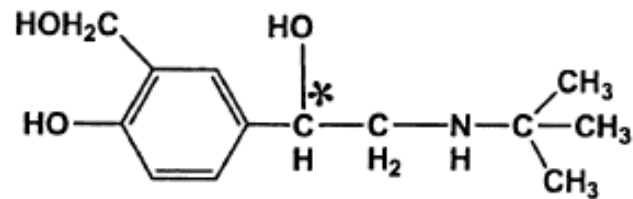
STUDY SELECTION AND DATA EXTRACTION: All English-language studies and reviews obtained from the MEDLINE search pertaining to stereoselective pharmacokinetics and pharmacodynamics of chiral anti-asthma drugs were assessed.

DATA SYNTHESIS: Several anti-asthma drugs (e.g., β_2 -adrenergic agonists, leukotriene modifiers) are chiral and marketed as racemates, which consist of equal proportions of 2 enantiomers. Significant stereoselectivity has also been reported in pharmacodynamics and pharmacokinetics of the β_2 -agonists. The enantiomers of β_2 -agonists in the *R* configuration are primarily responsible for the bronchodilating effects of the racemate. The plasma concentrations of the enantiomers of anti-asthma drugs may differ as a reflection of stereoselectivity in clearance, volume of distribution, and route of administration.

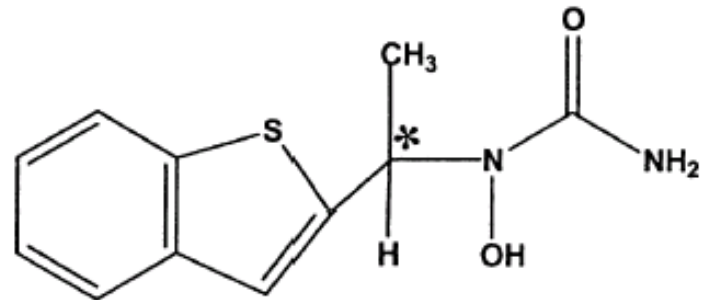
CONCLUSIONS: Stereoselectivity in the pharmacokinetics of anti-asthma drugs may complicate the relationship between dose and/or plasma concentration of racemic drug versus effect relationship. An appreciation of the stereoselective pharmacokinetics and pharmacodynamics of chiral anti-asthma drugs may optimize the use of these agents in asthmatic patients.

KEY WORDS: asthma drugs, chiral β_2 -agonists, enantiomer, stereoselective pharmacodynamics, stereoselective pharmacokinetics.

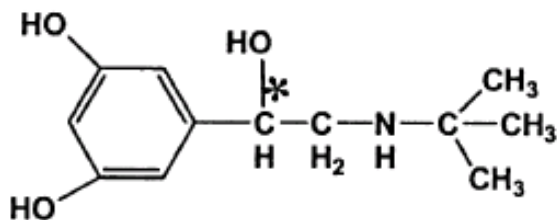




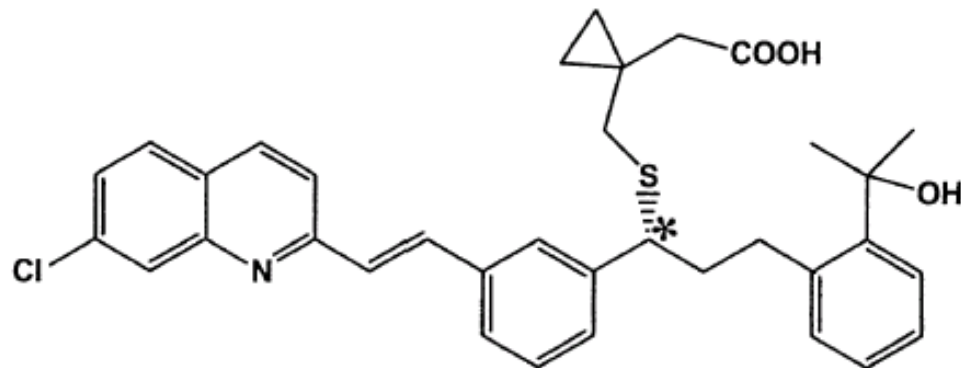
albuterol



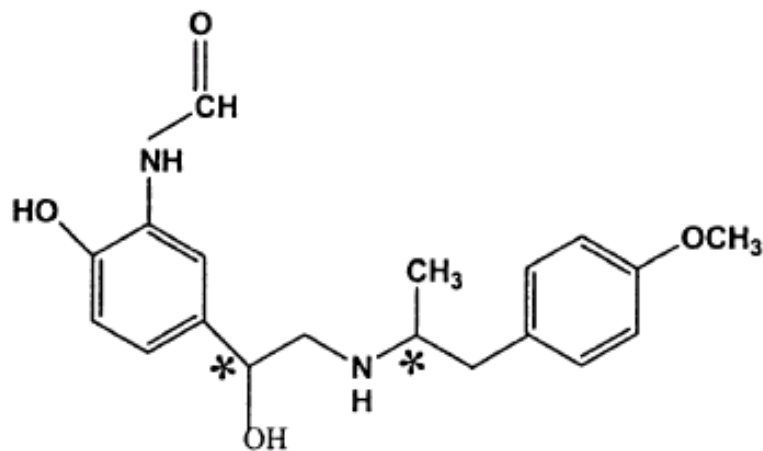
zileuton



terbutaline

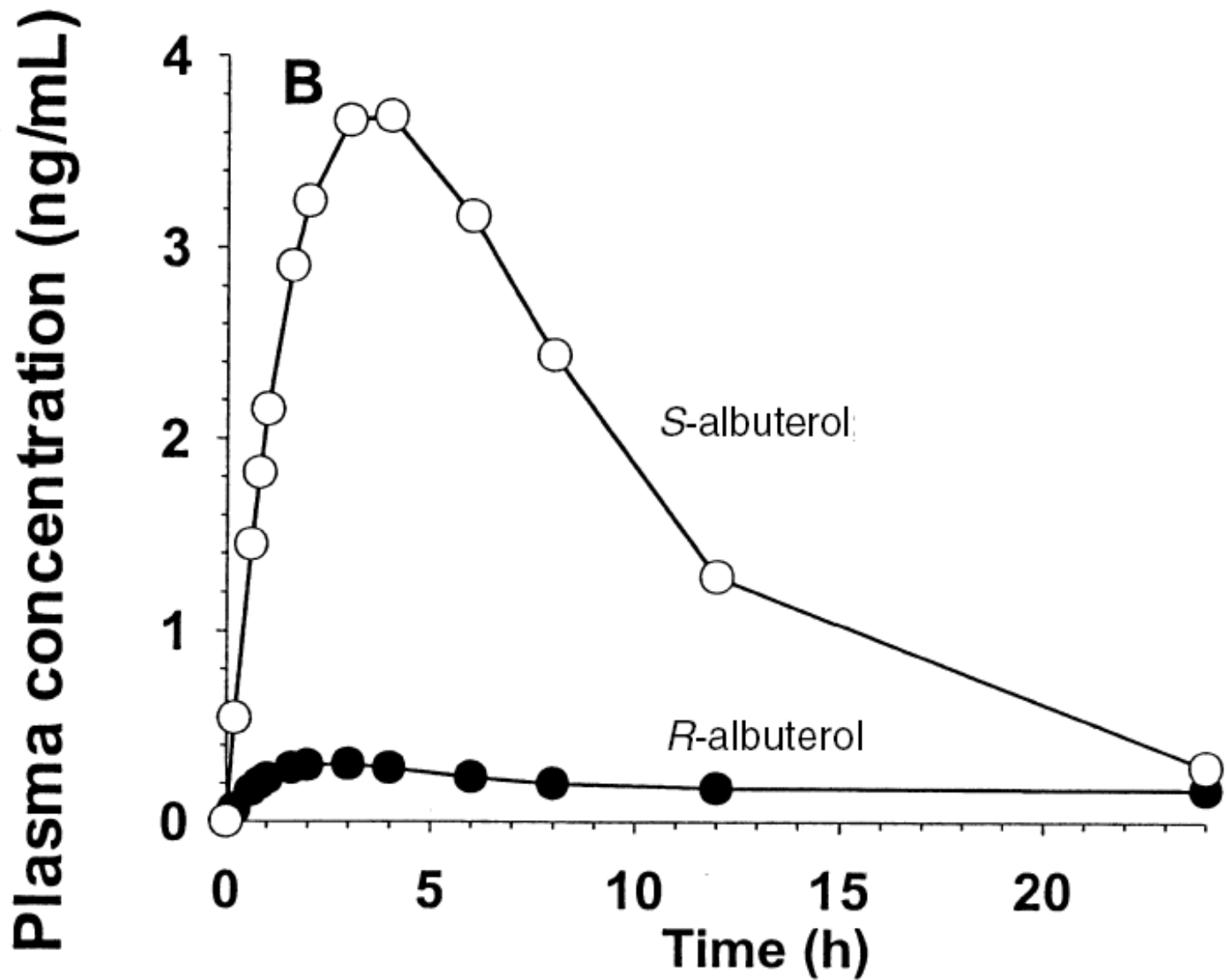


montelukast



formoterol



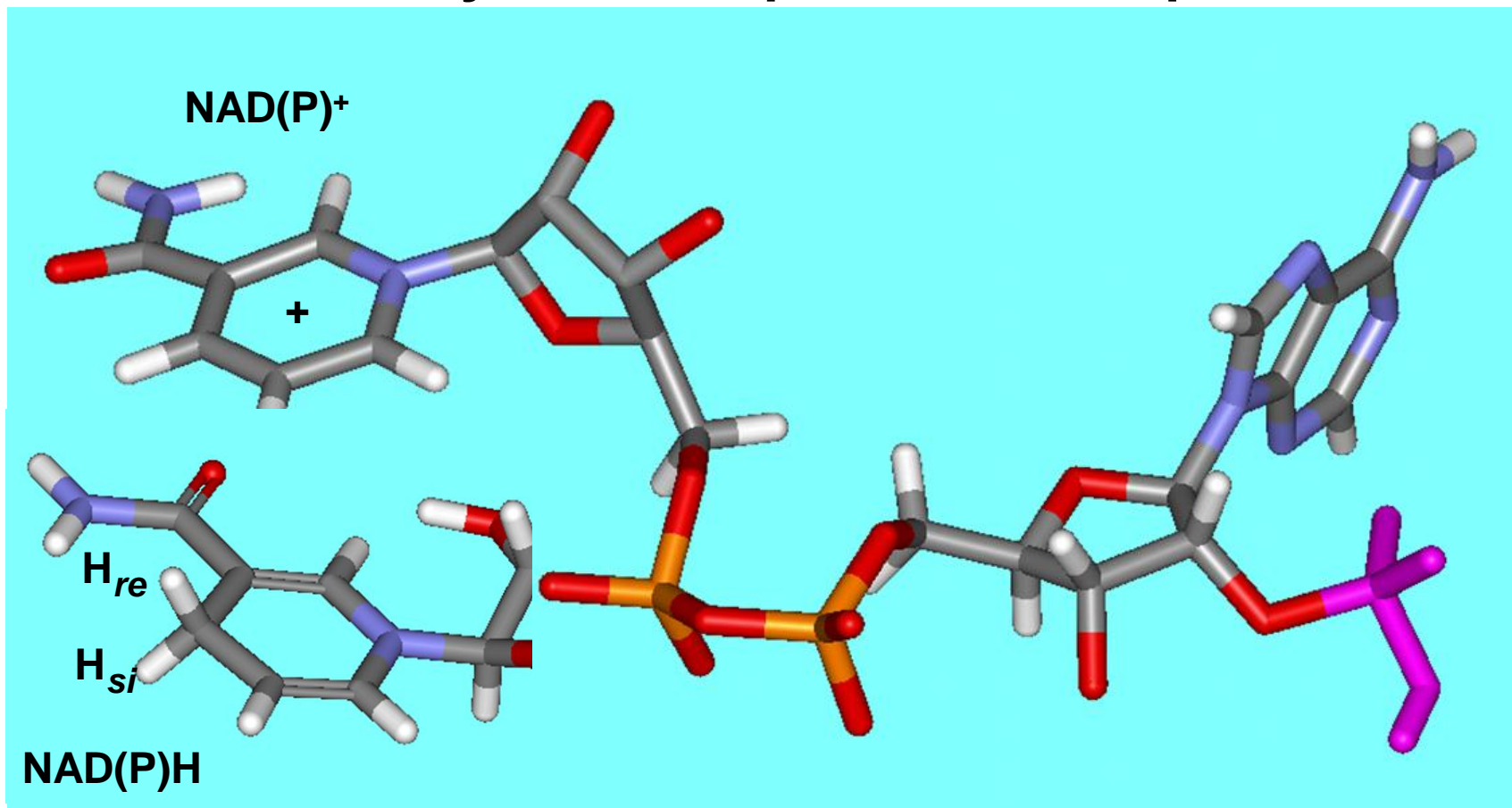


Plasma concentration–time profiles of albuterol enantiomers after oral dose

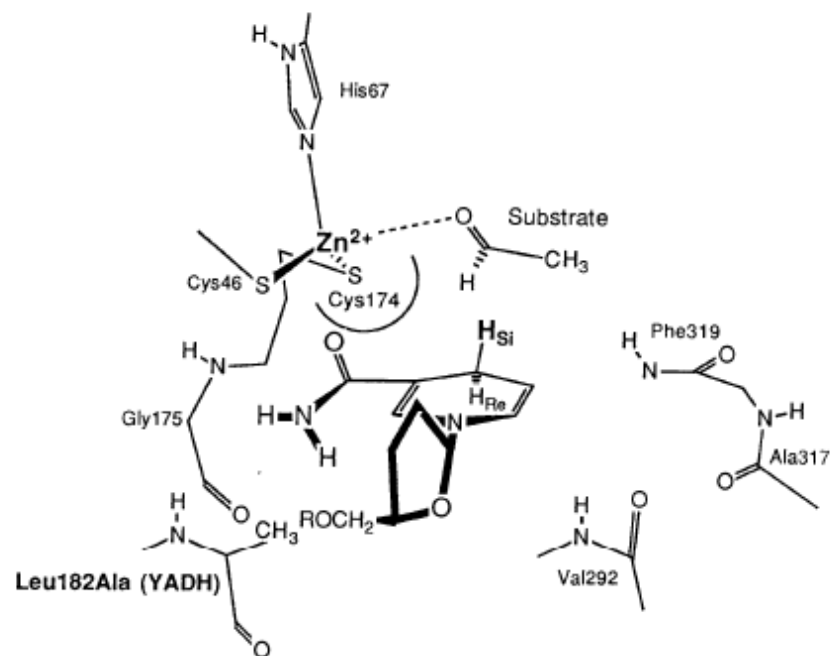
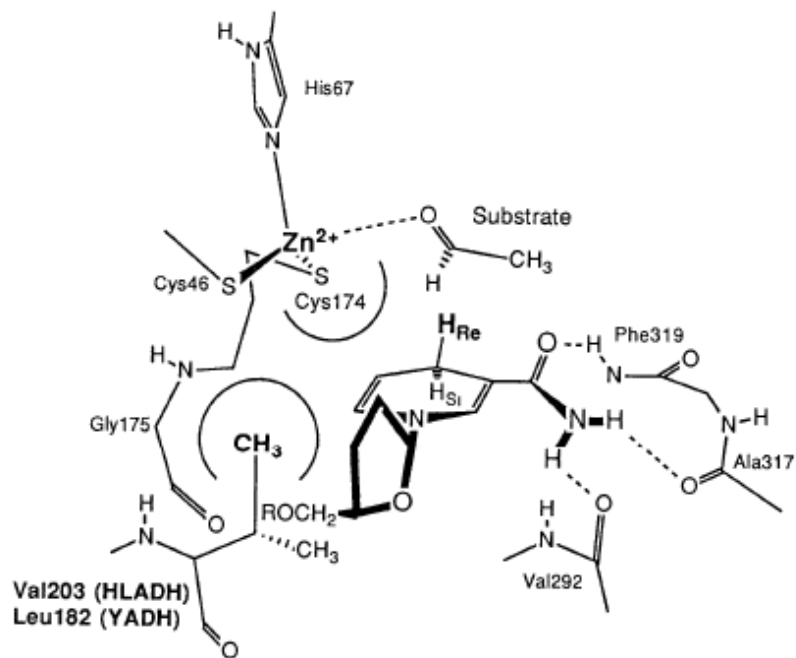


СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ. NADH и NADPH

При замене у C4-атома никотинамидного кольца одного из атомов водорода H на дейтерий D получается хиральный центр



СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНОСТЬ. АЛКОГОЛЬДЕГИДРОГЕНАЗА (АДГ)

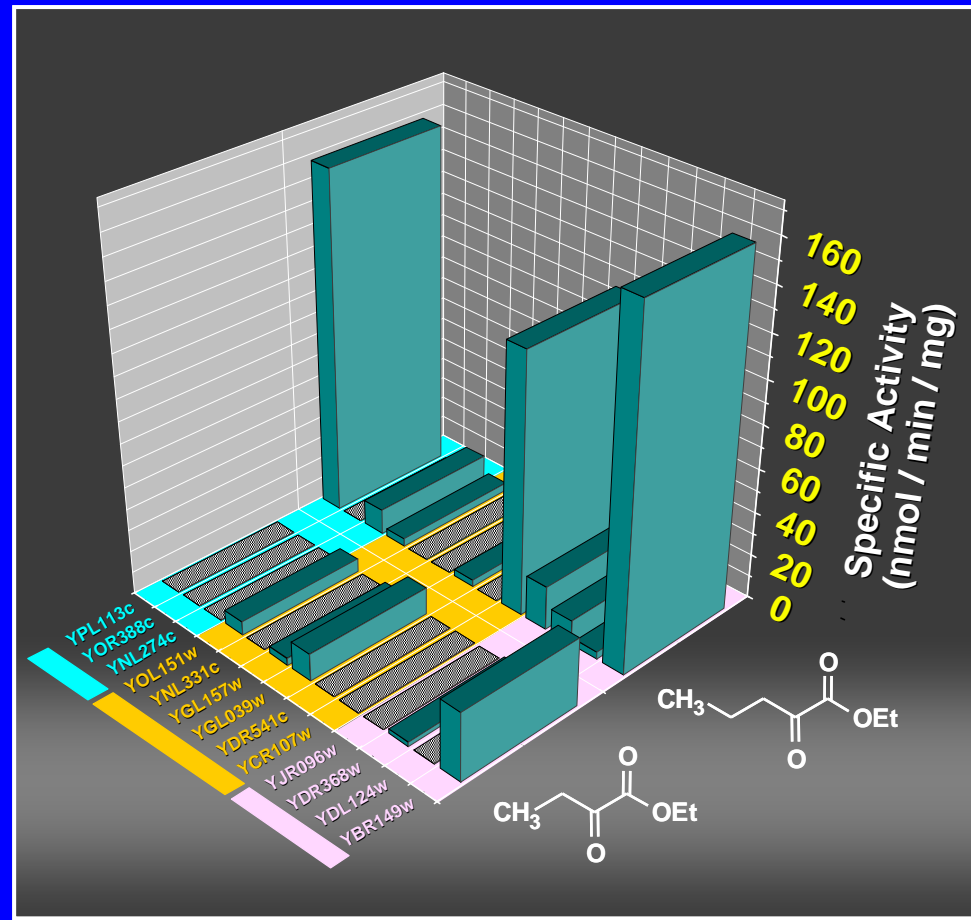
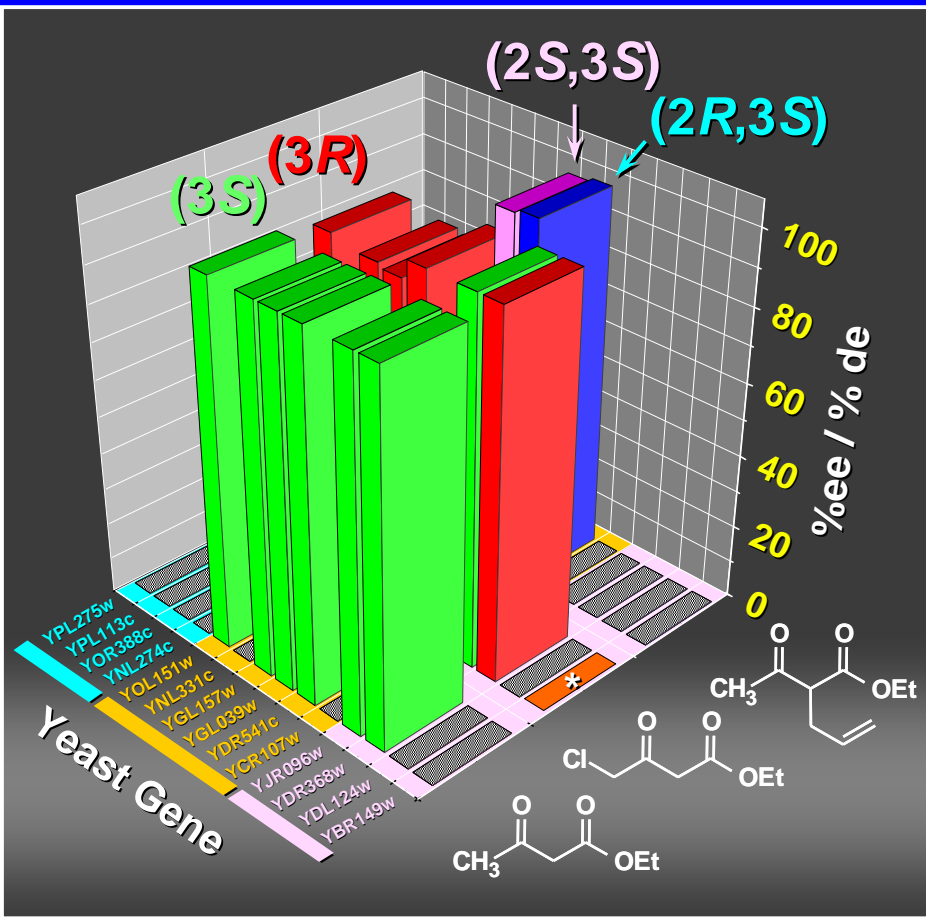


Природная АДГ дрожжей делает 1 стереохимическую “ошибку” на 7,000,000,000 каталитических циклов при использовании 4-H_{Si} водорода NADH вместо of 4-H_{Re}
!!!! (PNAS, 1991, 88, 8420)

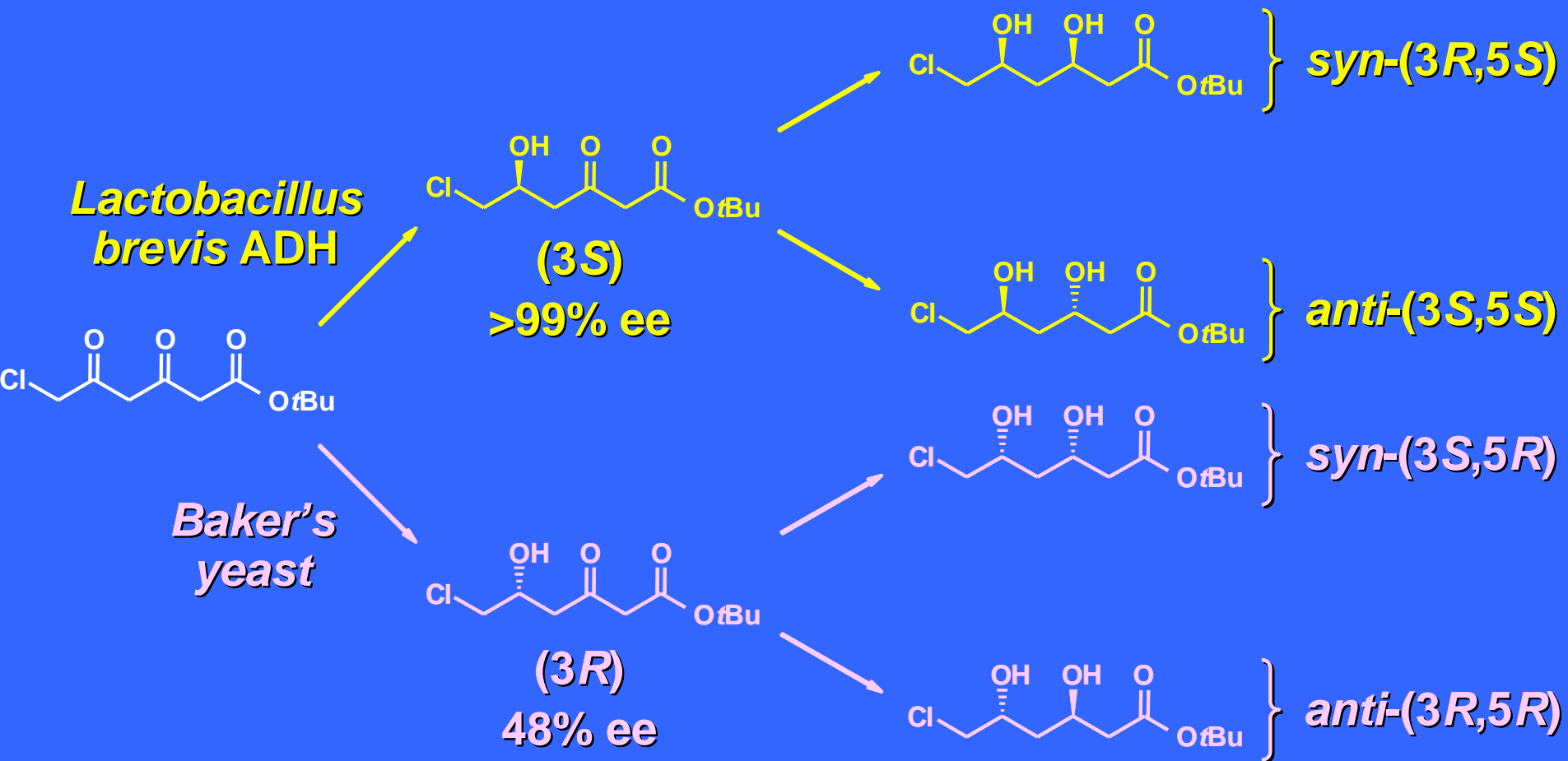


СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНОСТЬ
+
РЕГИОСЕЛЕКТИВНОСТЬ

Standard Assays of Putative Yeast Reductases



Enzymatic Route to Mono- and Dihydroxy Chiral Building Blocks



Wolberg, M.; Hummel, W.; Müller, M. *Chem. Eur J.* 2001, 7, 4562-4571.

Э. Фёршт

СТРУКТУРА И МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Перевод с английского
канд. хим. наук Ю. Б. Гребенщикова

под редакцией
д-ра хим. наук Б. И. Курганова

Best wishes
Anselm

ИЗДАТЕЛЬСТВО «МИР»
Москва 1980

СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНОСТЬ ферментов. NADH и NADPH

При замене у C4-атома никотинамидного кольца одного из атомов водорода H на дейтерий D получается хиральный центр

