

Lep pozdrav,

Jure Stojan

Četrtek, 10. Oktober 2013, 15h-17h30

2. predavanje

termodinamske in kinetične osnove katalize
encimska kataliza
časovni potek encimske reakcije
začetna hitrost

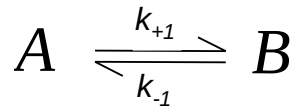
BIOENERGETIKA

Termodinamika

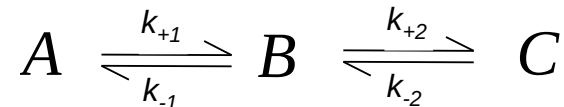
Kinetika

Energija daje sistemu sposobnost za opravljanje dela.

Uporablja se za vzdrževanje neravnotežnih stanj,
npr. za tvorbo novih substanc, transport snovi, premikanje, toploto



A in B sta čez čas v ravnotežju,
koncentraciji se ne spreminjata.



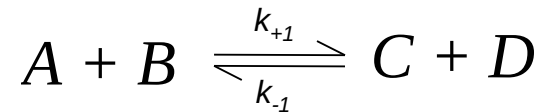
Koncentracija B se daljše časovno obdobje ne spreminja,
B je v stacionarnem stanju.

Termodinamika je veda, ki se ukvarja z energetskimi spremembami sistemov in njihove okolice.

Sistem je tisti del narave, ki ga proučujemo, okolica pa je vse, kar ni sistem.

Sistem je lahko živo bitje, celica, organel, ali v biokemiji: (bio)kemična reakcija

(Bio)kemična reakcija:



Reaktanti in produkti so sistem, čaša in topilo sta okolica.

Glede na izmenjavo snovi in energije z okolico so termodinamski sistemi:

izolirani – ne izmenjujejo ničesar, **termos posoda**

zaprti – izmenjujejo le snov, **izotermne (bio)reakcije**

odprti – izmenjujejo snov in energijo, **biološki sistemi**

Sistem opišemo z naslednjimi spremenljivkami:

temperatura – absolutna (K)

pritisk (pascal)

volumen (dm³)

množina snovi (mol)

Pri konstantni vrednosti spremenljivk je sistem v DOLOČENEM STANJU.

Različne količine so odvisne od tega stanja, so FUNKCIJE STANJA.
So NEODVISNE OD POTI po kateri so prišle v to stanje.

Termodinamika opisuje vsebnost in porazdelitev energije nekega sistema, če le-ta pride iz ENEGA STANJA v DRUGO.

Spremembe so sicer posledica dogajanj v svetu atomov in molekul, a zaradi statistične obravnave, veljajo ugotovitve za sistem kot celoto.

Npr.: energija sistema plina velja za vse molekule, četudi imajo nekatere večjo, nekatere manjšo energijo. Sistem mora zato biti zadosti velik, sicer statistika odpove ($1\text{mol}=6\times 10^{23}$ molekul).

Enote za energijo: določena količina snovi ima določeno energijo:
J/mol oz. $4200\text{J/mol} = 1\text{Kcal/mol}$

Vsak termodinamski sistem ima določeno **NOTRANJO ENERGIJO**, t.j. energijo, ki jo ta sistem lahko **koristno uporabi**.

- vsebuje energijo kinetičnih stanj atomov in molekul: translacija, rotacija in vibracija
- energijo vezi med atomi

izjema: energija enoatomarnih žlahtnih plinov je le energija translacij ($2/3RT$)

Prvi zakon termodinamike – zakon o entalpiji

Energija **izoliranega sistema** je konstantna ali energije ni mogoče ustvariti oz. izničiti.

To velja tudi za **zaprt sistem**, če vanj vključimo okolico.

Ko pride do spremembe notranje energije sistema se to zgodi tako,

- da sistem odda ($-Q$) ali sprejme ($+Q$) toploto ali
 - da opravlja delo na okolici ($-W$) oz. okolica na njem ($+W$).
- (delo je lahko volumsko, električno, ozmorno, svetlobno ...)

Pri stalnem volumnu:

$\Delta E_{\text{notranja}} = Q_V$; sprememba notranje energije pri $V=\text{konst.}$ gre na račun izmenjane toplote (Q) med sistemom in okolico.

Pri stalni temperaturi, kot to poteka v bioloških, torej zaprtih sistemih:

$$\Delta E_{\text{notranja}} = Q_P - W_{\text{obligatno}}$$

Z besedami: sprememba notranje energije pri $t=\text{konst.}$ gre na račun izmenjane toplote (Q) med sistemom in okolico in volumskega dela ($-W = -p\Delta V$), ki ga sistem VEDNO opravi na okolici.

Torej: $\Delta E_{\text{notranja}} = Q_P - p\Delta V$

ali preurejeno $Q_P = \Delta E_{\text{notranja}} + p\Delta V = \Delta H$ (sprememba **ENTALPIJE**)

ΔH je količina toplote, ki jo sprejme ali odda zaprt izotermni in izobarčni sistem in pri tem doživi spremembo stanja. Pri tem opravi le volumsko delo.

V kalorimetru lahko izmerimo spremembo entalpije za reakcije pri prehodu iz začetnega (izbranega) v končno (ravnotežno) stanje, če delamo pri konstantnem pritisku.

Velikost in predznak ΔH sta pri reakcijah povezana s tvorbo .oz. razpadom vezi

- sproščanje toplote iz sistema je **eksotermna** reakcija; $\Delta H < 0$ – tvorba vezi
- absorbcija toplote iz okolice je **endotermna** reakcija; $\Delta H > 0$ – razpad vezi

ΔH kaže energijske spremembe, zato jo v praksi uporabljamo kot kalorično vrednost, npr. hrane. Če v kalorimetru, pri stalni temperaturi in pritisku SEŽGEMO sladkor. Sprosti se toplota, ki jo imenujemo **sežigna toplota**. Dobimo vrednost, ki je v kJ/mol ali kJ/g.

100g sladkorja da cca. 1680 kJ = 400 kcal

Toda celotna količina energije se v celičnem metabolizmu ne more izkorisiti ...

Za ΔH velja **Hessov zakon**:

Sproščena toplota je odvisna je le od začetnega in končnega stanja sistema in nič od poti po kateri pride iz enega v drugega.

Vendar pa merjenje entalpije ne pove vsega o reakciji, dokler ne vemo koliko dela se je opravilo pri prehodu toplote.

Drugi zakon termodinamike – zakon o entropiji

Za mnoge procese vemo kako bodo potekali:

- nihalo se bo ustavilo
- kamen bo padel na tla
- toplota bo prešla iz toplejšega na hladnejše telo

To se bo vedno zgodilo samo od sebe – **spontano**; to so primeri ireverzibilnega prehoda energije

Še posebej zanimiva je toplota, saj je zelo važno, kako jo sistem oddaja ali sprejema. Če je to infinitezimalno počasi, si lahko predstavljamo, da se pri tem temperatura in pritisk ne spreminjata; izoliran sistem. Sistemu se bo tako povečala ali zmanjšala notranja energija.

Ker pa bo zaprt sistem sam od sebe toploto vedno oddajal okolici je to lahko kriterij, s katerim ovrednotimo verjetnost s katero bo proces tekel v določeno smer.

Verjetnost, ki kaže smer prehoda toplote pri stalni temperaturi in pritisku v termodinamiki imenujemo **ENTROPIJA**. Povezujemo jo z **neurejenostjo**.

Primer: led in voda pri 273.15K; zaradi večje svobode gibanja molekul v vodi je voda bolj neurejena in zato verjetnejša.

Sprememba entropije (ΔS) je toprej povezana z absorbcijo toplote med nekim procesom v sistemu pri določeni temperaturi.

Prehod toplote v izoliranem sistemu poteka reverzibilno do ravnotežja.

$$dS = \frac{dQ}{T}$$

Realni sistemi niso izolirani, zato obstaja pri vsaki spontani reakciji del, ki je ireverzibilen. Ta povzroča naraščanje nereda in s tem naraščanje entropije.

Če želimo ireverzibilnost reakcije v sistemu obrniti (jo narediti reverzibilno), moramo dovajati energijo iz okolice. S tem dosežemo, da ni spremembe entropije v sistemu ($\Delta S=0$), a zaradi ireverzibilnega prehoda energije iz okolice, se okolici nered, torej entropija povečuje. To pomeni, da se sistemu in okolici entropija vedno povečuje. Če sedaj sistem povečamo, tako da vključimo celoteno vesolje, vidimo, da se nered (entropija) neprestano povečuje.

Lokalno se lahko zmanjša – nastajanje zvezd ...

Za realne sisteme torej velja drugačna formulacija 2. zakona termodinamike.

$$dS > \frac{dQ_P}{T}$$

Ali:

$$\Delta S_{\text{sistema}} + \Delta S_{\text{okolice}} > 0$$

spontana reakcija = eksergonska = $\Delta G < 0$

$$\Delta S_{\text{sistema}} - \frac{\Delta H_{\text{sistema}}}{T} > 0$$

spontana reakcija v nasprotni smeri

= endergonska = $\Delta G > 0$

$$\Delta H - T\Delta S < 0 = \Delta G$$

Gibbsova prosta entalpija je kriterij za spontanost poteka procesa.

reakcija ne poteka – $\Delta G = 0$ – reakcija je v ravnotežju

Spontani procesi:

Izpolnjeno mora biti $\Delta H - T\Delta S < 0 = \Delta G$

To se lahko doseže na dva načina, ki vodita v zmanjšanje potencialne energije sistema

- $\Delta S_{\text{sistema}}$ zelo pozitivna; v procesu postaja sistem vse bolj neurejen
- $\Delta H_{\text{sistema}}$ zelo negativna; toplota uhaja iz sistema v okolico.

Živi sistemi so zelo stabilni pa tudi zelo urejeni.

- zgrajene makromolekule
- gradnja in vzdrževanje kompleksne, visoko organizirane strukture

Ali je to v nasprotju s termodinamskimi zakoni? Seveda NE!!!

Živi sistemi so odprti sistemi. Če jih definiramo kot zaprte sisteme z okolico, vidimo,

- da se potencialna energija (sončeva in kemična) absorbira, toplota pa uhaja v okolico in
- da pri tem entropija sistema pada na račun naraščanja v okolici

Kadar želimo reakcije med seboj energijsko primerjati, si izberemo dve stanji:

Začetno je **STANDARDNO STANJE**:

- $T = 298 \text{ K}$
- $p = 1 \text{ atm}$
- koncentracije reaktantov in produktov imajo aktivnost 1 mol/l (1M)

Končno stanje je **RAVNOTEŽJE**.

Pod temi pogoji izmerijene termodinamske količine so standardne: ΔG^0 , ΔH^0 in ΔS^0

Kako jih določimo?

- ΔH^0 s kalorimetrijo, ali iz Arrhenius – ove zveze:
$$\frac{d \ln K_{rav}}{dT} = \frac{\Delta H^0}{RT^2}$$
- ΔG^0 iz zveze $\Delta G^0 = -RT \ln K_{rav}$
- ΔS^0 iz zveze $\Delta G^0 = \Delta H^0 - T\Delta S^0$

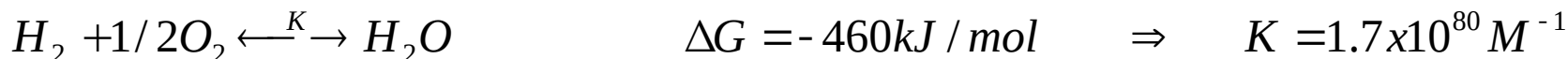
KINETIKA

Termodinamika se ukvarja z ravnotežjem in energijo, ki se izmenjuje ko sistem od začetnega stanja pride v ravnotežno.

Ničesar pa ne pove o tem

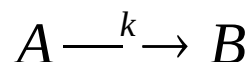
- kako hitro se to zgodi in
- ali bo reakcija potekla v eni ali več stopnjah

Npr.:



Vendar pa je hitrost te reakcije praktično NIČ.

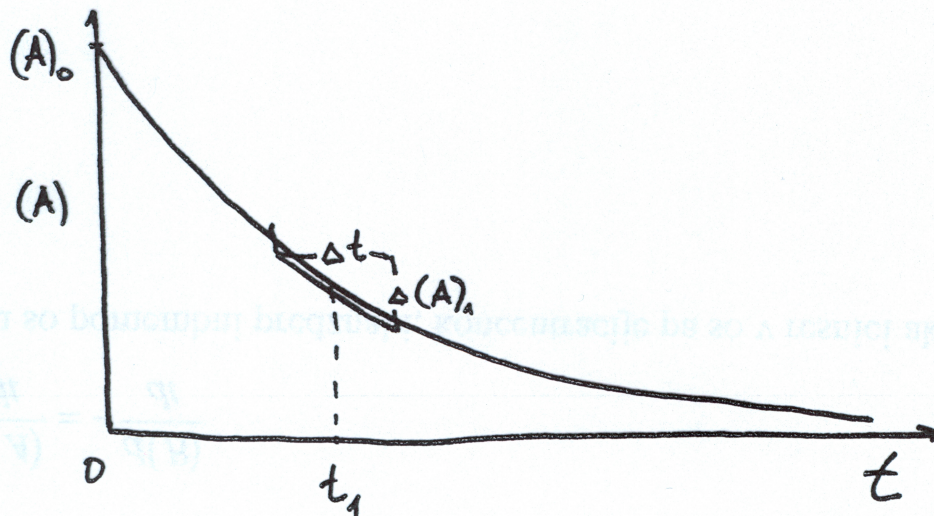
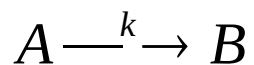
Definicija hitrosti:



Hitrost je sprememba koncentracije reaktanta oz. produkta po času. To zapišemo:

$$v = - \frac{d(A)}{dt} = \frac{d(B)}{dt}$$

Pri zapisu so pomembni predznaki, koncentracije pa so aktivnosti.

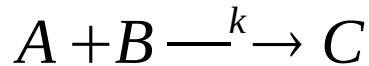


V točki t_1 je hitrost $v = - \Delta(A)/\Delta t$. Oblika krivulje in s tem ODVOD, ki je hitrost, je odvisna od konkretne reakcije.

Potek spreminjanja koncentracije produkta (B) je obraten, odvod pa je številčno enak, a z nasprotnim predznakom.

Red reakcije

Predpostavimo reakcijo:



A in B se morata srečati oz. trčiti. Če je $T = \text{konst}$, je hitrost reakcije odvisna le od koncentracij reaktantov A in B, ker le-te določajo število srečanj oz. TRKOV.

$$v = -\frac{d(A)}{dt} = -\frac{d(B)}{dt} = \frac{d(C)}{dt} = k(A)^m(B)^n$$

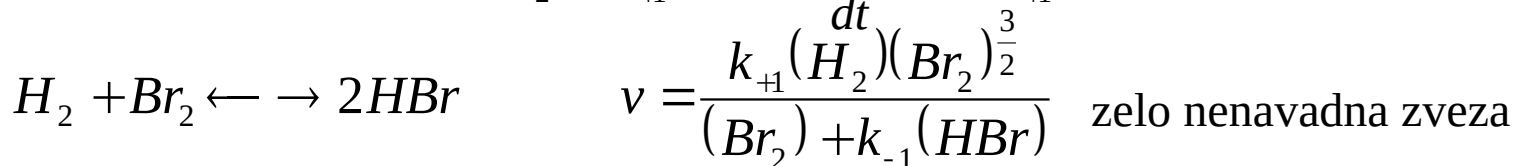
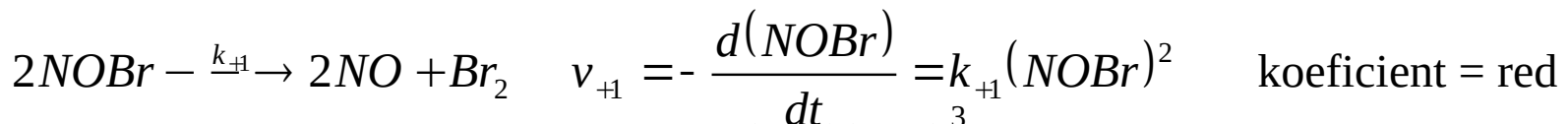
k je konstanta reakcijske hitrosti, **m** in **n** pa sta eksponenta, ki povesta **KAKO** koncentraciji vplivata na hitrost reakcije.

Vsoto eksponentov koncentracij reaktantov v reakciji imenujemo red reakcije.

Pri tem je **vsota celotni red**, **m** in **n** pa sta **delna reda**, glede na vsak posamezni reaktant.

Red reakcije je lahko celo število, ulomek, pa tudi NIČ. Redko je večji od 2.

Za preproste (elementarne) reakcije je 0, 1 ali 2 in je celo število. Ni nujno v zvezi s stehiometričnimi koeficienti v enačbi za reakcijo, čeprav JE, že spet pri preprostih reakcijah.



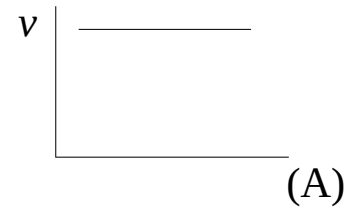
Rate law: eksperimentalno določena hitrostna enačba, ki izraža hitrost reakcije kot funkcijo koncentracij vseh prisotnih reaktantov in produktov.

Hitrost je funkcija koncentracije reaktantov

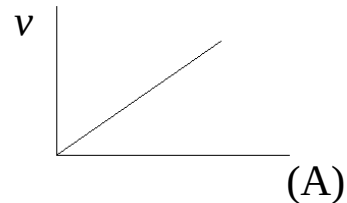
Eksperimentalno red reakcije določimo

- tako, da koncentracije vseh reaktantov razen enega držimo konstantne
- opazujemo kako se hitrost reakcije spreminja s spreminjanjem koncentracije tega reaktanta
- dobimo delni red reakcije
- ponovimo z ostalimi reaktanti
- seštejemo vse delne rede
- za posamezni reaktant narišemo diagram; iz oblike določimo red

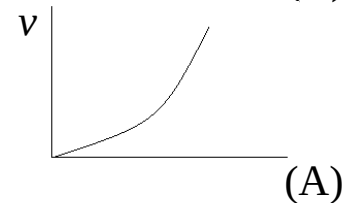
0. red $v = - \frac{d(A)}{dt} = k(A)^0 \quad \longrightarrow$



1. red $v = - \frac{d(A)}{dt} = k(A)^1 \quad \longrightarrow$



2. red $v = - \frac{d(A)}{dt} = k(A)^2 \quad \longrightarrow$

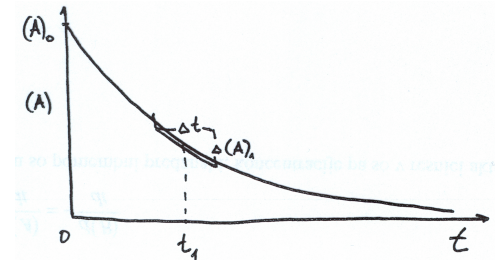


Koncentracija reaktanta je funkcija časa: $(A)=f(t)$

Kako se spreminja koncentracija reaktanta, ko reakcija napreduje?

Če se spreminja hitrost, se bo tudi koncentracija spreminjala, pa tudi sprememba koncentracije se bo spreminjala. Vse je odvisno od **reda reakcije**.

$$\begin{aligned} A &\xrightarrow{k} B & v &= -\frac{d(A)}{dt} = k(A)^1 \\ -\frac{d(A)}{dt} &= k(A)^1 & \longrightarrow & -\frac{d(A)}{A} = k dt \\ -\int_{(A_0)}^{(A)} \frac{d(A)}{A} &= k \int_{t=0}^{t=} dt & \longrightarrow & \ln(A)_0 - \ln(A) = kt \\ \ln \frac{(A)_0}{(A)} &= kt & \longrightarrow & \frac{(A)_0}{(A)} = e^{kt} \end{aligned}$$



$$(A) = (A)_0 e^{-kt}$$

razpolovni čas:

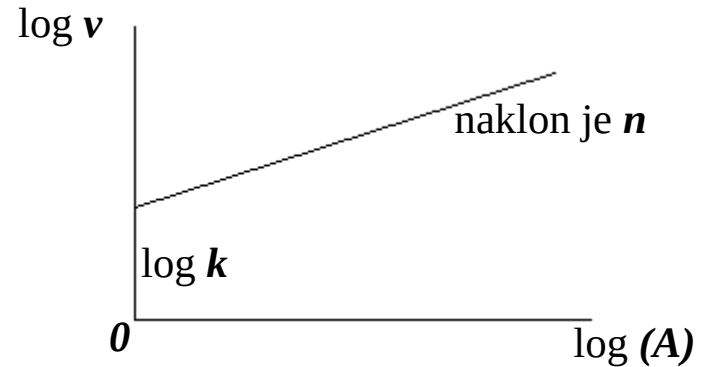
$$\begin{aligned} -\int_{(A_0)}^{\frac{1}{2}(A_0)} \frac{d(A)}{A} &= k \int_{t=0}^{t=t_{1/2}} dt & \longrightarrow & \ln(A)_0 - \ln \frac{1}{2}(A)_0 = kt_{1/2} \\ \ln \frac{2(A)_0}{(A)_0} &= kt_{1/2} & \longrightarrow & t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0.693}{k} \end{aligned}$$

Določanje reda reakcije je lahko čisto splošno:

$$-\frac{d(A)}{dt} = k(A)^n$$

$$v = k(A)^n$$

$$\log v = \log k + n \log(A)$$



Za reakcijo $A \xrightarrow{k} B$ določimo začetno hitrost, pri različnih koncentracijah reaktanta A.

V diagramu log v vs. log(A) določimo

- tangens naklonskega kota (red reakcije) in
- odsek na ordinatni osi (log k)

Kaj je k ?

To je hitrostna konstanta in je proporcionalnostni faktor, ki govori o reakcijski hitrosti v standardnih razmerah. Je karakteristika vseh izotermnih sistemov in je odvisna od temperature.

Kljub temu, da opisuje hitrost reakcije v standardnih pogojih, ni direktna mera za primerjavo različnih reakcij. **Primerjamo lahko le reakcije, ki so istega reda!!!**

To je razvidno iz enot posameznih konstant:

- 0. red $\text{mol l}^{-1} \text{s}^{-1}$
- 1. red s^{-1}
- 2. red $\text{l mol}^{-1} \text{s}^{-1}$

Analogno temu je tudi raspolovni čas odvisen od reda reakcije:

0. red $t_{1/2} = \frac{(A)_0}{2k}$

1. red $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k} = \frac{0.693}{k}$

2. red $t_{1/2} = \frac{k}{(A)_0}$

Red reakcije je torej pomemben kinetičen parameter, ki pove nekaj o fenomenologiji reakcije:

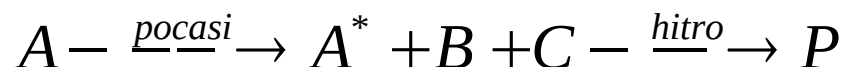
- kako se hitrost spreminja v odvisnosti od koncentracije, in to od katerega reaktanta je bolj - manj odvisna
- sklepamo lahko o kinetičnem mehanizmu. Skupaj s poznavanjem osnovnih kemijskih principov poteka reakcij tudi marsikaj o molekulskem mehanizmu
- če poznamo mehanizem, lahko razložimo red reakcije (rate law).

Če določimo red reakcije, lahko med konkurenčnimi mehanizmi izberemo najustreznejšega.

Kaj je mehanizem reakcije ?

Poznavanje vseh stopenj reakcije, vseh reaktantov, intermediatov in produktov, pa tudi hitrosti vseh pretvorb. Pri tem so pomembna molekulska dogajanja.

Npr.: reakcija - tri možnosti: $A + B + C \longrightarrow P$



- o hitrosti odloča najpočasnejša stopnja (rate limiting step)
- hitrost je enostavna funkcija le koncentracij reaktantov v tej stopnji

Molekularnost reakcije

Glede na število molekul, ki sodelujejo pri enostavni reakciji (pri elementarnem procesu) so reakcije:

- monomolekularne - razpad molekule
- bimolekularne - večina
- trimolekularne; verjetnost take reakcije je le $1/1000$ tiste za bimolekularno

- tetramolekularne, itd.

Ugotavljanje molekularnosti ima smisel le pri enostavnih procesih, torej v vsaki stopnji posebej. Takrat je molekularnost tudi enaka redu reakcije.

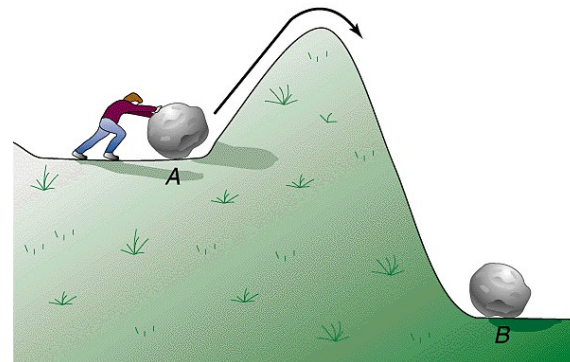
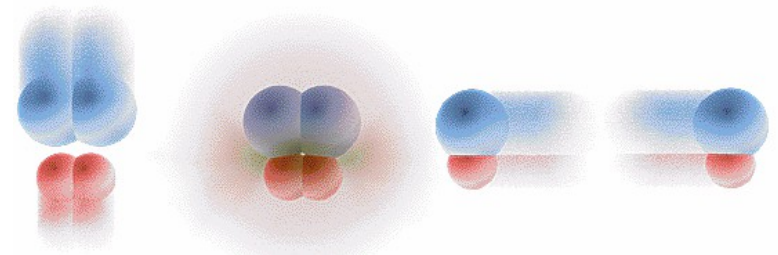
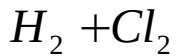
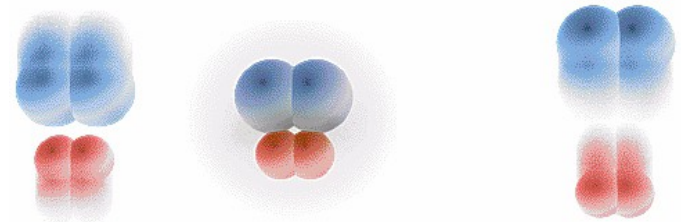
Teorije o hitrostih kemičnih reakcij

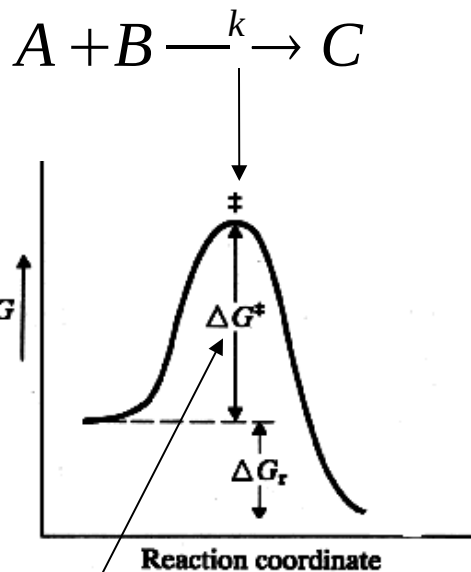
Pričakujemo odgovor na vprašanje **zakaj** nekatere reakcije tečejo hitro nekatere pa počasi.

Reakcije zato proučujemo v različnih razmerah, od katerih je najvažnejša odvisnost hitrosti od temperature

tri teorije:

- Arrhenius-ova
- teorija o trkih
- teorija o aktiviranih kompleksih :



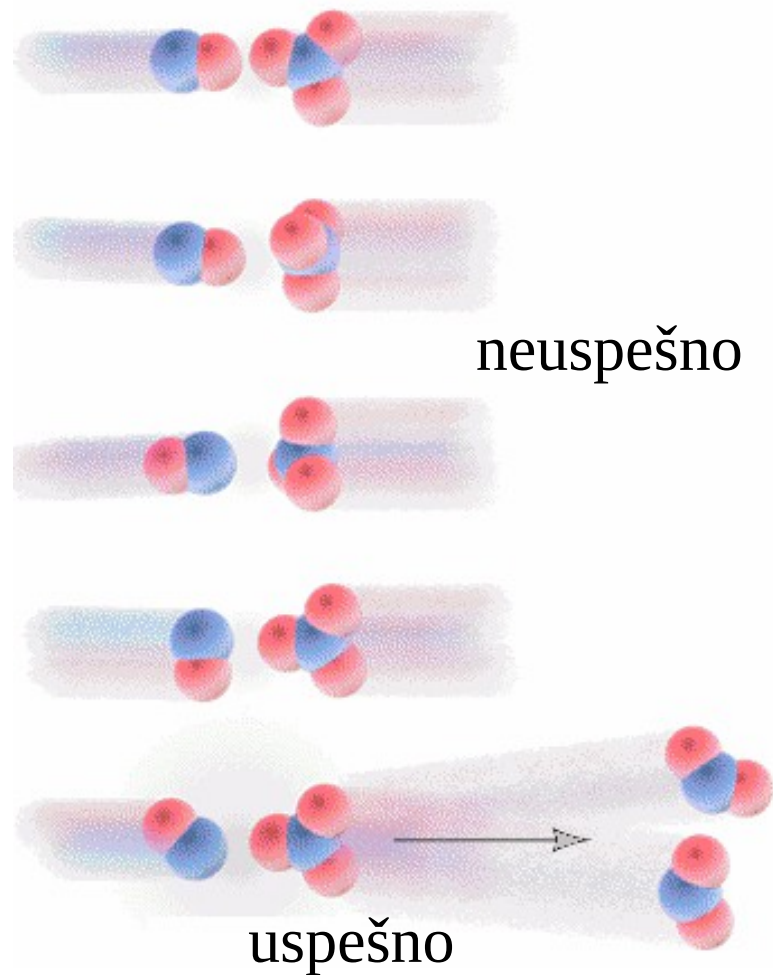


$$k = Ae^{\frac{-E_a}{RT}}$$

$$k = \frac{k_B T}{h} e^{\frac{-H^\ddagger}{RT}} e^{\frac{S^\ddagger}{R}}$$

skoraj isto, saj je $\Delta G = -\Delta H + T \Delta S$

$$v = -\frac{d(A)}{dt} = -\frac{d(B)}{dt} = \frac{d(C)}{dt} = k(A)(B)$$



Encimska kataliza

Katalizator je snov

a / sodeluje v reakciji, se lahko kemično spremeni, a se na koncu regenerira

b / nastopa v relativno nizkih koncentracijah

c / se ne izrablja

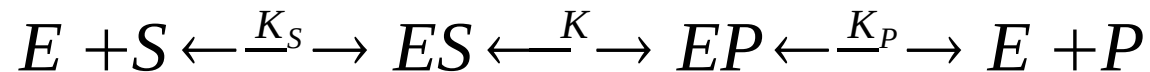
d / je beljakovina, zato deluje pod milimi pogoji

e / je zelo specifičen za substrate

f / je zelo specifičen za reakcije

Pri encimski reakciji se

- najprej encim in substrat povežeta v kompleks
- temu sledi pretvorba
- končno se produkt razveže

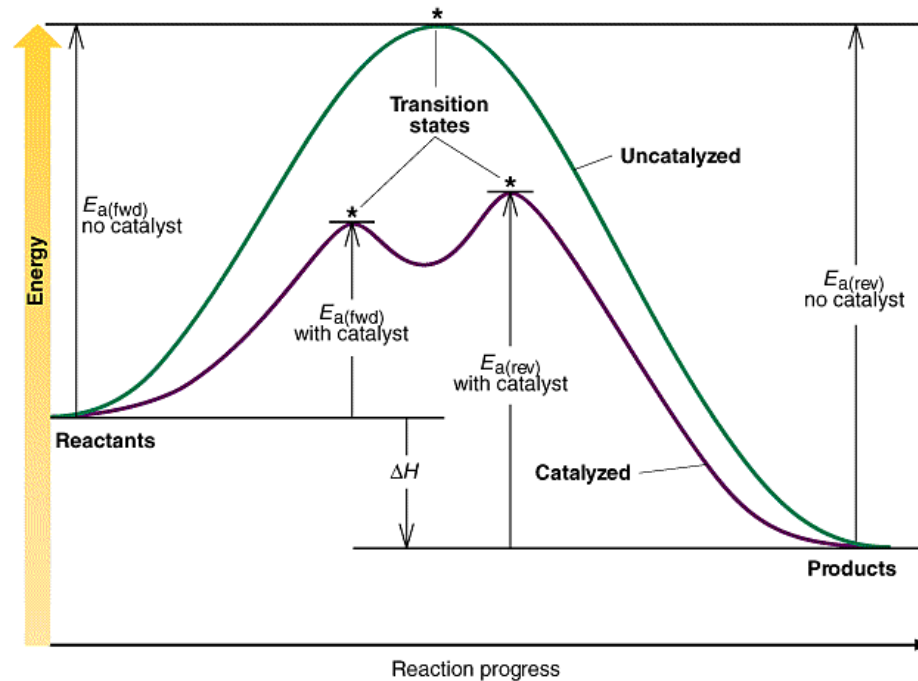
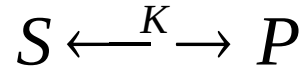


Encimska kataliza

Pri najpreprostejši encimski reakciji predpostavimo le en vmesni produkt (intermedijat)



Encim se pojavi na obeh straneh enačbe, zato je neencimska reakcija preprosta; dokaz, da encim ne spremeni ravnotežja

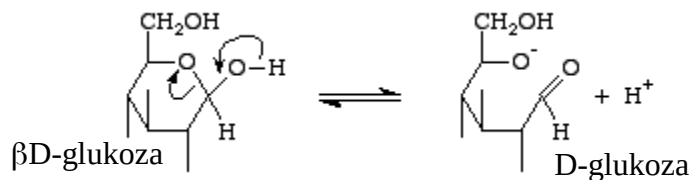


Encim zniža aktivacijsko energijo - dovaja energijo za znižanje; **KAKO ? OD KJE ?**

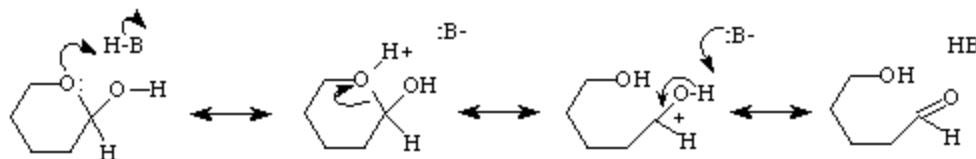
Vrste katalitičnih mehanizmov pri encimih

1. Kislinsko - bazna kataliza, splošna, specifična

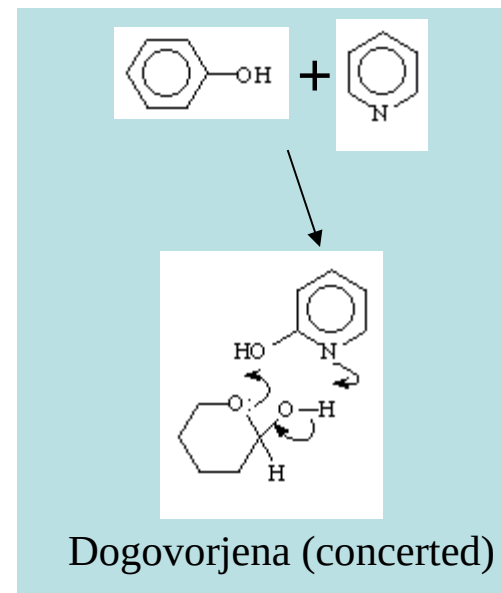
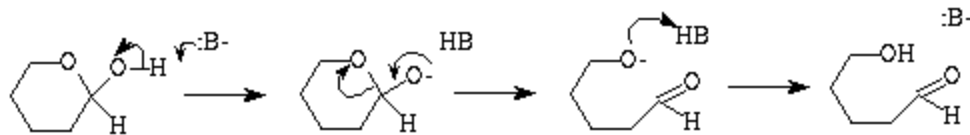
odprtje obroča pri ciklični glukozi (mutarotacija): proton je močno vezan v anomerni OH skupini



a / kislina začasno posodi proton: kislina dobro disociira



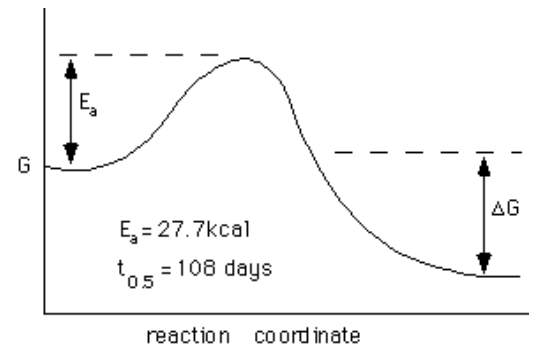
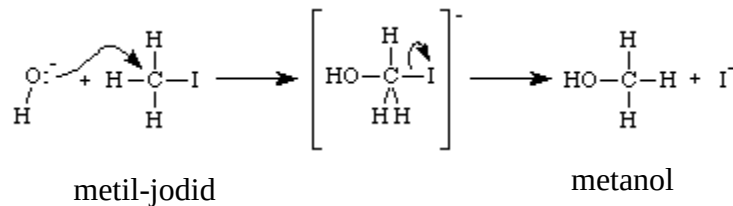
b / baza začasno odvzame proton: baza ima dobro afiniteto do protonov



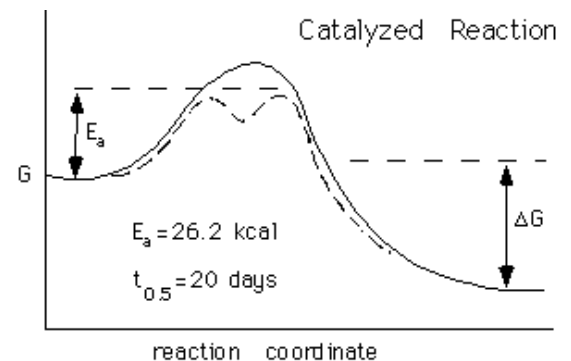
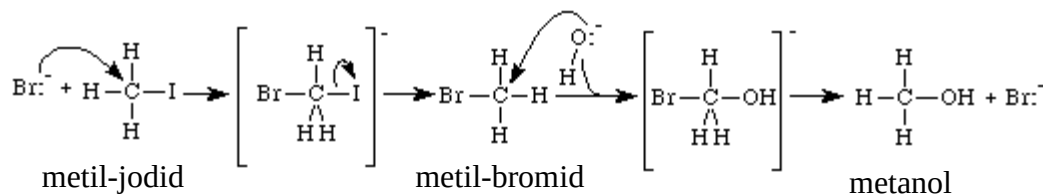
Vrste katalitičnih mehanizmov pri encimih

2. Kovalentna kataliza

Substitucija jodida s hidroksilom je počasna: jodid je slaba leaving skupina



V prisotnosti bromida, je reakcija dvostopenjska: obe stopnji sta hitrejši

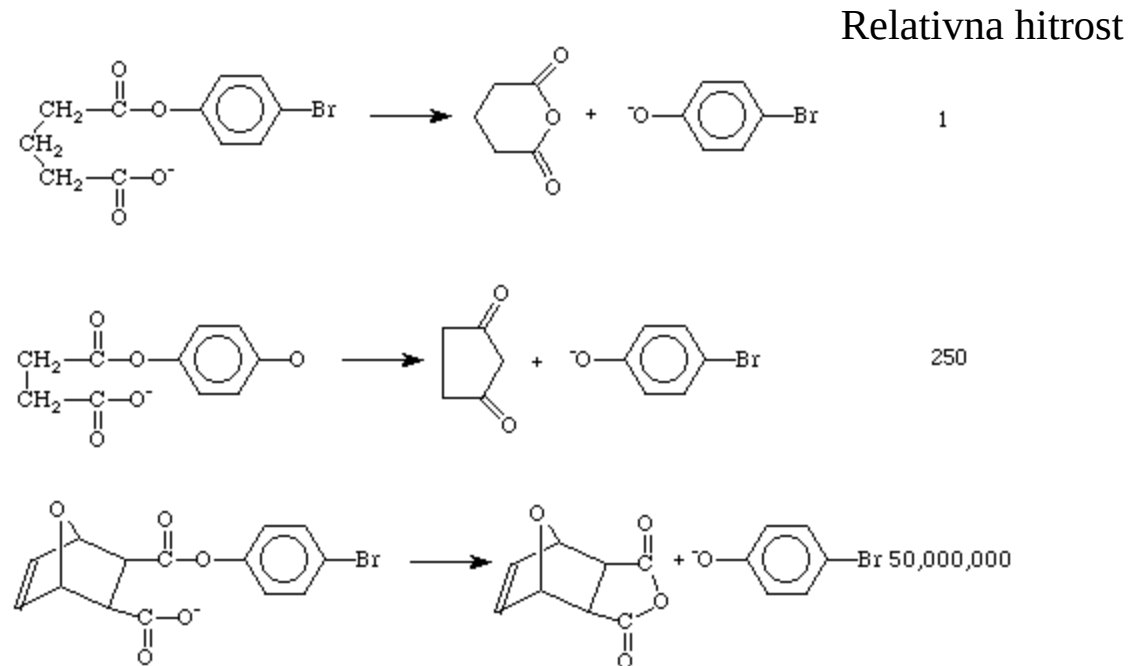


Katalizirana reakcija teče po drugi poti; ker je aktivacijska energija v najpočasnejši stopnji nižja kot pri nekatalizirani reakciji, je celotna hitrost večja

Vrste katalitičnih mehanizmov pri encimih

3. Približanje in orientiranje

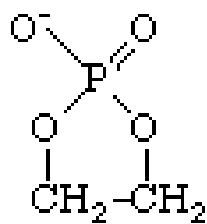
Z ugodnim položajem reaktivnih skupin se hitrost reakcije bistveno pospeši



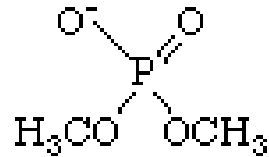
Vrste katalitičnih mehanizmov pri encimih

4. Prostorska stabilizacija prehodnega stanja

Bazična hidroliza molekule A je 10^8 krat hitrejša od bazične hidrolize B.



A



B

5-členski obroč predstavlja napetost v molekuli A

Vrste katalitičnih mehanizmov pri encimih

5. Kataliza s kovinskimi ioni

delujejo kot

a / elektrofilni pri kovalentni katalizi

b / kot nasprotni ioni pri prostorski stabilizaciji prehodnega stanja

Encimska kataliza

Vse te lastnosti so se v milijardah let zbrale v encimski molekuli

- encim ima ustrezne funkcionalne skupine (lastne ali kofaktorske)
- funkcionalne skupine so točno na pravih mestih; komplementarnost (Ogstonov princip 3 točk)
- zaradi komplementarnosti funkcionalnih skupin se encim in substrat privlačita (ENTROPIJA)

energija privlaka se porabi za destabilizacijo vezi (ENTALPIJA)

- popolna komplementarnost se doseže v prehodnem stanju
- prehodno stanje je visoko-energijsko, torej je nestabilno
- sistem zato razpade: nazaj na substrate ali naprej v produkte (50-50)

Energija tvorbe kompleksa encim/substrat se torej porabi za znižanje aktivacijske bariere

V praksi je to približanje in oriantiranje substrata, ki mu sledi destabilizacija. Destabilizacija se po zakonu akcija/reakcija zgodi tudi v encimu, a je običajno zaradi velikosti encimska molekul bistveno trdnejša. Induced fit, inducirana prilagoditev.

Literarna prisposoba: s petjem je Kirka privabila Odisejeve mornarje in jih spremenila v prašiče

Encimska kataliza

Zakaj proučujemo encimske reakcije ?

Če natančno poznamo njene lastnosti, lahko ukrepamo (zdravila)

Kako proučujemo encimske reakcije ?

S proučevanjem strukture dobimo mnogo idej o možnem mehanizmu; odkrivamo začetna, končna, vmesna stanja, celo zaporedja dogodkov

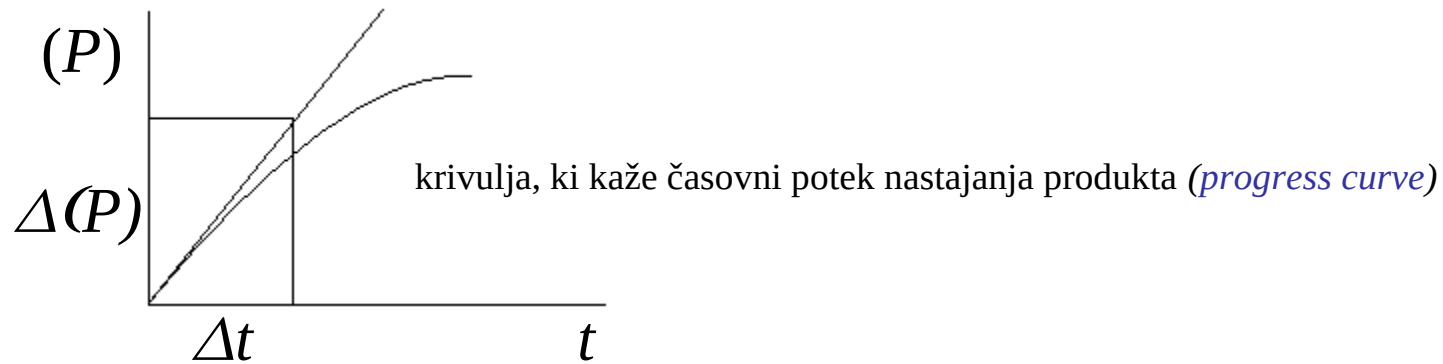
Kinetika encimske katalize daje direkten vpogled v delovanje encima, saj proučuje hitrosti v različnih razmerah in s tem omogoča primerjave (različni substrati, inhibitorji, mutantni encimi)

Kako določimo - merimo hitrost encimske reakcije ?

Zasledujemo

časovni potek zginetja substrata ali nastajanja produkta

a krivulja, ki jo dobimo, je zelo komplicirana



$$v = \frac{d(P)}{dt} = k[(S)_0 - (P)]$$

$$v = \frac{V_m (S)_0}{K_s + (S)_0}$$

$$V_m t = [(S)_0 - (S)_t] - K_s \ln \frac{(S)_t}{(S)_0}$$

Začetna hitrost

je hitrost, ko še ni nastalo nič produkta, torej se še ni porabilo nič reaktanta.

Določimo tangens naklonskega kota na krivuljo nastajanja produkta (zginetja reaktanta), in sicer skozi točko v času $t=0$

3. predavanje

vplivi na hitrost encimske reakcije
vpliv substrata (Michaelisova kinetika)
ravnotežno - stacionarno stanje