

(Bio)keemiline kineetika: mehanismid ja matemaatika

RKO sessioon
Darja Lavõgina
11. jaanuar 2015, Tartu

Sissejuhatus

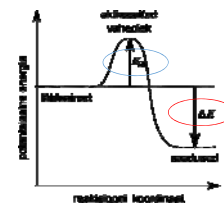
Keemiline reaktsioon

- Keemilise reaktsiooni käigus tekivad, katkevad või korralduvad ümber keemilised sidemed, mille tulemusena moodustuvad lähteainetest saadused
- Reaktsiooni toimumiseks peavad reageerivad osakesed:
 - ✓ üksteisega kokku põrkama
 - ✓ olema sobivalt üksteise suhtes orienteeritud
 - ✓ omama piisavat energiarvu



3

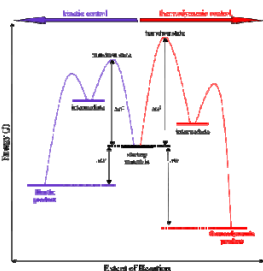
Reaktsiooni energiadiagramm: termodünaamika ja kineetika



- Saaduste moodustumiseks tuleb reaktsiooniteel ületada energeetiline barjäär, mille kõrguse määrab aktiveerimisenergia E_a
 - ✓ Kõrge aktiveerimisbarjäär takistab reaktsiooni toimumist
 - st reaktsioon võib olla iseeneslik, kuid toimub väga aeglaselt
- Reaktsiooni summaarne energiamuut = lõpp- ja algoleku energiate vahe, ΔE
 - ✓ võib olla ΔH , ΔG

4

Termodünaamiline versus kineetiline kontroll



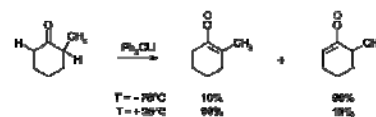
- Vasakpoolne rada: produkt moodustub kiiremini
- Parempoolne rada: moodustuv produkt on stabiilsem
- Teoreetiliselt algavad reaktsioonid alati madalama aktiveerimisenergia rajast (kineetiline kontroll), kuid jõuavad lõpuks stabiilseima produktini (termodünaamiline kontroll)
- Reaktsiooni selektiivsust võivad mõjutada temperatuur, rõhk, solvent jms

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Thermodynamic_vs_kinetic_control.png

5

Näide: enolaatide teke ebasümmeetrilisest ketoonist

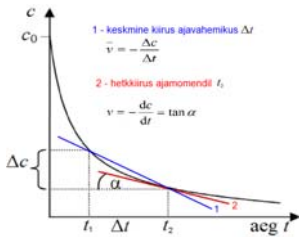
- Kineetiline produkt on enolaat, mis tekib paremini 'juurdepääsetava' α -H eemaldamisel; termodünaamiline produkt on rohkem asendatud enolaat
 - ✓ Kineetilist selektiivsust parandab madal temperatuur ning steeriliselt nõudlike aluste kasutamine



http://en.wikipedia.org/wiki/File:Thermodynamic_vs_kinetic_reaction_control

6

Reaktsiooni kiirus



- Reaktsiooni kiirus avaldatakse ajahühikus tekkinud saaduse või ära reageerinud produkti kontsentratsiooni kaudu
- Saame rääkida reaktsiooni keskmisest kiirusest, aga ka hetkkiirusest ehk nn tõelisest kiirusest

Reaktsioonis osalevate ainete tekkimise ja tarbimise kiirus

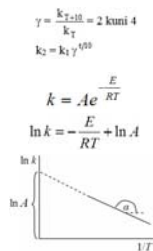
- Reaktsiooni $A + 2B \rightarrow 3C + D$ kohta võib kirjutada:

$$\frac{d[D]}{dt} = \frac{1}{3} \frac{d[C]}{dt} = -\frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{2} \frac{d[B]}{dt}$$
 - ✓ B tarbimise kiirus = 2 x A tarbimise kiirus
 - ✓ D tekkimise kiirus = 3 x C tekkimise kiirus
- Reaktsiooni hetkkiirus üldisemalt:

$$v = \frac{1}{\nu_j} \frac{d[j]}{dt}$$
 - ✓ ν_j on stöhiomeetriline koefitsient, mis on lähteainel negatiivne ja produktil positiivne.

Reaktsiooni kiiruse sõltuvus temperatuurist

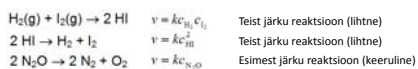
- Van't Hoffi reegel:
 - ✓ temperatuuri tõstmisel 10 kraadi võrra kiirenevad reaktsioonid tüüpiliselt 2-4 korda
 - ✓ k on reaktsiooni kiiruskonstant
- Arrheniuse võrrand:
 - ✓ E_a on aktivatsioonienergia, A on eksponentsiaalne kordaja (mõlemad on ~const, kui temperatuurimuutus pole suur)
 - A võib lugeda kogupõrgete arvaks ning järgnevat eksponenti tõenäosuseks, et põrkele järgnevalt reaktsioon toimub
 - ✓ Arrheniuse võrrandi logaritmilisel saame sirge võrrandi, mille tõusust saab määrata E_a



Lihtsate reaktsioonide mehhanismid

Reaktsiooni kineetiline võrrand

- Reaktsiooni kineetiline võrrand ehk kiiruse võrrand näitab, kuidas reaktsiooni kiirus sõltub lähteainete kontsentratsioonidest
 - ✓ Reaktsioone, mille kineetiline võrrand vastab reaktsioonivõrrandile, nimetatakse lihtsateks reaktsioonideks:
 - $A \rightarrow B$ kiirus $v = kc_A$
 - $A + B \rightarrow C$ kiirus $v = kc_A c_B$
 NB! Kiiruskonstandi ühik on reaktsioonijärgust (v ühik on M/s)
 - ✓ Keerukamate reaktsioonide kineetilist võrrandit ei saa reaktsioonivõrrandi põhjal koostada, see tuleb määrata eksperimentaalselt
- Reaktsiooni järk on kineetilise võrrandi kontsentratsioonide astmenäitajate summa
 - ✓ On olemas ka 0-järku reaktsioonid!
 - ✓ Reaktsiooni näiline järk: üks reagentidest on tugevas liias teise suhtes -> c ~ const



11

Miks on vaja teada reaktsiooni kineetilist võrrandit?

- Selle põhjal on võimalik saada informatsiooni reaktsiooni mehhanismi kohta:
 - ✓ millised võiksid olla reaktsiooni staadiumid
 - ✓ millised osakesed osalevad reaktsiooni elementaarakti(de)s
 - ✓ milline staadium on arvatavasti kiire ja milline aeglane
 - ✓ milline staadium määrab oletatavalt kogu reaktsiooni kiiruse (kõige aeglasem)
- Molekulaarsus – reaktsiooni elementaaraktist osavõtivate lähteainete osakeste arv
 - ✓ On olemas mono-, bi- ja tri-molekulaarsed reaktsioonid, viimased neist väga haruldased, sest kolme osakese korraga põrkumine on vähetõenäoline

Kineetilise võrrandi määramine

	0- järku reaktsioon	I järku reaktsioon	II järku reaktsioon
Reaktsioon	$A \rightarrow P$	$A \rightarrow P$	$A + B \rightarrow P$
Diferentsiaalset kineetilise võrrand	$v = -\frac{dc_A}{dt} = k_0$	$\frac{dc_A}{dt} = -k_1 c_A$	$\frac{dc}{dt} = -k_2 c_A c_B$
Integraal	$\int_{c_0}^c dc = -k_0 \int_0^t dt$	$\int_{c_0}^c \frac{dc}{c} = -k_1 \int_0^t dt$	Kui $c_A = c_B = c$, siis $\int_{c_0}^c \frac{dc}{c^2} = -k_2 \int_0^t dt$
Integraalne kineetilise võrrand	$c = c_0 - k_0 t$	$\ln c - \ln c_0 = -k_1 t$	$\frac{1}{c} = k_2 t + \frac{1}{c_0}$
Sirge graafik			
Poolestusaeg	$t = \frac{0,5c_0}{k_0}$	$t = \frac{\ln 2}{k_1}$	$t = \frac{1}{k_2 c_0}$

Näide: $2NH_4Cl \rightarrow N_2 + 3H_2$ $2N_2O_5 \rightarrow 4NO_2 + O_2$ $2NO_2 \rightarrow 2NO + O_2$

$v = \text{const}$ $v = k[N_2O_5]$ $v = k[NO_2]^2$

Ensüümatalüüs

Katalüüsi üldine põhimõte

- Hessi seadus: reaktsiooni summaarne energiamuut ei sõltu reaktsiooniteest, vaid üksnes lõpp- ja algoleku energiate vahest
- Katalüsaator kiirendab reaktsiooni, avades madalama aktivatsioonienergiaga reaktsioonitee
 - Katalüsaator ei muuda reaktsiooni energiamuutu ega reaktsiooni suunda!
- Katalüsaator võtab reaktsioonist osa ja taastub reaktsiooni lõpus esialgses koguses
 - Katalüsaatorit pole vaja stöhhiomeetrises koguses
 - Katalüsaator võib kõrvaliste protsesside tagajärjel kaotada aktiivsuse

Ensüümatalüüsi põhivara

- Ensüüm on valk, mis täidab organismis katalüsaatori rolli; substraat on ensüümatalüütilise reaktsiooni lähteaine
 - Substraat seondub ensüümiga, andes ensüüm-substraatkompleksi
- Katalüüsitud reaktsiooni tulemusena moodustub ensüüm-substraatkompleksist saadus, ning ensüüm vabaneb esialgsel kujul
 - Katalüüsitud reaktsioon on madalam aktivatsioonienergia

$S + E \rightleftharpoons ES \rightarrow EP \rightarrow E + P$

Uude tsükliks

Ensüümi aktiivtasku

- Ensüümi katalüütiline tasku ehk aktiivtasku on ensüümi molekuli piirkond, kus viiakse läbi katalüüsitud reaktsioon
 - St luuakse reaktsiooni toimimise jaoks soodne keskkond
- Substraadi sidumine ensüümiga põhineb molekulaarsel äratundmisel
 - st substraadi ja ensüümi struktuurid peavad omavahel sobima, et saaksid tekkida seondumiseks vajalikud vastasmõjud
 - vesiniksidemed, laeng-laeng ja hüdrofoobsed interaktsioonid
- Ensüümid on substraadiselektiivsed: katalüüsivad reaktsioone üksnes teatud tüüpi substraatidega
 - Sh stereospetsiifilisus: reaktsioon viiakse läbi kindla stereoisomeeriga

Ensüümatalüüsi eripära

- Ensüümatalüüs on äärmiselt tundlik keskkonnapingumuste suhtes!
 - temperatuur
 - Keemiliste reaktsioonide kiirused suurenevad temperatuuri tõstmisel
 - Palavik tõstab reaktsioonide kiirust 20-30%
 - Ensüümatalüüsil on temperatuurioptimum: kõrgele kontsentratsioonil ensüümid lagunevad
 - solvent (vesi!)
 - H⁺ ning muude ioonide kontsentratsioon

Pepsiliin: maomahlas, amülaas: süljes, trüpsiin: kõhunäärme mahlas

Homöostaas - sisekeskkonna regulatsioon püsiva oleku hoidmiseks organismis (temperatuur, pH,ioonid, veesisaldus, O₂ ja CO₂ kontsentratsioonid jne)

Efektivsus

- Biomolekulid on enamasti piisavalt stabiilsed, et ilma ensüümatalüüsi osavõtuta spontaanselt mitte reageerida
 - Enamik ensüüme on väga efektiivsed katalüsaatorid
- Muundearv K_{cat} : maksimaalne reaktsioonide arv, mida üks ensüümi molekul on võimeline ühes sekundis katalüüsima

Ensüüm	Katalüüsiv reaktsioon	Mida korda on katalüüsitud reaktsioon kiirem?
Alkoholi dehidrogenaas	Etanoolist aldehüüdi teke (maksas)	10^9
Karboanhüdraas	CO_2 -st karbonaadi teke (lihastes) ja vastassuunaline reaktsioon (hõpsudes)	10^7
Karboksipeptidaas A	Valkude lagundamine (lihaskiirames)	10^{11}
Otsüüdimonofosfaadi dekarboksülaas	Energiasalvesti UMP süntees	10^{17}
Fruktoosi 1,6-bisofosfaas	Glükoneogenees (glükoosi süntees väikese molekulmassiga lähteainetest), fotosüntees	10^{21}

Ensüüm	Katalüüsiv reaktsioon	Muundearv k_{cat}
Katabaas	Vesinikperoksüüdi lagundamine $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$	40 000 000
Karboanhüdraas	Süsihappegaasi reaktsioon veega $CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$	1 000 000
Asteetilkoliini esteraas	Asetüülkoliini hüdrolüüs	14 000
Laktaadi dehidrogenaas	Piimhappe oksüdeerimine piirvõinamarahapeks	1 000
Kimoorüpaasiin	Peptiididemet hüdrolüüs	100
DNA polümeraas I	Nukleotiidide polümersatsioon	15

Ensüümatalüütilise reaktsiooni kiiruse sõltuvus substraadi ja ensüümi kontsentratsioonist

- Michaelis-Menteni võrrand on ensüümikineetika põhivõrrand
 - V_{max} – reaktsiooni maksimaalne kiirus antud ensüümi kontsentratsiooni juures
 - K_M – substraadi kontsentratsioon, mille juures reaktsiooni kiirus on pool maksimaalsest
 - Mida väiksem on K_M , seda paremini seostub substraat ensüümiga (ning reageerib produktiks)
- Erinevate ensüümidel on erinevate substraatide jaoks erinevad k_{cat} ja K_M väärtused

$$E + S \xrightleftharpoons[k_r]{k_f} ES \xrightarrow{k_p} E + P$$

$$v = \frac{d[P]}{dt} = V_{max} \frac{[S]}{K_M + [S]} = k_{cat}[E]_0 \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

Michaelis-Menteni võrrand kui mudel

Eeldused

- Pöördreaktsioon produktist ignoreeritakse

$$E + S \xrightleftharpoons[k_1]{k_1} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$
- Kiirus määratakse lähudes ES muutumisest produktiks

$$V_p = k_2[ES]$$
- Reaktsioon toimub statsionaarses olekus, $[ES] = \text{const}$

$$[ES] = \text{const} \Rightarrow V_{rate} = V_{p, \text{stabiilne}}$$
- Eeldatakse, et $S \gg E$
- Kehtib ühe substraadiga reaktsiooni kohta

Reaalsus

- Ensüüm suudab tüüpiliselt katalüüsida ka pöördreaktsiooni
- Statsionaarne olek ei kehti reaktsiooni algusest
- Ensüümreaktsiooni kiirus muutub, kuna substraat reageerib ära
- Rakus ei pruugi ensüümi hulk olla substraadi hulgast oluliselt väiksem
- Enamik ensüümatalüüsitud reaktsioonidest kasutavad mitu substraati

Ensüümide inhibeerimine

- Inhibiitorid on ühendid, mis seonduvad ensüümiga ja blokeerivad või vähendavad selle katalüütilist aktiivsust
- Mehhanismid:
 - Pöördumatu inhibeerimine (tekib tugev kovalentne side ensüümi ja inhibiitori vahel)
 - Pöördumatu inhibeerimine
 - Konkureeriv inhibeerimine
 - Ebakonkureeriv inhibeerimine
 - Segatüüpi inhibeerimine
 - sh mittekonkureeriv
 - Allosteeriline inhibeerimine

Konkureeriv mehhanism

- Eeldus: MM võrrand kehtib

$$E + S \xrightleftharpoons[k_1]{k_1} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M(1 + \frac{[I]}{K_I}) + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

$$K_M' = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Võib avalduda ka allosteerilise mehhanismi puhul

Tänuavaldused

- Loengu koostamisel on kasutatud järgmisi allikaid:
 - Prof. Enn Lusti loengumaterjalid (Keemia teoreetilised alused I)
 - Prof. Peeter Burgi loengumaterjalid (Keemia alused II, <http://tera.chem.ut.ee/~peeter/Loeng/YK2/I2.pdf>)
 - Prof. Ago Rinkeni loengumaterjalid (Bioorgaaniline keemia I)
 - Prof. Vello Pasti õppematerjal "KEEMILISTE REAKTSIIONIDE KIIRUS JA TASAKAAL" (<http://ftp.ttkool.ut.ee/chem/kaug/op-mat-kiirus.pdf>)
 - Dr. Jaak Neruti õppematerjal "Sissejuhatus kineetikasse" (<http://eko.olunet.org/pdf/session/2010.Kineetika.loeng.pdf>)
 - Veebimaterjalid:
 - eko.olunet.org/pdf/session/Reaktsiooni_kiirus.ptt
 - Wikipedia