

ФИЗИКА ФЕРМЕНТОВ

§ 6.1. Химическая кинетика и катализ

Важнейшая функция белков — ферментативная. Ферменты служат катализаторами всех биохимических реакций. Катализатор ускоряет реакцию, но в реакции не расходуется.

Скорости химических реакций обычно сильно зависят от температуры. Эмпирически эта зависимость выражается формулой Аррениуса для константы скорости реакции (см. с. 19)

$$k = A \exp(-E^{\dagger}/RT), \quad (6.1)$$

где E^{\dagger} — энергия активации — характеризует энергетический барьер, который должна преодолеть система для осуществления реакции. Зависимость k от E^{\dagger}/RT следует из распределения Больцмана по энергиям, экспонента указывает на долю молекул, обладающих достаточной для реакции энергией E^{\dagger} . Константы k определяют скорости реакций. В обратимой реакции $A \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} B$ скорости ($[A]$, $[B]$ — концентрации)

$$\vec{v} = k_1 [A], \quad \overleftarrow{v} = k_{-1} [B]. \quad (6.2)$$

В равновесии $\vec{v} = \overleftarrow{v}$ и константа равновесия

$$K = \frac{[B]_{\text{eq}}}{[A]_{\text{eq}}} = \frac{k_1}{k_{-1}}. \quad (6.3)$$

Индекс eq означает равновесную концентрацию. Разность свободных энергий продуктов реакции и исходных реагентов равна

$$\Delta G = -RT \ln K = \Delta H - T\Delta S, \quad (6.4)$$

где ΔH — разность энтальпий, ΔS — разность энтропий. Реакция возможна, лишь если $\Delta G < 0$, т. е. если свободная энергия понижается. Однако это условие необходимо, но еще недостаточно для реакции. Энергия активации E^{\dagger} может быть настолько

большой, что константа скорости исчезающе мала и реакция не идет. Катализатор служит для понижения активационного барьера.

Смысл формулы Аррениуса раскрывается в теории абсолютных скоростей реакций (теория переходного состояния или активированного комплекса), предложенной Эйрингом.

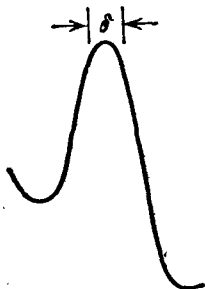


Рис. 6.1. Профиль свободной энергии для химической реакции

Предполагается, что течение реакции не нарушает бальдмановского распределения молекул по состояниям с различной энергией. Прохождение реакции требует преодоления энергетического барьера. На рис. 6.1 показан профиль свободной энергии для некоторого процесса: $\Delta G = G_1 - G_2$ — разность свободных энергий начального состояния 1 и конечного состояния 2, G^\ddagger — свободная энергия активации в процессе $1 \rightarrow 2$. Найдем число систем, находящихся в некотором интервале δ реакционной координаты ξ на вершине барьера. Скорость реакции есть число систем, преодолевающих барьер в единицу времени. Средняя скорость движения системы равна

$$\bar{v} = \frac{\int_0^{\infty} v \exp(-mv^2/2\kappa T) dv}{\int_0^{\infty} \exp(-mv^2/2\kappa T) dv} = \left(\frac{\kappa T}{2\pi m}\right)^{1/2}. \quad (6.5)$$

Мы воспользовались распределением Максвелла — Больцмана по кинетическим энергиям $mv^2/2$. Скорость реакции, т. е. число переходов через барьер в единицу времени, равна

$$v = \frac{c'}{\delta} \bar{v} = \frac{c'}{\delta} \left(\frac{\kappa T}{2\pi m}\right)^{1/2}, \quad (6.6)$$

где c' — число систем в единице объема, находящихся в пределах отрезка δ . Вместе с тем

$$v = kc_A c_B \dots, \quad (6.7)$$

где c_A, c_B, \dots — концентрации реагентов. Из (6.6) и (6.7) следует, что

$$k = \frac{c'}{c_A c_B \dots} \left(\frac{\kappa T}{2\pi m}\right)^{1/2} \frac{1}{\delta} = K' \left(\frac{\kappa T}{2\pi m}\right)^{1/2} \frac{1}{\delta}. \quad (6.8)$$

Здесь K' — константа равновесия для перехода реагентов А, В, ... в активированное состояние. Константа равновесия выражается через статистические суммы

$$Z = \sum_i \exp(-E_i/\kappa T), \quad (6.9)$$

где E_i — энергия i -го состояния системы. Суммирование проводится по всем состояниям. В нашем случае

$$K' = \frac{Z_{a.n.}}{Z_A Z_B \dots}, \quad (6.10)$$

где $Z_{a.n.}, Z_A, Z_B, \dots$ — статистические суммы для активированного комплекса (состояния) и реагентов А, В, ... соответственно. Для поступательного движения частицы набор состояний непрерывен, сумма (6.9) заменяется инте-

гравом, который равен

$$Z_{\text{пост}} = \delta^3 (2\pi m \kappa T / h^2)^{3/2}, \quad (6.11)$$

где h — постоянная Планка, m — масса частицы. Мы приняли объем, занимаемый частицей, равным δ^3 , $Z_{\text{пост}}$ — статистическая сумма по трем степеням свободы поступательного движения. Но так как система имеет лишь одну такую степень свободы — вдоль направления реакции, мы получаем

$$Z_{\text{а.к}} = Z'_{\text{а.к}} \delta \left(\frac{2\pi m \kappa T}{h^2} \right)^{1/2}, \quad (6.12)$$

где $Z'_{\text{а.к}}$ — статистическая сумма для активированного комплекса по всем степеням свободы, кроме поступательной. Из (6.8), (6.10) и (6.12) получаем

$$k = \frac{\kappa T}{h} \frac{Z'_{\text{а.к}}}{Z_{\text{А}} Z_{\text{В}} \dots} \quad (6.13)$$

Условная длина δ сократилась. Статистические величины непосредственно связаны с термодинамическими. Имеем

$$Z = \exp(-G/RT), \quad (6.14)$$

и, следовательно,

$$\begin{aligned} k &= \frac{\kappa T}{h} \frac{\exp(-G'/RT)}{\exp(-G_{\text{А}}/RT) \exp(-G_{\text{В}}/RT) \dots} = \frac{\kappa T}{h} \exp\left(-\frac{G' - G_{\text{А}} - G_{\text{В}} - \dots}{RT}\right) = \\ &= \frac{\kappa T}{h} \exp\left(-\frac{G^{\ddagger}}{RT}\right). \end{aligned} \quad (6.15)$$

Здесь G^{\ddagger} — избыток свободной энергии активированного комплекса по сравнению с суммарной свободной энергией реагентов, т. е. *свободная энергия активации*.

При выводе выражения (6.15) предполагается, что достигнув активационного барьера, система обязательно претерпевает химическое превращение. Этого может и не быть. Вводя добавочный множитель — трансмиссионный коэффициент $\kappa \leq 1$, получаем окончательное выражение для константы скорости гомогенной газовой реакции — *формулу Эйринга*:

$$k = \kappa \frac{\kappa T}{h} \exp(S^{\ddagger}/R) \exp(-H^{\ddagger}/RT); \quad (6.16)$$

S^{\ddagger} — энтропия, H^{\ddagger} — энтальпия активации. Значение $\kappa = 1$ отвечает адиабатическому течению реакции, т. е. процессу, в котором параметры механической системы изменяются медленно. В химической реакции такими параметрами являются положения атомных ядер. При каждой конфигурации ядер электроны движутся так, как если бы ядра оставались неподвижными. Если процесс неадиабатический, $\kappa \ll 1$ и может принимать значения порядка 10^{-5} . Наблюдаемые в газовых реакциях значения κ большей частью близки к 1, т. е. эти реакции идут адиабатически. Множитель $\kappa T/h$ при обычных температурах имеет порядок 10^{13} с^{-1} .

Сравним формулу Эйринга (6.16) с формулой Аррениуса (6.1). Если отождествить энтальпию и энергию активации, то предэкспоненциальный множитель будет равен

$$A = \kappa \frac{\kappa T}{h} \exp \left(S^{\ddagger} / R \right). \quad (6.17)$$

Значения параметров активации определяют по температурной зависимости k . Имеем при $\kappa = 1$

$$\ln k = \frac{S^{\ddagger}}{R} + \ln \frac{\kappa T}{h} - \frac{H^{\ddagger}}{RT}. \quad (6.18)$$

Второе слагаемое зависит от T слабо, им можно пренебречь. Получаем линейную зависимость $\ln k$ от $1/T$. По наклону прямой находим H^{\ddagger} , по отрезку, отсекаемому на оси ординат, — S^{\ddagger} . Нелинейность зависимости $\ln k$ от T^{-1} свидетельствует об усложнении процесса, в частности, о его кооперативности. В таком процессе свободная энергия активации не постоянна, но зависит от числа уже прореагировавших систем и тем самым от T . Представим себе процесс выхода из переполненного автобуса. В начале выйти трудно, для этого нужна большая энергия активации. По мере освобождения автобуса эта энергия убывает. Наглядный пример кооперативной кинетики.

Надо подчеркнуть, что нельзя трактовать $h/\kappa T$ как время существования активированного комплекса. Такая трактовка приводит к противоречию — за 10^{-13} — 10^{-14} с не может установиться статистическое равновесие. В действительности время существования системы в состоянии, отвечающем значениям реакционной координаты от ξ до $\xi + \delta$, пропорционально δ . Это время должно трактоваться так же, как время существования состояний, рассматриваемых в теории Максвелла — Больцмана. Из малости $h/\kappa T$ нельзя делать вывод о невозможности установления равновесия между активированным комплексом и реагентами. Термин «активированный комплекс» относится к состояниям атомной системы, испытывающей превращения, и не означает существования метастабильного комплекса, который можно изучать химическими и физическими методами.

Теория Эйринга применима к реакциям в газах, но не в жидкой фазе. Общій метод качественного рассмотрения на основе этой теории пригоден для различных кинетических процессов (вязкое течение, диффузия, ср. § 12.4).

В ряде случаев реакция идет без преодоления активационного барьера посредством *туннельного эффекта*, квантовомеханического «просачивания» сквозь барьер. Это имеет место, в частности, в реакциях переноса электрона или протона (ср. § 13.4). В этом случае скорость реакции практически не зависит от температуры.

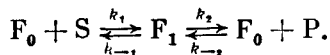
Обратимся к катализу. Как уже сказано, роль катализатора состоит в снижении свободной энергии активации, и, следовательно, в увеличении константы скорости реакции. Нужно различать *гетерогенный* и *гомогенный катализ*. В первом случае катализатор образует отдельную фазу, и реакция протекает на поверхности раздела фаз. Процесс начинается с *адсорбции* реагентов на этой поверхности, скажем, на поверхности твердого катализатора, ускоряющего реакцию в газе или в жидкости. Адсорбция сопровождается изменением электронной структуры реагентов и понижением свободной энергии активации. После прохождения реакции продукты десорбируются с поверхности. При гомогенном катализе катализатор и реагенты находятся в одной фазе, например в растворе. Катализатор образует промежуточное соединение с реагентами, далее распадающееся на катализатор и продукты реакции.

Ферменты функционируют либо в растворах, либо в надмолекулярных структурах. Сорбция реагентов, именуемых *субстратами*, и реакция протекают на некоторой поверхности большой молекулы белка. В этом смысле ферментативный катализ сходен с гетерогенным. Однако белок-фермент и малые молекулы субстратов находятся в одной фазе в растворе. Имеется строгая стехиометрия взаимодействия — как правило, одна белковая глобула взаимодействует с одной молекулой субстрата или другого лиганда. При взаимодействии образуется *фермент-субстратный комплекс* (ФСК), строение и свойства которого изучаются физическими и химическими методами. Ферментативный катализ в растворе — гомогенный катализ.

Можно рассматривать фермент как «черный ящик», преобразующий входной сигнал — молекулу субстрата в выходной сигнал — молекулу *продукта*. Имеются два способа для исследования устройства и механизма работы «черного ящика»: изучение молекулярной структуры фермента и ФСК и изучение кинетики ферментативных реакций.

§ 6.2. Кинетика простых ферментативных реакций

Рассмотрим простейшую ферментативную реакцию превращения субстрата в продукт в одностадийном процессе



Здесь F_0 — свободный фермент, S — субстрат, F_1 — ФСК, P — продукт. У стрелок указаны константы скорости реакций. Положим, для простоты, что можно пренебречь k_{-2} — обратной реакцией. Кинетические уравнения имеют вид (здесь F_0 , S , P — концентрации)

$$\begin{aligned} \dot{S} &= -k_1 F_0 S + k_{-1} F_1, \\ \dot{F}_1 &= k_1 F_0 S - (k_{-1} + k_2) F_1, \\ \dot{P} &= -\dot{S} = k_2 F_1. \end{aligned} \quad (6.19)$$