

## Enzyme und Krümmung

Von Zoltan Blum\*, Sven Lidin und Sten Andersson

Zahlreiche Proteine und Enzyme sind aus zwei Typen von Bausteinen aufgebaut – der  $\alpha$ -Helix und dem  $\beta$ -Faltblatt; dabei liegt das  $\beta$ -Faltblatt bei vielen dieser Strukturen in zwei räumlichen Anordnungen vor, der Röhre und dem verdrillten Faltblatt. *Louie* und *Somorjai*<sup>[1]</sup> zeigten, daß die Oberfläche der Röhre, und zwar die der Innenseite, durch ein Catenoid (Kettenfläche) und die Oberfläche des verdrillten Faltblatts durch ein Helicoid angenähert werden können und daß sich solche Flächen isometrisch ineinander überführen lassen (Bonnet-Transformation, Abb. 1). In Abbildung 2 ist ein Röhrenprotein mit einem

seiner Oberfläche angepaßten Catenoid dargestellt. Die vollständige Topologie des Moleküls kann durch einen Torus angenähert werden, dessen Innenseite eine negative und dessen Außenseite eine positive Gaußsche Krümmung aufweist. *Louie* und *Somorjai* zeigten ebenfalls, daß die Bonnet-Transformation zur Klärung wichtiger Fragen bei der viel diskutierten Proteinfaltung herangezogen werden kann. Weiterhin nehmen sie an, daß Enzym-Substrat-Wechselwirkungen durch das Stieltjes-Integral  $\int F dA$  beschrieben werden können.  $A$  ist dabei durch die Gleichung  $A = I + iII$  gegeben, wobei  $I$  und  $II$  erste und zweite Fundamentalformen von Ebenengleichungen sind, die die Enzymstruktur beschreiben; die Funktion  $F$  beschreibt die Form des Substrats. Projektionen des komplexen Stieltjes-Integrals auf die Ebene der reellen Zahlen sollen ihrer Meinung nach zum Verständnis von Phänomenen wie Katalyse, Wiedererkennen von Strukturen etc. beitragen.

Wir finden die Hypothesen von *Louie* und *Somorjai* äußerst interessant, doch erscheint uns unsere andersartige Hypothese (siehe unten) ebenfalls von direktem Nutzen. Sie ist in gewisser Weise mit der DTE-Theorie (dynamic transduction of energy)<sup>[2]</sup> verwandt und scheint diese dynamische Theorie mit der statischen geometrischen Theorie von *Louie* und *Somorjai* zu vereinigen.

In vielen Publikationen haben wir gezeigt, wie man die Differentialgeometrie und insbesondere die Minimalflächen auf chemische Probleme anwenden kann<sup>[3-7]</sup>. Es ist auch bekannt, daß Festkörper periodische Äqui- und Nullpotentialflächen aufweisen, die meist identisch oder annähernd identisch mit periodischen Minimalflächen sind<sup>[8]</sup>. In zwei kürzlich erschienenen Arbeiten haben wir die Adsorptionseigenschaften zweier unterschiedlicher Zeolithe als Funktion ihrer integralen Krümmung beschrieben<sup>[9, 10]</sup>. Die eigenartige Abhängigkeit der differentiellen Wärmeänderung von der zu Anfang adsorbierten Stoffmenge konnten wir mit der Annahme eines quasi-flüssigen Zustandes der Moleküle erklären, die sich im elektrostatischen Feld der Zeolithstrukturen bewegen<sup>[10]</sup>. Die Wärmemenge, die sich anfänglich bei sehr niedriger Beladung entwickelt, ist häufig enorm groß (Abb. 3).

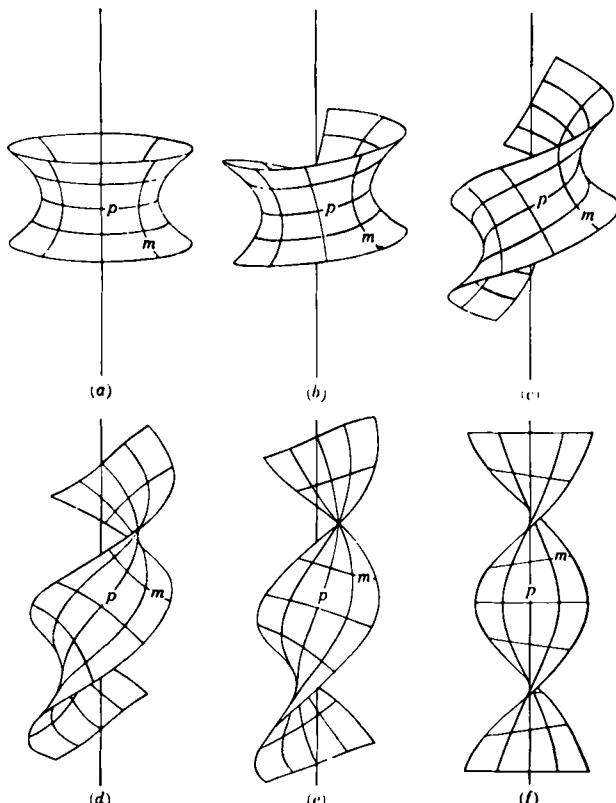


Abb. 1. Die Bonnet-Transformation.

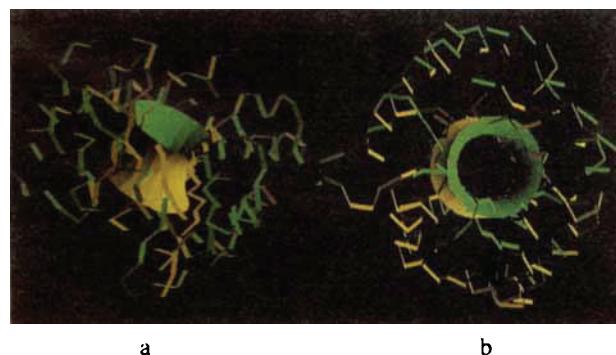


Abb. 2. Modell der Triosephosphat-Isomerase, an ein Catenoid angeschmiegt; a) seitliche Ansicht, b) Blick in die zentrale Öffnung. Es sind nur die  $\alpha$ -Kohlenstoffatome des Enzyms berücksichtigt.

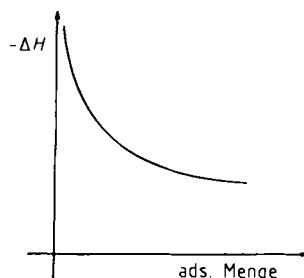


Abb. 3. Abhängigkeit der Adsorptionswärme von der adsorbierten Stoffmenge an einem Zeolith (schematische Darstellung).

Die Adsorptionseigenschaften der Zeolithe können als Funktion der integralen Gaußschen Krümmung pro Oberflächeneinheit  $K_{ave}$  beschrieben werden:

$$\Delta H = \text{const}_1 K_{ave} N \quad (1)$$

$\Delta H$  steht hier für die Adsorptionswärme und  $N$  für einen Wechselwirkungsfaktor. Auf die ersten adsorbierten Moleküle wirken starke Kraftfelder, gebündelt durch Ringe aus Sätteln mit starker intrinsischer Krümmung (van-der-Waals-Linse); dabei werden große Mengen intrinsischer

[\*] Dr. Z. Blum, Dr. S. Lidin, Prof. Dr. S. Andersson  
Chemical Center, University of Lund  
Inorganic Chemistry 2  
Box 124, S-22100 Lund (Schweden)

Wärme frei. Das ist wohl ein Grund für die katalytischen Eigenschaften der Zeolithe. Adsorbierte Moleküle werden selbst bei Raumtemperatur umgewandelt oder gecrackt, und zwar durch die intrinsische Wärme, die sich während der Wechselwirkung der Moleküle mit den stark gekrümmten Oberflächenbereichen der Zeolithe entwickelt.

Eine einheitliche Beschreibung von Proteinen und Enzymen, die ihnen eine negative Gaußsche Krümmung zuweist, ermöglicht zugleich eine einfache Erklärung ihrer Wirkungsweise in Biosystemen. Nach unserer Schätzung beträgt ihre mittlere integrale Krümmung 0.01 bis 0.03 Å<sup>-2</sup>. Folglich wird nach Gleichung (1) leicht genügend Adsorptionswärme frei, um unterschiedlichste Reaktionen zu starten.

Somit ergibt sich folgende Beschreibung von Protein-Substrat-Wechselwirkungen: Das als frei beweglich betrachtete Substrat nähert sich dem Protein, das entweder ebenfalls frei beweglich oder aber gebunden vorliegt, und zwar an eine biologische Matrix oder Ähnliches, z. B. eine Membran. Ab einem bestimmten Protein-Substrat-Abstand wird das Substrat deutlich durch Anziehungskräfte beeinflußt, die von stark gekrümmten Teilen des Proteins ausgehen. Die Bereiche mit β-Faltblattstruktur werden durch α-Helices so aufgeweitet, daß nur Moleküle mit passender Größe und/oder Konfiguration durchgelassen werden können. Das derart akzeptierte Substrat gelangt nun unmittelbar an die Oberfläche der β-Faltblattregionen. *Jeder van-der-Waals-aktive Bezirk der Faltblattregionen leistet mit seiner Krümmung einen Beitrag zu einem fokussierten Kraftfeld; dadurch wirken selbst relativ weit entfernte Bereiche auf das Substrat ein. Ein Röhrenprotein kann so als van-der-Waals-Linse angesehen werden. Wird das Substratmolekül durch das Protein eingefangen, so wird dessen kinetische Energie in potentielle Energie umgewandelt, d. h. das Abbremsen des Moleküls ermöglicht dessen thermische Anregung. Die intramolekulare Elektronenbewegung nimmt deutlich zu, die Bindungen werden gelockert, und das Substrat kann gezielt verändert werden.*

Das Modell der van-der-Waals-Fokussierung ist auch auf Proteine mit verdrillter Blattstruktur anwendbar, da deren Oberfläche, ein Helicoid, isometrisch zur Innenseite einer Röhre, einem Catenoid, ist. Gelangt das Substrat in die Nähe der stark gekrümmten Proteinoberfläche, so erfährt es starke Anziehungskräfte des gesamten Proteinmoleküls.

Die relativ hohe Flexibilität der Proteine ermöglicht darüber hinaus eine dynamische Wechselwirkung mit den Substratmolekülen; dabei wird die Krümmung auf die Geometrie des Substrats abgestimmt, d. h. die „Freisetzung“ der Energie wird teilweise durch das eintretende Substrat gesteuert.

Weitere wichtige Gesichtspunkte enzymatischer Reaktionen sind Konzentration und räumliche Gegebenheiten. Ein gravierender Schwachpunkt des herkömmlichen Schlüssel-Schloß-Modells besteht in der Vernachlässigung der äußerst kleinen physiologischen Konzentration des Substrats. Darüber hinaus kann ein Schlüsselloch nur mit Hilfe äußerst präziser Andock-Mechanismen getroffen werden, denn die Reichweite eines Schlüssellochs in den angrenzenden Raum ist gleich Null. Im Hinblick auf den außerordentlich großen Umsatz vieler enzymatischer Prozesse scheint es jedoch nicht sinnvoll, einen Zuführmechanismus anzunehmen, bei dem das in geringer Konzentration vorliegende Substrat nur bei exakter räumlicher Orientierung umgesetzt werden kann. Eine sattelförmige Oberfläche wie ein Catenoid oder ein Helicoid weist dagegen nicht die Einschränkungen wie ein Schlüsselloch auf; jeder Zusammenstoß trifft „ins Schwarze“. Das Substrat

würde von der Sattelfläche eingefangen und zur Region der stärksten Krümmung weitergeleitet, selbst wenn der ursprüngliche Zusammenstoß ein Zufall war.

Im folgenden wollen wir diese Überlegungen durch Beispiele illustrieren. Aus der großen Zahl der Enzyme mit β-Faltblattstruktur<sup>[11]</sup> haben wir solche gewählt, die relativ einfache Veränderungen des Substrats und die Übertragung möglichst weniger Atome oder Gruppen bewirken. Mit diesen Überlegungen sollten jedoch auch Enzyme behandelt werden können, die kompliziertere Reaktionen katalysieren, d. h. auch bei diesen Reaktionen wird der Hauptenergiebedarf durch Enzym-Substrat-Wechselwirkung gedeckt.

*Carboxypeptidase*: ein typisches Stoffwechselenzym mit helicoidem Aufbau. Es baut Proteine ab, indem es Aminosäuren vom C-Terminus her abspaltet. Rein chemisch betrachtet, werden hier Amidbindungen hydrolysiert. In vitro erreicht man dies durch Erhitzen des Amids in Wasser unter Zugabe eines basischen Katalysators. Einerseits soll durch die zugeführte Wärme die Amidbindung gelockert werden (vorübergehende Erzeugung energiereicher Moleküle), andererseits soll das angreifende Nucleophil, hier Wasser, eine höhere Stoßkraft bekommen. Der Katalysator wandelt Wasser einfach in das Hydroxid-Ion als reaktivere Form um. Wenn wir annehmen, daß Carboxypeptidase durch effizient fokussierte van-der-Waals-Kräfte deutlichen „thermischen Druck“ auf das eingefangene Protein ausübt, dann sollte das Zusammenspiel der so entstandenen thermisch angeregten Moleküle – des Proteins mit freiem C-Terminus, der als elektronenreiche Zielgruppe dient, sowie der Wassermoleküle der Umgebung – die Energie zur Hydrolyse der Amidbindung liefern.

*Triosephosphat-Isomerase*: ein archetypisches catenoides Enzym (vgl. Abb. 2). Es katalysiert die Umwandlung von Dihydroxyacetophosphat in Glycerinaldehyd-3-phosphat. Diese Reaktion kann als Redoxreaktion (Oxidation eines Alkohols zu einem Aldehyd und Reduktion eines Ketons zu einem Alkohol) oder als Re-Enolisierung klassifiziert werden. Da hier offensichtlich keine komplizierten chemischen Prozesse ablaufen, sollte die simple thermische Anregung durch die van-der-Waals-Linse Triosephosphat-Isomerase ausreichen, um die Reaktion zu beschleunigen. Wie die Carboxylatgruppe im ersten Beispiel, so könnte hier die Phosphatgruppe als elektronenreiche Zielgruppe fungieren. Es liegt nahe, Phosphatgruppen in biologischen Systemen außer als Puffer auch als elektronenreiche, nicht giftige van-der-Waals-Acceptoren zu betrachten. Die Funktion der Phosphatester als biochemische Energieträger könnte also darin bestehen, daß sie gute van-der-Waals-Zielgruppen und leicht hydrolysierbar sind.

*Pyruvat-Kinase*: ein catenoides Enzym. Es katalysiert die Abspaltung von Phosphat aus Phosphoenolpyruvat unter Bildung von Pyruvat; die freiwerdende Phosphatgruppe wird dabei auf ADP übertragen. Es handelt sich wiederum um eine Folge von einfachen chemischen Reaktionen – der Hydrolyse eines Phosphatesters, gefolgt von einer Re-Enolisierung. Auch hier sollte die thermische Anregung in Gegenwart von Wasser und ADP genügen, um die Reaktion zu starten.

*Lactat-Dehydrogenase*: ein helicoides Enzym. Es katalysiert gemeinsam mit dem Redox-Cofaktor NADH die Reduktion von Pyruvat zu Lactat; das NADH-Molekül ist dabei in der Nähe einer gekrümmten β-Faltblattregion an das Protein gebunden. Die thermische Anregung unterstützt hier die Übertragung des vom Cofaktor gelieferten Hydrid-Ions.

*Albumin*: ein Trägerprotein, dessen Struktur weder als Helicoid noch als Catenoid beschrieben werden kann. Eine präzise Strukturbeschreibung lag uns nur von Präalbumin vor. Nimmt man jedoch an, daß die gekrümmte Natur des Präalbumins bei seiner Umwandlung in Albumin größtenteils erhalten bleibt, lassen sich auch für die Eigenschaften von Albumin interessante Schlußfolgerungen ziehen. Die Struktur kann als willkürlicher Ausschnitt einer Minimalfläche beschrieben werden, wobei die Krümmung der  $\beta$ -Faltblattbereiche geringer ist als bei den bisher beschriebenen Proteinen. Da Albumin als Trägerprotein für Fettsäuren dienen soll, scheint diese relativ schwache Krümmung plausibel. Nach Gleichung (1) hängt die Wirkung einer gekrümmten Oberfläche auf ein eintretendes Molekül vom Ausmaß der Krümmung ab. Die Krümmung eines Trägerproteins sollte zwar stark genug sein, um das zu transportierende Molekül festzuhalten, jedoch nicht so stark, daß der Transport beeinträchtigt oder die Abspaltung vom Protein zu energieaufwendig ist. Interessanterweise werden langkettige Fettsäuren besser festgehalten als kurzkettige und ungesättigte wiederum besser als gesättigte. Nimmt man an, daß van-der-Waals-Kräfte das Einfangen und Festhalten der Moleküle bewirken, so sollte man eben dieses Verhalten erwarten.

In diesem Zusammenhang ist der Gedanke verlockend, daß die extreme Gifigkeit von Substanzen wie 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo[1,4]dioxin (TCD) auf einer Wechselwirkung mit stark gekrümmten Proteinen beruhen könnte. Ist nämlich das mit dem Protein wechselwirkende Molekül elektronenreich und stabil – beides Eigenschaften von TCD – so könnte genug Wärme entstehen, um das Protein ernstlich zu schädigen. Beim Zusammenbruch der Proteinstruktur würde TCD frei, könnte erneut von einem intakten Protein eingefangen werden und würde so als „ewiges Geschoß“ sein Zerstörungswerk fortsetzen. Andere chlorierte Dioxine sind, wohl aufgrund der anderen Anordnung der Chloratome, weniger giftig als TCD, das wahrscheinlich wegen seiner schlanken, symmetrischen Gestalt gut an jedes beliebige Proteinmolekül paßt.

Noch stärker verlockend ist die Aussicht, diese Erkenntnisse als beispiellose Basis für die Entwicklung antiviraler Substanzen zu nutzen. Die Proteinhülle von Polioviren besteht aus vier diskreten Proteinen, von denen drei eine Röhrenstruktur haben. Unserer Meinung nach benutzt das Virus diese Röhren zum Angriff auf die Gastzelle. Nach Anlagerung an die Zellmembran werden deren Bestandteile in die Röhre gezogen. Dabei entsteht ein Loch, durch das das Virus – mit fatalen Auswirkungen für die Zelle – schließlich sein genetisches Material in die Zelle injiziert.

Bestätigt sich dieses Modell der Virusaktivität, könnte es Ansatzpunkte für den Kampf gegen Viren liefern. Um die Aktivität der Hüllproteine zu unterbinden, könnten Moleküle aufgebaut werden, die entweder die Röhreneingänge irreversibel blockieren oder wie TCD die Proteine vollständig zerstören.

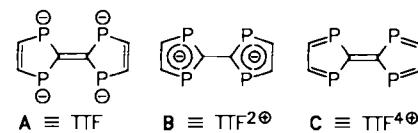
Wir nehmen an, daß die Erkenntnis der starken Krümmung von Proteinstrukturen ein völlig neues Licht auf das Verhalten von Proteinen wirft. Die Fokussierung von nichtbindenden Wechselwirkungen durch Krümmung könnte auch den Energiebedarf bei anderen biochemischen Vorgängen decken helfen, z.B. beim Transport durch Membranen, bei Antigen-Antikörper-Wechselwirkungen, beim Zusammenfügen von mRNA-Vorläufern, bei der Aktivität der tRNA in der Proteinsynthese und bei der Sauerstoffsaufnahme des Hämoglobins.

- [1] A. H. Louie, R. L. Somorjai, *J. Theor. Biol.* 98 (1982) 189; *J. Mol. Biol.* 168 (1983) 143; *Bull. Math. Biol.* 46 (1984) 745.
  - [2] J. A. McCammon, P. G. Wolynes, M. Karplus, *Biochemistry* 18 (1979) 927.
  - [3] S. Andersson, S. T. Hyde, H. G. von Schnering, *Z. Kristallogr.* 168 (1984) 1.
  - [4] S. T. Hyde, S. Andersson, *Z. Kristallogr.* 168 (1984) 221; 170 (1985) 225; 174 (1986) 225.
  - [5] S. T. Hyde, S. Andersson, B. Ericsson, K. Larsson, *Z. Kristallogr.* 168 (1984) 213.
  - [6] A.-C. Eliasson, K. Larsson, S. Andersson, S. T. Hyde, R. Nesper, H. G. von Schnering, *Starch/Stärke* 39 (1987) 147.
  - [7] S. T. Hyde, S. Andersson, K. Larsson, *Z. Kristallogr.* 174 (1986) 237.
  - [8] R. Nesper, H. G. von Schnering, *Z. Kristallogr.* 170 (1985) 138; *Angew. Chem.* 98 (1986) 111; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 25 (1986) 110.
  - [9] R. Thomasson, S. Lidin, S. Andersson, *Angew. Chem.* 99 (1987) 1056; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 1017.
  - [10] Z. Blum, S. Lidin, R. Thomasson, *J. Solid State Chem.*, im Druck.
  - [11] J. S. Richardson, *Adv. Protein Chem.* 34 (1981) 167.

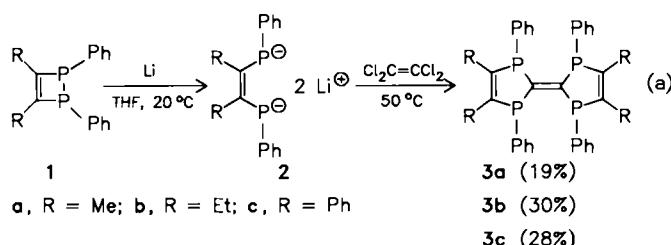
## Tetraphosphafulvalene

Von *Nicole Maigrot, Louis Ricard, Claude Charrier und François Mathey\**

Zur Zeit wird intensiv nach neuen synthetischen Metallen und Supraleitern gesucht<sup>[1]</sup>. Das polymere Rückgrat vieler dieser Stoffe basiert auf der Tetrathiafulvalen (TTF)<sup>[2]</sup>- oder der Tetraselenaufvalenstruktur<sup>[3]</sup>. Kürzlich konnten diese Grundbausteine durch die Tetratelluraufvaleneinheit ergänzt werden<sup>[4]</sup>. Eine nochmalige Erweiterung ist vorstellbar, indem Schwefel durch Phosphor ersetzt wird. Die resultierende Tetraphosphaufvaleneinheit öffnet einen Weg zu drei Systemen, die isoelektronisch zu TTF oder seinen Kationen sind (A - C), sich jedoch in ihrem Redox- und Koordinationsverhalten von ihren TTF-Analoga unterscheiden dürften.



Als Ausgangsverbindung für die Synthese des bislang unbekannten Tetraphosphafulvalengerüsts wählten wir das mit einer Vielzahl von Substituenten erhältliche 1,2-Dihydrodiphosphetsystem **1<sup>[5]</sup>**. Durch Spaltung der PP-Bindung mit Lithium in THF gelangt man zu Dianionen **2<sup>[6]</sup>**, die mit Tetrachlorethen in mäßiger, doch akzeptabler Ausbeute die gewünschten Tetraphosphafulvalene **3** (≈ Typ A) ergeben [Gl. (a)].



[\*] Prof. F. Mathey, Dr. N. Maigrot, Dr. L. Ricard, Dr. C. Charrier  
Laboratoire de Chimie du Phosphore et des Métaux de Transition  
DCPH Ecole Polytechnique  
F-91128 Palaiseau Cedex (France)