

Aufgabe 1: Thrombin

- a) Funktion von Thrombin: Wenn Prothrombin enzymatisch gespalten wird, entsteht Thrombin. Thrombin ist ein wichtiges Enzym der Blutgerinnung und eine Serinprotease, die lösliches Fibrinogen in Fibrinopeptide spaltet. Die entstehenden Fibrinmonomere lagern sich zum unlöslichen faserförmigen Fibrin zusammen, werden durch die Transglutaminase quervernetzt und bilden so ein Gerinnsel.¹ Desweiteren fördert Thrombin die Aktivität von Blutplättchen und deren Aggregation. Es hat Funktionen in der Bluthomöostase, Entzündung und Wundheilung.²

Relevanz als therapeutisches Target: Pharmakologisch interessant ist Thrombin bei thrombotischen Erkrankungen, in Bezug auf Herzinfarkt und zur Herabsetzung der Blutgerinnungsfähigkeit nach Operationen³. Einer der wichtigsten Thrombinhemmer ist Dabigatran⁴. Es wird nach bestimmten Operationen sowie zur Vorbeugung von Schlaganfällen verwendet.⁵

- b) Die häufigsten Kontraindikationen von Thrombin-Inhibitoren sind die Neigung zu Blutungen⁶ und Überempfindlichkeit. Außerdem kann es je nach Wirkstoff zu schweren Leber-/Nierenfunktionsstörungen kommen.⁷

- c) Serinproteasen basieren auf einem Serinrest als Teil der katalytischen Triade und spalten Peptidbindungen über Hydrolyse.^{8 9}

Der katalytische Mechanismus von Serinproteasen läuft wie folgt ab¹⁰:

- 1) Das Histidin der Protease deprotoniert das Serin der Protease und es kommt zum nukleophilen Angriff des aktivierten Serins auf das Carbonyl-Kohlenstoff der Peptidbindung des Polypeptidsubstrats. Ein tetraedrisches Zwischenprodukt zwischen Protease und Substrat entsteht (s. Abb.1 Schritt 1).
- 2) Im zweiten Schritt bildet sich das Acyl-Enzym Zwischenprodukt in dem sich die Doppelbindung des Sauerstoffs des Substrats wieder ausbildet und es so zur Spaltung des Polypeptids kommt. (s. Abb. 1 Schritt 2)
- 3) Im nächsten Schritt wird das Aminprodukt des Polypeptids, das über eine Wasserstoffbrückenbindung an das Histidin der Protease gebunden ist, durch Wasser ersetzt. (s. Abb. 1 Schritt 3)
- 4) Ein zweites tetraedrisches Zwischenprodukt bildet sich in dem der Stickstoff des Histidins mit einem Proton des Wassermoleküls interagiert und eine kovalente Bindung eingeht. Das nun negativ geladene Sauerstoff des Moleküls attackiert das Carbonyl-Kohlenstoff des

¹ Biochemie, Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer, 7. Auflage, Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013, ISBN 978-3-8274-2988-9

² <https://www.uniprot.org/uniprot/P00734> (29.04.2020), <https://en.wikipedia.org/wiki/Thrombin> (29.04.2020)

³ Prof. Rarey, Vorlesung CIW, Kapitel 1, Folie 32

⁴ <https://flexikon.doccheck.com/de/Thrombinhemmer> (29.04.2020)

⁵ <https://de.wikipedia.org/wiki/Dabigatranetexilat> (29.04.2020)

⁶ Kam, P. C. A., Kaur, N., & Thong, C. L. (2005). Direct thrombin inhibitors: pharmacology and clinical relevance. *Anaesthesia*, 60(6), 565-574., DOI: 10.1111/j.1365-2044.2005.04192.x

⁷ <https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Thrombin-Inhibitoren> (29.04.2020),

⁸ <https://de.wikipedia.org/wiki/Serinproteasen> (29.04.2020)

⁹ Biochemie, Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer, 7. Auflage, Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013, ISBN 978-3-8274-2988-9

¹⁰ Biochemistry, D. Voet, J.G. Voet, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., ISBN 13 978-0470-57095-1, ISBN 13 978-0470-91745-9

vorigen C-Terminus des Polypeptids und der Sauerstoff am angegriffenen Kohlenstoff wird negativ geladen. (s. Abb. 4 Schritt 4)

- 5) Im letzten Schritt bildet das zuvor negativ geladene Sauerstoff des früheren C-Terminus erneut eine Doppelbindung zum Kohlenstoff aus und so wird der C-Terminus des gespaltenen Polypeptids vom Serinrest der Protease gespalten. Die Reaktion bringt ein Carboxyl-Produkt und ein erneut aktives Enzym hervor. (s. Abb. 1 Schritt 5)

Das negativ geladene Sauerstoffatom des acylierten Serins wird dabei meist (z.B. bei Chymotrypsin) durch eine Oxyaniontasche stabilisiert. Das ist ein Bereich im Protein bei dem NH-Gruppen mit einer negativen Ladung wechselwirken und sie so stabilisieren.¹¹

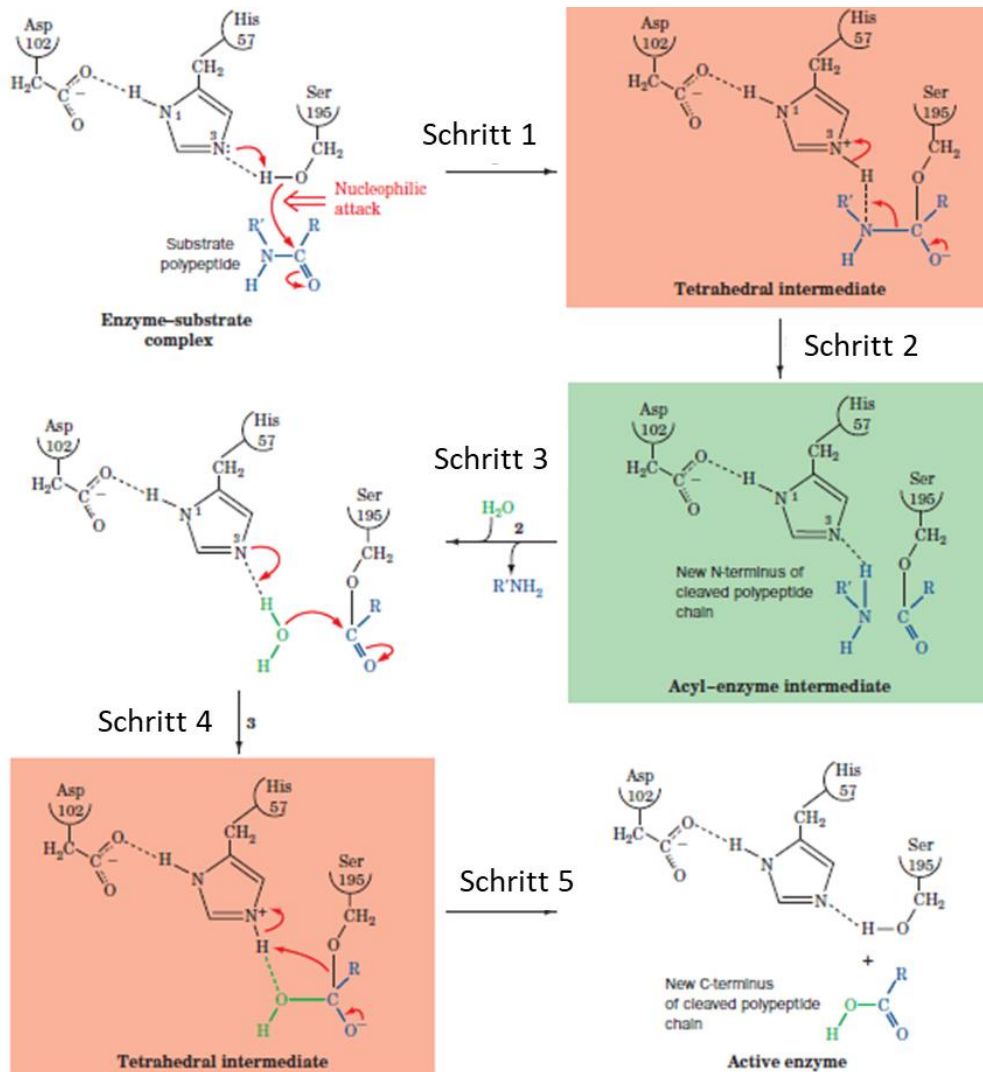


Abbildung 1: Katalytischer Mechanismus der Serinproteasen; abgeändert aus (Voet&Voet, Biochemistry, s. Quelle 6) ¹²

Im Körper natürlich vorkommende Substrate, welche von Thrombin verarbeitet werden, sind zum einen das bereits erwähnte Fibrinogen und zum anderen die Faktoren V, VII, VIII und XIII sowie im Komplex mit Thrombomodulin das Protein C.¹³

¹¹ Biochemie, Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko, Lubert Stryer, 7. Auflage, Springer Spektrum, Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2013, ISBN 978-3-8274-2988-9

¹² Biochemistry, D. Voet, J.G. Voet, 4th Edition, John Wiley & Sons, Inc., ISBN 13 978-0470-57095-1, ISBN 13 978-0470-91745-9, Chapter 15. Enzymatic Catalysis, Figure 15-23 "Catalytic mechanism of the serine proteases"

¹³ <https://www.uniprot.org/uniprot/P00734> (29.04.2020)

- d) **Desirudin** ist ein direkter und hoch-selektiver Thrombininhibitor. Es wird subkutan verabreicht und bindet reversibel, extrem stark und nicht-kovalent an das aktive Zentrum von Thrombin. Dadurch hindert es die Spaltung von Fibrinogen zu Fibrin, die Aktivierung von Koagulationsfaktoren (V, VII, XIII) sowie eine durch Thrombin induzierte Aggregation von Blutplättchen und führt dadurch zu einer dosisabhängigen Verlängerung der Thromboplastinzeit (aPTT).¹⁴ Als verschreibungspflichtiges Medikament heißt Desirudin Iprivask und wurde in den U.S.A. erstmalig 2003 zugelassen.¹⁵ Ein weiterer parenteral (hier intravenös) verabreichter Wirkstoff ist **Bivalirudin**.¹⁶ Bivalirudin wird als Angiomax vertrieben und wurde von der FDA erstmalig 2000 zugelassen.¹⁷

¹⁴ <https://www.drugbank.ca/drugs/DB11095> (29.04.2020)

¹⁵ https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/021271s006lbl.pdf (29.04.2020)

¹⁶ <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00006> (29.04.2020)

¹⁷ https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2016/020873s036lbl.pdf (29.04.2020)