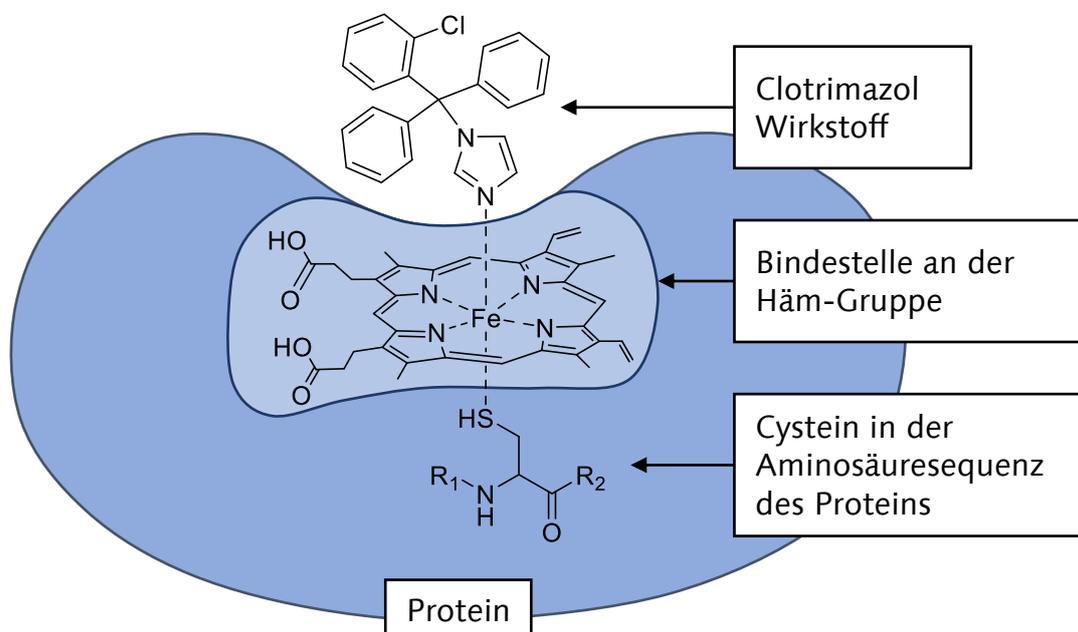


# Hemmung von Enzymen mit Clotrimazol

## Sachinformationen

Der Wirkstoff Clotrimazol wird zur Bekämpfung von Pilzinfektionen eingesetzt. Dabei nutzt man die Wechselwirkung von Clotrimazol mit einer Protein-Klasse, welche enzymatisch in Pilzen für die Biosynthese von Membranbestandteilen mitverantwortlich ist. Durch die Hemmung dieser sogenannten Cytochrom-Proteine wird das Pilzwachstum gehindert und bei höheren Konzentrationen eine fungizide Wirkung entfaltet. Innerhalb der Cytochrom-Proteine sind Eisen(II)-Ionen, die in einer sog. Häm-Gruppe komplexiert vorliegen, verantwortlich für die Wirkung der Enzyme. Clotrimazol kann durch die in Abbildung 1 dargestellte Koordination an Eisen(II)-Ionen innerhalb der Häm-Gruppe die aktive Stelle im Protein blockieren.



**Abbildung 1:** Darstellung der Interaktion von Clotrimazol mit der Häm-Gruppe in Cytochrom-Proteinen sowie die Koordination der Häm-Gruppe an die Aminosäuresequenz des Proteins.<sup>1</sup>

## Aufgabe zur Strukturformel: (Musterlösungen in Rot)

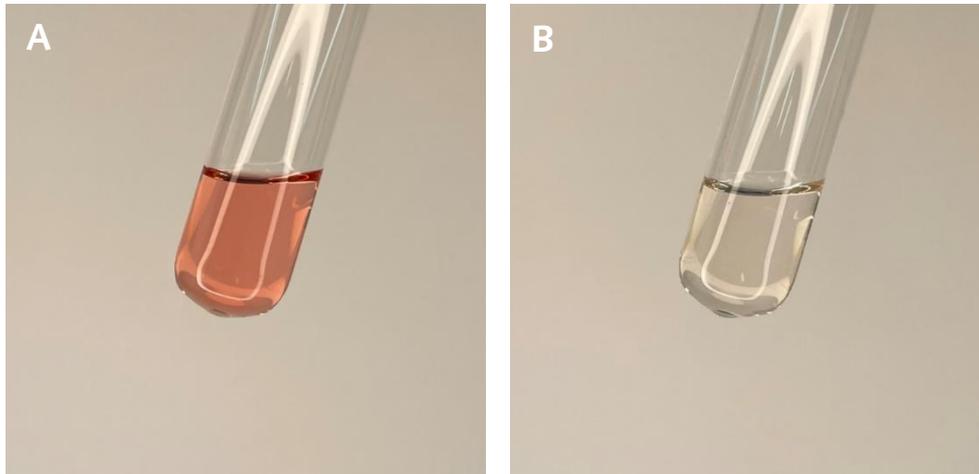
**Entscheide** mithilfe der Strukturformel **begründet**, ob Clotrimazol wasserlöslich ist.

Aufgrund der drei aromatischen, hydrophoben Benzolringe, sowohl mit als auch ohne Chlorid-Substituent, ist die Wasserlöslichkeit von Clotrimazol sehr gering. Zwar ist der Imidazolring u.a. aufgrund der beiden Stickstoffatome wasserlöslich, jedoch überwiegt der hydrophobe Effekt der Benzolringe.

<sup>1</sup> Die Größenverhältnisse von Protein und Molekülen stimmen nicht mit der Realität überein.

## Eisen nachweisen

In der Häm-Gruppe liegt Eisen gebunden als zweifach geladene Eisen(II)-Ionen vor. Es wurden verschiedene Nachweis-Methoden entwickelt, die Eisen(II)-Ionen nachweisen können. Einer dieser Nachweise verwendet Bathophenanthrolin, das mit hydratisierten, also in Wasser gelösten Eisen(II)-Ionen eine rote Färbung der Lösung hervorruft.



**Abbildung 2:** Eisen(II)-Ionen in wässriger Lösung mit Bathophenanthrolin (A) sowie Eisen(II)-Ionen in wässriger Lösung mit Clotrimazol und Bathophenanthrolin (B).

### Aufgabe zum Nachweis

1. **Beschreibe** die Versuchsergebnisse, die in Abbildung 2 dargestellt sind.
2. **Werte** die Ergebnisse anschließend in der rechten Spalte **aus**.

Beobachtung	Auswertung
<b>(A)</b> Die Lösung mit Bathophenanthrolin weist einen deutlich roten Farbeindruck auf. Die Lösung ist klar.	Die Lösung erscheint rot, weil das Nachweisreagenz (Bathophenanthrolin) mit hydratisierten Eisen(II)-Ionen eine Verbindung eingeht.
<b>(B)</b> Die Lösung mit Clotrimazol weist keinen Farbeindruck auf und erscheint farblos. Auch diese Lösung ist klar.	Im Vergleich zwischen den Beobachtungen von A und B zeigt sich, dass außer Clotrimazol alle Versuchsparameter gleich sind. Der Unterschied der Beobachtung muss also auf Clotrimazol zurückzuführen sein. Die in Wasser gelösten Eisen(II)-Ionen werden von Clotrimazol gebunden, weshalb die Ionen nicht durch Bathophenanthrolin nachgewiesen werden können und die Lösung farblos bleibt.

### **Erklärungen zur Auswertung:**

Der Versuch kann die für die Wirkung von Clotrimazol notwendige Komplexierung von Eisen(II)-Ionen nachweisen. Dies geschieht jedoch gewissermaßen indirekt, indem ein Nachweis auf diese Ionen negativ ausbleibt. Die kann für Schüler:innen eine Herausforderung darstellen, weil nicht die Interaktion selbst durch das Nachweisreagenz aufgezeigt werden kann.

Die Komplexierung von Eisen(II)-Ionen sowohl innerhalb der Häm-Gruppe als auch durch den Wirkstoff und das Nachweisreagenz wird als „Bindung“ abgekürzt, auch wenn eine Komplexierungsreaktion keine kovalente Bindung darstellt. In der Abbildung 1 werden deshalb gestrichelte Linien für die Komplexierung des zentralen Eisen(II)-Ions verwendet.

### **Erklärungen zur Wirkung des Arzneistoffes Clotrimazol:**

Der Arzneistoff Clotrimazol hemmt in Pilzorganismen die Lanosterol-Demethylase mit einer Häm-Gruppe als nicht kovalent gebundener, sog. „prothetischer“ Gruppe. Konkret wird dabei im Biosyntheseweg von Ergosterol die Bildung von Desmethyl Lanosterol aus dem Substrat Lanosterol gehemmt. Da Ergosterol als integraler Pilzmembranbestandteil funktioniert, wird durch die Hemmung dieses Enzyms und dem daraus folgenden Ergosterol-Mangel die Membranintegrität der Pilze gestört und eine fungizide Wirkung entfaltet. Innerhalb des Cytochrom-Proteins sind Eisen(II)-Ionen, die in einer Häm-Gruppe komplexiert vorliegen, verantwortlich für die mittels molekularem Sauerstoff katalytisch-oxidative Funktion des Enzyms an dem Substrat Lanosterol. Dieselbe Koordination von Sauerstoff an Eisen(II)-Ionen findet auch innerhalb von Hämoglobin-Proteinen statt und ist verantwortlich für den Sauerstoff-Transport im Blut. Clotrimazol kann durch die in Abbildung 1 gezeigte Koordination am Eisen(II)-Ion innerhalb der Häm-Gruppe von Cytochrom-Proteinen diese katalytisch aktive Stelle im Protein entscheiden blockieren und somit die oxidative Sauerstoffreaktion am Substrat unterbinden.