

Aula de **Bioquímica I**

Tema:

Enzimas

Prof. Dr. Júlio César Borges

Depto. de Química e Física Molecular – DQFM

Instituto de Química de São Carlos – IQSC

Universidade de São Paulo – USP

E-mail: borgesjc@iqsc.usp.br

Reações Biológicas

→ Obedecem os mesmos princípios que as reações químicas

- Porém são mais rápidas: fator de 10^{17} vezes



Não catalisada

→ $V = 1,3 \times 10^{-1} \text{ (s}^{-1}\text{)}$

Catalisada pela Anidrase carbônica

→ $V = 1,0 \times 10^{+6} \text{ (s}^{-1}\text{)}$

Catalisadoras biológicas: Enzimas

→ Alta eficiência e grande poder catalítico;

→ Convertem diferentes tipos de Energia;

→ Atuam em condições reacionais brandas;

→ São específicas quanto ao substrato/produto e/ou localização tecidual;

→ Podem Catalisar um conjunto de reações específicas relacionadas – evitam reações competidoras;

→ Podem ser reguladas por diferentes estratégias (ativadas ou inibidas);

Enzimas (Proteínas) e Ribosimas (RNAs)

Enzimas: Nomenclatura

- Muitas enzimas são conhecidas pelo seu nome comum
- Sem informação sobre que tipo de reação ela catalisa

→ 1964 – Enzyme Commission (EC) → International Union of Biochemistry

-Tentativa de normatizar a nomenclatura das enzimas segundo o tipo de reação

Ex: NMP Cinase → transfere um Fosfato do ATP para o NMP.

→ O nº EC 2.7.4.4 designa especificamente o tipo de reação que a Enzima catalisa.

As Seis Classes Principais de Enzimas

Classe	Tipo de Reação	Exemplo
1. Oxidorredutases	Óxido-redução	Lactato desidrogenase
2. Transferases	Transferência de grupamento	Nucleosídeo monofosfato cinase (NMP cinase)
3. Hidrolases	Reações de hidrólise (transferência de grupamentos funcionais para água)	Quimotripsina
4. Liasas	Remoção de grupamentos formando dupla ligação, ou adição a dupla ligação	Fumarase
5. Isomerasas	Isomerização (transferência de grupamentos ou outras reações intramoleculares)	Triose fosfato isomerase
6. Ligases	Ligação de dois substratos à custa de hidrólise de ATP ou outro NTP	Aminoacil-tRNA sintetase

Termodinâmica da reação

Critério de espontaneidade: Variação da Energia Livre – ΔG

→ Para uma reação ocorrer espontaneamente → $\Delta G < 0$

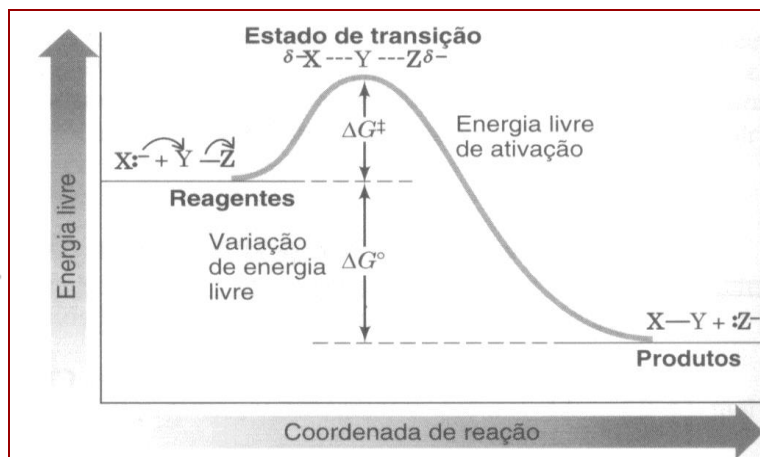
Depende do estado Inicial e Final



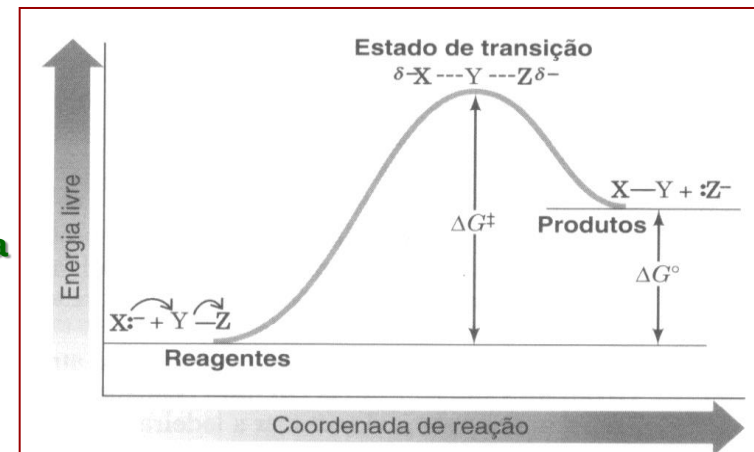
$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_{eq}$$

$$K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

Reação Exergônica



Reação Endergônica



→ A espontaneidade não diz se ela vai ocorrer em uma velocidade mensurável:

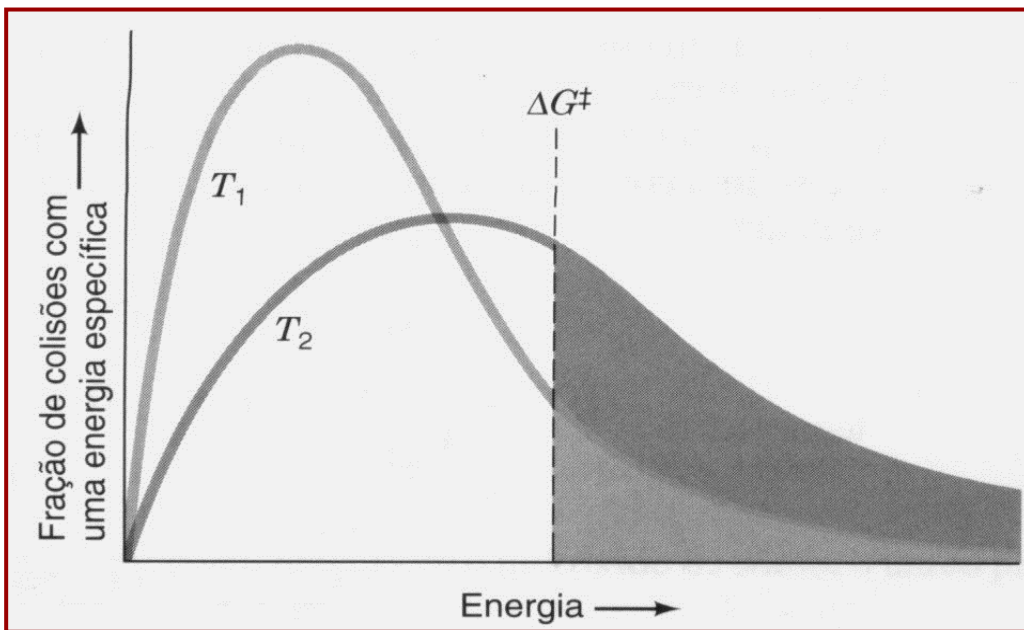
→ Depende da **Barreira de energia** para a formação do **Estado de transição**

Barreira de energia → **Variação da Energia livre de ativação (ΔG^\ddagger)**

→ **Domina a Cinética da Reação**

A Energia Livre de ativação

Velocidade da reação aumenta com a temperatura



Quanto maior a T, maior o número de colisões entre moléculas com ΔG^\ddagger adequadas para a reação.

“Superação da Barreira de energia”

Reações não-enzimáticas

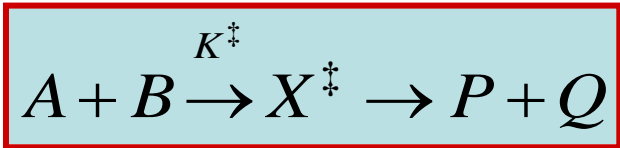
Em determinadas reações, dependendo da Temperatura, serão obtidos produtos diferentes por reações de mecanismos concorrentes – SN_1 versus SN_2 :

- **Termodinâmicos** → ΔG favorável com uma Alta ΔG^\ddagger
- **Cinéticos** → ΔG favorável com um ΔG^\ddagger menor

Enzimas

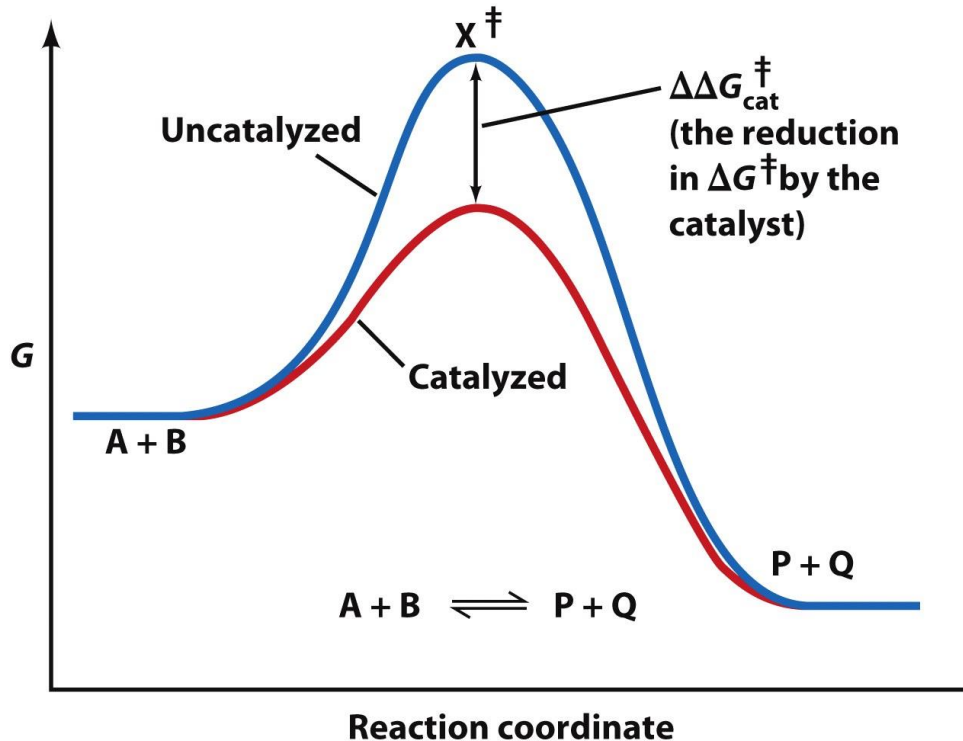
→ Estabilizam o estado de transição de uma reação

→ Elas reduzem a ΔG^\ddagger – Energia livre de ativação



$$K^\ddagger = \frac{[X^\ddagger]}{[A][B]}$$

→ Quanto maior a $[X^\ddagger]$ → maior a velocidade da reação → $V \propto [X^\ddagger]$



$$\Delta G^\ddagger = G_{X^\ddagger} - G_S = -RT \ln K^\ddagger$$

$$V = v[X^\ddagger] = \frac{kT}{h} [S] e^{\frac{-\Delta G^\ddagger}{RT}}$$

k = Constante de Boltzmann

h = constante de Planck

$$\Delta\Delta G^\ddagger_{cat} = \Delta G^\ddagger_{n-cat} - \Delta G^\ddagger_{Cat}$$

Enzimas

→ Estabilizam o estado de transição de uma reação

→ Elas reduzem a ΔG^\ddagger – Energia livre de ativação

$$V = v[X^\ddagger] = \frac{kT}{h} [S] e^{\frac{-\Delta G^\ddagger}{RT}}$$

$$\frac{kT}{h} = 6,2 \times 10^{12} \text{ seg}^{-1} \text{ à } 25^\circ \text{C}$$

→ Se $\Delta G^\ddagger_{n-cat} = 6,82 \text{ kcal/mol} \rightarrow K_{eq} = [X^\ddagger]/[A][B] = 1 \times 10^{-5}$

→ $V = 6,2 \times 10^7 \text{ seg}^{-1}$

Se $\Delta G^\ddagger_{cat} = 5,46 \text{ kcal/mol}$

$\Delta \Delta G^\ddagger = 1,36 \text{ kcal/mol} \rightarrow K_{eq} = [X^\ddagger]/[A][B] = 1 \times 10^{-4}$

→ $V = 6,2 \times 10^8 \text{ seg}^{-1}$

→ Uma pequena redução na ΔG^\ddagger resulta num grande aumento na Velocidade da Reação

→ O aumento da Velocidade da reação é dado por:

$$\Delta \Delta G^\ddagger_{cat} = \Delta G^\ddagger_{n-cat} - \Delta G^\ddagger_{Cat}$$

$$e^{\Delta \Delta G^\ddagger_{cat} / RT}$$

K'eq	ΔG^0 (kcal/mol)
0,00001	6,82
0,0001	5,46
0,001	4,09
0,01	2,73
0,1	1,36
1	0
10	-1,36
100	-2,73
1000	-4,09
10000	-5,46
100000	-6,82

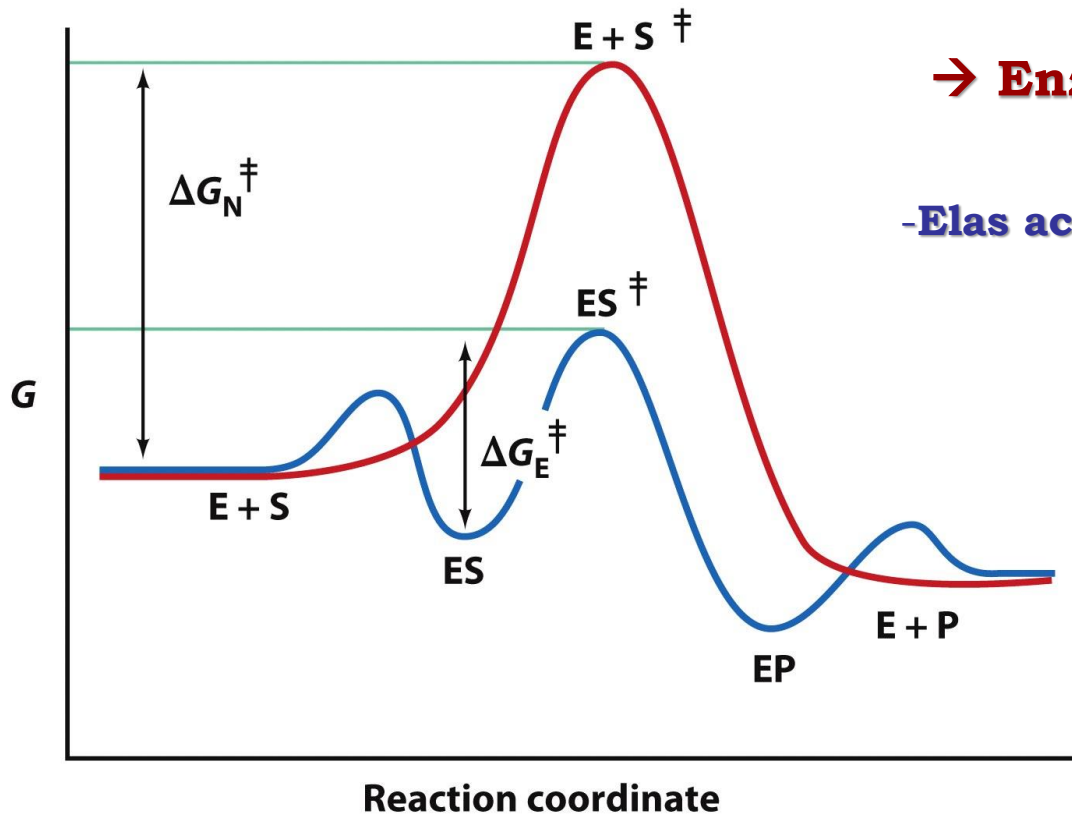
Enzimas

Formação do complexo “Enzima-Substrato — ES”

“Orientação favorável”



-As Enzimas “criam” um novo caminho para a reação química estabilizando o ET.



→ Enzimas não alteram o equilíbrio de uma reação

-Elas aceleram ambos os sentidos da reação pelo mesmo fator!!!

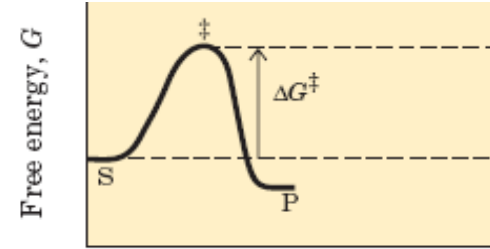
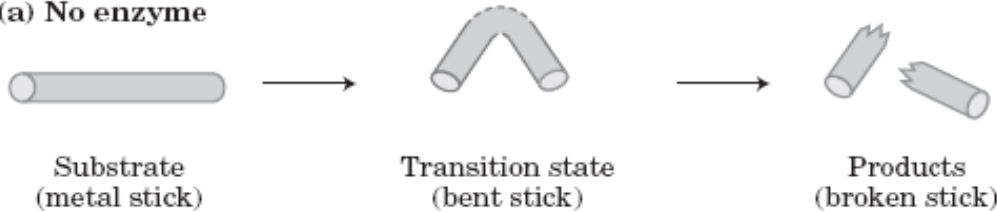
$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_{eq}$$

$$K_{eq} = \frac{[E][P]}{[E][S]} = \frac{[P]}{[S]}$$

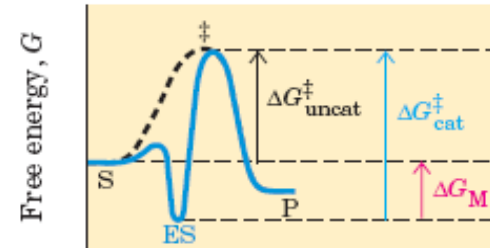
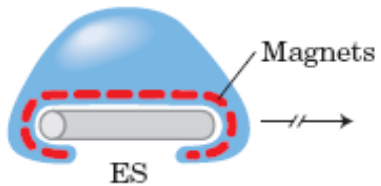
Enzimas

As Enzimas apresentam Alta afinidade pelo Estado de Transição Reacional

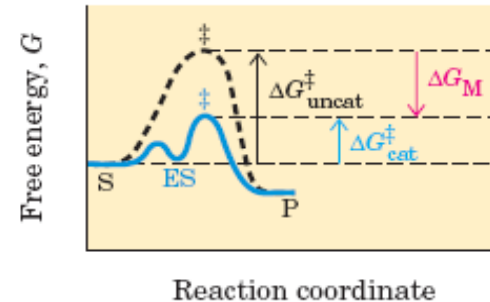
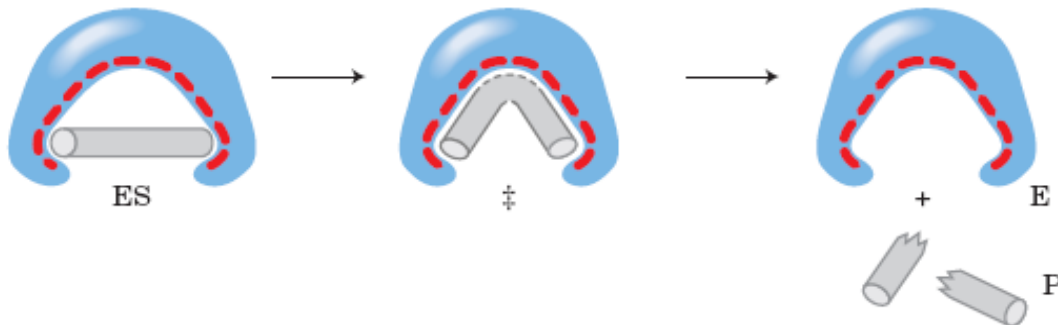
(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate



(c) Enzyme complementary to transition state

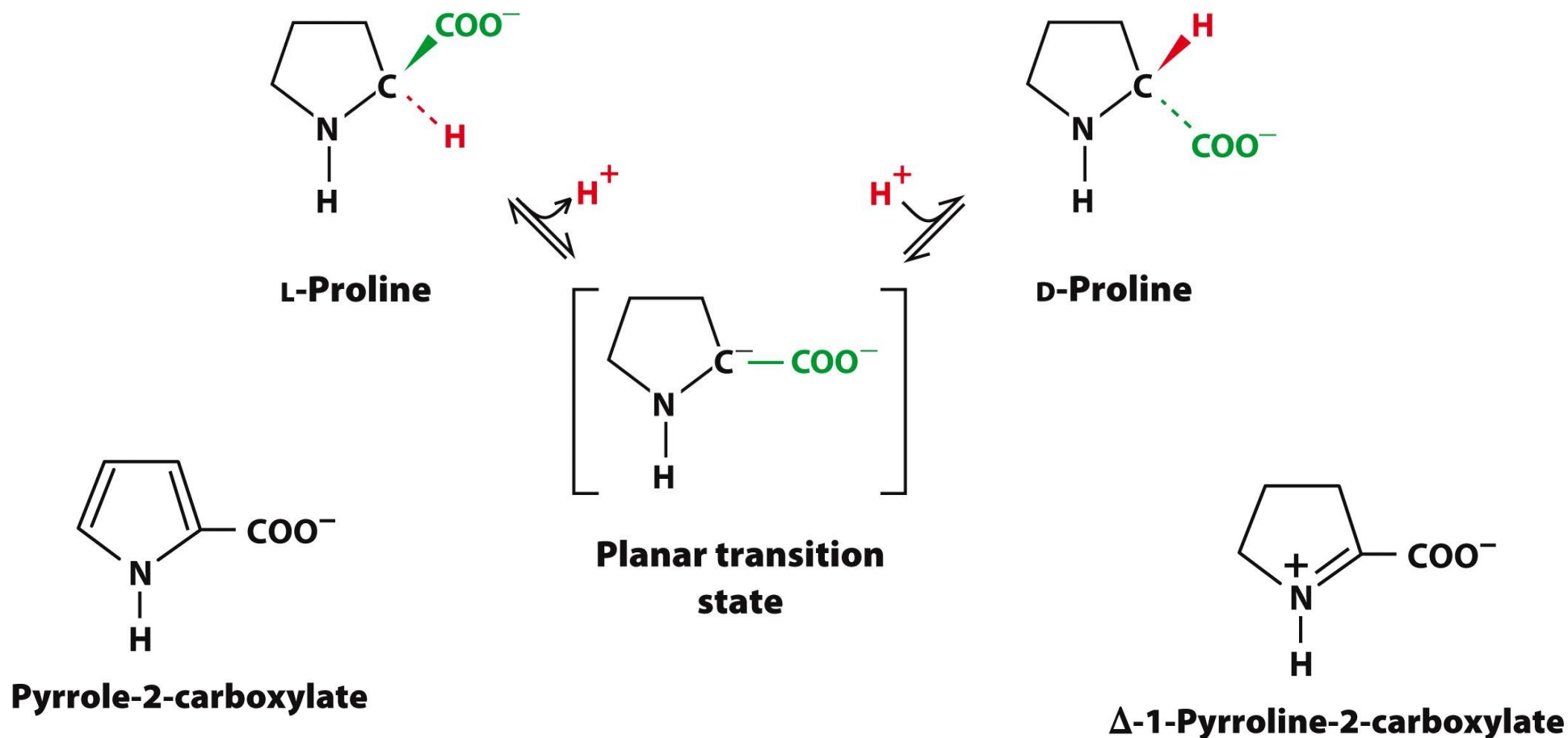


As enzimas estabilizam a formação do Estado de Transição

Enzimas

As Enzimas apresentam Alta afinidade pelo Estado de Transição Reacional

→ As enzimas estabilizam a formação do Estado de Transição



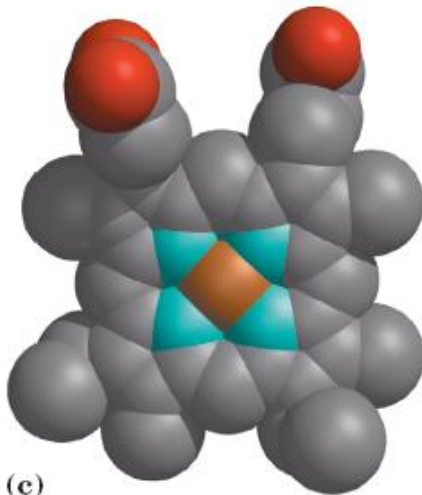
O Pirrol-2-carboxilato tem afinidade 160 x maior do que a Prolina

Enzimas

As Enzimas apresentam Alta afinidade pelo Estado de Transição Reacional

→ As enzimas estabilizam a formação do Estado de Transição

Heme



Anticorpos Catalíticos



Fig. 8.25 Uso de análogos de estado de transição para gerar anticorpos catalíticos.

Importância

Desenvolvimento de inibidores análogos do estado de transição

- Estudos do mecanismo catalítico
- Desenvolvimento de Fármacos

Indústria QUÍMICO-FARMACÊUTICA → \$\$\$\$\$

Enzimas: Sítio Ativo

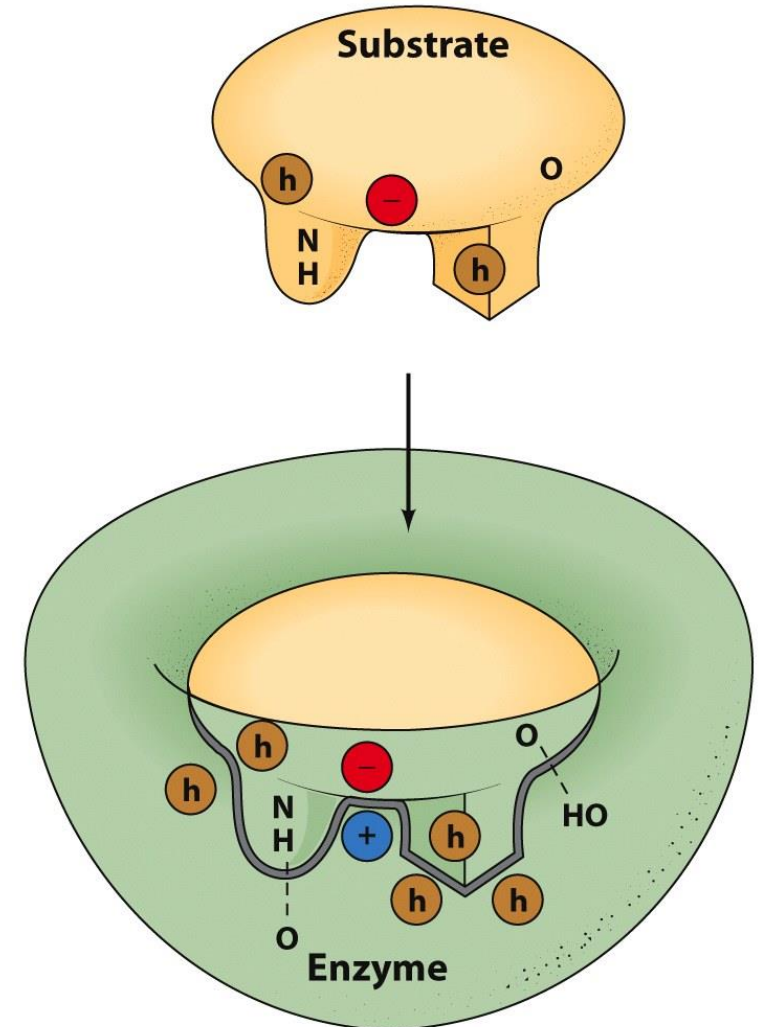
- Pequena porção da enzima
- Interagem com substratos por ligações fracas
- Formam fendas e possuem arranjo definido

O SÍTIO ATIVO é um micro-ambiente

- Selecionar substratos complementares
- Especificidade eletrônica e geométrica
- Influência nas propriedades das cadeias laterais
 - São quirais
- São estereoespecíficas

Tipos de interações Enzimas-substratos

- van der Waals
- Eletrostáticas
- Ligações de hidrogênio
- Hidrofóbicas



Enzimas: Sítio Ativo

Afinidade Enzima Substrato - ES

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln K_{eq}$$

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$



$$K_{eq} = \frac{k_1}{k_2} = \frac{[ES]}{[E][S]}$$

Afinidade Enzima Substrato - ES

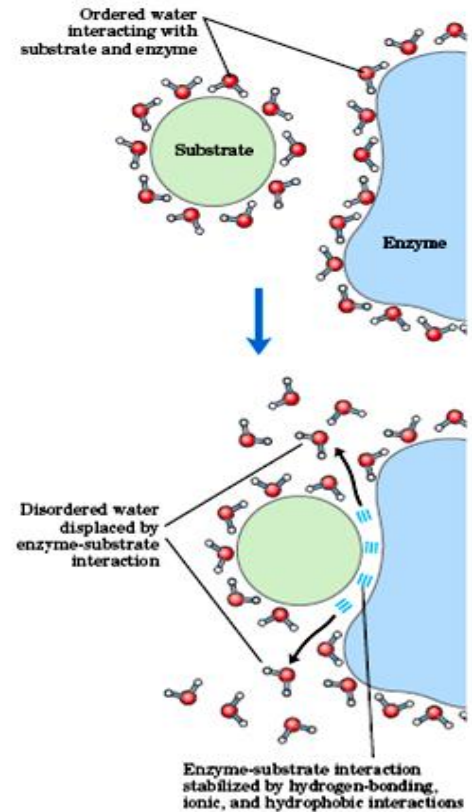
→ DEPENDE da contribuição da ΔH e ΔS

- Formação de interações energéticas (ΔH)

- Expulsão de água do Sítio ativo (ΔS)

- Liberação da água de solvatação do substrato (ΔS)

- Flexibilidade do Substrato no Sítio Ativo (ΔS)



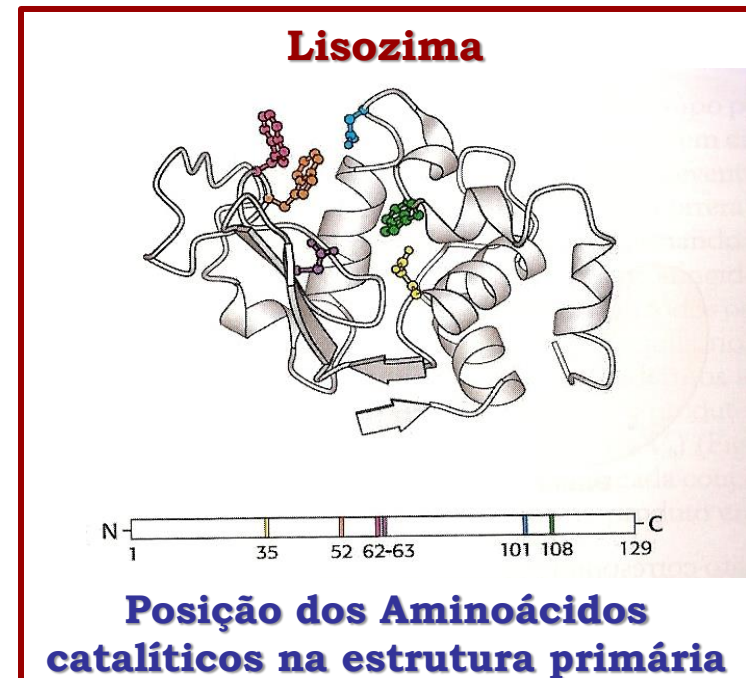
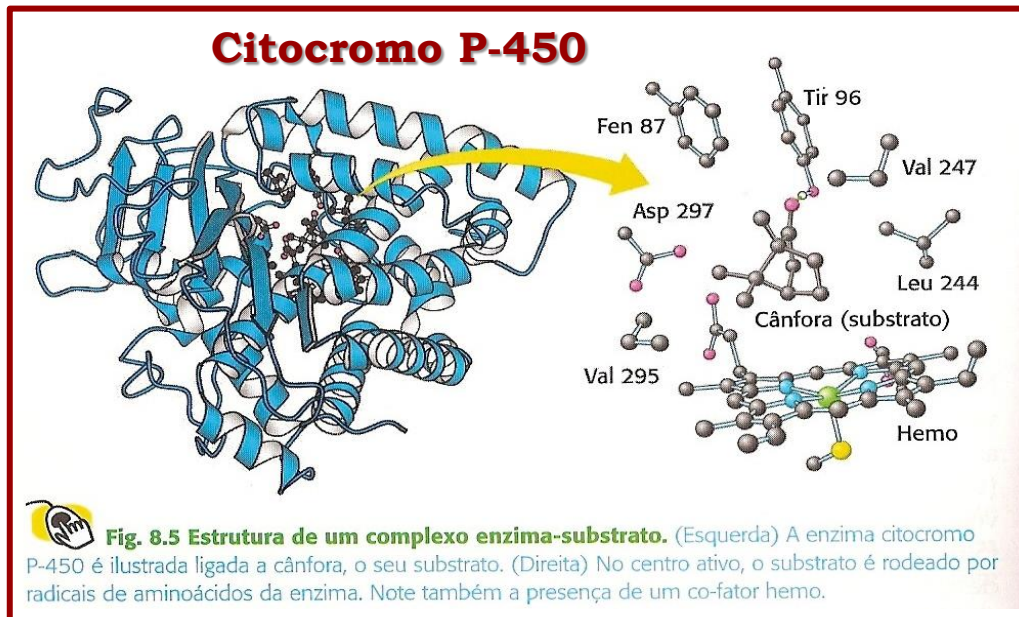
A especificidade de uma enzima é devida à interação precisa do substrato com a enzima. Tal precisão é resultado da complexa estrutura 3D da proteína/enzima

Enzimas: Sítio Ativo

→ Pequena porção da enzima

→ Contam com aminoácidos ou “ grupamentos catalíticos” provenientes de diferentes posições na estrutura primária da proteína

→ Os demais aminoácidos formam a estrutura 3D da enzima para “POSICIONAR” os Aminoácidos “catalíticos” no sítio ativo → Funcionam como um “andaime”

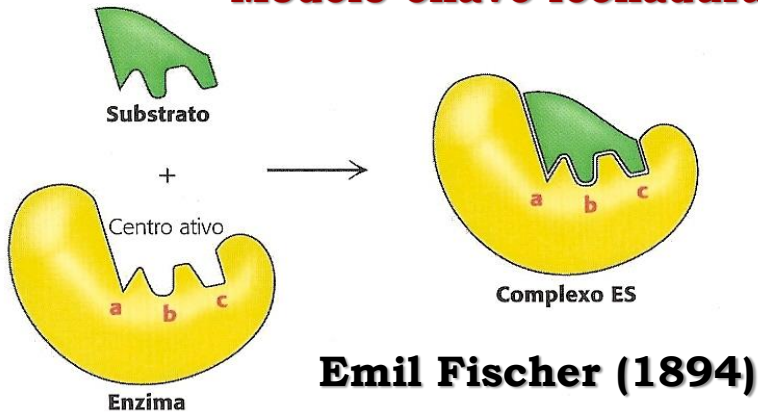


Enzimas: Sítio Ativo

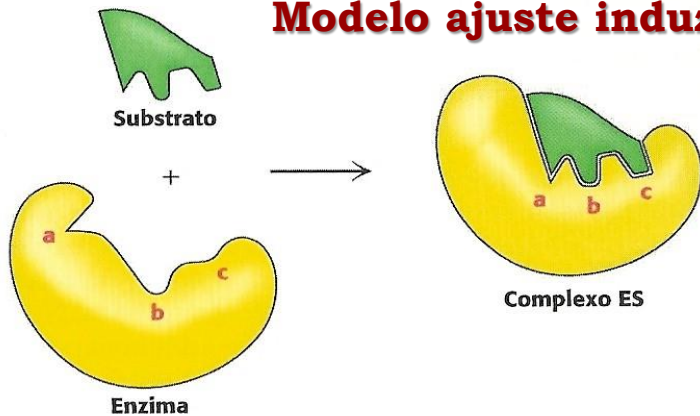
→ Os sítios ativos são pré-formados na estrutura das enzimas

→ Muitos sofre mudanças conformacionais → Ajuste induzido – “Induced fit”

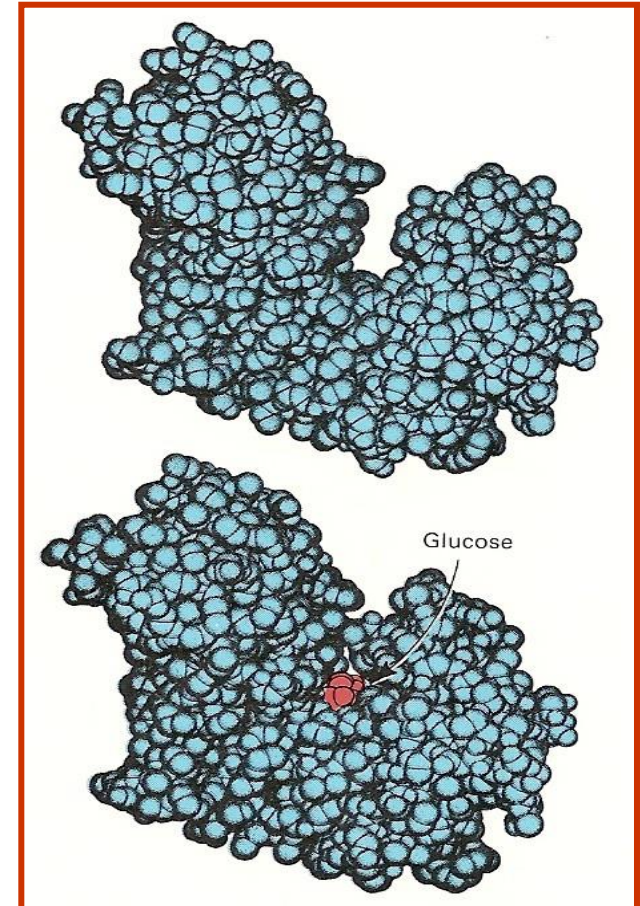
Modelo chave-fechadura



Modelo ajuste induzido



Hexoquinase



Enzimas necessitam de auxílio

→ **As cadeias laterais das enzimas participam diretamente da catálise**

→ **Co-fatores → localizados no Sítio Ativo**

Muitas enzimas necessitam → Essenciais para a atividade enzimática

- **Participam de reações Óxido-redução**

→ **Íons Metálicos**

→ **Coenzimas - Moléculas orgânicas → devem ser regeneradas**

- **Grupos prostéticos – Coenzima ligada fortemente**

Diferentes enzimas com uma mesma coenzima → mecanismo catalítico similar

Apo-enzima

e

Holoenzima

Cadeia protéica

+

Co-enzima ou metal

→ **Ativadores → localizados fora do Sítio Ativo**

- **Aumentam a atividade enzimática**

Enzimas

“Acho que as enzimas são moléculas complementares em estrutura aos complexos ativados das reações que elas catalisam, ou seja, à configuração molecular que é intermediária entre as substâncias reagentes e produtos da reação para estes processos catalisados. A atração da molécula da enzima pelo complexo ativado levaria assim a um decréscimo da energia de ativação da reação e a um aumento da velocidade de reação.”

Linus Pauling, Nature (1948) 161:707



Linus Pauling
1901-
1994

As enzimas utilizam um amplo repertório de estratégias e forças intermoleculares para ligar substratos em uma orientação, proximidade e microambiente adequados para construir e quebrar ligações.

As enzimas estabilizam o ET, pois apresenta alta afinidade por este estado, onde o substrato reage formando os produtos que tem menor afinidade pela enzima e se desligam desta governado pela lei da ação das massas.