

# Bioquímica



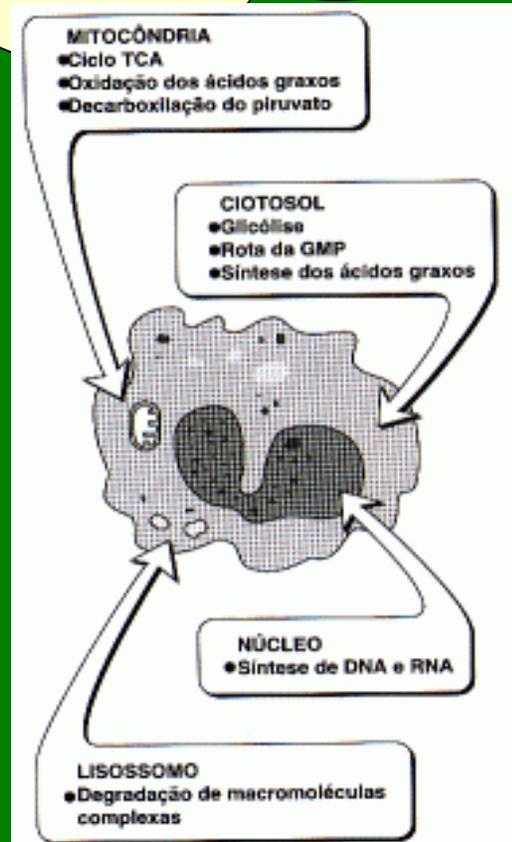
Dra. Kátia R. P. de Araújo Sgrillo

[katiasgrillo@uesc.br](mailto:katiasgrillo@uesc.br)

# O que são Enzimas

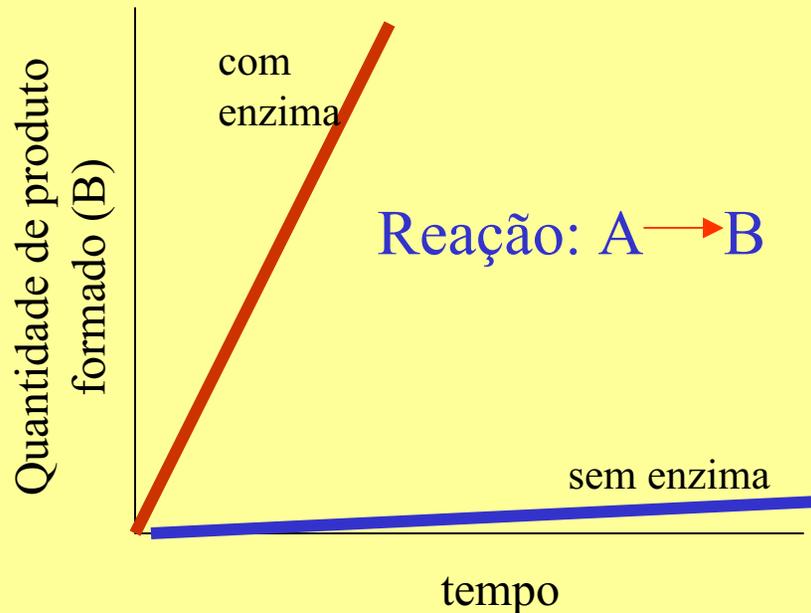
As **enzimas** são **altamente específicas**, interagindo com um ou alguns substratos e catalizando somente um tipo de reação química.

São **proteínas** sintetizadas nas células vivas que **catalizam ou aceleram uma reação** termodinamicamente possível, de modo que seja compatível com o processo bioquímico essencial para a própria célula.



Localização intracelular de algumas vias bioquímicas importantes

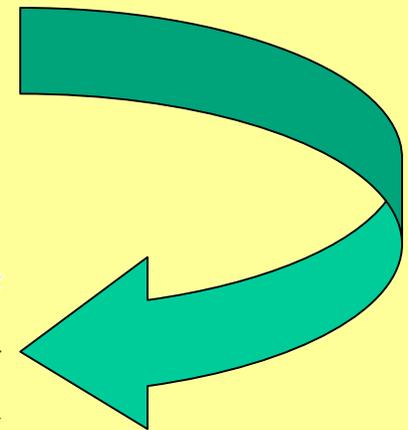
# enzima



Em geral as enzimas aumentam de **1 milhão até mais de 1 trilhão de vezes a velocidade da reação**, em relação a reação correspondente sem a presença da enzima.

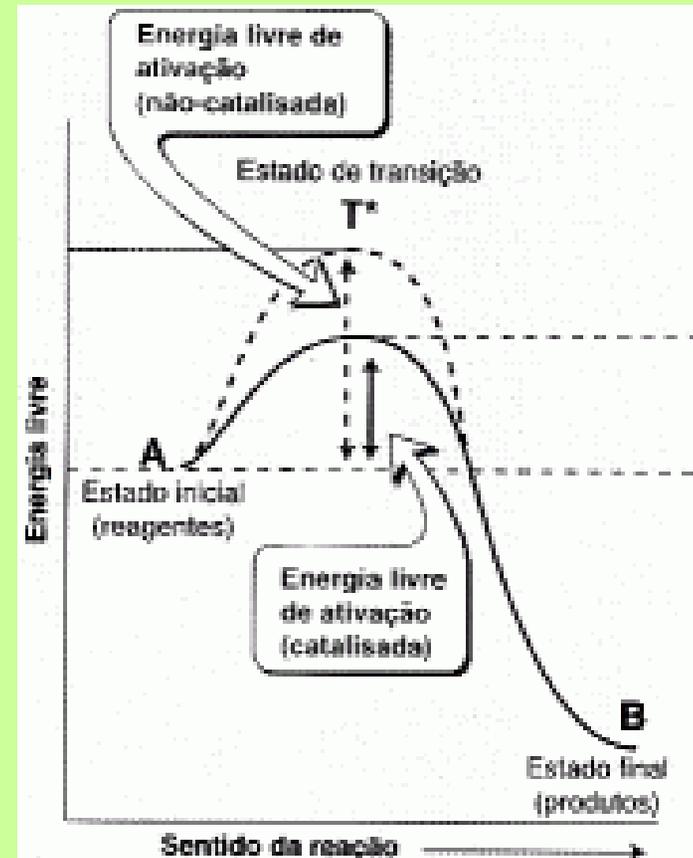
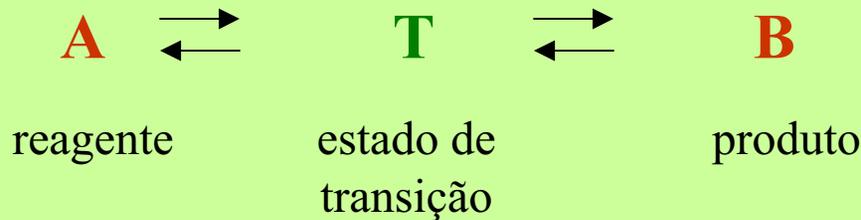
A enzima não é consumida no processo.

Uma mesma molécula de **enzima** pode **agir repetidamente** na conversão de muitas moléculas de A em B. Não modifica a constante de equilíbrio de uma reação. Trabalha em **concentrações extremamente baixas**.



# Como funcionam as enzimas

Praticamente todas as reações químicas têm uma **barreira de energia separando os reagentes e produtos**. Esta barreira é denominada de **energia livre de ativação**.





As moléculas de enzimas contêm um bolsão ou fendas especial denominado

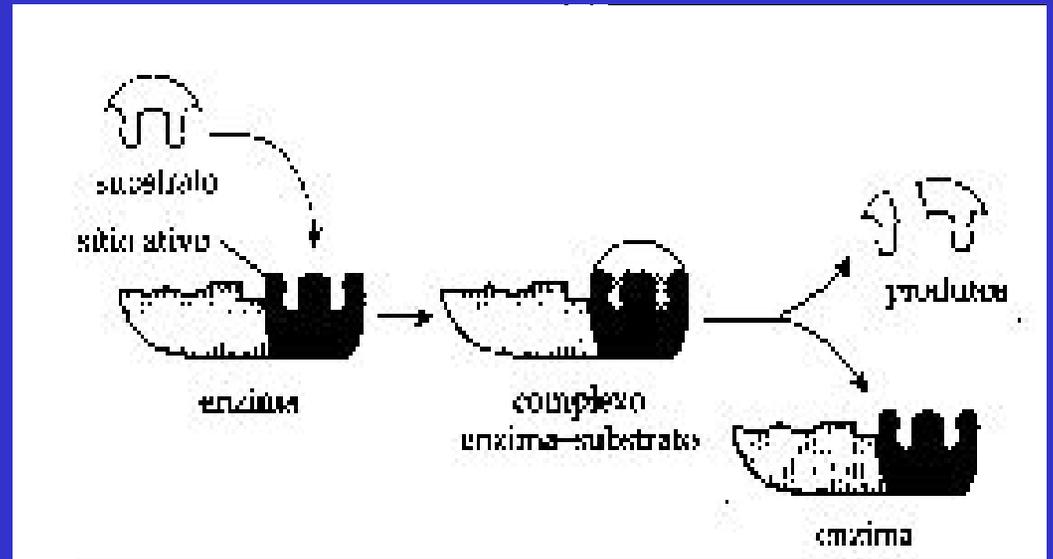
# Sítio ativo

Os sítios ativos contêm aminoácidos cujas cadeias laterais criam uma superfície tridimensional complementar ao substrato.

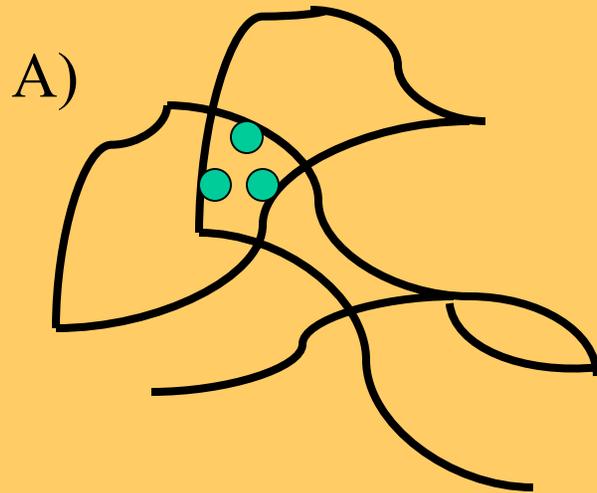


# Representação - reação enzimática

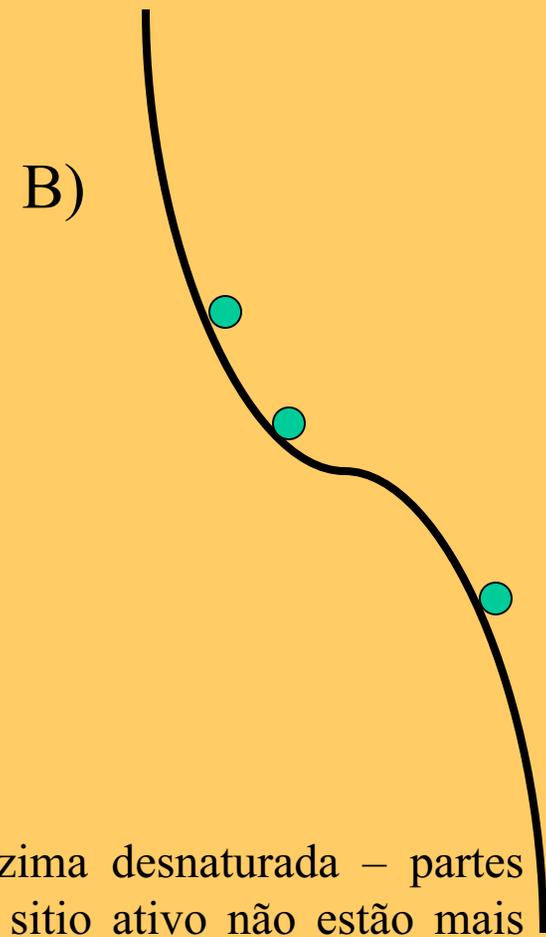
Toda enzima possui um **SITIO ATIVO**. O *sítio ativo* da enzima e o substrato apresentam estruturas complementares e desse modo ajustam-se como uma chave-fechadura. Enquanto eles estão unidos no complexo enzima-substrato, a reação catalítica ocorre. Os produtos da reação deixam a superfície da enzima, liberando-a para que combine com uma outra molécula.



O sítio ativo consiste em diferentes partes da cadeia protéica (a enzima). Estas partes são colocadas juntas através do dobramento e da flexão da cadeia protéica (estruturas secundárias e terciárias), e assim o sítio ativo ocupa uma área relativamente pequena.



A) Representação esquemática de um sítio ativo em uma enzima.



B) Enzima desnaturada – partes do sítio ativo não estão mais em proximidade.



De fato uma molécula, para ser aceita como **substrato**, deve ter a **forma espacial adequada** para alojar-se no no centro ativo da enzima e os grupos químicos capazes de estabelecer reações precisas com os radicais do centro ativo.



Como cada enzima possui uma organização estrutural específica, o seu **centro ativo permite a ligação apenas do seu substrato**, trazendo grande especificidade para a catalise.



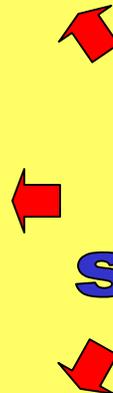
Com grau de especificidade variável, algumas enzimas apresentam :

✓ **especificidade absoluta** – atuam unicamente sobre um único substrato. **Por exemplo:** *succinato desidrogenase* que catalisa a conversão de ác. succínico para ác. fumárico, produz apenas o isômero *trans* e nunca o isômero *cis*.

✓ **ligação específica** – rompe ligações apenas entre grupos específicos. **Por exemplo** : a enzima *trombina* romperá as ligações entre aminoácidos arginina e glicina e não afetará as ligações entre os outros aminoácidos.

✓ **especificidade por grupos** - catalisam somente certos grupos específicos. **Por exemplo** : a *quimiotripsina* catalisa a hidrólise somente de proteínas contendo fenilalanina, triptofano ou tirisina.

✓ **estereoespecificidade** – tais enzimas podem detectar a diferença entre isômeros ópticos e selecionar apenas um desses isômeros. **Por exemplo** : a enzima *arginase* catalisa a hidrólise da L-arginina, mas não tem qualquer efeito na hidrólise da D-arginina.

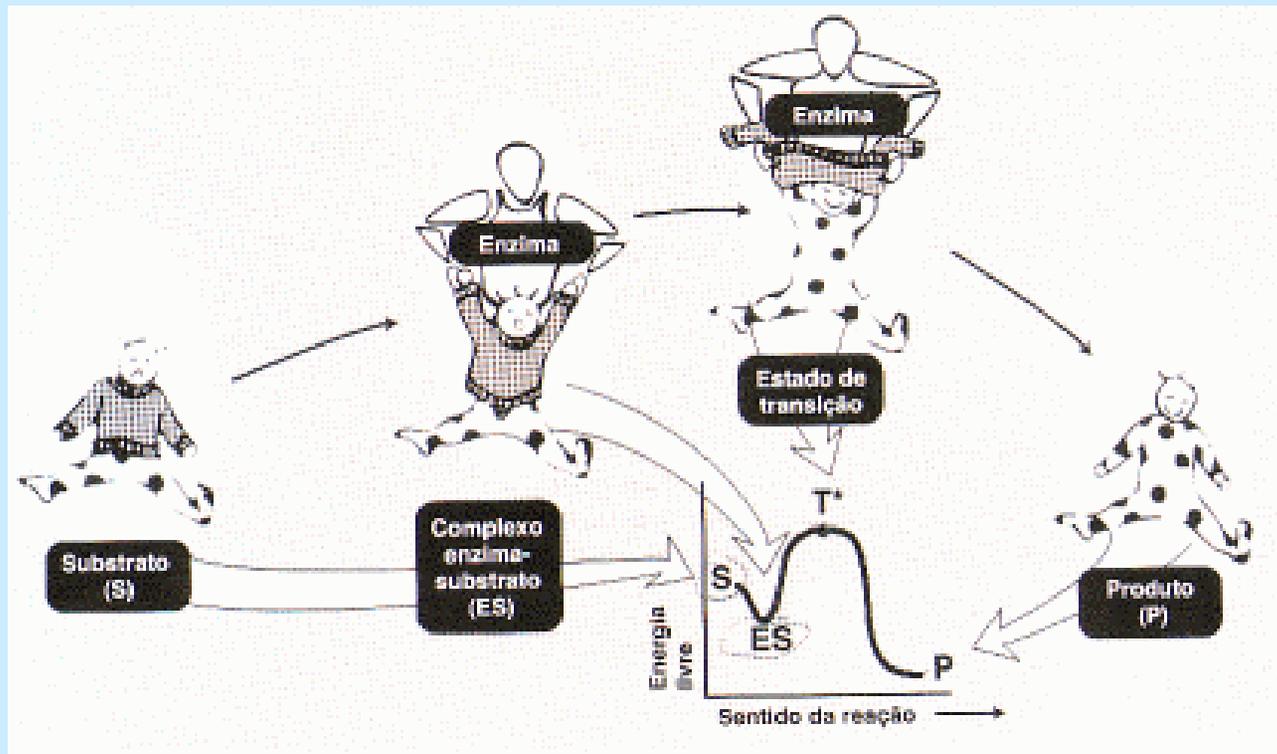


## As enzimas são específicas

✓ **especificidade de reação** – catalisam certos tipos de reações. **Por exemplo** : a *esterases* catalisam a hidrólise de ésteres em geral, e as *carboidrases*, a hidrólise de carboidratos.

# Estado de Transição

Substrato + Enzima se transformam em um complexo ES que dissocia-se em enzima e produto.

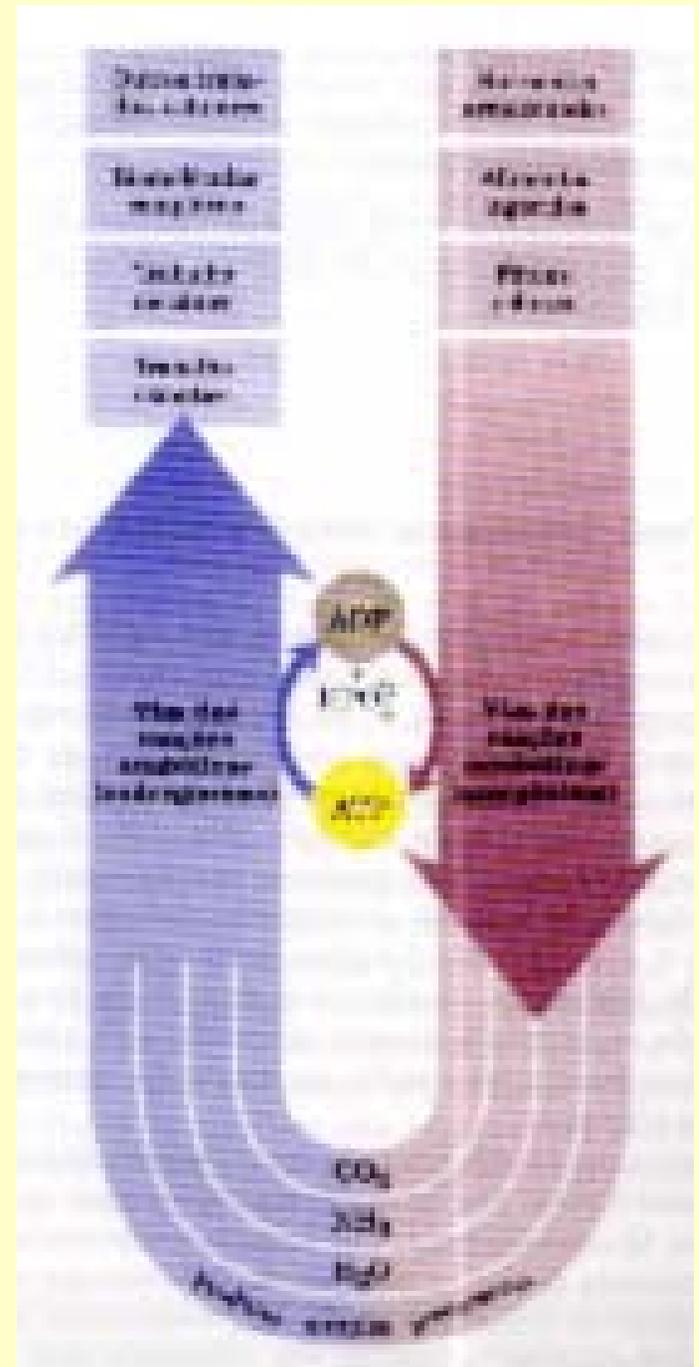


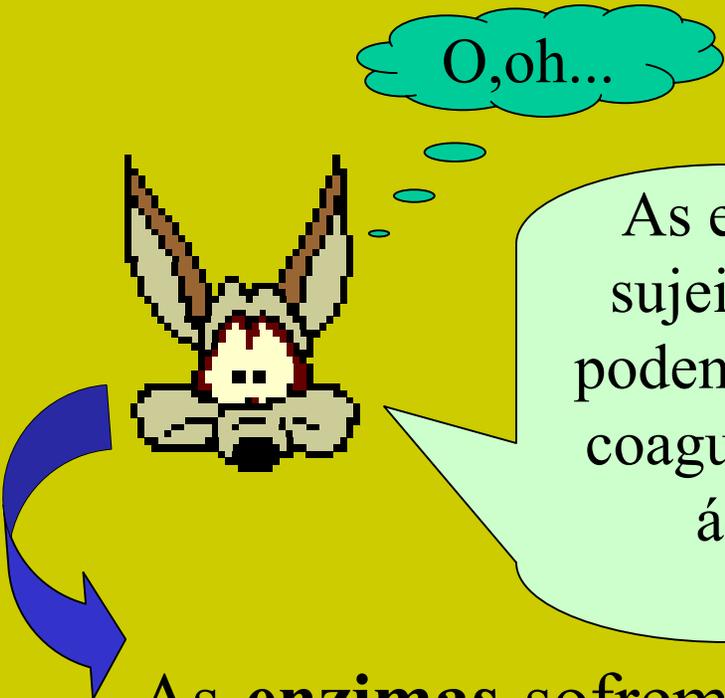
O número de moléculas de substrato convertidas em produto por molécula de enzima por segundo é denominado ***número de turnover***.

Milhares de reações químicas enzimaticamente catalisadas nas células são funcionalmente organizadas em muitas seqüências diferentes de reações consecutivas, chamadas

# VIAS

O ATP é o intermediário químico que une os processos celulares liberadores de energia com aqueles que a consomem. Na célula, seu papel é análogo àquele do dinheiro na economia: ele é “produzido/ganho” nas reações exergônicas e “gasto/consumido” naquelas endergônicas.





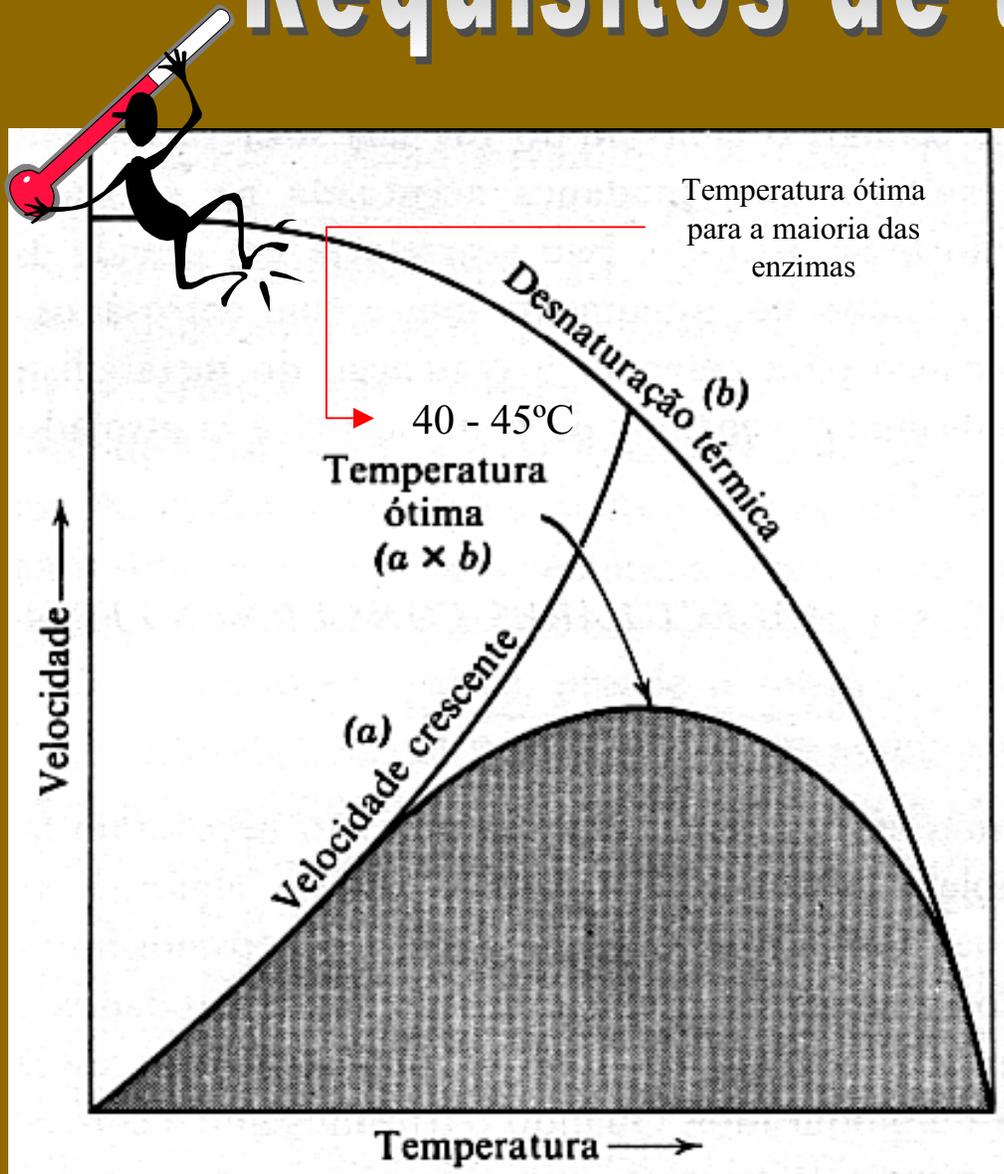
O,oh...

As enzimas são proteínas e portanto estão sujeitas a todas as reações que as proteínas podem sofrer. Portanto as enzimas podem ser coaguladas quando expostas as calor, álcool, ácidos fortes, reagentes alcalóidicos (*agentes desnaturantes*).

As **enzimas** sofrem **influência** de inúmeros fatores, tendo sua melhor atuação em condições ideais de **temperatura, pH, concentração da enzima e do substrato.**

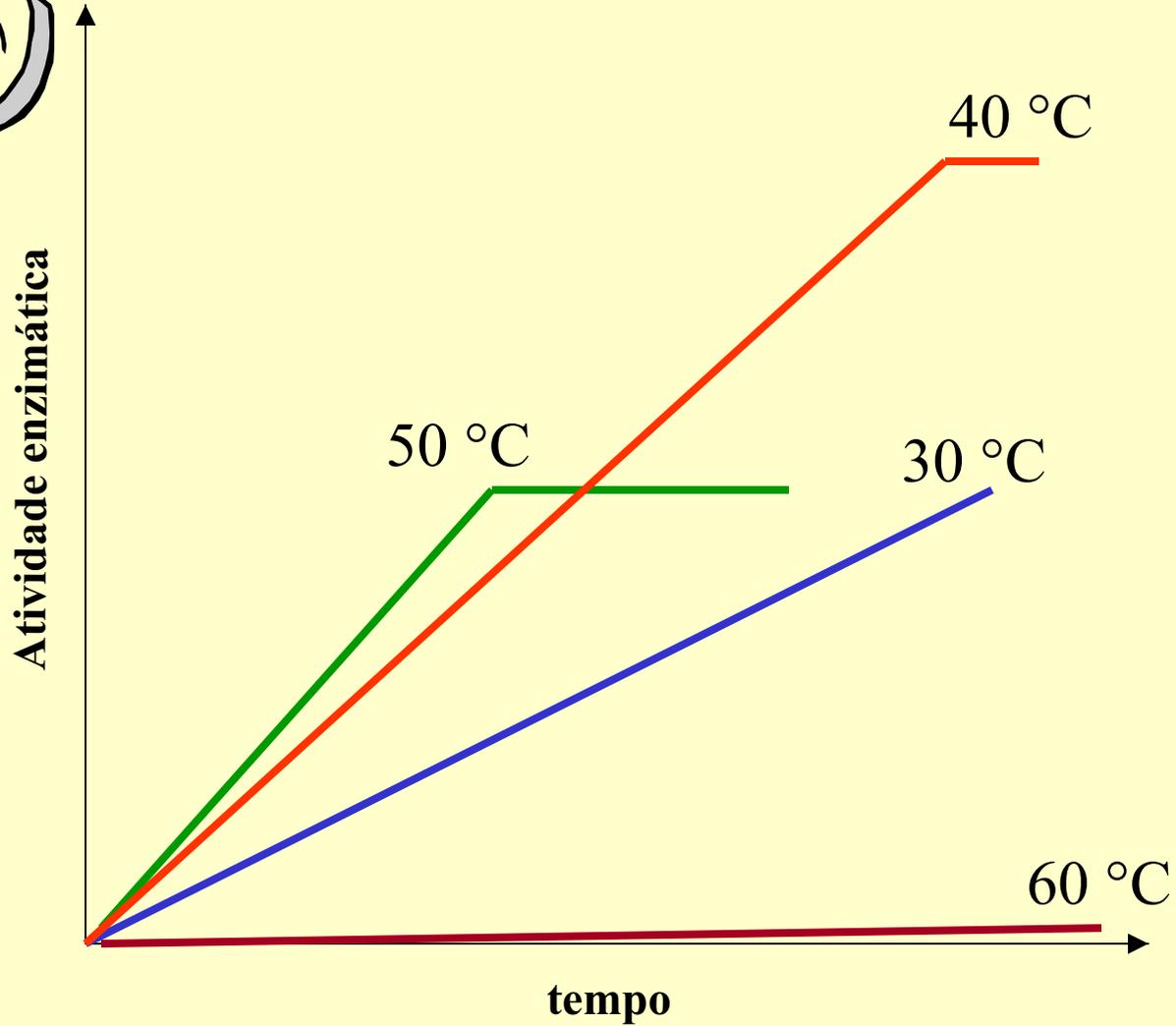
Muitas enzimas tem sido atualmente preparadas na forma cristalina.

# Requisitos de temperatura



A velocidade de todas as reações químicas é afetada pela temperatura: quanto maior a temperatura, mais rápida é a reação. Isto também é verdadeiro nas reações envolvendo enzimas. Contudo, se a temperatura for exageradamente elevada, a enzima (proteína) será desativada por desnaturação e perderá sua função biológica.

## *Efeito da temperatura sobre a atividade enzimática*

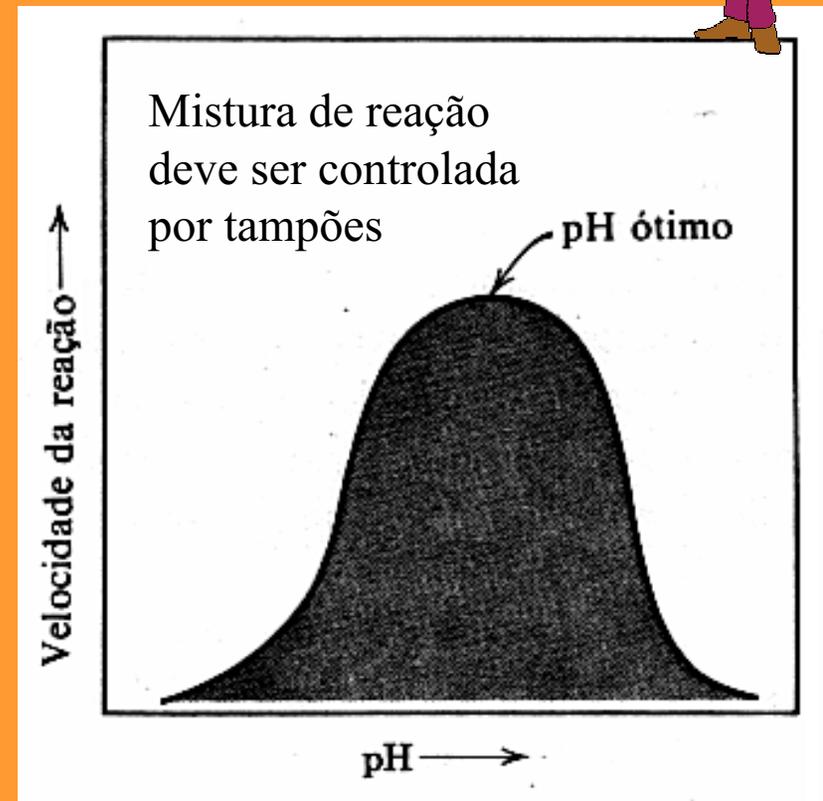


# Importância do pH

pH



Cada enzima apresenta uma faixa de pH na qual o seu funcionamento é melhor. Essa é chamada de **faixa ótima de pH**, para aquela enzima em particular. Como os fluidos corporais são tamponados, o pH geralmente não varia muito além dos valores ótimos.



Afeta o caráter iônico dos grupos carboxílicos e aminos

# Efeito das concentrações



Do mesmo modo que nas reações químicas, a velocidade da reação é aumentada com o aumento nas concentrações dos reagentes. Com uma maior concentração de substrato, a velocidade de reação aumentará até que a enzima disponível torne-se saturada com o substrato. Além disso, com o aumento da quantidade de enzima, a velocidade de reação aumentará supondo um suprimento ilimitado de substrato.



# ativação



Algumas enzimas necessitam ser ativadas para atuarem como catalisadores.

Exemplo: a *papaína*, uma enzima proteolítica fica inerte quando exposta ao oxigênio; quando se adiciona um redutor adequado para converter -S-S- em -SH, a papaína se torna completamente ativada (desde que seja protegida do O).

**cofator**  
“ajudante”

- **Grupos prostéticos** - cofator firmemente preso à proteína enzimática
- **Coenzimas** - molécula orgânica pequena, estável ao calor, que se dissocia facilmente da enzima.
- **Ativadores metálicos** - grande número de enzimas exigem cátions ( $K^+$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$  ou  $Zn^{2+}$ ) como ativadores

Um complexo enzima cofator cataliticamente **ativo** é chamado de holoenzima. A proteína enzimaticamente inativa resultante da remoção do co-fator da holoenzima é chamado de apoenzima, isto é:

**Apoenzima** (inativa) + cofator  $\rightleftharpoons$  **Holoenzima** (ativa)

As **coenzimas** são quimicamente **modificadas** pelas reações enzimáticas em que participam. Portanto devem ser **regeneradas**.

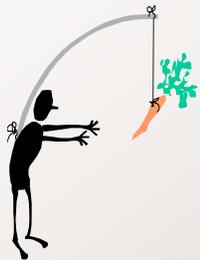


As **vitaminas** são **coenzimas** que **não** podem ser **sintetizadas** pelo organismo e que portanto devem estar presentes na dieta.

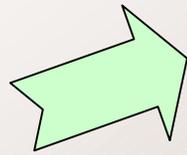


**exemplos de**

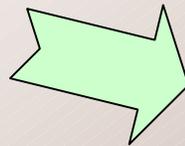
# Coenzimas



pelagra



Fatores de crescimento para microrganismos



Substâncias que curam doenças causadas por deficiências nutricionais

Por exemplo a **nicotinamida**, que é uma porção que compõe o **NAD<sup>+</sup>** ou seu ácido carboxílico análogo. O ácido nicotínico, alivia a doença, que pode ser fatal, causada pela deficiência nutricional da nicotinamida em seres humanos, conhecida por **pelagra** (sintomas: diarreia, dermatite e demência).

## Exemplo

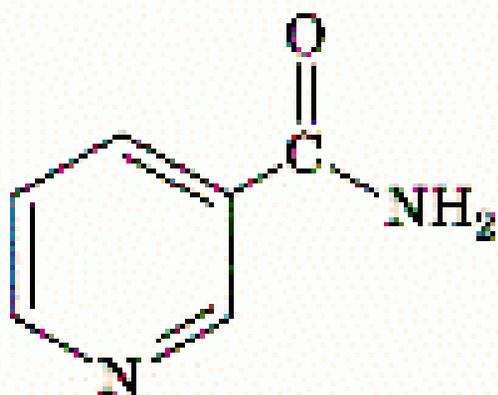
O termo *niacina* é o nome oficial para a vitamina representada pelo ácido nicotínico ou nicotinamida.



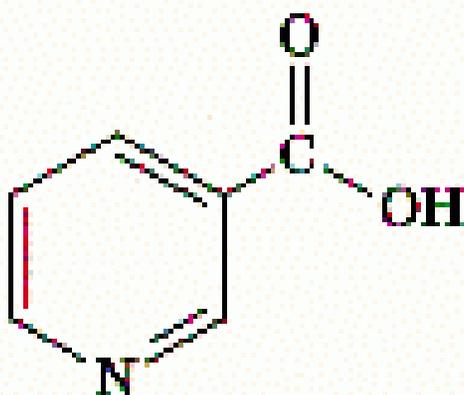
Função  
bioquímica:



Os nucleotídeos de piridina são coenzimas para enzimas conhecidas como desidrogenases que catalizam reações de óxido-redução.

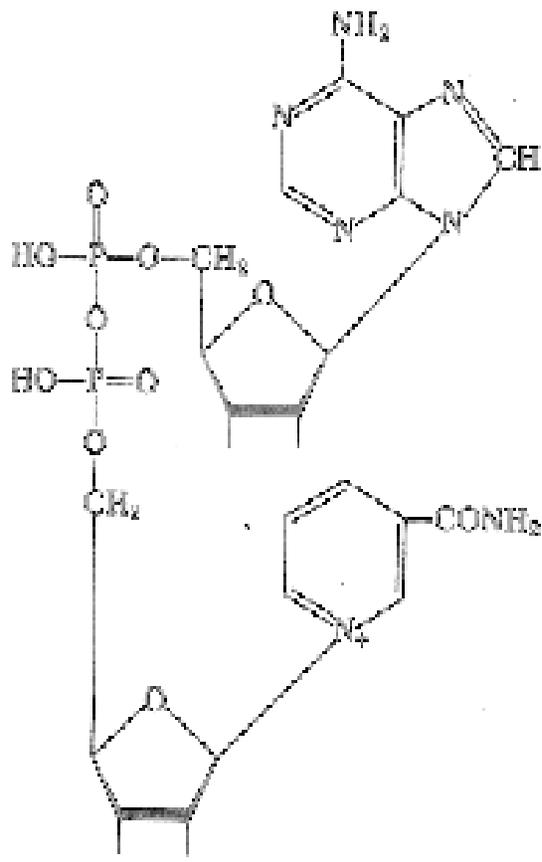


Nicotinamida  
(niacinamida)

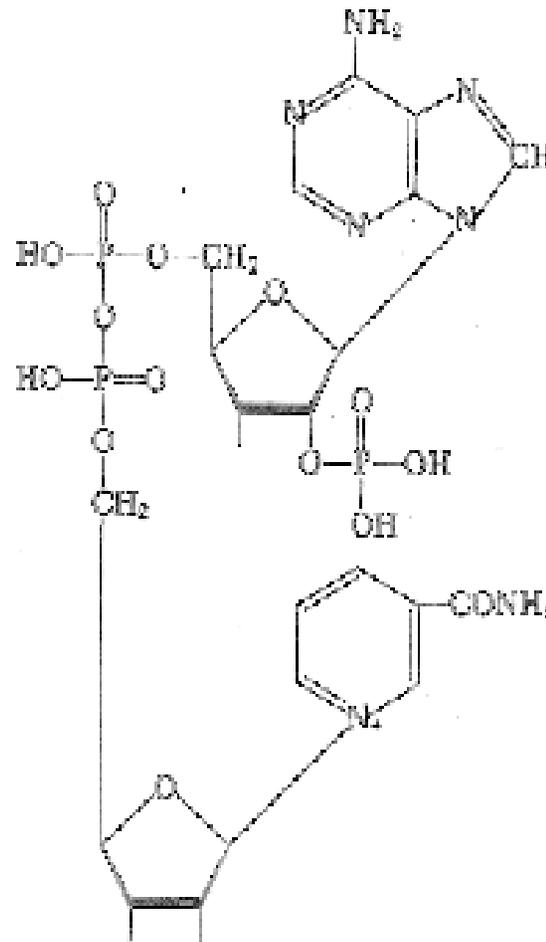


Ácido nicotínico  
(niacina)

As formas coenzimáticas da vitamina são os nucleotídeos de piridina



**NAD<sup>+</sup>**  
**coenzima I**



**NADP<sup>+</sup>**  
**coenzima II**

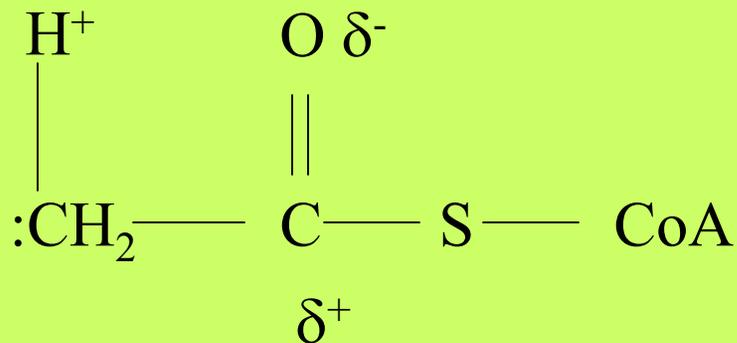
denominados  
nicotinamida-  
adenina  
dinucleotídeo  
(**NAD<sup>+</sup>**) ou  
**coenzima I** e  
fosfato de  
nicotinamida-  
adenina  
dinucleotídeo  
(**NADP<sup>+</sup>**) ou  
**coenzima II.**

# exemplos

## reações catalisadas por

**NADP<sup>+</sup>**  
e **NAD<sup>+</sup>**

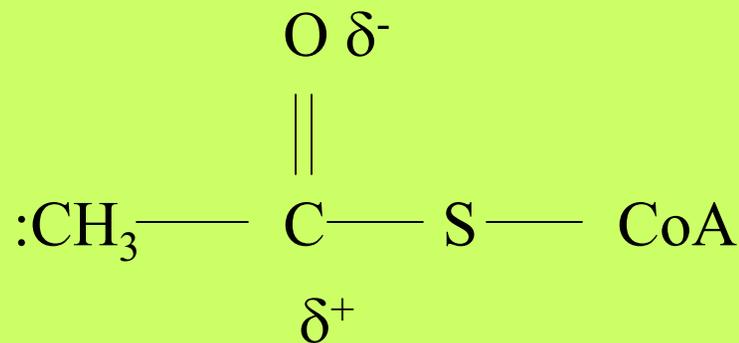
enzimas	substrato	produto	coenzima
Desidrogenase alcoólica	etanol	acetaldeído	<b>NADP<sup>+</sup></b>
Desidrogenase isocítrica	isocitrato	$\alpha$ -cetogluturato + CO <sub>2</sub>	
Desidrogenase láctica	lactato	piruvato	
<i>apoenzima</i>			<i>cofator</i>
Málica	L-malato	piruvato + CO <sub>2</sub>	<b>NAD<sup>+</sup></b>
Desidrogenase de glicose-6-fosfato	Glicose-6-fosfato	ác. 6-fosfoglicônico	
Desidrogenase glutâmica	ác. L-glutâmico	$\alpha$ -cetogluturato + NH <sub>3</sub>	



As fórmulas do acetilCoA tem uma típica estrutura em que um nucleófilo tal como H<sub>2</sub>O, R-S:- ou o α-carbono do acetilCoA pode atacar o local com carga positiva.

### Acetil-CoA como um nucleófilo

Acetil-CoA metabólito central. Participa do metabolismo de lipídeos, carboidratos e proteínas.



### Acetil-CoA como um eletrófilo

# Nomenclatura

## Segundo a propriedade específica da enzima

### 6. Ligases -

enzimas que catalizam unindo duas moléculas conjuntamente com a ruptura de uma ligação pirofosfórica

### 5. Isomerases -

enzimas que catalizam diferentes tipos de isomeração (racemases, epimerases, cis-trans isomerase, cetol isomerases intramoleculares, mutases)

**4. Liases** - enzimas que catalizam reversivelmente a remoção não hidrolítica de grupos (furase, descarboxilase).

### 1. Óxidorredutases -

enzimas que catalizam reações de oxi-redução (desidrogenases, oxidases, oxigenases).

### 2. Transferases -

enzimas que catalizam reações de transferência de grupos (transaminases, quinases, transacetilases).

### 3. Hidrolases -

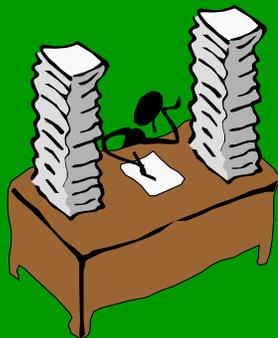
enzimas que catalizam reações de hidrólise de vários compostos (hidrolases do substrato - hidrolase de éster do glicerol)

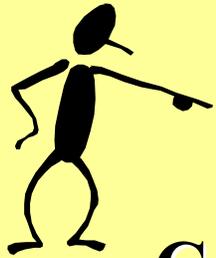


# Termos para não esquecer...



**Enzima**: uma biomolécula, proteína, que catalisa uma reação química específica. Ela não afeta o equilíbrio da reação catalisada; ela aumenta a velocidade da reação através do fornecimento de uma via de reação com menor energia de ativação.





# Termos para não esquecer...

**Cofator:** íon inorgânico ou uma coenzima necessária para atividade de uma enzima.

**Coenzima:** cofator orgânico necessário para a ação de certas enzimas; freqüentemente utiliza uma vitamina como um dos componentes.

**Grupo prostético:** íon metálico ou composto orgânico (diferente de um aminoácido), que se liga covalentemente a uma proteína e é essencial para sua atividade.

**Holoenzima:** a molécula cataliticamente ativa de uma enzima, incluindo todas as subunidades necessárias, grupos protéticos e cofatores.

# Bioquímica



Dra. Kátia R. P. de Araújo Sgrillo

[katiasgrillo@uesc.br](mailto:katiasgrillo@uesc.br)

# Atividade enzimática

A **concentração de enzimas intracelulares no plasma** e **centenas de vezes menor** que no interior das células, onde elas são sintetizadas.



Em **condições patológicas**, quando as células são lesadas, suas concentrações plasmáticas tornam-se anormalmente elevadas, revelando a instalação da moléstia. Ainda mais o tipo de enzima cuja concentração plasmática aumenta pode indicar o tecido ou órgão que sofreu a injúria. Por isso a dosagem de enzimas no plasma é prática corrente para a elucidação e o acompanhamento de muitos casos patológicos.

# Exemplos

Enzimas cujas concentrações plasmáticas são alteradas em determinadas condições patológicas

## *Enzimas*

Transaminases

Creatinina quinase, lactato desidrogenase

Amilase, lipase

Fosfatase alcalina,  $\gamma$ -glutamil transferase

Fosfatase ácida

Creatinina quinase

Lactato desidrogenase

Amilase

## *Moléstias*

Hepatite

Enfarte do miocárdio

Pancreatite

Processos obstrutivos biliares

Neoplasia de próstata

Lesão cerebral grave

Anemia hemolítica

Parotidite (caxumba)

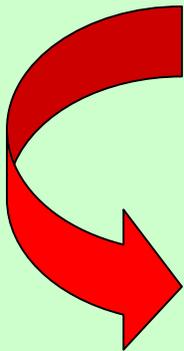
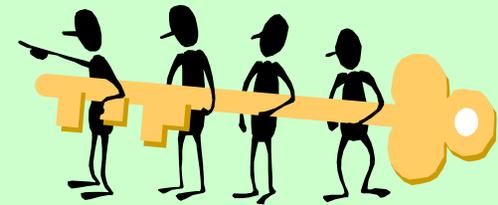




# Regulação da atividade enzimática

A regulação da velocidade de reação das enzimas é essencial para o organismo coordenar seus inúmeros processos metabólicos.

Algumas enzimas com funções reguladoras especializadas respondem a *efetores alostéricos*.



**Enzima Reguladora:** enzima que possui uma função reguladora graças a sua **capacidade de apresentar alterações na sua atividade catalítica por mecanismos alostérico** ou por modificações covalentes.

O que são

# efetores



# e enzimas alostéricas ?

Efetores - são moléculas que se ligam de modo **não-covalente** a um sítio **diferente do sítio ativo**. Podem ser: o próprio **substrato** (**homotrófico**) ou algum **produto da via metabólica** (**heterotrófico**).

Enzimas alostéricas  
são reguladas por moléculas denominadas **efetores** que se ligam de modo **não-covalente** a um sítio **diferente do sítio ativo**.

# Efetores



**Homotróficos:** quando o próprio substrato serve como efetor. Normalmente funciona como efetor positivo.

A presença de uma molécula em um sítio na enzima aumenta as propriedades catalíticas dos outros sítios de ligação ao substrato. Sítios exibem *cooperatividade*.

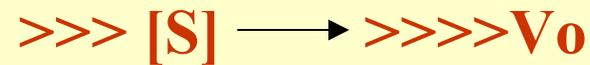
*Quanto + substrato tem, mas a enzima funciona*



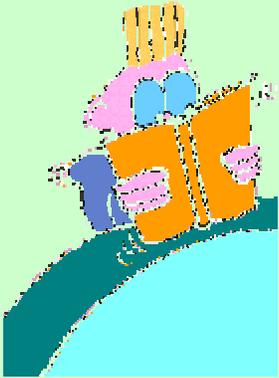
**Heterotróficos:** efetor diferente do substrato. Exemplo: A enzima que converte A em B possui um sítio alostérico, que se liga ao produto final E. Se a [E] aumenta a enzima inicial na rota é inibida. Inibição por feedback serve para coordenar o fluxo de moléculas de substrato nas reações de acordo com a necessidade da célula (rota específica).

# Velocidade de reação

A velocidade da maioria das enzimas é sensível a alterações na concentração de substrato [S]



A velocidade de uma reação ( $v$ ) catalisada por uma enzima aumenta conforme a concentração do substrato até atingir uma **velocidade máxima ( $V_{max}$ )**. A obtenção de um platô na velocidade de reação em altas concentrações de substrato reflete a saturação pelo substrato de todos os sítios ativos de ligação disponíveis na enzima.



# Equação de Michaelis-Menten

Descreve como a velocidade de reação varia com a [S]



Onde:

S - substrato

E - enzima

ES - complexo transitório enzima-substrato

P - produto

$K_1$ ,  $K_{-1}$  e  $K_2$  - constantes de velocidade

$$V_o = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

Onde:

$V_o$  - velocidade inicial de reação

$V_{\max}$  velocidade máxima

$K_m$  - constante de Michaelis-Menten =  $(K_1 + K_2) / K_1$

[S] - concentração do substrato

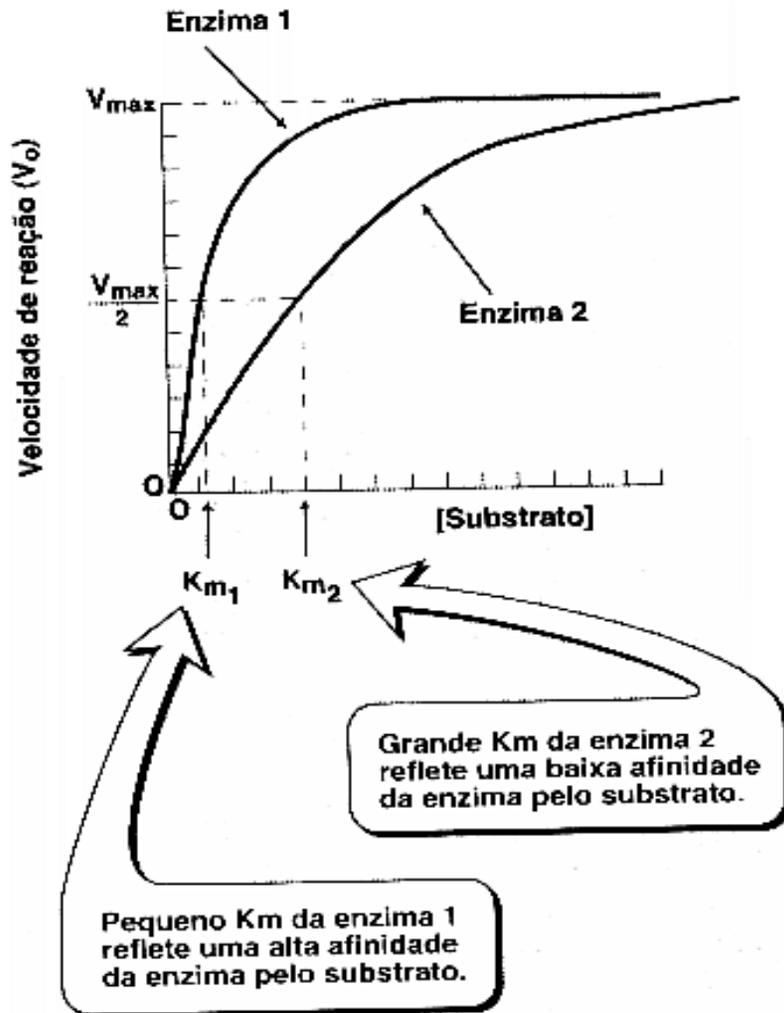




# Conclusões importantes

## Constante de Michaelis-Menten

$$K_m = (K_1 + K_2) / K_1$$

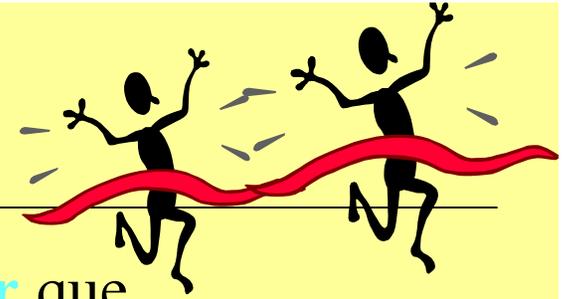


✓  $K_m$  - é característico da enzima e do substrato. Não varia com a concentração da enzima.

✓  $K_m$  pequeno - numericamente pequeno (baixo) reflete alta afinidade da enzima com o substrato.

✓  $K_m$  grande - numericamente grande (alto) reflete baixa afinidade da enzima com o substrato.

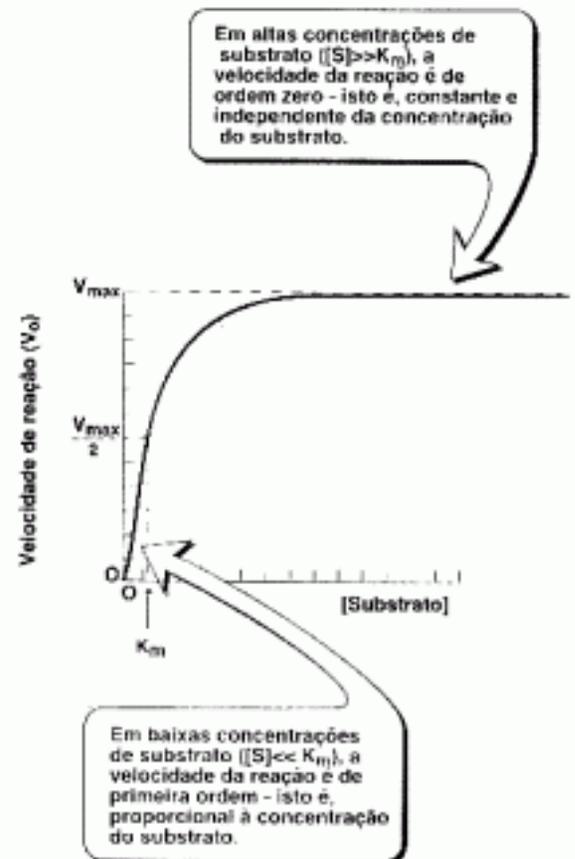
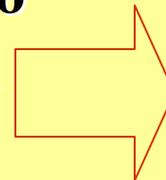
# Ordem da reação



✓ **Primeira ordem:** quando a  $[S]$  é muito menor que o  $K_m$ , a velocidade de reação é proporcional à concentração do substrato.

✓ **Ordem zero:** quando a  $[S]$  é muito maior que o  $K_m$ , a velocidade de reação é constante e igual a  $V_{max}$ .

**Efeito da concentração do substrato na velocidade de reação para uma reação catalisada por enzimas**

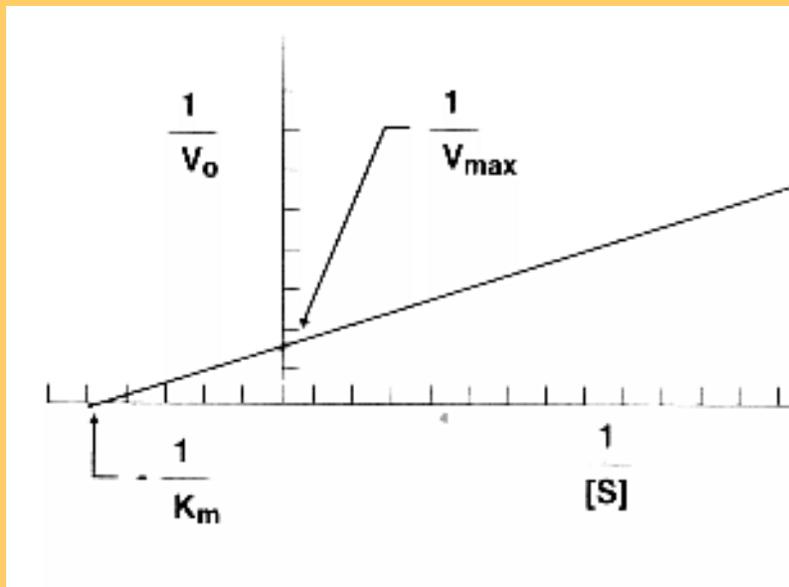


# Gráfico de Lineweaver-Burke



Nem sempre é possível determinar quando  $V_{max}$  foi atingida. (ver gráfico anterior).

Quando se traça o gráfico  $1/V_o$  versus  $1/[S]$ , uma linha reta é obtida. Esta curva é denominada de **Lineweaver-Burke** ou **curva duplo-recíproca**, e pode ser usada para **calcular o  $K_m$  e  $V_{max}$** , bem como para determinar o **mecanismos de ação dos inibidores enzimáticos**.



Equação descrevendo a curva de **Lineweaver-Burke**

$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Obs.:  $1/V_{max}$  é onde a curva corta o eixo Y e  $1/K_m$  é onde a curva corta o eixo X.

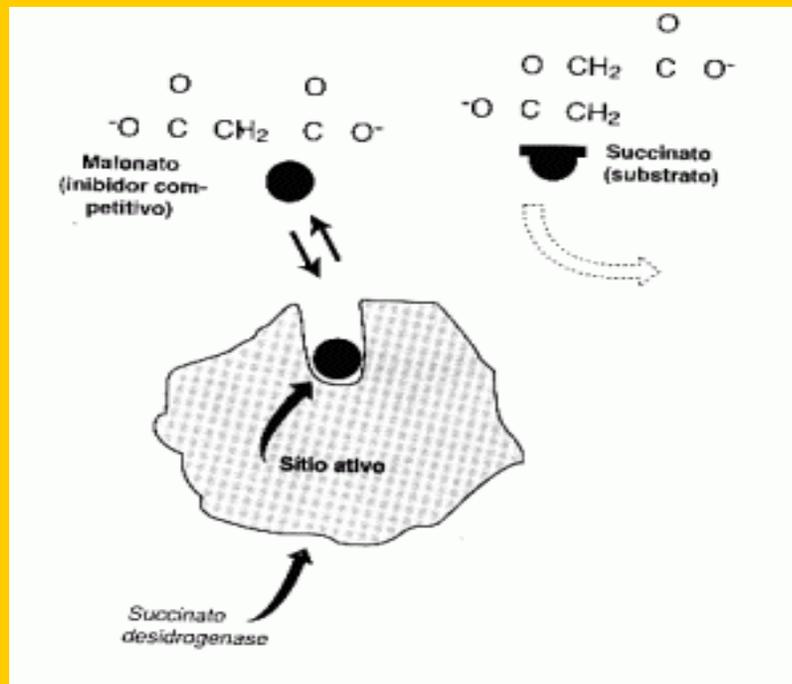
Compostos que tem a capacidade de se combinar com certas enzima e bloqueiam a sua capacidade catalítica.

# inibidores



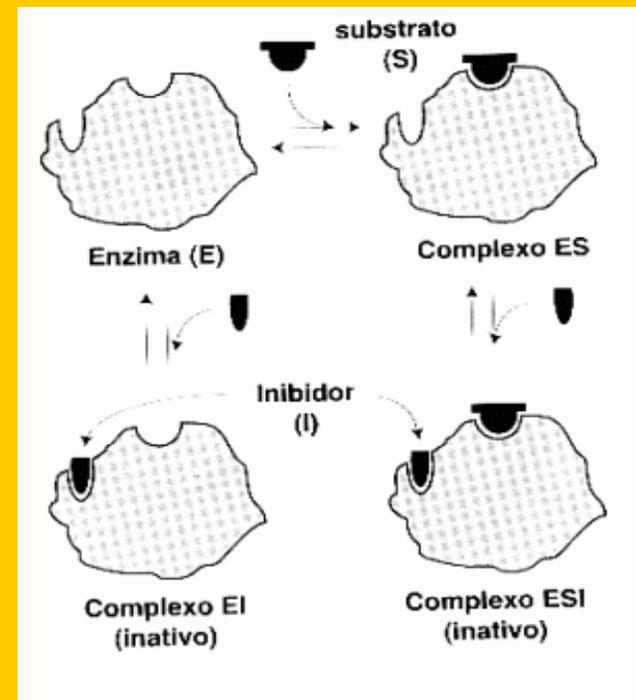
competitivos

Quando um composto compete com o substrato ou com uma coenzima pelo sítio ativo na proteína enzimática

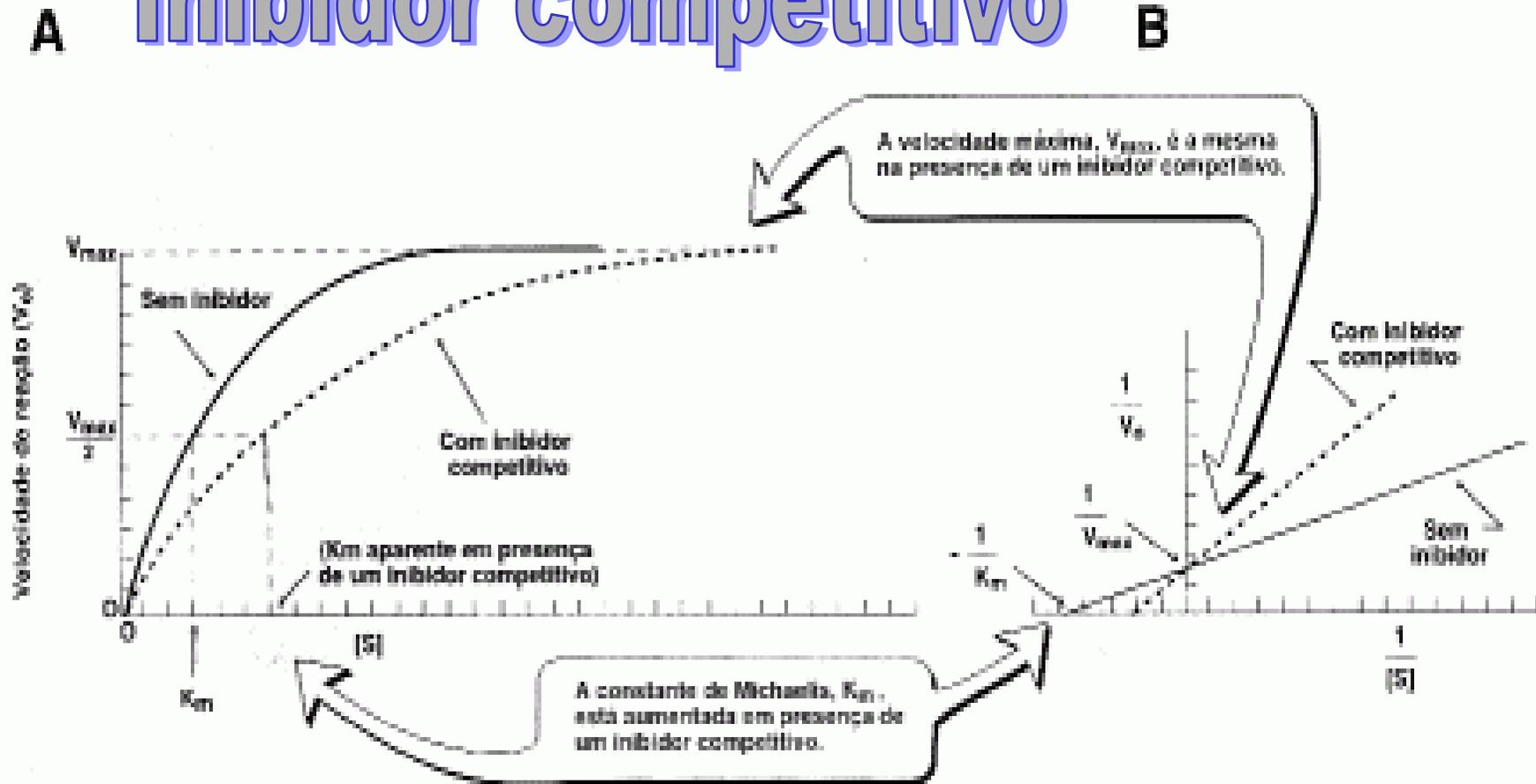


Não competitivos

O tipo de inibição que não pode ser anulado com o aumento da concentração do substrato.

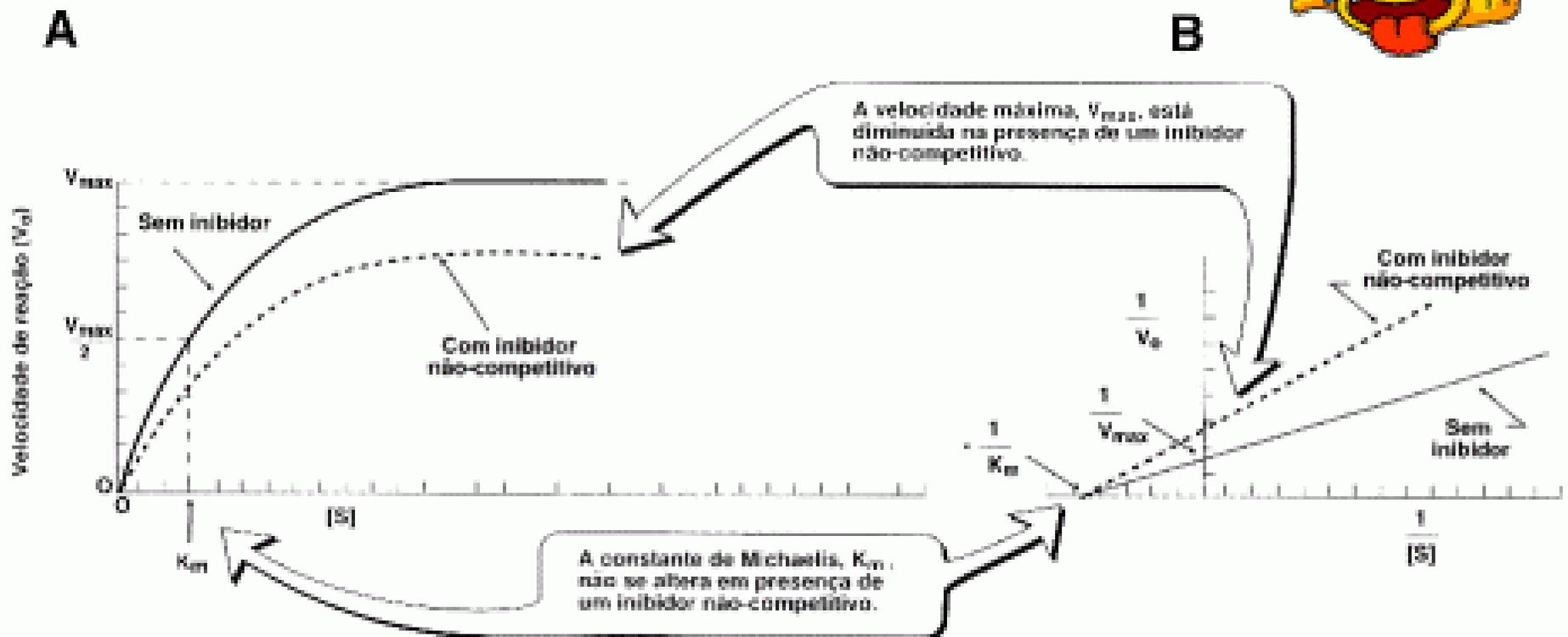


# Inibidor competitivo



- A. Efeito do inibidor competitivo na curva de velocidade de reação ( $V_o$ ) versus substrato.
- B. Gráfico de Lineweaver-Burke da inibição competitiva de uma enzima

# Inibidor não competitivo



- Efeito do inibidor não-competitivo na curva de velocidade de reação ( $V_o$ ) versus substrato.
- Gráfico de Lineweaver-Burke da inibição não-competitiva de uma enzima.



# ***Termos para não esquecer...***

**Enzima Alostérica:** uma enzima reguladora com atividade catalítica modulada pela ligação não covalente de um metabólito específico em um sítio diferente do sítio ativo.

**Enzima Homotrópica:** enzima alostérica que utiliza seu substrato como modulador.

**Enzima Heterotrópica:** enzima alostérica que requer um outro modulador diferente do seu substrato.

**Enzima Reguladora:** enzima que possui uma função reguladora graças a sua capacidade de apresentar alterações na sua atividade catalítica por mecanismos alostérico ou por modificações covalentes.

# Termos para não esquecer...



**Enzima repressível:** ocorre normalmente nas bactérias, enzima cuja síntese é inibida quando o seu produto de reação estiver facilmente disponível.

**Enzimas Constitutivas:** enzimas necessárias à células durante todo o tempo e presentes em nível quase constante; por exemplo, muitas enzimas das vias metabólicas centrais. Algumas vezes são chamadas de “*enzimas da administração interna*”.

# Exercício

