



PQI 3221:
CINÉTICA QUÍMICA E PROCESSOS AMBIENTAIS

AULA 25

1

Parâmetros Cinético

Problema:

A relação de variação entre velocidade de reação (V_0) e concentração de substrato [S] de um processo enzimático aparece indicada por meio dos dados da Tabela 1.

[S] (g/L)	V_0 (g/L.h)
0,25	0,78
0,51	1,25
1,03	1,66
2,52	2,19
4,33	2,35
7,25	2,57

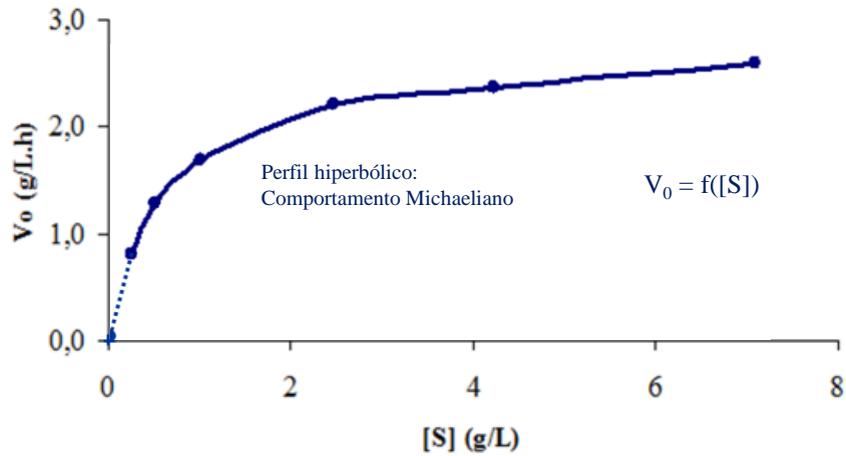
Para tais condições, determine os valores de (K_M) e (V_{max}) a partir dos métodos de linearização propostos por:

- Lineweaver-Burk
- Hanes

Discuta os resultados obtidos a partir de ambas abordagens

2

Solução



3

Solução

a) Linearização pelo Método de Lineweaver-Burk

$1/[S]$	$[S]$ (g/L)	v_s (g/L.h)	$1/v_0$
4,00	0,25	0,78	1,28
1,96	0,51	1,25	0,80
0,97	1,03	1,66	0,60
0,40	2,52	2,19	0,46
0,23	4,33	2,35	0,43
0,14	7,25	2,57	0,39

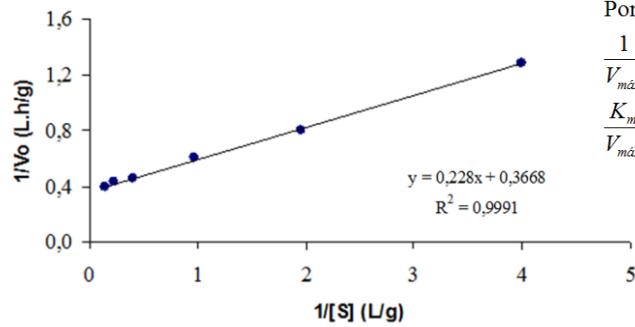
$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{máx}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{máx}}$$

$$\frac{1}{V_0} = 0,228 \cdot \frac{1}{[S]} + 0,3668$$

Portanto,

$$\frac{1}{V_{máx}} = 0,3668 \Rightarrow V_{máx} = 2,73 \frac{\text{g}}{\text{L} \cdot \text{h}}$$

$$\frac{K_m}{V_{máx}} = 0,228 \Rightarrow K_m = 0,622 \frac{\text{g}}{\text{L}}$$



4

Solução

a) Linearização pelo Método de Hanes

$[S]/V_0$	$[S]$ (g/L)	V_0 (g/L.h)
0,32	0,25	0,78
0,41	0,51	1,25
0,62	1,03	1,66
1,15	2,52	2,19
1,84	4,33	2,35
2,82	7,25	2,57

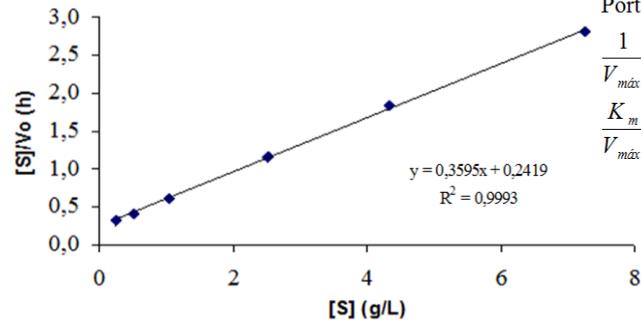
$$\frac{[S]}{V_0} = \frac{K_m}{V_{máx}} + \frac{1}{V_{máx}} \cdot [S]$$

$$\frac{[S]}{V_0} = 0,2419 + 0,3595 \cdot [S]$$

Portanto,

$$\frac{1}{V_{máx}} = 0,3595 \Rightarrow V_{máx} = 2,78 \frac{g}{L \cdot h}$$

$$\frac{K_m}{V_{máx}} = 0,2419 \Rightarrow K_m = 0,672 \frac{g}{L}$$



5

INIBIDORES

6

Inibição Enzimática

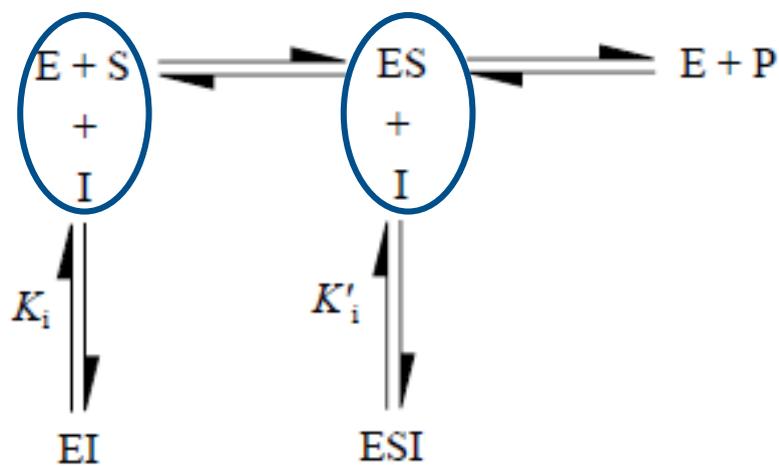
Um grande número de substâncias pode inibir a atividade enzimática. Algumas dessas substâncias são a elas estranhas, enquanto outras, podem ser constituintes da própria célula. Os inibidores atuam em geral provocando alterações (significativas) do metabolismo da enzima

Quando o inibidor é produzido pela própria célula, sua variação de concentração funciona como mecanismo de (auto)regulação e controle da velocidade das reações. Isso permite ao organismo responder a diferentes condições fisiológicas

Muitos medicamentos usados rotineiramente baseiam-se na inibição específica de enzimas. O bloqueio de uma única reação afeta toda a sequência de transformações já que, nesse caso, a reação bloqueada não irá gerar o produto necessário para as etapas elementares subsequentes do mecanismo

7

Esquema cinético com múltiplas possibilidades de inibição enzimática reversível



8

Classes de Inibidores

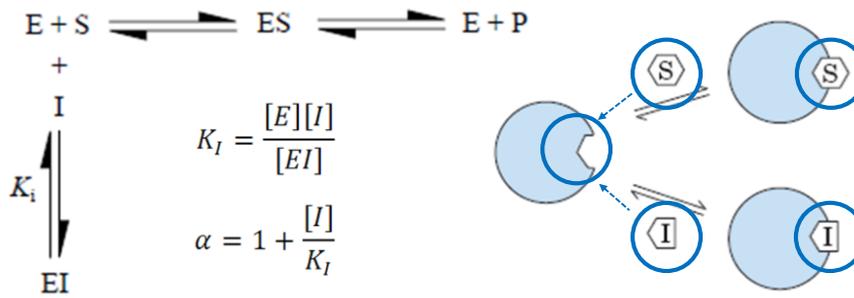
Dependendo do grau de estabilidade de sua ligação com a enzima, os inibidores podem ser classificados como sendo dos tipos (i) reversível ou (ii) irreversível

Os inibidores reversíveis podem ainda ser subdivididos em dois grupos: (a) competitivos; e (b) não-competitivos. Essa divisão se baseia na existência de competição entre inibidor e substrato pelo centro ativo da enzima

Assim como o próprio nome sugere, os inibidores competitivos competem com o substrato pela enzima. Estas moléculas apresentam configuração semelhante à do substrato, sendo, por isso mesmo, capazes de se ligarem ao centro ativo da enzima. Eles produzem um complexo enzima-inibidor cuja estrutura é semelhante à complexo enzima-substrato

9

Inibição Reversível Competitiva (IRC)

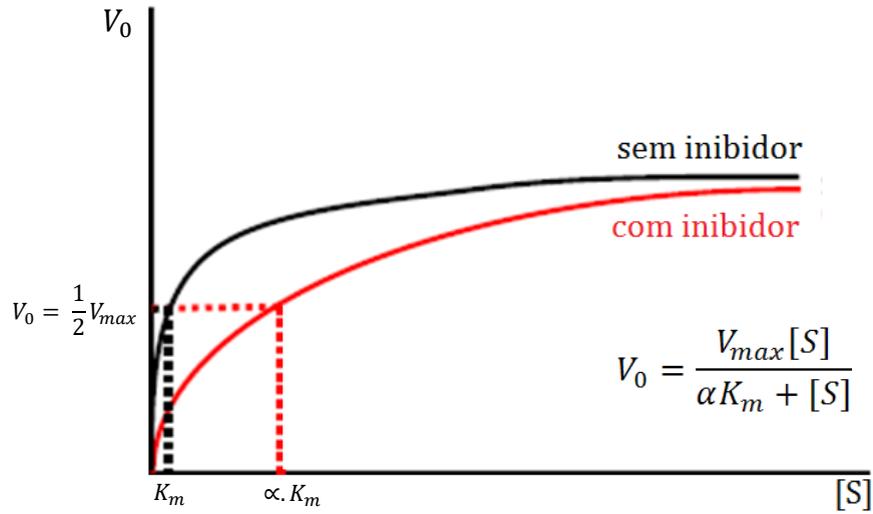


- O valor de α expressa o grau de intervenção da $[I]$ sobre o processo
- Para $\alpha = 1$, não há inibidor no presente no meio reacional
- Para IRC: K_m varia e $V_{max} = \text{constante}$. Isso porque sendo reversível, em algum momento E pode estar livre para se ligar a S (formando ES), ao invés de fazê-lo com I (formando EI), sobretudo para $[S] \uparrow\uparrow$, já que $[S] \gg [I]$

- Quando ocorre IRC, a equação de Michaelis-Menten será descrita por: $V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + [S]}$

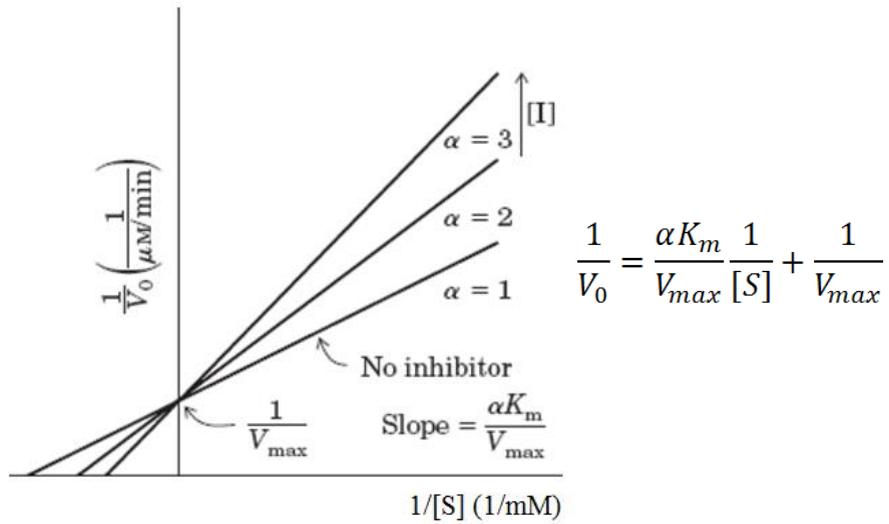
10

Inibição Reversível Competitiva (IRC)



11

Inibição Reversível Competitiva (IRC)



12

Classes de Inibidores

Os inibidores reversíveis não-competitivos (ou anti-competitivos) não tem semelhança estrutural com o substrato da reação que inibem. O bloqueio acontece a partir da ligação de I a radicais que não pertencem ao grupo ativo. Por conta disso, essa associação ocorre diretamente sobre o complexo ES

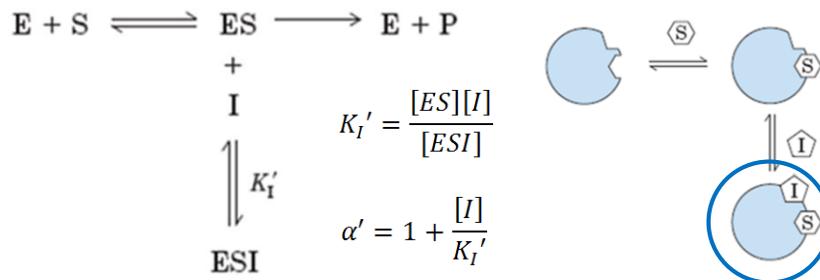
A ligação vai alterar a estrutura da enzima, inviabilizando assim sua catálise. Eles produzem um complexo enzima-substrato-inibidor

Há também os chamados inibidores mistos que se ligam tanto à enzima quanto ao complexo enzima-substrato

Outra classe de inibidores, refere-se àqueles ditos irreversíveis. Estes se ligam as enzimas levando a inativação definitiva desta. Estes inibidores são tóxicos e de espectro amplo, podendo por isso, inativar qualquer enzima

13

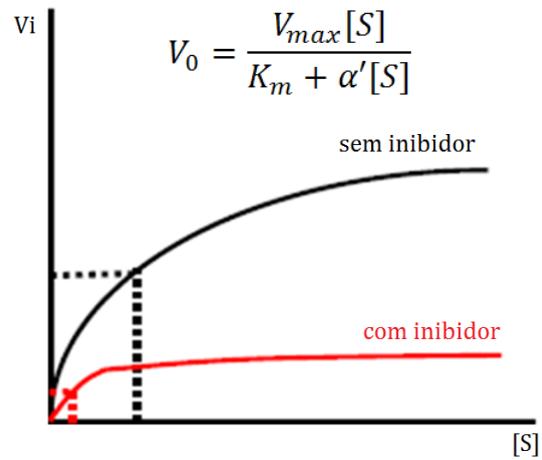
Inibição Reversível Anti-competitiva (IRAC)



- O inibidor se liga ao complexo ES , formando o complexo ESI
- Para essa situação $K_m \downarrow$ e $V_{m\acute{a}x} \downarrow$. Isso porque α' atua sobre as características da enzima, inviabilizando sua capacidade de metabolização do substrato (ou seja, de catálise). Logo, mesmo para $[S] \uparrow$ o processo é menos efetivo do que na ausência de I . Além disso, com $[ES] \downarrow$ teremos $k_2 \downarrow$ (e, portanto $K_m \downarrow$ e $V_{m\acute{a}x} \downarrow$)
- Para IRAC, a equação de Michaelis-Menten será representada pela expressão $V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + \alpha'[S]}$

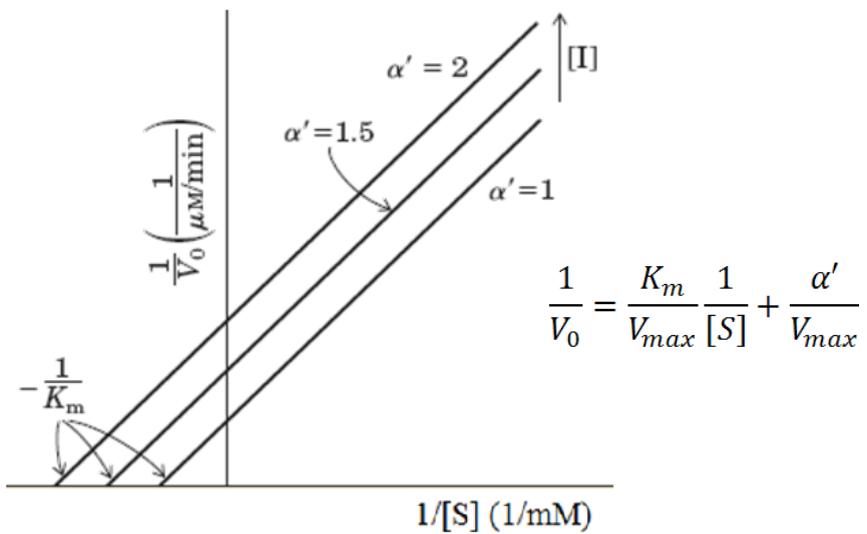
14

Inibição Reversível Anti-competitiva (IRAC)



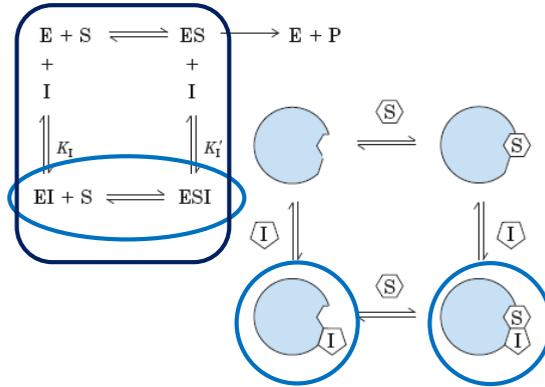
15

Inibição Reversível Anti-competitiva (IRAC)



16

Inibição Reversível Mista (IRM)



• O inibidor se liga tanto a enzima livre, como ao complexo ES

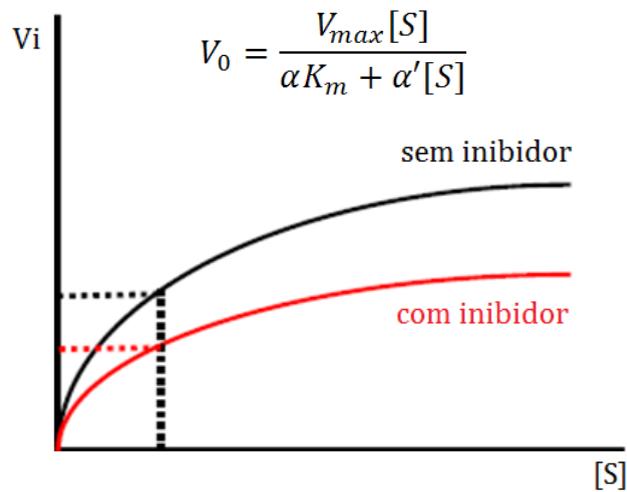
• $V_{m\acute{a}x} \downarrow$

• K_m : ir\`a variar em fun\`cao dos efeitos α e α'

• Na presen\`ca de IRM, a equa\`cao de Michaelis-Menten ser\`a representada por $V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]}$

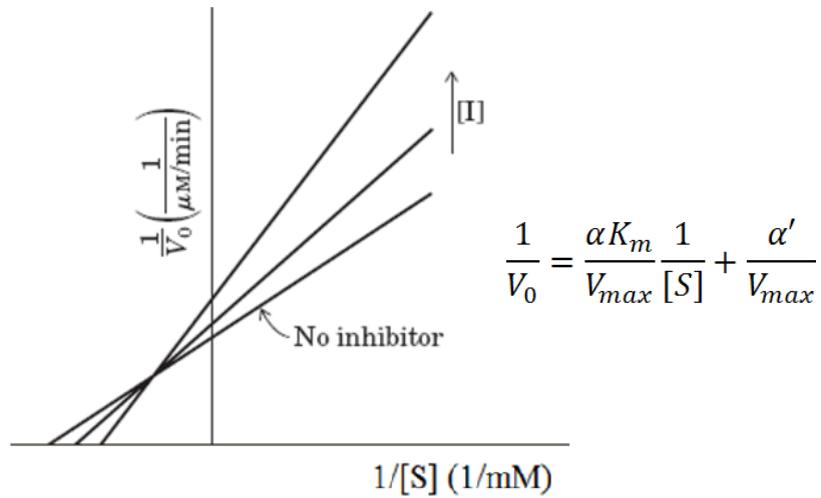
17

Inibição Reversível Mista (IRM)



18

Inibição Reversível Mista (IRM)



19

Resumo

	$V_{\text{máx}} \text{ aparente}$	$K_m \text{ aparente}$
Sem inibição	$V_{\text{máx}}$	K_m
Inibição competitiva (IRC)	$V_{\text{máx}}$	$\alpha \cdot K_m$
Inibição Anti-Competitiva (IRAC)	$V_{\text{máx}}/\alpha'$	K_m/α'
Inibição Mista (IRM)	$V_{\text{máx}}/\alpha'$	$\left(\frac{\alpha}{\alpha'}\right) \cdot K_m$

Inibição Irreversível

O inibidor combina-se **permanentemente** ao enzima de uma das seguintes formas:

- Ligação covalente
- Destruição de um grupo funcional essencial ao funcionamento do enzima
- Ligação não covalente particularmente estável

20