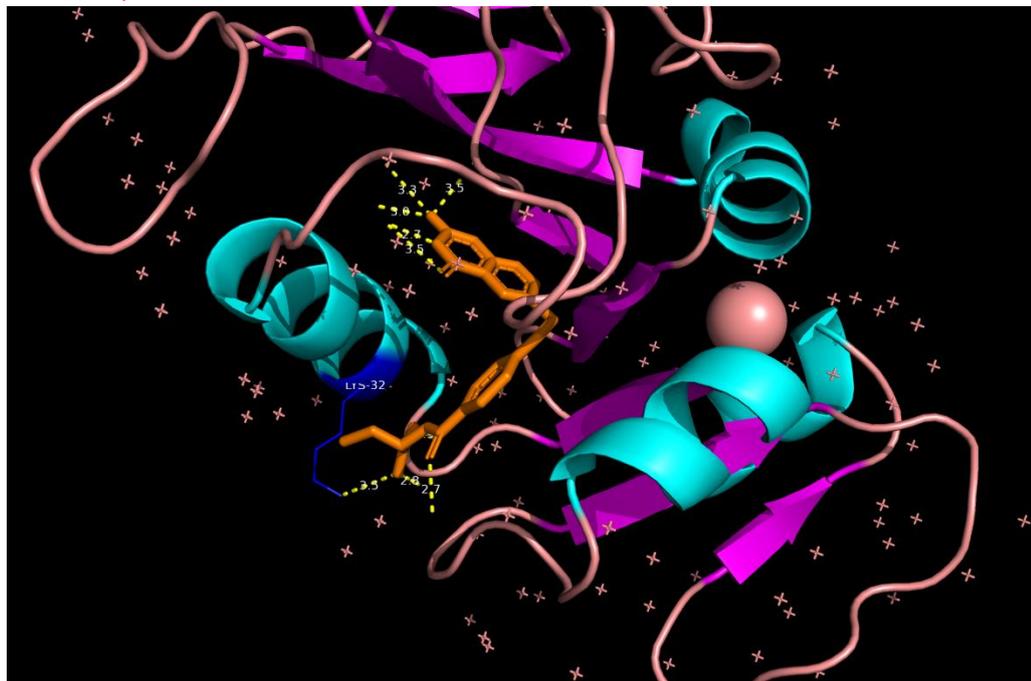


- 1) Liste ao menos quatro efeitos proporcionados pelas enzimas em seus substratos e explique seus mecanismos de modo sucinto, porém preciso.
  - a. **Dessolvatação:** A enzima substitui as moléculas de água que formam a coroa de solvatação ao redor do substrato com seus resíduos polares de aminoácidos, aumentando a entropia total do sistema.
  - b. **Diminuição da Entropia:** Numa primeira etapa antes da catálise, a enzima estabiliza o substrato em seu grupo catalítico, diminuindo temporariamente a entropia do substrato.
  - c. **Estabilização:** Antes da catálise, a conformação dos aminoácidos na região catalítica é tal de forma a evitar redistribuição de elétrons no substrato, processo que ocorre durante a catálise.
  - d. **Ajuste Induzido:** A posição tridimensional das moléculas catalisadas é ajustada de modo a estar entre os graus X/Y/Z aceitáveis para que a reação específica ocorra, proporcionando a aproximação ou separação de moléculas em ângulos apropriados.
  
- 2) Qual a principal força intermolecular responsável pela catálise enzimática? Qual a diferença no papel desta força em solução aquosa e no sítio ativo da enzima. De um exemplo de enzima e seu respectivo mecanismo de catálise, indicando os grupos catalíticos que utilizem esta força intermolecular para catálise.
  - a. A principal força intermolecular responsável pela catálise enzimática são as forças fracas de interação interatômica (forças não-covalentes).
  - b. Em solução aquosa, estas forças estabilizam as moléculas dissolvidas na água para seu estado mais energeticamente favorável (ex: formação de micelas, formação de coroas de solvatação em íons, etc). No sítio ativo da enzima, estas forças estabilizam o complexo de transição ES, ou seja, desestabilizam a forma normal (encontrada em solução) da molécula, diminuindo a energia de ativação da reação em várias ordens de grandeza. Cada interação fraca realizada entre substrato e enzima libera uma pequena quantidade de energia livre que estabiliza a interação.
  - c. Exemplo de enzima: Di-hidrofolato-redutase:



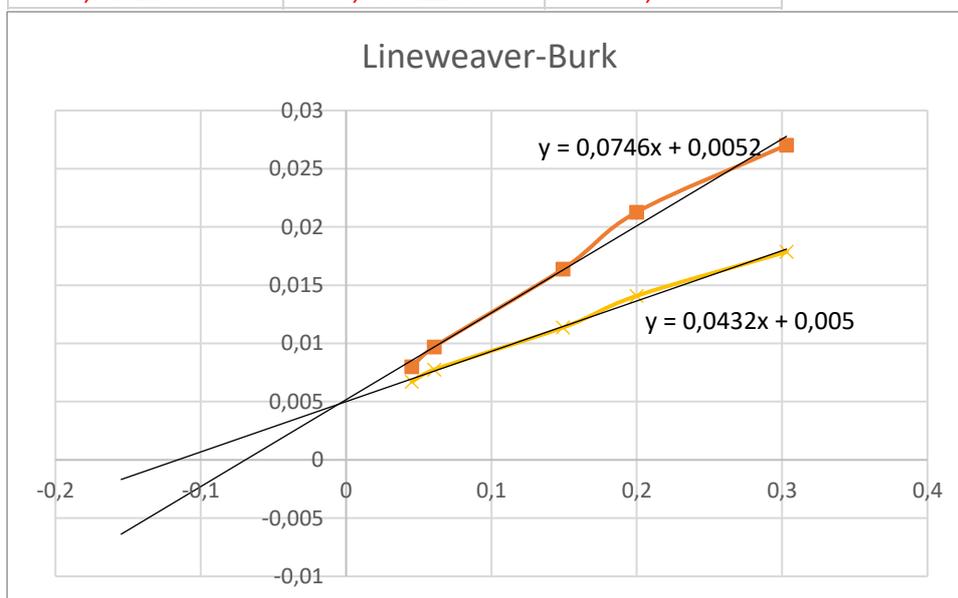
Em laranja: Tetra-hidrofolato. Em amarelo: Ligações não-covalentes com a enzima e suas distâncias em angströms na forma cristalizada. Tipo de catálise: Redução por NADPH, que doa um elétron ao ácido di-hidrofolato.

3) Experimentos cinéticos foram realizados para uma enzima e seu substrato numa concentração especificada na tabela abaixo para as condições normais e com um inibidor. Pede-se:

- Análise pelo gráfico de Lineweaver-Burk os dois casos.
- Determine os parâmetros cinéticos da enzima não-inibida.
- Determine o tipo de inibição e o  $K_i$ .

Concentração de Substrato $\times 10^{-4} \text{mol.L}^{-1}$	Taxa de Reação: $10^{-6} \text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$	
	Sem Inibidor	40mM de Inibidor
3.3	56	37
5.0	71	47
6.7	88	61
16.5	129	103
22.1	149	125

$1/[S]$	$1/V$ sem I	$1/V$ com I
0,303030303	0,017857143	0,027027027
0,2	0,014084507	0,021276596
0,149253731	0,011363636	0,016393443
0,060606061	0,007751938	0,009708738
0,045248869	0,006711409	0,008



$$y=1/V=0.005 \rightarrow V_{\max} = 200 \cdot 10^{-6} \cdot \text{mol.L}^{-1}.\text{min}^{-1}$$

-1/ $k_m$ :                      Sem Inibidor      -0,11574       $K_m$ :                       $8,64 \cdot 10^{-4} \text{mM}$   
    Com Inibidor      -0,06971                                       $14,34615 \cdot 10^{-4} \text{mM}$

Inibição: Competitiva.

Alpha:  $K_{mi}/K_m = 1,660434473$

$$\text{Alpha} = 1 + [I]/K_i$$

$$K_i = [I]/\text{alpha} - 1 \rightarrow K_i = 0,060576874\text{mM}$$

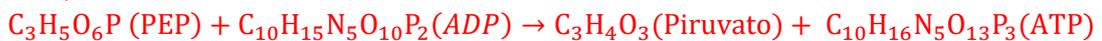
- 4) Consulte um dos livros de bioquímica sugeridos como bibliografia e procure o mecanismo molecular de reação de uma oxidorreductase e de uma quinase. Para cada uma destas enzimas, cite seu nome e a reação (substratos ou reagentes, e produtos) catalisada. Cite uma coenzima que participa da reação catalisada e descreva sua função.

Exemplo de Oxirredutase: Álcool-Desidrogenase.



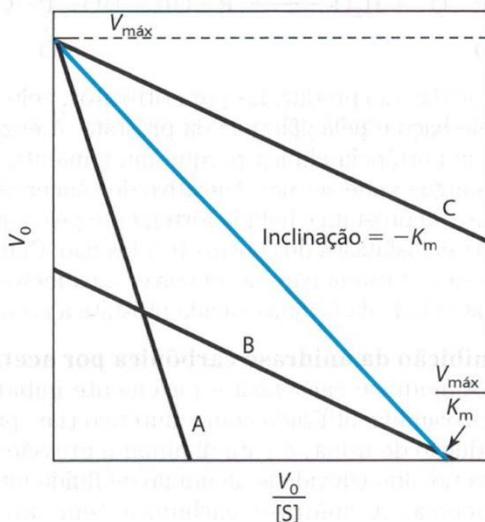
Coenzima: NAD<sup>+</sup>/NADH

Exemplo de Quinase: Piruvato Quinase



Coenzima: ADP/ATP

- 5) Multiplicando-se a equação de Michaelis-Menten por  $V_{max}$  dos dois lados e rearranjando a equação, obtemos a equação de **Eadie-Hofstee**. Abaixo, está um gráfico que representa, em azul, a cinética de uma enzima, e em uma das linhas (**A, B ou C**), a cinética após a adição de um inibidor **competitivo**. Explique qual é a linha que representa a cinética com o inibidor através de sua equação de inibição específica.



Equação de Eadie-Hofstee:

$$V_0 = (-K_m) \frac{V_0}{[S]} + V_{max}$$

Podemos ver através da equação de inibição competitiva:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_s}{V_{max}} \left( 1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{Max}}$$

Que o inibidor alterará a inclinação da reta ( $K_s$ ) e que o termo  $V_{max}$  permanece

inalterado, o que exclui a reta B das possíveis retas de inibidor. Como com o inibidor ocorre uma diminuição da velocidade  $V_0$ , é óbvio que a reta A é a correspondente à reação com inibidor.

- 6) O  $K_m$  de uma enzima para um substrato é  $6.5 \times 10^{-2}\text{M}$ . A atividade da enzima foi medida numa concentração inicial de  $[S] = 3.5 \times 10^{-4}\text{M}$  e, em um minuto, metade do substrato havia sido consumido. Calcular:
- A velocidade máxima da reação.
  - A concentração de produto formado após 3,5 minutos.

**NOTA IMPORTANTE:**

O conteúdo desta questão envolve a matéria de cálculo que não é lecionada para o curso de farmácia. Assim, esta questão e este conteúdo não serão cobrados dos alunos nas seguintes listas de exercícios e provas.

Diversas abordagens foram utilizadas para resolver este exercício e um grande esforço foi feito para considerar válidas o maior número possível das mesmas. De todo modo, aqui apresenta-se um gabarito da questão:

Como  $[S]$  é  $< 0,01$ .Km, a reação é de primeira ordem, e, conseqüentemente:

$$k = 0.693/t_{\frac{1}{2}} = 0.693/1 = 0.693. \text{min}^{-1}$$

Como  $k = V_m/K_m$  calcula-se o  $V_m$ :

$$V_m = k. K_m = 0.693 \times 6,5 \times 10^{-2}$$
$$V_m = 4,5 \times 10^{-2} \text{mol. litro}^{-1}. \text{min}^{-1}$$

A forma integrada da equação de primeira forma é:

$$2,3 \log[S_0]/[S_t] = kt$$

Substituindo:

$$2,3 \log \frac{3,5 \times 10^{-4}}{[S_t]} = 0,693 \times 3,5$$

$$2,3(\log 3,5 \times 10^{-4} - \log[S_t]) = \frac{2,425}{2,3} = 1,05$$

$$0,5441 - 4 - \log[S_t] = 1,05$$

$$-\log[S_t] = 4,5$$

$$\log \frac{1}{[S_t]} = 4,5$$

$$\frac{1}{[S_t]} = 3,16 \times 10^4$$

$$[S_t] = 0,316 \times 10^{-4}$$

A concentração do produto após 3,5 minutos de reação será:

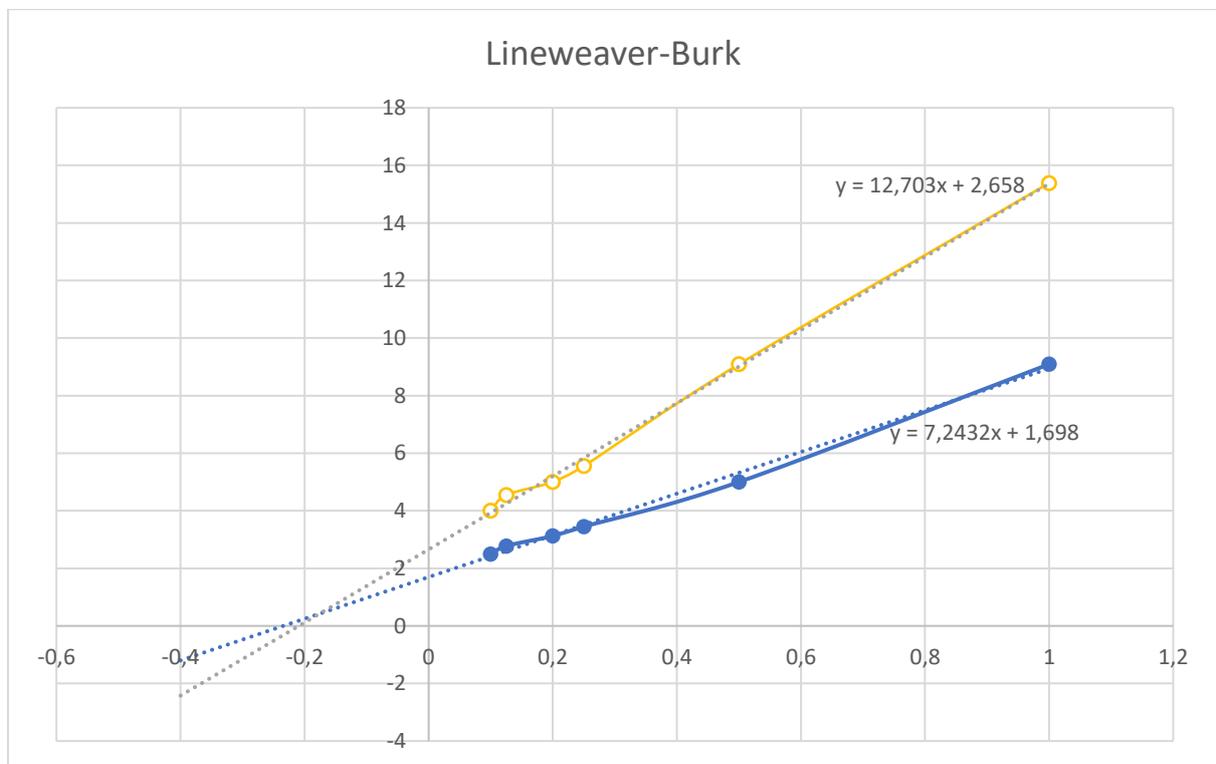
$$[P] = S_0 - S_t = (3,5 \times 10^{-4}) - (0,316 \times 10^{-4})$$

$$[P] = 3,184 \times 10^{-5} M$$

7) Ao se estudar a inibição da Xantina Desidrogenase pela 8-azaguanina (8-AG) fez-se variar a concentração do substrato, hipoxantina, e usou-se 8-AG na concentração final de  $4 \times 10^{-5} \text{M}$ . Com os dados obtidos calcular pelo método gráfico de Lineweaver-Burk a natureza da inibição e o valor do  $K_m$  para hipoxantina.

[S] $\times 10^{-5} \text{M}$	1	2	4	5	8	10
V(s/inibidor)	0.11	0.20	0.29	0.32	0.36	0.4
$V_i(\text{c/inibidor})$	0.065	0.11	0.18	0.20	0.22	0.25

1/[S]	1	0,5	0,25	0,2	0,125	0,1
1/V(s/inibidor)	9,090909	5	3,448276	3,125	2,777778	2,5
1/ $V_i(\text{c/inibidor})$	15,38462	9,090909	5,555556	5	4,545455	4



-1/ $K_m$                     -0,20924  
-1/ $K_m$                     -0,23443  
média:                    -0,22184  
 $K_m$ :                     $4,507803 \times 10^{-5} \text{M}$

No entanto,  $V_{max}$  muda.  
Inibição não-competitiva.