

Para cada enzima na primeira coluna da tabela,

indicar se utiliza ou não um ou mais destes mecanismos de catálise

No caso de afirmativo, indicar qual aminoácido ou grupo está envolvido na catálise.

Por exemplo: “Asp #XX atua como um ácido geral doando H⁺ para a oxigênio do grupo carbonila do substrato”

	Catálise Ácido-Base	Catálise Covalente	Catálise por íons metálicos
Anidrase Carbônica			
Ribonuclease			
Quimiotripsina			
Lisozima			
Aconitase			

Enzimas

Como elas funcionam

Sugiro assistir este video no final da aula

<https://pdb101.rcsb.org/learn/videos/how-enzymes-work>

Reações químicas em sistemas biológicos devem acontecer numa velocidade compatível com a vida

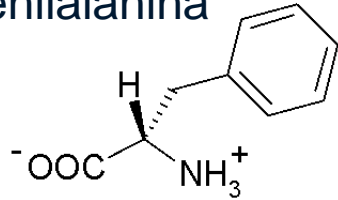
- Mesmo reações exergônicas (espontâneas) podem ocorrer em velocidades lentas demais:
 - compostos biológicos são estáveis em condições fisiológicas de temperatura e pH
- Reações precisam ser “aceleradas” por catalisadores

Enzimas

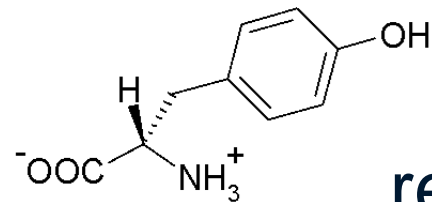
- Macromoléculas biológicas com atividade catalítica
 - Proteínas (a grande maioria) e RNAs catalíticos
 - altamente específicas
 - aumentam velocidade de reação, mas não a variação de energia padrão (ΔG°)

Exemplo de seletividade: fenilalanina hidroxilase

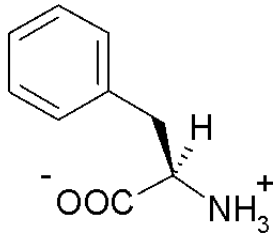
L-fenilalanina



F.H



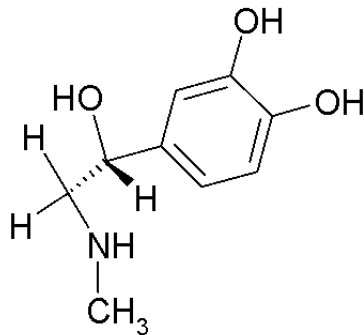
reação



F.H

substrato não se liga

D-fenilalanina



F.H

substrato se liga, mas
reação não ocorre

Tipos de reações catalisadas por enzimas

TABLE 6–3

International Classification of Enzymes

Class no.	Class name	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Addition of groups to double bonds, or formation of double bonds by removal of groups
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to cleavage of ATP or similar cofactor

Milhares de reações diferentes podem ser classificadas nesses seis grupos!

Algumas enzimas precisam de cofatores e/ou coenzimas

- Cofatores:

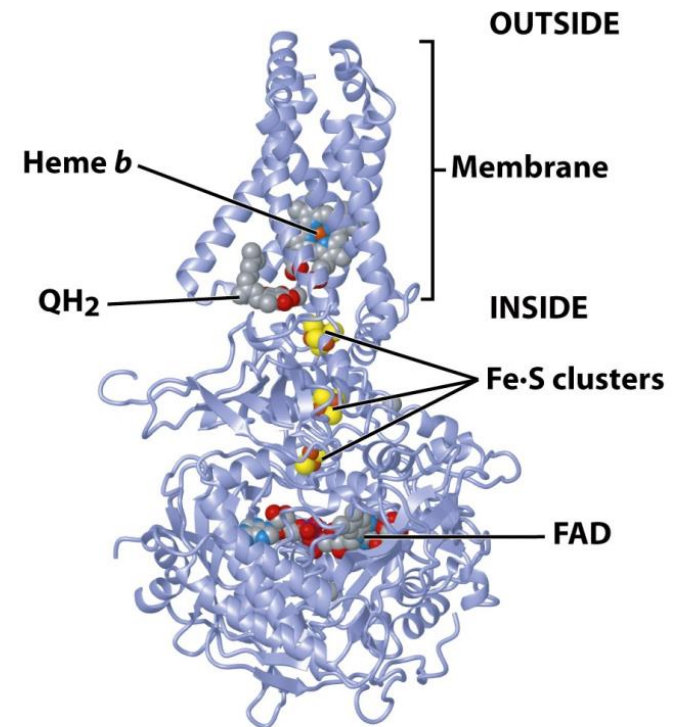
- íons inorgânicos:

- Fe^{+2} , Mg^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2}

- Coenzimas

- compostos orgânicos que transportam grupos químicos entre moléculas

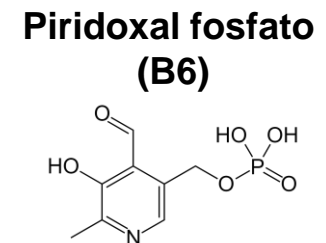
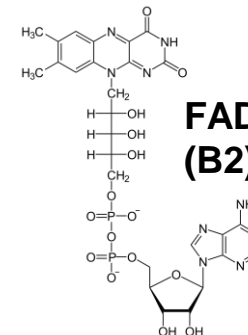
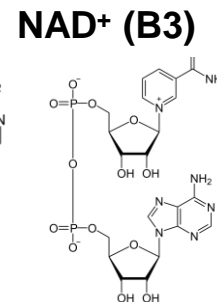
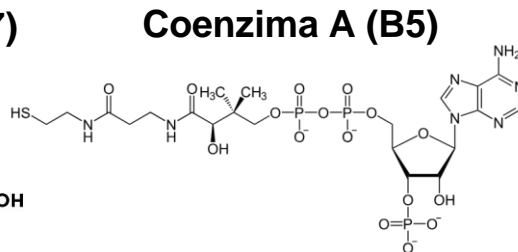
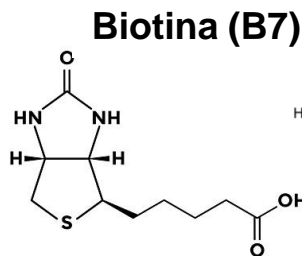
- Vitaminas são precursores de coenzimas, que devem ser obtidas da dieta

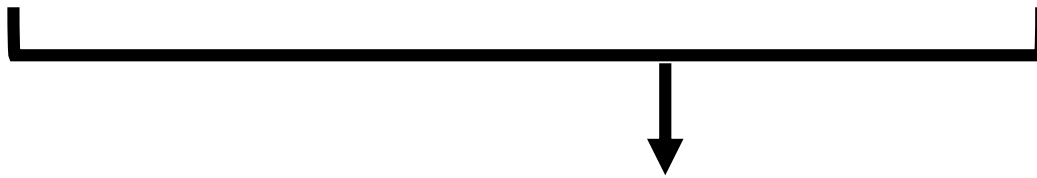
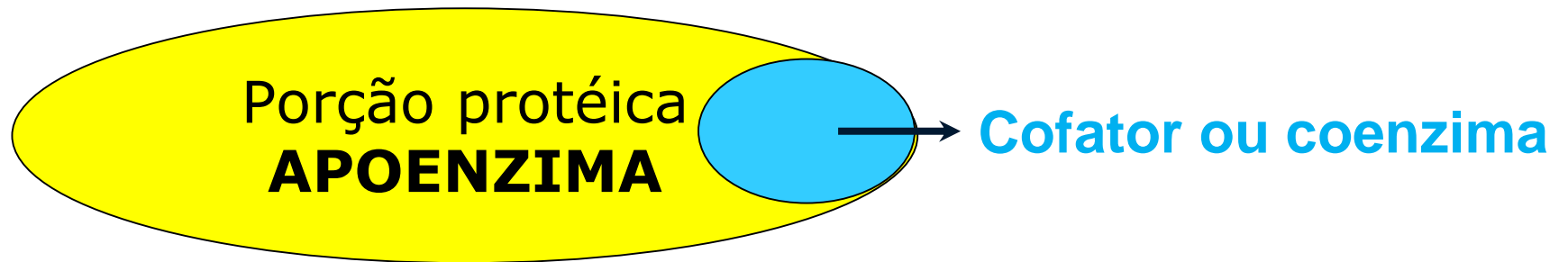


Succinato desidrogenase

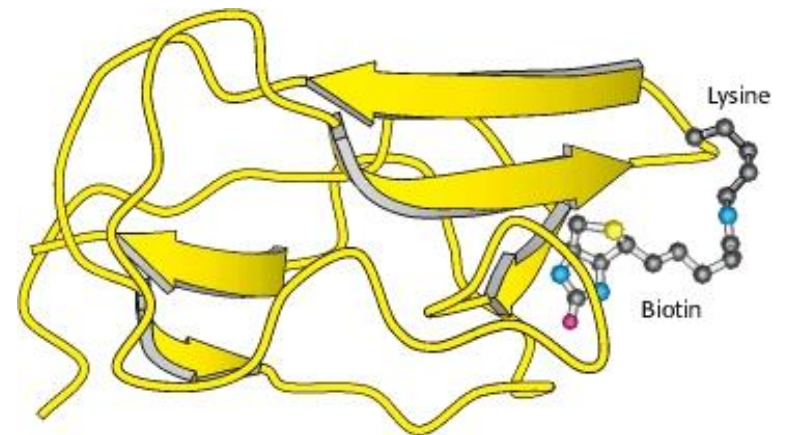
Coenzimas

Coenzima	Grupo de transferência	Origem	Fonte
Biotina	HCO_3^-	biotina (vitamina B₇)	Amendoim, chocolate, ovos
Coenzima A	Grupos acila	ácido pantotênico (vitamina B₅)	Carne, ovos, frutas, cereais e verduras
$\text{NAD}^+/\text{NADP}^+$	Íons hidrogênio	niacina (vitamina B₃)	Cereais, leite, fígado
FAD/FMN	Íons hidrogênio	riboflavina (vitamina B₂)	Carne, ovos, leite, cereais
Piridoxal fosfato	Grupos amino	piridoxina (vitamina B₆)	carne, vegetais, grãos de cereais integrais e gema do ovo





HOLOENZIMA

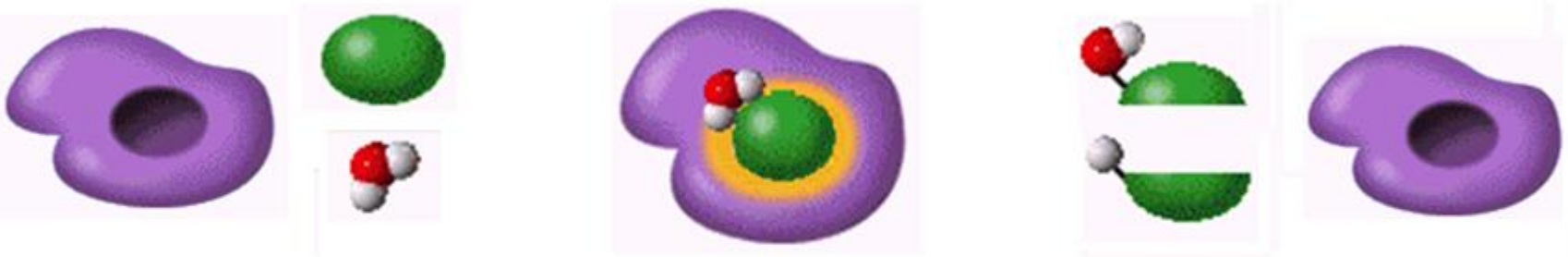


piruvato carboxilase



Como as enzimas funcionam?

Como as enzimas funcionam?



Substrato se liga ao
SÍTIO ATIVO
da enzima

Princípio de catálise: o catalisador (enzima) não é consumido na reação

Sítio Ativo

- Região da enzima onde ocorre a reação
 - ligação dos substratos
 - radicais dos aminoácidos envolvidos na interação e na catálise

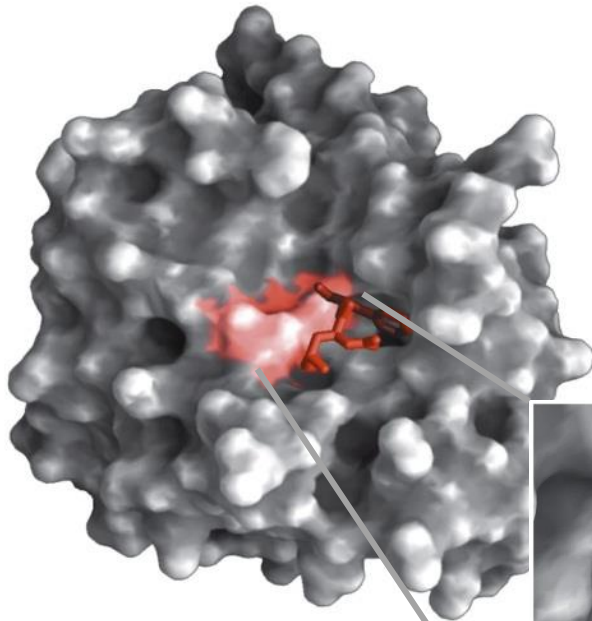


Figure 6-1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Proporciona um ambiente favorável ao encontro de substratos e à catálise

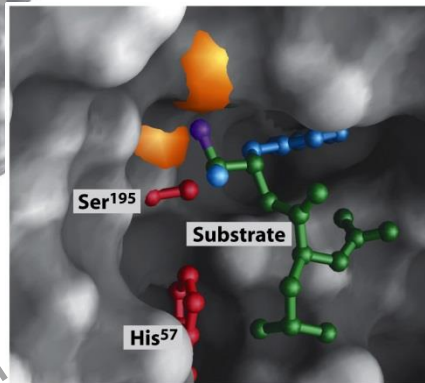


Figure 6-18d
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Lembrando da cinética e da termodinâmica...

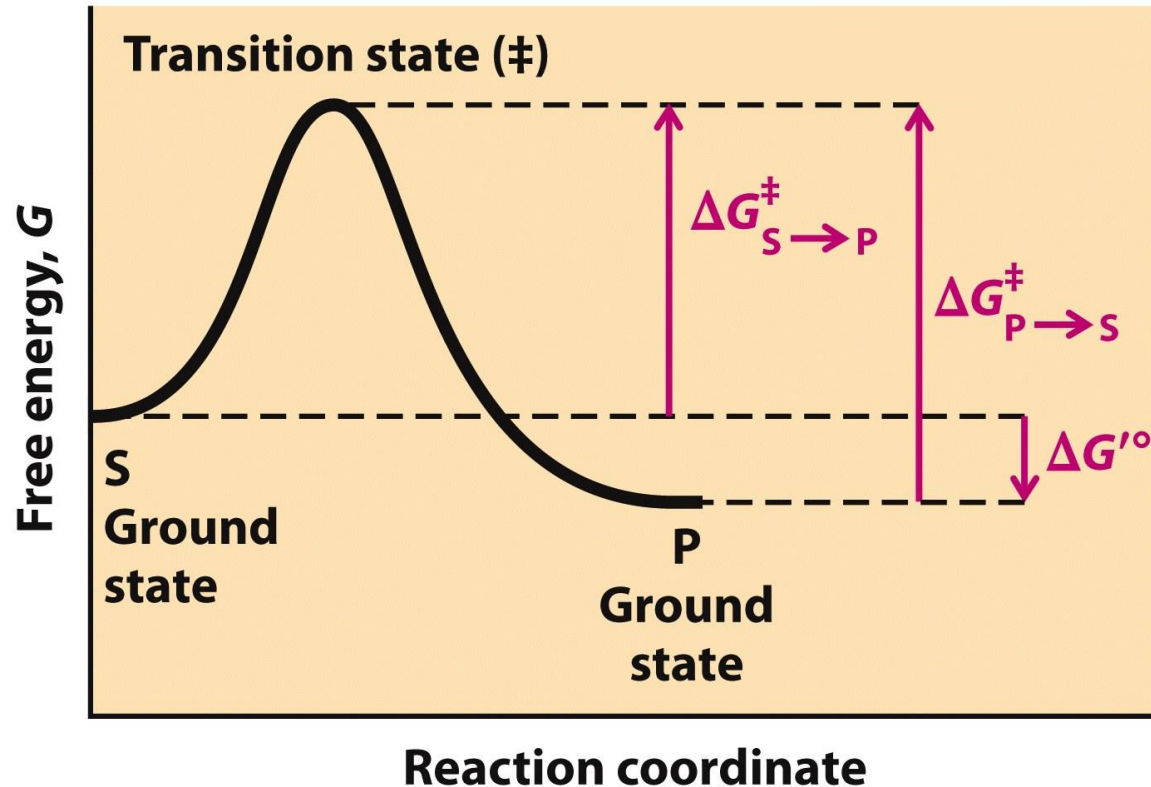


Figure 6-2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Reação não catalisada: alta energia de ativação

Estado de transição: configuração instável de alta energia

Enzimas diminuem a energia de ativação

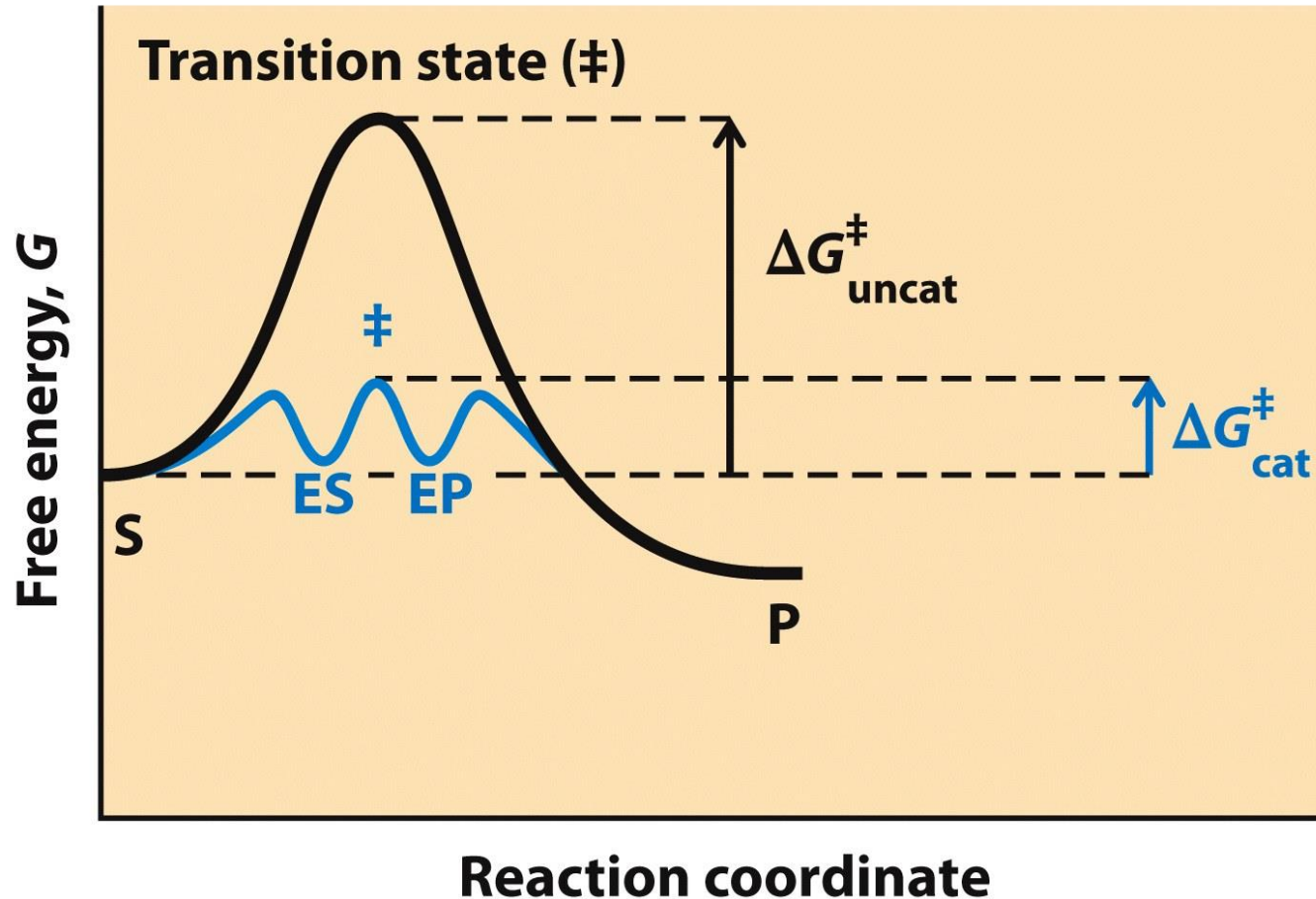


Figure 6-3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

A reação ocorre por um caminho que exige menor energia de ativação

Enzimas diminuem a energia de ativação

A reação ocorre por um caminho que exige menor energia de ativação

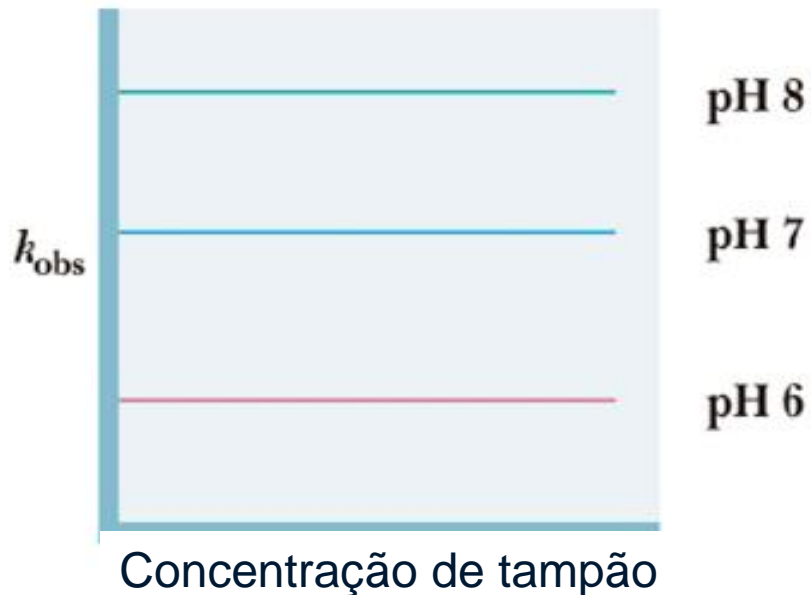
Há vários “tipos” de “mecanismos catalíticos”

- Catálise por meio de efeitos de proximidade e orientação
- Catálise ácido-base (ácido-base geral ou específica)
- Catálise covalente
- Catálise por íons metálicos e catálise eletrostática
- Catálise por ligação preferencial do estado de transição

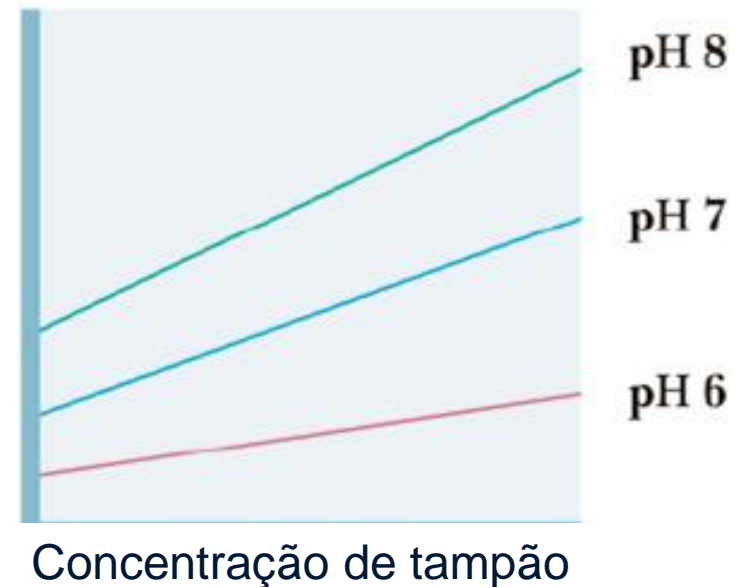
- Na maioria dos casos podemos identificar múltiplos tipos de catálise sendo utilizados pela mesma enzima.

Catálise ácido-base:

Muitas reações dependem de $[H^+]$ ou $[OH^-]$ ou $[AH]$ ou $[B:]$



CATÁLISE ÁCIDO – BASE
ESPECÍFICA



CATÁLISE ÁCIDO – BASE
GERAL

Catálise por ácido geral ou base geral

Base Geral:

Estabilização do estado de transição pela transferência de um H^+ à uma Base

Ácido Geral:

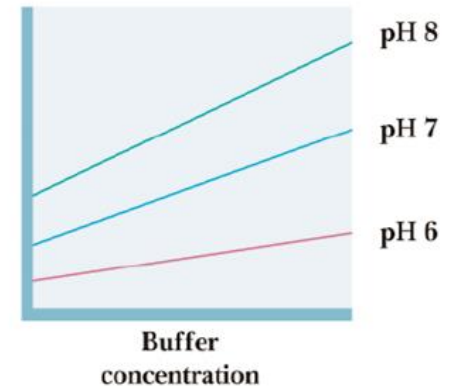
Estabilização do estado de transição pela transferência de um H^+ de um Ácido

Exemplos:

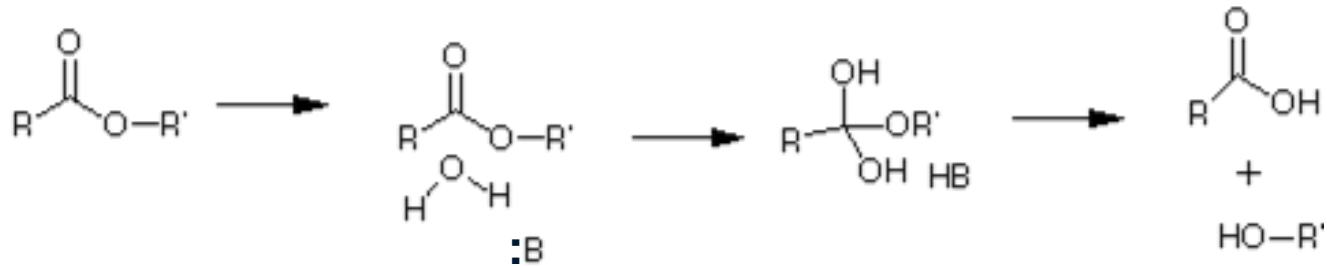
1) *Catálise de hidrólise de um ester por um base geral*

2) *Catálise de hidrólise de um ester por um ácido geral*

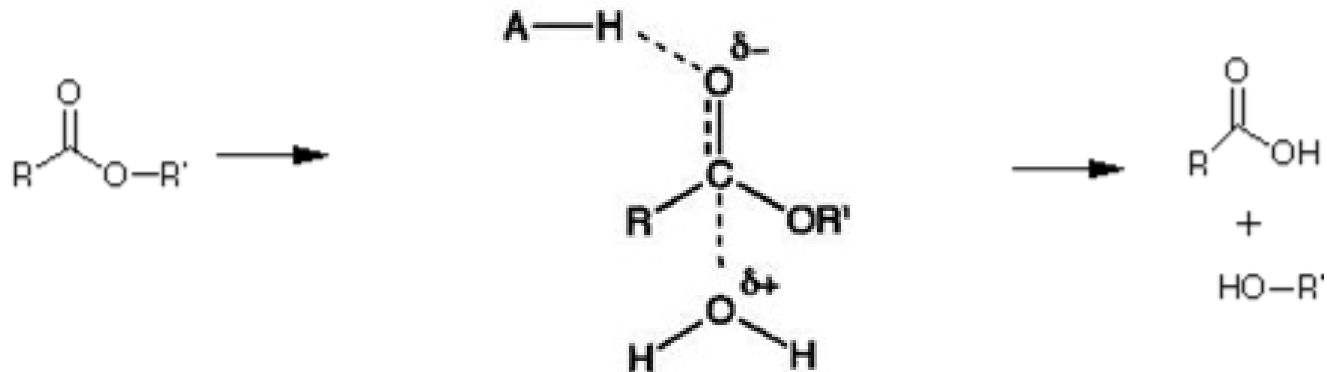
Catálise por ácido e base geral



1) *Catálise de hidrólise de um éster por um base geral (B:)*



1) *Catálise de hidrólise de um éster por um ácido geral (A-H)*



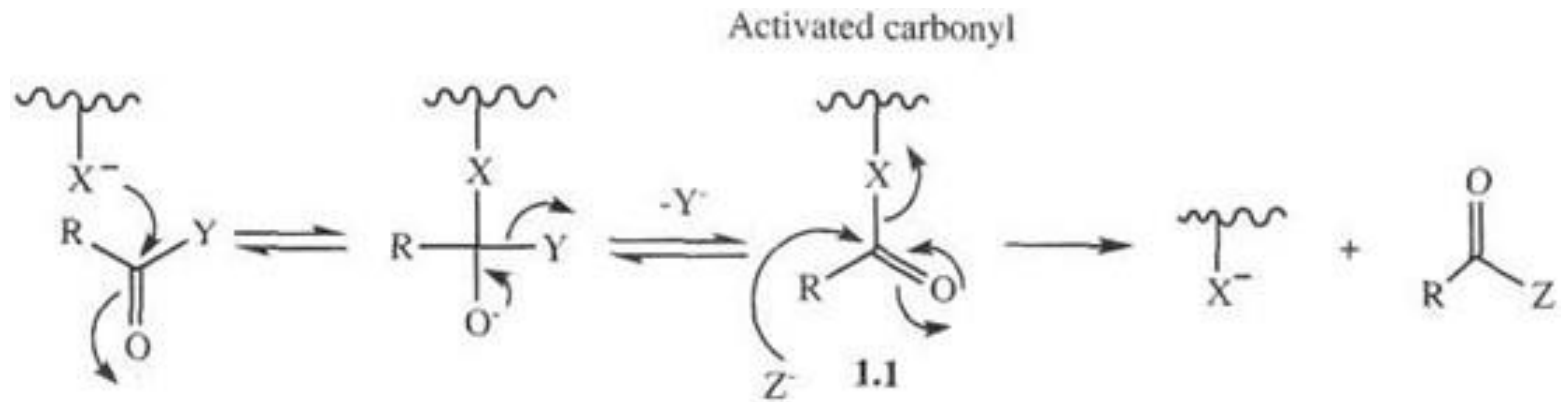
Ácidos e Bases Gerais Encontradas em Proteínas

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
Lys, Arg	$R-\overset{H}{\underset{H}{N^+}}H$	$R-\overset{\cdot\cdot}{N}H_2$
Cys	$R-SH$	$R-S^-$
His	$ \begin{array}{c} R-C=CH \\ \diagdown \quad \diagup \\ HN \quad N^+H \\ \diagup \quad \diagdown \\ C \\ \\ H \end{array} $	$ \begin{array}{c} R-C=CH \\ \diagdown \quad \diagup \\ HN \quad N: \\ \diagup \quad \diagdown \\ C \\ \\ H \end{array} $
Ser	$R-OH$	$R-O^-$
Tyr	$ \begin{array}{c} R-\text{C}_6\text{H}_4-OH \end{array} $	$ \begin{array}{c} R-\text{C}_6\text{H}_4-O^- \end{array} $

Catálise Covalente

O substrato é transientemente modificado pela formação de uma ligação covalente com o catalizador.

O intermediário (1.1) é mais reativo do que o substrato



Z- reage aqui
muito lentamente

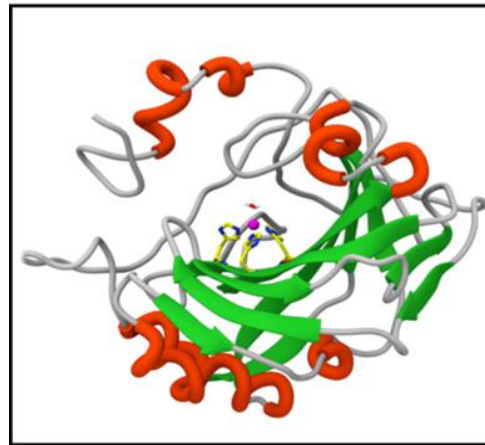
Z- reage aqui
mais rapidamente

Catalizador (X^-)
liberado

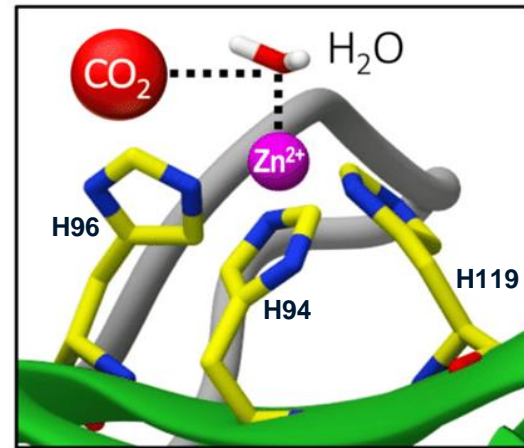
Catálise por íons metálicos

Exemplo: anidrase carbônica (CA)

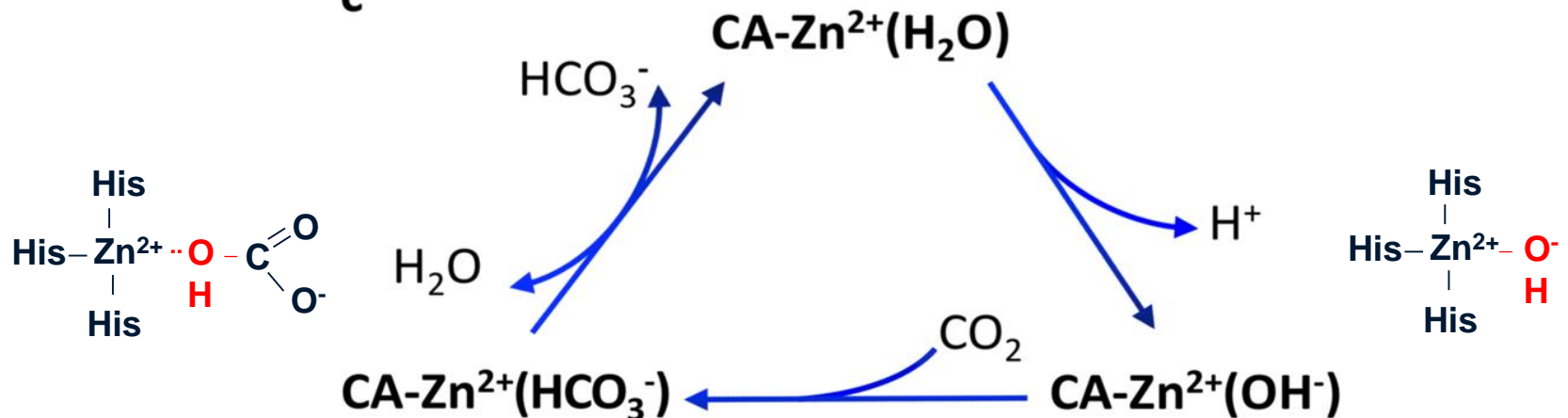
Enzima



Sítio Ativo

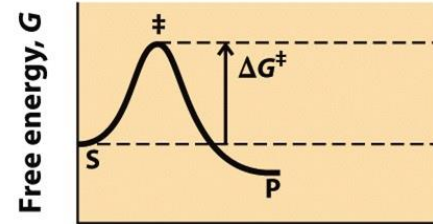


c



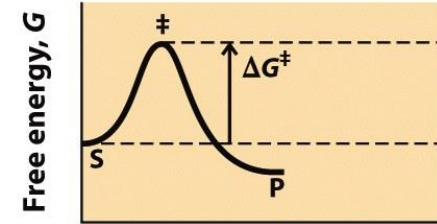
Catálise por ligação preferencial do estado de transição

(a) No enzyme

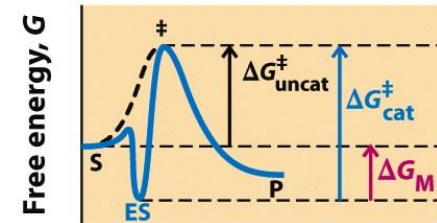
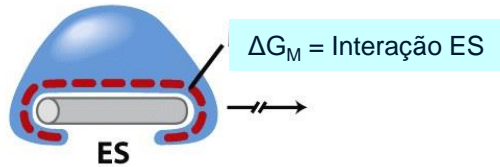


Modelo chave-fechadura de ligação do substrato

(a) No enzyme

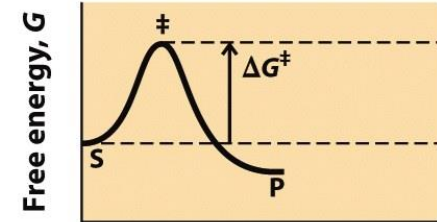


(b) Enzyme complementary to substrate

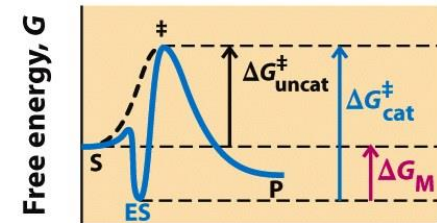
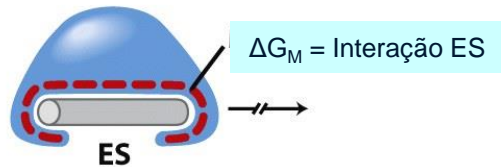


Modelo chave-fechadura x “*induced fit*” de ligação do substrato

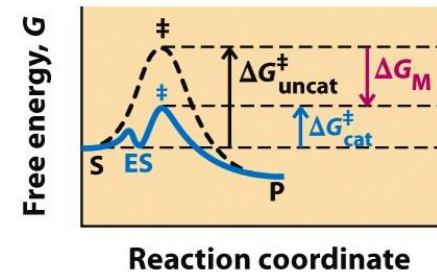
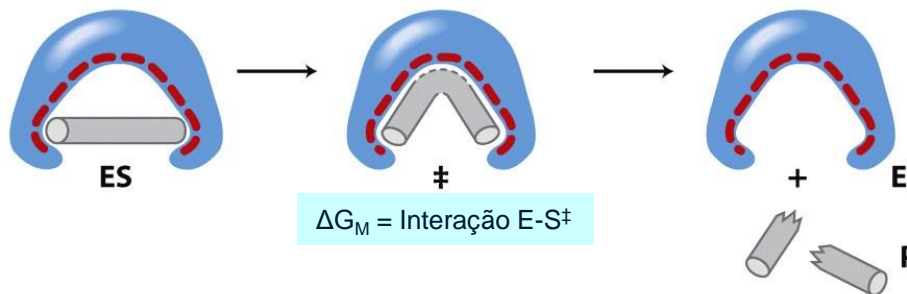
(a) No enzyme



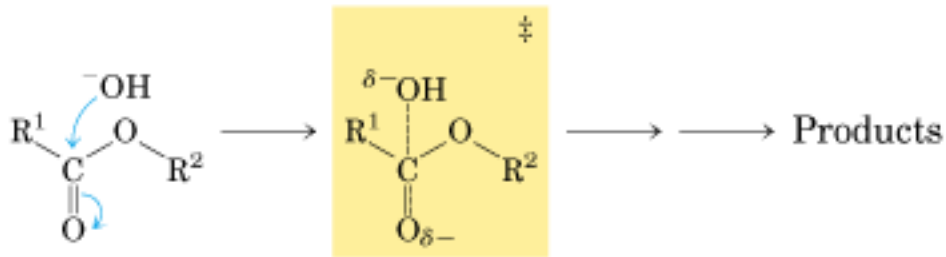
(b) Enzyme complementary to substrate



(c) Enzyme complementary to transition state

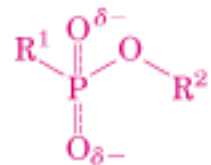


Os melhores inibidores são análogos do estado de transição

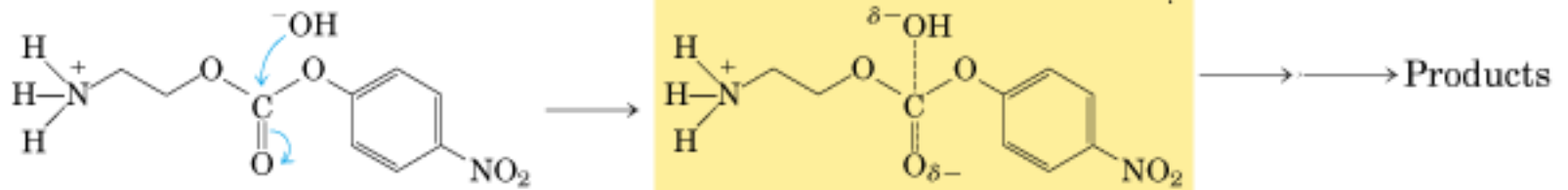


Ester hydrolysis

Transition state

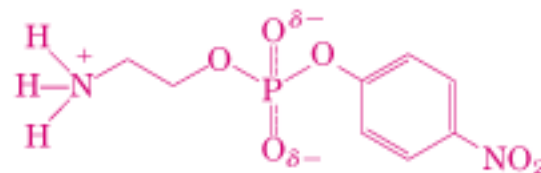


Analog (phosphonate)



Carbonate hydrolysis

Transition state

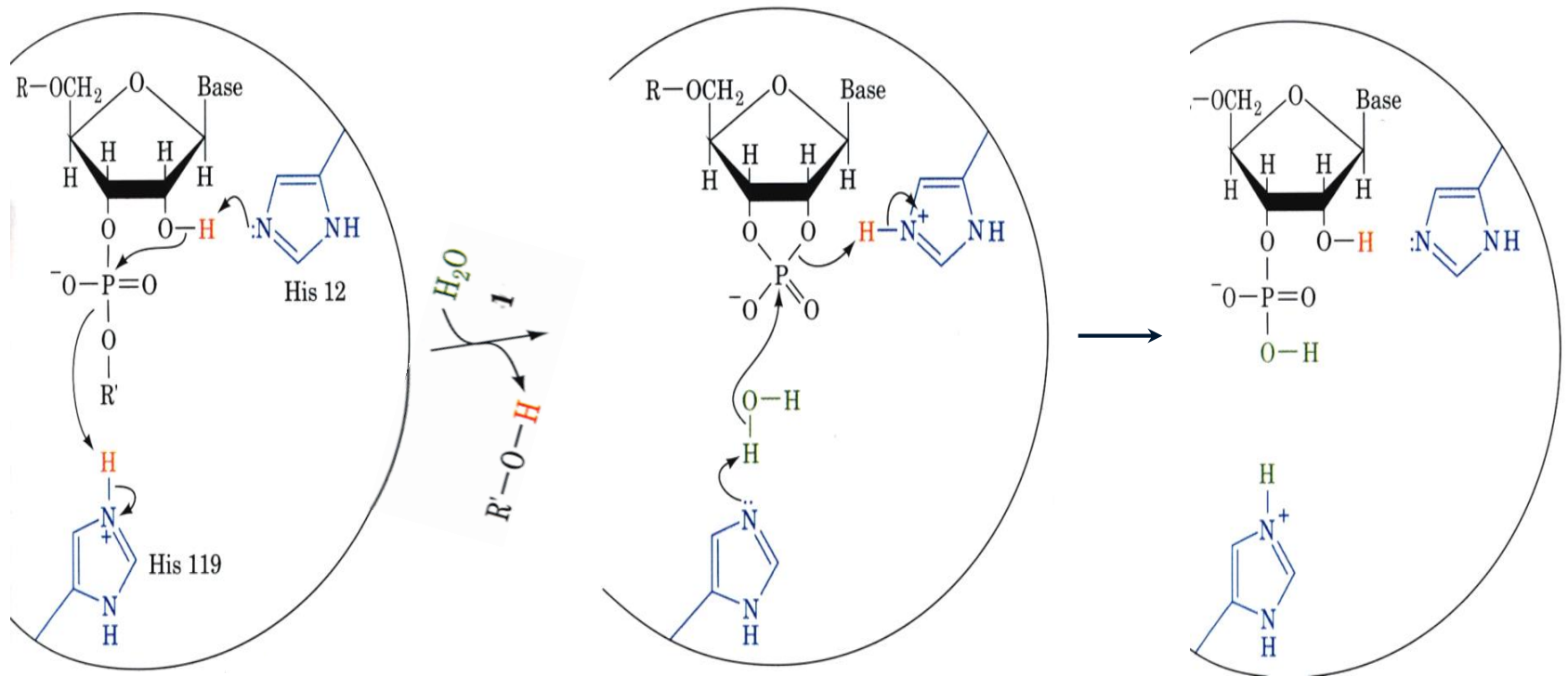


Analog (phosphate)

Exemplos de mecanismos de catálise enzimático

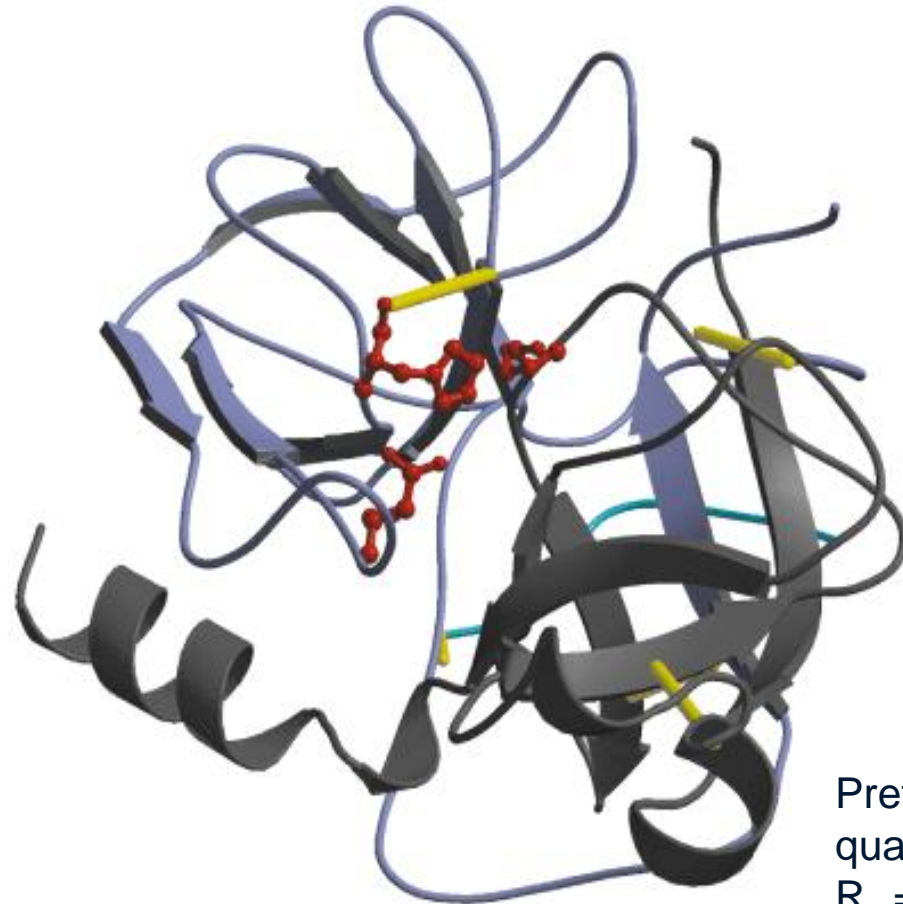
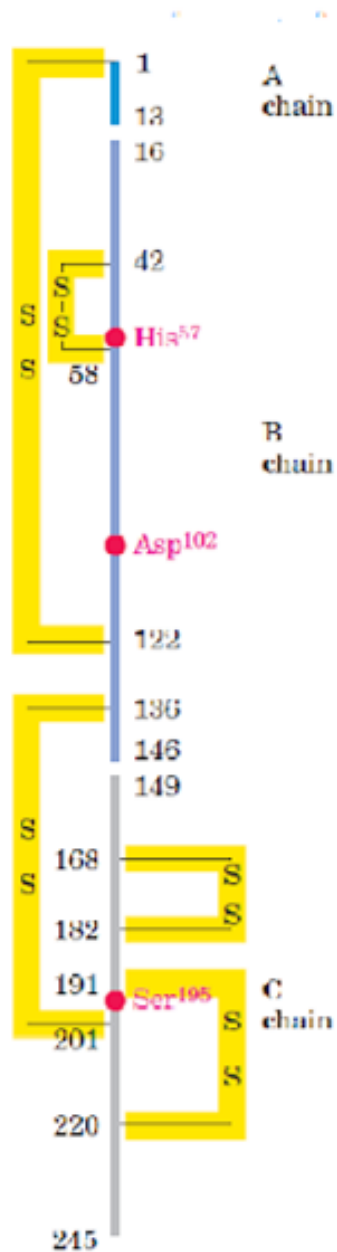
- Ribonuclease
- Quimiotripsina
 - Lisozima
 - Aconitase

Exemplo 1: Sítio Ativo da Ribonuclease

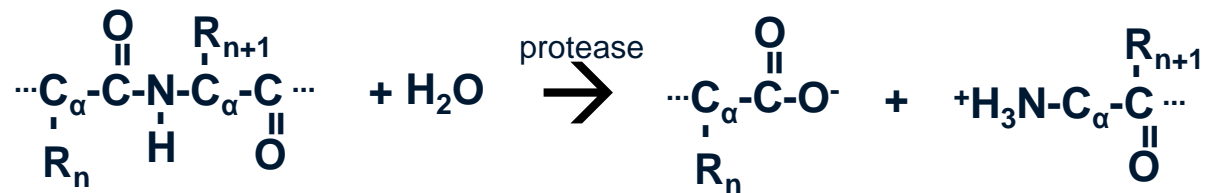


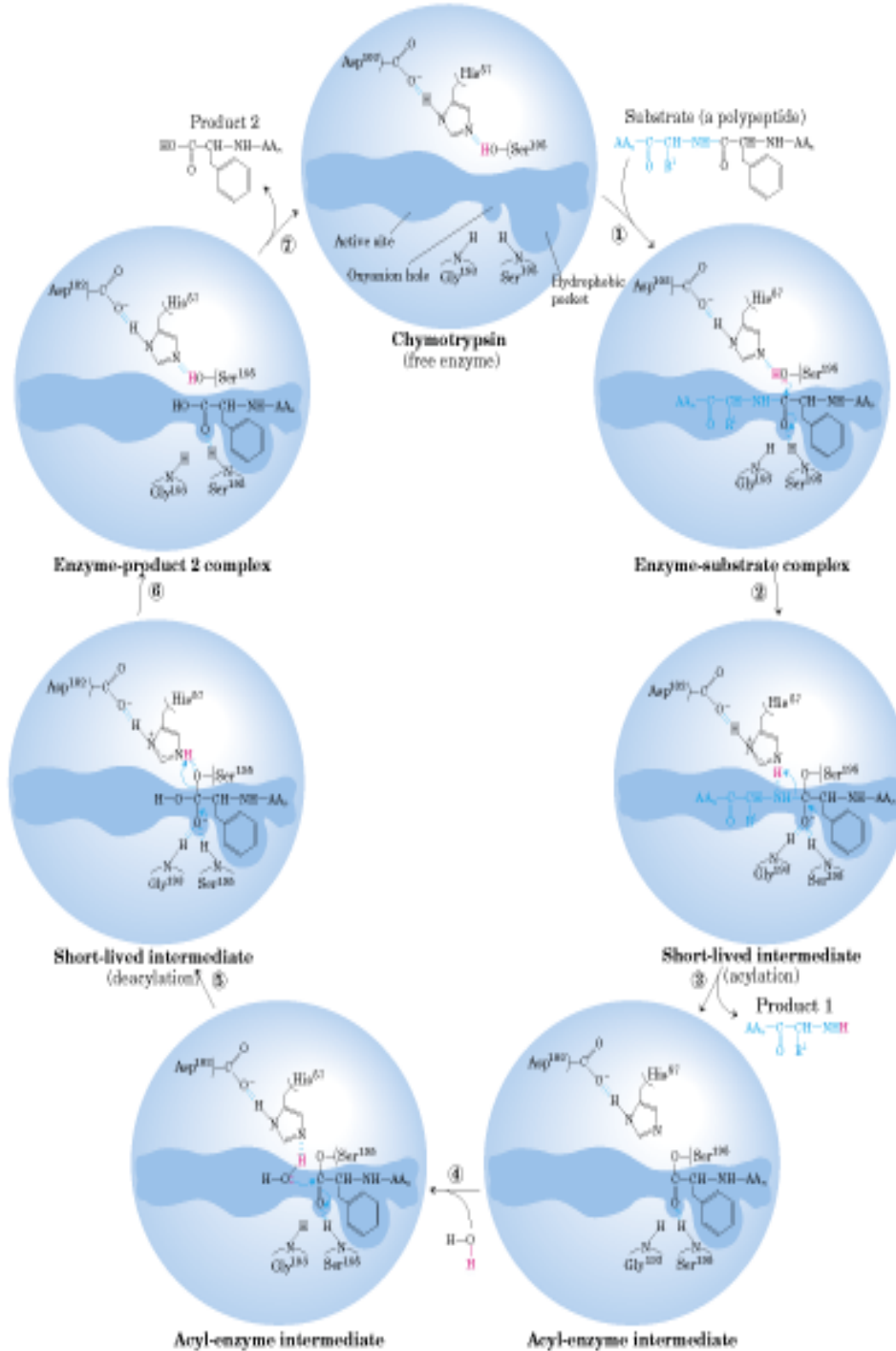
Quais tipos de catálise você pode identificar aqui?

Exemplo 2: Quimiotripsina

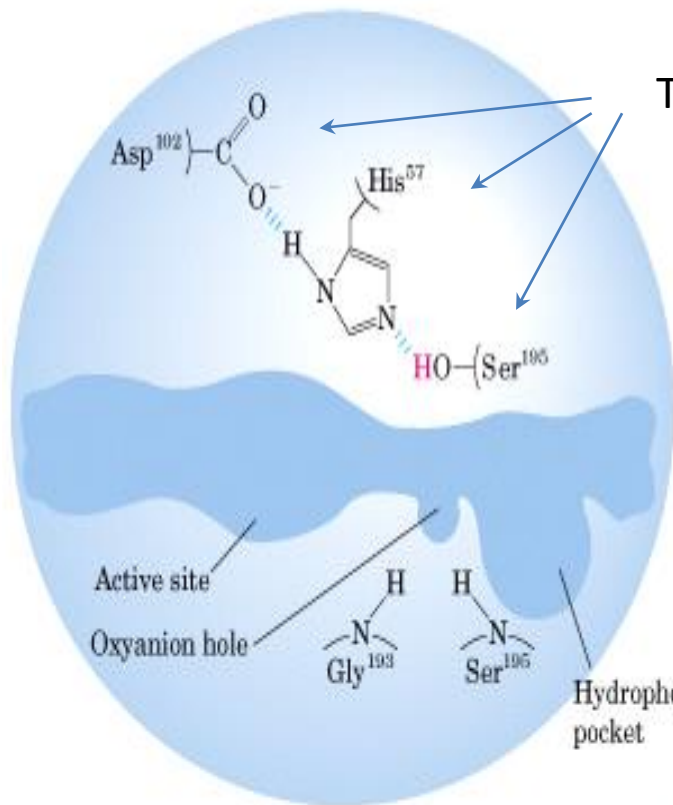


Preferencia quando $R_n = \text{aromático}$

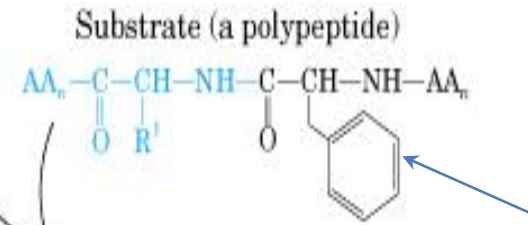




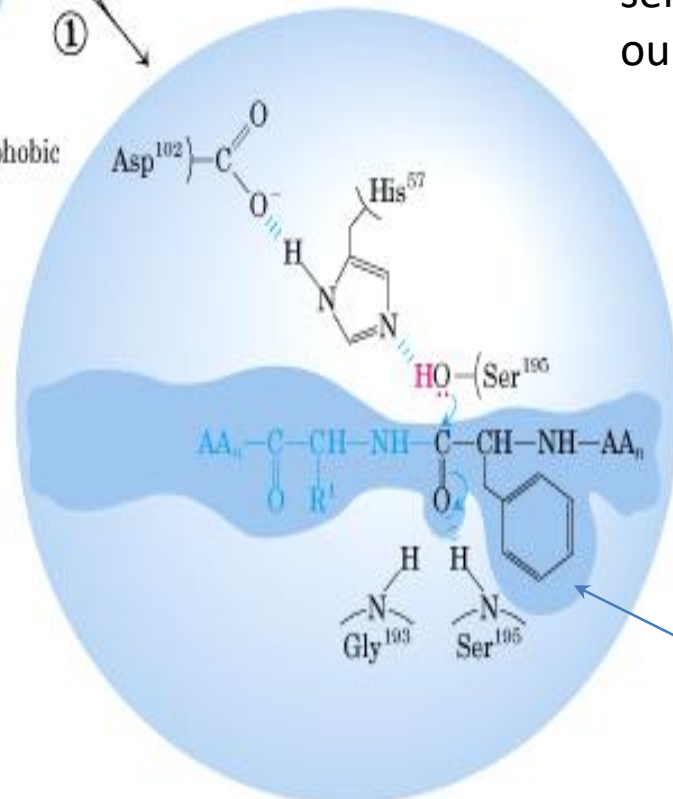
Triad catalítico (Ser, His, Asp)



Chymotrypsin
(free enzyme)

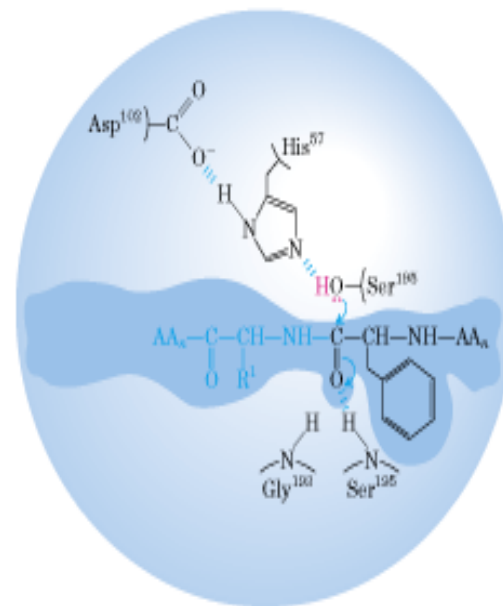


Em tripsina este resíduo do substrato será uma arginina ou uma lisina



Enzyme-substrate complex

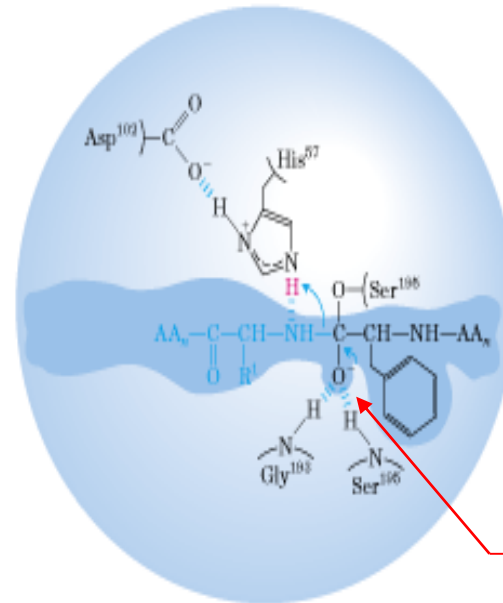
Em tripsina, este sítio de ligação do substrato tem uma carga negativa no fundo para atrair a cadeia lateral positiva de Arg ou Lys no substrato



Ataque nucleofílico

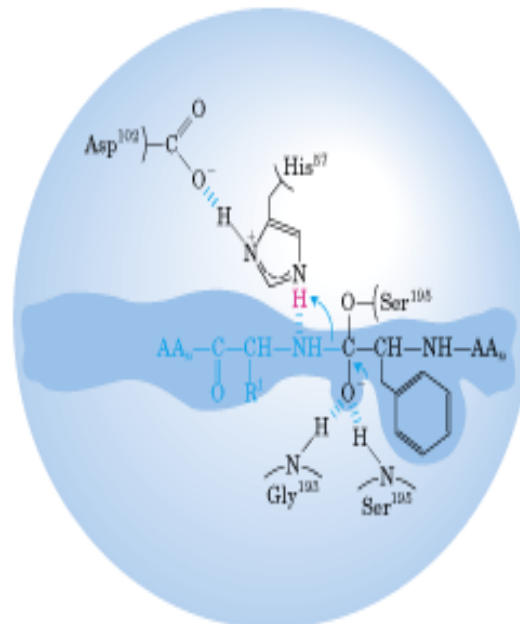
Enzyme-substrate complex

②



Intermediário tetrahedral (oxianión)
 (carga negativa no oxigênio
 estabilizado pelos dipolos dos
 grupos N-H de Gly193 e Ser 195 no
 “buraco do oxianión”

Short-lived intermediate
 (acylation)

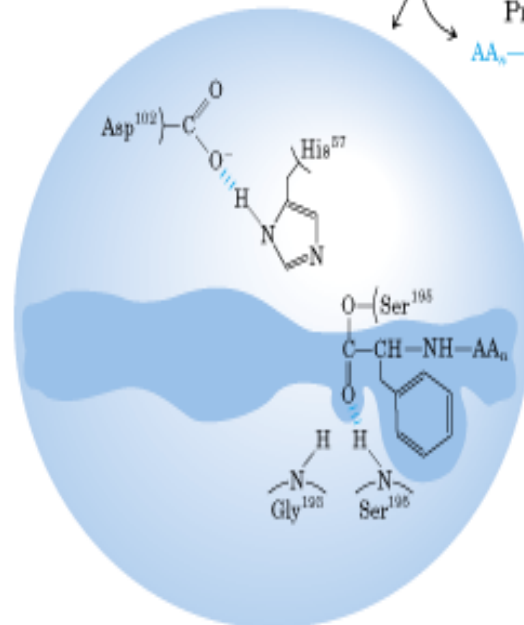


Short-lived intermediate

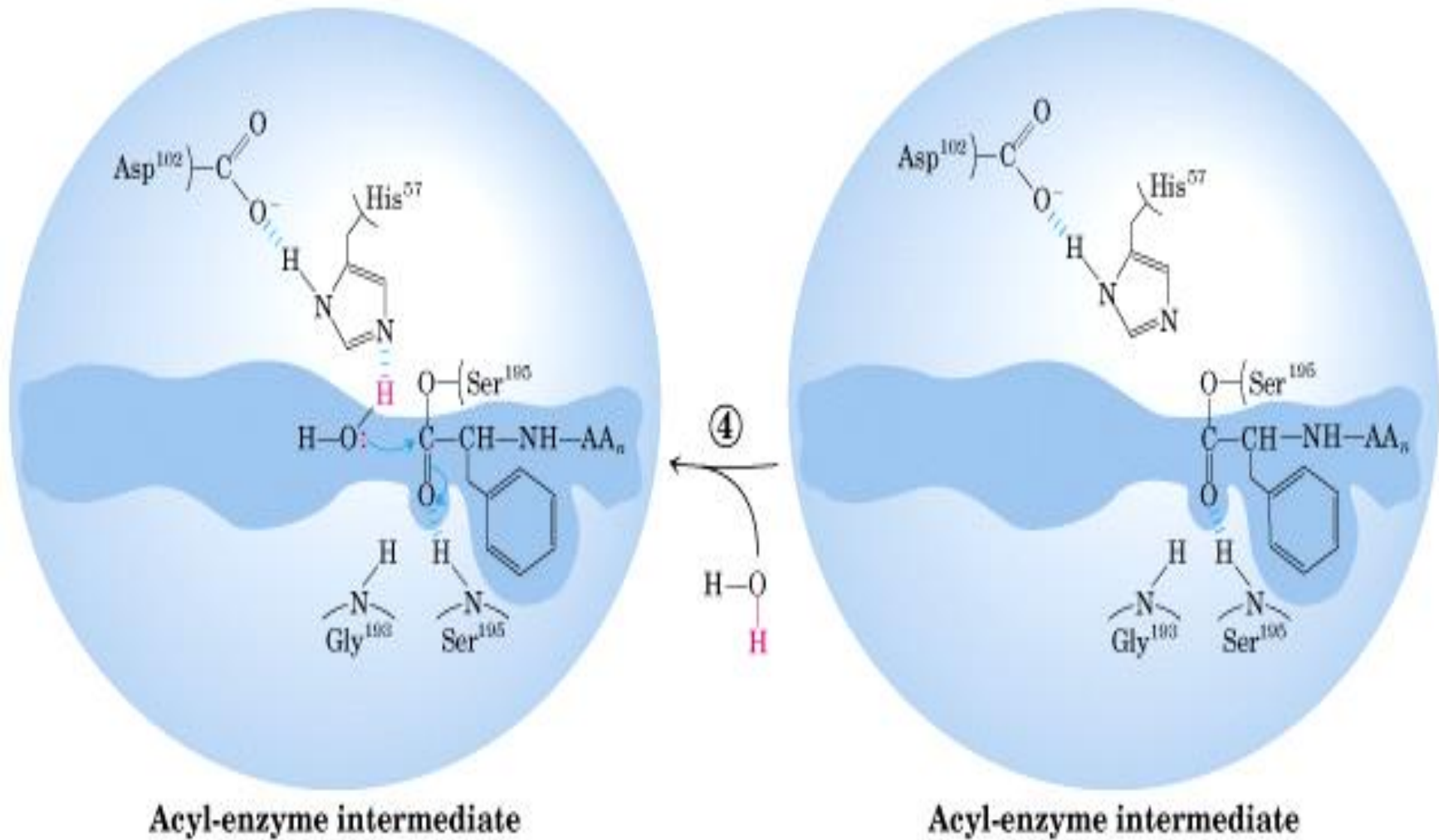
(acylation)

③

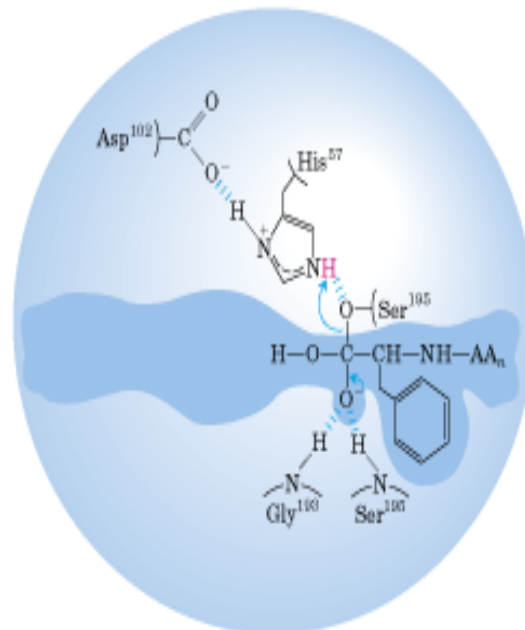
Product 1



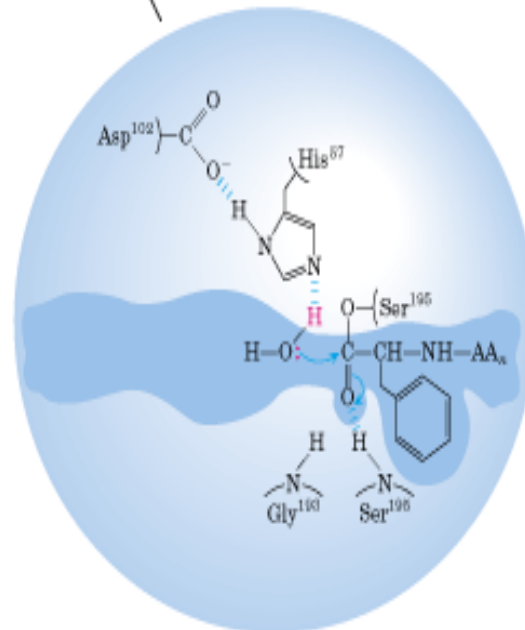
Acyl-enzyme intermediate



Quais tipos de catálise você pode identificar aqui?

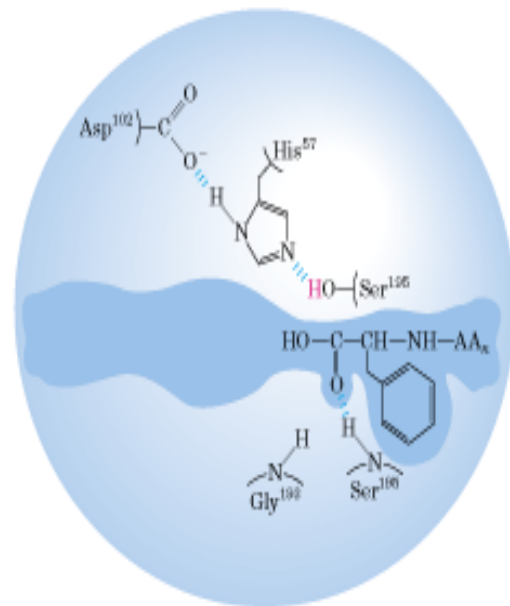


Short-lived intermediate
(deacylation) ⑤



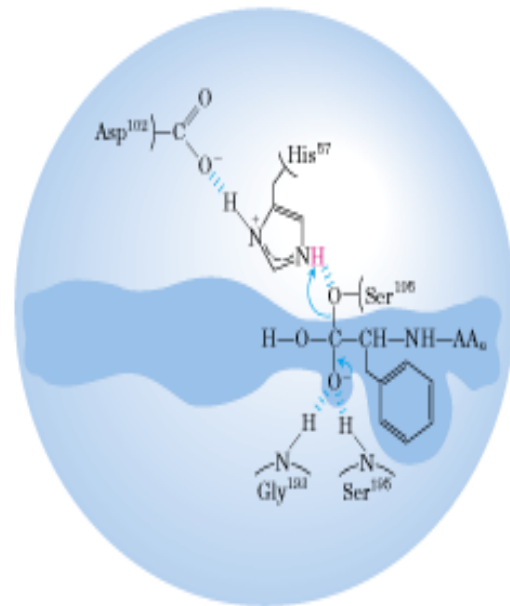
Acyl-enzyme intermediate

Intermediário acil-enzima



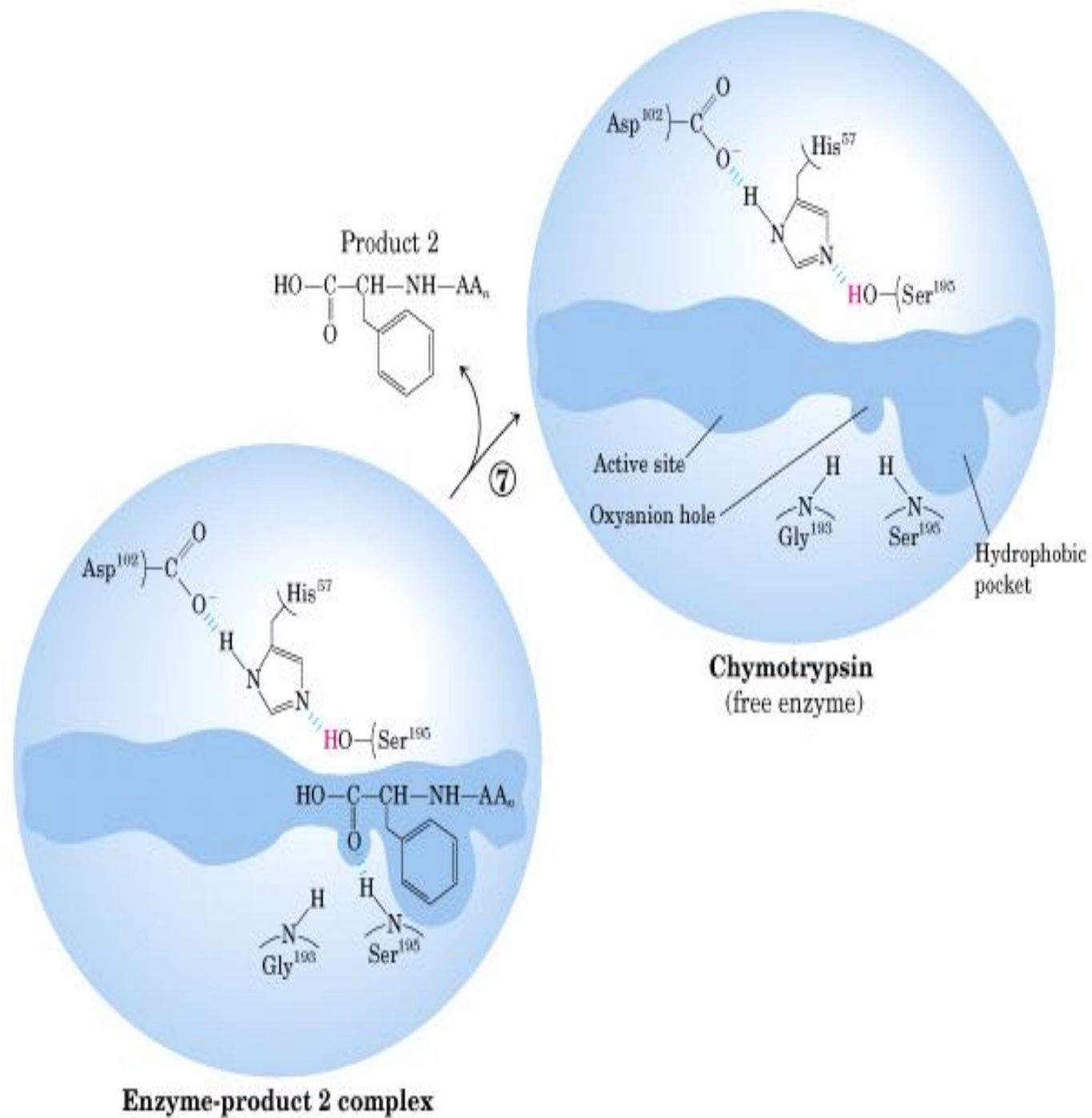
Enzyme-product 2 complex

⑥



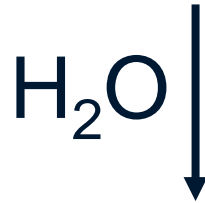
**Short-lived intermediate
(deacylation)**

Intermediário tetrahedral
(oxianión)

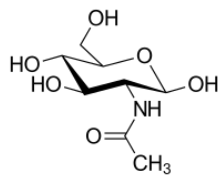
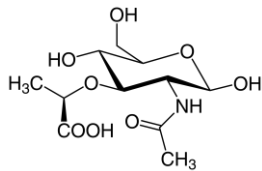


Exemplo 3: Lisozima

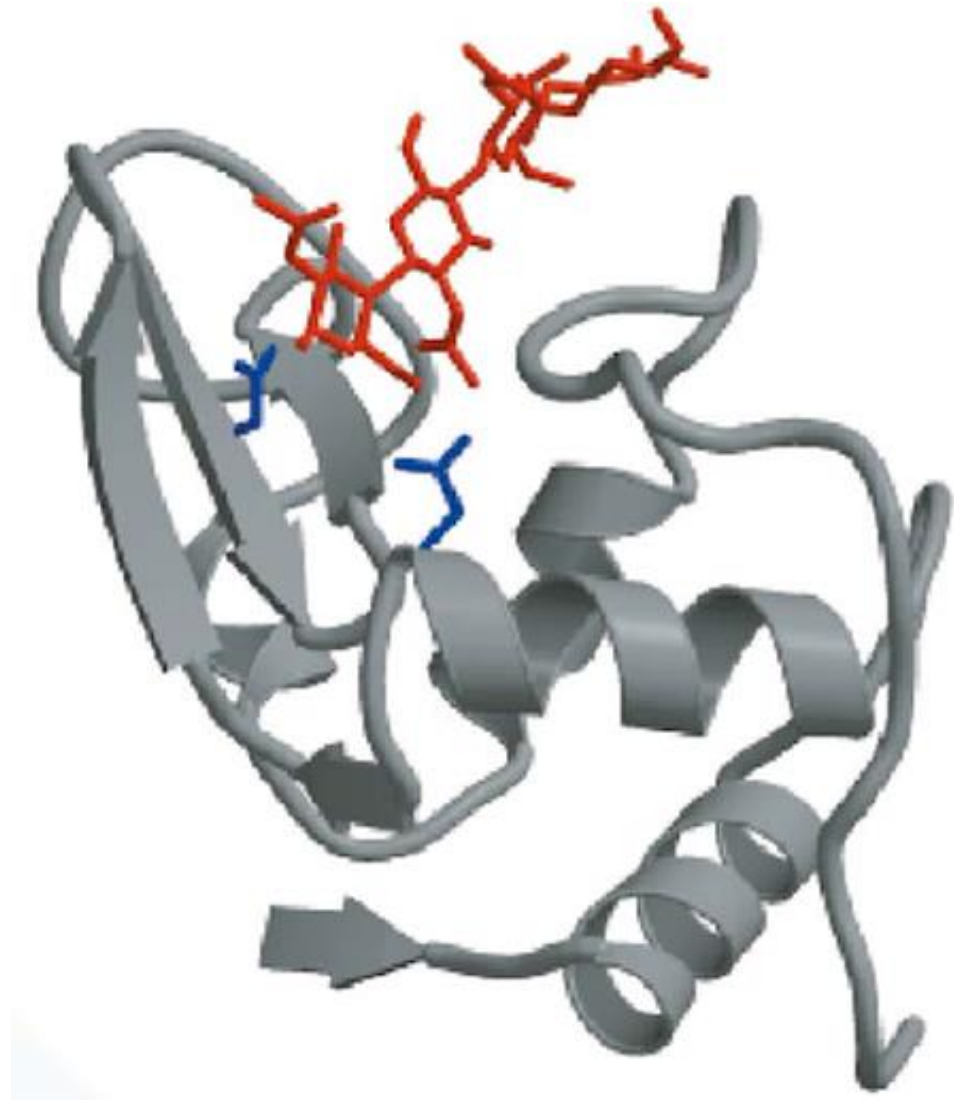
... Mur2Ac - GlcNAc ...



... Mur2Ac + GlcNAc ...

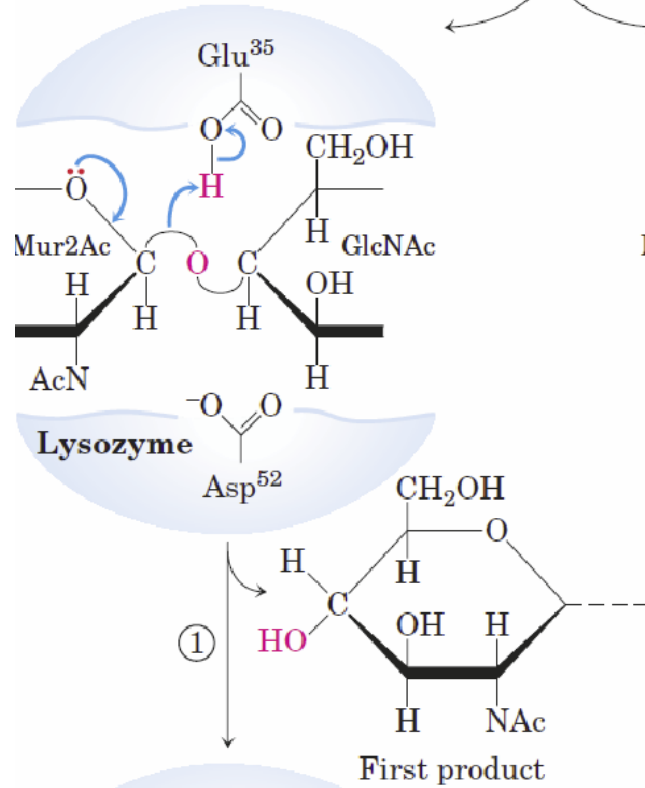


Mur2Ac = ácido N-acetilmurâmico
GlcNAc = N-acetil-D-glicosamina

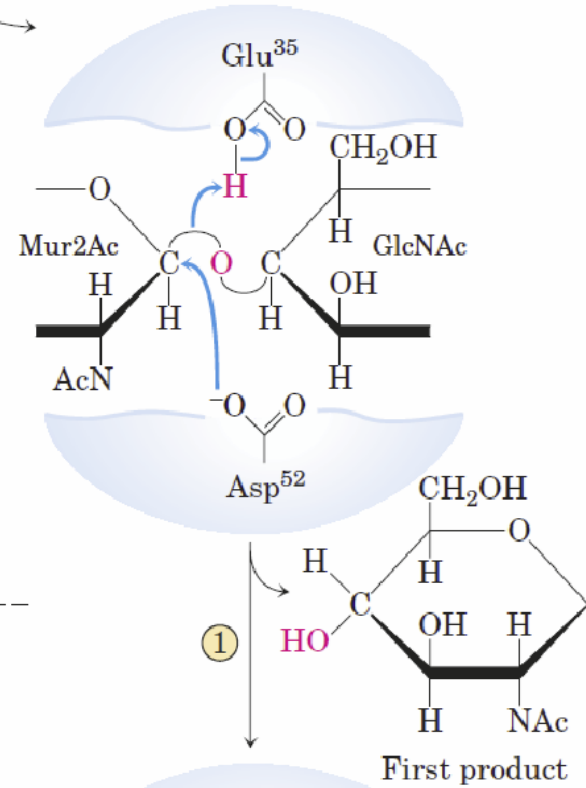


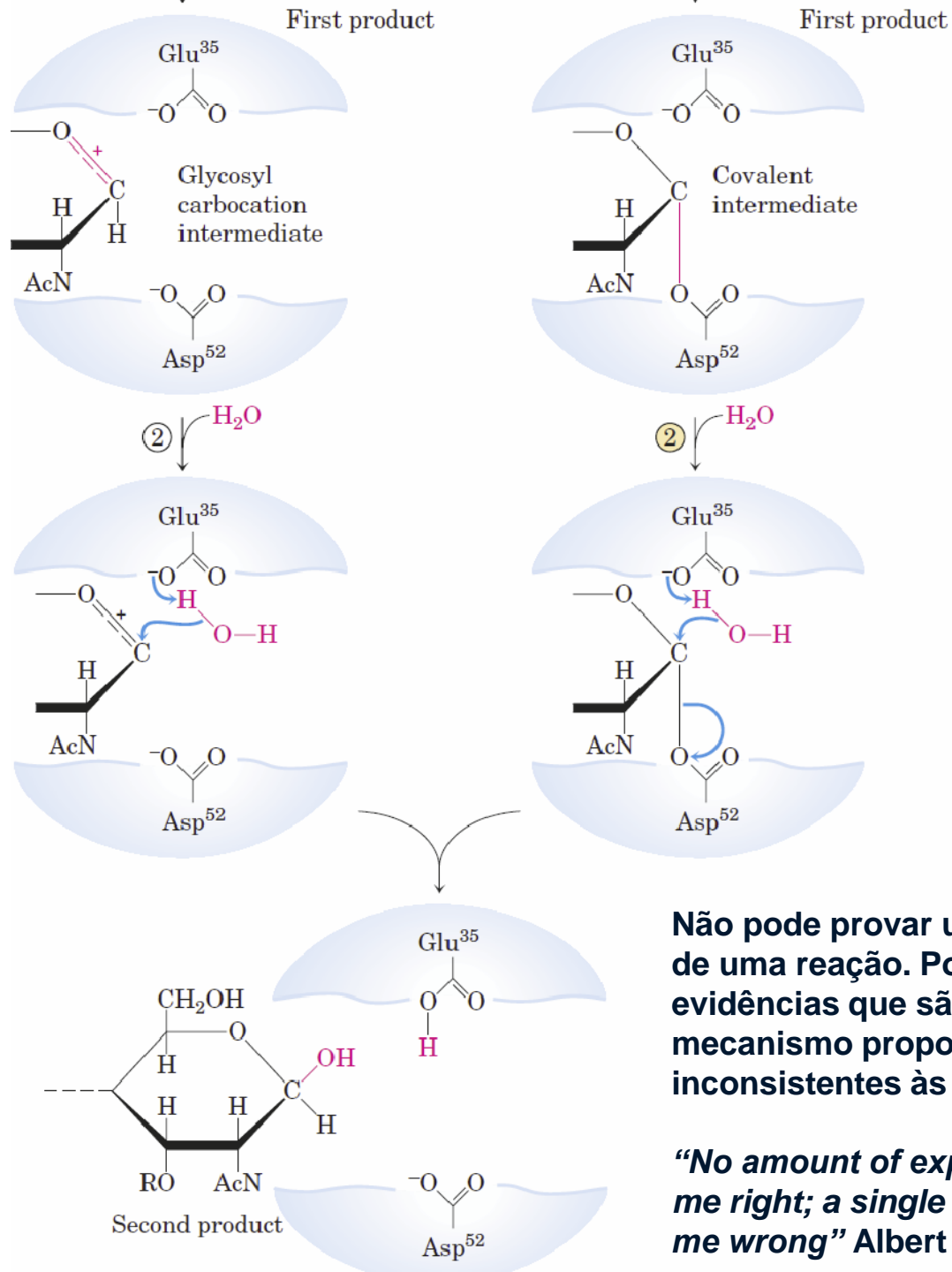
Peptidoglycan binds
in the active site
of lysozyme

**S_N1
mechanism**



**S_N2
mechanism**





Não pode provar um mecanismo químico de uma reação. Pode apresentar evidências que são consistentes com o mecanismo proposto e que são inconsistentes às alternativas.

“No amount of experimentation can prove me right; a single experiment can prove me wrong” Albert Einstein

Assistir este video (sobre aconitase)

<https://pdb101.rcsb.org/learn/videos/how-enzymes-work>

Enzimas – como funcionam

Para cada enzima na primeira coluna da tabela,

indicar se utiliza ou não um ou mais destes mecanismos de catálise

No caso de afirmativo, indicar qual aminoácido ou grupo está envolvido na catálise.

Por exemplo: “Asp #XX atua como um ácido geral doando H⁺ para a oxigênio do grupo carbonila do substrato”

	Catálise Ácido-Base	Catálise Covalente	Catálise por íons metálicos
Anidrase Carbônica			
Ribonuclease			
Quimiotripsina			
Lisozima			
Aconitase			