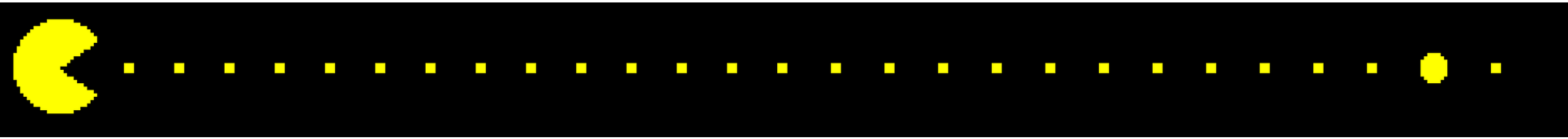
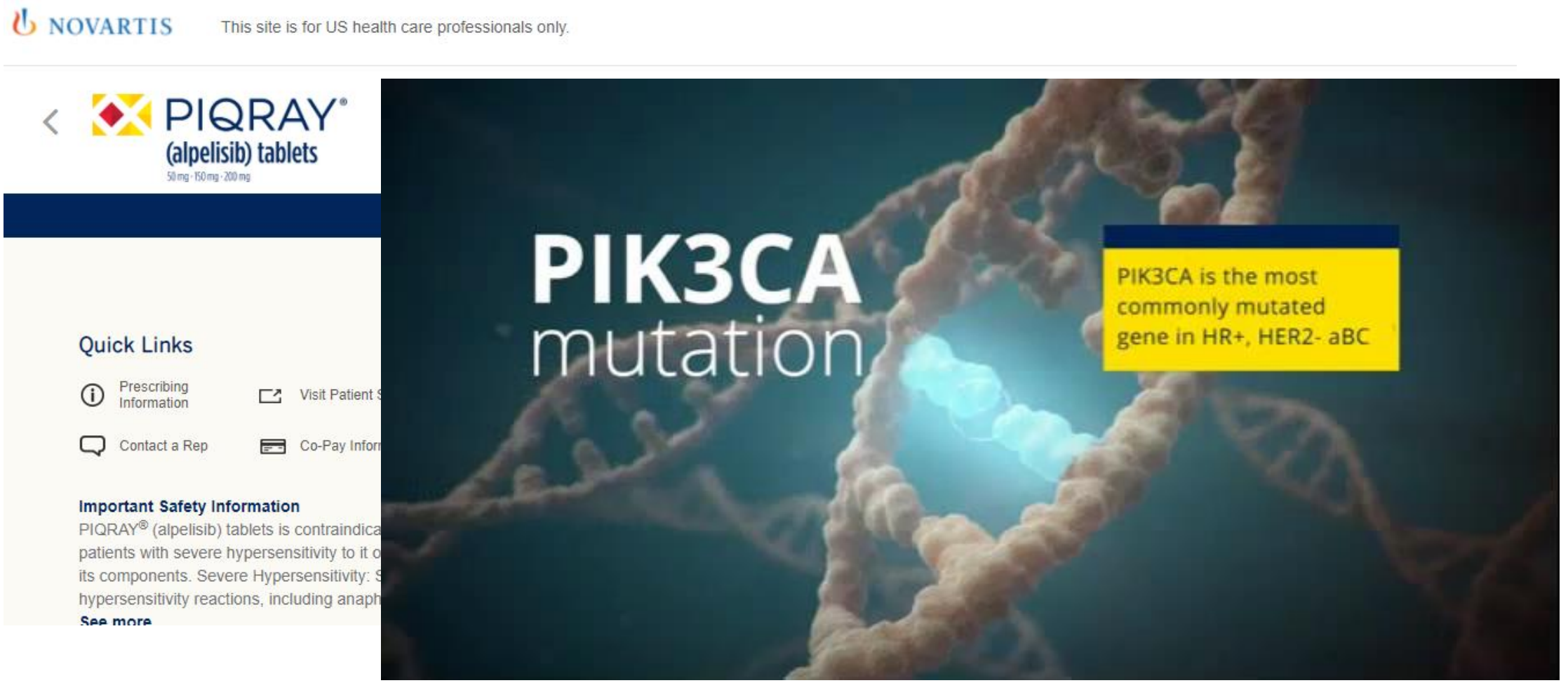
INIBIÇÃO ENZIMÁTICA

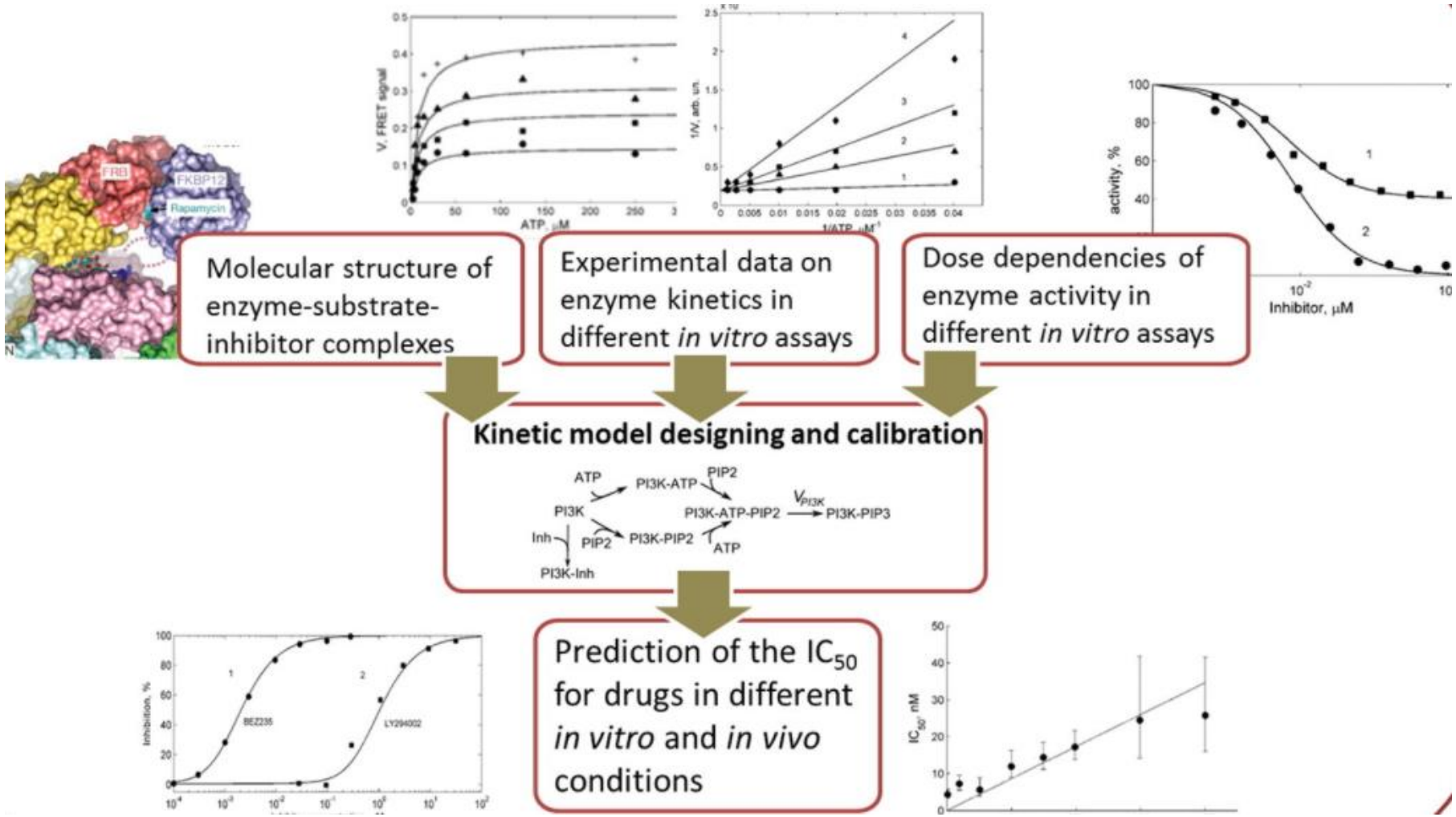
Carolina Manchola



IMPORTÂNCIA DOS ESTUDOS DE INIBIÇÃO ENZIMÁTICA



Fonte: https://www.hcp.novartis.com/products/piqray/metastatic-breast-cancer/pik3ca-mutation/#mechanism-of-action-video



Fonte: Goltosov et al., (2017)

Relação das constantes numa reação enzimática

$K_M = (k_{-1} + k_2) / k_1$ = [ES] dissociando / [ES] complexando

Se [ES] está se dissociando mais do que complexando,
$(k_{-1} + k_2) > k_1$ = Baixa afinidade de E por S = K_M alto

INIBIDORES ENZIMÁTICOS
São agentes que interferem na catalise

Podem causar

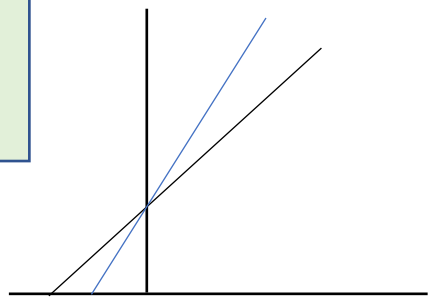
Inibições Irreversíveis

Denaturam ou mudam a conformação protéica

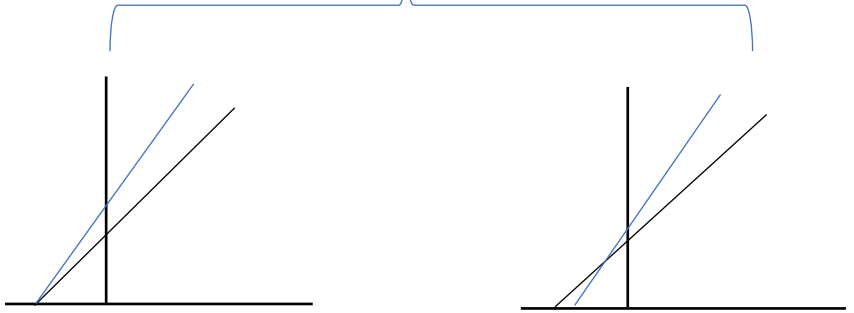
combinam-se com um grupo funcional na molécula da enzima ou o destroem ou ainda formam uma associação covalente estável.

Inibições Reversíveis

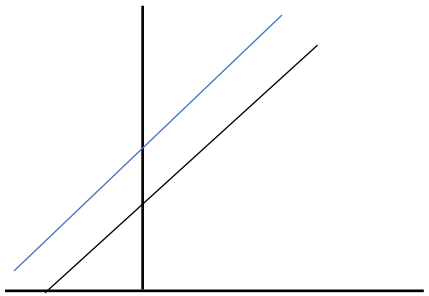
<u>Competitivas</u>
Inibidor semelhante ao substrato



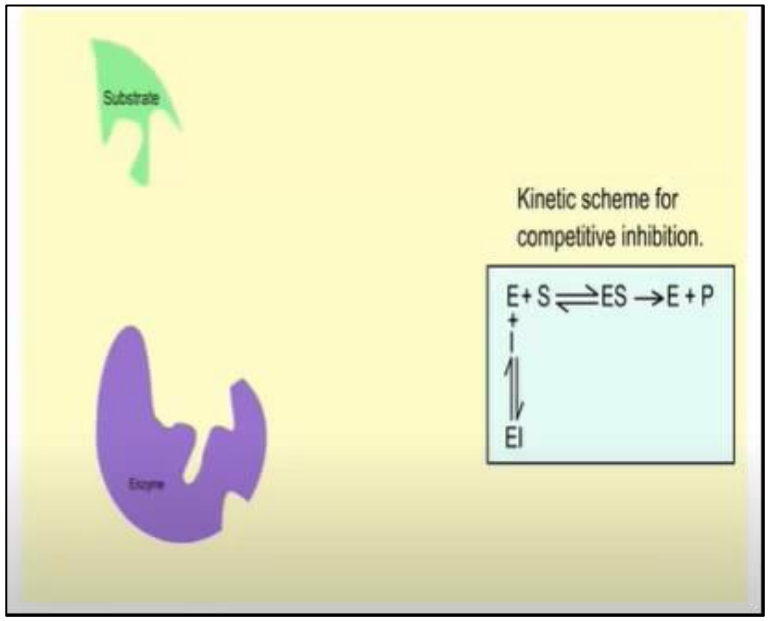
<u>Não competitivas</u>
O inibidor se liga num lugar diferente do sitio ativo



<u>Acompetitivas</u>
O inibidor se liga apenas no complexo ES



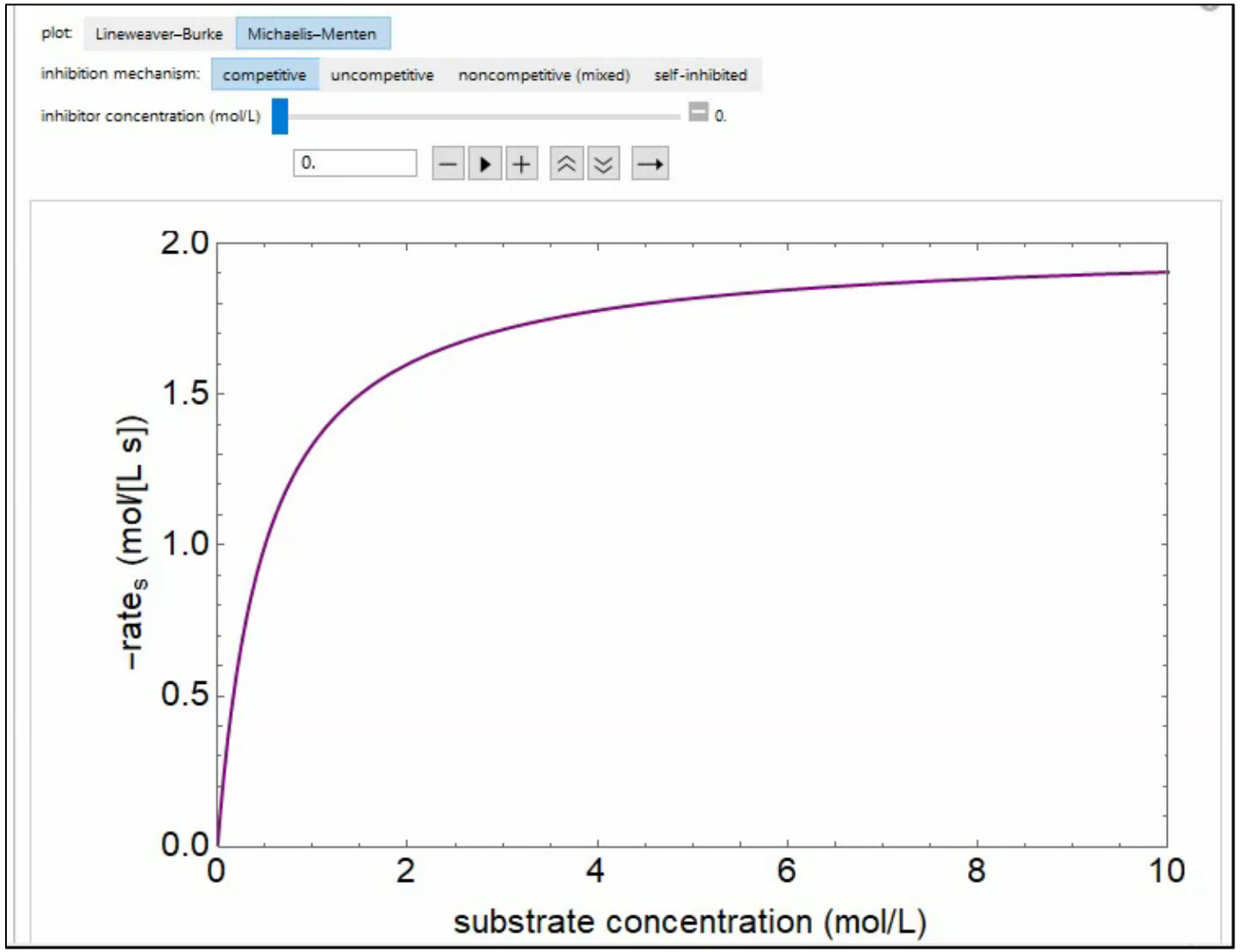
Inibição Reversível - COMPETITIVA



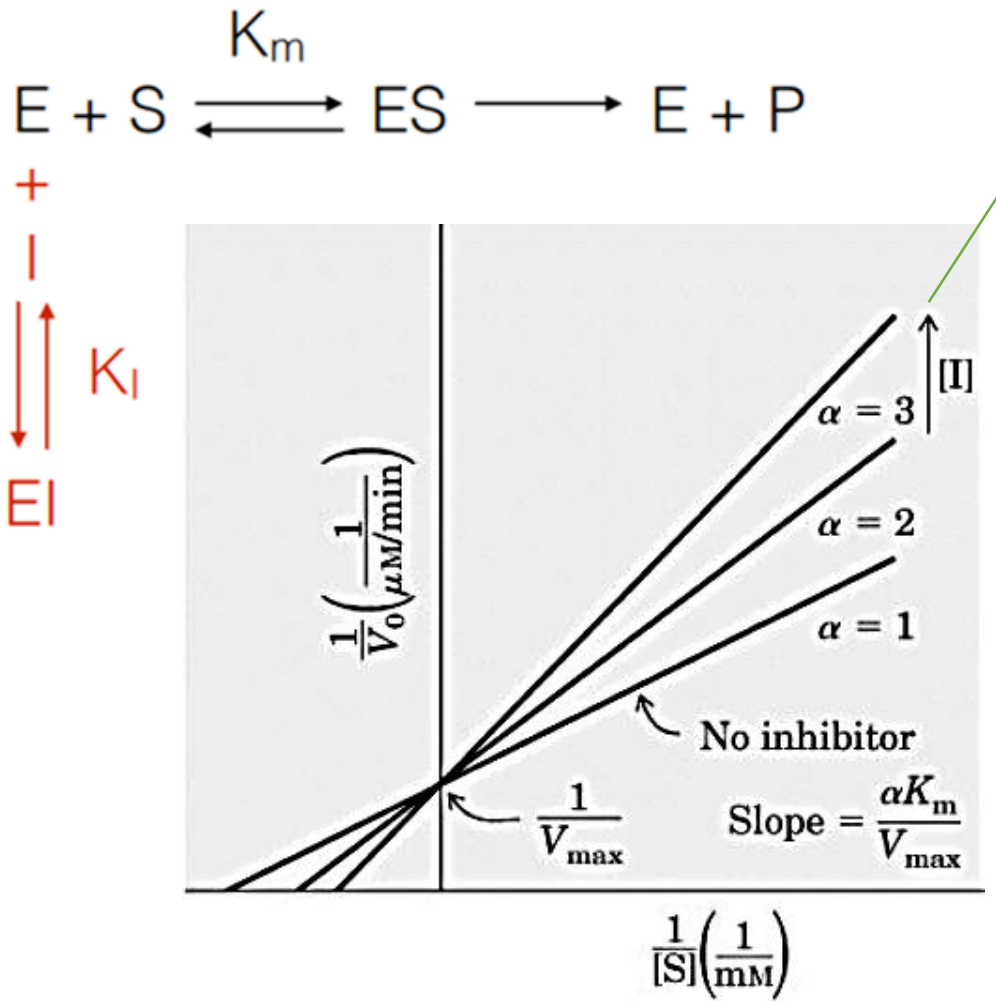
Assim em concentrações crescentes de [I]: 1. V_{max} → não se altera
2. K_M aparente → aumenta
3. Slope → aumenta

Ki = K_{EI}

K_M aparente > K_M



Inibidores competitivos



O fator que descreve o grau de inibição é chamado α

Quanto maior a concentração do inibidor, maior será o grau de inibição α, neste tipo de inibição competitiva. Sendo assim, α depende da **concentração do inibidor** e da **constante de inibição K_i** que apresente esse inibidor com essa enzima:

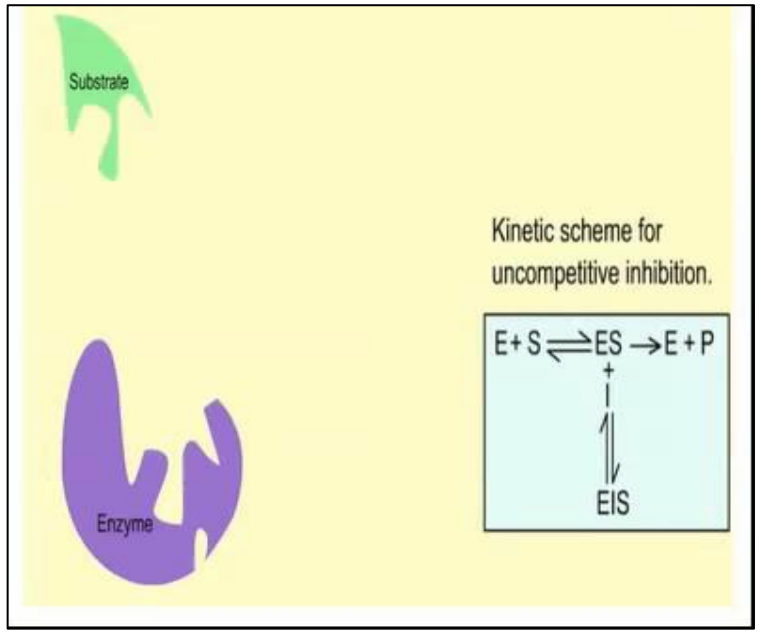
y=mx+b

$$\frac{1}{v} = \frac{\alpha k_M}{v_{max}} x \frac{1}{[s]} \times \frac{1}{v_{max}}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right) * K_M}{V_{max}} * \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \right)$$

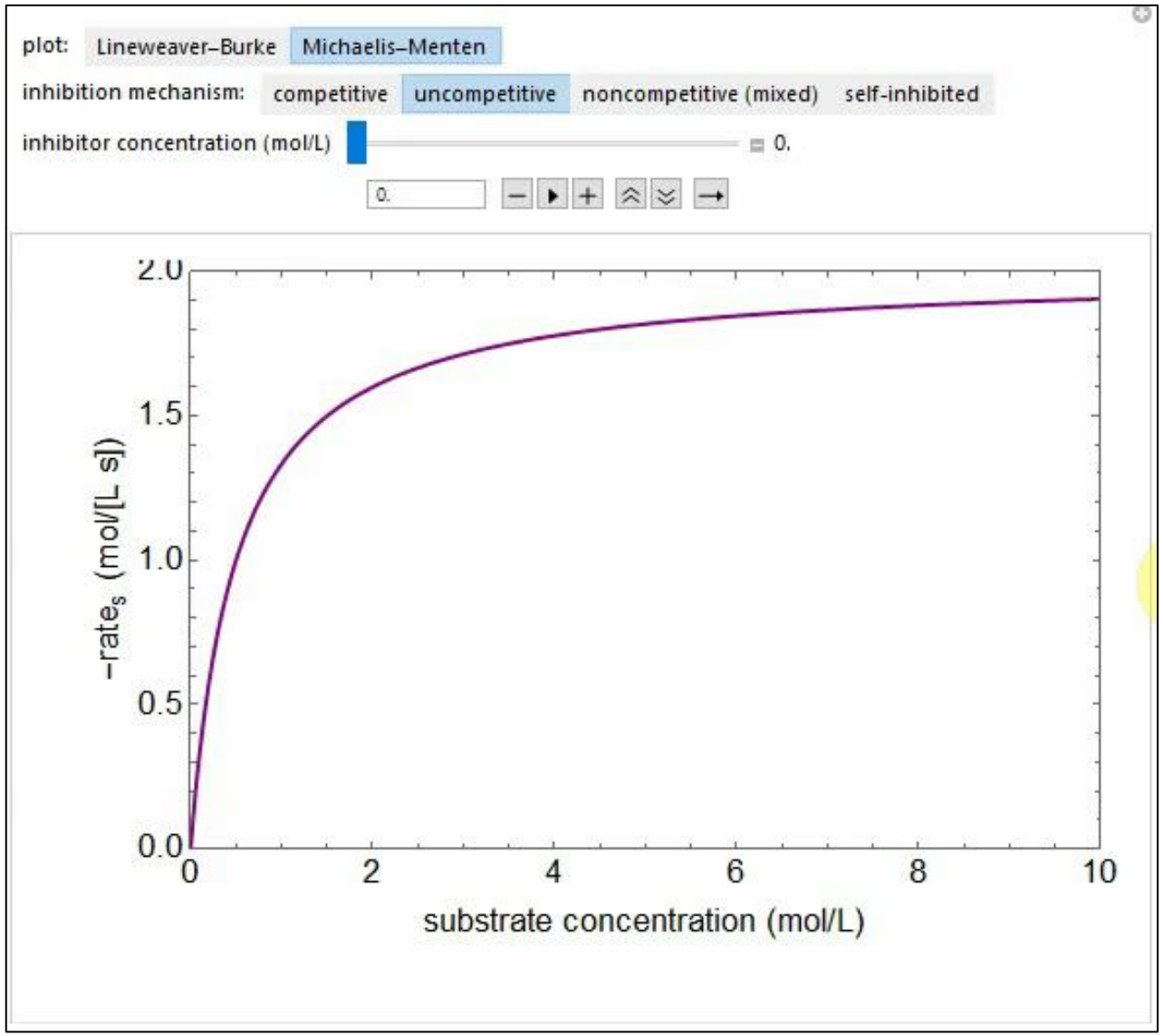
Inibição Reversível – A-COMPETITIVA



Assim em concentrações crescentes de [I]:

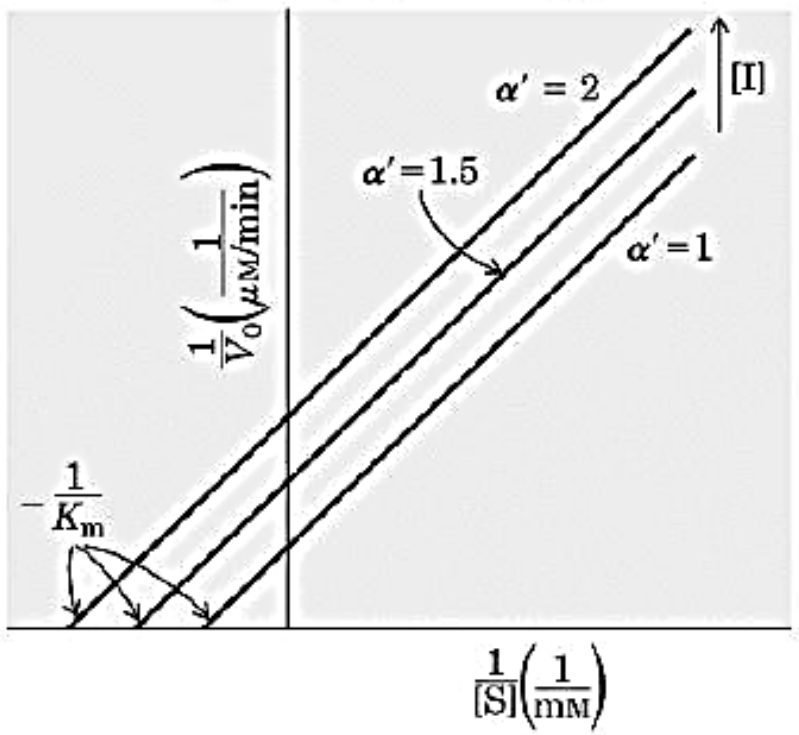
1. V_{max} aparente → **diminui**
2. K_M aparente → **diminui**
3. Slope → **Não muda**

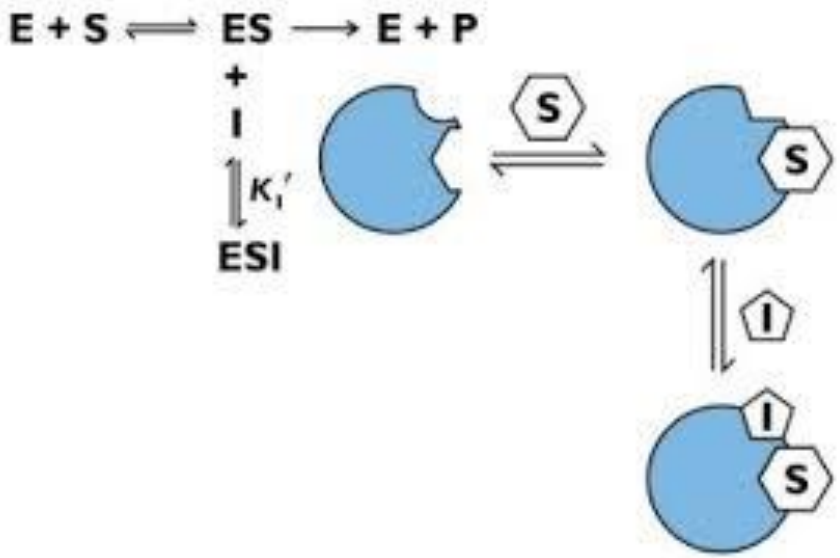
$Ki` = K_{ESI}$



$$Vo = \frac{Vmax\,[S]}{Km + \alpha'[S]} \qquad \alpha' = \left(1 + \frac{[I]}{Ki'}\right)$$

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$



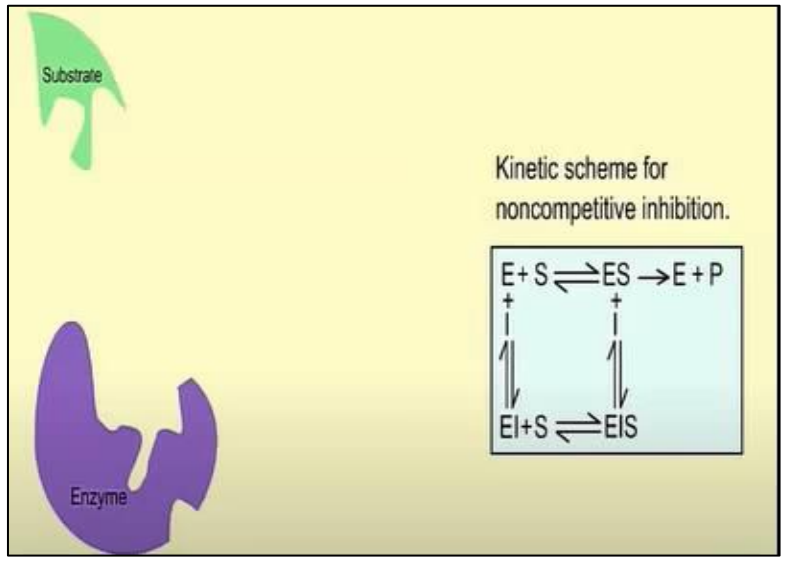


Este tipo de inibidores se ligam ao complexo ES, formando o complexo ESI

O aumento do [S] não reverte a interação ESI

Ao se forma o complexo ESI, inviabiliza a formação do produto.

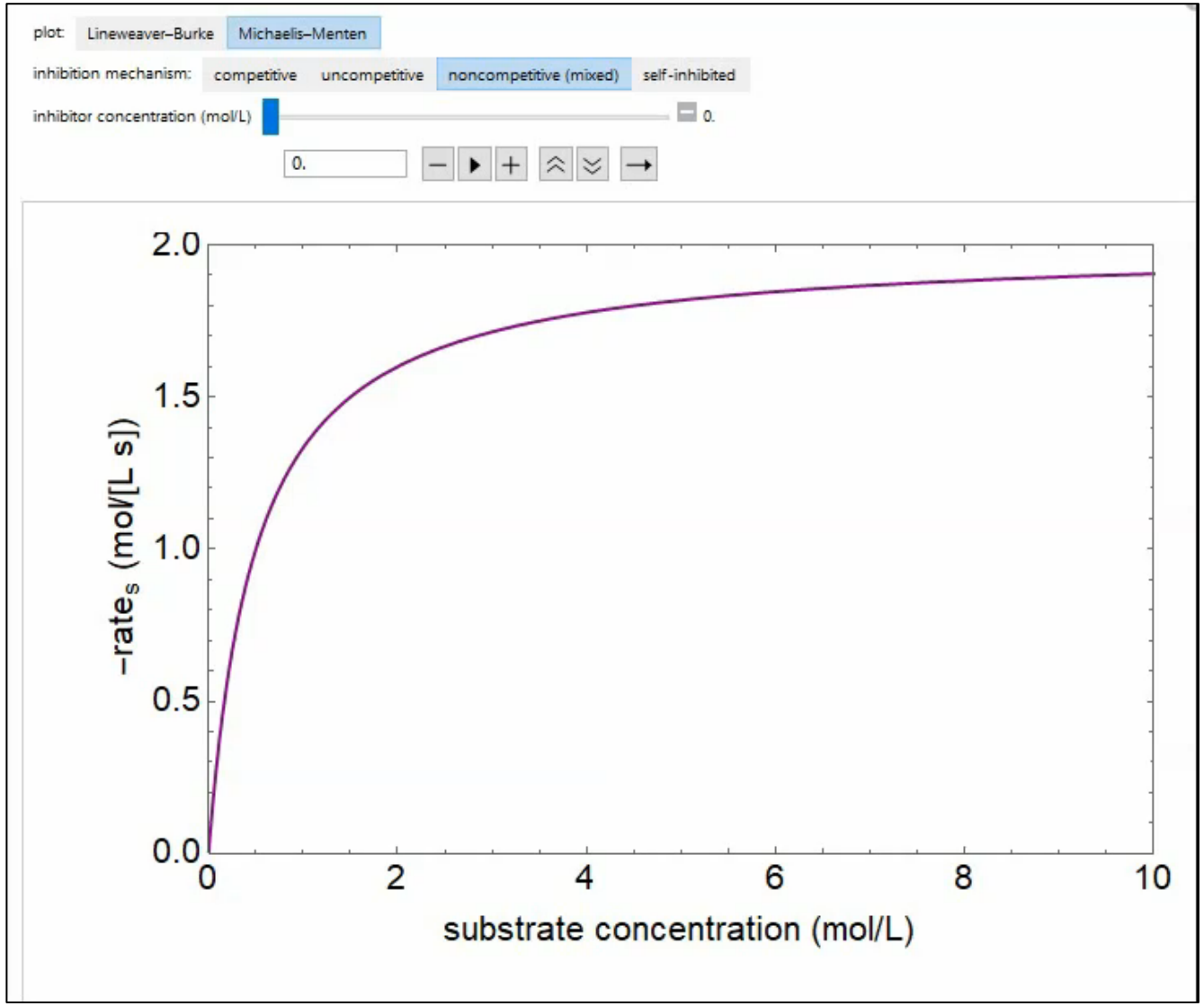
Inibição Reversível – Não COMPETITIVA



Assim em concentrações crescentes de [I]:

1. V_{max} aparente → diminui
2. K_M aparente → **$K_{M\ (NÃO\ MUDA)}$**
3. Slope → aumenta

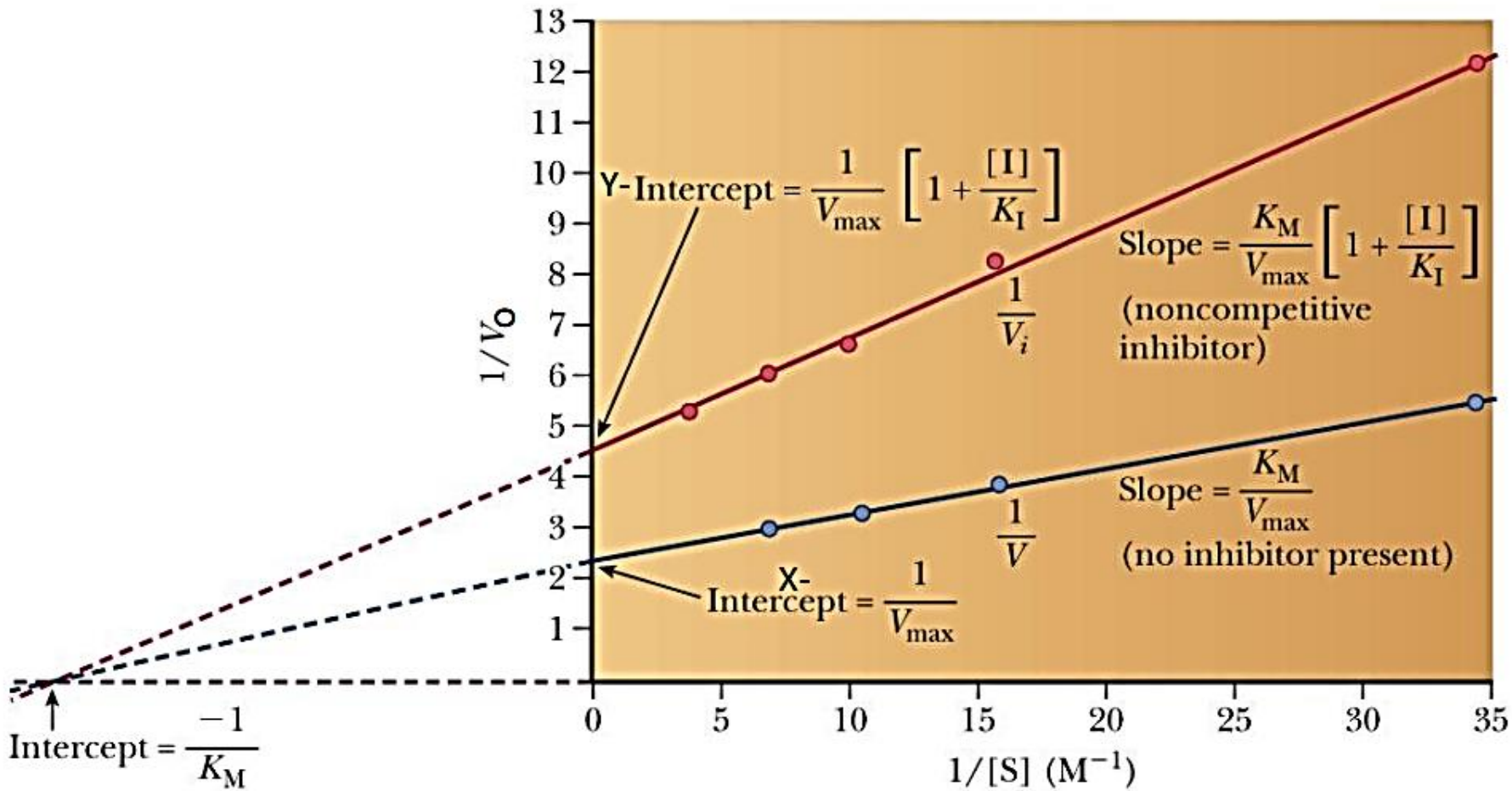
$K_M = Ki` = K_{EI} = K_{ESI}$



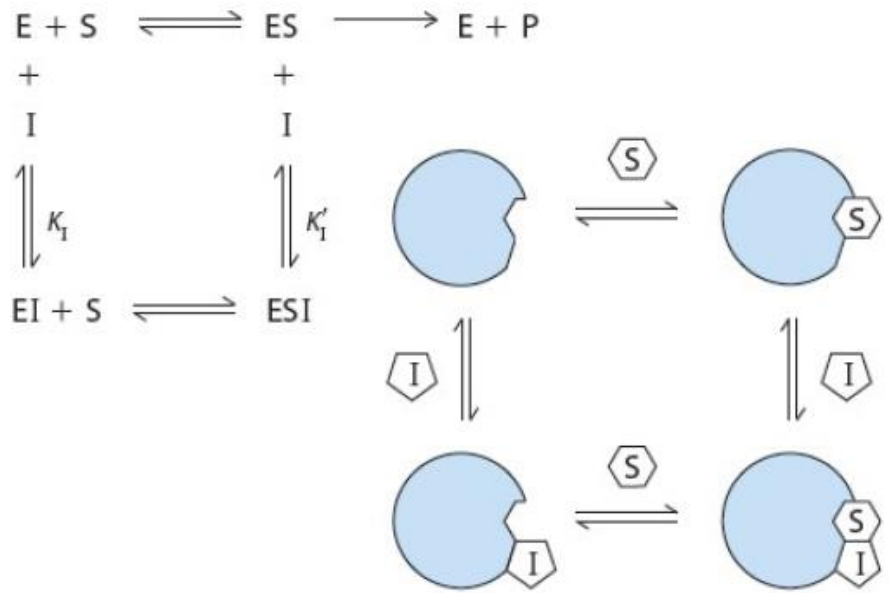
$$V_o = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_i}$$

$$\alpha' = \left(1 + \frac{[I]}{K_i'}\right)$$



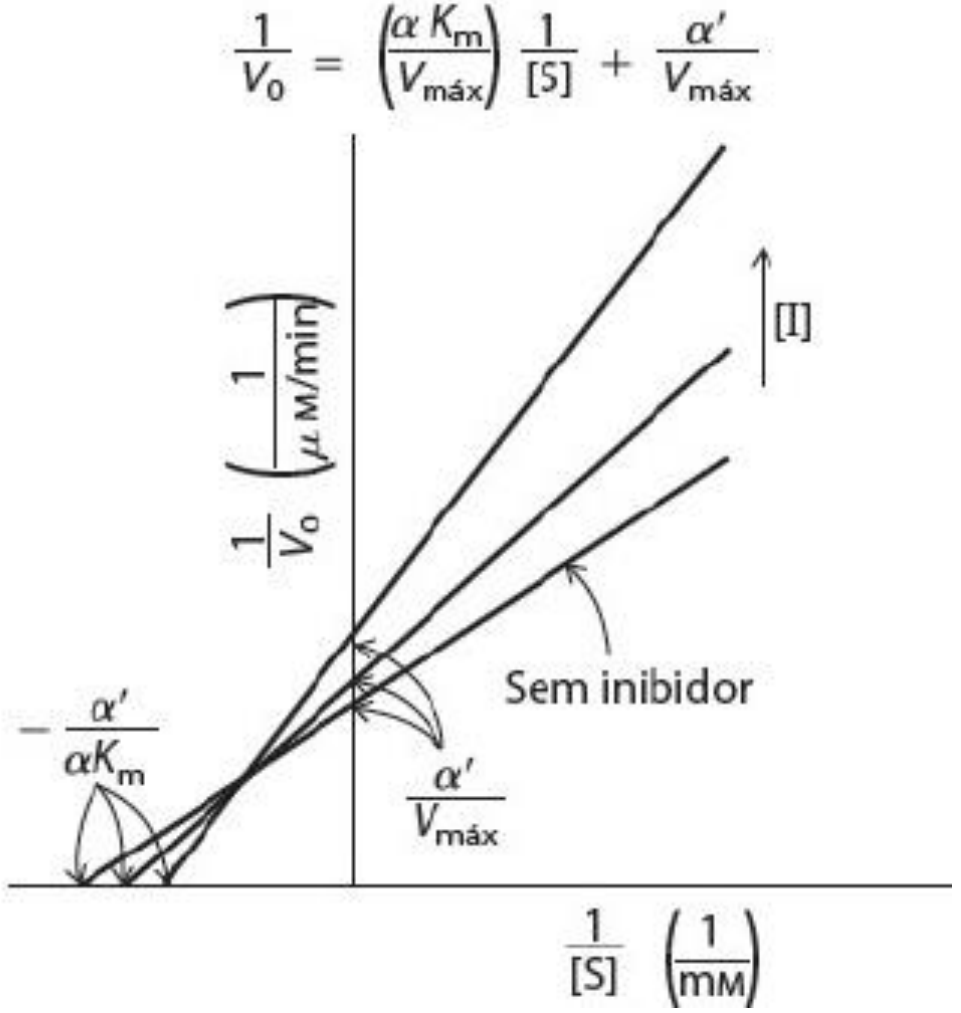
Inibição Reversível – Não COMPETITIVA MISTA



Inibidor liga-se a um sítio diferente do sítio ativo, bloqueando tanto E como ES. Portanto afeta tanto o Km como Vmax.

Assim em concentrações crescentes de [I]:

1. Vmax aparente→ diminui
2. Km aparente → **aumenta ou diminui**
3. Slope → aumenta ou diminui



Kinetic and structural analyses reveal residues in phosphoinositide 3-kinase α that are critical for catalysis and substrate recognition

Sweta Maheshwari[1], Michelle S. Miller[2], Robert O'Meally[3], Robert N. Cole[3], L. Mario Amzel[1], Sandra B. Gabelli[1, 2, 4]

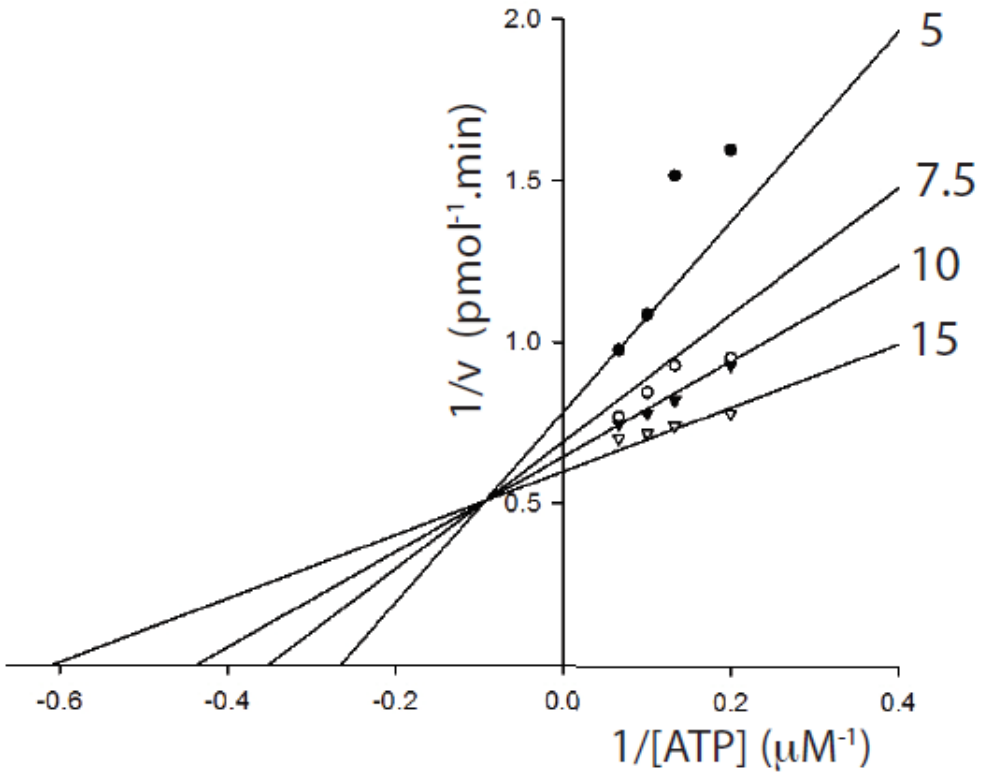


TABLE 6–9 Effects of Reversible Inhibitors on Apparent V_{max} and Apparent K_m

Inhibitor type	*Apparent* V_{max}	*Apparent* K_m
None	V_{max}	K_m
Competitive	V_{max}	αK_m
Uncompetitive	V_{max}/α'	K_m/α'
Mixed	V_{max}/α'	$\alpha K_m/\alpha'$