

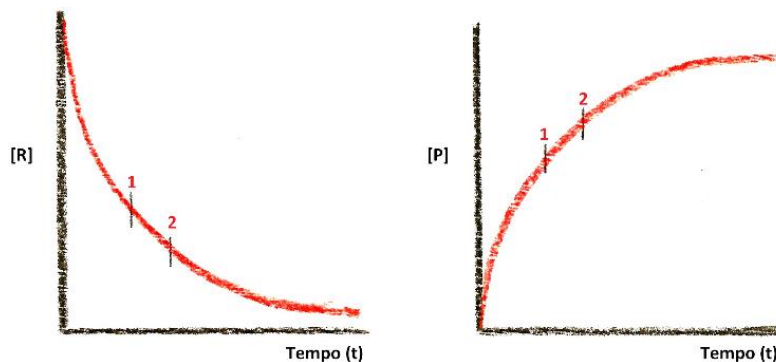
### Cinética de reações químicas. Cinética enzimática

#### Introdução

A caracterização completa de uma reação química implica em que seus parâmetros cinético, termodinâmico e mecanístico, que são independentes entre si, sejam definidos. Por exemplo, uma reação termodinamicamente favorável pode não ocorrer por restrições mecanísticas, ou seja, velocidade nula determinada cineticamente. Deve haver, entretanto, *coerência* entre dados cinéticos e mecanismo proposto para a reação respectiva.

#### Cinética química

A cinética trata do estudo das velocidades de reações químicas. Para uma reação simples, em que reagentes se transformam em produtos e que ocorra sob temperatura e volume constantes, podemos indicá-la por  $R \rightarrow P$  e expressá-la graficamente, tanto como desaparecimento de R ou produção de P em função do tempo de reação, abaixo:



A *velocidade média* de desaparecimento de reagente entre os tempos 1 e 2 seria:

$$\bar{v} = [R]_2 - [R]_1 / t_2 - t_1 \quad \text{ou} \quad \bar{v} = -\Delta[R] / \Delta t$$

E a de formação de produto no mesmo período de tempo:

$$\bar{v} = [P]_2 - [P]_1 / t_2 - t_1 \quad \text{ou} \quad \bar{v} = +\Delta[P] / \Delta t \quad \text{Portanto:} \quad -\Delta[R] / \Delta t = +\Delta[P] / \Delta t$$

Velocidades instantâneas de reação podem ser calculadas pelas derivadas da [ ] pelo tempo considerando-se intervalos de tempo infinitesimais; para a formação de produto:

$$v = d[P] / dt$$

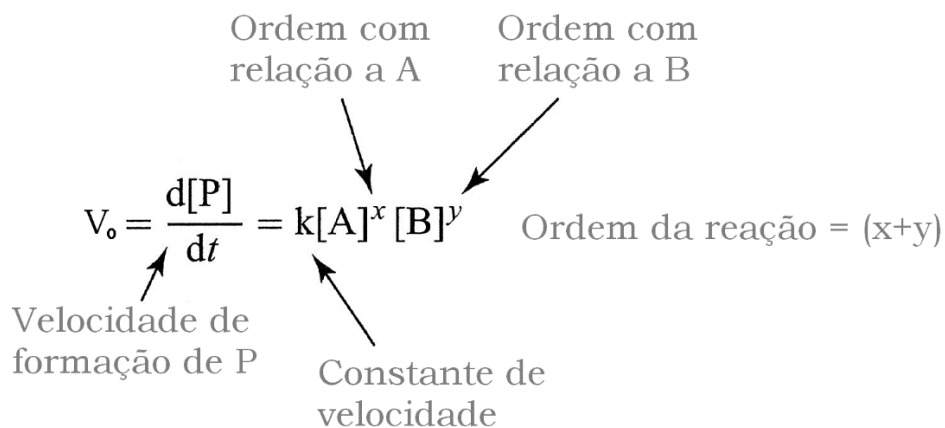
Os gráficos mostram que tanto  $v$  como  $\bar{v}$  variam com os respectivos tempos e concentrações considerados.

### Velocidades vs concentrações de reagentes

- Lei de velocidade
- Ordem da reação

Observa-se, experimentalmente, que as velocidades das reações químicas são proporcionais às concentrações das espécies envolvidas, de acordo com a *lei de ação das massas* proposta por Guldberg e Waage. Na reação  $A + B \rightarrow P$  poderia-se escrever para a velocidade inicial de formação do produto:  $v_0 \propto [A]^x [B]^y$ , onde  $\alpha$  é uma constante de proporcionalidade.

Considerando-se uma reação geral entre duas espécies A e B, onde  $aA + bB \rightarrow P$ , a *lei de velocidade*, em sua forma diferencial, indicaria a velocidade inicial da reação assim:



Aqui, deve-se chamar a atenção para o fato de que *leis de velocidade* são determinadas experimentalmente, caso a caso, e que não podem ser preditas pela estequiometria da reação.

A tabela abaixo indica as unidades para diferentes ordens de reação.

### Unidades de $k$ para diferentes ordens de reação

| Ordem da reação | Lei de velocidade   | Unidades de $k$                                      |
|-----------------|---------------------|--|
| Zero            | $-d[A]/dt = k$      | $\text{mol L}^{-1} \text{s}^{-1}$                    |
| Primeira        | $-d[A]/dt = k[A]$   | $\text{s}^{-1}$                                      |
| Segunda         | $-d[A]/dt = k[A]^2$ | $\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1}$                    |
| $n$             | $-d[A]/dt = k[A]^n$ | $\text{L}^{(n-1)} \text{mol}^{-(n-1)} \text{s}^{-1}$ |

### Verificação experimental da lei de velocidade e da constante de velocidade

A constante de velocidade  $K$  é o termo que define a velocidade da reação. Ela é independente das concentrações dos reagentes mas depende da temperatura. O quadro, abaixo, apresenta os resultados de três experimentos feitos com a reação geral  $aA + bB \rightarrow P$ , a partir dos quais é possível determinar a lei de velocidade e a constante de velocidade para a reação.

| Experimento | $[A]$ ( $\text{mol L}^{-1}$ ) | $[B]$ ( $\text{mol L}^{-1}$ ) | $\frac{d[P]}{dt} = \text{Velocidade inicial de formação de P}$ ( $\text{mol L}^{-1} \text{s}^{-1}$ ) |
|-------------|-------------------------------|-------------------------------|--|
| 1           | 0.2                           | 0.2                           | $8 \times 10^{-4}$   |
| 2           | 0.2                           | 0.6                           | $7.2 \times 10^{-3}$   |
| 3           | 0.6                           | 0.6                           | $2.16 \times 10^{-2}$  |

a) Comparando-se os resultados dos experimentos 1 e 2, em que  $[A]$  foi mantida constante e  $[B]$  triplicada, verifica-se que a velocidade foi nove vezes maior. Isto indica que a reação é proporcional a  $[B]^2$ , ou seja, de segunda ordem em relação a  $[B]$ .

b) Igualmente, comparando-se os resultados dos experimentos 2 e 3, em que  $[B]$  foi mantida constante e  $[A]$  triplicada, verifica-se que a velocidade foi três vezes maior, indicando que ela é proporcional a  $[A]$ ; primeira ordem em relação a  $[A]$ .

A *lei de velocidade* para esta reação de terceira ordem é, portanto:

$$\frac{d[P]}{dt} \text{ (Velocidade de formação de P)} = k [A][B]^2$$

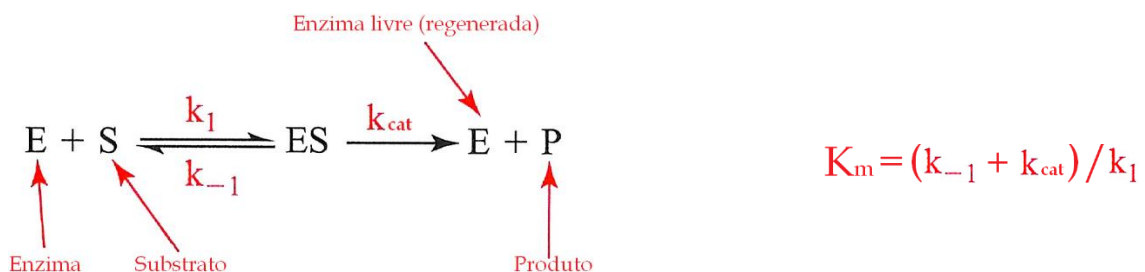
Combinando-se a *lei de velocidade* da reação com dados do experimento 1, por exemplo, pode-se calcular a constante de velocidade  $K$  da reação:

$$8 \times 10^{-4} = k \times 0.2 \times 0.2^2$$

$$k = 8 \times 10^{-4} / 0.2 \times 0.2^2 = 0.1 \text{ mol}^{-2} \text{L}^2 \text{s}^{-1}$$

### Cinética enzimática

A cinética das enzimas “michaelianas”, que funcionam segundo o esquema indicado no diagrama abaixo, pode ser descrita a partir das constantes  $K_{cat}$  e  $K_m$  da enzima correspondente. O que o diagrama indica, basicamente, é a obrigatoriedade da formação do complexo ES para que haja formação de produto. Como catalisador, a enzima é regenerada ao final do ciclo e pode voltar a interagir com substrato para formar novo complexo ES.

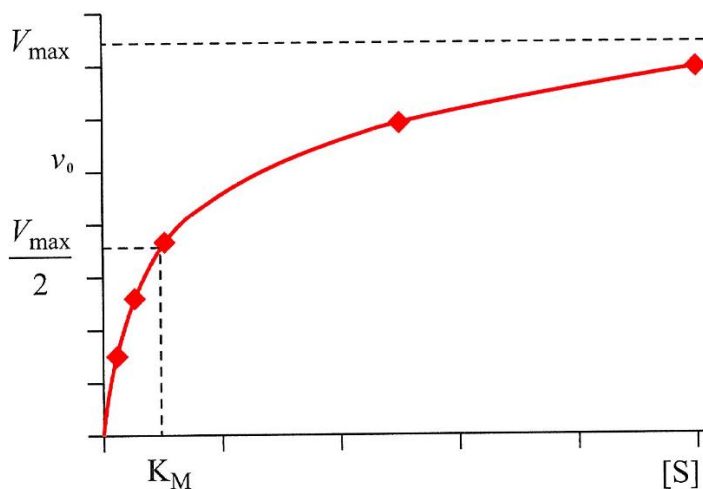


As constantes  $K_1$ ,  $K_{-1}$  e  $K_{cat}$  são constantes de velocidade. Quanto maior a  $K_{cat}$ , maior a velocidade máxima que a reação poderá atingir.

A constante cinética  $K_m$  é obtida destas constantes de velocidade, como mostrado acima. A constante  $K_1$  está relacionada com a formação do complexo ES, indicando que quanto menor o  $K_m$ , maior a afinidade da E pelo S.

Apesar da expressão algébrica que correlaciona  $K_m$  e as três constantes de velocidade,  $K_m$  tem *definição absoluta* como a concentração de substrato que leva a reação atingir a metade da velocidade máxima.

As enzimas “michaelianas” obedecem a equação de Michaelis-Menten, cuja expressão leva ao gráfico mostrado abaixo, uma hipérbole retangular quando a velocidade inicial da reação é colocada em função da respectiva concentração do substrato. Notar o processo de saturação da enzima pelo substrato.



**Equação de Michaelis-Menten**

$$v_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

Uma particularidade da cinética “michaeliana” é a mudança de ordem da reação em função da concentração do substrato:

1)  $[S] \ll K_m$  Primeira ordem

$$v_0 = \frac{V_{max}}{K_M} [S]$$

2)  $[S] \gg K_m$  Ordem zero

$$v_0 = V_{max} \frac{[S]}{[S]}$$

3)  $[S] = K_m$  Ordem fracionária

$$v_0 = V_{max} \frac{[S]}{2[S]}$$

## Anexo

### Lei da Ação das Massas em Farmacologia

## The mass action equation in pharmacology

Terry Kenakin

Department of Pharmacology, University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, NC, USA

This model has been applied to pharmacology, and it underpins *all* models of drug activity. Specifically, it defines the relationship between the quantity of the drug ( $[A]$ ) and the amount of drug–target complex ( $[AR]$ ) formed; this latter species is the initiator of pharmacological activity in all physiological processes.

It is useful to demonstrate how the law of mass action is used to determine  $[AR]$  from the amount of drug ( $[A]$ ) and receptor ( $[R]$ ), where the receptor is the drug target (receptor, ion channel, enzyme). If the drug A and the receptor R react with a rate constant  $k_1$  (units =  $s^{-1}M^{-1}$ ), the rate of association of the drug with the receptor is given by  $k_1 [A] [R]$ . Similarly, the rate constant for dissociation of the drug from the receptor is denoted as  $k_2$  (units  $s^{-1}$ ) and defines a rate of dissociation of the drug from the receptor of  $k_2 [AR]$ . The receptor conservation equation when the stoichiometry of binding is 1:1 (accounting for all species of receptor) is given as  $[R_T] = [R] + [AR]$ , where  $[R_T]$  is the total number of receptors and  $[R]$  the concentration of free receptors (not bound by ligand). At equilibrium, the rate of association of drug to the receptor is equal to the rate of dissociation:

$$k_1 [A] [R] = k_2 [AR] \quad (2)$$

Defining a ratio  $K_A$  as  $k_2/k_1$ :

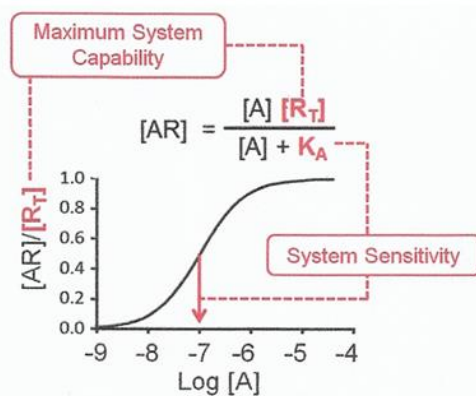
$$K_A = \frac{[A]([R_T] - [AR])}{[AR]} \quad (3)$$

This reduces to the mass action equation as applied to pharmacology:

$$[AR] = \frac{[A] [R_T]}{[A] + [K_A]} \quad (4)$$

Equation 4 is the equation of a rectangular hyperbola, which defines a sigmoidal curve on a semi-logarithmic scale (see Figure 1). Specifically, this equation describes a relationship whereby the product of the reaction (in the case of equation 4, the drug–target complex) is a ratio of the product of one of the reactants (drug concentration  $[A]$ ) multiplied by the maximal output capability of the system (given by  $[R_T]$ ) and the sum of the reactant ( $[A]$ ) and a potency factor (apparent dissociation constant  $K_A$ ) which, in the simplest case, is a measure of the amount of reactant needed to carry the process

to half-maximal completion (see Figure 1). In the case of equation 4, the potency factor is the equilibrium dissociation constant of the drug–target complex. In terms of target binding, when  $[A] = K_A$ , half of the target sites are bound with drug. Sigmoidal semi-logarithmic binding relationships form a main working tool of pharmacology, the potency term in the denominator being a major parameter of drug characterization. Specifically, the potency term  $K_A$  locates the binding curve along the concentration axis. While the mass action reaction yields a relationship of the same general form, it is fortuitous that the potency observed in a binding curve sensitivity term is also the formal term defined by the law of mass action (namely,  $K_A$ ); there are instances where this is not the case,



**Figure 1**

The mass action equation as applied to the binding of a drug A to receptor R, to form complex AR. The amount of AR complex plotted as a logarithmic function of the concentration yields a characteristic sigmoidal curve. The sensitivity of the system to A is given by the  $K_A$  term (apparent dissociation constant) and gives the location parameter of the curve along the x axis. The maximal ordinate value is given by  $[R_T]$ , the maximal amount of receptor in the system. This curve closely resembles the dose–response relationships for many drugs