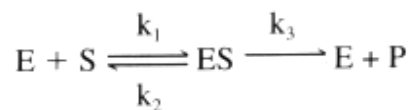


O significado do K_M



$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

$$\text{Se } k_2 \gg k_3 \quad K_M = \frac{k_2}{k_1} = K_d(ES)$$

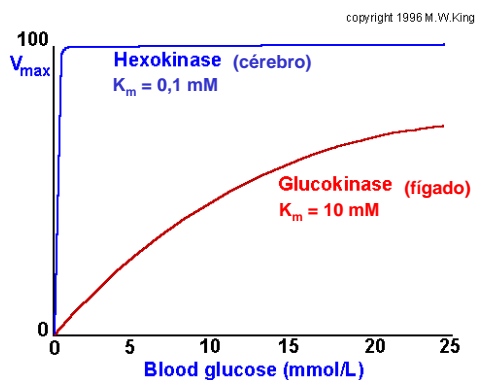
K_M é uma medida da **afinidade** pelo substrato !

Valores de K_M para algumas enzimas e seus substratos

table 8-6

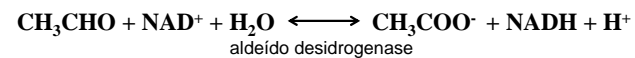
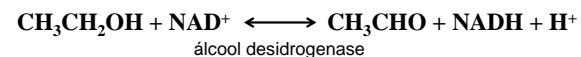
K_M for Some Enzymes and Substrates		
Enzyme	Substrate	K_M (mM)
Catalase	H ₂ O ₂	25
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO ₃ ⁻	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β -Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

Variantes da mesma enzima com diferentes K_M são isoenzimas



Células possuem variantes da mesma enzima com diferentes K_M

Metabolismo do etanol:



2 isoformas de aldeído desidrogenase:

~~mitochondrial~~ K_M **baixo**
 citossólica K_M **alto**

O significado de V_{\max}

$$V_0 = k_3 [ES]$$

$$\text{se } [ES] \sim [E_t]$$

$$V_0 \sim V_{\max}$$

$$V_{\max} = k_3 [E_t]$$

$$k_3 = \frac{V_{\max}}{[E_t]}$$

Número de moléculas de produto produzidas por uma molécula de enzima em um segundo!

$$k_3 = k_{cat}$$

constante catalítica ou número de renovação

Valores de k_{cat} para algumas enzimas

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})
Catalase	H_2O_2	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	140,000
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2,000
Fumarase	Fumarate	800
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.4

Qual parâmetro (K_M ou k_{cat}) é mais importante para a eficiência de uma enzima ?

Eficiência catalítica das enzimas

$$\frac{k_{cat}}{K_M}$$

Quadro 5.8 Algumas enzimas de alta eficiência

Enzima	k_{cat} (s^{-1})	K_M (M)	k_{cat}/K_M ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)
Superóxido dismutase	1×10^6	$3,5 \times 10^{-3}$	$0,3 \times 10^9$
Catalase	1×10^7	$2,5 \times 10^{-2}$	$4,0 \times 10^8$
Acetilcolinesterase	1×10^4	$9,0 \times 10^{-5}$	$1,6 \times 10^9$
Anidrase carbônica	1×10^6	$1,2 \times 10^{-2}$	$8,3 \times 10^7$
Pepsina (hidrólise de Phe-Gly)	5×10^{-1}	$3,0 \times 10^{-4}$	$1,7 \times 10^5$

Limite físico para eficiência enzimática:
coeficiente de difusão: $10^8 - 10^9 M^{-1} s^{-1}$

Indica quem é o substrato "natural" ou favorito de uma enzima

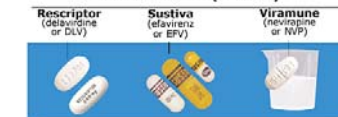
HIV MEDICATION CHART Community Research Initiative of New England

TOLL FREE: (888) 233-2712 Visit our website at www.cri-ne.org

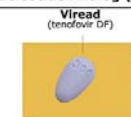
Nucleoside Analogs (NRTIs)



Non-Nucleosides (NNRTIs)



Nucleotide Analog (NtRTI)



Protease Inhibitors (PIs)



Produced with support from the Massachusetts Dept of Public Health HIV/AIDS Bureau. Pills shown actual size. ©2007

Inibição enzimática

Substâncias que diminuem a atividade de enzimas - INIBIDORES

Inibidores podem ser tanto constituintes normais das células como substâncias estranhas.

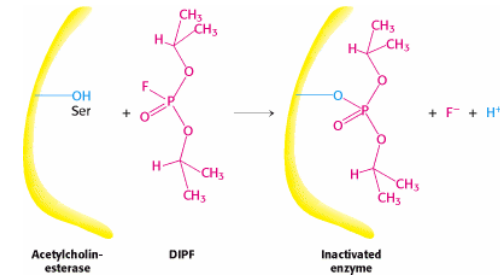
Importância:

- Entendimento do funcionamento das enzimas
- Terapêutica - drogas são inibidores enzimáticos

Irreversível vs. Reversível

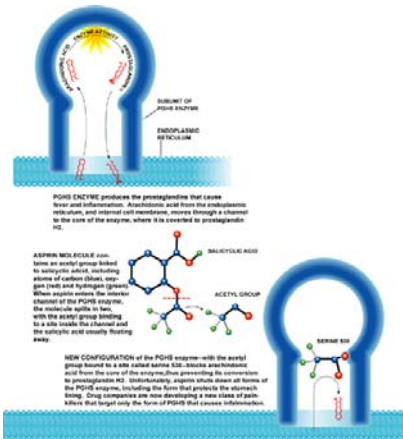
Inibição enzimática irreversível

Inibidor se associa à enzima por ligação covalente



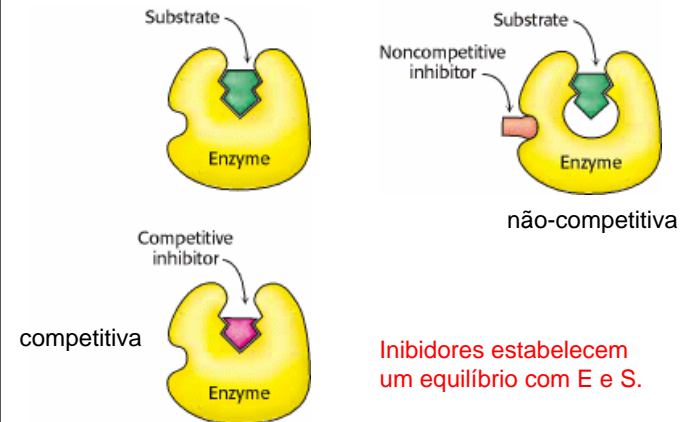
Reagentes grupo-específicos:
Organofosforados (pesticidas)
Iodoacetamida (SH)
Certos medicamentos

Aspirina é um inibidor irreversível das ciclo-oxigenases



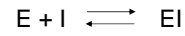
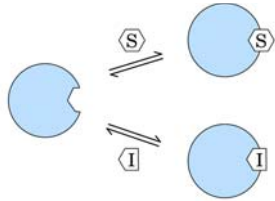
Inibição enzimática reversível

Ligação entre E e inibidor é não-covalente !



Inibidores estabelecem um equilíbrio com E e S.

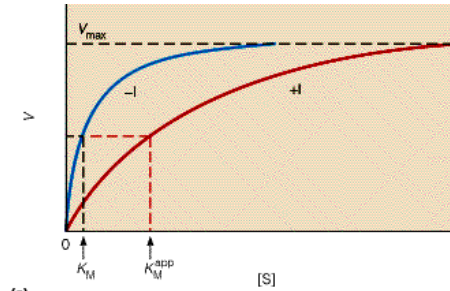
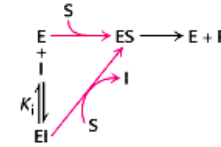
Inibição competitiva



$$K_i = \frac{[EI]}{[E][I]}$$

$$K_M^{app} = K_M(1 + [I]/K_i)$$

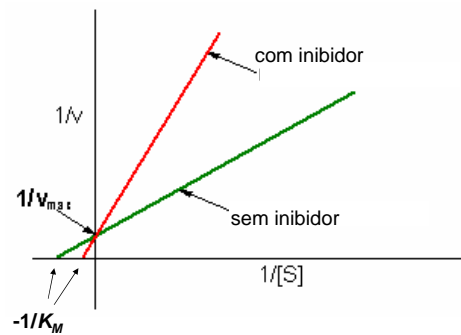
Inibição competitiva



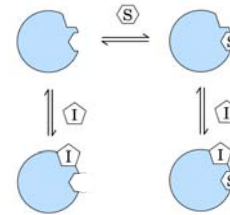
(a) Substrato reverte inibição - "desloca" o inibidor

Inibição competitiva

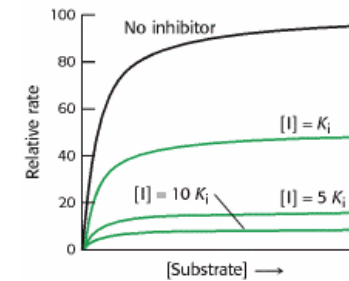
$$\frac{1}{V_0} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_M}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \left(\frac{1}{[S]} \right)$$



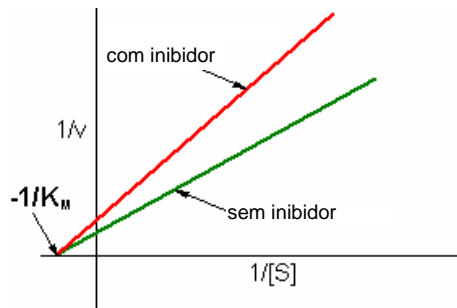
Inibição não-competitiva



Substrato não é capaz de reverter inibição !



Inibição não-competitiva



Várias drogas são inibidores competitivos

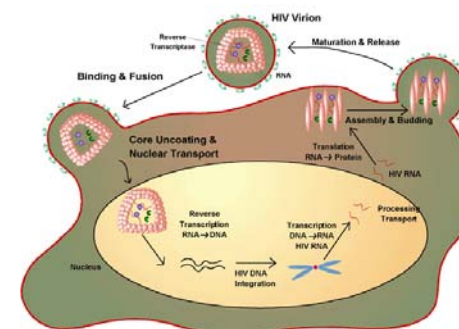
<chem>NC1=CC=C(S(=O)(=O)N)C=C1</chem> Sulfanilamida	<chem>NC(=O)C1=CC=C(C=C1)C(=O)O</chem> p-Aminobenzoato	Dihidropteroato sintase	Infecções bacterianas
<chem>SC1=NC=NC2=C1N=CN2</chem> 6-Mercaptopurina	<chem>O=C1NC=NC2=C1N=CN2</chem> Hipoxantina	Adenilossuccinato sintase	Leucemia
<chem>O=C1NC(=O)C(F)=CN1</chem> 5-Fluoruracila	<chem>O=C1NC=CC(=O)N1</chem> Uracila	Timidilato sintase	Tumores
<chem>CN1C=NC2=C1N=CN2C3=CC=CC=C3C4=CC=CC=C4</chem> Metotrexato	<chem>CN1C=NC2=C1N=CN2C3=CC=CC=C3C4=CC=CC=C4</chem> Dihidrofolato	Dihidrofolato redutase	Leucemia
<chem>CN1C=NC2=C1N=CN2C3=CC=CC=C3C4=CC=CC=C4C5=CC=CC=C5</chem> AZT (3'-azido-2'-desoxitimidina)	<chem>CN1C=NC2=C1N=CN2C3=CC=CC=C3C4=CC=CC=C4</chem> Desoxitimidina	DNA polimerase viral	AIDS

Conhecimento bioquímico tem sido fundamental no desenvolvimento de novas drogas

Desenho racional de drogas:

- 1) Inibidores da protease do HIV
- 2) Anti-inflamatórios com menos efeitos colaterais

Ciclo de vida do HIV



<http://www.biochem.arizona.edu/classes/bioc462/462a/jmol/hiv/hiv1.htm>

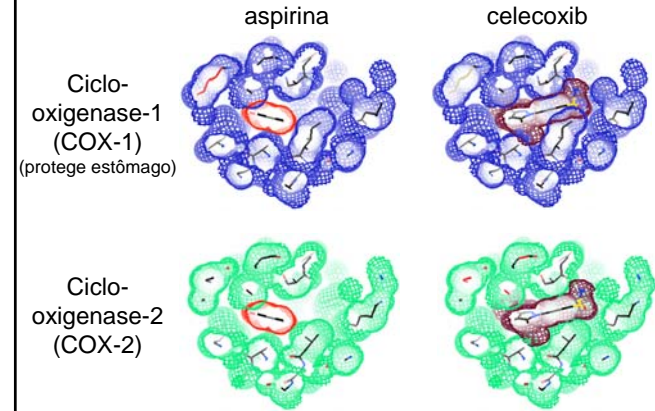
<http://www.youtube.com/watch?v=oeqJo9xYviY&feature=related>

<http://www.youtube.com/watch?v=3BTRVtsmXpw&feature=related>

www.youtube.com/watch?v=VoMGqPqnyDQ

(Excelente animação sobre inibição da protease do HIV produzida pela Boehringer Ingelheim para mostrar as vantagens de seu inibidor)

Desenho racional produz drogas com menos efeitos colaterais

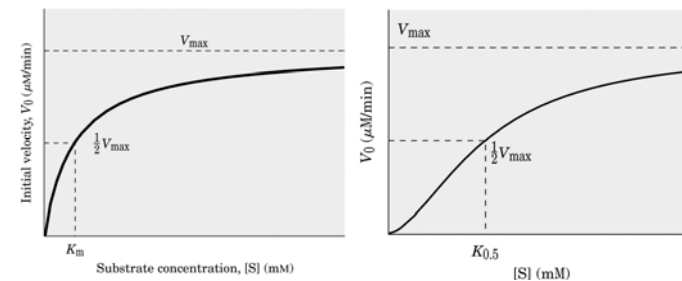


Nem todos os efeitos colaterais podem ser previstos... - Vioxx

Regulação da atividade enzimática

- 1) Quantidade da enzima: síntese vs. degradação
- 2) Atividade da enzima: ativação/inativação de enzimas pré-existentes - mudanças estruturais
 - a - modulação alostérica
 - b - modificação covalente (transferência de grupo)
 - c - modificação covalente (proteólise)

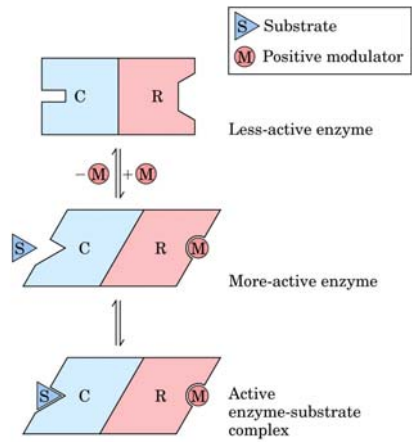
Regulação da atividade enzimática



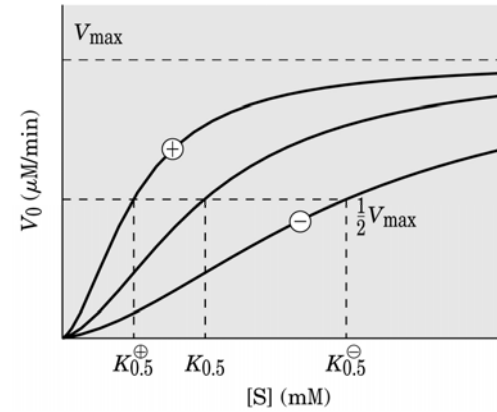
**enzimas
michaelianas**

**enzimas
alostéricas**

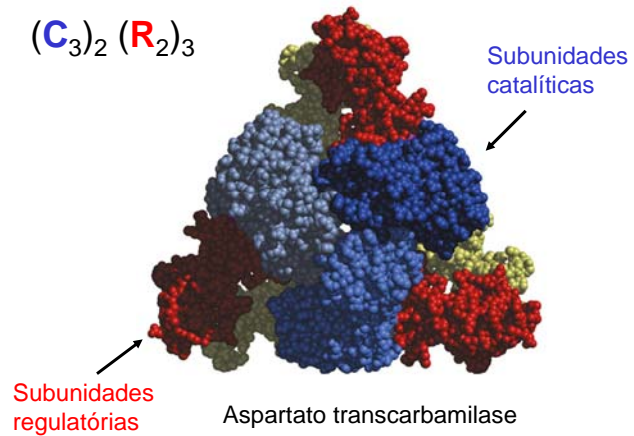
Enzimas alostéricas



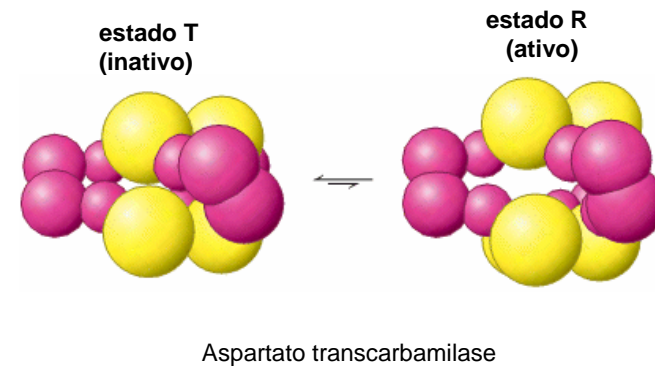
Moduladores alteram atividade significativamente



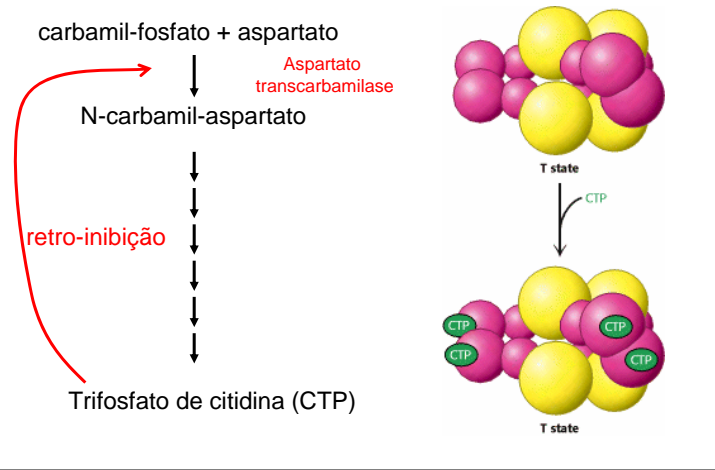
Enzimas alostéricas



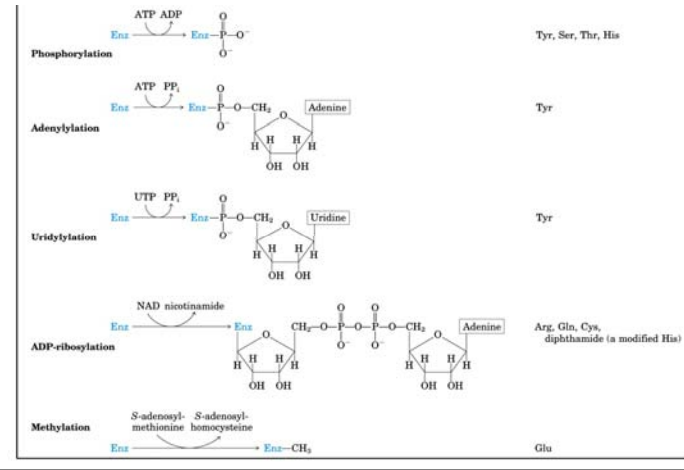
Enzimas alostéricas



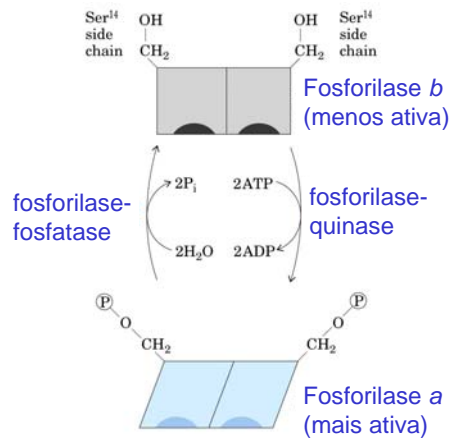
Enzimas alostéricas são enzimas regulatórias



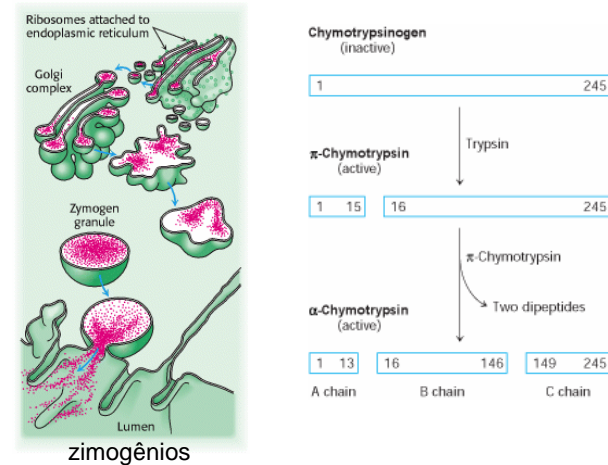
Regulação por modificação covalente



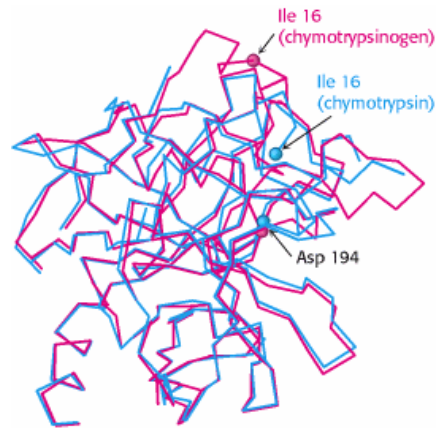
Regulação por fosforilação



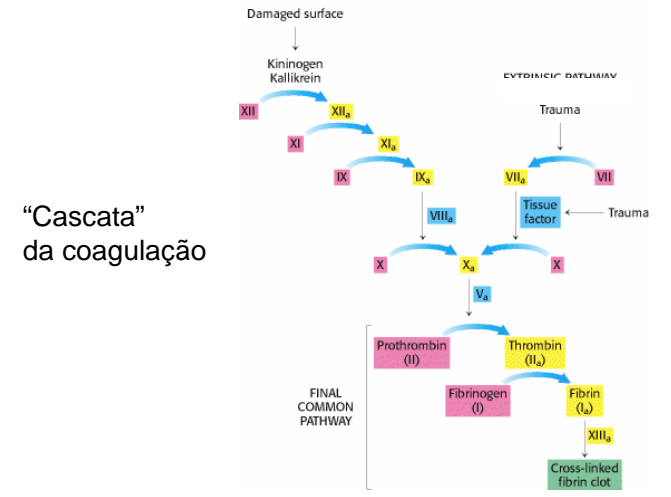
Ativação proteolítica



Ativação proteolítica



Ativação proteolítica



Recursos na Web

Planilhas Excel para Michaelis-Menten:

<http://csm.jmu.edu/biology/courses/bio220/aotw3.html>

<http://tutor.lscf.ucsb.edu/instdev/sears/biochemistry/tw-enz/enzymes-outline.htm#top>

Introdução ao mecanismo de ação de drogas com exemplos de estrutura:

http://www.edinformatics.com/interactive_molecules/how_drugs_work.htm

Curso de química dos medicamentos no Wellesley College (Understanding drugs):

<http://www.wellesley.edu/Chemistry/Chem101/home.html>

Beyond Discovery (história resumida da descoberta dos inibidores de protease):

<http://www.beyonddiscovery.org/content/view/article.asp?a=99>

Textos do Scientific American sobre desenho racional de drogas

<http://en.wikipedia.org/wiki/Fomepizole>

<http://www.raptorpharma.com/convivia.html>

<http://emedicine.medscape.com/article/1174890-overview>