

# BIOENERGÉTICA

## INTRODUÇÃO

Hoje, mais do que nunca, estamos conscientes de que a **energia**, a **capacidade de produzir trabalho**, é vital para a nossa civilização moderna. Nas suas diversas formas (elétrica, mecânica, química, calorífica, luminosa, etc.) é utilizada para a manufatura de produtos, transporte, aquecimento, refrigeração, e demais trabalhos.

A **célula viva** igualmente necessita de energia para a realização dos diversos **trabalhos fisiológicos** que executa: biossínteses (trabalho químico), transporte ativo (trabalho osmótico), contração muscular (trabalho mecânico), bioluminescência, etc.

# BIOENERGÉTICA

A **bioenergética** é o campo da bioquímica que trata das transformações e uso da energia pelas células vivas.

A **termodinâmica**, parte da física que trata das alterações energéticas, afirma, na sua 1<sup>a</sup> Lei que “**a energia não é criada e nem destruída, mas apenas transformada**”, e, numa 2<sup>a</sup> Lei que “**todas as transformações, físicas ou químicas, tendem a ocorrer numa direção tal que a energia útil (aquela capaz de produzir trabalho), sofre degradação irreversível para uma forma desordenada, chamada de entropia**”.

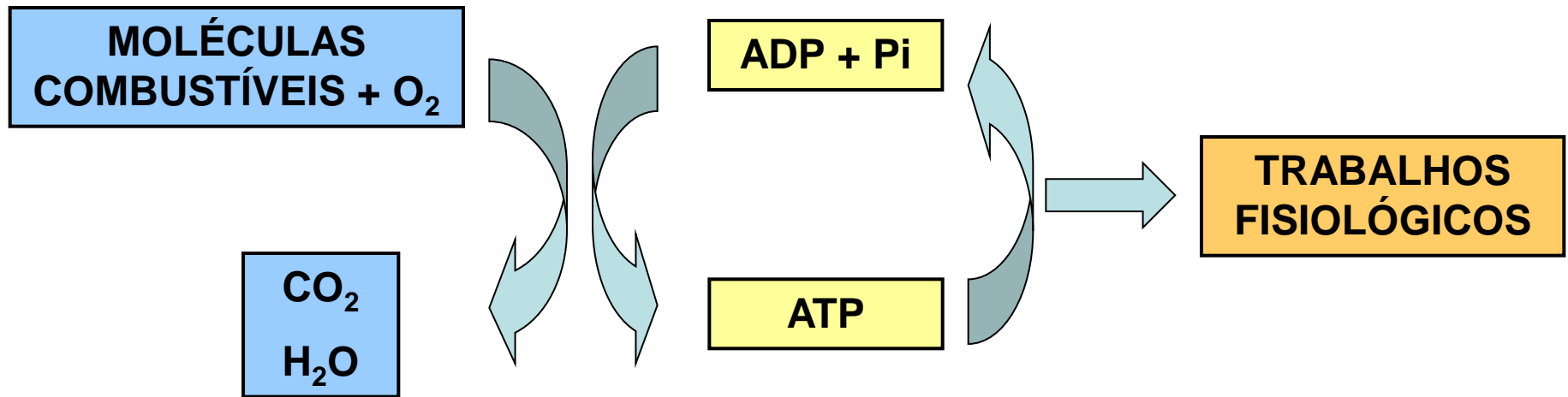
# ENERGIA LIVRE

Existem duas formas de energia útil que pode ser obtida através de reações químicas:

1. **Energia Calorífica** – realiza trabalho com mudanças de temperatura e/ou pressão (máquinas térmicas)
2. **Energia Livre** – realiza trabalho sob condições de pressão e temperatura constantes (célula viva)

A **entropia** é uma condição da energia ou da matéria em estado de desordem. Em termos energéticos é uma energia inútil, incapaz de produzir trabalho.

# CICLO ENERGÉTICO CELULAR

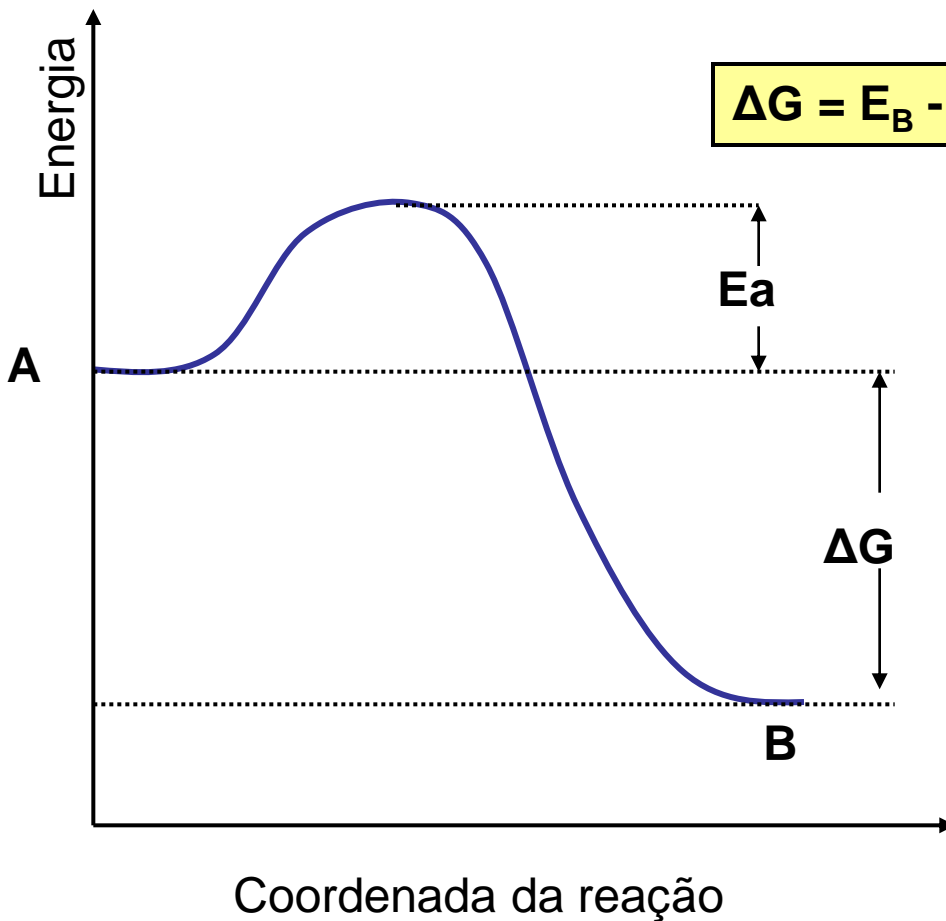


O ATP é a “moeda” das transações energéticas na célula

# REAÇÕES TERMODINAMICAMENTE POSSÍVEIS



$\Delta G$  = variação de energia livre de uma reação



$\Delta G > 0$  : reação endergônica

$\Delta G < 0$  : reação exergônica

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

$\Delta H$  = variação de entalpia

$\Delta S$  = variação de entropia

# CONCEITO DE ENERGIA LIVRE DE UMA REAÇÃO QUÍMICA

$\Delta G$  = variação de energia livre de uma reação

$\Delta G$  = É A QUANTIDADE MÁXIMA DE ENERGIA QUE A CÉLULA PODE OBTER DE UMA REAÇÃO QUÍMICA

AS REAÇÕES TERMODINAMAMENTE POSSÍVEIS DE OCORRER APRESENTAM  $\Delta G$  NEGATIVO, OU SEJA, OCORREM COM DIMINUIÇÃO DA ENERGIA LIVRE DO SISTEMA

# RELAÇÃO ENTRE $\Delta G$ E A CONSTANTE DE EQUILÍBRIO

Considere-se a reação no seu estado de equilíbrio:

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln K_{eq}$$

$$0 = \Delta G^\circ + RT \ln K_{eq}$$

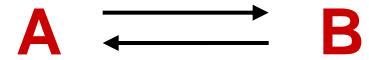
$$\Delta G^\circ = - RT \ln K_{eq}$$

A 25°C, condição padrão,  $T = 25 + 273 = 298^\circ \text{K}$  e  $R = 1.987 \text{ cal/}^\circ\text{K}$

$$\Delta G^\circ = - 1,987 \times 298 \times \ln K_{eq}$$

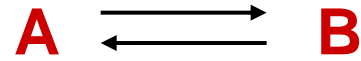
$$\Delta G^\circ = - 1.987 \times 298 \times 2,303 \log K_{eq}$$

$$\Delta G^\circ = - 1.363 \log K_{eq}$$



$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]}$$

# RELAÇÃO ENTRE $\Delta G^\circ$ E A CONSTANTE DE EQUILÍBRIO



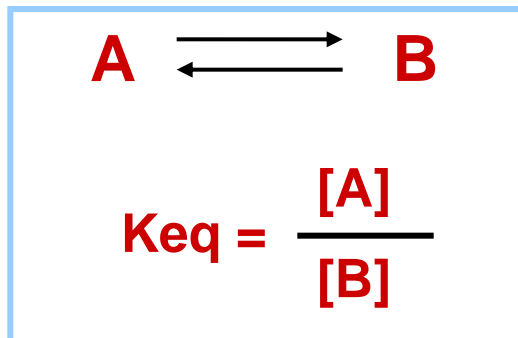
$$K_{eq} = \frac{[B]}{[A]}$$

$$K_{eq} = \frac{[1]}{[1000]} = 0,001$$

Keq	log Keq	$\Delta G^\circ = - 1.363 \log Keq$ (cal/mol)
0,001	-3	4.089
0,010	-2	2.726
0,100	-1	1.363
1	0	0
10	1	-1.363
100	2	-2.726
1000	3	-4.089



**$\Delta G^\circ$  é a variação de energia livre de uma reação quando reagentes e produtos estão na concentração unitária (1M)**



Para a condição de  $[\text{A}] = [\text{B}] = 1\text{M}$ , teremos :

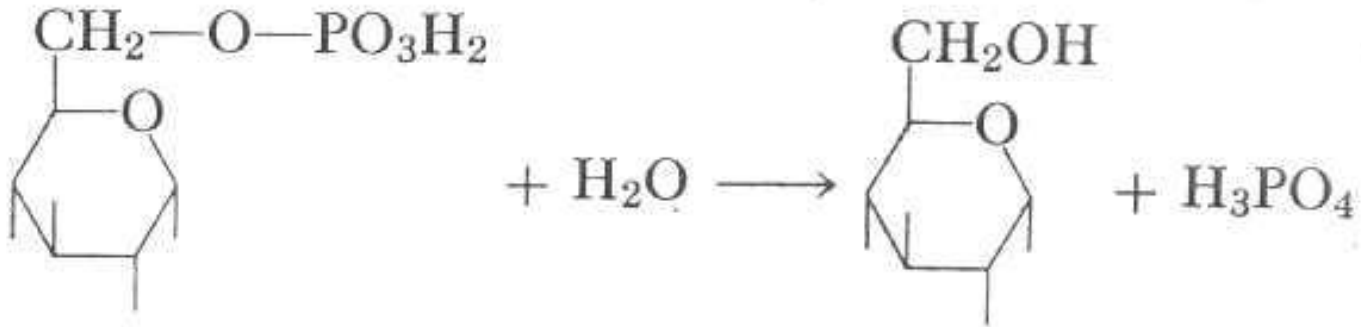
$$\Delta G = \Delta G_o + RT \ln K_{eq}$$

$$\Delta G = \Delta G_o + RT \ln 1$$

$$\Delta G = \Delta G_o + RT \times 0$$

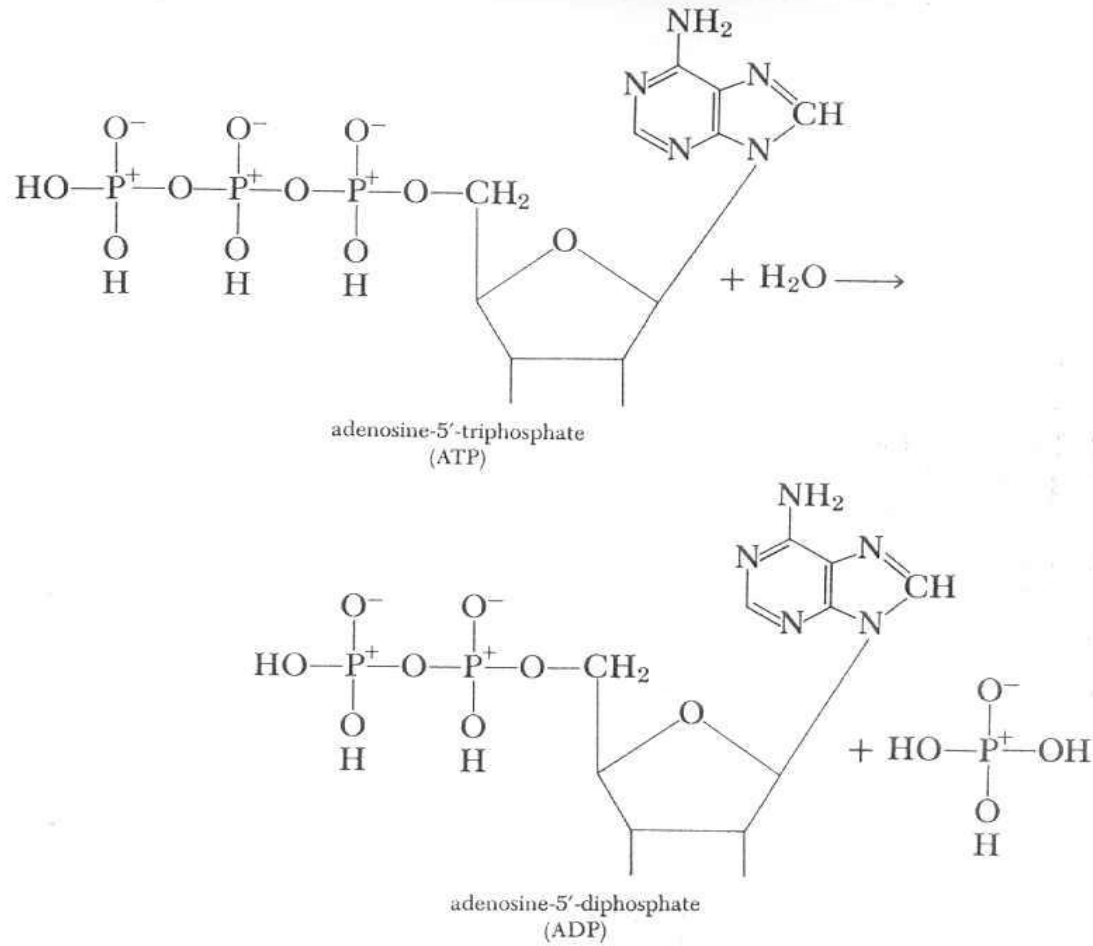
$$\Delta G = \Delta G_o$$

# Ligações fosfóricas



$$\Delta F' = -3300 \text{ cal (pH 7.0)}$$

# Estrutura do ATP



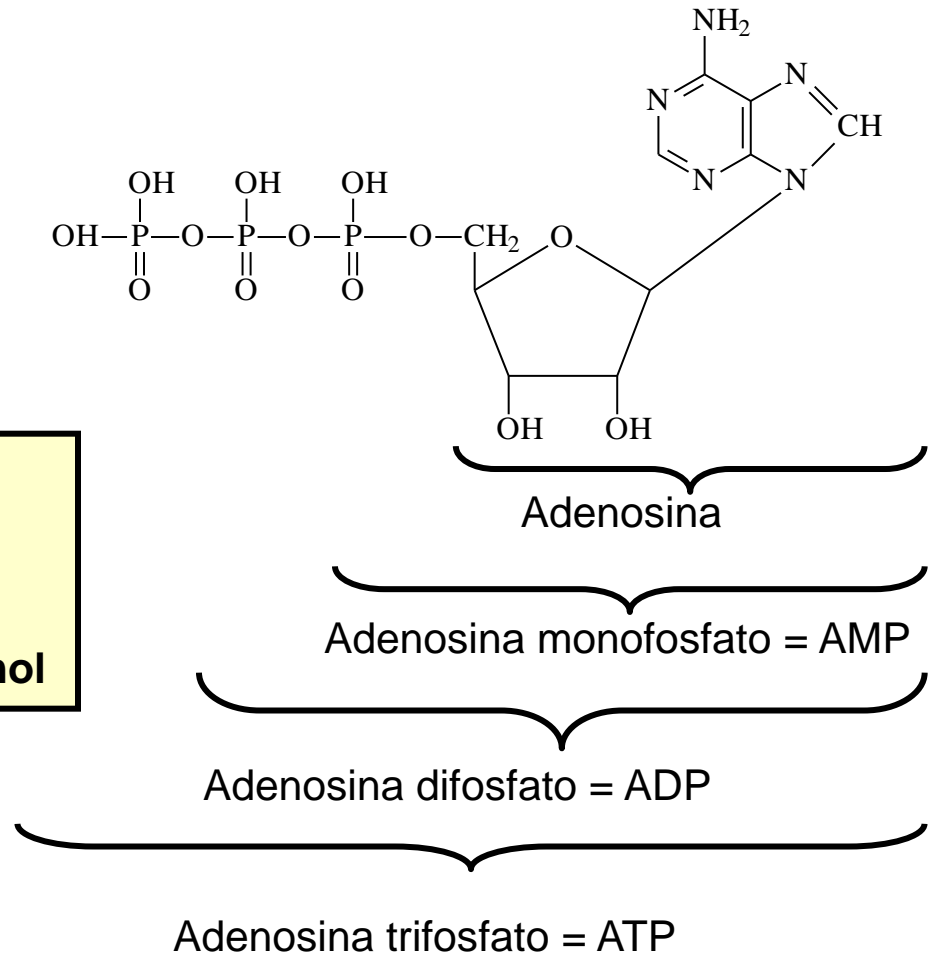
$$\Delta F' = -8000 \text{ cal (pH 7.0)}$$

# NUCLEOTÍDEOS DE ADENOSINA E SUA ENERGIA DE HIDRÓLISE

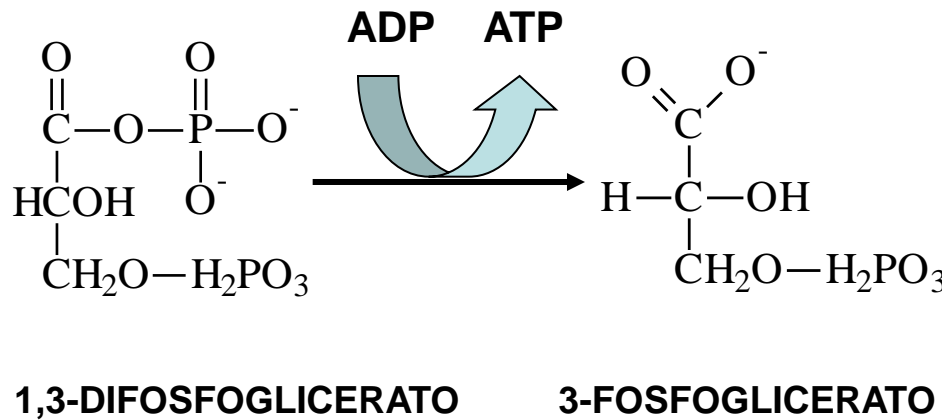
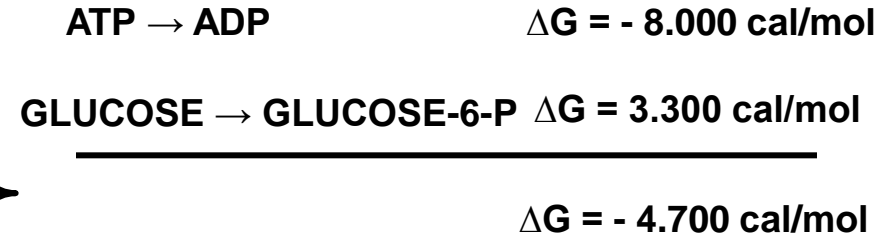
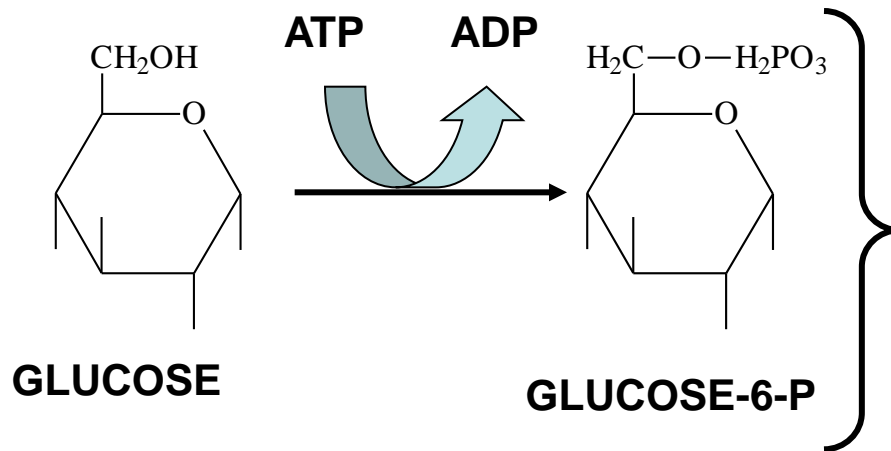
**ATP → ADP ;  $\Delta G = - 8.000$  cal/mol**

**ADP → AMP ;  $\Delta G = - 6.500$  cal/mol**

**AMP → ADENOSINA;  $\Delta G = - 2.200$  cal/mol**



# REAÇÕES ACOPLADAS COM UTILIZAÇÃO E CONSUMO DE ATP



# ENZIMAS

- CONCEITO
- ESPECIFICIDADE (SÍTIO ATIVO)
- DESNATURAÇÃO PROTÊICA e INATIVAÇÃO ENZIMÁTICA
- CINÉTICA ENZIMÁTICA
- EQUAÇÃO DE MICHAELLIS-MENTEN
- CONCEITOS BIOQUÍMICOS DE  $K_m$  e  $V_m$
- FATORES QUE AFETAM A ATIVIDADE ENZIMÁTICA

# CONCEITO

São proteínas fabricadas pela própria célula, com a função de acelerar as reações químicas, termodinamicamente possíveis, porém sem alterar os valores de Variação de Energia Livre ( $\Delta G$ ) ou a Constante de Equilíbrio da reação ( $K_{eq}$ ).

Atuam em quantidades extremamente baixas em relação à quantidade ou concentração de substrato processada, e tornam a velocidade das reações compatíveis com as exigências do metabolismo.

Tais reações não ocorreriam, ou se ocorressem, seria com velocidade extremamente baixa, comprometendo a manifestação dos processos metabólicos vitais.

# ESPECIFICIDADE

As enzimas não apenas aceleram as reações enzimáticas mas também facilitam o controle do metabolismo, aspecto extremamente importante para o metabolismo celular. Assim é que enquanto algumas reações devam ser aceleradas em determinadas circunstâncias, outras reações deveriam ser atenuadas, para que o metabolismo possa ser direcionado segundo às necessidades momentâneas da célula.

Para a consecução de tais objetivos o controle mais eficiente seria aquele exercido sobre cada reação enzimática, individualmente.

Haveria pois a necessidade de uma enzima específica para a catálise de cada reação bioquímica.



# Natureza protéica da enzima e Sítio Ativo

A necessidade da **especificidade de catálise** levou a célula a buscar nas proteínas a diversidade tamanha de estruturas químicas para atender tal requisito.

Porém, sendo uma proteína, a enzima pode sofrer desarranjos em seus níveis estruturais básicos (especialmente a estrutura terciária), o que leva à **desnaturação protéica** e conseqüentemente a **perda da atividade catalítica**.

A especificidade está condicionada, em grande parte, à **configuração espacial** do seu **sítio ativo**, local da proteína, onde o **substrato** vai ser alojado, formando-se assim o **complexo enzima-substrato**.

# Como aumentar a velocidade das reações?

A velocidade de uma reação é determinada pela **Energia de Ativação ( $E_a$ )**, um quantum energético que deve ser fornecido às moléculas reagentes, para atingir o estado excitado e se converterem no produto da reação.

Esta **barreira energética** estabelecida pela  $E_a$  pode ser transposta por moléculas de reagentes que apresentem **energia cinética** suficiente para tal. Assim, ao aumentarmos a **temperatura**, aumentamos a energia cinética das moléculas reagentes, permitindo que um maior número de moléculas estejam aptas a transpor a barreira energética, resultando em um **aumento na velocidade de reação**.

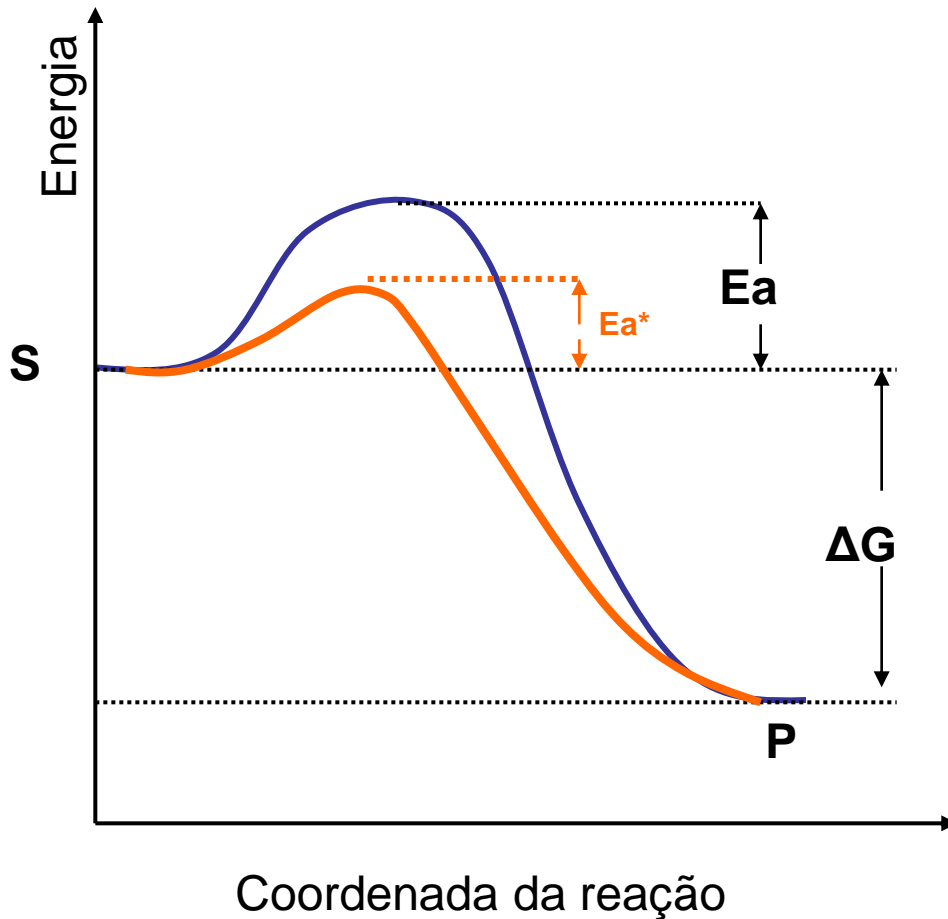
# Como aumentar a velocidade das reações?

Outra possibilidade de se aumentar a velocidade de uma reação seria **diminuir a barreira energética**, permitindo que numa dada temperatura uma quantidade maior de moléculas reagentes possam transpor a barreira energética imposta pela energia de ativação.

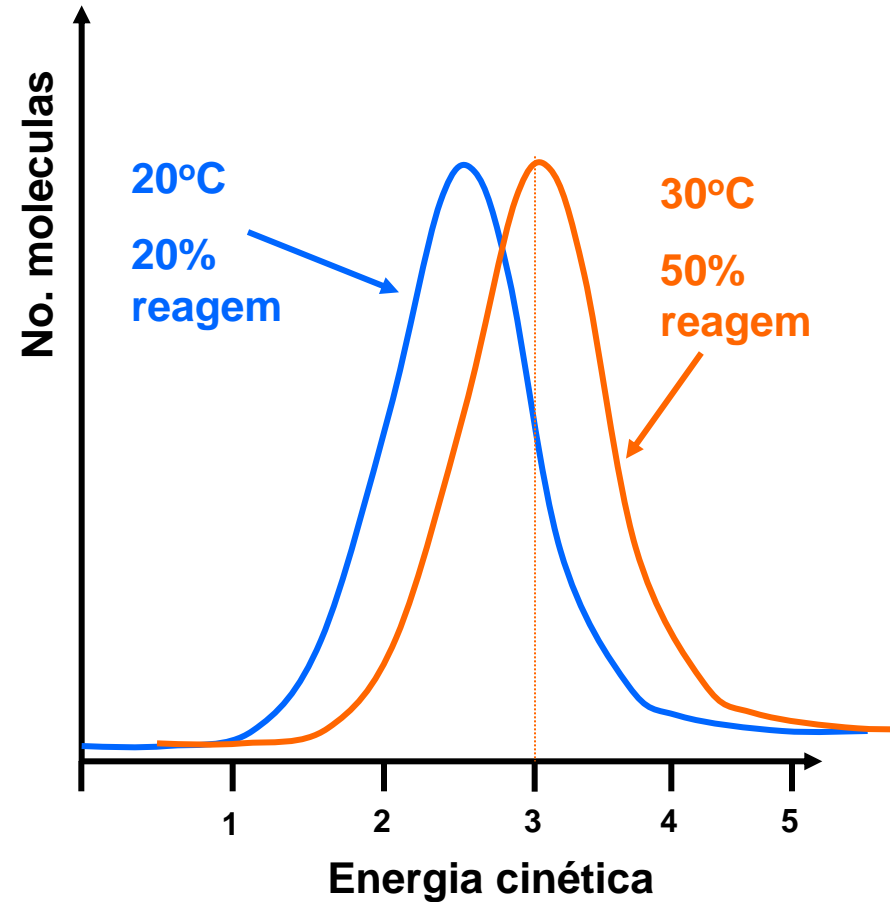
É desta forma que atuam os **catalizadores**, ou seja reduzem a quantidade de energia para as moléculas atingirem o estado excitado.

As enzimas são **biocatalizadores**, e tornam as velocidades de reação compatíveis com as necessidades do metabolismo celular.

# Modalidades de aumentar a velocidade das reações

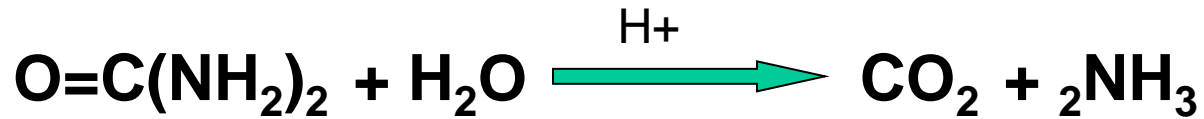


$E_{a^*}$  = energia de ativação na presença da enzima



# A CATÁLISE

## HIDRÓLISE DA URÉIA

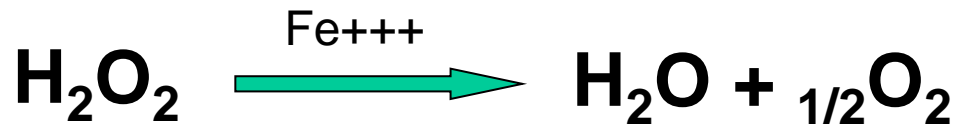


$E_a = 24.600 \text{ CAL/MOL}$



$E_a = 6.800 \text{ CAL/MOL}$

## DECOMPOSIÇÃO DO PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO

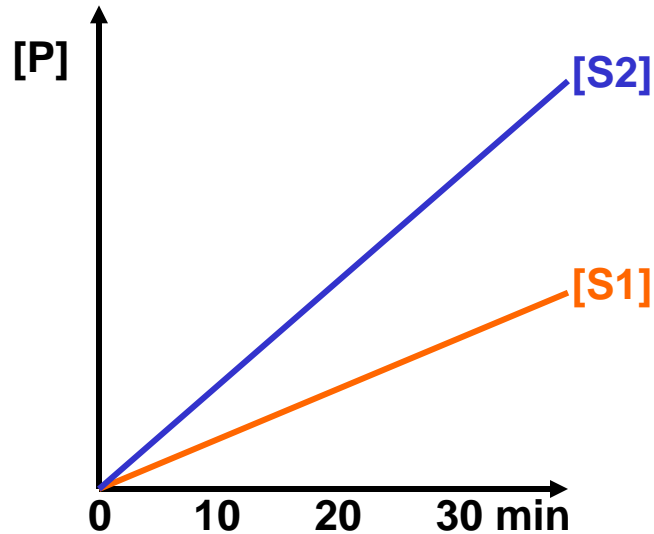


$E_a = 10.100 \text{ CAL/MOL}$



$E_a = 1.700 \text{ CAL/MOL}$

# CINÉTICA DE REAÇÃO

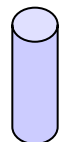
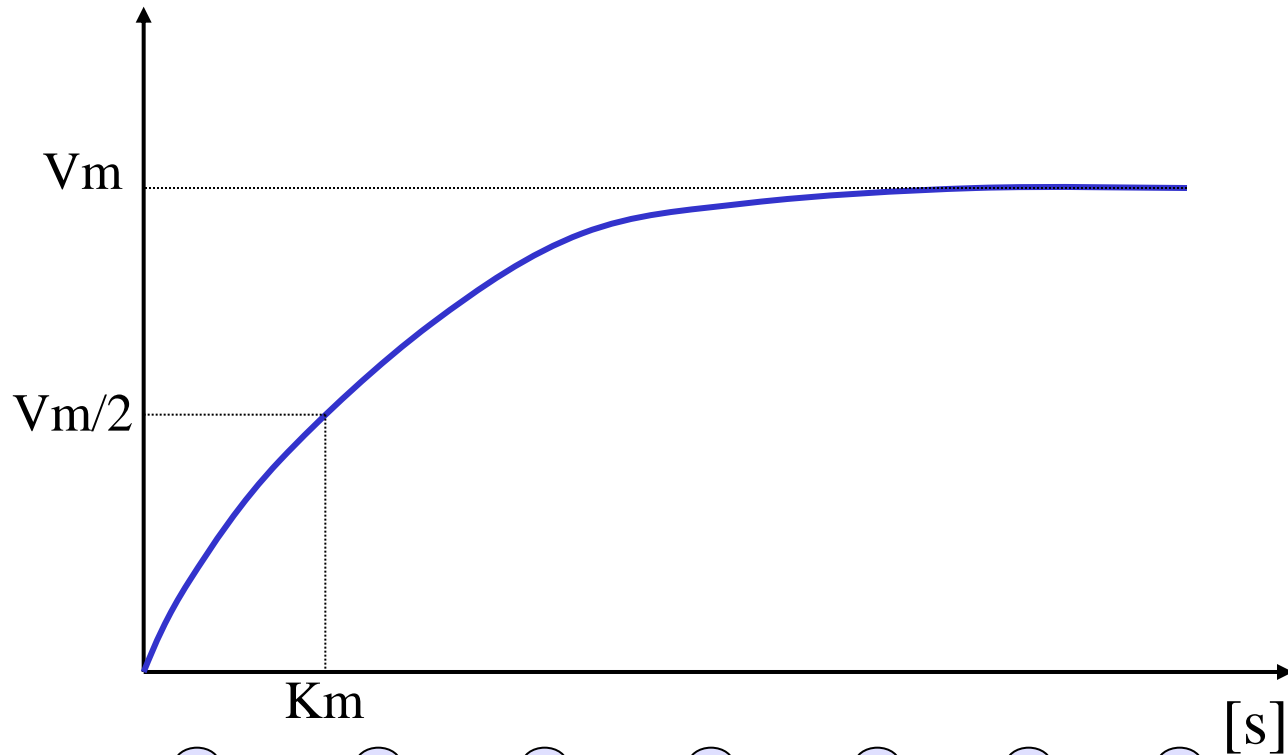


Nos instantes iniciais da reação, substrato reage com a enzima formando o **complexo enzima-substrato**. A partir daí a velocidade de formação de **produto** se processa com **velocidade constante**, até o momento em que a redução na concentração de substrato afete a velocidade de reação.

Para que a velocidade de formação de **produto** seja **constante** a concentração do complexo enzima substrato deve permanecer constante.

Deduz-se que a velocidade de formação do complexo enzima-substrato seja igual à velocidade de sua dissociação

# REAÇÕES ENZIMÁTICAS



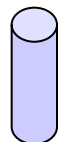
S<sub>0</sub>



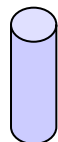
P<sub>0</sub>/t



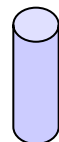
V<sub>0</sub>



S<sub>1</sub>



S<sub>2</sub>



S<sub>3</sub>



S<sub>4</sub>



S<sub>n</sub>



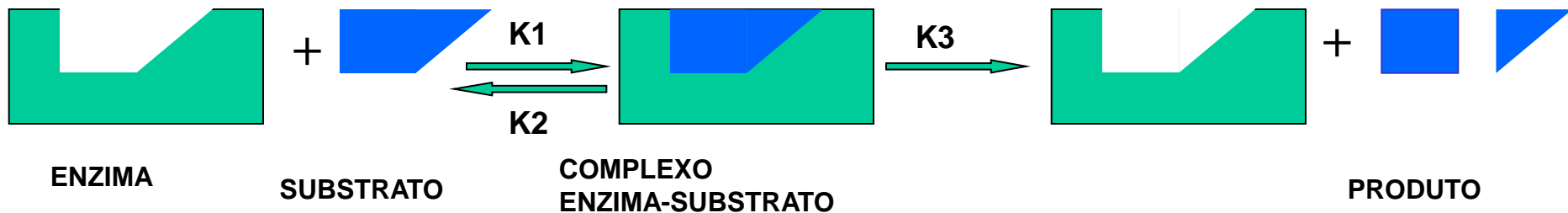
P<sub>n</sub>/t



V<sub>n</sub>

[s]

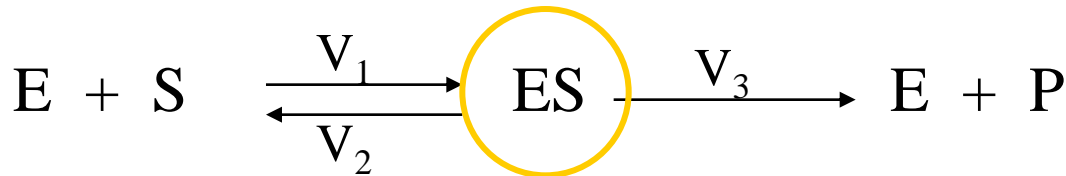
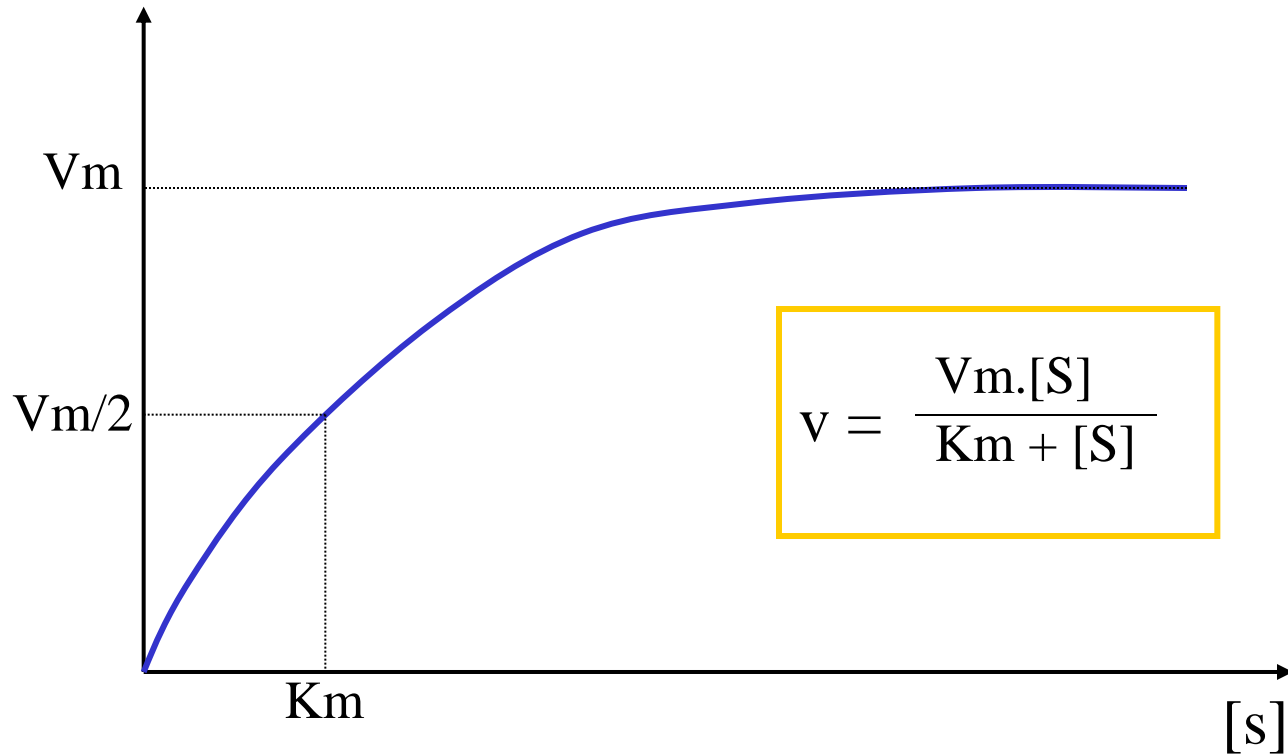
# MODELO MATEMÁTICO DA CATÁLISE ENZIMÁTICA



12	0	0	$v_0 = K3 \times 0$
9	100.000	3	$v_1 = K3 \times 3$
8	200.000	4	$v_2 = K3 \times 4$
7	300.000	5	$v_3 = K3 \times 5 = Vm/2$
6	400.000	6	$v_4 = K3 \times 6$
5	500.000	7	$v_5 = K3 \times 7$
3	600.000	9	$v_6 = K3 \times 9$
0	800.000	12	$v_n = K3 \times 12 = Vm$



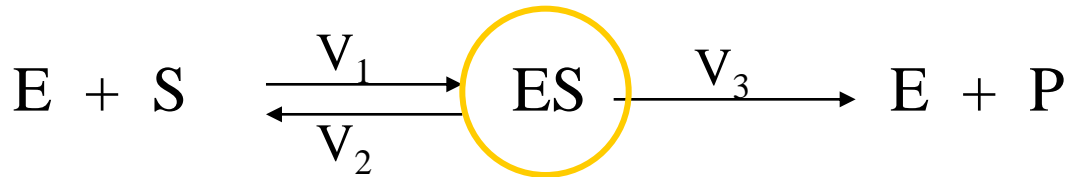
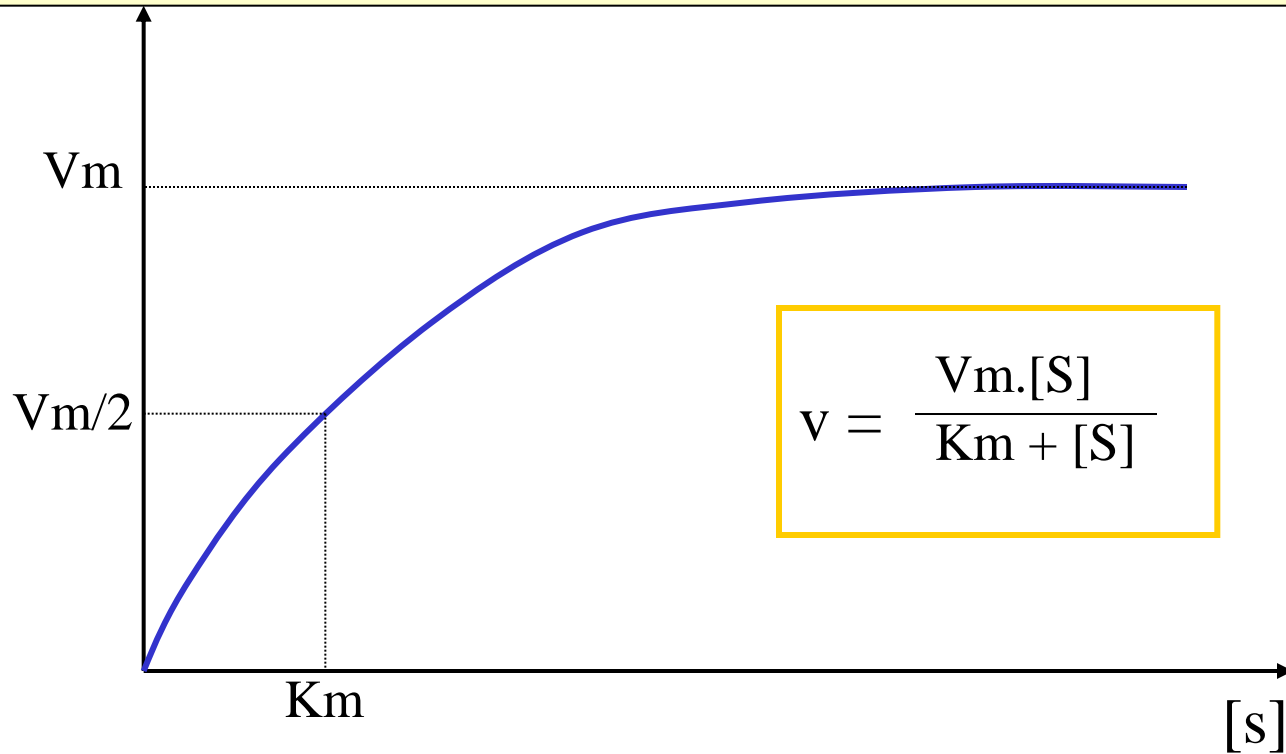
# CINÉTICA ENZIMÁTICA



$V_m$  = velocidade máxima

$K_m$  = constante de Michaelis

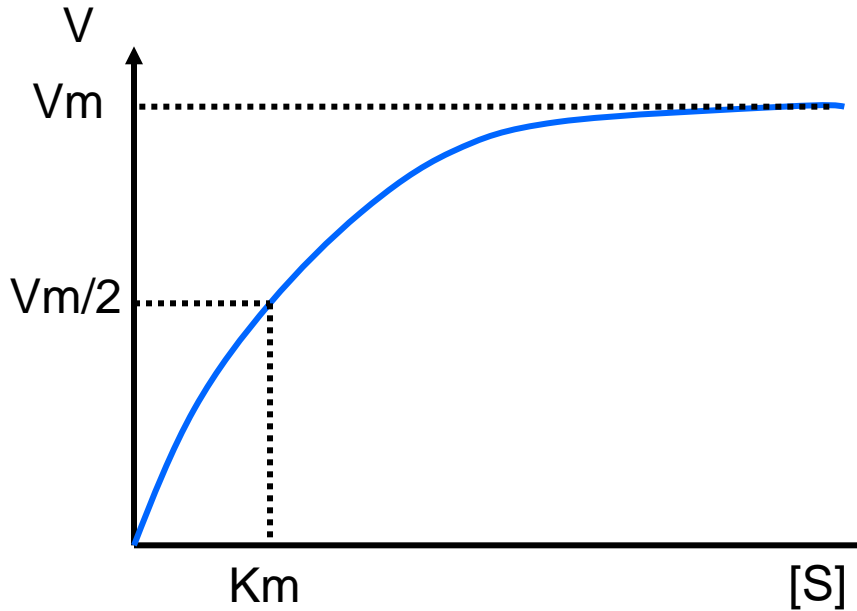
# CINÉTICA ENZIMÁTICA



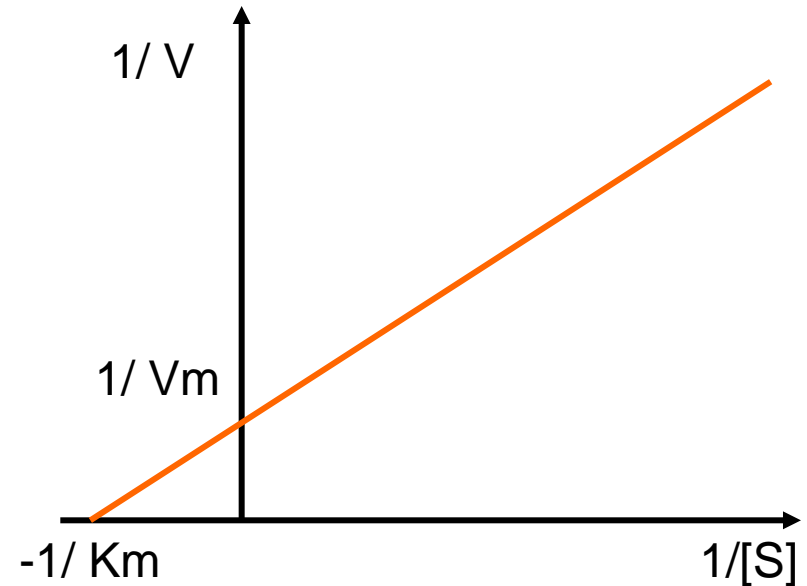
$V_m$  = velocidade máxima: concentração de saturação dos sítios ativos, todas as moléculas de enzima estão na forma ES

$K_m$  = constante de Michaelis: concentração de semi-saturação dos sítios ativos, 50% das enzimas estão na forma de complexo ES e 50% livres

# TRANSFORMADA DE LINEWEAVER-BURK (RETIFICAÇÃO DA HIPÉRBOLE)



$$V = \frac{V_m \cdot [S]}{K_m + [S]}$$

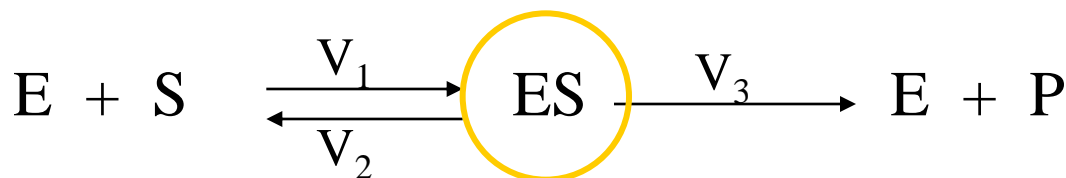
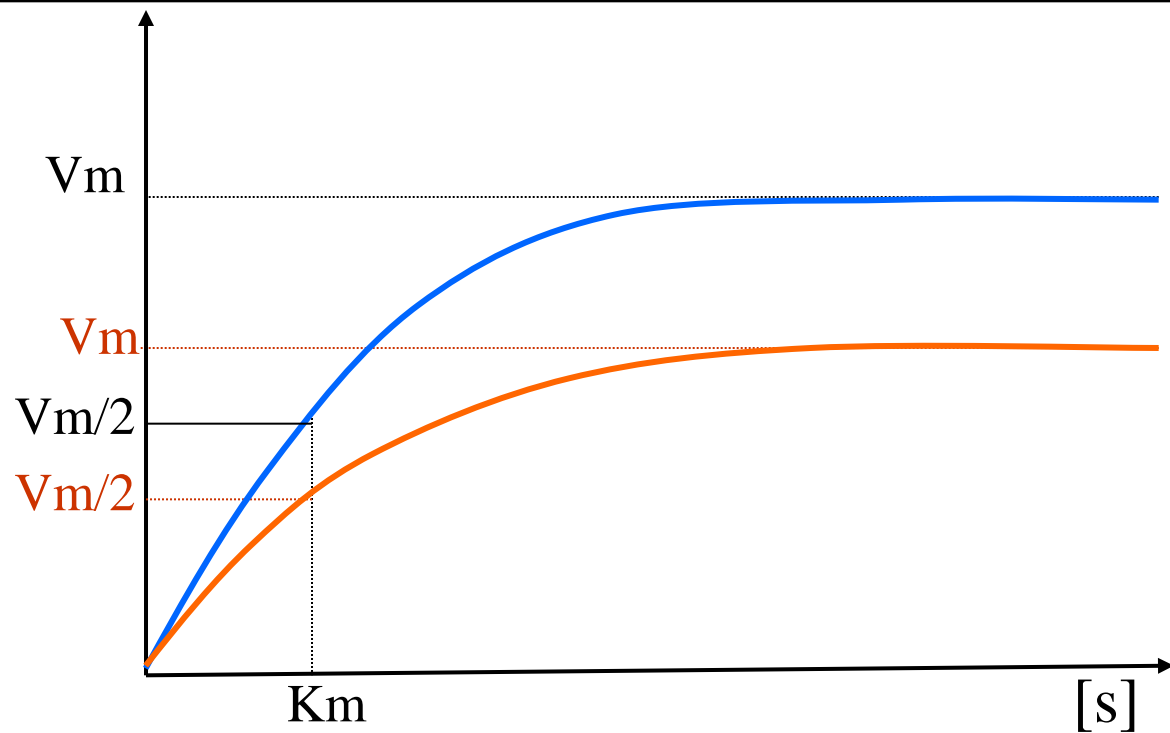


$$1/V = \frac{K_m}{V_m} \cdot 1/[S] + 1/V_m$$

# FATORES QUE AFETAM A ATIVIDADE ENZIMÁTICA

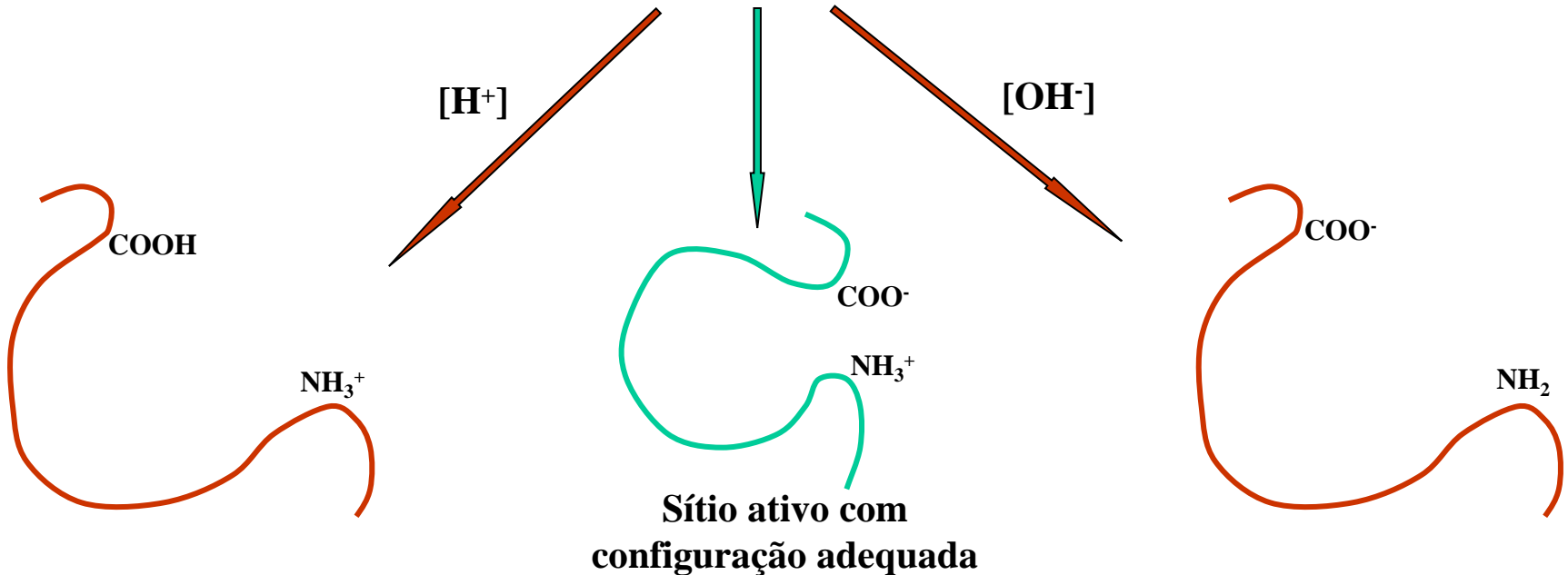
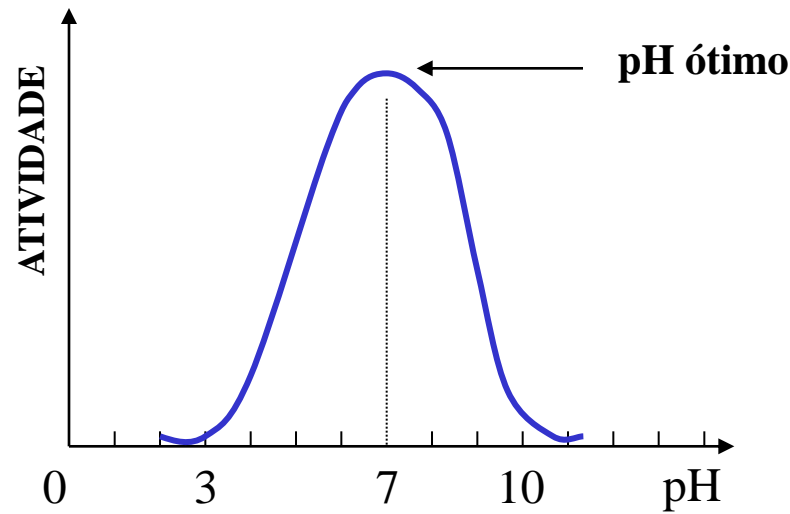
- CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO
- CONCENTRAÇÃO DE ENZIMA
- pH (concentração hidrogeniônica)
- TEMPERATURA
- INIBIDORES
- EFETORES ALOSTÉRICOS
- COFATORES ENZIMÁTICOS

# Efeitos das concentrações de enzima e de substrato

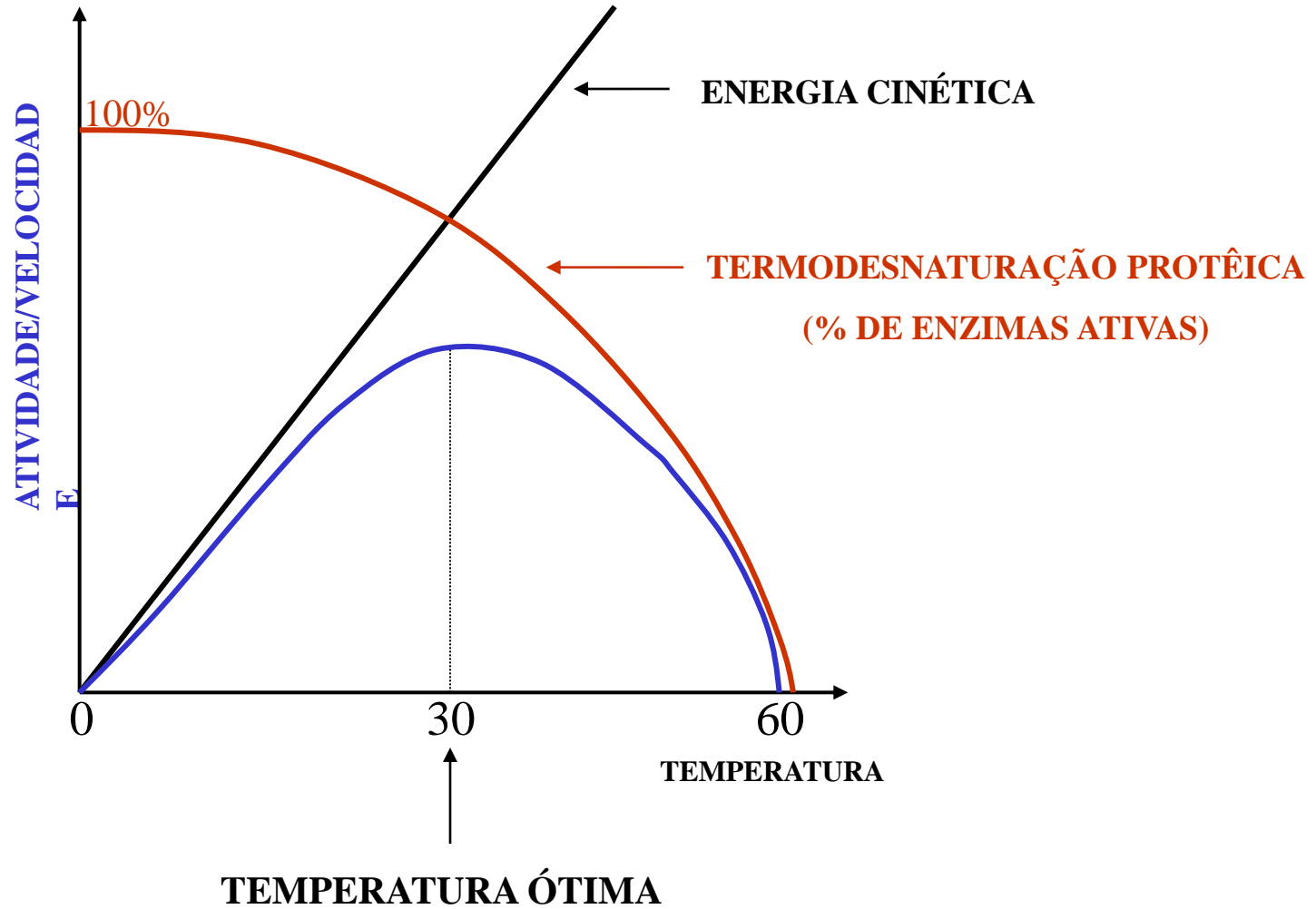


V<sub>m</sub> é proporcional à [E], mas K<sub>m</sub> independe da [E]

# EFEITO DO pH



# EFEITO DA TEMPERATURA



# INIBIDORES ENZIMÁTICOS

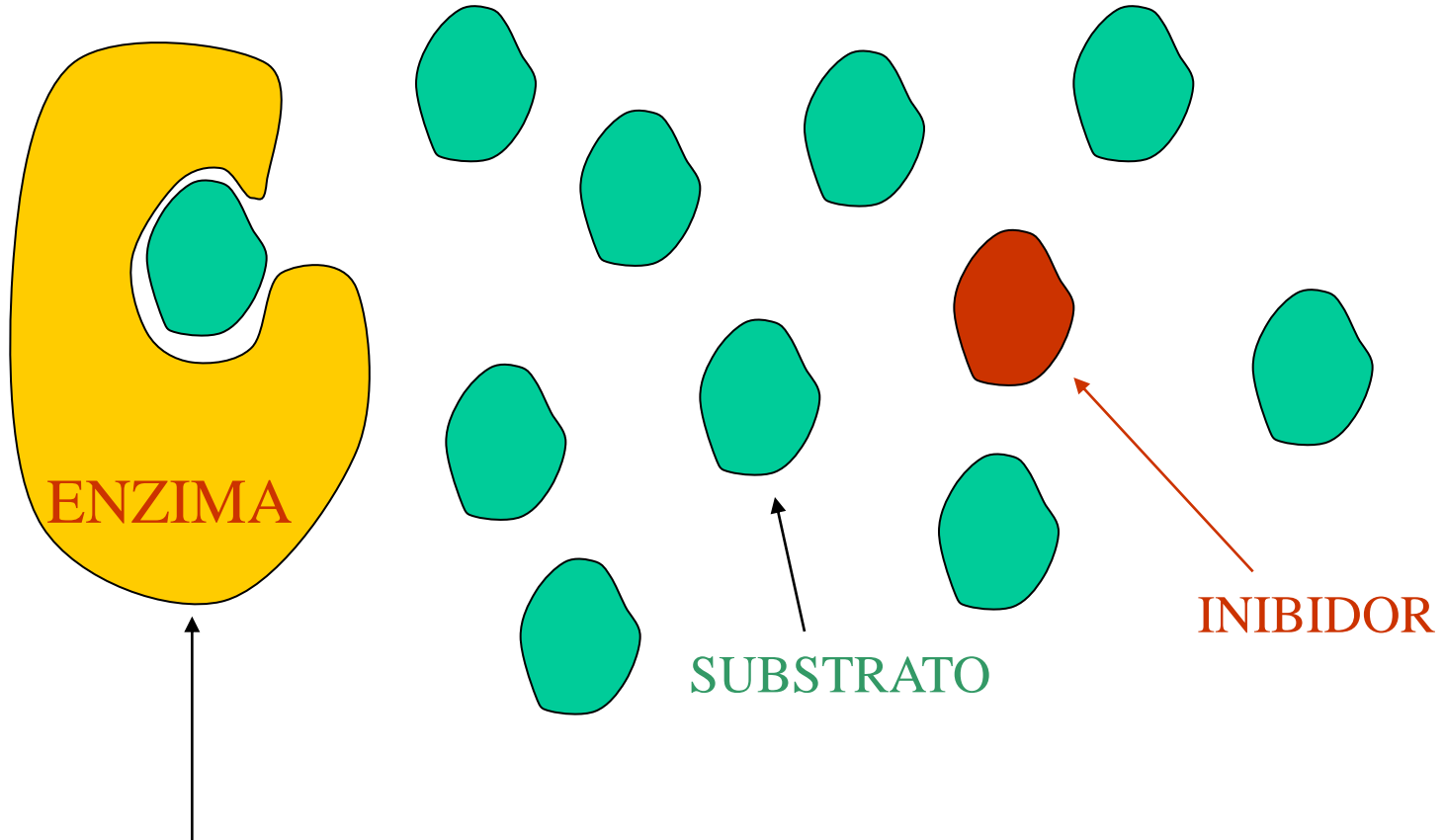
(SE ALOJAM NO SÍTIO ATIVO DA ENZIMA)

- COMPETITIVOS (REVERSÍVEIS)
- NÃO COMPETITIVOS (IRREVERSÍVEIS)



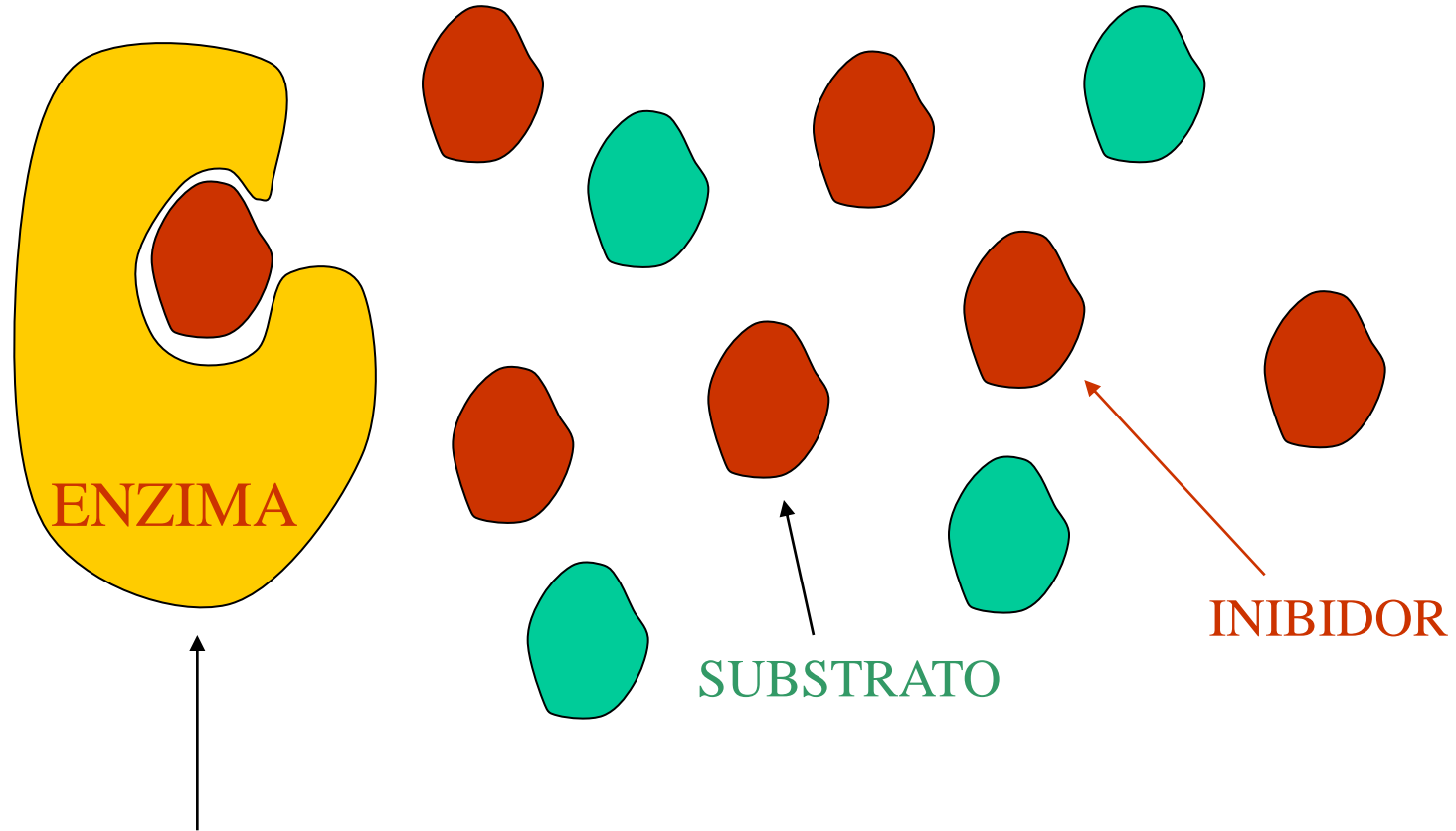
# INIBIDOR COMPETITIVO

(TEM SEMELHANÇA ESTRUTURAL COM O SUBSTRATO)



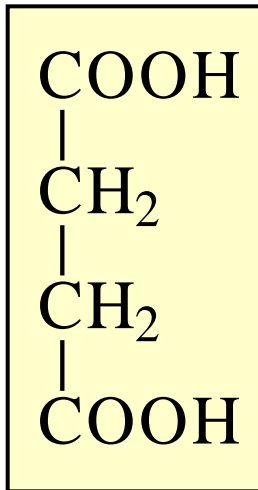
COMPLEXO ENZIMA-SUBSTRATO

# SUBSTRATO E INIBIDOR COMPETEM PELO SÍTIO ATIVO

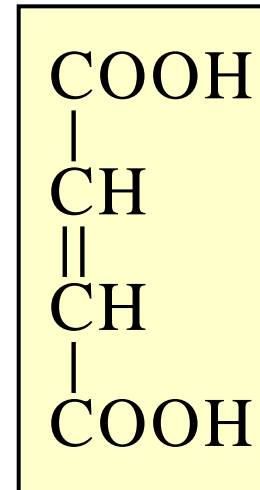
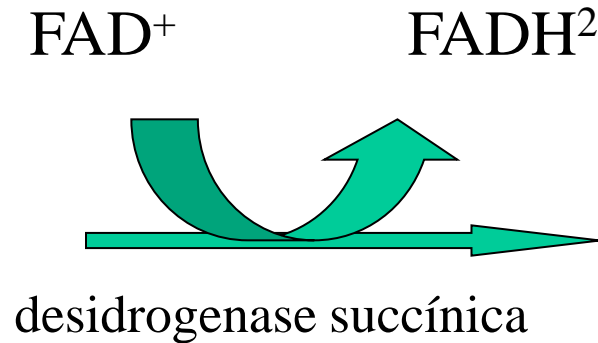


COMPLEXO ENZIMA-INIBIDOR

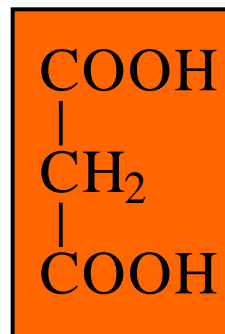
# Ácido malônico: um inibidor competitivo



Ácido succínico

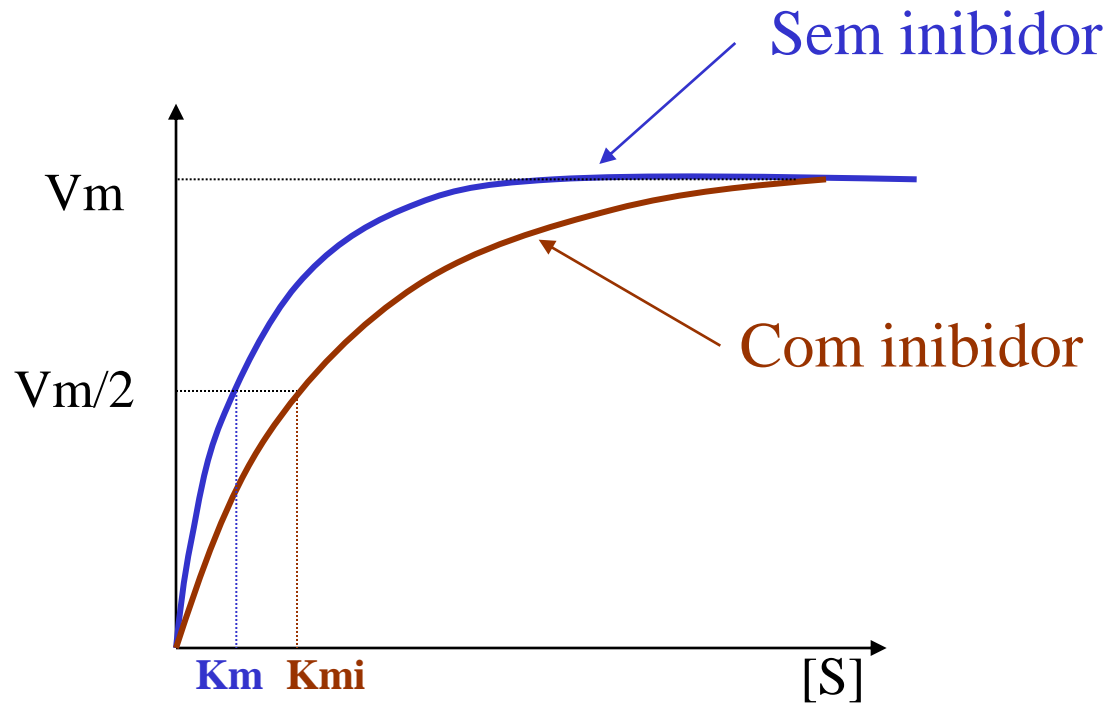


Ácido fumárico



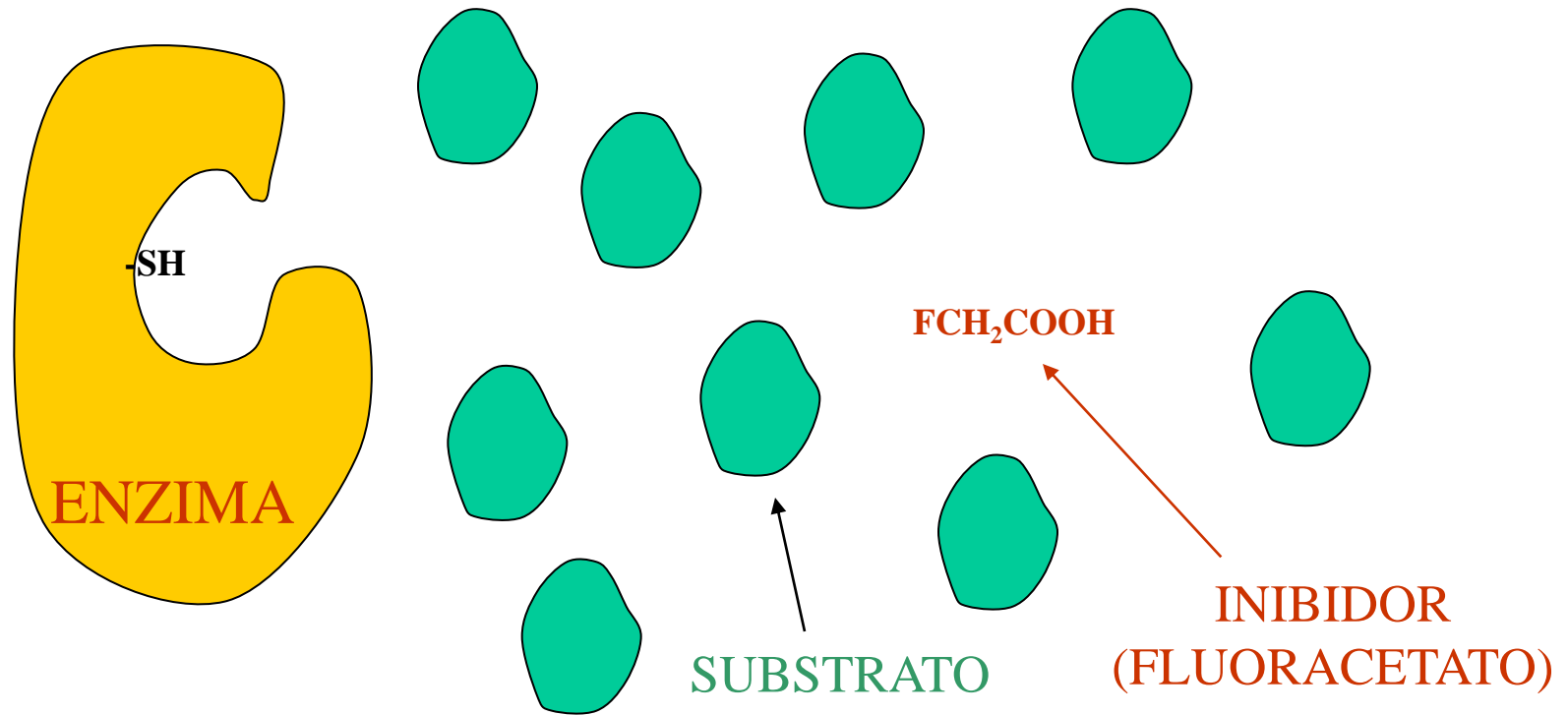
Ácido malônico

# Cinética de uma inibição competitiva



Altas concentrações de substrato deslocam o inibidor do sítio ativo

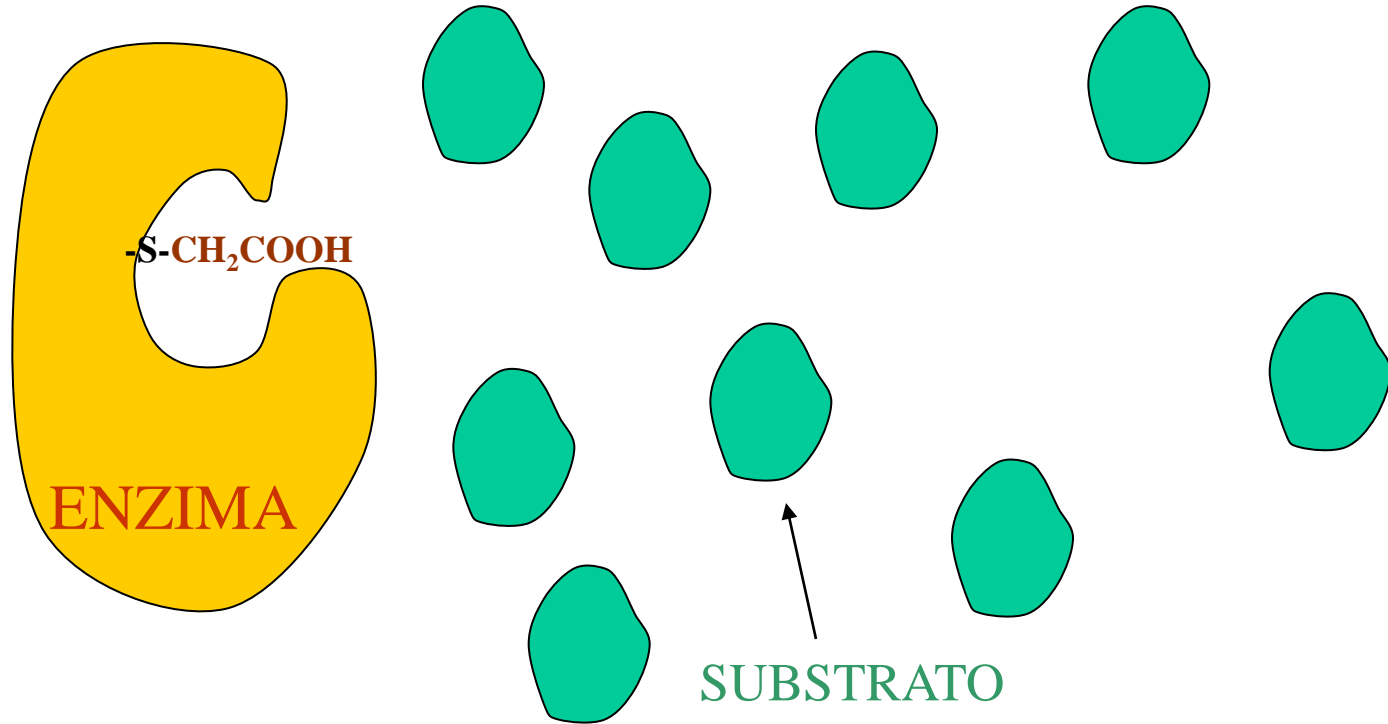
# INIBIDOR NÃO COMPETITIVO (IRREVERSÍVEL)



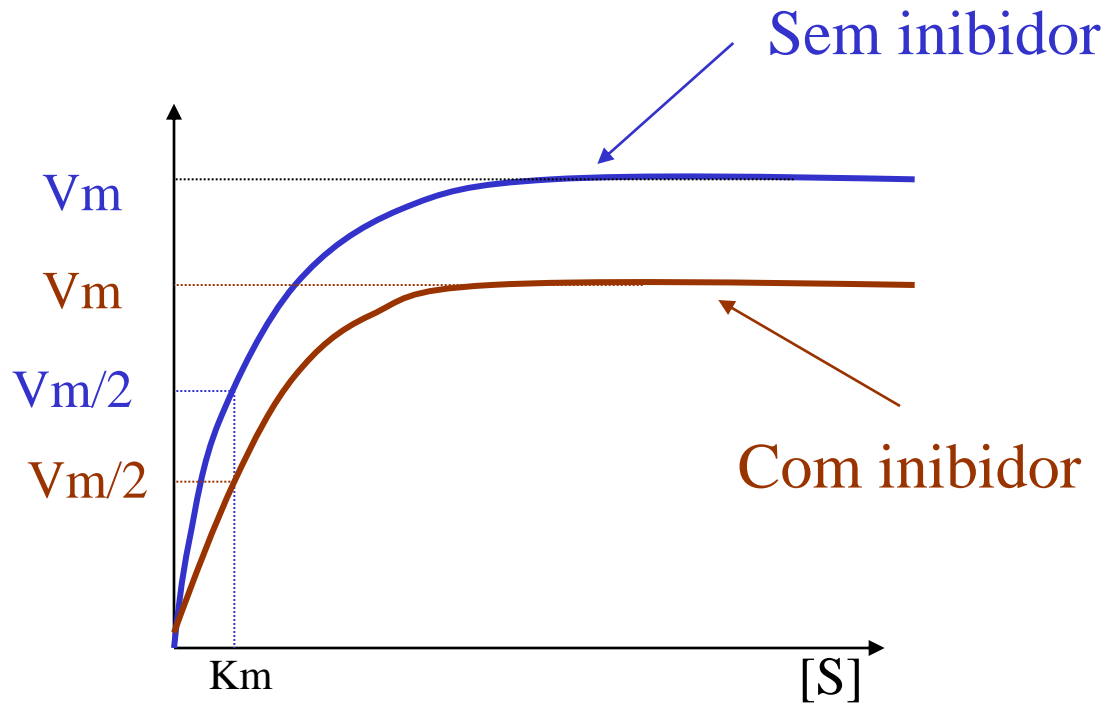
Afinidade química entre o inibidor e grupos reativos do sítio ativo (ligação covalente)

# INIBIDOR NÃO COMPETITIVO

(REDUZ A CONCENTRAÇÃO EFETIVA DA ENZIMA)

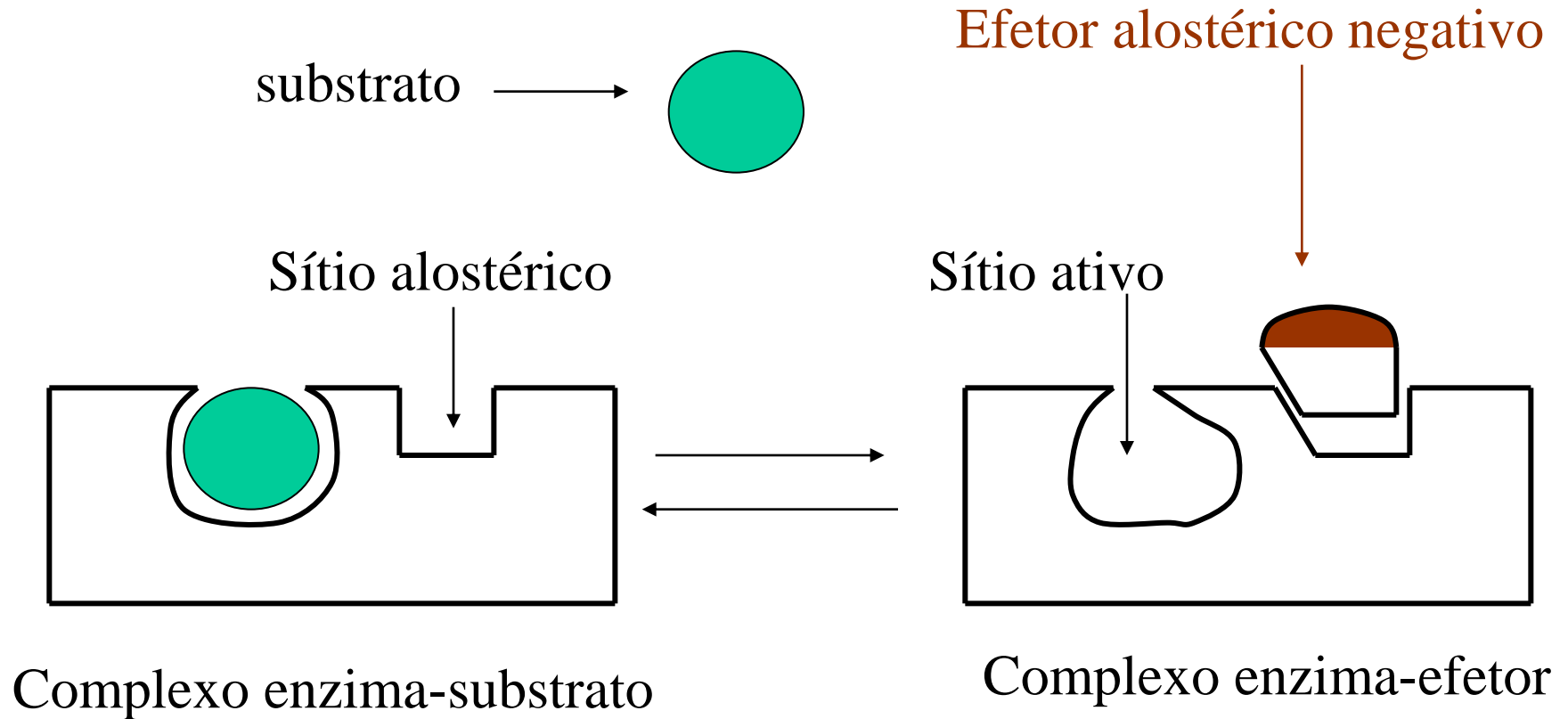


# Cinética de uma inibição não competitiva



O inibidor não é removido do sítio ativo da enzima quando se aumenta a concentração de substrato

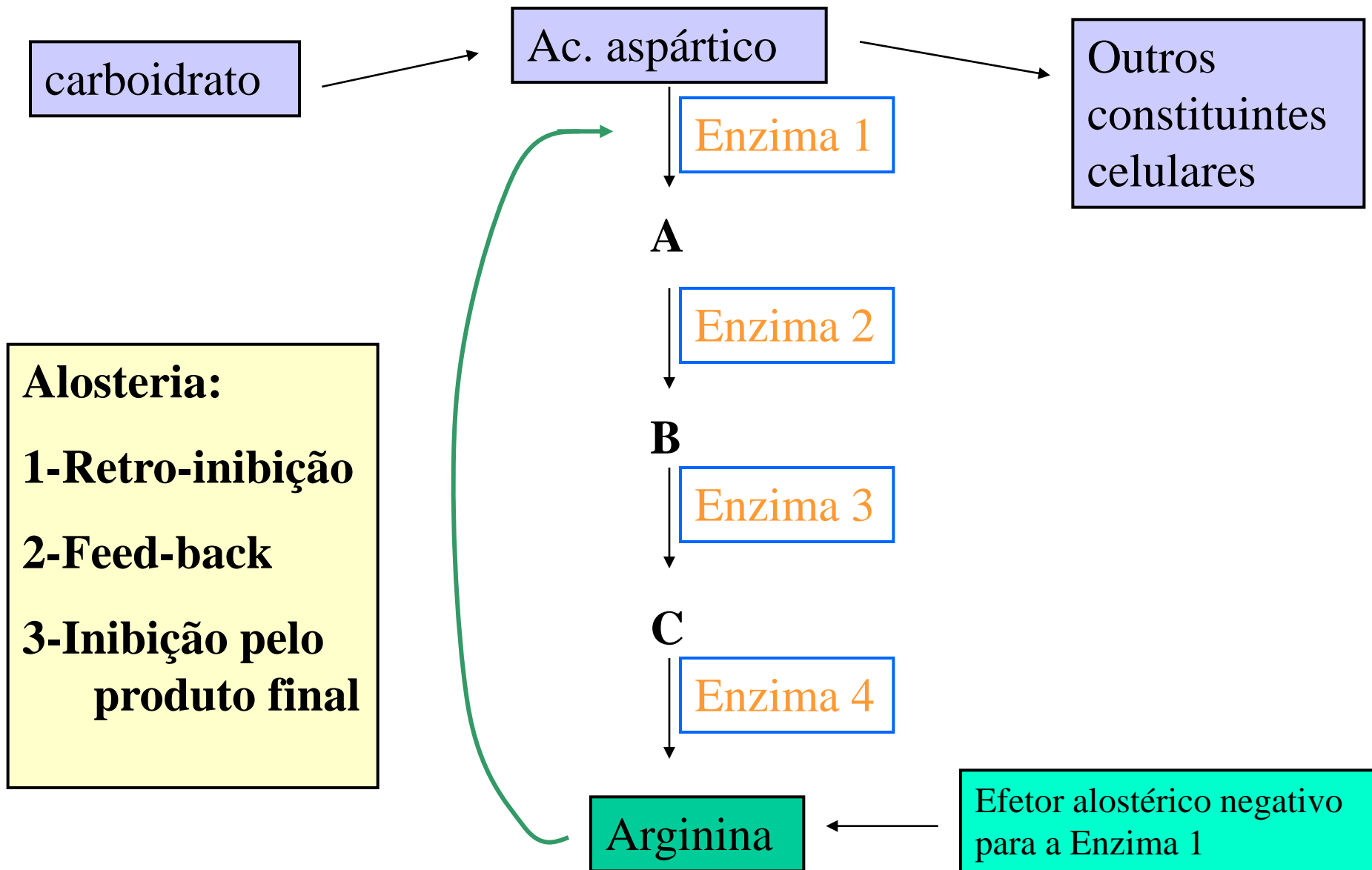
# Efetores alostéricos



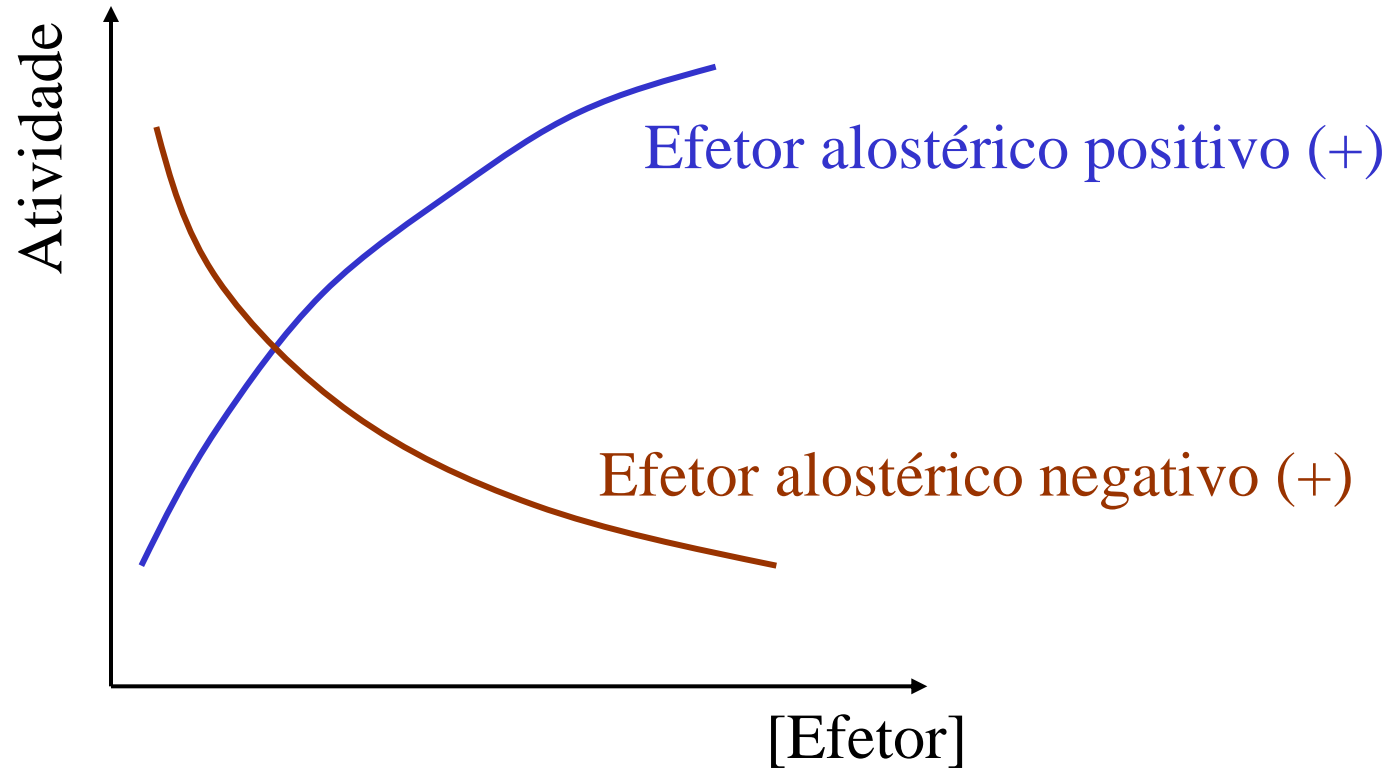
O efetor alostérico altera a conformação espacial do sítio ativo



# Efetores alostéricos



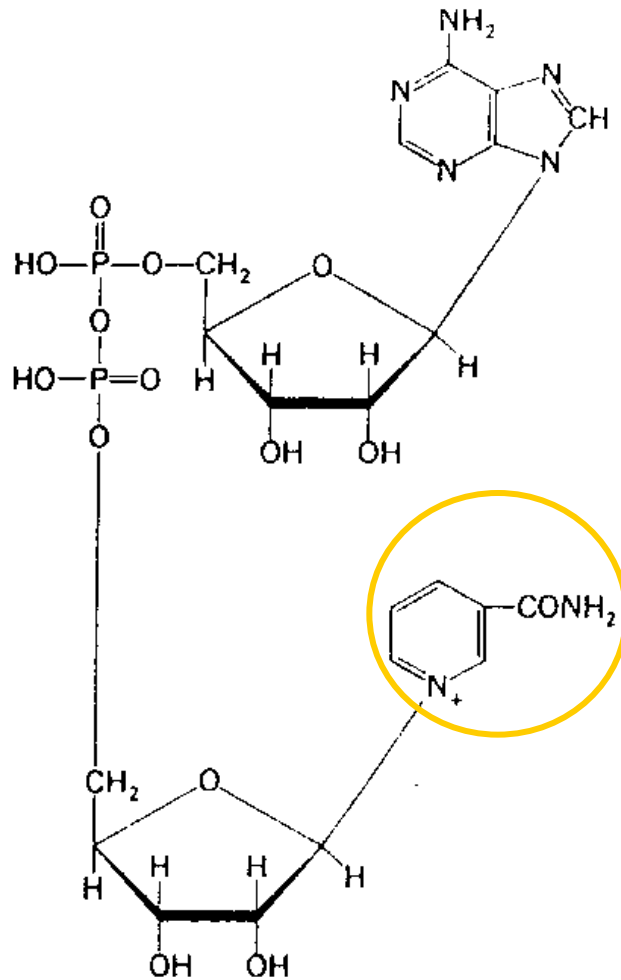
# Efetores alostéricos



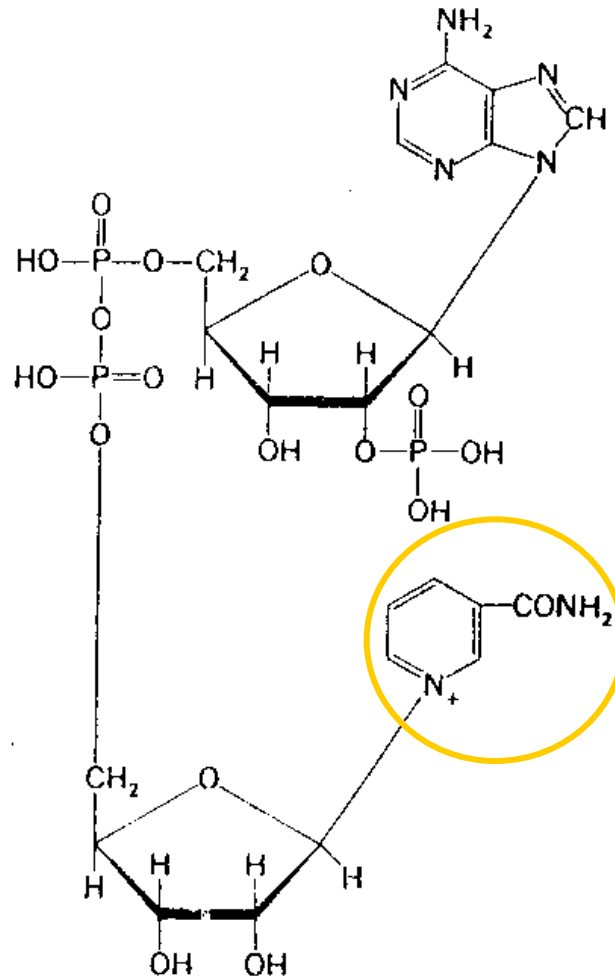
# Cofatores enzimáticos

- Coenzimas ( $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , TPP, etc.)
- Grupos prostéticos (FMN, FAD)
- Íônios ativados ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Zn}^{++}$ ,  $\text{Mn}^{++}$ ,  $\text{Cu}^{++}$ , etc.)

# COENZIMAS

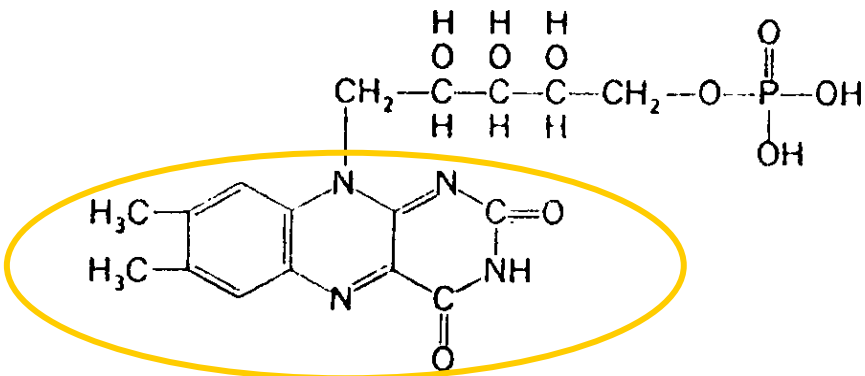


Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)  
Diphosphopyridine nucleotide (DPN<sup>+</sup>)  
or Coenzyme I

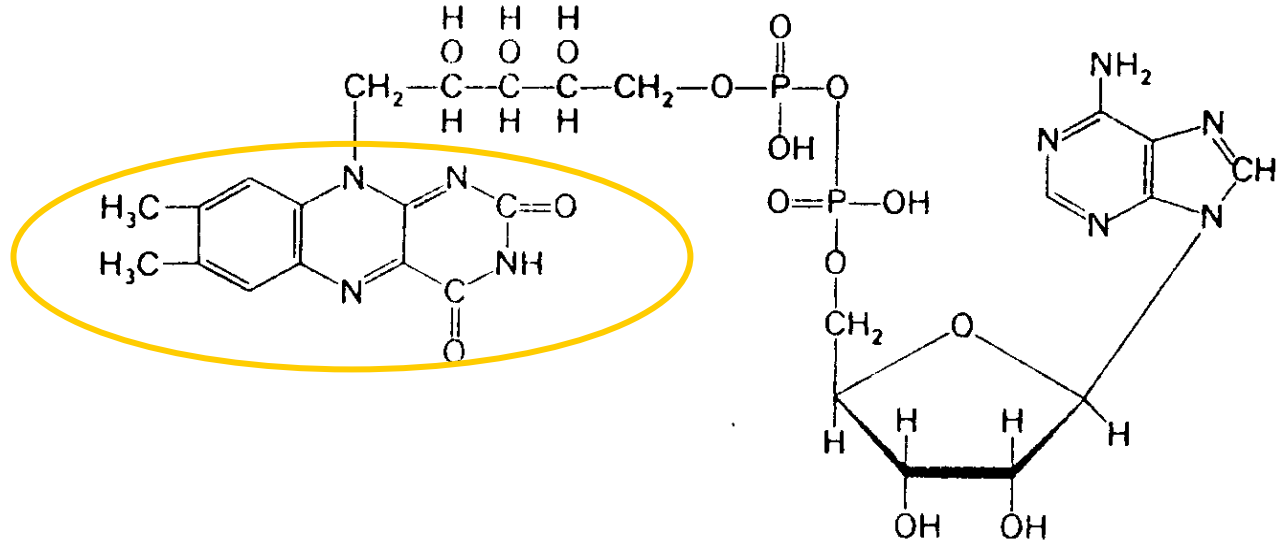


Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP<sup>+</sup>)  
Triphosphopyridine nucleotide (TPN<sup>+</sup>)  
or Coenzyme II

# Grupos prostéticos (FMN e FAD)

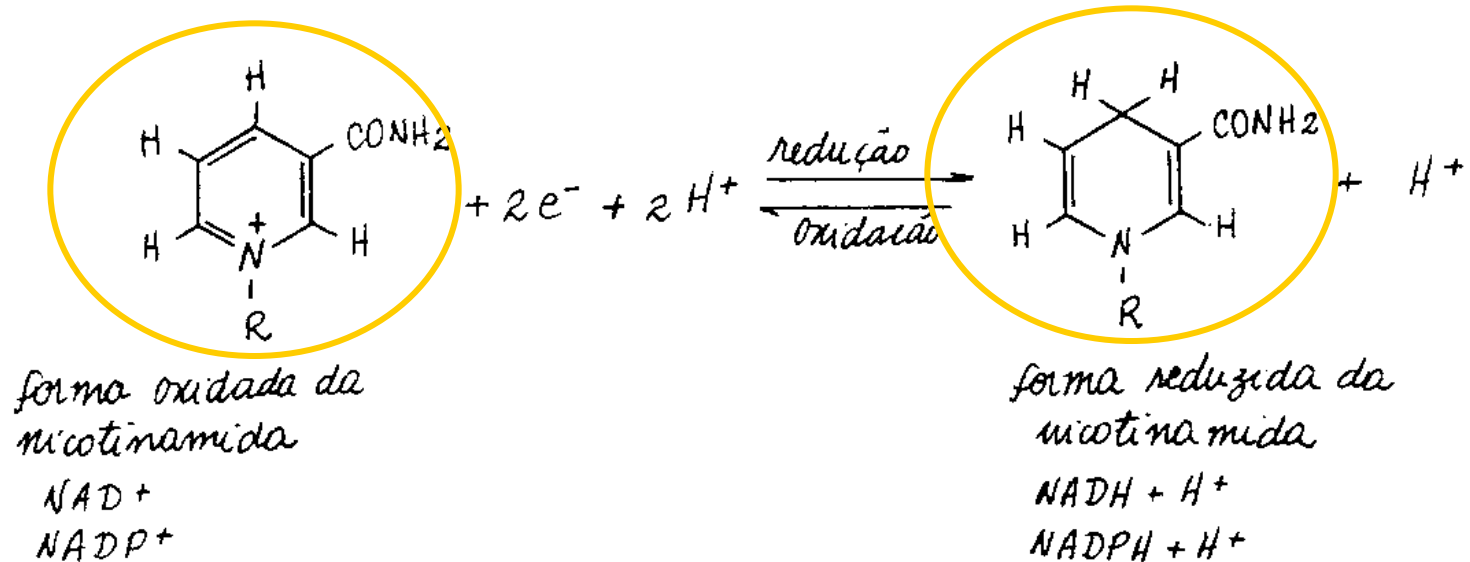
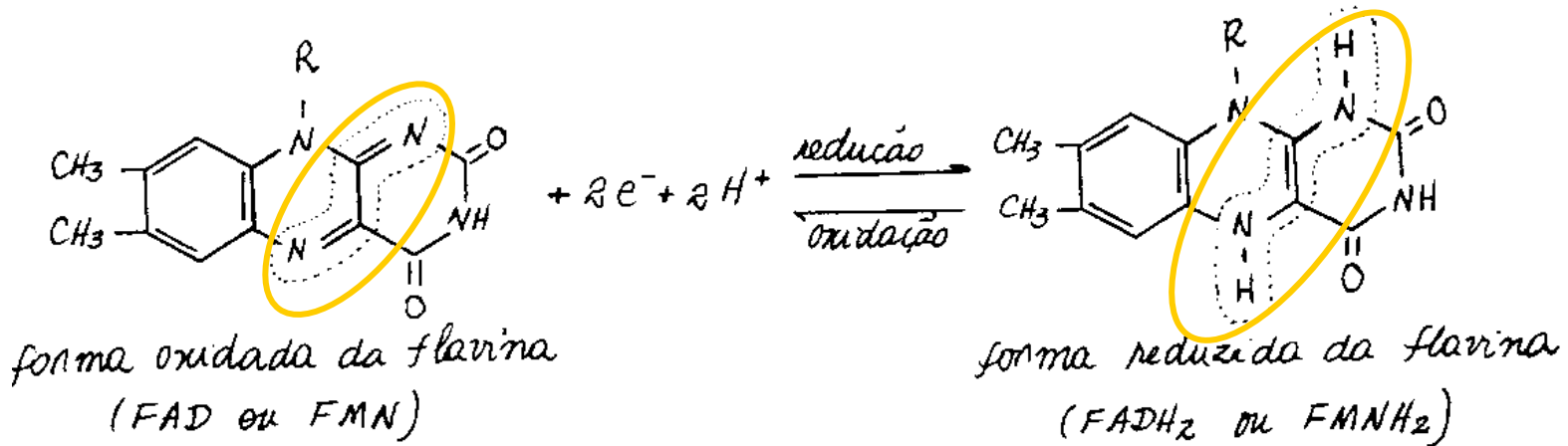


Flavin mononucleotide (FMN)  
Riboflavin monophosphate



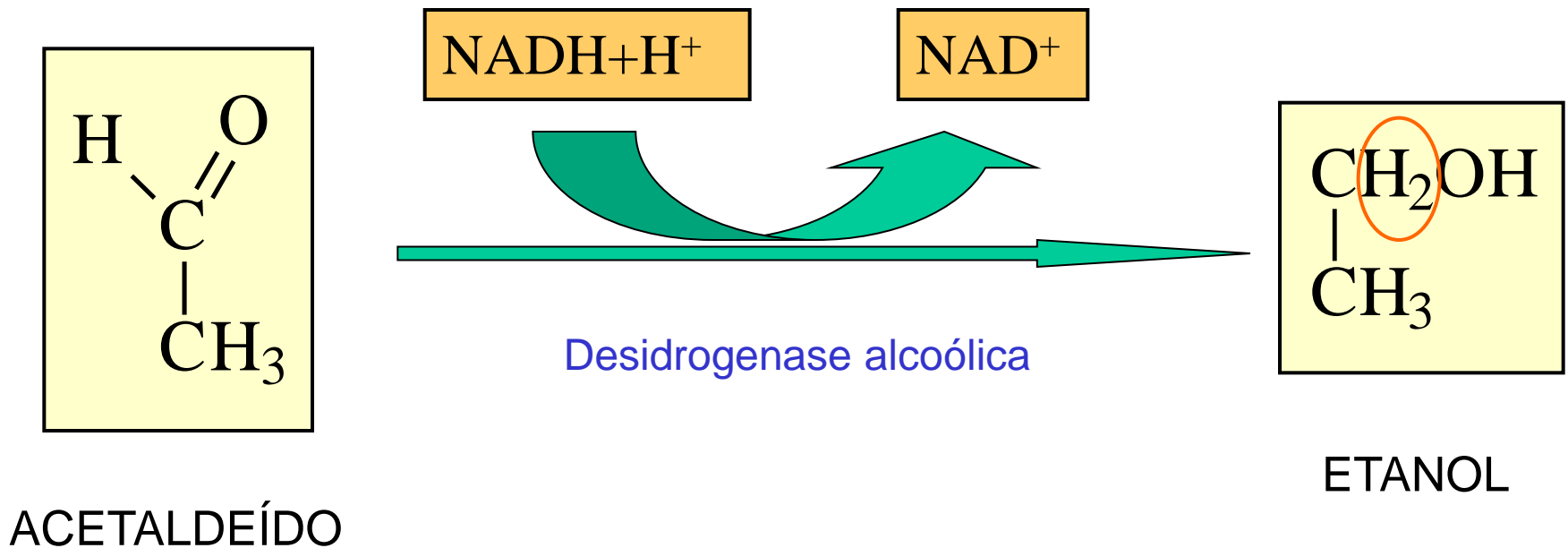
Flavin adenine dinucleotide (FAD)

# Cofatores nas reações de óxido-redução



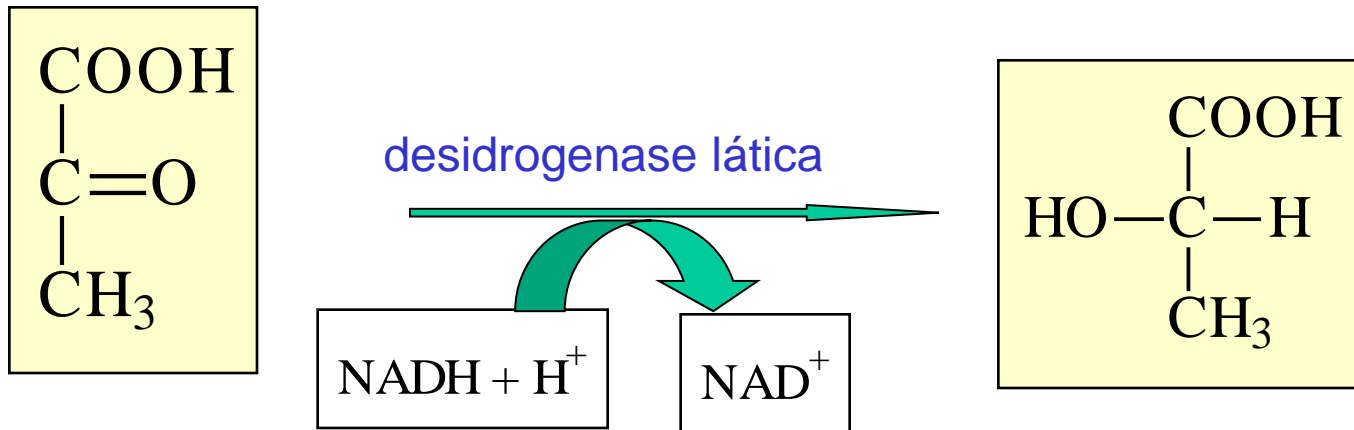
# Cofatores nas reações de óxido-redução com participação de coenzima

Reação de produção do etanol na fermentação alcoólica



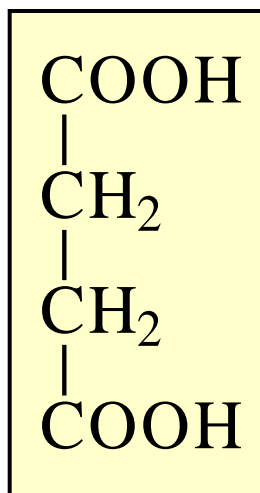
# Cofatores nas reações de óxido-redução

Reação de produção do lactato na glicólise e na fermentação alcoólica

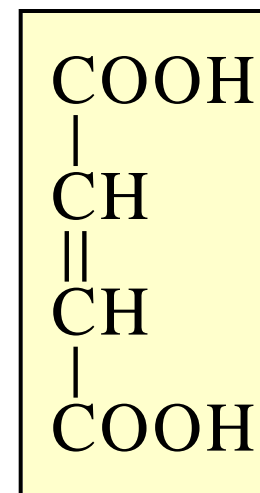
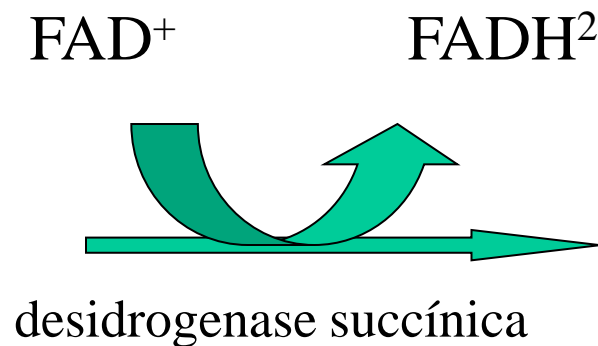




# REAÇÃO ENZIMÁTICA COM PARTICIPAÇÃO DE GRUPO PROSTÉTICO



Ácido succínico



Ácido fumárico