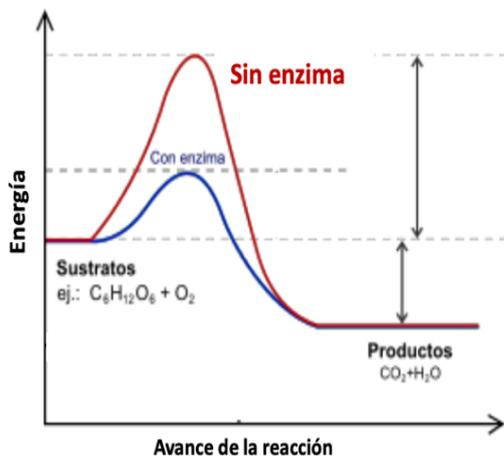


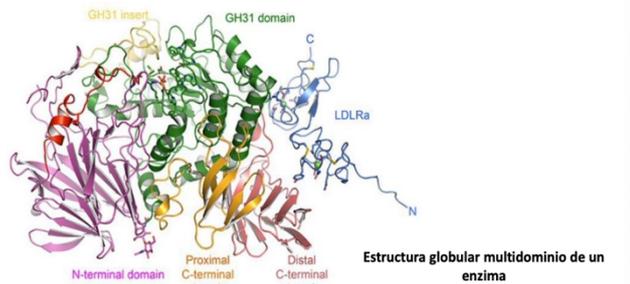
## T6. REACCIONES CATALIZADAS POR ENZIMAS

### Concepto y función de los enzimas en las reacciones químicas

Una **enzima** es un **catalizador biológico**; son **moléculas biológicas** que actúan aumentando la velocidad (entre  $10^3$  y  $10^8$  veces), de forma muy selectiva, de las reacciones químicas que se dan en el entorno celular.



La mayor parte son **proteínas (proteínas globulares)**, aunque existe un pequeño grupo de moléculas de RNA con actividad catalítica (ribozimas).

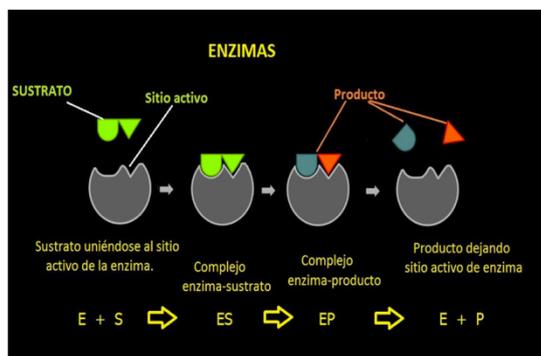


Entre todas las reacciones biológicas que son energéticamente posibles, las enzimas **canalizan el proceso químico** para que se realice con mayor eficiencia. En los seres vivos las enzimas dirigen todos los **procesos metabólicos**.

El mecanismo de actuación de las enzimas implica la necesidad de mantener su estructura tridimensional y, en las proteínas oligoméricas, su estructura cuaternaria.

Las **enzimas (E)** tienen un papel fundamental: acelerar las reacciones biológicas actuando sobre **sustratos (S)** específicos que se van a transformar en el **producto (P)** de la reacción ( $E+S \rightarrow E+P$ ).

- **Sustrato (S):** molécula a la que se une la enzima
- **Productos (P):** moléculas que liberan las enzimas
- **Centro activo:** sitio de unión de sustrato



### ¿QUÉ ES UNA ENZIMA?

CATALIZADOR

Moléculas biológicas

Proteínas (proteínas globulares)

El centro activo (estructura tridimensional característica) tienen un entorno químico adecuado que permite la interacción de la enzima y el sustrato mediante la formación de un complejo binario: **complejo enzima sustrato (ES)** – *enlaces no covalentes en tre ambas moléculas*.

### No todos los catalizadores que hay en la naturaleza son proteínas

**Ribozimas:** Las ribozimas son algunas moléculas de ARN que tienen la capacidad de actuar como catalizadores, es decir, de acelerar reacciones de forma específica.

**Dexosirribozimas:** Las ribozimas son algunas moléculas de ADN que tienen la capacidad de actuar como catalizadores, es decir, de acelerar reacciones de forma específica.

**Abzima:** Anticuerpos con actividad enzimática y por tanto catalítica. Las Abzimas son normalmente constructos artificiales, pero también se encuentran en los organismos normales y en humanos.

**Sinzimas:** enzimas sintéticos.



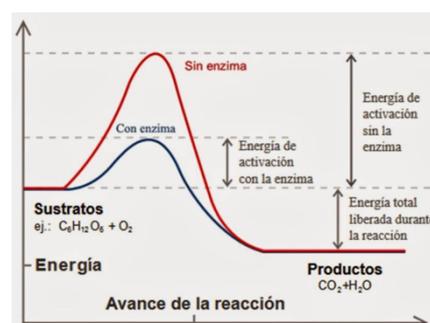
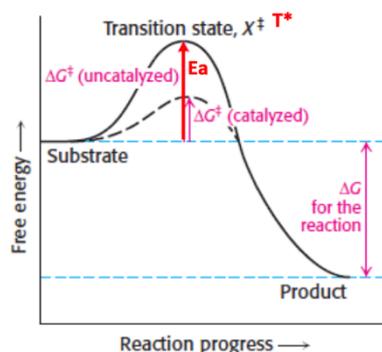
### Las reacciones químicas: energía de activación y estado de transición

Hay que tener en cuenta que la transformación del sustrato a producto no es inmediata. Una vez que el S adecuado interacciona con el centro activo, se van a producir modificaciones que lo convierten en un estado de transición que se transformará en el producto final de la reacción.

Toda reacción química tienen una **barrera de energía** que separa a los reactivos y los productos.

**Estado de transición (T\*):** estado transitorio inestable y hará que avance la reacción.

**Energía de activación (Ea):** es la diferencia de energía entre la de los reactivos y el estado de transición.



Para que se produzca la transformación del S en P, hay que pasar por una situación intermedia que supone la distorsión de enlaces y la orientación de los grupos funcionales que lleva a la formación de un estado molecular transitorio: estado de transición. Este se encuentra en un nivel energético superior al estado del que parte, el S o estado basal. Esto implica que, aunque la reacción sea espontánea, se debe superar esta barrera energética que se conoce como energía de activación.

La magnitud termodinámica más útil para determinar si una reacción química es posible y suceda de manera espontánea es el cambio de **energía libre de Gibbs ( $\Delta G$ )**.

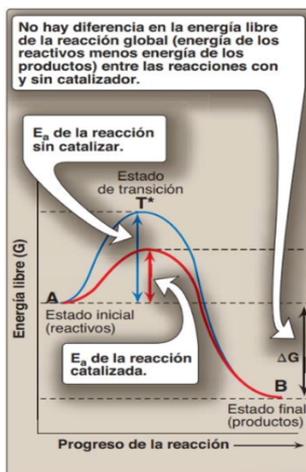
Para analizar las variaciones energéticas que ocurren en una reacción (S  $\rightarrow$  P), se representa un diagrama del curso de la reacción de la energía libre de Gibbs frente al progreso de la reacción. En una reacción química espontánea (exergónica), la energía basal del sustrato es mayor que la del producto, por lo que el  $\Delta G$  tiene un valor negativo.

$\Delta G < 0 \rightarrow$  reacción favorable  
 $\Delta G > 0 \rightarrow$  reacción NO favorable (necesitaría un suministro de energía).

Las reacciones químicas normalmente alcanzan un **estado de equilibrio** dinámico definido por la constante de equilibrio. En dicho estado  $\Delta G = 0$ .

**EL CAMBIO DE ESTADO ENERGÉTICO NO INFORMA SOBRE LA VELOCIDAD DE REACCIÓN**

### Propiedades de los enzimas como catalizadores



- Disminuyen la energía de activación del estado de transición
- Aceleran las reacciones químicas sin consumirse: mayor velocidad
- No hacen posibles reacciones termodinámicamente imposibles
- No modifican el equilibrio final de la reacción
- No modifican el balance energético de la reacción
- Se necesitan en pequeñas cantidades

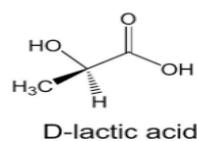
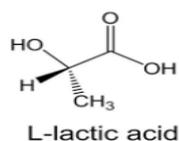
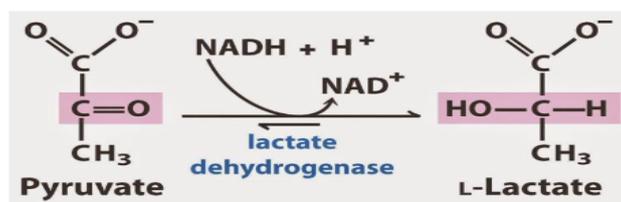
### Propiedades de los enzimas en las reacciones químicas de los seres vivos

- **Eficacia:** favorecen el **posicionamiento** de sustratos mediante interacciones hidrofóbicas o electrostáticas que **favorecen la colisión** de sustratos o la interacción del sustrato con el grupo químico que produce la rotura de la moléculas. Aumentan entre  **$10^3$  hasta  $10^8$**  veces la velocidad de reacción.
- **Especificidad:** la **estructura globular** compleja permite que se creen centros activos que discriminan entre sustratos similares (enantiómeros L y D).

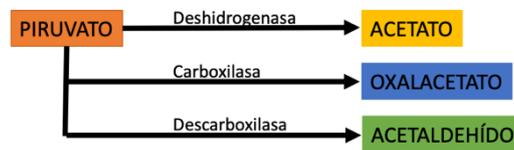
- **Funcionamiento en condiciones biológicas:** temperatura y pH fisiológicos.
- **Actividad variable y capacidad de regulación:** activadores, inhibidores
- **Localización celular:** dependiendo de su función se sitúan en un orgánulo u otro (mitocondria, núcleo, membrana, RE).

### Propiedades de los enzimas debido a su naturaleza proteica

- **Labilidad:** son sensibles a pH y temperatura. **Desnaturalización proteica** y pérdida de la estructura globular.
- **Capacidad de formar enlaces no covalentes:** requieren de una estructura concreta o presencia de grupos químicos que son necesarios para la reacción química.
- **Requieren de cofactores y coenzimas:** requieren elementos o compuestos no proteicos (Zn, Fe, FADH, NADH).
- **Tamaño:** el enzima posee un tamaño mucho más grande que el/los sustratos.
- **Especificidad de sustrato:** el enzima diferencia sustratos con características muy similares. Se puede dar a varios niveles.
  - **Especificidad de grupo:** enzimas que catalizan reacciones químicas en un grupo de sustancias que **comparten un grupo químico** determinado (FOSFATASAS: quitan el grupo fosfato) o a las que se les incorpora un grupo químico (QUINASAS: incorporan un grupo fosfato).
  - **Especificidad de clase:** estos enzimas catalizan la transformación de sustancias que tiene **un tipo de enlace determinado** (PEPTIDASAS, TRANSAMINASAS).
  - **Estereoespecificidad:** enzimas que catalizan reacciones químicas **diferenciando isómeros L y D.**



- **Especificidad de acción:** enzimas que son capaces de catalizar una de entre varias transformaciones de un sustrato. Ej.: Piruvato → piruvato deshidrogenasa, piruvato quinasa, piruvato carboxilasa, piruvato descarboxilasa.



## Nomenclatura y clasificación de los enzimas

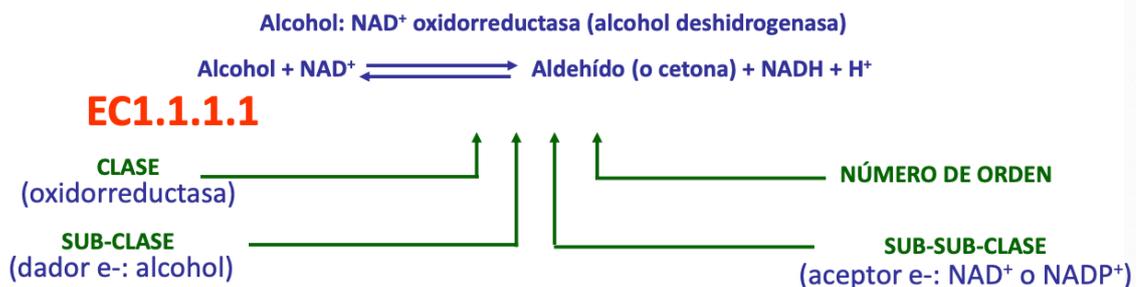
### Nomenclatura de los enzimas

**Nomenclatura clásica:** se le añade el sufijo -asa al sustrato que catalizaba, a la reacción (transformación química) o bien al origen:

- Nombre **origen** de la enzima: Pancreasa
- Nombre del **sustrato**: Proteasa
- Tipo de **reacción** catalizada: Hidrolasa

**Nomenclatura actual:** sigue las recomendaciones de la *Enzyme Commission (E.C.)* de la *IUBMB International Union of Biochemistry and Molecular Biology*.

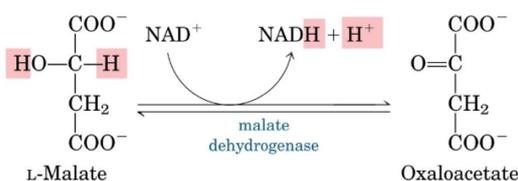
- Se asigna un **código E.C.:** **1.1.1.1 clase** (i.e. transferasa); subclase (i.e. grupo químico); sub- subclase (detalle de la transferencia); el cuarto dígito identifica inequívocamente al enzima en cuestión.
- **Nombre sistemático**, poniendo el sustrato: cosustrato, seguido del tipo de reacción y – asa. Por ej.: Alcohol:NAD<sup>+</sup>Oxidorrreductasa.



## Clasificación de los enzimas

Las enzimas **se clasifican de acuerdo con el tipo general de reacción que catalizan**. Siguen la clasificación de la *International Union of Biochemistry and Molecular Biology [IUBMB]*.

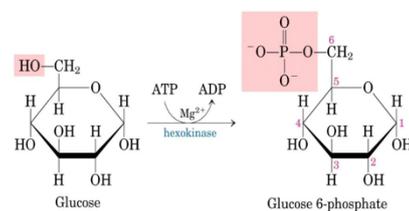
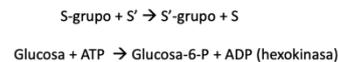
- Oxidoreductasas:** catalizan reacciones de oxidación y reducción (reacciones de óxido-reducción). Un elemento de la reacción se reduce y otro se oxida: **transferencia de electrones**. *Es decir, los electrones que resultan eliminados de la sustancia que se oxida son aceptados por el agente oxidante, que sufre así un proceso de reducción.*



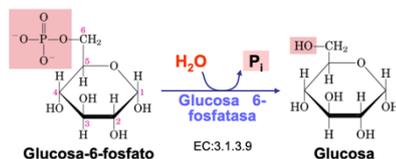
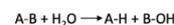
*El principal agente oxidante es el O<sub>2</sub>, implicado en numerosas reacciones de oxidación irreversibles. En los sistemas biológicos, el FAD y el NAD<sup>+</sup> participan en numerosas reacciones de oxido-reducción.*

- Transferasas:** reacciones de **transferencia de grupos químicos** que contienen C, N y P. Ej.: aminotransferasas, quinasas.

*Transfieren un grupo químico de una molécula a otra. Las quinasas, muy importante en muchos procesos biológicos, son un tipo especial de transferasas que catalizan la transferencia de un grupo fosfato a otra molécula desde un nucleósido trifosfato.*

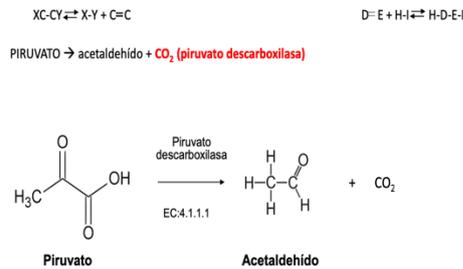


- Hidrolasas:** rompen enlaces utilizando **agua** (añaden agua).

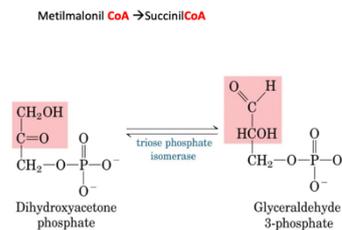


*Tipo especial de transferasas. Transfieren un grupo -OH desde el agua al sustrato.*

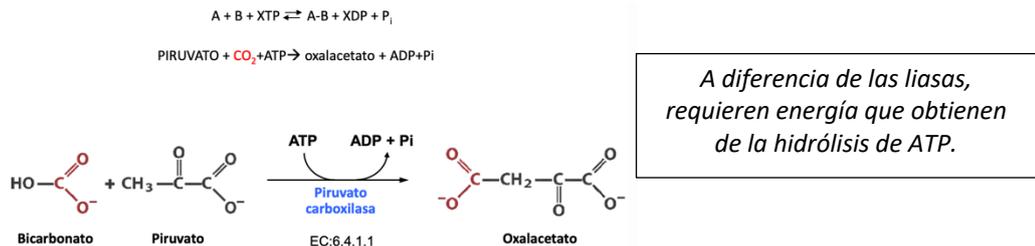
4. **Liasas:** rompen enlaces C-C, C-S y C-N; dejando dobles enlaces o anillos, o adición de grupos a dobles enlaces.



5. **Isomerasas:** reorganizan dentro de una misma molécula grupos químicos



6. **Ligasa:** realizan enlaces (uniones) entre el C y O, S y N de manera acoplada a la hidrólisis de ATP.



## Mecanismo de acción enzimática en las reacciones

### El centro activo del enzima

**Centro activo:** hendidura creada por el plegamiento proteico apolar. Contiene **cadena laterales de aa que unen el sustrato**. Estas pueden ser:

- **Aminoácidos de unión:** participan en la unión del sustrato no covalente para orientarlo y posicionarlo tal que favorece las interacciones químicas. Determina la **especificidad** de sustrato.
- **Aminoácidos de catálisis:** participan en la reacción catalizada. Especificidad de tipo reacción.

El entorno del centro activo: con grupos químicos que favorecen mediante la interacción con el sustrato la reacción química.

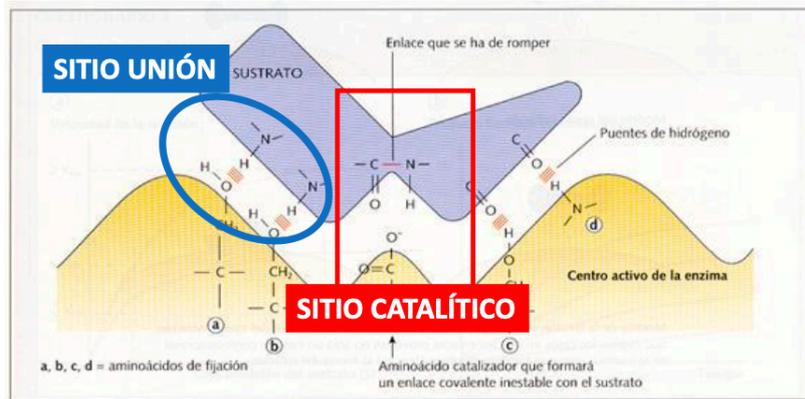
**En la forma del centro activo reside la especificidad**

**RESIDUOS o AAS UNIÓN: SITIO UNIÓN**

Estabilizan  
Orientan  
Reconocen

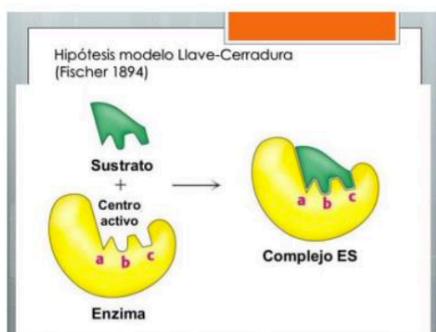
**RESIDUOS o AAS CATALÍTICO:  
SITIO CATALÍTICO**

Implicados en la reacción  
química

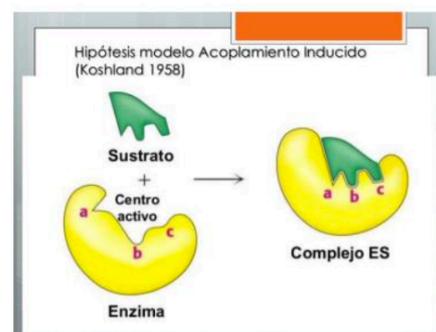


**Modelos de interacción**

**1. Modelo de Fisher (1890): (LOCK AND KEY MODEL).** El sustrato encaja perfectamente en el centro activo, del mismo modo que lo haría una llave al encajar en una cerradura. Es decir, que tienen una relación estructural complementaria.



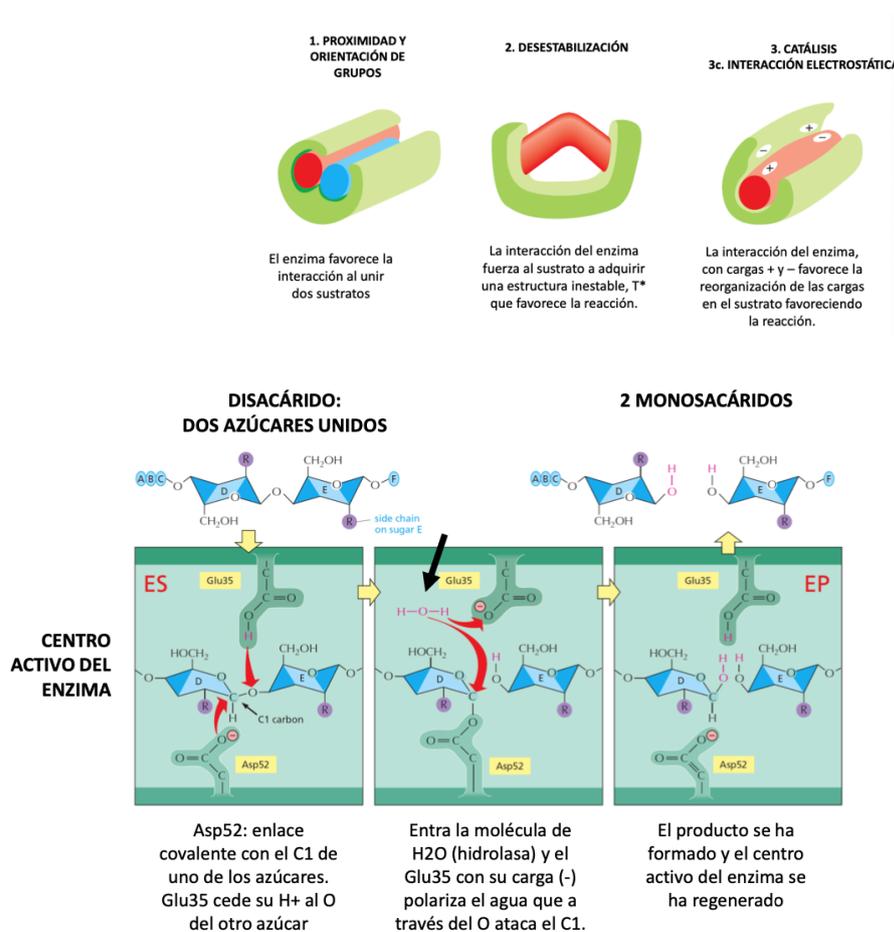
**2. MODELO DE KOSHLAND-NEET (1968): (INDUCED-FIT MODEL).** Sugiere que el sitio activo es una cavidad flexible que la interaccionar con el sustrato se adaptan y ajustan a la estructura. Es decir, al unirse el sustrato al centro activo induce un cambio conformacional. (Modelo guante-mano).



## Tipos de reacción enzimática: mecanismos generales

Los **mecanismos** favorecen la formación del estado de transición por los cuales las enzimas catalizan las reacciones químicas incluyen:

1. **Proximidad y orientación** de grupos químicos: la unión del enzima al sustrato produce cambios conformacionales que acercan los grupos químicos que tienen que reaccionar entre sí.
2. **Desestabilización** de enlaces del sustrato.
3. **Catálisis:**
  - a. **Catálisis covalente:** enzimas que a través de su grupo catalítico forman un intermediario con unión covalente inestable que se descompone con facilidad para formar los productos.
  - b. **Catálisis ácido-base:** enzimas que favorecen mediante las propiedades ácido-base de sus aa (dadores o aceptores de protones como carboxilo, amino, etc.) del centro activo determinadas reacciones químicas ácido-base
  - c. **Catálisis electrostática:** uniones electrostáticas entre el enzima y el sustrato pueden dar lugar a un complejo activado ES.

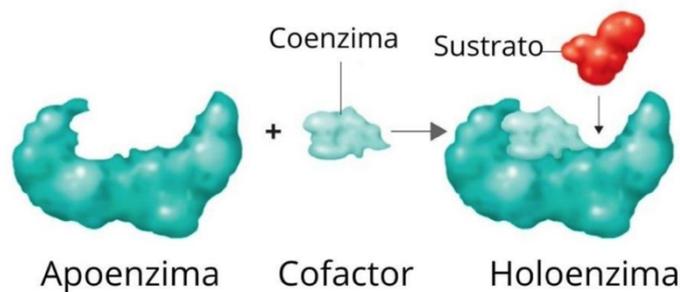


## Cofactores enzimáticos: características, propiedades y tipos

1. Son de **origen no proteico, de bajo peso molecular y termoestables**.
2. Están en **bajas concentraciones** en las células.
3. Pueden ser compartidos por **varios enzimas**.
4. Cooperan en la catálisis y **algunos son alterados durante la catálisis y no se recuperan** después de la reacción. Los que resultan modificados se denominan cosustratos (**NADH/NAD+**).
5. Algunos tienen estructura de heterociclo **con electrones móviles muy reactivos**.
6. **Poseen una elevada reactividad**.
7. La mayoría son derivados **de vitaminas**.

El enzima que requiere cofactor y es inactivo sin él se denomina  
**APOENZIMA**

**HOLOENZIMA = APOENZIMA + COFACTOR**



Los análisis de cristalografía de rayos X y RM han demostrado que numerosas enzimas tienen componentes no proteicos, denominados **cofactor** (cationes metálicos) o **coenzima** (moléculas orgánicas), que es necesario para su correcto funcionamiento.

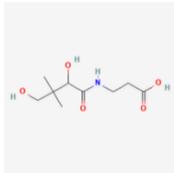
En este tipo de enzimas que requieren un componente adicional, la porción proteica se denomina **apoenzima** y la molécula completa **holoenzima** (apoenzima + cofactor o coenzima).

Numerosas enzimas utilizan **iones/cationes metálicos** como cofactores ( $Fe^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$ ).

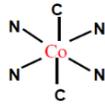
Las **coenzimas**, que tienen una estructura más compleja, son necesarias para transportar de forma transitoria grupos funcionales durante la reacción catalizada por la enzima. Muchas son productos derivados de vitaminas y su unión a la porción proteica puede ser mediante enlace covalente o no covalente. Las coenzimas que se unen **covalentemente** a los enzimas se llaman: **grupo prostético** (ej. Grupo hemo).

## Ejemplos de coenzimas

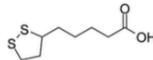
### ÁCIDO PANTOTÉNICO



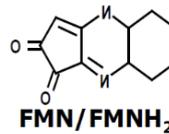
### COBALAMINA



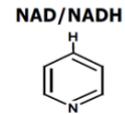
### ÁCIDO LIPOICO



### NUCLEÓTIDOS DE FLAVINA



### NUCLEÓTIDOS DE NICOTINAMINA



## Clasificación de las coenzimas

- 1. Criterio nutricional:** origen vitamínico u origen no vitamínico.
- 2. Criterio funcional:** transporte de grupos o transporte de electrones.
- 3. Criterio enzimológico:** según el tipo de reacción en la que participan.

### Origen vitamínico

Transferencia de Grupos	Transferencia de electrones
<b>Acilo Ácido:</b> Coenzima A-pantoténico	Nucleótidos de piridina: NAD <sup>+</sup> /NADH;
<b>Carboxilo:</b> Biotina –Vit H	NADP <sup>+</sup> /NADPH VitB3
<b>Aldehído activo:</b> Tiamina Pirofosfato - Vit B1	Nucleótidos de flavina: FMN/FMNH <sub>2</sub> ;
<b>Alquilo:</b> Cobalamina	FAD <sup>+</sup> /FADH <sub>2</sub> , vit B2
<b>Amino:</b> Fosfato de piridoxal Vit B6	Derivados de azúcares: <b>Ascorbato VitC</b>
<b>Monocarbonados:</b> Tetrahidrofolato ácido Fólico	

### Origen no vitamínico

Transferencia de Grupos	Transferencia de electrones
<b>Fosforilo:</b> Derivados de Nucleótidos XTP	<b>Coenzima Q</b> (Ubiquinona)
<b>Adenilo y Uridilo:</b> Adenilato UTP - Uridilato	Tetrahidropterina
<b>Aminoalcoholes y diacilglicerolos</b> CDP - Aminoalcoholes y diacilglicerolos	Metoxantina Factor 420
<b>Azúcares fosfato:</b> XDP (ADP, CDP, UDP, GDP, dTDP)	
<b>Metilo:</b> S-Adenosil-Metionina	
<b>Acilo:</b> Dihidrolipóico	

## Coenzimas más relevantes

VITAMINA	COENZIMA	REACCIONES	METABOLISMO
Acido Pantoténico	Coenzima A	Activación de acilos Transferencia de acilos	β-oxidación Síntesis de ác. grasos Descarboxilación de aminoácidos
Biotina (vit H)	Biotina	Fijación de CO <sub>2</sub> /CO <sub>3</sub> H <sup>-</sup> Carboxilación	Carboxilasas: etapas iniciales de la gluconeogénesis y síntesis de ác. grasos
--	Acido lipóico	Transferencia simultánea de acilos y electrones	Descarboxilación de α-cetoácidos
Tiamina (vit B1)	Tiamina Pirofosfato	Rotura de enlaces C-C	Descarboxilación de α-cetoácidos
Piridoxal (vit B6)	Piridoxal Fosfato	Transaminaciones, α-descarboxilaciones.	Transaminasas Glucógeno fosforilasa
Cobalamina (vit B12)	5'-desoxiadenosil Cobalamina	Racemizaciones, reordenamientos intermoleculares	Mutasas
Acido fólico	Tetrametil hidrofolato	Transferencia de grupos C-	Biosíntesis de purinas Inhibido por metotrexato
Niacina (vit B3)	NAD <sup>+</sup> /NADH NADP <sup>+</sup> /NADPH	Transferencia de electrones	Transferencia de 1 electrón
Riboflavina (vit B2)	FMN/FMNH <sub>2</sub> FAD/FADH <sub>2</sub>	Transferencia de electrones	Transferencia de 2 electrones

## Cofactores metálicos

- Presentan **elevada concentración de carga positiva** normalmente, iones unidos a la enzima.
- Poseen **valencias dirigidas**: interacción con varios ligandos.
- Pueden existir en dos o más **estados de valencia** ( $\text{Fe}^{+2}$   $\text{Fe}^{+3}$ )
- Los más importantes cofactores son los **metales de transición**: Mn, Fe, Cu, Co, Mo.

Ión metálico	Enzima
$\text{Cu}^{+2}$	Citocromo oxidasa
$\text{Fe}^{+2}$ $\text{Fe}^{+3}$	Peroxidasa, Citocromo oxidasa, Catalasa
$\text{K}^{+}$	Piruvato cinasa
$\text{Mg}^{+2}$	Hexoquinasa, Glucosa-6-fosfatasa, Piruvato cinasa
$\text{Mn}^{+2}$	Arginasa, Ribonucleótido reductasa
$\text{Zn}^{+2}$	Anhidrasa carbónica, Alcohol deshidrogenasa, Carboxipeptidasa A y B