

# Inibição Enzimática

**Inibidor:** substância que diminui a velocidade de uma reacção catalisada enzimaticamente quando presente na mistura reaccional

# Tipos de Inibição

- **Inibição irreversível:**



Conduz à inativação total do enzima.

*Exemplos:* metais pesados, gases de nervos, venenos,...

- **Inibição reversível:**



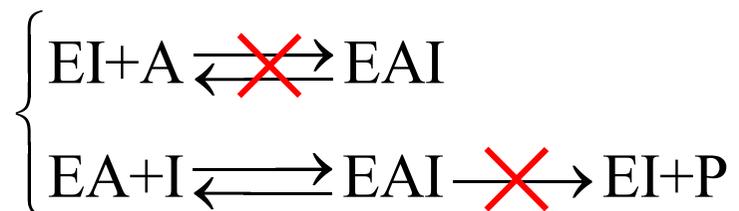
O inibidor forma um *complexo dinâmico* com enzima

# Inibição reversível total *versus* parcial

Consideram-se dois tipos de inibição reversível:

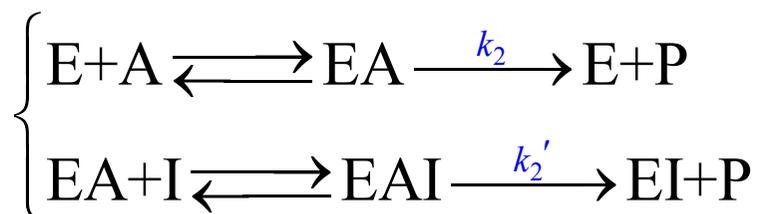
- **Inibição reversível total:**

O complexo enzima-inibidor não apresenta qualquer actividade catalítica:



- **Inibição reversível parcial:**

O complexo enzima-inibidor apresenta actividade catalítica residual:

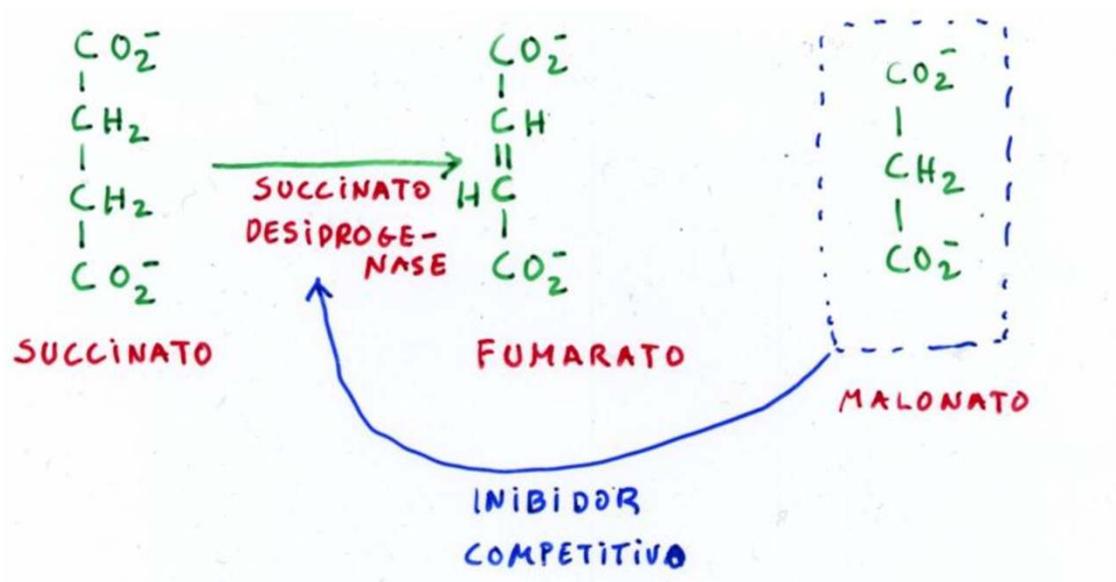


$$k_2' \neq 0 \quad k_2 > k_2'$$

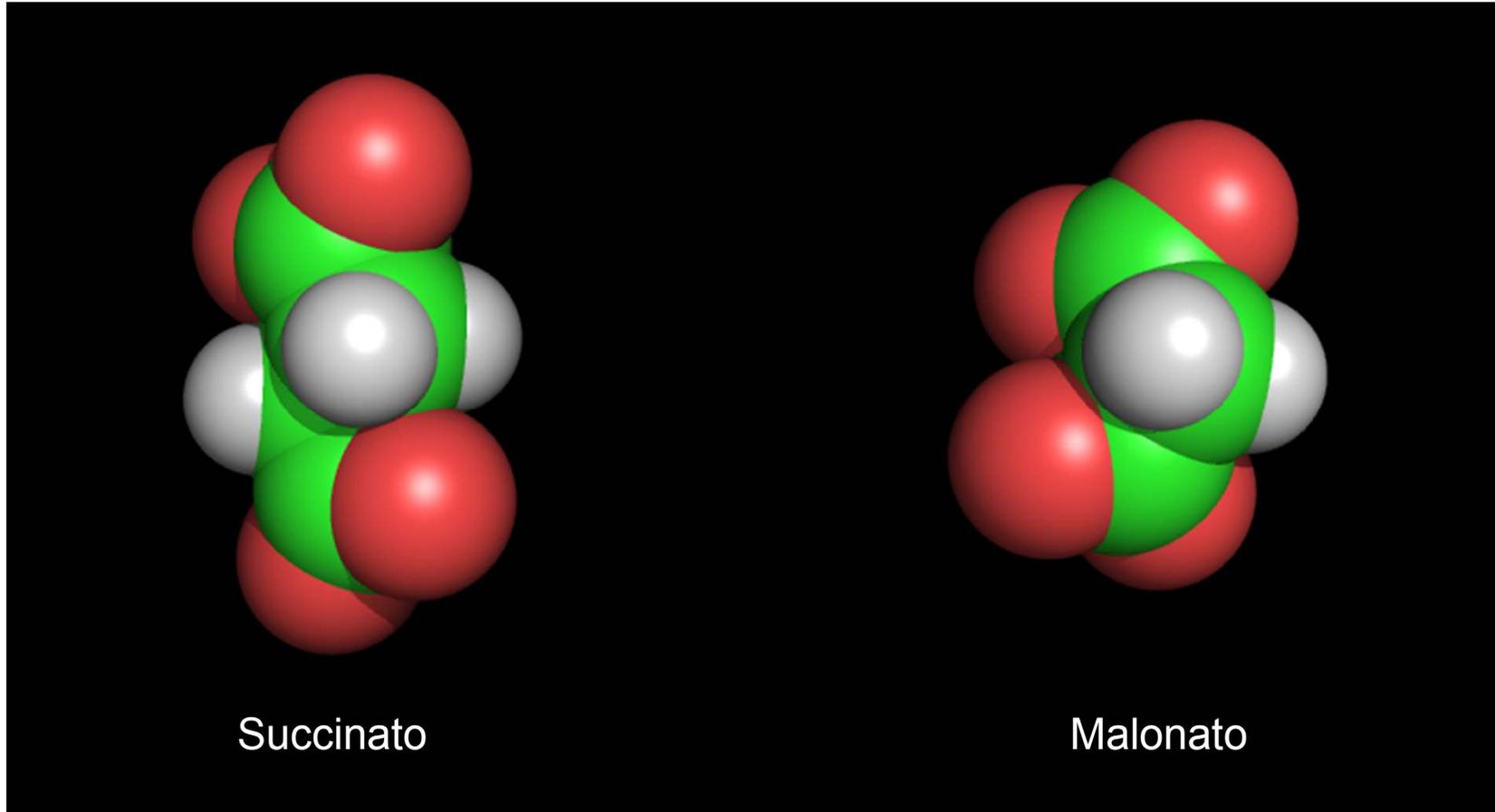
# Inibição competitiva (total)

**Inibidor competitivo:** substância que *compete* com o substrato pelo acesso ao centro activo do enzima.

*Exemplo:* o malonato é um inibidor competitivo da succinato desidrogenase, que catalisa a conversão de succinato em fumarato:

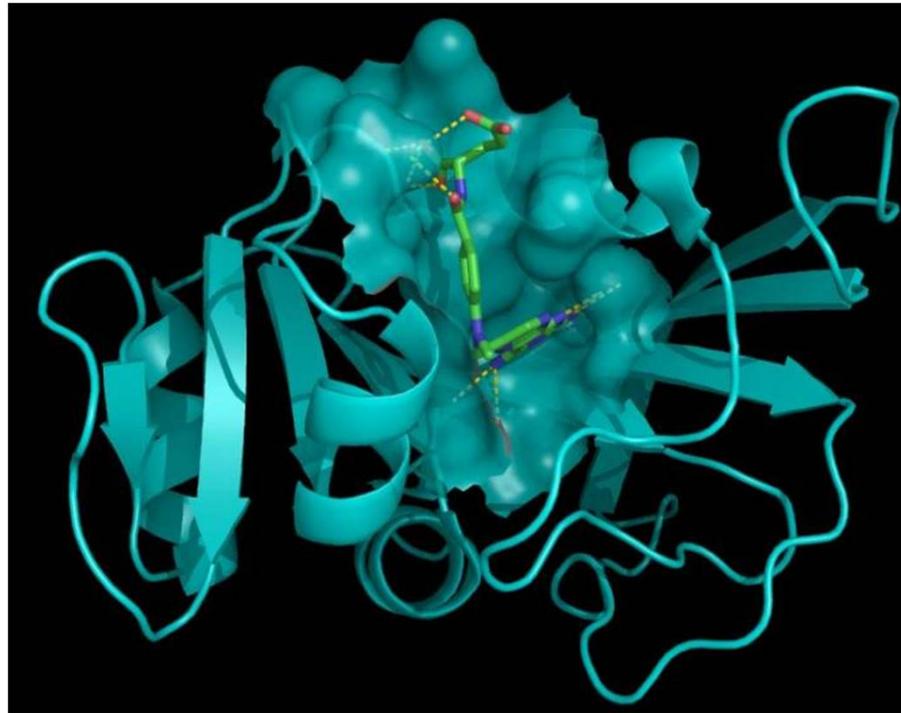


## Inibição competitiva (total)

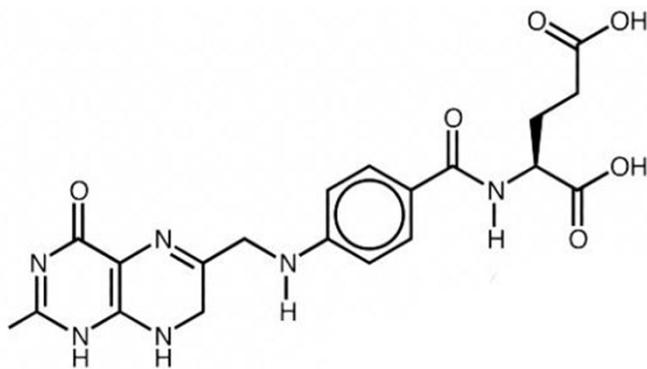


A semelhança estrutural entre succinato e malato explica que este último possa actuar como inibidor competitivo da succinato desidrogenase.

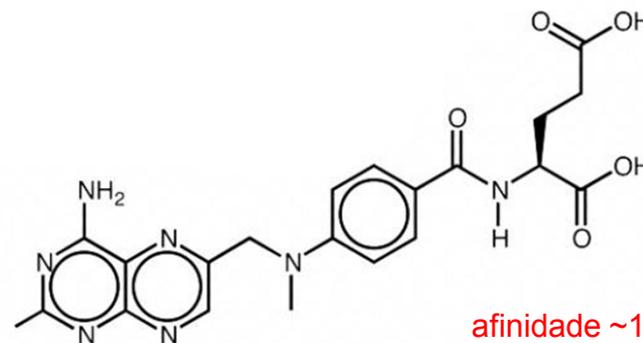
# Complexo enzima+inibidor competitivo



Enzima DHFR em complexo com o metotrexato



ácido dihidrofólico

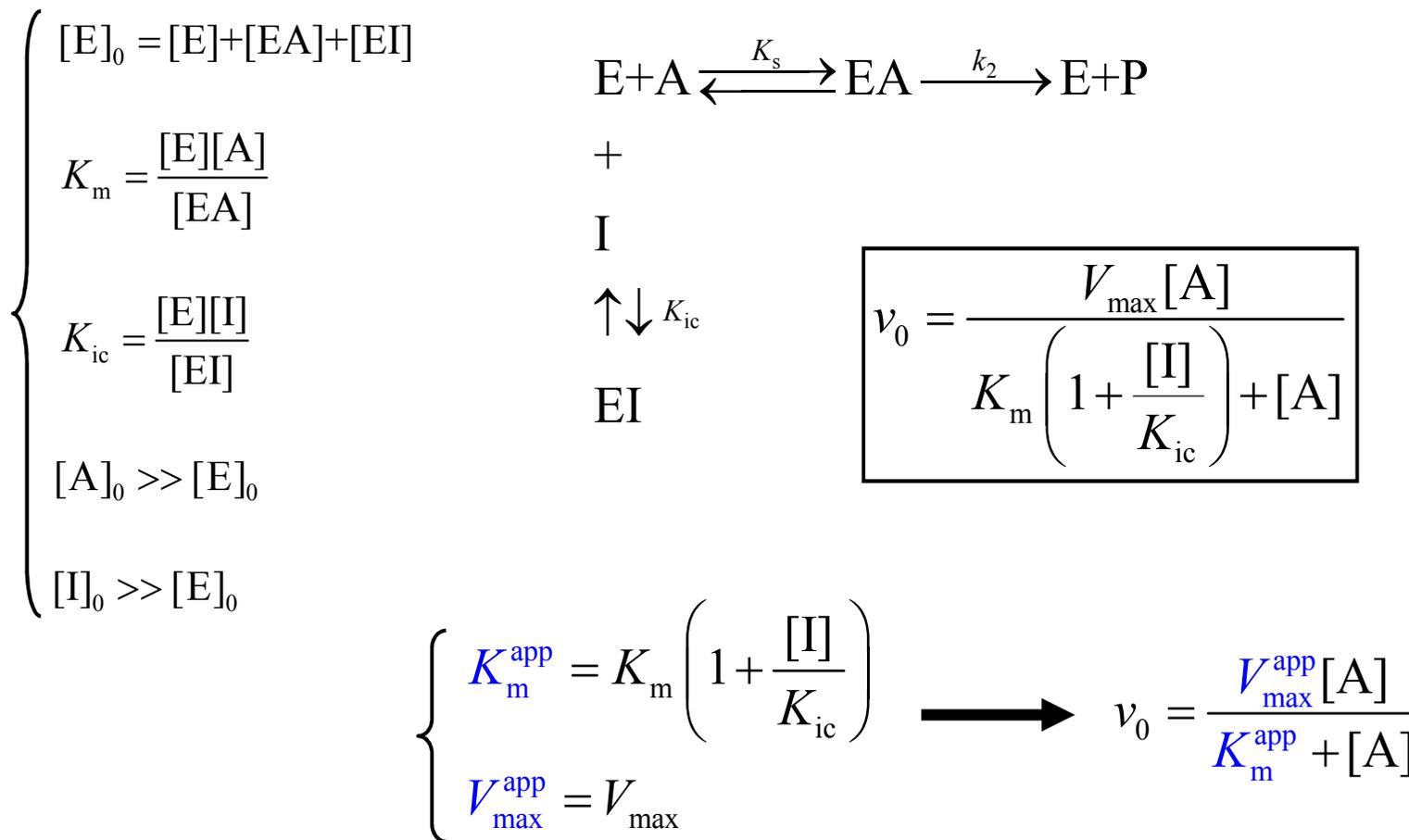


metotrexato (Trexall)

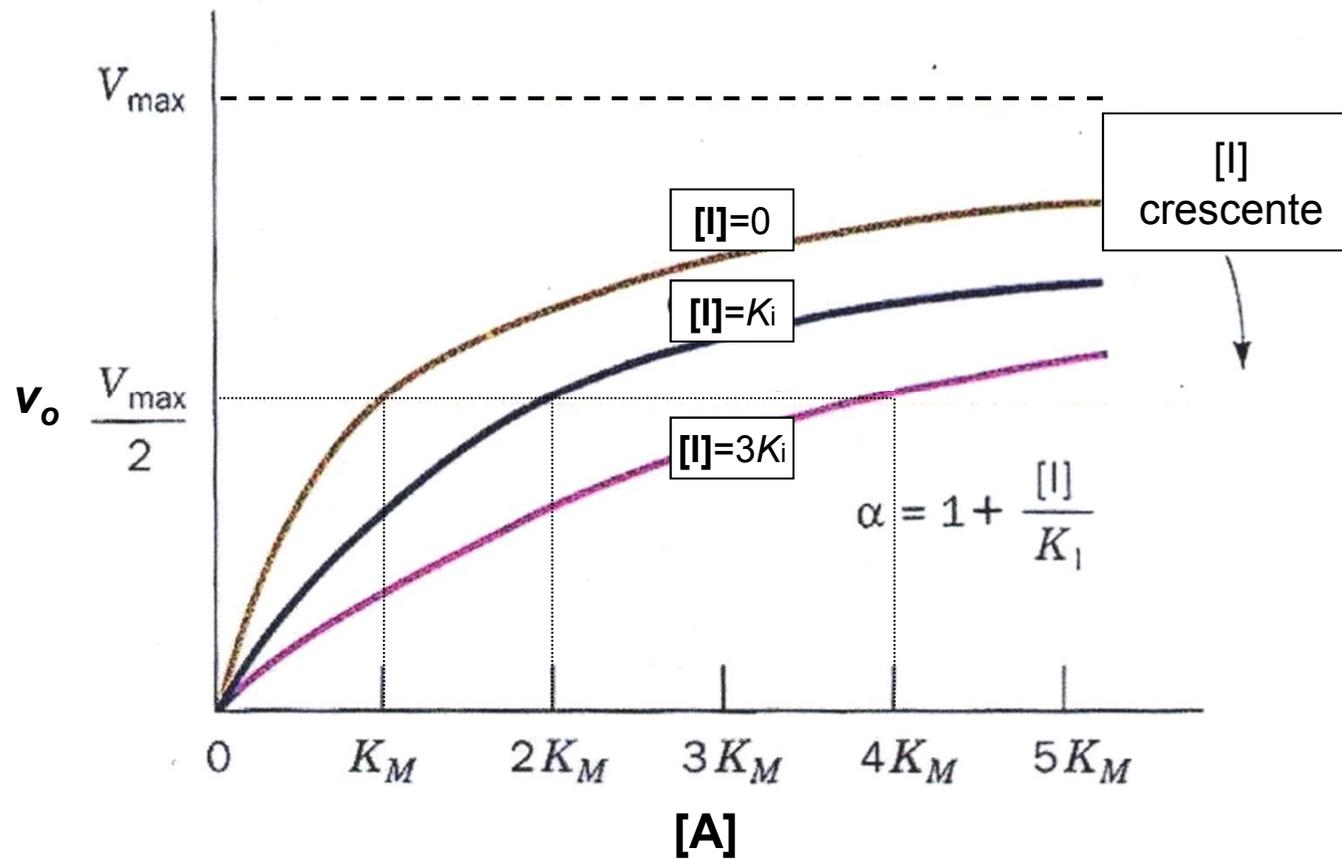
afinidade ~1000x superior

# Inibição competitiva (total)

Mecanismo de equilíbrio capaz de produzir uma cinética de inibição competitiva:

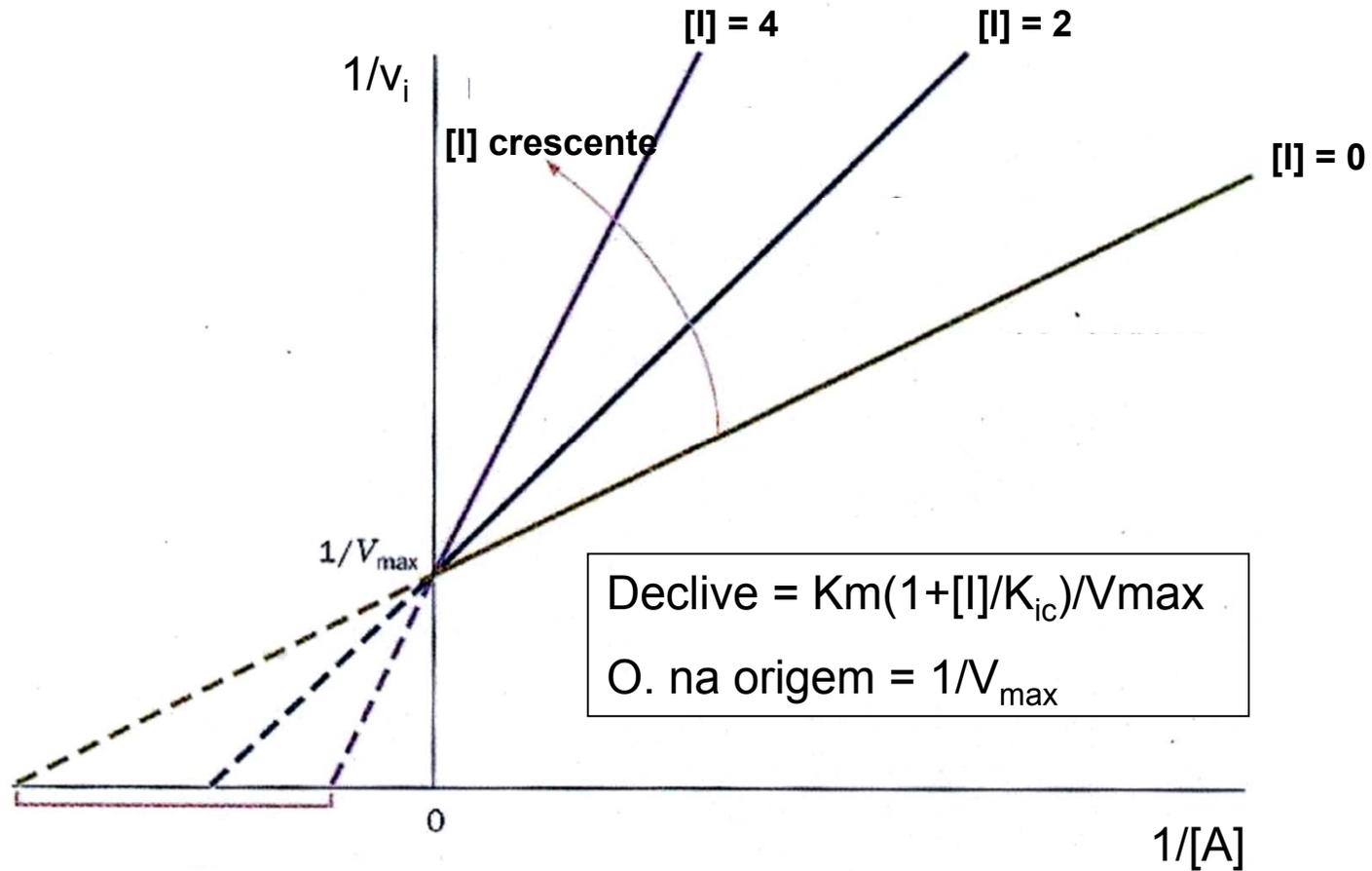


# Representação gráfica da inibição competitiva

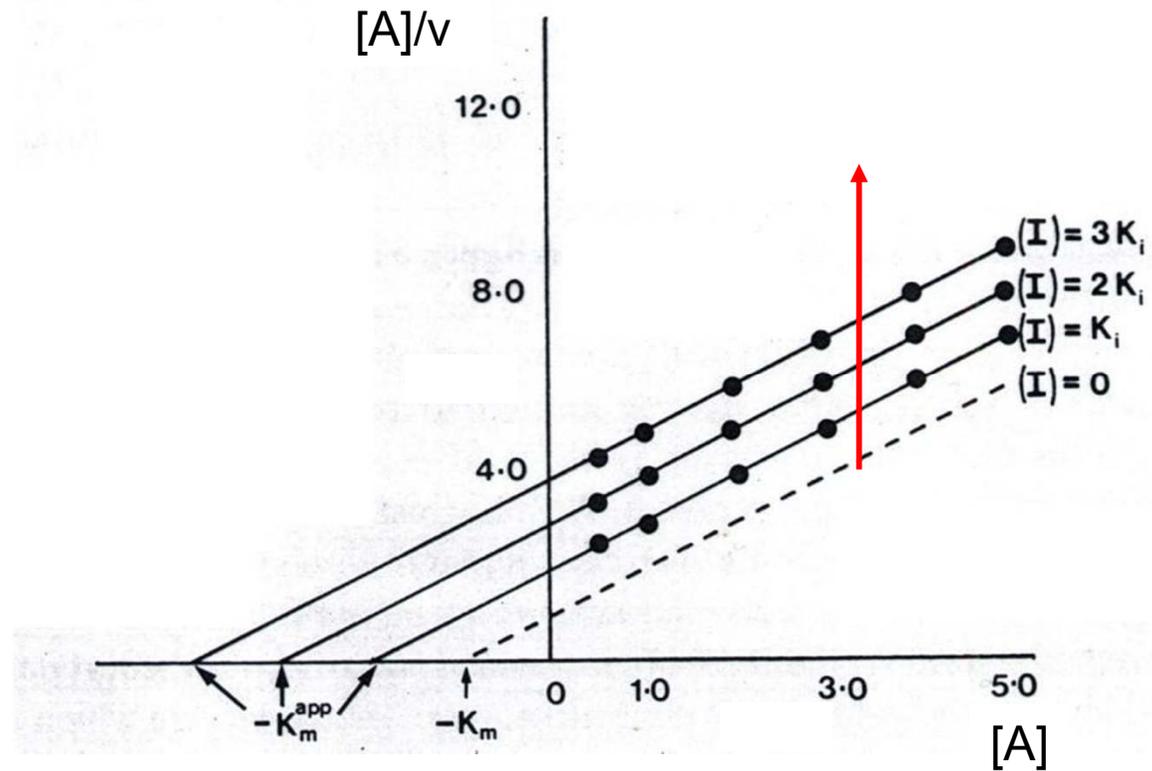


$$K_m^{app} = K_m \alpha$$

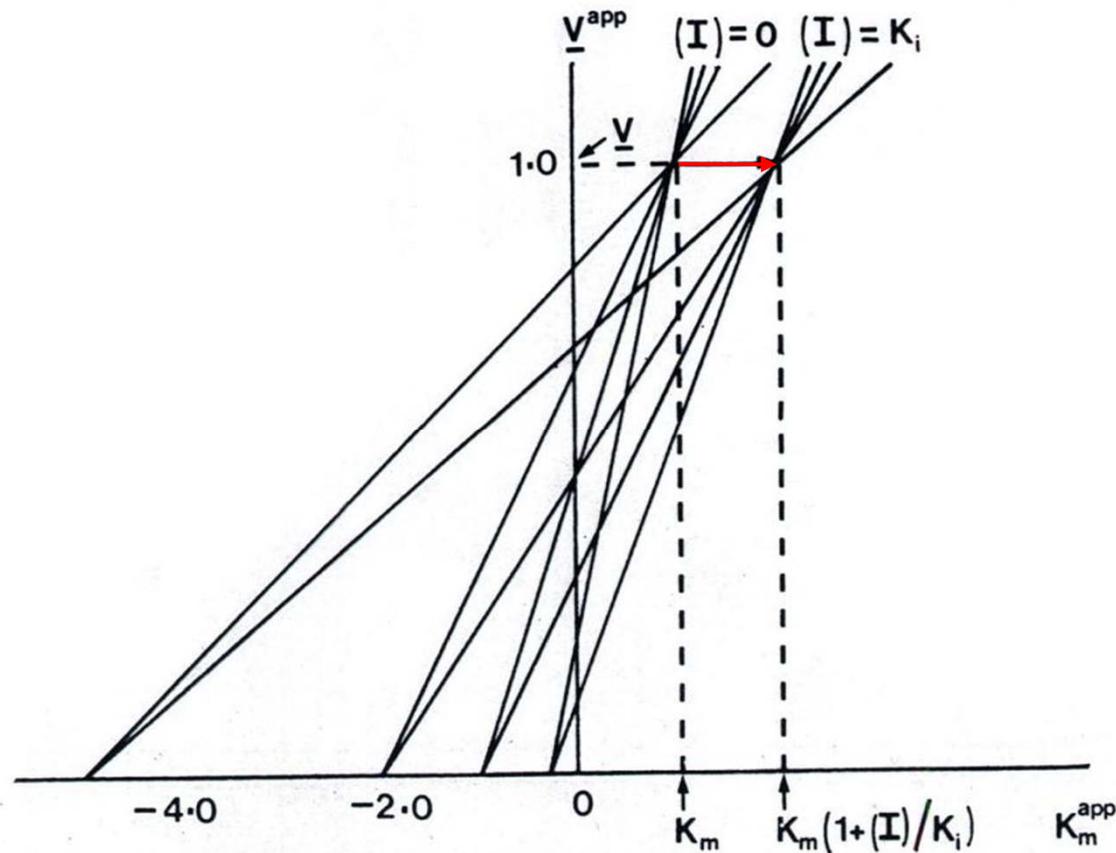
# Representação gráfica da inibição competitiva (Gráfico de Lineweaver-Burke)



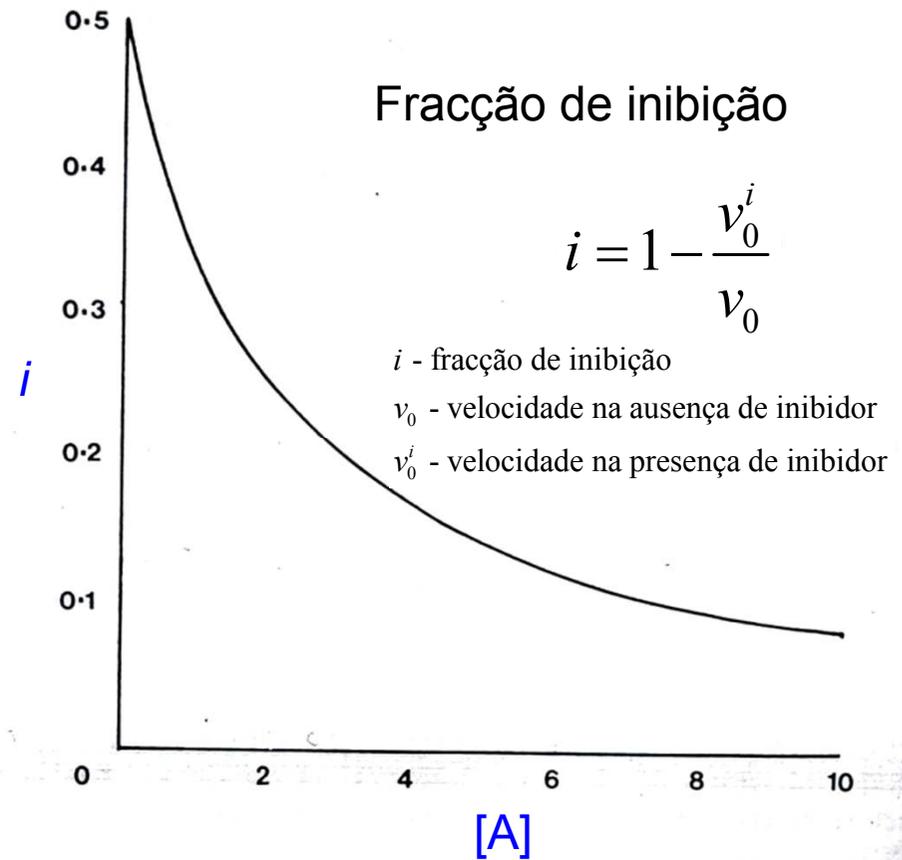
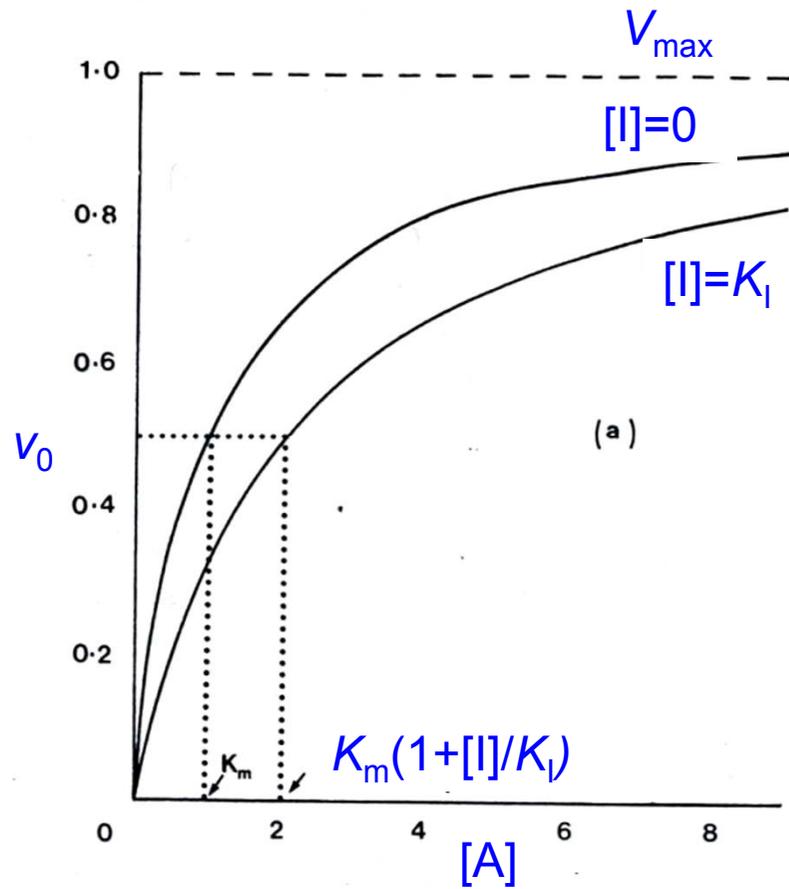
# Representação gráfica da inibição competitiva (Gráfico de Hanes-Woolf)



# Representação gráfica da inibição competitiva (Gráfico de Eisenthal-Cornish-Bowden)



# Inibição competitiva - fracção de inibição

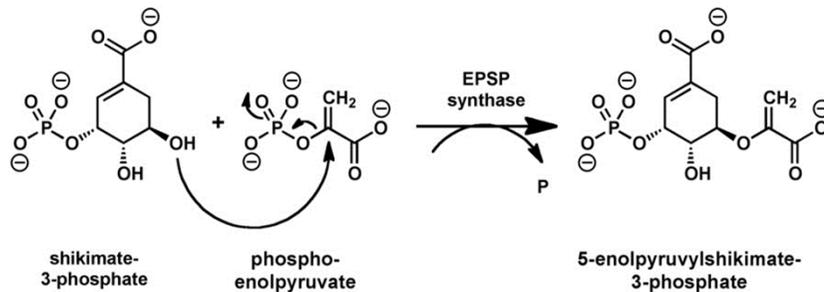
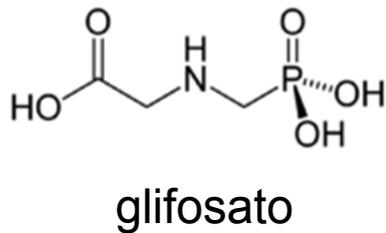


Na inibição competitiva a fracção de inibição **diminui** com a concentração de substrato.

# Inibição anti-competitiva (total)

**Inibidor anti-competitivo:** substância capaz de se ligar ao complexo enzima-substrato, mas não ao enzima livre.

*Exemplos:* Inibição da Inibição da *mio*-inositol fosfatase pelo ião  $\text{Li}^+$ ; inibição da 3-fosfokimato-1-carboxiviniltransferase (EPSP sintase) pelo glifosato



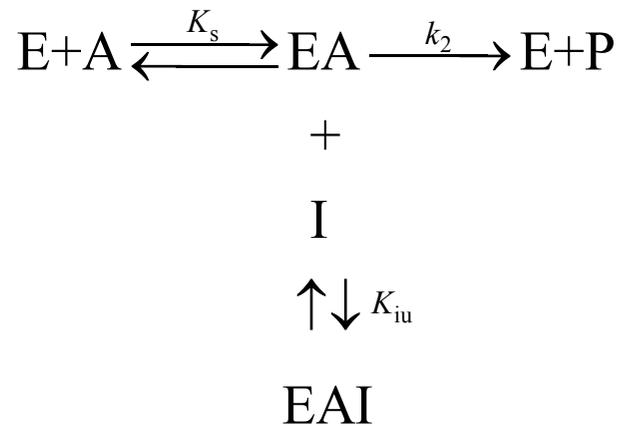
EPSP synthase

Síntese dos aminoácidos aromáticos

# Inibição anti-competitiva (total)

Mecanismo de equilíbrio capaz de produzir uma cinética de inibição anti-competitiva:

$$\left\{ \begin{array}{l} [E]_0 = [E] + [EA] + [EI] \\ K_m = \frac{[E][A]}{[EA]} \\ K_{iu} = \frac{[EA][I]}{[EAI]} \\ [A]_0 \gg [E]_0 \\ [I]_0 \gg [E]_0 \end{array} \right.$$



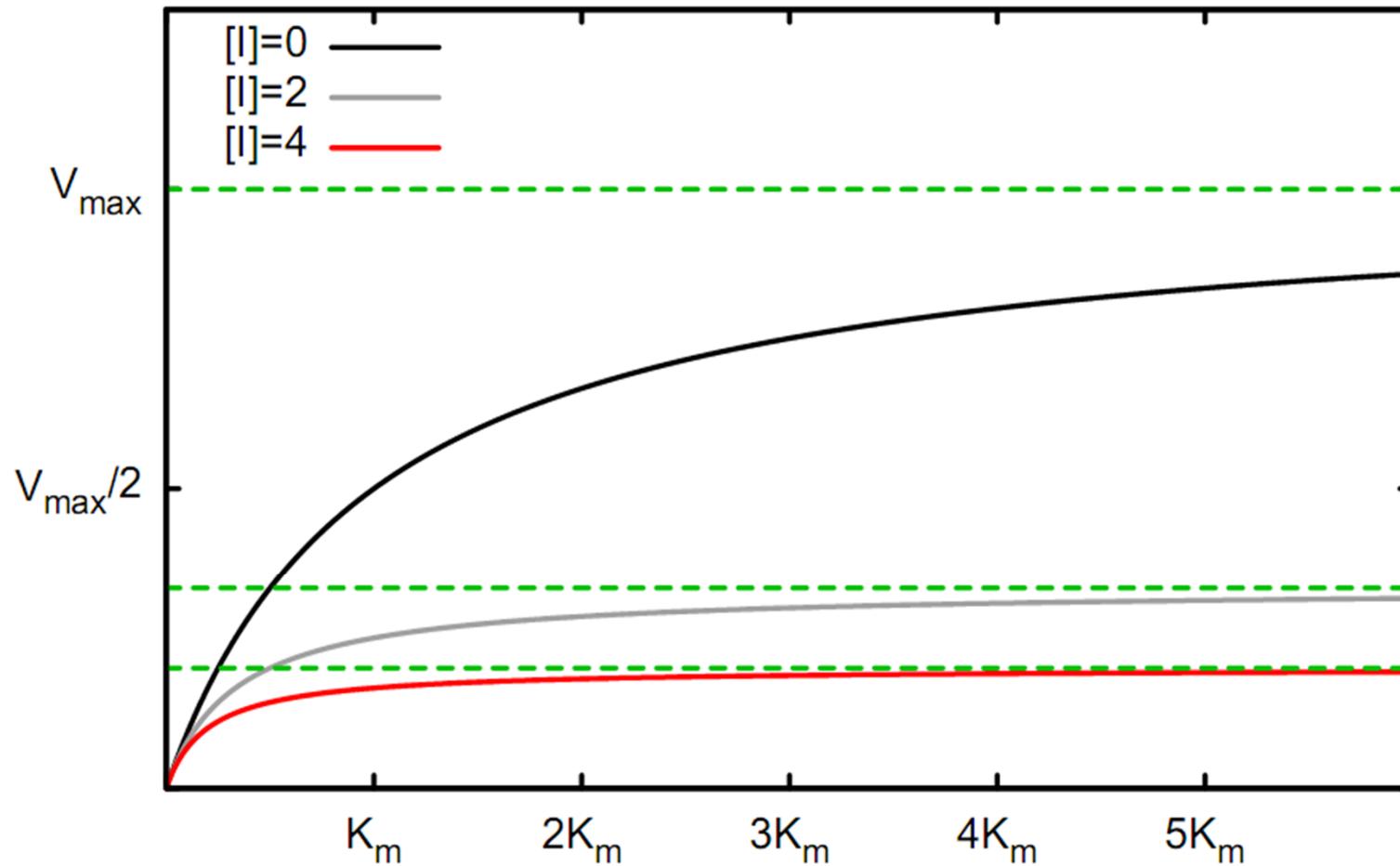
$$v_0 = \frac{V_{\max} [A]}{K_m + \left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right) [A]}$$



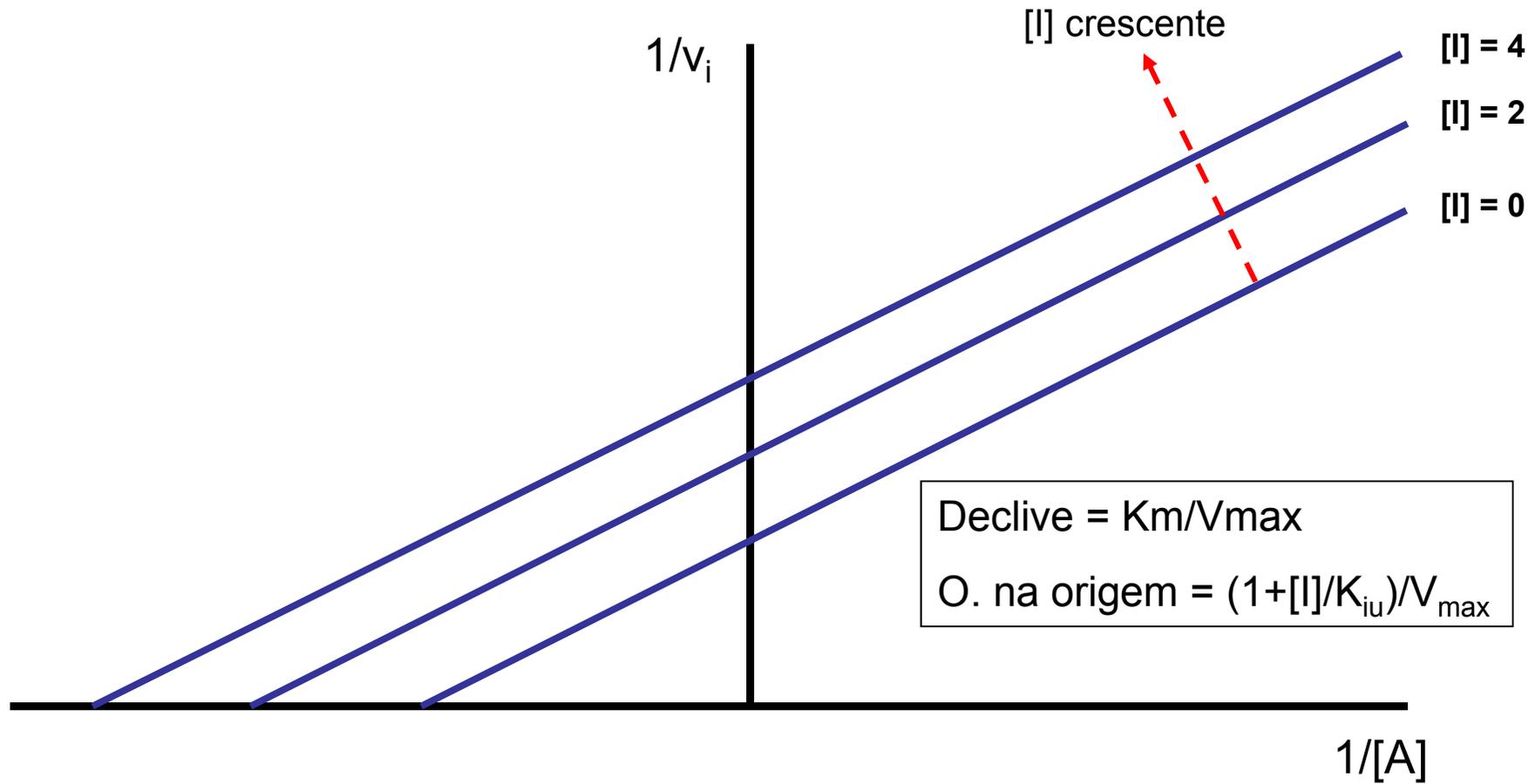
$$v_0 = \frac{\frac{V_{\max}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right)} [A]}{\frac{K_m}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right)} + [A]}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} K_m^{\text{app}} = K_m / \left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right) \\ V_{\max}^{\text{app}} = V_{\max} / \left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right) \end{array} \right. \longrightarrow v_0 = \frac{V_{\max}^{\text{app}} [A]}{K_m^{\text{app}} + [A]}$$

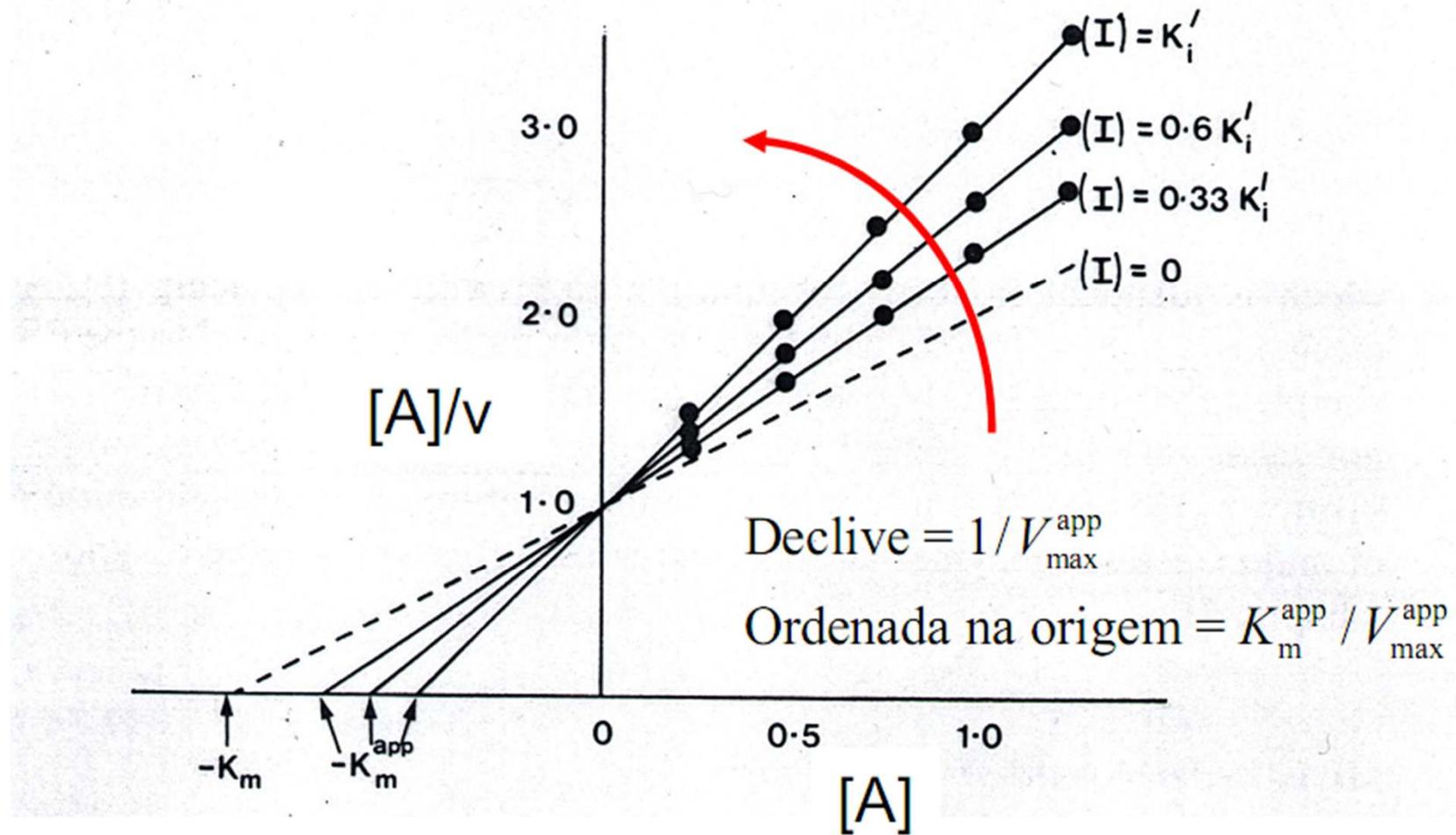
# Representação gráfica da inibição anti-competitiva



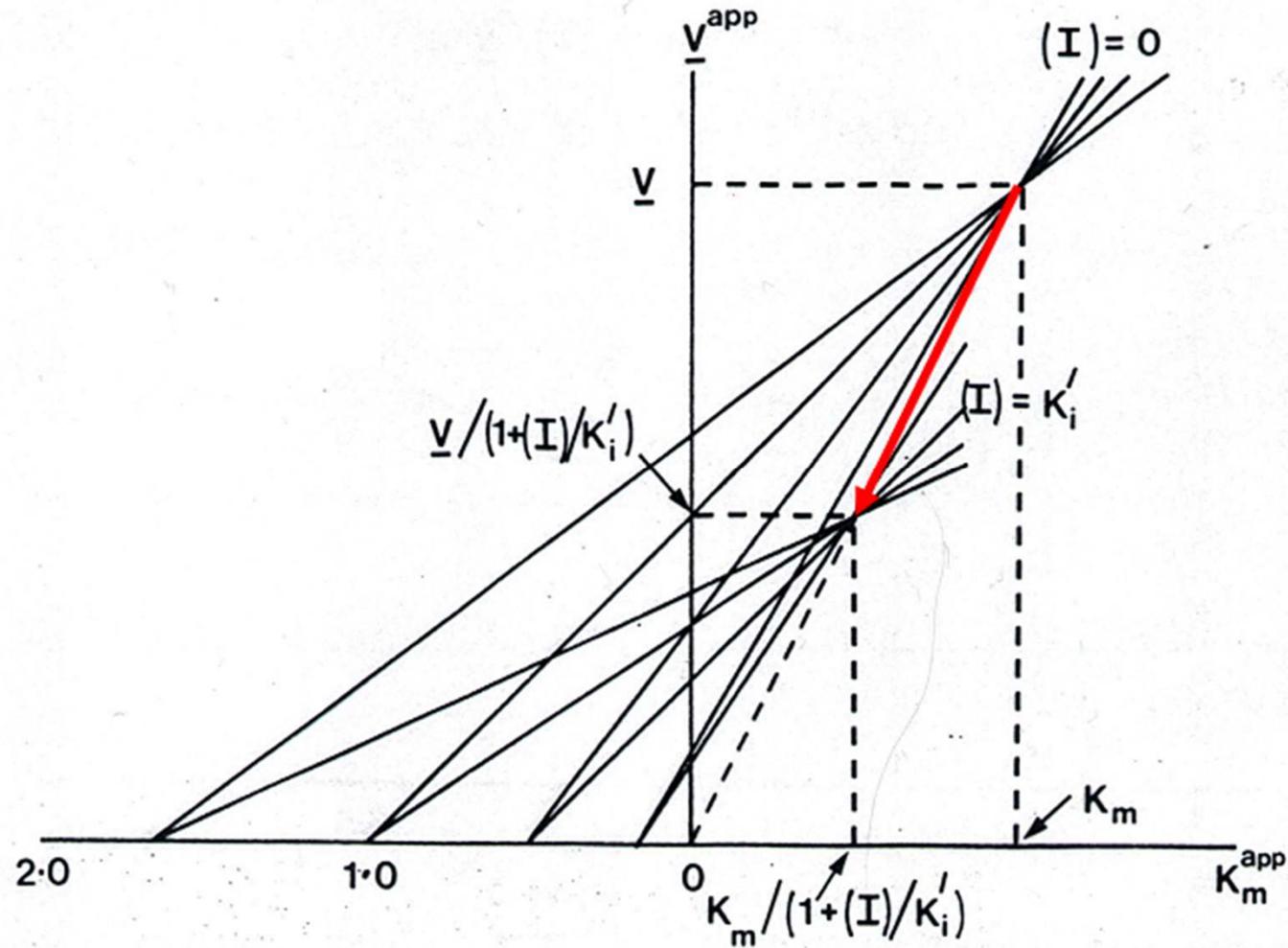
# Gráfico de Lineweaver-Burke



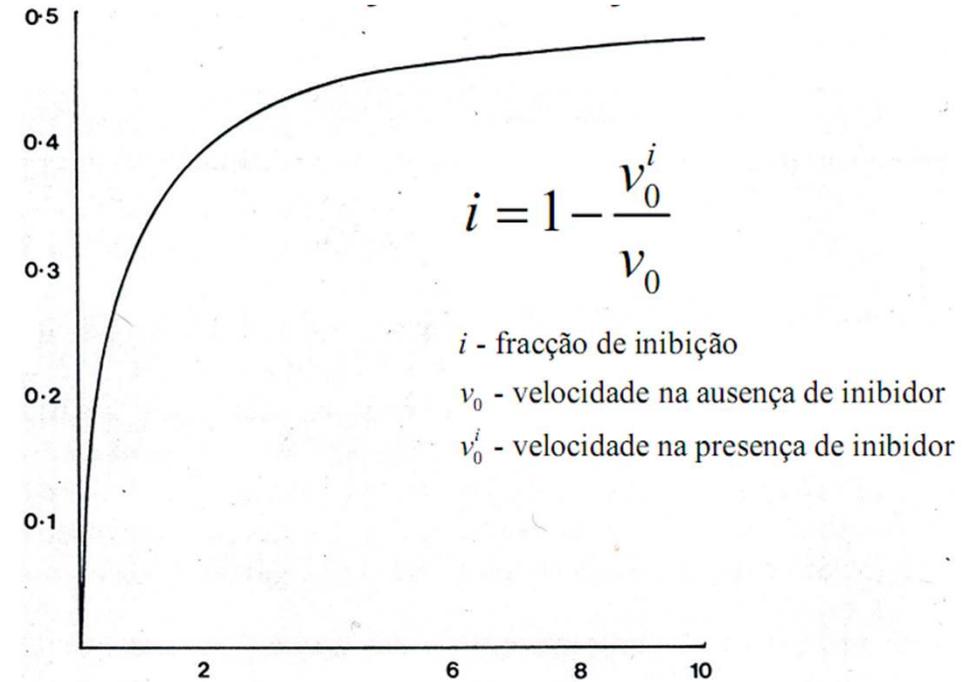
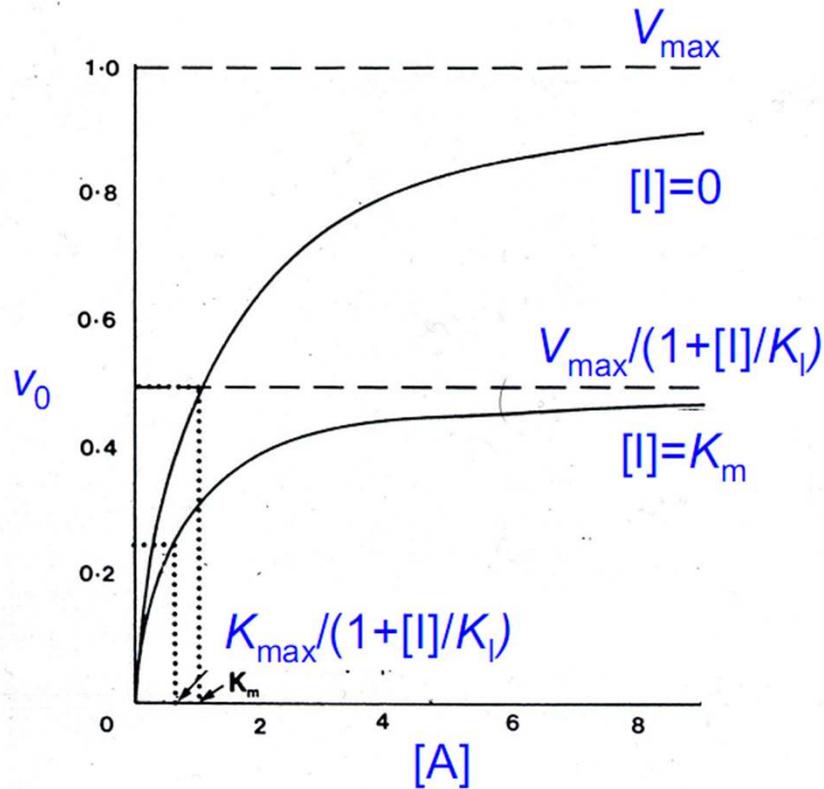
# Gráfico de Hanes-Woolfe



# Gráfico de Eiseenthal-Cornish-Bowden



# Inibição anti-competitiva - fracção de inibição



Na inibição anti-competitiva a fracção de inibição **umenta** com a concentração de substrato.

# Inibição mista

**Inibição mista:** caracteriza-se por um comportamento cinético que incorpora componentes competitiva e anti-competitiva.

Um mecanismo que explica esta cinética:



+

+

I

I

$\uparrow \downarrow K_{ic}$

$\uparrow \downarrow K_{iu}$

EI

EAI

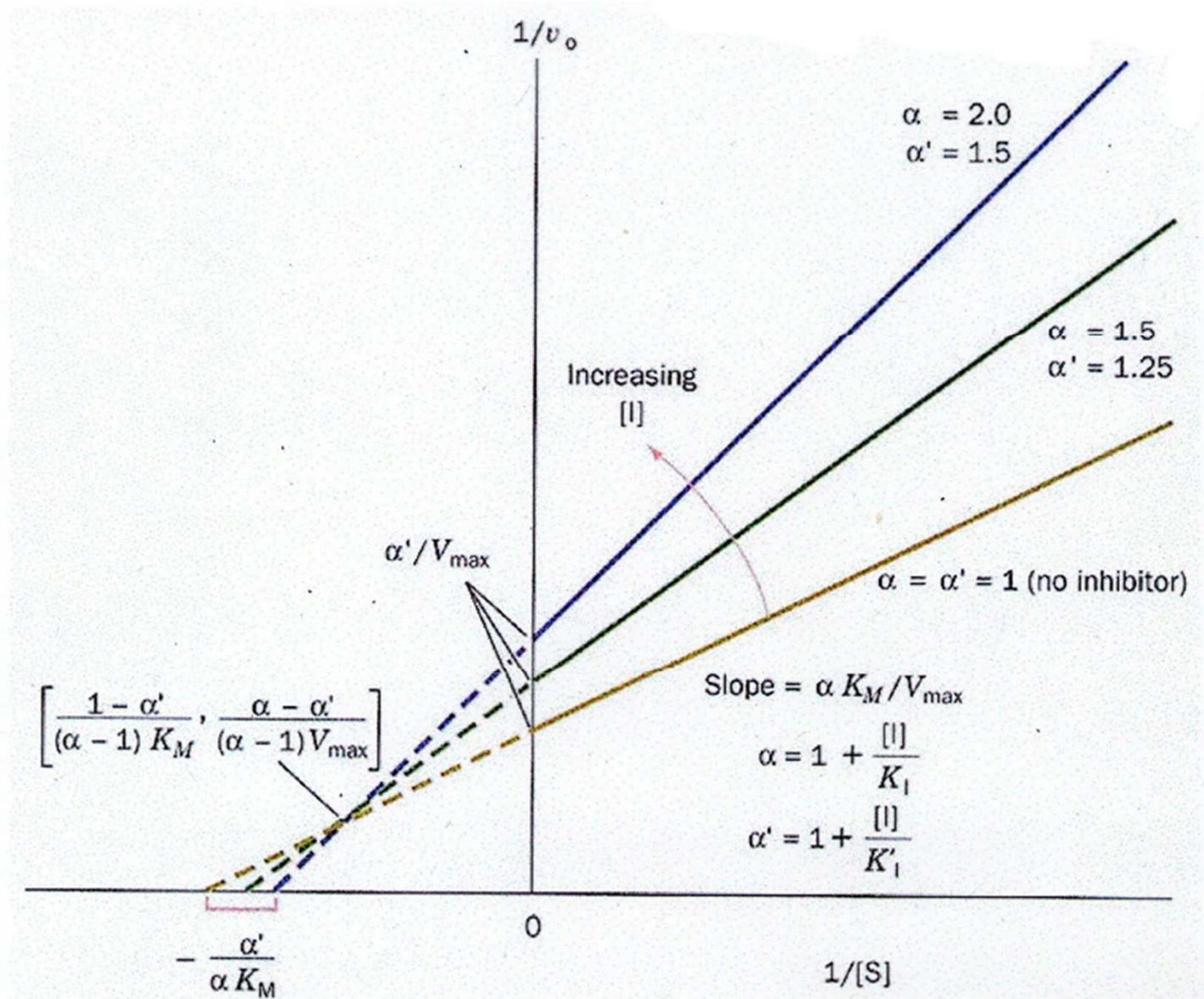
$$K_m^{app} = K_m \frac{\left(1 + \frac{[I]}{K_{ic}}\right)}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right)}$$

$$V_{max}^{app} = V_{max} / \left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right)$$

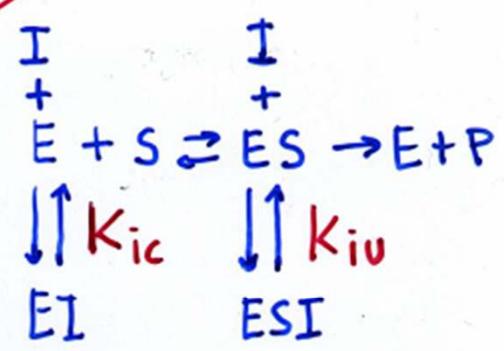
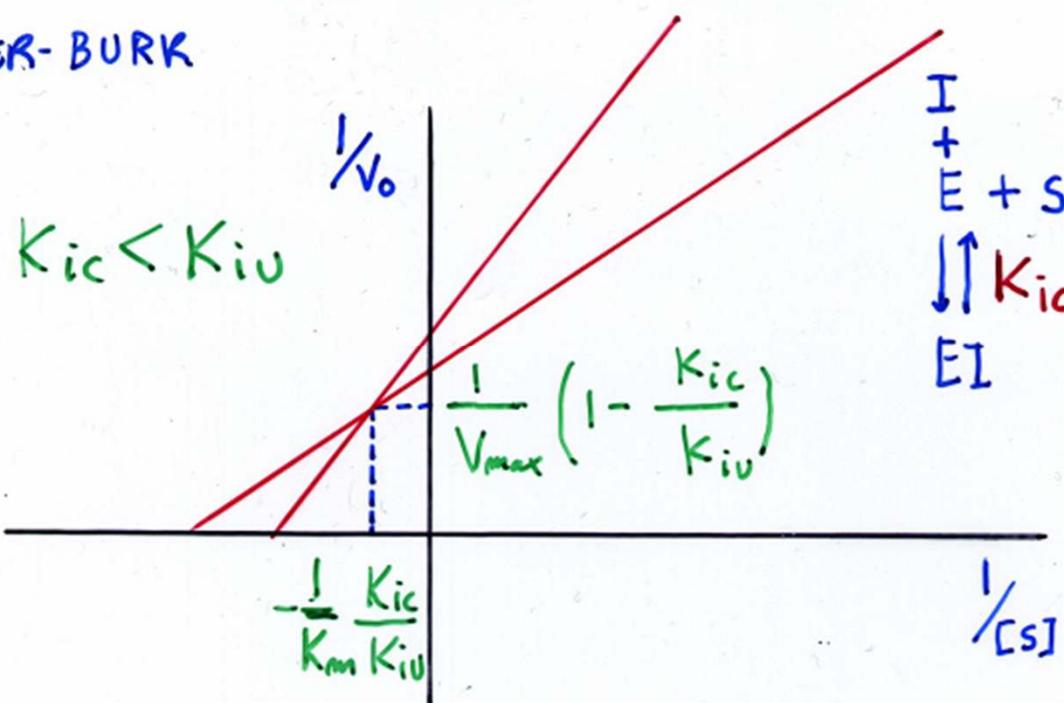
$$K_m^{app} / V_{max}^{app} = \left(1 + \frac{[I]}{K_{ic}}\right) K_m / V_{max}$$

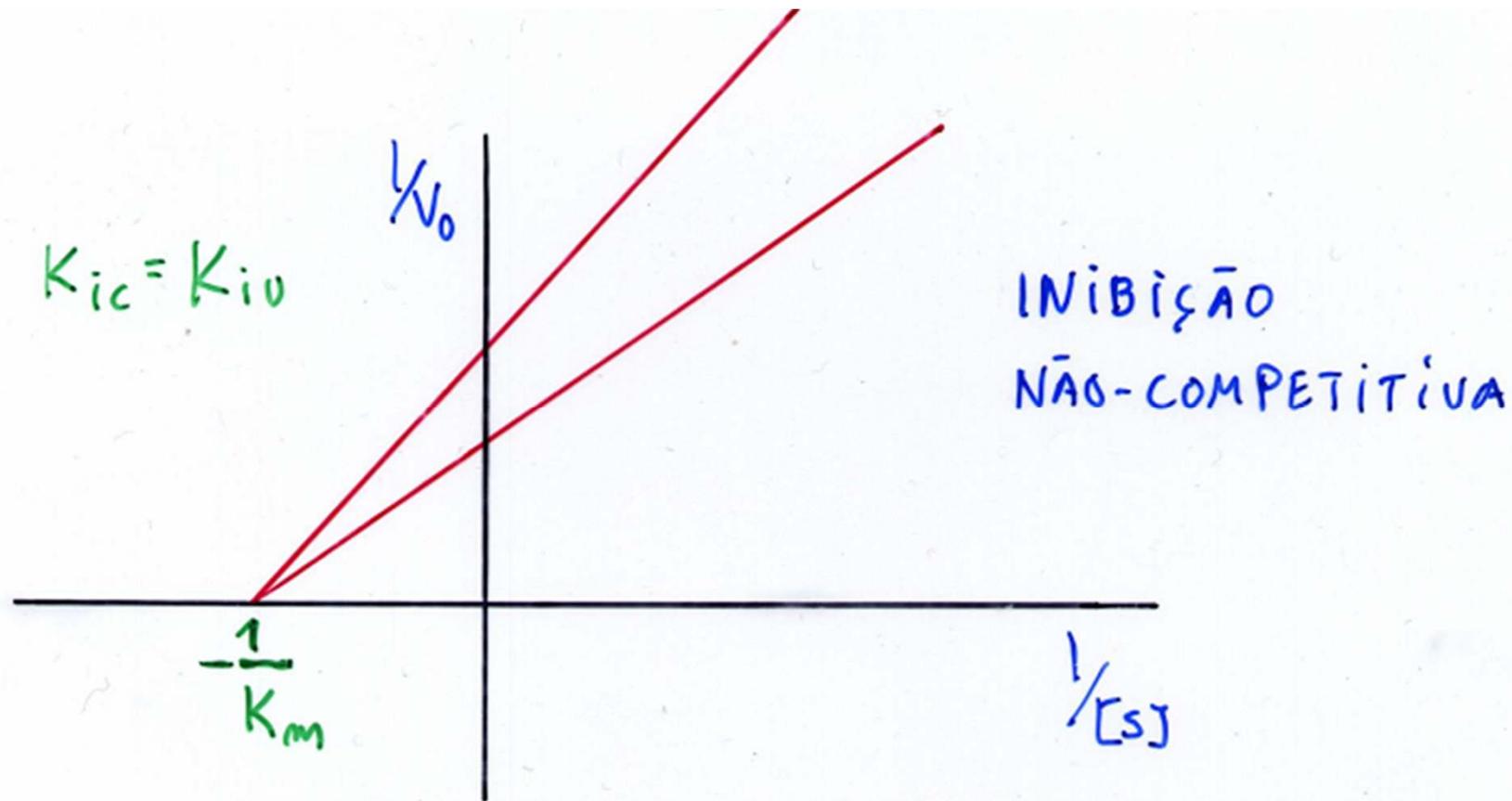
$$v_0 = \frac{V_{max} [A]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_{ic}}\right) + \left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right) [A]}$$

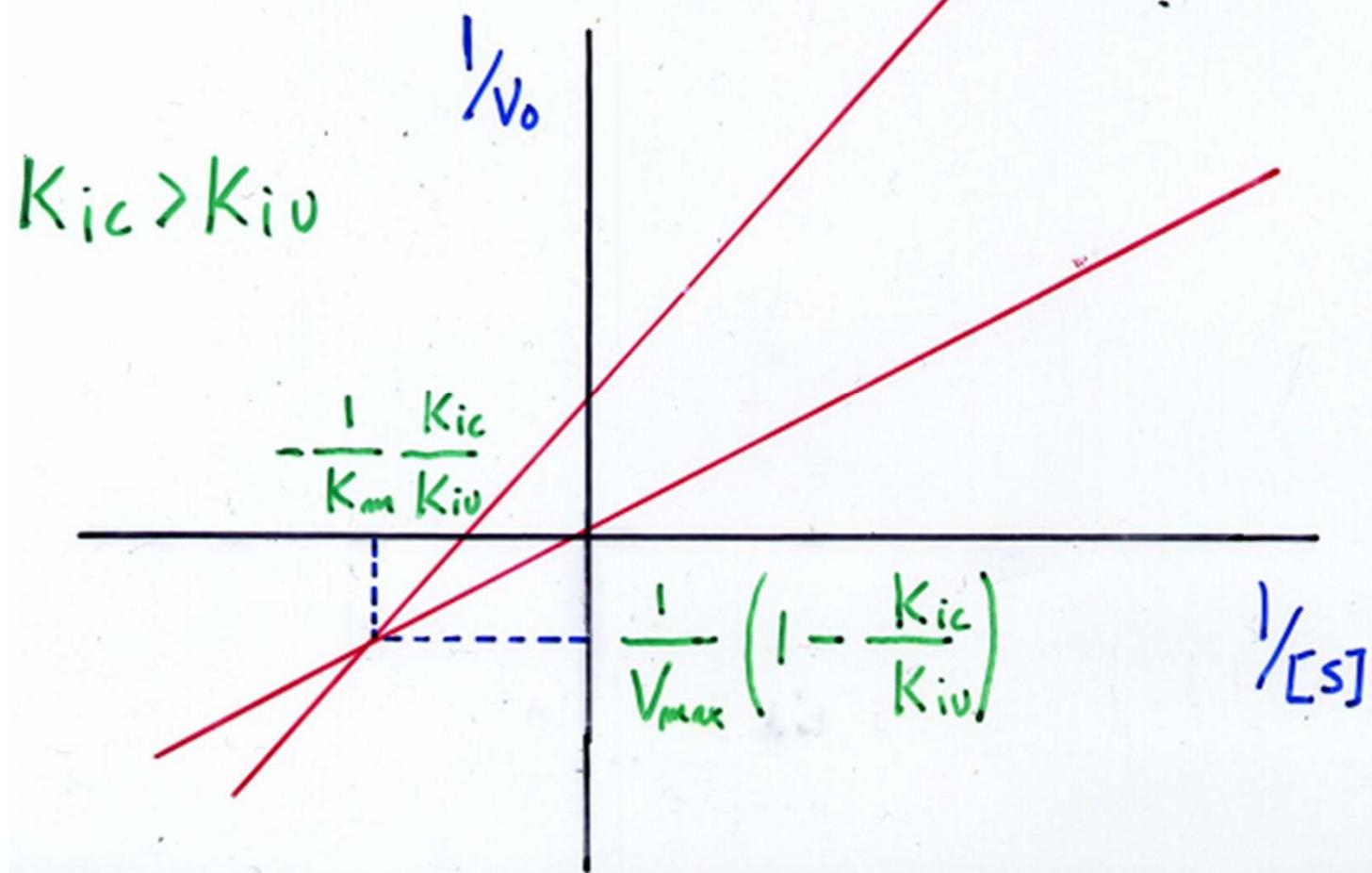
# Gráfico de Lineweaver-Burke



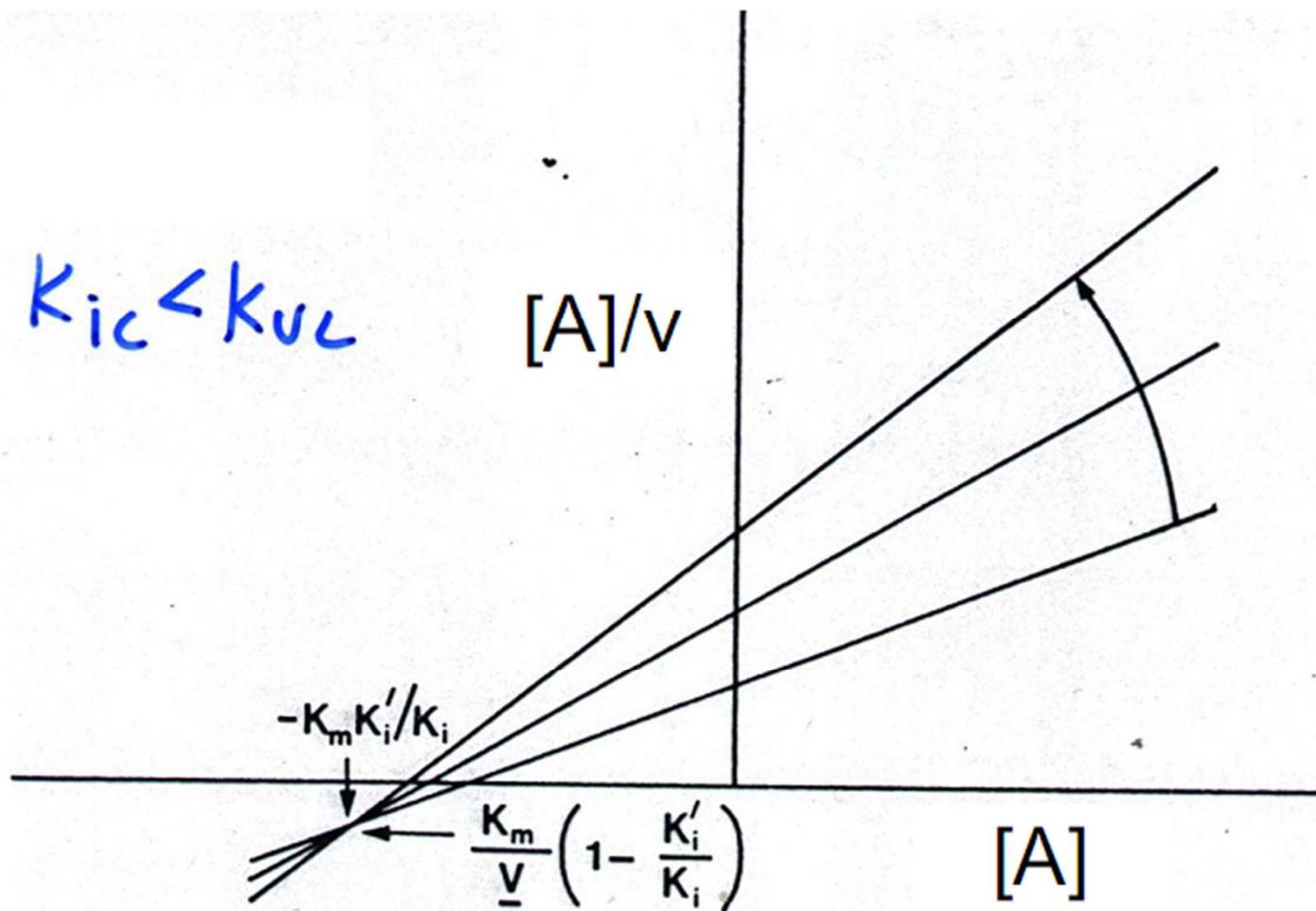
# LINEWEAVER-BURK



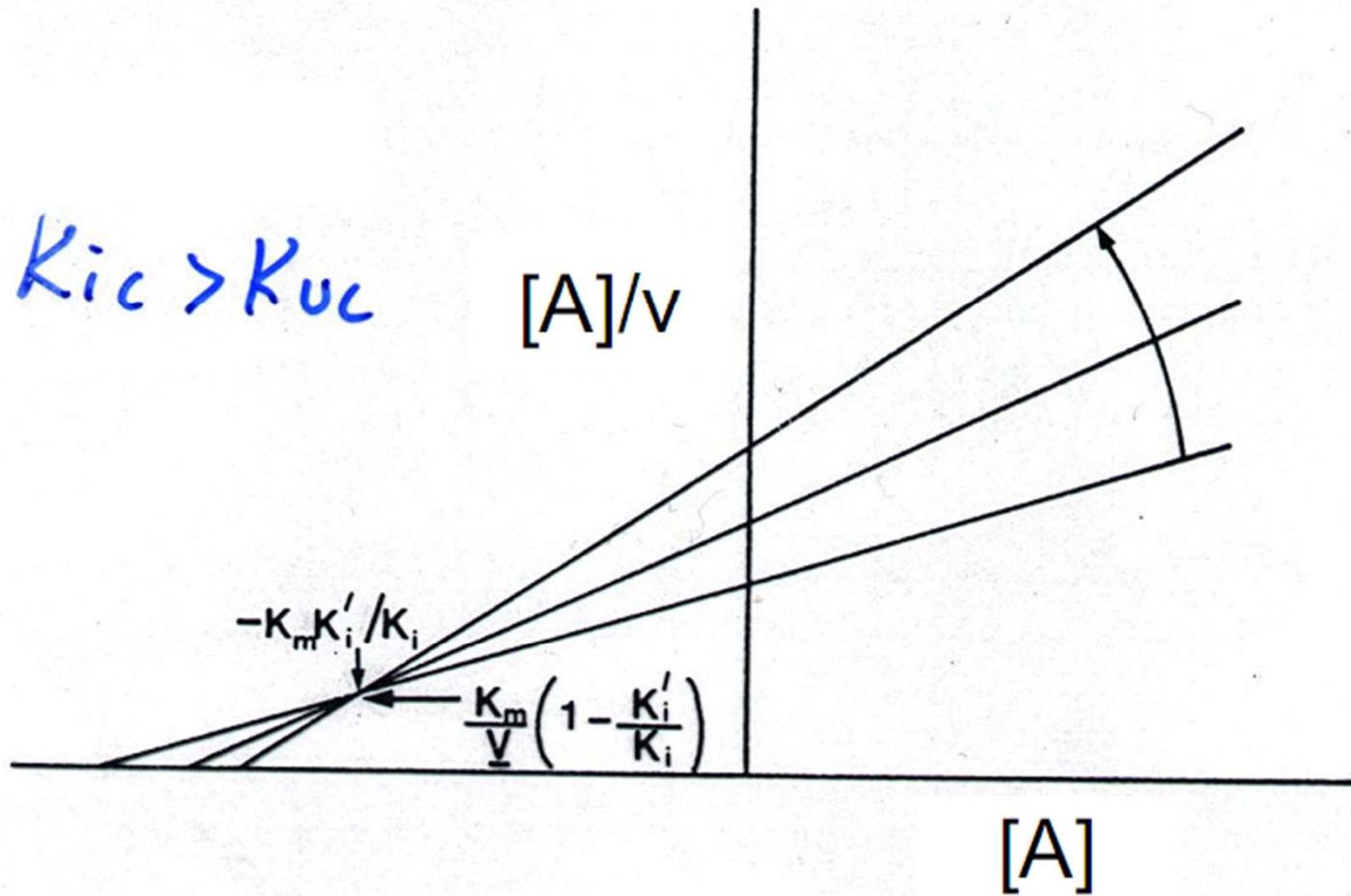




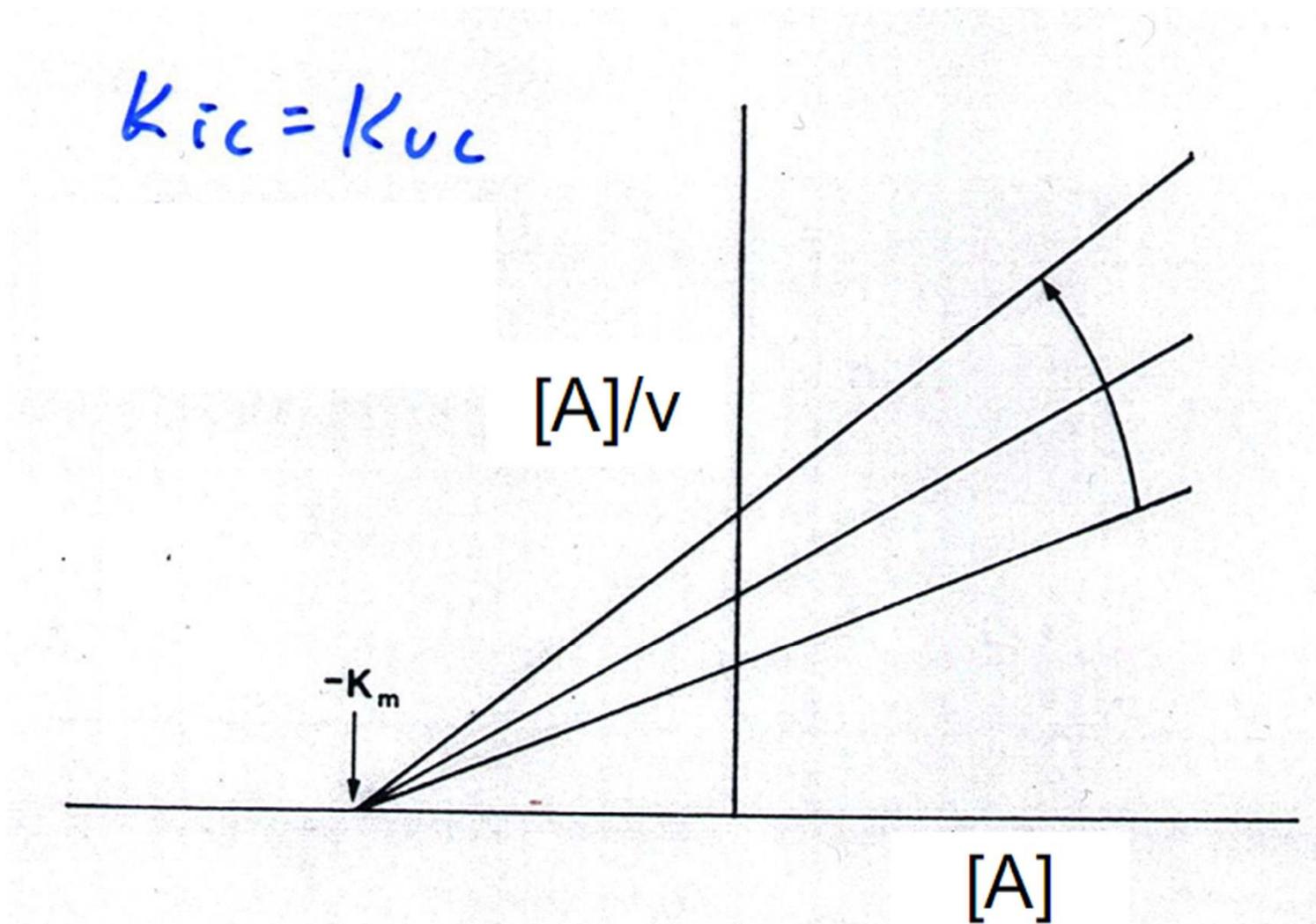
# Gráfico de Hanes-Woolfe



# Gráfico de Hanes-Woolfe

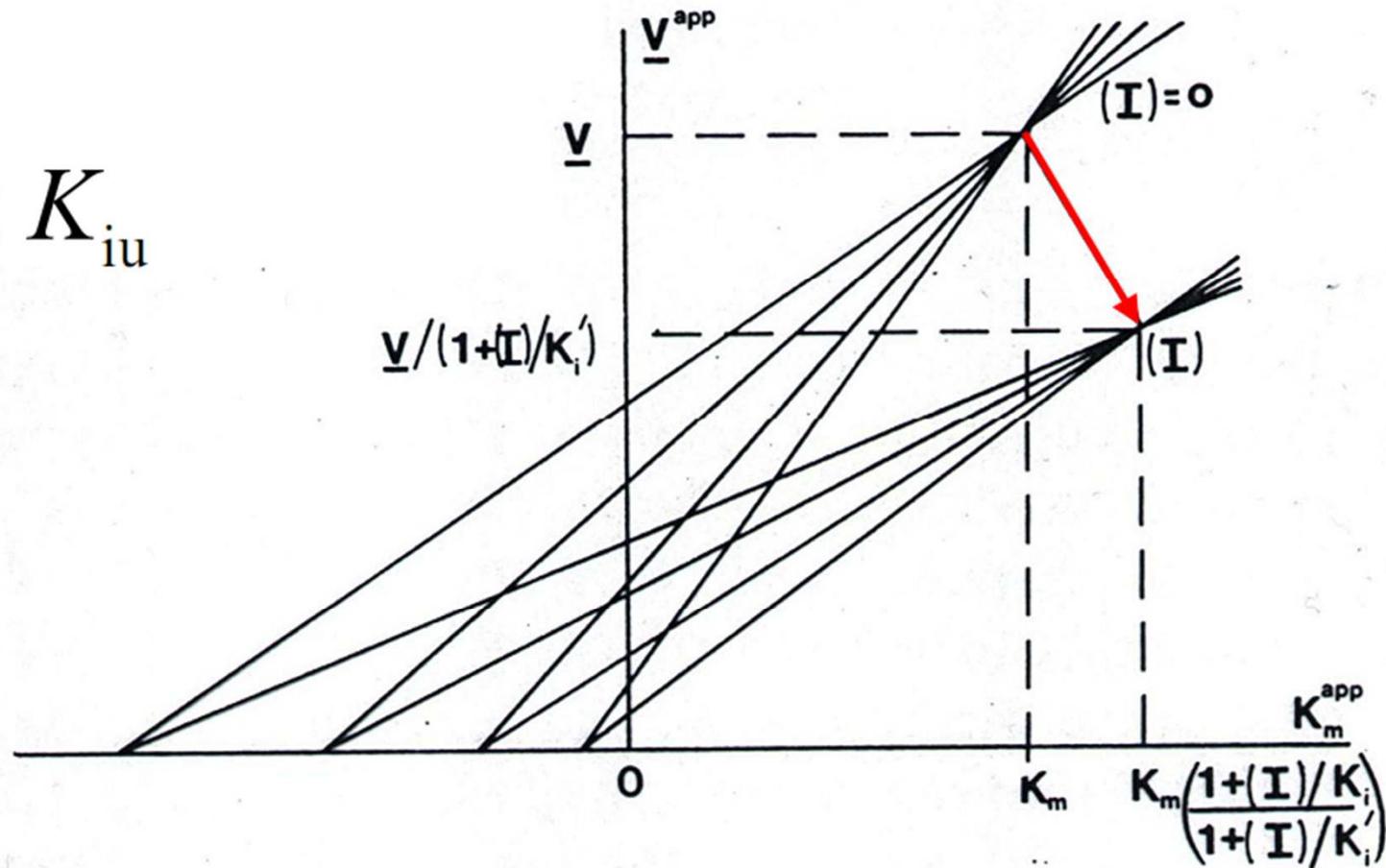


# Gráfico de Hanes-Woolfe



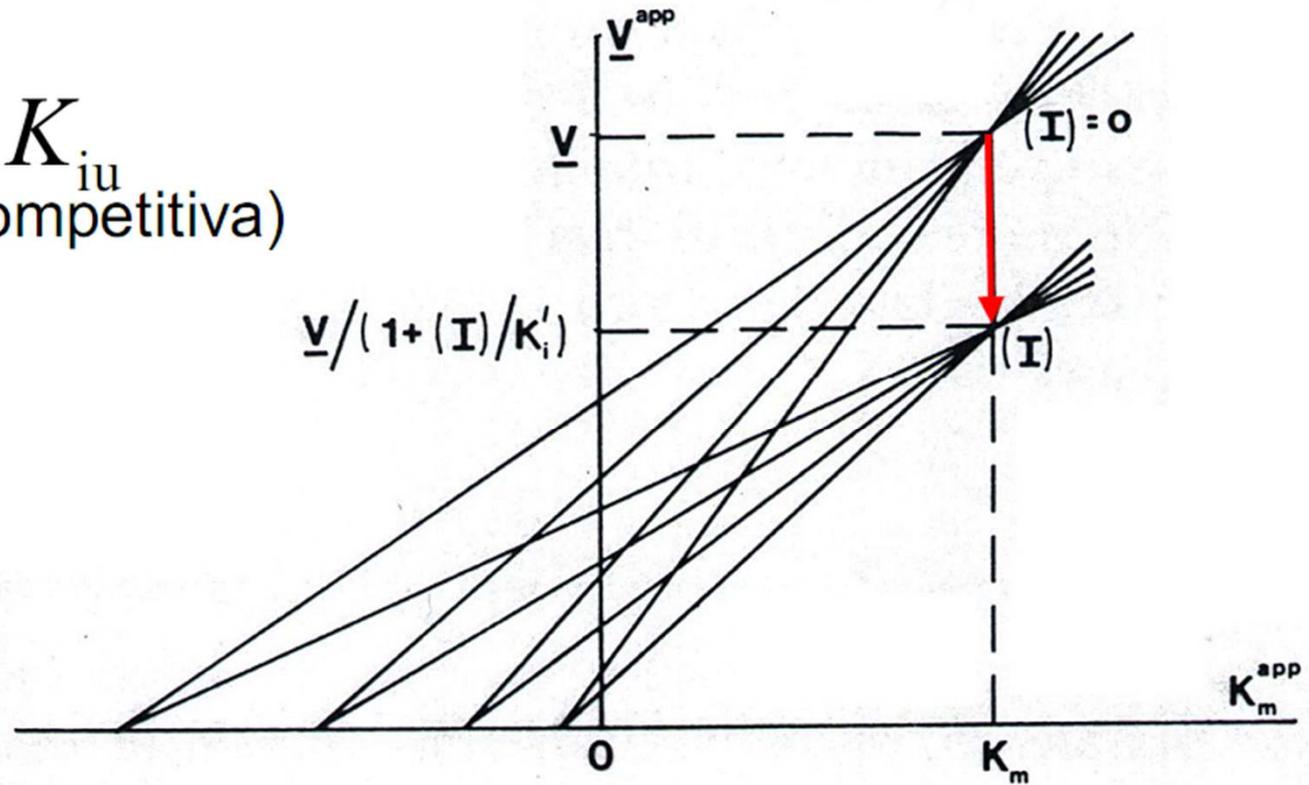
# Gráfico de Eisenthal-Cornish-Bowden

$$K_{ic} < K_{iu}$$



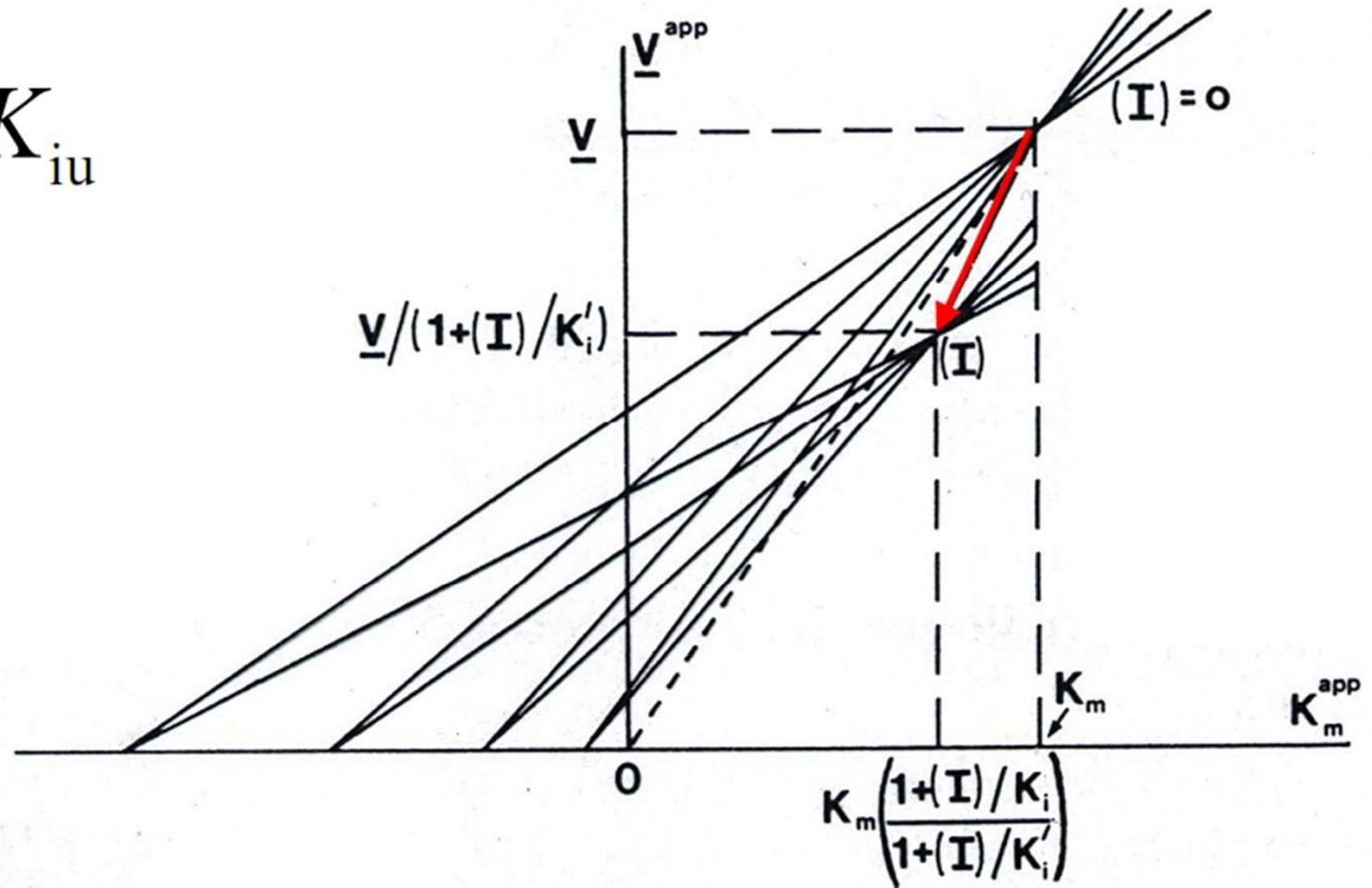
# Gráfico de Eisenthal-Cornish-Bowden

$K_{ic} = K_{iu}$   
(Inibição não-competitiva)



# Gráfico de Eiseenthal-Cornish-Bowden

$$K_{ic} > K_{iu}$$



# Inibição não-competitiva

Caso particular (bastante raro) da inibição mista, em que  $K_{ic}=K_{iu}$ :

$$K_{ic} = \frac{[E][I]}{[EI]} \qquad K_{iu} = \frac{[EA][I]}{[EAI]}$$

$$K_{ic} = K_{iu} \Rightarrow \frac{[E]\cancel{[I]}}{[EI]} = \frac{[EA]\cancel{[I]}}{[EAI]}$$

$$\frac{[E]}{[EA]} = \frac{[EI]}{[EAI]}$$

Ou seja, o inibidor não afecta o equilíbrio de associação enzima-substrato.

(iões metálicos, protão...)

# Inibição não-competitiva

$$v_0 = \frac{V_{\max} [A]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_{ic}}\right) + [A] \left(1 + \frac{[I]}{K_{iu}}\right)}$$

Fazendo  $K=K_{ic}=K_{iu}$ , fica:

$$v_0 = \frac{V_{\max} [A]}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K}\right) + [A] \left(1 + \frac{[I]}{K}\right)}$$

$$v_0 = \frac{V_{\max} [A] / \left(1 + \frac{[I]}{K}\right)}{K_m + [A]}$$

$$\begin{cases} K_m^{\text{app}} = K_m \\ V_{\max}^{\text{app}} = V_{\max} / \left(1 + \frac{[I]}{K}\right) \end{cases}$$

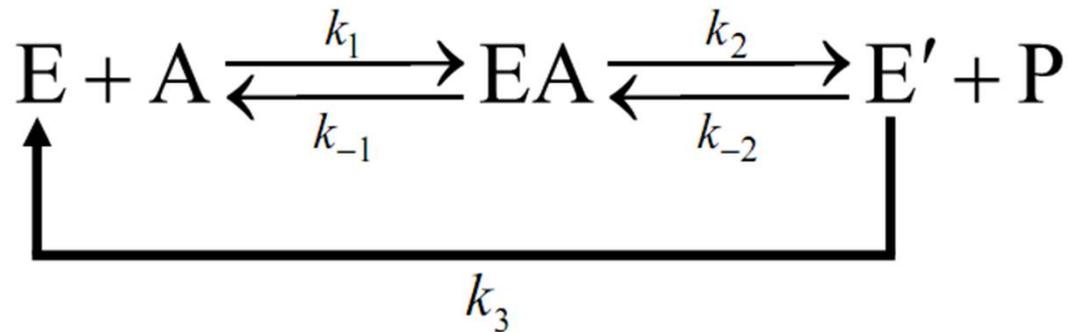
Manutenção do valor de  $K_m$ , diminuição do  $V_{\max}$ .

A inativação parcial do enzima pode provocar uma aparência de inibição não-competitiva

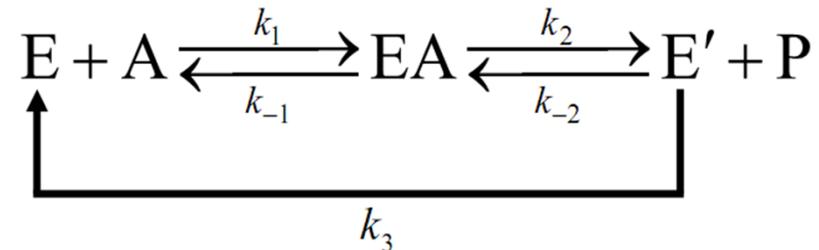
# Inibição mista

A inibição mista como manifestação cinética da interacção de um inibidor com um enzima é um fenómeno relativamente raro. É muito mais frequente observar este tipo de comportamento como caso especial da inibição pelo produto, quando existem outras formas do enzima além da forma activa.

No caso mais simples, existe uma forma inactiva do enzima, E', que se converte lentamente na forma activa E:



## Inibição mista



A equação de velocidade para este mecanismo tem a seguinte forma:

$$v = \frac{k_2[\text{E}]_0[\text{A}]}{[\text{A}]\left(1 + \frac{[\text{P}]}{K_{\text{ic}}}\right) + K_{\text{m}}\left(1 + \frac{[\text{P}]}{K_{\text{iu}}}\right)}$$

Sendo:

$$K_{\text{ic}} = \frac{(k_{-1} + k_2)k_3}{k_{-1}k_{-2}} \qquad K_{\text{iu}} = \frac{k_2 + k_3}{k_{-2}}$$

Tipo de inibição	$V_{\max}^{\text{app}}$	$V_{\max}^{\text{app}}/K_m^{\text{app}}$	$K_m^{\text{app}}$
Competitiva	$V_{\max}$	$\frac{V_{\max}/K_m}{1 + [I]/K_{ic}}$	$K_m(1 + [I]/K_{ic})$
Mista	$\frac{V_{\max}}{1 + [I]/K_{iu}}$	$\frac{V_{\max}/K_m}{1 + [I]/K_{ic}}$	$\frac{K_m(1 + [I]/K_{ic})}{1 + [I]/K_{iu}}$
Não-competitiva	$\frac{V_{\max}}{1 + [I]/K_{iu}}$	$\frac{V_{\max}/K_m}{1 + [I]/K_{ic}}$	$K_m$
Anti-competitiva	$\frac{V_{\max}}{1 + [I]/K_{iu}}$	$V_{\max}/K_m$	$\frac{K_m}{1 + [I]/K_{iu}}$