



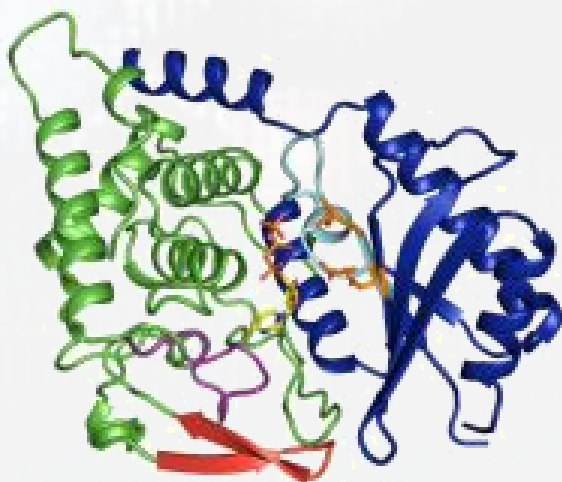
Metalohidrolases

*Dr. Tiago P. Camargo*

## *Metais de transição iniciais*

- ✓ Área do conhecimento altamente interdisciplinar
- ✓ Reside na interface entre a Química e as Ciências Biológicas
- ✓ Atualmente em grande expansão (compreensão dos processos biológicos mediados por metais)

**Sistemas de Interesse**

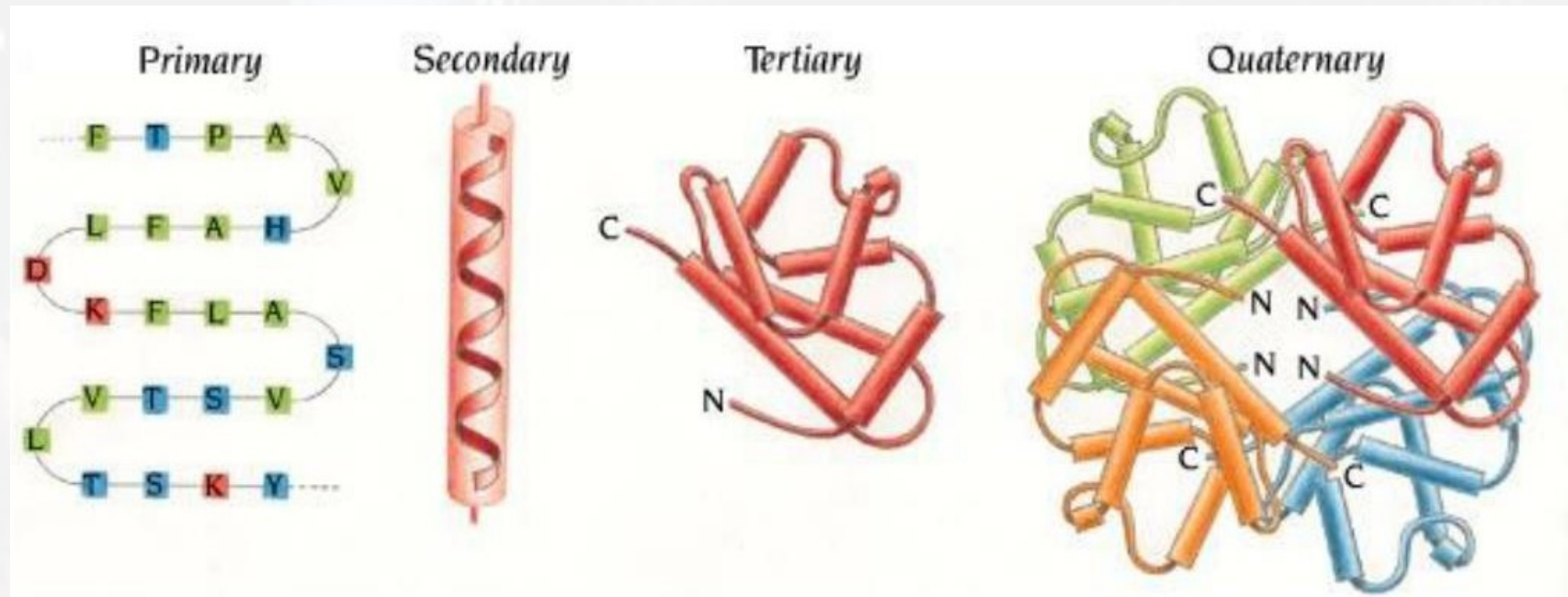
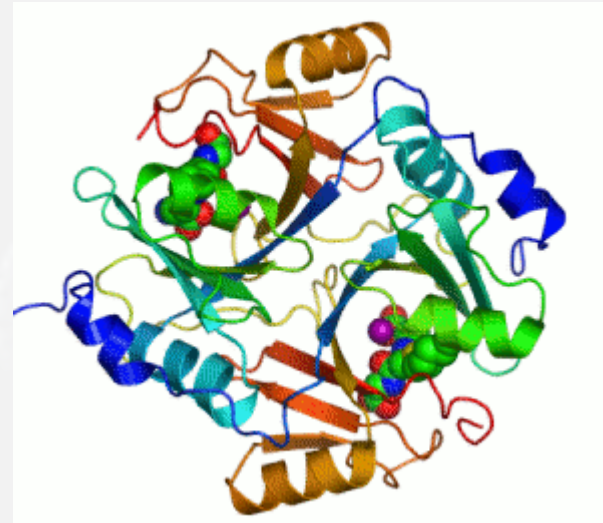


### Áreas de concentração

- Ambiente de coordenação o íon metálico (enzimas, proteínas, DNA, RNA, etc)
- Mecanismos de reações
- Análogos sintéticos e modelagem biomimética
- Fármacos para cura ou prevenção de doenças
- Remoção e transporte de metais nos sistemas vivos

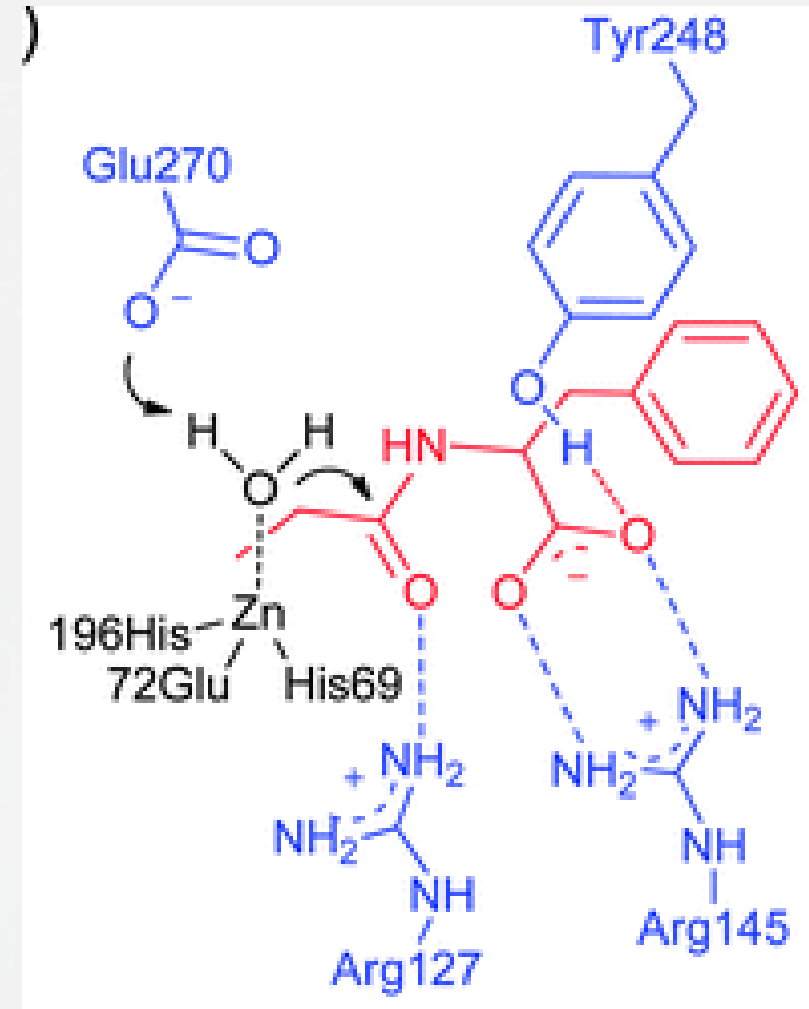
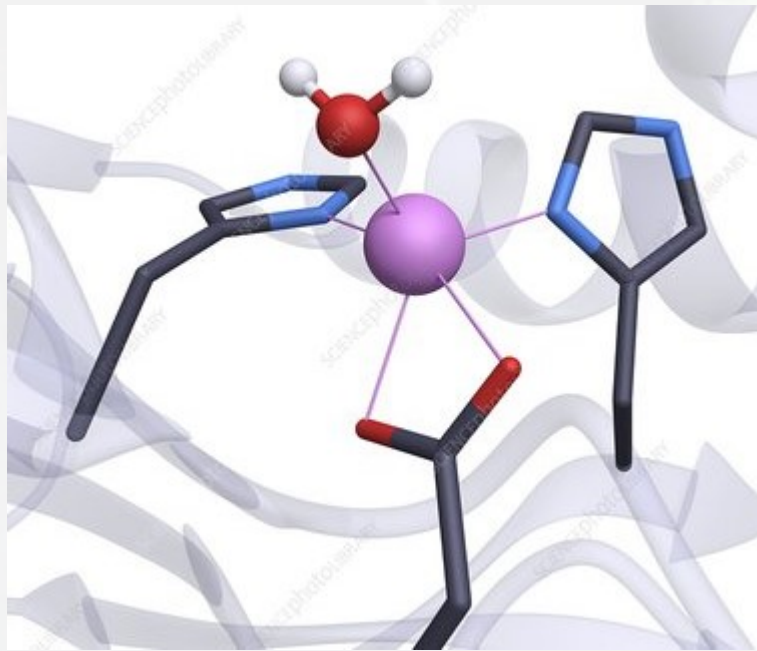
## Enzimas – Alta Eficiência

- ✓ Biopolímeros – Aminoácidos
- ✓ Biocatalizadores altamente específicos



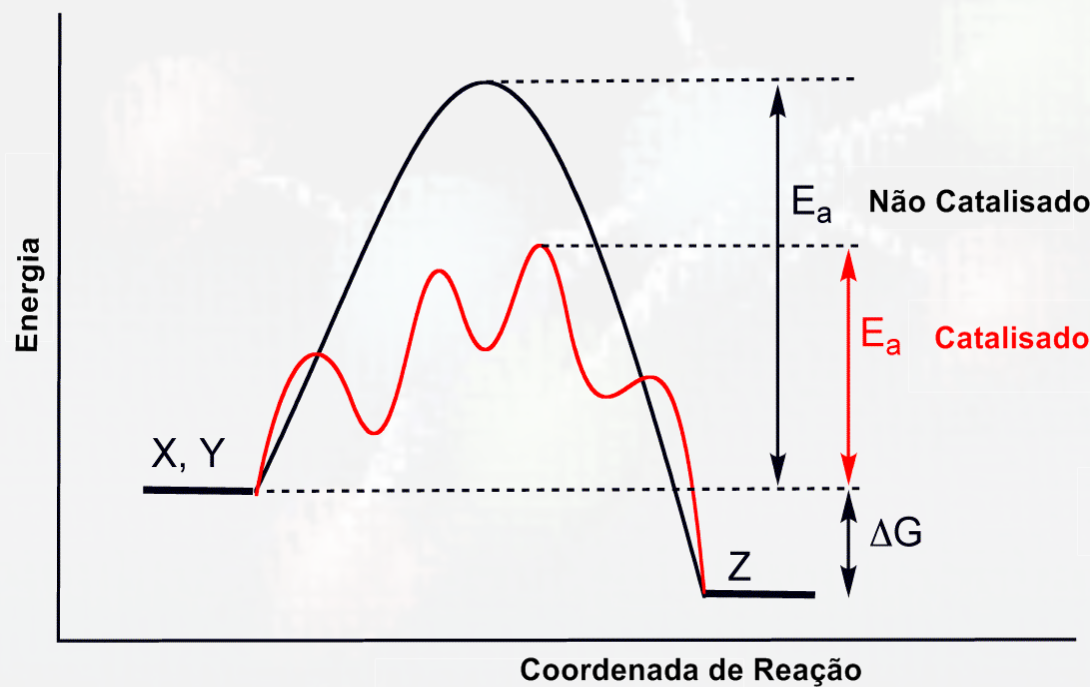
## Enzimas – Alta Eficiência

- ✓ Biopolímeros – Aminoácidos
- ✓ Biocatalizadores altamente específicos



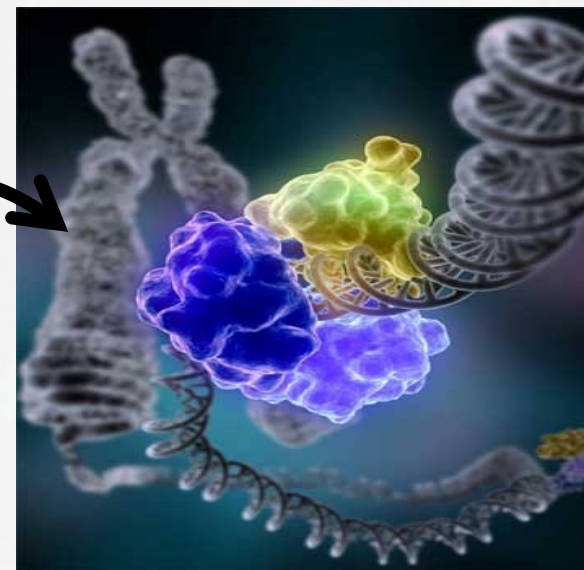
## Enzimas – Alta Eficiência

- ✓ Orientação - Favorecimento do estado de transição
- ✓ Diminuição da Energia ativação - Mecanismo



exemplo

DNA ligase ( $k_{\text{cat}}/k_{\text{esp}} \sim 10^{17}$ )



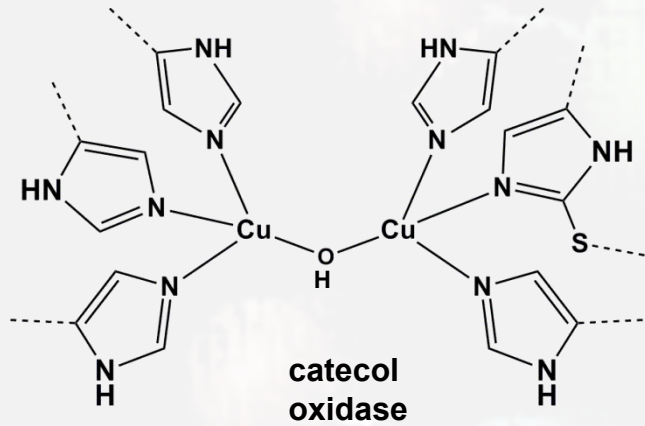
## Enzimas

As enzimas são classificadas segundo o tipo de reação que catalisam (IUBMB).

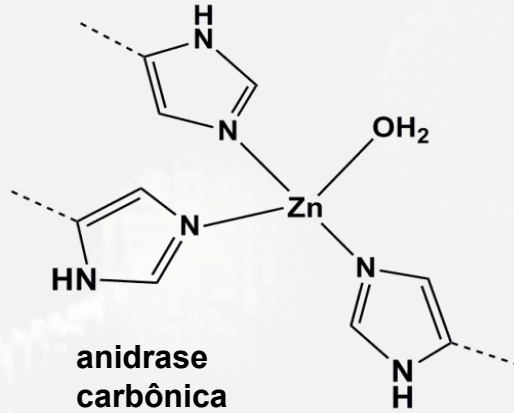
Enzimas	Reações que catalisam
Oxirredutases	Reações de transferência de elétrons;
Transferases	Reações de transferências de grupos aldeídicos, cetônicos, acila, fosforila etc.;
Hidrolases	Reações de hidrólise;
Liasas	Adição ou remoção de grupos a duplas ligações;
Isomerases	Reações de transferência de grupos dentro de moléculas produzindo formas isoméricas;
Ligases	Reação de formação de ligações C-C, C-S, C-O e C-N por reações de condensação acopladas a clivagem de ATP.

# Metaloenzimas

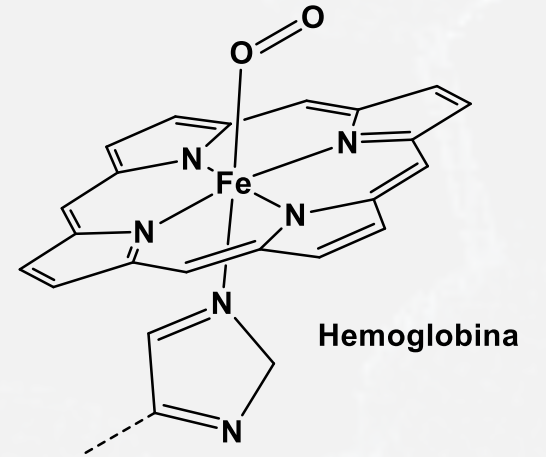
## Transferência de Elétrons



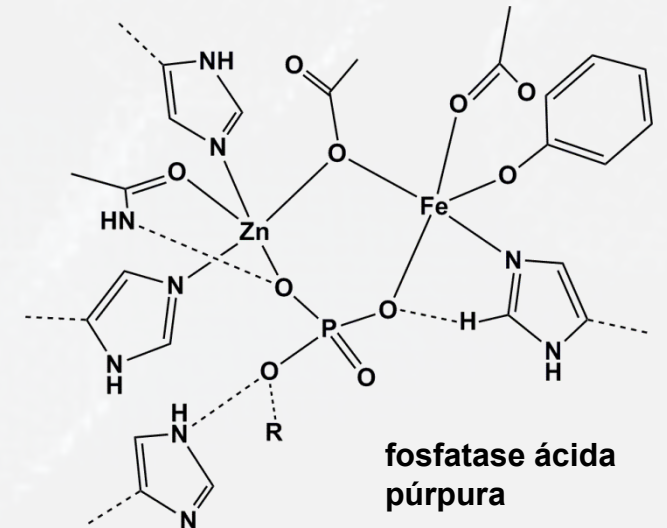
## Formação de nucleófilo (catálise ácido-base)



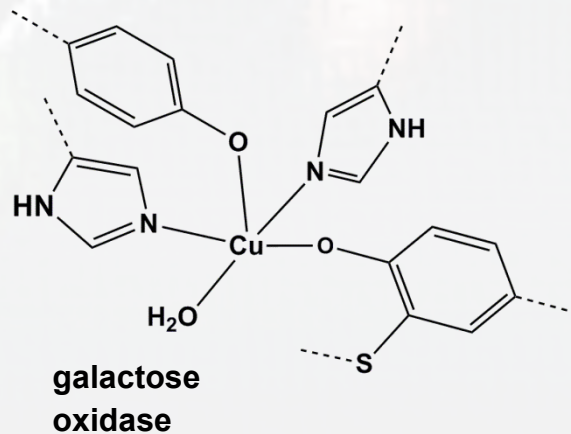
## Transporte de oxigênio



## Formação de nucleófilo, estabilização do substrato e produto (hidrólise)



## Estabilização de radical (oxirredução)

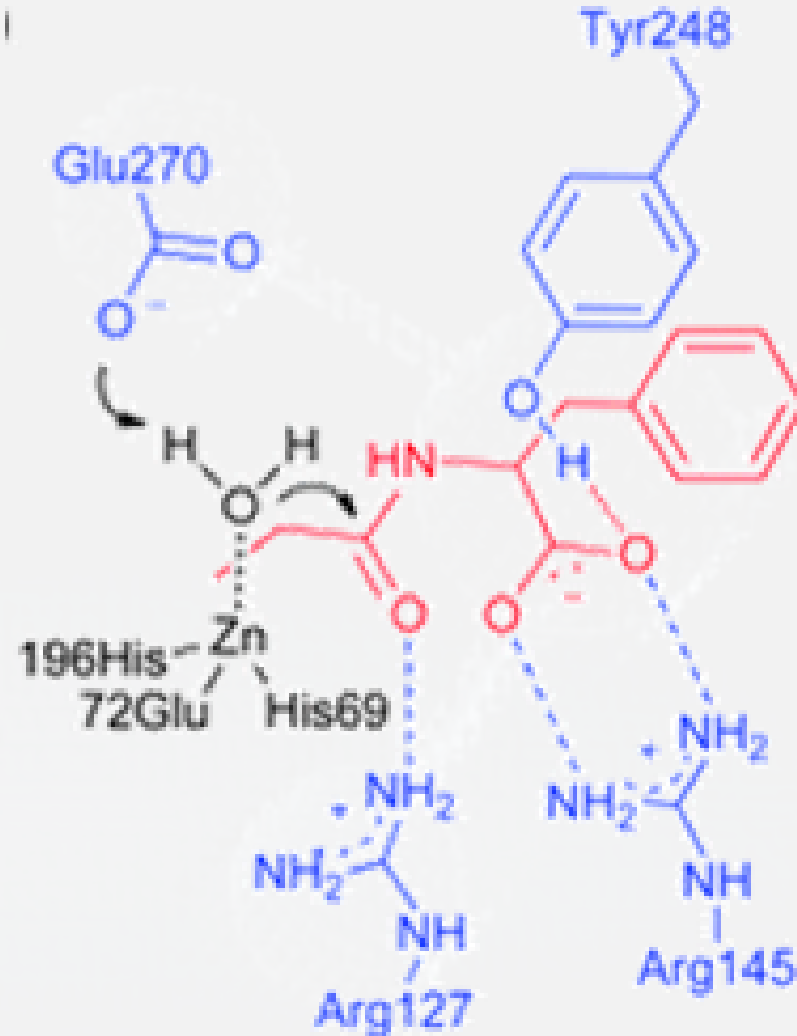
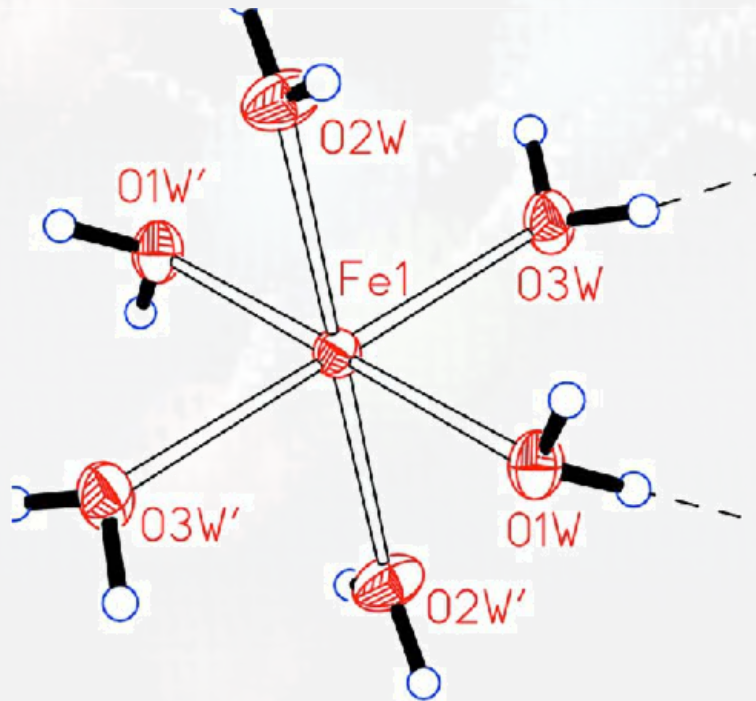


## Metaloenzimas - Hidrolases

Enzimas capazes de gerar grupos nucleofílicos em diferentes condições de pH para a quebra de ligações: C-N, C-C, C-O, N-O, P-O, etc.

Função: Acides de Lewis.

Função: Acides de Lewis  $\rightarrow$  H<sub>2</sub>O / OH





## ***Fosfatase Ácida Púrpura (PAP)***

Metalohidrolase heterobinuclear de valência mista – Hidrolisa ésteres de fosfato em condições ácidas de pH.

É encontrada em plantas e mamíferos – Filogeneticamente relacionadas



**Batata doce**



**Feijão Vermelho**

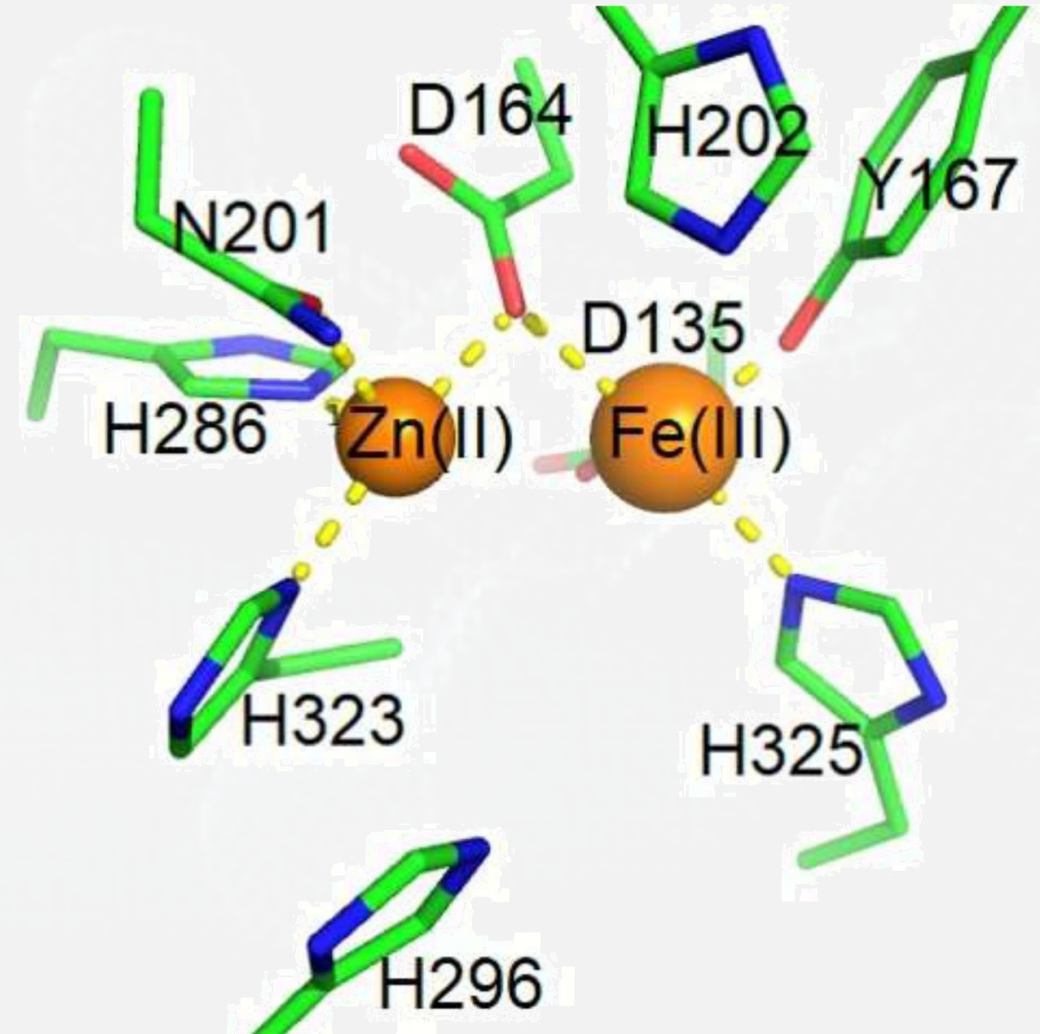
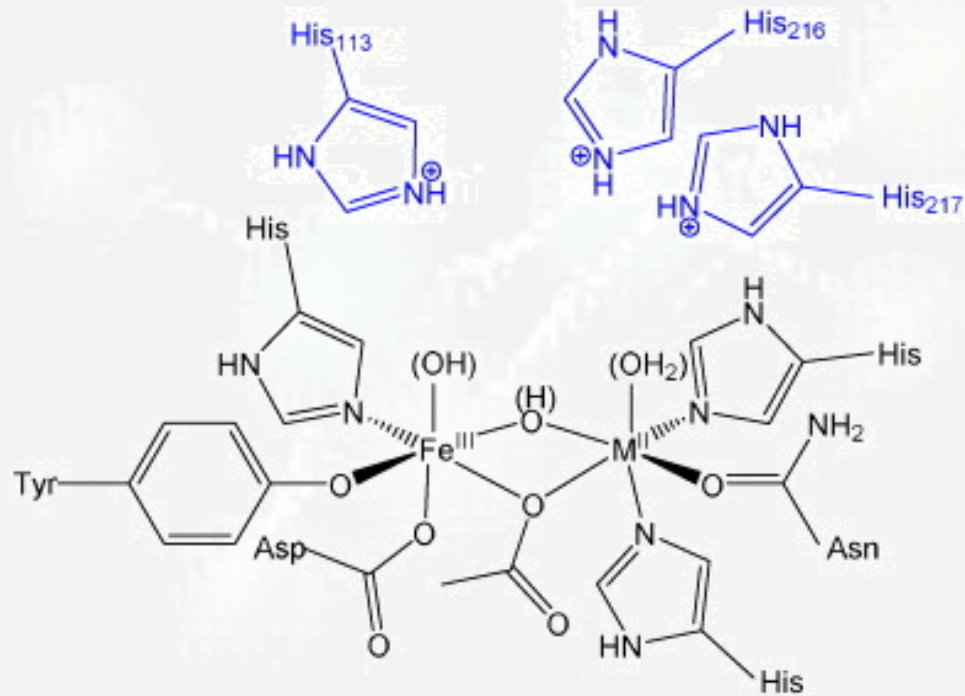


**Humana**

## Fosfatase Ácida Púrpura (PAP)

Metalohidrolase heterobinuclear de valência mista – Hidrolisa ésteres de fosfato em condições ácidas de pH.

Sítio Ativo –  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{M}^{\text{II}}$  (M = Fe, Zn, Mn)



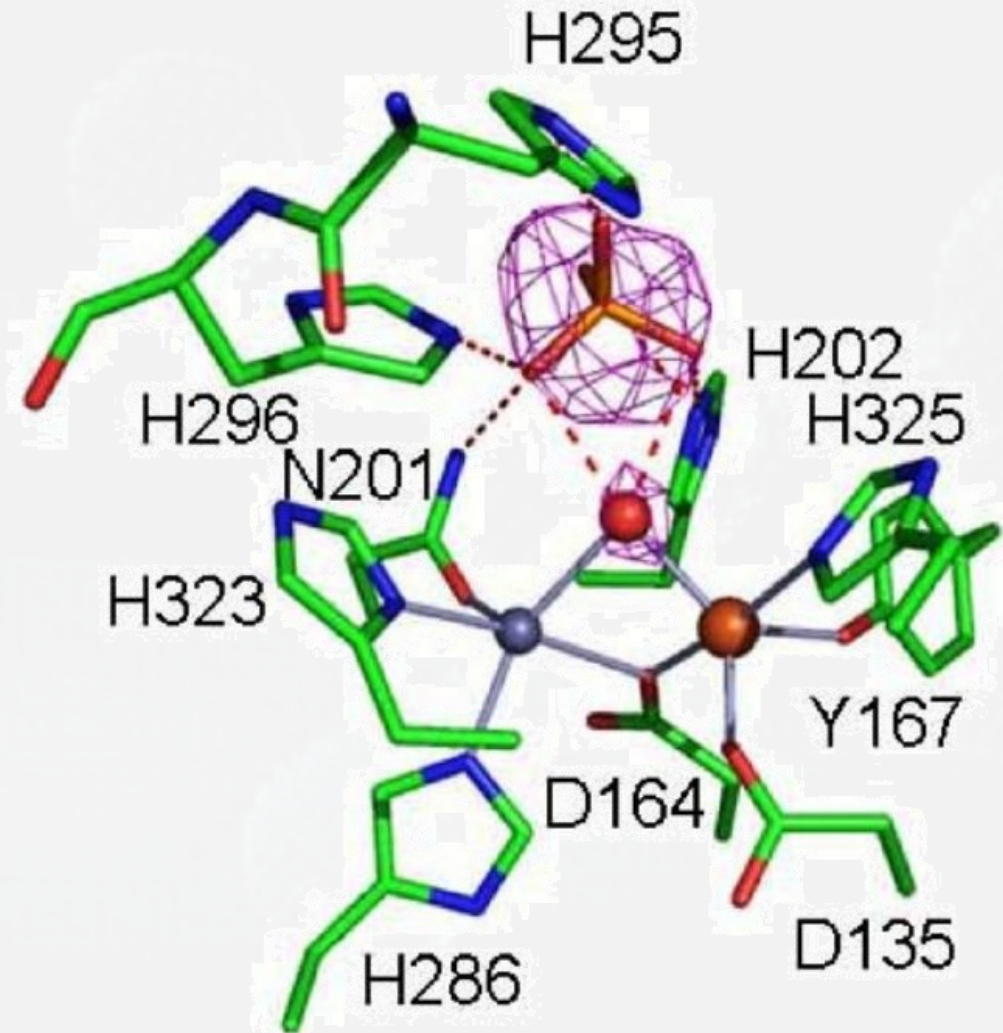
## Fosfatase Ácida Púrpura (PAP)

Metalohidrolase heterobinuclear de valência mista – Hidrolisa ésteres de fosfato em condições ácidas de pH.

Função do Metal 2+ - Sítio de ligação / ativação

Função do Metal 3+ - Acidez de Lewis ( $H_2O$ )

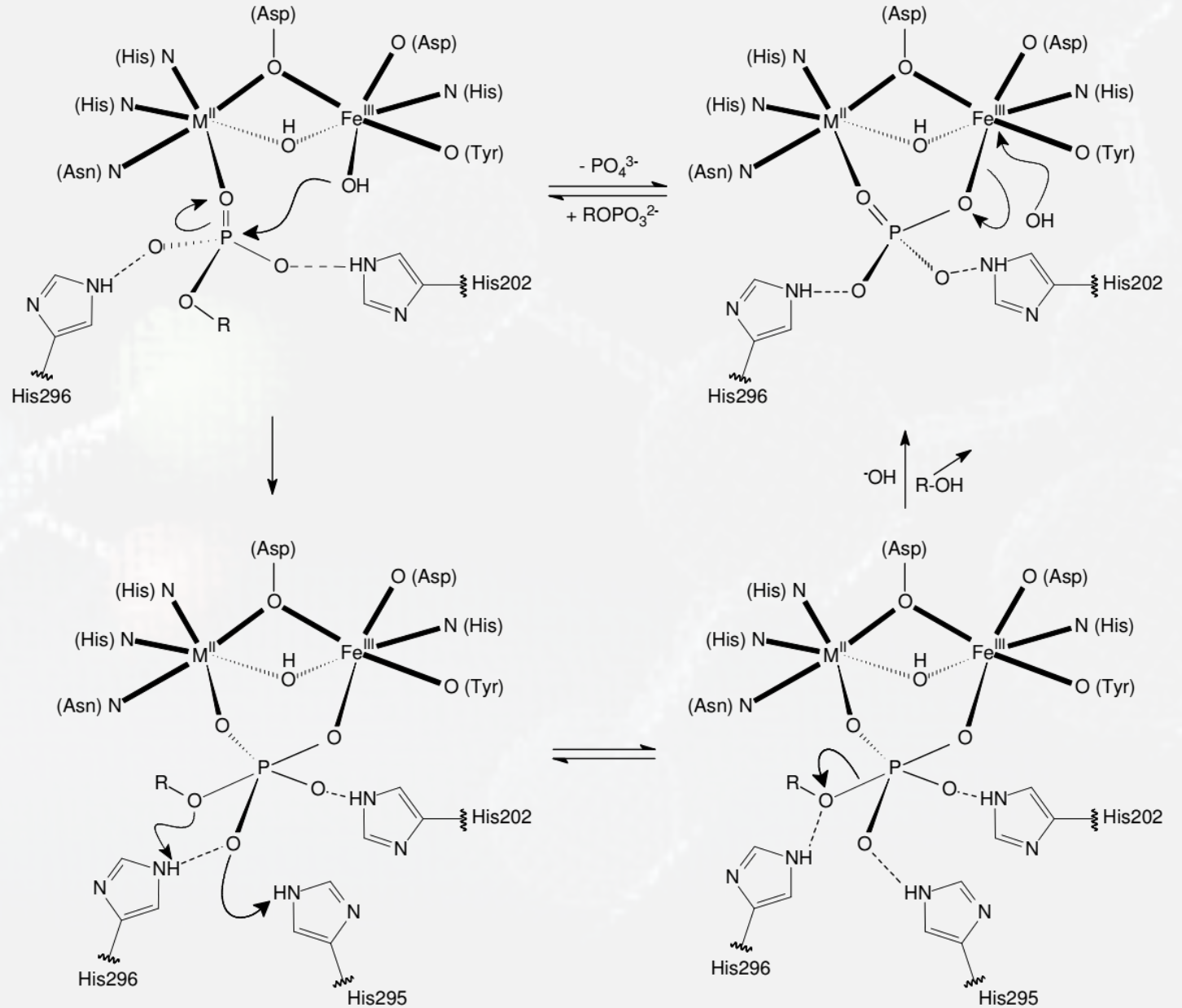
Característica -  $M^{III}$  vs.  $M^{II}$



# Fosfatase Ácida Púrpura (PAP)

Mecanismo:

Atuação cooperativa dos dois íons metálicos.

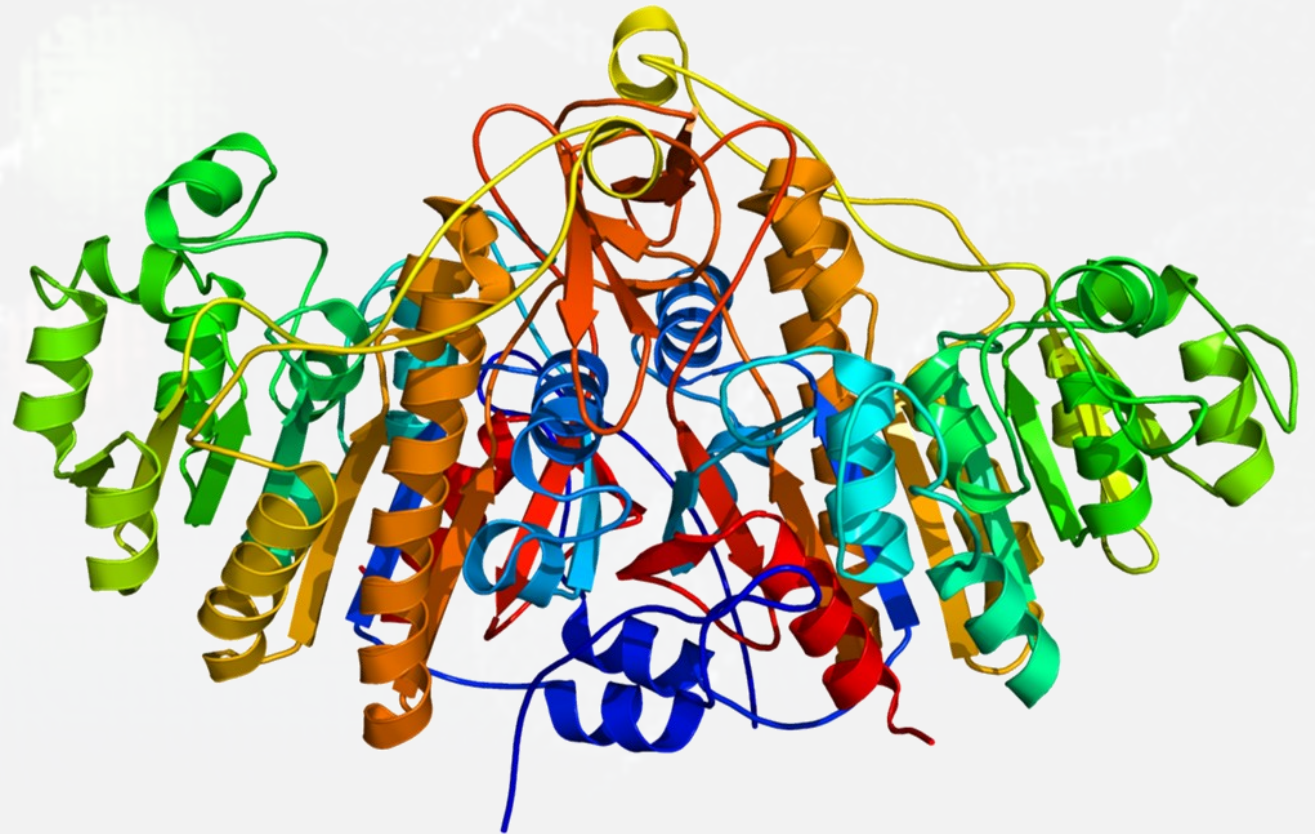


## *Fosfatase Alcalina*

A fosfatase alcalina (ALP) é uma enzima encontrada em vários tecidos do corpo.

A fosfatase alcalina é uma enzima proteica homodimérica de 86 kD. Cada monômero contém cinco resíduos de cisteína, dois átomos de zinco e um átomo de magnésio crucial para sua função catalítica, e é otimamente ativo em ambientes de pH alcalino.

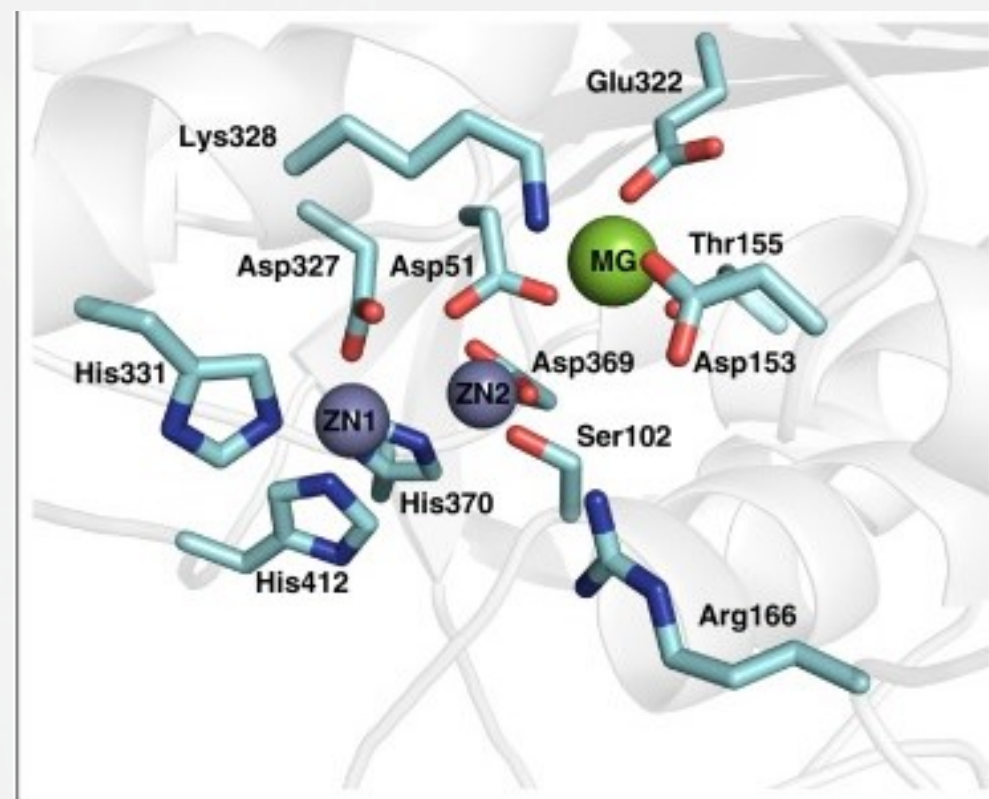
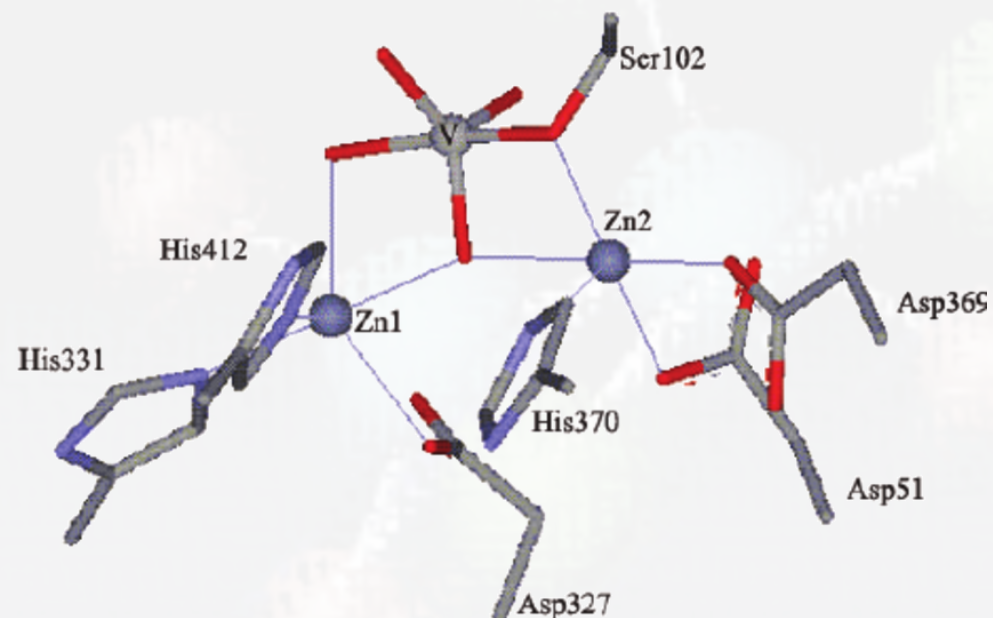
ALP tem o papel fisiológico de desfosforilar compostos.



## Fosfatase Alcalina

Zinco metalohidrolase – Agente desfosforilante.

Sítio ativo – binuclear de Zinco → Superfamília → Pequenas modificações em torno do sítio ativo.

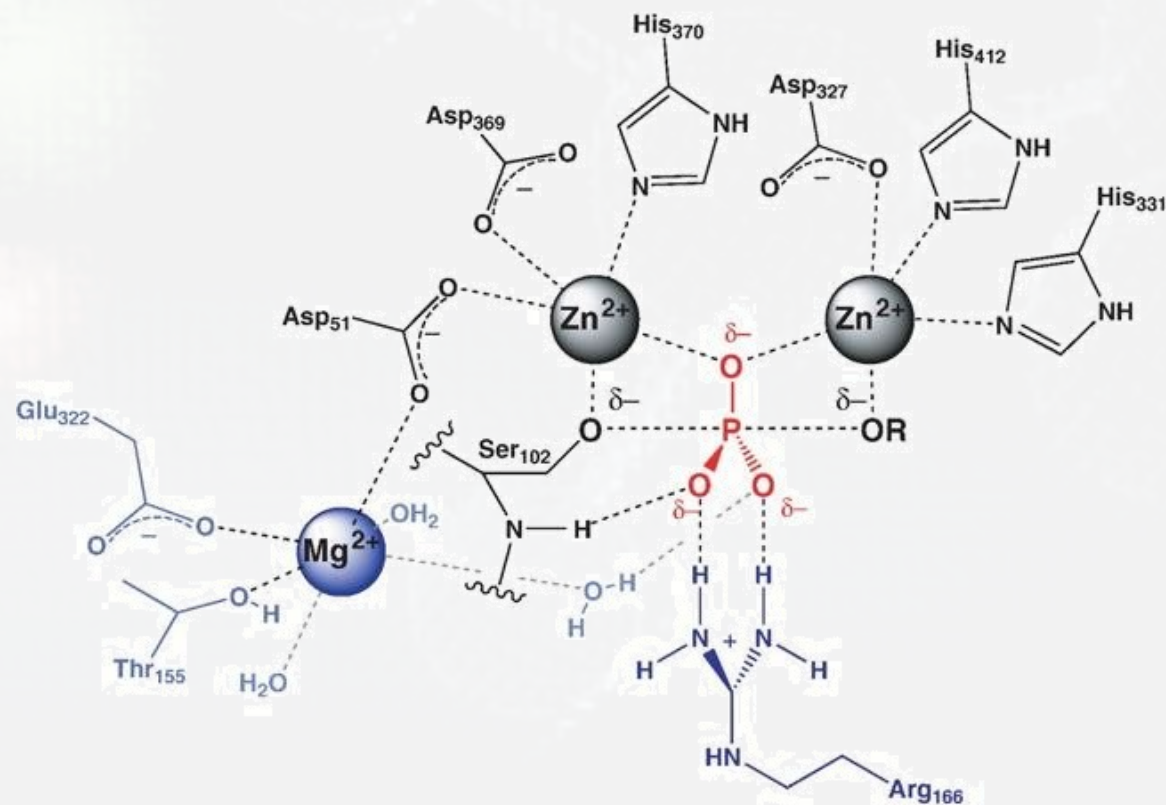
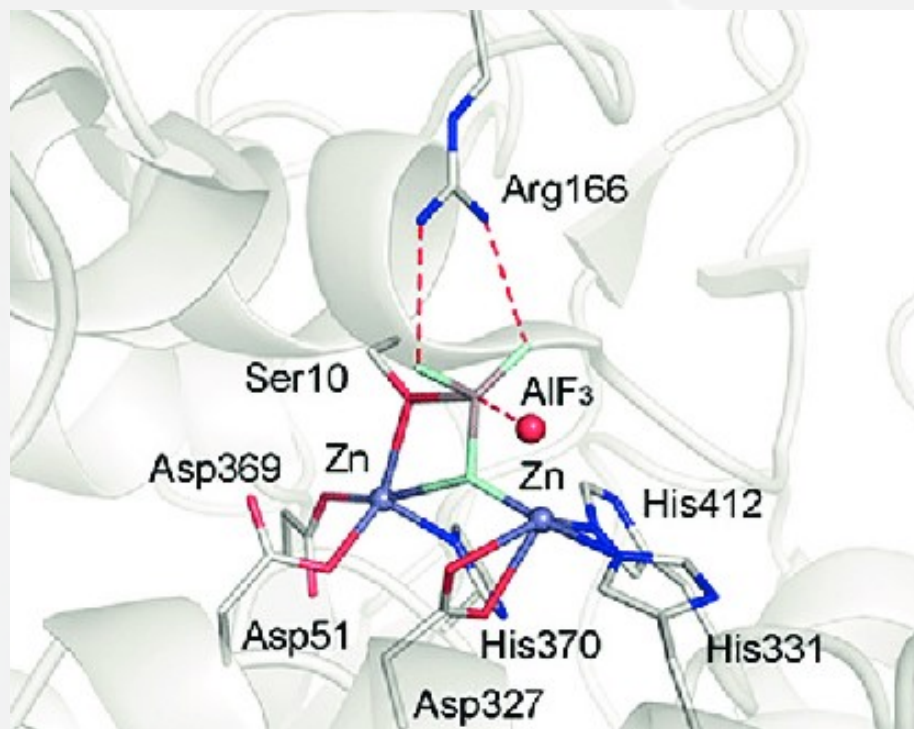


Função do metal – Sítio de ligação, orientação, ativação do substrato.

## Fosfatase Alcalina

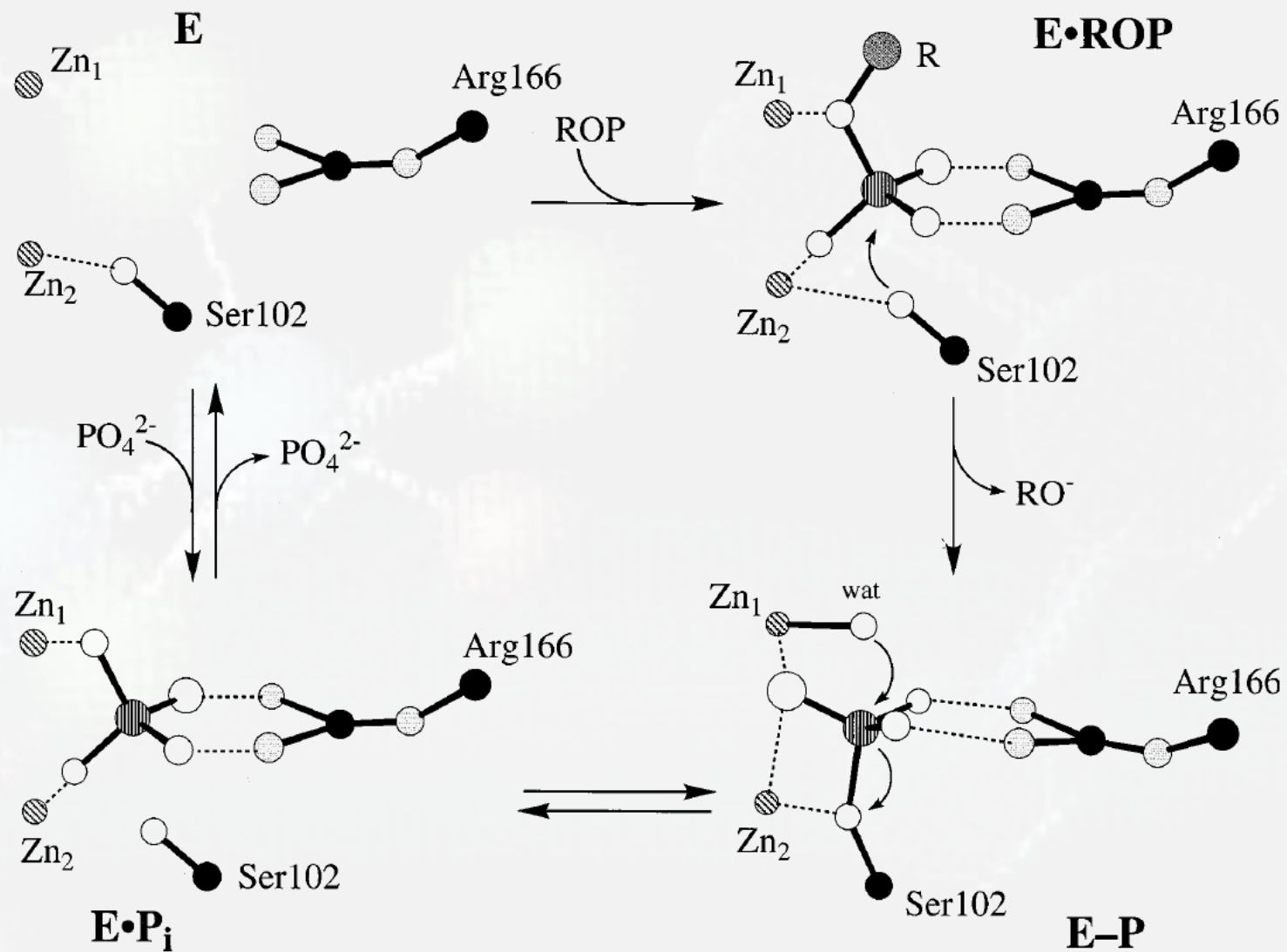
Zinco metalohidrolase – Agente desfosforilante.

Efeitos de Segunda esfera – Catálise altamente específica



# Fosfatase Alcalina

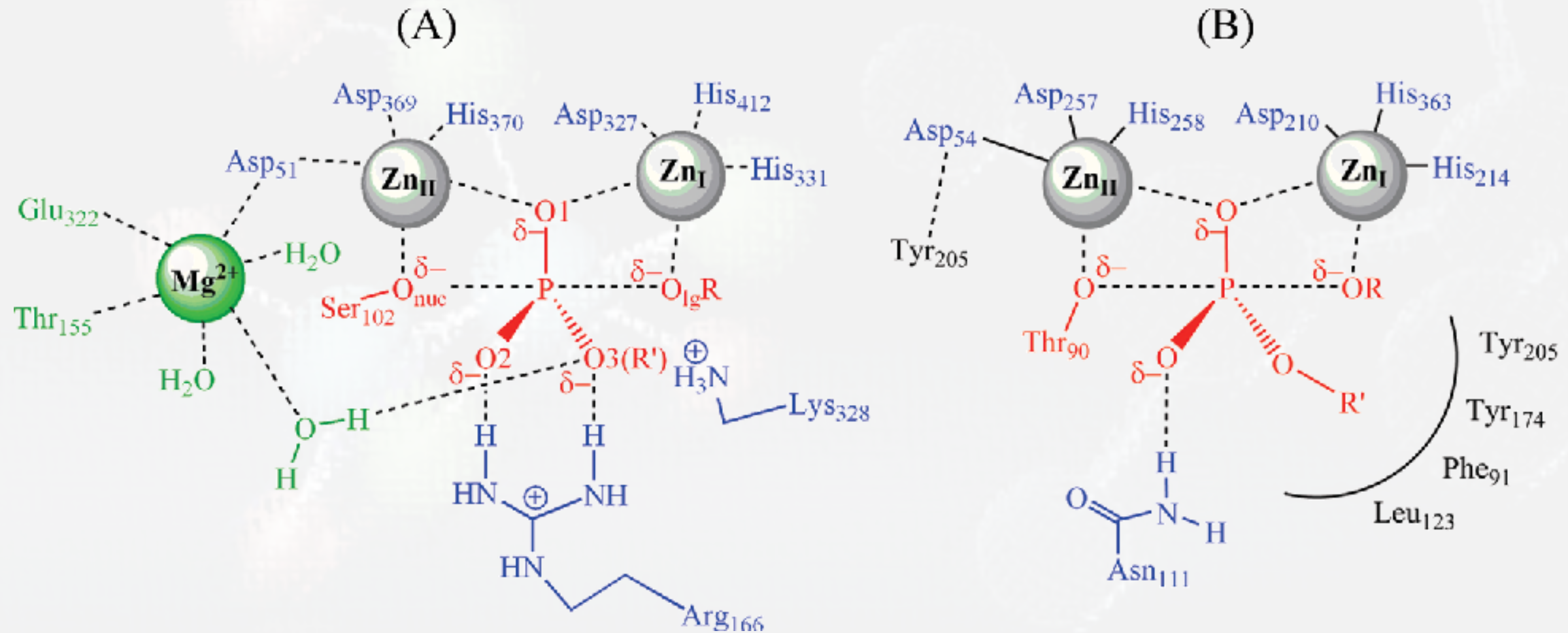
## Mecanismo hidrolítico





# Fosfatase Alcalina

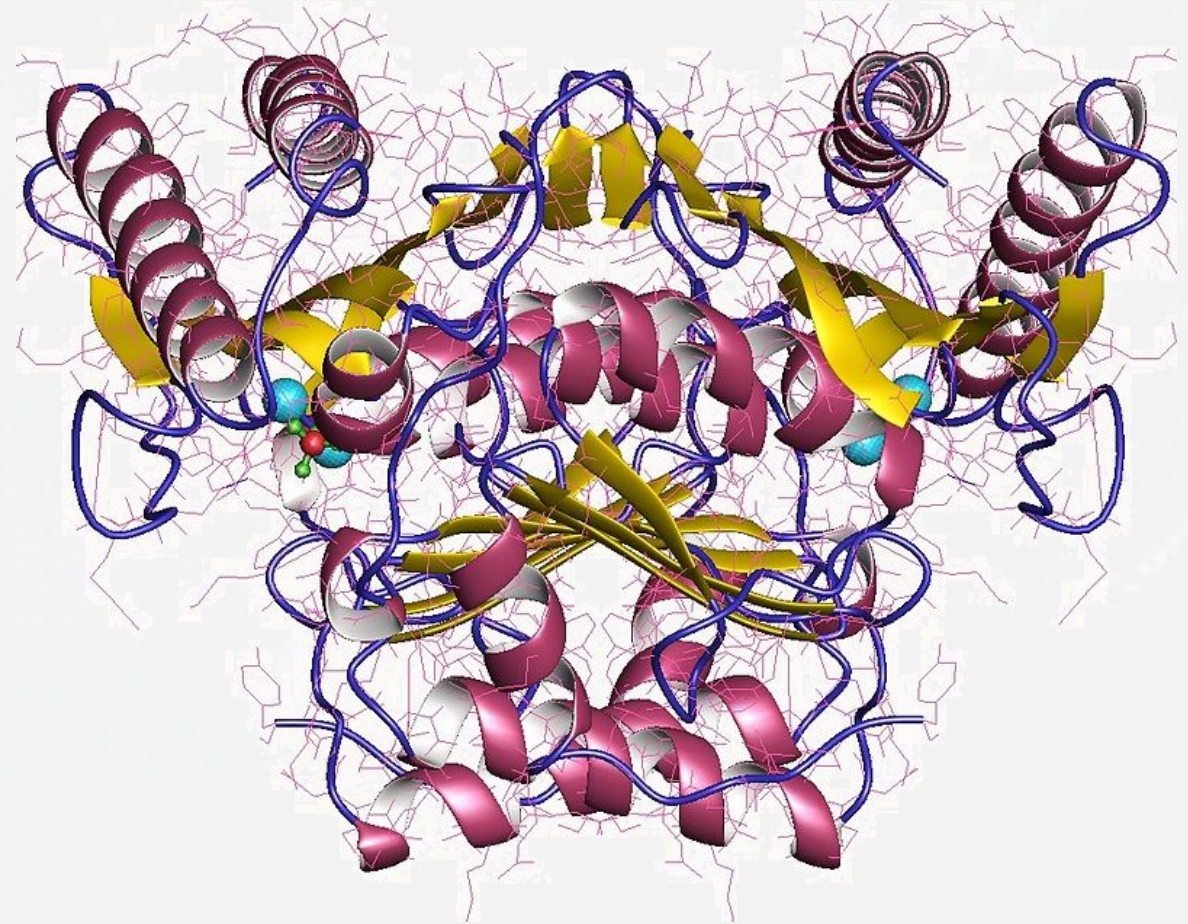
## Mecanismo hidrolítico



## ***Inositol monofosfatase***

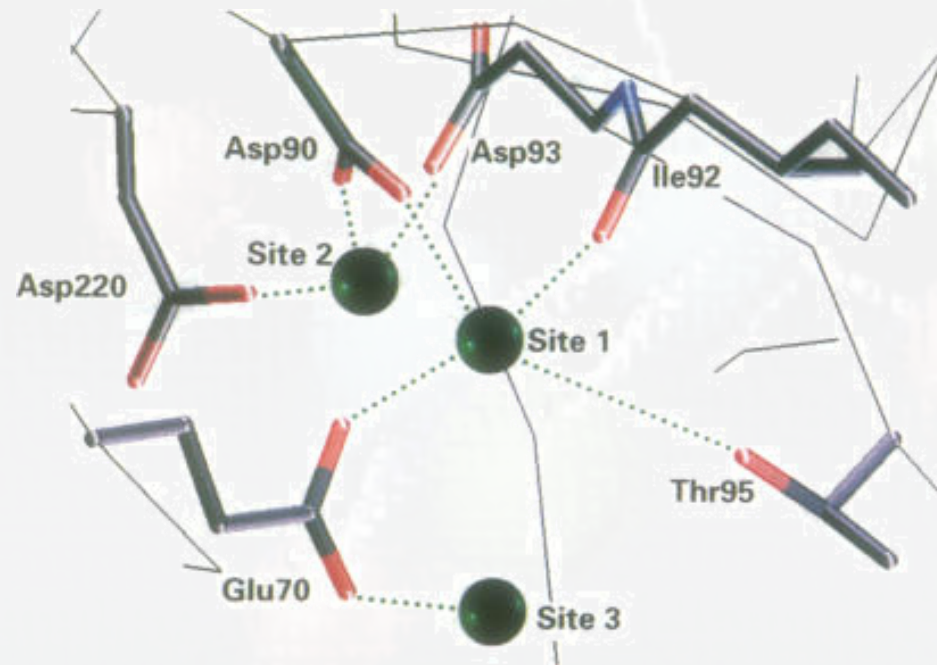
Inositol monofosfatase, comumente referido como IMPase, são enzimas da família de enzimas fosfodiesterase. Elas estão envolvidas na via de sinalização de fosfatidilinositol [PI], que afeta uma ampla gama de funções celulares, incluindo, crescimento celular, apoptose, secreção e processamento de informações.

A enzima é um dímero que compreende 277 resíduos de aminoácidos por subunidade. Cada dímero existe em 5 camadas de  $\alpha$ -hélices e folhas  $\beta$  alternadas, totalizando 9 hélices  $\alpha$  e folhas  $\beta$  por subunidade. IMPase tem três sítios ativos hidrofílicos ocultos, cada um dos quais se liga a moléculas de água e magnésio (Sítio ativo).

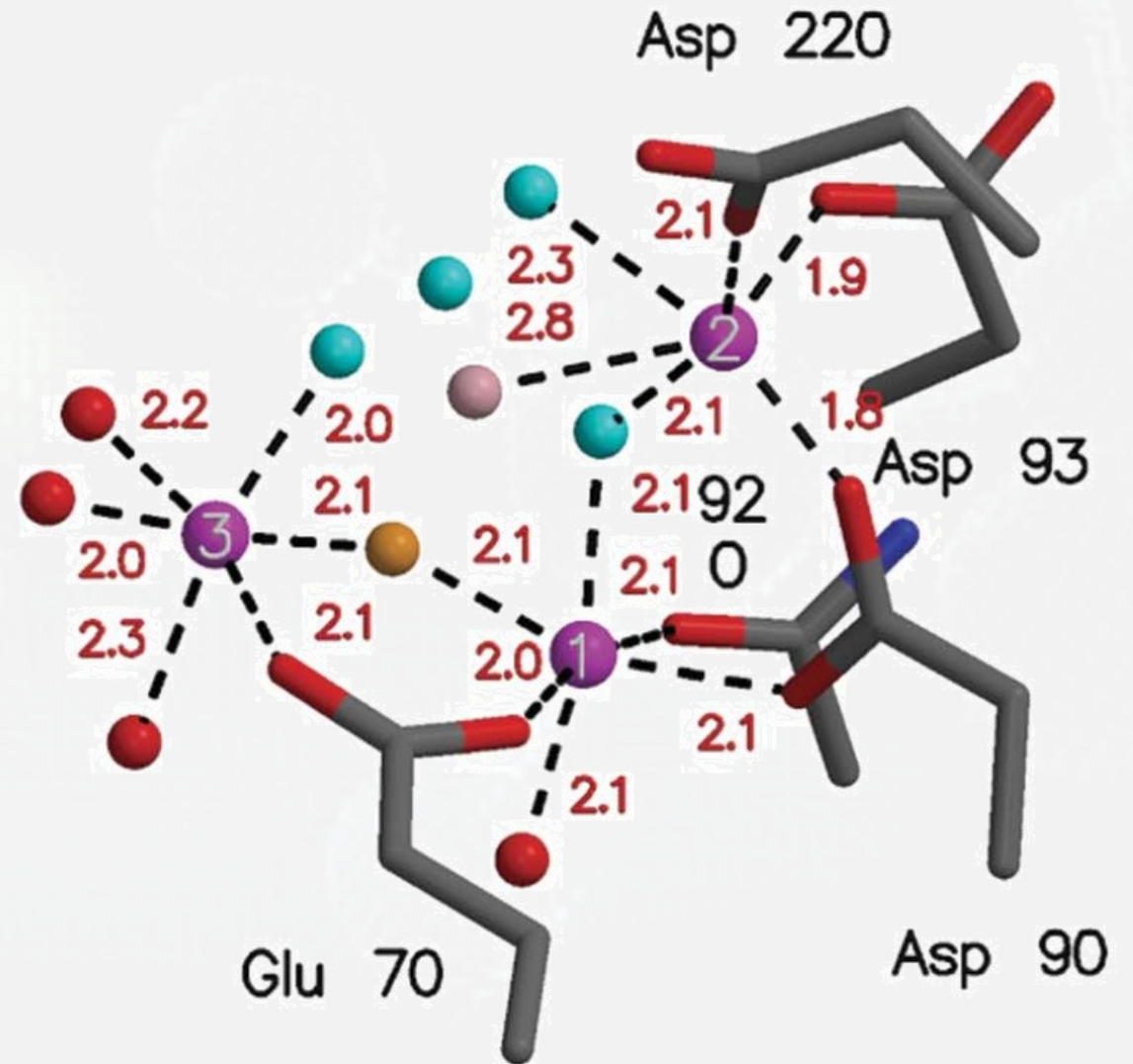


## Inositol monofosfatase

Sítio Ativo – Sítios trinucleares de Mg – Estrutura octaédrica (distorcida)



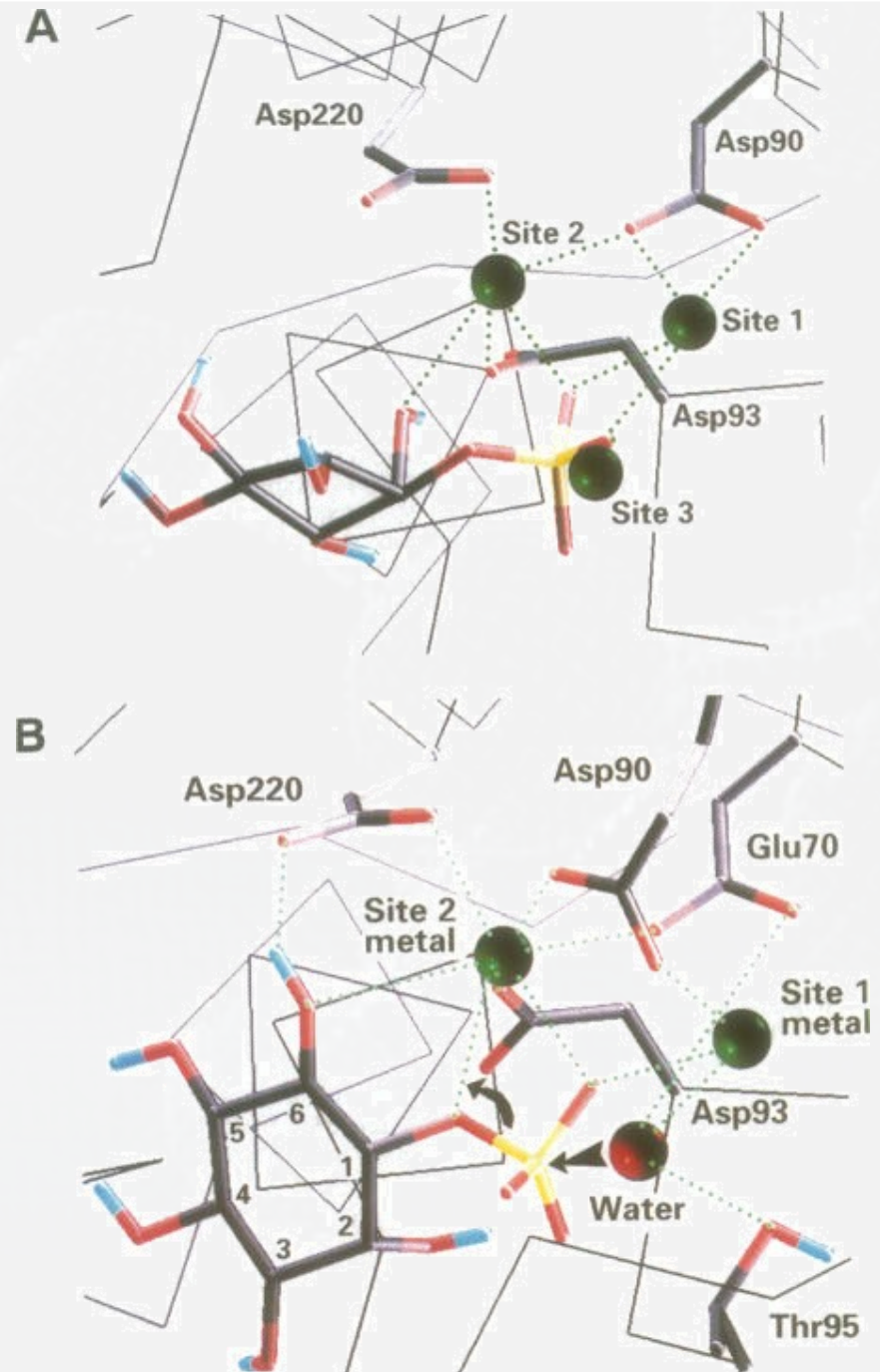
Simplificada



## Inositol monofosfatase

Mecanismo – Os sítios ativos são inicialmente preenchidos com átomos de Mg e moléculas de H<sub>2</sub>O.

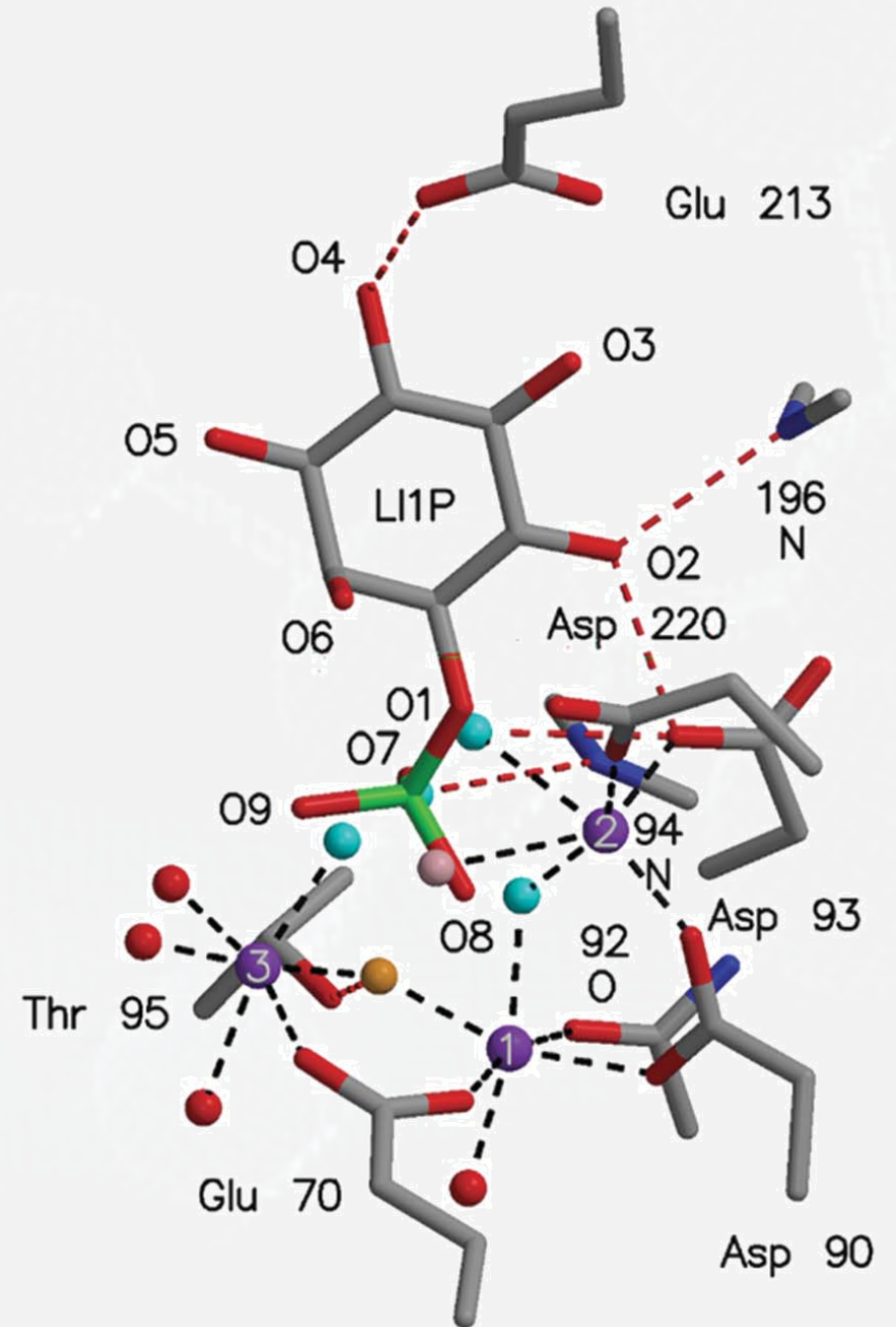
Depois que todos os três íons de magnésio se ligaram, a inositol monofosfatase pode se ligar, o grupo fosfato carregado negativamente estabilizado pelos três íons de magnésio carregados positivamente. Finalmente, uma molécula de água ativada atua como um nucleófilo e hidrolisa o substrato, dando inositol e fosfato inorgânico.



## Inositol monofosfatase

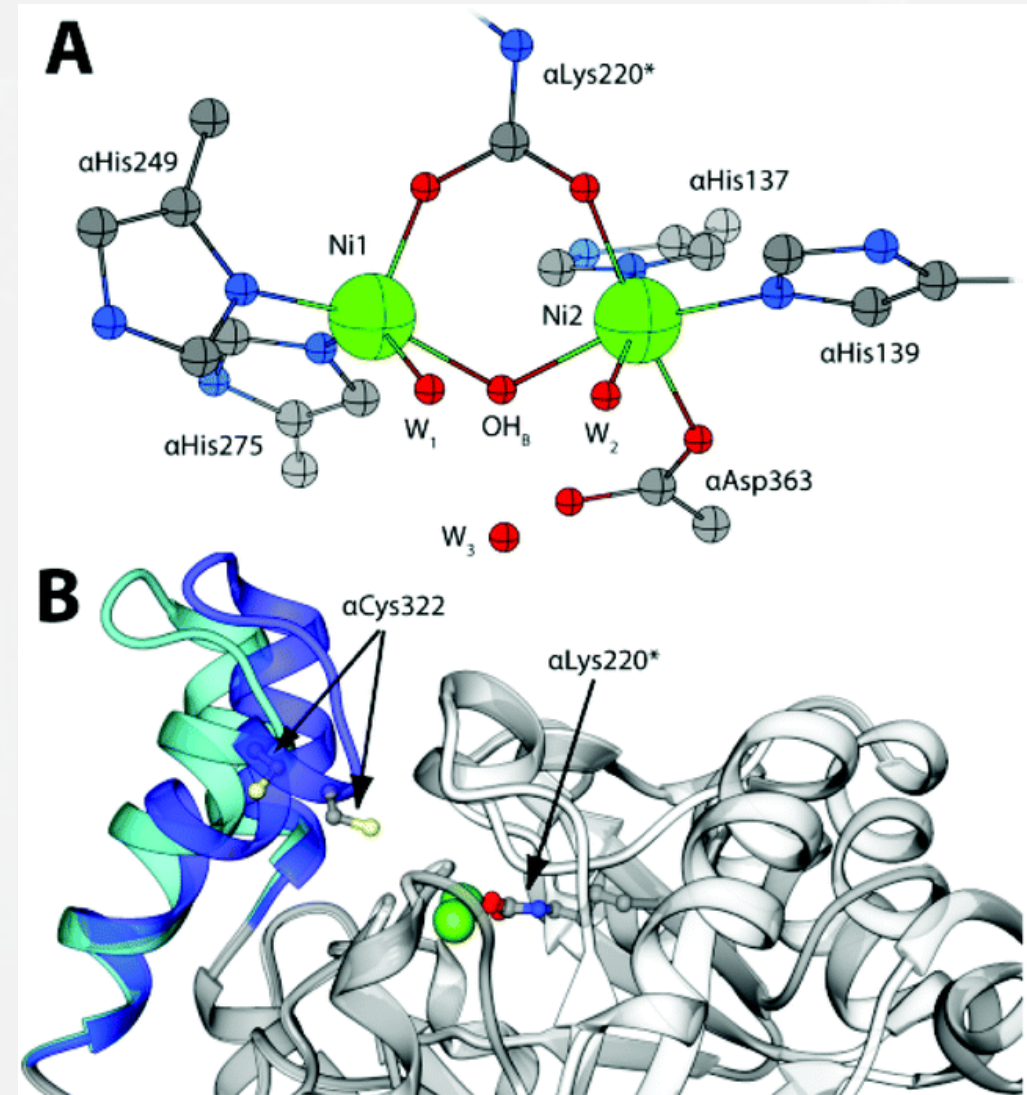
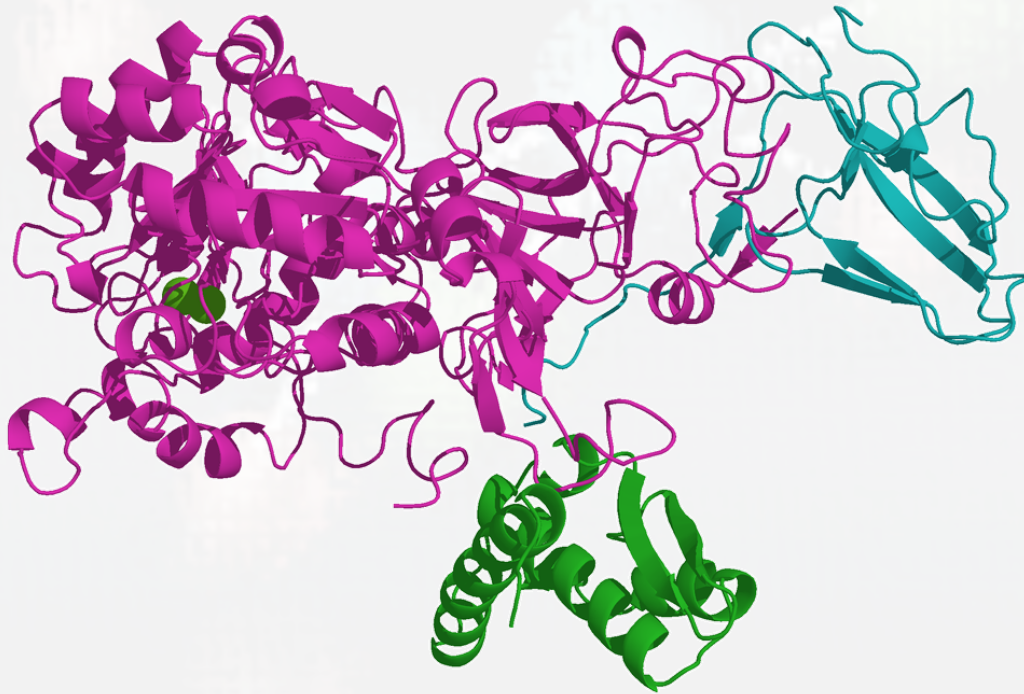
Mecanismo – Os sítios ativos são inicialmente preenchidos com átomos de Mg e moléculas de H<sub>2</sub>O.

Depois que todos os três íons de magnésio se ligaram, a inositol monofosfatase pode se ligar, o grupo fosfato carregado negativamente estabilizado pelos três íons de magnésio carregados positivamente. Finalmente, uma molécula de água ativada atua como um nucleófilo e hidrolisa o substrato, dando inositol e fosfato inorgânico.



## Urease

As ureases, funcionalmente, pertencem à superfamília das amidohidrolases e fosfotriesterases. As ureases são encontradas em inúmeras bactérias, fungos, algas, plantas e alguns invertebrados, bem como no solo, como uma enzima do solo. Eles são metaloenzimas contendo níquel de alto peso molecular



# Urease

Função do metal:  
Ativação do substrato e  
formação do nucleófilo

