

Bioquímica Geral

Sumário

Os aminoácidos: blocos precursores das proteínas

- Nomenclatura e classificação
- Os aminoácidos comuns e os derivados
- As propriedades físico-químicas
 - Isomeria óptica; absorção no UV; ionização
- Comportamento ácido/base dos aminoácidos
- Noção de carga formal e de ponto isoeléctrico
- Curvas de titulação dos aminoácidos

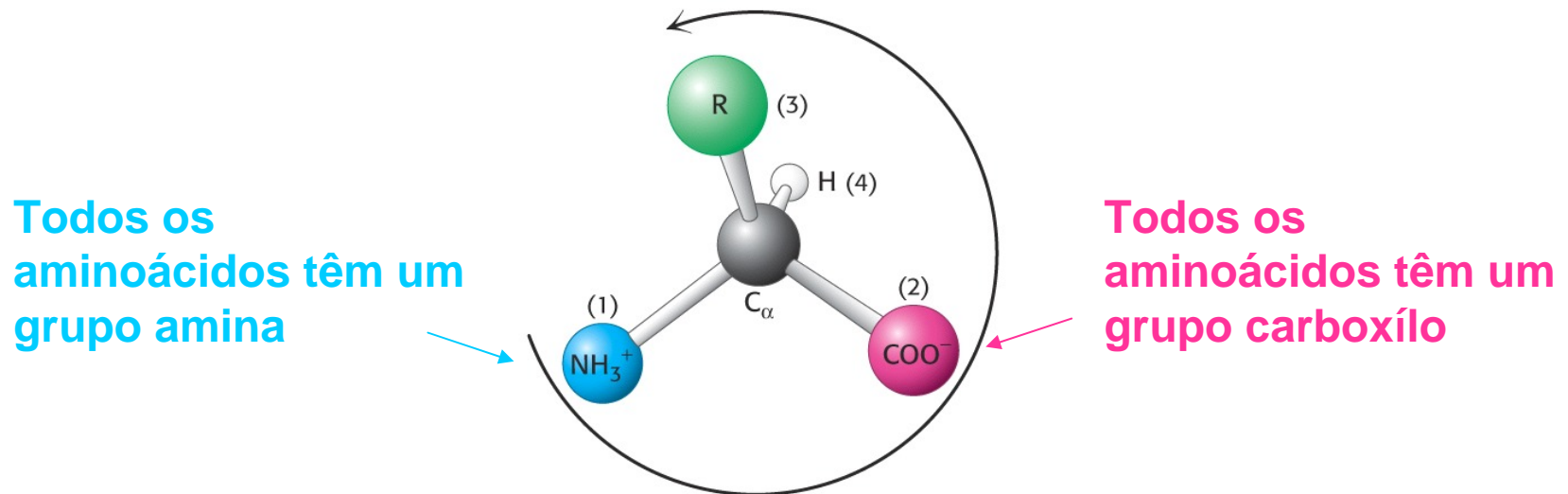
As proteínas são polímeros lineares de aminoácidos

Ligação peptídica

Propriedades ácido/base dos péptidos e proteínas

As proteínas são polímeros lineares

As proteínas são as moléculas mais versáteis dos sistemas vivos. São constituídas por 20 L-aminoácidos diferentes.

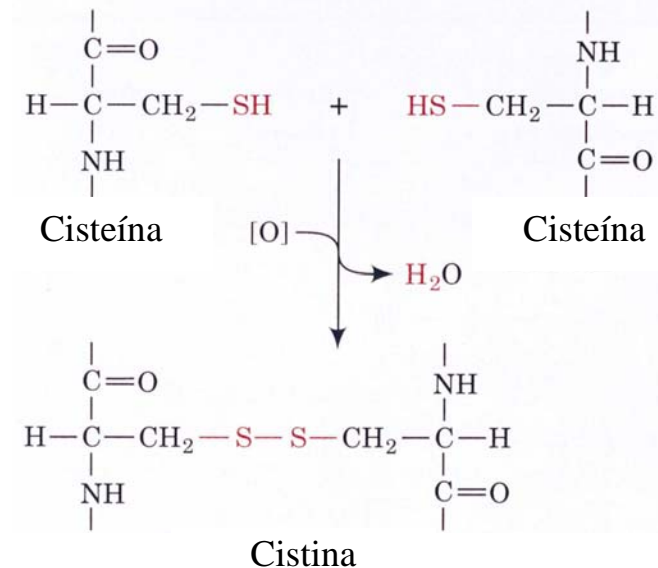
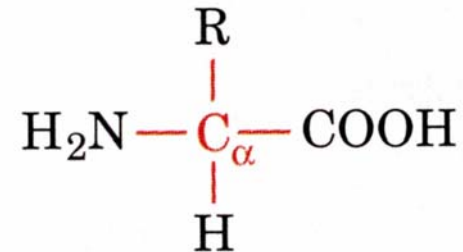


O grupo R (cadeia lateral) varia em tamanho, carga, capacidade de formar ligações de hidrogénio, carácter hidrofóbico e reactividade.

Os aminoácidos

⇒ Existem dois tipos de aminoácidos: os aminoácidos **COMUNS** e os **DERIVADOS**.

- Os **aminoácidos comuns** (20 a.a.) → síntese de proteínas ; codificados por pelo menos um codão;
- Os **aminoácidos derivados** resultam de uma modificação química específica de um aminoácido comum, numa reacção catalisada por uma enzima (normalmente o aminoácido comum já se encontra incorporado na proteína)
 - Tipos de reacções de modificação química: hidroxilação, metilação, acetilação, carboxilação e fosforilação.



Nomenclatura / Classificação dos a.a. comuns

⇒ Classificação com base na polaridade:

- Aminoácidos que contêm grupos **não-polares** (hidrofóbicos)
 - $R \equiv$ grupo alifáticos: A, I, L, M, P, V
 - $R \equiv$ grupo aromáticos: F e W
- Aminoácidos com grupos **polares neutros** (podem participar em ligações de hidrogénio): N, C, Q, G, S, T, Y
- Aminoácidos **polares carregados positivamente**: R, K H,
- Aminoácidos **polares carregados negativamente**: D, E

NOMENCLATURA DOS AMINOÁCIDOS

Aminoácido	Abreviatura	
	3 letras	1 letra
Alanina	Ala	A
Arginina	Arg	R
Ácido aspártico	Asp	D
Asparagina	Asn	N
Cisteína	Cis	C
Glicina	Gli	G
Ácido glutâmico	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
Histidina	His	H
Isoleucina	Ile	I
Leucina	Leu	L
Lisina	Lis	K
Metionina	Met	M
Fenilalanina	Fen	F
Prolina	Pro	P
Serina	Ser	S
Treonina	Tre	T
Triptofano	Trp	W
Tirosina	Tir	Y
Valina	Val	V

Aminoácidos comuns

Name, Three-letter Symbol, and One-letter Symbol	Structural Formula ^a	Residue Mass (D) ^b	Average Occurrence in Proteins (%) ^c	pK ₁ α-COOH ^d	pK ₂ α-NH ₃ ⁺ ^d	pK _R Side chain ^d
Amino acids with nonpolar side chains						
Glycine Gly G		57.0	7.2	2.35	9.78	
Alanine Ala A		71.1	7.8	2.35	9.87	
Valine Val V		99.1	6.6	2.29	9.74	
Leucine Leu L		113.2	9.1	2.33	9.74	
Isoleucine Ile I		113.2	5.3	2.32	9.76	
Methionine Met M		131.2	2.2	2.13	9.28	
Proline Pro P		97.1	5.2	1.95	10.64	
Phenylalanine Phe F		147.2	3.9	2.20	9.31	
Tryptophan Trp W		186.2	1.4	2.46	9.41	

^a The ionic forms shown are those predominating at pH 7.0 although residue mass is given for the neutral compound. The C_α atoms, as well as those atoms marked with an asterisk, are chiral centers with configurations as indicated according to Fischer projection formulas. The standard organic numbering system is provided for heterocycles.

^b The residue masses are given for the neutral residues. For the molecular masses of the parent amino acids, add 18.0 D, the molecular mass of H₂O, to the residue masses. For side chain masses, subtract 56.0 D, the formula mass of a peptide group, from the residue masses.

^c Calculated from a database of nonredundant proteins containing 300,688 residues as compiled by Doolittle, R. F. in Fasman, G. D. (Ed.), *Predictions of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation*, Plenum Press (1989).

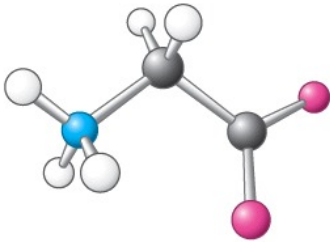
^d Source: Dawson, R.M.C., Elliott, D.C., Elliott, W.H. and Jones, K.M., *Data for Biochemical Research* (3rd ed.), pp. 1–31, Oxford Science Publications (1986).

^e The three- and one-letter symbols for asparagine or aspartic acid are Asx and B, whereas for glutamine or glutamic acid they are Glx and Z. The one-letter symbol for an undetermined or “nonstandard” amino acid is X.

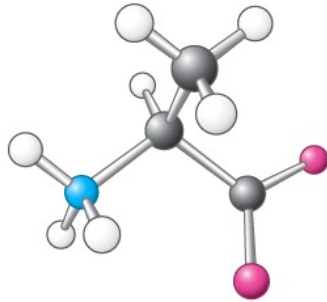
Name, Three-letter Symbol, and One-letter Symbol	Structural Formula ^a	Residue Mass (D) ^b	Average Occurrence in Proteins (%) ^c	pK ₁ α-COOH ^d	pK ₂ α-NH ₃ ⁺ ^d	pK _R Side chain ^d
Amino acids with uncharged polar side chains						
Serine Ser S		87.1	6.8	2.19	9.21	
Threonine Thr T		101.1	5.9	2.09	9.10	
Asparagine ^e Asn N		114.1	4.3	2.14	8.72	
Glutamine ^e Gln Q		128.1	4.3	2.17	9.13	
Tyrosine Tyr Y		163.2	3.2	2.20	9.21	10.46 (phenol)
Cysteine Cys C		103.1	1.9	1.92	10.70	8.37 (sulfhydryl)
Amino acids with charged polar side chains						
Lysine Lys K		128.2	5.9	2.16	9.06	10.54 (ε-NH ₃ ⁺)
Arginine Arg R		156.2	5.1	1.82	8.99	12.48 (guanidino)
Histidine His H		137.1	2.3	1.80	9.33	6.04 (imidazole)
Aspartic acid ^e Asp D		115.1	5.3	1.99	9.90	3.90 (β-COOH)
Glutamic acid ^e Glu E		129.1	6.3	2.10	9.47	4.07 (γ-COOH)

Glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina e metionina:

Glycine
(Gly, G)

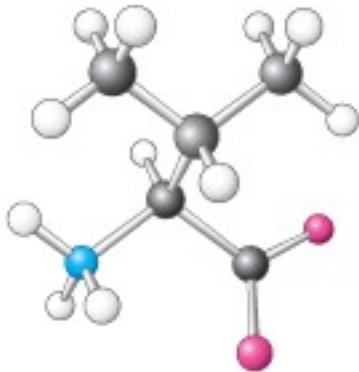


Alanine
(Ala, A)

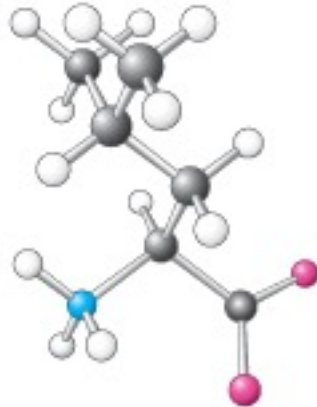


aminoácidos apolares com
cadeias laterais alifáticas

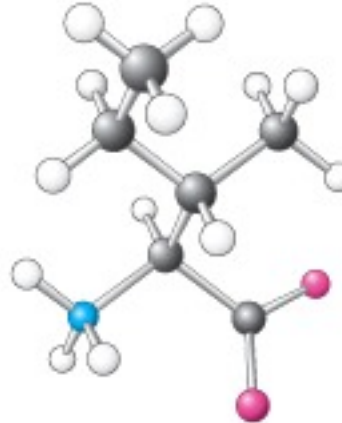
Valine
(Val, V)



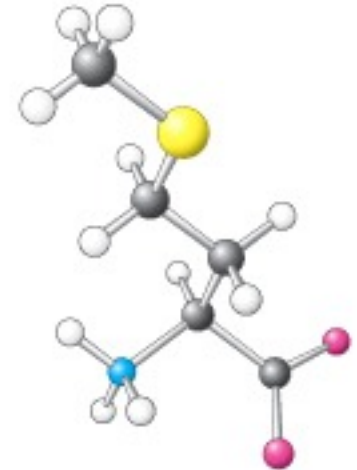
Leucine
(Leu, L)



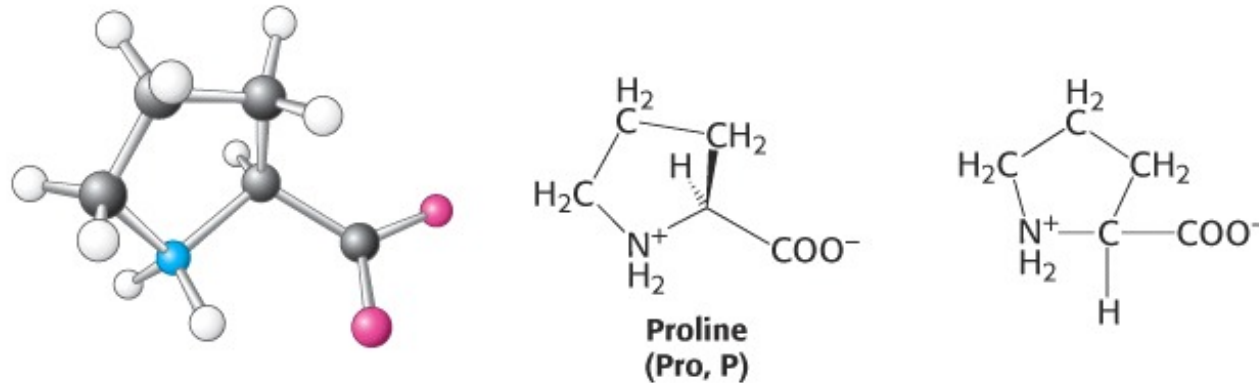
Isoleucine
(Ile, I)



Methionine
(Met, M)



Prolina: um 'aminoácido' com estrutura cíclica

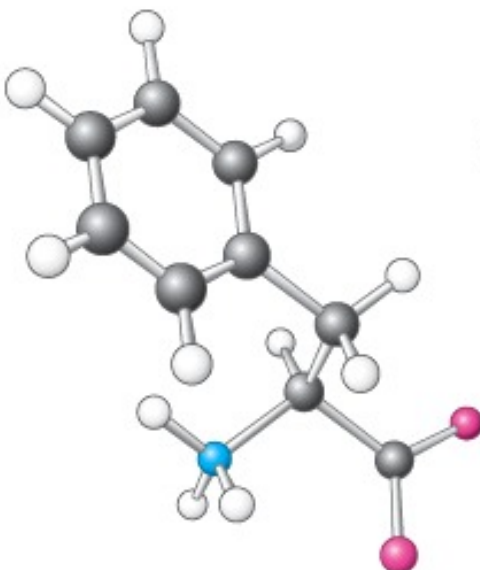


A prolina influencia muito a arquitetura das proteínas porque a sua estrutura cíclica causa restrições conformacionais.

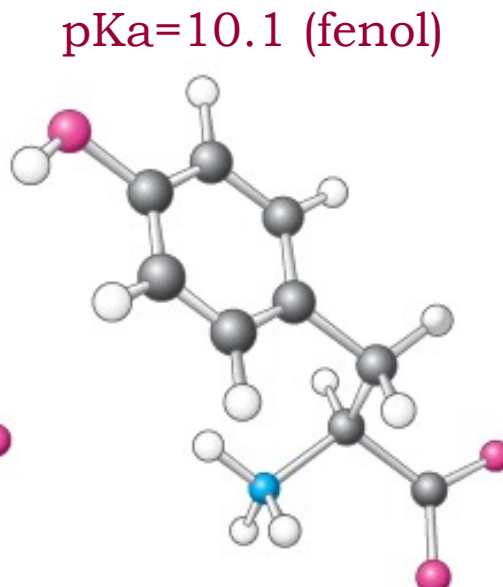
Fenilalanina, tirosina e triptofano

aminoácidos com cadeia lateral aromática

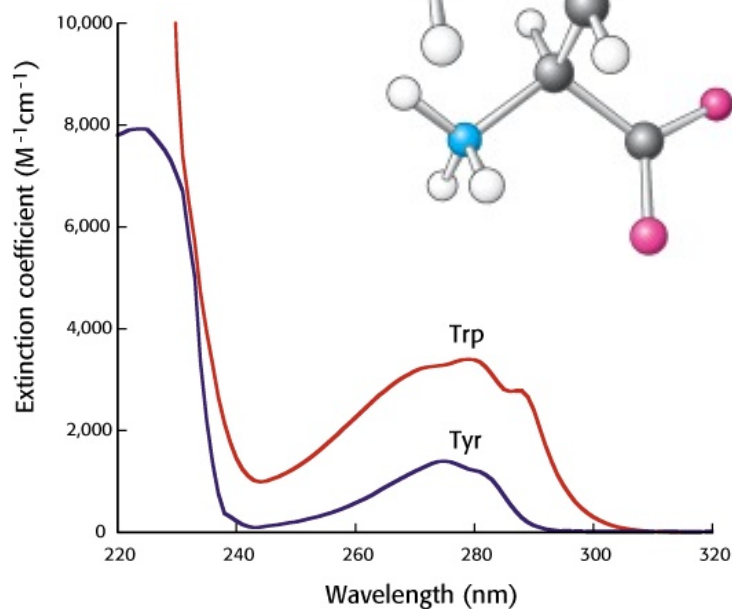
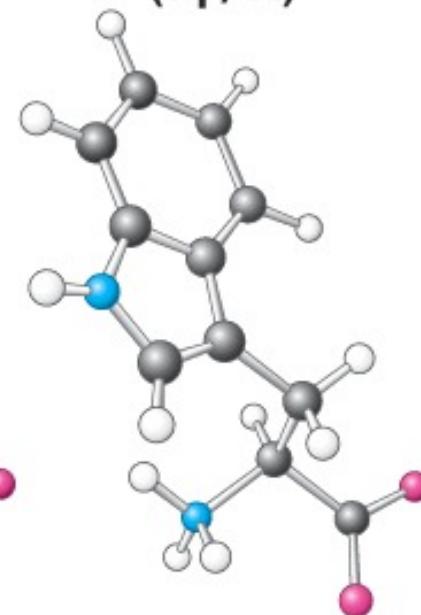
Phenylalanine
(Phe, F)



Tyrosine
(Tyr, Y)



Tryptophan
(Trp, W)



$$\epsilon_{276\text{nm}} = 1400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

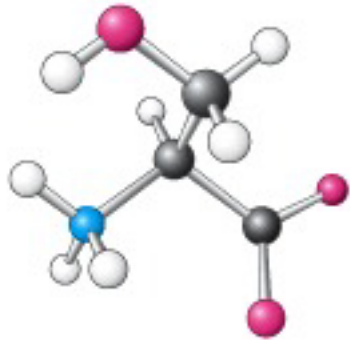
$$\epsilon_{280\text{nm}} = 3400 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$$

Lei de Lambert-Beer
 $A = \epsilon b [C]$

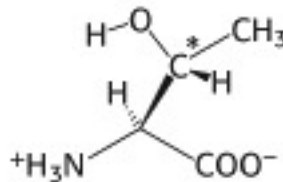
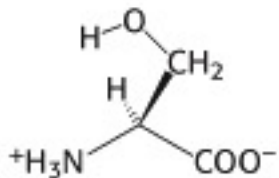
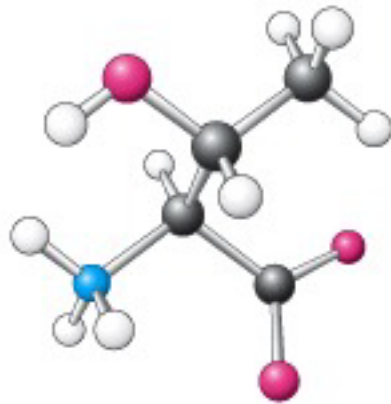
Serina e Treonina

aminoácidos alifáticos
com grupos hidroxilo
(OH)

**Serine
(Ser, S)**



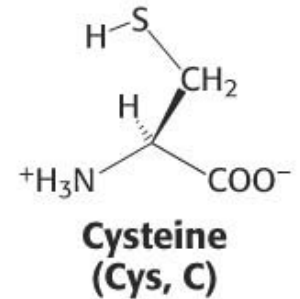
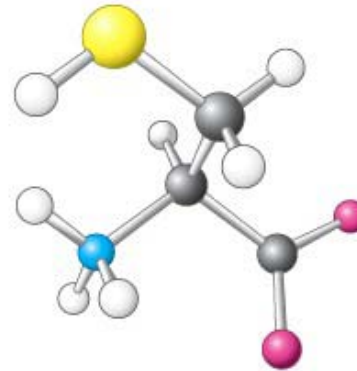
**Threonine
(Thr, T)**



Cisteína

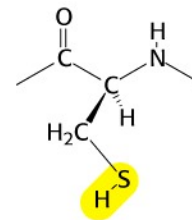
aminoácido com um grupo
sulfidrilo (tiol SH)

pKa=8.3



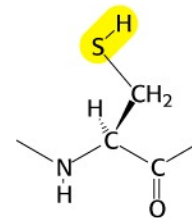
**Cysteine
(Cys, C)**

Formação pontes dissulfureto

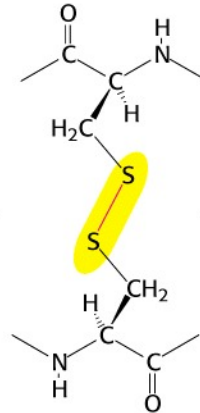


Cysteine

Oxidation
Reduction



Cysteine

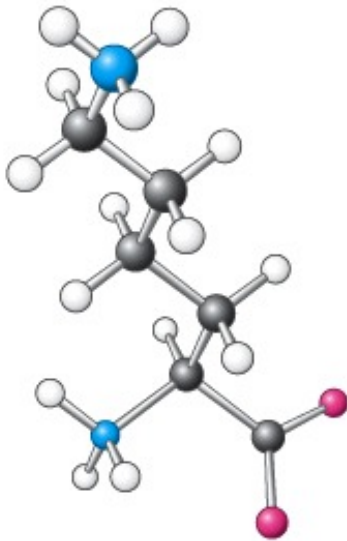


Cystine

+ 2 H⁺ + 2 e⁻

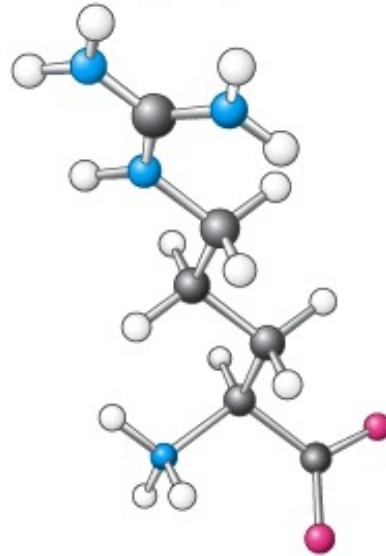
Lisina e arginina: aminoácidos com carácter básico

Lysine
(Lys, K)



grupo ϵ amino
 $pK_a=10.5$

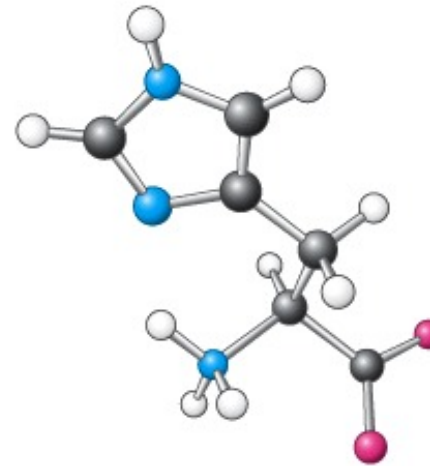
Arginine
(Arg, R)



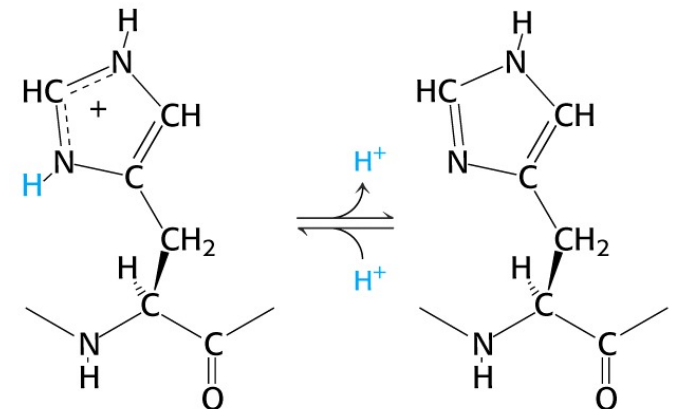
grupo guanidinio
 $pK_a=12.5$

Histidina: aminoácido com um anel imidazol

Histidine
(His, H)

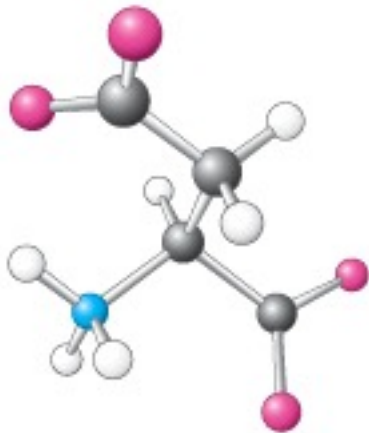


Ionização da histidina $pK_a=6$



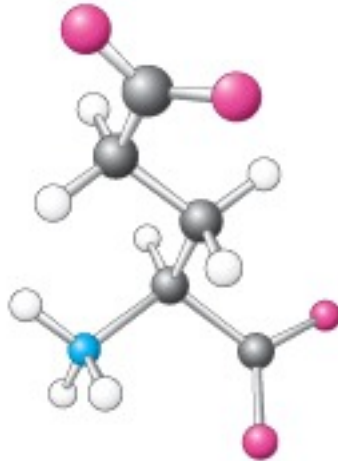
Aspartato e glutamato:
aminoácidos com grupos
carboxilo COOH

**Aspartate
(Asp, D)**



grupo β -COOH
pKa=3.9

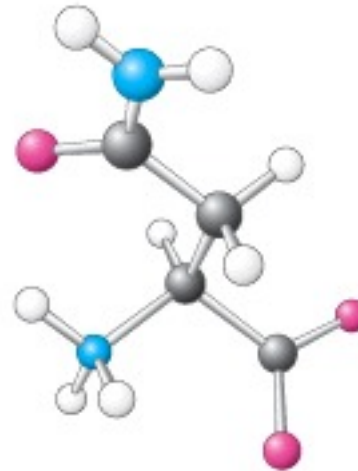
**Glutamate
(Glu, E)**



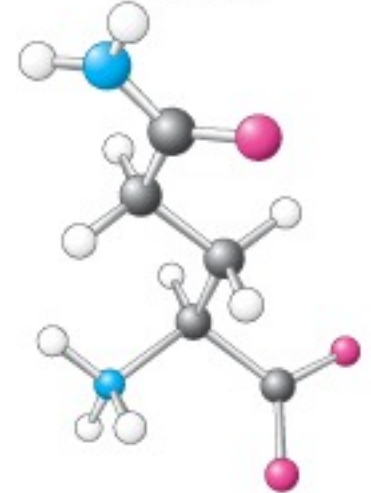
grupo γ -COOH
pKa=4.3

Asparagina e glutamina:
aminoácidos com grupos
carboxamida CONH₂

**Asparagine
(Asn, N)**



**Glutamine
(Gln, Q)**

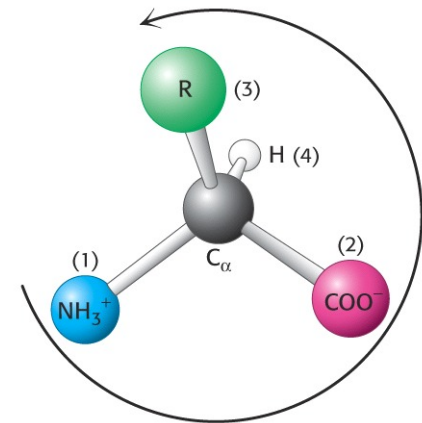
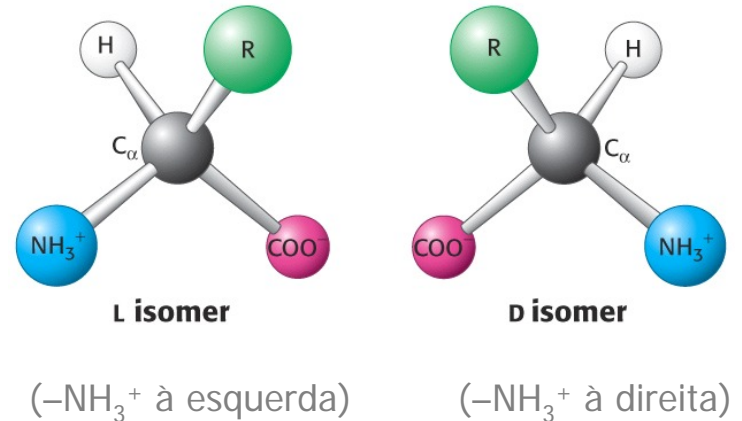


As propriedades físico-químicas

1. Isomeria óptica

- Ao C_α estão covalentemente ligados 4 grupos substituintes (R, H, COO^- , NH_3^+), numa configuração tetraédrica. → assimetria do centro e ocorrência de dois enantiómeros, não sobreponíveis.
- Com exceção da Gli ($R = \text{H}$) todos os aminoácidos exibem **atividade óptica** (desviam o plano da luz polarizada):

Todos os aminoácidos constituintes das proteínas se apresentam na configuração L.

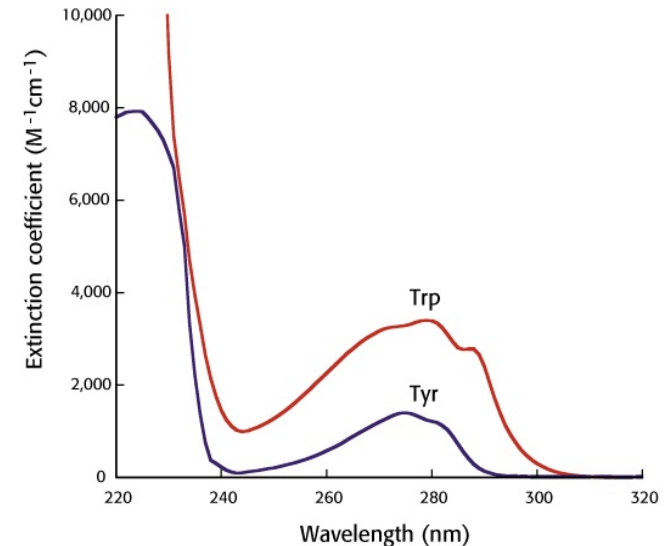


As propriedades físico-químicas (cont.)

2. Absorção no ultravioleta

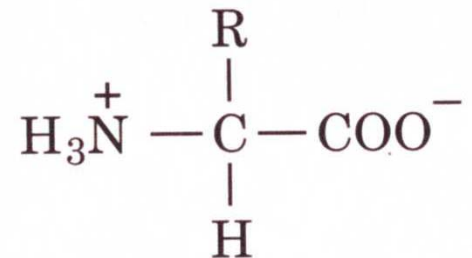
- Para além de todos os a.a. apresentarem absorção a <230 nm, os aminoácidos aromáticos absorvem fortemente entre 250 e 300 nm.

Esta característica é responsável pela forte absorção das proteínas a ≈ 280 nm, permitindo a sua quantificação espectrofotométrica.



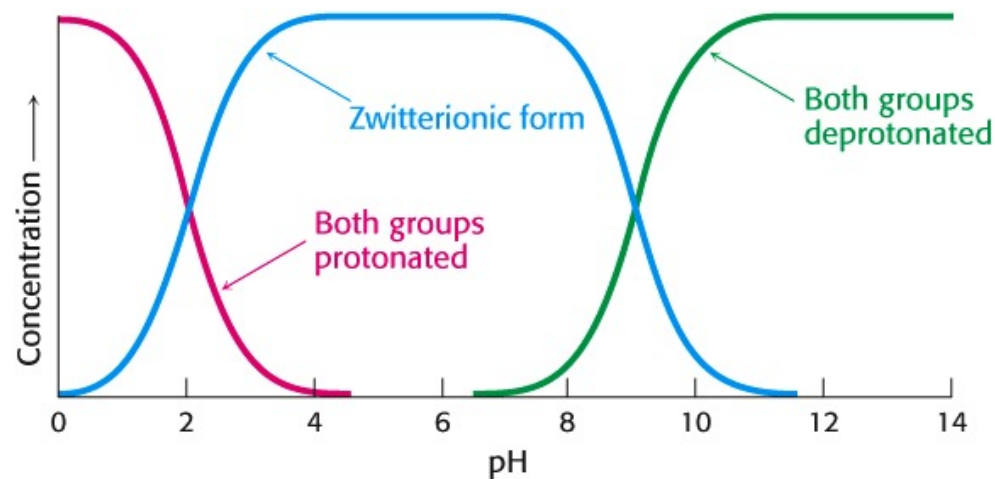
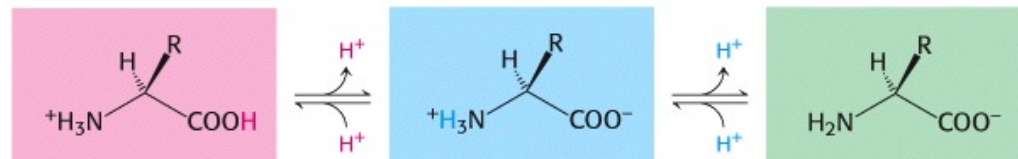
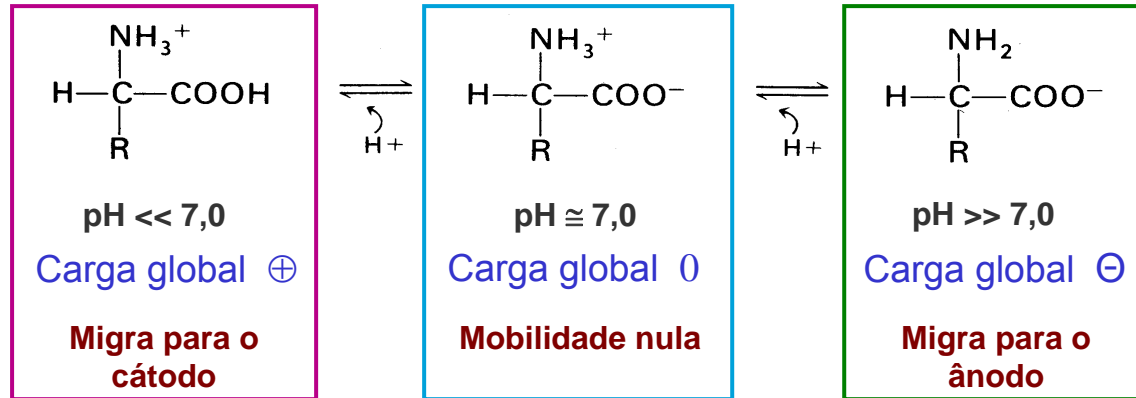
3. Ionização

- Em solução aquosa, os aminoácidos podem comportar-se como ácidos e bases. Normalmente existem na sua forma iónica como **íões dipolares** (também denominados **Zwitteriões**). A pH próximo de 7.0 têm uma estrutura do tipo:



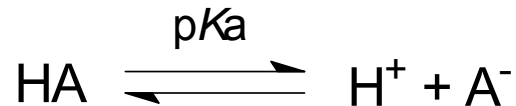
Um aminoácido pode, então, actuar como um ácido ou como uma base \equiv substância anfotérica, i.e., os a.a. são anfólitos.

Estados de ionização em função do pH



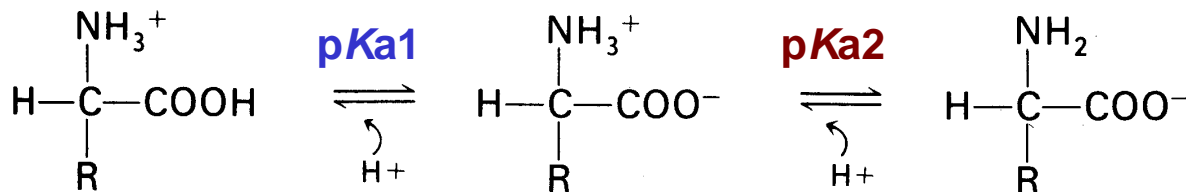
Os aminoácidos como ácidos e como bases

A dissociação de um próton é caracterizada por uma **constante de dissociação de acidez (K_a)**:



$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$$pK_a = -\log K_a$$



$$1.80 < pK_{a1} < 2.4$$

$$8.8 < pK_{a2} < 11.0$$

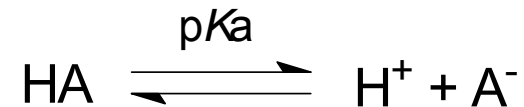
pK_{a1} ($pK_a\text{COOH}$) - ionização do grupo carboxilo – valor próximo de 2

pK_{a2} ($pK_a\text{NH}_3^+$) - ionização do grupo amina – valor próximo de 10

pK_{a3} ($pK_a\text{R}$) - ionização da cadeia lateral – valor muito variável

A equação de Henderson-Hasselbalch

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$



A equação de Henderson-Hasselbalch permite relacionar o valor de pH da solução com as concentrações (ou fracções molares) de forma protonada e desprotonada em equilíbrio, de acordo com o valor de pK_a do grupo ionizável.

Nota: Esta equação **não** é válida nos pontos de equivalência porque assume que só existem duas formas em equilíbrio.

$pH < pK_a$	predomina a forma protonada: $[HA] > [A^-]$
$pH = pK_a$	iguais concentrações das 2 formas: $[HA] = [A^-]$
$pH > pK_a$	predomina a forma desprotonada: $[A^-] > [HA]$

Carga formal

Carga formal de um aminoácido:
(monoamino e monocarboxílico)

$$C_f = (+1) \times \chi LH_2^+ + (-1) \times \chi L^-$$

Carga formal de um aminoácido com cadeia lateral ionizável:

(ex. Glu)

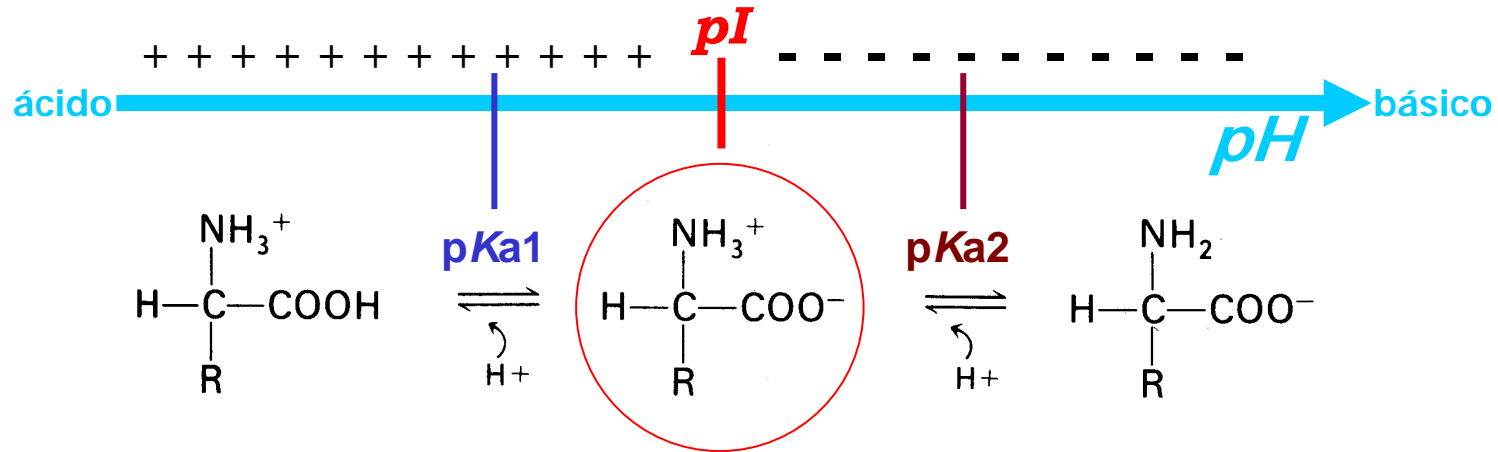
$$C_f = (+1) \times \chi LH_3^+ + (0) \times \chi LH_2 + (-1) \chi LH^- + (-2) \chi L^{2-}$$

(ex. Lis)

$$C_f = (+2) \times \chi LH_3^{2+} + (+1) \times \chi LH_2^+ + (0) \chi LH + (-1) \chi L^-$$

O ponto isoeléctrico

O ponto isoeléctrico corresponde ao pH em que a carga formal é nula.



$$\left\{ \begin{array}{l} C_f = (+1) \times \chi LH_2^+ + (-1) \chi L^- = 0 \\ pI = pK_{a1} + \log \frac{\chi LH}{\chi LH_2^+} \\ pI = pK_{a2} + \log \frac{\chi L^-}{\chi LH} \end{array} \right. \longrightarrow \left\{ \begin{array}{l} \chi L^- = \chi LH_2^+ \\ 2pI = pK_{a1} + pK_{a2} + \log \left(\frac{\cancel{\chi LH}}{\chi LH_2^+} \times \frac{\chi L^-}{\cancel{\chi LH}} \right) \end{array} \right.$$

↓

Para aminoácidos isolados o ponto isoeléctrico é sempre igual à semi-soma dos pK_a s que ladeiam a espécie neutra. Para péptidos e proteínas isto nem sempre se aplica.

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$

O ponto isoeléctrico

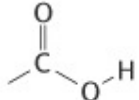
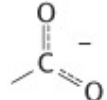
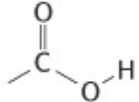
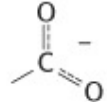
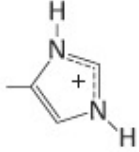
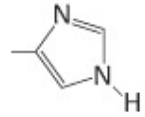
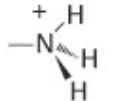



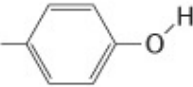
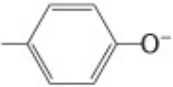
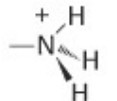

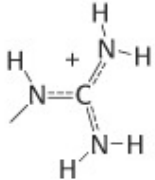
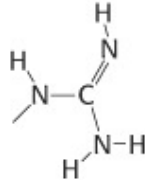
No ponto isoeléctrico, pI :

- A carga formal é nula
- A solubilidade é mínima
- A mobilidade, sob a acção de um campo eléctrico é nula

A mobilidade de um aminoácido num campo eléctrico será tanto maior quanto maior for a diferença entre o pI e o pH do meio.

As proteínas precipitam mais facilmente se o pH do meio for próximo do pI .

Os grupos ionizáveis dos aminoácidos

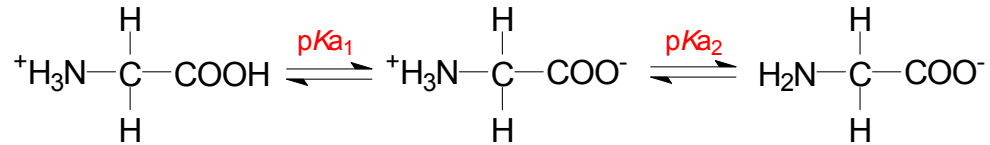
Group	Acid	\rightleftharpoons	Base	Typical pK_a^*
Terminal α -carboxyl group		\rightleftharpoons		3.1
Aspartic acid Glutamic acid		\rightleftharpoons		4.1
Histidine		\rightleftharpoons		6.0
Terminal α -amino group		\rightleftharpoons		8.0
Cysteine		\rightleftharpoons		8.3
Tyrosine		\rightleftharpoons		10.9
Lysine		\rightleftharpoons		10.8
Arginine		\rightleftharpoons		12.5

Os valores de pK_a são dependentes:

- temperatura, força iónica e polaridade do meio (potencial formação de ligações de H).
- micro-ambiente à volta do grupo ionizável.

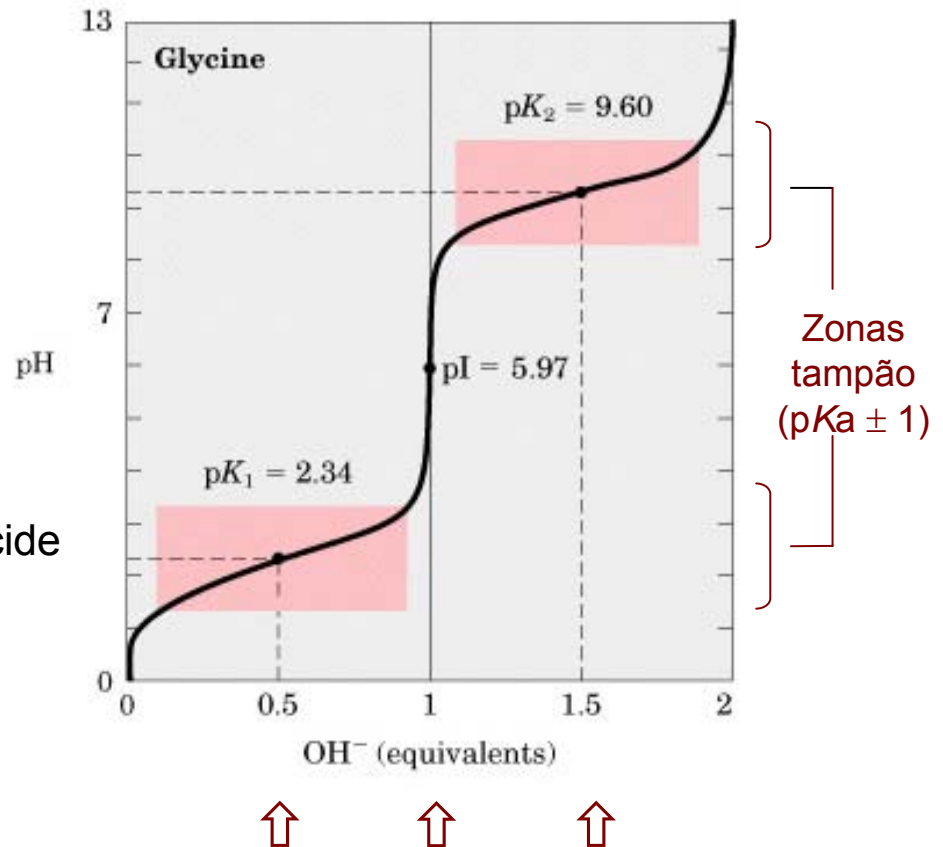
Titulação da Glicina

- Aminoácido monoamino e monocarboxílico:

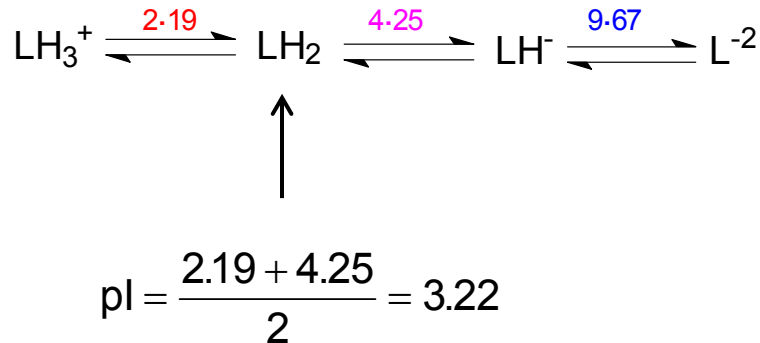
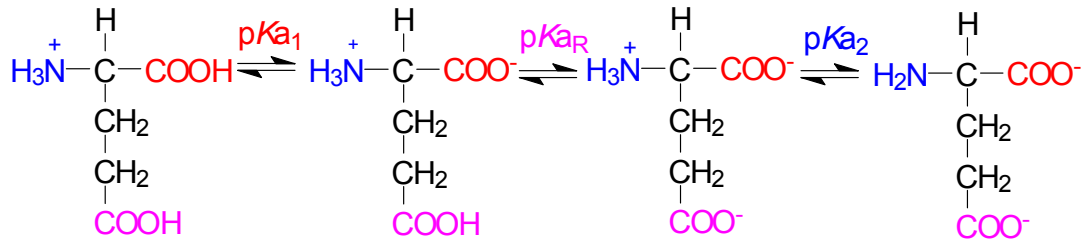


$$\begin{aligned} \text{pI} &= \frac{\text{p}K_{a\text{COOH}} + \text{p}K_{a\text{NH}_3^+}}{2} = \\ &= \frac{2.34 + 9.60}{2} = 5.97 \end{aligned}$$

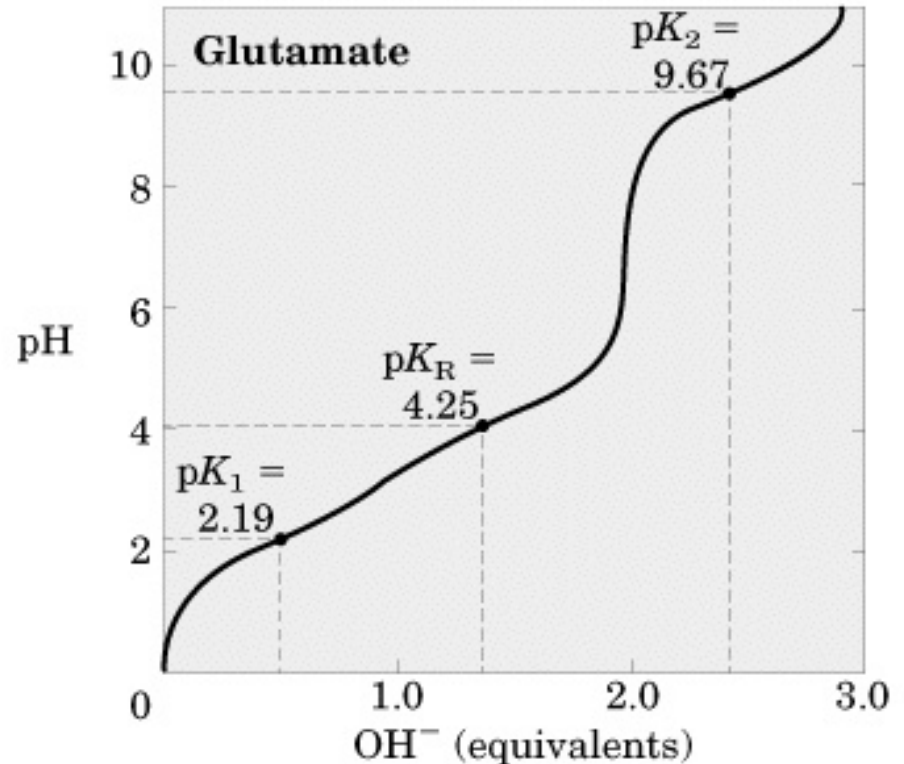
Neste caso o ponto isoelétrico coincide com o pH do primeiro ponto de equivalência.



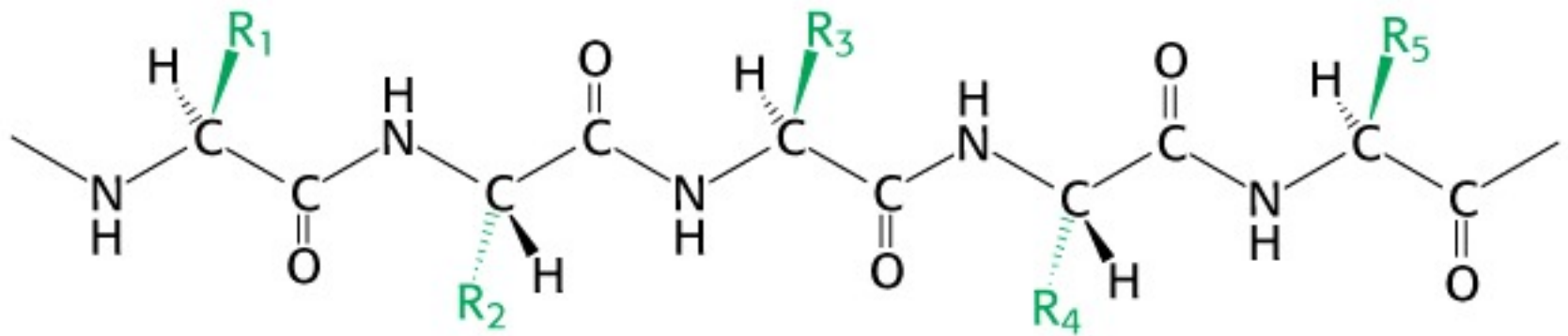
Titulação do Glutamato



Para aminoácidos isolados o ponto isoelétrico corresponde sempre ao pH de um dos pontos de equivalência. No caso de péptidos e proteínas, isto pode não se aplicar.

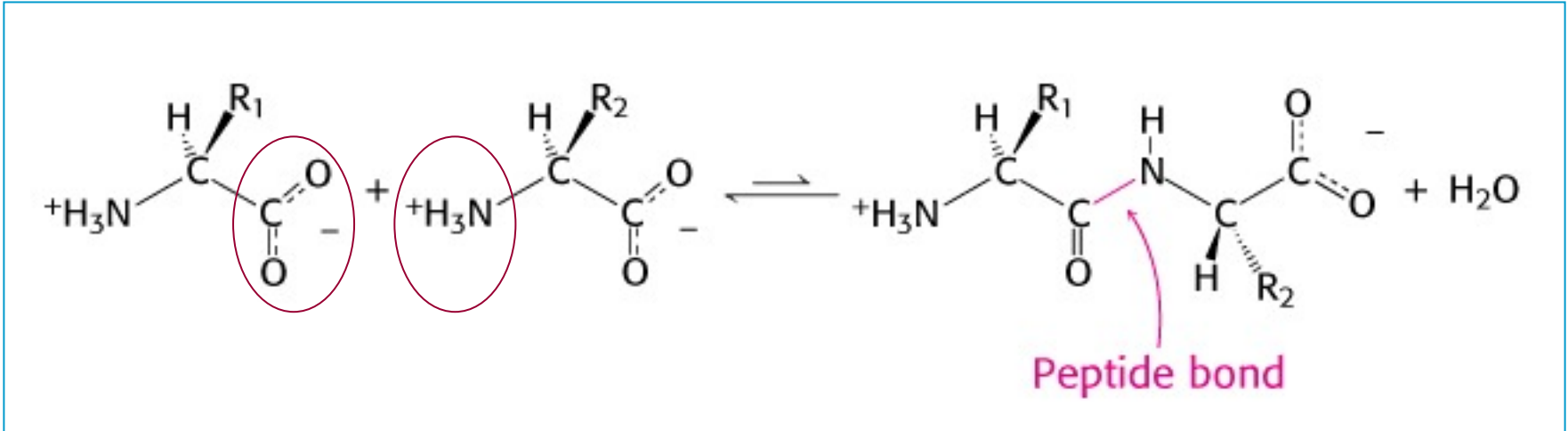


As proteínas são polímeros lineares de aminoácidos unidos por ligações peptídicas

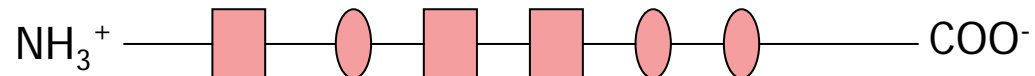


Ligação peptídica

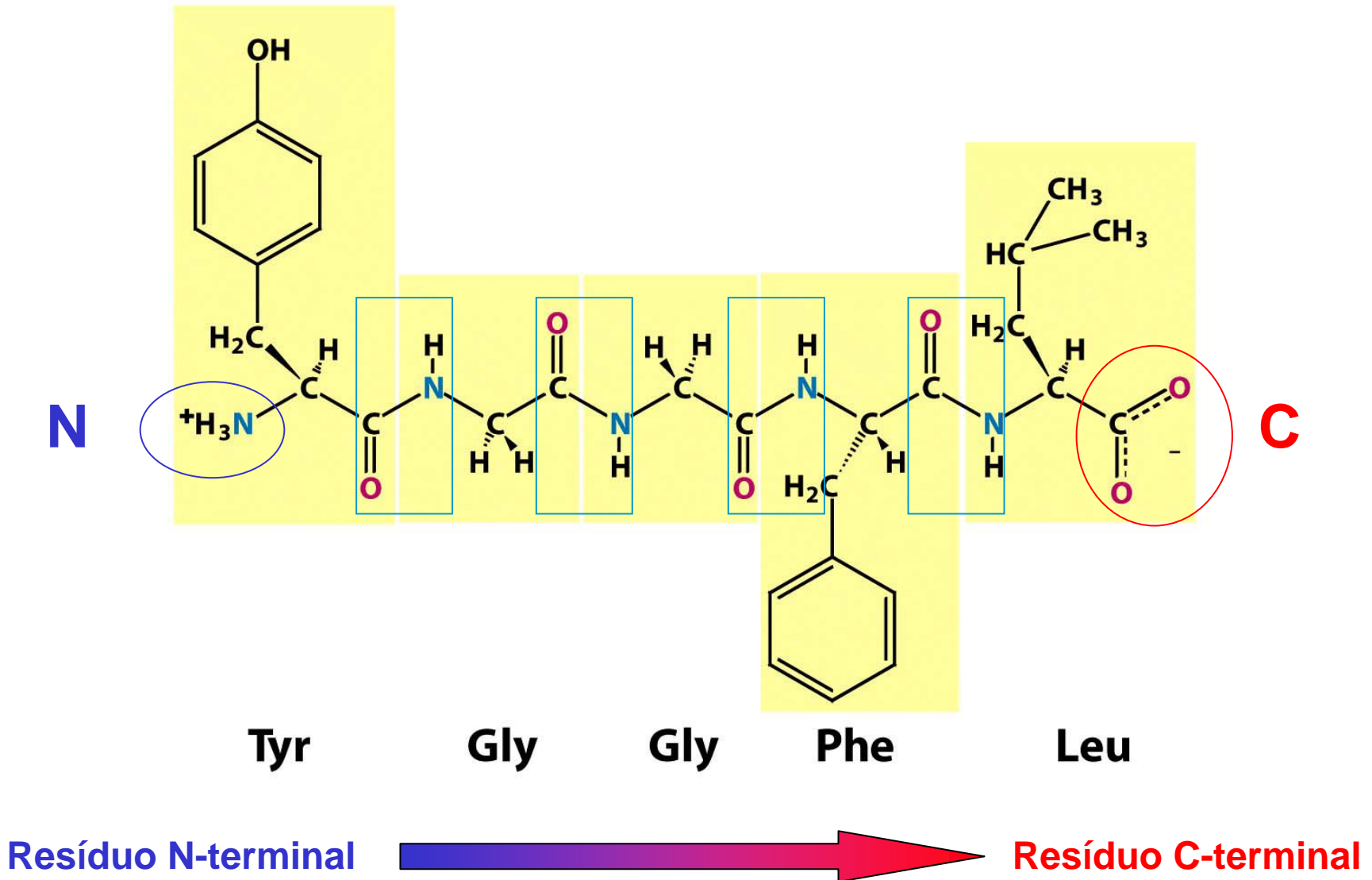
Os aminoácidos ligam-se por **ligações peptídicas** para formar polímeros lineares (cadeias polipeptídicas).



- Reacção de condensação entre o grupo α -carboxílico de um aminoácido e o grupo α -amino de um segundo aminoácido, com eliminação de uma molécula de H₂O.
- A ligação peptídica é uma **ligação amida**.
- A repetição sequencial deste processo produz um **polipéptido** ou uma **proteína** com uma sequência de aminoácidos específica (R₁-R₂-R₃-...R_n).



As sequências de aminoácidos têm direcção

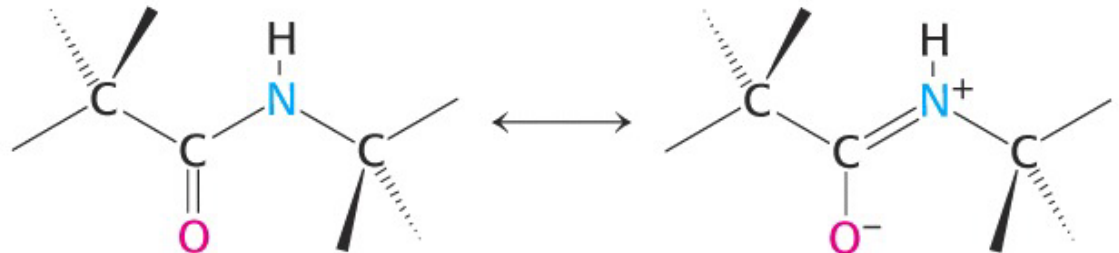
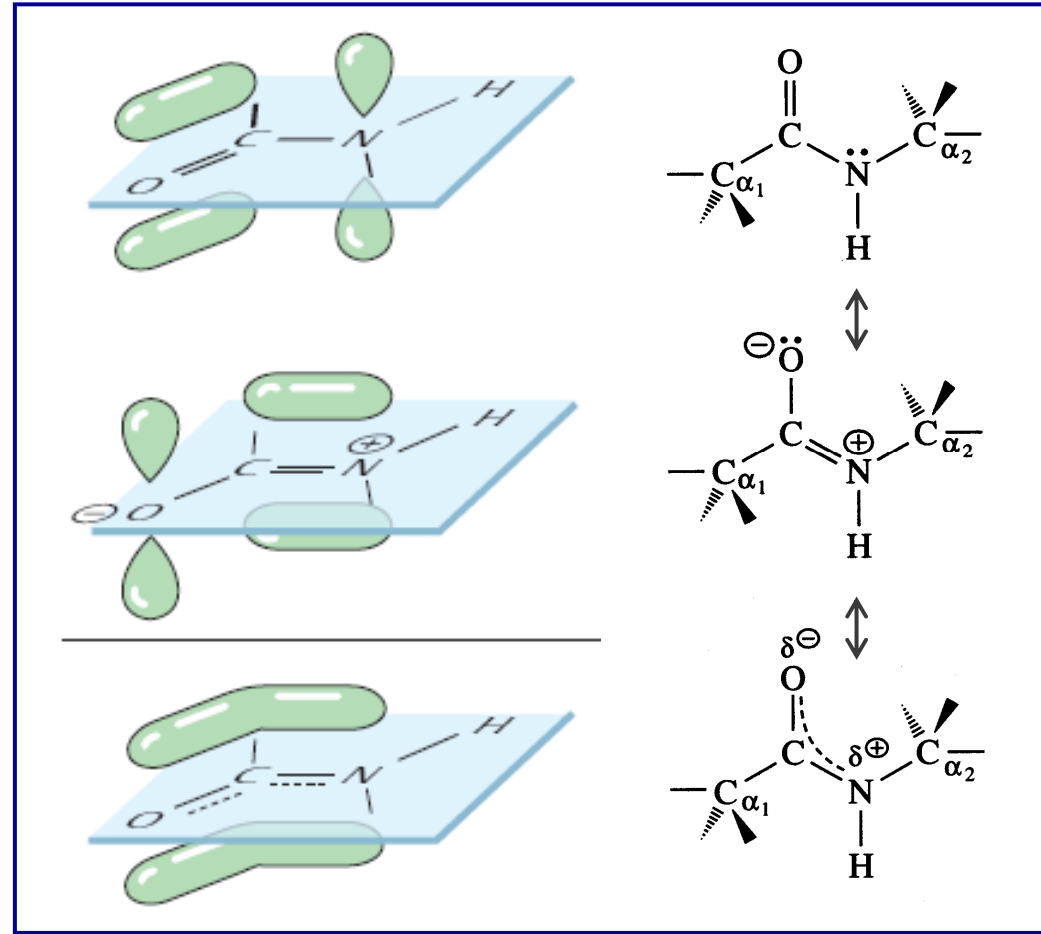


Estruturas de ressonância da ligação peptídica

A ligação peptídica tem um **carácter parcial de ligação dupla**.

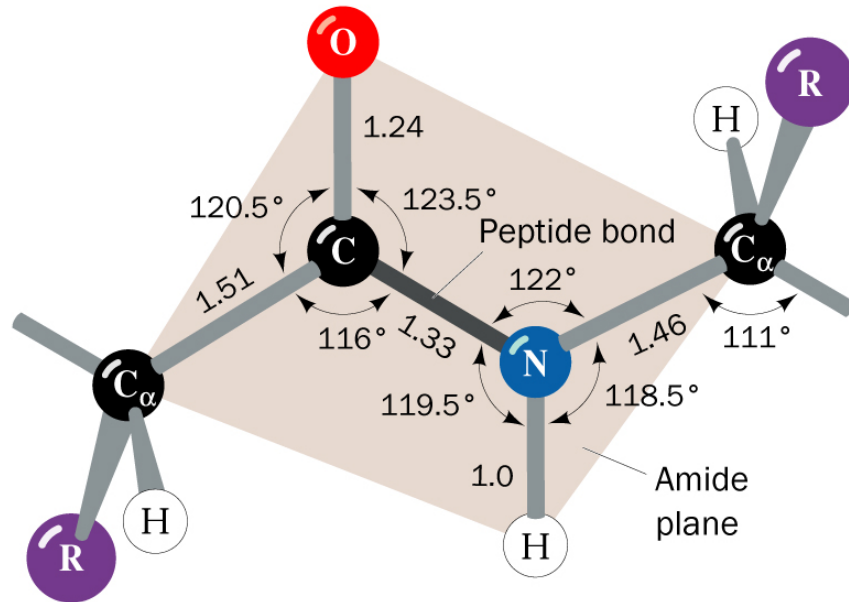
Devido às estruturas de ressonância há deslocalização electrónica entre o oxigénio, o carbono e o azoto da ligação amida. A ligação é mais forte e mais curta do que uma ligação simples normal.

Não há rotação livre em torno da ligação peptídica.

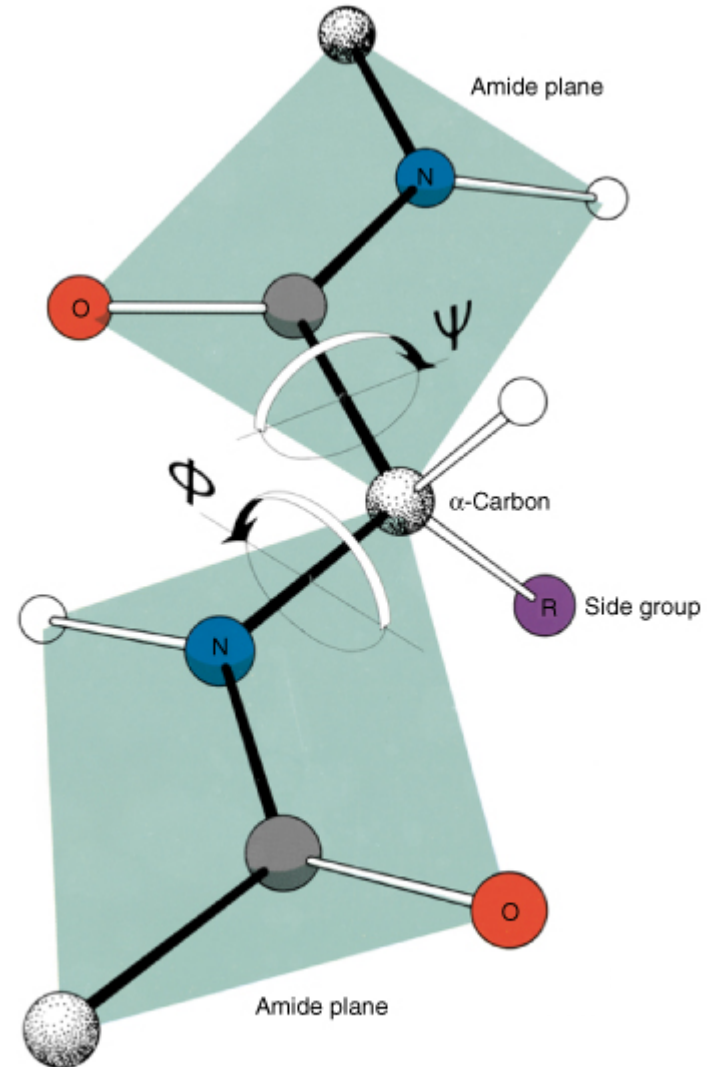


A ligação peptídica é planar

C_{α} , C, O, N, H e C_{α} estão no mesmo plano

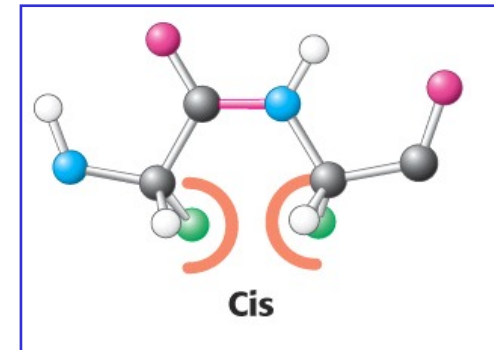
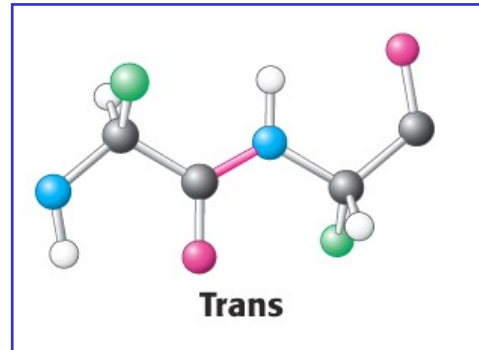


As cadeias polipeptídicas são flexíveis mas têm restrições conformacionais

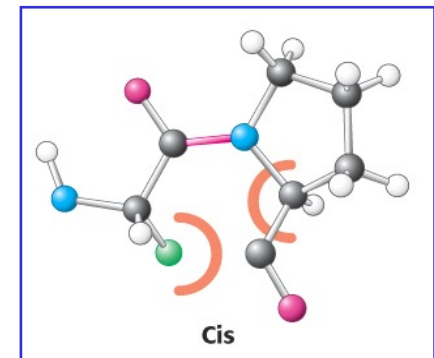
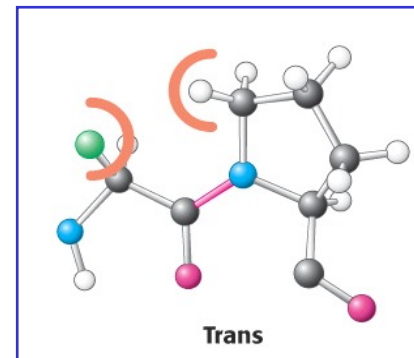
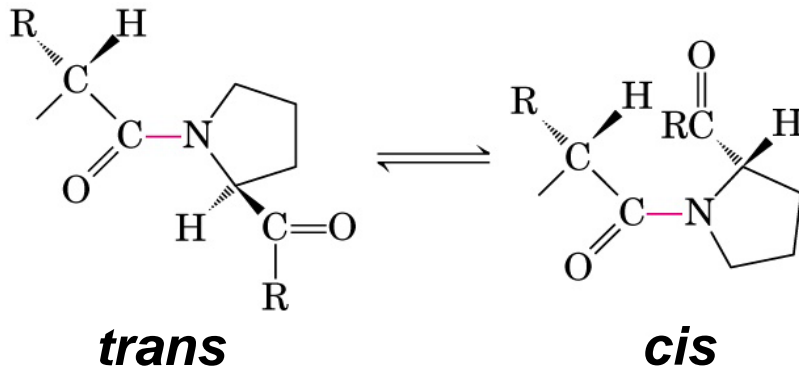


A ligação peptídica (cont.)

À exceção da prolina,
todas as ligações
peptídicas ocorrem na
configuração *trans*.



Isómeros da Prolina

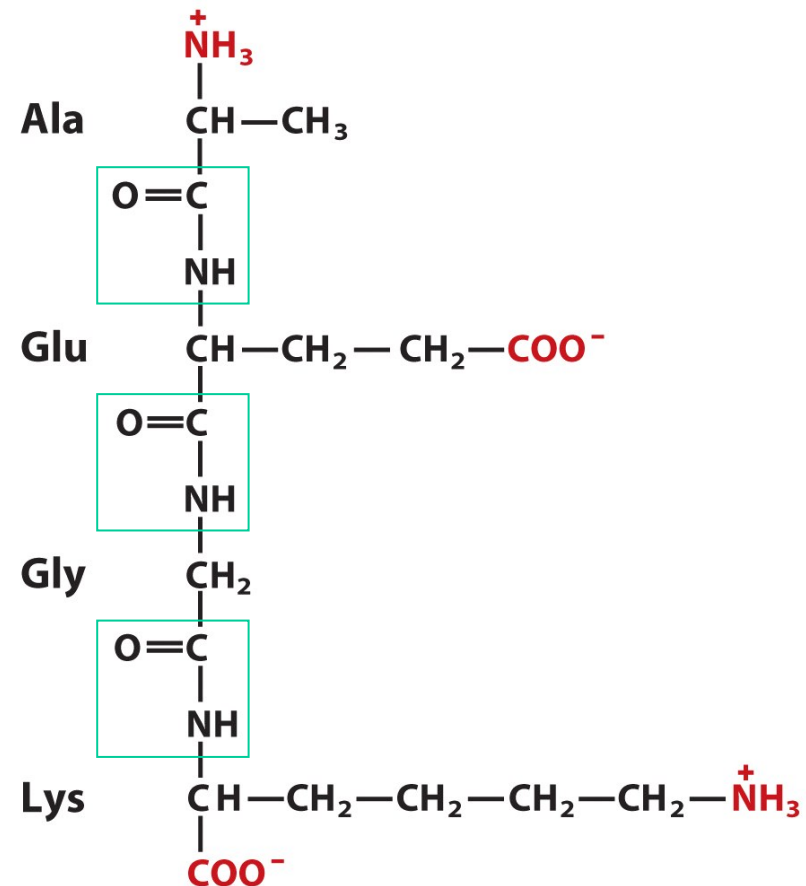


Propriedades ácido-base dos péptidos e proteínas

As propriedades ácido-base dos péptidos resultam da contribuição de **todos** os grupos ionizáveis em solução:

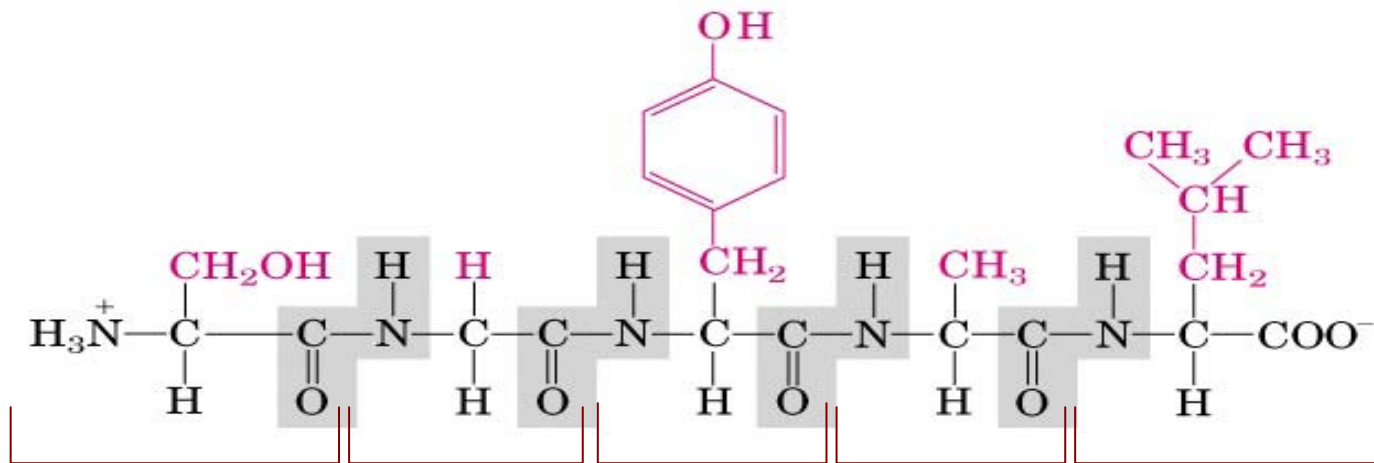
- grupo $\alpha\text{-NH}_3^+$ terminal
- grupos das cadeias laterais ionizáveis (neste caso COOH de Glu e NH_3^+ de Lis)
- grupo $\alpha\text{-COOH}$ terminal

Com exceção dos grupos α -amino e α -carboxilo terminais, todos os outros se encontram envolvidos a formar as ligações peptídicas, deixando de ser ionizáveis.



Nomenclatura dos polipéptidos

(dipéptido, tri-, oligo/poli-)

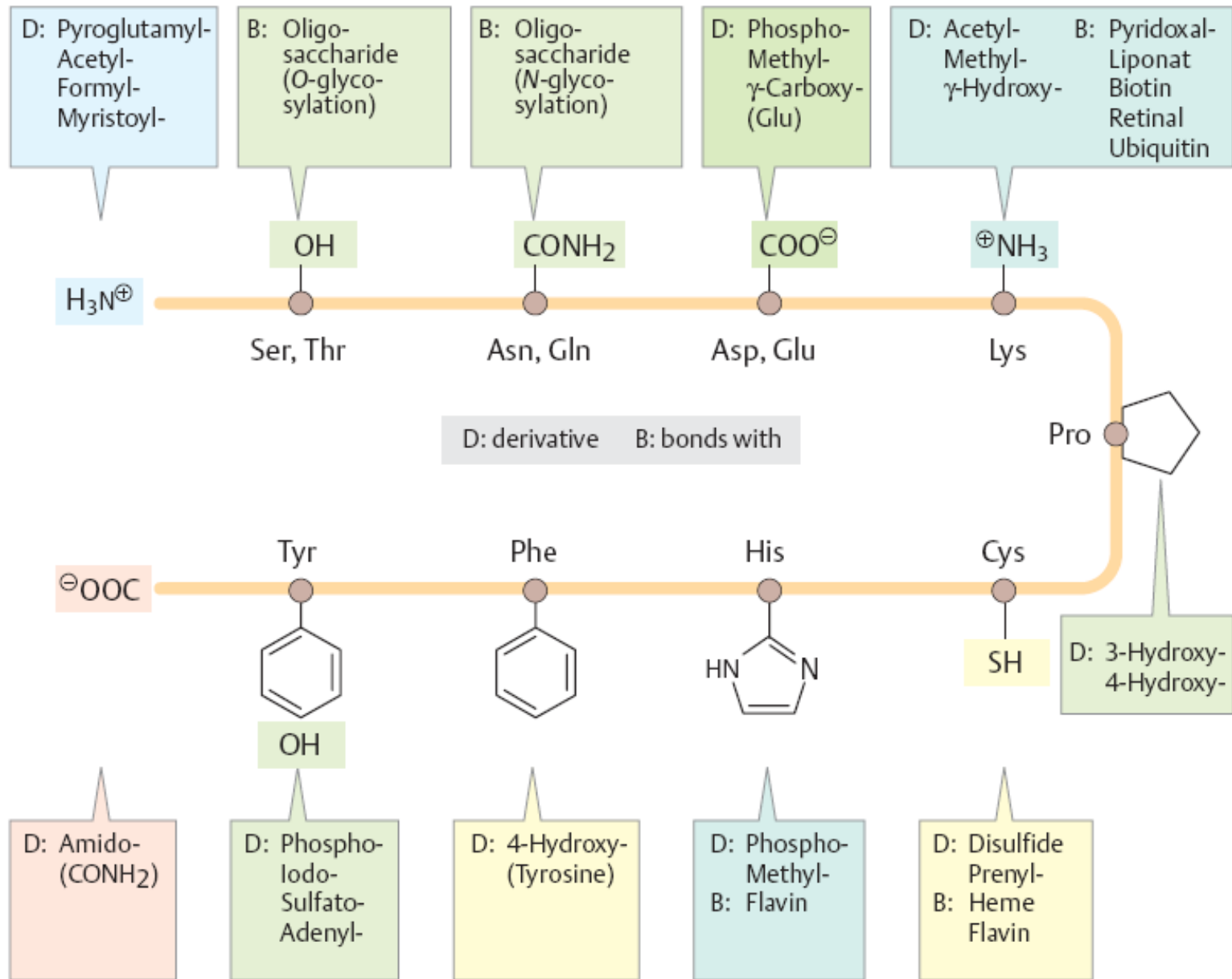


Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu \equiv Serinil-Glicil-Tirosil-Alanil-Leucina

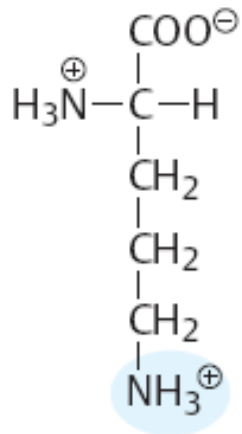
N-terminal \longrightarrow **C-terminal**

curiosidades

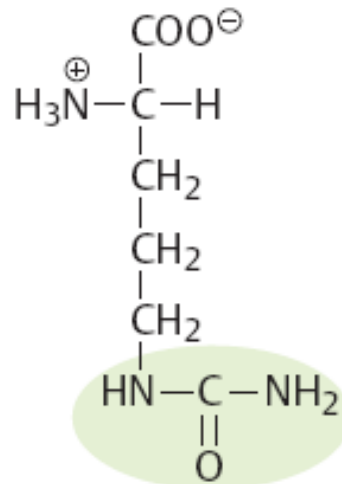
Aminoácidos derivados: Modificações pós-tradução



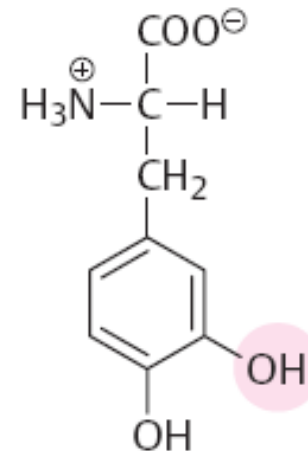
Aminoácidos derivados biologicamente importantes



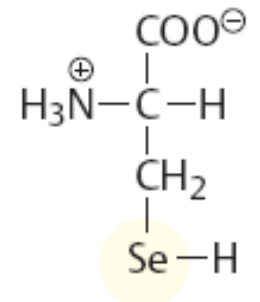
Ornithine



Citrulline



L-Dopa



Seleno-
cysteine

Aminoácidos derivados biologicamente importantes

Name	Formula	Biochemical Source, Function
β -Alanine	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	Found in the vitamin pantothenic acid and in some important natural peptides
D-Alanine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{NH}_3^+ \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	In polypeptides in some bacterial cell walls
γ -Aminobutyric acid	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	Brain, other animal tissues; functions as neurotransmitter
D-Glutamic acid	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{NH}_3^+ \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 - \text{COO}^- \end{array}$	In polypeptides in some bacterial cell walls
L-Homoserine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	Many tissues; an intermediate in amino acid metabolism
L-Ornithine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{NH}_3^+ \end{array}$	Many tissues; an intermediate in arginine synthesis
Sarcosine	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{N} - \text{CH}_2 - \text{COO}^- \\ \\ \text{H} \end{array}$	Many tissues; intermediate in amino acid synthesis
L-Thyroxine	$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\ \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_2\text{I}_3 - \text{O} - \text{C}_6\text{H}_2\text{I}_2\text{OH} \end{array}$	Thyroid gland; is thyroid hormone (I = iodine)

Aminas biogénicas

Resultam da descarboxilação de alguns aminoácidos

Amino acid	Amine	Function	Amino acid	Amine	Function
Serine	Ethanol-amine	Glutamate	Glutamate	γ -Amino-butyrate	Neurotransmitter (GABA)
Cysteine	Cysteamine	Component of coenzyme A	Histidine	Histamine	Mediator, neurotransmitter
Threonine	Amino-propanol	Component of vitamin B ₁₂	Dopa	Dopamine	Neurotransmitter
Aspartate	β -Alanine	Component of coenzyme A	5-Hydroxy-tryptophan	Serotonin	Mediator, neurotransmitter

