

Vitamina B5

Funzioni biologiche

Indice

1	Introduzione	1
2	Chimica	1
2.1	Storia	1
2.2	Isolamento	2
2.3	Caratteristiche chimico-fisiche	2
3	Coenzima A	2
3.1	Sintesi	3
3.2	Acilazione	4
3.3	Metabolismo dei carboidrati	5
3.3.1	Anabolismo	5
3.4	Metabolismo dei lipidi	5
3.4.1	Catabolismo	5
3.4.2	Anabolismo	6
3.5	Metabolismo degli amminoacidi	6
4	Proteina trasportatrice di acili	6
4.1	Metabolismo dei lipidi	7
4.1.1	Anabolismo	7
5	Modificazione delle proteine	8
5.1	Acetilazione di β -endorfina	8
5.2	Acetilazione degli istoni	9
5.3	Acetilazione di α -tubulina	9
5.4	Acilazione di eNOS	9
5.5	Acilazione di proteine G	9

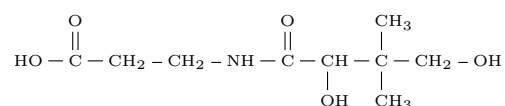
1 Introduzione

La quinta vitamina del gruppo B, corrispondente all'acido pantonenico, ricopre numerose funzioni biologiche di fondamentale importanza in tutti gli esseri viventi.

Essa espleta il suo ruolo principale in quanto componente essenziale del **coenzima A**, molecola centrale del metabolismo.

Rientra inoltre nella **proteina di trasporto di acili (ACP)**, componente importante nell'anabolismo degli acidi grassi.

2 Chimica



Nome IUPAC	Acido 3-[(2R)-2,4-diidrossi-3,3-dimetil-butanamido]propanoico
Formula bruta	C ₉ H ₁₇ NO ₅
Massa molecolare	219 g/mol
Solubilità	2.11 g/mL (molto solubile)

L'acido pantotenico o pantenolo (vitamina B5 o vitamina W) deriva dalla fusione, tramite legame carboamidico, di una molecola di β -alanina con una molecola di **acido pantoico**, derivato dall'acido butirrico.

La forma chirale biologicamente attiva è solamente quella **destrogira**. La forma levogira può fungere da antagonista dell'isomero destrogira.

2.1 Storia

Come in tutte le scoperte delle vitamine idrosolubili, anche la vitamina B5 è stata studiata su batteri e cellule eucariotiche di funghi e animali.

Per il suo carattere **idrofilo**, la sua natura **polifunzionale**, il fatto di **precipitare** e **crystallizzarsi** facilmente, l'acido pantotenico è stato difficile da isolare direttamente mediante i classici metodi usati nella prima metà del '900.

Gli studi di Williams, Elvehjem e Jukes furono determinanti nella scoperta delle funzioni biochimiche di tale vitamina.

Nel **1933 R. J. Williams** e il suo gruppo hanno isolato una sostanza acida da materiale biologico che agiva come **fattore di crescita nel lievito** e lo chiamarono acido **pantotenico**: il termine deriva dal greco e significa letteralmente *dappertutto*, indicando l'**ubiquitarietà** del composto all'interno comuni alimenti.

Nel **1939** si stabilì essere una **vitamina** quando si vide che era identico al fattore del filtrato nei ratti e galline, e agiva da **anti-dermatite**: furono Koehn e Elvehjem a compiere questa scoperta, determinando che il composto aveva funzione di **anti-pellagra**. Infatti iniettandolo in galline affette scoprirono che queste non sviluppavano più la malattia.

Nel **1940** si arriva alla sintesi chimica della vitamina per opera di Williams e Major.

Nel **1947** Lipmann identifica e spiega la sua funzione biochimica nel **coenzima A**.

A metà degli anni '60 si identifica la presenza dell'acido pantotenico nei trasportatori di membrana (**ACP**).

2.2 Isolamento

Williams isolò diversi grammi di acido pantotenico dal fegato di pecora attraverso metodi di cromatografia e frazionamento. Il processo prevedeva:

1. **Autolisi del fegato** per ottenere un filtrato chiaro
2. **Rimozione delle basi** tramite assorbimento dalla terra da follone (nome comune, minerario e commerciale, di ogni miscela di argilla ad elevata plasticità utilizzata nella decolorazione, filtratura e purificazione di oli e grassi di origine animale, minerale e vegetale)
3. **Assorbimento dei principi** sul carboncino e successiva eluizione
4. **Evaporazione** fino alla secchezza in presenza di ossalato di brucina (composto organico simile alla stricnina, usato per il riconoscimento analitico dei nitrati)
5. **Estrazione** della componente con cloroformio per ottenere pantotenato di brucina (insieme ad altri sali di brucina)
6. **Distribuzione frazionale** della brucina tra cloroformio e acqua
7. **Conversione al sale di calcio**
8. **Frazionamento del sale di calcio** mediante vari solventi

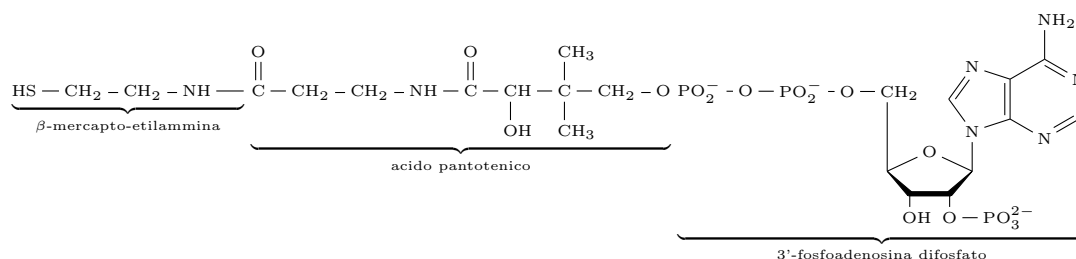
2.3 Caratteristiche chimico-fisiche

La configurazione sterica dell'acido pantotenico è fondamentale nel riconoscimento enzimatico delle reazioni biochimiche: infatti soltanto la sua forma destrogira è attiva. Nelle sintesi della vitamina si forma sempre una miscela racemica.

Non è presente in natura nella forma libera, ma si può ritrovare come componente strutturale del **coenzima A** e della **4'-fosfopanteteina**. Quest'ultima è unita a un gruppo prostetico di trasportatori di membrana coinvolto nella sintesi di acidi grassi.

L'acido pantotenico è un **olio** di color **giallo pallido**, estremamente **igroscopico** e **inodore**. È inoltre **instabile** al calore, alle basi ed agli acidi ed è **solubile** in acqua.

3 Coenzima A



Il coenzima A è coinvolto in reazioni di trasferimento di gruppi acetilici e acilici, relativi al metabolismo ossidativo e al catabolismo.

Grazie al dominio adenosinico, CoA è in grado di legarsi agli enzimi che lo richiedono,

mentre quello tioetanolanminico agisce nel legame dei substrati carboniosi e nel loro spostamento da un centro catalitico all'altro.

Il legame fra un gruppo acilico od acetilico, e quello tiolico del coenzima, porta alla formazione di un tioestere, rispettivamente **acil-CoA** o **acetil-CoA**. Esso è un **composto ad alta energia**, a causa della natura instabile del legame tioestereo, il cui $\Delta G''^\circ$ di idrolisi permette lo svolgimento di numerose reazioni biochimiche.

3.1 Sintesi

L'acido pantotenico è essenziale per la sintesi dell'omonimo dominio presente in CoA.

La prima fase della sintesi prevede la fosforilazione ad **acido 4'-fosfopantotenico**, mediata dalla **chinasi dell'acido pantotenico** (PanK). Gli eucarioti possiedono PanK-II, mentre le varianti I e III sono proprie dei procarioti.

PanK agisce in un ampio intervallo di pH (fra 6 e 9) e lega:

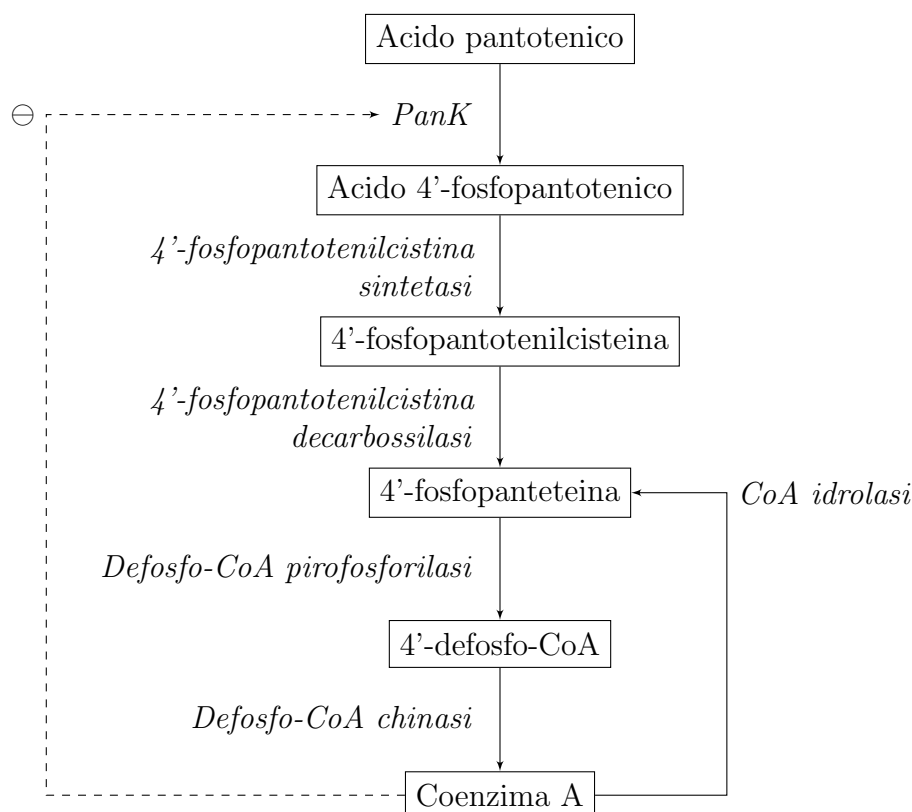
- **acido pantotenico** con $K_m \simeq 20 \mu\text{M}$, in qualità di accettore di fosfato
- **Mg-ATP** con $K_m \simeq 0.6 \mu\text{M}$, in qualità di donatore di fosfato

La fosforilazione dell'acido pantotenico è un fondamentale punto di controllo della sintesi del coenzima A. Infatti PanK sono regolate da:

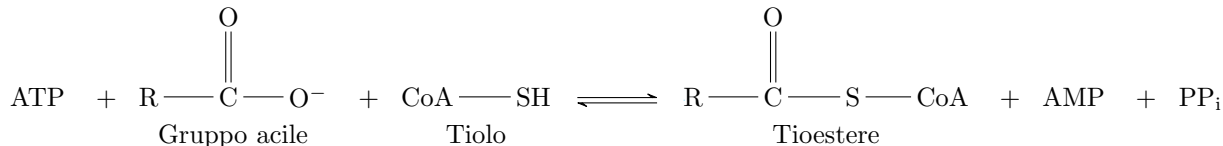
- **vari anioni**, che attivano o inibiscono non specificamente l'enzima
- **CoA e suoi derivati**, che inibiscono la sintesi di nuovo coenzima con un meccanismo a **feedback negativo**
- **carnitina**, amminoacido trasportatore di acidi grassi nel mitocondrio, che indirettamente attiva l'enzima bloccando l'inibizione da parte dei derivati di CoA

Per la compartecipazione di questi fattori è stato ad esempio verificato che digiuno e diabete di tipo I (da ipoinsulinemia) incrementano l'attività di PanK e dunque la quantità di CoA. Al contrario, eccesso di glucosio e di acidi grassi all'interno della cellula riducono l'attività di PanK, per sottrazione di carnitina e maggiori concentrazioni di acetil-CoA. Le successive fasi della sintesi del coenzima sono condotte su un complesso proteico dotato di vari siti catalitici e sono illustrate nello schema sottostante.

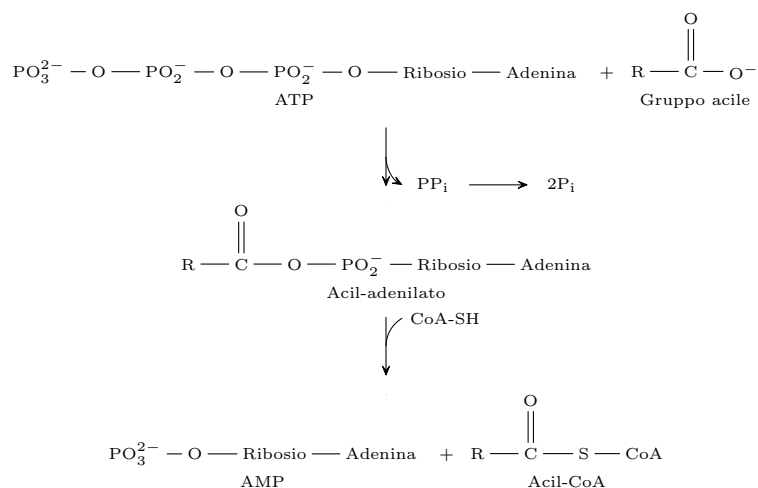
La **coenzima A idrolasi** catalizza l'idrolisi di CoA a 3'-5'-ADP e 4'-fosfopanteteina; quest'ultima può essere riutilizzata per la sintesi di nuovo coenzima. Si parla perciò di **ciclo del CoA/4'-fosfopanteteina**. Ogni esecuzione del ciclo richiede due molecole di ATP e ne produce una di ADP, una di PP_i e una di 3',5'-ADP.



3.2 Acilazione



La coniugazione di un gruppo acilico a CoA richiede consumo di energia, necessaria ad *attivare* l'acido grasso per renderlo disponibile all'attacco nucleofilo sul coenzima.



Il tioestere ottenuto è un composto **ad alta energia** poichè, a differenza dei normali esteri, non può stabilizzarsi per risonanza del doppio legame fra i due atomi di ossigeno. Infatti l'atomo di zolfo, appartenente al terzo periodo, è più ingombrante e meno

elettronegativo dell'ossigeno, e per questo il legame C-S è più lungo di quello C-O e la sovrapposizione con gli orbitali dell'ossigeno peggiore.

A causa di tale instabilità, l'idrolisi del tioestere fornisce una variazione di energia libera significativamente negativa. Ad esempio, dall'idrolisi del tioestere dell'acido palmitico:

$$\Delta G'^{\circ} = -32.5 \text{ kJ/mol di palmitoil-CoA}$$

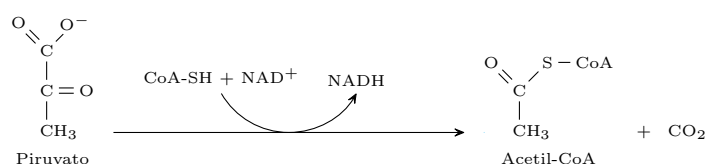
3.3 Metabolismo dei carboidrati

3.3.1 Anabolismo

CoA ha un ruolo fondamentale nel ciclo degli acidi tricarbossilici. Esso infatti partecipa a:

- **decarbossilazione del piruvato**, proveniente dal metabolismo glicolitico dei carboidrati, con la formazione di **acetil-CoA**.

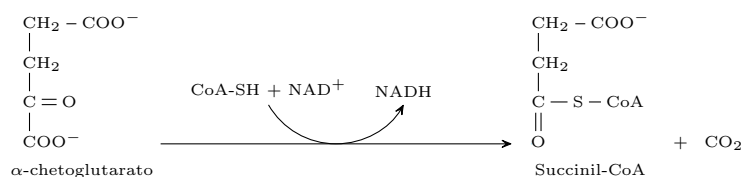
Quest'ultimo è il punto di ingresso del ciclo, in quanto reagisce con ossalacetato per formare **acido citrico**. La reazione è catalizzata dall'enzima piruvato-deidrogenasi (**PDH**).



$$\Delta G'^{\circ} = -33.4 \text{ kJ/mol}$$

- **decarbossilazione di α -chetoglutarato**, con formazione di **succinil-CoA**.

Esso, oltre ad essere convertito in succinato nella successiva tappa del ciclo, può reagire con la glicina per formare acido δ -aminolevulinico, precursore del **gruppo eme**. Da ciò deriva l'importanza della vitamina B5 per la corretta sintesi di **emoglobina**, e dunque per il trasporto di ossigeno, e dei **citocromi**, per quello di elettroni.



$$\Delta G'^{\circ} = -33.5 \text{ kJ/mol}$$

3.4 Metabolismo dei lipidi

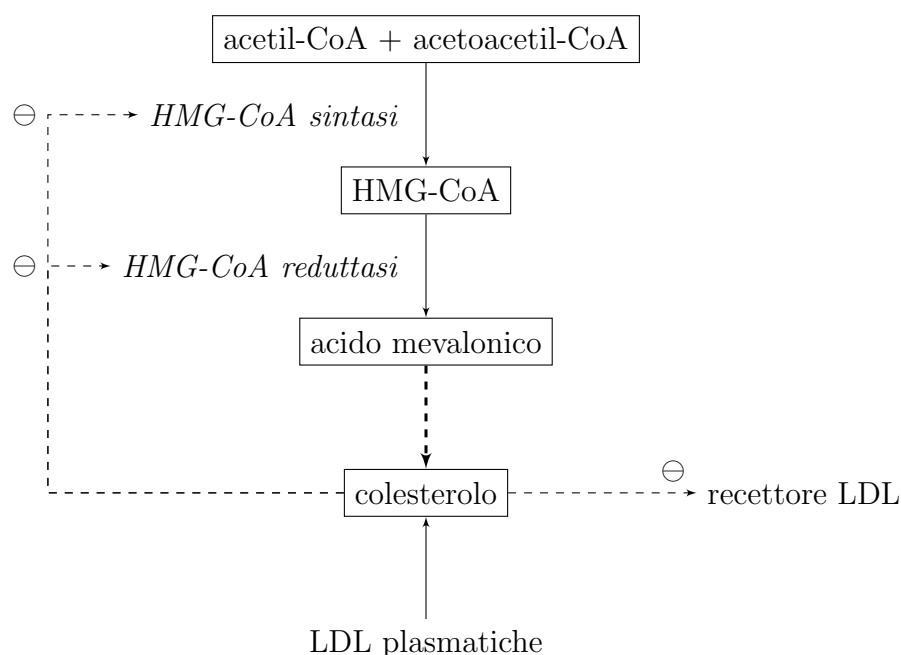
3.4.1 Catabolismo

Il coenzima A è richiesto per due reazioni del ciclo della β -ossidazione degli acidi grassi, durante cui due unità carboniose sono rimosse per ciascun ciclo, formando **acetil-CoA**.

3.4.2 Anabolismo

CoA partecipa alla **via metabolica dell'acido mevalonico**, che inizia con la condensazione di due molecole di acetil-CoA formando acetoacetil-CoA. Esso reagisce poi con una terza unità di acetil-CoA, dando luogo all'**acido mevalonico**.

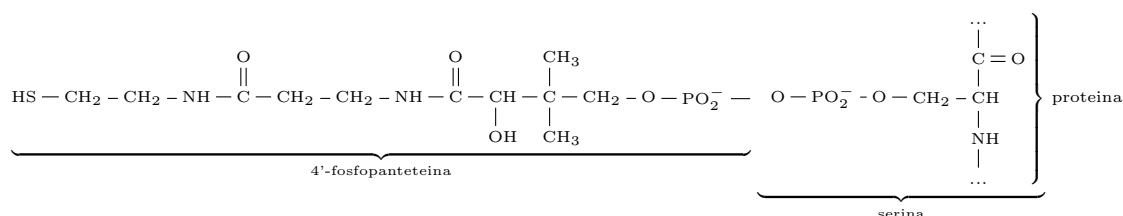
L'acido mevalonico è il precursore degli **isoprenoidi**, e dunque anche degli **steroidi** attraverso lo squalene. È quindi chiara l'importanza del coenzima per la sintesi di colesterolo, ormoni steroidei e altri lipidi, e per la modificazione di proteine mediante isoprenilazione. La produzione di acido mevalonico è controllata mediante un meccanismo di **feedback negativo**: un eccesso di colesterolo all'interno della cellula, infatti, oltre a ridurre l'espressione del recettore per LDL, è in grado di inibire due enzimi impiegati nella via, **HMG-CoA sintasi** e **HMG-CoA reduttasi**.



3.5 Metabolismo degli amminoacidi

CoA rientra nel processamento della **leucina**, in quanto il suo chetoacido, ottenuto per deaminazione, reagisce con il coenzima formando acido acetoacetico e acetil-CoA.

4 Proteina trasportatrice di acili



ACP fa parte del complesso della **sintasi degli acidi grassi**, ed è quindi coinvolta nella biosintesi di tali composti.

Oltre ad introdurli con la dieta, infatti, buona parte dei lipidi derivano dal metabolismo dei carboidrati, convertiti in **piruvato** durante la glicolisi.

Il piruvato, prodotto nel citoplasma, diffonde passivamente nella matrice mitocondriale. In essa viene ossidato ad acetil-CoA, materiale di partenza per la sintesi di acidi grassi. Acetil-CoA viene esportato dal mitocondrio come citrato, e si riforma nel citoplasma, dove avviene la sintesi lipidica.

Il complesso enzimatico della sintasi prevede due subunità identiche, ciascuna contenente gli enzimi necessari alla biosintesi. Esse sono attive solamente quando si combinano, con orientamento antiparallelo, nel formare un **omodimero**.

4.1 Metabolismo dei lipidi

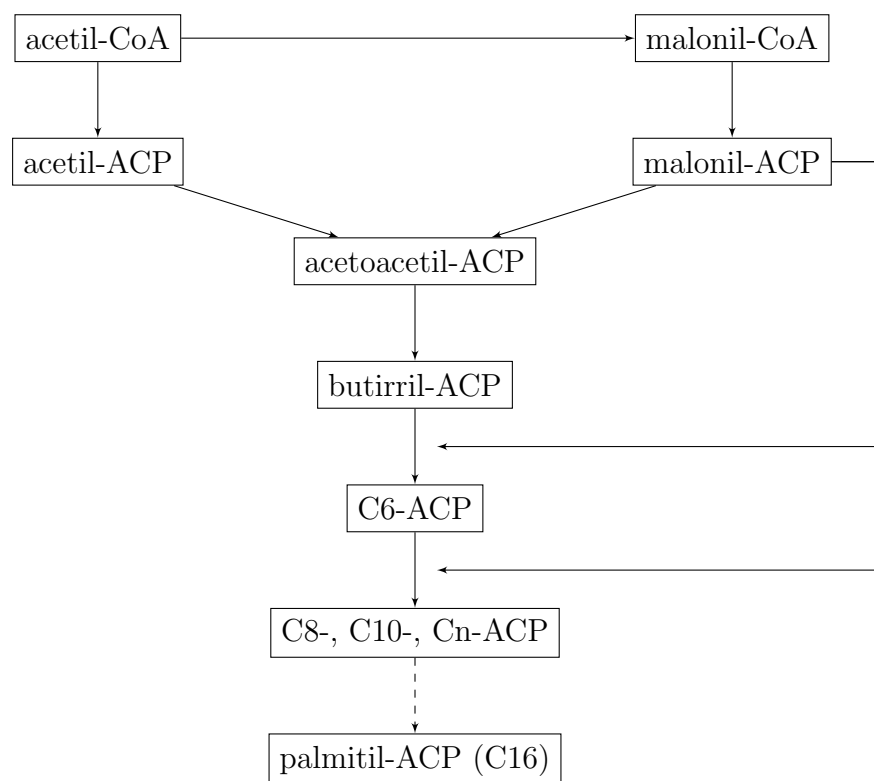
4.1.1 Anabolismo

Acetil-CoA viene carbossilato, in una reazione dipendente da biotina come donatore, in **malonil-CoA**.

Il gruppo acilico di malonil-CoA viene successivamente ceduto all'**estremità tiolica** di ACP, con formazione di malonil-ACP. Esso reagisce con acetil-ACP, analogamente derivato da acetil-CoA, per formare **acetoacetil-ACP**.

Questo composto, dopo riduzione e deidratazione a butirril-ACP, reagisce nuovamente con malonil-ACP. Il composto così ottenuto possiede sei atomi di carbonio: quattro dati da butirril-ACP, due da malonil-ACP. Successive reazioni con malonil-ACP permettono l'elongazione del composto di due atomi di carbonio ad ogni ciclo, fino a produrre **acido palmitico** (16:0).

L'acido palmitico può essere ulteriormente allungato o desaturato, per produrre gli altri acidi grassi sintetizzabili dall'organismo.



5 Modificazione delle proteine

Oltre agli effetti sul metabolismo finora descritti, un vasto campo di attività del coenzima A, e dunque dell'acido pantotenico, è l'alterazione delle proteine allo scopo di modificarne attività e altre proprietà.

Le variazioni strutturali delle proteine possono ad esempio determinarne la **collocazione nelle membrane** plasmatiche o in quelle intracellulari, le **interazioni** con altre proteine e l'**indirizzamento** a specifici organelli o strutture.

Molte proteine subiscono l'**aggiunta covalente di unità carboniose fornite da CoA**, in qualità di donatore, oppure grazie ad esso sintetizzate.

Le tre principali categorie di modificazioni richiedenti CoA sono:

- **acilazione**: aggiunta di radicali acilici di lunghezza variabile.
I due acidi grassi a lunga catena più comunemente addizionati come gruppi acilici sono quello **miristico** (14:0), su residui di glicina, e quello **palmitico**, sulla catena laterale di residui di cisteina.
La **palmitoilazione** si realizza mediante un legame tioestereo **instabile**, di facile idrolisi. Sono perciò possibili cicli di palmitoilazione e depalmitoilazione adatti a regolare la funzionalità di una proteina a seconda delle esigenze. Interessa ad esempio la subunità α delle proteine G, recettori di membrana, proteina del citoscheletro, di gap junction e neuronali, ed enzimi come l'acetilcolina-esterasi. È inoltre necessaria al distacco delle vescicole dalle cisterne del Golgi.
La **miristoilazione** invece prevede la formazione di un legame ammidico **stabile**. Anch'essa è applicata alle subunità α e ad enzimi, oltre che a fattori di ribosilazione di ADP, chinasi e proteine del sistema immunitario e alla recuperina, coinvolta nel ripristino dell'eccitabilità della visione.
- **acetilazione**: particolare acilazione in cui la catena R è un semplice metile.
È frequente all'estremità amminica di proteine solubili al fine di alterarne l'affinità per recettori o altre proteine.
- **prenilazione**: aggiunta di catene isopreniche. Avviene ad esempio su residui di cisteina di motivi CAAX (cisteina, amminoacido alifatico e residuo C-terminale), per aggiunta di **farnesile** o **geranilgeranile**.
Sono soggette a prenilazione le proteine **Ras**, coinvolte nella trasduzione del segnale, le **Rab**, che regolano il traffico vescicolare, le lamine nucleari, la subunità γ delle proteine G e varie chinasi.

Esse possono essere **co-traduzionali**, ovvero attuate durante la sintesi del peptide, oppure **post-traduzionali**.

5.1 Acetilazione di β -endorfina

Il **neurotrasmettitore** peptidico cerebrale β -endorfina determina effetto **analgesico** e influenza apprendimento, attitudine e attività sessuale. Subisce acetilazione post-traduzionale all'estremità ammino-terminale, che lo disattiva per impossibilità di legare i propri recettori.

5.2 Acetilazione degli istoni

Gli istoni **legano il DNA** determinandone la configurazione eu- o eterocromatinica. L'acetilazione dei residui lisinici di queste proteine in specifiche regioni di cromatina **riduce la loro affinità per il DNA**, permettendo l'assunzione di una forma maggiormente rilassata e dunque favorendo la trascrizione del tratto di genoma corrispondente.

Il processo è catalizzato dall'enzima **istone-acetiltransferasi** (HAC), che sfrutta acetil-CoA come donatore di acetile, ed è reversibile grazie all'intervento di **istone-deacetilasi** (HDAC).

L'acetilazione istonica reversibile permette alla cellula di trascrivere all'occorrenza i geni richiesti per la propria attività, e di *spegnerli* quando non più necessari.

5.3 Acetilazione di α -tubulina

I microtubuli, costituenti del citoscheletro, sono eterodimeri di α e β -tubulina.

L'acetilazione del gruppo amminico di specifici residui di lisina di α -tubulina **stabilizza il microtubulo**; al contrario, la deacetilazione ne favorisce la depolimerizzazione.

5.4 Acilazione di eNOS

La **ossido nitrico-sintasi endoteliale** (NOSIII) è presente nella membrana di cellule endoteliali dei vasi sanguigni e dei cardiomiociti, dove sintetizza NO in risposta ad aumento della concentrazione intracellulare di calcio.

NO agisce in qualità di **vasodilatatore** grazie al suo effetto di rilassamento della muscolatura liscia perivasale. Media anche azioni **antitrombotiche** ed **antinfiammatorie**, ed inibisce la stimolazione vasocostrittoria promossa da angiotensina II.

L'enzima è mantenuto in membrana grazie ad una doppia acilazione. Subisce infatti:

- **miristoilazione** co-traduzionale
- **palmitoilazione** post-traduzionale

La particolare estremità N-terminale di eNOS lega perciò acido miristico con un suo sito, e acido palmitico con altri due.

Ciò è di fondamentale importanza per l'inserimento in membrana plasmatica, in particolare nelle sue invaginazioni dette **caveole**, dove è in rapporto con altre proteine e canali utili alla sua attività.

eNOS ha inoltre la particolarità di legarsi a **caveolina-1**, che esercita su di essa un tono inibitorio. Quando la concentrazione citosolica di calcio aumenta, tale legame viene rimpiazzato da quello con la **calmodulina**, che determina l'avvio della sintesi di NO.

Se la palmitoilazione non avviene, eNOS non è presente nelle caveole e la cellula endoteliale non può produrre ossido nitrico.

5.5 Acilazione di proteine G

Le **proteine G monomeriche** sono lipidate con acidi grassi o con **farnesile**, e ciò ne garantisce la permanenza in membrana. L'unica eccezione è rappresentata da **Ran**, che gestisce il traffico bidirezionale di composti dal citoplasma al nucleo.

La **subunità α** delle proteine G eterotrimeriche è soggetta a **palmitoilazione** reversibile catalizzata da palmitoil-transferasi, che preleva un palmitato fornito da palmitoil-CoA. Tale modifica media la **traslocazione** della subunità fra membrana plasmatica e citoplasma.

α di **G_i** subisce inoltre l'aggiunta permanente di **acido miristico**. Esso consolida la localizzazione della subunità in membrana, accrescendo l'affinità per la componente **$\beta\gamma$** della proteina, e promuove l'interazione, di significato inibitorio, con l'**adenilato ciclasi**. L'acilazione reversibile delle subunità α potrebbe quindi rappresentare un'ulteriore modalità di controllo per le vie di trasduzione del segnale mediate da proteine G.

Riferimenti bibliografici

- [1] John W. Erdman, Jr., Ian A. MacDonald, Steven H. Zeisel, *Present Knowledge in Nutrition*, Wiley-Blackwell, 10th edition, 2012.
- [2] George F. M. Ball, *Vitamins. Their role in the human body.*, Wiley-Blackwell, 1st edition, 2004.
- [3] George F. M. Ball, *Vitamins in foods. Analysis, bioavailability, and stability*, Taylor Francis, 1st edition, 2006.
- [4] David L Nelson, Michael M Cox, *Lehninger principles of biochemistry*, Freeman, W. H. Company, 6th edition, 2012.
- [5] Thomas M. Devlin, *Biochimica con aspetti chimico-farmaceutici*, EdiSES, 7^a edizione, 2011.
- [6] Maurine E. Linder et al., *Lipid modifications of G proteins: α subunits are palmitoylated*, Department of Pharmacology, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, 1993.