

# **Introduzione allo studio del metabolismo**

## **Parte I**

# Energia ed Esigenze nutrizionali

## Organismi autotrofi

Sono quegli organismi capaci di **nutrirsi** sfruttando esclusivamente di **composti chimici inorganici**



Sintetizzano tutti i loro composti a partire da **molecole semplici**

Ci sono **2** possibili **forme di energia libera** in questo processo

## Chemiolitotrofi

ottengono la loro energia mediante l'**ossidazione** di *composti inorganici* come **NH<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>S**

## Fotoautotrofi

Ottengono energia mediante la **fotosintesi**.

Sono rappresentati dalle **piante, alghe e fitoplancton** (produttori primari).

Questi organismi sono capaci di organizzare i composti chimici nel terreno (o nell'acqua), così da **produrre autonomamente riserve alimentari (zuccheri, amidi)**.

## FOTOTROFI

Le piante ed alcuni tipi di batteri ricavano l'energia libera dal **Sole** mediante la **fotosintesi**

l'energia luminosa è convertita in **energia chimica**

L'**energia chimica** viene successivamente utilizzata nei processi **endoergonici** come la capacità di produrre un **lavoro meccanico**, il **trasporto attivo** di molecole attraverso le membrane e la **biosintesi** di molecole complesse.

dai composti chimici nel terreno (o nell'acqua) **producono autonomamente riserve alimentari (zuccheri, amidi).**

## ETEROTROFI

Sono quegli organismi che si **nutrono** delle **sostanze prodotte dagli organismi autotrofi**

*Ricavano l'energia libera* necessaria per i processi **endoergonici**, dall'**ossidazione** dei **composti organici** (carboidrati, lipidi e proteine), ottenuti da altri organismi.



# METABOLISMO

## CATABOLISMO:

Insieme delle vie metaboliche che convertono composti **complessi** in composti più **semplici**

Insieme delle reazioni che operano **l'ossidazione** delle sostanze organiche complesse (processi **esoergonici**).

*(degradazione dei composti biologici; produzione di energia e potere riducente)*

## ANABOLISMO:

Insieme delle vie metaboliche che convertono composti **semplici** in composti più **complessi** (processi **endoergonici**).

Reazione di **riduzione**

*(sintesi dei composti biologici)*

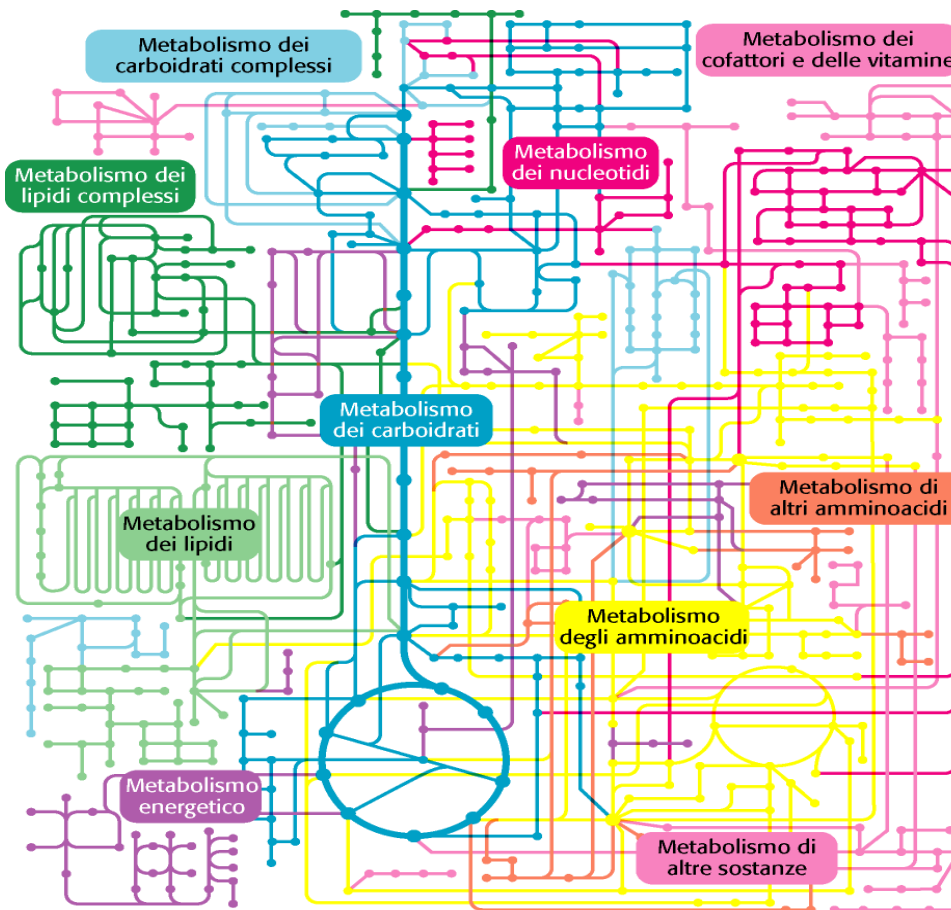
La conversione di composti semplici in composti più complessi **richiede energia** ed **elettroni** (**potere riducente**)

Le vie sono **interdipendenti** e sono regolate attraverso l'azione di numerosi **enzimi allosterici**

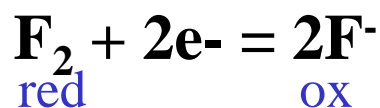
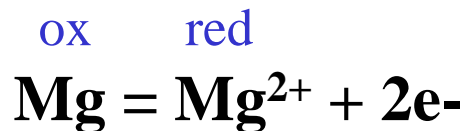
Le vie metaboliche possono essere **lineari** o **ramificate**

Le vie **cataboliche** generalmente sono **convergenti**

Le vie **anaboliche** generalmente sono **divergenti**



# CONCETO DI RIDUZIONE E OSSIDAZIONE NEI COMPOSTI ORGANICI



**OSSIDAZIONE**

**RIDUZIONE**

**Perdita di elettroni**

**Acquisizione di elettroni**

L'assegnazione dell'appartenenza degli elettroni si basa sulla **elettronegatività** degli elementi

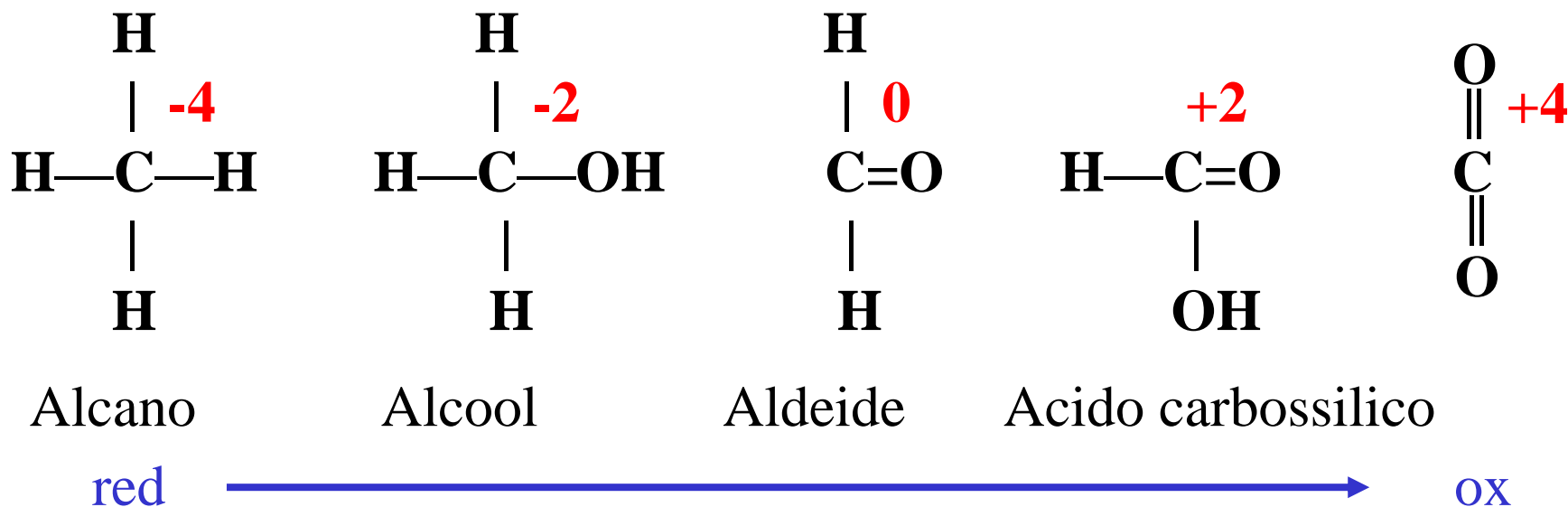
	<b>Elettronegatività</b>	<b>Contributo allo stato di ossidazione del Carbonio</b>
<b>O, N, S</b>	>C	<b>+1</b>
<b>H</b>	<C	<b>-1</b>
<b>C</b>	=C	<b>0</b>

**Legami multipli**

Il contributo complessivo è dato dal contributo dell'elemento per il numero di legami

**C=O** l'ossigeno dà un contributo di **+2** all'atomo di C

# L'atomo di carbonio può essere progressivamente ossidato



**OSSIDAZIONE**    *Aumento* del numero di ossidazione

**RIDUZIONE**    *Diminuzione* del numero di ossidazione

## IN PRATICA

**OSSIDAZIONE**    Inserimento di **O,N,S**

**RIDUZIONE**    Inserimento di **H**

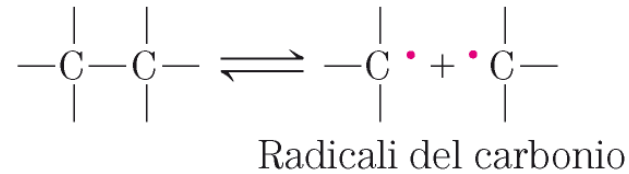
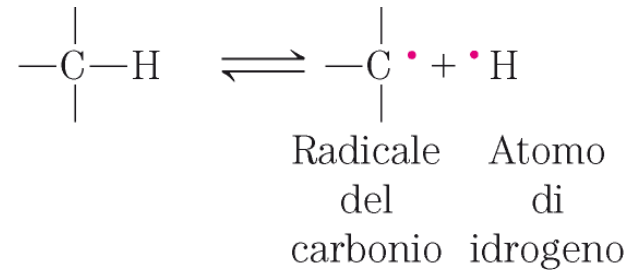


# un legame covalente consiste in una coppia di elettroni condivisi e può essere scisso in due modi

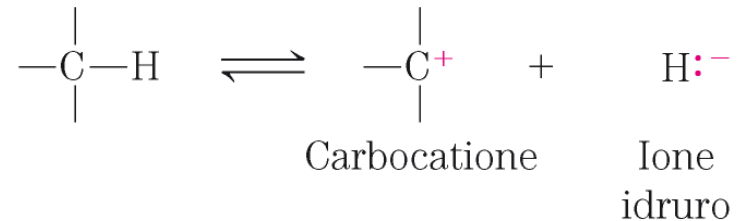
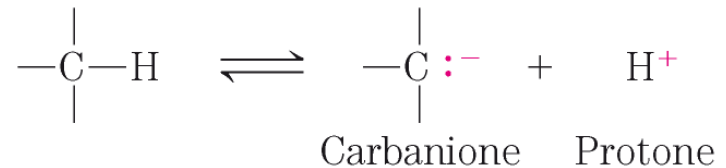
Ciascun atomo si stacca dal legame sotto forma di un **radicale** portando con se **1 elettrone**

Si formano **RADICALI**

**Scissione omolitica**

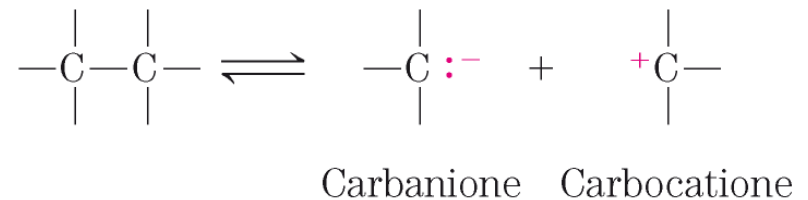


**Scissione eterolitica**

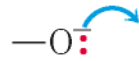


Uno dei due atomi trattiene **2 elettroni**

Si formano **Carbanioni** e **Carbocationi**



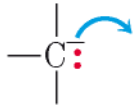
## Nucleofili



Ossigeno carico negativamente  
(come in un ossidrile non protonato, o in un acido carbossilico ionizzato)



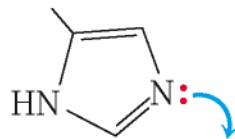
Sulfidri carichi negativamente



Carbanione



Gruppo amminico non carico

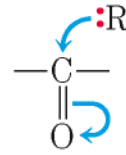


Imidazolo



Ione idrossido

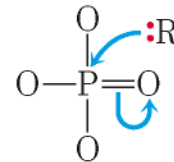
## Elettrofili



Atomo di carbonio di un gruppo carbonilico (l'ossigeno più elettronegativo del gruppo carbonilico tiene gli elettroni lontani dal carbonio)



Gruppo imminico protonato (attivato per l'attacco nucleofilo sul carbonio dell'immina protonata)



Fosforo di un gruppo fosfato



Protone

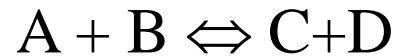
## Nucleofili

Gruppi funzionali ricchi di elettroni

## Elettrofili

Gruppi funzionali poveri di elettroni

# SPONTANEITA' DI UNA REAZIONE ENERGIA LIBERA DI GIBBS



$$\Delta G = \sum G_{\text{prodotti}} - \sum G_{\text{reagenti}}$$

$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

$\Delta G^{\circ'}$  è la variazione di energia libera standard a pH 7

**R** è la costante dei gas

**T** è la temperatura assoluta

**Stato standard** in cui la concentrazione di ciascun reagente è 1 M

$\Delta G < 0 (-)$	<b>Spontanea</b>	<b>Esoergonica</b> Libera energia
$\Delta G = 0$	<b>Equilibrio</b>	non si ha una trasformazione netta
$\Delta G > 0 (+)$	<b>Non spontanea</b>	<b>endoergonica</b> è necessario fornire energia per farla avvenire

# Reazioni all'equilibrio

Molte reazioni metaboliche sono **vicine all'equilibrio**

In questo caso

$$\Delta G = 0$$

allora

$$[C]_{eq} [D]_{eq} / [A]_{eq} [B]_{eq} = K_{eq}$$

Poiché  $\Delta G = 0$  è possibile *invertire facilmente la direzione della reazione*, modificando il rapporto tra prodotti e reagenti

Gli enzimi che catalizzano reazioni vicine all'equilibrio tendono ad **agire velocemente** per **ripristinare** le **concentrazioni all'equilibrio**

le **velocità nette** di queste reazioni sono **regolate** in modo efficace dalle *concentrazioni relative dei substrati e dei prodotti*

# Reazioni lontane dall'equilibrio

## Reazioni Irreversibili

Le reazioni irreversibili hanno luogo in condizioni **lontane dall'equilibrio**

Hanno  $\Delta G < 0$  (-) **esoergonica**

La **variazione** della **concentrazione** dei **substrati** ha uno scarso effetto sulla velocità della reazione poiché **l'enzima** è essenzialmente **saturato**

La **velocità** di reazione **cambia** in risposta per esempio alla **modulazione allosterica**

## Alcune importanti conseguenze

### Le vie metaboliche sono irreversibili

Una reazione fortemente **esoergonica** [ $\Delta G < 0$  (negativo)] è **irreversibile**

Se fa parte di una **via metabolica** in più **tappe**, una reazione di questo tipo conferisce una direzione precisa a tutta la via

*cioè rende irreversibile l'intera via metabolica*

### Ogni via metabolica ha una prima tappa di controllo

Anche se la *maggior parte delle reazioni di una via metabolica opera in condizioni vicine all'equilibrio*, di solito esiste **una reazione irreversibile (esoergonica)** nella *prima parte della via*, che «**decide**» se il prodotto deve continuare lungo la via

### Le vie cataboliche e le vie anaboliche sono differenti

Se un **metabolita** è **trasformato** in un altro tramite un **processo esoergonico**, è *necessario fornire energia libera per riconvertire* il secondo metabolita nel primo.

Questo **processo energeticamente «in salita»** *richiede una via diversa per almeno una delle tappe della reazione*

# Considerazioni energetiche

La variazione totale di **energia libera** di una **serie** di **reazioni** è **uguale** alla **somma** delle **variazioni di energia libera** delle **singole reazioni**

Una **reazione** termodinamicamente **sfavorita** può **procedere** se **accoppiata** ad una **reazione** termodinamicamente **favorita**

## Accoppiamento energetico

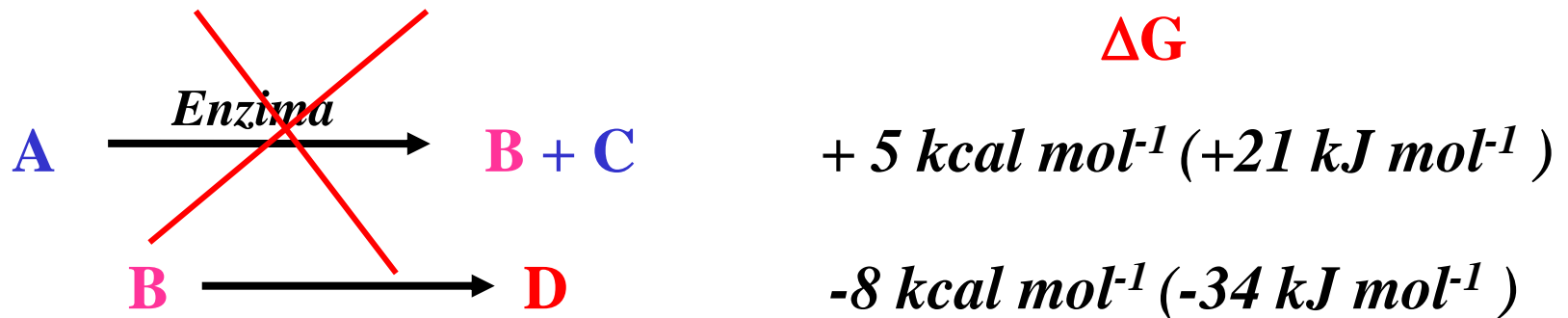
Intermedio comune

Conformazione attivata di un enzima

Addotto covalente con il substrato

Addotto covalente con l'enzima

Una **reazione termodinamicamente sfavorevole** può essere resa possibile mediante **accoppiamento** con una **reazione termodinamicamente favorevole**

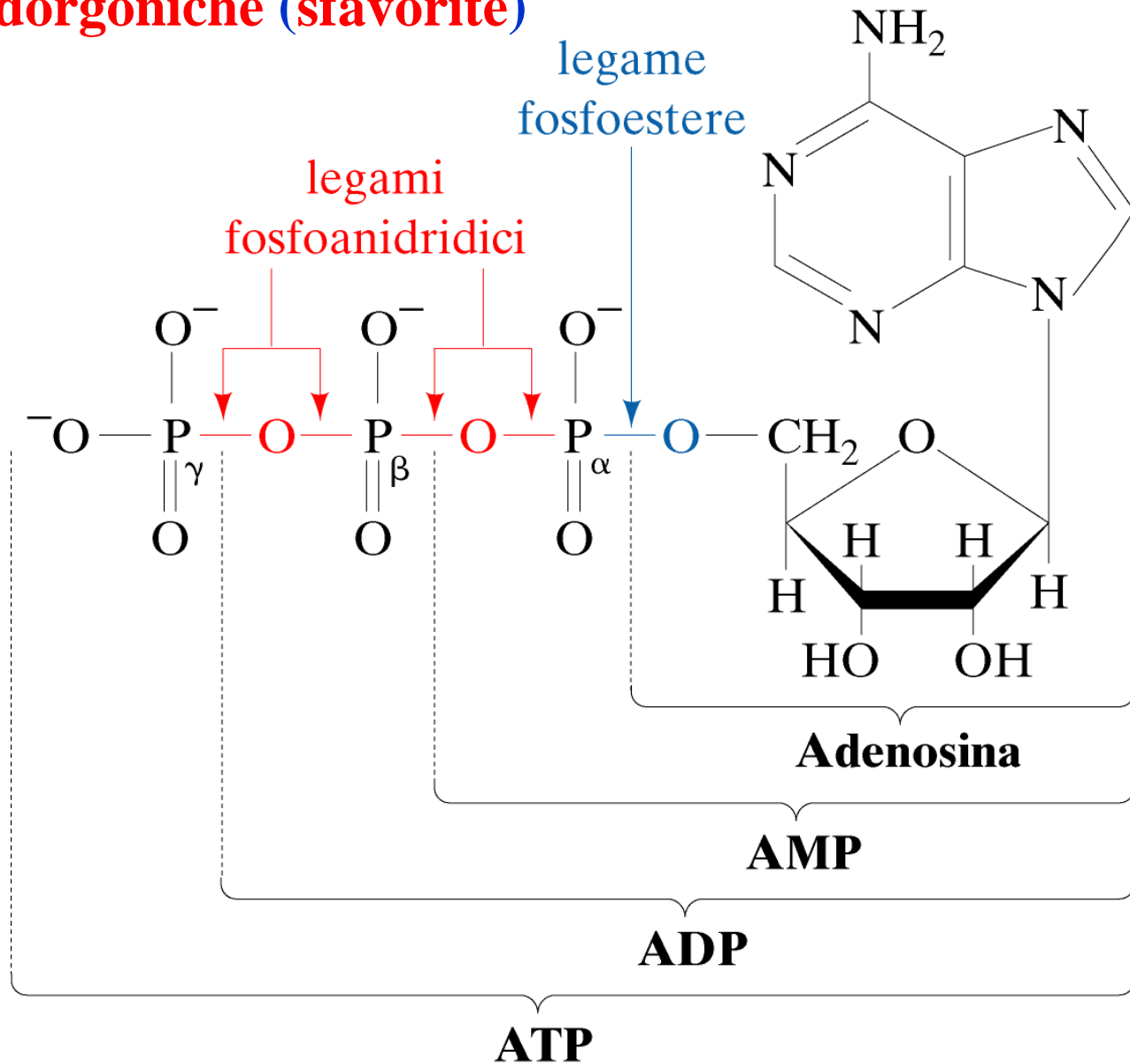


Le variazioni di energia libera sono **additive**

Le due reazioni sono accoppiate dall'intermedio comune **B**

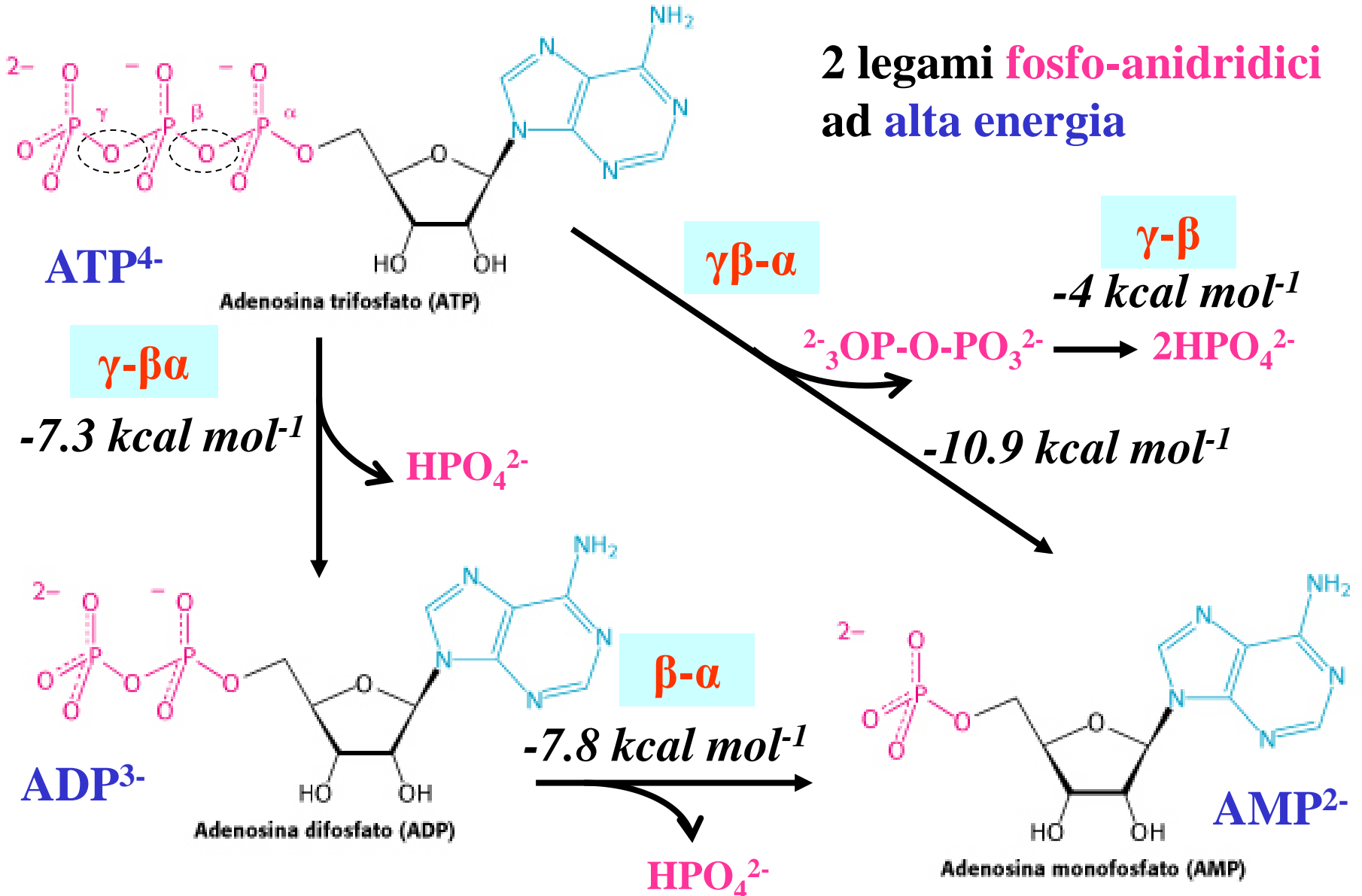
$$1 \text{ cal} = 4,18 \text{ joule}$$

L'idrolisi dei legami fosfoanidridici ad alta energia dell'ATP è una reazione **esoergonica (favorita)** ACCOPPIATA a reazioni **endorgoniche (sfavorite)**



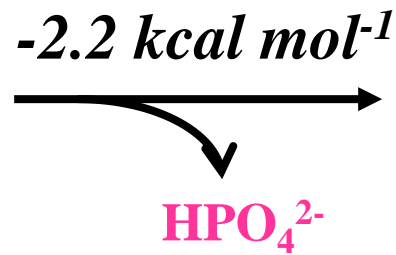
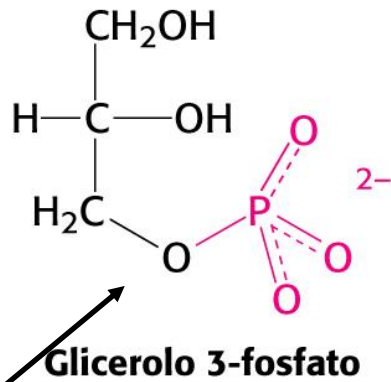
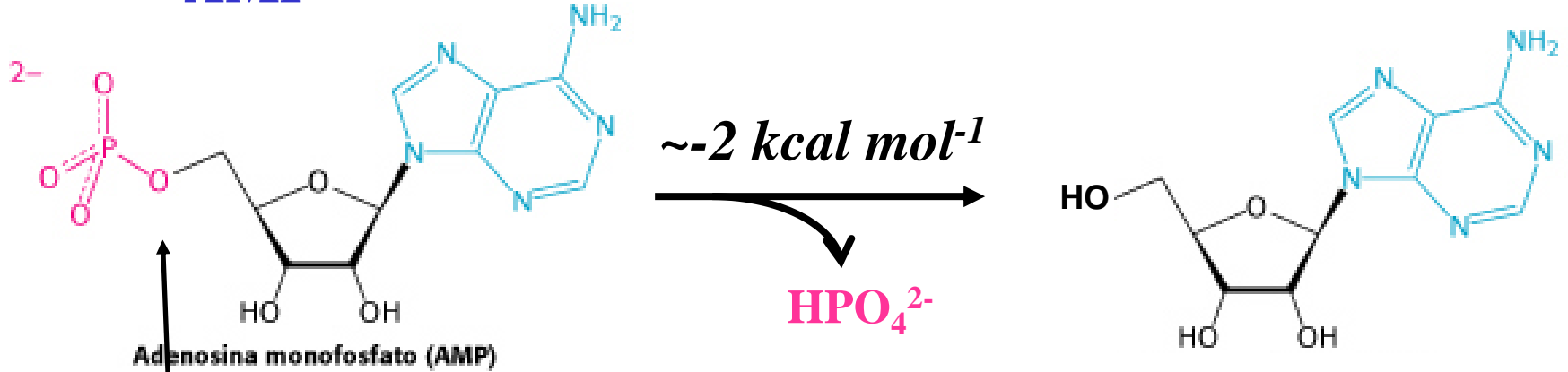
# L'idrolisi dei legami fosfoanidridici

## ATP: il donatore (quasi) universale di energia



# L'idrolisi dei legami fosfoesterei fornisce basse quantità di energia

**AMP<sup>2-</sup>**



**Legami fosfo-estere**

## $\Delta G^\circ$ di idrolisi dei gruppi fosforici

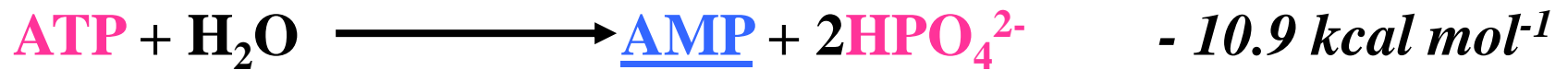
<b>Composto</b>	<b><i>kJ mol<sup>-1</sup></i></b>	<b><i>kcal mol<sup>-1</sup></i></b>
<b>ADP (in AMP +Pi)</b>	<b>-32,8</b>	<b>-7,8</b>
<b>ATP (in ADP +Pi)</b>	<b>-30,5</b>	<b>-7,3</b>
<b>ATP (in AMP +PPi)</b>	<b>-45,6</b>	<b>-10,9</b>
<b>AMP (in adenosina +Pi)</b>	<b>-14,2</b>	<b>-3,4</b>
<b>PPi (in 2Pi)</b>	<b>-19,7</b>	<b>-4,0</b>
Glicerolo 3-fosfato	-9,2	-2,2

**L'idrolisi dell'ATP può indurre nell'enzima un cambio conformazionale trasformandolo in una forma attivata capace di effettuare una reazione energeticamente sfavorevole**

*L'idrolisi dell'ATP sposta l'equilibrio delle reazioni accoppiate*



*Conformazione attivata di un enzima*



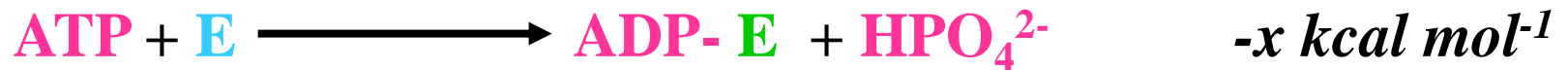
Conformazione attivata di un enzima

ATP può formare un **addotto covalente con il substrato**  
o con un **residuo amminoacidico di un enzima**



Accoppiamento mediante addotto covalente con il substrato

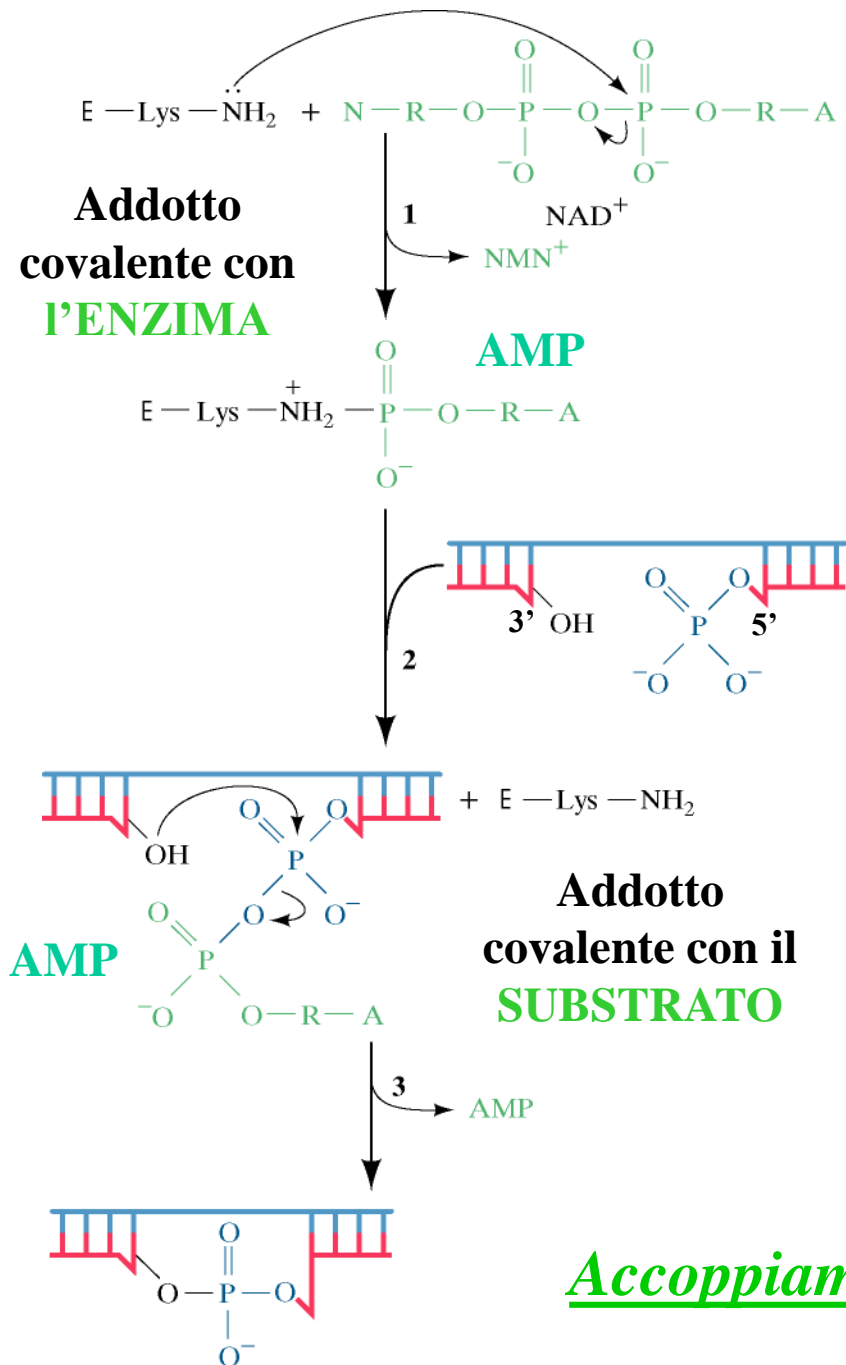
ATP può formare un **addotto covalente con il substrato**  
o con un **residuo amminoacidico di un enzima**



Accoppiamento mediante addotto covalente con l'enzima

La reazione catalizzata dalla DNA ligasi segue questo schema

NMN AMP

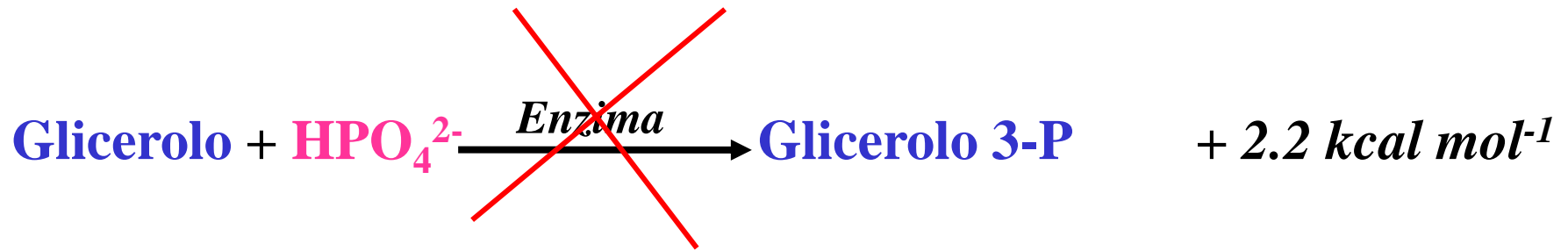


# La DNA ligasi

La DNA ligasi catalizza l'unione di una catena di DNA la cui estremità libera contiene un gruppo ossidrilico in posizione 3' (**3'-OH**) con un'altra catena la cui estremità libera contiene un gruppo fosforico in posizione 5' (**5'-P**). Negli **eucarioti** l'energia per il processo è fornita dall'**ATP**, idrolizzato ad **AMP** e **PPi**, mentre nei **batteri** è fornita dal **NAD<sup>+</sup>**, idrolizzato ad **AMP** e **nicotinammide mononucleotide (NMN)**

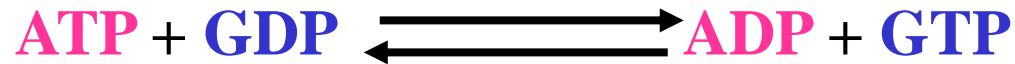
Accoppiamento mediante addotto covalente

## ATP può essere donatore di gruppi fosforici



# Nucleoside difosfato chinasi

*Specifiche **CHINASI** possono catalizzare il trasferimento di gruppi fosforici tra i nucleotidi*



Reazioni energeticamente equivalenti

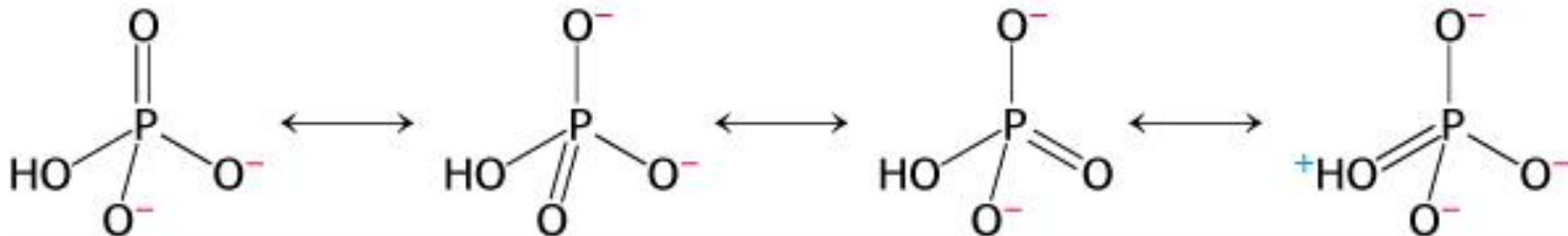
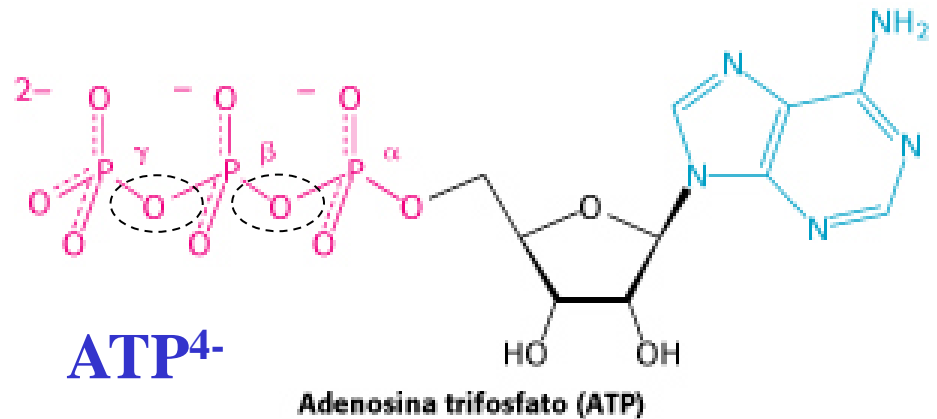
# Basi molecolari dell'elevato potenziale di trasferimento del gruppo fosforico dell'ATP

*I prodotti di idrolisi sono più stabili*

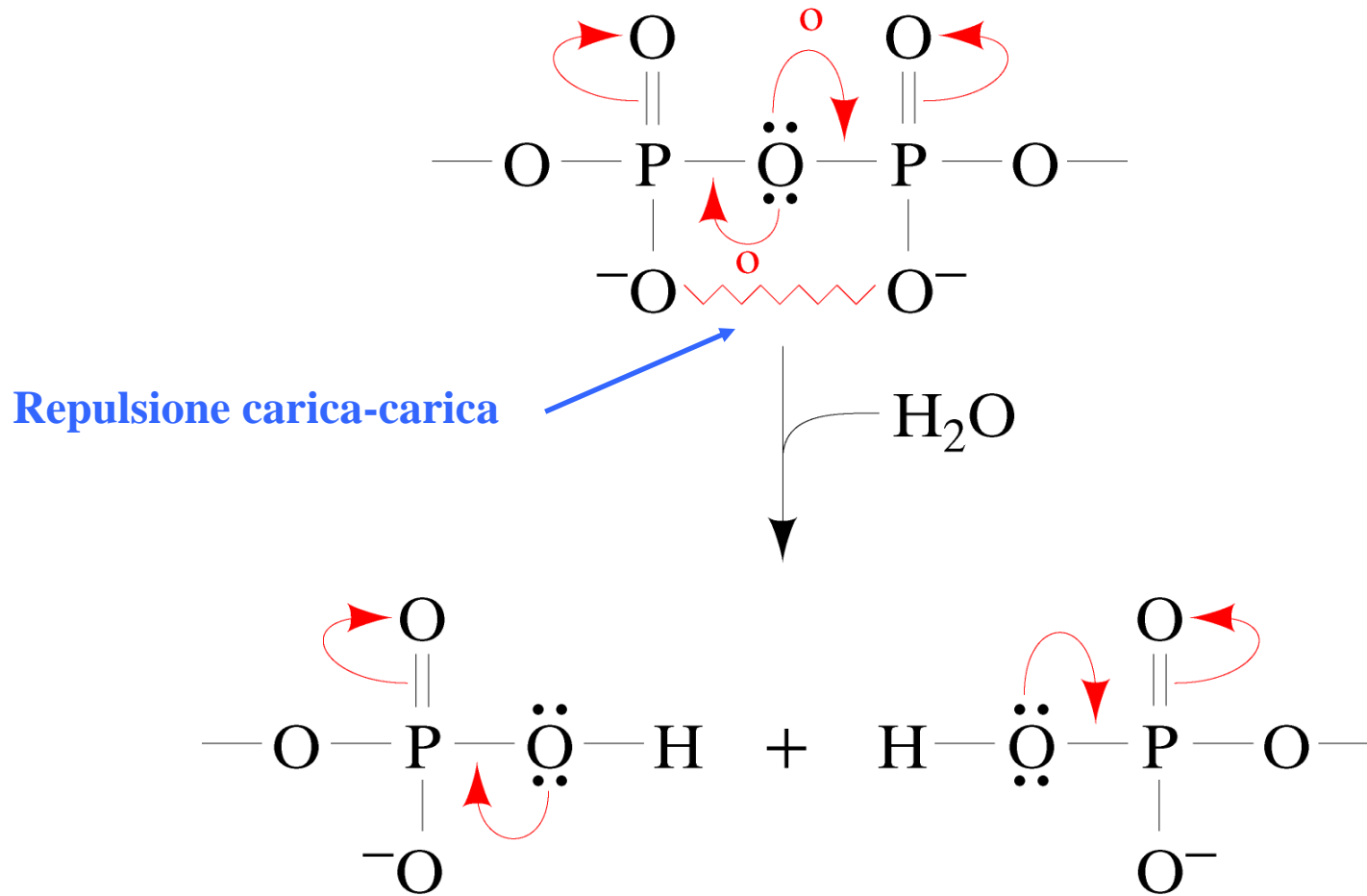
Stabilizzazione per risonanza

Repulsione elettrostatica

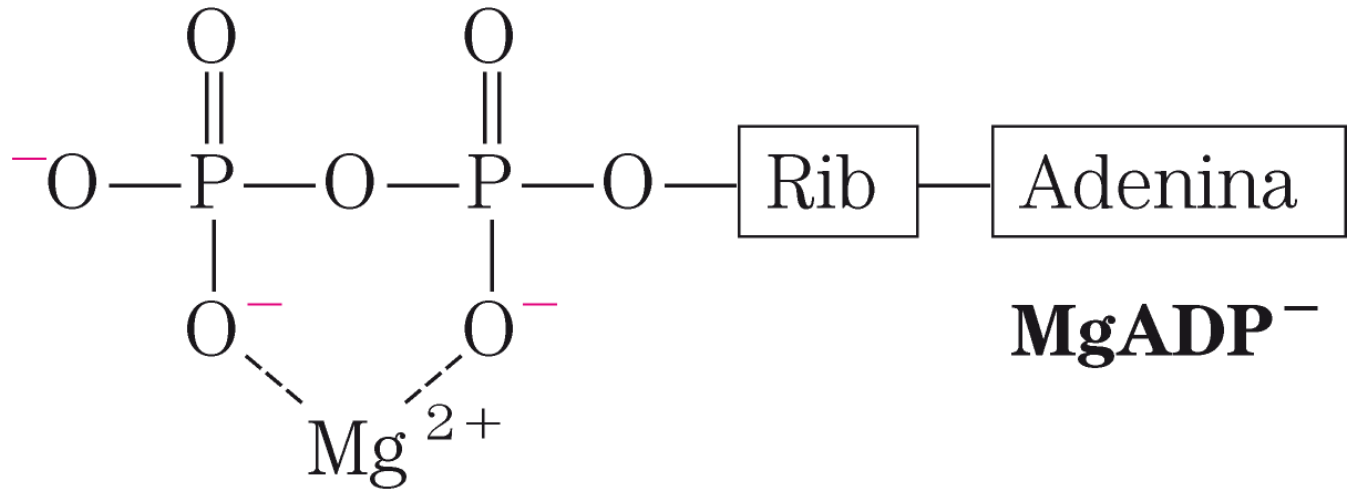
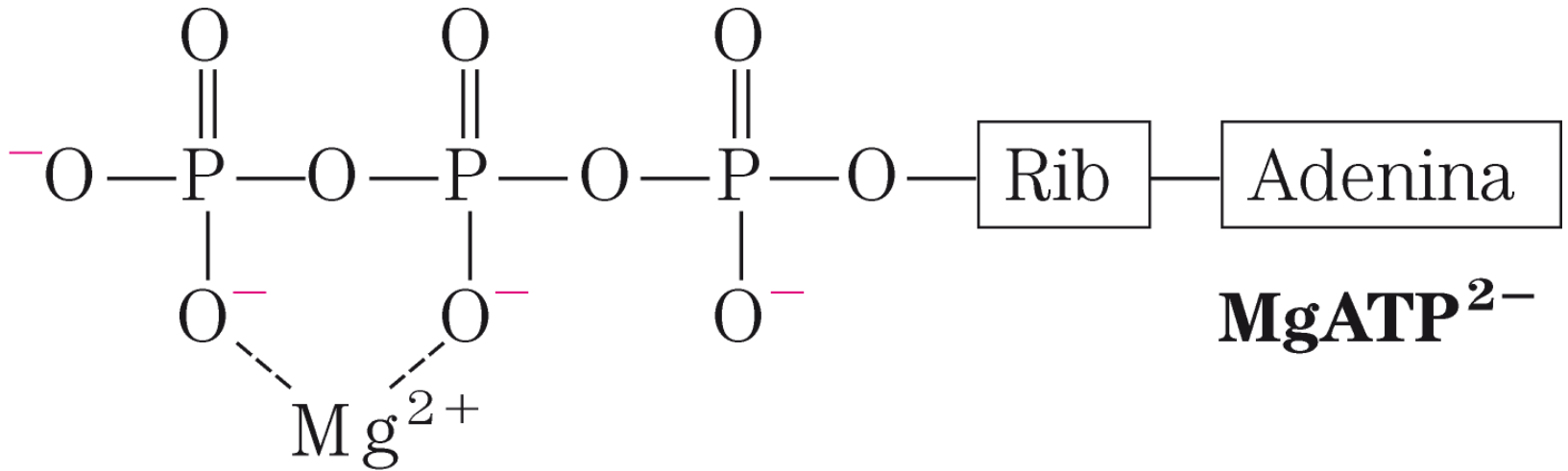
Stabilizzazione per idratazione



# Risonanza e stabilizzazione elettrostatica

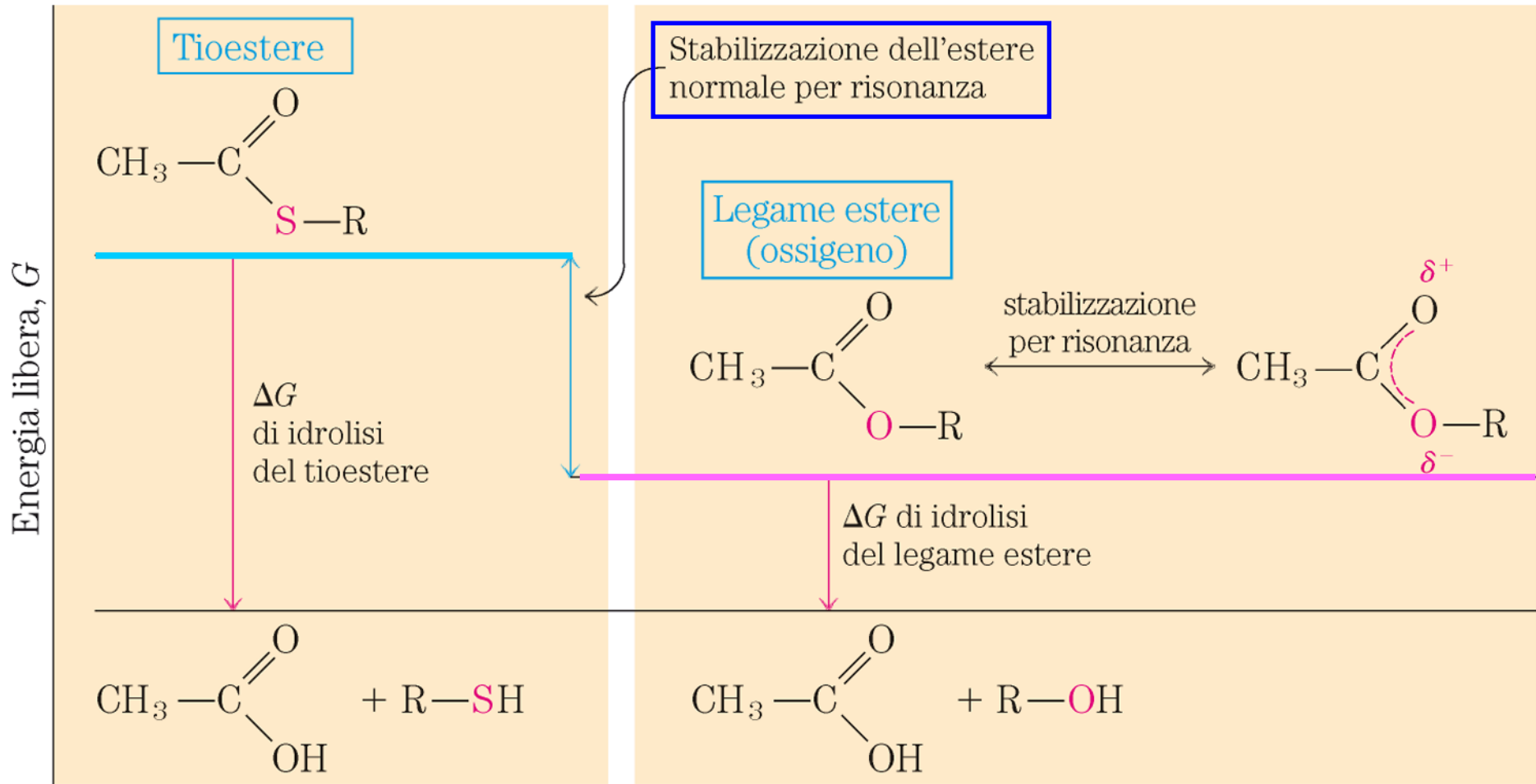


# Il complesso con $Mg^{2+}$ maschera in parte le cariche negative



# Energia libera di idrolisi dei tioesteri e degli esteri

Nei tioesteri non vi sono stabilizzazioni per risonanza comparabili a quelle degli esteri normali



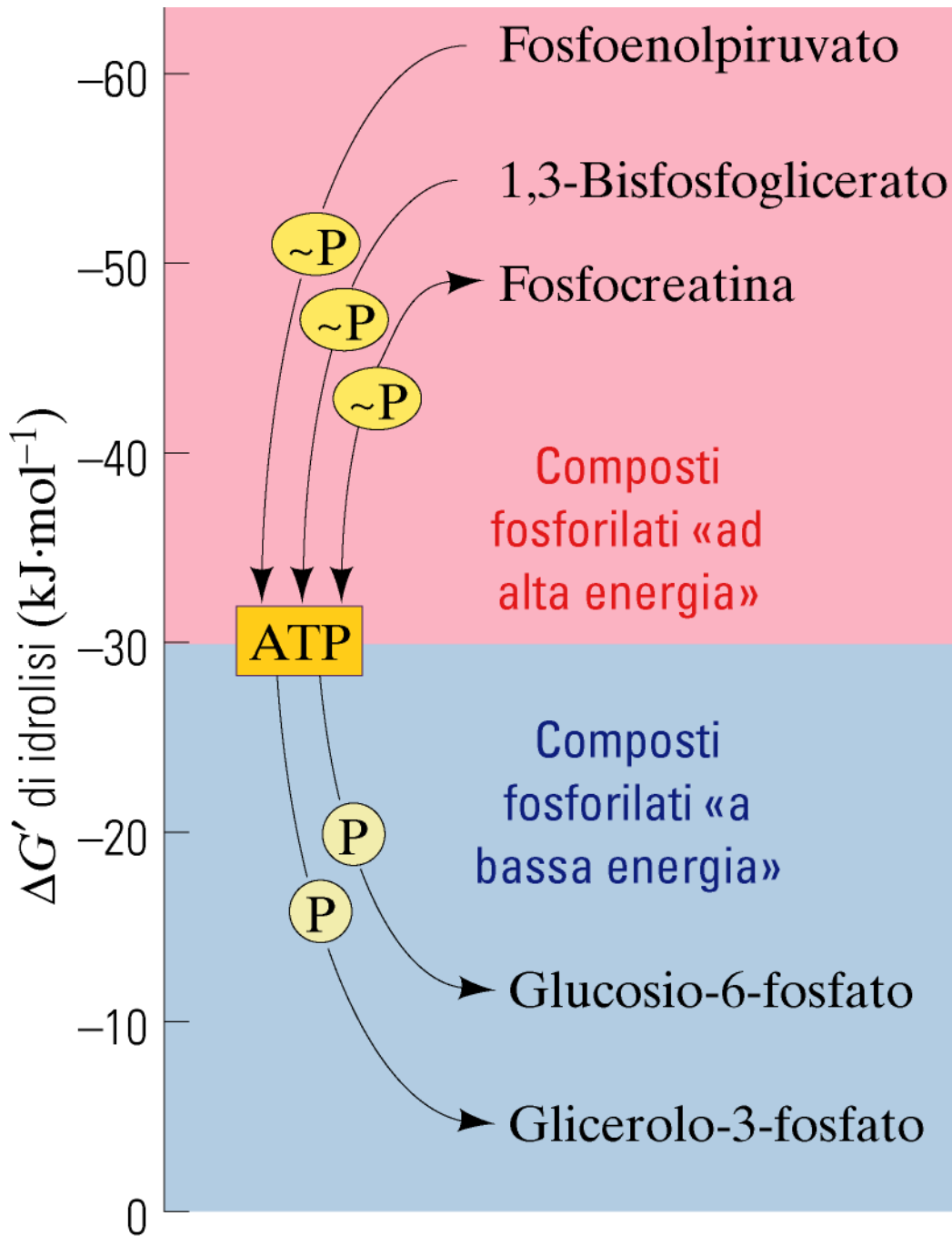
**I prodotti di idrolisi hanno lo stesso contenuto in energia libera G**

# ATP è un trasportatore di gruppi fosforici

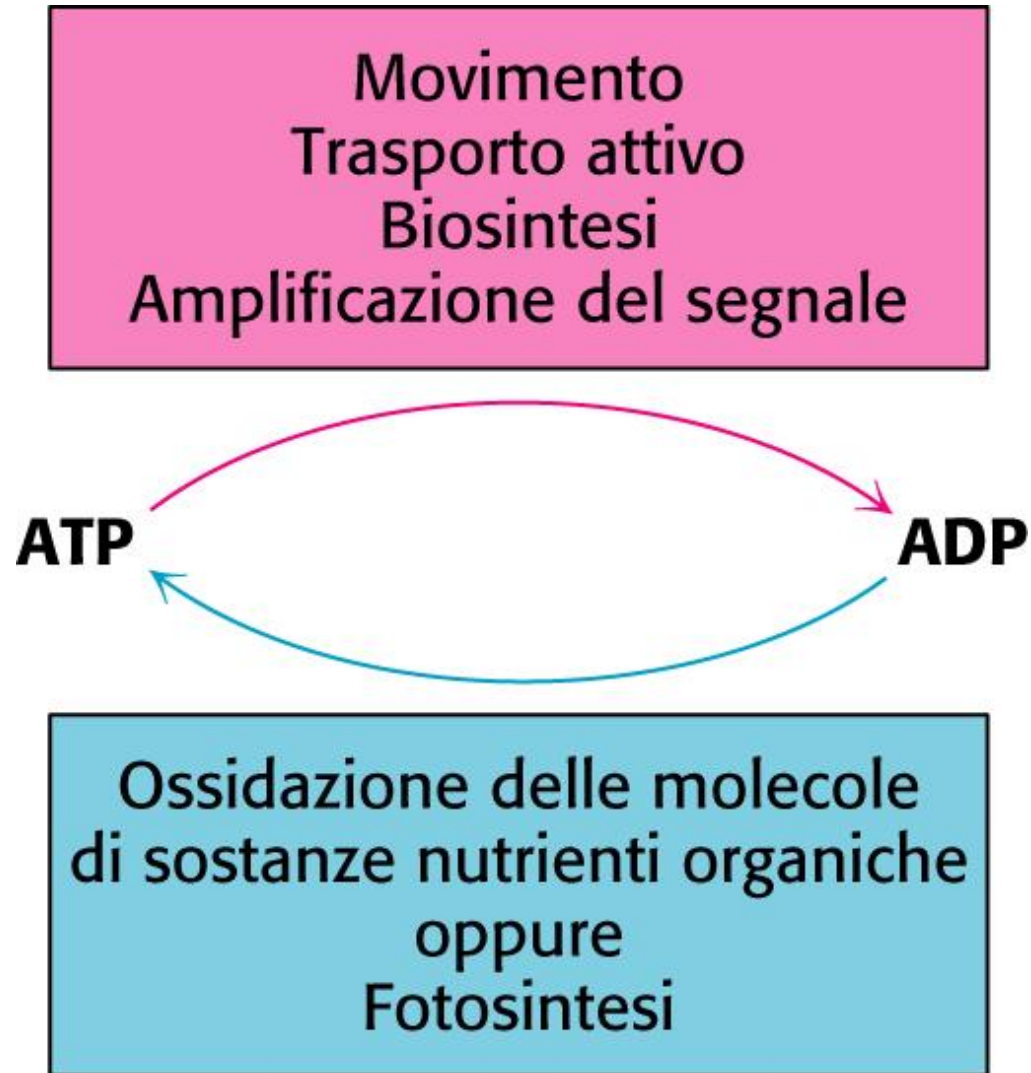
La *posizione intermedia* occupata dall'ATP gli permette di svolgere efficientemente il ruolo di trasportatore di gruppi fosforici

## $\Delta G^\circ$ di idrolisi dei gruppi fosforici

<b>Composto</b>	<b><i>kJ mol<sup>-1</sup></i></b>	<b><i>kcal mol<sup>-1</sup></i></b>
fosfoenolpiruvato	-61,9	-14,8
<b>1,3-bisfosfoglicerato</b>	-49,3	-11,8
Creatina fosfato	-43,0	-10,3
<b>ADP (in AMP +Pi)</b>	<b>-32,8</b>	<b>-7,8</b>
<b>ATP (in ADP +Pi)</b>	<b>-30,5</b>	<b>-7,3</b>
<b>ATP (in AMP +PPi)</b>	<b>-45,6</b>	<b>-10,9</b>
<b>AMP (in adenosina +Pi)</b>	<b>-14,2</b>	<b>-3,4</b>
<b>PPi (in 2Pi)</b>	<b>-19,7</b>	<b>-4,0</b>
Fruttosio 6-fosfato	-15,9	-3,8
Glucosio 6-fosfato	-13,8	-3,3
Glicerolo 3-fosfato	-9,2	-2,2



*ATP non è una forma di conservazione di energia*

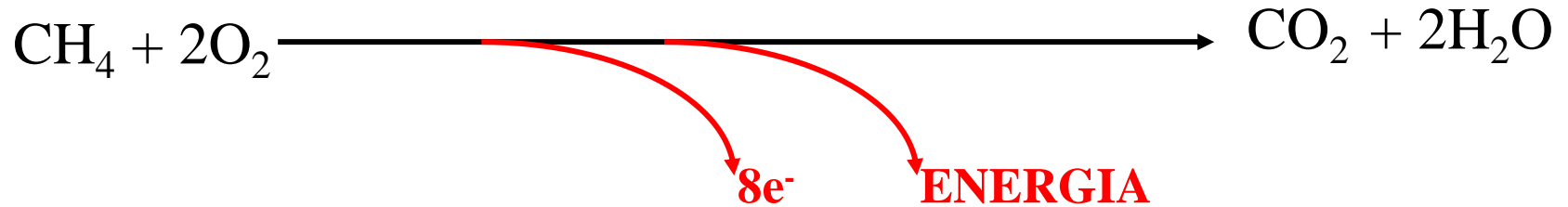


# **Introduzione allo studio del metabolismo**

## **Parte II**

# CATABOLISMO

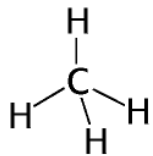
La **quantità** di **energia** derivante **dall'ossidazione** di composti organici **dipende** dallo **stato di ossidazione** del composto.



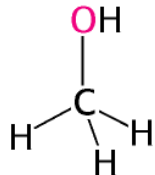
## Ossidazione progressiva

Energia  
massima

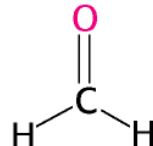
Energia  
minima



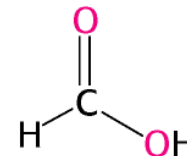
**Metano**



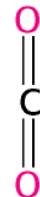
**Metanolo**



**Formaldeide**



**Acido formico**



**Biossido di carbonio**

$\Delta G^{\circ'}$  ossidazione  
(kJ mol<sup>-1</sup>)

-820

-703

-523

-285

0

$\Delta G^{\circ'}$  ossidazione  
(kcal mol<sup>-1</sup>)

-196

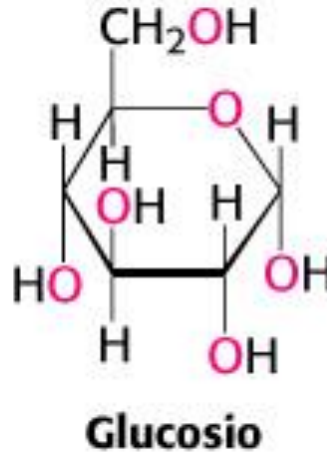
-168

-125

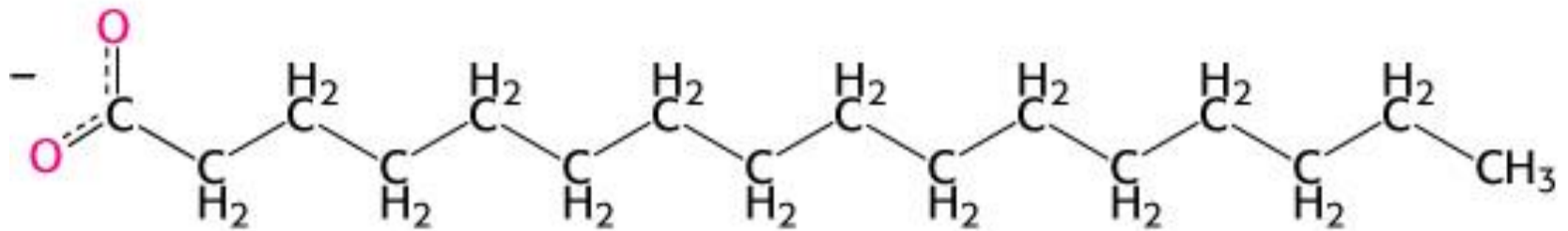
-68

0

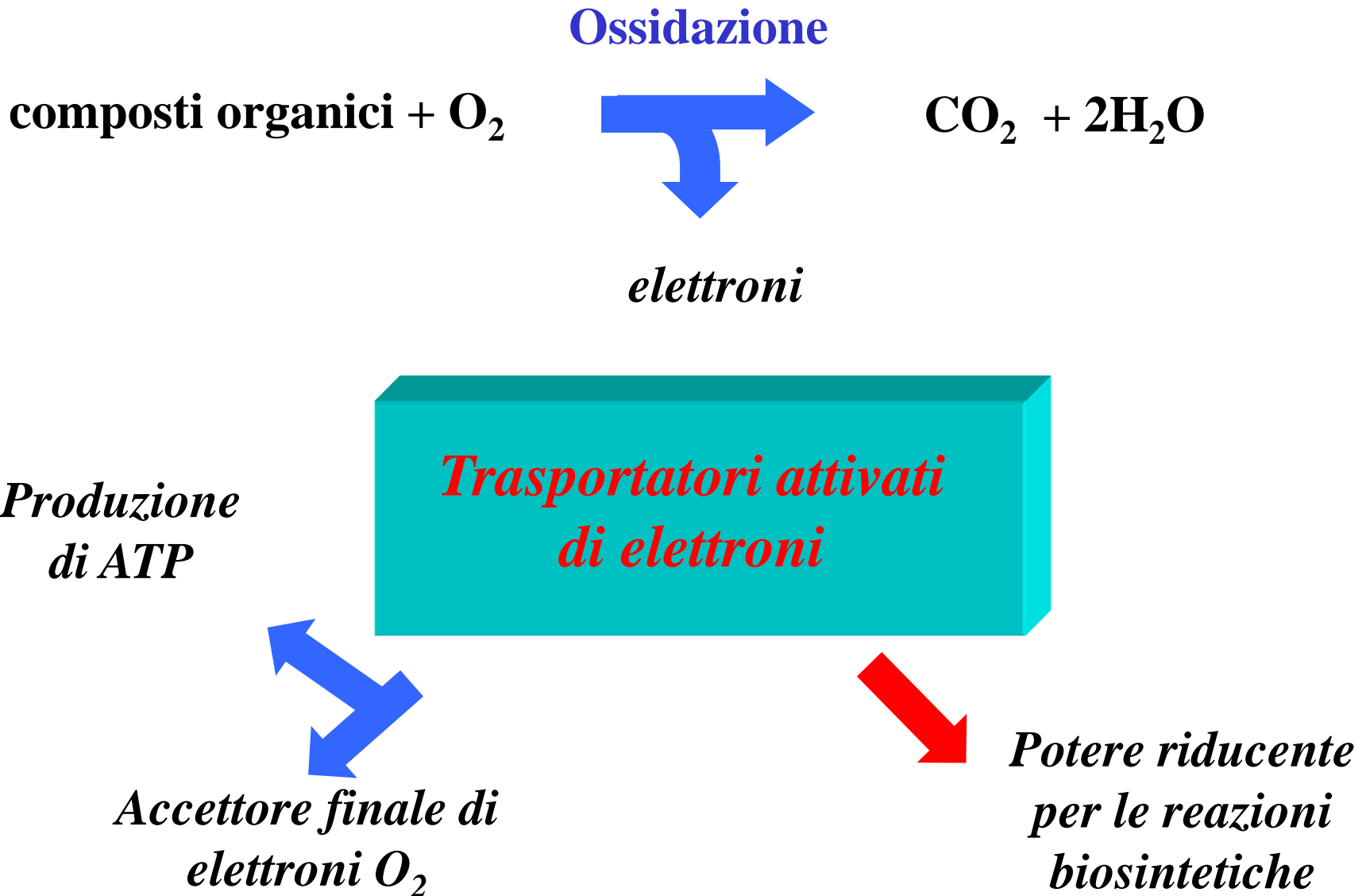
*I combustibili più importanti per l'uomo  
(e gli animali in generale):*



*I grassi sono una fonte  
di energia superiore ai  
carboidrati perché gli  
atomi di carbonio sono  
più ridotti*

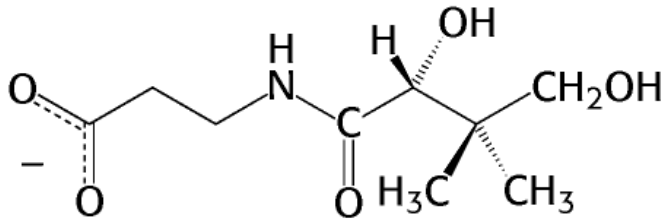


# Destino degli elettroni



# Vitamine idrosolubili

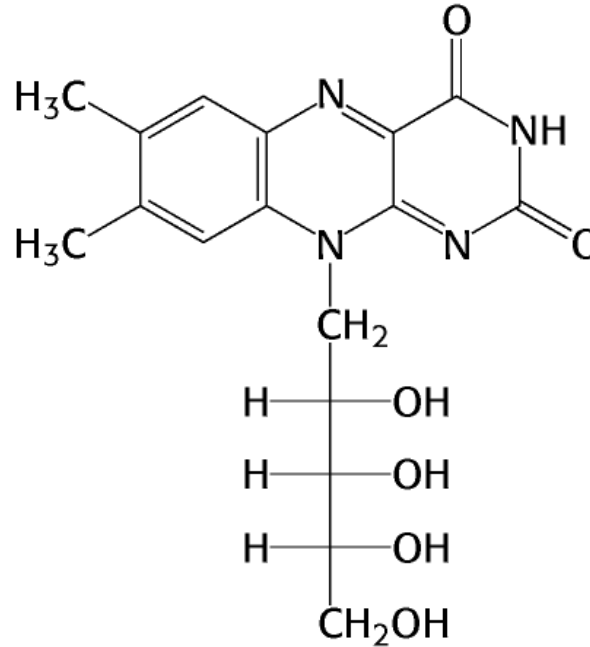
Sono convertite in coenzimi



**Vitamina B<sub>5</sub>**  
**(Pantotenato)**

**Coenzima-A**

**Trasportatore di  
gruppi acilici**

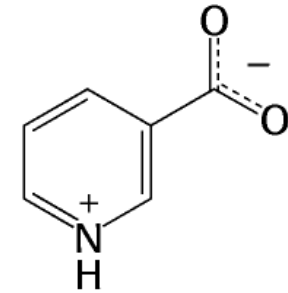


**Vitamina B<sub>2</sub>**  
**(Riboflavina)**

**FAD**

**FMN**

**Trasportatore di  
elettroni**

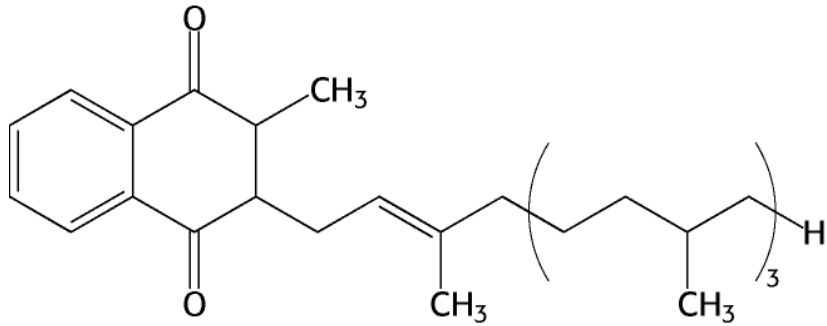


**Vitamina B<sub>3</sub>**  
**(Niacina)**

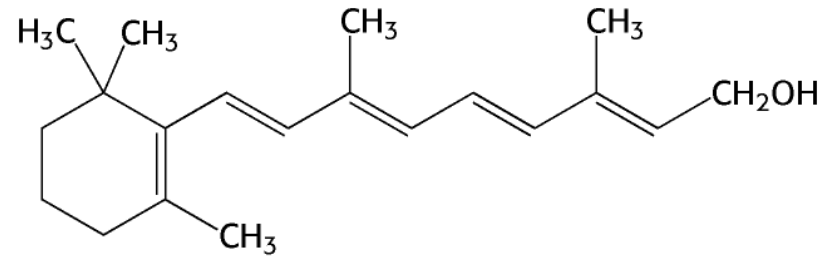
**NAD(P)<sup>+</sup>**

**Trasportatore di  
elettroni**

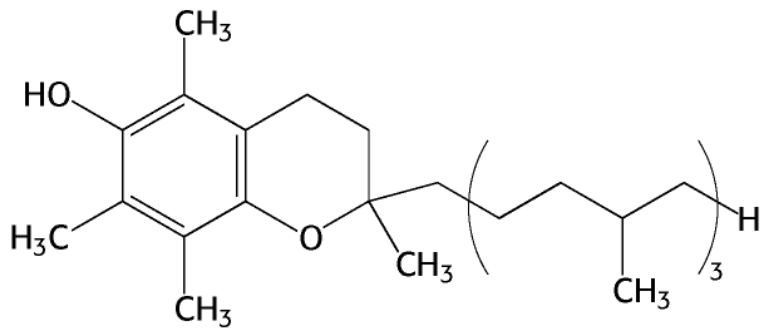
# Vitamine liposolubili



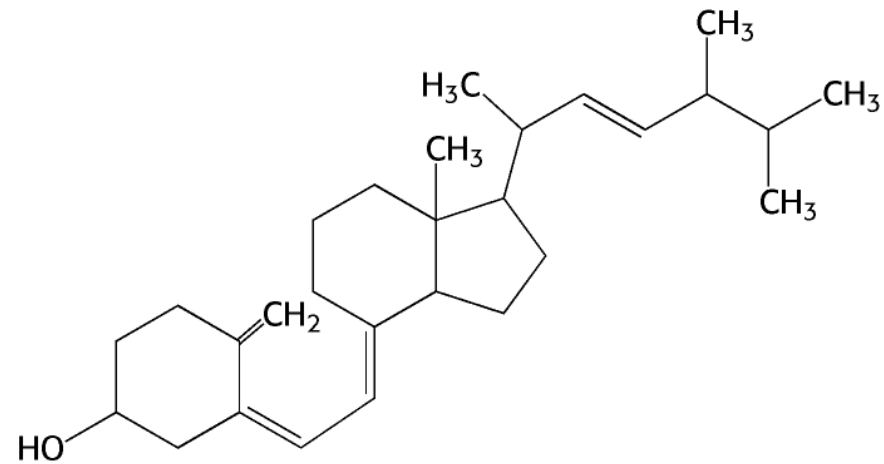
**Vitamina K<sub>1</sub>**



**Vitamina A (Retinolo)**



**Vitamina E (α-Tocoferolo)**

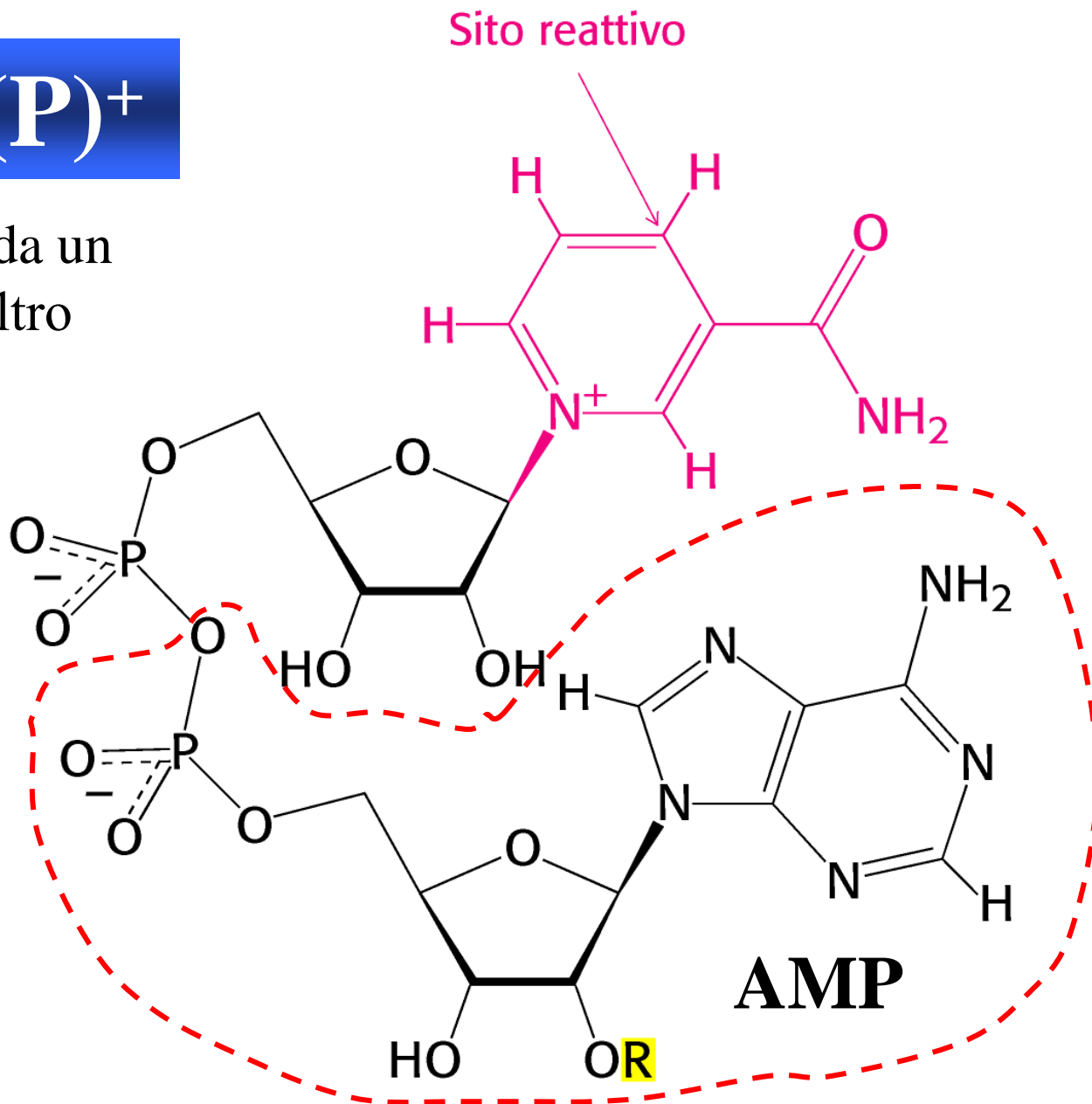


**Vitamina D<sub>2</sub> (Calciferolo)**

# NAD(P)<sup>+</sup>

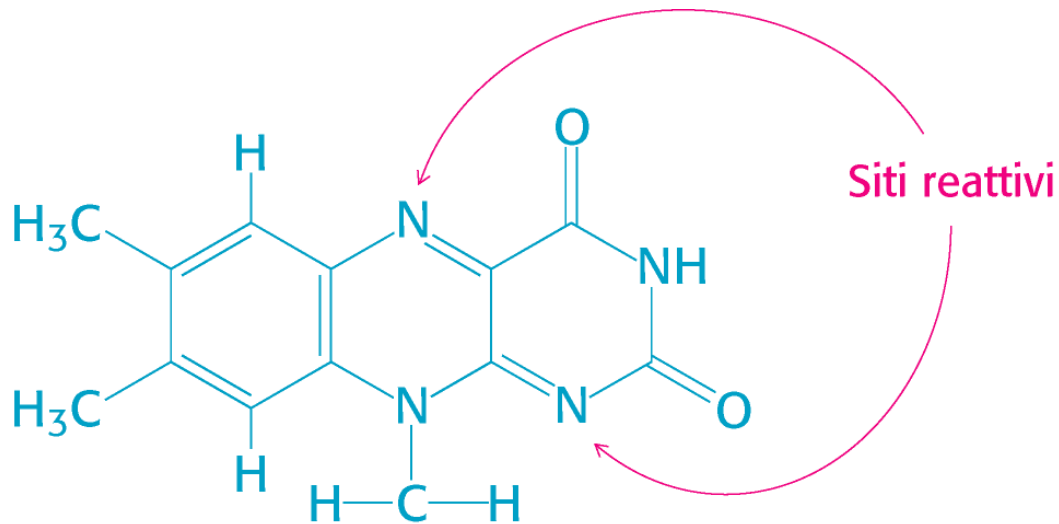
Si spostano da un enzima all'altro

2 nucleotidi legati da un *legame fosfoanidridico*



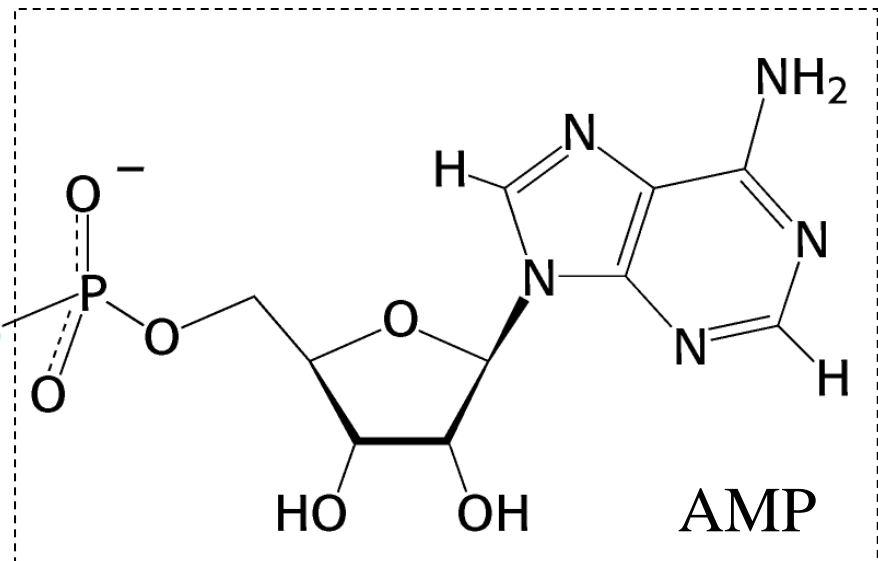
# FAD

Sono saldamente legati agli enzimi (*flavoproteine*) in cui agiscono da **gruppi prostetici**



FMN

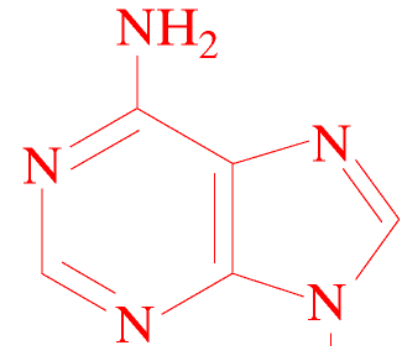
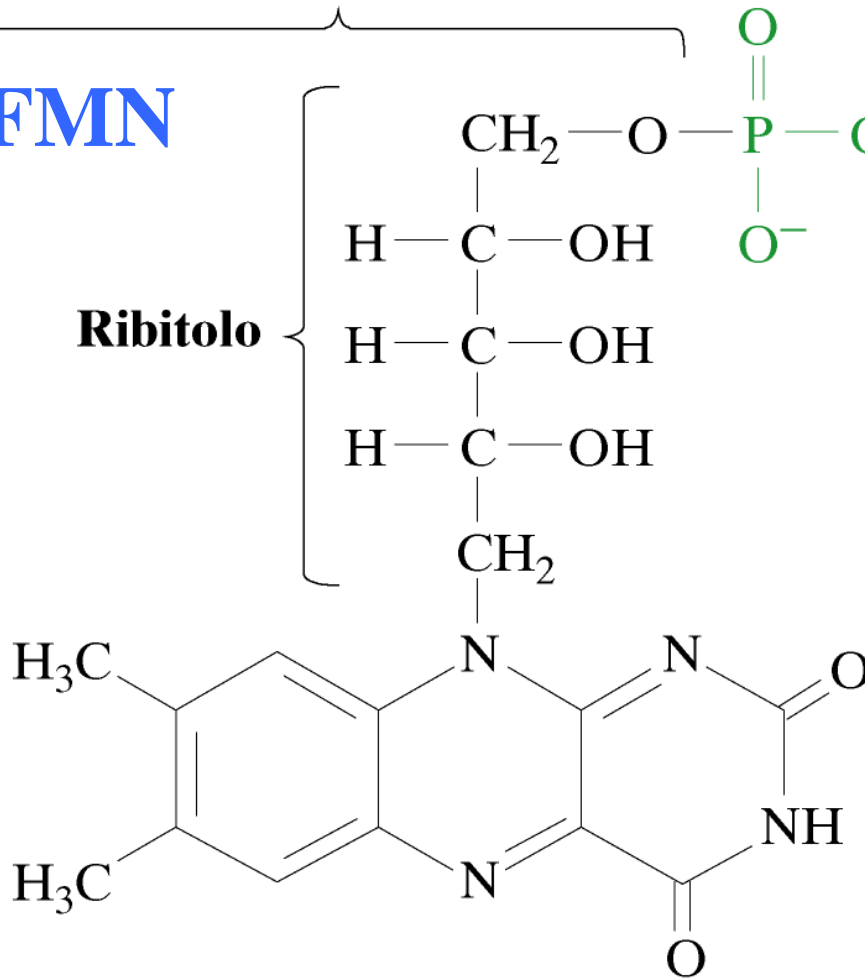
2 nucleotidi legati da un *legame fosfoanidridico*



# Riboflavina

**FMN**

**Ribitolo**



**Adenosina**

**AMP**

**FAD**

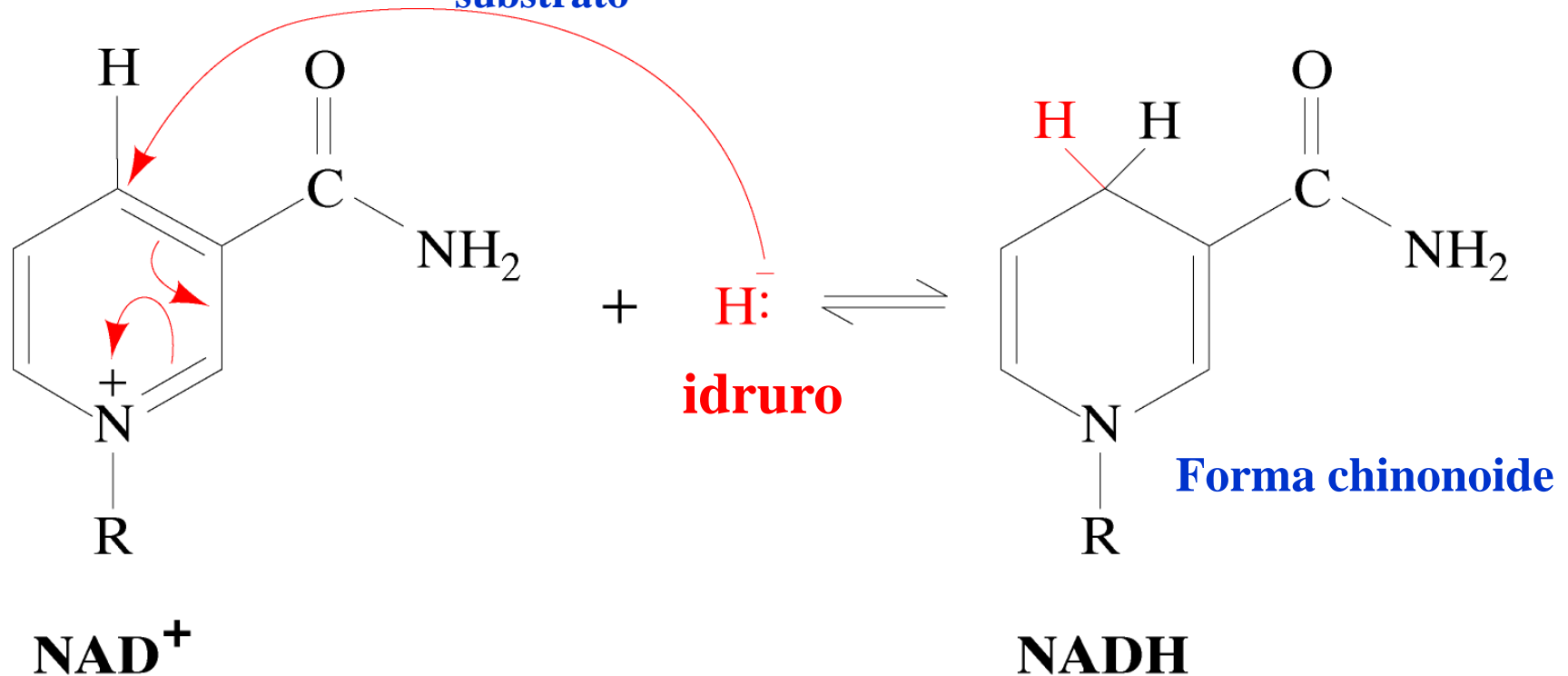
# Il NAD<sup>+</sup> è un trasportatore di 2 elettroni

Trasferisce **2 elettroni per volta**

ne riceve 2 e ne trasferisce 2



Rimossi dal  
substrato



# I trasportatori di elettroni



Nicotinammide-  
AdeninDinucleotide  
ridotto

Nicotinammide-  
AdeninDinucleotide  
ossidato

*Produzione di ATP*



Nicotinammide-  
AdeninDinucleotide  
Fosfato  
ridotto

Nicotinammide-  
AdeninDinucleotide  
Fosfato  
ossidato

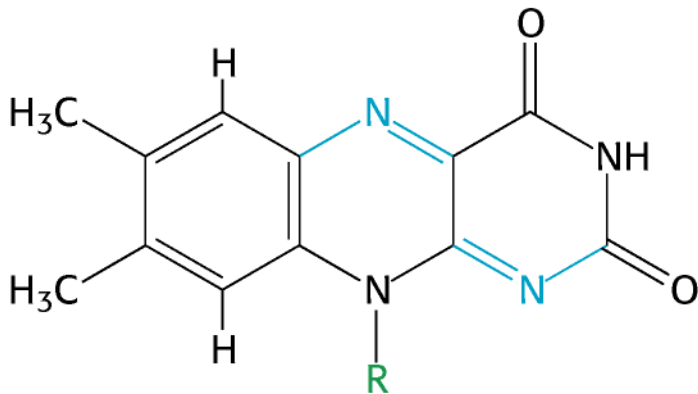
*Donatore di elettroni nelle biosintesi riduttive*

# Il FAD è un trasportatore di 2 elettroni

Può accettare il trasferimento di **1** o di **2** elettroni per volta

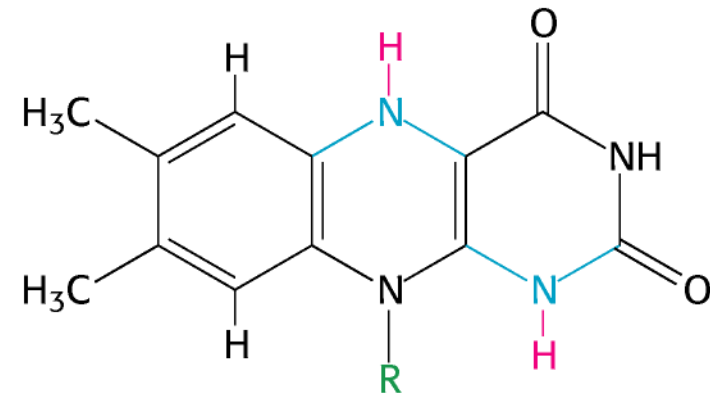
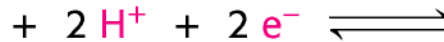


Anello isoallosazinic



Forma ossidata  
(FAD)

**Ossidato**



Forma ridotta  
(FADH<sub>2</sub>)

**Ridotto**

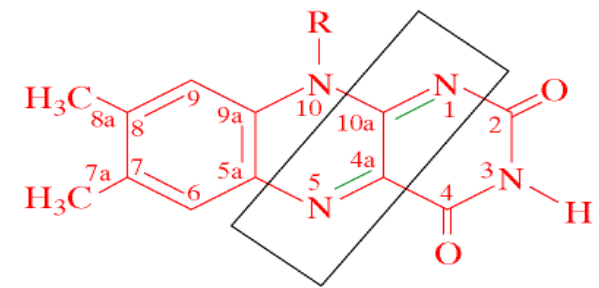
Il sistema ad **anelli coniugati** del FAD subisce **due riduzioni sequenziali** di **un elettrone per volta**, oppure un **trasferimento di 2 elettroni** che permette di saltare lo stadio semichinonico.

Se accetta **1** elettrone produce:

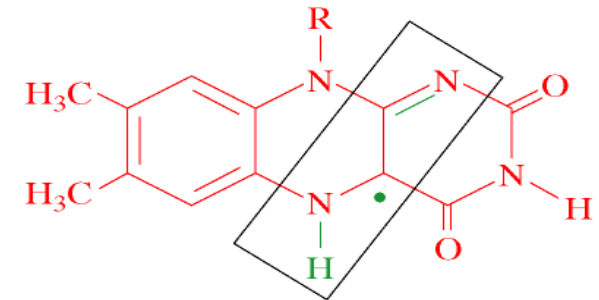
- Un radicale stabile (**semichinone**);

Se accetta **2** elettroni produce:

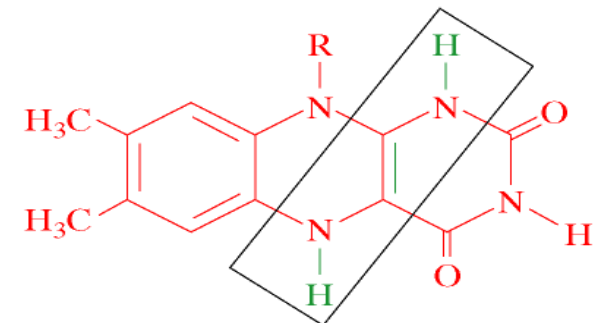
- La forma totalmente ridotta (**idrochinone**)



**Flavina adenina dinucleotide (FAD)**  
(forma ossidata o chinonica)



**FADH• (forma radicalica o semichinonica)**



**FADH<sub>2</sub> (forma ridotta o idrochinonica)**

# I trasportatori di elettroni



=



Flavin-  
AdeninDinucleotide  
ridotto

Flavin-  
AdeninDinucleotide  
ossidato



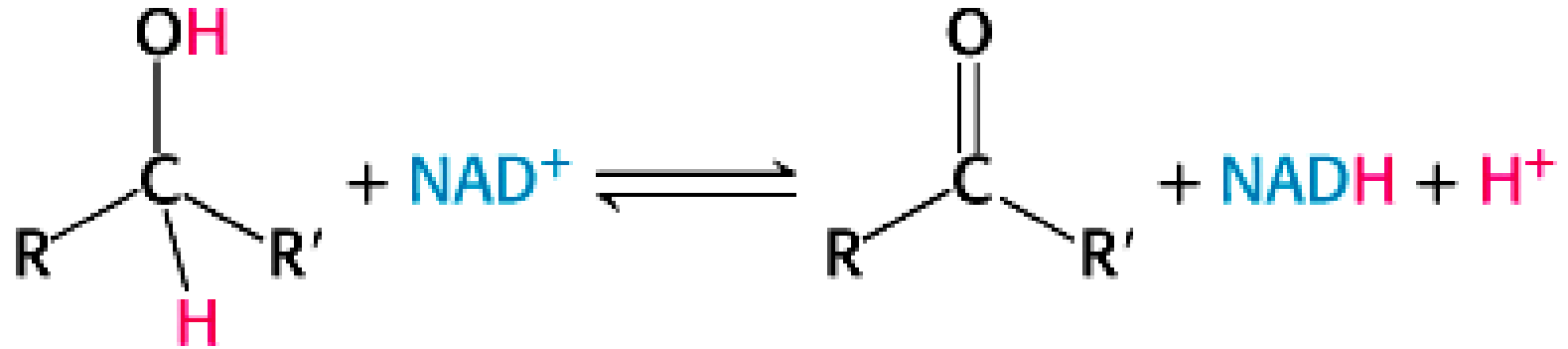
=



Flavin-  
MonoNucleotide  
ridotto

Flavin-  
MonoNucleotide  
ossidato

# Il NAD<sup>+</sup> ed il FAD partecipano a specifiche reazioni di ossido-riduzione



red

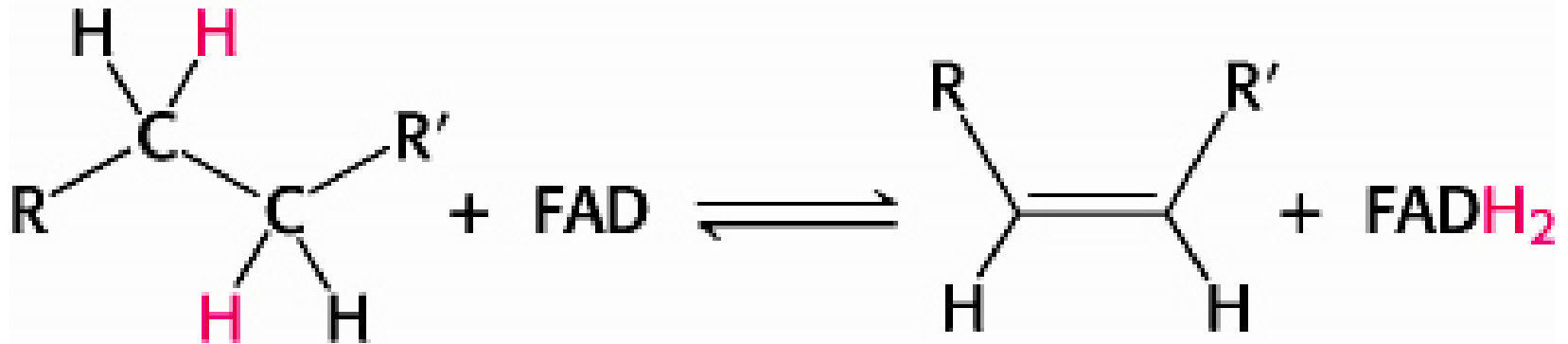
ox

ox

red

Gruppo alcolico

Gruppo carbonilico



red

ox

ox

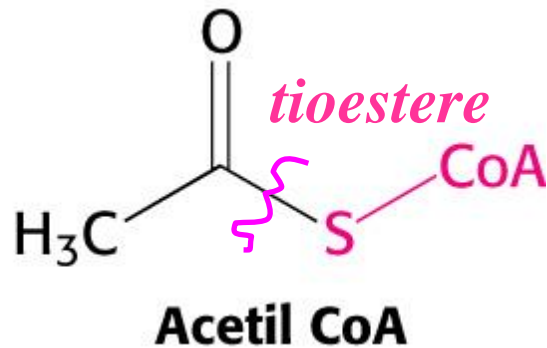
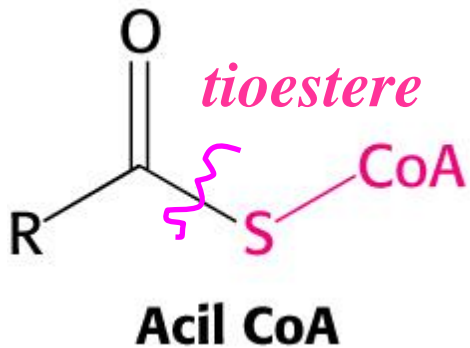
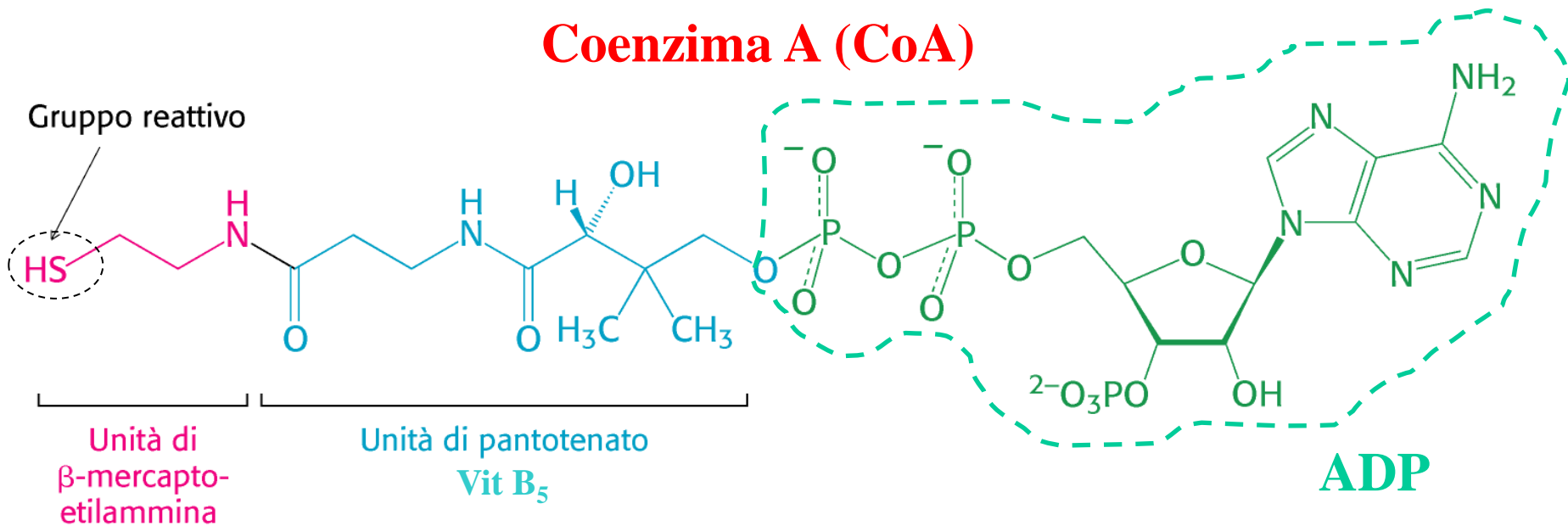
red

alcano

alchene

# Trasportatore di gruppi acilici attivati (unità bicarboniose)

## Coenzima A (CoA)

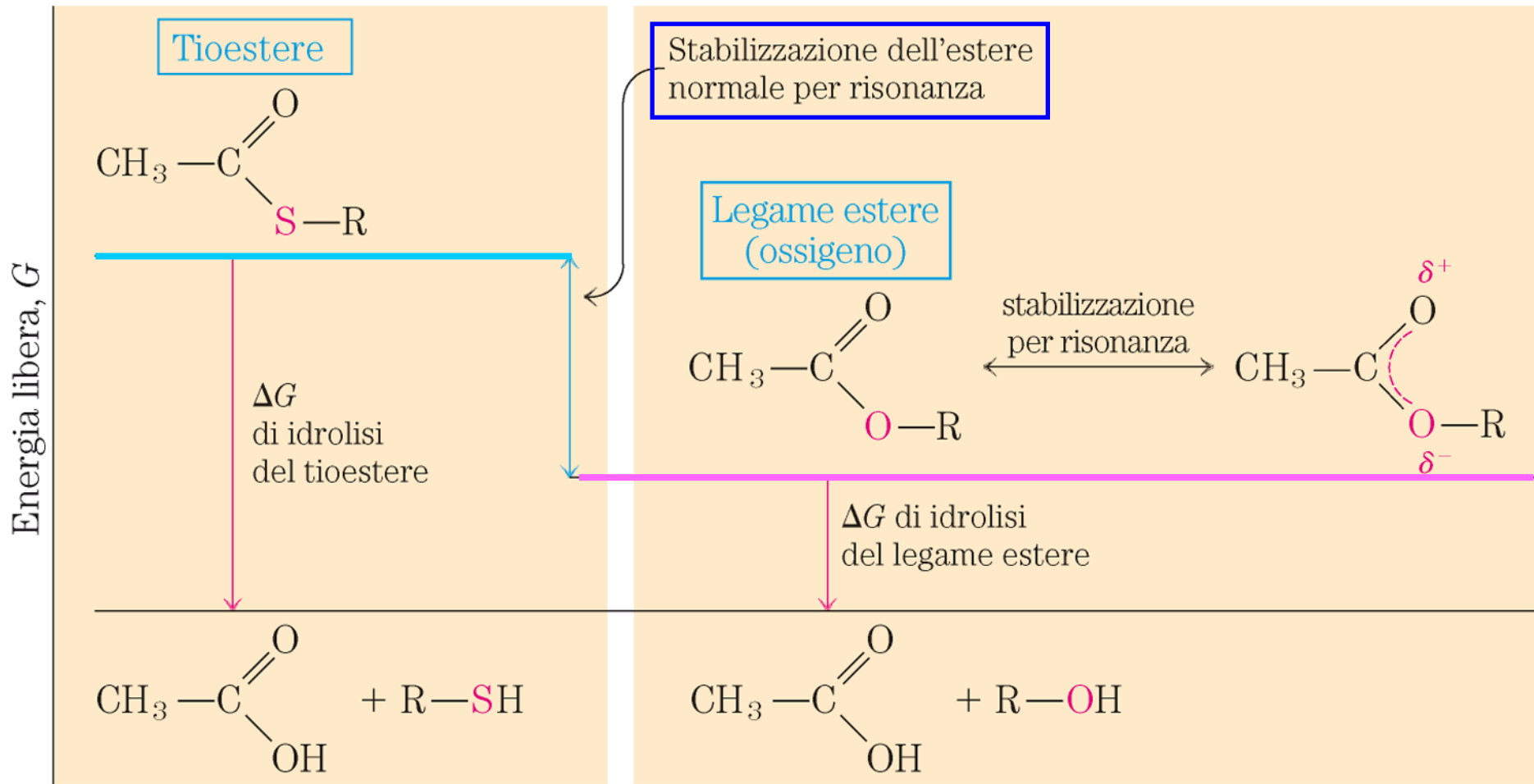


$$\Delta G^{\circ\prime} -7,5 \text{ kcal mol}^{-1}$$

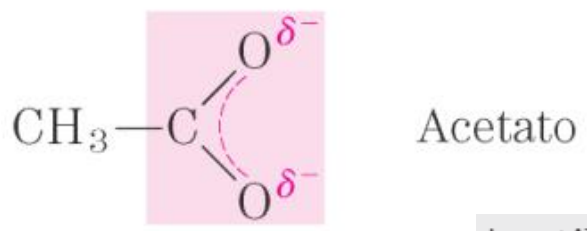
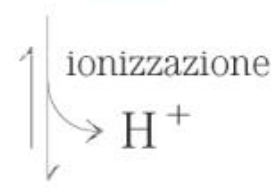
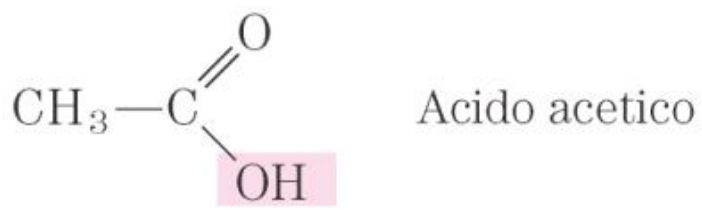
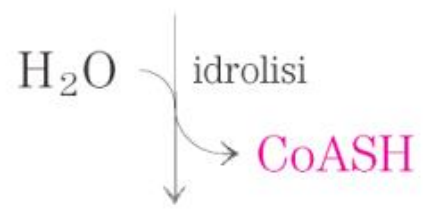
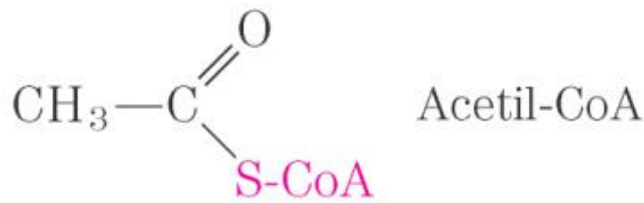
CoA ha un elevato  
**potere di trasferimento**  
del gruppo acetile  
(**esoergonico**)

$$\Delta G^{\circ\prime} -31,4 \text{ kJ mol}^{-1}$$

# Energia libera di idrolisi dei tioesteri e degli esteri



**I prodotti di idrolisi hanno lo stesso contenuto in energia libera  $G$**



stabilizzazione per risonanza

I **prodotti** dell'**idrolisi** dei **tioesteri** (**acidi carbossilici**) sono *stabilizzati per risonanza*

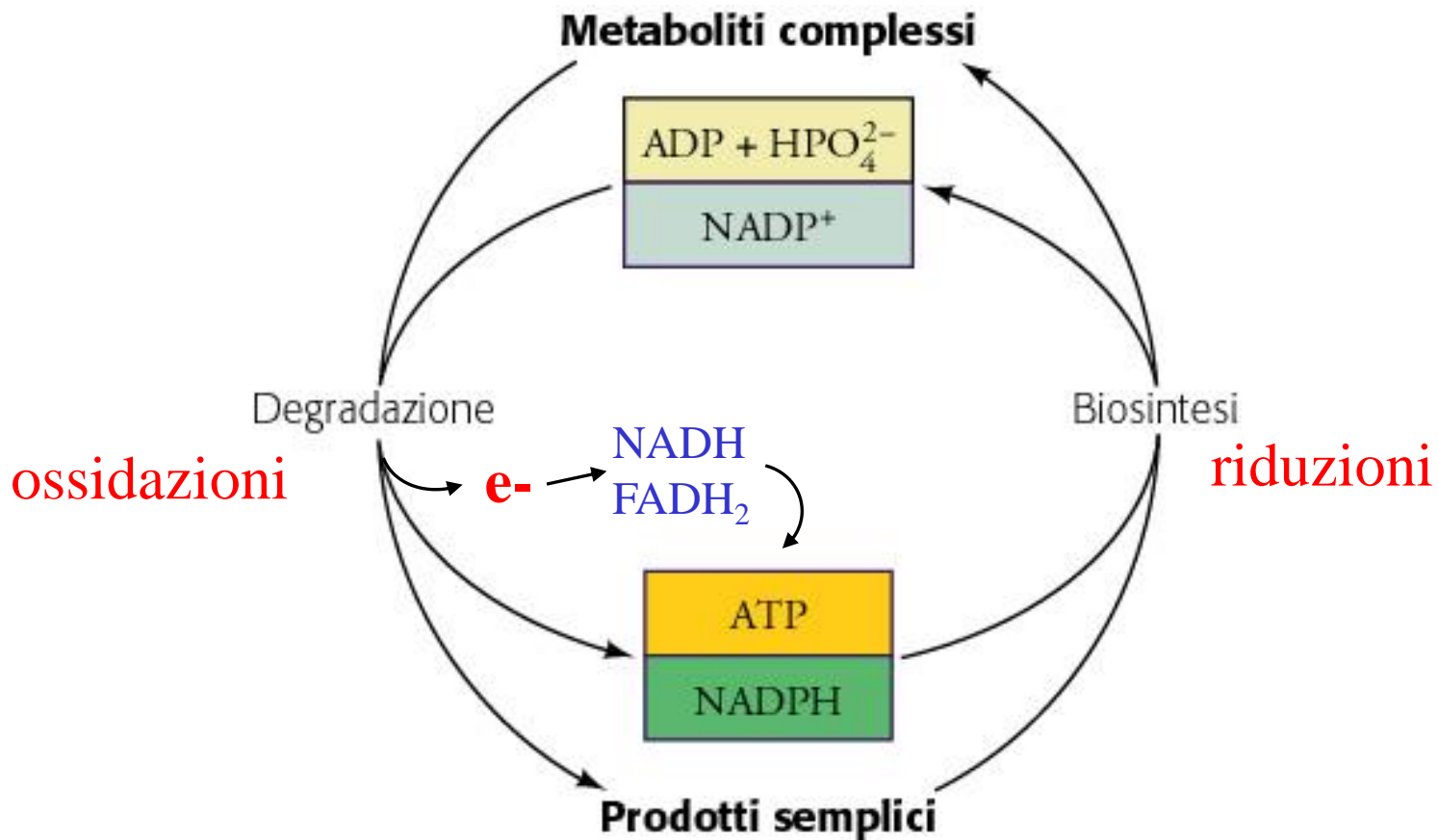
L'idrolisi dei TIOESTERI è altamente ESOERGONICA

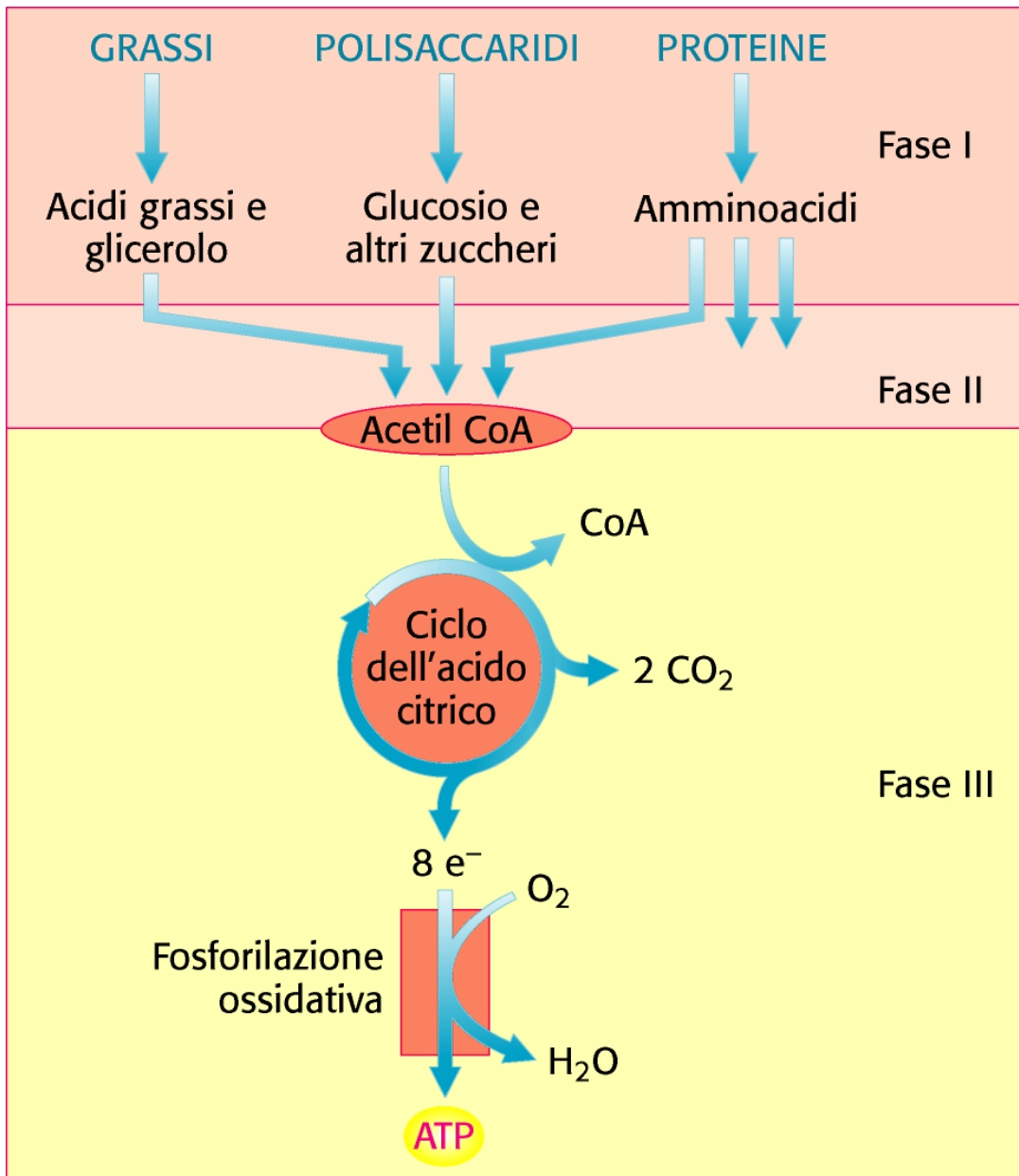
$$\text{Acetil-CoA} + \text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{acetato}^- + \text{CoA} + \text{H}^+$$

$$\Delta G'^{\circ} = -31,4 \text{ kJ/mole} = -7,5 \text{ kcal/mole}$$

# CATABOLISMO

I composti organici vengono **OSSIDATI** per ricavare **energia** (**ATP**) e **potere riducente** ( **NAD(P)H**, **FADH<sub>2</sub>**, **FMNH<sub>2</sub>** )

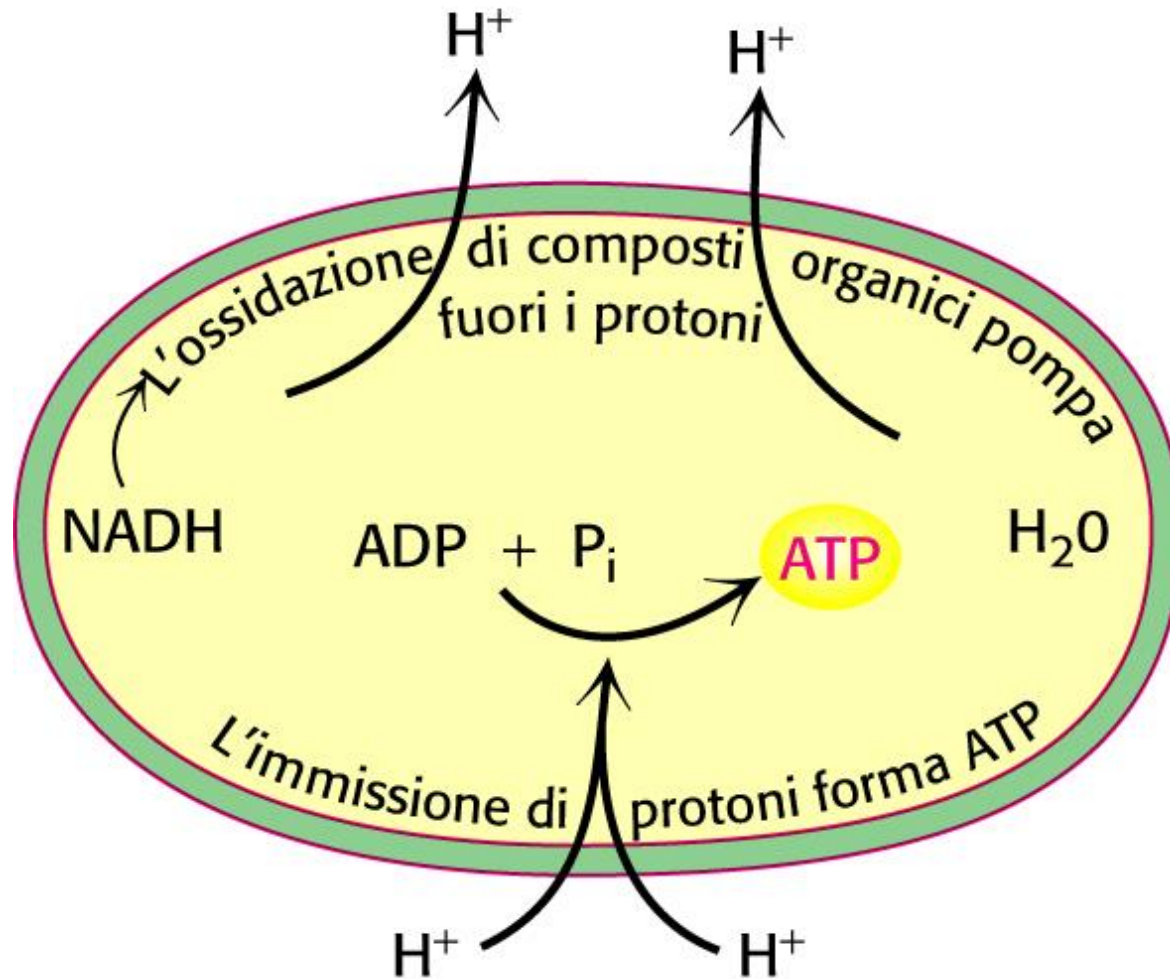




L'estrazione dell'energia dai composti organici può essere divisa in **tre stadi**

# Gradienti protonici

L'ossidazione dei combustibili può favorire la formazione di **gradienti protonici**, che sono capaci di indurre la **sintesi di ATP**



Gli **elettroni** estratti dai **composti organici** vengono trasferiti ai **trasportatori** di elettroni che, attraverso la **Fosforilazione Ossidativa**, consentiranno la **produzione** di molecole di **ATP**

