# Biomoléculas: aminoácidos, péptidos y proteínas

Las proteínas se encuentran en iodos los organismos vivos, son de muchos tipos diferentes y desempeñan muchas funciones biológicas distintas. La queratina de la piel y uñas de los dedos, la fibroína de la seda y las telarañas, y el estimado de 50 000 a 70 000 enzimas que catalizan las reacciones biológicas en nuestros cuerpos son todas proteínas. Independientemente de su función, todas las proteínas están construidas de muchas unidades de aminoácidos unidos entre sí en una cadena larga.

Los aminoácidos, como su nombre lo implica, son bifuncionales. Contienen un grupo amino básico y un grupo carboxilo ácido.

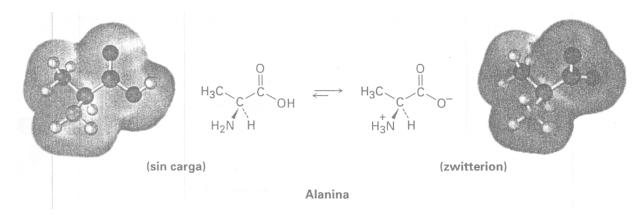
Su valor como bloques de construcción para formar proteínas se deriva del hecho de que los aminoácidos pueden asociarse entre, sí en cadenas largas formando enlaces amida entre el -NH2 de un aminoácido y el -CO2H de otro. Para propósitos de clasificación, las cadenas con menos de 50 aminoácidos con frecuencia se llaman péptidos, mientras que el término proteína se utiliza para cadenas más grandes.

# ¿POR QUÉ ESTE CAPÍTULO?

Continuando con nuestro estudio de las cuatro clases principales de biomoléculas, en este capítulo nos enfocaremos en los aminoácidos, los bloques de construcción fundamentales a partir de los cuales se forman en nuestros cuerpos aproximadamente 100 000 proteínas. Veremos cómo los aminoácidos se incorporan en proteínas y las estructuras de estas proteínas. Cualquier comprensión de la química biológica sería imposible sin este estudio.

#### 26.1 Estructuras de los aminoácidos

En las secciones 20.3 y 24.5 vimos que un grupo carboxilo se desprotona y existe como el anión carboxilato a un pH fisiológico de 7.3, mientras que un grupo amino se protona y existe como el catión amonio. Por esta razón, los aminoácidos existen en disolución acuosa principalmente en la forma de un ion dipolar, o zwitterion (del alemán *zwitter*, que significa "híbrido").



Los zwitteriones de los aminoácidos son sales internas y, por lo tanto, tienen muchas de las propiedades físicas asociadas con las sales. Tienen momentos di-polares grandes, son solubles en agua pero insolubles en hidrocarburos y son sustancias cristalinas con puntos de fusión relativamente altos. Además, los aminoácidos son anfóteros, ya que pueden reaccionar como ácidos o como bases, dependiendo de las circunstancias. En disolución ácida acuosa, un zwitterion de aminoácido es una base que acepta un protón para producir un catión; en disolución básica acuosa, el zwitterion es un ácido que pierde un protón para formar un anión. Nótese que es el carboxilato,  $-0O_2^-$ , el que actúa como el sitio básico y acepta un protón en la disolución ácida, y es el catión amonio,  $-NH_3^+$ , el que actúa como el sitio ácido y dona un protón en la disolución básica.

En la tabla 26.1 se muestran las estructuras, las abreviaturas (de tres y una letra) y los valores del pKa de los 20 aminoácidos que se encuentran comúnmen-

En disolución ácida 
$$\begin{array}{c} R \\ C \\ H_3N \end{array} \begin{array}{c} O \\ H \end{array} \begin{array}{c} R \\ H_3O^+ \end{array} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} R \\ H_3N \end{array} \begin{array}{c} O \\ H \end{array} \begin{array}{c} H_2O \\ H_2N \end{array} \begin{array}{c} O \\ H \end{array} \begin{array}{c} O \\ H_2O \end{array} \begin{array}{c} O \\ H_2N \end{array} \begin{array}{c} O \\ H_2O \end{array} \begin{array}{c} O \\ H_2N \end{array} \begin{array}{c}$$

lombre	Abrevia		MM	Estructura	p <i>K</i> <sub>a</sub> α-CO <sub>2</sub> H	pK <sub>a</sub> α-NH <sub>3</sub> +	pK <sub>a</sub> de la cadena lateral	p/
Aminoácidos ne				. 0				
Alanina		A	89	H <sub>3</sub> C C O-	2.34	9.69		6.01
Asparagina	Asn	N	132	$H_2N$ $C$ $H_3N$ $C$ $H_3N$ $H$	2.02	8.80	12	5.4
na kao faritr		rochie p		0				
Cisteína	h while			HS + 0-	1.96	10.28	8.18	5.0
Fenilalanina	Fen	F	165	0    C    C    C    C    C    C    C	0- 1.83	9.13		5.4
Glicina	Gli	G	75	0     C  -  H <sub>3</sub> N H	2.34	9.60		5.9
Glutamina	Gln	Q	146	H <sub>2</sub> N C	0    	9.13		5.
Isoleucina	Ile	I	131	H <sub>3</sub> C H CH <sub>3</sub> C C	2.36	9.60	_	6.
Leucina			131	H <sub>3</sub> N H O H <sub>3</sub> C C	2.36	9.60		5.
				H <sub>3</sub> C H <sub>3</sub> N H				
Metionina	Met	M	149	H <sub>3</sub> C S	0     C     -  -  -  -	9.21		5.
				H <sub>3</sub> N	Н			
Prolina	Pro	P	115	\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\\	1.99	10.60	_	6

ombre	Abrevia	nturas	MM	Estructura	p K <sub>a</sub> α-CO <sub>2</sub> H	$pK_a$ $\alpha$ -NH <sub>3</sub> +	pK <sub>a</sub> de la cadena lateral	p/
minoácidos ne	eutros con	tinuación		0				
Serina .	Ser	S	105	но то по	2.21	9.15	egla de la	5.68
Tirosina	Tir	Y	181	H <sub>3</sub> N H	2.20	9.11	10.07	5.6
Treonina	Tre	T	119	HO H O H O H O H O O O O O O O O O O O	2.09	9.10	—	5.6
Triptófano	Trp	W	204	H <sub>3</sub> N H O C	2.83	9.39		5.8
				CH <sub>3</sub> O				
Valina	Val	V	117	H <sub>3</sub> C + C O-	2.32	9.62		5.9
Aminoácidos áo	cidos			0				
Ácido aspártico	Asp	D	133	-0 C C O-	1.88	9.60	3.65	2.7
Ácido glutámico	Glu	E	147	O   O   O   O   O   O   O   O   O   O	2.19	9.67	4.25	3.
Aminoácidos b	ásicos			+NH <sub>2</sub>	O    2.17			
Arginina	Arg	R	174	$H_2N$ $C$ $N$ $H_3N$ $H$	C_0-	9.04	12.48	10.
Histidina	His	Н	155	N H <sub>3</sub> N H	1.82	9.17	6.00	7.5
				Н				
Lisina	Lis	K	146	$H_3N$ $H_3N$ $H$	0- 2.18	8.95	10.53	9.

te en las proteínas. Todos son a-aminoácidos, lo que significa que el grupo ami-no en cada uno es un sustituyente en el átomo de carbono a, el siguiente al grupo carbonilo. Diecinueve de los 20 aminoácidos son aminas primarias, RNH<sub>2</sub>, y únicamente difieren en la naturaleza del sustituyente unido al carbono a, llamado cadena lateral. La prolina es una amina secundaria y el único aminoácido er el que los átomos de nitrógeno y de carbono a son parte de un anillo.

Además de los 20 aminoácidos que se encuentran comúnmente en las proteínas, otros dos —selenocisteína y pirrolisina— se encuentran en algunos organismos, y también se encuentran en la naturaleza más de 700 aminoácidos no proteínicos. Por ejemplo, el ácido y-aminobutírico (GABA) se encuentra en el cerebro y actúa corno un neurotransmisor; la homocisteína se encuentra en la sangre y se le asocia a las enfermedades cardiacas coronarias; y la tiroxina se encuentra en la glándula tiroide, donde actúa como una hormona.

A excepción de la glicina, H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, los carbonos a de los aminoácidos son centros quirales. Por lo tanto, son posibles dos enántiómeros de cada uno.

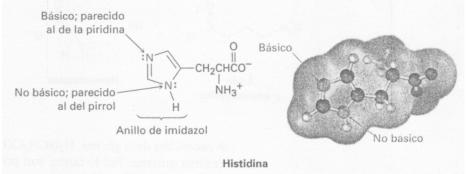
• pero la naturaleza sólo utiliza uno para construir proteínas. En las proyecciones de Fischer, el estado natural de los aminoácidos se representa al colocar el grupo -002 en la parte superior y la cadena lateral abajo, cómo si se representara un carbohidrato (sección 252) y colocando el grupo -NH<sub>3</sub> a

la izquierda. Debido a su similitud estereoquímica con los azúcares L (sección 25.3), con frecuencia

los a-aminoácidos que se encuentran en estado natural se refieren como ami-n nácidos 1...

Además, los 20 aminoácidos comunes pueden clasificarse como neutros, ácidos o básicos, dependiendo de la estructura de sus cadenas laterales. Quince de los veinte tienen cadenas laterales neutras, dos (ácido aspártico y ácido glutámico) tienen una función extra de ácido carboxílico en sus cadenas laterales, y tres (lisina, arginina e histidina) tienen grupos amino básicos en sus cadenas laterales. Sin embargo, observe que la cisteína (un tiol) y la tirosina (un fenol), aunque es usual clasificarlos como aminoácidos neutros, tienen cadenas laterales débilmente ácidas que pueden desprotonarse en una disolución fuertemente básica.

A un pH fisiológico de 7.3 dentro de las células, se desprotonan los grupos carboxilo de la cadena lateral del ácido aspártico y del ácido glutámico y se protonan los nitrógenos básicos de la cadena lateral de la lisina y de la arginina. Sin embargo, la histidina, la cual contiene un anillo heterocíclico de imidazol en su cadena lateral, no es lo suficientemente básica como para protonarse a un pH de 7.3. Observe que sólo es básico el nitrógeno unido con un enlace doble parecido al de la piridina en la histidina. El nitrógeno unido con un enlace sencillo parecido al del pirrol no es básico debido a que su par de electrones no enlazado es parte de los seis electrones 77 del anillo aromático de imidazol (sección 24.9).



Los humanos son capaces de sintetizar sólo 11 de los 20 aminoácidos que se encuentran en las proteínas, llamados *aminoácidos no esenciales*. Los otros nueve, llamados *aminoácidos esenciales*, sólo se biosintetizan en plantas y microorganismos y deben obtenerse en nuestra ingesta diaria. Sin embargo, la división entre aminoácidos esenciales y no esenciales no está bien definida, por ejemplo, algunas veces la tirosina se considera no esencial debido a que los humanos pueden producirla a partir de la fenilalanina, pero la fenilalanina es esencial y debe obtenerse en la ingesta diaria. La arginina puede biosintetizarse por los humanos, pero la mayor parte de la arginina que necesitamos proviene de nuestra ingesta diaria.

Problema 26.1 ¿Cuántos de los a-aminoácidos de los mostrados en la tabla 26.1 tienen anillos aromáticos? ¿Cuántos tienen azufre? ¿Cuántos tienen alcoholes? ¿Cuántos tienen cadenas laterales de hidrocarburo?

Problema 26.2 De los 19 aminoácidos i., 18 tienen la configuración S en el carbono a. La Problema 26.3 cisteína es

el único aminoácido', que tiene una configuración R. Explique.

El aminoácido treonina, ácido (2S,3R)-2-amino-3-hidroxibutanoico, tiene dos cen• tros quirales.

- Dibuje una proyección de Fischer de la treonina.
- Dibuje una proyección de Fischer de un diastereómero de la treonina, y marque sus centros guirales corno R o S.
- 26.2 Aminoácidos, la ecuación de Henderson-Hasselbalch y los puntos isoelóctricos

De acuerdo con la ecuación de Henderson-Hasselbalch (secciones 20.3 y 24.5), si conocemos tanto el pH de una disolución como el pk de un ácido I L-1, podemos calcular la relación de [A] a [HA] en la disolución. Además, cuando pH = pKa, las dos formas  $A^-$  y HA están presentes en cantidades iguales debido a que log 1 = 0.

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

Para aplicar la ecuación de Henderson-Hasselbalch a un aminoácido, encontremos qué especies están presentes en una disolución 1.00 M de la alanina a pH = 9.00. De acuerdo con la tabla 26.1, la alanina protonada [41-13NCH(CH3)CO2H] tiene un PKai = 2.34, y la alanina como un ion dipolar neutro (zwitterion) [ $\pm 1-13$ NCH(CH3)CO2] tiene un pK<sub>a2</sub> = 9.69:

Dado que el pH de la disolución está mucho más cerca de pK<sub>a2</sub> que de pKai, para el cálculo necesitamos utilizar pK<sub>a2</sub>. A partir de la ecuación de HendersonHasselbalch, tenernos:

$$\log \frac{[A^-]}{[HA]} = pH - pK_a = 9.00 - 9.69 = -0.69$$
 así 
$$\frac{[A^-]}{[HA]} = \operatorname{antilog}(-0.69) = 0.20 \quad \text{y} \qquad [A^-] = 0.20 \text{ [HA]}$$

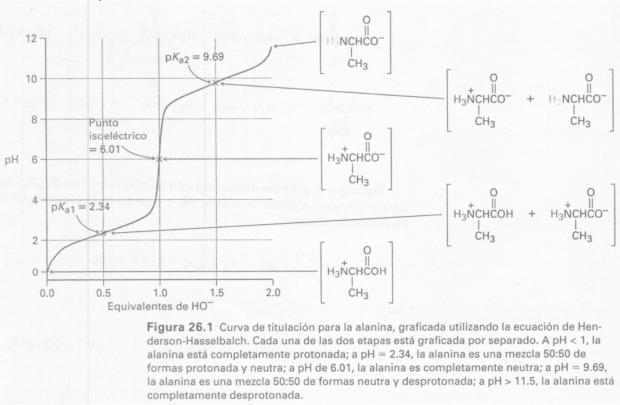
#### Además, sabemos que

 $[A^{-}] + [HA] = 1.00 M$ 

Al resolver las dos ecuaciones simultáneas se obtiene que [HA] = 0.83 y

= 0.17. En otras palabras, a pH = 9.00, 83% de las moléculas de alanina en disolución 1.00 M son iones dipolares neutros (zwitteriones), y 17% están desprotonadas. Pueden realizarse cálculos similares a cualquier otro pH y en la figura 26.1 se muestran los resultados graficados para dar la *curva de titulación*.

Se calcula por separado cada etapa de la curva de titulación. La primera etapa, de pH de 1 a 6, corresponde a la disociación de la alanina protonada,  $H_2A^+$ . La segunda etapa, de pH 6 a 11, corresponde a la disociación de la alanina como ion dipolar neutro (zwitterion), HA. Es como si comenzáramos con  $H_2A^+$  a pH bajo y después tituláramos con NaOH. Cuando se adiciona 0.5 equivalente de NaOH, la desprotonación de  $H_2A^+$  se ha realizado en un 50%; cuando se adiciona 1.0 equivalente de NaOH, la desprotonación de  $H_2A^+$  es completa y predomina HA; cuando se adicionan 1.5 equivalentes de NaOH, la desprotonación de HA se ha realizado al 50%; y cuando se adicionan 2.0 equivalentes de NaOH, la desprotonación de HA es completa.



Observe cuidadosamente la curva de titulación en la figura 26.1. En disolución ácida, el aminoácido es protonado y existe principalmente como un catión. En disolución básica, el aminoácido es desprotonado y existe principalmente como un anión. Entre las dos está a un pH intermedio en el que el aminoácido está balanceado exactamente entre las formas aniónica y catiónica y existe prin-

cipalmente como un ion dipolar neutro (zwitterion). Este pH se llama punto isoeléctrico (pl) del aminoácido y tiene un valor de 6.01 para la alanina.

El punto isoeléctrico de un aminoácido depende de su estructura, con valores para los 20 aminoácidos comunes dados en la tabla 26.1. Los 15 aminoácidos neutros tienen puntos isoeléctricos cercanos a un pH neutro, en el intervalo de pH de 5.0 a 6.5. Los dos aminoácidos ácidos tienen puntos isoeléctricos en pH más bajos por lo que la desprotonación del — $CO_2H$  de la cadena lateral no ocurre en su p/, y los tres aminoácidos básicos tienen puntos isoeléctricos a pH más altos, por lo que la protonación del grupo amino de la cadena lateral no ocurre en su p/.

Más específicamente, el p/ de cualquier aminoácido es el promedio de las dos constantes ácidas de disociación que involucran al ion dipolar neutro (zwitterion). Para los 13 aminoácidos con una cadena lateral neutra, el pi es el promedio de pKa, y pK,2. Para los cuatro aminoácidos con una cadena lateral fuertemente o débilmente ácida, el pl es el promedio de los dos valores *más bajos* de pKa. Para los tres aminoácidos con una cadena lateral básica, el pies el promedio de los valores *más altos* de pKa.

De igual manera que los aminoácidos individuales tienen puntos isoeléctricos, las proteínas tienen un pi global debido a los aminoácidos ácidos o básicos que pueden contener. Por ejemplo, la enzima lisozima tiene una preponderan cia de aminoácidos básicos y por lo tanto tiene un punto isoeléctrico alto (pl = 11.0). Sin embargo, la pepsina tiene una preponderancia de aminoácidos ácidos y un punto isoeléctrico bajo (pi — 1.0). No es sorprendente, que las solubilidades y las propiedades de las proteínas con pi's diferentes son afectadas fuertemente por el pH del medio. La solubilidad es por lo general más baja en el punto isoeléctrico, donde la proteína no tiene carga neta, y es mayor por arriba y por debajo del p/, donde la proteína está cargada.

Aprovechamos la ventaja de las diferencias en los puntos isoeléctricos para separar una mezcla de proteínas en sus constituyentes puros. Si utilizamos una

técnica conocida como *electroforesis*, una mezcla de proteínas se coloca cerca del centro de una tira de papel o de un gel. El papel o el gel se humedece con un amortiguador acuoso (buffer) a un pH dado, y los electrodos se conectan a los extremos de la tira. Cuando se aplica un potencial eléctrico, las proteínas con cargas negativas (las que se desprotonan debido a que el pH del amortiguador está por encima de su punto isoeléctrico) migran lentamente hacia el electrodo positivo. Al mismo tiempo, los aminoácidos con cargas positivas (los que se protonan debido a que el pH del amortiguador está por debajo de su punto isoeléctrico) migran hacia el electrodo negativo. Las proteínas diferentes migran a velocidades distintas, dependiendo de sus puntos isoeléctricos y del pH del amortiguador acuoso, por lo que separan la mezcla en sus componentes puros. La figura 26.2 ilustra esta separación para una mezcla que contiene componentes básicos, neutros y ácidos.



Problema 26.4 La hemoglobina tiene un pI = 6.8. ¿La hemoglobina tiene una carga negativa neta o una carga positiva neta a pH = 5.3? ¿A pH = 7.3?

**26.3 I** Síntesis de aminoácidos

Los a-aminoácidos pueden sintetizarse en el laboratorio utilizando algunas de las reacciones estudiadas en los capítulos anteriores. Uno de los métodos más antiguos de síntesis de a-aminoácidos comienza con la bromación en a de un ácido carboxílico cuando se trata con  $Br_2$  y  $PBr_3$  (la reacción de Hell-Volhard-Zelinskii; sección 22.4). La sustitución  $S_N 2$  del a-bromo ácido con amoniaco produce un a-aminoácido.

$$\begin{array}{c|cccc} CH_3 & O & CH_3 & O \\ \hline CH_3CHCH_2CH_2COH & 1. Br_2. PBr_3 & CH_3CHCH_2CHCOH & NH_3 \\ \hline Acido 4-metilpentanoico & Br & CH_3CHCH_2CHCOH \\ \hline & Acido 2-bromo-4-metilpentanoico & (R,S)-leucina (45%) \\ \hline \end{array}$$

Problema 26.5 I Muestre cómo puede preparar los siguientes a-aminoácidos a partir de los ácidos carboxílicos apropiados:

(a) Fenilalanina

(b) Valina

#### Síntesis del amidomalonato

Un método más general para preparar a-aminoácidos es la síntesis del amidomalonato, una extensión directa de la síntesis del éster malónico (sección 22.7). La reacción comienza con la conversión del acetamidomalonato de dietilo en un ion enolato cuando se trata con una base, seguida por la alquilación Sisj2 con un haluro de alquilo primario. La hidrólisis del grupo protector amida y de los ésteres ocurre cuando el producto alquilado se calienta con un ácido acuoso, y después ocurre la descarboxilación para producir un a-aminoácido. Por ejemplo, el ácido aspártico puede prepararse a partir del bromoacetato de etilo, BrCH2CO2Et:

Problema 26.6 ¿Qué haluros de alquilo utilizaría para preparar los siguientes aamino ácidos por el método del amidomalonato?

1 (a) Leucina

(b) Histidina

(c) Triptófano

(d)

Metionina

Aminación reductiva de a-ceta ácidos

Un tercer método para la síntesis de a-aminoácidos es por la aminación reductiva de un a-ceto ácido con amoniaco y un agente reductor. Por ejemplo, la alani. na se prepara cuando se trata del ácido pirúvico con amoniaco en presencia de NaBH4. Como se describió en la sección 24.6, la reacción procede a través de la formación de una imina intermediaria que se reduce posteriormente.

#### Síntesis enantioselectiva

La síntesis de un a-aminoácido a partir de un precursor aquiral por cualquiera de los métodos descritos en la sección anterior produce una mezcla racémica, con cantidades iguales de en antiómeros S y R. Sin embargo, para utilizar un aminoácido en la síntesis en el laboratorio de una proteína de origen natural, debe obtenerse el enantiómero S puro.

En la práctica se utilizan dos métodos para obtener aminoácidos enantioméricamente puros y una forma es resolver la mezcla racémica en sus enantiómeros puros (sección 9.8). Sin embargo, una aproximación más directa es utilizar una síntesis enantioselectiva para sólo preparar directamente el enantiómero S deseado. Como se explicó en el *Enfocado a...* del capítulo 19, la idea detrás de la síntesis enantioselectiva es encontrar un catalizador quiral de la reacción que sostendrá temporalmente una molécula del sustrato en un ambiente asimétrico. Mientras está en el ambiente quiral, el sustrato puede estar más abierto a la reac-

#### William S. Knowles

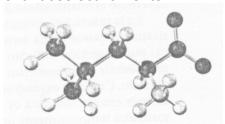
William S. Knowles (1917-)
nació en Taunton, Massachusetts, y recibió su doctorado por la Universidad de Columbia en 1942. Después de sus estudios de licenciatura, comenzó a trabajar en la compañía Monsanto en San Luis, Missouri, donde permaneció hasta su retiro en 1986. Recibió el Premio Nobel de Química de 2001 por su trabajo en la síntesis enantioselectiva, uno de los pocos científicos no académicos en ser honrado con este premio.

ción en un lado que en el otro, lo que conduce a un exceso de un producto enantiomérico sobre el otro.

Hace algunos años en la compañía Monsanto, William Knowles descubrió que los a-aminoácidos pueden prepararse enantioselectivamente por hidrogenación de un ácido (Z)-enamido con un catalizador quiral de hidrogenación. Por ejemplo, la (S)-fenilalanina se prepara con 98.7% de pureza contaminada por sólo 1.3% del enantiómero (R) cuando se utiliza un catalizador quiral de rodio. Por su descubrimiento, Knowles compartió el Premio Nobel de Química de 2001.

Los catalizadores más efectivos para la síntesis enantioselectiva de aminoácidos son los complejos de coordinación de rodio (I) con 1,5-ciclooctadie no (COD) y una difosfina quiral como el (R,R)-1,2-bis(o-anisilfenilfosfino)etano, el llamado ligando DiPAMP. El complejo debe su quiralidad a la presencia de los átomos de fósforo trisustituidos (sección 9.12).

Problema 26.7 I Muestre cómo se puede preparar el siguiente aminoácido enantioselectivamente:



## **26.4 1** Péptidos y proteínas

Las proteínas y los péptidos son polímeros de aminoácidos en los que los aminoácidos individuales, llamados residuos, están unidos por enlaces amida, o *enlaces péptfilicos*. Un grupo amino de un residuo forma un enlace amicla con el carboxilo de un segundo residuo; el grupo amino del segundo forma un enlace amida con el carboxilo de un tercero y así sucesivamente. Por ejemplo, la alanil-

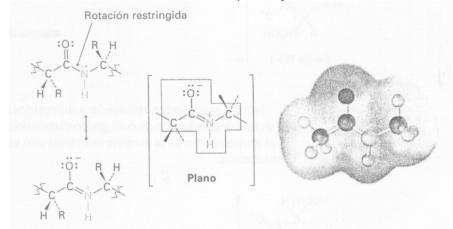
serina es el dipéptido que resulta cuando se forma un enlace amida entre el carboxilo de la alanina y el grupo amino de la serina.

Nótese que pueden resultar dos dipéptidos de la reacción entre la alanina y la serina, dependiendo de cuál grupo carboxilo reacciona con cuál grupo amino. Si el grupo amino de la alanina reacciona con el carboxilo de la serina, resulta la serilalanina.

La secuencia repetitiva y extensa de átomos –N--CH–CO– que forman una cadena continua se llama esqueleto de la proteína. Por convención, los péptidos se escriben con el aminoácido terminal N (el que tiene el grupo –N1a<sub>3</sub><sup>+</sup> libre) a la izquierda y el aminoácido terminal C (el que tiene grupo –CO<sub>2</sub><sup>-</sup> libre) a la derecha. El nombre del péptido se indica utilizando las abreviaturas para cada aminoácido enlistadas en la tabla 26.1. Por lo tanto, la alanilserina se abrevia como Ala-Ser o A-S, y la serilalanina se abrevia como Ser-Ala o S-A. Es innecesario decir que las abreviaturas de una letra son más convenientes que las antiguas de tres letras.

El enlace amida que une aminoácidos diferentes en los péptidos no es diferente a cualquier otro enlace amida (sección 24.3). Los nitrógenos de la amida no son básicos debido a que su par de electrones no enlazado está deslocalizado por la interacción con el grupo carbonilo. Este traslape del orbital p del nitrógeno con los orbitales p del grupo carbonilo le imparte una cierta cantidad de ca-

rácter de enlace doble al enlace C—N y restringe la rotación alrededor de él. Por lo tanto, el enlace amida es plano y el N—H está orientado a 180º del C=0.



Un segundo tipo de enlace covalente en los péptidos ocurre cuando se forma un enlace disulfuro, RS—SR, entre los dos residuos de cisteína. Como vimos en la sección 18.8, un disulfuro se forma por la oxidación suave de un tiol, RSH, y se rompe por la reducción suave.

Un enlace disulfuro entre los residuos de cisteína en diferentes cadenas de péptidos, conecta a las cadenas entre sí que de otra manera estarían separadas, mientras que un enlace disulfuro entre los residuos de cisteína dentro de la misma cadena forman un doblez. Por ejemplo, tal es el caso con la vasopresina, una hormona antidiurética que se encuentra en la glándula pituitaria. Nótese que el extremo terminal C de la vasopresina ocurre como una amida primaria, — CON112, en lugar del ácido libre.

Problema 26.8 Seis tripéptidos isoméricos contienen valina, tirosina y glicina. Nómbrelos utilizando abreviaturas de una y tres letras.

Problema 26.9 Dibuje la estructura del M-P-V-G, e indique los enlaces amida.

#### 26.5

## William Howard Stein

William Howard Stein (1911-1980) nació en la ciudad de Nueva York y recibió su doctorado en 1938 por el Colegio de Médicos y Cirujanos de Columbia. Ingresó inmediatamente como docente en el Instituto Rockefeller, donde permaneció hasta su muerte. En 1972, compartió el Premio Nobel de Química por sus trabajos junto con Stanford Moore, en el desarrollo de métodos de análisis de aminoácidos y por la determinación de la estructura de la ribonucleasa.

Análisis de los aminoácidos de los péptidos

Para determinar la estructura de una proteína o de un péptido, necesitamos responder a tres preguntas: ¿Qué aminoácidos están presentes? ¿Cuántos de cada uno están presentes? ¿En qué secuencia se encuentran los aminoácidos en la cadena peptídica? Las respuestas a la primera y a la segunda preguntas las proporciona un instrumento automatizado llamado analizador de aminoácidos.

Un analizador de aminoácidos es un instrumento automatizado que se basa en técnicas analíticas desarrolladas en la década de 1950 por William Stein y Stanford Moore en el Instituto Rockefeller, ahora Universidad Rockefeller, en Nueva York. En la preparación para el análisis, el péptido se rompe en sus aminoácidos constituyentes reduciendo todos los enlaces disulfuro, restringiendo los grupos –SH de los residuos de cisteína por la reacción  $S_{\rm N}2$  con ácido yodo-acético, e hidrolizando los enlaces amida calentándolo con HC1 6 M acuoso a 110 °C por 24 horas. Se analiza la mezcla resultante de aminoácidos, por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) como se describió en el *Enfocado a...* del capítulo 12, o por una técnica relacionada llamada cromatografía de intercambio iónico.

En la técnica de intercambio iónico, los aminoácidos separados salen (ehiyen) del extremo de la columna cromatográfica mezclados con una disolución de ninliidrina y experimentan una reacción rápida que produce un color púrpura intenso. El color es detectado por un espectrómetro, y se obtiene una gráfica de tiempo de elución contra la absorbancia en el espectrómetro.

Ninhidrina 
$$\alpha$$
-aminoácido (color púrpura)

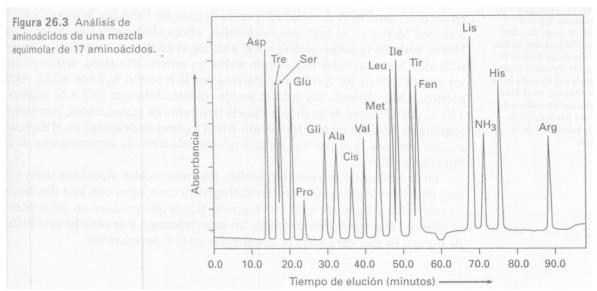
#### Stanford Moore

Stanford Moore (1913-1982) nació en Chicago, Illinois, y recibió su doctorado por la Universidad de Wisconsin en 1938. Fue profesor en el Instituto Rockefeller y compartió el Premio Nobel de Química de 1972 con su colega y colaborador, William Stein.

Debido a que es reproducible la cantidad de tiempo requerido para que un aminoácido dado eluya de una columna estándar, pueden determinarse las identidades de los aminoácidos en un péptido. La cantidad de cada aminoácido en la muestra se determina midiendo la intensidad color púrpura que resulta de su reacción con ninhidrina. La figura 26.3 muestra los resultados del análisis de aminoácidos de una mezcla equimolar estándar de 17 a-aminoácidos. Típicamente, el análisis de aminoácidos requiere alrededor de 100 picomoles (2-3 /az) de muestra para una proteína que contiene alrededor de 200 residuos.

Problema 26.10 Muestre la estructura del producto que esperaría obtener por la reacción  $S_N 2$ , de un residuo de cisteína con ácido yodoacético.

Problema 26.11 Muestre las estructuras de los productos obtenidos en la reacción de la valina con ninhidrina.



;ecuenciación de péptidos: degradación de Edman

Si ya se conocen la identidad y la cantidad de aminoácidos, se determina la secuencia del péptido para conocer en qué orden están unidos los aminoácidos. En la actualidad, la mayor parte de la secuenciación de péptidos se hace por medio de la espectrometría de masas, utilizando la ionización por electroaspersión (ESI) o ionización por desorción láser asistida por patrón (MALDI) unido a un analizador de masas de tiempo de recorrido (TOP), como se describió en la sección 12.4. También es de uso común un método químico de secuenciación de péptidos llamado degradación de Edinan

**26.6 h** secuenciación de péptidos llamado *degradación de Edinan.* 

La idea general de la secuenciación de péptidos por la degradación de Edman es romper un aminoácido a la vez desde un extremo de la cadena peptídica. El aminoácido terminal se separa e identifica, y se repiten las reacciones de ruptura en el péptido de cadena acorta da hasta que se conoce por completo la secuencia del péptido. Están disponibles secuenciadores de proteínas automatizados que permiten que se realicen hasta 50 ciclos repetitivos de secuenciación antes de que una acumulación de subproductos no deseados interfiera con los resultados. Son tan eficientes estos instrumentos que la información de la secuencia puede obtenerse a partir de muestras de sólo 1 a 5 picomoles-menos de 0.1 in.

Como se muestra en la figura 26.4, la degradación de Edman involucra el tratar un péptido con fenilisotiocianato (PITC), C6H5—N----C=S, seguido por el tratamiento con ácido trifluoroacético. En la primera etapa se fija el PITC al grupo –NH2 del aminoácido N-terminal, y en la segunda etapa se separa el residuo N-terminal de la cadena de péptido, produciendo un derivado de anilinotiazolinona (ATZ) más el péptido de cadena acortada. El rearreglo posterior catalizado por un ácido del derivado de ATZ con ácido acuoso lo convierte en una feniltiohidantoína (PTH), la cual se identifica por cromatografia al comparar su tiempo de elusión con los tiempos de

#### Pehr Victor Edman

Pehr Victor Edman (1916-1977) nació en Estocolmo, Suecia, y recibió una maestría en 1946 por el Instituto Karolinska. Después de un año en Estados Unidos en el Instituto Rockefeller, regresó a Suecia como profesor en la Universidad de Lund. En 1957 se cambió a la Escuela de Investigación Médica San Vicente en Melbourne, Australia, donde desarrolló y automatizó el método de secuenciación de péptidos que lleva su nombre. Como fue un hombre solitario, nunca recibió los premios o el reconocimiento

elusión conocidos de los derivados de PTH de los 20 aminoácidos comunes. Los péptidos de cadena acortada se vuelven a someter de forma automática a otro ciclo de degradación de Edman.

No es práctica la secuenciación completa de proteínas largas por la degradación de Edman debido a la acumulación de subproductos no deseados. Para evitar este problema, primero una cadena grande de un péptido se rompe por hidrólisis parcial en un número de fragmentos más pequeños, luego se determina

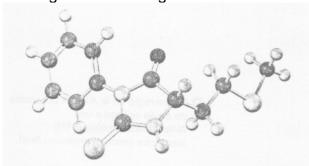
NH-Péptido 1 La adición nucleofílica del grupo amino terminal del péptido al fenilisotiocianato (PITC) da un derivado de N-feniltiourea. -Péptido 2 La ciclación catalizada por un ácido de la feniltiourea produce un intermediario tetraédrico . . . NH-Péptido 3 . . . el cual expulsa el péptido de cadena acortada y forma un derivado de anilinotiazolinona (ATZ). H<sub>2</sub>N-Péptido Anilinotiazolinona (ATZ) El rearreglo de la ATZ en presencia de ácido acuoso a una N-feniltiohidantoina (PTH) isomérica como el producto final. N-feniltiohidantoina (PTH) Figura 26.4 MECANISMO: Mecanismo de la degradación de Edman para el análisis del N-terminal de péptidos.

la secuencia de cada fragmento, y los fragmentos individuales se ajustan entre sí al emparejar los extremos que se traslapan. De esta forma, se han secuenciado cadenas de proteínas con más de 400 aminoácidos.

La hidrólisis parcial de un péptido puede realizarse enzimática o químicamente con ácido acuoso. La hidrólisis ácida no es selectiva y conduce a una mezcla más o menos aleatoria de fragmentos pequeños, pero la hidrólisis enzimática es absolutamente específica. Por ejemplo, la enzima tripsina sólo cataliza la hidrólisis de péptidos en el lado carboxilo de los aminoácidos básicos arginina y lisina; la quimotripsina sólo rompe en el lado carboxilo de los aminoácidos arilsustituidos fenilalanina, tirosina y triptófano.

Problema 26.12 El octapéptido angiotensina II tiene la secuencia Asp-Arg-Val-Tirlle-His-Pro-Fen. ¿Qué fragmentos resultarían si se rompiera la angiotensina con tripsina? ¿Con quimotripsina?

Problema 26.13 I ¿Cuál es el residuo N-terminal en un péptido que da el derivado de PTH siguiente en la degradación de Edman?



Problema 26.14 Dibuje la estructura del derivado de PTH que se formaría en la degradación de Edman de la angiotensina II (problema 26.12).

Problema 26.15 De la secuencia de aminoácidos de los hexapéptidos que producen los conjuntos de fragmentos siguientes en la hidrólisis parcial ácida:

(a) Arg, Gli, Ile, Leu, Pro, Val da Pro-Leu-Gli, Arg-Pro, Gli-lle-Val

(b)  $N, L, M, W, V_2 da V-L, V-M-W, W-N-V$ 

#### **26.7** Síntesis de péptidos

Al conocer su estructura, ya puede emprenderse la síntesis de un péptido, quizá para obtener una gran cantidad para una evaluación biológica. Una amida simple podría formarse al tratar una amina y un ácido carboxílico con diciclohexilcarbodiimida (DCC; sección 21.7), pero la síntesis de péptidos es un problema más difícil debido que deben formarse en un orden específico varios enlaces amida distintos en lugar de formarlos aleatoriamente.

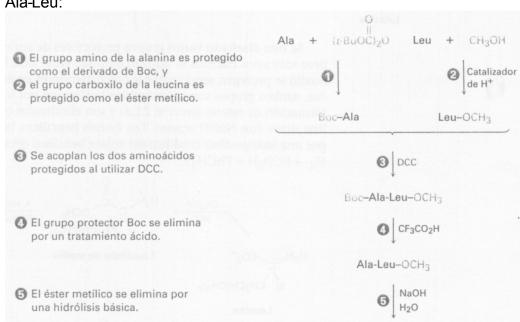
La solución al problema de especificidad consiste en *proteger* aquellos grupos funcionales que queremos hacer no reactivos mientras dejamos expuestos sólo aquellos grupos funcionales que queremos que reaccionen. Por ejemplo, si quisiéramos acoplar alanina con leucina para sintetizar Ala-Leu, podemos proteger el

grupo — NH<sub>2</sub> de la alanina y el grupo —CO<sub>2</sub>H de la leucina para volverlos no reactivos, después formar el enlace amida deseado y eliminar posteriormente los grupos protectores.

Se han diseñado varios grupos protectores de amino y carboxilo diferentes, pero sólo unos cuantos se utilizan ampliamente. Con frecuencia los grupos carboxilo se protegen sencillamente convirtiéndolos en ésteres metílicos o bencílicos. Ambos grupos son introducidos fácilmente por los métodos estándares de formación de ésteres (sección 21.6) y son eliminados con facilidad por la hidrólisis suave con NaOH acuoso. Los ésteres bencílicos también pueden romperse por una hidrogenólisis catalítica del enlace bencílico débil C-0 (RCO<sub>2</sub>—CH<sub>2</sub>Ph + H<sub>2</sub> —> RCO<sub>2</sub>H + PhCH3).

$$\begin{array}{c} & & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & & & \\ & &$$

Los grupos amino con frecuencia se protegen como sus derivados ter-butoxicarbonil amida, o Boc. Se introduce el grupo protector Boc por la reacción del aminoácido con dicarbonato de di-ter-butilo en una reacción de sustitución nucleofílica en el grupo acilo y se elimina por el tratamiento breve con un ácido orgánico fuerte como el ácido trifluoroacético, CF3CO2H.



Por lo tanto, se necesitan cinco etapas para sintetizar un dipéptido como el Ala-Leu:

#### Frederick Sanger

Frederick Sanger (1918-) nació en Gloucestershire, Inglaterra, y recibió su doctorado por la Universidad de Cambridge en 1943. Después de 10 años como docente en Cambridge, ingresó al Consejo de Investigación Médica en 1951, donde ha permanecido hasta ahora. En 1958, fue galardonado con el Premio Nobel de Química por su determinación de la estructura de la insulina, y en 1980 se convirtió en la cuarta persona en recibir un segundo Premio Nobel, por su desarrollo de un método para determinar la secuencia de los nucleótidos en el ADN.

Estas etapas pueden repetirse para adicionar un aminoácido a la vez a fin de aumentar la cadena o unir dos cadenas de péptido. Se han reportado varios logros notables en la síntesis de péptidos, que incluyen una síntesis completa de la insulina humana. La insulina se compone de dos cadenas que suman un total de 51 aminoácidos unidos por puentes disulfuro. Su estructura fue determinada por Frederick Sanger, quién en 1958 recibió el Premio Nobel de Química por su trabajo.

Ala-Leu



Problema 26.16 Muestre el mecanismo para la formación de un derivado de Boc por la reacción de un aminoácido con dicarbonato de di-ter-butilo. Problema 26.17 Escriba las cinco etapas requeridas para la síntesis de Leu-Ala a partir de alanina y leucina.

# **26.8** I Síntesis automatizada de péptidos: I el método en fase sólida de Merrifield

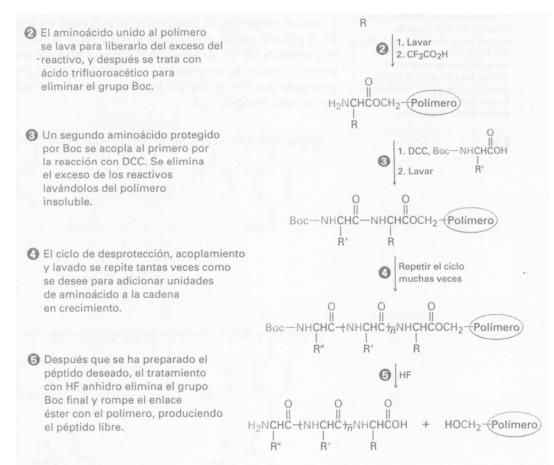
Con el primer aminoácido unido a la resina, se realiza una secuencia repetitiva de cuatro etapas para construir un péptido.

# Robert Bruce Marrifield

Robert Bruce Merrifield (1921-2006) nació en Fort Worth, Texas, y recibió su doctorado por la Universidad de California, Los Ángeles, en 1949. Después ingresó como docente en el Instituto Rockefeller, donde permaneció hasta su muerte. En 1984, le fue conferido el Premio Nobel de Química por su desarrollo de métodos para la síntesis automatizada de péptidos.

introducido por R. Bruce Merrifield de la

Universidad Rockefeller. En el método de Merrifield, la síntesis de péptidos se realiza con la cadena en crecimiento de aminoácido unida covalentemente a cuentas pequeñas de una resina de polímero en lugar de en una disolución. En el procedimiento estándar de Merrifield, se utiliza la resina de poliestireno, y es preparada de tal manera que aproximadamente uno de cada 100 anillos de benceno contenga un grupo clorometilo (–CH2C1), y el aminoácido C-terminal protegido por Boc se une a la resina a través de un enlace éster el cual es formado por una reacción SN2.



A través de los años se han mejorado sustancialmente los detalles de la técnica en fase sólida, pero la idea fundamental sigue siendo la misma. Las resinas más comúnmente utilizadas actualmente son la resina de Wang o la resina de PAM (fenilacetamido metilo), y el grupo N-protector más comúnmente utilizado es el fluorenilmetiloxicarbonilo, o grupo Fmoc, en lugar de Boc.

Actualmente se utilizan sintetizadores de péptidos robóticos para repetir las etapas de acoplamiento, lavado y desprotección con aminoácidos diferentes. Cada etapa ocurre con rendimiento alto, de manera automática se minimiza la pérdida mecánica debido a que los péptidos intermediarios nunca se eliminan del polímero insoluble hasta la etapa final. Utilizando este procedimiento, pueden prepararse rutinariamente hasta 25 a 30 mg de un péptido con 20 aminoácidos.

### 26.9 1 Estructura de las proteínas

Las proteínas se clasifican usualmente comofibrosas o globulares, de acuerdo con su forma tridimensional. Las proteínas fibrosas, como el colágeno en los tendones y el tejido conectivo y la miosina en el tejido muscular, consisten en cadenas de polipéptidos arregladas lado a lado en filamentos largos. Debido a que estas proteínas son resistentes e insolubles en agua, se utilizan en la naturaleza para formar materiales estructurales. En cambio, las proteínas globulares usualmente se enrollan en formas compactas casi esféricas; por lo general, estas proteínas son solubles en agua y se mueven dentro de las células. La mayor parte de las aproximadamente 3 000 enzimas que se han caracterizado hasta la fecha son proteínas globulares.

Las proteínas son tan grandes que la palabra *estructura* toma un significado más amplio que el que tiene cuando se refiere a los compuestos orgánicos más simples. De hecho, los químicos hablan de cuatro niveles diferentes de estructuras cuando describen a las proteínas.

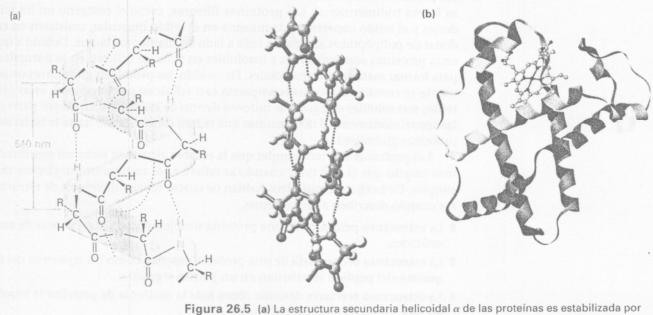
I La estructura primaria de una proteína simplemente es la secuencia de aminoácidos.

- 1 La estructura secundaria de una proteína describe cómo los *segmentos* del esqueleto del péptido se orientan en un patrón regular.'
- 1 La estructura terciaria describe cómo *toda* la molécula de proteína se enrolla en una forma tridimensional global.
- 1 La estructura cuaternaria describe cómo las moléculas de proteínas diferentes se integran para producir estructuras agregadas grandes.

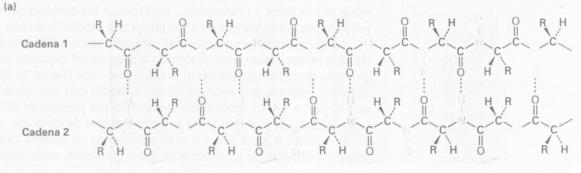
La estructura primaria se determina, como hemos visto, secuenciando la proteína. Las estructuras secundarias, terciarias y cuatemarias se determinan por cristalografía de rayos X (Enfocado a... del capítulo 22) debido a que aún no es posible predecir por computación cómo se pliega una secuencia de una proteína dada.

Las estructuras secundarias más comunes son la hélice *a* y la lámina [3-plegada. Una hélice *a* es un enrollamiento a la derecha del esqueleto de la proteína, muy parecido al enrollamiento de un cordón telefónico (figura 26.5a). Cada vuelta de la hélice contiene 3.6 residuos de aminoácido, con una distancia entre vueltas de 540 pm, o 5.4 A. La estructura se estabiliza por puentes de hidrógeno entre grupos amida N–H y grupos C=0 a cuatro residuos de distancia, con una distancia N–H<sup>...</sup>0 de 2.8 A. La hélice *a* es una estructura secundaria extremadamente común, y casi todas las proteínas globulares contienen varios segmentos helicoidales. La mioglobina, una proteína globular pequeña que contiene 153 residuos de aminoácido en una sola cadena, es un ejemplo (figura 26.5b).

Una lámina fi-plegada difiere de una hélice a en que se extiende la cadena de péptido en vez enrollarse y los puentes de hidrógeno ocurren entre los residuos de las cadenas adyacentes (figura 26.6a). Las cadenas vecinas pueden correr en la misma dirección (paralela) o en direcciones opuestas (antiparalela), aunque el arreglo antiparalelo es más común y un poco más favorecido desde el punto de vista energético. Por ejemplo, la concanavalina A consiste en dos cadenas idénticas de 237 residuos, cada una con regiones extensas de láminas antiparalelas (figura 26.6b).



**Figura 26.5** (a) La estructura secundaria helicoidal  $\alpha$  de las proteínas es estabilizada por puentes de hidrógeno entre el grupo N–H de un residuo y el grupo C=O a cuatro residuos. (b) Estructura de la mioglobina, una proteína globular con regiones helicoidales extensas que se muestran en esta representación como listones enrollados.



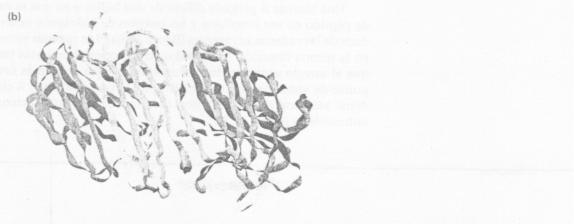
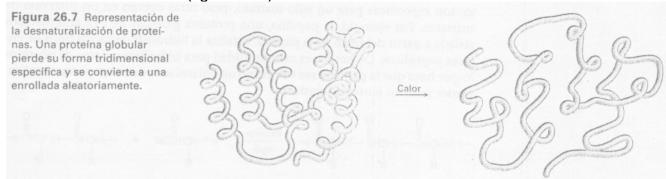


Figura 26.6 (a) La estructura secundaria de lámina  $\beta$ -plegada de las proteínas es estabilizada por los puentes de hidrógeno entre las cadenas paralelas y antiparalelas. (b) Estructura de la concanavalina A, una proteína con regiones extensas de láminas  $\beta$ , mostradas como listones aplanados.

¿Qué hay acerca de la estructura terciaria? ¿Por qué cualquier proteína adopta la forma que lo hace? Las fuerzas que determinan la estructura terciaria de una proteína son las mismas fuerzas que actúan en todas las moléculas, independientemente de su tamaño, para proveer la estabilidad máxima. Son particularmente importantes las interacciones hidrófilas (amantes del agua; sección 2.13) de las cadenas laterales polares en los aminoácidos básicos o ácidos. Aquellos aminoácidos básicos o ácidos con cadenas laterales cargadas tienden a congregarse en el exterior de la proteína, donde pueden ser solvatados por el agua. Aquellos aminoácidos con cadenas laterales no polares y neutras tienden a congregarse en el interior en forma parecida a los hidrocarburos de una molécula de proteína, alejados del medio acuoso.

También es importante para la estabilización de la estructura terciaria de las proteínas la formación de puentes disulfuro entre los residuos de cisteína, la formación de puentes de hidrógeno entre los residuos de aminoácido cercanos, y la presencia de atracciones iónicas, llamadas *puentes salinos*, entre los sitios cargados positiva y negativamente en las varias cadenas laterales de aminoácidos dentro de la proteína.

Debido a que la estructura terciaria de una proteína globular es sostenida delicadamente por atracciones intramoleculares débiles, con frecuencia es suficiente un cambio ligero en la temperatura o el pH para desestabilizar la estructura y ocasionar que la proteína se desnaturalice. La desnaturalización ocurre bajo condiciones tan suaves que la estructura primaria permanece intacta pero la estructura terciaria se desdobla de una forma globular específica a una cadena enrollada aleatoriamente (figura 26.7).



La desnaturalización se acompaña por cambios en las propiedades físicas y biológicas. La solubilidad se disminuye drásticamente, como ocurre cuando se cocina la clara de huevo y las albúminas se desdoblan y coagulan. La mayor parte de las enzimas también pierden toda actividad catalítica cuando se desnaturalizan, dado que para su acción se requiere una estructura terciaria definida con precisión. Aunque la mayor parte de las desnaturalizaciones son irreversibles, se conocen algunos casos donde ocurre la *renaturalización* espontánea de una proteína desdoblada a su estructura terciaria estable. La renaturalización se acompaña por una recuperación total de la actividad biológica.

### 26.10 1 Enzimas y coenzimas

Una enzima, usualmente una proteína grande, es una sustancia que actúa comœatalizador para una reacción biológica. Al igual que todos los catalizadores, una enzima no afecta la constante de equilibrio de una reacción y no puede ocasimar un cambio químico desfavorable; una enzima únicamente actúa para dismi

nuir la energía de activación para una reacción, por lo que hace que la reacción suceda más rápidamente. De hecho, en algunas ocasiones la aceleración de la rapidez ocasionada por las enzimas es extraordinaria. Son comunes los aumentos de rapidez de millones de veces, y las enzimas glocosidasa que hidrolizan a los polisacáridos incrementan la rapidez de reacción por un factor de más de 10<sup>17</sup>, lo que modifica el tiempo requerido para la reacción de millones de años a milisegundos.

A diferencia de muchos de los catalizadores que los químicos utilizan en el laboratorio, las enzimas usualmente son específicas en su acción. De hecho, con frecuencia una enzima únicamente catalizará una sola reacción de un único compuesto, llamado sustrato de la enzima. Por ejemplo, la enzima amilasa, que se encuentra en el tracto digestivo humano, sólo cataliza la hidrólisis del almidón para producir glucosa; la celulosa y otros polisacáridos no son afectados por la amilasa.

Enzimas diferentes tienen especificidades distintas. Algunas, corno la amilasa, son específicas para un solo sustrato, pero otras operan en un intervalo de sustratos. Por ejemplo, la papaína, una proteína globular de 212 aminoácidos' aislada a partir del fruto de la papaya, cataliza la hidrólisis de varios tipos de enlaces peptídicos. De hecho, es esta habilidad para hidrolizar enlaces de péptidos lo que hace que la papaína sea útil como un ablandador de carne y como un limpiador para los lentes de contacto.

Las enzimas funcionan a través de una vía que comprende la formación inicial de un complejo enzima-sustrato E • S, una conversión química multietapa de la enzima unida al sustrato en la enzima unida al producto E • y la liberación final del producto a partir del complejo.

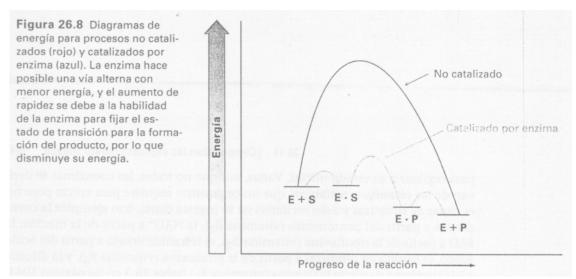
$$E + S \iff E \cdot S \iff E \cdot P \iff E + P$$

La constante de rapidez global para la conversión del complejo E • S a los productos E + P se llama número de recambio debido a que representa el número de moléculas del sustrato que la enzima convierte en producto por unidad de tiempo, y es típico un valor de casi 10<sup>3</sup> por segundo.

La aceleración de la rapidez lograda por las enzimas se debe a varios factores, por lo que es particularmente importante la capacidad de la enzima para estabilizar y, por lo tanto, disminuir la energía del (de los) estado(s) de transición. Esto es, no es la capacidad de las enzimas para fijar el *sustrato* la que importa, sino su capacidad para fijar y, por lo tanto, estabilizar el *estado de transición*. De hecho, con frecuencia las enzimas fijan la estructura de transición tanto como

10<sup>12</sup> veces más ajustadamente que lo que fijan el sustrato o los productos, y como resultado, se disminuye sustancialmente en energía el estado de transición. Un diagrama de energía para un proceso catalizado por una enzima podría verse como el de la figura 26.8.

Como se muestra en la tabla 26.2, las enzimas se clasifican en seis categorías dependiendo del tipo de reacción que catalizan. Las oxidorreductasas catalizan oxidaciones y reducciones; las transferasas catalizan la transferencia de un grupo de un sustrato a otro; las liidrolasas catalizan las reacciones de hidrólisis de ésteres, amidas y sustratos relacionados; las liosas catalizan la eliminación o la adición de una molécula pequeña como H<sub>2</sub>0 de o a un sustrato; las isoinerasas



catalizan isomerizaciones; y las *ligasas* el enlace entre dos moléculas, frecuentemente acopladas con la hidrólisis de ATP. El nombre sistemático de una enzima tiene dos partes, terminando en *-asa*. La primera parte identifica el sustrato de la enzima, y la segunda parte identifica su clase. Por ejemplo, la hexosa quinasa es una transferasa que cataliza la transferencia de un grupo fosfato del ATP a una azúcar hexosa.

Clase	Algunas subclases	Función		
Oxidorreductasas	Deshidrogenasas	Introducción de un enlace doble		
	Oxidasas	Oxidación		
	Reductasas	Reducción		
Transferasas	Cinasas	Transferencia de un grupo fosfat		
	Transaminasas	Transferencia de un grupo amino		
Hidrolasas	Lipasas	Hidrólisis de ésteres		
	Nucleasas	Hidrólisis de fosfatos		
	Proteasas	Hidrólisis de amidas		
Liasas	Descarboxilasas	Pérdida de CO <sub>2</sub>		
	Dehidrasas	Pérdida de H <sub>2</sub> O		
Isomerasas	Epimerasas	Isomerización del centro quiral		
Ligasas	Carboxilasas	Adición de CO <sub>2</sub>		
	Sintetasas	Formación de un nuevo enlace		

Además de su parte proteínica, la mayor parte de las enzimas también contienen una pequeña parte no proteínica llamada *cofactor*. Un cofactor puede ser, un ion inorgánico, como Zn<sup>2+</sup>, o una molécula orgánica pequeña, llamada coenzima. Una coenzima no es un catalizador pero es un reactivo que experimenta un cambio químico durante la reacción y requiere una etapa adicional

para regresar a su estado inicial. Varias, aunque no todas, las coenzimas se derivan de las *vitaminas*, sustancias que un organismo requiere para crecer pero no es capaz de sintetizar y debe recibirlas en su ingesta diaria. Son ejemplos la coenzima A a partir del pantotenato (vitamina  $B_3$ ), la NAD-¹- a partir de la niacina, la FAD a partir de la riboflavina (vitamina  $B_2$ ), el tetrahidrofolato a partir del ácido fólico, el fosfato de piridoxal a partir de la piridoxina (vitamina  $B_6$ ), y la difosfato de tiamina a partir de la tiamina (vitamina  $B_1$ ) (tabla 26.3 en las páginas 10441045). Más adelante en el texto revisaremos en los puntos apropiados la química y los mecanismos de reacción de las coenzimas.

Problema 26.18; ¿A qué clases pertenecen las siguientes enzimas?

(a) Piruvato descarboxilasa deshidrogenara

(b) Quimotripsina (c)

Alcohol

#### 26.11 ¿Cómo actúan las enzimas? Citrato sintasa

Las enzimas actúan al hacer que se reúnan las moléculas de reactivos, las mantienen en la orientación necesaria para la reacción y proporcionan los sitios ácido o básico para catalizar pasos específicos. Como ejemplo, veamos la citrato sintasa, una enzima que cataliza la adición parecida a la aldólica de la acetil CoA a oxaloacetato para dar citrato. La reacción es el primer paso en el *ciclo del ácido cítrico*, en el que se metabolizan los grupos acetilo producidos por la degradación de las moléculas de los alimentos para producir CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>0. En la sección 29.7 veremos los detalles del ciclo del ácido cítrico.

La citrato sintasa es una proteína globular de 433 aminoácidos con una hendidura profunda alineada por un arreglo de grupos funcionales que pueden unirse al oxaloacetato. Al unirse el oxaloacetato, se cierra la hendidura inicial y se abre otra para unir la acetil CoA. Esta segunda hendidura también es alineada por los grupos funcionales apropiados, que incluyen una histidina en la posición 274 y un ácido aspártico en la posición 375. Ahora los dos reactivos son sostenidos por la enzima en una proximidad estrecha y con una orientación adecuada para la reacción. La figura 26.9 en la página 1046 muestra la estructura de la citrato sintasa determinada por cristalografía de rayos X, junto con un acercamiento del sitio activo.

Como se muestra en la figura 26.10, en la página 1047, el primer paso en la reacción aldólica es la generación del enol de la acetil CoA. El carboxilo de la cadena lateral de un residuo de aspartato actúa como una base para sustraer un protón ácido de la posición a, mientras que al mismo tiempo el anillo de imidazol de la cadena lateral de una histidina dona un 11<sup>†</sup> al oxígeno del grupo carbonilo. El enol producido realiza una adición nucleofílica al grupo carbonilo de la cetona del oxaloacetato. La primera histidina actúa como una base para eliminar el hidrógeno del –OH del enol, mientras que un segundo residuo de histidina dona simultáneamente un protón al grupo carbonilo del oxaloacetato, dando citril CoA. El agua hidroliza el grupo éster del tiol en la citril CoA en una reacción de sustitución nucleofílica en el grupo acilo, liberando como productos finales el citrato y la coenzima A.