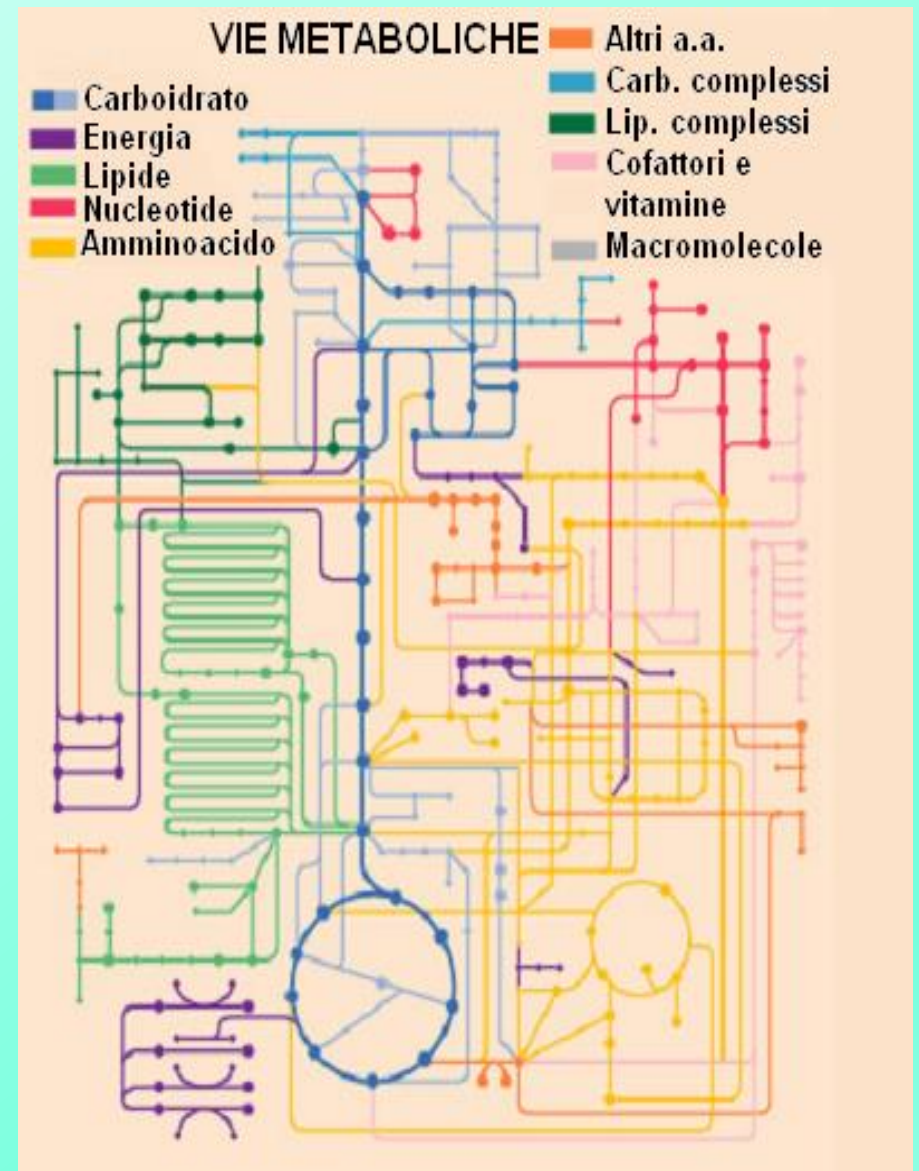


I processi mediante i quali le molecole biologiche vengono scisse e risintetizzate costituiscono una **rete di reazioni enzimatiche**, complessa e finemente regolata, detta **metabolismo** dell'organismo. Questa rete consente di produrre ed utilizzare **energia libera**.



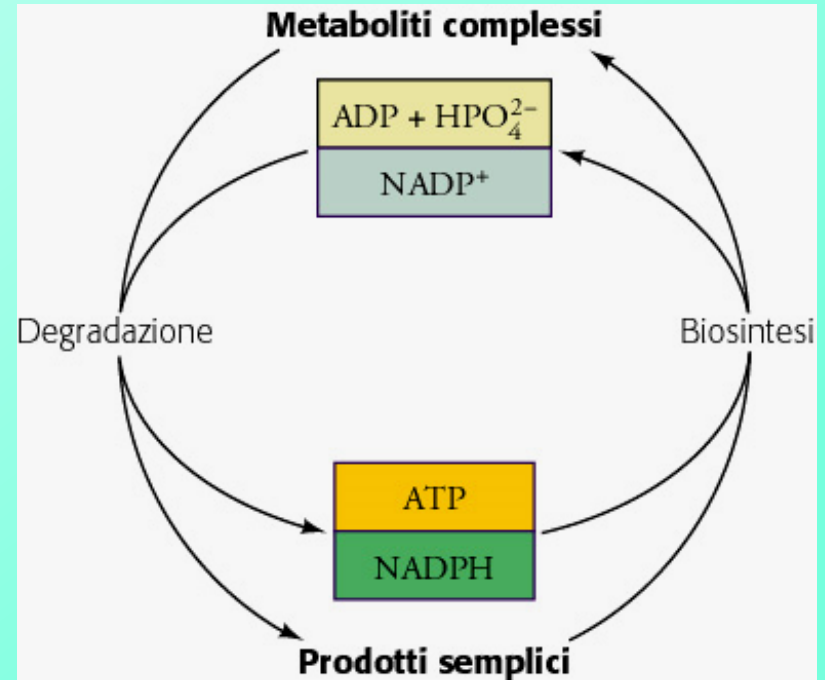
# Catabolismo o degradazione

(ossidazioni esoergoniche)

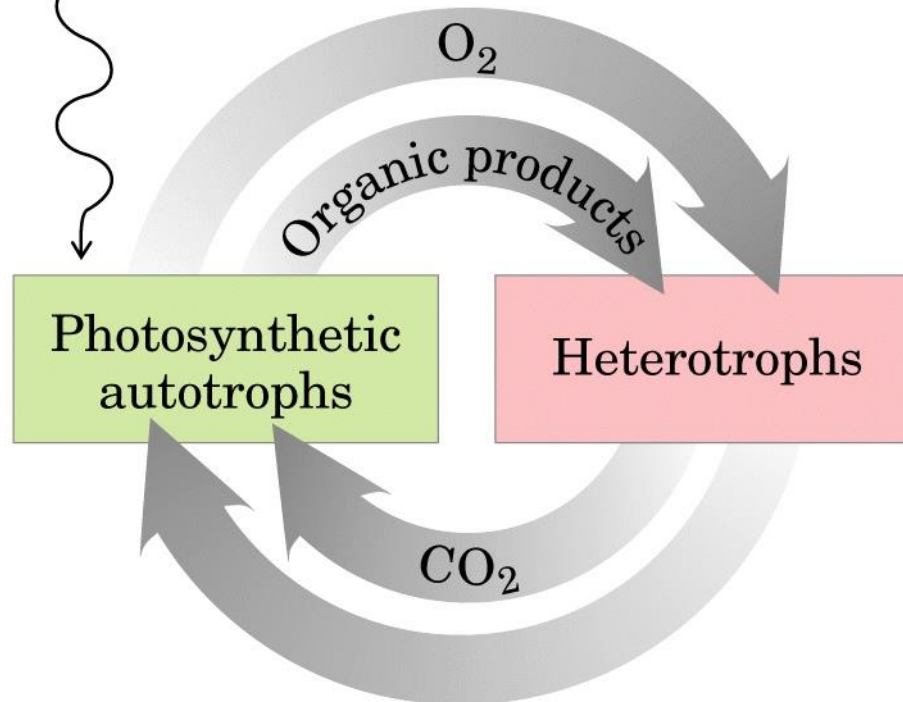
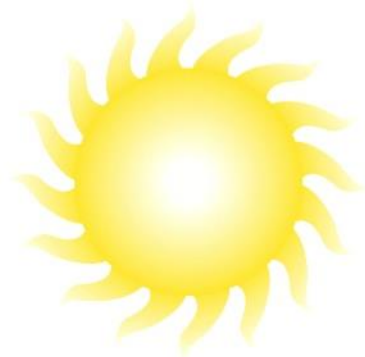
# Anabolismo o sintesi

(processi endoergonici)

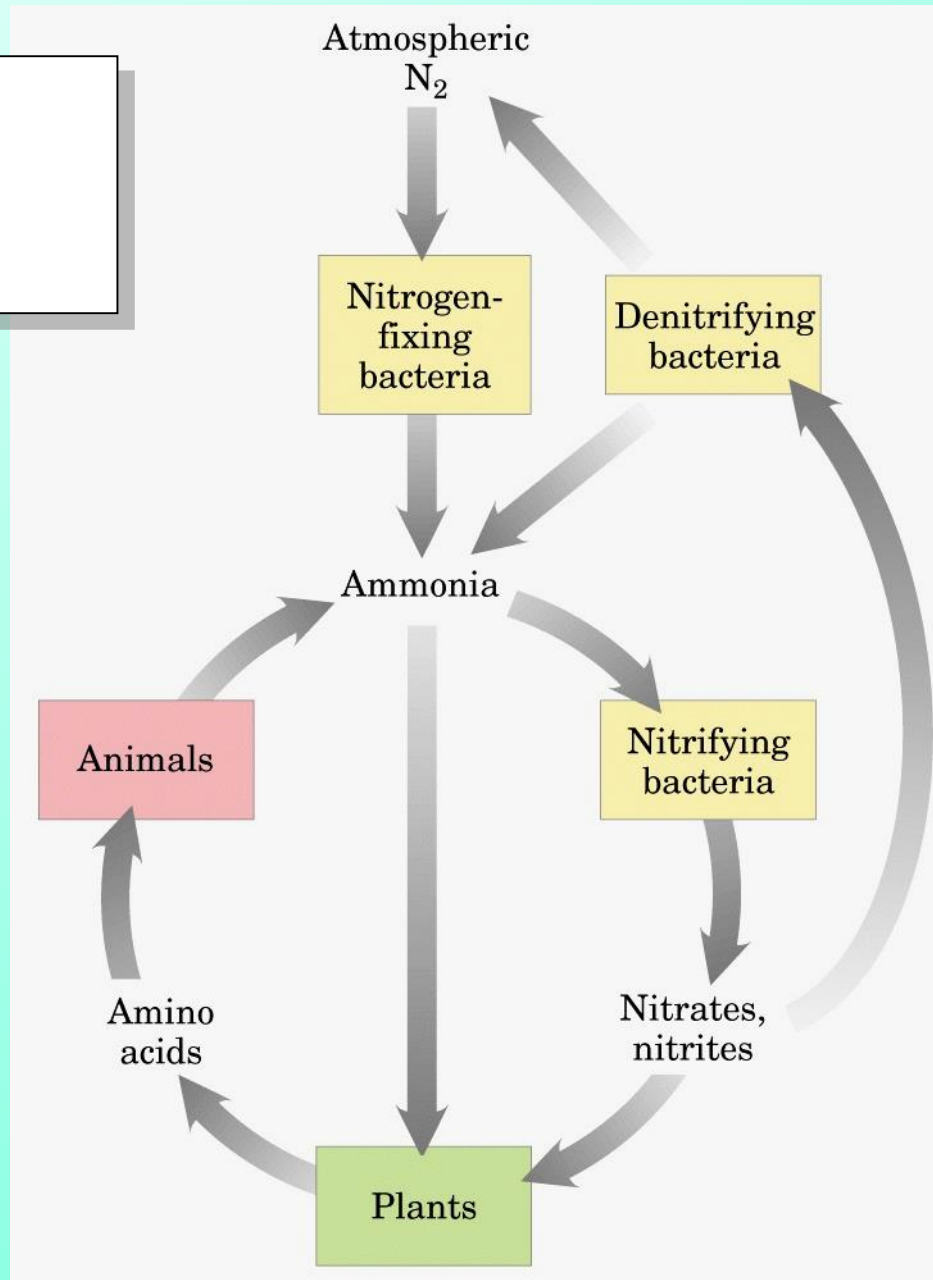
Processi esoergonici ed endoergonici sono accoppiati mediante la sintesi intermedia di composti “ad alta energia” come l’ATP o di coenzimi come l’NADPH

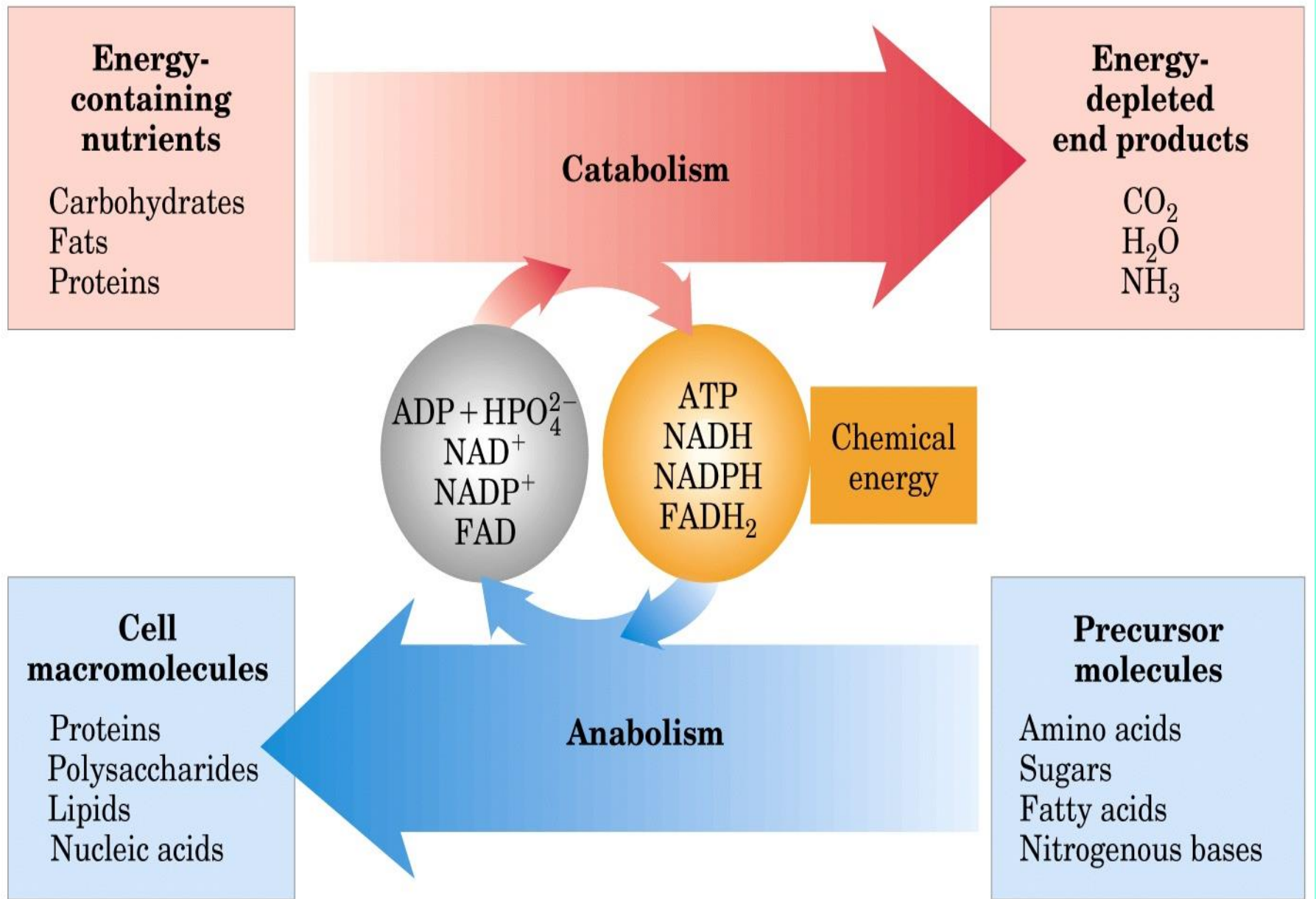


# CICLO OSSIGENO CARBONIO



# CICLO AZOTO

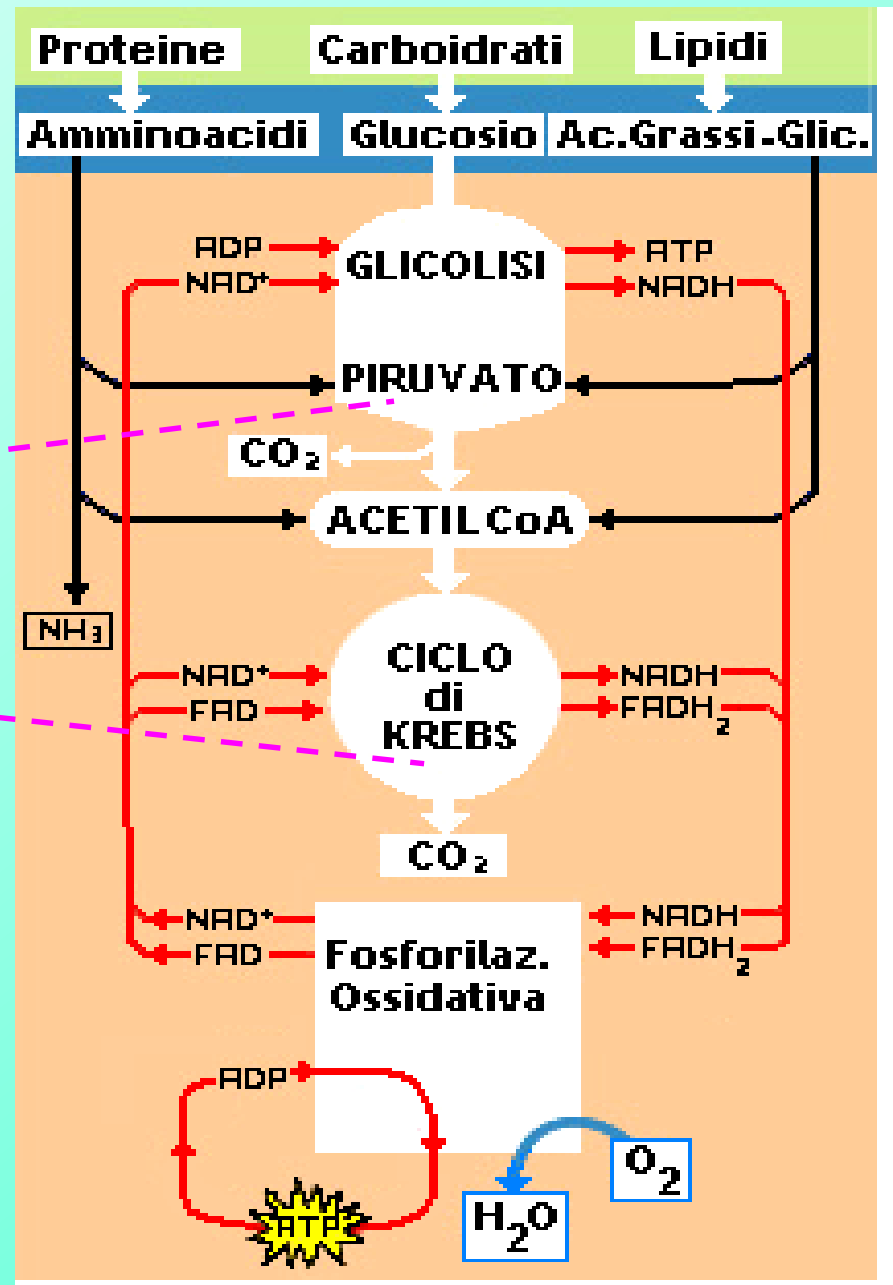




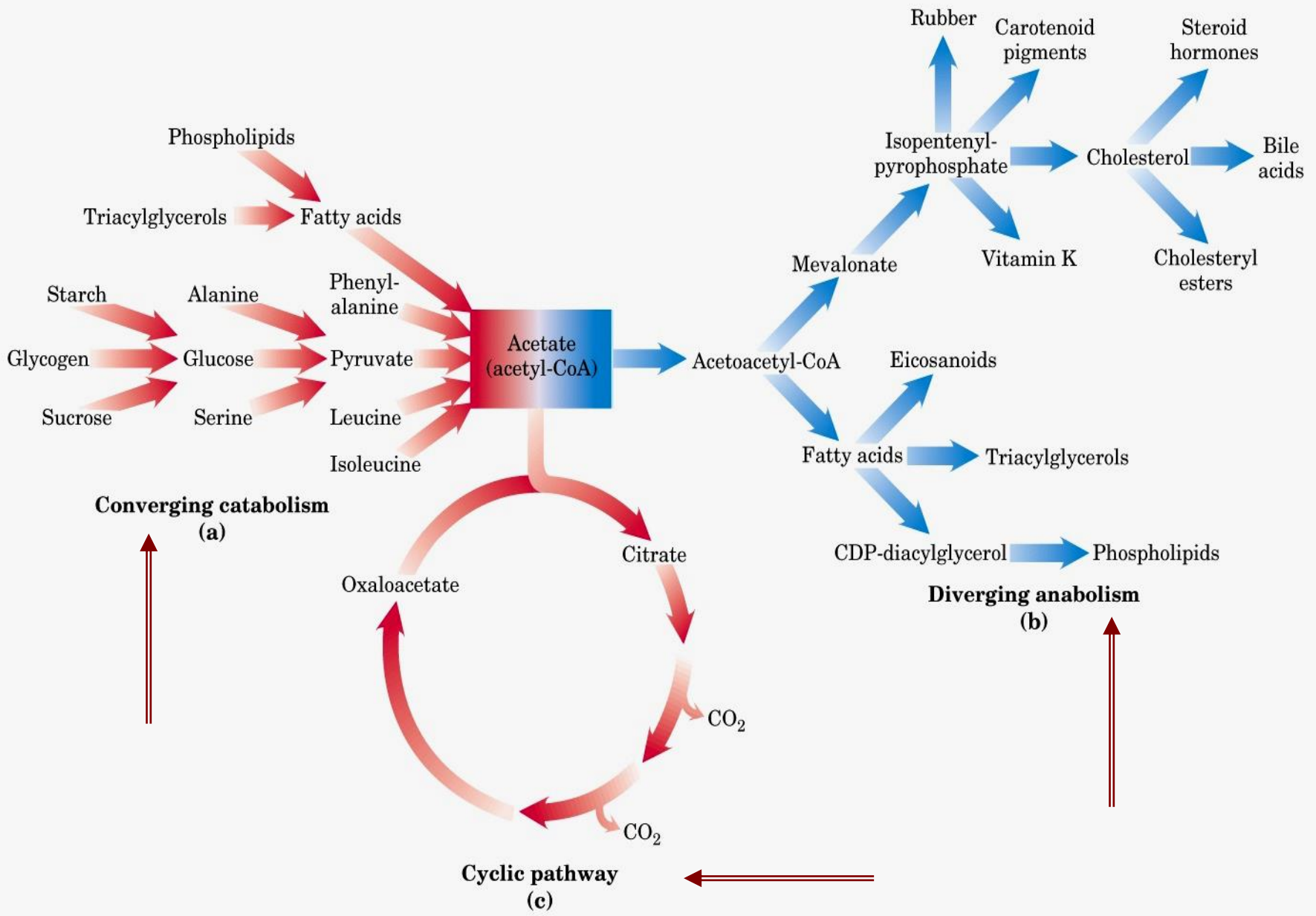
Le vie del **metabolismo degradativo (catabolismo)** di carboidrati, proteine e lipidi convergono verso la formazione di un numero limitato di intermedi comuni

che vengono poi utilizzati in una **via ossidativa centrale.**

Nelle vie del **metabolismo biosintetico** un numero limitato di metaboliti viene utilizzato per la produzione di una grande varietà di prodotti.







Nella cellula le vie metaboliche hanno localizzazioni specifiche

**Vantaggio :**

compartimentazione  
di vie metaboliche opposte e  
di attività enzimatiche “antagoniste”

**Svantaggio :**

necessità di trasportatori attraverso le  
membrane che delimitano i compartimenti  
cellulari.



Ovviamente anche tutte le trasformazioni energetiche che avvengono nelle cellule **seguono le leggi della termodinamica**

Equazione di Gibbs

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

Isoterma di Van't Hoff

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q_r$$

$$\Delta G^\circ = - RT \ln K_{eq}$$

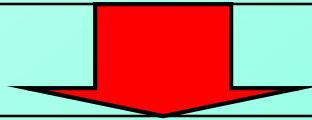
## Relationships among $K'_{\text{eq}}$ , $\Delta G'^{\circ}$ , and the Direction of Chemical Reactions under Standard Conditions

---

When $K'_{\text{eq}}$ is	$\Delta G'^{\circ}$ is	Starting with 1 M components the reaction
>1.0	Negative	Proceeds forward
=1.0	Zero	Is at equilibrium
<1.0	Positive	Proceeds in reverse

# STRUTTURA E REGOLAZIONE VIE METABOLICHE

**Molte reazioni** metaboliche sono reazioni **vicine all'equilibrio**, in cui  $\Delta G \simeq 0$  e la velocità è regolata dalle concentrazioni relative di substrati e prodotti. (pr. Le Chatelier)



**Alcune reazioni** metaboliche sono reazioni **lontane dall'equilibrio** a causa dell'eccesso dei substrati; queste reazioni generalmente sono quelle iniziali delle vie metaboliche. La loro velocità è regolata dagli enzimi che quindi in definitiva regolano il flusso di materia attraverso le vie metaboliche. In genere si tratta di enzimi allosterici inibiti dai prodotti finali della via metabolica stessa(**feedback**)

Questi fatti determinano che:

1. Le vie metaboliche sono **irreversibili**
2. Ogni via metabolica ha una (prima) “**tappa di comando**” ( $\Delta G \ll 0$ )
3. Il **flusso** attraverso una via allo stato stazionario è ~ costante e viene determinato dalla “tappa di comando”, la cui velocità è regolata in risposta alle richieste dell'organismo.
4. Le vie anaboliche e cataboliche sono **differenti**.

# La velocità della “tappa di comando” è regolata in modi diversi

## VELOCEMENTE (secondi o minuti)

1. Controllo allosterico (da substrati, coenzimi, prodotti – anche di reazioni successive)
2. Modificazione covalente (ad es. fosforilazione)
3. Cicli del substrato (variazione della velocità di due reazioni opposte catalizzate da due enzimi diversi)

## LENTAMENTE (ore o giorni)

1. Controllo genetico della concentrazione dell'enzima.

# Una via catabolica nel suo insieme può essere fortemente esoergonica

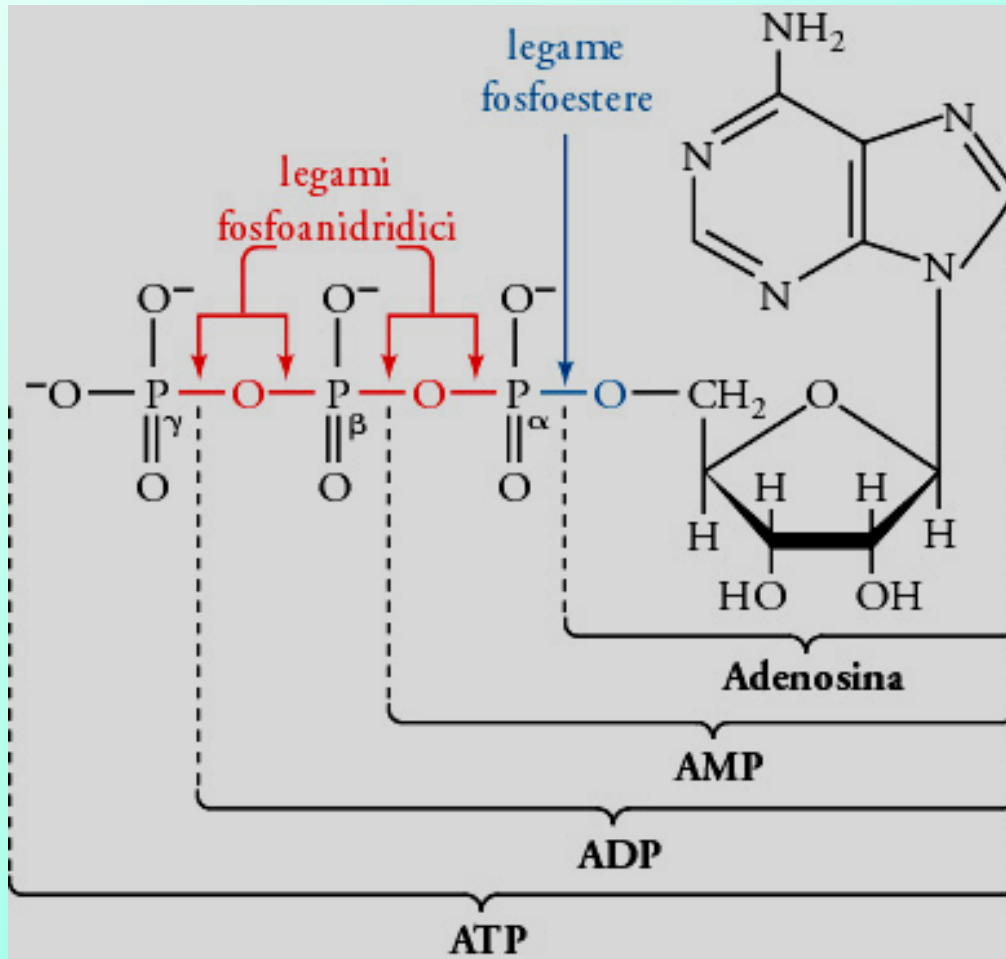
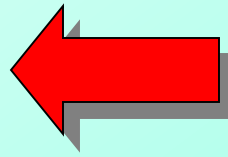
Ad es. ossidazione completa del glucosio  $\Delta G^{\circ} = -2850 \text{ kJ} \cdot \text{mole}^{-1}$

Necessità di suddividere la reazione in **stadi intermedi** che consentano di “liberare” poca energia alla volta e controllare la temperatura

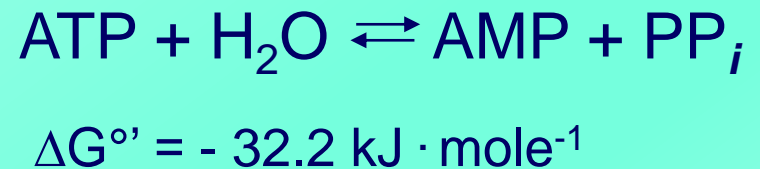
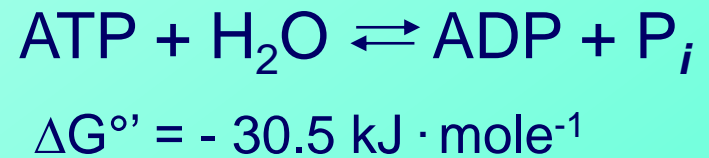
Necessità di **intermedi** che conservano “pacchetti di energia” e la rendono poi disponibile per altre reazioni endoergoniche.

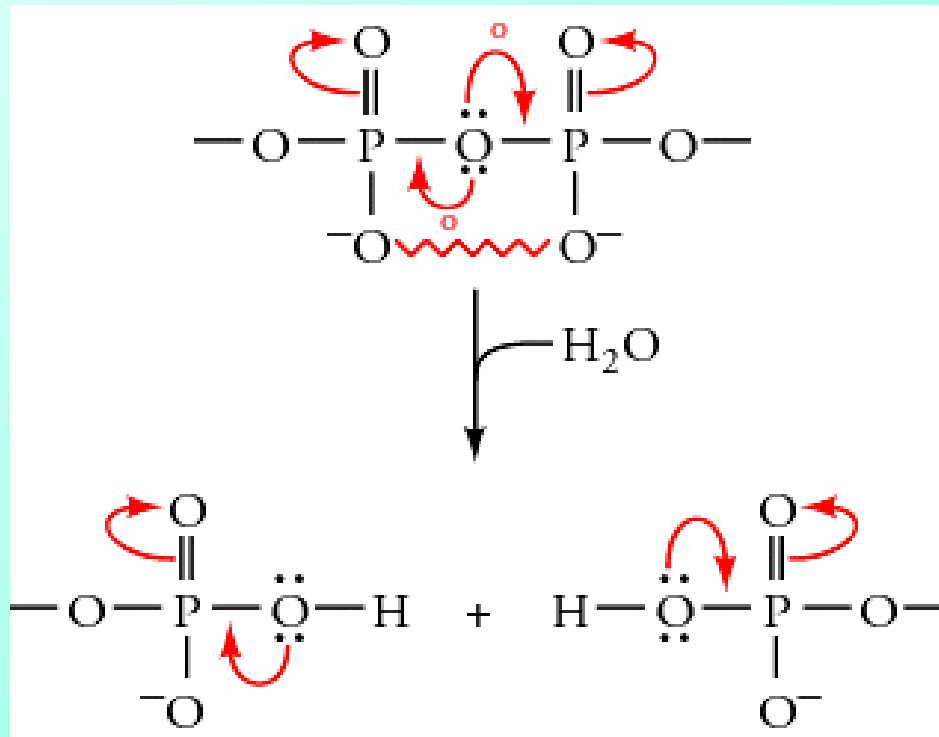


# ATP adenosina trifosfato



Il più comune  
intermedio in cui  
viene  
immagazzinata  
l'energia delle  
reazioni cataboliche





Le risonanze **in competizione** tra loro e le **repulsioni** carica-carica tra i gruppi fosfato rendono meno stabile l'ATP rispetto ai suoi prodotti di idrolisi.  
L'idrolisi quindi risulta essere esoenergonica

Nella cellula esistono due possibilità per utilizzare il sistema ADP/ATP come riserva di energia

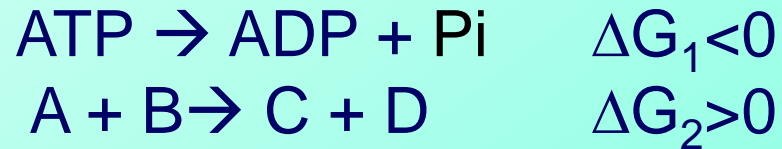
**REAZIONI  
ACCOPIATE**

**Es. GLICOLISI**

**FOSFORILAZIONE  
OSSIDATIVA**

**Es. CATENA TRASPORTO  
ELETTRONI E ATPsintasi**

L'idrolisi dell'ATP accoppiata a reazioni endoergoniche le rende spontanee



Accoppiando le reazioni :



e se

$$\Delta G_3 = \Delta G_1 + \Delta G_2 < 0$$

(ovvero  $|\Delta G_1| > |\Delta G_2|$ )

allora la via metabolica è spostata verso destra

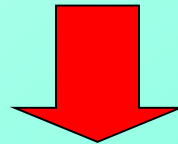
L'accoppiamento delle reazioni procede tramite la formazione di fosfati attivati

Es: La GLICOLISI si realizza in due fasi.

**Prima Fase : INVESTIMENTO**

Due molecole di ATP vengono utilizzate per produrre composti fosforilati instabili

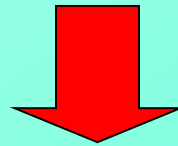
Enzima Esochinasi



$\Delta G = -33,5 \text{ kJ/mol}$



Enzimi Isomerasi e chinasi



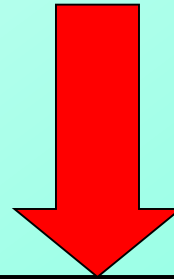
$\Delta G = -19,53 \text{ kJ/mol}$



## Seconda Fase : RENDIMENTO

Le due molecole di 3-fosfogliceraldeide vengono ossidate a piruvato producendo 4 molecole di ATP

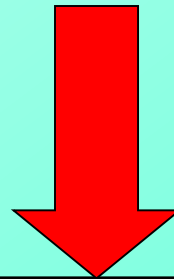
Enzimi ossidoriduttasi,  
transferasi,



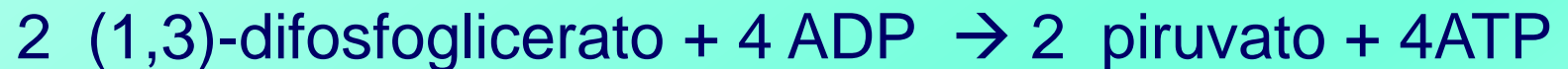
$\Delta G = -1,65 \text{ kJ/mol}$



Enzimi enolasi, liasi  
transferasi,



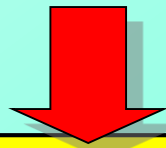
$\Delta G = -17,88 \text{ kJ/mol}$





In queste reazioni sono prodotte anche 2 molecole di NADH la cui energia verrà recuperata nella fosforilazione ossidativa

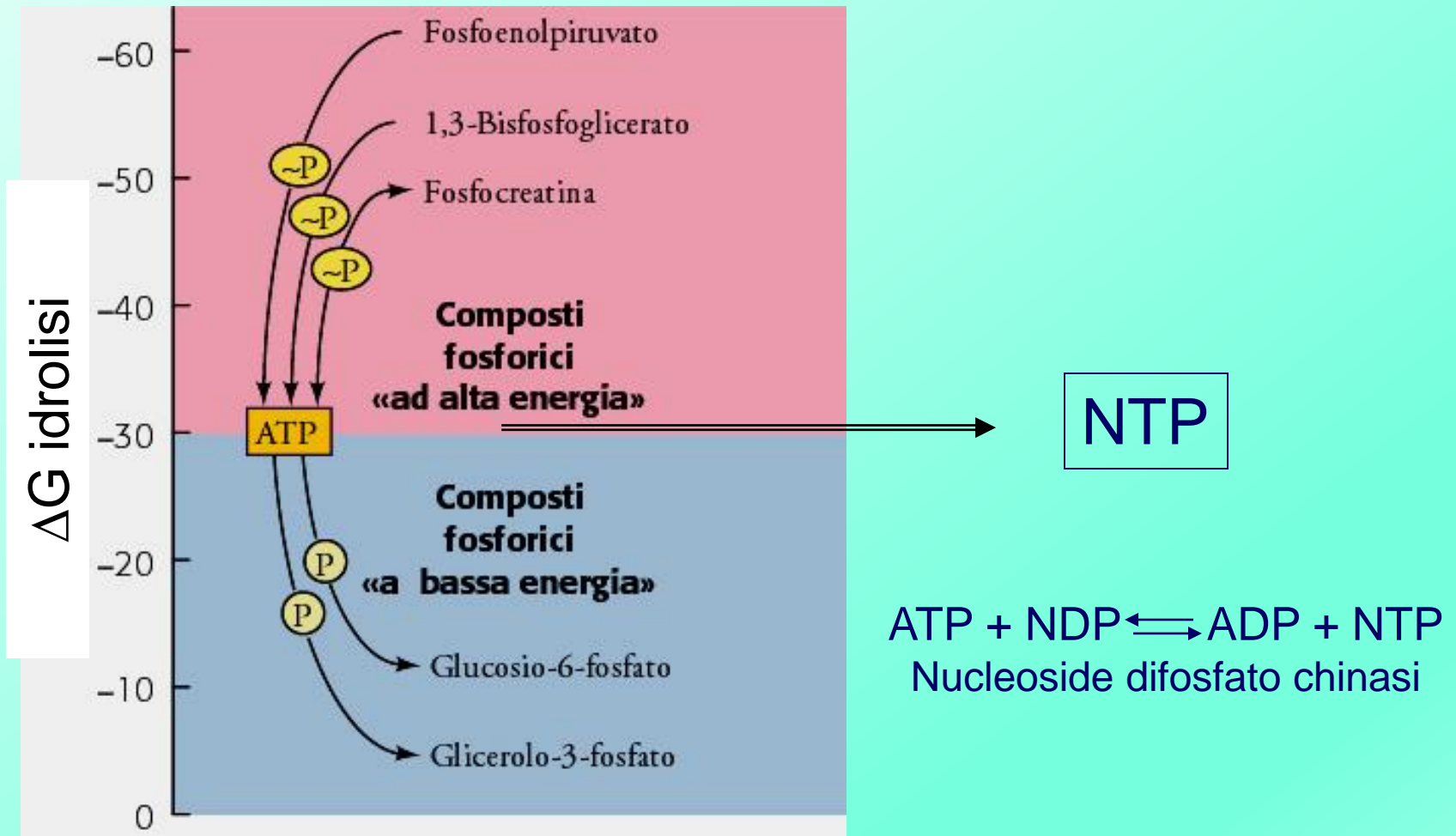
Le molecole di piruvato, previa decarbossilazione, legandosi al coenzima A entrano nel ciclo di Krebs



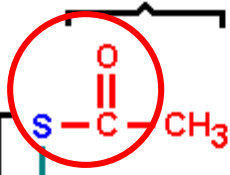
Il guadagno complessivo della glicolisi pertanto risulta essere di due molecole di ATP e due di NADH, come indica reazione complessiva:



# L'ATP non è l'unico intermedio che conserva energia



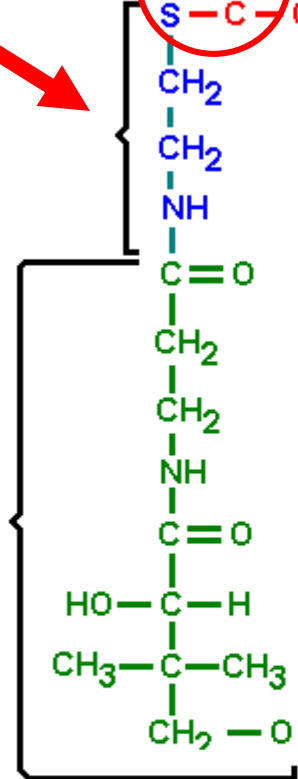
$\beta$ -mercapto  
etanolammina



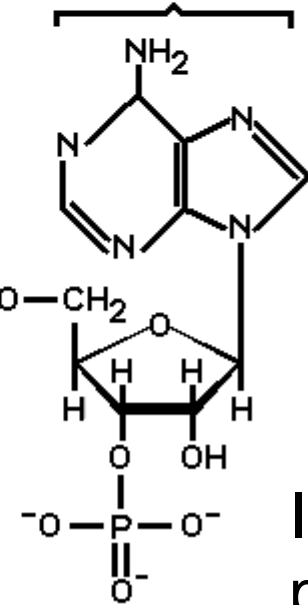
Gruppo  
acetile



Adenosina 3'  
fosfato



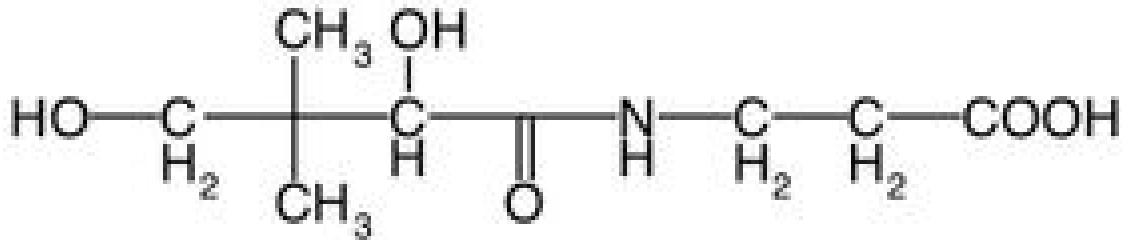
acido  
pantotenico



Il nucleoside adenosina è  
presente in molte molecole

L'Acetil-CoA si comporta da trasportatore di gruppi acetili e acili, ma anche da composto "ad alta energia" per il suo legame tioestere parzialmente instabile ( $\Delta G^\circ = -31.5 \text{ kJ} \cdot \text{mole}^{-1}$ )

## Acido pantotenico (Vitamina B5)



L'acido pantotenico sembra essere ubiquitario. Si trova, in particolare, nel fegato, del tuorlo dell'uovo, nei cereali e nei legumi. Data la grande diffusione dell'acido pantotenico in natura, non è possibile avere un quadro chiaro degli effetti della carenza di acido pantotenico in quanto si accompagnano a stati di denutrizione e di ipovitaminosi. La carenza nella dieta provocava la **pellagra** dei polli.

# ATP e RESPIRAZIONE CELLULARE (Fosforilazione Ossidativa)

Durante l'ossidazione catabolica di substrati l'accumulo di energia può avvenire anche mediante **trasporto di elettroni**. In queste reazioni di ossido-riduzione si ha la formazione delle specie ridotte di diversi coenzimi.

La fosforilazione ossidativa comporta la ri-ossidazione di questi coenzimi ridotti nei mitocondri e la formazione di un **gradiente di protoni transmembrana** che promuove la formazione di molecole di ATP.

Tra i più comuni trasportatori di elettroni ci sono

i coenzimi

Nicotinamide

Adenina

Dinucleotide

(NAD<sup>+</sup>)

e Nicotinamide

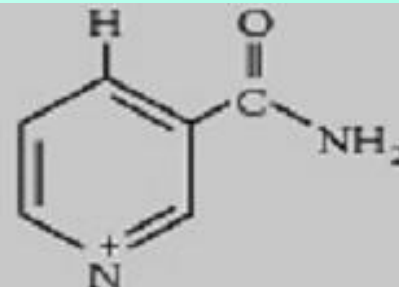
Adenina

Dinucleotide

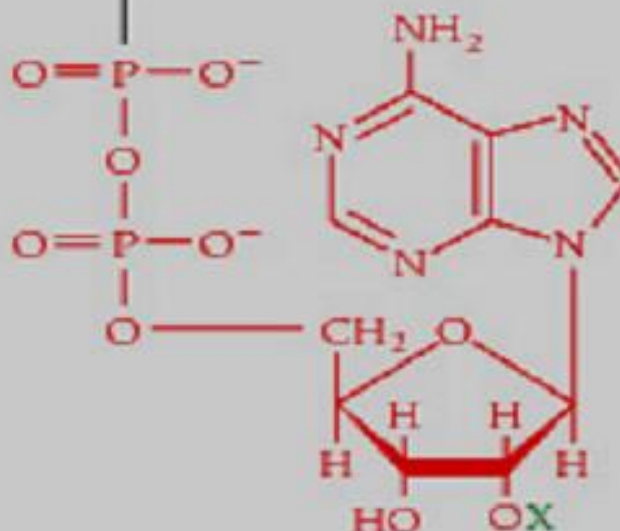
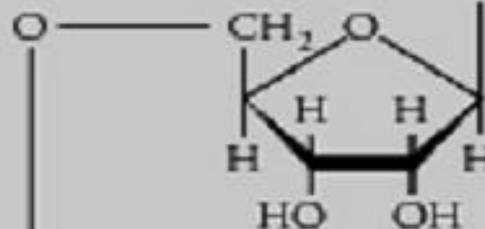
Fosfato

(NADP<sup>+</sup>)

Nicotinamide



Riboso



Adenosina

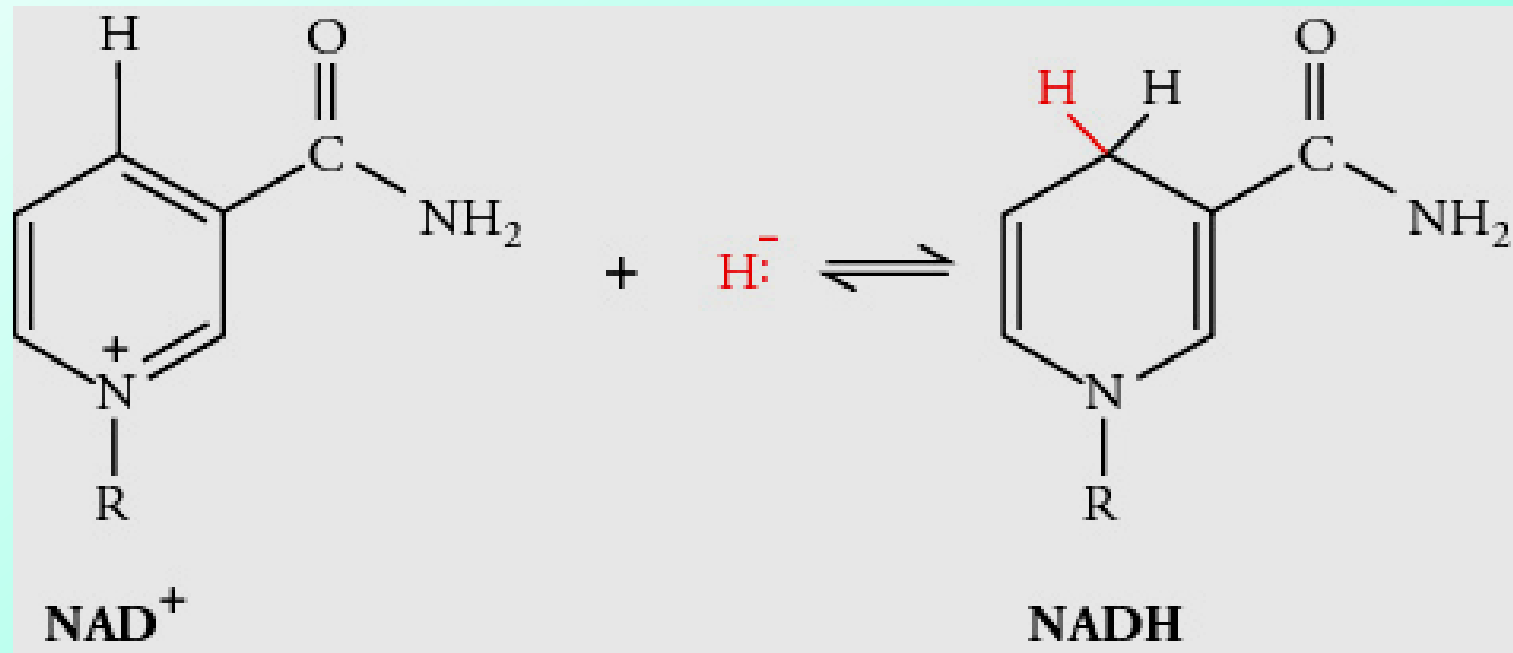
X = H

Nicotinamide adenina dinucleotide (NAD<sup>+</sup>)

X = PO<sub>3</sub><sup>2-</sup>

Nicotinamide adenina dinucleotide fosfato (NADP<sup>+</sup>)

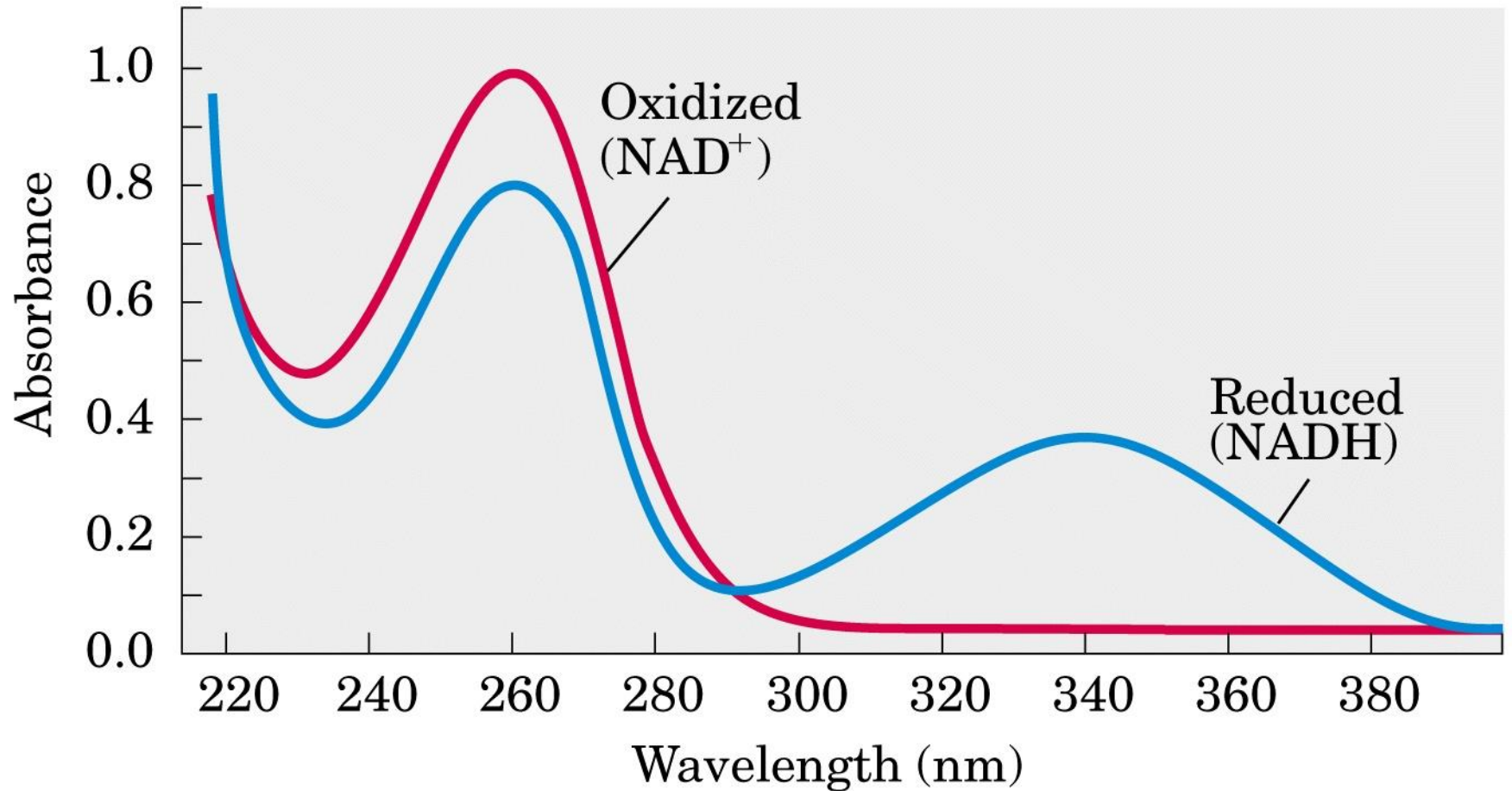




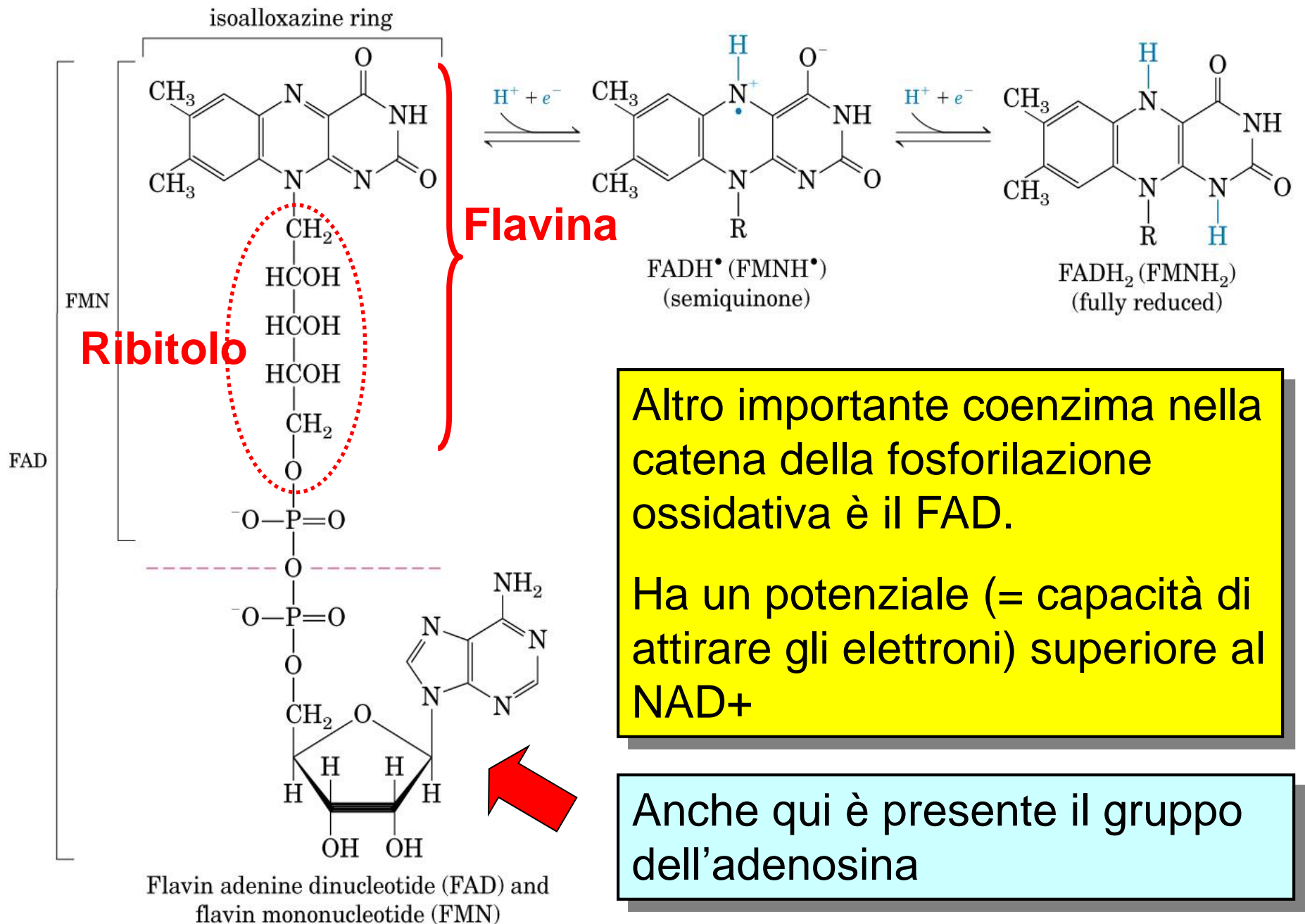
**H<sup>-</sup> = ione idruro, donatore di due elettroni**

La riduzione del NAD<sup>+</sup> avviene grazie all'azione dello ione idruro e porta alla formazione del NADH con perdita della delocalizzazione elettronica sull'anello piridinico e conseguente shift nell'assorbimento UV

## SPETTRO U.V.



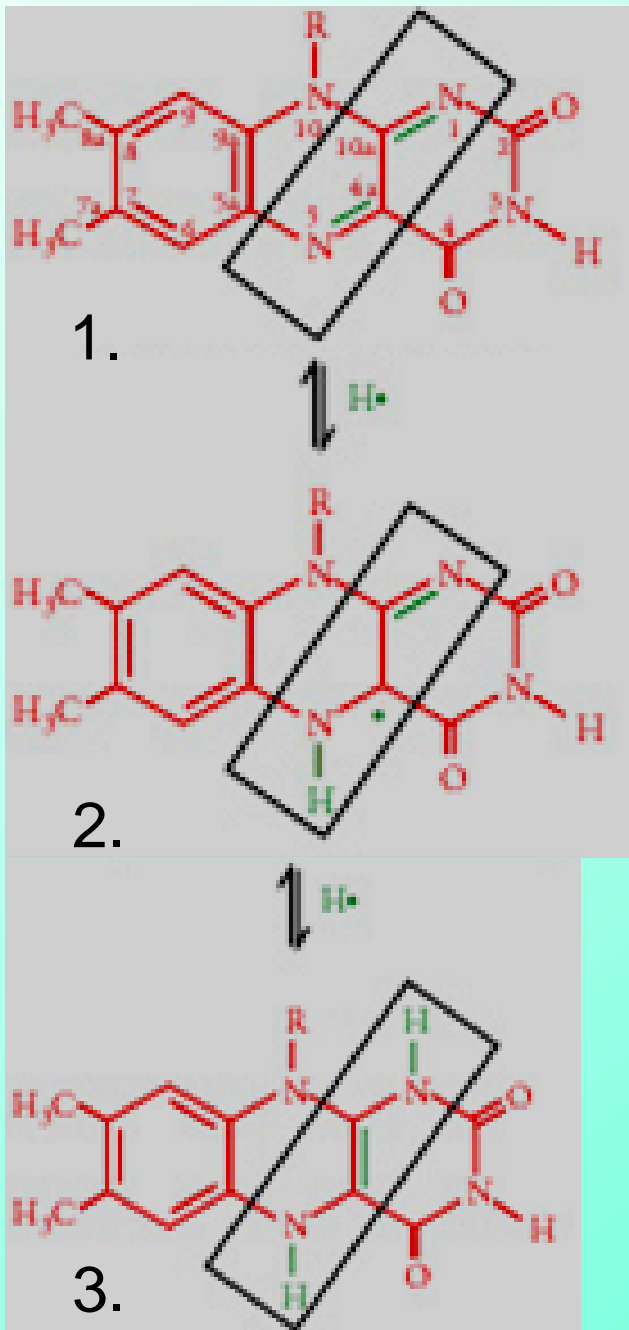
(b)



Altro importante coenzima nella catena della fosforilazione ossidativa è il FAD.

Ha un potenziale (= capacità di attirare gli elettroni) superiore al  $\text{NAD}^+$

Anche qui è presente il gruppo dell'adenosina



- 1.FAD (forma ossidata o chinonica)
- 2.FADH (forma radicalica o semichinonica)
- 3.FADH<sub>2</sub> (forma ridotta o idrochinonica)

Il FAD può accettare uno o due elettroni

Nei sistemi biologici  
ossidazione e deidrogenazione  
sono spesso  
equivalenti

Una reazione di ossidoriduzione è un **trasferimento di elettroni** e nella cellula vi sono **tre modi** principali di farlo:

**1. Trasferimento diretto** di elettroni da una coppia redox.

Esempio:  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$  cede un elettrone alla coppia redox  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  secondo l'equazione:

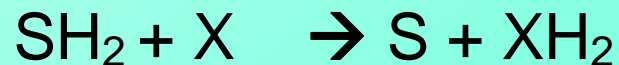


**2. Trasferimento di due atomi di idrogeno** ricordando che essi sono in definitiva composti da due elettroni e due protoni ( $H^+$ ).

Un substrato ridotto lo possiamo rappresentare legato a due atomi di H ed è il donatore di protoni ed elettroni secondo lo schema:



$SH_2$  ha perso due atomi di H e si è ossidato in S.  $SH_2$  può cedere gli elettroni ad un altro composto X che si riduce.



Conviene imparare a leggere queste reazioni parlando di **substrato ridotto** ( $SH_2$ ), **substrato ossidato** (S), **intermedio ridotto** ( $XH_2$ ) ed **intermedio ossidato** (X)



3. Trasferimento di elettroni sotto forma di **ione idruro**  
 $\text{H}^-$  formato da due elettroni e un protone ( $:\text{H}$ )

**Per tutti i trasferimenti di idrogeno sono necessari particolari enzimi che si chiamano **deidrogenasi**.**

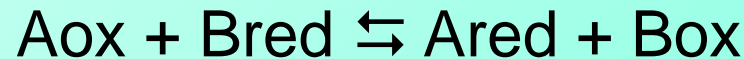
**Le deidrogenasi sono fondamentali nel metabolismo energetico (e non solo).**

**I loro coenzimi FAD e  $\text{NAD}^+$  saranno in grado di accettare rispettivamente 2 atomi di H, come visto al punto 2 e uno ione idruro, come visto al punto 3.**

Le reazioni redox si possono separare fisicamente in una cella elettrochimica e seguono

### **l'equazione di Nernst**

Per una reazione



si ha (ricordare isoterma di Van't Hoff)

$$\Delta \mathcal{E} = \Delta \mathcal{E}^{\circ} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[A_{rid}][B_{ox}^{n+}]}{[A_{ox}^{n+}][B_{rid}]}$$

$\Delta \mathcal{E}$  è detta differenza di **potenziale di riduzione** (E<sub>red</sub>-E<sub>ox</sub>, in questo caso E(A)-E(B)).

“F” è la costante di Faraday (96500) coulomb (carica di una mole di elettroni)

“n” è il numero di elettroni scambiati

Ricordando che Potenziale elettrico = Energia/Carica

Avremo  $\Delta G = - nF\Delta E$

Per cui



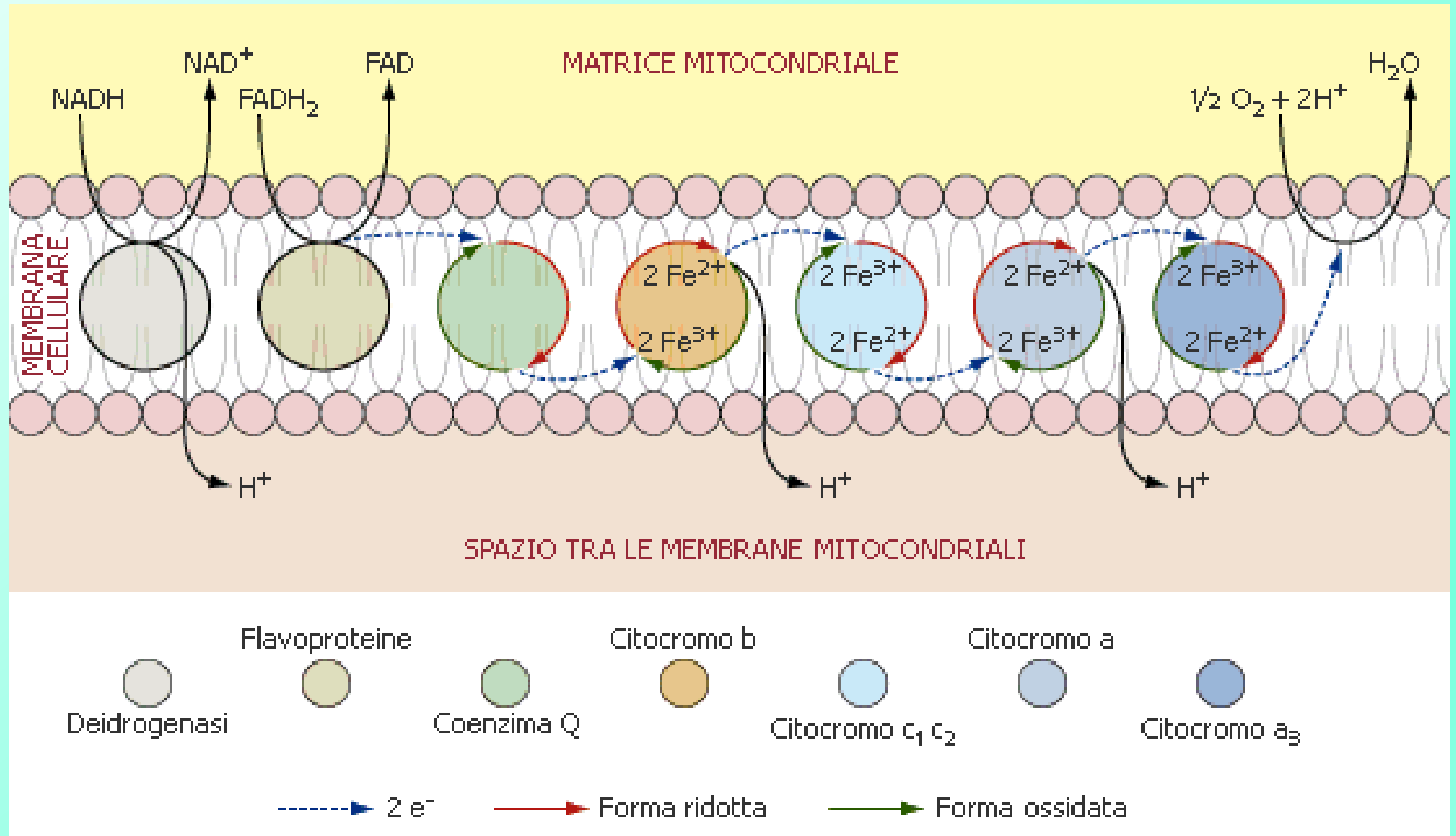
$$\text{Se } \Delta \mathcal{E} > 0 \rightarrow \Delta G < 0$$

Cioè più positivo è la differenza del potenziale di riduzione, maggiore è l'affinità per gli elettroni della forma ossidata della coppia redox, cioè maggiore sarà la tendenza della forma ossidata ad accettare elettroni e quindi diventare ridotta.

Come si vede dall'eq. di Nerst, il potenziale di riduzione varia in funzione della temperatura e della concentrazione delle specie presenti all'equilibrio;  
 Lo ione  $\text{Fe}^{3+}$  è presente in tutti i citocromi della catena della respirazione cellulare. Ma il suo legame varia (e di conseguenza la sua concentrazione) da proteina a proteina. Per cui il potenziale di riduzione dei vari citocromi è diverso e quindi essi si possono “passare” gli elettroni.

Semi-reazione	$E^{\circ}$ (V)
$\text{Cit } a_3(\text{Fe}^{3+}) + e^- \rightarrow \text{Cit } a_3(\text{Fe}^{2+})$	0.385
$\text{Cit } a(\text{Fe}^{3+}) + e^- \rightarrow \text{Cit } a(\text{Fe}^{2+})$	0.29
$\text{Cit } c(\text{Fe}^{3+}) + e^- \rightarrow \text{Cit } c(\text{Fe}^{2+})$	0.235
$\text{Cit } c_1(\text{Fe}^{3+}) + e^- \rightarrow \text{Cit } c_1(\text{Fe}^{2+})$	0.22
$\text{Cit } b(\text{Fe}^{3+}) + e^- \rightarrow \text{Cit } b(\text{Fe}^{2+})$	0.077

# CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI



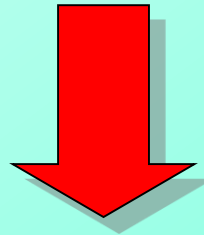
NADH e FADH<sub>2</sub>, i **coenzimi ridotti** prodotti durante la glicolisi e il ciclo di Krebs, sono utilizzati nella cosiddetta catena di trasporto degli elettroni.

In essa i due coenzimi vengono ossidati (rispettivamente a NAD<sup>+</sup> e FAD), trasferendone gli elettroni ad alcune molecole di trasporto, **Coenzima Q e Citocromi** (questi ultimi particolari enzimi con gruppo eme contenente ferro).

Fra queste molecole e particolari enzimi **deidrogenasi** si formano dei **complessi** (localizzati sulla membrana interna mitocondriale), che hanno la funzione di strappare idrogeno alle molecole donatrici (FADH<sub>2</sub> e NADH), in modo che si producano ioni H<sup>+</sup> ed elettroni per i successivi passaggi della catena respiratoria.

L'**ossigeno** è l'accettore finale degli elettroni ed unendosi agli ioni H<sup>+</sup> prodotti genera molecole d'acqua

I complessi della membrana mitocondriale, tramite rotazioni conformazionali, sono in grado di *pompare* ioni  $H^+$  all'esterno della membrana, generando un **gradiente protonico** tra lo spazio intermembrana e la matrice mitocondriale.

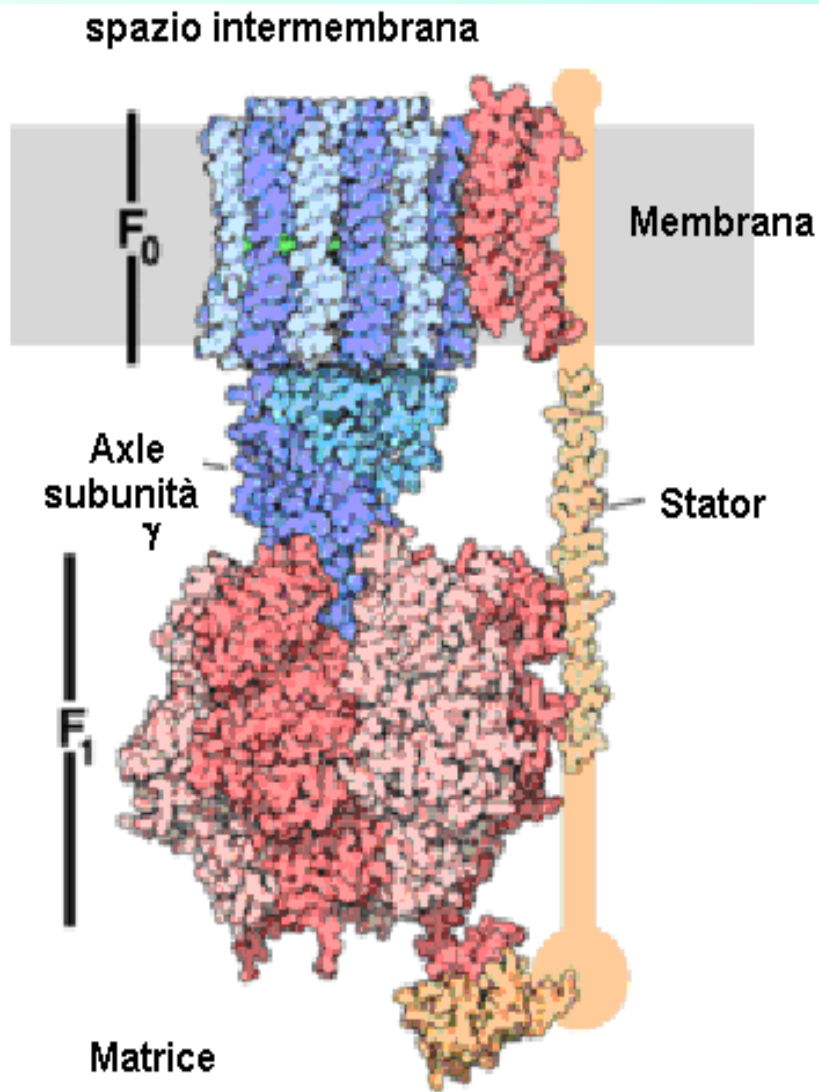


Quindi, l'energia che si è liberata nel trasporto elettronico della respirazione consente di attivare la pompa protonica e quindi di pompare protoni dall'interno verso l'esterno contro gradiente (Meccanismo Chemio Osmotico proposto da Peter Mitchell nel 1961 – premio Nobel della chimica nel 1978)

# Complessi della Catena di Trasporto Mitocondriale

- *Complesso I* – **NADH deidrogenasi**, detto anche Coenzima Q reductasi. Riceve due atomi di idrogeno dal coenzima NADH e li trasferisce interamente al secondo trasportatore della catena di trasporto degli elettroni, cioè il Coenzima Q. L'energia ricavata dal passaggio degli elettroni è utilizzata dal complesso per trasportare 4 H<sup>+</sup> nello spazio intermembrana.
- *Complesso II* – **Succinato deidrogenasi**: è parte del ciclo di Krebs.
- *Complesso III* – **Complesso del citocromo bc<sub>1</sub>**, anche detto Citocromo reductasi: riceve elettroni dal Coenzima Q e li cede al citocromo c; in seguito trasporta 4 H<sup>+</sup> nello spazio intermembrana (ciclo Q)
- *Complesso IV* – **Citocromo c ossidasi**: è l'ultimo complesso, trasferisce gli elettroni direttamente all'ossigeno (proveniente dai polmoni) trasformandolo insieme agli ioni H<sup>+</sup>, in acqua. Trasporta 2 H<sup>+</sup> nello spazio intermembrana.



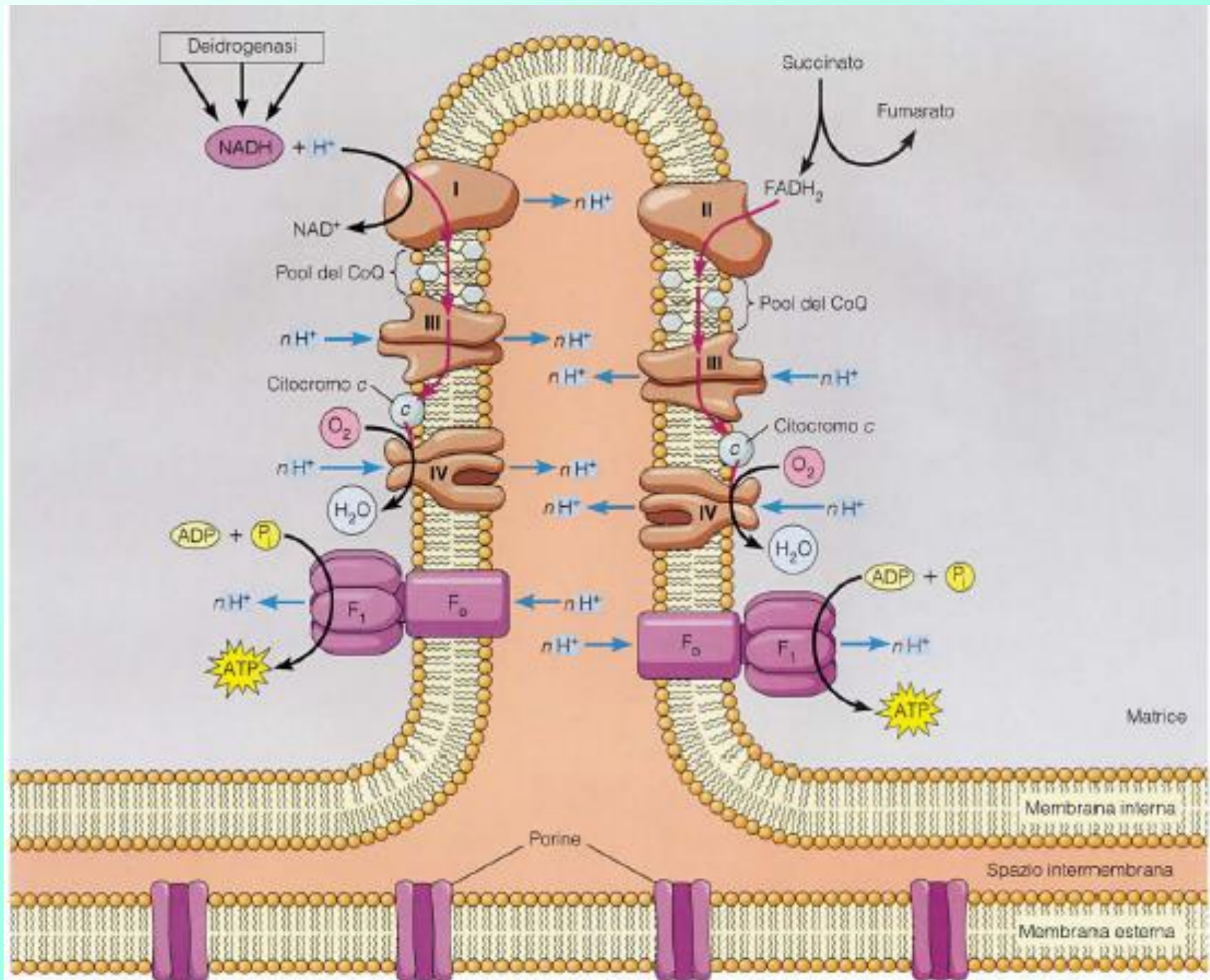


Sulla membrana interna del mitocondrio è presente un'altro complesso proteico, **l'ATP-sintasi**, che è in grado di sfruttare il flusso di protoni in favore di gradiente per sintetizzare le molecole di ATP partendo da ADP e  $P_i$ . L'ATP-sintasi è una proteina costituita da **due strutture** dette  $F_0$  e  $F_1$ , esse sono collegate tra loro da una subunità più piccola detta  $\gamma$ .

La subunità polipeptidica  $F_o$  attraversa la membrana mitocondriale interna. Essa costituisce il canale per il passaggio degli ioni  $H^+$  dallo spazio intermembrana alla matrice. Il processo, in favore di gradiente, è denominato **diffusione facilitata** e fornisce l'energia necessaria alla sintesi di ATP.

Il passaggio dei protoni attraverso il canale presente nella  $F_o$  determina la rotazione della subunità  $\gamma$  che a sua volta provoca il cambiamento conformazionale nella struttura  $F_1$ . Sulla porzione  $F_1$  vi sono 3 siti attivi che, a causa di questo cambiamento di conformazione, entrano in azione e catalizzano a turno la sintesi di ATP

Questo meccanismo va sotto il nome di **catalisi rotazionale**



# Bilancio energetico del metabolismo del glucosio