

Constituem exemplos as ligações peptídicas em que participem o grupo β -carboxilo do ácido aspártico, o grupo γ -carboxilo do ácido glutâmico, o grupo ε -amina da lisina e tanto o grupo carboxilo como o grupo amina de β -alanina.

Na γ -glutaciona, p. ex., também denominada γ -glutamilcisteinilglicina, a ligação peptídica estabelecida entre os resíduos de ácido glutâmico e de cisteína é uma L. I., por ser o grupo γ -carboxilo (e não o α -carboxilo) do ácido glutâmico que participa na ligação.

A formação de L. I. desempenha um papel fundamental na via proteolítica mediada pela γ -ubiquitina. Nesta via, uma molécula de ubiquitina é ligada à proteína-substrato por meio de uma L. I., que se estabelece entre o grupo α -carboxilo do resíduo de glicina do terminal C da ubiquitina (glicina 76) e o grupo ε -amina de um resíduo de lisina da proteína aceitadora. A formação de cadeias multiubiquitiniladas é subsequentemente conseguida pelo estabelecimento de L. I. adicionais entre o grupo carboxilo do resíduo de glicina do terminal C de moléculas de ubiquitina e o grupo ε -amina do resíduo de lisina 48 de outra molécula de ubiquitina. Como a ubiquitina contém sete resíduos de lisina, a L. I. poder-se-á estabelecer com outros resíduos de lisina além do 48 (e. g. lisina 63, lisina 29 ou lisina 11). O estabelecimento destas ligações é catalisado por um sistema multienzimático de ubiquitinilação, composto por vários tipos de enzimas. Este processo permite a síntese de conjugados ubiquitina-proteína de massa molecular elevada, intermediários essenciais do mecanismo responsável pelo catabolismo de muitas proteínas nas células eucariotas.

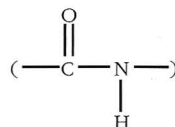
As enzimas que catalisam a quebra (i. é, a hidrólise) de L. I. recebem a designação genérica de isopeptidases. Têm recebido especial atenção as isopeptidases que estão envolvidas no funcio-

namento da via proteolítica dependente da ubiquitina. Estas enzimas, também denominadas hidrolases do terminal C da ubiquitina, participam na regeneração de moléculas livres e reutilizáveis de ubiquitina, após a proteólise da proteína-substrato dos conjugados de ubiquitina-proteína de massa molecular elevada pelo γ -proteassoma 26S. A isopeptidase T actua preferencialmente nas ligações ubiquitina-lisina 48-ubiquitina de cadeias multiubiquitiniladas. Uma outra actividade de hidrolase do terminal C da ubiquitina está associada ao proteassoma 26S e quebra a L. I. formada entre uma ubiquitina e um resíduo de lisina da proteína-substrato.

Tem também sido detectada a presença de L. I. nos polímeros de fibrina e na lâ. Estas ligações não são clivadas pelas proteases digestivas do organismo humano, mas apenas pelas bactérias presentes no intestino grosso. Por este motivo, a presença de L. I. nas proteínas da dieta alimentar reduz o seu valor nutritivo.

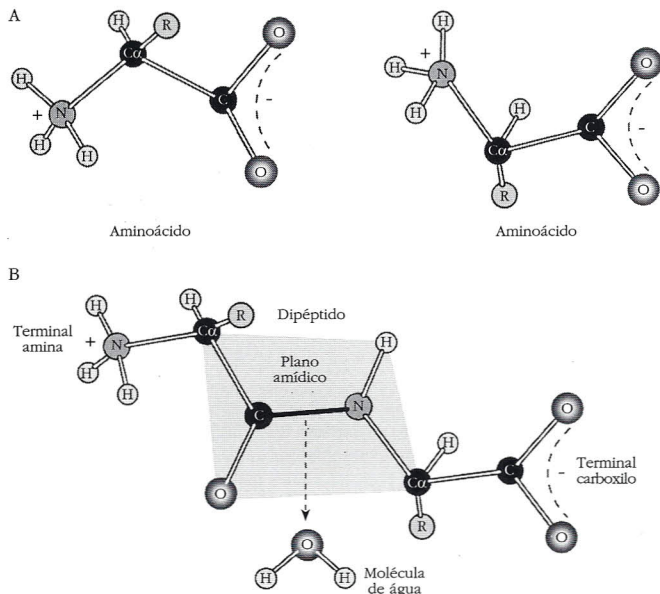
R. BOAVIDA FERREIRA

ligação peptídica — BIOQ. É assim denominada qualquer ligação covalente do tipo amida

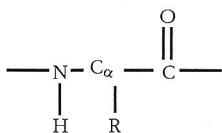


que se estabelece entre dois aminoácidos ou resíduos de aminoácidos. Esta designação inclui não só a γ -ligação eupeptídica, formada entre o grupo α -amina de um aminoácido e o grupo α -carboxilo de outro aminoácido, como também a γ -ligação isopeptídica, estabelecida entre um grupo amina de um aminoácido e um grupo carboxilo de outro aminoácido, um dos quais, pelo menos, não se encontra ligado directamente ao carbono α . O termo «ligação peptídica» é, no entanto, comumente utilizado como sinónimo de ligação eupeptídica. A característica fundamental dos aminoácidos, que permite a sua polimerização para formar os γ -péptidos e as γ -proteínas, é a de possuírem dois grupos químicos na sua estrutura, nomeadamente um grupo α -amina e um grupo α -carboxilo. Estes grupos podem reagir «cabeça-com-pés», com eliminação de uma molécula de água, e formar uma ligação covalente do tipo amida que, no caso dos péptidos e proteínas, é denominada «ligação peptídica». Aliás, do ponto de vista químico, as proteínas podem ser basicamente consideradas como polímeros lineares de aminoácidos ligados «cabeça-com-pés», de grupo α -carboxilo para grupo α -amina, pela formação de L. P. Devido à libertação da molécula de água, que ocorre cada vez que se forma uma L. P., é frequente designar a porção restante da molécula do aminoácido por resíduo de aminoácido. É possível ligar um número qualquer de aminoácidos, por L. P. sucessivas, de modo a formar um oligómero ou polímero linear, denominado, respectivamente, oligopéptido (di, tri, tetra, penta, etc.) ou polipéptido. Os oligopéptidos, bem como os polipéptidos, têm duas extremidades distintas: a extremidade N ou terminal amina, que possui um grupo α -amina livre, e a

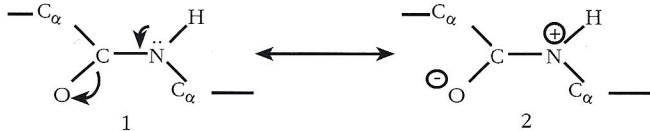
Formação de um dipéptido a partir de dois aminoácidos. A — Dois aminoácidos; B — Dipéptido contendo uma ligação peptídica. R representa a cadeia lateral dos aminoácidos



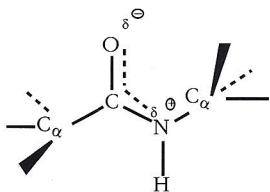
extremidade C ou terminal carboxilo, que possui um grupo α -carboxilo livre. O esqueleto central de um péptido ou proteína consiste, pois, numa sequência repetida de



em que N representa o azoto amídico, C_α o átomo de carbono α do aminoácido, R a cadeia lateral e C o carbono do carbonilo, o qual, por sua vez, está ligado ao azoto amídico do próximo aminoácido. É de notar que o oxigénio do grupo carbonilo e o hidrogénio do azoto amídico se encontram numa disposição *trans* um em relação ao outro, o que é favorecido do ponto de vista termodinâmico por ocasionar menores restrições de natureza espacial. As propriedades da L. P., elucidadas nos anos 30 e 40 por Linus Pauling e Robert Corey, são largamente determinadas pela ressonância entre o par de electrões $2p$ do azoto amida e o grupo carbonilo adjacente.



Estruturas contribuintes



Híbrido de ressonância

Uma das estruturas contribuintes para a ligação C-N é uma ligação covalente simples, em que não há sobreposição entre o par de electrões $2p$ do azoto e o carbono do grupo carbonilo (estrutura contribuinte 1). Nesta estrutura, os átomos C e N são planares e estão hibridados em sp^2 , enquanto que os átomos C e O do grupo carbonilo estão unidos por uma ligação p . Na estrutura contribuinte 2, tanto o C do grupo carbonilo como o N do grupo amida estão hibridados em sp^2 e, por isso, ambos são planares. Consequentemente, todos os seis átomos representados estão no mesmo plano; a ligação C=N é dupla por ambos os átomos participarem na formação de uma ligação p , deixando um par de electrões livres no oxigénio. A estrutura real da L. P. é um híbrido de ressonância (estrutura 3), formado a partir das estruturas contribuintes 1 e 2. O comprimento da ligação carbono carbonilo-azoto (C_α -N) da L. P. (estrutura 3) tem um valor de 0,1325 nm, intermédio entre o comprimento da ligação covalente simples C_α -N da estrutura contribuinte 1 (0,1487 nm) e o comprimento da ligação covalente dupla C_α =N da estrutura contribuinte 2 (0,127 nm). O híbrido de ressonância (com uma energia de resso-

nância máxima de $\sim 85 \text{ kJ.mol}^{-1}$) tem c. 40% de carácter de dupla ligação. A L. P. tem, por isso, um carácter parcial de dupla ligação, devido à formação de uma orbital p envolvendo três átomos: os átomos de C e O do grupo carbonilo e o átomo de N do grupo amídico. As quatro consequências principais do carácter parcial de dupla ligação da L. P. são:

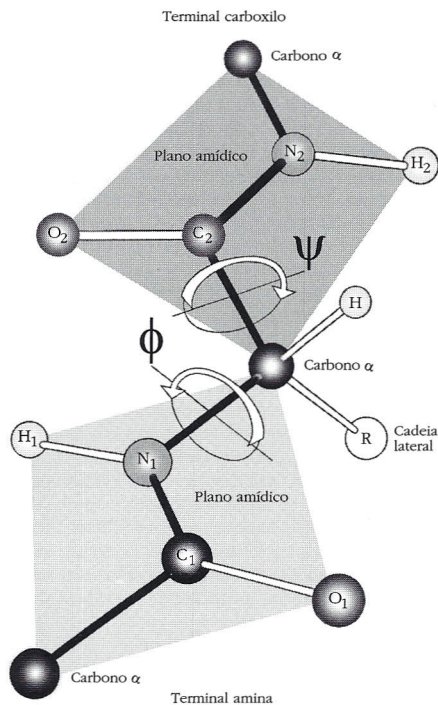
1. O grupo imina (---NH---) da L. P. não tem tendência significativa para se ionizar ou protonar numa gama de valores de pH de 0 a 14.
2. A L. P. é planar, i. é, todos os seis átomos da L. P. (os dois carbonos α dos dois aminoácidos adjacentes, o C e o O do grupo carbonilo e o N e o H do grupo imina) são coplanares.
3. A L. P. é relativamente rígida, i. é, existe uma restrição relativamente elevada à rotação, a temperaturas fisiológicas, que é de c. 75 kJ.mol^{-1} . Para os péptidos e proteínas, esta barreira é suficientemente elevada para impedir a rotação à temperatura ambiente. Este aspecto é de extrema importância no que diz respeito à conformação tridimensional das cadeias polipeptídicas, desempenhando um papel fundamental na determinação da estrutura das proteínas por limitar o número de conformações possíveis dos polipéptidos.

4. Como o oxigénio é mais electronegativo que o azoto, o azoto amídico apresenta uma carga eléctrica líquida positiva de 0,28 e o oxigénio do grupo carbonilo uma carga eléctrica líquida negativa equivalente. A presença destas cargas eléctricas parciais confere um carácter dipolar permanente à L. P. (\curvearrowright Hélice.)

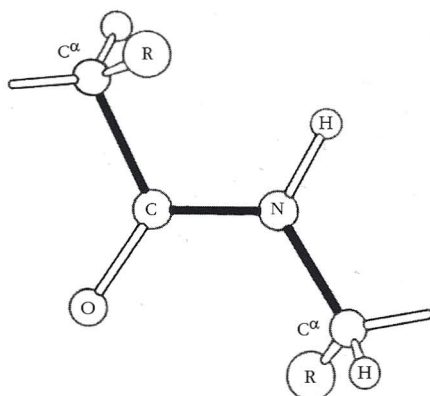
Deste modo, as rotações permitidas numa cadeia peptídica são as que envolvem rotações em torno das ligações covalentes simples que ligam cada átomo de carbono α aos grupos peptídicos planares adjacentes, como indicado na fig. seguinte.

Deste modo, cada carbono α constitui o ponto de ligação de dois planos definidos por duas L. P. adjacentes. O ângulo em torno da ligação C_α -N é designado pela letra grega phi (Φ) e aquele em torno da ligação C_α -C $_o$ é referido pela letra grega psi (Ψ). A maioria dos valores possíveis de Φ e Ψ são termodinamicamente proibidos devido a restrições de natureza espacial. O biofísico G. N. Ramachandran e colaboradores propuseram, em Madras, Índia, o traçado de um diagrama (que ficou conhecido por gráfico de Ramachandran), em que se representam os valores de Φ em função dos valores de Ψ , para ilustrar a distribuição dos valores permitidos para os ângulos numa proteína ou família de proteínas. Os pares de valores favoráveis para os dois ângulos concentram-se tipicamente em poucas regiões do gráfico. A maior parte da área do gráfico de Ramachandran encontra-se vazia, representando valores dos ângulos para os quais as conformações são termodinamicamente impossíveis ou raras devido às correspondentes distâncias entre átomos ou gru-

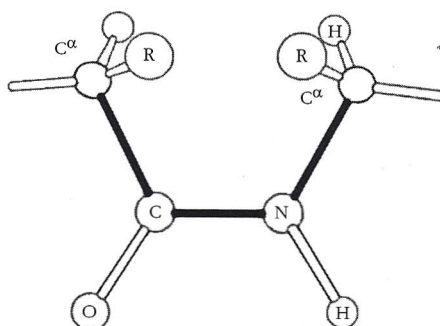
Ligação peptídica



Representação de um dipéptido, ilustrando as rotações permitidas em torno das ligações covalentes simples que unem os átomos de carbono α aos planos contendo a ligação peptídica



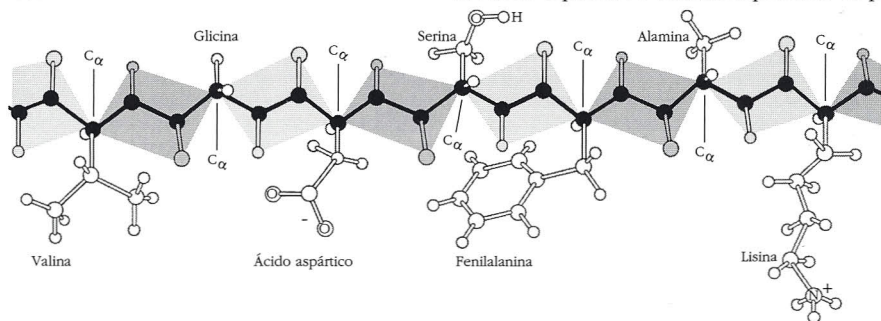
Configuração *trans* dos átomos de carbono



Configuração *cis* dos átomos de carbono

pos de átomos serem demasiadamente pequenas. Aminoácidos com cadeias laterais volumosas têm menos pares de valores de Φ e ψ permitidos, ao contrário do que acontece com a glicina. A prolina tem um Φ restringido a valores de -60° a -77° devido à restrição imposta na ligação $N-C_\alpha$ pela sua cadeia lateral particular. O esqueleto de uma cadeia polipeptídica pode então ser visualizado como uma série de planos rígidos separados por grupos metileno ($-CHR-$), contendo o carbono α (que é tetraédrico):

mesmo lado da L. P., o que origina restrições de natureza espacial entre as cadeias laterais R mais volumosas — a configuração *cis* é, por isso, c. $8 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ menos estável do que a configuração *trans*. Por este motivo, a configuração *trans* é a configuração que predomina nas cadeias peptídicas. Há uma exceção importante a esta generalização: L. P. envolvendo a prolina podem ser igualmente *cis* ou *trans*, porque a natureza espacial do anel hidropirrolídico da pro-



Representação de uma cadeia polipeptídica

Em cada L. P., os átomos de carbono α podem existir em duas configurações possíveis: *cis* ou *trans*.

Na configuração *trans*, os dois carbonos α com as suas cadeias laterais R estão longe um do outro, em lados opostos da L. P. Na configuração *cis*, eles estão próximos um do outro, do

lino elimina as vantagens de estabilidade da configuração *trans*. Os dipéptidos cíclicos 2,5-dioxipiperazinas e a poliprolina contêm exclusivamente L. P. na configuração *cis*. Existe mesmo uma enzima, a peptidilprolil isomerase, também denominada peptidilprolina *cis-trans* isomerase (EC 5.2.1.8.), que catalisa a isomerização *cis-*

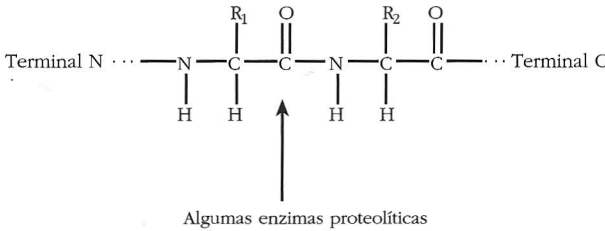
-trans de L. P. aminoácido X-prolina, não só durante o enrolamento de proteínas como em proteínas na forma nativa.

A síntese de um dipéptido a partir de dois aminoácidos, i. é, a formação de uma L. P., é um processo endergónico, que ocorre com uma variação de energia livre padrão da ordem de $\Delta G^{\circ} = +10 \text{ kJ.mol}^{-1}$. Por este motivo, o equilíbrio desta reacção em solução aquosa favorece, do ponto de vista termodinâmico, a reacção de hidrólise da L. P. Por isso, os polipéptidos são prontamente hidrolisados na presença de catalisadores apropriados. Um método geral que cliva todas as L. P. consiste em aquecer (frequentemente a $105^{\circ}\text{--}110^{\circ}\text{C}$), durante c. 24 horas, o péptido dissolvido num ácido mineral forte (normalmente HCl 6M). Uma catálise mais específica é fornecida pelas enzimas proteolíticas peptidases e proteases. A tabela seguinte indica, como exemplos, algumas proteases, bem como a sua especificidade preferencial.

dada por uma enzima. Nas células, o catabolismo das proteínas, que decorre com a hidrólise das L. P. que ligam os aminoácidos sucessivos nas cadeias polipeptídicas, recebe a designação de proteólise. Uma outra reacção de hidrólise de L. P. específicas, mas de natureza não-enzimática, envolve o reagente brometo cianogénico ($\text{BrC} \equiv \text{N}$), o qual cliva especificamente ao lado do grupo carboxilo de resíduos de metionina.

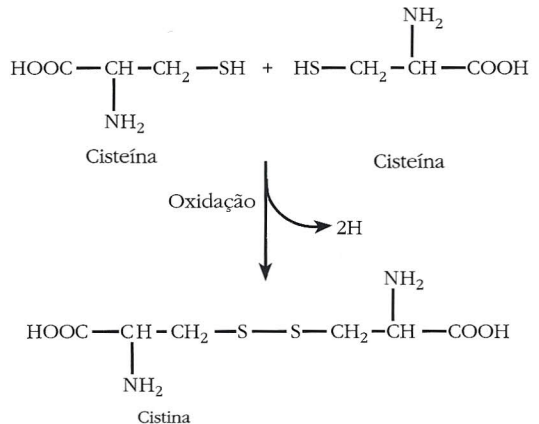
R. BOAVIDA FERREIRA

ligação de persulfureto — BIOQ. Também denominada ligação bissulfeto, ligação dissulfídrica ou ponte de bissulfeto. É uma ligação covalente do tipo --S--S-- que se forma entre dois átomos de enxofre de péptidos ou proteínas, pela oxidação de dois grupos sulfidrilo de duas moléculas ou resíduos de cisteína. O estabelecimento de uma destas ligações entre dois resíduos de cisteína de uma proteína forma um aminoácido raro das proteínas, a γ cistina:



Enzima	Especificidade preferencial	Fonte
Tripsina (EC 3.4.21.4)	$\text{R}_1 = \text{Lys, Arg}$	Aparelho digestivo de animais e muitas outras fontes
Quimotripsina (EC 3.4.21.1)	$\text{R}_1 = \text{Tyr, Phe, Leu, Ile, Val, Trp, e His}$ a pH elevado	Idem
Pepsina (EC 3.4.23.1-4)	$\text{R}_1 = \text{Phe, Leu}$ e muitos outros	Idem, mas confinada ao estômago, em que o ph é baixo
Trombina (EC 3.4.21.5)	$\text{R}_1 = \text{Arg}$	Sangue - envolvida na coagulação
Papaína (EC 3.4.22.2)	$\text{R}_1 = \text{Arg, Lys, Phe-X}$	Látex da papaia
Bromelaína (EC 3.4.22.32-33)	$\text{R}_1 = \text{Lys, Ala, Tyr, Gly}$	Ananás
Termolisina (EC 3.4.24.27)	$\text{R}_2 =$ mesmo resíduos que a quimotripsina	<i>Bacillus thermoproteolyticus</i>
Subtilisina (EC 3.4.21.62)	Baixo nível de especificidade	Bactérias diversas
Carboxipeptidase A (EC 3.4.17.1)	$\text{R}_2 =$ resíduo de aminoácido do terminal C	Aparelho digestivo de animais

A formação de um dipéptido e de uma molécula de água a partir de dois aminoácidos é, como vimos, uma reacção química endergónica, que requer o consumo de 4 a 16 kJ.mol^{-1} , dependendo dos aminoácidos considerados. O valor de ΔG° decresce progressivamente à medida que os aminoácidos vão sendo adicionados à cadeia polipeptídica, atingindo valores de $\Delta G^{\circ} \sim 2 \text{ kJ.mol}^{-1}$ para polipéptidos muito grandes. Este baixo valor reflecte a tendência dos grupos terminais ionizados --NH_3^+ e --COO^- favorecerem a hidrólise das L. P. adjacentes. As proteínas são, por isso, teoricamente instáveis, podendo sofrer hidrólise espontânea se considerarmos períodos de tempo suficientemente longos. Contudo, nas condições que se observam nas células, estas reacções espontâneas ocorrem de modo demasiado lento, na ausência de enzimas apropriadas, para terem qualquer efeito significativo no metabolismo celular. Por outras palavras, uma vez sintetizada, uma proteína mantém-se estável a menos que seja degra-



As L. P. não dirigem nem comandam o enrolamento espontâneo e termodinâmico das proteínas. Contudo, uma vez adquirida a estrutura