



Corso di Proprietà di Biopolimeri

Prof. Ranieri URBANI

Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche
e-mail: rurbani@units.it

a.a. 2023-2024

**COSTANTI MACROSCOPICHE E MICROSCOPICHE
nel binding**

Molti processi chimici e fisici, non solo fisiologici, sono il frutto delle **interazioni** di ligandi con macromolecole, specialmente con proteine.

I più comuni sono le interazioni degli enzimi con i loro substrati e con altre molecole che ne influenzano l'attività.

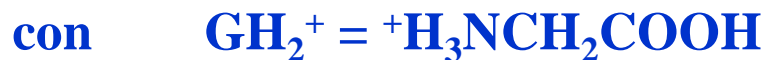
Vi sono per esempio

- le interazioni degli ormoni con i recettori degli ormoni,
- le interazioni delle piccole molecole con le proteine che ne garantiscono il trasporto,
- Le interazioni tra ioni ed acidi nucleici o proteine, e così via.

COSTANTE MACROSCOPICA E MICROSCOPICA

Prima di discutere l'associazione di ligandi su più siti di una macromolecola è utile discutere brevemente la **distinzione tra costante microscopica e costante macroscopica** di un'associazione/dissociazione.

Un esempio concreto è la titolazione dell'amminoacido **glicina**: esso può essere visto come un acido dibasico. Indichiamo le forme aventi due, uno e nessun protone rispettivamente come:



Gli equilibri **macroscopici** sono:

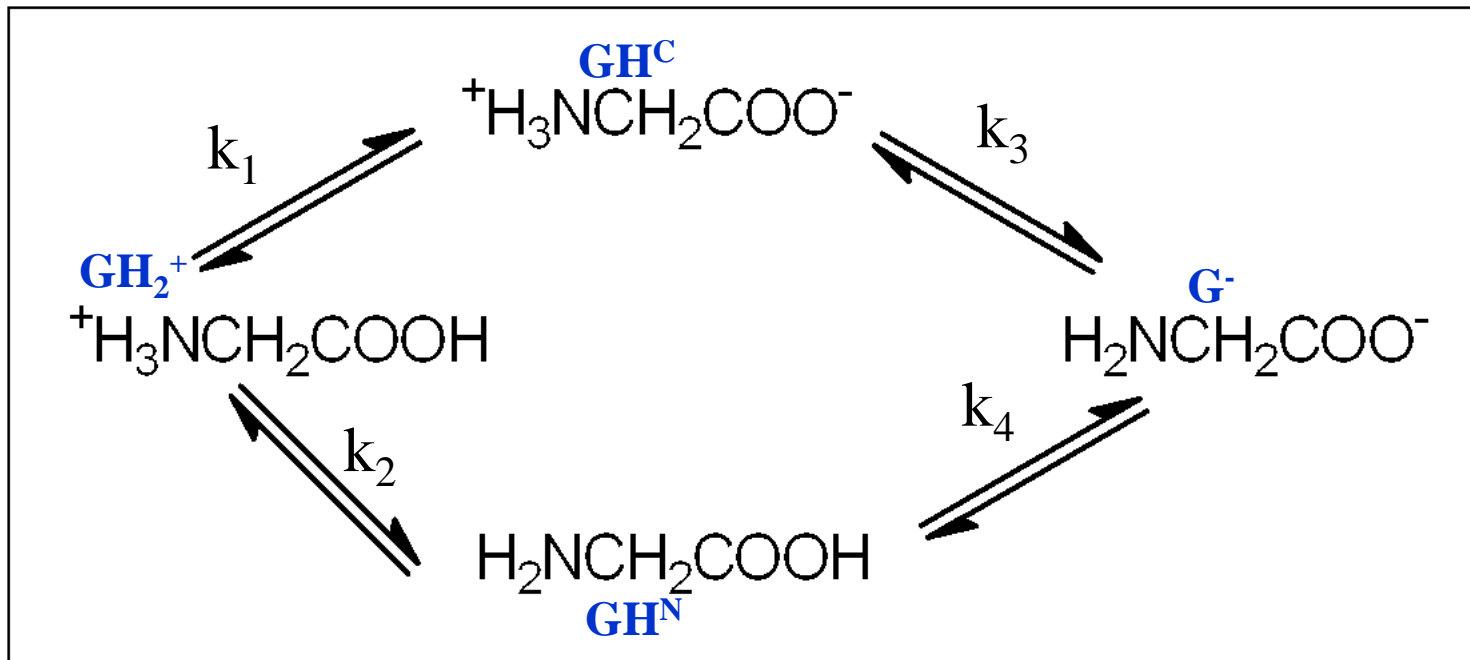


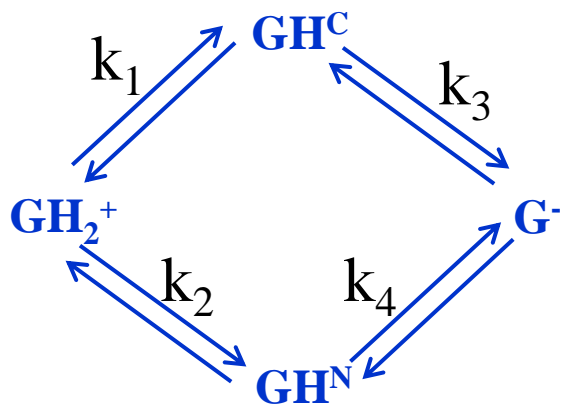
costanti **macroscopiche**:

$$K_1 = \frac{[\text{GH}][\text{H}^+]}{[\text{GH}_2^+]} \quad K_2 = \frac{[\text{G}^-][\text{H}^+]}{[\text{GH}]}$$

I due valori di pK possono essere ottenuti dalla titolazione a 25°C ed estrapolando a forza ionica zero;
per la glicina essi sono **$\text{pK}_1 = 2.35$** e **$\text{pK}_2 = 9.78$** .

Esaminiamo adesso gli **stati microscopici** della glicina durante la titolazione. Nell'insieme ci sono quattro forme:





$$k_1 = \frac{[\text{GH}^{\text{C}}][\text{H}^+]}{[\text{GH}_2^+]}$$

$$k_2 = \frac{[\text{GH}^{\text{N}}][\text{H}^+]}{[\text{GH}_2^+]}$$

$$k_3 = \frac{[\text{G}^-][\text{H}^+]}{[\text{GH}^{\text{C}}]}$$

$$k_4 = \frac{[\text{G}^-][\text{H}^+]}{[\text{GH}^{\text{N}}]}$$

$$K_1 = \frac{[\text{GH}^{\text{C}} + \text{GH}^{\text{N}}][\text{H}^+]}{[\text{GH}_2^+]} = \frac{[\text{GH}^{\text{C}}][\text{H}^+]}{[\text{GH}_2^+]} + \frac{[\text{GH}^{\text{N}}][\text{H}^+]}{[\text{GH}_2^+]} = k_1 + k_2$$

$$K_2 = \frac{[\text{G}^-][\text{H}^+]}{[\text{GH}^{\text{C}} + \text{GH}^{\text{N}}]}$$

$$1/K_2 = \frac{[\text{GH}^{\text{C}} + \text{GH}^{\text{N}}]}{[\text{G}^-][\text{H}^+]} = \frac{1}{k_3} + \frac{1}{k_4}$$

$$K_2 = \frac{1}{1/k_3 + 1/k_4}$$

Le quattro costanti **microscopiche** non sono indipendenti:

$$k_1 k_3 = k_2 k_4$$

Una quarta relazione può essere ottenuta assumendo che la costante **k_2** abbia lo stesso valore della costante di dissociazione singola dell'estere metilico della glicina:



Secondo questa assunzione si ha **$pK_2 = 7.7$** .

Conoscendo i valori di pK_1 e pK_2 , dati precedentemente, si possono ottenere gli altri tre valori delle costanti microscopiche:

$$\mathbf{pK_1 = 2.35} \quad \mathbf{pK_3 = 9.78} \quad \mathbf{pK_4 = 4.43}$$

Questa trattazione è utile per comprendere il significato delle costanti microscopiche e macroscopiche e la loro relazione.

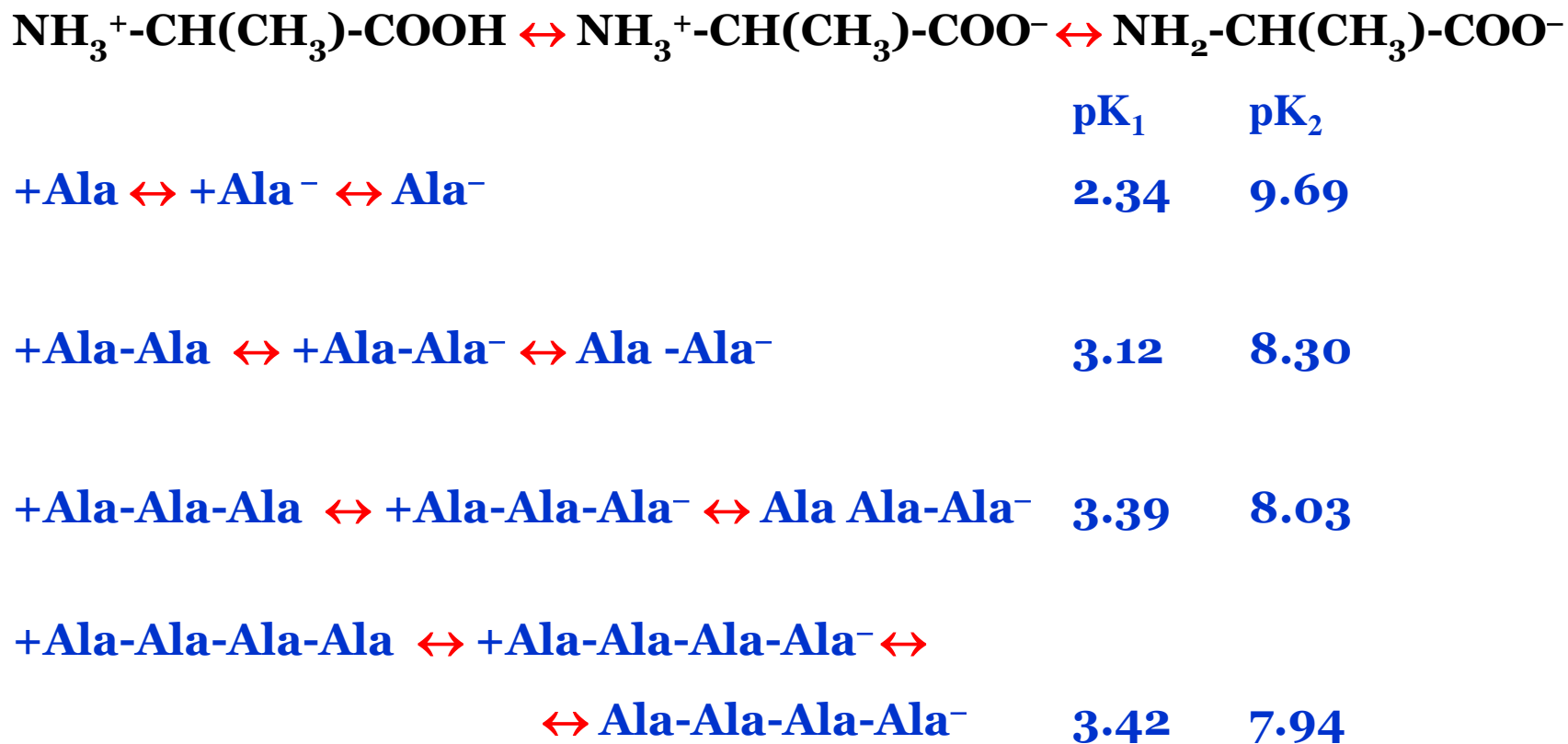
Come **secondo esempio**, consideriamo una molecola **A** che abbia due siti equivalenti per un ligando specifico.

Per esempio, **A** potrebbe essere **un acido dicarbossilico** con una lunga catena alifatica, nel quale la costante di dissociazione microscopica è la stessa per ciascun gruppo carbossilico, ossia non vi sono influenze sullo stato di ionizzazione di un gruppo dovute alla presenza dell'altro.

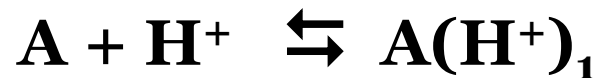
Questa condizione può essere rispettata se la catena alifatica è lunga abbastanza da rendere trascurabili le interazioni elettrostatiche tra i due gruppi carbossilici.

La chimica di un gruppo funzionale dipende dal proprio intorno chimico.
 Esempio: variazioni di pK in funzione della lunghezza di catena.

Equilibrio



Gli equilibri **macroscopici** sono:



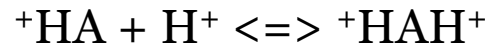
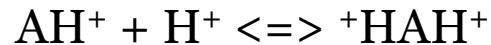
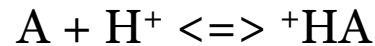
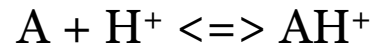
e le costanti di **dissociazione macroscopiche** sono date da:

$$K_1 = \frac{[A][H^+]}{[A(H^+)_1]}$$

$$K_2 = \frac{[A(H^+)_1][H^+]}{[A(H^+)_2]}$$

HOOC - (CH₂)_n - COOH

Gli equilibri **microscopici** possono essere schematicamente scritti in questo modo:



dove possiamo considerare la costante di dissociazione **k** uguale per ciascun equilibrio, nel caso di siti identici ed indipendenti

Le forme **macroscopiche** possono essere descritte tenendo conto delle **forme microscopiche** nel modo seguente:

$$A = A$$

$$A(H^+)_1 = AH^+ + {}^+HA$$

$$A(H^+)_2 = {}^+HAH^+$$

dalle equazioni precedenti si ottiene:

$$K_1 = \frac{[A][H^+]}{[A(H^+)_1]} = \frac{[A][H^+]}{[AH^+ + {}^+HA]}$$

$$1/K_1 = \frac{[AH^+ + {}^+HA]}{[A][H^+]} = \frac{[AH^+]}{[A][H^+]} + \frac{[{}^+HA]}{[A][H^+]} = \frac{1}{k} + \frac{1}{k} = \frac{2}{k}$$

$$K_1 = \frac{k}{2}$$

allo stesso modo si ricava K_2 ottenendo: $K_2 = 2k$

ed il rapporto: $\frac{K_1}{K_2} = \frac{1}{4}$

In questo modo, anche se la costante di dissociazione *microscopica* è la stessa per ciascuna ionizzazione, gli effetti statistici rendono **la prima costante macroscopica quattro volte più piccola della seconda**