

Estudo e caracterização de compostos enantiomericamente puros obtidos através de células íntegras de *Trichosporum cutaneum* CCT 1903.

Lucimar Pinheiro¹ (PG), Anita J. Marsaioli^{1*} (PQ), anita@iqm.unicamp.br

¹Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, CP 6154, CEP. 13.083-970 Campinas - SP.

Palavras Chave: *Trichosporum cutaneum*, biotransformação, estereosseletividade.

Introdução

Compostos oxo- e hidróxi- são importantes na indústria farmacêutica, agroquímica e de alimentos.¹ As sínteses destes compostos através de reações de oxidações biológicas fornecem alternativas viáveis as rotas químicas sintéticas, especialmente quando se almejam o controle da quimio, régio- e estereosseletividade da reação. Explorando a capacidade oxidativa das células íntegras de *T. cutaneum* CCT 1903 este trabalho teve por objetivo o isolamento e caracterização estrutural (ee, configurações relativas e absolutas) de compostos obtidos na forma enantiomericamente puras.

Resultados e Discussão

Recentemente,² nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma metodologia denominado triagem de multi-bioreação com o objetivo de reduzir o tempo de triagem em reações de biocatálise convencional e conseqüentemente estudar o maior número de amostras simultaneamente.

Através da utilização desta metodologia foi possível detectar a ação de uma alceno monooxigenase no gênero *Trichosporum*.³ Os produtos resultantes da atividade de biooxidação do microrganismo sobre a *cis*-jasmona [**1**] foram: 7*S*,8*R*-epóxi-jasmona ([**1a**], 92% ee, 0,242 mmol, 13%), 4*S*-hidróxi-jasmona ([**1b**], 86% ee, 0,062 mmol, 3,4%) e 7,8-diidróxi-jasmona ([**1c**], 52% ee, 0,112 mmol, 6,2%).

Esta detecção incentivou a investigação do perfil de seletividade do *T. cutaneum* CCT 1903 em diferentes olefinas alifáticas acíclicas, alicíclicas e aromáticas: 6-metil-5-hepten-2-ona [**2**], *R*-(-)-carvona [**3**], α - e β -iononas [**4** e **5**], linalol [**6**], β -citronelol [**7**], geraniol [**8**], α -bisabolol [**9**], *R*-(+)-limoneno [**10**], 1-isopropenil-2,5-dimetóxi-4-metil-benzeno [**11**], valenceno [**12**], α - e β -pineno [**13** e **14**], jinkoh-eremol [**15**] e 1-octeno [**16**].

As reações de biotransformação foram realizadas através da metodologia de multi-bioreação adicionando 10 mg de cada um dos substratos em 2 g de células (massa úmida) do microrganismo em tampão de fosfatos (Na₂HPO₄ e KH₂PO₄, pH 6,5). As reações foram monitoradas por CG-EM nos intervalos de 24, 48, 72 e 96 h. Entre os substratos analisados, 4 deles foram biooxidados: *R*-(-)-carvona [**3**], α - e β -iononas [**4** e **5**] e *R*-(+)-limoneno [**10**].

29^o Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Reações de biocatálise foram realizadas em batelada para identificação espectroscópica dos produtos (RMN de ¹H e ¹³C, ¹H,¹H-gCOSY, HSQC, gHMBC).

As reações realizadas para a conversão da *R*-(-)-carvona [**3**] permitiram o isolamento de 4 compostos: (1*S*, 2*R*, 4*R*)-neoisodihidrocarveol ([**3a**], 0,021 mmol, 3,8%), 6*R*-isoprenil-3*R*-metil-2-oxo-oxepanona ([**3b**], 0,170 mmol, 31%), ácido 3-isopropenil-6-oxo-heptanóico ([**3c**], 0,027 mmol, 5,0%) e 2,3-epóxi-5-isopropenil-2-metil-cicloexenol ([**3d**], 0,012 mmol, 2,18%).

Foi também demonstrado que *T. cutaneum* CCT 1903 promove a hidrogenação e concomitante oxigenação em C₄ da β -ionona produzindo a 4oxo-7,8-diidro- β -ionone ([**5a**], 0,038 mmol, 5.3%). A formação do α -homo-ciclogeraniol ([**4a**], 0,036 mmol, 5.0%) confirmou a ocorrência de uma reação de Baeyer-Villiger.⁴

Por outro lado, o composto 1,2-epóxido-limoneno ([**10a**], 0,017 mmol, 5,5%) e o (+)-(4*R*)-*p*-1-menteno-8,9-diol ([**10b**], 0,019 mmol, 6,1%) foram produzidos pela oxidação da dupla ligação C₁-C₂ e C₈-C₉ do *R*-(+)-limoneno, respectivamente.

Conclusões

Foram obtidos 11 compostos na forma enantiomericamente pura resultante da atividade monooxigenase das células íntegras de *T. cutaneum* CCT 1903. Sugere-se que as reações de hidroxilações e epoxidações foram catalisadas por monooxigenases dependentes de citocromo P-450⁵ e as reações de Baeyer-Villiger foram realizadas por enzimas dependentes de flavinas.⁶

Agradecimentos

Capes e Fapesp.

¹ Watdrop, D.J.; Burge, M.S. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10271.

² Marsaioli, A.J.; Chen, L.S.; Pinheiro, L.; Costa, L.A.M.A.; Bicalho, B. The 6th International Symposium on Biocatalysis and Biotransformation, *Biotrans*, **2003**, Olomouc, Czech Republic.

³ Gonçalves, R.A.C.; Porto, A.L.M.; Pinheiro, L.; Cagnon, J.R.; Manfio, G.P.; Marsaioli, A.J. *Food Technol. Biotech.* **2004**, *42*, 355.

⁴ Krasnobajew, V.; Helmlinger, D. *Helv. Chim. Acta.* **1982**, *65*, 1590.

⁵ Sono, M.; Roach, M.P.; Coulter, E.D.; Dawson, J.H. *Chem. Rev.* **1996**, *96*, 2841

⁶ Malito, E.; Alfieri, A.; Fraaije, M.W.; Mattevi, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 13157.