

Avaliação da atividade enzimática e determinação do perfil de seletividade de microrganismos brasileiros.

Lucimar Pinheiro¹ (PG), Milena S. Feuerharmel¹ (IC), 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: biotransformação, seletividade, monooxigenase.

Introdução

Atualmente a biotransformação é considerada uma tecnologia atrativa quando comparada à química orgânica sintética na pesquisa de novos compostos para a indústria agroquímica, farmacêutica e química fina.¹ As oxidações enzimáticas realizadas por enzimas isoladas ou por células íntegras demonstram a versatilidade e o potencial das biotransformações especialmente quando elas são realizadas de maneira enantiosseletiva. Desta forma, este trabalho teve por objetivo a biotransformação de compostos de fragrância através da utilização de células íntegras de microrganismos que apresentam atividade monooxigenase.

Resultados e Discussão

O fungo CCT 5632 e as leveduras *Rhizopus oryzae* CCT 1022 e AMA 7 foram selecionados pelo nosso grupo de pesquisa através do método de triagem de alto desempenho (HTS) baseado na emissão de fluorescência.² Estes microrganismos apresentaram intensa atividade monooxigenase, e como consequência suas atividades enzimáticas foram posteriormente avaliadas utilizando a metodologia de multi bio-reação³ e reações de biotransformações convencionais (meio reacional 50 mL; substrato 0,4 mg/mL; 150 rpm).

Os substratos selecionados para a avaliação do perfil de seletividade destes microrganismos foram: *cis*-jasmona (**1**), *R*-(-)-carvona (**2**), α - e β -iononas (**3**, **4**) e *R*-(+)-limoneno (**5**). Estes compostos foram anteriormente biotransformados pela levedura *T. cutaneum* CCT 1903 e tiveram seus produtos isolados e estruturalmente caracterizados e, portanto, a identificação dos produtos das reações foram realizadas por CG-EM através da comparação com padrões. As reações foram monitoradas retirando alíquotas de 1 mL do meio reacional em 2, 12, 24, 48, 72, 96 e 120h.

A avaliação do perfil de seletividade da levedura AMA 7 mostrou que após 2h de reação a *R*-(-)-carvona (**2**) foi transformada em diidrocarvona (**2a**), Figura 1. A epoxidação da *cis*-jasmona (**1**) foi observada após 24 h de reação, através da formação da 7,8-epóxi-jasmona (**1a**). A partir 72h de reação todos os substratos e produtos foram degradados e/ou consumidos pelo microrganismo. A atividade

monooxigenase de *R. oryzae* CCT 1022 frente a *cis*-jasmona (**1**) foi verificada a partir da formação da 4-hidróxi-jasmona [**1b**]. No entanto, a conversão foi baixa (0,3 %) e não evoluiu, além disso, o substrato **1** não foi degradado nem consumido pelo microrganismo até um período de 120h. Uma atividade redutase de *R. oryzae* CCT 1022 foi observada através da redução do sistema carbonílico α -, β -insaturado da *R*-(-)-carvona (**2**), levando a formação do neoisodihidrocarveol (**2b**) após 22 h de reação.

Foi também demonstrado que o fungo CCT 5632 promoveu a hidrogenação e concomitante oxigenação em C₄ da β -ionona (**4**) produzindo a 4-oxo-7,8-diidro- β -ionone (**4a**).

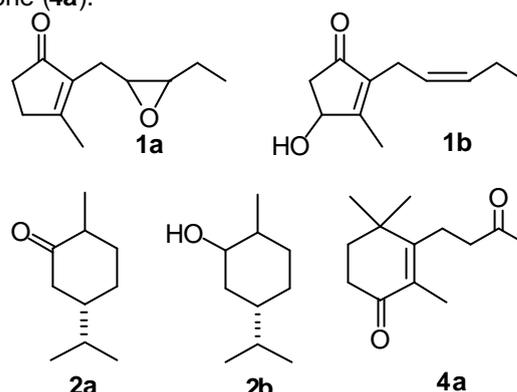


Figura 1: Produtos de biotransformação da *cis*-jasmona (**1a**, **1b**), *R*-(-)-carvona (**2a**, **2b**) e β -ionona (**4a**).

Conclusões

Dos resultados obtidos podemos concluir que os microrganismos, fungo CCT 5632 e as leveduras *Rhizopus oryzae* CCT 1022 e AMA 7, apresentam, sem dúvida, atividade oxidorreductase.

Agradecimentos

Os autores desse projeto agradecem o apoio financeiro da Capes e Fapesp.

¹ Ishige, T.; Honda K.; Shimizu, S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2005**, *9*, 174.

² Chen, L.-S.; Marsaioli, A.J.; Reymond, J.L. *11th Brazilian Meeting on Organic Synthesis*, **2005**, Canela, RS, Brasil

³ 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.

