

Biossíntese de metabólitos prenilados: estudo da atividade da geraniltransferase em *Piper crassinervium*

Adriana Aparecida Lopes^{*1} (PG), Silvia Noelí López¹ (PQ), Vanderlan da Silva Bolzani¹ (PQ), Massuo Jorge Kato² (PQ) e Maysa Furlan¹ (PQ).

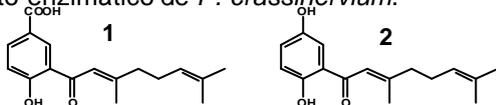
*adrianalps@yahoo.com.br

¹NUBBE- Núcleo de Biossíntese Bioensaio e Ecofisiologia de Produtos Naturais – Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista – Unesp – C. P. 355 – 14800-900 – Araraquara, SP. ²Instituto de Química – Universidade de São Paulo - USP – Prof. Lineu Prestes 748 b 11 T – São Paulo, SP

Palavras Chave: biossíntese, geraniltransferase, metabólitos prenilados, *Piper crassinervium*.

Introdução

Das inúmeras substâncias naturais descritas na literatura, aquelas que apresentam grupos prenila, despertam interesse devido ao fato da porção isoprênica se configurar em um grupo farmacofórico, potencializando sobremaneira a atividade biológica intrínseca destes¹. A biossíntese de metabólitos do gênero *Piper* tem sido estudadas devido ao fato desses metabólitos apresentarem atividade biológica significativa² e dessa forma constituem-se em excelentes matrizes para estudos biossintéticos. A espécie *P. crassinervium* mostrou acúmulo de metabólitos geranilados derivados do ácido benzóico [ácido 4-hidroxi-3-E-(3',7'-dimetil-1'-oxo-2',6'-octadienil) (1)] e do sistema 1,4-benzenodiol (hidroquinona) [(1,4-diidroxi-2-E-(3',7'-dimetil-1'-oxo-2',6'-octadienil) benzeno (2)] que foram avaliados tanto quanto ao seu potencial antifúngico³ como antioxidante⁴. Estudos de determinação da atividade da geraniltransferase (GER) e avaliação do grau de especificidade foram iniciados adicionando-se precursores diferentes do ácido *p*-hidroxibenzoico ao extrato enzimático de *P. crassinervium*.



Resultados e Discussão

A determinação da atividade da GER em folhas de *P. crassinervium* foi realizada nas seguintes condições: tampão KPi 0,1M (pH=8,0), concentração dos cofatores (MgCl₂ e MnCl₂) de 10 mM, concentração dos precursores e do pirofosfato de geranila (GPP) de 1 mM. As reações foram incubadas 1 h a 30°C em agitação. O monitoramento foi feito por injeção em CLAE-UV-MS (coluna C₁₈, sistema isocrático 7:3:0,1 (ACN/H₂O/HOAc), λ = 254 nm, 25'). Os precursores escolhidos foram: ácido 3,4-diidroxi-benzóico (a), *p*-hidroxibenzaldeído (b), fenol (c), ácido *o*-cumárico (d), ácido *p*-cumárico (e) e ácido cafeico (f) (fig. 1).

30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Dos precursores testados, apenas o ácido 3,4-diidroxi-benzóico apresentou um pico de produto detectável no cromatograma (t = 17,5').

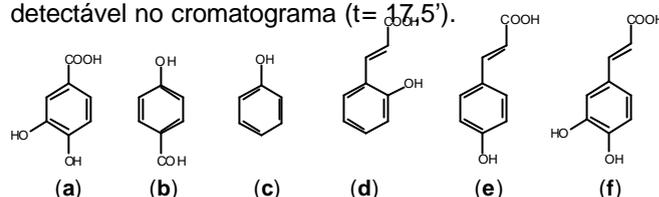


Figura 1: Precursores (a-f) testados nas reações enzimáticas com extrato de *P. crassinervium*.

O íon molecular [M-H]⁻ observado para o pico a foi de *m/z* igual a 153, referente à fórmula molecular (C₇H₆O₄) do precursor, ácido 3,4-diidroxi-benzóico. O pico g apresentou um íon molecular [M-H]⁻ com *m/z* igual a 289, o que estaria de acordo com a fórmula molecular (C₁₇H₂₂O₄) do produto geranilado (fig. 2).

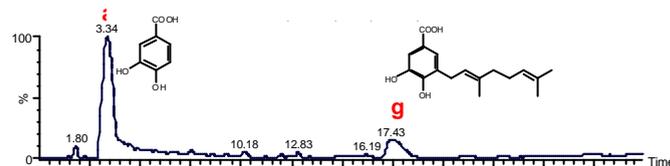


Figura 2: Cromatograma da reação enzimática de geranilação do ácido 3,4-diidroxi-benzóico.

Estes dados permitem inferir que nestas condições a enzima GER aceita o ácido 3,4-diidroxi-benzóico (a) como precursor para geranilação.

Conclusões

Neste trabalho foi possível avaliar a especificidade da enzima GER frente a diferentes substratos. É interessante observar que apenas o ácido 3,4-diidroxi-benzóico foi reconhecido e utilizado pela enzima, o que poderia ser explicado devido à similaridade estrutural com o ácido *p*-hidroxibenzoico, o substrato natural, reafirmando a importância do estudo da enzima GER visando aplicações biotecnológicas futuras para obter metabólitos bioativos em grande escala.

Agradecimentos

À FAPESP, BIOTA-FAPESP e CNPq.

¹Bruyne, P. C. T., Apers, S., Berghe, D. V., Pieters, L., Vlietinck, A. J. *Planta Medica* **2003**, *69*, 589. ²Baldoqui, D. C.; Kato, M. J.; Cavalheiro, A. J.; Bolzani, V. da S.; Young, M. C. M.; Furlan, M. *Phytochemistry* **1999**, *51*, 899. ³Danelutte, A. P.; Lago, J. H. G.; Young, M. C. M. e Kato, M. J. *Phytochemistry* **2003**, *64*, 555. ⁴Yamaguchi, L. F.; Lago, Taniizaki, T. M.; Messias, P. D.; Kato, M. J. *Phytochemistry* **2006**, *67*