

Caracterização de PEI funcionalizada como enzima artificial (synzyme).

Juan Ricardo¹ (PG)*, José Carlos Gesser¹ (PQ), Josiel Barbosa Domingos¹ (PQ).

*juan@qmc.ufsc.br

¹Departamento de Química. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis. Santa Catarina.

Palavras Chave: synzyme, enzimas artificiais, derivatização, PEI.

Introdução

Polímeros sintéticos funcionalizados têm sido usados como modelos que procuram simular algumas das características de processos enzimáticos. Um polímero que tem sido estudado é a polietilenoimina (PEI). Nesse trabalho, foi feita a derivatização combinatorial da PEI para a análise do efeito catalítico sobre a reação de hidrólise de acetato de *p*-nitrofenila (pNPA) em comparação com quimotripsina e caracterizá-las como enzimas artificiais (synzymes).¹

Resultados e Discussão

A funcionalização combinatorial da PEI gerou duas bibliotecas contendo 84 polímeros distintos com diferentes combinações estequiométricas para o agente acetilante (acetato de α -bromo *tert*-butila) e para o alquilante (brometo de dodecila ou brometo de benzila): (1) PEI com acetilante e dodecilante e (2) PEI com acetilante e benzilante. Uma varredura de cada uma das bibliotecas geradas, feita a partir do estudo da cinética da reação entre o polímero funcionalizado e o pNPA, gerou um k_{obs} para cada polímero sintetizado. Os mais eficientes foram: **1.A09** (1,2 eq. de dodecilante - $1,20 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$), **2.A11** (1,4 eq. de benzilante - $1,98 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$) e **2.G09** (1,8 eq. de acetilante e 1,2 eq. de benzilante - $2,21 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$). Considerando que a constante de velocidade para a hidrólise do pNPA em água e pH 7,0 é igual a $1,5 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$,¹ pode-se concluir que **1.A09** é 800 vezes mais eficaz e possui cerca de 3,5 vezes a velocidade de clivagem do substrato pelo polímero não derivatizado que foi de $3,38 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. **2.A11** e **2.G09** apresentaram uma reatividade cerca de 3,5 vezes maior que a do polímero não derivatizado e mais de 1470 vezes se comparado com a hidrólise do pNPA em meio aquoso. Perfis de pH foram analisados e observou-se uma dependência das velocidades com o pH, indicando uma participação de catálise ácido-base geral. Os pK_a aparentes para **1.A09** e **2.A11** ficaram em torno de 8,3 enquanto que para **2.G09** foi ligeiramente superior, 8,7. Por comparação, já que a PEI possui pK_a entre 9 e 10, há indicativo que houve alteração na estrutura polimérica depois da derivatização. Os polímeros selecionados de cada biblioteca foram analisados segundo o modelo de Michaelis-Menten, em pH 7,76.

32ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Para os 3 polímeros, foi observado o efeito de saturação pela concentração de substrato da mesma forma que para enzimas e assim foram obtidos os parâmetros cinéticos de Michaelis-Menten. Os dados estão sumarizados na Tabela 1. Além disso, são relacionados os parâmetros da α -quimotripsina² e de outros modelos de enzimas artificiais como ciclodextrina (CD)³ e anticorpo catalítico (abzima)⁴.

Tabela 1. Parâmetros cinéticos das enzimas artificiais e natural.

Enzima	pH	K_M (mM)	k_{cat} (s^{-1})	k_{cat}/K_M ($10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$)
1.A09	7,76	0,68	25,00	36,76
2.A11	7,76	0,85	47,86	56,07
2.G09	7,76	2,51	87,50	34,86
CD	7,00	0,40	0,40	0,06
Abzima	8,00	0,08	0,007	0,87
Quimotrip.	7,80	1,12	3,96	3,53

Os dados sugerem que os polímeros não acetilados são mais eficientes na agregação do pNPA. Já o polímero acetilado é, em média, duas vezes mais eficaz para o processo de catálise para a formação do produto de reação. Em geral, os polímeros resultaram em catalisadores tão eficientes quanto à quimotripsina e também comparados com outros modelos de enzimas artificiais.

Conclusões

Os polímeros estudados seguiram o modelo de Michaelis-Menten de saturação pelo substrato e os parâmetros cinéticos mostraram grande eficiência comparada com enzimas natural e artificiais.

Agradecimentos

CAPES, CNPq, UFSC e LACBIO.

¹Breslow, R. *Artificial Enzymes*. Weinhein: Wiley-VHC. 2005. 181p.

²Valenzuela, P; Bender, M. L. *Biochemistry*. 1969. v. 63, p. 1214-1221.

³Breslow, R; Nesnas, N. *Tetrahedron Letters*. 1999. v. 40, p. 3335-3338.

⁴Jacobs, J; Schultz, P. G. *J. Am. Chem. Soc.* 1987. v. 109, p. 2174-2176.