

Investigando a versatilidade reacional das lipases

Bruna Zucoloto da Costa (PG)¹ e Anita Jocelyne Marsaioli (PQ)^{1*}

¹Instituto de Química – UNICAMP, CP 6154, CEP 13083-970, Campinas-SP, Brasil
e-mail:anita@iqm.unicamp.br

Palavras chave: Lipases, RMN sítio ativo, reação de Baeyer-Villiger.

Introdução

A versatilidade reacional das enzimas é um fenômeno conhecido como promiscuidade enzimática, indicando que uma mesma enzima pode atuar sobre diversos grupos funcionais de vários substratos. Logo, a especificidade do sítio ativo não é tão rígida quanto imaginada originalmente, o que é associado a uma flexibilidade estrutural das enzimas¹.

Neste enfoque foi proposto estudar a promiscuidade de diversas lipases e avaliar as alterações do sítio ativo das mesmas ao atuarem como esterases de cadeia longa e como Baeyer-Villigerases utilizando para isso técnicas específicas de RMN (Saturation transfer difference, STD, longitudinal relaxation, T1, e transverse relaxation, T2)².

Resultados e Discussão

Quatro lipases comerciais foram previamente selecionadas (Tabela 1) e as suas respectivas atividades hidrolíticas foram confirmadas por titulação dos ácidos graxos liberados, utilizando como substrato óleo de oliva.

Tabela 1. Lipases utilizadas como biocatalisadores de reações Baeyer-Villiger.

	Lipases (fonte)	Atividade (U/mg)
1	<i>Candida cylindracea</i>	4,0
2	<i>Rhizopus arrhizus</i>	10,5
3	<i>Rhizopus niveus</i>	4,5
4	Pâncreas suíno	30,0

A versatilidade destas lipases foi testada para reações de Baeyer-Villiger utilizando os substratos 2-ciclohexen-1-ona, 4-metilciclohexanona, 2-metilciclohexanona, cis-jasmona e 2-pentilciclopentanona. A uma solução das cetonas (1,5 µL de cada), ácido octanóico (100 µL) e H₂O₂ 30% (1 mL) em tolueno (10mL), foi adicionado 5 mg das lipases acima citadas. A reação foi mantida sob agitação a 200 rpm e 37 °C. Aliquotas foram retiradas a cada 24 horas durante 3 dias; as mesmas foram lavadas com solução tampão Sørensen 0,05 mol/L pH 8,0 e solução saturada de NaHCO₃, sendo posteriormente analisadas por GC-MS (Condições de análise: 50-180 °C a 10 °C/min, 180-300 °C a 30 °C/min, onde permaneceu constante por 5 min (Agilent 6890, HP5).

As análises por GC-MS revelaram que as lipases avaliadas oxidaram preferencialmente as ciclopentanonas, sendo que todas foram capazes de oxidar a 2-pentilciclopentanona e somente a lipase 4

não oxidou a cis-jasmona. A participação da enzima foi comprovada pela ausência de produtos na reação controle (meio reacional com todos os substratos na ausência da enzima).

A Figura 1 apresenta o esquema proposto para a reação de Baeyer-Villiger biocatalisada por lipases. Esta enzima é responsável por catalisar a formação do perácido através do ataque do peróxido de hidrogênio à enzima acilada.³

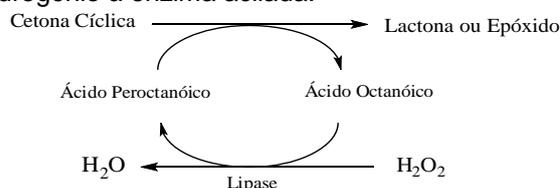


Figura 1. Esquema para a reação de Baeyer-Villiger catalisada por lipases.

Os espectros de CG-MS mostraram que a 2-pentilciclohexanona foi oxidada a sua respectiva lactona e que a cis-jasmona foi possivelmente oxidada a lactona ou a epóxido (Figura 2).

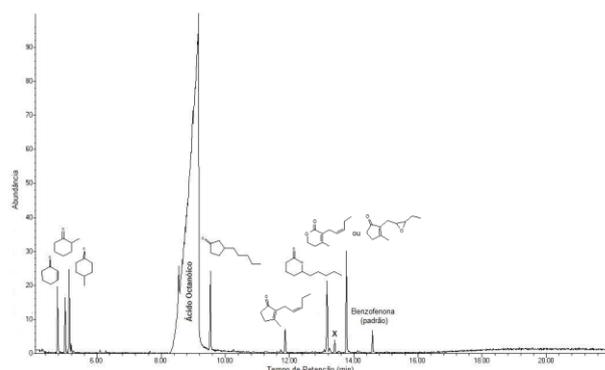


Figura 2. Cromatograma da reação de Baeyer-Villiger catalisada pela lipase 1 (alíquota de 48 horas).

Conclusão

As lipases comerciais avaliadas mostraram-se versáteis na biocatálise de reações de Baeyer-Villiger de ciclopentanonas. Técnicas específicas de RMN estão sendo utilizadas no estudo das alterações do sítio ativo destas enzimas, quando atuam promiscuamente.

Agradecimentos

Os autores agradecem o CNPq, CAPES e ANP - Petrobrás por bolsas e financiamento.

¹Taglieber A. *et al.* *Angew. Chem.* **2007**, *119*, 8751–8754

²Kemper, S. *et al.* *J. Magn. Res.* **2009**. (Accepted Manuscript).

³Rios, M.Y.; Salazar, E.; Olivo, H.F. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2008**, *54*, 61-66.